

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2016.15114

## 南海短尾大眼鲷线粒体 Cyt b 基因序列及种群判别分析

熊丹<sup>1,2</sup>, 李敏<sup>1</sup>, 李永振<sup>3</sup>, 李玉芳<sup>1,2</sup>, 张魁<sup>1</sup>, 陈作志<sup>1</sup>

1. 中国水产科学研究院 南海水产研究所, 农业部南海渔业资源开发利用重点实验室, 农业部南海渔业资源环境科学观测实验站, 广东 广州 510300;
2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306;
3. 农业部南海区渔政局, 广东 广州 510080

**摘要:** 对采集于中国南海北部近岸和南沙西南部陆架海域 7 个采样点共 246 尾短尾大眼鲷(*Priacanthus macracanthus*)样品进行了线粒体细胞色素 b 基因(cytochrome b, cyt b)序列的扩增与分析, 获得了长度为 684 bp 的同源序列。碱基 A、T、C、G 含量分别为 22.7%、28.4%、33.4%、15.5%, 共检测到多态位点 92 个, 定义了 90 个单倍型。其遗传多样性表现出高单倍型多样性(0.8130~0.9012)和低核苷酸多样性(0.0040~0.0053)的特点。两两群体间的  $F_{st}$  分析显示, 大部分群体间的  $F_{st}$  值均小于 0.05, 且差异不显著( $P>0.05$ ), 样本总体分化指数仅为 0.012, 群体间分化程度很低。分子方差分析(AMOVA)表明, 群体间的遗传变异仅占总遗传变异的 1.25%, 98.75% 的遗传变异源于群体内, 群体之间有较高的遗传同质性。基于邻接法构建的系统发育树和基于中间连接法构建的单倍型网络图均显示, 南海短尾大眼鲷不存在与地理群体对应的支系, 遗传分化不显著。中性检测和不对称分布分析发现, 南海短尾大眼鲷群体在更新世晚期发生过种群扩张。结果表明南海短尾大眼鲷群体间的遗传交流较频繁, 可以认为是一个大的种群。

**关键词:** 种群判别; 短尾大眼鲷; 细胞色素 b; 南海

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2016)01-0188-10

短尾大眼鲷[*Priacanthus macracanthus* (Cuvier, 1829)]属鲈形目(Perciformes), 大眼鲷科(Priacanthidae), 为暖水性近底层经济鱼类, 广泛分布于东印度—西太平洋海域, 主要栖息于 200 m 以内水深的浅海陆架区。由于肌肉胶原含量高, 短尾大眼鲷已经成为商业领域用于制作鱼肉酱原材料的重要鱼种<sup>[1-2]</sup>。在南海, 短尾大眼鲷在北部和南沙西南部陆架海域广泛分布, 是底拖网产量最高的捕捞种类之一<sup>[3]</sup>。目前已有较多关于短尾大眼鲷食性<sup>[3]</sup>、发育生物学<sup>[4-7]</sup>和生态学<sup>[8]</sup>研究的报道, 而有关短尾大眼鲷种群遗传方面的研究

较少。

了解鱼类的种群划分是渔业开发利用和管理的前提。短尾大眼鲷作为南海广泛分布的重要经济鱼类, 其南海各种群的种群归属问题一直未见报道。本研究使用广泛应用于种内遗传结构分析的线粒体细胞色素 b(Cytochrome b, Cyt b)序列作为标记, 对南海短尾大眼鲷的群体遗传多样性和群体遗传结构进行研究, 并判别南海北部各群体间以及南海北部和南沙西南部各群体间的种群归属, 为今后开发南海短尾大眼鲷资源提供参考依据。

收稿日期: 2015-03-24; 修订日期: 2015-09-18.

基金项目: 农业部财政重大专项(NFZX2013); 国家科技支撑计划项目(2013BAD13B06); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(中国水产科学研究院南海水产研究所)资助项目(2014TS23).

作者简介: 熊丹(1989-), 女, 硕士研究生, 从事鱼类种群分析研究. E-mail: xiongdan\_2013@163.com

通信作者: 陈作志(1978-), 博士, 副研究员, 主要从事海洋渔业资源评估和渔业资源生态学研究. E-mail: zzchen2000@163.com

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

于 2013 年 7 月至 2014 年 3 月, 在南海北部近岸海域(汕头、珠江口、茂名、三亚、北部湾、北海域)和南海西南陆架区域(南沙)采样。采样数量根据本实验室经验和参考文献<sup>[11]</sup>设置在 35 尾左右, 共采集了 7 个地理群体共计 246 尾短尾大眼鲷个体(表 1), 采样区域基本覆盖了短尾大眼鲷南海分布区。样品通过形态鉴定, 取肌肉组织冷冻保存。

