

DOI: 10.12264/JFSC2021-0486

## 艾氏蛇鳗线粒体基因组全序列结构分析和系统发育关系探讨

宁子君<sup>1</sup>, 刘玉萍<sup>1</sup>, 张书飞<sup>2</sup>, 高天翔<sup>1</sup>, 杨天燕<sup>1</sup>

1. 浙江海洋大学水产学院, 浙江 舟山 316022;

2. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东省渔业生态环境重点实验室, 广东 广州 510300

**摘要:** 本研究采用高通量测序技术获得了艾氏蛇鳗(*Ophichthus evermanni*)线粒体基因组全序列, 并对其结构和特征进行了分析。结果表明, 艾氏蛇鳗线粒体基因组全长 17759 bp, 包含了 13 个蛋白编码基因(PCGs)、22 个转运 RNA 基因(tRNA)、2 个核糖体 RNA 基因(rRNA)、2 个控制区(D-loop)和 1 个轻链复制起始区(O<sub>L</sub>)。线粒体 DNA 全序列的碱基组成分别为 A (31.27%)、G (16.19%)、C (26.22%)和 T (26.32%), 其中 A+T 含量(57.59%)大于 G+C 含量(42.41%), 呈现出明显的 A+T 偏好性。与大多数硬骨鱼类不同, 艾氏蛇鳗线粒体基因组中发生了基因重排现象, *ND6* 基因和 tRNA-Glu 移到了 tRNA-Thr 和 tRNA-Pro 之间, 且 *ND6* 基因上游还存在另一个高度同源的 D-loop 区。tRNA-Gln (Q)、tRNA-Ala (A)、tRNA-Asn (N)、tRNA-Cys (C)、tRNA-Tyr (Y)、tRNA-Ser<sup>UCA</sup> (S1)、tRNA-Glu (E)、tRNA-Pro (P)和 *ND6* 9 个基因位于 L 链, 其余基因均位于 H 链。除 tRNA-Ser (AGC)外, 其余 21 个 tRNA 均为典型的三叶草二级结构。分别采用邻接法和最大似然法, 基于 12 个蛋白编码基因(*ND6* 除外)构建了蛇鳗科鱼类系统发育关系树。结果显示艾氏蛇鳗与短尾蛇鳗(*O. brevicaudatus*)和食蟹豆齿蛇鳗(*Pisodonophis cancrivorus*)的亲缘关系较近, 蛇鳗属是蛇鳗科鱼类中分化较晚的一个类群。研究结果丰富了蛇鳗科鱼类线粒体基因组数据库, 也为该类群鱼类的系统分类研究提供了参考资料。

**关键词:** 艾氏蛇鳗; 高通量测序; 线粒体基因组; 系统发育分析

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2022)09-1264-13

蛇鳗科(Ophichthidae)是鳗鲡目(Anguilliformes)中种类分化最多且体形较为特化的一个类群, 全球发现并获得命名的约有 55 属 260 余种, 我国有 14 属 40 种。蛇鳗鱼类一般身体细长形似蛇状, 头部较小, 无尾鳍, 尾端尖突, 广泛分布于印度洋和太平洋西南部的热带、亚热带海域<sup>[1]</sup>。艾氏蛇鳗(*Ophichthus evermanni* Jordan & Richardson, 1909)分布于我国东海、南海以及日本南部近岸海域, 为蛇鳗科代表性鱼类, 常栖息于沿岸浅水泥底质海区。本种体延长, 稍粗; 背鳍起始于胸鳍末端上方, 背鳍、臀鳍在尾端呈菱形; 齿小且锐利; 体淡褐色, 背侧色较深且无明显条带, 体侧有 20 条左

右通达背鳍的不规则的褐色云状斑, 颈部也可见褐色斑纹<sup>[1-2]</sup>。目前, 国内外对蛇鳗科鱼类的研究主要集中在形态鉴定和新种的描述<sup>[1,3-9]</sup>、侧线管结构和嗅觉器官的比较等方面<sup>[10-11]</sup>, 尚未见到关于艾氏蛇鳗遗传学方面的相关研究报道。

线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA)是动物细胞核外唯一的遗传物质, 能够进行自主复制和转录翻译。与细胞核 DNA 相比, mtDNA 具有母系遗传、分子结构简单、进化速度快、无组织特异性等特点, 目前已成为研究物种起源与系统发生、近缘物种和种内群体间遗传分化、物种鉴定、遗传多样性分析等的有力工具<sup>[12-13]</sup>。鱼类

收稿日期: 2021-10-11; 修订日期: 2021-12-30.

基金项目: 国家自然科学基金项目(41776171, 32100405); 广东省渔业生态环境重点实验室开放基金项目(FEEL-2021-7); 浙江省教育厅一般项目(Y202148225).

作者简介: 宁子君(1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向为渔业资源学. E-mail: 799059303@qq.com

通信作者: 杨天燕, 博士, 副教授, 研究方向为鱼类种质资源学. E-mail: hellojelly1130@163.com

mtDNA 在进化遗传学研究中有着十分广泛的应用, 尤其是线粒体全基因组序列, 信息量相较于单个基因更大, 能够更全面地反映出物种的遗传特征和不同分类阶元的系统进化关系<sup>[14-15]</sup>。在近十余年中, 鱼类线粒体基因组研究受到了高度关注, 伴随着高通量测序技术的广泛应用, 已完成线粒体基因组测序的鱼类种类和数量呈现出快速增长的趋势。

本研究首次采用高通量测序技术, 获得了艾氏蛇鳗线粒体基因组全序列, 并对其基因组成和结构特征进行分析。结合 GenBank 数据库下载的近缘种线粒体序列信息, 利用蛋白编码基因组序列探讨了蛇鳗科鱼类的系统发育关系。研究结果将有效填补艾氏蛇鳗分子生物学领域的空白, 同时对蛇鳗科鱼类稀少的线粒体基因组数据进行补充完善, 进而为该类群鱼类的分类鉴定、种质资源评价和开发利用提供分子证据和理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料和 DNA 提取

用于本研究的艾氏蛇鳗(♀, 体长 771.42 mm, 体重 571.63 g)于 2020 年 10 月采自福建厦门近海。-20 °C 冷冻带回实验室后, 置于 95%乙醇中固定保存。实验前, 取背部肌肉 20 mg 放入玻璃培养皿中用蒸馏水浸泡 3~5 min, 取出后充分吸干水分, 放入 1.5 mL 离心管中晾干备用。采用传统氯仿-tris 饱和酚方法抽提基因组 DNA<sup>[16]</sup>, 分别使用 1%琼脂糖凝胶电泳和 Qubit 2.0 荧光计检测基因组 DNA 完整性和纯度。

### 1.2 高通量测序和基因注释

以 1 µg DNA 起始量建库, 用 Covaris M220 超声波破碎仪把 DNA 随机打断成 300~500 bp 的片段, 经末端修复、加 Poly A 尾和测序接头、回收纯化和 PCR 扩增等步骤完成整个文库制备, 构建好的文库基于边合成边测序(sequencing by synthesis, SBS)技术, 通过 Illumina HiSeq<sup>TM</sup> 2500 平台进行双末端测序。使用 Cutadapt 软件<sup>[17]</sup>对原始数据进行修剪质控后, 使用 NOVOPlasty 软件<sup>[18]</sup>对线粒体基因组进行组装, 借助在线工具 MITOS (<http://mitos2.bioinf.uni-leipzig.de/index.py>)完成基

因的定位和注释, 通过进一步与 GenBank 数据库中已公布的蛇鳗属鱼类线粒体基因组全序列人工比对校正以后, 最终确定每个基因的位置和长度信息。使用可视化工具 Organellar Genome DRAW (<https://chlorobox.mpimp-golm.mpg.de/OGDraw.html>)绘制线粒体基因组圈图<sup>[19]</sup>。

