

东海近岸带鱼(*Trichiurus japonicus*)线粒体控制区序列的群体遗传变异研究*

吴仁协 张浩冉 牛素芳 苗奔奔 翟云

(广东海洋大学水产学院 湛江 524088)

摘要 带鱼(*Trichiurus japonicus*)是广泛分布于东亚大陆架海域的暖温性近底层经济鱼类,也是东海区最重要的海洋渔业捕捞对象。然而,目前的研究报道对东海近岸带鱼群体遗传变异特性认识不足,不利于其种群的遗传资源保护和管理。本研究利用线粒体控制区序列对东海近岸带鱼 6 个群体 191 个个体的遗传多样性、遗传分化和历史动态进行分析。在 577 bp 长的控制区序列中共检测到 70 个多态位点,定义了 121 个单倍型。群体总的单倍型多样性较高(0.9911),但总的核苷酸多样性较低(0.0092),群体间遗传多样性水平差异较小。单倍型遗传学关系、 F_{st} 值和分子方差分析结果均表明群体间的遗传分化不显著,存在广泛的基因交流。历史动态分析结果表明东海近岸带鱼群体在更新世中晚期可能经历了瓶颈效应和随后的群体快速扩张,这是导致群体遗传多样性较低的主要原因。带鱼较强的扩散能力、洄游行为、海洋环流以及近期的群体扩张可能是造成东海近岸带鱼缺乏显著的系统地理种群结构的原因。研究结果提示,在线粒体 DNA 水平上,东海近岸带鱼群体是一个随机交配的种群,在遗传资源管理上可作为一个单元进行管理。

关键词 带鱼; 东海近岸; 线粒体控制区; 遗传变异; 历史动态

中图分类号 Q953; S931 **doi:** 10.11693/hyhz20190400077

带鱼 (*Trichiurus japonicus*) 隶属鲈形目 Perciformes、带鱼科 Trichiuridae、带鱼属 *Trichiurus*, 为暖温性近底层重要经济鱼类,广泛分布于东亚大陆架海域,包括中国沿海、朝鲜半岛西部及南部沿海以及日本北海道以南沿海(吴仁协等, 2018)。带鱼是我国海洋四大渔业之一,也是东海区最重要的海洋渔业捕捞对象。东海区的带鱼渔获量自 2000 年 (90.99×10^4 t) 达到顶峰后,一直呈波动下降趋势,近 10 年渔获量维持在 70×10^4 t 左右(农业部渔业渔政管理局, 2009-2018; 张魁等, 2015), 但仍是东海区资源量最大的鱼种。随着捕捞压力加大和近海渔业生态环境的不断恶化,东海区的带鱼在年龄与生长、繁殖和发育、种群组成、食性等方面均出现了一系列的变化(林新濯, 1987; 罗秉征, 1991), 包括生殖期间对外界环境适应能力提高、产卵场范围扩大等(徐兆礼等,

2015), 其种群生物学趋向低龄化、小型化、性早熟及简单化(张其永等, 2017), 资源已处于衰退状态。目前虽有一些报道涉及东海区的带鱼群体遗传背景研究,但这些研究较为零散,且在采样范围、样品数量或是标记灵敏度等方面存在明显不足(王可玲等, 1994; 杨天燕等, 2007; He *et al.*, 2014; Xiao *et al.*, 2014; 郑文娟等, 2015), 其研究结果还难以全面和深入认识东海区的带鱼群体遗传变异和种群结构特征,不利于其种群的遗传资源保护和管理。

有关东海近海的带鱼洄游分布和种群划分问题,已有学者进行了广泛的研究和探讨。研究表明,东海区的带鱼具有沿东海大陆边缘作南北移动的长距离洄游规律(朱元鼎, 1959), 其越冬场主要位于 30°N 以南的浙江中南部外海水深 60—100m 海域,越冬期 1—3 月(郑元甲等, 2003); 其产卵场分布广阔,遍及

* 国家自然科学基金项目, 31372532 号; 广东省科技计划资助项目, 2017A030303077 号。吴仁协, 博士, 副教授, E-mail: wurenxie@163.com

收稿日期: 2019-04-21, 收修改稿日期: 2019-07-08

东海近海海域, 生殖期从 3 月一直延续至 10 月(盛期为 5—7 月)(徐兆礼等, 2015)。同时, 东海区的带鱼还与黄渤海带鱼和粤东带鱼存在一定程度的混栖(张其永等, 1966; 徐兆礼等, 2015)。根据洄游分布、渔期资料、形态测量等资料, 多数学者认为东海近海带鱼为一个地方种群(朱元鼎, 1959; 林新濯等, 1965; 张其永等, 1966; 郑元甲等, 2003; 徐兆礼等, 2016), 但也有部分学者将东海区的带鱼划分为东海北部群和东海南部群(罗秉征等, 1981; 卢继武等, 1983)。在群体遗传学方面, 王可玲等(1994)分析了中国近海 5 个带鱼群体的同工酶遗传分化, 得出舟山海域群体和石狮近海群体为同一个种群的结论, 但所分析的东海带鱼群体数量较少, 难以为种群鉴别提供确切的遗传学证据。同样, He 等(2014)基于线粒体 Cyt *b* 序列研究了东海带鱼 11 个群体的分子系统地理学和群体历史动态, 但所用标记的分辨力较低, 难以有效揭示群体遗传结构和遗传多样性水平。因此, 有必要采用高分辨力的分子标记和扩大采样范围来进一步研究东海近海的带鱼群体遗传变异特征和种群划分问题。

线粒体控制区序列因进化速率较快, 具有较高的种内多态性和分辨力, 且序列中多态的数量和分布模式可以为推测群体历史动态提供有效的遗传信息(Liu *et al*, 2006a,b), 已成为鱼类群体水平遗传变异的理想分子标记(Xiao *et al*, 2014; 郑文娟等, 2015)。本研究利用线粒体控制区序列对东海近岸 6 个带鱼群体的遗传变异和历史动态进行分析, 从种群历史和现代基因流作用两个方面来揭示群体遗传结构和遗传多样性水平, 阐明东海近岸带鱼群体现有系统地理格局及其形成机制, 以期全面认识东海近岸带鱼群体遗传变异特征和评估其种质资源状况, 为今后制定合理的渔业保护和管理策略提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

