



基于 16S *rRNA* 序列探讨我国海鲢科鱼类分子系统进化关系

陈 铭^{1,2,3,4}, 范蔓桦¹, 谢瑞琳¹, 陈玉佩¹, 李清清^{1,2,3,4},
李江涛^{1,2,3,4}, 黄燕华^{1,2,3,4}, 林 鑫^{1,2,3,4*}, 梁日深^{1,2,3,4*}

(1. 仲恺农业工程学院动物科技学院, 广东 广州 510225;

2. 广东省水环境与水产品安全工程技术研究中心, 广东 广州 510225;

3. 仲恺农业工程学院健康养殖创新研究院, 广东 广州 510225;

4. 广州市水产病害与水禽养殖重点实验室, 广东 广州 510225)

摘要: 为从分子水平分析海鲢科鱼类分子系统分类关系, 澄清物种分类争议, 实验通过 PCR 扩增获得我国海鲢科 9 个属 26 种鱼类 16S *rRNA* 序列片段, 结合 GenBank 下载的其他海鲢科鱼类的序列进行分析。结果显示, 进化树上, 海鲢科主要形成裸海鲢亚科与海鲢亚科两个分支, 裸海鲢亚科包括尾鲢属与鞭尾鲢属, 海鲢亚科包括裸胸鲢属、裸海鲢属、勾吻鲢属、蛇鲢属等 8 个属, 与形态分类结果一致。裸海鲢亚科分支中, 尾鲢属与鞭尾鲢属形成平行的姐妹分支; 海鲢亚科分支中, 斑马裸海鲢单独形成一支, 位于该分支基部, 其他种类聚为另一支。分支 I 中裸胸鲢属、勾吻鲢属、蛇鲢属、海鲢属等属均无法形成单系, 揭示这些种属可能是多系起源, 与近期的分子水平研究观点相似。研究结果支持将斑马裸海鲢归为裸海鲢属, 为单型属物种; 虎斑鞭尾鲢归为鞭尾鲢属, 与尾鲢属平行进化; 拟蛇鲢从长海鲢属分离出来, 归为拟蛇鲢属等分类观点。豹纹勾吻鲢与海鲢属关系十分接近, 但其形态上还具有多个勾吻鲢属的基本特征, 至于是否归为海鲢属, 还需后续更多的分子与形态学研究加以验证。

关键词: 海鲢科; 线粒体 DNA; 16S *rRNA* 序列; 系统发育

中图分类号: Q 785; S 917.4

文献标志码: A

海鲢科 (Muraenidae) 隶属辐鳍鱼纲 (Actinopterygii) 鳗鲡总目 (Anguillomorpha) 鳗鲡目 (Anguilliformes)^[1], 主要分布于印度—太平洋热带和亚热带海域, 栖息于珊瑚礁附近, 少数进入河口生活。世界上海鲢科鱼类约 180 种^[2], 我国记载 7~11 属 30~50 余种^[1,3-11], 主要分布于东海南部、南海以及台湾海峡, 为主要的观赏及食用经济鱼类。

目前, 海鲢科鱼类形态分类主要根据体长、体色、斑纹、鳍的位置、牙齿形状等外观性状划分^[1,3-8]。而海鲢科种类繁多, 近缘物种极为相似, 部分物种体色、斑纹等还会随着个体生长发育、环境改变或应激状态发生巨大变化, 给传统形态分类造成一定难度。不仅物种分类命名相互混淆, 在属级阶元分类上也存在诸多争议。如虎斑鞭尾鲢 (*Scuticaria tigrina*) 在《中国海洋鱼类》^[7] 中归为尾鲢

收稿日期: 2020-10-26 修回日期: 2021-01-26

资助项目: 国家自然科学基金 (31802300); 广东省自然科学基金 (2018A0303130104); 广东省高校特色创新类项目 (2019KTSCX061); 广东省大学生创新创业训练计划 (202011347047)

第一作者: 陈铭 (照片), 从事水产动物健康养殖研究, E-mail: 1095454329@qq.com

通信作者: 林鑫, 从事水产动物种质分析与健康养殖研究, E-mail: linli@zhku.edu.cn;

梁日深, 从事水产动物种质分析与系统分类研究, E-mail: cheetahliang@126.com



属 (*Uropterygius*), 而《中国鱼类系统检索》^[1]、《南海诸岛海域鱼类志》^[4]和《鱼类分类学》^[6]等资料中归为裸海鳝属 (*Gymnomuraena*), 但国外部分资料中其又归为鞭尾鳝属 (*Scuticaria*)^[12-14]。斑马裸海鳝 (*G. zebra*) 在我国大部分资料中归为蛇鳝属 (*Echidna*)^[1, 4-6], 学名为斑马蛇鳝 (*E. zebra*), 而近些年许多资料将其归为裸海鳝属^[7, 12-15]。此外, 豹纹勾吻鳝 (*Enchelycore pardalis*)、拟蛇鳝 (*Pseudochidna brummeri*) 等种类在物种分类与命名上也长期存在争议^[1-15]。在国内, 有关海鳝科鱼类分子系统分类研究至今未有报道, 仅有少量研究有涉及其中裸胸鳝属鱼类系统分类。如杜民等^[16-17]先后利用 16S *rRNA*、*Cyt b* 构建了我国 6 种及 10 种裸胸鳝属鱼类分子系统树, 澄清裸胸鳝物种分类问题; 齐兴柱等^[18]基于 *CO I* 分析了南海 6 种裸胸鳝属鱼类聚类关系, 并验证 *CO I* 作为 DNA 条形码的可行性等。国外, Reece 等^[19]综合多个基因序列构建了海外 44 种海鳝科鱼类分子系统进化, 但其研究缺乏部分我国分布的海鳝种类, 针对海鳝科各种属间分类问题也没有深入探讨, 现存的海鳝鱼类分类争议依然悬而未决。

鱼类线粒体 DNA 结构简单, 进化速率快, 严格母系遗传, 是研究物种起源、系统演化的理想标记。其中 16S *rRNA* 相对保守, 其一个基因片段包含了种间乃至科间的进化信息, 可用于种、属或科以上阶元的分类关系研究^[20]。吕杨等^[21]测定了 11 种虾虎鱼科 (*Gobiidae*) 鱼类 16S *rRNA* 序列, 构建系统进化关系, 揭示所研究的虾虎鱼类主要聚为 2 个平行分支; 朱树人等^[22]利用 16S *rRNA* 序列分析了 4 种鳢属 (*Channa*) 鱼类分子系统进化, 明晰 4 种鳢属鱼类亲缘关系。本研究选择 16S *rRNA* 作为标记, 构建我国东南沿海及南海海鳝科鱼类分子系统分类关系, 阐明各物种分类地位, 为解决海鳝科各种属分类争议问题提供分子水平依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源

海鳝科样品于 2019—2020 年在广东、海南、福建等沿海地区水产市场及渔港码头进行野外采集, 共获得海鳝科鱼类 26 种。采集样品根据《中国鱼类分类检索》^[1]、《中国海洋鱼类》^[7]等主要分类资料, 结合世界鱼类数据库 FishBase 网站^[12]

资料进行初步形态鉴定, 取肌肉或鳍条于 95% 乙醇中固定, 用于总基因组 DNA 提取。同时从 GenBank 中下载 9 种我国无记录的海鳝共同分析。样本来源见表 1。

