

海洋动物线粒体 DNA 研究进展

A PERSPECTIVE OF MITOCHONDRIAL DNA RESEARCH IN MARINE ANIMALS

张国范 常亚青 赵 艳

(大连水产学院养殖系、农业部海洋水产增养殖生态学与应用遗传学重点开放实验室, 116023)

海洋生物分子群体遗传变异的研究在揭示群体分化和鉴定、物种进化的规律及遗传育种方面都有重要的意义。等位基因酶的研究揭示了大量的群体遗传多样性^[1,2]。DNA 分子上核苷酸的顺序通过细胞的转录和转译将 DNA 分子所携带的遗传信息翻译成有机体结构和功能所必需的不同形式的蛋白质(酶)。因此,研究遗传多样性的最终途径将是对 DNA 核苷酸顺序的分析。但要对核 DNA 分子进行测序将是一项非常浩繁的工作。线粒体 DNA 核苷酸相对较少,动物一般为 16~19kb^[18],特别适于通过限制性内切酶的酶切产生不同形式 mtDNA 片段进行顺序分析。对于群体的遗传变异及进化的研究来说,mtDNA 的优点是易于与核 DNA 分离和纯化,一般为母系遗传,不发生重组,同一合子来源的个体各组织器官内结构均一,进化速率比单拷贝的 DNA 要快 5~10 倍^[6,a](10,13)。因此,80 年代后期科学家们就把海洋动物分子群体遗传学研究的注意力转向了 mtDNA 的研究。

mtDNA 研究得比较深入并取得一定成果的海洋动物类群主要是贝类、甲壳类和鱼类。mtDNA 基因组的基本特征是母系遗传及不发生重组,因此,基因组一般都保持同质性。然而在海洋动物却发现在分子间、个体及群体间 mtDNA 基因组存在异质性或趋异性。在大西洋扇贝(*P. lacopecten magellanicus*)的研究发现,其基因组大小是一般脊椎动物的 2 倍(34kb)^[23]。其次是个体间的 mtDNA 长度大小差异非常之大。同一区域内的个体 mtDNA 核苷酸数目可分为 7 级,每一级的变化为 1.2kb。

用 6 种内切酶分析大西洋和太平洋 6 个贻贝(*Mytilus edulis*)群体的 150 个样本发现,在该种内异质性是普遍的。异质体占 57%^[15],每个群体都有 50% 以上异质体。在异质体中具 2,3 和 4 种不同 mtDNA 酶切型式的个体数分别为 72,11 和 2。在 65 个同质体中发现有 9 种不同型式的内切酶识别和切割位点。2 个同质体 mtDNA 分子的比较表明,其酶切位点核苷

酸顺序的趋异性为 $20 \pm 5\%$ (图 1),高于种内群体间的趋异性。

然而分布于英格兰水域内的贻贝(*Mytilus edulis*)和(*M. galloprovincialis*)线粒体 DNA 就没有发现有大小的异质性。在 5 个群体的 187 个样本中发现,有 24 种 mtDNA 单倍型,其中 4 个是最常见的,但其分布频率在各地区间不同^[11]。

美洲鲱鱼(*Alosa sapidissima*)和裸鲈(*Morone saxatilis*)也发现有基因组大小的异质性。美洲鲱鱼(12)在 244 个样本中,有 87% 个体的 mtDNA 为 18.3kb,13% 为 19.8kb。在裸鲈的 44 个样本中,其中有 3 条的基因组平均为 18.00kb,3 条为 17.77kb,25 条为 17.63kb,12 条为 17.65kb^[24]。

P. lacopecten magellanicus 这种变异的主要原因是其 mtDNA 分子上发生衔接重复顺序的拷贝数目不同^[17](图 2)。重复顺序的长度为 1.47kb,每个 DNA 分子这类拷贝数为 2~9 个。贻贝的异质性与衔接重复顺序的拷贝数及核苷酸数有关。美洲鲱鱼变异的原因也是有一个 1.47kb 核苷酸 DNA 的重复顺序的变化。由此发现了 mtDNA 的一种新的遗传变异方式。核苷酸顺序差异的异质性一般小于 1%。

