

梁巍骞, 刘兰苑, 陈锭娴, 等. 四种光唇鱼属鱼类线粒体 DNA 全序列测定及分析[J]. 江苏农业学报, 2025, 41(6): 1197-1206.  
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2025.06.016

## 四种光唇鱼属鱼类线粒体 DNA 全序列测定及分析

梁巍骞<sup>1</sup>, 刘兰苑<sup>1</sup>, 陈锭娴<sup>1</sup>, 王凯丰<sup>1</sup>, 陈炜坚<sup>1</sup>, 林胜跃<sup>1</sup>, 叶树政<sup>1</sup>, 龚剑<sup>2</sup>,  
桂林<sup>1</sup>, 李强<sup>1</sup>

(1. 广州大学生命科学学院, 广东 广州 510006; 2. 广州大学环境科学与工程学院, 广东 广州 510006)

**摘要:** 本研究采集并测量了吉首光唇鱼(*Acrossocheilus jishouensis*)、侧条光唇鱼(*A. parallens*)、厚刺光唇鱼(*A. spinifer*)和虹彩光唇鱼(*A. iridescens*)的线粒体 DNA (mtDNA) 序列。通过 DNASTAR Lasergene 7.0 和 MEGA7.0 软件进行拼接获得 4 种光唇鱼属鱼类完整 mtDNA 序列, 通过 MITOSWebServer 在线软件定位其编码蛋白质基因, 采用 tRNAscan-SE 2.0 软件定位分析其转运 RNA (tRNA) 基因, 利用 BLAST 同源性分析确定核糖体 RNA (rRNA) 基因和控制区。结合 GenBank 已发表的其他光唇鱼属鱼类和部分其他鲃亚科鱼类, 构建系统发育树, 分析 4 种光唇鱼属鱼类的系统进化关系。4 种光唇鱼属鱼类 mtDNA 的核苷酸组成成分相似, 序列长度为 16 585~16 595 bp, 均包括 37 个编码基因和 1 个非编码区(控制区)。8 个 tRNA 基因(*tRNA<sup>Gln</sup>*、*tRNA<sup>Ala</sup>*、*tRNA<sup>Asn</sup>*、*tRNA<sup>Cys</sup>*、*tRNA<sup>Tyr</sup>*、*tRNA<sup>Ser</sup>*、*tRNA<sup>Glu</sup>*、*tRNA<sup>Pro</sup>*)和 *ND6* 基因分布于轻链(L 链), 其余基因分布于重链(H 链)。在 13 种编码蛋白质基因中, 厚刺光唇鱼的 *ND2* 基因以 ATC 为起始密码子而区别于其他 3 种光唇鱼, 侧条光唇鱼和厚刺光唇鱼的 *ND3* 基因起始密码子为 GTG, 其他 2 种光唇鱼则以 ATG 为起始密码子, 其余基因起始密码子均为 ATG 或 GTG, 而终止密码子共有 4 种类型(TAA、TAG、TA 和 T)。22 种 tRNA 基因, 除了 *tRNA<sup>Ser</sup>* 编码的 tRNA 缺少 DHU 臂外, 其余基因编码的 tRNA 均具有典型的三叶草结构。控制区变异较大, 同时可以识别出对应的终止序列区、中央保守区和保守序列区。系统发育分析结果表明, 光唇鱼属鱼类可以划分为 2 个支系, 其中侧条光唇鱼与吉首光唇鱼亲缘关系最近, 与虹彩光唇鱼亲缘关系最远。本研究系统分析了 4 种光唇鱼属鱼类线粒体 DNA 全序列, 了解基因组结构、特点及其分类情况, 为光唇鱼属鱼类的系统进化分析及其种质资源保护提供了理论依据。

**关键词:** 吉首光唇鱼; 侧条光唇鱼; 厚刺光唇鱼; 虹彩光唇鱼; 线粒体基因组; 系统发育分析

**中图分类号:** S917.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2025)06-1197-10

## Complete sequence determination and analysis of mitogenome of four species in *Acrossocheilus*

LIANG Weiqian<sup>1</sup>, LIU Lanyuan<sup>1</sup>, CHEN Dingxian<sup>1</sup>, WANG Kaifeng<sup>1</sup>, CHEN Weijian<sup>1</sup>, LIN Shengyue<sup>1</sup>,  
YE Shuzheng<sup>1</sup>, GONG Jian<sup>2</sup>, GUI Lin<sup>1</sup>, LI Qiang<sup>1</sup>

(1. School of Life Sciences, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China; 2. School of Environmental Science and Engineering, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China)

收稿日期: 2024-10-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(41673110); 广州市科技计划项目(201804010486); 广东省教育科学规划课题(2021GXJK097)

作者简介: 梁巍骞(2003-), 男, 广东佛山人, 本科生, 主要从事淡水鱼类生态与亲缘地理研究。(E-mail) liangweiqian1112@163.com。刘兰苑为共同第一作者。

通讯作者: 李强, (E-mail) LQ512328@163.com

**Abstract:** In this study, samples were collected and mitochondrial DNA sequences were measured from *Acrossocheilus jishouensis*, *A. parallens*, *A. spinifer* and *A. iridescens*. The complete mtDNA sequences of four species were obtained through DNASTAR Lasergene 7.0 and MEGA7.0 softwares. The protein-coding genes were located

