

基于线粒体 DNA 分子标记的东太平洋茎柔鱼 群体遗传多样性比较分析

刘连为¹, 许强华^{1,2,3}, 陈新军^{1,2,3*}, 闫杰¹, 余为¹, 王从军¹

(1. 上海海洋大学海洋科学学院, 上海 201306;

2. 上海海洋大学大洋生物资源开发和利用上海市高校重点实验室, 上海 201306;

3. 上海海洋大学大洋渔业资源可持续开发省部共建教育部重点实验室, 上海 201306)

摘要: 为合理开发利用东太平洋茎柔鱼资源, 需要准确掌握其种群结构。基于线粒体细胞色素 *b*(*Cytb*) 与细胞色素氧化酶 I (*CO I*) 2 个分子标记对茎柔鱼赤道海域与秘鲁外海 2 个地理群体的遗传多样性现状进行比较分析。分析认为, 基于 *Cytb* 基因所有序列得到 2 个群体总的单倍型数、单倍型多样性指数、核苷酸多样性指数及平均核苷酸差异数分别为 7、(0.397 ± 0.079)、(0.001 09 ± 0.000 96) 和 0.600, 秘鲁外海群体单倍型多样性指数仅为 (0.282 ± 0.101), 明显低于赤道海域群体。基于 *CO I* 基因所有序列得到 2 个群体总的单倍型数、单倍型多样性指数、核苷酸多样性指数及平均核苷酸差异数分别为 17、(0.787 ± 0.051)、(0.002 90 ± 0.001 38) 和 1.802。单倍型网络关系图及两两群体间遗传分化系数 F_{st} 分析结果显示, 赤道海域群体与秘鲁外海群体不存在显著的遗传差异 (*Cytb*: $F_{st} = 0.005 91, P > 0.05$; *CO I*: $F_{st} = 0.055 23, P > 0.05$), 2 个地理群体可能在赤道海域海流的作用下发生基因交流。单倍型网络关系图、中性检验和核苷酸不配对分析结果均表明, 茎柔鱼经历过近期群体扩张事件, 发生群体扩张的时间在 138 900 ~ 167 900 年前。

关键词: 茎柔鱼; 遗传多样性; 遗传结构; 细胞色素 *b* 基因; 细胞色素氧化酶 I 基因

中图分类号: Q 347; S 917.4

文献标志码: A

茎柔鱼 (*Dosidicus gigas*) 广泛分布于东太平洋 (125°W 以东) 加利福尼亚 (37° ~ 40°N) 至智利 (45° ~ 47°S) 海域^[1-2], 该渔业商业开发海域主要集中在墨西哥加利福尼亚湾、秘鲁和智利^[3-4]。短周期柔鱼类资源量的大小很容易受到海洋环境的变化而发生波动^[5-6], 而全球大范围的气候变化——厄尔尼诺/南方涛动已被证明对茎柔鱼种群资源补充量产生影响^[7-8]。在渔业管理过程中, 忽略种群结构的存在, 对混合群体进行持续的捕捞生产, 将很有可能导致数量较少的群体率先灭绝, 使得群体遗传多样性大大降低^[9]。因此, 开展茎柔鱼群体遗传多样性现状研究将有助于正确认识种群结构组成, 为茎柔鱼渔业资源合理开

发和科学管理提供基础。

根据胴长组成、性成熟胴长大小及宿主体内寄生虫的种类与数量, 茎柔鱼可分为不同的群体^[10-12]。然而, 通过形态学和生态学方法得到的群体间差异往往与周围环境变化有关, 稳定性较低。线粒体 DNA (mtDNA) 作为一种重要的分子标记, 具有结构简单、母系遗传、进化速率快和几乎不发生重组等特点^[13], 已被应用于茎柔鱼群体遗传变异及种群遗传结构研究中, 并显示出较高水平的遗传多样性^[14-15]。现有的研究表明, 茎柔鱼大致以赤道为界分为南、北 2 个显著分化的群体^[14-15]。但这些研究中并不包括茎柔鱼所有的分布范围, 特别是赤道海域, 赤道海域群体与

收稿日期: 2012-12-15 修回日期: 2013-03-09

资助项目: 国家自然科学基金项目 (41276156); 上海市科委重大项目 (12231203900); 国家发改委产业化专项 (2159999)

通信作者: 陈新军, E-mail: xjchen@shou.edu.cn

其它地理群体间的遗传差异是否显著有待进一步研究。本研究采用 mtDNA 细胞色素 *b* (*Cytb*) 及细胞色素氧化酶 I (*COI*) 2 个分子标记,对采自赤道海域及秘鲁外海茎柔鱼群体的遗传差异进行分析,并探讨产生和维持这种地理分布格局的原因,以期为合理开发和利用茎柔鱼资源提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

