

文章编号: 1674 - 5566(2014)03 - 0351 - 08

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

郑乐云

(福建省水产研究所,福建 厦门 361012)

摘要: 对云纹石斑鱼和赤点石斑鱼及其正反杂交子代的 3 种线粒体基因 (CO I、16S rDNA、Cyt b) 和核基因 Tmo-4c4 进行序列分析,其中 16S rDNA 序列中有明显的插入缺失位点,而其他 3 个基因序列无插入缺失变异。在 12 个分析样本中,CO I 同源序列 (387 bp) 中共检测到 41 个核苷酸多态性位点,16S rDNA (529 bp) 中有 21 个核苷酸多态性位点,Cyt b (383 bp) 中有 49 个核苷酸多态性位点。Tmo-4c4 (467 bp) 有 8 个核苷酸多态性位点。序列差异分析和遗传距离比较结果显示,正反杂交子一代的 3 个线粒体基因序列与母本基因序列的同源性都为 100%,与父本的基因序列同源性分别为 CO I :90% 和 89.4%;16S rDNA:96% 和 96%;Cyt b:87% 和 87.2%。核基因 Tmo-4c4 正反杂交子一代与母本的序列同源性为 98.9% ~ 99.6% 之间,与父本的同源性为 98.7% ~ 99.4% 之间,没有明显的遗传差异。以上结果表明了云纹石斑鱼和赤点石斑鱼杂交子一代在 3 种线粒体基因上严格按照母性遗传的规律,而核基因 Tmo-4c4 没有明显的遗传偏向性。

研究亮点: 之前很多文献通常只是报道对石斑鱼杂交样本线粒体单个基因序列的遗传变异分析,本文对两种石斑鱼云纹石斑鱼和赤点石斑鱼及其杂交子一代的线粒体 3 种基因的 DNA 序列进行了遗传变异分析,并且还获得了一个核内的基因序列,同时分析了它的遗传变异性。为赤点石斑鱼和云纹石斑鱼杂交子一代遗传背景的分析提供数据基础,为石斑鱼杂交育种筛选新品种提供分子数据和理论依据。

关键词: 云纹石斑鱼;赤点石斑鱼;杂交子代;线粒体基因;核基因;遗传变异
中图分类号: Q 34; S 917
文献标志码: A

赤点石斑鱼 (*Epinephelus akaara*) 和云纹石斑鱼 (*Epinephelus moara*) 同属于鲈形目 (Perciformes)、鲷科 (Serranidae)、石斑鱼亚科 (Epinephelinae)、石斑鱼属 (*Epinephelus*), 属于名贵海产鱼类,具有很高的经济价值^[1]。石斑鱼主要分布于印度洋和太平洋的热带和亚热带海域,少数在温带水域,我国主要分布于南海和东海南部^[2]。赤点石斑鱼俗称石斑或红斑,生长速度较慢,但色泽鲜艳,肉质细腻口感好,是上等食用鱼,具有较高的经济价值。云纹石斑鱼俗称草斑或真油斑,具有耐受力强,生长速度快等优点。赤点石斑鱼的人工种苗还无法规模化生产^[3],而云纹石斑鱼苗种的规模化繁育已经取得了重大

突破^[4]。关于石斑鱼杂交的研究已经有了很多报道,例如赤点石斑鱼 (*Epinephelus akaara*) 与镶点石斑鱼 (*Epinephelus amblycephalus*)^[5-6],地中海石斑鱼 (*Epinephelus costae*) 与东大西洋石斑鱼 (*Epinephelus marginatus*)^[7],东大西洋石斑鱼 (*Epinephelus marginatus*) 与青铜石斑鱼 (*Epinephelus aeneus*)^[8],褐点石斑鱼 (*Epinephelus fuscogutatus*) 与清水石斑鱼 (*Epinephelus polyphkadion*)^[9]。

本文利用人工授精的方法对赤点石斑鱼与云纹石斑鱼进行杂交,成功获得了杂交子一代,杂交子一代表现出了比赤点石斑鱼抗病力强、成活率高、生长速度快的特点,具有明显的杂交优

收稿日期: 2013-11-05 修回日期: 2014-02-16

基金项目: 福建省石斑鱼种业创新与产业化工程建设[闽种石斑鱼(004号)]

作者简介: 郑乐云(1969—),男,高级工程师,研究方向为石斑鱼类繁殖及育种。E-mail: lyzheng69@sina.com

势。然而对于其杂交遗传背景的研究还未见报道。线粒体 DNA (mtDNA) 是真核生物细胞核外的遗传物质,具有共价、闭合、环状结构、分子量小、且在细胞中具有多拷贝数,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^[10],它编码的 37 个基因早已广泛用于分子进化、生物分类、群体遗传结构分析、亲缘关系鉴定等方面。细胞色素氧化酶 I 亚基基因 (CO I), 16S rDNA 和细胞色素 b (Cyt b) 3 种线粒体基因都是比较好的遗传进化标记,除此之外核基因用于系统发育的研究也开始得到关注。本研究对赤点石斑鱼和云纹石斑鱼及其正反交子一代的 3 种线粒体 DNA 和一种核基因 Tmo-4c4 进行了序列测定和比对分析,为赤点石斑鱼和云纹石斑鱼杂交子一代遗传背景的分析提供数据基础,为石斑鱼杂交育种筛选新品种提供分子数据和理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

