

基于线粒体 COI 基因序列的中国鲷科鱼类 系统进化关系*

陈咏霞¹ 吴仁协² 梁娜¹ 刘静^{3①}

(1. 河北大学生命科学学院 保定 071002; 2. 广东海洋大学水产学院 湛江 524088;
3. 中国科学院海洋研究所海洋生物分类与系统演化研究室 青岛 266071)

摘要 采用 PCR 特异性扩增了采集于中国沿海的鲷科 5 属 11 种鱼类的线粒体 COI 基因序列, 并结合 GenBank 已有的同源序列, 对中国鲷科 6 属 12 种鱼类的分子系统进化关系进行研究。结果表明, 中国鲷科 6 属 12 种鱼类的 COI 基因序列的平均碱基组成为 T 30.4%、C 27.7%、A 23.5%、G 18.4%; 属间 Kimura 双参数平均遗传距离为 9.5%—19.7%, 种间平均遗传距离为 2.2%—21.8%, 其中四长棘鲷属、赤鲷属和犁齿鲷属间的遗传距离(8.2%—13.8%)接近于棘鲷属多数种间遗传距离(6.5%—12.2%); 分子系统树显示中国鲷科鱼类分为两大类群, 类群 I 包括四长棘鲷属、犁齿鲷属、赤鲷属、牙鲷属等红体色种类, 类群 II 含平鲷属、棘鲷属等银灰体色种类, 其中棘鲷属的冲绳棘鲷和黄鳍棘鲷先聚为姐妹群, 澳洲棘鲷、黑棘鲷、灰鳍棘鲷和台湾棘鲷聚为另一支。本文结合已有研究结果得出: 中国鲷科鱼类属间是先按体色、后按牙齿分化的, 四长棘鲷属、犁齿鲷属和赤鲷属有相当密切的亲缘关系; 中国棘鲷属是一个有共同祖先的单系群, 属内存在两个平行进化的分支, 两分支的种间关系具有明显的分化。

关键词 鲷科; COI 基因; 系统进化

中图分类号 Q953 doi: 10.11693/hyhz20140900255

鲷科(Sparidae)隶属于硬骨鱼纲(Osteichthyes)、鲈形目(Perciformes)、鲈亚目(Percoidei), 主要分布于大西洋、印度洋和太平洋的温带至热带的近海中下层砂泥或岩礁底质海域, 在中国北起渤海、南至南海均有分布。据 Nelson 于 2006 年统计, 世界鲷科鱼类有 33 属约 115 种(Nelson, 2006)。随后, 又陆续有一些新种记述以及有效属种的分类修订(Kume *et al.*, 2008; Iwatsuki *et al.*, 2006, 2010, 2011; 管哲成等, 2012)。目前, 世界报道鲷科鱼类约有 34 属 133 种, 中国已知有 7 属 18 种(樊冀蓉等, 2011; 管哲成等, 2012)。鲷科鱼类肉质鲜美、营养丰富, 经济价值很高, 在我国乃至世界海洋渔业资源中占据重要地位。随着人工繁育技术的成功推广, 有些种类如真赤鲷(*Pagrus major*)、黑棘鲷(*Acanthopagrus schlegelii*)、黄鳍棘鲷(*A. latus*)等, 已成为中国海水鱼类的重要养殖对象。

鲷科鱼类因其高度的形态进化可塑性和独立起源, 而具有较为丰富的物种多样性(Nelson, 2006)。但由于长期适应相似的环境而产生趋同进化, 鲷科鱼类近缘种间外部形态及内部骨骼特征都表现出较高的相似性(Chiba *et al.*, 2009), 给该类群的形态分类与物种鉴定带来很大困难, 导致其近缘种的分类和命名问题一直非常混乱, 同物异名现象时有发生, 部分属、种的分类地位及系统发育关系仍存在较大争议(Chiba *et al.*, 2009; 樊冀蓉等, 2011)。目前, 有关中国鲷科鱼类的分子系统学研究虽有所报道(江世贵等, 2003; 杨慧荣等, 2006; 张殿昌等, 2007; 徐田军等, 2010), 但仅限于一些常见种类, 其研究结果难以阐明该类群的属间分化、亲缘关系以及部分近缘种的系统进化关系等, 有必要采用新的技术和方法来进一步研究。

*国家自然科学基金资助项目, 31172053 号, 41276166 号, 41006084 号, 31372166 号; 广东省高等学校优秀青年教师培养计划资助项目, Yq2013093 号。陈咏霞, 副教授, E-mail: chen Yongxia@hbu.edu.cn

通讯作者: 刘静, 研究员, E-mail: jliu@qdio.ac.cn

收稿日期: 2014-09-19, 收修改稿日期: 2015-01-28

近年来,随着 DNA 条形码技术在系统分类学研究领域的兴起,尤其是基于线粒体 COI 基因的 DNA 条形码分析技术更是被广泛应用于鱼类的物种识别、近缘种区分和系统进化关系等研究(Ward *et al.*, 2005; 彭居俐等, 2009; 柳淑芳等, 2010; Lakra *et al.*, 2011), 但基于线粒体 COI 基因的中国鲷科鱼类系统进化研究尚未见报道。本文通过系统分析中国鲷科 6 属 12 种鱼类的线粒体 COI 基因序列在其属间、种间的变异,并与已有研究结果进行比较,以探讨中国鲷科鱼类属、种的分化和系统进化关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究所分析的鲷科鱼类 5 属 11 种 84 个个体于 2012 年 12 月—2013 年 11 月采集于中国各沿海,其中赤鲷属(*Pagrus*)2 种 16 个、犁齿鲷属(*Evynnis*)1 种 10 个、牙鲷属(*Dentex*)1 种 9 个、平鲷属(*Rhabdosargus*)1 种 8 个和棘鲷属(*Acanthopagrus*)6 种 41 个,具体种类和来源见表 1。鲷科鱼类的形态分类依据《中国鱼类系统检索》(成庆泰等, 1987)、《台湾鱼类图志》

