DOI: 10.3724/j.1007-6336.2026-0029

基于SLAF-seq的中国三地区文昌鱼（*Branchiostoma*）群体遗传分析

任翊卓[1]，赵志红[2]，孙京敏[1]，卓玉国[1]，潘佑科[3]，
谭训刚[4,5]，韩学凯[3]，万学瑞[3]，魏 来[1]，
陈 楠[1]，解 盛[2]

（1.河北环境工程学院 入海河流及近岸海域生态修复河北省工程研究中心，河北 秦皇岛 066102；2.河北昌黎黄金海岸国家级自然保护区管理中心，河北 秦皇岛 066600；3.天津科技大学 海洋与环境学院，亚洲区域卤虫参考中心，天津 300457；4.中国科学院海洋研究所 实验海洋生物学重点实验室，山东 青岛 266000；5.青岛海洋科技中心 海洋生物学与生物技术功能实验室，山东 青岛 266000）

摘 要：本研究基于特异性位点扩增片段测序（SLAF-seq）技术，对河北昌黎、山东青岛和福建厦门三地文昌鱼群体开展全基因组 SNP 标记开发及群体遗传分析。*COI* 序列比对分析发现，本次采集的 3 个群体与白氏文昌鱼 *Branchiostoma belcheri*（AB478562.1）的同源性很高。基于 SNP 标记的遗传分析显示，厦门群体遗传多样性最高，青岛次之，昌黎最低。所有群体观测杂合度（*Ho*）均低于期望杂合度（*He*），表明群体可能受到选择、漂变、迁移等因素的影响。3 个地区文昌鱼遗传多样性整体呈中度多态性（0.25<*PIC*<0.5）。遗传分化指数（F_{st}）显示，厦门群体与昌黎和青岛群体之间存在中等程度的遗传分化，而昌黎与青岛群体之间遗传分化较为微弱。主成分分析和亲缘关系热图进一步表明昌黎与青岛群体遗传距离较近，厦门相对独立，可能受地理距离等因素影响。种群结构分析显示，当 *K*=1 时 *CV* 值最低，说明三地群体源于同一祖先。本研究有助于了解中国不同地区文昌鱼群体遗传现状，为制定差异化保护措施提供数据支持。

关键词：文昌鱼 (*Branchiostoma*)；SNP；遗传多样性；群体遗传；亲缘关系
中图分类号： **文献标识码：**A **文章编号：**1007-6336(2026)00-0001-10

Population genetic analysis of *branchiostoma* from three regions of China based on SLAF-SEQ

Ren Yizhuo[1], Zhao Zhihong[2], Sun Jingmin[1], Zhuo Yuguo[1], Pan Youke[3],
Tan Xungang[4,5], Han Xuekai[3], Wan Xuerui[3], Wei Lai[1], Chen Nan[1], Xie Sheng[2]

(1.Hebei Engineering Research Center for Ecological Restoration of Seaward Rivers and Coastal Waters, Hebei University of Environmental Engineering, Qinhuangdao 066102, China; 2.Hebei Changli Gold Coast National Nature Reserve Management Center, Qinhuangdao 066600, China; 3.Asian Regional Artemia Reference Center, College of Marine and Environmental Sciences, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China; 4.Key Laboratory of Experimental Marine Biology, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266000, China; 5.Functional Laboratory of Marine Biology and Biotechnology, Qingdao Marine Science and Technology Center, Qingdao 266000, China)

收稿日期：2026-02-07，**修订日期：**2026-04-20
基金项目：河北环境工程学院 2024 年度校级科研项目（XJXM-QN-2024005）；河北省高等学校科学研究项目（QN2025242）；秦皇岛市科学技术研究与发展计划项目（202501A021）；河北环境工程学院大学生创新训练项目（S202551721024）
作者简介：任翊卓（1994—），女，河北张家口人，讲师，主要从事海洋生物、生态环境保护研究，E-mail: 15732620442@163.com
通信作者：孙京敏（1967—），男，正高级工程师，主要从事河海生态环境保护与修复研究，E-mail: sjmustb@163.com

Abstract: This study utilized the Specific Locus Amplification Fragment Sequencing (SLAF-seq) technique to develop SNP markers and conduct population genetic analysis for the *Branchiostoma* populations in three regions: Changli in Hebei province, Qingdao in Shandong province, and Xiamen in Fujian province. *COI* sequence alignment revealed high homology between the three sampled populations and *Branchiostoma belcheri* (AB478562.1).Genetic analysis based on SNP markers revealed that the Xiamen population had the highest genetic diversity, followed by Qingdao, and the Changli population had the lowest. The observed heterozygosity of all populations was lower than the expected heterozygosity, indicating that the populations may be influenced by factors such as selection, genetic drift, and gene flow. The overall genetic diversity of the *Branchiostoma* populations in these three regions showed moderate polymorphism ($0.25 < PIC < 0.5$). The genetic differentiation index indicated that there was a moderate degree of genetic differentiation between the Xiamen population and both the Changli and Qingdao populations, while the genetic differentiation between the Changli and Qingdao populations was relatively weak. The principal component analysis, and phylogenetic heat map further showed that the genetic distance between the Changli and Qingdao populations was relatively close, while the Xiamen population was relatively independent, possibly influenced by factors such as geographical distance. Population structure analysis revealed that the *CV* value was the lowest when $K = 1$, indicating that the populations in the three regions originated from the same ancestor. This study helps to understand the genetic status of Branchiostoma populations in different regions of China and provides data support for formulating differentiated protection measures.

