

团头鲂“浦江2号”连续两代雌核发育群体的微卫星遗传结构分析

张彦锐¹²³, 李宝玉¹²³, 郑国栋¹²³, 邹曙明¹²³

(1. 上海海洋大学 农村农业部团头鲂遗传育种中心, 上海 201306; 2. 上海海洋大学农村农业部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306; 3. 上海海洋大学 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306)



介绍

微卫星是一种共显性，随机性和多态性的分子标记，具有多态性好、杂合率高、共显性遗传等特点，常常比较群体之间的遗传多样性差异揭示基因组的总体特征。

团头鲂是我国重要的草食性经济鱼类，养殖过程中过度追求生产、忽视良种选育，其出现生长性能、抗病以及抗逆能力下降等问题。团头鲂性成熟时间长，传统选育方式耗时费力，然而雌核发育技术能提高群体遗传纯合度。目前，培育出的团头鲂“浦江2号”新品种在生长和耐低氧方面有着突出的优势。为了更好的固定这些优良性状，本试验以团头鲂“浦江2号”作为对照，利用20个多态性微卫星比较研究“浦江2号”雌核发育一代群体(Meio-G1)和二代群体(Meio-G2)间遗传结构及基因座位的纯合度，分析群体间的遗传多样性。



过度养殖的现状



团头鲂“浦江2号”

材料与方法

1.实验材料

本试验实验用鱼均源于上海海洋大学农业部团头鲂遗传育种中心，其中采用了团头鲂“浦江2号”群体、雌核发育一代群体（Meio-G1）和雌核发育二代群体（Meio-G2）作为研究对象进行实验。

2.实验方法

剪取相应群体的鳍条，提取全基因组DNA后，利用筛选获得的20对微卫星位点引物，根据聚丙烯酰胺凝胶电泳谱带进行基因分型。SSR位点及引物信息见表 1。

3.数据处理

使用PopGene(Version3.2)软件统计微卫星数据分析，根据Botstein公式计算Hardy-Weinberg遗传偏离指数(D),软件分析PIC-CLC位点的多态信息含量(PIC),并根据群体间遗传距离按照UPGMA法构建3个群体的聚类关系图。

表 1 微卫星引物特征
Tab. 1 Characteristics of microsatellite primers

序号 No.	位点 locus	重复序列 repeat motif	等位基因大小\bp number of alleles	退火温度/℃ Tm	引物序列(5'- 3') primer sequence(5'- 3')
1	<i>Mam-EST5</i>	(TG) ₁₅	281~351	59.0	F: TTTCTGCCACTGGAGACC R: TTTGATGATGATTAGAGGAGG
2	<i>Mam-EST12</i>	(TCTT) ₁₃	205~259	54.0	F: TCGTGCGAAGTAACAAG R: CAGGCAATAATAACAAAACC
3	<i>Mam-EST18</i>	(TC) ₁₀ (AC) ₁₈	206~258	54.5	F: CGAGTAAAAATCCCA GAGG R: ATATGCCATTTTCTCACTTC
4	<i>Mam-EST37</i>	(TG) ₈	147~216	62.0	F: CACAAACCATAAACACAG R: AATGCCATAAAAACACAC
5	<i>Mam-EST45</i>	(ATCT) ₂₅	282~380	50.5	F: AGTATAAGTTGAGTGGGTG R: TAAAGGGAAATTCTGGT
6	<i>Mam-EST46</i>	(AC) ₁₉	206~228	50.0	F: ACGGTGTCAGTTCAGCA R: CTCCCACGACAGAAAGA
7	<i>Mam-EST61</i>	(AC) ₁₂	110~170	55.0	F: AATCCAGTCAGAGTCATC R: AGTCGTTTGTGCAAGTAA
8	<i>Mam-EST85</i>	(AC) ₁₂	206~298	57.0	F: CTTACAGACTCCGACAGG R: ATCCACGACTTCCA GAAC
9	<i>Mam-EST99</i>	(CT) ₂₀	208~256	57.0	F: GCGTATGAACGTCAGAGC R: TGGTGGATTATTATGGGATG
10	<i>Mam-EST110</i>	(AC) ₁₃	196~234	62.0	F: CTATTTACAGTTTCATGCTTTCCTC R: ATCCCGTCGCCGCTTACT
11	<i>Mam-EST158</i>	(CT) ₁₆	117~151	60.0	F: GGTACTGTTTGTGCTGGGC R: CTGCTCACTCAACTTATTGTAGGTC
12	<i>Mam-EST841</i>	(ACGA) ₁₄	277~307	54.5	F: ATTGGTCCAGTCTGTGTG R: TGTATCTTGCACGCTCTA
13	<i>Me-Am-1</i>	(AGAA G) ₅	210~275	52.0	F: TGTGGATGCCCTGAGTGAA R: AGAGGCAGAAACAACAGA
14	<i>Me-Am-15</i>	(CATT) ₅	175~200	56.0	F: AGGCGAAAGAAACACTGTGT R: AATGTGTTCTGTGTGGAGAG
15	<i>TTF1</i>	(CA) ₂₁	273~335	55.9	F: TGGAGATGAAAGCTGAAGGAA R: ATGCACGAACTGCCACATAA
16	<i>TTF2</i>	(CA) ₅ (CT) ₂₁	196~228	55.6	F: AAACAGCTGCTACCGTTGGA R: TTTGCCAGAAGAGCAAAATCA
17	<i>TTF3</i>	(TC) ₂₇	224~279	56.4	F: AAGACGCCACGGAAACCTT A R: CTGACCGGATAGCAAAAGTGA
18	<i>TTF4</i>	(CA) ₁₄	157~289	60.5	F: GACTGGAAGTCGT CAGGC TTC R: TGCCCCACATTGTTAGACTG
19	<i>TTF6</i>	(GA) ₁₃	182~218	60.5	F: GGCAGGTCAGGCACATTTAT R: TCTCTACCTCACATCTCTCATTTCT
20	<i>TTF8</i>	(GT) ₁₈	162~224	60.5	F: GGGGAAATAAAGGGAGAAAGTG R: TTTCTCCTGATCCGTTGACC

