

青鱼生长相关SNP标记在不同地理群体中的验证

郭加民, 徐晓雁, 李家乐, 沈玉帮

Verification of black carp growth-related SNP marker in different geographical populations

GUO Jiamin, XU Xiaoyan, LI Jiale, SHEN Yubang

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12024/jsou.20220703922>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

[基于线粒体基因标记的太平洋褶柔鱼群体遗传结构及变异分析](#)

Genetic variation and genetic structure analysis of *Todarodes pacificus* based on mitochondrial DNA markers

上海海洋大学学报. 2021, 30(4): 763 <https://doi.org/10.12024/jsou.20200703103>

[基于线粒体Cytb序列的3个宽体金线蛭群体遗传多样性分析](#)

Genetic diversity analysis of three populations of *Whitmania pigra* Whitman based on mitochondrial Cytb gene

上海海洋大学学报. 2020, 29(1): 9 <https://doi.org/10.12024/jsou.20181102429>

[基于Cytb基因的江苏省大银鱼种群遗传多样性和遗传结构分析](#)

Genetic diversity and population structure of *Protosalanx hyalocranius* in Jiangsu Province based on Cytb gene sequences

上海海洋大学学报. 2021, 30(3): 416 <https://doi.org/10.12024/jsou.20190702720>

[云南澜沧江上游短尾高原鳅遗传多样性分析](#)

Genetic diversity analysis of *Triplophysa brevicauda* in the upper reaches of Lancang River in Yunnan Province

上海海洋大学学报. 2022, 31(1): 52 <https://doi.org/10.12024/jsou.20201203236>

[鳍棘鲷放流苗种的遗传质量评估](#)

Genetic Quality Evaluation of *Acanthopagrus latus* for Stock Enhancement

上海海洋大学学报. 2021, 41(3): 138 <https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-9159.2021.03.018>

文章编号: 1674-5566(2022)05-1089-08

DOI:10.12024/jsou.20220703922

青鱼生长相关 SNP 标记在不同地理群体中的验证

郭加民¹, 徐晓雁^{1,2,3}, 李家乐^{1,2,3}, 沈玉帮^{1,2,3}

(1. 上海海洋大学 农业农村部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306; 3. 上海海洋大学 水产动物遗传育种中心上海市协同创新中心, 上海 201306)

摘要: 单核苷酸多态性分子标记 (single nucleotide polymorphism, SNP) 是目前常用的分子标记辅助育种的工具之一。本研究在前期构建的青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*) 高密度连锁图谱和 QTL 定位结果的基础上, 利用体质量 QTL 区间中的 2 个 SNP 标记在 3 个青鱼群体中进行验证, 目的是为了检测通过 QTL 定位得到的 SNP 是否存在并能应用于其他地理群体, 利用对分子标记的侧翼序列进行基因型组成分析、遗传多样性分析及中性检验等方法, 对 3 个群体的 2 个 SNP 侧翼序列进行分析。遗传多样性结果显示, snp8107 的扩展片段的单倍型多样性 (H_d) 在邗江群体、湘江群体和石首群体中分别为 0.782、0.515 和 0.497; 各位点的观测杂合度 (H_o) 为 0.067~0.533, 平均为 0.239; 期望杂合度 (H_e) 为 0.127~0.506, 平均为 0.306; 多态信息含量 (PIC) 为 0.117~0.374, 平均为 0.246。中性检验显示 3 个群体在历史上可能发生过瓶颈效应导致稀有等位基因丢失的现象, 结合遗传多样性结果推测, 邗江群体在经历瓶颈效应后保留下来的稀有等位基因更多, 最终得出结论邗江群体是适合进行遗传改良的最优群体。

关键词: 青鱼; SNP; 遗传多样性; 中性检验

中图分类号: S 917 **文献标志码:** A

青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*), 是我国四大家鱼中唯一的肉食性鱼类, 也是我国养殖较为广泛的鱼类之一^[1-3]。2021 年我国青鱼养殖产量约 71.66 万 t, 相比 2020 年产量增长了 3.17%^[4]。青鱼具有体型大、肉质鲜美等特点, 市场需求较高, 常用于鱼干腌制^[5], 同时也被引进到美国等地用于河道治理^[6]。作为我国的重要养殖物种, 在过去的几十年受全球气候变化、生态环境破坏等因素的影响, 天然水域的优良种质资源逐渐减少^[7]。而在青鱼养殖业中也存在许多问题, 如在育苗过程中忽视对种质资源的管理, 使用来源不明、遗传背景不明确的青鱼作为亲本, 近亲交配及品种混杂等, 这些问题最终导致了生长速度减慢、抗逆性降低、个体变小等种质资源退化现象, 严重影响了我国青鱼养殖业的发展^[8]。因此, 为实现青鱼养殖业的健康、稳定和可持续发展, 一个有效的方法就是采用遗传学手段, 发掘与优良性状相关的分子标记, 找出优势基因型来构建优

