

黑棘鲷群体线粒体 16S rRNA 基因序列比较

王泽园^{1,2}, 毛欣琪^{1,2}, 上官静波^{1,2}, 李贝贝^{1,2}, 黎中宝^{1,2*}

(1. 集美大学水产学院, 福建厦门 361021; 2. 福建省海洋渔业资源与生态环境重点实验室, 福建厦门 361021)

摘要 [目的]比较黑棘鲷群体线粒体 16S rRNA 基因序列。[方法]运用黑棘鲷线粒体 16SrRNA 基因片段,对来自我国沿海的 10 个野生黑棘鲷群体进行了遗传多样性以及遗传分化的分析。[结果]10 个群体的 80 个个体中,碱基 A、C、G、T 的平均含量分别为 31.6%、24.2%、22.7%、21.5%,一共定义了 9 种单倍型,共发现 16 个多态位点,得出 9 种单倍型,遗传距离为 0.000 0~0.006 3,10 个黑棘鲷群体的平均单倍型多样性(*Hd*)为 0.393,平均核苷酸多样性指数(*Pi*)为 0.003 19,说明 10 个群体表现出了较低的 *Hd* 和较低的 *Pi*,其中厦门群体的遗传多样性最大,这与厦门的地理位置及气候有关。AMOVA 模块和系统进化树均显示来自 10 个群体黑棘鲷间遗传分化不显著,说明来自南北方的黑棘鲷属于同一个管理单元,分子中性进化检验显示舟山群体显著偏离中性进化。[结论]该研究可为鲷科鱼类的进化以及遗传多样性研究提供依据。

关键词 黑棘鲷;16SrRNA;遗传变异
中图分类号 S917.4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)21-0122-05

Comparison of 16S rRNA Gene Fragment of Mitochondria from *Acanthopagrus schlegelii*
WANG Ze-yuan^{1,2}, MAO Xin-qi^{1,2}, SHANGGUAN Jing-bo^{1,2} et al (1. School of Fisheries, Jimei University, Xiamen, Fujian 361021; 2. Fujian Key Laboratory of Marine Fishery Resources and Ecological Environment, Xiamen, Fujian 361021)

Abstract [Objective]To compare 16S rRNA gene fragment of mitochondria from *Acanthopagrus schlegelii*. [Method]In this study, we used the 16S rRNA gene fragment of mitochondria from *A. schlegelii* to analyze the genetic diversity and genetic differentiation of 10 populations of wild *A. schlegelii* from the coast of China. [Result]The average content of bases A, C, G, T in 80 individuals in 10 groups was 31.6%, 24.2%, 22.7%, and 21.5%, respectively. A total of 9 haplotypes were defined, a total of 16 polymorphisms were found, and 9 haplotypes were obtained. The genetic distance was 0.000 0–0.006 3, the average *Hd* of 10 *A. schlegelii* groups was 0.393, and the average *Pi* was 0.003 19, indicating that 10 groups exhibit lower *Hd* and lower *Pi*, of which the Xiamen group had the largest genetic diversity. This was related to the geographical location and climate of Xiamen. Both the AMOVA module and the system evolution tree showed that the genetic differentiation between the *A. schlegelii* from 10 groups was not significant, indicating that the *A. schlegelii* from the North and South belonged to the same management unit, and the molecular neutral evolution test showed that the Zhoushan population was significantly deviated from the neutral evolution. [Conclusion]The study will provide evidence for the evolution and genetic diversity of *A. schlegelii*.

Key words *Acanthopagrus schlegelii*; 16SrRNA; Genetic variation

黑棘鲷(*Acanthopagrus schlegelii*)又称黑鲷,隶属鲷形目(Percoidei)、鲷科(Sparidae)、棘鲷属(*Acanthopagrus*),具有生长迅速、抗病能力强、适应能力强等特点。黑棘鲷肉味鲜美,营养丰富,具有较高的经济价值,是海水养殖的名贵经济鱼类,广泛分布在北太平洋西部,我国沿海以及朝鲜、日本海域^[1]。目前,对黑棘鲷的研究主要集中在基础生物学、增殖学、疾病学和遗传学等方面。

线粒体(mitochondrion)是细胞中的“动力工厂”,是一种非常重要的细胞器,是细胞中氧化磷酸化及主要的供能场所,是一种半自主细胞器。动物的线粒体 DNA 具有以下特点:基因排列非常紧凑、核苷酸组成不均一、遗传行为较独立、增殖较快以及密码识别机制与核基因的编码规律不尽相同^[2-3]。线粒体 16S rRNA 基因在线粒体基因组中进化速度较适中,常被应用于不同阶元物种的系统进化和分类研究^[4]。目前国内关于黑棘鲷分子水平的研究有多方面,杨慧荣等^[5]通过 RAPD 技术对 3 个不同地理群体黑鲷进行了群体内与群体间的遗传变异分析;林勉等^[6]采用核型分析和 AFLP 技术对黑鲷及其杂交子代进行了遗传差异分析;郭显嵩等^[7]对 9 种常见鲷科鱼类进行了微卫星位点筛选和遗传

