

doi: 10.3969/j.issn.2095-0780.2016.05.011

## 合浦珠母贝选育家系的遗传多样性分析

范嗣刚<sup>1</sup>, 王婧璇<sup>1,2</sup>, 黄桂菊<sup>1</sup>, 刘宝锁<sup>1</sup>, 郭奕惠<sup>1</sup>, 喻达辉<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 农业部南海渔业资源开发与利用重点实验室, 南海生物资源开发与利用协同创新中心, 广东广州 510300; 2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

**摘要:** 该研究选取具有多态性的 6 对微卫星引物对构建的 2 批合浦珠母贝 (*Pinctada fucata*) 完全双列杂交家系的遗传多样性进行了分析。6 个微卫星标记在 9 个家系 360 个个体中共检测到 32 个等位基因, 有效等位基因 ( $N_e$ ) 为 1.758 7 ~ 3.586 5, 观测杂合度 ( $H_o$ ) 为 0.144 4 ~ 0.488 9, 期望杂合度 ( $H_e$ ) 为 0.432 0 ~ 0.722 2, Shannon 指数 ( $I$ ) 为 0.691 9 ~ 1.507 4。9 个家系都有单态位点, 平均  $H_o$  为 0.129 2 ~ 0.466 7, 平均  $H_e$  为 0.155 0 ~ 0.439 6, 平均  $I$  为 0.248 5 ~ 0.712 2。有 19 个位点(占 35.19%) 极显著地偏离 Hardy-Weinberg 平衡。各家系之间的遗传距离为 0.109 0 ~ 1.137 2, 遗传相似性系数为 0.320 7 ~ 0.896 8。家系 L<sub>4</sub>B<sub>4</sub>6 与 L<sub>4</sub>B<sub>4</sub>8 的遗传距离最大, 与 D<sub>3</sub>D<sub>3</sub>13 的遗传距离最小。UPGMA 法聚类分析显示, 9 个家系分为 3 支, L<sub>4</sub>B<sub>4</sub>8 单独成一支, B<sub>4</sub>D<sub>4</sub>26、B<sub>4</sub>D<sub>4</sub>27 与 D<sub>4</sub>B<sub>4</sub>45 聚成一支, 其余家系聚成一支。该研究结果为合浦珠母贝家系选择育种的亲本选择与交配设计提供了科学依据。

**关键词:** 合浦珠母贝; 家系选育; 微卫星; 遗传多样性; 交配设计

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

文章编号: 2095-0780-(2016)05-0090-07

## Analysis of genetic diversity of nine families of *Pinctada fucata*

FAN Sigang<sup>1</sup>, WANG Jingxuan<sup>1,2</sup>, HUANG Guiju<sup>1</sup>, LIU Baosuo<sup>1</sup>, GUO Yihui<sup>1</sup>, YU Dahui<sup>1</sup>

(1. Key Lab. of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture; South China Sea Resource Exploitation and Protection Collaborative Innovation Center; South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China;  
2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** We studied the genetic diversity of breeding family of *Pinctada fucata*. Six microsatellite markers were chosen for genetic analysis of 360 individuals of nine families. A total of 32 alleles were detected and the number of allele at each locus was 3 ~ 8. The effective allele was 1.758 7 ~ 3.586 5. The observed heterozygosity ( $H_o$ ) was 0.144 4 ~ 0.488 9. The expected heterozygosity ( $H_e$ ) was 0.432 0 ~ 0.722 2 and the Shannon index was 0.691 9 ~ 1.507 4. Monomorphism loci were found in each family. The average  $H_o$  (0.129 2 ~ 0.466 7), average  $H_e$  (0.155 0 ~ 0.439 6) and Shannon index (0.248 5 ~ 0.712 2) were detected in family population. Nineteen loci (35.19%) were deviated from Hardy-Weinberg equilibrium test significantly. The genetic distance was 0.109 0 ~ 1.137 2 and the genetic identify index was 0.320 7 ~ 0.896 8. L<sub>4</sub>B<sub>4</sub>6 was the furthest with L<sub>4</sub>B<sub>4</sub>8 and the nearest with D<sub>3</sub>D<sub>3</sub>13 in terms of genetic distance. Nei's genetic distance was used to construct the dendrogram by using the unweighted pair group method with arithmetic (UPGMA). Nine families were divided into three clusters: family L<sub>4</sub>B<sub>4</sub>8 clustered alone and layed outside, while three families (B<sub>4</sub>D<sub>4</sub>26, B<sub>4</sub>D<sub>4</sub>27 and D<sub>4</sub>B<sub>4</sub>45) clustered together, and the other families clustered into one clade. The study provides references for construction of next generation of nuclear populations in *P. fucata* selective breeding.

