

石斑鱼遗传多样性及其系统发育分析

李庆^{1,2}, 黄毅昌^{1,2}, 闫秀英^{1,2*}, 简纪常^{1,2}, 吴灶和² (1. 广东海洋大学, 广东湛江 524088; 2. 广东省水产经济动物病原生物学及流行病学重点实验室, 水产经济动物病害控制广东普通高校重点实验室, 广东湛江 524088)

摘要 石斑鱼不仅是重要的海水经济鱼类,而且具有重要的生态地位。但是,石斑鱼的分类、物种多样性、资源保护及其合理开发等需要对石斑鱼系统发育的分析与研究。线粒体基因是研究石斑鱼系统进化的理想分子标记,因此获得了青石斑鱼 *E. awoara* 长度为 1 039 bp 的 16S rDNA、tRNA-Leu 和 NA1 部分序列,基于其及 *ND2*、*cyt b* 对石斑鱼系统发育进行了分析,结果表明石斑鱼遗传多样性与地域分布关系不大,不同系统树分析都表明同一石斑鱼物种的系统发生关系基本一致,石斑鱼种间亲缘关系较近。此外,也发现某些异种间亲缘关系比同种间亲缘关系近的现象。
关键词 石斑鱼;遗传多样性;系统发育
中图分类号 S965.44;Q17 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)29-075-05

Analysis on the Genetic Diversity and the Phylogeny of *Epinephelus*
LI Qing^{1,2}, HUANG Yi-chang^{1,2}, YAN Xiu-ying^{1,2*} et al (1. Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088; 2. Guangdong Key Laboratory of Pathogenic Biology and Epidemiology for Aquatic Economic Animals, Key Laboratory of Control for Diseases of Aquatic Economic Animals of Guangdong Higher Education Institute, Zhanjiang, Guangdong 524088)
Abstract Grouper (*Epinephelus*) is not only commercially important marine fish, but also the importantly ecological status. However, the classification, diversity of species, resource protection and rational exploitation of grouper need analyses and studies on grouper's phylogeny. Moreover, mitochondrial genes are appropriate molecular markers to study grouper's phylogeny. Therefore, in this paper, the sequence of 16S rDNA, tRNA-Leu and partial NA1 in *E. awoara* were acquired, with the length of 1039 bp. Based on 16S rDNA-tRNA-Leu-partial NA1, *ND2* and *cyt b* genes, grouper's phylogeny were analyzed. The results showed that there was not the direct relationship between grouper's genetic diversity and geographical distribution. Phylogenetic relationships of the same grouper species indicated by different phylogenetic trees in this paper were consistent. Phylogenetic relationships of grouper species were close. Furthermore, it was found that phylogenetic relationships of grouper interspecies were closer than that of congener grouper species.
Key words Grouper (*Epinephelus*); Genetic diversity; Phylogeny

石斑鱼是石斑鱼属 (*Epinephelus*) 鱼类的统称,隶属鲈形目 (Perciformes)、鲷科 (Serranidae)、石斑鱼亚科 (Epinephelinae),其种类多,分布广。我国有石斑鱼种类 46 种,主要分布在南海和东海南部^[1]。石斑鱼是重要的世界性海洋经济鱼类之一,在海洋生态中占有重要地位,也是重要的海水增殖养殖对象。但是,海洋环境污染、过度捕捞、养殖群体的近亲繁殖等已使鱼类资源不断衰退^[2],部分种类已被列为濒危物种^[3]。在我国科技兴海战略中,石斑鱼的合理开发和资源保护已迫在眉睫。

