

不同流域光倒刺鲃(*Spinibarbus hollandi*)子一代及其亲本的线粒体 COI 基因遗传变异分析*

舒 琥¹ 岳 磊¹ 李 强¹ 蓝昭军² 谷平华² 王杭军² 吴土金²

(1. 广州大学生命科学学院 广州 510006; 2. 韶关市水产研究所 韶关 512006)

摘要 对 2 组光倒刺鲃(*Spinibarbus hollandi*)杂交子一代(长江♀×北江♂子一代, 北江♀×长江♂子一代)及其亲本(北江♀、♂, 长江♀、♂)的线粒体 COI 基因序列进行了分析。在 18 个样品中共检测到 8 个单倍型和 35 个核苷酸多态位点。通过序列差异分析和遗传距离比较发现, 核苷酸序列同源性在 98.1%—99.9%之间, 遗传分化不明显。杂交子一代的 5 个单倍型与其母本的 2 个单倍型的核苷酸同源性在 99.4%—99.8%之间。而与父本的同源性分别为 98.5%、98.2%、98.2%、98.4%、98.1%。实验结果表明两种杂交子一代的线粒体 COI 基因严格遵循母性遗传规律。

关键词 光倒刺鲃; 杂交子代; COI; 遗传变异

中图分类号 Q321 **doi:** 10.11693/hyhz20150800229

光倒刺鲃(*Spinibarbus hollandi*), 隶属鲤形目、鲤科、鲃亚科、倒刺鲃属, 主要分布于长江以南各水系(广西壮族自治区水产研究所等, 1981), 具有体形好、肉质佳、食性杂、适应性强、生长快等优点。目前, 由于江河污染的加剧和人类无限制的捕捞, 致使自然资源逐渐减少, 到了濒危的边缘, 因此光倒刺鲃的人工繁殖愈加受到重视, 繁育技术取得较大的发展(邓维德等, 2013)。线粒体 DNA(mtDNA)是真核生物的核外遗传物质, 具有基因组结构简单、编码效率高、进化速率快、无组织特异性和母系遗传等特性(董丽娜等, 2011), 特别是其中的 COI 基因具有进化速率适中等特性, 可作为系统进化研究的良好标记(付景等, 2006)。本实验对光倒刺鲃杂交子一代及其亲本的 COI 基因进行了测序分析, 不仅为光倒刺鲃杂交子代的 mtDNA 遗传效应的研究提供理论基础, 同时对光倒刺鲃新品种的选育具有指导作用。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用鱼为长江流域光倒刺鲃雌、雄鱼(平均体

质量为 1200g), 北江流域光倒刺鲃雌、雄鱼(平均体质量为 1400g), 长江流域光倒刺鲃雄鱼与北江流域光倒刺鲃雌鱼杂交子一代(平均体质量为 22.5g), 及其长江流域光倒刺鲃雌鱼与北江流域光倒刺鲃雄鱼杂交子一代(平均体质量为 14.3g), 均取自韶关水产研究所, 每组 3 个个体, 剪鳍条保存于 95%的酒精中。

1.2 方法

DNA 提取采用上海生工的试剂盒, DNA 放置在 -80°C 保存备用。扩增 COI 全序列的引物序列为: COI-F: GGGGCTGATAGGAAGAGGAC, COI-R: TTC GATTCCTCCCTTCCTCG。反应总体积为 25μL, 其中 ddH₂O 7.5μL, Mix 12.5μL, 模板 DNA 3μL, 上下游引物各 1μL。反应程序为: 95°C 预变性 5min, 94°C 变性 30s, 53°C 退火 30s, 68°C 延伸 2min, 共 30 个循环; 最后 68°C 延伸 5min。PCR 产物用 1%的琼脂糖电泳检测。

对测序结果进行人工拼接与矫正, 然后将校准过的序列与已发表的光倒刺鲃线粒体全基因序列进行比对, 验证所测得片段就是所需要的目标序列。最后将该校准的序列以 FASTA 格式文件保存。运用

* 国家公益性行业(农业)重大专项, 201303048; 广东省科技计划项目, 2012A020602063 号, 2014A020208145 号。舒琥, 博士, 教授, E-mail: shuhu001@126.com

收稿日期: 2015-08-30, 收修改稿日期: 2015-09-13

MegAlign 进行序列间相似度的比对和差异性分析, 而其中的碱基含量、变异位点、简约信息位点及序列碱基间替换情况则运用 MEGA5.0 统计(Tamura *et al.*, 2007), 同时采用 Kimura 双参数模型(Kimura, 1981) 计算遗传距离, 构建 NJ 系统发育树。

