

## 2 种珍稀裂腹鱼类线粒体 DNA 部分序列片的比较分析

杨天燕 孟 玮 张人铭 郭 焱 海 萨 谢春刚

新疆维吾尔自治区水产科学研究所 乌鲁木齐 830000

**摘要:** 对扁吻鱼(*Aspiorhynchus laticeps*)及塔里木裂腹鱼(*Schizothorax biddulphi*)线粒体 *CO I* (624 bp)、*Cyt b* (712 bp) 和 D-loop (457 bp) 基因片段进行了 PCR 扩增和序列测定。通过分析比较发现, 3 个片段 A + T 含量与其他鱼类相比均较高, G 含量偏低这一现象在 2 个蛋白质编码基因第 3 位点上显得尤为突出。2 种裂腹鱼种内个体间序列变异较小。3 个基因片段的核苷酸替代速率依次为 D-loop > *Cyt b* > *CO I*。基于核苷酸最佳替换模型计算 2 种裂腹鱼在 3 个基因片段的遗传距离, *CO I* 为 0.055, *Cyt b* 为 0.060, D-loop 为 0.074。基于 *Cyt b* 基因片段序列分析结果表明, 扁吻鱼和塔里木裂腹鱼发生遗传分化时间大约在距今 3.57 百万年左右的上新世, 分化时间早于特化等级和高度特化等级裂腹鱼类。塔里木河水系处于青藏高原北部边缘地带, 在地理发育上属于青藏高原的一部分, 新疆裂腹鱼类的进化一定程度上受到青藏高原隆起这一地质事件的影响。

**关键词:** 扁吻鱼; 塔里木裂腹鱼; 线粒体 DNA; 序列分析; 遗传差异

中图分类号: Q953 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2011)03-47-08

## Comparative Analysis of mtDNA Gene between Two Rare Schizothoracine Fishes

YANG Tian-Yan MENG Wei ZHANG Ren-Ming GUO Yan HAI Sa XIE Chun-Gang

Xinjiang Fisheries Research Institute, Urumqi 830000, China

**Abstract:** The mtDNA *CO I* (624 bp), *Cyt b* (712 bp) and D-loop (457 bp) gene fragments of *Aspiorhynchus laticeps* and *Schizothorax biddulphi* were sequenced by PCR respectively and sequence comparisons were made to identify differentiation. The percentage of A + T content was higher than that of G + C content in three gene fragments. There was a strong bias against G content, especially in the third codon positions of protein-coding genes (*CO I* and *Cyt b*). Sequence analysis indicated that the variation of intra-species was low and the nucleotide substitution rate of three gene fragments arranged from high to low was D-loop > *Cyt b* > *CO I*. The estimated divergence time between two Schizothoracine species based on *Cyt b* gene was about 3.57 MaBP in Pliocene, which was earlier than the specialized grade and high specialized grade species. Because the Tarim River lies in the northern edge of the Qinghai-Tibet Plateau and is geographical development as a part of the Tibetan Plateau, the uplift of Qinghai-Tibet Plateau influences the evolution of Schizothoracine species in Xinjiang to some extent.

**Key words:** *Aspiorhynchus laticeps*; *Schizothorax biddulphi*; Mitochondrial DNA; Sequences analysis; Genetic variety

**基金项目** 国家自然科学基金项目 (No. 31060356), 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目 (No. 2009211A30);

**第一作者介绍** 杨天燕, 女, 工程师; 研究方向: 种群遗传; E-mail: hellojelly1130@yahoo.com.cn。

收稿日期: 2010-08-26, 修回日期: 2011-03-02

扁吻鱼(*Aspiorhynchus laticeps*)和塔里木裂腹鱼(*Schizothorax biddulphi*)分别隶属于鲤形目(Cypriniformes)鲤科(Cyprinidae)扁吻鱼属和裂腹鱼属,我国仅分布于新疆塔里木河水系,是该水系裂腹鱼类中具代表性的种类<sup>[1-2]</sup>。

由于性成熟年龄较晚、繁殖力低、对生活及产卵环境要求高等,加之近年来生态环境的改变和人为因素的影响,扁吻鱼和塔里木裂腹鱼自然资源遭到严重破坏,种群迅速消退。目前,扁吻鱼仅在阿克苏河下游河段的艾西曼湖群和渭干河水系的克孜尔水库等水域尚残留极少数数量,塔里木裂腹鱼仅在塔里木河水系的阿克苏河、渭干河、叶尔羌河、和田河等有一定数量<sup>[3-4]</sup>。1988年扁吻鱼被列为国家I类保护水生野生动物,2004年塔里木裂腹鱼被列为新疆维吾尔自治区II类保护物种,均收录于《中国濒危动物红皮书》中<sup>[5]</sup>。

