

剑尾鱼 RW-H 近交系 20 个微卫星位点的遗传结构

刘宇飞^{1,2}, 白俊杰¹, 李凯彬¹, 黄志斌¹, 全迎春¹

(1. 中国水产科学研究院珠江水产研究所 中国水产科学研究院热带亚热带鱼类选育与养殖重点开放实验室, 广东 广州 510380; 2. 上海水产大学 生命科学与技术学院, 上海 200090)

摘要: 为了对水生实验动物剑尾鱼 (*Xiphophorus helleri*) RW-H 系近交 15 代的遗传结构进行研究, 寻找该近交系的标志基因位点, 选择 20 个在野生剑尾鱼群体具多态性的微卫星位点, 对剑尾鱼 RW-H 系 (红眼白体) 30 尾个体进行分析。结果表明, 其中有 17 个位点为单态, 有可能作为该近交系的标志基因位点; 另外 3 个位点 *Msa012*、*Msa033* 和 *Msc036* 具有多态性, 多态信息含量值分别为 0.304 7、0.345 7 和 0.364 8。通过 Pop-gene 3.2 软件分析得知全部基因位点的纯合率达到了 95.83%, 个体间平均遗传距离为 0.048 2 (0.000 0~0.162 5), 遗传相似系数为 0.951 8 (0.850 0~1.000 0), 说明剑尾鱼 RW-H 系已经具有很高的近交程度。几个多态性位点的发现, 可以指导近交选育, 加快选育进度。本研究方法不仅检测出剑尾鱼 RW-H 系具较低的遗传多样性, 而且可为中国建立分子水平的实验动物监测标准提供基础数据。[中国水产科学, 2007, 14 (4): 602-607]

关键词: 剑尾鱼; 近交系; 微卫星; 遗传结构

中图分类号: S96: Q959.475

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2007)04-0602-06

剑尾鱼 (*Xiphophorus helleri*) 属 鲤形目 (Cyprinodontiformes)、花 科 (Poeciliidae)、剑尾鱼属 (*Xiphophorus*), 是一种小型热带淡水鱼类, 具有体型小、繁殖周期短、繁殖力强、易饲养等特点, 可在实验室条件下进行纯化培养。20 世纪 80 年代起, 中国水产科学研究院珠江水产研究所开始对剑尾鱼进行实验动物化培育。研究发现剑尾鱼在细菌性疾病、水环境污染监测、遗传学研究等方面已初步显示出较好的应用前景^[1-3]。RW-H 系是水生实验动物剑尾鱼的一个特殊品系, 鱼眼为红色, 鱼体呈白色。研究表明, 该品系控制其红眼白体性状的基因均为隐性基因, 有利于水生动物的遗传和变异研究; 其白色体色也有利于病变的直接观察。研究还表明, 该品系的剑尾鱼对多种药物比其他品系敏感, 是毒性实验和水体污染监测的好材料, 也有利于水产动物疾病模型的建立^[4]。以上特征使剑尾鱼 RW-H 系成为重点培育的水生实验动物品系之一, 目前已近交繁殖达 15 代。

微卫星作为高度多态的 DNA 标记在群体进化研究、核基因研究、遗传连锁分析和进行基因组作图

及基因定位等方面已得到广泛应用, 同样在近交系动物的遗传结构研究中也有许多相关报道。商海涛等^[5]用 35 个微卫星位点对 3 个品系的小型猪 (贵州小型香猪、广西巴马小型猪、版纳小耳猪近交系) 进行了分析, 结果表明, 三品系小型猪有较高的基因纯合率, 近交程度较高。陈振文等^[6]用微卫星位点对国内 9 个品系的小鼠遗传结构进行分析, 筛选出的引物可用于检测国内近交系小鼠的品系特异性和遗传背景。牛荣等^[7]利用 12 对微卫星引物对版纳小耳猪近交系遗传结构进行了分析, 表明版纳小耳猪近交系分化为若干个含有不同性状的家系, 且达到了很高的近交程度。本实验室李霞等^[8]曾用 5 个微卫星位点对 RW-H 系剑尾鱼的第 8 代近交系的遗传结构进行分析, 得出其平均遗传相似系数为 0.934 5。但由于当初所用的微卫星位点较少, 且又经过 7 代的近交培育有必要在更多的位点上对目前 RW-H 系剑尾鱼的遗传结构进行分析, 寻找该近交系的标志基因, 为建立分子水平的实验动物遗传监测标准提供基础数据, 指导近交系的培育。

收稿日期: 2006-11-03; 修订日期: 2007-04-20.

基金项目: 广东省科技计划项目 (2005B20301014); 国家科技基础条件平台工作项目 (2005DKA21103).

