



## 基于线粒体CO I 基因序列的大鳞副泥鳅四个群体遗传多样性

施文瑞, 王磊\*, 方冬冬, 李梦荣, 李学军,  
陈军平, 刘慧芬, 董传举

(河南师范大学水产学院, 河南新乡 453007)

**摘要:** 为了解大鳞副泥鳅群体遗传多样性现状, 实验利用线粒体COI基因部分序列对来自于辽宁、河南、湖北和台湾的大鳞副泥鳅4个群体进行了遗传多样性分析。结果显示, 在642 bp的COI基因序列中, 碱基A、T、C、G的平均含量分别为23.5%、30.6%、26.7%、19.2%, 表现出较强的AT偏好性; 4个群体共检测到44个多态性位点, 定义了23个单倍型; 4个群体的单倍型多样性指数( $h$ )为0.424~0.855, 核苷酸多样性指数( $\pi$ )为0.000 84~0.016 59, 台湾群体遗传多样性较高, 河南群体次之, 湖北群体和辽宁群体较低; 群体间遗传分化系数 $F_{ST}$ 及遗传距离分析表明, 台湾群体与其他群体间均存在极显著的遗传分化, 且与其他群体间的遗传距离均较远; AMOVA分析结果表明, 群体间的遗传变异高于群体内的变异(52.11%>47.89%); 辽宁、河南和湖北群体的中性检验Tajima's  $D$ 及Fu's  $F_s$ 均为负值, 提示辽宁、河南和湖北群体可能经历过群体爆发和扩张事件。研究表明, 大鳞副泥鳅不同地理群体形成了一定的遗传分化, 研究结果为大鳞副泥鳅的遗传多样性保护及选育等工作提供了依据。

**关键词:** 大鳞副泥鳅; CO I 基因; 遗传多样性

**中图分类号:** Q 347; S 917.4

**文献标志码:** A

大鳞副泥鳅(*Paramisgurnus dabryanus*)隶属鲤形目(Cypriniformes)、鳅科(Cobitidae)、花鳅亚科(Cobitinae)、副泥鳅属(*Paramisgurnus*), 其分布广泛, 是我国常见的一种小型淡水养殖鱼类, 具有较好的经济、食用及药用价值。其肉质鲜美、营养丰富, 素有“水中人参”的美誉, 深受消费者的喜爱。然而, 近年来随着人工捕捞及栖息地环境的破坏, 大鳞副泥鳅面临着野生资源减少、种质资源衰退、群体遗传多样性降低等问题<sup>[1-2]</sup>。白晓慧等<sup>[3]</sup>对天津大鳞副泥鳅5个自然群体的线粒体DNA D-loop序列进行遗传变异分析发现, 大鳞副泥鳅渔业资源不容乐观, 要适

时开展良种选育工作, 减少对其野生资源的破坏。因此对大鳞副泥鳅开展进一步遗传研究保护工作迫在眉睫。

鱼类线粒体DNA(mt DNA)作为一种重要的分子标记技术被广泛地应用于鱼类的系统学及遗传多样性研究中<sup>[4-6]</sup>。其中, 细胞色素氧化还原酶 I (CO I)是线粒体13个蛋白编码基因中研究最为清楚的基因之一, 其进化速率适中, 在种属进化的研究中具有很高的价值。目前对于大鳞副泥鳅遗传多样性的研究已有报道, 但基于线粒体CO I 基因序列进行的研究较少<sup>[7-10]</sup>。本实验拟通过对4个不同群体的大鳞副泥鳅CO I 基

收稿日期: 2018-09-16 修回日期: 2019-04-26

资助项目: 国家自然科学基金(31602149); 河南师范大学博士科研启动基金(qd14184)

通信作者: 王磊, E-mail: hnnuwl@163.com

因序列进行分析,以期揭示不同群体之间的遗传多样性及遗传结构差异,为大鳞副泥鳅遗传多样性保护及优良品种选育等工作提供依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 实验材料

大鳞副泥鳅群体于2016年分别取自辽宁大连、河南范县和湖北武汉三地,台湾群体则采购于豫北农产品水产大世界。样本活体运输至河南师范大学水产养殖基地,取鳍条组织于75%的乙醇中保存24 h,更换为95%的乙醇保存24 h,最后于无水乙醇中常温保存。

### 1.2 基因组DNA的提取

采用酚/氯仿抽提法<sup>[11]</sup>提取大鳞副泥鳅4个群体的基因组DNA,其中辽宁群体22个,河南群体29个,湖北群体29个,台湾群体24个。所得DNA经1%的琼脂糖凝胶电泳检测后,保存于-20℃冰箱中备用。

