

合浦珠母贝三个养殖群体微卫星遗传多样性*

李小宁^{1,2} 张殿昌^{1,2} 朱彩艳¹ 苏天凤¹ 江世贵^{1**}

(¹ 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广州 510300 ;² 上海海洋大学, 上海 201306)

摘要 以广东徐闻金碧公司养殖场、广西北海营盘镇养殖场和南海水产研究所海南实验基地 3 个合浦珠母贝养殖群体为对象, 利用 8 个微卫星位点 M1、M2、M3、M4、M5、M6、M7、M8 的引物进行了遗传多样性分析。结果表明 8 个微卫星标记位点在 3 个养殖群体中共检测到 58 个等位基因, 观测等位基因数为 2~9 个, 平均有效等位基因数 3.72~5.06, 平均观察杂合度 0.41~0.56, 平均期望杂合度 0.67~0.75, 3 个群体的平均多态信息含量 PIC 值为 0.62~0.70, 全部为高度多态(PIC ≥ 0.5) 表明这几个合浦珠母贝养殖群体目前仍具有较高的遗传多样性, 遗传信息丰富, 遗传变异大, 可以作为良好的育种材料; 在这 3 个养殖群体中, 南海水产研究所海南实验基地的养殖群体的遗传多样性最高, 广西北海营盘镇养殖群体遗传多样性最低, 这一结果可以为今后选择育种、种质保护提供可资借鉴的资料。

关键词 合浦珠母贝; 微卫星; 遗传多样性

中图分类号 Q953 文献标识码 A 文章编号 1000-4890(2009)11-2262-07

Genetic diversity of three cultured *Pinctada fucata* populations based on microsatellite loci analysis. LI Xiao-ning^{1,2}, ZHANG Dian-chang^{1,2}, ZHU Cai-yan¹, SU Tian-feng¹, JIANG Shi-gui¹(¹South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China; ²Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China). *Chinese Journal of Ecology* 2009 28(11) 2262-2268.

Abstract : By using eight microsatellite loci (M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7 and M8), the genetic diversity of three *Pinctada fucata* populations from the pearl farms in Xuwen of Guangdong and Beihai of Guangxi, and from the experimental base of South China Sea Fisheries Research Institute in Hainan was studied. A total of fifty eight alleles of these eight microsatellite loci were detected, among which, the observed allele number was 2-9, average effective allele number was 3.72-5.06, average observed population heterozygosity was 0.41-0.56, and average observed expected heterozygosity was 0.67-0.75. All the three populations had a polymorphic information content (PIC) of 0.62-0.70, suggesting their high polymorphism (PIC > 0.5). Among the three populations, the cultured population from the experimental base of South China Sea Fisheries Institute had the highest polymorphism, and that from Beihai of Guangxi had the lowest one. These results provided useful information for the selective breeding and germplasm conservation of *P. fucata*.

Key words : *Pinctada fucata*; microsatellite marker; genetic diversity.

合浦珠母贝(*Pinctada fucata*)又叫马氏珠母贝, 是世界上用于生产海水珍珠的最主要贝类之一。由于海水珍珠养殖产业的规模越来越大, 仅靠采捕天然野生的亲贝已不能满足育苗生产的需要, 因此不

得不越来越多地用人工养殖的亲贝进行育苗。而一般生产单位在育苗时通常未进行配种设计, 往往仅用少量亲贝而且是同一种质来源的养殖亲贝育苗, 存在近亲繁殖的弊端, 容易使合浦珠母贝出现经济性性状退化, 在海水珍珠养殖上产生的直接后果是珍珠的质量和产量(单产) 明显下降。同时, 近亲繁殖的生产用贝在各海区的随意扩散可能造成天然群体遗传结构被破坏, 将影响到种质质量和遗传育种

* 国家科技基础条件平台建设项目(2005DKA30470)、中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2006ZD02)和广东省海洋与渔业科技专项资助项目(A200701C02)。

