

文章编号: 1000-0615(2008)06-0847-08

基于 16S rRNA 部分序列探讨 12 种鲮科鱼类的 分子系统进化关系

郑文娟^{1,2}, 朱世华^{1,2}, 邹记兴³, 杨迎春^{1,2}, 沈锡权¹

(1. 宁波大学应用海洋生物技术教育部重点实验室, 浙江 宁波 315211;

2. 宁波大学生命科学与生物工程学院生物系, 浙江 宁波 315211;

3. 华南农业大学动物科学学院, 广东 广州 510642)

摘要: 通过 PCR 扩增获得了中国海域的鲮科(Carangidae)8 属 9 种的线粒体 16S rRNA 序列片段约 598 bp 碱基, 结合来自 GenBank 的 3 种鲮科鱼类的相应片段序列, 并以大斑石鲮为外群, 生成供系统发育分析的序列矩阵, 利用 MEGA version 3.0 软件分析序列的碱基组成、差异百分比和转换/颠换值等, 应用最大简约法和邻接法构建系统树。结果显示:(1)鲮科鱼类的 16S rRNA 序列片段生成的序列矩阵中发现有碱基的插入和缺失, 共有 146 bp 变异位点, 转换/颠换值为 2.17, 表明基因序列的突变未达到饱和, 碱基平均差异为 8.22%;(2)支持鲮科下设四个亚科(鲮亚科, 鲮亚科, 鲮亚科, 鲮亚科)阶元的分类系统;(3)鲮亚科鲮属下不宜设亚属分类阶元;(4)及达副叶鲮与丽叶鲮亲缘关系近, 16S rRNA 序列片段碱基只有 1.07% 的差异, 未达到分属水平。

关键词: 鲮科; 线粒体 DNA; 16S rRNA 序列; 系统发育

中图分类号: S 917

文献标识码: A

鲮科(Carangidae)属鲈形目(Perciformes), 是重要的海水经济鱼类, 广泛分布在世界的三大洋(印度洋、太平洋、大西洋), 尤其是热带或亚热带海域。目前, 多数学者认为全世界鲮科鱼类分成四个亚科(鲮亚科、鲮亚科、鲮亚科和鲮亚科), 32 属约 140 种^[1-2], 中国分布有 21 属 58 种^[3], 也有学者认为有 74 种^[4]。基于形态的传统分类与基于分子遗传水平构建的鲮科四个亚科的系统关系存在争议^[5-10], 同时鲮科鱼类由于同种异名和异种同名的现象比较多, 如: 及达副叶鲮、丽叶鲮等鲮科鱼类的属种分类关系问题就存在较大争议^[2,5,11]。目前, 鲮科鱼类亚科之间及属种之间的系统关系仍不明确, 国外对鲮科的分子分类及系统关系问题的研究报道也很少^[10,12-14]。

随着现代分子生物学技术高速发展, 通过获得物种特定遗传标记的大量数据, 构建系统进化树, 可以对传统分类提供重要佐证以及补充或修正。线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 作为分子标记已成为分子系统学研究中的热点^[15-19]。而 mtDNA 的 16S rRNA 序列是非编码蛋白质基因, 由于未受密码子编码的选择压力影响, 其大部分区域发生的变异为中性突变, 加之 mtDNA 进化速度明显大于细胞核 DNA, 因此利用线粒体 rRNA 序列同源性比较研究物种间的系统进化关系具有一定的优越性^[20], 在鱼类中, 线粒体 16S rRNA 序列也被广泛用于研究不同阶元的系统发育关系^[21-22]。本研究测定了分布于我国的 9 种鲮科鱼类的 16S rRNA 序列片段, 并结合从 GenBank 中下载的 3

收稿日期: 2007-09-22

资助项目: 国家自然科学基金(30771652); 华南农业大学校长基金(K06141)

作者简介: 郑文娟(1982-), 女, 浙江湖州人, 硕士, 从事鱼类分子遗传的研究, E-mail: zhengwj37965@126.com

通讯作者: 邹记兴, E-mail: zoujixing@scau.edu.cn

种鲹科鱼类和作为外类群大斑石鲈(*Pomadasys maculatus*)的16S rRNA序列相应片段进行了比较分析,再运用最大简约法(MP)和邻接法(NJ)来构建分子系统树,以此探讨鲹科鱼类的分子系统发育。

