

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2018.18050

基于线粒体 COI 基因的 6 个黄鳝群体遗传多样性

梁宏伟^{1,2}, 孟彦¹, 罗相忠¹, 李忠¹, 邹桂伟¹

1. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 湖北 武汉 430223;
2. 农业农村部水生动物基因组学重点实验室, 湖北 武汉 430223

摘要: 为研究我国主要养殖区域黄鳝(*Monopterus albus*)的遗传多样性, 利用线粒体细胞色素 c 氧化酶亚基 I (cytochrome C oxidase subunit I, COI)基因对来源于湖北、江西、安徽、湖南、重庆和山东的 6 个黄鳝群体共 187 个样本进行遗传多样性分析。结果表明长度为 646 bp 的 COI 基因序列在 6 个群体的碱基含量基本相同, 碱基 T、C、A 和 G 的平均含量分别为 27.7%, 30.7%, 24.5%和 17.1%, 包括 61 个变异位点, 其中单位点突变 16 个, 简约信息位点 45 个, 变异位点以 C/T 间的转换为主。6 个群体中共检测到 38 种单倍型, 单倍型多样性(H_d)为 0.886, 核苷酸多样性(π)为 0.01094, 群体整体遗传多样性高, 湖北和山东群体遗传多样性都较高($H_d > 0.8$), 湖南群体和江西群体的遗传多样性次之($H_d > 0.5$), 而安徽和重庆两个群体的遗传多样性都较低($H_d < 0.5$)。6 个群体间有显著的遗传分化, 基因交流贫乏($N_m < 1$)。群体分子变异分析(AMOVA)显示, 6 个黄鳝地理种群群体内的遗传变异高于群体间的遗传变异, 其遗传变异主要发生在群体内部。遗传结构和系统发育树显示湖南群体与其他 5 个群体的遗传关系较远。重庆群体可能由单一或很少几个群体进化而来的, 起源比较单一。就目前而言, 黄鳝野生种质资源遗传多样性丰富, 苗种频繁流动和人工养殖尚未对其种群结构造成较大影响, 仍有较强的环境适应能力和良好的育种潜力。

关键词: COI 基因; 黄鳝; 地理群体; 遗传多样性; 遗传分化

中图分类号: S917 文献标志码: A 文章编号: 1005-8737-(2018)04-0837-10

黄鳝(*Monopterus albus*)属于合鳃鱼科黄鳝属, 俗称鳝鱼, 在中国中东部广泛分布, 尤以长江流域最为常见^[1]。由于黄鳝具有良好的食用和药用价值, 业已成为我国重要的经济鱼类之一, 养殖产量由 2010 年的 27.2 万吨增加到 2016 年的 38.6 万吨, 增长了 41.9%^[2-3]。目前, 黄鳝市场需求旺盛, 养殖规模不断扩大, 养殖产量持续增加, 苗种需求日益增加。尽管在黄鳝繁育方面已经取得了一些进展, 但是苗种供应问题仍然没有从根本上得到改观, 仿生态和人工繁殖苗种所占比例微乎其微, 苗种主要依赖于野生捕捞。由于过度捕捞、栖息地破坏和环境污染等人为因素的影响, 野生黄鳝资源量锐减, 种质资源退化等问题变得

尤为突出^[4-5]。每年有大量来自湖北、安徽、江西和湖南等地的苗种进入市场进行交易, 苗种引种还很不规范, 造成了养殖苗种的混杂, 给黄鳝养殖业带来了一定的风险, 经济效益难以保证。另外, 在养殖过程中黄鳝逃逸也势必会对野生种质资源造成潜在的威胁。因此对目前我国重要养殖地区的黄鳝种质资源进行本底调查, 分析遗传多样性和遗传结构, 对于黄鳝种质资源的保护和养殖业的可持续发展具有重要的意义。

遗传多样性为物种进化和遗传育种提供了遗传基础, 遗传背景的调查分析对于物种有效保护和合理利用至关重要^[6]。随着黄鳝养殖业的蓬勃发展, 许多科研工作者利用 ISSR、微卫星和线粒

收稿日期: 2018-02-02; 修订日期: 2018-05-07.

基金项目: 科技部科技基础性工作专项(2013FY110700); 中国水产科学研究院基本科研业务费项目(2014A11); 国家水产种质资源共享服务平台(2018DKA30470).

作者简介: 梁宏伟(1978-), 男, 博士, 副研究员, 从事水产种质资源与遗传育种研究. E-mail: lianghw@yfi.ac.cn

通信作者: 邹桂伟, 研究员, 从事水产动物遗传育种研究. E-mail: zougw@yfi.ac.cn

体序列对黄鳝群体遗传多样性进行了一些研究, 这些研究主要是对安徽群体^[7-11]、四川盆地群体^[12]、南方群体^[13]、黄河流域群体^[14]和长江中下游群体^[15]黄鳝遗传多样性进行分析, 都只是对特定区域的黄鳝群体进行了遗传多样分析, 尚未对我国主要养殖区域的黄鳝野生群体进行整体比较分析和评价。为了深入了解主养区域黄鳝种质资源的遗传背景和资源现状, 本研究旨在利用线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I (cytochrome C oxidase subunit I, COI) 基因对湖北、江西、安徽、湖南、重庆和山东地区的 6 个黄鳝群体进行遗传多样性分析, 为今后黄鳝种质资源的鉴定、评价和挖掘利用提供依据。

1 材料与方 法

1.1 样本采集和基因组 DNA 提取

本研究分析的 6 个野生黄鳝群体分别采集于湖北省潜江市(HB; 112°45'E, 30°06'N; 29 个)、江西省新余市(JX; 114°56'E, 27°49'N; 30 个)、安徽省合肥市(AH; 117°16'E, 31°51'N; 36 个)、湖南省岳阳市(HN; 113°09'E, 29°37'N; 35 个)、重庆市(CQ; 106°31'E, 29°32'N; 28 个)和山东省微山湖(SD; 117°58'E, 34°53'N; 29 个)。取肌肉组织置于无水乙醇中保存; 基因组 DNA 利用 DNA 提取试剂盒(TaKaRa, 日本)进行提取, 并在 1.0%的琼脂糖凝胶上检测 DNA 的质量, 然后保存于-20℃冰箱备用。

