

# 基于 16S rRNA 部分序列探讨部分鳎亚目鱼类的分子系统进化关系

张源真, 王伟, 姜志强, 张 钊

(大连海洋大学 生命与水产学院 农业部海水增养殖学重点开放实验室, 辽宁 大连 116023)

**摘要:** 通过 PCR 扩增获得了 3 科 5 属 6 种中国黄渤海海域的鳎亚目(Blennoidei)鱼类的线粒体 16S rRNA 基因序列片段约 669bp 碱基, 结合来自 GenBank 的 5 种鳎亚目其他科鱼类的相应基因片段, 并以眼斑雪冰鱼(*Chionodraco rastrospinosus*)为外群, 生成供系统发育分析的序列矩阵, 利用 MEGA 4.0 软件分析序列的碱基组成、差异百分比、转换/颠换值等, 应用最大简约法(MP)和邻接法(NJ)构建系统发育树。结果显示: 在鳎亚目鱼类的 16S rRNA 片段生成的序列矩阵中发现有碱基的插入缺失现象, 共有 207 bp 变异位点, 转换/颠换值为 0.8, 碱基平均差异为 3.36; 支持绵鳎(*Enchelyopus elongates*)归于鳎亚目绵鳎科(Zoarcidae), 繸鳎(*Azuma emmion*)归于鳎亚目线鳎科(Stichaeidae); 方氏云鳎(*Enedrias fangi*)和云鳎(*Enedrias nebulosus*)种间遗传距离只有 0.01, 亲缘关系最近。

**关键词:** 鳎亚目(Blennoidei); 线粒体 DNA; 16S rRNA 基因序列; 系统发育

中图分类号: Q959

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2012)09-0089-07

鳎亚目(Blennoidei)鱼类是鲈形目(Perciformes)中较大的一个亚目, 已有标本和文献资料显示, 中国海区现有鳎亚目鱼类 8 科 33 属 78 种<sup>[1]</sup>, 多为海洋鱼类, 世界性分布。由于其大多体型较小, 所以以鳎亚目鱼类为研究对象的报道相对较少。目前, 国内外对鳎亚目鱼类的研究较少, 大多局限于形态分类学方面<sup>[2-6]</sup>, 对其分类区系、系统发生, 尤其是分子水平的系统发生研究更是鲜有报道。而鱼类亲缘关系等系统发生进化方面的研究是鱼类生物学的一个重要组成部分, 针对鳎亚目鱼类亚目与科之间及属种之间的系统关系仍不明确<sup>[7-9]</sup>, 研究鳎亚目鱼类分子系统进化关系具有重要意义。

线粒体 DNA(mitochondrial DNA, 简称 mtDNA)结构简单, 母性遗传, 进化速度快且不发生重组, 是一种应用较广的分子标记<sup>[10-13]</sup>, 其中一些基因已经被广泛用于系统进化研究<sup>[14-17]</sup>。16S rRNA 的结构既具有保守性区域又具有高变性区域。保守性区域的变异能够反映物种的亲缘关系, 为系统发育重建提供线索; 高变性区域的变异能揭示出生物物种的特征核苷酸序列, 是属种鉴定的分子基础<sup>[18]</sup>。因此基于其在分类分析中的应用, 一般认为 16SrRNA 适用于种以上水平的变异分析<sup>[19]</sup>。作者以线粒体 16S rRNA 基因作为分子标记对鳎亚目的 11 种鱼类的部分序列进行分析, 应用 NJ、MP 等法构建系统发育树, 通过

分析其基因序列变异及种群遗传结构, 以便为鳎亚目物种的分类提供可参考的依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

实验材料为鳎亚目鱼类, 采样地点为以辽宁大连黑石礁附近海域为主的黄渤海海域(表 1), 采集后在 -20℃ 下保存待用。

研究直接测定了黄渤海鳎亚目鱼类共计 3 科 5 属 6 种, 并结合 GenBank 下载其他 5 种鳎亚目 16S rRNA 序列的相应片段, 共计 7 科 10 属 11 种鳎亚目鱼类进行分析, 并以鲈形目南极鱼亚目(Notothenioidei)鳕冰鱼科(Channichthyidae)的眼斑雪冰鱼(*Chionodraco rastrospinosus*)作为外类群, 用于构建系统发育树(表 2)。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 基因组 DNA 的提取

