Open Access

引用格式:郑凌宇, 周银银, 狄义津, 等. *COI*、*mtCR* 和 *Pax-C* 序列在 6 种鹿角珊瑚鉴定中的适用性分析 [J]. 海南大学学报(自然科学版中英文), DOI: 10.65658/j.hndk.2025081101.

Citation: ZHENG Lingyu, ZHOU Yinyin, DI Yijin, et al. Analysis of the applicability of COI, mtCR, and Pax-C sequences in the identification of six Acropora corals[J]. Natural Science of Hainan University, DOI: 10.65658/j.hndk.2025081101.

COI、*mtCR* 和 *Pax-C* 序列在 6 种鹿角珊瑚鉴定中的适用性分析

郑凌宇[1], 周银银[1], 狄义津[1], 杨　培[1,2], 刘义程[1,2], 赵　贺[2,3], 刘相波[2,3], 李秀保[1,2,3] ✉

(1. 海南省热带水生生物技术重点实验室, 海南大学海洋生物与水产学院, 海南 海口 570228; 2. 文昌市海大现代渔业研究院, 海南 文昌 571300; 3. 海南省珊瑚礁生态学国际联合研究中心, 海南大学, 海南 海口 570228)

摘　要: 鹿角珊瑚(*Acropora*)是南海珊瑚礁区的关键珊瑚类群, 它们不仅为珊瑚礁提供了结构支撑, 还为许多海洋生物提供了栖息地。鹿角珊瑚种类繁多, 且同属珊瑚形态相近, 因此利用 DNA 条形码对鹿角珊瑚进行准确的物种鉴定具有重要价值。本研究旨在评估细胞色素氧化酶亚基 I 基因(*COI*)、线粒体控制区(*mtCR*)、核 *Pax-C* 内含子(*Pax-C*)对南海珊瑚礁区常见且形态高度相似的 6 种鹿角珊瑚种类鉴定的适用性。研究结果显示, 三种序列均表现出明显的 A+T 偏倚性, *Pax-C* 序列突变速率最高, 变异率达 27.3%, *mtCR* 序列次之, *COI* 基因最低。DNA 条形码间隙分析结果显示, *COI* 基因未能显现条形码间隙; *mtCR* 序列的种内遗传距离和种间遗传距离存在部分重叠, 但仍显示出一定的条形码间隙; *Pax-C* 序列和 *mtCR+Pax-C* 联合序列表现出明显的 DNA 条形码间隙。基于 *COI* 基因构建的系统进化树显示, 除美丽鹿角珊瑚(*A. muricata*)外, 其余 5 种鹿角珊瑚混杂在一支; 基于 *mtCR* 序列和 *Pax-C* 序列构建的系统进化树显示, 除风信子鹿角珊瑚(*A. hyacinthus*)聚到了不同分支, 其余鹿角珊瑚均各自单独聚为一支; 基于 *mtCR+Pax-C* 联合序列构建的系统发育树, 每个物种都形成单系分支。本研究证实了 *mtCR+Pax-C* 联合序列作为高效 DNA 条形码在六种鹿角珊瑚易混淆物种鉴定中的应用价值, 为珊瑚礁生态系统的保护与管理提供了科学依据。

关键词: 鹿角珊瑚属; DNA 条形码; *COI*; *mtCR*; *Pax-C*; 物种鉴定

中图分类号: Q19　　**文献标志码:** A

DOI: 10.65658/j.hndk.2025081101　　CSTR: 32403.14.hndk.2025081101

Analysis of the applicability of COI, mtCR, and Pax-C sequences in the identification of six Acropora corals

ZHENG Lingyu[1], ZHOU Yinyin[1], DI Yijin[1], YANG Pei[1,2], LIU Yicheng[1,2], ZHAO He[2,3], LIU Xiangbo[2,3], LI Xiubao[1,2,3] ✉

(1. Key Laboratory of Tropical Hydrobiology and Biotechnology of Hainan Province, School of Marine Biology and Fisheries, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Wenchang Advanced Fisheries Research Institute, Hainan University, Wenchang, Hainan 571300, China; 3. International Joint Research Center for Coral Reef Ecology of Hainan Province, School of Ecology, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Received: 2025−08−11; **Revised:** 2025−10−17; **Accepted:** 2025−10−28;
✉ **Corresponding author(s):** LI Xiubao, E-mail: xiubaoli@hainanu.edu.cn

Abstract: *Acropora* corals constitute a key coral group within the coral reef ecosystems of the South China Sea, as they provide structural support to reefs and habitats for numerous marine organisms.Given the diversity and morphological similarity within the *Acropora* genus, accurate species identification through DNA barcoding is crucial.This study assesses the utility of three genetic markers-cytochrome oxidase I gene (*COI*), mitochondrial putative control region (*mtCR*), and nuclear *Pax-C* intron (*Pax-C*)-for identifying six morphologically similar *Acropora* corals in the South China Sea reef ecosystem. Our results showed that all three sequences exhibit significant A+T bias, with *Pax-C* having the highest mutation rate of 27.3%, followed by *mtCR* and *COI*. DNA barcoding gap analysis revealed that the *COI* gene lacked a barcoding gap. The *mtCR* sequence showed partial overlap between intraspecies and interspecies genetic distances but still displayed some barcoding gap. In contrast, the *Pax-C* sequence and the combined *mtCR+Pax-C* sequences showed a clear barcoding gap. Phylogenetic trees based on the *COI* gene showed that, except for *A. muricata*, the other five coral species clustered together. Phylogenetic trees based on *mtCR* and *Pax-C* sequences demonstrated that, except for *A. hyacinthus*, the remaining corals formed distinct clades. Phylogenetic analysis using the combined *mtCR+Pax-C* sequences showed distinct monophyletic clades for each species. This study confirmed the effectiveness of the combined *mtCR+Pax-C* sequence as an efficient DNA barcode for identifying closely related six *Acropora* species, providing scientific support for coral reef ecosystem conservation and management.

Keywords: *Acropora*; DNA barcoding; *COI*; *mtCR*; *Pax-C*; species identification

0 引 言

珊瑚礁作为海洋生态系统的关键组分,对海洋生物多样性与生态系统功能的维持具有不可替代的作用[1]。然而,由于气候变化和人类活动的影响,珊瑚礁遭受了十分严重的破坏[2−3]。珊瑚物种的准确分类有助于科学保护珊瑚礁,包括更好地监测其健康状态,从而及时发现和应对珊瑚白化问题,同时有助于合理规划和管理渔业资源,从而促进渔业的可持续发展。然而,当前的珊瑚分类工作仍存在诸多挑战,例如分类标准的不统一、部分物种鉴定的困难以及对一些珊瑚类群的分类地位存在争议[4]。传统的分类系统主要以珊瑚的骨骼形态特征为依据[5],这一方式易受表型可塑性、趋同进化及网状进化的影响[6−7],仅凭骨骼形态学特征来解决造礁石珊瑚的分类问题面临很大的局限性[8]。在相似物种之间进行区分时,分类变得愈加复杂,导致物种鉴定误差和分类混乱的现象,这一问题在鹿角珊瑚(*Acropora*)的鉴定中尤为突出[9]。

鹿角珊瑚是全球关键的珊瑚礁分类群,其在生态功能和生物多样性维护方面的关键作用不容忽视。作为造礁石珊瑚,鹿角珊瑚能够快速生长并在相对较短的时间内构建复杂的三维结构[10],为丰富的海洋生物提供了栖息地和庇护所[11]。同时,鹿角珊瑚因其快速生长、较强的繁殖能力,已成为珊瑚礁生态修复研究的重点对象[12]。鹿角珊瑚广泛分布于南海、红海、菲律宾海及加勒比海等地区[13]。且其种类繁多,形态多样[14−15],目前已描述超过 400 个名义物种[15]。近年来,分子鉴定技术在种群遗传学和系统发育研究中的广泛应用,明显推动了珊瑚物种边界的界定与重新评估。特别是 DNA 条形码技术,已成为珊瑚物种分类的重要工具。通过对特定基因片段序列的分析,研究人员能够在分子层面实现对形态相似但属于不同物种的珊瑚个体的精确鉴定,从而有效解决传统形态学分类方法中存在的模糊性[16−17]。目前,鹿角珊瑚属中约 120 个物种已被确认为有效物种,并纳入最新的分类修订及物种目录中[13]。此类分子鉴定技术不仅为物种识别提供了可靠的证据支持,还揭示了种内及种间的遗传差异,为深入理解珊瑚的演化历程及其物种多样性提供了重要的理论依据。线粒体基因,特别是细胞色素氧化酶亚基 I 基因(*COI*),因其广泛的适用性和良好的扩增特性,成为了物种鉴定中最常用的标记[16]。线粒体控制区(*mtCR*)作为线粒体基因组中进化速率最快的区域之一,具备较高的变异性,是分析鹿角珊瑚种群遗传结构的常用标记[18−19]。然而,研

究表明, 珊瑚的线粒体 DNA 进化速度比其核基因组慢 2-5 倍[20]。因此, 仅依赖线粒体基因可能无法提供足够的遗传变异信息[21−22]。核 *Pax-C* 内含子(*Pax-C*)与 Pax-6 基因是直系同源序列, 作为核基因序列的一部分, 能够补充线粒体基因的不足, 提供更为全面和准确的遗传信息[23]。在鹿角珊瑚的遗传学研究中, *mtCR* 和 *Pax-C* 是较为常用的分子标记, 二者基因序列均跨越非编码区, 表现出比编码基因更高的序列变异性, 并已有多个研究通过使用这两个标记, 对鹿角珊瑚的物种亲缘关系等关键问题进行了深入探讨[7,24−25]。然而, Quek 等[26] 运用 BLASTn 在 GenBank 中进行物种分配, 结果显示 *mtCR* 序列和 *Pax-C* 序列无法有效区分大部分水族贸易中的鹿角珊瑚, 如指形鹿角珊瑚(*A. digitifera*)和两叉鹿角珊瑚(*A. divaricata*), 但该研究未采用这两个序列的系统发育分析来评估鉴定效果, 也未结合形态学特征进行鉴定。因此, *mtCR* 序列和 *Pax-C* 序列及其联合序列对南海珊瑚礁区常见且形态高度相似的鹿角珊瑚的分子鉴定效果还有待探索。

