

doi: 10.3969/j. issn. 1673-2227. 2010. 01. 006

## 舟山海域4种鲷科鱼类线粒体Cyt b基因全序列克隆分析

徐田军, 王日昕, 王健鑫

(浙江海洋学院海洋科学学院, 海洋生物资源与分子工程实验室, 浙江 舟山 316000)

**摘要:** 克隆测序了分布于舟山海域的真鲷(*Pagrus pagrus*)、黑鲷(*Sparus macrocephalus*)、黄鳍棘鲷(*Acanthopagrus latus*)和二长棘鲷(*Parargyrops edita*)4种鲷科鱼类的线粒体Cyt b基因1 141 bp的全序列。通过对4种鲷科鱼类Cyt b基因序列的比对分析,发现了292个核苷酸变异位点,其中存在186个信息位点,序列中的转换大于颠换,碱基替换多发生于密码子第3位。遗传距离分析表明,4种鲷科鱼类的遗传差异在0.096 7~0.227 5之间,其中真鲷与二长棘鲷之间遗传距离最小,为0.096 7,黄鳍棘鲷与二长棘鲷的遗传距离最大,为0.227 5;序列变异的转换/颠换比值在2.293 0~7.358 7之间。以25种鲈总科鱼类构建的系统树表明鲷科鱼类与其他科的鱼类存在较远的遗传亲缘关系。

**关键词:** 鲷科; 细胞色素b; 序列比较; 遗传进化

中图分类号: Q 523<sup>1.8</sup>

文献标志码: A

文章编号: 1673-2227-(2010)01-0030-07

## Cloning and sequence analysis of Cyt b gene in four Sparidae fishes in Zhoushan sea area

XU Tianjun, WANG Rixin, WANG Jianxin

(Lab. of Marine Living Resources and Molecular Engineering, College of Marine Science,  
Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316000, China)

**Abstract:** The complete sequences of mitochondrial Cyt b gene in *Pagrus pagrus*, *Sparus macrocephalus*, *Acanthopagrus latus* and *Parargyrops edita* in Zhoushan sea area were amplified, cloned and sequenced. The 1 141 bp Cyt b gene sequences of these four species were obtained. Compared with the same DNA fragment recorded in the GeneBank, the sequences of 1 141 bp DNA had 292 nucleotide variation sites, among which 186 parsimony informative sites were observed. Transitions were discovered to be more than transversions, and most of the base substitutions occurred at the third locus of the codon. The genetic distance among 4 Sparidae species ranged from 0.096 7 to 0.227 5. The shortest distance occurred between *P. pagrus* and *P. edita*, being 0.096 7, while the longest one between *S. macrocephalus* and *A. latus*, being 0.227 5. Moreover, the transition-transversion ratio of the sequence differentiation of 4 species ranged from 2.293 0 to 7.358 7. The NJ phylogenetic tree revealed that 25 species were divided into two clades, and obvious genetic divergence existed between fishes of Sparidae and the other fishes of Percoidae.

**Key words:** Sparidae; Cyt b; sequence analysis; genetic evolution

鲷科(Sparidae)鱼类是中国东海海域捕获量较大、经济价值很高的经济鱼类,作为世界四大渔

场之一的舟山渔场主要分布有7种<sup>[1]</sup>,其中部分鱼类已形成养殖产业化。但由于过度捕捞和养殖业

收稿日期: 2009-10-27; 修回日期: 2009-11-18

资助项目: 国家科技支撑计划项目(2007BAD43B08); 浙江省重点科研项目(2007C22041); 浙江省重大科研项目(2007C02001, 2007C04302, 2008C22026)

作者简介: 徐田军(1982-),男,博士,从事鱼类分子遗传学及分子育种研究。E-mail: tianjunxu@163.com

通讯作者: 王健鑫, E-mail: zswjx2575@163.com

的迅速发展, 鲷科鱼类的自然资源遭到很大的破坏, 种质资源及遗传多样性的保护亟需得到应有的重视。真鲷 (*Pagrus major*)、黑鲷 (*Sparus macrocephalus*)、黄鳍棘鲷 (*Acanthopagrus latus*) 和二长棘鲷 (*Parargyrops edita*) 是舟山海域4种重要的经济鲷科鱼类, 由于肉质鲜美、营养价值较高而深受消费者的欢迎, 其养殖业也随之迅猛发展。因此, 开展鲷科鱼类遗传资源的研究对其养殖业的可持续发展显得尤为重要。

由于动物线粒体DNA (mtDNA) 具有绝大多数母系遗传、进化速度快、结构简单等优点, 已经广泛应用于动物遗传多样性及系统进化的研究。在水产动物中, 进化速度适中的Cyt b基因序列被广泛用于分析其遗传结构和探讨物种间及群体间的系

