

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2008.00919

闽浙地区香鱼线粒体 *Cyt b* 基因和 D-loop 区序列多态性分析

李娜¹, 陈少波², 谢起浪², 吕建新¹, 管敏鑫^{1,3}

1. 温州医学院浙江省医学遗传学重点实验室, 温州 325035;

2. 浙江省海洋水产养殖研究所, 温州 325005;

3. Division of Human Genetics and Center for Hearing and Deafness Research, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio 45229, USA

摘要: 对浙江瑞安、福建宁德、福建东张水库 3 个地理群体共 31 例香鱼(*Plecoglossus altivelis*)的线粒体细胞色素 *b*(*Cyt b*)基因和线粒体 D-loop 区序列进行了 PCR 扩增、序列测定、核苷酸组成和多态性分析。*Cyt b* 基因中, A、T、C 和 G 4 种核苷酸的比例分别为 19.72%、29.71%、32.25%和 18.32%, A + T 含量为 49.43%, G + C 含量为 50.57%。D-loop 区序列中, A、T、C 和 G 4 种核苷酸的比例分别为 29.99%、29.29%、23.80%和 16.92%, A + T 含量为 59.28%, G + C 含量为 40.72%。在长度为 1 141 bp 的 *Cyt b* 基因序列中, 仅存在 1 个变异位点, 核苷酸多样性指数(π 值)为 0.00028, 31 个样本中仅出现两种单倍型; 857 bp 长的 D-loop 区序列中, 仅存在 5 个变异位点, 核苷酸多样性指数(π 值)为 0.00199, 仅出现 5 种单倍型。这表明闽浙地区香鱼的遗传多样性水平很低, 应当加大对香鱼的保护力度。

关键词: 香鱼; 细胞色素 *b* 基因; D-loop 区; 多态性; 单倍型

Polymorphisms of mitochondrial *Cyt b* gene and D-loop region in sweetfish (*Plecoglossus altivelis* Temminck et Schlegel) from Zhejiang and Fujian Provinces

LI Na¹, CHEN Shao-Bo², XIE Qi-Lang², LU Jian-Xin¹, GUAN Min-Xin^{1,3}

1. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Medical Genetic, School of Life Sciences, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China;

2. Zhejiang Mariculture Research Institute, Wenzhou 325005, China;

3. Division of Human Genetics and Center for Hearing and Deafness Research, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio 45229, USA

Abstract: We reported here the molecular analysis of mitochondrial genomes in sweetfish (*Plecoglossus altivelis*). Thirty-one specimens were recruited from Ruian, Zhejiang Province, Ningde, Fujian Province, and Dongzhang reservoir, Fujian Province. DNA segments spanning *cytochrome b* gene and D-loop region derived from these specimens were PCR-amplified and subsequently characterized by direct DNA sequence analysis. The resultant sequence data were compared with the consensus sequence and further analyzed for proportion of each nucleotide. The average A, T, C, and G contents in *Cyt b* gene were 19.72%, 29.71%, 32.25%, and 18.32%, respectively, while the contents of A+T and G+C were

收稿日期: 2008-01-17; 修回日期: 2008-04-18

基金项目: 亚洲开发银行技术援助项目(编号: TA 2874-PRC)和浙江省科技厅重点项目(编号: 001106132)资助[Supported by the Technique-aid Program of Asian Development Bank (No. TA 2874-PRC) and the Key Program of the Ministry of Science and Technology of Zhejiang Province (No. 001106132)]

作者简介: 李娜(1983-), 女, 浙江瑞安人, 硕士, 专业方向: 遗传学。E-mail: lina583@126.com

通讯作者: 陈少波(1965-), 男, 浙江温州人, 教授, 博士, 研究方向: 海洋生物学。Tel: 0577-88232454; E-mail: chenshaobo@hotmail.com

49.43% and 50.57%. In the D-loop region, the average A, T, C and G contents were 29.99%, 29.29%, 23.80%, and 16.92% and the contents of A+T and G+C were 59.28% and 40.72%, respectively. There was only one variant in the *Cyt b* gene belong to two haplotypes and the nucleotide diversity (π) was merely 0.00028. In the D-loop region, there were only 5 polymorphic sites belonging to 5 haplotypes and its nucleotide diversity (π) was only 0.00199. These results showed that the genetic diversity of *P. altivelis* from these regions was very low.

