

中国近海与日本近海白姑鱼线粒体细胞色素 *b* 基因全序列比较分析

李昂¹, 高天翔¹, 孙典荣²

(1. 中国海洋大学 海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003; 2. 中国水产科学研究院 南海水产研究所, 广东 广州 510300)

摘要: 对中国近海和日本近海共 19 尾白姑鱼(*Pennahia argentata*)线粒体细胞色素 *b*(Cytochrome *b*, Cyt *b*)基因全序列进行扩增与测定, 白姑鱼个体的 Cyt *b* 基因总长度均为 1 141 bp。序列分析结果显示: Cyt *b* 基因全序列中共检测到 40 处核苷酸替代, 全部为同义替换, 且主要来自密码子第三位点。19 尾白姑鱼个体共定义了 14 种单倍型。核苷酸组成分析表明: 白姑鱼 Cyt *b* 全序列的鸟嘌呤(G)含量较低, 在第三密码子位点上表现得尤为明显。基于邻接法、最大简约法、最大似然法和贝叶斯法构建的系统树结果基本一致, 中国近海和日本近海的白姑鱼明显分为 2 个单系群, 两组群间的净遗传距离为 0.019, 基于 Cyt *b* 2%/百万年分子钟计算, 其分化时间约为 95 万年, 中、日近海白姑鱼分化事件发生于晚更新世(Late Pleistocene)。本研究旨在探讨中、日近海白姑鱼组群的分类地位的遗传学依据, 为白姑鱼渔业资源的管理与保护提供基础参考。[中国水产科学, 2010, 17(6): 1166–1172]

关键词: 白姑鱼; 细胞色素 *b* 基因; 遗传距离; 分歧时间; 中国近海; 日本近海

中图分类号: Q959

文献标识码: A

文章编号: 1005–8737–(2010)06–1166–07

白姑鱼(*Pennahia argentata*)隶属于鲈形目(Pleuronectiformes)、石首鱼科(Sciaenidae)、白姑鱼属(*Pennahia*), 为暖温性近底层鱼类^[1], 分布于日本本州岛东北部至中国广东海域^[2]。白姑鱼是中国重要的经济鱼种之一, 国内外学者已从生态学、生物学特性等方面对其进行了一定程度的研究^[3]。

分子遗传学数据为海洋鱼类的群体遗传结构和进化关系提供了非常重要的证据^[4]。鱼类线粒体 DNA 分子结构简单、具有单一的母性遗传、几乎不发生重组、进化速率快并且在其不同的区域进化速度存在差异的特点, 使其成为了重要的分子标记而被广泛应用于鱼类群体遗传学和系统发育学研究^[5]。其中, 细胞色素 *b*(Cytochrome *b*, Cyt *b*)是构成线粒体氧化磷酸化系统复合体的重要成员之一, 其进化速度适中^[6–8], 在一定的进化尺

度内不受饱和效应的严重影响, 被认为是解决种内和近缘种间亲缘关系以及遗传问题的理想工具, 已成为近年来鱼类分子进化研究中常用的标记之一^[5]。

有关白姑鱼遗传学研究报道很少。蒙子宁等^[9]利用 16S rRNA 基因序列对 8 种石首鱼类的系统发育关系进行了研究, 并对白姑鱼亚科下属间差异进行了探讨; 陈泉梅等^[10]通过对几种石首鱼 16S rRNA 基因部分序列进行分析, 探讨了白姑鱼属的分类地位; 韩志强等^[11–12]通过对白姑鱼分布区内不同群体的线粒体 DNA 控制区和 Cyt *b* 基因部分序列的分析, 并结合 AFLP 技术对白姑鱼的分子系统地理分布模式进行了研究。其研究结果表明, 中、日近海白姑鱼组群间遗传分化显著。但到目前为止, 尚未见基于 Cyt *b* 基因全序列分

收稿日期: 2009–12–06; 修订日期: 2010–01–23.

基金项目: 国家自然科学基金项目(30471329).

