

利用 18S 和 ITS 序列揭示 8 种鲇形目鱼类的系统发育

杨光^① 俞菊华^② 徐跑^{①②③*} 唐永凯^② 李建林^②
李红霞^② 卢中华^③ 阮瑞霞^③

(① 上海海洋大学 水产与生命学院 上海 201306; ② 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心 农业部水生动物遗传育种和养殖生物学重点开放实验室 无锡 214081; ③ 南京农业大学无锡渔业学院 无锡 214081)

摘要: 为了探讨鲇形目(Siluriformes)鱼类系统发育关系,本研究克隆了黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)、长吻鮠(*Leiocassis longirostris*)、斑鲿(*Mystus guttatus*)、革胡子鲶(*Clarias gariepinus*)、鲇鱼(*Silurus asotus*)和斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)6种鱼类的18S和两个内转录间隔区(包括全长ITS1-5.8S-ITS2)基因,结合GenBank中双须缺鳍鲶(*Kryptopterus bicirrhiss*)和脂鳍胡鲶(*Dinotopterus cunningtoni*)的同源序列进行比较分析,结果表明,(1)8种鱼18S的长度为1814~1842bp,同源性达97%以上,5.8S均为157bp,同源性也高达99.36%~100%;(2)8种鱼ITS1长度为335~620bp,其中,黄颡鱼的最长,为618~620bp,斑点叉尾鲷的最短,为335~336bp;ITS2长度为265~459bp,其中,脂鳍胡鲶最长,为459bp,斑点叉尾鲷的最短,约为270bp。ITS1序列的同源性为29.45%~88.21%,其中,革胡子鲶和脂鳍胡鲶同源性最高,鲇鱼和革胡子鲶同源性最低。ITS2序列的同源性为41.59%~94.07%,其中,革胡子鲶和脂鳍胡鲶同源性最高,鲇鱼和革胡子鲶同源性最低;(3)分别以鲤鱼(*Cyprinus carpio*)18S和ITS为外群,采用NJ法构建18S、ITS系统发育树,结果显示,鲇科与胡鲶科的关系最近,鲮科与这两科关系较远,鲮科与另外3科关系最远。鲮科中鲮属和黄颡鱼属的关系较斑鲿属更近;胡鲶科的胡鲶属和脂鳍胡鲶属是关系很近的两个属;鲇科的鲇属和缺鳍鲶属是关系较远的两属。

关键词: 鲇形目;18S;ITS;系统发育

中图分类号:Q951 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2010)04-110-08

Phylogenetic Relationship among 8 Common Species of Catfish Based on Ribosome 18S and ITS Sequences

YANG Guang^① YU Ju-Hua^② XU Pao^{①②③*} TANG Yong-Kai^② LI Jian-Lin^②
LI Hong-Xia^② LU Zhong-Hua^③ RUAN Rui-Xia^③

(① College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306;

② Key Laboratory of Genetic Breeding and Aquaculture Biology of Freshwater Fishes, Ministry of Agriculture, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Science, Wuxi 214081;

③ Wuxi Fishery College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China)

基金项目 国家科技基础条件平台项目(No. 2007DKA30470-003),农业部淡水鱼类遗传育种和养殖生物学重点开放实验室开放基金项目(No. BZ2009-08);

* 通讯作者, E-mail: xup@ffrc.cn;

第一作者介绍 杨光,男,硕士研究生;研究方向:鱼类遗传育种;E-mail: dnase@163.com.

