

条石鲷线粒体 *CO I* 和 *Cytb* 序列的遗传变异分析

孙鹏, 尹飞, 彭士明, 施兆鸿*

(中国水产科学研究院东海水产研究所, 农业部海洋与河口渔业资源及生态重点开放实验室, 上海 200090)

摘要: 通过 PCR 扩增与测序分别获得了长度为 642 bp 和 1 138 bp 的条石鲷线粒体 *CO I* 和 *Cytb* 基因片段。分析表明, *CO I* 序列共定义了 11 个单倍型, 存在 21 个多态性位点, 发生转换 4 次, 颠换 5 次。A、T、G、C 碱基的平均含量分别为 24.5%、30.6%、18.8% 和 26.1%。*Cytb* 序列共定义了 11 个单倍型, 存在 26 个多态性位点, 发生转换 4 次, 颠换 3 次。A、T、G、C 碱基的平均含量分别为 24.9%、28.3%、14.8% 和 32.0%。基于 *CO I* 和 *Cytb* 两基因序列的单倍型多样性 (*Hd*)、核苷酸多样性 (*Pi*) 和平均碱基差异 (*K*) 分别为 0.795、0.008 83、5.667 和 0.770、0.003 54、4.025。结果表明, 条石鲷群体的 *CO I* 和 *Cytb* 基因片段显示出较高的遗传多样性水平。本研究结果可为条石鲷资源保护及系统进化研究提供基础资料。

关键词: 条石鲷; 细胞色素 c 氧化酶亚基 I; 细胞色素 b; 遗传多样性

中图分类号: Q 347; S 917

文献标识码: A

条石鲷 (*Oplegnathus fasciatus*), 属于鲈形目 (Perciformes), 石鲷科 (Oplegnathidae), 石鲷属 (*Oplegnathus*), 自然分布于太平洋和印度洋沿岸, 日本和韩国沿海均有分布。在我国主要分布于黄海、东海和台湾海峡, 是一种暖温性海洋中下层鱼类^[1]。由于其具有较高的经济价值和观赏价值, 极具增殖潜力^[2-3]。自 20 世纪 70 年代起, 日本已有条石鲷人工养殖和人工繁育方面的相关研究, 而我国条石鲷的人工繁育和养殖起步较晚, 在 21 世纪初才开始采集沿海条石鲷进行人工繁育技术研究^[4-5]。

目前, 有关条石鲷研究主要集中于发育生物学和人工繁殖技术方面^[2,4-6], 而关于其群体遗传学与基因多样性研究则鲜有报道。物种的种群遗传结构研究具有十分重要的意义。研究表明, 遗传多样性不仅是形成生物多样性的基础, 也是物种进化潜能的保证。物种遗传多样性的减少将导致种群个体对变化的环境的适应能力降低, 甚至使物种面临灭绝的风险^[7-8]。因而, 条石鲷种群的遗传多样性研究能帮助了解野生条石鲷资源的种群遗传结构和种群历史, 并为制定合理的保护

和管理措施提供相关信息。

线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 具有母性遗传、进化速度快、核苷酸替代率高等特点, 已成为鱼类进化生物学和群体遗传学研究的重要遗传标记。其中, mtDNA 细胞色素 c 氧化酶亚基 I (cytochrome c oxidase subunit I, *CO I*) 和细胞色素 b (*Cytb*) 序列作为 mtDNA 的主要标记, 在鱼类种群遗传学研究中已有较多应用^[7-11]。本研究通过分析我国舟山海区条石鲷线粒体控制区基因片段序列及其多态性, 以期为条石鲷的种质资源研究及系统进化研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 样本采集

研究所用 30 尾条石鲷于 2010 年 3 月至 7 月捕于舟山嵊泗附近水域。海上采集后, 取其背部肌肉保存于 95% 乙醇中, 运回实验室后保存, 用于总 DNA 的提取。

1.2 基因组总 DNA 的提取、PCR 扩增及测序

条石鲷总 DNA 提取采用传统的“酚-氯仿”抽提法^[12]。PCR 总反应体积为 50 μ L, 反应体系

收稿日期: 2010-10-07 修回日期: 2010-12-13

资助项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费项目 (东 2009M05 号, 东 2008M14 号, 东 2009M08 号)