2 结果与分析

2.1 COI 基因的 PCR 结果

在 6 组共 18 个光倒刺鲃个体中均扩增出约 1800bp 的片段如图 1。

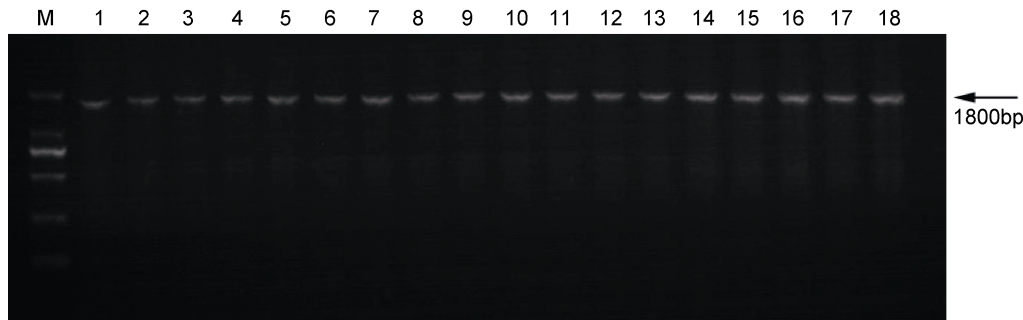


图 1 光倒刺鲃 mtDNA COI 基因片段扩增结果

Fig.1 The PCR amplification products of mtDNA COI genes of *S. hollandi*

M 为 DNA 2000bp 相对分子质量标准, 1—3 为长江流域光倒刺鲃雄鱼, 4—6 为长江流域光倒刺鲃雌鱼, 7—9 为北江流域光倒刺鲃雄鱼, 10—12 为北江流域光倒刺鲃雌鱼, 13—18 为杂交子一代

2.2 COI 基因序列及其碱基组成

对 PCR 扩增出来的片段进行序列测定, 对比得到 6 组光倒刺鲃 mtDNA COI 1551bp 的碱基序列, 由于其中有 6 个碱基插入导致对比出来的序列长为 1557bp(除去部分 tRNA-Tyr 基因序列和部分的 tRNA-Ser 基因序列)。在 18 个光倒刺鲃个体的 COI 基因序列中, 共检测到 35 个可变核苷酸位点, 其中 28 个简约信息位点, 另外 1522 个为保守核苷酸位点。长江的 2 个光倒刺鲃母本和北江的 3 个光倒刺鲃母本共享一个单倍型(C-1), 另一个长江的光倒刺鲃母本单倍型为(CC-1), 长江的 3 个光倒刺鲃父本和北江的 3 个光倒刺鲃父本共享一个单倍型(X-1), 长江光倒刺鲃母本与北江光倒刺鲃父本杂交子一代 3 个个体共享 3 个单倍型(Z-1, Z-4, Z-5), 长江的光倒刺鲃父本与北江光倒刺鲃母本杂交子一代 3 个个体共享 2 个单倍型(Z-2, Z-3)。其中 18 个光倒刺鲃个体的 COI 基因序列中 T、C、A、G 碱基的平均含量分别为 29.9%、25.4%、27.2%、17.5%。

2.3 COI 基因核苷酸序列同源性分析

6 组 18 个光倒刺鲃个体的 COI 基因同源性在 98.1%—99.9% 之间。子一代单倍型(Z-1)与母本 2 种单倍型(C-1, CC-1)的同源性分别为 99.4%、99.8%, 与父本单倍型(X-1)的同源性为 98.5%。子一代单倍型(Z-2)与母本单倍型(C-1)的同源性为 99.7%, 与父本单倍型(X-1)的同源性为 98.2%。子一代单倍型(Z-3)

与母本单倍型(C-1)的同源性为 99.6%, 与父本单倍型(X-1)的同源性为 98.2%。子一代单倍型(Z-4)与母本 2 种单倍型(C-1, CC-1)的同源性分别为 99.4%、99.8%, 与父本单倍型(X-1)的同源性为 98.4%。子一代单倍型(Z-5)与母本 2 种单倍型(C-1, CC-1)的同源性分别为 99.4%、99.6%, 与父本单倍型(X-1)的同源性为 98.1%(见表 1)。

2.4 COI 基因核苷酸序列的变异位点分析

对光倒刺鲃杂交子代的单倍型与其亲本的单倍型进行了序列比对(如图 2)。其中存在碱基的插入与缺失, 分别为在第 612 位点单倍型(Z-2)插入碱基 G, 在第 715 位点单倍型(C-1, Z-5)插入碱基 G, 在第 745 位点单倍型(C-1)插入碱基 C, 在第 845 位点单倍型(CC-1)插入碱基 C, 在第 856 位点单倍型(Z-5)插入碱基 T, 在第 879 位点单倍型(Z-4)插入碱基 T, 在第 1556 位点单倍型(C-1, Z-5)存在碱基缺失, 在第 1557 位点处单倍型(Z-1, X-1, Z-3)插入碱基 C。除了碱基的缺失与插入, 还存在碱基的转换与颠换。在子一代单倍型(Z-1)与其母本 2 种单倍型(C-1, CC-1)和父本单倍型(X-1)分析中, 发现 28 个变异位点, 其中子一代单倍型(Z-1)与母本单倍型(C-1)有 4 个变异位点, 即在第 317、350、758、1214 位碱基分别为 C、T、A、T, 而母本在相应位点分别为 T、A、G、C, 父本在相应的位点分别为 C、T、A、T, 子一代单倍型(Z-1)与母本单倍型(CC-1)分析中, 发现 1 个变异位点, 即在

