

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2018.17464

基于线粒体 COI 基因的部分鲇形目鱼类系统发育研究

陈海港¹, 朱新平^{1,2}, 李伟¹, 刘毅辉¹, 赵建¹, 叶朝阳^{1,2}, 公月月¹

1. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 农业农村部热带亚热带水产资源利用与养殖重点实验室, 广东 广州 510380;
2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306

摘要: 本文选择 COI 基因片段作为分子标记, 对部分鲇形目鱼类(Siluriformes)进行系统发育研究。应用通用引物 PCR 扩增得到 13 种鲇形目鱼类的 134 条 COI 基因, 并与 GenBank 中获得 15 种鲇形目鱼类的 51 条 COI 基因进行比对分析。结果显示: 鲇形目鱼类 COI 基因存在碱基插入缺失现象较少, 为越南隐鳍鲇(*Pterocryptis cochinchinensis*)、丝尾鲿(*Hemibagrus wyckioides*)和黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*) 3 种共计 5 个位点; 平均碱基含量 A+T (55.5%)显著高于 G+C (44.5%)。利用 Kimura's 2-parameter 计算 28 个物种的种间平均遗传距离为 0.195, 23 个物种的种内平均遗传距离为 0.006。系统发育树的分析结果表明, Neighbour-Joining (NJ)树较 Maximum Likelihood (ML)树更为适合鲇形目鱼类的遗传发育分析; COI 基因在科及其以下水平的系统进化关系与传统分类方法所认同的结果一致性较高, 达到 82.9%以上; 在目水平的一致性的可信度较低, 仅为 71%; 半鲿属聚为单系类群, 黄颡鱼属、鮠属和拟鲿属三者聚为一支, 黄颡鱼属与拟鲿属的亲缘关系较近。

关键词: 鲇形目; 线粒体 COI 基因; 系统发育

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2018)04-0762-10

鲇形目鱼类(Siluriformes), 俗称鲇类(catfishes), 隶属硬骨鱼纲(Osteichthyes)、骨鳔总目(Ostariophysi)的鱼类。鲇形目鱼类是世界经济鱼类的重要组成部分, 其在数量上占了整个淡水鱼类的三分之一左右。中国鲇形目鱼类有 11 科, 29 属, 113 种^[1], 其中分布最广的是鲇科(Siluridae), 鲿科(Bagruidae)次之。在我国鲿科鱼类分布广泛, 种类和数量均较为丰富, 学者将中国鲿科鱼类分为 4 属 30 种, 分别为: 拟鲿属(*Pseudobagrus Bleeker*)14 种, 黄颡鱼属(*Pelteobagrus Bleeker*)5 种, 鲿属(*Myxus Scopoli*)4 种, 鮠属(*Leiocassis Bleeker*)7 种^[1-2]。

目前, 在鲇形目中科及其属间的系统发育关系, 仍然是鱼类分类学中关注和研究的热点问题之一^[3]。鲇形目中科以及属间的分类依然比较混

乱, 各种分类观点相互交织, 争议也相对较多^[3-5]。在国内, 杨光等^[6]基于核糖体 DNA 的 18S 和 ITS 序列分析 8 种鲇形目鱼类的系统发育关系; 彭作刚等^[7]利用鲇形目鱼类的线粒体 Cyt *b* 基因、核 DNA 的 RAG2 基因和线粒体 DNA 全序列, 系统研究了欧亚部分鲇形目鱼类的发育关系, 并对其进行了分化时间推算; 张耀光等^[8]及戴凤田等^[9]对部分鲿科鱼类的骨骼特征和同工酶方面深入研究, 并以此探讨了鲿科鱼类的系统演化; 有些学者从分子水平对部分鲿科鱼类的系统发育做了研究和分析^[4, 10-11]。国外学者从细胞遗传学的角度研究部分鲇形目鱼类, 发现染色体上 DNA 序列的重复能够突显其染色体的进化^[12-14], 这一发现将为鲇形目鱼类的遗传进化及其分类的研究开辟一条新途径。Arce 等^[15]基于棘鲿科鱼类线粒体的

收稿日期: 2017-12-29; 修订日期: 2018-04-16.

基金项目: 科技部科技基础性工作专项 (2013FY110700); 中国水产科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(2014A11).

作者简介: 陈海港(1989-), 男, 硕士研究生, 研究方向为种质资源与遗传育种. E-mail: harborch89@163.com

通信作者: 朱新平(1964-), 男, 研究员, 博士生导师, 研究方向为种质资源与遗传育种. E-mail: zhuxinping_1964@163.com

COI 基因和 16S 核糖体 RNA 进行了分子系统发育研究。Sullivan 等^[16]利用 *rag1* 和 *rag2* 核基因, 对鲇形目鱼类系统发育关系作了较为详尽的研究。这些新兴的分子分类研究必将为鲇形目鱼类的准确分类提供有效佐证。

线粒体 DNA 具有较为稳定的母系遗传特点, 其包含的一些基因片段已被广泛应用于物种鉴定和系统发育研究。COI (cytochrome oxidase subunit I) 基因作为线粒体 DNA 中相对比较保守的基因片段, 被越来越多的国内外学者所关注和研究; 因其具有片段长度适宜(650 bp 左右), 易于扩增, 具有丰富的系统发育信号和进化速率适中等优点^[17], 而被国内外学者普遍应用到动植物物种分类与鉴定及系统发育研究中。正因 COI 基因片段符合 DNA 条形码(指生物体内可以代表该物种且具有足够变异的、保守的、易扩增且相对较短的 DNA 片段)的基本要求, 而被科学家们用来鉴定物种及分析物种间亲缘关系, 验证并修整现有的分类学观点。

