

文章编号: 1674 - 5566(2016)03 - 0337 - 07

DOI:10.12024/jsou.20150701515

巨鲰细胞色素氧化酶基因多态性及系统进化研究

杜 民^{1,2}, 牛宝珍^{1,2}, 王婷婷^{1,2}, 艾加林^{1,2}, 刘艳红^{1,2}

(1. 红河学院 云南省高校农作物优质高效栽培与安全控制重点实验室, 云南 蒙自 661199; 2. 红河学院 生命科学与技术学院, 云南 蒙自 661199)

摘 要: 采用 PCR 技术克隆得到 12 尾巨鲰(*Bagarius yarrelli*)的细胞色素氧化酶 I (CO I)、细胞色素氧化酶 II (CO II)和细胞色素氧化酶 III (CO III)的基因序列。结果显示:巨鲰 CO I 基因序列全长 1 551 bp, 12 个个体共出现 9 个单倍型, 13 个突变位点; CO II 基因序列全长 691 bp, 12 个个体共出现 5 个单倍型, 5 个突变位点; CO III 基因序列全长 784 bp, 12 个个体出现 7 个单倍型, 8 个突变位点。通过最小进化法 Minimum Evolution (ME)构建系统发育树分析显示, 巨鲰与 14 种鲃科鱼在序列上有一定的同源性, 并且 CO I、CO II 和 CO III 都与中华纹胸鲃(*Glyptothorax sinense*)、福建纹胸鲃(*Glyptothorax fukiensis*)、三线纹胸鲃(*Glyptothorax trilineatus*)和长丝黑鲃(*Gagata dolichonema*)在同一个分支, 表明巨鲰与纹胸鲃属和黑鲃属有较近的亲缘关系。

关键词: 巨鲰; CO I; CO II; CO III; 序列分析; 系统发育

中图分类号: S 917 **文献标志码:** A

巨鲰(*Bagarius yarrelli*)在中国分布于云南省境内的澜沧江、怒江、元江水系^[1], 其肉呈黄色, 故地方名叫“黄鱼”, 隶属于硬骨鱼纲(Osterichthyes)、鲶形目(Siluriformes)、鲃科(Sisoridae)、鲃属(*Bagarius*)。巨鲰是云南特有的大型底栖食肉鱼类, 其体质量可超过 50 kg^[2]。目前对巨鲰的研究主要集中在巨鲰的外部形态特征^[3]、人工繁殖^[2]和人工驯养^[4]等方面, 2012 年糯扎渡水电站有效地解决了池塘驯养和人工繁殖技术问题, 但是鱼苗成活时间较短, 通过对研究方法不断改进, 到目前为止人工繁殖技术已经得到提升, 并成功记录了巨鲰的胚胎发育过程^[5]。

线粒体 DNA 是目前分子生物学研究的一个重要领域, 而鱼类 mtDNA 是鱼类分子系统学研究和群体遗传分析的重要标记^[6]。近年来越来越多的研究者将线粒体基因作为分子标记应用到鱼类的分类及系统发育^[7-8]、物种鉴别^[9]和系统进化关系^[10]等研究领域。动物的细胞色素 C

氧化酶由 13 个亚基组成, 其中 3 大亚基(CO I、CO II、CO III)由线粒体基因(mitochondrial DNA, mtDNA)编码合成, 具有酶催化活性^[11], 是线粒体内膜上呼吸链的重要组成部分, 具有较高的保守性, 是研究远缘物种系统分类和演化的有效基因^[12]。目前, 学者利用 CO I 基因、CO II 基因、CO III 基因对鱼类的遗传变异与系统发育进行了研究。如:齐兴柱等^[13]利用 CO II 基因分析了 5 种中国南海裸胸鲂属鱼类的系统进化关系; 李京等^[14]通过部分 CO II 基因分析了 28 个沟脰天牛亚种的系统发育状况; 董徐辉等^[15]运用细胞色素 b 和细胞色素氧化酶 II 基因分析了日本鬼鲃和 28 种鲃形目线粒体系统发育关系; 张望等^[16]通过细胞色素氧化酶 I 对鲃科鱼类 89 尾个体的序列特征进行了分析; 崔文涛等^[17]通过细胞色素氧化酶 II 基因序列对中国近海 12 种鲃亚科动物的分子系统进化关系进行了分析; 乔德亮等^[18]通过细胞色素氧化酶 II 对细鳞斜颌鲷 3 个群体线粒体的遗传与变异进行了研究。由于人类活动对