### 1.3 序列分析及基因二级结构预测

利用 DNAStar 软件<sup>[20]</sup>对艾氏蛇鳗线粒体全基因组序列进行比对与校正, 使用 MEGA-X 软件<sup>[21]</sup>统计分析序列的全长、碱基含量、氨基酸组成、相对同义密码子使用率(relative synonymous codon usage, RSCU)、结构特征及变异特点等信息。分别使用 tRNAscan-SE1.21 软件<sup>[22]</sup>和 RNAstructure 6.2 软件<sup>[23]</sup>预测 tRNA 和 rRNA 的二级结构。通过在线工具 Mfold (<http://www.unafold.org/>)预测轻链复制起始区(O<sub>L</sub>)的二级结构。

### 1.4 系统进化分析

从 GenBank 数据库中检索并下载了 7 种蛇鳗科鱼类的 8 条线粒体基因组全序列, 分别为短尾蛇鳗(*O. brevicaudatus*-MZ334613、MK189459)、圆身蛇鳗(*O. rotundus*-KY081397)、食蟹豆齿蛇鳗(*Pisodonophis cancrivorus*-AP019350)、杂食豆齿蛇鳗(*P. boro*-AP019349)、黑斑花蛇鳗(*Myrichthys maculosus*-AP010862)、鳄形短体鳗(*Brachysomophis crocodilinus*-KY081398)和大吻沙蛇鳗(*Ophisurus macrorhynchus*-AP002978)。以星康吉鳗(*Conger myriaster*-MW788427)为外群, 基于除 ND6 基因以外的 12 个蛋白编码基因串联序列, 分别使用最大似然法(maximum likelihood, ML)<sup>[24]</sup>和邻接法(neighbor-joining, NJ)<sup>[25]</sup>构建蛇鳗科鱼类的系统进化树以确定艾氏蛇鳗的进化位置, 两种方法均使用 1000 次 Bootstrap 自举法检验系统发育树的各分支置信度<sup>[26]</sup>。构建 ML 系统发育树时, 使用 Modeltest 3.7 软件<sup>[27]</sup>以似然率检验(LRT)标准来确定最佳拟合进化模型, 从 1000 次重复中选择似然率最大的拓扑结构作为其最终树。

## 2 结果与分析

### 2.1 基因组结构和组成

本研究采用高通量第二代测序技术获得的艾

氏蛇鳗的线粒体基因组, 全长为 17759 bp (图 1), 包含 22 个 tRNA 基因、13 个蛋白质编码基因、2 个 rRNA 基因和 3 个非编码区(2 个 D-loop 区、1 个轻链复制起始区), 其中 tRNA-Gln (Q)、tRNA-Ala (A)、tRNA-Asn (N)、tRNA-Cys (C)、tRNA-Tyr (Y)、tRNA-Ser<sup>UCA</sup> (S1)、tRNA-Glu (E)和 tRNA-Pro (P)和 *ND6* 基因位于轻链(L 链), 其余 28 个基因均位于重链(H 链)上(表 1)。与其他海水硬骨鱼类不同, 艾氏蛇鳗的线粒体基因组中存在基因重排现象, *ND6* 基因和 tRNA-Glu 移到了 tRNA-Thr 和 tRNA-Pro 之间, 除了 tRNA-Phe (F)和 tRNA-Pro (P)之间的 D-loop 区外, *ND6* 基因上游还存在另一个 D-loop 区。在艾氏蛇鳗的线粒体基因组全序列中共存在 5 处基因重叠和 13 处基因间隔(图 1, 表 1)。基因间隔总长度为 78 bp, 其中最大基因间隔 17 bp 存在于 Cyt *b* 和 tRNA-Thr (T)之间, 其次为 CO I 和 tRNA-Ser<sup>UCA</sup>(S1)之间的间隔碱基数为 16 bp。基因重叠总长度为 20 bp, *ATP8* 和 *ATP6* 之间具有较大重叠, 发生重叠的碱基数为 10 bp, 而 tRNA-Ile (I)、tRNA-Gln (Q)、tRNA-Met (M)两两之间以及 CO III 和 tRNA-Gly (G)之间均存在 1 bp 的碱基重叠。

序列分析显示, 艾氏蛇鳗的线粒体基因组碱基含量由高到低依次为: A (31.3%)>T (26.3%)> C (26.2%)>G (16.2%), 其中 A+T 含量(57.6%)高于 G+C 含量(42.4%), 表现为 A+T 的偏好性和碱基反 G 偏倚, 这与脊椎动物偏好于 A+T 碱基一致<sup>[28]</sup>。

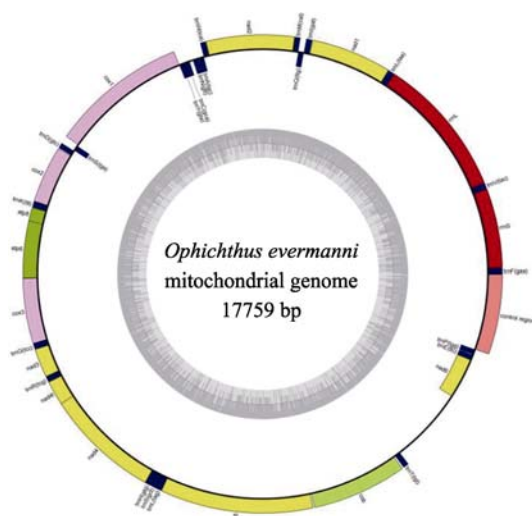


图 1 艾氏蛇鳗的线粒体基因组

Fig. 1 Mitochondrial genome of *Ophichthus evermanni*

## 2.2 蛋白质编码基因

艾氏蛇鳗的线粒体基因组中 13 个蛋白质编码基因序列总长度为 11490 bp, 除了 *ND6* 位于 L 链上, 其余 12 个基因 (*ATP6*, *ATP8*, CO I, CO II, CO III, Cyt *b*, *ND1*, *ND2*, *ND3*, *ND4*, *ND4L*, *ND5*) 均位于 H 链上。*ATP8* 与 *ATP6* 重叠 10 个核苷酸, CO III 与 tRNA-Gly (G)重叠 1 个核苷酸, *ND4L* 与 *ND4* 重叠 7 个核苷酸, *ND6* 与 tRNA-Thr (T)重叠 34 个核苷酸。13 个蛋白质编码基因中, 除了 CO I 基因起始密码子是 GTG、终止密码子是 TAG, *ND6* 基因起始密码子是 CTA、终止密码子是 CAT, 其余都是 ATG 为起始密码子、TAA 为终止密码子。终止密码子的缺失通常被认为是由聚腺苷酸化引起的, 本研究中艾氏蛇鳗的线粒体 *ND2*、CO II、*ATP6*、*ND3*、*ND4*、Cyt *b* 基因的终止密码子为不完全密码子, 分别为 T--、T--、TA--、T--、T--和 AA- (表 1), 这种终止密码子残缺现象在后生动物线粒体基因组中十分常见, 与多数硬骨鱼类线粒体蛋白编码基因终止密码子特点相同。

碱基的非均匀分布是编码区最明显的特征之一, 不同基因片段碱基含量虽然有所不同, 但均呈现出较低的 G 含量和较高的 A+T 富集(表 2)。位于 L 链上的 *ND6* 基因 A 碱基含量最高(39.5%), 位于 H 链的 *ATP8* 基因 G 碱基含量最低(11.31%)。在不同密码子碱基组成上, 密码子第 1 位点上 A、T、G、C 4 种碱基含量较为接近, 不存在碱基使用偏好; 密码子第 2 位点 T 含量最高而 G 含量最低, 表现出 T 偏倚和反 G 偏倚; 而密码子第 3 位点反 G 偏倚十分明显, 平均含量仅为 8.0% (表 2)。