实验所用的 191 尾带鱼于 2008 年 7 月至 2018 年 4 月采自东海近岸 6 个海域, 包括上海市崇明岛近岸(CM)、浙江省嵊泗列岛近岸(SS)、浙江省宁波近岸(NB)、浙江省台州近岸(TZ)、福建省平潭近岸(PT)和福建省东山岛近岸(DS)(表 1)。鱼体经形态学鉴定后取其背部肌肉浸入含有 95%酒精溶液的 2mL 离心管中, 于-20℃ 条件下保存。

1.2 DNA 提取、PCR 反应和序列测定

采用传统的苯酚-氯仿法提取样品基因组 DNA。

根据带鱼线粒体 DNA 基因组全序列(GenBank 登录号: EU339148, 下同), 用 Primer Premier5 软件设计一对引物 CR-F553 (5'-ATACCAGGACTCAACATC-3')和 CR-Phe (5'-CGGGCCTATCTTACCATCTT-3')扩增本研究的带鱼线粒体控制区部分序列。PCR 的反应体系为 50μL, 包括 5μL 10×反应缓冲液(含 Mg²⁺), 正反引物(10μmol/L)各 1μL, 1μL dNTPs (10mmol/L), 0.5μL *Taq* DNA 聚合酶(2.5U/μL) (北京全式金生物技术有限公司), 2—3μL DNA 模板(约 50ng/μL), ddH₂O 补齐总体积。PCR 扩增在 Veriti96 Well 热循环仪上进行, 反应程序为: 94℃ 预变性 5min; 94℃ 变性 45s, 54℃ 退火 45s, 72℃ 延伸 45s, 循环 35 次; 最后再 72℃ 延伸 7min。PCR 产物用 1.2% TBE 琼脂糖凝胶电泳检测, 检测合格的 PCR 产物送至广州天一辉远生物科技有限公司进行测序, 测序引物同 PCR 反应。

1.3 数据分析

对所得序列用 Dnastar Lasergene v7.1 软件包(Burland, 2000)进行编辑、校对和比对, 并以 DnaSP 5.10 软件(Librado *et al*, 2009)确定单倍型。采用 Arlequin Ver 3.5.1.2 软件(Excoffier *et al*, 2010)计算单倍型数目、多态位点、转换、颠换、插入/缺失等序列多态性参数, 以及单倍型多样性(*h*)、核苷酸多样性(*π*)、两两序列间的平均核苷酸差异数(*k*)等遗传多样性指数。采用 Network 5.0.0.1 软件(Bandelt *et al*, 1999)构建基于中介邻接法(Median-joining)的单倍型网络关系图, 以分析单倍型的谱系结构。

在 Arlequin Ver 3.5.1.2 软件中, 采用分化固定指数 F_{st} 评估两两群体间的遗传分化程度, 并以 Exact 检验检测单倍型在群体间分布频率的差异。群体间的基因交流值由 DnaSP 5.10 软件估算。通过设定 3 种分子变异分析(AMOVA)方式来评估群体遗传结构。一是将 6 个群体都归为一个组群以检验群体间是否存在显著的遗传分化。二是将 6 个群体划分为东海北部组群(CM、SS、NB、TZ)和东海南部组群(PT、DS)以检验是否存在显著的地理结构。三是考虑到东海近岸江河入海径流(如长江口、钱塘江口、甌江口、闽江口)可能对其近海动物线粒体 DNA 谱系结构和群体间基因交流产生影响(阎雪岚等, 2009), 将本研究的 6 个群体划分为 3 个组群(CM; SS、NB、TZ; PT、DS)以检测东海近岸径流是否对带鱼群体间的基因交流形成地理屏障。AMOVA 运算由 Arlequin Ver 3.5.1.2 软件运行, 单倍型间的遗传距离采用由 jModelTest V2.1.10 软件(Darriba *et al*, 2012)运算出的 Kimura 双

参数模型,其余参数为软件设置的默认参数。

群体中性检验、核苷酸不配对分布分析和群体扩张时间计算见吴仁协等(2009)报道,由 Arlequin Ver 3.5.1.2 软件运算。根据线粒体 DNA 的种群统计公式 $\theta = 2N_{ef}u$ (Liu *et al.*, 2006b) 估算出总群体的母系有效群体 (N_{ef}) 大小,其中 θ 的估计值即是 Arlequin Ver 3.5.1.2 软件运算出的 θ_s 和 θ_n 数值。参照 Xiao 等(2014)报道的带鱼线粒体控制区序列 4% 每百万年的突变速率来估算本研究群体发生扩张的时间和有效母系群体大小。运用 Beast1.7.5 (Drummond *et al.*, 2007) 中贝叶斯天际线 (Bayesian skyline plots, BSP) 来检测群体历史和有效群体大小变化。基于最适进化模型和严格的分子钟 (控制区序列分歧速率为 4%—10% 每百万年), 运算 3×10^8 迭代并用 Log Combiner 合并运行, 用 Tracer1.5 软件读取结果, 以获取检测 Beast 模拟数值 (ESS) 大于 200 的 BSP 分析结果。

2 结果与分析

去掉两端引物和 *tRNA^{Phe}* 序列后, 所测定的 191 条带鱼线粒体控制区序列长度为 576—578bp, 其 A、T、C、G 平均含量分别为 26.67%、31.34%、22.63%、

19.37%, A+T 含量 (58%) 高于 C+G 含量 (42%), 表现出明显的 T 偏倚和反 G 偏倚。在比对的 577 bp 控制区序列内共检测到 70 个多态位点, 其中有 47 个是简约信息位点。这些多态位点共定义了 73 处核苷酸替换, 包括 63 处替换和 10 处颠换, 同时检测到 6 处插入/缺失。在 191 个个体中, 共检测到 121 个单倍型 (MN031014—MN031134), 单倍型间的核苷酸差异数范围为 1—16。

表 1 显示, 6 个群体的单倍型多样性 (h) 都很高且相差无几 (0.9789—0.9966); 核苷酸多样性 (π) 以平潭近岸群体最高 (0.0103)、东山岛近岸群体最低 (0.0084), 但群体间差异不大, 并未显示出明显的地理趋势。所有个体的平均单倍型多样性、核苷酸多样性和核苷酸差异数分别为 0.9911、0.0092、5.3357, 其遗传多样性表现出高 h 、中低等 π 模式。基于中介邻接法构建的带鱼控制区单倍型网络关系图呈星状结构 (图 1), 存在一个主体单倍型 (H19) 位于网络图的中心, 该单倍型被东海近岸 5 个群体所共享, 提示东海近岸带鱼经历了群体扩张。同时, 单倍型网络关系图结构比较简单, 未检测到与采样点对应的类群, 表明东海近岸带鱼控制区序列不存在明显的地理谱系结构。