by MITOSWebServer online software, and the transfer RNA (tRNA) genes were identified and analyzed by tRNAscan-SE 2.0. The ribosomal RNA (rRNA) genes and control regions were identified by BLAST homology analysis. Incorporating other *Acrossocheilus* species and selected representatives of the subfamily Barbinae available in GenBank, phylogenetic trees were constructed to analyze the phylogenetic relationships of the four *Acrossocheilus* species. The nucleotide components of mtDNA of the four species were similar. The sequences were 16 585–16 595 bp in length, including 37 coding genes and one non-coding region (control region). Eight tRNA genes (*tRNA<sup>Gln</sup>*, *tRNA<sup>Ala</sup>*, *tRNA<sup>Asn</sup>*, *tRNA<sup>Cys</sup>*, *tRNA<sup>Tyr</sup>*, *tRNA<sup>Ser</sup>*, *tRNA<sup>Glu</sup>*, *tRNA<sup>Pro</sup>*) and *ND6* were located on the light strand (L strand), and the remaining genes were located on the heavy strand (H strand). Among the 13 protein-coding genes, the *ND2* gene of *A. spinifer* used ATC as the start codon, which was different from the other three species. The start codons of *ND3* genes of *A. parallens* and *A. spinifer* were GTG, while the other two species used ATG as the start codon, and the start codons of the remaining genes were ATG or GTG. There were four types of stop codons (TAA, TAG, TA and T). All 22 tRNA genes encoded tRNAs that possessed the typical cloverleaf secondary structure, except for the tRNA encoded by the *tRNA<sup>Ser</sup>* gene, which lacked the DHU arm. The variation of control region was obvious, but the corresponding termination sequence region, central conserved region and conserved sequence region were identified in control region. Phylogenetic analysis showed that the *Acrossocheilus* species could be divided into two clades. *A. parallens* was most closely related to *A. jishouensis* and most distantly related to *A. iridescens*. By systematically analyzing the complete mitochondrial DNA (mtDNA) sequences of four *Acrossocheilus* species, this study elucidates their genome structure, characteristics, and taxonomic status. These findings provide a theoretical foundation for the phylogenetic analysis of the genus *Acrossocheilus* and the conservation of its germplasm resources.

**Key words:** *Acrossocheilus jishouensis*; *Acrossocheilus parallens*; *Acrossocheilus spinifer*; *Acrossocheilus iridescens*; mitogenome; phylogenetic analysis

光唇鱼属 (*Acrossocheilus*) 隶属于鲤形目 (Cypriniformes) 鲤科 (Cyprinidae) 鲃亚科 (Barbinae)。到目前为止,光唇鱼属共鉴定了 26 个种或亚种,主要分布于中国南部(上海、江苏、安徽、浙江、福建、台湾等地)、越南和老挝,其体色鲜艳,营养价值高,是一类名优的经济鱼类<sup>[1-3]</sup>。对光唇鱼属鱼类的分类鉴定,传统方法主要依据口唇结构形态、体色和背鳍等的差异进行<sup>[4]</sup>。《中国动物志·硬骨鱼纲·鲤形目(下卷)》记录了分布于中国南部地区的光唇鱼属的 19 个种和亚种<sup>[1]</sup>。而 Kottelat 等<sup>[5]</sup>通过对光唇鱼属鱼类成体侧条纹的观察,将光唇鱼属鱼类分为两大类:无垂直条纹类群和有垂直条纹类群。袁乐洋<sup>[4]</sup>通过对光唇鱼属鱼类形态特征的比较及统计分析,基本认同 Kottelat 的观点,并认为体侧无垂直条纹类型可能不属于光唇鱼属鱼类。伍律<sup>[6]</sup>所记录的厚唇光唇鱼 (*A. labiatus*) 应为吉首光唇鱼 (*A. jishouensis*)。形态分类可能会受到雌雄差异、幼鱼与成鱼差异等因素的影响,因此需要借助分子手段,进一步厘清种群间、物种间的关系。线粒体 DNA(mtDNA) 是一种细胞质遗传的环状双链分子,其碱基序列组成和结构较为保守,长度一般为 16~20 kb,包含了 13 个蛋白质的编码基因、2 个核糖体 RNA(rRNA) 基因和 22 个转运 RNA(tRNA) 基因以

及 1 个非编码控制区<sup>[7]</sup>。线粒体 DNA 具有相对分子质量小、编码效率高、拷贝数多、进化速度快等特征,在群体遗传学、种群分化等研究中被广泛应用<sup>[7]</sup>。线粒体 DNA 作为分子标记在鱼类群体遗传变异研究中被大量运用。以线粒体细胞色素氧化酶 I (CO I) 基因作为分子标记,分析了分布于中国台湾的台湾光唇鱼 (*A. paradoxus*) 和分布于福建闽江的武夷光唇鱼 (*A. wuyiensis*) 2 个物种,结果表明这 2 种光唇鱼为同一物种<sup>[8]</sup>;薛艳洁等<sup>[9]</sup>通过线粒体细胞色素氧化酶 II (CO II) 基因和 D-loop 控制区序列 2 种分子标记的系统发育分析,可以较准确地判定在江西赣州采集的光唇鱼属于半刺光唇鱼 (*A. hemispinus*);基于线粒体细胞色素 b 基因对新安江流域温州光唇鱼 (*A. wenchowensis*) 群体遗传特征进行分析,结果表明温州光唇鱼的不同地理群体遗传分化较明显,而且遗传多样性水平较低<sup>[10]</sup>。因此,了解清楚光唇鱼属鱼类的线粒体 DNA 特征,对研究光唇鱼的分类和种群特征分析具有重大意义。近年来对光唇鱼属鱼类的研究主要集中在人工繁殖<sup>[11-13]</sup>、形态特征<sup>[14-15]</sup>、性腺胚胎发育<sup>[16-17]</sup>、基因克隆与表达<sup>[18-19]</sup>、线粒体分子标记<sup>[20-22]</sup>等方面。而专门针对吉首光唇鱼 (*A. jishouensis*)、厚刺光唇鱼 (*A. spinifer*)、侧条光唇鱼 (*A. parallens*) 和虹彩光唇

