

金线鲃属两个同域穴居物种的 mtDNA 序列变异*

李维贤¹, 李梅章², 咎瑞光²

(1. 云南省石林县黑龙潭水库, 云南 石林 652200;
2. 云南大学生命科学学院, 云南 昆明 650091)

摘要: 对洞穴鱼种犀角金线鲃(*Sinocyclocheilus rhinoceros*)及与之同域的软鳍金线鲃(*S. malacopterus*)的线粒体细胞色素 b 基因的部分序列进行了测定和分析。发现两种之间有 45 个变异位点, 占测序总位点的 12.89%。其中在密码子第 3 位置上的变异有 33 个, 占全部变异点的 73.33%。转换与颠换比值为 6.5:1。种间遗传距离为 12.9%, 表明这两个同域种间的血缘关系可能较远。

关键词: 犀角金线鲃; 软鳍金线鲃; 同域穴居种; mtDNA 序列变异

中图分类号: Q 341 文献标识码: A 文章编号: 1004-390X(2004)03-0311-03

Mitochondrial DNA Sequence Variation of Two Sympatric Cavefishes in *Sinocyclocheilus*

LI Wei-xian¹, LI Mei-zhang², ZAN Rui-guang²

(1. Heilongtan Reservoir, Shilin County of Yunnan Province, Kunming 652200, China;
2. Life Science College, Yunnan University, Kunming 650091, China)

Abstract: A 349 bp fragment of mitochondrial cytochrome b gene of two Sympatric cavefishes i. e. *Sinocyclocheilus rhinoceros* and *S. malacopterus* that lived in the same cave, were sequenced and compared. 45 nucleotide variations were found, and 11 of them occurred at the first nucleotide positions of codons related, 2 at the second position. This difference of these two species was very notable. It indicated that these two sympatric cavefishes were unlike to derive directly from the recent same ancestry species. They were not most closely related to each other.

Key words: *Sinocyclocheilus rhinoceros*; *S. malacopterus*; Sympatric cavefish species; mtDNA sequence variation

犀角金线鲃是李维贤和陶进能 1994 年描述的一个洞穴鱼新种^[1], 以其头部顶骨后缘生有一个向前的骨质突, 形似犀角而命名。后来, 笔者在进一步调查时, 发现有同属鱼种软鳍金线鲃与之同域分布^[2~14]。它们之间的血缘关系是远还是近? 为解答这一问题, 对它们的线粒体细胞色素 b 基因的部分序列进行了测定和分析, 现将结果报道于后:

1 材料和方法

活体标本鱼均为 1996 年采于云南省罗平县的新寨龙潭。采到后及时将活标本放入冰箱中冰冻, 再用冷藏箱包装及时送到云南大学生物系置于 -20℃ 的冰柜中保存备用。DNA 的提取、扩增、测序和排列等, 与 XIAO CHUNJIE 等的^[5]方法相同。

* 收稿日期: 2003-09-24

基金项目: 云南省自然科学基金项目(98C016M)

