

## 中国近海路氏双髻鲨群体线粒体 DNA 控制区序列比较分析

宋 娜<sup>1</sup>, 高天翔<sup>1,2\*</sup>, 王志勇<sup>3</sup>

(1. 中国海洋大学水产学院, 山东 青岛 266003;

2. 中国海洋大学海洋生物多样性与进化研究所, 山东 青岛 266003;

3. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021)

**摘要:** 采用线粒体 DNA 控制区序列比较分析了路氏双髻鲨日照和霞浦群体的遗传结构及遗传多样性现状。研究结果显示: 在长度为 548 bp 的 mtDNA 控制区序列上, 34 尾路氏双髻鲨个体仅检测到 5 个单倍型, 两群体均呈现出较低的遗传多样性水平, 日照群体的单倍型多样性 ( $h$ )、核苷酸多样性 ( $\pi$ ) 以及两两序列比较的平均碱基差异数 ( $p$ ) ( $h=0.6000\pm 0.1305$ ;  $\pi=0.0046\pm 0.0031$ ;  $p=2.5333\pm 1.4856$ ) 略高于霞浦群体 ( $h=0.5109\pm 0.0955$ ;  $\pi=0.0024\pm 0.0017$ ;  $p=1.2899\pm 0.8373$ ); 邻接关系树显示, 5 个单倍型明显分为两支, 净遗传距离为 0.016; 群体遗传分化指数为  $F_{st}=-0.047(P=0.914)$ , 表明两群体之间不存在显著差异, 确切  $P$  检验结果也表明两群体存在随机交配现象 ( $P=0.731$ ); 核苷酸不配对分布呈双峰类型, 其中一个峰对应类群内序列差异, 另外一个峰对应两个类群序列间差异。研究表明, 路氏双髻鲨较小的有效群体导致了较低的遗传多样性, 其资源状况已不容乐观。

**关键词:** 路氏双髻鲨; 线粒体 DNA 控制区; 遗传结构; 遗传多样性; 有效群体大小

**中图分类号:** Q 342; S 917.4

**文献标志码:** A

路氏双髻鲨(*Sphyrna lewini*)是一种全球性水域分布的鲨鱼, 隶属于软骨鱼纲(Chondrichthyes)、真鲨目(Carcharhiniformes)、双髻鲨科(Sphyrnidae)、双髻鲨属(*Sphyrna*), 在中国南海、东海和黄海均有分布<sup>[1-2]</sup>。双髻鲨属的鱼类因具有特殊横向延伸的头部而得名, 其特别发达的头部具有地磁定位和导航能力<sup>[3-6]</sup>。由于现代渔业技术的发展, 导致海洋渔业捕捞量增加, 海洋鱼类物种的数量急剧下降, 其中鲨鱼是受到影响最大的种类之一, 对鱼翅的巨大市场需求也加剧了鲨鱼资源的极大破坏。有研究表明西北大西洋路氏双髻鲨的数量可能在 1981 年至 2005 年的 20 多年间减少了 83%, 路氏双髻鲨已被 IUCN 列为濒危物种, 并受到各界人士的广泛关注<sup>[7]</sup>。迄今, 外国学者对路氏双髻鲨开展了年龄、生长、繁殖、行为生态学以及遗传学等研究<sup>[8-12]</sup>。

分子标记是一种检测物种群体遗传结构和遗传多样性的有效手段<sup>[13-14]</sup>。线粒体 DNA 作为一种探讨种群遗传结构、种内遗传分化的有效分子标记, 具有严格遵守母系遗传、几乎不发生重组、进化速度快等特征<sup>[15]</sup>, 特别是线粒体 DNA 控制区缺乏编码选择压力, 其进化速率是线粒体 DNA 蛋白质编码基因的 2~5 倍, 具有很高的核苷酸替换速率, 是研究群体水平遗传多样性比较理想的分子标记, 已被广泛应用于多种海洋鱼类的群体遗传结构和遗传多样性研究<sup>[16-21]</sup>。国外学者也利用线粒体 DNA 控制区序列开展了路氏双髻鲨的群体遗传学研究, 例如 Duncan 等<sup>[11]</sup>采用线粒体 DNA 标记技术对来自全球三大洋 15 个地点的 271 个个体进行了遗传学分析; Nance 等<sup>[12]</sup>对来自东太平洋的 221 尾路氏双髻鲨开展了线粒体 DNA 和微卫星标记的比较研究。但中国沿海的路氏双髻鲨相关研究极少,