本研究选取了南海海域广泛分布且形态高度相似的 6 种鹿角珊瑚为代表: 花鹿角珊瑚(*A. florida*)、多孔鹿角珊瑚(*A. millepora*)、风信子鹿角珊瑚(*A. hyacinthus*)、小叶鹿角珊瑚(*A. microphthalma*)、美丽鹿角珊瑚(*A. muricata*)与简单鹿角珊瑚(*A. austera*), 聚焦于评估 *COI*、*mtCR*、*Pax-C* 及 *mtCR*+*Pax-C* 联合序列在物种鉴定和种群划分中的适用性, 旨在为南海鹿角珊瑚物种鉴定、种群划分及种质资源保护与可持续利用提供技术依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集及鉴定 2023 年, 在蜈支洲岛及永兴岛 2 个采样点共采集 99 株鹿角珊瑚个体(见表 S1)。使用锤子和凿子从每个珊瑚个体中取得 3-5 cm 的珊瑚样品, 再取每个样品约 1 cm^2 浸泡于 95% 乙醇中, 并在-20 ℃ 下保存, 用于基因组 DNA 的提取。对余下部分珊瑚样品进行脱脂漂白处理: (1)95% 乙醇中浸泡 6 h 以去除虫黄藻; (2)pH 为 9 的 10% 双氧水溶液中浸泡 2 h 以氧化生物组织及有机质; (3)去离子水刷洗 3 min; (4)更换双氧水溶液继续浸泡 24 h 以充分氧化残余有机物; (5)蒸馏水刷洗并超声清洗 5 min 去除残余杂质; (6)去离子水刷洗后在 45-60 ℃ 下烘干 48 h, 用于后续骨骼形态分析[27]。选取结构完整的骨骼样品, 进行切割与切片处理, 并在扫描电镜(泰思肯 CLARA)下观察珊瑚骨骼样品形态特征。采集的所有样品参考专业鉴定书籍[28−30] 进行形态学鉴定至种水平, 以确保分类的准确性。

1.2 DNA 提取、扩增和测序 采用天根海洋动物组织 DNA 试剂盒提取 DNA, 参照说明书进行操作。提取的 DNA 样品于-20 ℃ 下保存备用。分别选取针对线粒体 *COI* 基因、线粒体 *mtCR* 序列、以及 *Pax-C* 序列的 4 对引物进行扩增, 6 种鹿角珊瑚属珊瑚 DNA 条形码 PCR 引物序列如表 1 所示。3 种序列的 PCR 扩增体系均为 25 μL, 包括 2×*Taq* MasterMix 12.5 μL、模板 3 μL、上下游引物各 1 μL 和 ddH2O 7.5 μL。*COI* 的扩增条件: 预变性 95 ℃ 3 min; 30 个循环: 95 ℃ 1 min, 40 ℃ 1 min, 72 ℃ 90 s; 最后 72 ℃ 延伸 7 min。*mtCR* 的扩增条件: 预变性 94 ℃ 30 s; 40 个循环: 94 ℃ 10 s, 56 ℃ 15 s, 72 ℃ 60 s; 最后 72 ℃ 延伸 5 min。*Pax-C* 的扩增条件: 预变性 95 ℃ 3 min; 5 个循环: 94 ℃ 30 s, 50 ℃ 30 s, 72 ℃ 60 s; 26 个循环: 94 ℃ 30 s, 56 ℃ 30 s, 72 ℃ 60 s; 最后 72 ℃ 延伸 10 min。产物经检测合格后送华大基因股份有限公司双向测序。

表 1 6 种鹿角珊瑚属珊瑚 DNA 条形码 PCR 引物序列

序列	引物序列	退火温度/℃	参考文献
COI	LCO-1 490: GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG HCO-2 198: TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	40	[31]
mtCR	GR:AATTCCGGTGTGTGTTCTCT RNS2:CAGAGTAAGTCGTAACATAG	56	[19]
Pax-C	FP1:TCCAGAGCAGTTAGAGATGCTGG RP1:GGCGATTTGAGAACCAAACCTGTA	56	[7]
Pax-C-2	*Pax-C*-R5:CAGTTAGAGATGCTGGAGAA *Pax-C*-F5:GAGAACCAAACCTGTAAACC	49	本研究

1.3 数据分析 将获得的测序结果采用 SeqMan7.1 软件进行比对, 剪切上下游引物并辅以手动校正[32]。*Pax-C* 序列存在部分杂合位点, 需通过人工校对确认杂合位点处碱基的正确性, 以保证最终序列的准确

性。并在 NCBI 数据库进行 BLAST 比对。从 GenBank 数据库下载与本研究 3 种序列扩增区段一致的 6 种鹿角珊瑚 *COI*、*mtCR*、*Pax-C* 序列。使用 MEGA11.0 软件计算碱基组成、变异位点、简约信息位点，采用 Kimura 2-parameter 模型计算遗传距离[33]。使用 IQ-TREE1.6.12[34] 构建最大似然(ML)树，运用 ModelFinder[35] 确定最佳模型，随后进行了 100 次优化的最大似然树推断，并通过 1 000 次超快速 bootstrap 近似评估分支支持值，以确保树拓扑结构的稳健性。分别用 *COI* 序列、*mtCR* 序列、*Pax-C* 序列、*mtCR+Pax-C* 联合序列构建系统发育树。使用 Tree Visualization By One Table (tvBOT)平台对系统发育树进行可视化、修改和注释[36]。参照 SA 等[37] 的方法计算成对核苷酸遗传距离，并绘制种内遗传距离与种间遗传距离分歧直方图。

自动条形码间隔发现(Automatic Barcode Gap Discovery, ABGD)通过先验种内变异范围推测种内遗传差异的单边置信区间边界，根据检测到的 DNA 条形码空白区，进行 MOUTs 的划分，接着通过递归方式不断推导置信区间并识别新的条形码空白区，此过程持续进行，直至无法进一步划分样本为止，所有归入同一组的样本将被视为属于同一物种[38]。本研究通过使用 ABGD 网站(http://wwwabi.snv.jussieu.fr/public/abgd/abgdweb.html)进行分析，具体的参数设置如下：基于 K2P 模型计算遗传距离，种内差异先验值 P 为 0.001 到 0.100，相对 gap 宽度值 X 为 1.0，其余参数设置为默认值。

2 结果与分析

2.1 形态学鉴定结果 根据群体形态、分枝特点、隔片有无、共骨特点等形态学特征将 99 株珊瑚大致分为 6 种，其中，在蜈支洲采集到两种风信子鹿角珊瑚表现出两种不同的颜色，绿色和褐色。6 种鹿角珊瑚的主要形态学特征见表 2，6 种鹿角珊瑚群体形态及分枝细节图见图 1，6 种鹿角珊瑚珊瑚孔和共骨结构电镜图见图 2。

表 2 6 种鹿角珊瑚形态学特征参数

特征	花鹿角珊瑚	多孔鹿角珊瑚	风信子鹿角珊瑚	简单鹿角珊瑚	美丽鹿角珊瑚	小叶鹿角珊瑚
群体形态及颜色	鬃刺状分枝群体；绿色	板状；褐色	板状；褐色或绿色	不规则分枝形；瓶刷形；绿色	树状群体；紫色	树状群体；褐色
分枝特点	分枝长而粗，麇聚了很多小枝	分枝细长，四周分枝稍长于周围分枝，圆形轮廓	分枝拥挤，短而粗壮	主分支分出较细次级分支和小枝，分枝间隔不规则	分枝距离大，长而粗	分枝细长
轴珊瑚体一轮隔片	发育完全	发育完全	发育完全	发育完全	发育完全	发育完全
轴珊瑚体二轮隔片	发育完全	发育不全或缺失	发育不全或缺失	发育完全	发育不全	发育不全或缺失
辐射珊瑚体形状	斜口管状；半管状或浸没	圆口半管状或突出唇状，排列整齐	圆口半管状或突出唇状	圆管状	浸没或稍突出，鼻形半管唇形，斜口管形。短管鼻形或鼻形	管形，斜口管状，或浸没
辐射珊瑚体一轮隔片	发育不全，1-2个直接隔片明显，其余为刺状	6个大小不等，基本发育完全	发育不全，但两个直接隔片明显	缺失，或有1-2个直接隔片明显	发育不全	发育完全
辐射珊瑚体二轮隔片	发育不全或缺失	发育不全或缺失	缺失	发育不全或缺失	仅有一点小刺痕迹或缺失	发育不全或缺失
共骨	网状	网状	网状	网状	网状	网状
共骨小刺特点	不尖锐小刺上有不平整突起	仅有少量不尖锐小刺	较多小刺	部分短小小刺	有密集的小刺	有短小不尖锐的小刺，小刺上有不规则突出瘤状颗粒
其他	无	无	无	无	无	隔片及共骨小刺上有突出瘤状颗粒

2.2 序列特征分析 分别对 6 种鹿角珊瑚的 *COI*、*mtCR* 以及 *Pax-C* 序列进行扩增，共获得 70 条 *COI* 序列，70 条 *mtCR* 序列和 54 条 *Pax-C* 序列。所有的 *COI*、*mtCR* 和 *Pax-C* 序列均未发现终止密码子。同时，为了排除核线粒体伪基因(NUMT)干扰，所有线粒体序列均通过 BLAST 与 NCBI 数据库中的相关线粒体

基因序列进行比对。比对结果表明，所获得的基因序列与线粒体基因组中的相应基因高度一致，排除了NUMT的可能性。测序并对比修剪后的 *COI*、*mtCR* 及 *Pax-C* 片段分别为 558 bp、610 bp、494 bp。6 种鹿角珊瑚 *COI*、*mtCR* 和 *Pax-C* 序列的碱基组成见表 3。其中，*COI* 基因中 A+T 平均含量为 58%，*mtCR* 序列中 A+T 平均含量为 56%，*Pax-C* 序列中 A+T 平均含量为 62%，各序列在 6 种珊瑚的 GC 含量都相差较小，三种序列均表现出明显的 A+T 偏倚性。



图 1　6 种鹿角珊瑚群体形态及分枝细节图

注：a-b：花鹿角珊瑚；c-d：多孔鹿角珊瑚；e-f：褐色风信子鹿角珊瑚；g-h：绿色风信子鹿角珊瑚；i-j：简单鹿角珊瑚；k-l：美丽鹿角珊瑚；m-n：小叶鹿角珊瑚。

3 种序列片段的遗传多样性参数如表 4 所示，*COI* 基因包含 554 个保守位点、1 个简约信息位点、

3 个单一位点数。*mtCR* 序列包含 504 个保守位点, 55 个简约信息位点、4 个单一位点数。*Pax-C* 序列包含 348 个保守位点, 74 个简约信息位点、61 个单一位点数。此外, 在 *Pax-C* 中有 135 个变异位点, 变异率为 27.3%; 在 *mtCR* 中有 59 个变异位点, 变异率为 9.7%; 而在 *COI* 当中只有 4 个变异位点, 变异率仅占 0.7%, 这表明, *Pax-C* 序列可能比 *mtCR* 序列和 *COI* 基因提供了更多的物种变异信息。