鱼(*A. iridescens*)线粒体基因组系统分析的研究较少。针对此现状,本研究拟对4种光唇鱼属鱼类mtDNA进行特征分析和系统发育分析,从而进一步研究光唇鱼属鱼类与其他鲃亚科鱼类的亲缘关系及其分类,为光唇鱼属鱼类的系统进化分析及其种质资源保护与管理提供基础数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本研究的吉首光唇鱼样品采集于湖南省吉首市(N:28°15'44";E:109°42'30"),厚刺光唇鱼样品采集于广东省潮州市(N:23°27'22";E:116°40'39"),虹彩光唇鱼样品采集于广西壮族自治区河池市(N:

24°29'50";E:108°38'23"),侧条光唇鱼样品采集于广东省韶关市(N:25°19'30";E:113°55'13")。每个群体随机选取10尾体长10 cm的样本,共计40尾。标本采用95%乙醇进行固定与保存,标本见图1。

### 1.2 DNA的提取和扩增

采用动物基因组提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司产品]分别提取4种光唇鱼的总DNA。采用Primer5.0软件设计并获得4种光唇属鱼类线粒体DNA序列的26对扩增引物(表1),分段扩增其线粒体DNA序列。电泳检验合格的PCR产物委托生工生物工程(上海)股份有限公司进行纯化并测序。

表1 PCR扩增所用的引物

Table 1 Primers for PCR amplification

引物编号	上游引物序列(5'→3')	下游引物序列(5'→3')	扩增序列长度(bp)
1	TCTCCGCAACCCAGTGAATA	GTGGCTAGAAGTGGTGAGGT	550
2	ATACCCCACTATGCTCAGCC	TGCATGGATGTCTTCTCGGT	579
3	AGGGTGTGGCTGAGTTAGTC	AAGGGGAGACAGTTAAGCCC	1 146
4	TGCCCACTGACTACAAGTTCA	AATTTACCATGCTCTGCCACC	751
5	CCATACTTAAAGCACGCCCC	TTGCTAGGGCAGTGTGTCAT	1 113
6	TTTGACTTCTCATCCCTGCCT	TAGGCCCATCAAGCTAGGAG	758
7	AAAGGGGGGTCAGCTAAT	AGTTGTGGGGCGTATTGGA	671
8	AAACCATCGACCCACTGCTA	GGGGCTATTGGTAGGAGTCC	583
9	CAACCCAAACCTCTCTACCCT	GCATTGTAATTCCTGCGGCTA	1 102
10	CTGATCCGTGCTTGTAACCG	TGCTGGTTCCTCGTATGTGT	973
11	GCAGCCTTTGTGCATTGATTC	GACACGGACTGGGATTCTAT	996
12	AACCATTCTACCAGCCGTCA	GGCACGGCAAATCCCATATT	1 055
13	TCGACCAATTTGCAAGCCC	TTGGAGGGCGGTGAAGTAG	1 198
14	CAGCCGTCTACTAGCATCA	CACAAGCAGAAAAGGCCAGT	1 084
15	AAGACCTCTGATTTCCGGCTCA	TATGGTTTTGGCTGGCTAGGA	595
16	ACTGGCCTTTTCTGCTTGTG	TGGGTTTCGTTTCATAGGCTGT	1 118
17	CTTCCGCTTTTAGTCGCC	TAGTGTTCACAGGCCAGTG	732
18	GAACGAACCCATAGCCGAAC	GGCTGACGAAGAATGCAGAG	736
19	CCAGCAAGACTCCAACATAGC	TGATTTTCTGTTGCCGCTAG	598
20	TCCCAATCGCCCTATACGTC	AGATAGGGCAGGAATCGTG	1 058
21	GACGCAATATTGAAGCCCTAAAC	ATGTTTTGATCATTCCTCGTGTGA	586
22	CCCAATAATCTCCACACACCAC	TTTCGTAGGCTTGCCATTAGTG	883
23	TGACCAACCAATACCCACACA	GTTTTCTGGAGGAACAGCAG	819
24	CCAACGGAGCATCATTCTTCTT	GCCAGGGGTGAGAGTTAAAATC	996
25	CCCGCAAACCTCTAGTTA	GAGTGTACCTCCCCAGAAA	526
26	TTTTAACTCTCACCCCTGGCT	TTTACCGGCCCTCTTAACACT	1 288

### 1.3 数据处理与分析

所测序列采用 DNASTAR Lasergene 7.0 (SeqMan) 程序包<sup>[23]</sup>进行拼接,通过 MEGA7.0 软件<sup>[24]</sup>比对近源物种线粒体基因组序列,并辅以人工校正,最终获得 4 种光唇鱼属鱼类完整 mtDNA 序列。mtDNA 序列中编码基因通过 MITOSWebServer (<http://mitos2.bioinf.uni-leipzig.de/index.py>) 在线软件定位分析<sup>[25]</sup>。采用 tRNAscan-SE 2.0 软件对 4 种光唇鱼属鱼类的 tRNA 基因进行定位和二级结构分析<sup>[26]</sup>。利用 BLAST 同源性分析确定 rRNA 基因和控制区。然后通过 MEGA7.0 软件对 4 种光唇鱼属鱼类线粒体 DNA 序列结构特点进行分析,计算序列的碱基组成。

从 GenBank 数据库下载得到 23 种鲃亚科鱼类线粒体 DNA 全序列,基于线粒体 DNA 的 13 种蛋白质的编码基因序列以邻接法 (Neighbor-joining Method, NJ) 构建系统发育树<sup>[27]</sup>,用于探究 4 种光唇鱼属鱼类的系统进化关系。

