



## 鞍带石斑鱼繁育群体的遗传多样性

龚师锐<sup>1</sup>, 王同<sup>1</sup>, 宋乐龄<sup>1</sup>, 杨扬<sup>1,2</sup>,  
钟朝岳<sup>1</sup>, 陶宇浩<sup>1</sup>, 刘晓春<sup>1,3\*</sup>

- (1. 中山大学生命科学学院, 水产动物疫病防控与健康养殖全国重点实验室, 广东省水生经济动物良种繁育重点实验室, 广东广州 510275;  
2. 农业农村部热带海水鱼种质创新与利用重点实验室, 海南三亚; 570000;  
3. 南方海洋科学与工程广东省实验室(珠海), 广东珠海 519080)

**摘要:** 为了解人工养殖和选育活动对鞍带石斑鱼遗传多样性的影响。本实验采用微卫星分子标记技术, 对广东、海南和福建 3 个省份共 5 个代表性采集点的鞍带石斑鱼繁育群体的遗传变异信息进行了研究。群体内遗传多样性分析结果显示, 5 个群体等位基因 ( $N_a$ ) 的平均数目为 7.326 (6.375~8.380), 观测杂合度 ( $H_o$ ) 平均值为 0.711 (0.625~0.775), 期望杂合度 ( $H_e$ ) 平均值为 0.705 (0.684~0.734), 多态性信息含量 ( $PIC$ ) 平均值为 0.659 (0.633~0.693)。其中, 来自福建厦门翔安区的鞍带石斑鱼繁育群体遗传多样性最高。分子方差分析 (AMOVA) 结果显示, 5.36% 的遗传变异来自群体间, 95.45% 来自所有个体间。群体间遗传分化指数 ( $F_{st}$ ) 及遗传距离结果显示, GC (感城) 和 CP (长坡) 群体聚为一支, 再与 AT (澳头) 群体聚为一支, 然后与 XA (翔安) 群体聚为一支, HL (湖里) 群体独立为一支。通过系统进化树分析显示, 鞍带石斑鱼繁育群体交叉在一起, 没有形成明显的地理格局分布。总之, 这三省五地的鞍带石斑鱼繁育群体遗传多样性较高, 没有明显的驯化迹象。研究表明, 鞍带石斑鱼繁育群体仍具有较高的遗传多样性, 品种受亲本近交影响而出现衰退的可能性不高, 可排除因遗传因素导致的品种病害频发及养殖成活率低的原因。本研究可为鞍带石斑鱼种质评价和人工选育提供理论依据。

**关键词:** 鞍带石斑鱼; 繁育群体; 简单重复序列; SSR; 遗传多样性; 遗传结构

中图分类号: Q 348; S 965.334

文献标志码: A

鞍带石斑鱼 (*Epinephelus lanceolatus*) 俗称龙趸, 隶属于鲈形目 (Perciformes) 石斑鱼科 (Epinephelinae), 广泛分布于印度和西太平洋的热带及亚热带水域, 是重要的经济鱼类<sup>[1]</sup>。鞍带石斑鱼是石斑鱼种类中体型最大的物种, 其最大体长 270 cm, 体重可达 400 kg。由于其寿命长、先雌后雄、性成熟晚和产卵聚集性的生物学特征, 其

野生种群极易受到捕捞压力和栖息地变化的影响<sup>[2-3]</sup>。自 20 世纪 90 年代中期以来, 由于过度捕捞, 鞍带石斑鱼一直被列入世界自然保护联盟红色名单, 并在澳大利亚、南非、印度等国受到保护 (<https://www.iucnredlist.org/>)。此外, 由于其在市场上高昂的价格和快速生长的优良性状, 已成为亚太地区最受欢迎的水产养殖品种之一<sup>[4]</sup>, 并

收稿日期: 2023-06-29 修回日期: 2023-08-18

资助项目: 国家自然科学基金 (U22A20531, 32273132); 现代农业产业技术体系 (CARS-47); 国家重点研发计划 (2022YFE0203900); 海南省院士团队创新中心 (YSPTZX202122)

第一作者: 龚师锐 (照片), 从事鱼类分子育种研究, E-mail: [g302808096@163.com](mailto:g302808096@163.com)

通信作者: 刘晓春, 从事鱼类生殖生理学及分子内分泌学、以及遗传育种学研究, E-mail: [lsslxc@mail.sysu.edu.cn](mailto:lsslxc@mail.sysu.edu.cn)



作为各类杂交石斑鱼的亲本用以改良石斑鱼生长性状, 创制出多种优良杂交组合, 如棕点石斑鱼 (*E. fuscoguttatus*)♀×鞍带石斑鱼♂(虎龙杂交斑)<sup>[5]</sup>、云纹石斑鱼 (*E. moara*)♀×鞍带石斑鱼♂(云龙石斑鱼)<sup>[6]</sup>、斜带石斑鱼 (*E. coioides*)♀×鞍带石斑鱼♂(青龙杂交斑)<sup>[7]</sup>等, 其中虎龙杂交斑 (GS-02-005-2016) 和云龙石斑鱼 (GS-02-002-2018) 已获得新品种证书, 并深受养殖户和市场喜爱。

