



我国近海星康吉鳗群体的形态学、遗传学比较研究

尹洁¹, 牟秀霞¹, 张崇良¹, 徐宾铎¹, 薛莹¹, 任一平^{1,2*}

(1. 中国海洋大学水产学院, 山东 青岛 266003;

2. 青岛海洋科学与技术国家实验室, 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266237)

摘要: 结合形态学、遗传学的方法, 分别对青岛近海(黄海)、舟山近海(东海)的星康吉鳗群体做了相关系统的研究。通过单因素方差分析、判别分析、主成分分析方法对两个星康吉鳗地理群体的9个可量性状进行形态学比较研究; 基于线粒体DNA (mtDNA) 序列进行遗传学分析研究。形态学研究结果显示, 舟山海域的星康吉鳗肌肉中含有“I”形硬肌间骨, 青岛海域星康吉鳗的肌肉中无硬肌间骨; 单因素方差分析结果显示, 两个群体的7个可量指标: 肛长、头宽、吻长、口裂长、眼径长、背鳍前长和胸鳍长存在显著差异; 在主成分分析中, 基于前两个主成分绘制的散点图基本能够将两个星康吉鳗群体区分开来; 判别分析结果显示, 青岛、舟山两群体的判别准确率分别为100%和94.7%。3种多元统计分析结果均表明青岛、舟山两个星康吉鳗群体在外部形态上存在一定程度差异, 但根据75%识别与划分规则, 认为两组群体的形态学差异尚未达到亚种水平。遗传学研究表明, 在所检测的mtDNA水平上两个星康吉鳗群体遗传多样性无明显差异, 邻接系统发育树未呈现明显的谱系关系, 遗传分化指数 F_{ST} 也显示两群体遗传差异小, 遗传分化不显著, 属同一种群。

关键词: 星康吉鳗; 种群结构; 形态学; 遗传学; 肌间骨; 线粒体DNA

中图分类号: S 931

文献标志码: A

星康吉鳗(*Conger myriaster*), 又名星鳗, 系鳗鲡目(Anguilliformes)、康吉鳗科(Congridae)、康吉鳗属(*Conger*)^[1], 主要栖息于沿岸水域到大陆架边缘, 分布于我国黄海、东海, 以及朝鲜、日本海域沿岸^[2]。星康吉鳗肉质鲜美, 出口创汇潜力大, 具有较高经济价值, 是我国重要的经济鱼种之一^[2]。近年来, 该物种受到国内外学者广泛关注, 国外对其产卵场的分布^[3-5]、生活史特征^[6-11]以及遗传学^[12-17]等方面研究较多, 国内的相关研究主要集中在星康吉鳗摄食习性^[18-21]、渔具选择性^[22-23]等方面。

关于星康吉鳗的产卵场, Takai^[24]曾提出“单个种群单个产卵场”的假说, 认为该物种的产卵场在东海大陆坡边缘。相反, 有学者认为该物

种在东亚海域有多个复合产卵群体^[5]。这些假说均没有基于种群结构数据的研究。因此研究清楚星康吉鳗的种群结构对其生活史和产卵场至关重要, 而目前有关我国近海星康吉鳗种群结构的研究尚未见报道。

形态学研究方法是分类学的基础, 常用于研究物种关系、分类与鉴定^[25-26], 其结果最直接、最简单, 但由于形态学方法多态性差、遗传表达易受环境因素的影响, 因此应用也大受限制。而线粒体DNA(mtDNA)具有结构简单、严格遵守母系遗传、几乎不发生基因重组、进化速度快等特点^[27], 使其在研究群体遗传结构、亲缘地理学等方面具有重大优势^[16-17]。因此, 本研究结合宏观形态学和微观遗传标记的方法对青

收稿日期: 2018-09-05 修回日期: 2019-04-16

资助项目: 国家自然科学基金(31772852); 中央高校基本科研业务费专项(201612004)

通信作者: 任一平, E-mail: renyip@ouc.edu.cn

岛、舟山两个星康吉鳎群体的形态学、遗传学进行比较研究,以期为我国近海星康吉鳎群体的分类地位提供形态和遗传学方面的依据,也为星康吉鳎渔业资源的种群评估、管理和保护提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料

本次实验所用样品于2017、2018年12月份分别采自山东青岛近海(15个)、浙江舟山近海(19个)。对鱼体形态学进行现场观察、测量并记录,取新鲜背部肌肉于95%的酒精中保存备用。

1.2 方法

形态学方法 本研究形态学的测量指标参考了鳎属6种鱼类形态判别研究^[28]以及Smith等^[29]所做的关于康吉鳎属4个种的研究。用游标卡尺对可量性状全长、肛长、头长、头宽、吻长、口裂长、眼径、体高、背鳍前长和胸鳍长进行测量并记录(全长用作数据的标准化,不用作分析),其中全长、肛长精确到1 mm,其余指标均精确到0.01 mm。

mtDNA序列测定 在mtDNA的所有片段中,COI片段序列相对较为保守^[30-31],是研究鱼类近缘种间系统发育关系较为理想的分子标记。控制区(control region),又称D-Loop区,在所有mtDNA片段中具有最高的核苷酸替换速率,因此种内多态性水平较高,在群体遗传结构的研究中得到了广泛应用^[26,32]。本研究随机抽取青岛海域10个星康吉鳎样品(QD1-QD10)、舟山海域8个星康吉鳎样品(ZS1-ZS8)作为本次遗传学研究的样品。采用标准酚-氯仿的方法提取mtDNA。对mtDNA的COI序列、D-Loop区序列分别进行扩增,其中D-Loop区使用新设计的引物,相关的扩增引物信息见表1。