### 1.2 DNA 提取及 PCR 扩增和测序

实验采用上海生工生物工程有限公司的海洋动物组织 DNA 提取试剂盒提取总基因组 DNA, 通过 1% 的琼脂糖凝胶电泳对提取物质进行检测。用 PCR 扩增和直接测序法测定线粒体 Cyt b 序列, 所用引物为: Pma-cytb-F: 5'-ATGCTACCCCTAACT CGATTCTTGCG-3'; Pma-cytb-R: 5'-CTTTGGGA GTTAGTGGTGAAGGTTG-3'。PCR 反应总体积 50 μL: 模版 DNA 1 μL, 引物 F 与 R(10 μmoL/L) 各 1 μL, 4 μL dNTP, 5 μL 10× Ex Taq buffer, 0.5 μL Ex Taq 酶(Takara), 灭菌双蒸水补足体系。反应程序: 94℃ 预变性 3 min; 94℃ 变性 30 s, 55 ℃ 退火 25 s, 72 ℃ 延伸 1 min 30 s; 72℃ 延伸 5 min; 运行 30 个循环。PCR 产物由 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 产物送至华大测序公司双向测序。

### 1.3 序列拼接及分析方法

测序结果用 Dnastar 软件包进行拼接并手工校对, 获得短尾大眼鲷线粒体 Cyt b 序列。利用软件 ClustalX1.8.3 进行序列比对排序。使用 MEGA 6.0<sup>[12]</sup>计算遗传距离和碱基组成, 群体遗传学参数使用 DnaSP 5<sup>[13]</sup>和 ARLEQUIN 3.0<sup>[14]</sup>软件统计获得。

单倍型间的系统发育关系使用邻接法和中介网络法构建, 系统树的可靠性采用 1000 次重抽样评估。采用 AMOVA<sup>[15]</sup>分析评估短尾大眼鲷的群体遗传结构。采用 ARLEQUIN 软件计算两两群体间的  $F_{st}$  值以检验群体遗传结构,  $F_{st}$  值的显著性通过 1000 次重抽样检验。采用中性检验和核苷酸不对称分布两种方法检测短尾大眼鲷的群体历史动

态。中性检验使用 Tajima's  $D$  和 Fu's  $F_s$  值, 如是负值且显著偏离中性, 则群体可能经历扩张。核苷酸不对称分布使用 3 个参数:  $\tau$ (突变单位表示的群体扩张时间),  $\theta_0$ (群体扩张前的  $\theta$  值)和  $\theta_1$ (群体扩张后的  $\theta$  值), 参数  $\tau$  可由  $\tau=2\mu t^{[16]}$  计算, 本研究中, 核苷酸替代速率使用 2%/百万年<sup>[17]</sup>。核苷酸不对称分布呈现明显的单峰则说明群体经历了近期扩张<sup>[18]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 序列多态分析

在本研究中共获取到 246 条序列, 去除两端引物序列, 通过序列比对和手动校正得到片段长度为 684 bp。核苷酸组成分析显示短尾大眼鲷 Cyt b 序列 A+T(51.1%)与 C+G(48.9%)含量相近, 其中鸟嘌呤(G)含量较低(15.5%), 表现出显著的反 G 偏倚, 这种现象在很多鱼类中都被检测到。总体而言, 南海海域短尾大眼鲷各地理种群线粒体 Cyt b 序列在各碱基含量上比较接近。核苷酸替换中转换 79 个, 颠换 19 个(表 1), 基于 Kimura 2-parameter 模型计算的转换颠换比  $R$  为 4.63, 显示出比较高的转换颠换率, 说明所研究序列突变未达到饱和, 适合于进行系统发育分析。检测到多态位点 92 个, 占全部序列的 13.45%, 其中有 30 个是简约信息位点, 定义了 90 个单倍型。群体的遗传多样性表现出高单倍型多样性(0.8130~0.9012)和低核苷酸多样性(0.00407~0.0053)的特点, 说明南海短尾大眼鲷物种多样性比较丰富, 资源还在可持续发展水平上, 没有出现严重的资源衰退现象。

### 2.2 群体遗传结构分析

根据短尾大眼鲷的地理分布, 本研究将短尾大眼鲷所有群体分为不同基因池进行 AMOVA 分析(表 2)。将所有样本作为一个基因池, 分析结果显示, 全部群体间的差异为 1.25%,  $F_{st}=0.012$  ( $P>0.05$ )。将短尾大眼鲷分为南海北部和南海南部两个地理群体进行研究, 发现南海北部和南海南部群体间的分子差异为 5.24%,  $F_{st}=0.048$  ( $P>0.05$ ), 分子差异和  $F_{st}$  均大于全部群体间的值, 说明南海南部和北部

表1 短尾大眼鲷的遗传多样性参数表  
Tab.1 Descriptive statistics of genetic diversity of *Priacanthus macracanthus*

采样点 sampling site	采样数量 sample size	经度/纬度 longitude/latitude	单倍型数(独享单倍型数) no. of haplotypes(private)	多态位点 segregating site, <i>S</i>	单倍型多样性 haplotype diversity, <i>h</i>	核苷酸多样性 nucleotide diversity, $\pi$	平均核苷酸差异 mean number of pairwise difference, <i>k</i>
汕头 Shantou	30	116°57'E/22°52'N	16(12)	26	0.8989±0.0381	0.0058±0.0033	3.9563±2.0373
珠江口 Zhujiangkou	32	113°57'E/21°56'N	18(15)	23	0.9012±0.0398	0.0053±0.0030	3.6472±1.8965
茂名 Maoming	33	110°02'E/22°52'N	14(9)	17	0.8769±0.0405	0.0047±0.0027	3.2121±1.7014
三亚 Sanya	35	116°57'E/18°05'N	21(18)	29	0.8824±0.0505	0.0052±0.0030	3.5831±1.8637
北部湾南 South of Beibu Gulf	42	107°52'E/18°34'N	19(14)	21	0.8130±0.0604	0.0040±0.0024	2.7781±1.4994
北部湾北 North of Beibu Gulf	35	107°32'E/20°27'N	18(15)	20	0.8807±0.0432	0.0046±0.0027	3.1630±1.6770
南沙 Nansha	39	108°52'E/5°43'N	17(13)	25	0.8516±0.0440	0.0054±0.0030	3.6660±1.8930
总计 total	246	—	90(78)	92	0.8741±0.0163	0.0050±0.0028	3.4382±1.7629