微卫星分子标记, 即简单重复序列 (simple sequence repeats, SSR), 在基因组中含量丰富、具有高度的多态性, 作为第 2 代分子标记已经广泛应用于水产动物杂交优势的预测、群体的杂合度和种质资源保护等研究中<sup>[8]</sup>。关于微卫星分子标记在石斑鱼种质资源中的应用也有相关报道。于 2011 年开展的南海斜带石斑鱼野生群体和人工繁殖群体的微卫星分析的结果表明, 斜带石斑鱼野生群体和人工繁殖群体遗传多样性仍比较丰富, 且人工繁殖群体没有出现明显的遗传分化和种质退化的现象<sup>[9]</sup>。另外一项于 2012 年对中国东南沿海 7 个赤点石斑鱼 (*E. akaara*) 养殖群体遗传变异的研究发现, 不同养殖场间的种群存在着丰富的遗传多样性, 具有明显的地理区域分布特征<sup>[10]</sup>。

物种的遗传多样性是其生存和进化关键因素, 遗传多样性越高, 物种适应环境变化的能力越强<sup>[11]</sup>。2008 年, 相关研究利用 RAPD (随机扩增多态 DNA, randomly amplified polymorphic DNA) 技术对海南近海野生鞍带石斑鱼群体的遗传多样性进行了研究, 发现该野生群体仍然保持着较丰富的遗传多样性<sup>[12]</sup>。在此之后, 关于鞍带石斑鱼种质资源方面的研究再无相关报道。在前期的实验调查过程中, 发现大多数的养殖公司未对鞍带石斑鱼繁育亲本进行电子标记, 且由于养殖年限较长, 在养殖过程中经常搬塘混养, 导致亲本混杂较为严重, 多种来源的鞍带石斑鱼混杂养殖, 因此开展鞍带石斑鱼繁育群体的遗传多样性调查更为必要。本研究采用微卫星分子标记技术, 对来自广东、海南和福建 3 个省份、5 个地理位置的鞍带石斑鱼繁育群体进行遗传多样性分析, 为鞍带石斑鱼繁育群体种质资源保护和遗传育种提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验伦理声明

本研究获得了中山大学实验动物管理和使用伦理委员会批准 (SYSU-IACUC-2022-B0131), 实验

过程中操作人员严格遵守中山大学伦理规范, 并按照中山大学伦理委员会制定的规章制度执行。

### 1.2 实验材料

由于采样地点各良种场鞍带石斑鱼亲本养殖年限较久且长期搬塘混养未作标记, 多种来源亲本混杂, 在前期的调研中, 采样群体多为野生捕捞亲本, 少数由养殖群体筛选而来, 因此本实验仅对养殖群体的采样地点进行记录, 未对原始产地进行溯源。实验选用的 150 个鞍带石斑鱼尾鳍样品分别取自海南省东方市 (感城镇, GC,  $n=31$ )、海南省琼海市 (长坡镇, CP,  $n=30$ )、广东省惠州市 (澳头镇, AT,  $n=30$ )、福建省厦门市 (湖里区, HL,  $n=30$ ) 和福建省厦门市 (翔安区, XA,  $n=29$ ), 均为繁育群体。剪取每尾鱼的鳍条保存于 95% 无水乙醇中, 随后运回实验室在  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱保存。每个群体的采样位置见图 1, 详细采集时间、地点和数量见表 1。

### 1.3 实验方法

**样品 DNA 的提取** 参考 TIANGEN 海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒 (离心柱型) (DP324) [天根生物科技 (北京) 有限公司] 说明书步骤, 对 150 个鞍带石斑鱼尾鳍样品进行了基因组 DNA 提取。提取好的 DNA 样品使用 NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, 美国) 分光光度计检测其浓度和纯度; 同时使用 1% 琼脂糖凝胶电泳对提取 DNA 的质量进行检测。

**群体扩增** 用于鞍带石斑鱼群体扩增的引物来自本实验室开发的微卫星引物 (表 2), 引物合成在生工生物工程 (上海) 股份有限公司进行。PCR 反应体系如表 3。PCR 反应程序设置:  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  预变性 3 min;  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  变性 20 s、 $59.5\text{ }^{\circ}\text{C}$  退火 20 s、 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  延伸 15 s, 总共 35 个循环; 最后  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  延伸 5 min。PCR 产物送至生工生物工程 (上海) 股份有限公司进行 SSR 分型检测。DNA 于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存备用。

**数据分析** 对 SSR 分型检测数据进行整理和基因型判读校正后, 使用 GenAIEx 6.502 软件<sup>[13]</sup> 计算各微卫星位点的等位基因数 ( $N_a$ )、观测杂合度 ( $H_o$ )、期望杂合度 ( $H_e$ ) 以及 Nei 氏标准遗传距离; 使用 Cervus 3.0.7 软件<sup>[14]</sup> 计算多态性信息含量 (PIC); 使用 Arlequin version 3.5.2.2 软件<sup>[15]</sup> 基于 Pairwise differences 方法计算各群体的遗传分化指数 ( $F_{st}$ ), 并进行分子方差分析 (analysis of

