

# 红盲高原鳅线粒体基因组测定 及其系统发育关系分析

宋金津<sup>①#</sup> 宋爽<sup>①#</sup> 黄太福<sup>②</sup> 刘航宇<sup>①</sup> 刘志霄<sup>①\*</sup>

① 吉首大学生物资源与环境科学学院 吉首 416000; ② 湖南壶瓶山国家级自然保护区管理局 石门 415300

**摘要:** 红盲高原鳅 (*Triplophysa erythraea* Liu & Huang, 2019) 是 2019 年发表的一种真洞穴鱼类, 具有重要的洞穴生物学和进化生物学研究意义以及物种保护价值。2021 年 7 月, 在湖南省湘西土家族苗族自治州花垣县大龙洞采集到 2 尾样本。通过高通量测序技术对其中 1 尾的线粒体 DNA 序列进行分析, 该线粒体 DNA 呈双链闭合环状结构, 全长为 16 585 bp, 共含有 37 个基因, 其中包括 13 个蛋白编码基因、22 个 tRNA 基因和 2 个 rRNA 基因, 以及两段非编码区, 即 L 链复制起始区 O<sub>L</sub> 和 H 链复制起始区 O<sub>H</sub>, 碱基组成为 A (31.2%)、G (15.8%)、C (26.0%)、T (27.0%), A+T 的含量为 58.2%。基于蛋白编码基因使用最大似然法和贝叶斯法构建高原鳅属系统进化树, 确定了红盲高原鳅在进化树上的位置。本研究为高原鳅属鱼类的进化研究以及物种保护工作提供了基础数据。

**关键词:** 红盲高原鳅; 线粒体 DNA 全序列; 高通量测序; 系统发育关系

**中图分类号:** Q959 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2024) 04-588-09

## Mitochondrial Genome and Phylogenetic Analysis of *Triplophysa erythraea*

SONG Jin-Jin<sup>①#</sup> SONG Shuang<sup>①#</sup> HUANG Tai-Fu<sup>②</sup> LIU Hang-Yu<sup>①</sup> LIU Zhi-Xiao<sup>①\*</sup>

① College of Biology and Environmental Sciences, Jishou University, Jishou 416000;

② Hunan Hupingshan National Nature Reserve Administration, Shimen 415300, China

**Abstract: [Objectives]** *Triplophysa erythraea*, described in 2019, is a cave-dwelling fish. In July 2021, two samples of *T. erythraea* were collected from Dalong Cave, Huayuan County, Xiangxi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Hunan Province, China. The mitochondrial genome of this species was sequenced, assembled, and annotated to obtain sequence and phylogenetic information. **[Methods]** High-throughput sequencing technology was employed to obtain the complete sequence of the mitochondrial DNA. The

**基金项目** 国家自然科学基金项目 (No. 32160241), 湖南省大学生创新创业训练计划项目 (No. S202110531041), 吉首市生物多样性资源调查项目, 吉首峒湖湿地保护与恢复监测项目;

\* 通讯作者, E-mail: zxliu1965@163.com;

# 共同第一作者 宋金津, 女, 本科生; 研究方向: 鱼类生物学; E-mail: 2577217591@qq.com;

宋爽, 女, 硕士研究生; 研究方向: 动物生物学; E-mail: 17658163721@163.com.

收稿日期: 2023-08-28, 修回日期: 2024-01-21 DOI: 10.13859/j.cjz.202423161

assembly, annotation, and sequence analysis were performed, and a phylogenetic tree of the *Triplophysa* genus was constructed based on mitochondrial protein-coding genes using maximum likelihood and Bayesian methods. [Results] The results revealed that the mitochondrial genome is a double-stranded closed-ring structure with a total length of 16 585 bp, including 13 protein-coding genes, 22 tRNA genes, 2 rRNA genes, and 2 non-coding regions (Fig. 1). The genome exhibited a significant AT bias (Table 2). In the phylogenetic tree, it formed a branch with *T. rosa*, *T. nasobarbatula*, and *T. zhenfengensis* (Fig. 2). [Conclusion] This study provides basic information on the mitochondrial genome of *T. erythraea*, reflects its position in the phylogenetic tree, contributes to understanding its evolutionary process, and provides clues for the conservation of this species.

**Key words:** *Triplophysa erythraea*; Mitochondrial genome; High-throughput sequencing technology; Phylogenetic relationship

鱼类是物种最丰富的水生脊椎动物类群，统计数据表明，我国境内已知鱼类 13 目 28 科 102 属 218 种（伍运安等 2021）。洞穴鱼类是鱼类多样性的重要组成部分，它们分布于地球上的喀斯特地貌区，在洞穴或地下潜水中完成其全部或部分生活史，呈现一些特殊的形态，如身体透明、缺乏眼睛等（赵亚辉等 2006，2009，刘志霄 2021）。