统发生关系<sup>[2-8]</sup>。笔者克隆了4种舟山海域常见鲷科鱼类的线粒体Cyt b基因全序列, 并利用其他近缘物种的Cyt b基因全序列进行系统发生关系分析, 以期为鲷科鱼类的遗传种质资源研究奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

真鲷、黑鲷、黄鳍棘鲷和二长棘鲷的野生个体收集于舟山海域, 剪取尾部肌肉后用液氮速冻, -80℃冰箱保存。另外, 研究中用于系统发生关系分析的鲈总科其他物种的Cyt b基因数据来源于GenBank数据库(表1)。

表1 25种鲈总科鱼类的Cyt b数据信息  
Tab. 1 Accession No. of Cyt b of 25 Percoidae species

科 family	物种 species	Cyt b 基因 GenBank 登录号 accession No.
鲷科 Sparidae	真鲷 <i>Pagrus major</i>	GU131149; NC003196
	黑鲷 <i>Sparus macrocephalus</i>	GU131150; AB458395
	黄鳍棘鲷 <i>Acanthopagrus latus</i>	GU131151; AB458394
	二长棘鲷 <i>Parargyrops edita</i>	GU131152; EF107158
	黑斑小鲷 <i>Pagellus bogaraveo</i>	EF439560
	赤鲷 <i>Pagrus auriga</i>	NC005146
	绯海鲷 <i>Pagellus erythrinus</i>	EF439562
	叉牙鲷 <i>Sarpa salpa</i>	EF439572
	黑椎鲷 <i>Spondyliosoma cantharus</i>	EF439602
	腋斑小鲷 <i>Pagellus acarne</i>	EF439558
梅鲷科 Caesionidae	黑尾斑鲷 <i>Oblada melanura</i>	EF439556
	金鲷 <i>Sparus aurata</i>	EF439595
雀鲷科 Pomacentridae	黑带鳞鳍梅鲷 <i>Pterocaesio tile</i>	AP000447
	褐梅鲷 <i>Caesio caerulaurea</i>	AF381273
石鲷科 Oplegnathidae	五带豆娘鱼 <i>Abudefduf vaigiensis</i>	NC009064
	眼斑海葵鱼 <i>Amphiprion ocellaris</i>	NC009065
	吻带豆娘鱼 <i>Chrysiptera cyanea</i>	AB018992
石鲈科 Pomadasytidae	斑石鲷 <i>Oplegnathus punctatus</i>	NC013143
	条石鲷 <i>O. fasciatus</i>	AP006010
笛鲷科 Lutjanidae	四线矶鲈 <i>Parapristipoma octolineatum</i>	DQ197977
	三线矶鲈 <i>P. trilineatum</i>	NC009857
笛鲷科 Lutjanidae	画眉笛鲷 <i>Lutjanus vitta</i>	EF376182
	金焰笛鲷 <i>L. fulviflamma</i>	EF376177
	千年笛鲷 <i>L. sebae</i>	EF376168
	马拉巴笛鲷 <i>L. malabaricus</i>	EF376171

## 1.2 基因组 DNA 的提取

采取常规苯酚氯仿提取法, 每个样本取 50 mg 左右的尾部肌肉, 剪碎后加入 300  $\mu\text{L}$  组织匀浆缓冲液 (10  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Tris-HCl, pH 8.0; 50  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  EDTA, pH 8.0), 混匀后加入终浓度为 1% 的 SDS 和 200  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的蛋白酶 K, 55  $^{\circ}\text{C}$  水浴 3 h。等体积的 Tris-饱和酚、Tris-饱和酚: 氯仿: 异戊醇 (25:24:1)、氯仿: 异戊醇 (24:1) 各抽提 1 次。无水乙醇沉淀, 70% 乙醇洗涤 2 次, TE 溶解。紫外分光光度计测定样品 DNA 的  $\text{OD}_{260}$  和  $\text{OD}_{280}$  值, 确定其浓度和纯度, 4  $^{\circ}\text{C}$  保存备用。

## 1.3 PCR 扩增和产物鉴定

用于扩增鲷科鱼类 *Cyt b* 基因全长序列的引物为 *cytb-F*: 5'-GTGACTTGAAAAACCACCGTT-3' 和 *cytb-R*: 5'-CTCCATCTCCGGTTACAAGAC-3', 引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。PCR 反应体系为 50  $\mu\text{L}$ , 包括: 模板 DNA 50~100 ng, 10  $\times$  Buffer 5  $\mu\text{L}$ , dNTP 各 0.2  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 上、下游引物各 0.2  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , *Taq* DNA 聚合酶 2 U,  $\text{MgCl}_2$  1.5  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。反应在 Bio-Rad Mycycler PCR 仪上进行。反应条件如下: 94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 4 min, 94  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s, 50  $^{\circ}\text{C}$  退火 45 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 60 s。经 30 个循环后再在 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min。每次反应都设不含模板的空白对照。PCR 扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测, 电泳缓冲液为 0.5  $\times$  TBE (pH 8.0), 电压为 5  $\text{V}\cdot\text{cm}^{-1}$ , 常温电泳, EB 染色, Bio-Rad GD2000 型凝胶成像系统下观察并拍照记录。

