



论文

鲮科鱼类系统发育关系分析及其分歧时间估算

于美玲^{①②}, 何舜平^{①*}

① 中国科学院水生生物研究所水生生物多样性与保护重点实验室, 武汉 430072;

② 中国科学院研究生院, 北京 100049

* 联系人, E-mail: clad@ihb.ac.cn

收稿日期: 2011-12-10; 接受日期: 2012-02-29

国家自然科学基金(批准号: 31090254)资助项目

摘要 PCR法扩增了中国鲮科鱼类10属19种19个个体的两个核基因 *Plagl2* 和 *ADNP*, 同时扩增了贡山鲮、短鳍鲮、细尾异齿鲮等5种鲮科代表种的基因, 进一步丰富了鲮科鱼类 *Cytb* 基因信息. 采用线粒体 *Cytb* 和2个核基因 *Plagl2* 及 *ADNP* 联合构树的方法重建中国鲮科鱼类的系统发育树. 结果表明, 中国鲮科鱼类和鳊鲮鱼类均为单系类群, 黄斑褶鲮位于系统发育树的基部位置, 所选取的4个鲮属的代表种同样构成单系, 凿齿鲮是鳊鲮鱼类最原始的类群, 其次是黑斑原鲮和藏鳊, 异齿鳊属和拟鳊属均构成单系类群. 本文结果与以往研究有相同和不同之处, 并对可能的原因进行了探讨. 分子钟运算结果显示, 鲮科鱼类起源于约晚中新世(约12.2 Mya), 鳊鲮鱼类的分化时间也在晚中新世(约10.7 Mya), 鲮科特有种的分化, 如鲮属鱼类集中在更新世(1.9 Mya 以内). 鳊鲮鱼类的物种分化和青藏高原的隆升有着密不可分的关系.

关键词鲮科
鳊鲮鱼类
系统发育
单系
物种分化

细胞色素 b(cytochrome b, *Cytb*)基因作为线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)的分子标记之一, 其结构和功能在 mtDNA 的13个蛋白质编码基因中了解的最为清楚. 它具有进化速度适中, 所含遗传信息丰富, 并能有效鉴别种内、种间、属间物种的优势, 在系统发育关系研究中应用得较为广泛. 随着方法的改进和研究的深入, 人们发现线粒体基因在实际应用中存在一些问题, 如分子结构多样性、父系遗传、核拷贝插入序列、近源种间线粒体遗传物质交流等^[1-3]. 核基因编码的蛋白质因子既可直接参与线粒体基因的表达和调控, 亦可对线粒体基因起到一定程度的稳定作用. 在实际研究中, 线粒体与核基因联合分析可有效鉴定物种以及解决物种间的系统发育

和进化关系问题, 由联合分析所得的结果也更为可信^[4].

鲮科(Sisoridae)隶属鲇形目(Siluriformes), 由Regan^[5]于1911年建立, 是亚洲鲇形目鱼类中最大和分化程度最高的科之一, 绝大多数物种分布在青藏高原和东喜马拉雅山的周边水系^[6]. 鳊鲮鱼类(Glyptosternoid fish)是鲇形目鲮科(Sisoridae)中的一大类自然类群. 迄今为止, 该类群在中国共记录有8属, 分别是平唇鲮属(*Parachiloglanis*)、原鲮属(*Glyptosternum*)、石爬鲮属(*Euchiloglanis*)、鲮属(*Pareuchiloglanis*)、凿齿鲮属(*Glaridoglanis*)、异齿鳊属(*Oreoglanis*)、拟鳊属(*Pseudexostoma*)和鳊属(*Exostoma*). 而非鳊鲮鱼类则包括褶鲮属(*Pseudecheneis*)、纹胸鲮属

(*Glyptothorax*)、鲃属(*Bagarius*)和黑鲃属(*Gagata*)。鲃科鱼类主要分布在雅鲁藏布江、怒江、澜沧江、金沙江、伊洛瓦底江、珠江以及红河水系; 分布区包括西藏、青海、甘肃、四川、云南、四川、贵州和广西, 尤以云南分布的属、种最为丰富。关于鲃科鱼类的形态

学和分子生物学研究较多^[7-15], 但此类群的分类地位至今仍然存在一些争议(图 1), 例如, 鲃鱼类最原始的种是黑斑原鲃还是苗齿鲃? 鲃属是否为一单系类群? 褶鲃属在鲃科鱼类中的系统发育位置如何? 异齿鲃属是否是一个单系类群? 本研究将 *Cytb* 基因和