目前,关于这两种珍稀鱼类的研究多集中于生物学、生理生态学和资源调查等领域<sup>[3-4,6-10]</sup>,遗传学方面的报道不多,仅见孙希福等<sup>[11]</sup>运用同工酶手段对扁吻鱼养殖群体进行分析研究,阎雪岚等<sup>[12]</sup>对克孜尔河3个群体塔里木裂腹鱼线粒体Cyt *b*基因序列进行了分析测定,尚未见其他方面的研究工作。

本研究对扁吻鱼和塔里木裂腹鱼线粒体CO I、Cyt *b*和D-loop基因的部分序列进行了PCR扩增和序列的测定分析,比较了2种裂腹鱼在线粒体基因不同片段的遗传分化程度,探讨了2物种的亲缘关系,为保护扁吻鱼和塔里木裂腹鱼资源提供遗传背景依据。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料** 扁吻鱼及塔里木裂腹鱼样品分别于2009年5~6月间采自阿克苏扁吻鱼原种场和阿克苏河多浪渠首。各取5尾,剪部分尾鳍放入无水乙醇中固定,带回实验室于-20℃冰箱保存备用。

**1.2 DNA提取及PCR扩增** 实验前将鳍条从酒精中取出,充分漂洗晾干并剪碎,采用标准酚-氯仿法提取基因组DNA<sup>[13]</sup>。抽提的DNA

取2 μl用1.5%的琼脂糖凝胶电泳检测,并稀释到合适浓度用于PCR扩增。

用于扩增线粒体DNA的CO I、Cyt *b*和D-loop基因片段的引物序列分别为:

CO I: FishF1 5'-TCA ACC AAC CAC AAA GAC ATT GGC AC-3'和 FishR1 5'-TAG ACT TCT GGG TGG CCA AAG AAT CA-3';

Cyt *b*: L14724 5'-GAC TTG AAA AAC CAC CGT TG-3'和 H15915 5'-CTC CGA TCT CCG GAT TAC AAG AC-3';

D-loop: CR-F 5'-CCA CCA CTA GCT CCC AAA GC-3'和 CR-R 5'-CTG TGG AGA GAA TGC TCG GCA TG-3'。

PCR反应总体积50 μl,其中10 × buffer 5.0 μl, Mg<sup>2+</sup>终浓度为2.0 mmol/L, dNTP(2.5 mmol/L)4 μl, Taq聚合酶2 U,引物(10 μmol/L)各2 μl,模板DNA 2 μl(1 μg),加灭菌水至终体积50 μl。反应条件为:95℃预变性5 min,然后是35个循环,每个循环包括94℃变性45 s,54℃(CO I)、57℃(Cyt *b*)、52℃(D-loop)退火45 s,72℃延伸1 min,最后72℃再延伸10 min。以上反应均设阴性对照,以排除DNA污染的情况。PCR扩增产物于1.5%琼脂糖凝胶电泳检测,挑选条带清晰的PCR产物送上海英骏(invitrogen)生物有限公司进行纯化回收及双向测序。

**1.3 数据分析** 用DNASTAR软件结合人工校正,进行同源序列的拼接和排列。用DNASP软件检测多态位点(polymorphic sites)和简约信息位点数(parsimony informative sites)。用Modeltest软件基于AIC标准选择3个基因片段最佳替换模型,根据最适模型运用Meg 3.1软件进行序列碱基组成及序列间碱基替代数、差异位点的统计分析及遗传距离的计算,并将蛋白质编码基因核苷酸序列转化为氨基酸序列。

## 2 结 果

**2.1 序列变异及碱基组成分析** PCR扩增后分别得到5尾扁吻鱼和5尾塔里木裂腹鱼清晰的CO I、Cyt *b*及D-loop基因片段扩增产物。

序列经测定比对分析得到同源序列片段长度分别为 624 bp、712 bp 和 457 bp。2 种裂腹鱼不同基因片段碱基组成见表 1, 可见扁吻鱼 T、A 碱基含量均略高于塔里木裂腹鱼, 而 C、G 碱基含量略低于塔里木裂腹鱼。对于 2 种鱼而言, 3 个目的片段中 G 碱基含量均最低, 其中扁吻鱼

D-loop 片段最低, 仅为 14.0%。编码基因 *CO I* 和 *Cyt b* 片段在碱基组成上具有强烈的偏向性, 密码子第 1 位点上各碱基比例相差不大; 第 2 位点上 T 含量明显高于其他位点; 第 3 位点上 G 含量显著偏低; 3 个位点的 A + T 含量均高于 C + G 含量(图 1)。

表 1 2 种裂腹鱼 *CO I*、*Cyt b* 和 D-loop 基因片段的碱基组成(%)

Table 1 The base composition of *CO I*, *Cyt b* and D-loop gene fragments of two Schizothoracine species