表 1 本研究所分析的鲷科鱼类和来源地
Tab.1 The species and sources of materials

科	属	种	来源地	样本量	单倍型编号
鲷科 Sparidae	赤鲷属 <i>Pagrus</i>	真赤鲷 <i>P. major</i>	海南三亚	2	SY
			福建厦门	4	XM
			广西北海	3	BH1、BH2
			辽宁大连	3	DLSYXM、DL、
			山东青岛	2	QDDLSYXM
			广西北海	2	BH1、BH2
	犁齿鲷属 <i>Evynnis</i>	二长棘犁齿鲷 <i>E. cardinalis</i>		2	*JN868714
			广西北海	2	BH1、BH2
			福建厦门	3	XM1、XM2
			广东珠海	3	ZH1、ZH2
			海南三亚	2	SY1、SY2
			台湾高雄	2	TW
	牙鲷属 <i>Dentex</i>	黄牙鲷 <i>D. hypselosomus</i>	海南三亚	4	SYXMTW
			福建厦门	3	XM1、XM2
	平鲷属 <i>Rhabdosargus</i>	平鲷 <i>R. sarba</i>	福建厦门	6	XM
			浙江舟山	2	ZS
	棘鲷属 <i>Acanthopagrus</i>	黄鳍棘鲷 <i>A. latus</i>	广西北海	3	BH
			广东湛江	3	ZJ
			广东珠海	2	ZH
			福建厦门	4	XM、XMZJBHZH
黑棘鲷 <i>A. schlegelii</i>		广东珠海	2	ZH1、ZH2	
		广西北海	2	BH	
		浙江舟山	6	ZS、DLZS1、DLZS2	
		辽宁大连	8	DL1、DL2	
冲绳棘鲷 <i>A. chinshira</i>		广西北海	1	BH	
		福建厦门	4		
		灰鳍棘鲷 <i>A. berda</i>	台湾高雄	2	ZJXMTW
		广东湛江	2		
		台湾棘鲷 <i>A. taiwanensis</i>	台湾高雄	1	TW
		澳洲棘鲷 <i>A. australis</i>	广东湛江	1	ZJ
四长棘鲷属 <i>Argyrops</i>	*高体四长棘鲷 <i>A. spinifer</i> 1			*DQ107840	
	*高体四长棘鲷 <i>A. spinifer</i> 2			*HQ149794	
	*高体四长棘鲷 <i>A. spinifer</i> 3			*GU804832	
笛鲷科 Emmelichthyidae	笛鲷属 <i>Lutjanus</i>	*紫红笛鲷 <i>L. argentimaculatus</i> 1			*JF493837
		*紫红笛鲷 <i>L. argentimaculatus</i> 2			*HQ149880
		*黄笛鲷 <i>L. lutjanus</i> 1			*KF930065
		*黄笛鲷 <i>L. lutjanus</i> 2			*JN021224
金线鱼科 Nemipteridae	金线鱼属 <i>Nemipterus</i>	*日本金线鱼 <i>N. japonicus</i> 1			*HQ149889
		*日本金线鱼 <i>N. japonicus</i> 2			*FJ347947

*表示 GenBank 下载的序列

(沈世杰等, 2011)、Kume 等(2008)和 Iwatsuki 等(2006), Iwatsuki 等(2010)报道文献进行物种鉴定。取鱼体背部肌肉组织浸泡于 95%乙醇, -20°C 保存备用。

1.2 DNA 提取、序列扩增及测定

采用蛋白酶-酚/氯仿方法(Green *et al.*, 2001)提取鲷科鱼类基因组 DNA。用于扩增 mtDNA COI 的引物分别为 F1 (5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA-3')和 R1 (5'-TCAACCAACCACAAAGACA TTG GCAC-3') (Ward *et al.*, 2005)。PCR 反应体系总体积为 25 μl , 其中: 10 \times PCR 缓冲液 100mmol/L Tris (pH 8.0)、50mmol/L KCL、1.5mmol/L MgCl₂、dNTPs 200 $\mu\text{mol/L}$ 、各引物浓度 1.0 $\mu\text{mol/L}$ 、*Taq* 酶 1.25U。PCR 反应条件为: 95°C 预变性 3min, 然后 94°C 变性 30s、 $52\text{--}60^{\circ}\text{C}$ 退火 30s、 72°C 延伸 1min, 循环 35 次; 最后 72°C 延伸 10 min。

PCR 产物经 1.2%琼脂糖凝胶电泳检测后, 用胶回收试剂盒(Tiangen, 天根生化科技有限公司)进行 PCR 产物的回收和纯化。纯化的 PCR 产物由上海英潍捷基贸易有限公司进行双向测序。

1.3 基因序列信息下载

从 GenBank 下载鲷科赤鲷属的蓝点赤鲷(*P. caeruleostictus*)和四长棘鲷属(*Argyrops*)的高体四长棘鲷(*A. spinifer*)等 4 个 COI 基因同源序列, 与本研究所测定的 84 个鲷科鱼类共计 6 属 12 种 88 个 COI 基因序列一并分析。另选取与鲷科亲缘关系较近的笛鲷科(Lutjanidae)笛鲷属(*Lutjanus*)的黄笛鲷(*L. lutjanus*)、紫红笛鲷(*L. argentimaculatus*)和金线鱼科(Nemipteridae)金线鱼属(*Nemipterus*)的日本金线鱼(*N. japonicus*)等 6 个 COI 基因同源序列作为外类群, 相关信息见表 1。

