

从分子系统发生角度谈四足类的起源¹⁾

程 红

(北京大学生命科学院 北京 100871)

四足类是从叶状鳍鱼类 (Lobe-finned fishes, 即肉鳍鱼类) 进化而来的观点已得到人们普遍的承认, 这是比较形态学和进化形态学的一大成就。但一个多世纪以来却一直不能确定叶状鳍鱼类 (包括三个类群, 即绝灭的扇鳍鱼、空棘鱼和肺鱼) 中的哪一类更接近四足类, 这为深入研究脊椎动物如何从水生过渡到陆生这一问题带来障碍。

八十年代以前, 这一问题主要是古生物学家研究和讨论的课题。绝大部分学者认为已绝灭的扇鳍鱼类 (rhypidistian) 是四足类的祖先 (Jarvik 1980 等)。大约在 50 年前, 拉蒂迈鱼 (*Latimeria*, 又称矛尾鱼) 被发现, 这一代表已绝灭的空棘鱼类 (*Coelacanth*)、被称为总鳍鱼的活化石的发现似乎为探讨四足类祖先的问题带来了希望。然而拉蒂迈鱼缺少许多肺鱼和四足类所共有的解剖特征, 具有与鱼类相似的循环系统和典型的鱼类心脏结构, 缺少内鼻孔和肺脏等 (Meyer 等 1990, 表 2)。而肺鱼 (*Lungfish*) 自从它在 100 多年前被发现以来就一直是鱼类与四足类之间进化关系的争论焦点。一部分学者认为肺鱼应是四足类的祖先, 肺鱼与四足类之间在解剖学、生理学、胚胎学和行为学上有许多令人惊奇的相似 (Rosen 等 1981), 与扇鳍鱼类相比, 具有更多的近裔共性。1991 年, 我国古生物学家张弥曼提出颌口类系统发育图解, 指出扇鳍鱼类、肺鱼、可能还有空棘鱼共同构成的单系类群——肉鳍鱼类是四足类的姐妹群。这样, 对四足类祖先的争议多年来一直悬而未决。

由于拉蒂迈鱼的发现, 对四足类祖先的争议从化石的研究转移到对现生叶状鳍鱼类即空棘鱼和肺鱼 (现存南美肺鱼、非洲肺鱼、澳洲肺鱼三属) 的研究上。综观几十年的

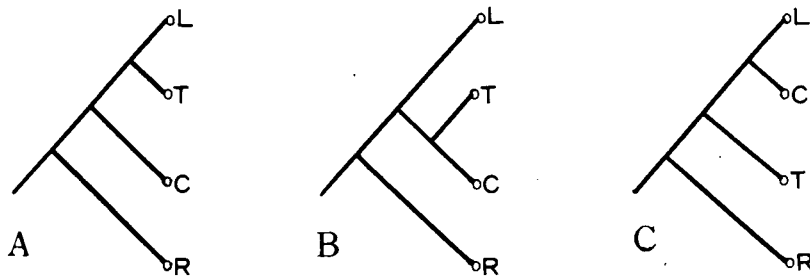


图1 现生硬骨鱼的主要类群与四足类的系统发生关系图解。L.—肺鱼, T.—四足类, C.—空棘鱼, R.—辐鳍鱼。A. 肺鱼是四足类的近亲; B. 空棘鱼是四足类的近亲, 肺鱼处于肉鳍鱼类的姐妹群的地位; C. 空棘鱼和肺鱼构成的类群是四足类的姐妹群

1) 国家自然科学基金资助课题, 批文号 39070126。

收稿日期: 1995-05-04

争议, 科学家们对四足类与现生硬骨鱼主要类群在发生上的关系有以下三种看法 (图 1)。

近年来, 分子生物学技术的应用给生物进化的研究带来了令人振奋的进展和革新。核酸和蛋白质分子的研究已作为评价亲缘种间的系统发生关系的手段之一。而且根据大分子推论的谱系关系往往与根据形态推论的关系一致, 这有助于解决那些按形态看来是模棱两可的亲缘关系问题。分子研究这一手段也用到解决四足类祖先的争议问题中。与形态研究不同, 分子研究在理论上可以在一定程度上摆脱偏见, 与电子计算机化的分子系统分析联系起来, 有可能提出较为客观的系统发生谱系。但这一方法的局限是只能考虑现生的脊椎动物, 不可能追寻四足类真正的祖先, 而是寻找现存类群之间的历史联系。