收稿日期: 2015-10-09; 修回日期: 2016-01-06

资助项目: 现代农业(贝类)产业技术体系建设专项资金(CARS-48); 国家自然科学基金面上项目(31372525); 广东省自然基金博士启动项目(2014A030310237); 海南省自然科学基金项目(20154180); 广东省海洋渔业科技与产业发展专项(Z2015010, Z2015009)

作者简介: 范嗣刚(1982-), 男, 博士, 助理研究员, 从事珍珠贝遗传育种研究。E-mail: fansigang@scsfri.ac.cn

通信作者: 喻达辉(1963-), 男, 博士, 研究员, 从事海洋生物技术与遗传育种研究。E-mail: pearlydh@163.com

**Key words:** *Pinctada fucata*; family selection; microsatellite; genetic diversity; mating design

合浦珠母贝(*Pinctada fucata*)广泛分布于中国广东、广西和海南等华南沿海地区, 是目前中国用于培育海水珍珠的主要贝种<sup>[1]</sup>。合浦珠母贝所产珍珠即为历史上闻名遐迩的“南珠”, 是名贵首饰品, 在国际上久负盛名, 已成为广东、广西、海南沿海地区经济发展的重要支柱性产业<sup>[1]</sup>。自1965年合浦珠母贝在中国成功实现人工育苗以来, 海水珍珠养殖的面积不断扩大, 产量也不断提高。目前, 合浦珠母贝养殖性状退化, 贝体变小, 生长缓慢, 生产的珍珠颗粒小, 珠层薄, 导致珍珠质量下降, 养殖效益降低, 迫切需要对合浦珠母贝进行遗传改良, 改善种质, 从根本上改善性状和提高珍珠质量<sup>[3-4]</sup>。

家系选育是一种常用的选择策略<sup>[5]</sup>, 已成功应用于水产动物遗传育种中, 能显著提高水产动物生长速度、抗逆性和产卵量等经济性状<sup>[6-7]</sup>。但家系选育也存在缺点, 如易造成基因流失、近交衰退等<sup>[8-9]</sup>。因此需要研究不同家系的遗传多样性, 减少不利因素发生。

微卫星分子标记具有多态性丰富、分布广、共显性、符合孟德尔遗传、易检测等特点, 可用于水产动物种质鉴定和遗传结构分析<sup>[10-12]</sup>。目前, 应用高通量测序技术对合浦珠母贝的基因组和转录组进行了测序和组装, 为合浦珠母贝微卫星标记开发提供了大量的数据<sup>[13-15]</sup>, 开发出的微卫星标记可用于群体遗传多样性分析。笔者课题组已构建4批合浦珠母贝家系选育材料, 许成帅等<sup>[16]</sup>已对第一

和第二批合浦珠母贝选育家系的遗传结构进行报道, 该研究将继续研究第三和第四批选育家系的遗传结构, 以期为开展合浦珠母贝选育工作提供理论指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验样品来自于2012年3月和6月构建的合浦珠母贝第三和第四批家系。家系构建的方式为完全双列杂交, 每个家系用1雌1雄进行交配。第三批家系的亲本来自海南三亚(S<sub>3</sub>)、广东大亚湾(D<sub>3</sub>)和越南(Y<sub>3</sub>), 第四批家系的亲本来自广东大亚湾(D<sub>4</sub>)、广西北海(B<sub>4</sub>)和广东雷州(L<sub>4</sub>)。2013年8月随机选取第三批选育家系中的Y<sub>3</sub>Y<sub>3</sub>1、D<sub>3</sub>D<sub>3</sub>13和S<sub>3</sub>S<sub>3</sub>26以及第四批选育家系中的L<sub>4</sub>B<sub>4</sub>6、L<sub>4</sub>B<sub>4</sub>7、L<sub>4</sub>B<sub>4</sub>8、B<sub>4</sub>D<sub>4</sub>26、B<sub>4</sub>D<sub>4</sub>27、D<sub>4</sub>B<sub>4</sub>45等共9个家系(编码中第一个字母为雌性, 第二个字母为雄性, 下标数字代表家系批次, 数字代表家系编号), 每个家系随机选取40个个体, 剪取闭壳肌组织, 置于95%乙醇中保存。

用动物基因组DNA小量提取试剂盒(普博欣)提取样品DNA。用1%的琼脂糖凝胶电泳和Nano-Drop 2000检测DNA的完整性和浓度。DNA质量浓度调至50 ng·μL<sup>-1</sup>。