** 通讯作者 E-mail : jiangsg@21cn.com

收稿日期 : 2009-02-24 接受日期 : 2009-06-30

(王爱民等 2003a)。因此,开展合浦珠母贝遗传多样性研究,保护优良种质资源,并利用这些优良的资源培育新品系、新品种,已成为珍珠贝类养殖业急需解决的问题。在种质资源研究中,分子标记已成为重要的研究手段,其中微卫星标记是大家公认的有效共显性标记。微卫星(microsatellite)是指以少数几个核苷酸(多数为2~4个)为单位多次串联重复的DNA序列,亦称简单序列重复(simple sequence repeat SSR)、短串联重复(short tandem repeat STR)、简单序列长度多态性(simple sequence length polymorphism)(胡波,2000)。微卫星具有十分丰富的多态性(刘臻等,2007),杂合度可达100%,每代变异超过2%(Jeffreys *et al.*,1988)。微卫星分析可以提供分辨率达一个碱基对差异的信息(Hamada *et al.*,1982)且等位基因的条带易于识别和解释,能够比当前所有的分子标记带来更多的信息量和(Goldstein *et al.*,1999)更可靠的信息质量,非常适用于亲缘关系很近物种的遗传分析。微卫星标记从分子的水平鉴别物种的亲缘关系,可防止近亲杂交,品质退化,能为贝类增殖的品种选择提供依据,确保育种材料具有丰富的遗传多样性。

为了促进合浦珠母贝种质资源的保护和利用,一些学者利用RAPD(苏天凤等,2002)、AFLP(喻达辉等,2007)等显性标记对其种质资源进行了研究,最近佟广香等(2007)还进行了马氏珠母贝的微卫星分离研究。在其他贝类中,利用共显性标记研究双壳贝类的遗传多样性和种群遗传结构也有不少报道,如虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)(赵莹莹等,2006)、栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)(李红蕾等,2003)、长牡蛎(*Crassostrea gigas*)(李琪和木岛明博,2004)、翡翠贻贝(*Perna viridis*)(Lin *et al.*,2007)等。本文对3个合浦珠母贝养殖群体遗传多样性进行了分析,旨在为合浦珠母贝种质保护和育种提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料

用于PCR扩增的合浦珠母贝样品于2008年1月分别采集于广东徐闻金碧公司养殖场(ZJ)、广西北海营盘镇养殖场(BH)和南海水产研究所海南实验基地(SY)。南海水产研究所海南基地收集了各地的合浦珠母贝种质资源,本实验所使用的养殖群

体是三亚海区的野生合浦珠母贝经群体选育、传代、保种留存下来的一批优良种质。广东徐闻金碧公司养殖场的群体是南海水产研究所海南基地从海南各地收集亲本,经挑选后淘汰出来的亲贝培育出的用于珍珠养殖生产的普通苗种,其种质来源亦可追踪到海南海域,与南海水产所的保种群体有一定的亲缘关系。广西营盘镇养殖场的群体则与前两个群体没有直接关系,直接取自广西营盘镇养殖场,代表广西普通养殖企业所用的种质。其中南海水产研究所海南实验基地群体取50个个体,广东徐闻金碧公司养殖场群体和广西营盘镇养殖场群体各取30个个体,取闭壳肌组织保存于-80℃超低温冰箱保存。

1.2 基因组DNA的提取

用苯酚-氯仿抽提法提取基因组DNA,具体步骤如下:取50mg闭壳肌组织纯水洗净后转入1.5ml高压灭菌过的离心管中,剪至糜状。加入0.6ml TEN9 细胞裂解缓冲液(Tris-Cl 50 mmol·L⁻¹,pH 9.0,EDTA 100 mmol·L⁻¹;NaCl 200 mmol·L⁻¹),加入SDS至终浓度为2%,在旋涡振荡器上混匀。加入RNase至终浓度为20 μg·ml⁻¹,混匀,轻摇10 min。加入蛋白酶K至终浓度为0.1 μg·μl⁻¹,温和混匀,56℃保温2~4 h或过夜。加入0.5 ml Tris饱和酚,温和颠倒多次,混匀,冰上放置5 min。20℃,12000 r·min⁻¹离心10 min,使混合液清晰分相。用大口径移液枪枪头取上清液,弃界面相与酚相。重复抽提1次。加等体积酚:氯仿:异戊醇(25:24:1),温和混匀,冰上放置5 min,反复抽提。直至除尽中间相。加入等体积氯仿,冰上放置5 min,抽提1次。加入0.1倍体积乙酸钠(3 mol·L⁻¹,pH 5.2),加入2倍体积无水乙醇,温和混匀,-20℃放置2 h以上。4℃,12000 r·min⁻¹离心15 min,沉淀DNA,小心弃乙醇,并吸干净管壁液滴。加入70%乙醇至离心管的一半容积,轻叩管底,使沉淀稍分散,4℃放置5 min。4℃,12000 r·min⁻¹离心10 min,小心弃乙醇,并使管壁液滴在室温下挥发干净。将离心管中DNA溶于100 μl灭菌ddH₂O水中,-20℃保存备用。

