

核基因在鱼类分子系统学研究中的应用*

朱 敏, 刘智皓, 旷毓婵, 贾向阳, 李英文

(重庆师范大学 生命科学学院 重庆市动物生物学重点实验室, 重庆 401331)

摘要 利用分子标记探讨鱼类的系统发育和分子进化已经逐渐成为现代鱼类系统学研究的热点之一。本文综述了核基因在鱼类分子系统发育和分子进化研究中的应用现状及其存在的优缺点。常用的核基因主要有核糖体基因, 其中保守的 18S rDNA 及 28S rDNA 主要用于研究高级分类阶元, 在研究亲缘关系较近的物种以及不同地理种群时, 比较常用到的则是 ITSs 以及 SINEs, 而 RAGs 及 S7 性质独特, 也常被用于鱼类的分子系统学研究中。以往的研究主要利用线粒体基因(如 *Cytb* 等) 研究鱼类的分类和进化, 但多年来的研究发现, 线粒体基因在研究鲤形目(*Cypriniformes*)、鲈形目(*Perciformes*) 等鱼类系统发育时并不能成为最佳的选择。最近的研究表明, 核基因能够弥补线粒体基因的缺陷, 并可广泛应用于鱼类系统发育研究。然而, 核基因的应用也面临着如下问题: 1) 因核基因重组导致数据分析难度较大; 2) 鉴定不同类群时存在一定误差; 3) 单倍性核基因片段较难获得; 4) 对某些进化时间短的群体的系统发育研究效果较差。随着上述问题的逐步解决, 核基因的应用将会更加广泛。

关键词 分子系统学 核基因 鱼类

中图分类号 Q959.4 Q75

文献标志码 A

文章编号 1672-6693(2013)02-0010-07

传统的鱼类进化历史及亲缘关系的确定主要依赖于形态学及生理学特征, 并取得了相当大的成效^[1-2], 但由于化石标本的缺乏、趋同进化及形态特征信息的不足等原因, 使之在用于鱼类系统学中时受到限制。

随着分子生物学技术的发展, 越来越多的研究者将其目光聚焦于生物遗传物质——DNA, 并在过去的数十年内, 取得了很大的进步和发展^[3]。其中, 线粒体 DNA 因分子量小、无重组、拷贝数多等优点, 在系统发育研究中得到非常广泛的应用, 也取得了较为满意的结果。然而随着研究工作的深入, 线粒体基因的研究缺陷也逐渐暴露出来, 如存在分子异质性(*Genetic heterogeneity*)、遗传信息单一、基因渗入等^[4]。随着基因克隆的出现和发展, 研究者发现核基因能够弥补线粒体 DNA 的研究缺陷。在研究复杂环境对群体遗传的影响时, 核 DNA 往往获得比线粒体 DNA 更为可靠的结果^[5]。对于某些鱼类如鲤形目(*Cypriniformes*)、鲈形目(*Perciformes*) 等而言, 不同的线粒体核苷酸片段构建的系统发育树不尽相同, 甚至利用不同的线粒体核苷酸片段构建的系统发育树获得的结果与传统分类学存在很大的分歧^[6-7]。

目前, 鱼类核基因的应用主要侧重于那些用线粒

体基因不能解决的类群, 并且能够获得较为理想的结果^[8]。本文概述了在鱼类分子系统发育研究中常用的几个核基因及主要优缺点, 以期为核基因在鱼类分子系统发育方面的研究提供较为系统的信息资料。

1 常用核基因的应用

1.1 核糖体基因

与其他蛋白编码核基因不同, 核糖体核基因主要编码核糖体 RNA。由于脊椎动物核糖体基因具有不同速度的进化区域, 如保守的编码基因 18S 基因、28S 基因等, 同时还包括基因之间进化较快的转录间隔区域(ITSs)和独立的 5S 基因^[9], 故核糖体基因常用于物种的系统发育研究^[10]。

1.1.1 独立的 5S rDNA(5S) 5S rDNA 及它的非转录间隔子(NTS)共同编码在核糖体大亚基形成时参与它组装的 5S rRNA。5S 与其他核糖体基因相对独立, 位于不同的染色体。在大多数真核生物中, 5S 的拷贝数远远多于其他核糖体基因^[11]。在不同的脊椎动物中, 5S 编码基因相当保守, 在鱼类中, 该基因相似度更是达到 95%。与之不同的是, NTS 却表现出极大的差异, 既具有保守片段, 又含有进化速度快的区域, 因此 5S 常

* 收稿日期 2012-10-10 网络出版时间 2013-03-16 13:37

资助项目: 农业部长江中上游渔业资源环境重点野外科学观察站开放课题(No. 12XLB005)

作者简介: 朱敏, 女, 硕士研究生, 研究方向为水生生物学, E-mail: 574241663@qq.com; 通讯作者: 李英文, E-mail: liyingwen@live.cn

网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20130316.1337.201302.10_003.html