表 1 东海近岸带鱼 6 个群体的样品信息和遗传多样性参数

Tab.1 Sampling information and genetic diversity parameters of six *T. japonicus* populations from nearshore of the East China Sea

采样点(群体简称)	采样时间	样品数量	单倍型数量	多态位点数	单倍型多样性	核苷酸多样性	平均核苷酸差异数
上海市崇明岛近岸(CM)	2010.04	32	28	36	0.9919±0.0099	0.0086±0.0048	4.9252±2.4625
浙江省嵊泗列岛近岸(SS)	2008.07	35	33	43	0.9966±0.0078	0.0089±0.0049	5.1782±2.5683
浙江省宁波近岸(NB)	2016.04	50	39	47	0.9861±0.0077	0.0095±0.0051	5.4588±2.6722
浙江省台州近岸(TZ)	2018.04	31	26	43	0.9839±0.0160	0.0097±0.0053	5.5826±2.7576
福建省平潭近岸(PT)	2014.09	20	17	29	0.9789±0.0245	0.0103±0.0057	5.9125±2.9460
福建省东山岛近岸(DS)	2013.07	23	21	28	0.9921±0.0154	0.0084±0.0047	4.8376±2.4496
合计		191	121	70	0.9911±0.0020	0.0092±0.0050	5.3357±2.5863

两两群体间的 F_{st} 值均较低 (−0.0135—0.0212), 且统计检验均不显著 ($P=0.080—0.833>0.05$) (表 2), 表明 6 个群体具有高度的遗传同质性。部分群体间的 F_{st} 值为负值, 说明部分群体内个体间的遗传差异大于群体间的遗传差异水平。Exact 检验分析显示, 单倍型在群体间的分布频率差异并不显著 ($P=0.071—0.812>0.05$), 可认为东海近岸带鱼 6 个群体间是随机交配的。同时, 群体间的基因交流值为 23.1 至无穷大 (表 2), 提示群体间存在非常广泛的基因交流。表 3

的三种 AMOVA 分析结果均显示东海近岸带鱼的遗传变异绝大部分来自群体内部 (占总变异的 99.37%—99.37%), 来自群体间的遗传变异仅占极少量 (0.12%—0.43%), 并且统计检验均不显著 ($P=0.202—0.204>0.05$)。此外, AMOVA 分析结果不支持根据取样范围将 6 个群体划分为东海北部和南部 2 个组群 ($F_{ct}=0.0035$, $P=0.276$), 也不支持东海沿岸径流对带鱼群体的遗传分化产生明显作用的假设 ($F_{ct}=0.0045$, $P=0.261$)。

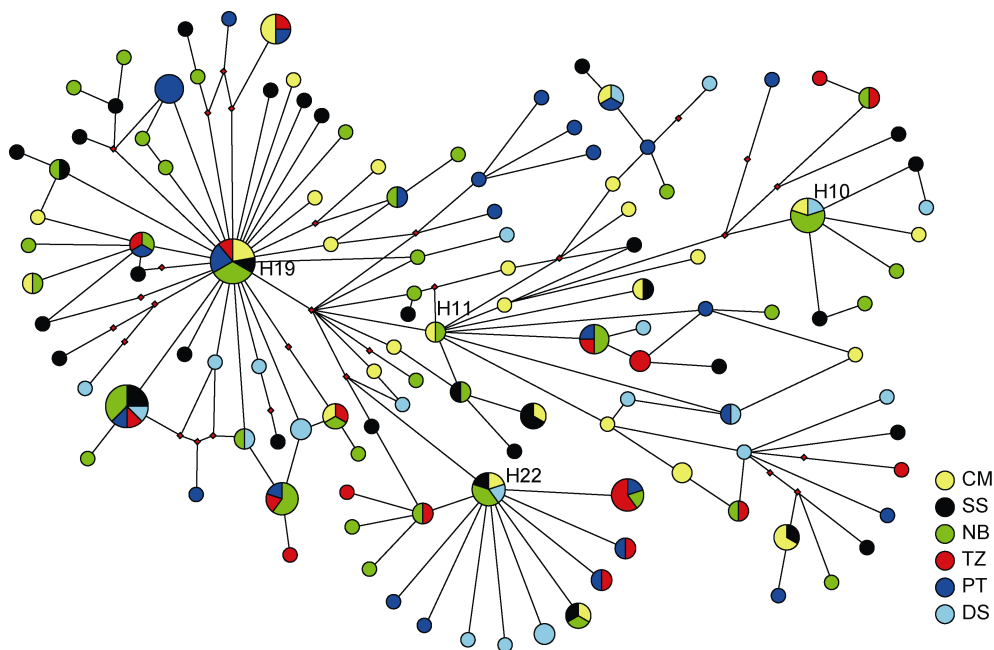


图 1 东海近岸带鱼线粒体控制区序列单倍型的中介邻接网络关系图(圆圈面积与单倍型频率成正比)
Fig.1 The median-joining network of haplotypes in *T. japonicus* mitochondrial control region from nearshore of the East China Sea (the sizes of circles are proportional to haplotype frequency)

表 2 东海近岸带鱼 6 个群体间的遗传分化指数 F_{st} (对角线以下)及基因交流值(对角线以上)
Tab.2 Genetic differentiation index F_{st} (below diagonal) and N_m values (above diagonal) among six *T. japonicus* populations in nearshore of the East China Sea

群体	CM	SS	NB	TZ	PT	DS
CM		∞	41.2	32.2	30.6	∞
SS	-0.0069		∞	46.7	23.1	∞
NB	0.0120	-0.0033		50.5	68.9	∞
TZ	0.0153	0.0106	0.0098		81.5	∞
PT	0.0161	0.0212	0.0072	0.0061		∞
DS	-0.0134	-0.0039	-0.0028	-0.0006	-0.0135	

表 3 东海近岸带鱼 6 个群体的分子变异分析(AMOVA)
Tab.3 Analysis of molecular variance (AMOVA) of six *T. japonicus* populations in nearshore of the East China Sea