1.2 COI 基因序列扩增及测序

以黄鳝基因组 DNA 为模板, 采用鱼类 COI 基因通用引物进行 PCR 扩增, 引物上下游序列为 5'-CAACCAACCACAAAGACATTGGCAC-3'和 5'-ACCTCAGGGTGTCCGAARAATCARAA-3'。PCR 反应体系 25 μL, 包含 2×TSINGKETM master Mix (TSINGKE, 中国)12.5 μL, 100 nmol/L 上下游引物各 1 μL, 模板 DNA 0.5 μL 以及超纯水 10 μL。扩增程序: 94℃预变性 3 min; 94℃变性 30 s, 52℃退火 30 s, 72℃延伸 15 s, 35 个循环; 72℃延伸 10 min, 4℃保存。扩增产物用 2.0%琼脂糖凝胶电泳检测, 利用 AxyPrep DNA (AxyGEN, 美国)凝胶回收试剂盒进行纯化回收, 产物送样测序。引物合成和扩增产物测序均在武汉天一辉远生物科技有限公司完成。

1.3 COI 基因序列与系统发育分析

测序结果用 DNASTAR Lasergene 6.0 软件中的 SeqMan 进行序列拼接校对, 软件 MEGA 7.0 对序列进行整合, 并且进行 Clustal W 序列比对。然后利用 DnaSP5 软件分析 6 个群体基于 COI 基因的单倍型数、平均核苷酸差异和核苷酸多样性指数等。采用软件 MEGA 7.0 统计序列碱基组成、GC 含量、多态位点和简约信息位点等参数; 利用 Kimura 2-parameter (K2-P)双参数模型计算群体内和群体间遗传距离; 以合鳃鱼(*Synbranchus marmoratus*, GenBank 登录号 AP004439.1)作为外群, 采用邻接法(neighbor-joining, NJ)构建系统发育进化树, 系统发育树分支的置信度用自展法(Bootstrap)重复检测 1000 次。用 Arlequin3.5 软件计算两两群体间的遗传分化指数(F_{st})和分子变异分析(AMOVA), 基因流(N_m)由公式 $N_m=1/(4F_{st}+1)$ 进行计算。Network 5.0 软件构建单倍型网络图, 分析各个单倍型与群体的对应关系。

2 结果与分析

2.1 序列分析

通过鱼类 COI 基因通用引物对 6 个黄鳝群体的个体进行扩增和测序, 将得到序列结果进行校正、拼接后得到长为 646 bp 的同源序列 187 条。利用 Clustal W 比对黄鳝 COI 基因序列并分析其碱基含量, 结果发现 4 个碱基在 6 个群体的碱基含量基本相同, 碱基 T、C、A、G 的平均含量分别为 27.7%、30.7%、24.5%和 17.1%, 碱基 AT 含量(52.2%)高于 GC(47.8%)含量。COI 基因序列包含 61 个变异位点, 单位点突变 16 个, 简约信息位点 45 个, 变异位点的转换/颠换比例为 7.72, 且以 C/T 之间的转换为主; 在 61 个变异位点中有 54 个变异发生在密码子第一位, 说明黄鳝 COI 基因密码子第 1 位点的进化速度最快。

2.2 群体遗传多样性分析

对黄鳝 COI 基因序列的单倍型多样性和遗传多样性统计结果如表 1 所示。结果表明, 6 个群体的单倍型数在 3~15 种, 其中单倍型最多的为山东群体, 有 15 种单倍型, 单倍型数从高到低依次为江西群体(14 种)、湖北群体(10 种)、湖南群体(6

表 1 基于 COI 序列 6 个黄鳝遗传多样性分析结果
Tab. 1 Genetic diversity analysis of six *Monopterus albus* populations based on COI gene

| 群体 population | 样本量 size | <i>h</i> | <i>S</i> | <i>H_d</i> ($\bar{x}\pm SD$) | π ($\bar{x}\pm SD$) | <i>K</i> |
|---------------|----------|----------|----------|--|---------------------------|----------|
| 安徽 AH | 36 | 5 | 4 | 0.349±0.099 | 0.00058±0.00084 | 0.376 |
| 重庆 CQ | 28 | 3 | 3 | 0.204±0.098 | 0.00063±0.00075 | 0.407 |
| 湖北 HB | 29 | 10 | 28 | 0.808±0.048 | 0.00819±0.00392 | 5.300 |
| 湖南 HN | 35 | 6 | 28 | 0.545±0.089 | 0.00898±0.00364 | 5.802 |
| 江西 JX | 30 | 14 | 41 | 0.782±0.078 | 0.01215±0.00544 | 7.851 |
| 山东 SD | 29 | 15 | 34 | 0.911±0.034 | 0.01166±0.00466 | 7.544 |
| 整体 overall | 187 | 38 | 61 | 0.886±0.014 | 0.01094±0.00405 | 7.068 |

注: *h* 表示单倍型数目, *S* 表示变异位点数目, *H_d* 表示单倍型多样性, π 表示核苷酸多样性, *K* 表示平均核苷酸差异数.

Note: *h* is the number of haplotype; *S* is the number of variation site, *H_d* is short for haplotype diversity; π stands for nucleotide diversity, *K* is the average of nucleotide difference.

