

文章编号:1005-8737(2001)01-0026-07

利用肠道菌群的分布和 DNA 序列 对鲤科鱼类系统演化关系的研究

谭远德¹, 赵庆新²

(1. 湖南师范大学 生命科学院, 湖南 长沙 410081; 2. 盐城师范学院 生物系, 江苏 盐城 224001)

摘 要:用检测到的肠道微生物菌群的含量对鲤科鱼类的草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)和青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)、鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)和鳙(*Aristichthys nobilis*), 鲤(*Cyprinus carpio haematopterus*)和鲫(*Carassius auratus*), 团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)和三角鲂(*Megalobrama terminalis*)8个种进行系统演化分析。所获得的系统演化树中, 每个亚科内的物种邻接为1个接点。在亚科间, 雅罗鱼亚科与鲃亚科相邻邻接1个共同接点。该接点与鲢亚科和鲤亚科连为1个共同祖先接点。用线粒体基因组中的 *cytb* 和 *ND4* 基因全序列分别构建5个亚科13和11个种的 NJ 树, 这2个树在5个亚科之间的邻接拓扑结构上亦不相同。3种树可推出一个共同的结论是在所分析的亚科中鲤亚科为最原始的类型, 而鲫是最原始的类型。

关键词:鲤科; 系统演化; 肠道菌群; 基因序列

中图分类号:Q959.468, Q951.3

文献标识码:A

鲤科鱼类的分类与系统演化已在体表性状与解剖结构、地理分布、核型分析等多方面进行了比较、分析和研究^[1-5]。伍献文^[6]根据鱼类的体表性状和结构将鲤科分为10个亚科。谭远德和吴昌谋^[7]将核型近似系数的聚类分析法引入鱼类系统演化的研究。在分子水平上, Simons 和 Mayden^[8]对鲤科北美洲 phoxinini 类群的线粒体基因组 12s 和 16s RNA 序列进行过简约分析, Briolay 等^[9]和 Brito 等^[10]分别用 *cytb* 基因对鲤科中29个种和雅罗鱼亚科内物种作了系统演化分析。Zardoya 等^[11]根据 *cytb* 完整基因序列探讨欧洲鲤科进化和生物地理模式。Dimmick^[12]应用23个基因位点的等位酶位点对北美洲鲤科等18个种进行比较系统学研究。Gilles 等^[13]使用 *cytb* 和 16s rDNA 的序列分析欧洲鲤科中几个亚科的系统演化关系, 认为最基本的鲃

鱼亚科是并系, 鲤亚科为单系, Tincinae 和 Gobioninae 与鲤亚科相接近, 但与雅罗鱼亚科或与 Alburninae 相距较远。但这些分子系统学研究未涉及或不完全涉及到鲤科鱼中本文所要进行系统演化分析的亚科。

正常菌群在宿主体内生存和增殖, 对维持宿主组织器官的正常结构和功能起着十分重要的作用。它们能在肠内壁表面形成非特异性的表面保护膜, 刺激机体产生“自然抗体”^[14]。正常菌群能合成和分泌一些天然食物中没有但又常为宿主生长发育所必需的维生素、酶、调节因子等, 且能分解一些不易被宿主吸收的物质供宿主吸收。同时, 正常的菌群及其新陈代谢产物能促进宿主对某些营养物质的吸收, 改变宿主消化酶的活性, 从而对宿主的新陈代谢起着不可缺少的影响作用^[14]。但是, 不同的肠道菌对其宿主所产生这些作用是不同的; 同样, 不同的宿主对其肠道菌所提供生存环境和其分解代谢物质也是不同的, 从而导致肠道微生物或病原物具有种

收稿日期:2000-05-26

作者简介:谭远德(1958-), 男, 湖南师范大学生命科学院教授, 博士, 从事分子进化遗传学研究。E-mail: yctan@mail.hunnu.edu.cn

属特异性的寄主范围。因此,不同肠道微生物或病原物的寄主范围(类型和大小)或共生关系具有种属特异性。根据这一点,本文利用肠道微生物菌群在鱼类肠道中分布对鲤科鱼中 8 个种的系统演化关系进行分析,并用线粒体基因组中 DNA 序列数据来研究它们在 DNA 分子水平的系统演化关系,同时与此进行比较。