收稿日期: 2012-01-10 修回日期: 2012-02-29  
资助项目: 国家公益性行业(农业)科研专项(201003068)  
通讯作者: 高天翔, E-mail: gaotzhang@ouc.edu.cn

目前仅见到一篇关于种群统计的研究<sup>[22]</sup>。

路氏双髻鲨的全球性分布暗示其可能具有跨大洋扩散的能力,但 Kohler 等<sup>[23]</sup>对路氏双髻鲨标志放流的研究结果显示,这种鱼类很少进行长距离的扩散,因此可能并不是一种真正意义上的大洋性高洄游种类,其不同地理群体之间的基因交流状况有待深入研究。以往的研究表明,多种鲨鱼的遗传多样性水平都较低<sup>[24-26]</sup>。路氏双髻鲨作为一种濒危物种,其遗传多样性相关研究亟待开展。本研究采集了中国近海的日照和霞浦两个地点的路氏双髻鲨,基于线粒体 DNA 控制区第一高变区序列对其进行群体遗传学分析,旨在阐明中国近海路氏双髻鲨的遗传多样性现状以及不同地理群体之间的遗传差异,探讨路氏双髻鲨的种群分布和基因交流现状,以期为这一濒危物种的资源保护与合理利用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

路氏双髻鲨样品于 2008 年 8 月和 2010 年 7 月分别采自福建霞浦(24尾)和山东日照(10尾)沿海(图 1),经形态鉴定后,取背部肌肉于 95%的酒精中保存备用。

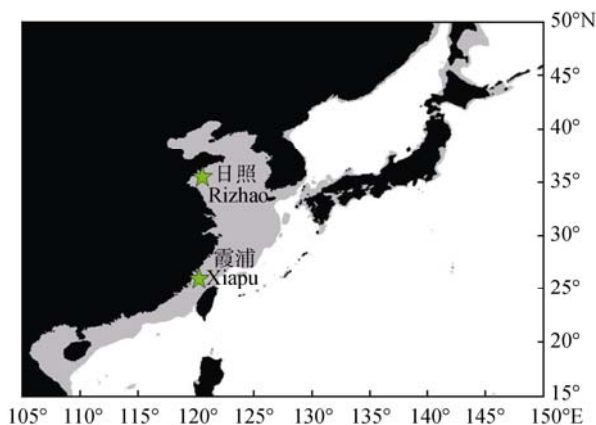


图 1 路氏双髻鲨采样地点图  
Fig. 1 Sampling sites of *S. lewini*

### 1.2 DNA 提取与 PCR 扩增

取路氏双髻鲨肌肉组织约 100 mg,采用酚—氯仿方法提取基因组 DNA,用超纯水将乙醇沉淀后的基因组溶解,4 °C 保存备用。

控制区第一高变区扩增引物序列为 Pro-L: AGGGRAAGGAGGGTCAAACCT 和 SLcr-H: ACAT

TCTCCATCCCCTTGTG<sup>[11]</sup>。PCR 反应体系为 25  $\mu$ L,包括 1.25 U *Taq* DNA 聚合酶,各种反应组分的终浓度为 200 nmol/L 的正反向引物;200  $\mu$ mol/L 的每种 dNTP,10 mmol/L Tris pH 8.3,50 mmol/L KCl 和 1.5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>。反应条件为:94 °C 预变性 3 min;94 °C 变性 1 min,50 °C 退火 1 min,72 °C 延伸 1 min,35 个循环;72 °C 延伸 10 min。以上反应均设阴性对照以排除 DNA 污染的情况。取 2  $\mu$ L PCR 扩增产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳检测(U = 5 V/cm),用 UNIQ-10 柱式 DNA 胶回收试剂盒进行目的片段的回收纯化,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