表 2 短尾大眼鲷群体线粒体 Cyt b 的分子方差分析  
**Tab.2 Genetic structuring of *Pracanthus macracanthus* based on cytochrome b sequence data**

变异来源 source of variation	变异组成 variance component	变异百分比/%percentage of variation	F	P
1.一个基因池 one gene pool (南海 South China Sea)				
群体间 among groups	0.021	1.25		
群体内 within groups	0.701	98.75	$F_{st}=0.012$	>0.05
2.两个基因池 two gene pool (南海北部 north of the South China Sea, 南海南部 south of the South China Sea)				
群体间 among groups	0.093	5.24	$F_{st}=0.048$	>0.05
种群间 among populations	-0.008	-0.43	$F_{sc}=-0.005$	>0.05
种群内 within populations	1.700	95.19	$F_{ct}=0.052$	>0.05

群体有轻微的分化。南海北部和南海南部各群体间的分子差异为-0.43%，所有群体内的分子差异为95.19%，组群间的遗传分化值虽然大于0.05，但是差异并不显著( $F_{ct}=0.0524$ ,  $P>0.05$ )，组群内群体间的分子差异( $F_{sc}=-0.005$ ,  $P>0.05$ )也不显著。此外，我们还计算了两两群体间的 $F_{st}$ 值(表3)，与AMOVA分析的结果相一致，成对 $F_{st}$ 分析显示，除了南海南沙采样点与三亚和北部湾南北共3个点的 $F_{st}$ 值(分别为显著的0.0654、0.0887、0.0624)超过0.05以外，其余各群体间的 $F_{st}$ 值在-0.0185~0.0372之间，均小于0.05，且差异不显著( $P>0.05$ )。

### 2.3 种群分析

采用中介网络法构建短尾大眼鲷单倍型的网络关系图(图1)，呈现星状结构，提示短尾大眼鲷群体有经历近期扩张的可能性。单倍型网络图发现，优势单倍型为Hap1、Hap2、Hap4和Hap6，单倍型类群I存在两个主体单倍型，分别为Hap1和

Hap4，单倍型类群II也存在两个主体单倍型，分别为Hap2和Hap6，但是两种单倍型类群之间没有发现显著的地理分化特征，并不表现出明显的地理隔离。

以宝石大眼鲷(*Priacanthus hamrur*)(GenBank登录号: HM037266.1)作为外类群，基于 Tamura-Nei 距离以线粒体 Cyt b 序列构建的 NJ 系统树显示(图2): 单倍型有没有聚成世系，各群体的个体均未单独成群，7个群体的短尾大眼鲷个体基本是随机交叉聚类，不能形成明显的类聚分支。这与单倍型网络关系图揭示的结果相似，说明南海海域的短尾大眼鲷群体并没有出现显著的遗传分化现象。

中性检验结果显示，整体的 Tajima's D 呈现显著的负值(-2.345)，Fu's  $F_s$  呈现显著且较高的负值(-25.837)，全部南海短尾大眼鲷群体的中性表明短尾大眼鲷经历了群体扩张事件(表4)。

表 3 基于线粒体 Cyt b 基因的短尾大眼鲷两两群体间的遗传分化系数  
**Tab.3 Pairwise  $F_{st}$  among populations of *Pracanthus macracanthus* based on cytochrome b**

采样点 sampling site	汕头 Shantou	珠江口 Zhujiangkou	茂名 Maoming	三亚 Sanya	北部湾南 South of Beibu Gulf	北部湾北 North of Beibu Gulf	南沙 Nansha
汕头 Shantou	0.0080						
珠江口 Zhujiangkou	-0.0089	0.0105					
茂名 Maoming	-0.0179	-0.0096	0.0140				
三亚 Sanya	0.0049	-0.0137	0.0111	0.0109			
北部湾南 South of Beibu Gulf	0.0173	-0.0098	0.0187	-0.0160	0.0175		
北部湾北 North of Beibu Gulf	0.0041	-0.0171	0.0068	-0.0185	-0.0162	0.0144	
南沙 Nansha	-0.0011	0.0372	0.0050	0.0654*	0.0887*	0.0624*	0.0102