良群体或家系, 从而实现对青鱼的遗传改良^[8]。但目前, 鲜有关于青鱼遗传育种的报道。

先前的研究中我们对邗江、湘江和石首群体进行了养殖实验^[9], 比较了 3 个不同地理群体生长差异性, 但该结果只是从表型上评估出了 3 个群体的生长性能差异, 其分子组成方面的差异尚不清楚。之后, 我们对青鱼的生长相关性状进行了 QTL 定位^[10], 在 QTL 区间中开发出 2 个与体质量相关的 SNP, 由于 QTL 定位的结果是基于特定的家系产生, 尚不明确所定位到的 QTL 区间及开发出的相关分子标记是否适用于其他家系或群体。

本研究以石首、邗江和湘江青鱼为实验材料, 利用先前研究^[10]所开发出的与体质量相关的 SNP 及序列片段, 结合通过 3 个群体的养殖实验得到的结果^[9], 采用基因型分析、遗传多样性和中性检验等方法, 目的是为了验证通过 QTL 定位得到的体质量和体长相关 SNP 标记是否存在

收稿日期: 2022-07-06 修回日期: 2022-08-26

基金项目: 现代农业产业技术体系项目 (CARS-45-03); 上海科学技术委员会长三角科技创新共同体领域项目 (21002410500)

作者简介: 郭加民 (1997—), 男, 硕士研究生, 研究方向为青鱼遗传育种与苗种工程。E-mail: guojiamin2589@163.com

通信作者: 沈玉帮, E-mail: ybshen@shou.edu.cn

并能应用于其他群体,从遗传和群体动态角度阐述了邗江群体具有育种价值的分子基础并分析了先前养殖实验中不同地理群体的青鱼存在生长差异的原因,为今后青鱼良种选育提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

青鱼实验群体分别取自湖北石首、江苏邗江和湖南湘江的国家四大家鱼原种场,每个地理群体样本数量为 30,位置信息如(表 1),取鳍条置于无水乙醇,保存在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。

1.2 总 DNA 提取

参照 YUE 等^[11]用 96 孔过滤板提取 DNA 的方法。剪取大小相同的鳍条组织,置于 1.5 mL

离心管中,在加入 300 μL SET 缓冲液和 50 mg 蛋白酶 K (10 $\text{mg}/\mu\text{L}$) 后颠倒混匀,简短离心后置于 $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的水浴锅中加热 3~4 h 以充分溶解鳍条样本;向上层 96 孔过滤板中加入 180 μL 现配的 6 mol/L NaI 溶液和 60 μL 溶解后的裂解液,废液由下层的 96 孔细胞培养板收集, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 4 000 r/min 离心 2 min 后弃去废液;向上层过滤板中加入 240 μL 漂洗缓冲液后 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 4 000 r/min 离心 2 min 后弃去废液;室温等待 2~5 min 以晾干过滤板中的酒精;最后加入 120 μL 的双蒸水(ddH₂O)并等待 5~15 min 以充分溶解 DNA;更换下层 96 孔细胞培养板后 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 4 000 r/min 离心 2 min 以收集 DNA;所提 DNA 的浓度采用 NanoDrop 2000C 型分光光度仪检测,最后将所提 DNA 样本置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

表 1 样本采集地信息
Tab. 1 Information of sample collection site

采集地 Sample site	原种场名称 Originally breeding place	经纬度 Longitude, Latitude	样本数 Number
湖北石首 Shishou, Hubei Province	湖北石首老河长江四大家鱼原种场	112.48E, 29.84N	30
湖南湘江 Xiangjiang, Hunan Province	湖南省鱼类原种场	113.01E, 28.28N	30
江苏邗江 Hanjiang, Jiangsu Province	江苏邗江长江系家鱼原种场	119.43E, 32.35N	30

1.3 引物设计

选取先前研究^[10]体质量 QTL 区间中的分子标记 snp8107 和 snp9562,利用开发分子标记时包含所有分子标记信息的中间文件,找到 SNP 在 scaffold 上的位置并制作用于后续序列提取所需要的 bed 文件,提取序列的范围为 SNP 标记的左右 300 bp 碱基,首先利用软件 BWA (v 0.7.17)^[12]构建青鱼参考基因组索引,通过 bedtools 提取出 bed 文件中要求的序列。软件

Primer Premier 5 用于引物的设计,要求扩增出的片段包含 SNP 位点。

1.4 SNP 分型

鳍条样本在进行 DNA 提取后,对目标序列进行 PCR 扩增,引物的详细信息如表 2。通过琼脂糖凝胶电泳检查每个样本扩增出片段的长度和条带的清晰度,检查后交由上海迈浦生物科技有限公司进行 Sanger 测序,根据测序峰图判断分子标记处的碱基类型。