虽然总体上洞穴盲鱼分布广泛，但每一种洞穴盲鱼仅栖息于某一特定的洞穴或洞穴系统。中国是洞穴盲鱼资源最为丰富的国家（刘志霄 2021）。自从 1976 年在中国云南省建水的洞穴中找到了第一条盲鱼以后，我国动物学研究者在对洞穴盲鱼的资源勘查和科学研究方面都取得了巨大的成绩，截至 2019 年，已累计发现了典型洞穴鱼类 2 目 4 科 13 属 90 种（张佩玲等 2019），其中，鲤形目（Cypriniformes）条鳅科（Nemacheilidae）的高原鳅属（*Triplophysa*）为洞穴盲鱼的优势类群之一，如邱北盲高原鳅（*T. qiubeiensis*）、湘西盲高原鳅（*T. xiangxiensis*）以及 2019 年发表的新种红盲高原鳅（*T. erythraea*）。

红盲高原鳅是 2019 年发表的典型洞穴鱼类，其模式产地为湖南省湘西土家族苗族自治州（湘西州）花垣县的大龙洞（Huang et al. 2019）。由于长期适应在洞穴生存，其眼睛完全缺失，没有鳞片和色素，因体表透明而使躯体

呈现血红色，鳍也透明，口须较长；主要生活在水深为 0.3 ~ 1.0 m 的岩洞水域中（Huang et al. 2019），所栖水体的水流较为缓慢甚至可能是小静水坑，水底有小石块、碎石、泥沙和淤泥。

线粒体是一种重要的细胞器，属于半自主细胞器，具有母系遗传的特征。与核 DNA 相比，线粒体 DNA（mtDNA）相对较小，便于进行分子水平上的比较研究（黄原 1998）。因此，线粒体 DNA 全序列在动物系统发育和适应性进化研究方面具有重要意义。鉴于当前有关红盲高原鳅的文献仅限于新种描述（Huang et al. 2019）及其种群数量和栖息环境的初步调查（严思思等 2019），有关其分子特征等分子生物学方面的研究资料比较缺乏，我们对红盲高原鳅线粒体基因组进行测序并构建系统发育树，旨在为高原鳅属的系统发育及真洞穴鱼类的进化生物学研究提供基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 线粒体基因的提取

2021 年 7 月，在红盲高原鳅模式产地湖南湘西州花垣县境内的大龙洞（28°16'25" N，109°28'57" E，海拔 563 m）用网捕法采集红盲高原鳅 2 尾，用 95%乙醇溶液固定后，将其带回实验室，放入 4 °C 冰箱中备用。取其中 1 尾背部肌肉 20 ~ 30 mg 置于培养皿中，用蒸馏水浸泡，期间换一次蒸馏水。然后取出肌肉，吸

干水分后, 利用动物组织基因组 DNA 小量提取试剂盒(上海联迈生物工程有限公司)提取总 DNA。用双蒸水作空白对照, 通过 1%琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计(UV755, 上海仪电分析仪器有限公司)检测样品质量与浓度。在样品符合要求后, 再进行 PCR 扩增并测序, 形成测序文库, 并进行文库质检。

## 1.2 线粒体基因组的注释分析

将通过质检的文库进行 Illumina Miseq 测序, 测序的数据量为 80 G。根据测序数据的原始类型选择命令, 本研究选用的是针对双向测序原始数据的命令, 用 Mitofinder(<https://github.com/RemiAllio/MitoFinder>)进行组装。对已经组装完毕的红盲高原鳅线粒体基因组序列, 利用 MITOS (<http://mitos.bioinf.uni-leipzig.de/index.py>)软件, 对其进行编码蛋白、tRNA 和 rRNA 基因的预测, 然后对 MITOS 预测的初始基因进行去冗余处理, 并利用人工修正基因的起始密码子和终止密码子的位置, 以获得更为准确的保守基因集。通过 tRNA scanSE (<http://www.Genetics.Wustl.Edu/eddy/tRNAscanSE>)软件进行 tRNA 定位和 RNA 结构(RNAstructure)在线预测, 利用软件 CGView ([http://stothard.afns.ualberta.ca/cgview\\_server/](http://stothard.afns.ualberta.ca/cgview_server/))对样品基因组进行圈图展示。

## 1.3 系统发育关系分析

从 GenBank 中下载了条鳅科 23 种鱼类的线粒体基因组序列, 与红盲高原鳅线粒体基因组序列进行碱基组成对比(表 1), 采用贝叶斯法(Bayesian)和最大似然法(maximum likelihood)构建系统发育树。

## 2 结果

### 2.1 红盲高原鳅线粒体 DNA 的构成

红盲高原鳅线粒体基因组结构呈典型的双链闭合环状(图 1), 全长为 16 585 bp(GenBank 登录号 PQ040451), 碱基组成为 A (31.2%)、G (15.8%)、C (26.0%)、T (27.0%); G + C 的含量为 41.8%, 小于 A + T 的含量 (58.2%),