通讯作者: 施兆鸿, E-mail: shizhh@hotmail.com

为 $10 \times$ PCR Buffer $5.0 \mu\text{L}$, Mg^{2+} 终浓度为 2.0 mmol/L , 两条引物 ($10 \mu\text{mol/L}$) 各 $1 \mu\text{L}$, dNTPs (各 2.5 mmol/L) $4 \mu\text{L}$, Taq 酶 (TaKaRa, $5 \text{ U}/\mu\text{L}$) $0.4 \mu\text{L}$, 模板 $2.0 \mu\text{L}$, 最后以 dd H_2O 补足体积。CO I 扩增采用引物 CO I a (5'-AGT ATA AGC GTC TGG GTA GTC-3') 和 CO I f (5'-CCT GCA GGA GGA GAY CC-3')^[13]。反应程序为 $94 \text{ }^\circ\text{C}$ 预变性 5 min , ($94 \text{ }^\circ\text{C}$ 变性 30 s ; $52 \text{ }^\circ\text{C}$ 退火 30 s ; $72 \text{ }^\circ\text{C}$ 延伸 80 s) $\times 30$ 个循环; 最后 $72 \text{ }^\circ\text{C}$ 延伸 10 min 。Cytb 扩增采用引物 L14724 (5'-GAC TTG AAA AAC CAC CGT TG-3') 和 H15915 (5'-CTC CGA TCT CCG GAT TAC AAG AC-3')^[14]。反应程序为 $94 \text{ }^\circ\text{C}$ 变性 5 min , ($94 \text{ }^\circ\text{C}$ 50 s , $55 \text{ }^\circ\text{C}$ 1 min , $72 \text{ }^\circ\text{C}$ $1 \text{ min } 30 \text{ s}$) $\times 35$ 个循环, $72 \text{ }^\circ\text{C}$ 延伸 7 min , 最后 $72 \text{ }^\circ\text{C}$ 延伸 10 min 。

所得到的 PCR 扩增产物利用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分离, 经 UNIQ-10 柱式 DNA 胶回收试剂盒 (上海生工) 纯化后送至上海桑尼生物科技有限公司进行序列测定, 测序仪为 ABI 3730 基因分析仪。

1.3 数据分析

测序结果采用 Clustal X 1.81^[15] 进行比对, 并辅以人工校对。采用 MEGA 4.0^[16] 和 DNASP 4.0^[17] 软件分析不同序列的碱基组成、变异位点、

核苷酸差异、个体间的遗传距离, 单倍型多态性 (Hd) 和核苷酸多样性 (Pi)。条石鲷单倍型系统发生树采用 MEGA 4.0 软件, 利用邻接法 (Neighbor-Joining, NJ) 基于 Kimura 双参数 (Kimura 2-parameter, K2P) 模型构建, 进化树中节点的自举置信度水平由自引导值 (Bootstrap value) 估计, 重复次数为 1 000。

2 结果

2.1 条石鲷 CO I 序列分析

条石鲷 CO I 序列变异分析 所测定的序列经过 Clustal X 1.81 软件分析和 BLAST 同源序列比对, 并剪去两端非确定的序列, 最终获得长度为 642 bp 的条石鲷线粒体 CO I 基因片段。比较发现, 本研究中所获得的 CO I 基因序列与 Genbank 中的条石鲷线粒体全序列 (编号为 AP006010.1) 中的 CO I 基因序列同源率达 99% , 与 Hap-4 仅在第 175 bp 位置存在一个碱基的差异。表 1 为条石鲷线粒体 CO I 序列单倍型的变异位点分布。分析表明, 30 条 CO I 序列共定义了 11 个单倍型, 其中具有单倍型 Hap-3 的个体有 5 个, 具有单倍型 Hap-4 的个体为 12 个, 分别占总个体数的 16.67% 和 40.0% 。

表 1 条石鲷线粒体 CO I 序列 11 个单倍型的变异位点
Tab. 1 Variable position of mtDNA CO I haplotypes in cultured *O. fasciatus*