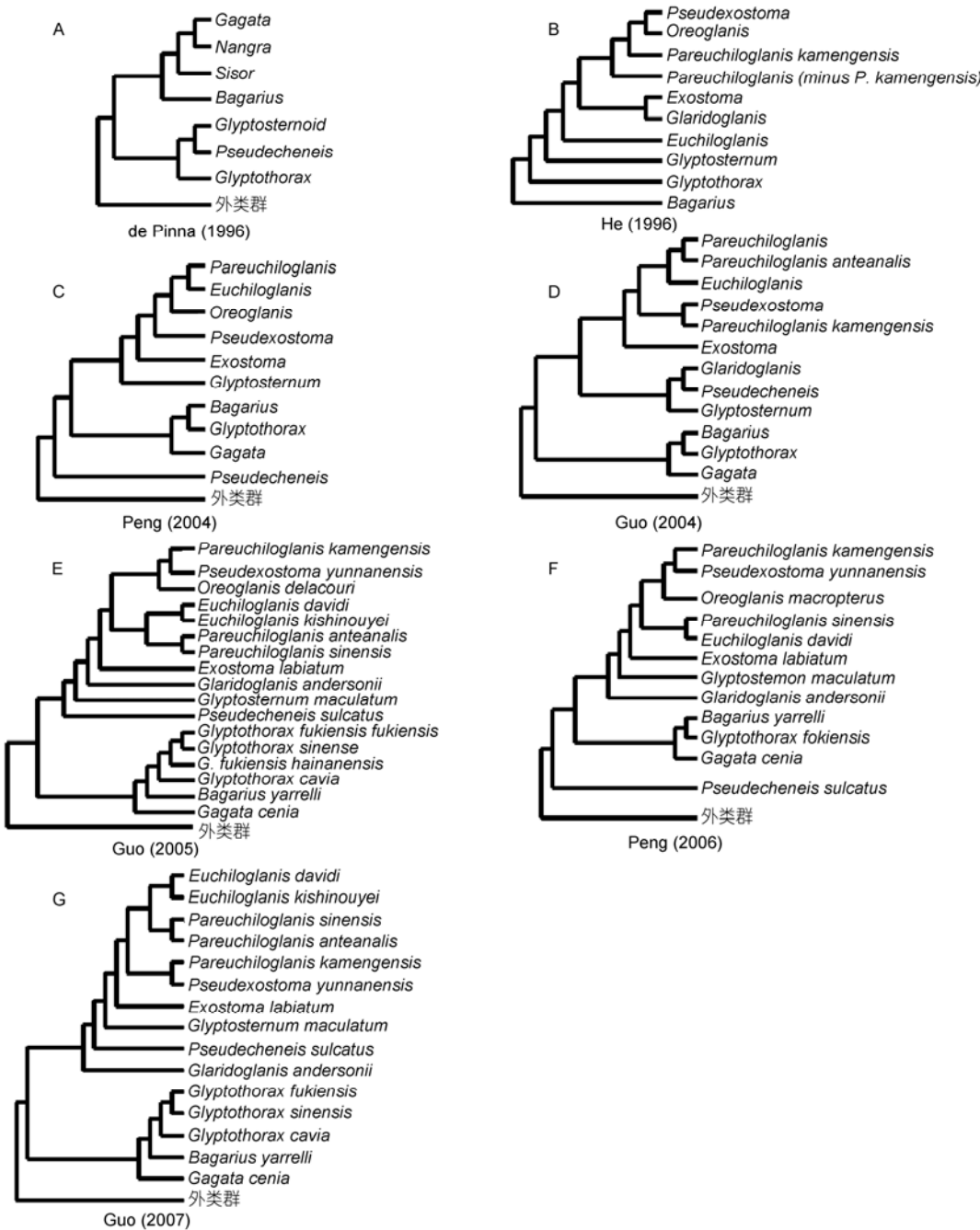


图 1 不同方法构建的鳈鲃鱼类系统发育关系树

2 个核基因 *ADNP* 和 *Plagl2* 作为分子标记, 结合线粒体基因和核基因各自的优点, 重新建构中国鲮科鱼类的系统发育关系, 并利用分子钟估算鲮科鱼类代表种的分化时间, 进一步探讨鳊鲮鱼类的系统发育关系以及该类群内部可能的分化过程.

1 材料与方法

1.1 材料来源

本研究所用鲮科鱼类的样品采自云南、西藏、四川、广西和湖南等地. 经 95% 酒精固定后置于实验室保存. 标本鉴定依据《中国动物志》(硬骨鱼纲, 鲮形目)^[16] 的检索系统在中国科学院水生生物研究所进行; 标本材料保存于中国科学院水生生物研究所鱼类系

统发育与生物地理学标本室.

本研究选择了鲮科鱼类的 12 个代表属, 包括鳊鲮鱼类 7 个代表属, 分别是: 凿齿鲮属、原鲮属、石爬鲮属、鲮属、鳊属、异齿鳊属、拟鳊属(平唇鲮属因缺乏样品而未包含在内); 非鳊鲮鱼类的 4 个属: 鲃属、黑鲮属、褶鲮属和纹胸鲮属, 选择黑尾缺(*Liobagrus nigricauda*, 鲮形目, 钝头鲮科(*Amblycipitidae*))作为外类群, 样品信息见表 1.

1.2 DNA 提取、扩增和测序

采用酚-氯仿法从鱼体肌肉组织中提取总基因组 DNA, 用灭菌水溶解后置于 -4℃ 低温保存. *Plagl2*, *Cytb* 扩增的引物序列见表 2. *ADNP*(activity-dependent neuroprotector homeobox) 基因是斑马鱼基因组中存在

