

基于线粒体 Cyt *b* 和 ITS1 部分序列分析鲭科鱼类分子系统进化关系

邱凡, 苏永全, 傅蒙娜, 王军

(厦门大学 海洋与环境学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 鲭科(Scombridae)由 15 属 51 种表层洄游性海洋鱼类组成, 广泛分布于热带和亚热带海域, 是重要的经济鱼类。目前关于鲭科鱼类系统发生学的研究主要基于形态学特征。为了从分子水平上阐明鲭科鱼类的分类与系统进化关系, 本研究扩增了鲭科 7 种鱼类的线粒体细胞色素 *b* (Cyt *b*) 基因 1 个含 311 个碱基的序列区和转录间隔区 1 (ITS 1) 的 1 个含 644 ~ 692 个碱基的序列区。采用多个生物软件对序列碱基组成进行分析, 计算了 Kimura-2 parameter 遗传距离、转换/颠换比等遗传信息指数。Cyt *b* 和 ITS1 序列 4 种碱基平均含量分别是: A 为 22.8 %、G 为 16.4 %、C 为 31.2 %、T 为 29.5 % 和 A 为 13.5 %、G 为 31.3 %、C 为 38.7 %、T 为 16.5 %。基于 Cyt *b* 计算的鲭科鱼类种间遗传距离为 0.006 5 ~ 0.333 5, 平均遗传距离为 0.168 9; 基于 ITS1 计算的金枪鱼族鱼类种间遗传距离为 0.003 2 ~ 0.266 8, 平均遗传距离为 0.202 5。Cyt *b* 和 ITS1 序列的转换/颠换比分别为 1.8 和 0.9。以竹荚鱼(*Trachurus trachurus*)和花鲈(*Lateolabrax japonicus*)为外群, 并结合 GenBank 上鲭科 24 种鱼类的同源序列, 构建 NJ、ML 和 ME 系统树。研究结果确认了金枪鱼属处于系统进化树的顶端, 代表着最新演化的种类, 是鲭科中最繁盛的一属, 也是目前系统发育的高峰。所有分子系统树都表明鲭属、鲐属和舵鲭属显示与金枪鱼属很近的亲缘关系, 它们均归入金枪鱼族。然而, 研究结果与形态学上将金枪鱼属分为 2 个亚属的分类结果存在分歧。同时, 本研究关于狐鲭属、平鲭属、刺鲛属和双线鲛属进化地位上的结果也不同于形态学的结果。故鲭科鱼类客观、科学的分类地位还需通过形态学、生态学和分子生物学的深入研究加以确认。[中国水产科学, 2010, 17(2): 201-211]

关键词: 鲭科; 细胞色素 *b*; 转录间隔区 1; 分子系统树; 鱼类进化

中图分类号: S959

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2010)02-0201-11

鲭科(Scombridae)鱼类隶属鲈形目(Perciformes)、鲭亚目(Scombroidei), 为快速游泳的中上层鱼类, 广泛分布于各大洋的热带、亚热带和温带海域^[1], 其中许多种类是世界上重要的海洋经济鱼类。全球鲭科鱼类共 15 属 51 种^[1], 中国共有 11 属 24 种^[2]。关于鲭科鱼类的系统分类研究, Collette 和 Nauen^[3] 根据形态学特征将鲭科分为 2 个亚科。Chow 和 Kishino^[4] 运用线粒体细胞色素 *b* (Cyt *b*) 基因部分序列分析了鲭科金枪鱼属(*Thunnus*) 8 种金枪鱼的进化关系, 发现太平洋蓝鳍金枪鱼(*T. thynnus orientalis*)与长鳍金枪鱼(*T. alalunga*)关系最近, 而与形态学上认为太平洋

蓝鳍金枪鱼和大西洋蓝鳍金枪鱼(*T. thynnus thynnus*)亲缘关系最近的结果不同。Finnerty 和 Block^[5] 运用线粒体 590 bp 序列分析了旗鱼科(Istiophoridae)、剑鱼科(Xiphiidae)、鲭科、蛇鲭科(Gempylidae)和带鱼科(Trichiuridae)5 科鱼类之间的进化关系。虽然在形态学和分子水平上相关研究较多, 但有关鲭科分类和系统进化关系仍存在争议。本研究检测了蓝鳍金枪鱼等 7 种鲭科鱼类的线粒体 Cyt *b* 和 ITS1 基因的部分序列, 采用分子系统学方法, 结合 GenBank 其他鲭科鱼类的相关序列首次对鲭科 12 属 31 种鱼类进行分子系统进化研究, 旨在为建立科学完善的鲭科鱼类系

收稿日期: 2009-05-06; 修订日期: 2009-08-14.

基金项目: 福建省重大科技专项项目资助(2004NZ03).

作者简介: 邱凡(1982-), 男, 硕士, 主要从事鱼类群体遗传学和系统发生学研究. E-mail: fan-q@hotmail.com

通讯作者: 王军. E-mail: junw@xmu.edu.cn

统分类体系提供有价值的基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

蓝鳍金枪鱼(*T. thynnus*) 2006年4月采自日本鹿儿岛网箱暂养的样品,黄鳍金枪鱼(*T. albacares*)样品于2007年8月采自台湾南部海域。青干金枪鱼(*T. tonggol*)、东方狐鲣(*Sarda orientalis*)、圆舵鲣(*Auxis rochei*)、鲣(*Katsuwonus pelamis*)和鲔(*Euthynnus affinis*)于2007年5月采自海南渔市场。取背部肌肉,分开保存于90%乙醇中于-20℃贮存。每种鱼各取3尾用于PCR扩增。

1.2 实验方法

1.2.1 基因组DNA的提取 参考Sambrook等的酚/氯仿抽提法^[6]并略做修改。提取出的基因组DNA采用1%琼脂糖凝胶在Power PAC 300电泳仪上电泳检测,光谱测定浓度后,于-20℃保存备用。

1.2.2 PCR扩增及序列测定 反应体积50 μL,其中dNTPs 0.2 mmol/L,引物1 μmol/L, MgCl₂ 2.0 mmol/L, 10×缓冲液5.0 μL, rTaq酶0.3 μL。

扩增Cyt b序列的反应条件为95℃ 2 min; 95℃ 60 s; 50℃ 30 s; 72℃ 90 s; 30 cycles; 72℃ 5 min。引物序列为L14838: 5'-GCTTCCATCCAACATCTCAGCATGATG-3', H15150: 5'-GCAGCCCCTCAGAATGATATTTGTCCTC-3'^[4]。

扩增ITS-1序列的反应条件为96℃ 2 min; 96℃ 30 s; 58℃ 30 s; 74℃ 60 s; 30 cycles; 72℃ 10 min。引物序列为ITS-1F: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3', ITS-1R: 5'-CGCTGCGTTCCTTCATCG-3'^[7],产物经电泳检测纯化、回收、克隆后由上海博亚生物公司测序。

1.2.3 序列排定和系统发育分析 每个个体测得的序列的多重排定由CLUSTAL X软件^[8]完成,并辅以人工校对;以MEGA软件^[9]统计序列的保守位点、多态简约信息位点数;平均碱基组成和转换/颠换比率,基于Kimura-2 parameter计算遗传距离。

以本研究获得的7种鲭科鱼类的线粒体Cyt b和ITS1部分序列,结合从GenBank上下载的其他24种鲭科鱼类相应序列(表1,总共12属31种)分

析鲭科鱼类和金枪鱼族鱼类的系统进化关系。

系统分析采用邻接法(Neighbor-joining, NJ)、最大简约法(Maximum-parsimony, MP)和最大似然法(Maximum-likelihood, ML)构建分子系统树,Cyt b序列选择了竹荚鱼(*Trachurus trachurus*)和花鲈(*Lateolabrax japonicus*)的同源序列(GenBank登录号分别为EU492076和DQ351528)作为外群,ITS1选择了花鲈的同源序列(GenBank登录号为AB375643)作为外群。NJ法使用MEGA软件^[9],遗传距离模型分别选择Kimura双参数模型和p-distance,将序列中的转换和颠换位点均视为信息位点并对所有位点一致性加权,对于序列中的插入/缺失位点则采用成对删除。MP法和ML法都使用PHYLP-3.63软件包相应程序^[10];再由consense程序得到一个多数原则合意树;NJ和MP树采用重复抽样分析1000次(ML树为100次)检验分子系统树各分枝的置信度。

