

基于线粒体 16S rDNA 和 COI 基因探讨中国近海黄姑鱼类的分子系统进化关系*

辛 俭 张玉荣 徐冬冬 楼 宝 詹 炜 毛国民

(浙江省海洋水产研究所 浙江省海水增殖重点实验室 舟山 316100)

提要 为探讨中国近海黄姑鱼类的系统进化关系,通过 PCR 扩增了黄姑鱼(*Nibea albifora*)、浅色黄姑鱼(*N. coibor*)、日本黄姑鱼(*N. japonica*)和鲩状黄姑鱼(*N. miichthioides*)等 4 种黄姑鱼类的 16S rDNA 和 COI 基因片段并进行了序列测定,计算其种间及种内遗传距离并结合来自 GenBank 的 13 种石首鱼科鱼类的相应基因片段序列构建分子系统树。结果表明:(1)利用 16S rDNA 片段可以对 4 种黄姑鱼类进行分子鉴定;但是基于 COI 基因片段计算的日本黄姑鱼和鲩状黄姑鱼的种间遗传距离为 0.002—0.005,尚未达到种间分化水平,应用该基因片段进行这两种鱼的分子鉴定值得商榷;(2)分子系统树显示日本黄姑鱼和鲩状黄姑鱼与黄姑鱼和浅色黄姑鱼处于不同的系统发育阶元,日本黄姑鱼和鲩状黄姑鱼与白姑鱼属鱼类聚为同一类群,支持形态学上将日本黄姑鱼和鲩状黄姑鱼划归为白姑鱼属的分类学观点。

关键词 黄姑鱼属; 16S rDNA; COI; 分子鉴定; 系统进化

中图分类号 Q953 **doi:** 10.11693/hyhz20130600085

黄姑鱼属(*Nibea*)鱼类是世界重要的海洋经济鱼类之一,主要分布于印度洋和太平洋海域。该属隶属于鲈形目(Perciformes)石首鱼科(Sciaenidae),首先由 Jordan 和 Thompson 于 1911 年在石首鱼属(*Sciaena*)内建立了黄姑鱼亚属(*Nibea*)(Jordan *et al.*, 1911),后由 Trewavas(1977)将其提升为属(Trewavas, 1977)。黄姑鱼属鱼类也是我国重要的海洋渔业资源,据文献报道,分布在我国黄姑鱼属鱼类包括黄姑鱼(*Nibea albifora*)、浅色黄姑鱼(*N. coibor*)、半花黄姑鱼(*N. semifasciata*)、双棘黄姑鱼(*N. diacanthus*)、日本黄姑鱼(*N. japonica*)、鲩状黄姑鱼 *N. miichthioides* 和尖头黄姑鱼(*N. acuta*)共 7 种(朱元鼎等, 1963a, b; 成庆泰等, 1987)。此后,不断有学者对黄姑鱼属的分类进行修订:将双棘黄姑鱼改为双棘原黄姑鱼(*Protonibea diacanthus*),属原黄姑鱼属(*Protonibea*);日本黄姑鱼改为日本白姑鱼(*Argyrosomus japonicus*),鲩状黄姑

鱼更改为厦门白姑鱼(*A. amoyensis*),这两种鱼均属白姑鱼属(*Argyrosomus*);尖头黄姑鱼改为尖头黄鳍牙鲷(*Chrysochir aureus*),属金鳍鲷属(*Chrysochir*)(沈世杰等, 1993; 孟庆闻等, 1995; 庄平等, 2006; 伍汉霖等, 2012)。尽管黄姑鱼属鱼类的形态分类已经得到学者的认同,但黄姑鱼类的同种多名、异名现象仍然较多,而且国内外对黄姑鱼类的分子系统关系的研究报道较少。

随着现代分子标记技术的发展,通过获得物种特定遗传标记的大量数据,构建分子系统树,可以对传统分类提供重要佐证以及补充或修正(Liu *et al.*, 2004; 李琪等, 2010)。线粒体 DNA 的分子结构简单,而且具有进化速率快、几乎不发生重组、严格母系遗传等优点,成为开展分子系统学研究的重要工具。目前,常用于鱼类分子系统分析的线粒体基因有:COI 基因、16S rDNA、Cytb 基因等(郭新红等, 2004; 程国