Key words: *Branchiostoma*; SNP; genetic diversity; population genetics; genetic relationship

文昌鱼(*Branchiostoma*)是海洋中拥有五亿年悠久历史的古老生物,被称为“活化石”,是无脊椎动物向脊椎动物的过渡物种,其独特的系统发育位置为揭示脊椎动物起源机制和演化路径提供了独特的实证模型,因而在比较进化生物学领域具有不可替代的研究价值[1]。文昌鱼属于小型底栖生物,主要分布于世界各地的热带和温带海区,营钻沙、底栖和滤食生活[2]。文昌鱼对环境条件有很高的要求,常栖息于海水透明度较高、水质洁净的浅海海域,其栖息地容易受环境变化的影响[3]。近年来由于不同类型的海洋开发活动破坏其栖息环境,文昌鱼种群数量急剧下降,成为濒危物种,目前已被列为国家二级重点保护野生动物[4]。

群体遗传分析主要研究生物群体的遗传多样性、遗传结构及其变化规律,利用现代分子生物技术可以快速准确获取生物的基因组数据,从而得到生物样本的遗传信息数据[5]。近年来,已有一些分子标记在文昌鱼中得到开发并用于文昌鱼群体遗传学研究。周涵韬等[6]基于随机扩增多态 DNA(RAPD)技术对厦门 3 个海域的文昌鱼进行遗传多样性检测,并为厦门海域文昌鱼资源保护提出了建议。郭昱嵩等[7]利用线粒体 DNA(mtDNA)标记技术对湛江海域文昌鱼进行遗传结构分析,发现南方群体与北方群体之间的遗传距离已经达到种间水平。Li 等[8]基于简单重复序列(SSR)技术对厦门文昌鱼群体进行遗传多样性分析,结果显示厦门文昌鱼有较高的遗传多样性。

单核苷酸多态性(SNP)是指由于单个核苷酸碱基的改变而导致的核酸序列的多态性[9],是动物和植物基因组中最常见的多态性类型[10],具有数量多、分布广、遗传稳定和覆盖密度大的优点,在生物学、医学和遗传学等多个领域具有广泛的应用价值。相比于其他分子标记,SNP 更适合大量标记的高通量基因分型、数据库整合和数据共享[11-12]。目前,国内学者已经完成多种水生生物的 SNP 分子标记开发,并对黄姑鱼、乌鳢和亚洲草鱼等水产经济物种开展了群体遗传学分析[13-15]。在文昌鱼相关研究中,早期已有关于日本文昌鱼(*Branchiostoma japonicum*)和白氏文昌鱼(*Branchiostoma belcheri*)SNP 引物开发的报道[16];Zhu 等[17]基于 SNP 标记解析了 *B. belcheri* 群体中的“多态性悖论”,从微观角度解释了文昌鱼的遗传多态性缺乏影响表型特征的大分子基础。但是,目前有关基因组 SNP 标记的大规

模开发及其在群体遗传学中的研究应用报道仍然较少。

我国沿海地区是全球文昌鱼的主要分布区域，但由于该区域纬度跨度较大，会产生地理隔离以及环境异质性，这可能塑造了不同地区文昌鱼独特的群体遗传格局。本研究基于特异性位点扩增片段测序（SLAF-seq）技术，对河北昌黎、山东青岛和福建厦门 3 个地区的文昌鱼群体进行了全基因组 SNP 分子标记开发，并根据所得到的 SNP 标记对其群体遗传多样性和遗传结构进行分析，由此确定这 3 个地区文昌鱼的群体遗传多样性水平，并研究不同群体之间的系统发育关系，为文昌鱼种质资源保护提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　实验材料及 DNA 提取

本研究所用的文昌鱼样品分别采自河北昌黎（CL，39°32′N，119°37′E）、山东青岛（QD，35°57′N，120°20′E）和福建厦门（XM，24°23′N，117°53′E）。在河北昌黎黄金海岸国家级自然保护区海域的核心区和缓冲区选择 5 个采样点进行文昌鱼活体采集，青岛和厦门的文昌鱼则从当地采集，样品采回后浸泡于 95% 的酒精中，于 −20 ℃ 条件下保存。昌黎群体选样 11 条文昌鱼，青岛和厦门群体则各选 9 条文昌鱼。分别取 10 mg 背鳍组织样品，使用天津兰瑞生物技术有限公司生产的基因组 DNA 提取试剂盒进行 DNA 提取。

1.2　细胞色素 C 氧化酶亚基 I（*COI*）基因序列扩增及比对

选择昌黎、青岛和厦门 3 个群体基因组 DNA 的 *COI* 序列进行扩增。本研究选择扩增线粒体 DNA 的 *COI* 基因引物[2]COI-F（5’-CTACTAATCATAAAGATATTGG-3’）和 COI-R（5’-TAATAGTAGTAAATAAGCAGT-3’），引物由北京六合华大基因科技有限公司完成。PCR 扩增体系总体积为 25 μL，其中，含 DNA 模板 1 μL，正反引物（稀释 10 倍）各 0.5 μL，Taq 酶 12.5 μL，ddH_2O 10.5 μL。PCR 反应条件如下：94 ℃ 预变性 5 min；95 ℃ 变性 1 min；50 ℃ 复性 1 min；72 ℃ 延伸 1 min，35 个循环，并于 −20 ℃ 保存备用。扩增后的产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后进行测序，将测序获得的 *COI* 基因序列通过 NCBI 中的 BLAST 功能来进行比对和验证。

1.3　SLAF-seq 测序与 SNP 标记开发

根据基因组大小（380.61 Mb）及 GC 含量（41.65%）等数据，选取 *Branchiostoma floridae* 基因组作参考，开展酶切预测。使用 SLAF-predict 软件预测，从中筛选最优酶切方案。筛选遵循 4 个原则：重复序列酶切片段占比小；酶切片段在基因组中均匀分布；片段长度适配实验体系；片段数符合预期标签数。最终确定限制性内切酶组合为 Rsa I+Hae Ⅲ，酶切片段长度预计为 364 ~ 414 bp，用于对样品基因组 DNA 分别酶切，酶切片段经 3′端加 A、连接测序接头、PCR 扩增及纯化后，混样并切胶回收目的片段，文库质检合格即可测序。以上均送至北京百迈客生物科技有限公司完成。