表 1 本研究用于分子标记基因测序和分析的鲮科鱼类标本^{a)}

科	属	种	GenBank 登录号		
			<i>Plagl2</i>	<i>ADNP</i>	<i>Cytb</i>
Amblycipitidae	<i>Liobagrus</i>	<i>Liobagrus nigricauda</i>	JN986989	JN986965	JN986968
Sisoridae	<i>Pseudecheneis</i>	<i>Pseudecheneis sulcatus</i>	JN986988	JN986964	DQ192469
Sisoridae	<i>Bagarius</i>	<i>Bagarius yarrelli</i>	JN986972	—	AF416897
Sisoridae	<i>Gagata</i>	<i>Gagata cenia</i>	—	—	DQ192468
Sisoridae	<i>Glyptothorax</i>	<i>G. fukiensis honghensis</i>	JN986984	JN986957	—
Sisoridae	<i>Glyptothorax</i>	<i>Glyptothorax trilineatus</i>	JN986983	—	JN986967
Sisoridae	<i>Glyptothorax</i>	<i>G. fukiensis fukiensis</i>	JN986985	JN986956	—
Sisoridae	<i>Glyptothorax</i>	<i>Glyptothorax cavia</i>	JN986986	—	JN986969
Sisoridae	<i>Glyptosternum</i>	<i>Glyptosternum maculatum</i>	JN986978	JN986959	DQ192471
Sisoridae	<i>Exostoma</i>	<i>Exostoma labiatum</i>	JN986981	—	DQ192461
Sisoridae	<i>Glaridoglanis</i>	<i>Glaridoglanis andersonii</i>	JN986974	—	AY601769
Sisoridae	<i>Pareuchiloglanis</i>	<i>Pareuchiloglanis gracilicaudata</i>	JN986976	JN986954	—
Sisoridae	<i>Pareuchiloglanis</i>	<i>Pareuchiloglanis feae</i>	—	JN986963	JN986971
Sisoridae	<i>Pareuchiloglanis</i>	<i>Pareuchiloglanis kamengensis</i>	JN986973	JN986960	DQ192477
Sisoridae	<i>Pareuchiloglanis</i>	<i>Pareuchiloglanis gongshanensis</i>	JN986975	JN986953	JN986970
Sisoridae	<i>Euchiloglanis</i>	<i>Euchiloglanis davidi</i>	JN986977	JN986961	DQ192485
Sisoridae	<i>Oreoglanis</i>	<i>Oreoglanis macropterus</i>	JN986979	JN986962	DQ192479
Sisoridae	<i>Oreoglanis</i>	<i>Oreoglanis delacourii</i>	JN986980	JN986955	JN986966
Sisoridae	<i>Pseudexostoma</i>	<i>P. yunnanensis yunnanensis</i>	JN986982	JN986958	DQ192478

a) —: 未扩增成功的序列

表 2 用以扩增的引物序列

目的基因	引物	序列 5'→3'	参考文献
<i>Plagl2</i>	Plagl2_F9	CCACACACTCYCCACAGAA	[17]
	Plagl2_R930	TTCTCAAGCAGGTATGAGGTAGA	
	Plagl2_F51	AAAAGATGTTTCACCGMAAAGA	
	Plagl2_R920	GGTATGAGGTAGATCCSAGCTG	
<i>Cytb</i>	L14724(cytbF)	GACTTGAAAAACCACCGTTG	[18]
	H15915(cytbR)	CTCCGATCTCCGGATTACAAGAC	

的单拷贝基因, 在红鳍东方鲀(*Fugu rubripes*)、青鳉(*Oryzias latipes*)基因组中找到其直系同源基因, 并设计引物在鲱科鱼类中进行扩增。

Cytb 和 *ADNP* 的 PCR 反应体系 50 μ L: 5 μ L 10 $\times$ PCR 缓冲液(TaKaRa), 4 μ L 2.5 mmol/L dNTPs (TaKaRa), 10 mmol/L 正反向引物各 2 μ L, 0.5 μ L *rTaq* 酶(5 U/ μ L, TaKaRa), 1.0 μ L 模板(约 40 ng), 加灭菌水至 50 μ L. PCR 反应条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 54~56 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸(*Cytb* 1.5 min, *ADNP* 1 min), 31 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 4 $^{\circ}$ C 保存备用。

用巢式 PCR 扩增 *Plagl2* 基因, 第一轮扩增体系为 10 μ L: 1 μ L 10 $\times$ PCR 缓冲液(TaKaRa), 0.5 μ L 2.5 mmol/L dNTPs(TaKaRa), 10 mmol/L 正反向引物各 0.5 μ L, 0.1 μ L *rTaq* 酶(5 U/ μ L, TaKaRa), 0.5 μ L 模板(约 40 ng), 加灭菌水至 10 μ L, 第二轮扩增体系 50 μ L, 与 *Cytb* 扩增体系各部分用量相同, 所用模板为第一轮 PCR 产物, 反应条件参考文献^[17]。

PCR 产物用 OMEGA 胶回收试剂盒进行回收纯化。纯化后的片段一部分用于送样测序, 一部分保存用于后续克隆。克隆所用载体为 PMD18-T vector (TaKaRa), 菌种为 *Escherichia coli*(Top 10)。所得样品由北京天一辉远生物科技有限公司测序。

1.3 数据分析

(1) 序列的拼接和比对。从测序公司返回的测序结果用 Lasergene version 7.0(DNASTAR)软件包进行分析, 用 Seqman 对重叠群(Contig)进行拼接, 用 MegAlign 对序列进行多重比对。使用 Clustal W 软件^[19]对排序后的序列进行人工校对。用 MEGA 4.0 软件^[20]将蛋白编码基因序列翻译成氨基酸以确保目的片段中没有因为测序问题而引起的终止密码子, 并分别去除和添加因测序引起的单个碱基的插入和缺失, 对于核基因所获得的全部序列均在 NCBI 的 GenBank 中做 BLAST 以确保所得序列为目的片段。

(2) 系统发育分析。分别采用最大似然法和贝叶斯法对所得序列构建系统发育树, 用 Modeltest3.7 软件对序列的替代模型进行分析, 经过筛选把 GTR+I+G 模型作为最适进化替代模型用于最后分析。最后用 MrBayes Version 3.0 软件^[21]将所得序列进行分区和不分区分析, 运行 2×10^7 代, 为确保抽样的独立性每 1000 代抽样 1 次。4 条链同时运行, 分别包括

3 条热链($T=0.05$)和 1 条冷链, 其中 2500 棵树作为“burn in”而舍弃。RAxML^[22]和 PhyML 分析采用不分区 GTR+G 模型并运行 1000 次 bootstrap。

(3) 分化时间估算。将用于分析的各分支进行速率一致性检验, 因各分支的替代速率并不一致, 不符合严格分子钟($P<0.01$), 则用 MULTIDISTRIBUTE 软件推算各个分支之间的分化时间, 此软件通过 PAML^[23]和 MULTIDITIME^[24]进行联合分析。MULTIDIVTIME 软件允许对有化石记录的各个标定点的最大和最小时间进行限定, 其中以化石记录出现的最早的时间作为最小时间, 而最大值的估计有些困难。根据已知的鲱属的化石记录^[25](5.6 Mya)作为标定点, 用线粒体基因 *Cytb* 和两个核基因 *ADNP* 和 *Plagl2* 来联合估计鲱科鱼类的分化时间。