第 80 位点碱基为 A, 而母本相应位点分别为 G, 父本在相应位点为 A。在子一代单倍型(Z-4)与母本单倍型(C-1, CC-1)和父本单倍型(X-1)分析中, 发现 28 个变异位点, 其中子一代单倍型(Z-4)与母本单倍型(C-1)有 5 个变异位点即在第 317、350、758、975、1214 位, 碱基为 C、T、A、T、T, 而母本在相应位点为 T、A、G、C、C, 父本在相应位点为 C、T、A、C、T。在子一代单倍型(Z-4)与母本单倍型(CC-1)分析中共 1 个变异位点, 即在第 80 位点碱基为 A, 而母本在相应位点分别为 G, 父本在相应位点分别为 A。在子一代

单倍型(Z-5)与母本单倍型(C-1, CC-1)和父本单倍型(X-1)分析中, 发现 30 个变异位点, 其中子一代单倍型(Z-5)与母本单倍型(C-1)分析中共 5 个变异位点, 即在第 317、350、758、784、1214 位点, 碱基分别为 C、T、G、C、T, 而母本在相应位点为 T、A、C、T、C, 父本在相应位点为 C、T、C、T、T。在子一代单倍型(Z-5)与母本单倍型(CC-1)分析中发现 3 个变异位点, 即在第 80、778、784 位点, 碱基分别为 A、G、C, 而母本在相应位点分别为 G、C、T, 父本在相应位点分别为 A、C、T。

表 1 6 组光倒刺鲃 COI 基因核苷酸同源性
Tab.1 The nucleotide homology of COI gene in 6 groups of *S. hollandi*

光倒刺鲃	Z-1	Z-2	Z-3	Z-4	Z-5	C-1	CC-1	X-1
Z-1		99.6	99.6	99.9	99.6	99.4	99.8	98.5
Z-2			99.7	99.6	99.3	99.7	99.5	98.2
Z-3				99.4	99.2	99.6	99.4	98.2
Z-4					99.6	99.4	99.8	98.4
Z-5						99.4	99.6	98.1
C-1							99.4	98.1
CC-1								98.3
X-1								

Z 为杂交子一代; C 母本; X 为父本

2.5 COI 基因的系统进化树分析

用测得的光倒刺鲃亲本与其杂交子代的 COI 基因单倍型构建系统进化树。根据 Kimura's Two-Parameter Method 用邻接法(Neighbor-joining, NJ)构建以上 6 组光倒刺鲃的系统进化树, 结果见图 3。

3 讨论

线粒体基因已广泛应用于许多生物个体的遗传变异分析和系统进化方面的研究, 其中应用细胞色素氧化酶 I(COI)进行遗传背景研究的文献报道已经有很多, 王太等(2015)分析了 DNA 条形码在鱼类物种鉴定中的应用; 黄燕(2014)进行了长江特有鱼类 DNA 条形码的研究; 丁春(2014)通过 COI 基因进行了河南四种鳊亚科鱼类遗传差异分析; 谢佳燕等(2013)通过 COI 基因进行鲤科鲃属药用鱼类线粒体的 DNA 条形码研究; 有学者对东亚特有鲤科类群的 DNA 条形码及其系统发育进行了研究(彭居俐, 2007; 彭居俐等, 2009), 利用 DNA 条形码对鲤科鲃属鱼类物种进行了鉴定; 均表明 COI 基因具有良好的物种识别能力和保守性。

对于在鱼类中杂交背景的序列变异研究也有很

多报道, 徐晖等(2007)分析了雌性褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)和雄性夏牙鲈(*P. dentatus*)及其杂交子一代的线粒体 DNA 16S rRNA 基因部分序列的遗传特性, 发现杂交子代的 16S rRNA 序列与母本褐牙鲈的序列是一致的, 遵循母性遗传的规律。周翰林等(2012)进行了两种杂交石斑鱼子一代及其亲本的线粒体 COI 基因遗传变异分析, 表明杂交子代遵循母性遗传的特征。郑乐云(2014)对云纹石斑鱼(*Epinephelus moara*)和赤点石斑鱼(*Epinephelus akaara*)杂交子一代线粒体相关基因的母性遗传特征进行了分析, 表明杂交子代同样是严格遵循母性遗传的。然而郭新红在研究杂交多倍体鲤发现, 异源四倍体鲤与其父本鲤和母本红鲤的线粒体 DNA 16S rRNA 是遵循母性遗传的。但发现以日本白鲫(*Carassium auratus cuvieri*)为母本、异源四倍体鲫鲤为父本杂交获得的三倍体湘云鲫的 mtDNA 存在父性遗传现象, 说明线粒体 DNA 在杂交过程中主要表现为母性遗传, 同时也存在父性遗传的特殊情况(郭新红, 2004)。对于线粒体 DNA 的父性遗传现象在其他物种中也有报道, 分别在哺乳动物(Shitara *et al*, 1998; Schwartz *et al*, 2002)、鸟类大山雀(Kvist *et al*, 2003)、

