

基于线粒体控制区的许氏平鲈 养殖群体与野生群体比较研究

丁 奎¹, 张 辉², 张秀梅³, 宋 娜³, 高天翔^{1*}

(1. 中国海洋大学海洋生物多样性与进化研究所, 山东 青岛 266003;

2. 中国科学院海洋研究所, 海洋生态与环境科学重点实验室, 山东 青岛 266071;

3. 中国海洋大学水产学院, 山东 青岛 266003)

摘要: 为研究许氏平鲈养殖群体与野生群体遗传结构及遗传多样性状况, 采用 PCR 扩增获得许氏平鲈线粒体 DNA 控制区高变区片段, 并对其进行比对分析。结果显示, 在长度为 451 bp 的线粒体控制区片段中, 养殖群体单倍型多样性 ($0.540 \pm 0.067 \sim 0.815 \pm 0.021$) 明显低于野生群体 ($0.883 \pm 0.053 \sim 0.944 \pm 0.028$), 而核苷酸多样性 ($0.001 \pm 0.001 \sim 0.007 \pm 0.004$) 与野生群体 ($0.004 \pm 0.003 \sim 0.007 \pm 0.004$) 相差不大, 遗传多样性水平均较低。在 52 个单倍型中, 养殖群体仅占 12 个, 且有 6 个单倍型与野生群体共享。群体间遗传分化指数和 AMOVA 分析结果显示, 养殖群体和野生群体之间以及养殖群体之间的遗传分化较大, 而野生群体间遗传变异较小, 组群间的遗传分化较小且不显著 ($\Phi_{CT} = -0.013; P > 0.05$)。单倍型最小跨度树和 NJ 系统发育树均未检测到明显的谱系结构。

关键词: 许氏平鲈; 线粒体控制区; 遗传多样性; 养殖群体; 野生群体

中图分类号: Q 75; S 917.4

文献标志码: A

许氏平鲈 (*Sebastes schlegelii* Hilgendorf, 1880) 隶属于鲈形目 (Scorpaeniformes)、鲈科 (Scorpaenidae)、平鲈属 (*Sebastes*), 别名黑鲷、黑平鲈等, 是中国近海常见冷温性底层鱼类。许氏平鲈在我国主要分布于渤海、黄海和东海近海, 在朝鲜半岛东西两岸、日本北海道以南及鄂霍次克海南部水域亦有分布^[1-2], 常栖息于近海岩礁地带、清水砾石区域及海藻丛生的海区、洞穴中, 营半定居性生活, 不进行长距离洄游^[1]。

许氏平鲈具卵胎生繁殖习性, 是近海重要经济鱼类^[3-4]。在韩国, 许氏平鲈的产量曾一度排名第二, 仅次于褐牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*)^[5]。近十年来, 由于过度捕捞和渔场环境变化, 许氏平鲈资源出现明显衰退, 其经济价值也随之逐年提高。日本于 20 世纪 80 年代开始许氏平鲈的增殖放流, 1996 年放流了 210 万尾鱼

苗, 此后, 放流数量有所减少, 2007 年于北海道、青森县、岩手县、秋田县和山形县共放流 86 万尾^[4]。韩国开展许氏平鲈增殖放流稍晚于日本, 2007 年放流了约 200 万尾^[3]。我国于 20 世纪 90 年代中期在山东半岛沿海陆续开展了许氏平鲈增殖放流工作, 但规模较小, 截至 2009 年累计放流许氏平鲈鱼苗 452.4 万尾^[6], 2010 年开始, 放流数量逐年增加, 据统计, 山东省 2013 年放流许氏平鲈鱼苗高达 807.9 万尾。虽然许氏平鲈增殖放流对其资源的可持续利用以及山东半岛沿岸渔业资源修复起到了一定作用, 但放流苗种大多来自养殖场, 很可能对许氏平鲈野生资源造成影响。因此, 研究许氏平鲈养殖群体和野生群体的遗传多样性水平, 深入了解其种质资源现状及今后发展趋势势在必行。

目前, 有关许氏平鲈的研究主要集中于早期

收稿日期: 2013-11-25 修回日期: 2014-01-17

资助项目: 国家自然科学基金 (31172447, 41176117); 海洋公益性行业科研专项 (201305043, 201405010)

