

# 牙鲆回交、全同胞近交及其亲本家系的微卫星研究

王 磊<sup>1,2</sup> 陈松林<sup>1,3\*</sup> 田永胜<sup>1</sup> 邓 寒<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

(<sup>2</sup>上海海洋大学水产与生命学院, 201306)

(<sup>3</sup>上海高校水产养殖学 E-研究院, 201306)

**摘 要** 应用 10 对微卫星引物对 2007 年建立的抗病家系之一(将其定义为亲本家系)及其回交家系和全同胞近交家系进行分析, 结果发现 10 个位点的等位基因数为 1.7~3.0, 平均等位基因数为 2.3, 有效等位基因数为 1.553 2~2.887 8, 平均有效等位基因数为 2.054 1, 杂合度观测值为 0.307 0~0.664 8, 平均杂合度观测值为 0.487 0, 无偏期望杂合度值为 0.200 0~0.606 8, 平均无偏期望杂合度值为 0.606 8, 多态信息含量为 0.233 4~0.579 4, 平均多态信息含量为 0.399 5, 3 个家系均为中度多态, 多态信息含量从大到小依次为: 亲本家系、回交家系、全同胞近交家系, 其中 Poli194TUF 位点在全同胞近交家系中发生纯合。家系间的遗传分化系数为 0.067 1, 表明遗传变异有 6.71% 来自于家系间, 家系间分化较低。根据家系间的遗传距离, 利用 UPGMA 法进行聚类, 亲本家系和全同胞近交家系聚为一类。全同胞近交家系纯化基因速率较快, 适合牙鲆品系的快速建立。

**关键词** 牙鲆 家系 回交 近交 微卫星

**中图分类号** S917.4 **文献识别码** A **文章编号** 1000-7075(2011)03-0038-06

## Genetic structure analysis for the backcross, inbreeding and parents family of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* by microsatellite markers

WANG Lei<sup>1,2</sup> CHEN Song-lin<sup>1,3\*</sup> TIAN Yong-sheng<sup>1</sup> DENG Han<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

(<sup>2</sup>College of Aqua-life Science and Technology, Shanghai Ocean University, 201306)

(<sup>3</sup>Aquaculture Division, E-institute of Shanghai Universities, 201306)

**ABSTRACT** We examined the population genetic structure of three families including parents, backcross, and inbreeding families of Japanese flounder using 10 microsatellite markers. The results showed that among the 10 loci, the allele number ( $N_A$ ) was 1.7~3.0, the average allele number was 2.3, the effective allele number ( $N_e$ ) was 1.553 2~2.887 8, the average effective allele number was 2.0541, the observed heterozygosity ( $H_o$ ) was 0.307 0~0.664 8, the

国家“863”高技术研究发展计划(2006AA10A404)、山东省泰山学者建设工程专项经费、上海高校水产养殖学 E-研究院项目(E030090)和国家自然科学基金(30871918)共同资助

\* 通讯作者。E-mail: chensl@ysfri.ac.cn, Tel: (0532)85844606

收稿日期: 2010-03-16; 接受日期: 2011-01-12

作者简介: 王 磊(1984-), 男, 硕士研究生, 主要从事鱼类分子育种研究。E-mail: hnnuwl@163.com, Tel: (0532)85831605

average observed heterozygosity ( $H_o$ ) was 0.487 0, the expected heterozygosity ( $H_e$ ) was 0.200 0~0.606 8, the average expected heterozygosity ( $H_e$ ) was 0.606 8, the average polymorphism information content ( $PIC$ ) was 0.233 4~0.579 4, and the average polymorphism information content ( $PIC$ ) was 0.399 5. The polymorphism information content of the three families were at the medium level. The value of  $PIC$  from the largest to the smallest was: parents family, backcross family, and inbreeding family. The Poli194TUF was single in the inbreeding family. The genetic deviation index was 0.067 1, which indicated that 6.71% deviation was from families and the genetic deviation was not high inter-families. The genetic distance obtained from the clustering analysis of the three families by UPGMA indicated that the parents family and the inbreeding family was closer. The allele purification was faster in inbreeding family, and thus it was suitable for strains establishment.