收稿日期: 2015-07-23 修回日期: 2015-10-10

基金项目: 国家自然科学基金(31360638); 云南省教育厅科学研究基金重大专项(ZD2013009); 云南省中青年学术带头人后备人才项目(2015HB059); 红河学院中青年学术带头人后备人才项目(2014HB0203); 红河学院博士专项(14bs11)

作者简介: 杜 民(1974—), 男, 博士, 副教授, 研究方向为水生生物技术与资源。E-mail: du2005min@126.com

通信作者: 刘艳红, E-mail: kidliu1968@126.com

河干的干扰,以及对野生巨鲈的滥捕滥杀,使得种群数量和产卵场破坏较为严重,巨鲈数量急剧减少。为了保护巨鲈的种质资源,并对巨鲈的遗传变异进行研究,本实验通过设计特异性引物对巨鲈线粒体 *CO I*、*CO II* 和 *CO III* 的基因克隆,进行序列多态性分析并研究巨鲈的进化关系,为下一步的研究提供分子依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究的 12 条巨鲈采自云南省河口县,剪取肌肉组织放于 1.5 mL EP 管中贴上对应标签,加入无水乙醇,置于 4 °C 保存备用。

1.2 实验方法

高纯度的巨鲈基因组 DNA 的提取采用杜民等^[19]的酚-氯仿-异戊醇方法。在 100 mL 1% 的

琼脂糖凝胶中加入 6 μ L 溴化乙锭(EB)来检测提取的 DNA 样品纯度。利用设计的 3 对特异性引物(表 1)对提取的 DNA 进行 PCR 扩增,1% 的琼脂糖凝胶检测扩增片段,用凝胶成像系统观察并进行拍照保存。筛选出目的条带利用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳,在暗箱式紫外分光仪下切取目的片段,用琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒(天根生化科技北京有限公司)回收 DNA,于 1% 琼脂糖凝胶电泳检验后与 PMD18-T 载体(北京博迈德生物技术有限公司)进行连接,利用 TOP10 感受态细胞进行转化并克隆,挑选阳性克隆利用 M13 通用引物进行菌液 PCR,扩增产物在 1% 的琼脂糖凝胶上进行电泳,使用凝胶成像系统进行检测并拍照保存,筛选出具有阳性克隆的菌株,送南京金斯瑞生物科技有限公司测序。

表 1 引物名称及序列

Tab. 1 Primer name and sequence

引物名称 primer name	引物序列(5'-3') primer sequence(5'-3')	目的片段大小/bp fragment size
Baya09F	GAGTGAAAAYCTCCTAGTCYCT	1 304
Baya09R	GTTTCTCATTTAATWGAKCCTCC	
Baya10F	TAGACACCCGACGATAYTTYACA	1 172
Baya10R	GAAGGYCARGTTTTCGTAGTC	
Baya11F	GCCTCCCCYRTAATAGAAGAA	1 208
Baya11R	GACGGCCAGGCCYATATTTA	
Baya13F	TACAAGAAAACGTATAATGGCC	1 258
Baya13R	CCGAAATCAGAGGTCCTTRTRT	

1.3 数据分析

利用 DNAMAN 5.0 对克隆得到的序列进行手动剪切并与 GenBank 中巨鲈序列进行配对剪切得到目的基因的序列全长,对序列进行同源性分析;利用 MEGA 5.0 软件进行碱基组成分析、遗传距离分析并利用最小进化法(minimum evolution, ME)构建系统发育树。

2 结果与分析

2.1 序列分析

采用 DNAMAN 5.0 和 MEGA 5.0 软件对获得的巨鲈序列进行拼接并分析,表明巨鲈 *CO I* 基因序列全长 1 551 bp,起始密码子为 ATG,终止密码子为 TAA,12 个个体共出现了 9 个单倍型(1 号和 2 号为一个单倍型,5 号、10 号和 12 号为一个

