

线粒体 DNA d-loop 序列变异与 鳅鲇亚科鱼类系统发育*

王伟 何舜平** 陈宜瑜

中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072

摘要 对鳅鲇亚科 (Gobiobotinae) 2 个属 8 个种 10 个个体线粒体控制区 d-loop 全序列进行了测定. 以鲟亚科斑马鱼为外类群, 对鳅鲇及鲤科 (Cyprinidae) 一些亚科代表种鱼类进行了系统发育分析. 结果显示, 鳅鲇鱼类是一个单系类群, 与鮡和细鲫有较近的亲缘关系. 从系统发育的角度看, 鳅鲇亚科应归属于鮡亚科 (Gobioninae). 研究结果支持鳅鲇亚科分为异鳃鳅属 (*Xenophysogobio*) 和鳅鲇属 (*Gobiobotia*).

关键词 鲤科 鳅鲇亚科 线粒体 d-loop 系统发育

鳅鲇鱼类是东亚特有的淡水鱼类. 在分类学上被划分为鲤科的一个亚科^[1,2], 是一类较为特化的小型底栖鲤科鱼类. 该类群有非常明显的单系特征, 如 4 对口须 (1 对口角须和 3 对颌须) 和由第四脊椎腹肋形成的骨质鳃囊. 鳅鲇亚科在分类上包括 2 个属, 即鳅鲇属和异鳃鳅属, 前者又分为鳅鲇亚属 (*Gobiobotia*) 和原鳅鲇亚属 (*Progobiobotia*). 整个亚科目前共记录有 18 个种. 鳅鲇鱼类是一个典型的东亚类群, 主要分布于东亚江河平原区的河流干流中, 向南可一直分布到台湾和海南岛, 在西部仅分布到元江, 显然受到青藏高原的阻断. 向东可分布到朝鲜半岛, 北部可分布到黑龙江的松花江. 基于以上原因, 鳅鲇鱼类是东亚淡水鱼类生物地理学分析比较理想的材料. 作为一个明显的单系类群, 它又是系统发育研究的绝好对象. 鳅鲇鱼类在鲤科中的分类位置最初难以确定, 有许多作者认为鳅鲇的分类地位是介于鲤科和鳅科之间并接近后者. 刘建康曾提出将鮡亚科及鳅鲇亚科中具有骨质鳃囊的种类合并建立石虎鱼科^[3]. 但根据其大型的鳞片特别是咽喉齿形态, 一般都认为鳅鲇鱼类应属于鲤科. 也有作者把它作为一个属划归鮡亚科^[4], 但基于分类学上的原因, 它一直被作为一个亚科对待. 过去关于鳅鲇鱼类系统分类的工作并不多. 陈

宜瑜等^[1]对中国的鳅鲇鱼类进行过比较完整的整理并将鳅鲇属分为 3 个亚属, 并且认为鳅鲇鱼类的鳃囊具有重要的系统学意义. 何舜平等^[2]系统地整理了中国的鳅鲇鱼类, 将其划分为 2 个属共 18 个种, 通过比较鳅鲇鱼类的骨质鳃囊及韦伯氏器相关结构对其系统发育进行了探讨^[5], 并通过更多的形态骨骼特征对该类群的系统发育进行了研究^[6]. 结果都支持将鳅鲇亚科划分为鳅鲇属和异鳃鳅属, 前者又可分为两个亚属. 鳅鲇鱼类系统发育的工作以往主要是基于形态骨骼特征. 迄今为止, 对鳅鲇鱼类的系统分类地位、种间相互关系还没有进行过分子系统学研究. 随着分子生物学技术的发展和普及, 分子系统学已被广泛地应用到鱼类的系统发育研究中. 动物线粒体 DNA (mtDNA) 与核基因存在平行进化关系. mtDNA 为母系遗传并且具有较高的突变率, 突变固定后形成的 DNA 多态性位点可反映出群体遗传特征、种群分化和种属关系等; 另外, mtDNA 在动物个体内具有组织均一性, 细胞内含量丰富, 易于抽提等特点, 使其成为研究属、种间系统发育较好的遗传标记^[7]. 动物的 mtDNA 通常有 13 个编码蛋白质的基因, 22 个 tRNA 和 2 个 rRNA 基因, 另外还有一个非编码区, 即控制区. 控制区的进化速度快, 变异较大, 很适于做亚科内种间的系统学研究^[8,9]. 但是新的研究结果表