软体动物的扇贝及贻贝和硬骨鱼类的美洲鲱和裸鲈线粒体基因组核苷酸数目的多样性及其形成机制显然不是普遍的。如 *P. lacopecten magellanicus* 异常的 mtDNA 即不是软体动物,也不是扇贝科种类的一般特征。海湾扇贝(*Argopecten irradians*) mtDNA 为 16kb,而冰岛扇贝(*Chlamys islandica*)为 20kb,1.47kb 的重复顺序既非海湾扇贝也非冰岛扇贝所具有。此外,其他扇贝,如 *Crassadoma* sp. 和 *Pecten maxima* 亦未发现这种重复因子^[6]。如果这种重复因子为 *P. magellanicus* 所独有,那么就有必要了解个体及群体中这

收稿日期:1995 年 8 月 28 日

种重复的数量及 m tDNA 重复因子在进化和群体遗传 等方面的作用。

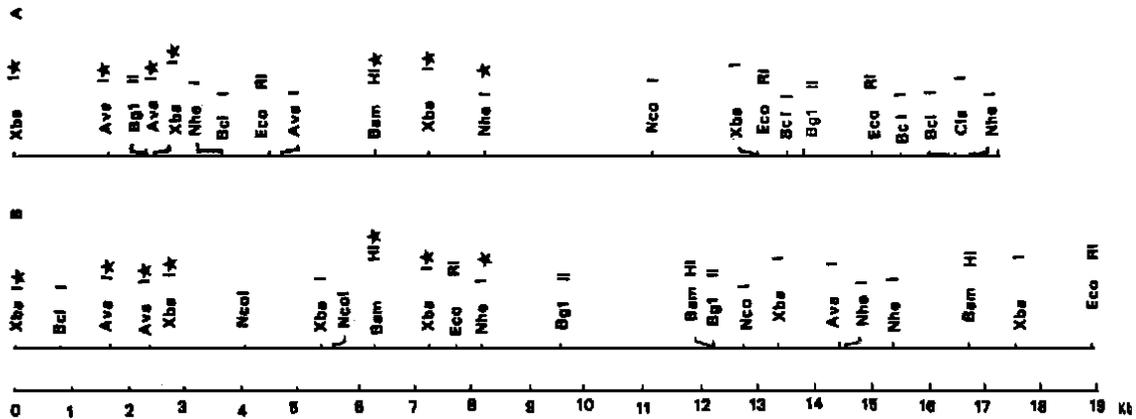


图1 2个 *Mytilus* 个体 m tDNA 酶切直线图谱
A 和 B 的 m tDNA 大小估计值分别为 17.3kb 和 18.9kb, 星号为同源酶

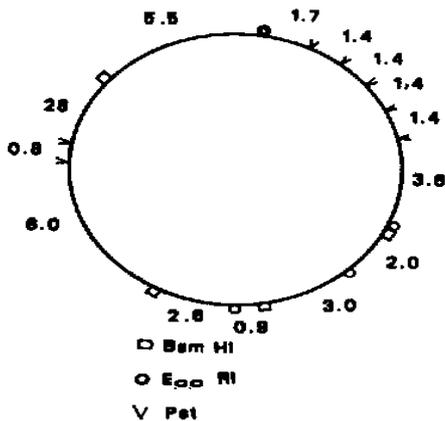


图2 一个典型的 *P. lacopecten magellanicus* 个体的 m tDNA 图谱

严格的母系遗传和在一个个体内只有一种类型的 m tDNA (即同质性) 是动物 m tDNA 遗传的基本特征。然而在贻贝 *Mytilus edulis* 除了群体、个体及分子间普遍存在异质性之外, m tDNA 双亲遗传是继果蝇之后 m tDNA 遗传的又一重要发现^[20]。在一个同源亲体的个体中, 其 m tDNA 等位基因不同, 表现为 m tDNA 的双亲遗传的特性。从研究中发现, 父系线粒体并没有像其他动物那样被从合子排出或降解, 而是同母系线粒体混合起来, 并在形态上与母系线粒体没有差异。双亲遗传可能与 *Mytilus edulis* 和 *M. trossulus* 的种间杂