赤点石斑鱼和云纹石斑鱼以及正反交子一代均取自厦门市小嶝岛石斑鱼养殖基地。赤点石斑鱼(♂)与云纹石斑鱼(♀)杂交作为正交组,赤点石斑鱼(♀)与云纹石斑鱼(♂)作为反交组。每种石斑鱼样本取两个个体。剪取鱼体鳍条少量组织保存于乙醇中。实验室 -20℃ 保存待用。

1.2 DNA 的提取及基因片段的获得

DNA 的提取使用天根海洋动物组织 DNA 提取试剂盒,依据说明书进行 DNA 的提取,保存于 -20℃ 待用。PCR 反应总体积为 25 μL,试剂包括: 5 U/μL Ex Taq DNA 聚合酶 (TaKaRa) 0.25 μL、10 × Ex Taq Buffer 2.5 μL、2.5 mol/L dNTP (TaKaRa) 2 μL、10 μmol/L 引物 (invitrogen, 表 1) 各 1 μL、以及 20 ng/μL 基因组 DNA 1 μL,超纯水 17.25 μL。使用 Bio-rad 热循环仪进行 PCR 反应。反应条件为:经 95℃ 预变性 5 min 后,95℃ 变性 30 s,退火 30 s,72℃ 延伸 1 min,共进行 32 个循环,最后 72℃ 延伸 10 min。将 PCR 产物在 1.5% 的琼脂糖凝胶中进行电泳分离,最后观察条带情况。将单一条带用琼脂糖凝胶纯化回收试剂盒回收 PCR 产物片段。将纯化的 PCR 产物送到 invitrogen 公司测序。

表 1 使用引物名称和序列

Tab. 1 List of primers sequences used in this study

引物名称	引物序列
CO I -F	CTACTTGGCGACGATCAGA
CO I -R	TTCAACCAGTTCAGCACC
16S rDNA-F	CGCCTGTTTATCAAAAACAT
16S rDNA-R	CCGGTCTGAACTCAGATCACGT
Cyt b-F	CGAACGTTGATATGAAAAACCATCGTTG
Cyt b-R	AAACTGCAGCCCTCAGAATGATATTTGTCCTCA
Tmo-4c4-F	CTCCGGCCTTCCTAAAACCTCTCATTAAG
Tmo-4c4-R	ATCGTCTCTGGGTGACAAAAGTCCAC

用 BioEdit 软件读取测序结果峰值,人工校对结果序列的准确性,两边峰值信号较弱的序列去掉。将获得的结果序列导入 NCBI 中进行 Blast,搜索结果显示所得序列就是我们的目的基因片段。使用 DNAMAN 软件比对同一种基因的序列并输出结果图片,同时计算出比对序列间的序列相似度和序列间的变异位点情况。使用 Clustal X 对序列进行完全比对分析然后转化格式用 MEGA 5 软件统计序列的碱基含量、变异位点和序列间的碱基变化情况并使用距离法构建 NJ 系统发育树。

2 结果

2.1 基因序列组成分析

将 PCR 产物进行测序,测序结果比对分析得出我们一共获得了石斑鱼的 4 种基因序列,3 种线粒体基因序列:细胞色素氧化酶 I (CO I), 16S rDNA, 细胞色素 b (Cyt b) 和一种核基因 Tmo-4c4。

如图 1 所示,我们获得了云纹石斑鱼与赤点石斑鱼及其正反交子一代的 CO I 部分序列,长度为 387 bp。在亲本石斑鱼和正反交子一代 12 个个体中共有 41 个核苷酸变异位点,变异位点全部为简约信息位点,剩下的 346 个为保守的核苷酸序列。不同石斑鱼的两个个体之间的 CO I 序列是一致的,正交子一代 (AM) 与母本云纹石斑鱼 (EMb) 的 CO I 序列是一致的,与父本云纹石斑鱼 (EAa) 的 CO I 序列存在较大差异。反交子一代 (MA) 与母本赤点石斑鱼 (EAb) 的 CO I 序列是一致的,同样与父本云纹石斑鱼 (EMa) 存在较大差异。在这 12 个石斑鱼个体的 CO I 序列中 T 碱基的平均含量为 23.2%, C 为 20.6%, A 为

29.5% ,G 为 26.7% 。T + A 含量为 52.7% ,C + G 的含量为 47.3% ,T + A 的碱基含量高于 C + G 的碱基含量。如图 2 和 3 所示,获得的 16S rDNA 和 Cyt b 基因序列长度分别为 529 bp 和 383 bp, 在 16S rDNA 基因序列中发现 21 个核苷酸变异位点,在 Cyt b 基因序列中发现 49 个核苷酸变异位点。16S rDNA 和 Cyt b 两个基因序列在 12 个石斑鱼个体中都只有两种类型,而且都存在着云纹石斑鱼母本和父本与正交子一代三者共享一个类型,而赤点石斑鱼母本和父本与反交子一代

