

基于细胞色素 *b* 基因序列的东亚鳊类系统发育关系*

赵金良 李思发** 蔡完其 王伟伟

上海水产大学农业部水产种质资源与养殖生态重点开放实验室, 上海 200090

摘要 鳊类为东亚特有类群。为验证东亚鳊类的单系起源, 解决其分类划分的争议, 本文采用特异性引物 PCR 扩增法获得了鳊类中鳊、大眼鳊、斑鳊、暗鳊、波纹鳊、长体鳊细胞色素 *b* 基因的全长序列, 结合 GenBank 中日本少鳞鳊、朝鲜少鳞鳊和中国少鳞鳊的序列, 初步构建了东亚鳊类种间的系统发育关系。NJ 树和 MP 树均一致表明, 鳊类为单系类群, 可分为两支: 鳊鱼群和少鳞鳊群。长体鳊未单独成群, 而与鳊鱼属聚为一支, 不支持将长体鳊单独设属, 而应归入鳊鱼属。鳊鱼群中, MP 树推测的长体鳊、暗鳊较为原始, 鳊、大眼鳊、斑鳊和波纹鳊为特化种类的系统关系假设与其形态、生态特征表型进化较为一致。少鳞鳊群中, 中国少鳞鳊与朝鲜少鳞鳊为姐妹种, 再与日本少鳞鳊构成姐妹群的系统关系与其地理分布格局较为一致。本研究结果可为深入探讨鳊类物种有效性、系统分类位置及生物地理学提供依据 [动物学报 52 (4): 676-680, 2006]。

关键词 鳊类 系统发育 细胞色素 *b* 序列

Phylogenetic relationship of siniperine fishes in East Asia based on cytochrome *b* sequences analysis*

ZHAO Jin-Liang, LI Si-Fa**, CAI Wan-Qi, WANG Wei-Wei

Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquacultural Ecosystem, Ministry of Agriculture, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China

Abstract Siniperine fishes are endemic in East Asia. To test its monophyly and resolve some questions on its classification, we analyzed the full length of cytochrome *b* gene sequence of *Siniperca chuatsi*, *S.kneri*, *S.scherzeri*, *S.obscura*, *S.undulata* and *Coreosiniperca* (*Cs.*) *roulei* using specific primers and PCR amplification techniques. Together with the sequences of *Coreoperca kawamebari*, *C.hezi* and *C.whiteheadi* from GenBank, molecular phylogenetic relationships of the siniperine fishes were constructed. Both of NJ tree and MP tree showed that siniperine fishes were a monophyletic group, which could be divided into two sister groups: group *Siniperca* and group *Coreoperca*. Instead of forming an independent group, *Cs.roulei* was grouped within genus *Siniperca*, the genus *Coreosiniperca* wasn't warranted and *Cs.roulei* should be merged into *Siniperca*. The phylogenetic relationship of group *Siniperca* in MP tree showed *S.roulei* and *S.obscura* were relatively primitive, while *S.chuatsi*, *S.kneri*, *S.scherzeri*, *S.undulata* were more specialized, which was perfectly consistent with their morphological and ecological characteristics evolution. In another group, *C.whiteheadi* was the sister species of *C.hezi*, then grouped with *C.kawamebari*, this relationship was consistent with their geographic distribution pattern. These results were helpful for further understanding systematic position, species validity and biogeography of the siniperine fishes [Acta Zoologica Sinica 52 (4): 676-680, 2006].