单倍型 haplotype	样品数 no.	变异位点 variable site																				
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	3	4	4				
		2	2	4	4	5	5	6	7	1	1	2	2	2	4	6	8	8	4	9	2	8
		1	2	2	5	2	4	9	6	1	6	0	3	5	7	2	4	7	0	7	6	6
Hap-1	2	C	C	C	C	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	A	C	T
Hap-2	3	C	T	G
Hap-3	5	T	C	T	G
Hap-4	12	C	.	.
Hap-5	2	G	T	.	G	C	T	.	.	G	T	T	A	T	.	A	G	A	T	C	T	G
Hap-6	1	.	T	T	G	.	T	G	G	A	.	.	.	C	.	.
Hap-7	1	.	T	T	G	.	T	G	G	A	.	A	.	C	.	.
Hap-8	1	G	T	T	G	.	T	G	G	.	.	T	.	T	A	A	.	A	.	C	.	.
Hap-9	1	.	T	T	G	.	.	G	G	A	A	.	.	.	C	.	.
Hap-10	1	.	T	.	G	.	.	G	.	.	.	T	.	.	.	A	.	.	.	C	.	.
Hap-11	1	G	T	T	G	.	T	G	G	.	T	T	.	.	A	A	.	A	.	C	.	.

在 30 条 CO I 序列所定义的 11 个单倍型中发现了 21 个变异位点, 共产生 21 个点突变, 其中

包含简约位点 16 个, 单一位点 5 个。转换和颠换分别为 4 个和 5 个, 转换与颠换的比率为 0.80。

发生同义替换 9 次,非同义替换 12 次,没有发现缺失和插入的现象。A、T、G、C 4 种碱基的平均含量分别 24.5%、30.6%、18.8% 和 26.1%, A + T 含量为 55.1%, 显著高于 G + C 含量 (44.9%)。在密码子第一位的 4 种碱基含量相近;在密码子第二位, T 含量最高, 占总碱基的 42.0%;而在密码子的第三位, C 含量最高, 占总碱基数的 34.9%, 而 G 含量最低, 仅有 7.4%。

基于条石鲷 *CO I* 的群体遗传多样性与遗传结构 条石鲷群体线粒体控制区序列的单倍型多样性 (*Hd*)、核苷酸多样性 (*Pi*) 和平均碱基差异 (*K*) 分别为 0.795、0.008 83 和 5.667。表 2 所示为条石鲷线粒体 *CO I* 序列各单倍型的遗传距离。种群内遗传距离为 0.002 1 ~ 0.028 4, 平均遗传距离为 0.013。

表 2 条石鲷线粒体 *CO I* 序列遗传距离
Tab. 2 Kimura 2-parameter genetic distance for mtDNA *CO I* of *O. fasciatus*

	Hap-1	Hap-2	Hap-3	Hap-4	Hap-5	Hap-6	Hap-7	Hap-8	Hap-9	Hap-10	Hap-11
Hap-1		0.002 7	0.003 1	0.001 5	0.006 3	0.004 2	0.004 5	0.005 5	0.004 3	0.003 8	0.005 5
Hap-2	0.004 7		0.001 5	0.002 2	0.005 7	0.004 5	0.004 8	0.005 8	0.004 6	0.004 0	0.005 8
Hap-3	0.006 3	0.001 6		0.002 7	0.005 3	0.004 8	0.005 1	0.006 2	0.004 9	0.004 4	0.006 1
Hap-4	0.001 6	0.003 1	0.004 7		0.006 1	0.003 9	0.004 2	0.005 3	0.004 0	0.003 4	0.005 2
Hap-5	0.027 0	0.022 1	0.020 5	0.025 4		0.006 0	0.005 7	0.005 1	0.006 3	0.005 5	0.005 1
Hap-6	0.012 6	0.014 2	0.015 7	0.011 0	0.023 7		0.001 4	0.003 4	0.002 2	0.003 0	0.003 3
Hap-7	0.014 2	0.015 7	0.017 3	0.012 6	0.022 1	0.001 6		0.003 1	0.002 6	0.003 4	0.003 0
Hap-8	0.020 5	0.022 1	0.023 7	0.018 9	0.018 9	0.007 8	0.006 3		0.003 4	0.004 1	0.002 1
Hap-9	0.012 6	0.014 2	0.015 7	0.011 0	0.027 0	0.003 1	0.004 7	0.007 8		0.003 1	0.003 4
Hap-10	0.009 4	0.011 0	0.012 6	0.007 8	0.020 5	0.006 3	0.007 8	0.011 0	0.006 3		0.004 1
Hap-11	0.020 5	0.022 1	0.023 7	0.018 9	0.018 9	0.007 8	0.006 3	0.003 1	0.007 8	0.011 0	

注: 对角线以下部分数据为遗传距离, 对角线以上部分数据为其标准误。

Notes: Genetic distances were showed below the diagonal, and standard errors were showed above the diagonal.

