

## MITOCHONDRIAL DNA VARIATION IN THE SOUTH-EAST ASIAN SCAD MACKEREL *DECAPTERUS CF. MACROSOMA*

by

Sophie ARNAUD, Philippe BORSA & François BONHOMME (1)

Scad mackerels currently assigned to species *Decapterus macrosoma* Bleeker have a wide distribution in the tropical Indo-Pacific (Froese and Pauly, 1995). They count among the main catches by purse seiners in the South China Sea and the Java Sea (Widodo, 1988; Potier and Nurhakim, 1995). Here we report the main results of a phylogeographic survey of *D. cf. macrosoma* in the Indonesian seas. Our objective was to estimate its population genetic composition using mitochondrial (mt) DNA markers. In the process we identified three major mtDNA clades whose heterogeneous geographical distribution may point towards the occurrence of three subspecies or species in the Indonesian seas.

Samples of *Decapterus macrosoma* were collected in the South China Sea (sample size  $n = 6$ ), the Sunda Strait ( $n = 3$ ), the Java Sea ( $n = 37$ ), the Makassar strait ( $n = 51$ ), the Sulawesi sea ( $n = 46$ ), the Molucca Sea ( $n = 38$ ) and the Banda Sea ( $n = 35$ ). Total DNA was extracted from muscle tissue according to the standard phenol-chloroform extraction procedure (Sambrook *et al.*, 1989). A ca. 980-base pair fragment of the mtDNA replication control region was amplified by polymerase chain reaction (PCR) and the PCR-amplified DNA products were digested using a set of 10 restriction enzymes. Composite mtDNA haplotypes were deduced from the restriction fragment length patterns (RFLPs) that were obtained after electrophoresis of the digested DNAs.

Table I gives the geographical distribution of the 30 composite mtDNA haplotypes that were encountered in the survey. In the following we consider only those haplotypes whose frequency in a sample was  $> 0.1$ . Haplotype A was the most frequent in the samples from South China Sea, Java Sea, Makassar Strait and Sulawesi Sea. Haplotypes B and C and only these were present in the Sunda Strait sample, and only there. Haplotype H was only present in the Sulawesi Sea sample. Haplotypes P, Q, R and S were only present in the Molucca Sea and the Banda Sea samples, at frequencies that were similar. Four groups of samples were thus identified on the basis of the distribution of their most frequent haplotypes, i.e. (i) South China Sea, Java Sea, Makassar Strait (a group of samples hereafter designated by « Sunda Shelf », (ii) Sunda Strait, (iii) Sulawesi Sea and (iv) Molucca Sea and Banda Sea. No genetic differences were evident among populations from the Sunda Shelf although the occurrence of two stocks has been suspected (Sadhotomo and Potier, 1995). The Sulawesi Sea sample was characterized by the occurrence of two major mtDNA clones, one (A in Table I) that was shared with the Sunda Shelf group of samples, the other one (H) that was unique to the Sulawesi Sea sample. Actually, slight morphological variation was noted among individuals in the Sulawesi Sea sample. In short, all

---

(1) ORSTOM, Laboratoire Génome et Populations, Centre national de la Recherche scientifique. CNRS UPR 9060, Station méditerranéenne de l'Environnement littoral, 1 Quai de la Daurade, 34200 Sète, FRANCE. [s-arnaud@crit.univ-montp2.fr]



*macrosoma*, two of which were simultaneously present in the Sulawesi Sea. We believe that further in-depth phylogeographic studies in *D. macrosoma* and related species from the tropical Indo-Pacific will enhance our understanding of the patterns and processes of speciation in pelagic fishes.