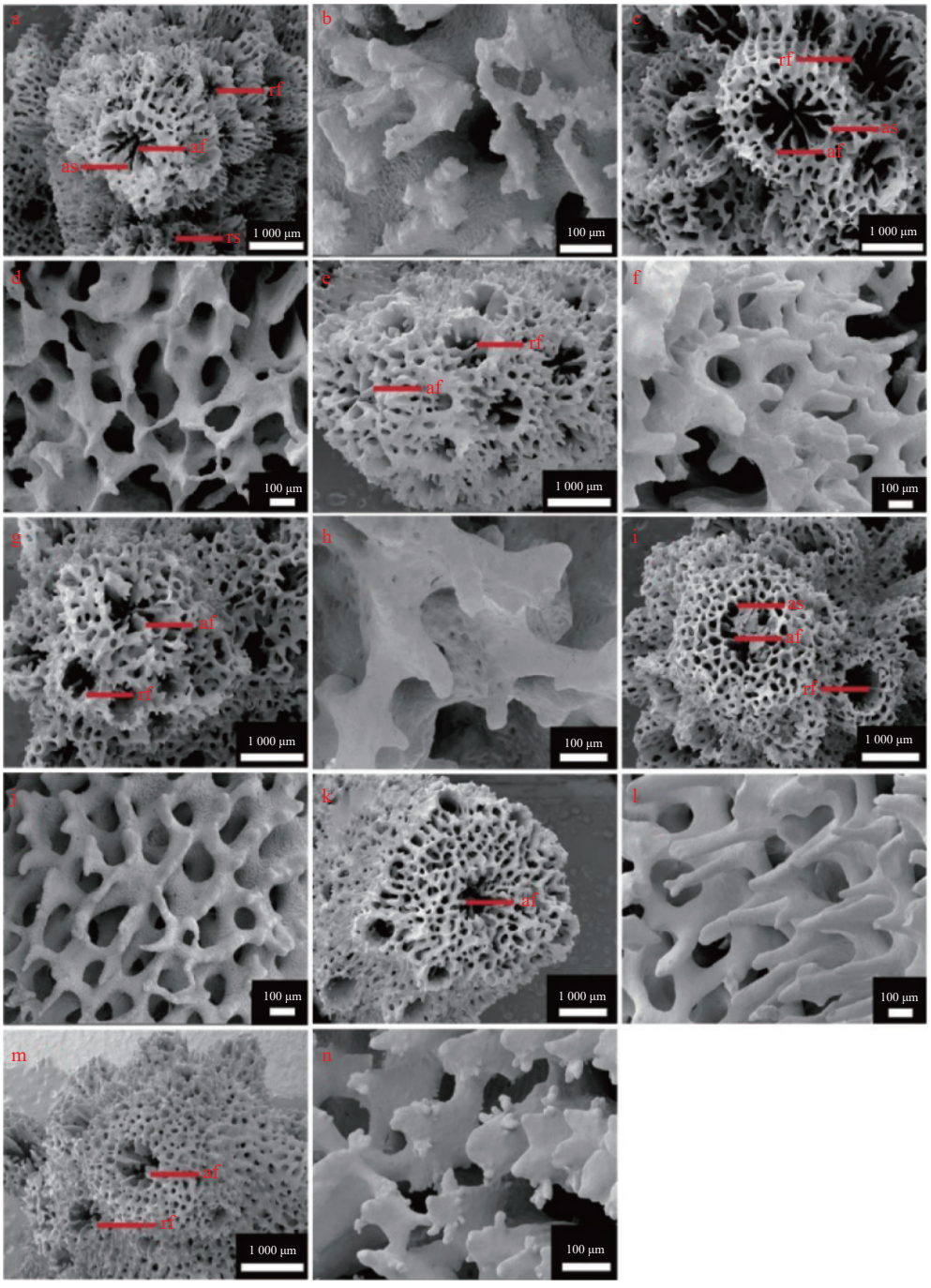


图 2　6 种鹿角珊瑚珊瑚孔和共骨结构电镜图

注: a: 花鹿角珊瑚珊瑚孔电镜图; b: 花鹿角珊瑚共骨电镜图; c: 多孔鹿角珊瑚珊瑚孔电镜图; d: 多孔鹿角珊瑚共骨电镜图; e: 褐色风信子鹿角珊瑚珊瑚孔电镜图; f: 褐色风信子鹿角珊瑚共骨电镜图; g: 绿色风信子鹿角珊瑚珊瑚孔电镜图; h: 绿色风信子鹿角珊瑚共骨电镜图; i: 简单鹿角珊瑚珊瑚孔电镜图; j: 简单鹿角珊瑚珊瑚共骨电镜图; k: 美丽鹿角珊瑚珊瑚孔电镜图; l: 美丽鹿角珊瑚共骨电镜图; m: 小叶鹿角珊瑚珊瑚孔电镜图; n: 小叶鹿角珊瑚珊瑚共骨电镜图。af: 轴珊瑚体一轮隔片; as: 轴珊瑚体二轮隔片; rf: 辐射珊瑚体一轮隔片; rs: 辐射珊瑚体二轮隔片。珊瑚孔和共骨的电镜图中, 刻度尺的单位分别为 1000 μm 和 100 μm。

2.3 遗传距离分析 本研究以 K2P 模型计算序列间遗传距离，并进行统计，基于 *COI*、*mtCR*、*Pax-C*、*mtCR*＋*Pax-C* 序列的鹿角珊瑚种内、种间遗传距离特征如表 5 所示。其中，基于 *COI* 序列的鹿角珊瑚种内、种间遗传距离特征分析结果显示，6 种鹿角珊瑚种内遗传距离为 0-0.007 2（平均为 0.000 2），种间的平均遗传距离为 0.000 8（表 5）。基于 *COI* 基因的 6 种鹿角珊瑚不同群体的种内与种间遗传距离（表 6）的结果显示，蜈支洲岛花鹿角珊瑚与其他鹿角珊瑚的种间遗传距离仅为 0.000 9，蜈支洲岛美丽鹿角珊瑚与其他鹿角珊瑚的种间遗传距离仅为 0.001 8-0.002 7，其他鹿角珊瑚的种间遗传距离多为 0。总体而言，基于 *COI* 基因计算得出的种间遗传距离均较小，表明 6 种鹿角珊瑚之间具有较近的亲缘关系，提示 *COI* 基因可能无法有效区分这 6 种珊瑚。

表 3 6 种鹿角珊瑚 *COI*、*mtCR* 和 *Pax-C* 序列的碱基组成

组编号	*COI*碱基含量/%				*mtCR* 碱基含量/%				*Pax-C* 碱基含量/%			
	T	C	A	G	T	C	A	G	T	C	A	G
AU	36.4	17.9	21.9	23.8	32.7	16.5	24.0	26.8	29.1	19.9	32.8	18.2
HY	36.4	17.9	21.9	23.8	31.0	17.3	24.3	27.5	29.1	21.3	32.0	17.5
MIC	36.4	17.9	21.9	23.8	31.6	17.1	24.1	27.1	29.7	21.4	31.7	17.3
MI	36.4	17.9	21.9	23.8	31.2	17.2	24.7	26.9	30.5	20.2	31.5	17.9
MU	36.4	17.9	22.0	23.7	31.6	17.1	24.3	27.0	30.3	20.2	31.8	17.7
FL	36.4	17.8	21.9	23.9	31.2	17.3	24.5	27.0	30.2	19.7	32.7	17.5
平均	36.4	17.9	21.9	23.8	31.6	17.1	24.3	27.1	29.7	20.7	32.0	17.6

注：AU：简单鹿角珊瑚；HY：风信子鹿角珊瑚；MIC：小叶鹿角珊瑚；MI：多孔鹿角珊瑚；MU：美丽鹿角珊瑚；FL：花鹿角珊瑚

表 4 3 种序列片段的遗传多样性参数

序列	序列长度	遗传多样性参数			
		C	V	PI	S
COI	558	554	4	1	3
mtCR	610	504	59	55	4
Pax-C	494	348	135	74	61

注：C：保守位点；V：变异位点；PI：简约信息位点；S：单一位点数

表 5 基于 *COI*、*mtCR*、*Pax-C*、*mtCR*＋*Pax-C* 序列的鹿角珊瑚种内、种间遗传距离特征

序列	种内遗传距离			种间遗传距离		
	种内-最小值	种内-最大值	种内-平均值	种间-最小值	种间-最大值	种间-平均值
COI	0.000 0	0.007 2	0.000 2	0.000 0	0.007 2	0.000 8
mtCR	0.000 0	0.021 6	0.005 7	0.005 4	0.086 9	0.037 0
Pax-C	0.000 0	0.143 1	0.021 3	0.012 4	0.268 6	0.069 2
mtCR+Pax-C	0.000 0	0.055 9	0.008 1	0.015 6	0.132 2	0.041 0

表 6 基于 *COI* 基因的 6 种鹿角珊瑚不同群体的种内与种间遗传距离

	FLW	HYW-1	HYW-2	AUYX	MICW	MICYX	MIW	MUW
FLW	**0.001 8**							
HYW-1	0.000 9	**0.000 0**						
HYW-2	0.000 9	0.000 0	**0.000 0**					
AUYX	0.000 9	0.000 0	0.000 0	**0.000 0**				
MICW	0.000 9	0.000 0	0.000 0	0.000 0	**0.000 0**			
MICYX	0.000 9	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	**0.000 0**		

MIW	0.000 9	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	**0.000 0**	
MUW	0.002 7	0.001 8	0.001 8	0.001 8	0.001 8	0.001 8	0.001 8	**0.000 0**

注: FLW: 蜈支洲岛花鹿角珊瑚; HYW-1: 蜈支洲岛褐色风信子鹿角珊瑚; HYW-2: 蜈支洲岛绿色风信子鹿角珊瑚; AUYX: 永兴岛简单鹿角珊瑚; MICW: 蜈支洲岛小叶鹿角珊瑚; MICYX: 永兴岛小叶鹿角珊瑚; MIW: 蜈支洲岛多孔鹿角珊瑚; MUW: 蜈支洲岛美丽鹿角珊瑚

