

DOI: 10.12264/JFSC2024-0071

基于单核苷酸多态性标记的 7 个斑鳢野生群体的遗传结构和遗传多样性分析

崔同心^{1,2}, 刘海洋², 张晋^{2,3}, 欧密², 罗青², 费树站², 陈昆慈², 赵建^{1,2,3}

1. 浙江海洋大学水产学院, 浙江 舟山 316022;
2. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 广东 广州 510380;
3. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306

摘要: 为探讨斑鳢(*Channa maculata*)自然分布群体的遗传结构和遗传多样性, 基于 SLAF 简化基因组测序技术检测了斑鳢 7 个群体(广东阳春、广东化州、广西南宁、广西贺州、湖南江华、福建邵武、台湾台北)的 SNP 标记, 并进行遗传学分析。结果显示, 共检测出 2502887 个 SNP 位点, 平均测序深度为 20.19X, 平均 Q30 和 GC 含量分别为 95.31%和 41.16%。7 个斑鳢群体多态性信息含量(PIC)为 0.2672~0.2872, 期望杂合度(H_e)为 0.3304~0.3580, 观测杂合度(H_o)为 0.2145~0.3393, 群体遗传多样性处于中等水平。群体间遗传分化指数(F_{st})为 0.15300~0.78658, 基因流(N_m)为 0.24118~0.62035, 群体间表现出高度遗传分化状态, 台北群体与其他 6 个群体间遗传分化程度极大($F_{st}>0.5$)。群体遗传结构分析表明, 7 个群体均单独聚类, 遗传结构单一。本研究揭示了不同地区野生斑鳢群体的遗传背景和亲缘关系, 对斑鳢种质资源的合理利用和遗传育种工作具有重要的参考意义。在后续的育种工作中, 应特别关注不同斑鳢群体间的亲缘关系, 以期提高斑鳢亲本质量和育种效率。

关键词: 斑鳢; SNP; 遗传结构; 遗传多样性

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2024)07-0829-10

斑鳢 (*Channa maculata*) 隶属于鲈形目 (Perciformes)、鳢科 (Channidae)、鳢属 (*Channa*), 主要分布于珠江水系、闽江水系及广东、广西、湖南、海南和台湾等省区, 是我国重要的淡水经济鱼类^[1-2]。杂交鳢为乌鳢 (*Channa argus*) 和斑鳢的杂交 F1, 具有生长速度快、抗病能力强、易摄食人工配合饲料等优势, 深受养殖户欢迎, 已成为中国重要的淡水鱼养殖品种之一^[3-4]。同时, 斑鳢也是新品种“杭鳢 1 号”“乌斑杂交鳢”“雄鳢 1 号”的亲本来源。近年来, 部分生产者为了节省成本采用自繁自育的方式进行苗种生产, 从而使亲鱼之间的亲缘关系也越来越近, 引起了种质退化、生

长速度差异大、抗逆性减弱、饵料系数增加等一系列问题^[5]。因此在斑鳢遗传育种工作中, 了解不同群体的遗传背景和亲缘关系, 制订合理的育种方案, 可有效提高育种效率和斑鳢亲本质量, 对鳢的生产具有重要意义。

遗传多样性分析是评估遗传资源状况的重要手段^[6]。单核苷酸多态性 (SNP) 作为第三代分子标记技术, 已经成为遗传多样性分析和全基因组研究的标准方法之一^[7]。高磊等^[8]利用 SNP 标记分析了黄渤海沿岸的 5 个托氏珧螺 (*Umbonium thomasi*) 自然群体的遗传多样性和遗传分化特征。林璐等^[9]通过筛选高质量 SNP 标记分析了海湾扇

收稿日期: 2024-03-27; 修订日期: 2024-05-13.

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-46); 中国水产科学研究院基本科研业务费专项 (2023TD37, 2023SJHX2); 国家自然科学基金项目 (32373127); 广东省乡村振兴战略专项资金项目 (2022-SPY-00-016).

作者简介: 崔同心 (1998-), 男, 硕士, 研究方向为鱼类遗传育种. E-mail: ctx220098@163.com

通信作者: 赵建, 研究员, 研究方向为鱼类遗传育种. E-mail: zhaojian@prfri.ac.cn

贝南部亚种(*Argopecten irradians concentricus*)的遗传多样性。刘凯等^[10]在分析鲂鮄鱼类及其杂交子代的遗传结构研究中发现, SNP 标记可以很好地区分三角鲂、翘嘴鲂、蒙古鲂及其杂交子代, 并可以达到遗传结构分析的目的。周志雄等^[11]在 10 种东方鲀(*Takifugu*)中共找到了 595 个种间特异性 SNP 位点, 并发现东方鲀在野生环境下存在广泛的自然杂交现象, 且属内系统发育关系较为复杂。刘东亚等^[12]利用 SNP 芯片分型信息估计了低温波动条件下凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)幼虾体重性状的遗传参数。特定位点扩增片段测序技术(specific-locus amplified fragment sequencing, SLAF-seq)是一种新的简化基因组测序技术, 通过限制性内切酶将基因组 DNA 进行酶切, 筛选特定片段进行测序, 可获得物种全基因组水平的 SNP 标记^[13]。该测序技术具有成本低、效率高、可避免大量重复序列等优势, 在畜禽^[14]及农作物^[15]中的研究应用比较广泛, 近年来在水生生物中也有所应用。金方彭等^[16]利用 SLAF-seq 在澜沧裂腹鱼(*Schizothorax lantsangensis*) 4 个群体中共检测到 736515 个 SNP 位点, 并分析了澜沧江中上游 4 个野生群体的遗传多样性; 刘亚楠等^[17]在 14 个克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)养殖群体遗传多

样性研究中鉴定出了 741147 个 SNP 位点, 实现了以较低成本对养殖群体遗传多样性的检测。

目前, SLAF-seq 已广泛应用于高密度遗传图谱的构建、SNP 位点的开发、群体遗传分析和 QTL 定位等研究^[18-20]。上官清等^[1]利用 SSR 分析了斑鳢野生群体的遗传结构。然而, 通过 SLAF-seq 技术可获得全基因组范围的 SNP, 能够更全面地反映遗传变异信息。本研究利用 SLAF-seq 技术, 对广东阳春等地 7 个野生斑鳢群体的 118 个样本进行全基因组变异检测, 筛选多态性 SNP 标记, 并进行群体遗传多样性分析和群体结构分析, 探讨不同地区斑鳢种质资源的遗传背景及亲缘关系, 为斑鳢种质资源的合理利用提供重要的参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