三者共享另一个类型。16S rDNA 序列中 T、C、A、G 碱基的平均含量 T 为 29.2% ,C 为 23.8% ,A 为 22.6% ,G 为 24.4% 。T + A 含量为 51.8% ,C + G 的含量为 48.2% ,T + A 的碱基略高于 C + G 的碱基含量。Cyt b 序列中 T、C、A、G 碱基的平均含量 T 为 25.9% ,C 为 15.5% ,A 为 29.9% ,G 为 28.7% 。T + A 含量为 55.8% ,C + G 的含量为 44.2% ,T + A 的碱基含量明显高于 C + G 碱基含量。

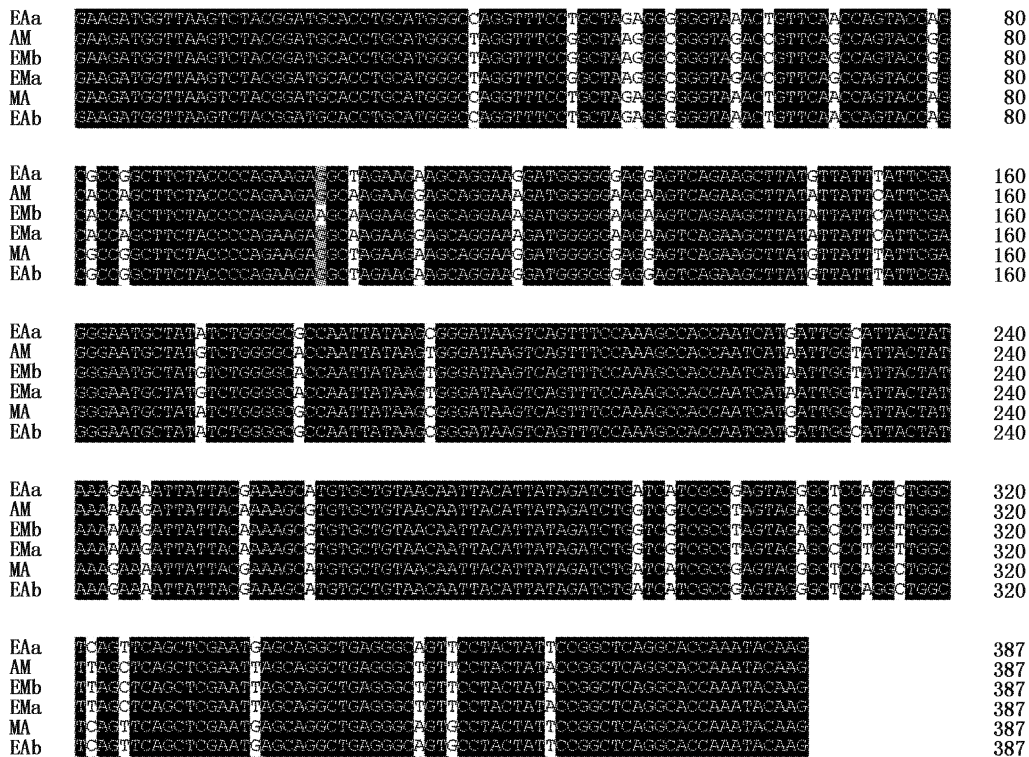


图 1 赤点石斑鱼与云纹石斑鱼杂交样本间的线粒体基因 CO I 核苷酸序列对比

Fig. 1 Multiple alignment of nucleotide sequences of CO I between two crossing grouper hybrids and their parents (*E. akaara* and *E. moara*)

核苷酸序列为黑色的说明比较序列之间完全一致,灰色说明一致性大于 75%,白色说明一致性大于 50%。EMa. 雌性云纹石斑鱼; Emb. 雌性云纹石斑鱼; AM. 正交子一代; EaA. 雌性赤点石斑鱼; EAb. 雌性赤点石斑鱼; MA. 反交子一代。图 2-4 同此。

如图 4 所示获得的另一个核基因 Tmo-4c4 序列全长 467 bp,含有 8 个核苷酸变异位点。赤点石斑鱼的父本和母本 4 个个体共享一个类型,云纹石斑鱼的父本和母本 4 个个体共享一个类型,正交子一代两个个体含有两个类型(AM-1, AM-2),反交子一代两个个体含有两个类型(MA-1, MA-2)。核基因 Tmo-4c4 12 个个体中 T、C、A、G 碱基的平均含量 T 为 28.8% ,C 为 25.8% ,A 为

25.4% ,G 为 20.0% 。T + A 含量为 54.2% ,C + G 的含量为 45.8% ,T + A 的碱基含量明显高于 C + G 碱基含量。

2.2 基因序列同源性分析

赤点石斑鱼和云纹石斑鱼及其正反交的子一代,CO I 基因序列的同源性为 89.4% ~ 100% ,16S rDNA 基因为 96% ~ 100% ,Cyt b 基因为 87% ~ 100% ,核基因 Tmo-4c4 为 98.7% ~

99.6%。对于3种线粒体基因正反交子一代的基因序列与母本基因序列的同源性都为100%，与父本的基因序列同源性分别为CO I :90%和89.4% ; 16S rDNA :96% 和 96% ; Cyt b :87% 和

