

文章编号: 1000-0615(2017)09-1355-10

DOI: 10.11964/jfc.20160910527

西北太平洋鳶乌贼种群遗传结构

刘连为^{1,2}, 周永东^{1,2}, 陆化杰³, 刘必林³, 陈新军^{3*}

(1. 浙江省海洋水产研究所, 农业部重点渔场渔业资源科学观测实验站,
浙江省海洋渔业资源可持续利用技术研究重点实验室, 浙江 舟山 316021;

2. 浙江海洋大学海洋与渔业研究所, 浙江 舟山 316022;

3. 上海海洋大学海洋科学学院, 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: 为检测西北太平洋鳶乌贼种群遗传结构, 采用线粒体DNA细胞色素*b*基因(*Cytb*)序列分析方法对鳶乌贼东海群体、南海群体与菲律宾海群体进行遗传变异分析。结果显示, ①所有群体总的单倍型多样性与核苷酸多样性分别为 0.982 ± 0.006 、 0.012 ± 0.006 ; 菲律宾海群体对应的遗传多样性均最高, 分别为 0.973 ± 0.014 、 0.015 ± 0.008 ; 南海群体与东海群体的单倍型多样性分别为 0.959 ± 0.026 、 0.943 ± 0.031 , 核苷酸多样性均为 0.006 ± 0.003 。3个地理群体均具有较高的遗传多样性水平。②分子方差分析结果显示, 34.6%的遗传变异来自于群体间, 群体间遗传分化极显著。两两群体间 F_{st} 分析表明, 西北太平洋鳶乌贼群体间均具有极显著的遗传分化。构建的单倍型邻接系统树和最小跨度树显示, 西北太平洋鳶乌贼群体存在明显的系统发育谱系结构(谱系A、B、C), 3个谱系单倍型类群间也存在极显著的遗传分化($F_{st}=0.735\sim 0.805$)。③中性检验和核苷酸不配对分析结果均表明, 谱系B可能经历过近期群体扩张事件, 发生群体扩张的时间在10.3~12.5万年前。综合分析认为, 西北太平洋鳶乌贼的种群遗传结构模式及系统发育地理格局模式是由其栖息地海洋环境与更新世气候变化共同塑造的。建议在渔业管理上将3个地理群体划分为3个独立的管理单元。

关键词: 鳶乌贼; 种群遗传结构; 细胞色素*b*基因; 西北太平洋

中图分类号: Q 347; S 917.4

文献标志码: A

鳶乌贼(*Sthenoteuthis oualaniensis*)属于软体动物门(Mollusca), 头足纲(Cephalopoda), 枪形目(Idiosepiida), 柔鱼科(Ommastrephidae), 鳶乌贼属, 为大洋性柔鱼类。鳶乌贼广泛分布于印度洋、太平洋赤道及亚热带海域^[1]。在西北太平洋, 南海的鳶乌贼资源量较大, 调查表明, 南海中部和南部的资源量分别达36.7和15.0万t^[2]。此外, 琉球群岛渔场与台湾西南渔场是鳶乌贼在该海域的主要渔场^[1]。2014年, 我国鱿钓船首次在菲律宾海开展鳶乌贼探捕调查, 掌握了其生物学特征及资源状况。近年来, 针对鳶乌贼的渔业生物学^[3]、营养级变化^[4]、受精卵磷脂类

组成分析^[5]、摄食与繁殖生物学^[6]、声学研究及其在资源评估上的应用^[7-8]、角质颚生长模式^[9]、微量元素累积及其在组织中分布情况^[10]等方面研究工作已经开展, 而鳶乌贼的种群遗传结构研究进展较慢, 且样本采集范围主要集中在南海^[11-12]。

西北太平洋是鳶乌贼的主要栖息地, 该海域分布着一系列边缘海, 在更新世冰期—间冰期剧烈的气候变化下, 加之存在的复杂洋流模式及海洋生物自身生活史特征, 使得西北太平洋存在不同的种群遗传结构模式及系统发育地理格局模式^[13-14]。本实验采用线粒体DNA (mtDNA)

收稿日期: 2016-09-05 修回日期: 2017-02-07

资助项目: 大洋渔业资源可持续开发省部共建教育部重点实验室开放基金(A-0209-15-0503-10)

通信作者: 陈新军, E-mail: xjchen@shou.edu.cn

细胞色素**b**基因(*Cytb*)序列测定方法来检测西北太平洋(东海、南海、菲律宾海)鳶乌贼的种群遗传结构, 以期为鳶乌贼渔业资源可持续利用及管理提供科学依据。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

实验材料分别采集于南海(116°08'E, 15°05'N)、东海(126°47'E, 26°38'N)、菲律宾海(123°56'E, 21°17'N), 各海域采样时间及样本数量见表1。样本存放于船舱冷库中, -20℃运输至实验室, 剪取鳍端肌肉置于无水乙醇中, 以备基因组DNA提取。

