



论文

南方鲇线粒体基因组全序列与骨鲮鱼类分化时间的估算

周传江^{①②}, 王绪祯^②, 汪登强^{②③}, 何舜平^{②*}

① 西南大学生命科学学院, 重庆 400715;

② 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;

③ 中国水产科学研究院长江水产研究所, 武汉 430223

* 联系人, E-mail: clad@ihb.ac.cn

收稿日期: 2011-01-22; 接受日期: 2011-01-25

国家自然科学基金(批准号: 30770300 和 31090254)和中国科学院知识创新工程(批准号: KSCX2-YW-R-136)资助项目

DOI: 10.1360/052010-41

摘要 用 PCR 方法获得了南方鲇(*Silurus meridionalis*)的线粒体基因组全序列, 长度为 16533 bp, 南方鲇线粒体基因组中 A 和 T 的含量略高((A+T)为 55.17%), 12S rRNA, 16S rRNA, tRNA 和控制区的(A+T)含量分别为 52.44%, 55.23%, 55.97%和 60.24%)。基于选取的 36 种代表性种类线粒体全序列中的 11 个蛋白编码基因, 构建了骨鲮鱼类系统发育树, 并以骨鲮鱼类化石记录为标定点, 运用松散分子钟方法估算物种分化时间。结果表明, 耳鲮系鱼类为强烈支持的单系, 鲤形目位于该类群的基部, 脂鲤目和电鳗目构成姐妹群, 然后和鲇形目构成姐妹群。骨鲮鱼类起源于三叠纪(约为 231 Mya), 耳鲮系起源于三叠纪晚期(约为 216 Mya), 其代表类群均起源于侏罗纪晚期(鲇形目、鲤形目、脂鲤目、电鳗目的分化发生在 161~139 Mya), 南方鲇的物种分化时间约为白垩纪中期, 估算的分化时间远早于化石记录。

关键词南方鲇
线粒体基因组
骨鲮鱼类
分化时间

动物的线粒体基因组(mitochondrial genome mtDNA)是长度为 16~20 kb 的成闭环状的独立于核基因组的“小基因组”, 线粒体基因组有 13 个蛋白编码基因, 两个线粒体核糖体 rRNA(12SrRNA 和 16S rRNA), 22 个 tRNA 和一个含有控制转录及 mtDNA 复制起始信号的非编码区(D-LOOP)组成^[1]。动物线粒体不仅有相同的基因数量, 且在基因结构上也有保守性。因其相比核基因组远远较小的长度、母性遗传、独立复制能力和含有相对较少的重组等优点, 线粒体已成为研究基因组进化^[2]、各分类水平解决系统

发育问题^[3]和种群遗传学^[4,5]研究的有效工具。

骨鲮鱼类(Ostariophysi)属于鲱形亚部(Clupeocephala), 是真骨鱼中的第二大总目, 包含 5 目, 近 1000 属, 约 7000 种, 占淡水鱼的 70%左右, 分布于所有的大陆^[6~8]。骨鲮鱼类由非耳鲮系(Anotophysi)和耳鲮系(Otophysi)组成; 其中耳鲮系包括鲤形目(Cypriniformes)、脂鲤目(Characiformes)、鲇形目(Siluriformes)、电鳗目(Gymnotiformes); 而非耳鲮系则包括鼠鱗目(Gonorynchiformes)。南方鲇(*Silurus meridionalis*)俗称大口鲇, 属于鲇形目鲇科鲇属, 分布于

英文引用格式: Zhou C J, Wang X Z, Wang D Q, et al. The complete mitochondrial genome of the southern catfish (*Silurus meridionalis*) and divergence time estimations of Ostariophysan fishes. SCIENTIA SINICA Vitae, 2011, 41: 150-159, doi: 10.1360/052011-41

珠江、闽江、长江等水系, 是重要的经济鱼类. 本研究通过测定南方鲇线粒体基因组全序列并对其分化时间进行估算, 以获得其线粒体的结构和分化时间, 为南方鲇的资源保护打下基础, 同时通过现生骨鲮鱼类的分化时间估算来解释形成其现在分布格局的历史原因.

1 材料与方法

1.1 材料来源

实验所南方鲇采自重庆北碚嘉陵江段, 取背部肌肉用 95% 酒精固定. 选取另外 35 种骨鲮鱼类的代表性种类, 用于分析(表 1).