## 1.4 产物的纯化及重组后测序

PCR 产物利用凝胶纯化试剂盒 (Tiangen) 纯化回收, 回收产物与 pGEM-T 载体 (Promega) 连接后, 转化 Top10 感受态细胞, 利用 IPTG/X-gal 蓝白斑筛选阳性克隆子, 利用 T7/SP6 引物进行阳性克隆子的鉴定后, 利用质粒提取试剂盒抽取质粒 (Tiangen), T7/SP6 引物在 ABI 3730 测序仪上进行双向测序, 每个物种选择 3 个个体进行测序。

## 1.5 序列的数据处理与系统发生关系分析

获得的序列利用 SEQMAN 程序<sup>[9]</sup> 经双向拼接后剪去载体序列, 经过人工校正后通过 NCBI 中 BLAST 同源检索<sup>[10]</sup> 后确认所得的序列为 *Cyt b* 基因

序列, 并剪去两端的 tRNA 序列后用于后续分析。从 GenBank 数据库中下载近缘物种的 *Cyt b* 序列以用于系统发生关系的分析。利用 MEGA 4.1 软件<sup>[11]</sup> 进行不同物种的序列比对、碱基计算和构建系统发生树。

## 2 结果与讨论

### 2.1 4 种鲷科鱼类 *Cyt b* 基因序列的特征

4 种鲷科鱼类的 *Cyt b* 扩增产物经测序剪切后获得了线粒体 *Cyt b* 基因全序列 (GenBank 登录号 GU131149-GU131152), 进行比对排序后长度均为 1 141 bp (图 1), 含起始密码子 ATG; 终止密码则是在转录成 mRNA 时在 3' 端的 T 碱基上加上 AA 而形成 TAA 终止密码子, 编码 380 个氨基酸。在 4 种鱼类 *Cyt b* 基因的比较中没有发现插入和缺失, 存在 292 个核苷酸变异位点, 占全部序列的 25.6%, 其中有 186 个信息位点, 密码子第 3 位点的突变率明显高于第 1、2 位点。氨基酸序列中发现 22 个氨基酸变异位点, 序列中转换大于颠换, 这是分歧较近的物种间编码区 DNA 序列较多发生同义突变的结果<sup>[12]</sup>。对氨基酸残基进行分析后发现, 20 种氨基酸均有分布, 但其平均含量却差异很大, 例如丙氨酸和亮氨酸的平均含量分别为 8.42% 和 16.12%, 而半胱氨酸和谷氨酸的平均含量仅为 1.05% 和 1.45%, 说明氨基酸的使用存在差异性。

4 种鲷科鱼类 *Cyt b* 基因序列的碱基组成见表 2。可以看出 T、C、A 和 G 碱基在 4 种鲷科鱼类中的平均含量分别为 30.2%、29.6%、24.9% 和 15.3%, 其中 C 的含量约为 G 含量的 2 倍。A+T 平均含量为 55.1%, 高于 G+C 的含量 44.9%。这一特征和在 5 种石鲈科鱼类中观察到的 *Cyt b* 基因部分序列的碱基分布具有相同的结论<sup>[5]</sup>。此外, 密码子第 3 位存在显著的碱基偏倚性, C-3 含量为 36.9%, 而 G-3 的含量仅为 5.6%, 密码子第 3 位反 G 碱基偏倚分布在其他物种中也被发现<sup>[7,13-14]</sup>, 而在一些进化高级的物种细胞色素 *b* 基因则发现密码子第 3 位具有对 A 和 C 极强偏倚特征<sup>[12,15]</sup>, 这种碱基分布的差异是由功能的差异引起还是不同的选择压力造成目前还没有明确的定论。