2017 年 4 月至 2018 年 9 月采集来自广东、广西、福建、湖南、台湾 5 省 7 个斑鳢自然分布地区的 118 尾活体样本, 取部分尾鳍置于含无水乙醇的离心管中, 做好标记, 带回实验室后存于-20 ℃冰箱备用。样本采集信息见表 1, 采样点分布见图 1。

表 1 斑鳢样本采集信息
Tab. 1 Information on the collection of *Channa maculata* samples

群体编号 population code	采样地点 sample location	经纬度 longitude and latitude	所属江段(水系) section of river (water system)	样本数量 sample number
1	广东化州 HZ Huazhou Guangdong	110°33'E 21°57'N	鉴江 Jianjiang River	19
2	广东阳春 YC Yangchun Guangdong	111°78'E 22°17'N	漠阳江 Moyangjiang River	16
3	广西南宁 NN Nanning Guangxi	108°22'E 22°79'N	邕江(珠江) Yongjiang River (Pearl River)	19
4	广西贺州 HEZ Hezhou Guangxi	111°55'E 24°41'N	贺江(珠江) Hejiang River (Pearl River)	7
5	湖南江华 JH Jianghua Hunan	111°58'E 25°19'N	湘江(长江) Xiangjiang River (Yangtze River)	15
6	福建邵武 SW Shaowu Fujian	117°49'E 27°34'N	闽江 Minjiang River	28
7	台湾台北 TP Taipei Taiwan	121°50'E 25°13'N	基隆河 Keelung River	14

1.2 DNA 提取及检测

参照试剂盒(美国 Omega Bio-Tek 公司) NO. D3096-02 说明书提取基因组 DNA。经 1%琼脂糖凝胶电泳对 DNA 进行检测, 检测合格后于-20 ℃冰箱保存备用。

1.3 酶切方案设计

根据 Sun 等^[13]方法构建斑鳢 SLAF-seq 文库, 选取斑鳢(*Channa maculata*)基因组作为参考基因组进行电子酶切预测, 斑鳢实际基因组大小为 618.82 Mb, GC 含量为 39.75% (<https://www.ncbi>.

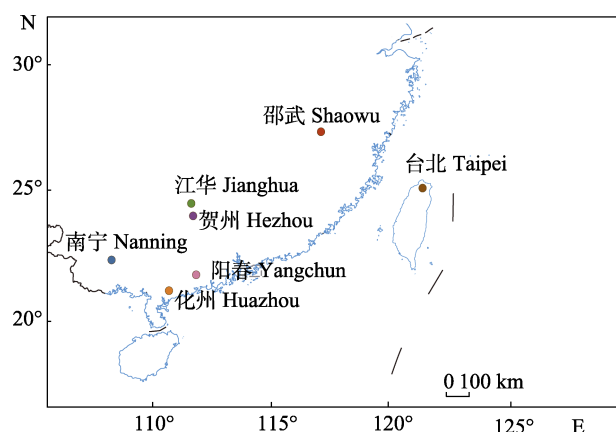


图 1 斑鳢采样点分布示意图

Fig. 1 Distribution of sampling sites for *Channa maculata*

nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_020496755.1/。按照酶切片段在基因组上尽量分布均匀, 位于重复序列酶切片段的比例低, 酶切片段数量满足实验预期等原则确定酶切方案。

选定最适酶切方案后, 对检测合格的各样本基因组 DNA 分别进行酶切。对得到的酶切片段 (SLAF 标签) 进行 3'端加 A 处理、连接 Dual-index^[21] 测序接头、PCR 扩增、纯化、混样、切胶选取目的片段, 文库质检合格后用 Illumina 测序平台进行测序, 获得测序 reads。SLAF 文库的构建及测序由北京百迈克生物科技有限公司完成。

1.4 SLAF 标签和 SNP 标记的检测

对斑鳢参考基因组进行电子酶切预测后, 根据酶切方案选择原则, 确定限制性内切酶组合为 *Rsa* I+*Hae* III, 酶切片段长度在 364~414 bp 的序列定义为 SLAF 标签。将测序获得的测序 reads 根据序列相似性进行聚类。确定 reads 的 SLAF 标签的来源, 并利用 BWA 0.7.17^[22] 将得到的 reads 比对到参考基因组上, 统计不同染色体上的 SLAF 标签和多态性 SLAF 标签。SNP 的检测是以斑鳢基因组作为参考基因组, 利用 BWA 0.7.17^[22] 将测序 reads 比对到参考基因组上, 并使用 GATK 4.2.0.0^[23] 和 samtools 1.7^[24] 两种方法进行变异检测, 以两种方法得到的 SNP 交集作为最终可靠的 SNP 数据集。

1.5 群体遗传多样性分析和遗传结构分析

基于 SNP 数据, 利用 PLINK 2.0^[25] 软件计算期望杂合度 (H_e)、观测杂合度 (H_o)、多态性信息含

量 (PIC), 利用 VCFtools 0.1.16^[26] 软件计算遗传分化指数 (F_{st}) 和基因流 (N_m)。使用 vcf2phylip 2.0^[27] 软件基于邻接法构建进化树, 将输出结果上传到 iTOL (<https://itol.embl.de/>) 在线工具绘制系统发育树。通过 admixture 1.3.0^[28] 软件, 分析斑鳢的群体结构, 针对 7 个自然分布群体, 预先设定亚群数目 (K 值) 为 1~10 进行聚类, 并对聚类结果进行交叉验证, 根据交叉验证错误率的最小值确定最优分群数。通过 GCTA 1.93.3^[29] 软件, 进行主成分分析, 得到样品的聚类情况。

2 结果与分析

2.1 酶切方案与建库评估

斑鳢基因组电子酶切预测到 101933 个 SLAF 标签, 插入片段大小为 364~414 bp, SLAF 标签在基因组上分布基本均匀, 确定限制性内切酶组合为 *Rsa* I+*Hae* III。

