条纹斑竹鲨线粒体控制区和细胞色素 b 基因序列分析

谢仰杰[1,2],苏永全[1],翁朝红[2],王　军[1],王志勇[2]

(1. 厦门大学 海洋与环境学院,福建 厦门 361005;2. 集美大学 水产学院,福建省高校水产科学技术与食品安全重点实验室,福建 厦门 361021)

摘要:对厦门和湛江海域的条纹斑竹鲨[*Chiloscyllium plagiosum* (Bennett,1830)]的线粒体 DNA 控制区和细胞色素 *b*(Cyt *b*)基因进行 PCR 扩增和测序,获得线粒体 DNA 控制区、Cyt *b* 基因和 $tRNA^{Pro}$ 基因全序列(GenBank序列号:EU363740～EU363752)。结果表明,$tRNA^{Pro}$ 基因长度为 69 bp,控制区长度为 1 094～1 096 bp,Cyt *b* 基因全序列长度为 1 146 bp。$tRNA^{Pro}$ 基因非常保守,未发现碱基变异。所测 30 个个体中,控制区只有 4 个多态位点,5 种不同的单倍型;Cyt *b* 基因全序列共有 10 个多态性位点,7 种单倍型。Cyt *b* 基因的 1 146 个碱基编码 381 个氨基酸,氨基酸链共有 3 个变异位点,4 种单倍型,厦门群体具有 4 种单倍型,湛江群体只有 1 种单倍型。综合 Cyt *b* 基因和控制区序列,2 个条纹斑竹鲨群体共有 10 种单倍型,其中厦门群体有 9 种单倍型,湛江群体仅 4 种单倍型。研究结果表明条纹斑竹鲨在控制区和 Cyt *b* 基因序列上的遗传多样性均较低,厦门群体的遗传多样性水平高于湛江群体。

关键词:条纹斑竹鲨[*Chiloscyllium plagiosum* (Bennett,1830)];线粒体 DNA;控制区;细胞色素 *b*(Cyt *b*)
中图分类号:Q959.423　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1000-3096(2008)12-0035-07

条纹斑竹鲨[*Chiloscyllium plagiosum* (Bennett,1830)],俗称狗鲨、犬鲨,归属于须鲨目(Orectolobiformes),斑竹鲨科(Hemiscyliidae),斑竹鲨属[1,2]。分布于中国、日本、菲律宾、泰国、马来半岛、印度及非洲东部和南部海域,在中国分布于南海、台湾海峡和东海[2],是捕捞产量较高的鲨类之一[3]。条纹斑竹鲨易保活,易运输,多为鲜活销售,也是水族馆中常见的观赏种类。

由于市场价格高、需求量大加剧了对条纹斑竹鲨过度捕捞,导致其资源不断衰退。因此,对条纹斑竹鲨种质资源进行研究,为其资源保护提供理论依据,是当务之急,而群体遗传结构是种质资源研究的重要内容。

鱼类线粒体 DNA(mtDNA)分子结构简单,缺乏内含子和基因间序列,进化速度快,是鱼类分子系统学研究和群体遗传分析的重要标记[4],而细胞色素 *b*(简称 Cyt *b*)基因和控制区是研究最多,最适合于种内群体遗传结构研究的片段。Cyt *b* 基因是 mtDNA 上结构和功能被了解得最清楚的蛋白质编码基因,进化速度适中,适于研究种内到种间乃至更高分类阶元间的系统发育关系。控制区又称为 D-loop,是线粒体的非编码区,被认为是线粒体中进化速度最快的区域,常用于群体遗传研究[4]。为了解厦门和湛江海域条纹斑竹鲨群体的遗传多样性及其遗传差异,为其种质资源的科学开发和保护提供理论依据,对这 2 个群体的部分个体的线粒体控制区和 Cyt *b* 基因序列进行了测定和比较,同时也获得了线粒体 $tRNA^{Pro}$ 基因系列。

1　材料和方法

1.1　材料来源

试验所用条纹斑竹鲨分别采自厦门海域和湛江海域,各 15 尾,取体侧肌肉,固定于 95 %乙醇中,置于 - 20 ℃保存备用。

Taq 酶购于厦门太阳马生物工程有限公司,蛋白酶 K 购于上海生工生物工程技术服务有限公司,dNTP 购于 promega 公司。

1.2　基因组 DNA 的提取和检测

用常规苯酚/氯仿/异戊醇抽提法提取基因组 DNA[5],采用 1.0 %琼脂糖凝胶电泳对 DNA 进行电泳检测,用 BECKMAN COULTER DU640 核酸蛋白分析仪测定 DNA 浓度,试验前用超纯水把所有 DNA 样品浓度调至 50 mg/L。