被作为生物系统发生关系研究的标记基因^[11]。例如, Fujiwara 发现通过用 5S 构建鱈亚科(Acheilognathinae)的 10 种鱼的系统发生树,能获得与先前的核型分析相同的结果^[12]。而对于那些亲缘关系相对较近的物种,用 NTS 序列作为分子标记,也能获得较为理想的结果。如 Ferreira 以兔脂鲤属(*Leporinus*)为研究对象,发现 5S 基因序列间会表现出很低的核酸替代率,所有的信息位点基本都由 NTS 提供,因而认为,NTS 可以用于研究一些新近发生的进化事件^[9]。5S 独特的串联重复序列得到了越来越多的研究者关注,目前它已被广泛应用于鱼类的物种鉴定及其杂化、群体研究及进化等领域^[13-14]。

1.1.2 28S rDNA(28S)及 18S rDNA(18S) 28S 及 18S 分别编码 28S rRNA 及 18S rRNA。28S rRNA 和 18S rRNA 分别是核糖体大亚基和小亚基的结构组成成分。18S 是真核生物细胞基本组成成分,故常被用作内参基因^[15]。这两个基因的进化速度相对较慢,均可用于研究年代更为久远的进化事件^[10,16]。有研究表明,相对于其他标记基因,18S 更适合于研究科以上分类阶元的系统发育关系^[17]。如 Vera 用 18S 构建了鲤鱼(*Cyprinus carpio*)与其他多种鱼类的无根系统发育树,发现同一个目的鱼类聚为一支^[18]。张际峰用 18S 构建的分子系统树结果显示:与鲱形目(Clupeiformes)相比,胡瓜鱼目(Osmeriformes)与鲑形目(Salmoniformes)的亲缘关系更近^[19]。与 18S 适用于真核生物早期分化不同,在研究亲缘关系相对较近的肺鱼(*Protopterus dolloi*)、矛尾鱼(*Latimeria chalumnae*)及四足动物之间的系统发育关系时,用进化速度相对快的 28S 可以获得更为理想的结果^[20-23]。相比其他核糖体基因,28S 在鱼类中的应用相对较少,主要在研究植物及其他低等水生生物的系统发生关系时应用较为广泛^[24]。

然而二者过慢的进化速度(特别是 18S)也导致了它不能在鱼类系统发育的研究中被广泛应用。1993 年,Le 等将 28S 应用于研究有颌鱼类却未能得到理想的结果。由于 18S 在不同分类群中进化速度不一样,会导致进化分支树的不确定性增加^[25]。Bernardi 等将 18S 用于研究不同硬骨鱼类的分子系统发育关系时发现,以单独的底鳉属(*Fundulus*)构建系统发育树能够获得理想的结果,而以鲱鲉属(*Sebastolobus*)及二者联合构建系统发育树时却发现它们与人的 18S 聚为一支^[26]。

1.1.3 ITSs 及 5.8S rDNA(5.8S) 核糖体基因的内部转录间隔子(Internal transcribed spacer, ITS)共有两个片段,ITS1 和 ITS2,中间由 5.8S rDNA 隔开,因此三者又统称为 ITS 区域。

ITSs 属于非编码区,具有较少的选择压力,进化速度相对较快,故已广泛应用于鱼类系统发育的研究^[27-29]。不同种鱼类的 ITSs 表现出显著的变异^[30],因而在将它用于鉴定不同种属的鱼类时,往往能够获得较为满意的效果^[31]。由于在大部分鱼类中,ITS1 比 ITS2 具有更多的信息位点^[32],因此 ITS1 适用于亚种鉴定及种群的系统发育研究^[33]。Booton 在研究维多利亚湖地区的 11 种丽鱼科(Cichlidae)鱼类的近缘种时,发现它们 ITS1 序列的系统发育树支持 haplochromine 的单系性^[34]。值得注意的是,在某些鱼类中,ITS1 变异程度却很小。Zhuo 在研究来自 5 个不同群体的湖红点鲃(*Salvelinus namaycush*)时发现,它们的 ITS1 序列无个体差异^[35],类似的情况也出现在不同群体的大西洋鳕鱼(*Gadus morhua*)中^[36]。徐晖利用核糖体 ITS1 序列分析舌鳎亚科(Cynoglossinae)鱼类系统发育关系时发现,由于存在个体变异以及同一长度类型不同序列差异较小,限制了它解决同一长度类型不同种类间的分子系统发育关系^[37]。因此,ITS1 在应用于鱼类系统发育研究中也存在一定局限性。随着分子系统学对核基因的需求越来越多,ITS2 也开始在鱼类中单独应用。马跃岗通过对鲤形目、鲇形目(Siluriformes)和鲈形目鱼类的研究发现,每种鱼类的 ITS2 序列都有一段种属特异序列。因此,ITS2 也可作为鉴定种属的理想分子标记^[38]。

而 5.8S 基因高度保守、片段短^[39],所含遗传信息少,在研究鱼类系统发育时,一般是将 5.8S 与核糖体其他基因连用^[27,30,40]。目前还未单独将其应用于鱼类系统发育研究。

