

# 半滑舌鳎养殖群体和减数分裂雌核发育群体的微卫星标记遗传多样性分析

徐 营<sup>1,2</sup> 邵长伟<sup>1</sup> 邓 寒<sup>1</sup> 陈松林<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)

**摘要** 利用 24 对微卫星分子标记对半滑舌鳎 *Cynoglossus semilaevis* 的养殖群体和减数分裂雌核发育群体进行遗传多样性分析。结果表明, 两个半滑舌鳎群体平均等位基因数分别为 7.0 和 4.8, 平均有效等位基因数分别为 3.935 和 2.411, 平均观测杂合度 ( $H_o$ ) 分别为 0.713 5 和 0.586 5, 养殖群体的遗传多样性明显高于减数分裂雌核发育群体。有 1 个位点在养殖群体中偏离哈代-温伯格平衡, 13 个位点在减数分裂雌核发育群体中偏离哈代-温伯格平衡。群体间基因分化系数 ( $G_{ST}$ ) 为 0.093 6, 遗传距离为 0.420 0, 表明两群体间遗传分化显著。

**关键词** 半滑舌鳎 养殖群体 微卫星标记 减数分裂雌核发育群体 遗传多样性

**中图分类号** S917 **文献识别码** A **文章编号** 1000-7075(2011)04-0014-06

## Genetic analysis of cultured and gynogenetic stocks of half-smooth tongue sole *Cynoglossus semilaevis* by using SSR markers

XU Ying<sup>1,2</sup> SHAO Chang-wei<sup>1</sup> DENG Han<sup>1</sup> CHEN Song-lin<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)

**ABSTRACT** The genetic structure and variations of the cultured stock and artificial meiogy-nogenetic population of half-smooth tongue sole *Cynoglossus semilaevis* were analyzed by using twenty-four microsatellite markers. The results showed that the average numbers of alleles and average effective alleles were 7.0 and 4.8, and 3.935 and 2.411 in the cultured stock and the artificial gynogenetic population, respectively. The mean observed heterozygosity ( $H_o$ ) were 0.713 5 and 0.586 5, respectively. The results indicate that the genetic diversity of the cultured group was much higher than that of the gynogenetic population. Thirteen loci deviated significantly from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) in the gynogenetic population, while one loci deviated from HWE in the cultured group. The coefficient of gene differentiation ( $G_{ST}$ ) was 0.131 0, and the genetic distance was 0.420 0 between the two populations, indicating for a sig-

公益性行业(农业)科研专项(200903046)、农业科技成果转化资金项目(2009GB23260436)和中央级公益性科研院所基本科研业务费(2010-ts-06)共同资助

\* 通讯作者。E-mail: chensl@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2011-01-17; 接受日期: 2011-03-02

作者简介: 徐 营(1985-), 男, 硕士研究生, 主要从事鱼类分子育种研究。E-mail: xuying525@163.com, Tel: (0532)85831605

nificant genetic differentiation between the two populations.

**KEY WORDS** Half-smooth tongue sole *Cynoglossus semilaevis* Cultured population Microsatellite marker Meiofertilization population Genetic diversity

半滑舌鳎 *Cynoglossus semilaevis* 属鲽形目 Pleuronectiformes、舌鳎科 Pleuronectiformes、舌鳎属 *Cynoglossus*, 俗名牛舌头、鳎目、鳎米。主要生活于我国的黄、渤海海域(李思忠等 1995), 在我国海水养殖业中占有重要地位。半滑舌鳎雌、雄生长速度差异大, 雌性比雄性生长快 2~4 倍, 开展半滑舌鳎雌核发育研究, 建立半滑舌鳎全雌苗种培育技术是半滑舌鳎养殖业持续、快速发展的关键(Chen et al. 2007)。人工诱导雌核发育二倍体是指通过物理、化学或生物学方法使精子遗传失活, 与正常卵子“受精”, 再通过抑制第二极体排放或者第 1 次卵裂使单倍性胚胎的染色体加倍从而发育成雌核二倍体。在雌核发育过程中, 没有雌、雄两性原核的融合, 遗传物质理论上来源于母本, 可以快速建立纯系或近交系。目前, 人工诱导雌核发育技术已广泛应用于快速建立鱼类纯系、纯化优良基因、遗传分析、性别控制以及遗传改良等方面。我国鱼类雌核发育研究始于 20 世纪 70 年代, 目前已在多种海、淡水鱼类中获得成功(李胜忠等 1997; 蒋一珪等 1982; 范兆廷等 1993)。减数分裂雌核发育是一种人工干预选择的方式, 通过减数分裂, 雌核发育获得的半滑舌鳎群体其遗传多样性必然会发生一定的变化, 分析其遗传多样性变化情况可以为今后半滑舌鳎等鱼类雌核发育家系或群体建立提供遗传学基础数据, 对半滑舌鳎今后的育种工作具有一定的指导意义。

