

# 基于线粒体 CO1 基因的 DNA 条形码在石首鱼科 (Sciaenidae) 鱼类系统分类中的应用\*

柳淑芳<sup>1</sup> 陈亮亮<sup>2</sup> 戴芳群<sup>1</sup> 庄志猛<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 山东省渔业资源与生态环境重点实验室 青岛 266071;

2. 中国科学院遗传与发育生物学研究所 北京 100101)

**提要** 采用 CO1 基因特异扩增测序及与 GenBank 已有序列联配分析的方法, 进行了石首鱼科 19 属 30 种鱼类 75 个 CO1 基因片段的序列比较和系统进化研究, 结果表明, 石首鱼科鱼类该片的平均 GC 含量为 48.3%, 其中第 2 密码子位点含量最高(51%—58.4%, 平均 56.6%), 第 1 密码子变化范围最大(27.6%—54.1%, 平均 44.9%), 第 3 密码子差别较小(41.6%—43.6%, 平均 42.7%)。依据 Kimura-2-parameter 模型, 30 种石首鱼科鱼类种内遗传距离平均值为 0.006, 种间为 0.210, 种间遗传距离是种内的 35 倍; 在分子系统树上, 28 个种(93.3%)可形成单系, 18 个属(94.7%)可聚为独立的分支; 与形态学分类不同的是, 由黑鳃梅童鱼(*Collichthys lucidus*)与棘头梅童鱼(*C. niveatus*)的遗传距离(0.004)推断二者遗传变异尚未达到种的分化水平, 灰鳍彭纳石首鱼(*Pennahia anea*)与白姑鱼(*Argyrosomus argentatus*)的形态学特征相似性和条形码序列同源性都提示二者可能为同种异名, 而红牙鲷(*Otolithes ruber*)印度洋和南海两个地理群体间的遗传分化已经达到种的水平。本研究证明线粒体 CO1 基因可作为 DNA 条形码对石首鱼科鱼类进行有效的物种鉴定, 亦可用于探讨石首鱼科的属、种分类单元系统发育问题。

**关键词** 石首鱼科, CO1 基因, DNA 条形码, 分子系统分类  
**中图分类号** Q953

海洋生物分类和物种快速鉴定是海洋生物多样性保护研究的重要内容。由于形态学鉴定的局限性和传统分类学家队伍的持续缩减, 海洋生物分类学的发展面临着几近沉寂的尴尬。近年来, 随着分子生物学技术和基于因特网的生物信息学技术的发展和运用, 产生了 DNA 分类学(DNA Taxonomy)和 DNA 条形码(DNA barcodes) (Tautz *et al*, 2002, 2003; Hebert *et al*, 2003a), 使海洋生物分类学再现勃勃生机, 基于 DNA 条形码(DNA Barcoding)的分子分类系统克服了传统的形态学分类存在的缺陷, 已成为生物分类学研究中引人注目的新方向和研究热点。线粒体 DNA 的 CO1 基因拥有长度适宜、进化速率慢及富含

系统发育信号等特点, 且大多数动物的 CO1 基因能被通用引物所扩增, 因此, 动物界物种鉴定通常选择 CO1 基因作为条形码(Hebert *et al*, 2003b; Vences *et al*, 2005; Ward *et al*, 2005; Witt *et al*, 2006)。

隶属于硬骨鱼纲(Osteichthyes)、辐鳍亚纲(Subclass Neopterygii)、鲈形目(Perciformes)、鲈亚目(Percoidei)的石首鱼科(Sciaenidae)是鲈形目中属种最多的科之一, 据记载, 世界范围内共有 50 个属 210 余种, 多数生活于热带和亚热带沿海泥沙底质及河口邻近水域, 具有明显的种属地理分布局限性; 我国近海石首鱼科种类颇多, 有 17 个属 30 种, 居世界首位(孟庆闻等, 1995)。很多石首鱼类具有重要经济价值,

\* 国家自然科学基金资助项目, 40776097 号; 山东省泰山学者工程专项资助, 2009.03—2014.02。柳淑芳, 副研究员, E-mail: liusf@ysfri.ac.cn

通讯作者: 庄志猛, 研究员, E-mail: zhuangzm@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2009-07-29, 收修改稿日期: 2009-09-23

如分布于大西洋沿岸水域的眼斑拟石首鱼(*Sciaenops ocellatus*)、犬牙石首鱼(*Cynoscion regalis*) (Graves *et al.*, 1992; Seyoum *et al.*, 2000)。而在我国沿海, 大黄鱼和小黄鱼曾一度占据我国“四大渔业”中的半壁江山, 其它种类如鲞鱼、黄姑鱼、白姑鱼和叫姑鱼等也都是重要的海洋经济鱼类(刘效舜, 1990)。