本文以线粒体 COI 基因作为分子标记, 对部分鲇形目鱼类进行物种鉴定及系统发育研究。通过构建分子系统发育树, 以探讨鲇形目内部科、属和种分类阶元的演化关系, 并为鲇形目鱼类在分子分类领域填补部分理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究采集鲇形目鱼类 13 种, 共 134 个体样本, 采集标本的鳍条或肌肉组织保存在无水乙醇中, 标本收藏于中国水产科学研究院珠江水产研究所。物种的形态学特征鉴定主要依据《中国淡水鱼类检索》^[18]、《中国动物志》^[1]和《珠江鱼类志》^[19], 并从 GenBank 下载 15 种鲇形目鱼类的 COI 基因序列 51 条。研究样本信息如表 1 所示。

1.2 DNA 提取、PCR 扩增和测序

本研究用 Omega 的组织 DNA 提取试剂盒 (E.Z.N.A.TM Tissue DNA Kit) 提取 DNA, 提取好的 DNA 放于 -25℃ 备用。

鱼类 COI 基因的 PCR 扩增使用的引物分别为 FISH F1/FISH R1 和 FISH F2/FISH R2, 是鱼类通

用的^[20]。

FISH F1: 5'-TCAACCAACCACAAAGACA TTGGCAC-3'

FISH R1: 5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAAA GAATCA-3'

FISH F2: 5'-TCGACTAATCATAAAGATAT CGGCAC-3'

FISH R2: 5'-ACTTCAGGGTGACCGAAGA ATCAGAA-3'

PCR 反应体系为 20 μL: dNTP mix 1 μL, 10×Taq buffer 1.5 μL, Taq 聚合酶 0.5 μL, MgCl₂ 2 μL, 模板 DNA 1 μL, ddH₂O 12 μL, 上下游引物各为 1.0 μL (浓度为 10 μmol/L), 基因组 DNA 模板总量约为 100 ng。PCR 扩增条件: 94℃ 预变性 4 min; 然后 94℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 40 s, 72℃ 延伸 1 min, 此过程运行 35 个循环; 最后再 72℃ 延伸 8 min。用 1% 琼脂糖电泳检测 PCR 扩增产物含量。将 PCR 扩增产物用 E.Z.N.A.TM Gel Extraction Kit (Omega Bio-Tek, Guangzhou, China) 纯化回收, 并委托广州艾基生物技术有限公司进行测序。

1.3 数据分析

先对本研究获得的 134 条鲇形目鱼类 COI 基因序列进行拼接, 并与 NCBI 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 参考序列进行比对, 用于结果分析的序列对比匹配度必须大于 97%, 从而保证形态鉴定的可靠性和下载序列的准确性。并通过 MEGA6.0 的 Kimura's 2-parameter^[21] 模型对种间和种内的遗传距离进行计算。用 MEGA6.0 软件的邻接法 (Neighbour-Joining, NJ) 和最大释然法 (Maximum Likelihood Tree, ML) 分别构建分子系统发育树。用 DNA sp 5.10 统计单倍型^[22]。

2 结果分析

2.1 COI 基因特征分析

本研究测得的 134 条 COI 基因序列连同从 GenBank 下载的 51 条 COI 序列进行比对, 修剪后长度均为 536 bp (包含插入缺失位点), 并对其进行分析。结果显示, 排除 5 个仅有一条 COI 序列的物种, 在研究的 180 个体中存在 61 个单倍型, 单倍型平均变异指数为 0.441, 核苷酸多样性平均指数为 0.00555 (0.00000~0.04198); 23 个物种中

表 1 样本名录及相关信息
Tab. 1 Sampling information and GenBank accession numbers of COI genes