Keywords: Sweetfish (*Plecoglossus altivelis*); cytochrome *b* gene; D-loop region; polymorphism; haplotype

香鱼(*Plecoglossus altivelis*)隶属于鲑形目, 香鱼科, 仅一属一种。在我国境内, 其主要分布在辽宁、浙江、福建等地。香鱼是一种小型名贵经济鱼类, 肉质细嫩, 清香无腥, 风味独特。1998 年发布的《中国濒危动物红皮书》把香鱼列入易危动物^[1]。香鱼生命短暂, 只有一年的生命。雌鱼秋末产卵, 产卵季后绝大部分死亡。孵化后仔鱼随水流入海越冬。第二年春天, 当水温回升到 12 左右时, 在海里越冬的幼鱼(体长 2~3 cm)便进入河口上溯。幼鱼在河川中生长发育, 随着性腺的发育, 又向河川下游洄游, 在 9~11 月产卵。由于环境污染、繁殖地被破坏等因素使得香鱼资源大幅度衰退。而养殖业的发展在一定程度上使香鱼种质资源受到严重混杂, 这将不利于香鱼养殖业的长远发展。对香鱼遗传背景进行研究, 这将对人工增殖和种质资源管理有重要的意义。

线粒体是细胞内一个半自主性的细胞器。它被喻为细胞的“动力站”, 除了产生能量外还与产生活性氧自由基、调节细胞的氧化还原电势、信号转导、调控细胞凋亡和某些基因的表达有关。鱼类线粒体 DNA(mtDNA)同其他脊椎动物的 mtDNA 一样, 呈共价闭合环状, 是细胞核外具自主复制、转录和翻译能力的遗传因子。因其具有分子小、结构简单、演化速度快、母系遗传、无重组、检测方便等优点而被作为有效的分子标记广泛应用于系统进化研究、遗传多样性分析及种类鉴定等方面^[2~5]。

国内有关香鱼的报道, 主要是针对香鱼的养殖技术和蛋白质水平的同工酶研究^[6~8]。本研究对香鱼线粒体 *Cyt b* 基因和 D-loop 区序列进行 PCR 扩增、序列测定、比对分析, 探讨了闽浙地区香鱼种群的遗传多样性水平, 从而为保护香鱼资源提供遗传背景依据。

1 材料和方法

1.1 材料

31 尾香鱼样本分别采自浙江瑞安(12 尾)、福建

宁德(10 尾)、福建东张水库(9 尾)。福建地区的样本保存在无水乙醇里带回实验室(由厦门大学陈骁博士友情提供), 瑞安样本用冰袋带回实验室, 立即进行总 DNA 提取。

1.2 方法

1.2.1 总 DNA 提取

取香鱼尾部肌肉组织, 用宝生物工程(大连)有限公司的 Universal Genomic DNA Extraction Kit, 按照试剂盒提示的操作步骤进行总 DNA 的提取。

1.2.2 引物设计

根据 GenBank 中日本香鱼 mtDNA 全序列(序列号为 NC_002734), 利用 Oligo6.0 软件设计 3 对引物。扩增的序列从线粒体基因组第 14 361 位到第 230 位, 总长度为 2 412 bp。该区段包括 *Cyt b*、tRNA^{Thr}、tRNA^{Pro} 3 个基因和 D-loop 区序列。3 对引物的核苷酸序列见表 1, 由宝生物工程(大连)有限公司合成, 均为 PAGE 级别的引物。

表 1 PCR 扩增所用引物的序列

Table 1 Primers used for PCR

引物 Primer	核苷酸序列 Nucleotide sequence (5' 3')
22F	TGACTTGAAAAACCAACCGT
22R	TAGAATCTTAGCTTTGGGAG
23F	TTCCTTTTCGCCTACGCCATT
23R	GCTCGGGCAAGGTCCAGT
24F	GACTCGTTACCCACCAAGCC
24R	CTTGGGGGTGTGGCTAAAC

F: 正向引物; R: 反向引物。

F: Forward primer; R: Reverse primer.