**RÉSUMÉ. - Variabilité de l'ADN mitochondrial chez le chinchard *Decapterus cf. macrosoma* (Carangidae) en Asie du sud-est**

Le chinchard, *Decapterus macrosoma* Bleeker, est distribué dans une grande partie de l'Indo-Pacifique tropical. Il compte parmi les espèces les plus abondamment exploitées par les sennieurs en Mer de Chine du Sud et en Mer de Java. Nous rapportons ici les principaux résultats d'une étude de la structure génétique des populations de *D. cf. macrosoma* des mers indonésiennes, réalisée à l'aide de marqueurs ADN mitochondriaux (ADNmt). Nous avons identifié trois clades d'ADNmt dont la distribution géographique était hétérogène, ce qui suggère la présence de trois sous-espèces, voire espèces, dans les mers indonésiennes.

Des échantillons de *Decapterus cf. macrosoma* ont été récoltés en mer de Chine du Sud, dans le détroit de la Sonde, en mer de Java, dans le détroit de Macassar, en mer de Célèbes, en mer des Moluques et en mer de Banda. L'ADN total a été extrait à partir d'échantillons de muscle. Un fragment long d'environ 980 paires de bases de la région de contrôle de la réplication de l'ADNmt a été amplifié par la réaction cyclique de polymérisation (PCR). Les produits d'amplification par la PCR ont été digérés à l'aide de 10 enzymes de restriction. Différents haplotypes composites ont été reconstruits à partir des longueurs des fragments de restriction (RFLP) obtenues après l'électrophorèse.

Nous avons reporté dans le tableau I la distribution géographique des 30 haplotypes observés sur l'échantillon total. Considérons ici les seuls haplotypes dont la fréquence dans au moins un échantillon était  $> 0.1$ . L'haplotype A était le plus fréquent dans les échantillons de la mer de Chine du Sud, la mer de Java, le détroit de Macassar et la mer de Célèbes. Les haplotypes B et C étaient présents dans le seul échantillon du détroit de la Sonde. Les haplotypes P, Q, R et S étaient présents dans les seuls échantillons de la mer des Moluques et de la mer de Banda, à des fréquences similaires. Nous avons ainsi identifié quatre ensembles d'échantillons sur la base de la distribution des haplotypes les plus fréquents. En l'occurrence, il s'agit de (i) mer de Chine du Sud, mer de Java, détroit de Macassar (un ensemble d'échantillons que nous regrouperons sous le nom "plateau de la Sonde" dans ce qui suit), (ii) détroit de la Sonde, (iii) mer de Célèbes et (iv) mer des Moluques et mer de Banda. Aucune hétérogénéité significative n'a été détectée parmi les populations du plateau de la Sonde: ce résultat ne permet pas de confirmer l'hypothèse, découlant des données halieutiques, selon laquelle deux stocks de *D. macrosoma* seraient présents dans cette région. L'échantillon de la mer de Célèbes présentait deux haplotypes majoritaires dont le plus abondant (A) était également le plus abondant sur le plateau de la Sonde (voir Tableau I), et l'autre (H) était uniquement présent en mer de Célèbes. Signalons ici que deux variants morphologiques avaient été observés en mer de Célèbes: tous les individus présentant l'haplotype A possédaient une rangée de petites dents sur la mâchoire inférieure (ce qui est un critère de reconnaissance de *Decapterus macrosoma*). Ceux présentant l'haplotype H possédaient en plus des dents sur la mâchoire supérieure. Cette corrélation entre morphologie et haplotype mitochondrial signifie que

l'hétérogénéité de l'échantillon de la mer de Célèbes pourrait correspondre à la présence sympatrique de deux populations reproductivement isolées.