微卫星作为一种重要的分子标记已被广泛应用于群体遗传学、遗传图谱构建、基因定位、亲子鉴定、个体识别等领域。利用微卫星遗传标记对雌核发育样本的研究, 主要集中于子代遗传学的鉴定(Li et al. 2006)、隐性致死基因的筛查(Palti et al. 2002)、标记——着丝点作图(Guo et al. 1996)等方面, 群体遗传学方面报道的较少(Ma et al. 2009; 王伟等 2005)。作者对半滑舌鳎人工诱导减数分裂雌核发育群体和正常养殖群体进行了微卫星群体遗传学研究, 探讨半滑舌鳎人工诱导雌核发育群体的遗传变异情况, 以期为后续半滑舌鳎雌核发育群体的利用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集及 DNA 提取

本研究所用减数雌核发育群体为 2008 年由本实验室人工诱导得到(Chen et al. 2009)。诱导方法为: 通过紫外线( $40 \text{ mJ/cm}^2$ )照射鲈鱼精子后与多尾半滑舌鳎的卵子受精, 受精后 5 min, 用静水压在 70 MPa 下处理 4 min 获得减数分裂雌核发育鱼。2010 年 4 月从雌核发育群体中随机取 32 个个体用于微卫星分析, 体长为 10~16.6 cm, 体重为 14~60.8 g。同时采集普通养殖群体 32 尾(养殖群体的亲本和减数分裂雌核发育鱼的亲本为同一批卵), 体长为 13~19.5 cm, 体重为 20~87.9 g, 所有群体均培育于山东省海阳黄海水产有限公司。样本 DNA 参照刘云国等(2006)采用酚-氯仿法进行提取。

### 1.2 PCR 反应及微卫星分析

从本实验室开发的微卫星引物中选择了 24 对微卫星引物, 由南京金斯瑞生物科技有限公司合成(表 1)。PCR 反应体系为 15  $\mu\text{l}$ , 包括  $10\times\text{PCR buffer } (\text{Mg}^{2+})$  1.5  $\mu\text{l}$ , dNTPs (2.5 mmol/L) 0.6  $\mu\text{l}$ , 上、下游引物 (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 各 0.4  $\mu\text{l}$ , 基因组 DNA 1.0  $\mu\text{l}$ , *Taq* DNA Polymerase (5 U/ $\mu\text{l}$ ) 0.1  $\mu\text{l}$ , 加 11.0  $\mu\text{l}$  ddH<sub>2</sub>O。反应程序为: 94 °C 预变性 4 min, 94 °C 30 s, 退火 40 s, 72 °C 延伸 35 s, 32 个循环, 最后 72 °C 延伸 10 min。PCR 扩增在 PTC-200 型 PCR 仪上进行。

PCR 反应结束后, 加入 7.5  $\mu\text{l}$  的甲酰胺变性剂 (7.5% 甲酰胺, 10 mmol/L EDTA, 0.05% 二甲苯青, 0.05% 溴酚兰) 于 95 °C 变性 5 min, 然后立即冰浴。变性产物经 6% 的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 通过与 DNA 分子量标准(pBR322DNA/MspI) 比较来判读等位基因大小。参考 Caetano-Anolles 等(1997) 报道的方法银染显色。

表1 24对微卫星引物的序列及退火温度

Table 1 Sequences and their specific annealing temperature of twenty four pairs of microsatellite primers