1 材料与方法

1.1 材料

研究直接测定了中国鲹科鱼类的8属9种,并结合从GenBank下载3种鲹科的16S rRNA序列相应片段,总共形成10属12种鲹科鱼类一起进行分析,以同为鲈形目石鲈科的大斑石鲈作为外类群(表1)。

1.2 方法

基因组DNA提取和PCR扩增 基因组

DNA从保存于95%乙醇的肌肉样品中提取,采用苯酚/氯仿抽提法^[18]。用于PCR扩增的引物为16SAR(5'-GCC TGT TTA TCA AAA ACA T-3')和16SBR(5'-CCG GTC TGA ACT CAG ATC ACG T-3')^[23]。PCR反应的模板DNA约为100 ng,反应体系总体积为50 μ L,其中10 \times Ex Taq Buffer 5 μ L, dNTPs 2 μ L(各2.5 mmol \cdot L⁻¹),引物各1 μ L(20 μ mol \cdot L⁻¹), Ex Taq酶0.3 μ L(2 U)。PCR反应条件为:94 $^{\circ}$ C预变性4 min;94 $^{\circ}$ C变性45 s,52 $^{\circ}$ C退火45 s,72 $^{\circ}$ C延伸1 min,34个循环,最后72 $^{\circ}$ C延伸10 min。每次反应设立不含DNA模板的空白对照,扩增产物经1%的琼脂糖凝胶电泳检测。

表1 鲹科鱼类材料和数据来源

Tab. 1 The origins of tissue samples of Carangidae fishes and DNA data

亚科 subfamilies	属 genera	种 species	登录号 GenBank Accession	
鲹亚科 Caranginae	丝鲹属 <i>Alectis</i>	长吻丝鲹 <i>A. indica</i> , Rüppell	EF613265*	
	副叶鲹属 <i>Alepes</i>	及达副叶鲹 <i>A. djedaba</i> , Forsskål	EF613269*	
		丽叶鲹 <i>A. kleinii</i> , Bloch	EF613264*	
		鲹属 <i>Caranx</i>	黑尻鲹 <i>C. melampygus</i> , Cuvier	AP004445
	若鲹属 <i>Carangoides</i>	甲若鲹 <i>C. armatus</i> , Rüppell	AP004444	
		长吻若鲹 <i>C. chrysophrys</i> , Cuvier	EF613267*	
		圆鲹属 <i>Decapterus</i>	蓝圆鲹 <i>D. maruadsi</i> , Temminck and Schlegel	EF613266*
		细鲹属 <i>Selaroides</i>	金带细鲹 <i>S. leptolepis</i> , Cuvier	EF613270*
	鲷亚科 Seriolinae	竹筴鱼属 <i>Trachurus</i>	竹筴鱼 <i>T. japonicus</i> , Temminck and Schlegel	AP003091
条鲷属 <i>Zonichthys</i>		黑纹条鲷 <i>Z. nigrofasciata</i> , Rüppell	EF613271*	
鲳鲹亚科 Trachinotinae	鲳鲹属 <i>Trachinotus</i>	狮鼻鲳鲹 <i>T. blochii</i> , Lacepède	EF613263*	
鲭鲹亚科 Chorineminae	鲭鲹属 <i>Scomberoides</i>	康氏似鲹 S.		
		<i>commersonianus</i> Lacepède	EF613268*	
石鲈科 Pomadasyidae	石鲈属 <i>Pomadasys</i>	大斑石鲈 <i>P. maculatus</i> , Bloch	AF247443	

注: * 为本实验材料

Notes: * The sequences were sequenced in this study

PCR 产物电泳割胶回收,用凝胶纯化试剂盒(上海申能)纯化,与 pUCm-T 载体(上海生工)连接,转化感受态细胞 DH α 5,筛选阳性克隆子,提取克隆质粒,用 M13 引物在自动测序仪(Applied Biosystems 3730,上海英俊)正反双向测序,以保证所测序列的准确性。