**KEY WORDS** *Paralichthys olivaceus* Family Backcross Inbreeding Microsatellite

牙鲆 *Paralichthys olivaceus* 作为我国近海养殖鱼类的主导品种之一,自 20 世纪 90 年代初快速发展以来,已经取得了良好的经济效益和社会效益。我国的牙鲆亲鱼群体主要通过野捕和养殖场留种形成。由于我国野生资源匮乏,真正的野生牙鲆越来越少,养殖场留种的牙鲆来源又比较单一,在长期的养殖过程中很容易发生近交。近些年来,养殖牙鲆出现了生长速度慢、抗逆性下降等情况,特别是病害的频发对牙鲆养殖业带来了极大危害(周 丽等 1997)。

微卫星被广泛应用于物种的群体分析和育种研究中,在鱼类研究中应用也非常广泛(张小谷等 2006)。在牙鲆的研究中,微卫星技术应用很早,Masashi 等(2001)利用微卫星标记分析了牙鲆日本群体 7 个不同地理群体的遗传结构,认为不同地理群体之间遗传结构水平不同。Sekino 等(2000、2001a,b、2002)利用微卫星标记对牙鲆的野生和养殖群体进行了群体遗传学分析。在国内,王伟等(2004)、刘云国等(2005)先后分析了自然牙鲆群体和养殖牙鲆群体的遗传多态性,发现养殖牙鲆的多态性均有不同程度的下降。邵长伟等(2009)研究了来自中国、日本和韩国的 3 个牙鲆养殖群体的遗传结构和遗传多样性,发现 3 个群体间分化差异显著。徐田军等(2009)分析了牙鲆日本群体、中国野生群体和中国抗病群体之间杂交后代和自繁后代的遗传多样性,发现 4 个选择性繁育后代群体的遗传多样性较高,适合在这些群体中进行进一步的选择育种。在利用微卫星评价鱼类家系多样性方面,陈文华等(2009)对 5 个吉富罗非鱼家系的遗传多态性进行了分析,发现 5 个家系的吉富罗非鱼没有受到近亲交配的影响,5 个养殖家系处于遗传平衡状态;殷倩茜等(2008)分析了德国镜鲤两个家系的遗传多样性,结果显示,两个家系的多态性指标适中,但连锁不平衡。分析表明,这两个家系在较大的选择压力下,已偏离 Hardy-Weinberg 平衡。

由于通过本地野生品种改良牙鲆亲鱼群体非常困难,同时发现中国、日本、韩国不同地区的牙鲆遗传差异比较大,适合进行杂交和选择育种来改良本地品种和培育新品种。2007 年本课题组利用牙鲆日本群体、中国野生群体和中国抗病群体 3 个群体建立了 63 个牙鲆家系并对它们的生长和抗病性能进行评估,筛选出速生和抗病家系进行培育(陈松林等 2008)。2009 年,在山东省海阳市黄海水产有限公司对 2007 年选留下来的家系进行全同胞近交、回交和雌核发育研究。本研究利用微卫星对 2007 年选留下来的一个抗病家系及其回交家系和全同胞近交家系进行分析,以期揭示不同家系群体的遗传变化规律和基因纯化速率,为进一步的育种工作提供参考。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 家系建立及样品采集

亲本家系是 2007 年 4 月采用日本群体的亲鱼和中国抗病群体的亲鱼交配建立并经过感染实验选留下来

的;全同胞近交家系是2009年4月从亲本家系中选择体型好、个体大、性成熟的一对牙鲆通过人工授精建立的;回交家系的父本是亲本家系中的雄鱼,母本为亲本家系的雌鱼,分别进行人工挤精液和卵,通过人工授精建立。

实验牙鲆共90尾,其中亲本家系(Parents family, PF)、回交家系(Backcross family, BF)、近交家系(Inbreeding family, IF)各30尾,取自山东省海阳市黄海水产有限公司,将每条鱼剪取鳍条,每个样品放入一个EP管中,做好标记,加入无水乙醇保存。