表1 目的基因扩增信息

Tab. 1 Amplification information of target genes

目的基因 target genes	引物序列 primers sequence	青岛样品 samples of Qingdao	舟山样品 samples of Zhoushan
COI	5'-TCAACCAACCACAAAGA CATTGGCAC-3' 3'-TAGACTTCTGGGTGGCC AAAGAATCA-5' ^[33]	QD1-QD5	ZS1-ZS5
D-Loop	5'-ACATGAATTGGAGGAAT ACCAGT-3' 3'-CCTGAAGTAGGAACCAG ATG-5'	QD1-QD10	ZS1-ZS8

PCR反应的总体积为25 μL:上下游引物各1 μL, TaqDNA聚合酶0.15 μL, 10 mmol/L的Tris, 1.5 mmol/L的MgCl₂和50 mmol/L的KCl, DNA模板1 μL, 2 μL的DNTTPP, 17.5 μL的蒸馏水。反应条件:94 °C预变性4 min; 94 °C变性50 s, 49 °C退火45 s, 72 °C延伸50 s, 38个循环; 72 °C终延伸10 min。实验设置阴性对照组来避免DNA污染的情况。将1~2 μL的PCR扩增产物取出,并进行1.5%琼脂糖凝胶电泳检测。纯化后送至青岛派森诺生物科技股份有限公司进行双向测序。

1.3 数据处理

形态学数据处理 为消除不同年龄鱼体长差异对最终结果的影响,本实验采用对数转化的方法对形态学测量数据进行标准化^[34],该过程在Microsoft Excel 2010软件中完成,具体转换公式:

$$M_s = M_0 \left(\frac{L_s}{L_0} \right)^b$$

$$b = \frac{\log_{10}^{M_0}}{\log_{10}^{L_0}}$$

式中, M_s 为标准化后的数据, M_0 为各项指标实测数据, L_s 为所有样品全长的平均值, L_0 为个体的实测全长。

运用单因素方差分析、判别分析及主成分分析的方法对标准化后的数据进行多元统计分析,该过程在R中完成:

①单因素方差分析。若方差齐性,采用F检验;若方差不齐性,则采用Tamhane's T2法进行显著性检验。显著性水平 α 为0.05。差异系数(C.D.),根据Mayr等^[35]提出的75%识别与划分规则,若大于1.28可视为亚种以上水平的差异,具体计算公式:

$$C.D. = |M_1 - M_2| / (S_1 + S_2)$$

式中, M_1 、 M_2 和 S_1 、 S_2 分别代表两个星康吉鳎群体性状的平均值和标准差。

②判别分析。通过冗余分析,剔除高度相关的解释变量。在线性判别分析前,对解释变量进行组内协方差齐性检验,组内协方差不齐的变量,对其进行对数转化。

③主成分分析。结合Kaiser-Harris准则、Cattell碎石检验以及平行分析法确定主成分的个数,对标准化的数据进行主成分分析。最后基

于贡献率最大的2个成分绘制散点图。

基因序列分析 运用DNASTAR (DNASTAR, Inc., Madison, USA)软件对获取的基因序列进行对比分析, 并进行人工校正。每个群体COI、D-Loop区序列的变异位点数、转换/颠换、插入/缺失、单倍型个数、核苷酸多样性、单倍型多样性、共享单倍型及两两序列对比的平均碱基差异等多样性参数的计算在Arlequin 3.5软件中完成。在MEG 7.0软件中基于D-Loop区序列构建D-Loop区单倍型序列邻接系统发育树(Neighbor-Joining, NJ), 其中Bootstrap设置为1 000。另外, 在Arlequin3.5软件

中, 分别计算两群体之间COI、D-Loop区序列的遗传分化指数 F_{ST} 。

2 结果

2.1 形态学

对两群体共34个样品进行测量、观察。体长为396~712 mm, 体质量为90.15~610.60 g。实验中发现, 舟山海区所有星康吉鳗样品在躯干部和尾部的肌肉中含有“I”形硬肌间骨(图1), 且肌间骨的长度从躯干部到尾部逐渐减小; 而青岛海区的星康吉鳗样品肌肉中无肌间骨。