收稿日期:2009-11-18,修回日期:2010-04-23

Abstract: In order to study the phylogenetic relationship among different species in the order of Siluriformes, ribosomal 18S sequences and internal transcribed spacer (including complete ITS1, 5.8S and ITS2) sequences of six species Siluriformes (*Pelteobagrus fulvidraco*, *Leiocassis longirostris*, *Mystus guttatus*, *Clarias gariepinus*, *Silurus asotus* and *Ictalurus punctatus*) were analyzed. The homologous sequences of *Kryptopterus bicirrhis* and *Dinotopterus cunningtoni* download from GenBank were also analyzed in this paper. The length of 18S sequences of these six species was 1 814 – 1 842 bp. The homology was over 97%. The length of 5.8S was 157 bp. The homology was 99.36% – 100%. The length of ITS1 was 335 – 620 bp, with the *P. fulvidraco*'s the longest, and the *I. punctatus*'s the shortest; The length of ITS2 was 265 – 459 bp, with the *D. cunningtoni*'s the longest, and the *I. punctatus*'s the shortest. The homology of each ITS1 sequence was 29.45% – 88.21%, with the highest between *C. gariepinus* and *D. cunningtoni*, and the lowest between *S. asotus* and *C. gariepinus*. The homology of each ITS2 sequence was 41.59% – 94.07%, with the highest between *C. gariepinus* and *D. cunningtoni*, and the lowest between *S. asotus* and *C. gariepinus*. Phylogenetic tree based on the 18S and ITS sequences of the eight species, including *Cyprinus carpio* as an outgroup, was constructed by neighbor-joining method (NJ). The results showed that the relationship between Siluridae and Clariidae was the closest, and Bagridae had a little further relationship with Siluridae and Clariidae among the 4 families in this paper. Ictaluridae had the furthest relationship with the other three families. In Bagridae, *Leiocassis* was close with *Pelteobagrus*, while *Mystus* was a little further with them. In Clariidae, *Clarias* was very close with *Dinotopterus*. In Siluridae, *Silurus* had a far relationship with *Kryptopterus*.

Key words: Siluriformes; 18S; ITS; Phylogeny

鱼类种类繁多,亲缘关系复杂。现有的鱼类学是根据鱼类的形态、内部结构以及繁殖习性等特点进行分类,有些分类标准很难量化,因此较难确定目间、科间、属间的关系。陈宜瑜等^[1]和乐佩琦等^[2]在形态学基础上对鲤科鱼类的亚类群进行了划分,并强调有关鲤科鱼类特别是东亚的鲤科鱼类的系统发育和进化需要进一步研究。随着生物技术的发展,使用遗传物质的同源性研究系统发育受到日益关注。

鲇形目鱼类(Siluriformes)隶属辐鳍亚纲(Actinopterygii)骨鲮总目(Ostariophysii),是世界上重要的经济鱼类,多数生活于淡水,主要分布于美洲、非洲和亚洲。鲇形目鱼类的种上系统发育关系是骨鲮鱼类中最复杂的,30多个科之间的相互关系被认为是鱼类学中最具挑战性和吸引力的问题之一^[3]。国内有人已从分子水平研究了鲇科鱼类的系统发育,戴凤田等^[4]利用同工酶对鲇科4属8种鱼分类标记,结果与形态学资料一致,并得出黄颡鱼属的黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)与长须黄颡鱼(*P. eupogon*)及瓦氏黄颡鱼(*P. vachellii*)与光泽黄颡鱼(*P. nitidus*)分别更为接近的结论。方耀

林等^[5]对长江中游湖泊中黄颡鱼线粒体DNA ND1/2基因的遗传变异进行研究,张燕等^[6]采用PCR技术获得了中国鲇科鱼类代表种类线粒体DNA控制区基因的全序列,并对控制区基因结构进行了分析。但是,讨论鲇形目高级分类阶元关系的文章却很少见,彭作刚等^[7]根据细胞色素*b*基因序列变异分析了中国鲇形目鱼类的系统发育,认为细胞色素*b*基因显示出较强的同质性和较少的共近裔特征,不太适合作为鲇形目鱼类高级分类阶元系统发育重建的分子标记。所以,要全面地分析鲇形目各个水平的系统发育,还需借助核糖体基因。

核糖体DNA在细胞内拷贝数高,易于扩增分离,同时核糖体DNA中既包含保守的编码区18S、5.8S和28S,适合高分类地位动物的研究,又包含进化速率较快的非编码区,内转录间隔区1和2(ITS1和ITS2)以及非转录区,适合低分类地位动物的研究,因此常被选作分子标记研究不同分类地位的物种间关系。Rubens等^[8]用18S和5S rDNA作为探针,对观赏鱼三星哥拉美(*Trichogaster trichopterus*)进行了基因定位的研究。Small等^[9]使用包括18S的7种

