

# Cyt b和12S rRNA基因条形码在灯笼鱼科鱼类物种鉴定中的应用



刘乙蒙<sup>1</sup>, 刘洋<sup>1,2,3,4,5</sup>, 刘必林<sup>1,2,3,4,5</sup>, 俞晔伟<sup>1</sup>, 宋成辉<sup>1</sup>, 王丛丛<sup>1,2,3,4,5\*</sup>

1. 上海海洋大学 海洋科学学院, 上海 201306;
2. 大洋渔业资源可持续开发教育部重点实验室, 上海 201306;
3. 国家远洋渔业工程技术研究中心, 上海 201306;
4. 农村农业部大洋渔业开发重点实验室, 上海 201306;
5. 农村农业部大洋渔业资源环境科学观测实验站, 上海 201306

Corresponding author: ccwang@shou.edu.cn



## Introduction

灯笼鱼科 (Myctophidae) 鱼类包含34属225种。在世界各大洋广泛分布, 主要分布于大洋的中深层, 具有垂直迁移的生活特性。灯笼鱼是大洋高经济价值鱼类的重要食物来源, 位于大洋食物网的中态位, 起着重要的生态作用。灯笼鱼由于个体较小, 经济价值较低, 全球范围体系化的捕捞活动较少。随着高价值鱼类的过度捕捞, 灯笼鱼科鱼类作为西北太平洋海域优势种, 由于资源量大, 蛋白质含量高, 被人们逐渐重视。

传统的灯笼鱼科鱼类物种鉴定方法主要为形态学鉴定。分子生物学鉴定不依赖于样本的完整性, 可通过DNA对样本进行精确鉴定。细胞色素b基因 (Cytochrome b, *Cyt b*) 与12S rRNA基因属于DNA条形码, 是生物体内能够代表该物种的, 标准的、具有一定变异的、易扩增的DNA片段。

本研究基于*Cyt b*基因和12S rRNA基因对西北太平洋采集的56尾灯笼鱼科鱼类进行物种鉴定以及系统发育分析, 同时对这2种分子标记在灯笼鱼科鱼类物种鉴定的适用性进行探讨。

## Methods

本实验灯笼鱼样本依托于上海海洋大学“淞航”号科考船于2022年6-7月采集于西北太平洋海域, 共得56尾样本, 详细采样信息见图1。

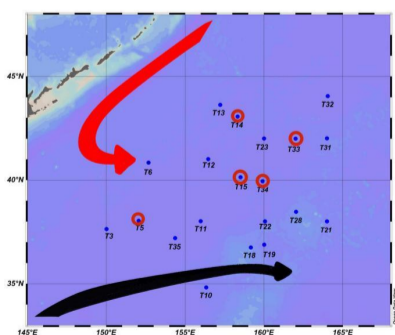


图1 站点图  
Fig.1. Site Infographic

选取*Cyt b*通用引物以及12S rRNA通用引物扩增线粒体DNA *Cyt b*、12S rRNA基因, 引物序列如表1。

表1引物序列  
Tab. 1 PCR primer sequence

DNA 条形码	引物名称	引物序列	目标产物长度 (bp)
Candidate barcodes	Primer name	Primer sequences	Amplicon length incl primers (bp)
12S rRNA	M13Li-F	5'-TGTAACACGACGGCCAGTGYCGGTA AAAAYTC GTGCCAG -3'	760 bp
	M13Li-R	5'-CAGGAAACAGCTATGACYCCAAGYGCACCTT CCGGTA -3'	
<i>Cyt b</i>	L14724	5'-GACTTGAAAACACCCGTTG -3'	480 bp
	H15149	5'-CCTCAGAAGGATATTGCTCC -3'	

使用NCBI Blast工具对所得样本序列进行物种鉴定。使用MEGA 7.0软件进行剪切比对, 统计基因序列以及相应核苷酸序列变异情况。使用K2P模型对灯笼鱼科鱼类*Cyt b*基因及12S rRNA基因的种内、种间以及属内、属间遗传距离进行计算, 并使用邻接法 (Neighbour-Joining, NJ) 构建分子系统进化树。

## Results

本研究中T33-1、T5-1、T14-8 3个样本最终鉴定结果为某背灯鱼属鱼类。此外缘来经形态学粗分为粗鳞灯笼鱼的样本是为粗鳞灯笼鱼 (图2- b) 与细泰勒灯笼鱼 (图2- a)。经形态学粗分为白皮灯笼鱼的样本是为长体标灯鱼 (图2- d) 与瓦氏角灯鱼 (图2- c)。形态学粗分为黑眼灯笼鱼的样本实为日本背灯鱼。整体上12S rRNA基因 (92.68% ~ 99.86%) 置信度高于*Cyt b*基因 (87.30% ~ 99.76%), 就分子鉴定结果而言12S rRNA基因在灯笼鱼科鱼类物种鉴定中置信度更高。