微卫星位点 Locus	重复单元 Repetitive motif	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')	退火温度(℃) Annealing temperature	等位基因大小范围 Size range(bp)	GenBank 登录号 Accession No.
hncyse3	(CA) <sub>11</sub> CG(CA) <sub>5</sub>	F-TAACAGCAGATTGGTGCCTC R-CTGGGTAGGTGGTTTG	50	190~200	GQ426756
hncyse4	(CA) <sub>11</sub>	F-GGTGGCTGGTAATAACAA R-CATGAACAGTATGGGAAAGG	51	175~201	GQ426757
hncyse9	(CA) <sub>6</sub> (GA) <sub>9</sub>	F-CATCAACGGAATGCGGTAA R-TGTAAGTCTCACTGCGGGTC	51	109~135	GQ426762
hncyse21	(GT) <sub>12</sub>	F-GTAGGTTGAAGCAGGTTG R-ACTACAGAGTGCAGTGCC	51	156~176	GQ426772
hncyse33	(TGAC) <sub>10</sub>	F-AGCGGAAGCAGCAGAAGGAT R-ACGAAGGGCGGAGAAGTCAG	55	138~168	GQ426780
hncyse42	(TG) <sub>25</sub>	F-TTCCCCTTCTGTAGTCAAAC R-TCACCCAAACTGTTCACTCG	52	320~362	GQ426786
hncyse47	(AG) <sub>12</sub>	F-ACTGTGAATGTGTGTGCG R-CACATTCTGAGTCTCGGTA	55	148~172	GQ426791
hncyse68	(AC) <sub>8</sub> GC(AC) <sub>9</sub>	F-GCACAGCACTGAGCAGGATT R-ATCTGAAAGCAAGCAGATT	54	182~212	GQ426811
hncyse73	(GA) <sub>12</sub>	F-TAGACCTTCCTCGCAGCAT R-AGAAGAGTTAGCTCAATCAACG	53	267~285	GQ426816
hncyse91	(GA) <sub>6</sub> AA(GA) <sub>26</sub>	F-TACCACGCTGCCTTCAAATG R-TTCACCACTGTTCTGCTCCAC	54	185~215	GQ426833
hncyse99	(TC) <sub>12</sub>	F-GCTCTGTGATCGCTCAGTTGT R-GGACGAAGCAGAAGAAAAGGA	52	198~218	GQ426839
hncyse108	(GA) <sub>8</sub> AA(GA) <sub>4</sub>	F-ATCACATTAATGTGTGTCTGTG R-CTTCTCATCACCTGCCCTT	50	177~187	GQ426847
hncyse110	(TC) <sub>4</sub> CC(TC) <sub>8</sub> (AC) <sub>5</sub>	F-GACGAAGGTTTTGAATGGTTA R-GTGGAGGCACAGGTTTGGA	53	156~170	GQ426849
hncyse115	(TC) <sub>16</sub> (ACTC) <sub>5</sub> (AC) <sub>8</sub>	F-TCCGACCCACAGTTGTATCA R-TAAACAGATCTGCTGCAGTGAGT	53	274~298	GQ426854
hncyse139	(GA) <sub>7</sub> GG(GA) <sub>10</sub>	F-TGGTTCCCTCGTTCCTTTC R-CTGGGGAGCAGTATGGTTT	53	192~230	GQ426874
hncyse140	(TC) <sub>19</sub>	F-CCGTCCACAGTCATTCACC R-TGTCGGGAAAAACAGCACAGA	52	149~169	GQ426875
hncyse143	(CA) <sub>15</sub> GATTCT CATA (CA) <sub>8</sub>	F-AGCTCCACTTCCTCTGCAT R-ACTATGATTATGGGTGTCTT	55	161~189	GQ426878
cyse265	(CT) <sub>6</sub> (CA) <sub>8</sub> CT(CA) <sub>3</sub>	F-TATGGACGCAATCATTGGA R-ACGGATAAACATTGGGAACG	60	190~218	HM060557
cyse273	(GT) <sub>9</sub> AG(GT) <sub>6</sub>	F-GCTGGTTCTGTCTGGATGGT R-TAAAGGATCAGTCCGCAGGT	60	186~210	HM060565
cyse274	(GT) <sub>11</sub>	F-ACCCCTAACCTAACCCCTGTA R-ATGGTCATCCTCACACACTC	55	202~240	HM060566
cyse284	(GT) <sub>13</sub>	F-ATGCTGGTTTCCTGCATTC R-TCAATGAGAACGCTTGTGC	60	180~198	HM060576
hxts3	(GT) <sub>14</sub>	F-CCACTCGCCTGTTCATCCT R-TGGACTCCTGTGAGACTCTGC	53	128~184	HM473082
hxts13	(GT) <sub>15</sub>	F-CTCTGACACTTGACCTG R-CTGGTCGTGGACAATAAC	52	238~254	HM473088
hxts25	(GT) <sub>6</sub> CCG(GT) <sub>7</sub>	F-GAAAGGCAAAGCAAGAGT R-GGGTGAGGAGCAGATAGA	49	321~337	HM473095