种类 Species	<i>CO I</i>					<i>Cyt b</i>					D-loop				
	T	C	A	G	A+T	T	C	A	G	A+T	T	C	A	G	A+T
扁吻鱼 <i>Aspiorhynchus laticeps</i>	28.3	28.1	26.6	17.0	54.9	30.1	27.1	26.4	16.3	56.5	32.5	16.9	36.6	14.0	69.1
塔里木裂腹鱼 <i>Schizothorax biddulphi</i>	27.7	29.2	25.4	17.7	53.1	29.6	27.7	26.1	16.6	55.7	31.5	17.1	36.5	14.9	68.0

2 种间 *CO I* 基因片段上检测到 36 处变异位点; *Cyt b* 基因片段上检测到 54 处变异位点; D-loop 基因片段上检测到 41 处变异位点(图 2)。 *CO I* 和 *Cyt b* 基因片段均未出现碱基的插入/缺失, D-loop 基因片段中有 4 处碱基插入/缺失。

**2.2 遗传差异分析** 扁吻鱼和塔里木裂腹鱼在线粒体 3 个不同基因片段及其对应的蛋白质编码氨基酸序列上存在不同程度的遗传分化。 *CO I* 和 *Cyt b* 基因片段, 密码子第 1、2、3 位都存在碱基的替换, 第 3 位点替换数显著高于其他位点, 且转换明显高于颠换, 推导其编码的肽链长分别为 208 和 237 个氨基酸。对于这两种鱼来说, 在 *CO I* 基因片段上, 密码子第 1 位点发生碱基突变的有 3 个(2 个 C-T 转换, 1 个 G-T 颠换), 第 2 位点突变的有 1 个(C-T 转换), 第 3 位点突变的有 32 个(15 个 C-T 转换, 15 个 A-G 转换, 1 个 A-C 颠换, 1 个 A-T 颠换), 转换颠换比为 11。在 *Cyt b* 基因片段上, 第 1 位点发生碱基突变的有 2 个(1 个 C-T 转换, 1 个 A-G 转换), 第 2 位点突变的有 3 个(2 个 C-T 转换, 1 个 A-T 颠换), 第 3 位点突变的有 49 个(28 个 C-T 转换, 19 个 A-G 转换, 1 个 G-T 颠换, 1 个 G-C 颠换), 转换颠换比为 17。

由于密码子兼并现象的存在, *CO I* 和 *Cyt b* 蛋白质编码基因部分片段中大部分突变是同义突变(synonymous substitution)。因此, 对于塔里木裂腹鱼而言, 尽管在 *CO I* 基因片段上发生了 36 处碱基突变, 但仅造成了 2 处氨基酸突变(第 102 位点处 A→S, 第 137 位点处 T→I); 在 *Cyt b* 基因片段上发生了 54 处碱基突变, 但仅造成了 3 处氨基酸突变(第 60 位点处 T→V, 第 108 位点处 I→N, 第 117 位点处 M→T)。从以上结果可以看出, 扁吻鱼和塔里木裂腹鱼在两个蛋白质编码基因的核苷酸序列和氨基酸序列的分化程度均比较明显, 且前者的分化程度高于后者。

采用 DNASP 软件统计得出 2 种裂腹鱼 *CO I*、*Cyt b* 和 D-loop 基因片段单倍型多样性( $H_d$ )和核苷酸多样性( $P_i$ )。如表 2 所示, *CO I* 和 *Cyt b* 基因片段单倍型多样性相同, 但均小于 D-loop 基因片段, 而核苷酸多样性则表现为依次递增趋势。用 Modeltest 软件选择最佳替换模型分别为 HKY、HKY 和 HKY + G, 基于最适核苷酸模型采用 Kimura 双参数法计算 2 种间在 3 个基因片段上的遗传距离, *CO I* 为 0.055, *Cyt b* 为 0.060, D-loop 为 0.074。