采用邻接法构建的条石鲷单倍型分子系统树如图 1 所示。Hap-5 与其他各单倍型之间差异较大, 在其余的 10 个单倍型中, Hap-8 和 Hap-11 形成一簇, 再与另外的 8 个单倍型构成的一簇聚在一起。但 Hap-5 与其余各单倍型之间最大遗传距离仅为 0.0270, 表明各单倍型之间没有较大的遗传变异, 并未构成亚种的程度。

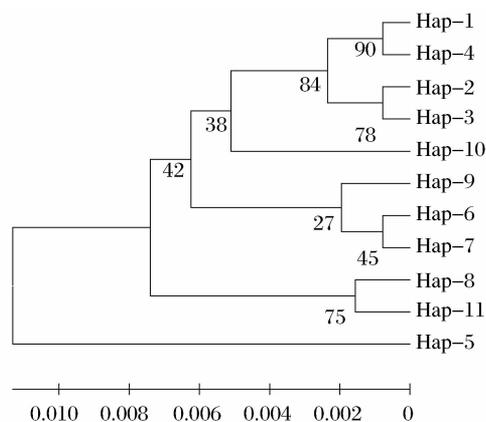


图 1 条石鲷线粒体 *CO I* 单倍型 NJ 系统发生树
Fig. 1 Neighbor-Joining tree for *CO I* haplotypes of *O. fasciatus*

2.2 条石鲷线粒体 *Cytb* 序列分析

条石鲷 *Cytb* 序列变异分析 对所得序列进行拼接, 并与 NCBI 数据库中的相关序列进行比对分析, 最终获得了 1 138 bp 的条石鲷线粒体 *Cytb* 基因序列。与条石鲷线粒体全序列 (编号为 AP006010.1) 中的 *Cytb* 基因同源率为 98%, 与 Hap-h 在第 75、84、588、1 069 碱基对等 4 个位置存在碱基差异。条石鲷线粒体 *Cytb* 单倍型及其变异位点分布如表 3 所示。分析表明, 条石鲷 *Cytb* 序列的碱基组成 A、T、G、C 平均含量分别为 24.9%、28.3%、14.8% 和 32.0%, A + T 含量 (53.2%) 高于 G + C 含量 (46.8%)。在密码子的第一位, 各碱基含量相差不大, 而在密码子的第二位 T 含量最高, 达到 41.0%, 在第三位 C 含量最高, 达到 44.7%, 而 G 含量最低, 仅有 5.1%。所得的 30 条 *Cytb* 序列共定义了 11 个单倍型, 其中 Hap-g 单倍型出现频率最高, 占总个体数的 26.67%。在所有的 11 个单倍型中, 共存在 26 个多态性位点, 发生转换 4 次, 颠换 3 次。其中同义替换 14 个, 非同义替换 9 个。

表 3 条石鲷线粒体 *Cytb* 序列 11 个单倍型的变异位点
 Tab. 3 Variable position of mtDNA *Cytb* haplotypes in cultured *O. fasciatus*