序列分析 测序后的序列,删除引物序列,与 GenBank 下载的序列一起用 Clustal W 排序,生成供系统发育分析的矩阵。利用 MEGA version 3.0 软件分析序列的碱基组成和差异百分比、变异位点、简约信息位点数、转换/颠换值。系统分析用最大简约法(MP)和邻接法(NJ)。系统分析与分子进化分析使用软件包 PAUP Version 4.0 b10^[24]。最大简约法(MP)分析使用启发式搜寻(heuristic search),参数设置为:1 000 random stepwise addition sequence replicates,构树方法采用 tree bisection reconnection(TBR),所有数据未加权。邻接法分析使用 Kimura 2-parameter。系统树分支的置信度采用重复抽样分析(Bootstrap analysis)的方法,重复抽样的次数为 1 000 次^[25]。

2 结果

2.1 鲮科鱼类 16S rRNA 序列特征

16S rRNA 序列经 PCR 扩增、回收、克隆,本实验测定的 9 种鲮科鱼类得到长 598 bp 的碱基序列,与 GenBank 下载的 3 种鲮科鱼类 16S rRNA 序列一起读入 Clustal W 中排序,生成供系统发育分析的序列矩阵中序列长度共有为 608 bp 碱基,其间存在插入和缺失现象,主要集中在 245~280 bp 和 370~380 bp 两个区域,此外共有 146 bp 变异位点,其中简约信息位点为 78 个 bp。所得到的 16S rRNA 序列中 T、C、A、G 碱基平均含量分别为 23.4%、26.1%、28.6%、21.9%,其中 A + T 的含量(52.0%)高于 G + C 含量(48.0%),但总体上看碱基组成的差别并不大,这在其它鱼类也出现类似情况^[23,26]。

除去外类群,所分析的鲮科鱼类碱基差异为 1.07%~14.00%,平均差异为 8.22%。其中及达副叶鲮与丽叶鲮之间碱基差异最小,只有 1.07%,从表 2 中我们可以看出鳍鲮亚科的康氏似鲮与其他鲮科鱼类的碱基差异都很大。

表 2 鲮科和外群的 16S rRNA 部分序列的碱基差异百分比(下三角)和转换/颠换(上三角)

Tab. 2 Percentage divergence(below diagonal) and number of transitions/transversions (above diagonal) for partial 16S rRNA sequences in Carangidae and the outgroup

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1		20/8	19/8	23/8	17/4	19/1	16/6	26/11	14/10	29/22	26/19	36/29	42/33
2	5.13		6/0	18/4	27/12	27/9	21/10	22/5	20/10	29/22	32/19	42/27	40/27
3	4.94	1.07		16/4	26/12	27/9	23/10	23/5	20/10	30/22	27/19	39/27	41/27
4	5.71	4.01	3.63		23/10	19/9	19/12	21/5	20/12	36/22	28/19	38/27	40/29
5	3.82	7.26	7.06	6.09		9/5	20/8	27/13	20/12	27/22	27/17	36/25	48/33
6	3.64	6.68	6.68	5.12	2.51		23/7	22/10	24/9	23/23	29/20	34/28	43/34
7	4.00	5.70	6.09	5.69	5.13	5.52		29/13	8/6	32/20	30/19	41/29	41/31
8	6.87	4.95	5.15	4.76	7.45	5.89	7.85		33/11	28/23	28/18	41/26	39/30
9	4.36	5.50	5.50	5.88	5.88	6.09	2.51	8.27		36/18	33/17	41/25	44/29
10	9.61	9.61	9.81	11.06	9.20	8.59	9.83	9.60	10.26		39/17	43/29	46/31
11	8.41	9.63	8.61	8.81	8.22	9.21	9.22	8.62	9.44	10.69		38/22	48/26
12	12.48	13.37	12.72	12.50	11.67	11.85	13.56	12.95	12.74	14.00	11.49		37/38
13	14.62	12.93	13.15	13.35	15.97	15.05	13.98	13.34	14.23	15.09	14.49	14.57	

Codes 1-13: *A. indica*, *A. djedaba*, *A. kleinii*, *C. melampygus*, *C. armatus*, *C. chrysophrys*, *D. maruadsi*, *S. leptolepis*, *T. japonicus*, *Z. nigrofasciata*, *T. blochii*, *S. commersonianus*, *P. maculatus*

