# 荣成湾孔鳐群体线粒体 DNA cytb 部分序列的遗传多样性分析

刘梦侠<sup>1</sup>, 王丽娟<sup>2</sup>, 孔令怡<sup>3</sup>, 刘洪军<sup>1</sup>, 吴志昊<sup>2</sup>, 辛梦娇<sup>2</sup>, 张 伟<sup>1</sup>, 尤 锋<sup>2</sup>

(1. 山东海水养殖研究所,山东 青岛 266002; 2. 中国科学院 海洋研究所,山东 青岛 266071; 3. 中国海洋大学 海洋生命学院,山东 青岛 266003)

摘要: 对 2009 年和 2011 年采自荣成湾的孔鳐(*Raja porosa*)群体共 54 尾鱼的线粒体 DNA 细胞色素 *b* 基因(*cytb*)部分序列进行测定,以分析其遗传多样性和群体遗传结构。结果显示,在所获得的 782 bp 序 列中,共检测到 11 个单倍型、15 个多态位点,其单倍型多样性指数(*H*)为 0.498±0.081,核苷酸多样性 指数( $\pi$ )为 0.0018±0.0005,遗传多样性水平较低。其中,2009 年样品检测到 3 种单倍型、4 个单一变异 位点,其 H和  $\pi$  值分别为 0.378±0.181 和 0.0010±0.0006;2011 年样品检测到 9 种单倍型、6 个单一变异 位点和 6 个简约信息位点,其 H和  $\pi$  值分别为 0.352±0.086 和 0.0020±0.0006。分子方差分析(AMOVA) 分析显示它们的遗传变异主要集中在同年度个体间(98.22%),而不同年度个体间的遗传变异远远小于 同年度内个体间的变异。Kimura's 2-parameter 模型分析得到的 2009,2011 年度孔鳐间的遗传距离为 0.0013,遗传分化系数为 0.01778,也表明 2009 年和 2011 年孔鳐的遗传分化程度低,没有明显的遗传 变异。中性检验表明,荣成湾孔鳐群体可能发生过种群扩张。

关键词: 孔鳐(*Raja porosa*); 荣成湾; 细胞色素 *b* 基因(*cytb*)部分序列; 群体遗传多样性 中图分类号: Q347 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2012)10-0085-07

孔鳐(Raja porosa), 俗称劳板鱼、劳子, 隶属于 软骨鱼纲(Chondrichthyes)、鳐形目(Rajiformes)、鳐 科(Rajidae)、鳐属(Raja)、主要分布于我国的黄海和 东海,为冷温性近海底栖鱼类<sup>[1-2]</sup>。该鱼无硬骨,肉质 细嫩鲜美,深受消费者青睐,是一种重要的地方性 经济鱼类。近年来,由于硬骨鱼资源的衰减和对软 骨鱼肉、软骨、鱼鳍需求量的增加、全球对软骨鱼 类的捕捞量急增<sup>[3]</sup>、我国的孔鳐资源也因受过度捕 捞、海洋环境污染等因素影响、导致其资源衰退<sup>[4]</sup>。 遗传多样性是生物进化和环境适应的物质基础、是 种质资源有效保护的前提。海洋生物的遗传结构受 到很多海洋因素和生物因素的影响<sup>[5]</sup>, 了解遗传结 构可为物种的种质资源检测和恢复提供基本信息, 对于鱼类的可持续管理是十分重要的<sup>[6]</sup>。目前国内 外有关孔鳐的研究相对较少,主要集中在摄食<sup>[7]</sup>、 养殖与捕捞<sup>[4,8]</sup>、物种鉴定<sup>[9-10]</sup>、繁殖<sup>[11]</sup>及硫酸软骨 素提取<sup>[12]</sup>等。