作者简介: 李昂(1985–), 男, 硕士研究生, 研究方向为鱼类分类学和种群遗传学. Tel: 0532–82032601;

E-mail: angs1202@yahoo.com.cn

通讯作者: 孙典荣, 副研究员, 主要从事海洋渔业资源及海洋生态研究. Tel: 020–89108341; E-mail: drsun73@163.com

析白姑鱼种内遗传分化的研究报道。本研究对白姑鱼线粒体 Cyt *b* 基因进行测定、分析, 在 Cyt *b* 全序列水平上研究了中、日近海白姑鱼间的遗传分化程度及其分化年代, 旨在为进一步探讨白姑鱼中、日近海组群的分类地位提供遗传学依据, 为白姑鱼渔业资源的管理与保护提供基础参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验用白姑鱼样本 19 尾, 其中日本样本中 4 尾采自伊势湾、6 尾取自有明海; 中国样本中的 3 尾取自舟山近海、6 尾采于大亚湾。样品取肌肉置于 95%乙醇溶液中固定, 保存备用。本研究选取大西洋白姑鱼(*Argyrosomus regius*)作为外群, 其序列信息来自 GenBank(登录号 DQ197924, EF455986)。

1.2 实验方法

1.2.1 基因组 DNA 提取 取约 100 mg 白姑鱼样本肌肉组织, 采用标准的酚-氯仿方法^[13]提取基因组 DNA, 将乙醇沉淀后的基因组 DNA 加入 100 μ L TE 溶液使其溶解, 置于 4℃下保存备用。

1.2.2 目的片段的 PCR 扩增、纯化 根据 GenBank 中报道的相近种 Cyt *b* 全序列设计了两对引物, 分别为 L14724(5'-GAC TTG AAA AAC CAC CGT TG-3'), CP14900(5'-CGG GTG AGG GTG GCG TT-3')和 P14864(5'-CTG GTC CAA TGA ATC TGA GG-3'), H15915(5'-CTC CGA TCT CCG GAT TAC AAG AC-3')。PCR 反应体系总体积为 50 μ L, 其中: 10 $\times$ PCR 缓冲液 5 μ L (200 mmol/L Tris-HCl, pH 8.4; 200 mmol/L KCl; 100 mmol/L (NH₄)₂SO₄; 15 mmol/L MgCl₂), dNTP 200 μ mol/L, 上下游引物各 0.2 μ mol/L, *Taq* 酶 1.25 U(大连宝生物公司), DNA 模板 20 ng, 加 Milli-Q H₂O 至 50 μ L。应用 Eppendorf 热循环仪进行 PCR 反应, 反应条件如下: 首先 94℃预变性 5 min, 之后进行 35 个循环, 每个循环包括 94℃变性 45 s、50℃退火 45 s、72℃延伸 45 s, 最后 72℃延伸 10 min。为排除 DNA 污染, 以上反应均设有阴性对照。取 2 μ L

PCR 扩增产物采用 1%琼脂糖凝胶电泳对扩增效果加以检测($U=5V/cm$)。应用 UNIQ-10 柱式 DNA 胶回收试剂盒(上海华舜)对 PCR 扩增产物进行回收纯化。

1.2.3 目的片段序列测定 应用 ABI 公司 3700 型全自动 DNA 序列分析仪进行双向测序以确保结果的准确性, 测序反应采用的引物与 PCR 反应一致。

1.3 数据分析

应用 DNASTar 软件(DNASTAR, Inc)对序列进行编辑和排序比对, 根据其他鱼种同源序列确定 Cyt *b* 基因全序列。再应用 Clustal X1.83 对整理好的序列数据进行联配。然后应用 Modeltest 3.7^[14]分别对 Cyt *b* 全序列及其密码子第三位点序列联配结果进行模型筛选, 分别得到二者的核苷酸最佳替换模型, 并估计相关参数。用 MEGA 2.0^[15]软件将 Cyt *b* 全序列的密码子转化为对应的氨基酸, 并基于核苷酸最适模型分析目的片段的核苷酸组成并计算中、日组群间的遗传距离, 中、日组群间的 DNA 多态用软件 ARL-EQUIN version 2.000^[16]进行分析。使用 PAUP* 4.0b10^[17]和 MrBayes3.0^[18]软件, 分别应用邻接法、最大简约法、最大似然法和贝叶斯法对系统发育树进行重建。在对贝叶斯发育树进行重建时, 同时建立了 4 条马尔科夫链, 其中包括 3 条热链、1 条冷链; 共预算 100 000 代, 每 100 代抽样 1 次。然后绘制对数似然值老化曲线, 据此舍弃老化样本(本研究取前 5 000 次), 对其他树应用 PAUP* 4.0b10 计算一致树和各分支的后验概率。