取约 0.05 g 肌肉放入 1.5 mL 的离心管中, 加 400

收稿日期: 2011-09-01; 修回日期: 2011-12-06

资助项目: 辽宁省重大科技公关项目(2008203002); 辽宁省教育厅计划项目(2009A175)

作者简介: 张源真(1986-), 女, 内蒙古呼和浩特人, 硕士研究生, 主要从事鱼类群体遗传学研究, E-mail: lipc@sohu.com; 王伟, 通信作者, E-mail: wangwei@dlo.edu.cn

μL DNA 裂解液, 加入 20 μL 的 10% 的 SDS, 剪碎, 再加 3 μL 蛋白酶 K, 于 55℃ 加热 2 h, 每隔 15 min 轻摇一次, 加入 100 μL 乙酸钾混匀, 静置 30 min, 冷冻离心 10 min (12 000 r/min, 4 °C), 将上清液吸入

另一个管中, 加 1 mL 100% 冰乙醇, 4 °C 或者 -20 °C 放 1 h, 冷冻离心, 将沉淀用 4 °C 下 70 % 冰乙醇洗涤 2 次 (一次加 200 μL), 室温干燥 30 min, 加 TE 或双蒸水 (dd H<sub>2</sub>O) 50 mL 溶解, 冰箱保存备用。

表 1 鳎亚目鱼类采样地及采样和测序数量

Tab. 1 Locality and numbers of Blennioidei

种类名称	采样地	采样数量 (条)	测序数量 (条)	经度	纬度
继鳎 ( <i>Azuma emmion</i> )	大连黑石礁	10	6	38°55'N	121°36'E
方氏云鳎 ( <i>Enedrias fangi</i> )	大连黑石礁	10	6	38°55'N	121°36'E
云鳎 ( <i>Enedrias nebulosus</i> )	大连黑石礁	10	7	38°55'N	121°36'E
绵鳎 ( <i>Enchelyopus elongates</i> )	大连黑石礁	6	5	38°55'N	121°36'E
鸡冠鳎 ( <i>Alectrias benjamini</i> )	大连黑石礁	3	2	38°55'N	121°36'E
六线鳎 ( <i>Ernogrammus hexagrammus</i> )	大连黑石礁	2	2	38°55'N	121°36'E

表 2 实验所选用的鳎亚目鱼类 16SrRNA 基因信息

Tab. 2 Information for 16SrRNA genes of Blennioidei

组别	物种	分类地位	GenBank 序列号
GP1	继鳎	鲈型目-鳎亚目-锦鳎科(Pholidae)-继鳎属( <i>Azuma</i> )	本研究
GP2	方氏云鳎	鲈型目-鳎亚目-锦鳎科-云鳎属( <i>Enedrias</i> )	本研究
GP3	云鳎	鲈型目-鳎亚目-锦鳎科-云鳎属	本研究
GP4	绵鳎	鲈型目-鳎亚目-绵鳎科-绵鳎属( <i>Enchelyopus</i> )	本研究
GP5	鸡冠鳎	鲈型目-鳎亚目-线鳎科(Stichaeidae)-鸡冠鳎属( <i>Alectrias</i> )	本研究
GP6	六线鳎	鲈型目-鳎亚目-线鳎科-六线鳎属( <i>Ernogrammus</i> )	本研究
GP7	毛鳎 ( <i>Labrisomus nuchipinnis</i> )	鲈型目-鳎亚目-矾鳎科(Clinidae)-脂鳎属( <i>Labrisomus</i> )	AY098848、 AY098850
GP8	花体草鳎 ( <i>Clinus venustris</i> )	鲈型目-鳎亚目-矾鳎科-草鳎属( <i>Clinus</i> )	HQ158866、 HQ158867
GP9	三鳍鳎 ( <i>Tripterygion delaisi</i> )	鲈型目-鳎亚目-三鳍鳎科 (Tripterygiidae)-三鳍鳎属 ( <i>Tripterygion</i> )	AY098849、 AY098850
GP10	黄喉烟管鳎 ( <i>Chaenopsis alepidota</i> )	鲈型目-鳎亚目-旗鳎科 (Chaenopsidae)-烟管鳎属 ( <i>Chaenopsis</i> )	DQ532850、 AY820740
GP11	鲍乔无眉鳎 ( <i>Lipophrys bauchotae</i> )	鲈型目-鳎亚目-鳎科(Blennoidei)-无眉鳎属( <i>Lipophrys</i> )	HM751968、 HM751970
外群	眼斑雪冰鱼 ( <i>Chionodraco rastrospinosus</i> )	鲈型目-南极鱼亚目-鳕冰鱼科-雪冰鱼属( <i>Chionodraco</i> )	U12264