1.3　线粒体控制区和 Cyt *b* 基因克隆及序列分析

1.3.1　引物

控制区 PCR 扩增引物采用 Hoelzel 等设计的引

收稿日期:2008-09-28;修回日期:2008-10-10
基金项目:国家自然科学基金项目(40776083,40876080);厦门市科技项目(3502Z20063022)
作者简介:谢仰杰(1967-),男,福建长汀人,副教授,博士,从事海产鱼类生物学研究,E-mail:yjxie@jmu.edu.cn;苏永全,通讯作者,E-mail:yqsu@xmu.edu.cn

物[6],引物序列为:

Forward(CR-F):5′-GACCTTGTAAGTCGAAGA-3′(位于 $tRNA^{Thr}$ 基因编码区)

Reverse(CR-R):5′-TCTTAGCATCTTCAGTGC-3′(位于 $tRNA^{Phe}$ 基因编码区)

Cyt *b* 基因 PCR 扩增引物采用 Human 等[7]设计的引物,引物序列为:

Forward(Cytb-F):5′-CCAATAACTTGAAAAACTATCG-3′(位于 $tRNA^{Glu}$ 基因编码区)

Reverse(Cytb-R):5′-TCTTCGACTTACAAGGTC-3′(位于 $tRNA^{Thr}$ 基因编码区)

引物由上海英骏生物技术有限公司合成。

1.3.2 聚合酶链式扩增反应

PCR 反应体系:总体积为 60 μL,采用 0.2 mL PCR 管。所用 PCR 仪为 Eppendorf Mastercycler personal。反应体系包括:10 ×PCR buffer (plus Mg^{2+}) 6.0 μL,dNTPs(各 10 mmol/L) 1.2 μL,正反向引物(10 μmol/L)各 1.2 μL,Taq 酶(5 U/μL) 0.6 μL,模板 DNA(50 mg/L) 3.0 μL,加超纯水至 60 μL。

扩增控制区的 PCR 反应条件为:

95.0 ℃5 min →(94.0 ℃45 s →48.0 ℃1.5 min → 72.0 ℃1.5 min) ×35 →72.0 ℃5 min →4 ℃1 min → END。

扩增 Cyt *b* 基因的 PCR 反应条件为:

95.0 ℃5 min →(94.0 ℃40 s →58.0 ℃1.0 min → 72.0 ℃1.0 min) ×35 →72.0 ℃5 min →4 ℃1 min → END。

PCR 产物用含有溴化乙锭的琼脂糖凝胶电泳检测,UVP-8000 凝胶成像系统观察、照相。

1.3.3 DNA 序列测定

PCR 产物直接委托上海生工生物工程技术服务有限公司测序部进行纯化和双向测序,测序引物为上述 PCR 扩增引物。

1.4 数据处理

应用 Chromas2.0 和 DNAMAN version 5.2.2 对所有样品的正、反向序列进行重叠区拼接并辅以人工核对,比对白斑星鲨(*Mustelus manazo*)[8]和小点猫鲨(*Scyliorhinus canicula*)的线粒体全序列[9],获得各个个体的 Cyt *b* 基因全序列、控制区全序列和 $tRNA^{Pro}$ 基因全序列。应用 MEGA 4[10,11]对所有个体的序列进行比对,将其归纳为不同的单倍型,并统计不同单倍型的序列组成,采用 Kimura 2-parameter 模型进行群体遗传多样性分析。

对所得序列采用 sequin 编辑后提交到 GenBank。

2 结果

2.1 条纹斑竹鲨线粒体控制区的碱基组成和序列比较

利用 CR-F 和 CR-R 引物对条纹斑竹鲨各个体 DNA 样品进行 PCR 扩增,获得长度约为 1 300 bp 左右的单一条带。扩增片段长度与预期相符。对所获片段进行 DNA 测序,所得序列经过校对、拼接、比对,获得长度为 1 094～1 096 bp 的线粒体控制区全序列。所检测的 30 个个体的线粒体控制区全序列共有 4 个多态性位点,包含插入/缺失位点,可以分为 5 种单倍型(GenBank 序列号:EU363740～EU363744)。碱基组成为:A:36.5%～36.7%,C:20.1%,G:11.0%～11.1%,T:32.2%～32.4%(表 1)。单链(正链)分子质量为 335.89～336.53 ku。

