

doi: 10.7541/2016.5

## 松江鲈线粒体DNA控制区结构和遗传多样性分析

赵林林<sup>1</sup> 毕潇潇<sup>1</sup> 宋林<sup>2</sup> 高天翔<sup>1</sup>

(1. 中国海洋大学海洋生物多样性与进化研究所, 青岛 266003; 2. 辽东学院, 丹东 118001)

**摘要:** 为探讨松江鲈(*Trachidermus fasciatus* Heckel)线粒体控制区特征及其群体遗传结构, 研究测定分析了中国和沿海共8个群体的线粒体控制区序列, 分析了其结构特征, 识别出终止序列区(ETAS)、中央保守区(CD)和保守序列区(CSB)的特征序列。遗传多样性分析结果显示: 69个松江鲈个体共检测到47个单倍型, 呈现出核苷酸多样性(0.0079)较低和单倍型多样性(0.978)较高的特点。单倍型邻接关系树和单倍型网络关系图均显示松江鲈分为中国和日本两大世系。遗传分化系数( $F_{st}$ )和分子方差分析(AMOVA)结果表明, 松江鲈中国群体和日本群体之间存在的遗传差异较显著, 中国沿海各群体之间亦存在着一定程度的遗传差异, 该分化主要由历史环境变动、当代环境因素和自身生态习性等原因造成。

**关键词:** 松江鲈; 控制区结构; 遗传多样性; 遗传分化

**中图分类号:** Q346<sup>+</sup>.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2016)01-0035-07

线粒体DNA (mitochondrial DNA)呈现闭合的环状结构, 具有几乎不发生重组, 严格母系遗传, 进化速率相对较快且结构简单等特征<sup>[1]</sup>。线粒体基因组紧密排列的结构组成通常只允许一个较大的非编码区, 即控制区(Control region)又称D-环区(Displacement loop region), 通常位于tRNA<sup>Pro</sup>和tRNA<sup>Leu</sup>两个基因之间。控制区中包含着H-链启动子(HSP)、复制终止序列等与线粒体DNA基因组复制、转录等活动密切相关的重要功能片段<sup>[2]</sup>。该片段由于不编码蛋白质, 因此其受到较小的自然选择压力, 具有较高遗传变异、基因进化速率快的特点, 是探讨种内不同地理群体之间遗传分化较为理想的分子标记<sup>[3]</sup>。近些年来, 国内外学者研究发现鱼类的线粒体控制区结构与其他脊椎动物相同<sup>[4-6]</sup>, 分为3个不同的特征区域, 即终止序列区(ETAS)、中央保守区(CD)和保守序列区(CSB), 对其结构特征的研究将更加有利于弄清线粒体DNA复制和转录启动机理。

松江鲈(*Trachidermus fasciatus* Heckel)隶属于鲈形目(Scorpaeniformes)、杜父鱼科(Cottidae)、松江鲈属(*Trachidermus*), 是西北太平洋所特有的一种降河洄游性鱼类, 主要分布在我国东、黄、渤海, 朝鲜半岛, 日本南部海域<sup>[7]</sup>。松江鲈具有较高的经

济价值, 是中国四大淡水名贵食用鱼之一, 以上海松江县所产者最为有名。近年来, 由于环境污染及栖息地破坏等原因, 松江鲈的资源数量迅速下降, 在一些破坏严重的分布区域内已经濒临灭绝, 因此被列入国家二级保护动物。目前, 松江鲈的相关研究多集中在养殖繁育、资源分布、生理和资源保护等方面<sup>[7-10]</sup>, 也有一些关于种群遗传结构等方面的报道<sup>[11-13]</sup>。本文首先分析了松江鲈线粒体DNA控制区序列结构特征, 其次研究了8个不同地理群体之间的遗传差异, 旨在为其种质资源的合理保护和有效管理提供科学依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验材料

松江鲈样品分别采自杭州湾(HZ)、文登(WD)、荣成(RC)、大连(DL)、丹东(DD)、秦皇岛(QH)、东营(DY)和日本有明海(AS)8个地点(图1)。用95%乙醇固定样品肌肉, 并于-20℃保存。

#### 1.2 实验方法

**基因组DNA的提取** 采用标准的酚-氯仿方法对于松江鲈基因组DNA进行提取, 保存于4℃冰箱备用。

收稿日期: 2014-12-29; 修订日期: 2015-03-04

基金项目: 海洋公益性行业科研专项项目(201305043; 201405010)资助 [Supported by the Public Science and Technology Research Funds Project of Ocean]

作者简介: 赵林林(1987—), 男, 河北沧州人; 博士研究生; 主要从事海洋生物多样性保护及群体遗传学研究。E-mail: zhaolinlinouc@163.com