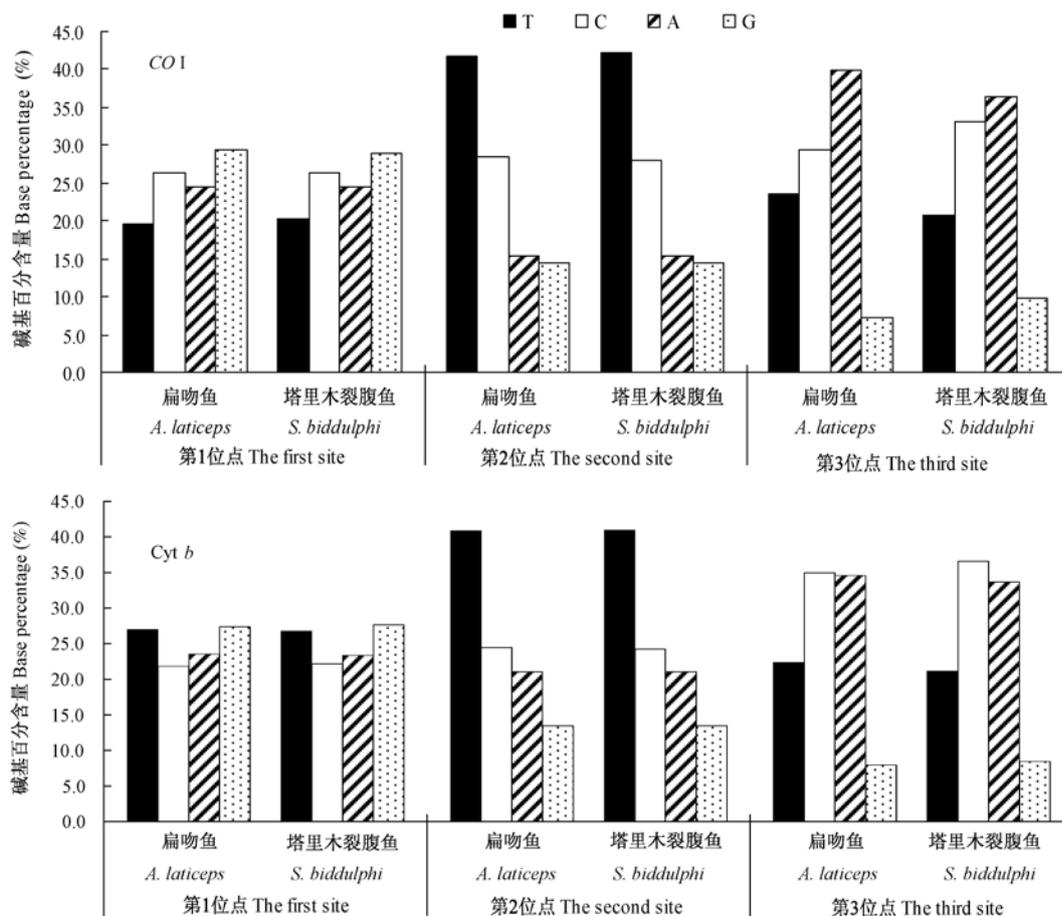


图 1 CO I 和 Cyt b 基因片段密码子 3 个位点碱基组成  
Fig. 1 The base composition of CO I and Cyt b gene fragments

表 2 基因片段序列多态及核苷酸替代模型参数

Table 2 Sequence variability and nucleotide substitution model for each data partition

基因 Gene	插入/缺失位点 Gapped sites	单倍型 Haplotypes	变异位点 Variable sites	简约信息位点 Parsimony informative sites	单倍型多样性 Haplotype diversity	核苷酸多样性 Nucleotide diversity	核苷酸替代模型 Best model
CO I	0	4	36	36	0.778	0.03170	HKY
Cyt b	0	6	54	51	0.778	0.03567	HKY
D-loop	4	6	41	30	0.844	0.04264	HKY + G

### 3 讨论

DNA 一级序列是最直接的遗传信息,是遗传多样性的根本体现。目前线粒体基因组中 Cyt b、CO I、12S rRNA、16S rRNA 和 D-loop 等

基因常被作为分子标记,运用于进化生物学和群体遗传学研究中。D-loop 基因由于不编码蛋白,受到的选择压力最小,进化速度最快,一般用于种内种群间的分化研究;CO I 和 Cyt b 基因进化速度适中,适合种内到种间甚至科间的