交有关。但在该项研究中没有纯系亲本群体, 种间杂交导致 m tDNA 双亲遗传的理论还仅是推断的, 还需进一步研究证明。但这一研究结果与果蝇的 m tDNA 双亲遗传的原因是一致的^[15]。

分布于英格兰水域的贻贝 (*Mytilus edulis*) 虽然也与另一种贻贝 (*M. galloprovincialis*) 自然杂交, 但尚未检查双亲遗传的结果^[11]。由此推论, 贻贝由杂交所产生的双亲遗传不仅有种的特异性, 也有种间配合及时空的特异性。

从研究中发现双亲遗传即使在两种贻贝分布的重叠区也不是很普遍的, 仅是少数事件, 但这种现象在其他贝类会不会发生及在 m tDNA 基因组群体和种的进化中的意义是值得研究的。此外, m tDNA 可能与种间杂交有关, 这是否意味这可以作为某些定量性状的遗传标记, 在育种中发挥作用, 也是值得探讨的。

在海洋动物 m tDNA 的研究中发现, 因 m tDNA 的某些酶切位点型式及某些酶切位点的存在与否, 在动物群体有遗传分区现象。

海胆 (*Strongylocentrotus droebachiensis*) 在美国东西海岸群体间 m tDNA 顺序趋异性为 0.001^[20], 美洲牡蛎 (*Crassostrea virginica*) 在美国东海岸群体的 14 个站位 212 个样本中有 82 种单倍型被检测出来, 而所有的牡蛎都可以归为 2 种不同的遗传类型。一类分布于佛罗里达, 另一类分布于大西洋沿岸其他水域, 其平均顺序趋异性为 2.6%。甲壳类种类 m tDNA 也有遗传分区现象, 马蹄蟹 (*Limulus polyphemus*) 在大西洋沿岸从北到南 15 个站位的 99 个样本中 m tDNA 顺序

的差异形成南北两部分,在总共 12 种内切酶的 10 种 m tDNA 型式中,在南乔治亚以北仅发现有 3 种,而另外 7 种发现在这之南,其转折点与暖温带和热带动物区亲的过渡带位置吻合,也与两个遗传上显著差异的美洲牡蛎群体的过渡带相当^[21]。在其他贝类也发现有分区现象^[10]。

在鱼类,分别以 2 种限制性内切酶酶切位点的存在与否为依据对裸鲈(*Xba I* 和 *Rsa I*)^[24]和美洲鲱(*Sal*

I 和 *Kpn I*)^[8]的研究表明,前者完全可以分成墨西哥湾和大西洋近岸两个群体,而美洲鲱的分区证据就不那么令人信服。后来对数据进一步分析证实也是如此^[30]。在近岸定居型的琵琶鱼(*Opsanus tau*)以 *Sta I* 酶切位点的存在与否分为两个群体,而另一种琵琶鱼(*O. beta*)因 *Pst I* 酶切位点而分成墨西哥湾东部和西部群体。大洋性鱼类 m tDNA 遗传分区现象也进行了研究^[7,13,16](表 1)。