通信作者: 高天翔, E-mail: gaotianxiang0611@163.com

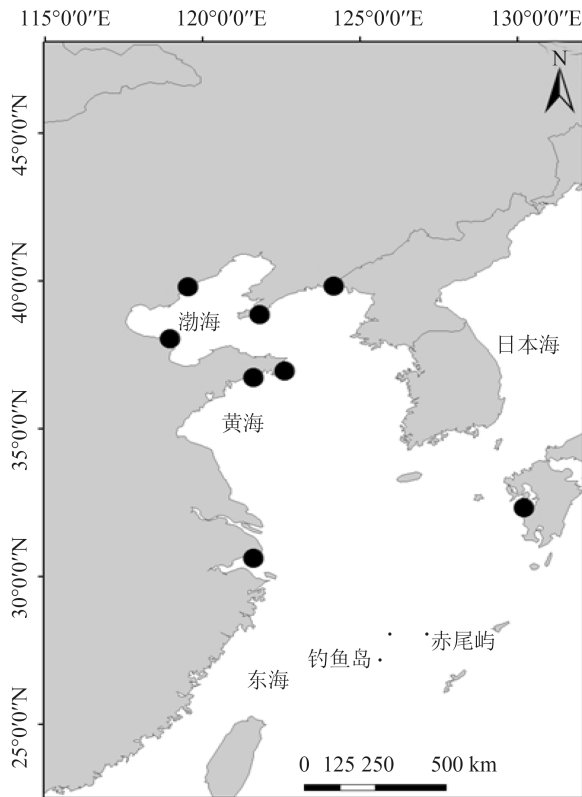


图1 松江鲈采样地点

Fig. 1 Sample sites of *T. fasciatus*

**目的片段扩增** 根据GenBank中已报道的松江鲈线粒体全序列(序列号: NC018770), 设计了两对引物如表1。

PCR反应为标准50  $\mu$ L体系。PCR反应过程中为排除DNA污染影响均设置阴性对照。扩增的产物采用浓度为1.5%琼脂糖凝胶进行电泳检测。

**纯化回收及测序** 对合适的PCR产物用AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒回收。最后将回收产物送至北京英潍捷基生物科技有限公司测序, 为保证序列准确性采用双向测序。

**数据分析** 采用Dnastar软件包对序列进行校对和手工调整。在Arlequin3.1<sup>[14]</sup>软件中计算变异位点数、碱基组成、平均核苷酸差异数、单倍型数、核苷酸多样性和单倍型多样性。对比GenBank

表1 引物名称及序列

Tab. 1 The name and sequence of primers

引物名称 Name	引物序列 Sequence (5'-3')
DL-S	CCCACCACTAACTCCCAAAGC
DL-R	CTGGAAAGAACGCCCGGCATG
CR-F	GATTGATGTTACTCCTCGC
12S-CR	GTGCGGATACTTGATGTTGT

中登录号为NC018770的松江鲈线粒体基因组全序列, 确定控制区的起点和终点。根据已报道的鱼类线粒体控制区结构特征<sup>[4-6, 15, 16]</sup>, 比对分析松江鲈线粒体控制区结构特征。

用Mega4.1<sup>[17]</sup>软件基于Kimura双参数(K2P)模型计算各群体内和群体间平均遗传距离。Arlequin3.1软件基于遗传分化指数( $F_{st}$ )来分析不同地理群体之间的遗传分化; 使用分子变异方差分析(AMOVA)来评估不同水平组群间的遗传差异, 采用重新抽样方法来检验不同水平上遗传结构协方差的显著性。为了检验松江鲈中国群体和日本群体的遗传差异, 在AMOVA分析中将松江鲈8个群体划分为2个组群, 中国沿海7个群体划分为中国组群, 日本有明海群体划分为日本组群。使用Mega4.1<sup>[17]</sup>软件基于Kimura双参数(K2P)模型构建单倍型邻接关系树, 通过1000次重新抽样来评估系统树的可靠性。此外, 利用简化的中间网络法<sup>[18]</sup>构建单倍型网络关系图2。

## 2 结果

### 2.1 控制区结构特征分析

综合比对已报道鱼类线粒体控制区结构<sup>[4-6, 15, 16]</sup>, 对松江鲈线粒体控制区的结构进行分析, 识别了松江鲈控制区的3个区域及一些特征序列(图2)。

