

文章编号: 1674-5566(2019)06-0827-08

DOI:10.12024/jsou.20190102510

基于 *COI* 基因分析 7 个罗非鱼群体的遗传变异

姜冰洁¹, 傅建军², 朱文彬², 王兰梅², 方敏¹, 董在杰^{1,2}

(1. 南京农业大学 无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081; 2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心 农业农村部淡水渔业与种质资源利用重点实验室, 江苏 无锡 214081)

摘要: 为了研究罗非鱼群体的遗传多样性及其系统进化关系, 以尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)、奥利亚罗非鱼 (*O. aureus*)、莫桑比克罗非鱼 (*O. mossambicus*)、吉富罗非鱼 (GIFT) 和 3 种红罗非鱼 (中国台湾红罗非鱼、马来西亚红罗非鱼、以色列红罗非鱼) 7 个群体为材料, 对其线粒体细胞色素氧化酶亚基 I (*COI*) 的序列进行 PCR 扩增和序列比对, 分析 7 个罗非鱼群体的遗传变异情况。在 324 个样品中检测出 180 个多态性位点和 98 个单倍型, 平均单倍型多样性为 0.944, 核苷酸多样性为 0.036。中性检验 Tajima's D 值显示 GIFT、莫桑比克罗非鱼和奥利亚罗非鱼群体在经历瓶颈效应和/或纯化选择后种群规模扩大。7 个罗非鱼群体间的遗传距离为 0.000~0.071, 种群遗传分化指数 (F_{st}) 值为 0.016~0.994。AMOVA 分析显示, 大多数遗传变异来自群体间 (70.78%)。研究还发现, 本实验中的奥利亚罗非鱼遗传多样性最低, 其余 6 个群体的遗传多样性较丰富。利用 *COI* 基因对 7 个罗非鱼群体的遗传结构进行分析, 丰富了罗非鱼种群特别是红罗非鱼的遗传背景数据, 对其种质资源利用具有一定的指导意义。

关键词: 罗非鱼; *COI* 基因; 群体; 遗传多样性

中图分类号: S 917 **文献标志码:** A

罗非鱼是联合国粮组织向全世界推广淡水养殖的主要对象, 也是中国优先发展的淡水养殖优势品种^[1]。2018 年全球养殖罗非鱼产量超过 630 万 t^[2]。虽然近年来罗非鱼的产量一直在增加, 但其产业发展也面临着诸多挑战和问题。其中, 野生品种体色暗淡并不太受消费者喜欢, 选择生长快、肉质好的罗非鱼新品种, 提高肉质是解决罗非鱼产业发展瓶颈的有效措施之一。红罗非鱼作为一种优良的杂交品种, 存在多个品种或品系。目前, 红罗非鱼是由突变的红橙色莫桑比克罗非鱼 (*Oreochromis mossambicus*) 和其他罗非鱼杂交而来, 经多代选育而成的优良品种^[3]。它具有生长快、适口性好、易于繁殖等生产优点, 因其肉色轻、蛋白质含量高, 深受消费者青睐^[4]。随着我国市场需求的不断增长, 从国外引进罗非鱼种群也越来越多。然而, 引进后的养殖场经营者存在不重视遗传监测和缺乏科学管理等问题, 在长期的繁育过程中存在基础群体减少、近交衰

退等问题, 导致国内罗非鱼群体出现种质退化现象, 并表现出生长速度下降、体色混杂、性早熟等现象^[5]。过去几十年, 基于各种遗传标记手段, 对中国的罗非鱼群体开展了较多的遗传分析。如: 颜标等^[6]利用 10 个微卫星标记对尼罗罗非鱼 (*O. niloticus*)、萨罗罗非鱼 (*Sarotherodon melanotheron*) 及其正反杂交 F_1 的遗传结构进行了研究; 陈增祥等^[7]基于线粒体 D-loop 序列对吉富罗非鱼 (GIFT strain *O. niloticus*) 遗传变异进行分析; 杨洁等^[8]利用线粒体 DNA 控制区部分序列对中国 8 个尼罗罗非鱼养殖群体 (埃及、吉拉达、美国、鹭业、吉诺玛、宝路、广东、新吉富) 的遗传多样性和相互间遗传关系进行了分析。然而, 考虑到罗非鱼繁殖周期短, 有些品种在中国已经历多代繁养, 对目前遗传多样性水平缺乏认识; 再加上近年来也有新的红罗非鱼种质资源引入, 对其遗传背景分析开展较少。因此对国内罗非鱼群体的遗传变异研究, 可为国内罗非鱼种群资

收稿日期: 2019-01-09 修回日期: 2019-05-06

基金项目: 中国水产科学研究院中央公益事业单位基础研究基金 (2017HY-XKQ0203); 江苏省自然科学基金 (BK20160203)