1.4 数据分析

利用 Clustal W 软件(Thompson *et al.*, 1994)对测定序列和 GenBank 下载的序列进行校对, 排序后去除两端冗余序列, 保留一致序列进行系统发育分析。用 DnaSP 5.10 软件(Libeado *et al.*, 2009)确定所测定序列的单倍型。用 MEGA 5.0 软件(Tamura *et al.*, 2011)统计序列的平均碱基组成、变异位点、简约信息位点数、转换/颠换比值(T_s/T_v)、遗传距离, 其中遗传距离计算模型采用 Kimura 双参数进化模型。系统发育分析采用最大似然法(ML)和贝叶斯法(BI)分析方法构建, 并以 jModelTest2.1.4 软件(Guindon *et al.*, 2003)选择最适合的进化模型。最大似然法运用 MEGA 5.0 软件构建, 替代模型为 GTR, 进行 1000 次自展分支检

验。贝叶斯法分析应用 MrBayes 3.0 软件(Huelsenbeck *et al.*, 2001), 随机选取起始树, 以后验概率(posterior probability, PP)来表示各分支的可信度。替代模型根据 hLRTs 检验结果设定为“nst=6 rates=gamma”, 计算出最适合的替代模型为 GTR+G+I。计算 2000000 代, 每 100 代对系统树进行抽样, 最终得到 20 001 棵系统发育树, 重复一次以保证所获得结果的准确度。

2 结果与分析

2.1 碱基组成及序列变异

所测定的鲷科 11 种 84 个 mtDNA COI 基因有 40 个单倍型序列(表 1), 与 GenBank 下载的 4 个同源序列比对, 保留共有序列 616 bp 用于合并分析。结果表明, 中国鲷科 6 属 12 种 44 个 COI 单倍型序列的平均碱基组成为 T 30.4%、C 27.7%、A 23.5%、G 18.4%, 其中 A+T 含量(53.9%)高于 C+G 含量(46.1%), 碱基组成表现出明显的 T 偏倚。其中, 第 3 密码子位点 C+G 含量(57.3%)显著高于第 1 和第 2 密码子位点(分别为 42.7%和 38.4%)。

所分析序列共含有保守位点 423 个, 约占序列总长的 68.7%(下同); 变异位点数 193 个, 约占 31.3%; 简约信息位点 189 个, 约占 30.7%。全部位点中不变位点有 541 个, 转换位点有 55 个, 颠换位点有 21 个, 序列中的转换明显多于颠换, 转换颠换比值(T_s/T_v)平均为 2.60, 序列突变未达到饱和。其中不变位点属第 1 密码子位点最多, 有 206 个; 而转换位点和颠换位点均是第 2 密码子位点最多, 分别有 50 个和 21 个。

2.2 遗传距离

表 2、表 3 列出了基于 Kimura 双参数进化模型计算的鲷科属、种间的平均遗传距离。结果显示, 鲷科 6 属间的平均遗传距离以牙鲷属与棘鲷属的最大(19.7%), 以赤鲷属与犁齿鲷属的最小(9.5%); 属间遗传距离明显大于属内的平均遗传距离(0.3%—6.2%)。四长棘鲷属、犁齿鲷属、赤鲷属、牙鲷属间的平均遗传距离(9.0%—15.5%)明显小于它们与棘鲷属、平鲷属间的平均遗传距离(17.1%—19.7%)(表 2)。鲷科 12 种间的平均遗传距离最大值为黄牙鲷与灰鳍棘鲷(21.8%), 最小值为冲绳棘鲷与黄鳍棘鲷(2.2%), 该最小值也是棘鲷属种间的最小平均遗传距离, 远小于它们与棘鲷属其它种类间的平均遗传距离(6.5%—12.2%); 种间遗传距离远大于种内的平均遗传距离(0.2%—0.5%)(表 3)。在棘鲷属 6 种鱼类中, 种间遗传距离以冲绳棘鲷和黄鳍棘鲷(2.2%)为最小, 其次是澳

洲棘鲷与冲绳棘鲷、黑棘鲷(分别为 6.7%、6.5%), 以灰棘鲷与冲绳棘鲷、黄鳍棘鲷(分别为 11.3%、12.2%) 的遗传分化程度为最大。属间和种间的遗传距离比较表明, 四长棘鲷属、赤鲷属和犁齿鲷属间的遗传距离(8.2%—13.8%)接近于棘鲷属除冲绳棘鲷和黄鳍棘鲷之外的多数种间遗传距离(6.5%—12.2%)。

2.3 分子系统进化树

应用贝叶斯法(BI 法)和最大似然法(ML 法)分别构建了鲷科鱼类的分子系统进化树(图 1, 图 2), 各分支的数字表示 ML 树该支的 Bootstrap 支持率和 BI 树该支的后验概率。两系统树的拓扑结构基本一致, 鲷科 6 属 12 种鱼类分为两大类群, 并分别对应于两种体色类型: 第一类群(类群 I)由四长棘鲷属、犁齿鲷属、赤鲷属、牙鲷属等 4 属 5 个种类以高置信度(BI 100%, ML 91%)形成, 为红体色鲷科鱼类; 平鲷属和

棘鲷属的 7 个种类同样以高置信度(BI 92%, ML 91%)聚为第二类群(类群 II), 为银灰体色的鲷科鱼类。

表 2 基于 Kimura 双参数进化模型的鲷科 6 属间 COI 基因单倍型的平均遗传距离(%)

Tab.2 The average pairwise distances among six genera of Sparidae for COI gene haplotypes in Kimura-2-parameter model (%)

	1	2	3	4	5	属内遗传距离
1						6.0
2	9.5					0.4
3	12.4	12.6				4.0
4	15.5	14.5	14.2			0.3
5	18.6	17.8	18.9	19.7		6.2
6	17.3	17.1	18.1	19.2	16.2	0.2