## 2.3 密码子使用情况和氨基酸组成

使用 MEGA 软件分析得到艾氏蛇鳗的线粒体基因组的 RSCU, 用于检测氨基酸使用同义密码子的预期频率与其观测频率之比, 以便对密码子使用偏好性进行评估(表 3, 图 2)。结果表明, 艾氏蛇鳗的 13 个蛋白编码基因中存在 31 个偏好密码子(RSCU ≥ 1)<sup>[29]</sup>。密码子第 3 位是 C、A 碱基的密码子除了 UUC (F)、UUA (L)、AUC (I)、GUC (V)、UAC (Y)、CGC (R)以外, 密码子 RSCU 值均大于 1, 表现出对这两种碱基的使用偏好性。总

表 1 艾氏蛇鳗线粒体基因组结构特征

Tab. 1 Structural characteristics of the mitochondrial genome of *Ophichthus evermanni*

基因 gene	方向 direction	编码链 strand	起点 start	终点 end	长度/bp size	间隔长度/bp intergenic length	起始密码子 star codon	终止密码子 stop codon	反密码 anticodon
tRNA-Phe (F)	+	H	1	68	68				GAA
12S rRNA	+	H	69	1027	959				
tRNA-Val (V)	+	H	1028	1098	71				TAC
16S rRNA	+	H	1099	2801	1703				
tRNA-Leu <sup>UUA</sup> (L1)	+	H	2802	2877	76				TAA
<i>ND1</i>	+	H	2878	3846	969		ATG	TAA	
tRNA-Ile (I)	+	H	3850	3922	73	3			GAT
tRNA-Gln (Q)	-	L	3922	3992	71	-1			TTG
tRNA-Met (M)	+	H	3992	4060	69	-1			CAT
<i>ND2</i>	+	H	4061	5117	1057		ATG	T--	
tRNA-Trp (W)	+	H	5118	5186	69				TCA
tRNA-Ala (A)	-	L	5188	5256	69	1			TGC
tRNA-Asn (N)	-	L	5258	5330	73	1			GTT
<i>O<sub>L</sub></i>	+	H	5335	5368	34	4			
tRNA-Cys (C)	-	L	5375	5439	65	6			GCA
tRNA-Tyr (Y)	-	L	5440	5510	71				GTA
CO I	+	H	5512	7152	1641	1	GTG	TAG	
tRNA-Ser <sup>UCA</sup> (S1)	-	L	7169	7239	71	16			TGA
tRNA-Asp (D)	+	H	7245	7312	68	5			GTC
CO II	+	H	7319	8009	691	6	ATG	T--	
tRNA-Lys (K)	+	H	8010	8084	75				TTT
<i>ATP8</i>	+	H	8086	8253	168	1	ATG	TAA	
<i>ATP6</i>	+	H	8244	8926	683	-10	ATG	TA-	
CO III	+	H	8927	9712	786		ATG	TAA	
tRNA-Gly (G)	+	H	9712	9783	72	-1			TCC
<i>ND3</i>	+	H	9784	10132	349		ATG	T--	
tRNA-Arg (R)	+	H	10133	10202	70				TCG
<i>ND4L</i>	+	H	10203	10499	297		ATG	TAA	
<i>ND4</i>	+	H	10493	11873	1381	-7	ATG	T--	
tRNA-His (H)	+	H	11874	11942	69				GTG
tRNA-Ser <sup>AGC</sup> (S2)	+	H	11943	12012	70				GCT
tRNA-Leu <sup>CUA</sup> (L2)	+	H	12013	12085	73				TAG
<i>ND5</i>	+	H	12086	13921	1836		ATG	TAA	
<i>Cyt b</i>	+	H	13936	15077	1142	14	ATG	AA-	
tRNA-Thr (T)	+	H	15095	15166	72	17			TGT
D-loop1	+	H	15167	16132	966				
<i>ND6</i>	-	L	16133	16651	519		CTA	CAT	
tRNA-Glu (E)	-	L	16652	16720	69				TTC
tRNA-Pro (P)	-	L	16724	16794	71	3			TGG
D-loop2	+	H	16795	17759	965				

表 2 艾氏蛇鳗 13 个蛋白编码基因碱基组成  
Tab. 2 The base compositions of 13 protein-coding genes in *Ophichthus evermanni*

	长度/bp length	A (%)	T (%)	G (%)	C (%)	A+T (%)	C+G (%)
ND1	969	27.04	26.42	15.79	30.75	53.46	46.54
ND2	1059	34.56	24.27	12.65	28.52	58.83	41.17
CO I	1641	27.54	28.34	18.22	25.90	55.88	44.12
CO II	691	29.23	28.80	16.79	25.18	58.03	41.97
ATP8	168	35.12	25.60	11.31	27.98	60.71	39.29
ATP6	683	29.28	30.60	12.15	27.96	59.88	40.12
CO III	786	27.35	27.48	17.56	27.61	54.83	45.17
ND3	349	28.37	30.37	13.47	27.79	58.74	41.26
ND4L	297	28.62	27.27	13.80	30.30	55.89	44.11
ND4	1381	30.27	27.52	14.12	28.10	57.78	42.22
ND5	1836	31.81	26.96	13.56	27.67	58.77	41.23
ND6	519	39.50	14.26	14.07	32.18	53.76	46.24
Cyt b	1142	29.42	30.56	14.80	25.22	59.98	40.02
密码子第 1 位点	—	30.00	21.60	22.70	25.70	51.60	48.40
密码子第 2 位点	—	21.20	37.50	14.10	27.20	58.70	41.30
密码子第 3 位点	—	39.30	22.30	8.00	30.40	61.60	38.40
密码子所有位点	—	30.20	27.10	14.90	27.10	57.30	42.00

表 3 13 个蛋白编码基因密码子使用频率  
Tab. 3 Frequency of codon usage in 13 protein-coding genes

密码子 codon	计数 count	RSCU	密码子 codon	计数 count	RSCU	密码子 codon	计数 count	RSCU	密码子 codon	计数 count	RSCU
<b>UUU (F)</b>	<b>122</b>	<b>1.15</b>	UCU (S)	34	0.82	<b>UAU (Y)</b>	<b>70</b>	<b>1.03</b>	UGU (C)	15	0.79
UUC (F)	91	0.85	<b>UCC (S)</b>	<b>63</b>	<b>1.52</b>	UAC (Y)	66	0.97	<b>UGC (C)</b>	<b>23</b>	<b>1.21</b>
UUA (L)	91	0.97	<b>UCA (S)</b>	<b>81</b>	<b>1.96</b>	<b>UAA (*)</b>	<b>18</b>	<b>1.41</b>	<b>UGA (W)</b>	<b>103</b>	<b>1.72</b>
UUG (L)	17	0.18	UCG (S)	10	0.24	UAG (*)	7	0.55	UGG (W)	17	0.28
<b>CUU (L)</b>	<b>99</b>	<b>1.06</b>	CCU (P)	33	0.60	CAU (H)	42	0.77	CGU (R)	5	0.24
<b>CUC (L)</b>	<b>118</b>	<b>1.26</b>	<b>CCC (P)</b>	<b>76</b>	<b>1.38</b>	<b>CAC (H)</b>	<b>67</b>	<b>1.23</b>	CGC (R)	19	0.92
<b>CUA (L)</b>	<b>195</b>	<b>2.08</b>	<b>CCA (P)</b>	<b>101</b>	<b>1.83</b>	<b>CAA (Q)</b>	<b>93</b>	<b>1.60</b>	<b>CGA (R)</b>	<b>49</b>	<b>2.36</b>
CUG (L)	42	0.45	CCG (P)	11	0.20	CAG (Q)	23	0.40	CGG (R)	10	0.48
<b>AUU (I)</b>	<b>179</b>	<b>1.28</b>	ACU (T)	53	0.63	AAU (N)	59	0.80	AGU (S)	16	0.39
AUC (I)	100	0.72	<b>ACC (T)</b>	<b>101</b>	<b>1.20</b>	<b>AAC (N)</b>	<b>88</b>	<b>1.20</b>	<b>AGC (S)</b>	<b>44</b>	<b>1.06</b>
<b>AUA (M)</b>	<b>156</b>	<b>1.58</b>	<b>ACA (T)</b>	<b>163</b>	<b>1.93</b>	<b>AAA (K)</b>	<b>83</b>	<b>1.61</b>	<b>AGA (*)</b>	<b>17</b>	<b>1.33</b>
AUG (M)	41	0.42	ACG (T)	20	0.24	AAG (K)	20	0.39	AGG (*)	9	0.71
<b>GUU (V)</b>	<b>55</b>	<b>1.19</b>	GCU (A)	33	0.45	GAU (D)	20	0.52	GGU (G)	19	0.36
GUC (V)	45	0.97	<b>GCC (A)</b>	<b>146</b>	<b>1.97</b>	<b>GAC (D)</b>	<b>57</b>	<b>1.48</b>	<b>GGC (G)</b>	<b>62</b>	<b>1.17</b>
<b>GUA (V)</b>	<b>70</b>	<b>1.51</b>	<b>GCA (A)</b>	<b>104</b>	<b>1.41</b>	<b>GAA (E)</b>	<b>82</b>	<b>1.64</b>	<b>GGA (G)</b>	<b>99</b>	<b>1.87</b>
GUG (V)	15	0.32	GCG (A)	13	0.18	GAG (E)	18	0.36	GGG (G)	32	0.60

