

斑点叉尾鲷4个群体遗传多样性的微卫星分析

崔蕾 谢从新 李艳和 于永耀 刘肖莲 张杰 周小云

华中农业大学水产学院/农业动物遗传育种与繁殖教育部重点实验室, 武汉 430070

摘要 采用16对微卫星引物对斑点叉尾鲷3个引进地理群体(德克萨斯州、阿拉巴马州和密西西比州)和1个“本地优”群体(丹江口水库和青江水库杂交后选育的优良个体)进行遗传多样性分析。结果表明:4个群体的等位基因数在2~18之间,平均有效等位基因数为5.820 8~6.146 6,平均观测杂合度为0.653 0~0.693 5,平均期望杂合度为0.732 7~0.756 6,平均多态信息含量为0.613 5~0.725 6;哈代-温伯格平衡检验结果显示,4个群体在大部分位点显著偏离平衡,遗传偏离指数 D 多为负值,表明4个群体均存在一定程度的杂合子缺失。其中,德克萨斯和密西西比群体的遗传距离最远(0.275 0),相似度最低(0.759 6)。分子方差分析结果显示:遗传变异4.22%来自群体之间,95.78%来自于群体内部。基于群体间Nei氏标准遗传距离构建的4个群体的UPGMA系统进化树结果显示,密西西比群体单独聚为一类,德克萨斯、本地优和阿拉巴马群体聚为一类,其中在德克萨斯、本地优和阿拉巴马群体这个分支中,德克萨斯和本地优群体聚为一类。综上所述,4个群体内遗传变异较大,遗传多样性水平较高,具有一定的育种潜力,可以作为良好的育种材料。

关键词 斑点叉尾鲷; 微卫星; 地理群体; 遗传多样性; 遗传距离

中图分类号 S 917 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2012)06-0744-08

斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)隶属于鲇形目(Siluriformes)、北美鲇科(Ictaluridae)、叉尾鲷属(*Ictalurus*)。原产于美国和墨西哥北部,是一种大型的淡水鱼类,具有生长速度快,环境适应性强,容易饲养,抗病力强,肉质鲜美等优点,在美国有着悠久的养殖历史,是美国主要的淡水养殖品种之一^[1]。该鱼于1984年引进我国,经过多年的养殖推广现已遍及全国20多个省、市、自治区,成为我国重要的淡水养殖品种之一。然而由于引进后多年的累代养殖、人工选育工作滞后和亲本数量较少等原因,导致斑点叉尾鲷的种质退化严重,主要表现在抗病力下降、生长缓慢和规格变小,高密度集约化养殖时容易发生大规模病害和死亡,这些问题严重制约了斑点叉尾鲷的产业发展^[2]。为了进一步提高养殖鲷鱼的产量和质量,确保鲷鱼养殖业的可持续发展,进行斑点叉尾鲷种质资源保护和遗传育种改良的研究已经成为人们关注的重点。因此,对我国现有的斑点叉尾鲷的种群结构、遗传多样性等进行分析便显得十分必要。

随着基因组学和其他遗传技术的迅速发展,水产动物遗传育种学研究也进入了一个新纪元。其中主要包括基因组测序、DNA分子标记和体细胞核移植、干细胞技术等^[3]。其中微卫星标记(microsatellite marker)是DNA分子标记中应用最为广泛的标记之一^[4],因其具有较高的多态性、呈共显性遗传等特点而被广泛应用于鱼类种群遗传多样性分析、种质资源保护以及遗传图谱建立和QTL定位等研究中^[5]。

本研究采用微卫星标记技术,利用16个微卫星标记对来自大岩湖的4个斑点叉尾鲷群体进行种群结构和遗传多样性分析,旨在为斑点叉尾鲷的育种工作提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所采集的样品均来自湖北省嘉鱼县大岩湖美国斑点叉尾鲷养殖基地,4个斑点叉尾鲷群体分别为该基地从美国德克萨斯州、阿拉巴马州和密西

收稿日期: 2012-07-06

基金项目: 国家科技支撑计划(2012BAD25B06)

崔蕾, 硕士, 研究方向: 鱼类遗传育种。E-mail: cuilei.1987@webmail.hzau.edu.cn

通讯作者: 周小云, 博士, 讲师。研究方向: 鱼类遗传育种。E-mail: zhouxy@mail.hzau.edu.cn

西比州引进的原种以及本地优群体(丹江口水库 1997 年引进的美国密西西比品系子二代群体和青江水库 2005 年引进的美国密苏里品系子一代群体杂交后筛选的性状优良个体)。每个群体随机取样 40 尾,取鳍条组织,100%乙醇保存备用。