石斑鱼为定居性鱼类,形态保守,石斑鱼的分类多以体形、条纹、体色、斑点、骨骼等性状为主要依据。但是不同生境、应激状态及不同发育阶段下,很多石斑鱼种类的体色和斑纹常会发生明显变异,石斑鱼种类鉴定困难,有时会造成种类鉴定上的失误,增加了系统发生关系研究的难度。此外,石斑鱼中还存在同名异种及同种异名的现象,甚至在生态系统破坏压力之下,石斑鱼亲缘关系相近的种类可能也存在杂交现象^[4]。因此,这给物种多样性研究、渔业资料保护和合理利用及石斑鱼育种养殖带来一定的困难,也给养殖生产中亲本和鱼种的引进和鉴定带来了一定的困难。然而,随着分子生物学的发展,分子系统学方法的应用为石斑鱼传统分类提供了重要佐证和补充修正。

动物线粒体 DNA 具有序列简单和进化速度快等特点,

基金项目 广东省教育厅育苗工程项目(2012LYM_0075)。
作者简介 李庆(1993-),女,山西运城人,本科生,专业:水产养殖学。
* 通讯作者,副教授,博士,从事水生生物病害防控研究。
收稿日期 2015-08-31

在鱼类分子系统学研究中得到广泛应用。对石斑鱼线粒体 DNA 的分析表明,线粒体基因,尤其是 16S rDNA、*cyt b* 和 *ND2* 基因是对石斑鱼属内种间系统进化分析进行评估的理想分子标记^[5-7]。笔者获得了青石斑鱼 (*E. awoara*) 的 16S rDNA-tRNA-Leu-DA1 序列(16S rDNA、tRNA-Leu 和部分 DA1 序列),分析石斑鱼 16S rDNA-tRNA-Leu-DA1 的遗传多样性,比较青石斑鱼 (*E. awoara*) 分子系统发育关系与传统分类的异同,并基于目前 GenBank 数据库中已知石斑鱼 *cyt b* 和 *ND2* 基因完整序列分析石斑鱼的系统发生关系及空间距离对石斑鱼遗传多样性的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验用石斑鱼。青石斑鱼 (*E. awoara*) 购自湛江某石斑鱼养殖场,活体运回实验室后,取肌肉组织放入 -80 ℃ 超低温冰箱中备用。试验所用其他石斑鱼相关信息及基因序列来源于 GenBank 数据库。

1.1.2 菌株与载体。大肠杆菌 DH5α 菌株由广东省水产经济动物病原生物学及流行病学重点实验室保存,pMD18-T 载体 pEGFP-N3 载体购自 TaKaRa 公司。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取。取青石斑鱼 (*E. awoara*) 肌肉组织约 50 mg,采用传统的酚-氯仿抽提方法^[8] 进行基因组 DNA 提取。

1.2.2 青石斑鱼 16S rDNA-tRNA-Leu-DA1 的克隆。根据 GenBank 数据库上的同源序列设计并扩增青石斑鱼 16S rDNA-tRNA-Leu-DA1 基因的引物为 16SF (5'-GGCTGTGGACT-

CAACCAG - 3') 和 16SR (5'-GGCTTHAGRTCTCTGTG-3')。

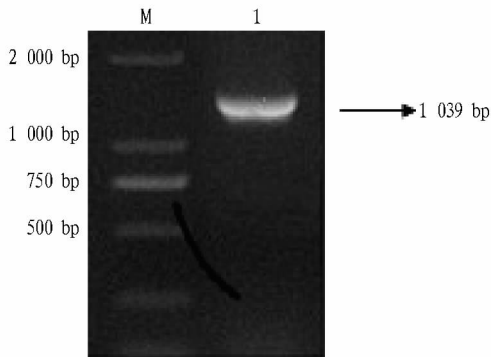
PCR 反应体系 (25 μ l) 为: ddH₂O 15.5 μ l、DNA (约 30 ng) 2 μ l、引物 (10 μ mol/L) 1 μ l、dNTPs (2.5 mmol/L) 2 μ l、10 $\times$ ExTaq Buffer 2.5 μ l、ExTaq 酶 (1 U/ μ l) 0.125 μ l。PCR 反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 5 min; 95 $^{\circ}$ C 1 min, 52 $^{\circ}$ C 1 min, 72 $^{\circ}$ C 2.5 min, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min。PCR 反应结束后, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。电泳产物纯化回收后与 pMD18-T 载体连接, 转化至大肠杆菌 DH5 α 菌株, 筛选阳性克隆并送至上海生工生物有限公司测序鉴定。