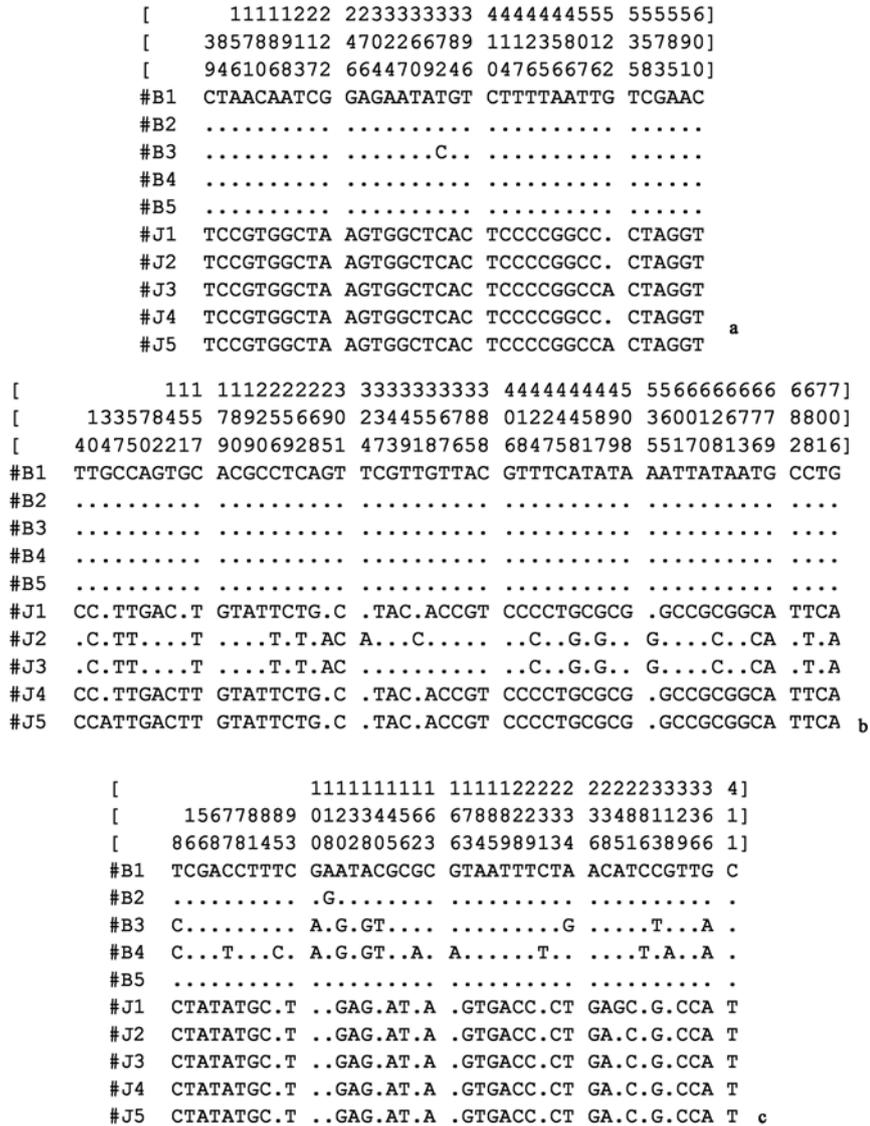


图 2 两种裂腹鱼不同基因片段变异位点

Fig. 2 Variable sites of nucleotide of different mitochondrial genes in two Schizothoracine species

a. CO I 基因片段; b. Cyt b 基因片段; c. D-loop 基因片段。B;扁吻鱼; J;塔里木裂腹鱼。图中数字表示变异位点。

a. CO I gene fragment; b. Cyt b gene fragment; c. D-loop gene fragment.

B means *A. laticeps*; J means *S. biddulphi*. The numbers in the figure mean variable sites.

系统发育关系研究<sup>[14-15]</sup>。在无背景资料的情况下,为了获得较为客观的遗传信息,近来一般主张选择 mtDNA 不同区域的多组序列数据,再采用“联合”或“一致”的途径来进行研究<sup>[16]</sup>。如 Thacker 等<sup>[17]</sup>利用线粒体 ND1、ND2 和 CO I 基因共 3 573 bp 的序列探讨了虾虎鱼亚目 (Gobioidei) 的 8 个科 (Eleotridae, Odontobuti-

dae, Xenisthmidae, Gobiidae, Kraemeriidae, Schindleriidae, Microdesmidae, Ptereleotridae) 鱼类分子系统发生关系;Heras 等<sup>[18]</sup>结合形态学和 12S rRNA、Cyt b、CO I 基因对阿根廷 Mar Chiquita 湖一种未定种鲮鱼进行了分析,研究证实这种鲮鱼为库里玛鲮 (*Mugil curema*) 的白化种;张俊丽等<sup>[19]</sup>对黑龙江水域的乌苏里白鲑

(*Coregonus ussuriensis*) 和由俄罗斯引种的贝加尔凹目白鲑 (*C. autumnalis*)、高白鲑 (*C. peled*) Cyt *b* 和 16S rRNA 基因片段进行了扩增和序列测定, 比较了 3 种白鲑间的序列差异; 张岩等<sup>[20]</sup>运用线粒体 Cyt *b*、CO I 及 D-loop 基因分别从核苷酸和氨基酸水平分析比较了钝吻黄盖鲈 (*Pleuronectes yokohama*) 与尖吻黄盖鲈 (*P. herzensteini*) 的遗传分化情况。本研究结合线粒体 CO I、Cyt *b* 和 D-loop 3 个基因片段, 对新疆 2 种特有珍稀鱼类扁吻鱼和塔里木裂腹鱼的遗传差异进行了比较分析, 为进一步弄清它们间的遗传分化和亲缘关系提供了理论依据。