作者简介: 姜冰洁 (1995—), 女, 硕士研究生, 研究方向为水产动物遗传育种。Email: 2017113003@njau.edu.cn

通信作者: 董在杰, E-mail: dongzj@ffrc.cn

源保护和进一步选育利用提供一定的理论基础。

研究罗非鱼遗传多样性的方法主要有形态学差异和分子标记等。对比形态学的观察和描述, DNA 分子标记能更准确、快速地鉴别群体^[9-10]。COI 基因作为 DNA 分子标记中物种鉴定的有效工具, 具有结构简单、进化速度适中、母系遗传等特点, 且大多数鱼类的 COI 基因能被通用引物所扩增, 可用于分析群体的遗传多样性和推断其系统发育关系^[11-12]。到目前为止, COI 基因已经广泛应用于锦鲤(*Cyprinus carpio koi*)^[13]、鲷属(*Sparus*)^[14]等鱼类群体研究。关于中国罗非鱼群体遗传分析的研究也已有报道^[15], 但并不充分。本研究利用 mtDNA COI 对中国养殖的 7 个罗非鱼群体进行遗传变异分析, 为罗非鱼遗传资源的保护、利用和开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样本的来源和采集

共采集 7 个群体的罗非鱼标本 336 尾, 其中包括红罗非鱼 3 个品系[中国台湾红罗非鱼(TW)、马来西亚红罗非鱼(MY)、以色列红罗非鱼(IL)]和其他 4 个罗非鱼群体[尼罗罗非鱼(NL)、莫桑比克罗非鱼(MS)、奥利亚罗非鱼(*O. aureus*, AR)、吉富罗非鱼(GIFT)]。马来西亚红罗非鱼是 2009 年淡水渔业研究中心从马来西亚引进的, 一直在宜兴实验基地繁殖养殖; 中国台湾红罗非和以色列红罗非是 2013 年从福建引进的, 在当地已经进行了多年的养殖驯化, 并保留较明显的区域品种特征; 莫桑比克罗非鱼是从中国水产科学研究院珠江所实验基地采集的; 其他

罗非鱼均来自宜兴实验基地, 为保种或选育群体。每个群体各采样 48 尾, 将采集的尾鳍保存在装有无水乙醇的冻存管中, 直到 DNA 提取。

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取

用消毒的剪刀剪取罗非鱼个体尾鳍下叶一小块放入灭过菌的 2 mL 离心管中, 采用苯酚/氯仿法提取 DNA, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测其完整性, 经 NanoDrop 分光光度仪检测其纯度及浓度。每个样本提取的 DNA 用灭菌的 ddH₂O 稀释到最终浓度 20 ng/ μ L, 4 °C 保存备用。

1.2.2 COI 基因片段的扩增和测序

在 NCBI 上找到红罗非鱼的 mtDNA 全序列(序列号: NC_014060), 将 1 596 bp 的 COI 序列分为 2 段, 使用 Primer premier 6.0 软件进行引物设计(表 1), 并送生工生物工程(上海)股份有限公司合成。PCR 反应混合体系总共 50 μ L, 包括 5 μ L 10 \times PCR Buffer、3 μ L MgCl₂ (0.25 mmol/L)、4 μ L dNTPs (2.5 mmol/L)、1 μ L Taq polymerase (2.5 U/ μ L)、1 μ L 上、下游引物(10 μ mol/L)、2 μ L DNA 模板(20 ng/ μ L)、33 μ L 无酶去离子水。PCR 扩增反应在 Eppendorf Mastercycler Pro 384 PCR 热循环仪(Eppendorf, Germany)上进行。反应条件如下: 94 °C 预变性 2 min, 94 °C 变性 40 s, 55 °C 退火 55 s, 72 °C 延伸 1 min, 35 个循环, 最后在 72 °C 延伸 10 min。将 PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 紫外灯下观察电泳结果, 将确定的 PCR 扩增产物送上海美吉生物有限公司进行双向测序。

表 1 COI 序列引物表

Tab.1 Primers of COI sequence

基因 Gene	上游引物 5'-3'Sense primer	下游引物 5'-3'Anti-sense primer
COI 前半段, first half(886 bp)	GAGGCTTGATAAGAAGAGGA	CTATTGAGAGACATAGTGG
COI 后半段, latter half(1 020 bp)	ACATTGTTGCCTACTATGC	TGTGCCATTGTTGTAAGAC

