

文章编号: 1004 - 7271(2005)04 - 0364 - 06

由 16S rDNA 序列初步推断鳊类与 低等鲈形目鱼类的系统关系

赵金良, 李思发, 蔡完其, 王伟伟

(上海水产大学农业部水产种质资源与养殖生态重点开放实验室, 上海 200090)

摘要:为验证鳊类系统分类位置的各种假说,对部分鳊鱼类线粒体 16S rDNA 基因片段进行 PCR 扩增和测序,利用其与 GenBank 中鲈科以及鲈形目其它科鱼类的同源序列,初步构建了鳊类与部分低等鲈形目鱼类的分子系统关系。结果表明,鳊类为单系类群,但未与鲈科聚合成单系群体,与目前假设的暖鲈科、狼鲈科、锯盖鱼群、花鲈等亲缘关系相对较远。由于鳊类为淡水特化类群,系统演化上较晚发生,因而,支持将其独立为一科——鳊科。本研究结果可为理解低等鲈形目鱼类的系统进化关系提供分析资料。

关键词:鳊类;低等鲈形目;16S rDNA 序列;系统关系

中图分类号:S 917 文献标识码:A

The preliminary phylogenetic relationships of sinipercine fishes and some lower percoids inferred from 16S ribosomal DNA sequences

ZHAO Jin-liang, LI Si-fa, CAI Wan-qi, WANG Wei-wei

(Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquacultural Ecosystem Certificated
by the Ministry of Agriculture, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract:To test some presumed systematic classifications of sinipercine fishes, 16S rDNA gene of some sinipercine fishes were PCR amplified and sequenced, a preliminary phylogenetic relationship of sinipercine fishes and some lower percoids was constructed using the homogenous sequences of 16S rDNA. The results showed sinipercine fishes was a monophyletic group, however, it didn't cluster with Serranidae and didn't show close relationships with Percichthyidae, Moronidae, Centropomii and *Lateolabrax*. Compared with the studied percoids, sinipercine fishes is a specialized freshwater group and lies at the top of the tree, which may support its rise as an independent family Sinipercidae. Our results may serve as a molecular base for further understanding the phylogeny of lower percoids.

Key words: sinipercine fishes; lower percoids; 16S rDNA sequences; phylogenetic relationships

鳊类为东亚特有的淡水类群,对鳊类群的系统分类目前已有比较统一的看法,即有 11 个种,分为 2 个或 3 个属^[1, 2],但鳊类在鲈形目鱼类中的系统位置至今仍不清楚。长期以来,国内多数学者将鳊类归

收稿日期:2005-02-26

基金项目:上海水产大学水产养殖重点学科开放课题(04SC11)和上海市重点学科建设项目(Y1101)

作者简介:赵金良(1969-),男,安徽全椒人,副研究员,主要从事水产动物种质资源研究。Tel: 021 - 65710705, E-mail: jlzhao@shfu.edu.cn

通讯作者:李思发(1938-),男,江苏镇江人,上海水产大学首席教授。主要从事水产动物种质资源研究。E-mail: lsf 038@mail.online.sh.cn

为鲈形目(Perciformes) 鲈科(Serranidae) 的一个亚科——鳊亚科(Sinipercinae)^[1, 3, 4], 并进一步认为鳊亚科与鲈亚科(Serraninae) 与石斑鱼亚科(Epinephelinae) 最为接近^[1]。然而, Gosline^[5]根据形态、生理特征, 最先提出将鳊类、发光鲷属 *Acropoma*、鲈属 *Lateolabrax*、尖牙鲈属 *Synagrops*、赤鲈属 *Doederleina*、东洋鲈属 *Nippon*、软鲈属 *Malakichthys* 等 20 个属 50 个种从传统“鲈科”中独立出来, 放入暖鲈科(Percichthyidae)。此后, Johnson^[6]将狼鲈属 *Morone*、棘盖狼鲈属 *Dicentrachus*、鲈属 *Lateolabrax*、鳊属 *Siniperca* 等属合并为狼鲈科(Moronidae); 而 Walman^[7]通过对狼鲈科(Moronidae) 种类形态学的综合研究, 认为不应将鳊类归入狼鲈科。Roberts^[8]则建议将鳊类独立成鳊科(Sinipercidae)。刘焕章^[9]根据鲈形目鱼类的骨骼特征, 建立锯盖鱼群(Centropomii, 原文中表述为尖吻鲈群), 并认为鳊类可能同花鲈 *Lateolabrax* 等类群有较近的关系。因而, 鳊类在鲈形目鱼类中的确切分类位置尚未有一致结论。