1.2 总基因组 DNA 的提取

取约 20 mg 肌肉或鳍条组织, 利用海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒 [天根生化科技 (北京) 有限公司], 按照说明书进行 DNA 提取。提取的 DNA 溶解于 80 μ L 灭菌水中。利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量, -20°C 冰箱存放备用。

1.3 PCR 扩增和测序

参考相关文献^[23], 设计用于扩增海鳝科鱼类 16S *rRNA* 基因上游引物: 5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3', 下游引物: 5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACG-3'。PCR 反应总体积为 25 μ L, 包括 PCR Mastermix [天根生化科技 (北京) 有限公司] 12.5 μ L, 灭菌水 10.5 μ L, 上、下游引物各 0.5 μ L, DNA 模板 1 μ L。扩增条件为 94°C 预变性 5 min; 94°C 变性 30 s, 55°C 退火 30 s, 72°C 延伸 1 min, 35 个循环, 最后 72°C 再延伸 5 min。PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测, 选取扩增成功的样品用 PCR 产物纯化试剂盒 [天根生化科技 (北京) 有限公司] 纯化回收后送北京天一辉远生物科技有限公司进行序列测定。

1.4 数据分析

测序所得序列于 NCBI 进行在线相似性搜索, 验证序列的正确性。与 GenBank 下载的其他海鳝 16S *rRNA* 序列一起用 Clustal W^[24] 软件进行比对, 去掉首尾两端冗余序列。利用 MEGA 7.0 软件^[25] 对序列碱基组成、位点变异和遗传距离进行统计分析。以星康吉鳗 (*C. myriaster*) 和海鳗 (*M. cinereus*) 作为外类群, 利用最大似然法 (ML) 及贝叶斯法 (BI) 进行分子系统进化树构建。序列利用 ModelTest 2.1.5 软件进行最佳进化模型预测^[26], 最大似然树在 RAxML 8.0 软件^[27] 中完成, 分支置信度采用 1 000 次重复抽样分析 (Bootstrap analysis) 方法。贝叶斯树在 MrBayes 3.1.2 软件^[28] 中完成, 随机选取起始树, 计算 1 000 000 代, 取样代数 100, 系统进化树节点置信度由后验概率 (posterior probabilities) 提供。

表 1 海鳝科鱼类材料的种类和来源

Tab. 1 Species and sources of materials for Muraenidae

属名 genera	种名 species	采样地点 sampling location	采样时间 sampling time
海鳝亚科 Muraeninae			
裸胸鳝属 <i>Gymnothorax</i>	白边裸胸鳝 <i>G. albimarginatus</i>	福建, 厦门	2020-08-21
	埃玛氏裸胸鳝 <i>G. emmae</i>	福建, 厦门	2019-12-15
	豆点裸胸鳝 <i>G. favagineus</i>	广东, 深圳	2019-11-28
	细斑裸胸鳝 <i>G. fimbriatus</i>	广东, 汕头	2020-07-26
	黄边裸胸鳝 <i>G. flavimarginatus</i>	广东, 深圳	2020-09-24
	美丽裸胸鳝 <i>G. formosus</i>	广东, 深圳	2019-11-28
	爪哇裸胸鳝 <i>G. javanicus</i>	福建, 东山岛	2020-08-16
	蠕纹裸胸鳝 <i>G. kidako</i>	广东, 汕头	2020-07-02
	斑点裸胸鳝 <i>G. meleagris</i>	福建, 厦门	2020-08-21
	小裸胸鳝 <i>G. minor</i>	福建, 东山岛	2019-10-09
	雪花裸胸鳝 <i>G. niphostigmus</i>	广东, 深圳	2019-11-28
	细点裸胸鳝 <i>G. pictus</i>	广东, 深圳	2020-07-06
	淡网纹裸胸鳝 <i>G. pseudothyrsoides</i>	广东, 阳江	2019-09-18
	匀斑裸胸鳝 <i>G. reevesii</i>	广东, 汕头	2019-09-07
	宽带裸胸鳝 <i>G. rueppellii</i>	海南, 三亚	2020-10-20
	波纹裸胸鳝 <i>G. undulates</i>	广东, 深圳	2019-12-06
	蛇鳝属 <i>Echidna</i>	云纹蛇鳝 <i>E. nebulosa</i>	海南, 三亚
多带蛇鳝 <i>E. polyzona</i>		福建, 厦门	2020-08-21
玫唇蛇鳝 <i>E. rhodochilus</i>		GenBank AP019351	
勾吻鳝属 <i>Enchelycore</i>	豹纹勾吻鳝 <i>E. pardalis</i>	福建, 厦门	2019-12-15
	贝氏勾吻鳝 <i>E. bayeri</i>	GenBank JX242963	
	栗色勾吻鳝 <i>E. carychroa</i>	GenBank JX242964	
	褐勾吻鳝 <i>E. nigricans</i>	GenBank JX242965	
裸海鳝属 <i>Gymnomuraena</i>	斑马裸海鳝 <i>G. zebra</i>	海南, 西沙群岛	2019-12-27
海鳝属 <i>Muraena</i>	细点海鳝 <i>M. augusti</i>	GenBank EU921740	
	光海鳝 <i>M. argus</i>	GenBank HQ010100	
	海伦海鳝 <i>M. helena</i>	GenBank EU921743	
	雀斑海鳝 <i>M. lentiginosa</i>	GenBank JX242981	
拟蛇鳝属 <i>Pseudechidna</i>	拟蛇鳝 <i>P. brummeri</i>	海南, 西沙群岛	2019-12-28
管鼻海鳝属 <i>Rhinomuraena</i>	黑体管鼻海鳝 <i>R. quaesita</i>	海南, 西沙群岛	2020-06-18
长海鳝属 <i>Strophidon</i>	长海鳝 <i>S. sathete</i>	福建, 厦门	2020-07-25
裸海鳝亚科 Uropterygiinae			
鞭尾鳝属 <i>Scuticaria</i>	虎斑鞭尾鳝 <i>S. tigrina</i>	福建, 厦门	2020-08-04
	冲绳鞭尾鳝 <i>S. okinawae</i>	GenBank AB702980	
尾鳝属 <i>Uropterygius</i>	尾鳝 <i>U. concolor</i>	福建, 厦门	2020-07-28
	短鳍尾鳝 <i>U. micropterus</i>	福建, 厦门	2020-08-21
外类群 outgroup			
康吉鳗科 Congridae			
康吉鳗属 <i>Conger</i>	星康吉鳗 <i>C. myriaster</i>	广东, 阳江	2019-06-03
海鳗科 Muraenesocidae			
海鳗属 <i>Muraenesox</i>	海鳗 <i>M. cinereus</i>	广东, 汕头	2019-09-08

2 结果

2.1 海鳝科属间形态特征分析

根据目前形态分类资料, 总结海鳝科 8 个属的分类特征 (表 2)。主要从吻部结构、牙齿类型、鼻孔管状特点、肛门位置等性状区分比较^[1, 7, 13-14], 同时汇总 8 个属代表性物种头部及吻部特征图 (图 1), 图片来源于世界鱼类数据库 (FishBase) 网

站。从表 2 及图 1 信息可知, 根据背鳍及臀鳍的位置、长短, 有无下颔骨可将海鳝科划分为裸海鳝亚科与海鳝亚科。在裸海鳝亚科中, 鞭尾鳝属肛门远在身体中段之后, 尾鳝属肛门接近身体中间, 可以此将二者区分。在海鳝亚科中, 除了裸海鳝属及蛇鳝属牙齿为臼状齿, 吻部短而圆钝, 其他属的牙齿均为尖状或圆锥状, 吻部也相对较长。其中勾吻鳝属吻部前端弯曲呈钩状, 口无法