Key words Siniperine fishes, Phylogenetic relationship, Cytochrome *b* sequence

鳊类是东亚特有类群, 自然分布于俄罗斯、日本、朝鲜、中国和越南 (周才武等, 1988; 李思

2005-12-30 收稿, 2006-04-24 接受

* 上海市重点学科建设项目资助 (No. Y1101)、上海水产大学水产养殖重点学科开放课题 (No.04SC11) [This research was funded by Shanghai Leading Academic Discipline Project (No. Y1101), Grant from Key Academic Discipline of Aquaculture of Shanghai Fisheries University (No.04SC11)]

** 通讯作者 (Corresponding author) E-mail: lsf038@mail.online.sh.cn

© 2006 动物学报 Acta Zoologica Sinica

忠, 1991)。Basilewsky (1855) 最早鉴定并发表了鳊鱼 (*Perca chuatsi*); 上个世纪初开始, 我国对鳊类鱼类的研究逐渐增多, 陆续发表了一些新种, 增加了一些记录; 同时, 国外学者也分别介绍了朝鲜、日本、越南的鳊类资料 (Mori, 1952; Katayama, 1960; Mai, 1978)。根据朱元鼎 (1985) 和周才武等 (1988) 的观点, 鳊类共有 11 个种: 包括鳊 (*Siniperca chuatsi* Basilewsky)、大眼鳊 (*S. kneri* Garman)、斑鳊 (*S. scherzeri* Steindachner)、暗鳊 (*S. obscura* Nichols)、波纹鳊 (*S. undulata* Fang et Chong)、高体鳊 (*S. robusta* Kwang, Yu et Ni)、柳州鳊 (*S. liuzhouensis* Zhou, Kong et Zhu)、中国少鳞鳊 (*Coreoperca whiteheadi* Boulenger)、日本少鳞鳊 (*C. kawamebari* Temminck et Schlegel)、朝鲜少鳞鳊 (*C. herzi* Herzenstein) 和长体鳊 (*Coreosiniperca roulei* Wu)。然而, 对鳊类有效物种的确切数目尚有一些不同看法 (李思忠, 1991; Liu and Chen, 1994)。

关于鳊类属的划分, 现有两种不同观点。朱元鼎 (1985) 和周才武等 (1988) 主张将鳊类分为 3 个属, 即鳊鱼属、少鳞鳊属和长体鳊属, 同属鲈形目 (Perciformes)、科 (Serranidae)、鳊亚科 (Sinipercinae), 并为一些国内学者接受 (孟庆闻等, 1995)。孔晓瑜和周才武 (1992, 1993) 通过 LDH 同工酶谱和骨骼形态特征比较, 初步支持鳊类三个属的划分。Liu and Chen (1994) 利用骨骼特征研究了现生鳊类的系统发育关系, 认为鳊类为单系类群, 但分为鳊鱼属和少鳞鳊属两个属, 长

表 1 本研究中的鳊类种类和采集地点

Table 1 Species and collecting locations of Sinipercine fishes in this study

属 Genus	种类 Species	采集地点 Collecting location	序列号 Accession No.
鳊鱼属 <i>Siniperca</i>	鳊 <i>S. chuatsi</i>	安徽池州 Chizhou, Anhui	DQ345336
	大眼鳊 <i>S. kneri</i>	安徽池州 Chizhou, Anhui	DQ345337
	斑鳊 <i>S. scherzeri</i>	广西融水 Rongshui, Guangxi	DQ345338
	暗鳊 <i>S. obscura</i>	福建顺昌 Shunchang, Fujian	DQ345339
	波纹鳊 <i>S. undulata</i>	浙江淳安 Chunan, Zhejiang	DQ345340
长体鳊属 <i>Coreosiniperca</i>	长体鳊 <i>Cs. roulei</i>	福建顺昌 Shunchang, Fujian	DQ345341
少鳞鳊属 <i>Coreoperca</i>	日本少鳞鳊 <i>C. kawamebari</i>	日本 Fukuoka, Kitakyushu, Japan	AB108486*
		韩国 Changhung, South Korea	AB108067*
	中国少鳞鳊 <i>C. whiteheadi</i>	中国广西 Guangxi, China	AB108488*
	朝鲜少鳞鳊 <i>C. herzi</i>	韩国 Chonju, South Korea	AB108489*

* 数据引自 GenBank.

* Data cited from GenBank.

