

南海大眼金枪鱼和黄鳍金枪鱼的群体遗传结构

王中铎¹, 郭昱嵩¹, 颜云榕^{1,2}, 侯刚^{1,2}, 范艳波¹,
冯波^{1,2}, 卢伙胜^{1,2}, 刘楚吾^{1*}

(1. 广东海洋大学水产学院, 南海水产经济动物增殖广东普通高校重点实验室, 广东 湛江 524025;

2. 广东海洋大学南海渔业资源监测与评估中心, 广东 湛江 524088)

摘要: 测定了南海西沙和南沙群岛附近海区(11~12°N, 15°N; 110~112°E)黄鳍金枪鱼61尾(17尾成鱼、44尾幼鱼)和大眼金枪鱼26尾(22尾成鱼、4尾幼鱼)的线粒体基因组控制区部分序列(D-loop), 结合 GenBank 数据库中印度洋、太平洋和大西洋群体的同源数据, 分析结果:(1) 黄鳍金枪鱼与大眼金枪鱼均具极高的单倍型多样性($H_d > 99\%$), 聚类树及群体间分化指数(F_{ST} 和 S_m)表明大眼金枪鱼群体分化程度明显高于黄鳍金枪鱼群体;(2) 大眼金枪鱼和黄鳍金枪鱼的南海群体与印度洋群体之间基因流最强($N_m = 51.638$ 和 261.280), 其次为太平洋群体($N_m = 10.868$ 和 -50.801);(3) 黄鳍金枪鱼和大眼金枪鱼都基本服从群口扩张模型, 而 mismatch 分布分别呈单、双峰, 其中大眼金枪鱼的南海群体扩张较晚($T_{au} = 7.902$)且最为明显($\theta_1/\theta_0 = 99.999/14.752$)。

关键词: 大眼金枪鱼; 黄鳍金枪鱼; 群体遗传; 线粒体基因组控制区

中图分类号: Q 347; S 917

文献标志码: A

南海是太平洋五大金枪鱼渔场之一, 黄鳍金枪鱼(*Thunnus albacares*)是主要的捕捞对象, 大眼金枪鱼(强壮金枪鱼, *T. obesus*)次之。南海为半封闭的海洋环境, 其背靠东亚大陆, 东面和南面被岛弧环绕, 通过一系列海峡与中国东海、西太平洋、苏禄海、爪哇海及印度洋等相连, 其中除了连接西太平洋的巴士海峡最大水深约为2400 m, 连接苏禄海的民都洛(Mindoro)海峡水深约200 m之外, 其它海峡水深都小于100 m^[1]。由于多方面原因, 中国大陆对南海金枪鱼的捕捞开发以及相关基础研究一直不多, 至今可利用的文献报道十分有限。较为系统的研究是我国20世纪70年代中后期对南海中、西沙组织的海洋综合调查, 发现南海有大量的黄鳍金枪鱼和大眼金枪鱼的仔鱼, 且黄鳍金枪鱼在6—7月出现频率较大眼金枪鱼高, 10月则相反^[2]。张仁斋^[3]在那次调查基础上综合分析了国内外对南海金枪鱼仔鱼的出现和

分布的研究指出, 在中沙、西沙群岛附近有黄鳍金枪鱼明显集中的产卵场^[3]。

由于金枪鱼类高度洄游, 南海内外海流入群体与可能存在的本地群体并存, 加之资料有限, 至今仍很难对南海的资源量做出准确评估。张仁斋^[3]根据联合国粮农组织和联合国开发总署的资料报道, 1970—1971年南海黄鳍金枪鱼产量为9707 t, 其中日本捕获2132 t、菲律宾捕获3775 t、我国台湾省捕获2800 t; 1975—1976年中国水产科学院南海水产研究所中沙、西沙群岛及其临近海区试捕调查中, 捕获黄鳍金枪鱼居首位, 占渔获尾数的24.5%, 全年都可生产; 陈炎等^[4]根据日本和台湾地区渔船的历史生产数据, 估算南沙群岛海域大型金枪鱼资源量在1万t左右; Hoang^[5]估算越南海域黄鳍金枪鱼和大眼金枪鱼的资源量达4~5万t, 年可捕量为1.7万t, 而2007年越南的黄鳍金枪鱼和大眼金枪鱼的产

收稿日期: 2011-08-20 修回日期: 2011-11-01

资助项目: 国家自然科学基金项目(30972253); 广东省自然科学基金项目(10452408801004224)

通讯作者: 刘楚吾, E-mail: Liucw5206@163.com

量为 9 500 t^[6];另据我们的最新调查数据,南沙生产的灯光罩网船每船每航次兼捕大眼金枪鱼和黄鳍金枪鱼 3~140 尾,产量 150~5 000 kg,2 至 5 月总产量约为 580 t^[7]。

近年分子生物学技术快速发展,选择性扩增片段长度多态性分子标记技术(amplified fragment length polymorphism, AFLP)^[8]、微卫星(simple sequence repeats, SSRs)^[9-10]和线粒体控制区序列(D-loop)等被运用于深入揭示金枪鱼群体结构和相互关系,为资源评估、管理等提供参考。其中,D-loop 序列便于不同研究间的相互比较,在金枪鱼群体研究中应用更为广泛。Martínez 等^[11]利用 D-loop 区揭示出大眼金枪鱼有印度洋—太平洋群体向大西洋群体的单向基因流动,两者分化显著,且大西洋群体内部也存在两个有一定分化的聚类群;台湾的 Chiang 等^[12]利用 D-loop 区分析揭示了南海东部(115~119°E; 9~18°N)大眼金枪鱼群体与菲律宾海湾的基因少于与西太平洋群体的交流;台湾的 Wu 等^[13]又利用相同技术分析了台湾近海含南海东部样本在内的西太平洋黄鳍金枪鱼群体与印度洋群体间的系统分化关系,未发现明显分化。

本研究采集了南海西部(110~112°E)南沙太平岛和西沙附近海域的黄鳍金枪鱼和大眼金枪鱼的幼鱼和成鱼样本,获取和分析群体的线粒体控制区序列,试图揭示南海金枪鱼西部群体的组

成和分化特征,以及其与印度洋、太平洋以及大西洋金枪鱼群体间的相互关系,从而为金枪鱼资源的科学管理、合理保护和有序开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 样本采集