2.2 测序数据统计与评估

为确保分析质量, 提高数据评估和分析的准确性, 将测序 reads 去掉接头序列、酶切识别位点、低质量碱基, 最终保留 126 bp 高质量碱基序列用于后续分析。测序结果显示单个样品测序深度为 7.61~48.64 X, 整体平均测序深度为 20.19 X, 测序数据符合实验预期要求。118 个斑鳢样品共获得 374.68 Mb reads 数据, 测序样本 GC 含量为 39.3%~42.2%, 平均 GC 含量为 41.16%, GC 含量小于 40% 的只有两个样品, 其余均在 40%~60% 内; 测序样本质量值 Q30 为 92.2%~96.29%, 均大于 90%, 平均 Q30 为 95.31% 说明碱基错误率较低, 测序结果较好, 质量较高 (表 2)。

2.3 SLAF 标签与 SNP 标记的检测

根据测序结果, 在 118 个斑鳢样本中检测出 508066 个 SLAF 标签, 其中有 375486 个多态性标签, 将测序 reads 比对到斑鳢参考基因组上, 共得到 2502887 个 SNP。各个样品的 SNP 数目范围为 493243~1066702, 其中斑鳢样品 JH01 获得的 SNP 数目最大, 为 1066702, 斑鳢样品 JH12 获得的 SNP 数目最小, 为 493243。各样品检测到的 SNP 完整度变化范围为 19.71%~42.62%, SNP 杂合率为 0.68%~16.68%。

表 2 斑鳢 SLAF 标签和 SNP 信息
Tab. 2 SLAF labels and SNP information of *Channa maculata*

群体 population	GC 含量/% GC content	测序质量值 Q30/% sequencing quality value Q30	平均 SLAF 标签数/个 average number of lable SLAF	平均测序深度/X average sequencing depth	平均 SNP 个数 average number of SNP	SNP 完整度/% SNP integrity	SNP 杂合率/% SNP heterozygosity
化州 HZ	40.94	95.20	114846	18.14	760492	30.38	8.19
江华 JH	41.51	95.51	97167	16.12	645296	26.11	1.49
南宁 NN	41.46	95.32	97936	17.68	672876	26.88	1.76
贺州 HEZ	41.10	95.40	98081	25.57	597162	23.86	1.48
阳春 YC	41.12	95.49	103205	22.31	650074	25.97	2.31
邵武 SW	41.06	95.15	100401	22.48	646312	25.82	2.38
台北 TP	41.01	95.34	99398	20.54	644191	25.74	1.15

2.4 群体结构分析

基于获得的 SNP 数据, 通过 Admixture 1.3.0 软件分析斑鳢群体的遗传结构(图 2)。亚群数目(K 值)设为 1~10, 并对聚类结果进行交叉验证, $K=6$

时交叉验证错误率(0.37487)最低。因此, 可将 118 个样本分为 6 个亚群, 其中江华群体与贺州群体被分为同一亚群, 台北、邵武、阳春、化州、南宁 5 个地区的样本各自单独分为一个亚群。

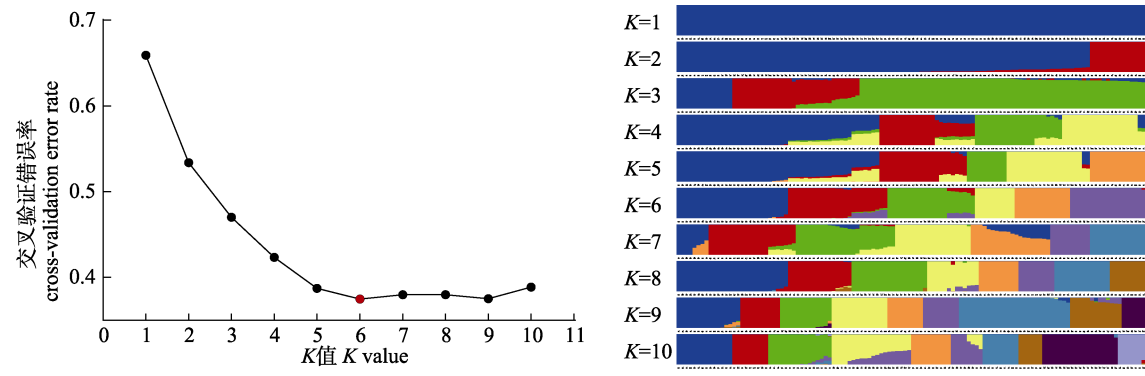


图 2 7 个斑鳢群体的遗传结构分析
Fig. 2 Genetic structure analysis of 7 *Channa maculata* populations

2.5 系统发育分析

由系统发育树(图 3)可以看出, 7 个地区的斑鳢样本各自聚集到一起, 形成明显的地理群体分支, 遗传结构较为单一。其中贺州群体与江华群体的亲缘关系最接近, 且聚为一个分支, 与 admixture 分析结果基本一致。

2.6 PCA 分析

为进一步明确群体间的亲缘关系, 通过 GCTA 1.93.3 软件, 对 118 个斑鳢样本进行主成分分析, 得到样品的聚类情况(图 4)。通过 PCA 分析, 可以看出台北群体与其他 6 个群体间表现出明显的空间分离情况, 各群体遗传结构单一。该结果与 admixture 和系统发育树的分析结果一致。