87.2%。核基因 Tmo-4c4 正反交子一代与母本的序列同源性为 98.9% ~99.6% ,与父本的同源性为 98.7% ~99.4% 。

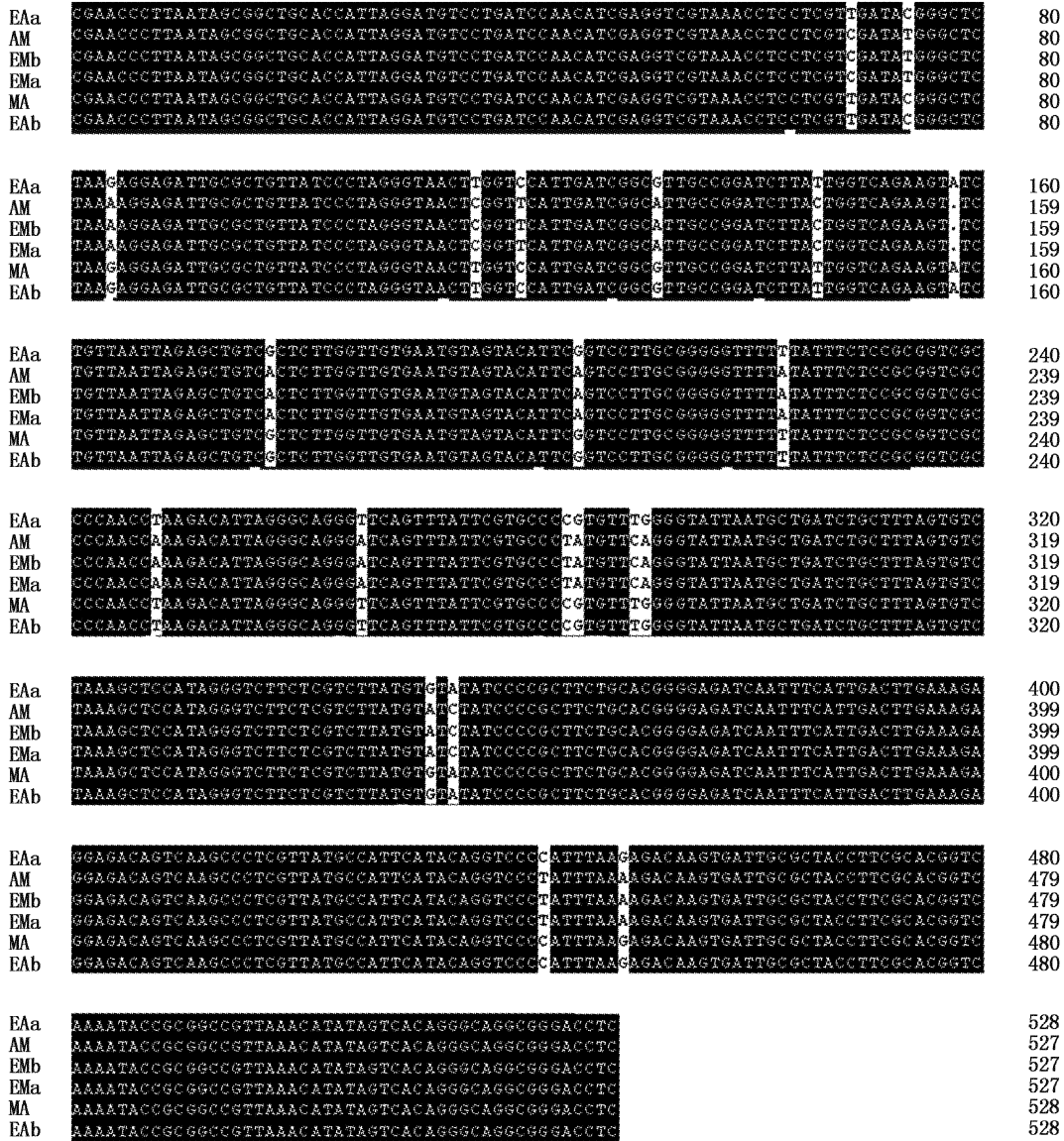


图2 赤点石斑鱼与云纹石斑鱼杂交样本间的线粒体基因 16S rDNA 核苷酸序列比对
 Fig.2 Multiple alignment of nucleotide sequences of 16S rDNA between two crossing grouper hybrids and their parents (*E. akaara* and *E. moara*)

“.”表示序列缺失。

2.3 3个线粒体基因的系统进化树分析
 分别用CO I , 16S rDNA 和 Cyt b 基因核苷酸序列构建两种石斑鱼及其杂交子一代的进化树。根据 Kimura’s Two-Parameter Method^[11] 用