由于鲈形目类群众多, 目前难以综合比较。本研究拟通过研究鳊类鱼类的 16S rDNA 基因片段序列, 构建其与鲈科以及鲈形目中暖鲈科、狼鲈科、锯盖鱼科、尖吻鲈科、鲈科等其它科间的系统发育关系, 以验证、整理目前关于鳊类的系统分类位置的各种假设, 为深入了解低等鲈形目鱼类间的系统进化关系提供证据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

鳊 *Siniperca chuatsi* (1 尾)、大眼鳊 *Siniperca kneri* (2 尾)、斑鳊 *Siniperca schweizerzi* (2 尾)、中国少鳞鳊 *Coreoperca whiteheadi* (2 尾) 均采集于长江秋浦河(安徽省池州市境内), 取其鳍条和肌肉等组织保存在无水酒精中。

1.2 基因组 DNA 的提取

采用北京鼎国生物技术有限公司生产的 DNA 快速提取试剂盒抽提总 DNA, 用 0.8% 琼脂糖凝胶进行电泳检测。

1.3 16S rDNA 特异片段扩增与测序

本实验使用的引物为扩增鲈科鱼类 16S rDNA 的通用引物^[10]。引物序列为: 16sL (CGCCTGTTTATCAAAAACAT), 16sH (CCGGTCTGAACTCAGATCACGT), 由上海生工生物工程技术有限公司合成。PCR 反应条件为: 94 °C 预变性 3 min; 94 °C 变性 30 s, 45 °C 复性 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 30 个循环; 72 °C 延伸 10 min; 4 °C 保存。PCR 产物用 1% 的琼脂糖凝胶进行电泳检测。将特异扩增片断产物进行纯化后, 由上海生工生物工程技术有限公司用 ABI 377 自动测序仪进行序列测定。

1.4 序列分析

使用 BIOEDIT 软件中的 Clustal W 程序^[11], 将测序得到鳊类 16S rDNA 的序列和 Genebank 中鳊类分类假定的鲈科、暖鲈科、狼鲈科、鲈属、尖吻鲈科、锯盖鱼科等科鱼类的同源序列进行多序列比对, 为确定不同类群的系统进化关系, 鲈科、鲷科、大眼鲷科等种类也包括在内(表 1)。用鲤科鲤(*Cyprinus carpio*) 作为外群, 使用 MEGA2.1 软件^[12]进行分析, 用邻连法(NJ)构建鳊类与鲈形目鱼类的系统发育关系, 系统树各分支的置信度由 1 000 次自举法(Bootstrap)检验。

2 结果

2.1 鳊类 16S rDNA 序列分析

测序获得鳊、大眼鳊、斑鳊、中国少鳞鳊 16S rDNA 的序列分别为 575 bp、569 bp、577 bp、553 bp。对 4 种鱼进行多序列排列后的 526 bp 同源序列中, 4 种鱼的 16S rDNA 序列无插入/缺失(图 1)。大眼鳊、斑鳊、中国少鳞鳊种内均无变异, 而 4 种鱼种间共有 25 个核苷酸位点发生变异, 23 个为碱基置换, 2 个碱基颠换。鳊、大眼鳊和斑鳊间共有 7 个核苷酸位点发生变异, 均为碱基置换。中国少鳞鳊与鳊、大眼鳊、

斑鳊间有 21 个核苷酸位点发生变异,其中,19 个为碱基置换,2 个为碱基颠换。根据 16S rDNA 的同源序列,计算出鳊、大眼鳊、斑鳊、中国少鳞鳊种间的遗传相似度。鳊与大眼鳊遗传相似度最大(0.998),与斑鳊的遗传相似度为 0.986;而中国少鳞鳊与鳊、大眼鳊、斑鳊间的遗传相似度为 0.958~0.960。

表 1 鳊类与 GenBank 中其他鲈形目鱼类的 16S rDNA 序列
Tab.1 Sequences of 16S rDNA of sinipercline fishes and some lower percoids