选取6对自行开发的具有多态性位点的微卫星引物用于家系的遗传多样性分析<sup>[13,17]</sup>(表1)。

表1 微卫星引物序列及扩增情况

Tab. 1 Sequence and amplification of microsatellite loci

位点 locus	引物序列(5'→3') primer sequence	重复序列 repeated sequence	退火温度/℃ annealing temperature	文献 Reference
Pf02	S: GCTTGCCAGTGACTTCCTC A: GGCCTGAGCTATCACAAAGTC	(AT) <sub>8</sub>	55	[17]
Pf08	S: AACCTCTGGTGGACACTCTT A: GTACCTTCGGCTTCTTGC	(TAA) <sub>5</sub>	53	[17]
pf11	S: TGCTGTACCCAAAGGGCTTATT A: TGGCGATTCTCTGTATGTGAC	(AT) <sub>6</sub>	53	[17]
scd1. 1-12	S: TCAGGCAATATCCATATCCACC A: TGGAGTTCACTCCCTTCTTGT	(AT) <sub>9</sub>	55	[13]
scd2. 1-10	S: GTATCTGAAAGAAACGATCTG A: CACTAGAATAATGTGGAAGC	(GAT) <sub>14</sub>	49	[13]
scd3. 1-3	S: TCTGTACCTCCACATGACTG A: CAGCCATTTGGAGACATAGA	(ATGA) <sub>8</sub>	53	[13]

## 1.2 PCR 扩增及电泳检测

PCR 反应体系为 20  $\mu\text{L}$ : 10  $\times$  PCR buffer ( $\text{Mg}^{2+}$  free) 2  $\mu\text{L}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  (25 mmol  $\cdot \text{L}^{-1}$ ) 1.6  $\mu\text{L}$ , dNTP (10 mmol  $\cdot \text{L}^{-1}$ ) 1.6  $\mu\text{L}$ , 正、反向引物 (10  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 各 0.8  $\mu\text{L}$ , *rTaq* 酶 (TaKaRa) 0.2  $\mu\text{L}$ , 基因组 DNA 0.8  $\mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O 12.2  $\mu\text{L}$ 。PCR 扩增程序为 94 °C 预变性 5 min 后 30 个循环: 94 °C 变性 30 s, 退火温度 30 s, 72 °C 延伸 30 s; 最后 72 °C 延伸 7 min。PCR 产物用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 进行检测, 银染, 扫描后保存图像, 用于基因型分析。

## 1.3 数据分析

根据聚丙烯酰胺凝胶图谱上扩增条带的位置判读个体的基因型。用 Popgen 1.31<sup>[18]</sup> 计算每一个微卫星位点的等位基因数 ( $N_a$ )、有效等位基因数 ( $N_e$ )、观测杂合度 ( $H_o$ )、期望杂合度 ( $H_e$ )、Har-

dy-Weinberg 平衡、Shannon 多样性指数 ( $I$ )、家系间遗传相似系数和遗传距离。用 MEGA 4.1 构建 UPGMA 树<sup>[19]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 微卫星位点遗传多样性分析

各个位点的遗传多样性参数见表 2。6 个微卫星位点在 9 个家系中共检测到 32 个等位基因, 各位点的  $N_a$  为 3 ~ 8 个, 平均  $N_a$  为 5 个;  $N_e$  为 1.758 7 ~ 3.586 5, 平均  $N_e$  为 2.662 3。 $H_o$  为 0.144 4 ~ 0.488 9,  $H_e$  为 0.432 0 ~ 0.722 2,  $I$  为 0.691 9 ~ 1.507 4, 其中 scd3.1-3 的  $I$  最大。

使用 MEGA 软件 UPGMA 法对合浦珠母贝 9 个家系进行聚类分析, 结果显示 9 个家系共分为 3 支, 其中 L<sub>4</sub>B<sub>4</sub>8 单独成一支, B<sub>4</sub>D<sub>4</sub>26 和 B<sub>4</sub>D<sub>4</sub>27 聚集在一起, 再与 D<sub>4</sub>B<sub>4</sub>45 聚成一支, 其余家系聚成一支(图 1)。

表 2 6 个微卫星位点在 9 个合浦珠母贝家系的多样性指数

Tab. 2 Genetic diversity index analysis of six microsatellite loci in nine *P. fucata* families

位点 locus	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 $H_e$	Shannon 指数 $I$
pf02	3	1.902 1	0.144 4	0.474 9	0.691 9
pf08	4	2.279 8	0.488 9	0.562 1	0.920 7
pf11	6	1.758 7	0.258 3	0.432 0	0.875 1
scd1.1-12	5	3.586 5	0.155 6	0.722 2	1.368 6
scd2.1-10	6	3.036 7	0.366 7	0.671 6	1.338 7
scd3.1-3	8	3.410 2	0.211 1	0.707 7	1.507 4
平均 mean	5.333 3	2.662 3	0.270 8	0.595 1	1.117 1