线粒体 DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)具有 母系遗传、结构简单、进化速度快、几乎不发生重 组等特点<sup>[13]</sup>,其中细胞色素 *b* 基因(cytochrome *b*, *cytb*)由于研究背景清晰,进化速度适中,适合群体 水平差异的检验,经常被用于遗传多样性研究,在 鱼类种群结构的研究中发挥了积极作用。目前,已经 利用 *cytb* 部分序列对多种软骨鱼类包括多种鲨鱼和 鳐科鱼类进行了群体遗传多样性研究<sup>[14-19]</sup>,但有关 孔鳐群体的研究报道尚未见到。

本文对 2009 年和 2011 年采自荣成湾的孔鳐群 体进行 *cytb* 部分序列的测定,分析了其群体遗传多 样性水平,并比较了两个年度群体遗传差异,以期 了解荣成湾孔鳐的群体遗传结构、不同年度间的遗 传分化程度,为孔鳐资源的开发利用和管理保护提 供有效依据。

# 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

实验用孔鳐为 2009 年 2~11 月、2011 年 2~8 月 间分别以底拖网方式采自荣成湾海域 (122°37'29"~122°46'16"E, 37°20'38"~37°13'26"N),各

Marine Sciences / Vol. 36, No. 10 / 2012

收稿日期: 2012-05-17; 修回日期: 2012-08-21

基金项目: 国家海洋公益性行业科研专项(200805069)

作者简介:刘梦侠(1963-),女,山东青岛人,副研究员,主要从事海 水 增 养 殖 生 态 学 研 究 , 电 话 : 0532-82655167, E-mail: Imengxia@gmail.com; 尤 锋 , 通 信 作 者 , 女 , 研 究 员 , 电 话 : 0532-82898560, E-mail: youfeng@qdio.ac.cn

为 10 尾(编号为 RCRP0901-10)和 44 尾(编号为 RCRP1101-44)。经过形态鉴定以后,取样品背部肌 肉置于-20℃冻存备用。

#### 1.2 基因组 DNA 的提取与 PCR 扩增

取孔鳐肌肉组织约 30 mg,使用海洋动物组织 基因组提取试剂盒(康为世纪生物科技有限公司)提 取基因组 DNA,操作步骤按照使用说明进行。参考 GenBank 上孔鳐线粒体全基因组序列(AY525783.1), 设计一对引物 *cytb*F: 5'-TCATCCGCAACATTCAC-GCCAAT-3', *cytb*R: 5'-GGCAAGTGGGAGAAGGGT-GAGA-3', 扩增孔鳐 *cytb* 部分序列。PCR 反应总体 积 50  $\mu$ L,包括: 2× ES PCR master mix 25  $\mu$ L(康为世 纪生物科技有限公司),引物(10  $\mu$ mol/L)各 2  $\mu$ L,基 因组 DNA 50 ng,补足灭菌双蒸水至终体积 50  $\mu$ L。 PCR 扩增循环参数为:94℃预变性 5 min;94℃变性 40 s,58℃退火 40 s,72℃延伸 1 min,共35 个循环; 72℃再延伸 10 min。

PCR 扩增产物经 1%琼脂糖凝胶电泳检测后,用 胶回收试剂盒(Omega Bio-Tek)对目的片段回收纯化, 然后送至上海桑尼生物科技有限公司利用 ABI3730 DNA 自动测序仪进行双向测序。

#### 1.3 DNA 序列的数据处理

54 个样品的测序结果用 BioEdit 软件进行剪切、 拼接和序列核对,并辅以人工校对。采用 MEGA5.05 软件包计算群体相应序列的碱基组成及 2009 年, 2011 年度样品间的遗传距离,构建基于 Kimura-2 参数模 型 的 单 倍 型 邻 接 (Neighbor-Joining, NJ) 树,以 Bootstrap 1 000 次重复抽样检验分支置信度。用 DnaSP5.10 软件计算群体单倍型多样性指数(*H*)、核 苷酸多态性指数( $\pi$ )、平均核苷酸差异数(K)以及群体 间遗传分化系数( $F_{st}$ ),绘制单倍型的歧点分布。用 Arlequin3.5 软件包计算 Tajima's D 和 Fu's Fs 值,进 行中性检验,以检验荣成湾孔鳐 *cytb* 这段序列是否 符合中性变异,并根据 pairwise difference 模型,进 行分子方差分析(AMOVA)。用 Network4.0 构建单倍 型网络结构图。