表 2 SNP 位点信息及引物序列
Tab. 2 SNP site information and the sequence of primer

标记名称 Marker name	位置 Position/bp	SNP 类型 SNP type	引物序列 Primers sequence(5'-3')	退火温度 $T_m/^{\circ}\text{C}$	产物大小 Size/ bp
snp9562	1 232	G/A	S:5'-CTATCAGCACACTCACCACATT-3' A:5'-CAGACCACAATGCTCTTC-3'	56.5	274
snp8107	2 486	A/G	S:5'-TGGTCTGCTGTGTTCTCCTC-3' A:5'-CGGTGTGGATGAACAGACTC-3'	55.5	437

1.5 数据分析

使用软件 Senquencher (v5.4.6) 对测序结果进行多序列比对、删除首尾测序错误区域,单倍

型数 h 、单倍型多样性 H_d 及核苷酸多样性 $\Pi(P_i)$ 等遗传多样性参数由软件 dnasp 5.0 完成,中性进化分析(Tajima Test)由软件 dnasp 5.0 完成。

2 结果

2.1 SNP 分型结果及基因型分析

所有 SNP 的突变方式均为转换突变, snp8107 位置为 A/G, snp9562 位置为 G/A, 将 snp8107 的 AA 型和 snp9562 的 GG 型统一命名为 AA 型, snp8107 的 GG 型和 snp9562 的 AA 型

统一命名为 BB 型, snp8107 的 AG 型和 snp9562 的 GA 型统一命名为 AB 型。2 个 SNP 在不同群体中的基因频率和基因型频率如表 3。邗江群体的等位基因 A (A 基因型) 的频率最高, 达到 95%, 等位基因 G (B 基因型) 的基因频率最低, 为 5%。

表 3 各群体青鱼的基因型及等位基因频率统计

Tab.3 Genotype and frequency of SNP site in each population.

位点名称 Locus name	群体名称 Population	基因型频率 Genotype frequency			基因频率 Gene frequency	
		AA	AB	BB	A	B
snp8107	邗江群体 Hanjiang	0.90(27)	0.10(3)	0	0.95	0.05
	湘江群体 Xiangjiang	0.77(23)	0.23(7)	0	0.88	0.12
	石首群体 Shishou	0.77(23)	0.17(5)	0.07(2)	0.85	0.15
snp9562	邗江群体 Hanjiang	0.67(20)	0.33(10)	0	0.83	0.17
	湘江群体 Xiangjiang	0.43(13)	0	0.57(17)	0.43	0.57
	石首群体 Shishou	0.37(11)	0.53(16)	0.10(3)	0.63	0.37

2.2 遗传多样性分析

dnasp5、Cervus 用于遗传多样性分析和多态性分析, 结果见表 4 和表 5, 邗江 snp8107 侧翼序列片段的单倍型数量最多, 核苷酸多样性达到 0.003 29; 湘江 snp8107 侧翼序列片段的单倍型数量最少, 核苷酸多样性为 0.001 60。检测到 snp9562 侧翼序列片段在 3 个群体中具有相同的单倍型数, 但湘江群体的核苷酸多样性最高, 达到 0.003 30, 邗江群体最低, 核苷酸多样性为

0.001 32。对 3 个群体的 2 个 SNP 位点进行多态性分析, 结果显示在 3 个不同群体中, snp9562 位点的多态信息含量 (polymorphic information content, PIC) 高于 snp8107 位点, snp9562 位点的预期杂合度 (expected heterozygosity, H_e) 高于 snp8107 位点。在观测杂合度 (observed heterozygosity, H_o) 方面除湘江群体外, 其他两个群体的 snp9562 位点的观测杂合度均高于 snp8107 位点。

表 4 包含 2 个 SNP 标记的片段在 3 种群体中的遗传多样性

Tab.4 Genetic diversity of fragments containing two SNP markers in three populations

片段名称 Fragment name	样品数 N	单倍型数 h	单倍型多样性 H_d	核苷酸多样性 $\Pi(P_i)$	平均核苷酸 差异数 K
石首 snp8107 侧翼序列 Shishou snp8107 flanking sequence	30	3	0.497	0.001 83	0.589
湘江 snp8107 侧翼序列 Xiangjiang snp8107 flanking sequence	30	2	0.515	0.001 60	0.515
邗江 snp8107 侧翼序列 Hanjiang snp8107 flanking sequence	30	6	0.782	0.003 29	1.214
石首 snp9562 侧翼序列 Shishou snp9562 flanking sequence	30	2	0.480	0.002 75	0.480
湘江 snp9562 侧翼序列 Xiangjiang snp9562 flanking sequence	30	2	0.508	0.003 30	0.508
邗江 snp9562 侧翼序列 Hanjiang snp9562 flanking sequence	30	2	0.239	0.001 32	0.239