表1 鳶乌贼样本采集信息

Tab. 1 Sampling information of *S. oualaniensis*

海域 sea area	采样地点 sampling location	采样时间 sampling date	样本数量/尾 sample size
南海 South China Sea	116°08'E, 15°05'N	2015-05-12	34
东海 East China Sea	126°47'E, 26°38'N	2015-11-15	34
菲律宾海 Philippine Sea	123°56'E, 21°17'N	2014-04-20	37

1.2 基因组DNA提取

采用Genomic DNA Isolation Kit (福际生物技术有限公司)提取鳶乌贼基因组DNA, 用1.2%琼脂糖凝胶电泳检测获得的DNA质量, 紫外分光光度计检测DNA浓度。

1.3 PCR扩增与amp;序列测定

根据GenBank中已提交的鳶乌贼mtDNA *Cytb*序列自行设计PCR扩增引物, 引物序列为 *Cytb*F: GAACCTCGACAMCCACCAACATG; *Cytb*R: GCTCTTGATAGATTTACCACCTGCTCC。PCR反应总体积为25 μL, 其中10×PCR Buffer 2.5 μL、dNTP (各2.5 mmol/L)2 μL、*Taq* DNA polymerase (5 U/μL)0.2 μL、上下游引物(10 μmol/L)各0.6 μL、DNA模板2 μL (20 ng), 剩余体积用ddH₂O补足。PCR扩增反应程序为94℃预变性3 min; 94℃变性30 s, 56℃退火45 s, 72℃延伸45 s, 35个循环; 72℃最后延伸2 min。PCR产物经1.2%琼脂糖凝胶电泳分离, 琼脂糖凝胶纯化回收试剂盒(宁波市镇海航景生物科技有限公司)纯化后送至上海杰李生物技术有限公司进行双向测序。

1.4 数据分析

测序结果使用BioEdit软件进行人工校对, 序列整理后采用DnaSP 4.10软件计算单倍型数(单倍型分布情况)、单倍型多样性(*h*)、核苷酸多样性(π)。采用MEGA 6.0软件构建单倍型NJ (Neighbor-Joining)系统发育进化树, 系统树中节点的自举置信水平应用Bootstrap (重复次数1000, 分节点分支支持率小于50%的省略)估计。同时, 构建最小跨度树来反映不同单倍型之间的连接关系, 单倍型间核苷酸差异数由Arlequin 3.01软件计算。利用Arlequin 3.01软件中AMOVA (Analysis of Molecular Variance)分析来检测鳶乌贼的种群遗传结构, 并计算群体间遗传分化系数(*F*-statistics, F_{st})及其显著性。采用*Tajima's D*与*Fu's Fs*中性检验和核苷酸不配对分布检测群体历史动态。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, 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*的核苷酸分歧速率应用2.15%/百万年~2.60%/百万年表示^[15]。

2 结果

2.1 序列分析

对测序结果进行校对和排序后获得896 bp *Cytb*片段, 共包含63个变异位点, 其中多态简约位点51个。转换和颠换分别为61和3个, 无插入和缺失。A、T、G、C碱基的平均含量分别为43.05%、22.83%、13.78%、20.34%, A+T含量(65.88%)明显高于G+C含量(34.12%)。所有分析序列共定义72个单倍型, 单倍型H18、H20、H23、H25、H26为南海群体与东海群体共有, 未发现3个群体共有单倍型。各群体特有单倍型除单倍型H1、H22、H47、H55、H56、H61外出现的频率较低, 仅为群体中一个个体所拥有(表2)。

2.2 群体遗传多样性

基于*Cytb*序列获得群体遗传多样性(单倍型多样性与核苷酸多样性), 所有群体总的单倍型多样性与核苷酸多样性分别为0.982±0.006、0.012±0.006; 菲律宾海群体对应的遗传多样性均最高, 分别为0.973±0.014、0.015±0.008; 南海群体与东海群体的遗传多样性无显著差异(表3)。

表 2 鳶乌贼 *Cytb* 序列单倍型及其在群体中的分布

Tab. 2 Haplotypes of *Cytb* sequences and their distribution in *S. oualaniensis* populations