2 结果与分析

2.1 序列分析

分属于5属的7种鲭科鱼类蓝鳍金枪鱼、黄鳍金枪鱼、青干金枪鱼、东方狐鲣、圆舵鲣、鲣和鲔的Cyt b序列长度均为311 bp,编码基因无插入缺失。Cyt b基因表现出很强的反G偏倚(即G的含量明显低于其他3种碱基的含量)。4种碱基平均含量分别:A为22.8%、T为29.5%、C为31.2%、G为16.4%,G+C含量为47.6%。Cyt b基因GC含量稍高于脊椎动物全基因组40%~45%的平均含量,属于GC较丰富区域。311个碱基中,保守位点279个,简约信息位点32个。转换颠换比平均为1.8。

7种鱼类ITS1序列长度为644~692 bp,有明显插入缺失。而且ITS1序列中GC含量特别高,为67.2%~71.4%。4种碱基平均含量分别:A为13.5%、T为16.5%、C为38.7%、G为31.3%。平均碱基数为665,其中保守位点497个,简约信息位点179个。转换颠换比平均为0.9。

7种鲭科鱼类的线粒体Cyt b和ITS1基因序列的排序如图1所示。所有序列全部在GenBank数据库登录(表1)。

表 1 31 种鲭科鱼 Cyt *b* 和 ITS1 序列在 GenBank 中的登录号

Tab. 1 GenBank accession number of 31 species in Scombridae

序号	种类 Species	Cyt <i>b</i>	ITS1
	刺鲅属 <i>Acanthocybium</i> (1/1) *		
1	沙氏刺鲅 <i>A. solandri</i>	EF141172	无 No
	舵鲳属 <i>Auxis</i> (2/2) *		
2	圆舵鲳 <i>A. rochei</i> (本研究 This study)	EU708971	EU708978
3	扁舵鲳 <i>A. thazard</i>	EF141173	AB193567
	鲐属 <i>Euthynnus</i> (2/3) *		
4	鲐 <i>E. affinis</i> (本研究 This study)	EU708972	EU708979
5	大西洋鲐 <i>E. alletteratus</i>	AB099716	无 No
	双线鲅属 <i>Grammatorcynus</i> (1/2) *		
6	大眼双线鲅 <i>G. bilineatus</i>	DQ497833	无 No
	裸狐鲳属 <i>Gymnosarda</i> (1/1) *		无 No
7	裸狐鲳 <i>G. unicolor</i>	DQ497834	无 No
	鲳属 <i>Katsuwonus</i> (1/1) *		
8	鲳 <i>K. pelamis</i> (本研究 This study)	EU708973	EU708980
	平鲳属 <i>Orcynopsis</i> (1/1) *		
9	平鲳 <i>O. unicolor</i>	EF529980	无 No
	羽鳃鲐属 <i>Rastrelliger</i> (2/3) *		
10	福氏羽鳃鲐 <i>R. faughni</i>	DQ497844	无 No
11	羽鳃鲐 <i>R. kanagurta</i>	DQ497857	无 No
	狐鲳属 <i>Sarda</i> (2/4) *		
12	东方狐鲳 <i>S. orientalis</i> (本研究 This study)	EU708974	EU708981
13	狐鲳 <i>S. sarda</i>	EF392614	无 No
	鲭属 <i>Scomber</i> (3/4) *		
14	澳洲鲭 <i>S. australasicus</i>	AB032518	无 No
15	日本鲭 <i>S. japonicas</i>	EF141177	无 No
16	鲭 <i>S. scombrus</i>	EF427600	无 No
	马鲛属 <i>Scomberomorus</i> (8/18) *		
17	巴西马鲛 <i>S. brasiliensis</i>	DQ080322	无 No
18	大耳马鲛 <i>S. cavalla</i>	DQ536428	无 No
19	康氏马鲛 <i>S. commerson</i>	EF141176	无 No
20	斑点马鲛 <i>S. guttatus</i>	DQ497868	无 No
21	朝鲜马鲛 <i>S. koreanus</i>	DQ497884	无 No
22	蓝点马鲛 <i>S. niphonius</i>	DQ497885	无 No
23	中华马鲛 <i>S. sinensis</i>	DQ497891	无 No
24	西非马鲛 <i>S. tritor</i>	AF231666	无 No
	金枪鱼属 <i>Thunnus</i> (7/7) *		
25	长鳍金枪鱼 <i>T. alalunga</i>	DQ198012	AB211999
26	黄鳍金枪鱼 <i>T. albacares</i> (本研究 This study)	EU708975	EU708982
27	黑鳍金枪鱼 <i>T. atlanticus</i>	AB098104	AB212040
28	麦氏金枪鱼 <i>T. maccoyii</i>	AB098105	AB212013
29	大眼金枪鱼 <i>T. obesus</i>	DQ198013	AB212016
30	太平洋蓝鳍金枪鱼 <i>T. t. orientalis</i> (本研究 This study)	EU708976	EU708983
31	青干金枪鱼 <i>T. tonggol</i> (本研究 This study)	EU708977	EU708984

注: * 括号内分子代表该属中本研究所分析的物种数,分母数代表该属中总共的物种数。

Note: Tlonumerators in brackes mean speeies number in this genus used in this study, and the denominator values mean the total species number in this genus.