基因对斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*) 进行了生理学研究。Jansen 等^[10]根据 18S 和 ITS 序列制作系统树,推断非洲胡鲇科鱼类的分化时间。Riho 等^[11]用 ITS 序列对红点鲑 (*Salvelinus japonicus*) 进行了地理种群的遗传分析,表明 ITS 序列是适用于这一研究的一个有效片段。Jousson 等^[12]将 ITS 序列用于北美鲇科 25 种鱼类的系统发育研究,很好地反映了种间的系统发育关系。我国学者袁万安^[13]通过核基因 ITS2 片段研究了 4 种鲇形目鱼类的进化关系。本文克隆了 6 种鲇形目鱼类的核糖体 18S 和 ITS 序列,从 GenBank 下载双须缺鳍鲇 (*Kryptopterus bicirrhis*, AJ876375) 和脂鳍胡鲇 (*Dinotopterus cunningtoni*, AJ876385) 的同源序列作为参考,以鲤鱼 (*Cyprinus carpio*, AF133089) 作为外类群,利用核糖体 DNA 中的 18S 和 ITS 序列来分析属于鲇形目 4 个科 8 个属的 8 种鱼类的系统发育,期望能用 18S 揭示 4 个科之间的关系,用 ITS 验证属间关系。

1 材料与方法

1.1 材料 本文研究的鱼类包括鲢科黄颡鱼属的黄颡鱼、鮠属的长吻鮠 (*Leiocassis longirostris*)、鲮属的斑鲮 (*Mystus guttatus*)、胡鲇科胡鲇属的革胡子鲇 (*Clarias gariepinus*)、脂鳍胡鲇属的脂鳍胡鲇、鲇科鲇属的鲇鱼 (*Silurus asotus*)、缺鳍鲇属的双须缺鳍鲇、鲷科叉尾鲷属的斑点叉尾鲷,以鲤鱼作为外类群。其中,脂鳍胡鲇、双须缺鳍鲇和鲤鱼的基因序列从 GenBank 下载,其他 6 种鱼类的为新测序列,标本购自水产市场和泰兴市天邦水产有限公司,均经过形态学鉴定确认物种,每种鱼类样本数为 3 尾。

1.2 方法

1.2.1 总 DNA 的提取 每个物种剪取 3 尾鱼的肌肉混合在研钵中研磨,用试剂盒 (Takara 大连) 抽提总 DNA。

1.2.2 PCR 扩增及产物纯化和克隆测序 通过分析 GenBank 中的鱼类和其他物种核糖体 DNA 保守性,设计了扩增 18S 和 ITS 的引物。

18S 的引物序列为, F: 5'-AAGCCATGCAGGTC CAAGTACGCA -3' 和 R: 5'-ATCCTTCCGCAGG TTCACCTACGGA-3'。ITS 的引物序列为: F: 5'-GTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCA-3' 和 R: 5'-GAGTTTACCACCCGCTTTGGGCTGC ATT-3'。PCR 反应总体积为 25 μ l,模板 DNA 为 50 ng,所有组分按照 LA *Taq* 酶 (Takara 大连) 说明书要求。PCR 反应条件为: 94 $^{\circ}$ C 2 min 变性; 94 $^{\circ}$ C 30 s 55 $^{\circ}$ C 1 min 退火, 72 $^{\circ}$ C 2 min, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 8 min 延伸; 4 $^{\circ}$ C 保存。扩增产物在 1% 的琼脂糖凝胶 (含 0.5 μ g/ml EB) 上电泳,切下目的条带经 3S 柱离心式琼脂糖 DNA 小量快速纯化试剂盒 (上海申能博彩) 回收后,连接到 pMD18-T (Takara 大连) 上,然后转化到 DH5 α 感受态细胞,18S 每个板挑取 2 个阳性克隆,ITS 每个板挑取 3 个阳性克隆送南京博亚生物公司测序。

1.2.3 数据处理 测定的序列用 DNASTar^[14] 中的 EditSeq 进行拼接,将拼接好的序列用 NCBI 网站上的 Blast 软件进行同源性检测,确定序列的边界及长度,由于 GC 含量是基因组 DNA 序列碱基组成的重要特征,GC 水平的变化与基因密度、重复元件分布、甲基化谱和同义密码子的相对使用频率等有密切关系^[15-16],本文均采用 GC 含量以描述所得序列特征。同时,下载双须缺鳍鲇和脂鳍胡鲇的相应序列,用 Clustal W 1.83^[17] 在线进行序列比对,计算序列同源性,辅以手工校正,以鲤鱼的同源序列作为外群,在 Mega 4.0^[18] 中采用邻接法 (Neighbor-Joining, NJ)^[19] 构建分子系统进化树,置信度用自举分析 (Bootstrap)^[20] 进行 1 000 次重复检验。