单倍型),13 个突变位点;*CO II* 基因序列全长 691 bp,12 个个体共出现了 5 个单倍型(5 号、6 号、8 号、9 号和 10 号为一个单倍型),5 个突变点,起始密码子为 ATG,终止密码子为 TGA;*CO III* 基因序列全长 784 bp,12 个个体出现了 7 个单倍型(1 号、5 号、6 号、8 号、9 号和 10 号为一个单倍型),8 个突变位点,起始密码子为 ATG,终止密码子为 TGA。*CO I* 碱基组成 T 含量最高(29.1%),G 含量最低(18.1%),A + T(56.5%)明显高于 G + C(43.5%);*CO II* 碱基组成 A 含量最高(30.7%),G 含量最低(15.8%),A + T(57.2%)明显高于 G + C(42.9%);*CO III* 碱基组成 T 含量最高(27.6%),G 含量最低(17.4%),A + T(55.0%)明显高于 G + C(45.0%)。具体碱基含量见表 2~4。

表 2 巨鲃线粒体 *CO I* 碱基组成
Tab. 2 The base composition of *B. yarrelli* mitochondrial *CO I* gene %

个体编号 individual number	T	C	A	G	A + T	G + C
1/2	29.1	25.5	27.4	18	56.5	43.5
10	29.2	25.3	27.3	18.1	56.5	43.4
5/11/12	29.1	25.5	27.3	18.1	56.4	43.6
3	29.3	25.4	27.4	17.9	56.7	43.3
4	29.1	25.5	27.4	18.1	56.5	43.6
6	29.6	25.5	27.3	18.1	56.9	43.6
7	29	25.7	27.4	17.9	56.4	43.6
8	29.1	25.5	27.3	18.1	56.4	43.6
9	29.1	25.5	27.3	18.1	56.4	43.6
平均数 average	29.1	25.5	27.4	18.1	56.5	43.6

表 3 巨鲃线粒体 *CO II* 碱基组成
Tab. 3 The base composition of *B. yarrelli* mitochondrial *CO II* gene %

个体编号 individual number	T	C	A	G	A + T	G + C
1/7	26.5	27.1	30.7	15.8	57.2	42.9
5/6/8/9/10/11/12	26.5	27.1	30.8	15.6	57.3	42.7
2	26.5	27.1	30.7	15.8	57.2	42.9
3	26.3	27.1	30.7	15.9	57	43
4	26.5	27.1	30.7	15.8	57.2	42.9
平均值 average	26.5	27.1	30.7	15.8	57.2	42.9

表 4 巨鲃线粒体 *CO III* 碱基组成
Tab. 4 The base composition of *B. yarrelli* mitochondrial *CO III* gene %

个体编号 individual number	T	C	A	G	A + T	G + C
1/5/6/8/9/10	27.7	27.6	27.4	17.3	55.1	44.9
11	27.7	27.6	27.6	17.2	55.3	44.8
12	27.6	27.7	27.4	17.3	55.0	45.0
2	27.6	27.7	27.6	17.2	55.2	44.9
3	27.7	27.6	27.3	17.5	55.0	45.1
4	27.7	27.6	27.3	17.5	55.0	45.1
7	27.7	27.6	27.3	17.5	55.0	45.1
平均值 average	27.6	27.6	27.4	17.4	55.0	45.0

2.2 分子系统遗传关系

对 12 个个体的遗传距离进行分析表明: *CO I* 的 10 号个体与 3 号、4 号和 8 号个体(0.003 9), *CO II* 的 2 号个体与 1 号、2 号和 5 号个体(0.004 4), *CO III* 的 2 号个体与 3 号个体(0.003 9)遗传距离最大。利用 MAGE 5.0 软件中的最小进化法(minimum evolution, ME)将巨鲃与中华纹胸鲃(*Glyptothorax sinensis*)、中华鲃(*Pareuchiloglanis sisensis*)、福建纹胸鲃(*Glyptothorax fukiensis*)、三线纹胸鲃(*Glyptothorax trilineatus*)、大鳍异齿鲃(*Oreoglanis macropterus*)、黄斑褶鲃(*Pseudecheneis sulcata*)、拟鲃