### 1.3 PCR扩增

大鳞副泥鳅线粒体CO I 基因扩增所用引物序列<sup>[12]</sup>:

COIF: 5'-CACGACGTTGTAAAACGACCAA-CYAATCAYAAAAGATATYGGCAC-3'

COIR: 5'-GGATAACAATTTACACACAGGACTTCYGGGTGRCCRAARAATCA-3'

引物由上海生工生物工程股份有限公司合成。PCR反应体系为50 μL,包括Mix 25 μL,上下游引物各1 μL,模板DNA 3 μL,用双蒸水补齐至50 μL。PCR反应程序:94℃预变性3 min;94℃变性40 s,52℃退火1 min,72℃延伸1 min,共运行35个循环;72℃终延伸10 min,PCR产物在4℃条件下保存。PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳检测后,送至上海生工生物工程有限公司进行测序。

### 1.4 数据分析

测序完成后,通过Clustal X<sup>[13]</sup>软件对测序结果进行比对分析,同时进行人工核查与校正。采用DNASPv.5<sup>[14]</sup>软件计算序列变异位点数、单倍型数目、单倍型多样性和核苷酸多样性等遗传参数;利用MEGA 5.1<sup>[15]</sup>软件分析序列的碱基组成,计算群体内及群体间的遗传距离,采用邻接法<sup>[16]</sup>(Neighbor-Joining, NJ)并基于Kimura双

参法构建大鳞副泥鳅单倍型邻接关系进化树,节点支持率采用Bootstrap 1 000次重复检验置信度;利用Arlequin 3.11<sup>[17]</sup>软件计算两两群体间的遗传分化指数( $F_{ST}$ ),并进行分子方差分析(analysis of molecular variance, AMOVA),用于遗传变异和地理结构特点研究;利用Network 5.0<sup>[18]</sup>软件构建单倍型网络图,分析单倍型之间的进化关系。

## 2 结果

### 2.1 序列变异分析

利用Clustal X软件对测序所获目的片段进行手工校对剪切,获得长度为642 bp的同源序列。在642个位点中,共检测到44个多态性位点,占总位点数的6.85%,其中简约信息位点35个,单碱基变异位点9个,变异均为转换或颠换,转换明显多于颠换,没有检测到插入或缺失现象(图1)。CO I 序列中碱基A、T、C、G的平均含量分别为23.5%、30.6%、26.7%、19.2%,其中T碱基含量最高,G碱基含量最低,且A+T的平均含量高于C+G的平均含量(54%>46%),表现出了碱基组成的偏向性。

### 2.2 单倍型在群体中的分布及遗传关系

在104个大鳞副泥鳅样本中共检测到23个单倍型,其中2个为共享单倍型,其余21个为独有单倍型。单倍型Hap1为4个群体的共享单倍型,出现频次最高,分布于63个样本中,占总样本数的60.58%,可能为大鳞副泥鳅的原始单倍型。单倍型Hap3为两个群体所共享(辽宁、湖北),分布于3个样本中。在独有单倍型中,辽宁群体有4个(Hap2、Hap4、Hap5、Hap6),河南群体有6个(Hap7、Hap8、Hap9、Hap10、Hap11、Hap12),湖北群体有4个(Hap13、Hap14、Hap15、Hap16),台湾群体有7个(Hap17、Hap18、Hap19、Hap20、Hap21、Hap22、Hap23)。运用K-2-P模型构建23个单倍型的NJ系统发育树(图2),发现台湾群体聚为一支,其他3个群体聚为一支,且节点支持率较高,具有较为明显的遗传差异。利用Network 5.0软件分析大鳞副泥鳅单倍型之间的进化关系:4个群体的单倍型网络分布图呈现一种以4个群体的共享单倍型(Hap1)为中心的放射状结构;台湾群体的单倍型与其他3个群体的单倍型基本处于完全分割状态,显示台湾群体和其余3个群体具有较大的遗传距离,这与NJ系统发育树的结果相一致(图3)。