2 结果

2.1 序列长度与 GC 含量 使用 18S 引物在 6 种实验鱼肌肉 DNA 中进行 PCR 扩增,经克隆测序获得了序列,GenBank 登录号为 GQ465834 ~ GQ465845。序列分析表明,18S 长度为 1 814 ~ 1 842 bp,GC 含量 55.67% ~ 56.33% (表 1)。使用分离 ITS 引物获得包含部分 18S、28S 的序

列,经 Blast 分析同源性确定各部分的界限, GenBank 登录号为 GQ376028, GQ465235 ~ GQ465251。序列分析结果表明,5.8S 长度均为 157 bp,GC 含量 57.96% ~ 59.24%;ITS1 长度

为 335 ~ 620 bp,GC 含量 50.83% ~ 71.04%; ITS2 长度为 265 ~ 459 bp,GC 含量 52.71% ~ 74.73% (表 1)。

表 1 18S 和 ITS1-5.8S-ITS2 序列的长度和 GC 含量
Table 1 The length and GC content of 18S and ITS1-5.8S-ITS2 sequences

	18S		ITS1		5.8S		ITS2	
	长度 Length (bp)	GC 含量 GC content (%)	长度 Length (bp)	GC 含量 GC content (%)	长度 Length (bp)	GC 含量 GC content (%)	长度 Length (bp)	GC 含量 GC content (%)
黄颡鱼 <i>Pelteobagrus fulvidraco</i>	1 842	56.19	618 ~ 620	51.13 ~ 51.94	157	58.60	329 ~ 335	52.71 ~ 53.50
革胡子鲶 <i>Clarias gariepinus</i>	1 820	55.71 ~ 55.77	612 ~ 614	68.40 ~ 68.63	157	58.60	456 ~ 458	67.90 ~ 67.98
斑点叉尾鲷 <i>Ictalurus punctatus</i>	1 814 ~ 1 822	55.71 ~ 56.01	335 ~ 336	70.83 ~ 71.04	157	57.96	265 ~ 273	74.34 ~ 74.73
鲇鱼 <i>Silurus asotus</i>	1 825	55.67 ~ 55.89	522 ~ 523	51.05 ~ 51.72	157	58.60	423 ~ 425	54.23 ~ 54.50
长吻鲇 <i>Leiocassis longirostris</i>	1 841 ~ 1 842	56.24 ~ 56.33	543 ~ 545	50.83 ~ 51.01	157	58.60	439	59.45 ~ 59.91
斑鲮 <i>Mystus guttatus</i>	1 821	55.96	496 ~ 497	70.16 ~ 70.42	157	59.24	391 ~ 398	72.73
双须缺鳍鲇 <i>Kryptopterus bicirrhis</i>	1 833	56.30	408	53.43	157	58.60	339	73.16
脂鳍胡鲇 <i>Dinotopterus cunningtoni</i>	1 820	55.77	573	67.71	157	58.60	459	69.06

2.2 进化关系的分析

2.2.1 序列同源性 经过 Clustal W 1.83 在线比对,得出 8 种鱼 18S、ITS (包括其中的 5.8S) 的同源性 (表 2),18S 序列同源性都在 97% 以上,5.8S 序列同源性为 99.36% ~ 100%。ITS1-5.8S-ITS2 序列的同源性为 43.43% ~ 92.27%,革胡子鲶和脂鳍胡鲇的同源性最高,其次是黄颡鱼和长吻鲇,同源性 84.54%,胡鲇科的两种鱼与黄颡鱼、长吻鲇、鲇鱼的同源性很低;考虑到 ITS1 和 ITS2 的保守程度可能不同,有必要观察一下 ITS1 和 ITS2 序列的同源性 (表 3),ITS1 序列中革胡子鲶和脂鳍胡鲇的同源性达到 88.21%,黄颡鱼与长吻鲇的同源性达到 75.95%,其余均低于 50%;ITS2 序列中革胡子鲶和脂鳍胡鲇的同源性为 94.07%,黄颡鱼与长吻鲇的同源性为