1. 赤鲷属 *Pagrus*; 2. 犁齿鲷属 *Eynniss*; 3. 四长棘鲷属 *Argyrops*; 4. 牙鲷属 *Dentex*; 5. 棘鲷属 *Acanthopagrus*; 6. 平鲷属 *Rhabdosargus*

表 3 基于 Kimura 双参数进化模型的鲷科 12 种鱼类 COI 基因单倍型的平均遗传距离(%)

Tab.3 The average pairwise distances among 12 species of Sparidae for COI gene haplotype in Kimura-2-parameter model (%)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	种内遗传距离
1												0.5
2	12.4											0.3
3	8.2	12.5										0.4
4	11.8	13.8	12.6									0.4
5	15.2	16.2	14.5	14.2								0.3
6	19.1	20.3	18.3	19.0	18.2							n/c
7	18.7	20.1	17.8	18.5	18.2	2.2						0.4
8	19.3	19.9	18.1	19.2	19.7	6.7	8.9					n/c
9	17.5	18.9	17.3	18.8	20.5	8.7	8.7	6.5				0.5
10	18.5	18.3	19.2	20.5	21.8	11.3	12.2	7.8	9.1			n/c
11	20.7	19.3	19.3	19.9	19.6	9.9	9.2	7.8	9.3	8.6		n/c
12	17.0	17.9	17.1	18.1	19.2	16.0	16.0	15.8	16.3	16.1	16.7	0.2

1. 真赤鲷 *P. major*; 2. 蓝点赤鲷 *P. caeruleostictus*; 3. 二长棘犁齿鲷 *E. cardinalis*; 4. 高体四长棘鲷 *A. spinifer*; 5. 黄牙鲷 *D. hypselosomus*; 6. 冲绳棘鲷 *A. chinshira*; 7. 黄鳍棘鲷 *A. latus*; 8. 澳洲棘鲷 *A. australis*; 9. 黑棘鲷 *A. schlegelii*; 10. 灰鳍棘鲷 *A. berda*; 11. 台湾棘鲷 *A. taiwanensis*; 12. 平鲷 *R. sarba*

在类群 I 中, 牙鲷属位于分支基部, 为最先分化出来, 其次分化是四长棘鲷属, 犁齿鲷属和赤鲷属为近期分化, 二者种类彼此嵌套, 其中二长棘犁齿鲷与真赤鲷先聚为姐妹群(置信度: BI 100%, ML 95%), 然后再与蓝点赤鲷聚在一起(置信度: BI 51%, ML 74%), 以致赤鲷属未能形成单系群。在类群 II 中, 单系群的棘鲷属分为两分支, 冲绳棘鲷和黄鳍棘鲷在两系统树中均以高置信度(BI 98%, ML 98%)最先聚为姐妹群(分支 1), 具有较近的亲缘关系; 澳洲棘鲷、黑棘鲷、灰鳍棘鲷和台湾棘鲷以中等程度的置信度(BI 77%, ML 65%)聚在一起(分支 2), 但澳洲棘鲷在两系

统树中的位置有所差异。

3 讨论

3.1 鲷科鱼类的属间分化模式

有关鲷科鱼类属间分化与亲缘关系, 国内外学者存在明显分歧。王存信(1989)比较了中国鲷科鱼类的头骨形态构造和牙齿等特征, 提出左右额骨愈合的四长棘鲷属、赤鲷属和牙鲷属聚为一支, 而左右额骨分离的棘鲷属、平鲷属、犁齿鲷属聚为另一支。Akazaki(1962)根据对鲷形鱼类系统发育的传统非定量分析, 将红体色的鲷科鱼类分为两支, 最先分化的