我国老一辈鱼类学家曾根据鳔和耳石等形态特征对石首鱼科鱼类的分类和系统进化进行了较为详细的研究(朱元鼎等, 1963a, b; 成庆泰等, 1987; 孟庆闻等, 1995), 但对于近缘类群以及部分种、属界限难以确定, 以外部形态可数性状建立的分类系统迄今仍有争议(Mohan, 1981; Menezes *et al.*, 1993), 因此有必要采用新的技术和方法探讨石首鱼类系统分类。目前国内外虽有少数石首鱼类分子系统学研究, 但所涉及种、属数量颇为有限(蒙子宁等, 2004; Chen *et al.*, 2004; Cui *et al.*, 2009; Lakra *et al.*, 2009), 更缺乏线粒体 CO1 基因的研究结果。本项研究系统分析了 19 属 30 种石首鱼科鱼类的线粒体 CO1 基因, 通过比较该基因序列在种内和种间的差异, 一方面, 验证 CO1 基因在海洋鱼类条形码识别技术中的适用性; 另一方面, 剖析 CO1 基因在石首鱼科鱼类系统进化研究中的应用潜力。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集及 DNA 提取

本研究使用的小黄鱼、黑姑鱼、棘头梅童鱼、黑鳃梅童鱼、鲞鱼和白姑鱼等 5 属 6 种石首鱼科鱼类共计 23 个个体, 均来自中国水产科学研究院黄海水产研究所海洋渔业生物资源样本库, 各取背部肌肉组织样品浸泡于 95% 乙醇, -20℃ 保存备用。

参考《分子克隆实验指南》的酚/氯仿抽提法(Sambrook *et al.*, 1989), 提取并纯化总 DNA, -20℃ 保存备用。

### 1.2 引物设计、PCR 及序列测定

引物设计参照 Ward 等(2005), 由上海生工合成, 引物序列为: F1 :TCA ACC AAC CAC AAA GAC ATT GGC AC; F2 : TCG ACT AAT CAT AAA GAT ATC GGC AC; R1 : TAG ACT TCT GGG TGG CCA AAG AAT CA; R2 : ACT TCA GGG TGA CCG AAG AAT CAG AA。引物稀释浓度为 25 $\mu$ mol/L, F1 与 F2 等体积混匀, R1 与 R2 等体积混匀, -20℃ 保存备用。

PCR 反应总体积为 25 $\mu$ l, 10 $\times$  缓冲液成分为 100mmol/L Tris.Cl (pH 8.0)、500mmol/L KCl、

15mmol/L MgCl<sub>2</sub>、0.1% 明胶, dNTPs 终浓度为 200  $\mu$  mol/L, 各引物终浓度为 1.0 $\mu$ mol/L, 0.125U *Taq*, 总 DNA 的量为 50ng。采用升式 PCR, 反应程序为: 94 3min; 94 30s, 53 30s, 72 40s, 8 个循环; 94 30s, 54 30s, 72 40s, 8 个循环; 94 30s, 55 30s, 72 40s, 16Cycles; 72 10min。每次 PCR 反应设立不含 DNA 模板的空白对照。

将阳性 PCR 产物送至华大基因公司由 ABI PRISM™ 3730XL DNA Analyzer DNA 测序仪完成序列测定, 用 PCR 扩增引物作为测序引物进行双向测序。

### 1.3 基因序列信息下载

从 GenBank 下载其余 14 属 24 种 52 个体的石首鱼科鱼类 CO1 基因序列, 与本研究所检测的 6 种石首鱼科鱼类共计 19 属 30 种 75 个体的 CO1 基因同源序列一起分析, 另选择同亚目姊妹科的斜带石斑鱼和黄鳍鲷、同一目不同亚目的西氏拟隆头鱼及鲷形目的双线舌鲷和高眼鲷等 5 个同源序列作外群。所分析物种的 CO1 基因及其相关信息见表 1。

### 1.4 序列分析

所得测序结果用 NCBI 的 Blast 工具(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/blast.cgi>)进行相似性检索, 确认实验所得序列为目的片段。利用 DNASTar、Clustal X 和 GeneDoc 软件对本研究所得序列和 GenBank 下载的相关序列进行排序并辅以手工校正, 用 MEGA4.1 计算序列的碱基组成、种内和种间遗传距离。分子系统树的构建采用邻接法(neighbour-joining, NJ)、最大简约法(maximum parsimony, MP)。最大简约法分析使用启发式搜索, 构树方法采用二等分再连接(Tree-bisection reconnection, TBR), 所有数据均未加权, 获得 50%一致性的树, 可靠性由 1000 次自展分支检验。邻接法分析采用 HKY85 遗传距离, 进行 1000 次自展分支检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 石首鱼科鱼类 CO1 基因序列特征

本研究所用引物位于 CO1 基因的 5'端, 采用上游引物 F1+F2 与下游引物 R1+R2 对总 DNA 进行 PCR, 均可以获得 6 种石首鱼科鱼类 23 个体的线粒体 CO1 基因部分片段, 片段长度约为 650bp, 表明 CO1 基因通用引物在石首鱼科中具有普遍的适用性。

采用 Clustal X 与 GeneDoc 对本研究所得 23 个 CO1 部分序列和 52 个已发表石首鱼科鱼类 CO1 同源序列进行聚类 and 排序, 保留共有序列, 长度为 613bp,

表 1 本研究选用的石首鱼科 19 属 30 种鱼类的 CO1 基因信息  
Tab.1 Information of CO1 genes of 30 Sciaenidae species