Neighbor-joining 方法构建系统进化树,结果如图5所示。

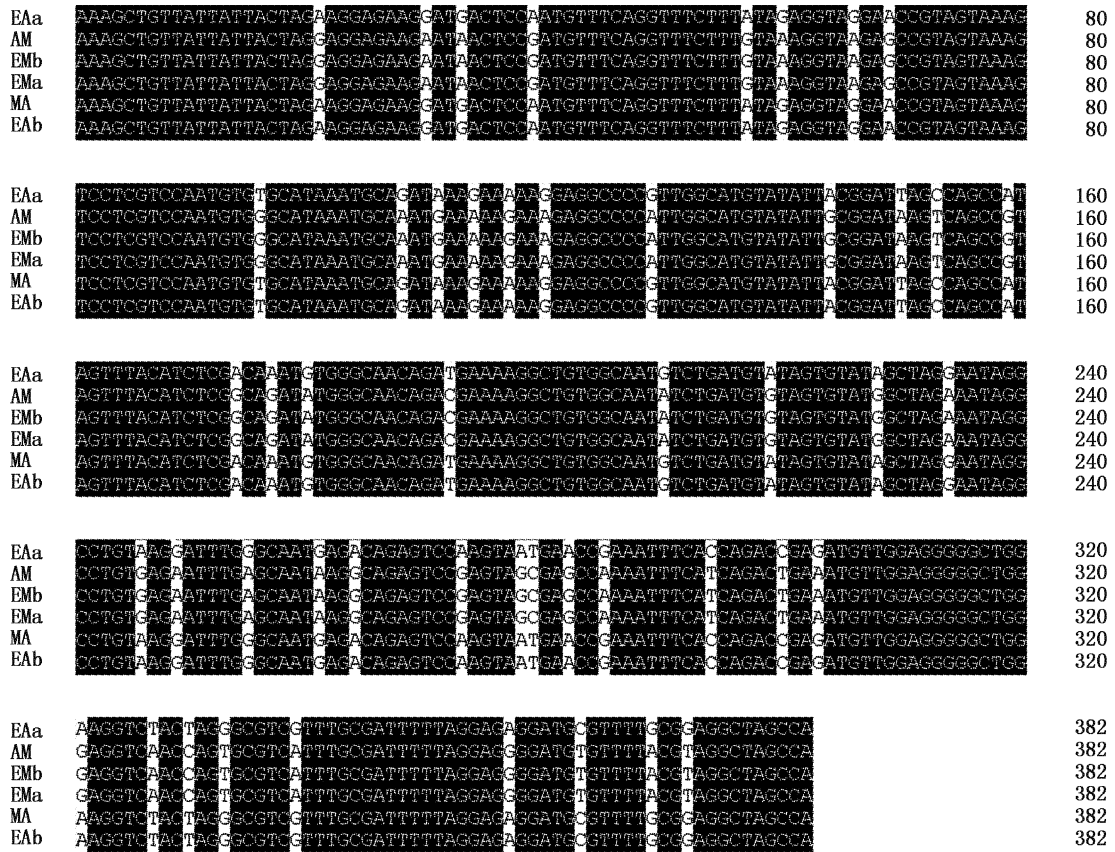


图 3 赤点石斑鱼与云纹石斑鱼杂交样本间的线粒体基因 Cyt b 核苷酸序列比对

Fig. 3 Multiple alignment of nucleotide sequences of Cyt b between two crossing grouper hybrids and their parents (*E. akaara* and *E. moara*)

3 讨论

线粒体基因是动物体内细胞核外的遗传信息系统,具有独立的转录 RNA 和翻译蛋白质系统,具有突变率高,进化速度快^[12]的特点,而选择压力相对于核基因而言却比较松弛,从而突变更容易稳定地保留下来^[13]。线粒体基因在很多领域生物个体的遗传变异分析和系统进化方面被广泛应用,其中应用细胞色素氧化酶 I (CO I), 16S rDNA 和细胞色素 b (Cyt b) 3 个基因进行遗传背景研究的文献报道已经有很多,张凤英等^[14]利用 CO I 基因序列分别对 3 种鲷属鱼类和两种鲷属鱼类进行了序列和进化分析,董丽娜等^[10]对北部湾 3 种金线鱼类 CO I 基因进行了分析比较,而杨天燕等^[15]利用 CO I 基因序列对扁吻鱼和塔里木裂腹鱼的进化和亲缘关系进行了比较分析。WARD 等^[16]利用 CO I 序列对 207 种海水鱼类进行了鉴定分析。而对于其他 16S rDNA 和细胞色

素 b (Cyt b) 两种基因序列,有学者也分别利用其基因序列对鲱科鱼类^[17]、12 种鲈科鱼类^[18]和养殖罗非鱼^[19]进行了系统进化分析。

对于在鱼类中杂交背景序列变异研究也有了报道,徐晖等^[20]对雌性褐牙鲷 (*P. olivaceus*) 和雄性夏牙鲷 (*P. dentatus*) 及其杂交子一代的线粒体 DNA 16S rRNA 部分序列进行了遗传变异分析,发现杂交子代的 16S rRNA 序列与母本褐牙鲷的序列是一致的,遵循母性遗传的规律。郭新红^[21]研究杂交多倍体鲤发现, ATPase6 和 ATPase8 两个线粒体基因序列在四倍体鲫鲤、三倍体湘云鲫和三倍体湘云鲤中的遗传变异是按照母性遗传方式的。而对于异源四倍体鲫鲤及其母本红鲫和父本鲤的线粒体 DNA 16S rDNA 也是遵循母性遗传规律的。但对于以日本白鲫为母本和异源四倍体鲫鲤为父本交配得到的三倍体湘云鲫序列分析发现,在线粒体 DNA 的 rRNA-Val→NADH 5 基因的区间序列存