茎柔鱼采自赤道海域及秘鲁外海,存放于船舱冷库中并运回至实验室。取套膜肌肉组织,置于 95% 乙醇中, -20 °C 保存备用。样本采集详细信息及样本数见表 1。

1.2 DNA 的提取、PCR 扩增及测序

采用组织/细胞基因组 DNA 快速提取试剂盒(北京艾德莱生物科技有限公司)提取基因组

DNA,用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量,紫外分光光度计检测 DNA 浓度。*COI* 基因扩增引物为 *COI*F: 5'-ATCCCATGCAGGCCCTTCAG-3', *COI*R: 5'-GCCTAATGCTCAGAGTATTGGGG-3'。*Cytb* 基因扩增引物为 *Cytb*F: 5'-ACGCAA-AATGGCATAAGCGA-3', *Cytb*R: 5'-GCTCGT-GGAATTTATTACGGGTC-3'。PCR 反应总体积均为 25 μ L,其中 10 \times PCR Buffer 2.5 μ L、*Taq* DNA polymerase(5 U/ μ L)0.2 μ L、dNTP(各 2.5 mmol/L)2 μ L、上下游引物(10 μ mol/L)各 0.6 μ L、DNA 模板 20 ng、ddH₂O 补足体积。PCR 扩增反应程序均为 94 °C 预变性 2 min;94 °C 变性 30 s,58 °C 退火 45 s,72 °C 延伸 45 s,35 个循环;72 °C 最后延伸 2 min。PCR 产物经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳分离,琼脂糖凝胶纯化试剂盒(北京艾德莱生物科技有限公司)纯化后送至北京六合华大基因股份有限公司进行双向测序。

表 1 茎柔鱼样本采集信息

Tab. 1 Sampling information of *D. gigas*

| 海域 sea area | 采样地点 sampling site | 采样时间 sampling date | 平均胴长/cm mean mantle length | 平均体质量/g mean body weight | 样本数 no. of samples |
|----------------------------|-------------------------|-----------------------|----------------------------------|--------------------------------|--------------------------|
| 赤道 equatorial waters | 3°N ~ 5°S; 114° ~ 120°W | 2011-12 - 2012-04 | 32.59 \pm 9.46 | 1306.38 \pm 1005.35 | 24 |
| 秘鲁外海 off the coast of Peru | 10° ~ 11°S; 82° ~ 84°W | 2011-09 - 2011-10 | 24.65 \pm 1.58 | 436.41 \pm 136.98 | 33 |

1.3 数据分析

所得序列采用 ClustalX 1.83^[16] 软件进行编辑、校对和排序。采用 MEGA 4.0^[17] 软件中的 Statistics 统计 DNA 序列的碱基组成。单倍型数、单倍型多样性指数 (*h*)、核苷酸多样性指数 (π)、平均核苷酸差异数 (*k*) 等遗传多样性参数由 DnaSP 4.10^[18] 软件计算。通过构建最小跨度树来反映不同单倍型间的连接关系,单倍型间的关系和核苷酸差异数由 Arlequin 3.01^[19] 软件计算,并利用该软件计算群体间遗传分化系数 (*F*-statistics, F_{st}) 及其显著性(重复次数 1 000)。采用 Tajima's *D*^[20] 与 Fu's F_s ^[21] 中性检验和核苷酸不配对分布^[22] (mismatch distribution) 检测茎柔鱼群体的历史动态。群体历史扩张时间用参数 τ 进行估算,参数 τ 通过公式 $\tau = 2ut$ 转化为实际的扩张时间^[23],其中 *u* 是所研究的整个序列长度的突变速率,*t* 是自群体扩张开始到现在的时间。*Cytb* 基因序列的进化速率采用 2.15% ~ 2.6% / MY (million years)^[15]。

2 结果

2.1 序列分析

经 PCR 扩增及测序,对所得序列进行校对和排序,获得 552 bp 线粒体 *Cytb* 基因片段。所得序列共包含 5 个变异位点,其中多态简约位点 3 个。转换和颠换分别为 4 个和 1 个,无插入和缺失。A、T、G、C 碱基的平均含量分别为 43.81%、24.26%、12.18%、19.75%,其中 A + T 含量 (68.07%) 明显高于 G + C 含量 (31.93%)。在所分析的 57 条序列中,共定义了 7 个单倍型,其中单倍型 H1、H2 与 H4 为所有群体共享单倍型(表 2)。