2011 年 4—6 月从南海西侧(110~112°E)海域捕获黄鳍金枪鱼 61 尾(17 尾成鱼、44 尾幼鱼)、大眼金枪鱼 26 尾(22 尾成鱼、4 尾幼鱼),(图 1,表 1)。所有样本均由北海渔船捕获后 -20 °C 冰冻运回港口,未完全解冻状态取肌肉于无水乙醇保存运回实验室,苯酚-氯仿法提取 DNA。

1.2 D-loop 序列的扩增与测定

采用 Bremer 等^[15]的引物(L15998-PRO:5'-TAC CCC AAA CTC CCA AAG CTA-3', CSBDH:5'-TGA ATT AGG AAC CAG ATG CCA G-3')于 Bio-Rad s1000 PCR 仪中进行扩增。PCR 程序为 94 °C 变性 3 min;94 °C 45 s,53 °C 30 s,72 °C 1 min (30 个循环);72 °C 5 min。扩增得到金枪鱼群体样本的 D-loop 5' 端高变区约 450 bp 目标片段,送上海生工测定序列。一般仅用 L15998-PRO 作为测序引物正向测定,若发现序列中段出现不确定碱基峰再使用 CSBDH 反向测定。通过 BLASTn 比对等核实后,上传 GenBank 获取序列号,并用于后续群体分析。

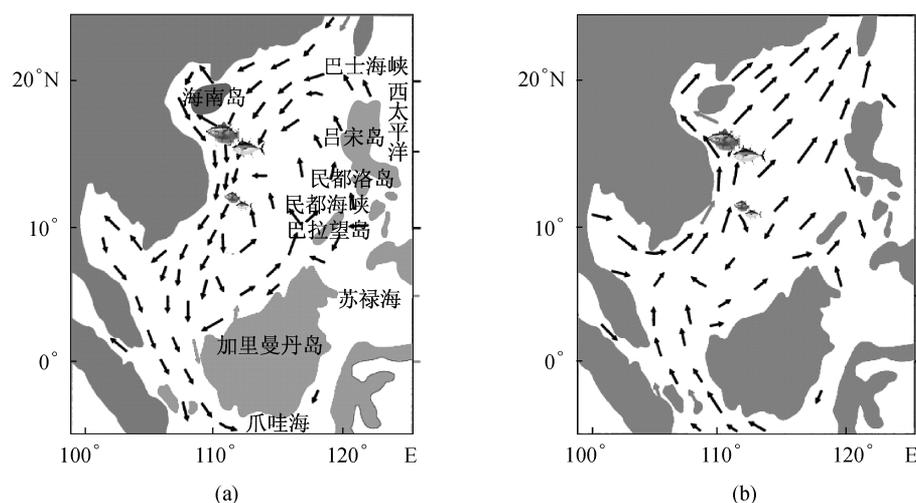


图 1 黄鳍金枪鱼和大眼金枪鱼样本来源与南海海区表层环流图

(a) 冬季; (b) 夏季。

Fig. 1 The sampling sites of yellowfin tuna and bigeye tuna as well as surface current patterns in South China Sea

(a) winter; (b) summer.

表 1 金枪鱼样本的基本资料
Tab.1 Basic information of tuna samples

群体 population	样本量/尾 sample size	叉长/mm fork length	经纬度 location	采样日期 date	GenBank 登录号 accession no.
黄鳍金枪鱼 <i>T. albacares</i>					
南海 (SCS) South China Sea	17	1 000 ~ 1 800	15°N;110°E	Apr. 2011	JN572739-JN572794 (本研究, this study)
	16	190 ~ 268	11 ~ 12°N; 111 ~ 112°E	May 2011	
	28	200 ~ 300	11 ~ 12°N; 111 ~ 112°E	Jun. 2011	
太平洋 Pacific	20	-	0°N;110° W	-	AF301200-AF301209 AY899597-AY899606 ^[14]
印度洋 Indian	20	-	-	-	AY899638-AY899657 ^[15]
大西洋 Atlantic	20	-	-	-	AY899565-AY899574 ^[15] AY899534-AY899543 ^[15]
大眼金枪鱼 <i>T. obesus</i>					
南海 (SCS)	22	1 000 ~ 1 800	15°N;111°E	Apr. 2011	JN572713-JN572738
	4	545 ~ 570	12°N;112°E	Jun. 2011	(本研究, this study)
西太平洋 (WP) the western Pacific	10	-	140 ~ 144°E; 11 ~ 22°N	May 2001 - Jan. 2003	AY640294-AY640303 ^[15]
东太平洋 (EP) the eastern Pacific	10	804 ± 35	8°S;109°W	Nov. 2003	DQ126594-DQ126603 ^[11]
西印度洋 (WI) the western Indian	10	-	60 ~ 70°E;30 ~ 33°S 0 ~ 3°N;45 ~ 56°E	Aug. 2005 Jul. 2002	EF154413-EF154417 ^[16] DQ126563-DQ126567 ^[17]
东印度洋 (EI) the eastern Indian	10	-	76 ~ 90°E; 27 ~ 32°S	Aug. 2004	EF154397-EF154401 EF154407-EF154411 ^[16]
西大西洋 (WA) the western Atlantic	10	1 130 ± 86	40°N;63°W	Nov. - Dec. 2001	DQ126464-DQ126473 ^[11]
东大西洋 (EA) the eastern Atlantic	10	436 ± 23	8°N;24°W	May 2001	DQ126666-DQ126675 ^[11]

1.3 群体序列数据的整理和分析

序列基本信息以及遗传分化参数固定指数,包括单倍型数目(h)、分离位点数目(S)、单倍型多样性(H_d)、平均分化数目(k)、核苷酸多样性(π)、固定指数(F_{ST})和近邻统计(nearest neighbor statistic, S_{nn})等均由 DnaSP v5 中的基因流和遗传分化估计(gene flow and genetic differentiation estimates)分析得到,经 1 000 次重复迭代检验显著性。基因流(N_m)依据原始定义,采用公式 $N_m = (0.5/F_{ST}) - 0.5$ 于 Excel 中计算得到^[18]。

MEGA version 5 中采用邻位连接法构建(Neighbor-Joining, NJ)聚类树。序列比对产生的插入或缺失均未记入。遗传距离由 Kimura 2-parameter 法推算得到。聚类树各支经 1 000 次 bootstrap 重抽样检测可靠性^[19]。基于分化分析

