

鲤科四种鱼肠道菌群的相似性 及其与系统进化的关系

赵庆新

(江苏省盐城师范学院生物系,江苏盐城 224001)

摘要:在同一背景条件下,对草鱼、白鲢、团头鲂和鲤鱼等4种鱼的肠道菌群中好氧性菌或兼性厌氧菌进行分析鉴定,得到4种鱼之间的肠道菌群相似值。用UPGMA和NJ法构建鲤科的雅罗鱼亚科、鲢亚科、鳊亚科和鲤亚科等4种亚科的系统演化树。不同亚科的鱼间菌群分布有较大差异,但雅罗鱼亚科和鳊亚科在菌群分布方面有极显著的正相关性。哈夫尼亚菌属、致病杆菌属、气单胞菌属、柠檬酸菌属、假单胞菌属等在4种鱼肠道中均有分布,链球菌属、拉氏菌属、芽孢杆菌属、葡萄球菌属等属于共生菌。雅罗鱼亚科和鳊亚科相邻邻接为一个共同接点,该接点与鲤亚科连接为一个接点,鲤亚科可能是最原始的类型。

关键词:肠道菌群相似值;鲤科;系统演化树

中图分类号:Q951+.2

文献标识码:A

文章编号:0253-9772(2001)05-0449-03

A Study of the Construction of Evolutionary Tree of Four Fishes in Cyprinidae by Similarity Values of Intestinal Microflora

ZHAO Qing-xin

(Department of Biology Yancheng Teachers University, Yancheng Jiangsu, 224001 China)

Abstract: This paper is an analysis and appraisal of aerobe and facultative anaerobe among intestinal bacterium of the following fishes: *Ctenopharyngodomidellus*, *Hypophthalmichthys molitrix*, *Megalorhynchus amblycephalus* and *Cyprinus carpio haematopterus* under same surroundings. After that, we contain similarity values of intestinal bacteria were obtained between every two kinds of the four fishes. We constructed the evolutionary trees of in Cyprinidae, Leuciscinae, Abramidinae, Cyprininae and Hypophthalmi by NJ method and UPGMA method according to the similarity values.

Key words: similarity values of intestinal bacteria; cyprinidae; evolutionary tree

关于鲤科鱼类的分类与系统演化前人已从鲤科鱼的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^[1-9]。本文首次在对鲤科鱼不同亚科鱼的肠道菌群的种类和数量分析的基础上,以肠道菌群为指标,得出鲤科不同亚科鱼之间的肠道菌群相似值,用UPGMA法和NJ法,构建鲤科鱼四种亚科的系统演化树。

1 材料与方法

1.1 材料

选择鲤科鱼的4个亚科鱼即雅罗鱼科(Leuciscinae)的草鱼(*Ctenopharyngodomidellus*)、鲢亚科(*Hypophthalmichthys*)的白鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)、鳊亚科(Cyprininae)的鲤鱼

收稿日期:2000-08-23;修回日期:2001-05-29

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39870568)资助

作者简介:赵庆新(1966.10),男,江苏人,硕士,讲师,专业:遗传学。Tel:0515-8330993。

(*Cyprinus carpio haematopterus*), 鲩亚科 (Abramidnae) 的团头鲂 (*Megalobrama amblycephala* Yih)。材料由江苏省里下河地区盐都县水产局提供, 饲养用水来自天然湖区, 饵料采用同一种人工配制的精料及少量的天然饵料。每品种鱼随机各取样, 均取正常无病的个体。对鱼体表面用 75% 的酒精消毒, 进入无菌室, 按照无菌操作程序, 剪肛、系线、掀肠壁, 在每条鱼肠道的不同位置, 取样。肠液 1g 置于 10ml 试管中, 再加 9ml 无菌水于试管中。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 0.2ml 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 天, 挑取单菌落、编号、纯化、建立菌种库。