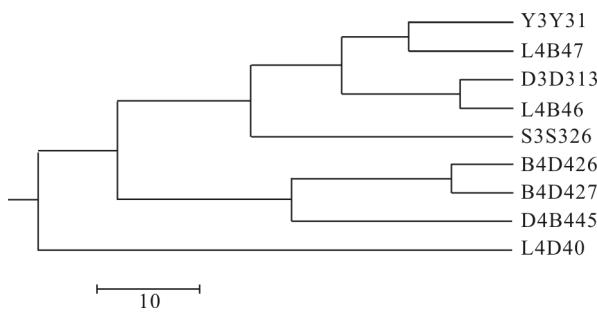


图 1 合浦珠母贝 9 个家系亲缘关系 UPGMA 聚类图

Fig. 1 UPGMA dendrogram of nine families of *P. fucata*

## 2.2 家系间遗传多样性分析

各个家系的遗传信息见表 3。每个家系都有单态, 共有单态 16 个(占 29.63%), 其中家系 Y<sub>3</sub>Y<sub>3</sub>1

的单态位点最多(4 个), 其次为家系 S<sub>3</sub>S<sub>3</sub>26(3 个)。9 个家系的平均  $H_o$  为 0.129 2 ~ 0.466 7, 平均  $H_e$  为 0.155 0 ~ 0.439 6, 平均  $I$  为 0.248 5 ~ 0.712 2。Hardy-Weinberg 平衡检验(卡方检验)结果表明, 在检测得到的 54 个数据结果中, 有 19 个(占 35.19%)极显著地偏离了 Hardy-Weinberg 遗传平衡。

### 2.3 遗传距离及聚类分析

9 个家系之间的遗传距离和遗传相似系数见表 4。各家系之间的遗传距离为 0.109 0 ~ 1.137 2, 遗传相似性系数为 0.320 7 ~ 0.896 8。家系 L<sub>4</sub>B<sub>4</sub>6 与 L<sub>4</sub>B<sub>4</sub>8 的遗传距离最大(1.137 2), 遗传相似性系数最低(0.320 7); 家系 D<sub>3</sub>D<sub>3</sub>13 与 L<sub>4</sub>B<sub>4</sub>6 的遗传距离最小(0.109 0), 遗传相似性系数最高(0.896 8)。

表3 9个合浦珠母贝家系的遗传多样性分析

Tab. 3 Genetic diversity of nine families of *P. fucata*

家系 family	参数 parameter	位点 locus					平均值 mean
		pf02	pf08	pf11	scd1. 1-12	scd2. 1-10	
Y <sub>3</sub> Y <sub>3</sub> 1	N <sub>a</sub>	1	2	1	3	1	1.500 0
	N <sub>e</sub>	1	1.940 6	1	2.228 4	1	1.361 5
	I	0	0.677 8	0	0.890 9	0	0.261 4
	H <sub>o</sub>	0	0.575 0	0	0.200 0	0	0.129 2
	H <sub>e</sub>	0	0.490 8	0	0.558 2	0	0.174 8
	P	单态	0.271 6	单态	0 **	单态	单态
D <sub>3</sub> D <sub>3</sub> 13	N <sub>a</sub>	1	2	3	3	2	2.333 3
	N <sub>e</sub>	1	1.600 0	1.353 6	1.524 5	1.956 0	1.894 6
	I	0	0.562 3	0.490 3	0.594 2	0.681 9	0.817 0
	H <sub>o</sub>	0	0.500 0	0.250 0	0.125 0	0	0.250 0
	H <sub>e</sub>	0	0.379 7	0.264 6	0.348 4	0.494 9	0.478 2
	P	单态	0.040 7	0 **	0 **	0 **	0 **
S <sub>3</sub> S <sub>3</sub> 26	N <sub>a</sub>	2	2	1	1	3	1.666 7
	N <sub>e</sub>	1.249 5	1.249 5	1	1	2.079 3	1
	I	0.351 7	1.351 7	0	0	0.787 6	0
	H <sub>o</sub>	0.225 0	0.225 0	0	0	0.475 0	0
	H <sub>e</sub>	0.202 2	0.202 2	0	0	0.525 6	0
	P	0.452 3	0.452 3	单态	单态	0 **	单态
L <sub>4</sub> B <sub>4</sub> 6	N <sub>a</sub>	1	3	3	3	3	2.666 7
	N <sub>e</sub>	1	1.615 3	1.615 3	2.034 3	2.067 2	1.838 0
	I	0	0.670 4	0.670 4	0.816 6	0.784 7	0.758 5
	H <sub>o</sub>	0	0.375 0	0.375 0	0.225 0	0.500 0	0.375 0
	H <sub>e</sub>	0	0.385 8	0.385 8	0.514 9	0.522 8	0.461 7
	P	单态	0 **	0 **	0 **	0 **	0 **
L <sub>4</sub> B <sub>4</sub> 7	N <sub>a</sub>	1	2	2	2	1	1.666 7
	N <sub>e</sub>	1	1.567 9	1.724 1	1.834 9	1	1.198 0
	I	0	0.548 2	0.610 9	0.647 4	0	0.688 1
	H <sub>o</sub>	0	0.475 0	0.600 0	0.300 0	0	0.050 0
	H <sub>e</sub>	0	0.366 8	0.425 3	0.460 8	0	0.501 3
	P	单态	0.056 3	0.008 4	0.025 0	单态	0 **
L <sub>4</sub> B <sub>4</sub> 8	N <sub>a</sub>	1	2	1	2	2	1.833 3
	N <sub>e</sub>	1	1.342 3	1	1.663 2	1.503 1	1.389 9
	I	0	0.422 7	0	0.588 2	0.517 3	0.718 1
	H <sub>o</sub>	0	0.300 0	0	0.550 0	0.325 0	0.100 0
	H <sub>e</sub>	0	0.258 2	0	0.403 8	0.338 9	0.459 5
	P	单态	0.287 9	单态	0.019 6	0.789 8	0 **