### 1.3 数据分析

利用 Popgene 软件计算两个群体的等位基因数( $A$ )、有效等位基因数( $Ae$ )、预期杂合度( $He$ )、观测杂合度( $Ho$ )。同时利用该软件测试了每个群体各个位点的哈代-温伯格平衡(Hardy-Weinberg Equilibrium, HWE)，计算了两群体的遗传相似指数( $I$ )、遗传距离( $D$ )、基因分化系数( $G_{ST}$ )和基因流( $N_m$ )。并根据 Botstein 等(1980)的分类方法计算位点多态信息含量( $PIC$ )。

## 2 结果

### 2.1 半滑舌鳎养殖群体和人工诱导群体微卫星位点的遗传多样性

半滑舌鳎养殖群体和减数分裂雌核发育群体在 24 个微卫星位点的平均等位基因分别为 7.0、4.8 个，平均有效等位基因为 3.935、2.411 个，其中 5 个位点(hncyse9、hncyse99、hncyse139、cyse273、cyse274)在半滑舌鳎两个群体中均有较好的多态性，4 个位点(hncyse3、hncyse91、hncyse108、hncyse143)在减数分裂雌核发育群体中多态性较低，减数分裂雌核发育群体的平均等位基因和平均有效等位基因都明显低于养殖群体，表明通过减数分裂雌核发育获得的半滑舌鳎群体的遗传多态性明显降低。位点 hncyse21、cyse265 上，养殖群体的多态信息含量( $PIC$ )低于减数分裂雌核发育群体，其他位点上养殖群体的多态信息含量明显高于减数分裂雌核发育群体的多态信息含量(表 2)。

表 2 两个半滑舌鳎群体在 24 个微卫星位点上的统计分析结果

Table 2 The analysis of 24 microsatellite loci in two populations of half-smooth tongue sole *C. semilaevius*

位点 Locus	养殖群体 Cultured stock(CS)					雌核发育群体 Artificial meiogynogenetic population(GS)						
	A	Ae	Ho	He	PIC	P	A	Ae	Ho	He	PIC	P
hncyse3	5	2.206	0.6875	0.5556	0.4542	0.8930	4	2.077	0.6250	0.5268	0.4362	0.0413
hncyse4	7	4.096	0.8438	0.7679	0.7200	0.8838	5	3.230	1.0000	0.7014	0.6366	0.0000*
hncyse9	9	4.039	0.5556	0.7644	0.7188	0.3998	5	2.579	0.5625	0.6220	0.5566	0.0513
hncyse21	4	2.749	0.5161	0.6467	0.5680	0.0905	6	3.150	0.9375	0.6935	0.6260	0.0015*
hncyse33	6	3.012	0.6562	0.6786	0.6301	0.7698	4	2.253	0.1562	0.5650	0.5009	0.0000*
hncyse42	6	3.354	0.5806	0.7134	0.6638	0.1478	6	1.598	0.1875	0.3805	0.3557	0.0052
hncyse47	7	4.096	0.3438	0.7679	0.7290	0.00001*	5	2.359	0.1250	0.5853	0.5247	0.0000*
hncyse68	7	3.221	0.6875	0.7004	0.6370	0.6960	5	2.934	0.8750	0.6696	0.5908	0.0213
hncyse73	7	4.104	0.8125	0.7684	0.7214	0.3014	6	1.793	0.3750	0.4494	0.4223	0.0539
hncyse91	10	3.872	0.7500	0.7535	0.7044	0.9993	3	2.506	0.9688	0.6106	0.5214	0.0000*
hncyse99	9	4.329	0.8438	0.7812	0.7445	0.5536	7	3.098	0.9375	0.6880	0.6214	0.0119
hncyse108	4	2.479	0.5312	0.6062	0.5214	0.4332	3	1.917	0.0000	0.4861	0.4311	0.0000*
hncyse110	6	4.501	0.8750	0.7902	0.7436	0.0495	6	2.618	0.7812	0.6280	0.5598	0.0132
hncyse115	8	5.505	0.8750	0.8313	0.7945	0.6176	5	2.012	0.4194	0.5114	0.4676	0.00007*
hncyse139	10	6.301	0.7500	0.8547	0.8249	0.8416	7	3.849	0.7500	0.7520	0.6944	0.0000*
hncyse140	7	5.125	0.9032	0.8181	0.7763	0.3885	4	1.433	0.1875	0.3070	0.2857	0.0017*
hncyse143	8	5.772	0.9355	0.8403	0.8042	0.2154	3	1.926	0.4688	0.4886	0.3915	0.2120
cyse265	6	2.008	0.5312	0.5099	0.4775	0.9846	4	3.093	0.8750	0.6875	0.6147	0.0000*
cyse273	8	6.187	0.8750	0.8517	0.8173	0.5405	6	2.438	0.7812	0.5992	0.5120	0.0026
cyse274	9	5.278	1.0000	0.8234	0.7863	0.5862	6	3.256	1.0000	0.7039	0.6420	0.0000*
cyse284	6	3.029	0.6875	0.6806	0.6212	0.6681	4	2.398	0.8750	0.5923	0.4935	0.0000*
hxts3	6	2.418	0.5312	0.5957	0.5540	0.7455	3	1.246	0.0312	0.2009	0.1834	0.00001*
hxts13	8	3.190	0.5312	0.6974	0.6428	0.7412	4	2.386	0.7188	0.5903	0.4922	0.0277
hxts25	6	3.556	0.7188	0.7302	0.6746	0.6705	5	1.708	0.4375	0.4211	0.3884	0.1144
平均 Mean	7.0	3.935	0.7135	0.7303	0.6804		4.8	2.411	0.5865	0.5608	0.4978	