## 1.2 牙鲆基因组 DNA 的提取

### 1.2.1 基因组 DNA 的提取

参照刘云国等(2006)采用酚-氯仿法进行抽提,略有改动。剪取100 mg组织加入EP管中,再加入600  $\mu$ l裂解液 Buffer(10 mmol/L Tris-Cl, pH 8.0; 100 mmol/L EDTA, pH 8.0; 100 mmol/L NaCl; 0.5% SDS)和10  $\mu$ l蛋白酶 K(20 mg/ml),轻轻摇匀,55  $^{\circ}$ C消化2h,每30 min摇动1次。然后在裂解好的样品中加入600  $\mu$ l酚:氯仿:异戊醇(25:24:1)混合液,晃动10 min后12 000 r/min离心10 min,取上清液。再加入酚:氯仿:异戊醇(25:24:1)混合液,重复上述操作1次。再取上清液,加入两倍体积-20  $^{\circ}$ C预冷的无水乙醇沉淀,然后用枪头将絮状沉淀挑出,用70%乙醇洗涤两次。待乙醇挥发完全后,用灭菌的超纯水溶解。

### 1.2.2 牙鲆基因组 DNA 的微卫星分析

从Jung等(2008)建立的牙鲆连锁图谱上随机选取10对引物,由上海博尚生物公司合成(表1)。PCR反应体系为15  $\mu$ l,包括10  $\times$  buffer 1.5  $\mu$ l, 0.17 mmol/L dNTPs, 10 pmol引物, 0.5 U的Taq DNA聚合酶(TaKaRa)。反应程序为:95  $^{\circ}$ C预变性5 min, 95  $^{\circ}$ C变性30 s, 退火50 s, 72  $^{\circ}$ C延伸50 s, 30个循环,最后72  $^{\circ}$ C延伸5 min。反应在Bio-Rad公司的MyCycler PCR扩增仪上进行。

PCR反应结束后,加入10  $\mu$ l的甲酰胺变性剂于95  $^{\circ}$ C变性10 min,然后立即放入-20  $^{\circ}$ C的冰柜中。变性产物用6%的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,电泳结束后,银染显色。

表1 10对微卫星引物的引物序列、连锁群及退火温度

Table 1 The sequence, linkage group, and specific annealing temperature of ten pairs of microsatellite

微卫星位点 Locus	GenBank 登录号 Accession No.	复性温度( $^{\circ}$ C) Annealing temperature	连锁群 Linkage group	重复单元 Repetitive motif	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')
Poli194TUF	AB459464	58	8	(AC) <sub>23</sub>	F: TGCAGCTGACTAATCCACTGCAG R: AGTGTGTGTCTGTCCACTCTTGTGC
Poli19TUF	AB037984	56	4	(AC) <sub>9</sub>	F: ATGGCTGTACTGCAGCAGG R: CGCAAAAACAACAGATGTTC
Kop19	AY328974	55	9	(TC) <sub>6</sub> (CT) <sub>17</sub>	F: TCCGGTTCAGGAGAGTTCAATG R: GGTGGTTTTGATCAGTCCATATG
Pol-5	AB043473	54	7	(AC) <sub>14</sub> (CA) <sub>8</sub>	F: CTGCTTTCAGCCACTTATG R: GGGTTCAAAGGGCAGTG
Ekop-E1-Br	CX284385	53	16	(AGC) <sub>6</sub> (AGC) <sub>15</sub>	F: GGACCAGCAGGTGTTCTA R: TTCTCCAGCTCAGATGAT
Po13	AB046746	59.5	15	(AC) <sub>13</sub>	F: CGGCCTAAACCTGGACATCCTCTCTA R: CGGACAACCGAGGTTTGACTGAC
Po25A	AB046749	59	16	(GATG) <sub>10</sub>	F: TGAGGAGTCAGGTTTCAGGCCACT R: TCGCAGGAACACCCAGAGTACAGA
Ekop-E2-Gi	CX283298	59	16	(GA) <sub>12</sub>	F: GCCCTCCCTCCATCAGCCATAA R: GAGACTGTCCATTCGGGGTTCA
Kop41	EU307232	52	6	(GT) <sub>9</sub>	F: TGGAAGAACAATAGTCAAGAGA R: GCACTGCACTCAAACAATG
Ekop3-Ki	CX283730	50	6	(AT) <sub>10</sub>	F: GATGAATCACCTGCCAAAAG R: GCTTCATCAGTTTGAATGGT