1.3 PCR扩增引物

根据本实验室筛选获得的微卫星引物序列,由上海生工生物工程技术有限公司合成8对引物,微卫星引物序列及筛选后的退火温度(表1)。

表 1 8 个微卫星位点引物序列及退火温度

Tab. 1 Primer sequence and annealing temperature of eight microsatellites loci

| 位点 | 重复序列 | 正向引物/反向引物 | 扩增片段大小 | 退火温度 T_a ($^{\circ}\text{C}$) | 序列号 |
|----|------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------|--------------------------------------|----------|
| M1 | (TC) ₂₀ | F :CACGACCGGTCTTCTGAAA R :GTCTGGATGCACGGAAGC | 202 - 254 | 54.3 | FJ436038 |
| M2 | (AG) ₂₅ -(TA) ₄ -(ATATG) ₄ | F :CACACGAATTAGACTTGAACA R :TTCGGTGGCACTACCTACAAT | 114 - 275 | 51.9 | FJ436039 |
| M3 | (CTGT) ₆ | F :GCGGCTTATGATGCACTAAA R :TGACCAACATTGACAGACAGAC | 165 - 259 | 59 | FJ436040 |
| M4 | (GA) ₁₈ | F :AAGGAGGAAATCAACACGA R :GCAAGATCATTTCATTTTGT | 208 - 242 | 57.9 | FJ436041 |
| M5 | (AC) ₈ CCT(CA) ₄ | F :GGTTCATCTCTCCCATTT R :GCGGAGGATTATAGCATCA | 194 - 210 | 50.8 | FJ436042 |
| M6 | (ACA) ₃ -(ACA) ₅ -(AC) ₃ (ACA) ₃ | F :CATTGGCATCAACAACAGTG R :TGGTGTGTGTGTCTGAGG | 197 - 222 | 59.9 | FJ436043 |
| M7 | (AG) ₉ α(AG) ₉ α(AG) ₁₀ α(AG) ₈ | F :GAAATTGGCTCACAGGGTTC R :TCACCTGACCCCTAAGGATG | 200 - 253 | 54.3 | FJ436044 |
| M8 | (TC) ₇ CC(CT) ₄ | F :TCGTTTCATCGTTACGCTTTT R :TCTGTTTTTGAGTGGGTATCG | 206 - 265 | 59.7 | FJ436045 |

1.4 PCR 反应体系与扩增程序

反应体系总体积为 25 μl , 其中包含 DNA 模板 50 ng, 1 \times PCR buffer, 200 μmol of each dNTPs, 1 μmol 正向引物, 1 μmol 反向引物和 1U Taq DNA polymerase (TaKaRa), 灭菌 ddH₂O 补足。PCR 扩增程序为 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min, 然后 40 个循环, 每个循环 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 48 $^{\circ}\text{C}$ ~ 53 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 45 s, 循环结束后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.5 PCR 产物的电泳检测和基因型的判定方法

采用 5% 的变性聚丙烯酰胺凝胶, 90 V 电压电泳 1 h, 然后进行银染照相。根据每个个体电泳结果显示的条带位置的不同确定其基因型, 并以 20 和 50 bp DNA (TaKaRa) marker 为对照 (图 1)。

1.6 数据处理

统计每个位点的等位基因数量, 用 Popgene

1.32 (Yeh *et al.*, 1997) 软件计算群体的有效等位基因数 (A_e)、观察杂合度 (H_o)、期望杂合度 (H_e) 和 Hardy-Weinberg 平衡检测, 计算微卫星位点的等位基因频率、有效等位基因数、计算衡量杂合子缺失或杂合子过剩的 D 值, 计算公式如下:

$D = (H_o - H_e) / H_e$ 根据 Botstein 等 (1980) 计算每个微卫星位点的多态信息含量 (polymorphism information content PIC), 计算公式如下:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^m p_i^2 - \sum_{i=1}^{m-1} \sum_{j=i+1}^m 2p_i p_j^2$$

