

鲷亚目鱼类线粒体 16S rRNA 基因序列变异 及其分子系统进化关系

吴仁协¹, 李超¹, 刘静^{2*}

(1. 广东海洋大学水产学院, 广东 湛江 524088;

2. 中国科学院海洋研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 为探讨鲷亚目鱼类的系统进化关系, 通过测定中国沿海 8 种鲷亚目鱼类的线粒体 16S rRNA 基因部分序列, 并结合 GenBank 上其他鲷亚目鱼类的同源序列, 对其序列变异和分子系统进化树进行分析。结果表明, 鲷亚目 5 科 13 属 32 种鱼类的 16S rRNA 基因序列的碱基组成为 T 22.2%、C 24.5%、A 30.0%、G 23.3%; 科间遗传距离为 0.060~0.120, 属间遗传距离为 0.009~0.125, 种间遗传距离为 0.000~0.163; 长鲷科位于系统进化树的基部, 鲷科的鲷属处于系统进化树的顶端, 无齿鲷科、方尾鲷科、双鳍鲷科与鲷科的低鳍鲷属和真鲷属聚类。结合形态学研究结果, 认为: 长鲷科是鲷亚目中最先分化的原始单系群; 无齿鲷科和方尾鲷科为单系群, 它们与非单系群的双鳍鲷科有较近的亲缘关系; 鲷科为并系群, 内部存在与地理区系相对应的 2 个分支, 提示了该科鱼类早期的分化模式。同时, 也对 16S rRNA 基因在鲷亚目鱼类系统进化研究中的适用性进行了剖析。

关键词: 鲷亚目; 线粒体 16S rRNA; 序列变异; 系统进化

中图分类号: Q 785; S 917.4

文献标志码: A

鲷亚目 (Stromateoidei) 隶属于硬骨鱼纲 (Osteichthyes)、鲈形目 (Perciformes), 广泛分布于世界各大洋的热带和亚热带的近岸和大洋海域。据 Nelson^[1] 统计, 世界范围内鲷亚目鱼类有 6 科 16 属约 70 种, 其中分布于中国沿海有 4 科 8 属 23 种^[2]。鲷亚目鱼类经济价值高, 尤其是鲷属 (*Pampus*) 更是名贵的食用经济鱼类, 其数量和产量都非常可观^[3-4]。此外, 大多数鲷亚目鱼类在其生长过程中与水母有着密切关系, 是研究近海水母爆发机理和生态环境效应的理想材料^[5], 在世界海洋渔业资源和近岸海洋生态系统中占有非常重要地位。

鲷亚目鱼类具有很高的形态多样性。从整个亚目来看, 鲷亚目鱼类外部特征变异很大, 从有腹鳍、身体中等侧扁的一般形态如栉鲷属

(*Hyperoglyphe*), 到无腹鳍、有很长的背鳍和臀鳍、身体极侧扁的高度特化形态如鲷属^[6]; 从属级阶元来看, 同一属鱼类外部形态差异小, 可供鉴别的特征少, 如鲷属^[3]; 从物种水平来看, 同一种鱼不同发育阶段其形态有变异, 如纵带真鲷 (*Stromateus fiatola* Linnaeus, 1758) 幼鱼阶段腹鳍存在, 成鱼腹鳍消失。因此, 有关鲷亚目科属的划分及其系统进化研究一直备受研究者的关注。

鲷亚目鱼类的早期研究以形态分类和新种描述为主^[7-8], 并认为鲷亚目仅包含鲷科 (Stromateidae)^[9-10]。随着新物种的不断发表, 鲷亚目的分科也愈来愈细, 逐渐建立了阿玛鲷科 (Amarsipidae)、无齿鲷科 (Ariommidae)、长鲷科 (Centrolophidae)、双鳍鲷科 (圆鲷科) (Nomeidae) 和方尾鲷科 (Tetragonuridae)^[11-13]。

收稿日期: 2012-05-21 修回日期: 2012-07-03

资助项目: 国家自然科学基金项目 (31172053, 41006084); 广东省教育厅引进人才专项基金 (0909128); 广东省高校优秀青年创新人才培养计划项目 (LYM10088); 广东省自然科学基金项目 (10152408801000013); 海洋渔业科学与技术浙江省重中之重学科开放课题 (20100116); 广东海洋大学引进人才启动经费 (1112259)

通信作者: 刘静, E-mail: jliu@qdio.ac.cn

Haedrich^[11]首次对鲷亚目进行了比较全面的系统分类整理,并提出鲷亚目分为两支的系统进化关系假说。邓思明等^[13]也将中国鲷亚目 4 个科分为两大群系,但他认为无齿鲷科是较原始类群、长鲷科为最特化类群的进化地位与 Haedrich^[11]的观点不一致。最近,Doiuchi 等^[6]采用 mtDNA 序列(16S rRNA、COI、Cyt b)首次较系统地研究了鲷亚目鱼类的分子系统进化关系,但其外群使用的合理性遭到质疑^[14],且部分科、属的种类较少,其研究结果可能有所偏颇,所得出的鲷亚目系统进化关系需要进一步探讨。本研究通过测定中国沿海 8 种鲷亚目鱼类的线粒体 16S rRNA 基因部分序列,结合已报道的鲷亚目鱼类同源序列,研究鲷亚目鱼类科、属的系统进化关系和进化地位,并探讨 16S rRNA 基因在该亚目的系统进化研究中的适用性。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究所用的 8 种鲷亚目鱼类 57 个个体于 2009 年 8 月至 2011 年 1 月采集于中国沿海,其中印度无齿鲷(*Ariomma indica*) 5 个(南海)、刺鲷(*Psenopsis anomala*) 5 个(东海)、怀氏方头鲷(*Cubiceps whiteleggii*) 1 个(北部湾)、镰鲷(*Pampus echinogaster*) 18 个(黄海、东海)、中国鲷(*P. chinensis*) 8 个(东海、南海)、灰鲷(*P. cinereus*) 8 个(东海、南海)、珍鲷(*P. minor*) 7 个(南海)、翎鲷(*P. punctatissimus*) 5 个(黄海、东海)。5 种鲷属鱼类的形态鉴定依据刘静等^[3]和李春生^[4]所描述的形态分类标准,其余 3 种鲷亚目鱼类依据《中国鱼类系统检索》^[15]进行形态鉴定。取鱼体的肌肉组织置于 95% 乙醇中保存备用。