和聚类树结果构建来自各海域群体样本的聚类群。采用 Arlequin ver 3.5.1.2 进行分子方差分析(AMOVA)分析,计算聚类群间、聚类群内群体间和群体内的分子方差及其所占比重的百分数。

运用 DnaSP v5 中的群体大小变化(population size change)分析菜单运行 mismatch distribution 分析,通过观测 DNA 序列的两两核苷酸位点间差异的频率分布图,检验聚类群的群体大小与稳定群体(constant population size, CM)或变化群体(population growth-decline, GDM)假设模式是否符合。计算 GDM 模型的 3 个参数:群体扩张或衰落前的初始大小(θ_0)、最终大小(θ_1)和扩张发生时间(T_{au} 或 $\tau = 2ut$; t 为世代数; u 突变率/序列/世代)^[20]。假定 θ_1 无穷,基于群体序列数据估算出 θ_0 和 T_{au} ,并由 T_{au} 推算出群体大小变动的大体时期^[21]。同时,计算 GDM 模型的 H_{ii}

值(the raggedness statistic)量化评估分布的平滑度,并初步判断群体扩张。进一步计算 Fu's F_s 和较为保守的 Tajima's D 及相应的 P 值,确定扩张过程中偏离中性群体的显著性程度。

2 结果

2.1 黄鳍金枪鱼和大眼金枪鱼的 D-loop 序列基本信息统计与聚类分析结果

表 2 列举了包括本研究所测定的 82 条(表 1, JN572713-JN572794)在内共计 202 条线粒体控制区序列数据的群体分析基本特征分析结果。总体来看,两种金枪鱼的单倍型多样性都处于十分高的水平,整体 H_d 值都大于 0.99,而且各参数的

最大值和最小值基本分别出现于太平洋和大西洋群体,包括南海群体在内的其他群体居于两者之间。

比较而言,大眼金枪鱼整体的平均差异数、核苷酸多样性指数及它们的波动范围($k=17.29275$, $10.20000 \sim 19.84444$; $\pi=0.05056$, $0.02982 \sim 0.05802$)都明显大于黄鳍金枪鱼($k=8.50465$, $7.95789 \sim 9.01579$; $\pi=0.03221$, $0.03014 \sim 0.03415$)。本研究测定的南海大眼金枪鱼的 k 和 π 分别为 11.68308 和 0.03416,大于黄鳍金枪鱼的 8.71039 和 0.03299;但前者的 H_d 和 S 为 0.99692 和 58,略低于后者的 0.99870 和 65。

表 2 大眼金枪鱼和黄鳍金枪鱼群体线粒体 DNA 控制区序列的基本性质统计

Tab.2 Descriptive statistics of bigeye tuna and yellowfin tuna based on mitochondrial control region sequence data

群体 population	序列数 n	单倍型数目 no. hapotypes	分离位点数目 no. segregating sites, S	单倍型多样性 haplotype diversity, H_d	平均分化数目 average number of differences, k	核苷酸多样性 nucleotide diversity, π
大眼金枪鱼 <i>T. obesus</i>						
南海 SCS	26	25	58	0.99692	11.68308	0.03416
西太平洋 WP	10	10	58	1.00000	19.84444	0.05802
东太平洋 EA	10	10	42	1.00000	13.20000	0.03860
西印度洋 WI	10	9	37	0.97778	11.04444	0.03229
东印度洋 EI	10	9	48	0.97778	17.17778	0.05023
西大西洋 WA	10	10	44	1.00000	13.93333	0.04074
东大西洋 EA	10	7	26	0.93333	10.20000	0.02982
total	86	98	79	0.99808	17.29275	0.05056
黄鳍金枪鱼 <i>T. albacares</i>						
南海 SCS	56	54	65	0.99870	8.71039	0.03299
太平洋 Pacific	20	18	38	0.98947	9.01579	0.03415
印度洋 Indian	20	20	38	1.00000	8.07895	0.03060
大西洋 Atlantic	20	19	37	0.99474	7.95789	0.03014
total	116	109	83	0.99865	8.50465	0.03221

图 2 中,本实验测定的 56 尾南海海区的黄鳍金枪鱼样本未发现按取样时间或地理位置聚类。与此相对,大眼金枪鱼的大西洋群体除 1 尾西大西洋和 2 尾东大西洋个体外,其余样本聚为独立一群,与太平洋和印度洋分化明显。特别值得注意的是,南海样本多与西印度洋样本先聚在一起,然后才与太平洋样本聚合;另外,西太平洋样本与东印度洋样本优先聚为一群,置信度高达 99%。结果表明,三大洋的黄鳍金枪鱼群体的分化程度明显小于大眼金枪鱼。

2.2 黄鳍金枪鱼和大眼金枪鱼群体分化结果比较

黄鳍金枪鱼 116 个样本整体的 $S_{nn}=0.30154$

($P>0.05$),表明黄鳍金枪鱼的全球分化不明显;相反,大眼金枪鱼 86 个样本的 S_{nn} 为 0.38140 ($P<0.001$),表明整体分化极显著。

基因流(表 3 右上)结果表明:(1) 黄鳍金枪鱼群体间基因流的绝对值均明显大于大眼金枪鱼(粗体);(2) 大眼金枪鱼的大西洋群体与其他群体间的基因流均极低;(3) 尽管南海在地理上隶属太平洋,但南海和印度洋群体间的基因流在两种金枪鱼均最强(51.638 和 261.28010),明显大于南海和太平洋群体(10.8688 和 -50.80181)。

与基因流相应,分化系数(表 3 左下)比较表明:(1) 黄鳍金枪鱼各群体间 F_{ST} ($P>0.05$) 均较

大眼金枪鱼低,且 S_{mn} 均接近 0.5 ($P > 0.05$), 显著性分析均支持黄鳍金枪鱼群体间分化不显著; (2) 大眼金枪鱼的大西洋群体对应的 F_{ST} 、 S_{mn} ($P < 0.001$) 均明显大于另 3 个群体间的分化, 表明大西洋大眼金枪鱼与其他群体发生了十分显著

的分化; (3) 大眼金枪鱼的印度洋群体与南海、太平洋群体间分化程度不显著 ($S_{mn} = 0.572\ 28$ 和 $0.412\ 50$, $P > 0.05$), 而南海群体与太平洋群体的 F_{ST} ($P < 0.001$) 和 S_{mn} ($0.01 < P < 0.05$) 均表明南海群体与太平洋群体间发生了较显著分化。