注:  $A$  为等位基因;  $Ae$  为有效等位基因;  $He$  为预期杂合度;  $Ho$  为观测杂合度;  $PIC$  为多态信息含量;  $P$  为对 Hardy-Weinberg 平衡的显著性检验;<sup>\*</sup> 表示显著偏离哈代-温伯格平衡

## 2.2 半滑舌鳎群体内和群体间变异

杂合度可以反应群体遗传多样性的高低,平均期望杂合度值越高,反映群体的遗传一致性越低,其遗传多样性就越丰富(潭杰等 2007)。半滑舌鳎养殖群体和减数分裂雌核发育群体的平均观测杂合度分别为 0.713 5 和 0.586 5,平均期望杂合度为 0.730 3 和 0.560 8。在养殖群体中有 1 个位点(hncyse47)偏离 HWE ( $P>0.05$ , 校正后  $P>0.002$ ), 而在减数分裂雌核发育群体中有 13 个位点(hncyse4、hncyse21、hncyse33、hncyse47、hncyse91、hncyse108、hncyse115、hncyse139、hncyse140、cyse265、cyse274、cyse284、hxts3) 偏离 HWE( $P>0.05$ , 校正后  $P>0.002$ )。

两个群体各位点的基因分化系数( $G_{ST}$ )和基因流( $N_m$ )见表3,群体之间存在轻度遗传分化( $G_{ST} < 0.05$ )的位点有6个;有中度遗传分化( $0.05 < G_{ST} < 0.15$ )的位点有15个;有较大遗传分化( $0.15 < G_{ST} < 0.25$ )的位点有4个;存在很大的遗传分化( $G_{ST} > 0.25$ )的位点只有hncyse42。各群体平均的基因分化系数为0.0936,表明9.36%的遗传分化来自群体间,90.64%的遗传分化来自群体内。 $N_m$ 与 $G_{ST}$ 是负相关的,因此基因流所反映的群体遗传分化与基因分化系数是类似的。根据基因流的大小,在群体间遗传分化较小( $N_m > 4$ )的位点有hncyse3、hncyse4、hncyse21、hncyse91、hncyse99、hncyse110、hncyse139、hxts13。在群体间分化较大( $N_m < 1$ )的位点hncyse42,其余15个位点在各群体之间存在一定程度的分化。根据Nei(1972)的方法计算出两群体遗传相似度( $I$ )和遗传距离( $D$ )为0.6571和0.4200,表明减数分裂雌核发育群体与养殖群体之间发生了明显的遗传分化。