序号 No.	物种 species	分类 taxonomy	样品数 numbers of samples	GenBank 登录号 GenBank No.
Nb1	南方大口鲶 <i>Silurus meridionalis</i>	鲇形目-鲇科-鲇属	1	本研究 this study
Nb2	怀头鲶 <i>Silurus soldatovi</i>	鲇形目-鲇科-鲇属	4	本研究 this study
Nb3	六须鲶 <i>Silurus glanis</i>	鲇形目-鲇科-鲇属	5	HQ961078.1-HQ961082.1
Nb4	越南隐鳍鲶 <i>Pterocryptis cochinchinensis</i>	鲇形目-鲇科-隐鳍鲶属	13	本研究 this study
Nb5	双须缺鳍鲶 <i>Kryptopterus bicirrhis</i>	鲇形目-鲇科-缺鳍鲶属	2	KU568890.1, KU568889.1
Nb6	胡子鲶 <i>Clarias fuscus</i>	鲇形目-胡子鲶科-胡子鲶属	11	本研究 this study
Nb7	斑鲮 <i>Hemibagrus guttatus</i>	鲇形目-鲮科-半鲮属	34	本研究 this study
Nb8	丝尾鲮 <i>Hemibagrus wyckioides</i>	鲇形目-鲮科-半鲮属	11	本研究 this study
Nb9	大鳍鲮 <i>Hemibagrus macropterus</i>	鲇形目-鲮科-半鲮属	6	JF292347.1-JF292352.1
Nb10	丝鳍半鲮 <i>Hemibagrus filamentus</i>	鲇形目-鲮科-半鲮属	1	JQ289147.1
Nb11	新月半鲮 <i>Hemibagrus menoda</i>	鲇形目-鲮科-半鲮属	3	JN697599.1, JN697600.1, KT762363.1
Nb12	小眼半鲮 <i>Hemibagrus microphthalmus</i>	鲇形目-鲮科-半鲮属	4	KJ909359.1-KJ909362.1
Nb13	黄颡鱼 <i>Pelteobagrus fulvidraco</i>	鲇形目-鲮科-黄颡鱼属	14	本研究 this study
Nb14	切尾拟鲮 <i>Pseudobagrus truncatus</i>	鲇形目-鲮科-拟鲮属	1	NC_021395.1
Nb15	花鳍鲮 <i>Leiocassis poecilopterus</i>	鲇形目-鲮科-鲮属	1	EU490867.1
Nb16	小须鲮 <i>Leiocassis micropogon</i>	鲇形目-鲮科-鲮属	1	KT799814.1
Nb17	斑点叉尾鲷 <i>Ictalurus punctatus</i>	鲇形目-鲷科-真鲷属	9	本研究 this study
Nb18	狼真鲷 <i>Ictalurus lupus</i>	鲇形目-鲷科-真鲷属	2	JN026910.1, JN026911.1
Nb19	长鳍真鲷 <i>Ictalurus furcatus</i>	鲇形目-鲷科-真鲷属	5	JF292375.1-JF292379.1
Nb20	中华鲱鲷 <i>Clupisoma sinense</i>	鲇形目-锡伯鲷科-鲱鲷属	3	本研究 this study
Nb21	帕氏鲱鲷 <i>Clupisoma prateri</i>	鲇形目-锡伯鲷科-鲱鲷属	5	JX983277.1, JX983278.1, JX983272.1, JX983273.1, KX455899.1
Nb22	加鲁鲱鲷 <i>Clupisoma garua</i>	鲇形目-锡伯鲷科-鲱鲷属	4	KX455904.1, JN628921.1, FJ459470.1, FJ459471.1
Nb23	大头多齿海鲷 <i>Netuma thalassina</i>	鲇形目-海鲷科-多齿海鲷属	11	本研究 this study
Nb24	斑海鲷 <i>Arius maculatus</i>	鲇形目-海鲷科-海鲷属	4	JX676110.1-JX676113.1
Nb25	铲吻海鲷 <i>Arius subrostratus</i>	鲇形目-海鲷科-海鲷属	7	KU692294.1-KU692300.1
Nb26	下口鲷 <i>Hypostomus plecostomus</i>	鲇形目-甲鲷科-下口鲷属	10	本研究 this study
Nb27	大斑纹胸鲷 <i>Glyptothorax macromaculatus</i>	鲇形目-鲷科-纹胸鲷属	4	本研究 this study
Nb28	红尾护头鲷 <i>Phractocephalus hemiliopterus</i>	鲇形目-油鲷科-护头鲷属	9	本研究 this study
Out1	赤眼鲟 <i>Squaliobarbus curriculus</i>	鲤形目-鲤科-赤眼鲟属	1	KR862262.1
Out2	鲤 <i>Cyprinus carpio</i>	鲤形目-鲤科-鲤属	1	JX983283.1
Out3	鳗鲡 <i>Anguilla japonica</i>	鳗鲡目-鳗鲡科-鳗鲡属	1	HQ339972.1

有 3 个物种共计 5 个位点存在碱基插入和缺失现象, 仅占比 13.0%。多态性位点数总计为 183 个, 均值为 7.956, 越南隐鳍鲶(*Pterocryptis cochinchinensis*)多态位点数最多为 63 个, 六须鲶(*Silurus glanis*)、新月半鲮(*Hemibagrus menoda*)、小眼半

鲮(*Hemibagrus microphthalmus*)、狼真鲷(*Ictalurus lupus*)、长鳍真鲷(*Ictalurus furcatus*)、铲吻海鲷(*Arius subrostratus*)、大斑纹胸鲷(*Glyptothorax macromaculatus*)和红尾护头鲷(*Phractocephalus hemiliopterus*)的多态性位点数为 0 (表 2)。

表 2 23 种鲇形目鱼类 COI 基因序列特征
Tab. 2 Characters of COI sequences from 21 species of Siluriformes

组别 group	样品数 number of samples	单倍型数量 number of haplo- types	单倍型多样性 haplotype diversity	插入缺失位点数 number of InDel sites	核苷酸多样性 nucleotide diversity	多态性位点数 number of polymorphic sites
Nb2	4	4	1.000	0	0.01835	19
Nb3	5	1	0.000	0	0.00000	0
Nb4	13	4	0.526	1	0.03082	63
Nb5	2	2	1.000	0	0.00187	1
Nb6	11	3	0.564	0	0.00210	3
Nb7	34	4	0.223	0	0.00043	3
Nb8	11	6	0.727	1	0.00734	14
Nb9	6	4	0.800	0	0.00361	5
Nb11	3	1	0.000	0	0.00000	0
Nb12	4	1	0.000	0	0.00000	0
Nb13	14	3	0.275	3	0.00129	4
Nb17	9	4	0.778	0	0.00259	4
Nb18	2	1	0.000	0	0.00000	0
Nb19	5	1	0.000	0	0.00000	0
Nb20	3	3	1.000	0	0.00249	2
Nb21	5	4	0.900	0	0.00822	11
Nb22	4	4	1.000	0	0.04198	44
Nb23	11	4	0.491	0	0.00102	3
Nb24	4	2	0.500	0	0.00280	3
Nb25	7	1	0.000	0	0.00000	0
Nb26	10	2	0.356	0	0.00265	4
Nb27	4	1	0.000	0	0.00000	0
Nb28	9	1	0.000	0	0.00000	0

185 个鲇形目鱼类线粒体 COI 基因片段, 长度为 536 bp, 平均碱基组成为: A, 25.8%; T, 29.7%; C, 27.3%; G, 17.2%; A+T (55.5%)明显高于 C+G (44.5%), 表明鲇形目鱼类 COI 基因碱基组成比例存在较为明显的偏倚性。3 个密码子的四种碱基的含量差异较大, 第 3 个密码子的 G+C 平均含量高达 51.6%, 而第 2 密码子的仅为 38.0%, 第 1 密码子的为 44.0%, 居中。在 536 bp 排列位点中, 有 451 个不变位点, 84 个变异位点, 其中有 51 个转换位点和 33 个颠换位点。第 2 密码子位点上的转换和颠换位点最多, 转换为 40 个, 颠换为 25 个(表 3)。