获得 622 bp 线粒体 *COI* 基因片段。所得序列共包含 18 个变异位点,其中多态简约位点 5 个。转换和颠换分别为 15 个和 3 个,无插入和缺失。A、T、G、C 碱基的平均含量分别为 27.69%、36.67%、15.39%、20.25%,其中 A + T 含量 (64.36%) 明显高于 G + C 含量 (35.64%)。在

所分析的 57 条序列中,共定义了 17 个单倍型,其中单倍型 H1、H5 与 H6 为所有群体共享单倍型(表 3)。单倍型序列分歧值较低,与单倍型 H1 相

比,其余 16 个单倍型中有 9 个与它只存在 1 个核苷酸的差异。

表 2 茎柔鱼 *Cytb* 单倍型及其在群体中的分布
Tab. 2 Haplotypes of *Cytb* and its distribution in *D. gigas* populations

| 单倍型 haplotype | 变异位点 variation sites | | | | | 单倍型分布情况 distribution of haplotypes | | |
|------------------|----------------------|---|---|---|---|------------------------------------|----------------------------------|----------|
| | 1 | 1 | 2 | 4 | 4 | 赤道 equatorial waters | 秘鲁外海 off the coast of Peru | <i>n</i> |
| | 8 | 9 | 5 | 1 | 8 | | | |
| H1 | A | T | G | A | T | 16 | 28 | 44 |
| H2 | G | . | . | G | . | 2 | 2 | 4 |
| H3 | . | . | . | . | C | | 1 | 1 |
| H4 | . | . | . | G | . | 4 | 1 | 5 |
| H5 | . | . | A | G | . | | 1 | 1 |
| H6 | . | A | . | . | C | 1 | | 1 |
| H7 | . | A | . | . | . | 1 | | 1 |

表 3 茎柔鱼 *CO I* 单倍型及其在群体中的分布
Tab. 3 Haplotypes of *CO I* and its distribution in *D. gigas* populations

| 单倍型 haplotype | 变异位点 variation sites | | | | | | | | | | | | | | | | 单倍型分布情况 distribution of haplotypes | | | | | |
|------------------|----------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|------------------------------------|---|----|----------------------------|----------------------------------|----------|
| | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 4 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 赤道 equatorial waters | 秘鲁外海 off the coast of Peru | <i>n</i> |
| | 4 | 6 | 8 | 4 | 6 | 7 | 6 | 7 | 7 | 4 | 8 | 0 | 9 | 1 | 2 | 2 | 3 | 3 | | | | |
| H1 | C | T | C | G | T | C | A | A | G | G | G | A | G | G | G | T | C | A | 12 | 19 | 31 | |
| H2 | . | . | . | . | . | . | G | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | | 1 | 1 | |
| H3 | . | . | . | . | T | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | | 1 | 1 | |
| H4 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | G | . | | 1 | 1 | |
| H5 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | A | . | . | . | 4 | 4 | 8 | |
| H6 | . | . | T | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | 2 | 2 | 4 | |
| H7 | . | . | . | . | . | . | G | . | . | A | . | A | . | A | . | . | . | . | | 1 | 1 | |
| H8 | . | . | . | . | . | . | G | G | . | A | . | . | . | . | . | . | . | . | | 1 | 1 | |
| H9 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | T | . | . | | 1 | 1 | |
| H10 | . | . | . | A | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | | 1 | 1 | |
| H11 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | C | . | . | | 1 | 1 | |
| H12 | T | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | A | . | . | . | 1 | | 1 | |
| H13 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | G | . | . | A | . | . | . | . | 1 | | 1 | |
| H14 | . | . | . | . | . | . | G | . | A | . | . | . | . | A | . | . | . | . | 1 | | 1 | |
| H15 | . | . | . | . | . | . | G | . | C | A | . | A | C | . | . | . | . | . | 1 | | 1 | |
| H16 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | G | . | . | . | . | . | . | . | 1 | | 1 | |
| H17 | . | A | . | . | C | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | 1 | | 1 | |

2.2 群体遗传多样性

基于 *Cytb* 基因所有序列得到的 2 个群体总的单倍型数、单倍型多样性指数、核苷酸多样性指数及平均核苷酸差异数分别为 7、(0.397 ± 0.079)、(0.001 09 ± 0.000 96) 和 0.600, 低于基

于 *CO I* 基因所有序列得到的结果,分别为 17、(0.787 ± 0.051)、(0.002 90 ± 0.001 38) 和 1.802。由表 4 可以看出,赤道海域群体的单倍型多样性指数、核苷酸多样性指数及平均核苷酸差异数均高于秘鲁外海群体。