1.2 主要仪器和试剂

所用仪器主要有 PCR 仪(eppendorf AG)、低温离心机(Eppendorf centrifuge 5810R)和凝胶成像系统(Tanon 1600R)等。所用试剂主要包括 Taq DNA 聚合酶、dNTPs、上样缓冲液和 pUC18/Msp I 等,均购于上海博彩生物科技有限公司。

1.3 微卫星引物

本试验所用的 16 对微卫星引物均为陈姝君^[6]和 Waldbieser 等^[7]已发表的微卫星序列(表 1),由上海生工生物工程技术有限公司合成。

1.4 基因组 DNA 的提取

利用常规的酚-氯仿法^[8]提取鳍条组织的基因组 DNA,利用微量紫外分光光度计(NanoDrop2000)检测 DNA 的浓度和纯度,同时采用 1%的琼脂糖凝胶电泳检测所提 DNA 的质量。

1.5 PCR 反应及产物检测

PCR 反应体系:10 × Buffer (20 mmol/L

Mg²⁺)1 μL;dNTPs(10 mmol/L)0.2 μL;正反引物各 0.25 μL;Taq 酶(2 U/μL)0.1 μL;DNA 模板 0.5 μL;补充灭菌双蒸水至终体积为 10 μL。PCR 扩增程序为:95 °C 预变性 3 min,95 °C 变性 30 s,退火(温度见表 1)30 s,72 °C 延伸 45 s,32 个循环;最后 72 °C 充分延伸 5 min。扩增产物采用 8%的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行检测。

1.6 数据统计及分析

银染后得到的条带利用 QUANTITY ONE 软件进行读取,然后利用 Convert 软件进行统计软件间数据输入格式的转换。用 Popgene1.32 进行统计分析,计算 4 个群体各微卫星位点的等位基因数(A)、有效等位基因数(N_e)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、遗传相似系数(I)、群体间遗传距离(D_s)和 Hardy-Weinberg 遗传偏离指数(D)等。用 FSTAT 软件计算遗传分化指数(F_{st})及分子方差分析(AMOVA)。再根据 Nei 氏遗传距离通过 MEGA4 软件利用 UPGMA 法构建系统树。最后根据等位基因频率计算多态信息含量^[9]:

$$PIC = 1 - \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right) - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i p_j^2$$

其中 p_i 和 p_j 分别为第 i 和第 j 个等位基因的频率,n 为等位基因数。

表 1 16 对微卫星引物及其退火温度¹⁾

Table 1 Sixteen pairs of microsatellite maker sequence and annealing temperature

位点 Locus	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	退火温度/°C Annealing temperature	片段大小/bp Allel size
BM496819	F:TGGGATTGAGCCGTCATCAG R:TGTGTGGTCTCCGCTTGAGG	57	197
BM438559	F:GGAATGATGTGTTGTAGCAGTG R:ATGCTGGAAAAGTGTTCGCTG	57	206
BM496168	F:GCAGTTTGCGGGGAACAGG R:CATTCTTCTTATGGAGCTGT	56	208
BM438817	F:TGCATGTGTAATAACCCCTGAGA R:GCACGGGATAATCAACGCTG	57	100
BM496532	F:ACCTTGTGCTACAGACCCAG R:AGTCAATCGCAGGGCACCT	58	174
BM438814	F:AGATCCAGTCTCTGTGTTGG R:CGTGTGATGAAGGCAAGACAC	58	193
BM438944	F:GAAAATGACTCAAGCAGGAG R:CTGTACGTCGCAGTGCTCAC	56	212
BM439046	F:GCCAAAACGCTAACATGGCTG R:TGATTTGATACAGCGCGGTG	57	159
BM495325	F:CAGTATAGGGAAACCTGTTG R:TGCATGTGTGTGTGTGAC	56	177
IpCG0033	F:CTAGGTCTCGCCAATGTTCG R:ATAAAGTATGAAAAGTGGACCCC	53	150~213
IpCG0035	F:AACCACTAAGCCTAGCACGTTTC R:AGTATGGGTACTGCAACAAAACAAG	53	298~342
IpCG0040	F:CAAGTAAGTTAATGCGAGATAGTC R:TTCTTTAGACGGTTGATGGTC	52	235~287
IpCG0041	F:GTTCAGTGACAGATTCATTTTCATTC R:CTCCAGACTCCTTTTTTACTTCTTT	48	110~152
IpCG0043	F:CAGTAGGTCTGCTTGCAATCTGA R:TGTGATAGCATGATGGTAACCTGAG	48	133~207
IpCG0054	F:TTTAGATTCTACCTGACCTGTATTG R:ACTGAATGACTAAGGAGAAAAACATC	48	300~336
IpCG0057	F:GCTAAAGAAAAGGTAGACGACTG R:GAGGCTTTCTCACAAATACATACG	52	114~142