**终止相关序列(ETAS)** 该区域是整个线粒体基因组中变异速率最高的基因片段, 通常被称为高变区。终止序列区含有一个与线粒体DNA复制终止相关的序列。终止序列区在不同的物种中的

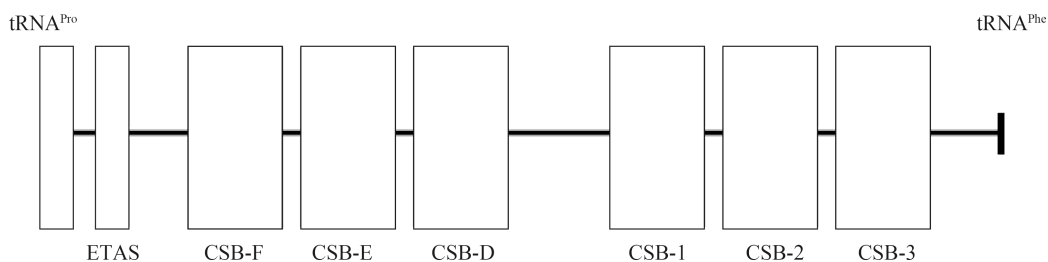


图2 松江鲈控制区结构示意图

Fig. 2 The structure of the control region of *T. fasciatus*

存在着较大的变异, 其序列主体的核心部分是TACAT及其反向互补序列ATGTA, 该序列可以形成发夹结构。该研究中成功识别了松江鲈的终止序列区, 全长281 bp (nt: 1—281), ATGTACTAGT-TAAGTACAT。

**中央保守区(CD)** 该区域被认为是控制区中最为保守的区域, 本研究在中央保守区中识别出了3个特征片段, 即CSB-D、CSB-E、CSB-F, 全长409 bp(nt: 282—690)。其中, CSB-F是区分终止序列区和中央保守区的标志, 其序列为ATGTT CACACCACAGAACC。紧接其后的是CSB-E和CSB-D, 序列分别为AGGGACAAGTATTCGT GGGGGT和TATTCTTAAAG。

**保守序列区(CSB)** 该区域中包含有重链的复制起始点, 轻链和重链的启动子, 通常包含三个保守序列CSB1、CSB2和CSB3。保守序列区全长174 bp (nt: 691—865), 其中CSB1是区分保守区和中央保守区的标志, 变异最大不易识别, 该研究中识别了其序列为TTATTACTCGAAAC。CSB2和CSB3序列亦较为保守, 容易被识别, 其序列分别为TAAACCCCTACCCCTAAA和TGTAAC CCCCCGGAACAG。

## 2.2 控制区序列变异及遗传多样性

松江鲈线粒体DNA控制区序列长度为854 bp, 共8个群体, 69个个体。经MEGA软件计算得到序列中A、T、G和C平均碱基含量分别为30.0%、30.3%、17.9%和21.8%, C+T碱基含量(39.7%)明显低于A+T碱基含量(60.3%), 其中G碱基含量最低, 说明控制区碱基组成具有较大的偏向性。在所有69个控制区的854 bp的序列中, 共检测到变异位点51个, 约占总序列长度的5.97%, 单一变异位点

27个, 简约信息位点24个。69个个体中共得到47单倍型(单倍型序列号: KR184678-KR184724), 其中有6个共享单倍型, 其他为特有单倍型。

核苷酸多样性指数相对较低, 而单倍型多样性指数整体较高(表 2)。其中, 荣成群体的单倍型多样性指数最低, 为0.556, 东营和丹东群体最高, 均为1.00; 大连群体的核苷酸多样性指数最低, 为0.0040, 丹东群体最高, 为0.0106。对所有个体进行分析, 整体单倍型多样性指数0.978, 整体核苷酸多样性指数为0.0079。

## 2.3 不同地理群体的遗传分化分析

从松江鲈8个群体的遗传距离(表 3)得出, 各群体之间的遗传距离为0.0040—0.00145, 各群体内的遗传距离为0.0026—0.0085, 其中日本群体和中国各群体间的遗传距离0.0107—0.0145, 中国各群体间遗传距离为0.0040—0.0104。此结果显示, 松江鲈日本群体和中国各群体间的遗传距离明显大于中国各群体间的遗传距离, 中国各群体间的遗传距离略高于群体内的遗传距离。

通过比较两两群体之间遗传分化指数 $F_{st}$ 值(表 3), 可以看出松江鲈中国群体之间的 $F_{st}$ 值处于较高的水平(0.2783—0.5867), 且除杭州湾、荣成和文登3个群体之间差异不显著外, 其余各群体之间均呈现出显著的差异, 说明松江鲈中国群体之间存在着一定的遗传分化; 松江鲈中国群体和日本群体之间的 $F_{st}$ 较大(0.7295—0.8103), 且在统计检验上呈现显著, 说明松江鲈的中国群体和日本群体间存在显著的遗传差异。不同地理群体的AMOVA分析的结果(表 4)显示组群间的分子差异占51.59%, 组群内群体间的分子差异占29.01%, 群体内分子差异占27.49%。组群间的遗传分化极显著( $\Phi_{CT} = 0.725$ ;  $P = 0.00$ ), 组群内群体间的分子差异也是显著的( $\Phi_{SC} =$

表 2 松江鲈群体的样品信息及遗传多样性参数

Tab. 2 The parameters of genetic diversity and the sample information of different populations of *T. fasciatus*