85.20%,斑鲮与黄颡鱼、长吻鲇的同源性分别为 78.57% 和 78.59%,其余均低于 70%。6 种实验鱼的个体间序列差异不显著,不影响本文的结果。

2.2.2 进化树的建立 以鲤鱼核糖体 DNA 中的 18S 序列作为外类群构建 8 种鱼 18S 系统进化树 (图 1),结果显示,鲇科的 3 个属以 92% 的置信度分在一支,其中黄颡鱼属和鲇属的关系较近,斑鲮属则相对远些;革胡子鲶和脂鳍胡鲇在同一支,与鲇鱼平行,然后与双须缺鳍鲇聚为一支,再与鲇科那支以 90% 置信度合在一起,最后与斑点叉尾鲷合并,与外群平行。脂鳍胡鲇和革胡子鲆同科不同属,但是脂鳍胡鲇和革胡子鲆的两个个体分在同一支,黄颡鱼和长吻鲇在图中也是如此,因此有必要用进化速率较快的 ITS 来进一步分析它们之间的关系。

表 2 6 种鱼 18S 之间的同源性和 ITS1-5.8S-ITS2 序列之间的同源性 (%)

Table 2 The homology of 18S and ITS sequence in six species of catfish

物种 Species	黄颡鱼 <i>Pelteobagrus fulvidraco</i>	长吻鮠 <i>Leiocassis longirostris</i>	鲇鱼 <i>Silurus asotus</i>	斑点叉尾鲷 <i>Ictalurus punctatus</i>	斑鲮 <i>Mystus guttatus</i>	革胡子鲶 <i>Clarias gariepinus</i>	双须缺鳍鲶 <i>Kryptopterus bicirrhis</i>	脂鳍胡鲶 <i>Dinotopterus cunningtoni</i>
黄颡鱼 <i>Pelteobagrus fulvidraco</i>		99.78	99.18	99.01	98.68	97.40	98.77	99.10
长吻鮠 <i>Leiocassis longirostris</i>	84.54		99.40	99.23	98.85	97.57	98.93	99.26
鲇鱼 <i>Silurus asotus</i>	51.32	51.83		99.29	99.01	97.57	99.51	99.17
斑点叉尾鲷 <i>Ictalurus punctatus</i>	55.60	59.09	56.16		99.12	97.79	97.77	98.10
斑鲮 <i>Mystus guttatus</i>	67.39	68.64	50.69	64.88		97.68	98.90	99.34
革胡子鲶 <i>Clarias gariepinus</i>	44.28	45.57	46.55	51.65	50.25		99.04	99.98
双须缺鳍鲶 <i>Kryptopterus bicirrhis</i>	54.22	54.70	70.25	62.03	56.43	51.12		99.07
脂鳍胡鲶 <i>Dinotopterus cunningtoni</i>	43.43	44.71	46.51	52.61	50.49	92.27	52.04	

对角线以下是 ITS1-5.8S-ITS2 序列的同源性, 对角线以上是 18S 的同源性。

Below diagonal is the homology of ITS sequence, above diagonal is the homology of 18S sequence.

表 3 6 种鱼之间 ITS1、ITS2 的同源性 (%)

Table 3 The homology of ITS1 and ITS2 sequence in six species of catfish

物种 Species	黄颡鱼 <i>Pelteobagrus fulvidraco</i>	长吻鮠 <i>Leiocassis longirostris</i>	鲇鱼 <i>Silurus asotus</i>	斑点叉尾鲷 <i>Ictalurus punctatus</i>	斑鲮 <i>Mystus guttatus</i>	革胡子鲶 <i>Clarias gariepinus</i>	双须缺鳍鲶 <i>Kryptopterus bicirrhis</i>	脂鳍胡鲶 <i>Dinotopterus cunningtoni</i>
黄颡鱼 <i>Pelteobagrus fulvidraco</i>		75.95	46.45	40.49	43.22	32.65	31.32	30.29
长吻鮠 <i>Leiocassis longirostris</i>	85.20		44.88	41.97	41.47	32.50	33.25	31.18
鲇鱼 <i>Silurus asotus</i>	55.20	56.28		36.90	36.44	29.45	35.80	30.18
斑点叉尾鲷 <i>Ictalurus punctatus</i>	48.18	52.64	50.91		43.06	34.34	34.22	44.50
斑鲮 <i>Mystus guttatus</i>	78.57	78.59	59.27	57.53		37.82	31.45	37.30
革胡子鲶 <i>Clarias gariepinus</i>	47.89	49.14	41.59	58.98	54.72		35.24	88.21
双须缺鳍鲶 <i>Kryptopterus bicirrhis</i>	42.81	45.82	60.93	48.64	45.42	48.53		35.87
脂鳍胡鲶 <i>Dinotopterus cunningtoni</i>	42.02	46.70	45.51	69.24	48.15	94.07	48.36	