式中 p_i 和 p_j 分别为第 i 和第 j 个等位基因在群体中的频率; m 为等位基因数。

用 MEGA 2.0 (Kumar *et al.*, 2001) 构建聚类关系树, 采用 Bootstrap (重复数为 1000) 检验分子系统树各分支的置信度。

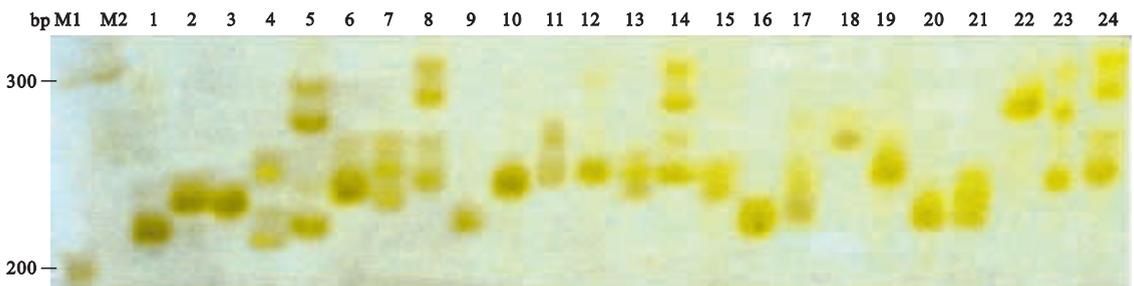


图 1 合浦珠母贝三亚种群部分个体在 M1 位点的扩增谱带

Fig. 1 PCR products amplified from *Pinctada fucata* of Sanya population at locus M1

M1 20bp marker; M2 50bp marker; 1~24: 不同个体的扩增结果。

2 结果与分析

2.1 8 个微卫星位点的等位基因频率

在检测的 3 个合浦珠母贝养殖群体中每个位点都表现出了不同程度的多态性,其基因频率(表 2)。从表 2 可以看出,8 个位点共检测到 58 个等位基因,其中位点 M1、M2、M3、M7、M8 检测到的等位基因最多,为 9 个等位基因,而 M5 检测到的等位基因最少,只有 2 个等位基因。

2.2 群体遗传潜力分析

实际观察等位基因数为所研究群体在该位点的实际观察到的等位基因数目,有效等位基因数反映了基因间的相互影响,也可以作为遗传变异的一个度量参数。它反映的是群体遗传变异大小的一个指标,其数值越接近所检测到的等位基因的绝对数,表

明等位基因在群体中分布越均匀。8 个微卫星位点在 3 个合浦珠母贝群体中共检测到 58 个等位基因,平均有效等位基因数 3.72~5.06,平均观察杂合度 0.41~0.56,平均期望杂合度 0.67~0.75,3 个群体的平均多态信息含量 PIC 值为 0.62~0.70,全部为高度多态(PIC ≥ 0.5)。广东徐闻金碧公司养殖场群体这 4 项遗传潜力统计指标的均值分别为 3.94、0.41、0.70、0.65,低于南海水产研究所海南实验基地群体的 5.06、0.56、0.75、0.70 而比广西北海营盘镇养殖场群体的 3.72、0.52、0.67、0.62 高。统计结果显示,3 个群体的遗传潜力处于较高水平,广西北海营盘镇养殖场群体的遗传潜力比广东徐闻金碧公司养殖场群体和南海水产研究所海南实验基地群体低。表 3 为部分统计数据。

2.3 群体 Hardy-Weinberg 平衡检验

Hardy-Weinberg 平衡的卡方检测发现,在所检测的 24 个数据中(3 个群体 × 8 个位点),有 18 个极显著地偏离遗传平衡状态,其中在 M2、M4、M7 位点 3 个群体均极显著地偏离了遗传平衡(P < 0.01),表现为杂合子严重缺失。Hardy-Weinberg 遗传偏离指数从直观上表明了杂合子的缺失或过剩。统计结果显示,3 个群体的平均遗传偏离指数均为负值,表明 3 个群体均存在不同程度杂合子的缺失,其中广东徐闻金碧公司养殖场群体杂合子缺失现象比其他 2 个群体更严重(表 4)。