表 1 海洋动物 m tDNA 研究总汇

种类	种内趋异性 (%)	内切酶数目和类型	个体数	单倍型	遗传分区频率	作者
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	0.48	11; 5~6-核苷酸	38	0.026~0.237	无	[19]
<i>S. droebachensis</i>	0.11	2; 4-核苷酸	4	0.024~0.537	有	[19]
<i>S. purpuratus</i>	0.99	11; 5~6-核苷酸	16	未测	[22]	
<i>P. laqueatus magellanicus</i>		5; 4-核苷酸	16	未测		
<i>P. yessoensis</i>	0.66	基因组是一般脊椎和无脊椎动物的 2 倍	16	0.0016	有	[9]
<i>Mytilus edulis/gallop rovincialis</i>	未测	8	187	0.02~0.33	有	[10]
<i>M. edulis/trossulus</i>		3; 6-核苷酸				[14]
<i>Crassostrea virginica</i>	2.6	m tDNA 双亲遗传	212	0.050~0.321	有	[20]
<i>P. argus</i>	未测	12; 6-核苷酸	24	未测	暂时性[17]	
<i>Limulus polyphemus</i>	未测	1; 4-核苷酸	99	0.010~0.485	有	[21]
<i>Anguilla rostrata</i>	0.1	6; 6-核苷酸	109	0.009~0.670	无	[3]
<i>Clupea harengus</i>	1.66	11; 5~6-核苷酸	69	0.014~0.174	无	[16]
<i>Alosa sapidissima</i>	未测	3; 4-核苷酸	244	未测	暂时性	[7]
<i>Bevoortia tyrannus</i>	2.4	7; 6-核苷酸	17	0.030~0.061	未测	[4]
<i>B. partronus</i>	2.4	10; 6-核苷酸	16	0.030~0.061	未测	[4]
<i>Merluccius capensis</i>	1.3	18; 6-核苷酸	26	0.038~0.231	无	[6]
<i>M. paradoxus</i>	0.57	11; 6-核苷酸	24	0.042~0.542	无	[6]
<i>Opsanus tau</i>	1.0	11; 6-核苷酸	53	0.019~0.472	有	[4]
<i>Morone saxatilis</i>	0.004	13; 6-核苷酸	43	未测	有	[23]
<i>Katsuwonus pelamis</i>	未测	1; 4-核苷酸	16	未测	无	[13]
<i>Thunnus alalunga</i>	未测	5; 5-核苷酸	23	未测	无	[12]
		5; 4-核苷酸				
		9; 6-核苷酸				
		10; 5~6-核苷酸				
		2; 4-核苷酸				

然而,无论是无脊还是脊椎海洋动物、是定居的还是洄游的海洋动物也都有不分区现象,如海胆(*S. purpuratus*)^[23],黑唇鲍(*Haliotis rubra*)^[18],卤虫(*Rrtemia spp.*)^[5],岩龙虾(*Jasus edwardsii*)^[18],两种鳗(*Anguilla rostrata* 和 *A. anguilla*)和两种定居性鲶鱼

(*Bagre marinus* 和 *Arius felis*)^[4],等都没有明显的分区现象或分区证据不足(表 1)。

一个物种群体分区现象是复杂的进化过程中的一个瞬时状态,从某一时刻看群体的进化是处于稳态的或平衡状态的,但从整个过程看则是将要达到平衡的

一个动态过程。在一个种内群体间所观察到的 m tDNA 亚区可以解释为基因流处于平衡状态的亚区群体间存在部分生殖隔离。在这种情况下,亚区群体内的遗传变异就可能是处于一种不断变化的状态以这种隔离作出反应。尽管海洋存在一种环境匀性效应,但完全的生殖隔离在海洋环境中也是存在的。这种隔离包括陆桥的形成或海底的抬升及某些不易辨查的隔离,包括急骤的温度梯度,营养贫脊的海流等都可能形成完全或不完全的生殖隔离。