1.2.3 PCR 扩增

利用以上 3 对引物进行 PCR 扩增。PCR 反应采用高保真的 Ex *Taq* DNA 聚合酶(购自 TaKaRa 公司), 反应体系为: 25 mmol/L MgCl₂ 1.5 μ L, 2.5 mmol/L dNTP 2 μ L, 10 \times Ex *Taq* buffer(Mg²⁺ free)2 μ L, 20

μmol/L 引物各 0.1 μL, Ex *Taq*(5 U/μL, TaKaRa)0.1 μL, 14 μL ddH₂O。PCR 扩增条件如下: 94 预变性 5 min; 94 变性 30 s, 复性 45 s(根据不同的引物采用不同的复性温度 50 ~ 56 °C), 72℃延伸 60 s, 进行 35 个循环; 最后 72 延伸 6 min。扩增产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

1.2.4 序列测定与数据分析

扩增产物经纯化后由宝生物工程(大连)有限公司进行测序。利用Dnaman软件将所得的 3 个片段的测序结果进行拼接。利用GENTle软件将拼接好的序列进行比对, 该软件能同时比对多个样本, 操作简便。利用MEGA 3.0^[9]软件分析序列长度、碱基组成。用DnaSP4.0 软件计算多态位点、种群内的核苷酸多样性(Nucleotide diversity, π)、单倍型多样性(Haplotype diversity, Hd)等。

2 结果与分析

2.1 *Cyt b* 基因及 D-loop 区序列的同源比对

将所得的序列与 GenBank 中序列号为 NC_002734 的日本香鱼 mtDNA 序列进行同源比对, 证实测得的序列里包括了 *Cyt b* 基因和 D-loop 序列。Ishiguro 等^[10]发现香鱼的 *Cyt b* 基因位于线粒体基因组的第 14 404 位到第 15 544 位, 长度为 1 141 bp, 而 D-loop 区位于第 15 686 位到 16 542 位之间, 长度为 857 bp。我们所得的 *Cyt b* 基因和 D-loop 区的序列长度和位置与其一致, 但存在个别位点的核苷酸的替换。 *Cyt b* 基因仅 2 个位点存在差异, 分别是该基因中第 312 位的 T-C 转换和第 933 位的 G-A 转换。这两个位点均为密码子的第 3 位, 变异没有导致氨基酸的改变。其中, 中国香鱼在第 312 位部分为 T(25 例), 部分为 C(6 例); 而在第 933 位, 日本香鱼为 G, 本实

验中所有样本均为 A。D-loop 区有 17 个位点存在差异, 其中有 12 个位点在 5 种单倍型中均存在差异, 另外 5 个位点仅在部分单倍型中存在差异。12 个位点中, T-C 转换 7 个, G-A 转换 4 个, C-G 颠换 1 个。日本香鱼与中国香鱼线粒体 D-loop 区 5 种单倍型的序列比对见图 1。

2.2 *Cyt b* 基因的核苷酸组成

Cyt b 基因中, A、T、C 和 G 4 种核苷酸的比例分别为 19.72%、29.71%、32.25%和 18.32%。A + T 含量为 49.43%, G + C 含量为 50.57%。4 种核苷酸在密码子中的使用频率如表 2 所示。在密码子第一位, 4 种核苷酸的使用频率相差不大。但是, 在密码子第二位和第三位上有较大差别。密码子第二位, T 的使用频率为 42.63%, 是 A 的 2.2 倍, 更是 G 的 3.1 倍。而密码子第三位却表现了对 C 的偏好, 使用频率达到 46.05%。

表 2 *Cyt b* 基因序列 4 种核苷酸的使用频率

Table 2 Nucleotide compositions of cytochrome *b* gene (%)

密码子	Condon	A	T	C	G
第一位	First site	22.89	23.16	26.58	27.37
第二位	Second site	19.47	42.63	24.21	13.68
第三位	Third site	16.84	23.16	46.05	13.95
总计	Total	19.72	29.71	32.25	18.32

2.3 *Cyt b* 基因的序列多态性分析

在 1 141 bp 长的 *Cyt b* 基因序列中, 3 个地理群体的 31 例样本中总共只出现了 1 个变异位点和 2 种单倍型。该变异位点为 *Cyt b* 基因中第 312 位核苷酸, 正是密码子的第三位, 发生 T-C 之间的转换, 并没有引起氨基酸的改变。平均核苷酸差异(K)为 0.32258, 核苷酸多样性指数(π)为 0.00028, 单倍型多样性指数(Hd)为 0.323。 *Cyt b* 基因各群体内和总体的遗传多样性指数详见表 3。