2.4 遗传相似性指数、遗传距离和聚类分析

合浦珠母贝群体间的遗传距离及遗传相似性指数见表 5。3 个合浦珠母贝群体间遗传相似性指数最大的为广东徐闻金碧公司养殖场群体和南海水产研究所海南实验基地群体(0.8392),其遗传距离最小(0.1753),可推断二者的亲缘关系较近;广西营盘镇养殖场群体与南海水产研究所海南实验基地群体的遗传相似性指数最小(0.7793),其遗传距离最大(0.2493),说明这 2 个群体个体间的遗传变异程度最高,亲缘关系最远。3 个群体间的遗传相似性指数均为 0.7793~0.8392,存在一定的差异,但未达到显著水平,群体间遗传多样性差异不明显。

根据群体间的遗传距离,采用 UPGMA 法构建系统树(图 2)。根据图 2 结果,3 个合浦珠母贝养殖群体可分为 2 组:广东徐闻金碧公司养殖场群体和南海水产研究所海南实验基地群体先在一起,然后和广西北海营盘镇养殖场群体聚在一起。

表 2 8 个微卫星位点基因频率

Tab.2 Allele frequencies of eight microsatellites loci

| 位点 | 等位基因 | 基因频率 | 位点 | 等位基因 | 基因频率 |
|----|------|--------|----|--------|--------|
| M1 | A | 0.0634 | M4 | A | 0.0147 |
| | B | 0.0522 | | B | 0.0184 |
| | C | 0.0075 | | C | 0.0772 |
| | D | 0.0522 | | D | 0.1728 |
| | E | 0.0448 | | E | 0.2537 |
| | F | 0.1940 | | F | 0.2684 |
| | G | 0.2836 | | G | 0.1213 |
| | H | 0.2052 | | H | 0.0735 |
| | I | 0.0971 | | | |
| M2 | A | 0.0224 | M6 | A | 0.6508 |
| | B | 0.0560 | | B | 0.2757 |
| | C | 0.0560 | | C | 0.0735 |
| | D | 0.1082 | M7 | A | 0.0500 |
| | E | 0.0970 | | B | 0.0667 |
| | F | 0.2127 | | C | 0.0666 |
| | G | 0.1604 | | D | 0.2000 |
| | H | 0.1791 | | E | 0.1500 |
| | I | 0.1082 | | F | 0.3250 |
| M3 | A | 0.0809 | G | 0.1000 | |
| | B | 0.0331 | H | 0.0167 | |
| | C | 0.1103 | I | 0.0250 | |
| | D | 0.2390 | M8 | A | 0.0826 |
| | E | 0.1176 | | B | 0.0957 |
| | F | 0.1875 | | C | 0.0739 |
| | G | 0.0588 | | D | 0.1348 |
| | H | 0.0956 | | E | 0.1870 |
| | I | 0.0772 | | F | 0.0781 |
| M5 | A | 0.7904 | G | 0.1739 | |
| | B | 0.2096 | H | 0.0957 | |
| | | | I | 0.0783 | |

表 3 3 个合浦珠母贝群体在 8 个微卫星基因座的多样性指数

Tab. 3 Polymorphic information at 8 microsatellite loci of three populations

| 位点 | | M1 | M2 | M3 | M4 | M5 | M6 | M7 | M8 | 平均值 |
|----|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| ZJ | A_e | 4.36 | 5.14 | 5.13 | 4.32 | 1.38 | 2.11 | 3.84 | 5.20 | 3.94 |
| | H_o | 0.30 | 0.53 | 0.37 | 0.23 | 0.33 | 0.47 | 0.50 | 0.57 | 0.41 |
| | H_e | 0.78 | 0.82 | 0.82 | 0.78 | 0.28 | 0.54 | 0.75 | 0.82 | 0.70 |
| | PIC | 0.74 | 0.79 | 0.78 | 0.73 | 0.24 | 0.47 | 0.70 | 0.78 | 0.65 |
| BH | A_e | 5.86 | 4.36 | 4.09 | 3.84 | 1.14 | 2.07 | 3.77 | 4.63 | 3.72 |
| | H_o | 0.67 | 0.50 | 0.50 | 0.33 | 0.13 | 1.00 | 0.40 | 0.63 | 0.52 |
| | H_e | 0.84 | 0.78 | 0.77 | 0.75 | 0.13 | 0.52 | 0.77 | 0.80 | 0.67 |
| | PIC | 0.81 | 0.74 | 0.78 | 0.70 | 0.12 | 0.40 | 0.69 | 0.75 | 0.62 |
| SY | A_e | 4.85 | 7.39 | 5.60 | 4.90 | 1.93 | 1.86 | 6.40 | 7.59 | 5.06 |
| | H_o | 0.44 | 0.48 | 0.56 | 0.44 | 0.82 | 0.62 | 0.50 | 0.64 | 0.56 |
| | H_e | 0.80 | 0.87 | 0.83 | 0.80 | 0.49 | 0.47 | 0.87 | 0.88 | 0.75 |
| | PIC | 0.77 | 0.85 | 0.80 | 0.77 | 0.37 | 0.37 | 0.83 | 0.86 | 0.70 |