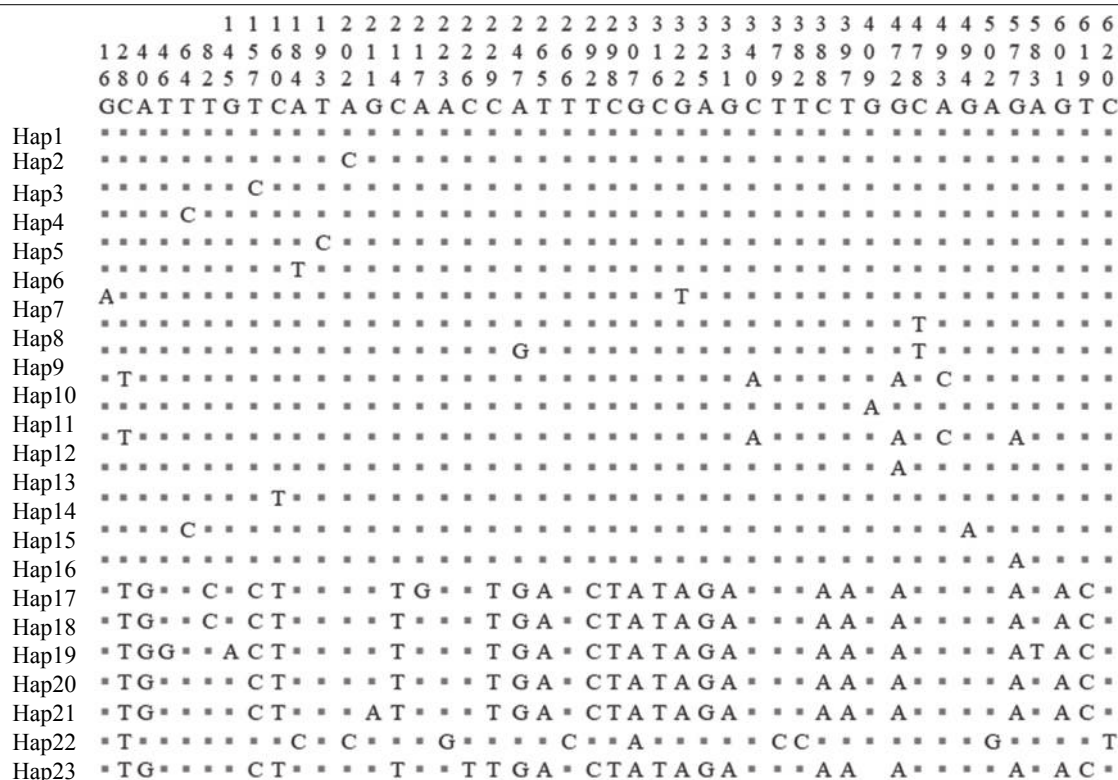


图 1 大鳞副泥鳅线粒体COI基因序列变异位点

Fig. 1 Variable sites of mitochondrial COI gene of *P. dabryanus*

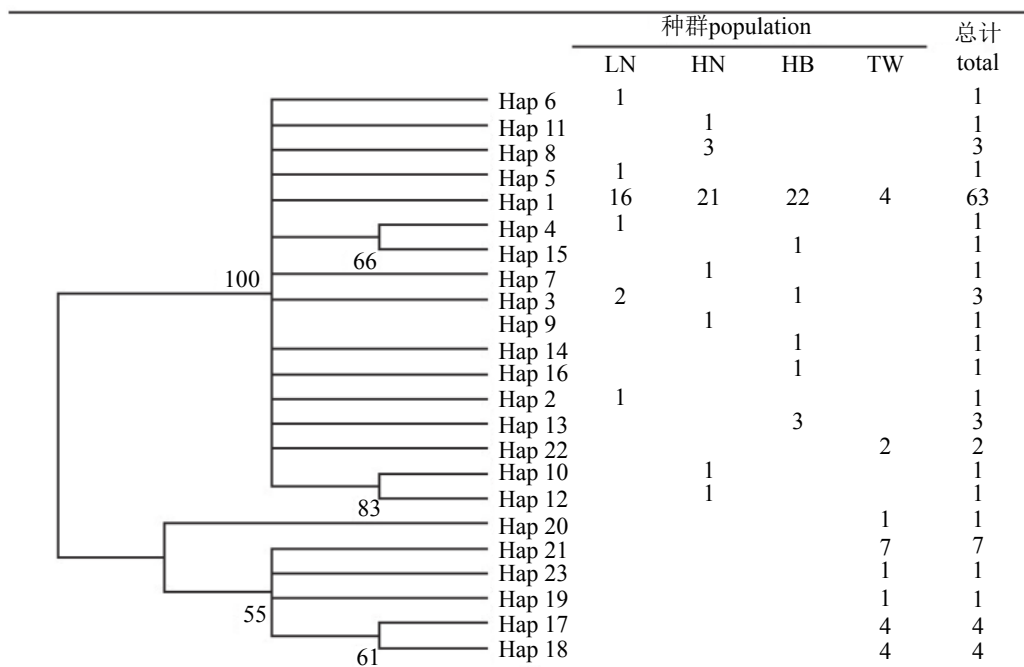


图 2 大鳞副泥鳅23种单倍型在4个群体中的分布及其分子系统树

节点数字表示大于50%的bootstrap支持率。LN.辽宁群体; HN.河南群体; HB.湖北群体; TW.台湾群体, 下同

Fig. 2 Distribution of 23 haplotypes among 4 *P. dabryanus* populations and its NJ molecular phylogenetic tree