表 4 茎柔鱼 2 个地理群体的遗传多样性
Tab. 4 Genetic diversity in two geographic populations of *D. gigas*

| 基因 gene | 群体 population | 样本数 no. of samples | 单倍型数 no. of haplotype | 单倍型多样性指数 haplotype diversity (<i>h</i>) | 核苷酸多样性指数 nucleotide diversity (π) | 平均核苷酸差异数 average nucleotide differences(<i>k</i>) |
|------------|----------------------------|--------------------------|-----------------------------|---|---|---|
| | 赤道 equatorial waters | 24 | 5 | 0.540 ± 0.109 | 0.001 44 ± 0.001 20 | 0.793 |
| Cytb | 秘鲁外海 off the coast of Peru | 33 | 5 | 0.282 ± 0.101 | 0.000 83 ± 0.000 83 | 0.458 |
| | 合计 total | 57 | 7 | 0.397 ± 0.079 | 0.001 09 ± 0.000 96 | 0.600 |
| | 赤道 equatorial waters | 24 | 9 | 0.899 ± 0.035 | 0.004 26 ± 0.001 64 | 2.652 |
| CO I | 秘鲁外海 off the coast of Peru | 33 | 11 | 0.663 ± 0.090 | 0.001 76 ± 0.001 12 | 1.095 |
| | 合计 total | 57 | 17 | 0.787 ± 0.051 | 0.002 90 ± 0.001 38 | 1.802 |

2.3 种群遗传结构

由 Cytb 与 CO I 单倍型网络关系图可以看出,各单倍型之间通过单一突变和多步突变相连接,网络关系图呈星状结构,提示茎柔鱼可能经历过群体扩张事件,同时也支持其不存在与地理分支相对应的单倍型分支(图 1,图 2)。两两群体间遗传分化系数 F_{st} 分析结果显示,赤道海域群体与秘鲁外海群体不存在显著的遗传差异(Cytb: $F_{st} = 0.005\ 91, P > 0.05$; CO I: $F_{st} = 0.055\ 23, P > 0.05$)(表 5)。

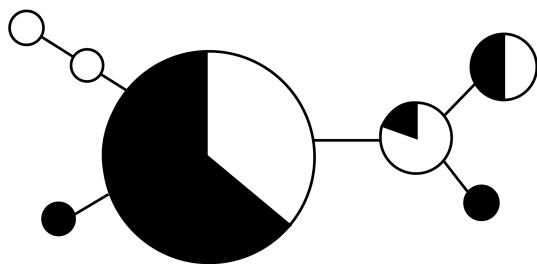


图 1 茎柔鱼 Cytb 单倍型的最小跨度树

圆圈面积与单倍型频率成正比,采样点(表 1):■ 秘鲁外海; □ 赤道

Fig. 1 Median network showing phylogenetic relationships in *D. gigas* based on Cytb haplotypes

Sizes of circles are proportional to haplotype frequency, sampling site(Tab. 1): ■ off the coast of Peru; □ equatorial waters

2.4 群体历史动态

基于 Cytb 与 CO I 基因序列的 Tajima's D 和 Fu's F_s 中性检验 D 和 F_s 值均为负,且 Fu's F_s 统计检验均显著(表 6)。核苷酸不配对分布分析结果表明,茎柔鱼 Cytb 与 CO I 单倍型核苷酸不配对分布呈单峰类型(图 3,图 4),且观测值没有明显偏离模拟值(Cytb: $Hri = 0.183\ 0,$

$P = 0.765$; CO I: $Hri = 0.043\ 1, P = 0.128$)。以上结果认为茎柔鱼可能经历过近期群体扩张事件。

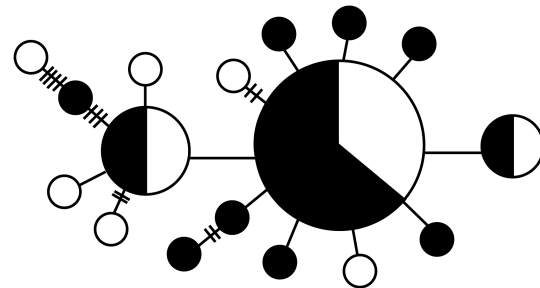


图 2 茎柔鱼 CO I 单倍型的最小跨度树

圆圈面积与单倍型频率成正比,短划线代表单倍型间的核苷酸替换数目,采样点(表 1):■ 秘鲁外海; □ 赤道

Fig. 2 Median network showing phylogenetic relationships in *D. gigas* based on CO I haplotypes

Sizes of circles are proportional to haplotype frequency. Short lines, perpendicular to the lines joining haplotypes, represent the number of nucleotide substitutions, sampling site(Tab. 1): ■ off the coast of Peru; □ equatorial waters