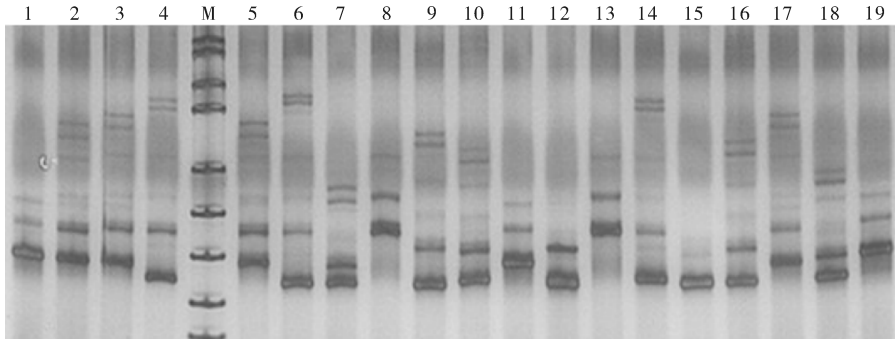
1)F:正向引物 Forward primer; R:反向引物 Reverse primer.

2 结果与分析

2.1 群体遗传多样性分析

经过 PCR 反应体系优化, 16 个位点在 4 个群

体中均能扩增出目的条带, 且均表现出不同程度的多态性。每个位点检测到 2~18 个不同的等位基因。图 1 为本地优群体部分个体在 IpCG0043 位点的微卫星扩增电泳图。



M: pUC18 /Msp I marker; 1~19: 本地个体 Individual of local populations.

图 1 本地优群体部分个体在 IpCG0043 位点的微卫星扩增电泳图

Fig. 1 Polyacrylamide electropherogram of SSR-amplified productions for some individuals of local population at locus IpCG0043

表 2 4 个斑点叉尾鲷群体在 16 个微卫星位点的多样性指数¹⁾

Table 2 The polymorphic information at 16 microsatellite loci of four *Ictalurus punctatus* populations

位点 Locus	多样性指数 Polymorphic information	群体 Population			
		德克萨斯 Texas	本地优 Local	密西西比 Mississippi	阿拉巴马 Alabama
BM496819	N_a	11.000 0	9.000 0	16.000 0	11.000 0
	N_e	8.069 0	4.314 9	11.267 6	6.736 8
	H_e	0.876 1	0.768 2	0.911 3	0.851 6
	H_o	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0.975 0
	PIC	0.863 6	0.734 7	0.904 4	0.834 8
BM438559	N_a	5.000 0	7.000 0	15.000 0	12.000 0
	N_e	1.488 4	1.387 8	4.938 3	2.358 1
	H_e	0.852 5	0.279 4	0.797 5	0.575 9
	H_o	0.375 0	0.282 1	0.475 0	0.575 0
	PIC	0.312 6	0.272 7	0.782 5	0.561 3
BM496168	N_a	10.000 0	13.000 0	10.000 0	13.000 0
	N_e	6.779 7	10.489 7	6.941 4	7.339 4
	H_e	0.852 5	0.904 7	0.855 9	0.863 8
	H_o	0.975 0	1.000 0	0.900 0	0.975 0
	PIC	0.836 5	0.896 7	0.839 8	0.849 4
BM438817	N_a	10.000 0	13.000 0	10.000 0	10.000 0
	N_e	7.048 5	9.993 1	8.377 0	7.090 9
	H_e	0.858 1	0.899 9	0.880 6	0.859 0
	H_o	1.000 0	0.947 4	0.875 0	0.871 8
	PIC	0.842 7	0.891 5	0.868 5	0.843 7
BM496532	N_a	7.000 0	3.000 0	2.000 0	7.000 0
	N_e	5.070 0	2.666 0	2.000 0	5.128 2
	H_e	0.802 8	0.624 9	0.500 0	0.805 0
	H_o	0.923 1	1.000 0	1.000 0	0.900 0
	PIC	0.775 9	0.554 6	0.375 0	0.777 1
BM438814	N_a	8.000 0	6.000 0	7.000 0	8.000 0
	N_e	4.790 4	4.039 8	3.665 5	2.749 1
	H_e	0.791 3	0.752 5	0.727 2	0.636 2
	H_o	0.375 0	0.461 5	0.375 0	0.400 0
	PIC	0.760 0	0.714 1	0.682 2	0.605 1