在对原始测序数据进行质量评估与过滤筛选后，保留高质量 reads 进行相似性聚类分析，并基于 *B. floridae* 参考基因组开展 SNP 开发。运用 bwa[18] 把测序 reads 比对至参考基因组，采用 GATK（v3.8）[19] 与 Samtools（v1.9）[20] 方法分别开发 SNP 标记，其交集作为最终可靠的 SNP 标记数据集。

1.4　群体遗传分析

基于筛选得到的 SNP 标记，通过期望等位基因数（*Ea*）、期望杂合度（*He*）、基因多样性指数（*Nei*）、观测等位基因数（*Oa*）、观测杂合度（*Ho*）、多态性信息含量（*PIC*）和 Shannon-Wiener 指数（*I*）等多样性参数完成对 3 个地区文昌鱼的群体遗传多样性分析。

根据筛选得到的 SNP 标记对 3 个地区文昌鱼的群体遗传结构进行分析，主要包括系统发育分析、种群结构分析、亲缘关系分析和主成分分析（PCA）。系统发育分析使用 MEGAX 软件[21] 开展，基于邻接法，采用 Kimura 2-parameter 模型，设置 bootstrap 重复 1000 次，以此构建系统发育树。种群结构采用 admixture(v1.22) 软件，分析研究 3 个地区文昌鱼的群体结构[22]。亲缘关系分析通过使用 GCTA(v1.92.1) 软件绘制 Kinship 热图来完成[23]。PCA 使用 EIGENSOFT

(v6.0) 软件, 得到样品的聚类情况[24]。

2 结果与讨论

2.1 结 果

2.1.1 基于 *COI* 序列的比对分析

对 3 个地区文昌鱼个体所获得的 *COI* 基因进行测序后, 利用核苷酸 BLAST 比对, 确定所获得的 *COI* 基因与白氏文昌鱼(AB478562.1)的同源性很高, 序列一致性为 99.09% ~ 100.00%。本研究采集的青岛、昌黎及厦门文昌鱼样本与白氏文昌鱼存在较近的亲缘关系。

2.1.2 测序结果及 SNP 标记开发

对 29 个文昌鱼测序样本的数据进行统计分析, 共获得 219.16 Mb reads 数据, 测序平均 Q30 为 94.44%, 平均 GC 含量为 41.98%; 共获得 SLAF 标签 544060 个, 标签的平均测序深度则为 11.85 x, 其中包含多态性 SLAF 标签 488700 个, 共获得 SNP 标记 11991929 个。SLAF 标签和 SNP 均匀分布在染色体上。过滤掉缺失率 >20%、次要等位基因频率低于 0.05 以及位点完整度低于 0.5 的位点, 获得 2977775 个高质量 SNP 位点进行下游分析。

2.1.3 群体遗传多样性分析

对 3 个地区文昌鱼遗传多样性参数进行统计(表 1)。由表 1 可知, 遗传多样性参数 *He*、*Ho*、*PIC*、*Nei* 和 *I* 在 3 个群体中都呈现厦门>青岛>昌黎的趋势。而另外两个参数 *Ea* 和 *Oa* 则呈现昌黎>青岛>厦门的趋势。总体来说, 厦门群体遗传多样性最高, 而昌黎群体遗传多样性最低。根据 Botstein 等[25] 的标准, 3 个地区文昌鱼的多态性信息含量值均为 0.25 ~ 0.5, 呈现中度多态性。昌黎群体的近交系数(*Fis*)值(约 0.350)最高, 表明其杂合子缺失现象最为显著; 青岛群体的 *Fis* 值(约 0.313)次之; 厦门群体的 *Fis* 值(约 0.310)相对最低, 但仍为正值。

表 1 文昌鱼群体的遗传多样性指数

Tab.1 Genetic diversity indexes of *Branchiostoma* populations

群体 (population)	期望等位基因数 (*Ea*)	期望杂合度 (*He*)	基因多样性指数 (*Nei*)	观测等位基因数 (*Oa*)	观测杂合度 (*Ho*)	多态性信息含量 (*PIC*)	香农-维纳指数 (*I*)
昌黎CL	1.367	0.309	0.332	1.736	0.201	0.254	0.478
青岛QD	1.359	0.332	0.364	1.659	0.228	0.270	0.505
厦门XM	1.356	0.339	0.375	1.635	0.234	0.275	0.514

2.1.4 遗传结构分析

基于不同个体基因组 SNP 差异程度, 对 3 个地区的文昌鱼进行 PCA 分析, 获得 3 个主成分, 累计贡献率 13.78%。其中主成分 1、主成分 2 和主成分 3 的值分别为 5.67%、4.06% 和 4.05%。从图 1 可以看出, 大多数昌黎和青岛文昌鱼个体聚为一组, 仅有少数个体游离分布。而厦门单独聚类, 且相对较为分散, 与其他两个群体有所差别。

利用筛选出的 SNP 标记构建系统发育树, 发现各地区的文昌鱼分别聚集在进化树的不同分枝上, 聚类效果明显, 说明 3 个群体之间具有一定的遗传分化(图 2)。进一步分析发现 3 个群体之间的遗传分化指数(F_{st})为 0.0196 ~ 0.0987(表 2)。根据 Wright[26] 的标准, 厦门与其他两个地区群体之间的 F_{st} 均为 0.05 ~ 0.15, 呈

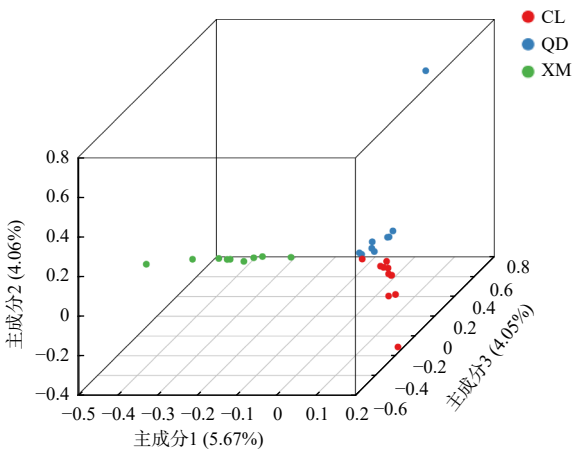


图 1 3 个地区文昌鱼的 PCA 结果

Fig. 1 Principal component analysis results for *Branchiostoma* from three regions