变异来源	自由度	方差总和	变异组成	变异百分比	分化固定指数	P 值
1 个组群(CM、SS、NB、TZ、PT、DS)						
群体间	5	15.074	0.0115	0.43	$F_{st}=0.0043$	0.204
群体内	184	489.136	2.6583	99.57		
2 个组群(CM、SS、NB、TZ)(PT、DS)						
组群间	1	3.476	0.0095	0.35	$F_{ct}=0.0035$	0.276
组群内群体间	4	11.598	0.0074	0.28	$F_{sc}=0.0028$	0.287
群体内	184	489.136	2.6584	99.37	$F_{st}=0.00637$	0.203
3 个组群(CM)(SS、NB、TZ)(PT、DS)						
组群间	2	6.780	0.0120	0.45	$F_{ct}=0.0045$	0.261
组群内群体间	3	8.294	0.0033	0.12	$F_{sc}=0.0013$	0.395
群体内	184	489.136	2.6584	99.43	$F_{st}=0.0057$	0.202

由于群体间遗传分化不显著, 将6个群体合并分析群体的历史动态。中性检验结果表明, Tajima's D 检验 ($D=-1.689$, $P=0.012<0.05$) 和 Fu's F_S 检验 ($F_S=-25.073$, $P=0.000<0.05$) 均为显著的负值, 提示东海近岸带鱼可能经历了群体扩张事件。图2显示, 群体数量扩张和空间扩张的核苷酸不配对分布均呈单峰分布, 与群体扩张模型下的预期分布非常吻合。拟合优度检验也显示(表4), 数量扩张和空间扩张的SSD值(均为0.001)和 H_{ri} 指数(均为0.013)均较小, 且统计检验不显著($P=0.166-0.366>0.05$), 表明所观测的两种核苷酸不配对分布均未显著偏离扩张模型, 揭示了东海近岸带鱼在历史上可能发生过群体数量增长和栖息地扩大事件。根据群体数量和空间扩张模型所估算的参数 τ 95%置信区间值分别为4.21—6.22和4.22—6.06(表4), 推算出带鱼群体发生扩张时间约在13.5—9万年前(晚更新世)。群体数量扩张后、前的 θ_1/θ_0 比值为无穷大(表4), 提示东海近岸带鱼在晚更新世发生群体扩张后其有效群体大小急剧增大。BSP分析也表明(图3), 约11.5万年前至今, 带鱼有效群体大小一直呈快速增长(约增大了48倍); 而约在30—13万年前期间带鱼有效群体大小却逐渐下降(约下降了43%)。根据所得 θ_s 值(11.16)和 θ_a 值(5.41), 推算出东海近岸带鱼现存的有效母系群体大小约为 $0.67\times 10^7-1.40\times 10^8$, 这与BSP分析估算的有效群体

大小在 10^7 数量级相接近。

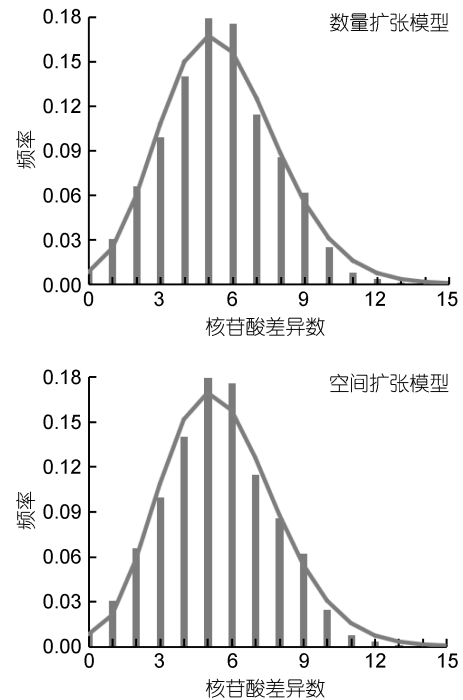


图2 东海近岸带鱼线粒体控制区单倍型的核苷酸不配对分布, 柱状图为观测值, 曲线为群体扩张模型下的预期分布

Fig.2 The observed pairwise differences (bars) and the expected mismatch distribution under the population expansion model (solid line) for the mitochondrial control region haplotypes of *T. japonicus* from nearshore of the East China Sea

表4 东海近岸带鱼群体扩张参数以及拟合优度检验

Tab.4 Population expansion parameters and goodness of fit test for *T. japonicus* from nearshore of the East China Sea

样品	数量扩张参数			拟合优度检验				空间扩张参数			拟合优度检验			
	τ (95%CI)	θ_0	θ_1	SSD	P_{SSD}	H_{ri}	PH_{ri}	τ (95%CI)	θ	M	SSD	P_{SSD}	H_{ri}	P_{Hri}
合计	4.21—6.22	0.000	228.1	0.001	0.207	0.013	0.350	4.22—6.06	0.024	240.7	0.001	0.166	0.013	0.366

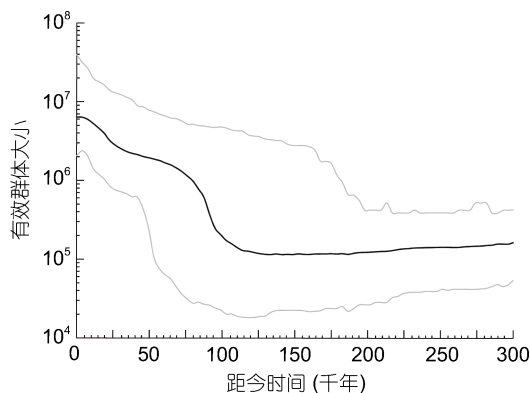


图3 东海近岸带鱼群体的贝叶斯天际线分析

Fig.3 The Bayesian skyline plots (BSP) analysis of *T. japonicus* populations from nearshore of the East China Sea

3 讨论

3.1 东海近岸带鱼系统地理种群结构

本研究的 F_{st} 值和AMOVA分析均显示东海近岸带鱼6个群体间的遗传分化不显著, Exact检验分析也提示群体间可随机交配产生基因流, 单倍型遗传关系分析表明群体不存在明显的地理谱系结构。这种缺乏显著的系统地理种群结构与种群历史进程和现代基因流的作用有较大关系。更新世全球气候周期性波动引起海平面剧变而导致边缘海海洋生物的分布范围和生物量都发生了巨大的变化(Hewitt, 2000; Lambeck *et al*, 2002)。这种与气候波动相关的种群历史进程必然极大地影响了现有海洋生物的种内系统

地理格局(Avise, 2000; Liu *et al.*, 2006a, b; He *et al.*, 2014)。此外, 物种扩散、洄游及繁殖行为、海洋环流以及对环境的适应性等对种群基因流产生影响的进化机制也是形成海洋生物种群遗传结构的一个重要因素(Schulte, 2001; Han *et al.*, 2012)。