1.2.3 石斑鱼 16S rDNA-tRNA-Leu-DA1、*cyt b* 和 *ND2* 遗传多样性及石斑鱼系统发育分析。应用 DNASTar 软件 (Lasergene) 并结合人工调整, 对石斑鱼 16S rDNA-tRNA-Leu-DA1、*cyt b* 和 *ND2* 序列分别进行排列; 应用 MEGA^[9] 软件分析变异位点、信息位点和遗传距离。

应用 ModelTest^[10] 分别模拟石斑鱼 16S rDNA-tRNA-Leu-DA1、*cyt b* 和 *ND2* 进化模式, 并将不同的模拟结果作为参考值构建系统树。基于 16S rDNA-tRNA-Leu-DA1、*cyt b* 和 *ND2* 分别用 MEGA^[9] 软件构建最大简约树 (MP)、最大似然树 (ML)、最小进化树 (ME)、非加权组平均树 (UPGMA) 和邻接树 (NJ)。分别用 MrBayes 软件进行 Bayesian^[11] 分析, 并采用 general-time-reversible + gamma + invariants (GTR + G + I) 序列进化模型和 Markov Chain Monte Carlo (McMc) 取样方式估计系统发生关系。MrBayes 分析参数为: nst = 6, rates = gamma, 进行 100 000 次重复检验后, 获得系统树的支系结构和各支的置信度。后验概率和系统树枝长计算参数为: burnin = 500, contype = allcompat。分别用 PAUP 软件进行运算, Heuristic 搜索采用二分支方式构建系统树支系 (TBR branch swapping), 并加入随机序列重复抽样; 系统树各支的置信度, 通过 Bootstrap^[12] 重复抽样 1 000 次后获得。同时, 基于 CYTB 和 *ND2* 蛋白序列构建系统树。

2 结果与分析

2.1 青石斑鱼 16S rDNA-tRNA-Leu-DA1 的克隆 从图 1 可以看出, 经 PCR 扩增、克隆和测序, 获得青石斑鱼 16S rDNA-tRNA-Leu-DA1 序列, 长度为 1 039 bp (GenBank 编码: KR703819), 经 Blast 检索其与青石斑鱼 *E. awoara* 相应基因 (JX109835) 的相似率为 97.7%。



注: M. DL2000; 1. pMD18-16S 阳性菌落的 PCR 产物。

图1 pMD18-16S 阳性菌落的 PCR 扩增

2.2 石斑鱼 16S rDNA-tRNA-Leu-DA1 遗传多样性及基于其石斑鱼系统发育分析 分析 27 尾鱼的 16S rDNA-tRNA-Leu-DA1 序列含有 308 个变异位点和 160 简约信息位点。对石斑鱼 16S rDNA-tRNA-Leu-DA1 序列分析发现, 采集于同一地域的分离株 16S rDNA-tRNA-Leu-DA1 的同源率为 100%, 如采集于我国的赤点石斑鱼 *E. akaara* (EU043377、KJ700440、KM458971 和 NC011113)、宝 石 石 斑 鱼 *E. areolatus* (KC466080、KC593374 和 NC020785)、青石斑鱼 *E. awoara* (JX109835 和 NC018773)、橙点石斑鱼 *E. bleekeri* (KF556648 和 NC022848)、斜带石斑鱼 *E. coioides* (NC011111、EU043376 和 KM377093)、小纹石斑鱼 *E. epistictus* (KC816460 和 NC021462)、拟青石斑鱼 *E. fasciatus* (KC480085 和 NC020782)、褐点石斑鱼 *E. fuscoguttatus* (JX119192 和 NC020046)、鞍带石斑鱼 *E. lanceolatus* (FJ4723837 和 NC011715)、宽带石斑鱼 *E. latifasciatus* (KC480177 和 NC020784)、云纹石斑鱼 *E. moara* (JQ518290、KP009977 和 NC017891)、玳瑁石斑鱼 *E. quoyanus* (KC790539 和 NC021450)、六带石斑鱼 *E. sexfasciatus* (KC959953 和 NC021765)、南海石斑鱼 *E. stictus* (KC527593 和 NC021133)、三斑石斑鱼 *E. trimaculatus* (KC847086 和 NC021612) 与黑斑石斑鱼 *E. tukula* (KJ414470 和 NC024039), 采集于韩国的褐石斑鱼 *E. bruneus* (FJ594964 和 NC013820) 与七带石斑鱼 *E. septemfasciatus* (FJ594966 和 NC013829) 以及采集于日本的蜂巢石斑鱼 *E. merra* (AP005991 和 NC022509)。将 GenBank 数据库中非相同的石斑鱼 16S rDNA-tRNA-Leu-DA1 序列进行比对, 计算两两序列间的相似度和遗传距离 (表 1), 并构建系统树 (图 2)。