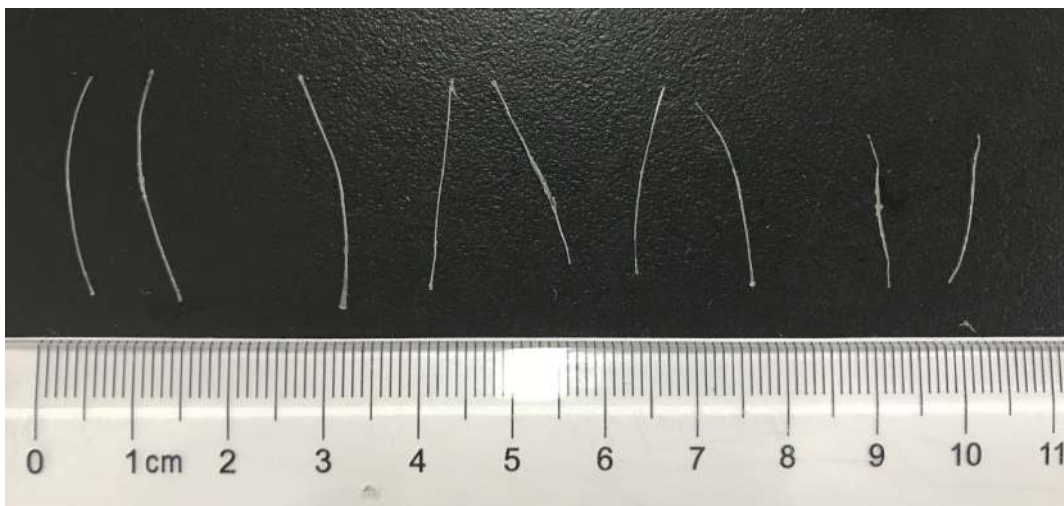


图1 舟山海区星康吉鳗肌间骨

Fig. 1 Intermuscular bones of *C. myriaster* in Zhoushan area

单因素方差分析 对两个星康吉鳗群体的9个可量性状进行单因素方差分析。结果显示: 在 $\alpha=0.05$ 的水平下, 两个群体有7个指标(肛长、头宽、吻长、口裂长、眼径长、背鳍前长及胸鳍长)差异显著。差异系数(C.D.)结果显示, 除眼径的差异系数大于1.28外, 其他测量指标的差异系数均小于1.28(表2)。

判别分析 对标准化的数据进行判别分析, 结果显示, 青岛星康吉鳗群体的判别正确率为100%, 舟山群体的判别准确率为94.7%(表3)。

主成分分析 结合Kaiser-Harris准则、Cattell碎石检验以及平行分析法, 最终确定主成分的个数为2。主成分分析结果显示: 第一主成分的贡献率为42%, 第二主成分的贡献率为33%, 两者累积贡献率达75%(表4)。

基于这两个主成分, 绘制散点图(图2)。结果显示舟山群体多位于散点图中虚线右侧, 而

青岛群体全都分布在虚线左侧。主成分1基本能够将两个星康吉鳗群体区分开。

2.2 遗传学

此次实验成功扩增了青岛、舟山两个群体共10个个体的线粒体COI部分序列, 序列长度为507 bp; 扩增了两个群体共18个个体的线粒体D-loop区部分序列, 获得的序列长度为593 bp。

遗传多样性 在扩增的COI同源序列中, 舟山、青岛两个星康吉鳗群体各自都只有1个多态位点, 具有相似的核苷酸多样性、单倍型多样性和两两对比的核苷酸差异度, 各项遗传多样性指数都较低(表5)。在该同源序列片段中, 10条序列共定义了3个单倍型, 有1个共享单倍型(表6)。

在扩增的D-Loop区同源序列中, 青岛群体共检测到31处变异位点, 其中包括24处转换、

表 2 星康吉鳗群体单因素方差分析结果

Tab. 2 One-way ANOVA results between two *C. myriaster* populations

性状 characters	青岛群体/mm Qingdao population	舟山群体/mm Zhoushan population	<i>P</i>	<i>C.D.</i>
肛长 preanal length	217.014±9.96	226.892±6.874	0.002	0.587
头长 head length	70.647±4.611	70.502±7.067	0.946	0.012
头宽 head width	26.591±4.007	29.400±2.690	0.020	0.419
吻长 snout length	15.647±3.069	22.054±2.337	0.000	1.185
口裂长 mouth center length	23.540±2.139	28.058±3.728	0.000	0.770
眼径 eye diameter	7.814±0.602	10.395±0.602	0.000	2.144
体高 body depth	31.663±5.795	32.961±4.918	0.485	0.121
背鳍前长 predorsal length	99.615±5.471	112.674±7.018	0.000	1.046
胸鳍长 pectoral fin	31.948±3.141	37.037±5.561	0.001	0.585

表 3 两个星康吉鳗群体判别分析结果

Tab. 3 Discriminant result of *C. myriaster* population

群体 population	数量 size	预测分类 predicted species membership		正确率/% accuracy
		青岛 Qingdao	舟山 Zhoushan	
		青岛 Qingdao	15	
舟山 Zhoushan	19	1	18	94.7

表 4 主成分分析结果

Tab. 4 The result of principal component analysis

变量 variable	主成分 principal component	
	1	2
肛长 preanal length	0.51	0.67
头长 head length	0.23	0.74
头宽 head width	0.37	0.76
吻长 snout length	0.83	0.30
口裂长 mouth center length	0.60	0.52
眼径 eye diameter	0.94	0.16
体高 body depth	0.08	0.89
背鳍前长 predorsal length	0.90	0.23
胸鳍长 pectoral fin	0.78	0.32
特征值 eigenvalues	3.80	2.93
贡献率/% contribution ratio	0.42	0.33
累积贡献率/% cumulative contribution ratio	0.42	0.75