1.2 序列扩增及测定

按照《分子克隆实验指南》中的蛋白酶—酚/氯仿法^[16]提取鲷亚目鱼类的背部肌肉基因组 DNA。采用鱼类 16S rRNA 通用引物 AR (5'-GCCTGTTTATCAAAAACAT-3') 和 BR (5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3')^[17]扩增鲷亚目鱼类的 16S rRNA 基因片段序列。PCR 反应的总体积为 50 μ L,包括 1.25 U 的 *Taq* DNA 聚合酶(TaKaRa),200 nmol/L 的正反向引物,200 μ mol/L 的每种 dNTP,10 mmol/L Tris pH 8.3,50 mmol/L KCl 和 1.5 mmol/L MgCl₂,基

因组 DNA 约为 50 ng。每组 PCR 均设阴性对照用来检测是否存在污染。PCR 扩增在 Veriti 96 Well 热循环仪(Applied Biosystems)上进行,程序为 94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min,94 $^{\circ}$ C 变性 45 s,50 $^{\circ}$ C 退火 45 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s,循环 35 次,然后 72 $^{\circ}$ C 后延伸 7 min。

PCR 产物在 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测并拍照记录。采用胶回收试剂盒(Tiagen,天根生化科技有限公司)对 PCR 产物进行回收和纯化。纯化的 PCR 产物由北京六合华大基因科技股份有限公司进行双向测序。

1.3 数据分析

利用 SeqMan II 软件^[18]对测定序列进行拼接、校对,并进行检查和手工调整,以排除可能出现的错误。用 DnaSP 5.10 软件^[19]确定所测定序列的单倍型。从 GenBank 下载了鲷亚目 5 科 13 属 31 种 94 个 16S rRNA 基因同源序列,与本研究所测定的 18 个单倍型序列一并分析,共计 5 科 13 属 32 种 112 个 16S rRNA 基因序列,其序列相关信息见表 1。

上述合并序列的多重比对由 MegAlign 软件^[18]完成,并辅以人工校对。用 MEGA 5.0 软件^[20]统计序列的平均碱基组成和转换/颠换比率(Ts/Tv);以 DnaSP 5.10 软件计算序列的变异位点数、简约信息位点数、单突变位点数。由于 Kimura 双参数模型被认为是评估低遗传变异序列的最佳核苷酸替代模型^[21],所以采用 MEGA 5.0 软件计算基于 Kimura 双参数模型的种间、属间、科间的遗传距离。

运用 MEGA 5.0 软件构建邻接法(Neighbor-Joining, NJ)、最大简约法(Maximum Parsimony, MP)分子系统树,并以虾虎鱼亚目(Gobioidei)的黑虾虎鱼(*Gobius niger*) (GenBank 登录号为:EF218645,下同)和鲉形目(Scorpaeniforms)的东方豹鲂鲷(*Dactyloptena orientali*) (DQ532861)的同源序列作为外群。NJ 法的遗传距离模型选择 Kimura 双参数模型,序列中的转换和颠换位点均视为信息位点并对所有位点一致性加权,对于序列中的插入/缺失位点采用成对删除。MP 法分析采用临近互算(Close-neighbor-interchange, CNI)的搜索方法构建进化树。各系统树均采用重复抽样分析(Bootstrap test)1 000 次来检验分子系统树各分支的置信度。

表 1 鲷亚目 32 种鱼类的 16S rRNA 单倍型序列
 Tab. 1 The 16S rRNA haplotypes of 32 species of Stromateoid used in this study

科 family	种类 species	序列数 number of sequence	单倍型序列登录号 GenBank accession No.
无齿鲷科 Ariommatidae	1. 短鳍无齿鲷 <i>Ariomma brevimanus</i>	1	AB205411
	2. 印度无齿鲷 <i>Ariomma indica</i>	2	JX088708*, AB205410
	3. 大眼无齿鲷 <i>Ariomma luridum</i>	1	AB205409
长鲷科 Centrolophidae	4. 黑长鲷 <i>Centrolophus niger</i>	4	AB205412, GU946674 ~ U946676
	5. 南极栉鲷 <i>Hyperoglyphe antarctica</i>	1	AB642286
	6. 日本栉鲷 <i>Hyperoglyphe japonica</i>	1	AB205414
	7. 鱼鲷 <i>Icichthys lockingtoni</i>	4	AB205415, EF458452, EF458454, DQ532884
	8. 刺鲷 <i>Psenopsis anomala</i>	3	JX088709*, JX088710*, AB205419
	9. 卵形高体鲷 <i>Schedophilus ovalis</i>	1	AB205413
	10. 伐氏高体鲷 <i>Schedophilus velaini</i>	8	AB611037, AB642260 ~ AB642264, HQ592236 ~ HQ592238
	11. 镰鳍鲷 <i>Seriolella brama</i>	6	AB205417, HQ592207 ~ HQ592210, EU848466
	12. 蓝灰鲷 <i>Seriolella caerulea</i>	1	AB205416
	13. 银鲷 <i>Seriolella punctata</i>	1	AB205418
双鳍鲷科 Nomeidae	14. 黑褐方头鲷 <i>Cubiceps capensis</i>	4	AB642266, AB642267, AB642274, AB642275
	15. 奇异方头鲷 <i>Cubiceps paradoxus</i>	1	AB205420
	16. 鳞首方头鲷 <i>Cubiceps squamiceps</i>	1	AB205421
	17. 怀氏方头鲷 <i>Cubiceps whiteleggii</i>	1	JX088711*
	18. 水母玉鲷 <i>Psenes arafurensis</i>	1	AB205423
	19. 玻璃玉鲷 <i>Psenes cyanophrys</i>	1	AB205424
	20. 银斑玉鲷 <i>Psenes maculatus</i>	1	AB205422
	21. 花瓣玉鲷 <i>Psenes pellucidus</i>	1	AB205425
	22. 镰鲷 <i>Pampus echinogaster</i>	10	JX088718 ~ JX088722*, GU983959 ~ GU983963
	鲷科 Stromateidae	23. 中国鲷 <i>Pampus chinensis</i>	8
24. 灰鲷 <i>Pampus cinereus</i>		7	JX088716*, JX088717*, FJ652412 ~ FJ652416
25. 珍鲷 <i>Pampus minor</i>		15	JX088723*, JX088724*, FJ652419 ~ FJ652422, GQ497755 ~ GQ497762, GU983968
26. 翎鲷 <i>Pampus punctatissimus</i>		10	JX088725*, AB205426, FJ652406 ~ FJ652411, GU983964, GU983965
27. 鲷属未定种 <i>Pampus</i> sp.		7	FJ652399 ~ FJ652405
28. 中间低鳍鲷 <i>Peprilus medius</i>		1	AB205427
29. 太平洋低鳍鲷 <i>Peprilus simillimus</i>		4	AY958667, EF458430, EF119294, EF119295
方尾鲷科 Tetragonuridae	30. 星斑真鲷 <i>Stromateus stellatus</i>	1	AB205428
	31. 大眼方尾鲷 <i>Tetragonurus atlanticus</i>	1	AB642287
	32. 小眼方尾鲷 <i>Tetragonurus cuvieri</i>	2	AY958671, AB205429