通信作者: 高天翔, E-mail: gaozhang@ouc.edu.cn

发育^[4,7]、生理生化^[4,8]和遗传学^[3,9-10]方面。线粒体 DNA (mitochondrial DNA) 作为核外遗传物质,具有结构简单稳定、单一母系遗传、几乎没有重组、进化速率快等特点^[11],并且突变固定后形成的多态位点可反映出群体的遗传结构,已被广泛应用于动物群体遗传结构和系统发育研究中^[12-13]。线粒体 DNA 控制区由于缺乏编码选择压力而比其他片段(如 Cyt b、COI 等)具有更快的进化速率,因此在检测种下水平遗传变异中具有更高的灵敏度^[14],在一些鱼类的群体遗传分析中已被广泛应用^[13,15-18]。到目前为止,尚未见采用线粒体 DNA 标记技术对许氏平鲈养殖群体和野生群体进行遗传学研究的报道。本实验采用线粒体 DNA 控制区第一高变区序列分析了烟台泰华 4 个养殖群体的遗传多样性状况,并与 6 个野生群体进行比较,以期为许氏平鲈种质资源保护与合理利用、人工选育以及资源增殖放流策略的制定提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

本研究所用 4 个养殖群体均来自烟台市牟平区泰华海珍品有限公司,泰华群体 (TH) 的亲鱼来

自青岛和日照,A7 养殖车间 (A7,下同) 的亲鱼来自长岛,A8 车间的亲鱼来自青岛和日照,A9 车间的亲鱼来自日照和荣成,4 个群体共 155 个个体,具体样品信息见表 1。取样品肌肉于 95% 酒精中固定保存。野生群体序列均引自 GenBank,包括大连、威海、青岛、日照、连云港和日本青森 6 个群体 (图 1)。

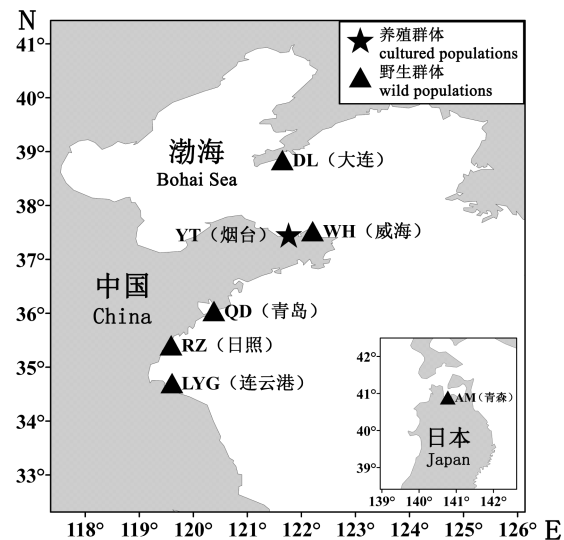


图 1 许氏平鲈采样地点
Fig. 1 Sampling sites of *S. schlegelii*

表 1 实验用许氏平鲈样品的采集数量、地点、时间及引用序列登录号

Tab. 1 Sample information of *S. schlegelii* including sample quantity, sampling sites, date of collection, and GenBank accession number

群体 population	数量 quantity	亲鱼来源或采集地点 broodstock source or sampling site	采集时间 sampling date	经度 longitude (E)	纬度 latitude (N)	序列登录号 GenBank accession number
TH	37	青岛、日照 Qingdao, Rizhao	2012. 10			
A7	34	长岛 Changdao	2013. 05			本实验 this study
A8	35	青岛、日照 Qingdao, Rizhao	2013. 07	121°46'1.85"	37°27'17.57"	
A9	49	日照、荣成 Rizhao, Rongcheng	2013. 07			
DL	22	大连 Dalian	2009. 03	121°38'45.94"	38°50'43.19"	JX254693-JX254714
WH	24	威海 Weihai	2008. 05	122°12'17.88"	37°31'34.80"	JX254841-JX254864
QD	21	青岛 Qingdao	2009. 04	120°22'48.55"	36°02'36.77"	JX254778-JX254798
RZ	20	日照 Rizhao	2008. 12	119°35'16.12"	35°24'30.86"	JX254821-JX254840
LYG	22	连云港 Lianyungang	2009. 01	119°36'16.00"	34°42'23.06"	JX254756-JX254777
AM	22	青森 Aomori	2008. 06	140°46'14.20"	40°53'36.82"	JX254799-JX254820

1.2 DNA 提取及 PCR 序列扩增

肌肉组织经蛋白酶 K 消化后,按照标准酚-氯仿抽提法提取基因组 DNA 并于 4 °C 保存。采用引物 5'-CCC ACC ACT AAC TCC CAA AGC-3' (DL-S)、5'-CTG GAA AGA ACG CCC GGC ATG-3' (DL-R)^[19] 扩增许氏平鲈线粒体 DNA 控制区高变区。PCR 反应体系为 50 μL,反应液中含有 1.25 U Taq DNA 聚合酶 (TaKaRa, 大连宝生物有限公