Number at nodes indicate bootstrap values greater than 50% with 1 000 replicates. LN. Liaoning population; HN. Henan population; HB. Hubei population; TW. Taiwan population, the same below

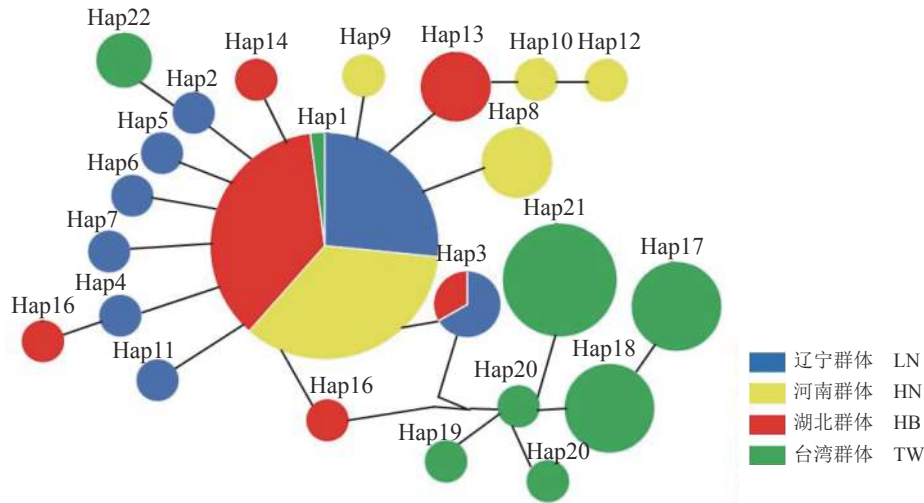


图3 单倍型中介网络图

Fig. 3 Median-joining network of COI gene haplotypes of *dabryanus*

2.3 群体多样性和遗传结构

大鳞副泥鳅4个群体的遗传多样性参数如表1所示。单倍型多样性指数( $h$ )为0.424~0.855, 核苷酸多样性指数( $\pi$ )为0.000 84~0.016 59。由单倍型参数可知, 台湾群体的单倍型数及单倍型多样性均较高, 湖北群体的单倍型数及单倍型多样

性均较低; 由核苷酸参数可知, 台湾群体的核苷酸多样性较高, 辽宁和湖北群体核苷酸多样性较低。以上结果表明, 台湾群体具有较高的遗传多样性, 河南群体其次, 湖北群体和辽宁群体的遗传多样性则较低。

表1 不同群体大鳞副泥鳅的遗传多样性参数

Tab. 1 Parameters of genetic diversity of different populations of *P. dabryanus*

群体 population	样本数 sample size	单倍型数 number of haplotypes	多态位点数 number of polymorphic sites	单倍型多样性 haplotype diversity ( $h$ )	核苷酸多态性 nucleotide diversity ( $\pi$ )	Tajima's $D$	Fu's $F_s$
辽宁群体 LN	22	6	5	0.476±0.128	0.000 84±0.000 26	-1.809 01*	-4.180
河南群体 HN	29	7	10	0.475±0.111	0.001 67±0.000 60	-1.851 50*	-2.561
湖北群体 HB	29	6	6	0.424±0.111	0.000 84±0.000 27	-1.866 44*	-3.730
台湾群体 TW	24	8	35	0.855±0.040	0.016 59±0.003 38	0.518 45	4.939
合计 total	104	23	44	0.627±0.055	0.011 33±0.001 67	-0.491 31	-1.005

注: “\*”表示差异显著( $P<0.05$ )

Notes: “\*” means significant difference ( $P<0.05$ )

群体间 $F_{ST}$ 分析结果显示, 两两群体间的 $F_{ST}$ 值为0.004 29~0.699 56(表2), 台湾群体与其他群体间的遗传分化系数 $F_{ST}$ 较大, 为0.678 25~0.699 56, 且均存在极显著差异( $P<0.01$ )。4个群体的遗传距离分析显示: 群体内遗传距离为0.000 8~0.017 1, 群体内遗传距离最大的为台湾群体(0.017 1), 遗传距离最小的为辽宁和湖北群体, 均为0.000 8; 两两群体间的遗传距离为0.001~0.028, 台湾群体与其他群体间的遗传距离均较远, 与 $F_{ST}$ 分析结果相一致。AMOVA分析结