表 1 本研究所用的样品信息

目	科	种	GenBank 登录号	参考文献
Amiiformes	Amiidae	<i>Amia calva</i>	AB042952	[9]
Osteoglossiformes	Osteoglossidae	<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	AB043025	[10]
Osteoglossiformes	Pantodontidae	<i>Pantodon buchholzi</i>	AB043068	[10]
Elopiformes	Elopidae	<i>Elops hawaiiensis</i>	AB051070	[11]
Anguilliformes	Anguillidae	<i>Anguilla anguilla</i>	AP007233	[12]
Clupeiformes	Clupeidae	<i>Sardinops melanostictus</i>	AB032554	[13]
Clupeiformes	Engraulidae	<i>Engraulis japonicus</i>	AB040676	[14]
Gonorynchiformes	Chanidae	<i>Chanos chanos</i>	AB054133	[15]
Gonorynchiformes	Gonorynchidae	<i>Gonorynchus greyi</i>	AB054134	[15]
Cypriniformes	Balitoridae	<i>Crossostoma lacustre</i>	M91245	[16]
Cypriniformes	Balitoridae	<i>Lefua echigonia</i>	AB054126	[15]
Cypriniformes	Catostomidae	<i>Carpiodes carpio</i>	AY366087	[17]
Cypriniformes	Catostomidae	<i>Myxocyprinus asiaticus</i>	AY986503	[18]
Cypriniformes	Cobitidae	<i>Cobitis striata</i>	AB054125	[15]
Cypriniformes	Cyprinidae	<i>Carassius auratus</i>	AB006953	[19]
Cypriniformes	Cyprinidae	<i>Carassius carassius</i>	AY714387	[20]
Cypriniformes	Cyprinidae	<i>Cyprinus carpio</i>	X61010	[21]
Cypriniformes	Cyprinidae	<i>Opsariichthys bidens</i>	DQ367044	[22]
Cypriniformes	Cyprinidae	<i>Danio rerio</i>	AC024175	未发表资料
Cypriniformes	Cyprinidae	<i>Zacco sieboldii</i>	AB218898	[23]
Cypriniformes	Cyprinidae	<i>Xenocypris argentea</i>	AP009059	[23]
Cypriniformes	Cyprinidae	<i>Xenocypris davidi</i>	GQ289558	未发表资料
Characiformes	Alestiidae	<i>Phenacogrammus interruptus</i>	AB054129	[15]
Characiformes	Characidae	<i>Chalceus macrolepidotus</i>	AB054130	[15]
Gymnotiformes	Apteronotidae	<i>Apteronotus albifrons</i>	AB054132	[15]
Gymnotiformes	Eigenmanniidae	<i>Eigenmannia sp.</i>	AB054131	[15]
Siluriformes	Bagridae	<i>Pseudobagrus tokiensis</i>	AB054127	[15]
Siluriformes	Callichthyidae	<i>Corydoras rabauti</i>	AB054128	[15]
Siluriformes	Ictaluridae	<i>Ictalurus punctatus</i>	AF482987	[24]
Siluriformes	Pangasiidae	<i>Pangasianodon gigas</i>	AY762971	[25]
Siluriformes	Cranoglanididae	<i>Cranoglanis boudierius</i>	AY989626	[26]
Siluriformes	Amblycipitidae	<i>Liobagrus obesus</i>	NC_008232	[27]
Siluriformes	Siluridae	<i>Silurus meridionalis</i>	HQ907992	本研究
Salmoniformes	Salmonidae	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	L29771	[28]
Salmoniformes	Salmonidae	<i>Salmo salar</i>	U12143	[29]
Perciformes	Scombridae	<i>Scomber scombrus</i>	AB120717	[30]

1.2 PCR 扩增、克隆和测序

采用改进的酚-氯仿法从肌肉组织中提取总基因组 DNA, 用灭菌双蒸水溶解后置于 -4°C 条件下保存. 根据已有线粒体数据的鲇形目鱼类红黑带鼠(*Corydoras rabauti*, GenBank 登录号: AB054128)、越南拟鲃(*Pseudobagrus tokiensis*, GenBank 登录号: AB054127)、牛头鲮(*Liobagrus obesus*, GenBank 登录号: NC_008232)、长臀鲃(*Cranoglanis boudierius*, GenBank 登录号: NC_008280)、斑点叉尾鲃(*Ictalurus punctatus*, GenBank 登录号: AF482987)和斑马鱼(*Danio rerio*, GenBank 登录号: AC024175)的线粒体保守区用 Primer premier5.0 设计 11 对引物用于扩增南方鲇的保守区, 每对邻引物均至少有约 100 bp 的重叠, 扩增目的片段长度为 2000 bp 左右.

50 μL PCR 反应体系: 5 μL 的 10 $\times$ PCR buffer (Takara), 4 μL 的 2.5 mmol/L dNTPs (TaKaRa), 2 μL 的 10 mmol/L 正反向引物, 0.5 μL rTaq 酶(5 U/ μL , TaKaRa), 1.0 μL 的模板(约 40 ng). PCR 反应条件: 94°C 预变性 4 min, 94°C 变性 30 s, $54\sim 56^{\circ}\text{C}$ 退火处理 30 s, 72°C

延伸 2 min, 35 个循环, 最后 72°C 延伸 10 min, 用浓度为 1.5% 的琼脂糖电泳检测 PCR 产物(Promega). 用胶回收试剂盒回收 PCR 产物(Promega), 纯化后的片段用于后续的测序或克隆. 对于纯化后测序不成功的片段, 克隆后再测序, 克隆用载体为 PMD18-T vector(Takara)和 *Escherichia coli*(Top ten). 对于直接测序成功的样品, 测序引物同 PCR 反应的引物, 克隆样品用 PMD18-T vector 通用引物测序, 测序由华大基因公司完成.

1.3 数据分析

(1) 序列的拼接和比对. 所测得序列用 Lasergene version 7.0(DNASTAR)软件包进行分析, 用 Seqman 对重叠群(Contig)进行拼接, 然后用 MegAlign 对序列进行多重比对. 用 Clustal W^[31]软件和 Seaview 对排序后的序列进行人工校对. 参考鲇形目的鱼类斑点叉尾鲃(*Ictalurus punctatus*)^[24]、长臀鲃(*Cranoglanis boudierius*)^[26]、越南拟鲃(*Pseudobagrus tokiensis*)^[15]和巨鲃(*Pangasianodon gigas*)^[25]的线粒体基因组 DNA 数据对所获得的序列的蛋白编码基因、rRNA 和 tRNA 进行识别, 并通过 tRNAscan-SE 搜索服务器(<http://lowelab.ucsc.edu/tRNAscan-SE/>)进行识别 tRNA 的再验证.