1.2 分离培养基

分离培养基除了用普通蛋白胨培养基外, 还用亚砷酸钾培养基、结晶紫培养基、伊红美蓝培养基、S.S 琼脂培养基, 可查阅文献 [10, 11]。

1.3 鉴定试验

鉴定试验采用革兰氏染色, 芽孢染色, 过氧化氢酶测定, 氧化酶测定, 以及甲基红试验, V-P 试验, 吲哚试验, 硫化氢试验, 柠檬酸盐利用试验, 硝酸盐还原试验, 丙二酸盐试验, 苯丙氨酸脱氨酶试验, 赖氨酸脱羧酶试验, 鸟氨酸脱羧酶试验, 精氨酸双水解试验, 脲酶测定试验, 2,4-二氨基-6,7-异丙基嘌呤试验, 葡萄糖发酵试验, 甘露醇产酸试验, 乳糖产酸试验, 动力试验, 鞭毛染色等。具体操作过程参照文献 [10, 11]。

2 结 果

2.1 4 种鱼肠道菌群的种类、数量和对数值

草鱼、鲢鱼、团头鲂和鲤鱼肠道中好氧菌和兼性厌氧菌组成如表 1。

表 1 4 种鱼肠道菌群的种类和数量 (cfu/g)

菌 属	草 鱼	鲢 鱼	团头鲂	鲤
哈夫尼亚菌属 (<i>Hafnia</i>)	1.87×10^7	8.58×10^6	8.4×10^5	1.50×10^4
致病杆菌属 (<i>Xenorhabdus</i>)	8.4×10^6	6.35×10^6	9.9×10^4	2.5×10^3

菌 属	草 鱼	鲢 鱼	团头鲂	鲤
气单胞菌属 (<i>Aeromonas</i>)	4.2×10^6	1.23×10^7	5.9×10^6	1.5×10^5
柠檬酸菌属 (<i>Citrobacter</i>)	8.4×10^6	6.13×10^6	5×10^5	1.49×10^6
假单胞菌属 (<i>Pseudomonas</i>)	2.1×10^5	1.23×10^6	9.9×10^3	2.5×10^5
拉恩氏菌属 (<i>Rahnella</i>)		1.23×10^6		
芽孢杆菌属 (<i>Bacillus</i>)				2.5×10^6
链球菌属 (<i>Streptococcus</i>)	2.1×10^7	1.23×10^6	2.98×10^6	1.25×10^6
葡萄球菌属 (<i>Staphylococcus</i>)	2.1×10^7		9.9×10^5	
总 数	8.4×10^7	3.7×10^7	2.10×10^7	3.8×10^6

对表 1 中的数值进行对数处理得到表 2。

表 2 4 种鱼肠道菌数量的对数值

Table 2 Lg of number of each kind of intestinal bacteria of four fishes

对 数 值	鱼			
	草 鱼	鲢 鱼	团头鲂	鲤 鱼
哈夫尼亚菌属	7.2764	6.9325	6.9242	6.1761
致病杆菌属	6.9243	6.8028	5.9956	5.3979
气单胞菌属	6.6232	7.0899	6.7709	6.1176
柠檬酸菌属	6.9243	6.7875	5.6990	6.1732
假单胞菌属	6.3222	6.0899	5.9956	5.3979
拉恩氏菌属		6.0899		
芽孢杆菌属				5.3979
链球菌属	7.3222	6.0899	6.4742	6.0969
葡萄球菌属	6.3222		5.9926	

2.2 4 种鱼肠道菌群的相似值

利用表 2 的数值用公式

$$r_{xy} = \frac{\sum_{i=1}^9 (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\lambda_x^2 \lambda_y^2}}$$

得到上述四种鱼的肠道菌群相似值。见表 3。

表 3 4 种鱼肠道菌群的相似值

Table 3 Intestinal bacteria similarity values of four fishes

	草 鱼	鲢 鱼	团头鲂	鲤 鱼
草 鱼	1	0.4419	0.9900	0.4512
鲢 鱼		1	0.4273	0.4484
团头鲂			1	0.4325
鲤 鱼				1

2.3 系统演化树

图1和图2是利用UPGMA法和NJ法构建的

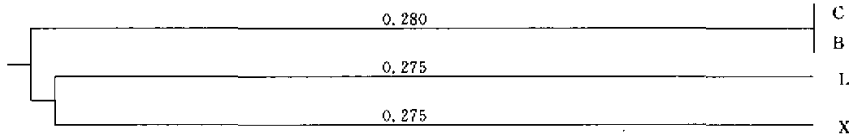


图1 根据肠道菌群相似值,用UPGMA法构建的鲤科鱼的系统进化树

Fig.1 Evolutionary tree of four in Cyprinidae by UPGMA method according to similar values of intestinal bacteria