作者简介: 李维贤(1937-), 男, 云南石林县人, 研究员, 主要从事中国特产金线鲃、条鳅鱼类和洞穴生物学研究。

2 结果

被测定的 DNA 片段长 349 个碱基对(bp),占

完整 Cytb 基因序列(1251bp)的 27.9%,含 116 个密码子。

侧序和排序的结果见图 1。

①	C C C	C C A	C A C	A T T	A A A	C C A	G A A	T C A	T A C	T T C	30
②	* * T	* * *	* * *	* * C	* * G	* * *	* * G	* * *	* * *	* * *	
①	T T A	T T T	C C C	T A T	G C C	A T T	C T A	C G A	T C A	A T T	60
②	* * *	* * *	* * *	* * C	* * *	* * C	* * *	* * *	* * *	* * C	
①	C C A	A A C	A A A	C T C	G G A	G G T	G T C	C T T	G C A	C T A	90
②	* * G	* * T	* * *	* * T	* * *	* * *	* * *	* * C	* * *	* * *	
①	C T A	T T T	T C T	A T C	C T A	G T A	T T A	A T A	C T C	G T G	120
②	* * *	* * *	* * C	* * T	* * *	* * *	* * *	* * *	G * *	* * *	
①	C C A	C T A	T T A	C A C	A C C	T C A	A A G	C A A	C G A	G G A	150
②	* * *	* * *	C * *	* * *	* * *	* * *	* * A	* * *	* * *	* * *	
①	C T A	A C A	T T C	C G C	C C A	A T T	A C C	C A G	T T C	C T A	180
②	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * C	* * *	* * A	C * A	* * *	
①	T T C	T G A	A G T	C T A	C T A	G C A	G A C	A T A	G T T	A T C	210
②	* * T	* * G	* C C	* * *	* * G	* * *	* * *	* * *	C * *	* * T	
①	T T A	A C A	T G G	A T T	G G A	G G C	A T A	C C A	G T A	G A A	240
②	* * *	* * G	* * *	* * C	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	
①	C A C	C C A	T T T	A T C	A T C	A T T	G G A	C A A	A T C	G C A	270
②	* * *	* * *	* * C	* * T	* * T	* * *	* * *	* * *	* * T	* * *	
①	T C C	G T A	T T A	T A T	T T C	G C A	C T A	T T C	C T C	A T T	300
②	* * *	* * C	C * G	* * *	* * *	* * *	T * *	* * *	* * *	* * *	
①	C T C	A T A	C C A	C T A	A C G	G G A	T G A	T T A	G A A	A A T	330
②	T * *	* * G	* * *	* * *	G * A	* * *	* * *	C * *	* * *	* * C	
①	A A A	G C A	C T A	C A A	C T A	G C T	T				349
②	* * *	* * *	* * *	* * *	T G *	* * *	*				

注: ①犀角金线鲃(*Sinocyclocheilus rhinoceros* Li et Tao); ②软鳍金线鲃(*S. malacopterus* Chu et Cui)

图 1 犀角金线鲃和软鳍金线鲃细胞色素b基因的部分碱基排列序列

Fig. 1 Sequences of a 349 bp fragment of the mitochondrial cytochrome b gene from *Sinocyclocheilus rhinoceros* Li et Tao and *S. malacopterus* Chu et Cui

图 1 表明共有 45 个核苷酸变异位点,占测序总位点的 12.89%。其中转换 39 个,占变异位点的 86.67%,占测序总位点的 11.18%。颠换 6 个,占变异位点的 13.33%,占测序总位点的 1.72%。转换与颠换的比值为 6.5:1。

在 39 个转换中, T→C 的共 15 个,占变异位点的 33.33%,占测序总位点的 4.30%。C→T 的共 12 个,占变异位点的 26.67%,占测序总位的 3.44%。A→C 的共 9 个,占变异位点的 20.00%,占测序总位点的 2.58%。G→A 的共 3 个,占变异位点的 6.67%,占测序总位点的 0.86%。

在 6 个颠换中, C→G 的共 1 个,占变异位点的 2.22%,位于总序列的第 115 位。A→C 的共 1 个,

占变异位点的 2.22%,位于总序列的第 276 位。G→C 的共 2 个,占变异位点的 4.44%,位于总序列的第 188 和第 205 位。C→A 的共 1 个,占变异位点的 2.22%,位于总序列的第 177 位。T→G 的共 1 个,占变异位点的 2.22%,位于总序列的第 344 位。

在密码子第 3 位置上的变异最多,共 33 个,占变异位点的 73.33%;在第 1 位置上的变异次之,共 10 个,占变异总数的 22.22%;第 2 位置的变异最少,代仅 2 个,占总变异位点的 4.44%。有 2 个变异位点的密码子共 5 个,占密码子总数的 4.27%,它们是分布在第 59 个密码子位置的 TTC→CTA,第 63 个密码子位置的 AGT→ACC,第 93 个密码子位置的 TTA→CTG,第 105 个密码子位置的 ACG→