群体	样品数	单倍型数	单倍型多样性	平均核苷酸差异数	核苷酸多样性
Population	Number of sample	Number of haplotype	Haplotype diversity	Mean pairwise difference	Nucleotide diversity
杭州湾HZ	6	5	0.933 ± 0.122	5.80 ± 3.23	0.0067 ± 0.0043
文登WD	8	6	0.893 ± 0.111	7.89 ± 4.11	0.0091 ± 0.0054
荣成RC	9	3	0.556 ± 0.165	4.22 ± 2.31	0.0049 ± 0.0030
东营DY	6	6	1.000 ± 0.096	5.87 ± 0.26	0.0068 ± 0.0044
秦皇岛QH	10	7	0.867 ± 0.107	5.38 ± 2.83	0.0062 ± 0.0037
大连DL	10	6	0.778 ± 0.137	3.42 ± 1.91	0.0040 ± 0.0025
丹东DD	9	9	1.000 ± 0.052	9.08 ± 4.62	0.0106 ± 0.0061
有明海AS	11	7	0.873 ± 0.089	4.54 ± 2.42	0.0053 ± 0.0032

表 3 松江鲈两两群体间遗传分化距离(上对角线)、群体内遗传分化距离(对角线)和遗传分化系数( $F_{st}$ )(下对角线)Tab. 3 The genetic distances between populations (below the diagonal), pairwise genetic distances within a population (the diagonal), and the genetic differentiation index ( $F_{st}$ ) between populations (above the diagonal) of *T. fasciatus*

群体 Population	有明海 AS	丹东 DD	大连 DL	秦皇岛 QH	东营 DY	荣成 RC	文登 WD	杭州湾 HZ
有明海AS	0.0054	0.0135	0.0131	0.0124	0.0114	0.0107	0.0145	0.0114
丹东DD	0.7874**	0.0085	0.008	0.008	0.0081	0.0081	0.0104	0.0081
大连DL	0.8103**	0.4235**	0.0031	0.004	0.0051	0.0053	0.0076	0.0058
秦皇岛QH	0.7602**	0.3572**	0.4851**	0.004	0.0051	0.0055	0.0075	0.006
东营DY	0.7500**	0.5273**	0.4233*	0.4211	0.0049	0.0039	0.0077	0.0045
荣成RC	0.7602**	0.3426*	0.5867**	0.4145**	0.3677*	0.0026	0.0071	0.004
文登WD	0.7295**	0.3628**	0.3657*	0.4891**	0.3926*	0.3487	0.0067	0.0084
杭州湾HZ	0.7397**	0.3673**	0.3879*	0.5123*	0.2783*	0.4872	0.3643	0.0029

注: \*表示显著, \*\*表示极显著

Note: \*significant, \*\*highly significant

表 4 松江鲈群体线粒体DNA控制区分子方差分析

Tab. 4 The analysis of molecular variance (AMOVA) based on mtDNA control region of *T. fasciatus*

变异组成 Source of variation	自由度 df	方差 Squares	变异组分 Variance components	变异比率 Percentage of variation
组群间 Among groups	1	123.688	5.30208	51.59
群体间 Among populations	6	123.145	2.14906	29.01
群体内 Within populations	61	172.342	2.82526	27.49
总计 Total	68	419.174	10.27640	

0.516;  $P = 0.02$ 。

利用MAGA4.1基于基于Kimura双参数(K2P)模型构建的邻接系统树(图 3)显示松江鲈各群体明显分为中国和日本两大世系, 而中国世系内各群体间不存在明显的遗传结构。基于简化的中介网络法构建的单倍型网络关系图(图 4)亦明显分为中国和日本两大世系, 丹东群体作为过渡群体连接着中国世系和日本世系。

### 3 讨论

#### 3.1 松江鲈控制区结构分析

控制区是线粒体DNA内最复杂的结构, Lee等<sup>[4]</sup>对比了6科23种硬骨鱼类控制区全序列, 发现主要是长串联重复序列的存在造成其长度的不同; 同时, 发现其与哺乳动物具有相似的结构特征和保守序列。通过对比分析, 在松江鲈控制区中识别出终止序列区、中央保守区和保守序列区, 与刘海林等<sup>[19]</sup>对黄渤海松江鲈控制区序列研究的结果相一

致。在终止序列区中识别了可形成发夹结构的特征序列, 其序列为TACAT。中央保守区的CSB-F、CSB-E、CSB-D的特征序列均相对比较保守, 与报道的结果相似<sup>[4]</sup>。保守序列区的CSB1特征序列在鱼类中存在着较大变异, 不容易被识别。在本研究中根据刘海林等<sup>[19]</sup>发现的特征序列TTATTACTCGAAC识别了松江鲈保守序列区的CSB1相似序列, CSB2和CSB3序列相保守, 易于识别。