多样性分析。笔者利用 PCR 扩增技术对黑棘鲷线粒体 16S rRNA 基因片段进行序列测定和分析,了解我国沿海 10 个群体野生黑棘鲷的遗传差异,以期为今后黑棘鲷的遗传选育及养殖生产提供分子遗传学依据。

1 材料与方法

1.1 材料 试验所用的 10 个野生黑棘鲷群体分别采自烟台、威海、舟山、福鼎、厦门、漳浦、南澳、湛江、北海和海口。采样时间为 2015 年 10 月 29 日—2016 年 10 月 20 日,具体采样地点及时间见表 1。试验样品加冰运送到实验室,从黑棘鲷背部剪下肌肉组织,将其置于 95%乙醇溶液中,存放于 -80 ℃冰箱中备用。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取。试验过程中,所用的基因组 DNA 均由试剂盒提取所得。提取过程严格按照说明书操作,具体步骤详见海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒使用说明书(北京天根生化科技有限公司)。

1.2.2 DNA 检测。提取 DNA,取 2 μL 用 1%琼脂糖凝胶电泳检测其完整性,并经 K5500 超微紫外分光光度计检测其纯度和浓度。选取纯度较好、片段完整的 DNA 稀释到 100 ng/μL,放 -20 ℃冰箱备用。

1.2.3 黑棘鲷线粒体 16S rRNA 基因的 PCR 扩增。扩增引物选用 F: 5'-GGTAGGGCAATCATTCTCT-3' 和 R: 5'-TAGCGGCTGGACCATTAGGA-3'。对其进行 PCR 扩增,PCR

基金项目 福建省自然科学基金项目(2017J01638);集美大学创新团队基金项目(2010A004)。
作者简介 王泽园(1993—),女,山西长治人,硕士,从事种群遗传研究。*通讯作者,教授,博士生导师,从事种群遗传研究。
收稿日期 2018-04-03

扩增反应总体系为 50 μL, 体系中各组分 为 DNA 模板 (100 ng/μL), 2.5 μL; ddH₂O, 38.25 μL; 10× Dream Taq buffer (Mg²⁺), 5 μL; Primer F (10 μmol/L), 1.25 μL; Primer R (10 μmol/L), 1.25 μL; Dream Taq 酶 (5 U/μL), 0.50 μL;

dNTPs (10 mmol/L), 1.25 μL。扩增的反应程序为 94 ℃ 预变性 2 min; 94 ℃ 变性 45 s, 50 ℃ 退火 45 s, 72 ℃ 延伸 1 min, 35 个循环; 最后 72 ℃ 保温 10 min。PCR 扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳分离, 凝胶成像系统拍照保存。

表 1 10 个黑棘鲷群体的采样时间、地点和数量
Table 1 The sampling time, sites and number of 10 populations of *A. schlegelii*

群体 Populations	缩写 Abbreviation	经纬度 Latitude and longitude	采样日期 Sampling date	样本数 Number of samples//尾
海口 Haikou	HK	110°20'79" E, 20°07'75" N	2016-09-12	30
北海 Beihai	BH	109°13'58" E, 21°53'59" N	2016-05-25	30
湛江 Zhanjiang	ZJ	110°46'55" E, 21°53'15" N	2016-03-31	30
南澳岛 Nan'ao Island	NAD	117°18'32" E, 23°43'48" N	2015-12-07	30
漳浦 Zhangpu	ZP	117°71'50" E, 23°90'26" N	2015-08-19	30
厦门 Xiamen	XM	118°10'80" E, 24°43'06" N	2016-09-04	30
福鼎 Fuding	FD	120°45'72" E, 27°18'87" N	2015-10-29	30
舟山 Zhoushan	ZS	122°36'89" E, 30°07'02" N	2015-12-14	30
威海 Weihai	WH	122°21'56" E, 37°54'27" N	2016-10-09	30
烟台 Yantai	YT	121°31'98" E, 37°63'64" N	2016-10-20	30

1.2.4 基因片段的测序及数据分析。将 PCR 扩增产物送至上海英潍捷基公司测序, 测序结果网上自行下载。结合 DNAMAN 6.0 软件人工去除序列两端的测序不可信碱基及非目的基因序列; 运用 BioEdit 7.0 软件对 10 个群体野生黑棘鲷的线粒体 16S rRNA 基因片段的核苷酸序列进行比对以分析碱基组成; 运用 DNA SP 5.10 软件分析各群体的单倍型数 (number of haplotypes, *h*)、平均核苷酸差异数 (average number of nucleotide differences, *k*)、核苷酸多样性指数 (nucleotide diversity, *Pi*) 等; 利用 Arliquin 3.5 软件分析序列的遗传多样性、变异位点及序列单倍型。运用 Arliquin 3.5 软件