GCA 和第 115 个密位置的 CTA→TGA. 其中,有 3 个密码子同时发生转换和颠换,2 个密码子全为转换。

3 讨论

从以上结果可以看出,犀角金线鲃和软鳍金线鲃虽存在同域分布现象,但它们之间在线立体 DNA 细胞色素 b 基因核苷酸序列和密码子序列上都有较大差异。如计算成遗传距离,它们之间的遗传距离为 12.9%,接近以 mtDNA 研究得出的淡水和溯河性鱼类同属物种间遗传距离(1.4%~16.0%)的最大值^[15],超过金线鲃属中已作过 mtDNA 比较研究的异域物种滇池金线鲃(*S. grahami* Regan)和抚仙金线鲃(*S. tingi* Fang)之间的遗传距离(11.4%)^[16]。看来,犀角金线鲃和软鳍金线鲃的血缘关系较远,不像是短近时期由一个共同祖先分化而成。对此,下述形态学比较研究结果也提供了很好的支持。犀角金线鲃是金线鲃属中属于较原始古老的鱼种^[2~5]。其原始性表现在侧线鳞少(32~37)、体鳞大(个别个体有残存体鳞,固而可知)、椎骨少(4+34~35),与鲃亚科中原始的四须鲃属(*Babodes* Bleeker)的这些性状相近。而软鳍金线鲃的侧线鳞多(70~80)、体鳞小、椎骨多(4+39),与四须鲃属相距较远,表明它不像犀角金线鲃原始。

[参 考 文 献]

- [1] 李维贤,陶进能. 云南鲤科鱼类一新种——犀角金线鲃[J]. 湛江水产学院学报,1994,13(1): 1-3.
- [2] 李维贤,武德方,陈爱玲. 犀角金线鲃头部解状突起的组织学研究[J]. 云南大学学报,1997,19(4):426-428.
- [3] 李维贤,武德方,陈爱玲,等. 犀角金线鲃的研究进展[J]. 上海水产大学学报,1998,7(2): 155-157.
- [4] 李维贤,武德方,陈爱玲,等. 犀角金线鲃的地理分布及其对穴居环境生态适应的初步研究[J]. 云南农业大学学报,2000,15(1):1-4.
- [5] 李维贤,陶进能. 犀角金线鲃的局部解剖[J]. 云南农业大学学报,2002,17(3):207-209.
- [6] 何舜平,陈宜瑜. Nakajima 东亚低等鲤科鱼类细胞色素 b 基因序列测定及系统发育[J]. 科学通报,2000(45):2297-2302.
- [7] 单乡红,乐佩琦. 金线鲃鱼类系统发育的研究(鲤形目·鲤科·亚科)[J]. 动物学研究,1994,15(增刊):36-44.
- [8] 王大忠,陈宜瑜. 关于金线鲃属分类的一些问题(鲤形目·鲤科·亚科)[J]. 遵义医学院学报,1999,22(4):274-276.
- [9] 王大忠,陈宜瑜,李学英. 金线鲃属的系统发育(鲤形目·鲤科·亚科)[J]. 遵义医学院学报,1999,22(1):1-6.
- [10] 肖武汉,张亚平. 鱼类线粒体 DNA 的遗传与进化[J]. 水生生物学报,2000,24(4):384-391.
- [11] 肖衢,咎瑞光. 金线鲃属鱼类线粒体 DNA 细胞色素 b 基因的分子进化研究[D]. 云南大学博士学位论文,2001,1-80.
- [12] 肖衢,张仁东,冯建国,等. 17 种金线鲃核 DNA 含量及倍性的研究[J]. 动物学研究,2002,23(3):195-199.
- [13] 陈善元,肖衢. 基于线粒体 DNA 基因序列的金线鲃属鱼类(鲤形目:鲤科)分子系统发育关系[D]. 云南大学硕士学位论文,2003,1-64.
- [14] 乐佩琦. 中国动物志·硬骨鱼纲·鲤形目下卷[M]. 北京:科学出版社,2000.
- [15] BILLINGTON N, P D HEBER. Mitochondrial DNA diversity in fishes and its implications for interroductions[J]. Can. J. Fish Aquat. Sci, 1991,48(1):80-94.
- [16] XIAO Jun-jie, LI Mei-zhang, LI Wei-xian, et al. Mitochondrial DNA Variation in Two Subspecies of *Sinocyclocheilus* as Revealed by DNA Sequences[J]. Journal of Yunnan University,1998,20(3): 218-220.