Markov 链运行 10^7 代, 每 100 代取样一次, 舍弃最初的 10000 次循环。在运行 MCMC(Markov Chain Monte Carlo)之前, 对系统发育树根部节点年龄、速率及各分支自主相关速率的 $\bar{x} \pm SE$ 等参数进行设置: 以 12 Mya 作为系统发育树根部节点到末端节点的分化时间的期望值, 但并未对节点分化时间进行限制。以每 100 年为一个时间单位($rttm=1.2$, $rtmsd=0.12$)根节点的先验速率分布的平均值为 0.173, 根节点的先验速率分布的标准差为 1.173, 先验的布朗运动常数的平均值和标准差均为 0.83。

2 结果与讨论

2.1 中国鲱科鱼类的系统发育关系

用单个基因 *ADNP*, *Cytb*, *Plagl2* 分别构建鲱科鱼类系统发育树(图 3), 所用软件为 PhyML。由图可见, 鲱科鱼类和鲱科鱼类均为单系类群。其中, 褶鲱属的黄斑褶鲱位于鲱科鱼类的基部位置, 纹胸鲱属形成一单系类群, 异齿鲱属聚在一起, 所选鲱属的代表种形成单系。因分子标记的不同, 鲱科鱼类各属在系统发育上的位置有所不同。*ADNP* 构建的系统发育树中缺少凿齿鲱, 青石爬鲱和黑斑原鲱为姐妹群。而以 *cytb* 作为分子标记, 黑斑原鲱是鲱科鱼类最原始的类群, 其次依次是凿齿鲱、藏鲱和青石爬鲱; 以 *Plagl2* 作为分子标记的系统发育树显示, 凿齿鲱位于鲱科鱼类系统发育中最原始的位置, 其他依次是黑斑原鲱和青石爬鲱, 而藏鲱则与云南拟鲱聚在一起。由此可见,

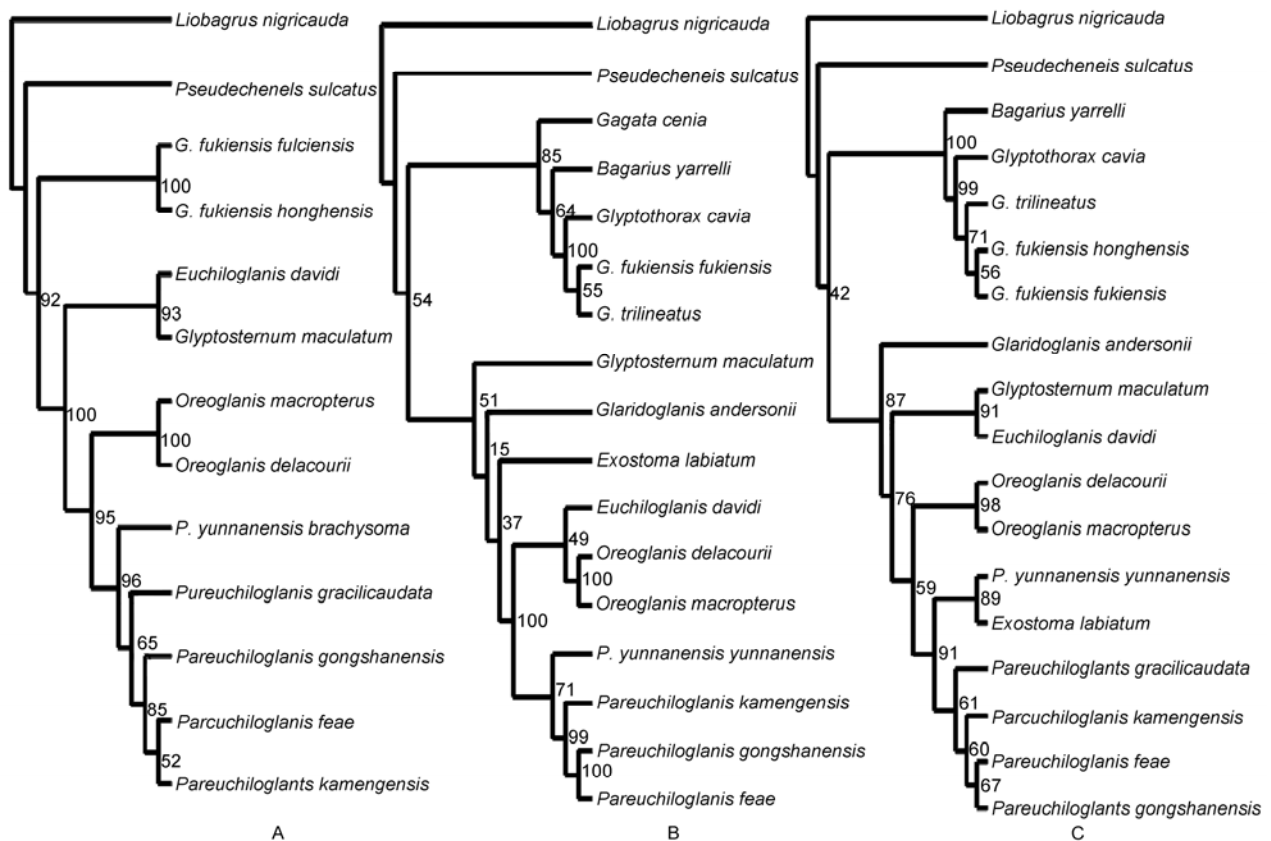


图 2 基于单个基因的 PhyML 构建的鲃科鱼类系统发育关系的比较

A: ADNP; B: *Cytb*; C: *Plagl2*. 数字代表的依次是 PhyML 相应的节点支持率

线粒体分子标记和核基因分子标记以及不同核基因分子标记所构建的系统发育树都有可能存在不同, 所以需要不断探索和改进方法来确定哪种标记能最准确地反映鱼类系统发育的真实情况。