体鳊是鳊属的一员, 不能单独设为一个属 (长体鳊属)。

由于上述的分类划分系建立在形态学和骨骼特征研究的基础上, 而这些资料提供的信息量较少, 同时, 还容易受到环境因素的影响, 难以全面、客观地反映鳊类的系统学关系。近年来, 一些学者开始利用分子资料探讨鳊类的系统发育关系 (Shirai et al., 2003; 赵金良等, 2005)。细胞色素 *b* 是 mtDNA 中结构、功能研究最清楚的蛋白质编码基因之一, 可为鲈形目不同分类单元间的系统发育研究提供可靠、有价值的信息 (Song et al., 1998; Orrell et al., 2002)。本文通过对鳊类种类的细胞色素 *b* 全长序列的测定和分析, 构建种间的系统发育关系, 验证东亚鳊类的单系起源及其分类划分, 进一步整理鳊类的系统分类, 并为深入了解其物种有效性、系统分类位置、生物地理学研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验所用的材料为鳊、大眼鳊、斑鳊、暗鳊、波纹鳊和长体鳊 (表 1), 取样品的尾鳍浸入 95% 的酒精中固定和保存。本实验中, 未能采集到记录中的高体鳊 (海南南渡江)、柳州鳊 (广西柳江) 样本。日本少鳞鳊 (AB108486、AB108067)、朝鲜少鳞鳊 (AB108488) 和中国少鳞鳊 (AB108489) 细胞色素 *b* 的序列分别引自 GenBank。

1.2 基因组 DNA 的提取

DNA 提取按常规方法进行。取 20–30 mg 尾鳍，剪碎。待酒精完全挥发后，用蛋白酶 K 消化，酚-氯仿法提取总 DNA，用 0.8% 琼脂糖凝胶进行电泳检测。

1.3 基因扩增与测序

扩增细胞色素 *b* 基因使用的特异性引物为：L14724 (5'-GAC TTG AAA AAC CAC CGT TG-3') 和 H15915 (5'-CTC CGA TCT CCG GAT TAC AAG AC-3') (Xiao et al., 2001)，由上海生工生物工程技术有限公司合成。PCR 反应体系为 50 μ l：模板 DNA 2 μ l，10 \times Buffer 5 μ l，dNTP 2 μ l (2.5 mmol/L)，引物 L14724 2 μ l (10 μ mol/L)，引物 H15915 2 μ l (10 μ mol/L)，*Taq* DNA 聚合酶 2.5 U，用去离子灭菌水补足 50 μ l。反应条件为：94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min；94 $^{\circ}$ C 变性 45 s，45 $^{\circ}$ C 复性 45 s，72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min，30 个循环；72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min；4 $^{\circ}$ C 保存。PCR 产物用 1% 的琼脂糖凝胶进行电泳检测。特异扩增片断产物纯化后，由上海生工生物工程技术有限公司用 ABI 377 自动测序仪进行序列测定。

1.4 序列分析

使用 BIOEDIT 软件中的 Clustal W 程序 (Hall, 1999)，将测序得到鳊类细胞色素 *b* 基因的

序列进行排序。国内学者多将鳊类归为 科、鳊亚科，并认为其与 科的石斑鱼亚科和 亚科接近 (周才武等, 1988)。因而，选择 科鲈属 *Lateolabrax japonicus* (AB117105)、石斑鱼属 *Epilectrus areolatus* (AY786241) 作为内群，并用狼鲈科 *Morone saxatillus* (AF240746) 作为外群，使用 MEGA 3.0 软件 (Kumar et al., 2004) 进行分析，用邻连法 (NJ) 和最大简约法 (MP) 构建鳊类种间的系统发育关系，系统树各分支的置信度由 1 000 次自举法检验。