<i>P.major</i>	ATGGCAAGCC TTGAAAGAC CCACCCCTTA TAAAGGATG CTAACACCGC ACTAGTTGAC CTGCCTGCAC CATCGAATAT TTCTGTCTGA	[90]	真鲷
<i>S.macrocephalus</i>	.....T.....A.....G.....T.....T.....G.....A.....A.....G.....C.....T.....C.....C.....T.....	[90]	黑鲷
<i>A.latus</i>	.....A.....A.....T.....T.....G.....C.....A.....A.....G.....T.....C.....C.....T.....	[90]	黄鳍棘鲷
<i>P.edita</i>	.....G.....A.....A.....G.....T.....C.....A.....A.....G.....T.....C.....C.....T.....	[90]	二长棘鲷
<i>P.major</i>	TGAAATTTG GCTCTCTACT CGGCCTCTGC CTAATCTCTC AGATCCTCAC AGGACTATTCTTGCCATAC ACTATACCTC AGACATTGCT	[180]	真鲷
<i>S.macrocephalus</i>	.....A.....C.....T.....T.....T.....C.....AC.....T.....T.....G.....T.....C.....C.....C.....	[180]	黑鲷
<i>A.latus</i>	.....A.....C.....C.....T.....T.....C.....AC.....T.....T.....T.....G.....C.....T.....C.....C.....C.....	[180]	黄鳍棘鲷
<i>P.edita</i>	.....C.....T.....T.....T.....C.....T.....G.....T.....G.....T.....G.....C.....C.....C.....	[180]	二长棘鲷
<i>P.major</i>	ACAGCCTTTT CTTCCGTTGC CCATATCTGC CGAGACGTA ACTACGGCTG ACTTATCCG AATCTCCATG CTAATGGAGC ATCTTTCTT	[270]	真鲷
<i>S.macrocephalus</i>	.....A.....T.....C.....T.....T.....A.....A.....A.....C.....C.....C.....C.....C.....CT.....C.....	[270]	黑鲷
<i>A.latus</i>	.....A.....C.....T.....T.....T.....C.....AC.....T.....T.....T.....G.....C.....T.....C.....C.....C.....	[270]	黄鳍棘鲷
<i>P.edita</i>	.....T.....T.....T.....C.....T.....G.....T.....G.....T.....G.....C.....C.....CT.....	[270]	二长棘鲷
<i>P.major</i>	TTCATCTGTA TCTATCTTC CATCGGACGA GGCGCTACT ACGGC TCTTA TCTCTATAAA GAAACATGAA ATATGGGTG CTGCCTCCCTC	[360]	真鲷
<i>S.macrocephalus</i>	.....T.....C.....C.....A.....T.....T.....C.....C.....A.....C.....C.....A.....A.....T.....T.....	[360]	黑鲷
<i>A.latus</i>	.....T.....T.....C.....T.....G.....A.....G.....T.....C.....C.....T.....C.....C.....A.....TA.....T.....	[360]	黄鳍棘鲷
<i>P.edita</i>	.....C.....C.....G.....T.....G.....C.....T.....G.....C.....C.....C.....C.....	[360]	二长棘鲷
<i>P.major</i>	CTTCTTGCA TAGAACAGC CTTCGTAGGC TAGCTCTTC CTTGAGGACA A ATATCCTTC TGAGGAGCCA CTGTCATCAC TAACCTCCCTC	[450]	真鲷
<i>S.macrocephalus</i>	.....A.....A.....T.....T.....G.....T.....C.....C.....G.....T.....A.....A.....T.....C.....T.....G.....	[450]	黑鲷
<i>A.latus</i>	.....CT.....A.....T.....T.....T.....A.....C.....G.....T.....G.....A.....C.....T.....T.....TT.....A.....	[450]	黄鳍棘鲷
<i>P.edita</i>	.....C.....A.....C.....G.....T.....G.....A.....G.....T.....T.....C.....C.....T.....T.....	[450]	二长棘鲷
<i>P.major</i>	TCTGCCGTT C ATATGTAGG TGGCACCCCT GTCAATGGA TTGAGGAGG CTTTCAGTA GACAATGCC CCTTAACCG GTCTTTGGCC	[540]	真鲷
<i>S.macrocephalus</i>	.....C.....C.....C.....C.....G.....A.....C.....C.....A.....C.....A.....T.....C.....C.....C.....C.....C.....T.....	[540]	黑鲷
<i>A.latus</i>	.....C.....A.....C.....C.....T.....C.....A.....A.....C.....A.....C.....A.....C.....C.....C.....C.....C.....T.....C.....T.....	[540]	黄鳍棘鲷
<i>P.edita</i>	.....C.....C.....G.....C.....C.....C.....C.....C.....C.....C.....C.....C.....C.....C.....T.....C.....T.....	[540]	二长棘鲷
<i>P.major</i>	TTCCACTTCC TTCTACCTTT TATTGTTGCA GCCATAACTA TACTTCACCT TCTTTCTTA CACG AAACAG GCTAAATAA CCCTCTCGGC	[630]	真鲷
<i>S.macrocephalus</i>	.....C.....T.....C.....A.....C.....A.....C.....A.....C.....C.....C.....C.....T.....C.....C.....	[630]	黑鲷