C-1	CCCAGAAGTTTACATTCTCATTCT	CCCAGGATTTGGGATCATTCTCAGTGTAGCCTACTATT	CAGGTA	800	
CC-1	CCCAGAAGTTTACATTCTCATTCT	CCCAGGATTTGGAATCATTCTCAGTGTAGCCTACTATT	CAGGTA	800	
X-1	CCCAGAAGTTTACATTCTCATTCT	CCCAGGATTTGGAATCATTCTCAGTGTAGCCTACTATT	CAGGTA	800	
Z-1	CCCAGAAGTTTACATTCTCATTCT	CCCAGGATTTGGAATCATTCTCAGTGTAGCCTACTATT	CAGGTA	800	
Z-2	CCCAGAAGTTTACATTCTCATTCT	CCCAGGATTTGGGATCATTCTCAGTGTAGCCTACTATT	CAGGTA	800	
Z-3	CCCAGAAGTTTACATTCTCATTCT	CCCAGGATTTGGGATCATTCTCAGTGTAGCCTACTATT	CAGGTA	800	
Z-4	CCCAGAAGTTTACATTCTCATTCT	CCCAGGATTTGGAATCATTCTCAGTGTAGCCTACTATT	CAGGTA	800	
Z-5	CCCAGAAGTTTACATTCTCATTCT	CCCAGGATTTGGAATCATTCTCAGTGTAGCCTACTATT	CAGGTA	800	
C-1	CCATTTGGTTATATAGGAATAGTTT	GAGCTATAATGGCTATTGG	CCTCCTGGGG	TTTCATCGTATGGGCCACCATA	880
CC-1	CCATTTGGTTATATAGGAATAGTTT	GAGCTATAATGGCTATTGG	CCTCCTGGGG	TTTCATCGTATGGGCCACCATA	880
X-1	CCATTTGGTTATATAGGAATAGTTT	GAGCTATAATGGCTATTGG	CCTCCTGGGG	TTTCATCGTATGGGCCACCATA	880
Z-1	CCATTTGGTTATATAGGAATAGTTT	GAGCTATAATGGCTATTGG	CCTCCTGGGG	TTTCATCGTATGGGCCACCATA	880
Z-2	CCATTTGGTTATATAGGAATAGTTT	GAGCTATAATGGCTATTGG	CCTCCTGGGG	TTTCATCGTATGGGCCACCATA	880
Z-3	CCATTTGGTTATATAGGAATAGTTT	GAGCTATAATGGCTATTGG	CCTCCTGGGG	TTTCATCGTATGGGCCACCATA	880
Z-4	CCATTTGGTTATATAGGAATAGTTT	GAGCTATAATGGCTATTGG	CCTCCTGGGG	TTTCATCGTATGGGCCACCATA	880
Z-5	CCATTTGGTTATATAGGAATAGTTT	GAGCTATAATGGCTATTGG	CCTCCTGGGG	TTTCATCGTATGGGCCACCATA	880
C-1	ATTCACCGTTGGAATAGACGTAGAC	ACCCGCGCATATTTTACATCTGCG	ACAATAAATATCGCAAT	TCCAACAGGTGTAA	960
CC-1	ATTCACCGTTGGAATAGACGTAGAC	ACCCGCGCATATTTTACATCTGCG	ACAATAAATATCGCAAT	TCCAACAGGTGTAA	960
X-1	ATTCACCGTTGGAATAGACGTAGAC	ACCCGCGCATATTTTACATCTGCG	ACAATAAATATCGCAAT	TCCAACAGGTGTAA	960
Z-1	ATTCACCGTTGGAATAGACGTAGAC	ACCCGCGCATATTTTACATCTGCG	ACAATAAATATCGCAAT	TCCAACAGGTGTAA	960
Z-2	ATTCACCGTTGGAATAGACGTAGAC	ACCCGCGCATATTTTACATCTGCG	ACAATAAATATCGCAAT	TCCAACAGGTGTAA	960
Z-3	ATTCACCGTTGGAATAGACGTAGAC	ACCCGCGCATATTTTACATCTGCG	ACAATAAATATCGCAAT	TCCAACAGGTGTAA	960
Z-4	ATTCACCGTTGGAATAGACGTAGAC	ACCCGCGCATATTTTACATCTGCG	ACAATAAATATCGCAAT	TCCAACAGGTGTAA	960
Z-5	ATTCACCGTTGGAATAGACGTAGAC	ACCCGCGCATATTTTACATCTGCG	ACAATAAATATCGCAAT	TCCAACAGGTGTAA	960
C-1	AAGTATTTAGCTGACTAGCTACACT	TCACGGAGGGTCAATTAATGAGAA	ACCCATACTATGGGCTCTCGGGTTATT	1040	
CC-1	AAGTATTTAGCTGACTAGCTACACT	TCACGGAGGGTCAATTAATGAGAA	ACCCATACTATGGGCTCTCGGGTTATT	1040	
X-1	AAGTATTTAGCTGACTAGCTACACT	TCACGGAGGGTCAATTAATGAGAA	ACCCATACTATGGGCTCTCGGGTTATT	1040	
Z-1	AAGTATTTAGCTGACTAGCTACACT	TCACGGAGGGTCAATTAATGAGAA	ACCCATACTATGGGCTCTCGGGTTATT	1040	
Z-2	AAGTATTTAGCTGACTAGCTACACT	TCACGGAGGGTCAATTAATGAGAA	ACCCATACTATGGGCTCTCGGGTTATT	1040	
Z-3	AAGTATTTAGCTGACTAGCTACACT	TCACGGAGGGTCAATTAATGAGAA	ACCCATACTATGGGCTCTCGGGTTATT	1040	
Z-4	AAGTATTTAGCTGACTAGCTACACT	TCACGGAGGGTCAATTAATGAGAA	ACCCATACTATGGGCTCTCGGGTTATT	1040	
Z-5	AAGTATTTAGCTGACTAGCTACACT	TCACGGAGGGTCAATTAATGAGAA	ACCCATACTATGGGCTCTCGGGTTATT	1040	
C-1	TTCCCTGTTTACAGTAGGTGGGCT	CACAGGAATGTCTGTCCAAC	TATGATTTGCTCCTCATGACACTTATTA	1120	
CC-1	TTCCCTGTTTACAGTAGGTGGGCT	CACAGGAATGTCTGTCCAAC	TATGATTTGCTCCTCATGACACTTATTA	1120	
X-1	TTCCCTGTTTACAGTAGGTGGGCT	CACAGGAATGTCTGTCCAAC	TATGATTTGCTCCTCATGACACTTATTA	1120	
Z-1	TTCCCTGTTTACAGTAGGTGGGCT	CACAGGAATGTCTGTCCAAC	TATGATTTGCTCCTCATGACACTTATTA	1120	
Z-2	TTCCCTGTTTACAGTAGGTGGGCT	CACAGGAATGTCTGTCCAAC	TATGATTTGCTCCTCATGACACTTATTA	1120	