### 2 结果与分析

#### 2.1 孔鳐的 cytb 部分序列的特征

经比对校正后获得了 54 尾孔鳐的长度为 782bp 的 *cytb* 基因序列,未发现碱基的插入与缺失,碱基 T,C,A,G平均含量分别为 0.275±0.105, 0.325±0.098, 0.265±0.061, 0.135±0.054,其中 A+T(54%)平均含量 略大于 G+C(46%),与其他硬骨鱼类相似<sup>[20]</sup>。序列中 共出现 11 个单倍型,检测到多态位点 15 个,占核苷 酸总数的 1.92%,简约信息位点 6 个,单一变异位点 9 个。序列中发生转换 14 次,颠换 1 次,转换明显高 于颠换,转换与颠换的比值远高于 Li<sup>[21]</sup>所提出的期 望值 0.5,表明此片段没有饱和,适合进行遗传变异 分析。其中,2009 年群体序列中共出现 3 个单倍型, 检测到多态位点 4 个,全部为单一变异位点;2011 年 群体序列中出现 9 个单倍型,检测到多态位点 12 个, 包括简约信息位点 6 个,单一变异位点 6 个。

在检测到的 11 个单倍型中, Hap1 在 2 个年度中 均有出现,为共享单倍型,其频率也最高,为 70.4%,其他单倍型则仅在 1 个年度出现,在独享单 倍型中,除 Hap5、Hap7 外,其余单倍型均只检出一 次(表 1)。

表 1 荣成湾 2009 年和 2011 年孔鳐群体线粒体 cytb 基因单倍型分布

Tab. 1	The <i>cytb</i> ha	aplotype distribution in 2009	and 2011 <i>Raja porosa</i>	groups in the l	Rongcheng <b>E</b>	3a
--------	--------------------	-------------------------------	-----------------------------	-----------------	--------------------	----

<b>尹</b> 关 (木		单倍型个体数										
11+ I4+	Hap1	Hap2	Hap3	Hap4	Hap5	Hap6	Hap7	Hap8	Hap9	Hap10	Hap11	合计
RCRP	38	1	1	1	6	1	2	1	1	1	1	54
RCRP09	8	1	1									10
RCRP11	30			1	6	1	2	1	1	1	1	44

注: RCRP 表示荣成湾孔鳐群体(为 2009 年与 2011 年群体的总和); RCRP09 表示 2009 年荣成湾孔鳐群体; RCRP11 表示 2011 年荣成湾孔鳐群体

2.2 荣成湾孔鳐群体的系统发育与遗传分化 荣成湾孔鳐群体的单倍型数、单倍型多样性和 核苷酸多样性指数见表 2。其单倍型多样性指数为 0.498, 核苷酸多样性指数为 0.0018。2009 年孔鳐群

体单倍型多样性指数为 0.378, 2011 年群体较 2009 年略高,为 0.532。2 个年度核苷酸多样性指数分别 为 0.0010 和 0.0020, 也是 2011 年的略高于 2009 年 的。

表 2 荣成湾 2009, 2011 年孔鳐群体 cytb 基因部分序列的遗传多样性指数

Tab. 2Genetic diversity parameters of partial cytb gene sequences of R. porosa groups in the Rongcheng Bay in 2009<br/>and 2011