<i>A.latus</i>	.....C.....C.....C.....C.....C.....A.....T.....G.....C.....A.....C.....C.....T.....C.....C.....C.....C.....T.....	[630]	黄鳍棘鲷
<i>P.edita</i>	.....C.....T.....C.....C.....C.....C.....C.....C.....C.....C.....C.....C.....C.....T.....C.....T.....	[630]	二长棘鲷
<i>P.major</i>	TTAAACTAG ATACAGACAA AATCTCTTC CACCCATATT TTTCTTACAA AGACCTACTC GGTTTGGAG CGGTGATCAT TTTATTAACC	[720]	真鲷
<i>S.macrocephalus</i>	.....C.....C.....G.....T.....T.....C.....C.....T.....T.....A.....A.....G.....G.....A.....T.....C.....T.....	[720]	黑鲷
<i>A.latus</i>	.....C.....C.....C.....T.....G.....C.....C.....T.....T.....A.....G.....GA.....A.....T.....C.....C.....T.....	[720]	黄鳍棘鲷
<i>P.edita</i>	.....T.....C.....T.....G.....T.....C.....C.....T.....G.....T.....G.....T.....G.....A.....T.....T.....	[720]	二长棘鲷
<i>P.major</i>	TGCTTGAC TATTCACCCC GAACCTGCTA GGAGACCCAG ACAATTTCAC CCCCCGGAAAC CCCCTAGTC CTCCTCC TCA TATCAAGGCC	[810]	真鲷
<i>S.macrocephalus</i>	.....T.....A.....T.....TG.....C.....T.....C.....T.....T.....A.....A.....TT.....T.....C.....A.....C.....	[810]	黑鲷
<i>A.latus</i>	.....A.....T.....TG.....T.....A.....C.....T.....C.....T.....T.....A.....A.....C.....A.....T.....	[810]	黄鳍棘鲷
<i>P.edita</i>	.....A.....T.....TG.....T.....A.....C.....T.....C.....T.....T.....A.....A.....C.....A.....T.....	[810]	二长棘鲷
<i>P.major</i>	GAATGATACT TCCATTTCG ACAGCAATT CTACGCTAA TCCCAAACAA ACTAGGAGGA GTCTGGCTC TTCTAGCCCT TATCCTCGTA	[900]	真鲷
<i>S.macrocephalus</i>	.....T.....T.....T.....T.....C.....T.....C.....T.....T.....T.....T.....C.....C.....G.....A.....T.....A.....C.....	[900]	黑鲷
<i>A.latus</i>	.....T.....T.....A.....C.....C.....T.....T.....T.....T.....G.....T.....C.....C.....G.....C.....A.....C.....	[900]	黄鳍棘鲷
<i>P.edita</i>	.....G.....T.....A.....G.....T.....C.....T.....G.....T.....G.....T.....A.....C.....A.....T.....	[900]	二长棘鲷
<i>P.major</i>	CTAATAGTCG TCCCCATCCT CCACACATCT AAACAACGAA GCCTCACATT TCGACCTGTG ACCCAGTCC TGTGTTGAGC ACTCATTGCA	[990]	真鲷
<i>S.macrocephalus</i>	.....C.....T.....A.....T.....G.....A.....C.....C.....A.....A.....A.....A.....C.....T.....	[990]	黑鲷
<i>A.latus</i>	.....C.....G.....T.....G.....T.....T.....C.....G.....C.....C.....A.....C.....T.....T.....A.....C.....A.....TG.....	[990]	黄鳍棘鲷
<i>P.edita</i>	.....G.....T.....T.....T.....T.....T.....A.....A.....T.....A.....A.....C.....C.....	[990]	二长棘鲷
<i>P.major</i>	AATGTAGCAA TCCCTCACATG AATGGCGGA ATGCCCGTG AAGACCGTA CATCATTATT GGTCAAATTG CATCCCTAC TTATTTTGCC	[1080]	真鲷
<i>S.macrocephalus</i>	.....C.....T.....G.....T.....A.....A.....G.....T.....T.....T.....T.....C.....C.....C.....CT.....	[1080]	黑鲷
<i>A.latus</i>	.....ATG.....T.....T.....A.....C.....T.....G.....C.....T.....T.....C.....C.....C.....CT.....	[1080]	黄鳍棘鲷
<i>P.edita</i>	.....C.....G.....A.....G.....T.....A.....C.....T.....G.....A.....G.....C.....C.....T.....	[1080]	二长棘鲷
<i>P.major</i>	CTTTCTTAC TTATCATAACCATAGCAGCA TTAGTAGAAA ACAAAAGTGT AGGTTGACAA T [1141]	真鲷	
<i>S.macrocephalus</i>	.....G.....A.....T.....C.....C.....GC.....A.....G.....AT.....C.....[1141]	黑鲷	
<i>A.latus</i>	.....C.....G.....T.....T.....G.....C.....G.....A.....C.....C.....[1141]	黄鳍棘鲷	
<i>P.edita</i>	.....T.....G.....C.....C.....GC.....A.....G.....A.....T.....C.....[1141]	二长棘鲷	