续表3(to be continued)

家系 family	参数 parameter	位点 locus					平均值 mean
		pf02	pf08	pf11	scd1. 1-12	scd2. 1-10	
B <sub>4</sub> D <sub>4</sub> 26	N <sub>a</sub>	3	4	3	1	3	2.833 3
	N <sub>e</sub>	1.698 5	2.318 8	1.891 3	1	2.705 0	2.095 6
	I	0.671 9	1.025 6	0.737 5	0	1.046 7	0.791 4
	H <sub>o</sub>	0.500 0	0.600 0	0.350 0	0	0.800 0	0.475 0
	H <sub>e</sub>	0.416 5	0.575 9	0.477 2	0	0.638 3	0.529 4
	P	0 **	0 **	0 **	单态	0.039 2	0 **
B <sub>4</sub> D <sub>4</sub> 27	N <sub>a</sub>	2	3	2	1	3	2.166 7
	N <sub>e</sub>	1.470 6	2.320 5	1.470 6	1	2.474 9	1.995 0
	I	0.500 4	0.962 0	0.500 4	0	0.999 4	0.691 9
	H <sub>o</sub>	0.400 0	0.675 0	0.400 0	0	0.775 0	0.550 0
	H <sub>e</sub>	0.324 1	0.576 3	0.324 1	0	0.603 5	0.505 1
	P	0.127 6	0.144 3	0.127 6	单态	0.085 0	0.568 7
D <sub>4</sub> B <sub>4</sub> 45	N <sub>a</sub>	3	3	2	1	3	2.333 3
	N <sub>e</sub>	1.732 5	2.061 9	1.406 0	1	2.034 3	1.903 6
	I	0.684 8	0.886 5	0.463 7	0	0.816 6	0.667 6
	H <sub>o</sub>	0.175 0	0.675 0	0.350 0	0	0.425 0	0.325 0
	H <sub>e</sub>	0.428 2	0.521 5	0.292 4	0	0.514 9	0.490 7
	P	0 **	0.066 9	0.198 3	单态	0 **	0.037 8

注: N<sub>a</sub>. 等位基因数; N<sub>e</sub>. 有效等位基因数; H<sub>o</sub>. 观测杂合度; H<sub>e</sub>. 期望杂合度; I. Shannon 多样性指数; P. Hardy-Weinberg 平衡的卡方检验; \*. P < 0.05/6 = 0.008 3; \*\*. P < 0.01/6 = 0.001 7

Note: N<sub>a</sub>. allele number; N<sub>e</sub>. effective allele; H<sub>o</sub>. observed heterozygosity; H<sub>e</sub>. expected heterozygosity; I. Shannon diversity index; P. Hardy-Weinberg equilibrium test

表4 9个家系间的遗传相似系数(上三角)和遗传距离(下三角)

Tab. 4 Genetic identity (above diagonal) and genetic distances (below diagonal) of nine families of *P. fucata*