表 2 海鳝科鱼类各属的形态分类特征

Tab. 2 Morphological classification characteristics among genera of Muraenidae

亚科及属 subfamilies and genera	形态分类特征 morphological classification characteristics
海鳝亚科 Muraeninae	背鳍与臀鳍不限于身体后端, 臀鳍起点紧邻肛门后面, 无下颔骨。
裸海鳝属 <i>Gymnomuraena</i>	牙齿臼状, 吻部较短, 圆钝; 肛门远在身体中间之后, 尾长短于头长加躯干长。
蛇鳝属 <i>Echidna</i>	牙齿臼状, 吻部较短, 圆钝; 肛门接近身体中间, 尾长略大于或等于头长加躯干长。
裸胸鳝属 <i>Gymnothorax</i>	牙齿尖状; 吻部较尖长; 前鼻孔呈管状, 肛门接近身体中间, 尾长略大于或等于头长加躯干长。
勾吻鳝属 <i>Enchelycore</i>	牙齿长尖状, 外露; 吻部尖长, 弯曲成钩状, 口不能闭合; 前后鼻孔均呈管状, 肛门接近身体中间, 尾长略大于或等于头长加躯干长。
海鳝属 <i>Muraena</i>	牙齿尖状, 吻部较尖长; 前后鼻孔均呈管状, 肛门接近身体中间, 尾长略大于或等于头长加躯干长。
管鼻海鳝属 <i>Rhinomuraena</i>	牙齿尖状, 吻部细长; 前鼻管成瓣状或叶状延伸; 体细长, 体长远超体高的30倍以上, 尾长远大于头长加躯干长 (1.5~2倍), 体蓝色、黑色或黄色。
长海鳝属 <i>Strophidon</i>	牙齿尖状, 吻部细长; 鼻孔呈管状; 体细长, 体长远超体高的30倍以上, 尾长远大于头长加躯干长 (1.5~2倍), 体褐色。
拟蛇鳝属 <i>Pseudechidna</i>	牙齿尖状, 吻较短, 圆钝; 前鼻孔呈管状; 体细长, 体长远超体高的30倍以上, 尾长远大于头长加躯干长 (1.5~2倍), 体乳白色。
裸海鳝亚科 Uropterygiinae	背鳍与臀鳍限于身体后端, 臀鳍起点远在肛门之后, 具第一, 第二下颔骨。
鞭尾鳝属 <i>Scuticaria</i>	牙齿细尖状, 肛门远在身体中段之后。
尾鳝属 <i>Uropterygius</i>	牙齿细针状, 肛门接近身体中间。

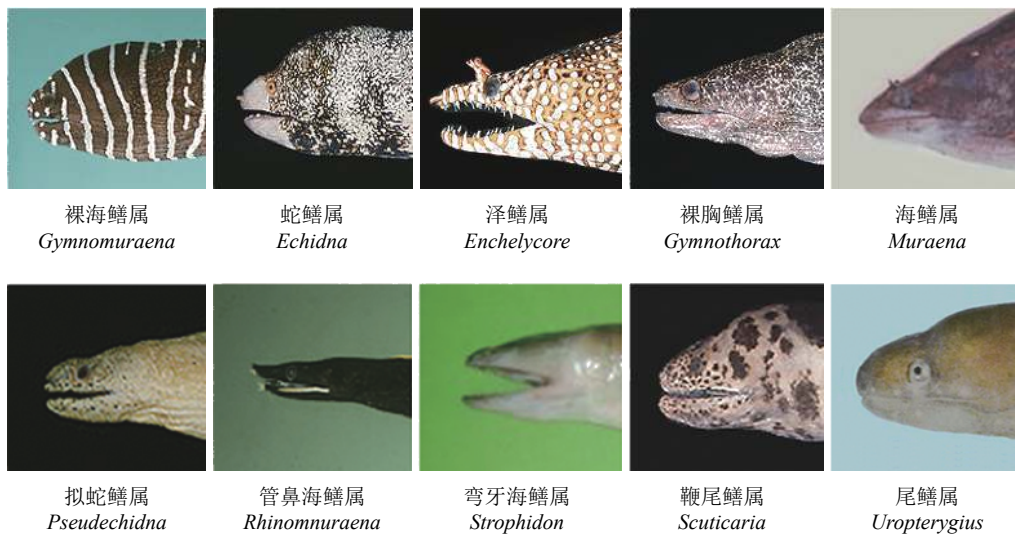


图 1 海鳝科鱼类各属的头部及吻部特征

Fig. 1 Morphological characteristics in head and snout among genera of Muraenidae

正常闭合, 海鳝属前后鼻孔均呈管状, 管鼻海鳝属前鼻管成瓣状或叶状。长海鳝属与拟蛇鳝属尾

长均远大于躯干长, 长海鳝属体色呈褐色, 拟蛇鳝属呈乳白色, 可作为区分不同属的特有性状。

2.2 海鲢科 16S *rRNA* 序列特征分析

测序得到 26 种海鲢 16S *rRNA* 序列, 与 GenBank 下载的 9 种海鲢和作为外类群的星康吉鳗、海鳗序列一起导入 Clustal W 软件中排序, 去掉两端冗余, 获得一致序列 586 bp。用 MEGA 7.0 软件分析序列 T、C、A、G 碱基平均含量分别为 22.1%、24.2%、30.3%、23.3%, 其中 A+T 含量 (52.4%) 高于 G+C 含量 (47.5%)。除去外类群, 序列中共有 370 个保守位点, 201 个变异位点, 160 个简约信息位点。分析各物种两两之间变异位点数可知, 蠕纹裸胸鲢与雪花裸胸鲢之间变异位点数最少, 两物种之间仅有 4 个碱基差异, 而淡网纹裸胸鲢与虎斑鞭尾鲢变异位点数最多, 有 105 个碱基差异。在属内种间变异位点信息中, 裸胸鲢属各种间变异位点数为 4~74, 蛇鲢属为 96~101, 勾吻鲢属为 84~93, 海鲢属为 69~82, 结果显示裸胸鲢属属内种间差异相对较小, 个别物种仅存在数个碱基差异, 蛇鲢属属内种间差异较大。序列中转换与颠换的比值为 1.69 (Kimura 2-Parameter 模型), 转换大于颠换。基于 DAMBE 7 软件对 16S *rRNA* 转换颠换突变饱和和分析, 随着遗传距离的增大, 转换与颠换均呈线性递增趋势, 转换增加的速率大于颠换增加的速率, 显示 16S *rRNA* 均未突变饱和, 可将序列所有转换与颠换信息应用于系统发育树的构建。

2.3 海鲢科属间与种间遗传距离分析

基于 Kimura-2-Parameter 模型, 利用 MEGA 7.0 软件计算海鲢科种间遗传距离结果如表 3 所示。除去外类群, 35 种海鲢遗传距离范围为 0.009~0.309。其中, 最大遗传距离在淡网纹裸胸鲢与虎斑鞭尾鲢之间, 为 0.309; 其次为勾斑裸胸鲢与虎斑鞭尾鲢, 为 0.300; 最小遗传距离在蠕纹裸胸鲢与雪花裸胸鲢之间, 为 0.009, 二者之间差异很小, 其次为淡网纹裸胸鲢与勾斑裸胸鲢, 为 0.016。在物种数量最多的裸胸鲢属中, 淡网纹裸胸鲢与爪哇裸胸鲢、美丽裸胸鲢之间遗传距离最大, 均为 0.218, 蠕纹裸胸鲢与雪花裸胸鲢遗传距离最小, 为 0.009。