表 3 两个半滑舌鳎群体各位点的基因分化系数( $G_{ST}$ )和基因流( $N_m$ )

Table 3 The coefficient of gene differentiation ( $G_{ST}$ ) and gene flow ( $N_m$ ) in two populations of half-smooth tongue sole *C. semilaevis*

位点 Locus	$G_{ST}$	$N_m$	位点 Locus	$G_{ST}$	$N_m$	位点 Locus	$G_{ST}$	$N_m$	位点 Locus	$G_{ST}$	$N_m$	
hncyse3	0.059 4	5.538	hncyse47	0.173 3	1.192	hncyse110	0.039 6	6.057	cyse273	0.137 8	1.564	
hncyse4	0.022 3	10.97	hncyse68	0.122 9	1.784	hncyse115	0.097 5	2.315	cyse274	0.067 0	3.483	
hncyse9	0.063 0	3.716	hncyse73	0.071 5	3.247	hncyse139	0.043 4	5.508	cyse284	0.135 6	1.593	
hncyse21	0.021 5	11.35	hncyse91	0.014 7	16.76	hncyse140	0.166 2	1.254	hxts3	0.059 4	3.955	
hncyse33	0.182 3	1.121	hncyse99	0.051 4	4.613	hncyse143	0.087 0	2.623	hxts13	0.021 7	11.28	
hncyse42	0.253 5	0.736 2	hncyse108	0.101 3	2.193	cyse265	0.148 5	1.464	hxts25	0.082 6	2.776	
平均 Average												
											0.093 6	2.419

### 3 讨论

遗传多样性是鱼类生物多样性的重要组成部分,它衡量生物所携带遗传信息的变异程度,而DNA是遗传信息的载体,所以DNA的变化直接反映了物种遗传变异的程度。群体的遗传多样性每丧失10%,就会对其繁殖能力、存活率、生长等重要性状产生很大的负面影响(Allendorf *et al.* 1987)。本研究中减数分裂雌核发育群体在24个微卫星位点的平均等位基因数(A)、有效等位基因数(Ae)、观测杂合度( $H_o$ )、期望杂合度( $H_e$ )以及多态信息含量(PIC)均明显低于正常养殖群体,说明雌核发育群体的遗传多样性显著低于正常养殖群体。从群体遗传学的角度考虑,雌核发育群体可视为经历了最极端的遗传瓶颈。自然状态下,群体都是多条雌、雄鱼的后代,而雌核发育群体实际上为1尾或多尾雌鱼的后代,因此遗传多样性水平大大降低了,而纯系中所有的基因座位都是纯合的,这时群体的遗传多样性为0。本研究所分析的半滑舌鳎雌核发育群体是通过抑制第二极体的排放而获得的,由于在第1次减数分裂时同源染色体发生了交换,导致基因的重组,减数分裂雌核发育群体在个体和群体水平都有杂合。本研究中减数分裂雌核发育群体在位点(hncyse108)的观测杂合度为0,在5个位点(hncyse33、hncyse42、hncyse47、hncyse140、hxts3)有较低的杂合子比例,在位点hncyse4、cyse274杂合子比例为100%。雌核发育群体在24个位点上的平均重组率为0.5865,明显高于马洪雨等(2009)报道的条斑星鲽在8个位点的平均重组率0.1858。出现比较高的重组率的原因可能是:第一,由于这些位点比较远离着丝粒,等位基因之间易发生重组交换;第二,隐性致死基因导致纯合个体死亡,使杂合子比例升高,得到了较高的重组率。

减数分裂雌核发育群体中有 13 个位点偏离哈代-温伯格平衡，养殖群体中只有 1 个位点偏离哈代-温伯格

平衡。导致多数位点在减数分裂雌核发育群体中偏离哈代-温伯格平衡的原因可能是过多纯合子的存在而不是技术或统计原因。群体间分化的基因分化系数( $G_{ST}$ )的值变化从1到0,当群体的所有等位基因频率几乎相同时, $G_{ST}$ 的值接近于0,各群体间几乎没有分化;当群体间的遗传分化增大时,说明遗传多样性几乎存在于各群体之间,群体间遗传分化越大, $G_{ST}$ 的值越接近于1。本研究中,群体之间存在轻度遗传分化( $G_{ST} < 0.05$ )的位点有6个,有中度遗传分化( $0.05 \leq G_{ST} < 0.15$ )的位点有15个,有较大遗传分化( $0.15 \leq G_{ST} < 0.25$ )的位点有4个,存在很大的遗传分化( $G_{ST} > 0.25$ )的位点只有hncyse42。群体间平均的基因分化系数为0.0936,表明养殖群体与减数分裂雌核发育群体之间存在明显的遗传分化。