注：黑体表示偏好密码子。

Note: Preference codons are indicated in bold.

长度为 11490 bp 的基因序列共编码氨基酸数量为 3779 个, 从氨基酸组成来看, 艾氏蛇鳗的线粒体基因组中最常见的氨基酸为亮氨酸(Leu),

含量为(14.87%), 其次为酪氨酸(Thr), 而使用最少的氨基酸是半胱氨酸(Cys), 含量仅为 1.01% (图 2)。

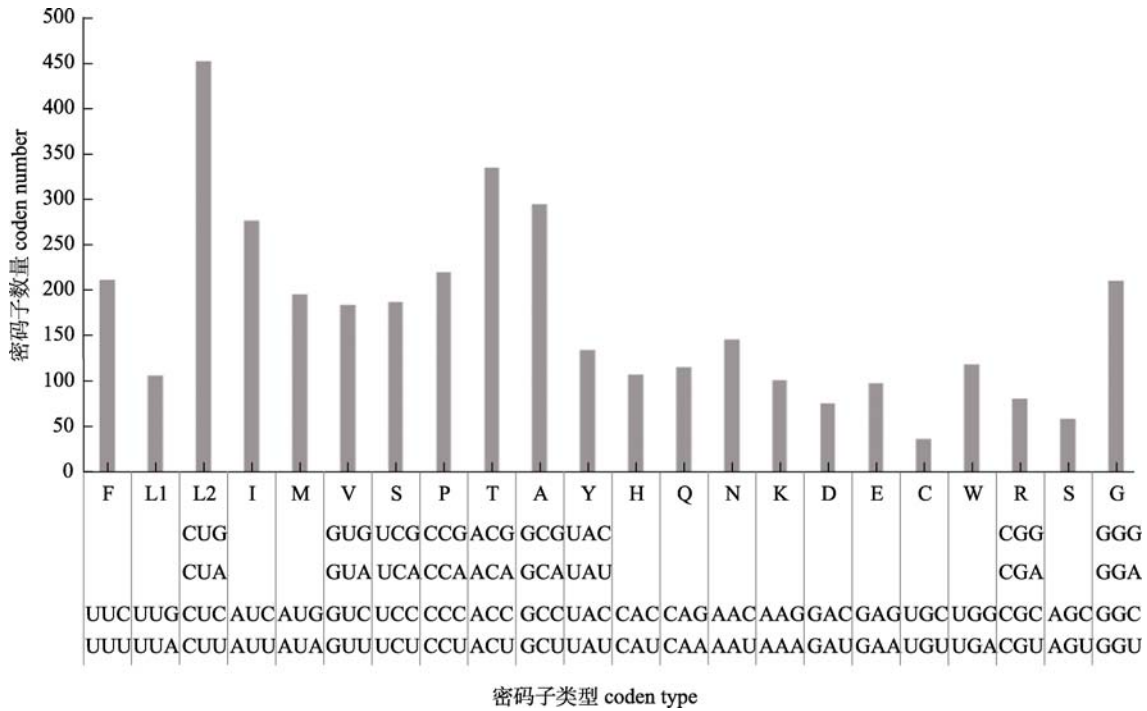


图 2 艾氏蛇鳗的总密码子含量  
Fig. 2 Total codon content in *Ophichthus evermanni*

2.4 核糖体 RNA 和转运 RNA

与一般硬骨鱼类相似, 艾氏蛇鳗的线粒体基因组中的核糖体 RNA 基因分别为 12S rRNA 和 16S rRNA 两种, 二者均位于 H 链上的 tRNA-Phe (F)和 tRNA-Leu<sup>UUA</sup> (L1)之间, 彼此间由 tRNA-Val (V)隔开。12S rRNA 序列长度为 959 bp, 在线粒体序列中的位置是 69~1027 bp, 16S rRNA 序列长度为 1703 bp, 在线粒体序列中的位置是 1099~2801 bp。采用在线软件 RNAfold 分别预测了艾氏蛇鳗 12S rRNA 基因和 16S rRNA 基因的二级结构, 发现 2 个 rRNA 基因的二级结构都相对比较保守, 形成多个大小不一的茎环结构, 其中 12S rRNA 的最小自由能为-224.40 kcal/mol, 16S rRNA 的最小自由能为-366.50 kcal/mol。

艾氏蛇鳗的线粒体基因组共有 22 个序列长度在 65~76 bp 的转运 RNA 基因, 且存在 2 个 tRNA-Leu (L)和 tRNA-Ser (S), 其反密码分别为 tRNA-Leu<sup>UUA</sup> (L1)=TAA、tRNA-Leu<sup>CUA</sup> (L2)=TAG、tRNA-Ser<sup>UCA</sup> (S1)=TGA、tRNA-Ser<sup>AGC</sup> (S2)=GCT。tRNA-Phe (F)、tRNA-Val (V)、tRNA-Leu<sup>UUA</sup> (L1)、tRNA-Ile (I)、tRNA-Met (M)、tRNA-Trp (W)、

tRNA-Asp (D)、tRNA-Lys (K)、tRNA-Gly (G)、tRNA-Arg (R)、tRNA-His (H)、tRNA-Ser<sup>AGC</sup> (S2)、tRNA-Leu<sup>CUA</sup> (L2)和 tRNA-Thr (T)位于 H 链上, 其余 8 个 tRNA 基因位于 L 链上。除 tRNA-Ser<sup>AGC</sup> (S2)缺失二氢尿嘧啶臂(DHU 臂)而不能形成三叶草结构, 其他 21 个 tRNA 都具有典型的三叶草二级结构。这种三叶草结构包含了由 14 bp 碱基两两配对形成的氨基酸受体臂, 以及 8~10 bp 碱基两两配对形成的反密码子臂、4~8 bp 碱基两两配对形成的 DHU 臂、8~10 bp 碱基两两配对形成的假尿嘧啶臂(TΨC 臂)及其所连接的 3 个环: 7 bp 的反密码子环(tRNA-Thr 和 tRNA-Val 为 9 bp)、2~12 bp 的 DHU 环和 7 bp 的 TΨC 环(tRNA-Cys 为 6 bp、tRNA-Phe 为 8 bp)。

2.5 非编码区

艾氏蛇鳗的线粒体的非编码区包括 3 部分, 即 2 个控制区 control region, 又称 D-loop 区, (displacement-loop region)和 1 个 L-链复制起始区, 又称 O<sub>L</sub> 区(origin of L-strand replication region)。2 个控制区长度分别为 966 bp 和 965 bp, 前者位于 tRNA-Thr (T)和 ND6 基因之间, 后者位于



tRNA-Pro (P)和 tRNA-Phe (F)之间, 利用 DNASTar 软件包中的 Megalign 程序进行序列比对, 基于 Clustal W 算法得到 2 个控制区的序列相似度为 94.5% (图 3)。长度为 34 bp 的 O<sub>L</sub> 区则位于 5 个 tRNA 基因簇(tRNA-Trp、tRNA-Ala、tRNA-Asn、

tRNA-Cys、tRNA-Tyr)即“WANCY”区之间, 与其两侧的 tRNA-Cys 和 tRNA-Tyr 分别存在 4 bp 和 6 bp 的间隔。3 段非编码区总长为 1965 bp, 约占线粒体基因组全序列的 11.06%。使用 Mfold 在线工具预测 O<sub>L</sub> 的二级结构如图 4 所示, 这段 DNA 序