为估算南方鲇和骨鲮鱼类的分化时间, 仅采用线粒体基因中蛋白编码基因用于分析, 其中 ATP8 因其序列过短而未用于本分析; 因 ND6 拓扑位置特殊的核苷酸替代模式^[32,33]其序列排序结果可能不可靠, 故未被采用, 去掉不可信和不能排序整齐的序列, 所有密码子均包含在其中, 最后剩余 10521 bp 用于本分析.

(2) 系统发育分析. 分别采用最大似然法和贝叶斯法构建系统发育树, 采用 Modeltest3.7 软件^[34]对序列的替代模型进行分析, 最后选择 GTR+I+G 模型做为最适进化替代模型^[35]用于本分析. 用 MrBayes Version 3.0 软件^[36]分析所得序列的 11 个蛋白编码基因, 采用分区和不分区分析, 运行 10^7 代, 每 1000 代抽样一次以确保抽样的独立性. 同时运行 4 条链, 3 条热链(温度为 0.05)和一条冷链, 其中 2500 棵树作为“born in”而舍弃. 为求结果的可靠性, 重复该过程 2 次, 每次均以随机树起始. RAxML^[37]分析也采用 11 蛋白编码基因分区 GTR+G 模型并运行 1000 次 bootstrap.

(3) 分化时间估算. 首先将用于分析的各个分支

表 2 用于扩增南方鲇线粒体基因组所用的引物序列

引物 ^{a)}	序列(5'-3') ^{b)}
L295	GTAAAATTCGTGCCAGCCACCGCGTTA
H2440	TGCGCTGTTATCCCTAGGGTAACTTG
L2220	AGACGAGAAGACCCTTTGGAGCTTAAG
H4008	CGTATGGACTCATTGGTAAGAGAAGG
L3826	TGCCAAAGGACCACTTTGATAGAGTG
H5432	TGTGATTGTACAGGTAGGRTGGCCGAG
L5256	GCCCAAACGAGCGAGCATTCTACT
H7196	TTCTATTACAGGCGAGGCCGCGTCTTG
L7012	GAACCCCCATAAACTAGTTTCAAGCCAG
H8961	CCTTCGCGKACAGTRTCTCGTCATCA
L8773	CCACCAAGCACAYGCATATCATATGGT
H10089	AGTCCBAGTGTAATGCTGAGGTAAAG
L9948	CAAGGAGGCCTAGAATGAGCTGAATAG
H11730	GTTGAACTATATCTACARTATCATCA
L11331	CATATGAACGAACCCACAGCCGAACC
H13175	TAGTGTTARGGYTAGGGCTCAGGCGTT
L12836	AATTGTAGCCTTCTCAACATCMAGTCA
H14540	CATCTCGGCAGATGTGGGCTACGGATGA
L14184	AAATASGGYGCAGGATTAGAAGCAAC
H15563	TAGCTTTGGGAGTTAGGGGTGGGAGT

a) L 和 H 分别表示轻链和重链; b) 根据国际生物化学联合会(IUB)规定兼并密码子: R=A/G; Y=C/T; W=A/T; M=A/C; K=G/T; S=G/C; H=A/T/C; B=G/T/C

进行速率一致性检验, 各分支的替代速率并不一致, 不符合严格分子钟($P < 0.01$), 采用 MULTIDISRIIBUTE 软件推算各个分支之间的分化时间, 该软件通过 PAML^[38]和 MULTIDITIME^[39]联合分析, 其原理及过程见文献[18,40]. MULTIDIVTIME 软件允许对有化石记录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时间作为最小时间, 而最大值的估计相对困难. 根据 Hedges 和 Kumar^[41]估计的 sarcopterygians 和 actinopterygians 的分化时间(450 Mya(百万年前))作为分化时间的上限(bigtime). 根据已有的结果和化石记录选取 2 个最大时间为上限和 7 个有化石记录的类群化石出现时间作为时间的标定点来联合 11 个线粒体基因估计骨鲮鱼类的分化时间(表 3).

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 360 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, 但不对节点分化时间进行限制. 以每 100 年作为一个时间单位($rttm=3.6$, $rtmsd=0.007$) 根节点的先验速率分布的平均值为 0.007, 根节点的先验速率分布的标准差为 0.007, 先验的布朗运动常数的平均值和标准差均为 0.5.

2 结果与讨论

2.1 南方鲇线粒体基因组的特征

南方鲇线粒体基因组的全长为 16533 bp, Genbank 登录号为 HQ907992, 其结构包括 2 个 rRNA 基因(12S rRNA 和 16S rRNA 基因)、22 个 tRNA 基因)、13 个蛋白质编码基因和 1 个非编码的控制区(control region)组成. 整个线粒体基因组的(A+T)(55.17%)含量高于 G+C 含量(44.83%). 此现象在其他基因和区域也存在(如蛋白质编码基因的(A+T)含量为 54.85%, 12S rRNA 为 52.44%, 16S rRNA 为 55.23%, tRNA 为 55.97%, 控制区为 60.24%, 表 4).