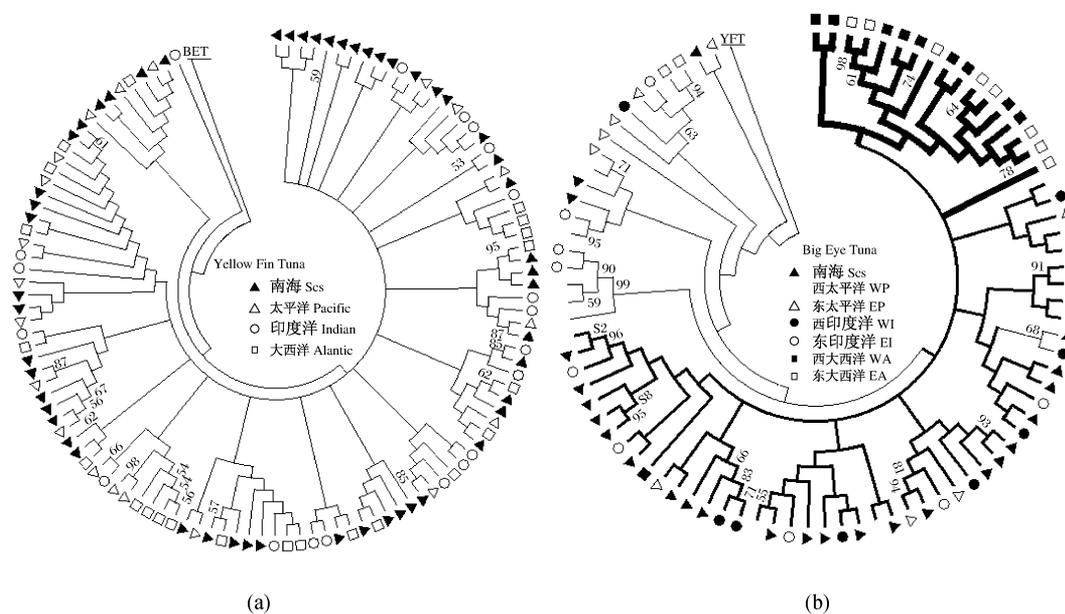


图 2 基于控制区序列的黄鳍金枪鱼和大眼金枪鱼聚类图

BET. 大眼金枪鱼(a); YFT. 黄鳍金枪鱼(b); 右图聚类支由细到粗依次对应大眼金枪鱼的早、中和晚期聚类群。

Fig. 2 Neighbor-Joining trees of yellowfin tuna and bigeye tuna based on mitochondrial control region sequences BET, bigeye tuna; YFT, yellowfin tuna; the clusters with lines from thin to thick denote early group, medium and late group, respectively.

表 3 基于线粒体控制区部分序列的大眼金枪鱼和黄鳍金枪鱼群体间分化指数 (F_{ST}/S_{mn}) 与基因流 (N_m)

Tab. 3 Matrix of pairwise F_{ST}/S_{mn} and associate N_m value among bigeye tuna and yellowfin tuna samples based on mitochondrial control region sequenced data

	南海 SCS	太平洋 Pacific	印度洋 Indian	大西洋 Atlantic
南海 SCS		10.868 8 -50.801 81	51.638 261.280 10	0.5481 74 196.350 39
太平洋 Pacific	0.043 98 *** / 0.639 49 * -0.009 94 ^{ns} / 0.581 99 ^{ns}		-27.793 -122.451 22	0.837 041 -144.592 22
印度洋 Indian	0.009 59 *** / 0.572 28 ^{ns} 0.001 91 ^{ns} / 0.591 24 ^{ns}	-0.018 32 *** / 0.412 50 ^{ns} -0.004 10 ^{ns} / 0.502 86 ^{ns}		0.708 605 -31.847 96
大西洋 Atlantic	0.477 02 *** / 0.971 01 *** 0.002 54 ^{ns} / 0.524 12 ^{ns}	0.373 96 *** / 0.870 83 *** -0.003 47 ^{ns} / 0.452 38 ^{ns}	0.413 70 *** / 0.891 67 *** -0.015 95 ^{ns} / 0.560 42 ^{ns}	

注:大目金枪鱼数据位于上方;基因流数据位于对角线右上方;ns, not significant; *, $0.01 < P < 0.05$; **, $0.001 < P < 0.01$; ***, $P < 0.001$ 。

Notes: Values among bigeye tuna are upon values among yellowfin tuna; N_m are above the diagonal; ns, not significant; *, $0.01 < P < 0.05$; **, $0.001 < P < 0.01$; ***, $P < 0.001$.

表 4 所列结果进一步揭示,南海群体与东太平洋群体间存在较显著的分化,而与西太平洋群体分化不显著。南海群体与东太平洋群体的 F_{ST} 和 S_{mn} (0.062 54 和 0.673 61) 明显大于南海群体

与西印度洋群体(0.003 85 和 0.608 73), 略大于南海群体与东印度洋群体 (0.056 83 和 0.675 93), 相应的基因流大小依次为南海/西印度洋(129.37) > 南海/东印度洋(8.298 2) > 南

海/西太平洋 (7.494 88) > 南海/东太平洋 (0.520 804), 表明南海群体与印度洋群体, 尤其是西印度洋群体关系密切。另外, 表 4 所列的群

体多样性表明大眼金枪鱼大西洋东、西群体与其他个群体分化极显著, 而各大洋东、西两端群体分化不显著。

表 4 基于线粒体控制区部分序列的大眼金枪鱼群体分化指数 (F_{ST}/S_{nn}) 和基因流 (N_m)

Tab. 4 Matrix of pairwise F_{ST}/S_{nn} and associated N_m value among bigeye tuna samples based on mitochondrial control region sequence data