九十年代初期, 科学家们对现生鱼类的主要类群即辐鳍鱼、空棘鱼和肺鱼作了大量的分子研究, 包括 28S 核糖体 RNA (rRNA) 基因测序、血红蛋白测序、18S 核糖体 RNA 基因测序、线粒体 DNA (mtDNA) 基因测序、线粒体细胞色素氧化酶亚基 I 基因测序、髓鞘蛋白免疫的研究、尿素合成的进化研究等方面, 大大深化了对四足类祖先问题的研究。

首次根据大分子序列数据提出鱼类和四足类的过渡关系的是 Hillis 等人在 1989、1991 年的工作。他们将空棘鱼的 28S rRNA 基因的两千多碱基片段序列与一种真骨鱼和几种四足类进行比较, 结论是空棘鱼与四足类的关系比真骨鱼与四足类的关系要近。但这一工作的不足在于其分析对象中没有包括肺鱼或其他任何更原始的辐鳍鱼类, 因而不可能在空棘鱼和肺鱼中比较出哪一类更接近四足类。

Gorr 等 (1991) 对空棘鱼血红蛋白中的 α -珠蛋白链和 β -珠蛋白链进行了测序工作, 并与硬骨鱼 (包括一种肺鱼和五种真骨鱼)、软骨鱼 (一种鲨鱼) 以及幼体和成体两栖类 (包括二种有尾类和五种无尾类) 的所有已知的血红蛋白进行了比较, 发现空棘鱼的这两条珠蛋白链比起任何其他硬骨鱼的珠蛋白链更接近两栖类的幼体 (蝌蚪), 因而提出了空棘鱼在现生鱼类中最接近四足类, 即图 1 中 B 的模式。但 Forey (1991)、Stock 等 (1991) 等人对这一工作提出了不同意见, 指出 Gorr 等人对基因复制和分子进化的分化速率的解释有问题。Sharp 等人 (1991) 采用了在他们认为更合适的技术方法重新分析了珠蛋白序列, 认为这些数据不能支持空棘鱼是四足类的近亲这一观点。

对空棘鱼—四足类关系的支持还来自 Wachneldt 等人 (1991) 对髓鞘蛋白的免疫学研究的分析。四足类中存在的非糖基化脂质蛋白 (PLP) 也存于空棘鱼中, 而肺鱼则具有糖基化脂质蛋白 (PLP), 用空棘鱼的非糖基化 PLP 得到的抗体与四足类的 PLP 的抗体之间有更强的免疫活性。这一分子免疫学的研究为空棘鱼是四足类的近亲提供了论据。

Joss 等 (1991) 和 Stock 等 (1991) 用测序的方法比较了几种鱼类的 18S rRNA 基因片段, 其中包括一种无颌类的七鳃鳗, 三种原始硬骨鱼 (鲟、雀鳝、芦鳃即多鳍鱼), 以及澳洲肺鱼、空棘鱼和几种两栖类。这一序列分析虽然没有很清楚地显示出肺鱼、空棘鱼和四足类的关系, 但仍可看出肺鱼与空棘鱼的关系较近, 可以说是支持了本文图 1 中 C 的模式, 即肺鱼和空棘鱼构成的类群是四足类的姐妹群。但这种支持不是很有力的。Meyer 等 (1992) 也对这几个类群中的一些动物进行了 18S rRNA 基因测序工作, 其结果仍是不清晰的。Meyer 等人认为 18S rRNA 进化过于缓慢, 而且发生偶然, 因

而不能清楚地反映出动物的亲缘关系的远近。

有趣的是, Joss 等人从这一研究中意外地发现了属于软骨鱼纲全头亚纲的银鲛与属于硬骨鱼纲辐鳍亚纲的多鳍鱼之间的不可思议的关系。其核酸序列的系统发生分析强烈地显示出它们是单系类群, 是从一个共同的祖先进化而来。这样的话, 它们就应当被归入同一纲中(硬骨鱼纲或软骨鱼纲), 或者自成一纲。

日本的几位科学工作者(Shin-ichi Yokobori 等)于 1994 年对这几个类群的分子研究支持了空棘鱼—肺鱼支系的观点(即图 1 中 C 的模式)。为了阐明空棘鱼、肺鱼和四足类的亲缘关系, 他们从线粒体细胞色素氧化酶亚基 I (COI) 基因的核苷酸序列推断出 504 个氨基酸序列并加以比较。由于 COI 的氨基酸序列在脊椎动物中极为保守, 在几乎所有区域的氨基酸序列的顺序都不会导致错读。研究对象为空棘鱼和南美肺鱼, 并与光滑爪蟾、普通鲤鱼、台湾缨口鳅