2.2 种内、种间遗传距离

通过 MEGA6.0 的 Kimura's 2-parameter 模型对种间和种内的遗传距离进行计算(表 4)。21 个物种的种内平均遗传距离为 0.006, 除越南隐鳍

表 3 185 个鲇形目鱼类 COI 基因序列碱基分布特征
Tab. 3 Characters of COI sequences from 185 samples of Siluriformes

类别 category	总频率 frequency	密码子 第 1 位点 1 st site codon	密码子 第 2 位点 2 nd site codon	密码子 第 3 位点 3 rd site codon
T	29.7%	38%	31%	21%
C	27.3%	29.2%	28.3%	24.4%
A	25.8%	18.5%	31.4%	27.5%
G	17.2%	14.8%	9.7%	27.2%
不变位点(ii)	451.00	172.00	115.00	164.00
转换位点(si)	51.00	4.00	40.00	7.00
颠换位点(sv)	33.00	3.00	25.00	5.00
R=si/sv	1.50	1.48	1.61	1.42

鲇和加鲁鲱鲇(*Clupisoma garua*)的种内平均遗传距离分别为 0.033 和 0.045 外, 其余种内遗传距离均小于 0.020, 有 7 个物种的种内遗传距离为 0。

表 4 基于 K2P 模型获得鲑形目 28 个物种的种间遗传距离及 23 个物种的种内遗传距离
 Tab. 4 Genetic distance intraspecific species 23 and interspecific 28 Siluriformes species based on Kimura's 2-parameter distance

物种 序号 species No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	种内 平均 遗传 距离 intra- specific dis- tance
Nb1																												0.019
Nb2	0.087																											0.000
Nb3	0.098	0.100																										0.033
Nb4	0.211	0.206	0.195																									0.002
Nb5	0.191	0.191	0.190	0.159																								0.002
Nb6	0.212	0.200	0.228	0.221	0.224																							0.000
Nb7	0.201	0.188	0.207	0.201	0.223	0.210																						0.007
Nb8	0.221	0.218	0.210	0.225	0.234	0.220	0.149																					0.004
Nb9	0.194	0.193	0.197	0.191	0.212	0.221	0.039	0.149																				0.000
Nb10	0.219	0.207	0.216	0.250	0.231	0.224	0.215	0.181	0.207																			0.000
Nb11	0.222	0.212	0.239	0.240	0.239	0.195	0.153	0.135	0.141	0.191																		0.000
Nb12	0.218	0.226	0.202	0.230	0.224	0.234	0.160	0.085	0.160	0.189	0.140																	0.001
Nb13	0.198	0.195	0.176	0.206	0.210	0.187	0.172	0.185	0.162	0.202	0.197	0.190																0.000
Nb14	0.211	0.200	0.188	0.238	0.212	0.241	0.189	0.150	0.179	0.198	0.187	0.157	0.141															0.000
Nb15	0.200	0.183	0.185	0.247	0.198	0.212	0.195	0.171	0.178	0.192	0.170	0.191	0.144	0.160														0.000
Nb16	0.218	0.205	0.200	0.227	0.210	0.209	0.187	0.181	0.182	0.206	0.170	0.196	0.144	0.171	0.093													0.003
Nb17	0.174	0.181	0.196	0.206	0.179	0.196	0.189	0.204	0.194	0.207	0.196	0.200	0.196	0.200	0.212	0.212												0.000
Nb18	0.169	0.174	0.174	0.191	0.174	0.194	0.199	0.204	0.202	0.189	0.206	0.205	0.191	0.195	0.206	0.198	0.049											0.000
Nb19	0.197	0.197	0.189	0.220	0.182	0.211	0.202	0.188	0.196	0.194	0.193	0.197	0.201	0.201	0.217	0.206	0.100	0.107										0.000
Nb20	0.214	0.236	0.214	0.225	0.200	0.220	0.184	0.175	0.168	0.224	0.180	0.175	0.197	0.193	0.190	0.197	0.192	0.224	0.190									0.002
Nb21	0.206	0.209	0.225	0.217	0.208	0.212	0.158	0.165	0.165	0.221	0.145	0.185	0.193	0.190	0.187	0.181	0.180	0.182	0.179	0.095								0.008
Nb22	0.211	0.216	0.228	0.223	0.213	0.209	0.176	0.166	0.173	0.204	0.148	0.191	0.175	0.181	0.179	0.187	0.177	0.177	0.185	0.105	0.086							0.045
Nb23	0.219	0.206	0.213	0.235	0.225	0.195	0.191	0.199	0.199	0.227	0.204	0.215	0.197	0.223	0.216	0.214	0.193	0.185	0.216	0.206	0.206	0.195					0.001	
Nb24	0.227	0.214	0.224	0.229	0.211	0.183	0.199	0.201	0.201	0.222	0.212	0.229	0.205	0.230	0.211	0.208	0.201	0.196	0.200	0.207	0.206	0.196	0.065				0.003	
Nb25	0.222	0.216	0.228	0.206	0.213	0.214	0.152	0.153	0.145	0.191	0.167	0.166	0.173	0.162	0.197	0.179	0.216	0.205	0.219	0.226	0.187	0.206	0.209	0.214			0.000	
Nb26	0.214	0.224	0.225	0.224	0.214	0.226	0.202	0.231	0.192	0.241	0.179	0.197	0.210	0.194	0.207	0.210	0.230	0.232	0.227	0.210	0.180	0.200	0.215	0.200	0.207		0.003	
Nb27	0.185	0.180	0.195	0.209	0.220	0.184	0.175	0.214	0.192	0.227	0.198	0.228	0.201	0.214	0.216	0.205	0.208	0.205	0.180	0.197	0.180	0.180	0.213	0.200	0.225	0.226	0.000	
Nb28	0.181	0.190	0.193	0.206	0.205	0.212	0.178	0.220	0.173	0.214	0.174	0.220	0.185	0.208	0.203	0.198	0.212	0.191	0.195	0.192	0.172	0.185	0.188	0.202	0.191	0.200	0.176	0.000