符合高原鳅属其他物种 A + T 偏好性的普遍特点(表 1)。

红盲高原鳅的线粒体 DNA 结构与一般鱼类的线粒体 DNA 结构一致, 共 37 个编码基因, 包括 13 个蛋白编码基因(*ND1* ~ *ND6*、*ND4L*、*COXI* ~ *COXIII*、*ATPase6*、*ATPase8* 和 *Cyt b*)、22 个 tRNA 基因、2 个 rRNA 基因(12S rRNA 和 16S rRNA)以及两段非编码区(轻链复制起始区  $O_L$  和重链复制起始区  $O_H$ )。在 37 个编码基因中, 有 28 个位于重链(H)上, 包括 tRNA<sup>Phe</sup>、12S rRNA、tRNA<sup>Val</sup>、16S rRNA、tRNA<sup>Leu</sup>、*ND1*、tRNA<sup>Ile</sup>、tRNA<sup>Met</sup>、*ND2*、tRNA<sup>Trp</sup>、*COXI*、tRNA<sup>Asp</sup>、*COXII*、tRNA<sup>Lys</sup>、*ATPase8*、*ATPase6*、*COXIII*、tRNA<sup>Gly</sup>、*ND3*、tRNA<sup>Arg</sup>、*ND4L*、*ND4*、tRNA<sup>His</sup>、tRNA<sup>Ser</sup>、tRNA<sup>Leu</sup>、*ND5*、*Cyt b* 和 tRNA<sup>Thr</sup>; 有 9 个位于轻链(L)上, 包括 tRNA<sup>Gln</sup>、tRNA<sup>Ala</sup>、tRNA<sup>Asn</sup>、tRNA<sup>Cys</sup>、tRNA<sup>Tyr</sup>、tRNA<sup>Ser</sup>、tRNA<sup>Glu</sup>、tRNA<sup>Pro</sup> 和 *ND6*。其他有关红盲高原鳅线粒体 DNA 全序列的详细情况见表 2。

### 2.2 红盲高原鳅线粒体蛋白编码基因的结构特征

红盲高原鳅线粒体基因组共有 13 个蛋白编码基因, 其中除了 *ND6* 在轻链上, 其他蛋白编码基因都在重链上; 蛋白质编码基因的起始密码子除了 *COXI* 为 GTG, 其他起始密码子都是 ATG, 但终止密码子不一致, 其中 7 个编码基因(*ND1*、*ND4L*、*ND5*、*ND6*、*COXI*、*ATPase6* 和 *ATPase8*)终止密码子为 TAA, 2 个编码基因(*ND2* 和 *ND3*)终止密码子为 TAG, 2 个编码基因(*ND4* 和 *COXIII*)为不完整的终止密码子 TA-, 2 个编码基因(*COXII* 和 *Cyt b*)为不完整的终止密码子 T- (表 2); 红盲高原鳅线粒体基因组包含的 13 个蛋白质编码基因的 A + T 含量在 53.9% ~ 60.6%之间, 其中, *ND4L* 的 A + T 含量最低, *ND1* 的 A + T 含量最高; 计算蛋白质编码基因的碱基偏好性, *COXI*、*ATPase6*、*ND3*、*ND4L* 和 *ND6* 的 AT 偏好性为负值, 其他 8 个基因的 AT 偏好性均为正值, *ND6* 的 GC 偏好性为正值, 其他 12 个蛋白质编

表 1 本研究所使用的条鳅科 24 种鱼类线粒体基因组序列比较

Table 1 Comparison of mitochondrial genome sequences of the fishes of Nemacheilidae used in this study

物种 Species	GenBank 登录号 GenBank accession no.	全长 Total length (bp)	碱基组成 Nucleotide composition (%)					
			T	C	A	G	A + T	C + G
前鳍高原鳅 <i>Triplophysa anterodorsalis</i>	KJ739868	16 567	28.6	25.7	27.4	18.4	56.0	44.1
勃氏高原鳅 <i>T. bleekeri</i>	JQ686729	16 573	28.4	25.5	28.1	18.0	56.5	43.5
软口高原鳅 <i>T. chondrostoma</i>	KT213589	16 568	28.8	25.2	28.2	17.8	57.0	43.0
达里湖高原鳅 <i>T. dalaica</i>	NC037925	16 569	28.2	25.6	28.3	17.9	56.5	43.5
黑背高原鳅 <i>T. dorsalis</i>	KT213591	16 572	28.4	25.6	28.2	17.8	56.6	43.4
红盲高原鳅 <i>T. erythraea</i>	PQ040451	16 585	27.0	26.0	31.2	15.8	58.2	41.8
理县高原鳅 <i>T. lixianensis</i>	KT966735	16 570	28.5	25.4	27.8	18.4	56.3	43.8
梭形高原鳅 <i>T. leptosoma</i>	KT213593	16 570	28.6	25.3	28.6	17.6	57.2	42.9
麻尔柯河高原鳅 <i>T. markehenensis</i>	KT213594	16 569	28.7	25.3	28.2	17.8	56.9	43.1
墨曲高原鳅 <i>T. moquensis</i>	KT213597	16 571	28.6	25.3	28.4	17.7	57.0	43.0
小眼高原鳅 <i>T. microps</i>	KT213595	16 571	28.3	25.5	28.0	18.3	56.3	43.8
鼻须高原鳅 <i>T. nasobarbatula</i>	NC058005	16 605	26.8	26.1	31.1	15.9	57.9	42.0
黄河高原鳅 <i>T. pappenheimi</i>	KT213600	16 572	28.7	25.0	28.7	17.5	57.4	42.5
玫瑰高原鳅 <i>T. rosa</i>	NC019587	16 585	27.3	25.3	31.8	15.6	59.1	40.9
粗壮高原鳅 <i>T. robusta</i>	KM406486	16 570	28.4	25.3	28.2	18.0	56.6	43.3
斯氏高原鳅 <i>T. stoliczkai</i>	NC017890	16 571	28.8	25.2	28.1	17.9	56.9	43.1
拟鲶高原鳅 <i>T. siluroides</i>	KT213603	16 574	28.7	25.0	28.8	17.5	57.5	42.5
异尾高原鳅 <i>T. stewarti</i>	KJ631324	16 567	28.4	25.4	27.8	18.4	56.2	43.8
硬刺高原鳅 <i>T. scleroptera</i>	KT213602	16 570	28.5	25.4	28.2	17.8	56.7	43.2
长身高原鳅 <i>T. tenuis</i>	NC030511	16 571	28.2	25.7	27.5	18.6	55.7	44.3
武威高原鳅 <i>T. wuweiensis</i>	NC030512	16 681	28.2	25.7	28.0	18.1	56.2	43.8
湘西盲高原鳅 <i>T. xiangxiensis</i>	KT751089	16 598	26.8	26.3	30.8	16.0	57.6	42.3
贞丰高原鳅 <i>T. zhenfengensis</i>	NC063617	16 564	27.6	25.5	30.6	16.3	58.2	41.8
托尼须鳅 <i>Barbatula toni</i>	MK900633	16 620	26.5	27.3	28.3	17.9	54.8	45.2