1.2.3 数据分析

所有的序列使用 BioEdit version 7.0.9 软件^[16]进行编辑分析。为了保证准确性, 所有的 DNA 序列都进行正反 2 个方向测序, 手工拼接 COI 基因 2 段重叠区域, 去除因测序误差造成的错误碱基。剪接完成后, 用 DnaSP 5.0 软件^[17]计算出多态性位点(S)、单倍型(h)、单体型多样性

(Hd)、核苷酸多样性(π)、平均核苷酸差异(k)、Tajima's D 值和其他遗传多样性指数。使用 MEGA 5 软件^[18-19]计算群体间的 K2P 遗传距离, 并利用 UPGMA 法绘制群体间遗传聚类树。采用 Arlequin 3.5 软件^[20]计算核苷酸组成、群体间遗传分化指数(F-statistics, *Fst*)和分子方差分析(AMOVA)。

2 结果

2.1 7 个群体罗非鱼 *COI* 序列的变异位点与单倍型分布

对采集的样品进行测序,共扩增出罗非鱼 *COI* 序列 336 条(1 596 bp)。经过同源比对和测序,剔除了误差较大的序列,最终获得了 324 条同源序列。核苷酸组成显示,A、T、C、G 碱基的平均含量分别为 28.6%、28.7%、25.2%、17.5%,且 A + T (57.3%) 的含量明显高于 G + C (42.7%),与其他鱼类的 *COI* 基因序列研究结果一致。

在 324 条同源序列中共检测到 98 个单倍型

(GenBank 收录号:MH515186-MH515294)。其中,群体间的共享单倍型和特有单倍型分别如表 2 和表 3 所示,在 7 个罗非鱼群体中检测到不同数量的单倍型(5~29)。其中,2 个共享单倍型由 MS 和 TW 群体(Hap_53、Hap_56)组成,4 个共享单倍型由 MY、TW、IL 群体(Hap_21、Hap_27、Hap_28、Hap_37)组成,1 个共享单倍型由 NL 和 GIFT 群体组成(Hap_10),其余单倍型为各群体所特有。在 98 个单倍型中存在 6 个优势单倍型(Hap_10、Hap_21、Hap_27、Hap_42、Hap_53 和 Hap_56),分别占个体数的 34.70%、35.70%、22.40%、42.80%、24.40% 和 20.40%。

表 2 7 个罗非鱼群体中 *COI* 基因共享单倍型分布情况

Tab. 2 Distribution of the shared haplotypes in 7 tilapia populations

群体	Populations	Hap_6	Hap_10	Hap_21	Hap_27	Hap_28	Hap_37	Hap_53	Hap_56
	NL	1	4						
	AR								
	GIFT		30						
	MS							23	18
	TW			9	2	2	3	1	2
	IL			13	12	1	3		
	MY	1		12	8	1	4		

表 3 7 个罗非鱼群体中 *COI* 基因特有单倍型分布情况

Tab. 3 Distribution of the unique haplotypes in 7 tilapia populations

群体	Populations	特有单倍型(数量)
		Unique haplotypes(number)
	NL	Hap_1(1)、Hap_2(1)、Hap_3(1)、Hap_4(8)、Hap_5(1)、Hap_7(1)、Hap_8(1)、Hap_9(11)、Hap_11(1)、Hap_12(1)、Hap_13(1)、Hap_14(1)、Hap_15(1)、Hap_16(1)、Hap_17(1)、Hap_18(1)、Hap_19(1)、Hap_20(1)、Hap_22(1)、Hap_23(1)、Hap_24(1)、Hap_25(1)、Hap_26(1)
	AR	Hap_42(42)、Hap_43(1)、Hap_44(1)、Hap_45(3)、Hap_46(1)
	GIFT	Hap_47(12)、Hap_48(1)、Hap_49(1)、Hap_50(1)、Hap_51(1)、Hap_52(1)
	MS	Hap_54(1)、Hap_55(1)、Hap_57(18)、Hap_58(1)、Hap_59(1)
	TW	Hap_60(1)、Hap_61(1)、Hap_62(3)、Hap_63(1)、Hap_64(1)、Hap_65(1)、Hap_66(1)、Hap_67(1)、Hap_68(1)、Hap_69(1)、Hap_70(1)、Hap_71(1)、Hap_72(1)、Hap_73(1)、Hap_74(1)、Hap_75(1)、Hap_76(1)、Hap_77(1)、Hap_78(1)、Hap_79(1)、Hap_80(1)、Hap_81(1)、Hap_82(1)
	IL	Hap_83(1)、Hap_84(2)、Hap_85(1)、Hap_86(1)、Hap_87(1)、Hap_88(1)、Hap_89(1)、Hap_90(1)、Hap_91(1)、Hap_92(1)、Hap_93(1)、Hap_94(1)、Hap_95(1)、Hap_96(1)、Hap_97(1)、Hap_98(1)
	MY	Hap_29(1)、Hap_30(1)、Hap_31(1)、Hap_32(1)、Hap_33(6)、Hap_34(4)、Hap_35(3)、Hap_36(1)、Hap_38(1)、Hap_39(1)、Hap_40(1)、Hap_41(1)