遗传距离是衡量群体间遗传变异程度的可靠参数。群体间亲缘关系越近,则遗传变异性越低,相似系数值越大,遗传距离越小(邵长伟等 2009)。本研究中,养殖群体与减数分裂雌核发育群体间的遗传距离为0.4200,两群体间的遗传距离比较大,说明人工诱导减数分裂雌核发育群体与养殖群体之间发生了明显的遗传分化。人工诱导减数分裂雌核发育群体的各项遗传多样性指标观测值均显著低于正常养殖群体,充分说明了人工干预选择降低了群体遗传多样性。研究表明,遗传多样性的丧失或过低将降低其适应各种不同环境的能力,在人工选择育种中维持一定的群体遗传多样性才能使其更好的适应环境变化,有利于养殖业的健康发展。因此,鱼类育种过程中人工选育和维持群体遗传多样性二者之间能否达到一种平衡变得越来越重要。本研究对养殖群体和人工诱导减数分裂雌核发育群体的遗传多样性研究将为以后半滑舌鳎的人工育种和种质保护提供依据。

## 参 考 文 献

- 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,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, 16(1): 94~99  
 李思忠,王惠民. 1995. 中国动物志:硬骨鱼纲鲽形目. 北京:科学出版社, 334~366  
 李胜忠,陈琳,杜劲松. 1997. 热休克诱导虹鳟二倍体雌核发育. 动物学杂志, 32(5): 7~9  
 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  
 范兆廷,宋苏祥. 1993. 鱼类的雌核发育、雄核发育和杂种发育. 水产学报, 17(2): 179~187  
 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  
 蒋一珪,俞蒙祥,陈本德,梁绍昌,杨德龙,林绥恩. 1982. 鲫鱼的人工和天然雌核发育. 水生生物学报, 7(4): 471~477  
 谭杰,孙慧玲,刘萍,杨爱国,燕敬平,刘志鸿,周丽青. 2007. 仿刺参自然群体和养殖群体间遗传变异的微卫星标记研究. 海洋水产研究, 28(3): 38~43  
 Allendorf, F. W., and Ryman, N. 1987. Genetic management of hatchery stock. Population genetics and fishery management. Seattle: University of Washington Press, 141~159  
 Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M. et al. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am. J. Hum. Genet. 32: 314~331  
 Caetano-Anolles, G., Gustav, C. A., and Bassam, B. J. 1997. DNA silver staining. Biotechnology Advances, 15(1): 175  
 Chen, S. L., Li, J., Deng, S. P. et al. 2007. Isolation of female-specific AFLP markers and molecular identification of genetic sex in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). Marine Biotechnology, 9: 273~280  
 Chen, S. L., Tian, Y. S., Yang, J. F. et al. 2009. Artificial gynogenesis and sex determination in Half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). Marine Biotechnology, 11: 243~251  
 Excoffier, L., Smouse, P. E., and Quattro, J. M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics, 131: 479~491  
 Guo, X., and Alien, S. 1996. Complete interference and nonrandom distribution of meiotic crossover in mollusc *Mulinia lateralis* (Say). Biol. Bull. 191: 145~148  
 Li, Q., and Kijima, A. 2006. Microsatellite analysis of gynogenetic families in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. Exp. Marine Biology and Ecology, 331: 1~8  
 Ma, H. Y., Yang, J. F., Su, P. Z., and Chen, S. L. 2009. Genetic analysis of gynogenetic and common populations of veraspermseri using SSR markers. Wuhan University Journal of Natural Sciences, 3: 267~273  
 Palti, Y., Shirak, A., Cnaani, A. et al. 2002. Detection of genes with deleterious alleles in an inbred line of tilapia (*Oreochromis aureus*). Aquaculture, 206 (3): 151~164