表 3 用于做标定点的节点的化石记录信息

节点 ^{a)}	标定点 ^{b)}	标定点信息
a	L116	自巴西的早白垩纪阿普第阶最早的 osteoglossoid 化石记录 Laeliichthys ^[42]
b	U334	估算的海鲢总目和骨舌总目的分化时间 ^[43]
c	L57	自赞尼特阶的第三纪鲱形目化石 ^[44]
d	L94	自苏丹森诺曼阶的脂鲤目化石记录 ^[45]
e	L70	一些关于晚白垩纪的鲇形目的化石记录 ^[46]
f	L153	自晚侏罗纪最古老的骨鲮鱼类化石记录 Tichlingenichthy(约 153 Mya) ^[47]
g	L60	自古新世的亚口鱼科鱼类化石记录 ^[48]
h	L50	自第三纪伊普雷斯阶的鲤形目化石 ^[44]
Tip-Root	U450	估计的软骨硬鳞类+全骨类与 Teleostei 分化时间 ^[43]

a) 节点信息见图 1; b) L 为下限, U 为上限, 单位为 Mya

表 4 南方鲇线粒体基因组不同基因(区域)碱基组成比较

基因/区域	碱基组成(%)				
	A	T	G	C	A+T
蛋白编码基因					
1st codon	27.67	20.57	24.15	27.61	48.24
2rd codon	20.33	38.79	13.04	27.82	59.11
3rd codon	39.26	17.93	7.13	35.66	57.19
全部蛋白编码基因	29.08	25.76	14.77	30.36	54.85
tRNA	31.19	24.78	19.06	24.97	55.97
12S rRNA	31.53	20.91	21.44	26.11	52.44
16S rRNA	35.11	20.12	19.51	25.26	55.23
D-loop	31.96	28.29	15.81	23.94	60.24
整个线粒体基因组	30.18	24.98	16.11	28.71	55.17

蛋白编码基因中除了 *COI* 基因以 GTG 为起始密码子外, 其他基因均以 ATG 作为起始密码子, *COII*, *COIII*, *ND4* 和 *Cytb* 基因以 T 和 TA 作为不完全的终止密码子. 蛋白编码基因第三密码子中 G 的含量也低于其他位点 G 的含量(第一密码子: 24.15%, 第二密码子: 13.04%, 第三密码子: 7.13%). 线粒体 12S rRNA 基因和 16S rRNA 基因长度分别为 942 和 1635 bp.

南方鲇线粒体控制区长度为 900 bp, 其 3'端识别出 3 个参与 RNA 酶转录和翻译过程的保守序列块 (conserved sequence block, CSB): CSBI(位于第 53~62 bp 处), CSBII(位于第 754~776 bp 处)和 CSBIII(位于第 807~821 bp 处). 5'端也识别出了终止结合序列 (termination association sequence, TAS, 分别位于 60~66 bp, 651~658 bp 处), 回文结构序列 TACAT 在南方鲇的线粒体控制区 5'端重复了 6 次(分别位于 52~56 bp, 86~90 bp, 105~109 bp, 120~124 bp, 201~205 bp, 230~234 bp 处)同时在 94~98bp 处也识别了和其互补的序列 ATGTA. 这些结构被认为通过形成热稳定的发夹-环结构来终止重链延伸的信号^[49], 同时在 3'端识别到 2 个 TA 重复的微卫星位点.

2.2 系统发育分析和分化时间的估算

基于 11 个线粒体蛋白编码基因所构建的 RaXML 树和 Bayesian 树的拓扑结构基本一致, 仅在个别节点拓扑位置和 bootstrap 值以及后验概率存在差异(图 1). 在系统发育树上, 以弓鳍鱼(*Amia calva*)作为外类群时, 鼠鱚目和鲱形目(Clupeiformes)为姊妹群, 而后与真骨下区(Euteleostei)鱼类构成姊妹群. 脂鲤目和电鳗目构成姊妹群然后与鲇形目构成姊妹群. 鲤形目、脂鲤目、电鳗目及鲇形目构成的耳鳔系的单系性得到了强烈支持. 在鲇形目中, 红黑带鼠位于基部位置, 南方鲇位于靠近基部的位置, 巨鲶及长臀鲶构成姊妹群, 然后斑点叉尾鲷构成姊妹群. 牛头鲷和朝鲜拟鲿(*Pseudobagrus tokiensis*)构成姊妹群. 鲤形目所有个体构成了强烈支持的单系, 其中鳅科位于基部位置, 上述研究结果与现有关于骨鳔鱼类研究结果相似^[50-53]. 但 Fink^[52,53]基于形态特征的支序分析认为, 电鳗目和鲇形目构成单系, 而后和脂鲤目构成姊妹群, 而本研究中脂鲤目和电鳗目构成单系, 然后和鲇形目构成

姊妹群, 此结果得到了一些研究的支持^[15,50,51,54]. 一直有争议的鼠鱚目的系统位置也得到多数研究的支持^[15,26,51,55], 研究认为其应和非耳鳔鱼类的鲱形目关系较近, 而不是与耳鳔系成姊妹群关系.

分化时间估算的结果表明(图 2), 骨鳔鱼类分化时间约为 231 Mya(95%置信区间为 189~267 Mya), 此结果和郭宪光^[51](233 Mya)、Peng^[18](239 Mya)以及 Inoue^[43](201~239 Mya)的研究相一致, 耳鳔系的分化时间约为 216 Mya(95%置信区间为 175~253 Mya). 在耳鳔系中, 脂鲤目的分化时间约为 155 Mya, 电鳗目约 139 Mya, 鲇形目约为 153 Mya, 鲤形目分化时间约为 161 Mya, 上述结果均支持这些鱼类的晚侏罗纪起源^[18,56,57], 即在泛大陆时期, 冈瓦那大陆和劳亚大陆还存在联系, 这将有助于解释这些类群鱼类的泛古陆可能分布格局, 即在泛古陆时期这些类群的原始种已经存在. 南方鲇的物种分化时间约为 104 Mya(95%置信区间为 74~136 Mya, 白垩纪), 鳅科分化时间约为 144 Mya(95%置信区间为 112~180 Mya 早白垩纪), 亚口鱼科分化时间约为 84 Mya(95%置信区间为 62~115 Mya, 白垩纪), 这些结果同样支持骨鳔鱼类的泛古陆起源.