### 1.3 数据统计

等胶晾干后,通过与 DNA 分子量标准(PBR322DNA/*MspI*)来判读每个个体的基因型大小。利用群体遗传分析软件 Popgene 1.31 计算 3 个家系的平均等位基因数( $N_A$ )、平均有效等位基因数( $N_e$ )、观测杂合度( $H_O$ )、期望杂合度( $H_e$ )、各家系间的遗传相似性系数( $I$ )、遗传距离( $D$ )、遗传分化指数( $G_{ST}$ )和基因流( $Nm$ ),同时利用该软件测试各个位点的 Hardy-Weinberg 平衡。利用 PIC 软件计算多态信息含量,用 MEGA 3.0 软件采用 UPGMA 法根据 3 个家系的遗传距离进行聚类。

## 2 结果

### 2.1 遗传多样性分析

各个位点的遗传多态性参数  $N_A$ 、 $N_e$ 、 $H_O$ 、 $H_e$  和  $PIC$  值见表 2。10 个位点共检测到 24 个等位基因,各位点的等位基因数为 1.7~3.0,平均等位基因数为 2.3;有效等位基因数为 1.553 2~2.887 8,平均有效等位基因数为 2.054 1;杂合度观测值为 0.307 0~0.664 8,平均杂合度观测值为 0.487 0;无偏期望杂合度值为 0.200 0~0.866 7,平均无偏期望杂合度值为 0.606 8;多态信息含量为 0.233 4~0.579 4,平均多态信息含量为 0.399 5。其中位点 Poli19TUF 在亲本家系中,Poli194TUF 在近交家系中的等位基因数和有效等位基因数相同,其他均不相同。10 个微卫星位点有 9 个在 3 个家系中均显示出多态性,而位点 Poli194TUF 在近交家系中仅有一个等位基因。根据 Bostein 等(1980)的分类标准,Poli194TUF 位点属于低度多态位点( $PIC < 0.25$ ),Kop41 和 Ekop-E1-Br 属于高度多态位点( $PIC > 0.5$ ),其余 7 个位点均属于中度多态位点( $0.25 < PIC < 0.5$ )。3 个家系的多态性参数列于表 3,多态信息含量从大到小依次为:亲本家系、回交家系、自交家系,均为中

表 2 牙鲆 3 个家系群体在 10 个微卫星基因座上的平均等位基因数( $N_A$ )、有效等位基因数( $N_e$ )、杂合度观测值( $H_O$ )、无偏期望杂合度值( $H_e$ )以及多态信息含量( $PIC$ )

Table 2 Average number of alleles ( $N_A$ ), number of effective alleles ( $N_e$ ), observed heterozygosity( $H_O$ ), expected heterozygosity( $H_e$ ), and polymorphism information content ( $PIC$ ) in 10 loci among 3 families of Japanese flounder

微卫星位点 Locus	平均等位 基因数 $N_A$	有效等位 基因数 $N_e$	杂合度 观测值 $H_O$	无偏期望 杂合度值 $H_e$	多态信 息含量 $PIC$	微卫星位点 Locus	平均等位 基因数 $N_A$	有效等位 基因数 $N_e$	杂合度 观测值 $H_O$	无偏期望 杂合度值 $H_e$	多态信 息含量 $PIC$
Poli194TUF	1.7	1.553 2	0.307 0	0.200 0	0.233 4	Po25A	2.7	2.376 6	0.561 0	0.704 6	0.478 6
Poli19TUF	2	1.747 0	0.428 4	0.677 8	0.330 8	Ekop-E2-Gi	2	1.700 7	0.417 3	0.583 2	0.325 6
Kop19	2	1.749 6	0.431 3	0.533 3	0.332 9	Kop41	3	2.687 8	0.638 7	0.866 7	0.572 6
Pol-5	2	1.824 6	0.457 9	0.436 0	0.348 1	Ekop3-Ki	2.7	2.400 2	0.579 3	0.688 9	0.487 8
Ekop-E1-Br	3	2.887 8	0.664 8	0.866 6	0.579 4	平均数 Mean	2.3	2.054 1	0.487 0	0.606 9	0.399 5
Po13	2	1.613 3	0.384 0	0.511 9	0.305 3						

