

巨鲇线粒体 12S *rRNA* 和 16S *rRNA* 基因克隆及多态性分析^①

杜 民^{1,2}, 牛宝珍^{1,2}, 贾梦应^{1,2}, 刘艳红^{1,2}, 艾加林^{1,2}

1. 红河学院 云南省高校农作物优质高效栽培与安全控制重点实验室, 云南 蒙自 661199;

2. 红河学院 生命科学与技术学院, 云南 蒙自 661199

摘要: 运用酚-氯仿方法提取 12 尾采集于云南省境内河口县的巨鲇 DNA, 利用 GenBank 中鲇科种类设计特异性引物进行 PCR 扩增和克隆, 利用 DNAMAN 软件进行序列比对以及采用软件 MEGA 4.0 来分析巨鲇的碱基含量、遗传距离和系统进化树。结果显示: ① 得到 954 bp 的 12S *rRNA* 基因序列和 535 bp 的 16S *rRNA* 基因序列各 12 条; ② 12 尾巨鲇的 12S *rRNA* 基因、16S *rRNA* 基因以及 12S *rRNA* 基因和 16S *rRNA* 的合并基因序列的相似性分别为 99.89%, 99.95%, 99.89%; ③ 12 尾巨鲇的 12S *rRNA*, 16S *rRNA* 均表现出 A+T 碱基含量高于 G+C 碱基含量; ④ 12 尾巨鲇的平均遗传距离为 0.002, 转换比颠换的平均值为 3.065; ⑤ 利用 Neighbor-Joining(NJ)法构建的系统进化树表明鲇属单独成一支, 支持率达到 99%, 这一结果与传统的形态学分类基本相似。

关键词: 巨鲇; 12S *rRNA* 基因; 16S *rRNA* 基因; 系统进化

中图分类号: Q959.4

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2017)05-0083-07

巨鲇 *Bagarius yarrelli* Sykes 属于脊椎动物亚门 Vertebrate, 硬骨鱼纲 Teleostei, 鲇形目 Siluriformes, 鲇科 Sisoridae, 鲇属 *Bagarius*。因肌肉呈黄色, 俗称“面瓜鱼”、“黄鱼”, 在中国仅分布于云南省境内的澜沧江、怒江、元江水系, 个体可超过 50 kg^[1]。巨鲇与其他鱼类相比, 一般捕食小型水生动物^[2-3]。其肉质风味独特, 深受云南版纳、普洱、河口和保山等地人民的喜爱。云南省渔业科学研究院成功地进行了人工繁殖^[4]。

近年来, 鱼类线粒体基因中的 12S *rRNA* 基因和 16S *rRNA* 基因被用来进行鱼类的遗传多样性分析等^[5]对东方鲃属鱼类的 *Cytb* 和 12S *rRNA* 基因的序列变异情况进行了研究; 程国宝等^[6]对梭鱼和鲮鱼的 16S *rRNA* 和 COI 基因序列进行了比较分析; 唐优良等^[7]利用 12S *rRNA* 基因对 8 种笛鲷科鱼类的系统进化进行了分析; 童馨等^[8]对黄姑鱼的 16S *rRNA* 基因序列特征进行了分析, 王茜等^[9]利用 16S *rRNA* 基因研究了尖塘鳢属鱼类的系统进化关系。本文通过对 12 尾鲇属巨鲇的 12S *rRNA*, 16S *rRNA* 进行测序, 序列结果与 GenBank 里的近缘鱼类进行同源性比较, 为阐明巨鲇的遗传结构, 并进一步开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

用于本实验研究的材料来源于云南省河口县采集的 12 条巨鲇, 从每条鱼身上剪取适量的肌肉组织放

① 收稿日期: 2016-09-18

基金项目: 国家自然科学基金(31360638); 云南省教育厅科学研究基金重大专项项目(ZD2013009); 云南省中青年学术带头人后备人才项目(2015HB087); 红河学院中青年学术带头人后备人才项目(2014HB0203); 红河学院博士专项项目(14bs11)。

作者简介: 杜 民(1974-), 男, 湖北枣阳人, 博士, 副教授, 主要从事水生生物技术与资源研究。

通信作者: 刘艳红, 教授。

入 EP 管中,加入无水乙醇,做好标签后保存于−4 ℃冰箱中.