1.2 SINEs

短散在元件(Short interspersed element, SINE)是指散布在真核生物核基因中的反转录转座子。生物体内富含 SINE,且 SINE 插入事件的发生是不可逆的,故它能有效地应用于不同物种的鉴定及其与祖先之间的系统发育研究^[41-42]。Murata 通过分析大西洋鲑属(*Oncorhynchus*)鱼类的 SINE 插入情况,认为虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)及相关种类应属于大西洋鲑属,而非斑鲹属(*Salmo*),并以 SINE 的一个基因群 *HpaI* 作为信息位点,证明了大西洋鲑属作为一个分支的存在^[41]。1998 年, Takahashi 等从 Tanganyika 湖地区的丽鱼中首次获得其 SINE,并以此为研究对象进一步研究发现在不同的 SINEs 亚群中可能存在重组^[43-45]。Terai 通过构建东非单色鲷类(Haplochromines)的 SINE 的系统发育树,成功将其分为 4 个类群^[46]。尽管利用 SINE 的插入事件在研究鱼类的系统发生时取得了很好的效果,但由于存在古代物种 SINE 的多态性影响,在某些远缘物种

中存在着相似的 SINE ,这样利用不同的 SINE 构建的分子系统树可能会得出不同的结论 ,这也是 SINE 的缺陷之一^[42]。

由于 SINEs 特殊的反转录转座起源及进化方式 ,可将它作为生物进化过程中的标记 ;且因在许多生物类群中的分布具有特异性 ,故可用于探讨生物的系统发育过程^[47]。目前 ,SINEs 在鱼类中主要应用于丽鱼科以及鲑科(*Salmonidae*)鱼类的研究。

1.3 RAGs

重组激活基因(*Recombination activating genes* , *RAGs* ,含 *RAG1* 和 *RAG2*)编码两种重组激活因子 ,它们在免疫球蛋白和 T 细胞受体产生时起重要作用。由于大部分脊椎动物的 *RAGs* 具有非常保守的编码区及结构且无内含子^[48-49] ,故常被用于系统发育研究。Brinkmann 通过分析 *RAG1* 和 *RAG2* 序列的系统发育关系发现 ,与矛尾鱼相比 ,肺鱼与四足类的亲缘关系更为接近^[50]。Sullivan 等用 *RAG1* 和 *RAG2* 共 3 660 bp 的片段来探讨鲈形目鱼类系统发育关系 ,除南美的 *Loricariidae* 属外 ,研究结果大体与传统形态学一致^[51]。由于 *RAGs* 序列信息较为单一且信息位点较少 ,在鱼类的系统发育研究中单独应用相对较少 ,多与线粒体基因一起联用^[52]。目前 *RAGs* 主要在研究爬行类、两栖类及鱼类的分子系统发育应用较多^[53-55]。

1.4 S7 核糖体蛋白基因(*S7*)

S7 由一系列的外显子和内含子构成^[56]。内含子进化选择压力小 ,进化速度快 ,因此在探究不同物种之间的系统发育关系时 ,内含子的应用更加频繁^[57-59]。Wang 首次将 *S7* 应用于研究鱼类的系统发育 ,并发现 *S7* 基因的第一个内含子可作为分子标记用于区分丽鱼科各个亚科类群^[60]。随后 ,又有不同的研究者将 *S7* 基因用于鱼类的系统发育研究^[61]。多数研究是以第一个内含子作为分子标记 ,另外 ,也有研究表明第二个内含子也适合于研究分子系统发育的分子标记^[62]。*S7* 内含子进化速度相对适中 ,主要用于研究不同属之间的分子系统发育关系 ,对于那些亲缘关系近的分类群而言 ,*S7* 内含子核苷酸序列相似度很高^[56]。*S7* 基因在鱼类系统学中应用较为频繁 ,但是单独应用得较少 ,一般与线粒体基因联用^[7]。

2 其他核基因的应用

在鱼类分子系统发育的研究中 ,比较常用到的基因还有视紫红质基因(*Rhodopsin*)^[63]、似肌联蛋白基因(*Tmo-4c4*)^[63]、锌指结构基因家族^[64]、肌动蛋白基因 β -*actin*^[65]、髓细胞组织增生基因家族(*myc*)^[66]等。随着核基因研究的深入 ,研究者发现某些核基因序列能

够很好的反映生物的进化。因此 ,不断涌现的核基因序列也开始作为分子标记应用于鱼类系统发育的研究 ,如环指蛋白 213 基因(*RNF213*)^[67]、视黄醇结合蛋白基因(*IRBP*)^[68]、早期生长应答基因家族(*EGR1*、*EGR2B* 和 *EGR3*)、60S 核糖体蛋白 L15 基因(*RPL15*)等^[69]。