种)、安徽群体(5 种), 重庆群体最少(3 种)。6 个群体的单倍型多样性(haplotype diversity, *H_d*)为 0.204~0.911, 山东群体的单倍型多样性为 0.911, 其次为湖北群体(*H_d* 为 0.883), 说明这两个群体的遗传多样性都很高(*H_d*>0.800); 湖南群体和江西群体的遗传多样性亦较高(0.500<*H_d*<0.800), 而安徽和重庆两个群体的遗传多样性都较低(*H_d*<0.400), 重庆群体在 6 个群体中遗传多样性最低(*H_d* 为 0.204)。核苷酸多样性(nucleotide diversity, π)为 0.00058~0.01215, 整体为 0.01094, 说明黄鳝群体整体遗传多样性高, 核苷酸多样性也较高。在核苷酸多样性方面, 江西群体和山东群体的核苷酸多样性都较高(π >0.010), 湖南和湖北群体其次, 重庆(0.00063)和安徽群体较低(0.00058)。核苷酸差异数(average nucleotide difference, *K*)在不同群体间的差异与核苷酸多样性一致, 6 个群体平均核苷酸差异数为 7.068, 其在山东群体中最多为 7.851 个, 在安徽群体中最少为 0.376 个。

2.3 群体间的遗传距离和遗传分化

6 个黄鳝群体基于 K2P 模型的种内和种间遗传距离如表 2 所示。从表 2 中可以看出, 黄鳝群体内的遗传距离为 0.0006~0.0192, 群体间的遗传距离为 0.0033~0.0206, 山东和湖南群体间的遗传距离最大(0.0206), 而重庆和安徽群体之间的遗传距离最小(0.0033)。此外, 重庆群体与湖北、江西和山东群体之间的遗传距离都较小。

利用软件 DnaSP 5.10 计算群体的固定指数 *F_{st}*, 并进一步获得群体间的基因流 *N_m*, 结果如表 3 所示。结果显示, 6 个群体间的固定指数 *F_{st}* 为

0.01920~0.81545, 基因流 *N_m* 为 0.23464~0.92868。6 个群体间存在一定的遗传分化, 基因交流贫乏。黄鳝群体间 COI 基因序列的分子变异分析(AMOVA)结果如表 4 所示。结果显示, 黄鳝群体间的遗传变异占 40.74%, 群体内的变异占 59.26%, 表明 6 个黄鳝地理种群群体内变异高于群体间的变异, 遗传变异主要来源于群体内。

表 2 基于 COI 基因序列的黄鳝群体遗传距离
Tab. 2 Genetics divergences (K2P) within/among *Monopterus albus* populations

| 群体 population | 安徽 AH | 湖北 HB | 湖南 HN | 江西 JX | 山东 SD | 重庆 CQ |
|---------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 安徽 AH | 0.0006 | | | | | |
| 湖北 HB | 0.0091 | 0.0083 | | | | |
| 湖南 HN | 0.0138 | 0.0188 | 0.0192 | | | |
| 江西 JX | 0.0075 | 0.0121 | 0.0179 | 0.0124 | | |
| 山东 SD | 0.0109 | 0.0103 | 0.0206 | 0.0134 | 0.0119 | |
| 重庆 CQ | 0.0033 | 0.0075 | 0.0135 | 0.0086 | 0.0099 | 0.0006 |

注: 对角线表示群体内遗传距离, 对角线下为群体间遗传距离.

Note: The diagonal stands for the genetic distance within populations and genetic distance among populations is below the diagonal.

基于 6 个黄鳝群体间的遗传距离构建 NJ 系统进化树(图 1)。进化树结果显示, 湖南群体单独形成一个分支, 湖北和山东群体先聚为一支, 再与江西群体形成分支, 另外安徽群体和重庆群体形成一个分支, 这两个姐妹分支聚在一起, 最终与湖南群体聚在一起。该结果表明, 湖南的黄鳝群体与其他 5 个群体的亲缘关系较远。

2.4 系统进化分析

在 6 个黄鳝群体 COI 基因中共检测到单倍型 38 种, 分别命名为 Hap1~Hap38。在这 38 种单倍

表 3 基于 COI 基因序列的黄鳢群体间固定指数和基因流分析
Tab. 3 Pairwise fixation indices and gene flow among *Monopterus albus* populations based on COI gene

| 群体 population | 安徽 AH | 湖北 HB | 湖南 HN | 江西 JX | 山东 SD | 重庆 CQ |
|---------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 安徽 AH | | 0.32689 | 0.27834 | 0.65272 | 0.36767 | 0.23464 |
| 湖北 HB | 0.51478 | | 0.31870 | 0.63870 | 0.92868 | 0.38157 |
| 湖南 HN | 0.64819 | 0.53443 | | 0.38614 | 0.33903 | 0.28121 |
| 江西 JX | 0.13301 | 0.14142 | 0.39744 | | 0.73029 | 0.50979 |
| 山东 SD | 0.42996 | 0.01920 | 0.48739 | 0.09233 | | 0.40358 |
| 重庆 CQ | 0.81545 | 0.40518 | 0.63901 | 0.24040 | 0.36945 | |

注: 对角线下为固定指数 F_{st} , 对角线上为基因流 N_m .

Note: Pairwise fixation indices are below the diagonal and gene flow is above the diagonal.

表 4 黄鳢 6 个地理群体遗传分化的方差分析
Tab. 4 Genetic variation AMOVA analysis of *Monopterus albus* populations

| 变异来源 source of variation | 自由度 df | 平方和 sum of squares | 变异组成 variance component | 变异比例 percentage of variation |
|--------------------------|--------|--------------------|-------------------------|------------------------------|
| 群体间 among populations | 5 | 254.087 | 1.56081 Va** | 40.74 |
| 群体内 within populations | 181 | 410.939 | 2.27038 Vb** | 59.26 |
| 总计 total | 186 | 665.027 | 3.83119 | |

注: **表示差异极显著 ($P < 0.01$).

Note: ** indicates extremely significant difference ($P < 0.01$).