28 个物种的种间平均遗传距离为 0.195, 是种内遗传距离的 32.5 倍。其中隶属于鲢科的丝鳍半鲢 (*Hemibagrus filamentus*) 与鲇科的越南隐鳍鲇之间的遗传距离最大, 为 0.250; 斑鲃 (*Hemibagrus guttatus*) 和大鳍鲃 (*Hemibagrus macropterus*) 之间的种间遗传距离最小, 为 0.039。

2.3 鲇形目系统发育关系

基于 neighbour-joining (NJ)法和 maximum

likelihood (ML)法分别构建了鲇形目系统发育树 (图 1, 图 2)。从这两个图中可以看出, 两种模型获得的发育树大致相似, 但对于部分分类阶元, 分子系统发育关系与传统分类学存在一定的差异。在种水平上, NJ 树的分类可信度均达到 99%, 而 ML 树除大鳍鲃的为 86%以外, 其余均达到 93%以上, 多数达到 99%的可信度; 在属级分类水平上与形态分类稍有差异, 可信度分别为

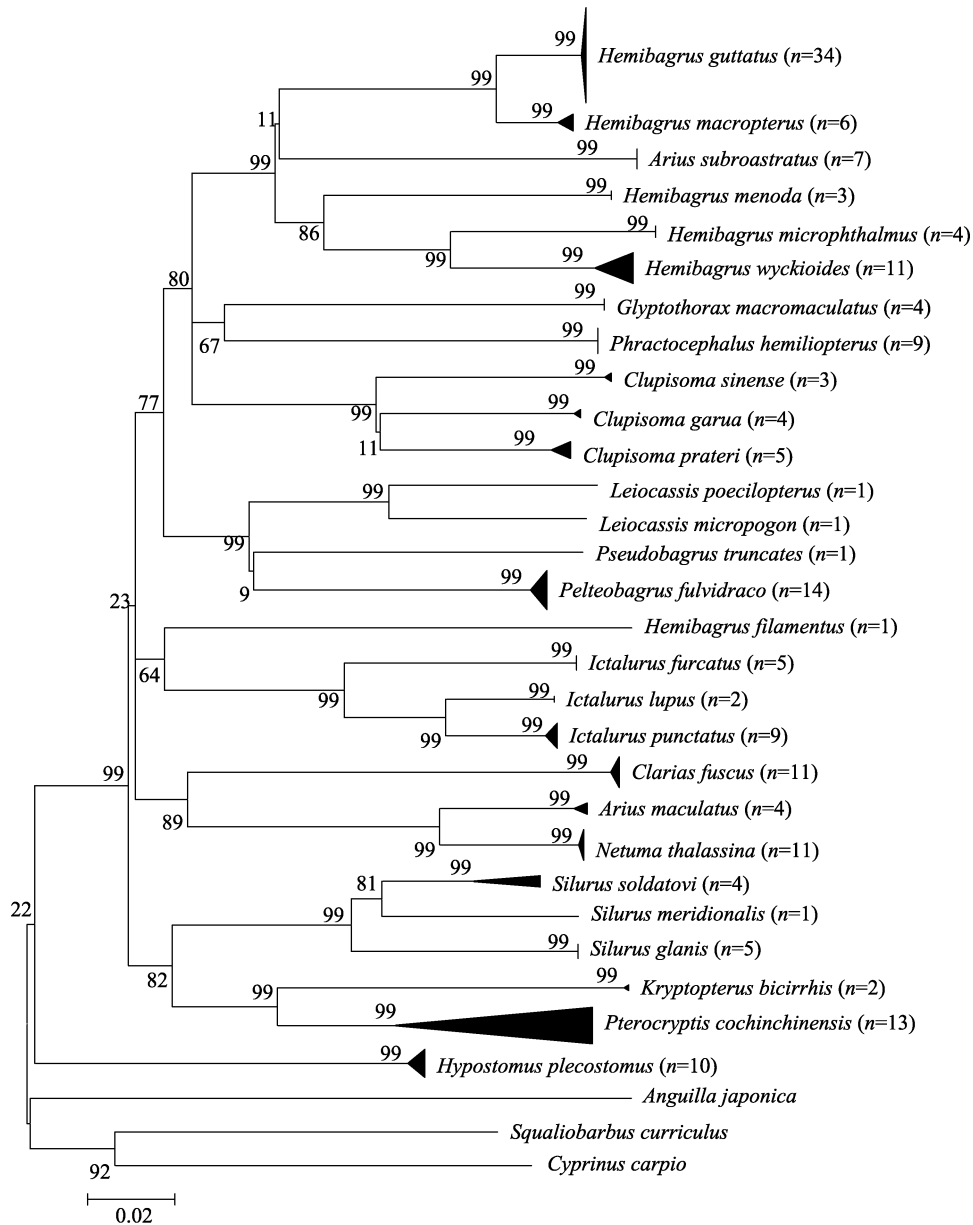


图 1 基于 COI 基因序列构建的 NJ 树

节点上数字显示 1000 次重复的 bootstrap 验证分析支持率, 标尺代表遗传距离单位为 0.02/百万年。

Fig. 1 Neighbour-joining tree based on the COI gene sequences

Bootstrap values in 1000 replications are shown on branches. The scale represents the genetic distance of 0.02/million years.