	物 种	序列号
鳊亚科 Siniperinae	鳊 <i>Siniperca chuatsi</i>	AY898 947
	大眼鳊 <i>Siniperca kneri</i>	AY898 948
	斑鳊 <i>Siniperca scherzeri</i>	AY898 949
	中国少鳞鳊 <i>Coreoperca whiteheadi</i>	AY898 950
鲈属 <i>Lateolabrax</i>	花鲈 <i>Lateolabrax japonicus</i>	AB122 029
	宽花鲈 <i>Lateolabrax latus</i>	AF247 439
	台沙鲈 <i>Diplectrum formosum</i>	AY539 048
鲈科 Serranidae	横带低花鲈 <i>Hypoplectrus nigricans</i>	AY072 682
	副鲈 <i>Paralabrax callaensis</i>	AY072 686
	大鳞鲈 <i>Serranus accraensis</i>	AY141 435
	突吻鲈 <i>Maccullochella macquariensis</i>	AY254 558
暖鲈科 Percichthidae	澳洲麦氏鲈 <i>Macquaria australasica</i>	AY254 554
	银汉汤鲤 <i>Nannotherina balstoni</i>	AY254 564
	矮鲈 <i>Nannoperca variegata</i>	AY254 563
	条纹狼鲈 <i>Morone saxatilis</i>	AY539 046
狼鲈科 Moronidae	锯盖鱼 <i>Centropomus undecimalis</i>	AF247 436
锯盖鱼科 Centropomidae	尖吻鲈 <i>Lates calcarifer</i>	AY857 956
尖吻鲈科 Latidae	尼罗尖吻鲈 <i>Lates niloticus</i>	AB122 030
鲈科 Percidae	河鲈 <i>Perca fluviatilis</i>	AF254 567
鲷科 Sparidae	金头鲷 <i>Sparus aurata</i>	AF247 432
大眼鲷科 Priacanthidae	锯大眼鲷 <i>Pristigenys serrula</i>	AY072 685
多锯鲷科 Polyprionidae	巨坚鳞鲷 <i>Stereolepis gigas</i>	AY072 683
鲤科 Cyprinidae	鲤 <i>Cyprinus carpio</i>	NC001 606

2.2 分子系统关系

将鳊类 16S rDNA 序列与其他鲈形目鱼类作多序列比对,用 NJ 法构建了鳊类与其他鲈形目鱼类的系统发育关系(图 2)。鳊类表现为单系群体,分为两支,其中,鳊与大眼鳊为姐妹种,再与斑鳊形成姐妹群,中国少鳞鳊为另一支。鳊类群位于该进化树的顶部。鲈科鱼类也表现为单系类群,相对鲈形目其他类群,位于进化树的底部。鳊类、鲈属 *Lateolabrax*(原鲈科常鲈亚科)未与鲈科鱼类聚合为一单系群体。

鳊类与鲈科、大眼鲷科构成姐妹群,多锯鲷科、鲷科、鲈属构成另一姐妹群,二者再聚合为姐妹群,位于进化树的顶部。位于最底部的类群是锯盖鱼科、尖吻鲈科,依次向上分别为鲈科、暖鲈科、狼鲈科。鳊类与鲈科、大眼鲷科亲缘关系较近,而与锯盖鱼科、尖吻鲈科、鲈科、暖鲈科、狼鲈科、鲈属的亲缘关系相对较远。

3 讨论

3.1 鳊类的分子系统关系

关于鳊类的系统发育关系,孔晓瑜和周才武^[13, 14]分别通过 LDH 同工酶酶谱特征研究和骨骼形态特征比较,初步认为鳊类为单系起源,分为 3 属(鳊属、长体鳊属、少鳞鳊属),并对它们之间的亲缘关系作了初步分析。刘焕章^[2]以花鲈作外群,利用骨骼特征对现生鳊类的系统发育关系进行了研究,结果支持鳊类的单系类群,分为两支,少鳞鳊属与鳊属为姐妹群。本研究利用 16S rDNA 序列构建的鳊类分子系统关系中,鳊与大眼鳊为姐妹种,再与斑鳊形成姐妹群,构成一支鳊属;中国少鳞鳊为另一支。鳊属

(*Siniperca*) 与中国少鳞鳊为姐妹群, 共同形成一个单系群体。这一结果支持了上述研究中鳊类为一个单系类群的假设, 与形态学分类学的结果相一致^[1,3,4]。由于本研究中尚未包含鳊类的所有种类, 鳊类群内的完整分子系统发育关系正在研究中。