### 1.2.2 线粒体 16SrRNA 基因片段扩增

用于 PCR 扩增的引物为自行设计的 16SAR(5'-TTAGTTTGGTGTCCCGAA-3')和 16SBR (5'-GCAAGAGGCGATGTTTTT-3'), 由上海生物工程公司合成。PCR 反应体系总体积为 25 μL, 包括 2.0 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mmol/L dNTP, 0.2 μmol/L 每种引物, 1 U *Taq* DNA 聚合酶(TAKARA), 1×*Taq* 聚合酶缓冲液以及 50 ng 基因组 DNA。PCR 反应程序为: 95 预变性 3 min; 94 变性 30 s, 56 退火 45 s, 72 延伸 1 min, 共计 35 个循环; 最后 72 延伸 10

min。扩增产物经琼脂糖凝胶回收纯化, 送至上海生物工程公司进行测序。

### 1.3 数据分析

用 DNASTAR 和 ClustalX1.8 软件分析已比对验证过的鳎亚目 16SrRNA 基因序列<sup>[20]</sup>, 用 MEGA 4.0 中的 P-Distance 模型计算种内和种间遗传距离<sup>[21]</sup>, 采用邻接法 (neighbour-joining, NJ)、最大简约法 (maximum parsimony, MP) 构建进化系统树, 系统树各分支的置信度采用重抽样法 (bootstrap), 通过

1 000 次循环评估系统树的可靠性。用 DNA sp 5.10 统计单倍型<sup>[22]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 鳎亚目鱼类 16SrRNA 基因碱基组成

研究所用引物位于 16S 基因 5'端, 扩增片段长度范围为 651 ~ 674 bp, 平均 669 bp。将实验获得序列连同 GenBank 下载序列一并比对, 比对后序列同源长度为 578bp(含插入缺失位点)。分析结果表明, 38 个个体共存在 31 个单倍型, 单倍型变异指数为 0.0000 ~ 1.0000(平均 0.6259), 核苷酸多样性为 0.0000 ~ 0.04349(平均 0.0091); 11 个物种中 45.45% 的物种存在碱基插入和缺失现象, 共存在 27 个插入缺失位点, 其中, 方氏云鳎插入缺失现象最严重, 插

入缺失位点数为 12 个; 多态性位点共计 113 个, 平均每个物种的多态性位点数为 10 个, 其中鳎的多态性位点数最多(52)(表 3)。38 条鳎亚目鱼类 16S rRNA 序列的平均碱基组成分别为 T: 23.10%、C: 24.80%、A: 30.50%、G: 21.70%, 其中, A+T 含量(53.60%)明显高于 G+C 含量(46.40%), 碱基组成表现出明显的偏倚性。3 个密码子 GC 含量差异较大(表 4), 其中第 2 密码子 GC 平均含量最高, 达 51.50%; 第 3 位密码子次之, 平均为 45.70%, 第 1 密码子最小, 平均仅为 42.20%。表 5 列出了 16S rRNA 序列的核苷酸变异情况。在 578 个位点中, 不变位点有 371 个, 第 1、2、3 密码子的不变位点相当, 分别为 120、127 和 123 个; 第 3 密码子位点上的转换频率最高, 为 15.88%; 第 1 密码子位点上的颠换频率最高, 为 18.44%。

表 3 11 种鳎亚目鱼类 16SrRNA 基因序列特征

Tab. 3 Characteristics of 16SrRNA sequences from 11 species of *Blennoidei*

组别	样品数量 (条)	单倍型数量 (条)	单倍型变异	核苷酸多样性	插入缺失位点数	多态性位点数
GP1	6	5	0.933	0.0435	4	52
GP2	6	6	1.000	0.0068	12	11
GP3	7	6	0.952	0.0151	3	19
GP4	5	5	1.000	0.0162	4	19
GP5	2	2	1.000	0.0164	4	11
GP6	2	1	1.000	0.0000	0	0
GP7	2	1	0.000	0.0000	0	0
GP8	2	1	0.000	0.0000	0	0
GP9	2	1	0.000	0.0000	0	0
GP10	2	2	1.000	0.0020	0	1
GP11	2	1	0.000	0.0000	0	0
平均	-	-	0.626	0.0091	2	10