注: * 表示本实验所测定的序列。

Notes: * Sequences obtained from this study.

2 结果与分析

2.1 碱基组成及序列变异

经过 PCR 扩增和序列测定, 8 种鲷亚目鱼类 57 个个体的 16S rRNA 基因序列长度约为 540 bp (不含引物), 其 18 个单倍型序列 (JX088708 ~ JX088725) 已登录在 GenBank 数据库中。将本实

验获得序列与 GenBank 下载的 94 个同源序列比对, 保留共有序列 458 bp 用于合并分析。结果表明, 鲷亚目 32 个种 112 个 16S rRNA 单倍型序列的平均碱基组成为 T 22.2%、C 24.5%、A 30.0%、G 23.3%, 其中 A + T 含量 (52.2%) 高于 C + G 含量 (47.8%), 碱基组成表现出明显的 A 偏倚。

表 2 32 种鲷亚目鱼类 16S rRNA 单倍型序列的种间遗传距离
 Tab. 2 Genetic distance of inter-species of 32 stromateoid fishes based on the haplotypes of 16S rRNA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31					
1																																				
2	0.046																																			
3	0.015	0.024																																		
4	0.116	0.089	0.100																																	
5	0.116	0.089	0.100	0.016																																
6	0.117	0.089	0.095	0.016	0.021																															
7	0.117	0.087	0.095	0.014	0.019	0.007																														
8	0.123	0.106	0.109	0.049	0.039	0.052	0.049																													
9	0.114	0.081	0.098	0.012	0.016	0.016	0.014	0.044	0.000																											
10	0.114	0.081	0.098	0.012	0.016	0.016	0.014	0.044	0.000	0.009																										
11	0.114	0.087	0.098	0.009	0.014	0.012	0.009	0.047	0.009	0.009																										
12	0.114	0.087	0.098	0.009	0.014	0.012	0.009	0.047	0.009	0.009	0.000																									
13	0.114	0.087	0.098	0.009	0.014	0.012	0.009	0.047	0.009	0.009	0.000	0.000																								
14	0.090	0.061	0.069	0.087	0.082	0.074	0.077	0.077	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079																							
15	0.085	0.061	0.064	0.084	0.079	0.076	0.077	0.077	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.022																						
16	0.074	0.056	0.064	0.098	0.095	0.095	0.093	0.104	0.092	0.092	0.090	0.090	0.090	0.047	0.038																					
17	0.090	0.066	0.066	0.086	0.084	0.081	0.084	0.083	0.087	0.087	0.084	0.084	0.084	0.030	0.028	0.051																				
18	0.090	0.074	0.082	0.103	0.100	0.103	0.103	0.109	0.103	0.103	0.100	0.100	0.100	0.047	0.046	0.033	0.046																			
19	0.084	0.066	0.077	0.097	0.090	0.089	0.090	0.093	0.092	0.092	0.090	0.090	0.090	0.035	0.028	0.019	0.038	0.026																		
20	0.095	0.079	0.090	0.106	0.098	0.100	0.106	0.106	0.100	0.100	0.098	0.098	0.098	0.049	0.041	0.031	0.051	0.028	0.016																	
21	0.084	0.071	0.074	0.100	0.092	0.092	0.093	0.098	0.095	0.095	0.092	0.092	0.092	0.040	0.026	0.024	0.038	0.024	0.012	0.019																
22	0.137	0.132	0.121	0.119	0.117	0.115	0.112	0.129	0.117	0.117	0.119	0.119	0.111	0.105	0.115	0.108	0.126	0.121	0.134	0.121																
23	0.116	0.097	0.099	0.107	0.110	0.110	0.110	0.104	0.110	0.110	0.109	0.109	0.109	0.069	0.075	0.087	0.058	0.087	0.085	0.098	0.092	0.075														
24	0.112	0.098	0.103	0.114	0.109	0.111	0.111	0.104	0.109	0.109	0.112	0.112	0.112	0.072	0.074	0.088	0.066	0.082	0.082	0.085	0.084	0.072	0.035													
25	0.130	0.142	0.163	0.150	0.144	0.150	0.147	0.148	0.144	0.144	0.153	0.153	0.153	0.145	0.137	0.148	0.136	0.153	0.139	0.157	0.145	0.121	0.124	0.128												
26	0.121	0.102	0.102	0.115	0.115	0.109	0.107	0.108	0.115	0.115	0.112	0.112	0.112	0.073	0.078	0.091	0.067	0.088	0.093	0.095	0.088	0.079	0.016	0.036	0.129											
27	0.136	0.130	0.120	0.118	0.115	0.113	0.111	0.128	0.116	0.116	0.118	0.118	0.118	0.110	0.103	0.114	0.106	0.124	0.119	0.133	0.120	0.002	0.074	0.070	0.122	0.077										
28	0.100	0.068	0.079	0.086	0.086	0.086	0.084	0.082	0.086	0.086	0.089	0.089	0.089	0.049	0.046	0.058	0.053	0.061	0.053	0.066	0.053	0.099	0.076	0.074	0.125	0.077	0.097									
29	0.098	0.080	0.085	0.106	0.106	0.106	0.104	0.099	0.106	0.106	0.109	0.109	0.109	0.064	0.061	0.075	0.064	0.077	0.069	0.081	0.069	0.119	0.093	0.089	0.137	0.093	0.118	0.029								
30	0.082	0.063	0.074	0.081	0.089	0.087	0.084	0.090	0.087	0.087	0.087	0.087	0.087	0.037	0.038	0.056	0.046	0.043	0.046	0.056	0.048	0.107	0.077	0.074	0.130	0.077	0.105	0.043	0.051							
31	0.103	0.079	0.076	0.097	0.089	0.094	0.092	0.103	0.092	0.092	0.092	0.092	0.092	0.054	0.053	0.066	0.056	0.063	0.061	0.071	0.066	0.120	0.094	0.088	0.163	0.099	0.119	0.076	0.087	0.055						
32	0.108	0.079	0.095	0.102	0.100	0.103	0.103	0.111	0.097	0.097	0.103	0.103	0.103	0.059	0.056	0.066	0.056	0.063	0.058	0.068	0.066	0.129	0.099	0.093	0.144	0.106	0.127	0.081	0.098	0.058	0.028					