2.2 罗非鱼群体遗传多样性

7 个罗非鱼群体整体单倍型多样性为 0.944 (表 4)。各群体的单倍型多样性介于 0.234 ~ 0.952,核苷酸多样性介于 0.000 ~ 0.036,基于 *COI* 序列的 7 个罗非鱼群体的遗传多样性比较,AR 罗非鱼遗传多样性水平最低(Hd = 0.234,

$\pi = 0.000$),TW 罗非鱼具有最多的单倍型(H = 29),NL 具有最大的平均核苷酸差异(k = 56.84)。中性检验显示,AR、GIFT、MS 罗非鱼的 Tajima's D 值均为负值,其余群体均为正值,其中 NL 群体达到显著水平($P < 0.05$),GIFT、MY 群体达到极显著水平($P < 0.01$)。

表 4 罗非鱼 7 个群体 *COI* 基因的遗传变异参数Tab. 4 Genetic variation parameters of *COI* gene of seven tilapia populations

遗传变异参数 Genetic variation parameters	NL	AR	GIFT	MS	TW	IL	MY	Total
多态性位点 Polymorphic sites	147	4	101	5	96	75	47	180
单倍型 Haplotypes	26	5	7	7	29	20	17	98
单倍型多样性 Haplotype diversity	0.914	0.234	0.537	0.608	0.952	0.851	0.890	0.944
核苷酸多样性 Nucleotide diversity	0.036	0.000	0.005	0.001	0.016	0.015	0.012	0.036
平均核苷酸差异数 Average number of nucleotide differences	56.84	0.245	7.224	0.736	25.22	24.60	19.09	57.35
Tajima's D	2.415*	-1.668	-2.475**	-1.193	0.432	1.482	2.775**	2.805

注: * 表示达到显著性水平 ($P < 0.05$); ** 表示达到极显著性水平 ($P < 0.01$)

Notes: * means of statistical significant ($P < 0.05$); ** extremely significant difference ($P < 0.01$)

2.3 遗传距离和遗传分化

利用 K2P 模型计算群体间遗传距离的范围为 0.000 ~ 0.071 (表 5, 下对角线)。其中, AR 和 MS 的遗传距离最远 ($D = 0.071$), IL 和 MY 的遗传距离最近 ($D = 0.000$)。基于 K2P 遗传距离构建 UPGMA 聚类关系 (图 1) 显示: 7 个罗非鱼群体聚为 2 个分支, 第一个分支首先由 MY, IL 和 TW 这 3 种红罗非鱼群体聚类, 然后与 NL 和 GIFT 群体聚类, 最后和 MS 群体聚类; 第 2 个分支为 AR 一个群体。

7 个罗非鱼群体的分子方差分析 (AMOVA) 显示, 在不分组的情况下, 群体间的方差组分占 70.780%, 遗传分化指数为 0.708, 达到了极显著的水平 ($P < 0.01$, 见表 6)。将罗非鱼群体分成 2 组: 红罗非鱼和野生或者选育群体, 群体遗传分化指数为 0.717, 也达到极显著的水平 ($P < 0.01$)。这一结果和未分组的结果显示相同, 进一步说明 7 个罗非鱼群体间存在明显的遗传分

化。群体间遗传分化指数 F-statistics 统计值 (F_{st}) 分析显示 (表 5, 右上角), 除了 MY 和 IL 群体, 其他群体的遗传分化均到达了极显著水平 ($P < 0.01$)。

3 讨论

该研究对罗非鱼群体的 *COI* 基因序列的分析结果显示 4 种核苷酸的不均匀分布, 属动物线粒体基因组的共同特征^[21]。在 7 个罗非鱼群体中共检测到 180 个多态性位点和 98 个单倍型, 说明 *COI* 基因在该群体样本中具有较高多态性, 适用于系统发育进化和遗传多样性等分析。研究发现, 序列的多态位点和单倍型高于 ORDONEZ 等^[22] 在罗非鱼群体中的研究结果, 推测这与本研究所用基因序列更长、涉及样本量更大和所用群体更多等有关, 当然也说明该研究所述 7 个罗非鱼群体具有较高的整体遗传多样性水平。

表 5 罗非鱼群体间的 K2P 遗传距离 (左下角) 和遗传分化指数 F_{st} (右上角)Tab. 5 Pairwise K2P genetic distances (below diagonal) and fixation indexes (F_{st} , above diagonal) among tilapia populations using *COI* gene