2 结果

通过测序，分别获得鳊、大眼鳊、斑鳊、暗鳊、波纹鳊和长体鳊细胞色素 *b* 基因的全长序列，长度为 1 141 bp，相对碱基频率为 T, 28.0%；C, 31.4%；A, 25.5%；G, 15.10%。加入 GenBank 中 3 种少鳞鳊的细胞色素 *b* 的序列，共检测到变异位点 373 个，其中 254 个位点具有系统发育信息：第 1 密码子上 34 个，第 2 密码子上 6 个，第 3 密码子上 214 个。初步构建了鳊类的系统发育关系树 (图 1, 图 2)。邻连法产生的 NJ 树和最大简约法产生的 MP 树均一致表明，鳊类为一单系类群，可分为两个群：鳊鱼群和少鳞鳊群。长体鳊未单独

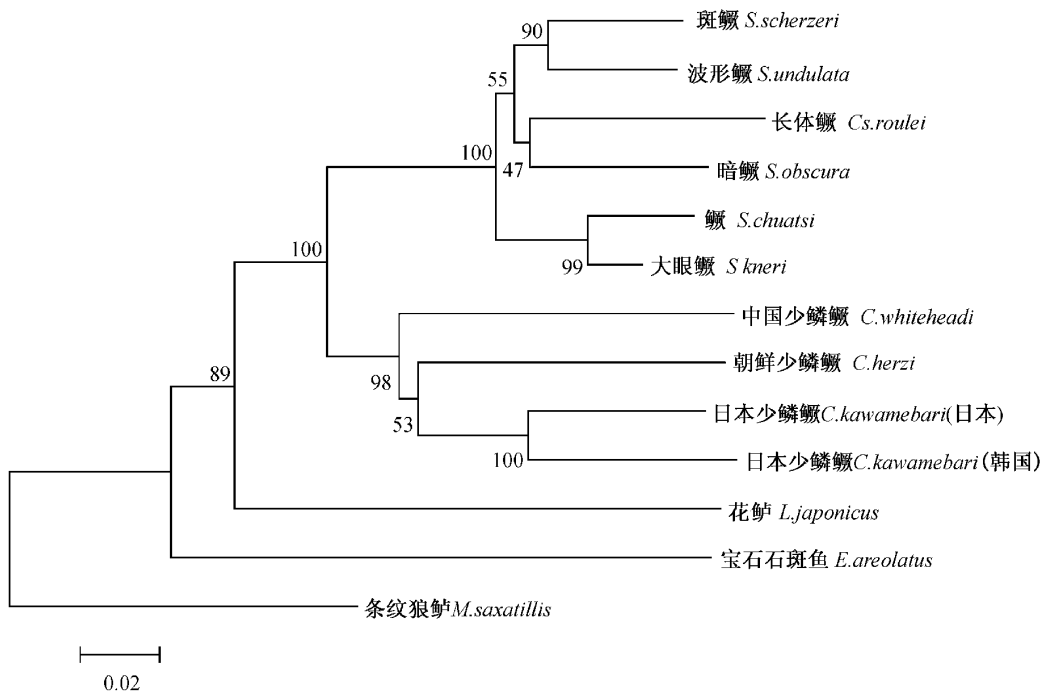


图 1 基于细胞色素 *b* 构建的鳊类 NJ 分子树
树节点上数值为 NJ 分析 bootstrap 的置信度。

Fig.1 NJ tree based on cytochrome *b* sequences of sinipercine fishes

Numbers above the branches refer to the bootstrap values calculated from NJ analyses.

成群，而是与鳊鱼属聚类在一起。

鳊鱼群内，鳊与大眼鳊为姐妹种，斑鳊与波纹鳊为姐妹种。NJ 树表明长体鳊与暗鳊为姐妹种，然后与（斑鳊+波纹鳊）构成姐妹群，最后与（鳊+大眼鳊）构成姐妹群。MP 树则表明长体鳊最为原始，其次是暗鳊，而鳊、大眼鳊、斑鳊、波纹鳊

为较特化的种类。

少鳞鳊群中，日本少鳞鳊种内的日本群体与韩国群体首先聚为一支。NJ 树表明，日本少鳞鳊与朝鲜少鳞鳊亲缘关系较近；而 MP 树表明，中国少鳞鳊先与朝鲜少鳞鳊为姐妹种，而后与日本少鳞鳊构成姐妹群。