1.2 实验方法

采用杜民等^[10]的方法提取巨鲈基因组 DNA. 利用琼脂糖凝胶电泳,在凝胶成像系统下用紫外光照射进行 DNA 检测,并拍照记录.

1.3 巨鲈 12S rRNA 基因和 16S rRNA 基因引物设计

从 GenBank 中已经发表的鲢科鱼类的线粒体序列,在保守区采用 Primer Premier 5 软件设计巨鲈特异的 12S rRNA 和 16S rRNA 引物共计 4 对(表 1)^[11].

表 1 巨鲈 12S rRNA 基因和 16S rRNA 基因扩增所用引物列表

引物名称	序列(5'-3')
Baya 16F	CACACATCHAAACAACAAGGHA
Baya 16R	GGTGTGGCRTAGCAAGGCGTC
Baya 17F	TTATACATGCAAGTATCCGCA
Baya 17R	TAAGCTAGCTGTTTRGCTCAGG
Baya 18F	TTGAATTAGGCTCTGAGACG
Baya 18R	TACACGTAGGCTTGGAGAAGG
Baya 1F	CCTTCTCCAAGCCTACGTGTA
Baya 1R	GATAGAACTGACCTGGATTGCT

1.4 巨鲈 12S rRNA 基因和 16S rRNA 基因的 PCR 扩增及检测

巨鲈 12S rRNA 和 16S rRNA 基因的扩增在 PCR 扩增仪上进行. 其反应体系见表 2.

表 2 巨鲈 12S rRNA 基因和 16S rRNA 基因扩增的 PCR 反应体系

试剂名称	体积/ μL	试剂名称	体积/ μL
2×Taq PCR MasterMix	25	DNA(80 ng/ μL)	2.0
正向引物(10 pmol/ μL)	2.0	双蒸水	19
负向引物(10 pmol/ μL)	2.0	总体积	50.0

PCR 反应条件为 94 ℃预变性 4 min,然后 95 ℃变性 30 s,退火温度依引物而定,72 ℃延伸 90 s,共 34 个循环,最后 72 ℃延伸 6 min,4 ℃保存. 利用 1%的琼脂糖凝胶电泳在凝胶成像系统中照相并保存.

1.5 目的片段回收、连接、转化

将检测具有目的片段的 PCR 扩增产物,用 2%的琼脂糖凝胶电泳后在紫外分光光度仪中切下目的片段. 用 DNA 回收试剂盒回收,纯化后克隆到大肠杆菌(具体操作步骤参照回收试剂盒里的说明书).

1.6 单克隆检测及测序

挑取单克隆,在含氨苄青霉素的 LB 培养基中,37 ℃振荡培养过夜(14~16 h). 利用 M13 通用引物 M13(5'-CGCCAGGGTTTTCCTCCAGTCACGAC-3')和 RV-M(5'-AGCGGATAACAATTTTCACACAGG-3')进行菌液 PCR,筛选出阳性单克隆,送南京金丝瑞生物科技有限公司测序.