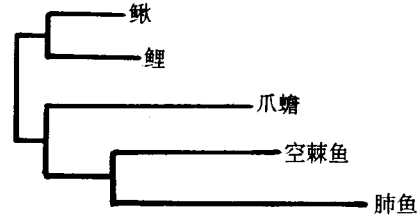


图 2 空棘鱼、肺鱼、蛙、鲤和鳅之间的系统发生图解(自 Shin-ichi Yokobori 等, 1994)

等动物的已知的相应序列作比较, 采用最大似然量法、最大简约量法和邻接法来进行系统发生分析。这些分析一致指出, 空棘鱼与肺鱼为一个支系, 并与四足类为姐妹群的关系(图 2)。文章还认为, 以前报道的其它有关线粒体基因的证据和上述研究的结果, 同等地支持了空棘鱼—肺鱼支系和肺鱼—四足类支系, 而排除了空棘鱼—四足类支系的假说。

支持肺鱼—四足类支系的大量分子数据来自对线粒体 DNA (mtDNA) 基因的测序工作。对 mtDNA 的进化遗传学研究是近年来分子进化研究中的一个新的领域。它结构简单, 在不同物种间 mtDNA 上的基因成分相对稳定, 很少受到序列重排的影响, 同时 mtDNA 具有广泛的种内和种间多态性, 且为母性遗传, 在亲缘关系相近的物种间, 其进化速度超过了核基因(桂建芳 1990)。Meyer 等(1990)对南美肺鱼(Lepidosiren)、空棘鱼及一种真骨鱼的体内 mtDNA 片段(mtDNA 的几个基因, 包括 12S rRNA 和细胞色素 b)进行测序, 并与蛙的 mtDNA 的序列进行了比较, 基于氨基酸取代(replacement)、无意义颠换(silent transversion)和 rRNA 基因中的替换(substitution)所得出的系统发生树表明, 肺鱼的 mtDNA 比空棘鱼的 mtDNA 与蛙的关系更密切, 而肺鱼与空棘鱼这两类动物与四足类的关系比真骨鱼与四足类的关系要密切, 这种关系正是本文图 1 中 A 的模式。1992 年 Meyer 等又增加了这一研究中的物种, 对另外两种非洲肺鱼(Protopterus)和澳洲肺鱼(Neoceratodus)的 mtDNA 中 12S rRNA 基因进行了测序并加以比较分析, 结论是同样的。这一结果与上述日本科学家的观点一样, 排除了空棘鱼支系进化出陆生脊椎动物的可能性。Meyer 等(1990)结合分子进化树对这四个现生类群中的二十二个形态性状进行了比较和分析, 认为肺鱼和四足类的共同祖先在运动、循环、呼吸等方面可能已经具有对陆地生活的预适应的多种形态性状, 这些特征为肺鱼和四足类所共有。这一分子树(即图 1-A)不仅支持了陆生脊椎动物是从肺鱼支系的旁系起源的假说, 而且有助于对现生类群的形态差异作出进化上

的解释。Meyer 等 (1992) 在其工作的基础上还建议将叶状鳍鱼的绝灭类群放到这一分子树上, 更有助于解释脊椎动物由水上陆的一系列形态变化。

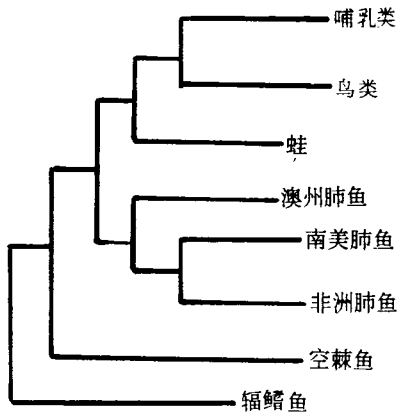


图3 四足类和叶状鳍鱼类的系统发生树

Hedges 等人 (1993) 对肺鱼的三个属及空棘鱼的 mtDNA 基因组中的大约 3 千碱基区域进行了测序和分析, 其中包括 12S rRNA、tRNA^{val}、16S rRNA 的完整基因以及细胞色素 b 基因的一个 283 个碱基对的片段, 将所得结果与几种四足类的相应序列作了比较, 用一种真骨鱼作为外类群, 将其他原始硬骨鱼排除。从这一分析获得的系统发生树 (图 3, 自 Hedges 等, 1993) 中清楚地看到了肺鱼与四足类之间密切的亲缘关系, 而把空棘鱼放在作为肺鱼—四足类支系的姐妹群的地位。这一研究为肺鱼—四足类支系的成立提供了迄今为止最大的分子数据群。