A_e 为有效等位基因数; H_o 为观测杂合度; H_e 为期望杂合度; PIC 为多态信息含量。

表 4 3 个合浦珠母贝群体遗传平衡分析

Tab. 4 Genotypic equilibrium analysis of 3 populations

| 位点 | ZJ | | BH | | SY | |
|-----|--------|---------|--------|---------|--------|---------|
| | P | D | P | D | P | D |
| M1 | 0.0000 | -0.6200 | 0.0297 | -0.2024 | 0.0000 | -0.4500 |
| M2 | 0.0001 | -0.3537 | 0.0000 | -0.3590 | 0.0000 | -0.4483 |
| M3 | 0.0000 | -0.5488 | 0.0000 | -0.3507 | 0.0196 | -0.3253 |
| M4 | 0.0000 | -0.7051 | 0.0000 | -0.5600 | 0.0000 | -0.4500 |
| M5 | 0.3020 | 0.1786 | 0.7368 | 0.0000 | 0.0000 | 0.6735 |
| M6 | 0.0000 | -0.1296 | 0.0000 | 0.9231 | 0.0761 | 0.3191 |
| M7 | 0.0000 | -0.3333 | 0.0000 | -0.4805 | 0.0000 | -0.4253 |
| M8 | 0.0231 | -0.3049 | 0.0000 | -0.2125 | 0.0000 | -0.2727 |
| 平均值 | | -0.3521 | | -0.1553 | | -0.1724 |

D 为遗传偏离指数; P 为哈代-温伯格平衡显著性检验 0.05 水平的 P 值。

表 5 合浦珠母贝各群体间的遗传相似性指数及遗传距离

Tab. 5 Genetic similarity indices and genetic distance among three populations

| 群体 | ZJ | BH | SY |
|----|--------|--------|--------|
| ZJ | - | 0.8239 | 0.8392 |
| BH | 0.1937 | - | 0.7793 |
| SY | 0.1753 | 0.2493 | - |

双角线上方为遗传相似性指数, 下方为遗传距离。

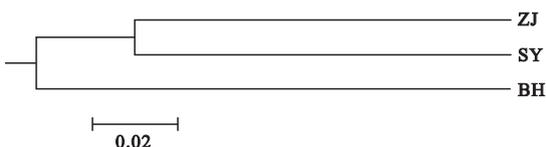


图 2 合浦珠母贝 3 个养殖群体的 UPGMA 系统树

Fig. 2 UPGMA tree constructed on *Pinctada fucata* in the three culture populations

3 讨论

3.1 微卫星位点的多态性

微卫星在基因组中是随机均匀分布的, 多态信

息含量高, 遗传变异较大, 是一种良好的分子标记手段。由于其在种内具有较高水平的变异, 而被更加广泛地用于群体遗传结构分析 (Nei, 1972)。群体的遗传多样性实质就是生物的遗传基因的多样性, 任何一个物种或一个生物个体都蕴涵着大量的基因, 它所包含的基因变异越丰富, 对环境的适应能力就越强。多态信息含量是基因丰富度的一个指标, 反映了群体的遗传基础的多样性水平。Botstein 等 (1980) 提出了衡量基因变异程度高低的多元信息含量指标, 当 $PIC > 0.50$ 时该基因座为高度多态基因座; 当 $0.25 < PIC < 0.50$ 时为中度多态基因座; 当 $PIC < 0.25$ 时为低度多态基因座。本研究所使用的 8 个位点中, M5 和 M6 位点信息多态含量较低 (分别为 0.2764 和 0.4252), 属于中度多态水平, 其余 6 个位点的信息多态含量均 > 0.5 , 属于高度多态水平, 无低度多态位点。从本试验选用的 8 个微卫星位点的多态性来看, 3 个合浦珠母贝养殖群体的多元信息含量整体水平较高, 多态性丰富, 具有良好的选育潜力。