2001-04-16 收稿, 2001-06-04 收修改稿

* 国家自然科学基金重点项目(批准号 39830050)、中国科学院重点项目(批准号 K2952-J1-044)和中国科学院青年科学家小组计划资助项目

** 联系人, E-mail: clad@ihb.ac.cn

明^[10], 线粒体的控制区不同区段的进化速度不一样, 可以适用于不同级别的进化研究以解决不同级别的进化问题. 本文用分子生物学的方法对鳅鲇鱼类的系统发育进行研究. 由于鳅鲇鱼类物种之间的形态差异较小, 甚至有作者认为该亚科应该作为鲇亚科的一个属, 所以我们选取线粒体 DNA 中进化较快的控制区全序列作为分子标记. 通过对鳅鲇亚科及鲤科各亚科代表性种类进行分析, 探讨鳅鲇鱼类的系统位置及属间相互关系.

1 材料和方法

1.1 材料

研究用标本为 95% 酒精固定的肌肉组织. 物种鉴定在中国科学院水生生物研究所进行. 研究物种包括现有鳅鲇亚科中的 8 个种 10 个个体. 鲤科其他亚科代表性种类包括鲃亚科中的鲃 (*Barbus barbus*)、光唇鱼 (*Acrossocheilus* sp), 鲇亚科中的鲇 (*Gobio gobio*), 鲃亚科中的代表种类斑马鱼 (*Danio rerio*)、中华细鲫 (*Aphyocypris chinensis*) 和台湾细鲫 (*A. kikuchii*), 野鲮亚科中的野鲮 (*Labeo labeo*) (见表 1), 以检测鳅鲇鱼类的单系性.

表 1 本文所研究的鳅鲇鱼类物种名录

序号	物种名	采集地点或编号
1	董氏鳅鲇 <i>Gobiobotia tungi</i>	江西婺源
2	长须鳅鲇 <i>G. longibarba</i>	福建建瓯
3	海南鳅鲇 <i>G. kolleri</i>	江西上饶
4	宜昌鳅鲇 <i>G. filifer</i>	四川合江
5	异鳃鳅鲇 <i>Xenophysogobio boulengeri</i>	四川合江
6	裸体鳅鲇 <i>X. nudicorpa</i>	四川宜宾
7	台湾鳅鲇 <i>G. cheni</i>	台湾
8	长须鳅鲇 <i>G. longibarba</i>	广西柳州
9	海南鳅鲇 <i>G. kolleri</i>	广西柳州
10	鲇 <i>Gobio gobio</i>	GG0388392
11	野鲮 <i>Labeo labeo</i>	LBI388414
12	鲃 <i>Barbus barbus</i>	BME388416
13	光唇鱼 <i>Acrossocheilus</i> sp	APA131833
14	斑马鱼 <i>Danio rerio</i>	ACO24175
15	中华细鲫 <i>Aphyocypris chinensis</i>	辽宁
16	台湾细鲫 <i>A. kikuchii</i>	台湾

1.2 基因组 DNA 提取、PCR 扩增和序列测定

鱼肌肉总 DNA 提取用文献^[11]的方法. PCR 扩增所用引物为 DL1 (5'-ACCCCTGGCTCCCAAAGC-3'), DL2 (5'-ATCTTAGCATCTTCAGTG-3'). PCR 反应含 100 ngDNA, 0.2 mmol/L dNTPs, 1 μ mol/L 引物, 4.0 mmol/L MgCl₂, 5.0 μ L 10X 缓冲液, Taq 酶

2U. PCR 反应共 35 个循环, 每一循环包括 94 $^{\circ}$ C 1 min, 55 $^{\circ}$ C 1 min, 72 $^{\circ}$ C 1 min. 对 PCR 产物的 DNA 序列测定使用相同引物用末端荧光标记法在自动测序仪 (Applied Biosystems 310 Stretch) 上测定.