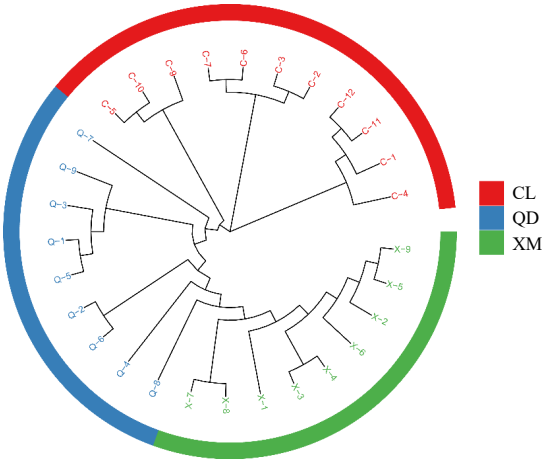


图 2　邻接法构建文昌鱼群体系统发育树

Fig. 2　Neighbor-Joining phylogenetic tree of *Branchiostoma* populations

现中等程度的遗传分化；而昌黎与青岛群体之间 F_{st}<0.05，呈现低程度的遗传分化。Admixture 种群结构分析结果（图 3）显示，当 K=1 时交叉验证错误率呈现最低值，为最佳聚类结果，说明 3 个地区的文昌鱼在分子层面上并没有遗传结构方面的差异，遗传物质应起源于同一祖先。

表 2　不同地区群体间的遗传分化指数 (F_{st})

Tab.2　Genetic differentiation indices(F_{st}) among populations in different regions

群体population	昌黎CL	青岛QD	厦门XM
昌黎CL	—	—	—
青岛QD	0.0196	—	—
厦门XM	0.0987	0.0901	—

注：0<F_{st}<0.05，群体间存在极弱的遗传分化；0.05≤F_{st}<0.15，群体间存在中等程度的遗传分化；0.15≤F_{st}<0.25，群体间存在较大的遗传分化；F_{st}≥0.25，群体间存在极大的遗传分化

Note: 0<F_{st}<0.05, there is extremely weak genetic differentiation among populations; 0.05≤F_{st}<0.15, there is moderate genetic differentiation among populations; 0.15≤F_{st}<0.25, there is substantial genetic differentiation among populations; F_{st}≥0.25, there is extremely high genetic differentiation among populations

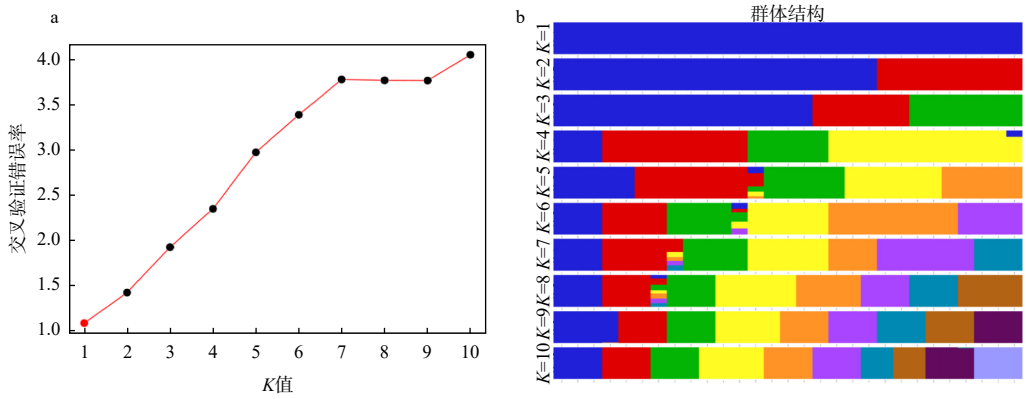


图 3　基于 Admixture 分析的文昌鱼样品交叉验证错误率 (a) 和聚类结果 (b)

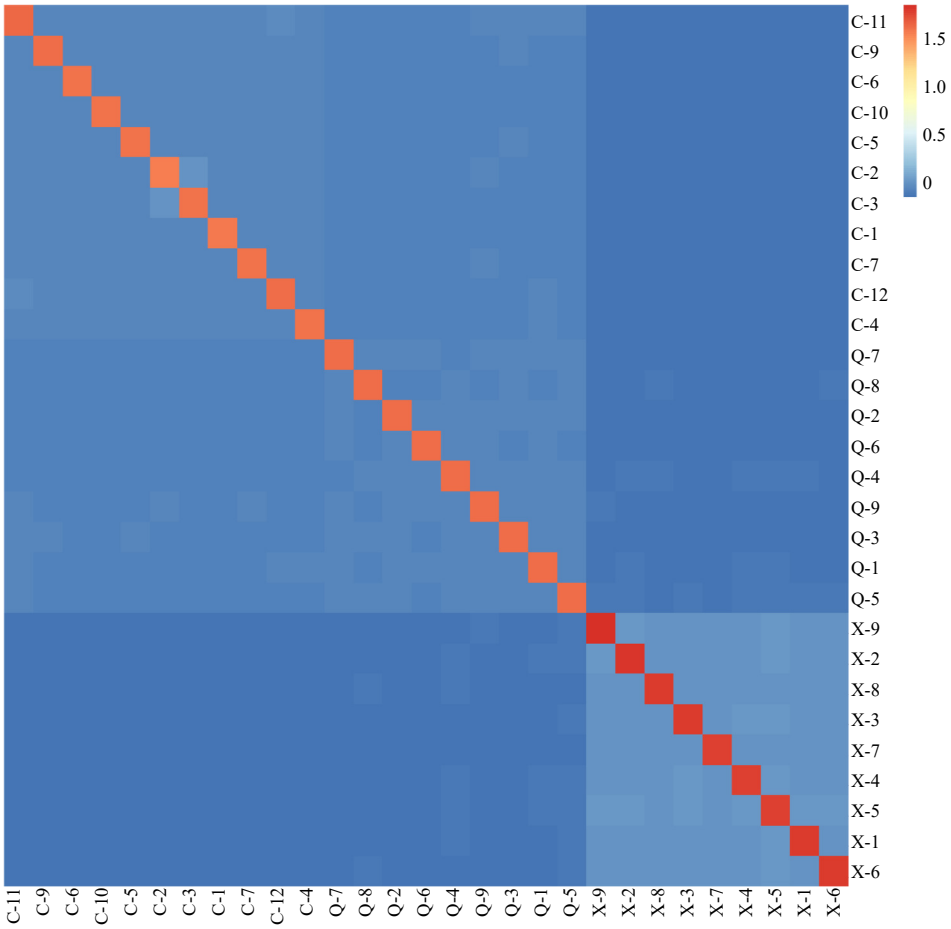
Fig. 3　Cross validation error rate (a) and clustering results (b) of *Branchiostoma* samples based on Admixture analysis