根据分子钟所估算的骨鳔鱼类各类群的分化时间和最早的化石记录之间存在着显著的差异, 化石记录显示, 骨鳔鱼类最早出现在大约 153 Mya 的晚侏罗纪, 而耳鳔系最古老的化石存在于阿尔必阶(Albian, 约 98~112 Mya), 本研究的估算时间分别为 231 和 216 Mya, 鲇形目、鲤形目、脂鲤目和电鳗目均存在此种情况. 该现象可能是由于化石记录的有限性和缺失造成的^[26,50,51,56]. 绝大多数的骨鳔鱼类实际存在的时间要比最古老的化石记录提供的时间更久远, 不能因为化石记录的缺乏而否认这种可能性存在^[56,57].

3 结论

本研究获得了南方鲇全长为 16533 bp 的线粒体基因组全序列, 同时选取 36 个代表性骨鳔鱼类并基于其 11 个线粒体蛋白编码基因构建了系统发育树并估算了其分化时间, 结果强烈支持耳鳔系的单系性和骨鳔鱼类的泛古陆起源.

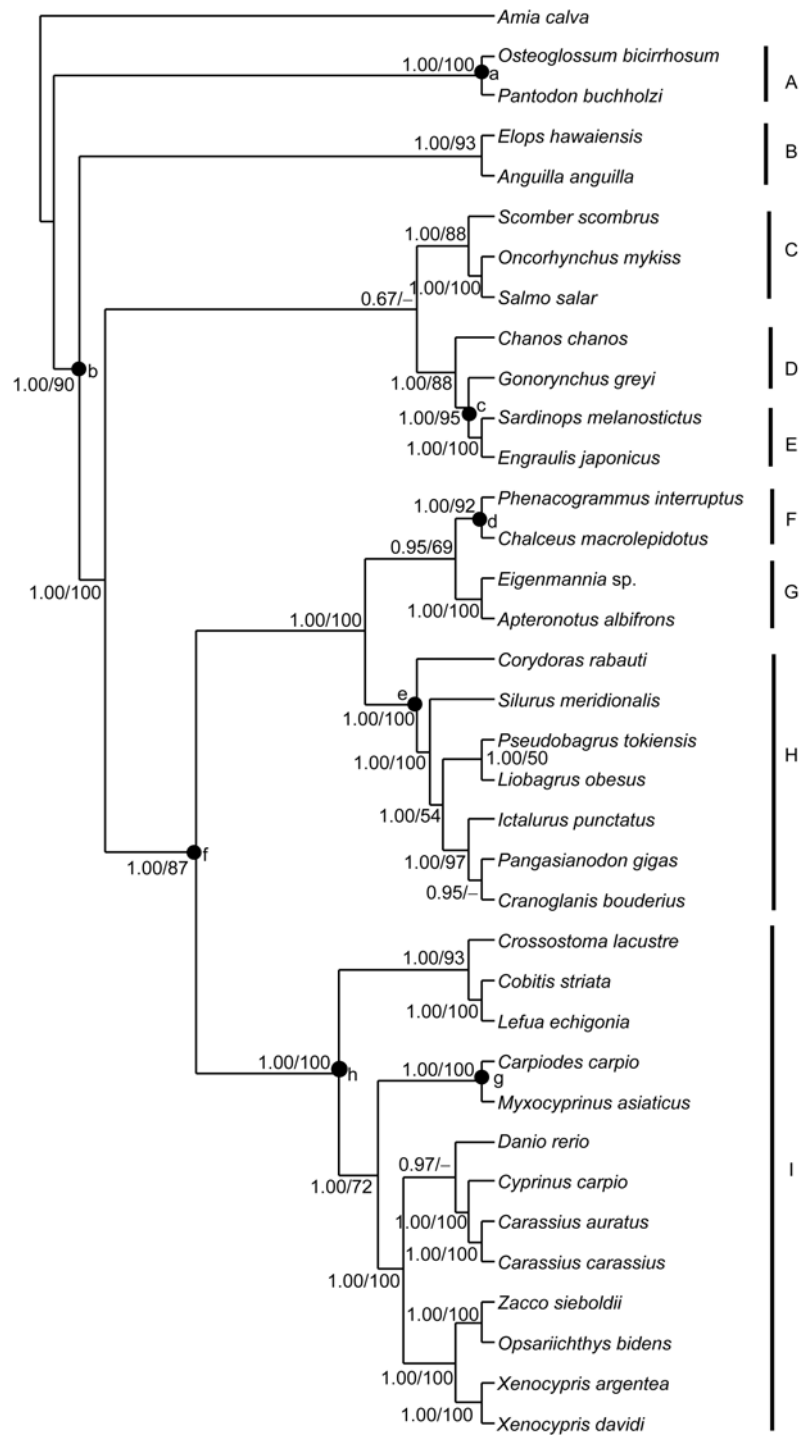


图 1 联合分析 11 个线粒体蛋白编码基因, 基于 GTR+I+G 模型的 50% 以上一致 Bayesian 不分区树和基于 GTR 模型的 11 个蛋白编码基因分区的一致性大于 50% AxML 树