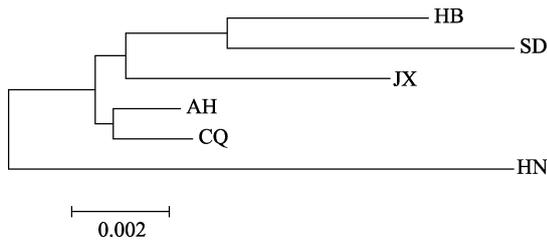


图 1 基于 COI 基因序列构建的黄鳢 6 个地理群体 NJ 进化树

Fig. 1 The neighbor joining phylogenetic tree based on genetic distances of mitochondrial COI gene in different *Monopterus albus* populations

型中有 9 种共享单倍型, 29 种独享单倍型。在 9 种共享单倍型中 Hap1 为主体单倍型, 在安徽、江西、山东和重庆 4 个黄鳢群体中都存在, 可以认为是黄鳢 COI 基因比较原始、能够适应环境变化且在种群中稳定存在的优势单倍型, 另一方面也可以说明这些种群的亲缘关系相对比较密切。单倍型 Hap1、Hap17 和 Hap27 是所有单倍型中包含序列数最多的单倍型, 其所包含的序列个数分别为 49 条、23 条和 26 条。单倍型和在群体间的分布如表 5 所示。安徽群体(AH)独享 Hap2~Hap5 共 4 种单倍型, 湖北群体(HB)独享 Hap10、Hap11、Hap13 和 Hap15 共 4 种单倍型, 湖南群体(HN)独享 Hap16~Hap21 共 6 种单倍型, 江西群体(JX)独

享 Hap22、Hap24~Hap26、Hap28-Hap30 共 7 种单倍型, 山东群体(SD)独享 Hap31~Hap37 共 7 种单倍型, 而重庆群体(CQ)则仅仅独享 1 种单倍型 Hap38。6 个黄鳢地理种群间存在的共享和独享单倍型说明黄鳢不同地理种群存在基因交流的同时, 也存在一定程度的遗传分化。

利用 Network5.0 软件对 38 种单倍型构建网络图(medium-join, MJ), 具体如图 2 所示。在网络图中, 通常古老的单倍型多位于网络中间位置, 而衍生出来的单倍型通过单一突变和多步突变相连接, 呈星状分布在祖先单倍型周围。单倍型 Hap7 为位于网络结构的中央, 其他单倍型向三个方向呈现星状分布。位于网络两端的分支经过变异形成相对独立的两个分支。单倍型 Hap7 拥有来自江西、湖北和山东群体的共 12 个个体, 尽管其占总样本量低(6.4%), 但是所包含遗传信息却比较古老。

2.5 群体系统发育分析

以合鳃鱼(*Synbranchus marmoratus*)为外群, 构建黄鳢 6 个群体 COI 基因 38 种单倍型的邻接法(NJ)系统发育树(图 3)。黄鳢所有的单倍型聚在一起, 38 种单倍型形成 4 个分支: CladeA、CladeB、CladeC 和 Clade D。Clade A 由绝大多数的单倍型

表 5 6 个群体黄鳝 COI 基因 38 种单倍型在不同种群间的分布
Tab. 5 38 haplotypes distribution of COI gene in six *Monopterus albus* populations

| 群体 population | 群体数量 number | 单倍型数 haplotype | 单倍型分布 haplotype distribution |
|------------------|----------------|-------------------|---|
| 安徽 AH | 36 | 5 | Hap1(29), Hap2(2), Hap3(1), Hap4(1), Hap5(3) |
| 重庆 CQ | 28 | 3 | Hap1(1), Hap27(25), Hap38(2) |
| 湖南 HN | 35 | 6 | H16(1), Hap17(23), Hap18(3), Hap19(6), Hap20(1), Hap21(1) |
| 湖北 HB | 29 | 10 | Hap6(1), Hap7(9), Hap8(9), Hap9(1), Hap10(1), Hap11(1), Hap12(1), Hap13(1), Hap14(4), Hap15(1) |
| 江西 JX | 30 | 14 | Hap1(14), Hap6(3), Hap7(1), Hap9(2), Hap14(1), Hap22(1), Hap23(1), H24(1), Hap25(1), Hap26(1), Hap27(1), Hap28(1), Hap29(1), Hap30(1) |
| 山东 SD | 29 | 15 | Hap1(5), Hap6(7), Hap7(2), Hap8(1), Hap9(3), Hap12(1), Hap14(1), H23(1), Hap31(1), Hap32(1), Hap33(2), Hap34(1), Hap35(1), Hap36(1), Hap37(1) |

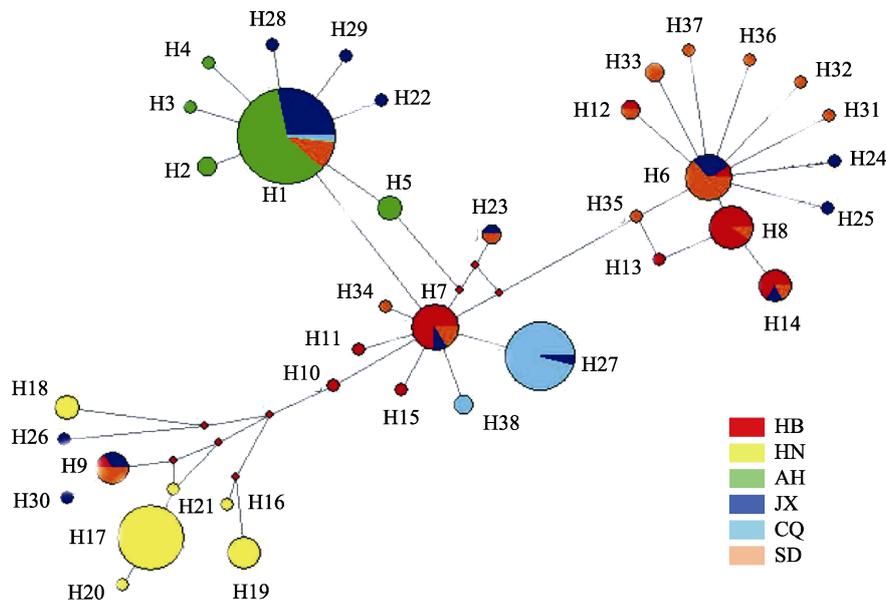


图 2 基于黄鳝 COI 基因单倍型的网络结构图

HB: 湖北群体; HN: 湖南群体; AH: 安徽群体; JX: 江西群体; CQ: 重庆群体; SD: 山东群体.