为进一步探究 3 个群体样本之间的亲缘关系，本研究基于 SNP 标记进行了亲缘关系矩阵分析（图 4）。结果显示，3 个地区群体样本明显分为两个亚群，其中青岛和昌黎个体组成一个亚群，说明两群体之间遗传信息相似度更高，亲缘关系更近。而厦门个体单独聚为一个亚群，与其他两个群体之间亲缘关系相对较远。

2.2　讨 论

2.2.1　群体遗传多样性

遗传多样性作为种内不同群体或个体间的遗传变异总和，既是评估种群进化潜力与生存适应能力的关键指标，也是物种应对复杂环境变化的核心保障[27]。文昌鱼作为国家二级保护动物，其遗传多样性研究不仅关乎种质资源评价体系的完善，更对濒危物种保护策略的制定具有重要科学价值。通过对比发现，文昌鱼的遗传多样性从厦门往昌黎方向依次递减，说明文昌鱼的遗传多样性存在纬度差异，随着纬度升高而降低，这与 Chen Y[28] 的研究结果一致。在遗传多样性评价中，多态性信息含量与杂合度是两个良好的衡量指标。其中，多态性信息含量（*PIC*）是衡量分子标记在群体中检测多态性能力的关键指标。



注: 图中颜色梯度对应亲缘系数, 颜色由蓝色向红色过渡表示亲缘关系系数逐渐升高, 个体间遗传相似度逐渐增强

Note:The color gradient in the figure corresponds to the coefficient of kinship. The transition from blue to red indicates a gradual increase in the coefficient of kinship, meaning the genetic similarity between individuals gradually strengthens

图 4 文昌鱼个体的亲缘关系热图

Fig. 4 Heat map of genetic relationship of *Branchiostoma* Individuals

从 *PIC* 值来看, 本研究中 3 个地区的 *PIC* 值均为 0.25 ~ 0.5, 呈现中度多态性。而张志红[29] 基于微卫星标记技术测得的厦门文昌鱼 *PIC* 大于 0.5, 呈现高度多态性, 这可能与不同的分子标记技术有关。杂合度 *H* 表示一个多态位点为杂合子的可能性, 可以反映出群体遗传结构变异程度的高低。本研究中 3 个地区群体的 *Ho* 值均小于 *He* 值, 表明群体可能受到选择、漂变、迁移或非随机配对等因素的影响。同样, Dai 等[30] 基于微卫星标记技术对青岛、厦门、北海 3 个文昌鱼群体的遗传多样性分析, 发现青岛与厦门文昌鱼群体的 *Ho* 值小于 *He* 值, 说明在时间尺度上厦门和青岛的文昌鱼群体一直在发生遗传漂变和遗传选择。而陈锦等[31] 利用等位酶技术测得厦门文昌鱼的 *Ho* 值大于 *He* 值, 杂合子具有更高的适应性, 表明环境因素可能对厦门群体的基因频率变化起到了主导作用。通过比较发现, 本研究中 3 个群体杂合子缺失的程度存在差异, 昌黎群体>青岛群体>厦门群体, 这可能与各群体特异性因素有关。虽然昌黎群体的 *Oa* 和 *Ea* 值在 3 个群体中并非最低, 但其 *Ho* 值最低, 且 *Fis* 值最高。结合其相对最低的遗传多样性(*He*、*PIC*、*Nei* 指数等), 这可能暗示昌黎群体有效群体大小相对较小, 或经历过更严重的瓶颈事件, 导致遗传漂变效应更强, 从而加剧了杂合子的随机丢失。此外, 昌黎群体最高的 *Fis* 值可能反映其群体内近交水平相对较高, 这可能是其栖息地更为片段化、种群密度较低或存在繁殖限制, 导致个