续表 2 Continued from Table 2

位点 Locus	群体 Population				
	多样性指数 Polymorphic information	德克萨斯 Texas	本地优 Local	密西西比 Mississippi	阿拉巴马 Alabama
BM438944	N_a	3.000 0	3.000 0	5.000 0	4.000 0
	N_e	1.134 3	1.053 0	1.499 5	1.427 9
	H_e	0.118 4	0.050 3	0.333 1	0.299 7
	H_o	0.075 0	0.051 3	0.325 0	0.325 0
	PIC	0.113 8	0.049 6	0.298 7	0.272 9
BM439046	N_a	7.000 0	6.000 0	3.000 0	2.000 0
	N_e	1.729 3	2.645 2	2.011 3	1.995 0
	H_e	0.421 7	0.622 0	0.502 8	0.498 8
	H_o	0.500 0	0.923 1	0.850 0	0.950 0
	PIC	0.403 9	0.567 3	0.388 4	0.374 4
BM495325	N_a	6.000 0	6.000 0	6.000 0	4.000 0
	N_e	3.368 4	3.414 1	2.213 0	2.509 8
	H_e	0.703 1	0.707 1	0.548 1	0.601 6
	H_o	0.425 0	0.384 6	0.425 0	0.475 0
	PIC	0.664 2	0.673 3	0.510 4	0.538 9
IpCG0033	N_a	17.000 0	13.000 0	15.000 0	11.000 0
	N_e	10.526 3	8.617 6	9.142 9	8.602 2
	H_e	0.905 0	0.884 0	0.890 6	0.883 8
	H_o	0.875 0	0.743 6	0.850 0	0.800 0
	PIC	0.897 5	0.873 6	0.880 9	0.872 2
IpCG0035	N_a	10.000 0	9.000 0	11.000 0	9.000 0
	N_e	4.826 5	5.929 8	5.992 5	4.893 0
	H_e	0.792 8	0.831 4	0.833 1	0.795 6
	H_o	0.375 0	0.615 4	0.450 0	0.375 0
	PIC	0.769 1	0.810 0	0.814 1	0.774 6
IpCG0040	N_a	14.000 0	10.000 0	15.000 0	13.000 0
	N_e	5.882 4	5.930 2	5.765 8	6.037 7
	H_e	0.830 0	0.831 4	0.826 6	0.834 4
	H_o	0.525 0	0.526 3	0.500 0	0.500 0
	PIC	0.813 2	0.812 2	0.806 5	0.818 0
IpCG0041	N_a	13.000 0	12.000 0	12.000 0	12.000 0
	N_e	9.439 5	8.090 4	8.184 1	7.692 3
	H_e	0.894 1	0.876 4	0.877 8	0.870 0
	H_o	0.475 0	0.359 0	0.475 0	0.425 0
	PIC	0.884 5	0.864 8	0.865 6	0.857 3
IpCG0043	N_a	14.000 0	15.000 0	13.000 0	13.000 0
	N_e	7.511 7	9.687 9	8.938 5	8.963 6
	H_e	0.866 9	0.896 8	0.888 1	0.888 4
	H_o	0.750 0	0.820 5	0.750 0	0.925 0
	PIC	0.853 6	0.888 0	0.877 6	0.878 0
IpCG0054	N_a	18.000 0	18.000 0	18.000 0	18.000 0
	N_e	13.559 3	11.183 8	11.985 0	12.955 5
	H_e	0.926 3	0.910 6	0.916 6	0.922 8
	H_o	0.900 0	0.846 2	0.800 0	0.850 0
	PIC	0.921 6	0.903 8	0.910 9	0.917 5
IpCG0057	N_a	10.000 0	12.000 0	11.000 0	11.000 0
	N_e	7.033 0	8.569 0	5.423 7	6.652 8
	H_e	0.857 8	0.883 3	0.815 6	0.849 7
	H_o	0.900 0	0.974 4	0.725 0	0.775 0
	PIC	0.841 5	0.872 1	0.793 4	0.833 6
平均值 Mean	N_a	10.187 5	9.687 5	10.562 5	9.875 0
	N_e	6.141 0	6.125 8	6.146 6	5.820 8
	H_e	0.739 1	0.732 7	0.756 6	0.752 3
	H_o	0.653 0	0.683 5	0.673 4	0.693 5
	PIC	0.613 5	0.711 2	0.724 3	0.725 6

1) N_a : 等位基因数; N_e : 有效等位基因数; H_o : 观测杂合度; H_e : 期望杂合度; PIC: 多态信息含量。 N_a , Number of alleles; N_e , Effective alleles; H_o , Observed heterozygosity; H_e , Expected heterozygosity; PIC, Polymorphic information content.