码基因的 GC 偏好性都为负值 (表 3)。

### 2.3 红盲高原鳅线粒体 rRNA 和 tRNA 基因的结构特征

红盲高原鳅线粒体基因组包含 2 个 rRNA, 均位于 H 链上, 12S rRNA 位于 tRNA<sup>Phe</sup> 和 tRNA<sup>Val</sup> 之间, 由 951 bp 组成; 16S rRNA 位于 tRNA<sup>Val</sup> 和 tRNA<sup>Leu</sup> 之间, 由 1 673 bp 组成, 且 12S rRNA 比 16S rRNA 更加保守。

红盲高原鳅线粒体基因组共有 22 个 tRNA, 序列长度 67 ~ 76 bp, 长度最短的是

tRNA<sup>Ser</sup>, 最长的是 tRNA<sup>Lys</sup> (表 2)。红盲高原鳅线粒体基因组有 2 个 tRNA<sup>Ser</sup> 和 2 个 tRNA<sup>Leu</sup>, tRNA<sup>Ser</sup> 的反密码子分别为 TGA 和 GCT, tRNA<sup>Leu</sup> 的反密码子分别为 TAA 和 TAG。tRNA<sup>Ser</sup>-GCT 基因缺失二氢尿嘧啶臂 (DHU 环), 其余 21 个 tRNA 均为含氨基酸接受臂、T $\psi$ C 环、反密码子环和 DHU 环的典型三叶草二级结构。

在 tRNA<sup>Ile</sup> 氨基酸臂中, 有一对因 C-T 转换造成的 A-C 不配对; 在 tRNA<sup>Pro</sup> 氨基酸臂上, 有一对 A-A 和一对 U-U 不配对; 在 tRNA<sup>Met</sup>