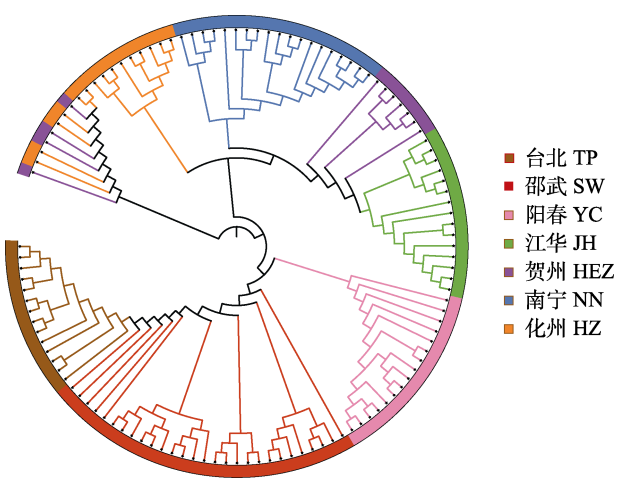


图 3 7 个斑鳢群体的系统发育树
Fig. 3 Phylogenetic tree of 7 *Channa maculata* populations

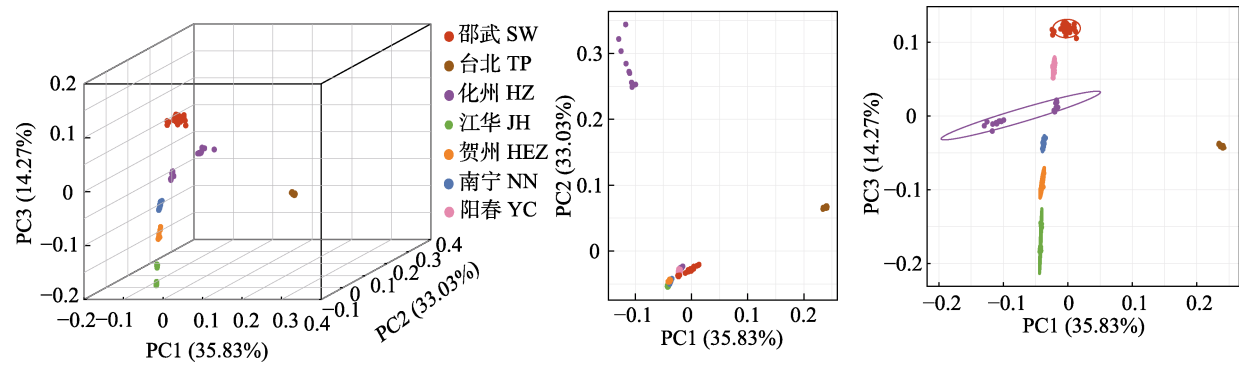


图 4 7 个斑鳢群体的 PCA 分析

Fig. 4 PCA analysis of 7 *Channa maculata* populations

2.7 群体间遗传分化分析

7 个斑鳢群体间基因流(N_m)和群体间遗传分化指数(F_{st})计算结果如表 3。群体间 N_m 为 0.24118~0.62035, 均小于 1, 群体间基因交流很少。群体间 F_{st} 为 0.15300~0.78658, 均大于 0.15; 台北与 6 个大陆群体间遗传分化指数均大于 0.50000, 遗传分化极大。

表 3 斑鳢群体间遗传分化指数和基因流

Tab. 3 Pairwise genetic differentiation and gene flow among populations of *Channa maculata*

群体 population	化州 HZ	江华 JH	南宁 NN	贺州 HEZ	阳春 YC	邵武 SW	台北 TP
化州 HZ		0.34217	0.26753	0.17533	0.17533	0.21096	0.53044
江华 JH	0.42218		0.47921	0.30628	0.41275	0.39310	0.78658
南宁 NN	0.48306	0.34284		0.36620	0.31967	0.33152	0.70915
贺州 HEZ	0.58778	0.44941	0.40571		0.30398	0.30534	0.78374
阳春 YC	0.58778	0.37722	0.43885	0.45128		0.15300	0.64240
邵武 SW	0.54235	0.38874	0.42991	0.45017	0.62035		0.56388
台北 TP	0.32033	0.24118	0.26065	0.24184	0.28014	0.30717	

注: 对角线上的部分为 F_{st} , 对角线下的部分为 N_m 。
Note: The part above the diagonal is F_{st} , and the part below the diagonal is N_m .

2.8 群体遗传多样性分析

多态性信息含量和杂合度(heterozygosity, H)等参数是衡量物种遗传多样性高低的重要标准。为更准确地评估斑鳢群体的遗传多样性, 通过计算 H_o 、 H_e 、PIC、最小等位基因频率(MAF)、根井正利基因多样性指数和香农-威纳指数来分析各群体的遗传变异程度, 统计结果如表 4。7 个斑鳢群体 H_o 为 0.2145~0.3393, H_e 为 0.3304~0.3580, PIC 为 0.2672~0.2872, MAF 为 0.2416~0.2652, 根井正利基因多样性指数为 0.3414~0.3710, 香农-威纳多样性指数为 0.5019~0.5360。7 个群体 H_o 均低于 H_e , 台北 H_o 与 H_e 最接近, 化州、贺州群

表 4 斑鳢群体遗传多样性指数

Tab. 4 Populations of *Channa maculata* genetic diversity index

群体 population	最小等位基因频率 average minor allele frequency	期望杂合度 expected heterozygous	观测杂合度 observed heterozygous	多态性信息含量 polymorphism information content	根井正利基因多样性指数 Nei's gene diversity index	香农-威纳指数 Shannon-Wiener index
阳春 YC	0.2416	0.3304	0.2808	0.2672	0.3414	0.5019
化州 HZ	0.2475	0.3463	0.2226	0.2801	0.3596	0.5232
南宁 NN	0.2587	0.3458	0.2586	0.2771	0.3555	0.5192
贺州 HEZ	0.2460	0.3451	0.2145	0.2794	0.3624	0.5219
江华 JH	0.2652	0.3580	0.2713	0.2872	0.3710	0.5360
邵武 SW	0.2554	0.3489	0.2951	0.2808	0.3555	0.5249
台北 TP	0.2621	0.3507	0.3393	0.2815	0.3642	0.5267

体的 H_o 与 H_e 差异较大。群体间 PIC 值、根井正利基因多样性指数和香农-威纳多样性指数差异较小, 整体的遗传多样性水平都不高, 处于中度多态性水平。

3 讨论

种质资源评价是遗传育种工作的基石, 解析不同群体遗传多样性、亚群划分与亲缘关系, 对提高育种效率至关重要^[30]。现阶段斑鳢苗种场以作坊型散户为主, 缺乏大型种业企业, 群体近交现象难以避免, 造成了群体遗传多样性逐渐降低等危害^[31]。目前, 水生生物的群体遗传多样性分析和群体结构分析大部分都是通过第二代分子标记技术 SSR 和线粒体 DNA 标记进行的。SSR 数量标记有限, 无法代表全基因组水平^[32], 而线粒体 DNA 只能反映母系的遗传信息, 无法反映父系的遗传信息^[33]。本研究采用了 SLAF-seq 技术, 基于 SNP 标记分析了 7 个野生斑鳢群体的遗传结构和遗传多样性, 更加全面地评估了不同群体间的亲缘关系, 为斑鳢种质资源的合理利用提供了科学依据。