司)、20 ng DNA 工作液、正反向引物各 200 nmol/L、200 μmol/L 的每种 dNTP、10 mmol/L Tris (pH 8.3)、50 mmol/L KCl 及 1.5 mmol/L MgCl₂。PCR 反应在 Biometra 热循环仪上完成,反应条件:94 °C 变性 3 min,随后进行 35 个循环,每个循环包括 94 °C 变性 45 s,50 °C 退火 45 s,72 °C 延伸 45 s,完成后 72 °C 变性 10 min。扩增产物纯化后送上海桑尼生物科技有限公司进行双向测序。

1.3 数据分析

所得序列均由 Dnastar 软件包 (DNASTAR, Inc., Madison, USA) 进行编辑和排序, 并进行人工校正。单倍型数目、多态位点、转换、颠换、插入/缺失等分子多态性指数使用 ARLEQUIN 软件^[20] 进行统计获得。单倍型多态度 (h)、核苷酸多态度 (π) 根据 Nei^[21] 公式也由 ARLEQUIN 软件计算。采用 MEGA 5.2 软件^[22] 计算系统发育重建所需的遗传距离, 并以南非平鲈 (*Sebastes capensis*) (序列引自 GenBank, 登录号 GU136695.1) 为外群构建单倍型的邻接关系树^[23], 系统树的可靠性采用 1 000 次重抽样评估。运用 NETWORK 软件^[24] 构建单倍型最小跨度树。采用 ARLEQUIN 软件进行确切 P 检验, 并计算两两群体间的遗传分化指数 (F_{st})^[25], 通过 10 000 次重抽样检验两两群体间 F_{st} 值的显著性。将许氏平鲈序列分为养殖群体 (TH、A7、A8、A9) 和野生群体 (DL、WH、QD、RZ、LYG 和 AM) 2 个组群进行 AMOVA 分析^[26], 以检测养殖群体和野生群体之间的遗传差异。

2 结果

2.1 基于控制区片段的序列分析

本研究 4 个养殖群体共 155 个个体, 扩增后所得到的目的片段长度为 498 bp, 其中包括长度为 27 bp 的 tRNA-Pro 部分序列与 17 bp 的控制区保守区域, 2 段序列内均无变异位点。

将养殖群体与野生群体序列进行比对, 截取 451 bp 同源片段用于比较分析。在碱基组成上, 养殖、野生群体序列的核苷酸组成均富含 AT (69.16%; 69.07%)。养殖群体 155 条序列中共 13

个多态位点, 占控制区序列长度的 2.88%, 其中包括 11 个转换位点、2 个颠换位点, 转换颠换比为 5.5:1; 而野生群体 131 条序列中共 44 个多态位点, 占控制区序列长度的 9.75%, 其中包括 1 个插入缺失位点、41 个转换位点以及 5 个颠换位点, 转换颠换比为 8.2:1 (表 2)。所有群体共 45 个多态位点, 定义了 52 个单倍型, 包含 40 个独有单倍型 (野生群体占 34 个, 而养殖群体仅 6 个, 且 A7 车间个体均为独有单倍型) 和 12 个共享单倍型 (6 个单倍型为养殖群体与野生群体共享, 出现频率最高的单倍型 Hap.01 和 Hap.07 为 8 个群体所共享) (表 3)。

养殖群体的单倍型多样性为 ($0.540 \pm 0.067 \sim 0.815 \pm 0.021$), 显著小于野生群体的单倍型多样性 ($0.883 \pm 0.053 \sim 0.944 \pm 0.028$), 但养殖群体的核苷酸多样性和两两碱基差异数 ($0.001 \pm 0.001 \sim 0.007 \pm 0.004$, $0.594 \pm 0.487 \sim 3.042 \pm 1.623$) 与野生群体 ($0.004 \pm 0.003 \sim 0.007 \pm 0.004$, $1.814 \pm 1.086 \sim 3.301 \pm 1.758$) 相差不大。此外, 两两序列碱基差异数在威海野生群体中最高 (3.301 ± 1.758), 而在养殖群体 A7 中最低 (0.594 ± 0.487) (表 2)。

2.2 基于控制区片段的群体遗传结构及遗传学关系

遗传分化指数计算结果显示, 养殖群体之间以及养殖群体和野生群体之间 F_{st} 值较大, 经 Bonferroni 校正之后均为差异显著 ($P < 0.05$) (表 4)。将许氏平鲈不同群体分为养殖和野生 2 大组群进行分子方差分析 (AMOVA), 结果显示, 组群间分子差异为 -1.31%, 组群内群体间遗传差异占 16.28%, 群体间遗传分化达 85.04%。组群间遗传分化较小且不显著 ($\Phi_{CT} = -0.013$; $P >$