对角线以下是 ITS2 的同源性, 对角线以上是 ITS1 的同源性。

Below diagonal is the homology of ITS2 sequence, above diagonal is the homology of ITS1 sequence.

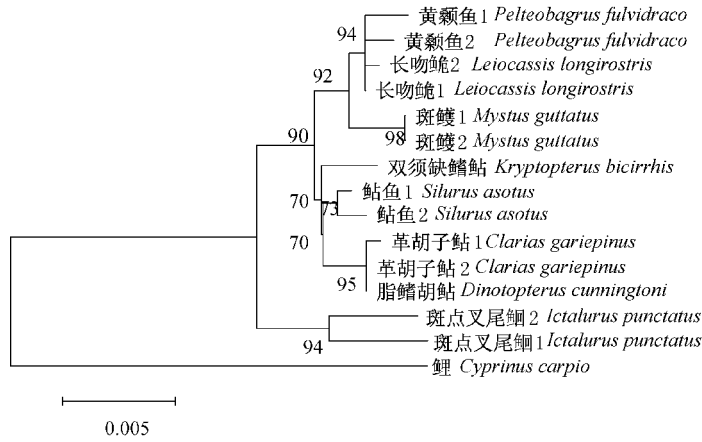


图 1 基于 18S 序列构建的 NJ 树

Fig. 1 Phylogenetic tree reconstructed using NJ methods based on 18S sequence data

图中数字为自举置信水平 (BCL) 值。

The values of Bootstrap confidence level (BCL) of the nodes are indicated above the branch (1 000 replications).

以鲤鱼核糖体 DNA 中的 ITS (ITS1-5. 8S-ITS2) 序列作为外类群构建 ITS 系统进化树 (图 2)。结果显示鲇科的 3 个属以 100% 的置信度分在一支, 其中黄颡鱼和长吻鲇的关系较近; 鲇

科的双须缺鳍鲇和鲇鱼聚为一支, 以 93% 的置信度与鲢科聚在一起, 然后与斑点叉尾鲷合并, 再与胡鲇科合并, 与外群平行。

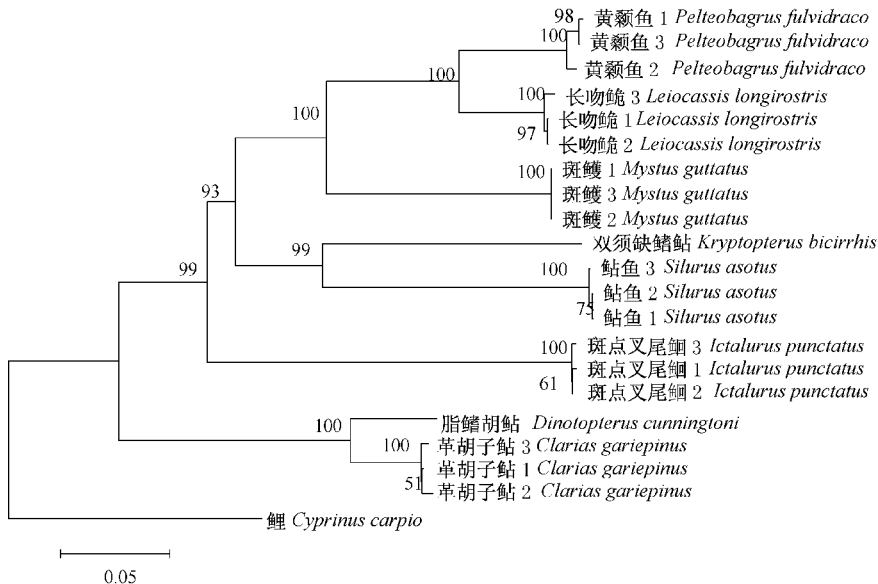


图 2 基于 ITS1-5. 8S-ITS2 序列构建的 NJ 树

Fig. 2 Phylogenetic tree reconstructed using NJ methods based on ITS sequence data

图中数字为自举置信水平 (BCL) 值。

The values of Bootstrap confidence level (BCL) of the nodes are indicated above the branch (1 000 replications).