序号	物种名称	拉丁名	分类地位	样品数	GenBank 序列号
Gp1	皮氏叫姑鱼	<i>Johnius belangerii</i>	叫姑鱼属	3	EF607410, EF607411, EF607412
Gp2	杜氏叫姑鱼	<i>Johnius dussumieri</i>	叫姑鱼属	2	EF534120, EF534121
Gp3	伏式叫姑鱼	<i>Johnius vogleri</i>	叫姑鱼属	2	EF534112, EF534113
Gp4	长体叫姑鱼	<i>Johnius elongatus</i>	叫姑鱼属	2	EF534124, EF534125
Gp5	红牙鲷	<i>Otolithes ruber</i>	牙鲷属	4	FJ237585, FJ237586, EF607450, EF607451
Gp6	居氏牙鲷	<i>Otolithes cuvieri</i>	牙鲷属	2	EF534116, EF534117
Gp7	淡水石首鱼	<i>Aplodinotus grunniens</i>	淡水石首鱼属	2	EU523922, EU523923
Gp8	沙犬牙石首鱼	<i>Cynoscion arenarius</i>	犬牙石首鱼属	1	EU180144
Gp9	犬牙石首鱼	<i>Cynoscion regalis</i>	犬牙石首鱼属	1	EU180145
Gp10	银色犬牙石首鱼	<i>Cynoscion nothus</i>	犬牙石首鱼属	1	EU180147
Gp11	云纹犬牙石首鱼	<i>Cynoscion nebulosus</i>	犬牙石首鱼属	1	EU180146
Gp12	乌拉圭犬牙石首鱼	<i>Cynoscion guatucupa</i>	犬牙石首鱼属	2	EU074398, EU074399
Gp13	锤形石首鱼	<i>Atractoscion aequidens</i>	锤形石首鱼属	3	DQ107824, DQ107825, DQ107826
Gp14	弗氏绒须石首鱼	<i>Micropogonias furnieri</i>	绒须石首鱼属	1	EU074482
Gp15	腋斑白姑鱼	<i>Argyrosomus hololepidotus</i>	白姑鱼属	2	DQ107810, DQ107811
Gp16	多须石首鱼	<i>Pogonias cromis</i>	多须石首鱼属	3	EU074547, EU074548, EU074549
Gp17	眼斑拟石首鱼	<i>Sciaenops ocellatus</i>	拟石首鱼属	1	EU180148
Gp18	长吻拟牙鲷	<i>Otolithoides biauritus</i>	拟牙鲷属	4	EF536890, EF536891, EF536892, EF534127
Gp19	白姑鱼	<i>Argyrosomus argentatus</i>	白姑鱼属	4	本研究
Gp20	灰鳍彭纳石首鱼	<i>Pennahia anea</i>	彭纳石首鱼属	2	EF607487, EF607488
Gp21	大黄鱼	<i>Larimichthys crocea</i>	黄鱼属	2	EU871688, EU266380
Gp22	小黄鱼	<i>Larimichthys polyactis</i>	黄鱼属	3	本研究, EU266386, DQ107817
Gp23	棘头梅童鱼	<i>Collichthys lucidus</i>	梅童鱼属	5	本研究
Gp24	黑鳃梅童鱼	<i>Collichthys niveatus</i>	梅童鱼属	5	本研究
Gp25	黑姑鱼	<i>Atrobucca nibe</i>	黑姑鱼属	5	本研究
Gp26	鲮鱼	<i>Miichthys miiuy</i>	鲮鱼属	4	本研究(3), EU266377
Gp27	勒氏枝鲮石首鱼	<i>Dendrophysa russelii</i>	枝鲮石首鱼属	2	EF607358, EF607359
Gp28	斑纹黄姑鱼	<i>Nibea maculata</i>	黄姑鱼属	2	EU014249, EU014250
Gp29	双棘黄姑鱼	<i>Protonibea diacanthus</i>	原黄姑鱼属	2	EF528232, EF528233
Gp30	黄鳍牙鲷	<i>Chrysochir aureus</i>	黄鳍牙鲷属	3	EF607347, EF609333
Out1	斜带石斑鱼*	<i>Epinephelus coioides</i>	鲈形目鲈亚目鲷科	1	EU043376
Out2	黄鳍鲷*	<i>Acanthopagrus latus</i>	鲈形目鲈亚目鲷科	1	NC_010977
Out3	西氏拟隆头鱼*	<i>Pseudolabrus sieboldi</i>	鲈形目隆头鱼亚目	1	AP006019
Out4	双线舌鲷*	<i>Cynoglossus bilineatus</i>	鲷形目	1	本研究
Out5	高眼鲷*	<i>Cleisthenes herzensteini</i>	鲷形目	1	本研究

\* 表示外群

编码 204 个氨基酸。用 MEGA4.1 计算这 75 条序列的碱基组成, 平均碱基组成为: A: 23.7%、T: 28.2%、G: 18.2%、C: 29.9%, A+T 含量(51.7%)高于 G+C(48.3%)。对所研究的 30 种鱼 75 个 CO1 基因片段而言, 第 2 个密码子位点 G+C 含量(56.5%)显著高于第 1 和第 3 密码子位点(45.2%和 42.7%) (表 2)。

所有个体序列核苷酸变异情况见表 3。全部位点中不变位点有 509 个, 转换位点有 73 个, 颠换位点有 36 个。其中不变位点属第 3 密码子位点最多, 为 201 个; 而转换位点和颠换位点均属第 1 密码子位点最多, 分别为 63 个和 30 个。