## 2 结果与分析

### 2.1 4 种光唇鱼线粒体 DNA 的组成

4 种光唇鱼属鱼类线粒体 DNA 全序列长度为 16 585~16 595 bp (吉首光唇鱼 16 585 bp、侧条光唇鱼 16 591 bp、厚刺光唇鱼 16 594 bp、虹彩光唇鱼 16 595 bp),均包含 13 个编码蛋白质基因、2 个编码 rRNA 基因、22 个编码 tRNA 基因和 1 个非编码控制区等。4 种光唇鱼属鱼类线粒体 DNA 序列碱基排列顺序、长度、密码子使用情况都比较相似。整个基因排列紧凑,各片段间存在 11~12 处间隔,其长度为 1~33 bp;其中 *tRNA<sup>Cys</sup>* 与 *tRNA<sup>Asn</sup>* 之间存在最大间隔区,可构成茎环二级结构,轻链由此处开始复制,最大间隔区被称为轻链复制起始区 ( $O_L$ )。除 8 个 tRNA 基因 (*tRNA<sup>Gln</sup>*、*tRNA<sup>Ala</sup>*、*tRNA<sup>Asn</sup>*、*tRNA<sup>Cys</sup>*、*tRNA<sup>Tyr</sup>*、*tRNA<sup>Ser</sup>*、*tRNA<sup>Glu</sup>*、*tRNA<sup>Pro</sup>*) 和 *ND6* 分布于轻链 (L 链) 外,其余各基因均位于重链 (H 链) 上 (图 1、表 2)。

4 种光唇鱼属鱼类线粒体 DNA 的位点变异分析结果显示,全序列共有 2 712 个变异位点,其中简约变异位点有 594 个,占总数的 21.90%,非简约变异位点有 2 115 个,占总数的 77.99%。

### 2.2 4 种光唇鱼线粒体中编码蛋白质的基因

4 种光唇鱼属鱼类线粒体中编码蛋白质的基因

均包含了 3 802 个密码子,编码 20 种氨基酸 (表 3)。其中编码亮氨酸 (Leu) 的密码子使用频率最高 (12.14%),包括 UUA、UUG、CUU、CUC、CUA 和 CUG 6 种密码子,而色氨酸 (Trp) 的密码子使用频率最低 (1.05%),仅包括 UGG 这一种密码子 (图 2、表 3)。表 3 中粗体字显示同义密码子中编码同种氨基酸的偏好密码子,其同义密码子相对使用度 (RSCU) 均大于或等于 1,表明所有编码蛋白质的基因密码子的使用都存在着偏好性。并且,第三位为 A 的密码子的 RSCU 几乎都大于 1.00,表明这种密码子的使用频率较高。

对 4 种光唇鱼属鱼类线粒体中编码蛋白质的基因进行比较分析,结果表明,4 种光唇鱼属鱼类的 *CO I* 基因均以 GTG 为起始密码子,厚刺光唇鱼的 *ND2* 基因以 ATC 为起始密码子,侧条光唇鱼和厚刺光唇鱼的 *ND3* 基因以 GTG 为起始密码子,其余基因均以 ATG 为起始密码子。4 种光唇鱼属鱼类线粒体中编码蛋白质的基因终止密码子一致,其中 7 种编码蛋白质的基因终止密码子为不完整的终止密码子 (终止密码子为 T 的基因: *ND2*、*CO II*、*ND3*、*ND4*、*Cyt b*; 终止密码子为 TA 的基因: *ATPase 6*、*CO III*),另外 6 种为完整终止密码子 (*ATPase 8* 的终止密码子为 TAG,其余终止密码子为 TAA)。

### 2.3 4 种光唇鱼属鱼类线粒体中编码 RNA 的基因

4 种光唇鱼属鱼类线粒体中有 22 个编码 tRNA 的基因,长度为 67~77 bp;除厚刺光唇鱼的 *tRNA<sup>Leu</sup>* 基因长度 (UUA) 与其他 3 种光唇鱼不同,4 种光唇鱼的其余 tRNA 基因序列和长度基本一致,相似度较高。通过 tRNAscan-SE 2.0 软件预测 4 种光唇鱼编码的 tRNA 的二级结构,除 *tRNA<sup>Ser</sup>* (AGC) 基因编码的 tRNA 的 DHU 臂丢失外,其余的 tRNA 均具有典型三叶草结构<sup>[28]</sup>。4 种光唇鱼属鱼类 *12S rRNA* 基因长度为 954~961 bp,其中吉首光唇鱼和侧条光唇鱼的 *12S rRNA* 基因长度均为 956 bp, *16S rRNA* 基因长度为 1 673~1 679 bp,厚刺光唇鱼和虹彩光唇鱼的 *16S rRNA* 基因长度均为 1 679 bp。

### 2.4 4 种光唇鱼线粒体 DNA 中控制区序列

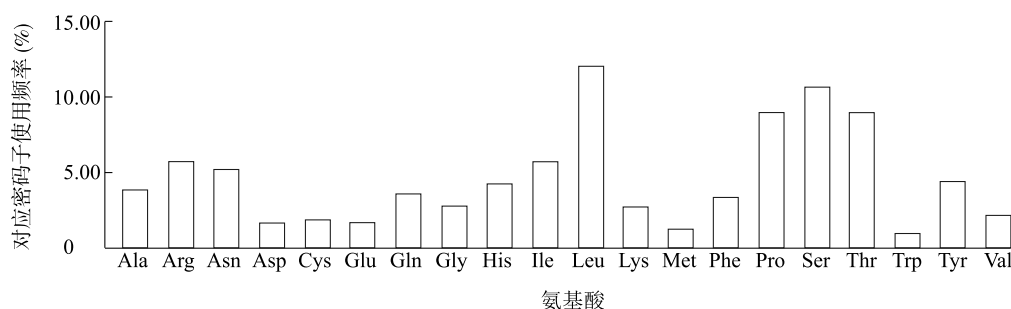
吉首光唇鱼和侧条光唇鱼线粒体 DNA 控制区长度均为 940 bp,虹彩光唇鱼线粒体 DNA 控制区长度为 934 bp,厚刺光唇鱼线粒体 DNA 控制区长度为 927 bp。分析 4 种光唇鱼属鱼类线粒体 DNA 控制区的碱基组成,发现其呈现出较高的 A+T 含量