1.3 数据分析方法

使用 CLUSTAL 软件进行 d-loop 基因序列的对位排列; 应用 MAGA2.0 和 PHYLIP3.25 软件进行系统发育分析和遗传距离的计算; 系统发育分析分别使用邻接法 (NJ), 简约法 (MP) 和最大似然法 (ML). 自举分析为 1000 次重复抽样检验得到的支持率.

2 结果

2.1 鳅鲇亚科序列及变异情况

实验在鳅鲇亚科 8 个种中扩增出长约 1 kb 的线粒体 d-loop 基因序列. 该片段中 A, T, C, G 的平均含量分别为 32.5%, 32%, 20.9% 和 14.6%, 即 GC 含量为 35.5%. 在 982 个位点中, 保守位点 443 个, 变异位点 519 个, 具简约性信息位点 250 个, 单个突变位点 266 个.

2.2 鳅鲇鱼类的系统关系

NJ, MP 和 ML 分析都得到拓扑结果相同的系统树. 图 1 所示为 NJ 树, 遗传距离为 Kimure 2 因素模型. 在图 1 分支系统树中, 当以斑马鱼为外类群时, 鳅鲇鱼类在分支图中形成了一个单系类群并与鲇亚科的关系最近. 野鲮亚科中的野鲮处在比较原始的地位, 和鳅鲇亚科的关系比较远, 紧接着就是鲃亚科中的鲃, 然后是光唇鱼. 中华细鲫和台湾细鲫同属于细鲫属, 形成了一个姊妹群. 异鳃鳅鲇 (*Xenophysogobio boulengeri*) 和裸体鳅鲇 (*X. nudicorpa*) 聚在一起, 这与形态上把它们划分为异鳃鳅鲇属的结果是相一致的. 而其余的 5 个种在分类上都属于鳅鲇亚属, 在我们的系统树中形成一个单元群, 与异鳃鳅鲇属形成姊妹群. 其中长须鳅鲇 (*G. longibarba*) 和海南鳅鲇 (*G. kolleri*) 关系最近, 构成一个姊妹群, 而台湾鳅鲇 (*G. cheni*) 和宜昌鳅鲇 (*G. filifer*) 也构成另一个姊妹群, 这两个姊妹群又形成新的姊妹群. 董氏鳅鲇 (*G. tungi*) 处于较原始的位置, 该结果和形态上的划分基本一致. 长须鳅鲇、海南鳅鲇、董氏鳅鲇、宜昌鳅鲇都属于南方类群, 目前我们还缺乏北方类群的标本来作进一步的确认. 南方群代表着鳅鲇鱼类的较高特化等级, 我们认为它在鳅鲇鱼类中处于最特化的系统等级.