(*Pseudexostoma yunnanensis*)、细尾鲃(*Pareuchiloglanis gracilicaudata*)、藏鲃(*Exostoma labiatum*)、凿齿鲃(*Glaridoglanis andersoni*)、扁头鲃(*Creteuchiloglanis kamengensis*)、黄石爬鲃(*Euchioglanis kishinougei*)、黑斑原鲃(*Glyptostemon maculatum*)、长丝黑鲃(*Gagata dolichonema*)等 14 种鲃科鱼碱基序列构建系统发育树,结果显示 *CO I*、*CO II* 和 *CO III* 都与中华纹胸鲃、福建纹胸鲃、三线纹胸鲃和长丝黑鲃在同一个分支,表明巨鲃与纹胸鲃属和黑鲃属的亲缘关系较近。14 种鲃科鱼类基因片段的登录号见表 5,具体系统发育树见图 1~3。

表 5 15 种鲱科种类及登录号
Tab. 5 15 species and accession numbers of Sisoridae

属名 genus	物种 species	登录号 accession number
纹胸鲱属 (<i>Glyptothorax</i>)	中华纹胸鲱 (<i>Glyptothorax sinensis</i>)	NC_024672
	福建纹胸鲱 (<i>Glyptothorax fukiensis</i>)	NC_018769
	三线纹胸鲱 (<i>Glyptothorax trilineatus</i>)	NC_021608
褶鲱属 (<i>Pseudecheneis</i>)	黄斑褶鲱 (<i>Pseudecheneis sulcata</i>)	NC_021605
原鲱属 (<i>Glyptostemon</i>)	黑斑原鲱 (<i>Glyptostemon maculatum</i>)	NC_021597
石爬鲱属 (<i>Euchioglanis</i>)	黄石爬鲱 (<i>Euchioglanis kishinouei</i>)	NC_021598
	中华鲱 (<i>Pareuchiloglanis sisensis</i>)	NC_024434
鲱属 (<i>Pareuchiloglanis</i>)	细尾鲱 (<i>Pareuchiloglanis gracilicaudata</i>)	NC_021603
	扁头鲱 (<i>Creteuchiloglanis kamengensis</i>)	NC_021599
凿齿鲱属 (<i>Glariodoglanis</i>)	凿齿鲱 (<i>Glariodoglanis andersonii</i>)	NC_021600
拟鳃属 (<i>Pseudexostoma</i>)	拟鳃 (<i>Pseudexostoma yunnanensis</i>)	NC_021604
异齿鳃属 (<i>Oreoglanis</i>)	大鳍异齿鳃 (<i>Oreoglanis macropterus</i>)	NC_021607
鳃属 (<i>Exostoma</i>)	藏鳃 (<i>Exostoma labiatum</i>)	NC_021601
黑鲱属 (<i>Gagata</i>)	长丝黑鲱 (<i>Gagata dolichonema</i>)	NC_021596
鲃属 (<i>Bagarius</i>)	巨鲃 (<i>Bagarius yarrelli</i>)	NC_021606

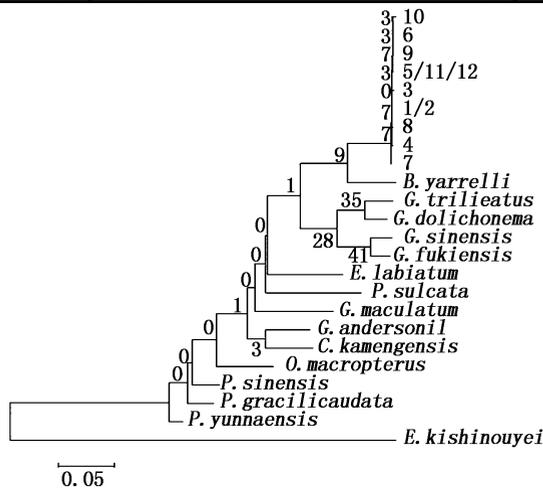


图 1 利用 ME 法构建 15 种鲱科鱼线粒体 CO I 基因分子系统树

Fig. 1 Molecular phylogenetic tree constructed by ME method of mitochondrial CO I gene from 15 species of Sisoridae