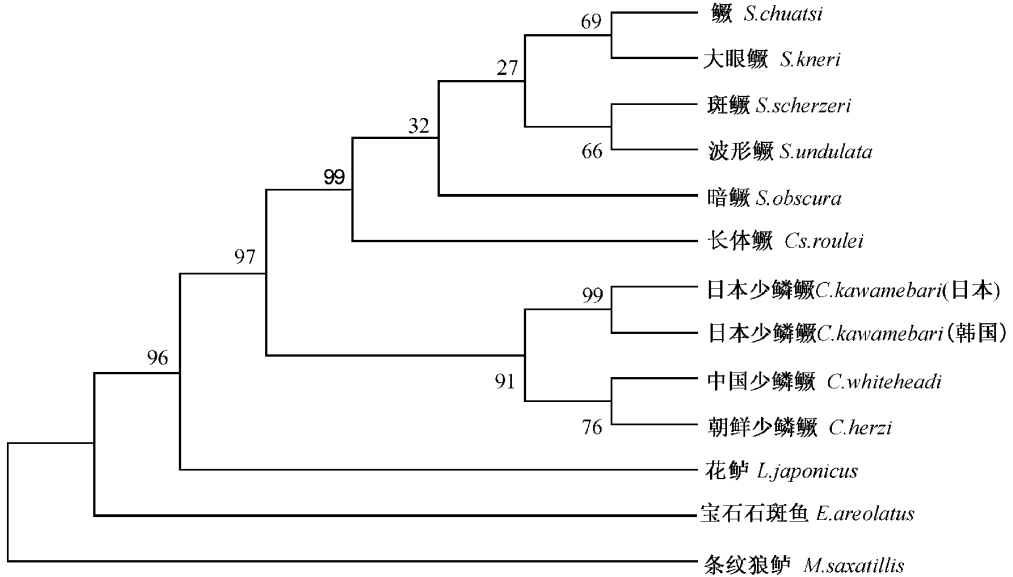


图 2 基于细胞色素 *b* 构建的鳊类 MP 分子树
树节点上数值为 MP 分析 bootstrap 的置信度。

Fig.2 MP tree based on cytochrome *b* sequences of sinipercine fishes

Numbers above the branches refer to the bootstrap values calculated from MP analyses.

3 讨论

鳊类鱼类的单系起源问题虽未遇怀疑，但也少有验证。孔晓瑜等（1992）根据 LDH 同工酶酶谱的相似性，推测鳊类可能是单系起源。Liu and Chen（1994）首次利用骨骼特征，运用分支系统学原理构建鳊类的系统发育关系，表明鳊类为单系类群。本研究从分子系统发育学角度也验证了鳊类为一单系类群（NJ 树自举值为 100，MP 树自举值为 97）。

研究表明，鳊类群分为两支：鳊鱼群（含鳊鱼属和长体鳊属）与少鳞鳊群（少鳞鳊属）为姐妹群，支持 Liu and Chen（1994）将鳊类群划分为两个群的观点。

争议最大的是长体鳊，该种为 Wu（1930）发表的新种 *Siniperca roulei* Wu，起初置于鳊鱼属，Fang and Chong（1932）提出将它作为鳊鱼属的一个亚属——长体鳊亚属。此后，国内部分学者继续将长体鳊作为鳊属的一员（湖北省水生生物研究

所，1976；郑慈英，1989）。但朱元鼎（1985）和周才武等（1988）提出将鳊类独立成一个亚科、长体鳊独立成 1 个属。作者从系统发育学的角度看到，由于长体鳊未单独成群，而是与鳊鱼属聚为一支，不支持将其单独设立一个属，长体鳊应归入鳊鱼属。