单倍型 haplotype	变异位点 variable site	单倍型分布情况 distribution of haplotype			
	111111111222222222223333333333334444444444445555555566666677778 660123456893344567789112456689991122344456701122344624446905881 062168431980906503627254860610261439214732403658468112589026039	NH	DH	FLBH	<i>n</i>
H1	CCTAATAGGAGAACAAGAAAAATAGCCTTGAGAGAAGTCACAAAAGGTCAGCGAAAAGAGAG	7			7
H2C.....GG.....G.....	1			1
H3C.....G•T.....G••A.....G.....G.....	1			1
H4G.....	1			1
H5C.....G.....G.....	1			1
H6C.....G.....G.....A	1			1
H7	••G•C•.....GG.....G.....A.....	1			1
H8C•A•A.....AA•T••G•.....C••T••G••CTG•AA.....G••A	1			1
H9C.....GG.....	1			1
H10A.....G••	1			1
H11C.....G.....A•••G•••A	1			1
H12C.....GG••A•.....	1			1
H13C.....G.....G••A••	1			1
H14	T•••C•.....G•T•.....	1			1
H15	T•.....A•.....	1			1
H16	T•••C•.....G.....A.....G•••A••	1			1
H17	T•.....A•.....G.....	1			1
H18	T•.....	2	8		10
H19	T•••C•.....G.....A.....G.....	1			1
H20	T•••C•.....GG.....	1	3		4
H21	T••G•C•.....G.....G••A.....A.....G.....	1			1
H22	T•••C•.....G.....G.....	2			2
H23	T•••C•.....GG.....C.....	1	2		3
H24	T•••C•.....G.....A.....G•A••	1			1
H25	T•••C•.....G.....G••A.....G.....	1	1		2
H26	T•.....C.....A.....	1	1		2
H27	T•C••C•A•A.....AA•T••G•.....C••T••G••CT•AA.....G••A		1		1
H28	T•••C•.....GG••A•.....A.....C.....		1		1
H29	T•.....G.....G.....		1		1
H30	T•••C•.....GG.....A.....A.....		1		1
H31	T•••C•.....G.....		1		1
H32	T•••C•.....GG.....G.....		1		1
H33	T•.....A.....A.....		1		1
H34	T•••C•.....GG.....A.....		1		1
H35	T•.....G.....		1		1
H36	T•.....G.....		1		1

表3 鳶乌贼各群体遗传多样性指数及其在系统发育谱系A、B、C中个体数

Tab. 3 Genetic diversity index of *S. oualaniensis* and the number of individuals for the phylogenetic lineages A, B and C in different populations

群体 population	样本数量 /尾 sample size	单倍型数 no. of haplotype	单倍型多样性 haplotype diversity	核苷酸多样性 nucleotide diversity	谱系A中个体数/尾 (百分比/%) no. of individuals in lineage A (percentage/%)	谱系B中个体数/尾 (百分比/%) no. of individuals in lineage B (percentage/%)	谱系C中个体数/尾 (百分比/%) no. of individuals in lineage C (percentage/%)
南海 South China Sea	34	26	0.959±0.026	0.006±0.003	1(2.9%)	33(97.1%)	0(0.0%)
东海 East China Sea	34	24	0.943±0.031	0.006±0.003	2(5.9%)	32(94.1%)	0(0.0%)
菲律宾海 Philippine Sea	37	27	0.973±0.014	0.015±0.008	20(54.1%)	10(27.0%)	7(18.9%)
总计 total	105	72	0.982±0.006	0.012±0.006	23(21.9%)	75(71.4%)	7(6.7%)

2.3 种群遗传结构

AMOVA分析结果显示, 34.6%的遗传变异来自于群体间, 群体间遗传分化极显著($P<0.01$), 西北太平洋鳶乌贼具有显著的遗传结构(表4)。两两群体间 F_{st} 分析表明, 西北太平洋鳶乌贼群体间均具有极显著的遗传分化($P<0.01$)(表5)。

基于*Cytb*序列构建的单倍型NJ系统树和最小跨度树显示, 西北太平洋鳶乌贼群体存在明显的系统发育谱系结构(谱系A、B、C)(图1, 图2)。谱系A是菲律宾海群体的主体单倍型类群, 同时, 谱系A也包括南海和东海群体单倍型类群, 南海和东海群体在谱系A内频率分别为2.9%、5.9%; 谱系B是南海和东海群体的主体单倍型类群, 同时, 谱系B也包括菲律宾海群体单倍型类群, 菲律宾海群体在谱系B内的频率为27.0%;

谱系C仅包括菲律宾海群体单倍型类群, 菲律宾海群体在谱系C内的频率为18.9%(表3)。鳶乌贼3个谱系单倍型类群组成在空间上的分布频率存在显著差异, AMOVA及两两单倍型类群间 F_{st} 分析结果表明, 3个谱系单倍型类群间也存在极显著的遗传分化($F_{st}=0.735\sim 0.805$, $P<0.01$)。

2.4 群体历史动态

*Tajima's D*与*Fu's Fs*中性检验*D*值和*Fs*值均为负, 且统计检验都是显著的, 说明群体近期可能经历过历史扩张事件。结果显示, 仅谱系B中性检验满足此条件(表6)。对谱系B*Cytb*序列进行核苷酸不配对分布分析, 其核苷酸不配对分布图呈单峰类型(图3), 且基于观测值和模拟值的拟合度检验, 显示观测值没有偏离模拟值

表4 基于*Cytb*序列的鳶乌贼群体AMOVA分析Tab. 4 AMOVA analysis of *S. oualaniensis* populations based on *Cytb* sequences