根据 35 种海鲢种间遗传距离汇总出海鲢科各属间遗传距离范围如表 4 所示。海鲢科 10 个属中, 裸胸鲢属与尾鲢属遗传距离范围最大 (0.187~0.279), 勾吻鲢属与海鲢属遗传距离范围最小 (0.045~0.131)。此外, 部分属内种间遗传距离差

异较大, 甚至超过属间遗传距离。如勾吻鲢属的豹纹勾吻鲢与其他勾吻鲢的遗传距离 (0.113~0.136) 均远大于其与海鲢属的遗传距离 (0.045~0.076), 表明相对于勾吻鲢属, 豹纹勾吻鲢与海鲢属有更近的亲缘关系。蛇鲢属内部遗传距离范围也相对较大 (0.130~0.175), 云纹蛇鲢与海鲢属 (0.091~0.108), 多带蛇鲢与蠕纹裸胸鲢 (0.090)、雪花裸胸鲢 (0.090)、埃玛氏裸胸鲢 (0.086) 等不同属的遗传距离均小于蛇鲢属内部的遗传距离范围。物种数量最多的裸胸鲢属, 属内种间遗传距离范围为 0.009~0.218。亲缘关系较近的物种, 遗传距离非常小, 序列仅有几个碱基差异。关系较远的种类差异较大 (如遗传距离大于 0.200), 甚至大于裸胸鲢属与其他属的属间遗传距离范围, 如裸胸鲢属与裸海鲢属 (0.109~0.183)、勾吻鲢属 (0.083~0.193)、管鼻海鲢属 (0.098~0.175)、长海鲢属 (0.097~0.184) 等, 表明勾吻鲢属、蛇鲢属、裸胸鲢属等属内部物种存在较大的遗传分化, 甚至已超过属间分化水平。

2.4 海鲢科系统进化分析

基于海鲢科鱼类 16S *rRNA* 序列, 以星康吉鳗和海鳗为外类群, 利用最大似然法与贝叶斯法构建分子系统进化树, 2 种方法所得的系统树拓扑结构基本一致, 仅在某些分支节点及支持率有所不同。本研究将 ML 树与 BI 树合并 (图 2), 树上各节点数值分别为最大似然树 Bootstrap 支持率及贝叶斯树的后验概率。进化树上, 35 种海鲢先聚成两大类群, 其中尾鲢属、鞭尾鲢属种类聚为一支, 构成裸海鲢亚科类群, 2 个属平行进化, 位于进化树底部。裸胸鲢属、裸海鲢属、勾吻鲢属、蛇鲢属等 8 个属聚为海鲢亚科类群。在海鲢亚科类群中, 主要形成 2 个分支, 其中裸海鲢属的斑马裸海鲢单独形成一支, 位于该分支基部。其他海鲢种类聚为一大支, 与斑马裸海鲢形成平行分支。在海鲢亚科大分支中, 除了部分单型属, 非单型属如裸胸鲢属、勾吻鲢属、蛇鲢属和海鲢属均无法聚成属级阶元的单系, 各物种交错聚集在进化树不同位置。该大分支主要分为 5 个小分支, 分支 I 由 10 种裸胸鲢与蛇鲢属的多带蛇鲢组成, 分支 II 由长海鲢属、蛇鲢属、裸胸鲢属、勾吻鲢属和海鲢属的种类组成, 分支 III 由勾吻鲢属的褐勾吻鲢单独一支, 分支 IV 由拟蛇鲢属、裸胸鲢属和管鼻海鲢属组成, 分支 V 由勾吻鲢属与蛇鲢属组成。

表 4 基于 Kimura-2-Parameter 模型计算海鲱科鱼类 16S *rRNA* 属间遗传距离

Tab. 4 Pairwise distances among genera of Muraenidae for 16S *rRNA* sequences based on Kimura-2-Parameter model

序号 no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0.009~0.218									
2	0.079~0.217	0.130~0.175								
3	0.083~0.193	0.105~0.170	0.112~0.136							
4	0.083~0.196	0.091~0.147	0.045~0.131	0.035~0.083						
5	0.109~0.183	0.133~0.169	0.128~0.146	0.127~0.139	0.000					
6	0.098~0.181	0.138~0.146	0.138~0.146	0.124~0.139	0.142	0.000				
7	0.097~0.184	0.101~0.142	0.101~0.142	0.101~0.126	0.146	0.138	0.000			
8	0.115~0.171	0.126~0.156	0.126~0.156	0.115~0.137	0.134	0.130	0.141	0.000		
9	0.186~0.309	0.199~0.230	0.199~0.230	0.211~0.232	0.214~0.218	0.207~0.216	0.211~0.219	0.215~0.233	0.029	
10	0.187~0.279	0.175~0.220	0.175~0.220	0.209~0.235	0.186~0.203	0.198~0.224	0.200~0.209	0.221~0.242	0.122~0.138	0.079

注: 1. 裸胸鲱属; 2. 蛇鲱属; 3. 勾吻鲱属; 4. 海鲱属; 5. 裸海鲱属; 6. 管鼻海鲱属; 7. 长海鲱属; 8. 拟蛇鲱属; 9. 鞭尾鲱属; 10. 尾鲱属
Notes: 1. *Gymnothorax*; 2. *Echidna*; 3. *Enchelycore*; 4. *Muraena*; 5. *Gymnomuraena*; 6. *Rhinomuraena*; 7. *Strophidon*; 8. *Pseudechidna*; 9. *Scuticaria*; 10. *Uropterygius*

3 讨论

3.1 海鲱科分子系统分类关系

形态上, 有资料根据背鳍、臀鳍位置不同, 将海鲱科分为两个亚科: 裸海鲱亚科和海鲱亚科^[2, 13, 29]。裸海鲱亚科背鳍与臀鳍仅分布于身体后端, 臀鳍起点远在肛门之后, 具第一第二下鳃骨, 包括高眉鲱属 (*Anarchias*)、尾鲱属、鞭尾鲱属、鳢鲱属 (*Channomuraena*)、须裸海鲱属 (*Cirrimaxilla*) 这 5 个属。海鲱亚科背鳍与臀鳍不局限于身体后端, 臀鳍起点紧接肛门附近, 无下鳃骨, 包含种属较多, 有裸胸鲱属、勾吻鲱属、蛇鲱属、裸海鲱属等 11 个属^[2, 13, 29]。本研究基于 16S *rRNA* 序列构建的系统进化树, 海鲱科 10 个属 35 种鱼类形成两个主要分支, 尾鲱属、鞭尾鲱属聚为裸海鲱亚科分支, 裸胸鲱属、裸海鲱属、勾吻鲱属等 8 个属聚为海鲱亚科分支, 与目前形态上划分两个亚科的观点一致。

3.2 裸胸鲱属分子系统分类关系

在海鲱亚科中, 裸胸鲱属物种数量最多。进化树上, 20 种裸胸鲱没有聚为单系, 而是形成多个分支, 与蛇鲱属、勾吻鲱属等其他属种类交错聚集在一起。裸胸鲱属的非单系性在相关分类学研究中也有报道。Reece 等^[19] 利用多个分子标记分析国外海鲱科鱼类系统进化关系, 除了裸海鲱属, 海鲱亚科其他属均聚在裸胸鲱属内部, 研究认为, 如要体现裸胸鲱属的单系性, 应将其他属