将测得序列用 DNASTar(DNASTAR, Inc)软件包中 Seqman 软件进行比对,核对测序胶图,并辅以人工校正;从 GenBank 上下载序列号 HQ916311 和 HQ916312 的东太平洋路氏双髻鲨的两个单倍型,截取同源序列用于比较分析;两群体的碱基组成、变异位点、转换/颠换值采用 Arlequin 3.0 软件包进行分析;运用 PAUP 和 Modeltest ver.3.06 计算反映突变速率在不同位点间异质性的 gamma 分布形状参数。本研究中筛选出的核苷酸最佳替换模型为 TrN;采用 Arlequin 3.0 软件进行两群体间遗传分化指数  $F_{st}$  的计算及确切 *P* 检验;以锤头双髻鲨(*Sphyrna zygaena*)(序列号 GU385314)为外群,用 MEGA 3.0 软件构建系统树。

## 2 结果

通过 PCR 扩增测序,获得路氏双髻鲨线粒体控制区序列长度为 728 bp,其中包括 47 bp 的转运 RNA 和 681 bp 的控制区第一高变区序列,与 HQ916311 和 HQ916312 的序列进行比对,截取 548 bp 同源片段序列进行分析。

路氏双髻鲨日照和霞浦群体 A+T 碱基含量(68.3%)明显大于 C+G 含量(31.7%),且两群体间无明显差异。在 34 个个体的控制区序列上,共检测到 11 个变异位点,皆为转换,未检测到颠换和插入/缺失位点,11 个变异位点定义了 5 个单倍型。日照群体 10 个个体存在 11 个变异位点,定义 3 个单倍型;霞浦群体 24 个个体存在 10 个变异位点,定义了 4 个单倍型(表 1);两个群体共享 2 个单倍型(表 2);日照群体的单倍型多样性、核苷酸多样性

以及两两序列比较的平均碱基差异数( $h=0.6000\pm 0.1305$ ;  $\pi=0.0046\pm 0.0031$ ;  $p=2.5333\pm 1.4856$ )均略高于霞浦群体( $h=0.5109\pm 0.0955$ ;  $\pi=0.0024\pm 0.0017$ ;  $p=1.2899\pm 0.8373$ )。通过 PAUP 和 Modeltest 软件计算得到路氏双髻鲨控制区片段的核苷酸最佳替换模型为 TrN(I=0)。

表 1 本研究中路氏双髻鲨的遗传多样性参数  
Tab. 1 Molecular diversity indices for *S. lewini* in this study

控制区 control region	日照 Rizhao	霞浦 Xiapu	总计 total
个体数 sample size	10	24	34
序列长度 sequence length	548	548	548
变异位点 variable sites	11	10	11
转换/颠换 transitions/transversions	11/0	10/0	11/0
单倍型 haplotype numbers	3	4	5
单倍型多样性 $h$ haplotype diversity	0.6000±	0.5109±	0.5241±
核苷酸多样性 $\pi$ nucleotide diversity	0.0046±	0.0024±	0.0029±
两两序列比较的平均碱基差异数 $p$ mean pairwise nucleotide differences	2.5333±	1.2899±	1.6078±

表 2 路氏双髻鲨两个群体的单倍型频率分布  
Tab. 2 Distribution of haplotypes in two *S. lewini* populations

单倍型 haplotypes	日照 Rizhao	霞浦 Xiapu
Hap1	3	6
Hap2	6	16
Hap3	1	
Hap4		1
Hap5		1

以锤头双髻鲨为外群, 基于日照和霞浦群体控制区单倍型序列构建的邻接关系树显示, 两个群体的单倍型明显分为两支, 但两个分支并未与采样地点相对应, 来自东太平洋的两个单倍型与本研究的 3 个单倍型聚为一支(图 2), 两支间的净遗传距离为 0.016。