注: \*表示分子差异显著( $P<0.05$ )。

Note: \* denotes significant difference( $P<0.05$ )。

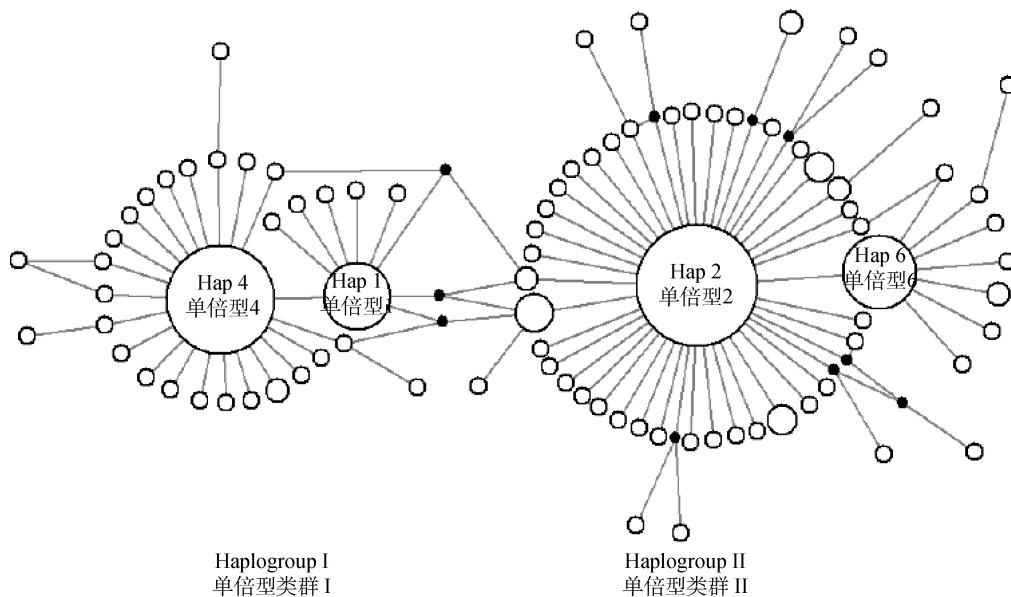


图 1 短尾大眼鲷线粒体 Cyt b 单倍型的网络关系图

Fig.1 Median-joining network for cytochrome *b* haplotypes of *Priacanthus macracanthus*

表 4 短尾大眼鲷的中性检验和不对称分布参数

Tab.4 Tajima's *D*, Fu's *F<sub>s</sub>* statistics, and mismatch distribution parameter estimates of *Priacanthus macracanthus*

采样点 sampling site	Tajima's <i>D</i>		Fu's <i>F<sub>s</sub></i>		不对称分布 mismatch distribution		
	<i>D</i>	<i>P</i>	<i>F<sub>s</sub></i>	<i>P</i>	$\tau$	$\theta_0$	$\theta_1$
汕头 Shantou	-1.419	0.055	-5.956	0.005	6.221	0.002	6.851
珠江口 Zhusiangkou	-1.262	0.098	-8.880	0.000	6.062	0.002	6.323
茂名 Maoming	-0.783	0.228	-4.470	0.025	5.516	0.000	5.564
三亚 Sanya	-1.723	0.022	-13.051	0.000	6.453	0.002	5.771
北部湾南 South of Beibu Gulf	-1.421	0.067	-10.750	0.000	7.088	0.002	3.645
北部湾北 North of Beibu Gulf	-1.181	0.122	-9.430	0.000	6.514	0.000	4.753
南沙 Nansha	-1.296	0.087	-5.969	0.018	6.264	0.002	6.471
平均 average	-2.345	0.000	-25.837	0.000	6.047	0.000	5.633

核苷酸不对称分布分析结果中(表 4, 图 3), 尽管观测到的核苷酸错配分布与预期分布之间的吻合并不十分理想, 但是数据并没有达到显著值 ( $P>0.05$ ), 因此可以用于分析短尾大眼鲷的群体历史动态。南海短尾大眼鲷群体的  $\tau$  值为 6.047, 根据线粒体 Cyt *b* 序列的进化速率估算群体扩张时间约为 11 万年前, 处于更新世晚期。

### 3 讨论

#### 3.1 南海短尾大眼鲷遗传多样性分析

遗传多态性是由各种突变产生的, 比如核苷酸替代、插入、缺失、基因转换或者重组等, 大

多数的新突变会因遗传漂变或净化选择作用而消失, 只有极少数的新突变会偶然地被渗入到群体中。生物的遗传多样性与其对环境的适应能力成正相关, 遗传多样性降低会使物种的适应能力降低, 甚至导致物种退化。本研究对南海不同地理种群的 Cyt *b* 基因部分序列进行分析, 显示出比较高的转换颠换率, 这种现象在很多海洋鱼类中都是存在的<sup>[19-20]</sup>。检测到多态位点 92 个, 占全部序列的 13.45%, 其中有 30 个是简约信息位点, 定义了 90 个单倍型, 显示出短尾大眼鲷群体群体间较强的同质性, 这种现象在其他海洋鱼类线粒体 Cyt *b* 序列上也是很常见的<sup>[21]</sup>, 表明短