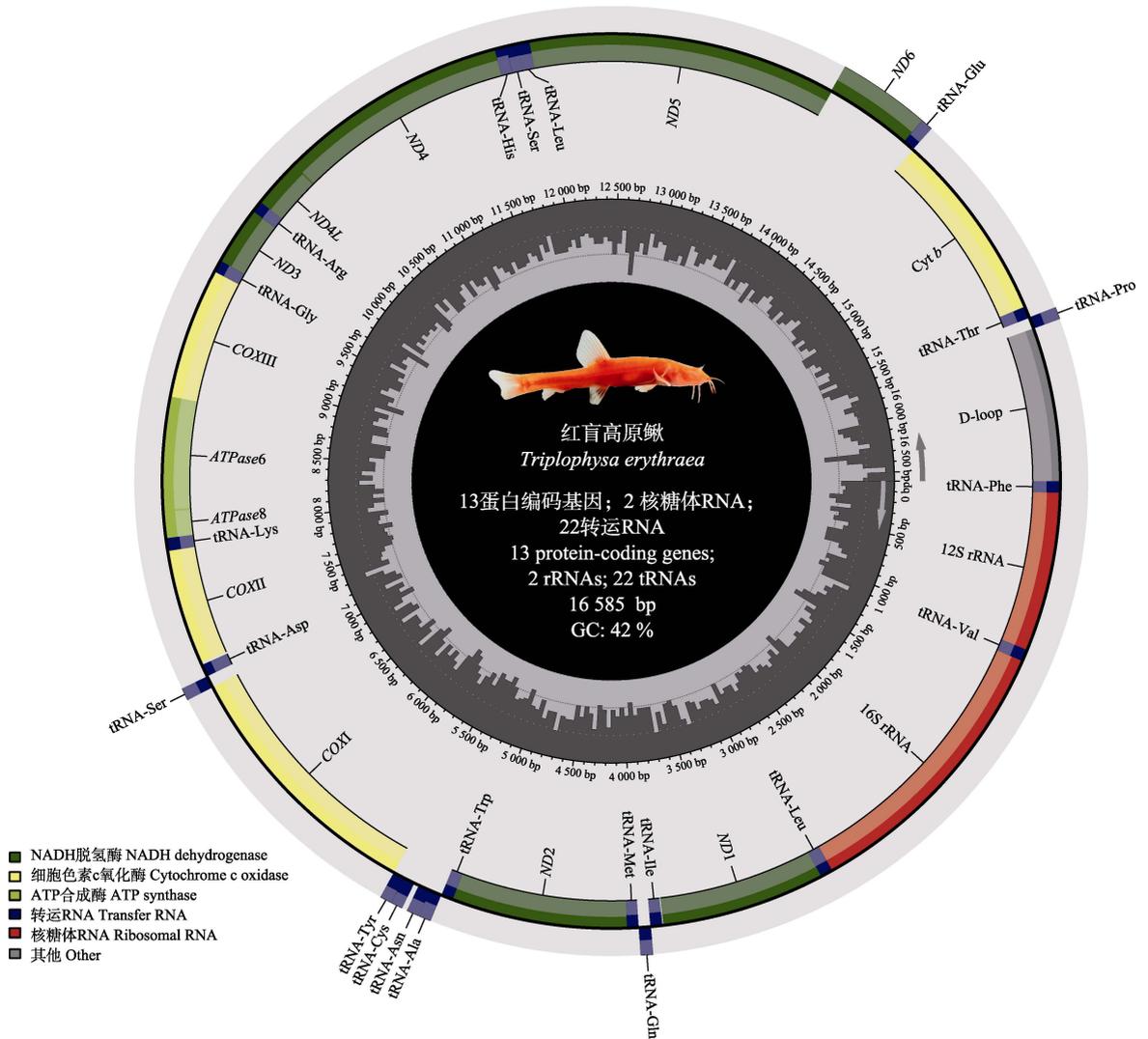


图 1 红盲高原鳅线粒体基因组图谱

Fig. 1 Mitochondrial genome mapping of *Triplophysa erythraea*

氨基酸臂上, 有一对 A-A 不配对。tRNA<sup>Trp</sup>、tRNA<sup>Arg</sup>、tRNA<sup>His</sup>、tRNA<sup>Thr</sup>、tRNA<sup>Ser</sup>-TGA 中各有一对因 C-T 转换造成的 A-C 不配对。在 tRNA<sup>Ser</sup>-GCT 氨基酸臂上, 有一对 C-U 不配对。在 TψC 茎的 tRNA<sup>Ile</sup> 上, A-C 不配对。在 tRNA<sup>Met</sup> 上, 有一对 C-C 不配对。在 tRNA<sup>Asn</sup>、tRNA<sup>Gln</sup> 上, 各有一对 U-U 不配对。在反密码子环的 tRNA<sup>Asp</sup>、tRNA<sup>His</sup> 上, 各有一对 A-C 不配对。在 DHU 环的 tRNA<sup>Trp</sup> 中, 有一对 A-A 不配对, 且 tRNA<sup>Ser</sup>-GCT 基因缺失该环。这些特殊现象

可能从基因层面反映了红盲高原鳅作为终生生活在洞穴水体中的真洞穴生物对洞穴的适应性进化。

#### 2.4 基于线粒体基因组的高原鳅属系统发育关系

以须鳅属的托尼须鳅 (*Barbatula toni*) 作为外群, 选取 GenBank 中 22 种高原鳅属鱼类及红盲高原鳅的线粒体基因组, 基于蛋白编码基因 (protein-coding genes), 使用最大似然法 (maximum likelihood) 和贝叶斯法 (Bayesian)

表 2 红盲高原鳅线粒体基因组的结构信息

Table 2 Structural information of the mitochondrial genome of *Triplophysa erythraea*

基因 Gene	位置 Position	基因间隔区 Intergenic spacer (bp)	起始密码子 Start codon	终止密码子 Stop codon	大小 Size (bp)	密码子数量 No. of codons	编码链 Coding strand
tRNA <sup>Phe</sup> -GAA	1 - 69	0			69		H
12S rRNA	70 - 1020	2			951		H
tRNA <sup>Val</sup> -UAC	1023 - 1094	21			72		H
16S rRNA	1116 - 2788	0			1 673		H
tRNA <sup>Leu</sup> -UAA	2789 - 2863	0			75		H
ND1	2864 - 3838	6	ATG	TAA	975	325	H
tRNA <sup>Ile</sup> -GAT	3845 - 3915	- 2			71		H
tRNA <sup>Gln</sup> -UUG	3914 - 3984	1			71		L
tRNA <sup>Met</sup> -CAT	3986 - 4054	0			69		H
ND2	4055 - 5101	- 2	ATG	TAG	1 047	349	H
tRNA <sup>Trp</sup> -UCA	5100 - 5169	2			70		H
tRNA <sup>Ala</sup> -UGC	5172 - 5240	1			69		L
tRNA <sup>Asn</sup> -GUU	5242 - 5314	1			73		L
O <sub>L</sub>	5316 - 5346	- 2			31		H
tRNA <sup>Cys</sup> -GCA	5345 - 5411	0			67		L
tRNA <sup>Tyr</sup> -GUA	5412 - 5479	1			68		L
COXI	5481 - 7028	0	GTG	TAA	1 548	516	H
tRNA <sup>Ser</sup> -UGA	7029 - 7099	1			71		L
tRNA <sup>Asp</sup> -GUC	7101 - 7173	13			73		H
COXII	7187 - 7877	0	ATG	T--	691	230	H
tRNA <sup>Lys</sup> -UUU	7878 - 7953	1			76		H
ATPase8	7955 - 8122	- 10	ATG	TAA	168	56	H
ATPase6	8113 - 8796	- 1	ATG	TAA	684	228	H
COXIII	8796 - 9580	- 1	ATG	TA-	785	261	H
tRNA <sup>Gly</sup> -UCC	9580 - 9653	0			74		H
ND3	9654 - 10004	- 2	ATG	TAG	351	117	H
tRNA <sup>Arg</sup> -UCG	10003 - 10072	0			70		H
ND4L	10073 - 10349	- 7	ATG	TAA	297	99	H
ND4	10363 - 11741	3	ATG	TA-	1 379	459	H
tRNA <sup>His</sup> -GUG	11745 - 11813	0			69		H
tRNA <sup>Ser</sup> -GCU	11814 - 11880	1			67		H
tRNA <sup>Leu</sup> -UAG	11882 - 11954	0			73		H
ND5	11955 - 13793	- 4	ATG	TAA	1 839	613	H
ND6	13790 - 14311	0	ATG	TAA	522	174	L
tRNA <sup>Glu</sup> -UUC	14312 - 14380	6			69		L
Cyt b	14387 - 15527	0	ATG	T--	1 141	380	H
tRNA <sup>Thr</sup> -UGU	15528 - 15598	- 2			71		H
tRNA <sup>Pro</sup> -UGG	15597 - 15666	17			71		L
O <sub>H</sub>	15684 - 16397	188			714		H