结果与讨论

1. 三个群体的遗传多样性参数

表 2 三个群体的遗传多样性参数 Tab. 2 Genetic diversity parameters of three fish groups															
位点 locus	等位基因数 ^a			有效等位基因数 ^a			观测杂合度 ^a			多态信息含量 ^a			纯合度 ^a		
	Na ^a			Ne ^a			H ^a			PIC ^a			H ^a		
	对照组	Meio-G1	Meio-G2	对照组	Meio-G1	Meio-G2	对照组	Meio-G1	Meio-G2	对照组	Meio-G1	Meio-G2	对照组	Meio-G1	Meio-G2
<i>Mam-EST3</i> ^a	5.0000 ^a	4.0000 ^a	3.0000 ^a	3.9046 ^a	2.5605 ^a	1.5101 ^a	0.9333 ^a	0.4667 ^a	0.2000 ^a	0.6995 ^a	0.5406 ^a	0.3092 ^a	0.0667 ^a	0.5333 ^a	0.8000 ^a
<i>Mam-EST12</i> ^a	5.0000 ^a	3.0000 ^a	3.0000 ^a	3.9823 ^a	2.3591 ^a	1.5666 ^a	0.7333 ^a	0.2667 ^a	0.1333 ^a	0.7074 ^a	0.5065 ^a	0.3311 ^a	0.2667 ^a	0.7333 ^a	0.8667 ^a
<i>Mam-EST18</i> ^a	5.0000 ^a	4.0000 ^a	3.0000 ^a	3.7113 ^a	2.5460 ^a	1.6838 ^a	0.9000 ^a	0.7333 ^a	0.3667 ^a	0.6865 ^a	0.5367 ^a	0.3703 ^a	0.1000 ^a	0.2667 ^a	0.6333 ^a
<i>Mam-EST37</i> ^a	5.0000 ^a	3.0000 ^a	3.0000 ^a	2.5899 ^a	1.9088 ^a	1.7946 ^a	1.0000 ^a	0.4333 ^a	0.1667 ^a	0.5379 ^a	0.3902 ^a	0.3585 ^a	0.0000 ^a	0.5667 ^a	0.8333 ^a
<i>Mam-EST45</i> ^a	5.0000 ^a	4.0000 ^a	3.0000 ^a	3.6961 ^a	2.2930 ^a	1.9088 ^a	0.7000 ^a	0.3000 ^a	0.1667 ^a	0.6875 ^a	0.4763 ^a	0.4220 ^a	0.3000 ^a	0.7000 ^a	0.8333 ^a
<i>Mam-EST46</i> ^a	4.0000 ^a	3.0000 ^a	3.0000 ^a	2.2305 ^a	1.4551 ^a	1.6028 ^a	0.5333 ^a	0.2333 ^a	0.1333 ^a	0.4976 ^a	0.2856 ^a	0.3335 ^a	0.4667 ^a	0.7667 ^a	0.8667 ^a
<i>Mam-EST61</i> ^a	3.0000 ^a	3.0000 ^a	3.0000 ^a	2.5388 ^a	2.0655 ^a	1.9231 ^a	0.6667 ^a	0.5333 ^a	0.2000 ^a	0.5380 ^a	0.4601 ^a	0.4122 ^a	0.3333 ^a	0.4667 ^a	0.8000 ^a
<i>Mam-EST85</i> ^a	4.0000 ^a	3.0000 ^a	3.0000 ^a	3.3333 ^a	1.9912 ^a	1.6245 ^a	0.8000 ^a	0.2667 ^a	0.2000 ^a	0.6454 ^a	0.4450 ^a	0.3514 ^a	0.2000 ^a	0.7333 ^a	0.8000 ^a
<i>Mam-EST99</i> ^a	3.0000 ^a	3.0000 ^a	3.0000 ^a	2.4862 ^a	2.1327 ^a	1.7527 ^a	0.9000 ^a	0.3667 ^a	0.0667 ^a	0.5258 ^a	0.4745 ^a	0.3505 ^a	0.1000 ^a	0.6333 ^a	0.9333 ^a