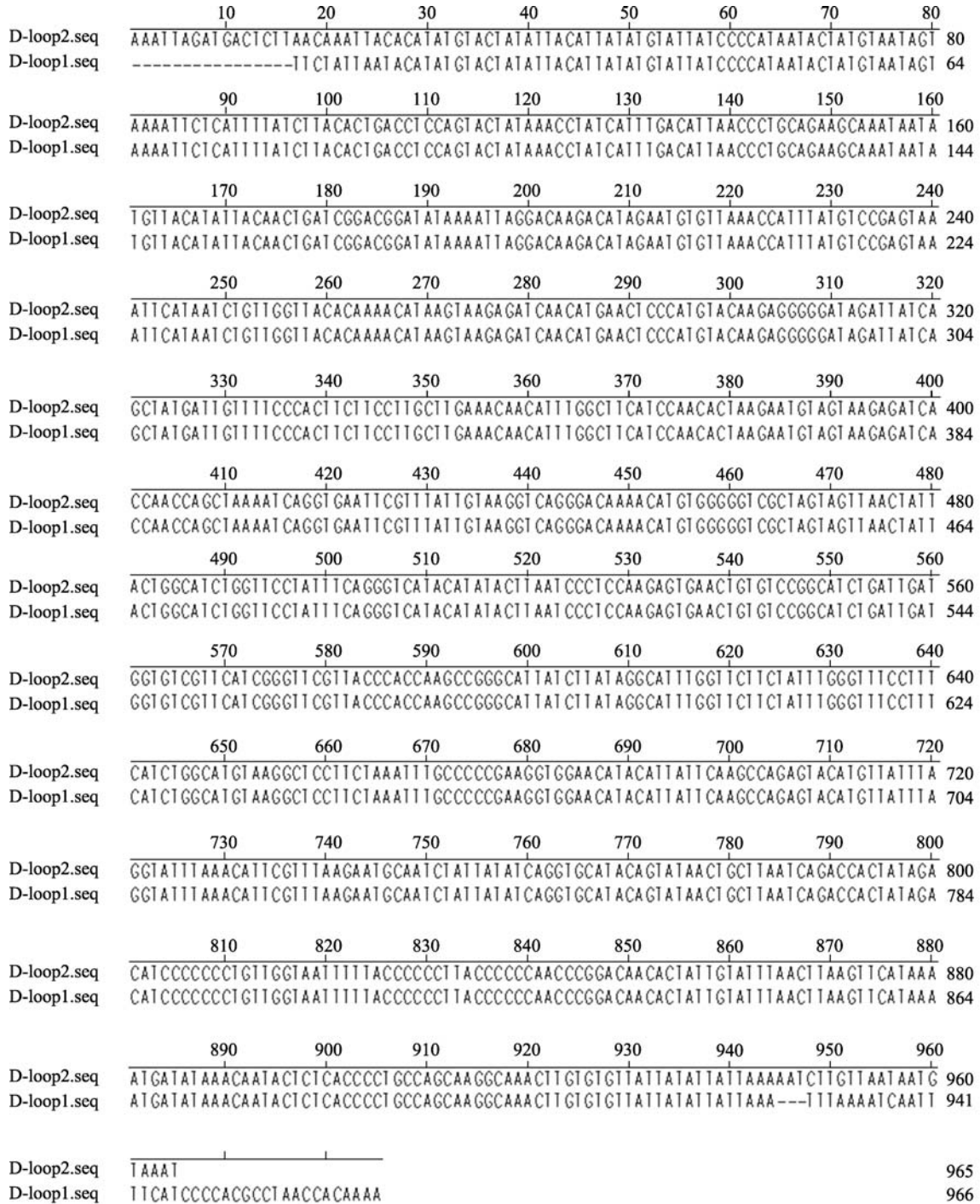


图 3 艾氏蛇鳗两个 D-loop 区的序列比较  
Fig. 3 Sequence comparison of two D-loop regions in *Ophichthus evermanni*





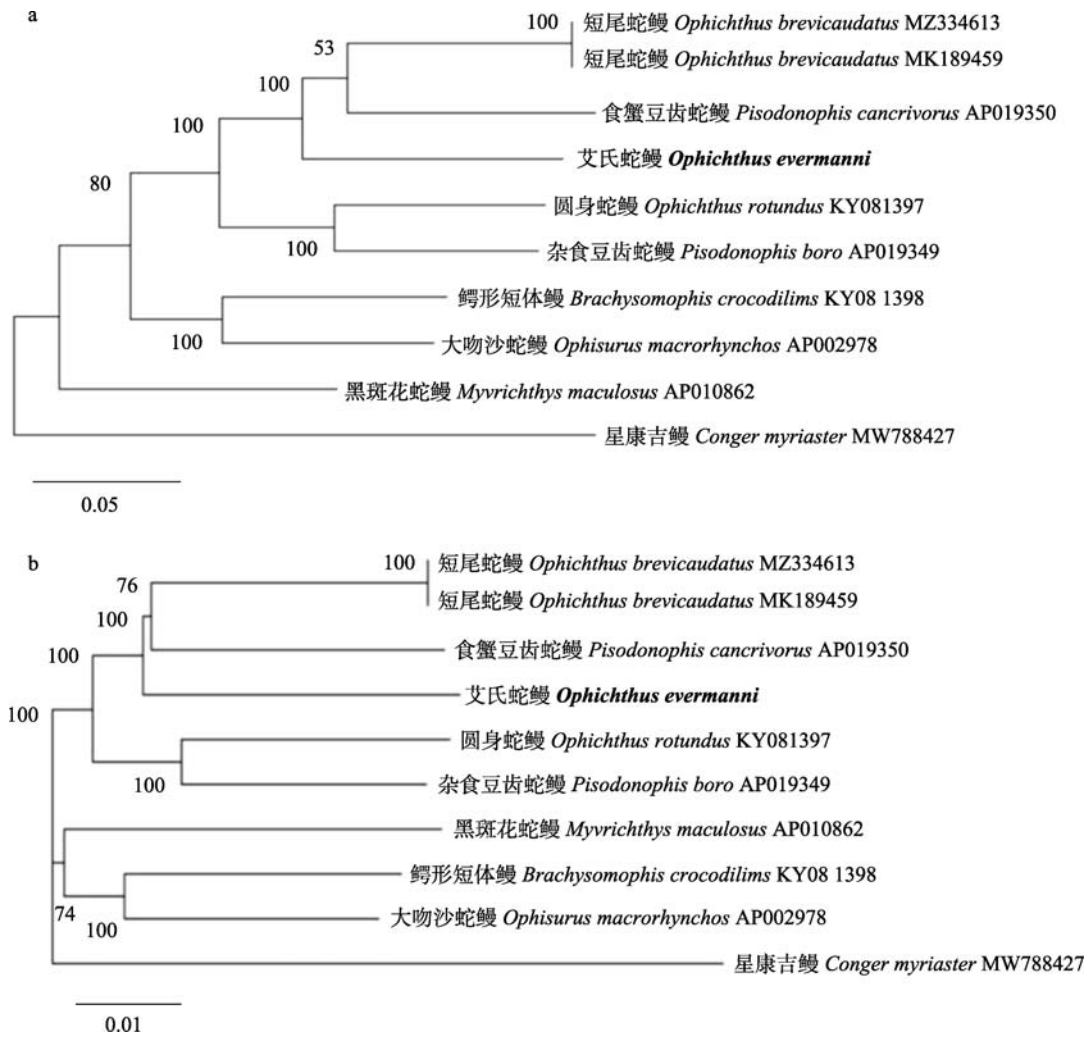


图 5 基于线粒体基因组 12 个蛋白质基因序列构建的蛇鳗科鱼类 ML (a)和 NJ (b)系统发育树  
Fig. 5 ML (a) and NJ (b) phylogenetic tree of the Ophichthidae fishes based on nucleotide sequences of 12 protein genes in mitochondrial genome