序列中的转换明显比颠换多,转换/颠换(Ts/Tv)比值平均为 2.17 (Kimura 2-

parameter),通常认为 Ts/Tv 大于 2.0 时,基因序列的突变未达到饱和^[27]。

2.2 系统发育分析

基于鲙科鱼类的 16S rRNA 部分序列片段, 以大斑石鲙为外类群对鲙科进行系统发育分析。应用 MP 法构建了分子系统发育关系树(图 1), 最大简约树树长是 334, $CI = 0.6437$, $RI = 0.4893$ 。用 1 000 次 Bootstrap(BP)表示统计分析后对该支的支持百分数, 其数值标于树枝的上面。鲙科鱼类分成四支: 鲙亚科、鲙亚科、鲙亚科、鲙亚科, 这四个亚科鱼类之间的关系为:

鲙亚科与鲙亚科形成姐妹群($BP = 41$), 鲙亚科再与他们聚在一起($BP = 50$), 鲙亚科处于鲙科类群的基部, 与前面三个亚科聚在一起 ($BP = 65$)。鲙亚科被分为三支:(A)丝鲙属, 若鲙属; (B)竹筴鱼属, 圆鲙属; (C)鲙属, 细鲙属, 副叶鲙属。

基于 NJ 法所构建的系统树的拓扑结构与 MP 所构建的系统树相同, 只是其置信度值与 MP 树有所不同(图 2)。

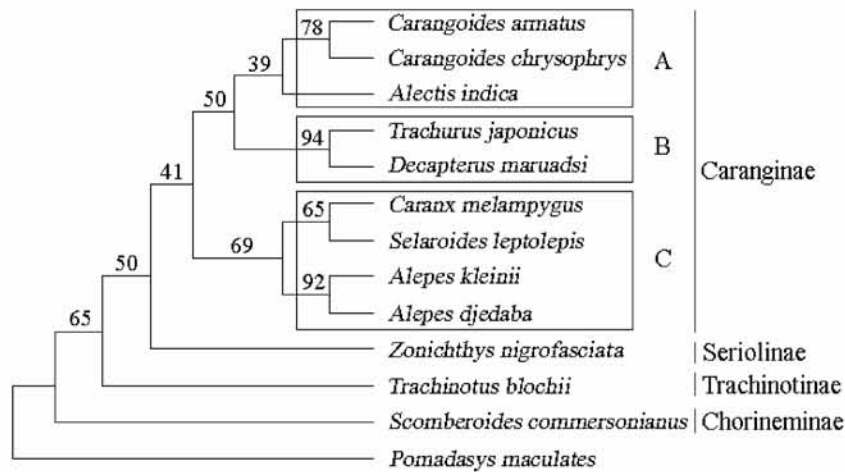


图 1 基于鲙科鱼类 16S rRNA 部分序列通过最大简约法构建的分子系统树(枝上数字为 MP 置信度值)

Fig. 1 Molecular phylogenetic tree on the partial 16S rRNA sequences of Carangidae fishes constructed by MP method of PAUP Version 4.0 b 10 with Bootstrap Test (1 000 replications). The values of bootstrap confidence level (BCL) of nodes are indicated above the branch

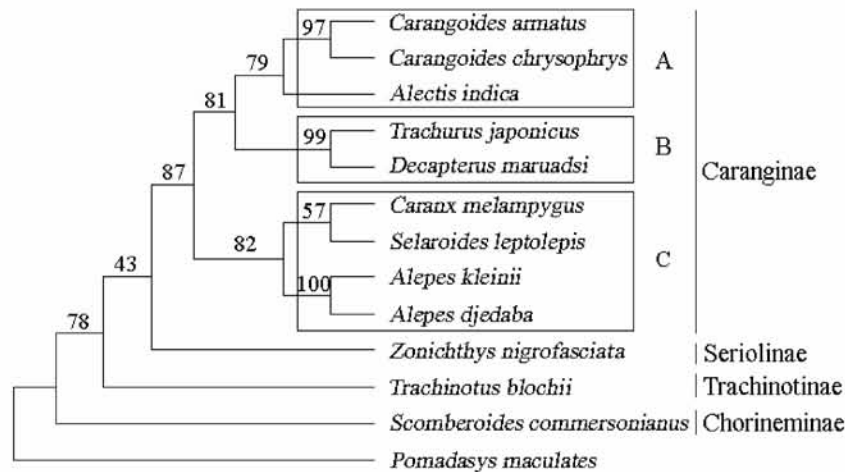


图 2 基于鲙科鱼类 16S rRNA 部分序列通过邻接法构建的分子系统树(枝上数字为 NJ 置信度值)

Fig. 2 Molecular phylogenetic tree on partial 16S rRNA sequences of Carangidae fishes constructed by Neighbor-Joining method of PAUP Version 4.0 b 10 with Bootstrap Test (1 000 replications).