根据核苷酸替代速率公式  $R = K/2T$ <sup>[21]</sup>,  $K$  代表每个位点核苷酸替代数,  $T$  代表两基因的分歧时间。分子钟假说认为, 某一特定的大分子在所有的世系中, 核苷酸替代速率在时间上是稳定的<sup>[22]</sup>。那么, 在分歧时间一定的条件下, 核苷酸替代速率与  $K$  成正比。D-loop、Cyt *b*、CO I 基因片段核苷酸替代数  $K$  分别为 0.089 7、0.075 8 和 0.057 7, 依据这一公式比较得出, 扁吻鱼和塔里木裂腹鱼在 D-loop 片段的核苷酸替代速率最快, 其次是 Cyt *b* 基因片段, CO I 基因片段上核苷酸替代速率最慢。线粒体不同基因片段核苷酸替代速率存在明显差异, 可能是由于线粒体基因组中不同区域的核苷酸突变速率不同或不同基因片段受到的选择压力不同引起的<sup>[23]</sup>。

扁吻鱼及塔里木裂腹鱼在核苷酸和氨基酸序列上均存在不同程度的遗传分化。两种间在 D-loop 片段上的遗传距离最大, Cyt *b* 片段次之, 在 CO I 片段上的遗传距离最小, 与 3 个片段核苷酸替代速率快慢的结果相一致。阎雪岚等<sup>[12]</sup>对克孜河 3 个群体 41 尾塔里木裂腹鱼线粒体 Cyt *b* 基因序列进行分析, 仅发现 6 个变异位点、4 种单倍型, 核苷酸多样性为 0.001 16。本研究中 5 尾塔里木裂腹鱼基于 Cyt *b* 基因片段分析计算得出核苷酸多样性为 0.035 67, 高于阎雪岚等的研究结果, 这可能与本研究分析统计样本数较小有关, 也在一定程度上反映了不同地理种群间遗传多样性及差异程度。

脊椎动物 Cyt *b* 基因序列可作为分子钟推测有机谱系间的分歧时间<sup>[24]</sup>。由于进化率的估计受到研究类群、采用的标记和替代模型影响, 因此很难采用统一的标准。目前有学者将 (1.0% ~ 2.5%) / Ma (百万年) 的核苷酸分歧速率应用在 Cyt *b* 基因片段上来推算硬骨鱼类的分化年代<sup>[22, 24-25]</sup>, 而在鲤科鱼类中也有学者采用进化率 0.76% / Ma<sup>[26]</sup>、0.66% / Ma<sup>[27]</sup>、1.0% / Ma<sup>[28]</sup> 来进行估算。何德奎等<sup>[29]</sup>采用青海湖和黄河上游地质隔离时间校正后的 Cyt *b* 基因序列分子进化速率 0.91% 来推算青藏高原特化等级裂腹鱼类发生分歧时间; 采用发生在昆仑山垭口的地质事件“昆仑-黄河运动”校正后的 1.68% 进化速率来推算青藏高原高度特化等级裂腹鱼类发生分歧时间<sup>[30]</sup>。根据以上应用于鲤科鱼类进化速率的标准, 我们推测扁吻鱼与塔里木裂腹鱼发生遗传分化的时间在 3.57 MaBP (距今百万年) 左右的上新世 (Pliocene)。曹文宣等<sup>[1]</sup>将裂腹鱼类划分成适应高原不同环境的 3 个等级类群, 即原始、特化和高度特化类群。何德奎等研究得出, 1.70 MaBP 后是特化等级裂腹鱼类种化的主要时期<sup>[29]</sup>, 而高度特化等级裂腹鱼类主要分支事件发生在 3.6 ~ 3.5、3.0 ~ 2.9、2.7 ~ 2.4、1.7 ~ 1.6、1.3 ~ 0.9 MaBP 几个时期<sup>[30]</sup>, 其中尤其以 1.3 ~ 0.9 MaBP 居多, 由此大致可推断 3 种不同类群裂腹鱼类发生分化的时间顺序依次为原始等级早于特化等级早于高度特化等级。

不同等级裂腹鱼类主要的分支发生与青藏高原隆起这一地质事件有着很好的对应性<sup>[29]</sup>, 新疆的塔里木河水系处于青藏高原北部边缘地带, 在地理发育上属于青藏高原的一部分, 该水系鱼类区系组成与相邻的青藏高原地区十分相似, 具有高度的一致性和单一性<sup>[31-32]</sup>。马燕武等<sup>[32]</sup>对塔里木河水系土著鱼类区系组成调查发现, 扁吻鱼仅分布在海拔 1 500 m 以下; 塔里木裂腹鱼主要分布在海拔 1 300 ~ 1 700 m 一带; 而特化等级裂腹鱼类主要分布在 1 500 ~ 3 700 m 一带。从塔里木河水系裂腹鱼类垂直分布情况来看, 原始等级裂腹鱼类分布海拔较