2 结果与分析

2.1 替代模型选择和参数估计

将白姑鱼 Cyt *b* 全序列及其第三密码子位点序列分别应用 Modeltest 3.7 进行分析, 结果表明, 白姑鱼 Cyt *b* 全序列与其第三密码子序列的最适 DNA 进化模型分别为 HKY + G 和 TrN。同时得到了包括模型的似然值自然对数的负数(-lnL)、不变位点比率(*I*)、Gamma 分布的形状参数(*G*)和碱基

替代速率($R[X-Y]$)等 6 个模型相关参数(表 1)。数据分析结果认为:对于这两种序列,碱基替代速率存在差异。两者替代速率最快的均为[A-G],且细胞色素 *b* 第三密码子位点的该速率明显较 Cyt *b* 全序列的大,分别为 38.6475 和 18.3894; [A-C]、[A-T]、[C-G]、[G-T]的替代速率在两种序列中均较慢,为 1.000 0。本研究应用邻接法、最大简约法、最大似然法对系统发育树进行重建时的显示模型设置直接应用了本分析得到的等级似然比检验结果。

2.2 序列分析

通过对白姑鱼样品的分段扩增、拼接及比对,得到了中、日近海白姑鱼的 Cyt *b* 基因的全序列,19 个白姑鱼个体的序列长度相同,均为 1 141 bp(图 1)。两者间共检测到了 40 个多态位点,其中信息简约位点 30 个,无插入、缺失位点,不变位点比例为 0.890 5%;共定义了 14 种单倍型,其中,中、日近海个体之间未发现共享单倍型。40 个核苷酸替代(Nucleotide substitution)中包括了 33 个转换(Transition)、7 个颠换(Transversion),转换颠换比(T_s / T_v)为 4.71,序列突变未达到饱和。检测到的 40 个碱基差异位点中,18 处为中、日白姑鱼组群完全分化的位点(图 1 中已用方框标出)。基于 TrN+G 模型得到中、日近海白姑鱼两组群间的遗传距离为 0.022。

白姑鱼 Cyt *b* 基因全序列中,所有的突变均为同义突变(Synonymous substitution),核苷酸替代的 92.5%发生在密码子第三位点上,其中的密码子第三位点的转换占所有突变的 75%,颠换占

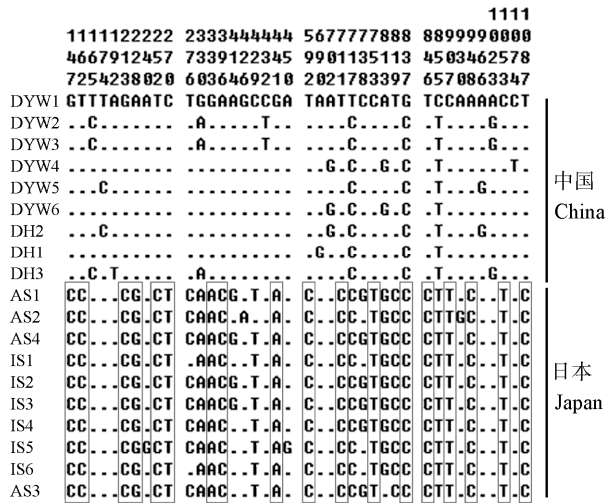


图 1 白姑鱼细胞色素 *b* 基因全序列多态位点对比
“”表示中、日近海白姑鱼完全差异的位点,“.”表示此位点与首排的核苷酸相同

AS: 日本有明海; IS: 日本伊势湾; DYW: 中国大亚湾;
DH: 中国东海

Fig. 1 Variable sites alignment of complete mitochondrial Cyt *b* gene sequence of white croaker

“” denotes the completely different sites of white croakers between China’s and Japan’s off shore; “.” Denotes the nucleotide of the position is identical with the nucleotide in the first row accordingly

AS: Ariake Sea, Japan; IS: Ise Bay, Japan; DYW: Daya Bay, China; DH: East China Sea