表 2 4 种光唇鱼线粒体 DNA 组成

Table 2 Mitochondrial DNA composition of four *Acrossocheilus* species

基因/片段	位置(bp)			
	吉首光唇鱼 ( <i>Acrossocheilus jishouensis</i> )	侧条光唇鱼 ( <i>Acrossocheilus parallens</i> )	厚刺光唇鱼 ( <i>Acrossocheilus spinifer</i> )	虹彩光唇鱼 ( <i>Acrossocheilus iridescens</i> )
<i>tRNA<sup>Phe</sup></i>	1~69	1~69	1~69	1~69
<i>12S rRNA</i>	70~1 025	70~1 025	70~1 028	70~1 030
<i>tRNA<sup>Val</sup></i>	1 026~1 097	1 026~1 097	1 029~1 100	1 031~1 102
<i>16S rRNA</i>	1 098~2 770	1 098~2 773	1 101~2 783	1 103~2 781
<i>tRNA<sup>Leu</sup></i>	2 771~2 846	2 774~2 849	2 784~2 859	2 782~2 857
<i>ND1</i>	2 848~3 822	2 851~3 825	2 861~3 835	2 858~3 832
<i>tRNA<sup>Ile</sup></i>	3 827~3 898	3 830~3 901	3 840~3 911	3 838~3 909
<i>tRNA<sup>Gln</sup></i>	3 897~3 967	3 900~3 970	3 910~3 980	3 908~3 978
<i>tRNA<sup>Met</sup></i>	3 970~4 038	3 973~4 041	3 983~4 051	3 982~4 050
<i>ND2</i>	4 039~5 083	4 042~5 086	4 052~5 096	4 051~5 095
<i>tRNA<sup>Trp</sup></i>	5 084~5 154	5 087~5 157	5 097~5 167	5 096~5 166
<i>tRNA<sup>Ala</sup></i>	5 157~5 225	5 160~5 228	5 170~5 238	5 169~5 237
<i>tRNA<sup>Asn</sup></i>	5 227~5 299	5 230~5 302	5 240~5 312	5 239~5 311
<i>tRNA<sup>Cys</sup></i>	5 333~5 399	5 336~5 402	5 346~5 412	5 344~5 410
<i>tRNA<sup>Tyr</sup></i>	5 399~5 469	5 402~5 472	5 412~5 482	5 410~5 480
<i>CO I</i>	5 471~7 021	5 474~7 024	5 484~7 034	5 482~7 032
<i>tRNA<sup>Ser</sup></i>	7 022~7 092	7 025~7 095	7 035~7 105	7 033~7 103
<i>tRNA<sup>Asp</sup></i>	7 096~7 167	7 099~7 170	7 107~7 178	7 107~7 178
<i>CO II</i>	7 182~7 872	7 185~7 875	7 193~7 883	7 195~7 885
<i>tRNA<sup>Lys</sup></i>	7 873~7 948	7 876~7 951	7 884~7 959	7 886~7 961
<i>ATPase 8</i>	7 950~8 114	7 953~8 117	7 961~8 125	7 963~8 127
<i>ATPase 6</i>	8 108~8 790	8 111~8 793	8 119~8 801	8 121~8 803
<i>CO III</i>	8 791~9 575	8 794~9 578	8 802~9 586	8 804~9 588
<i>tRNA<sup>Gly</sup></i>	9 576~9 647	9 579~9 650	9 587~9 658	9 589~9 660
<i>ND3</i>	9 648~9 996	9 651~9 999	9 659~10 007	9 661~10 009
<i>tRNA<sup>Arg</sup></i>	9 997~10 066	10 000~10 069	10 008~10 077	10 010~10 079
<i>ND4L</i>	10 067~10 363	10 070~10 366	10 078~10 374	10 080~10 376
<i>ND4</i>	10 357~11 737	10 360~11 740	10 368~11 748	10 370~11 750
<i>tRNA<sup>His</sup></i>	11 738~11 806	11 741~11 809	11 749~11 817	11 751~11 819
<i>tRNA<sup>Ser</sup></i>	11 807~11 875	11 810~11 878	11 818~11 886	11 820~11 888
<i>tRNA<sup>Leu</sup></i>	11 877~11 949	11 880~11 952	11 888~11 960	11 890~11 962
<i>ND5</i>	11 950~13 770	11 953~13 776	11 961~13 784	11 963~13 786
<i>ND6</i>	13 767~14 288	13 773~14 294	13 781~14 302	13 783~14 304
<i>tRNA<sup>Glu</sup></i>	14 289~14 357	14 295~14 363	14 303~14 371	14 305~14 373
<i>Cyt b</i>	14 364~15 504	14 370~15 510	14 378~15 518	14 380~15 520
<i>tRNA<sup>Thr</sup></i>	15 505~15 576	15 511~15 582	15 519~15 590	15 521~15 592
<i>tRNA<sup>Pro</sup></i>	15 576~15 645	15 582~15 651	15 590~15 659	15 592~15 661
控制区	15 646~16 591	15 652~16 595	15 660~16 594	15 662~16 585



Ala:丙氨酸; Arg:精氨酸; Asn:天冬酰胺; Asp:天冬氨酸; Cys:半胱氨酸; Glu:谷氨酸; Gln:谷氨酰胺; Gly:甘氨酸; His:组氨酸; Ile:异亮氨酸; Leu:亮氨酸; Lys:赖氨酸; Met:甲硫氨酸; Phe:苯丙氨酸; Pro:脯氨酸; Ser:丝氨酸; Thr:苏氨酸; Trp:色氨酸; Tyr:酪氨酸; Val:缬氨酸。