体间亲缘交配的概率增加。因此，虽然三地群体普遍存在杂合子缺失，但昌黎群体表现出的偏离程度最强，其遗传状态应被重点关注。

2.2.2　群体遗传结构

本研究利用 *COI* 基因序列比对发现，采集的青岛、昌黎及厦门文昌鱼样本与白氏文昌鱼（AB478562.1）同源性很高。通常认为，我国分布的白氏文昌鱼主要包括青岛亚种（*B. tsingtauense Tchang et Koo*）和厦门亚种（*B. belcheri Gray*）[32]。国内一些学者基于 *Cyt b* 及 *COI* 等基因进行群体遗传分析发现，厦门群体与青岛群体、产于日本的文昌鱼群体之间的遗传距离达到了种间水平，并建议将 *B. belcheri tsingtauense* 订正为 *B. japonicum*[33-35]。*COI* 基因作为线粒体 DNA 中高度保守的基因，遵循严格的母系遗传，被广泛应用于分子系统发育和群体遗传研究[36]。*COI* 序列的比对结果主要反映了母系祖先的历史谱系关系。本研究结果表明，3 个群体在母系起源上与白氏文昌鱼同源性较高。然而，单一的线粒体标记无法有效反映群体内、群体间由于基因交流、遗传漂变、选择等过程导致的核基因组的整体变异格局。本研究进一步通过 SLAF-seq 开发全基因组 SNP 标记，这些标记遵循孟德尔双亲遗传规律，能够体现基因重组情况，还能为群体当前的遗传结构呈现“全景图”，反映出双亲遗传贡献、历史基因流、遗传漂变以及自然选择等进化力量共同作用的结果。基于 SNP 标记的 PCA 分析和系统进化树结果表明，3 个地区的文昌鱼群体聚集效果明显，说明 3 个地区群体间存在一定的遗传差异。亲缘关系分析同样表明昌黎和青岛群体之间的亲缘关系要近一些，厦门群体相对更为独立。研究结果同样支持厦门文昌鱼归属于 *B. belcheri*，而青岛与昌黎群体归属于 *B. japonicum* 的说法[37]。需注意的是，Admixture 种群结构分析显示，当 K=1 时交叉验证错误率呈现最低值，为最佳聚类结果，说明 3 个地区的文昌鱼群体起源于同一祖先，即存在一个共同的基因库。本研究的群体遗传分析结果揭示了不同时间尺度的进化信号，可能反映了在相对较近的进化历史上，昌黎、青岛、厦门三地文昌鱼群体源自一个共同的、未发生显著分化的祖先群体。然而，PCA 分析、系统发育树、亲缘关系热图以及 F_{st} 值则揭示了在更近的时期内，由于地理隔离、局部适应或遗传漂变等因素的作用，3 个群体之间已开始出现遗传分化的格局。其中，地理距离最远的厦门群体，与北方（昌黎、青岛）群体之间已形成中等程度的遗传分化（F_{st} >0.05），并在 PCA 和亲缘关系图中表现出相对的独立性；地理距离较近的昌黎与青岛群体之间，则遗传分化微弱（F_{st} <0.05），遗传背景更为相似。这种模式与“距离隔离”模型相符，即基因流随地理距离增加而衰减，导致远距离群体间产生更明显的遗传分化。Admixture（K=1）的结果暗示了 3 个群体具有较近的共同进化起源，而基于 SNP 开展的多维度分析则说明，在近期历史中，因地理隔离等因素导致群体间遗传分化程度呈现出连续梯度。两者结合分析可描绘从共同祖先到近期分化的动态过程。

本研究发现，厦门群体与昌黎、青岛群体之间存在中等程度的遗传分化，而昌黎与青岛群体之间的遗传分化较为微弱，这一现象主要可通过地理隔离导致的基因流限制来解释[38]。厦门地处中国东南沿海，与北方的昌黎、青岛地理距离遥远，这种显著的空间隔离很可能极大地限制了群体间的个体迁移与基因交流，使得厦门群体在遗传上相对独立演化，这与基于其他标记对海洋生物谱系地理学的研究结论一致[39]。相反，昌黎与青岛地理相邻，共享黄渤海相近的生态环境，二者之间可能通过沿岸流等过程存在一定程度的当代或历史基因流，从而维持了较低的遗传分化水平。在相近海域的威海与青岛群体间也观测到较高的基因流水平[40]，支持邻近地理群体间基因交流更频繁的推断。此外，不同纬度气候带的潜在选择压力（如水温、盐度差异）也可能对遗传结构产生塑造作用[28]。已有研究指出气候因素在塑造文昌鱼等海洋物种的遗传格局中扮演重要角色[41]。然而，本研究基于 SNP 标记的分析显示，在当前尺度下，地理距离及由此导致的基因流限制是解释 3 个群体间遗传分化格局的首要因素。

2.2.3　文昌鱼保护性建议

物种的适应能力与遗传多样性往往呈正相

关关系，而稀有濒危物种的遗传多样性水平普遍较低[42]。文昌鱼作为濒危保护动物，如今国内各地区对于文昌鱼的生境修复工作有所成效，其遗传多样性总体处于一个较平稳的水平[29-31,40,42-43]。在过去几十年间，为恢复厦门文昌鱼种群，厦门对过度捕捞的文昌鱼海域采取了修复生境和设立保护区等措施[44]。而昌黎地区也意识到近年来海水养殖对文昌鱼的栖息环境的破坏，以及由此引发的种群量下降问题[3]，随后也设立了河北昌黎国家级自然保护区，如今保护区生态环境稳定，种群密度有所回升[45]。基于本研究具体数据，针对 3 个群体分别提出了更具针对性的保护建议。

昌黎群体在遗传多样性多项指标上均为最低，而 *Fis* 值较高。基于此，其应对环境变化、疾病等胁迫的遗传潜力可能较弱，灭绝风险相对更高。建议在河北昌黎黄金海岸国家级自然保护区现有工作的基础上：(1)严格控制海岸带开发、养殖活动及陆源污染，确保其核心栖息地的完整性与水质稳定；(2)可考虑将昌黎群体作为一个独立的保护管理单元进行监测，定期(如每 3 ~ 5 年)进行遗传多样性评估，跟踪其动态变化；(3)在必要时进行科研采样或生态调查时，应严格控制采样强度，避免因小样本量采集而进一步加剧其遗传漂变。

青岛群体遗传多样性处于中等水平，且与邻近的昌黎群体基因交流可能较为频繁，应侧重于连通性保护与可持续利用。具体建议：(1)保护连接昌黎–青岛的沿岸海域生态廊道，保障洋流等自然过程驱动的幼体扩散与基因交流，这有助于两个群体共同维持整体的遗传健康；(2)在严格监控和科学评估的前提下，青岛群体可作为潜在的遗传资源储备，为未来可能涉及的、极谨慎的遗传恢复计划提供参考。