H. 重链; L. 轻链。H. Heavy chain; L. Light chain.

表 3 红盲高原鳅线粒体基因碱基组成

Table 3 Comparison of mitochondrial genome nucleotides composition of *Triplophysa erythraea*

基因 Gene	长度 Length (bp)	核苷酸所占比例 Nucleotide proportion (%)						AT 偏好性 AT preference	GC 偏好性 GC preference
		T	C	A	G	A + T	C + G		
ND1	975	29.0	26.4	31.6	13.0	60.6	39.4	0.04	- 0.34
ND2	1 047	25.3	28.9	33.5	12.2	58.8	41.1	0.14	- 0.41
COXI	1 548	29.8	25.6	26.1	18.5	55.9	44.1	- 0.07	- 0.16
COXII	691	28.4	25.2	29.2	17.2	57.6	42.4	0.01	- 0.19
ATPase8	168	23.8	29.8	33.9	12.5	57.7	42.3	0.18	- 0.41
ATPase6	684	30.5	27.2	28.8	13.5	59.3	40.7	- 0.03	- 0.34
COXIII	785	28.2	27.0	28.9	15.9	57.1	42.9	0.01	- 0.26
ND3	351	29.9	27.4	26.5	16.2	56.4	43.6	- 0.06	- 0.26
ND4L	297	29.3	29.6	24.6	16.5	53.9	46.1	- 0.09	- 0.28
ND4	1 379	28.1	27.6	30.2	14.0	58.3	41.6	0.04	- 0.33
ND5	1 839	28.3	27.1	31.9	12.5	60.2	39.6	0.06	- 0.37
ND6	522	40.5	13.2	14.8	31.4	55.3	44.6	- 0.46	0.41
Cyt b	1 141	28.3	28.1	28.1	15.4	56.4	43.5	0.00	- 0.29
PCGs	11 427	29.0	26.5	29.0	15.5	58.0	42.0	0.00	- 0.26
线粒体基因 Mitochondrial genome	16 585	27.0	26.0	31.2	15.8	58.2	41.8	0.07	- 0.24

AT 偏好性 = (A% - T%)/(A% + T%); GC 偏好性 = (G% - C%)/(G% + C%)。

AT preference = (A% - T%)/(A% + T%); GC preference = (G% - C%)/(G% + C%)。

构建系统发育树，确定红盲高原鳅的进化地位（图 2）。使用两种方法构建的系统发育树在拓扑结构上基本一致。所得结果均表明，红盲高原鳅与玫瑰高原鳅 (*T. rosa*)、鼻须高原鳅 (*T. nasobarbatula*) 和贞丰高原鳅 (*T. zhenfengensis*) 形成一个支系。

### 3 讨论

洞穴鱼类是指生活史在封闭或半封闭的洞穴环境里完成的鱼类，中国作为洞穴鱼类物种数最多的国家之一，拥有超过 150 种洞穴鱼，约占全球已知洞穴鱼物种数的三分之一。高原鳅属作为中国洞穴鱼中具有代表性的类群之一，目前已有 39 个物种被描述 (Luo et al. 2023)，主要分布于中国西南的云南、贵州和广西等地。与其他洞穴动物一样，洞穴鱼类在表型和行为上也发生了重大变化，主要表现为眼睛呈不同程度的退化 (Hinaux et al. 2016) 及体

表色素减少 (Borowsky 2018)，除此之外还有非视觉感觉功能的增强，如更长的触须 (Soares et al. 2013)、高度发达的嗅觉系统 (Blin et al. 2018) 以及发达的侧线系统和体表神经丘 (Yoshizawa 2015) 等。与其他高原鳅属洞穴鱼一样，本文的研究对象红盲高原鳅，在形态上也具有眼睛完全缺失、无鱼鳞及色素等典型的洞穴适应性特征。