#### 3.2 松江鲈遗传多样性分析

遗传多样性主要体现为物种潜在进化能力, 较高的遗传多样性可以表现出对于环境较高的适用能力, 容易拓展分布范围, 扩张到新的环境生存, 而较低的遗传多样性会威胁到物种的生存<sup>[20]</sup>。本研究松江鲈8个群体69个个体的控制区序列中共检测到51个变异位点, 约占控制区总序列长度的5.97%, 变异类型有转换、颠换、插入和缺失。结果显示各群体(除荣成群体)的单倍型多样性(0.778—1.000)处在较高水平和核苷酸多样性(0.0040—0.0106)处

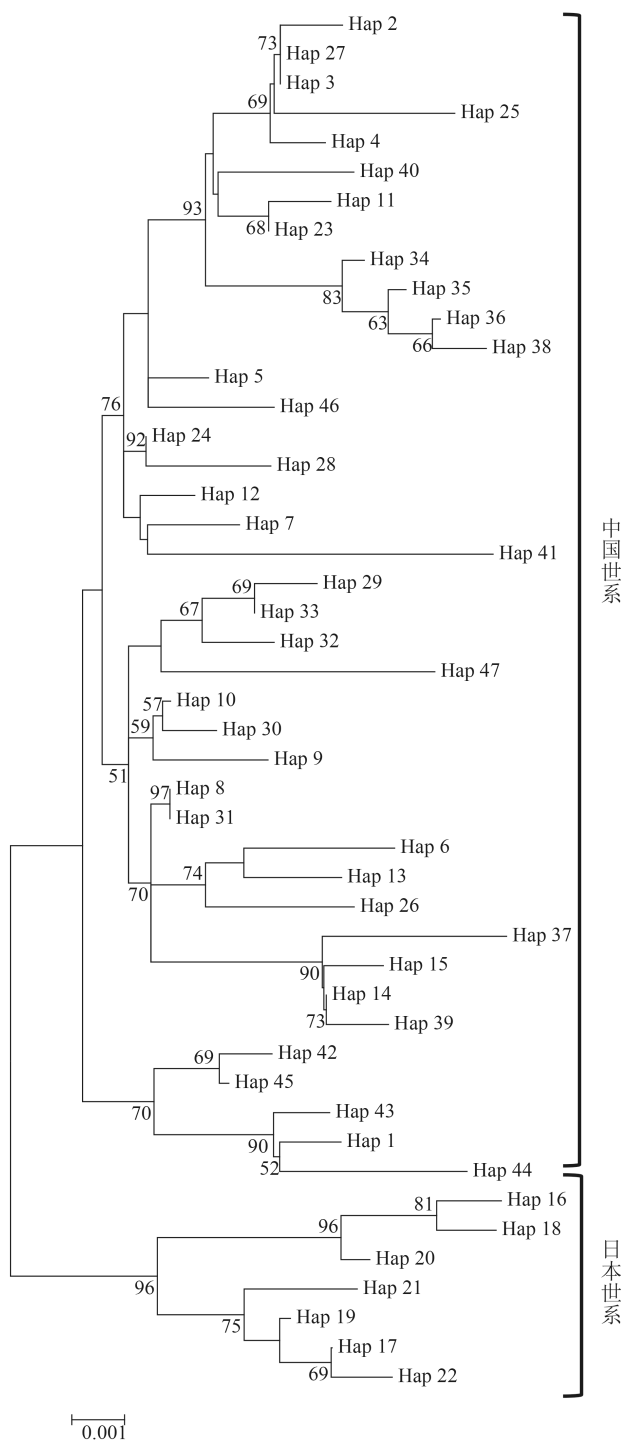


图3 基于松江鲈控制区单倍型构建的邻接系统树

Fig. 3 The neighbor-joining tree based on control region haplotypes of *T. fasciatus*