(A) Cyt *b*

<i>A. rochei</i>	AAACTTTGGC	TCACACTTGG	GTCTCTGCCT	TATTTCCCAA	ATTCTTACAG	GCCTATTCTT	TGCAATACAC	TACACCCCTG	ATGTCGAATC	AGCCTTCGCT
<i>E. affinis</i>	AAACTTTGGA	TCACAGCTTG	GTCTCTGCCT	TATCTCCCAA	ATCCTTACAG	GCCTATTCTT	CGCAATACAC	TATACCCCTG	ATGTCGAATC	AGCCTTCGCC
<i>K. pelamis</i>	AAACTTTGGC	TCACACTTGG	GTCTCTGCCT	TATTTCCCAA	ATCCTAACAG	GACTATTCTT	CGCAATACAC	TATACCCCTG	ACGTAGAATC	AGCCTTCGCC
<i>S. orientalis</i>	AAATTTGGC	TCATTACTAG	GCCTTTGCCT	AAATTTCCAA	ATCCTTACGG	GATTATTCTT	AGCAATGCAC	TACACCCCTG	ATGTCGAGTC	AGCCTTCGCC
<i>T. albacares</i>	AAACTTTGGC	TCACACTTGG	GCCTTTGCCT	TATTTCTCAA	ATCCTTACAG	GACTATTCTT	CGCAATACAC	TACACCCCTG	ATGTCGAATC	AGCCTTCGCC
<i>T. orientalis</i>	AAACTTTGGC	TCACACTTGG	GCCTTTGCCT	TATTTCTCAA	ATCCTTACAG	GACTATTCTT	CGCAATACAC	TATACCCCTG	ATGTCGAATC	AGCCTTCGCC
<i>T. tonggol</i>	AAACTTTGGC	TCACACTTGG	GCCTTTGCCT	TATTTCTCAA	ATCCTTACAG	GACTATTCTT	CGCAATACAC	TACACCCCTG	ATGTCGAATC	AGCCTTCGCC
	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **
<i>A. rochei</i>	TCAGTAGCCC	ATATTTCGGC	AGATGTAAC	TTCGGTTGAC	TTATCCGAAA	CCTCCACGCC	AACGGCGCCT	CCTTCTTCTT	CATCTGCATC	TACTCACACA
<i>E. affinis</i>	TCAGTAGCCC	ATATCTGCCG	AGACGTAAAC	TTCGGATGAC	TCATCCGAAA	CCTACACGCC	AACGGCGCCT	CCTTCTTCTT	CATCTGCATC	TACTCACACA
<i>K. pelamis</i>	TCAGTAGCCC	ATATCTGCCG	AGACGTAAAC	TTCGGATGAC	TCATCCGAAA	CCTCCATGCC	AACGGCGCCT	CCTTCTTCTT	CATCTGCATC	TACTCCACACA
<i>S. orientalis</i>	TCGGTCGCGC	ACATCTGCCG	AGATGTAAAT	TTCGGCTGAC	TAATCCGAAA	CCTCCACGCA	AACGGCGCCT	CCTTCTTCTT	CATTTCGATC	TACTCCACACA
<i>T. albacares</i>	TCAGTAGCCC	ACATTTCGCC	AGATGTCAAC	TTCGGTTGAC	TCATCCGAAA	CCTCCACGCA	AACGGCGCCT	CCTTCTTCTT	TATCTGCATC	TACTCCACACA
<i>T. orientalis</i>	TCAGTAGCCC	ACATTTCGCC	AGATGTCAAC	TTCGGTTGAC	TCATCCGAAA	CCTCCACGCA	AACGGCGCCT	CCTTCTTCTT	TATCTGCATC	TACTCCACACA
<i>T. tonggol</i>	TCAGTAGCCC	ACATTTCGCC	AGATGTCAAC	TTCGGTTGAC	TCATCCGAAA	CCTCCACGCA	AACGGCGCCT	CCTTCTTCTT	TATCTGCATC	TACTCCACACA
	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **
<i>A. rochei</i>	TCGGACGAGG	CCTTTACTAC	GGCTCTTACC	TCTACAAAGA	AACATGAAAC	ATTGCGGTAG	TTCTTCTACT	GCTAGTCATG	ATGACTGCAT	TCGTCCGCTA
<i>E. affinis</i>	TCGGCCGAGG	TCTTTACTAC	GGCTCTTACC	TCTACAAAGA	AACATGAAAC	ATCGGTGTAG	TACTACTACT	TCTAGTGATG	ATAACTGCCT	TCGTAGGCTA
<i>K. pelamis</i>	TTGGCCGAGG	TCTTACTAC	GGTTCTTACC	TCTACAAAGA	AACATGAAAC	ATCGGTGTAG	TCTACTTCTT	CCTAGTAATG	ATGACTGCCT	TCGTCCGCTA
<i>S. orientalis</i>	TTGGTCGAGG	CCTTTACTAC	GGCTCTTACC	TCTACAAAGA	AACATGAAAC	ATCGGTGTAG	TACTTCTACT	TTTAGTAATA	ATGACTGCCT	TCGTCCGCTA
<i>T. albacares</i>	TCGGCCGAGG	ACTTTACTAC	GGCTCTTACC	TATACAAAGA	AACATGAAAC	ATCGGAGTAG	TACTCTTACT	CCTAGTTATG	ATGACCGCCT	TCGTTCGGCTA
<i>T. orientalis</i>	TCGGCCGAGG	CCTTTACTAC	GGCTCTTACC	TGTACAAAGA	AACATGAAAC	ATCGGAGTAG	TGCTCTTACT	TCTAGTTATG	ATGACCGCCT	TCGTTCGGCTA
<i>T. tonggol</i>	TCGGCCGAGG	ACTTTACTAC	GGCTCTTACC	TATACAAAGA	AACATGAAAC	ATCGGAGTAG	TACTCTTCTT	CCTAGTTATG	ATGACCGCCT	TCGTTCGGCTA
	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **
<i>A. rochei</i>	CGTACTTCCA	T	311							
<i>E. affinis</i>	CGTACTTCCC	T	311							
<i>K. pelamis</i>	CGTACTTCCC	T	311							
<i>S. orientalis</i>	CGTCTTCCC	T	311							
<i>T. albacares</i>	CGTCTTCCC	T	311							
<i>T. orientalis</i>	CGTCTTCCC	T	311							
<i>T. tonggol</i>	CGTCTTCCC	T	311							
	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **

(B) ITS1

<i>K. pelamis</i>	CCGGTTTGCC	CGCCCTGTC	-GCAGGGG-	CGCGTGCAAC	A-GACTCTCT	CGGAACGCTG	AGGGCCGGGG	TTGGGGGTTC	TCTCTCTCTC	TCTATCTTGA
<i>A. rochei</i>	CCGGTCTGCG	CGCCCTGTC	-GCAGGGG-	CGCGCTGCAG	A-GAAGCCTC	CGGATTCGCT	AGGGCCGGGG	TCGGGGGTTC	TC-----CCTC	TCT---CCGGA
<i>E. affinis</i>	CCGGTTTGCC	CGCCCTGTC	-GCAGGGG-	CGCGTGCAGC	A-GAAGCCTC	AGGACAGCTG	AGGGTCGCGG	GGCGGGGTTC	GGCGGGGTTC	TCT---CCGGA
<i>T. tonggol</i>	CCGGTTTGCC	CGCCCTGTC	-GCAGGGG-	CGCGCTGCAG	AAGACGCTCT	CGGACAGCTG	AGGGCCGGAG	GGCGGGGTTC	TTCCCC-GC	CGGGTCCCGT
<i>S. orientalis</i>	CCGGTTTGCC	CGCCCTCTCT	CGCAGGGGGA	CGCGCGCAAC	A-GTCCGCTC	AGGACAGCTG	AGGGCCGGGG	GGTGGGGGTC	CTCTTCCCTC	CCTCGTTCCC
<i>T. albacares</i>	CCGGTTTGCC	CGCCCTGTC	-GCAGGGG-	CGCGCGCAAC	A-GACGCTCT	CGGACAGCTG	AGGGCCAGAG	GGTAGGTCTC	TTCCCCCCCC	GGGTTCCCGT
	CCGGTTTGCC	CGCCCTGTC	-GCAGGGG-	CGCGCGCAAC	AAGACGCTCT	CGGACAGCTG	AGGGCCGGAG	GGCGGGGTTC	TTCCCCCCCC	CGGGTCCCGT
	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
<i>K. pelamis</i>	GAGAGAGGCT	CTCTCT--C	TCCCCCCGG	CTGAGGCG-C	GCGGGTGTTC	CTCTCAC--	-----GG	GG-----	-----	-----
<i>A. rochei</i>	GAG-----	GGT	CTCCCT--G	CTCCCCGAC	CGGAGCGC-C	GCGGGTCTCG	CCTTCCCTCT	CAC-----	GGG-----	GG-----
<i>E. affinis</i>	GGGCCCCCTCT	CTCCCCA-C	CCCCACCGG	CGGAGGCG-C	GCGGGTGCCT	CCTTCCCTCT	CTCTCTCGG	GGGAGGGGGG	CG-----	GG-----
<i>T. tonggol</i>	CGCGTCTGTC	CTCCCCGAG	CTCCCCGAG	GCGCGCTGC	G-----GCG	GTTTCCCTCT	CG-ACGCGCC	GAGGCGCGCG	CGCTGGGGG	CTTCTCTTCC
<i>S. orientalis</i>	CGTCCGCTG	GACCCC--C	ACCACGCTCT	CGGCGCGCG	GGGGGTCTTC	CGGCGC--	CG-ACGCGCC	GGG-----	GGG-----	GG-----
<i>T. orientalis</i>	CGCGTCTGTC	CTCCCCGAG	CTTCCCCGG	GCGGCGCGG	G-----GTGTC	GTTTCCCTCT	CG-AAGGCCC	GAGGCGCGCG	CG-----GGG	CTTCTCTTCC
<i>T. albacares</i>	CGCGTCTGTC	CTCCCCGAG	CTTCCCCGG	GCGGCGCGG	GCGGGCGCTC	GTTTCCCTCT	CTTACGCGCC	GAGGCGCGCG	CGTGGGGGG	CTTCTCTTCC
	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **
<i>K. pelamis</i>	GAAAACGCC	G-----	-CGCAACCCC	-TCTTGTGTC	AGGACCTCGT	CCCG-ACCGG	ACGGTCTCTC	CTTTCCCC--	-----CCCTGG	GCGACATGCC
<i>A. rochei</i>	AAACCTGCC	G-----	-CGCAACCCC	TCCCTTGTGTC	AGGACCTCGT	CCCG-ACCGG	CGGGGCC-CC	CTCCCTCCAC	CCCTCCCGG	GCGACGTGCC
<i>E. affinis</i>	GGGAACGCC	G-----	-CGCAACCCC	CTCTTGTGTC	TGGACCTCGT	CCCGACCGG	CGGGGCCCTC	CTTTCCCCC	ACCCCATGCG	GCGACTTGCC
<i>T. tonggol</i>	CGAAACGCC	CCCCACCGG	CGGACACACG	TCTCTGTGTC	AGGACCTCGT	CCCG-ACCGG	CGGGGCCCTC	CCGTTTCTC	-CCCCCTGG	GCGACACGCC
<i>S. orientalis</i>	GAGAGCGGTC	G-----	-----AGTGC	TCCC--C	AACCCCGCGG	CGCGAGGCGG	CGGGGTTTAC	GCCCGCGCAC	CCTCCCTCG	TC---TGAGC
<i>T. orientalis</i>	CGAGACGCTC	C-----GC	GCAAAACACC	TCTCTGTGTC	AGGACCTCGT	CCCG-ACCGG	CGGGGCCCTC	CCACTTCTCC	-CCCCCTGG	GCGACACGCC
<i>T. albacares</i>	CGAGTCTGTC	CCCC--GC	GCAAAACACC	TCTCTGTGTC	AGGACCTCGT	CCCG-ACCGG	CGGGGCCCTC	CCCGTTTCTC	-CCCCCTGG	GCGACACGCC
	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **
<i>K. pelamis</i>	TCGCGGAGCC	CGGCCCCG-T	CAGCTCCGCT	-GGGCTGACG	GAGCGG-CGG	GCTGGATCGT	CGGGGCCGCC	TCGCGGGGG	TCGCGGGGG	AGCTCTA-CC
<i>A. rochei</i>	CCGCGGAGCC	CTGCTCGC-C	ACCCTCCGCT	CGGCTGACG	GAGAGG-CAG	CGCGGACCGC	CGGGGCCGCC	TCGAGGAGG	TCGGGAG--	-ACTCTAGCC
<i>E. affinis</i>	TCGCGAACC	TGGCTCGC-T	CACCTCCGCG	-GGGCTGACG	GAGCGG-CGG	CGCGGGTAGT	CGGGGCCCTC	TCGCGGAGG	TCGGGACGG	AGCTCTAGCC
<i>T. tonggol</i>	TCGAC-ACCC	CGGCTCGCT	GAGATCCCG	-GGGCTGACA	GAGCGGCGG	GTCGGAC-AT	CGGGGCCGCC	TCTCGGGG-	TCGGGGA--	-----
<i>S. orientalis</i>	TCGT--TCC	CGACCGGAG	GCCCTCCCT	-TTCCCTCCG	GTGCG--	-TCGG--	-GGTGCGCC	TCGCGGGGG	TCGGGGGGA	AACTCT--C
<i>T. orientalis</i>	TCGCG-ACCC	CGGCGAGCT	AAGCTCCGCG	GAGCTGACG	GAGCGG-CGG	GTCGGAC-GT	CGGGGCCGCC	TCGCGGGGG	TCGGGGA--	-----
<i>T. albacares</i>	TCGAC-ACCC	CGGCTCGCT	GAGCTCCGCG	-GGGCTGACG	GAGCGGCGG	GTCGGAC-GT	CGGGGCCGCC	TCGCGGGGG	TCGGGGA--	-----
	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **
<i>K. pelamis</i>	GGTACCCAAC	CCTCCCTCT	CCTTCGGAGG	GAGGAGGGGG	GTTCAAAGTC	TCCCC-CCCC	GCCGGGA--	-----ACCC	CGGCGGGAG	GAGCGCCCGG
<i>A. rochei</i>	GGTACCCAAC	CTTCCCTCT	CCTTCGGAGG	GGGAGGGGGG	GTTCAAAGTC	TCCGA-GTCC	CCCTGG--	-----	CGG-GACCG	GAGCGCCCGG
<i>E. affinis</i>	GGTACCCAAC	CCTCCCTCT	CCTTCGGAGG	GAGGAGGGGG	GTTCAAAGTC	TCCCC-CCCC	GCCGGGA--	-----AAACCC	CGGCGGGAG	GAGCGCCCGG
<i>T. tonggol</i>	GGTACCCAAC	TCTCCCTCT	CCTTCGAGG	GAGGAGGGGG	GTTCATGTCT	TCCCGCCCC	GCCTCG--	-----	CGG-GGCTCG	GAGCGCCCGG
<i>S. orientalis</i>	GGTACCCAAC	TCTCCCTTCC	CCTTCGGAGG	GGGAGGGGGG	GTTCATGTCT	TCTCT-CCCC	GCTGCGGCC	CCCGGGGCC	CAGCGGGATG	GAGCGCCCGG
<i>T. orientalis</i>	GGTACCCAAC	TCTCCCTCT	CCTTCGGAGG	GAGGAGGGGG	GTTCATGTCT	TCCCCACCCC	GCCTCG--	-----	CGG-GGTTTG	GAGCGCCCGG
<i>T. albacares</i>	GGTACCCAAC	TCTCCCTCT	CCTTCGGAGG	GAGGAGGGGG	GTTCATGTCT	TCCCCGCCCC	GCCTCG--	-----	CGG-GGCTCG	GAGCGCCCGG
	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
<i>K. pelamis</i>	GGGTCTGTCT	ATCTCCCTT	ACAAAA-CCC	AACCTGTCTC	TGAATCTTGG	CAACCTC-TG	TGTGGTGTA	AAACC-----	---AACAAA	A---GTTC
<i>A. rochei</i>	GGGTCTGTCT	GTCTCCCTT	ACCAA-CCC	GAATGTCTC	TGAGTCTTGG	CAACCTATG	TGTGGTGTA	AAACC-----	---AACAAA	A---GTTC
<i>E. affinis</i>	AGGTCTGTCT	GTCTCCCTT	ACAAAAACCC	AACCTATATC	TGAGTCTTGG	CAACCTC-TG	TGTGGTGTA	AAACC-----	---AACAAA	AA---GTTC
<i>T. tonggol</i>	GGGTCTGTCT	GTCTCTTCT	TTCAAACCC	GACTGTCTCT	CGAACGTTGG	CAACCTC-TG	TGCGGTGTA	AAACC-----	---CACAAA	AAAAGTTG
<i>S. orientalis</i>	GGGTCTGTCT	GTCTCTTCT	-CCAAACCCA	ACTTGTCTCT	TGAATCTTGG	CAACCTC-TG	TCCGGGTGTA	AAACC-----	---AACAAA	AAAAGTTG
<i>T. orientalis</i>	GGGTCTGTCT	GTCTTCCCT	TTCAAACCC	GACTTGTCTC	TGAACGTTGG	CAACCTC-TG	TGCGGTGTA	AAACC-----	---CACAAA	AAAAGTTG
<i>T. albacares</i>	GGGTCTGTCT	GTCTTCCCT	TTCAAACCC	GACTTGTCTC	CGAACGTTGG	CAACCTC-TG	TGCGGTGTA	AAACC-----	---CACAAA	AAAAGTTG
	*****	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **	*** **

图1 鲭科7种鱼类细胞色素*b* (A)和ITS1 (B)的DNA序列

“-”：表示该位点序列缺失；“*”：表示该位点序列相同

Fig. 1 Aligned sequences of (A) Cyt *b* and (B) ITS1 for seven Scombridae species

“-”：sites not present in the species; “*”：sites that are identical

2.2 遗传距离

Cyt *b* 基因遗传距离分析表明 31 种鲭科鱼类平均遗传距离为 0.168 9,其中圆舵鲹和扁舵鲹、长鳍金枪鱼和太平洋蓝鳍金枪鱼、麦氏金枪鱼和大西洋蓝鳍金枪鱼的遗传距离最小,为 0.006 5,大耳马鲛和平鲹的遗传距离最大,为 0.333 5; ITS1 序