对斑点叉尾鲴 4 个群体的遗传多样性进行分析,16 个位点中的等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、多态信息含量(PIC)及其各个群体的平均值见表 2。由表可知,BM438944 位点的多态性最低,其余 15 个位点在 4 个群体中均表现出较高的多态性,其中阿拉巴马群体的多态信息(PIC)含量和观测杂合度(H_o)最高。而 N_a 、 N_e 、和 H_e 指数均是密西西比群体最高。

表 3 4 个斑点叉尾鲴群体各位点的遗传偏离指数(D)及其 P 值

Table 3 Hardy-Weinberg departure value (D) and P value for four *Ictalurus punctatus* populations

位点 Locus	德克萨斯 Texas		本地优 Local		密西西比 Mississippi		阿拉巴马 Alabama	
	P	D	P	D	P	D	P	D
BM496819	0.000 0	0.141 4	0.000 0	0.301 7	0.000 0	0.097 3	0.000 0	0.144 9
BM438559	1.000 0	-0.560 1	0.360 4	0.009 7	0.000 0	-0.404 4	0.156 4	-0.001 6
BM496168	0.000 0	0.143 7	0.000 0	0.105 3	0.000 0	0.051 5	0.000 01	0.128 7
BM438817	0.000 0	0.165 5	0.812 1	0.052 8	0.003 5	-0.006 4	0.000 0	0.014 9
BM496532	0.000 0	0.149 8	0.000 0	0.600 3	0.000 0	1.000 0	0.000 0	0.118 0
BM438814	0.000 0	-0.526 1	0.000 02	-0.386 7	0.000 0	-0.484 3	0.000 0	-0.371 3
BM438944	0.123 9	-0.366 5	1.000 0	0.019 9	0.506 5	-0.024 3	0.476 7	0.084 4
BM439046	1.000 0	0.185 7	0.000 0	0.484 1	0.000 0	0.690 5	0.000 0	0.904 6
BM495325	0.000 0	-0.395 5	0.000 0	-0.456 1	0.000 0	-0.224 6	0.000 0	-0.210 4
IpCG0033	0.094 8	-0.033 1	0.000 0	-0.158 8	0.112 8	-0.045 6	0.043 7	-0.094 8
IpCG0035	0.000 0	-0.527 0	0.000 0	-0.259 8	0.000 0	-0.459 8	0.000 0	-0.528 7
IpCG0040	0.000 0	-0.367 5	0.000 0	-0.367 0	0.000 0	-0.395 1	0.000 0	-0.400 8
IpCG0041	0.000 0	-0.468 7	0.000 0	-0.590 4	0.000 0	-0.458 9	0.000 0	-0.511 5
IpCG0043	0.034 0	-0.134 8	0.000 0	-0.085 1	0.000 0	-0.155 5	0.026 7	0.041 2
IpCG0054	0.054 7	-0.028 4	0.001 0	-0.070 7	0.055 5	-0.127 2	0.021 8	-0.078 9
IpCG0057	0.154 9	0.049 2	0.000 0	0.103 1	0.055 9	-0.111 1	0.000 8	-0.087 9
平均值 Mean		-0.160 8		-0.043 6		-0.066 1		-0.053 1

2.3 群体间的遗传分化分析

4 个群体间的遗传分化指数(F_{st})为 0.014 7~0.034 2(表 4),说明本研究中 4 个群体间的遗传分化水平较低($F_{st} < 0.05$)。其中密西西比和阿拉巴马群体之间遗传分化水平最低(0.014 7),而德克萨斯和本地群体之间遗传分化水平稍高(0.034 2)。

斑点叉尾鲴群体间 Nei 氏遗传距离为 0.139 4~0.275 0,遗传相似度为 0.759 6~0.869 8(表 5)。其中德克萨斯和本地优的群体间的遗传距离最近(0.139 4),遗传相似度最高(0.869 8),而德克萨斯和密西西比群体之间的遗传距离最远(0.275 0),遗传相似度最低(0.759 6)。根据遗传距离采用 UPGMA 法对 4 个群体进行聚类分析,结果(图 2)显示,