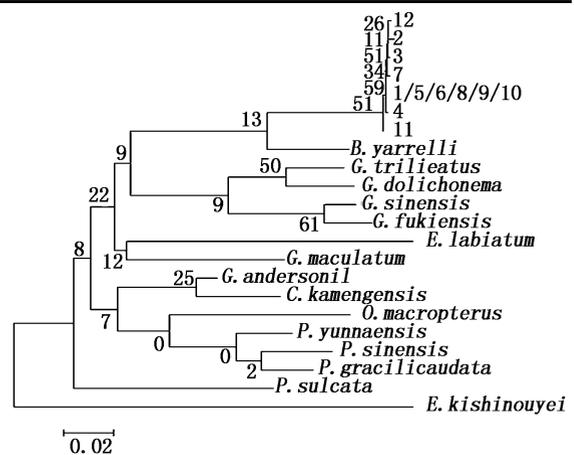


图 3 利用 ME 法构建 15 种鲱科鱼线粒体 CO III 分子系统树

Fig. 3 Molecular phylogenetic tree constructed by ME method of mitochondrial CO III gene from 15 species of Sisoridae

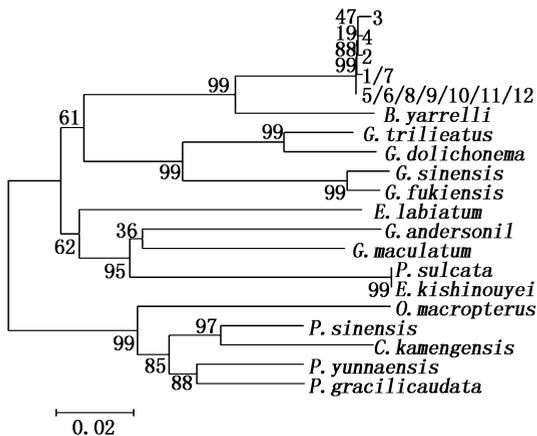


图 2 利用 ME 法构建 15 种鲱科鱼线粒体 CO II 分子基因系统树

Fig. 2 Molecular phylogenetic tree constructed by ME method of mitochondrial CO II gene from 15 species of Sisoridae

3 讨论

巨鲃在中国主要分布于云南省的怒江、澜沧江以及元江水系。红河州河口县位于元江下游，元江是该河流流经云南省玉溪市元江地段的名称，流经红河州地段就称之为红河^[20]。本实验研究的巨鲃来源于地势比较平坦的河口县地段，该流域较适合巨鲃的生存。通过对巨鲃的多态性研究可以探讨在该流域的巨鲃遗传变异程度。

多态性指两个无关个体的碱基平均相差 3% 但不改变氨基酸排列^[6]。核苷酸多态性是衡量一个群体遗传多样性大小的重要指标^[18]。目前，基因的多态性研究主要应用于人类疾病方面，到目前为止全球已有 1 831 种疾病可以用基因多态

性技术进行诊断^[21],但是,运用基因的多态性对巨鲶鱼类遗传和变异方面进行研究的资料不多。本研究对巨鲶的 *CO I*、*CO II*、*CO III* 基因进行克隆,并对其多态性进行分析,建立与鲶科的系统进化关系来对河口巨鲶进行深入研究,以确立其种群关系。