变异来源 source of variation	自由度 df	平方和 sum of squares	变异组分 variance components	变异百分比/% percentage of variation	F_{st}
群体间 among populations	2	158.074	2.144Va	34.57	0.346($P<0.01$)
群体内 within populations	102	413.850	4.057Vb	65.43	
总计 total	104	571.924	6.201		

注: Va. 群体间方差组分; Vb. 群体内方差组分

Notes: Va. variance component among populations; Vb. variance component within populations

表5 基于*Cytb*序列的鳶乌贼群体间遗传分化系数(F_{st})分析Tab. 5 F-statistics (F_{st}) analysis among populations of *S. oualaniensis* based on *Cytb* sequences

群体 population	南海 South China Sea	东海 East China Sea	菲律宾海 Philippine Sea
南海 South China Sea			
东海 East China Sea	0.054($P<0.01$)		
菲律宾海 Philippine Sea	0.406($P<0.01$)	0.378($P<0.01$)	

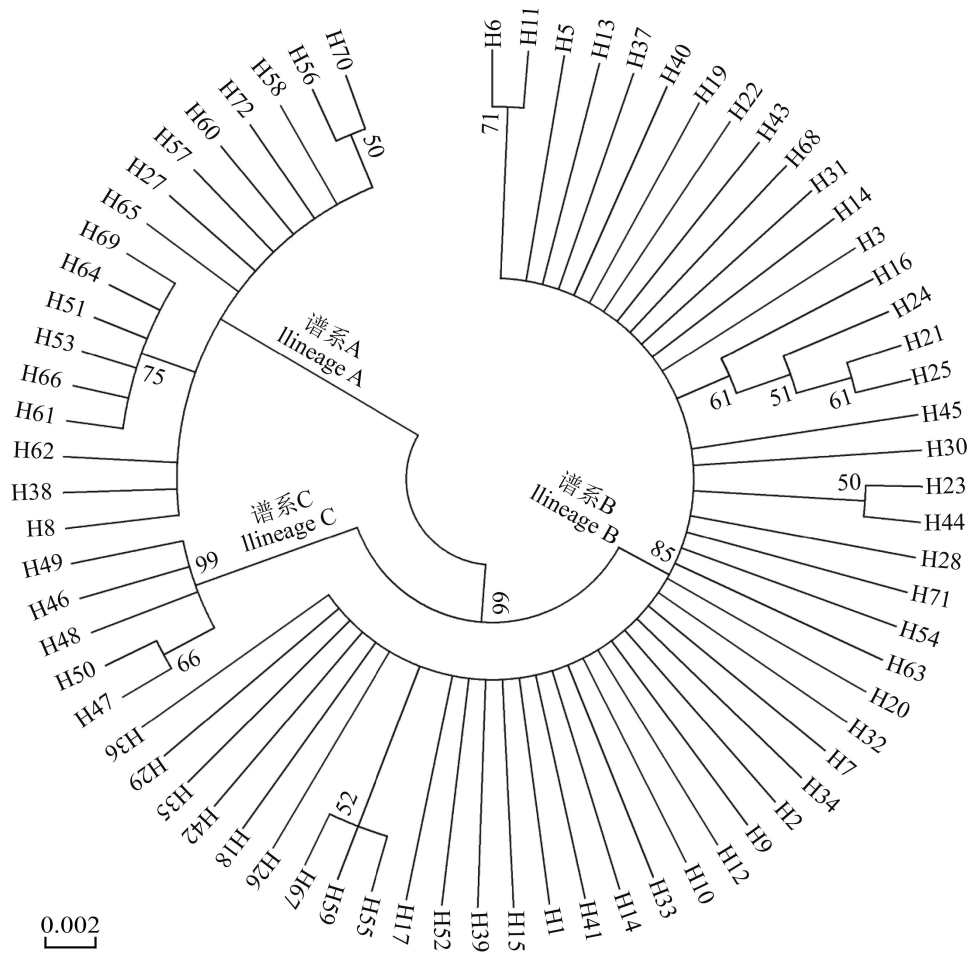


图 1 基于 *Cytb* 序列构建的鸢乌贼单倍型分子系统树

Fig. 1 Molecular phylogenetic tree of *S. oualeniensis* based on *Cytb* sequences

($H_{ri}=0.015$, $P>0.05$)。以上结果表明, 谱系B可能经历过群体扩张。核苷酸分歧速率应用2.15%/百万年~2.60%/百万年, 基于核苷酸不配对分布得到的 τ 值为4.799, 计算得到鸢乌贼谱系B发生群体扩张的时间为10.3~12.5万年前。

3 讨论

3.1 群体遗传多样性

*Cytb*分子标记由于进化速率适中, 适用于种群及种间水平遗传多样性的检测, 已广泛应用于大洋性柔鱼类群体遗传学中^[16-17]。此外, *Cytb*的核苷酸分歧速率常被用来估算种群扩张时间及种间分化年代^[18]。基于此分子标记, 作者检测到鸢乌贼3个地理群体均具有较高的单倍型多样性($h>0.5$)和较高的核苷酸多样性($\pi>0.005$)。本研究中鸢乌贼南海群体为中沙群岛东部群体, 李朋^[11]基于微卫星标记检测到该群体具有较高的