2.2 Hardy-Weinberg 平衡

经 Hardy-Weinberg 平衡的卡方检验发现,在 4 个群体 16 个微卫星位点的 54 个组合中大部分极显著偏离遗传平衡状态($P < 0.01$),德克萨斯、本地优、密西西比、阿拉巴马群体分别仅有 6、3、4 和 2 个位点符合 Hardy-Weinberg,4 个群体仅在 BM438944 位点均符合 Hardy-Weinberg。4 个群体在各位点的平均遗传偏离指数均为负值,说明 4 个群体均存在一定程度的杂合子缺失现象,结果见表 3。

4 个群体聚为两类,德克萨斯、本地优和阿拉巴马群体聚为一类,密西西比群体单独聚为一类,其中德克萨斯和本地优群体亲缘关系最近。

表 4 4 个斑点叉尾鲴群体的遗传分化指数(F_{st})

Table 4 Fixation index (F_{st}) for channel catfish from four populations

群体 Population	德克萨斯 Texas	本地优 Local	密西西比 Mississippi	阿拉巴马 Alabama
德克萨斯 Texas	—	—	—	—
本地优 Local	0.034 2	—	—	—
密西西比 Mississippi	0.019 8	0.028 8	—	—
阿拉巴马 Alabama	0.026 9	0.023 0	0.014 7	—

表 5 4 个斑点叉尾鲷群体的遗传距离 (对角线下) 和相似度 S (对角线上)

Table 5 Nei's genetic distance (below diagonal) and genetic identity (above diagonal) of channel catfish

群体 Population	德克萨斯 Texas	本地优 Local	密西西比 Mississippi	阿拉巴马 Alabama
德克萨斯 Texas	—	0.869 8	0.759 6	0.837 6
本地优 Local	0.139 4	—	0.783 1	0.867 7
密西西比 Mississippi	0.275 0	0.244 5	—	0.842 6
阿拉巴马 Alabama	0.177 2	0.141 9	0.171 2	—

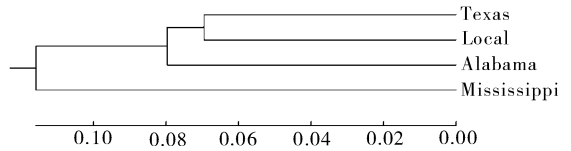


图 2 基于 Nei's 遗传距离构建的 4 个斑点叉尾鲷群体的 UPGMA 聚类树图
Fig.2 A UPGMA dendrogram of 4 channel catfish populationgs based on Nei's genetic distance

AMOVA 分析结果 (表 6) 表明, 群体中仅有 4.22% ($P < 0.01$) 的遗传变异来自于群体间,

表 6 4 个斑点叉尾鲷群体分子方差分析¹⁾

Table 6 AMOVA analysis among *Ictalurus punctatus* populations

变异来源 Source of variation	自由度 d. f.	平方和 Sum of squares	方差组分 Variance components	方差比例/% Percentage of variation
群体间 Among populations	3	82.984	0.264 58 Va	4.22 * *
群体内 Within population	314	1 883.321 Vb	6.006 76	95.78 * *
总变异 Total variation	317	1 966.305	6.270 35	

1) * * 为 1 023 次模拟检验后显示为极显著 ($P < 0.01$). * * means extreme significance ($P < 0.01$) after 1 023 permutation test.

95.78% ($P < 0.01$) 的遗传变异来自于群体内, 表明遗传变异主要存在于个体之间, 个体间的遗传变异远大于群体间的遗传变异。

3 讨论

遗传多样性是指地球上所有生物所携带的遗传信息的总和, 是生物多样性的的重要组成部分。它是物种适应复杂多变的环境、维持生存和进化的基础, 往往一个物种的遗传变异越大, 其进化潜力也会比较高^[10-11]。而微卫星标记与其他分子标记相比具有多态性丰富、共显性等优点, 使其成为分析水产动物遗传多样性比较常用的分子标记。

微卫星位点的多态性可以用多态信息含量 (PIC) 来衡量, 通常多态信息含量能反映出某个群体遗传变异程度、位点多样性等, 根据 Botstein 等^[9]提出的划分标准: 在某个群体中当其 $PIC > 0.50$ 时, 该位点为高度多态; 当 $0.25 < PIC < 0.50$ 时, 该位点为中度多态; 当 $PIC < 0.25$ 时, 该位点为低度多态。本研究在 16 个微卫星位点中, 德克萨斯和本地优群体在 BM438944 位点为低度多态, 在 BM438559 位点为中度多态; 密西西比和阿拉巴马群体在 BM438944、BM439046 位点为中度多态; 德