The values of bootstrap confidence level (BCL) of nodes are indicated above the branch

3 讨论

3.1 鲹科鱼类亚科间的关系问题

本研究结果中 MP 和 NJ 系统树的拓扑结构总体趋势一致:鲹科鱼类分成四亚科:鲹亚科、鲷亚科、鲳亚科、鲙亚科,而这四亚科鱼类之间的关系为:鲹亚科与鲷亚科形成姐妹群,鲳亚科再与他们聚在一起,鲙亚科与前面三个亚科聚在一起,本实验室通过 Cyt *b* 基因全序列的分析也得出了相同的结果^[14],这与国外学者利用最大简约法(MP)、最大似然法(ML)以及 Bayesian 方法构建了部分鲹科鱼类基于 Cyt *b* 全序列的分子系统树所得到的结果相似^[10],这些结果在一定程度上从分子水平客观地再现了鲹科亚科间关系。而与传统的形态分类有较大的出入,早期我国学者认为鲹科中鲳亚科与鲷亚科先聚类,然后与鲙亚科相聚,最后与鲹亚科聚在一起^[5-6]。国外学者综合形态特征分析认为鲹亚科和鲷亚科为一个姐妹群,而鲳亚科和鲙亚科之间的关系以及两者与前两个亚科间的关系没有解决^[7];Gushiken^[9]认为鲹亚科和鲷亚科亲缘关系相近为姐妹群,鲳亚科和鲙亚科亲缘关系相近为姐妹群。在鲹科鱼类生长发育的进程中,由于体形和体色随着生长而有很大变化,同一种鱼在幼鱼和成鱼阶段鉴别困难,这预示着形态鉴定很难客观地反映亚科关系。由于分别基于形态与分子遗传差异构建的鲹科亚科间系统聚类关系不一致,导致我国部分学者^[4]及日本学者^[28]等采用鲹科下不设亚科的做法。但亚科分类阶元的设置无疑对种类繁多的鲹科分门别类具有一定的优势:从本文 MP 树和 NJ 树的四大分支明显分为四大单系群,以及相关文献^[10]分子系统发育分析的结果基本一致的情况来看,鲹科分成四个亚科具有内在的客观依据。为此,本文与部分学者^[1-3]一样支持鲹科下设亚科分类系统。

3.2 鲹亚科鱼类的属间关系问题

本研究结果显示了鲹亚科鱼类形成单系群,且处于系统进化树的顶端,代表着最新演化的种类,也是鲹科中最繁杂的一个亚科。鲹亚科包含多种体形的鱼类,形态鉴别困难,而且系统进化关系没有深入研究。

鲹亚科中最大的属是鲹属,我国学者^[5-6]将其分成裸胸鲹亚属(*Citula*)、尾甲鲹亚属

(*Uraspis*)、若鲹亚属(*Carangoides*)、鲹亚属(*Caranx*)、叶鲹亚属(*Atule*)、长吻鲹亚属(*Longirostrum*)六个亚属。但在本研究中属于上述鲹属不同亚属的种类却聚在不同的支上:甲若鲹、长吻若鲹与丝鲹属(*Alectis*)的种类聚在 A 支,而黑尻鲹、丽叶鲹、及达副叶鲹却与细鲹属(*Selaroides*)的种类聚在 C 支上,从而与前者观点^[5]将鲹属再分亚属的观点不一致。目前亚属分类阶元被采用的很少^[4],大部分文献^[2-3,28-29]是将上述鲹属拆分,除原有鲹亚属升为鲹属外,其余分别升为相应的属,这就与本文中鲹亚科属间水平 A、B、C 三支的聚类结果相吻合,因此利用 16S rRNA 部分序列所构建的鲹科系统进化关系支持将鲹属拆分、亚属分别升为相应属的学术观点。