3 联合基因

鱼类的分子系统发育关系研究是一项复杂的工程 ,无论是以线粒体基因还是核基因作为标记 ,都有各自的缺点 ,不能全面的反应物种间的真实进化关系 ;因此联合基因的应用是最好的选择^[70]。目前 ,核基因之间、线粒体基因之间以及二者的联合应用已越来越多。Schönhuth 将核基因 *S7*、*Rhodopsin* 及 *RAG1* 与线粒体基因 *cytb* 的序列信息联合用于分析北美南部鲤科(*Cyprinidae*)鱼类的系统发育关系研究 ,对圆吻鲴属(*Dionda*)的种群关系进行了重新划分 ,并描述了新属 *Tam-pichthys* 的分类地位^[61]。将多个基因结合起来用于构建系统发育树 ,或者将不同基因的系统发育树进行合并 ,这是目前分子系统发育研究的热点和趋势。大量研究表明 ,将核基因与线粒体基因比较应用可以有效地鉴定种间杂化及基因渗入^[4]。

4 总结及存在的问题

鱼类核基因信息库非常庞大 ,只选择一个基因很难正确的反映研究对象之间的系统发育关系。就目前的研究现状而言 ,*RAGs* 基因是较早应用于鱼类的分子系统学研究中的核基因 ,且应用次数也非常多 ,但是它的应用范围却相对较窄 ,一般是与其他基因联合使用。有研究表明 ,将 *RAGs* 基因用于研究脊椎动物的进化能够获得较好的效果^[50,71]。

5S rDNA 是目前为止应用于鱼类系统发育中最为广泛的核基因之一。由于它含有进化速度快的 NTS 序列以及保守的 5S rRNA 基因 ,以及在生物体内具有极高的拷贝数 ,所以它不仅应用于鱼类的进化 ,而且在鉴定物种、研究杂化以及群体研究中也是行之有效的方法^[11] ,而其他核糖体基因则应用相对局限。比如 18S 高度保守 ,仅限于高级分类阶元系统发育关系的研究 ;而进化速度快的 ITS 则适用于研究近缘物种及不同地理种群。

尽管将核基因应用于鱼类分子系统学研究已经取得了一些成就 ,然而也面临不少挑战 ,比如 :1)核基因存在重组 ,导致出现可能的新的等位基因 ,从而增加了数据分析的难度 ;2)核基因存在大量的非中性选择 ,故在鉴定不同类群时会存在误差 ;3)等位基因位于染色体

不同位置从而导致杂合体的存在,区分核苷酸单倍型又增加了难度,因此,与线粒体基因相比,要获得一个单倍型核基因片段相对困难。4)对于某些进化时间短的群体而言,利用核基因作为分子标记来研究其系统发育时,由于缺乏足够的单倍体核苷酸多态性,会获得不正确的系统发育关系^[72]。

为了避免上述存在的问题,研究者在选择核基因时,首先应选择重组率低的核基因,例如靠近着丝粒或染色体末端的基因作为分子标记,可以减少因重组导致种内分歧进化;其次,为了避免以非中性选择基因作为分子标记,应避免那些具有重要功能作用的基因及附近片段;而对于杂合体而言,可通过克隆来获得单倍型核苷酸,这样,以基因外显子设计引物位点,跨内含子扩增序列(Exon-primed intron-crossing, EPIC)则能很好的解决这一难点;当以单个核基因序列缺乏足够的多态性时,可以考虑将多个不同类型的核基因以及与线粒体基因联合构建分子系统树^[73]。

参考文献:

- [1] Webb J F. Gross morphology and evolution of the mechanoreceptive lateral-line system in teleost fishes[J]. Brain Behav Evol, 1989, 33(1): 34-53.
- [2] Northcutt R G. Brain variation and phylogenetic trends in elasmobranch fishes[J]. J Exp Zool Suppl, 1989, 2: 83-100.
- [3] Slade R W, Moritz C, Heideman A. Multiple nuclear-gene phylogenies: application to pinnipeds and comparison with a mitochondrial DNA gene phylogeny[J]. Mol Biol Evol, 1994, 11(3): 341-356.
- [4] Heckman K L, Near T J, Alonzo S H. Phylogenetic relationships among *Boleosoma* darter species (Percidae: Etheostoma) [J]. Mol Phylogenet Evol, 2009, 53(1): 249-257.
- [5] Oswald K J, Grady J M, Quattro J M. Cytonuclear Patterns of Genetic Diversity and the Intricate Evolutionary History of the Inland Silverside (*Menidia beryllina*) [J]. J Hered, 2009, 100(5): 526-532.
- [6] Rfcan O, Zardoya R, Doadrio I. Phylogenetic relationships of Middle American cichlids (Cichlidae, Heroini) based on combined evidence from nuclear genes, mtDNA, and morphology [J]. Mol Phylogenet Evol, 2008, 49(3): 941-957.
- [7] Chen D, Guo X, Nie P. Phylogenetic studies of sinipercid fish (Perciformes: Sinipercidae) based on multiple genes, with first application of an immune-related gene, the virus-induced protein (viperin) gene [J]. Mol Phylogenet Evol, 2010, 55(3): 1167-1176.
- [8] Waters J M, Rowe D L, Burrige C P, et al. Gene trees versus species trees: reassessing life-history evolution in a freshwater fish radiation [J]. Syst Biol, 2010, 59(5): 504-517.
- [9] Ferreira I A, Oliveira C, Venere P C, et al. 5S rDNA variation and its phylogenetic inference in the genus *Leporinus* (Characiformes: Anostomidae) [J]. Genetica, 2007, 129(2): 253-257.
- [10] Hillis D M, Dixon M T. Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference [J]. Q Rev Biol, 1991, 66(4): 411-453.
- [11] Martins C, Wasko A P. Focus on Genome Research [M]. New York: Nova Science Publishers, 2004: 335.
- [12] Fujiwara M, Inafuku J, Takeda A, et al. Molecular organization of 5S rDNA in bitterlings (Cyprinidae) [J]. Genetic, 2009, 135(3): 355-365.
- [13] Garcia T, Cespedes A, Gonzalez I, et al. Differentiation of smoked *Salmo salar*, *Oncorhynchus mykiss* and *Brama raii* using the nuclear marker 5S rDNA [J]. Food Sci Technol Int, 2000, 35(4): 401-406.
- [14] Alves-Costa F A, Wasko A P, Oliveira C, et al. Genomic organization and evolution of the 5S ribosomal DNA in *Tilapia* fishes [J]. Genetica, 2006, 127(1/2/3): 243-252.
- [15] 董捷. 草鱼四个候选内参基因稳定性比较及两个免疫相关基因的克隆与表达研究 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2010: 17-18.
- Dong J. Studies on the stability of four candidate internal reference genes and molecular cloning and expression of two immunization-associated genes in grass carp, *Ctenopharyngodon idellus* [D]. Yangling, Shanxi: Northwest A&F University, 2010: 17-18.
- [16] Qu H L, Michot B, Bachelier J P. Improved methods for structure probing in large RNAs: a rapid 'heterologous' sequencing approach is coupled to the direct mapping of nucleic acid accessible sites. Application to the 5' terminal domain of eukaryotic 28S rRNA [J]. Nucleic Acids Res, 1983, 17(1): 5903-5920.
- [17] 张际峰, 蒋磊, 牛坤, 等. 泥鳅和黄鳝 18S rRNA 基因的克隆与序列分析 [J]. 吉林大学学报: 理学版, 2009, 47(4): 846-851.
- Zhang J F, Jiang L, Niu K, et al. Cloning and Sequence Analysis of 18S rRNA Gene Fragment of *Misgurnus anguillicaudatus* and *Monopterus albus* [J]. Journal of Jilin University: Science Edition, 2009, 47(4): 846-851.
- [18] Vera M I, Molina A, Pinto R, et al. Genomic organization of the rDNA cistron of the teleost fish (*Cyprinus carpio*) [J]. Biol Res, 2003, 36(2): 241-251.
- [19] 张际峰, 汪承润, 王顺昌, 等. 鲢鱼、太湖新银鱼和大银鱼 18S rRNA 基因的克隆与序列分析 [J]. 武汉大学学报: 理学版, 2010, 56(1): 087-092.
- Zhang J F, Wang C R, Wang S C, et al. Cloning and sequence analysis of 18S rRNA gene fragment of *Tenualosa reevesii*, *Neosalanx taihuensis* and *Protosalanx hyalocranius* [J]. Journal of Wuhan University: Natural Science Edition, 2010, 56(1): 087-092.