克萨斯群体在 BM439046 位点为中度多态; 密西西比群体在 BM496532 位点为中度多态, 4 个群体在其余的位点上均显示为高度多态, 说明这些位点均可以作为遗传标记用于斑点叉尾鲷遗传多样性的分析。

基因杂合度是指群体中某个位点上杂合子的频率, 反映群体的遗传变异程度, 被认为是衡量群体遗传变异的最适参数^[12]。本研究中测得的斑点叉尾鲷德克萨斯、本地优、密西西比和阿拉巴马群体的平均观测杂合度分别为 0.653 0、0.683 5、0.673 4、0.693 5, 平均期望杂合度分别为 0.739 1、0.732 7、0.756 6、0.752 3, 4 个群体的杂合度都比较高, 在某些位点上杂合度甚至达到 1.000 0, 该结果与赵沐子等^[13]的研究结果基本一致。这说明大岩湖养殖场 4 个斑点叉尾鲷群体的遗传多样性较高, 有较好的选育潜力。

Hardy-Weinberg 遗传偏离指数 D 主要是反映 H_o 和 H_e 之间的平衡关系, D 值越接近 0, 基因型的分布就越接近于平衡, D 值为正则说明杂合子过剩, D 值为负说明正处于杂合子缺失的状态。由表 3 可知, 4 个群体仅在少部分位点表现为杂合子过剩, 而大部分位点表现为杂合子缺失。各位点的平均遗传偏离指数均为负值, 说明总体表现为杂合子缺失。

出现杂合子过剩的现象可能是由于养殖群体是由一个有限的亲本产生的比较小的子代群体,在子代群体中产生了创始者效应(founder effect)或者瓶颈效应(bottleneck effect)从而导致连锁不平衡的现象,但在一个较大且稳定的群体中这种现象产生的可能性几乎为零^[14]。而杂合子缺失可能是由于研究样本数量有限、近亲杂交和人为干扰等因素导致稀有碱基缺失所致^[15]。因此,在以后的繁殖和选育中应适当地扩大选育范围尽量避免近亲交配,防止杂合子的丢失。

遗传距离是衡量群体间遗传关系的指标。本研究结果发现,德克萨斯和本地优群体间的遗传距离最小(0.139 4),遗传相似度最高(0.869 8),说明其亲缘关系最近;反之,德克萨斯和密西西比群体的遗传距离最远(0.275 0),遗传相似度最低(0.759 6),亲缘关系最远。同时根据遗传距离得到的聚类树更能直观地表现出这种关系,由此推测该养殖场的亲本最初可能是从德克萨斯和阿拉巴马州引进的。

遗传分化指数 F_{st} 是目前应用最广泛的一个衡量群体间遗传分化程度的指标。当 $F_{st} < 0.05$ 时,说明群体间的遗传分化较弱;当 $0.05 < F_{st} < 0.15$ 时,群体属于中等程度的遗传分化;当 $0.15 < F_{st} < 0.25$ 时,则群体间存在较大的遗传分化;当 $F_{st} > 0.25$ 时,说明群体间分化极大^[16]。本研究中 4 个群体的遗传分化指数在 0.014 7~0.034 2 之间,均小于 0.05,说明 4 个群体之间遗传分化较弱。同时 AMOVA 分析结果表明遗传变异主要来源于群体内部个体之间,仅有 4.22% 的变异来自于群体之间,这也证实了斑点叉尾鲷群体之间的遗传分化水平较低。

综上所述,湖北嘉鱼县大岩湖养殖场的 4 个斑点叉尾鲷养殖群体间存在一定的遗传分化,但分化水平较低。群体内遗传变异较大,且保持了比较丰富的遗传多样性,说明其存在一定的育种潜力,可作为大规模家系选育的基础群体。同时,本研究结果也说明在今后的斑点叉尾鲷育种及引种过程中要尽量引进遗传关系较远的群体进行交配以避免种质退化,同时也应该注意亲本数量以防止近亲交配,从而