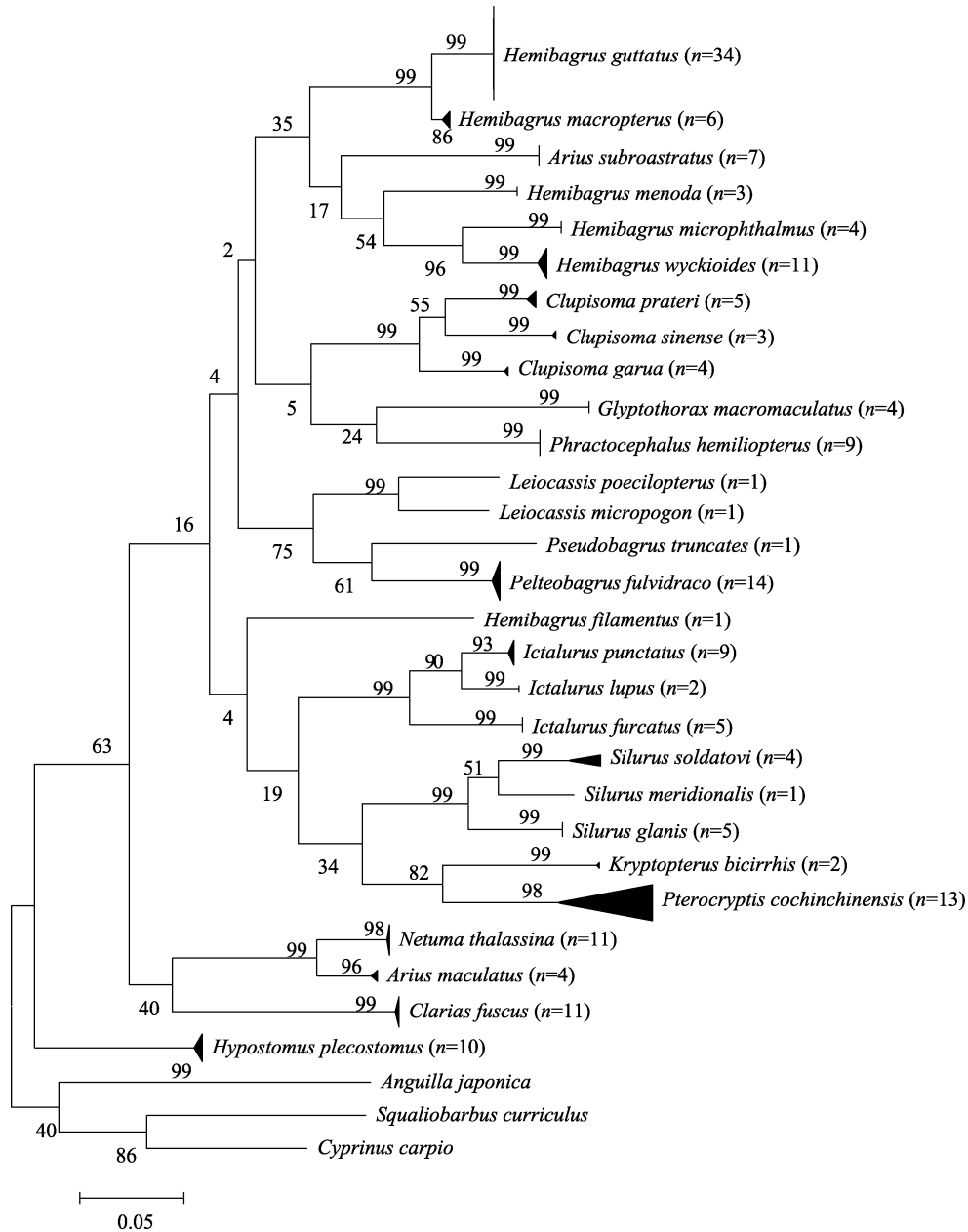


图 2 基于 COI 基因序列构建的 ML 树

节点上数字显示 1000 次重复的 bootstrap 验证分析支持率, 标尺代表遗传距离单位为 0.05/百万年。

Fig. 2 Maximum likelihood tree based on the COI gene sequences

Bootstrap values in 1000 replications are shown on branches. The scale represents the genetic distance of 0.05/million years.

99%(NJ)和 86.2%(ML), 其中, 本属于半鲮属的丝鳍半鲮并没有与其他半鲮属鱼类聚为一支, 本属于海鲮属的铲吻海鲮并没有与海鲮科的其他物种聚为一支, 而是与鲮科鱼类聚为一支; 科级分类水平与传统分类地位一致性的可信度分别为 82.9%(NJ)和 36.9%(ML); 目级水平与传统分类一致性的可信度分别为 71%(NJ)和 63%(ML)。

3 讨论

3.1 鲮形目鱼类 COI 基因结构特征

研究表明, 部分鲮形目鱼类 COI 基因中存在碱基插入缺失现象, 但插入缺失位点较少; COI 基因碱基组成存在偏倚现象, 这与曾庆等^[5]关于鲮形目鲮科鱼类线粒体全序列研究结果一致;

鲇形目鱼类 COI 基因的平均 G+C 含量(44.5%)高于 Ward 等^[23]研究得出的软骨鱼类的平均 G+C 含量, 与其研究结果一致。依托 COI 基因对部分鲇形目鱼类进行系统进化树的构建, 在 NJ 和 ML 两种模型下, 所得结果与传统分类一致性差异明显。结果表明, 在 NJ 模型下, 与传统分类的一致性较高; 种属水平鉴定与传统形态分类一致性较高(99%), 科级水平的一致性也有 82.9%, 而在目级水平一致性相对较低, 仅为 71%。由此可见, 依托 COI 基因构建 NJ 树, 对鲇形目鱼类科及其以下分类阶元的系统发育关系研究较为可靠。