表 4 11 种鳎亚目鱼类 16SrRNA 基因部分序列碱基平均分布概率(%)

Tab. 4 Average nucleotide frequencies of 16SrRNA partial sequences of 11 *Blennoidei* (%)

碱基	总频率	密码子第 1 位点	密码子第 2 位点	密码子第 3 位点
T	23.1	23.3	20.0	25.9
C	24.8	20.2	26.8	27.5
A	30.5	34.5	28.5	28.4
G	21.7	22.0	24.7	18.2

表 5 11 种鳎亚目鱼类 38 个个体的 16SrRNA 部分序列密码子变异情况

Tab. 5 Sequence variation of 16SrRNA gene of 11 *Blennoidei* species

密码子	不变位点(ii)	转换位点(si)	颠换位点(sv)	$R = si/sv$
总数	371	77	93	0.8
第一密码子	120	26	33	0.8
第二密码子	127	24	30	0.8
第三密码子	123	27	30	0.9

## 2.2 种内及种间遗传距离

应用 MEGA 4.0 中 P-Distance 模型计算 38 条鳎亚目鱼类 16S rRNA 基因序列的种内和种间的遗传距离(表 6)。11 个物种的种内平均遗传距离为 0.0064,

81.82%的种内遗传距离为 0.0000。其中, 缙鳎种内遗传距离最大(0.05)。11 个物种的种间平均遗传距离为 0.7236, 是种内遗传距离的 113.06 倍。其中, 同属于锦鳎科的方氏云鳎与云鳎之间的种间遗传距离最小(0.010)。

表 6 11 种鳎亚目鱼类的种间及种内遗传距离

Tab. 6 Genetic distance within-species and between 11 Blennoidei species

物种	11 种鳎亚目鱼类的种间及种内遗传距离											种内遗传距离	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
GP1	***												0.05
GP2	0.06	***											0.00
GP3	0.06	0.01	***										0.01
GP4	0.10	0.11	0.11	***									0.00
GP5	0.06	0.08	0.08	0.10	***								0.00
GP6	0.60	0.59	0.59	0.59	0.60	***							0.00
GP7	0.59	0.59	0.59	0.60	0.60	0.18	***						0.00
GP8	0.59	0.58	0.59	0.60	0.60	0.16	0.19	***					0.00
GP9	0.60	0.59	0.59	0.60	0.59	0.18	0.18	0.19	***				0.00
GP10	0.59	0.58	0.58	0.59	0.59	0.15	0.19	0.16	0.20	***			0.00
GP11	0.58	0.58	0.58	0.59	0.59	0.16	0.17	0.17	0.19	0.19	***		0.00

## 2.3 鳎亚目鱼类分类及系统发育关系

基于鳎亚目鱼类的 16S rRNA 部分序列片段, 以眼斑雪冰鱼为外类群对鳎亚目进行系统发育分析。应用 MP 和邻接分析法(NJ)法构建了分子系统发育关系树(图 1)。用 1000 次 Bootstrap(BP)表示统计分析后对该支的支持百分数, 其数值标于树分支的上面。采用 MP 法将鳎亚目鱼类分成两个类群, 其中方氏云鳎、云鳎、缙鳎、鸡冠鳎、绵鳎和与 Genebank 下载的云鳎(FJ687233 *Enedrias nebulosus*)聚为一群(I), 花体草鳎、毛鳎、六线鳎、三鳍鳎、鲍乔无眉鳎和黄喉烟管鳎聚为另一群(II)。第一类群中绵鳎位于进化树的基部, 其他 4 种鱼分为两支, 其中方氏云鳎、云鳎和 Genebank 下载的云鳎聚在一起, 缙鳎和鸡冠鳎聚在一起。另一类群中花体草鳎位于系统树的基部, 而毛鳎和黄喉烟管鳎聚在一起为一独立分支, 鲍乔无眉鳎、六线鳎和三鳍鳎为另一分支, 其中六线鳎与三鳍鳎又聚在一起。邻接分析法所得系统树与 MP 树的拓扑结构略有差异(图 1)。NJ 树同样以极高的置信度值(100%) 将鳎亚目鱼类分成两个类群, 不同的是第一分支明显分为两支, 云鳎和方氏云鳎聚在一起分支, 绵鳎、鸡冠鳎和缙鳎聚在一起。黄喉烟管鳎位于第二分支的基部。