Les relations phylogénétiques entre les différents haplotypes ont été inférées à partir des données de RFLP, à l'aide d'un algorithme de parcimonie, d'une part, et d'un algorithme de maximum de vraisemblance, d'autre part, en utilisant, respectivement, les menus DNAPARS et RESTML du logiciel PHYLIP. La topologie des deux arbres ainsi inférés était la même (données non présentées ici), et celle-ci reflétait la géographie des mers indonésiennes: ainsi, tous les haplotypes (A à G) présents dans les échantillons du plateau de la Sonde et du détroit de la Sonde, en d'autres termes ceux d'Indonésie occidentale, étaient regroupés à une extrémité de l'arbre, tandis que tous les haplotypes (P-AD) présents dans les échantillons d'Indonésie orientale étaient regroupés à l'extrémité opposée de l'arbre. La plupart des haplotypes (H à O exceptés K et M) de l'échantillon de la mer de Célèbes, géographiquement intermédiaire, se positionnaient vers le milieu du segment principal. Enfin, les haplotypes K et M étaient regroupés avec l'ensemble des haplotypes "occidentaux". Les divergences nucléotidiques par paire, estimées parmi ces trois groupes d'haplotypes à l'aide du logiciel REA, étaient comprises entre 0.072 et 0.135, ce qui suggère une séparation très ancienne des populations. A titre indicatif, le taux d'évolution moléculaire moyen classiquement admis pour l'ADN mitochondrial est d'environ 2% de changement de base par million d'années.

Nous avons pu mettre en évidence une forte structure génétique au sein du taxon *Decapterus macrosoma*, ce qui indique que le flux génique entre populations est extrêmement faible. Ce résultat est inattendu chez un poisson qui effectue la totalité de son cycle biologique dans le milieu pélagique, et qui est réputé effectuer des migrations très importantes. Nos résultats démontrent également l'existence, dans les mers indonésiennes, de trois entités génétiquement distinctes - il pourrait s'agir de trois sous-espèces, voire de trois espèces - à l'intérieur de ce qui est pour l'instant considéré comme une seule espèce. Nous pensons qu'une étude approfondie de la phylogéographie du complexe « cf. *macrosoma* » dans l'Indo-Pacifique tropical nous permettra de mieux comprendre les processus conduisant à la spéciation chez les poissons pélagiques.

Key-words. - Carangidae, *Decapterus macrosoma*, ISEW, Mitochondrial DNA, Population genetics.

## REFERENCES

- AVISE J.C., 1994. - Molecular Markers, natural History and Evolution. 511 p. New York: Chapman & Hall.
- FELSENSTEIN J., 1995. - Phylogeny inference package version 3.57c. Seattle: Univ. of Washington.
- FROESE R. & D. PAULY (eds), 1995. - FishBase. A biological Database on Fish. Concepts, Design and Data Sources. CD Rom. International Center for living aquatic Resources Management, Manila.
- GLOERFELT-TARP T. & P.J. KAILOLA, 1984. - Trawled Fishes of Southern Indonesia and Northwestern Australia. 406 p. Australian Development Assistance Bureau, Directorate general of Fisheries Indonesia and Deutsche Gesellschaft für technische Zusammenarbeit.
- McELROY D., MORAN P., BERMINGHAM E. & I. KORNFIELD, 1992. - An integrated environment for the manipulation and phylogenetic analysis of restriction data. *J. Hered.*, 83: 157-158.
- POTIER M. & S. NURHAKIM (eds), 1995. - Biodynex: Biology, Dynamics and Exploitation of the small pelagic Fishes in the Java Sea. 281 p. Jakarta (Indonesia): Indonesian Agency for agricultural Research and Development and ORSTOM.

- SADHOTOMO B. & M. POTIER, 1995. - Exploratory scheme for the recruitment and migration of the main pelagic species. *In: Biodynex: Biology, Dynamics and Exploitation of the small pelagic Fishes in the Java Sea* (Potier M. & S. Nurhakim, eds), pp. 155-168. Indonesian Agency for agricultural Research and Development and ORSTOM, Jakarta, Indonesia.
- SAMBROOK J., FRITSCH E.F. & T. MANIATIS, 1989. - *Molecular Cloning: a Laboratory Manual* (2nd ed.). New York: Cold Spring Harbor Laboratory.
- WIDODO J., 1988. - Population dynamics and management of "ikan layang", scad mackerel, *Decapterus* spp. (Pisces: Carangidae) in the Java Sea. PhD dissertation. 150 p. Seattle: Univ. of Washington.