的种类归为裸胸鲱属。Tang 等^[30] 的进化树研究结果也显示裸胸鲱属聚为多个不同分支, 认为裸胸鲱属应该是多系起源。本研究结果同样表明, 裸胸鲱属无法形成严格单系, 支持裸胸鲱属多系起源的观点。裸胸鲱属在进化树上主要形成 3 个独立分支, 部分裸胸鲱以较高的支持率紧密相聚, 如蠕纹裸胸鲱、雪花裸胸鲱和埃玛氏裸胸鲱, 黄边裸胸鲱和爪哇裸胸鲱, 宽带裸胸鲱、细斑裸胸鲱和波纹裸胸鲱, 匀斑裸胸鲱和淡网纹裸胸鲱等, 与本研究前期利用 *CO I* 分析裸胸鲱属鱼类分类关系结果一致^[31], Smith 等^[13] 基于 *CO I* 对红海海鲱科鱼类聚类关系的分析得到相似结果, 表明这些裸胸鲱亲缘关系十分接近。比较分析这些裸胸鲱体色、条纹、斑点等性状, 发现大部分紧密相聚的裸胸鲱体色、斑纹并不类似, 甚至差异巨大, 推测体色、斑纹并不一定能作为判断裸胸鲱物种亲缘关系远近的主要性状依据。如蠕纹裸胸鲱与雪花斑裸胸鲱, 二者 16S *rRNA* 遗传距离最小, 仅为 0.009, 序列中仅有数个碱基差异。而形态上, 2 种裸胸鲱体色与斑纹却存在明显的差异, 蠕纹裸胸鲱体呈黄色或棕色, 周身环绕树枝状不规则褐色横带; 雪花裸胸鲱体呈紫褐色, 身体布满雪花状白色斑纹^[7]。本研究前期 *CO I* 序列分析这 2 种裸胸鲱遗传距离为 0.062, 相对于其他裸胸鲱, 二者分子水平较为接近, 但该遗传距离数值也已超过 Hebert 等^[32] 推荐的 0.020 的遗传距离作为区分不同物种的临界值标准, 显示二者分子水平差异虽小, 但也已达到种以上分化水平, 二者为不同的物种^[31]。

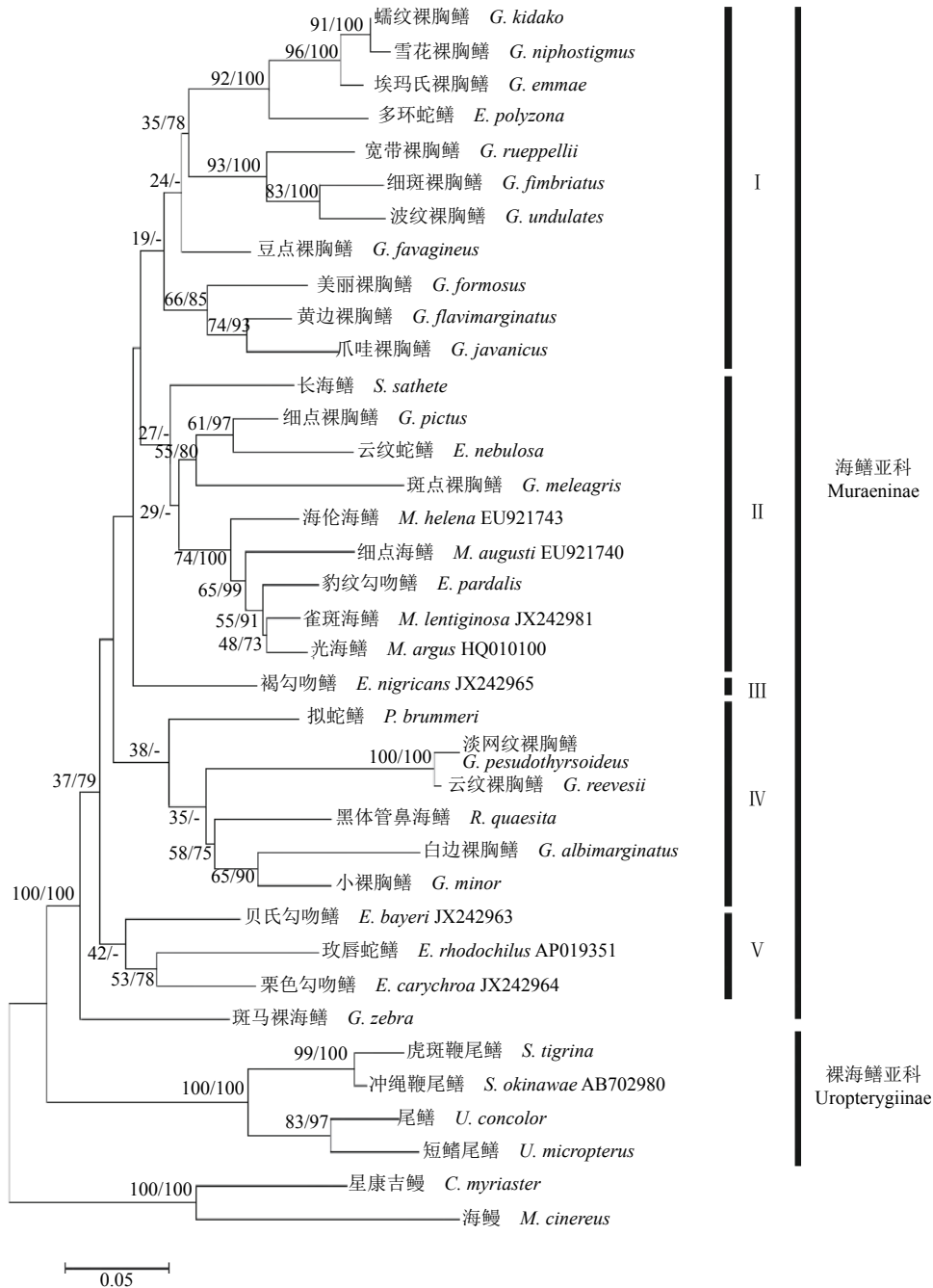


图 2 基于 16S *rRNA* 序列利用最大似然法及贝叶斯法构建的海鳝科鱼类分子系统进化树
 Fig. 2 Molecular phylogenetic trees of Muraenidae species constructed using maximum likelihood and Bayesian inference method based on 16S *rRNA* gene sequences

3.3 斑马裸海鳝的分类地位

裸海鳝属是单型属，仅斑马裸海鳝一种^[7, 12, 33]，其主要特征为肛门远在身体中段之后，尾长短于头长加躯干长，身体密布黑白相间环节。但也有不少资料将其归为蛇鳝属^[1, 4-6, 10, 34]，因其牙齿为颗粒状或臼状，与海鳝亚科其他属牙齿为犬牙状或锥状不同。Reece 等^[19]研究认为斑马裸海

鳝与蛇鳝属存在多个共同特征，如以甲壳类动物为食，进化出与其食性相关的特征性状(臼状齿，较短且弯曲的下颌等)。Tang 等^[30]基于臼状齿，较短的下颌等特征，认为斑马裸海鳝与蛇鳝属应该是自然进化的相似类群。但二者构建的分子系统进化树均显示，斑马裸海鳝单独形成一支，位于进化树基部，与海鳝亚科其他种属为平行进化关系，二者并非来源于同一祖先。本研究基于