基于石斑鱼 16S rDNA-tRNA-Leu-DA1 序列所构建系统树的拓扑结构基本一致, 石斑鱼分为两大分支, 石斑鱼两两间的遗传距离普遍较小; 从遗传距离和系统树分析来看, 该试验所用石斑鱼确定为青石斑鱼 (*E. awoara*), 与传统方法分类相一致; 采集于不同地域的同一种石斑鱼多聚在一起, 如采集于中国和韩国的赤点石斑鱼 *E. akaara* (EU043377/China 和 KJ700439/Korea) 以及采集于中国和马来西亚的鞍带石斑鱼 *E. lanceolatus* (FJ472837/China、KM386619/China、KJ451389/China 和 HQ660062/Malaysia); 但采集于韩国和中国的褐石斑鱼 *E. bruneus* (FJ594964/Korea 和 JQ51828/China) 没有聚在一起, 褐石斑鱼 *E. bruneus* (FJ594964/Korea) 却与云纹石斑鱼 *E. moara* (JQ518289/China) 聚在一起。采集于韩国和中国的褐石斑鱼 *E. bruneus* FJ594964/Korea 和 JQ51828/China 间的遗传距离为 0.013, 而褐石斑鱼 *E. bruneus* (FJ594964/Korea) 与云纹石斑鱼 *E. moara* (JQ518289/China) 的遗传距离仅为 0.001。呈现出的矛盾是褐石斑鱼 *E. bruneus* (FJ594964/Korea) 与云纹石斑鱼 *E. moara* (JQ518289/China) 的亲缘关系比褐石斑鱼 *E. bruneus* (FJ594964/Korea 和 JQ51828/China) 二者间的亲缘关系更近, 因此将基于石斑鱼 *cyt b* 和 *ND2* 基因序列进一步分析石斑鱼间的系统发生关系。