5处颠换及2处插入缺失; 舟山群体共检测到22处变异位点, 包括18处转换、2处颠换和2处插入

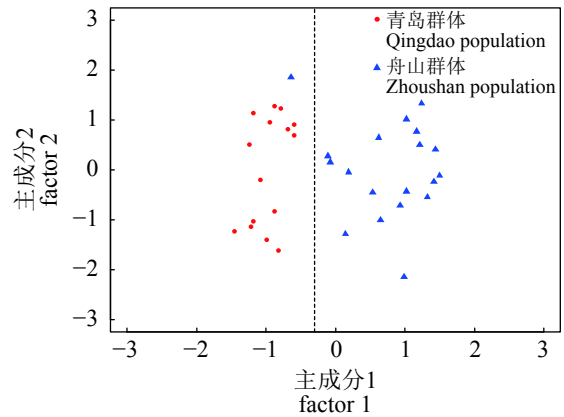


图 2 基于前两个主成分的散点图
Fig. 2 Scatter plot based on the first two principal components

缺失(表7)。两个群体18条序列共定义了15个单倍型, 有1个共享单倍型(表8)。这两个星康吉鳗群体的核苷酸多样性、单倍型多样性以及两两比对核苷酸差异度均比较相近, 无显著差异。综合上述两处基因序列的分析结果, 两个海区星康吉鳗群体的遗传多样性不存在明显差异。

遗传结构 基于COI序列所得出的两群体间遗传分化指数 F_{ST} 值为-0.000 1($P=0.991 0$), 基于D-Loop区计算得到两群体之间的遗传分化指数 F_{ST} 为-0.032 88($P=0.594 59$)。这均表明两个星康吉鳗群体遗传差异小, 遗传分化不显著。另外, 基于D-Loop区序列所构建的NJ树显示两个群体的星康吉鳗混杂在一起, 没有出现与地理位置相对应的分支关系(图3)。

表5 星康吉鳎线粒体COI序列遗传多样性信息

Tab. 5 Molecular diversity indices of COI sequence for *C. myriaster*

多样性信息 diversity indices	青岛群体 Qingdao population	舟山群体 Zhoushan population	合计 total
个体数 number of individuals	5	5	10
变异位点数 variable sites	1	1	2
转换/颠换 transition / transversions	1/0	1/0	2/0
单倍型数 haplotype numbers	2	2	3
核苷酸多样性 nucleotide diversity	0.000 8±0.001 0	0.000 8±0.001 0	0.000 8±0.000 9
单倍型多样性 haplotype diversity	0.400 0±0.237 2	0.400 0±0.237 3	0.377 8±0.181 3
两两比对核苷酸差异度 mean pairwise nucleotide differences	0.400 0±0.435 1	0.400 0±0.435 1	0.400 0±0.402 9

表6 星康吉鳎两个群体间COI序列单倍型分布状况

Tab. 6 Haplotype distribution of COI sequences between the two populations

单倍型 haplotype	青岛群体 Qingdao population	舟山群体 Zhoushan population
Hap-1	4	4
Hap-2	1	0
Hap-3	0	1

3 讨论

3.1 形态学

鱼类的肌间骨，即通常所说的细鱼刺，是真骨鱼类特有的、位于椎骨两侧的膜性硬骨，由结缔组织膜骨化而成^[36]。本研究首次发现不同海区星康吉鳎群体肌间骨存在差异：舟山海区的星康吉鳎群体含有“I”形硬肌间骨，而青岛海区的星康吉鳎群体无硬肌间骨。肌间骨严重影响鲜活星康吉鳎的食用口感，不受消费者喜

爱，同时也限制了鱼肉的出口加工，大大降低星康吉鳎的经济价值。在实地调查中，由于受肌间骨影响，青岛海区星康吉鳎的价格远高于舟山海区。关于肌间骨的具体作用尚不明确，有研究认为，肌间骨的主要作用是支撑大侧的肌肉，肉质较松的鱼类肌间骨数目、分支都较多；另外肌间骨还与肌肉力量的传导有关，当鱼类蛋白质含量较高时，肌肉力量的传导更多地依赖于肌纤维而不是肌间骨^[37-39]。目前有关肌间骨背后的具体控制机理存在争议：Wan等^[40]研究推测鱼类肌间骨的发生是由某段特定基因来控制的；Moav等^[41]则提出肌间骨的发生可能受环境因素的调控，在肌间骨发育初期，环境因素的变化(如温度)会对肌间骨产生影响。两个星康吉鳎群体肌间骨差异的具体原因以及肌间骨发生机理还有待今后深入研究。