	南海 SCS	西太平洋 WP	东太平洋 EP	西印度洋 WI	东印度洋 EI	西大西洋 WA	东大西洋 IA
南海 SCS		7.494 88	11.963	<u>129.37</u>	8.298 2	0.569 7	0.520 804
西太平洋 WP	0.062 54 ^{***} /0.673 61 ^{ns}		16.594	6.150 7	-8.387 7	0.999 2	0.954 672
东太平洋 IP	0.040 12 ^{***} /0.763 89 [*]	0.029 25 ^{***} /0.650 00 ^{ns}		14.167	<u>75.143</u>	0.670 7	0.672 415
西印度洋 WI	<u>0.003 85</u> ^{***} /0.608 73 ^{ns}	0.075 18 ^{***} /0.495 83 ^{ns}	0.034 09 ^{***} /0.441 67 ^{ns}		5.649 3	0.510 1	0.480 296
东印度洋 EI	0.056 83 ^{***} /0.675 93 ^{ns}	-0.063 39 ^{***} /0.283 33 ^{ns}	<u>0.006 61</u> ^{***} /0.500 00 ^{ns}	0.081 31 ^{***} /0.516 67 ^{ns}		0.913 5	0.910 039
西大西洋 WA	0.467 43 ^{***} /0.962 96 ^{***}	0.333 51 ^{***} /0.783 33 ^{**}	0.427 08 ^{***} /0.875 00 ^{***}	0.494 99 ^{***} /0.933 33 ^{***}	0.353 74 ^{***} / 0.825 00 ^{***}		72.386 3
东大西洋 EA	0.489 81 ^{***} /1.000 00 ^{***}	0.343 72 ^{***} /0.975 00 ^{***}	0.426 47 ^{***} /0.516 67 ^{***}	0.510 05 ^{***} /0.950 00 ^{***}	0.354 60 ^{***} /0.900 00 ^{***}	0.006 86 ^{ns} /0.600 00 ^{ns}	

注: 基因流数据位于对角线右上方; ns, not significant; *, 0.01 < P < 0.05; **, 0.001 < P < 0.01; ***, P < 0.001。

Notes: N_m are above the diagonal; ns, not significant; *, 0.01 < P < 0.05; **, 0.001 < P < 0.01; ***, P < 0.001.

2.3 群体扩张模型分析/群体大小分析 (demographic patterns)/群口分析

对以黄鳍金枪鱼控制区序列为根构建的大眼金枪鱼聚类树(图 2-b)3 个聚类群依照来源群体进行统计, 结果表明, 中期群包含了群体序列的大部分(49 条), 早晚群所含序列数目接近(20 和 17 条)。早期群主要由太平洋和东印度洋群体序列组成, 随后依次为南海、西印度洋、大西洋; 中期群主要由比重增加明显的南海和西印度洋群体序列组成; 晚期则完全由大西洋组成。体现出大眼金枪鱼群体起源扩散的大体时序先后为: 太平洋/东印度洋、西印度洋/南海、大西洋(表 5)。分子方

差分析表明, 大眼金枪鱼群体内分化所占比重大于群体间或群间, 群体分化潜力大, 而 F_{ST} 的显著性在中期群较早期有所增加, 暗示大眼金枪鱼在扩散过程中群体间分化有逐渐加强的趋势(表 6)。

两种金枪鱼的群体增长均服从 growth-decline model, 黄鳍金枪鱼的整个群体以及南海群体分布图为单峰(unimodal), 而大眼金枪鱼均表现为双峰(bimodal), 反映出两物种都经历了明显的群体扩张过程, 验证了大眼金枪鱼的整个群体和南海群体存在分化(图 3)。

表 5 组成大眼金枪鱼三个聚类群的序列样本的来源和分布

Tab. 5 The source and distribution of sequences in three bigeye tuna groups

	南海 SCS	西太平洋 WP	东太平洋 EP	西印度洋 WI	东印度洋 EI	西大西洋 WA	东大西洋 IA	加权(总计) weight(total)
早期群 early group	0.15(3)	0.50(5)	0.50(5)	0.10(1)	0.40(4)	0.00(0)	0.20(2)	1.85(20)
中期群 medium group	0.85(23)	0.50(5)	0.50(5)	0.90(9)	0.60(6)	0.10(1)	0.00(0)	3.45(49)
晚期群 late group	0.00(0)	0.00(0)	0.00(0)	0.00(0)	0.00(0)	0.90(9)	0.80(8)	1.70(17)
总计 total	1.00(26)	1.00(10)	1.00(10)	1.00(10)	1.00(10)	1.00(10)	1.00(10)	7.00(86)

表 6 基于控制区部分序列的大眼金枪鱼群体聚类群遗传结构的分子方差分析
 Tab. 6 AMOVA analysis of genetic structure of bigeye tuna populations based on mitochondrial control region sequence data

被检验的群体结构 tested structures	分子方差 variance	占百分比 %	分化指数 F_{ST}	显著性 P
所有序列(南海、太平洋、印度洋和大西洋共 4 个群体所有序列, $n = 86$) all samples (All sequences of SCS, Pacific, Indian and Atlantic populations, $n = 86$)				
群体间 among population	9.467 40	41.30	$F_{ST}^{***} = 0.413 04$	<0.001
群体内 within population	13.453 89	58.70		
早期群(4 个群体部分序列, $n = 21$) early group (Partial sequences of all 4 populations, $n = 21$)				
群体间 among populations	5.383 27	25.77	$F_{ST}^{**} = 0.257 73$	<0.010
群体内 within populations	15.504 17	74.23		
中期群(南海、太平洋、大西洋共 4 个群体部分序列, $n = 48$) medium group (Partial sequences of all 4 populations, $n = 48$)				
群体间 among populations	6.002 71	31.10	$F_{ST}^{***} = 0.311 00$	<0.001
群体内 within populations	13.298 39	68.90		
晚期群(大西洋群体部分序列, $n = 17$) late group (Partial sequences of Atlantic populations, $n = 17$)				
群体内 within populations		100.00	—	—
早、中、晚期群(依 3 个聚类群归类的所有序列, $n = 86$) early, medium and late groups (All sequences grouped in 3 groups, $n = 86$)				
群间 among groups	5.770 53	24.07	$F_{CT}^* = 0.240 66$	=0.023
群内群体间 within groups	6.133 75	25.58	$F_{SC}^{***} = 0.336 88$	<0.001
群体内 within populations	12.073 65	50.35	$F_{ST}^{***} = 0.496 47$	<0.001

Notes: ns, not significant; *, $0.01 < P < 0.05$; **, $0.001 < P < 0.01$; ***, $P < 0.001$.