群体	个体 数目	单倍型 数量	Н	π	Κ	群体内 遗传距离	Tajima's D	Fu's Fs
RCRP	54	11	$0.498 \pm 0.081$	0.0018± 0.0005	1.430	0.0013	-1.71239*	-4.37038*
RCRP09	10	3	$0.378 \pm 0.181$	$0.0010 \pm 0.0006$	0.800	0.0015	$-1.66706^{NS}$	0.05793 <sup>NS</sup>
RCRP11	44	9	0.532±0.086	$0.0020 \pm 0.0006$	1.553	0.0013	-1.32257 <sup>NS</sup>	-2.39426*

注:\*, P<0.05; NS, 不显著

2009 年和 2011 年孔鳐群体内的 K2p (Kimura 2-parameter)遗传距离分别为 0.0015 和 0.0013, 而 2 个年度群体间的遗传距离则为 0.0013, *F*<sub>st</sub>为 0.01778, 表明 2 个年度群体间无显著遗传分化。荣成湾孔鳐群体年度间和年度内的 AMOVA 结果显示,遗传变异主要集中在相同年度内的个体间,占 98.22%,年度间变异仅占 1.78%,年度内变异大于年度间变异。2009 年和 2011 年群体并不存在显著的遗传结构差异。

使用 K2p 模型构建的 11 种单倍型的邻接系统树 如图 1 所示, 11 种单倍型明显形成了两支, 其中 Hap4, Hap7, Hap9 聚成一支, 其余单倍型聚成一支。 2009 年和 2011 年样品来源的单倍型分布于各支, 没 有表现出明显的聚群。利用个体序列构建的邻接系 统树与单倍型所建进化树结果一致(图 2)。



图 1 荣成湾孔鳐群体线粒体 cytb 部分序列单倍型邻接树

Fig. 1 Haplotype neighbor-joining tree constructed from partial sequences of *cytb* in *Raja porosa* stock of the Rongcheng Bay

用 Network 的 Median-joining 方法构建的单倍型 网络结构如图 3,所有单倍型通过单一突变和多步突

变相连接, 单倍型 Hap1 是共有的单倍型, 在 2009, 2011 年群体中所占比例均最高, 据此推测 Hap1 是原始单倍型, 其他单倍型是由其演化而来<sup>[22]</sup>。单倍型网络图的结果也支持不存在与年度相对应的单倍型分支。

#### 2.3 种群历史动态

荣成湾孔鳐群体的 Tajima's D 和 Fu's Fs 中性检 测都呈显著性负值(表 2), 此外, 荣成湾群体的歧点 分布也呈单峰(图 4), 表明荣成湾孔鳐群体在过去可 能发生了种群的快速扩张<sup>[23-24]</sup>。

#### 3 讨论

线粒体 DNA cytb 部分序列的单倍型多样性和核 苷酸多样性指数是衡量群体遗传多样性水平的重要 指标。通过与目前已报道的其他 8 种软骨鱼类的相 关数据比较可知(表 3), 荣成湾孔鳐的 H 与同属的 Raja clavata 相近,略高于西大西洋护士鲨 (Ginglymostoma cirratum)和西南大西洋舒氏星鲨 (Mustelus schmitti), 而低于其他 5 种软骨鱼类。但其  $\pi$ 值却明显低、除了与西南大西洋舒氏星鲨接近和略 低于三种睡鲨 Somniosus pacificus, S. antarcticus 和 S. microcephalus 外, 远远低于同科的鳐类(Amblyraja radiata)以及鹞鲼科的 Aetobatus narinari、甚至同属 的 Raja clavata 欧洲群体。荣成湾孔鳐具有如此低的  $H \pi_{\pi}$ 值(H < 0.5, P < 0.005),不仅显示该群体的遗传 多样性水平较低、根据 Grant 等<sup>[25]</sup>的理论推测、荣成 湾孔鳐群体近期也可能发生了遗传瓶颈效应或奠基 者效应,其原因是由于孔鳐的迁徙性不强,少与其 他群体发生基因交流所致, 还是其他原因引起的, 尚需进一步予以考证。