表 1 条纹斑竹鲨线粒体控制区的碱基组成

Tab.1 Base composition of control region for C. plagiosum

单倍型	序列号	个体数(个)	各单倍型个体数占总个体数的百分比(%)	碱基数(bp)					碱基组成比例(%)			
				合计	A	C	G	T	A	C	G	T
A	EU363740	16	53.33	1 095	400	220	121	354	36.5	20.1	11.1	32.3
B	EU363741	8	26.67	1 095	401	220	121	353	36.6	20.1	11.1	32.2
C	EU363742	2	6.67	1 096	402	220	121	353	36.7	20.1	11.0	32.2
D	EU363743	2	6.67	1 094	399	220	121	354	36.5	20.1	11.1	32.4
E	EU363744	2	6.67	1 096	401	220	121	354	36.6	20.1	11.0	32.3

30 个个体中,有 16 个个体为 A 型,占所有检测个体数的 53.33%(表 2)。厦门群体有 5 种单倍型,A 型个体最多,占 33.33%,湛江群体只有 3 种单倍型,A 型个体占 73.33%,说明厦门群体的遗传多样性比湛江群体丰富(表 2)。

表 2 条纹斑竹鲨线粒体控制区的单倍型个体数和百分比

Tab. 2 Number and percent of haplotype of control region for C. plagiosum

单倍型	个体数(个)			各单倍型个体数占总个体数的百分比(%)		
	厦门群体	湛江群体	所有个体	厦门群体	湛江群体	所有个体
A	5	11	16	33.33	73.33	53.33
B	5	3	8	33.33	20.00	26.67
C	2	0	2	13.33	0	6.67
D	2	0	2	13.33	0	6.67
E	1	1	2	6.67	6.67	6.67
合计	15	15	30	100	100	100

2.2 条纹斑竹鲨 Cyt *b* 基因的碱基组成和序列比较

利用 Cytb-F 和 Cytb-R 引物对条纹斑竹鲨各个体 DNA 样品进行 PCR 扩增,获得长度约为 1 300 bp 左右的单一条带。扩增片段长度与预期相符。对所获片段进行 DNA 测序,所得序列经过校对、拼接、比对,获得长度为 1 146 bp 的 Cyt *b* 全序列。所检测的 30 个个体的 Cyt *b* 基因全序列共有 10 个多态性位点,其中有 3 个多态位点位于密码子第 1 位,7 个多态位点位于密码子第 3 位。8 个多态位点属于转换,2 个多态位点属于颠换。无插入/缺失位点,可以分为 7 种单倍型(GenBank 序列号为:EU363745～EU363751)。碱基组成为:A:29.5%～29.6%,C:28.2%～28.4%,G:11.3%～11.4%,T:30.6%～30.9%(表 3),单链(正链)分子质量为 349.80～349.86 ku。不同密码子位置的碱基组成明显不同(表 4)。

表 3 条纹斑竹鲨线粒体 Cyt b 基因的碱基组成

Tab. 3 Base composition of Cyt b gene for C. plagiosum

单倍型	序列号	个体数(个)	各单倍型个体数占总个体数的百分比(%)	碱基数(bp)					碱基组成比例(%)			
				合计	A	C	G	T	A	C	G	T
A	EU363745	17	56.67	1 146	338	325	130	353	29.5	28.4	11.3	30.8
B	EU363746	4	13.33	1 146	338	323	131	354	29.5	28.2	11.4	30.9
C	EU363747	3	10.00	1 146	338	325	131	352	29.5	28.4	11.4	30.7
D	EU363748	2	6.67	1 146	338	326	131	351	29.5	28.4	11.4	30.6
E	EU363749	2	6.67	1 146	339	324	130	353	29.6	28.3	11.3	30.8
F	EU363750	1	3.33	1 146	338	324	130	354	29.5	28.3	11.3	30.9
G	EU363751	1	3.33	1 146	339	325	130	352	29.6	28.4	11.3	30.7