线粒体作为一种古老的细菌共生体，广泛存在于大多数有核（真核）细胞的细胞质中，这些线粒体具备自主的线粒体 DNA、RNA 以及蛋白质合成系统。由于线粒体基因组以母系遗传，具有相对较为保守的基因特性，且其序列相对较小、变异速率相对较快，因而成为研究物种系统发育的有效工具之一。和其他高原鳅一样，红盲高原鳅的线粒体基因组为典型的双链闭合环状结构，其线粒体基因组全长为 16 585 bp，与高原鳅属其他种的线粒体基因组

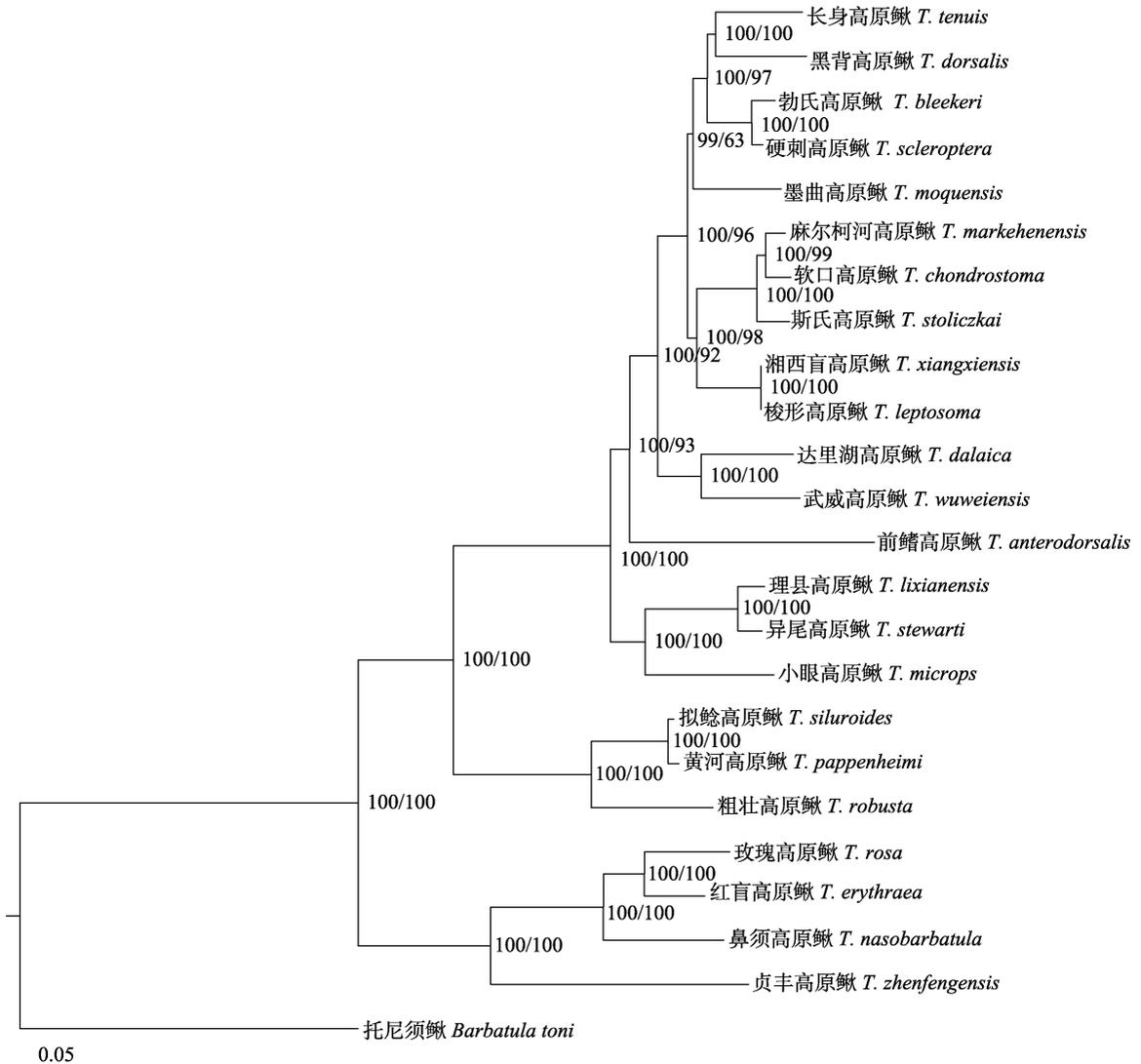


图 2 基于线粒体基因组蛋白编码基因的高原鳅属最大似然系统发育关系

Fig. 2 Phylogenetic relationships derived from maximum likelihood method based on mitochondrial protein-coding genes of *Triplophysa*

节点上的数字是来自最大似然法/贝叶斯法的引导值和后验概率。标尺指该长度的分支代表基因组的遗传变异度为 0.05。

The numbers on the nodes are the bootstrap values and posterior probabilities from maximum likelihood and Bayesian methods. The scale indicates that each branch of this length represents a genetic variation of 0.05 in the genome.