单倍型 haplotype	样本数 no.	变异位点 variable site																									
																					1	1	1				
					1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	3	3	4	4	4	5	5	6	7	9	0	0	0
		5	5	7	1	2	7	4	6	6	6	7	7	7	4	5	1	1	8	8	9	4	0	5	0	6	8
		6	7	5	4	0	9	1	0	3	4	1	2	3	5	4	4	7	6	8	8	2	6	8	5	9	6
Hap-a	1	A	T	T	T	G	G	G	G	T	T	C	A	A	A	T	A	T	A	T	A	C	T	C	C	T	G
Hap-b	5	T	C	.	.	C	C	A	C	C	C	T	T	C	G	.	C	T	C	.	T	.	C
Hap-c	1	T	C	.	G	C	C	A	C	C	C	T	T	C	G	.	C	T	C	G	T	.	C
Hap-d	4	T	C	C	.	C	C	A	C	C	C	T	T	C	G	C	C	T	C	G	T	.	C
Hap-e	1	T	C	.	.	C	C	A	C	C	C	T	T	C	G	.	C	T	C	G	T	.	C
Hap-f	4	T	C	.	.	C	C	A	C	C	C	T	T	C	G	G	.	C	T	C	.	.	C
Hap-g	8	T	.	.	.	C	C	A	C	C	C	T	T	C	C	.	C	C
Hap-h	1	T	C	.	.	C	C	A	C	C	C	T	T	C	G	.	C	T	C	.	.	C	C
Hap-i	1	T	C	.	G	C	C	A	C	C	C	T	T	C	G	.	C	T	C	.	T	.	C
Hap-j	3	T	C	.	.	C	C	A	C	C	C	T	T	C	.	C	G	C	G	.	C	T	C	.	.	.	C
Hap-k	1	T	C	.	.	C	C	A	.	.	.	T	G	.	C	T	C	.	.	C	C

基于条石鲷 *Cytb* 的群体遗传多样性与遗传结构 群体的单倍型多样性 (Hd)、核苷酸多样性 (Pi) 和平均碱基差异 (K) 分别为 0.770、0.003 54 和 4.025。条石鲷线粒体 *Cytb* 序列各单倍型的遗传距离如表 4 所示,群内 K2P 遗传距离为 0.000 9 ~ 0.017 8, 平均遗传距离为 0.006 0。

采用邻接法构建的条石鲷单倍型分子系统树如图 2 所示。Hap-a 与其他各单倍型之间差异较大,而其余的 10 个单倍型形成一簇。除了 Hap-a 外,其余各单倍型之间的遗传距离在 0.000 9 到 0.008 8 之间,差异较小。

表 4 条石鲷线粒体 *Cytb* 序列遗传距离
 Tab. 4 Kimura 2-parameter genetic distance for mtDNA *Cytb* sequences of *O. fasciatus*

	Hap-a	Hap-b	Hap-c	Hap-d	Hap-e	Hap-f	Hap-g	Hap-h	Hap-i	Hap-j	Hap-k
Hap-a		0.003 7	0.003 9	0.004 0	0.003 8	0.003 7	0.003 2	0.003 7	0.003 8	0.003 9	0.003 1
Hap-b	0.015 1		0.001 2	0.001 5	0.000 9	0.001 2	0.001 8	0.001 2	0.000 9	0.001 8	0.002 3
Hap-c	0.016 9	0.001 8		0.001 5	0.000 9	0.001 8	0.002 2	0.001 8	0.000 9	0.002 2	0.002 7
Hap-d	0.017 8	0.002 6	0.002 6		0.001 2	0.002 0	0.002 3	0.002 0	0.001 8	0.002 3	0.002 8
Hap-e	0.016 0	0.000 9	0.000 9	0.001 8		0.001 5	0.002 0	0.001 5	0.001 2	0.002 0	0.002 5
Hap-f	0.015 1	0.001 8	0.003 5	0.004 4	0.002 6		0.001 8	0.001 2	0.001 5	0.001 8	0.002 3
Hap-g	0.011 5	0.003 5	0.005 3	0.006 2	0.004 4	0.003 5		0.001 8	0.002 0	0.002 2	0.002 7
Hap-h	0.015 1	0.001 8	0.003 5	0.004 4	0.002 6	0.001 8	0.003 5		0.001 5	0.001 8	0.002 0
Hap-i	0.016 0	0.000 9	0.000 9	0.003 5	0.001 8	0.002 6	0.004 4	0.002 6		0.002 0	0.002 5
Hap-j	0.016 9	0.003 5	0.005 3	0.006 2	0.004 4	0.003 5	0.005 3	0.003 5	0.004 4		0.002 7
Hap-k	0.010 6	0.006 2	0.008 0	0.008 8	0.007 1	0.006 2	0.008 0	0.004 4	0.007 1	0.008 0	

注:对角线以下部分数据为遗传距离,对角线以上部分数据为其标准误。

Notes: Genetic distances were showed below the diagonal, and standard errors were showed above the diagonal.