表 4 条纹斑竹鲨线粒体 Cyt b 基因不同密码子位置的碱基组成百分比

Tab. 4 Nucleotide frequencies for different codon positions of Cyt b gene for C. plagiosum

碱基	不同密码子位置各碱基所占比例(%)		
	第 1 位	第 2 位	第 3 位
T	24.9～25.1	42.9	24.1～24.9
C	25.1～25.4	22.8	36.6～37.2
A	30.4～30.6	21.2	36.9
G	19.1～19.4	13.1	1.6～1.8

30 个个体中,有 17 个个体为 A 型,占所有检测个体数的 56.67%。厦门群体有 6 种单倍型,A 型个体最多,占 33.33%,湛江群体只有 3 种单倍型,A 型个体占 80.00%,表明厦门群体的遗传多样性比湛江群体丰富(表 5)。

2.3 条纹斑竹鲨线粒体 $tRNA^{Pro}$ 基因的碱基组成和序列比较

利用 CR-F 和 CR-R 引物扩增条纹斑竹鲨的线粒体控制区全序列的同时,获得了线粒体 $tRNA^{Pro}$ 基

表 5 条纹斑竹鲨线粒体 Cyt b 基因的单倍型个体数和百分比

Tab. 5 Number and percent of haplotype of Cyt b gene for C. plagiosum

单倍型	个体数(个)			各单倍型个体数占总个体数的百分比(%)		
	厦门群体	湛江群体	所有个体	厦门群体	湛江群体	所有个体
A	5	12	17	33.33	80.00	56.67
B	4	0	4	26.67	0	13.33
C	2	1	3	13.33	6.67	10.00
D	0	2	2	0	13.33	6.67
E	2	0	2	13.33	0	6.67
F	1	0	1	6.67	0	3.33
G	1	0	1	6.67	0	3.33
合计	15	15	30	100	100	100

因全序列(GenBank 序列号:EU363752)。所检测的 30 个个体的线粒体 $tRNA^{Pro}$ 基因全序列完全一致,无多态性,其碱基组成为:A: 18.84%,C: 21.74%,G: 33.33%,T: 26.09%(表 6)。单链(正链)分子质量为 21.44 ku,双链分子质量为 42.54 ku。

表 6 条纹斑竹鲨线粒体 $tRNA^{Pro}$ 基因的碱基组成

Tab. 6 Base composition of $tRNA^{Pro}$ gene for C. plagiosum

碱基	碱基数(bp)	碱基组成比例(%)
A	13	18.84
C	15	21.74
G	23	33.33
T	18	26.09
合计	69	100

2.4 条纹斑竹鲨线粒体 Cyt *b* 基因和控制区序列的综合单倍型

综合考虑 30 个个体的 Cyt *b* 基因和控制区序列,可以发现 10 种单倍型,其中厦门群体有 9 种单倍型,湛江群体只有 4 种单倍型,以第 1 种单倍型为主,占 73.33%,表明厦门群体的遗传多样性比湛江群体丰富(表 7)。

2.5 Cyt *b* 氨基酸序列比对结果

1 146 个碱基编码 381 个氨基酸,最后 3 个碱基(TAG)为终止密码。共有 3 个变异位点,4 种单倍型(图 1)。厦门群体具有 4 种单倍型,A 型最多,占 83.33%;湛江群体只有 1 种单倍型(A 型),无多态性(表 8)。

表 7 条纹斑竹鲨线粒体控制区和 Cyt b 基因单倍型个体数和百分比

Tab. 7 Number and percent of haplotype of control region and Cyt b gene for C. plagiosum

综合单倍型	Cyt *b* 基因单倍型	控制区单倍型	个体数(个)			各单倍型个体数占总个体数的百分比(%)		
			厦门群体	湛江群体	所有个体	厦门群体	湛江群体	所有个体
1	A	A	3	11	14	20.00	73.33	46.67
2	A	D	1	0	1	6.67	0	3.33
3	A	E	1	1	2	6.67	6.67	6.67
4	B	B	2	0	2	13.33	0	6.67
5	B	C	2	0	2	13.33	0	6.67
6	C	B	2	1	3	13.33	6.67	10.00
7	D	B	0	2	2	0	13.33	6.67
8	E	A	2	0	2	13.33	0	6.67
9	F	D	1	0	1	6.67	0	3.33
10	G	B	1	0	1	6.67	0	3.33
合计			15	15	30	100	100	100