图1 4种鲷科鱼类的细胞色素b基因全序列

Fig. 1 Complete sequences of Cyt b gene of four Sparidae species

表2 4种鲷科鱼类细胞色素b基因的碱基分布

Tab. 2 Nucleotide compositions of Cyt b gene of four Sparidae species

物种 species	T	C	A	G	A + T	G + C	G-3	G-3	总长/bp total length
真鲷 <i>P. major</i>	30.0	30.1	24.9	15.1	54.9	45.1	37.6	5.3	1 141
黑鲷 <i>S. macrocephalus</i>	29.6	29.8	25.7	14.9	55.3	44.7	37.6	4.7	1 141
黄鳍棘鲷 <i>A. latus</i>	30.3	29.4	24.8	15.5	55.1	44.9	36.8	6.1	1 141
二长棘鲷 <i>P. edita</i>	30.9	29.2	24.2	15.7	55.1	44.9	35.5	6.3	1 141
平均值 average	30.2	29.6	24.9	15.3	55.1	44.9	36.9	5.6	1 141

注: 表中数字3表示密码子的第3位

Note: The number 3 indicates the 3<sup>rd</sup> codon position.

## 2.2 鲷科鱼类间的遗传距离

根据12种鲷科鱼类的Cyt b基因全序列, 利用MEGA软件根据Kimura 2-parameter模型计算了物种间的遗传距离(表3)。从表中可以看出, 鲷科12种鱼类的遗传距离在0.096 7~0.235 4之间, 其中真鲷与二长棘鲷之间遗传距离最小, 为0.096 7, 金鲷与赤鲷之间遗传距离最远, 为0.235 4, 12种鱼类的平均遗传距离为0.186 7。此外, 12种鲷科鱼类之间的序列碱基转换与颠换比值在2.079 7~7.358 7之间, 平均为3.269 1, 说明12种鲷科

鱼类的Cyt b基因序列变异非常显著。另外, 将研究获得的4种鲷科鱼类的Cyt b全序列与其他海域这4种鱼类获得的Cyt b全序列(表1)比较后发现碱基差异不大, 核苷酸突变位点数在1~5之间。一般认为所分析序列的转换颠换比值小于2.0时, 此基因序列突变已经达到饱和状态, 受到进化噪音的影响可能性较大, 在进行系统分析时必须进行加权分析<sup>[16]</sup>, 而研究中的Cyt b序列平均转换颠换比为3.269 1, 远大于2.0, 因此, Cyt b基因序列适宜用于鱼类的系统发生关系分析。

表3 鲷科鱼类的相对遗传距离(对角线以下是转换加颠换, 对角线以上是转换比颠换)

Tab. 3 Pair-wise genetic distance among Sparidae species (below the diagonal is transition + transversion; above the diagonal is transition/transversion)

物种 species	真鲷	黑鲷	黄鳍棘鲷	二长棘鲷	黑尾斑鲷	腋斑小鲷	黑斑小鲷	绯海鲷	赤鲷	叉牙鲷	金鲷	黑椎鲷
真鲷 <i>P. major</i>	2.2930	2.5493	7.3587	2.3066	2.7524	2.4505	5.4167	5.4650	2.5751	2.4608	2.1017	
黑鲷 <i>S. macrocephalus</i>	0.1999		5.1064	2.3704	4.1398	4.1897	3.8931	2.2294	2.1849	2.7756	3.0084	2.1049
黄鳍棘鲷 <i>A. latus</i>	0.2261	0.1261		2.6289	3.9624	4.0734	4.0647	2.0797	2.1247	3.2934	2.8186	2.1539
二长棘鲷 <i>P. edita</i>	0.0967	0.2013	0.2275		2.4808	2.5751	2.1049	4.9218	4.8678	2.4852	2.2636	2.0797
黑尾斑鲷 <i>O. melanura</i>	0.1812	0.1489	0.1763	0.1873		5.4304	4.7578	2.9703	2.3911	3.3673	4.6025	2.7345
腋斑小鲷 <i>P. acarne</i>	0.2167	0.1649	0.1659	0.2029	0.1564		7.2577	2.5642	2.7963	3.3551	4.6641	2.3129
黑斑小鲷 <i>P. bogaraveo</i>	0.2026	0.1600	0.1800	0.1854	0.1561	0.1104		2.7976	2.2580	2.7954	2.4658	2.4309
绯海鲷 <i>P. erythrinus</i>	0.1739	0.2154	0.2272	0.1550	0.2097	0.2199	0.2155		7.3169	2.3244	2.3791	2.2945
赤鲷 <i>P. auriga</i>	0.1692	0.2092	0.2274	0.1482	0.1825	0.2229	0.2010	0.1870		2.2468	2.7545	2.1911
叉牙鲷 <i>S. salpa</i>	0.2029	0.1738	0.2018	0.1944	0.1676	0.1630	0.1601	0.1952	0.1939		3.2594	3.6007
金鲷 <i>S. aurata</i>	0.2135	0.1729	0.1832	0.2046	0.1675	0.1641	0.1839	0.2085	0.2354	0.1838		2.7311
黑椎鲷 <i>S. cantharus</i>	0.2007	0.1854	0.2104	0.1900	0.1936	0.1685	0.1779	0.2131	0.2033	0.1678	0.2044	