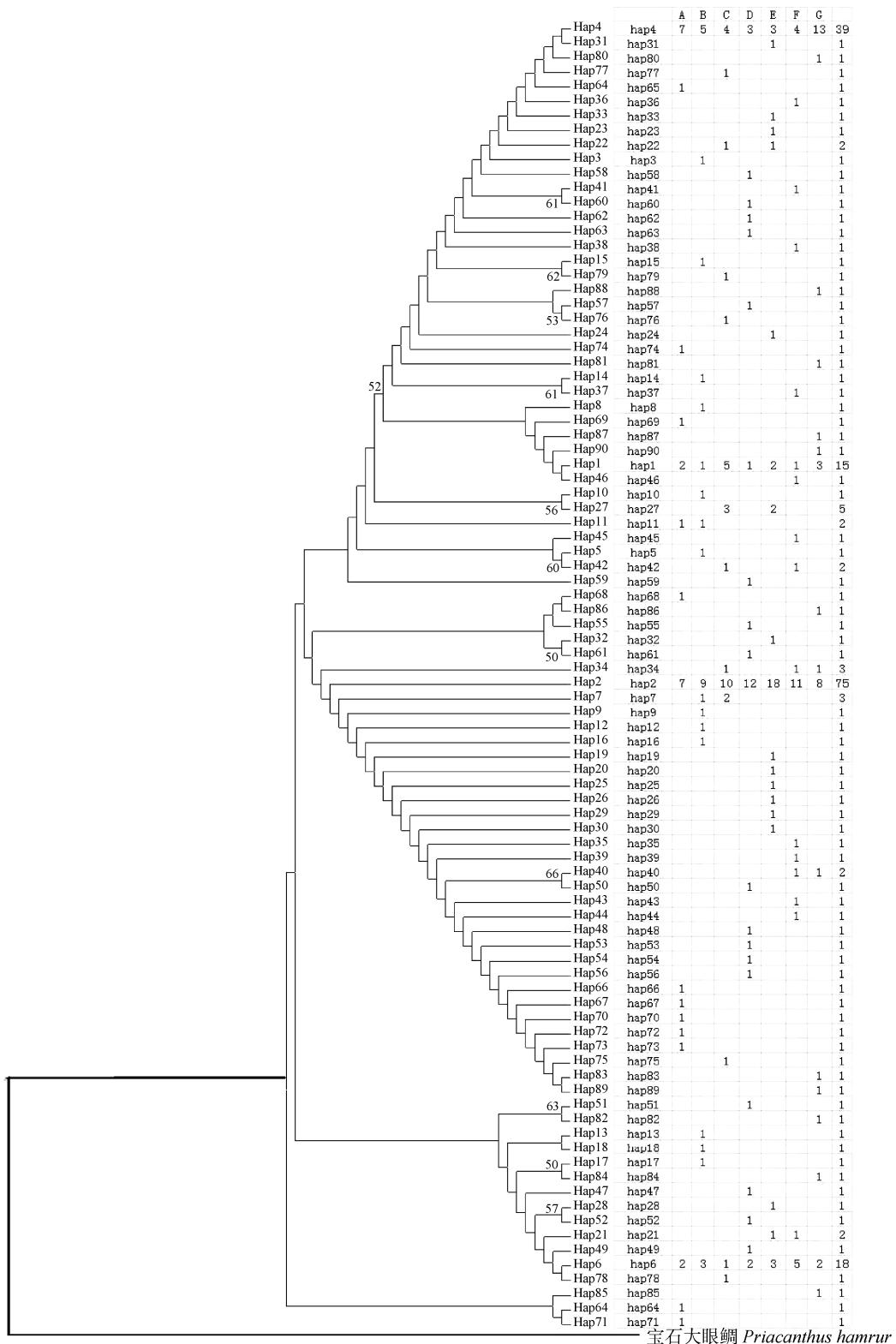


图2 基于 Tamura-Nei 距离根据短尾大眼鲷线粒体 Cyt b 序列单倍型构建的邻接树及各群体单倍型分布结构树  
A. 汕头; B. 珠江口; C. 茂名; D. 三亚; E. 北部湾南; F. 北部湾北; G. 南沙.

Fig.2 Neighbour-joining tree for cytochrome b haplotypes of *Priacanthus macracanthus* based on Tamura-Nei diatances and the distribution of haplotypes among groups at each locality  
A.Shantou; B. Zhujiangkou; C. Maoming; D. Sanya; E. South of Beibu Gulf; F. North of Beibu Gulf; G. Nansha.

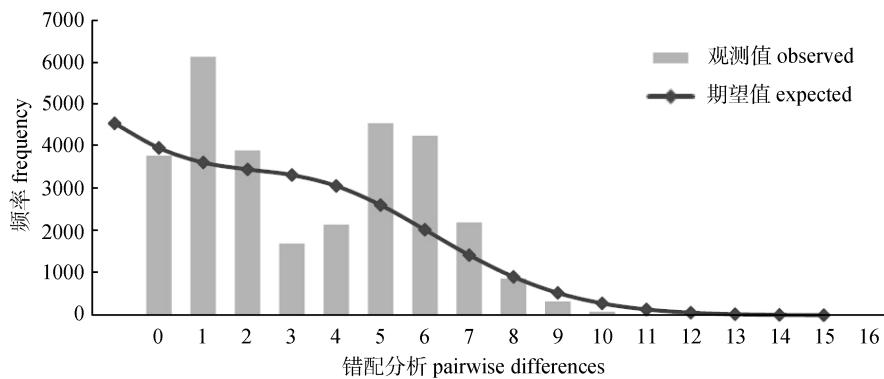


图 3 短尾大眼鲷线粒体 Cyt b 单倍型的错配频率分布

Fig.3 The observed pairwise difference and the expected mismatch distributions under sudden expansion model of the cytochrome *b* haplotypes in *Priacanthus macracanthus*