	10	20	30	40	50	60	70	80
<i>S. chuatsi</i>	TAAGAGGTC	CGCCTGCCCT	GTGACTATAA	ETTTAACGGC	CGGGTATTT	TGACCGTGCG	AAGGTAGCCG	AATCACTGT
<i>S. kneri</i> (1)
<i>S. kneri</i> (2)
<i>S. scherzeri</i> (1)
<i>S. scherzeri</i> (2)
<i>C. whiteheadi</i> (1)
<i>C. whiteheadi</i> (2)
	90	100	110	120	130	140	150	160
<i>S. chuatsi</i>	CTTTTAAATG	GAGACCTGTA	TGAATGCCAC	AACGAGGGCT	TAGCTGTCTC	CTTTTTCAG	TCAATGAAAT	TGATCTCCCC
<i>S. kneri</i> (1)
<i>S. kneri</i> (2)
<i>S. scherzeri</i> (1)TC
<i>S. scherzeri</i> (2)TC
<i>C. whiteheadi</i> (1)AA
<i>C. whiteheadi</i> (2)AA
	170	180	190	200	210	220	230	240
<i>S. chuatsi</i>	GTGCAGAAGC	GGGATAAAA	CCATAAGACG	AGAAGACCCT	ATGGAGCTTT	AGACACCCAG	GCAGATCATG	TAAACACTC
<i>S. kneri</i> (1)
<i>S. kneri</i> (2)
<i>S. scherzeri</i> (1)
<i>S. scherzeri</i> (2)
<i>C. whiteheadi</i> (1)AATTC
<i>C. whiteheadi</i> (2)AATTC
	250	260	270	280	290	300	310	320
<i>S. chuatsi</i>	CTAAATAAAG	GATTAACAAC	GATGAACCCT	GCCCTAATGT	CTTTGGTTGG	GGCGACCCGG	GGCAAAACAA	AAACCCCCAC
<i>S. kneri</i> (1)
<i>S. kneri</i> (2)
<i>S. scherzeri</i> (1)T
<i>S. scherzeri</i> (2)T
<i>C. whiteheadi</i> (1)CCTAA
<i>C. whiteheadi</i> (2)CCTAA
	330	340	350	360	370	380	390	400
<i>S. chuatsi</i>	GTGGAATGGG	AATACTCCTC	CTACAACATA	GAGTCCCGC	TCTAACAAA	AGAATTTCTG	ACCAATAAGA	TCCGGCAACG
<i>S. kneri</i> (1)T
<i>S. kneri</i> (2)T
<i>S. scherzeri</i> (1)GCTT
<i>S. scherzeri</i> (2)GCTT
<i>C. whiteheadi</i> (1)GCCGCGTC
<i>C. whiteheadi</i> (2)GCCGCGTC
	410	420	430	440	450	460	470	480
<i>S. chuatsi</i>	CCGATCAACG	GACCGAGTTA	CCCTAGGGAT	AACAGCGCAA	TCCCCTTTTA	GAGCCCATAT	CGACAAGGGG	GTTTACGACC
<i>S. kneri</i> (1)
<i>S. kneri</i> (2)
<i>S. scherzeri</i> (1)
<i>S. scherzeri</i> (2)
<i>C. whiteheadi</i> (1)
<i>C. whiteheadi</i> (2)
	490	500	510	520				
<i>S. chuatsi</i>	TCCGATGTTG	ATCAGGACAT	ECTAATGGTG	CAGCCGCTAT	TAAGGG			
<i>S. kneri</i> (1)			
<i>S. kneri</i> (2)			
<i>S. scherzeri</i> (1)			
<i>S. scherzeri</i> (2)			
<i>C. whiteheadi</i> (1)			
<i>C. whiteheadi</i> (2)			

图 1 鳊、大眼鳊、斑鳊、中国少鳞鳊 16S rDNA 比对序列

Fig. 1 Alignment of 16S rDNA sequences of *S. chuatsi*, *S. kneri*, *S. scherzeri* and *C. whiteheadi*

(Moronidae)^[6]、尖吻鲈群(Centropomii)^[9]、花鲈(*Lateolabrax*)^[9]等亲缘关系相对较远。由于鳊类位于树的顶部,为一类淡水特化类群,本研究结果支持将其独立为一科鳊科(Sinpercidae)的提议^[8]。