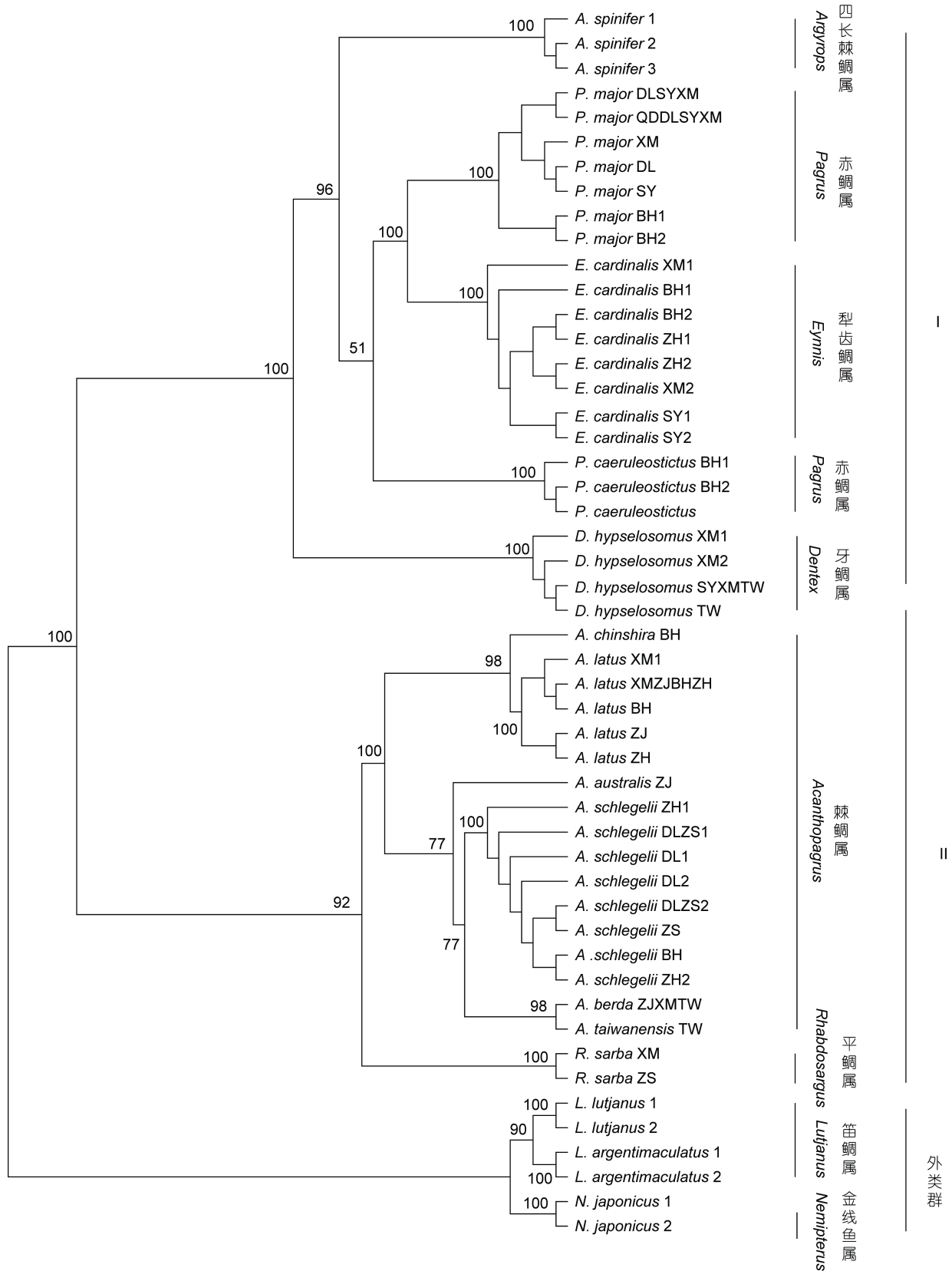


图 1 基于 12 种鲷科鱼类 COI 基因单倍型构建的贝叶斯法(BI)分子系统树

Fig.1 Molecular phylogenetic tree of 12 species of Sparid based on COI gene haplotypes using Bayesian (BI) inference method

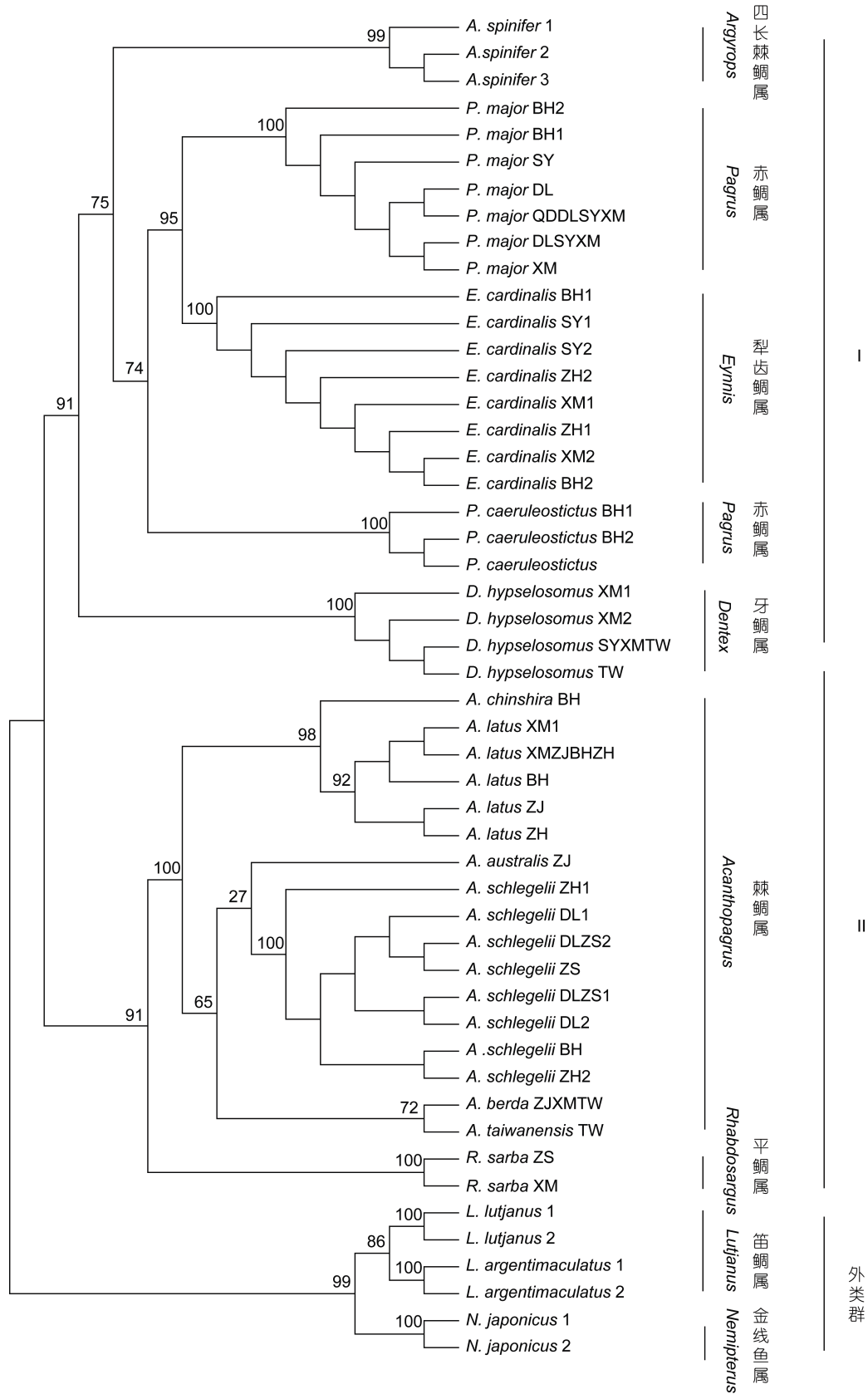


图 2 基于 12 种鲷科鱼类 COI 基因单倍型构建的最大似然法(ML)分子系统树

Fig.2 Molecular phylogenetic tree of 12 species of Sparid based on COI gene haplotypes using maximum likelihood inference method