3.2 部分鲇形目鱼类系统发育关系分析

在鲇形目中, 鲿科和油鲿科的分类一直比较混乱, 本研究中分子系统发育树(NJ)显示, 鲿科鱼类的黄颡鱼属(*Pelteobagrus*)、拟鲿属(*Pseudobagrus*)和鮠属(*Leiocassis*)聚为一支系, 而半鲿属(*Hemibagrus*)单独聚为一支系, 这与彭作刚等^[4]利用线粒体 Cyt *b* 基因研究的结果一致; 斑鳊、丝尾鳊(*Hemibagrus wyckioides*)和大鳍鳊聚为一支的可信度为 99%, 支持 Mo^[2]将斑鳊、丝尾鳊和大鳍鳊统归于半鲿属的观点, 同时也在一定程度上支持中国分类学家将这三种同归为鳊属(*Mystus*)的观点; 斑鳊与大鳍鳊的遗传距离为 0.039, 是种间遗传距离最小的, 进化树聚为一支的一致性较高(99%), 可见其亲缘关系最近, 二者与丝尾鳊的遗传距离均为 0.149, 亲缘关系相对较远。分子系统发育树显示, 黄颡鱼属和拟鲿属先聚类, 后与鮠属聚类, 不支持 Mo^[2]关于黄颡鱼属和拟鲿属组成一个单系类群的观点, 与梁宏伟^[24]的研究结果一致。黄颡鱼属与拟鲿属的遗传距离为 0.141, 黄颡鱼属与鮠属的遗传距离为 0.144, 均表明拟鲿属和黄颡鱼属的亲缘关系较近, 而与鮠属较远, 这一研究结果与张燕和吕凤义基于线粒体控制区的研究结果不一致^[10-11], 可能由研究样本较少导致。

油鲿科的红尾护头鲿先与鲃科的大斑纹胸鲃聚为一支再与锡伯鲃科聚为一支, 最后与鲿科聚为一支, 表明油鲿科与鲃科亲缘关系较近; 在鲃科中, 南方大口鲃(*Silurus meridionalis*)先与怀头鲃(*Silurus soldatovi*)聚为一支, 后与六须鲃聚为

一支, 越南隐鳍鲃与双须缺鳍鲃(*Kryptopterus bicirrhis*)聚为一支, 最终都统归到鲃科一支, 形成单系群, 与梁宏伟^[24]的研究结果一致。在海鲃科中, 铲吻海鲃并没有与大头多齿海鲃(*Netuma thalassina*)及同属的斑海鲃(*Arius maculatus*)聚为一支, 而是与半鲿属聚为同一支系, 铲吻海鲃与半鲿属鱼类的平均种间遗传距离为 0.162, 而与海鲃科鱼类的平均遗传距离为 0.211, 这与传统形态分类结果差异较大, 对于引起差异较大的原因, 有待更多分子分类信息的考究。在鲃科鱼类中, 斑点叉尾鲃(*Ictalurus punctatus*)、狼真鲃和长鳍真鲃很好地聚为一支, 形成一个单系类群。

本研究的结果表明, COI 基因不仅可以作为鲇形目鱼类有效种鉴定的分子辅助工具, 而且能够应用于其分子系统发育关系的研究。本研究成果是对鲇形目鱼类物种分类信息的有效扩充, 并对传统分类学提供必要的佐证。

参考文献:

- [1] Chu X L, Zheng B S, Dai D Y. Faunica Sinica, Osteichthyes, Siluriformes[M]. Beijing: Science Press, 1999. [褚新洛, 郑葆珊, 戴定远. 中国动物志, 硬骨鱼纲, 鲇形目[M]. 北京: 科学出版社, 1999.]
- [2] Mo T. Anatomy, relationships and systematics of the Bagridae (Teleostei: Siluroidei) with a hypothesis of *Siluroid phylogeny*[J]. Copeia, 1992, 1992(4): 1132-1134.
- [3] Grande L. Redescription of *hypsidoris farsonensis* (Teleostei: Siluriformes), with a reassessment of its phylogenetic relationships[J]. Journal of Vertebrate Paleontology, 1987, 7(1): 24-54.
- [4] Peng Z G, He S P, Zhang Y G. Cytochrome b gene sequence variation and East Asia Bagridae phylogeny[J]. Progress in Natural Science, 2002, 12(6): 596-600. [彭作刚, 何舜平, 张耀光. 细胞色素 b 基因序列变异与东亚鲿科鱼类系统发育[J]. 自然科学进展, 2002, 12(6): 596-600.]
- [5] Zeng Q. Molecular phylogeny and divergence time estimation of the bagrid catfishes (Actinopterygii: Siluriformes)[D]. Chongqing: Southwest University, 2013. [曾庆. 鲇形目鲿科鱼类系统发育关系研究及其分化时间估算[D]. 重庆: 西南大学, 2013.]
- [6] Yang G, Yu J H, Xu P, et al. Phylogenetic relationship among 8 common species of Catfish based on ribosome 18S and ITS sequences[J]. Chinese Journal of Zoology, 2010, 45(4): 110-117. [杨光, 俞菊华, 徐跑, 等. 利用 18S 和 ITS