表 8 条纹斑竹鲨线粒体 Cyt b 氨基酸序列的单倍型个体数和百分比

Tab. 8 Number and percent of haplotype of amino acid sequence of Cyt b for C. plagiosum

氨基酸序列单倍型	DNA 序列单倍型	个体数(个)			各单倍型个体数占总个体数的百分比(%)		
		厦门群体	湛江群体	所有个体	厦门群体	湛江群体	所有个体
A	A,C,D,F	8	15	23	53.33	100	76.67
B	B	4	0	4	26.67	0	13.33
E	E	2	0	2	13.33	0	6.67
G	G	1	0	1	6.67	0	3.33
合计		15	15	30	100	100	100

```
ORIGIN
cytb_A  MATNIRKTHPLFKIVNHTLIDLPSPSNISIWWNFGSLLGLCLIIQILTGLFLAMHYTADISMAFSSVTHICRDVNYGWLIRNIHANGASMFFICVYLHIA   100
cytb_B  ----------------------------------------------------------------------------------------------------   100
cytb_C  ----------------------------------------------------------------------------------------------------   100
cytb_D  ----------------------------------------------------------------------------------------------------   100
cytb_E  ----------------------------------------------------------------------------------------------------   100
cytb_F  ----------------------------------------------------------------------------------------------------   100
cytb_G  ----------------------------------------------------------------------------------------------------   100

cytb_A  RGIYYGSYLNKEAWNIGVILLFLLMATAFVGYVLPWGQMSFWGATVITNLLSAFPYIGNILVQWIWGGFSVDNATLTRFFTFHFLLPFLIAALSMIHILF   200
cytb_B  ----------------------------------------------------------------------------------------------------   200
cytb_C  ----------------------------------------------------------------------------------------------------   200
cytb_D  ----------------------------------------------------------------------------------------------------   200
cytb_E  ----------------------------------------------------------------------------------------------------   200
cytb_F  ----------------------------------------------------------------------------------------------------   200
cytb_G  ------------t---------------------------------------------------------------------------------------   200

cytb_A  LHEKGSNNPTGLNSDMDKIPFHPYFSYKDLMGFFIMIFSLTLLALFSPNLLGDAENFIPANPLVTPPHIKPEWYFLFAYAILRSIPNKLGGVLALLFSIF   300
cytb_B  ----------------------------f-----------------------------------------------------------------------   300
cytb_C  ----------------------------------------------------------------------------------------------------   300
cytb_D  ----------------------------------------------------------------------------------------------------   300
cytb_E  ----------------------------------------------------------------------------------------------------   300
cytb_F  ----------------------------------------------------------------------------------------------------   300
cytb_G  ----------------------------------------------------------------------------------------------------   300

cytb_A  ILLLIPLLHTSKQRSSIFRPITQFLFWTLTANTIILTWIGGQPVEQPFILIGQIASIIYFLLFLIIMPVMSWWENKILNLN                     381
cytb_B  ---------------------------------------------------------------------------------                     381
cytb_C  ---------------------------------------------------------------------------------                     381
cytb_D  ---------------------------------------------------------------------------------                     381
cytb_E  ----------------------------m----------------------------------------------------                     381
cytb_F  ---------------------------------------------------------------------------------                     381
cytb_G  ---------------------------------------------------------------------------------                     381
```

图 1 条纹斑竹鲨线粒体 Cyt *b* 氨基酸序列

Fig. 1 Aligned sequences of amino acid of Cyt *b* for *C. plagiosum*

cytb_A, cytb_B, cytb_C, cytb_D, cytb_E, cytb_F, and cytb_G 分别为条纹斑竹鲨线粒体 Cyt *b* 的 7 种单倍型序列所对应的氨基酸序列, GenBank 序列号为 EU363745～EU363751

cytb_A, cytb_B, cytb_C, cytb_D, cytb_E, cytb_F, and cytb_G are sequences of amino acid for haplotypes of Cyt *b* gene sequences of *C. plagiosum*, GenBank accession numbers: EU363745～EU363751

2.6 条纹斑竹鲨群体的遗传多样性

根据线粒体控制区测序结果,采用 Kumira 双参数模型计算,条纹斑竹鲨所有 30 个个体间的平均遗传距离为 0.000 421 ±0.000 390,厦门群体 15 个个体间的平均遗传距离为 0.000 488 ±0.000 450,湛江群体 15 个个体间的平均遗传距离为 0.000 314 ±0.000 289,2 个群体间的平均遗传距离为 0.000 439 ±0.000 411。