节点处字母编号是所采用的标定点的位置, 节点详细信息见表 3. - 示该节点的支持率低于 50 或者该节点 Bayesian 和 AxML 结果不一致. 节点处前的数字为 Bayesian 后验概率, 其后的数字为 AxML 的节点支持率. A: 骨舌鱼亚部(Osteoglossomorpha); B: 海鲢亚部(Elopomorpha); C: 真骨下区(Euteleostei); D: 鼠鲮目(Gonorynchiformes); E: 鲱形目(Clupeiformes); F: 脂鲤目(Characiformes); G: 电鳗(Gymnotiformes); H: 鲇形目(Siluriformes); I: 鲤形目(Cypriniformes)

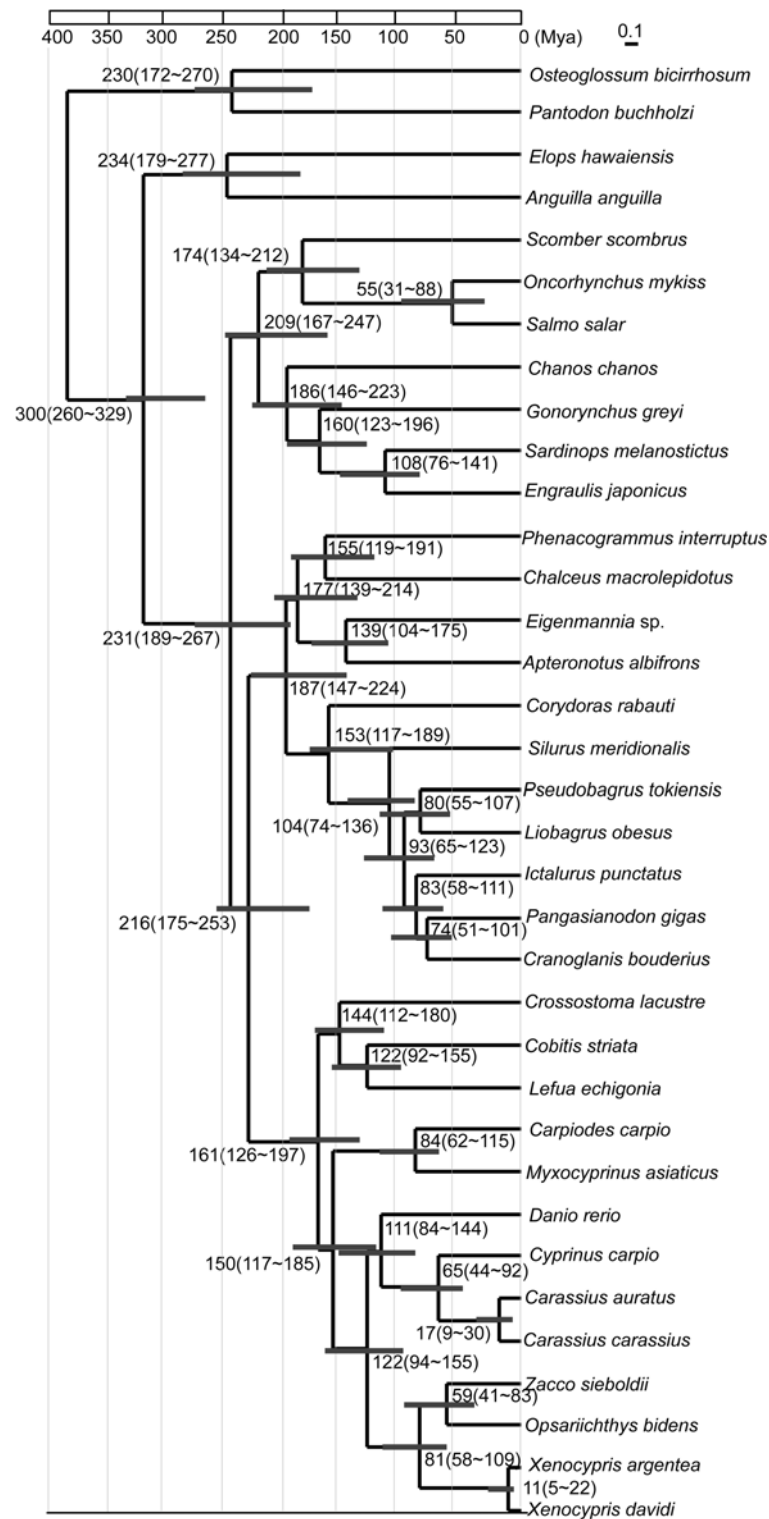


图 2 基于图 1 的标定点和 11 个线粒体基因的 MULTIDIVTIME 程序所估算出来的骨鲮鱼类的分化时间
节点处的数字为采用图 1 标定点和表 3 标定点相应信息用 MULTIDIVTIME 程序所估算出来分化时间, 节点处的时间单位为百万年前(Mya),
数字经过四舍五入获得