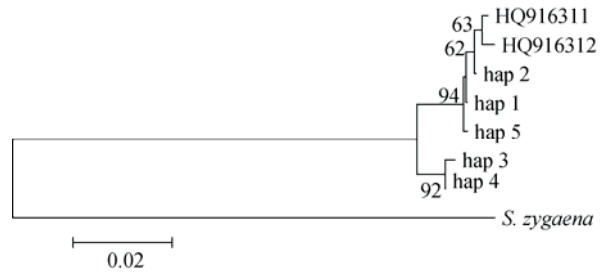


图 2 以锤头双髻鲨为外群构建的路氏双髻鲨控制区单倍型邻接关系树  
分支上数字为 1000 次重抽样分析得到的大于 50% 的支持率。

Fig. 2 Neighbor-joining tree for control region haplotypes of *S. lewini* and *S. zygana* served as an outgroup  
Bootstrap supports of > 50% in 1000 replicates were shown.

日照和霞浦两个群体之间遗传分化指数  $F_{st}$  值为 -0.047, 统计检验结果不显著( $P= 0.914$ ), 表明两群体之间不存在显著差异, 两群体的确切  $P$  检验结果也表明两群体存在随机交配现象( $P= 0.731$ )。

核苷酸不配对分布的分析结果表明, 路氏双髻鲨的核苷酸不配对分布图呈双峰类型(图 3), 其中一个峰对应类群内序列差异, 另外一个峰对应两个类群序列间差异。 $F_s$  和  $D$  中性检验的结果(Tajima's  $D= - 1.2611$ ,  $P=0.103$ ;  $F_s=0.8234$ ,  $P=0.708$ )显示路氏双髻鲨没有显著偏离中性。

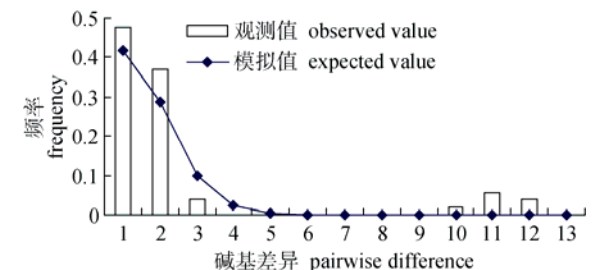


图 3 路氏双髻鲨核苷酸不配对分布  
Fig. 3 The observed pairwise differences (bars), and the expected mismatch distributions under the sudden expansion model (solid line) for the control region haplotypes in *S. lewini*

### 3 讨论

大量的群体遗传学研究认为, 海洋鱼类高度的扩散能力使其在分布范围内通常呈现出较弱的遗传分化水平, 这主要是由于海洋鱼类不同地理群体之间存在高度的基因交流。但近年来的研究结果表明海洋环境中依然存在阻碍海洋鱼类基因交流的障碍, 如栖息地环境、海洋环境条件以及历史因

素等<sup>[27]</sup>, 这些外界条件或多或少都能影响海洋鱼类不同地理群体之间的基因交流。除此之外, 海洋鱼类自身的生活史特征也是影响其群体遗传结构的重要因素。到目前为止, 许多鲨鱼线粒体 DNA 的研究都显示其显著的遗传结构的存在, 如 *Mustelus antarcticus*<sup>[28]</sup>, *Isurus oxyrinchus*<sup>[29]</sup>等, 与大型的大洋性硬骨鱼类不同, 鲨鱼产沉性卵或者胎生, 缺乏卵和仔鱼的浮游期, 且鲨鱼会在固定的近海水域进行产卵<sup>[30-31]</sup>, 这些繁殖特性导致了有些鲨鱼虽然属于大洋性鱼类, 但是其不同群体之间的基因交流受限, 从而使不同群体间存在遗传分化。Duncan 等<sup>[11]</sup>对来自三个大洋的路氏双髻鲨样品进行了研究, 分析结果显示大洋间遗传差异显著, 同海区沿岸分布的群体之间有很强的基因交流。本研究的日照和霞浦两个群体之间遗传差异小于群体内部的遗传差异, 群体间遗传分化  $F_{st}$  值为负, 结果支持 Duncan 等<sup>[11]</sup>的研究结果, 沿岸分布的群体可能因为共有产卵场导致群体之间的基因交流频繁。