相关, 通常来说, 自由能越低代表其分子结构越稳定<sup>[36]</sup>。本研究中预测到艾氏蛇鳗的线粒体 12S rRNA 二级结构的最小自由能低于 16S rRNA, 表明艾氏蛇鳗 12S rRNA 基因比 16S rRNA 基因更加保守, 与沙塘鳢(*Odontobutis obscurus*)<sup>[37]</sup>、兰州鲇(*Silurus lanzhouensis*)<sup>[38]</sup>、三角鲂(*Megalobrama terminalis*)<sup>[39]</sup>的相似。因此, 12S rRNA 也被用作 DNA 宏条形码(DNA metabarcoding)来进行鱼类鉴定和系统发育研究<sup>[40]</sup>。艾氏蛇鳗的 mtDNA 中部分 tRNA 基因发生了碱基错配现象, 且以 G-U 错配居多, 这种碱基的错配在脊椎动物基因组中较为常见, 可以借助后期的 RNA 编辑通过核苷酸取代转化为更稳定的碱基对进行纠正<sup>[41]</sup>。

### 3.2 控制区结构和基因重排分析

从线粒体 DNA 的基因组成来看, 艾氏蛇鳗与其他硬骨鱼类有较大不同, 主要表现在非编码区包含了 2 个控制区(D-loop)和 1 个轻链复制起始区(O<sub>L</sub>)。2001 年, Lee 等<sup>[42]</sup>首次在花斑溪鱗(*Rivulus marmoratus*)的 mtDNA 中发现 2 个控制区, 之后有研究报道, 蛇鳗科其他鱼类如短尾蛇鳗<sup>[31]</sup>、圆身蛇鳗和大吻沙蛇鳗<sup>[43]</sup>、食蟹豆齿鳗和杂食豆齿鳗<sup>[44]</sup>中亦有该现象。作为线粒体基因组中最大的非编码区, 控制区与线粒体 DNA 的转录与复制调控有着密切联系<sup>[45]</sup>。因此, 控制区的倍增(duplication)或退化(degeneration)在进化上都具有非常重要的意义<sup>[46]</sup>。本研究中艾氏蛇鳗的 2 个控制

区序列相似度很高,二者具有共同的起源。根据 Boore 对 mtDNA 重复控制区产生机制的 3 种解释,即串联重复(tandem duplication)、二聚化作用(dimerization)和异常重组(illegitimate recombination)<sup>[47]</sup>,推测蛇鳗科鱼类的共同祖先可能经历了一次 DNA 复制错误,通过滑动链错配或不精确终止的方式随机重复产生了含有双控制区的线粒体 DNA。相较于 1 个控制区的线粒体基因组,蛇鳗科鱼类 mtDNA 的双控制区可以同步启动复制,能够在一次复制周期中获得更多的复制产物,具有更多的选择优势被自然选择保留了下来。目前在爬行动物、蛛形动物以及鸟类的研究中,发现线粒体双控制区既有协同进化(concerted evolution)模式<sup>[46,48-49]</sup>,即来自同一个体的并系同源拷贝具有更近亲缘关系;也有独立进化(independent evolution)模式<sup>[34]</sup>,即来自不同个体的直系同源拷贝亲缘关系更近;抑或是两种模式并存<sup>[50-51]</sup>。究竟艾氏蛇鳗选择哪种进化模式,需要在今后的研究中选择更多的样本个体进行比较分析。

除了基因组成发生变化,艾氏蛇鳗线粒体的基因排列顺序也发生了重排现象,即 ND6 基因和 tRNA-Glu (E)转移到了 tRNA-Pro (P)和 D-loop2 之间, D-loop1 转移到 ND6 基因的上游。龚理等<sup>[52]</sup>对 NCBI 数据库中的一千余种鱼类线粒体基因组全序列进行分析发现,共有 52 种鱼线粒体基因组发生了重排,并将这些重排归纳为 3 种类型: 滑移(shuffling)、移位(translocation)和倒置(inversion)。参考 Lü 等<sup>[31]</sup>和 Zhang 等<sup>[32]</sup>分别对短尾蛇鳗和海鳗线粒体基因重排现象的解释,推测造成艾氏蛇鳗基因重排的原因同样也是基因的随机重复和随机丢失(tandem duplication and random loss, TDRL)。

### 3.3 系统进化分析

蛇鳗科(Ophichthyidae)广泛分布于热带和亚热带大陆架水域,依靠尖突的头部和尖秃骨化的尾端在砂土或珊瑚礁中潜穴。由于该类群数量众多且外形差异相对较小,给有效的物种鉴定和类群间的系统发育关系探讨带来了很大困难。由于单基因所包含的系统发育信息过少,且在不同生物群体中的系统重建能力不同,难以全面反映整

个生物分子进化水平,因此目前多采用联合基因分析的方法来进行系统进化分析<sup>[53]</sup>。本研究基于 12 个 H 链编码的蛋白质基因串联序列数据集,分别以 ML 法和 NJ 法构建艾氏蛇鳗系统发育树,结果表明两种方法建的分子进化树结构大致相同。蛇鳗属与豆齿鳗属亲缘关系较近,但同属鱼类并未聚到一起而是存在交叉,这与张稚兰等<sup>[54]</sup>采用线粒体 CO I 基因得出的结论相似。Filleul 等<sup>[55]</sup>在研究海鲢总目(Elopomorpha)的单系性时,依据 12S rRNA、16SrRNA 和 18S rRNA 基因分析得出蛇鳗属是较为进化的类群,而 Obermiller 等<sup>[56]</sup>则认为该类群位于较原始的位置。本研究采用线粒体联合基因分析发现蛇鳗属鱼类在聚类树中较晚分化,支持前者的研究结论。然而,由于线粒体基因组不同区域的进化速率存在差异,所包含的系统发育信息也不尽相同,因此,对于蛇鳗科鱼类的系统进化关系和物种分类鉴定,还有待于采集更多鱼类样本并结合基因组学数据深入探索研究。

### 参考文献:

- [1] Tang W Q, Zhang C G. A taxonomic study on snake eel family Ophichthidae in China with the review of Ophichthidae (Pisces, Anguilliformes)[J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2004, 13(1): 16-22. [唐文乔, 张春光. 蛇鳗科分类综述及中国蛇鳗科系统分类(鱼纲, 鳗鲡目)[J]. 上海水产大学学报, 2004, 13(1): 16-22.]
- [2] Chen D G, Zhang M Z. Marine Fishes of China[M]. Qingdao: China Ocean University Press, 2015. [陈大刚, 张美昭. 中国海洋鱼类[M]. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2015.]
- [3] Yan C J. A rare snake eel Buffon snake eel (*Microdonophis erabo*) was found in the south of Yellow Sea[J]. Journal of Dalian Fisheries University, 1996, 11(3): 77-78. [颜春娟. 一种罕见蛇鳗——圆斑小齿蛇鳗在黄海南部发现[J]. 大连水产学院学报, 1996, 11(3): 77-78.]
- [4] Tang W Q, Zhang C G. One new species of the family Ophichthidae from East China Sea (Pisces: Anguilliformes)[J]. Acta Zootaxonomica Sinica, 2002, 27(4): 854-856. [唐文乔, 张春光. 中国蛇鳗科鱼类一新种(鱼纲: 鳗鲡目: 蛇鳗科)[J]. 动物分类学报, 2002, 27(4): 854-856.]
- [5] Liu D, Tang W Q, Zhang C G. A new record genus and a new record species of Ophichthidae from the South China Sea (Pisces, Anguilliformes)[J]. Acta Zootaxonomica Sinica, 2005, 30(1): 199-201. [刘东, 唐文乔, 张春光. 中国南海蛇鳗科一新纪录属及一新纪录种(鱼纲, 鳗鲡目)[J]. 动物分