由表 4 可见, 这 30 种石首鱼科鱼类的 CO1 基因

片段平均 GC 含量为 40.7%—51.5%，其中第 2 密码子位点的 GC 含量均较高(51%—58.4%)，第 1 密码子的 GC 含量变化范围最大(27.6%—54.1%)，第 3 密码子

的 GC 含量则较一致(41.6%—43.6%)。黑姑鱼 CO1 基因片段的 G+C 含量最高(51.1%)，皮氏叫姑鱼的 G+C 含量最低(40.7%)。在这 18 个属中，白姑鱼属、

表 2 石首鱼科 30 种鱼 75 个个体的 CO1 基因部分序列中各碱基平均分布频率(%)  
Tab.2 Average nucleotide frequencies of CO1 partial sequences of 30 Sciaenidae species (%)

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	28.0	25.0	18.0	42.0
C	30.1	34.4	26.3	29.0
A	23.7	29.9	25.8	15.4
G	18.2	10.8	30.2	13.7

表 3 石首鱼科 30 种鱼 75 个个体的 CO1 部分序列各密码子碱基变异情况  
Tab.3 Sequences variation of CO1 gene of 30 Sciaenidae species

密码子位点	不变位点(个)	转换位点( <i>si</i> )(个)	颠换位点( <i>sv</i> )(个)	$R = si / sv$
1 <sup>st</sup> 位点	115.00	63.00	27.00	2.37
2 <sup>nd</sup> 位点	192.00	9.00	3.00	3.09
3 <sup>rd</sup> 位点	202.00	1.00	2.00	0.30
全部位点	509.00	73.00	31.00	2.32

表 4 石首鱼科 30 种鱼 CO1 基因密码子位点 GC 含量  
Tab.4 The GC content for 30 species in all codon position

序号	物种	样品数量	平均 GC 含量(%)			
			全部位点	1 <sup>st</sup> 位点	2 <sup>nd</sup> 位点	3 <sup>rd</sup> 位点
Gp1	皮氏叫姑鱼	3	40.7	27.6	51	43.6
Gp2	杜氏叫姑鱼	2	46.0	40.0	55.4	42.6
Gp3	伏式叫姑鱼	2	42.4	31.7	53.9	41.6
Gp4	长体叫姑鱼	2	46.0	40.5	54.9	42.6
Gp5	红牙鲷	5	47.3	43.3	55.9	42.6
Gp6	居氏牙鲷	2	46.7	41.2	55.9	43.1
Gp7	淡水石首鱼	2	46.3	40.0	56.4	42.6
Gp8	沙犬牙石首鱼	1	48.2	44.9	57.4	42.6
Gp9	犬牙石首鱼	1	49.2	47.3	57.9	42.6
Gp10	银色犬牙石首鱼	1	46.7	40.2	57.4	42.6
Gp11	云纹犬牙石首鱼	1	47.2	41.5	57.4	42.6
Gp12	乌拉圭犬牙石首鱼	2	48.9	48.3	55.9	42.6
Gp13	锤形石首鱼	3	48.1	45.4	56.4	42.6
Gp14	弗氏绒须石首鱼	1	46.9	40.5	57.4	42.6
Gp15	腋斑白姑鱼	2	51.1	54.1	56.4	42.6
Gp16	多须石首鱼	3	47.6	42	58.4	42.6
Gp17	眼斑拟石首鱼	1	48.3	44.8	57.4	42.6
Gp18	长吻拟牙鲷	4	48.0	42.9	58.3	42.6
Gp19	白姑鱼	4	48.2	45.0	56.9	42.6
Gp20	灰鳍彭纳石首鱼	2	47.8	43.7	57.1	42.6
Gp21	大黄鱼	2	50.2	51	57.1	42.6
Gp22	小黄鱼	3	50.0	48.9	57.9	43.1
Gp23	棘头梅童鱼	5	50.0	50.1	57.4	42.6
Gp24	黑鳃梅童鱼	5	49.9	49.7	57.4	42.6
Gp25	黑姑鱼	5	51.5	52.8	57.9	42.5
Gp26	鳊鱼	4	50.1	50.4	57.4	42.5
Gp27	勒氏枝鳃石首鱼	2	48.7	45.6	56.9	43.6
Gp28	斑纹黄姑鱼	2	48.6	46.6	56.2	43.1
Gp29	双棘黄姑鱼	2	50.9	53.1	56.9	42.6
Gp30	黄鳍牙鲷	2	50.5	52.7	55.5	42.9
平均值		—	48.3	44.9	56.6	42.7

叫姑鱼属等种内 GC 含量差异较大。

## 2.2 种间及种内的遗传距离

采用 MEGA4.1, 基于 Kimura-2-parameter 计算 30 种石首鱼科鱼类的种内和种间遗传距离。结果表明, 石首鱼科鱼类种内遗传距离平均值为 0.006, 种间遗传距离平均值为 0.210, 种间遗传距离是种内的 35 倍。本研究中红牙鲷包括印度洋和南海 2 个地理群体, 种内遗传距离达 0.081, 已超过 Hebert 等(2003a)所推荐的物种鉴定最小种间遗传距离 0.020。除此之外, 其余 29 种鱼类的种内遗传距离均小于 0.020, 其中 93% 的鱼类种内遗传距离小于 0.010(表 5)。30 种石首鱼科鱼类中 99.5% 的种间平均遗传距离大于 0.020, 其中 98% 以上的种间平均遗传距离大于 0.100。遗传距离最大的是双棘黄姑鱼与皮氏叫姑鱼, 为 0.409。但棘头梅童鱼与黑鳃梅童鱼, 灰鳍彭纳石首鱼与白姑鱼的遗传距离却非常小, 均低于 0.001。依据 Hebert 等(2003a, b)的观点, 这 4 种鱼应隶属于 2 个物种。