尾大眼鲷中存在丰富的线粒体基因多态性。核苷酸多样性( $\pi$ )是衡量物种遗传多样性的重要指标之一<sup>[22]</sup>, 表示单倍型在群体中所占比列, 当  $\pi$  值在 0.0015~0.0047 时表明遗传多样性水平较低<sup>[23]</sup>。实验中, 检测到位于北部湾北部和南部两采样点的遗传多样性均处于较低的水平, 分别为 0.0040 和 0.0046, 而其他站点的多样性指数均大于 0.0047, 分析其原因可能由于北部湾相对封闭, 外海的短尾大眼鲷群体还来不及补充进来, 因此有必要加强对南海渔业资源共享以及共同保护渔业资源的管理。

### 3.2 南海短尾大眼鲷群体扩张历史分析

系统发育是指任何分类单元的起源及进化关系, 即世系传递过程所表现的全部现象, 系统发育所用的数据主要来自形态、化石和分子方面, 分子系统学的兴起和发展使人们开始从分子水平上定量研究生物进化过程。本实验是利用线粒体 DNA 研究短尾大眼鲷种下阶元的系统发育, 也就是种内不同群体间的谱系分支关系, 它常与地理分布、群体遗传结构的研究紧密相联。依据 Tamura-Nei 距离的邻接(NJ)法构建系统发育树分析结果表明, 整个南海海域的短尾大眼鲷群体遗传分化不显著, 并未形成明显的地理分支或聚簇, 这与董丽娜<sup>[24]</sup>对南海金线鱼(*Nemipterus virgatus*)的 D-loop 序列和 COI 基因进行分析的结果相似, 该研究发现各地理种群分化并不明显, 金线鱼种群经历过种群扩张事件。

### 3.3 影响南海短尾大眼鲷群体遗传结构的因素分析

影响海洋生物种群结构的可能因素有洋流、海水温度、海底地形和物种的生活史特征等。洋流对海洋生物的扩散迁移有很大作用, Liu 等<sup>[25]</sup>采用 mtDNA 的 D-loop 序列对梭鱼(*Chelon haematocheilus*)的系统地理格局进行研究, 发现梭鱼在更新世冰期发生过分化, 并在冰后期发生了二次混合, 分析其原因可能是梭鱼浮游幼体在洋流作用下重新产生基因交流。海水温度会影响鱼类基因交流, Santos 等<sup>[26]</sup>对石首鱼(*Macrodon ancylodon*)线粒体细胞色素 b 基因序列进行研究, 发现寒流和暖流导致美国大西洋沿岸的两个石首鱼群体遗传结构发生分化。海底地形可能造成鱼类的种群分化, 有些鱼类是不能跨过南海海盆交流的<sup>[27]</sup>, 物种的生活史也会影响鱼类的种群遗传结构, 比如孵卵期越长的鱼类, 不同群体的鱼卵混在一起的机会越大<sup>[28]</sup>。海洋鱼类都具有较强的扩散潜力, 海洋中并不存在阻碍群体交流的物理屏障, 因此群体间的分化通常较低。本实验中 AMOVA 分析与成对的  $F_{st}$  分析显示, 南海短尾大眼鲷群体不存在显著的遗传分化, 南海北部和南海南部的序列差异是不显著的 4.8%, 并未达到 5% 的种内差异<sup>[29]</sup>, 系统发育分析显示各群体之间遗传分化不显著, 没有出现明显的地理分支或聚簇, 这表明在南海沿岸的短尾大眼鲷群体中, 存在着较广泛的基因交流, 地理分化不明显, 仍可以认为是一个大的种群。孙冬芳<sup>[30-31]</sup>对南海密

点胡椒鲷(*Plectorhinchus gaterinus*)、多齿蛇鲻(*Saurida tumbil*)和花斑蛇鲻(*Saurida undosquamis*)进行种群判别分析, 李玉芳<sup>[19, 32]</sup>利用线粒体DNA分析了南海黄鳍马面鲀(*Thamnaconus hypargyreus*)的群体遗传结构和历史发育情况进而分析其种群归属, 在对这些南海鱼类种群的分析中, 发现的种群分化现象并不普遍, 提示南海的鱼群间发生了一定的遗传交换, 存在广泛遗传接触, 使得群体间遗传差异不明显。由于实验并没有采取到南海东部的样品, 因此不能完全反映该物种在整个南海的群体分化程度, 但是本研究在一定程度上为短尾大眼鲷的种质资源保护提供了参考依据。