致谢 感谢中国科学院水生生物研究所甘小妮、邹明和于美玲等在实验和分析中给予的帮助及西南大学蒲德永帮助采集样品。

参考文献

- Boore J L. Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27: 1767–1780
- Gray M W, Burger G, Lang B F. Mitochondrial evolution. *Science*, 1999, 283: 1476–1481
- Inoue J G, Miya M, Tsukamoto K, et al. A mitogenomic perspective on the basal teleostean phylogeny: resolving higher-level relationships with longer DNA sequences. *Mol Phylogenet Evol*, 2001, 20: 275–285
- Wang Z F, Yonezawa T, Liu B, et al. Domestication relaxed selective constraints on the yak mitochondrial genome. *Mol Biol Evol*, 2010, 1093/molbev/msq2336
- Gunnarsdóttir E D, Li M, Bauchet M, et al. High-throughput sequencing of complete human mtDNA genomes from the Philippines. *Genome Res*, 2011, 21: 1–11
- Nelson J S. *Fishes of the World*, 3rd ed. New York: John Wiley and Sons Inc, 1994
- Stiassny M L J, Wiley E O, Johnson G D, et al. Gnathostome fishes. In: Donaghue M J, Cracraft J, eds. *Assembling the Tree of Life*. New York: Oxford University Press, 2004. 200–247
- Berra T M. *Freshwater fish distribution*. London: Academic Press, 2001
- Inoue J G, Miya M, Tsukamoto K, et al. Basal actinopterygian relationships: a mitogenomic perspective on the phylogeny of the ‘ancient fish’. *Mol Phylogenet Evol*, 2003, 26: 110–120
- Inoue J G, Miya M, Tsukamoto K, et al. A mitogenomicperspective on the basal teleostean phylogeny: resolving higher-level relationships with longer DNA sequences. *Mol Phylogenet Evol*, 2001, 20: 275–285
- Inoue J G, Miya M, Tsukamoto K, et al. Mitogenomic evidence for the monophyly of elopomorph fishes (Teleostei) and the evolutionary origin of the leptocephalus larva. *Mol Phylogenet Evol*, 2004, 32: 274–286
- Minegishi Y, Aoyama J, Inoue J G, et al. Molecular phylogeny and evolution of the freshwater eels genus *Anguilla* based on the whole mitochondrial genome sequences. *Mol Phylogenet Evol*, 2005, 34: 134–146
- Inoue J G, Miya M, Tsukamoto K, et al. Complete mitochondrial DNA sequence of the Japanese sardine *Sardinops melanostictus*. *Fish Sci*, 2000, 66: 924–932
- Inoue J G, Miya M, Tsukamoto K, et al. Complete mitochondrial DNA sequence of the Japanese anchovy *Engraulis japonicus*. *Fish Sci*, 2001, 67: 828–835
- Saitoh K, Miya M, Inoue J G, et al. Mitochondrial genomics of ostariophysan fishes: perspectives on phylogeny and biogeography. *J Mol Evol*, 2003, 56: 464–472
- Tzeng C S, Hui C F, Shen S C, et al. The complete nucleotide sequence of the *Crossostoma lacustre* mitochondrial genome: conservation and variations among vertebrates. *Nucleic Acids Res*, 1992, 20: 4853–4858
- Broughton R E, Reneau P C. Spatial covariation of mutation and nonsynonymous substitution rates in vertebrate mitochondrial genomes. *Mol Biol Evol*, 2006, 23: 1516–1524
- Peng Z G, He S P, Wang J, et al. Mitochondrial molecular clocks and the origin of the major *Otocephalan clades* (Pisces: Teleostei): a new insight. *Gene*, 2006, 370: 113–124
- Murakami M, Yamashita Y, Fujitani H. The complete sequence of mitochondrial genome from a gynogenetic triploid “Ginbuna” (*Carassius auratus langsdorfi*). *Zool Sci*, 1998, 15: 335–337
- Guo X, Liu S, Liu Y. Evidence for maternal inheritance of mitochondrial DNA in allotetraploid. *DNA Seq*, 2007, 18: 247–256
- Chang Y S, Huang F L, Lo T B. The complete nucleotide sequence and gene organisation of carp (*Cyprinus carpio*) mitochondrial genome. *J Mol Evol*, 1994, 38: 138–155
- Wang X Z, Wang J, He S P, et al. The complete mitochondrial genome of the Chinese hook snout carp *Opsariichthys bidens* (Actinopterygii: Cypriniformes) and an alternative pattern of mitogenomic evolution in vertebrate. *Gene*, 2007, 399: 11–19
- Saitoh K, Sado T, Mayden R L, et al. Mitogenomic evolution and interrelationships of the Cypriniformes (Actinopterygii: Ostariophysi): the first evidence toward resolution of higher-level relationships of the world’s largest freshwater fish clade based on 59 whole mitogenome sequences. *J Mol Evol*, 2006, 63: 826–841