保证我国斑点叉尾鲷养殖业的健康持续发展,培育优良且适应我国养殖环境的斑点叉尾鲷品种。

参 考 文 献

- [1] 向建国,周进,金宏. 斑点叉尾鲷的生物学与生理生化特性研究[J]. 湖南农业大学学报,2004,30(4):355-358.
- [2] 周国平. 中国斑点叉尾鲷产业的现状和展望[J]. 渔业科技产业,2005(2):20-21.
- [3] 桂建芳,朱作言. 水产动物重要经济性状的分子基础及其遗传改良[J]. 科学通报,2012,57(19):1719-1729.
- [4] 蒋鹏,史健全,张妍,等. 应用微卫星多态性分析青海湖裸鲤六个野生群体的遗传多样性[J]. 生态学报,2009,29(2):939-945.
- [5] 鲁双庆,刘臻,肖调义. 微卫星标记在鱼类遗传育种研究中的应用[J]. 水利渔业,2003,23(6):9-11.
- [6] 陈姝君. 我国斑点叉尾鲷种质资源的分子遗传学研究[D]. 大连:辽宁师范大学生命科学学院,2008:33-34.
- [7] WALDBIESER G C, BOSWORTH B G, NONNEMAND G, et al. A microsatellite-based genetic linkage map of channel catfish, *Ictalurus punctatus* [J]. Genetics, 2001, 158(2):727-734.
- [8] SAMBROOK J, FRITSCH E F, MANIATIS T. Molecular cloning: a laboratory manual[M]. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- [9] BOTSTEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M, et al. Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. American Journal of Human Genetics, 1980, 32:314-331.
- [10] 张文静, 余育和, 沈温芬. 微卫星 DNA 遗传分析在原生动生物学中的研究进展[J]. 水生生物学报, 2003, 27(2):185-190.
- [11] O'CONNELL M. Microsatellite DNA in fishes [J]. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 1997, 7:331-363.
- [12] 肖调义, 张学文, 章怀云, 等. 洞庭湖四种黄颡鱼基因组 DNA 遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 中国生物工程杂志, 2004, 24(3):85-89.
- [13] 赵沐子, 李茜, 秦钦, 等. 五个斑点叉尾鲷群体的微卫星遗传多样性分析[J]. 水产养殖, 2011, 32(1):24-30.
- [14] SVED J A. The stability of linked systems of loci with a small population size [J]. Genetics, 1968, 5:543-563.
- [15] SUCI A, UTHAIRAT N N, WORAWUT K. Study of genetic diversity of orangespotted grouper, *Epinephelus coioides*, from Thailand and Indonesia using microsatellite markers[J]. Marine Biotechnology, 2005, 126:17-26.
- [16] HART D L, CLARK A G. Principles of population genetics [M]. 3rd ed. Sunderland: Sinauer Associates, Inc, 1997.

Analysis of genetic diversity among four different channel catfish populations by using microsatellite markers

CUI Lei XIE Cong-xin LI Yan-he YU Yong-yao

LIU Xiao-lian ZHANG Jie ZHOU Xiao-yun

College of Fisheries, Huazhong Agricultural University/

*Key Laboratory of Agricultural Animal Genetics, Breeding and Reproduction
of Ministry of Education, Wuhan 430070, China*

Abstract Microsatellite markers were used to analyze genetic diversity of four channel catfish (*Ictalurus punctatus*) populations (Texas, Local, Alabama and Mississippi). The results showed that the allele number of the four populations ranged from 2 to 18, the average effect alleles ranged from 5.820 8 to 6.146 6, the average observed heterozygosity (H_o) ranged from 0.653 0 to 0.693 5, the average expected heterozygosity (H_e) ranged from 0.732 7 to 0.756 6, and the average polymorphic information content (PIC) ranged from 0.613 5 to 0.725 6. Most loci were significantly deviated from Hardy-Weinberg equilibrium ($P < 0.05$) and the genetic deviation index (D) were almost minus, suggesting loss of Heterozygous in the 4 populations to some extent. Nei's genetic distance and genetic identity showed that the genetic distance between Texas and Mississippi population was the highest (0.275 0) and the genetic identity was the lowest (0.759 6), while the genetic distance between the population Texas and Local was the lowest (0.139 4) and the genetic identity was highest (0.869 8). The AMOVA result showed that 4.22% of genetic variation was from populations and 85.86% was from individuals. The UPGMA phylogenetic tree of the four populations was constructed based on Nei's genetic distance. The result showed that Mississippi population clustered into one group, the populations of Texas, Local and Alabama clustered into another group and the relationship between Texas and Local population was the closest. All the results above showed that the four channel catfish populations had high levels of genetic diversity, had the potential as breeding material and then can be used as breeding material.

Key words channel catfish; microsatellite; geographical population; genetic diversity; genetic distance

(责任编辑:边书京)