16S *rRNA* 构建的进化树也得到相似结果, 斑马裸海鲢在海鲢亚科中独自分化出来, 位于海鲢亚科分支基部。Reece 等^[19] 推测这种甲壳类食性进化是独立的环境适应性进化, 并非同一祖先进化而来。另外, 其研究的进化树上, 4 种蛇鲢属种类也未聚成单系, 而是形成 3 个分支, 位于海鲢亚科类群不同位置, 推断这种食性进化至少独立进行 3 次。本研究进化树上, 3 种蛇鲢属也未聚成单系, 而是单独与其他属的种类相聚, 其中多环蛇鲢更以高支持率与裸胸鲢属种类聚集在一起。针对上述结果, 对于斑马裸海鲢的分类, 虽然其与蛇鲢属存在相似特征如臼状齿, 下颌较短, 身体圆钝等, 但该特征并非由同一祖先进化, 而是独立的适应性进化。分子水平上, 其在进化树单独形成一支, 与海鲢亚科其他种类属于平行进化关系。另外, 形态上斑马裸海鲢与蛇鲢属也存在一定差异, 如肛门位置较后, 尾长较短等, 结果支持斑马裸海鲢单独归为裸海鲢属, 为单型种的分类观点。

3.4 虎斑鞭尾鲢的分类地位

虎斑鞭尾鲢在传统形态资料中分类比较混乱, 《中国鱼类分类检索》^[1]、《南海诸岛海域鱼类志》^[4] 及《鱼类分类学》将其归为裸海鲢属^[6], 而在《中国海洋鱼类》^[7] 中却归为裸海鲢亚科的尾鲢属, 因其符合裸海鲢亚科的特征, 即背鳍与臀鳍仅限身体后端, 臀鳍起点远在肛门之后, 具第一第二下鳃骨。而近年许多国外资料将虎斑鞭尾鲢从尾鲢属中独立出来, 归为鞭尾鲢属^[12-14, 35-36], 其主要特征为肛门在身体中段之后, 吻到肛门长占体长的三分之二, 身体遍布大型褐色圆斑, 与尾鲢属区分开。目前世界上仅记载 2 种鞭尾鲢属种类, 虎斑鞭尾鲢与冲绳鞭尾鲢^[12]。在进化树上, 虎斑鞭尾鲢与冲绳鞭尾鲢以高支持率聚为一支, 然后该分支与尾鲢属种类聚成姐妹分支, 二者再聚为裸海鲢亚科的单系分支, 位于进化树的基部。该结果与 Reece 等^[19] 和 Tang 等^[30] 的研究结果一致, 分子水平揭示虎斑鞭尾鲢应属于裸海鲢亚科, 不应该归为海鲢亚科裸海鲢属。而鞭尾鲢属与尾鲢属为平行进化关系, 支持虎斑鞭尾鲢归为鞭尾鲢属的观点。

3.5 豹纹勾吻鲢的分类地位

勾吻鲢属上下颌弯曲成钩状, 口不能完全闭合, 颞齿外露, 牙齿长尖牙状, 这些特点与海鲢

亚科其他属区分^[7, 12-14]。勾吻鲢属在我国分布记载有 5 种^[7], 其中最具代表性的是豹纹勾吻鲢 (*E. pardalis*)。豹纹勾吻鲢在不少传统资料中归为海鲢属^[1, 6, 10, 37], 名为豹纹海鲢 (*Muraena pardalis*), 分类特征主要是后鼻孔管长于前鼻孔管。但目前大部分资料将其归为勾吻鲢属, 认为其除了后鼻管延长特征与海鲢属相似之外, 其他特征并不符合。反观多数特征与勾吻鲢属一致, 如吻成钩状, 颞齿外露, 长尖牙状等^[7, 12-14, 36]。本研究进化树上, 豹纹勾吻鲢并没有与其他勾吻鲢属种类聚类, 而是与海鲢属聚为一支。海鲢属 4 种鱼类紧密相聚, 如果排除豹纹勾吻鲢, 将是一个严格的单系分支。Tang 等^[30] 研究的进化树也揭示海鲢属是海鲢亚科中唯一能聚成单系的属, 其他属如裸胸鲢属、勾吻鲢属、蛇鲢属均无法形成单系, 但其研究中缺少豹纹勾吻鲢样品。Smith 等^[13] 基于 *COI* 基因系统进化分析揭示豹纹勾吻鲢与海鲢属的海伦海鲢紧密聚为一支。遗传距离上, 豹纹勾吻鲢与海鲢属种类距离较小 (0.045~0.076), 甚至远小于与勾吻鲢属其他种类的距离 (0.113~0.136)。揭示在分子水平上, 豹纹勾吻鲢与海鲢属亲缘关系十分接近, 归为海鲢属比较合适。但形态上豹纹勾吻鲢与勾吻鲢属存在诸多相似特征^[7, 13-14], 故豹纹勾吻鲢归为海鲢属还是勾吻鲢属, 可能还需后续更多形态与分子水平研究证据综合分析才能确定。

3.6 拟蛇鲢的分类地位

拟蛇鲢在我国绝大多数分类资料中归为长海鲢属 (*Strophidon*)^[1, 3-4, 6-7], 学名为斑长海鲢 (*S. brummeri*)。与长海鲢一起, 为长海鲢属中目前仅记载的两个种类。长海鲢在部分资料中拉丁学名为 *Strophidon ui*, 后被验证为 *S. sathete* 的同种异名^[3, 12]。这两个种类我国均有分布, 其主要特点是身体极度延长, 体长为体高的 30 倍以上, 是海鲢亚科里体长最长的种类。本研究进化树上, 拟蛇鲢与长海鲢并未聚为一支, 进化树上地位相差较远, 但支持率并不高。在遗传距离方面, 拟蛇鲢与长海鲢的遗传距离为 0.141, 二者在分子水平上存在较大差异。形态上, 拟蛇鲢体为乳白色, 鳍带有细圆白边; 长海鲢体为褐色, 鳍后部外缘黑色, 二者形态特征的差异也较为显著。但二者是否达到属的分化水平, 目前暂无相关分子研究。而基于本研究进化树, 二者进化地位及遗传差异, 拟蛇鲢与长海鲢相距甚远, 初步支持目前的分类