列遗传距离分析表明金枪鱼族 11 种鱼类平均遗传距离为 0.202 5,其中圆舵鲹和扁舵鲹、太平洋蓝鳍金枪鱼和大西洋蓝鳍金枪鱼的遗传距离最小,为 0.003 7,黑鳍金枪鱼和青干金枪鱼的遗传距离最大,为 0.266 8。限于篇幅,只列出了进化最繁盛的金枪鱼属内各代表种之间的遗传距离,如表 2 所示。

表 2 金枪鱼属种间种内 Kimura 双参数遗传距离(Cyt *b* 对角线下方; ITS1 对角线上方)
Tab. 2 Kimura 2-parameter genetic distance between and within *Thunnus* species
(below diagonal for Cyt *b*; above diagonal for ITS1)

代表种 Species	1	2	3	4	5	6	7	8
1. <i>T. alalunga</i>		0.0513	0.0564	0.0377	0.0445	0.0810	0.0343	0.0343
2. <i>T. albacares</i>	0.0196		0.0178	0.0194	0.0162	0.0360	0.0479	0.0479
3. <i>T. atlanticus</i>	0.0230	0.0097		0.0277	0.0244	0.0410	0.0530	0.0530
4. <i>T. maccoyii</i>	0.0263	0.0130	0.0163		0.0129	0.0478	0.0378	0.0378
5. <i>T. obesus</i>	0.0296	0.0163	0.0196	0.0163		0.0444	0.0412	0.0412
6. <i>T. tonggol</i>	0.0229	0.0097	0.0097	0.0163	0.0196		0.0739	0.0775
7. <i>T. t. orientalis</i>	0.0065	0.0196	0.0230	0.0263	0.0296	0.0229		0.0032
8. <i>T. t. thynnus</i>	0.0263	0.0130	0.0163	0.0065	0.0163	0.0163	0.0263	

2.3 系统发育分析与系统进化树的构建

以本研究获得的 7 种鲭科鱼类的线粒体 Cyt *b* 和 ITS1 部分序列,结合从 GenBank 上下载的其他 24 种鲭科鱼类相应序列分析鲭科鱼类和金枪鱼族鱼类的系统进化关系。

通过对 Cyt *b* 部分序列分析得到 31 种鲭科鱼类的 NJ, MP 和 ML 系统树(图 2),其中 MP 树拓扑结构和 ML 树一致,均显示:刺鲅属(*Acanthocybium*)与裸狐鲣属(*Gymnosarda*)互为姐妹群,且狐鲣属(*Sarda*)与金枪鱼族(Thunnini)互为姐妹群。NJ 树上述两树总体上基本一致,主要存在 2 处差异:(1)刺鲅属与裸狐鲣属不是聚合在一起,而是各自形成一个独立的支系,先后与其他内群相聚合;(2)狐鲣属分类地位位于金枪鱼族内部,与金枪鱼属(*Thunnus*)互为姐妹群。存在差异的原因可能是这 3 种系统树构建算法差异所致: NJ 法是距离法的 1 种,它跟踪的是树上的节点(Nodes)。在聚类过程中,根据距离矩阵,将距离最小的 2 个终节点连接起来,并在树中增加 1 个共祖节点,同时去除原初的 2 个终节点。随后,新增加的共祖节点被视为终节点,重复上

一次循环直到只有 2 个终节点时为止^[12]。最大简约方法的原理是:在任何进化模型或机制下,用最少的进化事件(如突变)去解释观察到的数据。具体来说最优树就是在解释整个进化过程时,全部位点的最小核苷酸替代数之和最小的树^[12]。在最大似然法中,以一个特定的替代模型分析既定的一组序列数据,使所获得的每一个拓扑结构的似然率均为最大,挑出其最大似然率最大的拓扑结构选为最终树^[12]。

本研究基于 Cyt *b* 构建的各种分子系统树虽然拓扑结构有所不同,但均显示平鲹属(*Orcynopsis*)无一例外在所有树中聚为一枝,作为鲭科最早分化的种类。羽鳃鲐属(*Rastrelliger*)与鲭属(*Scomber*)互为姐妹群,构成鲭族(Scombrini)。马鲛属(*Scomberomorus*)是单系发生。舵鲹属(*Auxis*)、鲯属(*Euthynnus*)、鲣属(*Katsuwonus*)和金枪鱼属构成金枪鱼族。金枪鱼属处于系统进化树的顶端,代表着最新演化的种类,是鲭科中最繁盛的一属,也是目前系统发育的高峰。

从金枪鱼族鱼类之间的进化关系上来看,用 Cyt

b 和 ITS1 序列构建的 NJ、MP、ML 系统树的结果一致, 鲹属和鲷属互为 2 个姐妹群, 然后与舵鲹属聚为 1 支, 进化的最高层为金枪鱼属。金枪鱼属分为 2 个进化分支: 1 支中包含长鳍金枪鱼和蓝鳍金枪鱼, 其中 Cyt *b* 分析中只包括太平洋蓝鳍金枪鱼(图 2), 而 ITS1 分析中包含太平洋蓝鳍金枪鱼和大西洋蓝鳍金枪鱼; 另外 1 支中包含金枪鱼属中其他的金枪鱼类(图 3)。这与 Chow 等^[7] 运用线粒体 ATCO 序列和 rDNA ITS1 序列分析的研究结果一致。

3 讨论

3.1 鲭科鱼类系统分化地位

Collette^[13] 根据鲭科鱼类的主要形态特征将其分为 2 个亚科: 腹翼鱼亚科(Gasterochismatinae)和鲭亚科(Scombrinae), 鲭亚科由鲭族、马鲛鱼族(Scomberomorini)、狐鲣族(Sardini)、金枪鱼族和双线鲅属(*Grammatorcynus*)组成(图 4)。Collette 等^[3, 13-14] 认为, 鲭族(包括鲭属和羽鳃鲷属)是鲭亚科中最为原始的分化族, 位于进化的底层。根据背鳍和臀鳍的小鳍数特征, 认为双线鲅属进化地位高于鲭族; 根据脊椎数可认为刺鲅属(脊椎数 41 到 64)所在的马鲛族(包括马鲛属和刺鲅属)进化地位高于双线鲅属(脊椎数 31)。狐鲣族包括细鲣属(*Allothunnus*)、裸狐鲣属、狐鲣属、仿狐鲣属(*Cybiosarda*)和平鲣属由于缺少皮下血管系统且尾柄隆起骨下方的骨结构发育不完全使得狐鲣族处于马鲛族与更高级的金枪鱼族之间。由金枪鱼属、鲹属、鲷属和舵鲹属组成的金枪鱼族处于鲭科进化的最高地位。金枪鱼类是硬骨鱼类中比较独特的类群, 它们拥有逆流换热器系统, 鱼体保留代谢热, 体温高于周围水温。

本研究对鲭科鱼类系统进化的结果与形态学的结果存在以下 4 属差别: 平鲣属和双线鲅属在所构建的 NJ、MP 和 ML 树中均是最早分化出来的, 进化阶段低于处于进化底层的鲭族。狐鲣属与金枪鱼族 4 属鱼类进化关系较近, 进化地位高于裸狐鲣属。而形态学结果认为狐鲣属与裸狐鲣属互为姐妹群, 属于狐鲣族。NJ 树结果甚至表明狐鲣属应该属于