17.5%。密码子第一位点只发生 3 次突变,且全部是 CT 之间的转换。密码子第二位点未检测到碱基变异。核苷酸替代速率公式 $R=K/2T$ (K 代表每个位点的核苷酸替代数, T 代表两基因的分歧时间)表明:在分歧时间一定的条件下,核苷酸替代速率与 K 成正比。白姑鱼 Cyt *b* 核苷酸位点平均替代率与其密码子第三位点的替代率分别为 0.035、0.097,这表明白姑鱼 Cyt *b* 基因的核苷酸

表 1 Modeltest 检验得到的优化模型参数
Tab. 1 Nucleotide substitution model parameter estimates for modeltest analyses

Cyt <i>b</i> 基因全序列 Complete Cyt <i>b</i> gene sequence		Cyt <i>b</i> 基因密码子第三位点序列 The third codon sequence of Cyt <i>b</i> gene	
模型选择 Model selected	HKY + G	R(a)[A-C]= 1.0000	TrN
	-lnL= 2445.0940	R(b)[A-G]= 18.3894	-lnL= 1022.1472
	K= 5	R(c) [A-T]= 1.0000	K= 5
	AIC= 4895.5854	R(d)[C-G]= 1.0000	AIC= 2051.3586
	(I)= 0	R(e) [C-T]= 7.0989	(I)= 0
	(G)= 0.2510	R(f) [G-T]= 1.0000	Equal rates
		R(a)[A-C]= 1.0000	
		R(b)[A-G]= 38.6475	
		R(c) [A-T]= 1.0000	
		R(d) [C-G]= 1.0000	
		R(e) [C-T]= 5.9304	
		R(f) [G-T]= 1.0000	

替代主要集中于密码子第三位点。

基于 *Cyt b* 全序列的核苷酸组成分析结果表明: 白姑鱼的鸟嘌呤(G)含量相对较低(14.68%), 其中以日本的白姑鱼最低(14.56%)。在第三密码子位点上的该碱基含量呈现出更显著的反 G 偏倚, 达到了 5.61%。其中最低的也为日本组群的白姑鱼, G 含量达到了 5.21%。中、日组群白姑鱼 *Cyt b* 基因全序列的 G+C 含量分别为 49.35%和 49.64% (图 2)。

2.3 白姑鱼与其他 7 种石首鱼科鱼类 *Cyt b* 基因全序列的比较

本研究将白姑鱼 *Cyt b* 全序列与石首鱼科其他 7 种鱼类进行了比较分析(表 2), 结果显示 8 种石首鱼科鱼类的 *Cyt b* 基因全序列长度为 1137 ~ 1141bp, 起始密码子均为 ATG, 终止密码子存在两种不同类型; 白姑鱼 *Cyt b* 基因终止密码子不同于大黄鱼在 1135 ~ 1137bp 处以 TAA 终止, 而是仅存一个“T”碱基。根据本研究结果, 这种单一“T”碱基终止子类型与其他 7 个鱼种构成本研究中石首鱼科鱼类的常见类型。

氨基酸序列比较结果显示: 白姑鱼与石首鱼类在氨基酸水平具有良好的同源性(> 90%), 其中与大西洋白姑鱼(*Argyrosomus regius*)之间的同源性相对较大, 达到了 95.53%。与非洲锤形石首鱼(*Atractoscion aequidens*)的同源性最小(90.53%)。

2.4 遗传分化

本研究基于 *Cyt b* 基因及其密码子第三位点

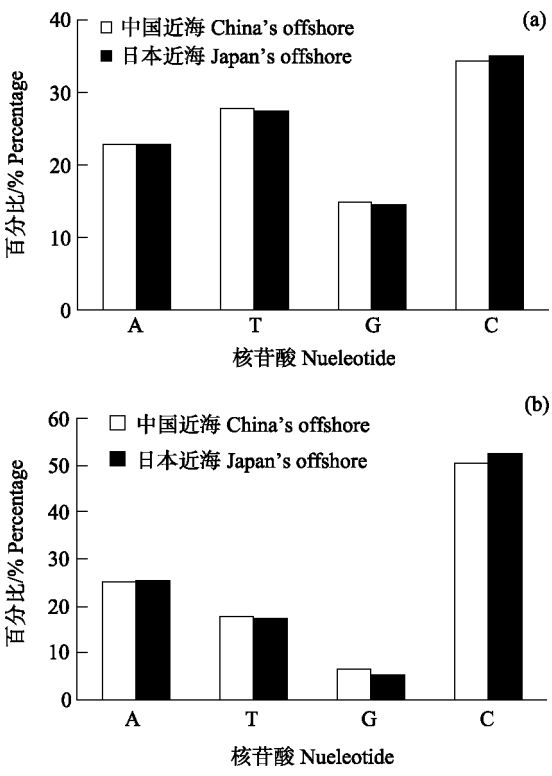


图 2 中、日近海白姑鱼 *Cyt b* 基因全序列(a)及其密码子第三位点序列(b)的核苷酸组成

Fig. 2 Nucleotide compositions of complete *Cyt b* sequence (a) and the third codon (b) of the gene of white croaker along China's and Japan's offshore