形态学方法在鱼类种群鉴别、种群结构划分中仍然是最主要、最基本的方法。本实验利

表7 星康吉鳎线粒体D-Loop区遗传多样性信息

Tab. 7 Molecular diversity indices of D-loop sequence for *C. myriaster*

多样性信息 diversity indices	青岛群体 Qingdao population	舟山群体 Zhoushan population	合计 total
个体数 number of individuals	10	8	18
变异位点数 variable sites	31	22	37
转换/颠换 transition / transversions	24/5	18/2	30/5
插入缺失 insertion deletion	2	2	2
单倍型数 haplotype numbers	9	7	15
核苷酸多样性 nucleotide diversity	0.181 4±0.010 2	0.015 2±0.009 0	0.016 6±0.008 9
单倍型多样性 haplotype diversity	0.977 8±0.054 0	0.964 3±0.077 2	0.973 9±0.029 3
两两比对核苷酸差异度 mean pairwise nucleotide differences	10.755 6±5.353 7	9.035 7±4.659 4	9.836 6±4.724 0

表 8 星康吉鳗两个群体间D-Loop区序列单倍型分布状况

Tab. 8 The haplotype distribution of D-Loop sequences between the two population

单倍型 haplotype	青岛群体 Qingdao population	舟山群体 Zhoushan population
Hap-1	2	1
Hap-2	0	2
Hap-3	0	1
Hap-4	0	1
Hap-5	0	1
Hap-6	0	1
Hap-7	1	0
Hap-8	1	0
Hap-9	1	0
Hap-10	0	1
Hap-11	1	0
Hap-12	1	0
Hap-13	1	0
Hap-14	1	0
Hap-15	1	0

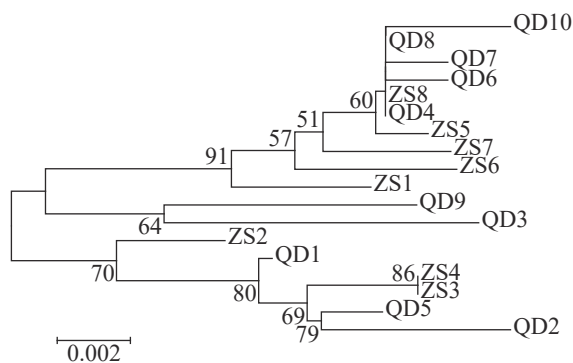


图 3 D-Loop区单倍型序列邻接关系树

图中ZS1-ZS8代表舟山群体; QD1-QD10代表青岛群体

Fig. 3 Neighbor-joining tree for D-Loop haplotypes

ZS1-ZS8 represent the Zhoushan population, QD1-QD10 represent the Qingdao population.

用多种统计方法对青岛、舟山两个地理群体的星康吉鳗个体进行形态学研究。单因素方差分析结果表明, 两群体在9项形态学测量指标中有7项差异显著, 另外也可以看出这些差异显著的指标遍布于星康吉鳗全身, 而并非聚集在鱼体的某一个部位。在主成分分析中, 两个主成分的累积贡献率达75%, 其中, 第一主成分与每个

可量变量都呈正相关的关系, 可能是一个一般性的衡量因子; 而第二主成分与头长、头宽和体高呈较强正相关, 因此第二主成分可能主要与头的形状以及体高有关。3种多元统计分析方法均表明青岛、舟山两个星康吉鳗群体在外部形态上存在显著差异。但是根据Mayr等^[35]提出的75%识别与划分规则, 除眼径外其它测量指标的C.D.值均小于1.28, 表明这些形态学上的差异尚未达到亚种水平, 仍属于不同地理群体间的差异。一些研究表明鱼类形态易受外部环境因素的影响, 与其他无脊椎动物相比表现出更大的群体间及群体内的变异^[32, 42-44]。青岛海域位于36°N左右的黄海, 而舟山海域位于30°N左右的东海, 地理位置相距较远; 同时受纬度、海流等环境因素的影响, 使得两海区水温、盐度及饵料基础等环境因子不同, 从而可能造成两个星康吉鳗地理群体在外部形态上的差异。

3.2 遗传学

mtDNA基因序列的分析结果表明, 两个星康吉鳗群体的遗传多样性无显著差异, 且两群体间有共享单倍型。NJ树未检测到与地理位置对应的分支, 遗传分化指数 F_{ST} 也显示, 不同海区星康吉鳗群体未出现遗传结构分化现象。表明在mtDNA水平上并不能将两个星康吉鳗群体区分开来, 两个地理群体仍属于同一个基因种群。这与国外其他海域星康吉鳗遗传结构的研究结果类似, Kimura等^[16]曾对分布在日本东海岸三个星康吉鳗群体的遗传结构做了相关分析研究, Ishikawa等^[15]也研究了日本不同海区星康吉鳗群体的遗传结构, 其结果都表明不同海区星康吉鳗群体无明显的遗传结构分化现象。

有研究发现, 在海洋这样一个开放的大环境中, 具有较长时间浮游阶段的或者长距离洄游的鱼类没有或者只有微弱的遗传分化结构^[16-17, 32, 45]。星康吉鳗主要栖息于温带地区大陆架边缘的浅海海域, 近年来的研究表明星康吉鳗的产卵机制类似于日本鳗鲡(*Anguilla japonica*), 要经过长距离的产卵洄游, 到达深海海域进行产卵^[4]。长距离产卵洄游使得不同地理群体间的星康吉鳗有机会混杂在一起。有学者也估计, 星康吉鳗大约要经过124~249 d的浮游幼体阶段^[46], 这使得不同地理群体的柳叶鳗幼体能够产生一定程度的扩散交流。近期有研究表明种群遗传分化所需时间跨度要长于形态学上表现出差异