低,特化等级裂腹鱼类分布海拔较高。何德奎等<sup>[29-30]</sup>认为,裂腹鱼类所适应的海拔高度大体上就是当初它形成时高原的海拔高度。根据扁吻鱼和塔里木裂腹鱼等新疆裂腹鱼类发生遗传分化的大致时间和先后顺序,我们推测其进化历程在一定程度上同样受到青藏高原隆起这一地质事件的影响。

## 参 考 文 献

- [1] 曹文宣,陈宜瑜,武云飞,等. 裂腹鱼类的起源和演化及其与青藏高原的隆起关系. 北京: 科学出版社, 1981: 118-130.
- [2] 王德忠. 新疆的裂腹鱼亚科鱼类研究. 干旱区研究, 1998,15(4): 26-32.
- [3] 任慕莲,任波,杨植林,等. 濒危物种——新疆大头鱼的生态和资源调查与保护对策的研究. 水产学杂志, 1996,9(2): 1-19.
- [4] 张人铭,郭焱,马燕武,等. 塔里木裂腹鱼资源与分布的调查. 淡水渔业,2007,37(6): 76-78.
- [5] 乐佩琦,陈宜瑜. 中国濒危动物红皮书: 鱼类. 北京: 科学出版社,1998: 153-155.
- [6] 任波,任慕莲,郭焱,等. 扁吻鱼的生物学研究. 水产学杂志,2006,19(2): 9-22.
- [7] 任波,任慕莲,郭焱,等. 扁吻鱼胚胎及仔鱼发育的形态学观察. 大连水产学院学报,2007,22(6): 397-402.
- [8] 马燕武,张人铭,吐尔逊,等. 温度和水流对扁吻鱼胚胎发育的影响. 淡水渔业,2008,38(1): 57-61.
- [9] 张人铭,马燕武,吐尔逊,等. 塔里木裂腹鱼胚胎和仔鱼发育的初步观察. 水利渔业,2007,27(2): 27-28.
- [10] 马燕武,张人铭,吐尔逊,等. 阿克苏河塔里木裂腹鱼生物学初步研究. 水生态学杂志,2009,2(2): 148-153.
- [11] 孙希福,郭焱,张人铭,等. 新疆扁吻鱼养殖群体的形态特征和同工酶研究. 干旱区研究,2009,26(1): 82-87.
- [12] 阎雪岚,杨金权,唐文乔,等. 基于线粒体 Cyt b 基因序列变异的克孜河塔里木裂腹鱼和斑重唇鱼遗传多样性. 动物学杂志,2009,44(5): 8-13.
- [13] Maniatis T, Fritsch E F, Sambrook J. Molecular Cloning: a Laboratory Manua. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1982: 545.
- [14] Meyer A. Evolution of Mitochondrial DNA in Fishes. New York: Elsevier, 1993: 1-38.
- [15] 夏德全,王文君. 动物线粒体 DNA 研究及在鱼类种群遗传结构研究中的应用. 水产学报,1998,22(4): 364-370.
- [16] 郭新红,刘少军,刘巧,等. 鱼类线粒体 DNA 研究新进展. 遗传学报,2004,31(9): 983-1000.
- [17] Thacker C E. Molecular phylogeny of the gobioid fishes (Teleostei: Perciformes: Gobioidei). Molecular Phylogenetics and Evolution, 2003, 26(3): 354-368.
- [18] Heras S, Castro M G, Roldán M I. *Mugil curema* in Argentinean waters: Combined morphological and molecular approach. Aquaculture, 2006, 261(2): 473-478.
- [19] 张俊丽,高天翔,韩志强,等. 3 种白鲢线粒体细胞色素 b 和 16S rRNA 基因片段序列分析. 中国水产科学, 2007,14(1): 8-14.
- [20] 张岩,肖永双,高天翔,等. 两种黄盖鲮线粒体 DNA 部分片段比较分析. 水产学报,2009,33(2): 201-207.
- [21] 高天翔,陈四清,刘进贤,等. 圆斑星鲮与条斑星鲮线粒体 DNA 部分片段的序列比较研究. 高技术通讯, 2004,12(14): 329-334.
- [22] 根井正利,苏德海尔·库马. 分子进化与系统发育. 北京: 高等教育出版社,2002.
- [23] Avise J C. Molecular Markers, Natural History and Evolution. New York: Chapman & Hall, 1994.
- [24] Bemangham E, McCafferty S S, Martin A P. Molecular Systematics of Fishes. San Diego: Academic Press, 1997: 113-128.
- [25] Bowen B W, Bass A L, Rocha L A, et al. Phylogeography of the trumpetfishes (*Aulostomus*): ring species complex on a global scale. Evolution, 2001, 55(5): 1029-1039.
- [26] Zardoya R, Doadrio I. Molecular evidence on the evolutionary and biogeographical patterns of European cyprinids. Journal of Molecular Evolution, 1999, 49: 227-237.
- [27] Machordom A, Doadrio I. Evidence of a Cenozoic Betic-Kabilian connection based on freshwater fish phylogeography (*Luciobarbus*, Cyprinidae). Molecular Phylogenetic Evolution, 2001, 18: 252-263.
- [28] Durand J, Tsigenopoulos C, Ünlü E, et al. Phylogeny and biogeography of the family Cyprinidae in the Middle East inferred from cytochrome b DNA-evolutionary significance of this region. Molecular Phylogenetic Evolution, 2002, 22: 91-100.
- [29] 何德奎,陈毅峰,陈宜瑜,等. 特化等级裂腹鱼类的分子系统发育与青藏高原隆起. 科学通报,2003,48(22): 2354-2362.
- [30] 何德奎,陈毅峰. 高度特化等级裂腹鱼类分子系统发