3.2 群体的遗传平衡

在一个足够大、随机交配的孟德尔群体中, 基因频率和基因型频率符合哈代-温伯格平衡, 而平衡所反映的内容又具有两面性, 一方面处于平衡状态的群体, 如果群体足够大, 群体内随机交配, 群体能保持相对的稳定性, 基因频率不变, 能保持群体的一致性, 从保种的角度来说是有利的; 另一方面, 如果群体处于不平衡状态, 那么由于基因频率之间的差异, 则使它具有更好的选育价值 (汪小龙等 2002)。本实验所研究的合浦珠母贝 3 个养殖群体的 24 个数

据中有 18 个处在不平衡状态,这可能是由于无效等位基因引起基因频率改变,进而导致哈代-温伯格不平衡,因为在许多贝类中都发现了无效等位基因;其次,选取的南海水产研究所海南实验基地保种群体和广东徐闻金碧公司养殖场群体都是已经经过初步选育或者选择的,所以这也影响到哈代-温伯格平衡,此外,群体的大小、选择的样本数量也对哈代-温伯格平衡产生了影响。

Hardy-Weinberg 遗传偏离指数(D)反映了 H_o 和 H_e 二者之间的平衡关系, D 值越接近 0,基因型的分布越接近于平衡状态, D 值为正时反映杂合子过剩, D 值为负时则处于杂合子缺失状态(李鹏飞等 2006)。杂合子过剩现象一般出现在研究对象相对小的群体或者封闭群体,如一个养殖群体里面的子代群体是由有限的亲本所产生,创造者效应(founder effect)和瓶颈效应(bottleneck effect)会导致连锁不平衡现象(刘云国等 2005),从而导致杂合子过剩。而杂合子缺失除了与无效基因和研究样本范围大小有关外,还可能由群体退化、性别比例不均衡、亲缘近交和人为干扰程度大等导致稀有碱基的丢失所致(Suci *et al.* 2005)。

3.3 群体的遗传多样性与遗传距离

遗传杂合度,又称基因多样性,是指所检测微卫星位点上杂合子基因型占该位点所有基因型的比例,能反映群体在各个位点的遗传变异水平,一般认为它是度量群体遗传变异的一个最适参数(李莉等 2006),其大小可近似反应群体遗传变异的高低。杂合度越高的群体对环境变化的适应能力就越大(Nei, 1978),其进化及选育的潜力也就愈大,也就更有利于物种的稳定和延续(Beardmore *et al.*, 1997)。本研究中的观测杂合度小于期望杂合度,可能是由无效基因所引起的,在 PCR 扩增过程中,当无效等位基因不被识别出来的时候就会导致群体中纯合子过剩或杂合子缺失,从而导致 H_o 和 H_e 出现偏离;也可能与研究的群体和检测的位点不同有一定的关系。本实验所研究的 3 个养殖群体基因杂合度仍较高,遗传变异较大,这与 AFLP(Yu & Chu, 2006)方法研究得到的结果相似。

最大限度地维持种内遗传多样性水平,是评价其遗传潜力和持续利用种质资源的前提(侯宁等, 2007)。一般来说,合浦珠母贝养殖群体的遗传多

样性较野生群体低(王爱民等 2003b),而本实验中南海水产研究所海南实验基地珍珠种质库中的群体的有效等位基因数、期望平均杂合度和平均多态信息含量都高于广东徐闻金碧公司养殖场和广西营盘镇养殖场群体。表明该种质库的保种群体达到了保种设计要求。广西营盘镇养殖场群体由于与前 2 个群体没有直接关系,其种质量来源于广西海域,这也就是本研究中广西北海营盘镇养殖场养殖群体与其他 2 个养殖群体之间的遗传距离较大的原因。