在较低水平。松江鲈荣成群体生活在一个半封闭的泻湖(天鹅湖)之内, 相对较小的生活空间和缺乏有效的群体间基因交流可能是该群体单倍型多样性较低的原因。

### 3.3 松江鲈群体遗传结构分析

群体遗传结构是生物遗传多样性的一种重要

体现, 了解鱼类的群体遗传结构对于渔业资源的管理非常重要, 线粒体DNA提供了丰富的遗传信息, 为了解群体遗传结构奠定了坚实的基础<sup>[21]</sup>。在本研究中单倍型网络关系图和单倍型邻接树均显示松江鲈群体可分为中国和日本两大世系, AMOVA分析结果亦显示中国组群和日本组群存在着显著遗传分化, 其结果与银姑鱼(*Pennahia argentatus*)<sup>[22]</sup>结果大致相同。两两群体之间 $F_{st}$ 分析结果显示松江鲈中国群体之间也存在着一定程度上的遗传分化, 这与已有关于松江鲈AFLP、ISSR和线粒体Cytb基因的研究结果<sup>[12, 13, 23]</sup>不一致, 这可能有两方面的原因: 一、以往研究采样范围小和采样地点少, 这对于结果存在着一定的影响; 二、线粒体DNA控制区进化速率相对于线粒体Cytb基因等其他标记较快, 比较适合群体遗传结构分析。海洋生物群体之间存在遗传分化的现象在西北太平洋海域其他生物中也普遍存在, 如梭鱼(*Liza haematocheilus*)、玉筋鱼(*Ammodytes personatus*)、和菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)等<sup>[24-26]</sup>, 许多学者认为这种群体遗传结构格局的形成是由于更新世隔离事件造成的。大规模冰期-间冰期的不断交替变化是晚更新世(约80万年前)的主要特点, 冰期的气候波动间隔大约为10万年。当冰盛期来临之时, 整个海平面平均下降120—140 m<sup>[27]</sup>, 伴随着海平面的下降, 近岸大部分海域裸露出来, 海洋生物的栖息范围也随之逐渐缩减, 其最终生活在许多孤立的避难所之中, 从而加快了各群体之间的遗传分化<sup>[28]</sup>。西太平洋大陆架边缘海众多<sup>[30]</sup>, 更新世时期气候的波动将使边缘海地区海洋生物种群产生隔离, 进而导致其发生遗传分化。在冰期到来之时, 松江鲈的栖息范围不断缩小, 最终被隔离在不同的避难所里; 在间冰期时, 随海平面的升高, 其栖息空间也不断扩大, 避难群体开始向适宜栖息地迁移。由于松江鲈幼体扩散能力有限以及中国沿海和日本南部海域之间长距离的地理隔离等原因阻断了它们之间的基因交流, 伴随着时间的推移, 松江鲈中国群体和日本群体之间产生了明显的遗传分化。

研究结果显示松江鲈在线粒体控制区上的遗传多样性处于较高水平, 表明其存在着较强的资源恢复潜能, 需及时采取科学的保护措施。松江鲈明显分化为中国和日本两大世系, 中国世系内各群体之间也产生了一定的遗传分化, 但其分化水平有待进一步采用其他分子标记(如SSR、AFLP、SNP等)进行深入研究。