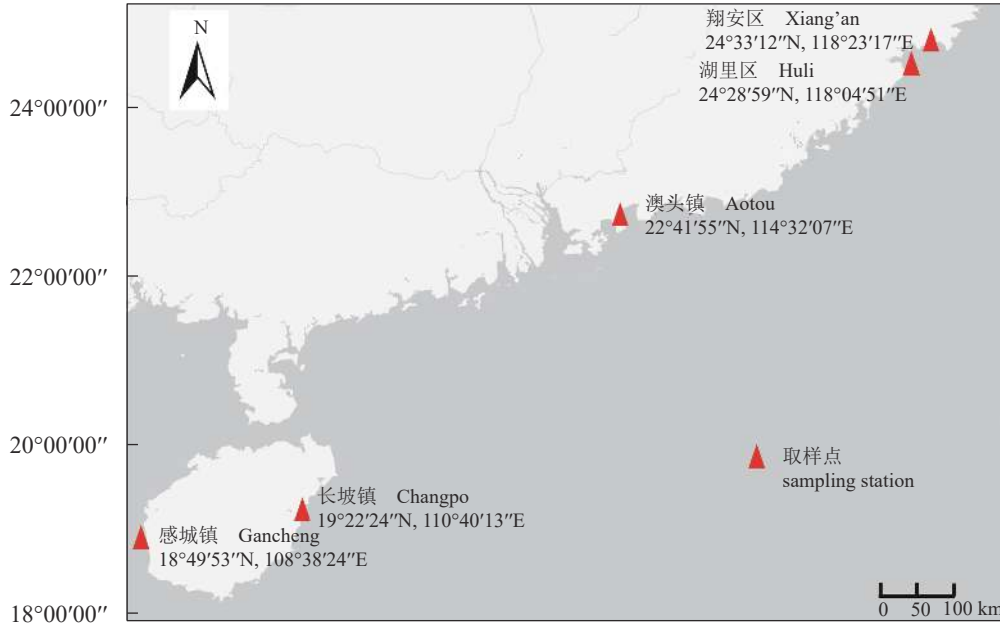


图 1 5 个鞍带石斑鱼繁育群体采样点

Fig. 1 Sampling sites of five breeding populations of *E. lanceolatus*

表 1 5 个养殖群体鞍带石斑鱼群体的采样信息

Tab. 1 Sample information of five breeding populations of *E. lanceolatus*

种群代号 population	采样日期 sampling date	经度 longitude	纬度 latitude	样本数/个 number of samples
海南省东方市感城镇 Gancheng, GC	2018-10-12	108°38'24"E	18°49'53"N	31
海南省琼海市长坡镇 Changpo, CP	2018-10-15	110°40'13"E	19°22'24"N	30
广东省惠州市澳头镇 Aotou, AT	2018-11-20	114°32'07"E	22°41'55"N	30
福建省厦门市湖里区 Huli, HL	2019-05-18	118°04'51"E	24°28'59"N	30
福建省厦门市翔安区 Xiang'an, XA	2019-05-19	118°23'17"E	24°33'12"N	29

molecular variance, AMOVA); 基于 Nei 氏遗传距离, 使用 MEGA-X version 10.1.8 软件<sup>[16]</sup> 构建群体间的 UPGMA 进化树<sup>[17]</sup>。最后使用 Structure Selector<sup>[18]</sup> 基于  $\Delta K$ <sup>[19]</sup> 分析群体遗传结构并得到最合适  $K$  值, 并绘制结果图来评估 5 个群体间的群体结构。

## 2 结果

### 2.1 群体内遗传多样性分析

鞍带石斑鱼群体内遗传多样性检测结果显示, 来自 5 个地理位置的鞍带石斑鱼繁育群体的  $N_a$  为 6.375~8.380,  $H_o$  为 0.625~0.775,  $H_e$  为 0.684~0.734,  $PIC$  为 0.633~0.693。其中来自福建厦门翔安区的

XA 群体具有最高的遗传多样性 ( $H_e=0.734$ ,  $PIC=0.693$ ), 来自海南琼海长坡镇的 CP 群体具有最低的遗传多样性 ( $H_e=0.685$ ,  $PIC=0.633$ ) (表 4)。132An30 位点引物在不同群体中最多获得了 17 个等位基因, 在 8 对引物中获得的等位基因数最多。AD4-T1 与 AD3-T6 位点引物在不同群体中最多获得了 7 个等位基因, 等位基因数最少。在 5 个群体中, 利用 8 个微卫星标记扩增出的 40 组数据中, 有 33 组数据具有高多态性 ( $PIC>0.5$ ), 5 个数据具有中等多态性 ( $0.5>PIC>0.25$ ), 2 个数据具有低多态性 ( $0.25>PIC$ )。Hardy-Weinberg 平衡的卡方检验结果显示, 5 个种群在 8 个位点上有 16 个表现为显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡 ( $P_{HWE}<0.01$ ), 8 个表现为显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡 ( $P_{HWE}<0.05$ )