参考文献

- 侯宁,张研,鲁翠云,等. 2007. 微卫星 DNA 标记分析德国镜鲤的遗传潜力. *遗传*, **29**(12): 1509-1518.
- 胡波. 2000. 微卫星 DNA 的研究概况. *国外医学:临床生物化学与检验学分册*, **21**(2): 88-90.
- 李莉,孙振兴,杨树德,等. 2006. 用微卫星标记分析皱纹盘鲍群体的遗传变异. *遗传*, **28**(12): 1549-1554.
- 李琪,木岛明博. 2004. 长牡蛎微卫星克隆快速分离及特征分析. *海洋与湖沼*, **35**(5): 364-370.
- 李红蕾,宋林生,王玲玲,等. 2003. 栉孔扇贝 EST 中微卫星标记的筛选. *高技术通讯*, **13**(12): 72-75.
- 李鹏飞,刘萍,柳学周,等. 2006. 漠斑牙鲆引进群体同工酶的遗传多态性分析. *中国水产科学*, **13**(1): 13-19.
- 刘臻,鲁大庆,匡刚桥,等. 2007. 湘江野鲤养殖群体和自然群体遗传多样性的微卫星分析. *生态学杂志*, **26**(7): 1074-1077.
- 刘云国,陈松林,李八方. 2005. 牙鲆养殖群体遗传变异的微卫星标记研究. *海洋水产研究*, **26**(5): 28-32.
- 苏天凤,蔡云川,张殿昌,等. 2002. 合浦珠母贝 3 个养殖群体的 RAPD 分析. *中国水产科学*, **9**(2): 106-109.
- 佟广香,闫学春,匡友谊,等. 2007. 马氏珠母贝微卫星快速分离及遗传多样性分析. *海洋学报*, **29**(4): 170-176.
- 汪小龙,袁志发,郭满才,等. 2002. 最大信息熵原理与群体遗传平衡. *遗传学报*, **29**(6): 562-564.
- 王爱民,阎冰,叶力,等. 2003a. 马氏珠母贝不同地理群体内自繁和群体间杂交子一代主要性状的比较. *水产学报*, **27**(3): 200-206.
- 王爱民,丁小雷,邓凤姣. 2003b. 马氏珠母贝大亚湾和三亚野生种群内自繁及种群间杂交一代的 RAPD 分析. *海洋水产研究*, **24**(4): 19-25.
- 喻达辉,王小玉,黄桂菊,等. 2007. 合浦珠母贝遗传连锁图谱的构建. *中国水产科学*, **14**(3): 361-368.
- 赵莹莹,朱晓琛,孙效文,等. 2006. 磁珠富集法筛选虾夷扇贝微卫星序列. *中国水产科学*, **13**(5): 749-755.
- Beardmore JA, Mair GC, Lewis RI. 1997. Biodiversity in

- aquatic systems in relation to aquaculture. *Aquarium Research* , **28** :829–839.
- Botsrein D , Whiter L , Skolnick M. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* , **32** : 314–331.
- Goldstein DB , Ahmadi KR , Weale ME , *et al.* 1999. The use of microsatellite variation to infer population structure and demographic history in a natural model system. *Genetics* , **151** :791–801.
- Hamada H , Petrino MG , Kakunaga T. 1982. A novel repeated element with Z–DNA-forming potential is widely found in evolutionarily diverse eukaryotic genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* , **79** :6465–6469.
- Jeffreys AJ , Royle NJ , Wilson V , *et al.* 1988. Spontaneous mutation rate to new length alleles at tandem repetitive hypervariable loci in human DNA. *Nature* , **332** :278–281.
- Kumar S , Tamura K , Jakobsen IB , *et al.* 2001. MEGA2 : molecular evolutionary genetics analysis software. *Bioinformatics* , **17** :1244–1245.
- Lin G , Feng F , Yue GH. 2007. Isolation and characterization of polymorphic microsatellites from Asian green mussel (*Perna viridis*). *Molecular Ecology Notes* , **7** :1036–1038.
- Nei M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist* , **106** :283–229.
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individual. *Genetics* , **89** : 583–590.
- Suci A , Uthairat NN , Worawut K. 2005. Study of genetic diversity of orange-spotted grouper , *Epinephelus coioides* , from Thailand and Indonesia using microsatellite markers. *Marine Biotechnology* , **126** :17–26.
- Yeh FC , Yang RC , Boyle TBJ , *et al.* 1997. POPGENE , The User-Friendly Shareware for Population Genetic Analysis. University of Alberta , Canada : Molecular Biology and Biotechnology Centre.
- Yu DH , Chu KH. 2006. Genetic variation in wild and cultured populations of the pearl oyster *Pinctada fucata* in southern China. *Aquaculture* , **258** :220–227.

作者简介 李小宁 女 1982 年生 硕士研究生。主要从事遗传育种与种质资源研究。E-mail :lixiaoning0901@163.com

责任编辑 李凤芹