本研究通过克隆得到巨鲶 12 个个体 *CO I*、*CO II*、*CO III* 基因序列,并利用 MEGA 5.0 分析表明 *CO I* 基因序列全长 1 551 bp,起始密码子为 AUG,终止密码子为 TAA;出现了 5 个 T 与 C 的转换,1 个 A 与 C 的转换,5 个 G 与 A 的转换,1 个 G 与 T 的转换,1 个 A 与 T 的颠换;一个 12 个位点的插入,插入序列为 CAACACTCCATG,共 14 个变异位点。*CO II* 基因序列全长 691 bp,起始密码子为 ATG,终止密码子为 TGA;出现了 4 个 A 与 G 的转换,1 个 T 与 C 的转换,共 5 个变异位点。*CO III* 基因序列全长 784 bp,起始密码子为 ATG,终止密码子为 TGA,出现了 5 个 A 与 G 的转换,2 个 T 与 C 的转换,1 个缺失。符合 DNA 进化转换比颠换发生频率高的特点^[22]。多态性分析在序列上都具有较高的同源性,*CO I* 基因遗传距离在 0.000 6~0.003 9 之间,*CO II* 基因遗传距离在 0.001 5~0.004 4 之间,*CO III* 基因遗传距离在 0.001 3~0.003 9 之间,都非常接近表现出了遗传的高度稳定。可初步断定来自同一流域的不同个体 *CO I*、*CO II*、*CO III* 具有较高的遗传稳定性,可能由于生活在同一河流的原因,这些基因的突变率较低,序列较为保守。通过碱基成分分析,虽然 3 个基因的碱基含量有一定的差别,但是都同时表现为 A+T 含量明显高于 G+C 含量,符合脊椎动物线粒体 DNA 碱基组成的特点。系统发育研究表明,*CO I*、*CO II*、*CO III* 都与中华纹胸鲶、福建纹胸鲶、三线纹胸鲶和长丝黑鲶在同一个分支,此结果与报道的巨鲶属于鲶科的外缘种类^[20]相符合,同时与报道的黑鲶属包含鲶属和纹胸鲶属的分类相一致^[23]。通过系统进化树分析还可以看出河口巨鲶与 GenBank 中巨鲶(云南省澜沧江流域)的基因序列有一定的差异,可为下一步的研究提供分子依据。

参考文献:

- [1] 陈小勇. 云南鱼类名录[J]. 动物学研究, 2013, 34(4): 281-343.
CHEN X Y. Checklist of fishes of Yunnan[J]. Zoological Research, 2013, 34(4): 281-343.
- [2] 刘跃天, 田树魁, 冷云, 等. 野生巨鲶生物学特性研究[J]. 现代农业科技, 2010(18): 302-303, 307.
LIU Y T, TIAN S K, LENG Y, et al. Study on the biological characteristics of wild *Bagarius yarrelli* [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2010(18): 302-303, 307.
- [3] 田树魁, 薛晨江, 冷云, 等. 巨鲶的生物学特性初步研究[J]. 水生态学杂志, 2009, 30(3): 115-117.
TIAN S K, XUE C J, LENG Y, et al. Preliminary research on the biological characteristics of *Bagarius yarrelli* [J]. Journal of Hydroecology, 2009, 30(3): 115-117.
- [4] 杨质高. 全球首次人工育成巨鲶[N]. 中国渔业报, 2012-09-10.
YANG Z G. The first artificial propagation of *Bagarius yarrelli* [N]. China Fisheries Newspaper, 2012-09-10.
- [5] 薛晨江, 张正雄, 马建颜, 等. 巨鲶人工繁殖初报与胚胎发育观察[J]. 水生态学杂志, 2012, 33(5): 54-56.
XUE C J, ZHANG Z X, MA J Y, et al. Preliminary studies on artificial propagation and embryonic development of *Bagarius yarrelli* [J]. Journal of Hydroecology, 2012, 33(5): 54-56.
- [6] 陈四海, 区又君, 李加儿. 鱼类线粒体 DNA 及其研究进展[J]. 生物技术通报, 2011(3): 13-20.
CHEN S H, OU Y J, LI J E. Mitochondrial DNA and its progresses in fish [J]. Biotechnology Bulletin, 2011(3): 13-20.
- [7] KEITH P, LORD C, LORION J, et al. Phylogeny and biogeography of Sicydiinae (Teleostei: Gobiidae) inferred from mitochondrial and nuclear genes[J]. Marine Biology, 2011, 158(2): 311-326.
- [8] LORD C, LORION J, DETTAI A, et al. From endemism to widespread distribution: phylogeography of three amphidromous *Sicyopterus species* (Teleostei: Gobioidae: Sicydiinae)[J]. Marine Ecology, 2012, 455: 269-285.
- [9] JEON H B, CHOI S H, SUK H Y. Exploring the utility of partial cytochrome C oxidase subunit I for DNA barcoding of gobies[J]. Animal Systematics, Evolution and Diversity, 2012, 28(4): 269-278.
- [10] 李林, 梁宏伟, 李忠, 等. 瓦氏黄颡鱼线粒体全基因组序列分析及系统进化[J]. 遗传, 2011, 33(6): 627-635.
LI L, LIANG H W, LI Z, et al. Sequence and phylogeny analysis of the complete mitochondrial genome of *Pelteobagrus vachelli* [J]. Hereditas (Beijing), 2011, 33(6): 627-635.
- [11] 晁燕, 祁得林, 申志新, 等. 黄河裸裂尻鱼细胞色素 C 氧化酶 I, II 和 III 亚基基因的克隆及序列特征分析[J]. 动物学杂志, 2011, 46(4): 16-24.
CHAO Y, QI D L, SHEN Z X, et al. Cloning and sequence analysis of genes encoding mtDNA cytochrome C oxidase subunits I, II and III in *Schizopygopsis pylzovi* [J]. Chinese Journal of Zoology, 2011, 46(4): 16-24.