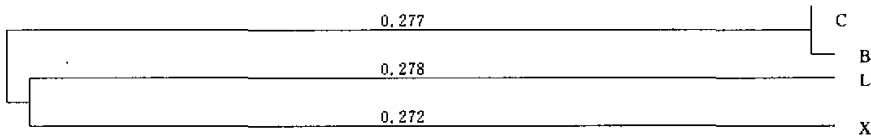


图2 根据肠道菌群相似值,用NJ法构建的鲤科鱼的系统进化树

Fig.2 Evolutionary tree of four in Cyprinidae by NJ method according to similar values of intestinal bacteria

3 讨论

在进化上亲缘关系相近的肠道微生物其所分解的肠道物质相同或相近,所分泌给寄主吸收的物质也相同或相近,因此它们所共生的也应是相近或近源的寄主。同样,在进化上亲缘关系相近的寄主其利用的营养物质也是相同或相近的,因而其肠道中所能提供给肠道微生物分解的物质也相同或相近,所以与其产生共生关系的微生物种类也是近源的。

本文根据雅罗鱼亚科草鱼、鲢亚科的鲢鱼、鳊亚科的团头鲂、鲤亚科的鲤鱼等四种鱼的肠道菌群的相似值,运用VPMGA法和NJ法构建的4种亚科鱼的进化系统树表明,草鱼和团头鲂在系统演化上属同一进化分支,其亲缘关系很近,而鲢鱼和鲤鱼在系统演化上也属同一分支,但鲢鱼和鲤鱼之间的亲缘关系相对于草鱼和团头鲂之间的亲缘关系而言要远一些。从表5中可以看出在4种鱼肠道菌群相似值为0.4325水平上4种鱼可以聚为一类。关于鲤科各亚科的系统演化问题,许多学者在细胞遗传水平做了很多研究工作^[2-9]。李淦成、李康等于1985年认为鳊亚科、鲮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支6。该观点与我们的研究关于鳊亚科和雅罗鱼亚科为同一进化分支,有很近亲缘关系有吻合之处。

由于鱼肠道微生物组成受鱼种类、水质、温度、饵料等多种因素影响,因此本课题研究过程中在水

系统演化树。两图中C代表草鱼,B代表团头鲂,L代表鲢鱼,X代表鲤鱼。

质、温度、底质、pH值等环境因子方面均严格保持一致。本研究以人工精料为主,辅以池塘中天然饵料。发现在水质、温度、底质、pH值、肠饱和度等条件相近的情况下,草鱼、白鲢、团头鲂、鲤鱼肠道中微生物的数量呈现下降趋势,与其食物中植物性饵料减少,动物性饵料逐渐增加呈相关性。

参考文献(Reference):

- [1] 伍献文. 中国鲤科鱼类志(上册)[M]. 上海:上海科学技术出版社,1964,1~20.
- [2] 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.
- [3] 谭远德,吴昌谋,等. 核型似近系数的聚类分析方法[J]. 遗传学报,1993,20(4):305~311.
- [4] 普瑞光,宋 峰,等. 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.
- [5] 李淦成,李 康,周 敏,等. 中国鲤科鱼类染色体组型研究 I [J]. 遗传学报,1983,10(3):216~222.
- [6] 李淦成,李 康,等. 中国鲤科鱼类染色体组型的研究 V II [J]. 遗传学报,1985,12(5):367~372.
- [7] 李思忠. 中国淡水鱼类的分布区划[M]. 北京:科学出版社,1985,80~85,139.
- [8] 桂建芳,李淦成,等. 中国鲤科鱼类染色体组型的研究[J]. 遗传学报,1985,12(4):302~308.
- [9] 李 康,李淦成,等. 中国鲤科鱼类染色体组型的研究 IX [J]. 水生生物学报,1986,10(2):189~193.
- [10] 李振林. 微生物学及检验技术[M]. 广州:广东科技出版社,1997,400~425.
- [11] 刘恭植. 微生物学及微生物检验[M]. 北京:人民卫生出版社,1987,147~211,261~286.