遗传多样性水平, 与本研究得出的结论一致; 东海群体为日本那霸外海群体, 其核苷酸多样性与南海群体无明显差异, 但二者核苷酸多样性与菲律宾海群体差异明显。其中的原因可能为东海群体与南海群体的样本组成较单一(均为1个胴长组, 且性腺发育程度一致), 而菲律宾海群体样本组成较复杂(2个胴长组, 且性腺发育程度不一致), 包含2个产卵群体(遗传差异检测不显著)。大洋性柔鱼类的群体遗传学研究早期主要是利用形态学遗传标记, 研究表明, 外部形态特征可作为划分其种群结构的有效方法之一^[19]。但是它们所表现出的差异往往与性别、年龄和生长、性成熟胴长、产卵场位置、产卵季节等相关, 稳定性较低^[20]。因此, 常结合形态学与分子遗传学标记来检测其群体遗传变异。

3.2 种群遗传结构

种群遗传结构属于群体遗传学范畴, 是指

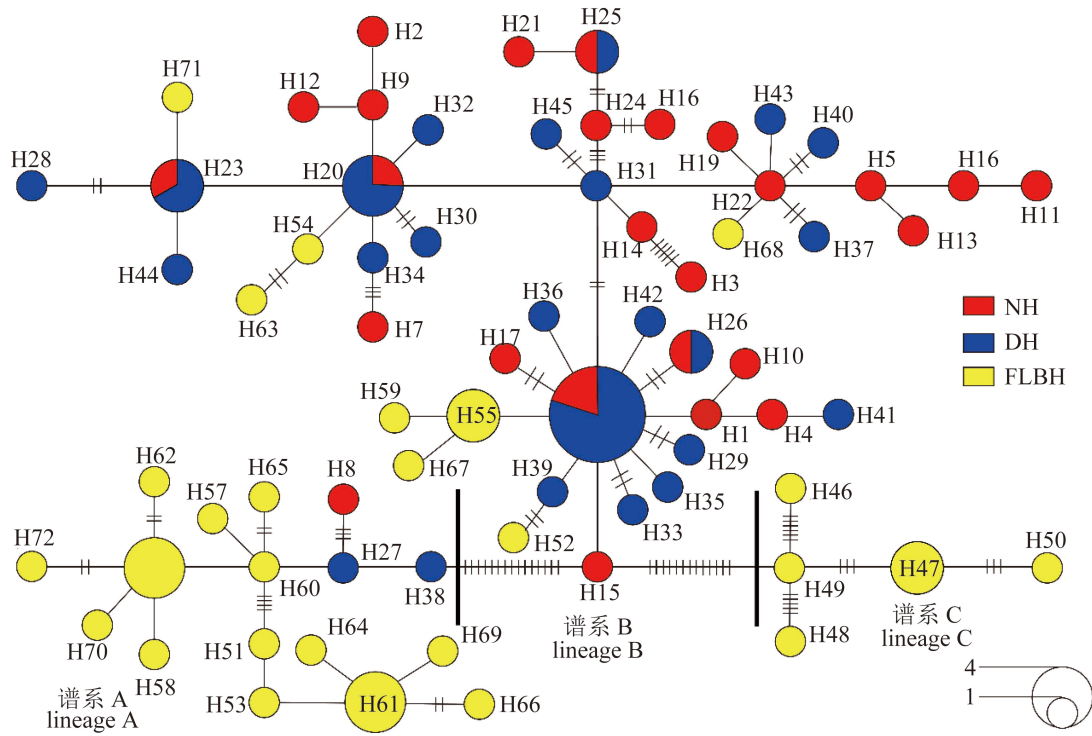


图 2 基于 *Cytb* 序列构建的鳶乌贼单倍型最小跨度树

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

Fig. 2 Reduced median network showing genetic relationship in *S. oualaniensis* based on *Cytb* sequences

Sizes of circles are proportional to haplotype frequency; short lines perpendicular to the lines joining haplotypes represent the number of nucleotide substitutions

表 6 鳶乌贼 *Cytb* 序列的中性检验结果

Tab. 6 Result of neutral tests for natural selection on *Cytb* sequences of *S. oualaniensis*

样本 sample	<i>Tajima's D</i>		<i>Fu's Fs</i>	
	<i>D</i>	<i>P</i>	<i>F_s</i>	<i>P</i>
谱系A lineage A	-0.704	0.281	-25.592	0.000
谱系B lineage B	-1.659	0.022	-25.790	0.000
谱系C lineage C	-0.917	0.209	-3.130	0.024
总计 total	-0.281	0.412	-24.353	0.000