所需的时间^[47],这可能也是星康吉鳗各个地理群体之间无显著遗传差异的原因。

在今后的研究中,仍需增大研究样本量,扩大研究尺度,结合更敏感的基因标记(如核基因标记)、耳石形态学分析等多种方法对多个海域星康吉鳗群体的种群结构做进一步详细研究。

参考文献:

- [1] 李明德. 中国经济鱼类生态学[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 2005: 12-13.
Li M D. Ecology of economic fishes in China[M]. Tianjin: Tianjin Science and Technology Press, 2005: 12-13(in Chinese).
- [2] 唐逸民, 吴常文. 星鳗*Astroconger myriaster* (Brevoort)的生物学特性与资源分布[J]. 浙江水产学院学报, 1988, 7(1): 19-26.
Tang Y M, Wu C W. On biologic habits and resources distribution of common Japanese conger *Astroconger myriaster* (Bervoort)[J]. Journal of Zhejiang College of Fisheries, 1988, 7(1): 19-26(in Chinese).
- [3] Miller M J, Yoshinaga T, Aoyama J, *et al.* Offshore spawning of *Conger myriaster* in the western North Pacific: evidence for convergent migration strategies of anguilliform eels in the Atlantic and Pacific[J]. *Naturwissenschaften*, 2011, 98(6): 537-543.
- [4] Kurogi H, Mochioka N, Okazaki M, *et al.* Discovery of a spawning area of the common Japanese conger *Conger myriaster* along the Kyushu-Palau Ridge in the western North Pacific[J]. *Fisheries Science*, 2012, 78(3): 525-532.
- [5] Mochioka N, Tabeta O, Kubota T. A pre-leptocephalus larva of *Conger myriaster* (family Congridae) collected from Suruga bay, Central Japan[J]. *Japanese Journal of Ichthyology*, 1988, 35(2): 184-188.
- [6] Katayama S, Ishida T, Shimizu Y, *et al.* Seasonal change in distribution of Conger eel *Conger myriaster* off the Pacific coast south of Tohoku, north-eastern Japan[J]. *Fisheries Science*, 2004, 70(1): 1-6.
- [7] Kurogi H. Study on the inshore migration mechanism of *Conger myriaster* leptocephali[J]. *Bulletin of Fisheries Research Agency (Japan)*, 2008(24): 105-152.
- [8] Yagi Y, Kodono N, Kinoshita I, *et al.* Late-stage metamorphosing *Conger myriaster* leptocephali collected in a river estuary of Ariake Bay, Japan[J]. *Ichthyological Research*, 2010, 57(3): 310-313.
- [9] Kurogi H, Mochioka N, Takaki Y, *et al.* First offshore record of *Conger myriaster* leptocephali in the East China Sea[J]. *Fisheries Science*, 2002, 68(5): 1155-1157.
- [10] Kawazu M, Kameda T, Kurogi H, *et al.* Biological characteristics of *Conger myriaster* during the initial stage of spawning migration in the East China Sea[J]. *Fisheries Science*, 2015, 81(4): 663-671.
- [11] Correia A T, Manso S, Coimbra J. Age, growth and reproductive biology of the European conger eel (*Conger conger*) from the Atlantic Iberian waters[J]. *Fisheries Research*, 2009, 99(3): 196-202.
- [12] Ma T, Miller M J, Aoyama J, *et al.* Genetic identification of *Conger myriaster* leptocephali in East China Sea[J]. *Fisheries Science*, 2007, 73(5): 989-994.
- [13] Inoue J G, Miya M, Tsukamoto K, *et al.* Complete mitochondrial DNA sequence of *Conger myriaster* (Teleostei: Anguilliformes): novel gene order for vertebrate mitochondrial genomes and the phylogenetic implications for anguilliform families[J]. *Journal of Molecular Evolution*, 2001, 52(4): 311-320.
- [14] Kimura Y, Ishikawa S, Nishida M, *et al.* Isolation and characterization of microsatellite loci from the Japanese conger eel *Conger myriaster*[J]. *Molecular Ecology Notes*, 2003, 3(2): 203-204.
- [15] Ishikawa S, Kimura Y, Tokai T, *et al.* Gene rearrangement around the control region in the mitochondrial genome of conger eel *Conger myriaster*[J]. *Fisheries Science*, 2000, 66(6): 1186-1188.
- [16] Kimura Y, Ishikawa S, Tokai T, *et al.* Early life history characteristics and genetic homogeneity of *Conger myriaster* leptocephali along the east coast of central Japan[J]. *Fisheries Research*, 2004, 70(1): 61-69.
- [17] Ishikawa S, Kimura Y, Tokai T, *et al.* Genetic variation in the mitochondrial and nuclear DNA of the Japanese conger *Conger myriaster*[J]. *Fisheries Science*, 2001, 67(6): 1081-1087.
- [18] 张波, 唐启升. 东、黄海六种鳗的食性[J]. 水产学报, 2003, 27(4): 307-314.
Zhang B, Tang Q S. Feeding habits of six species of eels in East China Sea and Yellow Sea[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2003, 27(4): 307-314(in Chinese).
- [19] 刘西方, 刘贺, 薛莹, 等. 海州湾星康吉鳗的摄食生态特征[J]. 中国水产科学, 2015, 22(3): 517-527.
Liu X F, Liu H, Xue Y, *et al.* Feeding ecology of *Conger myriaster* in Haizhou Bay[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2015, 22(3): 517-527(in Chinese).
- [20] 刘西方. 海州湾两种高营养级鱼类摄食生态及其食物关系研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
Liu X F. Study on feeding ecology and food relations of 中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