分别计算的中、日白姑鱼组群之间净遗传距离分别为 0.019 和 0.052, 表明中、日白姑鱼组群之间遗传分化显著, 且在 *Cyt b* 全序列与其密码子第三位点上的表现程度不同, 在密码子第三位点上的分

表 2 8 种石首鱼科鱼类 *Cyt b* 基因全序列比较
Tab. 2 Mitochondrial *Cyt b* gene complete sequence comparison among eight sciaenid fishes

种类	Species	GenBank 登录号 GenBank accession No.	序列长度/ bp Length	编码氨基酸数 Number of AA	起始子 Initiator	终止子 Terminator
白姑鱼	<i>Pennahia argentata</i>	This study	1 141	380		T - -
大西洋白姑鱼	<i>Argyrosomus regius</i>	DQ197924	1 141	380		T - -
非洲锤形石首鱼	<i>Atractoscion aequidens</i>	DQ197926	1 141	380		T - -
塞内加尔拟牙鲷	<i>Pseudotolithus senegalensis</i>	DQ197986	1 141	380		T - -
短须拟牙鲷	<i>Pseudotolithus senegallus</i>	DQ197987	1 141	380	ATG	T - -
长体拟牙鲷	<i>Pseudotolithus typus</i>	DQ197988	1 141	380		T - -
斜纹短须石首鱼	<i>Umbrina canariensis</i>	EF392638	1 141	380		T - -
大黄鱼	<i>Larimichthys crocea</i>	NC011710	1 137	379		TAA

化程度较高。

基于氨基酸水平的分析表明, 全长为 1 141bp 的 Cyt *b* 全序列共翻译了 380 个氨基酸, 其中未检测到氨基酸替代(Amino acid substitution)。表明在氨基酸水平上中、日白姑鱼群体间不存在遗传分化。

分子钟假说认为: 某一特定的大分子在所有世系(Lineage)中的核苷酸替代速率在时间上是稳定的。脊椎动物的基因序列可作为分子钟推测物种间的分歧时间^[19-20]。根据本研究得出的 Cyt *b* 基因全序列的核苷酸分歧速率, 中、日近海白姑鱼间分歧时间约为 95 万年, 其分化事件发生在晚更新世(Late Pleistocene)。

2.5 白姑鱼中、日近海组群之间的系统进化关系

本研究以大西洋白姑鱼(*Argyrosomus regius*)作为外群分别运用邻接法、最大简约法、最大似然法及贝叶斯法对白姑鱼不同组群构建了系统发育树, 所得系统发育关系基本一致(图 3), 白姑鱼

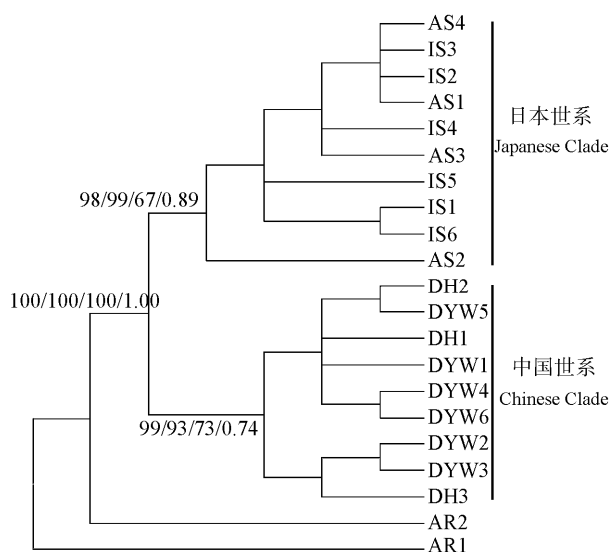


图 3 基于邻接法、最大简约法、最大似然法和贝叶斯法构建的白姑鱼系统树(后验概率及支持率标注在分支上)
AS: 日本有明海; IS: 日本伊势湾; DYW: 中国大亚湾; DH: 中国东海 AR: 大西洋白姑鱼(外群)。