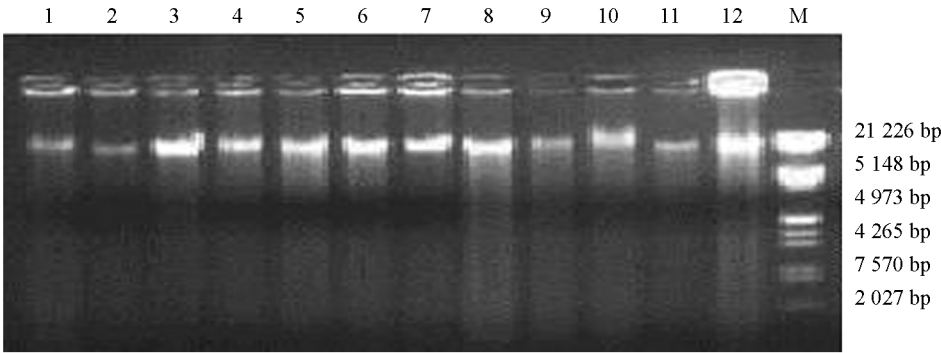
1.7 数据处理

处理后得到的 12 条序列与 GenBank 里查到的澜沧江巨鲈序列利用 DNAMAN 软件进行对比剪切,得到目的序列. 再利用 MEGA5.0^[12]软件里的 Kimura 2-Parameter 方法分析 12 尾巨鲈的 12S rRNA 基因和 16S rRNA 基因序列碱基含量、遗传距离;利用 MEGA5.0 软件里的 Neighbor-Joining(NJ)法建立 9 属 12 种鲢科鱼类的分子系统进化树.

2 结果与分析

2.1 DNA 检测图片

巨鲈基因组 DNA 的提取采用传统的酚-氯仿方法, λ DNA /Hind III 作为相对分子质量标准,提取的 DNA 片段在 21 226 bp 左右(图 1).

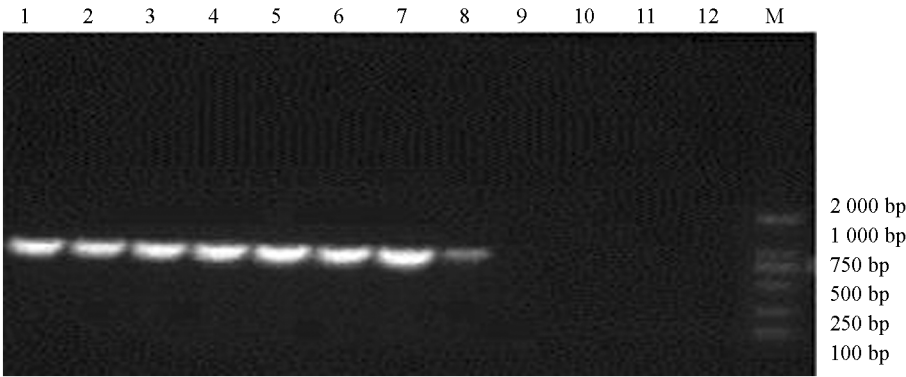


1—12 泳道为 12 尾巨鲉基因组 DNA, M. λ DNA /Hind III DNA 相对分子质量标准.

图 1 12 尾巨鲉基因组 DNA 检测结果

2.2 引物退火温度优化结果

本研究中 4 对引物的碱基含量不同, 退火温度不同. 以 Baya1F 和 Baya1R 引物对为例, 其梯度 PCR 的退火温度设为 12 个, 依次为 53 $^{\circ}\text{C}$, 53.5 $^{\circ}\text{C}$, 54.2 $^{\circ}\text{C}$, 55.1 $^{\circ}\text{C}$, 56.5 $^{\circ}\text{C}$, 57.7 $^{\circ}\text{C}$, 58.6 $^{\circ}\text{C}$, 59.9 $^{\circ}\text{C}$, 61.1 $^{\circ}\text{C}$, 62.1 $^{\circ}\text{C}$, 62.7 $^{\circ}\text{C}$, 63 $^{\circ}\text{C}$, 电泳检测结果见图 2.

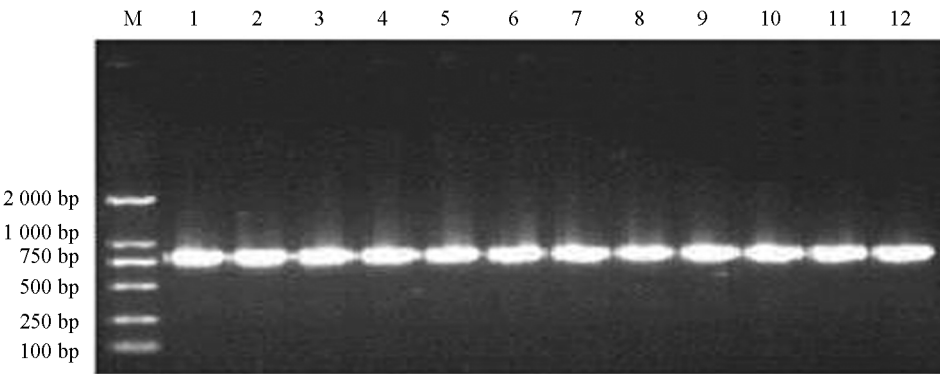


1—12 泳道为 Baya1F 和 Baya1R 引物对 12 个温度梯度优化结果, M. 2 000 bp DNA 相对分子质量标准.