育与生物地理学. 科学通报, 2007, 52(3): 303 - 312. [32] 马燕武, 郭焱, 张人铭, 等. 新疆塔里木河水系土著鱼类区系组成与分布. 水产学报, 2009, 33(6): 949 - 956.

[31] 武云飞, 谭齐佳. 青藏高原鱼类区系特征及其形成的地史原因分析. 动物学报, 1991, 37(2): 135 - 151.

## 湖南省雀形目鸟类新纪录 3 种

2010 年 7 月 26 日, 在湖南壶瓶山国家级自然保护区(以下简称壶瓶山保护区)南坪分局壶瓶山(110°47'25"E, 30°06'44"N, 海拔 1 566 m)发现褐灰雀(*Pyrrhula nipalensis*)2 只。2011 年 2 月 18 日, 在江坪分局石碾子沟(110°33'35"E, 30°0'50"N, 海拔 439 m)再次发现褐灰雀 9 只(图 1)。该鸟为中等体型的灰色雀, 嘴绿灰色, 嘴端黑色, 眼先及额近黑, 眼下均具白色的小块斑, 尾长而凹, 尾及两翼闪辉黑紫色, 翼上具浅色块斑, 腰白。发现夏季多成对活动, 冬季结小群活动。性胆大, 不甚怕人。

2011 年 1 月 13 日, 在壶瓶山保护区江坪分局油榨湾(110°32'01"E, 30°01'52"N, 海拔 1 140 m)发现灰头灰雀(*Pyrrhula erythaca*)9 只(图 2)。2011 年 1 月 18 日, 在南坪分局毛坪(110°47'47"E, 30°03'51"N, 海拔 1 245 m)再次发现灰头灰雀 6 只。该鸟体型略大, 雄鸟胸及腹部深橘黄色, 雌鸟下体及上背暖褐色, 背有黑色条带, 飞行时白色的腰及灰白色的翼斑明显可见, 嘴厚近黑色且略带钩, 脚粉褐。发现时结小群活动在农田中觅食, 不甚惧怕人, 起飞后多栖息于周边林缘树冠上。



图 1 褐灰雀



图 2 灰头灰雀(雄鸟)



图 3 白眶鸦雀

2010 年 12 月 6 日, 在壶瓶山保护区江坪分局新场(110°33'07"E, 30°03'59"N, 海拔 1 710 m)发现白眶鸦雀(*Paradoxornis conspicillatus*)5 只(图 3)。2011 年 2 月 17 日, 在江坪分局童人岩(110°34'30"E, 30°03'40"N, 海拔 1 761 m)再次发现 6 只。该鸟体型小, 顶冠及颈背栗褐色, 白色眼圈明显, 上体橄榄褐色, 下体粉褐色, 嘴大, 淡黄色, 脚近黄色。与其他鸦雀的区别是白色眼圈十分明显。性活泼, 结小群活动在水青冈林和杨树林为主的落叶阔叶林下的箭竹林和芒灌草丛中。

根据《中国鸟类分类与分布名录》(郑光美, 2005)和《中国鸟类野外手册》(马敬能等, 2006)等相关资料, 确认在壶瓶山保护区发现的上述 3 种鸟类为湖南省雀形目鸟类新纪录。

**致谢** 项目得到湖南省教育厅重点项目(No. 09A102)和湖南省自然科学基金课题(No. 09JJ3030)的资助; 湖南壶瓶山国家级自然保护区管理局张国珍局长、梁永军副局长、李进忠、廖庆义、熊梦等同志的大力支持; 中国林业科学院马强老师帮助鸟类标本鉴定, 谨此一并致谢!

康祖杰<sup>①</sup> 杨道德<sup>②</sup> 邓学建<sup>③</sup>

① 湖南壶瓶山国家级自然保护区管理局 石门 415319; ② 中南林业科技大学野生动植物保护研究所所长 长沙 410004; ③ 湖南师范大学生命科学学院 长沙 410081