- [20] Stock D W , Moberg K D , Maxson L R , et al. A phylogenetic analysis of the 18S ribosomal RNA sequence of the coelacanth *Latimeria chalumnae* [M]. Boston : Kluwer Academic Publishers , 1991 : 99.
- [21] Zardoya R , Meyer A. Evolutionary relationships of the coelacanth , lungfishes , and tetrapods based on the 28S ribosomal RNA gene [J]. PNAS , 1996 , 93 (11) : 5449-5454.
- [22] Zardoya R , Meyer A. Molecular phylogenetic information on the identity of the closest living relative (s) of land vertebrates [J]. Naturwissenschaften , 1997 , 84 (9) : 389-397.
- [23] Zardoya R , Cao Y , Hasegawa M , et al. Searching for the closest living relative (s) of tetrapods through evolutionary analyses of mitochondrial and nuclear data [J]. Mol Biol Evol , 1998 , 15 (5) : 506-517.
- [24] Schaeffner B C , Jirku M , Mahmoud Z N , et al. Revision of *Wenyonina* Woodland , 1923 (Cestoda : Caryophyllidea) from catfishes (Siluriformes) in Africa [J]. Syst Parasitol , 2011 , 79 (2) : 83-107.
- [25] Le H L , Lecomte G , Perasso R. A 28S rRNA-based phylogeny of the gnathostomes : first steps in the analysis of conflict and congruence with morphologically based cladograms [J]. Mol Phylogenet Evol , 1993 , 2 (1) : 31-51.
- [26] Bernardi G , Sordino P , Powers D A. Nucleotide sequence of the 18S ribosomal ribonucleic acid gene from two teleosts and two sharks and their molecular phylogeny [J]. Mol Mar Biol Biotechnol , 1992 , 1 (3) : 187-194.
- [27] Pérez M , Vieites J M , Presa P. ITS1-rDNA-based methodology to identify world-wide hake species of the genus *Merluccius* [J]. Agric Food Chem , 2005 , 53 (13) : 5239-5247.
- [28] Hyde J R , Vetter R D. The origin , evolution , and diversification of rockfishes of the genus *Sebastes* (Cuvier) [J]. Mol Phylogenet Evol , 2007 , 44 (2) : 790-811.
- [29] Kuriwa K , Hanzawa N , Yoshino T , et al. Phylogenetic relationships and natural hybridization in rabbitfishes (Teleostei : Siganidae) inferred from mitochondrial and nuclear DNA analyses [J]. Mol Phylogenet Evol , 2007 , 45 (1) : 69-80.
- [30] Singh M , Kumar R , Nagpure N S , et al. Nucleotide sequences and chromosomal localization of 45S and 5S rDNA in *Neoliss-ochilus hexagonolepis* (Pisces , Cyprinidae) , using dual-color fish [J]. Zoolog Sci , 2010 , 27 (8) : 709-716.
- [31] 袁万安. 核糖体转录间隔子 2 应用于鱼类种属的鉴别 [J]. 遗传 , 2010 , 32 (4) : 369-374.
- Yuan W A. Identification of fish species based on ribosomal DNA ITS2 locus [J]. Hereditas , 2010 , 32 (4) : 369-374.
- [32] Presa P , Pardo B G , Martínez P , et al. Phylogeographic congruence between mtDNA and rDNA ITS markers in brown trout [J]. Mol Biol Evol , 2002 , 19 (12) : 2161-2175.
- [33] Merlo M A , Cross I , Chairi H , et al. Analysis of three multi-gene families as useful tools in species characterization of two closely-related species , *Dicentrarchus labrax* , *Dicentrarchus punctatus* and their hybrids [J]. Genes Genet Syst , 2010 , 85 (5) : 341-349.
- [34] Booton G C , Kaufman L , Chandler M , et al. Evolution of the ribosomal RNA internal transcribed spacer one (ITS-1) in cichlid fishes of the Lake Victoria region [J]. Mol Phylogenet Evol , 1999 , 11 (2) : 273-282.
- [35] Zhuo L , Sajdak S L , Phillips R B. Minimal intraspecific variation in the sequence of the transcribed spacer regions of the ribosomal DNA of lake trout (*Salvelinus namaycush*) [J]. Genome , 1994 , 37 (4) : 664-671.
- [36] Johansen T , Repolho T , Hellebø A , et al. Strict conservation of the ITS regions of the ribosomal RNA genes in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) [J]. DNA Seq , 2006 , 17 (2) : 107-114.
- [37] 徐晖 , 李军 , 孔晓瑜 , 等. 6 种舌鲷亚科鱼类 ITS1 序列长度多态性及系统分析 [J]. 海洋与湖沼 , 2008 , 39 (1) : 35-41.
- Xu H , Li J , Kong X Y , et al. Phylogenetic relationship and length variation in the first ribosomal internal transcribed spacer of Cynoglossinae species [J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica , 2008 , 39 (1) : 35-41.
- [38] 马跃岗 , 朱杰 , 袁万安. 大鲵 2 个驯养群体 ITS2 遗传多样性分析 [J]. 安徽农业大学学报 : 自然科学版 , 2012 , 39 (1) : 1-6.
- Ma Y G , Zhu J , Yuan W A. Analysis of ITS2 genetic diversity between two acclimation populations of Chinese giant salamander *Andrias davidianus* [J]. Journal of Anhui Agricultural University : Natural Science Edition , 2012 , 39 (1) : 1-6.
- [39] 沈颂东 , 张劲. 大型海洋绿藻 5. 8S rRNA 基因序列及系统发育分析 [J]. 海洋与湖沼 , 2008 , 39 (4) : 427-432.
- Shen S D , Zhang J. Sequences and phylogeny of 5. 8S rRNA gene of marine chlorophyta [J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica , 2008 , 39 (4) : 427-432.
- [40] Xu J , Zhang Q , Xu X , et al. Intragenomic variability and pseudogenes of ribosomal DNA in stone flounder *Kareius bicoloratus* [J]. Mol Phylogenet Evol , 2009 , 52 (1) : 157-166.
- [41] Shigenori M , Nobuyoshi T , Masako S , et al. Details of retropositional genome dynamics that provide a rationale for a generic division the distinct branching of all the pacific salmon and trout (*Oncorhynchus*) from the atlantic salmon and trout (*Salmo*) [J]. Genetics , 1996 , 142 (3) : 915-926.
- [42] Shedlock A M , Norihiro O. SINE insertions : powerful tools for molecular systematic [J]. Bioessays , 2000 , 22 (2) : 148-160.
- [43] Kazuhiko T , Yohey T , Mutsumi N , et al. A novel family of short interspersed repetitive elements (SINEs) from cichlids : the patterns of insertion of SINEs at *Orthologous loci* support the proposed monophyly of four major groups of cichlid fishes in Lake Tanganyika [J]. Mol Biol Evol , 1998 , 15 (4) : 391-407.
- [44] Takahashi K , Nishida M , Yuma M , et al. Retroposition of the