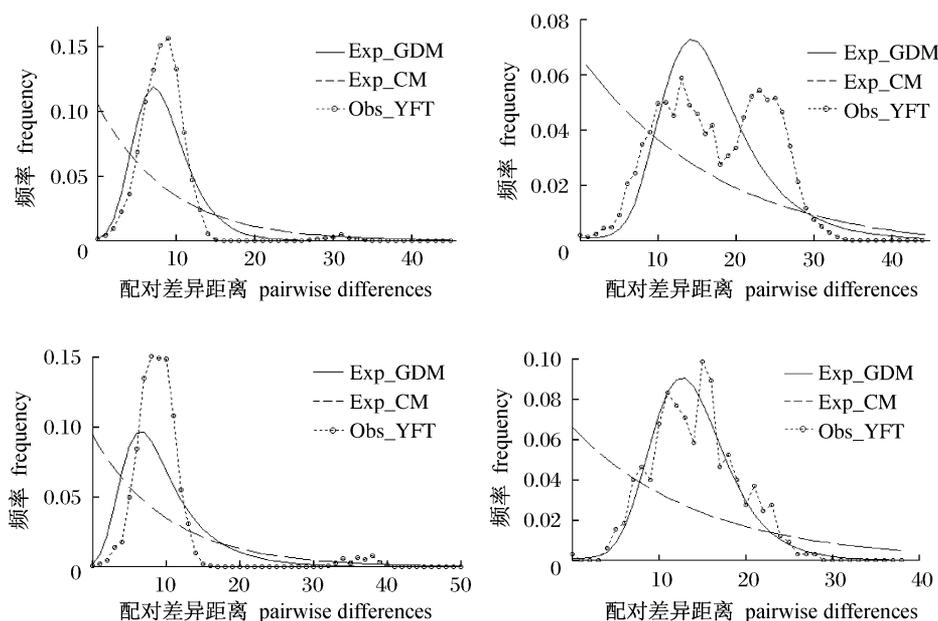


图 3 黄鳍金枪鱼和大眼金枪鱼群体线粒体控制区序列 mismatch 分布分析

Exp_GDM, growth-decline model 期望值; Exp_CM, constant model 期望值; Obs_total, 全部序列的观测值; Obs_YFT 和 Obs_BET, 黄鳍和大眼金枪鱼序列的观测值; Obs_YFT_SCS 和 Obs_BET_SCS, 黄鳍金枪鱼和大眼金枪鱼南海群体序列的观测值。

Fig. 3 Mismatch distribution for all pairwise combinations of mitochondrial control region data sets of yellowfin tuna and bigeye tuna

Exp_GDM, expected growth-decline model; Exp_CM, expected constant model; Obs_total, observed value by the entire data set; Obs_YFT or Obs_YFT, observed value by the yellowfin tuna or bigeye tuna data set; Obs_YFT_SCS and Obs_YFT_SCS, observed values by the data set of yellowfin tuna or bigeye tuna in SCS.

中性检测结果显示,较为保守的 Tajima D 仅支持大眼金枪鱼中期群体显著偏离中性平衡(表7)。除大眼金枪鱼早期群外,黄鳍金枪鱼和大眼金枪鱼群体的 Fu's F_s 的 P 值均显著偏离中性。另外, Harpending 不均匀系数(Harpending's raggedness index, H_{ri}) 值和总体方差(SSD)值都

较低,均支持两种金枪鱼群体整体以及中、后期群体经历了选择或扩张过程。

扩散前、后的母系有效种群大小估计值 θ_0 和 θ_1 更为具体的表明,除了大眼金枪鱼的南海群体明显较大外,其他各群体间的扩张倍数无特别明显的差异。

表7 基于黄鳍和大眼金枪鱼群体控制区序列不同集群的中性检测、群口参数估计
Tab.7 Statistical tests of neutrality, and demographic parameters estimates for yellowfin tuna and bigeye tuna mitochondrial control region data sets

集群 data set	中性检测 goodness of fit tests		群口参数 demographic parameters					
	Tajima D	Fu's F_s	不规则系数 H_{ri}	总体方差 SSD	置换位点 数目 S	扩散前母系有 效种群大小 θ_0	扩散后母系有 效种群大小 θ_1	扩张时间 T_{au}
黄鳍金枪鱼 (<i>T. albacares</i>)								
all samples	-1.336 ^{ns}	-24.419 ^{***}	0.000 87	0.003 64	87	15.129	100.453	73.697
南海 SCS	-1.578 [*]	-24.111 ^{***}	0.002 32	0.003 04	87	9.703	85.898	19.209
大眼金枪鱼 (<i>T. obesus</i>)								
all samples	-0.465 ^{ns}	-24.147 ^{**}	0.000 88	0.001 48	116	10.865	110.320	41.1
南海 SCS	-0.911 ^{ns}	-8.345 ^{**}	0.005 73	0.005 35	73	14.752	99 999.000	7.902
早期群 EG	0.151 ^{ns}	-1.142 ^{ns}	0.021 99	0.011 92	61	0.000	119.275	47.117
中期群 MG	-1.479 ^{ns}	-15.561 ^{**}	0.001 91	0.002 57	94	11.714	89.106	32.113
晚期群 LG	-0.688 ^{ns}	-4.516 [*]	0.019 79	0.017 03	37	5.252	213.438	5.199

Notes: ns, not significant; *, $0.01 < P < 0.05$; **, $0.001 < P < 0.01$; ***, $P < 0.001$.

3 讨论

本研究获取了南海西侧(110~112°E)西沙(15°N)和南沙(11~12°N)附近海域的黄鳍金枪鱼和大眼金枪鱼的成、幼鱼(表1),一定程度上印证了我国早期基于中西沙研究结论——大眼金枪鱼和黄鳍金枪鱼在南海海域存在独立的繁殖场。通过测定线粒体控制区部分序列,综合 GenBank 数据库中已有的其他海域群体样本同源序列进行的分析,本文对两种金枪鱼的种间、种内群体间和各群体内部的特性有了较为深入的认识。

3.1 黄鳍金枪鱼与大眼金枪鱼的群体分化程度存在明显差异

与鲭科鱼类的 (*Scomber japonicus*)^[22] 等相似,黄鳍金枪鱼与大眼金枪鱼都具有大洋性鱼类种内核苷酸多样性高的特征^[11,13]。本研究中极高的单倍型多样性($H_d > 99\%$)的结果再次验证了此结论的正确性。