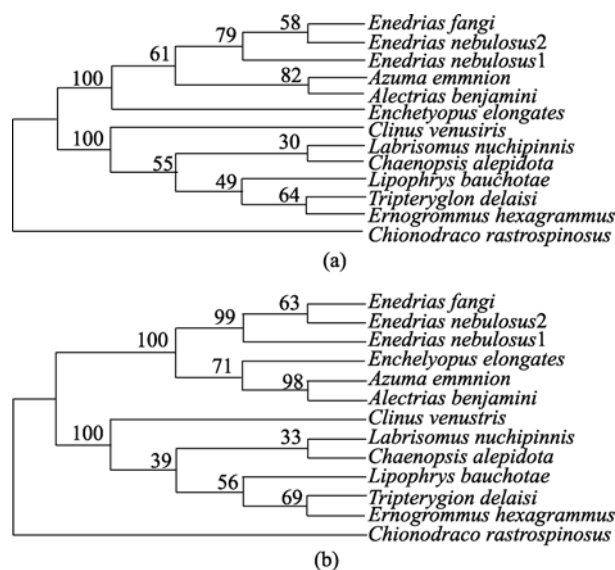


图 1 MP 法(a)、NJ 法(b)构建鳎亚目鱼类系统发育树  
Fig. 1 MP (a) and NJ (b) tree based on the analysis of 16SrRNA genes from 11 Blennoidei species

## 3 讨论

### 3.1 鳎亚目鱼类线粒体 16SrRNA 基因结构特征

本研究扩增了 6 种鳎亚目鱼类的 16S rRNA 基

因片段序列,其中六线鳎,方氏云鳎和云鳎在 GenBank 中已有记录,与其对应物种进行相似性检验发现,二者相似性均在 95% 以上,说明同源性较高,适合做下一步的分析。基于 16S rRNA 序列计算得到的转换颠换比( $S_i/S_v$ )小于 2.0, Knight<sup>[23]</sup>认为该比例小于 2.0 则说明突变已经达到饱和状态,受进化噪音影响的可能性较大,在生物的进化过程中,转换较颠换更易发生,因此本研究得到的数据间接说明了鳎亚目鱼类之间维持着一定的遗传变异水平。本研究得到的鳎亚目鱼类 16S rRNA 基因片段存在 AT 偏倚现象,在碱基组成中, A+T 含量明显高于 G+C,这一结果与其他研究者在无脊椎动物和鱼类等得到的结果相吻合<sup>[24-26]</sup>。此外,本研究得到的鳎亚目鱼类 16S rRNA 基因存在碱基插入缺失现象,这种现象在脊椎动物中较为常见,郑文娟<sup>[27]</sup>等认为鲽科鱼类 16SrRNA 基因存在着碱基插入缺失现象。

### 3.2 鳎亚目鱼类分类关系的探讨

从表 3~表 6 可见,利用 16S rRNA 基因序列对中国黄渤海海域的 6 种鳎亚目鱼类的碱基差异进行比较,发现方氏云鳎与云鳎的碱基差异非常小,种间遗传距离仅为 0.01,这说明方氏云鳎和云鳎亲缘关系很近,而六线鳎与其他 5 种鱼的碱基差异比较大,亲缘关系较远。由图 1 可见,中国黄渤海海域的 5 种鱼类在分类地位上较 Genebank 下载的关系较远。但是从图 1 可以看出,六线鳎与 Genebank 中的三鳍鳎聚为一支,推测它们可能具有较近的亲缘关系。从进化树的结果来看,与传统形态学分类结果大致一致。李明德<sup>[7-8]</sup>等以鳎亚目鱼类为研究对象,根据形态学特征将鳎亚目鱼类共分为两个亚目,其中将锦鳎科、绵鳎科和线鳎科归为绵鳎亚目,三鳍鳎科、鳎科和矶鳎科归为鳎亚目,将缙鳎归为锦鳎科;刘静<sup>[1]</sup>等从鳎亚目地理分布角度进行研究,得到与李明德不一致的结论,其将锦鳎科、绵鳎科和线鳎科归为鳎亚目,将缙鳎归为线鳎科;刘禅馨<sup>[9]</sup>等对鳎亚目鱼类的形态学研究,其将锦鳎科和线鳎科归为鳎亚目,绵鳎科归为绵鳎亚目,将缙鳎归为线鳎科,绵鳎归为绵鳎科。而本研究中,线鳎科的六线鳎与鳎科、矶鳎科及三鳍鳎科的鱼聚为一支,缙鳎和鸡冠鳎聚在一起,支持刘静<sup>[1]</sup>和刘禅馨<sup>[9]</sup>的分类结果;绵鳎与缙鳎、鸡冠鳎聚为一支,支持刘静<sup>[1]</sup>等将绵鳎划归至鳎亚目的结果。本研究结果还显示方氏云鳎、云鳎、六线鳎和三鳍鳎处于系统进