群体间的遗传变异或群体内的遗传多样性在时间上和空间上的分布情况, 侧重于研究种群当前的遗传分化水平和近期的进化历程^[13]。研究表明, 西北太平洋鳶乌贼3个地理群体间遗传分化显著, 这可能与其所栖息的海洋环境相关。其中, 菲律宾海是菲律宾群岛、琉球群岛等围成的海域, 其海流系统主要是黑潮流系和赤道流系。北赤道流受地形影响, 其分支主流(黑潮)北上, 沿菲律宾东岸, 一分支经巴士海峡东口, 在台湾东海岸进入东海(黑潮延伸流), 另

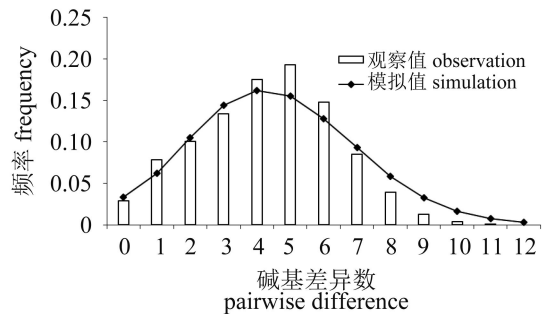


图 3 鳶乌贼谱系B核苷酸不配对分布图

Fig. 3 The mismatch distributions for *Cytb* sequences in the lineage B of *S. oualaniensis*

一分支经巴士海峡, 流向南海^[21]。海流将西北太平洋鳶乌贼隔离在菲律宾海、南海与东海, 使得群体间基因交流受到限制, 群体间遗传分化显著, 从而形成显著的遗传结构。黑潮的存在还使得分布于日本海域与中国东部和南部海域的莱氏拟乌贼(*Sepioteuthis lessoniana*)间的基因交流受到限制, 从而导致其群体间存在显著的遗传变异^[22]。

3.3 系统发育地理格局与群体历史动态

系统发育地理格局与群体历史动态属于分子系统地理学范畴,侧重于对种群历史性的进化特征进行推论。西北太平洋鸢乌贼群体存在明显的系统发育谱系结构,3个谱系单倍型类群间存在显著的遗传分化。根据谱系单倍型类群间净遗传距离及*Cytb*核苷酸分歧速率得出,谱系B与谱系A分化时间为73.1~88.4万年前,谱系B与谱系C分化时间为69.2~83.7万年前,谱系A与谱系C分化时间为50.0~60.5万年前。谱系A是菲律宾海群体的主体单倍型类群,提示谱系A起源于菲律宾海;谱系C仅包括菲律宾海群体单倍型,提示谱系C在菲律宾海被隔离分化;谱系B包括3个地理群体的单倍型类群,两两群体间 F_{st} 分析结果表明,3个地理群体间的遗传分化极显著($F_{st}=0.073\sim 0.229$, $P<0.01$),提示3个地理群体在更新世冰期可能被隔离在边缘海从而导致分化,在更新世冰期发生重新混合。Ravago-Gotanco等^[23]在研究菲律宾群岛海域褐篮子鱼(*Siganus fuscus*)的分子系统地理学时,认为褐篮子鱼的谱系结构与南海、苏禄内海、菲律宾海—西里伯斯海3个边缘海的隔离相关。鸢乌贼这种系统地理格局在西北太平洋其他鱼类中也有报道^[24]。

基于中性检验与核苷酸不配对分布分析,鸢乌贼谱系B可能经历过近期群体扩张,扩张的时间为10.3~12.5万年前。在过去的80万年间,西北太平洋海平面高度大约以10万年为周期发生最大为120~140 m的升降,频繁的冰期—间冰期循环导致许多生物在其范围内经历了明显的收缩和扩张,从而形成现在的系统发育地理格局^[25]。

综上所述,基于线粒体*Cytb*标记检测出西北太平洋鸢乌贼至少存在3个显著分化的地理群体,在渔业管理上应分别将它们划分为管理单元。

参考文献:

- [1] 陈新军,刘必林,王尧耕. 世界头足类[M]. 北京: 海洋出版社, 2009: 312-313.
Chen X J, Liu B L, Wang Y G. Cephalopods of the world[M]. Beijing: Ocean Press, 2009: 312-313 (in Chinese).
- [2] 贾晓平,李永振,李纯厚,等. 南海专属经济区和大陆架渔业生态环境与渔业资源[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 389-391, 394.
Jia X P, Li Y Z, Li C H, et al. Fishery ecological environment and fishery resources in the exclusive economic zone and continental shelf of the South China Sea[M]. Beijing: Science Press, 2004: 389-391, 394 (in Chinese).
- [3] Chen X J, Liu B L, Tian S Q, et al. Fishery biology of purpleback squid, *Sthenoteuthis oualaniensis*, in the northwest Indian Ocean[J]. Fisheries Research, 2007, 83(1): 98-104.
- [4] Parry M. Trophic variation with length in two ommastrephid squids, *Ommastrephes bartramii* and *Sthenoteuthis oualaniensis*[J]. Marine Biology, 2008, 153(3): 249-256.
- [5] Wang Q, Xue C H, Li Z J, et al. Analysis of DHA-rich phospholipids from egg of squid *Sthenoteuthis oualaniensis*[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2008, 21(4): 356-359.
- [6] 张宇美, 颜云榕, 卢伙胜, 等. 西沙群岛海域鸢乌贼摄食与繁殖生物学初步研究[J]. 广东海洋大学学报, 2013, 33(3): 56-64.
Zhang Y M, Yan Y R, Lu H S, et al. Study on feeding and reproduction biology of purple flying squid, *Sthenoteuthis oualaniensis* in the Western South China Sea[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2013, 33(3): 56-64(in Chinese).
- [7] Chen G B, Zhang J, Yu J, et al. Hydroacoustic scattering characteristics and biomass assessment of the purpleback flying squid [*Sthenoteuthis oualaniensis*, (Lesson, 1830)] from the deepwater area of the South China Sea[J]. Journal of Applied Ichthyology, 2013, 29(6): 1447-1452.
- [8] Zhang J, Chen Z Z, Chen G B, et al. Hydroacoustic studies on the commercially important squid *Sthenoteuthis oualaniensis* in the South China Sea[J]. Fisheries Research, 2015, 169: 45-51.
- [9] Fang Z, Xu L L, Chen X J, et al. Beak growth pattern of purpleback flying squid *Sthenoteuthis oualaniensis* in the eastern tropical Pacific equatorial waters[J]. Fisheries Science, 2015, 81(3): 443-452.
- [10] Wu Y Y, Shen Y, Huang H, et al. Trace element accumulation and tissue distribution in the purpleback flying squid *Sthenoteuthis oualaniensis* from the Central and Southern South China Sea[J]. Biological Trace Element Research, 2017, 175(1): 214-222.
- [11] 李朋. 南海鸢乌贼的种群遗传结构[D]. 上海: 上海海洋大学, 2014.
Li P. Population genetic structure of *Sthenoteuthis*

- oualaniensis* in South China Sea[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2014 (in Chinese).
- [12] Lin L, Li C H, Chen Z Z, *et al.* Development and characterization of twenty-three microsatellite markers for the purpleback flying squid (*Symplectoteuthis oualaniensis*)[J]. Conservation Genetics Resources, 2015, 7(1): 161-163.
- [13] 应一平. 斑鳐和青鳞小沙丁鱼的种群遗传结构与分子系统地理学研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.
Ying Y P. Population genetic structure and molecular phylogeography of *Konosirus punctatus* and *Sardinella zunasi*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2011 (in Chinese).
- [14] 宋娜. 西北太平洋两种海洋鱼类的分子系统地理学研究及分子标记在褐牙鲆增殖放流中的应用[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.
Song N. Molecular phylogeography of two marine fishes in Northwestern Pacific and application of molecular marker in fishery stock enhancement of *Paralichthys olivacens*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2011 (in Chinese).
- [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]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2010, 385(1-2): 73-78.
- [16] 刘连为, 许强华, 陈新军. 基于线粒体COI和Cytb基因序列的北太平洋柔鱼种群遗传结构研究[J]. 水产学报, 2012, 36(11): 1675-1684.
Liu L W, Xu Q H, Chen X J. Population genetic structure of *Ommastrephes bartramii* in the North Pacific Ocean based on the COI and Cytb gene sequences analysis[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(11): 1675-1684(in Chinese).
- [17] 刘连为, 许强华, 陈新军, 等. 基于线粒体DNA分子标记的东太平洋柔鱼群体遗传多样性比较分析[J]. 水产学报, 2013, 37(11): 1618-1625.
Liu L W, Xu Q H, Chen X J, *et al.* Comparative analysis of genetic diversity of *Dosidicus gigas* from Eastern Pacific Ocean based on molecular markers of mitochondrial DNA[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(11): 1618-1625(in Chinese).
- [18] 王鹤, 林琳, 柳淑芳, 等. 中国近海习见头足类DNA条形码及其分子系统进化[J]. 中国水产科学, 2011, 18(2): 245-255.
Wang H, Lin L, Liu S F, *et al.* DNA barcoding for cephalopoda in classification and phylogeny[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(2): 245-255(in Chinese).
- [19] 易倩, 陈新军, 贾涛, 等. 基于外部形态特征的东南太平洋茎柔鱼种群结构研究[J]. 海洋湖沼通报, 2012(4): 96-103.
Yi Q, Chen X J, Jia T, *et al.* Population structure of *Dosidicus gigas* based on the morphological analysis in the Southeastern Pacific[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2012(4): 96-103(in Chinese).
- [20] 刘连为. 三种大洋性柔鱼类种群遗传结构及分子系统地理学研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2014.
Liu L W. Population genetics structure and molecular phylogeography of three oceanic Ommastrephidae species[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2014 (in Chinese).
- [21] 张弦, 俞慕耕, 江伟, 等. 菲律宾海及其邻近海区的水文特征[J]. 海洋通报, 2004, 23(1): 8-14.
Zhang X, Yu M G, Jiang W, *et al.* Hydrologic characteristic of the Philippine Sea and its nearby areas[J]. Marine Science Bulletin, 2004, 23(1): 8-14(in Chinese).
- [22] Aoki M, Imai H, Naruse T, *et al.* Low genetic diversity of oval squid, *Sepioteuthis cf. lessoniana* (Cephalopoda: Loliginidae), in Japanese waters inferred from a mitochondrial DNA non-coding region[J]. Pacific Science, 2008, 62(3): 403-411.
- [23] Ravago-Gotanco R G, Juinio-Meñez M A. Phylogeography of the mottled spinefoot *Siganus fuscescens*: pleistocene divergence and limited genetic connectivity across the Philippine archipelago[J]. Molecular Ecology, 2010, 19(20): 4520-4534.
- [24] 刘进贤, 高天翔, 吴世芳, 等. 梭鱼的分子系统地理学研究——晚更新世西北太平洋边缘海隔离分化及其有限的扩散能力[J]. 中国海洋大学学报, 2007, 37(6): 931-938.
Liu J X, Gao T X, Wu S F, *et al.* Pleistocene isolation in the Northwestern Pacific marginal seas and limited dispersal in a marine fish, *Chelon haematocheilus* (Temminck & Schlegel, 1845)[J]. Periodical of Ocean University of China, 2007, 37(6): 931-938(in Chinese).
- [25] Hewitt G. The genetic legacy of the Quaternary ice ages[J]. Nature, 2000, 405(6789): 907-913.