表 2 许氏平鲈各群体遗传多样性参数
Tab.2 Genetic diversity indices of *S. schlegelii*

群体 population	多态位点数目 no. of polymorphic sites	单倍型数目 no. of haplotypes	单倍型多样性 haplotype diversity (h)	核苷酸多样性 nucleotide diversity (π)	两两序列间的平均核苷酸差异数 mean pairwise nucleotide differences (k)
TH	6	4	0.697 ± 0.028	0.005 ± 0.003	2.009 ± 1.158
A7	2	3	0.540 ± 0.067	0.001 ± 0.001	0.594 ± 0.487
A8	9	5	0.815 ± 0.021	0.007 ± 0.004	3.042 ± 1.623
A9	7	5	0.784 ± 0.022	0.005 ± 0.003	2.364 ± 1.311
DL	18	14	0.926 ± 0.039	0.007 ± 0.004	2.939 ± 1.600
WH	18	14	0.884 ± 0.056	0.007 ± 0.004	3.301 ± 1.758
QD	13	13	0.929 ± 0.036	0.005 ± 0.003	2.186 ± 1.260
RZ	11	11	0.916 ± 0.041	0.006 ± 0.004	2.611 ± 1.457
LYG	13	11	0.883 ± 0.053	0.004 ± 0.003	1.814 ± 1.086
AM	17	13	0.944 ± 0.028	0.006 ± 0.003	2.498 ± 1.400

表 3 单倍型在许氏平鲈不同群体间的分布
 Tab. 3 Distribution of haplotypes in ten *S. schlegelii* populations

单倍型 haplotype	群体 population										总计 total
	TH	A7	A8	A9	DL	WH	QD	RZ	LYG	AM	
Hap. 01	10			13	5	2	4	3	7	4	48
Hap. 02	14		8	13	4	8		5	1		53
Hap. 03	12		7		1		3	2	3		28
Hap. 04	1					1		1	2	2	7
Hap. 05				5				1		1	7
Hap. 06				13							13
Hap. 07			9	5	1	3	4	2	2	3	29
Hap. 08		10									10
Hap. 09		3									3
Hap. 10		21									21
Hap. 11			6								6
Hap. 12			5								5
Hap. 13						1					1
Hap. 14						1					1
Hap. 15					1	1					2
Hap. 16						1					1
Hap. 17						1					1
Hap. 18					1	1	1	1	1	2	7
Hap. 19					1	1					2
Hap. 20						1					1
Hap. 21						1					1
Hap. 22						1		1			2
Hap. 23								1			1
Hap. 24								2			2
Hap. 25								1			1
Hap. 26							1				1
Hap. 27							1				1
Hap. 28							1				1
Hap. 29					1		1				2
Hap. 30							1				1
Hap. 31							1				1
Hap. 32							1				1
Hap. 33							1				1
Hap. 34							1				1
Hap. 35									2	2	4
Hap. 36									1		1
Hap. 37									1		1
Hap. 38									1		1
Hap. 39									1		1
Hap. 40					1						1
Hap. 41					2						2
Hap. 42					1						1
Hap. 43					1						1
Hap. 44					1						1
Hap. 45					1						1
Hap. 46										2	2
Hap. 47										1	1
Hap. 48										1	1
Hap. 49										1	1
Hap. 50										1	1
Hap. 51										1	1
Hap. 52										1	1

0.05),而组群内群体间遗传分化极显著($\Phi_{sc} = 0.161; P < 0.01$)。确切 P 检验结果显示,所有的养殖群体之间以及养殖群体和野生群体之间的 P 值均显著,不支持中性假说理论;与之相反,经 Bonferroni 校正后的 6 个野生群体之间 P 值不显

著,支持中性假说理论(表 4)。许氏平鲈单倍型邻接关系树显示其拓扑结构比较简单,没有检测到与采样地点相对应的谱系分支,且野生群体与养殖群体之间不存在差异(图 2)。单倍型最小跨度树也显示其不存在明显的谱系结构。

表 4 许氏平鲈两两群体间的 F_{st} 值(下三角)以及确切 P 检验结果(上三角)
Tab. 4 Pairwise F_{st} (below diagonal) and exact P values (above diagonal) among *S. schlegelii* populations

	TH	A9	A7	A8	WH	RZ	QD	LYG	DL	AM
TH		0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.001	0.001	0.000
A9	0.103*		0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000
A7	0.506*	0.429*		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
A8	0.095*	0.110*	0.426*		0.001	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000
WH	0.017*	0.061*	0.435*	0.033*		0.810	0.007	0.017	0.549	0.019
RZ	0.001*	0.052*	0.484*	0.040*	-0.032		0.169	0.307	0.724	0.108
QD	0.115*	0.073*	0.481*	0.034*	0.060	0.064		0.497	0.187	0.237
LYG	0.132*	0.098*	0.502*	0.061*	0.094	0.089	-0.003		0.266	0.535
DL	0.009*	0.052*	0.425*	0.039*	-0.003	-0.016	0.016	0.022		0.063
AM	0.156*	0.091*	0.443*	0.064*	0.085	0.077	0.008	-0.007	0.036	