- 类学报, 2005, 30(1): 199-201.]
- [6] Zhu Y D, Wu H L, Jin X B. Fouk new species of the families Ophichthyidae and Neenchelidae[J]. Journal of Fisheries of China, 1981, 5(1): 21-27. [朱元鼎, 伍汉霖, 金鑫波. 中国蛇鳎科和新鳎科的 4 新种[J]. 水产学报, 1981, 5(1): 21-27.]
- [7] Mohapatra A, Ray D, Mohanty S R, et al. *Ophichthus johnmccoskeri* sp. nov. (Anguilliformes: Ophichthidae): A new snake eel from Indian waters, Bay of Bengal[J]. Zootaxa, 2018, 4462(2): 251-256.
- [8] Hibino Y, Chiu Y C, Chen H M, et al. Two new species of the genus *Ophichthus* from the western central Pacific Ocean, with a redescription of *Ophichthus megalops* Asano, 1987 (Anguilliformes: Ophichthidae)[J]. Zootaxa, 2019, 4702(1): zootaxa.4702.1.17.
- [9] Shitamitsu T, Sunobe T. Record of a mature female *Ophichthus zophistius* (Anguilliformes: Ophichthidae) from the northwestern Pacific[J]. Ichthyological Research, 2020, 67(1): 221-223.
- [10] Zhang Y W. On the structure of the lateral line canal of apodes and its significance on classification[J]. Acta Zoologica Sinica, 1964, 10(4): 653-660. [张有为. 鳎目侧线管结构及其分类意义[J]. 动物学报, 1964, 10(4): 653-660.]
- [11] Liu D. Comparative morphology and phylogenetic study on olfactory organs of Ophiopogonidae in China[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2005. [刘东. 中国蛇鳎科鱼类嗅觉器官的比较形态学及其系统发育研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2005.]
- [12] Gao T X, Gao B B, Li Z L, et al. Population genetics study of *Leiognathus equulus* based on the control region fragment of mitochondrial DNA[J]. Journal of Fisheries of China, 2020, 44(5): 715-722. [高天翔, 高兵兵, 李忠炉, 等. 基于线粒体 DNA 控制区序列的短棘鳎群体遗传学[J]. 水产学报, 2020, 44(5): 715-722.]
- [13] Xing J J. The types of molecular markers and the research and applications of molecular markers technology on the aquatic creature[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2002, 15(1): 61-70. [邢晶晶. 分子遗传标记及其技术在水产生物中的研究与应用[J]. 水产学杂志, 2002, 15(1): 61-70.]
- [14] Zhao K. Mitochondrial DNA (mtDNA) of fish and application in molecular phylogenetic[J]. Journal of Qinghai University, 2006, 24(2): 49-53. [赵凯. 鱼类线粒体 DNA (mtDNA)及其在分子系统学中的应用[J]. 青海大学学报: 自然科学版, 2006, 24(2): 49-53.]
- [15] Avise J C, Arnold J, Ball R M, et al. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics[J]. Annual Review of Ecology and Systematics, 1987, 18: 489-522.
- [16] Maniatis T, Fritsch E F, Sambrook J. Molecular Cloning: a Laboratory Manual[M]. Cold Spring Harbor, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory, 1982.
- [17] Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads[J]. EMBnet Journal, 2011, 17(1): 10.
- [18] Dierckxsens N, Mardulyn P, Smits G. NOVOPlasty: *de novo* assembly of organelle genomes from whole genome data[J]. Nucleic Acids Research, 2016, 45(4): e18.
- [19] Greiner S, Lehwark P, Bock R. OrganellarGenomeDRAW (OGDRAW) version 1.3.1: Expanded toolkit for the graphical visualization of organellar genomes[J]. Nucleic Acids Research, 2019, 47(W1): W59-W64.
- [20] Burland T G. DNASTAR's lasergene sequence analysis software[M]//Bioinformatics Methods and Protocols. Clifton: Humana Press, 2003: 71-91.
- [21] Kumar S, Stecher G, Li M, et al. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms[J]. Molecular Biology and Evolution, 2018, 35(6): 1547-1549.
- [22] Lowe T M, Eddy S R. tRNAscan-SE: A program for improved detection of transfer RNA genes in genomic sequence[J]. Nucleic Acids Research, 1997, 25(5): 955-964.
- [23] Reuter J S, Mathews D H. RNAstructure: Software for RNA secondary structure prediction and analysis[J]. BMC Bioinformatics, 2010, 11: 129.
- [24] Guindon S, Gascuel O. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood[J]. Systematic Biology, 2003, 52(5): 696-704.
- [25] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees[J]. Molecular Biology and Evolution, 1987, 4(4): 406-425.
- [26] Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap[J]. Evolution; International Journal of Organic Evolution, 1985, 39(4): 783-791.
- [27] Posada D, Crandall K A. MODELTEST: Testing the model of DNA substitution[J]. Bioinformatics, 1998, 14(9): 817-818.
- [28] Huang Z H, Yang C Z. Analysis of GC contents in animal mitogenome[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2015, 34(1): 107-110. [黄族豪, 杨承忠. 动物线粒体基因组 GC 含量分析[J]. 四川动物, 2015, 34(1): 107-110.]
- [29] Behura S K, Severson D W. Codon usage bias: Causative factors, quantification methods and genome-wide patterns: With emphasis on insect genomes[J]. Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society, 2013, 88(1): 49-61.
- [30] Inoue J G, Miya M, Tsukamoto K, et al. Complete mitochondrial DNA sequence of *Conger myriaster* (Teleostei: Anguilliformes): Novel gene order for vertebrate mitochon-