表 1 石斑鱼两两间的遗传距离和 16S rDNA – tRNA – Leu – DA1 序列相似度

序号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
1		963	964	908	986	908	898	910	913	888	896	955	916	892	881	894	893	915	912	907	917	957	949	917	921	905	899
2	20		997	911	975	925	911	923	920	903	913	967	921	899	887	901	900	925	922	923	927	969	958	929	935	921	909
3	19	03		911	976	926	913	925	922	905	915	968	923	903	891	905	904	927	924	924	928	968	959	930	936	923	910
4	49	49	47		917	914	892	896	892	876	882	908	900	869	859	871	870	900	900	895	885	910	914	912	918	895	910
5	3	21	20	50		921	911	921	923	902	909	965	926	902	890	904	903	926	923	919	928	967	959	926	932	916	909
6	56	54	53	51	55		897	896	905	898	902	912	900	882	873	884	883	906	902	906	898	920	923	919	925	898	916
7	74	62	62	66	71	78		971	941	899	913	907	952	929	917	931	930	963	993	880	915	914	912	892	897	950	875
8	67	59	59	68	68	78	13		947	910	926	916	959	932	923	934	933	971	977	891	927	924	921	895	901	955	875
9	70	65	65	76	69	74	48	46		907	929	919	943	927	917	929	928	953	949	895	926	924	916	900	906	964	883
10	73	68	68	81	73	78	67	64	73		966	899	919	893	885	895	894	923	913	869	922	905	909	885	890	905	878
11	74	64	64	79	73	78	61	56	60	28		908	922	899	888	901	900	932	926	885	940	915	919	897	902	929	887
12	31	29	28	53	32	59	70	66	67	71	69		919	895	886	897	896	926	917	921	920	960	945	932	938	916	899
13	68	65	65	69	67	79	36	33	57	61	62	67		933	923	935	934	970	958	891	933	930	932	901	907	944	888
14	88	88	85	99	89	98	59	58	69	87	85	93	63		986	997	996	943	935	877	911	901	899	882	888	924	862
15	85	84	82	97	85	97	58	57	68	84	82	92	62	04		989	988	933	926	867	902	889	889	874	880	914	852
16	86	85	83	97	87	96	57	56	67	85	83	91	61	3	1		999	945	937	878	915	903	901	884	890	926	864
17	87	86	84	98	88	97	58	57	68	86	84	92	62	4	2	1		944	936	878	914	902	900	883	889	925	862
18	67	62	62	68	67	75	26	24	48	56	53	61	28	54	53	52	53		970	891	932	933	928	905	910	958	882
19	66	59	59	63	67	75	1	11	45	65	58	67	35	57	56	55	56	24		894	926	924	922	903	909	956	884
20	49	53	52	66	51	73	89	83	84	94	85	61	88	100	96	97	99	86	86		893	918	916	955	960	884	886
21	64	55	55	83	63	79	67	62	70	61	49	65	60	83	78	80	81	62	64	82		924	929	893	898	915	882
22	31	25	26	54	32	59	71	67	70	69	67	37	67	93	90	91	92	63	68	52	68		957	925	931	924	909
23	30	28	27	54	31	59	72	68	77	65	62	41	61	94	91	92	93	67	68	56	62	33		925	931	914	903
24	43	46	45	55	45	64	83	79	80	80	76	44	81	98	94	96	97	74	80	32	80	45	47		995	895	892
25	43	46	45	55	45	64	83	79	80	80	76	44	80	98	94	96	97	74	80	32	80	45	47	0		901	898
26	73	66	66	70	73	76	34	33	29	68	53	69	49	64	62	61	62	37	31	91	73	68	79	81	81		878
27	66	69	68	65	67	59	100	99	96	98	91	76	94	123	119	120	121	96	98	83	100	68	73	77	77		98

注:表中数据为实际数据的1 000 倍。左下三角为遗传距离,右上三角为16S rDNA-tRNA-Leu-DA1 序列相似度。1. *E. awoara*; 2. *E. akaara* (China); 3. *E. Akaara* (Korea); 4. *E. Areolatus*; 5. *E. Awoare*; 6. *E. bleekeri*; 7. *E. Bruneus* (Korea); 8. *E. bruneus* (China); 9. *E. coioides*; 10. *E. epistictus* (China-1); 11. *E. epistictus* (China-2); 12. *E. fasciatomaculosus*; 13. *E. fuscoguttatus*; 14. *E. lanceolatus* (China-1); 15. *E. lanceolatus* (Malaysia); 16. *E. lanceolatus* (China-2); 17. *E. lanceolatus* (China-3); 18. *E. lanceolatus* (China-4); 19. *E. moara*; 20. *E. Quoyanus*; 21. *E. septemfasciatus*; 22. *E. sexfasciatus*; 23. *E. stictus*; 24. *E. trimaculatus* (China-1); 25. *E. trimaculatus* (China-2); 26. *E. tukula*; 27. *E. merra*。