采用联合数据对中国鲃科鱼类进行深入分析. 基于 *Cytb* 基因和 2 个核基因 *ADNP* 和 *Plagl2* 的联合数据, 用不同的构树方法获得了拓扑结构一致且节点支持率和后验概率均较高的系统发育树, 黄斑褶鲃在鲃科系统发育树中位于基部位置, 该结果与现有的一些研究一致^[14,15]. 同时, 鲃科的单系性和鲤鲃鱼类的单系性均得到支持, 所选取的 4 个鲃属的代表种也同样构成单系. 之前, 多数研究表明, 鲃属不是一个单系^[12,13,15,26], 可能是之前的鲃属代表种选取多集中在扁头鲃、中华鲃和前臀鲃; 而本实验所选取的鲃属种类为扁头鲃、短鳍鲃、贡山鲃和细尾鲃. 物种选取的不同和分子标记的不同, 可能在很大程度上影响了系统发育树各物种之间的关系. 在本研究构建

的系统发育树中, 凿齿鲃位于鲤鲃鱼类基部位置, 该结果与 Peng 等人^[14,15]应用 *Cytb*, *ND4* 和 *RAG2* 基因和 Guo 等人^[13]用 *rpS7* 构建的系统发育树一致, 但与 Guo 等人^[27]用 *Cytb* 和 *16S rRNA* 构建的鲃科鱼类系统发育树存在一些差异, 与 He^[11]用 60 个鲃科鱼类骨骼特征形态学数据构建的系统发育树也有所不同。

在对鲃科鱼类的研究中, 褶鲃属被认为是系统发育位置不确定的一个类群. Peng 等人^[14,15]以黄斑褶鲃作为褶鲃的代表种, 认为褶鲃属位于鲃科系统发育树的基部位置; de Pinna^[7]与孔德平^[28]认为, 褶鲃属鱼类和鲤鲃鱼类构成姐妹群; He^[11]与 Guo 等人^[12,13,27]认为, 褶鲃属鱼类的系统发育位置处在鲤鲃鱼类内部. 本研究发现, 褶鲃属位于鲃科鱼类的基部位置, 与 Peng 等人^[14,15]的结果较为一致。

哪个种是鲤鲃鱼类中最原始的类群仍存在争议, 形态学研究(如 He^[11]、孔德平^[28])与分子生物学研究(如 Guo 等人^[12,27])较一致地认为, 黑斑原鲃是鲤鲃鱼类群

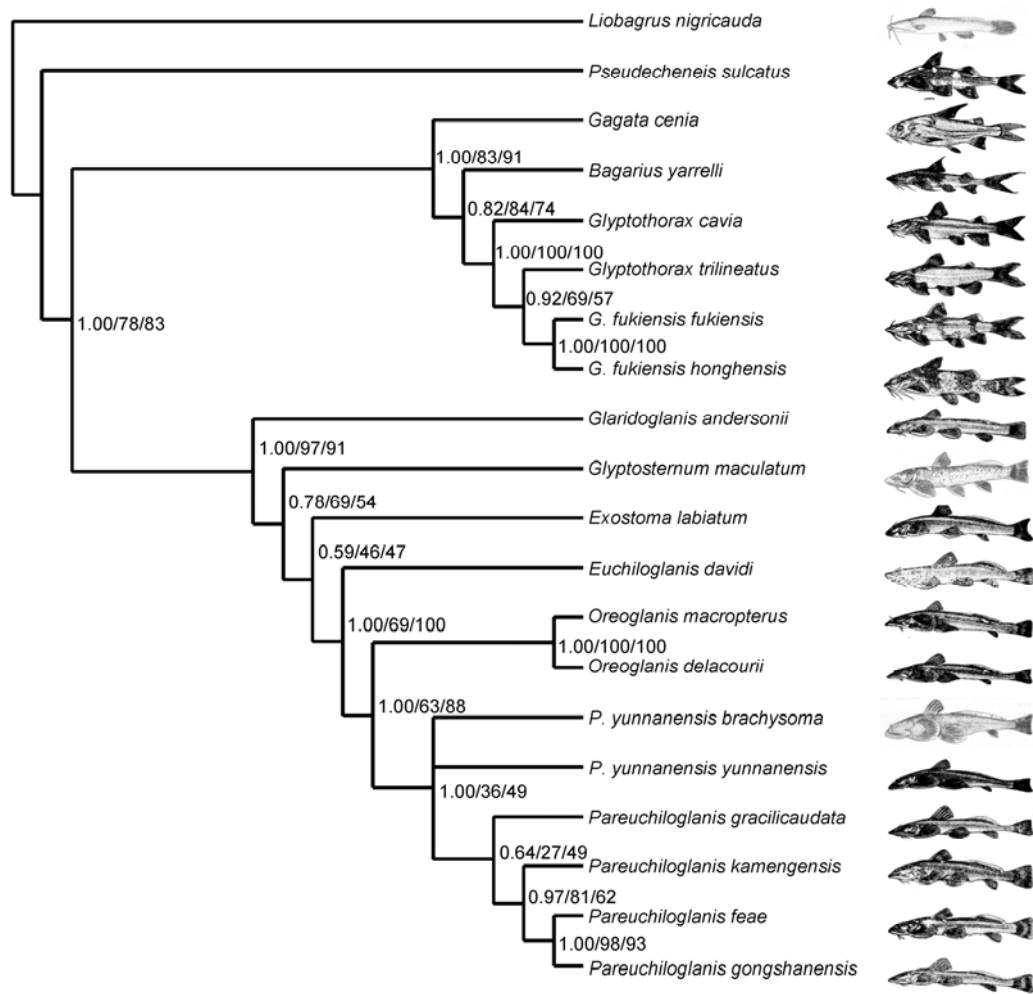


图3 基于线粒体基因 *Cyrb* 和核基因 *ADNP* 和 *Plagl2* 分别采用的软件是 Bayes, PhyML, RAxML 构建的鲃科系统发育树
数字代表的依次是 Bayes, PhyML, RAxML 的相应节点支持率