Z-3	TTCCCTGTTTACAGTAGGTGGGCT	CACAGGAATGTCTGTCCAAC	TATGATTTGCTCCTCATGACACTTATTA	1120	
Z-4	TTCCCTGTTTACAGTAGGTGGGCT	CACAGGAATGTCTGTCCAAC	TATGATTTGCTCCTCATGACACTTATTA	1120	
Z-5	TTCCCTGTTTACAGTAGGTGGGCT	CACAGGAATGTCTGTCCAAC	TATGATTTGCTCCTCATGACACTTATTA	1120	
C-1	TGTAGTCGCACACTTCCACTACGT	GCTATCAATAGGTGCTGATTTG	TATATAGCAGCATTGTACACTGATTCCCC	1200	
CC-1	TGTAGTCGCACACTTCCACTACGT	GCTATCAATAGGTGCTGATTTG	TATATAGCAGCATTGTACACTGATTCCCC	1200	
X-1	TGTAGTCGCACACTTCCACTACGT	GCTATCAATAGGTGCTGATTTG	TATATAGCAGCATTGTACACTGATTCCCC	1200	
Z-1	TGTAGTCGCACACTTCCACTACGT	GCTATCAATAGGTGCTGATTTG	TATATAGCAGCATTGTACACTGATTCCCC	1200	
Z-2	TGTAGTCGCACACTTCCACTACGT	GCTATCAATAGGTGCTGATTTG	TATATAGCAGCATTGTACACTGATTCCCC	1200	
Z-3	TGTAGTCGCACACTTCCACTACGT	GCTATCAATAGGTGCTGATTTG	TATATAGCAGCATTGTACACTGATTCCCC	1200	
Z-4	TGTAGTCGCACACTTCCACTACGT	GCTATCAATAGGTGCTGATTTG	TATATAGCAGCATTGTACACTGATTCCCC	1200	
Z-5	TGTAGTCGCACACTTCCACTACGT	GCTATCAATAGGTGCTGATTTG	TATATAGCAGCATTGTACACTGATTCCCC	1200	
C-1	TACTAACCGGATACACCCCTT	CACAGCGCTTGAACAAAAATTC	ACTTCGGGGTTATATTCATTGGAGTTAACCTTACGTTT	1280	
CC-1	TACTAACCGGATACACCCCTT	CACAGCGCTTGAACAAAAATTC	ACTTCGGGGTTATATTCATTGGAGTTAACCTTACGTTT	1280	
X-1	TACTAACCGGATACACCCCTT	CACAGCGCTTGAACAAAAATTC	ACTTCGGGGTTATATTCATTGGAGTTAACCTTACGTTT	1280	
Z-1	TACTAACCGGATACACCCCTT	CACAGCGCTTGAACAAAAATTC	ACTTCGGGGTTATATTCATTGGAGTTAACCTTACGTTT	1280	
Z-2	TACTAACCGGATACACCCCTT	CACAGCGCTTGAACAAAAATTC	ACTTCGGGGTTATATTCATTGGAGTTAACCTTACGTTT	1280	
Z-3	TACTAACCGGATACACCCCTT	CACAGCGCTTGAACAAAAATTC	ACTTCGGGGTTATATTCATTGGAGTTAACCTTACGTTT	1280	
Z-4	TACTAACCGGATACACCCCTT	CACAGCGCTTGAACAAAAATTC	ACTTCGGGGTTATATTCATTGGAGTTAACCTTACGTTT	1280	
Z-5	TACTAACCGGATACACCCCTT	CACAGCGCTTGAACAAAAATTC	ACTTCGGGGTTATATTCATTGGAGTTAACCTTACGTTT	1280	
C-1	TTCCCAACAACACTTCCTAGGCT	TAGCAGGCATGCCACGGCGATAT	TCTGACTACCCAGATGCCTATGCCCCTATGAAACAC	1360	
CC-1	TTCCCAACAACACTTCCTAGGCT	TAGCAGGCATGCCACGGCGATAT	TCTGACTACCCAGATGCCTATGCCCCTATGAAACAC	1360	
X-1	TTCCCAACAACACTTCCTAGGCT	TAGCAGGCATGCCACGGCGATAT	TCTGACTACCCAGATGCCTATGCCCCTATGAAACAC	1360	
Z-1	TTCCCAACAACACTTCCTAGGCT	TAGCAGGCATGCCACGGCGATAT	TCTGACTACCCAGATGCCTATGCCCCTATGAAACAC	1360	
Z-2	TTCCCAACAACACTTCCTAGGCT	TAGCAGGCATGCCACGGCGATAT	TCTGACTACCCAGATGCCTATGCCCCTATGAAACAC	1360	
Z-3	TTCCCAACAACACTTCCTAGGCT	TAGCAGGCATGCCACGGCGATAT	TCTGACTACCCAGATGCCTATGCCCCTATGAAACAC	1360	
Z-4	TTCCCAACAACACTTCCTAGGCT	TAGCAGGCATGCCACGGCGATAT	TCTGACTACCCAGATGCCTATGCCCCTATGAAACAC	1360	
Z-5	TTCCCAACAACACTTCCTAGGCT	TAGCAGGCATGCCACGGCGATAT	TCTGACTACCCAGATGCCTATGCCCCTATGAAACAC	1360	
C-1	AGTATCATCTATCGGGTCACTA	AATTTCTTTAGTGGCGGTAATTA	TATTCCTATTTATTCATGAGAAGCCTTCGCCGCTA	1440	
CC-1	AGTATCATCTATCGGGTCACTA	AATTTCTTTAGTGGCGGTAATTA	TATTCCTATTTATTCATGAGAAGCCTTCGCCGCTA	1440	
X-1	AGTATCATCTATCGGGTCACTA	AATTTCTTTAGTGGCGGTAATTA	TATTCCTATTTATTCATGAGAAGCCTTCGCCGCTA	1440	
Z-1	AGTATCATCTATCGGGTCACTA	AATTTCTTTAGTGGCGGTAATTA	TATTCCTATTTATTCATGAGAAGCCTTCGCCGCTA	1440	
Z-2	AGTATCATCTATCGGGTCACTA	AATTTCTTTAGTGGCGGTAATTA	TATTCCTATTTATTCATGAGAAGCCTTCGCCGCTA	1440	
Z-3	AGTATCATCTATCGGGTCACTA	AATTTCTTTAGTGGCGGTAATTA	TATTCCTATTTATTCATGAGAAGCCTTCGCCGCTA	1440	
Z-4	AGTATCATCTATCGGGTCACTA	AATTTCTTTAGTGGCGGTAATTA	TATTCCTATTTATTCATGAGAAGCCTTCGCCGCTA	1440	
Z-5	AGTATCATCTATCGGGTCACTA	AATTTCTTTAGTGGCGGTAATTA	TATTCCTATTTATTCATGAGAAGCCTTCGCCGCTA	1440	