3 讨论

3.1 条石鲷 *CO I* 和 *Cytb* 序列特征

鱼类 mtDNA 呈母系遗传,且进化速度快,其

碱基置换率为核基因的 5 到 10 倍,为研究种群遗传结构和差异提供了一种灵敏的检测方法。mtDNA 基因组内不同的区域进化速度存在差异,适合不同水平的进化研究。*CO I* 基因由于进化

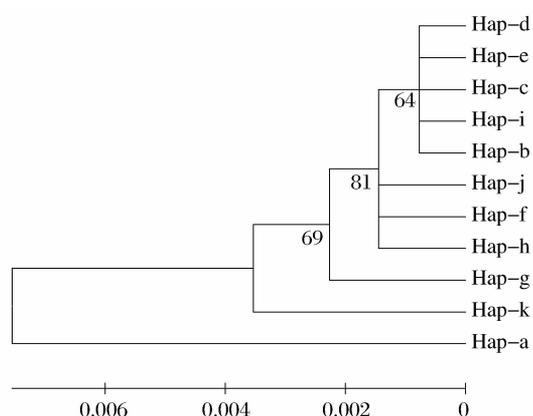


图2 条石鲷线粒体 *Cyrb* 单倍型 NJ 系统发生树

Fig. 2 Neighbor-Joining tree for *Cyrb* haplotypes of *O. fasciatus*

速度较快,适用于种群水平差异的检测,也可用于种间分析。*Cyrb* 基因是线粒体 DNA 上的蛋白质编码基因,其进化速度适中,适合种群水平差异的检测,是探讨种间和种内遗传分化程度的良好标记^[18]。目前,有关条石鲷的报道主要集中于人工养殖、繁育和发育生物学等方面,而关于条石鲷种群遗传学方面的研究目前尚未见到报道。本研究通过对舟山海区的条石鲷线粒体 *CO I* 和 *Cyrb* 基因序列的分析,研究了该海区条石鲷的种群遗传多样性和种群结构。

研究发现,条石鲷 *CO I* 基因的 A + T 含量 (55.1%) 显著高于 G + C 含量 (44.9%); 在 *Cyrb* 序列的碱基组成中, A + T 含量 (53.2%) 也高于 G + C 含量 (46.8%)。目前,在多种鱼类的线粒体 *CO I* 和 *Cyrb* 序列中均发现 A + T 含量高于 G + C 含量的情况,如黄鳍鲷 (*Sparus macrocephalus*)、黑鲷 (*Sparus latus*) 和黄鲷 (*Taius tumifrons*) 中, *CO I* 序列 A + T 含量分别占总碱基的 58.2%、58.7% 和 56.6%^[9,19]; 在凤鲚 (*Coilia mystus* Linnaeus)、斜带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*) 和赤点石斑鱼 (*Epinephelus akaara*) 中, *Cyrb* 序列 A + T 含量分别为 57.6%、54.3% 和 55.7%, 均大于 G + C 的含量^[10,20]。本研究所得结果与这些鱼类中碱基组成的规律相似,其碱基组成也具有明显的偏向性。同时,在 *CO I* 和 *Cyrb* 序列密码子的第一位,各碱基含量相近,而在密码子的第二位 T 含量最高,在第三位 C 含量最高,而 G 含量最低,这也与其它一些鱼类以及哺乳动物中的模式相似^[21-23]。

3.2 条石鲷群体的遗传多样性

舟山条石鲷群体具有较丰富的单倍型多样性 (*Hd*) 水平。在所检测的 30 个个体中, *CO I* 基因序列单倍型多样性水平为 0.795, *Cyrb* 基因序列中为 0.770, 两种基因序列中单倍型多样性差异不大。但从本研究结果可以看出,基于 *CO I* 分子标记检测出的条石鲷群体的核苷酸多样性 (0.008 83) 和平均核苷酸差异数 (5.667) 均比 *Cyrb* 分子标记所检测出的 (分别为 0.003 54 和 4.025) 高。核苷酸多样性 (*Pi*) 是群体内各单倍型两两配对差异的平均值。它是衡量群体多态程度和群体遗传分化的重要指标之一,其数值越大表示群体多态程度越高^[10]。在许多鱼类中, *CO I* 基因变异较 *Cyrb* 基因低,而在本研究中发现,条石鲷群体的 *CO I* 基因多态性水平较 *Cyrb* 基因高,暗示不同的物种中两种基因序列的变异程度不尽相同。