基于 *mtCR* 序列的鹿角珊瑚种内、种间遗传距离特征分析结果显示, 种内遗传距离为 0-0.021 6, 平均遗传距离为 0.005 7, 属内种间遗传距离为 0.005 4-0.086 9, 平均遗传距离为 0.037 0(表 5), 为种内平均遗传距离的 6.49 倍。基于 *mtCR* 序列的 6 种鹿角珊瑚不同群体的种内与种间遗传距离(表 7)结果显示, 不同鹿角珊瑚种间遗传距离相对较大, 如简单鹿角珊瑚与其他鹿角珊瑚遗传距离最大达 0.062 5-0.082 5, 仅风信子鹿角珊瑚与花鹿角珊瑚遗传距离较小, 为 0.006 2-0.017 4。蜈支洲岛褐色风信子鹿角珊瑚与永兴岛风信子鹿角珊瑚、赵述岛风信子鹿角珊瑚、印度尼西亚风信子鹿角珊瑚的遗传距离较小(0-0.004 3), 与蜈支洲岛绿色风信子鹿角珊瑚、日本风信子鹿角珊瑚和台湾风信子鹿角珊瑚的遗传距离相对较大(0.016 2-0.016 5)。表明 *mtCR* 序列能将部分地理群体和物种有效区分。

表 7 基于 *mtCR* 序列的 6 种鹿角珊瑚不同群体的种内与种间遗传距离

	FLW	FLO	FLJ	HYW-1	HYW-2	HYJ	HYT	HYYX	HYZS	HYI	AUJ	AUYX	MICW	MICJ	MICYX	MIW	MIS	MUW
FLW	**0.0020**																	
FLO	0.0027	**0.0054**																
FLJ	0.0018	0.0027	**0.0008**															
HYW-1	0.0071	0.0062	0.0071	**0.0000**														
HYW-2	0.0165	0.0174	0.0165	0.0165	**0.0006**													
HYJ	0.0162	0.0171	0.0162	0.0162	0.0003	**0.0000**												
HYT	0.0162	0.0171	0.0162	0.0162	0.0003	0.0000	**0.0000**											
HYYX	0.0073	0.0064	0.0073	0.0001	0.0166	0.0163	0.0163	**0.0002**										
HYZS	0.0071	0.0062	0.0071	0.0000	0.0165	0.0162	0.0162	0.0001	**0.0000**									
HYI	0.0100	0.0095	0.0100	0.0043	0.0143	0.0140	0.0140	0.0044	0.0043	**0.0083**								
AUJ	0.0784	0.0795	0.0784	0.0824	0.0808	0.0804	0.0804	0.0825	0.0824	0.0832	**0.0018**							
AUYX	0.0774	0.0785	0.0774	0.0814	0.0765	0.0762	0.0762	0.0815	0.0814	0.0815	0.0040	**0.0027**						
MICW	0.0162	0.0171	0.0175	0.0180	0.0201	0.0198	0.0198	0.0181	0.0180	0.0194	0.0721	0.0711	**0.0021**					
MICJ	0.0180	0.0189	0.0194	0.0198	0.0183	0.0180	0.0180	0.0199	0.0198	0.0205	0.0725	0.0715	0.0018	**0.0000**				
MICYX	0.0168	0.0177	0.0181	0.0186	0.0195	0.0192	0.0192	0.0187	0.0186	0.0198	0.0718	0.0708	0.0017	0.0012	**0.0017**			
MIW	0.0263	0.0265	0.0276	0.0267	0.0303	0.0299	0.0299	0.0268	0.0267	0.0285	0.0814	0.0804	0.0157	0.0153	0.0159	**0.0023**		
MIS	0.0246	0.0255	0.0260	0.0264	0.0286	0.0283	0.0283	0.0265	0.0264	0.0279	0.0792	0.0782	0.0140	0.0137	0.0143	0.0031	**0.0021**	
MUW	0.0216	0.0226	0.0216	0.0216	0.0128	0.0125	0.0125	0.0217	0.0216	0.0209	0.0666	0.0625	0.0107	0.0089	0.0101	0.0171	0.0155	**0.0000**

注: FLW: 蜈支洲岛花鹿角珊瑚; FLO: 澳大利亚花鹿角珊瑚; FLJ: 日本花鹿角珊瑚; HYW-1: 蜈支洲岛褐色风信子鹿角珊瑚; HYW-2: 蜈支洲岛绿色风信子鹿角珊瑚; HYJ: 日本风信子鹿角珊瑚; HYT: 台湾风信子鹿角珊瑚; HYYX: 永兴岛风信子鹿角珊瑚; HYZS: 赵述岛风信子鹿角珊瑚; HYI: 印度尼西亚风信子鹿角珊瑚; AUJ: 日本简单鹿角珊瑚; AUYX: 永兴岛简单鹿角珊瑚; MICW: 蜈支洲岛小叶鹿角珊瑚; MICJ: 日本小叶鹿角珊瑚; MICYX: 永兴岛小叶鹿角珊瑚; MIW: 蜈支洲岛多孔鹿角珊瑚; MIS: 沙鱼塘多孔鹿角珊瑚; MUW: 蜈支洲岛美丽鹿角珊瑚

基于 *Pax-C* 序列的鹿角珊瑚种内、种间遗传特征分析结果显示, 种内遗传距离为 0-0.143 1(平均为 0.021 3); 种间的平均遗传距离为 0.069 2(表 5), 为种内平均遗传距离的 3.25 倍。基于 *Pax-C* 序列的 6 种鹿角珊瑚不同群体的种内与种间遗传距离(表 8)结果显示, 小叶鹿角珊瑚与美丽鹿角珊瑚遗传距离较小(0.033 2-0.036 0), 澳大利亚花鹿角珊瑚与其他鹿角珊瑚遗传距离最大(0.097 0-0.168 7)。蜈支洲岛多孔鹿角珊瑚的种内遗传距离为 0.050 9, 但与美丽鹿角珊瑚的种间遗传距离却为 0.036 3-0.039 0, 其种内遗传距离大于种间遗传距离, 提示 *Pax-C* 序列可能无法将这两个物种进行有效区分。蜈支洲岛小叶鹿角珊瑚和永兴岛小叶鹿角珊瑚的遗传距离较小(0.002 4)。表明 *Pax-C* 序列可有效区分部分鹿角珊瑚, 但在辨识部

分不同地理种群的鹿角珊瑚时效果有限。

基于 *mtCR+Pax-C* 联合序列的鹿角珊瑚种内、种间遗传距离特征分析结果显示，种内遗传距离为 0-0.055 9，平均遗传距离为 0.008 1，属内种间遗传距离为 0.015 6-0.132 2，平均遗传距离为 0.041（表 5），为种内平均遗传距离的 5.06 倍。基于 *mtCR+Pax-C* 联合序列的 6 种鹿角珊瑚不同群体的种内与种间遗传距离结果（表 9）显示，不同鹿角珊瑚种间遗传距离均较大，如简单鹿角珊瑚与其他鹿角珊瑚的遗传距离达 0.081 4-0.096 1，仅小叶鹿角珊瑚与美丽鹿角珊瑚遗传距离最小，为 0.019 9。表明 *mtCR+Pax-C* 联合序列能将不同鹿角珊瑚有效区分。

表 8　基于 *Pax-C* 序列的 6 种鹿角珊瑚不同群体的种内与种间遗传距离

	FLW	FLO	HYW-1	HYW-2	HYO	AUYX	AUO	MICW	MICYX	MIW	MUW	MUO
FLW	**0.0187**											
FLO	0.0732	**0.0820**										
HYW-1	0.0537	0.1150	**0.0393**									
HYW-2	0.0458	0.1066	0.0243	**0.0010**								
HYO	0.0377	0.0970	0.0374	0.0283	**0.0271**							
AUYX	0.1062	0.1687	0.1176	0.1118	0.1015	**0.0100**						
AUO	0.0967	0.1587	0.1097	0.1033	0.0926	0.0130	**0.0000**					
MICW	0.0410	0.1118	0.0476	0.0371	0.0367	0.1023	0.0929	**0.0025**				
MICYX	0.0406	0.1107	0.0467	0.0361	0.0357	0.1017	0.0923	0.0024	**0.0026**			
MIW	0.0546	0.1224	0.0681	0.0609	0.0535	0.1163	0.1076	0.0466	0.0466	**0.0509**		
MUW	0.0388	0.1033	0.0536	0.0465	0.0382	0.1062	0.0968	0.0332	0.0332	0.0363	**0.0000**	
MUO	0.0416	0.1081	0.0564	0.0494	0.0410	0.1096	0.1001	0.0359	0.0360	0.0390	0.0124	**0.0000**

注：FLW：蜈支洲岛花鹿角珊瑚；FLO：澳大利亚花鹿角珊瑚；HYW-1：蜈支洲岛褐色风信子鹿角珊瑚；HYW-2：蜈支洲岛绿色风信子鹿角珊瑚；AUYX：永兴岛简单鹿角珊瑚；AUO：澳大利亚简单鹿角珊瑚；MICW：蜈支洲岛小叶鹿角珊瑚；MICYX：永兴岛小叶鹿角珊瑚；MIW：蜈支洲岛多孔鹿角珊瑚；MUW：蜈支洲岛美丽鹿角珊瑚；MUO：澳大利亚美丽鹿角珊瑚

表 9　基于 *mtCR+Pax-C* 联合序列的 6 种鹿角珊瑚不同群体的种内与种间遗传距离

	FLW	HYW-1	HYW-2	AUYX	MICW	MICYX	MIW	MUW
FLW	**0.0080**							
HYW-1	0.0258	**0.0163**						
HYW-2	0.0254	0.0190	**0.0005**					
AUYX	0.0893	0.0953	0.0871	**0.0062**				
MICW	0.0283	0.0309	0.0251	0.0844	**0.0021**			
MICYX	0.0280	0.0310	0.0260	0.0847	0.0019	**0.0021**		
MIW	0.0373	0.0429	0.0397	0.0961	0.0286	0.0285	**0.0212**	
MUW	0.0283	0.0344	0.0233	0.0814	0.0199	0.0199	0.0249	**0.0000**

基于 K2P 距离（x 轴），三种单一 DNA 标记（*COI*、*mtCR*、*Pax-C*）和一种候选组合 DNA 标记（*mtCR+Pax-C*）的成对鹿角珊瑚种内（红色条形）与种间（蓝色条形）遗传分歧频率（y 轴）直方图如图 3 所示，*Pax-C* 和 *mtCR+Pax-C* 联合序列的种内遗传距离和种间遗传距离重叠度较小，表现出明显的 DNA 条形码间隙。相比之下，*mtCR* 的种内遗传距离和种间遗传距离存在一定重叠，但仍显示出一定的条形码间隙。*COI* 则未能显现条形码间隙，种内遗传距离和种间遗传距离几乎完全重叠。

2.4　利用 ABGD 进行基于距离的 MOTUs 划分和系统发育分析　基于样本遗传距离的 ABGD 方法划分结果包含了初始划分（initial partition）和递归划分（recursive partition）两种情况。其中，3 种序列（*COI*、*mtCR*、*Pax-C*）及 *mtCR+Pax-C* 联合序列的初始划分都较为稳定，但递归划分结果波动较大，且均出现过度划分的情况，因此本研究选择比较稳定的初始划分结果与形态鉴定结果进行比较。