的 AMOVA 模块分析得到遗传变异在群体间和群体内的分布; 最后, 运用 MEGA 4.0 软件构建 10 个野生黑棘鲷群体的 NJ 进化树。

2 线粒体 16S rRNA 基因片段结果分析

2.1 序列特征及群体遗传多样性 通过计算 16S rRNA 基因序列发现, 各碱基组成在黑棘鲷 10 个群体 80 个个体中无明显差异。碱基组成 A、C、G、T 的平均含量分别为 31.6%、24.2%、22.7%、21.5%, A+T 平均含量为 53.1%, G+C 平均含量为 46.9% (表 2)。

表 2 黑棘鲷线粒体基因 16S rRNA 序列的碱基含量
Table 2 Base content of 16S rRNA gene fragment of mitochondria from *A. schlegelii*

群体 Populations	缩写 Abbreviation	A	C	G	T	A+T	G+C
北海 Beihai	BH	33.5	21.5	22.7	22.3	55.8	44.2
福鼎 Fuding	FD	31.4	24.9	22.4	21.3	52.7	47.3
海口 Haikou	HK	31.3	24.9	22.2	21.6	52.9	47.1
南澳岛 Nan'ao Island	NAD	31.5	25.7	21.6	21.2	52.7	47.3
厦门 Xiamen	XM	31.3	25.2	22.3	21.2	52.5	47.5
威海 Weihai	WH	30.6	23.5	23.5	22.4	53.0	47.0
烟台 Yantai	YT	32.3	24.1	22.4	21.2	53.5	46.5
湛江 Zhanjiang	ZJ	31.6	22.3	24.8	21.3	52.9	47.1
漳浦 Zhangpu	ZP	31.3	24.8	22.3	21.6	52.9	47.1
舟山 Zhoushan	ZS	31.2	25.3	22.4	21.1	52.3	47.7
平均 Average		31.6	24.2	22.7	21.5	53.1	46.9

在黑棘鲷 10 个群体 80 个个体中, 共发现 17 个变异位点 (total number of mutations), 占 439 个分析位点数的 3.87%, 这其中包括 1 个碱基插入/缺失位点和 16 个多态位点 (polymorphic site)。16 个多态位点包括 6 个单一变异位点 (singleton variable site) 以及 10 个简约信息位点 (parsimony informa-

tive site), 而这些突变位点一共定义了 9 种单倍型。
80 个黑棘鲷个体的平均核苷酸差异数为 1.401, 核苷酸多样性指数为 0.003 19。在 10 个黑棘鲷群体中, 厦门的平均核苷酸差异数最大, 为 2.143; 核苷酸多样性指数也最大, 为 0.004 88 (表 3)。

表 3 黑棘鲷 10 个群体线粒体 16S rRNA 基因序列遗传多样性指标

Table 3 Genetic diversity index of 16S rRNA gene fragment of mitochondria from 10 populations of *A. schlegelii*

群体 Populations	缩写 Abbreviation	样本数 Sample number	单倍型数(<i>h</i>) Number of haplotypes	单倍型多样性 指数(Hd) Haplotype diversity index	多态位点数 Number of polymorphic loci	平均核苷酸 差异数(<i>k</i>) Average number of nucleotide differences	核苷酸多样性 指数(<i>Pi</i>) Nucleotide diversity index
烟台 Yantai	YT	8	1	0.000	0	0.000	0.000 00
威海 Weihai	WH	8	3	0.464	4	1.000	0.002 28
舟山 Zhoushan	ZS	8	3	0.464	1	0.464	0.001 06
福鼎 Fuding	FD	8	2	0.250	1	0.250	0.000 57
厦门 Xiamen	XM	8	2	0.536	4	2.143	0.004 88
漳浦 Zhangpu	ZP	8	3	0.464	2	0.500	0.001 14
南澳岛 Nan'ao Island	NAD	8	1	0.000	0	0.000	0.000 00
湛江 Zhanjiang	ZJ	8	2	0.429	5	2.143	0.004 88
北海 Beihai	BH	8	1	0.000	0	0.000	0.000 00
海口 Haikou	HK	8	1	0.000	0	0.000	0.000 00
合计/平均 Total/ Average		80	9	0.393	16	1.401	0.003 19

2.2 群体间遗传变异分析 黑棘鲷 10 个群体间的遗传距 传距离最大,为 0.006 3(表 4)。离为 0.000 0~0.006 3,其中漳浦群体与厦门群体之间的遗传

表 4 黑棘鲷 10 个群体间遗传距离(16S rRNA)

Table 4 Genetic distance among 10 populations of *A. schlegelii* (16S rRNA)

群体 Populations	烟台 Yantai	威海 Weihai	舟山 Zhoushan	福鼎 Fuding	厦门 Xiamen	漳浦 Zhangpu	南澳岛 Nan'ao Island	湛江 Zhanjiang	北海 Beihai	海口 Haikou
烟台 Yantai	—									
威海 Weihai	0.001 1	—								
舟山 Zhoushan	0.000 6	0.001 7	—							
福鼎 Fuding	0.000 3	0.001 4	0.000 7	—						
厦门 Xiamen	0.004 7	0.005 9	0.006 3	0.006 0	—					
漳浦 Zhangpu	0.000 6	0.001 7	0.001 1	0.000 9	0.006 3	—				
南澳岛 Nan'ao Island	0.002 1	0.001 1	0.001 6	0.000 3	0.005 7	0.000 6	—			
湛江 Zhanjiang	0.004 6	0.003 8	0.003 2	0.002 9	0.004 4	0.005 2	0.002 6	—		
北海 Beihai	0.000 1	0.001 1	0.000 6	0.004 3	0.005 7	0.000 6	0.000 0	0.002 6	—	
海口 Haikou	0.001 1	0.001 1	0.000 6	0.000 3	0.005 7	0.000 6	0.000 0	0.002 6	0.000 0	—