中最原始的物种;而近期, Peng 等人^[15]和 Guo 等人^[13]认为, 鳊鲃鱼类群中最原始的种是凿齿鲃, 本研究基因联合分析得到的结果支持凿齿鲃为鳊鲃鱼类群中最原始的种.

鲃科鱼类形态的多样性及其特殊的生境使其成为形态和分子研究中的重要鱼类, 而基于同样的研究对象, 不同研究所得到的鲃科鱼类系统发育关系却有所不同. 本文分析了几种可能的影响因素:

(i) 取样会影响系统发育树的构建. 完整的取样可使系统发育树接近真实的情况, 而在分析方法相同的情况下, 不完整的取样, 如取样所涵盖的种属在数量上的差异, 会使系统发育树有所不同. 在实际研究中, 有些物种很难获得. 因此, 所选取的代表种

的不同会导致系统发育树的拓扑结构不一致. 有时添加和去除某一代表种, 所构建的系统发育树也会不同^[12,29].

(ii) 许多基因都可用于区别和鉴定不同的分类群, 但通常分类水平的确立还依赖于变异的水平. 在一个已知的区域内, 变异越低, 分类水平就越高. 而形态学的变异和基因变异并不是同步的, 所以有时会出现形态数据和分子数据不一致.

(iii) 不同的分析方法会影响到系统发育树的拓扑结构, 特别是各物种间的关系以及代表种在系统发育树上的位置. 采用不同的分析方法对相同的序列信息进行系统发育树重建, 也有可能出现某一特定种的系统发育位置不一致的情况.

单因素就有可能显著影响系统发育树的结果, 多种因素综合对研究结果的影响则更大. 选取不同的代表种、不同的标记基因及不同的分析方法, 系统发育树不一致的程度可能会更大. 所以, 只有通过谨慎选取代表物种, 重复实验及改进方法, 才能更好地解决问题.

2.2 分子钟估算与进化分析

鲮科鱼类各属的分化时间详见图 4. 鲮科鱼类起源于约晚中新世(later Miocene, 约 12.2 Mya), 鳊鲮鱼

类的分化时间约在晚中新世(later Miocene, 约 10.7 Mya). 黑鲮属的分化时间约在 8.9 Mya, 鲮属的分化时间约在 8.1 Mya, 而纹胸鲮属的分化时间约在 4.5 Mya. 鳊鲮鱼类中的原始类群主要在晚中新世(later Miocene), 其中凿齿鲮起源于约 9.4 Mya, 黑斑原鲮约 8.8 Mya, 藏鳊约在 8.3 Mya. 特化种的分化时间相对较多, 主要集中在全新世以后(Holocene, 约 4.4 Mya, 如青石爬鲮的分化时间约在 4.4 Mya, 拟鳊属和鲮属的分化时间约在 2.3 Mya. 在 7~12 Mya 之间, 大量