3.3 丽叶鲹与及达副叶鲹的分类地位

围绕叶鲹属与副叶鲹属的属种定名及其检索系统较为混乱:副叶鲹属 *Alepes* 在 1839 年由 Swaison 首先提出,叶鲹属 *Atule* 于 1922 年由 Jordan 命名,但至今两属同种异名或无效种名繁多^[2,5,29-30]。我国有的学者^[5-6]把叶鲹属作为鲹属中的叶鲹亚属,把及达副叶鲹作为及达叶鲹 *Atule djeddaba*,与丽叶鲹 *Atule kalla* 一起归入叶鲹亚属(*Atule*)。伍汉霖等^[2]把成庆泰和郑葆珊^[5]界定的鲹属叶鲹亚属升为叶鲹属,丽叶鲹 *Atule kalla* 仍归为叶鲹属下,把及达副叶鲹 *Alepes djeddaba* 归入到副叶鲹属 *Alepes*,也有人把副叶鲹属翻译成虾鲹属(*Shrimp scad*)^[3]。Lin and Shao^[11]、沈世杰等^[30]以及 Smith-Vaniz (2000)^[11,30-31]把及达副叶鲹和丽叶鲹都归入到副叶鲹属 *Alepes*,认为丽叶鲹的学名应为:*Alepes kleinii*,而网络资料 http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=621130 中也确认 *Alepes kleinii* 为丽叶鲹有效种名。及达副叶鲹(*Alepes djeddaba*)出现的异名也有很多:*Alepes djeddaba*、*Atule djeddaba*、*Caranx (Atule) djeddaba* 等,有学者认为以上异名是无效的(见:<http://fishdb.sinica.edu.tw/2001new/fishpic.asp?gen=Alepes&spe=djeddaba>)。

从上可见,丽叶鲹与及达副叶鲹的分类归属问题至今还没有完全解决。而从形态分析结合本文的结果,可以找到解决的途径:首先,从形态上看,副叶鲹属颌齿 1 行,数多,呈梳状;而叶鲹属颌

齿尖细,上颌齿 1~2 行,或细带状,下颌齿 1~3 行,且第二背鳍和臀鳍的最后鳍条呈不分离小鳍状^[3]。依据文献^[5,29] 鉴定标本,凡检索记录的丽叶鲮上、下颌齿均单列,与文献^[5,29] 记录结果相似,而与文献^[6] 描述的结果有出入。尽管文献^[6] 认为丽叶鲮上颌齿细带状 1 列,下颌齿 1-2 列,个别甚至 3 列,但无论直接鉴定标本还是文献检索中的描述均未发现丽叶鲮有“第二背鳍和臀鳍的最后鳍条呈不分离小鳍状”的现象。从上看出,将丽叶鲮归入叶鲮属确实有些勉强。丽叶鲮与副叶鲮属的及达副叶鲮形态有诸多相似之处,如:体呈椭圆形;脂性眼睑发达,覆盖眼之后半部;体被圆鳞,胸部完全具鳞;体被呈黄绿色,腹部银白;鳃盖后缘上方都有一个黑斑,而且第二背鳍和臀鳍的最后鳍条没有呈不分离小鳍状,等等。所以,将丽叶鲮并入副叶鲮属可能更为合适。至于早期文献提出颌齿数量变动的问题^[6],可能是个别种类变异的结果,有待采集更多标本进行分析。其次,从分子水平看,在本文 MP 树和 NJ 树中,依据文献^[5,29] 鉴定的副叶鲮属的及达副叶鲮及叶鲮属的丽叶鲮以很高的支持率(MP - BP = 92, NJ - BP = 100) 首先聚在一起,两者碱基差异只有 1.07%,也远低于鲮科各属间的碱基平均差异(8.22%),此外及达副叶鲮与丽叶鲮的 *cyt b* 序列的碱基差异只有 12.03%,低于鲮科各属间的碱基平均差异(22.19%),鲮科 *cyt b* 序列中最小的属间差异是圆鲮属与竹筴鱼属之间为 14.82%^[14]。由此推测丽叶鲮和及达副叶鲮可能是同属下的不同种。