C-1	AACGAGAAGTACTATCTGTAGAATTAACAATAACAAATGTAGAATGACTTCATGGTGCCCTCCTCCCTACCCACACATAC	1520
CC-1	AACGAGAAGTACTATCTGTAGAATTAACAATAACAAATGTAGAATGACTTCATGGTGCCCTCCTCCCTACCCACACATAC	1520
X-1	AACGAGAAGTACTATCTGTAGAATTAACAATAACAAATGTAGAATGACTTCATGGTGCCCTCCTCCCTACCCACACATAC	1520
Z-1	AACGAGAAGTACTATCTGTAGAATTAACAATAACAAATGTAGAATGACTTCATGGTGCCCTCCTCCCTACCCACACATAC	1520
Z-2	AACGAGAAGTACTATCTGTAGAATTAACAATAACAAATGTAGAATGACTTCATGGTGCCCTCCTCCCTACCCACACATAC	1520
Z-3	AACGAGAAGTACTATCTGTAGAATTAACAATAACAAATGTAGAATGACTTCATGGTGCCCTCCTCCCTACCCACACATAC	1520
Z-4	AACGAGAAGTACTATCTGTAGAATTAACAATAACAAATGTAGAATGACTTCATGGTGCCCTCCTCCCTACCCACACATAC	1520
Z-5	AACGAGAAGTACTATCTGTAGAATTAACAATAACAAATGTAGAATGACTTCATGGTGCCCTCCTCCCTACCCACACATAC	1520
C-1	GAAGAGCCAGCATTGTTCAAATTCAACTAA	1557
CC-1	GAAGAGCCAGCATTGTTCAAATTCAACTAA	1557
X-1	GAAGAGCCAGCATTGTTCAAATTCAACTAAC	1557
Z-1	GAAGAGCCAGCATTGTTCAAATTCAACTAAC	1557
Z-2	GAAGAGCCAGCATTGTTCAAATTCAACTAA	1557
Z-3	GAAGAGCCAGCATTGTTCAAATTCAACTAAC	1557
Z-4	GAAGAGCCAGCATTGTTCAAATTCAACTAA	1557
Z-5	GAAGAGCCAGCATTGTTCAAATTCAACTAA	1557