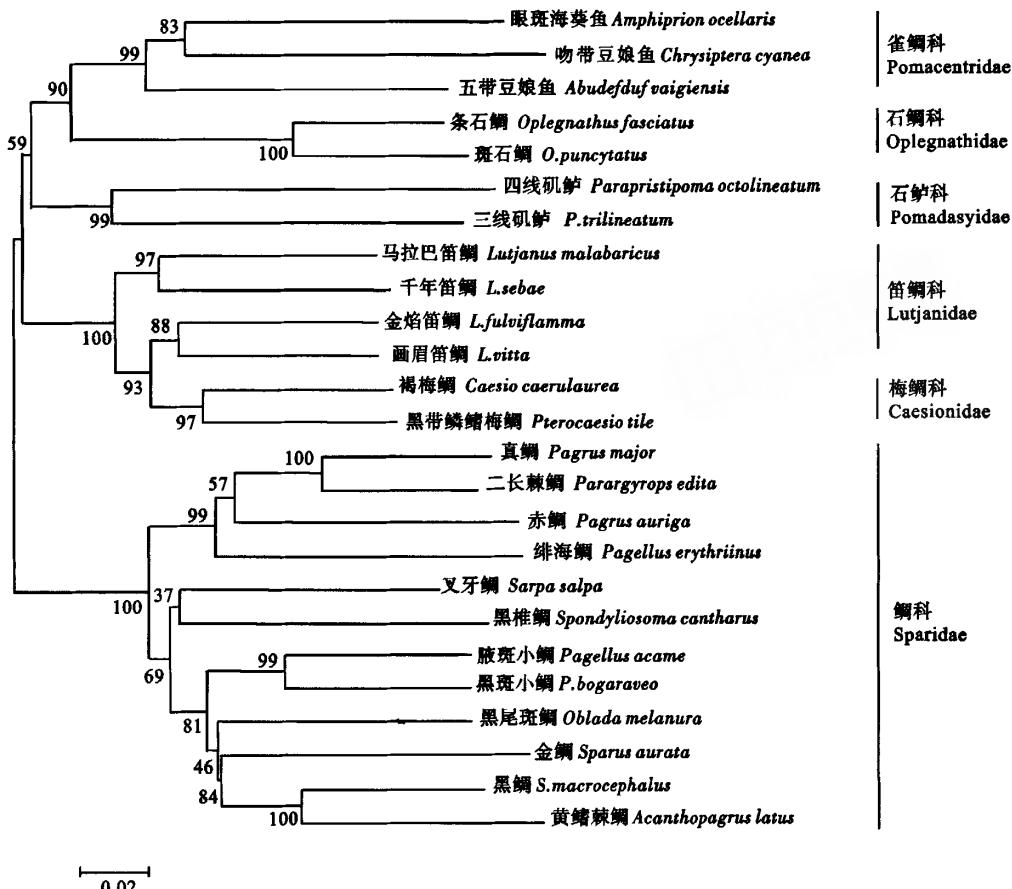


图2 基于Cyt b基因全序列的25种鲈总科鱼类的NJ系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of 25 species based on complete sequences of Cyt b gene