图 2 荣成湾孔鳐群体线粒体 cytb 部分序列个体邻接树

Fig. 2 Neighbor-joining tree constructed from partial sequences of cytb in R. porosa stock of the Rongcheng Bay

群体遗传多样性是生物适应环境与进化的基础, 物种遗传多样性低,则更容易受到环境变化和过度 捕捞的影响<sup>[26]</sup>。从上述分析的多个群体遗传多样性 参数来看,荣成湾孔鳐的遗传多样性水平相对较低, 仅从遗传学角度而言,该物种的种质资源现状不容 乐观。作为一种需求量较大的传统渔业资源,其种质 资源遗传多样性的保护应该得到足够的重视,并进 一步采用多种分子标记分析对孔鳐种质资源进行中 长期评估,从而为其种质资源保护政策制定及实施 提供基础,避免群体遗传多样性的急剧下降。

目前关于水生生物群体遗传多样性在时间动态 上的研究相对空间水平研究较少,而且主要集中在 分析亲代和子代之间,以及不同历史时期之间样本 的遗传差异<sup>[27]</sup>。本文对荣成湾 2009 年和 2011 年的



图 3 荣成湾孔鳐群体线粒体 cytb 部分序列单倍型的中接网络图

Fig. 3 Median Joining Haplotype Network Based on partial sequences of cytb in R. porosa stock of the Rongcheng Bay







## 表 3 软骨鱼类群体 cytb 部分序列的 H 和 $\pi$

孔鳐群体的 *cytb* 部分序列进行分析, 通过对反映群体间遗传分化程度的重要指标—遗传分化系数计算发现, 孔鳐在2个年度群体间的*F*<sub>st</sub>为 0.01778, 表明2个年度群体间没有明显的分化<sup>[28]</sup>。AMOVA 结果也显示, 全部的变异几乎都来源于相同年度内, 年度间变异仅占 2%。采用 Kimura 双参数模型计算孔鳐群体不同年度间的遗传距离发现, 其值也很小, 仅为 0.0015。综合分析, 说明该海域孔鳐群体在时间上不存在明显的群体遗传结构差异, 认为这两个年度的孔鳐属同一个群体。但是, 由于 2009 年所采集到的样品数较少, 今后还需逐年采取足够的样品数进行研究, 以更准确全面地了解荣成湾孔鳐的群体遗传结构及其年度变化。

Tah 🤅	к т	'he hanlotyne	diverisity ()	H) and nucleotid	le diversity (π	) narameters of a	<i>cvth</i> nartial	sequences in	elasmobranches
140.	, 1	ne napiotype		(I) and nucleon		i bar ameters of $a$	<i>LVIU</i> DALIIAI	sequences m	כומאוויטטו מווכווכא

1 01	• • •	• • • •	• • •	
物种	群体	Н	π	参考文献
Ginglymostoma cirratum	西大西洋	$0.45 \pm 0.04$	$0.0004 \pm 0.0004$	[14]
Mustelus schmitti	西南大西洋	0.226	0.0015	[15]
Somniosus pacificus	中国台湾	$0.7937 \pm 0.0424$	$0.0031 \pm 0.0020$	[16]
	阿拉斯加	$0.8381 \pm 0.0680$	$0.0043 \pm 0.0026$	
S. antarcticus	南大洋	$0.6667 \pm 0.1130$	$0.0023 \pm 0.0015$	
S. microcephalus	北大西洋	$0.7750 \pm 0.0876$	$0.0022 \pm 0.0015$	
Aetobatus narinari	印度-太平洋	0.800	0.0126	[17]
Amblyraja radiat	北大西洋	0.796	0.0090	[18]
Raja clavata	欧洲	0.503	0.0060	[19]
R. porosa	荣成湾	$0.498 {\pm} 0.081$	$0.0018 \pm 0.0005$	本文

**致谢**:本文所分析的孔鳐底拖网样品的采集得到中国科 学院海洋研究所线薇微老师、李文龙老师的帮助, 谨此一 并致谢。

#### 参考文献:

#### [1] 成庆泰,郑葆珊.中国鱼类系统检索[M].北京:科

Marine Sciences / Vol. 36, No. 10 / 2012

学出版社, 1987: 35-36.