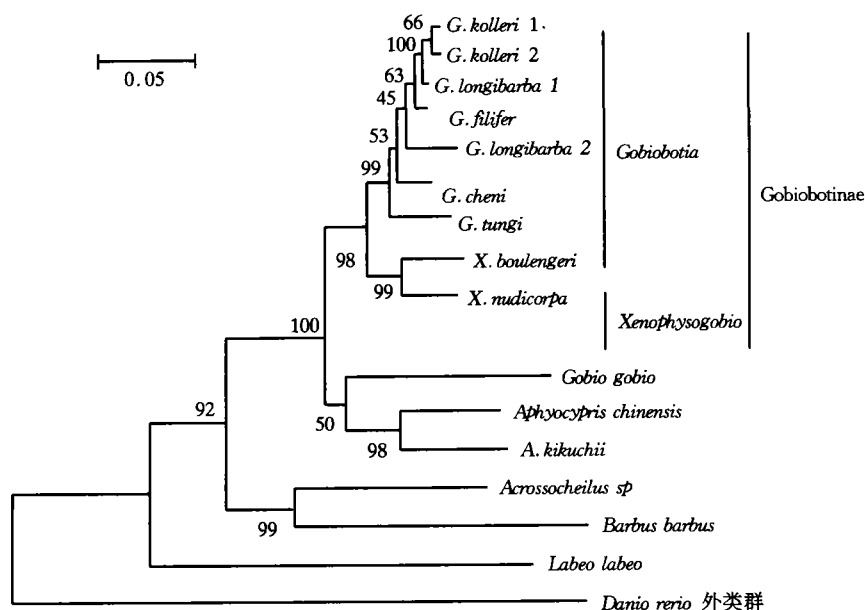


图1 基于 mtDNA 控制区序列, 使用 Kimura 双参数模型构建的 N-J 树
枝长表示分歧度, 枝上的数值为 1000 次重复抽样检验得到的支持率

3 讨论

何舜平等^[5]曾对鲈亚科和鳅亚科的鳔囊进行了详尽的描述, 认为鳅亚科起源于鲈亚科中的小鳔鲈。宜昌鳅拥有最特化的骨质鳔囊, 是鳅亚科中比较特化的种类。长须和海南鳅具有较近的亲缘关系。从我们得到的序列方面的资料来看, 分子系统学得到的结果和以前形态学的研究结果基本一致: 鳅鱼类是一个单系类群并与鲈亚科的关系较近; 鳅亚属应分为两个属。该研究结果支持鳅生物地理过程中的散布假说 (hypothesis of dispersal)。散布假说认为: 物种首先起源于一个起源中心, 然后这些物种沿着不同的路径扩散到不同的地方, 最后因生殖隔离而形成不同的种类并形成今天的分布格局。鳅鱼类起源中心应该在长江上游, 那里同时分布有较为原始和特化的鳅鱼类, 比如异鳔鳅属的两个种和宜昌鳅。鳅鱼类的祖先因生活习性的不同, 分为两支。在宜昌鳅分化的同时, 鳅鱼类的祖先种沿着长江中下游密布的水网向浙江、台湾等地扩散, 可以认为向台湾扩散的较晚, 因为台湾鳅和宜昌鳅形成姊妹群。同时也沿着珠江及附属水体向海南扩散, 可以看到长须鳅和海南鳅形成姊妹群, 它们都是通过珠江水系扩散的。台湾在中生代燕山运动中晚期, 还属于闽浙岭南隆起的一部分。早第三纪, 印度板块与欧亚板块碰撞, 导致喜马拉雅造山运动, 古陆解

体和断块下陷, 此时形成的古重要山脉构成早第三纪海沟边缘的岛弧; 喜马拉雅运动晚期的台湾运动, 使台湾岛最终形成, 台湾和大陆在新生代期间都有大体相同的构造背景。整个更新世自全球进入第四冰期以后, 热带动物区系向南退缩, 台湾与东喜马拉雅在气候、植被和动物区系上都显示密切的关系。在分支图中, 我们采自福建建瓯的长须鳅和采自广西柳州的同一个种没有构成姊妹群而和台湾鳅的关系较近, 估计和第四纪的冰期和间冰期有关。台湾岛形成以后, 多次与大陆相连, 这种海陆变迁与更新世冰期和间冰期有密切的关系。在恭兹、民德、里斯、玉木 4 个冰期时曾发生海退, 台湾与大陆相连; 间冰期海面上升, 台湾与大陆分离。这种古地理变化使得大陆东南沿海水系中的淡水鱼类多次迁入台湾。而进一步的工作我们将研究鳅鱼类与鲈亚科鱼类的系统关系。

参 考 文 献

- 1 陈宜瑜, 等. 鳅亚科. 中国鲤科鱼类志(下卷). 上海: 上海科技出版社, 1997. 550~557
- 2 何舜平, 等. 鳅亚科. 中国动物志鲤形目. 北京: 科学出版社, 1998. 389~413
- 3 Liu C K. Preliminary study on the air-bladder and its adjacent structure in *Gobioninae*. Nati Insti Zool Bot, 1940, 2: 77
- 4 陈湘雅, 等. 鲤科的科下类群及其宗系发生关系. 动物分类学报, 1984, 16: 424
- 5 何舜平. 鳅鱼类鳔囊结构及其系统发育研究. 动物分类学报,