利用 Arlquin3.5 软件基于距离矩阵 pairwise difference 计算群体间的遗传分化系数 F_{ST} 。当 F_{ST} 为负值时,若 P 值大于 0.05,则群体间并未出现显著的遗传分化;而 F_{ST} 为负值时,若 P 值小于 0.05,则群体间出现显著的遗传分化。由表 5 可知,当群体间 F_{ST} 为负值时, P 值均大于 0.05。AMO-VA 分析也表明,黑棘鲷群体遗传变异 5.19%来自群体间,94.81%来自群体内。群体间的遗传分化系数为 0.051 91, $P=0.000 00$ 。说明黑棘鲷群体间未出现较为显著的遗传分化。

表 5 黑棘鲷 10 个群体间遗传分化系数(F_{ST})及 P 值(16S rRNA)

Table 5 Genetic differentiation coefficient and P value among 10 populations of *A. schlegelii* (16S rRNA)

群体 Populations	烟台 Yantai	威海 Weihai	舟山 Zhoushan	福鼎 Fuding	厦门 Xiamen	漳浦 Zhangpu	南澳岛 Nan'ao Island	湛江 Zhanjiang	北海 Beihai	海口 Haikou
烟台 Yantai	—	0.990 99	0.486 49	0.987 99	0.990 99	0.993 99	0.990 99	0.486 49	0.990 90	0.987 99
威海 Weihai	0.000 01	—	0.468 47	0.993 99	0.990 99	0.987 99	0.990 90	0.486 00	0.993 99	0.990 99
舟山 Zhoushan	0.071 43	0.023 81	—	0.990 99	0.468 47	0.477 48	0.468 47	0.252 25	0.414 41	0.468 47
福鼎 Fuding	0.000 20	0.000 00	0.088 44	—	0.993 99	0.990 99	0.432 43	0.987 99	0.990 99	0.890 99
厦门 Xiamen	0.000 00	0.000 00	0.071 43	0.000 00	—	0.990 99	0.993 99	0.468 47	0.990 99	0.987 99
漳浦 Zhangpu	0.000 00	0.000 00	0.035 71	0.000 00	0.000 00	—	0.990 99	0.423 42	0.990 99	0.990 99
南澳岛 Nan'ao Island	0.000 00	0.000 00	0.071 43	0.000 00	0.000 00	0.000 00	—	0.459 46	0.987 99	0.993 99
湛江 Zhanjiang	0.142 86	0.071 43	0.119 05	0.114 29	0.142 86	0.095 24	0.142 86	—	0.450 45	0.432 43
北海 Beihai	0.000 00	0.000 02	0.071 43	0.000 00	0.000 02	0.000 00	0.000 00	0.142 85	—	0.990 99
海口 Haikou	0.000 01	0.000 00	0.071 43	0.000 00	0.000 00	0.000 00	0.000 01	0.142 86	0.000 00	—

注:下三角为遗传分化系数(F_{ST}),上三角为 P 值
Note:The lower triangular was the genetic differentiation coefficient,the upper triangular was P value

采用 Tajima's D 检验和 Fu's Fs 检验对黑棘鲷群体进行中性进化检验。当 Tajima's D 检验所得 D 值为负值时,若 P 值大于 0.05,则说明该群体并没有显著偏离中性进化,表明该群体的种群大小以及遗传趋势都趋于稳定。而当 Tajima's D 检验所得 D 值为负值时,若 P 值小于 0.05,则说明该群体显著偏离中性进化。Tajima's D 检验显示 10 个野生黑棘鲷群体均未显著偏离中性进化,Fu's Fs 检验显示,舟山群体显著偏离中性进化,之前有研究表明 Fu's Fs 检验较 Fu's Fs 检验结果更加准确,所以 10 个黑棘鲷群体中,只有舟山群体显著偏离中性进化(表 6)。且根据序列距离构建 10 个野生黑棘鲷群体 80 个个体的 NJ 进化树(图 1),可以看出 NJ 进化树并无明显分支,10 个群体并没有体现出地理差异性。

表 6 黑棘鲷 10 个群体 16S rRNA 变异 Tajima's D 检验和 Fu's Fs 检验
Table 6 Tajima's D Test and Fu's Fs Test of 16S rRNA mutations of 10 populations of *A. schlegelii*