作者简介: 刘宇飞 (1982-), 男, 在读硕士研究生, 从事水产动物遗传育种研究. E-mail: liuyufei001@sina.com.cn

通讯作者: 白俊杰. Tel: 020-81616129; E-mail: baijj2005@21cn.com

1 材料与方法

1.1 实验鱼

RW-H 系剑尾鱼 30 尾(雌雄各 15 尾),取自珠江水产研究所水生实验动物培育基地,已选育至 15 代。

1.2 剑尾鱼基因组 DNA 样品的制备

参考《分子克隆试验指南》^[9]中提取基因组 DNA 方法,并稍加改进。剪取约 10 mg 剑尾鱼的尾鳍置于 1.5 mL 的离心管内,加 600 μ L 提取缓冲液(10 mmol/L Tris-HCl, 10 mmol/L ED-TA, 10% SDS, 200 μ g/mL 蛋白酶 K, pH 8.0),放置于 55 $^{\circ}$ C 水浴中消化 12 h, 14 000 r/min 离心 5 min, 取上清加 600 μ L 酚+氯仿+异戊醇混合液(体积比 25:24:1)轻轻混合后室温放置 5 min, 14 000 r/min 离心 5 min。取上清加等体积氯仿,轻轻混合后,室温放置 5 min, 14 000 r/min 离心 5 min, 取上清加 1 mL 无水乙醇-20 $^{\circ}$ C 放 2 h, 14 000 r/min 离心 5 min, 弃上清, 沉淀加 1 mL 70% 乙醇, 14 000 r/min 离心 5 min,

弃去乙醇, 沉淀于空气中干燥后加 200 μ L TE (10 mmol/L Tris-HCl, 0.1 mmol/L EDTA pH 8.0) 缓冲液, 电泳检测 DNA 的完整性和纯度, 并参照 λ Hind III Marker 估计其浓度, 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用。

1.3 微卫星引物合成、PCR 扩增及电泳

参考已报道的文献^[10]及有关微卫星的数据(www.xiphophorus.org/microsats/microsat.htm), 选取在野生剑尾鱼中有多态性的微卫星引物 20 对, 送上海英骏公司合成。引物序列及扩增参数见表 1。PCR 反应总体积为 10 μ L, 含有 10 $\times$ Buffer 1.0 μ L、MgCl₂ (25 mmol/L) 0.3~0.6 μ L、dNTPs (10 mmol/L) 0.2 μ L, 上下游引物 (20 pmol/L) 各 0.5 μ L, Taq 酶 0.5 U, 模板 DNA 50 ng。PCR 反应程序为 94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 50~59 $^{\circ}$ C (各引物退火温度), 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 25 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min。以 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测 PCR 扩增产物, 取 3 μ L 产物电泳, 硝酸银染色, 染色方法参照文献^[11]。

表 1 剑尾鱼微卫星标记
Tab.1 Microsatellite markers in *X. helleri*

基因位点 Gene locus	引物序列 (5' - 3') Primer sequence (5' - 3')		退火 温度 / $^{\circ}$ C Annealing Temperature	[Mg ²⁺] /(mmol·L ⁻¹)	等位基因 长度 /bp Allele size
Msa012	F: GCTCCATTGAGAACTAAGGTGTAA	R: CACCATGGAGCAGTGCTOCT	55	1	151 - 256
Msa014	F: TGAGGAGGAATCTGCTGCTAGG	R: ATACCCCTGTCTCCACTCACGA	55	1.5	165 - 176
Msa017	F: ACTGCCTGCACGTGAACA	R: AGTCATCCAGCGATTGGACG	53	1	105 - 120
Msa033	F: AATTCACAAAGAACAGACCTTGG	R: TCCTCGTCGCCCCACA	55	1.5	115 - 151
Msa034	F: TTAACGGTATTTCATGCTGCCAA	R: GCAAAGTAGGTGGGATCTGCA	55	1	126 - 132
Msa044	F: CAGCTTCACAGACGGTTACTG	R: GCGTTGCGTGTGCAGACATGA	55	1	120 - 140
Msa095	F: GCTCAGGAAGGAAGAAAAGAGGA	R: CAGAAGCTCCGCTGCTC	58	1	140 - 152
Msa102	F: ACCTGCTGCACGTTGAGCTA	R: CCATGCTGGAAGTAAATGAACACT	58	1.5	98 - 120
Msa115	F: AGCAGTGAGGTAATGGATGGGA	R: GTGCACAGCAAAATCAATGGA	56	1.5	120 - 160
Msb025	F: CACAAACCTTACCCCAATGAAAC	R: TCCATCGTTGAAAGGTGAACC	50	1	106 - 134
Msb032	F: GGAGCAGTGATGGAGTAAAAATAGG	R: TGATCGCAOCGGATGAGA	55	1.5	137 - 141
Msb063	F: GCAGTTTGCTGTGCATCCAG	R: CAGTTTGACACCCAGGACCTTC	55	1	144 - 171
Msc014	F: GTGTTTTCTTTAGCTGTAAGCCATA	R: CAGAGCTGCTAGCTCTTGAATAAGC	55	1	115 - 135
Msc016	F: GGTCTGATTTAACTTCAGCCTGAGA	R: GCCACCACTAAGACAGGCTT	55	1	240 - 300
Msc036	F: GTTTGGTAATTGCOGTGACATC	R: CAGGCGCOGATGACAT	55	0.75	179 - 225
Msc003	F: GCAAAGGTAAGTAATACATGGACA	R: GGTTCAGCTAATGAAACACAGGACTC	55	1	269 - 340
Msc032	F: GTCTGTCTCTGCTGGAGGGA	R: GGTGCTCTGATGGATGAGTAGACA	55	0.8	115 - 144
Msc034	F: AGCAAATATCTGAGAAGAGGACTGGA	R: ACTTTAAGGAAGAAGGAGCCAAACT	55	1	320 - 350
Msc050	F: CACGTGCTGGAGGACAAGG	R: GAGAAGTTAGGATTATAGGAGAAACAAAT	59	1	240 - 250
Msc051	F: GCATCCCCACAGTATAATTCTGCT	R: CACGTGGTTTGAAAATGTGAA	55	1	177 - 187