Fig. 2 The haplotype network of *Monopterus albus* based on mitochondrial COI gene

HB: Hubei population; HN: Hunan population; AH: Anhui population; JX: Jiangxi population;

CQ: Chongqing population; SD: Shandong population.

组成, 由 29 种单倍型组成; Clade B 由湖南群体独享的 Hap16、Hap17、Hap19、Hap20 和 Hap21 共 5 种单倍型组成; Clade C 由 Hap9 和 Hap30 组成; Clade D 包括单倍型 Hap26 和 Hap18。

3 讨论

遗传多样性就是生物所携带的遗传信息, 是生物生存和进化的遗传基础。丰富的遗传多样性使得种群受到环境压力的影响小, 其适应环境的能力强, 种群就越容易生存下来; 而遗传多样性越贫乏, 种群就越容易遭遇瓶颈甚至灭亡^[16]。开

展黄鳝群体种质资源遗传本底的监测和评价, 有助于对黄鳝种群现状进行更加深入的了解, 为制定合理可行的保护和利用方案提供依据。COI 基因由于变异快、检测灵敏性高, 已经成为线粒体 DNA 研究最多的标记基因之一, 并广泛用于水产动物的遗传多样性和群体遗传结构分析^[17-18]。

本研究以常用于鱼类 DNA 条形码的 COI 基因序列作为标记, 分析黄鳝 6 个地理种群共 187 个个体的遗传多样性, 结果发现在 646 bp 片段中存在 61 个变异位点, 187 个个体定义了 38 种单倍型。群体的单倍型多样性(H_d)为 0.886, 核苷酸多

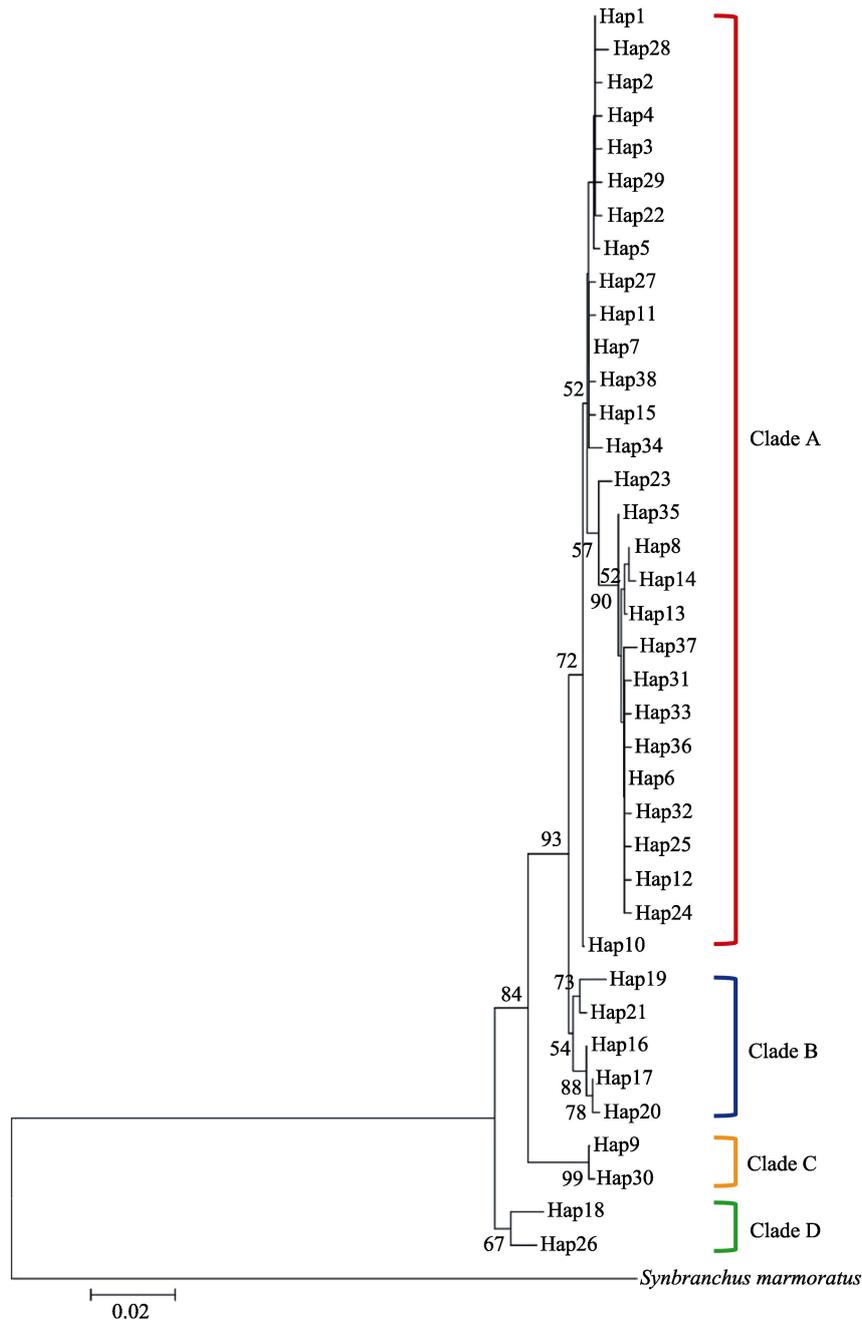


图 3 基于 COI 基因 38 种单倍型构建黄鳝群体 NJ 进化树

Fig. 3 The neighbor joining phylogenetic tree based on 38 haplotypes of mitochondrial COI gene in *Monopterus albus* populations

多样性(π)为 0.01094, 6 个黄鳝群体整体遗传多样性高, 但是核苷酸多样性比较低。在这 6 个黄鳝地理群体中, 湖北群体的 H_d 为 0.808, 单倍型多样性较高, 与周宇芳等^[15]利用微卫星标记对湖北黄鳝群体的遗传多样性分析结果一致。蔡欣等^[19]利用线粒体 DNA 控制区对重庆忠县黄鳝群体研究发现, 忠县的黄鳝单倍型多样性较低($H_d=0.404$),