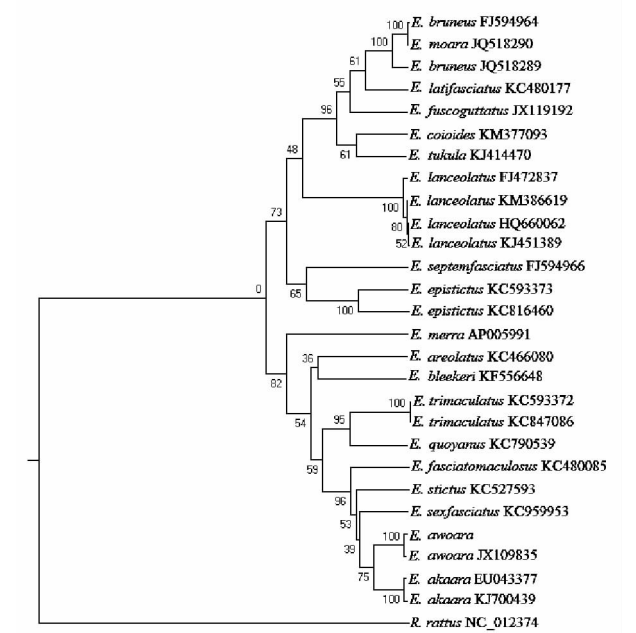


图 2 基于石斑鱼 16S rDNA-tRNA-Leu-DA1 构建的 UPGMA 树

2.3 石斑鱼 ND2 基因遗传多样性分析及基于 ND2 基因石斑鱼系统发育分析 分析中 ND2 基因序列含有 641 个变异位点和 413 个简约信息位点。石斑鱼 ND2 基因序列分析结果与 16S rDNA-tRNA-Leu-DA1 分析结果基本一致,采集于同一地域的分离株 ND2 的同源率多为 100%,如采集于中国的

赤点石斑鱼 *E. akaara* (EU043377 和 NC011113)、宝石石斑鱼 *E. areolatus* (KC466080 和 NC020785)、青石斑鱼 *E. awoare* (JX109835 和 NC018773)、布氏石斑鱼 *E. bleekeri* (KF556648 和 NC022848)、斜带石斑鱼 *E. coioides* (NC011111、EU043376 和 KM377093)、小纹石斑鱼 *E. epistictus* (KC816460 和 NC021462)、拟青石斑鱼 *E. fasciatomaculosus* (KC480085 和 NC020782)、褐点石斑鱼 *E. fuscoguttatus* (JX119192 和 NC020046)、鞍带石斑鱼 *E. lanceolatus* (FJ4723837 和 NC011715)、宽带石斑鱼 *E. latifasciatus* (KC480177 和 NC020784)、云纹石斑鱼 *E. moara* (JQ518290、KP009977 和 NC017891)、玳瑁石斑鱼 *E. quoyanus* (KC790539 和 NC021450)、六带石斑鱼 *E. sexfasciatus* (KC959953 和 NC021765)、南海石斑鱼 *E. stictus* (KC527593 和 NC021133)、三斑石斑鱼 *E. trimaculatus* (KC847086 和 NC021612) 与蓝身大斑石斑鱼 *E. tukula* (KJ414470 和 NC024039),采集于韩国的褐石斑鱼 *E. bruneus* (FJ594964 和 NC013820) 与七带石斑鱼 *E. septemfasciatus* (FJ594966 和 NC013829) 以及采集于日本的蜂巢石斑鱼 *E. merra* (AP005991 和 NC022509)。

基于石斑鱼 ND2 基因序列和 ND2 蛋白序列构建系统树的拓扑结构基本一致,石斑鱼分为两大分支,石斑鱼两两间的遗传距离普遍较小;同一种石斑鱼多聚在一起,与不同地域的关系并不大,如采集于中国和韩国的赤点石斑鱼 *E. akaara* (EU043377/China、KJ700440、KM458971 和 KJ700439/