本研究中选用鲤科鲤作为外群,利用 16S rDNA 序列初步构建了低等鲈形目鱼类的分子系统关系,探讨了鳊类的系统分类位置。由于部分亲缘关系较近的类群可能未包括在内,且所分析的仅为 16S rDNA 片段序列,对各类群间的系统关系置信度尚不太高,因而,有关鲈形目类群内的亲缘关系以及鳊类的确切系统位置有待其他类群和数据进一步补充研究。

参考文献:

- [1] 周才武,杨青,蔡德霖. 鳊亚科 sinipercinae 鱼类的分类整理和地理分布[J]. 动物学研究, 1988,9(2):113-125.
- [2] 刘焕章. 鳊类的系统发育研究及若干种的有效性探讨[J]. 动物学研究,1994,15(增刊):1-12.
- [3] 朱元鼎. 福建鱼类志(下卷)[M]. 福州: 福建科技出版社,1985.
- [4] 孟庆闻. 鱼类分类学[M]. 北京: 中国农业出版社,1995.
- [5] Gosline W A. The limits of the fish family Serranidae, with notes on other lower percoids[J]. Proc Calif Acad Sci, 1966, 33: 91-111.
- [6] Johnson G D. Percoidae: development and relationships[A]. Ontogeny and systematics of fishes[C]. Am Soc Ichthyol Herpetol, Spec Publ 1, 1984, 464-498.
- [7] Walman J R. Systematics of Morone (Pices: Moronidae), with note on the lower percoids[D]. Ph. D. thesis, Department of Biology, The City University of New York, New York, 1986, 150.
- [8] Roberts C D. Comparative morphology of spined scales and their phylogenetic significance in the Teleostei[J]. Bull Mar Sci, 1993, 52(2): 669-716.
- [9] 刘焕章. 鳊类系统位置探讨兼论低等鲈形目鱼类相互关系[C]. 鱼类学论文集(第六辑), 1997, 1-7.
- [10] Pondella II D J, Craig M T, Frank J P C. The phylogeny of *Paralabrax* (Perciformes: Serranidae) and allied taxa inferred from partial 16S and 12S mitochondrial ribosomal DNA sequences[J]. Mol Phylogenet Evol, 2003, 29(1): 176-184.
- [11] Hall T A. Bio edit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT[J]. Nucl Acids Symp Ser, 1999, 41: 95-98.
- [12] Kumar S, Tamura K, Jakobsen I B, et al. MEGA2: molecular evolutionary genetics analysis software[J]. Bioinformatics, 2001, 17: 1244-1245.
- [13] 孔晓瑜,周才武. 鳊亚科(sinipercinae)鱼类的 LDH 同工酶的比较研究[J]. 青岛海洋大学学报, 1992, 22(1): 103-110.
- [14] 孔晓瑜,周才武. 中国鳊亚科 sinipercinae 七种鱼类骨骼形态特征的比较研究[J]. 青岛海洋大学学报, 1993, 23(3): 116-124.
- [15] 李思忠. 鳊亚科鱼类地理分布的研究[J]. 动物学杂志, 1991,26(4): 40-44.
- [16] 成庆泰,杨文华. 中国鲈科鱼类地理分布的初步研究[C]. 鱼类学论文集(第一辑),1981, 1-9.
- [17] Nelson J S. Fishes of the world, third ed[M]. New York: Wiley, 1994.
- [18] Craig M T, Pondella II D J, Frank J P C, et al. On the status of the serranid fish genus *Epinephelus*: evidence for paraphyly based upon 16S rDNA sequence[J]. Mol Phylogenet Evol, 2001, 19(1): 121-130.
- [19] Jerry D R, Elphinstone M S, Baverstock P R. Phylogenetic relationships of Australian members of the family Percichthyidae inferred from mitochondrial 12S rRNA sequence data[J]. Mol Phylogenet Evol, 2002, 18(3): 335-347.
- [20] Orrell T M, Carpenter K E, Musick J A, et al. Phylogenetic and biogeographic analysis of the Sparidae (Perciformes: Percoid) from cytochrome b sequence[J]. Copeia, 2002, (3): 618-631.
- [21] Orrell T M, Carpenter K E. A phylogeny of the fish family Sparidae (porgies) inferred from mitochondrial sequence data[J]. Mol Phylogenet Evol, 2004, 32(2): 425-434.