注:1~32 所代表的鲷亚目鱼类种类见表 1。

Notes: The numbers from 1 to 32 represent Stromateoid species see Tab. 1.

所分析序列共含变异位点数 119 个,单突变位点数 5 个,多态简约信息位点数 114 个(占整段序列的 24.9%)。序列存在插入/缺失现象,插入/缺失位点数 27 个,主要集中在 190~360 bp。序列中的转换明显多于颠换,转换颠换比值(Ts/Tv)平均为 2.22,大于其临界值 2.0^[22],说明序列突变还未达到饱和。

2.2 遗传距离

表 2~表 4 列出了基于 16S rRNA 基因序列的鲷亚目鱼类各阶元的遗传距离。鲷亚目 5 个科两两间的遗传距离平均值为 0.096,最大值为鲷科和长鲷科的 0.120,最小值为鲷科和方尾鲷科的 0.060(表 4)。鲷亚目 13 个属两两间的遗传距离平

均值为 0.079,最大值出现在鲷属(*Seriola*)和鲷属之间(0.125),最小值出现在鲷属与长鲷属(*Centrolophus*)、鱼鲷属(*Icichthys*)、高体鲷属(*Schedophilus*)三者间(0.009)(表 3)。鲷亚目 32 个种两两间的遗传距离平均值为 0.084,最大值出现在珍鲷和大眼无齿鲷(*Ariomma luridum*)之间(0.163),最小值出现在卵形高体鲷(*Schedophilus ovalis*)和伐氏高体鲷(*S. velaini*)之间(0.000)以及镰鳍鲷(*Seriola brama*)、蓝灰鲷(*S. caerulea*)和银鲷(*S. punctata*)三者之间(0.000)(表 2),种内遗传距离平均值为 0.001,种间遗传距离是种内的 84 倍。

表 3 鲷亚目 16S rRNA 单倍型序列的属间遗传距离

Tab. 3 Genetic distance of inter-genus of stromateoid fishes based on the haplotypes of 16S rRNA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1												
2	0.099											
3	0.098	0.016										
4	0.097	0.014	0.013									
5	0.111	0.049	0.045	0.049								
6	0.094	0.012	0.016	0.014	0.044							
7	0.096	0.009	0.013	0.009	0.047	0.009						
8	0.069	0.088	0.081	0.080	0.082	0.084	0.081					
9	0.079	0.102	0.096	0.098	0.102	0.098	0.095	0.039				
10	0.122	0.124	0.122	0.120	0.124	0.122	0.125	0.103	0.115			
11	0.084	0.102	0.102	0.100	0.095	0.102	0.105	0.062	0.071	0.108		
12	0.071	0.081	0.088	0.084	0.090	0.087	0.087	0.041	0.048	0.099	0.050	
13	0.088	0.101	0.098	0.099	0.109	0.095	0.099	0.058	0.064	0.120	0.091	0.057

注:1. 无齿鲷属;2. 长鲷属;3. 栉鲷属;4. 鱼鲷属;5. 刺鲷属;6. 花鲷属;7. 鲷属;8. 方头鲷属;9. 玉鲷属;10. 鲷属;11. 低鳍鲷属;12. 真鲷属;13. 方尾鲷属。

Notes: 1. *Ariomma*; 2. *Centrolophus*; 3. *Hyperoglyphe*; 4. *Icichthys*; 5. *Psenopsis*; 6. *Schedophilus*; 7. *Seriola*; 8. *Cubiceps*; 9. *Psenes*; 10. *Pampus*; 11. *Perilus*; 12. *Stromateus*; 13. *Tetragonurus*.

表 4 鲷亚目 16S rRNA 单倍型序列的科间遗传距离

Tab. 4 Genetic distance of inter-family of stromateoid fishes based on the haplotypes of 16S rRNA

	1	2	3	4
1				
2	0.097			
3	0.072	0.088		
4	0.119	0.120	0.103	
5	0.088	0.099	0.060	0.117

注:1. 无齿鲷科;2. 长鲷科;3. 双鳍鲷科;4. 鲷科;5. 方尾鲷科。

Notes: 1. *Ariommatidae*; 2. *Centrolophidae*; 3. *Nomeidae*; 4. *Stromateidae*; 5. *Tetragonuridae*.

2.3 分子系统进化

采用 NJ 法和 MP 法,对 32 种鲷亚目鱼类的 16S rRNA 单倍型构建分子系统树,两系统树的拓扑结构略有差异(图 1)。NJ 树显示,鲷亚目 5 个科分为 3 大支系:第 1 支系为鲷科的鲷属 6 个种类组成的单系群(置信度为 74%);第 2 支系由单系群的无齿鲷科和方尾鲷科与非单系的双鳍鲷科和鲷科的低鳍鲷属和真鲷属组成,但未能获得高置信度支持(<50% 未显示);第 3 支系为长鲷科的 10 个种类组成的单系群(置信度为 99%)。第 1 支系位于系统树的顶端,先与第 2 支系聚类,第 3 支系位于系统树的基部。