表 2 8 对 SSR 的引物信息

Tab. 2 Eight pairs of SSR primer information

引物编号 primer number	核心序列 core sequence	引物序列 primer sequence	荧光修饰 fluorescent modification	$T_m/^\circ\text{C}$	产物范围/bp product range
AD2-CA2	(CA) <sub>14</sub>	F: AACCGACGAGAAACAGGAAA R: CGCTGATAACTTCTGAGTGTCTG	5'HEX —	58.0	130~150
AD2-GT5	(GT) <sub>18</sub>	F: TCACTATCAGAAGCTCTGGGC R: TCTCTGTGAGCCGAGCTGTA	5'HEX —	57.8	118~143
AD3-A2	(AAC) <sub>10</sub>	F: GTCTGAATGGACGTTTGTGC R: GGTCGTCCGTCCTCCATAC	5'ROX —	60.0	120~142
AD3-T6	(TGC) <sub>7</sub>	F: TCAATCTGCCACAAGTGAT R: TGTACGGAAGCAACAACAGC	5'HEX —	58.0	104~118
AD4-T1	(TACA) <sub>5</sub>	F: CAAGATACATGTAAGGACACGTGAA R: GCACTCACACCCACAGTC	5'FAM —	57.3	104~136
AD4-T3	(TAGA) <sub>9</sub>	F: GCACAGTGCTGTAGCCAGAC R: TGTGGACTGTTGACGATGTAGA	5'HEX —	64.0	90~106
32An6	(CT) <sub>10</sub> (CA) <sub>12</sub>	F: GCTCGAAGATGAGCTGGAAG R: AAGGTGCTGCTCCTGCTTT	5'FAM —	60.0	174~205
132An30	(GT) <sub>18</sub>	F: GGCAGGTGTGTTATTGCAG R: CTAGCCATGGTTTGGTGGAT	5'FAM —	58.0	181~259

注: 核心序列括号内表示重复核心类型, 括号外数字表示重复次数, “—”表示无荧光修饰。  
Notes: The core sequence within parentheses indicates the type of repeated core, the number outside the parentheses represents the number of repetitions, and a fluorescent modification is denoted by a “—” indicating no modification.

表 3 荧光修饰引物 PCR 反应体系

Tab. 3 PCR reaction system with fluorescently modified primers

组分 component	体积/ $\mu\text{L}$ volume
2×含染料 Taq 预混PCR酶 2×Taq PCR StarMix	5
5'-荧光修饰正向引物 5'-fluorescence modified forward primers	1
3'-反向引物 3'- reverse primer	1
DNA模板 dna template	1
双蒸水 ddH <sub>2</sub> O	2
总计 total	10

(表 5), 剩余 16 个则不偏离。

## 2.2 鞍带石斑鱼群体遗传分化关系

对 5 个鞍带石斑鱼群体进行分子方差分析 (analysis of molecular variance, AMOVA), 结果显示 5.36% 的遗传变异来自群体间, 95.45% 来自所有个体间, 表明群体间的遗传变异极小 (表 6)。GC、CP、AT、HL 和 XA 群体间的 Nei 氏遗传标准距

离 ( $D_s$ ) 为 0.073 7~0.324 9, 属于种间遗传<sup>[20]</sup>( $0.01 < D_s < 2.0$ )。遗传分化指数 ( $F_{st}$ ) 为 0.015 7~0.085 7, 群体处于中等 ( $0.05 < F_{st} < 0.15$ ) 及较小 ( $F_{st} < 0.05$ ) 的遗传分化 (表 7)。其中 HL 群体与其他 4 个群体均存在中等程度分化; XA 群体与 AT 群体存在中等程度分化; 其他群体之间仅存在较小程度遗传分化。

## 2.3 鞍带石斑鱼群体遗传结构聚类分析

根据 Nei 氏遗传距离构建的 UPGMA 聚类树中 (图 2), GC 和 CP 群体聚为一支, 再与 AT 群体聚为一支, 然后与 XA 群体聚为一支, HL 群体单独为一支。结果与遗传距离、 $F_{st}$  结果基本一致。利用 Structure 软件进行群体结构分析过程中,  $\Delta K$  值的最高点为最可能的遗传聚类值,  $\Delta K$  峰值出现在集群  $K=4$ , 表明 5 个鞍带石斑鱼群体的预测自由交配组数为 4, 因此, 后续分群选择  $K=4$  (图 3)。基于上述 Structure 的分析结果, 当  $K=4$  时, 贝叶斯分析法的聚类结果见图 4, 表明 5 个群体之间存在较强的基因交流。通过系统进化树分析显示, 5 个群体交叉在一起, 没有形成明显的地理格局分布 (图 5)。

表 4 8 个 SSR 位点在 5 个鞍带石斑鱼繁育群体中的统计遗传学信息

Tab. 4 Summary of eight pairs of microsatellites in the five groups of *E. lanceolatus*