* 国家高技术研究发展计划(863 计划), 2012AA10A413-5 号; 浙江省重大科技专项, 2012C12907-8 号。辛俭, 高级工程师, E-mail: xinjian302@126.com

通讯作者: 徐冬冬, 高级工程师, E-mail: xudong0580@163.com; 楼宝, 研究员, E-mail: loubao6577@163.com

收稿日期: 2013-06-29, 收修改稿日期: 2013-11-26

宝等, 2012; Zhang *et al.*, 2012)。利用线粒体 DNA 探讨石首鱼科鱼类的系统分化国内外已有一些报道(蒙子宁等, 2004; 童馨等, 2007; Lakra *et al.*, 2009; 柳淑芳等 2010; 张永等, 2011; 马春艳等, 2012), 主要是探讨了石首鱼科的分子系统进化, 但对黄姑鱼属的系统分类问题却鲜有涉及。

本研究测定了黄姑鱼属 4 个种 30 个个体的线粒体 16S rDNA 和 COI 基因的部分序列, 并结合 Genebank 下载的其他石首鱼科鱼类相应的基因序列进行比较分析, 构建分子系统树, 以此探讨黄姑鱼属鱼类的分子鉴定及其系统进化关系。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所用的黄姑鱼(HG)、浅色黄姑鱼(QH)、日本黄姑鱼(RH)、鲩状黄姑鱼(MH)等 4 种黄姑鱼类共计 30 尾, 取样地点和样本数见表 1。样品根据朱元鼎等(1963a, b)和成庆泰等(1987)的报道进行形态学鉴定, 剪取鳍条保存于 75% 的酒精中带回实验室提取总 DNA, DNA 提取方法采用试剂盒提取(北京天根)。

表 1 四种黄姑鱼类的分类信息及采集地点

Tab.1 Information of taxonomy and sampled localities for four Nibeia fish species

种名	拉丁名	缩写	采集地点	样本数(尾)
黄姑鱼	<i>Nibeia albifora</i>	NA	浙江舟山	5
浅色黄姑鱼	<i>N. coibor</i>	NC	广东珠海	5
日本黄姑鱼	<i>N. japonica</i>	NJ	浙江舟山	10
鲩状黄姑鱼	<i>N. miichthioides</i>	NM	福建宁德	10

表 2 实验用的石首鱼科鱼类的 16S rDNA 和 COI 基因信息

Tab.2 Information of 16S rDNA and COI gene in Sciaenidae species

种名	拉丁名	分类地位	缩写	GenBank 登录号	
				16S rDNA	COI
小黄鱼	<i>Larimichthys polyactis</i>	黄鱼属	LP	FJ618559.1	HQ385797.1
大黄鱼	<i>Larimichthys crocea</i>	黄鱼属	LC	FJ595214.1	FJ595214.1
棘头梅童鱼	<i>Collichthys lucidus</i>	梅童鱼属	CL	JN857362.1	HM447239.1
黑鳃梅童鱼	<i>Collichthys niveatus</i>	梅童鱼属	CN	JN857362.1	JN678726.1
鲩鱼	<i>Miichthys miiuy</i>	鲩鱼属	MM	HM447240.1	HM447240.1
腋斑白姑鱼	<i>Argyrosomus hololepidotus</i>	白姑鱼属	AH	—	DQ107811.1
无味白姑鱼	<i>Argyrosomus inodorus</i>	白姑鱼属	AI	HQ641675.1	HM007711.1
大西洋白姑鱼	<i>Argyrosomus regius</i>	白姑鱼属	AR	—	KC500221.1
方尾白姑鱼	<i>Argyrosomus thorpei</i>	白姑鱼属	AT	—	JF492890.1
双棘原黄姑鱼	<i>Protonibeia diacanthus</i>	原黄姑鱼属	PD	EF528202.1	EF528233.1
杜式叫姑鱼	<i>Johnius dussumieri</i>	叫姑鱼属	JD	EF528208.1	EF534121.1
长体叫姑鱼	<i>Johnius elongatus</i>	叫姑鱼属	JE	EF528212.1	EF534125.1
伏式叫姑鱼	<i>Johnius vogleri</i>	叫姑鱼属	JV	EF528227.1	EF534113.1