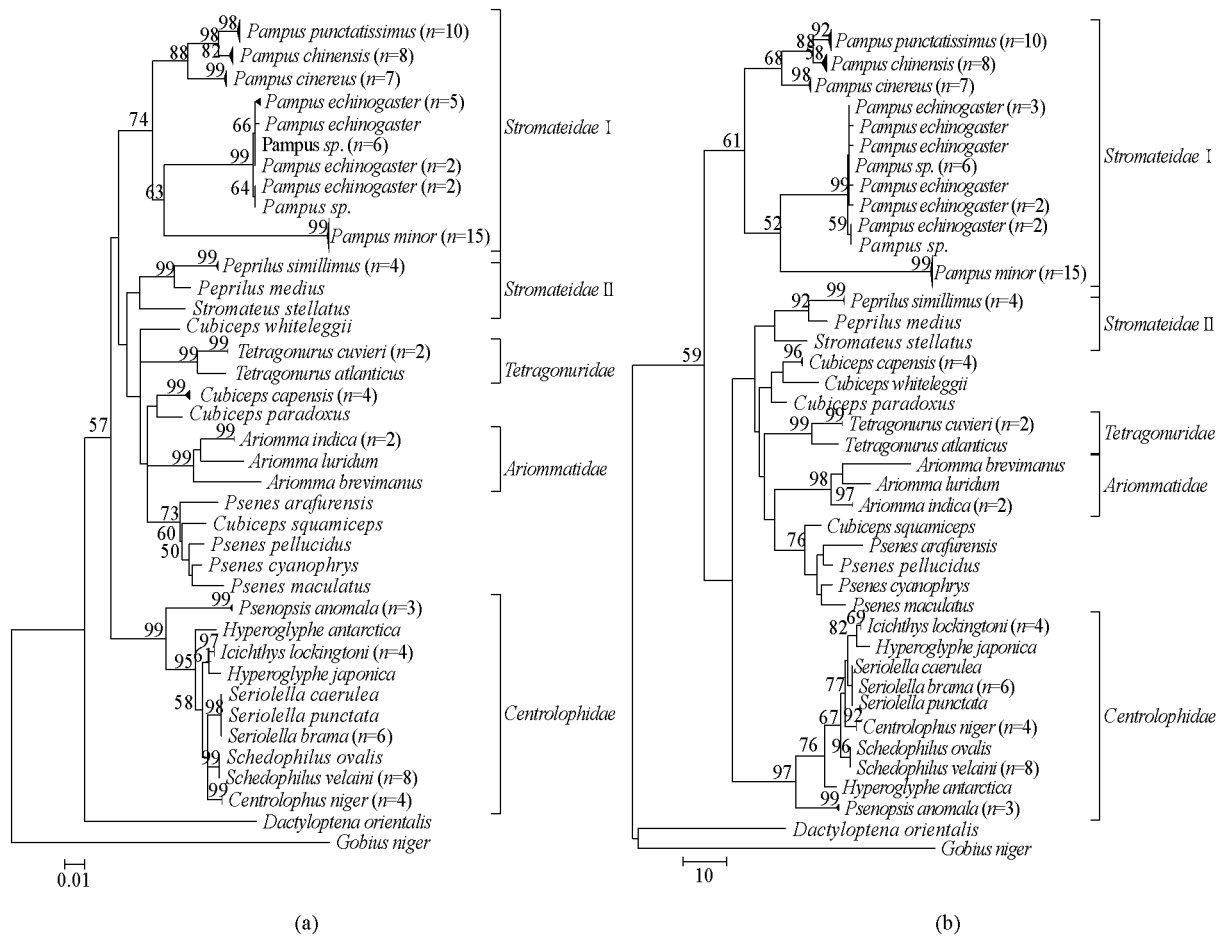


图 1 基于鲷亚目鱼类 16S rRNA 单倍型序列构建的 NJ (a)、MP (b) 系统树

分支上的数字为 NJ、MP 重复检验 1 000 次所得大于 50% 的支持率。

Fig. 1 NJ, MP phylogenetic tree of stromateoid fishes based on the haplotypes of 16S rRNA gene

Numbers above the branches indicate bootstrap values based on 1 000 replications for NJ (a), MP (b) (only values over 50% are shown).

MP 树同样也将鲷亚目 5 个科分为 3 大支系,且各支系的种类组成与 NJ 树相同。在 MP 树中,由单系群的鲷属所形成的第 1 支系同样位于系统树的顶端,但第 2 支系先与位于系统树基部的第 3 支系聚类,而第 2 支系内部分支的拓扑结构同样未能获得较高的置信度支持 (< 50% 未显示)。

3 讨论

外群的不同选择可引起内群的拓扑结构的明显变化,外群的选择对于分子系统树的构建具有十分重要的意义^[23]。通常,以内群的姐妹群中的多个分类单元共同作为外群的方法被认为是一种比较合理的策略^[23-24]。研究表明,鲷亚目与澳洲鲑鲈科 (Arripidae)、鲭亚目 (Scombroidei)、带鱼亚目 (Trichiuroidei) 有相当密切的亲缘关系,在分子

系统树上彼此套嵌形成一个单系群,它们与虾虎鱼亚目和鲈形目形成姐妹群^[14,25]。本研究以虾虎鱼亚目和鲈形目这 2 个分类单元共同作为外群构建鲷亚目的系统进化树,结合形态学研究资料加以探讨,以获得更为真实的鲷亚目鱼类系统进化关系。

3.1 长鲷科的单系性及进化地位

长鲷科现有 7 属约 28 种,是鲷亚目物种多样性最为丰富的一个科^[1],但该科的单系性和属的划分存有争议。长鲷科的刺鲷属最早被归入鲷科^[9-10,26-27],而后 Nelson^[1]根据刺鲷属 (*Psenopsis*) 与鲷亚目其它 5 个科在形态支序上形成姐妹群,提出刺鲷属应该单列为一个科。同样,栉鲷属 (*Hyperoglyphe*) 也曾被归入双鳍鲷科^[27-28]。在形态支系分析中,长鲷科的灰柔鲷属 (*Tubbia*) 和鱼鲷属与鲷亚目其他 4 个科形成 3 分

支^[29]。在本研究中,长鲳科 6 个属两两间的遗传距离(0.009 ~ 0.049)远低于它们与鲳亚目其他 4 个科的属间遗传距离(0.080 ~ 0.125)(表 4),两系统树也以极高置信度(NJ 99%, MP 97%)支持了长鲳科 6 个属聚为一支单系。因此,本研究认为长鲳科是一个单系群,该科包含现有 7 个属的划分具有合理性,而形态支序分析为非单系群则可能是因该科缺乏共有衍征所致^[6]。