图 2 6 组光倒刺鲃的 8 种单倍型的 mtDNA COI 基因核苷酸比对

Fig.2 Multiple alignment analysis for mtDNA COI of 8 haplotype in 6 groups of *S. hollandi*

C-1、CC-1 为母本两种单倍型, X-1 为父本的单倍型, Z 为子代单倍型

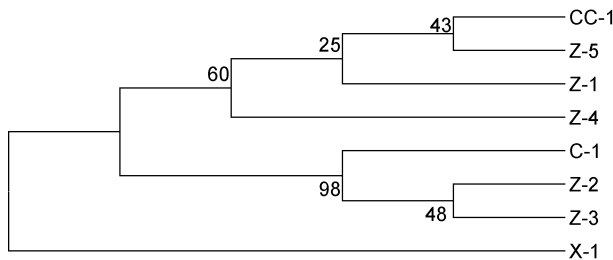


图 3 邻接法构建 6 组光倒刺鲃 mtDNA COI 基因系统进化树

Fig.3 The Neighbor-joining phylogenetic tree of the mtDNA COI genes from *S. hollandi*

图中数字代表 1000 个重复的 bootstrape 值, 水平线代表遗传距离。Z 为子一代光倒刺鲃; C 为母本; X 为父本

比目鱼(*Platichthys flesus*)、昆虫(Lansman *et al*, 1983; Meusel *et al*, 1993)、贝类(Passamonti *et al*, 2001; Dalziel *et al*, 2002; Hoarau *et al*, 2002)等物种中发现了不同程度的父性遗传现象。

本研究使用相同引物扩增上述 6 组光倒刺鲃 COI 基因, 通过分析表明杂交子一代光倒刺鲃 COI 基因与母本光倒刺鲃的单倍型同源性达到 99.4%—99.8%, 而与父本光倒刺鲃的单倍型同源性为 98.1%—98.5%(见表 1)。杂交子一代与母本最多的有 9 个[子一代单倍型(Z-4)与其母本单倍型(C-1)]位点不同, 但是其呈分散分布, 这可能是由于其母本 COI 基因的个体差异造成的或者由人工育种造成的点突变。研究表明, 虽然父母本为同种鱼类, 但与其母本的变异水平明显低于与其父本的变异水平, 表明光倒刺鲃杂交线粒体 COI 基因严格遵循母性遗传的规律。

综上所述, 在光倒刺鲃的杂交子代中, 线粒体 DNA 在 COI 基因全序列上严格遵循母性遗传规律, 没有发现父性遗传的现象。

参 考 文 献

丁 春, 2014. 河南四种鲈亚科鱼类遗传差异研究. 新乡: 河南师范大学硕士学位论文, 23—38

广西壮族自治区水产研究所, 中国科学院动物研究所, 1981. 广西淡水鱼类志. 南宁: 广西人民出版社, 69—70

王 太, 张艳萍, 管丽红等, 2015. 甘肃省鱼类资源现状及 DNA 条形码在鱼类物种鉴定中的应用. 生物多样性, 23(3): 306—313

邓维德, 邹佩贞, 吴伟荣等, 2013. 不同温度条件下光倒刺鲃胚的发育. 韶关学院学报, 34(6): 54—57

付 景, 张迎春, 2006. 27 种瓢虫 mtDNA-COI 基因序列分析及系统发育研究(鞘翅目: 瓢虫科). 昆虫分类学报, 28(3): 179—186

周翰林, 杨 森, 高川等, 2012. 两种杂交石斑鱼子一代及其亲本的线粒体 CO 基因遗传变异分析. 热带生物学报, 3(1): 2—10

郑乐云, 2014. 云纹石斑鱼和赤点石斑鱼杂交子一代线粒体相关基因的母性遗传特征分析. 上海海洋大学学报, 23(3): 351—358

徐 晖, 肖志忠, 孔晓瑜等, 2007. 褐牙鲆(♀)、夏鲆(♂)及其杂交子一代线粒体 16S rDNA 序列遗传特性的初步研究. 热带海洋学报, 26(5): 60—63