1 材料与方法

1.1 材料

鲤科鱼的 8 个亚科鱼即雅罗鱼亚科(Leuciscinae)的草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*, CI)和青鱼(*Mylopharyngodon piceus*, MP)、鲢亚科(Hypophthalmichthina)的鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*, HM)和鳙(*Aristichthys nobilis*, AN),鲤亚科(Cyprininae)的鲤(*Cyprinus carpio haematopterus*, CH)和鲫(*Carassius auratus*, CA),鲃亚科(Culterinae)的团头鲂(*Megalobrama amblycephala* Yih, MA)和三角鲂(*Megalobrama terminalis*, MT),均由江苏省盐都县水产局提供,来自自然湖泊水域。每鱼种随机各取 4 尾正常无病的个体。对鱼体表面用 75% 的酒精消毒,进入无菌室,照无菌操作程序,剪肛、系线、掀肠壁,在每尾鱼肠道的不同位置取样,然后混合。将肠液 1 g 置于 10 ml 试管中,加 9 ml 无菌水。将取得的肠液均匀稀释,稀释度为 10^{-1} ,然后进行梯度稀释,分别得到 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} 稀释液。各取 0.2 ml 到普通培养基上涂布均匀,待琼脂将水分稍吸干后反扣培养皿在 37℃ 培养箱中培养 2 d,挑取单菌落、编号、纯化、建立菌种库。

1.2 分离培养基

除了普通蛋白培养基外,还采用亚硫酸钾培养基、结晶紫培养基、伊红美兰培养基、SO₂S 琼脂培养基。

1.3 鉴定试验

采用革兰氏染色、芽胞染色、过氧化氢酶测定、氧化酶测定、甲基红试验、VO₂P 试验、吡啶试验、硫化氢试验、柠檬酸盐利用试验、脲酶测定试验、葡萄糖产气试验、甘露醇产酸试验、乳糖产酸试验、动力试验,具体操作过程参照《伯杰细菌鉴定手册》^[15]。

1.4 鉴定方法

细菌鉴定参照《伯杰细菌鉴定手册》^[15]。

1.4.1 微球菌科 微球菌属葡萄糖发酵阳性,动力

为阴性。葡萄球菌属葡萄糖发酵阳性,动力阴性。动性球菌属葡萄糖发酵阴性,动力阳性。

1.4.2 芽胞杆菌科 菌体球状为芽胞八叠球菌属,菌体杆状、好氧或兼性好氧;产生接触酶为芽胞杆菌属,菌体杆状,微好氧;不产生接触酶为芽胞乳杆菌属。

1.4.3 链球菌科 链球菌属:细胞对生和成链;发酵葡萄糖,产生 d-乳酸。明串珠菌属:细胞对生和成链,发酵葡萄糖,产生 L-乳酸、CO₂、乙酸和乙醇。平面球菌属:细胞对生和四叠生;发酵葡萄糖,产生无光学活性的乳酸。此外,气球菌属:细胞对生和四叠生;发酵葡萄糖,产生 d-乳酸。孪生球菌属:细胞单或对生,邻接面扁平;发酵葡萄糖,产物不详。

1.5 DNA 序列数据

从 GenBank 调取鲢亚科的鲢与鳙,鲤亚科的鲤和鲫,鲃亚科的团头鲂、三角鲂、*M. skolkovii* (MS) 和 *M. pellegrinii* (MPE),鲴亚科(Xenocyprininae)的银鲴(*X. argentea*, XA)和 *D. hupeinen* (DH),雅罗鱼亚科的青鱼、草鱼和赤眼鲮(*S. curriculus*, SC)等线粒体基因组的 cytb 及 ND4(氧化还原酶的 4 号亚基)基因的 DNA 序列,其中雅罗鱼亚科中只调取到草鱼的 ND4 基因的 DNA 序列,而其它鱼的 ND4 基因的 DNA 序列在 GeneBank 中没有。