- [2] 朱元鼎, 孟庆闻. 中国动物志(圆口纲 软骨鱼纲)[M].北京: 科学出版社, 2001: 385-388.
- [3] Stehmann M F W. Proposal of a maturity stages scale for oviparous and viviparous cartilaginous fishes (Pisces, Chondrichthyes) [J]. Arch Fish Mar Res, 2002,50: 23-48.
- [4] 于诗群,王世党,郑春波.孔鳐的生物学特性与养殖 技术[J].齐鲁渔业,2005,22(8):24-25.
- [5] Palumbi S R. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation [J]. Annu Rev Ecol Syst,1994, 25: 547-572.
- [6] Dudgeon C L, Blower D C, Broderick D, et al. A review of the application of molecular genetics for fisheries management and conservation of sharks and rays [J]. Journal of Fish Biology, 2012, 80: 1789-1843.
- Baeck G W, Park C I, Choi H C, et al. Feeding habits of ocellate spot skate, *Okamejei kenojei* (Müller & Henle, 1841), in coastal waters of Taean, Korea [J]. Journal of Applied Ichthyology, 2011, 27: 1079-1085.
- [8] 赵伟东,宋丽莉,黄永松. 孔鳐刺网的设计与装配[J]. 捕捞技术, 2004, 5: 76.
- [9] Boeseman M. Some remarks on the identity of the Japanese rays *Raja kenojei* Müller & Henle, 1841, and *Raja meerdervoortii* Bleeker, 1860 [J]. Zoologische Mededelingen, 1979, 53(25):273-281.
- [10] Yoon H K, Jeong D, Chung I H, et al. Rapid species identification of elasmobranch fish (skates and rays) using oligonucleotide microarray [J]. Biochip Journal, 2009, 3: 87-96.
- [11] Ishiharal H, Mochizuki T, Homma K, et al. Reproductive strategy of the Japanese common skate (Spiny rasp skate) Okameji kenojei[C]. Fowler S L, Reed T M, Dipper F A. Elasmobranch Biodiversity, Conservation and Management: Proceedings of the International Seminar and Workshop, July 1997. Sabah, Malaysia, IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge: IUCN SSC Shark Specialist Group, 2002: 236-240.
- [12] 刘坤, 刘飒. 孔鳐硫酸软骨素的制备[J]. 中国海洋药 物, 2004, 9:19-22.
- [13] Gray M W. Origin and evolution of mitochondrial DNA[J]. Annual Review of Cell Biology, 1989 (5): 25-50.
- [14] Castro A L F. Use of molecular tools on surveys of genetic variation and population structure in three spe-

cies of sharks [D]. Tampa, FL, USA: University of South Florida, 2009.