	NL	AR	GIFT	MS	TW	IL	MY
NL	-	0.621**	0.297**	0.682**	0.391**	0.284**	0.343**
AR	0.029	-	0.964**	0.994**	0.886**	0.888**	0.910**
GIFT	0.009	0.069	-	0.947**	0.664**	0.479**	0.586**
MS	0.040	0.071	0.051	-	0.660**	0.777**	0.814**
TW	0.018	0.063	0.021	0.016	-	0.137**	0.147**
IL	0.011	0.062	0.009	0.028	0.003	-	0.016
MY	0.013	0.063	0.012	0.028	0.002	0.000	-

注: ** 表示遗传分化极显著 ($P < 0.01$)

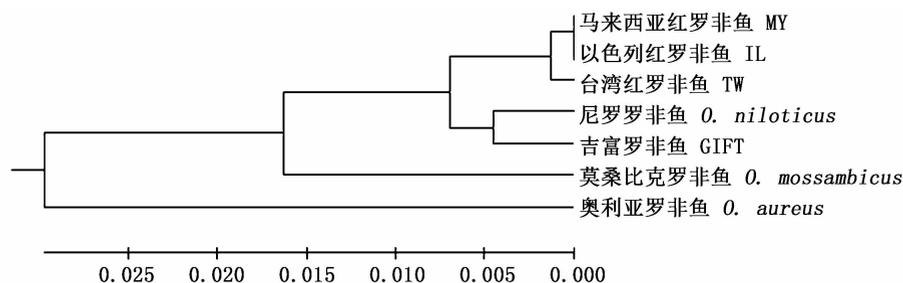
Notes: ** means extreme significant genetic differentiation, respectively

表 6 7 个罗非鱼群体 *COI* 序列变异的分子方差分析 (AMOVA)Tab. 6 Analysis of molecular variances of *COI* gene of seven tilapia populations

变异来源 Source of variation	自由度 d. f.	平方和 Sum of squares	方差组分 Variance components	百分率 Percentage of variation	固定指数 Fixation Indices
不分组 No group					
群体间 Among populations	6	6 504.3	23.210 Va	70.780	0.708 **
群体内 Within populations	317	3 037.9	9.583	29.220	
总体 Total	323	9 542.2	32.800		
分组 (红罗非鱼和其他罗非鱼) Two groups (Red tilapia and other populations)					
组间 Between groups	1	1 413.8	2.520 Va	7.440	0.694 **
组内群体间 Among populations within groups	5	5 090.5	21.780 Vb	64.280	0.717 **
群体内 Within populations	317	3 037.9	9.583 Vc	28.280	0.074
总体 Total	323	9 542.2	33.890		

注: ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$)

Notes: ** means of statistical extremely significant

图 1 基于 *COI* 基因 7 个罗非鱼群体的 UPGMA 树Fig. 1 UPGMA tree based on *COI* gene of seven tilapia populations

该研究发现, GIFT 和 MS 群体具有较高单倍型多样性 ($Hd > 0.5$) 和较低核苷酸多样性 ($\pi < 0.005$), 在其他报道, 如斑重唇鱼 (*Diptychus maculatus*)^[23]、草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)^[24] 和真鲷 (*Pagrosomus major*)^[25] 中也有类似结果。推测这种情况可能是经历瓶颈效应后群体数量的再次快速增长和突变积累, 且单倍型多样性比核苷酸多样性易于在短时间内积累^[26]。NL 和红罗非鱼群体 (TW、IL、MY) 具有较高的遗传多样性, 与杨慧等^[27] 利用 SSR 的分析结果相符。这可能是在生产或选育过程中维持了较大的繁育群体, 导致其遗传多样性保持较高水平。研究中检测到 AR 群体遗传多样性最低 ($Hd < 0.5$, $\pi < 0.005$), 这一结果与夏德全等^[28] 和王进科等^[29] 分别利用 RAPD 和 SSR 检测结果相似。分析其主要原因是 AR 群体引入中国后, 在生产或选育过程中应用基础群体较小, 并经历多代选育留种后, 使其种群遗传多样性下降。该研究表明, NL 和 3 种红罗非鱼群体具有一定的进一步选育潜

力, 而 AR 群体的遗传多样性相对较低, 但维持了更高的种质纯度, 可以考虑更新引进优良种质, 或者基于当前种质材料开展杂交优势利用。

对 7 个罗非鱼群体的遗传距离分析显示 AR 群体和 MS 群体之间的遗传距离最大为 0.071。此外, IL 与 MY ($D = 0.000$) 之间的遗传距离最小, 说明其母体遗传来源可能是一致的。对于红罗非鱼, TW、IL 和 MY 之间的遗传距离远低于不同种群的分类基础 ($D = 0.050$)^[30], 说明红罗非鱼群体之间的遗传分化较弱, 这在亲缘关系较近的群体中较为典型。NJ 树显示罗非鱼的群体结构被分为 2 支, 其中 1 个分枝是除 AR 群体外的其他 6 个群体, 表明这 6 个群体可能是从一个共同的原始祖先进化而来。