- two high trophic level fishes in Haizhou Bay[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015(in Chinese).
- [21] 刘鸿雁, 孙彤彤, 曾晓起, 等. 崂山湾人工鱼礁区星康吉鳗摄食生态及食物网结构[J]. 海洋生态学报, 2018, 29(4): 1339-1351.
Liu H Y, Sun T T, Zeng X Q, *et al.* Feeding ecology of *Conger myriaster* and structure of the food webs in artificial reef zone, Laoshan Bay, China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2018, 29(4): 1339-1351(in Chinese).
- [22] 唐衍力, 孙国微, 赵同阳, 等. 星康吉鳗笼网目选择性研究[J]. 中国水产科学, 2010, 17(1): 136-142.
Tang Y L, Sun G W, Zhao T Y, *et al.* Mesh size selectivity of *Conger myriaster* pot[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(1): 136-142(in Chinese).
- [23] 田方. 山东近海星康吉鳗(*Conger myriaster*)延绳钓渔具性能研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
Tian F. Fishing efficiency of white-spotted conger longline fishing gear in Shandong Coastal Sea[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013(in Chinese).
- [24] Takai T. Studies on the morphology, ecology and culture of the important apodal fishes, *Muraenesox cinereus* (Forsskal) and *Conger myriaster* (Brevoort)[J]. Journal of the Shimonoseki College of Fisheries, 1959, 8: 209-555.
- [25] 韩真, 肖永双, 高天翔. 中国近海9个小黄鱼群体的形态学比较研究[J]. 南方水产科学, 2012, 8(3): 25-33.
Han Z, Xiao Y S, Gao T X. Comparison of morphological characteristics of 9 *Larimichthys polyactis* populations in China[J]. South China Fisheries Science, 2012, 8(3): 25-33(in Chinese).
- [26] 谢堂晖, 赵会宏, 杨慧荣, 等. 珠江流域黄颡鱼群体的形态度量学与遗传多样性分析[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2015, 54(4): 112-120.
Xie T H, Zhao H H, Yang H R, *et al.* Morphology and genetic diversity analysis of *Pelteobagrus fulvidraco* populations in Zhujiang River[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2015, 54(4): 112-120(in Chinese).
- [27] Cann R L, Brown W M, Wilson A C. Polymorphic sites and the mechanism of evolution in human mitochondrial DNA[J]. Genetics, 1984, 106(3): 479-499.
- [28] 龚小玲, 李思发. 鳗鲡属六种鱼类形态判别研究[J]. 动物分类学报, 2010, 35(3): 562-567.
Gong X L, Li S F. Comparative discriminant analysis of morphological traits among six eels of *Anguilla*[J]. Acta Zootaxonomica Sinica, 2010, 35(3): 562-567(in Chinese).
- [29] Smith D G, Schwarzhan W W, Pogonoski J J. The Identity of *Conger japonicus* (Anguilliformes: Congridae)[J]. Copeia, 2016, 104(3): 734-737.
- [30] Ward R D, Costa F O, Holmes B H, *et al.* DNA barcoding of shared fish species from the North Atlantic and Australasia: minimal divergence for most taxa, but *Zeus faber* and *Lepidopus caudatus* each probably constitute two species[J]. Aquatic Biology, 2008, 3(1): 71-78.
- [31] Ratnasingham S, Hebert P D N. Barcoding: BOLD-the barcode of life data system[J]. Molecular Ecology Notes, 2007, 7(3): 355-364.
- [32] 张辉. 西北太平洋两种卵胎生鱼类(许氏平鲷和褐菖鲈)的分子系统地理学研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
Zhang H. Molecular phylogeography of two marine ovoviviparous fishes in northwestern pacific[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013(in Chinese).
- [33] Ward R D, Zemlak T S, Innes B H, *et al.* DNA barcoding Australia's fish species[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 2005, 360(1462): 1847-1857.
- [34] Reist J D. An empirical evaluation of several univariate methods that adjust for size variation in morphometric data[J]. Canadian Journal of Zoology, 1985, 63(6): 1429-1439.
- [35] Mayr E, Linsley E G, Usinger R L. Methods and principles of systematic zoology[M]. New York: McGraw Hill Book Company, 1953: 23-39, 123-154.
- [36] 孟庆闻, 苏锦祥, 李婉端. 鱼类比较解剖[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 102-103.
Meng Q W, Su J X, Li W D. The fish comparative anatomy[M]. Beijing: Science Press, 1987: 102-103(in Chinese).
- [37] Johnson G D, Patterson C. The intermuscular system of acanthomorph fishes: a Commentary[J]. American Museum Novitates, 2001(3312): 1-24.
- [38] 董在杰, 黄代中, 李丽娟, 等. 几种常见鲤科养殖鱼类肌间刺的初步研究[J]. 上海水产大学学报, 2006, 15(4): 425-429.
Dong Z J, Huang D Z, Li L J, *et al.* Preliminary study on intermuscular bones of several cultured cyprinids[J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2006, 15(4): 425-429(in Chinese).
- [39] 马良骥, 董在杰, 苏胜彦, 等. 鱼类肌间刺的研究进展[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(4): 234-235, 240.