- [15] Pereyra S, Garcia G, Miller P, et al. Low genetic diversity and population structure of the narrownose shark (*Mustelus schmitti*) [J]. Fisheries Research, 2009, 106: 468-473.
- [16] Murray B W, Wang J Y, Yang S C, et al. Mitochondrial cytochrome b variation in sleeper sharks (Squaliformes: Somniosidae) [J]. Marine Biology, 2008, 153: 1015-1022.
- [17] Schluessel V, Broderick D, Collin SP, et al. Evidence for extensive population structure in the white spotted eagle ray within the Indo-Pacific inferred from mitochondrial gene sequences [J]. Journal of Zoology (London), 2010, 281: 46-55.
- [18] Chevolot M, Hoarau G, Rijnsdorp A D, et al. Phylogeography and population structure of thornback rays (*Raja clavata* L., Rajidae) [J]. Molecular Ecology, 2006, 15: 3693-3705.
- [19] Chevolot M, Wolfs P, P'alsson J, et al. Population structure and historical demography of the thorny skate (*Amblyraja radiata*, Rajidae) in the North Atlantic [J]. Marine Biology, 2007, 151: 1275-1286.
- [20] Hochachka P W, Mommsen T. Biochemistry and Molecular Biolodgy of Fishes: Environmental and Ecological Biochemistry [J]. Elsevier Science, 1993, 2: 1-38.
- [21] Li Wen Hsiung. Molecular Evolution [M]. Sunderland Massachusetts, USA: Sinauer Associates, 1997.
- [22] Posada D, Crandall K A. Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks[J]. Trends Ecol Evol, 2001, 16: 37-45.
- [23] Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism [J].Genetics, 1989, 123: 585-595.
- [24] Rogers A R, Harpending H C. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences[J]. Molecular Biology and Evolution, 1992, 9: 552-569.
- [25] Grant W S, Bowen B W. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes:insights from sardines and anchovies and lessons for conservation [J]. The Journal of Heredity, 1998, 89: 415-426.
- [26] Ward R D. The importance of identifying spatial popu-

海洋科学 / 2012 年 / 第 36 卷 / 第 10 期

lation structure in restocking and stock enhancement programmes [J]. Fisheries Research, 2006, 80: 9-18.

- [27] 牛东红, 刘达博, 陈慧. 缢蛏种群遗传多样性的周年 变异分析[J]. 生物技术通报, 2012, 1: 168-171.
- [28] Wright S. Evolution and the genetics of population:variability within and among natural population[M]. Chicago: University of Chicago Press, 1978, 79-103.

# Genetic diversity analysis of partial sequences of mtDNA *cytb* in *Raja porosa* stock of the Rongcheng Bay

LIU Meng-xia<sup>1</sup>, WANG Li-juan<sup>2</sup>, KONG Ling-yi<sup>3</sup>, LIU Hong-jun<sup>1</sup>, WU Zhi-hao<sup>2</sup>, XIN Meng-jiao<sup>2</sup>, ZHANG Wei<sup>1</sup>, YOU Feng<sup>2</sup>

(1. Shandong Provincial Mari-culture Institute, Qingdao 266002, China; 2. Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 3. College of Marine Life Science, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

#### **Received:** May,17,2012

Key words: Raja porosa ; the Rongcheng Bay ; cytochrome b gene (cytb) partial sequence; population genetic diversity

**Abstract:** In this study, a 782bp fragment of mitochondrial DNA cytochrome *b* gene (*cytb*) from 54 *Raja porosa* individuals collected from the Rongcheng Bay in 2009 and 2011 were sequenced. A total of 15 polymorphic sites were detected, which defined 11 mitochondrial haplotypes. The haplotype diversity, nucleotide diversity were 0.498 $\pm$ 0.081 and 0.0018 $\pm$ 0.0005, respectively, indicating a lower genetic diversity in the stock. The results also showed that there are 4 singleton variable sites defined 3 haplotypes in 2009 group, and 6 singleton variable sites and 6 parsimony informative sites defined 9 haplotypes in 2011 group. The haplotype diversity parameters in 2009 and 2011 groups were 0.378 $\pm$ 0.181 and 0.532 $\pm$ 0.086, respectively, and their nucleotide diversity parameters were 0.0010 $\pm$ 0.0006 and 0.0020 $\pm$ 0.0006, respectively. Analysis of Molecular Variance (AMOVA) indicated 98.22% genetic variation occurred within the same year. Genetic distance between these two groups calculated with the Kimura's 2-parameter model is 0.0013, and the genetic differentiation value between the two groups is 0.01778, which all showed that there is nearly no genetic differentiation between the two groups. Neutrality test suggested that a population expansion might have happened before.

(本文编辑:张培新)