研究得出日照和霞浦的路氏双髻鲨群体的单倍型多样度和核苷酸多样性分别为  $h=0.5109\pm 0.0955\sim 0.6000\pm 0.1305$  和  $\pi=0.0024\pm 0.0017\sim 0.0046\pm 0.0031$ , 与 Duncan 等<sup>[11]</sup>结果比较, 除了太平洋中部的夏威夷群体( $h=0.09\pm 0.059$ ;  $\pi=0.0002\pm 0.0003$ )之外, 中国沿海的路氏双髻鲨与太平洋东海岸与西海岸的群体遗传多样性指数( $h=0.51\pm 0.01\sim 0.75\pm 0.139$ ;  $\pi=0.0009\pm 0.0009\sim 0.0110\pm 0.0062$ )相近。对太平洋、印度洋和大西洋的路氏双髻鲨来说, 虽然不同地理群体间的遗传差异可能造成了其整体遗传多样性水平较高( $h=0.80\pm 0.020$ ;  $\pi=0.013\pm 0.0068$ )<sup>[11]</sup>, 但总体上, 路氏双髻鲨的遗传多样性水平较低, 这也与已经报道的其他几种鲨鱼的研究结果相似, 例如姥鲨(*Cetorhinus maximus*)、舒氏星鲨(*Mustelus schmitti*)、豹纹鲨(*Stegostoma fasciatum*)等<sup>[24-26]</sup>。对于路氏双髻鲨来说, 大洋内部群体间并不缺乏基因交流, 其较低的遗传多样性可能是较小的有效群体大小造成的; Nance 等<sup>[12]</sup>研究结果显示路氏双髻鲨的现有群体大小远小于过去群体, 与本研究结果一致。

鲨鱼在食物链中通常处于顶端, 在生态系统中具有十分重要的作用。研究结果表明, 基因交流可以维持物种的遗传多样性, 但路氏双髻鲨较低

的有效群体导致了其遗传多样性较低。从遗传学角度来讲, 遗传多样性较低的种类更容易受到环境的影响, 群体更加脆弱, 因此需要对路氏双髻鲨的资源加强保护, 本研究结果提示中国沿海的路氏双髻鲨群体应可作为一个管理单元。