果表明来自于群体间的遗传变异(52.11%)高于来自群体内的遗传变异(47.89%)(表3)。

2.4 群体历史动态分析

大鳞副泥鳅4个群体的中性检验结果见表1。中性检验结果显示, 辽宁、河南及湖北3个群体的Tajima's  $D$ 及Fu's  $F_s$ 检验结果均为负值, 台湾群体的Tajima's  $D$ 检验结果和其余3组相比, 差异显著( $P<0.05$ )。D值和 $F_s$ 值为负表明群体可能经历过种群扩张, 据此推测除台湾群体外的其

表 2 大鳞副泥鳅群体内遗传距离及两两群体间遗传距离和遗传分化系数( $F_{ST}$ )Tab. 2 Pairwise genetic distances within population, and genetic distance, fixation index ( $F_{ST}$ ) between every two populations of *P. dabryanus*

群体 population	群体间遗传距离及 $F_{ST}$ 值 genetic distance between populations and $F_{ST}$				群体内遗传距离 genetic distance within populations
	辽宁群体 LN	河南群体 HN	湖北群体 HB	台湾群体 TW	
辽宁群体 LN		0.001	0.001	0.028	0.000 8
河南群体 HN	0.021 63		0.001	0.028	0.001 7
湖北群体 HB	0.004 29	0.009 84		0.028	0.000 8
台湾群体 TW	0.678 25**	0.687 18**	0.699 56**		0.017 1

注: 对角线以上为群体间的遗传距离, 对角线以下为群体间 $F_{ST}$ 。“\*\*”表示差异极显著( $P<0.01$ )

Notes: figures above the diagonal are genetic distance, and those below the diagonal are  $F_{ST}$ . “\*\*” represents extremely significant difference( $P<0.01$ )

表 3 大鳞副泥鳅群体遗传差异的AMOVA分析

Tab. 3 Analysis of molecular variance (AMOVA) among populations of *P. dabryanus*

变异来源 source of variation	自由度 df	平方和 sum of squares	方差组分 variance components	变异百分比/% percentage of variation
群体间 among populations	3	69.982	2.575 81 Va	52.11
群体内 within populations	30	71.018	2.367 27 Vb	47.89
总数 total	33	141.00	4.943 08	

注: Va为组间方差组分, Vb为组内方差组分

Notes: Va is variance component among groups, Vb is variance component among population within groups

他3个群体历史上可能经历了一定的种群爆发和扩张事件。

### 3 讨论

#### 3.1 遗传多样性分析

遗传多样性是生物多样性研究的重要部分, 是进化和适应的基础, 种内遗传多样性或变异性越丰富, 则物种对环境变化的适应能力越大, 其进化的潜力也就越大<sup>[19]</sup>。以往研究者们利用CO I 基因序列分析了北极七鳃鳗(*Lethenteron camtschaticum*)<sup>[20]</sup>、银鲟(*Pampus argenteus*)<sup>[21]</sup>、翘嘴鲌(*Culter alburnus*)<sup>[22-23]</sup>等鱼类的遗传多样性及遗传结构, 说明利用CO I 基因序列进行淡水鱼类的遗传多样性研究是可行的。目前对大鳞副泥鳅遗传多样性的研究多采用线粒体DNA、微卫星等<sup>[2, 8-9]</sup>方法, 由于线粒体CO I 基因序列具有较高的遗传多态性, 因此适用于种内分析。由Grant等<sup>[24]</sup>的研究可知, 单倍型多样性与核苷酸多样性的临界值分别为0.5及0.005, 值越大则表明遗传多样性越高。本研究中, 大鳞副泥鳅4个群体的核苷酸多样性为0.000 84~0.016 59, 单倍型多样性为0.476~0.855, 总体分析, 除台湾群

体外, 其余3个群体的遗传多样性均较低。赵旭<sup>[25]</sup>基于线粒体CO I 基因片段对山西临汾、河南新乡、山东济南3个地区的大鳞副泥鳅群体进行遗传多样性分析, 发现其单倍型多样性为0.533~1.000, 核苷酸多样性为0.001 53~0.005 88, 高于辽宁、河南、湖北3个群体的遗传多样性, 这可能与采样地点不同或大鳞副泥鳅的遗传多样性水平降低有关。在大鳞副泥鳅CO I 基因序列的碱基组成中, A+T的平均含量远高于C+G的平均含量(54%>46%), 表现出一定的AT偏好性, 与其他硬骨鱼纲CO I 基因序列碱基组成的特点相似<sup>[26-28]</sup>。