基于 *COI* 基因构建的 ML 系统发育树和 ABGD 划分结果如图 4 所示，其中，ABGD 分析结果显示 6 种鹿角珊瑚混杂在同一组，与基于珊瑚形态得到的分类结果不一致。基于 *COI* 基因构建的系统发育树（图 4、电子补充材料中的图 S1）表明，除了美丽鹿角珊瑚外，其余鹿角珊瑚种类均混杂于一个较大的分支中。说明 *COI* 基因不能有效区分这 6 种珊瑚。

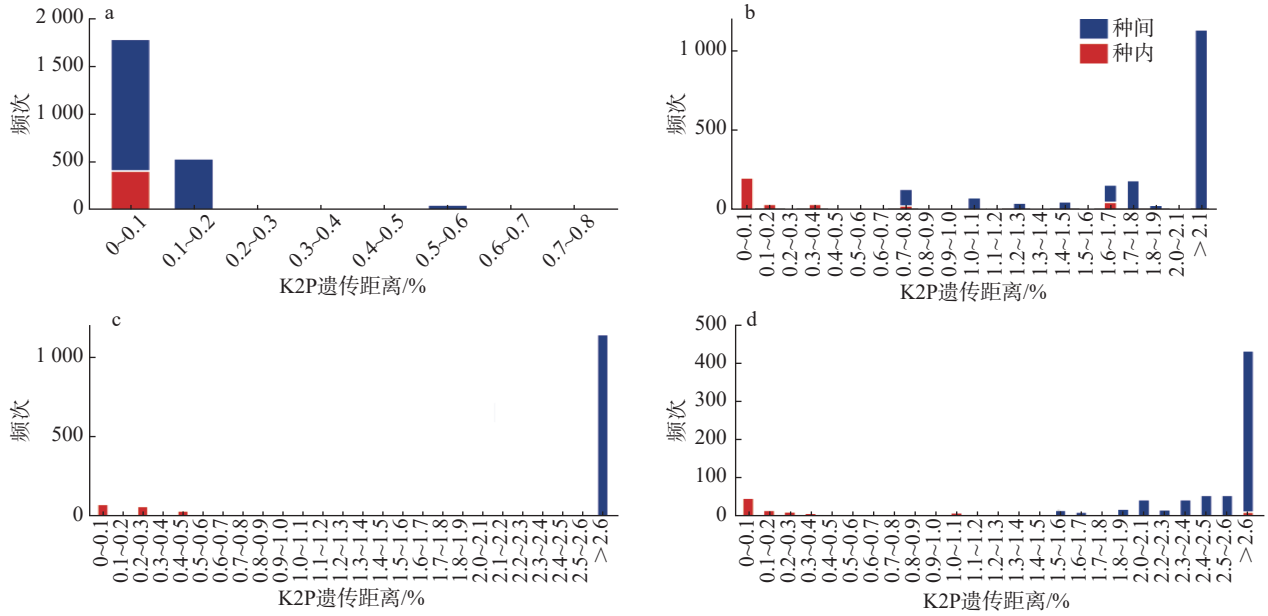


图 3　基于 K2P 距离（x 轴），三种单一 DNA 标记（*COI*、*mtCR*、*Pax-C*）和一种候选组合 DNA 标记（*mtCR*+*Pax-C*）的成对鹿角珊瑚种内（红色条形）与种间（蓝色条形）遗传分歧频率（y 轴）直方图

注：a：基于 K2P 距离 *COI* 的成对鹿角珊瑚种内与种间遗传分歧频率直方图；b：基于 K2P 距离 *mtCR* 的成对鹿角珊瑚种内与种间遗传分歧频率直方图；c：基于 K2P 距离 *Pax-C* 的成对鹿角珊瑚种内与种间遗传分歧频率直方图；d：基于 K2P 距离 *mtCR*+*Pax-C* 的成对鹿角珊瑚种内与种间遗传分歧频率直方图

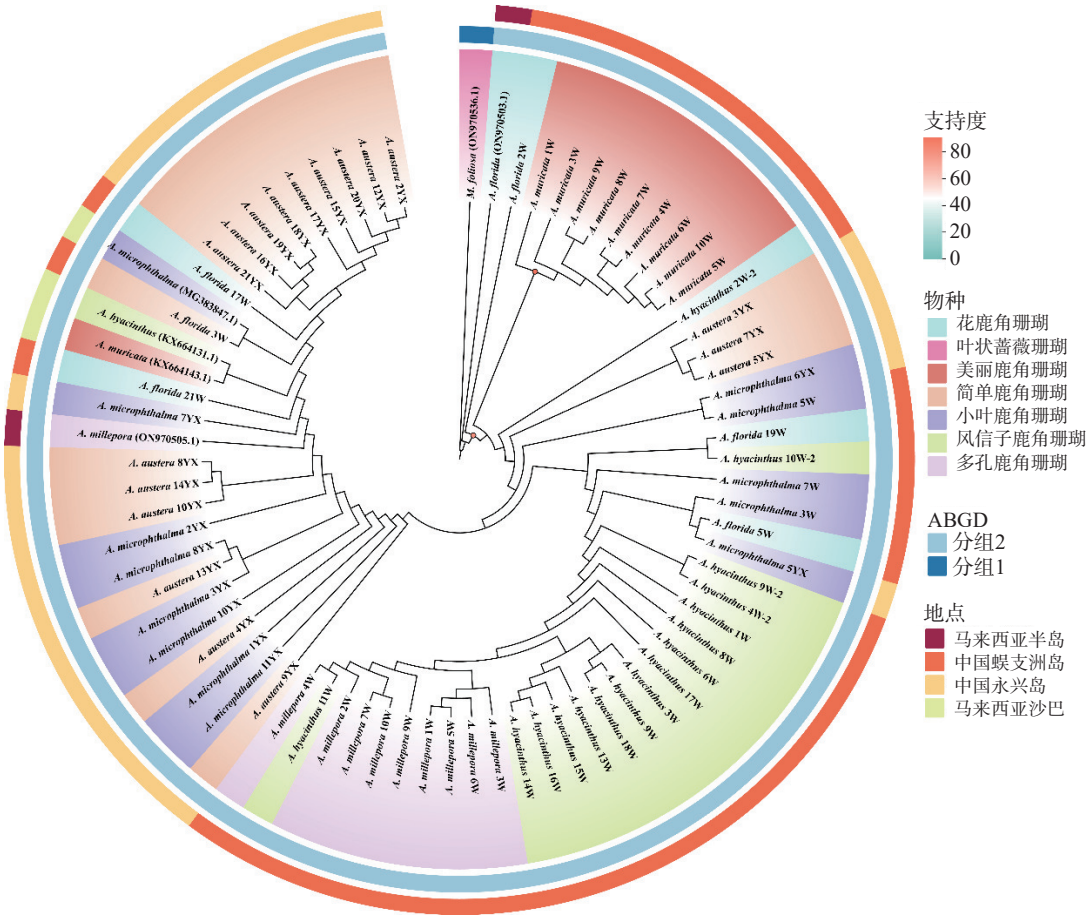


图 4　基于 *COI* 基因构建的 ML 系统发育树和 ABGD 划分结果

注: *A.hyacinthus* W: 蜈支洲岛褐色风信子鹿角珊瑚; *A.hyacinthus* W-2: 蜈支洲岛绿色风信子鹿角珊瑚, 下同。自举值常用于衡量系统发育树的稳健性, 值越高, 分支关系越可靠。在图中, 分支上的圆球代表自举值, 圆球颜色的深浅反映了自举值的大小, 颜色越红, 表示自举值越大, 表明该分支的支持度较高; 颜色越蓝, 表示自举值越小, 支持度较弱, 下同。

基于 *mtCR* 序列构建的 ML 系统发育树和 ABGD 划分结果如图 5 所示, 其中, ABGD 分析结果显示, 除风信子鹿角珊瑚和简单鹿角珊瑚被划分为多个组外, 其余各种鹿角珊瑚均被单独分组, 与基于珊瑚形态得到的分类结果部分一致。基于 *mtCR* 序列构建的系统发育树(图 5、电子补充材料中的图 S2)显示, 多孔鹿角珊瑚、美丽鹿角珊瑚、简单鹿角珊瑚、小叶鹿角珊瑚和花鹿角珊瑚各自单独聚为一支, 这表明这些物种在进化过程中具有一定的独立性, 能够被有效区分。在简单鹿角珊瑚分支内, 日本简单鹿角珊瑚聚为独立小分支, 在这些物种内部, 仍存在不同的小分支, 这说明虽然同一种群在进化方向上总体保持一致, 但种内个体之间仍存在一定程度的遗传差异。值得注意的是, 蜈支洲岛两种不同颜色的风信子鹿角珊瑚聚为两个不同的分支, 其中, 蜈支洲岛褐色风信子鹿角珊瑚基本与印度尼西亚、永兴岛、赵述岛风信子鹿角珊瑚聚在一支, 蜈支洲岛绿色风信子鹿角珊瑚基本与日本、台湾风信子鹿角珊瑚聚为一支。综上, 表明 *mtCR* 序列能将部分地理群体和物种有效区分。