Fig. 3 Phylogenetic trees of white croaker yielded from neighbor-joining methods, maximum parsimony methods, maximum likelihood methods, and Bayes analyses (Numbers on the trees represent the values of posterior probability values and supporting values)

AS: Ariake Sea, Japan; IS: Ise Bay, Japan; DYW: Daya Bay, China; DH: East China Sea; AR: *Argyrosomus regius* (outgroup)

中、日近海组群间可明显分为两大世系, 与韩志强^[11]等运用线粒体控制区部分序列所构建的 NJ 树所得结果相一致。

本研究基于最适模型对白姑鱼 Cyt *b* 全序列进行了两次独立的贝叶斯分析(用“lnL₁”和“lnL₂”表示)(图 4)。两次分析起始于随机树, 当达到约 2 500 代时似然对数值(log-likelihood scores)达到饱和, 所以将开始的 5 000 代(Generation)作为老化数据舍弃。两次结果在饱和时得到了相似的对数似然值, 基于稳定的对数似然值进行贝叶斯分析, 节点得到的后验概率支持值较高。

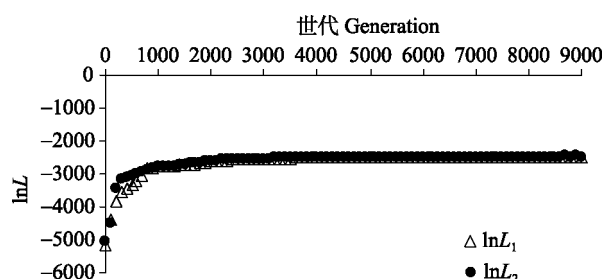


图 4 基于 Cyt *b* 基因全序列的两次(lnL₁ 和 lnL₂)贝叶斯分析的老化曲线

Fig. 4 Burn-in plots of two independent Bayes analyses (ln L₁ and ln L₂) based on the complete Cyt *b* gene sequence

3 讨论

本研究对中国和日本近海的白姑鱼 Cyt *b* 基因全序列及其密码子第三位点序列进行了综合分析, 中、日近海白姑鱼在碱基替代速率、碱基含量等方面均存在较大差异。有研究认为, 4 种核苷酸在线粒体基因组中分布不均一是动物线粒体基因组的共性^[21]。这在本研究中表现为鸟嘌呤在 Cyt *b* 及其密码子第三位点上的含量均较低。其中密码子第三位点的反 G 偏倚尤为显著, 分析认为这是由于蛋白质编码基因的核苷酸突变在密码子第三位点上受到的自然选择压力较小所致, 证明密码子第三位点能够更清晰地表明线粒体基因组核苷酸组成的不均一性^[22]。

一级结构是蛋白质最基本的结构, 它决定着蛋白质高级结构的形成, 与蛋白质的功能相适

应、相统一^[23-24]。Cyt *b* 在线粒体氧化磷酸化过程中发挥着重要的作用, 其在关键位点氨基酸的突变易导致基因结构的改变, 从而影响基因功能的发挥。在本研究中, 19 个白姑鱼个体在 Cyt *b* 基因全序列上共检测到 40 个多态位点, 但未发现其氨基酸序列水平的变异, 这可能是由于氨基酸的替换在功能上会受到较大的进化和突变压力所致^[25]。Meyer^[22]认为, 密码子第三位点由于很少导致氨基酸替代(同义替代), 其突变的积累比导致氨基酸替代的突变(非同义替代)快得多, 而且在突变中, 密码子第三位点上的转换最为常见, 其次是密码子第三位点上的颠换及密码子第一位点上的转换。本研究中, 核苷酸替代的 92.5% 发生在密码子第三位点上, 其中的 81.1% 为转换。密码子第一位点只发生 3 次突变, 未检测到第二位点的碱基变异, 这说明本研究结果与上述观点相一致。