3.1 斑鳢群体的遗传结构

本研究基于 SNP 位点对 118 个斑鳢样本进行了群体遗传结构分析。系统发育树可以看出, 江华群体与贺州群体亲缘关系最近, 且湖南江华与广西贺州地理位置也很接近。Structure 分析结果显示, 江华群体与贺州群体被分为同一亚群。因此, 可将江华群体与贺州群体视为一个单元进行管理。其他地区斑鳢群体各自聚成一簇, 每个地区表现出一致的遗传背景, 没有发现基因交流迹象。本研究中 7 个斑鳢群体, 遗传结构较为单一, 推测是因为斑鳢具有护幼习性, 属于非洄游性鱼类, 各个群体间地理位置相隔较远, 在没有人干扰或者是巨大的环境变化下, 很难出现群体间的基因交流。在乌鳢^[34]、宽额鳢(*Channa gachua*)^[35]等具有相似生活习性的鳢科鱼类群体研究中发现, 不同地区的群体形成了相对独立的遗传群体, 地域分化明显。杨喜书等^[36]对攀鲈(*Anabas testudineus*)群体进行遗传多样性分析时发现, 澜沧江与华南 6 水系(九龙江、韩江、珠江、鉴江、

南渡江、万泉河)群体间均表现出强烈的遗传分化情况; 同时在河川沙塘鳢(*Odontobutis potamophila*)^[37]的 4 个地理群体(太湖、望江、当涂、休宁)遗传多样性和遗传结构研究中发现, 群体间极少有基因交流现象, 群体结构单一, 与本研究结果相似。然而, 在青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)的 9 个群体的遗传变异分析中发现, 群体间的遗传分化主要处于低度和中度分化水平, 有一定的基因交流迹象, 是因为青鱼的溯河产卵洄游性, 使得各个群体之间产生了一定的基因交流^[38]。

群体间的遗传分化程度可以用遗传分化指数(F_{st})来表示, F_{st} 值越大, 群体间的遗传分化程度就越高^[39]。台北群体与其他群体间的 F_{st} 均大于 0.50000, 群体间有极大的遗传分化。在 PCA 分析中, 台北群体显示出了明显的空间分离, 推测是台湾海峡隔离阻断了台北群体与大陆群体间的基因交流。对短棘鲷(*Leiognathus equulus*)和大鳞副泥鳅(*Paramisgurnus dabryanus*)的研究也证实了台湾海峡隔离对部分鱼类群体间遗传分化程度的影响。高天翔等^[40]在短棘鲷群体的遗传学研究发现, 台湾新竹群体与海南文昌、三亚新村群体之间的 F_{st} 存在显著差异, 而海南文昌群体和三亚新村群体之间却无显著性差异; 施文瑞等^[41]研究发现, 大鳞副泥鳅台湾群体与辽宁、河南、湖北 3 个群体间的遗传分化程度极大, 且遗传距离较为遥远。基因流(N_m)描述了遗传物质在不同群体之间的迁移和交换情况, 群体间基因流水平的高低反映了其遗传分化程度的大小, N_m 越大, 则认为群体间的基因交流越频繁^[42-43]。本研究中群体间 N_m 均小于 1, 群体间最大 N_m 也只有 0.62035, 各群体间相对孤立, 没有发现基因交流迹象, 与 F_{st} 分析结果一致。周伟等^[34]对 8 个乌鳢群体的遗传结构分析中发现, 除河南洛阳(LY)与陕西渭南(WN)、江苏射阳河(SYR)与陕西渭南(WN)、江苏射阳河(SYR)与山东德州(DZ)群体间存在较小的遗传差异外, 大多数群体之间表现出较大的遗传分化, 这与本研究中斑鳢群体遗传分化程度基本相似。

3.2 斑鳢群体的遗传多样性

杂合度指的是某一基因座上的等位基因是杂合体的频率,通常用来评估群体的遗传多样性。台北群体观测杂合度与期望杂合度值非常接近,说明台北群体处于遗传平衡状态,具有较高的纯化度;其他群体观测杂合度与期望杂合度均有一定差异,表明阳春、化州、南宁、贺州、江华、邵武 6 地斑鳢群体处于遗传不平衡状态,可能是群体内存在不同程度的近交现象;贺州、化州两个群体观测杂合度均低于期望杂合度,且有较大差距,估计是频繁近交导致的。在 6 个野生与选育鲤(*Cyprinus carpio*)群体的遗传分析^[44]和 3 个大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)群体的遗传分析^[45]中均发现各个群体的 H_o 与 H_e 存在一定差异。

PIC 反映了基因位点在群体中的多态性情况,是衡量群体遗传多样性的重要指标^[46]。根井正利基因多样性指数和香农-威纳多样性指数也可以反映群体的遗传多样性水平,其数值越大,说明基因丰富度就越高^[16]。本研究中 7 个斑鳢群体 PIC 均大于 0.2500,且各群体间差异较小,属于中度多态性水平。而上官清等^[1]利用 SSR 对广州等 6 个自然分布斑鳢群体的遗传多样性分析中发现,群体的 PIC 均大于 0.5000,与本研究结果有所差异。由于分子标记方法的不同,得到的遗传多样性参数值也会不同。微卫星通常由多个重复单元组成,变异性高,因此多态性也较高,而 SNP 是单个核苷酸的变异,通常只有两个等位基因,计算的 PIC 值相对较低。在罗慧等^[47]对青海湖裸鲤(*Gymnocypris przewalskii*)遗传多样性研究中也证实了不同分子标记获得的核苷酸多样性指数无法直接比较的情况。李光华等^[48]利用 SLAF-seq 技术分析了短须裂腹鱼(*Schizothorax wangchiachii*)群体的遗传多样性, PIC 为 0.2562;金方彭等^[49]利用 SLAF-seq 技术对 4 个光唇裂腹鱼(*Schizothorax lissolabius* Tsao)群体进行了遗传多样性分析,其根井正利基因多样性指数为 0.2868~0.3248,香农-威纳多样性指数为 0.4269~0.4810, PIC 为 0.2237~0.2553,与本研究结果相似。