化树的顶端,代表着最新演化的种类。此外,从形态学上六线鳎与鸡冠鳎同属线鳎科,而系统发育树的结果显示鸡冠鳎与缙鳎聚在一起,可以认为可能属于同一科,六线鳎与三鳍鳎聚在一起,可能属于同一科,这与传统的形态学分类结果有一定出入。有分子系统学家认为,当所分析的序列长度一定时,尽量选择较多的分类群有助于获得更准确的结论<sup>[28-29]</sup>,由于本研究的物种类别及数量有限,因此关于六线鳎和鸡冠鳎的分类地位和亲缘关系等还有待于进一步研究论证。在研究鳎亚目时对比 MP、NJ 两种不同的系统发育方法发现,MP 树中绵鳎和黄喉烟管鳎所处的位置与在 NJ 树中的不一致,推测原因可能是以 NJ 法为代表的距离法可以使种间的进化距离在度量树中得到直观的体现,但由于无法避免将性状数据转化为距离时的信息丢失;而最大简约法(MP)可以解决空位问题,对进化过程假设较少,但其基于最小进化原则的合理性仍存在争议<sup>[30]</sup>。

### 3.3 方氏云鳎和云鳎的分类地位

方氏云鳎和云鳎同属于鳎亚目,锦鳎科,云鳎属。云鳎属主要形态特征是体侧扁而延长,似带状,被鳞;口小,斜裂。上下颌及犁骨齿细小;颞骨无齿;鳃盖膜宽而相连,与峡部分离,被圆鳞,细小,无侧线。背鳍低而延长,均由鳍棘组成,始于头后;臀鳍亦延长,前方有二鳍棘,胸鳍短圆,腹鳍短小,喉位,具一鳍棘及一鳍条,尾鳍短圆,无后匙骨;躯干部脊椎骨横突合成脉弧,无幽门盲囊<sup>[31]</sup>。在传统形态学分类中,云鳎与方氏云鳎这 2 个种的主要特征很接近,唯有头长与胸鳍长的比例有些差别(头长为胸鳍长的两倍以上者为云鳎,1.5 倍左右者为方氏云鳎),所以一般在形态上很难准确区分两者。为了更好地探讨云鳎和方氏云鳎的亲缘关系,构建了 16SrRNA 的系统进化树。从分子水平看,本研究得到的方氏云鳎和云鳎的种间遗传距离最小(仅为 0.01),NJ 和 MP 树中显示,方氏云鳎和云鳎二者聚在一起,表示两者亲缘关系较近。有些学者则认为在进行物种系统进化研究时,由于一些变异不能及时积累,导致较保守的基因不适用于分析一些进化年龄较短、分化速度快的物种间的亲缘关系<sup>[32-33]</sup>,而且单个基因能提供的信息往往较为有限<sup>[34]</sup>。因此说明 16S rRNA 基因可能更适合科水平及以上分类阶元的系统发育研究,不适于种水平间的研究。若要更好地阐明鳎亚目鱼类系统进化问题,还需更大范围地采集更多种类及更

大数量的样本进行进一步验证; 同时应采用进化速率不同的多个基因(包括线粒体和细胞核基因)对鳎亚目进行研究, 以保证结论的可靠性。基于此, 鳎亚目鱼类系统进化关系仍需进一步深入研究。