本研究通过定量和定性两方面的比较也证实了大眼金枪鱼的群体分化程度显著高于黄鳍金枪鱼,大眼金枪鱼存在明显分化的大西洋聚类群^[11,13]。首先从量化数值方面,与黄鳍金枪鱼相

比,大眼金枪鱼整体平均差异数 k 和相应的核苷酸多样性指数 π (表2)、 S_m ($P < 0.001$)以及 F_{ST} (表3)都明显大,而基因流(N_m ,表3)明显要小。从直观定性方面,序列聚类(图2)显示大眼金枪鱼的大西洋群体明显聚为一支而黄鳍金枪鱼则未见明显有规律的分化集群;大眼金枪鱼的整体 mismatch 分布图(图3)呈现双峰,支持其群体分化,而黄鳍金枪鱼与 Wu 等^[13] 研究结果基本一致,均为单峰,体现出全球黄鳍金枪鱼是一个缺乏分化的大群体。

至于产生种间分化程度的差异的原因,研究结合渔业生物学特性分析推测,可能是由于黄鳍金枪鱼不耐低氧、分布水层浅(250 m 以上),更喜随洋流快速游动,因而受大洋表层流输送扩散范围比大眼金枪鱼更广。

3.2 南海金枪鱼群体与印度洋和太平洋群体的交流

众所周知,在地理划分上,两大洋交汇处的南海海区属于太平洋;然而从动物区系来看,南海以印度洋-西太平洋为主体^[23]。本研究揭示出黄鳍金枪鱼和大眼金枪鱼的南海西侧群体均与印度洋群体的基因流最高、分化指数最低(表3),太

平洋次之;大眼金枪鱼的南海西侧群体与东太平洋分化明显(表 4, $F_{ST} = 0.040\ 12^{***}$, $S_{im} = 0.763\ 89^*$),这种现象与洋流关系密切。

夏季,南海盛行西南季风,来自爪哇海和印度洋的海水,经越南外海向东北流动,至台湾岛南部以南,其主流流入黑潮,另一分支经台湾海峡流入东海^[22]。张仁斋^[3]综合已有研究指出:“在中沙、西沙群岛附近有黄鳍金枪鱼明显集中的产卵场,主要出现期为4—8月,而此期间正值西南季风吹制南海的时期,表面流主要是由西南向东北的风海流,各种金枪鱼仔鱼随着海流漂移到各分布区。”此时,印度洋的大量繁殖群体可能涌入南海岛礁区产卵繁殖。

冬季,南海季风转为东北,源于菲律宾东南的黑潮暖水很少部分和东海沿岸水的一部分分别从巴士海峡、台湾海峡进入南海。张鹏等^[23]研究指出:“金枪鱼每年8—10月间洄游进入南海,翌年6—8月间淡出。吕宋海峡及南海与苏禄海相连的海峡是鱼群出入南海的主要通道,每年洄游进入南海的金枪鱼资源量存在差异。”

根据研究结果可以推测,我们有理由假设:南海作为连接印度洋和太平洋的枢纽,其不同区域(如东、西侧)在不同季节由于季风主导的海流等的周期变换,与印度洋、太平洋间金枪鱼群体的交流和相应基因流可能存在周期性波动。

另外,由于夏季季风漂流不断将南海南部的海水向北输送,造成南部失水,海平面下降;北部增水,海平面升高。结果导致部分沿越南沿岸向东北流去的漂流约在北纬 11° 处反转向西南倒流,以补充南部的失水,并与西侧的漂流构成一个顺时针的水平环流^[22]。此海域正是本研究样本主要捕捞区域,表明季风环流对于南海金枪鱼渔场形成有重要意义。

3.3 金枪鱼群体扩张及其次序

Rogers 等^[19]发展的 Mismatch 分布分析是利用线粒体 D-loop 等数据分析群体尺度变动史的工具^[18],推断主要的一次人类扩张过程发生距今 10 万年第四纪晚期($T_{au} = 4 - 9$),扩张前的可育女性人数约 7 000 人($\theta_0 = 10$)。已有的研究表明,金枪鱼所反映出来扩张历程与大洋的形成、冰期等存在密切联系^[24]。Martínez 等^[11]将其用于推算大西洋大眼金枪鱼的 $T_{au} = 7 \sim 11$,根据线粒体核苷酸突变率 $\mu = 1.1 \times 10^{-7}$ 推算扩张事件大

约发生于 1 百万年前。本研究结果支持其研究结果,表明黄鳍金枪鱼和大眼金枪鱼都经历过一个明显的扩张过程(表 7)。黄鳍金枪鱼的 $T_{au} = 73.697$ 比大眼金枪鱼($T_{au} = 41.1$)大许多,但扩张规模方面,黄鳍金枪鱼($\theta_1/\theta_0 = 100.453/15.129$)则小于大眼金枪鱼($\theta_1/\theta_0 = 110.320/10.865$)。这可能因为大眼金枪鱼分化程度较高,近期发生过较强海域隔离群体间交流和扩张,空间方面的大体次序为太平洋—印度洋—大西洋(表 5)。在时间上与本文聚类图 2 的次序一致,大眼金枪鱼不同聚类群的 T_{au} 值大小为早期群 > 中期群 > 晚期大西洋群。

大眼金枪鱼的南海群体扩张也可从隔离再交流加以解释。该群体扩张发生的时期($T_{au} = 7.902$)与大西洋群接近,扩张最为明显($\theta_1/\theta_0 = 99\ 999/14.752$)。南海海区在第四纪时期(约 2.6 Ma 至今),海平面升降频繁,巽他陆架曾一度暴露空中,古巽他河流发育,隔断了南海与爪哇海、印度洋的水体交换^[25],从而阻断金枪鱼,尤其是深水性的大眼金枪鱼的印度洋与南海群体的交流。最终,等到印度洋群体大量补充后发生显著扩张。

如今,近海渔业衰退、北部湾划界等因素促使南海金枪鱼捕捞成为从事传统渔场作业渔民转型的良好选择,不但能带动加工、贸易等相关产业发展,而且具有显著的潜在经济、社会和生态效益。现在各相关渔业委员会监测公海的资源状况和捕捞能力,资源养护和管理措施的必要性日趋凸显,本研究有望为南海资源的管理、养护等提供新的思路。

参考文献:

- [1] 苏纪兰. 南海环境与资源基础研究前瞻[M]. 海洋出版社,2001:1-7.
- [2] 陈真然,魏淑珍. 南海中部海域金枪鱼类仔稚鱼的分布[J]. 水产学报,1981,4(1):41-47.
- [3] 张仁斋. 三种金枪鱼类(鲣、黄鳍金枪鱼、扁舵鲣)的仔、稚鱼在南海的分布和产卵期[J]. 海洋学报,1983,5(3):368-375.
- [4] 陈炎,陈丕茂. 南沙群岛金枪鱼资源初探[J]. 远洋渔业,2000(002):7-10.
- [5] Hoang T. Ocean tuna fishing and marketing in Viet Nam[J]. Vietfish,2009,6(1):56-59.
- [6] Report of the first Vietnam tuna fishery data collection workshop (VTFDC-1) [R]. Pohnpei,

- Federated States of Micronesia; Western and Central Pacific Fisheries Commission, 2010.
- [7] 卢伙胜, 颜云榕, 冯波, 等. 2011年上半年南海鸚乌贼和金枪鱼类生产速报[R]. 湛江: 广东海洋大学南海渔业资源监测与评估中心, 2011.
- [8] 王定, 苏永全, 毛勇, 等. 蓝鳍金枪鱼和黄鳍金枪鱼遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2009, 48(6): 890-894.
- [9] 邱凡, 苏永全, 傅蒙娜, 等. 太平洋蓝鳍金枪鱼野生群体遗传多样性的初步研究[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2008, 47(4): 585-590.
- [10] Gonzalez E G, Beerli P, Zardoya R. Genetic structuring and migration patterns of Atlantic bigeye tuna, *Thunnus obesus* (Lowe, 1839) [J]. BMC Evolutionary Biology, 2008, 8: 252.
- [11] Martínez P, González E G, Castilho R, et al. Genetic diversity and historical demography of Atlantic bigeye tuna (*Thunnus obesus*) [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2006, 39(2): 404-416.
- [12] Chiang H C, Hsu C C, Lin H D, et al. Population structure of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) in the South China Sea, Philippine Sea and western Pacific Ocean inferred from mitochondrial DNA [J]. Fisheries Research, 2006, 79(1-2): 219-225.
- [13] Wu G C C, Chiang H C, Chou Y W, et al. Phylogeography of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the Western Pacific and the Western Indian Oceans inferred from mitochondrial DNA [J]. Fisheries Research, 2010, 105(3): 248-253.
- [14] 卢圣栋. 现代分子生物学实验技术[M]. 2版. 北京: 中国协和医科大学出版社, 1999: 61.
- [15] Bremer J R A, Mejuto J, Greig T W, et al. Global population structure of the swordfish (*Xiphias gladius* L.) as revealed by analysis of the mitochondrial DNA control region [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1996, 197(2): 295-310.
- [16] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. Bioinformatics, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [17] Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. Molecular Biology and Evolution, 2011, 28: 2731-2739.
- [18] 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.
- [19] Rogers A R. Genetic Evidence for a Pleistocene Population Explosion [J]. Evolution, 1995, 49(4): 608-615.
- [20] Zardoya R, Castilho R, Grande C, et al. Differential population structuring of two closely related fish species, the mackerel (*Scomber scombrus*) and the chub mackerel (*Scomber japonicus*), in the Mediterranean Sea [J]. Molecular Ecology, 2004, 13(7): 1785-1798.
- [21] 马彩华, 游奎, 李凤岐, 等. 南海鱼类生物多样性与区系分布[J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2006, 36(4): 665-670.
- [22] 苏纪兰. 中国近海水文[M]. 北京: 海洋出版社, 2005.
- [23] 张鹏, 杨吝, 张旭丰, 等. 南海金枪鱼和鸚乌贼资源开发现状及前景[J]. 南方水产, 2010, 6(1): 68-74.
- [24] Alvarado Bremer J R, Vinas J, Mejuto J, et al. Comparative phylogeography of Atlantic bluefin tuna and swordfish: the combined effects of vicariance, secondary contact, introgression, and population expansion on the regional phylogenies of two highly migratory pelagic fishes [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2005, 36(1): 169-187.
- [25] 冉莉华, 蒋辉. 南海某些表层沉积硅藻的分布及其古环境意义[J]. 微体古生物学报, 2005(1): 97-106.

Population genetics of tunas in South China Sea inferred from control regions

WANG Zhong-duo¹, GUO Yu-song¹, YAN Yun-rong^{1,2}, HOU Gang^{1,2},
FAN Yan-bo¹, FENG Bo^{1,2}, LU Huo-sheng^{1,2}, LIU Chu-wu^{1*}

(1. Key Laboratory of Aquaculture in South China Sea for Aquatic Economic Animal of Guangdong Higher
Education Institutes, Fisheries College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China;

2. Center of South China Sea Fisheries Resources Monitoring and Assessment,
Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: The South China Sea (SCS) surrounded by the first island chain is a semi-enclosed sea linking the Indian Ocean and the Pacific Ocean. The population genetic features of the two most important economic species, yellowfin tuna (YFT, *Thunnus albacares*, 17 adults and 44 juveniles) and big eye tuna (BET, *T. obesus*, 22 adults and 4 juveniles) in SCS (11–12°N, 15°N; 110–112°E), have been analyzed based on the partial mitochondrial D-loop sequences. Our data supported the following conclusions: (1) both species were high nucleotide variation with very high haplotype diversities ($H_d > 99\%$), while the evidence from fixation indexes, and cluster trees showed the population diversity of BET was higher than those of YFT; (2) For BET and YFT, the strongest gene flow between populations in SCS and the Indian Ocean were 51.638 and 261.280 10, then the Pacific by 10.868 8 and -50.801 81, respectively; (3) both species obey the sudden expansion model. Contrasted with the unimodal of YFT, the mismatch distribution of BET, as well as the SCS population, were bimodal. Moreover, the spanning time of SCS population of BET was later inferred from the T_{au} ($= 7.902$) with biggest spanning scale ($\theta_1/\theta_0 = 99\ 999/14.752$). The results should be basic information for fisheries management, fishing quotas determination as well for aquaculture of tuna.

Key words: big eye tuna (*Thunnus obesus*); yellowfin tuna (*Thunnus albacares*); population genetics; D-loop

Corresponding author: LIU Chu-wu. E-mail: Liucw5206@163.com