一支为牙鲷属和冬鲷属(*Cheimerius*), 位于鲷科鱼类的基部, 另一支为四长棘鲷属、犁齿鲷属和赤鲷属。Hayashi(2002)依据鲷科鱼类有无臼齿和枕骨区有无隆起, 也先将牙鲷属和冬鲷属划分出来, 再依据体色、顶部鳞片和臼齿行数等特征, 将四长棘鲷属、犁齿鲷属、赤鲷属与棘鲷属、平鲷属区分开来。由此可见, 王存信(1989)和 Hayashi(2002)均认为鲷科属间分化由骨骼(包括牙齿)主导, 而 Akazaki(1962)则认为鲷科属间分化可能按体色进行, 其所得的属间亲缘关系明显相左。

在系统进化上, 中国鲷科两大类群划分与其体色类型相吻合, 即红体色的四长棘鲷属、犁齿鲷属、赤鲷属和牙鲷属聚为一支(类群 I), 银灰体色的棘鲷属和平鲷属聚为另一支(类群 II)。本文作者依据尾舌骨、前颌骨、围眶骨、筛骨、蝶耳骨、腭骨等多个骨骼特征对中国鲷科鱼类的划分也得出了相同的结果(陈咏霞等, 2014)。Taniguchi 等(1986)的同工酶位点、江世贵等(2003)的线粒体 *Cyt b* 基因序列以及杨慧荣等(2006)的 RAPD 标记研究结果均支持上述鲷科两大类群的属间亲缘关系。但与王存信(1989)仅依据鲷科左右额骨愈合情况的划分结果不一致, 这可能与其所选取的分类性状不稳定有关, 因为鲷科某些种类(如真赤鲷)在发育过程中其左右额骨愈合情况会发生变化(王存信, 1989)。在形态学方面, 鲷科鱼类具臼齿为其主要特征之一, 也是各属、种间的分类依据, 但牙鲷属却缺失臼齿, 上下颌均为 1 行尖齿(王存信, 1989)。因此, 与 Hayashi(2002)先按牙齿分化、再按体色分化的观点不同, 作者认为: 鲷科鱼类先按体色分化, 即体色相近物种首先聚在一起; 再按牙齿分化, 即无臼齿的牙鲷属位于红体色类群的基部, 为该类群的最先分化者, 而具 2—3 行圆锥状臼齿的四长棘鲷属、犁齿鲷属和赤鲷属则具有更近的亲缘关系。

3.2 四长棘鲷属、犁齿鲷属和赤鲷属的系统关系

遗传距离分析显示, 体红色类群的四长棘鲷属、赤鲷属和犁齿鲷属间的遗传距离(8.2%—13.8%)为鲷科 6 属间最低值, 与棘鲷属除冲绳棘鲷和黄鳍棘鲷之外的多数种间遗传距离(6.5%—12.2%)相近。江世贵等(2003)基于 *Cytb* 基因序列研究, 发现四长棘鲷、真赤鲷、犁齿鲷间的序列差异(6.4%—10.9%)小于棘鲷属的黄鳍棘鲷与黑棘鲷、灰鳍棘鲷的序列差异(分别为 9.9%和 12.5%); 杨慧荣等(2006)的 PAPD 技术分析也显示在 5 种鲷科鱼类中, 真赤鲷与二长棘犁齿鲷的遗传距离(0.3782)仅次于黄鳍棘鲷与黑棘鲷的遗传距

离(0.3060), 认为前两者应属于同一个属。显然, 从遗传距离来看, 四长棘鲷、二长棘犁齿鲷、真赤鲷和蓝点赤鲷之间的遗传分化属于种级分化水平。

在形态分类上, 四长棘鲷属、犁齿鲷属和赤鲷属的鉴别特征主要是依据背鳍有无延长鳍棘。背鳍鳍棘有四条及以上延长的为四长棘鲷属, 背鳍鳍棘有两条延长的是犁齿鲷属, 背鳍鳍棘无延长的则是赤鲷属。然而, 根据作者对鲷科鱼类标本的检视, 发现背鳍鳍棘是否延长并不是一个稳定的特征, 即使同一种鱼背鳍鳍棘延长也存在多样性。如二长棘犁齿鲷常见为第 3—4 鳍棘呈丝状延长, 有时则是第 3—5 鳍棘延长, 有时则是第 3 鳍棘稍延长, 而第 4—5 鳍棘延长呈丝状, 并且背鳍鳍棘有 12 棘也有 13 棘, 但经过本研究的 COI 条形码检测, 它们均属同一种。蓝点赤鲷幼鱼个体第 3—4 鳍棘延长成丝状, 与二长棘犁齿鲷相似, 而成年个体则稍延长, 蓝点赤鲷体侧散布的蓝色斑点也会随着个体生长逐渐消失。基于上述遗传学和形态学分析, 作者认为四长棘鲷属、犁齿鲷属和赤鲷属有相当密切的亲缘关系, 部分支持上述有关学者的观点。但是能否将它们归并为同一属, 还有待进一步研究。

3.3 棘鲷属物种鉴定及系统分化关系

棘鲷属鱼类广泛分布于印度—西太平洋海域, 目前已报道世界有 20 种(Iwatsuki, 2013), 我国有 7 种(樊冀蓉等, 2011; Renxie *et al.*, 2012), 是鲷科物种多样性最为丰富的一个属, 但其物种鉴定和种间关系较为复杂。本研究中, 6 种棘鲷属鱼类种间遗传距离平均值为 8.46%, 种内遗传距离平均值为 0.5%, 种间遗传距离是种内的 16.9 倍。Hebert 等(2003)对动物界 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 2.0%, 并提出利用 COI 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。可见, 所采用的 COI 基因序列可有效区分 6 种棘鲷属鱼类, 适合用作该属鱼类物种鉴定的 DNA 条形码。