- 序列揭示 8 种鲌形目鱼类的系统发育[J]. 动物学杂志, 2010, 45(4): 110-117.]
- [7] Peng Z G. Phylogenetic relationships of Eurasian catfishes (Otocephala: Siluriformes) and divergence time estimates for major otocephalan clades[D]. Wuhan: Chinese Academy of Sciences (Institute of Hydrobiology), 2005. [彭作刚. 欧亚大陆鲌形目鱼类系统发育与骨鳔下区鱼类分化时间估计及其起源与演化过程研究[D]. 武汉: 中国科学院研究生院(水生生物研究所), 2005.]
- [8] Zhang Y G, Wang D S. Studies on the osteology of the bagrid catfishes from the Jialing River (IV): an approach to the phylogenetic relationship[J]. Journal of Southwest China Normal University (Natural Science), 1995, 20(4): 432-439.
- [9] Dai F T, Su J X. Studies on Isozymes, Skeleton characters of eight bagrid catfishes and comments on phylogenetic relationship (Siluriformes: Bagridae)[J]. Acta Zootaxonomica Sinica, 1998, 23(4): 432-439. [戴凤田, 苏锦祥. 鳔科八种鱼类同工酶和骨骼特征分析及系统演化的探讨(鲌形目: 鳔科)[J]. 动物分类学报, 1998, 23(4): 432-439.]
- [10] Zhang Y, Zhang E, He S P. Studies on the structure of the control region of the Bagridae in China and its phylogentic significance[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2003, 27(5): 463-467. [张燕, 张鄂, 何舜平. 中国鳔科鱼类线粒体 DNA 控制区结构及其系统发育分析[J]. 水生生物学报, 2003, 27(5): 463-467.]
- [11] Lv F Y, Zuo Y L, Fan Y M, et al. Comparison study of the four species of Bagridae based on mtDNA control region[J]. Journal of South China Normal University (Natural Science Edition), 2008(2): 105-110. [吕凤义, 左艳玲, 范月明, 等. 4 种鳔科鱼类基于线粒体 DNA 控制区序列的比较研究[J]. 华南师范大学学报自然科学版, 2008(2): 105-110.]
- [12] Maneechot N, Yano C F, Bertollo L A, et al. Genomic organization of repetitive DNAs highlights chromosomal evolution in the genus *Clarias* (Clariidae, Siluriformes)[J]. Molecular Cytogenetics, 2016, 9(1): 4-13.
- [13] Supiwong W, Liehr T, Cioffi M B, et al. Chromosomal evolution in naked catfishes (Bagridae, Siluriformes): A comparative chromosome mapping study[J]. Zoologischer Anzeiger-A Journal of Comparative Zoology, 2014, 253(4): 316-320.
- [14] Kantek D L, Moreira Peres W A, Moreira-Filho O. Cytogenetic study of heptapterids (Teleostei, Siluriformes) with particular respect to the *Nemuroglanis* subclade[J]. Comparative Cytogenetics, 2015, 9(1): 17-29.
- [15] Arce H M, Reis R E, Geneva A J, et al. Molecular phylogeny of thorny catfishes (Siluriformes: Doradidae)[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2013, 67(3): 560-577.
- [16] Sullivan J P, Lundberg J G, Hardman M. A phylogenetic analysis of the major groups of catfishes (Teleostei: Siluriformes) using *rag1* and *rag2* nuclear gene sequences[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2006, 41(3): 636-662.
- [17] Hebert P D N, Ratnasingham S, deWaard J R. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species[J]. Proceedings: Biological Sciences, 2003, 270: S96-S99.
- [18] Zhu S Q. Synopsis of Freshwater Fishes of China[M]. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Publishing House, 1995. [朱松泉. 中国淡水鱼类检索[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1995.]
- [19] Zheng C Y. Fishes of the Zhujiang River[M]. Beijing: Science Press, 1989. [郑慈英. 珠江鱼类志[M]. 北京: 科学出版社, 1989.]
- [20] Giusto D, Lera A, Morabito G, et al. The Internet of Things[M]. New York: Springer, 2010.
- [21] Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences[J]. Journal of Molecular Evolution, 1980, 16(2): 111-120.
- [22] Rozas J, Sánchez-Delbarrio J C, Messeguer X, et al. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods[J]. Bioinformatics, 2003, 19(18): 2496-2497.
- [23] Ward R D, Zemlak T S, Innes B H, et al. DNA barcoding Australia's fish species[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, 2005, 360(1462): 1847-1857.
- [24] Liang H W. The complete mitochondrial genomes of six catfishes (Siluriformes) and the phylogenetic relationships analysis[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2012. [梁宏伟. 六种鲌形目鱼类线粒体基因组克隆及其系统发育研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2012.]

Phylogenetic analysis of catfish (Siluriformes) based on the mitochondrial COI gene

CHEN Haigang¹, ZHU Xinping^{1,2}, LI Wei¹, LIU Yihui¹, ZHAO Jian¹, YE Zhaoyang^{1,2}, GONG Yueyue¹

1. Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China;
2. College of Fisheries and Life, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: Catfish, important economic fishes, account for about one-third of the freshwater fishes globally, and are widely distributed with abundant species and population structures in China. Owing to limited bones in the muscle and good taste, catfishes are widely consumed and occupy an important position in the aquatic products market. In this study, using the COI (cytochrome oxidase subunit I) gene fragment as a molecular marker, phylogenetic analyses were carried out on some catfish species. A total of 134 sequences of 13 species of catfishes were amplified using universal primers, and the results were compared with 51 other sequences belonging to 15 species of catfishes obtained from GenBank. The results showed that *Pterocryptis cochinchinensis*, *Hemibagrus wyckioides*, and *Pelteobagrus fulvidraco* included five insert-deletion sites. The average base A+T (55.5%) was significantly higher than that of G+C (44.5%). The average genetic distance of 28 pairwise and 23 within species were determined as 0.195 and 0.006, respectively using Kimura's 2-parameter (MEGA6.0). The phylogenetic tree analysis showed that a neighbor-joining tree was more suitable than the maximum likelihood tree for the genetic analysis of the catfish species. According to neighbor-joining tree for all 185 sequences of catfishes, the consistency with traditional taxonomy on family levels and below was higher (82.9%) than that of order levels (71%). Samples of each *Hemibagrus* species formed highly supported monophyletic groups. The neighbor-joining tree showed that species of *Pelteobagrus*, *Pseudobagrus*, and *Leiocassis* come from the same branch, and the *Pelteobagrus* species has a closer relationship with *Leiocassis*. The results of this study showed that the COI gene could be used as a molecular assistive tool for the identification of catfish species, and could also be applied to molecular phylogenetic relationships. The results effectively expanded the species classification information of catfishes, and provided necessary evidence for traditional taxonomy.

Key words: Siluriformes; mitochondrial COI gene; phylogenetic degeneration

Corresponding author: ZHU Xinping. E-mail: zhuxinping_1964@163.com