2.3 中性检验 Tajima Test

分别将石首、湘江和邗江的 snp8107、snp9562 位点侧翼序列片段整合, Tajima Test、Fu and Li's

D & F test 采用软件 dnasp 5.0 进行, 结果如表 6, 其中 snp8107 和 snp9562 侧翼序列片段的 D 值显著偏离 0。

表 5 各群体中 snp8107 和 snp9562 位点的多态性分析

Tab. 5 Polymorphism analysis of fragments snp8107 and snp9562 in each population

群体名称 Population name	位点 Locus	观测杂合度 H_o	预期杂合度 H_e	多态信息含量 PIC	无效等位基因频率 Null allele frequency F
邗江群体 Hanjiang	snp8107	0.133	0.127	0.127	-0.025 8
	snp9562	0.300	0.259	0.222	-0.077 8
湘江群体 Xiangjiang	snp8107	0.233	0.21	0.185	-0.056 7
	snp9562	0.067	0.506	0.374	0.763 7
石首群体 Shishou	snp8107	0.167	0.259	0.222	0.209 4
	snp9562	0.533	0.472	0.357	-0.069 0

表 6 2 个多态性位点片段的中性检验

Tab. 6 Tajima test of two polymorphic site fragments

片段名称 Fragment name	Tajima's D test		Fu and Li's D test		Fu and Li's F test	
	D	P	D	P	F	P
snp8107 侧翼序列 snp8107 flanking sequence	4.161 76	$P < 0.001$	2.503 34	$P < 0.02$	3.851 10	$P < 0.02$
snp9562 侧翼序列 snp9562 flanking sequence	4.129 36	$P < 0.001$	2.208 21	$P < 0.02$	3.581 42	$P < 0.02$
平均值 Mean	4.145 56	$P < 0.001$	2.355 78	$P < 0.02$	3.716 26	$P < 0.02$

2.4 表型与基因型关联分析

部分基因型与生长数据的关联分析见表 7 ~ 10(石首生长数据缺失),湘江群体在 snp8107 处检测到 AA、AG 两种单倍型,在 snp9562 处检测到 AA、GG 两种单倍型,其中 snp8107 的 AG 型和 snp9562 的 AA 型在体质量和体长的平均值上呈现优势(表 7);邗江群体在 snp8107 处检测到

AA、AG 两种单倍型,在 snp9562 处检测到 GG、GA 两种单倍型(表 8)。湘江群体 snp8107 和 snp9562 组合成的二倍型 D3(AGAA)在体质量和体长上存在优势,邗江群体中二倍型 D1(AAGA)与 D3(AGGA)在体质量和体长平均值上差异显著($P < 0.05$),见表 10。

表 7 湘江群体不同基因型与生长性状的关联分析

Tab. 7 Association analysis between different genotypes and growth traits in Xiangjiang population

SNP 位点 SNP Locus	单倍型 Haplotype	数量 Number	体质量 Body mass	体长 Body length
snp8107	AA	23	480.526 ± 182.133	30.257 ± 3.432
	AG	7	566.057 ± 184.948	31.729 ± 3.579
snp9562	AA	17	516.318 ± 160.855	30.776 ± 3.305
	GG	13	479.777 ± 214.177	30.546 ± 3.774

注:生长数据以平均值 ± 标准差表示,单倍型不足 3 种无法进行多重比较。

Notes: growth data were expressed as mean ± standard deviation, and multiple comparisons cannot be performed because there were less than 3 haplotypes.

表 8 邗江群体不同基因型与生长性状的关联分析

Tab. 8 Association analysis between different genotypes and growth traits in Hanjiang population

SNP 位点 SNP Locus	单倍型 Haplotype	数量 Number	体质量 Body mass	体长 Body length
snp8107	AA	27	113.107 ± 63.723	18.063 ± 3.646
	AG	3	51.733 ± 2.743	14.167 ± 0.153
snp9562	GG	20	106.035 ± 64.540	17.69 ± 3.796
	GA	10	108.84 ± 63.740	17.64 ± 3.540

表 9 湘江群体 snp8107 和 snp9562 位点组成的二倍型和生长性状的关联分析

Tab.9 Analysis of double genotypes of snp8107 and snp9562 with growth traits in Xiangjiang population

二倍型 Diploypes	SNP 位点 SNP locus		数量 Number	体质量 Body mass	体长 Body length
	snp8107	snp9562			
D1	AA	AA	10	481.500 ± 133.909 ^a	30.110 ± 3.112 ^a
D2	AA	GG	13	479.777 ± 214.177 ^a	30.546 ± 3.774 ^a
D3	AG	AA	7	566.057 ± 184.948 ^a	31.729 ± 3.580 ^a

注:同列数字上不同小写字母表示群体间差异显著($P < 0.05$)。

Notes: Values with different superscript letters within a column are significantly different at 0.05 level.