表 3 牙鲆每个家系群体在 10 个微卫星基因座上的平均等位基因数( $N_A$ )、有效等位基因数( $N_e$ )、杂合度观测值( $H_O$ )、无偏期望杂合度值( $H_e$ )以及多态信息含量( $PIC$ )

Table 3 Average number of alleles ( $N_A$ ), number of effective alleles ( $N_e$ ), observed heterozygosity( $H_O$ ), expected heterozygosity( $H_e$ ), and polymorphism information content ( $PIC$ ) in 10 loci among every family of Japanese flounder

微卫星位点 Locus	平均等位 基因数 $N_A$	有效等位 基因数 $N_e$	杂合度 观测值 $H_O$	无偏期望 杂合度值 $H_e$	多态信 息含量 $PIC$	微卫星位点 Locus	平均等位 基因数 $N_A$	有效等位 基因数 $N_e$	杂合度 观测值 $H_O$	无偏期望 杂合度值 $H_e$	多态信 息含量 $PIC$
亲本家系 Parents family	2.4	2.163 5	0.527 5	0.663 6	0.430 0	近交家系 Inbreeding family	2.2	1.901 2	0.425 9	0.510 8	0.358 9
回交家系 Backcross family	2.3	2.097 5	0.507 5	0.646 3	0.409 5						

度多态。回交家系与亲本家系相比,平均有效等位基因、平均观测杂合度、多态信息含量分别降低了 3.05%、3.79%、4.77%,全同胞近交家系与亲本家系相比, $N_e$ 、 $H_o$ 、 $PIC$  分别降低了 12.12%、19.26%、16.53%。

## 2.2 遗传分化分析

3 个家系 10 个位点的遗传分化系数( $G_{ST}$ )和基因流( $Nm$ )见表 4。通过分析  $G_{ST}$  发现,位点 Kop19 和 Poli194 存在高度遗传分化( $0.15 < G_{ST}$ );位点 Poli19TUF 和 Po25A 存在中度遗传分化( $0.05 < G_{ST} < 0.15$ );其余位点为轻度遗传分化( $G_{ST} < 0.05$ )。各家系平均遗传分化系数为 0.067 1,表明处于中等遗传分化水平,同时显示 6.71%的遗传分化来自家系间,93.29%的遗传分化来自于家系内。3 个家系之间存在一定的遗传分化,但分化水平较低,接近于轻度分化水平。根据基因流( $Nm$ )分析,遗传分化较大的只有 Poli194TUF( $Nm < 1$ ),存在中度分化的位点为 Poli19TUF、Po25A、Kop19( $1 < Nm < 4$ ),其他 6 个位点遗传分化较小( $4 < Nm$ )。

## 2.3 遗传相似性及遗传距离分析

根据 Nei(1978)的计算方法,利用 Popgene 软件计算了 3 个家系间的遗传距离( $D$ )和遗传相似性系数( $I$ ),结果见表 5。近交家系与其亲本家系的遗传相似性最高为 0.942 1;回交家系与近交家系的遗传相似性最低为 0.837 7。根据家系间的遗传距离,利用 MEGA 3.0 软件,采用 UPGMA 法对 3 个家系进行聚类,发现亲本家系与近交家系距离较近而聚为一类(图 1)。

表 4 10 个微卫星位点的基因分化系数和基因流

Table 4 The  $G_{ST}$  and  $Nm$  in ten microsatellite loci

微卫星位点 Locus	遗传分化系数 $G_{ST}$	基因流 $Nm$	微卫星位点 Locus	遗传分化系数 $G_{ST}$	基因流 $Nm$
Ekop-E2-Gi	0.007	35.491 9	Poli19TUF	0.059 8	3.931 5
Po13	0.009 1	27.151 1	Po25A	0.084 6	2.706 1
Ekop-E1-Br	0.017 2	14.310 8	Kop19	0.151 4	1.400 9
Pol-5	0.019 8	12.370 5	Poli194TUF	0.295 8	0.595 2
Kop41	0.024 5	9.939 8	平均数 Mean	0.067 1	3.478 3
Ekop3-Ki	0.036	6.687			