肺鱼是四足类的近亲的观点还得到了尿素合成的生物化学研究结果的支持 (Mommsen 等 1989)。从鱼类过渡到四足类的过程中, 鸟氨酸—尿素循环这一脊椎动物的单系性状经历了两种关键性的变化。这两种变化均出现在肺鱼中, 但不出现在空棘鱼中。

从上述研究中可以看到, 分子生化方面的数据更多地支持了肺鱼—四足类支系以及空棘鱼—肺鱼支系的假说, 而排除了空棘鱼是四足类的近亲的观点。分子研究与传统的形态解剖学研究比较起来, 前者能较为准确地反映所比较的物种的谱系, 但需要在更多的物种中, 从缓慢进化的基因中分析更多的相关的核苷酸序列和蛋白质氨基酸序列, 以期得到一个足够大的、并不断增加的、充实的、可信的数据群来分析从鱼类向四足类过渡的系统发生进程。同时, 这一分析必须与形态解剖的分析、古生物学的研究密切联系起来, 即在一个系统发生框架中, 把化石的和现生的分类单元联系起来, 并采用所有可用的信息 (包括古生物的、现代分类学的以及分子的数据) 和精确的分支系统方法学, 才能反映出这一进化过程的全貌。

致谢 感谢中国科学院古脊椎动物与古人类研究所张弥曼先生和北京大学生命科学学院张昫先生阅读论文初稿并提出宝贵意见。

参 考 文 献

- 桂建芳. 1990. 脊椎动物线粒体 DNA 的进化遗传学. 动物学杂志, 25 (1): 50—55.
 Chang M M. 1991. "Rhipidistians", dipnoans, and tetrapods. In: Schultze H-P, Truab L eds. Origins of the higher groups of tetrapods. Controversy and consensus. Ithaca NY: Cornell University Press. 3—28.
 Forey P L. 1991. Blood lines of the coelacanth. *Nature*, 351: 347—348.
 Gorr T, Kleinshmidt T, Fricke H. 1991. Close tetrapod relationships of the coelacanth *Latimeria* indicated

- by haemoglobin sequences. *Nature*, **351**: 394—397.
- Hedges S B, Hass C A, Maxon L R, 1993. Relations of fish and tetrapods. *Nature*, **363**: 501—502.
- Hillis D M, Dixon M T, 1989. Vertebrate phylogeny: evidence from 28S ribosomal DNA sequences. In: Fembolm B, Bremer K, Jorvall H eds. *The Hierarchy of life*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers. 355—367.
- Hillis D M, Dixon M T, Ammerman L K, 1991. The relationship of the coelacanth *Latimeria chalumnae*: evidence from sequences of vertebrate 28S ribosomal RNA genes. *Env. Biol. Fishes*, **32**: 119—130.
- Jarvik E, 1980. Basic structure and evolution of Vertebrates. *Acad. Pr. London and New York*, II: 235—268.
- Joss J M, Cramp N, Baverstock R R *et al.*, 1991. A phylogenetic comparison of 18S ribosomal RNA sequences of lungfish with those of other chordates. *Aust. J. Zool.*, **39**: 509—518.
- Joss J M, 1993. Dipnoan evolution: molecular studies. *Proc. Zool. Soc., Calcutta, Haldane Comm.*, **1993**: 93—98.
- Meyer A, Dolven S T, 1992. Molecules, fossils and the origin of tetrapods. *J. Mol. Evol.*, **35**: 102—113.
- Meyer A, Wilson A C, 1990. Origin of the tetrapods inferred from their mitochondrial DNA affiliation to lungfish. *J. Mol. Evol.*, **31**: 359—361.
- Mommsen T P, Walsh P J, 1989. Evolution of urea synthesis in the vertebrates: the piscine connection. *Science*, **243**: 72—75.
- Rosen D E, Forey P L, Gardiner B G *et al.*, 1981. Lungfishes, tetrapods, palaeontology and plesiomorphy. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, **167**: 159—276.
- Sharp P M, Lloyd A T, Higgins D G, 1991. Coelacanth's relationships. *Nature*, **353**: 218—219.
- Shin-ichi Yokobori, Masami Hasegawa, Takuya Ueda *et al.*, 1994. Relationship among coelacanths, lungfishes, and tetrapods: A phylogenetic analysis based on mitochondrial cytochrome oxidase I gene sequences. *J. Mol. Evol.* **38**: 602—609.
- Stock D W, Swofford D L, 1991. Coelacanth's relationships. *Nature*, **353**: 217—218.
- Wahneltd T V, Malotka J, Jeserich G *et al.*, 1991. Central Nervous system myelin proteins of the coelacanth *Latimeria chalumnae*: Phylogenetic implications. *Env. Biol. Fishes*, **32**: 131—143.