4 结论

本研究中 7 个斑鳢群体遗传多样性处于中等

水平,遗传结构单一。各群体间无基因交流迹象,台北群体与其他 6 个群体间遗传分化程度极大。化州群体和江华群体内可能存在频繁的近交现象,在后续的遗传育种工作中应结合不同群体的遗传多样性分析,采取合适的繁殖策略。本研究为实现各地区斑鳢野生资源的保护与可持续利用提供了重要的参考依据,在育种工作中需特别注重种质资源的亲缘关系,促进斑鳢种质资源的合理利用,加速品种改良和种质创新。

参考文献:

- [1] Shangguan Q, Chen K C, Liu H Y, et al. Characteristics of micorsatellites and genetic structure of wild *Channa maculata*[J]. South China Fisheries Science, 2020, 16(3): 47-60. [上官清, 陈昆慈, 刘海洋, 等. 斑鳢基因组中微卫星分布特征及野生种群遗传结构分析[J]. 南方水产科学, 2020, 16(3): 47-60.]
- [2] Xia W W, Liu H Y, Ou M, et al. Relationship between body weight and morphological traits of the backup parents of *Channa maculata*[J]. Journal of Southern Agriculture, 2022, 53(12): 3584-3592. [夏威威, 刘海洋, 欧密, 等. 斑鳢后备亲本体质量与形态性状间的关系分析[J]. 南方农业学报, 2022, 53(12): 3584-3592.]
- [3] Xu T T, Xu D, Liu X W. Recent advances in nutrition physiology of hybrid snakehead (*Channa maculata* ♀×*Channa argus* ♂)[J]. Feed Research, 2021, 44(15): 136-139. [徐田田, 许丹, 刘兴旺. 杂交鳢营养生理研究进展[J]. 饲料研究, 2021, 44(15): 136-139.]
- [4] Li P J, Hou D Q, Zhao H X, et al. Effects of dietary L-arginine or N-carbamoylglutamate on intestinal mucosal morphology and intestinal flora of hybrid snakehead *Channa maculata* ♀×*C. Argus* ♂[J]. Journal of Fisheries of China, 2022, 46(10): 1836-1847. [李培佳, 侯冬强, 赵红霞, 等. 饲料添加 L-精氨酸或 N-羧甲基谷氨酸对杂交鳢肠道黏膜形态和肠道菌群的影响[J]. 水产学报, 2022, 46(10): 1836-1847.]
- [5] Liu L. Construction of paternity technology and screening of SNP markers[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2022. [刘岚. 鳢亲子鉴定技术构建及斑鳢体重相关 SNP 标记的筛选[D]. 上海: 上海海洋大学, 2022.]
- [6] Wang J J, Wang Q, Qin Z, et al. Development of SSR markers from genomic data for *Litopenaeus vannamei* and analysis of genetic diversity in different cultured populations[J]. Journal of Fisheries of China, 2023, 47(6): 64-74. [王佳佳, 王琼, 秦桢, 等. 凡纳滨对虾全基因组 SSR 标记开发及不同养殖群体的遗传多样性[J]. 水产学报, 2023, 47(6): 64-74.]
- [7] Edea Z, Dadi H, Kim S W, et al. Genetic diversity,