对于长鲳科的进化地位,国内外存在明显分歧。邓思明等^[13]和成庆泰等^[15]依据部分形态性状比较,认为长鲳科是中国鲳亚目 4 个科中最为特化的类群。但在 Haedrich^[11]的鲳亚目系统进化关系假说中,长鲳科被认为是最原始的类群。形态支序分析表明,相比于鲳亚目其他鱼类,长鲳科的形态变异程度较低、形态演化速率较慢,该科仍保留许多祖征,表现出形态演化停滞现象^[6,29-30]。在食道侧囊的进化模式上,长鲳科的食道侧囊(A 型)被认为是鲳亚目的食道侧囊祖先,无齿鲳科(B 型)和方尾鲳科(D 型)的食道侧囊均起源于双鳍鲳科和鲳科(C 型)^[6]。值得一提的是,邓思明等^[13]和成庆泰等^[15]对鲳亚目系统进化关系的研究并非基于支序分析。在本研究中,两系统树均表明长鲳科最先分化,长鲳科与鲳科、双鳍鲳科、无齿鲳科、方尾鲳科等 4 个科的遗传距离平均值为 0.101,而后 4 个科两两间的遗传距离平均值为 0.093。因此,结合形态学方面的证据,本研究认为长鲳科是鲳亚目中最原始、最先分化的类群。Doiuchi 等^[6]基于线粒体 DNA 序列的分析结果同样表明了长鲳科比其他鲳亚目鱼类原始,并呈明显单系性。

3.2 无齿鲳科、方尾鲳科、双鳍鲳科的系统关系

无齿鲳科仅无齿鲳属(*Ariomma*)一属,曾归入鲳科或双鳍鲳科^[26-27]。Haedrich^[11]认为无齿鲳属鱼类的犁骨、腭骨及基鳃骨无齿区别于鲳科,将其从鲳科中独立出来,新建立无齿鲳科。Risso^[31]以小眼方尾鲳(*Tetragonurus cuvier* Risso, 1810)为模式种建立了方尾鲳属、方尾鲳科。Matsubara^[32]则将方尾鲳科提升为方尾鲳亚目(*Tetragonuroidei*)。然而, Lindberg 等^[33]认为方尾鲳科与双鳍鲳科鱼类在很多特征上比较相似,不应该把方尾鲳科从鲳亚目中独立出来。

形态支序分析显示,无齿鲳科既能与方尾鲳科聚为姐妹群^[29],也可与双鳍鲳科 + 方尾鲳科 +

鲳科这一支聚类^[30];而 mtDNA 序列研究表明无齿鲳科与双鳍鲳科聚为姐妹群^[6]。本研究的两系统树均表明,单系群的无齿鲳科和方尾鲳科与非单系群的双鳍鲳科先聚在一起,之后再与鲳科的低鳍鲳属和真鲳属聚类。虽然无齿鲳科、方尾鲳科与双鳍鲳科的姐妹群关系未能获得高置信度支持,但是遗传距离分析显示,这 3 个科两两间的遗传距离(0.060 ~ 0.088)明显低于它们与鲳科的遗传距离(0.103 ~ 0.119)(表 4)。Haedrich^[11]的鲳亚目系统进化关系假说和 Doiuchi 等^[6]的食道侧囊进化分析均认为无齿鲳科和方尾鲳科是由双鳍鲳科衍生而来的。因此,本研究认为无齿鲳科、方尾鲳科与双鳍鲳科之间有相当密切的亲缘关系,并支持无齿鲳科和方尾鲳科建立的有效性。

在本研究中,双鳍鲳科的 4 种方头鲳属(*Cubiceps*)鱼类为多系群,其中鳞首方头鲳(*C. squamiceps*)与玉鲳属(*Psenes*)聚为一支单系,并获得中等置信度(NJ 73%, MP 76%)支持。而 Doiuchi 等^[6]的 mtDNA 序列分析表明方头鲳属为并系群,鳞首方头鲳与玉鲳属形成姐妹群。这可能与 Doiuchi 等^[6]所用的方头鲳属种类较少(2 种)和外群使用不合理^[14]有关。

3.3 鲳科的分化模式及种间进化关系

鲳科目前分 3 属约 15 种,分布遍及世界 3 大洋沿海,为近海暖温性水域中下层鱼类。目前鲳科鱼类分布存在两个明显的区系:印度—西太平洋区系(鲳属)和大西洋—东太平洋区系(低鳍鲳属和真鲳属),两区系的种类分布基本不重复^[34]。在本研究中,两系统树均表明鲳科鱼类为并系群,可分为 2 个平行进化的类群,其中鲳属的 6 个种类聚成一个单系类群,低鳍鲳属和真鲳属聚为另一群,2 类群的种类组成与所属地理区系明显相关。遗传分化程度显示鲳属与低鳍鲳属、真鲳属的遗传距离(0.099 ~ 0.108)明显大于低鳍鲳属和真鲳属的遗传距离(0.050)。据此,我们推测鲳科鱼类早期可能存在 2 个平行进化的原始祖先,而后由于地理隔离进一步分化成与地理区系相对应的种属。这一推理仍有待于更多的分子数据、形态学依据以及生物地理学等资料的考证支持。

鲳属鱼类是鲳亚目中经济价值最高、渔获量最大的一属。在本研究中,两系统树一致表明鲳属处于系统进化树的顶端,代表着最新演化的种

类,是鲷亚目中最为繁盛的一属,也是目前系统进化树的高峰。而鲷属内部分支具有较高的支持率(NJ 63%~98%,MP 52%~88%)表明了该属鱼类种间关系比较明确,其中珍鲷位于鲷属系统树的基部,与镰鲷的进化关系最近,二者为原始种类;而翎鲷、中国鲷、灰鲷的亲缘关系较近,应属于晚分化种类。刘静等^[35]对鲷属鱼类的形态支序分析认为,珍鲷具有脊髓骨数目少、眼眶窝大、后颞窝明显、耳石厚等近祖特征,是鲷属最原始、最早分化出来的一种;银鲷具有鳃耙数目多、下颌牙齿少等近祖特征,也是较原始、分化较早的种;中国鲷具有背鳍和臀鳍无鳍棘、鳍条数目较多、鳃耙数目少且短等特征,是较特化的种;翎鲷和灰鲷具有显著延长的背鳍和臀鳍前部鳍条等共同特征,是较晚形成的种。由此可见,本研究的分子系统进化分析与形态学研究结果基本一致,有效地揭示了鲷属鱼类的种间系统进化关系。