1.6 统计分析

1.6.1 似近分析 根据肠道微生物菌群分布的数据,应用似近分析方法^[7,16,17]计算这 8 种鱼间的似近系数,似近距离计算为:

$$\bar{D}_{ij} = 1 - \lambda_{ij}$$

其中 λ_{ij} 为似近系数。根据似近距离,用 NJ 法^[18]和 UPGMA 法^[19]构建这 8 个物种的系统演化树。

1.6.2 cytb 和 ND4 基因 DNA 序列数据分析 采用 CLUSTALW 程序进行多序列对位排列,然后对对位排列的序列使用 P-distance 法计算序列间的 P-D 值,用 NJ 法构建系统演化树。

2 结果与分析

2.1 应用肠道微生物菌群分布构建鲤科的系统演化树

对草鱼、青鱼、鲢、鳙、团头鲂、三角鲂、鲤和鲫 8 个种的成鱼秋季肠道微生物进行分离、纯化和鉴定

结果见表 1。根据表 1 数据, 获得这 8 种鱼两两之间的似近系数, 并由上述公式计算似近距离(表 2), 用 NJ 和 UPGMA 法构建了鲤科中这 8 种鱼的系统演化树(图 1 和图 2)。由于没有使用外群, 因此图 1 和图 2 中 NJ 树和 UPGMA 树是一种无根树。由图 1 和图 2 可见, NJ 树和 UPGMA 树的拓扑结构相同。由 NJ 树和 UPGMA 树的拓扑结构可知, 亚科内的鱼相聚一起, 例如雅罗鱼亚科的草鱼与青鱼, 鲢亚科的鲢与鳙, 鲃亚科的团头鲂与三角鲂以及鲤亚科的鲤与鲫等各自由连接 1 个共同祖先接点。而亚科与亚科之间的连接是雅罗鱼亚科与鲃亚科相连为一共同接点, 然后再与鲢亚科相连, 最后与鲤亚科相连为一共同接点。这一系统演化树, 一方面暗示了共同接点上的分枝或类群有共同的肠道微生物菌群的分布, 具体地说, 亚科间的接点上的物种有共同的肠道菌群分布, 亚科内属间的接点上的物种之间有共同的肠道菌群分布。显然亚科间菌群的宿主范围要

大于亚科内菌群的宿主范围。另一方面, 这一系统演化树反映了建立在肠道菌群与宿主物种间共生关系基础上的寄主物种间的演化关系。从表 1 的数据也可看出, 雅罗鱼亚科与鲃亚科共同的共生菌相同, 只是其含量有所差异, 因而相连连结为 1 个分枝; 而鲢亚科除了其它菌群的差异外还具有其它鱼没有的特异性菌。由图 1 和图 2 中树的枝长可判断, 鲤亚科是一个分枝最早的亚科, 因此与其它亚科所共生的菌群差异最大, 而形态特征也证明这一点^[20]。在鲤亚科中, 鲤与鲫有较长的分枝, 尤其是鲫, 其分枝长度达 0.241, 是鲃亚科的 10 倍。因而可以推断鲫是这 4 个亚科中最原始的类型。图 1 还可看出, 亚科内的分枝长度远远要小于亚科间的分枝长度, 这说明亚科内的属间肠道菌群的分布极为相同, 而亚科间则有较大的差异, 这也与系统演化关系的分类等级是一致的。

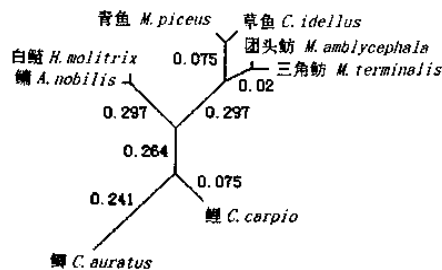


图 1 用 NJ 法构建的 8 种鲤科鱼类的系统演化树

Fig.1 Phylogenetic tree of 8 fishes of Cyprinidae using NJ method on the basis of distance data

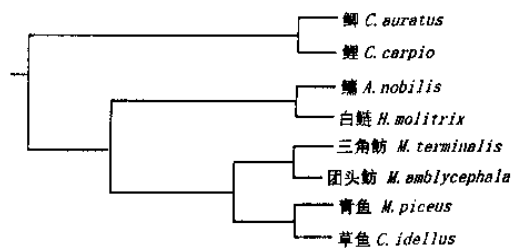


图 2 用 UPGMA 法构建的 8 种鲤科鱼类的系统演化树

Fig.2 Phylogenetic tree of 8 fishes of Cyprinidae using UPGMA method on the basis of distance data