- population structure and relationships in indigenous cattle populations of Ethiopia and Korean Hanwoo breeds using SNP markers[J]. *Frontiers in Genetics*, 2013, 4: Article No.35.
- [8] Gao L, Bao X B, Yu S M, et al. Analysis of the genetic characteristics of *Umbonium thomasi* populations along the Yellow and Bohai Seas using GBS[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2020, 27(2): 204-212. [高磊, 鲍相渤, 于思梦, 等. 基于 GBS 技术的黄渤海沿岸托氏瑯螺遗传特征分析[J]. *中国水产科学*, 2020, 27(2): 204-212.]
- [9] Lin L, Wang H, Zeng Q F, et al. Genomic analysis of the genetic diversity and signatures of selection in a bay scallop southern subspecies *Argopecten irradians concentricus*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2023, 30(6): 669-676. [林璐, 王浩, 曾启繁, 等. 海湾扇贝南部亚种遗传多样性和选择特征的基因组学解析[J]. *中国水产科学*, 2023, 30(6): 669-676.]
- [10] Liu K, Feng X Y, Shen Y B, et al. Genetic structure analysis of *Megalobrama terminalis*, *Culter alburnus*, *Chanodichthys mongolicus* and their hybrids based on genotyping by sequencing[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, 45(8): 1307-1316. [刘凯, 冯晓宇, 沈玉帮, 等. 基于基因分型测序(GBS)技术分析鲂鮠鱼类及其杂交子代的遗传结构[J]. *水产学报*, 2021, 45(8): 1307-1316.]
- [11] Zhou Z X, Liu B, Gong J, et al. Phylogeny and population genetics of species in *Takifugu* genus based on mitochondrial genome[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2020, 44(11): 1792-1803. [周志雄, 刘波, 宫杰, 等. 基于线粒体基因组的东方鲀属系统发育学及群体遗传学[J]. *水产学报*, 2020, 44(11): 1792-1803.]
- [12] Liu D Y, Sui J, Kong J, et al. Genetic parameters of larval weight traits of *Litopenaeus vannamei* under low temperature fluctuation[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2022, 29(6): 834-842. [刘东亚, 隋娟, 孔杰, 等. 凡纳滨对虾幼虾体重性状在低温波动环境下的遗传参数分析[J]. *中国水产科学*, 2022, 29(6): 834-842.]
- [13] Sun X W, Liu D Y, Zhang X F, et al. SLAF-seq: An efficient method of large-scale *de novo* SNP discovery and genotyping using high-throughput sequencing[J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e58700.
- [14] Mamat M, Shan W J, Dong P C, et al. Population genetics analysis of Tolai hares (*Lepus tolai*) in Xinjiang, China using genome-wide SNPs from SLAF-seq and mitochondrial markers[J]. *Frontiers in Genetics*, 2023, 13: 1018632.
- [15] Li C X, Liu M X, Sun F J, et al. Genetic divergence and population structure in weedy and cultivated broomcorn millets (*Panicum miliaceum* L.) revealed by specific-locus amplified fragment sequencing (SLAF-seq)[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 688444.
- [16] Jin F P, Zuo P X, Leng Y, et al. Genetic diversity analysis of four populations of *Schizothorax lantsangensis*[J]. *Fisheries Science*, 2022, 41(5): 851-859. [金方彭, 左鹏翔, 冷云, 等. 澜沧裂腹鱼 4 个地理群体遗传多样性分析[J]. *水产科学*, 2022, 41(5): 851-859.]
- [17] Liu Y N, Liu J, Wei S, et al. Analysis of genetic diversity among the farmed *Procambarus clarkii* populations using the SLAF-seq technology[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2021, 52(12): 3265-3273. [刘亚楠, 刘洁, 魏上, 等. 克氏原螯虾养殖群体的 SLAF 测序及遗传多样性分析[J]. *南方农业学报*, 2021, 52(12): 3265-3273.]
- [18] Shan T F, Pang S J, Li J, et al. Construction of a high-density genetic map and mapping of a sex-linked locus for the brown alga *Undaria pinnatifida* (Phaeophyceae) based on large scale marker development by specific length amplified fragment (SLAF) sequencing[J]. *BMC Genomics*, 2015, 16(1): article No.902.
- [19] Zhang S Z, Hu X H, Miao H R, et al. QTL identification for seed weight and size based on a high-density SLAF-seq genetic map in peanut (*Arachis hypogaea* L.)[J]. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1): article No.537.
- [20] Chang Y Q, Ding J, Xu Y H, et al. SLAF-based high-density genetic map construction and QTL mapping for major economic traits in sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): article No.820.
- [21] Kozich J J, Westcott S L, Baxter N T, et al. Development of a dual-index sequencing strategy and curation pipeline for analyzing amplicon sequence data on the MiSeq Illumina sequencing platform[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(17): 5112-5120.
- [22] Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform[J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(14): 1754-1760.
- [23] McKenna A, Hanna M, Banks E, et al. The genome analysis toolkit: A MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data[J]. *Genome Research*, 2010, 20(9): 1297-1303.
- [24] Li H, Handsaker B, Wysoker A, et al. The sequence alignment/map format and SAMtools[J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(16): 2078-2079.
- [25] Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, et al. PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses[J]. *American Journal of Human Genetics*, 2007, 81(3): 559-575.
- [26] Danecek P, Auton A, Abecasis G, et al. The variant call format and VCFtools[J]. *Bioinformatics*, 2011, 27(15): 2156-2158.
- [27] Ortiz E M. vcf2phyloip v2.0: convert a VCF matrix into several matrix formats for phylogenetic analysis[Z]. Zenodo, 2019.
- [28] Alexander D H, Novembre J, Lange K. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals[J]. *Genome Research*, 2009, 19(9): 1655-1664.

- [29] Yang J, Lee S H, Goddard M E, et al. GCTA: A tool for genome-wide complex trait analysis[J]. American Journal of Human Genetics, 2011, 88(1): 76-82.
- [30] Fu J Q, You W W, Luo X, et al. Advances in biology and genetic breeding of *Babylonia*[J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2023, 62(3): 356-364. [付敬强, 游伟伟, 骆轩, 等. 东风螺生物学与遗传育种研究进展[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2023, 62(3): 356-364.]
- [31] Shangguan Q. Species identification analysis on Channidae and genetic structure of *Channa maculata*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020. [上官清. 鳢科鱼类物种鉴定及斑鳢种群遗传研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.]
- [32] van Ba N, Nam L Q, Do D N, et al. An assessment of genetic diversity and population structures of fifteen Vietnamese indigenous pig breeds for supporting the decision making on conservation strategies[J]. Tropical Animal Health and Production, 2020, 52(3): 1033-1041.
- [33] Yoshizawa M, Ashida G, Jeffery W R. Parental genetic effects in a cavefish adaptive behavior explain disparity between nuclear and mitochondrial DNA[J]. Evolution, 2012, 66(9): 2975-2982.
- [34] 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.]
- [35] Xue D, Zhang Q, Gao X C, et al. The analysis of genetic variation based on mtDNA control region sequences of *Channa gachus* in the Lancang River in Yunnan Province and the main rivers in Hainan Province of China[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2015, 39(6): 1107-1116. [薛丹, 章群, 郜星晨, 等. 基于线粒体控制区的云南澜沧江和海南岛主要水系宽额鳢遗传变异分析[J]. 水生生物学报, 2015, 39(6): 1107-1116.]
- [36] Yang X S, Zhang Q, Yu F Y, et al. MtDNA ND2 sequence-based genetic analysis of *Anabas testudineus* from South China and Lancang/Mekong River[J]. South China Fisheries Science, 2017, 13(3): 43-50. [杨喜书, 章群, 余帆洋, 等. 华南 6 水系与澜沧江-湄公河攀鲈线粒体 ND2 基因的遗传多样性分析[J]. 南方水产科学, 2017, 13(3): 43-50.]
- [37] Zhang Y, Ling J, Duan G Q, et al. Genetic diversity and population structure analyses of *Odontobutis potamophila* from different geographic populations in Anhui Province[J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2019, 46(3): 383-388. [张烨, 凌俊, 段国庆, 等. 安徽河川沙塘鳢不同地理群体遗传多样性和遗传结构研究[J]. 安徽农业大学学报, 2019, 46(3): 383-388.]
- [38] Bao S C, Bao T J, Wang S T, et al. Genetic diversity of mitochondrial CO I gene in populations of black carp from the Yangtze River and Pearl River[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2022, 46(7): 933-938. [鲍生成, 包天杰, 王沈同, 等. 基于线粒体 CO I 基因的 9 个青鱼群体遗传变异分析[J]. 水生生物学报, 2022, 46(7): 933-938.]
- [39] Wright S. Genetical structure of populations[J]. Nature, 1950, 166(4215): 247-249.
- [40] Gao T X, Gao B B, Li Z L, et al. Population genetics study of *Leiognathus equulus* based on the control region fragment of mitochondrial DNA[J]. Journal of Fisheries of China, 2020, 44(5): 715-722. [高天翔, 高兵兵, 李忠炉, 等. 基于线粒体 DNA 控制区序列的短棘鲷群体遗传学[J]. 水产学报, 2020, 44(5): 715-722.]
- [41] Shi W R, Wang L, Fang D D, et al. Genetic diversity based on the mitochondrial CO I gene sequences in four populations of *Paramisgurnus dabryanus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2020, 44(2): 179-186. [施文瑞, 王磊, 方冬冬, 等. 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[J]. 水产学报, 2020, 44(2): 179-186.]
- [42] Liang H W, Cao L H, Luo X Z, et al. Genetic diversity of three *Pelodiscus sinensis* strains based on COI gene sequence[J]. Genomics and Applied Biology, 2021, 40(Z3): 2908-2915. [梁宏伟, 曹力欢, 罗相忠, 等. 基于线粒体 COI 基因的中华鳖 3 个品系遗传多样性分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2021, 40(Z3): 2908-2915.]
- [43] Neigel J E. Is F_{st} obsolete?[J]. Conservation Genetics, 2002, 3(2): 167-173.
- [44] Dong Z J, Liu N, Fu J J, et al. Genetic analysis for six wild and selection populations of common carp (*Cyprinus carpio*) using microsatellites[J]. South China Fisheries Science, 2018, 14(4): 46-55. [董在杰, 刘念, 傅建军, 等. 6 个野生与选育鲤群体的微卫星遗传分析[J]. 南方水产科学, 2018, 14(4): 46-55.]
- [45] Fu J J, Gong Y T, Zhu W B, et al. Multiplex PCR sets of microsatellites and their application in genetic analyses for three populations of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2023, 47(9): 1514-1522. [傅建军, 龚雅婷, 朱文彬, 等. 大口黑鲈微卫星多重 PCR 体系及 3 个群体的遗传分析[J]. 水生生物学报, 2023, 47(9): 1514-1522.]
- [46] Bi K R, Gu W, Wang W. Sensitive and rapid detection of freshwater crustacean Spiroplasmas by ISRs-sequence-targeted species-specific primers[J]. European Food Research and Technology, 2008, 227(6): 1733-1737.
- [47] Luo H, Fang D A, He M, et al. Genetic diversity and population structure of *Gymnocypris przewalskii* based on SNP markers[J]. South China Fisheries Science, 2023, 19(1): 86-96. [罗慧, 方弟安, 何苗, 等. 基于 SNP 标记的青海湖裸鲤遗传多样性及种群结构研究[J]. 南方水产科学, 2023, 19(1): 86-96.]
- [48] Li G H, Jin F P, Zhou R, et al. Genetic diversity analysis of natural population of *Schizothorax wangchiachii* based on