1.2 16S rDNA 和 COI 基因片段的扩增

实验用的 16S rDNA 和 COI 片段扩增的引物由上海生工公司合成。16S rDNA 的序列为 16S-F1-5'CGCC-TGTTTATCAAAAACAT 3' 和 16S-F2 5'CCGGTCTGA-ACTCAGATCACGT 3' (徐冬冬等, 2010); COI 基因片段引物序列为: COI-F1 5'-TCAACCAACCACAAAG-ACATTGGCAC-3' 和 COI-F2 5'-TAGACTTCTGGG-TGGCCAAAGAATCA-3' (Ward *et al.*, 2005; Lakra *et al.*, 2009)。PCR 扩增采用 50 μ L 反应体系: 1 \times PCR 缓冲液, 0.2 mmol/L dNTP, 2 mmol/L Mg²⁺, 1 μ mol/L 正反向引物, 2 U *Taq* DNA 聚合酶(Takara), DNA 模板约 400 ng。反应程序为: 预变性 94 $^{\circ}$ C, 5 min; 35 个循环, 每个循环包括 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s; 退火(16S rDNA 56 $^{\circ}$ C; COI 52 $^{\circ}$ C) 30 s; 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min; 最后 72 $^{\circ}$ C 再延伸 10 min, 4 $^{\circ}$ C 保存。PCR 产物经电泳、割胶回收、产物纯化后获得目的片段, 纯化后的目的片段采用 ABI3730 进行测序。

1.3 序列下载

从 GenBank 下载 13 种石首鱼科鱼类 16S rDNA 或 COI 基因序列, 与本研究所检测的 4 种黄姑鱼类的基因同源序列一起分析。所分析物种的 16S rDNA 和 COI 基因序列及其相关信息如表 2。

1.4 序列分析

采用 NCBI 的 Blastn 工具(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>)对所获得的测序结果进行序列比对和分析, 验证所得序列是否为目的片段。应用 Clustal X 1.83 软件对获得的 16S rDNA 和 COI 基因序列进行聚类 and 比对, 并辅以手工校正(Thompson *et al.*, 1997)。采用 DNASP 5.0 软件计算序列的碱基组成、转换(Transition)

和颠换(Transversion)比例等参数。利用 Mega 4.0 软件中的 Kitumra-2-Parameter-Distance 双参数模型计算遗传距离, 并利用 Neighbour-joining(NJ)方法构建分子系统进化树(Tamura *et al.*, 2007)。

2 结果与分析

2.1 四种黄姑鱼类 16S rDNA 和 COI 基因序列特征

经 PCR 扩增、回收、测序等步骤得到 4 种黄姑鱼类的 16S rDNA 部分序列, 采用 Clustal X 1.83 对所得序列进行排序和聚类, 保留同源序列, 长度为 553—569bp, 编码 184—189 个氨基酸, 其间存在插入/缺失位点, 主要集中在 137bp、192—205bp 和 550—551bp。四种黄姑鱼类的 16S rDNA 基因序列的平均碱基组成为 A=22.3%, T=29.2%, C=21.7%, G=26.8%, 其中(C+G)的含量为 48.5%, 与张永等(2011)计算的 13 种石首鱼科鱼类的 GC 平均含量略有差异(47.3%), 而与蒙子宁等(2004)统计的 8 种石首鱼科鱼类的 GC 平均含量相似(48.3%)。四种黄姑鱼类的 COI 基因序列经排序和剪辑后得到 637bp 的同源序列, 编码 212 个氨基酸, 其间没有插入/缺失位点。四种黄姑鱼类的平均碱基组成为 A=22.4%, T=27.0%, C=31.6%, G=19.0%。其(C+G)的含量为 50.6%, 比柳淑芳等(2010)统计的 30 种石首鱼科鱼类的 GC 平均含量略高 48.3%。