图2 4种光唇鱼线粒体DNA 13个编码蛋白质基因密码子使用频率

Fig.2 Codon usage frequency in thirteen mitochondrial protein-coding genes of four *Acrossocheilus* species

表3 4种光唇鱼线粒体DNA 13个编码蛋白质基因密码子使用频率

Table 3 Codon usage frequency in thirteen mitochondrial protein-coding genes of four *Acrossocheilus* species

密码子	使用次数	相对同义密码子使用频率	密码子	使用次数	相对同义密码子使用频率	密码子	使用次数	相对同义密码子使用频率	密码子	使用次数	相对同义密码子使用频率
UUU(F)	64.5	0.98	UCU(S)	78.3	1.15	UAU(Y)	91.5	1.06	UGU(C)	32.5	0.85
UUC(F)	66.8	1.02	UCC(S)	83.3	1.22	UAC(Y)	81.5	0.94	UGC(C)	44.0	1.15
UUA(L)	87.3	1.13	UCA(S)	80.8	1.18	UAA(*)	90.0	1.22	UGA(*)	59.8	0.81
UUG(L)	60.8	0.79	UCG(S)	35.0	0.51	UAG(*)	72.3	0.98	UGG(W)	39.8	1.05
CUU(L)	77.5	1.01	CCU(P)	112.5	1.30	CAU(H)	83.0	0.99	CGU(R)	27.3	0.74
CUC(L)	61.3	0.80	CCC(P)	101.5	1.18	CAC(H)	84.0	1.01	CGC(R)	29.8	0.81
CUA(L)	118.8	1.54	CCA(P)	98.5	1.14	CAA(Q)	85.8	1.21	CGA(R)	29.0	0.79
CUG(L)	56.0	0.73	CCG(P)	32.8	0.38	CAG(Q)	56.0	0.79	CGG(R)	38.5	1.04
AUU(I)	91.0	1.23	ACU(T)	105.0	1.21	AAU(N)	103.8	1.02	AGU(S)	52.0	0.76
AUC(I)	71.8	0.97	ACC(T)	97.3	1.13	AAC(N)	99.5	0.98	AGC(S)	80.5	1.18
AUA(I)	58.5	0.79	ACA(T)	110.0	1.27	AAA(K)	75.8	1.41	AGA(R)	44.5	1.21
AUG(M)	53.0	1.00	ACG(T)	33.5	0.39	AAG(K)	31.8	0.59	AGG(R)	52.3	1.42
GUU(V)	23.5	1.07	GCU(A)	30.5	0.81	GAU(D)	30.5	0.92	GGU(G)	14.3	0.52
GUC(V)	20.3	0.92	GCC(A)	65.8	1.74	GAC(D)	35.8	1.08	GGC(G)	28.0	1.02
GUA(V)	25.5	1.16	GCA(A)	46.5	1.23	GAA(E)	37.8	1.11	GGA(G)	34.5	1.26
GUG(V)	19.0	0.86	GCG(A)	8.0	0.21	GAG(E)	30.0	0.89	GGG(G)	33.0	1.20

密码子后()内的字母表示各对应氨基酸的简写, A:丙氨酸; R:精氨酸; N:天冬酰胺; D:天冬氨酸; C:半胱氨酸; E:谷氨酸; Q:谷氨酰胺; G:甘氨酸; H:组氨酸; I:异亮氨酸; L:亮氨酸; K:赖氨酸; M:甲硫氨酸; F:苯丙氨酸; P:脯氨酸; S:丝氨酸; T:苏氨酸; W:色氨酸; Y:酪氨酸; V:缬氨酸; \*表示终止密码子; 粗体字表示同义密码子中编码同种氨基酸的偏好密码子。

## 2.5 鲃亚科鱼类系统发育分析

基于23种鲃亚科鱼类线粒体DNA的13种编码蛋白质的基因序列,采用NJ法构建系统发育树,图3显示,所有物种可以大致划分为2个支系,其中支系I又可以划分为包含光唇鱼属鱼类的A、C亚支系和包含白甲鱼属鱼类的B亚支系。支系II包括其他属的鱼类。本研究4种光唇鱼均分布于A亚支系,其中侧条光唇鱼先与半刺光唇鱼聚成一支,

再与吉首光唇鱼聚为一个小分支;厚刺光唇鱼先与窄条光唇鱼聚成一支,再依次与北江光唇鱼、武夷光唇鱼聚为一个小分支;虹彩光唇鱼则先与长鳍光唇鱼聚成一支,再与台湾光唇鱼聚为一个分支,所有支持率均为100%。结果表明,侧条光唇鱼与半刺光唇鱼、吉首光唇鱼的亲缘关系较近,厚刺光唇鱼与窄条光唇鱼的亲缘关系较近,虹彩光唇鱼则与长鳍光唇鱼的亲缘关系较近。本研究4种光唇鱼中,与侧



聚腺苷酸化作用形成完整的密码子 TAA,从而终止转录<sup>[36]</sup>。

4种光唇鱼属鱼类的22个*tRNA*基因中,除了*tRNA<sup>Gln</sup>*、*tRNA<sup>Ala</sup>*、*tRNA<sup>Asn</sup>*、*tRNA<sup>Cys</sup>*、*tRNA<sup>Tyr</sup>*、*tRNA<sup>Ser</sup>*、*tRNA<sup>Glu</sup>*和*tRNA<sup>Pro</sup>*位于L链外,其余14个*tRNA*基因均位于H链上,这与硬骨鱼类线粒体DNA分析结果<sup>[37]</sup>一致。此外,这些*tRNA*基因中,存在一定量的G-U碱基错配,这种现象在多数物种中都有存在,可通过RNA编辑被修复,并不影响氨基酸转运,因此这样的碱基错配情况也可能是线粒体DNA中*tRNA*基因的独特碱基配对情况<sup>[31]</sup>。4种光唇鱼属鱼类的*rRNA*基因在线粒体DNA上的起始位置一致,但存在长度差异。吉首光唇鱼和侧条光唇鱼的12S*rRNA*基因长度相等,与厚刺光唇鱼和虹彩光唇鱼分别相差2bp和5bp;厚刺光唇鱼和虹彩光唇鱼的16S*rRNA*基因长度相等,与吉首光唇鱼和侧条光唇鱼分别相差6bp和3bp。这可能是4种光唇鱼自身进化演变形成的特性,其位置和长度与温州光唇鱼、克氏光唇鱼、墨脱新光唇鱼基本一致,体现出*rRNA*基因的保守性<sup>[29-31]</sup>。