对红罗非鱼群体与其他罗非鱼群体的分组和不分组分析显示, 所述群体存在显著的遗传变异和分化, 主要变异来源于群体间, 且研究所用群体均为选育或生产应用中的繁殖群体, 可能受到不同程度的选择压力影响。在分组情况下, 种

群间群体内发生了显著的遗传分化,表明经过几代养殖后,红罗非鱼群体与其他罗非鱼群体之间缺乏基因交流,导致了明显的遗传分化。其中,IL和MY群体间的遗传分化程度不显著($P > 0.05$),推测它们可能存在母系的同源性。其他种群间显著的遗传分化水平(F_{st})表明亲本种群的起源差异及其在生长应用(或选育)中发生遗传漂变的可能。吉富罗非鱼是利用4个非洲引进群体和4个亚洲养殖群体,通过人工选育而成的新品种^[31]。对于GIFT与NL群体表现出的遗传分化差异,分析是由于长期的地理分离和人工选择压力造成的。红罗非鱼的起源问题,一直以来不同学者各有不同的看法。大部分学者认为红罗非鱼是由莫桑比克罗非鱼橙色突变体和尼罗罗非鱼、奥利亚罗非鱼或者霍诺鲁姆罗非鱼(*O. hornorum*)杂交而来的^[31],但其父、母本还未确定。目前,我国主要养殖的红罗非鱼群体有TW、IL、MY,研究结果表明,NL与红罗非鱼的遗传分化相对较小,亲缘关系较近,这与聚类分析的结果相符,且COI是母系遗传基因,推测其母系来源可能是NL。这与李莉好等^[32]对3种罗非鱼(尼罗罗非鱼、奥利亚罗非鱼、红罗非鱼)遗传多样性比较和李学军等^[33]对6种罗非鱼多样性比较的分析结果一致,而与郭奕惠等^[15]用COI基因分析中国主要养殖罗非鱼亲缘关系的结果不同,推测出现这种情况的原因可能与本文所用COI基因序列片段更长、涉及样本量更大或样本来源不同有关,进而也说明红罗非来源的复杂性。AMOVA结果显示,红罗非鱼群体属于杂交且人工选育群体,与推测的原始亲本来源群体分化出一定程度的遗传变异。

参考文献:

- [1] GUPTA M V, ACOSTA B O. A review of global tilapia farming practices[J]. *Aquaculture Asia*, 2004, 9(1): 7-12.
- [2] Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). The State of World Fisheries and Aquaculture 2018-Meeting the sustainable development goals [M]. Rome Italy Fao, 2018:16-24.
- [3] 李学军, 李思发, 冯金海, 等. 以色列红罗非鱼耐盐性的初步研究[J]. *上海水产大学学报*, 2003, 12(3): 205-208.
LI X J, LI S F, FENG J H, et al. Preliminary study on salinity tolerance of Israel red tilapia[J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2003, 12(3): 205-208.
- [4] 李思发, 蔡完其. 我国尼罗罗非鱼和奥利亚罗非鱼养殖群体的遗传渐渗[J]. *水产学报*, 1995, 19(2): 105-111.
LI S F, CAI W Q. Introgression in hatchery stocks of *Tilapia Nilotica* and *Tilapia Aurea* in China[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1995, 19(2): 105-111.
- [5] RANDALL J E. Introductions of marine fishes to the Hawaiian Islands[J]. *Bulletin of Marine Science*, 1987, 41(2): 490-502.
- [6] 颜标, 李思发, 蔡完其. 尼罗罗非鱼与萨罗罗非鱼及其正反杂交后代的微卫星分析[J]. *水产学报*, 2007, 31(3): 411-415.
YAN B, LI S F, CAI W Q. Microsatellite analysis of *Oreochromis niloticus*, *Sarotherodon melanotheron* and their reciprocal hybrids[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2007, 31(3): 411-415.
- [7] 陈增祥, 刘丽, 袁吉贵, 等. 基于D-loop序列的吉富罗非鱼遗传变异分析[J]. *海南热带海洋学院学报*, 2018, 25(2): 80-83.
CHEN Z X, LI L, YUAN J G, et al. Genetic variation of GIFT strains of *Oreochromis niloticus* based on D-loop sequence[J]. *Journal of Hainan Tropical Ocean University*, 2018, 25(2): 80-83.
- [8] 杨洁, 何安元, 何学军, 等. 尼罗罗非鱼8个养殖群体线粒体控制区遗传多样性和遗传关系分析[J]. *中国水产科学*, 2014, 21(4): 693-699.
YANG J, HE A Y, HE X J, et al. Genetic diversity and relationships of mitochondrial DNA control region from the eight domesticated populations of Nile tilapia[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2014, 21(4): 693-699.
- [9] NEI M. *Molecular Evolutionary Genetics* [M]. New York: Columbia University Press, 1987: 159-164.
- [10] MA H Y, MA C Y, MA L B. Molecular identification of genus *Scylla* (Decapoda: Portunidae) based on DNA barcoding and polymerase chain reaction[J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2012, 41: 41-47.
- [11] 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鲳群体遗传多样性[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 mtDNA-loop and COI gene[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2010, 34(1): 19-25.
- [12] 陈月华, 何培民, 杨金权. 基于DNA条形码的如东海域浒苔附着鱼卵的物种鉴定[J]. *上海海洋大学学报*, 2018, 27(1): 1-7.
CHEN Y H, HE P M, YANG J Q. Molecular identification of fish eggs in Enteromorpha of Rudong sea area based on DNA barcode[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2018, 27(1): 1-7.
- [13] 李梦荣, 田雪, 庞小磊, 等. 基于线粒体COI和Cytb基因序列的6种锦鲤(*Cyprinus carpio Koi*)遗传多样性分析