### 2.3 系统发生关系分析

基于25种鲈总科鱼类的Cyt b基因全长序列, 利用DAMBE软件评测了遗传距离与对应的转换和颠换数的关系, 根据对核苷酸变异的预测, 所分析序列的核苷酸转换和颠换数随着遗传距离的增加而呈递增关系, 核苷酸变异没有达到替换饱和, 适宜进行系统发生关系的分析<sup>[17]</sup>。利用MEGA软件进行系统发生关系分析, 建立NJ分子系统发生树(图2)。从图2看出, 利用线粒体Cyt b序列可以准确地将鲈总科各个科的鱼类区分开, 每个科的鱼类首先聚成独立的分支, 而后根据亲缘关系聚成类群。25种鱼类聚成2个类群, 类群1由雀鲷科、石鲷科、石鲈科、笛鲷科及梅鲷科的13个物种构成, 类群2完全由鲷科的12个物种构成, 说明鲷科与其他5个科之间存在较远的遗传距离, 其他5个科的鱼类之间存在相对较近的遗传关系。其中笛

鲷科和梅鲷科鱼类亲缘关系非常近, 在系统树中混合聚在一起。在文章研究的鲷科鱼类中, 真鲷与二长棘鲷亲缘关系最近, 首先聚在一起, 而黄鳍棘鲷与黑鲷遗传距离也相对较小, 属于在进化过程中较晚分化的2个物种。

研究通过克隆舟山海域4种常见鲷科鱼类的Cyt b基因全序列, 结合近缘物种的Cyt b基因序列进行了遗传信息的分析, 旨在为鲷科鱼类分子系统发育、进化关系及遗传多样性研究提供依据。

### 参考文献:

- [1] 赵盛龙, 钟俊生. 舟山海域鱼类名录新考 [J]. 浙江海洋学报: 自然科学版, 2005, 24 (4): 364-379.
- [2] MCVEIGH H P, DAVIDSON W S. A salmonid phylogeny inferred from mitochondrial cytochrome b gene sequence [J]. Fish Biol, 1991, 39 (Sup A): 277-282.
- [3] CANTATORE P, ROBERTI M, PESOLE G, et al. Evolutionary a-

- analysis of cytochrome *b* sequence in some Perciformes: evidence for a slower rate of evolution than in mammals [J]. *Mol Evol*, 1994, 39 (6): 589-597.
- [4] 李鹏飞, 周永东, 徐汉祥. 大黄鱼、𩾃鱼及美国红鱼线粒体DNA的Cyt *b*基因序列比较 [J]. 南方水产, 2008, 4 (3): 43-47.
- [5] 朱世华, 郑文娟, 邹记兴, 等. 5种石鲈科鱼类细胞色素b基因序列及分子系统分析 [J]. 热带海洋学报, 2006, 25 (4): 42-45.
- [6] 邵爱华, 朱江, 陈葵, 等. 暗纹东方鲀细胞色素b及其侧翼tRNA基因的克隆与序列分析 [J]. 中国水产科学, 2005, 12 (6): 675-681.
- [7] 周发林, 江世贵, 苏天凤, 等. 6种笛鲷属鱼类Cyt *b*基因片段序列的比较 [J]. 热带海洋学报, 2004, 23 (4): 87-92.
- [8] 高天翔, 张秀梅, 朱杰, 等. 养殖褐牙鲆细胞色素b基因序列的初步研究 [J]. 中国水产科学, 2003, 10 (2): 93-96.
- [9] SWINDELL S R, PLASTERER T N, SEQMAN. Contig assembly [J]. *Methods Mol Biol*, 1997, 70: 75-89.
- [10] TATUSOVA T A, MADDEN T L. BLAST 2 Sequences, a new tool for comparing protein and nucleotide sequences [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 1999, 174: 247-250.
- [11] TAMURA K, DUDLEY J, NEI M, et al. MEGA 4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0 [J]. *Mol Biol Evol*, 2007, 24 (8): 1596-1599.
- [12] IRWIN D M, KOCHER T D, WILSON A C. Evolution of the cytochrome *b* of mammals [J]. *Mol Evol*, 1991, 32 (2): 128-144.
- [13] NICOLAS V, GUILLAUME L. Weighting and congruence: a case study based on three mitochondrial genes in pitvipers [J]. *Mol Phylogenet Evol*, 1998, 9 (3): 366-374.
- [14] 周继亮, 张亚平, 黄美华, 等. 蝮亚科蛇线粒体Cyt *b*基因序列分析及其系统发育 [J]. 动物学报, 2001, 47 (4): 361-366.
- [15] EDWARDS S V, ARCTANDER P, WILSON A C. Mitochondrial resolution of a deep branch in the genealogical tree for perching birds [J]. *Proceedings: Biol Sci*, 1991, B243: 99-107.
- [16] 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.
- [17] SALEM M. Practice: the PHYLIP and TREE-PUZZLE software packages [M] //SALEM M, VANDAMMME A M. The phylogenetic handbook: A practical approach to DNA and protein phylogeny. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2003.