表 10 邗江群体 snp8107 和 snp9562 位点组成的二倍型和生长性状的关联分析

Tab.10 Analysis of double genotypes of snp8107 and snp9562 with growth traits in Hanjiang population

二倍型 Diploypes	SNP 位点 SNP locus		数量 Number	体质量 Body mass	体长 Body length
	snp8107	snp9562			
D1	AA	GA	7	133.314 ± 61.337 ^a	19.129 ± 3.189 ^a
D2	AA	GG	20	106.035 ± 64.540 ^{ab}	17.690 ± 3.796 ^{ab}
D3	AG	GA	3	51.733 ± 2.743 ^b	14.167 ± 0.153 ^b

注:同列数字上不同小写字母表示群体间差异显著($P < 0.05$)。

Notes: Values with different superscript letters within a column are significantly different at 0.05 level.

3 讨论

从基因或基因组与性状的关系中获得的标记是目前选择育种工作中的重要工具,受 QTL 作图区间大小和环境因素的影响,可能会导致对 QTL 效应评估发生偏离,使得在实验群体或家系中定位到的 QTL 可能不适用于另一个家系或者群体。因此想要成功应用到分子标记辅助育种(MAS)当中,就必须对定位到的 QTL 进行验证。目前,水产上已有很多关于对 QTL 定位结果验证的报道,余成晨等^[13]利用 4 个侧翼微卫星标记对前期在草鱼 1 号连锁群中发现的与生长性状相关的 QTL 进行了验证,分别在雌鱼和雄鱼中发现了与体质量和体长相关的优势基因型。韦国建等^[14]利用马氏珠母贝(*Pinctada martensii*) QTL 区间中的 2 个与生长性状相关 SNP 位点,对 2 个不同养殖群体进行了关联分析,验证了 QTL 定位结果。本研究在前期高密度遗传连锁图谱和 QTL 分析获得的 SNP 位点的基础上,对不同地理群体是否同样存在并能应用该 SNP 进行初步验证,发现在不同地理群体中均可使用先前所开发出的分子标记,并可利用表型与不同基因型间的多重比较来估计不同地理群体的优势基因型。但限于样本数量,一些低频的等位基因未被检测到。因此,今后的研究中应首先扩大实验群体数量,尽可能检测出所有基因型,从而提高优势基因型的准确性。总之,本研究结果说明先前所开

发的分子标记并不是特定地理条件下某个家系或群体所特有的,可能是普遍存在的,这也将为今后在不同水系的扩展群体中进一步验证及应用提供参考。

生物在不同水平上所体现出的遗传多样性本质上是由遗传物质产生的可遗传变异逐渐积累所致。遗传多样性具有多方面、多层次的表现形式,但不同物种的基因库和遗传组织形式往往有所不同,因此,遗传多样性的本质实际上就是 DNA 的多样性。遗传多样性是漫长进化的产物,也是生物生存适应和发展进化的前提。一个物种的遗传多样性越高或越丰富,越容易产生适应环境的突变,这也代表着该物种对环境的适应性越强,越容易适应新的环境和扩展种群范围。有研究^[15]表明,物种进化的速率越快其产生的遗传变异就越多,因此,这也有助于对研究物种的进化和未来命运提供参考。目前,在鱼类的遗传多样性研究方面,常用的手段之一是利用在线粒体 D-Loop 区基因序列中检测出的 SSR 或 SNP 变异位点,通过计算等位基因数(allele number)、观测杂合度、期望杂合度、多态信息含量等指标的大小,完成对群体进行遗传多样性检测和种群结构的分析^[16-17],如鲢鱼^[18]、黄姑鱼(*Nibea albiflora*)^[19]、草鱼^[20]等。谢启明等^[21]利用 SNP 标记对 5 个鳊鱼养殖群体的线粒体 D-loop 区进行了遗传多样性分析,发现 5 个群体可能经历过瓶颈事件,养殖群体的单倍型多样性与核苷酸多