Genetic structure of *Sthenoteuthis oualaniensis* population in the northwest Pacific Ocean

LIU Lianwei^{1,2}, ZHOU Yongdong^{1,2}, LU Huajie³, LIU Bilin³, CHEN Xinjun^{3*}

(1. Scientific Observing and Experimental Station of Fishery Resources for Key Fishing Grounds, Ministry of Agriculture, Key Laboratory of Sustainable Utilization of Technology Research for Fisheries Resources of Zhejiang Province,

Marine Fisheries Research Institute of Zhejiang, Zhoushan 316021, China;

2. Marine Fisheries Research Institute, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China;

3. Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Oceanic Fisheries Resources, Ministry of Education, College of Marine Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The purpleback flying squid *Sthenoteuthis oualaniensis* is widely distributed in tropical and subtropical areas of the Pacific Ocean and the Indian Ocean. In the northwest Pacific, the highest concentration is found in the South China Sea, while the waters of Ryukyu Islands and southwest Taiwan are regarded as fishing grounds of *S. oualaniensis*. To manage this squid and exploit it scientifically, it is important to investigate the genetic structure of its population. In this study, the genetic diversity of *S. oualaniensis* from the northwest Pacific (including the South China Sea, the East China Sea, and the Philippine Sea) was revealed, and sequence analysis of the mitochondrial DNA cytochrome *b* gene (*Cytb*) was used to assess its genetic structure. A total of 105 partial sequences of *cytb* were obtained, each 896 bp long, from which 72 haplotypes were defined. Haplotype diversities and nucleotide diversities for all geographical populations were 0.982 ± 0.006 and 0.012 ± 0.006 , respectively, with corresponding maximum values of 0.973 ± 0.014 and 0.015 ± 0.008 , respectively, in the population from the Philippine Sea. Haplotype diversities in populations from the South China Sea and the East China Sea were 0.959 ± 0.026 and 0.943 ± 0.031 , respectively, while nucleotide diversities were 0.006 ± 0.003 for both areas. Three populations from the South China Sea, the East China Sea, and the Philippine Sea were characterized by a higher haplotype diversity and higher nucleotide diversity. Analysis of molecular variance showed that 34.6% of genetic variance came from individuals among populations, and highly significant genetic differentiation was detected; a similar result was obtained from the fixation indices (F_{st}) among the three populations. The neighbor-joining haplotype tree and reduced median network analysis detected three distinct lineages (A, B, and C), and highly significant genetic differentiation was detected among the lineages ($F_{st}=0.735-0.805$). Neutrality tests and mismatch distribution analysis suggested that lineage B recently experienced a population expansion, around 103 000–125 000 years ago. In summary, the genetic structure and phylogeographic pattern of *S. oualaniensis* in the northwest Pacific appear to have been caused by ocean currents and climatic changes since the Pleistocene. The northwest Pacific *S. oualaniensis* should be considered as at least three stocks in their assessment and management.

Key words: *Sthenoteuthis oualaniensis*; population genetic structure; *Cytb*; northwest Pacific Ocean

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

Funding projects: Open Project of Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Oceanic Fisheries Resources, Ministry of Education (A-0209-15-0503-10)