表 3 香鱼 3 个群体 *cyt b* 基因的遗传多态性

Table 3 Genetic diversity of *cyt b* gene in the 3 populations of *P. altivelis*

群体	多态位点数	平均核苷酸差异	核苷酸多样性	单倍型数	单倍型多样性
Population	Polymorphic site(S)	Average number of nucleotide differences(K)	Nucleotide diversity(π)	Number of haplotypes(H)	Haplotype diversity(Hd)
浙江瑞安	1	0.40909	0.00036	2	0.40900
Ruian, Zhejiang					
福建宁德	1	0.20000	0.00018	2	0.20000
Ningde, Fujian					
福建东张水库	1	0.38889	0.00034	2	0.38900
Dongzhang resevior, Fujian					
总计 Total	1	0.32258	0.00028	2	0.32300

2.4 D-loop 区序列的核苷酸组成及多态性分析

D-loop 区序列中, A、T、C 和 G 4 种核苷酸的比例分别为 29.99%、29.29%、23.80%和 16.92%。A + T 含量为 59.28%, G + C 含量为 40.72%。在 857 bp 长的序列中, 31 个样本总共出现了 5 个变异位点和 5 种单倍型。这 5 个变异位点分别为第 117 位、149 位、197 位、243 位、663 位, 前面 4 个位点为 A-G 转换, 最后一个位点为 T-C 转换。不同单倍型之间的序列差异见图 1。H1 和 H3 这两种单倍型在型在 3

个地方群体里共享, 福建宁德群体 10 例样本里未发现单倍型 H2, 瑞安的 12 例样本里未发现 H4 和 H5 这两种单倍型, 单倍型 H5 为福建宁德样本独有, 详见表 4。浙江瑞安样本的 D-loop 区序列仅存在 2 个变异位点, 福建宁德和东张水库分别存在 5 个和 4 个变异位点。所有样本的平均核苷酸差异(K)为 1.70323, 核苷酸多样性指数(π)为 0.00199, 单倍型多样性指数(H_d)为 0.81075。D-loop 区群体内部和总体的遗传多样性指数见表 5。

日本序列.txt	CGGAGCCG	CGGCTCCGGT	TGCATATATG	GACCTATTAC	ATCTATGCTC	GAAAAACACC	TATGTATTAA	CACCATTAAG	CTCATGAAAG	CAAAACAGGTA
单倍型H1.txtT.....C.....C.....A.....A.....
单倍型H2.txtT.....C.....C.....A.....A.....
单倍型H3.txtT.....C.....C.....A.....A.....
单倍型H4.txtT.....C.....C.....A.....A.....
单倍型H5.txtT.....C.....C.....A.....A.....
Identity	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
日本序列.txt	AGATAAACAA	GAAGAAGTAC	ATGGACTCGA	ACAGATTAA	CATCATCTAT	AATGATTTCG	ACCGAACCAA	ATAGATTCAA	CCCCATAACT	TCTTCTAAAC
单倍型H1.txtA.....C.....G.....G.....T.....
单倍型H2.txtA.....C.....G.....T.....
单倍型H3.txtA.....C.....G.....T.....G.....
单倍型H4.txtA.....C.....G.....T.....
单倍型H5.txtA.....C.....G.....T.....
Identity	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
日本序列.txt	AGCTTCCTTG	CGTTACCAGG	CTATGATAGC	AAATCACCAT	ATGTGAGCAG	TAAGAAACCA	CCAACCAGTC	GCATATAAGG	CATATCATGA	ATGATAGGGT
单倍型H1.txtT.....A.....A.....C.....A.....
单倍型H2.txtT.....A.....A.....C.....A.....
单倍型H3.txtT.....A.....A.....C.....A.....
单倍型H4.txtT.....A.....A.....C.....A.....
单倍型H5.txtT.....A.....A.....C.....A.....
Identity	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
日本序列.txt	CAGGGACAAC	TATTCGTGGG	GGTAGCTACT	TAATGAACCT	TTACTTGCAT	TTGGTTCCTA	TTTCAGGGCC	ATAGACAGAA	TAATACTCCC	TTCAATTAAT
单倍型H1.txt
单倍型H2.txt
单倍型H3.txt
单倍型H4.txt
单倍型H5.txt
Identity	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
日本序列.txt	TATCCTTACA	TCACGATGGT	GGAGGCCATA	CGACTCGTTA	CCCACCAAGC	CGGGCGTTCT	CTTATATGCA	TAGGGTTCTC	TTTTTTTTTT	CTCCTTTCAC
单倍型H1.txt
单倍型H2.txt
单倍型H3.txt
单倍型H4.txt
单倍型H5.txt
Identity	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
日本序列.txt	TTGGCATACC	AGAGCGCATA	CTAATGCCAA	TGTCTGAAGG	TTGAACCTGA	CCTTGCCCGA	GCACAAATGA	TGGAGAACCT	AAGAGCATTC	TTATAAATAA
单倍型H1.txtG.....
单倍型H2.txtG.....
单倍型H3.txtG.....
单倍型H4.txtG.....
单倍型H5.txtG.....
Identity	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
日本序列.txt	CAACATAAGT	GATATCATGT	GCATAAAGGC	TCTGTCTACC	TAGCCACTTC	CCTCTTGGGT	CCTCCCGGG	TTCTACGCGT	TAAACCCCC	TACCCCCCTT
单倍型H1.txt
单倍型H2.txt
单倍型H3.txt
单倍型H4.txt
单倍型H5.txt
Identity	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
日本序列.txt	TAGTCCTGAC	ATTACTATTG	TTTCTTTGTTA	AACCCCTAAA	CCAAGAGAGT	TACGACAAGG	ACTTTTTTAT	TTAAATTTGT	TCCGAAATTT	AATGTAGTCT
单倍型H1.txt
单倍型H2.txt
单倍型H3.txt
单倍型H4.txt
单倍型H5.txt
Identity	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
日本序列.txt	AAATTTCGCG	AAAATTCACC	GGTGAATTTT	TTGTCATTAA	ATATACGGTG	TATTTTC
单倍型H1.txt
单倍型H2.txt
单倍型H3.txt
单倍型H4.txt
单倍型H5.txt
Identity	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****