- AFC Family of SINEs (Short interspersed repetitive elements) before and during the adaptive radiation of cichlid fishes in Lake Malawi and related inferences about phylogeny[J]. J Mol Evol 2001 53(4/5) :496-507.
- [45] Takahashi K ,Okada N. Mosaic structure and retropositional dynamics during evolution of subfamilies of short interspersed elements in African cichlids [J]. Mol Biol Evol 2002 ,19(8) : 1303-1312.
- [46] Terai Y ,Takezaki N ,Mayer W E ,et al. Phylogenetic relationships among East African haplochromine fish as revealed by short interspersed elements (SINEs) [J]. J Mol Evol 2004 , 58 (1) :64-78.
- [47] 韩德民 ,周开亚 ,王义权. 短散在元件(SINE)的研究进展 [J]. 生物化学与生物物理进展 2000 27(5) :461-465.
Han D M ,Zhou K Y ,Wang Y Q. Recent achievements of research on short interspersed elements[J]. Progress in Biochemistry and Biophysics 2000 27(5) :461-465.
- [48] Hansen J D. Inspection of the 3 ' UTR Genomic Region for RAG1 and RAG2 in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reveals potential regulatory motifs[J]. Dev Immunol ,1997 ,5 (2) :129-131.
- [49] Schluter S F ,Marchalonis J J. Cloning of shark RAG2 and characterization of the RAG1/RAG2 gene locus [J]. FASEB J , 2003 17(3) :470-472.
- [50] Brinkmann H ,Venkatesh B ,Brenner S ,et al. Nuclear protein-coding genes support lungfish and not the coelacanth as the closest living relatives of land vertebrates[J]. PNAS 2004 ; 101(14) :4900-4905.
- [51] Sullivan J P ,Lundberg J G ,Hardman M. A phylogenetic analysis of the major groups of catfishes (Teleostei :Siluriformes) using rag1 and rag2 nuclear gene sequences[J]. Mol Phylogenet Evol 2006 41(3) :636-662.
- [52] Sullivan J P ,Lavoué S ,Hopkins C D. Molecular systematics of the African electric fishes (Mormyroidea :teleostei) and a model for the evolution of their electric organs[J]. J Exp Biol 2000 203(4) :665-683.
- [53] Vargas-Ramírez M ,Vences M ,Branch W R ,et al. Deep genealogical lineages in the widely distributed African helmeted terrapin :evidence from mitochondrial and nuclear DNA (Testudines :Pelomedusidae :*Pelomedusa subrufa*) [J]. Mol Phylogenet Evol 2010 56(1) :428-440.
- [54] Anderson D W ,Evans B J. Regulatory evolution of a duplicated heterodimer across species and tissues of allopolyploid clawed frogs (*Xenopus*) [J]. J Mol Evol 2009 ,68(3) :236-247.
- [55] Cramer C A ,Bonatto S L ,Reis R E. Molecular phylogeny of the Neoplecostominae and Hypoptopomatinae (Siluriformes : Loricariidae) using multiple genes[J]. Mol Phylogenet Evol , 2011 59(1) :43-52.
- [56] 梁日深 ,杨国华 ,罗大极 ,等. 基于 S7 核糖体蛋白基因部分序列的 10 种石鲈科鱼类的系统发育关系[J]. 热带海洋学报 2010 29(5) :98-102.
Liang R S ,Yang G H ,Luo D J ,et al. Phylogenetic relationship of 10 species in haemulidae based on S7 ribosomal protein gene[J]. Journal of Tropical Oceanography 2010 29(5) :98-102.
- [57] Musilová Z ,Rican O ,Janko K ,et al. Molecular phylogeny and biogeography of the Neotropical cichlid fish tribe Cichlasomatini (Teleostei :Cichlidae :Cichlasomatinae) [J]. Mol Phylogenet Evol 2008 46(2) :659-672.
- [58] Near T J ,Cheng C H. Phylogenetics of notothenioid fishes (Teleostei :Acanthomorpha) :inferences from mitochondrial and nuclear gene sequences[J]. Mol Phylogenet Evol 2008 , 47(2) :832-840.
- [59] Piller K R ,Bart H L Jr ,Hurley D L. Phylogeography of the greenside darter complex ,*Etheostoma blennioides* (Teleostomi :Percidae) a wide-ranging polytypic taxon[J]. Mol Phylogenet Evol 2008 46(3) :974-985.
- [60] Schönhuth S ,Doadrio I ,Dominguez-Dominguez O ,et al. Molecular evolution of southern North American Cyprinidae (Actinopterygii) ,with the description of the new genus *Tampichthys* from central Mexico[J]. Mol Phylogenet Evol 2008 47 (2) :729-756.
- [61] Schwarzer J ,Misof B ,Tautz D ,et al. The root of the East African cichlid radiation[J]. BMC Evol Biol 2009 ,186(9) :1-11.
- [62] 宋林 ,肖永双 ,高天翔. S7 核糖体蛋白基因片段序列变异与花鲈属鱼类系统发育研究[J]. 海洋湖沼通报 2008 (2) :152-158.
Song L ,Xiao Y S ,Gao T X. Studies on the phylogeny of *Lateolabrax* species based on sequence variations of the S7 ribosomal protein gene[J]. Transactions of Oceanology and Limnology 2008(2) :152-158.
- [63] Lin H C ,Hastings P A. Evolution of a neotropical marine fish lineage (Subfamily Chaenopsinae , Suborder , Blennioidei) based on phylogenetic analysis of combined molecular and morphological data[J]. Mol Phylogenet Evol 2011 ,60(2) : 236-248.
- [64] Wright J J ,David S R ,Near T J. Gene trees ,species trees and morphology converge on a similar phylogeny of living gars (Actinopterygii :Holostei :Lepisosteidae) ,an ancient clade of ray-finned fishes[J]. Mol Phylogenet Evol 2012 63(3) :848-856
- [65] Oswald K J ,Grady J M ,Quattro J M. Cytonuclear patterns of genetic diversity and the intricate evolutionary history of the inland silverside (*Menidia beryllina*) [J]. J Hered 2009 ,100 (5) :526-532.
- [66] 孔祥会 ,王绪祯 ,甘小妮 ,等. 鲤科鱼类的 c-myc CDS 及其