<i>Mam-EST110</i> ^a	3.0000 ^a	3.0000 ^a	3.0000 ^a	2.6432 ^a	1.9802 ^a	1.6202 ^a	0.7333 ^a	0.3667 ^a	0.1333 ^a	0.5466 ^a	0.4398 ^a	0.3212 ^a	0.2667 ^a	0.6333 ^a	0.8667 ^a
<i>Mam-EST158</i> ^a	3.0000 ^a	3.0000 ^a	2.0000 ^a	2.4194 ^a	2.1327 ^a	1.9651 ^a	0.7000 ^a	0.3333 ^a	0.1333 ^a	0.5094 ^a	0.4211 ^a	0.3705 ^a	0.3000 ^a	0.6667 ^a	0.8667 ^a
<i>Mam-EST841</i> ^a	3.0000 ^a	3.0000 ^a	2.0000 ^a	2.2613 ^a	1.9417 ^a	1.8349 ^a	0.4667 ^a	0.3667 ^a	0.1000 ^a	0.4778 ^a	0.3824 ^a	0.3515 ^a	0.5333 ^a	0.6333 ^a	0.9000 ^a
<i>Me-Am-1</i> ^a	4.0000 ^a	2.0000 ^a	2.0000 ^a	2.5605 ^a	1.8672 ^a	1.8349 ^a	0.7333 ^a	0.4667 ^a	0.1667 ^a	0.5406 ^a	0.3566 ^a	0.3515 ^a	0.2667 ^a	0.5333 ^a	0.8333 ^a
<i>Me-Am-15</i> ^a	5.0000 ^a	4.0000 ^a	3.0000 ^a	3.9735 ^a	2.7149 ^a	2.0478 ^a	0.8000 ^a	0.3667 ^a	0.2667 ^a	0.7069 ^a	0.5593 ^a	0.4406 ^a	0.2000 ^a	0.6333 ^a	0.7333 ^a
<i>TTF1</i> ^a	5.0000 ^a	4.0000 ^a	3.0000 ^a	3.4156 ^a	2.6946 ^a	2.0385 ^a	0.9667 ^a	0.4667 ^a	0.3000 ^a	0.6519 ^a	0.5569 ^a	0.4505 ^a	0.0333 ^a	0.5333 ^a	0.7000 ^a
<i>TTF2</i> ^a	5.0000 ^a	3.0000 ^a	3.0000 ^a	3.9735 ^a	2.5974 ^a	1.5748 ^a	0.8000 ^a	0.3667 ^a	0.2000 ^a	0.7069 ^a	0.5453 ^a	0.3095 ^a	0.2000 ^a	0.6333 ^a	0.8000 ^a
<i>TTF3</i> ^a	5.0000 ^a	3.0000 ^a	3.0000 ^a	3.4156 ^a	2.6987 ^a	2.1028 ^a	0.9667 ^a	0.5000 ^a	0.2000 ^a	0.6519 ^a	0.5523 ^a	0.4403 ^a	0.0333 ^a	0.5000 ^a	0.8000 ^a
<i>TTF4</i> ^a	5.0000 ^a	4.0000 ^a	3.0000 ^a	4.1002 ^a	2.4096 ^a	1.5101 ^a	1.0000 ^a	0.5000 ^a	0.0667 ^a	0.7166 ^a	0.5214 ^a	0.3092 ^a	0.0000 ^a	0.5000 ^a	0.9333 ^a
<i>TTF6</i> ^a	4.0000 ^a	3.0000 ^a	2.0000 ^a	3.3333 ^a	1.8672 ^a	1.5139 ^a	0.8000 ^a	0.2667 ^a	0.1000 ^a	0.6454 ^a	0.4188 ^a	0.2819 ^a	0.2000 ^a	0.7333 ^a	0.9000 ^a
<i>TTF8</i> ^a	5.0000 ^a	4.0000 ^a	3.0000 ^a	4.1002 ^a	2.5035 ^a	1.7839 ^a	1.0000 ^a	0.5333 ^a	0.1667 ^a	0.7166 ^a	0.5322 ^a	0.3906 ^a	0.0000 ^a	0.4667 ^a	0.8333 ^a
平均 Mean ^a	4.3000 ^a	3.3000 ^a	2.8000 ^a	3.2300 ^a	2.2400 ^a	1.7600 ^a	0.8067 ^a	0.4067 ^a	0.1733 ^a	0.6147 ^a	0.4435 ^a	0.3433 ^a	0.2035 ^a	0.6000 ^a	0.8263 ^a