图 1 日本香鱼和闽浙香鱼线粒体 D-loop 区 5 种单倍型的序列差异

H1、H2、H3、H4 和 H5 分别代表闽浙地区香鱼的不同单倍型。

Fig. 1 Sequence divergence of the D-loop region sequence between Japanese and Chinese *P. altivelis*. H1, H2, H3, H4, and H5 stand for different haplotypes of *P. altivelis* from Zhejiang and Fujian Provinces.

表 4 闽浙地区香鱼 D-loop 区单倍型分布情况

Table 4 Distribution of haplotypes in Zhejiang and Fujian Provinces based on the D-loop region

单倍型 Haplotype	浙江瑞安 Ruian, Zhejiang	福建宁德 Ningde, Fujian	福建东张水库 Dongzhang reservoir	总计 Total
H1	7	1	1	9
H2	2	0	3	5
H3	3	1	2	6
H4	0	4	3	7
H5	0	4	0	4

表 5 香鱼 3 个群体 D-loop 区的遗传多态性

Table 5 Genetic diversity of D-loop region in the 3 populations of *P. altivelis*

群体 Population	多态位点数 Polymorphic site (S)	平均核苷酸差异 Average number of nucleotide differences (K)	核苷酸多样性 Nucleotide diver- sity (π)	单倍型数 Number of haplotypes (H)	单倍型多样性 Haplotype diversity (Hd)
浙江瑞安 Ruian, Zhejiang	2	0.93939	0.00110	3	0.62121
福建宁德 Ningde, Fujian	5	2.00000	0.00233	4	0.73333
福建东张水库 Dongzhang resevior	4	1.61111	0.00188	4	0.80556
总计 Total	5	1.70323	0.00199	5	0.81075

3 讨论

3.1 *Cyt b* 基因与 D-loop 区核苷酸组成的差异

4 种核苷酸在线粒体基因组中分布不均一是动物线粒体基因组的共性^[11]。张俊丽等^[12]发现白鲢的 *Cyt b* 基因中, G 含量比较低(平均含量为 16%), 在密码子第三位点上的平均含量仅为 6.7%。本研究所得的香鱼 *Cyt b* 基因中, G 含量为 18.32%, 与白鲢相差不多, 但是在密码子第三位点上的平均含量为 13.95%, 比白鲢高出一倍。香鱼 *Cyt b* 基因的 A + T 含量与 G + C 含量相差不多; 而 D-loop 区的 G + C 含量比 A + T 含量低, 这与其他鱼类线粒体 D-loop 区核苷酸组成的特点很相似^[13~15]。

3.2 *Cyt b* 基因与 D-loop 区的进化比较

线粒体基因组的特性使它已成为进化生物学和群体遗传学中重要的分子标记。目前, 研究最多的是 *Cyt b*、12S rRNA、16S rRNA、CO I 基因和 D-loop 区。有研究表明, 线粒体不同基因的进化速率存在差异^[16]。D-loop 区由于不编码蛋白, 受到的选择压力最小, 所以进化速度最快。 *Cyt b* 基因的进化速度适中, 适合研究种内到种间甚至科间的系统发育关系, 近年来广泛地应用于爬行类、鱼类等的系统发育、种类鉴别等的研究^[17~19]。蒙子宁等^[20]认为 *Cyt b* 基因具有保守和变异的双重特性, 不适合做石斑鱼的种内遗传变异