- 1991, 16: 490
- 6 何舜平. 鳅鲇鱼类系统发育和生物地理学分析. 动物分类学报, 1998, 23 (增刊): 41
- 7 周续亮, 等. 蝾科蝾亚科线粒 12S rRNA 基因序列分析及其系统发育. 遗传学报, 2000, 27(4): 283
- 8 Hillis D M, et al. Molecular Systematics. 2nd ed. Sinauer Association, Massachusetts, USA, 1996
- 9 Meyer A. Evolution of mitochondrial DNA in fishes. In: Biochemistry and Molecular Biology of Fishes, Amsterdam. Elsevier Science Publishers, 1993. 1~38
- 10 Saccone C, et al. Structural elements highly preserved during the evolution of the d-loop-containing region in vertebrate mitochondrial DNA. J Mol, 1987, 26: 205
- 11 Auseul FM. Short Protocols in Molecular Biology. 2nd edition, New York: John Wiley & Sons, 1992

卫星重力学研讨会在武汉召开

卫星重力学是继全球定位系统(GPS)之后大地测量学的又一重大进展,也是今后大地测量和地球物理的热点和前沿.卫星重力学不仅有广泛而重要的地球科学应用,而且对国防基础建设有重要意义.为了迎接这一机遇和挑战,促进我国卫星重力学研究及其在地学中的应用,国家自然科学基金委员会地球科学部于2001年8月23日在武汉中国科学院测量与地球物理研究所召开了“卫星重力学”研讨会.中国科学院院士许厚泽、中国工程院院士宁津生、魏子卿出席会议.来自国内主要从事地球重力学研究的30多位代表参加了研讨会.本次会议内容主要包括4个方面:重力卫星资料处理;重力场反演的理论和方法;卫星重力的地学研究应用;我国的研究对策.

与会代表就卫星重力学的有关科学问题及我国的研究对策展开了充分的讨论,认为:

卫星重力学是继GPS之后,大地测量学研究的又一重大科学进展.利用卫星重力资料将使确定地球重力场和大地水准面的精度提高一个数量级以上,还可测定高精度的时变重力场.因此,对研究地球的形状及演化及其动力学机制、地球参考系及全球高程系统、地球的密度及地幔物性参数、洋流和海平面变化、冰融和陆地水变化、地球各圈层的变化及相互作用等,有其他地球物理方法不可替代的作用.作为地球物理场之一,高精度的时变重力场将是研究全球变化中物质运动的重要手段.高精度的地球重力场的确定还有重要的实用价值:卫星重力可大大改变我国西部重力稀疏和低精度的状况;高精度的地球重力场信息能大大提高远程武器的命中率;独立自主的重力场研究可确保我国在航天领域需求.“九五”和“十五”期间全面发展卫星测高和卫星重力技术已列入有关计划中.

根据我国卫星重力学研究的现状和与先进国家水平的差距,应打好基础,确定有限目标和切入点,全国同行协作,在以下几方面重点开展工作:

(1) CHAMP 卫星高低卫跟踪反演地球重力场的研究

1) 利用 CHAMP 卫星资料解算低阶重力场系数、研究资料处理中的算法、非适定性问题等,编制相应的模拟和实测资料分析软件;用实测资料解算低阶重力场系数(36阶)及其变化.

2) CHAMP 卫星高低跟踪模式对重力场系数解算精度的影响.

(2) GRACE 卫星低低卫跟踪反演地球重力场的模拟解

1) GRACE 卫星低低卫跟踪模型及对重力场系数解算精度的影响.

2) GRACE 卫星解算中长波重力场的数值模拟解(100阶).

(3) 卫星反演重力场的地学应用

1) 海平面变化中海水质量变化和温盐度变化的分离.

2) 大气、海洋和地表水分布的估计和重力场变化的约束.

3) 大地水准面位 W_0 的测定和高程统一,地心变化的确定.

(供稿:于晟)