2. Hardy-Weinberg 平衡遗传偏离指数

表 3 Hardy-Weinberg 平衡的卡方检验概率值(P)与遗传偏离指数(D)
Tab. 3 Hardy-Weinberg equilibrium Chi-square test probability value(P)and genetic deviation index(D)

位点 Locus	遗传偏离指数 <i>D</i>			偏离 Hardy-Winberg 平衡的显著性 <i>p</i>		
	对照组	Meio-G1	Meio-G2	对照组	Meio-G1	Meio-G2
<i>Mam-EST5</i>	0.2337	-0.2470	-0.4178	0.0001**	0.0434	0.0018*
<i>Mam-EST12</i>	-0.0372	-0.5448	-0.6376	0.0141	0.0001**	0.0000**
<i>Mam-EST18</i>	0.2115	0.1875	-0.1121	0.0008*	0.3541	0.4017
<i>Mam-EST37</i>	0.6018	-0.1051	-0.6298	0.0000**	0.0000**	0.0018*
<i>Mam-EST45</i>	-0.0563	-0.4768	-0.6557	0.0000**	0.0084	0.0000**
<i>Mam-EST46</i>	-0.0494	-0.2666	-0.6515	0.2184	0.0867	0.0000**
<i>Mam-EST61</i>	0.0816	0.0032	-0.5902	0.0654	0.2154	0.0000**
<i>Mam-EST85</i>	0.1238	-0.4731	-0.4885	0.0008*	0.0007*	0.0001**
<i>Mam-EST99</i>	0.4805	-0.3211	-0.8473	0.0011*	0.0181	0.0000**
<i>Mam-EST110</i>	0.1599	-0.2716	-0.6576	0.0028	0.0023*	0.0005*
<i>Mam-EST158</i>	0.1733	-0.3829	-0.7331	0.0023	0.0550	0.0000**
<i>Mam-EST841</i>	-0.1772	-0.2565	-0.7839	0.1376	0.3902	0.0000**
<i>Me-Am-1</i>	0.1831	-0.0119	-0.6397	0.0000**	0.9467	0.0003**
<i>Me-Am-15</i>	0.0512	-0.4292	-0.4874	0.0001**	0.0065	0.0014*
<i>TTF1</i>	0.3441	-0.2702	-0.4210	0.0003**	0.0000*	0.0028
<i>TTF2</i>	0.0512	-0.4137	-0.4612	0.0000**	0.0009*	0.0342
<i>TTF3</i>	0.3441	-0.2189	-0.6250	0.0003**	0.1064	0.0000**
<i>TTF4</i>	0.3006	-0.1595	-0.8058	0.0000**	0.1857	0.0000**
<i>TTF6</i>	0.1238	-0.4353	-0.7103	0.0008*	0.0017*	0.0000**
<i>TTF8</i>	0.3006	-0.1267	-0.6270	0.0000**	0.1960	0.0000**
平均 Mean	0.1655	-0.2681	-0.5977	0.0734	0.2014	0.1462