群体 Populations	Tajima's D	Tajima's D P	Fs	Fs P
烟台 Yantai	0.000 00	1.000 00	0.000 00	N. A.
威海 Weihai	-1.534 70	0.050 00	0.204 28	0.442 00
舟山 Zhoushan	0.611 17	0.833 00	-1.124 86	0.010 00
福鼎 Fuding	-1.054 82	0.236 00	-0.181 97	0.217 00
厦门 Xiamen	0.000 00	1.000 00	0.000 00	N. A.
漳浦 Zhangpu	-1.310 09	0.100 00	-0.998 99	0.061 00
南澳岛 Nan'ao Island	0.000 00	1.000 00	0.000 00	N. A.
湛江 Zhanjiang	0.414 21	0.722 00	1.653 31	0.770 00
北海 Beihai	0.000 00	1.000 00	0.000 00	N. A.
海口 Haikou	0.000 00	1.000 00	0.000 00	N. A.
平均 Mean	-0.287 42	0.693 70	-0.044 82	N. A.

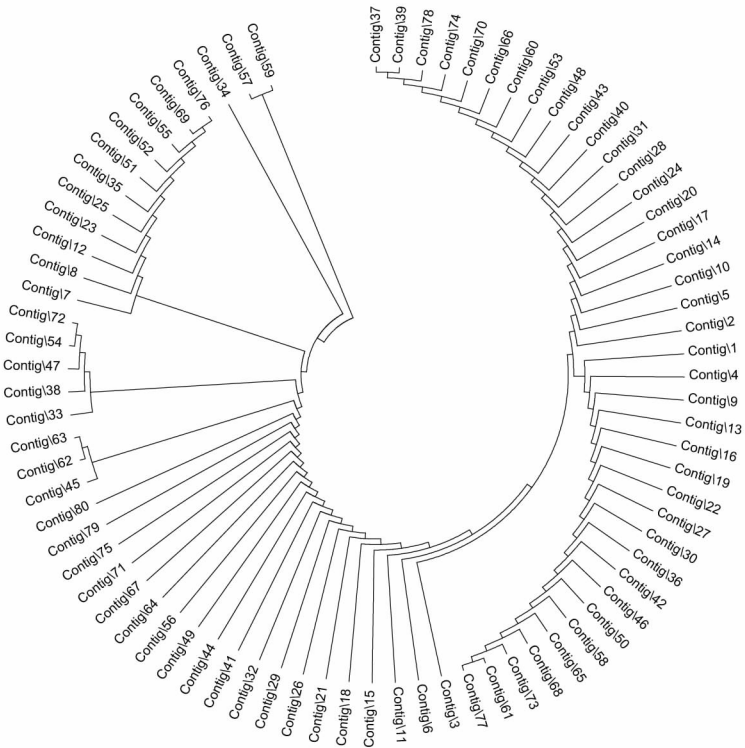


图 1 黑棘鲷 16S rRNA 系统进化 NJ 树
Fig. 1 NJ phylogenetic tree of 16S rRNA of *A. schlegelii*

3 结论与讨论

线粒体 DNA 进化速率较核 DNA 快,在生物中应用广泛,线粒体 16SrRNA 基因具有适宜的进化速度,一般用于研究物种的分类和进化关系。目前,16SrRNA 片段在多样性及分子系统学研究中应用广泛^[8-9],如罗氏沼虾^[10]、石鲈科鱼类^[11]、礁石珊瑚^[12]等。但国内外关于黑棘鲷基于 16SrRNA 基因的分子水平研究较少,一些种属的分类地位仍然没有得到解决。

3.1 群体遗传多样性分析 10 个黑棘鲷群体黑棘鲷 A、C、G、T 碱基组成在每个个体中相似,这与分析石首鱼类^[13]、黄姑鱼^[14]、中华虎头蟹^[15]等鱼类的 16S rRNA 基因片段序列所得结果一致。共发现 17 个变异位点,比例为 3.87%,该结果低于笛鲷属鱼类 16S rRNA 基因的结果,这可能与研究品种的差异、采样范围、所选取序列的片段及地理差异等有关。

遗传多样性是多种学科的基础,被广泛运用在濒危动植物的保护、种群遗传、植物遗传育种等方面,对其进行深入研究,有利于生物体的优良进化。80 个野生黑棘鲷个体的单倍型多样性指数(Hd)为 0.393($Hd < 0.5$),核苷酸多样性指数(Pi)为 0.003 19($Pi < 0.05$),呈现较低的单倍型多样性和较低的核苷酸多样性,说明遗传多样性水平总体处于较低状态。10 个群体中,厦门黑棘鲷的遗传多样性最大,这与利用黑棘鲷 *Cytb* 基因片段研究结果相似,这可能与厦门优良的气候条件有关。厦门又称“鹭岛”,是东南沿海重要的中心城市,由鼓浪屿等许多小岛屿组成,海域终年水温较高,阳光充足,营养盐含量丰富,适合多种海洋生物的生存,前后共记录的海洋生物有 2 000 多种。黑棘鲷 16S rRNA 基因进化速率很慢,是一个相对保守的序列,其在不同群体间的分化程度均很低,不能有效检测到群体间的差异,不适合作为研究其