## 参考文献:

- [1] 刘静, 田明诚. 中国鳎亚目鱼类地理分布和区系特征[J]. 海洋科学集刊, 2006, 47: 158-168.
- [2] 毕远溥. 方氏云鳎渔业生物学及其在辽宁沿海的渔业[J]. 水产科学, 2005, 24(9): 27-28.
- [3] 姜志强, 孟庆金, 苗治欧. 大连地区方氏云鳎繁殖生物学的研究[J]. 大连水产学院学报, 1997, 12(3): 1-6.
- [4] 姜志强, 秦克静. 大连地区方氏云鳎的年龄和生长[J]. 大连水产学院学报, 1990, 5(1): 33-41.
- [5] Domingues V S, Almada V S, Santos R S, et al. Phylogeography and evolution of the triple Wn *Tripterygion delaisi* (Pisces, Blennioidei)[J]. Marine Biology, 2007, 150(3): 509-519.
- [6] Akihiko Yatsu. Phylogeny of the family pholididae (Blennioidei) with a redescription of *Pholis scopoli* I[J]. Japanese Journal of Ichthyology, 1985, 32: 273-282.
- [7] 李明德, 罗阳, 郭斌. 中国鱼类名录 - 鳎亚目、鱼衔亚目、喉盘鱼亚目、鰕虎鱼亚目、微体鱼亚目、刺尾鱼亚目、带鱼亚目、鲭亚目、鲟亚目、金枪鱼亚目、攀鲈亚目、刺鲀亚目[J]. 海洋通报, 2003, 10(5): 64-70.
- [8] 李明德, 罗阳, 郭斌. 中国鱼类名录 XI—隆头鱼亚目、尤厖鱼亚目、绵鳎亚目、玉筋鱼亚目[J]. 海洋通报, 2003, 10(4): 64-70.
- [9] 刘禅馨, 秦克静. 辽宁动物志[M]. 辽宁: 辽宁科学技术出版社, 1987. 295-307.
- [10] Avise J C, Arnold J, Ball R M, et al. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial bridge between population genetics and systematics[J]. Annu Rev Ecol Syst, 1987, 18: 489-522.
- [11] Brown W M. Evolution of animal mitochondrial DNA [M]. Mass: Sinacer Associates, 1983: 62-68.
- [12] Wilson A C, Cann R L, Carr S M, et al. Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics[J]. Biol J Linn Soc, 1985, 26: 375-400.
- [13] Harrison R G. Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology[J]. Trends Ecol Evol, 1989, 4: 6-11.
- [14] Pondella D J, Craig M T, Frank J P. The phylogeny of *Paralabrax* and allied taxa inferred from partial 16S and 12S mitochondrial ribosomal DNA sequences[J]. Mol Phylogenet Evol, 2003, 29(1): 176-184.
- [15] Near T J, Pesavento J J, Cheng C H. Mitochondrial DNA, morphology, and the phylogenetic relationships of Antarctic icefishes[J]. Mol Phylogenet Evol, 2003, 28(1): 87-89.
- [16] Clements K D, Gray R D, Howard C J. Rapid evolutionary divergences in reef fishes of the family Acanthuridae[J]. Mol Phylogenet Evol, 2003, 26(2): 190-201.
- [17] 任岗. 12 种石鲈科鱼类线粒体 16SrRNA 基因的部分序列分析[J]. 热带海洋学报, 2007, 26(3): 48-52.
- [18] 江世贵, 张殿昌, 吕俊霖, 等. 3 种野鲮亚科鱼类 16S rRNA 基因序列分析[J]. 南方水产, 2005, 3(1): 1-5.
- [19] 蒙子宁. 黄海带鱼、小带鱼 RAPD 和线粒体 16SrRNA 基因序列变异分析[J]. 自然科学进展, 2003, 11(13): 1170-1178.
- [20] Hebert P D N, Cywinska A, Ball S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes[J]. Proc R Soc Lond B, 2003a, 270: 313-322.
- [21] Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment[J]. Briefings in Bioinformatics, 2004, 5: 150-163.
- [22] Rozas J, Sánchez-DelBarrio J C, Messeguer X. DnaSP DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods[J]. Bioinformatics, 2003, 19: 2496-2497.
- [23] Knight A, Mindell D P. Substitutions bias, weighting of DNA sequence evolution, and the phylogenetic positions of fea's viper[J]. Syst Biol, 1993, 42(1): 18-31.
- [24] Gao T, Zhang X, Chen D, et al. Study on mitochondrial DNA cytochrome b gene of Chinese sea bass, *Lateolabrax* sp.[J]. Journal of Ocean University of Qingdao, 2001, 31(2): 185-189.
- [25] 高天翔, 张秀梅, 朱杰, 等. 养殖牙鲆细胞色素 b 基因序列的初步研究[J]. 中国水产科学, 2003, 10(2): 93-96.
- [26] 马春艳, 赵峰, 孟彦羽, 等. 基于线粒体细胞色素 b 基因片段序列变异探讨 3 种鲷属鱼类系统进化[J]. 渔业科学进展, 2009, 30(5): 144-150.
- [27] 郑文娟, 朱世华, 邹记兴, 等. 基于 16S rRNA 部分序列探讨 12 种鲷科鱼类的分子系统进化关系[J]. 水产学报, 2008, 32(6): 847-854.