4 种黄姑鱼类的 16S rDNA 序列中检测到的多态位点数为 72, 约占总序列的 12.91%, 简约信息位点数 72 个, 其中, 转换位点 24 个, 颠换位点 9 个, 转换颠换比(Ts/Tv)为 2.6; COI 基因检测到 131 个多态信息位点, 约占总序列的 20.56%, 简约信息位点 128 个, 包括转换位点 45 个, 颠换位点 23 个, 单个突变位点 3 个, 转换颠换比 2.0。由此可见, 16S rDNA 基因在所研究的 4 种黄姑鱼类较 COI 基因保守, 这在其他海洋动物的遗传分析中也得到相似结果(刘君等, 2009; Lakra *et al.*, 2009; Cui *et al.*, 2010; Feng *et al.*, 2011)。这可能是由于线粒体基因组中不同区域的核苷酸突变速率不同或不同基因片段受到的选择压力不同, 造成了不同基因片段的核苷酸变异存在差异(王巍等, 2009; Teletchea, 2009)。

2.2 四种黄姑鱼类的种内和种间遗传距离

根据 4 种黄姑鱼类的 16S rDNA 和 COI 基因序列变异采用双参数模型 Kimura-2-parameter 计算种内和种间遗传距离(表 3, 表 4)。基于 16S rDNA 计算的种内的平均遗传距离为 0.000—0.002, 平均的种间遗传

距离为 0.064; 浅色黄姑鱼与鳃状黄姑鱼的种间遗传距离(0.098)最大, 黄姑鱼和浅色黄姑鱼的种间遗传距离(0.024)最小。基于 COI 基因计算的 4 种黄姑鱼类平均的种内遗传距离为 0.000—0.005, 平均的种间遗传距离为 0.121; 浅色黄姑鱼和日本黄姑鱼的种间遗传距离(0.192)最大; 鳃状黄姑鱼和日本黄姑鱼的种间遗传距离(0.002)最小。

线粒体 DNA 的 COI 基因已成为动物 DNA 条形码研究的首选对象(Hebert *et al.*, 2003; Ward *et al.*, 2005; 李琪等, 2010; Malakar *et al.*, 2012)。应用 COI 基因进行石首鱼科鱼类的物种鉴定已有报道。如 Lakra 等(2009)利用 COI 基因分析印度洋 7 种石首鱼科鱼类的种间遗传距离为 0.025—0.258; 柳淑芳等(2010)分析了 30 种石首鱼科鱼类的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; 以上研究均表明 COI 基因可以作为上述石首鱼科鱼类物种鉴定的分子标记。但是, COI 基因 DNA 条形码技术在应用过程中也引起很大的争议。Vences 等(2005)通过对马达加斯加蛙类的研究, 发现两栖类动物适合的条形编码基因是 16S rRNA 基因。Elias 等(2007)利用 COI 序列只能准确鉴定出 77% 的蝴蝶种类。

本研究采用 COI 基因序列计算 4 种黄姑鱼类的种内遗传距离为 0.000—0.005, 种间遗传距离为 0.002—0.192, 其中, 浅色黄姑鱼与日本黄姑鱼、鳃状黄姑鱼之间的遗传距离为 0.115—0.192, 处于种间遗传分化的水平; 而日本黄姑鱼和鳃状黄姑鱼的种间遗传距离仅为 0.002, 尚未达到 Hebert 等(2003)所推荐的物种鉴定的最小种间遗传距离(0.02)。柴学军等(2009)比较日本黄姑鱼和鳃状黄姑鱼的 *cytb* 基因序列也发现二者具有很高的同源性(99.82%)。利用 16S rDNA 序列计算的日本黄姑鱼和鳃状黄姑鱼的种间遗传距离为 0.026。因此, 16S rDNA 可以用于日本黄姑鱼和鳃状黄姑鱼的分子鉴定(Vences *et al.*, 2005); 而 COI 基因能否作为这两种鱼分子鉴定的有效标记值得商榷。一般而言, 采用单基因作为 DNA 条形码进行物种鉴定可能存在一定的局限性, 同时使用多个分子标记进行分析会增加结果的可靠性(郭新红等, 2004; Elias *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2012)。