位点 locus		感城 GC	长坡 CP	澳头 AT	湖里 HL	翔安 XA	平均 mean
		n=31	n=30	n=30	n=30	n=29	
AD2-CA2	$N_a$	7.000	6.000	5.000	8.000	6.000	6.400
	$H_o$	0.645	0.667	1.000	0.767	0.759	0.768
	$H_c$	0.747	0.749	0.784	0.721	0.777	0.756
	PIC	0.693	0.696	0.734	0.670	0.728	0.704
32An6	$N_a$	11.000	11.000	9.000	8.000	9.000	9.600
	$H_o$	1.000	0.800	0.867	0.833	0.828	0.866
	$H_c$	0.819	0.820	0.742	0.832	0.860	0.815
	PIC	0.783	0.787	0.699	0.793	0.829	0.778
AD2-GT5	$N_a$	8.000	3.000	3.000	5.000	7.000	5.200
	$H_o$	0.452	0.433	0.267	0.867	0.517	0.507
	$H_c$	0.492	0.508	0.239	0.694	0.547	0.496
	PIC	0.451	0.432	0.214	0.621	0.508	0.445
132An30	$N_a$	17.000	11.000	3.000	10.000	16.000	11.400
	$H_o$	0.871	0.767	0.267	0.900	0.828	0.727
	$H_c$	0.913	0.744	0.239	0.810	0.898	0.721
	PIC	0.890	0.707	0.214	0.769	0.872	0.690
AD4-T3	$N_a$	7.000	6.000	11.000	8.000	6.000	7.600
	$H_o$	0.484	0.267	1.000	0.733	0.448	0.586
	$H_c$	0.617	0.633	0.839	0.814	0.670	0.715
	PIC	0.568	0.575	0.804	0.776	0.611	0.667
AD3-A2	$N_a$	6.000	6.000	4.000	7.000	7.000	6.000
	$H_o$	0.516	0.600	0.633	0.767	0.897	0.683
	$H_c$	0.690	0.728	0.697	0.602	0.750	0.693
	PIC	0.648	0.674	0.623	0.556	0.701	0.640
AD4-T1	$N_a$	6.000	6.000	7.000	3.000	7.000	5.800
	$H_o$	0.774	0.933	0.933	0.500	0.828	0.794
	$H_c$	0.766	0.790	0.752	0.447	0.766	0.704
	PIC	0.715	0.746	0.698	0.391	0.728	0.656
AD3-T6	$N_a$	5.000	5.000	6.000	7.000	7.000	6.000
	$H_o$	0.645	0.533	0.800	0.833	0.655	0.693
	$H_c$	0.628	0.506	0.751	0.790	0.606	0.656
	PIC	0.575	0.446	0.700	0.743	0.564	0.606
平均 mean	$N_a$	8.380	6.750	6.375	7.000	8.125	7.326
	$H_o$	0.673	0.625	0.763	0.775	0.720	0.711
	$H_c$	0.709	0.685	0.684	0.714	0.734	0.705
	PIC	0.665	0.633	0.638	0.665	0.693	0.659

### 3 讨论

本研究采用实验室开发的 8 对 SSR 引物, 在 5 个不同地点的鞍带石斑鱼繁育群体中进行了检

测, 结果显示, 8 对 SSR 引物扩增效果良好, 位点多样性较高, 表明这些微卫星位点及引物可以用于鞍带石斑鱼群体的遗传学研究。在利用扩增后的结果对 5 个种群的群体内遗传多样性进行分

表 5 鞍带石斑鱼养殖群体的 Hardy-Weinberg 平衡卡方检验

Tab. 5 Hardy-Weinberg equilibrium chi-square test in five groups of *E. lanceolatus*

位点 locus	感城 GC n=31	长坡 CP n=30	澳头 AT n=30	湖里 HL n=30	翔安 XA n=29
AD2-CA2	0.830 9	0.003 5**	0.031 4*	0.070 5	0.571 6
32An6	0.437 7	0.023 8*	0.271 0	0.000 8**	0.001 7**
AD2-GT5	0.029 0*	0.171 9	1.000 0	0.003 9**	0.077 4
132An30	0.341 4	0.004 6**	0.000 0**	0.015 9*	0.045 9*
AD4-T3	0.000 0**	0.000 0**	0.000 0**	0.000 4**	0.000 0**
AD3-A2	0.008 8**	0.093 9	0.000 0**	0.080 4	0.005 1**
AD4-T1	0.672 4	0.010 4*	0.038 4*	0.409 0	0.989 4
AD3-T6	0.895 7	0.000 0**	0.037 0*	0.005 6**	0.577 0

注: \*表示显著偏离Hardy-Weinberg平衡( $P<0.05$ ), \*\*表示极显著偏离Hardy-Weinberg平衡( $P<0.01$ )。

Notes: \* indicates a significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium ( $P<0.05$ ); \*\* indicates very significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium ( $P<0.01$ ).

表 6 基于 5 个微卫星标记分子方差分析结果

Tab. 6 Result of AMOVA based on five microsattelite markers

变异来源 source of variation	自由度 df	平方和 sum of squares	方差组分 variance components	方差比例/% percentage of variation
群体间 between populations	4	49.503	0.159	5.36
群体内个体间 between individuals within populations	145	405.280	-0.024	-0.81
个体间 between individuals	150	426.500	2.843	95.45
总数 total	299	881.283	2.979	100.00

表 7 鞍带石斑鱼群体间的遗传分化指数  $F_{st}$ (对角线下) 和 Nei 氏遗传距离 (对角线上)

Tab. 7 Matrix of pair-wise  $F_{st}$  values (below diagonal) and Nei's genetic distance (above diagonal) between *E. lanceolatus*

	感城 GC	长坡 CP	澳头 AT	湖里 HL	翔安 XA
感城 GC		0.073 7	0.118 4	0.189 3	0.144 1
长坡 CP	0.015 7		0.153 8	0.282 1	0.150 2
澳头 AT	0.033 3	0.049 0		0.276 6	0.161 5
湖里 HL	0.053 4	0.085 5	0.084 2		0.324 9
翔安 XA	0.036 3	0.045 8	0.085 7	0.085 7	

注: 对角线以下为遗传分化指数  $F_{st}$ , 对角线以上为Nei氏遗传距离。

Notes: Below diagonal, genetic differentiation index  $F_{st}$ ; above diagonal, Nei's genetic distance.