本研究在对 8 种石首鱼科鱼类 Cyt *b* 基因全序列比较中观察到两种终止密码子类型, 其中白姑鱼以“T”碱基终止。分析推测: 白姑鱼 Cyt *b* 基因在转录后, 前体 mRNA 加工生成的 3 末端多聚 A 尾中的前两个 A 碱基与 Cyt *b* 基因序列最末尾的“T”碱基共同构成完整的终止密码子“TAA”^[26]。

近年来, Cyt *b* 基因越来越广泛地被认为是系统进化和物种分类地位探讨中的良好指标, 并且它具有较强的适用性, 已在动物类群系统发育研究中得到了广泛而有效的应用^[27-29]。本实验首次运用 Cyt *b* 基因全序列对形态学上难以区分的中、日近海白姑鱼样本进行了比较研究, 结果显示不同组群白姑鱼可明显分为中、日近海两大世系, 与韩志强等^[11-12]应用线粒体控制区、Cyt *b* 基因片段及 AFLP 得出的结果一致。此结果验证了 Cyt *b* 基因用于解决种内和近缘种间系统发育和遗传问题的适用性。基于筛选出的核苷酸最佳替换模型计算的中、日近海两世系的净遗传距离表明, 白姑鱼中、日近海两大世系之间的分歧时间约为 95 万年, 分化事件发生在晚更新世, 与韩志强等^[11]应用 Cyt *b* 基因部分序列得到的分歧时间(105.5 万年)相近。西北太平洋由于其独特的板块特征^[30], 当更新世因冰期造成海平面下降时, 海洋生物群

体可能会被隔离在日本海、东海和南海; 冰后期海平面上升后, 被隔离的种群重新混合, 但在遗传上仍存在较大的差异^[31]。本研究结果应可做为上述历史事件的一个佐证, 同时, 为进一步探讨中、日近海白姑鱼的分类地位提供了遗传学依据, 对白姑鱼资源的可持续利用具有重要意义。

参考文献:

- [1] 赵传纲. 中国海洋渔业资源 [M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1990: 251–253.
- [2] Yamada U. Fishes of Japan with Pictorial Keys to the Species [M]. Tokyo: Tokai University Press, 2000: 867–870.
- [3] 陈作志, 邱永松, 黄梓荣. 南海北部白姑鱼生长和死亡参数的估算 [J]. 应用生态学报, 2005, 16(4): 712–716.
- [4] Ferraris J D, Palumbi S R. Molecular Zoology: Advance, Strategies, and Protocols [C]. New York: Wiley-Liss, 1996: 580.
- [5] 肖武汉, 张亚平. 鱼类线粒体 DNA 的遗传与进化 [J]. 水生生物学报, 2000, 24(4): 384–391.
- [6] 牟希东, 白俊杰, 叶星, 等. 金鱼线粒体 Cyt *b* 基因序列分析及与鲫鱼亲缘关系探讨 [J]. 南方水产, 2007, 3(1): 26–30.
- [7] Zardoyar R, Meyer A. Phylogenetic performance mitochondrial protein coding genes in resolving relationship among vertebrates [J]. Mol Biol Evol, 1996, 13: 933–942.
- [8] Song C B, Near T J, Page J M. Phylogenetic relations among percoid fishes as inferred from mitochondrial cytochrome *b* DNA sequence data [J]. Mol Phylogenet Evol, 1998, 10(3): 343–353.
- [9] 蒙子宁, 庄志猛, 丁少雄, 等. 中国近海 8 种石首鱼类的线粒体 16S rRNA 基因序列变异及其分子系统进化 [J]. 自然科学进展, 2004, 14(5): 514–521.
- [10] 陈泉梅. 中国石首鱼科鱼类分子系统学研究 [D]. 广州: 暨南大学, 2007.
- [11] Han Z Q, Gao T X, Yanagimoto T, et al. Deep phylogeographic break among *Pennahia argentata* (Sciaenidae, Perciformes) populations in the Northwestern Pacific [J]. Fish Sci, 2008, 74(3): 770–780.
- [12] Han Z Q, Shui B N, Wang Z Y, et al. Analysis of genetic structure of white croaker using amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers [J]. Afr J Biotechnol, 2009, 8(18): 4308–4315.
- [13] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T, et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual [M]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996: 464–468.
- [14] Posada D, Crandall K A. Modeltest: testing the model of DNA substitution [J]. Bioinformatics, 1998, 14: 817–818.
- [15] Kumar S, Tamura K, Jakobsen I B, et al. MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software [J]. Bioinformatics, 2001, 17: 1244–1245.
- [16] Schneider S, Roessli D, Excoffier L. ARLEQUIN version 2.000: A Software of Population Genetic Data Analysis [M].