多样性的工具,这与罗氏沼虾 16S rRNA 片段所得结论一致^[16]。

全球性的气候变化和环境污染、人们对近海无节制开发以及为了一些商业利益对黑棘鲷野生群体进行大规模捕捞等均造成了野生黑棘鲷栖息地的破坏,导致其多样性水平降低。近年来,对黑棘鲷的人工标志放流技术逐渐成熟,在 2017 年 6 月 6 日,八闽放鱼日当天,包括黑棘鲷在内的 4.5 亿鱼苗得到放流,有助于改善鱼类多样性及生态水域环境,但不正确的放流将会使群体的多样性降低,如鱼苗的过量投放,超出了该海域的环境容纳量,甚至尸体还会对水体环境造成污染,对原有的野生黑棘鲷造成了不利影响,有的外来物种甚至会破坏地区的生态破坏,这就使得原有种的遗传多样性降低。同样过度捕捞也会降低物种的遗传多样性,历史上黑棘鲷曾受到过较高的捕捞压力,使得黑棘鲷群体在短期内迅速减少,即经历了遗传瓶颈效应,这与高天翔等^[17]研究 2 种鱼类 *Cytb*、16S rRNA 片段序列得出的结论一致。所以要恢复其多样性,必须遵从一定的增殖放流规定,放流前要对该海域的生态环境及环境容纳量做仔细研究,不可擅自随意放流。

3.2 黑棘鲷群体间的遗传变异分析 我国沿海 10 个野生群体的遗传距离是 0.000 0~0.006 3,黑棘鲷亲缘关系的远近和其所处的地理位置没有明显的关系,有学者基于线粒体控制区对 12 个黑棘鲷群体的遗传分化及系谱结构进行了分析,没有发现明显的地理群聚和系谱结构^[18];对我国沿海 5 个地理位置的黑棘鲷进行遗传分化研究,发现进化树无明显的系谱分支^[19],这与该研究的遗传分化结果一致。

遗传分化系数 F_{ST} 是遗传分化研究中一个有效指标, F_{ST} 大小反映了各群体间相似性的大小, F_{ST} 越大则说明群体间的相似性越小,反之,则说明相似性较大。该研究发现,舟山和福鼎群体之间遗传分化系数 F_{ST} 为负值, P 大于 0.05,表明 10 个群体间并没有出现显著的遗传分化。遗传分化系数 F_{ST} 为负值的情况在文昌鱼^[20]、长鲳^[21]的研究中均有发现,这是由于群体内的遗传分化和群体间不均衡造成的,群体内的大很多。结合 AMOVA 模块也可以得出,10 个群体的遗传分化均属种内水平,并未出现种间水平的分化,黑棘鲷遗传变异在群体间和群体内分别为 5.19%、94.81%,群体间遗传分化系数 F_{ST} 为 0.051 91, P 为 0.189 ($P>0.05$),说明我国沿海 10 个野生黑棘鲷群体间并未出现显著的遗传分化,各海域的黑棘鲷之间存在着较大基因交流,这与 AFLP 的研究结果一致。

3.3 分子中性进化分析 分子中性进化采用 Tajima's D 和 Fu's F_s 检验。当种群处于平衡选择时,Tajima's D 值大于 0;当群体受到外界环境的负选择、瓶颈效应和搭载效应等情况影响时, D 值小于 0。Tajima's D 结果显示,10 个群体显示 D 值小于 0, P 大于 0.05,说明我国沿海 10 个野生黑棘鲷群体并未显著偏离中性进化。

Fu's F_s 检验是另一种基于种内多态性的中性检验,Fu 等^[22]研究表明在中性假说检验方面,Fu's F_s 检验可能比 Tajima's D 检验更加灵敏。Fu's F_s 法分析发现,舟山群体

偏离中性进化比较显著。这说明,舟山群体在历史上由于环境剧烈恶化,为了后代的生存发育,可能经历了大规模的迁移,向一个环境较好的水域移动,这样就造成种群的大规模扩张,大量黑棘鲷涌入一个新海域,会发生瓶颈效应,即生物的个体数目及遗传信息含量在短时间内急剧下降,这样就会偏离中性进化;即使日后进行再次扩张,也只会达到原海域黑棘鲷的数目而生物体内的遗传变异是远远达不到以前的水平,从而产生了遗传漂变,而其他 9 个野生黑棘鲷群体的遗传趋势和大小趋于稳定。

3.4 10 个群体黑棘鲷的系统发生关系 根据序列距离构建 10 个野生黑棘鲷群体 80 个个体的 NJ 进化树,可以看出该进化树未形成明显的地理结构,与各群体所处的地理位置无关。目前,针对其群体划分存在 2 种说法:一种认为南北方黑棘鲷共属同一个祖先,遗传分化不显著,可以归为同一个管理单元;另一种是认为南北黑棘鲷间存在明显的遗传分化,应该分为南、北方 2 个不同的管理单元,该研究显示南北方群体间的遗传分化并不显著,存在较强的基因交流。