通过对海水鱼类线粒体 DNA 序列的遗传变异分析,根据不同单倍型多样性与核苷酸多样性水平间的组合,可以将海水鱼类分成了 4 种类型: 第 1 种类型是较低的单倍型多样性 (<0.5) 与较低的核苷酸多样性 (<0.005); 第 2 种类型是高的单倍型多样性 (>0.5) 与低的核苷酸多样性 (<0.005); 第 3 种类型是低的单倍型多样性 (<0.5) 与高的核苷酸多样性 (>0.005); 第 4 种类型是高的单倍型多样性 (>0.5) 与高的核苷酸多样性 (>0.005)。以灵敏度较高的 *CO I* 序列作为参考,本研究中野生条石鲷群体属于第 4 种类型。GRANT 等^[24]认为,鱼类具有较高的单倍型多样性和核苷酸多样性表明群体是由大而稳定的种群构成,并且种群具有较长的进化历史,或者由遗传差异不同的种群二次接触构成。

物种的遗传多样性高低与其适应能力、生存能力和进化潜力密切相关。野生种群遗传多样性水平的减少可能导致鱼类成活率、生长与繁殖效率变低,降低种群个体对变化的环境的适应能力^[25]。由于生境面积广大,且通常具有较大的分散的种群,海水鱼类常被认为是不可能灭绝的。因而,过去对于很多海水鱼类缺乏合理的保护。尽管本研究显示舟山海区条石鲷野生群体具有较高的遗传多样性,但是条石鲷遗传资源亦可能由于过度捕捞和环境污染等原因而衰减。所以,有必要提前采取适当的管理策略以维持其野生资源

的可持续性开发。

参考文献:

- [1] 徐永江,柳学周,王妍妍,等. 温度、盐度对条石鲷胚胎发育影响及初孵仔鱼饥饿耐受力[J]. 渔业科学进展,2009,30(3):25-31.
- [2] 肖志忠,郑炯,于道德,等. 条石鲷早期发育的形态特征[J]. 海洋科学,2008,32(3):25-30.
- [3] 蔡文超,区又君,李加儿. 南海区养殖条石鲷的胚胎发育[J]. 南方水产,2009,5(4):31-35.
- [4] 全汉锋,肖治中. 条石鲷人工繁育技术研究[J]. 台湾海峡,2007,26(2):295-300.
- [5] 柳学周,徐永江,王妍妍,等. 条石鲷的早期生长发育特征[J]. 动物学报,2008,54(2):332-341.
- [6] 常抗美,毛建平,吴剑锋,等. 条石鲷胚胎及仔稚鱼的发育[J]. 上海水产大学学报,2005,14(4):401-405.
- [7] 高天翔,陈省平,韩志强,等. 大银鱼和小齿日本银鱼线粒体细胞色素 b 和 16S rRNA 基因部分序列分析[J]. 中国海洋大学学报,2004,34(5):791-794.
- [8] 陈艺燕,钱开成,任岗,等. 大黄鱼与小黄鱼细胞色素 b 基因全序列的比较分析[J]. 生态科学,2005,24(2):143-145.
- [9] 张凤英,马凌波,施兆鸿,等. 两种鲷属鱼类线粒体 CO I 基因片段序列的比较[J]. 上海水产大学学报,2006,15(4):403-408.
- [10] 程起群,马春燕,庄平,等. 基于线粒体 Cytb 基因标记探讨凤鲚 3 群体遗传结构和进化特征[J]. 水产学报,2008,32(1):1-7.
- [11] CUI Z X, LIU Y, LIU J, *et al.* Molecular identification of Pampus fishes (*Perciformes, Stromateidae*) [J]. *Ichthyological Research*,2010,57(1):32-39.
- [12] KOCHER T D, THOMAS W K, MEYER A, *et al.* Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1989, 86 (16): 6109-6200.
- [13] PALUMBI S R, KWSSING B. Population biology of the trans-arctic exchange: MtDNA sequence similarity between Pacific and Atlantic sea urchins [J]. *Evolution*,1991,45(8):1790-1805.
- [14] XIAO W H, ZHNG Y P, LIU H Z. Molecular systematics of *Xenocyprinae*(Teleostei: Cyprinidae): Taxonomy, biogeography, and coevolution of a special group restricted in East Asia [J]. *Mol Phylogenet Evol.* 2001,18(2):163-173.
- [15] THOMPSON J D, GIBSON T J, PLEWNIAC F, *et al.* The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. *Nucleic Acids Res*,1997,25(24):4876-4882.
- [16] TAMURA K, DUDLEY J, NEI M, *et al.* MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4. 0 [J]. *Mol Biol Evol*,2007,24(8):1596-1597.
- [17] ROZAS J, SANCHE-DEL BARRIO J C, MESSENGUER X, *et al.* DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods [J]. *Bioinformatics*, 2003, 19 (18): 2496-2497.
- [18] MOMMSEN H. *Biochemistry and molecular biology of fishes*[M]. London:Elsevier Science Publishers, 1993:1-38.
- [19] 张凤英,夏连军,马凌波,等. 黄鲷线粒体 CO I 基因部分序列遗传变异研究[J]. 热带海洋学报,2005,24(5):83-89.
- [20] 蒙子宁,杨丽萍,吴丰,等. 斜带石斑鱼、赤点石斑鱼 RAPD 和线粒体 Cytb 基因序列变异分析[J]. 中山大学学报:自然科学版,2007,46(1):75-80.
- [21] HASSANIN A, LECOINTER G, TILLIER S. The "evolutionary signal" of homoplasy in protein coding gene sequences and its consequences for a priori weighting in phylogeny [J]. *CR Acad Sci Paris*, 1998,321(7):611-620.
- [22] 朱世华,杨迎春,郑文娟,等. 从细胞色素 b 部分序列探讨石斑鱼属的分子系统发育关系[J]. 水生生物学报,2006,30(4):432-438.
- [23] 杨天燕,高天翔,郭焱,等. 小沙丁鱼属鱼类 Cytb 序列的比较分析[J]. 水产科学,2009,28(11):639-643.
- [24] 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(5):415-426.
- [25] YANG P, ZHANG H, CHEN L Q, *et al.* Genetic structure of the oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*) from the Yangtze and Lancang Rivers, inferred from CO I gene sequence [J]. *Zoological Research*,2007,28(2):113-118.

Genetic variation of *CO I* and *Cytb* sequences in *Oplegnathus fasciatus*

SUN Peng, YIN Fei, PENG Shi-ming, SHI Zhao-hong*

(Key and Open Laboratory of Marine and Estuarine Fisheries Resources and Ecology, Ministry of Agriculture, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China)

Abstract: Using PCR amplification and sequencing, 642 bp of cytochrome c oxidase subunit I (*CO I*) partial sequences and 1 138 bp of *Cytb* partial sequences were obtained from *Oplegnathus fasciatus*. In *CO I* sequences, a total of 21 polymorphic sites defined 11 distinct haplotypes. And 4 transition loci, 5 transversion loci and no insertions and deletions were found in them. The average content of A, T, G and C was 24.5%, 30.6%, 18.8%, and 26.1%, respectively. In *Cytb* sequences, 26 polymorphic sites and 11 haplotypes were defined, and 4 transition loci and 3 transversion loci were found. The average content of A, T, G and C was 24.9%, 28.3%, 14.8% and 32.0%, respectively. The mean haplotype diversity (*Hd*), nucleotide diversity (*Pi*), and the average number of nucleotide difference (*K*) in *CO I* and *Cytb* sequences were 0.795, 0.008 83, 5.667 and 0.770, 0.003 54, 4.025, respectively. The results suggested that both *CO I* and *Cytb* gene showed high level of genetic diversity in *O. fasciatus*. These results provide basic information for the genetic resource protection and phylogenetic study of this species.

Key words: *Oplegnathus fasciatus*; cytochrome c oxidase subunit I (*CO I*); cytochrome b (*Cytb*); genetic diversity

Corresponding author: SHI Zhao-hong. E-mail: shizhh@hotmail.com