本研究的群体历史动态分析结果表明东海近岸带鱼经历了晚更新世的群体扩张事件, 包括群体数量增长和栖息地扩大。单倍型网络关系图也符合群体发生扩张的谱系特征。在更新世, 因每次冰盛期海平面下降(比现在海平面约低 110—130m)(Waelbroeck *et al.*, 2002), 渤海和黄海完全露出海面成为陆地, 东海缩剩为一狭长的冲绳海槽, 南海则变为袋状海湾, 二者水深颇大(约 1000—3000m)、均无陆架(Wang, 1999), 成为中国近海海洋生物的两个冰期避难所(Liu *et al.*, 2007; He *et al.*, 2015)。在冰期海洋环境恶化和沿岸栖息地消失的情况下, 包括带鱼在内的众多海洋动物在中国大陆架区应该都已灭绝, 而在冰期避难所的部分带鱼子留群体则幸存下来(Liu *et al.*, 2006a; Han *et al.*, 2008; 吴仁协等, 2009, 2012)。同时, 大陆和台湾岛之间所形成的陆桥以及台湾-琉球群岛陆桥阻碍了东海和南海两个冰期避难所的海洋生物的基因交流(He *et al.*, 2015), 从而促进异域群体的遗传分化(Liu *et al.*, 2007; Cheang *et al.*, 2010)。随着冰后期海平面上升和环境好转, 自晚更新世之后, 由于群体扩张, 来自东海和南海冰期避难所的带鱼子留群体均有可能在东海陆架区发生重新殖化的事件。从线粒体 DNA 序列遵循严格的母系遗传特征来讲, 若是南海冰期避难所的子留带鱼群体在东海陆架区发生过重新殖化, 那么本研究应该能检测到不止一个单倍型谱系或是群体间的遗传差异明显。然而, 本研究只检测到一个单倍型谱系, 且群体间的遗传多样性水平差异较小、无明显的地理趋势, 提示目前东海近岸带鱼应该只来自东海冰期避难所的子留群体在晚更新世后重新殖化的群体。由于群体扩张发生的时间比较晚, 扩散后新建立的群体尚未在迁移和遗传漂变之间取得平衡(Slatkin, 1993; Liu *et al.*, 2006a, 2007), 这可能是东海近岸带鱼群体间遗传差异不明显的主要历史原因。这种因经历了近期的群体扩张而在中国大陆架区缺乏显著的群体遗传变异现象在许多海洋鱼类中已有报道(Ni *et al.*, 2014)。

在东海近海, 主要海流流系包括东海沿岸流、台湾暖流和黑潮。东海沿岸流是由近岸江河入海径流与周围海水混合形成的一股沿岸水, 夏季向北流延伸

至长江口附近, 冬季自长江口向南流进入粤东沿岸; 台湾暖流为常年存在的一股高温、高盐水, 流向总趋势是沿闽浙近海北上; 东海黑潮除了流速和流量有季节性变化外, 流向和流幅变动不大, 流轴比较稳定, 主要为东北流向(陈新军等, 2004)。带鱼产浮性卵, 受精卵在水温 25—29.5°C、盐度 35 条件下历经 81h 30min 孵化(柴学军等, 2015)。虽然目前对带鱼的幼体浮游期缺乏了解, 但研究表明带鱼受精卵在培养水温 21°C 时的仔鱼期有 5 天(沙学坤等, 1981)。因此, 带鱼至少一周长的早期发育浮游期可借助东海近海夏季海流向北流的趋势, 进行从南向北的长距离扩散, 有利于东海近岸带鱼群体间产生广泛的基因交流。Slatkin(1987)认为群体的每一个世代只要有一个迁移者能够有效进入另一个群体的繁育群体, 就可以阻止群体间因为遗传漂变或选择作用而产生的遗传分化。本研究估算的群体间基因流最小值为 23.1, 如此频繁的基因交流足以促使东海近岸带鱼群体间形成高度的遗传同质性。

带鱼产卵地区主要位于沿岸的河口附近水深 7—22m, 在水质呈白浆状的浅海中排卵(朱元鼎, 1959), 这提示沿岸的江河入海径流可能会促进东海近岸带鱼群体间的遗传分化。然而本研究结果并不支持这种假设, 表明东海近岸的江河入海径流并不构成带鱼扩散的有效屏障。这可能是由于带鱼卵和幼体确实具有较强的潜在扩散能力外, 也可能与东海区的带鱼群体长期存在“北带南游”的洄游规律有密切相关。带鱼每年沿东海和台湾海峡大陆边缘作南北移动, 即 11—3 月上旬自北往南进行越冬洄游, 3—6 月自南往北进行生殖洄游(朱元鼎, 1959; 张其永等, 1966)。这种有规律性的集群洄游可促使东海近岸带鱼群体间有充分的基因交流机会, 导致群体遗传的同质化, 形成了一个随机交配的种群。可见, 有利的海洋环流加上较强的浮游期幼体扩散能力以及长期的洄游规律是导致东海近岸带鱼群体间遗传分化不明显的重要现时原因。

基于线粒体控制区序列分析, 本研究的东海近岸带鱼缺乏显著的系统地理种群结构。这与之前的带鱼同工酶标记研究结论相一致, 即舟山海礁群体与石狮梅林群体间遗传距离($D=0.004$)以及青岛胶南近海群体与舟山海域群体间遗传距离($D=0.0015$)均较小, 没有明显的遗传分化, 分别可视为一个种群(王可玲等, 1994; 杨天燕等, 2007)。同样, Xiao 等(2014)报道了温州、珠海、北海近海等 3 个带鱼群体线粒体

控制区序列缺乏显著的谱系结构。本研究和王可玲等(1994)研究从分子水平上确认了朱元鼎(1959)、林新濯等(1965)、张其永等(1966)、郑元甲等(2003)、徐兆礼等(2016)对东海近海带鱼归为一个种群的结论,不支持罗秉征等(1981)、卢继武等(1983)将东海近海带鱼划分为东海北部群和东海南部群的观点。