综合上述形态和分子水平的分析结果:及达副叶鲮与丽叶鲮亲缘关系较近,两者差异没有达到分属水平,推测是同一属的两个不同种。鉴于它们的主要特征与副叶鲮属更为接近,所以应归入副叶鲮属,并建议将丽叶鲮的中文名改为“丽副叶鲮(*Alepes kleinii*)”。

参考文献

- [1] Nelson J S. Fishes of the World. Third edition [M]. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1994:600.
- [2] 伍汉霖,邵广昭,赖春福. 拉汉世界鱼类名典 [M]. 台北:水产出版社,1999:26,944,1015.
- [3] 孟庆闻,苏锦祥,缪学祖. 鱼类分类学 [M]. 北京:中国农业出版社,1995,659-676.
- [4] 黄宗国. 中国海洋生物种类与分布 [M]. 北京:海洋出版社,1994,700-702.
- [5] 成庆泰,郑葆珊. 中国鱼类系统检索 [M]. 北京:科学出版社,1987,305-315.
- [6] 中国科学院动物研究所,中国科学院海洋研究所,上海水产学院主编. 南海鱼类志 [M]. 北京:科学出版社,1962,355-404.
- [7] Smith-Vaniz W F. Carangidae: relationships[M]// Moser H G, Richards W J, Cohen D M, Fahay M P, Kendall A W, Richardson S L. (Eds.), Ontogeny and Systematics of Fishes. Am Soc Ichthyol Herpetol Spec Publ, 1984,1:522-530.
- [8] Kijima A, Taniguchi N, Ochiai A. Genetic relationships in the family Carangidae[C]// Uyeno T, Arai R, Taniuchi T, Matsuura K. (Eds.), Indo-Pacific Fish Biology: Proceedings of the Second International Conference on Indo-Pacific Fishes. Tokyo: Ichthyological Society of Japan, 1986, 840-848.
- [9] Gushiken S. Phylogenetic relationships of the Perciformes genera of the family Carangidae [J]. Jap J Ichthyol, 1988,34:443-461.
- [10] Reed D L, Carpenter K E, deGravelle M J. Molecular systematics of the Jacks (Perciformes: Carangidae) based on mitochondrial cytochrome b sequences using parsimony, likelihood, and Bayesian approaches [J]. Mol Phylogenetics, 2002,23:513-524.
- [11] Lin P L, Shao K T. A review of the carangid fishes (family Carangidae) from Taiwan with description of four new records [J]. Zoological Studies, 1999, 38(1):33-68.
- [12] Reed D L, deGravelle M J, Carpenter K E. Molecular systematics of *Selene* (Perciformes: Carangidae) based on cytochrome b sequences [J]. Mol Phylogenetics Evol, 2001,21:468-475.
- [13] Cardenas L, Hernandez C E, Poulin E, et al. Origin, diversification, and historical biogeography of the genus *Trachurus* (Perciformes: Carangidae) [J]. Mol Phylogenetics Evol, 2005,35:496-507.
- [14] 朱世华,郑文娟,邹记兴,等. 基于细胞色素 b 序列对鲮科的分子系统发育分析 [J]. 动物学报, 2007, 53(4):641-650.
- [15] Miya M, Nishida M. Use of mitogenome information in teleostean molecular phylogenetics: A tree-based exploration under the maximum-parsimony optimality criterion [J]. Mol Phylogent