析的过程中,  $N_a$ 、 $H_o$ 、 $H_e$  和  $PIC$  数值越大, 说明种群内等位基因越丰富, 遗传多样性越高, 遗传变异越大。本研究中, 来自福建厦门翔安区的 XA 群体具有最高的遗传多样性 ( $N_a=8.125$ ,  $H_e=0.734$ ),

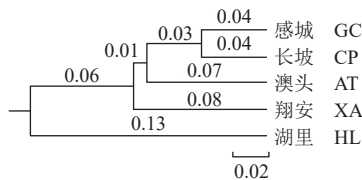


图 2 鞍带石斑鱼群体基于 Nei 氏遗传距离构建的 UPGMA 聚类图

Fig. 2 UPGMA dendrogram based on Nei's genetic distance among *E. lanceolatus*

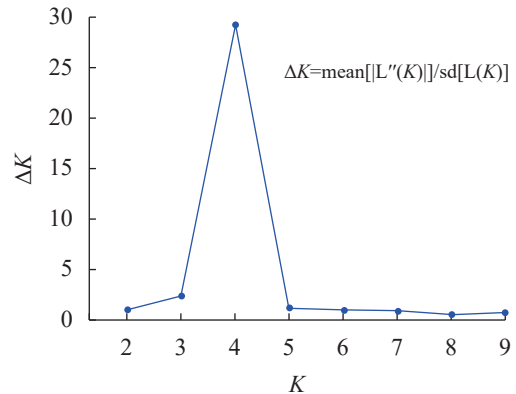


图 3 最佳聚群数 K 与推断值  $\Delta K$  之间的关系

Fig. 3 Relations between the rational groups number  $K$  and estimated value  $\Delta K$

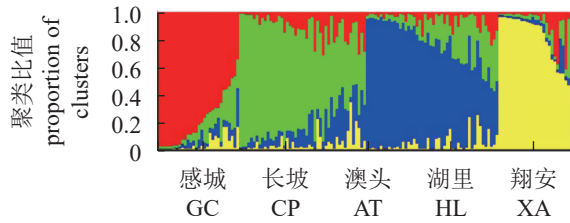


图 4 基于叶贝斯算法计算得到的鞍带石斑鱼繁育群体遗传结构图 (K=4)

不同颜色表示不同的集群。

Fig. 4 Genetic structure Map of *E. lanceolatus* based on Bayesian algorithm (K=4)

Different colors represent different clusters.

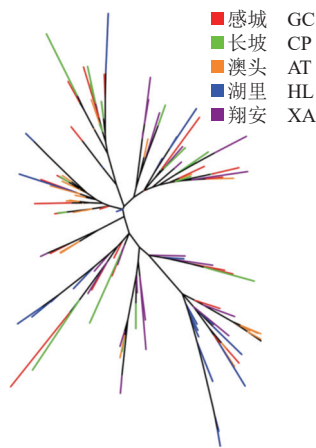


图 5 鞍带石斑鱼繁育群体系统进化树

Fig. 5 Phylogenetic tree of *E. lanceolatus*

海南琼海长坡镇的 CP 群体具有最低的遗传多样性 ( $N_a=6.750, H_e=0.685$ ), 这可能与 CP 群体中有部分个体由养殖群体筛选而来导致。

PIC 是指一个后代所获得的某个等位基因标记来自于它亲代的同一个等位标记的可能性大小, 平均 PIC 是衡量等位基因片段多态性的理想指标。当 PIC 大于 0.5 时为高度多态位点,  $0.25 < PIC < 0.5$  时为中度多态位点, PIC 小于 0.25 时为低度多态位点<sup>[21]</sup>。本研究中 5 个群体的平均 PIC 均大于 0.5, 整体均值为 0.659, 表明鞍带石斑鱼繁育群体的遗传多样性仍然比较丰富。Hardy-Weinberg 平衡的卡方检验结果显示, 在 5 个种群的 8 个位点检测到的 40 个数据中, 有 16 个表现为极显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡, 16 个不偏离。近年来鞍带石斑鱼的野生资源量下降, 野生群体数量减少, 而鞍带石斑鱼繁育群体多由自然捕捞, 或者由野生种群经人工繁育得到的群体筛选而来, 这很可能是造成位点偏离 Hardy-Weinberg 平衡的原因。本研究中, 利用 Structure 进行的群体结构分析结

果表明群体之间存在较强的基因交流, 这也很大程度表明了鞍带石斑鱼繁育群体可能由自然捕捞而来或还未经多代选育, 没有形成明显的群体分化。通过系统进化树分析显示, 5 个群体交叉在一起, 也没有形成明显的地理格局分布, 反映出这些养殖的鞍带石斑鱼亲本来源可能相同 (均由野生捕捞而来, 或者亲本未经驯化)。