#### 参考文献:

- [1] 中国科学院动物研究所. 南海鱼类志[M]. 北京: 科学出版社, 1962: 38-39.
- [2] Compagno L J V. FAO species catalogue: sharks of the world [M]. FAO Fisheries Synopsis, 1984, 4: 125.
- [3] Klimley A P. Highly directional swimming by scalloped hammerhead sharks, *Sphyrna lewini*, and subsurface irradiance, temperature, bathymetry, and geomagnetic field[J]. Marine Biology, 1993, 117 (1): 1-22.
- [4] Montgomery J C, Walker M M. Orientation and navigation in elasmobranchs: which way forward? [J] Environmental Biology of Fishes, 2001, 60 (2): 109-116.
- [5] Kajiura S M, Holland K N. Electroreception in juvenile scalloped hammerhead and sandbar sharks[J]. Journal of Experimental Biology, 2002, 205(23): 3609-3621.
- [6] Meyer C L, Holland K N, Papastamatiou Y P. Sharks can detect changes in the geomagnetic field[J]. Journal of the Royal Society Interface, 2005, 2 (2): 129-130.
- [7] Hayes C G, Jiao Y, Corte's E. Stock assessment of scalloped hammerheads in the western North Atlantic Ocean and Gulf of Mexico[J]. North American Journal of Fisheries Management, 2009, 29 (5): 1406-1417.
- [8] Steven B. Age, growth and reproductive biology of the silky shark, *Carcharhinus falciformis* and the scalloped hammerhead, *Sphyrna lewini*, from the northwestern Gulf of Mexico[J]. Environmental Biology of Fishes, 1987, 19 (3): 161-173.
- [9] Klimley A P. Highly directional swimming by scalloped hammerhead sharks, *Sphyrna lewini*, and subsurface irradiance, temperature, bathymetry, and geomagnetic field[J]. Marine Biology, 1993, 117 (1): 1-22.
- [10] Klimley A P, Nelson D R. Schooling of the scalloped hammerhead shark, *Sphyrna lewini* in the Gulf of California[J]. Fishery Bulletin, 1981, 79: 356-360.
- [11] Duncan K M, Martin A P, Bowen B W, et al. Global phylogeography of the scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*) [J]. Molecular Ecology, 2006, 15 (8): 2239-2251.
- [12] Nance H A, Klimley P, Galván-Magaña F, et al. Demographic processes underlying subtle patterns of population structure in the scalloped hammerhead shark, *Sphyrna lewini*[J]. Plos One, 2011, 6 (7): e21459. doi:10.1371/journal.pone.0021459.
- [13] Englbrecht C C, Freyhof J, Nolte A, et al. Phylogeogra-

- phy of the bullhead *Cottus gobio* (Pisces:Teleostei: Cottidae) suggests a pre-Pleistocene origin of the major central European populations[J]. *Molecular Ecology*, 2000, 9 (6): 709–722.
- [14] Whitehead A, Anderson S L, Kuivila K M, *et al.* Genetic variation among interconnected populations of *Catostomus occidentalis*: implications for distinguishing impacts of contaminants from biogeographical structuring[J]. *Molecular Ecology*, 2003, 12 (10): 2817–2833.
- [15] Meyer A. Evolution of mitochondrial DNA in Fishes[M]// Hochachka P W, Mommsen T P, eds. *Biochemistry and molecular biology of fishes*, Amsterdam: Elsevier, 1993: 1–38.
- [16] Cann R, Brown W, Wilson A. Polymorphic sites and the mechanism of evolution in human mitochondrial DNA[J]. *Genetics*, 1984, 106 (3): 479–499.
- [17] Buonaccorsi V P, McDowell J R, Graves J E. Reconciling patterns of inter-ocean molecular variance from four classes of molecular markers in blue marlin (*Makaira nigricans*)[J]. *Molecular Ecology*, 2001, 10 (5): 1179–1196.
- [18] Rocha L A, Bass A L, Robertson D R, *et al.* Adult habitat preferences, larval dispersal, and the comparative phylogeography of three Atlantic surgeonfishes (Teleostei: Acanthuridae)[J]. *Molecular Ecology*, 2002, 11 (2): 243–252.
- [19] Avise J C. *Phylogeography: the history and formation of species* [M]. Harvard: Harvard University Press, 2000.
- [20] Hewitt G M. The genetic legacy of the Quaternary ice ages[J]. *Nature*, 2000, 405: 907–913.
- [21] Liu J X, Gao T X, Yokogawa K, *et al.* Differential population structuring and demographic history of two closely related fish species, Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) and spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) in Northwestern Pacific[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2006, 39(3): 799–811.
- [22] 陈丕茂, 李永振, 袁蔚文. 路氏双髻鲨的种群统计分析[J]. *南方水产*, 2006, 2(4): 15–19.
- [23] Kohler N E, Turner P A. Shark tagging: a review of conventional methods and studies[J]. *Environmental Biology of Fishes*, 2001, 60 (3): 191–223.
- [24] Hoelzel A R, Shivji M S, Magnussen J, *et al.* Low worldwide genetic diversity in the basking shark (*Cetorhinus maximus*) [J]. *Biology Letters*, 2006, 2 (4): 639–642.
- [25] Pereyra S, Garcia G, Miller P, *et al.* Low genetic diversity and population structure of the narrownose shark (*Mustelus schmitti*) [J]. *Fisheries Research*, 2010, 106 (3): 468–473.
- [26] Dudgeon C L, Broderick D, Ovenden R. IUCN classification zones concord with, but underestimate, the population genetic structure of the zebra shark *Stegostoma fasciatum* in the Indo-West Pacific[J]. *Molecular Ecology*, 2009, 18 (2): 248–261.
- [27] Palumbi S R. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation[J]. *The Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 1994, 25: 547–572.
- [28] Gardner M G, Ward R D. Population structure of the Australian gummy shark (*Mustelus antarcticus* Gunther) inferred from allozymes, mitochondrial DNA and vertebrae counts[J]. *Marine and Freshwater Research*, 1998, 49 (7): 733–745.
- [29] Schrey A W, Heist E J. Microsatellite analysis of population structure in the shortfin mako (*Isurus oxyrinchus*) [J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2003, 60 (6): 670–675.
- [30] Springer S. Social organization of shark population[M]// Gilbert P W, Matheswon R F, Rall D P, eds. *Sharks, skates and rays*. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1967: 149–174.
- [31] Lund R. Chondrichthyan life history styles as revealed by the 320 million years old Mississippian of Montana[J]. *Environmental Biology of Fishes*, 1990, 27 (1): 1–19.