Pop ID	Y <sub>3</sub> Y <sub>3</sub> 1	D <sub>3</sub> D <sub>3</sub> 13	S <sub>3</sub> S <sub>3</sub> 26	L <sub>4</sub> B <sub>4</sub> 6	L <sub>4</sub> B <sub>4</sub> 7	L <sub>4</sub> B <sub>4</sub> 8	B <sub>4</sub> D <sub>4</sub> 26	B <sub>4</sub> D <sub>4</sub> 27	D <sub>4</sub> B <sub>4</sub> 45
Y <sub>3</sub> Y <sub>3</sub> 1		0.697 7	0.568 9	0.725 2	0.811 4	0.363 3	0.325 2	0.387 5	0.444 2
D <sub>3</sub> D <sub>3</sub> 13	0.360 0		0.641 0	0.896 8	0.669 5	0.345 7	0.383 5	0.493 4	0.594 1
S <sub>3</sub> S <sub>3</sub> 26	0.564 1	0.444 7		0.542 8	0.638 1	0.431 2	0.411 9	0.506 1	0.456 3
L <sub>4</sub> B <sub>4</sub> 6	0.321 4	0.109 0	0.611 0		0.753 8	0.320 7	0.437 4	0.552 9	0.619 4
L <sub>4</sub> B <sub>4</sub> 7	0.209 0	0.401 3	0.449 3	0.282 7		0.463 1	0.391 9	0.447 8	0.514 7
L <sub>4</sub> B <sub>4</sub> 8	1.012 5	1.062 2	0.841 3	1.137 2	0.769 8		0.338 5	0.464 3	0.443 5
B <sub>4</sub> D <sub>4</sub> 26	1.123 4	0.958 5	0.887 0	0.826 9	0.936 8	1.083 3		0.880 3	0.685 7
B <sub>4</sub> D <sub>4</sub> 27	0.948 0	0.706 3	0.681 1	0.592 5	0.803 3	0.767 2	0.127 5		0.608 1
D <sub>4</sub> B <sub>4</sub> 45	0.811 4	0.520 7	0.784 6	0.479 0	0.664 2	0.813 0	0.377 4	0.497 4	

### 3 讨论

遗传多样性是评价种质资源状况的重要指标。对合浦珠母贝进行遗传选育必须首先了解其遗传多

样性。迄今为止, 合浦珠母贝野生群体和养殖群体的遗传多样性都有研究报告, 而且所采用的分子标记有微卫星、AFLP、RAPD、ISSR 和 SRAP 等<sup>[20-24]</sup>, 但对合浦珠母贝家系遗传结构的研究并

不多。家系选育是一种重要的选育方式, 其后代的遗传多样性与遗传结构值得关注。

杂合度是衡量群体遗传变异大小的指标, 杂合度值越大, 群体的遗传变异就越大, 遗传多样性就越高, 群体的稳定性也就越大。 $I$  越大, 群体的离散性越高, 即多样性越丰富。汤健等<sup>[22]</sup>研究了 9 个合浦珠母贝家系的遗传结构,  $N_e$  为 2.03 ~ 2.632,  $H_o$  为 0.430 6 ~ 0.635 4,  $H_e$  为 0.438 0 ~ 0.596 2; 赵晓霞等<sup>[23]</sup>研究了 4 个合浦珠母贝家系, 得到  $H_o$  为 0.531 ~ 0.597,  $H_e$  为 0.474 ~ 0.507。该研究用 6 对微卫星引物研究了合浦珠母贝选育家系的遗传多样性。其中, 平均  $N_a$  为 1.5 ~ 2.833 3, 平均  $N_e$  为 1.263 0 ~ 1.951 5, 平均  $H_o$  为 0.129 2 ~ 0.466 7, 平均  $H_e$  为 0.155 0 ~ 0.439 6, 平均  $I$  为 0.248 5 ~ 0.712 2, 相应数值上低于汤健等<sup>[22]</sup>和赵晓霞等<sup>[23]</sup>的研究。这可能与该研究构建家系材料的亲本及配对方式有关。该研究所用亲本来自不同的地区, 同一地区亲本构建的自交家系的遗传多样性普遍偏低。如  $Y_3Y_31$  的  $N_a$  和  $H_e$  分别为 1.500 和 0.129 2,  $S_3S_326$  的  $H_o$ 、 $H_e$  和  $I$  分别为 0.154 2、0.155 0 和 0.248 5, 均为最低值, 单态的微卫星位点也在这 2 个家系中分布较多, 分别为 4 个和 3 个。大亚湾群体自交家系  $D_3D_313$  的遗传多样性也仅仅处于中等水平。这表明应该尽量避免使用同一地区的群体自交构建家系。杂交家系  $B_4D_426$  的遗传多样性最高, 其次为  $L_4B_46$ 、 $B_4D_427$ 、 $D_4B_445$ , 这些家系具有一定的选育潜力。

在一个随机交配的、足够大的群体中, 等位基因频率和基因型频率在不同世代保持不变, 即处于 Hardy-Weinberg 平衡。在该研究中检测到有 19 个位点(占 35.19%)极显著地偏离了 Hardy-Weinberg 平衡, 说明在合浦珠母贝家系中的基因型频率发生了改变。在其他贝类中也存在类似现象<sup>[25-30]</sup>, 如在太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)中分离出的 113 个 EST-SSR 位点, 其中有 39.82% 的 SSR 位点偏离 Hardy-Weinberg 平衡<sup>[25]</sup>; 在红鲍(*Haliotis rufescens*) 51 个 SSR 中, 有 24 个 SSR 位点(占 41%)偏离平衡<sup>[27]</sup>。此外在该研究中, 发现第四批选育家系的  $L_4B_46$  与  $L_4B_48$  的遗传距离最大(1.137 2), 而第三批选育家系  $D_3D_313$  与第四批选育  $L_4B_46$  的遗传距离反而最小(0.109 0), 表明即使不同时间不同地点收集亲本, 仍有可能取到遗传关系很近的个体, 因此有必要增加采样批次。