表 5 茎柔鱼 2 个地理群体间遗传分化系数 F_{st}
Tab. 5 F_{st} analysis between two geographic populations of *D. gigas*

| 群体 cohort | 赤道 equatorial waters | 秘鲁外海 off the coast of Peru |
|-------------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| 赤道 equatorial waters | - | 0.055 23 ($P > 0.05$) |
| 秘鲁外海 off the coast of Peru | 0.005 91 ($P > 0.05$) | - |

注:对角线下方为 Cytb 基因序列分析结果,对角线上方为 CO I 基因序列分析结果

Notes: values of F_{st} based on Cytb sequences(below diagonal) and CO I sequences(above diagonal)

表 6 茎柔鱼 *Cytb* 与 *CO I* 基因的中性检验结果
Tab. 6 Results of neutral test for natural selection on *Cytb* and *CO I* gene of *D. gigas*

| 基因 gene | 群体 population | Tajima's <i>D</i> | | Fu's <i>sF_s</i> | |
|-------------|----------------------------|-------------------|----------|----------------------------|----------|
| | | <i>D</i> | <i>P</i> | <i>F_s</i> | <i>P</i> |
| <i>Cytb</i> | 赤道 equatorial waters | -0.709 | 0.258 | -29.045 | 0.000 |
| | 秘鲁外海 off the coast of Peru | -1.340 | 0.089 | -34.028 | 0.000 |
| | 合计 total | -1.053 | 0.152 | -30.041 | 0.000 |
| <i>CO I</i> | 赤道 equatorial waters | -1.270 | 0.108 | -11.853 | 0.000 |
| | 秘鲁外海 off the coast of Peru | -1.880 | 0.019 | -29.351 | 0.000 |
| | 合计 total | -1.988 | 0.012 | -27.709 | 0.000 |

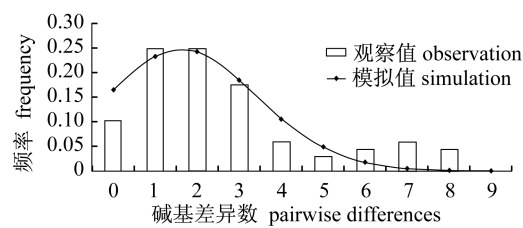


图 3 茎柔鱼 *Cytb* 单倍型的核苷酸不配对分布图
柱形为观测值, 曲线为群体扩张模型下的预期分布

Fig. 3 The mismatch distributions for *Cytb* haplotypes in *D. gigas*

The bars are observed pairwise differences and the solid line is the expected mismatch distributions under the sudden expansion mode

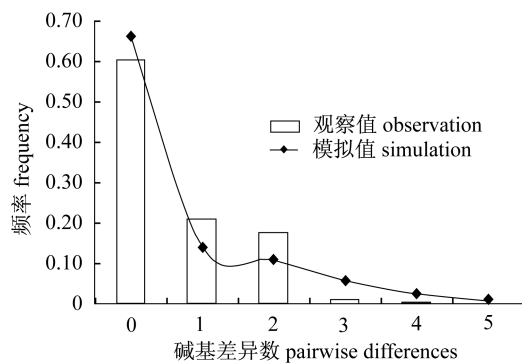


图 4 茎柔鱼 *CO I* 单倍型的核苷酸不配对分布图
柱形为观测值, 曲线为群体扩张模型下的预期分布

Fig. 4 The mismatch distributions for *CO I* haplotypes in *D. gigas*

The bars are observed pairwise differences and the solid line is the expected mismatch distributions under the sudden expansion mode

3 讨论

3.1 群体遗传多样性

遗传多样性是指种内不同群体间或一个群体内不同个体的遗传变异的总和。它不仅是生物多样性的的重要组成部分,而且是物种多样性和生态

系统多样性的基础,也是生命进化和物种分化的基础^[24]。

物种的遗传变异越丰富,对环境变化的适应能力越强;反之,更容易受到环境变化的影响^[25]。根据 Grant 等^[26]提出的单倍型多样性指数与核苷酸多样性指数标准,本研究结果表明,2 个地理群体均具有较低的核苷酸多样性指数 ($\pi < 0.005$)。而基于线粒体 *Cytb* 基因序列分析结果则认为,秘鲁外海群体具有较低的单倍型多样性指数 ($h < 0.5$),这与其他学者得出的秘鲁外海茎柔鱼群体具有较高的单倍型多样性指数不一致^[11,14]。分析的原因可能为线粒体 *Cytb* 基因 PCR 扩增片段序列较保守,遗传变异水平较低。因此,线粒体 *CO I* 标记更适于本研究分析。较低的单倍型间序列分歧值及较高的单突变位点比例体现出 2 个地理群体较低的核苷酸多样性指数。