#### 参考文献:

- [1] Aodileep B A, Shamasundar P K, Binsi F, et al. Composition, physicochemical and rheological properties of fresh bigeye snapper fish (*Priacanthus hamrur*) mince[J]. *J Food Biochem*, 2012, 36(6): 577–586.
- [2] Soottawat B, Kwunchit O, Wonnop V, et al. Characteristics of gelatin from the skins of bigeye snapper, *Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus*[J]. *Food Chem*, 2009, 116 (2): 307–325.
- [3] Lu Z H, Zhu Z J, Lin X P. Food habits of *Priacanthus macracanthus* in East China Sea region[J]. *Marine Fisheries*, 2010, 32(2): 199–203.[卢占晖, 朱增军, 林显鹏. 东海区短尾大眼鲷食性分析[J]. 海洋渔业, 2010, 32(2): 199–203.]
- [4] Sun D R, Qiu Y S. Estimation of growth and mortality parameter of *Priacanthus tayenus* in Beibu Bay[J]. *Transaction of Oceanology and Limnology*, 2004, 27(3): 27–34.[孙典荣, 邱永松. 北部湾长尾大眼鲷生长和死亡参数估计[J]. 海洋湖沼通报, 2004, 27(3): 27–34.]
- [5] Daiji O, Osame T. Aged and growth of big eye *Priacanthus macracanthus* in the East China Sea[J]. *Fish Sci*, 1999, 65(3): 436–440.
- [6] Liu K M, Hung K Y, Chen C T. Reproductive biology of the big eye *Priacanthus macracanthus* in the north-eastern waters off Taiwan[J]. *Fish Sci*, 2001, 67(6): 835–838.
- [7] Zhang R Z, Lu S F. The development of egg and larvae of *Priacanthus macracanthus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1982, 6(3): 243–251.[张仁斋, 陆穗芬. 短尾大眼鲷卵及仔、稚鱼的发育[J]. 水产学报, 1982, 6(3): 243–251.]
- [8] Liu K M, Cheng Y L. Virtual population analysis of the big eye *Priacanthus macracanthus* in the waters off northeastern Taiwan[J]. *Fish Res*, 1999, 40(3): 243–254.
- [9] Buonaccorsi V, McDowell J, Graves J. Reconciling pattern of inter-ocean molecular variance from four classes of molecular markers in blue marlin(*Makaira nigricans*)[J]. *Mol Ecol*, 2001, 10(5): 1179–1196.
- [10] Rocha L, Bass A, Robertson D, et al. Adult habitat preferences, larval dispersal, and the comparative phylogeography of three Atlantic surgeonfishes (Teleostei: Acanthuridae)[J]. *Mol Ecol*, 2002, 11(2): 243–252.
- [11] Huang Y. *The Theory, Methods and Application of Molecular Systematics*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1998: 128–133.[黄原. 分子系统学原理、方法及应用[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 128–133.]
- [12] Koichiro T, Glen S, Daniel P, et al. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0[J]. *Mol Biol Evol*, 2013, 30(12): 2725–2729.
- [13] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data[J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(12): 1451–1452.
- [14] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis[J]. *Evol Bioinform*, 2005, 19(1): 47–50.
- [15] Excoffier L, Smouse P, Quattro J. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data[J]. *Genetics*, 1992, 131(2): 479–491.
- [16] Lee W J, Conroy J, Howell W H, et al. Structure and evolution of teleost mitochondrial control region[J]. *J Mol Evoln*, 1995, 41(1): 54–66.
- [17] Bowen B W, Bass A L, Rocha L A, et al. Phylogeography of the trumpetfishes (*Aulostomus*): ring species complex on a global scale[J]. *Evolution*, 2001, 55(5): 1029–1039.
- [18] Excoffier L. Patterns of DNA sequence diversity and genetic structure after a range expansion: lessons from the infinite-island model[J]. *Mol Ecol*, 2004, 13(5): 853–864.
- [19] Li Y F, Li Y Z, Chen G B, et al. Population analysis of *Thamnaconus hypargyreus* on the mitochondrial Cyt b sequence[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, 38(1): 23–32.[李玉芳, 李永振, 陈国宝, 等. 基于线粒体Cyt b基因的黄鳍马面鲀种群分析[J]. 水产学报, 2014, 38(1): 23–32.]
- [20] Niu S F, Su Y Q, Wang J, et al. Genetic polymorphism of mitochondrial control region and cyt b in *Trachurus japonicus* from Fujian coastal Waters[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2011, 19(1): 66–74.[牛素芳, 苏永全, 王军, 等. 福建近海竹荚鱼线粒体 DNA 控制区和细胞色素 b 遗传多态性[J]. 中国水产科学, 2011, 19(1): 66–74.]