2.3 分子系统树分析

基于 Kimura 双参数法分别根据 16S rDNA 和 COI 基因序列计算了石首鱼科鱼类的遗传距离(表 3, 表 4), 并应用邻位相连法(Neighbor-joining, NJ)构建

表 3 基于 16S rDNA 的石首鱼科鱼类的种内和种间遗传距离
Tab.3 Intraspecific and interspecific genetic distance among Sciaenidae species based on 16S rDNA

	AI	NM	NJ	PD	MM	LP	LC	CN	CL	NA	NC	JD	JE	D
AI														—
NM	0.008													0.001
NJ	0.030	0.026												0.000
PD	0.067	0.067	0.063											—
MM	0.048	0.048	0.046	0.069										—
LP	0.067	0.067	0.059	0.084	0.054									—
LC	0.070	0.070	0.070	0.089	0.059	0.026								—
CN	0.059	0.059	0.059	0.076	0.048	0.020	0.024							—
CL	0.059	0.059	0.057	0.071	0.044	0.020	0.030	0.012						—
NA	0.095	0.091	0.084	0.115	0.086	0.084	0.096	0.082	0.084					0.000
NC	0.107	0.098	0.095	0.127	0.095	0.097	0.109	0.091	0.097	0.024				0.002
JD	0.204	0.201	0.201	0.236	0.195	0.193	0.199	0.188	0.189	0.186	0.204			—
JE	0.214	0.203	0.202	0.231	0.201	0.200	0.193	0.195	0.195	0.183	0.201	0.062		—
JV	0.190	0.182	0.187	0.202	0.177	0.171	0.175	0.167	0.167	0.169	0.182	0.093	0.078	—

D 表示种内遗传距离, 各物种全称见表 1, 表 2

表 4 基于 COI 基因的石首鱼科鱼类的种内和种间遗传距离
Tab.4 Intraspecific and interspecific genetic distance among Sciaenidae species based on COI gene

	NA	NC	NM	NJ	AH	AI	AR	AT	MM	PD	CL	CN	LC	LP	JD	JE	D
NA																	0.002
NC	0.115																0.003
NM	0.179	0.190															0.000
NJ	0.181	0.192	0.002														0.005
AH	0.179	0.188	0.030	0.032													—
AI	0.180	0.176	0.056	0.058	0.059												—
AR	0.171	0.175	0.061	0.063	0.065	0.046											—
AT	0.164	0.169	0.072	0.074	0.080	0.063	0.060										—
MM	0.169	0.147	0.148	0.149	0.145	0.144	0.136	0.145									—
PD	0.172	0.167	0.178	0.180	0.191	0.181	0.175	0.181	0.178								—
CL	0.222	0.227	0.224	0.225	0.241	0.232	0.218	0.227	0.199	0.205							—
CN	0.219	0.230	0.222	0.222	0.241	0.230	0.216	0.222	0.197	0.210	0.007						—
LC	0.197	0.223	0.178	0.180	0.185	0.185	0.176	0.199	0.180	0.170	0.132	0.137					—
LP	0.181	0.201	0.197	0.199	0.217	0.186	0.190	0.198	0.175	0.180	0.144	0.150	0.133				—
JD	0.214	0.207	0.214	0.213	0.214	0.230	0.219	0.211	0.211	0.212	0.238	0.238	0.219	0.203			—
JE	0.220	0.216	0.207	0.207	0.209	0.221	0.216	0.216	0.218	0.205	0.238	0.238	0.228	0.210	0.026		—
JV	0.254	0.247	0.286	0.286	0.288	0.280	0.278	0.275	0.256	0.249	0.274	0.272	0.257	0.241	0.121	0.140	—