## 3 讨论

本研究分析了 3 个家系的 5 个多态性指标( $N_e$ 、 $N_e$ 、 $H_o$ 、 $H_e$ 、 $PIC$ )。结果发现,这 3 个家系平均有效等位基因数和平均观测杂合度都很低,分别为 1.901 2~2.163 5( $N_e$ )和 0.510 8~0.663 6( $H_o$ ),明显低于王伟等(2004)( $N_e = 4.56$ ,  $H_o = 0.731 0$ )、刘云国等(2005)( $N_e = 3.66$ ,  $H_o = 0.8$ )、邵长伟等(2009)分析的牙鲆养殖群体( $N_e = 2.75 \sim 3.28$ ,  $H_o = 0.391 7 \sim 0.564 3$ ),但与陈文华等(2009)分析的 5 个吉富罗非鱼家系的两个参数值( $N_e = 1.864 1 \sim 2.427 6$ ,  $H_o = 0.465 7 \sim 0.721 8$ )相似,分析显示,虽然鱼种不同,但是同样用家系选育的方法,两种鱼的家系多样性相似。王伟等(2005)利用微卫星对异质雌核发育群体进行分析,其平均杂合度为 0.385 6,比本研究中最低的全同胞近交家系的 0.425 9

还要低,表明雌核发育方法的基因纯化效率要高于近交方法,全同胞近交家系的杂合度只比雌核发育群体高 10.45%,而全同胞家系的杂合度比其亲本家系低 19.26%,因此如果做不出卵裂雌核发育并且进行极体雌核

表 5 3 个家系群体的遗传距离及相似性指数

Table 5 Nei's genetic identity and genetic distance in 3 families

	PF	BF	IF
PF		0.933 4	0.942 1
BF	0.068 9		0.837 7
IF	0.059 7	0.017 71	

注:对角线以下为遗传距离,对角线以上为遗传相似性指数

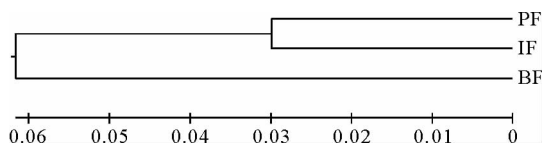


图 1 采用 UPGMA 聚类法构建的聚类图

Fig. 1 UPGMA showing the phylogenetic relationship among three families

发育条件不充分的情况下,全同胞近交是一种建立纯系非常有效的途径。

多态性信息含量( $PIC$ )既是衡量基因片段多态性的指标,又可以作为衡量群体内的遗传变异,数值高则遗传变异大,反之则变异小(廖信军等 2006),3个家系的多态信息含量分别为0.43、0.409 5、0.358 9,均属于中度多态性( $0.25 < PIC < 0.5$ ),这与陈文华等(2009)分析的罗非鱼家系的 $PIC$ 值相似(0.364 9~0.467 6),其罗非鱼在改良中主要以提高生长速度为主要目标,而作者所做的3个家系主要以提高抗鳗弧菌能力为主要目标,从而导致某些稀有等位基因的丢失,群体多态信息含量降低,遗传变异发生的机率变小。

3个家系的观测杂合度(0.527 8、0.507 5、0.487 0)均低于期望杂合度(0.663 8、0.646 3、0.510 8),可能是由于亲本家系的父母本分别为日本养殖牙鲆和中国抗病牙鲆。日本养殖牙鲆经过多年选育,杂合度已经下降,中国抗病牙鲆也是经过感染选育(陈松林等 2008),所以两个父母本都经历了选择,并且亲本家系在2007年也经过了感染和生长方面的选择,回交家系和全同胞近交家系又是严重的近交,所以会造成稀有等位基因消失,随着“瓶颈”的加剧就会表现出平均杂合度的降低。