## 2.3 石首鱼科鱼类分类及分子系统树

本研究采用 MP 法和 NJ 法, 对石首鱼科 19 属 30 种鱼的 75 个 CO1 基因序列构建分子系统树, 结果如图 1, 两者得到的结果具有相似的拓扑结构, 并且都具有较高的节点支持率。从图 1 可知, 同一种鱼的不同个体均可聚在同一分支内, 28 个种(93.3%)可形成单系, 18 个属(94.7%)可聚为独立的分支。

但在 MP 和 NJ 分子系统树上, 还表现出一些与传统形态学分类不一致的结果, 如黑鳃梅童鱼与棘头梅童鱼聚在一个分支内; 灰鳍彭纳石首鱼与白姑鱼聚为同一个分支; 而 2 个地理群的红牙鲷则形成了 2 个姐妹分支。

## 3 讨论

本研究中, 30 种石首鱼科鱼类的 75 个 CO1 基因序列 GC 含量为 40.7%—51.5%, 平均 48.3%; 其中第 2 密码子位点 GC 含量贡献值最大, 平均含量为 56.6%; 而第 1 密码子的 GC 含量变化范围最大, 为 27.6%—54.1%, 平均 44.9%; 第 3 密码子的 GC 含量则较一致, 为 41.6%—43.6%, 平均含量最低, 为 42.7%。Ward 等(2005)分析了澳大利亚 207 种鱼类的 CO1 基因序列, 结果表明 143 种硬骨鱼类的 GC 平均含量为 47.1%, 高于 61 种软骨鱼类 42.2% 的 GC 平均含量。其中第 1、2、3 密码子的 GC 平均含量分别为

57.1%、42.6%、41.1%。彭居俐等(2009)也报道了鲤科鲃属 4 种鱼类 32 个 CO1 基因序列的第 1 密码子位点 GC 含量最高(51.6%), 其次是第 2 密码子位点(42.8%), 第 3 密码子位点的 GC 含量最低(42.3%)。与上述报道不同的是, 本研究发现 30 种石首鱼科鱼类的 CO1 基因序列均表现为第 2 密码子位点 GC 含量最高, 这种差异是否为石首鱼科鱼类独有现象, 还有待于进一步分析研究。

较大的种间序列差异是对物种进行准确鉴定的先决条件(彭居俐等, 2009)。Hebert 等(2003a)对动物界的 11 个动物门 13320 个物种进行分析得出物种内的遗传距离很少有大于 0.020 的, 大部分的种内遗传距离小于 0.010。Hebert 等(2003a, b)提出, 利用 CO1 基因序列有效鉴别物种的关键点是种间的遗传距离必须大于种内的遗传距离, 并且距离差异大约 10 倍。Lakra 等(2009)分析了印度洋 7 种石首鱼科鱼类 CO1 基因, 其种间遗传距离为 0.025—0.258。本研究中 30 种石首鱼科鱼类的种内遗传距离平均值为 0.006, 种间遗传距离平均值为 0.210, 种间遗传距离是种内的 35 倍。鉴于此, 说明 CO1 基因序列能够对石首鱼科鱼类进行有效的物种鉴定。

分子系统树显示, 黑鳃梅童鱼聚在棘头梅童鱼的分支内。Günther(1860)在《Catalogue of the Fishes of the British Museum》一书中, 首先命名了梅童鱼属新属, 以中国产的棘头梅童鱼为代表种。棘头梅童鱼 *C. lucidus* (Richardson, 1844) 鳃腔灰色或白色, 鳃侧具 21—23 对侧肢。在 20 世纪命名了新种黑鳃梅童鱼 *C. niveatus* (Jordan & Starks, 1906), 其鳃腔上部深黑色, 鳃侧具 14—15 对侧肢, 其他形态学特征与棘头梅童鱼一致。本研究以 CO1 基因作条形码来鉴别这两种鱼, 结果发现二者合并为同一个分支, 节点支持率达 99%。棘头梅童鱼和黑鳃梅童鱼的种内遗传距离分别为 0.002 和 0.006, 而二者种间遗传距离仅为 0.004。据 Hebert 等(2003a)推荐的物种鉴定最小种间遗传距离为 0.020, 可推断棘头梅童鱼和黑鳃梅童鱼的遗传变异尚未达到种的分化水平。

在分子系统树上, 灰鳍彭纳石首鱼聚在白姑鱼的分支内。尽管在我国把白姑鱼 *A. argentatus* (Houttuyn, 1782) 归于白姑鱼属 *Argyrosomus* (成庆泰等, 1987; 孟庆闻等, 1995), 但 Fishbase (www.fishbase.org) 所认可的白姑鱼的拉丁文名称为 *Pennahia*