在系统进化上, 6 种棘鲷属鱼类聚为一支单系, 其中冲绳棘鲷和黄鳍棘鲷先聚为姐妹群(分支 1), 而澳洲棘鲷、黑棘鲷、灰鳍棘鲷和台湾棘鲷聚为另一支(分支 2); 遗传分化程度也支持棘鲷属的两分支划分。这表明中国近海棘鲷属是一个有共同祖先的单系群, 属内存在两个平行进化的分支, 两分支的种间关系具有明显的分化。在外部形态上, 冲绳棘鲷、黄鳍棘鲷臀鳍颜色为黄色(Kume *et al.*, 2008), 黑棘鲷、灰鳍

棘鲷和台湾棘鲷臀鳍颜色则为灰色(Iwatsuki *et al.*, 2006); 澳洲棘鲷臀鳍为黄白色, 有时鳍膜为黑色, 介于黄色和灰色之间(Carpenter, 2001)。遗传距离分析显示, 澳洲棘鲷与分支 1 的冲绳棘鲷的遗传分化程度(遗传距离为 6.7%), 并不高于它与同一分支的黑棘鲷、灰鳍棘鲷、台湾棘鲷(分支 2)的遗传分化(遗传距离分别为 6.5%、7.8%、7.8%)。上述分析表明, 在 6 种棘鲷属鱼类中, 冲绳棘鲷与黄鳍棘鲷、台湾棘鲷与灰鳍棘鲷分别具有较近的亲缘关系; 而澳洲棘鲷可能是棘鲷属内两分支的过渡种类, 这与它在属内的系统进化地位不明朗相对应。当然, 由于本研究的澳洲棘鲷 COI 序列仅 1 条, 因此, 不排除因序列数较少导致该物种在两系统树中的位置有差异。吴仁协等(2013)分析认为不同研究中方头鲷属(*Cubiceps*)的系统发育类群有所差别可能与所分析的线粒体 DNA 序列数目有关。

Hsu 等(2011)对台湾 6 种棘鲷属鱼类构建的 AFLP 和 *Cytb* 基因分子拓扑树以及 Chiba 等(2009)的鲷科鱼类 *Cytb* 基因系统进化树, 也支持黑棘鲷、灰棘鲷、台湾棘鲷和橘鳍棘鲷(*A. sivicolus*)聚在一起, 但冲绳棘鲷、黄鳍棘鲷在系统树的位置与本研究不同。造成这种差异的可能原因有多方面: 一是采用的分子标记不同; 二是各自研究所含的物种数和样品来源相差较大; 三是物种的准确鉴定问题, 如过去在台湾和日本冲绳棘鲷常被误鉴定为澳洲棘鲷(Kume *et al.*, 2008)。因此, 今后有必要通过增加种类数和结合多个分子标记来进一步研究棘鲷属鱼类的系统进化关系。

参 考 文 献

- 王存信, 1989. 中国鲷科鱼类的分类研究. 海洋科学集刊, 30: 251—259
- 成庆泰, 郑葆珊, 1987. 中国鱼类系统检索(上册). 北京: 科学出版社, 334—336
- 江世贵, 刘红艳, 苏天凤等, 2003. 4 种鲷科鱼类的线粒体细胞色素 *b* 基因序列及分子系统学分析. 中国水产科学, 10(3): 184—188
- 杨慧荣, 江世贵, 2006. 用 RAPD 技术探讨 5 种鲷科鱼类的亲缘关系. 水产学报, 30(4): 469—474
- 吴仁协, 李超, 刘静, 2013. 鲷亚目鱼类线粒体 16S rRNA 基因序列变异及其分子系统进化关系. 水产学报, 37(1): 16—25
- 沈世杰, 吴高逸, 2011. 台湾鱼类图志. 台北: 国立海洋生物博物馆出版, 481
- 张殿昌, 邵燕卿, 苏天凤等, 2007. 二长棘犁齿鲷线粒体细胞色素 *b* 基因序列和分子系统发育分析. 南方水产, 3(2): 1—7
- 陈咏霞, 刘静, 刘龙, 2014. 中国鲷科鱼类骨骼系统比较及属间分类地位探讨. 水产学报, 38(9): 1360—1374
- 柳淑芳, 陈亮亮, 戴芳群等, 2010. 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. 海洋与湖沼, 41(2): 223—232
- 徐田军, 王日昕, 王健鑫, 2010. 舟山海域 4 种鲷科鱼类线粒体 *Cytb* 基因全序列克隆分析. 南方水产, 6(1): 30—36
- 彭居俐, 王绪祯, 王丁等, 2009. 基于线粒体 CO1 基因序列的 DNA 条形码在鲤科鲷属鱼类物种鉴定中的应用. 水生生物学报, 33(2): 271—276
- 管哲成, 唐文乔, 伍汉霖, 2012. 中国犁齿鲷属鱼类一新种(鲷形目, 鲷科). 动物分类学报, 37(1): 217—221
- 樊冀蓉, 吴仁协, 赵元君等, 2011. 中国鲷科鱼类分类和系统发育研究进展. 中国水产科学, 18(2): 472—480
- Akazaki M, 1962. Studies on the spariform fishes—anatomy, phylogeny, ecology and taxonomy. Osaka, Japan: Kosugi Co Ltd, 1—368
- Carpenter K E, 2001. Family SPARIDAE. In: Carpenter K E, Niem V H eds. The living marine resources of the Western Central Pacific, FAO species identification guide for fishery purposes. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2990—3004
- Chiba S N, Iwatsuki Y, Yoshino T *et al.*, 2009. Comprehensive phylogeny of the Family Sparidae (Perciformes: Teleostei) inferred from mitochondrial gene analyses. Genes & Genetic Systems, 84(2): 153—170
- Green M R, Sambrook J, 2001. Molecular cloning: A laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1—372
- Guindon S, Gascuel O, 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. Systematic Biology, 52(5): 696—704
- Hayashi M, 2002. Sparidae. In: Nakabo T ed. Fishes of Japan with Pictorial Keys to the Species. Tokyo: Tokai University Press, 856—859
- Hebert P D N, Cywinska A, Ball S L *et al.*, 2003. Biological identifications through DNA barcodes. Proceedings the Royal of Society Biological Sciences, 270(1512): 313—322
- Hsu T H, Guillén Madrid A G, Burrige C P *et al.*, 2011. Resolution of the *Acanthopagrus* black seabream complex based on mitochondrial and amplified fragment-length polymorphism analyses. Journal of Fish Biology, 79(5), 1182—1192
- Huelsenbeck J P, Ronquist F, 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny trees. Bioinformatics, 17(8): 754—755
- Iwatsuki Y, 2013. Review of the *Acanthopagrus latus* complex (Perciformes: Sparidae) with descriptions of three new species from the Indo-West Pacific Ocean. Journal of Fish Biology, 83(1): 64—95
- Iwatsuki Y, Carpenter K E, 2006. *Acanthopagrus taiwanensis*, a new sparid fish (Perciformes), with comparisons to *Acanthopagrus berda* (Forsskål, 1775) and other nominal species of *Acanthopagrus*. Zootaxa, 1202: 1—19
- Iwatsuki Y, Heemstra P C, 2011. *Polysteganus mascarenensis*, a new sparid fish species from Mascarene Islands, Indian Ocean. Zootaxa, 3018: 13—20
- Iwatsuki Y, Kume M, Yoshino T, 2010. A new species,