3.2 东海近岸带鱼群体遗传多样性水平

在本研究中,东海近岸带鱼群体总的 h 值虽较高(0.9911),但群体总的 π 值较低($\pi=0.0092$)。由于 h 指数仅考虑单倍型的数目和频率, π 指数还包括单倍型间的突变差异(Arnason *et al.*, 1996)。特别是在 h 接近 1 的情况下,该指数不能有效提供群体遗传变异信息,而 π 指数更适用于评判群体的遗传多样性水平(Liu *et al.*, 2006a)。因此,从 π 指数来看,东海近岸带鱼群体遗传多样性总体处于中低等水平。这种较低的核苷酸多样性在温州、珠海、北海等 3 个近海带鱼群体($\pi=0.008$)和舟山海域带鱼群体($\pi=0.012$)的线粒体控制区序列变异分析中均有相同报道(Xiao *et al.*, 2014; 郑文娟等, 2015)。同样,基于 9 种同工酶分析也显示青岛胶南近海和舟山海域 2 个带鱼群体的多态位点比例(分别为 0.1538 和 0.0769)和平均杂合度(分别为 0.0173 和 0.0037)均较低(杨天燕等, 2007); 随机扩增 DNA(RAPD)分析还表明黄海带鱼的多态性比小带鱼(*Eupleurogrammus muticus*)的低(蒙子宁等, 2003)。然而,王可玲等(1994)报道的 1976—1992 年中国近海 5 个带鱼群体 11 种同工酶的多态位点比例(0.208—0.417)和平均杂合度(0.067—0.103)比一般鱼类的高。这些研究结论的差异除了与分析样品的采样年份和所用标记位点不同有关外,可能还与群体间的遗传分化程度相关。研究表明种群存在显著分化的遗传结构或谱系可导致高水平的核苷酸多样性(Liu *et al.*, 2006a, 2007; He *et al.*, 2010)。在上述研究中,王可玲等(1994)检测的中国近海 5 个带鱼群体因遗传分化较大可划分为 4 个种群,而其余研究报道的带鱼群体均无明显的谱系分化或是遗传差异。

Frankham(1996)指出群体的遗传多样性与有效群体大小有直接的关系,只有当群体数量很小时其遗传多样性才会显著下降(Nei *et al.*, 1975)。Ryman 等(1995)认为与中等大小群体经历严重瓶颈效应相比,在大群体降到中等大小群体过程中会丧失更多的稀有等位基因。尤其是当群体因生存压力而导致有效群体大小降低时,其遗传多样性积累的速度会降低,而遗传多样性丧失的速度会增加(Frankham *et al.*,

2004)。本研究的 BSP 分析显示约在 30—13 万年前的更新世中晚期,东海近岸带鱼的有效群体大小数量发生了持续性的下降,约下降了 43%,表明群体可能经历了瓶颈效应。在此期间,全球因冰期气候变冷大约发生了 5 次较为明显的海平面下降(Waelbroeck *et al.*, 2002),这对西北太平洋边缘海的海水温度、海流模式、涌升流密度、海岸栖息地以及海洋生产力都产生了很大影响(Wang, 1999; Lambeck *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2006b; He *et al.*, 2014)。这种周期性的气候剧烈变迁和环境变化可能对东海近岸带鱼群体造成了较大的生存压力,引起有效群体大小的大幅度下降,从而导致遗传多样性的丢失。虽然自晚更新世起,东海近岸带鱼发生群体扩张,有效群体大小一直呈快速增长(约增大了 48 倍),形成目前资源量庞大的东海带鱼种群。此过程可产生许多新的突变,虽积累了单倍型的多态性,但因缺乏足够的时间难以积累核苷酸序列的多样化(Grant and Bowen, 1998),从而导致东海近岸带鱼的群体遗传多样性呈现高 h 、中低等 π 的模式。综上可知,东海近岸带鱼群体在更新世中晚期可能经历了瓶颈效应和随后的群体快速扩张是导致其较低遗传多样性的主要原因。

自 20 世纪 70 年代中后期起,东海区的带鱼一直遭受过度捕捞以致资源目前仍处于衰退状态,种群生物学特征出现明显的退化现象(张其永等, 2017)。蒙子宁等(2003)认为过度捕捞可能促使黄海带鱼群体定向选择加强而导致其遗传多样性的丢失。类似的解释和推测也见于其他商业捕捞鱼类的群体遗传变异研究中(Allendorf *et al.*, 2008; 牛素芳等, 2011, 2018)。然而,目前仅在少数海洋鱼类中发现过度开发与其低的群体遗传多样性之间有直接的相关性,如金赤鲷(*Pagrus auratus*)(Hauser *et al.*, 2002)、大西洋鳕(*Gadus morhua*)(Hutchinson *et al.*, 2003)、克氏平鲉(*Sebastes crameri*)(Gomez-Uchida *et al.*, 2006)等。虽然目前因缺乏东海区的带鱼在过度捕捞前的群体遗传学数据,难以通过比较渔业开发前后的遗传学数据来直接判断捕捞效应对东海区的带鱼群体遗传多样性的影响程度。但是,本研究的 BSP 分析表明自晚更新世以来东海近岸带鱼的有效群体大小呈持续快速增长态势,现存有效群体大小数量庞大。He 等(2014)基于线粒体 Cyt *b* 序列分析结果认为捕捞压力并未对南海北部的带鱼种群动态产生重要影响。基于微卫星 DNA 标记研究也表明宁波近海带鱼群体未检测到近期的遗传瓶颈效应(张浩冉等, 2019)。据此,我们认为

近 40 来年的过度捕捞对东海区的带鱼资源量和渔获量的波动有明显的影 响(王跃中等, 2011), 但对其有效群体大小的影响可能很有限, 当前的过度捕捞并不是导致东海近岸带鱼群体遗传多样性较低的主要原因。

4 结论

本研究基于线粒体控制区序列的分析结果表明, 更新世气候变迁对东海近岸带鱼群体的遗传变异特征产生了重要影响。更新世中晚期可能经历的瓶颈效应和随后的群体快速扩张是导致东海近岸带鱼群体遗传多样性较低的主要原因。虽然当前的捕捞效应并未明显作用于群体的遗传多样性, 但从长远的进化角度来看, 较低的遗传多样性水平意味着东海近岸带鱼资源延续能力和进化潜力有所下降, 资源的长期可持续利用可能会受到影响, 应当进一步加强对东海近岸带鱼群体遗传资源的有效保护。东海近岸带鱼缺乏显著的系统地理种群结构, 一方面是因为自晚更新世后东海带鱼发生近期的群体扩张所引起的, 另一方面是带鱼浮游期幼体借助海流进行广泛扩散以及群体具有固定洄游行为加强了群体间的基因交流。研究结果提示, 在线粒体 DNA 水平上, 东海近岸带鱼群体可作为一个遗传资源管理单元进行管理。此外, 考虑到已有研究对中国近海带鱼群体遗传多样性水平的评估结论存在明显不一致, 有必要在后续的研究中采用综合分析手段和分辨力更高的分子标记(如微卫星 DNA、SNP 标记等)来进一步解析东海及中国近海的带鱼群体遗传结构和重新评估其种质资源状况。