- [21] Hu J, Hou X Y, Yin S W, et al. Genetic diversity and divergence of *Cheilinus undulatus* of different geographic populations of the South China Sea revealed by CO I and cyt b gene analyses[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, 38(6): 1008–1016.[胡静, 侯新远, 尹绍武, 等. 基于 mtDNA CO 和 Cyt b 基因序列对南中国海不同海域波纹唇鱼群体遗传多样性的研究[J]. 水生生物学报, 2014, 38(6): 1008–1016.]
- [22] Xiao M S, Cui F, Kang J, et al. Analysis on sequence polymorphism of the mitochondrial DNA control region and population genetic diversity of the cultivated and natural Chinese longsnout catfish(*Leiocassis longirostris*)[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2013, 37(1): 90–99.[肖明松, 崔峰, 康健, 等. 长吻鮈 *Leiocassis longirostris* 养殖群体与野生群体遗传多样性分析[J]. 水生生物学报, 2013, 37(1): 90–99.]
- [23] Lan H, Shi L M. The origin and genetic differentiation of native breeds of pigs in south west China: An approach from mitochondrial DNA polymorphism[J]. *Biochem Genet*, 1993, 31(1): 51–60.
- [24] Dong L N. Molecular analysis of population of *Nemipterus virgatus* in the northern continental shelf of South China Sea[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2011.[董丽娜. 南海北部大陆架区金线鱼(*Nemipterus virgatus*)种群分子分析[D]. 上海: 上海海洋大学, 2011.]
- [25] Liu J, Gao T, Wu S, et al. Pleistocene isolation in the marginal ocean basins and limited dispersal in a marine fish, *Chelon haematocheilus*(Temminck&Schlegel, 1845)[J]. *Mol Ecol*, 2007, 16(1): 275–288.
- [26] Santos S, Hrbek T, Farias L P, et al. Population genetic structuring of the king weakfish, *Macrodon ancylodon*(Sciaenidae), in Atlantic coastal waters of South America: Deep genetic divergence without morphological change[J]. *Mol Ecol*, 2006, 15(14): 4361–4373.
- [27] Pogson G H, Taggart C T, Mesa K A, et al. Isolation by distance in the Atlantic cod, *Gadus morhua*, at large and small geographic scales[J]. *Evolution*, 2001, 55(1): 131–146.
- [28] Charrier G, Chenel T, Durand J D, et al. Discrepancies in phylogeographical patterns of two European anglerfishes (*Lophius budegassa* and *Lophius piscatorius*)[J]. *Mol Phylogen Evol*, 2006, 38(3): 742–754.
- [29] Avise J C. Molecular Marker. Natural History and Evolution[M]. New York: Chapman and Hall, 1994: 120–144.
- [30] Sun D F, Lu W H, Ai H, et al. Population genetic structure of coral reef species *Plectorhynchus gaterinus* in Zhongsha and Nansha Islands[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2010, 37(5): 4–7.[孙冬芳, 卢伟华, 艾红, 等. 中沙和南沙群岛密点胡椒鲷的种群分析[J]. 广东农业科学, 2010, 37(5): 4–7.]
- [31] Sun D F, Dong L N, Li Y Z, et al. Population analysis of *Saurida tumbil* in the Northern South China Sea[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2010, 34(9): 1387–1394.[孙冬芳, 董丽娜, 李永振, 等. 南海北部海域多齿蛇鲻的种群分析[J]. 水产学报, 2010, 34(9): 1387–1394.]
- [32] Li Y F. Population analysis of *Thamnaconus hypargyreus* in South China Sea[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2014.[李玉芳. 南海黄鳍马面鲀(*Thamnaconus hypargyreus*)种群分析[D]. 上海: 上海海洋大学, 2014.]

## Sequence analysis of the mitochondrial cytochrome *b* gene and identification of the *Priacanthus macracanthus* population in the South China Sea

XIONG Dan<sup>1,2</sup>, LI Min<sup>1</sup>, LI Yongzhen<sup>3</sup>, LI Yufang<sup>1,2</sup>, ZHANG Kui<sup>1</sup>, CHEN Zuozhi<sup>1</sup>

1. Key Laboratory of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture; Scientific Observing and Experimental Station of South China Sea Fishery Resources & Environment, Ministry of Agriculture, South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China;
2. College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
3. Regional Bureau of South China Sea Fishery Management, Ministry of Agriculture, Guangzhou 510080, China

**Abstract:** Understanding the population structure of fish species could provide the basic information for utilization and management of fishery. The Red bigeye *Priacanthus macracanthus* was one of the economically important fish species that was widely distributed in the South China Sea. However, little was known about the populations. In the present study, the population genetic structure and diversity of *P. macracanthus* were examined in the South China Sea based on a 684 bp segment of the mitochondrial cytochrome *b* gene. A total of 264 individual samples were collected from seven localities in the northern South China Sea and the Southwestern Nansha Islands. The bases A, T, C, and G had frequencies of 22.7%, 28.4%, 33.4%, and 28.4%, and A + T content was similar to that of C + G (51.1% and 48.9%, respectively). Ninety-two polymorphic loci were detected and 90 haplotypes were defined. Genetic diversity was high for haploid type (0.8130–0.9012) but nucleotide diversity was low (0.0040–0.0053). A haploid type network diagram found advantages for the Hap1, Hap2, Hap4, and Hap6 haploid types, but no significant geographical features were detected. A pairwise  $F_{st}$  analysis showed that most of the  $F_{st}$  value were low and non-significant ( $P>0.05$ ). The overall  $F_{st}$  for the total sample was only 0.012, which showed little differentiation among populations. Analysis of molecular variance (AMOVA) indicated that most of the differentiation occurred within populations (98.75%) and only 1.25% occurred among populations. Phylogenetic tree constructed using neighbor-joining method showed that the seven groups of *P. macracanthus* were a panmictic population, with no obvious type branches. Haplotype network using median-joining network approach also revealed no significant genealogical clades corresponding to sampling localities. Both neutrality tests and mismatch distribution analyses indicated a recent population expansion in *P. macracanthus* during the last glacial maximum. These results indicate high gene flow among populations of *P. macracanthus* and they may belong to a single population in the South China Sea.

**Key words:** population discrimination; *Priacanthus macracanthus*; cytochrome *b*; South China Sea

**Corresponding author:** CHEN Zuozhi. E-mail: zzchen2000@163.com