- 24 Waldbieser G C, Bilodeau A L, Nonneman D J. Complete sequence and characterization of the channel catfish mitochondrial genome. *DNA Seq*, 2003, 14: 265–277
- 25 Jondeung A, Sangthong P, Zardoya R. The complete mitochondrial DNA sequence of the Mekong giant catfish (*Pangasianodon gigas*), and the phylogenetic relationships among Siluriformes. *Gene*, 2007, 387: 49–57
- 26 Peng Z G, Wang J, He S P. The complete mitochondrial genome of the helmet catfish *Cranoglanis boudierius* (Siluriformes: Cranoglanididae) and the phylogeny of otophysan fishes. *Gene*, 2006, 376: 290–297
- 27 Kartavtsev Y P, Jung S O, Lee Y M, et al. Complete mitochondrial genome of the bullhead torrent catfish, *Liobagrus obesus* (Siluriformes, Amblycipididae): Genome description and phylogenetic considerations inferred from the Cytb and 16S rRNA genes. *Gene*, 2007, 396: 13–27
- 28 Zardoya R, Garrido-Pertierra A, Bautista J M. The complete nucleotide sequence of the mitochondrial DNA genome of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J Mol Evol*, 1995, 41: 942–951
- 29 Hurst C D, Bartlett S E, Davidson W S, et al. The complete mitochondrial DNA sequence of the Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Gene*, 1999, 239: 237–242
- 30 Takashima Y, Morita T, Yamashita M. Complete mitochondrial DNA sequence of Atlantic horse mackerel *Trachurus trachurus* and molecular identification of two commercially important species *T. trachurus* and *T. japonicus* using PCR-RFLP. *Fish Sci*, 2006, 72: 1054–1065
- 31 Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequences alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res*, 1997, 25: 4876–4882
- 32 Russo C A M, Takezaki N, Nei M. Efficiencies of different genes and different tree building methods in recovering a known vertebrate phylogeny. *Mol Biol Evol*, 1996, 13: 525–536
- 33 Arnason U, Gullberg A, Burguete A S, et al. Molecular estimates of primate divergences and new hypotheses for primate dispersal and the origin of modern humans. *Hereditas*, 2000, 133: 217–228
- 34 Posada D, Crandall K A. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 1998, 14: 817–818
- 35 Gu X, Fu Y X, Li W H. Maximum likelihood estimation of the heterogeneity of substitution rate among nucleotide sites. *Mol Biol Evol*, 1995, 12: 546–557
- 36 Ronquist F, Huelsenbeck J P. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 2003, 19: 1572–1574
- 37 Stamatakis A. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, 2006, 22: 2688–2690
- 38 Yang Z H. PAML 4: a program package for phylogenetic analysis by maximum likelihood. *Mol Biol Evol*, 2007, 24: 1586–1591
- 39 Rutschmann F. Bayesian molecular dating using PAML/multidivtime. A Step-by-Step manual. Switzerland: University of Zurich, 2005. Available at <http://www.plant.ch>
- 40 李志强, 郭宝成, 李俊兵, 等. 贝叶斯联合模型与中国洞穴鱼类分化时间的估算 (鲤科: 金线鲃属). *科学通报*, 2008, 53: 1560–1569
- 41 Hedges S B, Kumar S. Genomic clocks and evolutionary timescales. *Trends Genet*, 2003, 19: 200–206
- 42 Silva-Santos R. Laellichthys ancestralis, novo gênero e espécies de Osteoglossiformes do Aptiano da Formação Areado, estado de Minas Gerais, Brasil. VIII Congresso Bras. De Cretaceous deposiss. Paleontol Ser Geol 27, Paleontol Estrat, 1985, 2: 151–167
- 43 Inoue J G, Miya M, Venkatesh B, et al. The mitochondrial genome of Indonesian coelacanth *Latimeria menadoensis* (Sarcopterygii: Coelacanthiformes) and divergence time estimation between the two coelacanths. *Gene*, 2005, 349: 227–235
- 44 Benton M J. The Fossil Record 2. London: Chapman and Hall, 1993
- 45 Werner C. Die kontinentale Wirbeltierfauna aus der unteren Oberkreide de Sudan (Waidi Milk Formation). *Biochem Syst Ecol*, 1994, 24: 275–290
- 46 Gayet M, Meunier F J. Première découverte de *Gymnotiformes fossils* (Pisces, Ostariophysi) dans le Miocene supérieur de Bolivie. *C R Acad Sci Paris*, 1991, 313: 471–476
- 47 Arratia G. Basal teleosts and teleostean phylogeny. *Palaeo Ichthyol*, 1997, 7: 5–168
- 48 Cavender T M. Review of the fossil history of North American freshwater fishes. In: Hocutt, C H, Wiley E O, eds. The Zoogeography of North American freshwater fishes. New York: John Wiley, 1986. 699–724
- 49 Hixson J E, Wong T W, Clayton D A. Both the conserved and divergent 5¢-flanking sequences are required for initiation at human mitochondrial origin of light strand replication. *J Biol Chem*, 1986, 261: 2384–2390

- 50 彭作刚. 欧亚大陆鲇形目鱼类系统发育与骨鳔下区鱼类分化时间估计及其起源与演化过程研究. 博士学位论文. 北京: 中国科学院研究生院, 2005
- 51 郭宪光. 骨鳔鱼类若干类群的分子系统发育和分化时间估算. 博士学位论文. 北京: 中国科学院研究生院, 2006
- 52 Fink S V, Fink W L. Interrelationships of the ostariophysan fishes (Teleostei). *Zool J Linn Soc*, 1981, 72: 297–353
- 53 Fink S V, Fink W. Interrelationships of ostariophysan fishes (Teleostei). In: Stiassny M L J, Parenti L R, Johnson G D, eds. *Interrelationships of Fishes*. San Diego: Academic Press, 1996. 209–249
- 54 Ortí G. Radiation of characiform fishes: evidence from mitochondrial and nuclear DNA sequences. In: Kocher T D, Stepien C A, eds. *Molecular Systematics of Fishes*. San Diego: Academic Press, 1997. 219–243
- 55 Ishiguro N B, Miya M, Nishida M. Basal euteleostean relationships: a mitogenomic perspective on the phylogenetic reality of the “Protacanthopterygii”. *Mol Phylogenet Evol*, 2003, 27: 476–488
- 56 Diogo R. Phylogeny, origin and biogeography of catfishes: support for a Pangean origin of ‘modern teleosts’ and reexamination of some Mesozoic Pangean connections between the Gondwanan and Laurasian supercontinents. *Anim Biol*, 2004, 54: 331–351
- 57 Briggs J C. The biogeography of otophysan fishes (Ostariophysi: Otophysi): a new appraisal. *J Biogeogr*, 2005, 32: 287–294