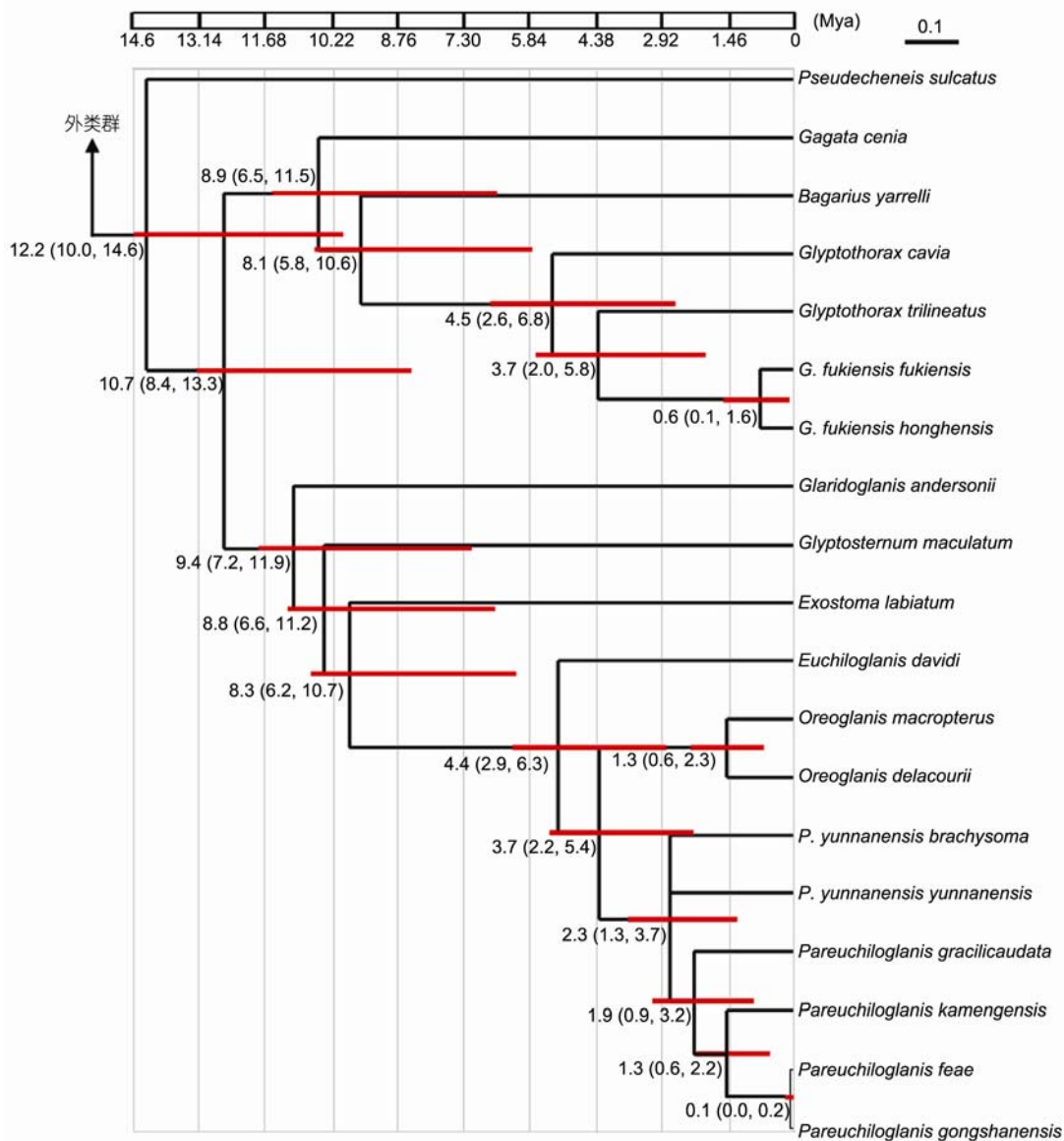


图 4 中国鲮科鱼类系统发育时间树

树的拓扑结构来自 19 个鲮科鱼类的 Multidivtime 分析结果, 与图 2 中 Bayesian 结果相同. 枝长和分化时间等比例. 节点右边的数字表示 Multidivtime 估计的该节点的分化时间, 括号内数字表示该节点 95% 置信区间

的属开始分化, 褶鲮属、黑鲮属、鲃属、原鲮属、凿齿鲮属、鳊属迅速涌现; 在 0.1~7 Mya 之间, 属内种的分化比较明显, 如鲮属和纹胸鲮属, 尤其是纹胸鲮属, 短期内成为物种丰富度较高的大类群, 是鲮科鱼类中分化最多、分布最广的一个属。

2.3 鳊鲮鱼类物种起源分化和青藏高原隆升的关系

鳊鲮鱼类分布区域相当广泛, 东至中国贵州、广西, 北至中国西藏、四川, 南至老挝、越南, 西至印度和苏门答腊岛。现有鳊鲮鱼类最早的化石记录出现在上新世, 到中新世的外喜马拉雅山脉 (Outer Himalayas)-西瓦克利山脉 (Siwalik Hills)^[30]。本研究分子钟估算的巨鲃的分化时间约在晚中新世 (later Miocene), 鳊鲮鱼类的分化时间约在 10.7 Mya, 也属于晚中新世时期。该结果与 Hora 和 Silas^[6]认为鳊鲮鱼类约起源于 9.8 Mya (95% 置信区间 8.2~11.0 Mya) 的结果较为接近, 略早于 Peng 等人^[15]的结果 (约 6~8 Mya), 而晚于 Guo 等人^[12]的结果 (19~24 Mya)。褚新洛^[31]根据鲮科中已知鲃属的化石记录推断的鳊鲮鱼类的发生时间可能为晚上新世。

鳊鲮鱼类特化种, 如纹胸鲮属、鲮属、异齿鳊属和拟鳊属鱼类的分化时间相对较晚, 多出现在 4.5 Mya 以后。上新世-更新世期间, 青藏高原处于快速

隆升阶段 (约于 5 Mya 开始, 3.0 Mya 达到高峰), 高原大幅度整体隆升, 到早更新世晚期青藏高原上升幅度已达 2000~3000 m, 青藏高原逐步隆起造就了山区水系的急流环境, 鳊鲮鱼类就是在这种环境因子的压迫下从类纹胸鲮属鱼类中产生的。鲮科鱼类物种在这一时期也出现了快速分化^[32]。生物与其生活的地理环境之间不断相互作用, 鳊鲮鱼类的物种分化极有可能与青藏高原的隆升有着密不可分的关系。这个观点在对鳊鲮鱼类的工作中得到了较多支持^[31,33,34]。

3 结论

本研究采用线粒体基因和核基因联合分析的方法来重新构建鲮科鱼类的系统发育树, 该方法可以弥补线粒体基因进化速度快而核基因进化速度慢的不足, 较好地发挥数据本身的优势, 从而获得了拓扑结构一致且支持率较高的系统发育树。由于物种标本获得的局限性, 本研究并未涵盖所有鳊鲮鱼类的物种。随着更多鲮科鱼类代表种的加入, 并将形态、分子和生态的数据更好地结合分析, 所构建的鲮科鱼类系统发育树将更完善和更真实地反映其分类学地位和进化关系, 将为更深入地了解中国鲮科鱼类的形成和分化过程奠定基础。