- Acanthopagrus pacificus* from the Western Pacific (Pisces, Sparidae). Bulletin of the National Museum of Nature and Science Series A, 36(4): 115—130
- Kume M, Yoshino T, 2008. *Acanthopagrus chinshira*, a new sparid fish (Perciformes: Sparidae) from the East Asia. Bulletin of the National Museum of Natural Science, (Suppl 2): 47—57
- Lakra W S, Verma M S, Goswami M *et al*, 2011. DNA barcoding Indian marine fishes. Molecular Ecology Resources, 11(1): 60—71
- Libeado P, Rozas J, 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics, 25(11): 1451—1452
- Nelson J S, 2006. Fishes of the World (Fourth Edition). New Jersey: John Wiley & Sons Inc, 371
- Renxie W, Jing L, Jirong F *et al*, 2012. Taxonomic status of the black porgy, *Acanthopagrus schlegelii* (Perciformes: Sparidae) inferred from mitochondrial genes. African Journal of Biotechnology, 11(25): 6641—6646
- Tamura K, Peterson D, Peterson N *et al*, 2011. MEGA 5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Molecular Biology and Evolution, 28(10): 2731—2739
- Taniguchi N, Fujita M, Akazaki M, 1986. Genetic divergence and systematics in sparid fish from Japan. Indo-pacific fish biology. In: Uyeno T, Arai R, Taniguchi T eds. Proceedings of the Second International Conference. Tokyo: Tokyo National Museum, 849—858
- Thompson ID, Higgins D G, Gibson T J, 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Research, 22(22): 4673—4680
- Ward R D, Zemlak T S, Innes B H *et al*, 2005. DNA barcoding Australia's fish species. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences, 360(1462): 1847—1857

PHYLOGENETIC RELATIONSHIP IN FAMILY SPARIDAE OF CHINA IN MITOCHONDRIAL COI GENE SEQUENCE

CHEN Yong-Xia¹, WU Ren-Xie², LIANG Na¹, LIU Jing³

(1. College of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071002, China;

2. College of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;

3. Laboratory of Marine Organism Taxonomy and Phylogeny, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract The mitochondrial COI gene sequences of 11 species pertaining to 5 genera of Sparidae (Perciformes) collected from Chinese coastal waters, were amplified using PCR techniques. The homologous sequences of other Chinese species of Sparidae from GenBank were compared in this study. The results indicate that the average contents of T, C, A and G were 22.2%, 24.5%, 30.0%, and 23.3%, respectively for the sparid fishes analyzed in this study (6 genera and 12 species). The genetic distances among genera and species ranged 9.5%—19.7%, and 2.2%—21.8%, respectively in Kimura-2-parameter model. The genetic distances among *Argyrops*, *Pagrus*, and *Evynnis* were 8.2%—13.8%, very close to those between two species for *Acanthopagrus*. Molecular phylogenetic analysis supported strongly that two distinct clades in Family Sparidae. One clade includes red color fishes, *Dentex*, *Argyrops*, *Evynnis*, and *Pagrus*. The other clade includes silver gray color fishes, *Acanthopagrus* and *Rhabdosargus*. Within Genera *Acanthopagrus*, *A. chinshira* and *A. latus* formed firstly a sister clade, while *A. schlegelii*, *A. berda*, *A. taiwanensis*, and *A. australis* were grouped into another. Based on the results in this study and previous studies, we believe that: 1) Chinese species of Sparidae diverged first by body color, and then by dentition; 2) *Argyrops*, *Pagrus*, and *Evynnis* are closely related species; and 3) the Chinese species of *Acanthopagrus* joined into a monophyletic group. The monophyletic group had been divided into two co-evolutionary clades with clear species-level differences. However, the position of *A. australis* remains uncertain within *Acanthopagrus*.

Key words Sparidae; COI gene; phylogenetic relationship