鳊鱼群内除部分种类表现有较稳定的姐妹种关系外，NJ 树与 MP 树中这些物种间的系统学关系尚不一致，与 Liu and Chen（1994）的研究结果也不完全一致。但 MP 树推测的长体鳊、暗鳊较原始，鳊、大眼鳊、斑鳊、波纹鳊较特化的系统关系与其形态特征、生态习性的进化表现有较高的一致性。鳊、大眼鳊的幽门垂数目较多（大于 100），斑鳊、波纹鳊幽门垂数目居中（50–100），暗鳊、长体鳊幽门垂数目最少（20 以下）（朱元鼎，1985；孟庆闻等，1995）。陈平富等（1999）认为，鳊、大眼鳊、斑鳊等主要生活于大的江河、湖泊中，一般于流水中产卵；而长体鳊和暗鳊主要生活在大的江河的支流或相对小的水体中，推测鳊鱼属

的祖先种可能生活在东亚的小水体环境中, 伴随大江大河出现后, 在适应环境过程中演化成现生的种类。

少鳞鳊群中, 日本少鳞鳊种内的日本群体与韩国群体首先聚为一支, 表明种内亲缘关系高于种间亲缘关系。NJ 树表明日本少鳞鳊与朝鲜少鳞鳊关系较近, 自举值较低 (53); MP 树表明中国少鳞鳊与朝鲜少鳞鳊亲缘关系较近, 自举值为 76, 这也与 Liu and Chen (1994) 认为中国少鳞鳊与日本少鳞鳊关系更近的结果不同。现生少鳞鳊的分布格局可能与地理隔离导致的物种分化有关。推测在日本与东亚大陆未分离之前就已形成原始少鳞鳊, 随着板块分离、地质活动、气候变化, 日本岛首先从东亚大陆分离, 分化形成日本少鳞鳊, 随后在中国东北与朝鲜一带再次分化形成朝鲜少鳞鳊。中国少鳞鳊现仅分布中国长江以南水系, 而在山东临朐发现的山东少鳞鳊 (*Coreoperca shandongensis* sp. nov.) 化石 (陈平富等, 1999) 则验证了少鳞鳊最初在东亚地区可能呈连续分布, 即从日本、朝鲜、中国沿海江河直至越南北部。

参考文献 (References)