结果, 拟蛇鳝归为拟蛇鳝属^[12, 14, 38-39]。

4 结论

本研究测序获得我国海鳝科 9 个属 26 种鱼类的 16S *rRNA* 序列, 结合 GenBank 下载共 35 种鱼类序列, 共同分析分子系统分类关系, 针对相关分类争议的种属进行澄清。进化树结果揭示海鳝科主要形成裸海鳝亚科与海鳝亚科两个分支, 裸海鳝亚科包括尾鳝属与鞭尾鳝属, 海鳝亚科包括裸胸鳝属、裸海鳝属、勾吻鳝属、蛇鳝属等 8 个属。研究结果支持分类观点: 裸海鳝亚科分支中, 尾鳝属与鞭尾鳝属形成平行的姐妹分支, 支持虎斑鞭尾鳝归为鞭尾鳝属, 不应归为尾鳝属; 海鳝亚科分支中, 斑马裸海鳝单独形成一支, 支持其归为裸海鳝属, 为单型属物种; 拟蛇鳝与长海鳝属分类地位相距较远, 可从长海鳝属中分离出来归为拟蛇鳝属。豹纹勾吻鳝与海鳝属分子水平关系十分接近, 但其形态上还具有多个勾吻鳝属的基本特征, 至于是否归为海鳝属, 还需后续更多的分子与形态学研究加以验证。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] 成庆泰, 郑葆珊. 中国鱼类系统检索 [M]. 北京: 科学出版社, 1987: 99-108, 747-757.
Cheng Q T, Zheng B S. Systematic synopsis of Chinese fishes[M]. Beijing: Science Press, 1987: 99-108, 747-757 (in Chinese).
- [2] Nelson J S. Fishes of the world[M]. 4th ed. New Jersey: John Wiley & Sons Inc., 2006: 368-369.
- [3] 黄宗国. 中国海洋生物种类与分布 [M]. 北京: 海洋出版社, 2008: 751-752.
Huang Z G. Species and distribution of marine organisms in China[M]. Beijing: China Ocean Press, 2008: 751-752 (in Chinese).
- [4] 国家水产总局南海水产研究所. 南海诸岛海域鱼类志 [M]. 北京: 科学出版社, 1979: 207-218.
South China Sea Fisheries Research Institute. The fishes of the islands in the South China Sea[M]. Beijing: Science Press, 1979: 207-218 (in Chinese).
- [5] 中国科学院动物研究所, 中国科学院海洋研究所, 上海水产学院. 南海鱼类志 [M]. 北京: 科学出版社, 1962: 184-194.
Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Institute of Oceanography, Chinese Academy of Sciences, Shanghai Fisheries University. The fish of South China Sea[M]. Beijing: Science Press, 1962: 184-194 (in Chinese).
- [6] 孟庆闻, 苏锦祥, 缪学祖. 鱼类分类学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 139-141.
Meng Q W, Su J X, Miao X Z. Systematics of fishes[M]. Beijing: Chinese Agricultural Press, 1995: 139-141 (in Chinese).
- [7] 陈大刚, 张美昭. 中国海洋鱼类 (上卷)[M] 青岛: 中国海洋大学出版社, 2015: 248-266.
Chen D G, Zhang M Z. Marine fishes of China (Volume 1)[M]. Qingdao: China Ocean University Press, 2015: 248-266 (in Chinese).
- [8] 李明德. 鱼类分类学 [M]. 第 3 版. 北京: 海洋出版社, 2011: 77-78.
Li M D. Fish taxonomy[M]. 3th ed. Beijing: Ocean Press, 2011: 77-78 (in Chinese).
- [9] 朱元鼎. 福建鱼类志 (上)[M]. 福州: 福建省科学技术出版社, 1984: 220-225.
Zhu Y D. Fish of Fujian (Volume 1)[M]. Fuzhou: Fujian Science and Technology Press, 1984: 220-225 (in Chinese).
- [10] 祝茜. 中国海海洋鱼类种类名录 [M]. 北京: 学苑出版社, 1998: 48-51.
Zhu Q. A list of marine fish species in Chinese Sea[M]. Beijing: The Academic Press, 1998, 48-51 (in Chinese).
- [11] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 15628.1—2009 中国动物分类代码 第 1 部分: 脊椎动物 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration. GB/T 15628.1—2009 Taxonomic codes of the China fauna-part 1: Vertebrates[S]. Beijing: Standards Press of China, 2009 (in Chinese).
- [12] Froese R, Pauly D. FishBase. World Wide Web Electronic Publication[EB/OL]. (2020-08) [2021-01-15]. <https://www.fishbase.org>.
- [13] Smith D G, Bogorodsky S V, Mal A O, et al. Review of the moray eels (Anguilliformes: Muraenidae) of the Red
中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

- Sea, with description of a new species[J]. *Zootaxa*, 2019, 4704(1): 1-87.
- [14] 中坊徹次. 日本产鱼类检索 [M]. 第 3 版. 东京: 东海大学出版社, 2013: 245-262.
- Nakabo T. Fishes of Japan with pictorial keys to the species[M]. 3th ed. Tokyo: Tokai University Press, 2013: 245-262 (in Chinese).
- [15] Randall J E, Hitoshi I, Kato K, *et al.* Annotated checklist of the inshore fishes of the Ogasawara islands[J]. National Science Museum Monographs, 1997, 11: 1-74.
- [16] 杜民, 尹绍武, 刘艳红, 等. 中国裸胸鲭属 10 种鱼类分子系统发育关系的 16S *rDNA* 分析[J]. 海洋科学, 2013, 37(6): 16-23.
- Du M, Yin S W, Liu Y H, *et al.* Analysis of the molecular phylogenetic relationships of 10 *Gymnothorax* species from China Seas based on 16S *rDNA* fragment sequences[J]. *Marine Sciences*, 2013, 37(6): 16-23 (in Chinese).
- [17] 杜民, 齐兴柱, 尹绍武, 等. 基于 *Cyt b* 基因序列研究 6 种裸胸鲭属鱼类的进化关系[J]. *中国水产科学*, 2009, 16(1): 23-30.
- Du M, Qi X Z, Yin S W, *et al.* Phylogenetic relationships of 6 species in *Gymnothorax* based on sequences of cytochrome *b* gene[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2009, 16(1): 23-30 (in Chinese).
- [18] 齐兴柱, 骆剑, 刘志亮, 等. 基于 CO I 序列的 DNA 条形码在中国南海裸胸鲭属鱼类中的应用[J]. *热带生物学报*, 2010, 1(4): 321-326.
- Qi X Z, Luo J, Liu Z L, *et al.* Application of CO I-based DNA barcoding in *Gymnothorax* species in South China Sea[J]. *Journal of Tropical Organisms*, 2010, 1(4): 321-326 (in Chinese).
- [19] Reece J S, Bowen B W, Smith D G, *et al.* Molecular phylogenetics of moray eels (Muraenidae) demonstrates multiple origins of a shell-crushing jaw (*Gymnomuraena*, *Echidna*) and multiple colonizations of the Atlantic Ocean[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2010, 57(2): 829-835.
- [20] Kocher T D, Thomas W K, Meyer A, *et al.* Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1989, 86(16): 6190-6200.
- [21] 吕杨, 宋超, 刘媛媛, 等. 基于 16S *rRNA* 基因部分序列的长江口虾虎鱼科鱼类系统分类[J]. *海洋渔业*, 2016, 38(1): 17-25.
- Lü Y, Song C, Liu Y Y, *et al.* Phylogenetic analysis of Gobiidae in the Yangtze estuary based on partial sequence of mitochondrial 16S *rRNA*[J]. *Marine Fisheries*, 2016, 38(1): 17-25 (in Chinese).
- [22] 朱树人, 孟庆磊, 孙玉旋, 等. 基于线粒体 16S *rRNA* 基因序列的鳢属鱼类系统进化探讨[J]. *长江大学学报(自然科学版)*, 2015, 12(27): 25-29.
- Zhu S R, Meng Q L, Sun Y X, *et al.* Phylogenetic relationship of *Channa* inferred from mitochondrial 16S *rRNA* gene sequences[J]. *Journal of Yangtze University (Natural Science Edition)*, 2015, 12(27): 25-29 (in Chinese).
- [23] Palumbi S R. Nucleic acids II: the polymerase chain reaction[M]//Hillis D M, Moritz C, Mable B K. *Molecular systematics*. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 1996: 205-247.
- [24] Thompson J D, Higgins D G, Gibson T J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice[J]. *Nucleic Acids Research*, 1994, 22(22): 4673-4680.
- [25] 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.
- [26] Darriba D, Taboada G L, Doallo R, *et al.* jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing[J]. *Nature Methods*, 2012, 9(8): 772.
- [27] Stamatakis A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies[J]. *Bioinformatics*, 2014, 30(9): 1312-1313.
- [28] Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, *et al.* MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space[J]. *Systematic Biology*, 2012, 61(3): 539-542.
- [29] Chen H M, Shao K T. New eel genus, *Cirrimaxilla*, and description of the type species, *Cirrimaxilla formosa* (Pisces: Muraenidae) from southern Taiwan[J]. *Bulletin of Marine Science*, 1995, 57(2): 328-332.
- [30] Tang K L, Fielitz C. Phylogeny of moray eels (Anguilliformes: Muraenidae), with a revised classification of true eels (Teleostei: Elopomorpha: Anguilliformes)[J]. *Mito-*