参 考 文 献

- 王可玲, 张培军, 刘兰英等, 1994. 中国近海带鱼种群生化遗传结构及其鉴别的研究. 海洋学报, 16(1): 93—104
- 王跃中, 贾晓平, 林昭进等, 2011. 东海带鱼渔获量对捕捞压力和气候变动的响应. 水产学报, 35(12): 1881—1889
- 牛素芳, 苏永全, 王 军等, 2011. 福建近海竹荚鱼线粒体 DNA 控制区和细胞色素 *b* 遗传多态性. 中国水产科学, 18(1): 66—74
- 牛素芳, 吴仁协, 张丽艳等, 2018. 基于 *Cyt b* 基因序列的南海北部蓝圆鲹群体遗传多样性研究. 应用海洋学学报, 37(2): 263—273
- 卢继武, 罗秉征, 黄颂芳, 1983. 台湾浅滩海域带鱼种群的探讨. 海洋与湖沼, 14(4): 377—387
- 朱元鼎, 1959. 中国主要海洋渔业生物学基础的参考资料. 见: 太平洋西部渔业研究委员会第二次全体会议论文集. 北京: 科学出版社, 122—127
- 农业部渔业渔政管理局, 2009-2018. 2009-2018 年中国渔业统计年鉴. 北京: 中国农业出版社
- 杨天燕, 高天翔, 2007. 黄海和东海带鱼群体同工酶分析. 海洋水产研究, 28(3): 44—49
- 吴仁协, 张浩冉, 郭刘军等, 2018. 中国近海带鱼 *Trichiurus japonicus* 的命名和分类学地位研究. 基因组学与应用生物学, 37(9): 3782—3791
- 吴仁协, 柳淑芳, 庄志猛等, 2009. 基于线粒体 *Cyt b* 基因的黄海、东海小黄鱼(*Larimichthys polyactis*)群体遗传结构. 自然科学进展, 19(9): 924—930
- 吴仁协, 梁秀何, 庄志猛等, 2012. 中国近海银鲳线粒体 COI 基因序列变异分析. 动物分类学报, 37(3): 480—488
- 沙学绅, 阮洪超, 何桂芬, 1981. 带鱼卵子和仔、稚鱼的形态特征. 水产学报, 5(2): 155—160
- 张 魁, 陈作志, 2015. 应用贝叶斯状态空间建模对东海带鱼的资源评估. 中国水产科学, 22(5): 1015—1026
- 张其永, 林双淡, 杨高润, 1966. 我国东南沿海带鱼种群问题的初步研究. 水产学报, 3(2): 106—118
- 张其永, 洪万树, 陈仕玺, 2017. 中国近海大黄鱼和日本带鱼群体数量变动及其资源保护措施探讨. 应用海洋学学报, 36(3): 438—445
- 张浩冉, 梁镇邦, 吴仁协等, 2019. 利用 SLAF-seq 技术开发带鱼(*Trichiurus japonicus*)微卫星标记以及跨物种扩增检测. 基因组学与应用生物学, 38(2): 574—585
- 陈新军, 俞存根, 卢伙胜, 2004. 渔业资源与渔场学. 北京: 海洋出版社, 224—226
- 林新濯, 1987. 中国近海三种主要经济鱼类的生物学特性与资源现状. 水产学报, 11(3): 187—194
- 林新濯, 王福刚, 潘家模等, 1965. 中国近海带鱼 *Trichiurus haumela* (Forskål) 种族的调查. 水产学报, 2(4): 11—23
- 罗秉征, 1991. 带鱼. 见: 邓景耀, 赵传纲. 海洋渔业生物学. 北京: 农业出版社, 111—163
- 罗秉征, 卢继武, 黄颂芳, 1981. 中国近海带鱼耳石生长的地理变异与地理种群的初步探讨. 见: 海洋与湖沼论文集. 北京: 海洋出版社, 181—191
- 郑元甲, 陈雪忠, 程家骅等, 2003. 东海大陆架生物资源与环境. 上海: 上海科学技术出版社, 451—453
- 郑文娟, 杜一超, 林 洁等, 2015. 基于线粒体 DNA D-loop 区部分序列分析舟山海域带鱼种群遗传结构. 水生生物学报, 39(2): 408—413
- 柴学军, 朱云海, 王跃斌等, 2015. 东海带鱼的胚胎发育研究. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 34(5): 429—432
- 徐兆礼, 陈佳杰, 2015. 东、黄渤海带鱼的洄游路线. 水产学报, 39(6): 824—835
- 徐兆礼, 陈佳杰, 2016. 再议东黄渤海带鱼种群划分问题. 中国水产科学, 23(5): 1185—1196
- 阎雪岚, 唐文乔, 杨金权, 2009. 基于线粒体控制区的序列变异分析中国东南部沿海凤鲚种群遗传结构. 生物多样性, 17(2): 143—150
- 蒙子宁, 庄志猛, 金显仕等, 2003. 黄海带鱼、小带鱼 RAPD 和线粒体 16S rRNA 基因序列变异分析. 自然科学进展, 13(11): 1170—1176
- Allendorf F W, England P R, Luikart G *et al*, 2008. Genetic effects of harvest on wild animal populations. Trends in Ecology & Evolution, 23(6): 327—337