表 1 鱼肠道微生物种类及其在 8 种鱼中的数量分布

Table 1 Species of microorganisms in fish intestines and distributions in 8 fishes in number (CFU)10⁶/g

菌属 Pacteria genera	种类 Fishes								总和 Sum
	草鱼 CI	青鱼 MP	鲢 HM	鳙 AN	团头鲂 MA	三角鲂 MT	鲤 CH	鲫 CA	
哈夫尼亚菌属 <i>Hafnia</i>	18.90	12.30	8.58	7.35	8.40	7.50	1.50	2.50	67.03
致病杆菌属 <i>Xenorhabdus</i>	8.40	7.00	6.35	5.35	0.99	0.84	0.25	0.30	29.48
气单胞菌属 <i>Aeromonas</i>	4.20	3.00	12.30	12.3	5.90	4.90	1.50	1.23	45.33
柠檬酸菌属 <i>Citrobacter</i>	8.40	7.50	6.13	7.10	0.50	0.48	1.49	1.50	33.10
拉恩氏菌属 <i>Rahnella</i>	0.00	0.00	1.23	1.23	0.00	0.00	0.00	0.00	2.46
假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	2.10	2.10	1.23	1.23	0.99	0.84	0.25	0.30	9.04
芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.25	0.30	0.55
链球菌属 <i>Streptococcus</i>	21.00	12.30	1.23	1.23	2.98	2.50	1.25	0.00	42.49
葡萄球菌属 <i>Staphylococcus</i>	21.00	12.30	0.00	0.00	0.99	0.84	0.00	0.00	35.13
总数 Sum	84.00	56.5	35.05	35.79	20.75	17.90	6.49	6.13	

注:表中的数据分别为每种鱼 4 尾的肠道菌数量的平均值。Data in this table were average values of 4 individuals for each species.

表 2 8 种鲤科鱼种间肠道微生物种群含量的近似系数所转换的距离
Table 2 Distance matrix converted from the approximate coefficients of the intestine microorganisms between the 8 fishes of Cyprinidae

	青鱼 MP	鲢 HM	鳙 AN	鲤 CH	鲫 CA	团头鲂 MA	三角鲂 MT
草鱼 CI	0.019 2	0.685 8	0.687 4	0.114 2	0.121 3	0.737 9	0.894 9
青鱼 MP		0.668 5	0.670 2	0.100 1	0.107 3	0.725 4	0.883 3
鲢 HM			0.002 6	0.623 5	0.627 7	0.650 3	0.794 8
鳙 AN				0.624 1	0.628 1	0.649 8	0.795 2
鲤 CH					0.010 0	0.652 6	0.837 6
鲫 CA						0.646 5	0.834 0
团头鲂 MA							0.317 2

2.2 用线粒体基因组的 cytb DNA 序列构建鲤科的系统演化树

表 3 列出了鲤科鱼 13 个种的 cytb DNA 序列用 CLUSTALW 程序对位排列后所计算的 P-D 值(P-distance)。由表 3 的数据使用 NJ 法构建了它们的系统演化树(图 3)。由图 3 可见,每个亚科构成 1 个类群,其中鲢亚科的鲢与鳙为一类群,鲤亚科的鲤和鲫为一类群,鲃亚科的团头鲂、三角鲂、*M. skolkovii* 和 *M. perlegrinin* 为一类群,鲴亚科的银

鲴和 *D. hupeinen* 为一类群,雅罗鱼亚科的青鱼、草鱼和赤眼鲂为一松散类群(并系)。除了雅罗鱼亚科外,其它 4 个亚科各自都有 1 个共同接点。雅罗鱼亚科的 3 个属嵌在鲴亚科与鲢亚科之间。在 cytb 基因树中,鲃亚科与鲤亚科相邻接为一共同接点。但值得注意的是,亚科内属的分枝长度要大于亚科的分枝长度。因此,cytb 基因在属间的碱基替换速率要快于科间,分枝最长的是鲫,其次是鲤。这 13 个种的 cytb 基因用 MP 法找不到一个最大简约树。