3.2 种群遗传结构

通过与闫杰等^[14]研究结果比较,两两群体间 F_{st} 值及统计检验结果显示,赤道海域和秘鲁外海的茎柔鱼与哥斯达黎加群体均存在较大的遗传分化。Sandoval-Castellanos 等^[15]认为,茎柔鱼南北 2 个地理群体发生分化的时间为 6 000 ~ 9 000 年前,2 个群体较短的分化时间可以通过海洋学、生物学因素来解释。建议今后对茎柔鱼渔业资源进行开发、管理时应将本研究中赤道及其以南海域与赤道以北海域划分开。

海洋生物通常在非常广阔的分布范围内表现出很低的遗传分化^[27],茎柔鱼具有较强的游泳能力及长距离的季节洄游习性^[28],这些有助于群体间产生频繁的基因交流。而海洋生物不同的生活史特征以及不同海域的海洋学特征也可成为海洋生物发生基因交流的障碍^[29-30]。Aoki 等^[31]对日本及中国东部和南部海域的莱氏拟乌贼

(*Sepioteuthis lessoniana*) mtDNA 非编码区核苷酸序列进行比较分析,核苷酸多样性与单倍型差异结果显示:莱氏拟乌贼日本海域群体具有较低的遗传多样性,但它与中国东部和南部海域群体的遗传差异显著,单倍型最小跨度树与 UPGMA 系统树均存在与地理分支相对应的 2 个类群。作者认为黑潮的存在阻碍了群体间的基因交流。而 Doubleday 等^[32]利用微卫星标记揭示了澳大利亚东南海域与新西兰海域毛利蛸(*Octopus maorum*)复杂的种群结构,该种群结构模式很大程度上与海洋学特性有关。物理学、生物学以及海洋学因素(水温、较高的海洋初级生产力区域、可利用的饵料、海流)影响着茎柔鱼的洄游以及资源量大小,进而影响到群体间的繁殖交流,使得茎柔鱼群体间遗传分化变得更加复杂^[33]。太平洋赤道海域近表层存在着南北赤道流,近表层以下存在着自西向东的赤道逆流与赤道潜流,它们向东流入哥斯达黎加海丘及巴拿马海盆环流,这给茎柔鱼进入赤道海域发生基因交流提供机会,秘鲁外海群体是否在这些海流的作用下发生跨赤道洄游仍需进一步研究^[16]。而这些海流的存在也可作为限制它们与哥斯达黎加及其以北群体进行基因交流的物理学障碍。

3.3 群体历史动态

基于茎柔鱼 *Cytb* 单倍型核苷酸不配对分布的 τ 值为 3.986,计算得到茎柔鱼发生群体扩张事件的时间在 138 900 ~ 167 900 年前,处于晚更新世冰期,全球气候及海洋环境变化对许多海洋生物的地理分布格局产生重大影响^[34-35]。茎柔鱼很有可能在经历过“瓶颈效应”后发生群体扩张,在扩张区域内重新殖化,而后在海洋环境条件变化下不断进化,逐渐形成现在的群体分化格局^[36-37]。

鉴于东太平洋赤道海域复杂的海洋环境,为了更加准确地分析该海域茎柔鱼地理分布格局,建议今后对该海域茎柔鱼资源的时空分布进行多航次的生产调查,并采用具有较高多态性的微卫星标记对群体遗传多样性进行分析。

本研究得到国家远洋渔业工程技术研究中心(National Distant-water Fisheries Engineering Research Center)和农业部大洋渔业资源环境科学观测实验站(Scientific Observing and

Experimental Station of Oceanic Fishery Resources, Ministry of Agriculture, P. R. China) 的资助。

参考文献:

- [1] Markaida U, Quiñónez-Velázquez C, Sosa-Nishizaki O. Age, growth and maturation of jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae) from the Gulf of California, Mexico [J]. Fisheries Research, 2004, 66(1): 31 - 47.
- [2] Ibáñez C M, Cubillos L A. Seasonal variation in the length structure and reproductive condition of the jumbo squid *Dosidicus gigas* (d'Orbigny, 1835) off central-south Chile [J]. Scientia Marina, 2007, 71(1): 123 - 128.
- [3] Nevárez-Martínez M O, Méndez-Tenorio F J, Cervantes-Valle C, et al. Growth, mortality, recruitment, and yield of the jumbo squid (*Dosidicus gigas*) off Guaymas, Mexico [J]. Fisheries Research, 2006, 79(1-2): 38 - 47.
- [4] 胡振明, 陈新军, 周应祺. 秘鲁外海茎柔鱼渔场分布和水温结构的关系 [J]. 水产学报, 2009, 33(5): 770 - 777.
- [5] Yatsu A, Watanabe T, Mori J, et al. Interannual variability in stock abundance of the neon flying squid, *Ommastrephes bartramii*, in the North Pacific Ocean during 1979 - 1998; Impact of driftnet fishing and oceanographic conditions [J]. Fisheries Oceanography, 2000, 9(2): 163 - 170.
- [6] Kidokoro H, Goto T, Nagasawa T, et al. Impact of a climate regime shift on the migration of Japanese common squid (*Todarodes pacificus*) in the Sea of Japan [J]. ICES Journal of Marine Science, 2010, 67(7): 1314 - 1322.
- [7] Waluda C M, Carmen Y, Rodhouse P G. Influence of the ENSO cycle on the light-fishery for *Dosidicus gigas* in the Peru Current: An analysis of remotely sensed data [J]. Fisheries Research, 2006, 79(1-2): 56 - 63.
- [8] 徐冰, 陈新军, 田思泉, 等. 厄尔尼诺和拉尼娜事件对秘鲁外海茎柔鱼渔场分布的影响 [J]. 水产学报, 2012, 36(5): 696 - 707.
- [9] 刘名. 太平洋鲜和大头鳕的群体遗传学研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010: 15 - 18.
- [10] Masuda S, Yokawa K, Yatsu A, et al. Growth and population structure of *Dosidicus gigas* in the Southeastern Pacific Ocean [C] // Okutani T. International Symposium on Large Pelagic Squids, <http://www.sexuebao.cn>

- July 18 – 19, 1996, for JAMARC's 25th anniversary of its foundation. Tokyo; Japan Marine Fishery Resources Research Center, 107 – 118.
- [11] Argüelles J, Tafur R, Taípe A, *et al.* Size increment of jumbo flying squid *Dosidicus gigas* mature females in Peruvian waters, 1989 – 2004 [J]. *Progress in Oceanography*, 2008, 79 (2 – 4): 308 – 312.
- [12] Shukhtgalter O A, Nigmatullin C M. Parasitic helminths of jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae) in open waters of the Central East Pacific [J]. *Fisheries Research*, 2001, 54 (1): 95 – 110.
- [13] 刘云国, 刘贤德, 高焕, 等. 水产生物 DNA 分子标记技术 [M]. 北京: 科学出版社, 2009: 59 – 62.
- [14] 闫杰, 许强华, 陈新军, 等. 东太平洋公海茎柔鱼种群遗传结构初步研究 [J]. *水产学报*, 2011, 35 (11): 1617 – 1623.
- [15] Sandoval-Castellanos E, Uribe-Alcocer M, Díaz-Jaimes P. Population genetic structure of the Humboldt squid (*Dosidicus gigas* d'Orbigny, 1835) inferred by mitochondrial DNA analysis [J]. *Experimental Marine Biology and Ecology*, 2010, 385 (1 – 2): 73 – 78.
- [16] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, *et al.* The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. *Nucleic Acids Research*, 1997, 25 (24): 4876 – 4882.
- [17] Tamura K, Dudley J, Nei M, *et al.* MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2007, 24 (8): 1596 – 1599.
- [18] Rozas J, Sánchez-DelBarrio J C, Messenguier X, *et al.* DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods [J]. *Bioinformatics*, 2003, 19 (18): 2496 – 2497.
- [19] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (Ver. 3.01): An integrated software package for population genetics data analysis [J]. *Evolutionary Bioinformatics*, 1: 47 – 50.
- [20] Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism [J]. *Genetics*, 1989, 123 (3): 185 – 195.
- [21] Fu Y X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection [J]. *Genetics*, 1997, 147 (2): 915 – 925.
- [22] Rogers A R, Harpending H. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 1992, 9 (3): 552 – 569.
- [23] Lecomte F, Grant W S, Dodson J J, *et al.* Living with uncertainty genetic imprints of climate shifts in East Pacific anchovy (*Engraulis mordax*) and sardine (*Sardinops sagax*) [J]. *Molecular Ecology*, 2004, 13 (8): 2169 – 2182.
- [24] 李玉龙. 中国明对虾和日本囊对虾遗传多样性及对虾科系统学初步研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009: 12 – 14.
- [25] Huenneke L F. Ecological Implications of genetic variation in plant populations [M] // Falk D A, Holsinger K E, Eds. *Genetics and conservation of rare plants*. New York: Oxford University Press, 1991: 31 – 44.
- [26] Grant W S, Bowen B W. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation [J]. *Journal of Heredity*, 1998, 89 (5): 415 – 426.
- [27] Oosthuizen A, Jiwaji M, Shaw P. Genetic analysis of the *Octopus vulgaris* population on the coast of South Africa [J]. *South African Journal of Science*, 2004, 100 (11 – 12): 603 – 607.
- [28] Stewart J S, Gilly W F, Field J C, *et al.* Onshore-offshore movement of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) on the continental shelf [J]. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 2012, in press.
- [29] Muss A, Robertson D R, Stepien C A, *et al.* Phylogeography of Ophioblennius: The role of ocean currents and geography in reef fish evolution [J]. *Evolution*, 2001, 55 (3): 561 – 572.
- [30] Shulman M J, Bermingham E. Early life histories, ocean currents, and the population genetics of Caribbean reef fishes [J]. *Evolution*, 1995, 49 (5): 897 – 910.
- [31] Aoki M, Imai H, Naruse T, *et al.* Low genetic diversity of oval squid, *Sepioteuthis lessoniana* (Cephalopoda: Loliginidae), in Japanese waters inferred from a mitochondrial DNA non-coding region [J]. *Pacific Science*, 2008, 62 (3): 403 – 411.
- [32] Doubleday Z A, Semmens J M, Smolenski A J, *et al.* Microsatellite DNA markers and morphometrics reveal a complex population structure in a merobenthic octopus species (*Octopus maorum*) in south-east Australia and New Zealand [J]. *Marine*