在着父性遗传的现象。以上现象说明,线粒体 DNA 在杂交过程中大部分遵循母性遗传的规律,但有时对于线粒体 DNA 中的一些特定基因序列也会出现父性遗传的现象。对于线粒体 DNA 的父性遗传现象在其他种类的生物个体中也已经有研究报道,在人 (*Homo sapiens*) 和鼠 (*Mus*

musculus) 等^[22-23] 动物,大山雀 (*Parusi major*) 和蜜蜂 (*Apis mellifera*) 等^[24-25] 昆虫类,贻贝属 (*Mytilus*) 和蛛网缀锦蛤 (*Tapes philippinarum*) 等^[26-27] 软体动物中也发现了不同程度的线粒体基因序列父性遗传的现象。

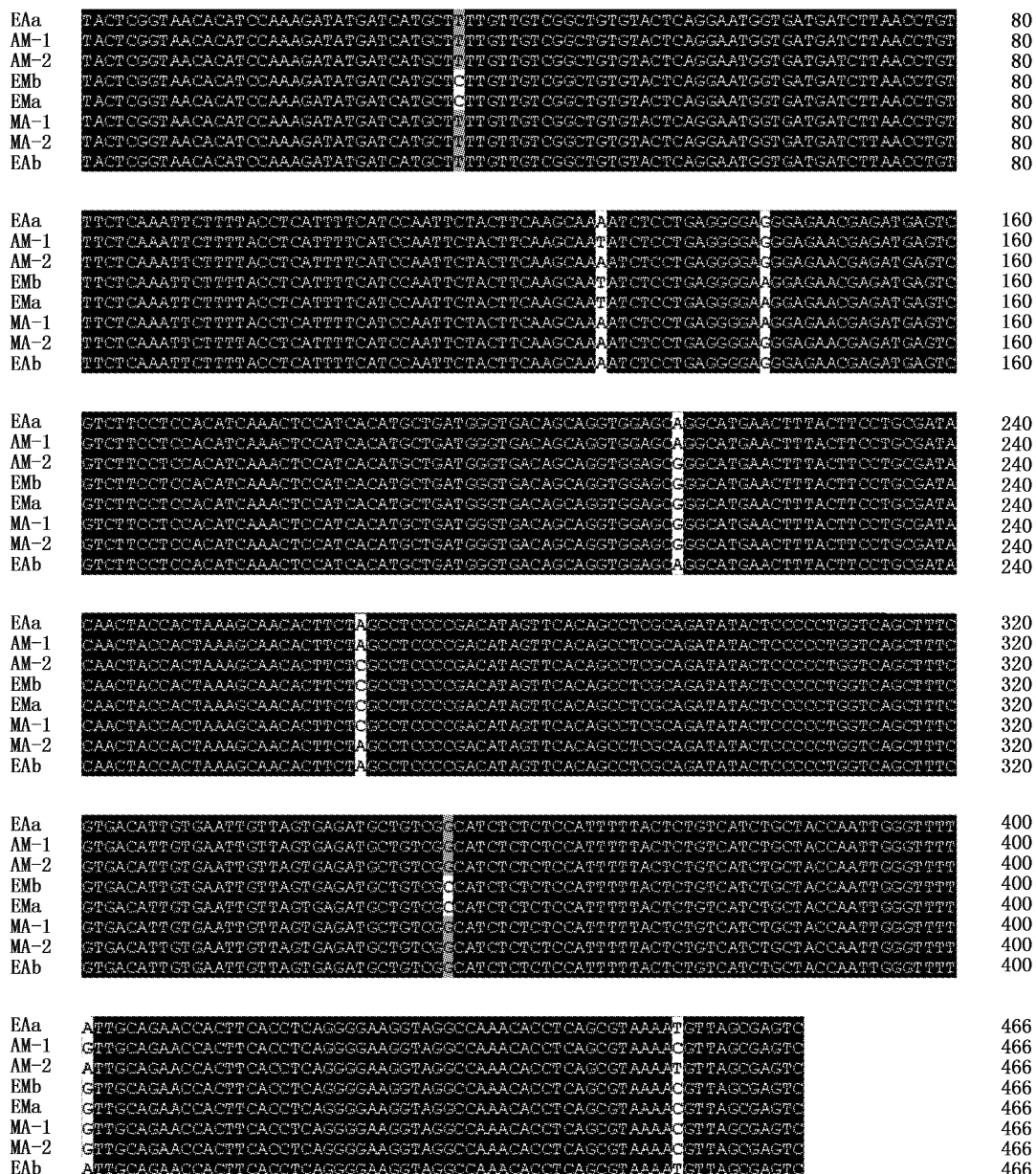


图 4 赤点石斑鱼与云纹石斑鱼杂交样本间的核基因 Tmo-4c4 核苷酸序列对比

Fig. 4 Multiple alignment of nucleotide sequences of Tmo-4c4 between two crossing grouper hybrids and their parents (*E. akaara* and *E. moara*)