厦门群体具有较高的遗传多样性，是宝贵的种质资源，同时是一个遗传上相对独立的单元，具有独特的进化历史与适应潜能，因此应侧重原位保护与独特进化潜能的维持。具体建议：(1)应着重于维持其现有的栖息地环境与选择压力，避免人为引入北方群体或其他外来群体，防止基因污染和杂交，以保护其独特的遗传构成和本地适应性；(2)把该群体作为物种遗传多样性的重要储备库。继续加强厦门珍稀海洋物种国家级自然保护区的管理，并将其作为长期遗传监测的重点对象以理解高多样性群体的维持机制。

本研究中 3 个地区文昌鱼的样本量相对较小，可能对遗传多样性参数(尤其是低频等位基因)的估计精度和群体结构分析的稳定性产生一定影响。然而，SNP 标记在全基因组中数量多、分布广，对样本量的依赖程度低于微卫星等传统标记[46-47]。从同类研究来看，本研究的样本量处于 SLAF-seq 群体遗传学研究的常见范围[14,48]，所获得的高质量 SNP 位点(>297 万个)在一定程度上弥补了小样本量的不足。尽管如此，本研究结果仍需通过扩大样本量、增加采样点来进一步验证，未来可结合群体历史动态模型，更精确地解析文昌鱼群体的遗传结构与演化机制。

3 结 论

(1)本研究以河北昌黎、山东青岛和福建厦门 3 个地区的文昌鱼为研究对象，通过 *COI* 分子标记分析，发现采集的青岛、昌黎及厦门文昌鱼样本与白氏文昌鱼(AB478562.1)同源性很高。

(2)基于 SNP 分子标记进行群体遗传学比较分析，结果表明，厦门文昌鱼群体的遗传多样性最高，青岛群体次之，昌黎群体最低。基于 SNP 标记构建的系统发育树、亲缘关系图和 PCA 结果表明，昌黎群体与青岛群体之间遗传信息更为相似，而厦门群体单独聚类。遗传分化指数显示，厦门地区群体与其他两个群体存在中等程度的遗传分化，而昌黎与青岛群体之间遗传分化不明显，可能是由地理隔离及遗传漂变等原因引起的。

(3)本研究还存在一定局限性，首先是样本量与地理覆盖范围有限，可能影响参数估计的精确性与格局的全面性；其次是基于 SNP 难以区分遗传漂变与自然选择对分化的具体贡献，无法精确推断种群事件发生的时间。未来可通过扩大取样量、结合群体历史动态模型，对文昌鱼群体的遗传结构与演化机制展开更为精确的解析。

致谢：感谢河北省海洋地质资源调查中心

为出海采样工作提供了坚实助力。向该中心致以最诚挚的感谢。

参考文献：

[1] 潘利文, 王航俊, 张　钊, 等. 浙江省发现文昌鱼 [J]. 动物学杂志, 2022, 57(5): 742-750.

[2] 吴　玲, 宋　娜, 高天翔. 中国沿海 2 种文昌鱼遗传多样性研究 [J]. 海洋湖沼通报, 2013(3): 80-88.

[3] 杜小媛, 赵　升, 鲍萌萌, 等. 秦皇岛昌黎邻近海域青岛文昌鱼资源调查及大型底栖动物群落特征研究 [J]. 广西科学, 2024, 31(1): 28-39.

[4] 高　敏, 高　杰, 韩晓庆, 等. 近十年来昌黎生态监控区生态环境演变分析 [J]. 海洋湖沼通报, 2017(4): 91-97.

[5] 黄　雯, 冯　逸, 李　明, 等. 造礁石珊瑚群体遗传学研究进展 [J]. 热带海洋学报, 2024, 43(6): 13-26.

[6] 周涵韬, 连玉武, 邱检萍, 等. 厦门文昌鱼遗传多样性研究 [J]. 海洋科学, 2003, 27(11): 68-74.

[7] 郭昱嵩, 王中铎, 刘楚吾, 等. 湛江海域文昌鱼 (*Branchiostoma*) 线粒体 *Cyt* b 基因的全序列分析 [J]. 广东海洋大学学报, 2008, 28(1): 6-10.

[8] Li W Y, Zhong J, Xu W, et al. Microsatellite DNA marker development and genetic diversity of *Branchiostoma belcheri* in Xiamen waters[J]. Marine Biology Research, 2011, 7(8): 826-831.

[9] 杨　晶, 许敏敏, 黄　舒, 等. 基于二代测序技术的人类 SNP 遗传标记检测体系的建立及验证 [J]. 中国法医学杂志, 2024, 39(4): 439-443.

[10] Durstewitz G, Polley A, Plieske J, et al. SNP discovery by amplicon sequencing and multiplex SNP genotyping in the allopolyploid species *Brassica napus*[J]. Genome, 2010, 53(11): 948-956.

[11] 滕爽爽, 胡高宇, 范建勋, 等. 缢蛏 5 个群体遗传多样性和遗传分化的 SNP 分析 [J]. 水生生物学报, 2021, 45(4): 861-870.

[12] 刘宇辰, 张振宇, 尹旻臻, 等. 药用芍药栽培品种的 SNP 标记开发及品种鉴定 [J]. 中草药, 2025, 56(1): 239-247.

[13] 高鲁修, 刘炳舰, 郑思旭, 等. 基于重测序技术的黄姑鱼野生与养殖群体遗传多样性及遗传分化分析 [J]. 海洋通报, 2025, 44(4): 504-515.

[14] 张　晋, 刘海洋, 崔同心, 等. 5 个乌鳢群体的 SLAF 测序及群体遗传结构和遗传多样性分析 [J]. 大连海洋大学学报, 2024, 39(6): 968-976.

[15] 谢玲莉, 沈玉帮, 桂　朗, 等. 基于全基因组重测序技术探究亚洲草鱼遗传多样性及其适应机制 [J]. 水产学报, 2025, 49(1): 38-52.