样性有较多的流失。纪达等^[22],采用线粒体 D-loop 区基因结合 *Cyt b* 基因测序分析方法,对贵州省 5 个地理种群金背鲤 (*Cyprinus carpio var. Jinbei*) 进行了遗传多样性与遗传结构分析,发现贵州金背鲤的总体遗传多样性适中,中性检验结果表明群体在历史上未出现种群扩张。王丰等^[23]利用微卫星标记对包含邗江群体在内的 4 个野生群体和 1 个吴江养殖群体进行遗传多样性分析,结果显示邗江群体遗传多样性最高,吴江养殖群体遗传多样性最低。本研究对 3 个群体的遗传多样性分析结果显示:在包含体质量性状效应最高的分子标记 snp8107 的序列片段中,邗江群体较其他 2 个群体呈现出较高的遗传多样性,石首群体次之,湘江群体最少,表明邗江群体已在体质量方面对环境产生了适应性变异,因此具有良好的育种潜力,苏玉红等^[9]通过养殖实验测量初始时体质量和终止时体质量对邗江、石首、湘江 3 个群体进行了比较分析,通过比较增重率及特定增重率等参数,同样得到了邗江群体可在育种实验中作为重要的选育群体的结果,本研究的结果可作为对先前研究的进一步佐证。

中性进化学说在分子水平上阐明了生物的进化机制,强调是生物分子本身随机的自由组合,分子进化的方向同样也与环境与自然选择无关,即没有任何外界的因素来诱导生物进化的方向,进化的方向是完全随机的。水产上常采用线粒体 *Cyt b* 等基因序列进行中性检验^[24],如杨金权等^[25]利用线粒体控制区全序列进行中性检验,估计出长江及其南部邻近水域刀鲚 (*Coilia nasus*) 约在 0.17 ~ 0.13 百万年前发生过种群扩张。杨彦平等^[26]对长江刀鲚群体进行中性检验后发现长江刀鲚群体积累了较多的低频率突变,佐证了之前的研究。本研究利用 SNP 侧翼序列对 3 个群体进行 Tajima 检测,结果中总体的 *D* 值显著大于 0,由此可以推断种群间可能存在瓶颈效应或平衡选择,即在世代交替的过程中,种群在经历瓶颈时可能导致稀有等位基因的丢失或发生过中等频率等位基因占主导的平衡选择现象。在 3 个群体基因型频率和等位基因频率的比较中发现邗江群体和湘江群体中存在缺失或者含量极低的基因型,因此可以推断种群间极有可能发生过瓶颈效应使得稀有等位基因丢失。另外,在遗传多样性比较中,邗江群体总的平均

核苷酸差异数要大于其他群体,同时遗传多样性也高于其他群体。因此,可以推测这 3 个种群在经历瓶颈效应时,邗江群体的稀有等位基因丢失的最少,保留下来的稀有等位基因数量越多,遗传多样性就越高,物种对环境的适应能力就越强,也越容易扩大其生存范围,这也说明了邗江群体蕴含着较大的进化潜力和具备较强的育种及遗传改良的能力。

参考文献:

- [1] ZHANG J H, SHEN Y B, XU X Y, et al. Transcriptome analysis of the liver and muscle tissues of black carp (*Mylopharyngodon piceus*) of different growth rates [J]. *Marine Biotechnology*, 2020, 22(5): 706-716.
- [2] 陈书健,吴成龙,叶金云,等. 饲料中维生素 A 对青鱼幼鱼生长、血清生化指标和肝脏糖脂代谢酶活性及基因表达的影响[J]. *水产学报*, 2020, 44(1): 85-98.
CHEN S J, WU C L, YE J Y, et al. Effect of dietary vitamin A on growth, serum biochemical index, digestive enzyme activities and glucose and lipid metabolism in juvenile *Mylopharyngodon piceus* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2020, 44(1): 85-98.
- [3] 周丰林,陶丽竹,王安琪,等. 养殖青鱼组织状态评估及肠道消化酶和抗氧化酶分布特征[J]. *上海海洋大学学报*, 2021, 30(2): 205-213.
ZHOU F L, TAO L Z, WANG A Q, et al. Evaluation of tissue status of cultured black carp and distribution characteristics of digestive enzyme and antioxidant enzyme in the intestine [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2021, 30(2): 205-213.
- [4] 农业农村部渔业渔政管理局,全国水产技术推广总站,中国水产学会. 2022 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2022.
Fisheries and Fisheries Administration Bureau of the Ministry of Agriculture and Rural Areas, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. *China fishery statistical yearbook-2022* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2022.
- [5] 陈实,柳琳,王逸鑫,等. 不同盐度腌制下青鱼品质变化[J]. *上海海洋大学学报*, 2021, 30(6): 1153-1163.
CHEN S, LIU L, WANG Y X, et al. Quality change of *Mylopharyngodon piceus* salted at different brine concentrations [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2021, 30(6): 1153-1163.
- [6] ZHOU Y, TONG J G, WANG J R, et al. Development of microsatellite markers and genetic diversity in wild and cultured populations of black carp (*Mylopharyngodon piceus*) along the Yangtze River [J]. *Aquaculture International*, 2020, 28(5): 1867-1882.
- [7] 刘绍平,段辛斌,陈大庆,等. 长江中游渔业资源现状研