- Biology, 2009, 156(6): 1189 – 1192.
- [33] Sandoval-Castellanos E, Uribe-Alcocer M, Díaz-Jaimes P. Population genetic structure of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) evaluated by RAPD analysis [J]. Fisheries Research, 2007, 83: 113 – 118.
- [34] Liu J X, Gao T X, Wang Y J, *et al.* Sequence comparison of partial cytochrome *b* genes of two *Coilia* species [J]. Journal of Ocean University of China, 2005, 4(1): 85 – 88.
- [35] Han Z Q, Gao T X, Yanagimoto T, *et al.* Genetic population structure of *Nibea albiflora* in the Yellow and East China seas [J]. Fisheries Science, 2008, 74(3): 544 – 552.
- [36] Slatkin M, Hudson R R. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations [J]. Genetics, 1991, 129: 555 – 562.
- [37] 宋娜, 宋林, 高天翔, 等. 斑尾复虾虎鱼群体遗传多样性比较分析 [J]. 水产学报, 2011, 35(3): 321 – 326.

Comparative analysis of genetic diversity of *Dosidicus gigas* from eastern Pacific Ocean based on molecular markers of mitochondrial DNA

LIU Lianwei¹, XU Qianghua^{1,2,3}, CHEN Xinjun^{1,2,3*}, YAN Jie¹, YU Wei¹, WANG Congjun¹

(1. College of Marine Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Key Laboratory of Oceanic Fisheries Resources Exploitation of Shanghai Education Commission, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Oceanic Fisheries Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The worldwide climate and marine environmental changes have significant impacts on the distributions and fishery resources abundance fluctuations of *Dosidicus gigas* in the East Pacific Ocean. It is important to investigate genetic variance and population genetic structure of *D. gigas* in order to exploit and manage this squid scientifically. In this study, the genetic diversity and the genetic differentiation between two geographical populations of *D. gigas* were analyzed based on two mitochondrial DNA molecular markers. The results showed that the number of haplotype, haplotype diversities, nucleotide diversities and average nucleotide differences were 7, (0.397 ± 0.079), (0.001 09 ± 0.000 96) and 0.600 respectively in all *Cytb* sequences of two geographical populations, and haplotype diversity in population off the coast of Peru was only (0.282 ± 0.101) which was significantly lower than that of equatorial waters. On the other hand, the number of haplotype, haplotype diversities, nucleotide diversities and average nucleotide differences in all *CO I* sequences were 17, (0.787 ± 0.051), (0.002 90 ± 0.001 38) and 1.802 respectively. The pairwise fixation index F_{st} and median network revealed lack of genetic structure between populations of equatorial waters and off the coast of Peru (*Cytb*: $F_{st} = 0.055\ 23$, $P > 0.05$; *CO I*: $F_{st} = 0.005\ 91$, $P > 0.05$), and this might be caused by equatorial oceanographic current. The minimum spanning network tree, mismatch distribution analysis and neutrality tests suggested that *D. gigas* experienced a recent population expansion, possibly 138 900 to 167 900 years ago.

Key words: *Dosidicus gigas*; genetic diversity; genetic structure; *Cytb* gene; *CO I* gene

Corresponding author: CHEN Xinjun. E-mail: xjchen@shou.edu.cn