- [28] Pollock D D, Zwickl D J, McGuire J A, et al. Increased taxon sampling is advantageous for phylogenetic inference [J]. *Systematic Biol*, 2002, 51(4): 664-671.
- [29] Derrick J, Hillis D M. Increased taxon sampling greatly reduces phylogenetic error[J]. *Systematic Biol*, 2002, 51(4): 588-598.
- [30] 丁少雄, 王颖汇, 王军. 基于 16S rDNA 部分序列探讨中国近海 30 种石斑鱼类的分子系统进化关系[J]. *动物学报*, 2006, 52(3): 505-513.
- [31] Shaklee J B, Tamaru C S, Waples R S. Speciation and evolution of marine fishes studied by the electrophoretic analysis of proteins[J]. *Pacific Science*, 1982, 36(2): 141-157 .
- [32] Wang H Y, Tsai M P, Dean J, et al. Molecular phylogeny of Gobioid fishes (Perciformes: Gobioidae) based on mitochondrial 12S rRNA sequences[J]. *Mol Phylog Evol*, 2001, 20(3): 390-408.
- [33] Summerer M, Hanel R, Sturmbauer C. Mitochondrial phylogeny and biogeographic affinities of sea breams of the genus *Diplodus*(Sparidae)[J]. *J Fish Biol*, 2001, 59: 1638-1652.
- [34] Cao Y, Sorenson M D, Kumazawa Y, et al. Phylogenetic position of turtles among amniotes: Evidence from mitochondrial and nuclear genes[J]. *Gene*, 2000, 259: 139-148.

## Molecular phylogenetic relationship of blennioidei based on partial sequence of mitochondrial 16S ribosomal RNA gene

ZHANG Yuan-zhen, WANG Wei, JIANG Zhi-qiang, ZHANG Zhao

(Key Laboratory of Marine Aquaculture, College of Fisheries and Life Science, Ministry of Agriculture, Dalian Ocean University, Dalian 116023, Liaoning)

**Received:** Sep., 01, 2011

**Key words:** Blennioidei; mitochondrial DNA (mtDNA); 16S ribosomal RNA (16S rRNA); molecular phylogeny

**Abstract:** The 16S ribosomal RNA partial sequences of 6 species within 5 genera from Blennioidei in China yellow and bohai seas were amplified using PCR technique. Approximately, 669 bp gene fragments were obtained. These data were combined with other homologous sequences of 5 species from Blennioidei, which were downloaded from the GenBank. *Chionodraco rastrispinosus* were designed as outgroup. Nucleotide composition frequencies, P-Distance genetic distance and transition/transversion ratios were analyzed with MEGA 4.0 software. Molecular phylogenetic trees were constructed by the maximum parsimony (MP) and neighborjoining (NJ) methods. There were insertions and deletions in the aligned base pairs. Two hundred and seven bp variable sites were found in the analysis matrix. The average ts/tv ratio and average percentage divergence among all pairwise comparisons were 0.8 and 3.36, respectively. According to the partial sequence of mitochondrial 16S ribosomal RNA gene, the classification system of Blennioidei was acceptable, which is classified as Pholidae, Zoarcidae, Stichaeidae, Clinidae, Blenniidae, Chaenopsidae and Tripterygiidae. *Enedrias fangi* and *Enedrias nebulosus* had a close relationship, as the genetic distance between the two species of partial 16S ribosomal RNA gene was only 0.01.

(本文编辑: 谭雪静)