组装长度相当,包括编码区和非编码区两部分,编码了 2 种 rRNA 基因、22 个 tRNA 以及 13 种参与线粒体能量代谢的蛋白质。碱基组成中 G + C 的含量为 41.8%, 小于 A + T 的含量 (58.2%), 表明红盲高原鳅线粒体基因组符合线粒体基因组通常呈现出较为显著的碱基组成

偏倚特点 (Jakovlić et al. 2021)。而碱基组成偏倚可能对系统发育分析造成显著影响,因此,通过对红盲高原鳅线粒体基因组的结构、组成以及碱基偏倚等特点的研究,可为后续深入研究红盲高原鳅的系统发育分析奠定基础。

高原鳅属迄今已发现和报道的有效种大约

有 160 多个, 绝大部分生活在青藏高原及其周边区域的高原地带, 其中已有 39 个适应于洞穴生境的物种被描述 (Luo et al. 2023)。本文将红盲高原鳅的线粒体序列与其他种类的高原鳅进行了序列比对, 并构建了系统进化树, 研究结果表明其与玫瑰高原鳅、鼻须高原鳅和贞丰高原鳅形成一个支系, 该结果支持洞穴类群聚为一支, 这与 Wang 等 (2023) 基于蛋白编码基因对高原鳅属鱼类进展系统发育分析的结果一致。

高原鳅属洞穴鱼能够适应地下黑暗的洞穴环境, 出现了眼睛退化及皮肤白化等典型的洞穴适应性性状, 并且又有近缘地表鱼类, 这使得该属物种成为研究洞穴鱼类适应性演化的理想模型。正如前文所述, 线粒体基因较核基因有着更小的有效种群大小、更快的进化速率, 其所受到的环境选择作用更容易在线粒体基因组中被固定下来。因此, 近年来高原鳅属洞穴鱼的线粒体基因组研究一直被科学家们广泛关注。红盲高原鳅在形态上表现为眼睛完全缺失、没有鱼鳞和无色素等典型的洞穴适应性特征, 在基因水平上与高原鳅属其他鱼类有一定的共性。本研究提供了红盲高原鳅线粒体基因组水平上的基础信息, 使得我们更加了解其基因组特征, 不仅为后续揭示高原鳅属及其他真洞穴动物的进化机制提供数据参考, 也为进一步研究高原鳅属的群体遗传学和系统发育关系奠定了坚实的基础。

**致谢** 在标本采集过程中, 得到吉首大学生物资源与环境科学学院金银霜、程小洁、徐金屏、刘家茹等同学, 以及大龙洞景区工作人员的帮助与支持, 谨此一并致以衷心的感谢。

## 参 考 文 献

- Blin M, Tine E, Meister L, et al. 2018. Developmental evolution and developmental plasticity of the olfactory epithelium and olfactory skills in Mexican cavefish. *Developmental Biology*, 441(2): 242–251.
- Borowsky R. 2018. Cavefishes. *Current Biology*, 28(2): R60–R64.
- Hinaux H, Devos L, Blin M, et al. 2016. Sensory evolution in blind cavefish is driven by early embryonic events during gastrulation and neurulation. *Development*, 143(23): 4521–4532.
- Huang T F, Zhang P L, Huang X L, et al. 2019. A new cave-dwelling blind loach, *Triplophysa erythraea* sp. nov. (Cypriniformes: Nemacheilidae), from Hunan Province, China. *Zoological Research*, 40(4): 331–336.
- Jakovlić I, Zou H, Zhao X M, et al. 2021. Evolutionary history of inversions in directional mutational pressures in crustacean mitochondrial genomes: implications for evolutionary studies. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 164: 107288.
- Luo T, Mao M L, Lan C T, et al. 2023. Four new hypogean species of the genus *Triplophysa* (Osteichthyes, Cypriniformes, Nemacheilidae) from Guizhou Province, Southwest China, based on molecular and morphological data. *ZooKeys*, 1185: 43–81.
- Soares D, Niemiller M L. 2013. Sensory adaptations of fishes to subterranean environments. *BioScience*, 63(4): 274–283.
- Wang C X, Luo S T, Yao N, et al. 2023. A comprehensive analysis of *Triplophysa labiata* (Kessler, 1874) mitogenome and its phylogenetic implications within the *Triplophysa* genus. *Genes*, 14(7): 1356.
- Yoshizawa M. 2015. Behaviors of cavefish offer insight into developmental evolution. *Molecular Reproduction and Development*, 82(4): 268–280.
- 黄原. 1998. 分子系统学: 原理、方法及应用. 北京: 中国农业出版社, 124–357.
- 刘志霄. 2021. 洞穴生物学. 北京: 科学出版社, 111–115.
- 伍远安, 李鸿, 廖伏初, 等. 2021. 湖南鱼类志. 北京: 科学出版社, 1–45.
- 严思思, 黄太福, 张佩玲, 等. 2019. 湘西州花垣县大龙洞红盲高原鳅 (*Triplophysa erythraea*) 种群数量与栖息环境初步调查. *世界生态学*, 8(4): 278–282.
- 张佩玲, 黄太福, 吴涛, 等. 2019. 中国典型洞穴鱼类名录、分布及保护. *中国岩溶*, 38(6): 937–945.
- 赵亚辉, 张春光. 2006. 洞穴鱼类: 概念、多样性及研究进展. *生物多样性*, 14(5): 451–460.
- 赵亚辉, 张春光. 2009. 中国特有金线鲃属鱼类: 物种多样性、洞穴适应、系统演化和动物地理. 北京: 科学出版社, 1–14.