- Evol, 2000, 17:437 - 455.
- [16] Miya M, Kawaguchi A, Nishida M. Mitogenomic exploration of higher teleostean phylogenies: a case study formoderate-scale evolutionary genomics with 38 newly determined complete mitochondrial DNA sequences [J]. Mol Biol Evol, 2001, 18:1993 - 2009.
- [17] Miya M, Takeshima H, Endo H, *et al.* Major patterns of higher teleostean phylogenies: a new perspective based on 100 complete mitochondrial DNA sequences [J]. Mol Phylogenet Evol, 2003, 26:121 - 138.
- [18] 项方,邹记兴,邓凤姣,等. 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 [J]. 动物学杂志, 2004, 39(5): 13 - 18.
- [19] 朱世华,杨迎春,郑文娟,等. 从细胞色素 *b* 部分序列探讨石斑鱼属的分子系统发育关系 [J]. 水生生物学报, 2006, 30(4): 432 - 438.
- [20] 李俊兵,王绪祯,何舜平,等. 16S rRNA 基因序列变异和中国野鲮亚科鱼类单系性研究 [J]. 自然科学进展, 2005, 15(1): 46 - 52.
- [21] 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.
- [22] Near T J, Pesavento J J, Cheng C H C. Phylogenetic investigations of Antarctic notothenioid fishes (Perciformes: Notothenioidei) using complete gene sequences of the mitochondrial encoded 16S rRNA [J]. Mol Biol Evol, 2004, 32: 881 - 891.
- [23] 蒙子宁,庄志猛,丁少雄,等. 中国近海 8 种石首鱼类的线粒体 16S rRNA 基因序列变异及其分子系统进化 [J]. 自然科学进展, 2004, 14(5): 514 - 521.
- [24] Swofford D L. PAUP *: Phylogenetic analysis using parsimony (* and Other Methods), Version 4.0 b 10 [M]. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA, US. 2002.
- [25] Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment [J]. Briefings in Bioinformatics, 2004, 5: 150 - 163.
- [26] 丁少雄,王颖汇,王军,等. 基于 16S rDNA 部分序列探讨中国近海 30 种石斑鱼类的分子系统进化关系 [J]. 动物学报, 2006, 52(3): 504 - 513.
- [27] 周发林,江世贵,苏大风,等. 6 种笛鲷属鱼类线粒体 16S rRNA 基因片段的序列比较 [J]. 中国水产科学, 2004, 11(2): 99 - 103.
- [28] Masuda H, Amaoka K, Araga C, *et al.* The Fishes of the Japanese Archipelago [M]. Japan: Tokai University Press, 1984: 137.
- [29] Van der Elst R. A guide to the common sea fishes of Southern Africa [M]. Struick, Cape Town, 1981: 111 - 135.
- [30] 沈世杰,李信徽,邵广昭,等. 台湾鱼类志 [M]. 台北:台湾大学动物系, 1993: 331 - 341.
- [31] Randall J E, Lim K K P. A checklist of the fishes of the South China Sea [J]. Raffles Bull Zool, 2000, (8): 569 - 667.

Molecular phylogenetic relationship of Carangidae based on partial sequence of mitochondrial 16S ribosomal RNA gene

ZHENG Wen-juan^{1,2}, ZHU Shi-hua^{1,2}, ZOU Ji-xing³,
YANG Ying-chun^{1,2}, SHEN Xi-quan¹

(1. Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology Certificated by Ministry of Education,
Ningbo University, Ningbo 315211, China;

2. Department of Biology, Faculty of Life Science and Biotechnology,
Ningbo University, Ningbo 315211, China;

3. College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The classification and evolutionary relationship of Carangidae have remained much controversy between conventional morphological studies and molecular phylogenetic studies. In this study, the 16S ribosomal RNA partial sequences of 9 species of 8 genera from Carangidae in China sea were amplified using PCR technique. Approximately, 598 bp gene fragments were obtained. The resulting data were combined with *Pomadasys maculates* designed outgroup and additional homologous sequences of 3 species from Carangidae downloaded from GenBank to form the analysis matrix. Nucleotide composition frequencies, Kimura-2 parameter genetic distance and transition/transversion ratios were analyzed with the MEGA 3.0 software. Molecular phylogenetic trees were constructed by maximum parsimony (MP) and neighbor-joining (NJ) methods. The results were as follows: (1) There were insertions and deletions of base pairs in the aligned base pairs. 146 bp variable sites were found in the the analysis matrix. The average ts/tv ratio among all pairwise comparisons was 2.17, suggesting that the sequences had not reached saturation. The average percentage divergence was 8.22%; (2) Fish classification system of Carangidae classified four subfamilies as Caranginae, Seriolinae, Trachinotinae, Chorineminae was acceptable, according to the partial sequence of mitochondrial 16S ribosomal RNA gene; (3) It's improper to define subgenus in Caranx of Caranginae; (4) *Alepes djeddaba* and *Alepes kleinii* had a close relationship, and should belong to the same Alepes genus, as the difference of partial 16S ribosomal RNA gene between them was only 1.07%.

Key words: Carangidae; mitochondrial DNA (mtDNA); 16S ribosomal RNA (16S rRNA); molecular phylogeny