#### 3.2 种群遗传分化分析

由大鳞副泥鳅4个群体的遗传距离分析结果可知, 台湾群体与其他3个群体之间的遗传距离较大, 且具有较高的遗传分化, 这可能与其地理分布有关, 台湾群体来源于地理相对隔离的台湾岛, 基因交流贫乏。顾林林等<sup>[29]</sup>对南四湖大鳞副泥鳅CO I 基因序列进行分析, 发现其种内遗传距离为0.001, 与本研究中的结果不相符, 这可能是由于其样本量较少或采样地点不同造成的。

遗传分化系数 $F_{ST}$ 是反映群体间遗传分化程

度的重要指标<sup>[30]</sup>, 较高水平的 $F_{ST}$ 表明其具有较高水平的遗传分化, 当 $F_{ST}$ 为0~0.05时无分化, 0.05~0.15为中度分化, 0.15~0.25为高度分化。台湾群体与其他3个群体之间的 $F_{ST}$ 均为正值, 且 $P<0.01$ , 具有极显著差异, 说明台湾群体与其他3个群体间有明显的遗传分化, 这可能是地理上的隔离造成的。

### 3.3 系统进化分析

单倍型多样性是评价群体遗传分化和多态程度的重要指标, 单倍型多样性越高, 群体的遗传多样性越高。研究发现台湾群体的单倍型多样性指数最高(0.855±0.040)。在单倍型NJ进化树中, 23个单倍型分为2个分支, 辽宁、河南和湖北群体聚为一支, 台湾群体单独聚为一支; 遗传分化系数 $F_{ST}$ 分析表明, 台湾群体与其他群体间的遗传结构存在显著差异; 结合遗传距离和单倍型网络进化图可以发现, 台湾群体与其他3个群体的遗传距离较远, 遗传分化程度较大, 具有一定的地理差异。

## 4 结论

本研究对大鳞副泥鳅4个群体进行遗传多样性分析, 发现辽宁、河南、湖北3个群体的遗传多样性较低, 大鳞副泥鳅的种质资源现状并不乐观。因此, 建议加大对大鳞副泥鳅种质资源的保护力度, 提高大鳞副泥鳅群体的遗传多样性; 采用遗传距离适中的群体开展大鳞副泥鳅的选育工作, 为大鳞副泥鳅产业的健康发展提供技术支撑。

### 参考文献:

- [1] 郑玉珍, 王玉新, 王锡荣, 等. 大鳞副泥鳅人工繁殖技术研究[J]. *山东农业科学*, 2012, 44(12): 97-99.  
Zheng Y Z, Wang Y X, Wang X R, et al. Study on artificial propagation of *Paramisgurnus dabryanus*[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2012, 44(12): 97-99(in Chinese).
- [2] 胡建华. 大鳞副泥鳅遗传多样性研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2011.  
Hu J H. The Genetic Diversity of *Paramisgurnus dabryanus* sauvage[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2011 (in Chinese).
- [3] 白晓慧, 杨华, 孟一耕, 等. 大鳞副泥鳅群体线粒体DNA D-loop序列遗传变异分析[J]. *水产科学*, 2018, 37(5): 658-664.  
Bai X H, Yang H, Meng Y G, et al. Genetic variations in mitochondrial DNA D-loop sequence of large scale loach *Paramisgurnus dabryanus*[J]. *Fisheries Science*, 2018, 37(5): 658-664(in Chinese).
- [4] Zhao J L, Wang W W, Li S F, et al. Structure of the mitochondrial DNA control region of the siniperine fishes and their phylogenetic relationship[J]. *Acta Genetica Sinica*, 2006, 33(9): 793-799.
- [5] 姚雁鸿, 牟东, 汪登强, 等. 湘西盲高原鳅线粒体DNA遗传多样性分析[J]. *上海海洋大学学报*, 2013, 22(5): 684-689.  
Yao Y H, Mou D, Wang D Q, et al. Genetic diversity analysis of mitochondrial DNA in *Triplophysa xiangxiensis*[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2013, 22(5): 684-689(in Chinese).
- [6] 徐丹丹, 黄燕, 曾庆, 等. 基于mtDNA Cytb基因序列的我国不同水系野生鲇种群遗传多样性与种群历史分析[J]. *水产学报*, 2017, 41(10): 1489-1499.  
Xu D D, Huang Y, Zeng Q, et al. Genetic diversity and population history among geographic populations of *Silurus asotus* in different water systems in China based on mtDNA Cytb gene sequences[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, 41(10): 1489-1499(in Chinese).
- [7] 李彩娟, 凌去非, 葛辰, 等. 中国4大湖泊大鳞副泥鳅群体遗传多样性分析[J]. *江苏农业学报*, 2014, 30(5): 1087-1094.  
Li C J, Ling Q F, Ge C, et al. Genetic diversity of *Paramisgurnus dabryanus* from four big lakes in China[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2014, 30(5): 1087-1094(in Chinese).
- [8] 王亚楠, 李秀启, 王钦东. 南四湖大鳞副泥鳅mtDNAD-loop区遗传多样性分析[J]. *水产学杂志*, 2011, 24(4): 54-58.  
Wang Y N, Li X Q, Wang Q D. Genetic diversity analysis of mitochondrial D-loop region of *Paramisgurnus dabryanus* in Nansi Lake[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2011, 24(4): 54-58(in Chinese).
- [9] 游翠红, 童金苟, 俞小牧. 大鳞副泥鳅7个群体遗传变异的微卫星分析[J]. *水生态学杂志*, 2012, 33(1): 84-91.  
You C H, Tong J G, Yu X M. Microsatellite DNA analysis on genetic diversity of seven populations of *Paramisgurnus dabryanus*[J]. *Journal of Hydroecology*, 2012, 33(1): 84-91.
- You C H, Tong J G, Yu X M. Microsatellite DNA analysis on genetic diversity of seven populations of *Paramisgurnus dabryanus*[J]. *Journal of Hydroecology*, 2012, 33(1): 84-91.
- 中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