图 2 Baya1F 和 Baya1R 引物对扩增目的片段退火温度优化结果

2.3 巨鲉 PCR 扩增结果

5 对巨鲉特异性引物对 12 条巨鲉的基因组 DNA 进行 PCR 扩增, Baya1F 和 Baya1R 引物对扩增结果见图 3, 12 个体扩增的目的片段位于 750 bp 左右(图 3).

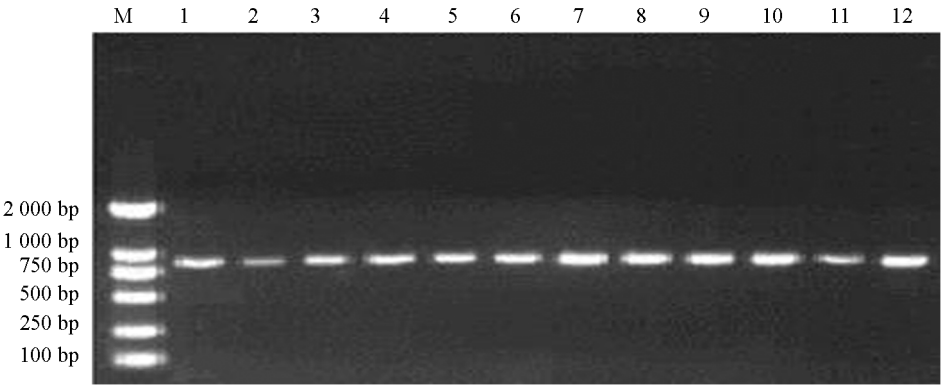


1—12 泳道为 Baya1F 和 Baya1R 引物对 12 个温度梯度优化结果, M. 2 000 bp DNA 相对分子质量标准.

图 3 Baya1F 和 Baya1R 引物对 12 尾巨鲉的 PCR 扩增目的片段的检测结果

2.4 目地片段回收、克隆

将巨鲉 12 个体 PCR 扩增结果得到的目的片段利用胶回收试剂盒进行回收, 然后连接到载体, 转化到感受态细胞进行扩大培养, 进行菌液 PCR 来筛选阳性克隆, Baya1F 和 Baya1R 引物对扩增目的片段胶回收结果见图 4.



1—12 泳道为 Baya1F 和 Baya1R 引物对 12 对尾巨鲇 PCR 扩增结果, M. 2 000 bp DNA 相对分子质量标准.

图 4 Baya1F 和 Baya1R 引物对 12 尾巨鲇 PCR 扩增目的片段回收结果

2.5 多样性分析结果

2.5.1 巨鲇 12S *rRNA* 与 16S *rRNA* 基因序列碱基组成及单倍型

扩增得到 12 条巨鲇的 12S *rRNA* 基因片段经序列比对, 长度为 954 bp. 得到 6 种单倍型, 其中 2 号、3 号、8 号、9 号个体具有相同的单倍型; 样品 6 号、7 号、10 号、12 号具有相同的单倍型. 在 6 种 12S *rRNA* 的单倍型中, 简约变异信息位点 1 个, 约占全部位点的 0.19%; 变异位点有 8 个, 约占全部位点的 0.8%; 保守位点 946 个, 约占全部位点的 99.1%; 碱基 T,C,A,G 的平均含量分别为 20.9%, 25.7%, 32.2% 和 21.2%, A+T 含量为 53.1%, 高于 G+C 含量为 46.9%(表 3). 扩增得到 12 条巨鲇的 16S *rRNA* 基因片段长度均为 535 bp, 得到 4 个单倍型, 其中 1 号、4 号、5 号、6 号、7 号、9 号、10 号、11 号、12 号具有相同的单倍型. 其中, 简约变异信息位点 0 个; 变异位点 10 个, 约占全部位点的 0.56%; 保守位点 532 个, 约占全部位点的 99.44%. 碱基 T,C,A,G 的平均含量分别为 20.6%, 22.6%, 38.3% 和 18.5%, A+T 含量为 58.9%, 高于 G+C 含量为 41.1%(表 4).