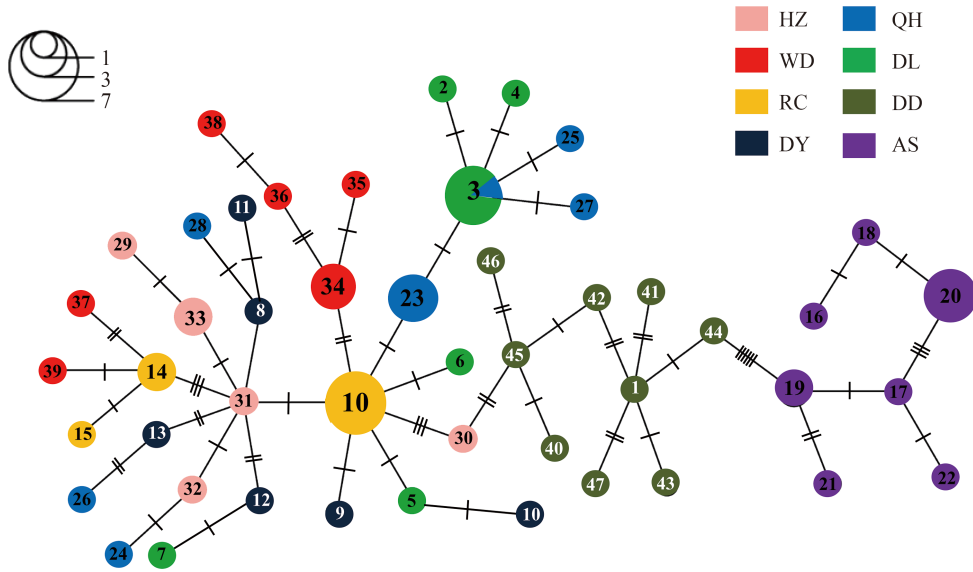


图4 松江鲈单倍型网络关系图

Fig. 4 The median-networks of haplotypes of *T. fasciatus***致谢:**

感谢吴建新、王茂林、郭栋国、宝富及日本九州大学鬼谷德雄博士等为本研究提供样品。

**参考文献:**

- [1] Xiao W H, Zhang Y P. Genetics and evolution of mitochondrial DNA in fish [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2000, **24**(4): 384—391 [肖武汉, 张亚平. 鱼类线粒体DNA的遗传与进化. 水生生物学报, 2000, **24**(4): 384—391]
- [2] Walberg M W, Clayton D A. Sequence and properties of the human KB cell and mouse L cell D-loop regions of mitochondrial DNA [J]. *Nucleic Acids Research*, 1981, **9**(20): 5411—5430
- [3] Rosel P E, Haygood M G, Perrin W F. Phylogenetic relationship among the true porpoise (Cetacean: Phocoenidae) [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1995, **4**(4): 463—474
- [4] Lee W J, Conroy J, Howell W H, *et al.* Structure and evolution of teleost mitochondrial control regions [J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1995, **41**(1): 54—66
- [5] Yang B, Chen X Y, Yang J X. Structure of the mitochondrial DNA control region and population genetic diversity analysis of *Anabarilius graham* (Regan) [J]. *Zoological Research*, 2008, **29**(4): 379—385 [杨博, 陈小勇, 杨君兴. 白鱼线粒体DNA控制区结构和种群遗传多样性分析. 动物学研究, 2008, **29**(4): 379—385]
- [6] Su T F, Jiang S G. Structure and phylogenetic analysis of mitochondrial DNA control region of genus *Trachurus* [J]. *South China Fisheries Science*, 2011, **7**(1): 18—25 [苏天凤, 江世贵. 竹筴鱼属鱼类线粒体DNA控制区结构及其系统发育分析. 南方水产科学, 2011, **7**(1): 18—25]
- [7] Wang Y H. Notes on the scientific name, type-locality and geographical distribution of roughskin sculpin (*Trachidermus fasciatus* Heckel 1840) [J]. *Marine Fisheries*, 2006, **28**(4): 209—303 [王幼槐. 关于松江鲈学名和模式产地以及地理分布之探讨. 海洋渔业, 2006, **28**(4): 209—303]
- [8] Wang J Q, Pan L D, Liang T H, *et al.* Preliminary study on embryonic development of the roughskin sculpin, *Trachidermus fasciatus* (Scorpaeniformes: Cottidae) [J]. *Journal of Fudan University (Natural Science)*, 2004, **43**(2): 250—254 [王金秋, 潘连德, 梁天红, 等. 松江鲈鱼(*Trachidermus fasciatus*)胚胎发育的初步观察. 复旦学报(自然科学版), 2004, **43**(2): 250—254]
- [9] Takeshita N, Onikura N, Matsui S, *et al.* Embryonic, larval and juvenile development of the roughskin sculpin, *Trachidermus fasciatus* (Scorpaeniformes, Cottidae) [J]. *Ichthyological Research*, 1997, **44**(3): 257—265
- [10] Norio O, Naohiko T, Seiichi M, *et al.* Estimation of the frequency of maturity and sexual differences in the maturation period of the roughskin sculpin *Trachidermus fasciatus* [J]. *Fisheries Science*, 2007, **73**(3): 735—737
- [11] Wang J Q, Shi C, Cheng G. Isozyme Analysis for a wild population of roughskin sculpin, *Trachidermus fasciatus*, from the Yalu River Basin in China [J]. *Journal of Fudan University (Natural Science)*, 2002, **41**(6): 688—693 [王金秋, 石椿, 成功. 鸭绿江流域中国境内松江鲈鱼(*Trachidermus fasciatus*)天然群体的同工酶分析. 复旦学报(自然科学版), 2002, **41**(6): 688—693]
- [12] Xu J R, Han X L, Li N, *et al.* Analysis of genetic diversity in roughskin sculpin *Trachidermus fasciatus* by AFLP markers [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2008, **23**(6): 437—441 [徐建荣, 韩晓磊, 李宁, 等. 松江鲈群体遗传多样性的AFLP分析. 大连水产学院学报, 2008, **23**(6): 437—441]
- [13] Xu J R, Han X L, Yu J F, *et al.* Analysis of genetic diversity of *Trachidermus fasciatus* by ISSR [J]. *Freshwater Fisheries*, 2009, **139**(11): 21—24 [徐建荣, 韩晓磊, 郁建锋, 等. 松江鲈群体遗传多样性的ISSR分析. 淡水渔业, 2009, **139**(11): 21—24]