根据 Cyt *b* 基因测序结果,采用 Kumira 双参数模型计算,条纹斑竹鲨所有 30 个个体间的平均遗传距离为 0.002 37 ±0.000 83,厦门群体 15 个个体间的平均遗传距离为 0.003 05 ±0.001 05,湛江群体 15 个个体间的平均遗传距离为 0.001 42 ±0.000 59,2 个群体间的平均遗传距离为 0.002 50 ±0.000 87。

3 讨论

3.1 条纹斑竹鲨控制区和 Cyt *b* 基因序列的碱基组成

条纹斑竹鲨控制区的 G+C 含量仅约 31%,富含 A 和 T(69%),与其他鱼类基本一致。

Martin 等[12]对鲨鱼线粒体 DNA 的研究表明,在密码子的不同部位存在明显的核苷酸差异,在密码子第一位,4 种核苷酸的比例几乎相同,在密码子第二位,T 含量最大(41.5%～44.8%),G 含量最小(12.8%～13.9%);在密码子第三位,C 的含量最高(31.9%～47.9%),G 的含量最低(1.0%～5.0%)。对条纹斑竹鲨 Cyt *b* 基因序列的分析结果与 Martin

等所得的结果一致(表 4)。

3.2 条纹斑竹鲨控制区和 Cyt *b* 基因序列的遗传变异

鱼类 mtDNA 不同区域的进化速度存在差异[13]。一般认为,在 mtDNA 上,控制区的进化速率最快,而 Cyt *b* 基因是 mtDNA 上 13 个蛋白编码基因中含有较好系统发育信息的基因之一[13]。在条纹斑竹鲨的 30 个个体中,1 096 bp 的控制区序列仅发现 4 个多态位点,而 1 146 bp 的 Cyt *b* 的基因序列共发现 10 个多态位点,表明条纹斑竹鲨线粒体控制区的遗传变异明显低于 Cyt *b* 基因。这与其他鱼类的控制区序列变异大于 Cyt *b* 基因序列的变异明显不同。

3.3 条纹斑竹鲨群体的遗传多样性

研究结果表明,条纹斑竹鲨的 mtDNA 的遗传多样性水平较低。30 个个体中,仅发现 5 种控制区序列单倍型和 7 种 Cyt *b* 基因序列的单倍型。其中厦门群体的 Cyt *b* 基因序列的单倍型有 6 种,湛江群体 Cyt *b* 基因的单倍型只有 3 种,厦门群体的控制区序列的单倍型有 5 种,而湛江群体的控制区序列的单倍型只有 3 种。从 Cyt *b* 氨基酸序列单倍型种类分析,厦门群体的 Cyt *b* 氨基酸序列单倍型有 4 种类型,而湛江群体只有 1 种。结果可以说明,厦门群体的 mtDNA 的遗传多样性水平明显高于湛江群体。

此外,无论是根据线粒体控制区序列,还是根据线粒体 Cyt *b* 基因序列,条纹斑竹鲨个体间的遗传距离均很低,也说明条纹斑竹鲨 mtDNA 的遗传多样性水平是很低的。无论是厦门群体还是湛江群体,它们的遗传距离都很小。

尽管条纹斑竹鲨的观赏性养殖已有一些时日,但生产性的人工养殖尚未真正开展,其野生群体的遗传多样性未受到养殖群体的影响。因此,本研究结果可以较真实地反映条纹斑竹鲨的遗传多样性情况。

3.4 厦门与湛江 2 个群体条纹斑竹鲨的亲缘关系

根据控制区和 Cyt *b* 基因序列单倍型分析结果,厦门和湛江 2 个群体间没有明显的遗传分化。

根据厦门和湛江群体的控制区和 Cyt *b* 基因序列,2 群体间的平均遗传距离小于厦门群体 15 个个体间的平均遗传距离而大于湛江群体 15 个个体间的平均遗传距离,也说明 2 个群体间没有明显的遗传分化。

条纹斑竹鲨 2 个群体的线粒体 DNA 序列的单倍型频率存在明显差异,表明厦门和湛江群体间存在一定程度的地理分化。条纹斑竹鲨是小型底栖性鲨鱼,活动不甚积极[14],可以推测其一般不会进行长距离的移动,这必然导致地理群体的分化。而从单倍型的多样性结果来看,保护厦门群体的种质资源比保护湛江群体更为重要。

参考文献:

[1] Nelson J S. Fishes of the world (4th ed) [M]. New York: John Wiley and Sons Inc, 2006. 1-601.