- Ma L X, Dong Z J, Su S Y, *et al.* The research progress on intermuscular bones of teleosts[J]. [Jiangsu Agricultural Sciences](#), 2012, 40(4): 234-235, 240(in Chinese).
- [40] Wan S M, Yi S K, Zhong J, *et al.* Identification of MicroRNA for intermuscular bone development in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16(5): 10686-10703.
- [41] Moav R, Finkel A, Wohlfarth G. Variability of intermuscular bones, vertebrae, ribs, dorsal fin rays and skeletal disorders in the common carp[J]. [Theoretical and Applied Genetics](#), 1975, 46(1): 33-43.
- [42] McHugh J L. Geographic variation in the Pacific herring[J]. *Copeia*, 1954(2): 139-151.
- [43] Rabin D J, Barnhart R A. Population characteristics of Pacific herring, *Clupea harengus pallasii*, in Humboldt Bay, California[J]. *Fish and Game*, 1986, 72(1): 4-16.
- [44] Wimberger P H. Plasticity of fish body shape. The effects of diet, development, family and age in two species of *Geophagus* (Pisces: Cichlidae)[J]. [Biological Journal of the Linnean Society](#), 1992, 45(3): 197-218.
- [45] Avise J C. *Phylogeography: the history and formation of species*[M]. Cambridge, MA: Harvard University Press, 2000.
- [46] Lee T W, Byun J S. Microstructural growth in otoliths of conger eel (*Conger myriaster*) leptocephali during the metamorphic stage[J]. [Marine Biology](#), 1996, 125(2): 259-268.
- [47] Régnier T, Augley J, Devalla S, *et al.* Otolith chemistry reveals seamount fidelity in a deepwater fish[J]. [Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers](#), 2017, 121: 183-189.

Comparison of morphological and genetic characteristics of *Conger myriaster* populations in China

YIN Jie¹, MU Xiuxia¹, ZHANG Chongliang¹, XU Binduo¹, XUE Ying¹, REN Yiping^{1,2*}

(1. College of Fisheries, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Laboratory for Marine Fisheries and Food Production Processes,

Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266237, China)

Abstract: *Conger myriaster* is a commercially important species in China. The population structure of *C. myriaster* remains a mystery and the spawning activities of *C. myriaster* are not well known because larvae and adults of this species have separate habitats and its spawning grounds have not been discovered. Several hypotheses on the population structure and spawning grounds of *C. myriaster* have been proposed. Takai described that this species has a single population with a single spawning site. On the other hand, there are also some indications of the possibility of multiple spawning populations. So it is important to clarify the population structure of *C. myriaster* to provide basics for future detailed examination on its life history. If this species has multiple populations, there may be some morphological and genetic differences in the samples collected from different sea areas at the same time. In the present study, we combined morphological and genetic methods to understand the morphological and genetic differences of *C. myriaster* in the two different localities of Zhoushan (East China Sea) and Qingdao (Yellow Sea). The morphological studies were conducted by using one-way ANOVA, discriminant analysis and principal component analysis. Genetic analysis of the mitochondrial DNA (mtDNA) sequence was carried out. Results from morphological studies indicated that there were intermuscular bones of “I” type in the muscle of the *C. myriaster* from Zhoushan group but not in Qingdao group. The results of multivariate statistical analysis showed that there were significant differences in seven morphological measurements (preanal length, head width, snout length, rictus length, eye diameter, predorsal length) of *C. myriaster* from different groups, and these measurements were all over the body. In principal component analysis, *C. myriaster* from different groups could be distinguished by a scatter plot based on the first two principal components. Discriminant analysis results showed that the correct discrimination rates of Qingdao and Zhoushan groups were 100% and 94.7%, respectively. The results of multivariate statistical analysis methods showed that there were significant differences in morphology between the two groups. But according to the Mayr’s 75 % rule, most differences in morphology between the two groups were characterized under-subspecies. Genetic results suggested that there was no significant difference in genetic diversity between samples collected from different locations on the level of mtDNA. The neighbor-joining tree showed no genealogical clade. The pairwise fixation index F_{ST} revealed no significant genetic difference between the two groups. The present study provides morphological and genetic basis for the taxonomic status of the *C. myriaster* population in China. It also provides useful information for the population assessment, management and conservation of *C. myriaster*.

Key words: *Conger myriaster*; population structure; morphology; genetics; intermuscular bones; mitochondrial DNA

Corresponding author: REN Yiping. E-mail: renyip@ouc.edu.cn

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31772852); Fundamental Research Funds for the Central Universities (201612004)