致谢 感谢中国科学院水生生物研究所甘小妮、周传江、邹明和陶文静等人在实验过程中给予的帮助。

参考文献

- 1 Brown W M. Mechanism of evolution in animal mitochondrial DNA. *Ann New York Acad Sci*, 1981, 61: 119-134
- 2 Kochet T D, Tomas W K, Meger A. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86: 6190-6200
- 3 Browers N, Stauffer J R, Kocher T D. Intra-and interspecific mitochondrial DNA sequence variation within two species of rock-dwelling cichlids (Teleostei: Cichlidae) from Lake Malawi, Africa. *Mol Phylogenet Evol*, 1994, 3: 75-82
- 4 辛翠娜, 彭建军, 王莹, 等. Cytb 分子标记技术在物种鉴定中的应用. *野生动物杂志*, 2009, 30: 217-221
- 5 Regan C T. The classification of the Teleostean fishes of the Order Ostariophysi-2. Siluridae. *Ann Mag Nat His*, 1911, 8: 553-557
- 6 Hora S L, Silas E G. Evolution and distribution of glyptosternoid fishes of the family Sisoridae (Order: Siluroidea). *Proc Natl Inst Sci India*, 1952, 18: 309-322
- 7 De Pinna, Mario C C. A phylogenetic analysis of the Asian catfish families Sisoridae, Akysidae, and Amblycipitidae, with a hypothesis on the relationships of the neotropical Aspredinidae (Teleostei: Ostariophysi). *Fieldiana Zool (N S)*, 1996, 84: 1-83
- 8 Ng H H, Freyhof J. *Oreoglanis infulatus*, a new species of glyptosternine catfish (Siluriformes: Sisoridae) from central Vietnam. *J Fish Biol*, 2001, 59: 1164-1169
- 9 Ng H H, Freyhof J. Two new species of Glyptothorax (Teleostei : Sisoridae) from central Vietnam. *Zootaxa*, 2008, 1873: 11-25
- 10 He S. The analysis of historical biogeography for the glyptosternoid fishes (Teleostei: Siluriformes, Sisoridae). *Biogeographica*, 1995, 71:

145–160

- 11 He S. The phylogeny of the glyptosternoid fishes (Teleostei: Siluriformes, Sisoridae). *Cybum*, 1996, 20: 115–159
- 12 Guo X, He S, Zhang Y. Phylogeny and biogeography of Chinese sisorid catfishes re-examined using mitochondrial cytochrome b and 16S rRNA gene sequences. *Mol Phylogenet Evol*, 2005, 35: 344–362
- 13 Guo X, He S, Zhang Y. Phylogenetic relationships of the Chinese sisorid catfishes: a nuclear intron versus mitochondrial gene approach. *Hydrobiologia*, 2007, 579: 55–68
- 14 Peng Z, He S, Zhang Y. Phylogenetic relationships of glyptosternoid fishes (Siluriformes: Sisoridae) inferred from mitochondrial cytochrome b gene sequences. *Mol Phylogenet Evol*, 2004, 31: 979–987
- 15 Peng Z, Ho S Y, Zhang Y, et al. Uplift of the Tibetan plateau: evidence from divergence times of glyptosternoid catfishes. *Mol Phylogenet Evol*, 2006, 39: 568–572
- 16 褚新洛, 郑葆珊, 戴定远, 等. 中国动物志, 硬骨鱼纲, 鲇形目. 北京: 科学出版社, 1999. 114–180
- 17 Li C, Orti G, Zhang G, et al. A practical approach to phylogenomics: the phylogeny of ray-finned fish (Actinopterygii) as a case study. *BMC Evol Biol*, 2007, 7: 1471–2148
- 18 Xiao W, Zhang Y, Liu H. Molecular systematics of xenocyprinae (Teleostei: Cyprinidae): taxonomy, biogeography, and coevolution of a special group restricted in East Asia. *Mol Phylogenet Evol*, 2001, 18: 163–173
- 19 Thompson J D, Higgins D G, Gibson T J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res*, 1994, 22: 4673–4680
- 20 Tamura K, Dudley J, Nei M, et al. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol*, 2007, 24: 1596–1599
- 21 Posada D, Crandall K A. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 1998, 14: 817–818
- 22 Rutschmann F. Bayesian molecular dating using PAML/multidivtime. A step-by-step manual, 2005
- 23 Stamatakis A. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, 2006, 22: 2688–2690
- 24 Yang Z H. PAML4: Phylogenetic analysis by maximum likelihood. *Mol Biol Evol*, 2007, 24: 1586–1591
- 25 Swofford D L. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony(*and other methods). 2002, Version 4. 0b10
- 26 Hora S L. The game fishes of Indian, Part VI. The Goonch, *Bagarius bagarius* (Hamilton). *J Bombay Nat His Soc*, 1939, 583–593
- 27 郭宪光. 16S rRNA 基因序列变异与中国鲃科鱼类系统发育. 科学通报, 2004, 49: 1371–1379
- 28 孔德平. 鲤鲃鱼类(Glyptosternoid fishes)的系统进化和动物地理学研究. 博士学位论文. 北京: 中国科学院研究生院, 2006
- 29 郭宪光. 中国鲃科鱼类分子系统发育和石爬鲃属物种有效性的研究. 硕士学位论文. 重庆: 西南师范大学, 2003
- 30 Lydekker R. Indian tertiary and post-tertiary vertebrata: tertiary fishes. *Mem Geol Survey India Palaeontol*, 1886, 10: 241–258
- 31 褚新洛. (鱼日女)鲃鱼类的系统分类及演化谱系, 包括一新属和一新亚种的描述. 动物分类学报, 1979, 1: 72–82
- 32 何舜平, 曹文宣, 陈宜瑜. 青藏高原的隆升与鲤鲃鱼类(鲃形目: 鲃科)的隔离分化. 中国科学 C 辑, 2001, 31: 185–192
- 33 Hora S L, Silas E G. Notes on fishes in the Indian Museum, XLVII. Revision of glyptosternoid fishes of the family Sisoridae, with de-scription of new genera and species. *Records India Museum*, 1952, 49: 26–30
- 34 李旭. 中国鲃形目鲃科鲤鲃群鱼类的系统发育及生物地理学分析. 硕士学位论文. 昆明: 西南林学院, 2006