- [J]. 淡水渔业, 2018, 48(3): 13-18.
- LI M R, TIAN X, PANG X L, et al. Genetic diversity of six species of *Cyprinus carpio Koi* based on mitochondrial *COI* and *Cytb* gene sequences [J]. Freshwater Fisheries, 2018, 48(3): 13-18.
- [14] 张凤英, 马凌波, 施兆鸿, 等. 两种鲷属鱼类线粒体 *COI* 基因片段序列的比较 [J]. 上海水产大学学报, 2006, 15(4): 403-408.
- ZHANG F Y, MA L B, SHI Z H, et al. Studies on mitochondrial cytochrome oxidase subunit I fragments of two genera of *Sparus* fish [J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2006, 15(4): 403-408.
- [15] 郭奕惠, 喻达辉, 黄桂菊, 等. 中国主要养殖罗非鱼亲缘关系的 *COI* 序列分析 [J]. 华中农业大学学报, 2009, 28(1): 75-79.
- GUO Y H, YU D H, HUANG G J, et al. Phylogenetic relationship of *Oreochromis tilapias* cultured in Mainland China based on *COI* sequences [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2009, 28(1): 75-79.
- [16] HALL T A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT [J]. Nucleic Acids Symposium Series, 1998, 41: 95-98.
- [17] LIBRADO P, ROZAS J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. Bioinformatics, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [18] KIMURA M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences [J]. Journal of Molecular Evolution, 1980, 16(2): 111-120.
- [19] 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.
- [20] EXCOFFIER L, LISCHER H E L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows [J]. Molecular Ecology Resources, 2010, 10(3): 564-567.
- [21] BOWEN B W, BASS A L, ROCHA L A, et al. Phylogeography of the trumpetfishes (*Aulostomus*): ring species complex on a global scale [J]. Evolution, 2001, 55(5): 1029-1039.
- [22] ORDOÑEZ J F F, VENTOLERO M F H, SANTOS M D. Maternal mismatches in farmed tilapia strains (*Oreochromis* spp.) in the Philippines as revealed by mitochondrial *COI* gene [J]. Mitochondrial DNA Part A, 2017, 28(4): 526-535.
- [23] MENG W, YANG T Y, HAI S, et al. Extensive genetic divergence among *Diptychus maculatus* populations in Northwest China [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2015, 33(3): 577-584.
- [24] 傅建军, 王荣泉, 沈玉帮, 等. 我国草鱼野生群体 D-loop 序列遗传变异分析 [J]. 水生生物学报, 2015, 39(2): 349-357.
- FU J J, WANG R Q, SHEN Y B, et al. Genetic variation analysis based on D-loop sequences of wild populations of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) in China [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2015, 39(2): 349-357.
- [25] 乐小亮, 章群, 赵爽, 等. 中国近海真鲷遗传变异的线粒体控制区序列分析 [J]. 广东农业科学, 2010, 37(2): 136-139.
- YUE X L, ZHANG Q, ZHAO S, et al. Genetic variation of red seabream (*Pagrus major*) in coastal waters of China inferred from mitochondrial DNA control region sequence analysis [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2010, 37(2): 136-139.
- [26] BOWEN B W, BASS A L, ROCHA L A, et al. Phylogeography of the trumpetfishes (*Aulostomus*): ring species complex on a global scale [J]. Evolution, 2001, 55(5): 1029-1039.
- [27] 杨慧, 朱文彬, 董在杰, 等. 3 个红罗非鱼群体的形态差异分析 [J]. 上海海洋大学学报, 2015, 24(5): 678-684.
- YANG H, ZHU W B, DONG Z J, et al. Morphological variation analysis of three populations of red tilapia [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2015, 24(5): 678-684.
- [28] 夏德全, 曹莹, 吴婷婷, 等. 用 RAPD 分析对罗非鱼遗传变异的研究及其对杂种优势的应用 [J]. 水产学报, 1999, 23(1): 27-32.
- XIA D Q, CAO Y, WU T T, et al. A study on genetic variation of Tilapia Fish with RAPD analysis and its application to Heterosis [J]. Journal of Fisheries of China, 1999, 23(1): 27-32.
- [29] 王进科, 夏德全, 吴婷婷. 中国莫基群澳大利亚罗非鱼遗传多态性的 DNA 指纹图谱 [J]. 南京农业大学学报, 2000, 23(3): 61-63.
- WANG J K, XIA D Q, WU T T. Studies on genetic polymorphism of *O. aureus* of founder in China with DNA fingerprinting [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2000, 23(3): 61-63.
- [30] SHAKLEE J B, TAMARU C S, WAPLES R S. Speciation and evolution of marine fishes studied by the electrophoretic analysis of proteins [J]. Pacific Science, 1982, 36(2): 141-157.
- [31] EKNATH A E, TAYAMEN M M, PALADA-DE VERA M S, et al. Genetic improvement of farmed tilapias: the growth performance of eight strains of *Oreochromis niloticus* tested in different farm environments [J]. Aquaculture, 1993, 111(1/4): 171-188.
- [32] 李莉好, 喻达辉, 黄桂菊, 等. 尼罗罗非鱼 *Oreochromis niloticus*、澳大利亚罗非鱼 *O. aureus* 和红罗非鱼 *O. sp.* 群体遗传多样性的比较 [J]. 热带海洋学报, 2012, 31(2): 102-109.
- LI L H, YU D H, HUANG G J, et al. Comparison of genetic diversity among stocks of *Oreochromis niloticus*, *O. aureus* and red tilapia based on microsatellite DNA [J]. Journal of