控制区受进化选择压力较大,其进化速率明显大于线粒体DNA其他组分,在不同鱼类中的差异程度较大,因此被广泛用于探讨种内及种间的物种进化分析<sup>[38]</sup>。4种光唇鱼属鱼类的线粒体控制区位于*tRNA<sup>Phe</sup>*基因和*tRNA<sup>Pro</sup>*基因之间,是线粒体DNA中差异最大的区域,其碱基组成表现出明显的A、T倾向性,有利于控制区基因变异和进化。并且,4种光唇鱼属鱼类均识别出符合刘焕章<sup>[39]</sup>提出的ETAS序列通式,还识别出中央保守区和保守序列区。中央保守区包括3段序列(CSB-F、CSB-E、CSB-D),其中CSB-D序列最保守,在4种光唇鱼属鱼类中基本一致。在保守序列区中,除CSB-2序列在4种光唇鱼属鱼类中保持一致之外,CSB-1序列和CSB-3序列在4种光唇鱼属鱼类之间均存在一定的差异。控制区序列的差异,可以体现出种群的演化情况,因此适合于群体进化趋势研究<sup>[40]</sup>。

基于线粒体DNA13种编码蛋白质基因构建的系统发育树,光唇鱼属不是一个单系类群,其中体侧具有垂直条纹的光唇鱼聚成一个分支(亚支系A),体侧无垂直条纹的宽口光唇鱼和云南光唇鱼聚成另一分支(亚支系C),两个小分支与白甲鱼属的亚支B共同聚成支系I,这与薛艳洁等<sup>[9]</sup>利用线粒体

CO II基因和D-loop区碱基序列所获得的结果基本一致,符合Kottelat<sup>[5]</sup>提出的狭义光唇鱼分类的观点。本研究的4种光唇鱼属鱼类中,侧条光唇鱼与吉首光唇鱼的亲缘关系最近,虹彩光唇鱼与其他3种光唇鱼亲缘关系最远,这与杨杨等<sup>[30]</sup>的研究结果基本一致。厚刺光唇鱼曾被鉴定为温州光唇鱼,本研究中,厚刺光唇鱼与温州光唇鱼处于不同的分支,表明2种光唇鱼不是同一物种,符合袁乐洋<sup>[4]</sup>将厚刺光唇鱼作为一个新种的观点。

## 4 结论

本研究测定了4种光唇鱼属鱼类线粒体基因组,其线粒体DNA序列全长16585~16595bp,包含13个编码蛋白质基因、2个编码*rRNA*基因、22个编码*tRNA*基因和1个非编码控制区。8个*tRNA*基因和ND6基因位于轻链,其余基因位于重链;在13种编码蛋白质基因中,厚刺光唇鱼的ND2基因的起始密码子为ATC,侧条光唇鱼和厚刺光唇鱼的ND3基因的起始密码子为GTG,4种光唇鱼的其余基因起始密码子均为ATG,而终止密码子共有4种类型(TAA、TAG、TA和T);22种*tRNA*基因中,*tRNA<sup>Ser</sup>*缺少DHU臂,其余具有典型三叶草结构。控制区变异较大,可识别出终止序列区、中央保守区和保守序列区。系统发育树分析结果显示,光唇鱼属鱼类分为2个分支;侧条光唇鱼与吉首光唇鱼亲缘关系最近,与虹彩光唇鱼亲缘关系最远。

## 参考文献:

- [1] 中国科学院中国动物志委员会,乐佩琦.中国动物志:鲤形目(下卷)[M].北京:科学出版社,2000.
- [2] FROESE R, PAULY D. FishBase. World Wide Web electronic publication [EB/OL]. (2010-11-03) [2024-09-25]. <http://www.fishbase.org>.
- [3] 李强,黄文炜,彭苏汉,等.基于线粒体CO I基因的DNA条形码在光唇鱼属鱼类系统分类中的应用[J].安徽农学通报,2023,29(16):51-55.
- [4] 袁乐洋.中国光唇鱼属鱼类的分类整理[D].南昌:南昌大学,2005.
- [5] KOTTELAT M. Freshwater fishes of northern Vietnam[M]. Washington: World Bank, 2001.
- [6] 伍律.贵州鱼类志[M].贵阳:贵州人民出版社,1989.
- [7] 郭新红,刘少军,刘巧,等.鱼类线粒体DNA研究新进展[J].遗传学报,2004,31(9):983-1000.
- [8] 王荣达,张琰,郝信鹏,等.基于DNA条形码的武夷光唇鱼