金枪鱼族内, 与 Dalziel 等^[15] 根据 Cyt *C* 氧化酶序列所得出的结果一致, 却与本研究运用 Cyt *b* 部分序列构建的 MP 和 ML 树有所矛盾, 推测这可能是因为本研究所获取的 Cyt *b* 片段序列与 Cyt *C* 氧化酶序列所包含的遗传信息量不同有关, 也可能是不同的算法构建的系统树的差异所致。同样, 形态学结果认为刺鲅属属于马鲛族, 进化地位低于狐鲣族的裸狐鲣属。而本研究根据 Cyt *b* 构建的 MP 和 MJ 树结果则显示刺鲅属与裸狐鲣属互为姐妹群, NJ 树结果甚至表明刺鲅属进化地位高于裸狐鲣属, 完全不同于形态学的结果。故狐鲣属、平鲣属、刺鲅属和双线鲅属客观、科学的分类地位还需通过形态学、生态学和分子生物学的深入研究加以确认。

3.2 金枪鱼族的分子系统进化

Collette 等^[3, 13] 根据骨骼学特征认为, 金枪鱼属的进化地位位于金枪鱼族 4 属的最高阶段, 与鲹属的亲缘关系最近; 其次是鲷属和舵鲹属(图 4)。本研究运用 Cyt *b* 和 ITS1 序列分析的结果也显示金枪鱼属位于金枪鱼族的最高进化阶段, 为单系起源, 与形态学结果一致。金枪鱼族中鲹属与鲷属的亲缘关系最近, 在分子系统树中先聚为 1 支, 而后与舵鲹属聚合, 最后再与金枪鱼属聚合(图 2、图 3)。这一结果与《福建鱼类志》^[16] 以左右腹鳍间具 2 个鳞瓣将鲹属和鲷属归为 1 个分类检索群, 再以鱼体仅胸部被大鳞将鲹属、鲷属和舵鲹属归为 1 个分类检索群, 最后以具发达的皮肤血管系统将金枪鱼属在内的金枪鱼族各属归为 1 个大的分类检索群的传统分类结果一致, 而与 Collette 等的研究结果存在差异。推测这种差异可能是因为 Collette 等在形态分类中采用的金枪鱼类的某些外部形态特征的种间差异是趋同进化的结果, 所以与其系统发育进化并不完全相一致。

3.3 金枪鱼属的分子系统进化

3.3.1 金枪鱼亚属与新金枪鱼亚属 Collette^[17] 根据肝脏形态特征、血管形成特征、皮动脉位置和腹外侧椎孔的大小等形态学特征, 将金枪鱼属分为 2 个亚属: 新金枪鱼亚属(*Neothunnus*)和金枪鱼亚属(*Thunnus*)。其中, 新金枪鱼亚属包括: 黑鳍金枪鱼、

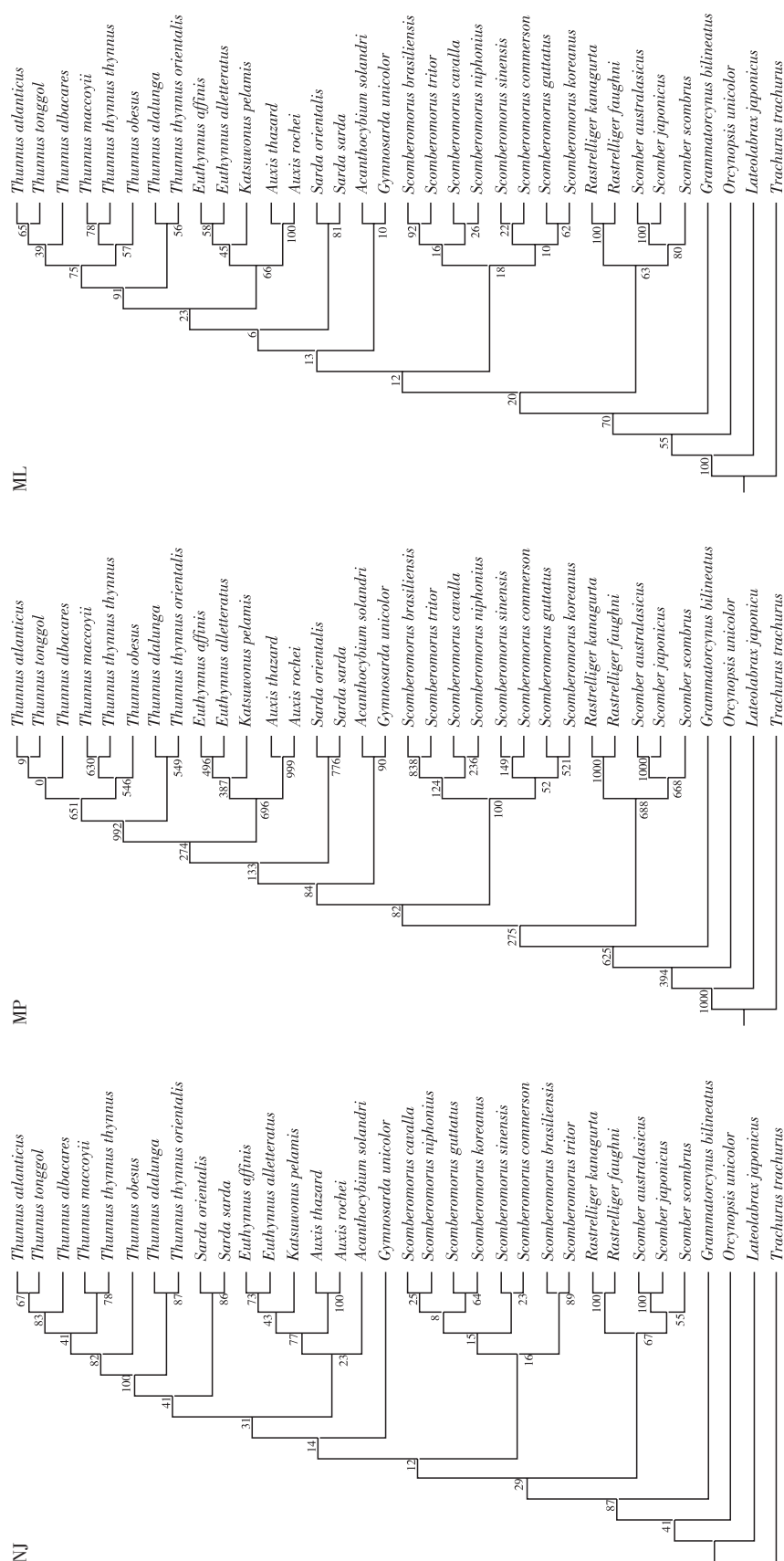


图2 鲭科 31 种鱼 Cyt b 基因的 NJ、MP 和 ML 系统树
节点旁数据为 1 000 次 (ML 树为 100 次) 自展检验后置信度值 (%).

Fig. 2 NJ, MP and ML phylogenetic trees among 31 species of Scombridae family based on Cyt b gene sequence
Numbers beside nodes represent bootstrap value (%) after 1 000 replicates (100 replicates for ML tree).