- Arnason E, Pálsson S, 1996. Mitochondrial cytochrome *b* DNA sequence variation of Atlantic cod *Gadus morhua*, from Norway. *Molecular Ecology*, 5(6): 715—724
- Avise J C, 2000. *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Cambridge, USA: Harvard University Press, 1—447
- Bandelt H J, Forster P, Röhl A, 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16(1): 37—48
- Burland T G, 2000. DNASTAR's Lasergene sequence analysis software. In: Misener S, Krawetz S A eds. *Bioinformatics Methods and Protocols*. Totowa, USA: Humana Press, 71—91
- Cheang C C, Chu K H, Ang P O Jr, 2010. Phylogeography of the marine macroalga *Sargassum hemiphyllum* (Phaeophyceae, Heterokontophyta) in northwestern Pacific. *Molecular Ecology*, 19(14): 2933—2948
- Darriba D, Taboada G L, Doallo R *et al*, 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9(8): 772
- Drummond A J, Rambaut A, 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 7: 214
- Excoffier L, Lischer H E L, 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3): 564—567
- Frankham R, 1996. Relationship of genetic variation to population size in wildlife. *Conservation Biology*, 10(6): 1500—1508
- Frankham R, Ballou J D, Briscoe D A *et al*, 2004. *A Primer of Conservation Genetics*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1—220
- Gomez-Uchida D, Banks M A, 2006. Estimation of effective population size for the long-lived darkblotched rockfish *Sebastes crameri*. *Journal of Heredity*, 97(6): 603—606
- Grant W A S, Bowen B W, 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*, 89(5): 415—426
- Han Z Q, Gao T X, Yanagimoto T *et al*, 2008. Deep phylogeographic break among white croaker *Pennahia argentata* (Sciaenidae, Perciformes) populations in North-western Pacific. *Fisheries Science*, 74(4): 770—780
- Han Z Q, Yanagimoto T, Zhang Y P *et al*, 2012. Phylogeography study of *Ammodytes personatus* in northwestern Pacific: Pleistocene isolation, temperature and current conducted secondary contact. *PLoS One*, 7(5): e37425
- Hauser L, Adcock G J, Smith P J *et al*, 2002. Loss of microsatellite diversity and low effective population size in an overexploited population of New Zealand snapper (*Pagrus auratus*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(18): 11742—11747
- He L J, Mukai T, Chu K H *et al*, 2015. Biogeographical role of the Kuroshio Current in the amphibious mudskipper *Periophthalmus modestus* indicated by mitochondrial DNA data. *Scientific Reports*, 5: 15645
- He L J, Zhang A B, Weese D *et al*, 2010. Late Pleistocene population expansion of *Scylla paramamosain* along the coast of China: a population dynamic response to the Last Interglacial sea level highstand. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 385(1—2): 20—28
- He L J, Zhang A B, Weese D *et al*, 2014. Demographic response of cutlassfish (*Trichiurus japonicus* and *T. nanhaiensis*) to fluctuating palaeo-climate and regional oceanographic conditions in the China seas. *Scientific Reports*, 4: 6380
- Hewitt G, 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, 405(6789): 907—913
- Hutchinson W F, van Oosterhout C, Rogers S I *et al*, 2003. Temporal analysis of archived samples indicates marked genetic changes in declining North Sea cod (*Gadus morhua*). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270(1529): 2125—2132
- Lambeck K, Esat T M, Potter E K, 2002. Links between climate and sea levels for the past three million years. *Nature*, 419(6903): 199—206
- Librado P, Rozas J, 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 1451—1452
- Liu J X, Gao T X, Wu S F *et al*, 2007. Pleistocene isolation in the Northwestern Pacific marginal seas and limited dispersal in a marine fish, *Chelon haematocheilus* (Temminck & Schlegel, 1845). *Molecular Ecology*, 16(2): 275—288
- Liu J X, Gao T X, Yokogawa K *et al*, 2006a. Differential population structuring and demographic history of two closely related fish species, Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) and spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) in Northwestern Pacific. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 39(3): 799—811
- Liu J X, Gao T X, Zhuang Z M *et al*, 2006b. Late Pleistocene divergence and subsequent population expansion of two closely related fish species, Japanese anchovy (*Engraulis japonicus*) and Australian anchovy (*Engraulis australis*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 40(3): 712—723
- Nei M, Maruyama T, Chakraborty R, 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*, 29(1): 1—10
- Ni G, Li Q, Kong L F *et al*, 2014. Comparative phylogeography in marginal seas of the northwestern Pacific. *Molecular Ecology*, 23(3): 534—548
- Ryman N, Utter F, Laikre L, 1995. Protection of intraspecific biodiversity of exploited fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 5(4): 417—446
- Schulte P M, 2001. Environmental adaptations as windows on molecular evolution. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 128(3): 597—611
- Slatkin M, 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, 236(4803): 787—792
- Slatkin M, 1993. Isolation by distance in equilibrium and

- non-equilibrium populations. *Evolution*, 47(1): 264—279
- Waelbroeck C, Labeyrie L, Michel E *et al*, 2002. Sea-level and deep water temperature changes derived from benthic foraminifera isotopic records. *Quaternary Science Reviews*, 21(1—3): 295—305
- Wang P X, 1999. Response of Western Pacific marginal seas to glacial cycles: paleoceanographic and sedimentological features. *Marine Geology*, 156(1—4): 5—39
- Xiao Y S, Ren G J, Song N *et al*, 2014. Genetic diversity and population structure of largehead hairtail, *Trichiurus japonicus*, based on mtDNA control region. *Mitochondrial DNA*, 25(6): 473—481

STUDY ON POPULATION GENETIC VARIATION OF *TRICHIURUS JAPONICUS* IN NEARSHORE OF THE EAST CHINA SEA IN MITOCHONDRIAL CONTROL REGION SEQUENCES

WU Ren-Xie, ZHANG Hao-Ran, NIU Su-Fang, MIAO Ben-Ben, ZHAI Yun
(College of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract The hairtail *Trichiurus japonicus*, a common species in the tropical and warm-temperate waters of the East Asian continental shelf, is an economic fish and has become the most important target species of marine fishery in the East China Sea. However, there is a lack of understanding on the genetic variation of *T. japonicus* population in nearshore of the East China Sea, which is not conducive to the conservation and management of the population genetic resources. In this study, genetic diversity, genetic differentiation, and historical demography of six *T. japonicus* populations from nearshore of the East China Sea were analyzed based on the 191 mitochondrial control region sequences. A total of 70 polymorphic sites were detected in the 577 bp length of control region sequence, from which 121 haplotypes are defined. The total haplotype diversity of population was higher (0.9911), but the total nucleotide diversity was lower (0.0092), and there was no significant difference in genetic diversity among the populations. The genetic relationships of haplotypes, pairwise F_{st} values, and hierarchical molecular variance analysis (AMOVA) showed no significant genetic difference among the populations, indicating a high gene flow among them. Historical demography analysis showed that *T. japonicus* in nearshore of the East China Sea may have experienced population bottleneck during middle and late Pleistocene and subsequent sudden population expansion. This is the main reason for the low genetic diversity of the populations. Factors such as high dispersal capacity, migration behavior, ocean circulation, and recent population expansion could be responsible for the lack of significant phylogeographic population structure of *T. japonicus*. Therefore, we suggest that *T. japonicus* from nearshore of the East China Sea constituted a panmictic population at the level of mitochondrial DNA and can be treated as a unit in the management of genetic resources.

Key words *Trichiurus japonicus*; nearshore of the East China Sea; mitochondrial control region sequence; genetic variation; historical demography