续表

	Gp_18	Gp_21	Gp_22	Gp_23	Gp_24	Gp_25	Gp_26	Gp_19	Gp_20	Gp_27	Gp_28	Gp_2	Gp_4	Gp_3	Gp_5	
Gp_13															0	
Gp_14															n/c	
Gp_15															0	
Gp_16															0	
Gp_17															n/c	
Gp_18															0	
Gp_21	0.197														0.003	
Gp_22	0.222	0.140													0.003	
Gp_23	0.191	0.114	0.142												0.002	
Gp_24	0.194	0.116	0.142	0.004											0.006	
Gp_25	0.202	0.185	0.211	0.167	0.169										0.004	
Gp_26	0.175	0.182	0.208	0.155	0.155	0.161									0.003	
Gp_19	0.208	0.243	0.241	0.195	0.195	0.199	0.167								0.002	
Gp_20	0.209	0.242	0.242	0.197	0.197	0.205	0.170	0.007							0.013	
Gp_27	0.256	0.234	0.263	0.242	0.242	0.242	0.203	0.229	0.228						0.008	
Gp_28	0.256	0.223	0.241	0.241	0.241	0.224	0.203	0.231	0.226	0.188					0.003	
Gp_2	0.239	0.239	0.262	0.214	0.214	0.228	0.218	0.250	0.249	0.266	0.242				0	
Gp_4	0.249	0.249	0.262	0.221	0.221	0.231	0.225	0.245	0.242	0.272	0.249	0.027			0	
Gp_3	0.288	0.288	0.303	0.275	0.275	0.310	0.268	0.295	0.297	0.317	0.273	0.126	0.148		0	
Gp_5	0.217	0.227	0.240	0.210	0.211	0.211	0.210	0.228	0.225	0.258	0.243	0.133	0.111	0.201	0.081	
Gp_6	0.239	0.273	0.281	0.251	0.251	0.244	0.236	0.255	0.256	0.279	0.294	0.183	0.170	0.257	0.120	0.002

*argentata* (Houttuyn, 1782)。仅从命名来看, 白姑鱼与灰鳍彭纳石首鱼 *P. anea* (Bloch, 1793) 在系统分类上一定存在密切关联。灰鳍彭纳石首鱼主要分布在印度-西太平洋区, 西起阿拉伯湾, 北至台湾海峡, 南至婆罗洲等, 其背鳍具有 10—11 鳍棘 22—24 鳍条, 臀鳍具 2 鳍棘 7 鳍条, 颈部有散射黑斑。白姑鱼主要分布在西北太平洋的日本、中国和韩国海域, 其背鳍具有 11 鳍棘 25—28 鳍条, 臀鳍具 2 鳍棘 7—8 鳍条, 下颌骨有模糊黑暗标记。本研究对白姑鱼和灰鳍彭纳石首鱼的线粒体 CO1 基因序列进行聚类分析, 结果二者聚在同一个分支内, 节点支持率达 99%; 二者的种内遗传距离分别为 0.002 和 0.013, 而二者种间遗传距离仅为 0.007。鉴于上述分析, 无论是形态学特征的相似性还是条形码序列的同源性都提示灰鳍彭纳石首鱼与白姑鱼可能为同种异名。

另外, 红牙鲷 *O. ruber* 在分子系统树上形成 2 个姐妹分支, 节点支持率也较高。如前文所述, 本文中的红牙鲷分别来自印度洋和南海 2 个不同地理群体,

其种内遗传距离为 0.081, 已超过 Hebert 等(2003a)所推荐的物种鉴定最小种间遗传距离。排除两组样品的物种鉴定错误, 根据 CO1 基因条形码信息来推测, 这两个地理群体间的遗传分化已经达到种的水平, 可能独立进化形成 2 个不同的种。

尽管 DNA 条形码的目的是建立生物分类系统, 但这些条形码也提供了丰富的系统进化信息。许多学者也证明 CO1 基因在动物中适用于研究种间系统进化关系(董云伟等, 2004; 褚栋等, 2005; 潘程莹等, 2006; 张凤英等, 2008; 林琪等, 2008; 张姝等, 2008; 梁刚等, 2008)。基于 CO1 基因构建的石首鱼科分子系统树显示, 同一种鱼的不同个体均可聚在同一分支内, 93.3% 的种可形成单系, 94.7% 的属可聚为独立的分支。总体来讲, 基于线粒体 CO1 基因构建的石首鱼科鱼类分类系统与形态学的分类单元划分基本一致, 该基因可以用来探讨石首鱼科属、种分类单元的系统发育问题, 亦说明将线粒体 CO1 基因作为分类条形码是可行的。