表 3 巨鲇 12S *rRNA* 基因序列碱基含量

个体编号	T/%	C/%	A/%	G/%	A+T/%	C+G/%	总共/bp
1	20.9	25.6	32.3	21.3	53.1	46.9	954
2/3/8/9	21.0	25.6	32.2	21.3	53.2	46.9	954
4	21.1	25.5	32.2	21.3	53.3	46.9	954
5	20.9	25.7	32.0	21.5	52.9	47.2	954
6/7/10/12	21.0	25.6	32.3	21.2	53.3	46.8	954
11	20.9	25.7	32.4	21.1	53.3	46.8	954
平均值	20.9	25.7	32.2	21.2	53.1	46.9	954

表 4 巨鲇 16S *rRNA* 基因序列碱基含量

个体编号	T/%	C/%	A/%	G/%	A+T/%	C+G/%	总共/bp
1//4/5/6/7/9/10/11/12	20.6	22.6	38.3	18.5	58.9	41.1	535
2	21.7	22.6	38.3	18.3	60.0	40.9	535
3	20.6	22.4	38.5	18.5	59.1	40.9	535
8	20.4	22.8	38.3	18.5	58.7	41.3	535
平均值	20.6	22.6	38.3	18.5	58.9	41.1	535

2.5.2 12 尾巨鲇的遗传距离比较

利用 MEGA 5.0 软件中的 Kimura 2-Parameter^[12] 基于 12S *rRNA* 基因+16S *rRNA* 基因序列计算 12 尾巨鲇之间的遗传距离, 获得 12 尾巨鲇的平均遗传距离为 0.002(表 5); 转换/颠换的平均值为 3.065.

表 5 基于 12S *rRNA* 基因+16S *rRNA* 基因序列计算 12 尾巨鲈的相对遗传距离

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1		3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065
2	0.002		3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065
3	0.002	0.002		3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065
4	0.002	0.002	0.002		3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065
5	0.003	0.003	0.003	0.003		3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065
6	0.002	0.002	0.002	0.002	0.003		3.065	3.065	3.065	3.065	3.065	3.065
7	0.002	0.002	0.002	0.002	0.003	0.000		3.065	3.065	3.065	3.065	3.065
8	0.001	0.001	0.001	0.001	0.003	0.001	0.001		3.065	3.065	3.065	3.065
9	0.001	0.001	0.001	0.001	0.003	0.001	0.001	0.000		3.065	3.065	3.065
10	0.002	0.002	0.002	0.002	0.003	0.000	0.000	0.001	0.001		3.065	3.065
11	0.003	0.003	0.003	0.003	0.005	0.002	0.002	0.003	0.003	0.002		3.065
12	0.002	0.002	0.002	0.002	0.003	0.000	0.000	0.001	0.001	0.000	0.002	

注：对角线以下为转换+颠换，对角线以上为转换/颠换。

2.5.3 分子系统进化树

本文利用邻接法(Neighbor-joining, NJ)基于 12S *rRNA* 和 16S *rRNA* 基因全序列对 12 种鮡科鱼类构建分子进化系统树(图 5).