注: * 表示差异显著($P < 0.05$)

Notes: * means significant difference at 0.05 level ($P < 0.05$)

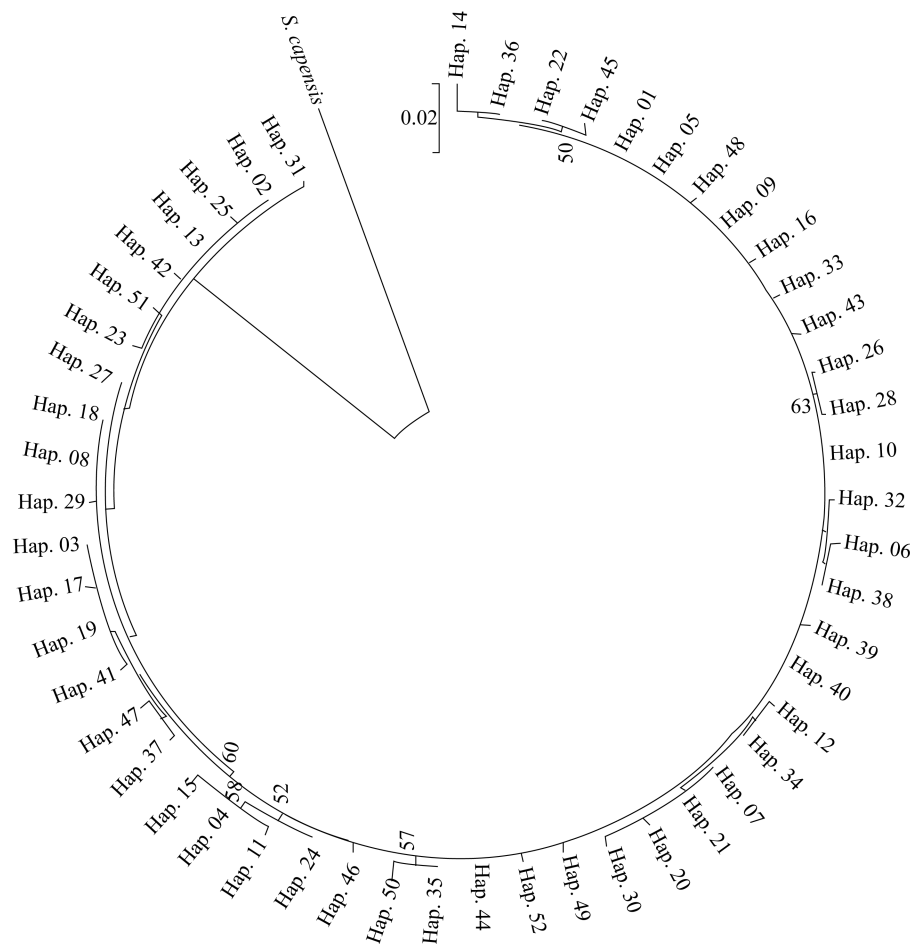


图 2 以南非平鲈为外群构建的许氏平鲈单倍型邻接关系树

各分支上的数字为重抽样分析得到的大于 50% 的支持率

Fig. 2 Neighbor-Joining tree for control region haplotypes of *S. schlegelii* with an outgroup *S. capensis*

Bootstrap supports of >50% in 1 000 replicates are shown

3 讨论

遗传多样性可以从本质上揭示物种多样性的起源、变异和进化,是生物多样性研究的重要内容。遗传多样性水平的高低与物种的适应能力、生存能力以及进化潜力密切相关^[27],是评价生物种质资源的重要指标。一般而言,物种的遗传多样性水平越高,其对环境的适应能力就越强,种质资源质量也就越高。以往的鱼类遗传多样性研究大多集中于野生群体,而很少关注养殖群体^[17]。不合理的人工繁育(如有效亲本数量过少、定向选择压力过强等)会使养殖群体的遗传多样性水平降低,并最终导致养殖群体的种质资源衰退。分子标记是研究遗传多样性和遗传变异的有效手段,在一些鱼类遗传多样性研究中已成功应用^[28-29]。