3.4 线粒体 16S rRNA 基因在鲷亚目系统进化研究中的适用性

线粒体 16S rRNA 基因进化速率低、高度保守,常用于种以上水平的系统进化研究^[36-38],特别是在科、属阶元中,该基因具有良好的系统发育信息^[39]。在系统进化方面,本研究应用 16S rRNA 基因较好地阐明了长鲷科的单系性及进化地位,无齿鲷科、方尾鲷科、双鳍鲷科的亲缘关系,鲷科的种间系统进化关系,并首次得出鲷科的分化模式。在序列变异方面,虽然所分析的 32 种鲷亚目鱼类的 16S rRNA 基因序列的种间遗传距离平均值是种内的 84 倍,初步符合 Hebert 等^[40-41]提出的作为 DNA 条形码进行物种鉴定的标准要求,但是该基因序列却无法有效区分卵形高体鲷和伐氏高体鲷以及镰鳍鲷、蓝灰鲷和银鲷(表 3 和图 1)。Kuo 等^[42]报道了 16S rRNA 基因适用于盲鳗科(Myxinidae)属间系统进化分析,但不能解决部分属的种间关系。同样,棘头梅童鱼(*Collichthys lucidus*)和黑鳃梅童鱼(*C. niveatus*)的 16S rRNA 基因序列也未能检测到任何变异^[43]。可见,运用 16S rRNA 基因序列进行某些近缘种的物种鉴定会显得力不从心。

综上所述,本研究的 16S rRNA 基因序列适用于鲷亚目科间和科内属间进化关系的研究,但难以解决部分近缘种的进化关系,这可能与这些物种分化时间短、进化年龄较近,而 16S rRNA 基

因进化速率较慢、尚未积累足够的遗传变异有关^[44]。因此,在今后的研究中,应联合采用多个进化速率不同的分子标记来全面解析鲷亚目鱼类的分子系统进化关系。

参考文献:

- [1] Nelson J S. Fishes of the world [M]. 4th ed. New York: John Wiley and Sons, Inc., 2006: 1-601.
- [2] 刘静. 脊椎动物亚门 [M] // 刘瑞玉. 中国海洋生物名录. 北京: 科学出版社, 2008: 886-1066.
- [3] 刘静, 李春生, 李显森. 中国鲷属鱼类的分类研究 [J]. 海洋科学集刊, 2002, 44: 240-252.
- [4] 李春生. 鲷科 [M] // 山田梅芳. 东海黄海鱼类名称和图解. 东京: 海外渔业协力财团, 1995: 194-195.
- [5] 江红, 程和琴, 徐海根, 等. 大型水母爆发对东海生态系统中上层能量平衡的影响 [J]. 海洋环境科学, 2010, 29(1): 91-95.
- [6] Doiuchi R, Nakabo T. Molecular phylogeny of the stromateoid fishes (Teleostei: Perciformes) inferred from mitochondrial DNA sequences and compared with morphology-based hypotheses [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2006, 39(1): 111-123.
- [7] Euphrasén B A. Beskrifning på zine fiskar [J]. Kongliga Svenska Vetenskaps Akademiens Nya Handlingar Stockholm, 1788, 9: 51-55.
- [8] Cuvier M B, Valenciennes M. Histoire naturelle des poissons [J]. Paris, 1833, 9: 372-400.
- [9] Gill T N. Notes on the Stromateidae [J]. Proceedings of the American Philosophical Society, 1844, 21(116): 664-672.
- [10] Regan C T. A revision of the fishes of the family Stromateidae [J]. Annals and Magazine of Natural History Series 7, 1902, 10(56): 115-131.
- [11] Haedrich R L. The Stromateoid fishes: Systematics and a classification [J]. Bulletin of the Museum of Comparative Zoology, 1967, 135(2): 31-139.
- [12] Haedrich R L. A new family of aberrant stromateoid fishes from the equatorial Indo-Pacific [R]. Dana Report, 1969, 76: 1-14.
- [13] 邓思明, 熊国强, 詹鸿禧. 中国鲷亚目鱼类分类系统的初步研究(第二辑) [C] // 中国鱼类学会. 鱼类学论文集. 北京: 科学出版社, 1981: 25-38.
- [14] Cui Z X, Liu Y, Li C P, et al. Species delineation in *Pampus* (Perciformes) and the phylogenetic status of the Stromateoidei based on mitogenomics [J]. Molecular Biology Reports, 2011, 38(2):