- 2012, 33(1): 84-91(in Chinese).
- [10] 叶竹青, 凌去非, 李彩娟, 等. 5个大鳞副泥鳅家系的遗传结构分析[J]. 水生生态学杂志, 2015, 36(1): 66-73.  
Ye Z Q, Ling Q F, Li C J, *et al.* Genetic structure analysis of five families of *Paramisgurnus dabryanus*[J]. Journal of Hydroecology, 2015, 36(1): 66-73(in Chinese).
- [11] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual[M]. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratories, 1989.
- [12] 张望, 陈秀开, 彭勇, 等. 鳅科鱼类DNA条形码分析及泥鳅和大鳞副泥鳅的分子鉴定[J]. 淡水渔业, 2015, 45(3): 19-24.  
Zhang W, Chen X K, Peng Y, *et al.* DNA barcoding analysis of cobitidae fishes and molecular identification for *Misgurnus anguillicaudatus* and *Paramisgurnus dabryanus*[J]. Freshwater Fisheries, 2015, 45(3): 19-24(in Chinese).
- [13] Jeanmougin F, Thompson J D, Gouy M, *et al.* Multiple sequence alignment with Clustal X[J]. Trends in Biochemical Sciences, 1998, 23(10): 403-405.
- [14] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data[J]. Bioinformatics, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [15] Tamura K, Peterson D, Peterson N, *et al.* MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods[J]. Molecular Biology and Evolution, 2011, 28(10): 2731-2739.
- [16] 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.
- [17] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (Version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis[J]. Evolutionary Bioinformatics Online, 2007, 1: 47-50.
- [18] Bandelt H J, Forster P, Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies[J]. Molecular Biology and Evolution, 1999, 16(1): 37-48.
- [19] 沈浩, 刘登义. 遗传多样性概述[J]. 生物学杂志, 2001, 18(3): 5-7.  
Shen H, Liu D Y. Summary of genetic diversity[J]. Journal of Biology, 2001, 18(3): 5-7(in Chinese).
- [20] Artamonova V S, Kucheryavyy A V, Makhrov A A. Nucleotide sequence diversity of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (COI) gene of the arctic lamprey (*Lethenteron camtschaticum*) in the Eurasian Part of the Range[J]. Hydrobiologia, 2015, 757(1): 197-208.
- [21] 彭士明, 施兆鸿, 侯俊利. 基于线粒体D-Loop区与COI基因序列比较分析养殖与野生银鲱群体遗传多样性[J]. 水产学报, 2010, 34(1): 19-25.  
Peng S M, Shi Z H, Hou J L. Comparative analysis on the genetic diversity of cultured and wild silver pomfret populations based on mtD-loop and COI gene[J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(1): 19-25(in Chinese).
- [22] Qi P Z, Guo B Y, Xie C X, *et al.* Assessing the genetic diversity and population structure of *Culter alburnus* in china based on mitochondrial 16S rRNA and COI gene sequences[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2013, 50: 390-396.
- [23] Shen Y J, Guan L H, Wang D Q, *et al.* DNA barcoding and evaluation of genetic diversity in Cyprinidae fish in the midstream of the Yangtze River[J]. Ecology and Evolution, 2016, 6(9): 2702-2713.
- [24] Grant W A S, Bowen B W. 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(5): 415-426.
- [25] 赵旭. 黄河流域大鳞副泥鳅遗传多样性分析[D]. 新乡: 河南师范大学, 2012.  
Zhao X. The genetic diversity analysis of *Paramisgurnus dabryanus* in the Yellow River[D]. Xinxiang: Henan Normal University, 2012 (in Chinese).
- [26] 张迪, 雷光春, 龚成, 等. 基于COI基因序列的太湖新银鱼遗传多样性[J]. 湖泊科学, 2012, 24(2): 299-306.  
Zhang D, Lei G C, Gong C, *et al.* Genetic diversity of *Neosalanx taihuensis* based on mitochondrial COI sequences[J]. Journal of Lake Sciences, 2012, 24(2): 299-306(in Chinese).
- [27] 孙鹏, 彭士明, 尹飞, 等. 南海海区鲮鱼 (*Mugil cephalus*)COI基因序列的遗传多样性分析[J]. 海洋与湖沼, 2011, 42(1): 131-136.  
Sun P, Peng S M, Yin F, *et al.* Genetic diversity of *Mugil cephalus* in the South China Sea analyzed by mitochondrial COI sequences[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2011, 42(1): 131-136(in Chinese).
- [28] 孙鹏, 尹飞, 彭士明, 等. 条石鲷线粒体COI和Cytb序列的遗传变异分析[J]. 水产学报, 2011, 35(3): 327-333.