- Tropical Oceanography, 2012, 31(2): 102-109.
- [33] 李学军, 李爱景, 李思发, 等. 萨罗罗非鱼(*Sarotherodon melanotheron*)与其他5种罗非鱼遗传多样性比较研究[J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(1): 85-90.

LI X J, LI A J, LI S F, et al. Comparison on genetic diversity between *Sarotherodon melanotheron* and other five tilapias species[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2010, 41(1): 85-90.

Genetic variation analysis of seven tilapia populations based on *COI* gene

JIANG Bingjie¹, FU Jianjun², ZHU Wenbin², WANG Lanmei², FANG Min¹, DONG Zaijie^{1,2}

(1. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, Jiangsu, China; 2. Freshwater Fisheries Research Center of Chinese Academy of Fishery Sciences, Key Laboratory of Freshwater Fisheries and Germplasm Resources Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Wuxi 214081, Jiangsu, China)

Abstract: In order to study the genetic diversity and phylogenetic relationship of four wild-type or breeding populations (*Oreochromis niloticus*, *O. aureus*, *O. mossambicus*, GIFT Strain *O. niloticus*) and three red tilapia varieties (Chinese Taiwan, Israel, and Malaysia), sequences of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (*COI*) were amplified by PCR and aligned. 180 polymorphic sites and 98 haplotypes were defined in 324 samples, with an average haplotype diversity of 0.944 and nucleotide diversity of 0.036. The negative Tajima's D values of neutral test were detected in GIFT, *O. mossambicus* and *O. aureus* populations, which indicated population size expansion after a bottleneck effect and/or purifying selection. The genetic distance of 7 tilapia populations was from 0.000 to 0.071, and the population genetic differentiation index (F_{st}) ranged from 0.016 to 0.994. Genetic population differentiation analysis (AMOVA) indicated that the majority of variation (70.78%) was attributed to variations among populations, whether grouping or ungrouping, reaching a very significant level. In this experiment, the purity of *O. aureus* was high, and the genetic diversity of the other six populations was rich. The population genetic structure of seven populations of tilapia was analyzed, which enriched the genetic background data of tilapia populations in China, and provided guidance for the utilization of tilapia germplasm resources, especially red tilapia.

Key words: tilapia; *COI* gene; populations; genetic diversity