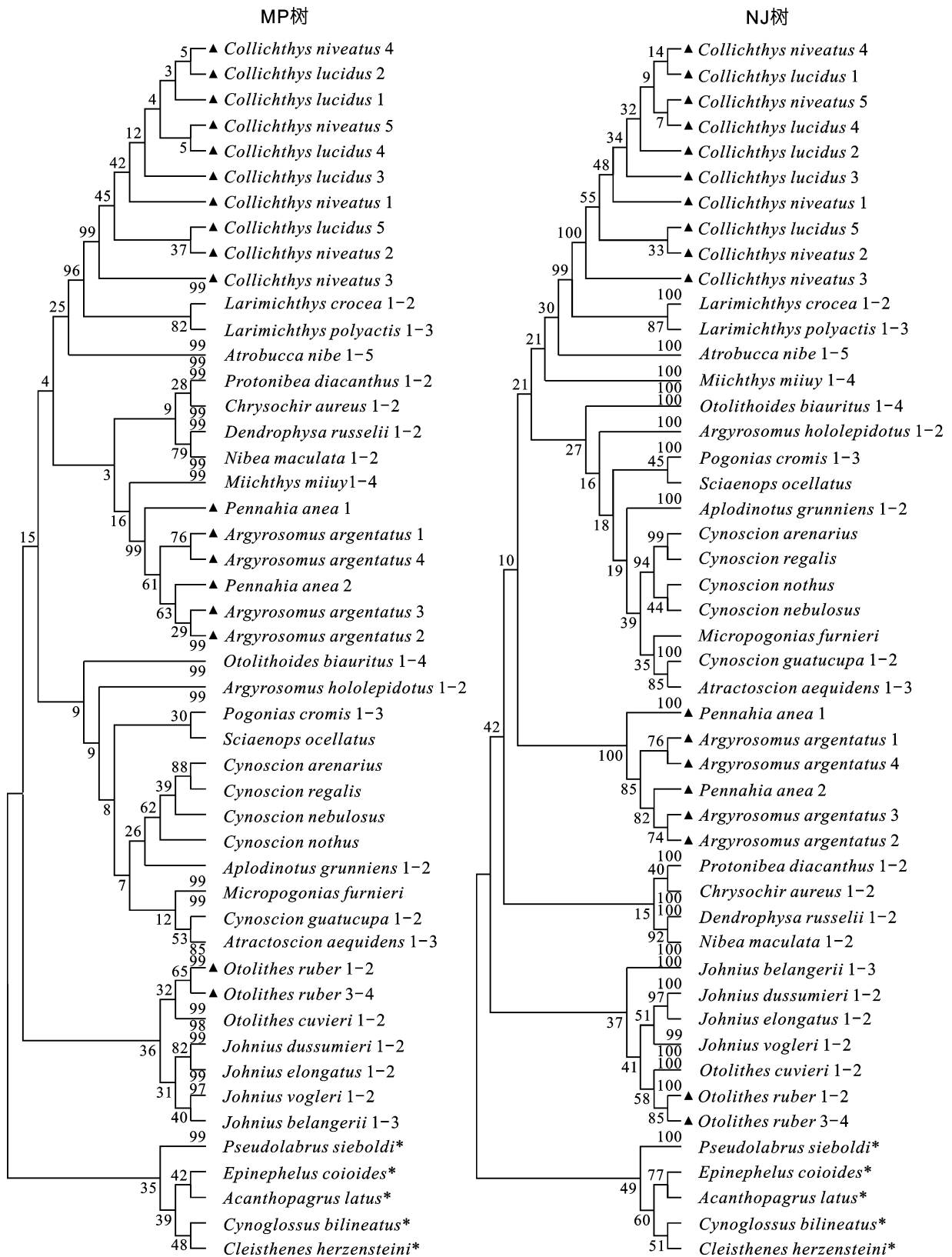


图 1 MP法和NJ法构建的石首鱼科鱼类分子系统树

Fig.1 MP and NJ tree resulting from analysis of CO1 gene data of 30 Sciaenidae species