平均 m tDNA 顺序多样性就是在一个群体中不同个体线粒体基因组单型体间平均核苷酸数多样性。海洋动物 m tDNA 顺序的多样性可分为三级,基本涵盖了陆生种类整个变化范围。脊椎动物线粒体基因组变异的极大值(*Brevortia* spp. 2.4%)(8)和极小值(*Morone saxatilis*, 0.004%)[24], 种类都发现在海洋。然而,较低的 m tDNA 顺序多样性(小于 1.0%, 主因是突变)的种类在海洋比在陆地更普遍,其原因主要是这些种或群体新近经历过瓶颈事件及特殊家系的死亡等[24]。

根据陆生动物群体 m tDNA 顺序分析的研究成果,预期 m tDNA 基因组的研究对海洋动物群体分化的研究是一种理想的手段[3,16]。然而几年后这方面研究取得的成绩并不大。从表 1 可以看出有一半以上的种类没有分区现象,这可能是真实地反映了实际客观情况,但在某些情况下也可能因为样本数目不足以进行统计分析或没有足够数目的内切酶可供选择。尽管如此,海洋动物 m tDNA 研究也确实取得令人瞩目的成绩,除了一特殊的遗传规律外,也揭示了种类分布区内群体间遗传上的不连续性,而其他手段至今尚未做到这点。此外,鉴于海洋动物某些种类线粒体基因组的可变性比先前研究的陆地和淡水种类要小些。因此,在内切酶的选择时,应选择更敏感的顺序分析方法,即 4-核苷酸而不是 6-核苷酸的酶切位点的内切酶。

m tDNA 的研究虽然耗费较大,但这是一项具前瞻性的研究课题。该项研究除了已应用于进化研究种类的鉴定[21],还应加强与定量性状相关性的研究,以期使其能作为养殖种类性状改良的遗传标记。

主要参考文献

- [1] 张国范等,1993. 海洋科学 5L17~ 21.
- [2] 张国范等,1993. 海洋科学 6: 18~ 21.
- [3] Avise, J. C., 1986. Proceedings of Stock Identification Workshop. U. S. National Oceanic and Atmosphere Administration: 105-136.
- [4] Avise, J. C., et al., 1987. *Evolution* 41: 991-1002.
- [5] Batuecas, B., et al., 1988. *Nucleic Acid Research* 16: 651-665.
- [6] Beaumont, A. R., et al., 1991. *Scallops*. Elsevier 585-612.
- [7] Becker, I. I., et al., 1986. *Heredity* 61: 21-30.
- [8] Bentzen, P., et al., 1988. *Genetics* 118: 509-18.
- [9] Billington, N., et al., 1991. *Can J. Fish Aquat. Sci.* 48 supp(1): 80-94.
- [10] Boulding, E. G., et al., 1993. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 50: 1147-1157.
- [11] Edwards, C. A., et al., 1987. *Marine Biology (Berlin)* 94: 547-56.
- [12] Ferris, S. D., et al., 1987. *Population Genetics and Fishery Management*. University of Washington Press, Seattle, 277-300.
- [13] Graves, J. E., et al., 1989. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 46: 870-873.
- [14] Grewe, P. M., et al., 1994. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 51: 1101-1109.
- [15] Hoch, W. R., et al., 1991. *Science* 251: 1488-1490.
- [16] Kornfield, I., et al., 1987. *National Marine Fisheries Service Fishery Bulletin* 85: 561-568.
- [17] La Roche, J., et al., 1990. *Molecular Biology and Evolution* 7: 45-64.
- [18] Ovenden, J. R., 1990. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 41: 835-853.
- [19] Ovenden, J. R., et al., 1992. *Marine Biology* 112: 319-326.
- [20] Palumbi, S. R., et al., 1990. *Evolution* 44: 403-415.
- [21] Reeb, C. A., et al., 1990. *Genetics* 124: 397-406.
- [22] Snyder, M., et al., 1987. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 84: 7595-7599.
- [23] Vawter, L., et al., 1986. *Science* 234: 194-196.
- [24] Wirgin, I. I., et al., 1986. *Canadian Journal of Zoology* 67: 891-907.