分析, 但其变异性使得该基因适合于种以上水平的种类鉴定。本研究中, 中国香鱼与日本香鱼的 *Cyt b* 基因比对后, 仅发现 2 个变异位点, 说明 *Cyt b* 基因在香鱼种内的变异很小, 所以作者认为其不适合作为种内遗传分析的标记。而在 D-loop 区发现 17 个变异位点, 说明香鱼与其他脊椎动物一样线粒体 D-loop 区的进化速度较快, 并且在 17 个变异位点中, 转换和颠换比值为 16/1, 表明 D-loop 区序列的位点未达到饱和, 序列中的碱基替代均具有系统发育意义^[21], 可以用来作为香鱼种内的遗传分析。

3.3 D-loop 区序列 5 种单倍型分布情况分析

从表 3 可知, H1 和 H3 这两种单倍型由 3 个群体共享, 共计 15 例, 约占整个样本的 50%。溯祖理论^[22]预示分布最广泛的单倍型为祖先类型。因此推测 H1 和 H3 单倍型可能为闽浙地区香鱼的起源。在福建宁德样本中未发现 H2, 而 H4 和 H5 的比例却很高, 两者在该群体中均占 40%。因此推测, 福建宁德群体主要以这两种单倍型为主。东张水库群体中, 未发现 H5 单倍型, 其余 4 种单倍型所占比例大小差别不是很大, 单倍型分布比较均匀。若要更深入的了解单倍型分布和地理群体之间的关系, 还需扩大样本量, 再进行研究。

3.4 闽浙地区香鱼遗传多样性分析

遗传多样性是指存在于生物个体内、单个物种

内以及物种之间的基因多样性。它是生物进化和适应的基础,种内的遗传多样性越丰富,该物种对环境的适应能力越大。群体中mtDNA的 π 值是衡量群体多态程度和群体遗传分化的重要指标之一, π 值越大表示群体多态程度越高^[23]。研究发现,近海的黑鲷 mtDNA D-loop区序列的 π 值为 0.00886^[14],青海湖裸鲤的 π 值为 0.00823^[24],而香鱼D-loop区的 π 值仅为 0.00199。赵凯等^[25]发现黄河裸裂尻鱼两个群体的 *Cyt b* 基因的 π 值分别为 0.0026 和 0.0012,而香鱼 *Cyt b* 基因的 π 值仅为 0.00028,显示闽浙地区香鱼群体的遗传多样性水平极低。这说明由于过渡捕捞及环境破坏,香鱼种群数量急剧下降、栖息范围缩小,导致其遗传多样性降低。而有限的群体数量导致近交频繁发生又加剧了遗传多样性的减少,形成恶性循环。因此我们应该加大对香鱼这一经济鱼种的保护力度,避免出现类似台湾岛野生香鱼灭绝的情况。

2004 年,黄福勇和李明云^[6]对浙江鳃溪香鱼群体进行同工酶的生化遗传分析。结果表明,鳃溪香鱼具有较丰富的遗传多样性。因此作者计划进一步对鳃溪香鱼进行mtDNA的分子遗传研究,并对闽浙地区香鱼进行同工酶分析,从蛋白质水平和DNA水平两个层次对闽浙地区香鱼的遗传多样性进行研究。

参考文献(References):