D 表示种内遗传距离, 各物种全称见表 1, 表 2

了分子系统进化树(图 1, 图 2), 枝上的数值是 1000 次重复抽样检验的置信度值。由 16S rDNA 片段构建的 NJ 树来看, 黄姑鱼与浅色黄姑鱼聚为一枝, 鳁状黄姑鱼首先与无味白姑鱼(*A. inodorus*)聚类, 然后与日本黄姑鱼聚为一枝, 具有很高的支持率。由 COI 基因片段构建的 NJ 树来看, 黄姑鱼与浅色黄姑鱼首先聚为一枝, 日本黄姑鱼和鳁状黄姑鱼聚为一枝。由拓扑结构来看, 日本黄姑鱼和鳁状黄姑鱼与黄姑鱼属代表种黄姑鱼和浅色黄姑鱼的亲缘关系较远。将日本黄姑鱼

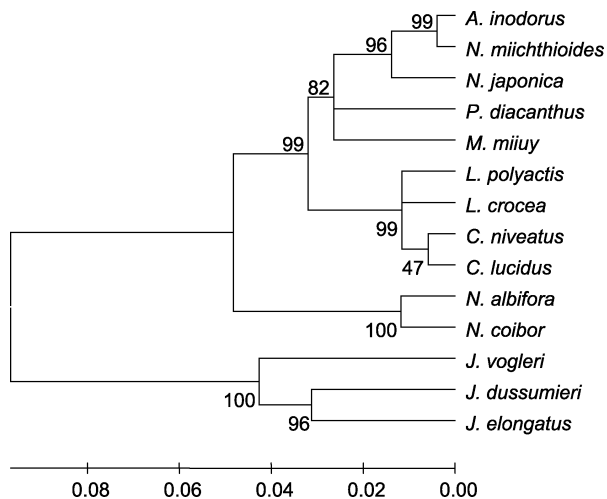


图 1 基于 16S rDNA 构建的石首鱼科鱼类分子系统树(NJ 法)

Fig.1 Molecular phylogenetic tree of Sciaenidae fishes based on the fragment of the 16S rDNA (NJ method)

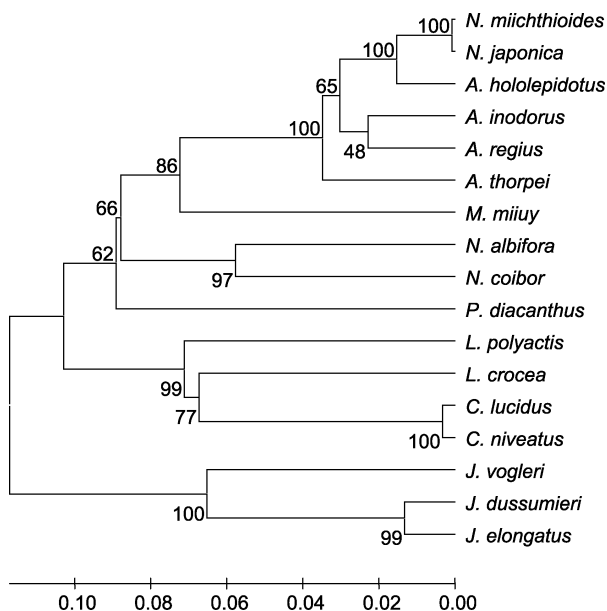


图 2 基于 COI 构建的石首鱼科鱼类分子系统树(NJ 法)

Fig.2 Molecular phylogenetic tree of Sciaenidae fishes based on the fragment of the COI gene (NJ method)

与鳁状黄姑鱼以及黄姑鱼和浅色黄姑鱼划分为两个类群, 基于 16S rDNA 和 COI 基因序列计算出两者间的遗传距离为 0.102 和 0.180, 表明日本黄姑鱼和鳁状黄姑鱼与黄姑鱼属间存在较大的遗传分化, 它们之间的亲缘关系已经超过了同属内的遗传分化水平(表 3, 表 4)。因此, 研究结果支持黄姑鱼属不包括日本黄姑鱼和鳁状黄姑鱼的分类学观点。