繁育群体的高遗传多样性是维持水产生物经济性能的保障<sup>[1]</sup>。石斑鱼养殖过程中生产性能降低、病害频发, 常被怀疑是遗传多样性降低而导致。鞍带石斑鱼作为生长速率最快的石斑鱼, 其经济性性状明显, 但是由于当前鞍带石斑鱼繁育群体多来自野生捕捞, 且由于鞍带石斑鱼人工繁育技术尚不成熟, 多靠激素催熟, 导致繁殖后代受精率、孵化率及养殖成活率都偏低<sup>[22]</sup>, 在养殖过程中也面临病害等各种问题。在前期的实验中发现, 各良种繁育场对鞍带石斑鱼的管理存在不足, 绝大多数养殖场并未对鞍带石斑鱼进行电子标记, 尽管了解部分个体的销售源头, 但是繁育亲本的具体来源大多模糊不清, 并且由于鞍带石斑鱼生产期间经常搬塘混养, 导致多种来源个体混杂, 难以追踪个体具体来源。尽管本研究结果表明, 鞍带石斑鱼各繁育群体都保持较高的遗传多样性, 然而鞍带石斑鱼亲本保种及选育仍是一个亟待解决的问题, 需要不断加强亲本的源头管控及品种优化, 关注种源的遗传多样性问题。本研究的数据和微卫星工具能够为加强鞍带石斑鱼的种质评价和管理提供分析方法。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

[1] Craig M T, De Mitcheson Y J S, Heemstra P C. Groupers of the world[M]. Boca Raton: NISC, CRC Press, Taylor & Francis Group, 2011.

[2] Zeng H S, Ding S X, Wang J, et al. Characterization of eight polymorphic microsatellite loci for the giant grouper (*Epinephelus lanceolatus* Bloch)[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2008, 8(4): 805-807.

[3] Wu L N, Yang Y, Li B J, et al. First genome-wide association analysis for growth traits in the largest coral reef-dwelling bony fishes, the giant grouper (*Epinephelus lanceolatus*)[J]. *Marine Biotechnology*, 2019, 21(5): 707-717.

[4] Yang S, Wang L, Zhang Y, et al. Development and characterization of 32 microsatellite loci in the giant grouper

- Epinephelus lanceolatus* (Serranidae)[J]. *Genetics and Molecular Research*, 2011, 10(4): 4006-4011.
- [ 5 ] 张海发, 刘晓春, 张勇, 等. 虎龙杂交斑 [J]. *中国水产*, 2018(2): 75-78.  
Zhang H F, Liu X C, Zhang Y, *et al.* The hybrid grouper of *Epinephelus fuscoguttatus* (♀)×*Epinephelus lanceolatus* (♂)[J]. *China Fisheries*, 2018(2): 75-78 (in Chinese).
- [ 6 ] 李子奇, 成美玲, 吴玉萍, 等. 鞍带石斑鱼 (♀)×云纹石斑鱼 (♂) 杂交后代早期发育及正反交后代生长特性 [J]. *水产学报*, 2020, 44(3): 436-446.  
Li Z Q, Cheng M L, Wu Y P, *et al.* Early development of hybrids of *Epinephelus lanceolatus*(♀)×*Epinephelus moara*(♂) and growth characteristics of reciprocal crosses[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2020, 44(3): 436-446 (in Chinese).
- [ 7 ] 周翰林, 张勇, 齐鑫, 等. 两种杂交石斑鱼子一代杂种优势的微卫星标记分析 [J]. *水产学报*, 2012, 36(2): 161-169.  
Zhou H L, Zhang Y, Qi X, *et al.* SSR analysis of the heterosis in the two grouper hybrids[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(2): 161-169 (in Chinese).
- [ 8 ] 黎玉元, 姚一彬, 孙念. 微卫星分子标记技术及其在水产动物研究中的应用 [J]. *湖南饲料*, 2013(2): 29-31.  
Li Y Y, Yao Y B, Sun N. Microsatellite molecular marking technique and its application in aquatic animal research[J]. *Hunan Feed*, 2013(2): 29-31 (in Chinese).
- [ 9 ] 骆剑, 黄宗文, 陈国华, 等. 南海斜带石斑鱼野生群体与人工繁殖群体的微卫星分析 [J]. *热带生物学报*, 2011, 2(2): 123-128.  
Luo J, Huang Z W, Chen G H, *et al.* Microsatellite analyses of wild population and cultivation artificial propagation population in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) in the South China Sea[J]. *Journal of Tropical Organisms*, 2011, 2(2): 123-128 (in Chinese).
- [10] 陈省平, 丁少雄, 陈嘉慧. 赤点石斑鱼群体遗传结构的微卫星分析 [J]. *中山大学学报 (自然科学版)*, 2012, 51(3): 83-89.  
Chen S P, Ding S X, Chen J H. Genetic diversity of the red spotted grouper in China population using simple sequence repeat markers[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2012, 51(3): 83-89 (in Chinese).
- [11] 梁业松, 张维炜, 宋飞彪, 等. 虎龙杂交斑养殖群体遗传多样性与遗传结构的微卫星分析 [J]. *水产学报*, 2022, 46(1): 31-40.  
Liang Y S, Zhang W W, Song F B, *et al.* Genetic diversity and genetic structure analysis of aquaculture groups of hybrid grouper [*Epinephelus fuscoguttatus* (♀)×*E. lanceolatus* (♂)] using microsatellite markers[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2022, 46(1): 31-40 (in Chinese).
- [12] 符书源, 尹绍武, 陈国华, 等. 海南近海野生鞍带石斑鱼群体遗传多样性的 RAPD 分析 [J]. *海洋通报*, 2008, 27(3): 25-31.  
Fu S Y, Yin S W, Chen G H, *et al.* Genetic diversity in the wild population of *Epinephelus lanceolatus* from Hainan coastal water with RAPD markers[J]. *Marine Science Bulletin*, 2008, 27(3): 25-31 (in Chinese).
- [13] Peakall R, Smouse P E. Genalex 6.5: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research—an update[J]. *Bioinformatics*, 2012, 28(19): 2537-2539.
- [14] Kalinowski S T, Taper M L, Marshall T C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment[J]. *Molecular Ecology*, 2007, 16(5): 1099-1106.
- [15] 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.
- [16] Kumar S, Stecher G, Li M, *et al.* Mega X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2018, 35(6): 1547-1549.
- [17] Sneath P H A, Sokal R R. Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification[M]. San Francisco: W. H. Freeman, 1973.
- [18] Li Y L, Liu J X. StructureSelector: a web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2018, 18(1): 176-177.
- [19] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study[J]. *Molecular Ecology*, 2005, 14(8): 2611-2620.
- [20] Thorpe J P. The molecular clock hypothesis: biochemical evolution, genetic differentiation and systematics[J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1982, 13(1): 139-168.
- [21] Botstein D, White R L, Skolnick M, *et al.* Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. *The American Journal of Human Genetics*, 1980, 32(3): 314-331.
- [22] 杨薇, 符书源, 郭仁湘, 等. 鞍带石斑鱼人工繁殖技术研究 [J]. *现代农业科技*, 2011(2): 320-322,326.  
Yang W, Fu S Y, Guo R X, *et al.* Research on artificial propagation technology of *Epinephelus lanceolatus*[J]. *Modern Agricultural Sciences and Technology*, 2011(2): 320-322,326 (in Chinese).