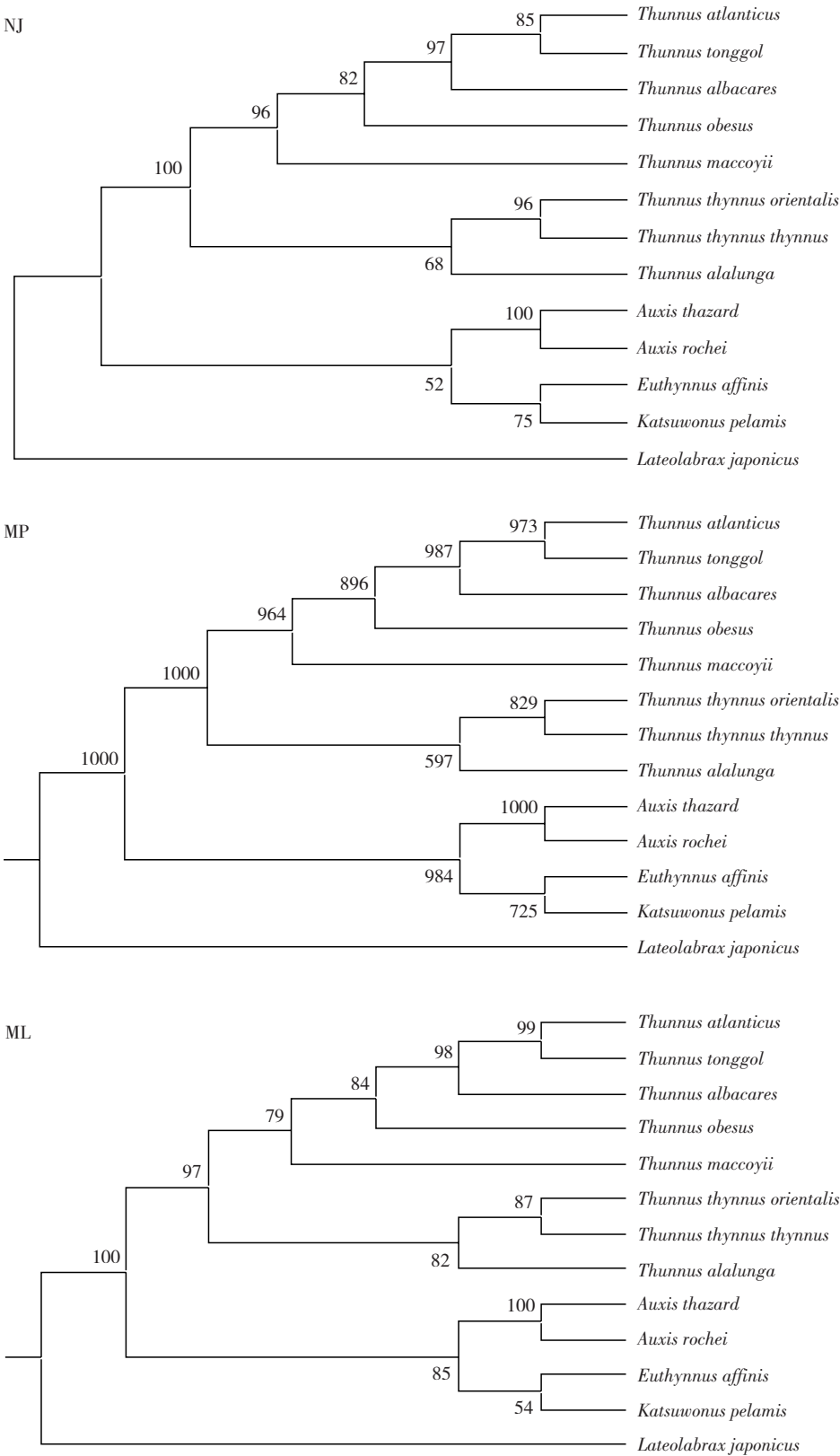
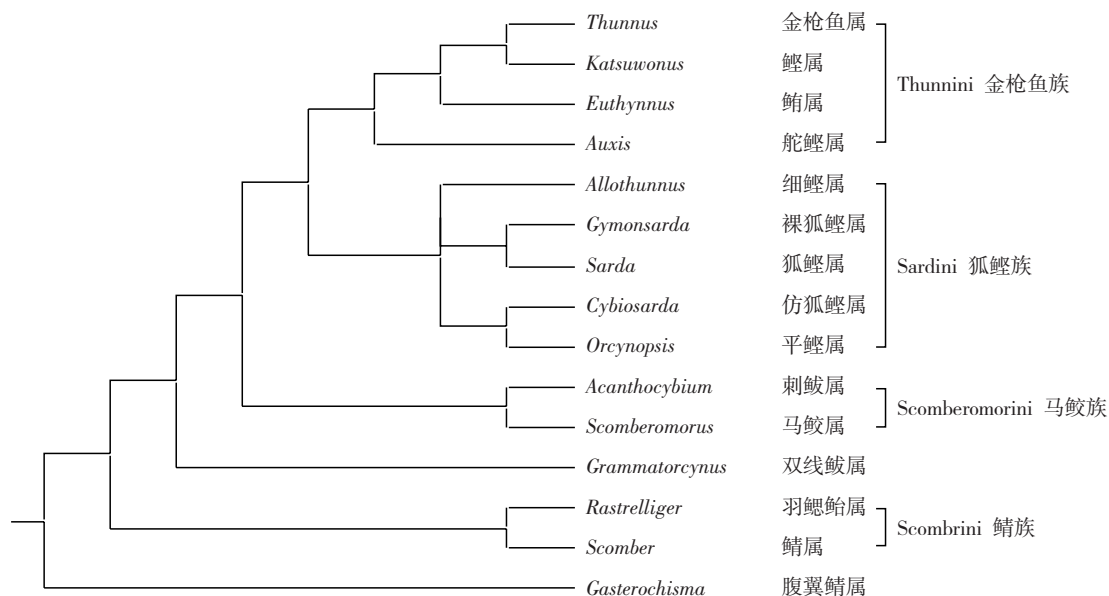


图3 金枪鱼族11种鱼ITS1序列的NJ、MP和ML系统树
节点旁数据为1000次(ML树为100次)自展检验后置信度值(%)。

Fig. 3 NJ, MP and ML phylogenetic trees among 11 species of ITS1 sequence
Number beside nodes is bootstrap value (%) after 1000 replicates (100 replicates for ML tree).

图4 鲭科鱼类的分类(引自 Collette 和 Nauen, 1983^[3])Fig. 4 Classification of Scombrids (from Collette & Nauen, 1983^[3])

青干金枪鱼和黄鳍金枪鱼; 金枪鱼亚属包括: 长鳍金枪鱼、大眼金枪鱼(*T. obesus*)、蓝鳍金枪鱼和麦氏金枪鱼。但是, 这样的分类方法已经遭到一些分子生物学分析结果的质疑^[4, 7, 18-19]。本研究采用 Cyt *b* 和 ITS1 序列, 分析结果表明, Collette 提出的新金枪鱼亚属的黑鳍金枪鱼、青干金枪鱼和黄鳍金枪鱼在所有的分子系统树都表现出较近的亲缘关系。在基于 Cyt *b* 基因构建的 3 种系统树中上述 3 种金枪鱼先后与麦氏金枪鱼、大西洋蓝鳍金枪鱼和大眼金枪鱼聚合为 1 支, 在基于 ITS1 基因构建的 3 种系统树中上述 3 种金枪鱼则先与大眼金枪鱼和麦氏金枪鱼聚成 1 支, 而金枪鱼亚属其余几种金枪鱼聚合为 1 支。据此, 本研究结果也不支持 Collette 的“黑鳍金枪鱼、青干金枪鱼和黄鳍金枪鱼构成新金枪鱼亚属, 其余金枪鱼归为金枪鱼亚属”的分类方法。

3.3.2 大西洋蓝鳍金枪鱼与太平洋蓝鳍金枪鱼

Collette 等^[3]根据地理分布将北半球蓝鳍金枪鱼分为 2 个亚种: 大西洋蓝鳍金枪鱼和太平洋蓝鳍金枪鱼。Alvarado-Bremer 等^[20]运用线粒体控制区序列分析结果表明: 大西洋和太平洋的蓝鳍金枪鱼之间的遗传距离大于金枪鱼属中任何 2 种金枪鱼间的遗传距离, 提出了应该重新考虑它们的分类地位。

本实验所检测的总长度为 311 bp 的 Cyt *b* 中, 大西洋蓝鳍金枪鱼和太平洋蓝鳍金枪鱼存在 8 bp 的差距, 二者的种间 Kimura 双参数遗传距离之间遗传距离为 0.026 3, 仅低于大眼金枪鱼和太平洋蓝鳍金枪鱼、大眼金枪鱼和长鳍金枪鱼之间的遗传距离(表 2)。而在本研究所检测的总长度为 631 bp 的核 DNA ITS1 中, 大西洋和太平洋蓝鳍金枪鱼仅存在 4 bp 的差距, Kimura 双参数遗传距离仅 0.003 2, 远远小于金枪鱼属内其它任何 2 种金枪鱼的遗传距离(表 2)。据此, 以 Cyt *b* 基因构建的分子系统树, 大西洋蓝鳍金枪鱼与麦氏金枪鱼, 太平洋蓝鳍金枪鱼与长鳍金枪鱼分别表现出较近的亲缘关系(图 2), 支持了 Collette 等^[3]和 Alvarado-Bremer 等^[20]的观点。而在以核 DNA ITS1 基因构建的 3 种分子系统树中, 大西洋蓝鳍金枪鱼和太平洋蓝鳍金枪鱼无一例外的都是最先聚为 1 支(图 3), 表现出二者在金枪鱼属中具有最小的遗传距离, 质疑了 Collette 等^[3]和 Alvarado-Bremer^[20]的看法。