近年来由于黑棘鲷种质资源遭到破坏,为了加大对黑棘鲷的保护,养殖业非常发达,人工选育以及杂交造成了非常严重的基因渗透和基因混杂。养殖业的快速发展有助于黑棘鲷增殖放流活动的顺利进行,为了提高其多样性,将养殖的黑棘鲷投入野生黑棘鲷生存海域,虽然提高了其多样性,但是也造成了一定程度的基因交流。有研究表明,地球上现存海洋生物的种群结构在很大程度上会受到以往地理历史事件的影响,在晚更新世冰期以来,地球经历了一系列的间冰期和冰期的周期性变化,导致气候和和海域面积也会在特定时间发生变化,这样就形成了不同海域之间生物的基因交流。该研究所采集的野生黑棘鲷样品来自多个海域,有资料表明它们在第四纪冰期曾经历了多次海进和海退,由于气候变化、地球自转速度变化及海面和陆地差异的变化等原因,造成海水反复多次从海洋向大陆扩展或是由大陆向海洋退缩,期间伴随着生物群落的多次交换,这样就造成了大面积、高强度的基因交流,甚至在盛冰期期间,多个海域出现了海水枯竭现象,导致了生物多样性的降低,正是由于第四纪冰期以来,多个海域反复的海进和海退,使得野生黑棘鲷的栖息地随之不断发生变化,造成了如今黑棘鲷群体间广泛的基因交流及遗传均质性。

4 展望

虽然未显示黑棘鲷群体的遗传多样性有剧烈的下降,但保护黑棘鲷的种质资源也是尤为重要的,可以从以下几个方面入手,为野生黑棘鲷资源的合理开发及保护提供必要的参考。

(1) 号召各地举行定期的增殖放流,有助于改善水体环境,维持其生物多样性,比如每年 6 月 6 日的八闽放鱼日,在增殖放流时要采取正确的方法,切忌盲目随意放流,遵从该地区的最大环境容纳量,一旦超过环境容纳量,则会打破原有的生态平衡,对野生黑棘鲷群体产生负面影响。在具体实施过程中,要注意放流高度,民间放生要提前向有关部门申请。

(下转第 132 页)

表 4 不同家系间树高、胸径、材积方差分析和遗传力估计

Table 4 ANOV and heritabilities assess of height,breast diameter and volume among different families

变异来源 Sources of variation	df	树高 Tree height					
		SS	MS	F	P	h_f^2	h_i^2
家系间 The family room	46	38.704 7	0.841 4	1.989	0.002 5	0.497	0.128
家系内 Within the family	94	39.773 3	0.423 1				
总和 Total	140	78.478 0					

变异来源 Sources of variation	胸径 Chest diameter					材积 Volume				
	SS	MS	F	P	h_f^2	h_i^2	SS	MS	F	P
家系间 The family room	162.942 7	3.542 2	2.494	0.000 1	0.599	0.190 0	0.005 4	0.000 1	3.384 0	0.000 1
家系内 Within the family	133.500 0	1.420 2				0.003 3	0.000 0			
总和 Total	296.442 7					0.008 7				

表 5 生长性状遗传增益估算

Table 5 Genetic gain estimation of growth traits

项目 Items	估计公式 Variance	树高 Tree height	胸径 Chest diameter
环境方差 Environmental variance	$\sigma_e^2 = MS_r$	0.420	1.420
遗传方差 Genetic variance	$\sigma_f^2 = (MS_i - MS_r) / r$	0.140	0.710
表型方差 Phenotypic variance	$\sigma_p^2 = \sigma_e^2 + \sigma_f^2$	0.560	2.130
遗传力 Heritability	$h_f^2 = (MS_i - MS_r) / MS_i$	0.497	0.599
选择响应 Selection response	$R = i \sqrt{\sigma_f^2} \times h_f^i$	0.320	0.750
遗传增益 Selection gain	$\Delta G(\%) = R / \bar{X}$	10.670	25.050

参考文献

[1] 中国科学院昆明植物研究所. 云南植物志:第4卷[M]. 北京:科学出版社, 1986:44-62.

[2] 云南林科院思. 茅地区林科所思茅松优良林分选择课题组. 思茅松天然优良林分选择研究专题[J]. 云南林业科技,1993 (4):1-32.

[3] 宋永俊. 思茅松人工林二元材积模型的编制[J]. 云南省林业调查规划设计,1998(4):14-18.

[4] 沈熙环. 林木育种学[M]. 北京:中国林业出版社,1990.

[5] FALCONER D S. Introduction to quantitative genetics[M]. New York: Longman Scientific & Technical,1989:438.

[6] FALCONER D S,MACKAY TFC. 数量遗传学导论[M]. 储明星,译. 北京:中国农业科技出版社,2000.

[7] MATZIRIS D I. Genetic variation and realized genetic gain from Aleppo pine tree improvement[J]. Silvae genetica,200,49(1):5-10.

[8] 余荣卓. 杉木种子园子代优良无性系测定及选择[J]. 福建林业科技, 2008,35(1):17-20.