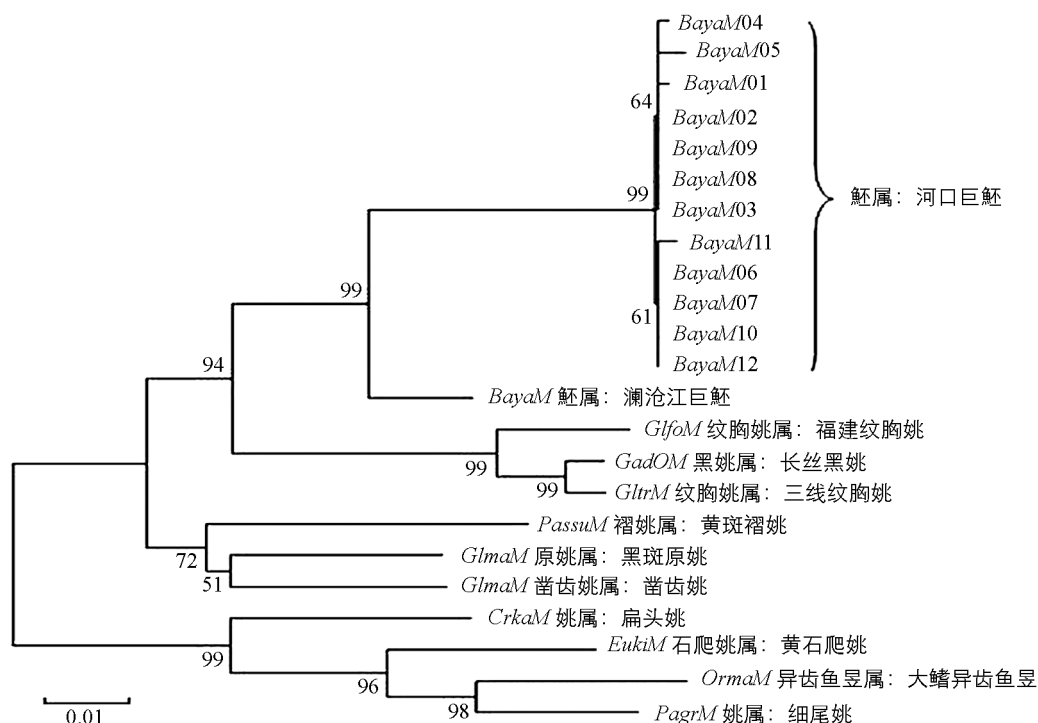


图5 基于12S *rRNA* 和16S *rRNA* 基因全序列构建的分子系统树

由 NJ 树可知, 12 种鮡科鱼类分成两大支: 即鮡属、石爬鮡属、异齿鱼晏属汇聚成一支, 支持率为 99%; 鲃属、黑鮡属、原鮡属、纹胸鮡属、褶鮡属、凿齿鮡属汇聚成一支. 黑鮡属与纹胸鮡属是姐妹群, 支持率达到 99%, 其中巨鲃单独成一支, 支持率达到 99%. 黑鮡属与纹胸鮡属汇聚成一支.

12 种鱼类的科名, 种属名见表 6, 其中河口巨鲇与澜沧江巨鲇属于鲇属, 细尾鲮和扁头鲮属于鲮属, 黑斑原鲮和原鲮属于原鲮属.

表 6 12 种鲢科鱼类的名称及登录号

种名	属名	登录号	简写
河口巨鲈 <i>Bagarius yarrelli</i> (Hekou)	鲈属 <i>Bagarius</i>		BayaM01-12
澜沧江巨鲈 <i>Bagarius yarrelli</i> (Lancangjiang)	鲈属 <i>Bagarius</i>	NC_021606	BayaM
长丝黑鲢 <i>Gagata dolichonema</i>	黑鲢属 <i>Gagata</i>	JQ026250	GadoM
三线纹胸鲢 <i>Glyptothorax trilineatus</i>	纹胸鲢属 <i>Glyptothorax</i>	NC_021608	GltrM
大鳍异齿鱼晏 <i>Oreoglanis macropterus</i>	异齿鱼晏属 <i>Oreoglanis</i>	NC_021607	OrmaM
黄斑褶鲢 <i>Pseudecheneis sulcata</i>	褶鲢属 <i>Pseudecheneis</i>	JQ026259	PssuM
扁头鲢 <i>Pareuchiloglanis kamengensis</i>	鲢属 <i>Pareuchiloglanis</i>	NC_021599	CrkaM
细尾鲢 <i>Pareuchiloglanis gracilicaudata</i>	鲢属 <i>Pareuchiloglanis</i>	NC_021603	PagrM
福建纹胸鲢 <i>Glyptothorax fokiensis</i>	纹胸鲢属 <i>Glyptothorax</i>	JQ917224	GlfoM
凿齿鲢 <i>Glaridoglanis andersonii</i>	凿齿鲢属 <i>Glaridoglanis</i>	NC_021600	GlanM
黄石爬鲢 <i>Euchiloglanis kishinouyei</i>	石爬鲢属 <i>Euchiloglanis</i>	NC_021598	EukiM
黑斑原鲢 <i>Glyptosternon maculatum</i>	原鲢属 <i>Glyptosternon</i>	NC_021597	GlmaM