3 讨 论

18S 的系统进化树显示,鲇科与胡鲇科的关系最近,鳢科与这两科关系较远,鲟科与另外 3 科关系最远,而 ITS 的系统树表明,胡鲇科与另外 3 科的关系最远。18S rDNA 很保守,主要是用于科属之间的系统发育分析,而 ITS 序列用来分析种群或属下种之间的关系比较多,所以作者认为,当分析科水平的亲缘关系时,18S 系统树的划分相对更可靠。

18S 的系统进化树无法区分黄颡鱼和长吻鲇、脂鳍胡鲇及革胡子鲇,而 ITS 的系统树可以表明在研究分类地位较低,亲缘关系较近的物种时,ITS 比 18S 更有优势。ITS 的系统树显示,长吻鲇和黄颡鱼关系近,斑鲮相对远些,这与张燕等人利用线粒体 DNA 控制区分析的结果相同^[6]。彭作刚等^[7]从细胞色素 *b* 分析鲇形目鱼类的系统发育一文中的研究对象也包括长吻鲇、斑鲮、鲇鱼和斑点叉尾鲟,他用 Bayesian 方法 GTR + G + I 模型构建的 50% 一致树显示,包含长吻鲇和斑鲮的分支先合并,然后与包含鲇鱼的分支合并,最后再与包含斑点叉尾鲟的分支合并,这与本文的结果是一致的。而用最大简约法构建的 MP 树显示,斑点叉尾鲟先与鲇鱼相聚,然后与包含长吻鲇和斑鲮的分支平行,但在讨论中还是指出 Bayesian 分析更具有正确重建生物类群系统发育树的功能。形态分类^[21]根据脂鳍基部长为臀鳍基部长的 1.5 倍以上,以及颌须向后伸越胸鳍,首先把鲮属和黄颡鱼属、鲇属这两属区分开,表明黄颡鱼属和鲇属形态的相似度更大些,与本文的结果一致。ITS1-5.8S-ITS2 序列的同源性同样反映了这一点,鳢科中黄颡鱼和长吻鲇的同源性最大,为 84.54%,而斑鲮和黄颡鱼、长吻鲇的同源性虽然明显大于与其他鱼之间的同源性,但也只有 67.39% 和 68.64%。革胡子鲇和脂鳍胡鲇同科不同属,鲇鱼和双须缺鳍鲇也是同科不同属,但胡鲇属和脂鳍胡鲇属的关系很近,ITS1-5.8S-ITS2 序列同源性为 92.27%,是本文所有鱼类中最高的,而鲇属和缺鳍鲇属的关系

较远,ITS1-5.8S-ITS2 序列同源性为 70.25%。

18S 系统树显示,斑点叉尾鲟与其他几种鱼的关系最远,斑点叉尾鲟的 ITS1-5.8S-ITS2 长为 757~766 bp,明显小于其余 7 种鱼的长度(904~1 229 bp),ITS2 的长度约为 270 bp,也明显小于其余 7 种鱼的长度(329~459 bp),从 ITS 长度来看,斑点叉尾鲟与其余 7 种鱼差异最大。袁万安^[13]根据 ITS2 片段计算出黄颡鱼、长吻鲇、南方大口鲇(*Silurus meridionali*)和斑点叉尾鲟 4 种鱼之间的遗传距离,认为斑点叉尾鲟与黄颡鱼的亲缘关系最近,和长吻鲇关系最远。但是本文的结果表明黄颡鱼和长吻鲇之间的亲缘关系很近,斑点叉尾鲟与这两种鱼的关系都比较远。把袁万安的斑点叉尾鲟 ITS2 序列与本文的同源序列比对后发现差异很大,因此,作者认为由袁万安的序列得出的结果值得商榷。