- [12] 邵爱华. 暗纹东方鲀(*Takifugu fasciatus*)线粒体 DNA 的分离纯化及其几个重要基因的克隆与序列分析[D]. 苏州: 苏州大学, 2005.
SHAO A H. Purification of mitochondrial DNA and cloning and analysis of the sequences of several important genes from *Takifugu fasciatus*[D]. Suzhou: Soochow University, 2005.
- [13] 齐兴柱, 尹绍武, 张本, 等. 基于 mtDNA-CO II 基因序列对中国南海裸胸鲯属鱼类分子系统进化关系的研究[J]. 水产科学, 2010, 29(10): 605 - 609.
QI X Z, YIN S W, ZHANG B, et al. Molecular phylogenetic relationships among six species in moray eels *Gymnothorax* sp in south China Sea by cytochrome oxidase II gene sequences [J]. Fisheries Science, 2010, 29(10): 605 - 609.
- [14] 李京, 安世恒, 张鸿飞, 等. 沟脰天牛亚科部分种类线粒体 CO II 基因特征及其系统发育研究[J]. 河南农业大学学报, 2013, 47(6): 715 - 721.
LI J, AN S H, ZHANG H F, et al. Study on mitochondrial CO II gene characters and its phylogenetic analysis of Lamiinae partial species [J]. Journal of Henan Agricultural University, 2013, 47(6): 715 - 721.
- [15] 董徐辉, 李明云, 陈炯, 等. 日本鬼鲉(*Inimicus japonicus*)线粒体 Cyt b 和 CO II 基因的克隆及鲉形目系统发育分析[J]. 海洋与湖沼, 2011, 42(1): 47 - 54.
DONG X H, LI M Y, CHEN J, et al. Cloning of *Inimicus japonicus* mitochondrial Cyt b and CO II gene and their phylogenetic analysis in Scorpaeniformes [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2011, 42(1): 47 - 54.
- [16] 张望, 陈秀开, 彭勇, 等. 鳅科鱼类 DNA 条形码分析及泥鳅和大鳞副泥鳅的分子鉴定[J]. 淡水渔业, 2015, 45(3): 19 - 24.
ZHANG W, CHEN X K, PENG Y, et al. DNA barcoding analysis of cobitidae fishes and molecular identification for *misgurnus anguillicaudatus* and *paramisgurnus dabryanus* [J]. Freshwater Fisheries, 2015, 45(3): 19 - 24.
- [17] 崔文涛, 刘立芹, 李红梅, 等. 基于 CO II 基因序列的中国近海 12 种鲎亚科动物的分子系统进化研究[J]. 渔业科学进展, 2013, 34(3): 21 - 28.
CUI W T, LIU L Q, LI H M, et al. Phylogenetic study of Octopodinae in the China seas based on CO II partial sequences [J]. Progress in Fishery Sciences, 2013, 34(3): 21 - 28.
- [18] 乔德亮, 何晓梅, 韦传宝, 等. 细鳞斜颌鲴三个群体线粒体 CO II 基因的遗传变异[J]. 淡水渔业, 2011, 41(5): 17 - 21.
QIAO D L, HE X M, WEI C B, et al. Genetic variation of mtDNA CO II gene in three populations of *Plagiognathops microlepis* [J]. Freshwater Fisheries, 2011, 41(5): 17 - 21.
- [19] 杜民, 牛宝珍, 罗彩艳, 等. 巨鲟野生群体遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 淡水渔业, 2015, 45(1): 15 - 19, 24.
DU M, NIU B Z, LUO C Y, et al. RAPD analysis of genetic diversity in the wild populations of *Bagarius yarrelli* [J]. Freshwater Fisheries, 2015, 45(1): 15 - 19, 24.
- [20] 周用武, 庞峻峰, 周伟, 等. 鲱科褶鲱属鱼类部分线粒体 DNA 序列分析与分子进化[J]. 西南林学院学报, 2007, 27(3): 45 - 51.
ZHOU Y W, PANG J F, ZHOU W, et al. Taxonomy and molecular evolution of genus *Pseudecheneis* in family Sisoridae inferred from partial mitochondrial DNA sequences [J]. Journal of Southwest Forestry College, 2007, 27(3): 45 - 51.
- [21] 梁辰. 基因多态性检测项目综合评价研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2014.
LIANG C. Comprehensive evaluation of gene polymorphism detection project [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2014.
- [22] 单云晶, 鲁翠云, 李超, 等. 基于线粒体 CO I 基因序列的 5 种鲤养殖品种遗传多样性研究[J]. 中国水产科学, 2013, 20(5): 931 - 938.
SHAN Y J, LU C Y, LI C, et al. Study of DNA barcoding and genetic variation based on the mitochondrial CO I gene sequences in five carp varieties [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(5): 931 - 938.
- [23] 肖海, 代应贵, 张晓杰, 等. 我国鲱科鱼类种质资源研究进展[J]. 广东农业科学, 2010(8): 180 - 182, 198.
XIAO H, DAI Y G, ZHANG X J, et al. Advances in the study on the genetic resources of Sisoridae in China [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2010(8): 180 - 182, 198.