3 讨 论

3.1 巨鲈的 12S rRNA 和 16S rRNA 基因序列的内部特征

实验中扩增得到 12 条巨鲈的 12S rRNA 基因片段长度为 954 bp. 序列比对得到同源序列 954 个位点. 其中简约变异信息位点 1 个, 约占全部位点的 0.1%; 变异位点 8 个, 约占全部位点的 0.8%; 保守位点 946 个, 约占全部位点的 99.1%. 扩增得到 12 条巨鲈的 16S rRNA 基因片段长度为 535 bp. 其中变异位点有 3 个, 约占全部位点的 0.56%; 保守位点 532 个, 约占全部位点的 99.44%; 简约变异信息位点 0 个. 由此可知, 两者具有较高的保守性.

12 条巨鲈的 12S rRNA 基因序列中 T,C,A,G 的平均含量分别为 20.9%,25.6%,32.2%和 21.2%; A+T 含量为 53.1%, G+C 含量为 46.9%; 12 条巨鲈的 16S rRNA 基因序列中 T,C,A,G 的平均含量分别为 20.6%,22.6%,38.3%和 18.5%, A+T 含量为 58.9%, G+C 含量为 41.1%. 以上数据中我们不难看出, 12S rRNA 基因和 16S rRNA 基因序列中都是 A+T 含量略高于 G+C 含量, 本研究的结果与程国宝等^[6]在梭鱼和鲮鱼中的研究结果相一致.

12 条巨鲈的 12S rRNA 序列及 16S rRNA 序列中分别出现了 6 种及 4 种单倍型, 童馨等^[8]在 100 尾黄姑鱼的 16S rRNA 序列中出现 2 种单倍型, 程国宝等^[6]在梭鱼及鲮鱼的 16S rRNA 序列中分别出现了 1 种及 2 种单倍型, 表明本研究巨鲈的遗传多样性稍微高于黄姑鱼, 梭鱼及鲮鱼群体.

3.2 9 属 12 种鲢科鱼类 12S rRNA 与 16S rRNA 合并基因的分子系统进化树分析

进行分子系统进化研究中, 邻接法(NJ)是最常用的方法^[13]. 由 NJ 树可知, 本研究中所有鲢科不同的种类分成两大分支: 即鲢属、石爬鲢属、异齿鱼晏属汇聚成一支, 支持率为 99%; 鲈属、黑鲢属、原鲢属、纹胸鲢属、褶鲢属、凿齿鲢属汇聚成一支. 黑鲢属与纹胸鲢属是姐妹群, 支持率达到 99%, 其中巨鲈单独成一支, 支持率达到 99%, 说明鲈属与其他属之间的亲缘关系可能较远. 黑鲢属与纹胸鲢属汇聚成一支, 它们亲缘关系可能较近. 亲缘关系较近的还可能是原鲢属与凿齿鲢属, 异齿鱼晏属与鲢属, 这与郭宪光^[14]等人的研究结果相一致.

参考文献:

[1] 田树魁, 薛晨江, 冷云, 等. 巨鲈的生物学特性初步研究 [J]. 水生态学杂志, 2009, 30(3): 115—117.
[2] 刘跃天, 田树魁, 冷云, 等. 野生巨鲈生物学特性研究 [J]. 现代农业科技, 2010(18): 302—303.
[3] 冷云, 田树魁, 刘跃天, 等. 巨鲈食性初步研究 [J]. 现代农业科技, 2011(19): 329—330.
[4] 薛晨江, 张正雄, 马建颜, 等. 巨鲈人工繁殖初报与胚胎发育观察 [J]. 水生态学杂志, 2012, 33(5): 54—56.
[5] 张玉波, 何舜平. 细胞色素 b 和 12S rRNA 基因序列变异与东方鲀属鱼类系统发育 [J]. 科学通报, 2007, 52(21): 2507—2516.
[6] 程国宝, 李三磊, 徐冬冬, 等. 梭鱼和鲮鱼线粒体 16S rRNA 和 CO I 基因片段的比较分析 [J]. 浙江海洋学院学报(自

然科学版), 2012, 31(2): 103—106.