- [1] State Environmental Protection Administration of China, Endangered Species Scientific Commission of the P. R. China Red Data Book of Endangered Animals-Pisces. Beijing: Science Press, 1998, 47-49.
国家环保局, 中华人民共和国濒危物种科学委员会. 中国濒危动物红皮书(鱼类). 北京: 科学出版社, 1998, 47-49.
- [2] Rosel PE, Rojas-Bracho L. Mitochondrial DNA variation in the critically endangered vaquita *Phocoena sinus* Norris and Macfarland, 1958. *Marine Mamm Sci*, 1999, 15(4): 990-1003. [\[DOI\]](#)
- [3] Baker CS, Perry A, Bannister JL, Weinrich MT, Abernethy RB, Calambokidis J, Lien J, Lambertsen RH, Ramirez JU, Vasquez O. Abundant mitochondrial DNA variation and world wide population structure in humpback whales. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(17): 8239-8243. [\[DOI\]](#)
- [4] GUO Xin-Hong, LIU Shao-Jun, LIU Qiao, LIU Jun. New progress on mitochondrial DNA in fish. *Acta Genetica Sinica*, 2004, 31(9): 983-1000.
郭新红, 刘少军, 刘巧, 刘筠. 鱼类线粒体 DNA 研究新进展. 遗传学报, 2004, 31(9): 983-1000.
- [5] Hoelzel AR, Halley J, O'Brien SJ, Campagna C, Arnborn T, Le Boeuf B, Ralls K, Dover GA. Elephant seal genetic variation and the use of simulation models to investigate historical population bottlenecks. *Heredity*, 1993, 84(6): 443-449.
- [6] HANG Fu-Yong, LI Ming-Yun. Biochemical genetic analysis of isozymes in *Plecoglossus altivelis* population in Fuxi. *J Fisheries China*, 2004, 28(5): 579-584. [\[DOI\]](#)
黄福勇, 李明云. 鳃溪香鱼群体同工酶的生化遗传分析. 水产学报, 2004, 28(5): 579-584.
- [7] LI Ming-Yun, HANG Fu-Yong. The expression of six isozymes in muscle and immune organs of ayu (*Plecoglossus altivelis*). *Chinese J Zool*, 2005, 40(2): 18-22.
李明云, 黄福勇. 香鱼肌肉与免疫器官 6 种同工酶的表达. 动物学杂志, 2005, 40(2): 18-22.
- [8] LI Ming-Yun, HANG Fu-Yong, ZHANG Chun-Dan. Techniques culture of ayu (*Plecoglossus altivelis*). *Fisheries Sci*, 2004, 23(8): 32-33.
李明云, 黄福勇, 张春丹. 香鱼人工养殖技术. 水产科学, 2004, 23(8): 32-33.
- [9] Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Briefings Bioinformatics*, 2004, 5(2): 150-163.
- [10] Ishiguro N, Miya M, Nishida M. Complete mitochondrial DNA sequence of ayu *Plecoglossus altivelis*. *Fisheries Sci*, 2001, 67(3): 474-481. [\[DOI\]](#)
- [11] Brown WM. The Mitochondrial Genome of Animals. In "Molecular evolutionary genetics"(MacIntyre RJ, ed.), New York: Plenum Press, 1985: 95-130.
- [12] ZHANG Jun-Li, GAO Tian-Xiang, HAN Zhi-Qiang, GUO Yan, DONG Chong-Zhi. Sequence analysis of partial cytochrome *b* and 16S rRNA genes of three *Coregonus* species. *J Fishery Sci China*, 2007, 14(1): 8-14.
张俊丽, 高天翔, 韩志强, 郭焱, 董崇智. 3 种白鲑线粒体细胞色素 *b* 和 16S rRNA 基因片段序列分析. 中国水产科学, 2007, 14(1): 8-14.
- [13] LIU Huan-Zhang. The structure and evolution of the mtDNA control region in fish: taking *Acheilognathinae* for example. *Prog Nat Sci*, 2002, 12(3): 266-270.
刘焕章. 鱼类线粒体 DNA 控制区的结构与进化: 以鳊鲃鱼类为例. 自然科学进展, 2002, 12(3): 266-270.
- [14] GONG Jin-Bo, SU Tian-Feng, XIA Jun-Hong, GONG Shi-Yuan, JIANG Shi-Gui. Polymorphism study of the mitochondrial DNA D-loop control region sequences from black porgy *Acan thopagrus schlegeli*, in the costal waters of China. *South China Fisheries Sci*, 2006, 2(4): 24-30.
龚金波, 苏天凤, 夏军红, 龚世园, 江世贵. 中国近海黑鲷线粒体 DNA 控制区序列多态性分析. 南方水产, 2006, 2(4): 24-30.