Study on the polymorphism and phylogeny of cytochrome oxidase gene of *Bagarius yarrelli*

DU Min^{1,2}, NIU Baozhen^{1,2}, WANG Tingting^{1,2}, AI Jialin^{1,2}, LIU Yanhong^{1,2}

(1. Key Lab for Quality, Efficient Cultivation and Security Control of Crops in Colleges and University of Yunnan Province, Honghe University, Mengzi 661199, Yunnan, China; 2. College of Life Science and Technology, Honghe University, Mengzi 661199, Yunnan, China)

Abstract: The gene sequences of cytochrome oxidase subunit I, cytochrome oxidase subunit II and cytochrome oxidase subunit III of 12 individuals of *Bagarius yarrelli* were obtained by PCR technique and clone methods; MEGA5.0 program was used to analyze their phylogeny and polymorphism. It can be seen from the results that the total length of CO I gene sequence was 1 551 bp, as well as 12 individuals showed 9 haplotypes and 13 mutation sites; the total length of CO II gene sequence was 691 bp, as well as 12 individuals denoted 5 haplotypes and 5 mutation sites; the total length of CO III gene sequence was 784 bp, as well as 12 individuals showed 7 haplotypes and 8 mutation sites. Phylogenetic analysis reveals that *B. yarrelli* has a certain sequence homology with 14 species of Sisoridae. The structured Minimum Evolution (ME) phylogenetic tree from sequences of CO I, CO II and CO III showed that *B. yarrelli* exists in the same branch with *Glyptothorax sinense*, *Glyptothorax fukiensis*, *Glyptothorax trilineatus* and *Gagata dolichonema*, which indicates that *B. yarrelli* has a close genetic relationship with species of *Glyptothorax* and *Gagata*.

Key words: *Bagarius yarrelli*; Cytochrome oxidase subunit I (CO I); Cytochrome oxidase subunit II (CO II); Cytochrome oxidase subunit III (CO III); sequence analysis; phylogeny