(上接第 126 页)

(2)要保证人类的工业活动不会对野生黑棘鲷的洄游通道造成影响,比如在修建大坝时候,一定要考虑鱼类的洄游通道不被堵塞。

(3)建立相关法律、法规禁止过度捕捞,因为黑棘鲷具有一定的经济价值,每年都有许多人对其进行过度捕捞,政府应当加大对这些人的处罚力度,使黑棘鲷的数目相对稳定。

(4)加大对水体环境的保护,避免将工业、生活废水直接排入海域,这样会对野生黑棘鲷赖以生存的环境造成影响,影响其产卵和孵化,进而使其多样性慢慢降低,可以通过社区宣讲、设立警示标语等方法。

参考文献

[1] 朱德芬. 黑鲷人工养殖技术讲座——第一讲: 黑鲷生物学特性及增养殖概况[J]. 水产养殖,1966,(1):30-32.

[2] 施晓峰, 苏永权, 王文成, 等. 基于 mtDNA 控制区序列的 3 个黑棘鲷群体遗传结构特性研究[J]. 热带海洋学报, 2015,(1):56-63.

[3] 刘焕章. 鱼类线粒体 DNA 控制区的结构与进化: 以鳊鲃鱼类为例[J]. 自然科学进展, 2002,(3):266-270.

[4] 周发林, 江世贵, 苏天凤, 等. 6 种笛鲷属鱼类线粒体 16SrRNA 基因片段的序列比较[J]. 中国水产科学, 2004, 11(2): 99-103.

[5] 杨慧荣, 江世贵. 用 RAPD 技术探讨 5 种鲷科鱼类的亲缘关系[J]. 水产学报,2006(4):469-474.

[6] 林勉, 苗亮, 李明月, 等. 真鲷、黑鲷及其杂交子代的染色体构成与 AFLP 分析[J]. 海洋学报(中文版), 2014,36(8):117-121.

[7] 郭昱嵩, 王中铎, 刘楚吾, 等. 9 种常见笛鲷微卫星位点筛选与遗传多样性分析[J]. 热带海洋学报,2010,29(3):82-86.

[8] 夏德全, 王文君. 动物线粒体 DNA 研究及在鱼类种群遗传结构研究中的应用[J]. 水产学报, 1998, 22(4): 364-370.

[9] 张亚平, 施立明. 动物线粒体 DNA 多态性的研究概况[J]. 动物学研

究, 1992, 13(3): 289-298.

[10] 蒋钦杨, 杨学明, 郭亚芬, 等. 3 个不同群体罗氏沼虾线粒体 16SrRNA 基因序列分析及遗传差异[J]. 水产科学, 2005, 24(10): 28-31.

[11] 任岗, 章群, 钱开诚, 等. 12 种石鲈科鱼类线粒体 16S rRNA 基因的部分序列分析[J]. 热带海洋学报, 2007, 26(3): 48-52.

[12] 廖宝林, 肖宝华, 杨小东, 等. 基于线粒体 16SrRNA 基因的 14 种造礁石珊瑚系统发育关系分析[J]. 广东海洋大学学报, 2016, 36(4): 23-29.

[13] 张永, 马春艳, 马凌波, 等. 基于 16SrRNA 部分序列探讨中国近海十三种石首鱼类的分子系统进化关系[J]. 海洋渔业, 2010, 32(3): 276-282.

[14] 胡则辉, 柴学军, 王跃斌, 等. 基于线粒体 16SrRNA 和 COI 基因序列比较分析日本黄姑鱼与鲈状黄姑鱼群体遗传多样性[J]. 海洋渔业, 2010, 32(3): 276-282.

[15] 刘萍, 段亚飞, 毛智超, 李吉涛, 高保全, 李健. 中华虎头蟹线粒体 16S rRNA 和 COI 基因的序列比较及其系统进化分析[J]. 水产学报, 2013, 37(10):1441-1451.

[16] 杨学明, 黄光华, 蒋钦杨, 等. 罗氏沼虾不同群体线粒体 16SrRNA 基因的序列变异及其保守性分析[J]. 西南农业学报, 2007, 20(6): 1373-1376.

[17] 高天翔, 陈省平, 韩志强, 等. 大银鱼和小齿日本银鱼线粒体细胞色素 b 和 16SrRNA 基因部分序列分析[J]. 中国海洋大学学报, 2004, 34(5): 791-794.

[18] 曹艳. 基于线粒体控制区序列的中国沿海 3 种鲷科鱼类遗传多样性分析[D]. 广州: 暨南大学, 2016.

[19] 赵爽, 章群, 乐小亮, 等. 中国近海 5 个黑鲷地理群体的遗传变异[J]. 海洋科学, 2010, 34(2): 75-79.

[20] 张志红. 文昌鱼微卫星标记的筛选及其遗传多样性与保护策略的研究[D]. 厦门: 集美大学, 2011.

[21] 常抗美, 李焕, 吕振明, 等. 中国沿海 7 个长蛸群体 COI 基因的遗传变异研究[J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(3): 307-314.

[22] TAJIMA F. Statistical Method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism[J]. Genetics, 1989, 123(3):585-595.