本文的结果表明,在本文涉及的 4 个科中,鲇科与胡鲇科的关系最近,鳢科与这两科关系较远,鲟科与其余 3 科关系最远。鳢科中鲇属与黄颡鱼属的关系最近,两者与鲮属关系较远;胡鲇科的胡鲇属和脂鳍胡鲇属是关系很近的两个属;鲇科的鲇属和缺鳍鲇属是关系较远的两属。

参 考 文 献

- [1] 陈宜瑜,褚新洛,罗云林,等. 中国动物志:鱼纲鲤形目 II. 北京:科学出版社,1968.
- [2] 乐佩琦,单乡红,林人端,等. 中国动物志:鱼纲鲤形目 III. 北京:科学出版社,2000.
- [3] Grande L. Redescription of *Hypsidoris farsonensis* (Teteostei: Sitoriformes), with a reassessment of its phylogenetic relationships. *Journal of Vertebrate Paleontology*, 1987, 7: 24-54.
- [4] 戴凤田,苏锦祥. 鳢科八种鱼类同工酶和骨骼特征分析及系统演化的探讨(鲇形目:鳢科). *动物分类学报*, 1998, 23(4): 432-439.
- [5] 方耀林,汪登强,刘绍平,等. 长江中游湖泊中黄颡鱼线粒体 DNA 的遗传变异. *中国水产科学*, 2005, 12(1): 56-61.
- [6] 张燕,张鹤,何舜平. 中国鳢科鱼类线粒体 DNA 控制区结构及其系统发育分析. *水生生物学报*, 2003, 27(5):

- 463 - 467.
- [7] 彭作刚,张耀光,何舜平等.从细胞色素 *b* 基因序列变异分析中国鲇形目鱼类的系统发育.遗传学报,2005,32(2):145-154
- [8] Rubens P, Karine F K, Pierre R P, et al. Gene mapping of 18S and 5S rDNA genes in the karyotype of the Three-Spot Gourami *Trichogaster trichopterus* (Perciformes, Osphronemidae). Zebrafish 2009 6(3):219-222.
- [9] Small B C, Murdock C A, Bilodeau-Bourgeois A L, et al. Stability of reference genes for real-time PCR analyses in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) tissues under varying physiological conditions. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry & Molecular Biology, 2008, 151(3):296-304.
- [10] Jansen G, Devaere S. Phylogenetic relationships and divergence time estimate of African anguilliform catfish (Siluriformes: Clariidae) inferred from ribosomal gene and spacer sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2006, 38(1):65-78.
- [11] Riho G, Bernhard G, Reinhard R, et al. Genetic introgression between Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*) in Bavarian hatchery stocks inferred from nuclear and mitochondrial DNA markers. Aquacult Int 2004, 12(1):19-32.
- [12] Jousson O, Bartoli P, Zaninetti I, et al. Use of the ITS rDNA for elucidation of some life-cycles of Mesometridae (Trematoda, Digenea). Int J Parasitol, 1998, 28(9):1403-1411.
- [13] 袁万安. 通过核基因 ITS2 片段研究四种鲇形目鱼类进化.淡水渔业 2008, 38(5):15-21.
- [14] Dayhoff M O, Schwartz R M, Orcutt B C. A model of evolutionary change // Dayhoff M O. Atlas of Protein Sequence and Structure. vol. 5. suppl. 3. Washington, DC: National Biomedical Research Foundation, 1978, 345-358.
- [15] Abbari K, Bernardi G. CpG doublets, CpG islands and Alu repeat elements in long human DNA sequences from different isochores families. Gene, 1998, 224(1/2):123-128.
- [16] Galtier N, Piganeau G, Mouchiroud D, et al. GC-content evolution in mammalian genomes: the biased gene conversion hypothesis. Genetics, 2001, 159(2):907-911.
- [17] Thompson J D, Higgins D G, Gibson T J. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions specific penalties and weight matrix choice. Nucl Acids Res, 1994, 22:4673-4680.
- [18] Tamura K, Dudley J, Nei M, et al. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software Version 4.0. Molecular Biology and Evolution 2007, 24(8):1596-1599.
- [19] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol Biol Evol, 1987, 4:406-425.
- [20] Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution, 1985, 39:783-791.
- [21] 倪勇, 伍汉霖. 江苏鱼类志:硬骨鱼纲鲇形目.北京:中国农业出版社 2006, 395-414.