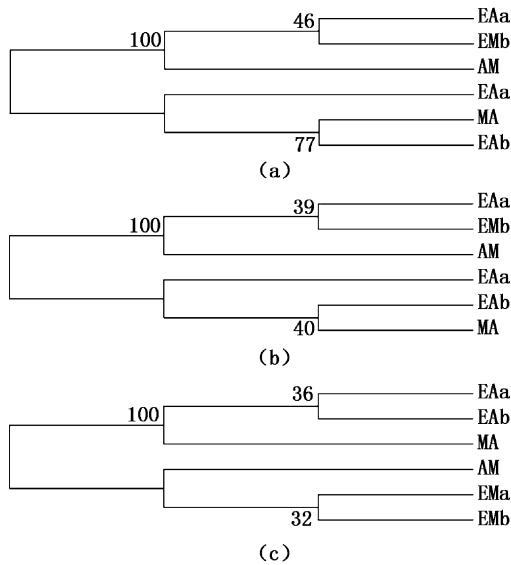


图5 邻接法构建两种石斑鱼及其杂交子一代 COI (a), 16S rDNA (b) 和 Cyt b (c) 基因的系统进化树
Fig. 5 Phylogenetic tree of nucleotide sequences of CO I (a), 16S rDNA (b) and Cyt b (c) between two crossing grouper hybrids and their parents (*E. akaara* and *E. moara*) by Neighbor-joining (NJ) method

图中数字代表1 000个重复计算的bootstrap值,水平线代表遗传距离。EMa. 雄性云纹石斑鱼; EMb. 雌性云纹石斑鱼; AM. 正交子一代; EAa. 雄性赤点石斑鱼; EMb. 雌性赤点石斑鱼; MA. 反交子一代。

对于石斑鱼杂交种中线粒体 DNA 序列的分析研究也有报道,周翰林等^[28]在两种杂交石斑鱼粒体 DNA 基因 CO I 的研究发现,CO I 基因在斜带石斑鱼和鞍带石斑鱼的杂交以及棕点石斑鱼和鞍带石斑鱼的杂交中严格按照母性遗传的规律,但只研究了一种线粒体基因序列且没有对核基因进行测序研究。我们通过对赤点石斑鱼和云纹石斑鱼进行正反交实验研究,发现在正反交子代的样品中对于3种线粒体 DNA 基因序列,只发现了各自一种类型,说明子一代的线粒体基因多样性比较小,正反交子一代的序列类型分别与母本的序列类型是完全一致的,而与父本的类型有着较大差异,说明了线粒体 DNA 基因序列严格按照母性遗传的规律。但对于核基因 Tmo-4c4 在正反交子一代中,各发现了两种序列类型,显示了较大的基因多样性,而且子一代的序列类型与父母本都存在着一定的差异,这种差异不存在明显的偏向性。

综上所述,通过对赤点石斑鱼和云纹石斑鱼及其杂交子一代的3种线粒体 DNA 基因测序分析发现,线粒体 DNA 序列严格按照母性遗传规

律,没有发现父系遗传的现象。而核基因序列对于父母本序列没有明显的遗传偏向性。

参考文献:

- [1] HEEMSTRA P C, RANDALL J E. FAO species catalogue groupers of the World (Family Serranidae, subfamily Epinephelinae) [M]. FAO Fisheries Synopsis, FAO, Rome: FAO of UN Press, 1993.
- [2] 祝茜. 中国海海洋鱼类种类名录[M]. 北京:学苑出版社, 1998: 86-89.
- [3] 萱野泰久, 水户鼓. 种苗生产[R]. 日本岡山縣水産試験場報告, 1994, 9: 175-179.
- [4] 王民生. 日本七带石斑鱼和云纹石斑鱼苗种批量生产成功[J]. 中国渔业经济, 2001(6): 54.
- [5] 尹绍武, 黄海, 张本, 等. 石斑鱼遗传多样性的研究进展[J]. 水产科学, 2005, 24(8): 46-49.
- [6] TSENG W Y, POON C T. Hybridization of *Epinephelus* species [J]. Aquaculture, 1983, 34(1/2): 177-182.
- [7] GLAMUZINA B, GLAV I N, SKARAMUCA B, et al. Early development of the hybrid *Epinephelus costaea* ♀ × *E. marginatus* ♂ [J]. Aquaculture, 2001, 198: 55-61.
- [8] GLAMUZINA B, KOZUL V, TUTMAN P, et al. Hybridization of mediterranean groupers: *Epinephelus marginatus* × *Epinephelus aeneus* and early development [J]. Aquaculture Research, 1999, 30(8): 625-628.
- [9] JAMES C M, AL-THOBAITI B M, RASEM B M, et al. Potential of grouper hybrid *Epinephelus fuscogutatus* × *Epinephelus polyphekadion* for aquaculture [J]. Naga, 1999, 22(1): 19-23.
- [10] 董丽娜, 黄梓荣, 艾红, 等. 北部湾3种金线鱼属鱼类 CO I 基因序列的比较分析 [J]. 中国水产科学, 2011, 18(3): 508-514.
- [11] KIMURA M. Estimation of evolutionary distances between homologous nucleotide sequences [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1981, 78(1): 454-458.
- [12] BROWN W M, PRAGER E M, WANG A, et al. Mitochondrial DNA sequences of primates: tempo and mode of evolution [J]. Journal of Molecular Evolution, 1982, 18(4): 225-239.
- [13] 李建华, 王继文. 动物线粒体 DNA 在进化遗传学研究中的应用 [J]. 生物学通报, 2005, 40(2): 5-7.
- [14] 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.
- [15] 杨天燕, 张人铭, 郭焱, 等. 扁吻鱼和塔里木裂腹鱼线粒体 CO I 基因片段的比较研究 [J]. 水生态学杂志, 2011, 32(1): 45-50.
- [16] WARD R D, ZEMLAK T S, INNES B H, et al. DNA barcoding Australian fish species [J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 2005, 360(1462): 1847-1857.