- chondrial DNA, 2013, 24(1): 55-66.
- [31] 范蔓桦, 杨杰鑫, 谢瑞琳, 等. 我国沿海裸胸鳔属鱼类 DNA条形码及分子系统进化研究[J]. 仲恺农业工程学院学报, 2020, 33(2): 59-65.
Fan M H, Yang J L, Xie R L, *et al.* DNA barcoding and molecular phylogenetic relationship of *Gymnothorax* species from China sea[J]. Journal of Zhongkai University of Agriculture and Engineering, 2020, 33(2): 59-65 (in Chinese).
- [32] Hebert P D N, Ratnasingham S, de Waard J R. Barcoding animal life: cytochrome *c* oxidase subunit 1 divergences among closely related species[J]. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 2003, 270(S1): S96-S99.
- [33] Golani D, Bogorodsky S V. The fishes of the Red Sea—reappraisal and updated checklist[J]. Zootaxa, 2010, 2463(2463): 1-135.
- [34] De Bruin G H P, Russell B C, Bogusch A. The marine fishery resources of Sri Lanka[M]. Roma: FAO, 1994: 135.
- [35] Loh K H, Chen I S, Randall J E, *et al.* A review and molecular phylogeny of the moray eel subfamily Uropterygiinae (Anguilliformes: Muraenidae) from Taiwan, with description of a new species[J]. The Raffles Bulletin of Zoology, 2008(S19): 135-150.
- [36] Fricke R, Kulbicki M, Wantiez L. Checklist of the fishes of New Caledonia, and their distribution in the Southwest Pacific Ocean (Pisces)[J]. Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde A, Neue Serie, 2011, 4: 341-463.
- [37] Shao K T, Chen J P, Kao P H, *et al.* Fish fauna and their geographical distribution along the western coast of Taiwan[J]. Acta Zoologica Taiwanica, 1993, 4(2): 113-140.
- [38] Randall J E, Lim K K P. A checklist of fishes of the South China Sea[J]. The Raffles Bulletin Zoology, 2000(S8): 569-667.
- [39] Wickel J, Jamon A, Pinault M, *et al.* Composition et structure des peuplements ichtyologiques marins de l'île de Mayotte (sud-ouest de l'océan Indien)[J]. Cybium, 38(3): 179-203.

Molecular phylogenetic relationship of Muraenidae species in China Sea based on 16S *rRNA* gene sequences

CHEN Ming^{1,2,3,4}, FAN Manhua¹, XIE Ruilin¹, CHEN Yupei¹, LI Qingqing^{1,2,3,4}, LI Jiangtao^{1,2,3,4}, HUANG Yanhua^{1,2,3,4}, LIN Li^{1,2,3,4*}, LIANG Rishen^{1,2,3,4*}

(1. College of Animal Science and Technology, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China;

2. Guangdong Provincial Water Environment and Aquatic Products Security Engineering Technology Research Center, Guangzhou 510225, China;

3. Innovative Institute of Animal Healthy Breeding, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China;

4. Guangzhou Key Laboratory of Aquatic Animal Diseases and Waterfowl Breeding, Guangzhou 510225, China)

Abstract: Fishes of the family Muraenidae, commonly known as morays, are of commercial importance to fisheries worldwide. Morphologically, classification and identification in Muraenidae fish remain problematic because many closely-related species share common overlapping color patterns. Additionally, colorations and patterns in some Muraenidae species change greatly during their lives, making the juveniles quite distinct from their adult forms. To analyze the phylogenetic relationships of the Muraenidae fish based on the molecular level, and to clarify the species taxonomic controversies, 16S *rRNA* sequences of 26 Muraenidae species of 9 genera from China Sea were obtained by PCR amplification in this study. Combined with other Muraenidae sequences obtained from GenBank, the base composition, conserved sites, variable sites and genetic distance of the sequences were analyzed using Mega 7.0 software and the molecular phylogenetic trees were constructed by maximum likelihood and Bayesian inference methods. Results showed that: In the genetic distance results, the genetic distance values of 35

Muraenidae species ranged from 0.009 to 0.309. The maximum value (0.309) was found between species *Gymnothorax pseudothyrsoides* and *Scuticaria tigrina*, while the minimum value (0.009) was between *G. kidako* and *G. niphostigmus*. Within the genetic distance among 10 genera, the maximum inter-genera value (0.187-0.279) was found between genera *Gymnothorax* and *Uropterygius*, while the minimum value (0.045-0.131) was between genera *Enchelycore* and *Muraena*. Additionally, certain inter-species distance values within the same genus were large and even exceeded the inter-genera values. Like some species in the genera *Gymnothorax*, *Echidna* and *Enchelycore*, it indicated that the genetic differentiation level in some species had exceeded the inter-genera levels. In the phylogenetic tree, Muraenidae species formed two major groups: subfamily Uropterygiinae and subfamily Muraeninae groups. Uropterygiinae group comprised two genera *Uropterygius* and *Scuticaria*, while Muraeninae group comprised 8 genera including *Gymnothorax*, *Echidna*, *Enchelycore*, *Gymnomuraena*, etc., which was consistent with the current morphological classification result. In Uropterygiinae group, two genera *Uropterygius* and *Scuticaria* formed a parallel sister branch. In Muraeninae group, species *G. zebra* formed a separate branch and was located at the base of the group, and the remaining species were clustered into another large branch. Within this branch, genera like *Gymnothorax*, *Echidna*, *Enchelycore* and *Muraena* could not form monophyletic group. Species in these genera were clustered together in different positions of the phylogenetic tree, revealing their polyphyletic evolutionary status, which was consistent with the recent molecular phylogenetic studies. For the species/genera that were in morphological classificational controversy, our phylogenetic results supported the view that *G. zebra* was classified into genus *Gymnomuraena* as a monotypic species. *Scuticaria tigrina* was classified into genus *Scuticaria* and its phylogenetic status was sister to the genus *Uropterygius*. Species *Pseudechidna brummeri* showed distant relationship with genus *Strophidon*, which might be separated from *Strophidon* and classified into genus *Pseudechidna*. *Enchelycore pardalis* was closely related with genus *Muraena* at the molecular level, but morphologically, certain *Enchelycore* basic characteristics also existed in the species. Whether it could be classified into genus *Muraena*, further comprehensive molecular and morphological studies are needed for confirmation.

Key words: Muraenidae; mitochondrial DNA; 16S *rRNA*; phylogeny

Corresponding authors: LIN Li. E-mail: linli@zhku.edu.cn;

LIANG Rishen. E-mail: cheetahliang@126.com

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31802300); Natural Science Foundation of Guangdong Province (2018A0303130104); Foundation for Characteristic Innovation in Higher Education of Guangdong, China (2019KTSCX061); Undergraduate Training Programs for Innovation and Entrepreneurship of Guangdong Province (202011347047)