## Comparative analysis based on the mitochondrial DNA control region of *Sphyrna lewini*

SONG Na<sup>1</sup>, GAO Tian-xiang<sup>1,2\*</sup>, WANG Zhi-yong<sup>3</sup>

(1. Fisheries College, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Institute of Evolution & Marine Biodiversity, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

3. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China)

**Abstract:** The scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*) is circumglobally distributed along continental margins and oceanic islands in tropical waters. With the development of fishery resource, *S. lewini* is one of the most affected and ecologically important species. It is very important to investigate the genetic variance and population structure of this species. However, there are no genetic investigations for this fish in China. In the present study, thirty-four individuals were collected to analyze the genetic diversity and genetic structure for this species. A 548 bp fragment of the hypervariable portion of the mtDNA control region was sequenced and sequences were edited and aligned. The fragments revealed 11 polymorphic sites, which defined 5 haplotypes. The results of present study showed that haplotype diversity, nucleotide diversity and mean number of pairwise differences of Rizhao population ( $h=0.6000\pm 0.1305$ ;  $\pi=0.0046\pm 0.0031$ ;  $p=2.5333\pm 1.4856$ ) were a little higher than those of Xiapu population ( $h=0.5109\pm 0.0955$ ;  $\pi=0.0024\pm 0.0017$ ;  $p=1.2899\pm 0.8373$ ). A Neighbour-Joining (NJ) tree of the control region haplotypes was constructed based on the outgroup *S. zygaena* and two haplotypes from East Pacific which were downloaded from NCBI. Two haplotypes from East Pacific were clustered with three haplotypes from the present study and two lineages were distinguished by 1.6% sequence divergence. The pairwise fixation index  $F_{st} = -0.047$  ( $P=0.914$ ) revealed no significant genetic differentiation between two populations. The exact test of population differentiation (non-differentiation exact  $P$  values) following sequential Bonferroni correction showed that no significant differences ( $P<0.01$ ) existed between two populations, which supported null hypothesis. The mismatch distribution analysis of all the *S. lewini* sequences was bimodal, and one small mode corresponded to internal clade comparisons and the other to differences between individuals among clades. Low levels of genetic diversity in Chinese Coast Sea for *S. lewini* may be a consequence of small effective population size which restricted gene flow. The results of present study provided a deeper understanding of the processes that led to existing levels and patterns of genetic diversity.

**Key words:** *Sphyrna lewini*; mt DNA control region; genetic structure; genetic diversity; effective population size

**Corresponding author:** GAO Tian-xiang. E-mail: gaozhang@ouc.edu.cn