率分别为 0.151 和 86.1%, 而其与云纹石斑鱼 *E. moara* (JQ518290、AY786427 和 KP009977) 间的遗传距离分别和相似率分别为 0.001、0.002 和 95.8%、95.9% 或 0.160、0.161 和 85.1%、85.2%, 与鲑点石斑鱼 *E. fario* (DQ372726 和 DQ486931) 间遗传距离和相似率分别为 0.151、0.153 和 85.9%、86.1% 和相似率分别或 0.007、0.009 和 99.1%、99.3%。褐石斑鱼 *E. bruneus* (FJ594964 和 JQ518289) 与云纹石斑鱼 *E. moara* (JQ518290、AY786427 和 KP009977) 的遗传距离和相似率分别为 0.001、0.002 和 99.8%、99.9% 或 0.043、0.044 和 95.8%、95.9%, 而两尾褐石斑鱼 *E. bruneus* (FJ594964 和 JQ518289) 间的遗传距离和相似率分别为 0.043 和 95.9%, 三尾云纹石斑鱼 *E. moara* (JQ518290、AY786427 和 KP009977) 间的遗传距离和相似率分别为 0.002、0.003 和 99.7%、99.8%。这再次呈现出与上述相似的矛盾, 即布氏石斑鱼 *E. bleekeri* (AY963558) 与云纹石斑鱼 *E. moara* (JQ518290、AY786427 和 KP009977) 或布氏石斑鱼 *E. bleekeri* (AY963558) 与鲑点石斑鱼 *E. fario* (DQ486931) 的亲缘关系比两尾布氏石斑鱼 *E. bleekeri* (AY963558 和 KF556648) 的亲缘关系还要近; 褐石斑鱼 *E. bruneus* (FJ594964 和 JQ518289) 与云纹石斑鱼 *E. moara* (JQ518290、AY786427) 的亲缘关系比两尾褐石斑鱼 *E. bruneus* (FJ594964 和 JQ518289) 的亲缘关系要近, 褐石斑鱼 *E. bruneus* (FJ594964 和 JQ518289) 与云纹石斑鱼 *E. moara* (JQ518290、AY786427) 的亲缘关系类似于三尾云纹石斑鱼 *E. moara* (JQ518290、AY786427 和 KP009977) 简的亲缘关系 (图 4)。

3 讨论

笔者对石斑鱼进行分子系统学研究, 为石斑鱼传统分类提供了重要佐证和补充修正, 在一定程度上减少物种鉴定的误差。该研究所用石斑鱼为青石斑鱼 (*E. awoara*) 与传统分类学鉴定结果相同。此外, 该研究基于石斑鱼 16S rDNA-tRNA-Leu-DA1、ND2 和 *cyt b* 对石斑鱼系统发生关系和遗传距离的分析发现, 石斑鱼遗传多样性与地域分布关系不大。从系统发育树来看, 基于石斑鱼 16S rDNA-tRNA-Leu-DA1、ND2 基因构建的系统树两大分支物种相同, 而基于石斑鱼 *cyt b* 基因构建的系统树石斑鱼两大分支物种则有所不同, 可能与此系统树所含石斑鱼物种比上述系统树所含石斑鱼物种较多有关, 但此 3 个系统树中相同物种石斑鱼系统发生关系基本一致。同时, 也再次证实了石斑鱼线粒 1 体 16S rDNA、ND2 和 *cyt b* 基因可用于石斑鱼分子系统学研究分析, 目前已知石斑鱼的 *cyt b* 基因最多, 相关信息也较多, 由此认为 *cyt b* 基因是研究石斑鱼分子系统学的优先选择标记。