## 参 考 文 献

- 成庆泰, 郑葆珊, 1987. 石首鱼科. 中国鱼类系统检索(上册). 北京: 科学出版社, 317—324
- 朱元鼎, 罗云林, 伍汉霖, 1963a. 中国石首鱼类分类系统的研究和新属新种的叙述. 上海: 上海科学技术出版社, 1—40
- 朱元鼎, 张春霖, 成庆泰, 1963b. 石首鱼科. 东海鱼类志. 北京: 科学出版社, 268—293
- 刘效舜, 1990. 黄渤海区渔业资源调查与区划. 北京: 海洋出版社, 218
- 张 姝, 李喜莲, 崔朝霞等, 2008. 线粒体基因片段在梭子蟹系统发育及物种鉴定中的应用. 海洋科学, 32(4): 9—18
- 张凤英, 马凌波, 施兆鸿等, 2008. 3 种鲷属鱼类线粒体 COI 基因序列变异及系统进化. 中国水产科学, 15(3): 392—399
- 林 琪, 李少菁, 黎中宝等, 2008. 中国东南沿海青蟹属不同种类的 mtDNA COI 基因序列分析及其系统发育. 厦门大学学报(自然科学版), 47(2): 268—273
- 孟庆闻, 陈力行, 1995. 石首鱼科. 鱼类分类学. 北京: 中国农业出版社, 713—728
- 梁 刚, 李 涛, 尹祚华等, 2008. 利用 COI 基因序列对雀科鸟类的分子系统发育关系初探. 动物学研究, 29(5): 465—475
- 彭居俐, 王绪祯, 王 丁等, 2009. 基于线粒体 COI 基因序列的 DNA 条形码在鲤科鲃属鱼类物种鉴定中的应用. 水生生物学报, 33(2): 271—276
- 董云伟, 牛翠娟, 2004. 萼花臂尾轮虫(*Brachionus calyciflorus*) COI 基因序列变异及种群遗传结构分析. 海洋与湖沼, 35(5): 473—480
- 蒙子宁, 庄志猛, 丁少雄等, 2004. 中国近海 8 种石首鱼类的线粒体 16S rRNA 基因序列变异及其分子系统进化. 自然科学进展, 14(5): 514—521
- 褚 栋, 张友军, 丛 斌等, 2005. 烟粉虱不同地理种群的 mtDNA COI 基因序列分析及其系统发育. 中国农业科学, 38(1): 76—85
- 潘程莹, 胡 婧, 张 霞等, 2006. 斑腿蝗科(Catantopidae)七种蝗虫线粒体 COI 基因的 DNA 条形码研究. 昆虫分类学报, 28(2): 103—110
- Chen Y, Wang Y, He S *et al*, 2004. Cloning and sequencing of the growth hormone gene of large yellow croaker and its phylogenetic significance. *Biochem Genet*, 42: 365—375
- Cui Z, Liu Y, Li C P *et al*, 2009. The complete mitochondrial genome of the large yellow croaker, *Larimichthys crocea* (Perciformes, Sciaenidae): unusual features of its control region and the phylogenetic position of the Sciaenidae. *Gene*, 432: 33—43
- Günther D A, 1860. Catalogue of the Fishes of the British Museum. *Acanthopterygii*, 2: 284—316
- Graves J E, McDowell J R, 1992. A genetic analysis of weakfish *Cynoscion regalis* stock structure along the mid-Atlantic Coast. *Fish Bull*, 90: 469—475
- Hebert P D N, Cywinska A, Ball S L *et al*, 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc R Soc B*, 270: 313—322
- Hebert P D N, Ratnasingham S, de Waard J R, 2003b. Barcoding animal life: cytochrome *c* oxidase subunit I divergences among closely related species. *Proc R Soc B*, 270: 96—99
- Lakra W S, Goswami M, Gopalakrishnan A, 2009. Molecular identification and phylogenetic relationships of seven Indian Sciaenids (Pisces: Perciformes, Sciaenidae) based on 16S rRNA and cytochrome *c* oxidase subunit I mitochondrial genes. *Mol Biol Rep*, 36(5): 831—839
- Menezes M R, Naik S, Martins M, 1993. Genetic characterization in four sciaenid species from the Arabian Sea. *J Fish Biol*, 43: 61—67
- Mohan R S L, 1981. An illustrated synopsis of the fishes of the family Sciaenidae in India. *Indian J Fish*, 28(1, 2): 1—24
- Seyoum S, Tringali M D, Bert T M, 2000. An analysis of genetic population structure in red drum, *Sciaenops ocellatus*, based on mtDNA control region sequences. *Fish Bull*, 98: 127—138
- Tautz D, Arctander P, Minelli A *et al*, 2002. DNA points the way ahead in taxonomy. *Nature*, 418: 479
- Tautz D, Arctander P, Minelli A *et al*, 2003. A plea for DNA taxonomy. *Trends Ecol Evol*, 18: 70—74
- Vences M, Thomas M, Bonett R M *et al*, 2005. Deciphering amphibian diversity through DNA barcoding: chances and challenges. *Proc R Soc B*, 360: 1859—1868
- Ward R D, Zemlak T S, Innes B H *et al*, 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Phil Trans R Soc B*, 360: 1847—1857
- Witt J D S, Therlof D L, Hebert P D N, 2006. DNA barcoding reveals extraordinary cryptic diversity in an amphipod genus: implications for desert spring conservation. *Mol Ecol*, 15: 3073—3082

## APPLICATION OF DNA BARCODING GENE CO1 FOR CLASSIFYING FAMILY SCIAENIDAE

LIU Shu-Fang<sup>1</sup>, CHEN Liang-Liang<sup>2</sup>, DAI Fang-Qun<sup>1</sup>, ZHUANG Zhi-Meng<sup>1</sup>

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key Laboratory for Fishery Resources and Eco-environment, Shandong Province, Qingdao, 266071; 2. Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100101)

**Abstract** A total of 75 single individuals of 30 species pertaining to 19 genera of Sciaenidae was barcoded by CO1 genes, sequenced and compared with that of other Sciaenidae species recorded in GenBank. Our results indicate that the averaged GC content accounting for 48.3%. The GC content of codon position 2 averaged 56.6% (51.0%—58.4%), that of position 1 for 44.9% (27.6%—54.1%), and that of position 3 ranged 41.6%—43.6% in average of 42.7%. The average Kimura-2-parameter (K2P) distances within-species and pairwise-species were 0.6% and 21%, respectively. The K2P distance pairwise-species was 35 times as much as that of within-species. According to the maximum parsimony and neighbour-joining trees for all 75 sequences, 28 species (93.3%) were of monophyly and 18 genera (94.7%) were in individual branch. The genetic distance between *Collichthys niveatus* and *C. lucidus* inferred that the genetic differentiation has not yet reached the level of species variation, which is different from the morphological conclusion. Both the similarity of morphological characters and the homology of barcoding sequence of *Pennahia anea* and *Argyrosomus argentatus* suggest that these two species should be a synonym of the same species. In addition, two geographical groups of *Otolithes ruber* might be of two different species. Consequently, the CO1 barcoding is one of the useful tools to both fish species classification and phylogeny of Family Sciaenidae.

**Key words** Sciaenidae, Cytochrome oxidase subunit I (CO1), DNA barcodes, Molecular systematics