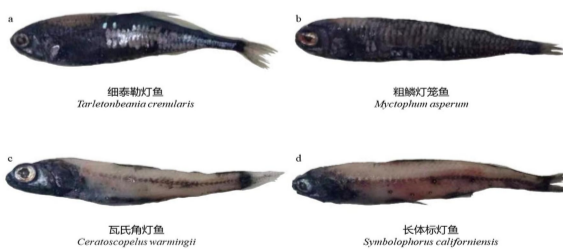


图2 灯笼鱼样本图片  
Fig.2 Sample photo of Myctophidae

表2 2种鱼类DNA条形码序列物种鉴定结果 (部分)  
Tab. 2 Species identification of candidate barcode sequences of two species

样本名称 Sample code	12S rRNA gene		<i>Cyt b</i> gene	
	比对结果 matched species	BLAST (%) similarity	比对结果 matched species	BLAST (%) similarity
T33-1	日本背灯鱼 <i>N. japonicus</i>	92.68	长体背灯鱼 <i>N. elongatus</i>	87.41
T33-2	瓦氏角灯鱼 <i>C. warmingii</i>	98.13	瓦氏角灯鱼 <i>C. warmingii</i>	94.07
T33-11	粗鳞灯笼鱼 <i>M. asperum</i>	99.57	粗鳞灯笼鱼 <i>M. asperum</i>	98.82
T15-3	细泰勒灯笼鱼 <i>T. cremularis</i>	99.00	细泰勒灯笼鱼 <i>T. cremularis</i>	99.32
T5-10	长体标灯鱼 <i>S. californiensis</i>	99.42	长体标灯鱼 <i>S. californiensis</i>	97.95
T14-15	日本背灯鱼 <i>N. japonicus</i>	99.86	日本背灯鱼 <i>N. japonicus</i>	97.71

在12S rRNA基因中, 种间平均遗传距离是种内遗传距离的26倍。在*Cyt b*基因中, 种间的平均遗传距离为种内遗传距离的25倍。

由图3可得*Cyt b*基因与12S rRNA基因均存在明显的条形码间隙, 不存在重叠区, 以证实各物种的有效性。

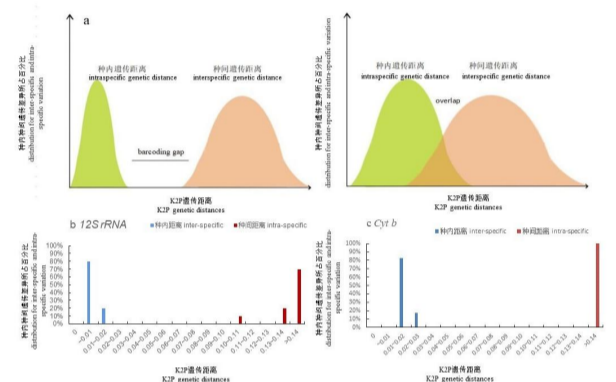


图3 不同DNA条形码候选序列遗传距离分析图  
Fig.3 Genetic distance distribution of different DNA candidate bar codes

基于*Cyt b*和12S rRNA基因序列的NJ进化树自测序列结果基本一致, 同种个体均先聚集成为一个单系, 且具有较高的支持率。12S rRNA基因绘制的NJ进化树中, 本研究所得序列与NCBI数据库中同种灯笼鱼序列并未聚为一支, 而是分为两个大支。

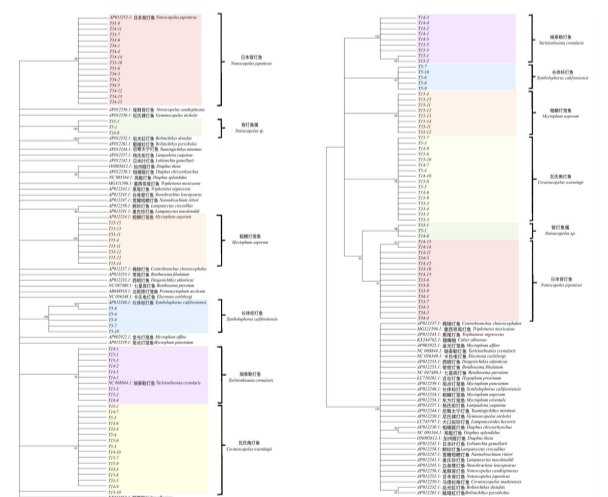


图4 基于*Cyt b*基因的灯笼鱼科鱼类NJ进化树  
Fig.4 NJ tree based on *Cyt b* sequence of Myctophidae

图5 基于12S rRNA基因的灯笼鱼科鱼类NJ进化树  
Fig.5 NJ tree based on 12S rRNA sequence of Myctophidae

## Conclusion

- 12S rRNA基因与*Cyt b*基因均能有效对灯笼鱼科鱼类进行物种鉴定。
- *Cyt b*基因更适用于研究灯笼鱼科鱼类系统进化关系。