在本研究中重庆黄鳝的单倍型多样性仅为 0.204, 进一步证实重庆地区的黄鳝遗传多样性比较低。研究表明, 安徽群体的单倍型多样性较低($H_d=0.349$), 与胡玉婷等^[8-11]利用 Cyt *b* 基因对安徽境内淮河流域和长江流域黄鳝群体的研究结果不尽相同, 其认为来源于淮河流域的地理群体单倍型多样性普遍较高(0.462~0.820), 来源于长江流域

地理种群的单倍型多样性也较高(0.623~0.940), 造成差异的原因可能与采用的分子标记、采集的样本群体的地点不同有关。本研究中, 6 个黄鳝群体整体的遗传多样性比较高, 但遗传多样性水平在不同群体间的差别却较大, 其中安徽和重庆群体遗传多样性较低, 其他群体的遗传多样性均较高。Grant 等^[20]基于单倍型多样性和核苷酸多样性将线粒体 DNA 序列的遗传变异分为四种情况。本研究中整体而言, 6 个黄鳝群体的单倍型和核苷酸多样性分别为 0.886 和 1.09%, 属于高单倍型多样性($H_d > 0.5$)和高核苷酸多样性($\pi > 0.5\%$)类型, 而重庆和安徽群体($H_d < 0.5$, $\pi < 0.5\%$)则属于低单倍型多样性和低核苷酸多样性类型, 重庆群体的这种低单倍型和低核苷酸多样性类型与之前对重庆忠县群体的研究结果一致^[19]。胡玉婷等^[10-11]利用线粒体 Cyt *b* 基因对安徽淮河流域和长江流域的黄鳝地理种群的研究也发现其核苷酸多样性普遍也比较低, 分别是 0.30%~0.20%和 0.17%~0.15%。结合胡玉婷等^[8-11]的研究结果, 发现安徽地区不同的群体间也不尽相同, 有高单倍型多样性和高核苷酸多样性类型, 也有高单倍型多样性和低核苷酸多样性类型, 还有低单倍型和高核苷酸多样性类型, 在其研究的安徽黄河和长江流域共 12 个群体中, 仅有繁昌群体呈现低单倍型多样性和低核苷酸多样性类型, 与本研究的结果一致。基于 6 个黄鳝群体在单倍型和核苷酸多样性上的差异, 推断来源于湖北、江西、湖南和山东的黄鳝群体可能是由来源于不同种群的黄鳝群体通过二次接触后进一步形成的, 也有可能是由一个长期稳定进化的黄鳝群体通过逐渐遗传分化和进化而来的; 而重庆群体则极有可能遭受过瓶颈效应, 或者基础群体较小, 仅有单一或极少群体组成^[20]。

由于黄鳝营穴居生活, 筑巢产卵, 个体迁移能力和活动范围有限, 加之地理隔离、遗传和环境等因素的影响, 在我国形成了许多不同的地理种群, 即使在较小的区域范围内也会存在较大的遗传分化^[7-8, 14]。固定指数(F_{st})反映了群体间的遗传分化程度, 当 F_{st} 值在 0~0.05 时, 群体间遗传差异很小, 不存在分化; 在 0.05~0.15 时, 存在中等程度的遗传分化; 0.15~0.25 时, 遗传分化程度较

大; 大于 0.25 时, 则遗传分化很大^[21]。本研究中 6 个群体间的 F_{st} 值在 0.01920~0.81545, 群体间平均 F_{st} 值为 0.3912, 说明整体上遗传分化程度大, 群体间有明显的遗传分化。从群体间而言, 并非所有的群体间遗传分化都很大。江西群体与山东群体 F_{st} 为 0.0923、江西和安徽群体为 0.1330, 江西和湖北群体为 0.1414, 都是中等程度的遗传分化; 而湖北和山东群体之间的 F_{st} 仅为 0.0192, 遗传分化程度很小。已有研究表明, 黄河流域黄鳝群体间有较大的遗传分化^[14], 安徽长江流域的当涂、繁昌和怀宁的黄鳝群体间存在着明显的遗传分化^[9]; 安徽淮河水系 6 个黄鳝地理种群间存在较高分化的遗传分化^[10], 以及在四川盆地的黄鳝群体间, 甚至四川盆地的绵阳群体内部都存在一定的遗传分化^[5, 19]。综合这些关于不同地理种群黄鳝群体遗传分化的研究结果, 证实我国黄鳝群体间确实存在着较大的遗传分化。此外, 研究中的 6 个黄鳝群体的基因流 N_m 值在 0.23464~0.92868, 也较小。基因流指的是遗传物质在不同种群的传递, 在种群的遗传变异中起着至关重要的作用, 基因流越小, 则遗传分化越大^[22-23]。当基因流 $N_m < 1$ 时, 表明种群间有限的基因流造成了群体的遗传分化; 当 $N_m > 1$, 则群体间有一定的基因交流, 不至于造成遗传分化; $N_m > 4$, 群体间个体可以随机交配^[24]。6 个种群之间基因交流较少, 遗传分化明显。造成这种基因流小, 遗传分化的原因可能跟黄鳝的生物学特性有关, 即黄鳝迁移能力有限, 多数群体长期处于相对封闭的水体中, 与其他群体间基因交流机会有限, 从而造成了较大的遗传分化。

从系统进化角度来看, 本研究中的 38 种单倍型分成 4 支(Clade A、Clade B、Clade C 和 Clade D), 其中湖南群体的 5 种单倍型组成了 Clade B, 与其他 5 个群体不共享。本研究中湖南群体黄鳝样品收集于洞庭湖, 相对而言水体比较封闭, 可能由于其固有的生物学特性, 与其他群体之间的基因交流较少。重庆群体由 3 种单倍型(Hap1、Hap27 和 Hap38)组成, Hap1 单倍型在 5 个群体中共享, 在重庆群体中仅有 1 个个体, 单倍型 Hap27 包括了重庆黄鳝群体 89.3%的个体, 是重庆群体的主