- [15] SHAO Ai-Hua, ZHU Jiang, SHI Quan-Liang, CHEN Kui. Characterization and phylogenetic analysis of control region of mitochondrial genome from *Takifugu fasciatus*. *J Fishery Sci China*, 2007, 14(3): 352–360.
邵爱华, 朱江, 史全良, 陈葵. 暗纹东方鲀线粒体 DNA 控制区结构和系统发育分析. *中国水产科学*, 2007, 14(3): 352–360.
- [16] Meyer A. Evolution of Mitochondria DNA in Fishes. In “Biochemistry and Molecular Biology of Fishes” (Hochachka PW and Mommsen TP, eds.), Vol.2, New York: Elsevier, 1993, 1–38.
- [17] ZHOU Ji-Liang, ZHANG Ya-Ping, HUANG Mei-Hua, CHEN Yon-Jiu, CHEN Xiao-Qing, YAO Geng-Dong. Phylogenetic relationships among crotalinae based on mitochondrial *cytochrome b* gene sequence variations. *Acta Zool Sin*, 2001, 47(4): 361–366.
周继亮, 张亚平, 黄美华, 陈永久, 陈小青, 姚耿东. 蝮亚科蛇线粒体细胞色素 *b* 基因序列分析及其系统发育. *动物学报*, 2001, 47(4): 361–366.
- [18] Farias IP, Orti G, Sampaio I, Schneider H, Meyer A. The cytochrome *b* gene as a phylogenetic marker: the limits of resolution for analyzing relationships among cichlid fishes. *J Mol Evol*, 2001, 53(2): 89–103.
- [19] XIANG Fang, ZOU Ji-Xing, DENG Feng-Jiao, LIU Si-Yang, SUI Yang. The molecular taxonomy and phylogeny of Zebra fish (*Danio rerio*) based on the *cyt b* partial sequences. *Chinese J Zool*, 2004, 39(5): 13–18.
项方, 邹记兴, 邓凤姣, 刘思阳, 隋阳. 用细胞色素 *b* 部分序列研究斑马鱼的分子分类与系统发育. *动物学杂志*, 2004, 39(5): 13–18.
- [20] MENG Zi-Ning, YANG Li-Ping, WU Feng, ZHANG Yong, LIU Xiao-Chun, GUO Yi-Hui, ZHUANG Yi-Mou, LIN Hao-Ran. Analysis of RAPD and mitochondrial *cyt b* gene sequences of *Epinephelus coioides* and *E. akaara*. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2007, 46(1): 75–80.
蒙子宁, 杨丽萍, 吴丰, 张勇, 刘晓春, 郭奕惠, 庄怡
- 谋, 林浩然. 斜带石斑鱼、赤点石斑鱼 RAPD 和线粒体 *Cyt b* 基因序列变异分析. *中山大学学报(自然科学版)*, 2007, 46(1): 75–80.
- [21] Kocher TD, Wilson AC. Sequence Evolution of Mitochondrial DNA in Humans and Chimpanzees: Control Region and A Protein-coding Region. In: Osawa S, Honjo T, eds. *Evolutin of life: Fossils, Molecules and Culture*. Tokyo: Springer-Verlag, 1991, 391–413.
- [22] Crandall KA, Templeton AR. Empirical tests of some predictions from coalescent theory with applications to intraspecific phylogeny reconstruction. *Genetics*, 1993, 134(3): 959–969.
- [23] LIU Ruo-Yu, XIA Xian-Lin, LEI Chu-Zhao, ZHANG Ming-Zhong, CHENG Hong, YANG Gong-She. Genetic diversity of mitochondrial DNA D-loop sequences in cattle breeds in Guizhou. *Hereditas(Beijing)*, 2006, 28(3): 279–284.
刘若余, 夏先林, 雷初朝, 张明忠, 陈宏, 杨公社. 贵州黄牛 mtDNA D-loop 遗传多样性研究. *遗传*, 2006, 28(3): 279–284.
- [24] CHEN Da-Qing, ZHANG Chun-Lin, LU Cheng, ZHANG Xin. Polymorphism of D-loop sequence from mitochondrial genomes of different brood-stocks of *Gymnocypris przewalskii* (Kessler). *J Fishery Sci China*, 2006, 13(5): 800–806.
陈大庆, 张春霖, 鲁成, 张信. 青海湖裸鲤繁殖群体线粒体基因组 D-loop 区序列多态性. *中国水产科学*, 2006, 13(5): 800–806.
- [25] ZHAO Kai, YANG Gong-She, LI Jun-Bin, HE Shun-Ping. Phylogenetic structure of *Schizopygopsis Pylzovi* populations from mitochondrial *cytochrome b* gene sequence variations. *Acta Hydrobiologica Sin*, 2006, 30(2): 129–133.
赵凯, 杨公社, 李俊兵, 何舜平. 黄河裸裂尻鱼群体遗传结构和 *Cyt b* 序列变异. *水生生物学报*, 2006, 30(2): 129–133.