家系选育成功的关键在于选择合适的亲本<sup>[22]</sup>。遗传距离在育种中能有效地指导亲本配组, 避免出现近交繁育。有研究表明, 亲本的遗传距离与子代的杂合度有关。通过分析亲本的遗传距离, 预测生物的杂种优势, 从而改良下一代的性状<sup>[33]</sup>。研究表明, 马尾松(*Pinus massoniana*)亲本遗传距离位于 0.357 ~ 0.529 时, 亲本遗传距离与子代生长性状的相关性较高<sup>[34]</sup>。此外, 水稻(*Oryza sativa*)亲本的遗传距离与其子代产量的杂种优势也存在显著的相关性<sup>[35]</sup>。在水产动物中, 镜鲤(*Cyprinus carpio* L.)雌雄亲本的遗传距离与子一代家系的体长、体质量呈正相关关系<sup>[36]</sup>。但牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)亲本间不同的遗传距离与后代生长速度之间呈现不同的相关性, 或正相关或负相关<sup>[37]</sup>。笔者课题组的前期研究也发现合浦珠母贝雌雄亲本的遗传距离与子代生长速度存在相关性<sup>[38]</sup>。因此, 可根据雌雄亲本间的遗传距离指导亲本的配对。

## 参考文献:

- [1] 蒙利美, 李有宁, 邢孔武, 等. 珍珠养殖理论与技术[M]. 北京: 科学出版社, 1996: 10-35.
- [2] HWANG J J, YAMAKAWA T, AOKI I. Growth of wild pearl oysters *Pinctada fucata*, *Pinctada margaritifera* and *Pinctada sugillata* (Bivalvia: Pteridae) in Taiwan [J]. Fish Sci, 2007, 73(1): 132-141.
- [3] 闫玉科. 广东南珠产业可持续发展路径研究[J]. 农业经济问题, 2011, 32(3): 97-102.
- [4] 喻达辉, 黄桂菊, 张立楠. 关于振兴南珠的思考[J]. 中国宝石, 2010(4): 240-241.
- [5] 王清印, 等. 水产生物育种理论与实践[M]. 北京: 科学出版社, 2013: 22-23.
- [6] REMEDIOS B B, GARY F N. Response to within family selection for body weight in Nile tilapia using a single-trait animal model[J]. Aquaculture, 2002, 204(3): 371-381.
- [7] 马爱军, 郭建丽, 王新安, 等. 大菱鲆选育家系抗鳗弧菌性能[J]. 中国水产科学, 2014, 21(3): 484-493.
- [8] 梁健, 闫喜武, 霍忠明, 等. 不同近交系数蛤仔橙色品系的生长和成活研究[J]. 南方水产科学, 2013, 9(4): 87-93.
- [9] 王好锋, 刘萍, 高保全, 等. 近交对三疣梭子蟹若干经济性状衰退的影响[J]. 中国水产科学, 2013, 20(6): 1157-1165.
- [10] 刘伟, 苏胜彦, 董在杰, 等. 3 个鲤群体的微卫星标记与生长性状相关性分析[J]. 南方水产科学, 2012, 8(3): 17-24.
- [11] 罗明坤, 郭金涛, 赵金良, 等. 尼罗罗非鱼(♀) × 萨罗罗非鱼(♂)  $F_1$  家系亲权关系微卫星分析[J]. 南方水产科学, 2014, 10(1): 9-15.
- [12] KUMAR R, TANYA C. Molecular markers and their applications in fisheries and aquaculture[J]. Adv Biosci Biotechnol, 2010, 1