- [14] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin version 3.01: An integrated software package for population genetics data analysis [J]. *Evolutionary Bioinformatics*, 2005, **1**: 47—50
- [15] Zhu S H, Zheng W J, Zou J X, *et al.* Mitochondrial DNA control region structure and molecular phylogenetic relationship of Carangidae [J]. *Zoological Research*, 2007, **28**(6): 606—614 [朱世华, 郑文娟, 邹记兴, 等. 鲈科鱼类线粒体DNA控制区结构及系统发育关系. *动物学研究*, 2007, **28**(6): 606—614]
- [16] Cai S S, Xu S Y, Song N, *et al.* Mitochondrial dna control region structure and length polymorphism analysis of *Setipinna tenuifilis* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, **38**(5): 980—986 [蔡珊珊, 徐胜勇, 宋娜, 等. 黄鲫线粒体DNA控制区结构及长度多态性分析. *水生生物学报*, 2014, **38**(5): 980—986]
- [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] Bandelt H J, Macaulay V A, Richards M, *et al.* Median networks: speedy construction and greedy reduction, one simulation, and two case studies from human mtDNA [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2000, **16**: 8—28
- [19] Liu H L, Zhang Q, Tang Y L, *et al.* Structure and genetic diversity of mtDNA D-Loop sequences among *Trachidermus fasciatus* stocks in Yellow Sea and Bohai Sea of China [J]. *Marine Science Bulletin*, 2010, **29**(3): 283—288 [刘海林, 章群, 唐优良等. 黄渤海松江鲈鱼线粒体控制区结构与序列多态性分析. *海洋通报*, 2010, **29**(3): 283—288]
- [20] Loeschke V, Tomiuk J, Jian S K, *et al.* Conservation Genetics [M]. Basel: Birkhauser Veriag. 1994, 37—53
- [21] Slatkin M. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* [J]. *Science*, 1987, **236**(4803): 787—792
- [22] Han Z Q, Gao T X, Yanagimoto T, *et al.* Genetic population structure of *Nibea albiflorain* the Yellow and East China seas [J]. *Fisheries Science*, 2008, **74**(3): 544—552
- [23] Gao T X, Bi X X, Zhao L L, *et al.* Population genetic structure of roughskin sculpin *trachidermus fasciatus* based on the mitochondrial Cytb sequence [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2013, **37**(2): 199—207 [高天翔, 毕潇潇, 赵林林, 等. 基于线粒体Cytb基因全序列的松江鲈群体遗传结构分析. *水生生物学报*, 2013, **37**(2): 199—207]
- [24] 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 haemotocheilus* (Temminck and Schlegel, 1845) [J]. *Molecular Ecology*, 2007, **16**(2): 275—288
- [25] Han Z Q, Yanagimoto T, Zhang Y P, *et al.* Phylogeography study of *Mmodytes personatus* in Northwestern Pacific: Pleistocene isolation, temperature and current conducted secondary contact [J]. *PloS One*, 2012, **7**(5): e37425
- [26] Mao Y L, Gao T X, Yanagimoto T, *et al.* Molecular phylogeography of *Ruditapes philippinarum* in the Northwestern Pacific Ocean based on *COI* gene [J]. *Journal Experimental Marine Biology and Ecology*, 2011, **407**(2): 171—181
- [27] Lambeck K, Esat T M, Potter E K. Links between climate and sea levels for the past three million years [J]. *Nature*, 2002, **419**(6903): 199—206
- [28] Hewitt GM. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation [J]. *Biological Journal of the Linnean Society*, 1996, **58**(3): 247—276
- [29] Tamaki K, Honza E. Global tectonics and formation of marginal basins: role of the western Pacific [J]. *Episodes*, 1991, **14**(30): 224—230

## ANALYSIS OF THE STRUCTURE OF MITOCHONDRIAL DNA CONTROL REGION AND THE GENETIC DIVERSITY OF *TRACHIDERMUS FASCIATUS* IN DIFFERENT POPULATIONS

ZHAO Lin-Lin<sup>1</sup>, BI Xiao-Xiao<sup>1</sup>, SONG Lin<sup>2</sup> and GAO Tian-Xiang<sup>1</sup>

(1. Institute of Evolution & Marine Biodiversity, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Eastern Liaoning University, Dandong 118001, China)

**Abstract:** Roughskin sculpin, also known as *Trachidermus fasciatus*, is a catadromous fish that live in the seawater along the coast of the northwest Pacific Ocean. The fish population size has been largely reduced in recent years due to the deterioration of the habitats, water pollution and the construction of dams. To protect the fish resource and to improve the fishery management, we need to better understand the genetic structure of the fish population. In this study, we collected 69 individuals from 8 sampling sites near the coast of China and Japan, including Hangzhouwan (HZ), Wendeng (WD), Rongcheng (RC), Dongying (DY), Qinhuangdao (QH), Dalian (DL), Dandong (DD) and Ariake Sea (AS). The mitochondrial control region of *T. fasciatus* was amplified with polymerase chain reaction (PCR) technology and was sequenced with the forward and reverse primers by the automatic sequencer. We found that the 8 populations exhibited high haplotype diversity (0.978) and low nucleotide diversity (0.0079). Our analysis of the control region revealed the terminal associated sequence, the central conserved domains and the conserved sequence block domains. Moreover, the analysis of NJ phylogenetic trees and median-networks demonstrated that these populations could be divided into the Chinese lineage and the Japanese lineage. Finally, both the genetic differentiation index ( $F_{st}$ ) and the analysis of molecular variance (AMOVA) indicated a significant genetic differentiation between the Japanese population and the Chinese populations, as well as a moderate differentiation within the Chinese populations.

**Key words:** *Trachidermus fasciatus*; Control region structure; Genetic diversity; Genetic differentiation