[16] Molecular Ecology Resources Primer Development Consortium, An J, Bechet A, et al. Permanent genetic resources added to molecular ecology resources database 1 October 2009–30 November 2009[J]. Molecular Ecology Resources, 2010, 10(2): 404-408.

[17] Zhu Y C, Lu N, Chen J Y, et al. Deep whole-genome resequencing sheds light on the distribution and effect of amphioxus SNPs[J]. BMC Genomic Data, 2022, 23(1): 26.

[18] Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform[J]. Bioinformatics, 2009, 25(14): 1754-1760.

[19] 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.

[20] Li H, Handsaker B, Wysoker A, et al. The sequence alignment/map format and SAMtools[J]. Bioinformatics, 2009, 25(16): 2078-2079.

[21] 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.

[22] Alexander D H, Novembre J, Lange K. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals[J]. Genome Research, 2009, 19(9): 1655-1664.

[23] Yang J, Lee S H, Goddard M E, et al. GCTA: a tool for genome-wide complex trait analysis[J]. The American Journal of Human Genetics, 2011, 88(1): 76-82.

[24] Price A L, Patterson N J, Plenge R M, et al. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies[J]. Nature Genetics, 2006, 38(8): 904-909.

[25] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. American Journal of Human Genetics, 1980, 32(3): 314-331.

[26] Wright S. The genetical structure of populations[J]. Annals of Eugenics, 1949, 15(1): 323-354.

[27] 韩学凯, 张　睿, 扎西拉姆, 等. 气候变暖诱发青藏高原盐湖变淡对拉果错卤虫形态变化和遗传变异的影响 [J]. 中国水产科学, 2024, 31(8): 978-987.

[28] Chen Y, Cheung S G, Kong R Y C, et al. Morphological and molecular comparisons of dominant amphioxus populations in the China Seas[J]. Marine Biology, 2007, 153(2): 189-198.

[29] 张志红. 文昌鱼微卫星标记的筛选及其遗传多样性与保护策略的研究 [D]. 厦门: 集美大学, 2011: 40–61.

[30] Dai G, Li Y Y, Li Z B, et al. Isolation and characterization of twelve novel polymorphic microsatellite loci in the *Branchiostoma belcheri* Gray (Amphioxus)[J]. Conservation Genetics Resources, 2013, 5(4): 1115-1116.

[31] 陈　锦, 黎中宝, 赵斌丽, 等. 厦门文昌鱼 (*Branchiostoma belcheri* Gray) 种群杂合性研究 [J]. 海洋与湖沼, 2009, 40(1): 78-82.

[32] 闫路娜, 左惠凯, 曹玉萍. 文昌鱼秦皇岛、青岛和厦门地理种群形态特征的分化 [J]. 动物学研究, 2005, 26(3): 311-316.
[33] 王义权, 许群山, 彭宣宪, 等. 通过 *Cyt b* 基因同源序列比较评估厦门文昌鱼的分类学地位 [J]. 动物学报, 2004, 50(2): 202-208.
[34] 王义权, 方少华. 文昌鱼分类学研究及展望 [J]. 动物学研究, 2005, 26(6): 666-672.
[35] Luo J C, Xiao Y S, Song L, et al. Phylogenetic separation of lancelets in China revealed by mitochondrial *COI* and *Cyt b* gene analysis[J]. South China Fisheries Science, 2007, 3(2): 8-14.
[36] 申 欣, 田 美, 孟学平, 等. 文昌鱼线粒体基因组特征分析及分子标记探讨 [J]. 海洋科学, 2011, 35(7): 7-13.
[37] 李伟业, 钟 婧, 王义权. 基于 *COX I* 基因的太平洋西岸文昌鱼地理种群分析 [J]. 动物学研究, 2010, 31(4): 375-380.
[38] Slatkin M. Gene flow and the geographic structure of natural populations[J]. Science, 1987, 236(4803): 787-792.
[39] 戴 刚. 濒危物种文昌鱼群体遗传学及三种海参微卫星开发的研究 [D]. 厦门: 集美大学, 2014: 42–70.
[40] Zhao Q, Zhu Q. Taxonomic and genetic status of lancelet in Weihai coastal waters based on mitochondrial DNA sequence[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2011, 29(3): 623-632.
[41] 朱茵霖, 冯建龙, 赵 亮. 基于 MaxEnt 的渤、黄海青岛文昌鱼潜在栖息地分析 [J]. 海洋通报, 2025, 44(1): 47-56.
[42] 王奕华, 张士璀, 刘振辉. 青岛文昌鱼遗传多样性的 RAPD 分析 [J]. 海洋水产研究, 2004, 25(3): 21-27.
[43] 杨学明, 黎明星, 张 立, 等. 北海文昌鱼遗传多样性的 RAPD 分析 [J]. 南方农业学报, 2011, 42(4): 432-436.
[44] 陈甘霖, 王鑫煌, 吴 昊, 等. 厦门海域文昌鱼资源时空分布和保护 [J]. 应用海洋学学报, 2024, 43(4): 659-667.
[45] 陈作艺, 王旭鹏, 王 刚, 等. 昌黎海域青岛文昌鱼栖息地评价及其分布特征 [J]. 河北环境工程学院学报, 2023, 33(4): 76-84.
[46] Trask J A S, Malhi R S, Kanthaswamy S, et al. The effect of SNP discovery method and sample size on estimation of population genetic data for Chinese and Indian rhesus macaques (*Macaca mulatta*)[J]. Primates, 2011, 52(2): 129-138.
[47] Nazareno A G, Bemmels J B, Dick C W, et al. Minimum sample sizes for population genomics: an empirical study from an Amazonian plant species[J]. Molecular Ecology Resources, 2017, 17(6): 1136-1147.
[48] 康佳惠, 郑敏娜, 杨 富, 等. 基于 SLAF-Seq 的燕麦种质资源遗传多样性分析和群体结构分析 [J]. 草地学报, 2025, 33(10): 3185-3193.

（本文编辑：胡莹莹）