- Geneva: University of Geneva, 2000.
- [17] Swofford D L. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and other methods), version 4 [M]. Sunderland: Sinauer Associates, MA, 2002.
- [18] Ronquist F, Huelsenbeck J P. Mrbayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models [J]. Bioinformatics, 2003, 19: 1572–1574.
- [19] Ward R D, Zemlak T S, Innes B H, et al. DNA barcoding Australia's fish species [J]. Philos Trans R Soc Lond B, 2005, 360: 1847–1857.
- [20] Ely B, Vinas J, Bremer J R A, et al. Consequences of the historical demography on the global population structure of two highly migratory cosmopolitan marine fishes: the yellow fin tuna (*Thunnus albacares*) and the skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) [J]. BMC Evolut Biol, 2005, 5(19): 1–9.
- [21] Avise J C. Phylogeography [M]. London: Harvard University Press, 2000: 1–36.
- [22] Meyer A. Evolution of mitochondrial DNA in fishes [M]. Amsterdam: Elsevier Press, 1993: 1–36.
- [23] 阎隆飞, 孙之荣. 蛋白质分子结构 [M]. 北京: 清华大学出版社, 1999: 37–54.
- [24] 来鲁华. 蛋白质的结构预测与分子设计[M]. 北京: 北京大学出版社, 1993: 1–28.
- [25] 柳杨, 李进华, 赵健元. 短尾猴与红面猴细胞色素 *b* 基因变异特点及系统发育分析 [J]. 生态科学, 2006, 25(5): 426–429.
- [26] 孙乃恩, 孙东旭, 朱德煦. 分子遗传学 [M]. 南京: 南京大学出版社, 1990: 66.
- [27] Smith M F, Patton J L. Variation in mitochondrial cytochrome *b* sequence in natural populations of south American akodontine rodents [J]. Mol Biol Evol, 1991, 8(1): 85–103.
- [28] Tanaka-Ueno T, Matsui M, Sato, et al. Phylogenetic relationships of brown frogs with 24 chromosomes from Far East Russia and Hokkaido assessed by mitochondrial cytochrome *b* gene sequences [J]. Zool Sci, 1998b, 15: 289–294.
- [29] Briolay J, Galtier N, Brito R M, et al. Molecular phylogeny of cyprinidae inferred from cytochrome *b* DNA sequences [J]. Mol Phylogenet Evol, 1998, 9: 100–108.
- [30] Wang P X. Response of Western Pacific marginal seas to glacial cycles: paleoceanographic and sedimentological features [J]. Mar Geol, 1999, 156: 5–39.
- [31] 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]. Mol Ecol, 2007, 16: 275–288.

Comparative analysis of white croaker (*Pennahia argentata*) based on complete cytochrome *b* gene sequence in mitochondrial DNA

LI Ang¹, GAO Tianxiang¹, SUN Dianrong²

(1. The Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Guangzhou 510300, China)

Abstract: The mitochondrial cytochrome *b* (Cyt *b*) gene of *Pennahia argentata* from different locations was amplified by PCR and the sequence with total length of 1411 bp was sequenced and analyzed. According to the analysis, two distinct clades were detected, one in China's offshore waters and another in the Japan's offshore waters. Forty nucleotide substitutions were checked in the total sequences analyzed, and most of them were synonymous transitions at the third codon positions. Nucleotide composition analysis indicated a strong bias against guanine (G) in the complete cytochrome *b* gene, especially in the third codon positions. The net average genetic distance between Chinese and Japanese clades were 1.9% in this study. Applying cytochrome *b* divergence rate of 2%/MY, the divergence of the two clades occurred about 950 000 years before present (BP) in Late Pleistocene. The topology of Bayesian tree is similar to those of neighbor Joining tree, maximum parsimonious tree, and maximum likelihood tree, which indicated significant genetic divergency existed in white croaker between China's offshore and Japan's offshore.[Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(6):1166–1172]

Key words: *Pennahia argentata*; cytochrome *b* gene; genetic distances; divergence time; Japan's offshore; China's off shore

Corresponding author: SUN Dianrong. E-mail: drsun73@163.com