石斑鱼分子系统学分析为相关科研和养殖应用带来了很大帮助, 笔者在该研究中不仅发现石斑鱼种间亲缘关系非

常近, 但也发现一些其他问题, 如有的褐石斑鱼 *E. bruneus* 与云纹石斑鱼 *E. moara* 的亲缘关系比褐石斑鱼间的亲缘关系还近, 与云纹石斑鱼 *E. moara* 间的亲缘关系相似; 有的布氏石斑鱼 *E. bleekeri* 与云纹石斑鱼 *E. moara* 或与鲑点石斑鱼 *E. fario* 的亲缘关系比布氏石斑鱼 *E. bleekeri* 间的亲缘关系还要近。这些问题的解决有待深入研究。同时, 这些问题的呈现也说明了在石斑鱼物种多样性、渔业资料保护和合理利用及石斑鱼育种养殖等方面的困难和不便, 同时也体现了生态系统破坏给石斑鱼生存带来的压力。研究表明, 盐度对斜带石斑鱼 *E. coioides* 生长、生理及抗病能力有显著影响^[13], 盐度渐变和骤变对褐点石斑鱼 *E. fuscoguttatus* 存活和摄食也有影响^[14]。

为彻底解决目前石斑鱼面临的问题, 应保护石斑鱼的物种多样性、保护生态环境, 深入研究石斑鱼分类学和分子系统学, 及时更正、修正已出现的失误等。石斑鱼种质资源问题不容忽视, 如斜带石斑鱼 *E. coioides* 已被国际自然资源保护联盟列入近危种^[15]。

参考文献

- [1] 祝茜. 中国海洋鱼类种类名录 [M]. 北京: 学苑出版社, 1998: 86–89.
- [2] 董秋芬, 刘楚吾, 郭昱嵩, 等. 9 种石斑鱼遗传多样性和系统发生关系的微卫星分析 [J]. 遗传, 2007, 29(7): 837–843.
- [3] IUCN Species Survival Commission. The IUCN red list of the reatened species categories & criteria (tm) [M]. Gland, Switzerland: IUCN Press, 2012.
- [4] HWERDEN L V, DAVIES C R, CHOAT J H. Phylogenetic and evolutionary perspectives of the indo-pacific grouper *plectropomus* species on the great barrier reef Australia [J]. J Fish Biol, 2002, 60(6): 1591–1596.
- [5] ZARDOYA R, MEYER A. Phylogenetic performance of mitochondrial protein-coding genes in resolving relationships among vertebrates [J]. Mol Biol Evol, 1996, 13(7): 933–942.
- [6] CRAIG M T, PONDELLA II D J, FRANCK J P C, et al. On the status of the serranid fish genus *epinephelus*: Evidence for parphyly based upon 16S rDNA sequence [J]. Mol Phylogenet Evol, 2001, 19(1): 121–130.
- [7] 黄小林, 吕国敏, 刘付永忠, 等. 石斑鱼属鱼类线粒体基因组序列特征及系统发育信息评估 [J]. 生物学杂志, 2013, 20(3): 9–13.
- [8] J. 萨姆布鲁克, E. F. 弗里奇. 分子克隆 (实验指南) [M]. 金冬雁, 等译. 2 版. 北京: 科学出版社, 1996.
- [9] TAMURA K, DUDLEY J, NEI M, et al. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0 [J]. Mol Biol Evol, 2007, 24(8): 1596–1599.
- [10] POSADA D, CRANDALL K. Modeltest: Testing the model of DNA substitution [J]. Bioinformatics, 1998, 14(9): 817–818.
- [11] HUELSENBECK J P, RONQUIST F. MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees [J]. Bioinformatics, 2001, 17(8): 754–755.
- [12] SWOFFORD D L. PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony and other methods Associates [M]. Sunderland, MA USA: Sinauer Associates, 1998.
- [13] 王素久, 张海发, 赵俊, 等. 不同盐度对斜带石斑鱼幼鱼生长和生理的影响 [J]. 广东海洋大学学报, 2011, 31(6): 39–44.
- [14] 施钢, 张建东, 潘传豪, 等. 盐度渐变和骤变对褐点石斑鱼存活和摄食的影响 [J]. 广东海洋大学学报, 2011, 31(1): 45–51.
- [15] IUCN Species Survival Commission. The IUCN red list of the reatened species categories & criteria (v 3.1) [M]. Gland, Switzerland: IUCN Press, 2001.