- (4): 281-291.
- [13] TAKEUCHI T, KAWASHIMA T, KOYANAGI R, et al. Draft genome of the pearl oyster *Pinctada fucata*: a platform for understanding bivalve biology[J]. DNA Res, 2012, 19(2): 117-130.
- [14] HUANG X D, ZHAO M, LIU W G, et al. Gigabase-scale transcriptome analysis on four species of pearl oysters[J]. Mar Biotechnol, 2013, 15(3): 253-264.
- [15] ZHAO X, WANG Q, JIAO Y, et al. Identification of genes potentially related to biomineralization and immunity by transcriptome analysis of pearl sac in pearl oyster *Pinctada martensi*[J]. Mar Biotechnol, 2012, 14(6): 730-739.
- [16] 许成帅, 范嗣刚, 黄桂菊, 等. 合浦珠母贝家系遗传多样性与性状相关性[J]. 广东农业科学, 2013, 40(12): 156-158.
- [17] FAN S, WANG J, HUANG G, et al. Identification of twenty novel polymorphic microsatellite DNA markers from transcripts of the pearl oyster *Pinctada fucata* using next-generation sequencing approach[J]. J Gene, 2014, 93: e82-e85.
- [18] YEH F C, YANG R C, BOYLE T, et al. POPGENE, version 1.32: the user friendly software for population genetic analysis [Z]. Edmonton, Canada: Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, 1999.
- [19] TAMURA K, DUDLEY J, NEI M, et al. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0 [J]. Mol Biol Evol, 2007, 24(8): 1596-1599.
- [20] 曲妮妮, 龚世园, 黄桂菊, 等. 合浦珠母贝3个养殖群体遗传多样性的微卫星分析[J]. 水生态学杂志, 2009, 2(4): 89-93.
- [21] YU D H, CHU K H. Genetic variation in wild and cultured populations of the pearl oyster *Pinctada fucata* from southern China[J]. Aquaculture, 2006, 258(1/2/3/4): 220-227.
- [22] 汤健, 管云雁, 刘文广, 等. 马氏珠母贝家系遗传结构的微卫星分析[J]. 海洋科学, 2013, 37(8): 35-41.
- [23] 赵晓霞, 邓岳文, 杜晓东, 等. 利用微卫星标记分析马氏珠母贝4个养殖群体遗传结构[J]. 基因组学与应用生物学, 2010, 29(5): 879-884.
- [24] 同学春, 佟广香, 匡友谊, 等. 两个马氏珠母贝养殖群体遗传多样性微卫星分析[J]. 水产学杂志, 2009, 22(1): 5-9.
- [25] LI Q, WANG Q, QI M, et al. Development, characterization, and inheritance of 113 novel EST-SSR markers in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) [J]. Genes Genom, 2011, 33(3): 313-316.
- [26] HERBINGER C M, SMITH C A, LANGY S. Development and characterization of novel tetra- and dinucleotide microsatellite markers for the French Polynesia black-lipped pearl oyster, *Pinctada margaritifera*[J]. Mol Ecol Notes, 2006, 6(1): 107-109.
- [27] ANDREA A E, NATALIA V A, RODOLFO F, et al. Development of novel polymorphic EST-SSR markers in Californian abalone *Haliotis rufescens* and genetic analysis in wild and hatchery-bred populations[J]. Aquac Res, 2014, 45: 1942-1952.
- [28] WANG Y, GUO X. Development and characterization of EST-SSR markers in the eastern oyster *Crassostrea virginica* [J]. Mar Biotechnol, 2007, 9(4): 500-511.
- [29] WANG Y, WANG A, GUO X. Development and characterization of 30 polymorphic microsatellite markers for the Atlantic surfclam, *Spisula solidissima* (Dillwyn, 1817) [J]. Mol Ecol Res, 2009, 9(4): 1264-1267.
- [30] WANG Y, WANG A, GUO X. Development and characterization of polymorphic microsatellite markers for the northern quahog *Meretrix mercenaria* (Linnaeus, 1758) [J]. J Shellfish Res, 2010, 29(1): 77-82.
- [31] WATTIER R, ENGEL C R, SAUMITOU-LAPRADE P, et al. Short allele dominance as a source of heterozygote deficiency at microsatellite loci: experimental evidence at the dinucleotide locus Gv1CT in *Gracilaria gracilis* (Rhodophyta)[J]. Mol Ecol, 1998, 7(11): 1569-1573.
- [32] PEMBERTON J M, SLATE J, BANCROFT D R, et al. Non amplifying alleles at microsatellite loci: a caution for parentage and population studies[J]. Mol Ecol, 1995, 4(2): 249-252.
- [33] SMITH O S, SMITH J S C, BOWEN S L, et al. Similarities among a group of elite maize inbreds as measured by pedigree,  $F_1$  grain yield, grain yield heterosis and RFLPs [J]. Theor Appl Genet, 1990, 80(6): 833-840.
- [34] 张一, 储德裕, 金国庆, 等. 马尾松亲本遗传距离与子代生长性状相关性分析[J]. 林业科学研究, 2010, 23(2): 215-220.
- [35] ZHANG T, NI X L, JIANG K F, et al. Relationship between heterosis and parental genetic distance based on molecular markers for functional genes related to yield traits in rice [J]. Rice Sci, 2010, 17(4): 288-295.
- [36] 鲁翠云, 曹顶臣, 孙效文, 等. 微卫星分子标记辅助镜鲤家系构建[J]. 中国水产科学, 2008, 15(6): 893-901.
- [37] 毕金贞, 陈松林. 牙鲆亲本间遗传距离与其后代生长速度的相关性分析[J]. 中国农学通报, 2010, 26(15): 395-401.
- [38] 许成帅. 合浦珠母贝选育群体与家系的遗传多样性及其与生长表现的相关性分析[D]. 上海: 上海海洋大学, 2013: 54-57.