表 3 鲤科鱼 13 个种之间在 cytb 基因 DNA 序列上 P-距离
Table 3 P-distances between 13 Cyprinidae fishes in cytb gene DNA sequences

	AN	CI	MP	MT	MS	MPE	MA	CA	XA	DH	SC	CH
HM	0.075 5	0.103 6	0.090 4	0.136 1	0.113 3	0.109 7	0.108 9	0.165 9	0.110 6	0.118 5	0.099 2	0.139 6
AN		0.113 3	0.098 3	0.124 7	0.115 0	0.111 5	0.108 9	0.167 7	0.112 4	0.115 9	0.095 7	0.151 9
CI			0.100 1	0.122 9	0.117 6	0.115 9	0.113 3	0.165 1	0.115 9	0.111 5	0.101 0	0.140 5
MP				0.111 5	0.103 6	0.103 6	0.101 8	0.155 4	0.102 7	0.104 5	0.095 7	0.129 9
MT					0.071 1	0.067 6	0.065 8	0.161 5	0.122 0	0.118 5	0.123 8	0.145 7
MS						0.015 8	0.011 4	0.169 4	0.105 4	0.120 3	0.119 4	0.150 1
MPE							0.009 7	0.168 6	0.108 9	0.118 5	0.115 0	0.144 9
MA								0.165 1	0.103 6	0.117 6	0.113 3	0.144 9
CA									0.172 1	0.155 4	0.158 0	0.123 8
XA										0.066 7	0.110 6	0.146 6
DH											0.103 6	0.145 7
SC												0.144 0

2.3 用线粒体基因组的 ND4 DNA 序列构建鲤科的系统演化树

ND4 为氧化还原酶的 4 号亚基基因。采用 CLUSTALW 程序作对位排列,得到了鲤科鱼 11 个种之间的 P-D 值(表 4)。由表 4 的数据使用 NJ 法构建了鲤科鱼这 11 个种的系统演化树(用 MP 法所得到的树与 NJ 法具有相同的拓扑结构)(图 4)。同上述两种系统演化树一样,同一亚科的物种以 1 个共同接点构成一类群。亚科内属的分枝长度要大于

亚科间的分枝长度。因此,ND4 基因在属间的碱基替换速率同样要快于科间。所不同的是,鲢亚科和鲃亚科连结为一共同接点,而且雅罗鱼亚科和鲴亚科连结成一共同接点。鲤亚科不是与鲃亚科相邻接为一共同接点,而是插入在雅罗鱼亚科和鲴亚科的共同接点与鲢亚科和鲃亚科的共同接点之间。此外,在 ND4 基因中,分枝最长的是鲤,其次是鲫。由此可见,用这两个基因的 DNA 序列所构建的系统演化树有较大的差异。

表 4 鲤科鱼 11 个种之间在 ND4 基因 DNA 序列上 P 距离

Table 4 P-distances between 11 Cyprinidae fishes in ND4 gene DNA sequences

	XA	CH	CA	MA	MP	MS	MT	CI	AN	HM
DH	0.073 9	0.192 0	0.173 9	0.125 4	0.129 7	0.125 4	0.125 4	0.115 9	0.126 8	0.126 1
XA		0.186 2	0.181 9	0.119 6	0.123 9	0.128 3	0.128 3	0.115 2	0.110 1	0.118 1
CH			0.133 3	0.182 6	0.186 2	0.192 0	0.192 0	0.190 6	0.182 6	0.181 2
CA				0.169 6	0.173 2	0.172 5	0.172 5	0.172 5	0.181 9	0.170 3
MA					0.011 6	0.054 3	0.054 3	0.121 7	0.108 7	0.110 9
MP						0.058 7	0.058 7	0.127 5	0.113 8	0.116 7
MS							0.000 0	0.129 7	0.114 5	0.118 1
MT								0.129 7	0.114 5	0.118 1
CI									0.123 9	0.113 0
AN										0.069 6