- 1103 – 1114.
- [15] 成庆泰,郑葆珊. 中国鱼类系统检索[M]. 上册. 北京:科学出版社,1987:423 – 426.
- [16] Sambrook J, Russell D W. Molecular cloning: A laboratory manual [M]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press,2001:1 – 372.
- [17] Palumbi S. Nucleic acids II: the polymerase chain reaction [M]. Massachusetts: Sinauer Associates, 1996:205 – 247.
- [18] Burland T G. DNASTAR's Laser gene sequence analysis software [J]. Methods in Molecular Biology,1999,132(1):71 – 91.
- [19] Libeado P, Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. Bioinformatics,2009,25(11):1451 – 1452.
- [20] Tamura K, Peterson D, Peterson N, *et al.* MEGA 5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. Molecular Biology and Evolution,2011,28(10):2731 – 2739.
- [21] Nei M, Kumar S. Molecular evolution and Phylogenetics [M]. New York: Oxford University Press,2000.
- [22] Knight A, Mindell D P. Substitutions bias, weighting of DNA sequence evolution, and the phylogenetic positions of *fea's viper* [J]. Systematic Biology, 1993,42(1):18 – 31.
- [23] Luo A R, Zhang Y Z, Qiao H J, *et al.* Outgroup selection in tree reconstruction: A case study of the family Halictidae (Hymenoptera: Apoidea) [J]. Acta Entomologica Sinica,2010,53(2):192 – 201.
- [24] Smith A B. Rooting molecular trees: Problems and strategies [J]. Biological Journal of the Linnean Society,1994,51(3):279 – 292.
- [25] Yagishita N, Miya M, Yamanoue Y, *et al.* Mitogenomic evaluation of the unique facial nerve pattern as a phylogenetic marker within the perciform fishes (Teleostei: Percomorpha) [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2009, 53 (1): 258 – 266.
- [26] 成庆泰. 鲷亚目[M]//中国科学院动物研究所,中国科学院海洋所,上海水产学院. 北京:科学出版社,1962:759 – 766.
- [27] Jordan D S. The genera of fishes and a classification of fishes[M]. California:Stanford University Press, 1963:682 – 683.
- [28] Masuda M, Araga C, Yoshino T. Coastal fishes of southern Japan[M]. Tokyo:Tokai University Press, 1975:246 – 247.
- [29] Horn M H. Ontogeny and systematics of fishes——Stromateoidei: Development and relationship [M]. American Society of Ichthyologists and Herpetologists Special Publication 1, 1984: 620 – 628.
- [30] Doiuchi R, Sato T, Nakabo T. Phylogenetic relationships of the stromateoid fishes (Perciformes) [J]. Ichthyological Research, 2004, 51 (3): 202 – 212.
- [31] Risso A. Ichthyologie de Nice, ou histoire naturelle des poissons du département des Alpes Maritimes [M]. Paris:F. Schoell,1810:1 – 11.
- [32] Matsubara K. Fish morphology and hierarchy [M]. Tokyo:Ishizaki-Shoten,1955:1 – 789.
- [33] Lindberg G U, Krasnyukova Z V. Fishes of the Sea of Japan and adjacent territories of the Okhotsk and Yellow Sea Part 4 [M]. Washington D. C. : Smithsonian Institution Libraries and National Science Foundation,1989:1 – 602.
- [34] Froese R, Pauly D. FishBase. World Wide Web electronic publication. Version [2012 – 04]. [EB/OL]. <http://www.fishbase.org>.
- [35] 刘静,李春生,李显森. 中国鲷属鱼类系统发育和动物地理学研究 [J]. 海洋科学集刊, 2002, 44: 235 – 239.
- [36] 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.
- [37] 柳淑芳,刘进贤,庄志猛,等. 舌鳎亚科单系起源和同种异名的线粒体 DNA 证据 [J]. 生物多样性, 2010,18(3):275 – 282.
- [38] 吴仁协,郭刘军,刘静. 高鳍带鱼遗传变异及与近缘种间的系统进化关系 [J]. 动物分类学报,2011, 36(3):648 – 655.
- [39] 陈姝君,赫崇波,木云雷,等. 硬骨鱼类线粒体基因系统发育信息效率分析 [J]. 中国水产科学,2008, 15(1):12 – 21.
- [40] Hebert P D N, Ratnasingham S, deWaard J R. Barcoding animal life: Cytochrome *c* oxidase subunit 1 divergences among closely related species [J]. Proceedings of the Royal Society of London B Biological Sciences,2003,270(Suppl 1):S96 – S99.
- [41] Hebert P D N, Cywinska A, Ball S L, *et al.* Biological identifications through DNA barcodes [J]. Proceedings of the Royal Society of London B Biological Sciences,2003(1512),270:313 – 322.
- [42] Kuo C H, Huang S, Lee S C. Phylogeny of hagfish <http://www.sexuebao.cn>

- based on the mitochondrial 16S rRNA gene [J].
Molecular Phylogenetics and Evolution, 2003, 28
(3):448 - 457.
- [43] 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.
- [44] Pouyaud L, Teugels G G, Gustiano R, *et al.* Contribution to the phylogeny of pangasiid catfishes based on allozymes and mitochondrial DNA [J]. Journal of Fish Biology, 20005, 6(6):1509 - 1538.

Mitochondrial 16S rRNA sequence variation and molecular phylogenetic relationships of Stromateoidei fishes(Teleostei: Perciformes)

WU Renxie¹, LI Chao¹, LIU Jing^{2*}

(1. College of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;

2. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: The suborder Stromateoidei (Teleostei: Perciformes) currently comprises 6 families, 16 genera, and about 70 species. They occur worldwide in coastal and oceanic waters of tropical to temperate regions. Fishes of Stromateoidei are one of the most economically important in the world. However, due to the high diversity of morphological characters, the taxonomic status and phylogenetic relationships of Stromateoidei have been long confused. In this study, the mitochondrial 16S rRNA gene fragment of 8 species of Stromateoidei collected from Chinese coastal waters, were amplified using PCR techniques. The homologous sequences of other Stromateoidei fishes from GenBank were also included in this study. The genetic information indexes, including base composition, sequence variation and Kimura-2 parameter genetic distance were examined. Phylogenetic trees were constructed based on Neighbor-Joining (NJ) and maximum-parsimony (MP) methods. Total of the 458 aligned base pairs, with 119 variable sites, 114 parsimony informative sites, 5 singleton sites, were detected in the analyzed Stromateoidei fishes (5 families, 13 genera, and 32 species). The average contents of T, C, A and G were 22.2%, 24.5%, 30.0% and 23.3% respectively for 16S rRNA sequence analysis. The genetic distances among families, genera and species range from 0.060 to 0.120, 0.009 to 0.125, and 0.000 to 0.163 respectively. The phylogenetic analysis placed Centrolophidae in the most basal position of the Stromateoidei, *Pampus* (Stromateidae) at the top of the two trees, Ariommatidae, Tetragonuridae, Nomeidae in a sister position to the clade of *Peprilus* and *Stromateus* (Stromateidae). Based on the results of molecular analysis and morphology data, several conclusions were drawn as follows: (1) family Centrolophidae, which was early diverged, is the most primitive monophyly group in the suborder Stromateoidei; (2) Ariommatidae, Tetragonuridae are the two monophyletic groups, which showed close relationship with the non-monophyletic group of Nomeidae; (3) the paraphyletic group of *Pampus* is the most recently diverged species, which is in accordance with the fact that it is also the most flourishing genus in Stromateoidei. There are two parallel evolutionary clades in genus *Pampus*. The species within the two clades seem to be relevant to their biogeographic distributions. In addition, the application of 16S rRNA gene for phylogenetic study in the suborder Stromateoidei is discussed in this study.

Key words: Stromateoidei; mitochondrial 16S ribosomal RNA gene; sequence variation; phylogeny

Corresponding author: LIU Jing. E-mail: jliu@qdio.ac.cn