要单倍型, Hap38 则为重庆群体特有单倍型, 重庆群体的这 3 种单倍型都处于分支 Clade A, 可能起源于单一类群, 与蔡欣等^[19]对四川盆地黄鳝群体的研究结果一致, 究其原因可能是重庆市位于四川盆地, 与外界有天然的地理屏障隔绝, 而且黄鳝喜穴居, 迁徙能力较差, 基因交流有限, 再者, 在黄鳝的市场交易过程中, 重庆地区与其他地区往来较少, 因而造成重庆黄鳝群体的遗传多样性也较贫乏。江西群体的单倍型组成较为广泛, 除湖南群体独有的 Clade B 外, 其他 3 支均有江西群体的单倍型, 与其他群体之间交流较多。然而, 38 种单倍型并没有按照不同的地理群体形成独立分支, 遗传距离也与地理距离不尽一致, 关于 6 个群体之间的系统进化关系还有待于研究更大范围、更多样本, 再结合地理、历史以及黄鳝苗种流动等外部因素进行进一步的综合分析。

黄鳝群体遗传多样性的丰富程度与环境适应能力和进化潜力有着密切的关系。遗传多样性丰富的黄鳝群体对环境的适应性强, 具有较大的进化潜能和丰富的遗传选育潜力。就目前而言, 黄鳝野生种质资源遗传多样性丰富, 黄鳝苗种的交易以及人工养殖尚未对其野生种质资源遗传多样性造成明显的影响, 仍有较强的环境适应能力和良好的育种潜力。但是, 由于实际生产中黄鳝全人工繁殖技术尚未突破, 大规模养殖中的苗种仍依赖于自然资源的捕获, 黄鳝资源处于一种过度捕捞的状态, 捕获量也急剧下降。因此, 为了促进黄鳝养殖业的可持续健康发展, 应加大种质资源的保护力度, 减少或者有计划地对野生资源进行捕捞, 而且在黄鳝的保护和利用过程中应重视遗传多样性的保持, 加强对其种质资源的遗传多样性监测, 长期性地跟踪其变化趋势, 适时根据其遗传多样性采取相应的保护措施, 制定科学合理的保护和利用措施对种质资源的进行挖掘与利用。

参考文献:

- [1] Liang H W, Guo S S, Li Z, et al. Assessment of genetic diversity and population structure of swamp eel *Monopterus albus* in china [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2016, 68: 81-87.
- [2] Fishery Administration Bureau of Ministry of Agriculture. China Fishery Statistical Yearbook, 2011[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2011. [农业部渔业渔政管理局. 2011 中国渔业统计年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2011.]
- [3] Fishery Administration Bureau of Ministry of Agriculture. China Fishery Statistical Yearbook, 2017[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2017. [农业部渔业渔政管理局. 2017 中国渔业统计年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2017.]
- [4] Li L, Liu F, Tu R J, et al. Characterization and multiplex genotyping of novel microsatellites from Asian swamp eel, *Monopterus albus*[J]. *Conservation Genetics Resources*, 2012, 4(2): 363-365
- [5] Qu X C, Jiang J Y, Cheng C, et al. Cloning and transcriptal expression of a novel gene during sex inversion of the rice field eel (*Monopterus albus*)[J]. *SpringerPlus*, 2015, 4: 745
- [6] Frankham R, Ballou J D, Briscoe D A. Introduction to Conservation Genetics[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2002.
- [7] Ling J, Jiang H, Hu Y T, et al. Genetic diversity analysis of three populations of rice field eel *Monopterus albus* with different body colors[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2016, 29(4): 6-10. [凌俊, 江河, 胡玉婷, 等. 三种体色黄鳝群体遗传多样性分析[J]. *水产学杂志*, 2016, 29(4): 6-10.]
- [8] Hu Y T, Jiang H, Hu W, et al. Genetic variation in six populations of *Monopterus albus* from Anhui province in Yangtze River Basin[J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2015, 34(1): 21-28. [胡玉婷, 江河, 胡王, 等. 安徽长江流域黄鳝 6 个地理种群的遗传变异研究[J]. *四川动物*, 2015, 34(1): 21-28.]
- [9] Hu Y T, Jiang H, Hu W, et al. Population genetic structure analysis of *Monopterus albus* from Anhui reaches in the Yangtze River[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2015, 42(1): 113-118. [胡玉婷, 江河, 胡王, 等. 安徽长江水系黄鳝的群体遗传结构分析[J]. *广东农业科学*, 2015, 42(1): 113-118.]
- [10] Hu Y T, Jiang H, Pan T S, et al. Genetic diversity and population structure of *Monopterus albus* in the Huaihe river basin of Anhui province [J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2016, 43(4): 529-535. [胡玉婷, 江河, 潘庭双, 等. 安徽淮河水系黄鳝群体遗传多样性及其遗传结构[J]. *安徽农业大学学报*. 2016, 43(4): 529-535.]
- [11] Hu Y T, Jiang H, Pan T S, et al. Genetic differentiation of *Monopterus albus* populations from Anhui Province in Yangtze River basin based on mitochondrial COI barcode[J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2016, 47(2): 74-80. [胡玉婷, 江河, 潘庭双, 等. 基于线粒体 COI 序列探讨安徽长江流域黄鳝群体遗传分化[J]. *东北农业大学*