- Sun P, Yin F, Peng S M, *et al.* Genetic variation of *CO I* and *Cytb* sequences in *Oplegnathus fasciatus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(3): 327-333(in Chinese).
- [29] 顾林林, 李殿香, 杨小萌, 等. 南四湖泥鳅与大鳞副泥鳅 *CO I* 基因序列分析[J]. *济南大学学报(自然科学版)*, 2012, 26(3): 266-270.
- Gu L L, Li D X, Yang X M, *et al.* Sequence analysis of *CO I* gene in *Misgurnus Anguillicaudatus* and *Paramisgurnus dabryanus* from Nansi Lakes[J]. *Journal of University of Jinan (Science and Technology)*, 2012, 26(3): 266-270(in Chinese).
- [30] Allendorf F W. Isolation, gene flow, and genetic differentiation among populations[M]//Chonewald-Cox C S, Chambers S M, MacBryde B, *et al.* Genetics and conservation: a reference for managing wild animal and plant populations. London: Benjamin-Cummings, 1983: 51-65.

## Genetic diversity based on the mitochondrial *CO I* gene sequences in four populations of *Paramisgurnus dabryanus*

SHI Wenrui, WANG Lei\*, FANG Dongdong, LI Mengrong, LI Xuejun, CHEN Junping, LIU Huifen, DONG Chuanju  
(College of Fisheries, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

**Abstract:** In order to research the genetic diversity of different populations of *Paramisgurnus dabryanus*, four populations from Liaoning, Henan, Hubei and Taiwan were analyzed by sequencing the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (*CO I*) genes. The results showed that 642 base pairs (bp) fragments was consisted of A, T, C and G base with 23.5%, 30.6%, 26.7% and 19.2%, respectively, indicating a preference for A and T bases. A total of 44 mutations of nucleotide and 23 haplotypes were identified in 4 populations. The haplotype diversity index ranged from 0.424-0.855, and the nucleotide diversity ranged from 0.000 84-0.016 59. The results indicated that *Paramisgurnus dabryanus* from Taiwan population had a higher genetic diversity than Liaoning, Henan and Hubei populations. The genetic differentiation index (*Fst*) and genetic distance showed that genetic differentiation between Taiwan and other populations represents extremely significant difference, also had a further genetic distance with other populations. In general, the results showed that there was a certain genetic difference between the different geographical groups, AMOVA analysis revealed that 52.11% of genetic variations derived among populations and 47.89% of genetic variations occurred within populations. In terms of the negatively selective neutrality test, the results indicated that a population expansion occurred in the populations of Liaoning, Henan and Hubei population, and provided a reference for protection of the genetic diversity and breeding work of *Paramisgurnus dabryanus*.

**Key words:** *Paramisgurnus dabryanus*; *CO I* gene; genetic diversity

**Corresponding author:** WANG Lei. E-mail: hnnuwl@163.com

**Funding projects:** National Natural Science Foundation of China (31602149); Fund for the Doctoral Program of Henan Normal University (qd14184)