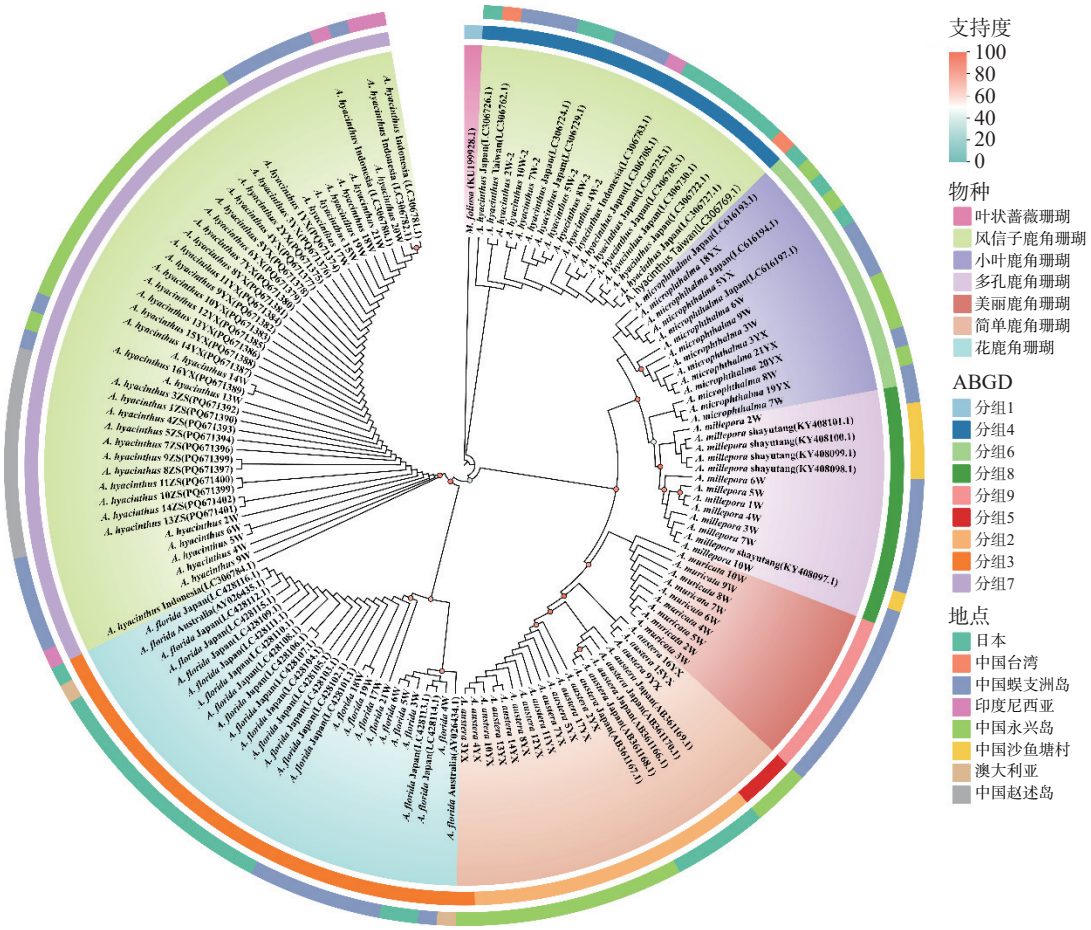


图 5　基于 *mtCR* 序列构建的 ML 系统发育树和 ABGD 划分结果

基于 *Pax-C* 序列构建的 ML 系统发育树和 ABGD 划分结果如图 6 所示，其中，ABGD 分析结果显示，小叶鹿角珊瑚和简单鹿角珊瑚被单独分组，风信子鹿角珊瑚被划分为多个组，多数多孔鹿角珊瑚、美丽鹿角珊瑚、花鹿角珊瑚混杂在一组，与基于珊瑚形态得到的分类结果基本不一致。基于 *Pax-C* 序列构建的系统发育树（图 6、电子补充材料中的图 S3）显示，除风信子鹿角珊瑚外，其余鹿角珊瑚均各自单独聚为一支。在简单鹿角珊瑚分支内，澳大利亚简单鹿角珊瑚聚为独立小支。基于 *Pax-C* 序列构建的 NJ 系统发育树（电子补充材料中的图 S3）显示，蜈支洲岛两种不同颜色的风信子鹿角珊瑚聚为同一大支。基于 *Pax-C* 序列构建的 ML 系统发育树（图 6）显示，风信子鹿角珊瑚聚为不同大支。综上，表明 *Pax-C* 序列能将部分地理群体和物种有效区分。

基于 *mtCR*+*Pax-C* 联合序列构建的 ML 系统发育树和 ABGD 划分结果如图 7 所示，其中，ABGD 分析结果显示小叶鹿角珊瑚、简单鹿角珊瑚、美丽鹿角珊瑚被单独分组，其余 3 种鹿角珊瑚被分为多个组，与基于珊瑚形态得到的分类结果部分一致。基于 *mtCR*+*Pax-C* 联合序列构建的系统发育树（图 7、电子补充材料中的图 S4）结果显示，多孔鹿角珊瑚、美丽鹿角珊瑚、简单鹿角珊瑚、小叶鹿角珊瑚、花鹿角珊瑚和风信子鹿角珊瑚均为单系支，这表明联合使用这两种基因序列能够更有效地解析这些物种之间的系统发育关系，提高物种分辨能力。

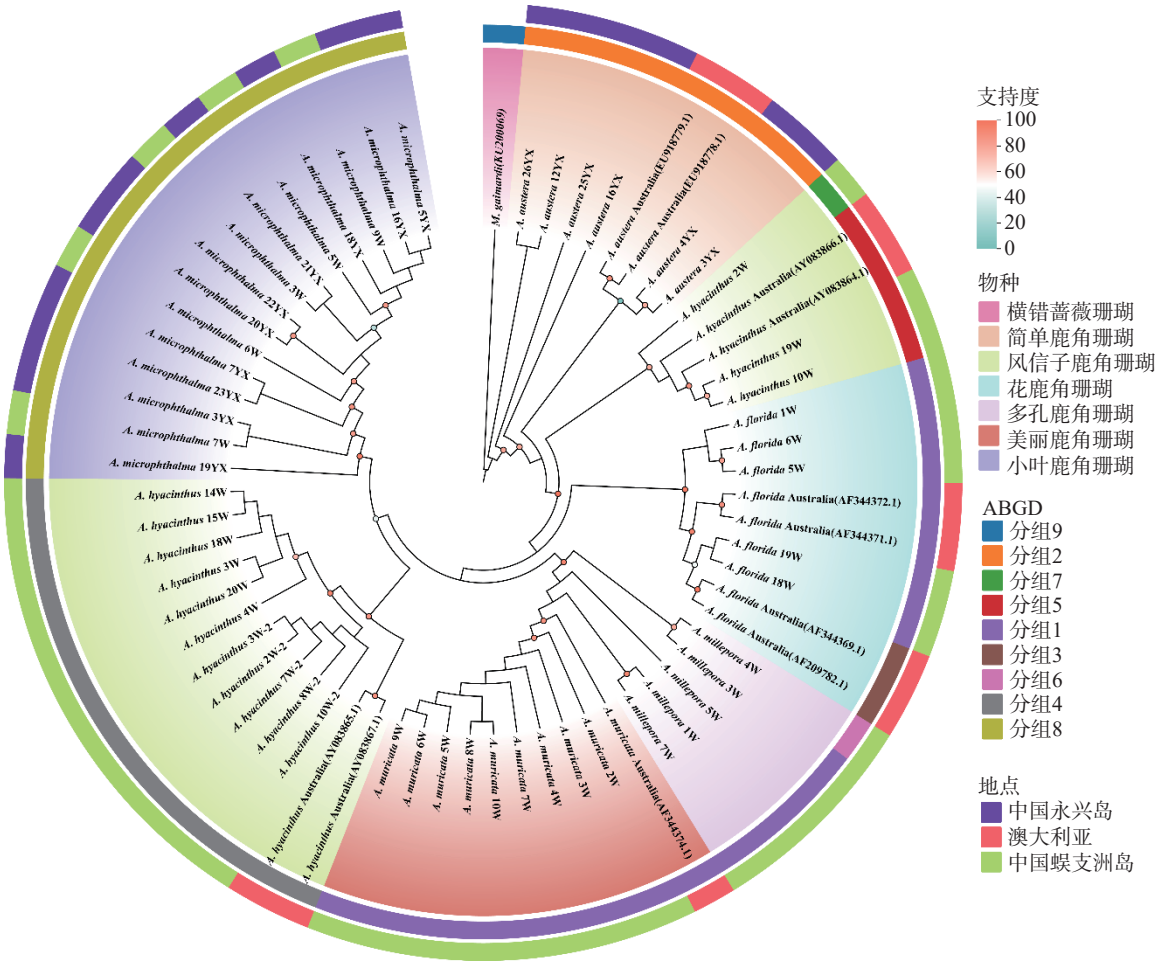


图 6　基于 *Pax-C* 序列构建的 ML 系统发育树和 ABGD 划分结果

3　讨　论

DNA 条形码技术现已成为分类学中辅助物种鉴定的重要工具。理想的 DNA 条形码应满足两个关键条件: 种内遗传差异应显著小于种间差异, 即存在明显的 DNA 条形码间隙; 同时, 所研究的物种在系统发育树上应彼此单系, 即同一物种的不同个体应紧密聚集在一起。这些条件确保了 DNA 条形码在物种鉴定中的有效性和准确性[16,39−40]。鹿角珊瑚是全球关键的珊瑚礁分类群, 本研究中, 我们在多个地点采集到了 6 种形态相近, 易混淆的鹿角珊瑚, 并探究 *COI*、*mtCR*、*Pax-C* 及 *mtCR*+*Pax-C* 联合序列作为 DNA 条形码在珊瑚物种鉴定上的有效性。

本研究中, 基于 *COI* 基因的种内、种间遗传距离特征分析结果显示, 种内遗传距离与种间遗传距离均较小, 没有显示 DNA 条形码间隙; 系统发育树的聚类结果同样显示, 6 种鹿角珊瑚聚为一大支, 没有形成单系, 综合表明, 利用 *COI* 基因作为 DNA 条形码对鹿角珊瑚进行种类鉴定的潜力有限。*COI* 基因作为线粒体基因中的一种常见条形码, 广泛应用于动物的分子鉴定中。但在珊瑚中, 线粒体基因表现出相对较高的保守性, 其进化速率较慢, 这在一定程度上限制了其作为 DNA 条形码的应用潜力[20,41−42]。Shearer 等[43] 系统评估了基于 *COI* 基因在多种石珊瑚物种鉴定中的适用性, 同样发现该基因在多种石珊瑚中种间遗传距离极低(许多情况下为 0), 导致种内遗传距离与种间遗传距离重叠, 无法建立可用于区分物种的阈值, 因此无法有效利用 *COI* 基因在种阶元上识别多数石珊瑚。