- 究[J]. 水生生物学报, 2005, 29(6): 708-711.
- LIU S P, DUAN X B, CHEN D Q, et al. Studies on status of fishery resources in the middle reach of the Yangtze river [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2005, 29(6): 708-711.
- [8] 刘英杰, 刘永新, 方辉, 等. 我国水产种质资源的研究现状与展望[J]. 水产学杂志, 2015, 28(5): 48-55, 60.
- LIU Y J, LIU Y X, FANG H, et al. Advances and prospect in research on aquaculture germplasm resources in China [J]. Chinese Journal of Fisheries, 2015, 28(5): 48-55, 60.
- [9] 苏玉红, 沈玉帮, 鲍生成, 等. 青鱼不同地理群体生长差异比较分析[J]. 淡水渔业, 2021, 51(3): 20-26.
- SU Y H, SHEN Y B, BAO S C, et al. Comparative analysis on the growth difference of different geographic populations of *Mylopharyngodon piceus* [J]. Freshwater Fisheries, 2021, 51(3): 20-26.
- [10] GUO J M, WANG A Q, MAO S Q, et al. Construction of high-density genetic linkage map and QTL mapping for growth performance in black carp (*Mylopharyngodon piceus*) [J]. Aquaculture, 2022, 549: 737799.
- [11] YUE G H, ORBAN L. A simple and affordable method for high-throughput DNA extraction from animal tissues for polymerase chain reaction [J]. Electrophoresis, 2005, 26(16): 3081-3083.
- [12] LI H, DURBIN R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform [J]. Bioinformatics, 2009, 25(14): 1754-1760.
- [13] 余成晨, 沈玉帮, 徐晓雁, 等. 草鱼生长相关的微卫星标记在选育群体中的验证[J]. 水产学报, 2021, 45(3): 321-332.
- YU C C, SHEN Y B, XU X Y, et al. Verification of microsatellite markers associated with growth traits in selected populations of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2021, 45(3): 321-332.
- [14] 韦国建, 刘文广, 林坚士, 等. 马氏珠母贝两个与生长性状相关 QTL 的验证[J]. 海洋科学, 2015, 39(11): 13-19.
- WEI G J, LIU W G, LIN J S, et al. Verification of two QTL associated with growth traits of pear oyster *Pinctada martensii dunker* [J]. Marine Sciences, 2015, 39(11): 13-19.
- [15] 沈浩, 刘登义. 遗传多样性概述[J]. 生物学杂志, 2001, 18(3): 5-7, 4.
- SHEN H, LIU D Y. Summary of genetic diversity [J]. Journal of Biology, 2001, 18(3): 5-7, 4.
- [16] 毛思琦, 鲍生成, 徐晓雁, 等. 青鱼线粒体 ND4L 的 SNP 筛选及在两种体色群体中的分布[J/OL]. 水产学报, 2021: 1-7. (2021-11-03). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?dbcode=CJFQ&dbname=CAPJLAST&filename=SCKX20211101000>.
- MAO S Q, BAO S C, XU X Y, et al. Screening of SNP markers of mitochondrial ND4L gene in black carp (*Mylopharyngodon piceus*) and their frequencies in two different body color populations [J/OL]. Journal of Fisheries of China, 2021: 1-7. (2021-11-03). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?dbcode=CJFQ&dbname=CAPJLAST&filename=SCKX20211101000>.
- [17] BAO S C, XIE N, XU X Y, et al. Complete mitochondrial genome of gray black carp (*Mylopharyngodon piceus*) [J]. Mitochondrial DNA Part B, 2020, 5(3): 2076-2077.
- [18] 罗宇婷, 方弟安, 周彦锋, 等. 基于微卫星标记对长江下游鲢遗传多样性现状的分析[J]. 南方水产科学, 2021, 17(6): 48-57.
- LUO Y T, FANG D A, ZHOU Y F, et al. Genetic diversity of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) in lower reaches of Yangtze River based on microsatellite markers [J]. South China Fisheries Science, 2021, 17(6): 48-57.
- [19] 赵祥, 郑建, 高天翔, 等. 基于线粒体 DNA 控制区的黄姑鱼养殖群体与野生群体比较研究[J]. 中国海洋大学学报, 2021, 51(8): 11-19.
- ZHAO X, ZHENG J, GAO T X, et al. Comparative analysis of genetic variation between cultured and wild populations of *Nibea albiflora* based on Mitochondrial DNA control region [J]. Periodical of Ocean University of China, 2021, 51(8): 11-19.
- [20] 王沈同, 张猛, 党云飞, 等. 草鱼野生与选育群体线粒体 DNA 控制区 D-loop 遗传变异分析[J]. 水生生物学报, 2017, 41(5): 947-955.
- WANG S T, ZHANG M, DANG Y F, et al. Genetic variation of Mitochondrial DNA D-loop region in wild and breeding populations of grass carp [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2017, 41(5): 947-955.
- [21] 谢启明, 柯瑞林, 刘帆, 等. 基于线粒体 D-loop 区分析安徽省 5 个翘嘴鳊养殖群体的遗传多样性[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(9): 143-147.
- XIE Q M, KE R L, LIU F, et al. Study on genetic diversity of five cultured populations of *Siniperca chuatsi* based on D-loop region of mitochondrial DNA [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2021, 49(9): 143-147.
- [22] 纪达, 许劲松, 姚俊杰, 等. 贵州省 5 个金背鲤 (*Cyprinus carpio* var. *Jinbei*) 地理种群的遗传多样性与遗传结构分析[J]. 水产学杂志, 2021: 1-10. (2021-11-04). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?dbcode=CJFQ&dbname=SCXZ20211101001>.
- JI D, XU J S, YAO J J, et al. Genetic diversity and genetic structure analysis of five geographical populations of Jinbei common carp (*Cyprinus carpio* var. *Jinbei*) in Guizhou province [J]. Chinese Journal of Fisheries, 2021: 1-10. (2021-11-04). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?dbcode=CJFQ&dbname=SCXZ20211101001>.
- [23] 王丰, 张家华, 沈玉帮, 等. 青鱼野生与养殖群体遗传变异的微卫星分析[J]. 水生生物学报, 2019, 43(5): 939-944.
- WANG F, ZHANG J H, SHEN Y B, et al. Microsatellite