系统发育关系[J]. 科学通报 2007 ,52(9) :1028-1036.

Kong X H ,Wang X Z ,Gan X N ,et al. Phylogenetic Relationships within the Cyprinidae based on c-myc CDS[J]. Chinese Science Bulletin 2007 ,52(9) :1028-1036.

[67] Li B ,Dettai A ,Cruaud C ,et al. RNF213 ,a new nuclear marker for acanthomorph phylogeny[J]. Mol Phylogenet Evol , 2009 ,50(2) :345-363.

[68] Nagle B C ,Simons A M. Rapid diversification in the North American minnow genus *Nocomis*[J]. Mol Phylogenet Evol , 2012 ,63(3) :639-649.

[69] Xiang Z ,Zhang J N ,Song P ,et al. The study of ribosomal protein 11S cDNA sequences as a molecular marker in the teleostei phylogenetic analysis[J]. Hereditas ,2006 ,28(2) :171-178.

[70] Oliveira C ,Avelino G S ,Abe K T ,et al. Phylogenetic relationships within the speciose family Characidae(Teleostei :Ostariophysi :Characiformes) based on multilocus analysis and extensive ingroup sampling[J]. BMC Evol Biol 2011 ,26(11) :275.

[71] Bernstein R M ,Schluter S F ,Bernstein H ,et al. Primordial emergence of the recombination activating gene 1 (*RAG1*) :sequence of the complete shark gene indicates homology to microbial integrases[J]. PNAS ,1996 ,93(18) :9454-9459.

[72] Matthew P. Hare. prospects for nuclear gene phylogeography [J]. Trends in Ecology & Evolution 2001 ,16(12) :700-706.

[73] Zhang D X ,Hewitt G M. Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations :practice ,problems and prospects[J]. Mol Ecol 2003 ,12(3) :563-584.

Animal Sciences

The Applications of Nuclear Genes in Fish Molecular Systematic

ZHU Min , LIU Zhi-hao , KUANG Yu-chan , JIA Xiang-yang , LI Ying-wen

(Chongqing Key Laboratory of Zoobiology , College of Life Sciences , Chongqing Normal University , Chongqing 401331 , China)

Abstract : Recently , it has become one of the hotspots to study the phylogeny and molecular evolution in fish taxonomy using molecular markers. In previous researches , mitochondrial genes (mtDNA) were commonly used as molecular markers ; however disadvantages existed as well. In fish molecular phylogenetic researches , nuclear genes (nDNA) can be used instead of mitochondrial genes , by which the phylogenetic tree generates unexpected results on some occasions. In this article , we reviewed the frequently-used nDNA and their available applications in fish molecular phylogenetic studies , as well as the existed problems and the feasible resolutions. 18S rDNA and 28S rDNA are conserved and often apply to the senior taxa , while in the study of the close phylogenetic relationship of species and different geographic group , researchers would like to choose ITSs and SINEs as molecular markers. For the further applications of nDNA , the comparison of the different usages of nDNA and mtDNA in fish phylogenetics were also compared.

Key words : molecular systematic ; nuclear genes ; fish

(责任编辑 方 兴)