[7] 唐优良, 章 群, 余帆洋, 等. 基于 12S *rRNA* 部分序列分析的中国 8 种笛鲷科鱼类系统发育初探 [J]. 海洋科学, 2011, 35(2): 22—26.

[8] 童 馨, 杜 博, 喻达辉, 等. 浅色黄姑鱼线粒体 16S *rRNA* 基因片段序列特征分析 [J]. 海洋水产研究, 2007, 28(2): 85—91.

[9] 王 茜, 齐兴柱, 骆 剑, 等. 尖塘鳢属鱼类线粒体 16S *rRNA* 基因序列变异及分子系统进化 [J]. 海南大学学报(自然科学版), 2009, 27(3): 245—251.

[10] 杜 民, 牛宝珍, 罗彩艳, 等. 巨鲃野生群体遗传多样性的 RAPD 分析 [J]. 淡水渔业, 2015, 45(1): 15—19.

[11] DU M, ZHOU C J, NIU B Z, et al. The Complete Mitochondrial Genome of the *Bagarius yarrelli* from Honghe River [C]. Shanghai: 2016 IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci., 2016.

[12] TAMURA K, PETERSON D, STECHER G, et al. MEGA5 Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Mmaximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods [J]. Molecular Biology and Evolution, 2011, 28(10): 2731—2739.

[13] 梁宏伟. 六种鲂形目鱼类线粒体基因组克隆及其系统发育研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2012.

[14] 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 [D]. 重庆: 西南师范大学, 2003.

Gene Cloning and Polymorphism Analysis of Mitochondrial 12S *rRNA* and 16S *rRNA* of *Bagarius yarrelli*

DU Min^{1,2}, NIU Bao-zhen^{1,2}, JIA Meng-ying^{1,2},
LIU Yan-hong^{1,2}, AI Jia-lin^{1,2}

1. Key Laboratory for Quality, Efficient Cultivation and Security Control of Crops in Colleges and Universities of Yunnan Province, Honghe University, Mengzi Yunnan 661199, China;
2. College of Life Science and Technology, Honghe University, Mengzi Yunnan 661199, China

Abstract: Twelve *Bagarius yarrelli* were collected from Hekou County in Yunnan Province, and their DNA was extracted with the phenol-chloroform method. Specific primers were designed according to the conservative region of 12S *rRNA* and 16S *rRNA* gene sequences of Sisoridae species deposited in GenBank, DNAMAN software was used to carry out sequence alignment analysis while MEGA 4.0 program was used to calculate the base content, genetic distance and phylogenetic tree of the fish. The results were as follows. ① Twelve sequences of 12S *rRNA* 954 bp in length and 12 sequences of 16S *rRNA* 535 bp long were obtained. ② Sequence homology between 12S *rRNA* gene, 16S *rRNA* gene and the total 12S *rRNA* + 16S *rRNA* of 12 samples were 99.89%, 99.95%, 99.89%, respectively. ③ The content of A base of the sequences of 12S *rRNA*, 16S *rRNA*, and 12S *rRNA* + 16S *rRNA* of the 12 *B. yarrelli* was high. ④ The average genetic distance of the 12 *B. yarrelli* was 0.002 while their average ratio of conversion and transversion was 3.065. ⑤ The phylogenetic tree constructed with the Neighbor-Joining (NJ) method demonstrated that *B. yarrelli* forms a separate category and the approval rating reached 99%, which was similar to the traditional morphological classification.

Key words: *Bagarius yarrelli* Sykes; 12S *rRNA*; 16S *rRNA*; phylogenetic evolution

责任编辑 夏 娟