- drial genomes and the phylogenetic implications for anguilliform families[J]. *Journal of Molecular Evolution*, 2001, 52(4): 311-320.
- [31] Lü Z, Zhu K H, Jiang H, et al. Complete mitochondrial genome of *Ophichthus brevicaudatus* reveals novel gene order and phylogenetic relationships of Anguilliformes[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 135: 609-618.
- [32] Zhang K, Zhu K H, Liu Y F, et al. Novel gene rearrangement in the mitochondrial genome of *Muraenesox cinereus* and the phylogenetic relationship of Anguilliformes[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11: 2411.
- [33] Yuan Z M, Wang Z, Zhang Y S, et al. Several statistic characteristics derived from codons of mitochondrial and nuclear genes and their relevancy[J]. *Life Science Research*, 2005, 9(2): 110-117, 128. [袁哲明, 王智, 张永生, 吉洪湖, 欧阳芳, 文迪彪. 线粒体和核基因密码子的若干统计特征及其关联[J]. *生命科学研究*, 2005, 9(2): 110-117, 128.]
- [34] Lee W J, Conroy J, Howell W H, et al. Structure and evolution of teleost mitochondrial control regions[J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1995, 41(1): 54-66.
- [35] Frank A C, Lobry J R. Asymmetric substitution patterns: A review of possible underlying mutational or selective mechanisms[J]. *Gene*, 1999, 238(1): 65-77.
- [36] Liu Y M, Zhao X Y, Wang X Z, et al. Study of the structure of biological macromolecules based on free energy[J]. *Chemical World*, 2006, 47(8): 508-510. [刘毅敏, 赵先英, 王祥智, 等. 基于自由能的生物大分子结构研究[J]. *化学世界*, 2006, 47(8): 508-510.]
- [37] Zhang Y P, Zheng H M, Shao F, et al. Sequencing and analysis of the complete mitochondrial genome of *Odontobutis*[J]. *Journal of Changshu Institute of Technology*, 2016, 30(4): 97-104. [张燕萍, 郑红梅, 邵芳, 等. 沙塘鳢线粒体基因组全序列的测定和分析[J]. *常熟理工学院学报*, 2016, 30(4): 97-104.]
- [38] Lian Z Q, Gun S B, Li L, et al. Sequencing and analysis of the complete mitochondrial genome of *Silurus lanzhouensis* based on next generation sequencing technologies[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2017, 41(2): 334-345. [连总强, 滚双宝, 李力, 等. 基于第二代测序技术兰州鲇线粒体基因组全序列测定与分析[J]. *水生生物学报*, 2017, 41(2): 334-345.]
- [39] Liu K, Feng X Y, Ma H J, et al. Complete sequence and gene organization of mitochondrial genome of *Megalobrama terminalis* from Qiantang River[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2020, 32(9): 1591-1608. [刘凯, 冯晓宇, 马恒甲, 等. 钱塘江三角鲂线粒体基因组测序及其结构特征分析[J]. *浙江农业学报*, 2020, 32(9): 1591-1608.]
- [40] Miya M, Sato Y, Fukunaga T, et al. MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: Detection of more than 230 subtropical marine species[J]. *Royal Society Open Science*, 2015, 2(7): 150088.
- [41] Watanabe K, Yokobori S I. tRNA modification and genetic code variations in animal mitochondria[J]. *Journal of Nucleic Acids*, 2011, 2011: 623095.
- [42] Lee J S, Miya M, Lee Y S, et al. The complete DNA sequence of the mitochondrial genome of the self-fertilizing fish *Rivulus marmoratus* (Cyprinodontiformes, Rivulidae) and the first description of duplication of a control region in fish[J]. *Gene*, 2001, 280(1-2): 1-7.
- [43] Inoue J G, Miya M, Tsukamoto K, et al. Mitogenomic evidence for the monophyly of elopomorph fishes (Teleostei) and the evolutionary origin of the leptocephalus larva[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2004, 32(1): 274-286.
- [44] Miyake T, Aihara N, Maeda K, et al. Bloodmeal host identification with inferences to feeding habits of a fish-fed mosquito, *Aedes baisasi*[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 4002.
- [45] Li Y W, Liu Q J. The variation of D-loop in mitochondrial genome and the mutation induced by irradiation[J]. *Journal of Radiation Research and Radiation Processing*, 2008, 26(1): 1-4. [李玉文, 刘青杰. 线粒体基因组 D-loop 区变异及辐射诱发突变[J]. *辐射研究与辐射工艺学报*, 2008, 26(1): 1-4.]
- [46] Shao R F, Barker S C, Mitani H, et al. Evolution of duplicate control regions in the mitochondrial genomes of Metazoa: A case study with Australasian *Ixodes* ticks[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2004, 22(3): 620-629.
- [47] Boore J L. The duplication/random loss model for gene rearrangement exemplified by mitochondrial genomes of deuterostome animals[M]//*Comparative Genomics*. Dordrecht: Springer Netherlands, 2000: 133-147.
- [48] Kumazawa Y, Ota H, Nishida M, et al. Gene rearrangements in snake mitochondrial genomes: Highly concerted evolution of control-region-like sequences duplicated and inserted into a tRNA gene cluster[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 1996, 13(9): 1242-1254.
- [49] Eberhard J R, Wright T F, Bermingham E. Duplication and concerted evolution of the mitochondrial control region in the parrot genus *Amazona*[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2001, 18(7): 1330-1342.
- [50] Abbott C L, Double M C, Trueman J W H, et al. An unusual source of apparent mitochondrial heteroplasmy: Duplicate mitochondrial control regions in *Thalassarche* albatrosses[J]. *Molecular Ecology*, 2005, 14(11): 3605-3613.

- [51] Morris-Pocock J A, Taylor S A, Birt T P, et al. Concerted evolution of duplicated mitochondrial control regions in three related seabird species[J]. BMC Evolutionary Biology, 2010, 10(1): 14.
- [52] Gong L, Shi W, Si L Z, et al. Rearrangement of mitochondrial genome in fishes[J]. Zoological Research, 2013, 34(6): 666-673. [龚理, 时伟, 司李真, 等. 鱼类线粒体DNA重排研究进展[J]. 动物学研究, 2013, 34(6): 666-673.]
- [53] Xiao W H, Zhang Y P. Genetics and evolution of mitochondrial DNA in fish[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2000, 24(4): 384-391. [肖武汉, 张亚平. 鱼类线粒体 DNA 的遗传与进化[J]. 水生生物学报, 2000, 24(4): 384-391.]
- [54] Zhang Z L, Lin R R, Xing B P. Suitability analysis of mitochondrial CO I gene used as DNA barcode for Ophichthyidae[J]. Journal of Applied Oceanography, 2017, 36(3): 411-416. [张稚兰, 林汝榕, 邢炳鹏. CO I 基因序列在蛇鳎科鱼类种类鉴定中的适用性研究[J]. 应用海洋学学报, 2017, 36(3): 411-416.]
- [55] Filleul A, Lavoué S. Basal teleosts and the question of elopomorph monophyly. Morphological and molecular approaches[J]. Comptes Rendus De l'Academie Des Sciences - Series III - Sciences De La Vie, 2001, 324(4): 393-399.
- [56] Obermiller L E, Pfeiler E. Phylogenetic relationships of elopomorph fishes inferred from mitochondrial ribosomal DNA sequences[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2003, 26(2): 202-214.

## Structural analysis and phylogenetic relationships of *Ophichthus evermanni* based on the complete mitochondrial genome sequence

NING Zijun<sup>1</sup>, LIU Yuping<sup>1</sup>, ZHANG Shufei<sup>2</sup>, GAO Tianxiang<sup>1</sup>, YANG Tianyan<sup>1</sup>

1. Fishery College, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China;

2. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; Guangdong Provincial Key Laboratory of Fishery Ecology and Environment, Guangzhou 510300, China

**Abstract:** In this study, the complete mitochondrial genome of *Ophichthus evermanni* was obtained by high-throughput sequencing. The results of structure and characteristics analysis showed that the total length of the complete mitochondrial DNA was 17759 bp, including 13 protein-coding genes (PCGs), 22 transfer RNAs (tRNA), 2 ribosomal RNAs (rRNA), 2 control regions (D-loop), and 1 origin of the L-strand replication region (O<sub>L</sub>). The base composition of the complete mitogenome of *O. evermanni* was A (31.27%), G (16.19%), C (26.22%), and T (26.32%). The A+T content (57.59%) was greater than the G+C content (42.41%), showing an obvious A+T bias. Unlike other typical teleosts, the gene arrangement was identified in the mitogenome of *O. evermanni*. The *ND6* gene and the conjoint tRNA-Glu were translocated between tRNA-Thr and tRNA-Pro, and another highly homologous D-loop region was located upstream of the *ND6* gene. The tRNA-Gln (Q), tRNA-Ala (A), tRNA-Asn (N), tRNA-Cys (C), tRNA-Tyr (Y), tRNA-Ser<sup>UCA</sup> (S1), tRNA-Glu (E), tRNA-Pro (P), and *ND6* were located in the L-strand, whereas the remainder were located in the H-strand. Except for tRNA-Ser (AGC), the remaining 21 tRNAs could fold into the typical cloverleaf secondary structure. The phylogenetic relationships of Ophichthidae fishes were constructed based on 12 protein-coding genes (excluding *ND6*) using the neighbor-joining and Bayesian methods. The results suggested that *O. evermanni* was closely related to *O. brevicaudatus* and *Pisodonophis cancrivorus*, and genetic divergence occurred in the genus *Ophichthus*, which was relatively late among the family Ophichthidae. The results will supplement the mitochondrial genome database of the family Ophichthidae and also provide a reference for the taxonomic study of snake eels.

**Key words:** *Ophichthus evermanni*; high-throughput sequencing; mitochondrial genome; phylogenetic analysis

**Corresponding author:** YANG Tianyan. E-mail: hellojelly1130@163.com