郭新红, 2004. 不同倍性鱼类 mtDNA 及三倍体湘云鲫 Sox 基因研究. 长沙: 湖南师范大学博士学位论文, 81—117

黄 燕, 2014. 长江上游特有鱼类 DNA 条形码研究. 重庆: 西南大学硕士学位论文, 19—24

彭居刚, 2007. 东亚特有鲤科类群的 DNA 条形码研究及其系统发育分析. 中国科学院研究生院(水生生物研究所)硕士学位论文, 9—12

彭居刚, 王绪祯, 王 丁等, 2009. 基于线粒体 COI 基因序列的 DNA 条形码在鲤科鲃属鱼类物种鉴定中的应用. 水生生物学报, 33(2): 271—276

董丽娜, 黄梓荣, 艾 红等, 2011. 北部湾 3 种金线鱼属鱼类 COI 基因序列的比较分析. 中国水产科学, 18(3): 508—514

- 谢佳燕, 李军德, 黄钰淞, 2013. 鲤科鲃属药用鱼类线粒体 COI 基因的 DNA 条形码研究. 中国中药杂志, 38(7): 943—946
- Dalziel A C, Stewart D T, 2002. Tissue-specific expression of male-transmitted mitochondrial DNA and its implications for rates of molecular evolution in *Mytilus mussels* (Bivalvia: Mytilidae). *Genome*, 45(2): 348—355
- Hoarau G, Holla S, Lescasse R *et al*, 2002. Heteroplasmy and evidence for recombination in the mitochondrial control region of the flatfish *Platichthys flesus*. *Mol Biol Evol*, 19(12): 2261—2264
- Kimura M, 1981. Estimation of evolutionary distances between homologous nucleotide sequences. *Proc Natl Acad Sci USA*, 78(1): 454—458
- Kvist L, Martens J, Nazarenko A A *et al*, 2003. Paternal leakage of mitochondrial DNA in the great tit (*Parus major*). *Mol Biol Evol*, 20(2): 243—247
- Lansman R A, Avise J C, Huettel M D, 1983. Critical experimental test of the possibility of "paternal leakage" of mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 80(7): 1969—1971
- Meusel M S, Moritz R F A, 1993. Transfer of paternal mitochondrial DNA during fertilization of honeybee (*Apis mellifera* L.) eggs. *Curr Genet*, 24(6): 539—543
- Passamonti M, Scali V, 2001. Gender-associated mitochondrial DNA heteroplasmy in the venerid clam *Tapes philippinarum* (*Mollusca Bivalvia*). *Curr Genet*, 39(2): 117—124
- Shitara H, Hayashi J-I, Takahama S *et al*, 1998. Maternal inheritance of mouse mtDNA in interspecific hybrids: segregation of the leaked paternal mtDNA followed by the prevention of subsequent paternal leakage. *Genetics*, 148(2): 851—857
- Schwartz M, Vissing J, 2002. Paternal inheritance of mitochondrial DNA. *N Engl J Med*, 347(8): 576—580
- Tamura K, Dudley J, Nei M *et al*, 2007. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol*, 24(8): 1596—1599

GENETIC VARIABILITY OF mtDNA COI GENES IN *SPINIBARBUS HOLLANDI*

SHU Hu¹, YUE Lei¹, LI Qiang¹, LAN Zhao-Jun², GU Ping-Hua², WANG Hang-Jun², WU Tu-Jin²

(1. School of Life Science, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China;

2. Shaoguan Fisheries Research Institute, Shaoguan 512006, China)

Abstract To identify phylogenetic variability in *Spinibarbus hollandi* hybrids from two populations, their mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (COI) gene fragments were amplified in PCR (Polymerase Chain Reaction), of which a 1551-bp base-pair nucleotide sequence was examined. Eighteen samples were divided into 6 groups, from which 8 haplotypes and 35 nucleotide polymorphic loci COI gene fragments were recognized and they shared high similarities from 98.1% to 99.9% in nucleotide sequence revealed by sequence divergence and genetic distance analyses, indicating no significant genetic difference among these groups. In five COI haplotypes of the first-generation hybrids, the similarity was 99.4%–99.8% to the female parents and 98.1%–98.5% to the male ones. Therefore, the hybrids inherited more from their maternal parent in mitochondrial COI genes, following strictly the rules of maternal inheritance.

Key words *Spinibarbus hollandi*; hybrids; COI; genetic variability