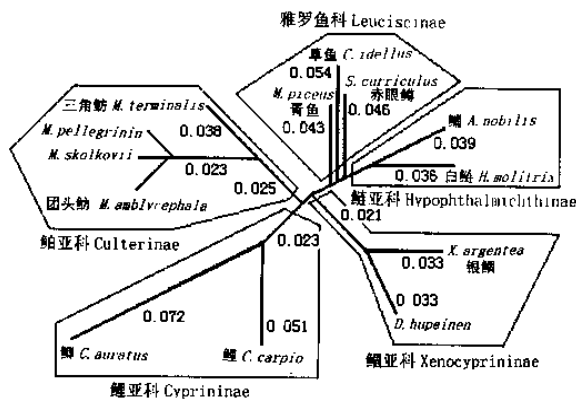


图 3 用 cytb 基因的完整 DNA 序列和 NJ 法构建的鲤科鱼中 5 个亚科 13 个种的系统演化树

Fig.3 Phylogenetic tree of 13 fishes from 5 subfamilies of Cyprinidae using complete DNA sequence of cytb gene and NJ method

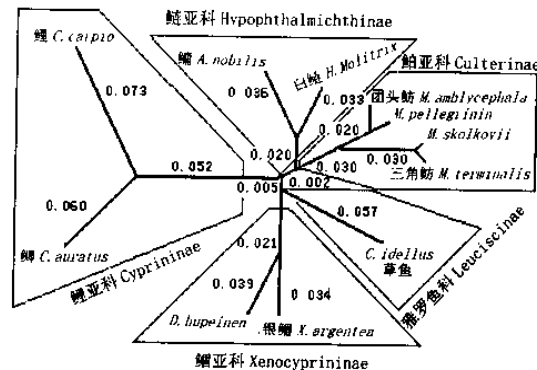


图 4 用 ND4 基因的完整 DNA 序列和 NJ 法构建的鲤科鱼中 5 个亚科 11 个种的系统演化树

Fig.4 Phylogenetic tree of 11 fishes from 5 subfamilies of Cyprinidae using complete DNA sequence of ND4 gene and NJ method

3 讨论

在细胞遗传水平上对鲤科各亚科的系统演化已有许多研究^[1~5]。染色体组型分析表明,团头鲂与草鱼的染色体数相同,都是 $2n = 48$,这两种鱼在染色体组型上的差异主要表现在染色体形态学特征上^[1]。鲃亚科鱼类的染色体二倍数是 48,可见其染色体数目在进化上是保守的。这可能是该类群的一个基本特征^[2]。鲃亚科染色体中都有 1 对显著大的端部或亚端部着丝点的染色体^[2,3]。陈湘遯^[21]等曾把鲤亚科鱼类分为雅罗系和鲃系两个姐妹群,雅罗鱼亚科是该姐妹群中较为原始的类群。李渝成等^[2,3]的结果表明,雅罗鱼亚科的草鱼和赤眼鲮的核型有较多的相似之处,青鱼的核型与它们也相近。

鲃亚科、鲴亚科和鲢亚科鱼类的核型也具有和它们类似的特点:①染色体数都是 48;②具有较多的中部和亚中部着丝点染色体;③存在 1 对明显大的染色体。因此,与鲤科鱼中其它一些类群相比,鲃亚科、鲴亚科和鲢亚科鱼类与雅罗鱼亚科中青鱼、草鱼、赤眼鲮等鱼类具有较近的亲缘关系,它们可能属于同一进化分枝^[2,3]。本文用肠道微生物菌群分布所构建的系统演化树支持这一观点,即鲃亚科和雅罗鱼亚科为同一进化分枝。但李思忠^[22]认为鲃亚科、鲴亚科是由鲃亚科鱼类进化而来。桂建芳等^[4]在研究鲤亚科的亚倍体种类和鲃亚科的四倍体基础上认为鲃亚科和鲤亚科关系密切,现存的四倍体的鲤亚科和鲃亚科鱼类可能是由一共同的祖先经多倍化然后受自然选择而演化来的。李渝成等^[5]根据鲃

亚科和鲴亚科核型方面有三方面共同特征: ①染色体二倍数一致, $2n = 48$; ②染色体分组组成差异不大; ③都有 1 对明显最大可资区别的染色体, 但两者核型确实还存在某些差异, 推断鲴、鲴亚科是同一进化分枝的两个近缘类群。但据臂数的分析, 这两个亚科鱼类核型进化的基点是不同的。可见, 在细胞水平上, 鲤科中亚科间的系统演化关系仍有较大的争论。