3.1 许氏平鲈养殖群体和野生群体遗传多样性分析

本研究结果显示,在养殖群体与野生群体的线粒体控制区片段中,核苷酸组成均富含 AT (69.16% ;69.07%),这与许多海洋鱼类线粒体控制区的碱基组成相似^[15-18]。单倍型多样度和核苷酸多样性是衡量种群遗传多样性的重要指标,许氏平鲈养殖群体的遗传多样性显著低于野生群体,这可能是由于人工繁育过程中亲鱼数量少^[30]、产生瓶颈效应而导致群体遗传变异水平下降造成的,同时近亲繁殖也会导致养殖群体遗传多样性的降低^[31]。刘丽娟等^[10]关于等位酶的研究结果显示,许氏平鲈野生和养殖群体的遗传多样性均较高,这一方面可能是由采样方式以及采样量的不同而引起,另一方面可能是由不同分子标记方法的灵敏度差异造成。对诸多经济鱼类而言,养殖群体遗传多样性较野生群体偏低的现象较为常见。Song 等^[16]对 8 个养殖群体和 2 个野生群体的 215 尾褐牙鲈线粒体控制区序列进行了比较分析,结果显示养殖群体的单倍型多样性、核苷酸多样性和两两核苷酸差异数均明显低于野生群体;肖志忠等^[17]基于线粒体控制区序列对条石鲷(*Opelegnathus fasciatus*)的 2 个养殖群体和青岛胶南野生群体进行了比较分析,也得到养殖群体的单倍型多样性、核苷酸多样性以及两两核苷酸差异数均低于野生群体的结果。许氏平鲈野生群体具有较高遗传多样性水平,提示许氏平鲈很

可能具有较大的有效种群,另外线粒体 DNA 较快的进化速率可使其积累更多的等位基因突变^[32]。

3.2 许氏平鲈养殖群体和野生群体遗传结构及遗传学关系

两两群体间的 F_{st} 结果显示,许氏平鲈野生群体与养殖群体之间以及养殖群体之间均存在显著的遗传分化,但 AMOVA 分析结果显示,组群间的遗传差异极小且不显著,可能是由养殖群体之间过高的 F_{st} 值造成的。在人工繁育过程中,养殖场在一段时间之内利用同一批亲鱼或其后代进行繁殖,随着养殖代数的增加,养殖群体往往产生遗传漂变和近交效应,可能会引起等位基因的丧失以及遗传多样性降低,从而造成养殖群体与野生群体甚至养殖群体之间的遗传分化越来越大^[33]。确切 P 检验结果也显示,养殖群体之间以及养殖群体和野生群体之间不是随机交配的群体,群体间产生了显著的遗传分化。Song 等^[16]利用控制区进行了褐牙鲈野生群体和养殖群体的遗传学分析, F_{st} 和 AMOVA 分析结果显示,褐牙鲈养殖群体之间存在显著遗传分化,确切 P 检验结果表明养殖群体之间非随机交配群体;肖志忠等^[17]基于线粒体控制区分析同样检测到条石鲷野生群体与养殖群体 F_1 和 F_2 遗传分化显著,遗传分化指数达到 0.163;陈竹等^[18]采用线粒体控制区序列分析了深圳市南澳区斜带髯鲷(*Haplogenyx nitens*)野生和养殖群体的遗传结构,结果表明斜带髯鲷养殖与野生群体间遗传分化显著。值得注意的是,许氏平鲈 A7 群体与其他群体之间的 F_{st} 最大,其原因一方面可能是由于 A7 群体亲鱼数量过少;另一方面,中国近海水文研究表明在山东半岛北岸有一自西向东的主要海流,绕过成山头后沿山东半岛向南流入南黄海^[34],而用于 A7 车间的亲鱼来自长岛县北隍城岛附近,离该海流区域较远,加之许氏平鲈栖息于近海岩礁地带^[1,7],导致其亲本与该海流区域群体基因交流机会较小,进而造成 A7 群体子代具有独特单倍型,与其他群体遗传分化较大。虽然许氏平鲈野生群体与养殖群体在线粒体控制区上存在显著的遗传结构,但尚未积累足够多的遗传变异,因而在单倍型最小跨度分析和 NJ 系统发育树上均未检测到相应的谱系结构。

综上所述,许氏平鲈养殖群体遗传多样性显

著降低,且与野生群体产生了较大的遗传分化。因而在今后的许氏平鲈繁育过程中,应尽可能保证一定的亲本数量,并及时选择遗传多样性丰富的亲鱼来补充繁育群体;同时也应开展许氏平鲈遗传多样性实时监测,并据此制定相应的繁殖策略,以保证养殖群体具有较高的遗传多样性水平,在一定程度上减轻增殖放流对野生群体的遗传学影响,实现许氏平鲈资源的可持续利用。

感谢吕建国、席丹、郭浩宇、张志新、王金鹏等协助采集许氏平鲈样品及李宁、李渊在数据分析及论文写作方面的指导。

参考文献:

- [1] Jin X B. Fauna sinica; Megaloptera, Scorpaeniformes [M]. Beijing: Science Press, 2006. [金鑫波. 中国动物志: 硬骨鱼纲鲈形目. 北京: 科学出版社, 2006.]
- [2] Nakabō T. Fishes of Japan; with pictorial keys to the species (2nd edition) [M]. Kanagawaken: Tokai University Press, 2000.
- [3] An H S, Park J Y, Kim M J, et al. Isolation and characterization of microsatellite markers for the heavily exploited rockfish *Sebastes schlegelii*, and cross-species amplification in four related *Sebastes* spp. [J]. Conservation Genetics, 2009, 10 (6): 1969 - 1972.
- [4] 野田勉、中川雅弘. クロソイの栽培漁業技術一定着種の種苗生産と放流効果調査. 栽培漁業技術シリーズ, 2010, 15: 1.]
- [5] Lee S M, Jeon I G, Lee J Y. Effects of digestible protein and lipid levels in practical diets on growth, protein utilization and body composition of juvenile rockfish (*Sebastes schlegelii*) [J]. Aquaculture, 2002, 211 (1 - 4): 227 - 239.
- [6] Zhang X M, Wang X J, Tu Z, et al. Current status and prospect of fisheries resource enhancement in Shandong Province [J]. Chinese Fisheries Economics, 2009, 27 (2): 51 - 58. [张秀梅, 王熙杰, 涂忠, 等. 山东省渔业资源增殖放流现状与展望. 中国渔业经济, 2009, 27 (2): 51 - 58.]
- [7] Nagasawa T, Domon K. The early life history of kurosoi, *Sebastes schlegelii* (Scorpaenidae), in the Sea of Japan [J]. Ichthyological Research, 1997, 44 (2 - 3): 237 - 248.
- [8] Seo J Y, Lee S M. Effects of dietary macronutrient level and feeding frequency on growth and body composition of juvenile rockfish (*Sebastes schlegelii*) [J]. Aquaculture International, 2008, 16 (6): 551 - 560.
- [9] Kim I C, Lee J S. The complete mitochondrial genome of the rockfish *Sebastes schlegelii* (Scorpaeniformes, Scorpaenidae) [J]. Molecules and Cells, 2004, 17 (2): 322 - 328.
- [10] Liu L J, Ren L H, Jiang X Y, et al. Allozyme and genetic diversity of black rockfish *Sebastes schlegelii* [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2009, 40 (4): 479 - 483. [刘丽娟, 任利华, 姜向阳, 等. 黑鲷 (*Sebastes schlegelii*) 遗传多样性的等位酶研究. 海洋与湖沼, 2009, 40 (4): 479 - 483.]
- [11] Harrison R G. Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology [J]. Trends in Ecology and Evolution, 1989, 4 (1): 6 - 11.
- [12] Avise J C. Phylogeography: the history and formation of species [M]. Cambridge: Harvard University Press, 2000: 215 - 228.
- [13] Liu M, Gao T X, Sakurai Y, et al. Mitochondrial DNA control region diversity and population structure of Pacific herring (*Clupea pallasii*) in the Yellow Sea and the Sea of Japan [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2011, 29 (2): 317 - 325.
- [14] Sbisà E, Tanzariello F, Reyes A, et al. Mammalian mitochondrial D-loop region structure analysis: identification of new conserved sequences and their functional and evolutionary implications [J]. Gene, 1997, 205 (1 - 2): 125 - 140.
- [15] Zhang H, Zhang Y, Zhang X M, et al. Special structure of mitochondrial DNA control region and phylogenetic relationship among individuals of the black rockfish, *Sebastes schlegelii* [J]. Mitochondrial DNA, 2013, 24 (2): 151 - 157.
- [16] Song N, Zhang X M, Gao T X, et al. Genetic variability in eight cultured and two wild populations of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*, based on the mitochondrial DNA control region [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2011, 42 (4): 512 - 521.
- [17] Xiao Z Z, Xiao Y S, Ren G J, et al. Comparative analysis on the genetic variation of cultured and wild rock bream *Oplegnathus fasciatus* population based on mtDNA control region [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013, 44 (1): 249 - 254. [肖志忠, 肖永双, 任桂静, 等. 条石鲷 (*Oplegnathus*