- Bilewsky S, 1855. Ichthyographia Chinae Borealis. Nouv. Mem. Soc. Nat. Moscou. 10: 215–264.
- Chen PF, Liu HZ, Yan JX, 1999. Discovery of fossil *Coreoperca* (Perciformes) in China. Vert. Palasiat. 37 (3): 212–227 (In Chinese).
- Fang PW, Chong LT, 1932. Study on the fishes referring to *Siniperca* of China. Sinensia 2 (12): 137–200.
- Hall TA, 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucl. Acids. Symp. Ser. 41: 95–98.
- Institute of hydrobiology, Hubei Province, 1976. The Fishes of Yangtze River. Beijing: Science Press, 191–198 (In Chinese).
- Mai DY, 1978. Identification of freshwater fishes of northern Vietnam. Ha Noi: Scientific and Technology Publisher, 1–339 (In Vietnamese).
- Mori T, 1952. Check list of the fishes of Korea. Mem. Hyogo Univ. Agri. 1 (3): 1–288.
- Katayama M, 1960. Fauna Japonica Serranidae (Pisces). Tokyo: Tokyo News Service, 28–32.
- Kong XY, Zhou CW, 1992. Comparative studies on the LDH isozyme in sinipercinae fishes of China. J. Ocean. Univ. Qingdao 22 (1): 103–110 (In Chinese).
- Kong XY, Zhou CW, 1993. Comparative studies on the skeletal characteristics of seven sinipercinae fishes of China. J. Ocean. Univ. Qingdao 23 (3): 116–124 (In Chinese).
- Kumar S, Tamura K, Nei M, 2004. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. Briefings in Bioinformatics 5: 150–163.
- Li SZ, 1991. Geographic distribution of the sinipercinae fishes. Chinese J. Zool. 26 (4): 40–44 (In Chinese).
- Liu HZ, Chen YY, 1994. Phylogeny of the sinipercine fishes with some taxonomic notes. Zool. Res. 15 (Suppl.): 1–12.
- Meng QW, Su JX, Miao XZ, 1995. Systematics of Fishes. Beijing: China Agriculture Press, 606–617 (In Chinese).
- Orrell TM, Carpenter KE, Musick JA, Graves JE, 2002. Phylogenetic and biogeographic analysis of the Sparidae (Perciformes: Percoidae) from cytochrome *b* sequences. Copeia (3): 618–631.
- Shirai SM, Yabumoto Y, Kim IS, Zhang CG, 2003. Phylogeny of sinipercid fishes and their relatives inferred from mtDNA cytochrome *b* gene: a preliminary study. Bull. Kitakyushu Mus. Nat. Hist. Hum. Hist. Ser. A (1): 45–49.
- Song CB, Near TJ, Page LM, 1998. Phylogenetic relations among percid fishes as inferred from mitochondrial cytochrome *b* DNA sequence data. Mol. Phylogenet. Evol. 10: 343–353.
- Wu HW, 1930. Notes on some fishes collected by the Biological Laboratory, Science Society of China. Contr. Biol. Lab. Sci. Soc. China 6 (5): 45–57.
- Xiao WH, Zhang YP, Liu HZ, 2001. Molecular systematics of Xenocyprinae (Teleostei: Cyprinidae): taxonomy, biogeography and coevolution of a special group restricted in East Asia. Mol. Phylogenet. Evol. 18 (2): 163–173.
- Zhao JL, Li SF, Cai WQ, Wang WW, 2005. The preliminary phylogenetic relationships of sinipercine fishes and some lower percoids inferred from 16S ribosomal sequences. J. Shanghai Fish. Univ. 14 (4): 325–330 (In Chinese).
- Zheng CY, 1989. The Fishes of Pearl River. Beijing: Science Press, 305–317 (In Chinese).
- Zhou CW, Yang Q, Cai DL, 1988. On the classification and distribution of the sinipercinae fishes (Family Serranidae). Zool. Res. 9 (2): 113–125 (In Chinese).
- Zhu YD, 1985. The fishes of Fujian Province (Part II). Fuzhou: Fujian Sci. and Tech. Press, 25–32 (In Chinese).
- 陈平富, 刘焕章, 阎际兴, 1999. 鲈形目少鳞鳊属 (*Coreoperca*) 化石在中国的首次发现. 古脊椎动物学报 37 (3): 212–227.
- 湖北省水生生物研究所鱼类研究室, 1976. 长江鱼类. 北京: 科学出版社, 191–198.
- 孔晓瑜, 周才武, 1992. 鳊亚科 (SINIPERCINAE) 鱼类的 LDH 同工酶的比较研究. 青岛海洋大学学报 22 (1): 103–110.
- 孔晓瑜, 周才武, 1993. 中国鳊亚科 SINIPERCINAE 七种鱼类骨骼形态特征的比较研究. 青岛海洋大学学报 23 (3): 116–124.
- 李思忠, 1991. 鳊亚科鱼类地理分布的研究. 动物学杂志 26 (4): 40–44.
- 孟庆闻, 苏锦祥, 缪学祖, 1995. 鱼类分类学. 北京: 中国农业出版社, 606–617.
- 赵金良, 李思发, 蔡完其, 王伟伟, 2005. 由 16S rDNA 序列初步推断鳊类与低等鲈形目鱼类的系统关系. 上海水产大学学报 14 (4): 325–330.
- 郑慈英, 1989. 珠江鱼类志. 北京: 科学出版社, 305–317.
- 周才武, 杨青, 蔡德霖, 1988. 鳊亚科 SINIPERCINAE 鱼类的分类整理和地理分布. 动物学研究 9 (2): 113–125.
- 朱元鼎, 1985. 福建鱼类志 (下卷). 福州: 福建科学技术出版社, 25–32.