SNP markers[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2018, 42(2): 271-276. [李光华, 金方彭, 周睿, 等. 基于 SNP 标记的短须裂腹鱼自然群体遗传多样性分析[J]. 水生生物学报, 2018, 42(2): 271-276.]

[49] Jin F P, Li G H, Leng Y, et al. Genetic diversity analysis of

four *Schizothorax lissolabiatu*s Tsao populations in the middle and upper reaches of the Lancang River[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2021, 45(1): 60-68. [金方彭, 李光华, 冷云, 等. 澜沧江中上游光唇裂腹鱼四个地理群体遗传多样性分析[J]. 水生生物学报, 2021, 45(1): 60-68.]

Genetic structure and diversity analysis of seven wild populations of *Channa maculata* based on SNP markers

CUI Tongxin^{1,2}, LIU Haiyang², ZHANG Jin^{2,3}, OU Mi², LUO Qing², FEI Shuzhan², CHEN Kunci², ZHAO Jian^{1,2,3}

1. School of Fishery, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China;

2. Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China;

3. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: *Channa maculata*, an economically significant freshwater fish in China, has been subject to a limited number of population studies. To explore the genetic diversity of naturally distributed populations of *C. maculata*, single nucleotide polymorphism (SNP) markers were developed and genetically analyzed in seven populations (Yangchun, Guangdong; Huazhou, Guangdong; Nanning, Guangxi; Hezhou, Guangxi; Jianghua, Hunan; Shaowu, Fujian; Taipei, Taiwan) using the simplified genome sequencing technology of SLAF. The findings revealed the detection of 2502887 SNP loci, with an average sequencing depth of 20.19 $\times$, and average Q30 and GC contents of 95.31% and 41.16%, respectively. Population genetic structure analysis revealed individual clustering of all seven populations, each with a distinct genetic structure. The polymorphic information content of the seven *C. maculata* populations was 0.2672–0.2872, the expected heterozygosity (H_e) was 0.3304–0.3580, and the observed heterozygosity (H_o) was 0.2145–0.3393. The populations had a medium level of genetic diversity. The genetic differentiation index (F_{st}) was 0.15300–0.78658 and the gene flow (N_m) was 0.24118–0.62035, showing a medium-high genetic differentiation status among populations. Phylogenetic analysis revealed that the Hezhou population was most closely related to the Jianghua population. Given their close geographical proximity in Guangxi and Hunan, the Hezhou and Huazhou populations can be considered part of the same population unit. The Taipei group exhibited the smallest differences in H_e and H_o , indicating a high degree of genetic purity. Conversely, both the Hezhou and Huazhou groups displayed lower H_o than H_e and substantial differences. Furthermore, the seven populations exhibited high genetic differentiation from each other, with the Taipei group showing extreme differentiation, likely due to the strait's isolation effect. This study elucidated the genetic background and relationships among wild *C. maculata* populations across various regions, and serves as a valuable reference for the strategic utilization of spotted snakehead germplasm resources and genetic breeding endeavors. Particular emphasis should be placed on introducing new lineages in future breeding efforts to enhance genetic diversity within *C. maculata* populations and facilitate the rational exploitation of *C. maculata* germplasm resources.

Key words: *Channa maculata*; SNP; genetic structure; genetic diversity

Corresponding author: ZHAO Jian. E-mail: zhaojian@prfri.ac.cn