我们利用线粒体基因组中 *cytb* 基因和 ND4 基因的全 DNA 序列所构建的鲤科系统演化树在拓扑结构上也有较大的差异, 但是, 这两个树的共同点是亚科内的物种相聚为 1 个共同的接点。这一共同特点也正好与用肠道菌群的共生分布关系所构建的树相近。这 3 个树在亚科间的接点上各自不同, 在图 1 中, 雅罗鱼亚科与鲴亚科连结为一共同接点, 这一接点再与鲢亚科和鲤亚科共同构成 1 个接点; ND4 树中, 是鲢亚科与鲴亚科构成 1 个接点, 然后该接点再与雅罗鱼亚科和鲤亚科共同构成 1 个接点; 而在 *cytb* 树中, 情形显得较为复杂, 雅罗鱼亚科的 3 个种并不连接在 1 个接点上, 而是分别连接在鲢亚科与鲴亚科之间的中间分枝上, 表现为并系现象。可见, 亚科间的连接点在不同基因的 DNA 序列上也有较大的差异。

理论上, 在长期的进化过程中, 肠道微生物对宿主所起的选择作用和宿主对微生物的选择作用以及肠道中微生物之间的拮抗作用必然导致肠道微生物存在一种具有系统演化关系的宿主范围, 也就是说, 亲缘关系相近的宿主, 其肠道中微生物间的亲缘关系也相近, 反之也远。同样地, 亲缘关系相近的肠道微生物, 与其共生的宿主间亲缘关系相近, 相反则远之。我们用肠道微生物菌群的共生分布关系构建的这 8 种鱼的系统演化树 (图 1 和图 2) 中, 亚科内的物种相聚为 1 个共同接点和鲤亚科表现为最原始类型 (图 2)。Gilles 等^[13]用 *cytb* 和 16s rDNA 对欧洲鲤科鱼的系统演化分析所获得的结果认为鲤亚科为单系, Tincinae 和 Gobioninae 与鲤亚科接近, 但与雅罗鱼亚科相距较远。这说明鲤亚科与雅罗鱼亚科不是进化中近祖先接点上的分枝, 与我们的结果相同。这说明用肠道菌群的共生分布关系或寄主范围能揭示其寄主的系统演化关系。

参考文献:

- [1] 管瑞光, 宋 峰. 草鱼、团头鲂染色体组型的分析比较[J]. 遗传学报, 1979, 6(2): 206-209.
- [2] 李渝成, 李 康, 周 敏. 中国鲤科鱼类染色体组型研究 I [J]. 遗传学报, 1983, 10(3): 216-222.
- [3] 李渝成, 李 康, 洪云汉, 等. 中国鲤科鱼类染色体组型的研究 VI [J]. 遗传学报, 1985, 12(5): 367-372.
- [4] 桂建芳, 李渝成, 李 康, 等. 中国鲤科鱼类染色体组型的研究 VII [J]. 遗传学报, 1985, 12(4): 302-308.
- [5] 李渝成, 李 康, 蒋建桥, 等. 中国鲤科鱼类染色体组型的研究 X [J]. 动物学研究, 1986, 9(2): 424-440.
- [6] 伍献文. 中国鲤科鱼类志 (上册) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1964.
- [7] 谭远德, 吴昌谋. 核型似近系数的聚类分析方法[J]. 遗传学报, 1993, 20(4): 305-311.
- [8] Simons A M, Mayden R L. Phylogenetic relationships of the western North American poxins (Actinopterygii: Cyprinidae) as inferred from mitochondrial 12s and 16s ribosomal RNA sequences [J]. Mol Phylogenet Evol, 1998, 9(2): 308-329.
- [9] Briolay J, Galtier N, Brito R M, Bouvet Y. Molecular phylogeny of Cyprinidae inferred from cytochrome b DNA sequences [J]. Mol Phylogenet Evol, 1998, 9(1): 100-108.
- [10] Brito R M, Briolay J, Galtier N, et al. Phylogenetic relationships within genus *Leuciscus* (Pisces, Cyprinidae) in Portuguese fresh waters, based on mitochondrial DNA cytochrome b sequences [J]. Mol Phylogenet Evol, 1997, 8(3): 435-442.
- [11] Zardoya R, Doadrio I. Molecular evidence on the evolutionary and biogeographical patterns of European cyprinids [J]. J Mol Evol, 1999, 49(2): 227-237.
- [12] Dimmick W W. A molecular perspective on the phylogenetic relationships of the barbeled minnows, historically assigned to the genus *Hybopsis* (Cyprinidae: *Cypriniformes*) [J]. Mol Phylogenet Evol, 1993, 2(3): 173-184.
- [13] Gilles A, Lecointre G, Faure E, et al. Mitochondrial phylogeny of the European cyprinids: implications for their systematics, reticulate evolution, and colonization time [J]. Mol Phylogenet Evol, 1998, 10(1): 132-143.
- [14] 武汉大学, 复旦大学生物系微生物学教研室. 微生物学 [M]. 北京: 人民教育出版社, 1979. 197-251.
- [15] Buchanan R E, Gibbons N E. Bergey's manual of determinative bacteriology [M]. Eighth edition. Baltimore: The Williams & Wilkins Company, 1974.
- [16] 谭远德. 一种新的统计方法—似近分析法 [J]. 生物数学学报, 1991, 6(4): 123-128.
- [17] 谭远德. DNA 限制酶切位点的似近分析及猕猴属 5 个种间进化关系初探 [J]. 动物分类学报, 1999, 24(4): 469-473.
- [18] Saitou N, Nei M. The Neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees [J]. Mol Biol Evol, 1987, 4: 406-425.
- [19] Sokal R R, Michener C D. A statistical method for evaluating systematic relationships [J]. Univ Kans Sci Bull, 1958, 28: 1 049-1 438.
- [20] 潘炯华. 广东淡水鱼志 [M]. 广东: 广东科技出版社, 1991.

[1] 管瑞光, 宋 峰. 草鱼、团头鲂染色体组型的分析比较[J]. 遗传

- [21] 陈湘遒. 鲤科的科下类群及其宗系发生关系[J]. 动物分类学报, 1984, 9(4): 429-433.
- [22] 李思忠. 中国淡水鱼类的分布区划[M]. 北京: 科学技术出版社, 1981. 80-85, 139.

Study on the phylogenetic relationship of Cyprinidae based on the distributions of intestinal bacteria and DNA sequence data

TAN Yuan-de¹, ZHAO Qing-xin²

(1. College of Life Science, Hunan Normal University, Changsha 410081, China;

2. Department of Biology, Yancheng Normal College, Yancheng 224001, China)

Abstract: It was assumed that closely relative intestinal bacteria had closely relative intestinal hosts because of the same or similar symbiosis, vice versa. Based on this assumption, the amount of intestinal bacteria detected in intestines of Cyprinidae fishes was used to analyze the phylogenetic relationship among 8 Cyprinidae fishes: *Ctenopharyngodon idellus*, *Mylopharyngodon piceus*, *Hypophthalmichthys molitrix*, *Aristichthys nobilis*, *Cyprinus carpio haematopterus*, *Carssius auratus*, *Megalobrama amblycephala* and *Megalopbrama terminalis*. In the phylogenetic trees, using NJ and UPGMA methods, the genera of each subfamily were joined to a common nodal point. Between the subfamilies, Leuciscinae and Culterinae were first joined to a nodal point. The point, which Hypophthalmichthinae and Cyprininae were together joined to, was their ancestral nodal point. The sequence data of the 2 genes cytochrome b and ND4 of mitochondrial genome were also used to analyze the phylogenetic relationship between the 5 subfamilies of Cyprinidae. Both of the phylogenetic trees of cytochrome b and ND4 built by NJ method were different from each other in topological structure. Nevertheless, a common conclusion inferred from the 3 phylogenetic trees is that Cyprinidae is the most primary group and monophyletic in the 5 subfamilies, whereas *C. auratus* may be the most primary lineage; Culterinae has no position in Cyprinidae phylogenetic tree.

Key words: Cyprinidae; phylogeny; intestinal bacteria; cytochrome b and ND4 genes