[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. 134-137.

[3] 张清榕, 杨圣云. 中国软骨鱼类种类、地理分布及资源[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2005, **44**(增刊): 207-211.

[4] 郭新红, 刘少军, 刘巧, 等. 鱼类线粒体 DNA 研究新进展[J]. 遗传学报, 2004, **31**(9): 983-1 000.

[5] Sambrook J, Russell D W. 分子克隆实验指南(第三版)[M]. 黄培堂译. 北京: 科学出版社, 2002.

[6] 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.

[7] Human B A, Owen E P, Compagno L J, *et al*. Testing morphologically based phylogenetic theories within the cartilaginous fishes with molecular data, with special reference to the catshark family (Chondrichthyes; Scyliorhinidae) and the interrelationships within them [J]. **Mol Phylogenet Evol,** 2006, **39**(2): 384-391.

[8] Cao Y, Waddell P J, Okada N, *et al*. The complete mitochondrial DNA sequence of the shark *Mustelus manazo*: evaluating rooting contradictions to living bony vertebrates[J]. **Mol Biol Evol,** 1998, **15**(12): 1 637-1 646.

[9] Delarbre C, Spruyt N, Delmarre C, *et al*. The complete nucleotide sequence of the mitochondrial DNA of the dogfish, *Scyliorhinus canicula* [J]. **Genetics,** 1998, **150**(1): 331-344.

[10] Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences[J]. **J Mol Evol,** 1980, 16: 111-120.

[11] 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): 1 596-1 599.

[12] Martin A P. Mitochondrial DNA sequence evolution in sharks: rates, patterns, and phylogenetic inferences [J]. **Mol Biol Evol,** 1995, **12**(6): 1 114-1 123.

[13] Zardoya R, Meyer A. Phylogenetic performance of mitochondrial protein-coding genes in resolving rela-

tionships among vertebrates[J]. **Mol Biol Evol**, 1996, **13**(7): 933-942.

[14] 黄良敏, 谢仰杰, 吴蜀丰, 等. 条纹斑竹鲨的驯养试验[J]. 水产科技情报, 2006, **33**(1): 19-22.

Studies on mitochondrial DNA control region and cytochrome *b* gene sequences of whitespotted bamboosharк, Chiloscyllium plagiosum

XIE Yang-jie[1,2], SU Yong-quan[1], WENG Zhao-hong[2], WANG Jun[1], WANG Zhi-yong[2]

(1. College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 2. The Key Laboratory of Science and Technology for Aquaculture and Food Safety, Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Received: Sep., 28, 2008

Key words: *Chiloscyllium plagiosum;* mitochondrial DNA; control region; cytochrome *b*

Abstract: Genetic diversities of *Chiloscyllium plagiosum* (Bennett, 1830) from Xiamen and Zhanjiang were investigated with mitochondrial control region and cytochrome *b* (Cyt *b*) gene sequence analysis. Control region and Cyt *b* gene fragments from 30 individuals were cloned with PCR method and sequenced. The sequences of the mitochondrial control region, Cyt *b* gene and $tRNA^{Pro}$ gene were obtained. The complete sequences of the mitochondrial control region, Cyt *b* gene and $tRNA^{Pro}$ gene were 69 bp, 1 094～1 096 bp and 1 146 bp respectively. $tRNA^{Pro}$ gene seemed conservative, without any polymorphism. Among 30 samples, there were 4 polymorphyism sites with 5 haplotypes for control region sequence and 10 polymorphyism sites with 7 haplotypes for Cyt *b* gene sequence. 1 146 bp nucleotide of Cyt *b* gene encoded 381 amino acids, and the amino acid chain had 3 polymorphyism sites with 4 haplotypes. Samples of Xiamen stock had 4 haplotypes while Zhanjiang stock only 1 haplotype. It was seemed that the genetic diversities in Cyt *b* and control region from *C. plagiosum* in Xiamen were comparatively higher than those in Zhanjiang, though both appeared relatively low.

(本文编辑:刘珊珊)

www.cnki.net