上述结果还表明, 线粒体基因较快的进化速度可能掩盖物种间真实的进化关系, 故不太适合用来分析蓝鳍金枪鱼亚种间的遗传进化关系。因此, Alvarado-Bremer 等^[20]仅仅根据线粒体控制区序列

分析结果就提出应该重新考虑大西洋和太平洋的蓝鳍金枪鱼的分类地位,不具说服力。

Collette 等^[3]认为在形态学和生态学方面,太平洋蓝鳍金枪鱼和大西洋蓝鳍金枪鱼的相似性很高。Chow 等^[4]、Pujolar 等^[21]在一些酶类的研究结果中也证实了太平洋和大西洋蓝鳍金枪鱼有很高的相似性。结合本实验的研究结果,作者认为北半球蓝鳍金枪鱼应为 2 个不同的地理种群,它们之间是否达到亚种乃至不同种的水平仍有待于更深入研究。

参考文献:

- [1] Nelson J S. Fishes of the world (4th ed) [M]. New York: The John Wiley Press, 2006.
- [2] 孟庆闻, 苏锦祥, 缪学组. 鱼类分类学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [3] Collette B B, Nauen C I. FAO Species Catalogue, Volume 2. Scombrids of the World. An Annotated and Illustrated Catalogue of Tunas, Mackerels, Bonitos and Related Species Known to Date [M]. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1983.
- [4] Chow S, Kishino H. Phylogenetic relationships between tuna species of the genus *Thunnus* (Scombridae: Teleostei): Inconsistent implications from morphology, nuclear and mitochondrial genomes [J]. J Molec Evol, 1995, 41: 741–748.
- [5] Finnerty J R, Block B A. Evolution of cytochrome b in the Scombroidei (Teleostei): molecular insights into billfish (Istiophoridae and Xiphiidae) relationships [J]. Fish Bull, 1995, 93: 78–96.
- [6] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual [M]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- [7] Chow S, Nakagawa T, Suzuki N, et al. Phylogenetic relationships among *Thunnus* species inferred from rDNA ITS1 sequence [J]. J Fish Biol, 2006, 68 (S): 24–35.
- [8] Thompson J D, Gibson T J, Plewnia F. The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequences alignment aided by quality analysis tools [J]. Nucleic Acids Res, 1997, 25: 4876–4882.
- [9] Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA (Molecular evolutionary genetics analysis), Version 3.0 [P]. Arizona State University Tempe Arizona; USA, 2001.
- [10] Felsenstein J. PHYLIP (phylogeny inference package), Version 3.63 [P]. Washington: University of Washington, 1993.
- [11] 常青, 周开亚. 分子进化研究中系统发生数的重建 [J]. 生物多样性, 1998, 6 (1): 55–62.
- [12] 张原, 陈之端. 分子进化生物学中序列分析方法的新进展 [J]. 植物学通报, 2003, 20 (4): 462–468.
- [13] Collette B B. Adaptations and systematics of the mackerels and tunas. In The physiological ecology of tunas, edited by Sharp G D and Dizon A E [M]. New York: Academic Press, 1979.
- [14] Collette B B, Russo J L. An introduction to the Spanish mackerels, genus *Scomberomorus* [A]. In Proceedings of Colloquium on the Spanish and King Mackerel Resources of the Gulf of Mexico [C]. edited by Nakamura E L & Bullis H R, Jr Publ Gulf States Mar Fish Comm, 1979, 4: 3–16.
- [15] Dalziel A C, Moyes C D, Fredriksson E, et al. Molecular evolution of cytochrome c oxidase in high-performance fish (Teleostei: Scombroidei) [J]. J Molec Evol, 2006, 62: 319–331.
- [16] 《福建鱼类志》编写组. 福建鱼类志 [M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1985.
- [17] Block B A, Stevens E D. Tuna: physiology, ecology, and evolution [M]. San Diego: Academic Press, 2001.
- [18] Elliot N G, Ward R D. Genetic relationships of eight species of Pacific tunas (Teleostei, Scombridae) inferred from allozyme analysis [J]. Mar Freshw Res, 1995, 46: 1 021–1 032.
- [19] Takeyama H, Chow S, Tsuzuki H, et al. Mitochondrial DNA sequence variation within and between *Thunnus* tuna species and its application to species identification [J]. J Fish Biol, 2001, 58: 1 646–1 657.
- [20] Alvarado-Bremer J R, Naseri I, Ely B. Orthodox and unorthodox phylogenetic relationships among tunas revealed by the nucleotide sequence analysis of the mitochondrial DNA control region [J]. J Fish Biol, 1997, 50: 540–554.
- [21] Pujolar J M, Roldan M I, Pla C. Genetic analysis of tuna populations *Thunnus thynnus thynnus* and *T. alalunga* [J]. Mar Biol, 2003, 143: 613–621.

Molecular phylogenetic analysis in Scombridae based on Cyt *b* and ITS1 fragment sequences

QIU Fan, SU Yongquan, FU Mengna, WANG Jun

(College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: The Scombridae is a family of 15 genera and 51 species of almost epipelagic marine fishes that form the basis of important commercial fisheries throughout tropical and temperate waters of the world. The currently accepted classification of the family Scombridae is largely based on classical morphological studies. In order to clarify the taxonomy and phylogenetic evolution relationship of Scombridae fishes from the view of molecular biology, fragments with 311 bp of the mitochondrial cytochrome *b* (Cyt *b*) gene and 644–692 bp of the internal transcribed spacer 1 (ITS1) were amplified from 7 species covering 5 genera in the family of Scombridae. The average contents of A, G, C and T were 22.8%, 16.4%, 31.2% and 29.5% respectively for Cyt *b* analysis and were 13.5%, 31.3%, 38.7% and 16.5% respectively for ITS1 analysis. Genetic information indexes, such as Kimura-2 parameter genetic distance and T_s/T_v ratios, were generated by using a variety of biology softwares. The genetic distance between species within Scombridae ranged from 0.006 5 to 0.333 5 and from 0.003 7 to 0.266 8 respectively, and the mean was 0.168 9 and 0.202 5 respectively based on Cyt *b* and ITS1 analysis. The T_s/T_v ratios were 1.8 and 0.9, respectively. With *Trachurus trachurus* and *Lateolabrax japonicus* as the designated outgroups, phylogenetic trees, which include 24 additional homologous sequences of other Scombridae fishes from GenBank, were constructed based on the neighbour-joining (NJ), maximum-parsimony (MP) and maximum-likelihood (ML) methods. The results affirmed that the genus *Thunnus* is a monophyletic group and is the most advanced genus of Scombridae, which is consistent with morphological hypothesis. Within *Thunnus*, our molecular results did not support the morphological phylogeny that stated there should be two subgenera comprising the tropical *Neothunnus* and the more cold-tolerant *Thunnus*. All phylogenetic trees exhibited very close relationships among *Katsuwonus*, *Euthynnus*, *Auxis* and *Thunnus*, suggesting that they belong to tribe Thunnini. Moreover, the phylogenetic relationships of genera *Sarda*, *Orcynopsis*, *Acanthocybium* and *Grammatorcynus* based on molecular data were not the same as those of these four genera based on morphological studies. Our results indicated that an objective, scientific taxonomic status for Scombridae species needs to be confirmed through the studies of morphology, ecology and molecular biology. [Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17 (2): 201–211]

Key words: Scombridae; cytochrome *b* (Cyt *b*); internal transcribed spacer 1 (ITS1); phylogenetic tree; fish evolution

Corresponding author: WANG Jun. E-mail: junw@xmu.edu.cn