- 物种有效性[J]. 上海海洋大学学报, 2022, 31(4): 858-864.
- [9] 薛艳洁, 潘娜, 李明云. 基于线粒体 *CO II* 基因和 D-loop 区序列对江西安南光唇鱼 (*Acrossocheilus*) 物种鉴定及系统发育位置分析[J]. 生物学杂志, 2019, 36(1): 25-28.
- [10] 周华兴, 胡玉婷, 段国庆, 等. 基于线粒体细胞色素 *b* 基因序列的新安江流域温州光唇鱼群体遗传研究[J]. 渔业科学进展, 2019, 40(2): 43-50.
- [11] 凌俊, 江河, 段国庆, 等. 黄山回溪河养殖光唇鱼全人工繁殖技术研究[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(30): 105-107.
- [12] 华泽祥, 陈俊, 石永伦, 等. 云南光唇鱼的人工繁殖和胚胎发育观察[J]. 水产科技情报, 2017, 44(2): 69-72.
- [13] 黄雅贞, 叶赣明, 刘德亭, 等. 光唇鱼仿生态繁育与健康养殖技术[J]. 中国水产, 2022(3): 86-89.
- [14] 杨春英, 刘良国, 杨品红, 等. 吉首光唇鱼形态特征和染色体核型分析[J]. 淡水渔业, 2014, 44(2): 9-13.
- [15] 李红敬, 李晓风, 吕萃, 等. 侧条光唇鱼的年轮特征[J]. 信阳师范学院学报(自然科学版), 2016, 29(1): 57-61.
- [16] 颀志刚, 鲁纪刚. 光周期和红光对光唇鱼卵巢发育和机体氧化应激状态的影响[J]. 渔业研究, 2018, 40(2): 111-119.
- [17] WEI W B, HE J M, YAQOOMB A, et al. Integrated mRNA and miRNA expression profile analysis of female and male gonads in *Acrossocheilus fasciatus*[J]. Biology, 2022, 11(9): 1296.
- [18] LIU G D, SHENG Z, HOU C C, et al. Molecular cloning, characterization and expression analysis of metallothionein in the liver of the teleost *Acrossocheilus fasciatus* exposed to cadmium chloride[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2017, 53: 1-9.
- [19] 何景鸿. 低氧胁迫对光唇鱼幼鱼生理生化以及相关基因表达的影响[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2022.
- [20] XIE Y G, CHEN D X, NIU Y D, et al. Characterization the mitochondrial genome of *Acrossocheilus labiatus* (Cypriniformes, *Acrossocheilus*) and its phylogeny[J]. Mitochondrial DNA Part B, Resources, 2019, 4(2): 2396-2397.
- [21] 胡玉婷, 江河, 段国庆, 等. 基于线粒体 *Cyt b* 基因的皖南山区温州光唇鱼种群遗传结构[J]. 中国农学通报, 2017, 33(32): 121-126.
- [22] 张翠萍, 林健烽, 赖星星, 等. 北江流域侧条光唇鱼 (*Acrossocheilus parallens*) 的遗传多样性及核型分析[J]. 广州大学学报(自然科学版), 2023, 22(1): 78-85.
- [23] BURLAND T G. DNASTAR's Lasergene sequence analysis software[J]. Methods in Molecular Biology, 2000, 132: 71-91.
- [24] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. Molecular Biology and Evolution, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [25] DONATH A, JÜHLING F, AL-ARAB M, et al. Improved annotation of protein-coding genes boundaries in metazoan mitochondrial genomes[J]. Nucleic Acids Research, 2019, 47(20): 10543-10552.
- [26] CHAN P P, LOWE T M. tRNAscan-SE searching for tRNA genes in genomic sequences[J]. Methods in Molecular Biology, 2019, 1962: 1-14.
- [27] 樊龙江. 生物信息学[M]. 2版. 北京: 科学出版社, 2021: 124-147.
- [28] PAK D, ROOT-BERNSTEIN R, BURTON Z F. tRNA structure and evolution and standardization to the three nucleotide genetic code[J]. Transcription, 2017, 8(4): 205-219.
- [29] 杨培灿, 韩学凯, 张驰. 墨脱新光唇鱼线粒体全基因组测序与系统发育分析[J/OL]. 基因组学与应用生物学, 2024. (2024-12-24). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1369.Q.20241223.1351.002.html>.
- [30] 杨杨, 宋小晶, 唐文乔, 等. 克氏光唇鱼线粒体基因组测定及光唇鱼属的系统发育分析[J]. 动物学杂志, 2018, 53(2): 207-219.
- [31] 贾永义, 蒋文枰, 顾志敏. 温州光唇鱼线粒体基因组结构及系统发育分析[J]. 上海海洋大学学报, 2014, 23(1): 22-30.
- [32] 刘红艳, 余来宁, 张繁荣. 鱼类线粒体 DNA 控制区的分子结构及应用进展[J]. 水利渔业, 2008, 28(2): 4-8.
- [33] 陈涛. 麦穗鱼 (*Pseudorasbora parva*) 线粒体基因组序列测定及分析[D]. 西安: 陕西师范大学, 2010.
- [34] ZARDOYA R, MALAGA-TRILLO E, VEITH M, et al. Complete nucleotide sequence of the mitochondrial genome of a salamander, *Mertensiella luschani*[J]. Gene, 2003, 317: 17-27.
- [35] SATOH T P, MIYA M, MABUCHI K, et al. Structure and variation of the mitochondrial genome of fishes[J]. BMC Genomics, 2016, 17(1): 719.
- [36] ANDERSON S, BANKIER A T, BARRELL B G, et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome[J]. Nature, 1981, 290(5806): 457-465.
- [37] 陈四海, 区又君, 李加儿. 鱼类线粒体 DNA 及其研究进展[J]. 生物技术通报, 2011, 27(3): 13-20.
- [38] 乔慧莹. 基于线粒体基因序列分析裂腹鱼亚科的系统进化关系及中国沿海银鲴群体的遗传结构[D]. 上海: 上海海洋大学, 2014.
- [39] 刘焕章. 鱼类线粒体 DNA 控制区的结构和进化: 以鳊鱼为例[J]. 自然科学进展, 2002, 12(3): 266-270.
- [40] ROSEL P E, HAYGOOGD M G, PERRIN W F. Phylogenetic relationships among the true porpoises (Cetacea: Phocoenidae)[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 1995, 4(4): 463-474.

(责任编辑: 陈海霞)