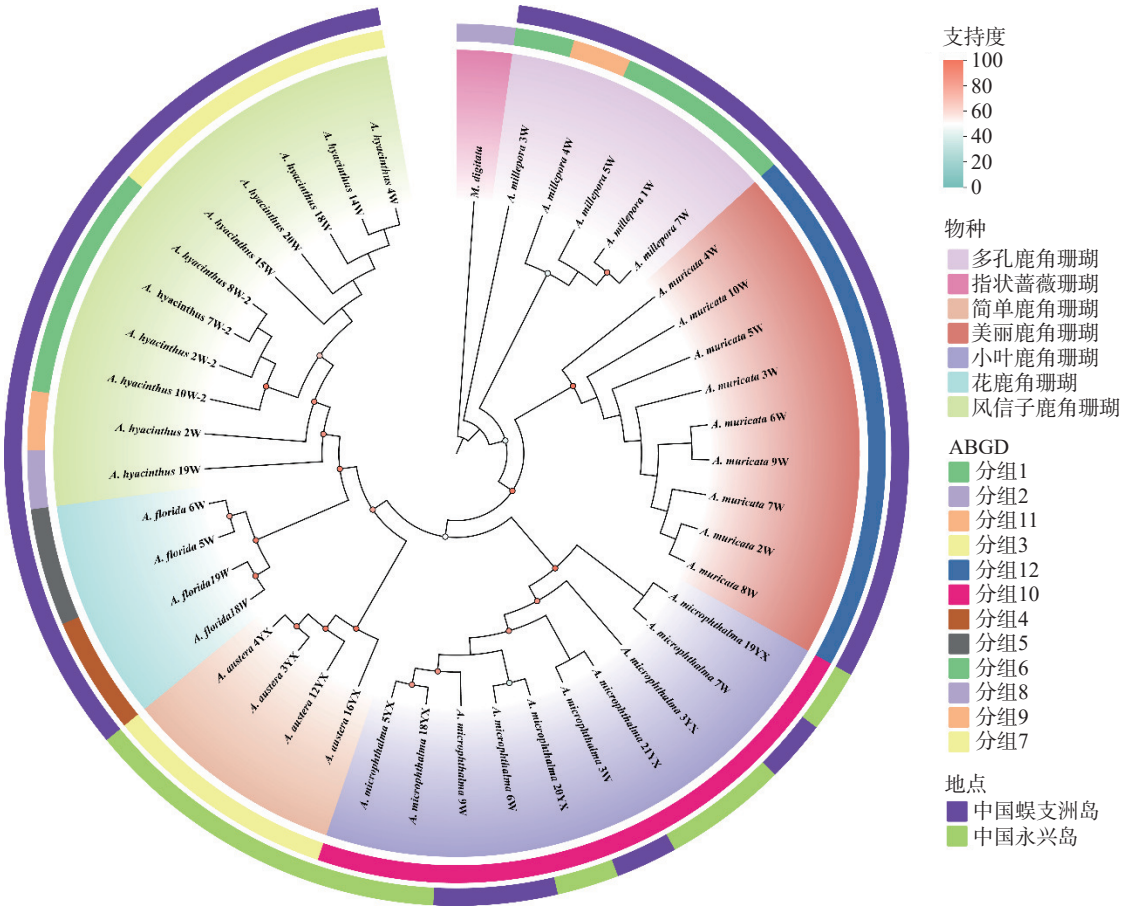


图 7　基于 *mtCR+Pax-C* 联合序列构建的 ML 系统发育树和 ABGD 划分结果

与 *COI* 基因相比，*mtCR* 序列作为线粒体基因组中进化速率较快的区域，具有较高的变异性。本研究中，基于 *mtCR* 序列种内遗传距离和种间遗传距离存在部分重叠，Colin 等[44] 通过对鹿角珊瑚 *mtCR* 遗传距离分析提到该基因的种间遗传距离和种内遗传距离存在重叠，这与本研究结果相符。*mtCR* 序列构建的系统发育树表明，该序列能将部分地理种群与物种分开，但单独使用 *mtCR* 序列作为 DNA 条形码，难以完全实现物种的准确鉴定。例如，本研究中两种不同颜色的风信子鹿角珊瑚聚为两个不同的分支，可能导致分类上的误差。

相比之下，核基因序列 *Pax-C* 由于其较高的变异性和较快的进化速率，提供了比线粒体序列 *mtCR* 和 *COI* 更多的变异信息，本研究中，基于 *Pax-C* 的种内遗传距离和种间遗传距离几乎无重叠，表现出明显的 DNA 条形码间隙。然而，系统发育分析结果却显示，6 种珊瑚并未完全形成单系，尤其是风信子鹿角珊瑚，这表明仅使用 *Pax-C* 序列作为 DNA 条形码进行不同珊瑚的分子鉴定具有一定的局限性。张颖[45] 运用 *Pax-C* 序列对蔷薇珊瑚(*Montipora*)进行分类鉴定，结果显示 *Pax-C* 序列无法将脆蔷薇珊瑚(*M. Fragilis*)和未定种蔷薇珊瑚区分开。此外，*Pax-C* 序列存在杂合位点，这进一步限制了其在物种鉴定中的应用。杂合位点的存在可能导致同一物种不同个体间基因型不一致，从而影响物种的正确划分。因此，*Pax-C* 序列在物种鉴定中的适用性需要谨慎评估，尤其是在处理具有高度遗传多样性或复杂遗传结构的群体时，可能需要结合其他分子标记进行综合分析。基于 *mtCR+Pax-C* 联合序列的种内遗传距离和种间遗传距离几乎无重叠，表现出较明显的 DNA 条形码间隙；系统发育分析显示，6 种鹿角珊瑚彼此单系，两种不同颜色的风信子鹿角珊瑚也聚为一支。综合表明，联合使用这两种序列标记能够更加准确地进行物种鉴定，尤其是在识别风信子鹿角珊瑚时，能够有效避免单一序列可能带来的鉴定不准确问题。

在 *mtCR* 序列、*Pax-C* 序列和 *mtCR+Pax-C* 联合序列分别构建的系统发育树中，风信子鹿角珊瑚的分支情况存在明显差别，有趣的是，基于 *mtCR* 序列构建的最大似然(ML)系统发育树分析，发现蜈支洲岛两

种不同颜色的风信子鹿角珊瑚各自聚集在独立的大支中。进一步结合 *mtCR+Pax-C* 联合序列构建的 ML 系统发育树分析，揭示了蜈支洲岛两种风信子鹿角珊瑚均聚集在同一大支，但蜈支洲岛绿色风信子鹿角珊瑚在该大支内部进一步形成了一个独立的小支。这种形态和遗传上的分歧可能与风信子鹿角珊瑚的颜色变化密切相关，而这种颜色差异与可能与其共生的虫黄藻类型密切联系。虫黄藻通过光合作用为珊瑚提供能量，且其所含的色素（如叶绿素）直接影响珊瑚的颜色[46−47]。至于蜈支洲岛两种不同颜色的风信子鹿角珊瑚形成的原因，需要后续进一步的研究。

另外，在本研究中，使用 ABGD 方法进行基于遗传距离的 MOTUs 划分时，尽管取得了一定的分辨效果，但结果与形态学分析并不完全一致。例如，在 *Pax-C* 序列分析中，ABGD 的划分结果显示出对鹿角珊瑚物种的过度划分。这表明，尽管 ABGD 在物种划分中具有一定优势，但其在某些情境下仍存在局限性。首先，ABGD 方法对距离阈值的设定高度敏感，不同的阈值选择可能导致物种划分结果的不一致[48]。其次，该方法假设所有样本来自单系群体，而在遗传多样性较高或群体间存在较大遗传差异时，该假设可能不成立，从而影响划分的准确性。此外，ABGD 在处理物种间遗传差异较小的情况下，可能出现过度或欠划分的现象，这对物种的正确识别构成挑战[17]。因此，尽管 ABGD 方法在大规模基因数据初步划分中具有较高的应用价值，尤其是在物种或地理群体的初步分离中，但在面对遗传结构复杂或多样性较高的群体时，应谨慎评估其适用性。为了提高划分结果的准确性，建议结合其他分子系统学方法，特别是在处理具有显著遗传差异的复杂群体时，进行多角度的综合分析[49]。Krück 等[50] 也认为，如果仅以一种基因作为参考序列，有可能导致鉴定结果发生偏差，因此，建议同时使用多种基因进行研究。

综上所述，单基因 *COI* 对于 6 种鹿角珊瑚几乎无辨识能力，*mtCR* 序列与 *Pax-C* 序列虽具有一定的应用潜力，但可能无法实现高精度的物种鉴定。*mtCR+Pax-C* 联合序列在物种鉴别中具有明显优势，表现出较明显的条形码间隙，系统发育分析进一步证实了 *mtCR+Pax-C* 联合序列作为 DNA 条形码在 6 种鹿角珊瑚物种鉴定上有较好的应用潜能。

参考文献：

[1] THIRUKANTHAN C S, AZRA M N, LANANAN F, et al. The evolution of coral reef under changing climate: a scientometric review[J]. Animals, 2023, 13(5): 949.

[2] FINE M, HOEGH-GULDBERG O, MEROZ-FINE E, et al. Ecological changes over 90 years at Low Isles on the Great Barrier Reef[J]. Nature Communications, 2019, 10(1): 4409.

[3] SHEPPARD C, SHEPPARD A, FENNER D. Coral mass mortalities in the Chagos Archipelago over 40 years: regional species and assemblage extinctions and indications of positive feedbacks[J]. Marine Pollution Bulletin, 2020, 154: 111075.

[4] 黄林韬, 黄晖, 江雷. 中国造礁石珊瑚分类厘定 [J]. 生物多样性, 2020, 28(4): 515−523.
HUANG L T, HUANG H, JIANG L. A revised taxonomy for Chinese hermatypic corals[J]. Biodiversity Science, 2020, 28(4): 515−523.

[5] WELLS J W. Scleractinia[M]//MOORE R C. Treatise on invertebrate paleontology. Kansas: University of Kansas Press, 1956: F328−F444.

[6] PAZ-GARCÍA D A, HELLBERG M E, GARCÍA-DE-LEÓN F J, et al. Switch between morphospecies of *Pocillopora* corals[J]. The American Naturalist, 2015, 186(3): 434−440.

[7] VAN OPPEN M J H, MCDONALD B J, WILLIS B, et al. The evolutionary history of the coral genus Acropora (Scleractinia, Cnidaria) based on a mitochondrial and a nuclear marker: reticulation, incomplete lineage sorting, or morphological convergence?[J]. Molecular Biology and Evolution, 2001, 18(7): 1315−1329.

[8] KITAHARA M V, CAIRNS S D, STOLARSKI J, et al. A comprehensive phylogenetic analysis of the Scleractinia (Cnidaria, Anthozoa) based on mitochondrial CO1 sequence data[J]. PLoS One, 2010, 5(7): e11490.

[9] BRIDGE T C L, COWMAN P F, QUATTRINI A M, et al. A *tenuis* relationship: traditional taxonomy obscures systematics and biogeography of the *'Acropora tenuis'* (Scleractinia: Acroporidae) species complex[J]. Zoological Journal of the Linnean

Society, 2024, 202(1): zlad062.

[10] RAJASURIYA A, ÖHMAN M C, SVENSSON S. Coral and rock reef habitats in Southern Sri Lanka;patterns in the distribution of coral communities[J]. Ambio, 1998, 27(8): 723−728.

[11] FLOROS C, SCHLEYER M H. The functional importance of *Acropora austera* as nursery areas for juvenile reef fish on South African coral reefs[J]. Coral Reefs, 2017, 36(1): 139−149.