- analysis of genetic variation of wild and cultural populations in black carp (*Mylopharyngodon piceus*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, 43(5): 939-944.
- [24] 李大命, 刘洋, 唐晟凯, 等. 基于 *Cytb* 基因的太湖鲌类国家级水产种质资源保护区 3 种鲌鱼的遗传多样性分析 [J]. *水产科技情报*, 2022, 49(1): 1-7.
- LI D M, LIU Y, TANG S K, et al. Genetic diversity of three *Culter* species in national aquatic germplasm resource conservation area of Ge Lake based on *Cytb* gene sequence [J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2022, 49(1): 1-7.
- [25] 杨金权, 胡雪莲, 唐文乔. 长江及其南部邻近水域刀鲂的种群遗传结构及种群历史 [J]. *上海水产大学学报*, 2008, 17(5): 513-519.
- YANG J Q, HU X L, TANG W Q, et al. Genetic structure and population history of *Coilia nasus* in Yangtze river and its south adjacent waters [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2008, 17(5): 513-519.
- [26] 杨彦平, 许萌原, 马凤娇, 等. 基于线粒体 *Cyt b* 基因的长江刀鲂群体遗传结构分析 [J]. *江西农业学报*, 2021, 33(8): 11-16, 23.
- YANG Y P, XU M Y, MA F J, et al. Analysis of population genetic structure of *Coilia nasus* based on mitochondrial *Cyt b* Gene [J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2021, 33(8): 11-16, 23.

Verification of black carp growth-related SNP marker in different geographical populations

GUO Jiamin¹, XU Xiaoyan^{1,2,3}, LI Jiale^{1,2,3}, SHEN Yubang^{1,2,3}

(1. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306 China; 2. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Shanghai Collaborative Innovation for Aquatic Animal Genetics and Breeding, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Single nucleotide polymorphism (SNP) is one of the commonly used molecular marker-assisted breeding tools. In this study, based on the high-density linkage map and QTL mapping results of black carp (*Mylopharyngodon piceus*) in previous study, two SNP molecular markers at the body weight QTL interval were used to verify in three populations. The purpose of this study was to verify whether the SNP from previous study exists and can be applied to other geographic groups. Two SNP molecular markers flanking sequences were analysed by using performing genotype composition analysis, genetic diversity analysis and neutrality test in three geographic groups. The results of genetic diversity showed that the haplotype diversity (H_d) of the extended fragment of snp8107 was 0.782, 0.515 and 0.497 in Hanjiang population, Xiangjiang population and Shishou population, respectively; the observed heterozygosity (H_o) of each locus was from 0.067 to 0.533; The expected heterozygosity (H_e) ranged from 0.127 to 0.506, with an average of 0.306, and the polymorphic information content (PIC) ranged from 0.117 to 0.374, with an average of 0.246. The neutral test for three populations showed that the bottleneck effect may have occurred in history which led to loss of the rare alleles. Combined with the results of genetic diversity, we speculated that the Hanjiang population retained more rare alleles after experiencing the bottleneck effect. It was concluded that the Hanjiang population was the best variety suitable for genetic improvement.

Key words: black carp; SNP; genetic diversity; neutrality test