- [17] 郭宪光, 张耀光, 何舜平, 等. 16S rRNA 基因序列变异与中国鲷科鱼类系统发育[J]. 科学通报, 2004, 49(14): 1371-1379.
- [18] 郑文娟, 朱世华, 邹记兴, 等. 基于 16S rRNA 部分序列探讨 12 种鲷科鱼类的分子系统进化关系[J]. 水产学报, 2008, 32(6): 847-853.
- [19] 郭奕惠, 黄桂菊, 喻达辉, 等. 我国主要养殖罗非鱼的 16S rRNA 序列特征分析[J]. 上海水产大学学报, 2007, 16(5): 490-494.
- [20] 徐晖, 肖志忠, 孔晓瑜, 等. 褐牙鲈(♀)、夏鲈(♂)及其杂交子一代线粒体 16S rDNA 序列遗传特性的初步研究[J]. 热带海洋学报, 2007, 26(5): 60-63.
- [21] 郭新红. 不同倍性鱼类 mtDNA 及三倍体湘云鲫 Sox 基因研究[D]. 长沙: 湖南师范大学, 2004.
- [22] SCHWARTZ M, VISSING J. Paternal inheritance of mitochondrial DNA [J]. New England Journal of Medicine, 2002, 347(8): 576-580.
- [23] SHITARA H, HAYASHI J I, TAKAHAMA S, et al. Maternal inheritance of mouse mtDNA in interspecific hybrids: segregation of the leaked paternal mtDNA followed by the prevention of subsequent paternal leakage [J]. Genetics, 1998, 148(2): 851-857.
- [24] KVIST L, MARTENS J, NAZARENKO A A, et al. Paternal leakage of mitochondrial DNA in the great tit (*Parus major*) [J]. Molecular Biology and Evolution, 2003, 20(2): 243-247.
- [25] KONDO R, MATSUURA E T, CHIGUSA S I. Further observation of paternal transmission of *Drosophila* mitochondrial DNA by PCR selective amplification method [J]. Genetical Research, 1992, 59(02): 81-84.
- [26] DALZIEL A C, STEWART D T. Tissue-specific expression of male-transmitted mitochondrial DNA and its implications for rates of molecular evolution in *Mytilus* mussels (*Bivalvia: Mytilidae*) [J]. Genome, 2002, 45(2): 348-355.
- [27] PASSAMONTI M, SCALI V. Gender-associated mitochondrial DNA heteroplasmy in the venerid clam *Tapes philippinarum* (*Mollusca Bivalvia*) [J]. Current Genetics, 2001, 39(2): 117-124.
- [28] 周翰林, 杨森, 高川, 等. 两种杂交石斑鱼子一代及其亲本的线粒体 CO I 基因遗传变异分析[J]. 热带生物学报, 2012, 3(5): 1-10.

Analysis of maternal inheritance of mitochondrial genes between two crossing grouper hybrids and their parents

ZHENG Le-yun

(Fisheries Research Institute of Fujian, Xiamen 361012, Fujian, China)

Abstract: We analysed the sequences of three mitochondrial DNA (CO I), 16S rDNA, cytochrome oxidase b) and nuclear gene Tmo-4c4 to identify the phylogenetic relationship among the grouper hybrids and their parents (*Epinephelus moara* ♀ and *Epinephelus akaara* ♂; *Epinephelus moara* ♂ and *Epinephelus akaara* ♀). Among the four sequence fragments there was insertion deletion 16S rDNA but no insertion deletion in other three gene fragments which all belong to coding gene. As shown in results, in 12 sequences there were 4 haplotypes and 41 nucleotide polymorphic loci in CO I gene fragments (387 bp), 2 haplotypes and 21 nucleotide polymorphic loci in 16S rDNA gene fragments (529 bp), 2 haplotypes and 49 nucleotide polymorphic loci in Cyt b gene fragments (383 bp), and 6 haplotypes and 8 nucleotide polymorphic loci in 16S rDNA gene fragments (467 bp). Sequence divergences and genetic distance analysis showed that three mitochondrial gene sequences in the two crossing hybridized generations all showed 100% similarities respectively with the fragments of the female parents, but there were only 90% and 89.4% similarity in CO I, 96% and 96% similarity in 16S rDNA and 87% and 87.2% similarity in Cyt b with their male parents. In nuclear gene Tmo-4c4 there were 98.9% to 99.6% similarity with their female parents and 98.7% to 99.4% similarity with their male parents. The results indicated that there was no remarkable genetic difference. All above results imply that the two crossing grouper hybrids inherited from their female parents in three mitochondrial genes and there is no remarkable genetic difference in nuclear gene Tmo-4c4.

Key words: *Epinephelus moara*; *Epinephelus akaara*; hybridized generations; mitochondrial gene; nuclear gene; genetic variation