注： “*” 表示经邦弗朗尼校正后显著偏离哈迪-温伯格平衡($P<0.05$), “**”表示极显著偏离($P<0.01$).
Note: “*” indicates significant departure from Hardy-Weinberg equilibrium after Bonferroni correction($P<0.05$).** indicates extremely significant deviations($P<0.01$).

3.聚类分析

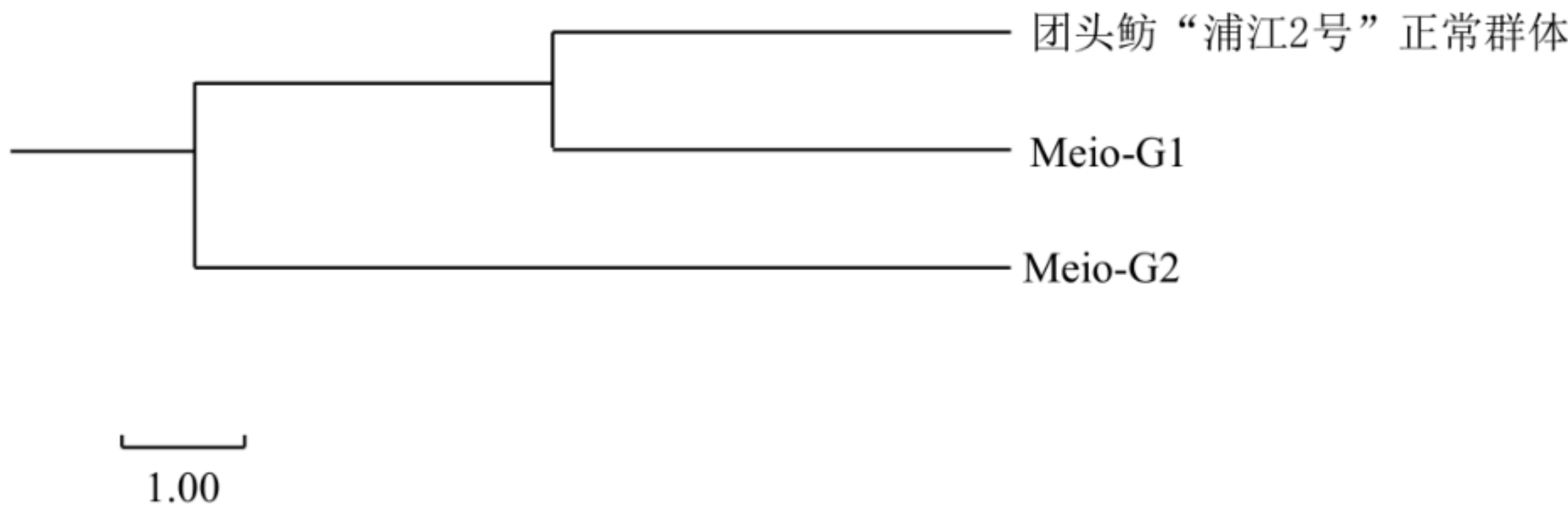


图1 三个群体的UPGMA聚类图
Fig.1 Dendrogram of relationships among M. amblycephala populations using UPGMA method of clustering

结论

- 根据Na、Ho、He和PIC等遗传参数可得出，团头鲂“浦江2号”正常群体的遗传多样性最高，Meio-G1群体次之，Meio-G2群体的遗传多样性最低。
- 由Hardy-Weinberg 平衡遗传偏离指数分析，正常群体中表现为杂合子过剩；Meio-G1和Meio-G2群体的表现为杂合子缺失。
- 聚类分析结果所示，三个群体聚类分为明显的两支，正常群体与Meio-G1共同汇聚成为一支，Meio-G2单独成为一支。