- 学报, 2016, 47(2): 74-80.]
- [12] Cai X, Zhang H R. Polymorphic analysis of the mtDNA D-Loop of some *Monopterus albus* individuals from Mianyang[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(1): 424-427. [蔡欣, 张海容. 绵阳地区部分野生黄鳝 mtDNA D-Loop 多态性分析[J]. 中国农学通报, 2011, 27(1): 424-427.]
- [13] Sun L, Zhao F F, Cai X. Phylogenetic analysis of five populations of rice eel in south china based on mtDNA D-Loop[J]. Scholars Academic Journal of Biosciences, 2015, 3(1A): 38-42.
- [14] Yang T Y, Wen S H, Hao Y J, et al. Study on genetic diversity and genetic structure of natural population of from Yellow River Basin[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2011, 35(3): 532-537. [杨太有, 温树红, 郝艳军, 等. 黄河流域黄鳝自然群体遗传多样性和遗传结构的研究[J]. 水生生物学报, 2011, 35(3): 532-537.]
- [15] Zhou Y F, Hu H J, Zhang L T, et al. Microsatellite analysis of genetic diversity of *Monopterus albus* along the middle and lower reaches of Yangtze River Basin[J]. Biotechnology Bulletin. 2011(11): 187-192. [周宇芳, 胡杭娇, 张龙韬, 等. 长江中下游黄鳝遗传多样性的微卫星分析[J]. 生物技术通报, 2011(11): 187-192.]
- [16] Zhou W, Gao T X, Wang J, et al. Genetic diversity and structure analysis based on the mitochondrial DNA control region of the northern snakehead (*Channa argus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(10): 1521-1532. [周伟, 高天翔, 王俊, 等. 乌鳢群体遗传多样性和遗传结构分析[J]. 水产学报, 2017, 41(10): 1521-1532.]
- [17] Sun P, Shi Z H, Yin F, et al. Genetic variation analysis of *Mugil cephalus* in China Sea based on mitochondrial CO I gene sequences[J]. Biochemical Genetics, 2011, 50(3-4): 180-191.
- [18] Xu H, Zhang Y, Xu D, et al. Genetic population structure of miuiy croaker (*Miichthys miuiy*) in the Yellow and East China Seas base on mitochondrial CO I sequences[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2014, 54: 240-246.
- [19] Cai X, Gou X N, Zeng F K, et al. Mitochondrial DNA diversity of *Monopterus albus* from the Sichuan Basin of China[J]. Biochemical Genetics, 2008, 46(9-10): 583-589.
- [20] Grant W, Bowen B. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation[J]. Journal of Heredity, 1998, 89: 415-426.
- [21] Wright S. Evolution in mendelian populations[J]. Genetics, 1931, 16(2): 97-159.
- [22] Li Z H, Liu Z L, Wang M L, et al. A review on studied of speciation in the presence of gene flow: evolution of reproductive isolation[J]. Biodiversity Science, 2014, 22(1): 88-96. [李忠虎, 刘占林, 王玛丽, 等. 基因流存在条件下的物种形成研究述评: 生殖隔离机制进化[J]. 生物多样性, 2014, 22(1): 88-96.]
- [23] Zeng Q K, Sun C F, Dong J J, et al. Analysis of genetic diversity in three different populations of *siniperca chuatsi*[J]. Genomics and Applied Biology, 2017, 36(8): 3241-3250. [曾庆凯, 孙成飞, 董浚键, 等. 翘嘴鳊 3 个不同群体的遗传多样性分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(8): 3241-3250.]
- [24] Xu X L, Cai X Q, Bai S Y. Genetic diversity of the black grouse *tetrao tetrax baikalensis* at Daxinganling based on the mtDNA D-loop sequences[J]. Chinese Journal of Zoology, 2013, 48(5): 673-679. [徐秀丽, 蔡晓淇, 白素英. 黑琴鸡北方亚种 mtDNA D-Loop 遗传多样性初步研究[J]. 动物学杂志, 2013, 48(5): 673-679.]

Genetic diversity of six *Monopterus albus* populations based on COI gene sequences

LIANG Hongwei^{1,2}, MENG Yan¹, LUO Xiangzhong¹, LI Zhong¹, ZOU Guiwei¹

1. Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China;
2. Key Laboratory of Aquatic Genomics, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Wuhan 430223, China

Abstract: The swamp eel (*Monopterus albus*) belongs to the family Synbranchidae, order Synbranchiformes. It is widely distributed in shallow lakes, rice fields, and swamps areas, especially in the Yangtze River region in China. It is one of the most important economic freshwater fishes because of its high meat quality, delicious taste, and medicinal value. Recently, it has been widely cultured in some regions, such as Hubei, Jiangxi, Anhui, and Hunan provinces. The production of *M. albus* in China in 2016 was 386,137,000 kg. However, most fries are sourced from fishing natural populations owing to a scarcity in fingerling resources from artificial reproduction. Therefore, with the challenges of overfishing and environmental deterioration, natural *M. albus* resources are sharply decreasing. It is vital to analyze the genetic background to conserve and utilize this fish effectively. The genetic diversity of six *M. albus* populations with 187 individuals from Hubei, Jiangxi, Anhui, Hunan, Chongqing, and Shandong was investigated based on the mitochondrial cytochrome oxidase I (COI) gene sequence. The results showed that the nucleotide composition of 646 bp in length was similar in the six populations. The average content of T, C, A, and G was 27.7%, 30.7%, 24.5%, and 17.1%, respectively. There were 61 mutation sites containing 16 singleton mutation and 45 parsimony informative sites. A total of 38 haplotypes were defined in all populations, and overall haplotype diversity (H_d) and nucleotide diversity (π) were 0.886 and 0.01094, respectively. In the six populations, the genetic diversity of Hubei and Shandong populations were the highest ($H_d > 0.8$), Hunan and Jiangxi populations were relatively high ($H_d > 0.5$), and Anhui and Chongqing populations were the lowest ($H_d < 0.5$). There was obvious genetic differentiation among six populations and gene flow was limited. An AMOVA analysis indicated that the source of variation within the populations was higher than between the populations. The major genetic variation was derived from variation within populations. A neighbor-joining phylogenetic tree showed that the genetic distance between the Hunan and other five populations was distant. The Chongqing population could originate from one single ancestor and a few populations. To date, the genetic diversity of natural *M. albus* populations is abundant. Furthermore, the genetic diversity did not sharply decrease, owing to the impact of the transaction and culture of *M. albus* fry from different regions. The adaptive capacity of *M. albus* to the environment and its breeding potential make this species a potentially excellent germplasm resource.

Key words: COI gene; *Monopterus albus*; geographic population; genetic diversity; genetic differentiation

Corresponding author: ZOU Guiwei. E-mail: zougw@yfi.ac.cn