群体间遗传分化系数( $G_{ST}$ )可以用来度量群体间基因分化的相对大小。在本研究中,93.29%的遗传分化来自于家系内,6.71%的遗传分化来自家系间,这表明3个家系群体间的遗传分化较小,另外绝大部分的遗传多样性是在家系内检测到的,表明3个家系的多样性并没有显著降低,这主要是由于亲本家系是由两个地域的牙鲆,而且全同胞近交家系和回交家系都只进行了1代,当进行多代近交之后, $G_{ST}$ 有可能显著降低。陈文华等(2009)研究罗非鱼的平均遗传分化系数为0.167 6,分化程度比本研究的 $G_{ST}$ 大,这主要是因为本研究中的家系群体的亲缘关系非常近,而罗非鱼家系没有如此近的亲缘关系。

本研究通过微卫星分析了回交家系、全同胞近交家系及其亲本家系,揭示了3个家系的遗传变化规律,发现全同胞近交家系和其亲本家系的遗传相似度高于回交家系和其亲本家系,并且全同胞近交家系的基因纯化速率高于回交家系,这为抗病纯系的建立和家系选择育种提供了重要参考。

## 参 考 文 献

- 王 伟,尤 锋,高天翔,张培军. 2004. 山东近海牙鲆 *Paralichthys olivaceus* 自然和养殖群体 10 个微卫星基因座位的遗传多态性分析. 海洋与湖沼, 35(6): 530~537
- 王 伟,尤 锋,高天翔,张培军. 2005. 人工诱导牙鲆异质雌核发育群体的微卫星标记分析. 高技术通讯, 15(7): 107~110
- 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): 27~33
- 刘云国,陈松林,李八方,汪东风. 2006. 牙鲆选择性养殖群体遗传结构的微卫星分析. 高技术通讯, 18(1): 94~99
- 张小谷,童金苟,熊邦喜. 2006. 微卫星标记在鱼类遗传及育种研究中的应用. 农业生物技术学报, 14(1): 117~121
- 周 丽,宫庆礼,俞开康. 1997. 牙鲆的疾病. 青岛海洋大学学报, 27(2): 173~180
- 陈松林,田永胜,徐田军,刘寿堂,刘本伟,于过才,邓 寒. 2008. 牙鲆抗病群体和家系的建立及其生长和抗病性能初步测定. 水产学报, 32(5): 665~673
- 邵长伟,廖小林,田永胜,陈松林. 2009. 牙鲆 3 个养殖群体遗传结构的微卫星分析. 渔业科学进展, 30(1): 41~46
- 陈文华,李建林,徐 跑,俞菊华,唐永凯. 2009. 五个家系吉富罗非鱼的遗传多样性分析. 生物技术通报, 8: 83~87
- 徐田军,陈松林,田永胜. 2009. 牙鲆 4 个选择性繁育后代群体遗传结构的微卫星分析. 渔业科学进展, 30(4): 57~63
- 殷倩茜,李大宇,王洪哲,曹顶臣,鲁翠云,孙效文,梁利群. 2008. 微卫星分子标记对德国镜鲤两家系遗传多样性的比较分析. 安徽农业大学学报, 35(2): 211~218
- 廖信军,常 洪,孙 伟,王冬蕾. 2006. 利用微卫星标记对六个羊群体性的研究. 家畜生态学报, 27(2): 13~18
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., and Davis, R. W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32: 314~331
- Jung, H. K., Woo, J. K., and Woo, J. L. 2008. Genetic linkage map of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Int. J. Biol. Sci.* 4(3): 143~149
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 583~590
- Sekino, M., and Hara, M. 2000. Isolation and characterization of microsatellite DNA loci in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* (Pleuronectiformes, Pleuronectoidei, Paralichthyidae). *Mol. Ecol.* 9: 2 200~2 202
- Sekino, M., and Hara, M. 2001a. Inheritance characteristics of microsatellite DNA loci in experimental families of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Marine Biotechnology*, 3: 310~315
- Sekino, M., and Hara, M. 2001b. Application of microsatellite markers to population genetics studies of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Marine Biotechnology*, 3: 572~589
- Sekino, M., Hara, M., and Taniguchi, N. 2002. Loss of microsatellite and mitochondrial DNA variation in hatchery strains of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 213: 101~122