[12] ZHANG J L, KE J Z, LIU X B, et al. Survival and growth of "branches of opportunity" from ten coral species outplanted on framed reef modules[J]. Ecological Engineering, 2025, 212: 107529.

[13] WALLACE C C, DONE B J, MUIR P R. Revision and catalogue of worldwide staghorn corals *Acropora* and *Isopora* (Scleractinia: Acroporidae) in the Museum of Tropical Queensland[J]. Memoirs of the Queensland Museum-Nature, 2012, 57: 1−255.

[14] SHINZATO C, KHALTURIN K, INOUE J, et al. Eighteen coral genomes reveal the evolutionary origin of *Acropora* strategies to accommodate environmental changes[J]. Molecular Biology and Evolution, 2021, 38(1): 16−30.

[15] WALLACE C C, WOLSTENHOLME J. Revision of the coral genus *Acropora* (Scleractinia: Astrocoeniina: Acroporidae) in Indonesia[J]. Zoological Journal of the Linnean Society, 1998, 123(3): 199−384.

[16] HEBERT P D N, CYWINSKA A, BALL S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes[J]. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 2003, 270(1512): 313−321.

[17] MEYER C P, PAULAY G. DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling[J]. PLoS Biology, 2005, 3(12): e422.

[18] CHOW S W, CHEN C H, TSAI D Y, et al. A clear distinction and presence of *Acropora* aff. *divaricata* within *Acropora* cf. *solitaryensis* species complex along their biogeographic distribution in East Asia[J]. Scientific Reports, 2025, 15(1): 9739.

[19] SUZUKI G, HAYASHIBARA T, SHIRAYAMA Y, et al. Evidence of species-specific habitat selectivity of *Acropora* corals based on identification of new recruits by two molecular markers[J]. Marine Ecology Progress Series, 2008, 355: 149−159.

[20] SHEARER T L, VAN OPPEN M J H, ROMANO S L, et al. Slow mitochondrial DNA sequence evolution in the Anthozoa (Cnidaria)[J]. Molecular ecology, 2002, 11(12): 2475−2487.

[21] HELLBERG M E. No variation and low synonymous substitution rates in coral mtDNA despite high nuclear variation[J]. BMC Evolutionary Biology, 2006, 6(1): 24.

[22] HUANG D W, MEIER R, TODD P A, et al. Slow mitochondrial *COI* sequence evolution at the base of the metazoan tree and its implications for DNA barcoding[J]. Journal of Molecular Evolution, 2008, 66(2): 167−174.

[23] CATMULL J, HAYWARD D C, MCINTYRE N E, et al. *Pax*-6 origins−implications from the structure of two coral *Pax* genes[J]. Development Genes and Evolution, 1998, 208(6): 352−356.

[24] FUKAMI H, IWAO K, KUMAGAI N H, et al. Maternal inheritance of F1 hybrid morphology and colony shape in the coral genus *Acropora*[J]. PeerJ, 2019, 7: e6429.

[25] ROSSER N L. Asynchronous spawning in sympatric populations of a hard coral reveals cryptic species and ancient genetic lineages[J]. Molecular Ecology, 2015, 24(19): 5006−5019.

[26] QUEK Z B R, YIP Z T, JAIN S S, et al. DNA barcodes are ineffective for species identification of *Acropora* corals from the aquarium trade[J]. Biodiversity Data Journal, 2024, 12: e125914.

[27] CLODE P L, MARSHALL A T. Variation in skeletal microstructure of the coral *Galaxea fascicularis*: effects of an aquarium environment and preparatory techniques[J]. The Biological Bulletin, 2003, 204(2): 138−145.

[28] ZOU R. Zoography of China, coelenterata, anthozoa, scleractinia, reef-building coral[J]. 2001: 48−75. **(未找到本条文献信息)**

[29] VERON J, STAFFORDSMITH M. Corals of the world (Townsville, Australia: Australian institute of marine science)[J]. Mitochondrial DNA Part B, 2000, 947. **(查阅网上资料,未找到本条文献信息,请确认)**

[30] DAI C F, HORNG S W. Scleractinia Fauna of Taiwan I. The Complex Group[M]. Taiwan, China: National Taiwan University Press, 2009: 47−94.

[31] FOLMER O, BLACK M, HOEH W, et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates[J]. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 1994, 3(5): 294−299.

[32] SWINDELL S R. Sequence Data Analysis Guidebook[M]. Totowa: Humana Press, 1997: 89-95.

[33] TAMURA K, STECHER G, KUMAR S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11[J]. Molecular Biology and Evolution, 2021, 38(7): 3022−3027.

[34] NGUYEN L T, SCHMIDT H A, VON HAESELER A, et al. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies[J]. Molecular Biology and Evolution, 2015, 32(1): 268−274.

[35] LANFEAR R, CALCOTT B, HO S Y W, et al. PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses[J]. Molecular Biology and Evolution, 2012, 29(6): 1695−1701.

[36] XIE J M, CHEN Y R, CAI G J, et al. Tree Visualization By One Table (tvBOT): a web application for visualizing, modifying and annotating phylogenetic trees[J]. Nucleic Acids Research, 2023, 51(W1): W587−W592.

[37] SA W, QIAO J X, GAO Q Y, et al. DNA Barcoding and species classification of *Morchella*[J]. Genes, 2022, 13(10): 1806.

[38] 金倩, 武春生, 陈芬, 等. 基于 DNA 条形码的物种界定算法比较研究——以北京周边地区舟蛾科为例 [J]. 应用昆虫学报, 2017, 54(1): 13−21.
JIN Q, WU C S, CHEN F, et al. The reliability of DNA barcoding as a means of identifying Notodontid moth species (Insecta: Lepidoptera, Notodontidae) in Beijing, China[J]. Chinese Journal of Applied Entomology, 2017, 54(1): 13−21.

[39] 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.

[40] STAMATAKIS A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies[J]. Bioinformatics, 2014, 30(9): 1312−1313.

[41] METZ E C, GÓMEZ-GUTIÉRREZ G, VACQUIER V D. Mitochondrial DNA and bindin gene sequence evolution among allopatric species of the sea urchin genus Arbacia[J]. Molecular Biology and Evolution, 1998, 15(2): 185−195.

[42] VAWTER L, BROWN W M. Nuclear and mitochondrial DNA comparisons reveal extreme rate variation in the molecular clock[J]. Science, 1986, 234(4773): 194−196.

[43] SHEARER T L, COFFROTH M A. DNA BARCODING: barcoding corals: limited by interspecific divergence, not intraspecific variation[J]. Molecular Ecology Resources, 2008, 8(2): 247−255.

[44] COLIN L, ABED-NAVANDI D, CONDE D A, et al. What's left in the tank?Identification of non-ascribed aquarium's coral collections with DNA barcodes as part of an integrated diagnostic approach[J]. Conservation Genetics Resources, 2022, 14(2): 167−182.

[45] 张颖. 海南蔷薇珊瑚属的分子鉴定和系统进化学研究 [D]. 海口: 海南大学, 2016.
ZHANG Y. A phylogenetic analysis and molecular classification of the Hainan scleractinian coral genus *Montipora* (Scleractinia, Acroporidae)[D]. Haikou: Hainan University, 2016.

[46] LIN S J, CHENG S F, SONG B, et al. The *Symbiodinium kawagutii* genome illuminates dinoflagellate gene expression and coral symbiosis[J]. Science, 2015, 350(6261): 691−694.

[47] FALKOWSKI P G, DUBINSKY Z, MUSCATINE L, et al. Light and the bioenergetics of a symbiotic coral[J]. Bioscience, 1984, 34(11): 705−709.

[48] PUILLANDRE N, LAMBERT A, BROUILLET S, et al. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation[J]. Molecular ecology, 2012, 21(8): 1864−1877.

[49] PENTINSAARI M, VOS R, MUTANEN M. Algorithmic single - locus species delimitation: effects of sampling effort, variation and nonmonophyly in four methods and 1870 species of beetles[J]. Molecular Ecology Resources, 2017, 17(3):

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).
© The Author(s) 2026. Published by Journal Editorial Department of Hainan University.

393−404.

[50] KRÜCK N C, TIBBETTS I R, WARD R D, et al. Multi-gene barcoding to discriminate sibling species within a morphologically difficult fish genus (*Sillago*)[J]. Fisheries Research, 2013, 143: 39−46.

作者贡献声明

郑凌宇负责设计实验及实验实施,进行数据分析及撰写初稿。周银银主导实验设计与数据分析,并提供学术指导、方向把握、负责论文修订等。狄义津参与数据收集与整理,协助数据分析。杨培和刘义程参与实验设计与数据收集。赵贺和刘相波负责样本采集与数据收集工作。李秀保提供学术指导、方向把握、实验设备、经费支持、数据资源等。

利益冲突声明

作者声明,其不存在已知的可能影响本论文所报告工作的竞争性经济利益或个人关系。

伦理声明

本研究中,所有珊瑚样本的采集均已获得许可,该许可由海南省农业农村厅颁发并加盖公章。

电子补充材料

本文在线版本包含补充材料(1.补充的表格:采样信息及 DNA 标记序列的 GenBank accession No;2.补充的图表:基于 *COI* 基因、*mtCR* 序列、*Pax-C* 序列、*mtCR+Pax-C* 联合序列分别构建的 NJ 系统发育树)。

数据可用性

支持论文结论所需的所有数据均已包含在稿件和电子补充材料中。如需获取与本文相关的其他数据,可向通信作者提出申请。

致谢(Acknowledgements)

本文得到国家自然科学基金项目(42 306 124),海南省 C 类科技人才创新项目(KJRC2023C39)和海南省重大科技计划项目(ZDYF2023SHFZ173)支持。

作者简介

郑凌宇(2001—),女,云南昭通,海南大学海洋生物学 2023 级硕士研究生,E-mail: 23210707030041@hainanu.edu.cn

周银银(1991—),女,安徽芜湖,海南大学副研究员,博士生导师,主要从事珊瑚生理生态学研究,E-mail: zhouyy22@hainanu.edu.cn

狄义津(2002—),男,河南新乡,E-mail: 24210707030007@hainanu.edu.cn

杨　培(2001—),男,黎族,海南陵水黎族自治县,E-mail: 2601005953@qq.com

刘义程(2001—),男,安徽六安,E-mail: 2766297505@qq.com

赵　贺(1996—),男,山东济宁,E-mail: 1742961937@qq.com

刘相波(1996—),男,山东潍坊,E-mail: 24110713000045@hainanu.edu.cn

李秀保(1980—),男,海南海口,海南大学教授,博士生导师,主要从事珊瑚礁生态修复研究,E-mail: xiubaoli@hainanu.edu.cn

(责任编辑:王玖琪)