- fasciatus) 养殖群体与野生群体线粒体控制区序列遗传变异研究. 海洋与湖沼, 2013, 44 (1): 249 - 254.]
- [18] Chen Z, Zhong S, Luo D J, *et al.* Genetic diversity evaluation by the comparative analysis on mitochondrial D-loop area between wild and cultured populations of *Haploerythrin nitens* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2011, 35 (5): 761 - 767. [陈竹, 钟山, 罗大极, 等. 基于线粒体 D-loop 区比较分析野生与养殖斜带髯鲷种群的遗传多样性. 水生生物学报, 2011, 35(5): 761 - 767.]
- [19] Han Z Q, Gao T X, Yanagimoto T, *et al.* Genetic population structure of *Nibeia albiflora* in Yellow Sea and East China Sea [J]. Fisheries Science, 2008, 74 (3): 544 - 552.
- [20] Schneider S, Roessli D, Excoffier L. Arlequin; a software for population genetics data analysis User manual ver 2. 000 [M]. Geneva: University of Geneva, 2002.
- [21] Nei M. Molecular Evolutionary Genetics [M]. New York: Columbia University Press, 1987.
- [22] Tamura K, Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees [J]. Molecular Biology and Evolution, 1993, 10 (3): 512 - 526.
- [23] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method; a new method for reconstructing phylogenetic trees [J]. Molecular Biology and Evolution, 1987, 4 (4): 406 - 425.
- [24] Bandelt H J, Forster P, Sykes B C, *et al.* Mitochondrial portraits of human populations using median networks [J]. Genetics, 1995, 141 (2): 743 - 753.
- [25] Weir B S, Cockerham C C. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure [J]. Evolution, 1984, 38(6): 1358 - 1370.
- [26] Excoffier L, Smouse P E, Quattro J M. 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.
- [27] Li Z B, Fang X, Chen J, *et al.* Loss of the genetic diversity in cultivated populations of *Pseudosciaena crocea* by aflp [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2009, 40 (4): 446 - 450. [黎中宝, 方秀, 陈锦, 等. 大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*) 养殖群体遗传多样性的降低. 海洋与湖沼, 2009, 40 (4): 446 - 450.]
- [28] Allendorf F W, Phelps S R. Loss of genetic variation in a hatchery stock of cutthroat trout [J]. Transactions of the American Fisheries Society, 1980, 109(5): 537 - 543.
- [29] Kincaid H L. An evaluation of inbreeding and effective population size in salmonid broodstocks in federal and state hatcheries [J]. Proceedings of the American Fisheries Society Symposium, 1995, 15: 193 - 204.
- [30] Irvin S D, Wetterstrand K A, Hutter C M, *et al.* Genetic variation and differentiation at microsatellite loci in *Drosophila simulans*; evidence for founder effects in New World populations [J]. Genetics, 1998, 150(2): 777 - 790.
- [31] Falconer D S, Mackay T F C. Introduction to quantitative genetics [M]. London: Prentice Hall, 1996.
- [32] Kimura M, Crow J F. The number of alleles that can be maintained in a finite population [J]. Genetics, 1964, 49(4): 725 - 738.
- [33] Hedgecock D, Sly F. Genetic drift and effective population sizes of hatchery-propagated stocks of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* [J]. Aquaculture, 1990, 88(1): 21 - 38.
- [34] Su J L, Yuan L Y. Offshore hydrological of China [M]. Beijing: Maritime Press, 2005: 170 - 228. [苏纪兰, 袁业立. 中国近海水文. 北京: 海洋出版社, 2005: 170 - 228.]

Comparative analysis of genetic variation in cultured and wild populations of black rockfish (*Sebastes schlegelii*) based on mitochondrial DNA control region

DING Kui¹, ZHANG Hui², ZHANG Xiumei³, SONG Na³, GAO Tianxiang^{1*}

(1. Institute of Evolution and Marine Biodiversity, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Key Laboratory of Marine Ecology and Environment Sciences, Institute of Oceanology,

Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China;

3. Fisheries College, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: To investigate the genetic variation and diversity of black rockfish *Sebastes schlegelii* among four cultured populations and six wild populations, the 451 bp hypervariable fragments of mitochondrial DNA control region were sequenced and analyzed. The results revealed that the gene diversity indices of cultured populations ranged from 0.540 ± 0.067 to 0.815 ± 0.021 , which were significantly lower than those of wild populations ($0.883 \pm 0.053 - 0.944 \pm 0.028$), while the values of nucleotide diversity for both cultured and wild populations were at low level. Among the 52 haplotypes defined, only 12 of them were in the possession of cultured populations which shared 6 haplotypes with the wild populations. The results of pairwise F_{st} and AMOVA indicated that significant genetic differentiation existed among cultured populations, as well as between wild and cultured populations, which was contrary to that detected among wild populations. No significant genetic differentiations were detected between cultured and wild groups. Significant genealogical structure was not detected either corresponding to the cultured or wild populations based on the MST and NJ analyses.

Key words: *Sebastes schlegelii*; mtDNA control region; genetic variation; cultured populations; wild populations

Corresponding author: GAO Tianxiang. E-mail: gaozhang@ouc.edu.cn