目前, 鱼类分类学家普遍认为日本黄姑鱼和鳁状黄姑鱼应划归为白姑鱼属 *Argyrosomus*(成庆泰等, 1987; 沈世杰, 1993; 庄平等, 2006; 伍汉霖等, 2012)。基于 COI 基因序列的分子系统树表明, 日本黄姑鱼和鳁状黄姑鱼与白姑鱼属的腋斑白姑鱼(*A. hololepidotus*)、无味白姑鱼(*A. inodorus*)、大西洋白姑鱼(*Argyrosomus regius*)和方尾白姑鱼(*A. thorpei*)等聚为同一类群。同时, 利用 16S rDNA 构建的分子系统树也表明日本黄姑鱼和鳁状黄姑鱼与无味白姑鱼聚类。因此, 上述结果支持日本黄姑鱼和鳁状黄姑鱼应属白姑鱼属的分类学观点。

综上, 本研究结果从分子系统学角度为黄姑鱼属的重新修订提供科学依据, 支持日本黄姑鱼和鳁状黄姑鱼属白姑鱼属的分类学观点; 利用 16S rDNA 可以对 4 种黄姑鱼类进行分子鉴定, 但是, 基于 COI 基因计算的日本黄姑鱼和鳁状黄姑鱼的种间遗传距离尚未达到种间分化水平, 应用该基因片段进行这两种鱼的分子鉴定值得商榷。然而, 本研究所获得黄姑鱼属的种类及数量有限, 希望以后能采集到尽可能多的种类及样品, 利用多种分子标记从属间、种间以及种内不同水平进行黄姑鱼属的系统发育研究, 进一步阐明中国石首鱼科鱼类的物种多样性及其进化关系, 深化对石首鱼科鱼类的进化和中国近海海洋鱼类区系的认识。

参 考 文 献

- 马春艳, 马凌波, 倪 勇等, 2012. 基于 RAG 基因的中国近海 13 种石首鱼科鱼类系统进化关系. 水产学报, 36(1): 9—16
- 王 巍, 朱 华, 胡红霞等, 2009. 五种鲷鱼线粒体控制区异质性和系统发育分析. 动物学研究, 30(5): 487—496
- 成庆泰, 郑葆珊, 1987. 中国鱼类系统检索. 北京: 科学出版社, 317—324
- 朱元鼎, 张春霖, 成庆泰, 1963a. 石首鱼科. 东海鱼类志. 北京: 科学出版社, 268—293
- 朱元鼎, 罗云林, 伍汉霖, 1963b. 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, 47—56
- 伍汉霖, 邵广诏, 赖春福等, 2012. 拉汉世界鱼类系统名典.