## Genetic diversity among breeding populations of giant grouper (*Epinephelus lanceolatus*)

GONG Shirui<sup>1</sup>, WANG Tong<sup>1</sup>, SONG Leling<sup>1</sup>, YANG Yang<sup>1,2</sup>,  
ZHONG Chaoyue<sup>1</sup>, TAO Yuhao<sup>1</sup>, LIU Xiaochun<sup>1,3\*</sup>

(1. State Key Laboratory of Biocontrol and Guangdong Provincial Key Laboratory for Aquatic Economic Animals,  
School of Life Science, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, Guangdong;

2. Key Laboratory of Tropical Marine Fish Germplasm Innovation and Utilization,  
Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Sanya 570000, Hainan;

3. Southern Ocean Science and Engineering of Guangdong Province Laboratory (Zhuhai), Zhuhai 519080, Guangdong)

**Abstract:** As the largest grouper species, the giant grouper (*Epinephelus lanceolatus*) exhibits rapid growth and significant competitive advantages, hence playing a crucial role in the development of the grouper industry. To understand the impact of artificial breeding and selection on the genetic diversity of *E. lanceolatus*, microsatellite molecular marker technology was employed in this study to investigate the genetic variation in five representative breeding populations collected from Guangdong, Hainan, and Fujian provinces in China. Genetic diversity analysis within the populations revealed an average number of alleles ( $N_a$ ) of 7.326 (range: 6.375-8.380), an average observed heterozygosity ( $H_o$ ) of 0.711 (range: 0.625-0.775), an average expected heterozygosity ( $H_e$ ) of 0.705 (range: 0.684-0.734), and an average polymorphic information content ( $PIC$ ) of 0.659 (range: 0.633-0.693). Notably, the breeding population from Xiang'an District, Xiamen, Fujian exhibited the highest genetic diversity. Analysis of molecular variance (AMOVA) revealed that 5.36% of the genetic variation was from between populations, while 95.45% was from between individuals. The genetic differentiation index ( $F_{st}$ ) and genetic distance results indicated that the GC (Gancheng) and CP (Changpo) populations clustered together, joined by the AT (Aotou) population and then the XA (Xiang'an) population, with the HL (Huli) population forming a separate branch. The phylogenetic tree analysis showed overlapping of breeding populations without distinct geographical patterns. In conclusion, the breeding populations of *E. lanceolatus* in these three provinces exhibited high genetic diversity without evident signs of domestication. Overall, this study demonstrates that the breeding populations of giant grouper still maintain a high level of genetic diversity, with a low likelihood of decline due to inbreeding effects. However, the frequent occurrence of diseases and low survival rates in the breeding process may be attributed to imperfect artificial breeding techniques and inadequate aquaculture management. This research provides a theoretical basis for the genetic evaluation and artificial selection of *E. lanceolatus*. This study highlights the importance of maintaining genetic diversity within cultivated stocks to ensure the sustainability and productivity of aquaculture operations. Despite high genetic diversity observed, the management and traceability of breeding stocks need enhancement to safeguard against potential genetic bottlenecks. The findings underscore the need for ongoing genetic monitoring and responsible breeding practices in the preservation of genetic health and viability of *E. lanceolatus* populations.

**Key words:** *Epinephelus lanceolatus*; breeding population; simple sequence repeats; SSR; genetic diversity; genetic structure

**Corresponding author:** LIU Xiaochun. E-mail: [lsslxc@mail.sysu.edu.cn](mailto:lsslxc@mail.sysu.edu.cn).

**Funding projects:** National Natural Science Foundation of China (U22A20531, 32273132); China Agriculture Research System (CARS-47); National Key Research and Development Program (2022YFE0203900); Project of Hainan Academician Team Innovation Center (YSPTZX202122)