- 北京: 北京出版社, 105—535
- 庄平, 王幼槐, 李圣法等, 2006. 长江口鱼类. 上海: 上海科技出版社, 348—349
- 刘君, 李琪, 孔令锋等, 2009. 基于线粒体 COI 的 DNA 条形码技术在贻贝科种类鉴定中的应用. 水生生物学报, 35(5): 874—881
- 李琪, 邹山梅, 郑小东等, 2010. DNA 条形码及其在海洋生物中的应用. 中国海洋大学学报(自然科学版), 40(8): 43—47
- 沈世杰, 1993. 台湾鱼类志. 台湾: 国立台湾大学动物学系出版, 383—392.
- 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
- 柳淑芳, 陈亮亮, 戴芳群等, 2010. 基于线粒体 COI 基因的 DNA 条形码在石首鱼科(Sciaenidae)鱼类系统分类中的应用. 海洋与湖沼, 41(2): 223—232
- 柴学军, 李鹏飞, 吴祖杰, 2009. 日本黄姑鱼和鲩状黄姑鱼细胞色素 b 基因序列的比较分析. 现代渔业信息, 24(4): 18—20
- 徐冬冬, 尤锋, 楼宝等, 2010. 8 种鲆鱼种间遗传距离与杂交亲和性的相关性分析. 水产学报, 34(2): 178—184
- 郭新红, 刘少军, 刘巧等, 2004. 鱼类线粒体 DNA 研究新进展. 遗传学报, 31(9): 983—1000
- 程国宝, 李三磊, 徐冬冬等, 2012. 梭鱼和鲮鱼线粒体 16S rRNA 和 COI 基因片段的比较分析. 浙江海洋学院学报: 自然科学版, 31(2): 103—106
- 童馨, 杜博, 喻达辉等, 2007. 浅色黄姑鱼线粒体 16S rRNA 基因片段序列特征分析. 海洋水产研究, 28(3): 85—91
- 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
- Cui Z, Liu Y, Liu J *et al*, 2010. Molecular identification of *Pampus* fishes (Perciformes, Stromateidae). Ichthyological Research, 57(1): 32—39
- Elias M, Hill R I, Willmott K R *et al*, 2007. Limited performance of DNA barcoding in a diverse community of tropical butterflies. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 274(1627): 2881—2889
- Feng Y W, Li Q, Kong L F *et al*, 2011. DNA barcoding and phylogenetic analysis of Pectinidae (Mollusca: Bivalvia) based on mitochondrial COI and 16S rRNA genes. Molecular Biology Reports, 38: 291—299
- Hebert, Paul D N, Sujevan Ratnasingham, *et al*, 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit I divergences among closely related species. Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, 270(S1): S96—S99
- Jordan D S, Thompson W F, *et al*, 1911. A review of the sciaenoid fishes of Japan. Proceedings of the United States National Museum, 39(1787): 241—261
- 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. Molecular Biology Reports, 36(5): 831—839
- Liu Z J, Cordes J F, 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. Aquaculture, 238(1): 1—37
- Malakar A K, Lakra W S, Goswami M *et al*, 2012. Molecular identification of three *Ompok* species using mitochondrial COI gene. Mitochondrial DNA, 23(1): 20—24
- Teletchea F, 2009. Molecular identification methods of fish species: reassessment and possible applications. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 19(3): 265—293
- Trewavas E, 1977. The sciaenid fishes (croakers or drums) of the Indo-West-Pacific. Transactions of the Zoological Society of London, 33(2): 253—541
- Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F *et al*, 1997. The CLUSTAL-X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acids Research, 25(24): 4876—4882
- Tamura K, Dudley J, Nei M *et al*, 2007. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. Molecular Biology Evolution, 24(8): 1596—1599
- Vences M, Thomas M, Van der Meijden A, *et al*. 2005. Comparative performance of the 16S rRNA gene in DNA barcoding of amphibians. Frontiers in Zoology, 2(1): 5
- Ward, R, Zemlak T, Innes B *et al*, 2005. DNA barcoding Australia's fish species. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 360(1462): 1847—1857
- Zhang J, Hanner R, 2012. Molecular approach to the identification of fish in the South China Sea. PloS One, 7(2): e30621

MOLECULAR PHYLOGENETY OF SPECIES *NIBEA* IN 16S rDNA AND CYTOCHROME C OXIDASE SUBUNIT I MITOCHONDRIAL GENES

XIN Jian, ZHANG Yu-Rong, XU Dong-Dong, LOU Bao, ZHAN Wei, MAO Guo-Min

(Marine Fishery Institute of Zhejiang Province, Zhejiang province Key Lab of Mariculture and Enhancement, Zhoushan 316100, China)

Abstract To understand the evolutionary relationships in four *Nibea* fish species including *Nibea albifora*, *N. ciobor*, *N. japonica*, and *N. miichthioides*, partial sequences of 16S rDNA and cytochrome c oxidase subunit I (CO I) mitochondrial genes were PCR-amplified and sequenced. The inter- and intra-specific genetic distance was calculated for species identification and phylogenetic building on available sequences from homologous regions of 13 other Sciaenidae species registered in GenBank. The results show that: (1) molecular identification is practical in the four species in 16S rDNA sequence. However, the inter-specific genetic distance between *N. japonica* and *N. miichthioides* was 0.002–0.005 in CO I gene and thereby molecular identification for the two fish species using CO I gene was questionable; (2) the phylogenetic relationship between *N. japonica* and *N. miichthioides* are genetically diverged from *N. albifora* and *N. ciobor* but clustered with genus *Argyrosomus*. Therefore, we suggest that the taxonomy shall be revised on genus *Nibea*, to which *N. japonica* and *N. miichthioides* should be placed in genus *Argyrosomus*.

Key words *Nibea*; 16S rDNA; COI; molecular identification; phylogenetic relationship