1.4 数据统计与分析

PCR产物经聚丙烯酰胺凝胶电泳,染色后用扫描仪扫描,用Gel-pro analyzer 4.5软件分析条带大小。根据凝胶上DNA泳动距离进行判断,如果电泳条带表现为1条,则所检测的样本在该基因位点是纯合的;如果为2条带则此样本在该位点为杂合。

微卫星基因位点的纯合率计算参照如下公式:

基因位点的纯合率 = 个体样本为纯合子的基因位点数 / 全部基因位点数 $\times 100\%$

用Pop-gene3.2软件计算各微卫星位点等位基因频率、不同个体间的遗传相似系数和遗传距离、群体遗传杂合度、群体的遗传纯合度。

某一等位基因的频率等于该等位基因纯合子频率加上二分之一含有该等位基因的杂合子频率。参照Botstein等^[12]的方法,计算多态信息含量PIC:

$$PIC = 1 - \left(\sum_{i=1}^n P_i^2 \right) - \left(\sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i^2 P_j^2 \right)$$

其中 P_i 和 P_j 分别是第 i 和第 j 个等位基因在群体中的频率。

2 结果与分析

2.1 剑尾鱼 RW-H 系微卫星标记的 PCR 扩增结果

对剑尾鱼 RW-H 系 30 尾个体基因组进行 PCR 扩增,20 个微卫星位点中有 17 个位点为纯合子,且为单态,反映出剑尾鱼 RW-H 系已经具有较高的近交程度。图 1 为位点 *Msc048* 对剑尾鱼 RW-H 系 30 个个体的扩增结果。另外 3 个位点 *Msa014*、*Msa033* 和 *Msc036* 具有多态性,但每个位点仅有 2 个等位基因,图 2 为 *Msc036* 位点对剑尾鱼 RW-H 系的扩增结果。用 Pop-gene (Version 3.2) 软件分析 20 个微卫星位点的扩增结果得到的等位基因频率见表 2。

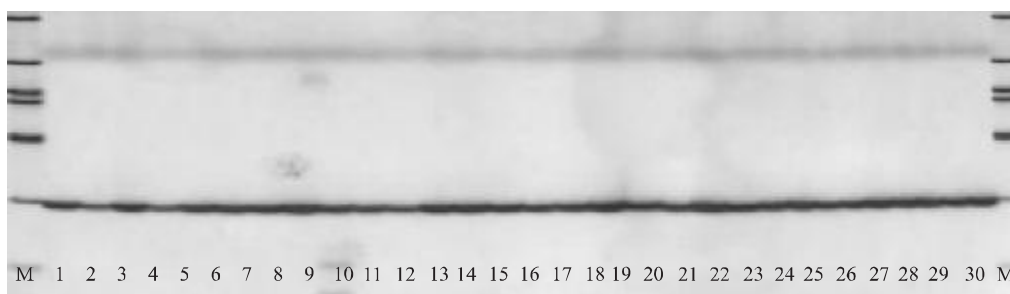


图 1 位点 *Msc048* 对剑尾鱼 RW-H 系扩增的结果

1~30 为 RW-H 系个体, M 为北京鼎国 SSR marker II。

Fig.1 Analysis of PCR products for Locus *Msa048* amplifying genomic DNA of RW-H *X. helleri*

1-30 indicate individuals of Strain RW-H; M is SSR marker II of Dingguo Company.

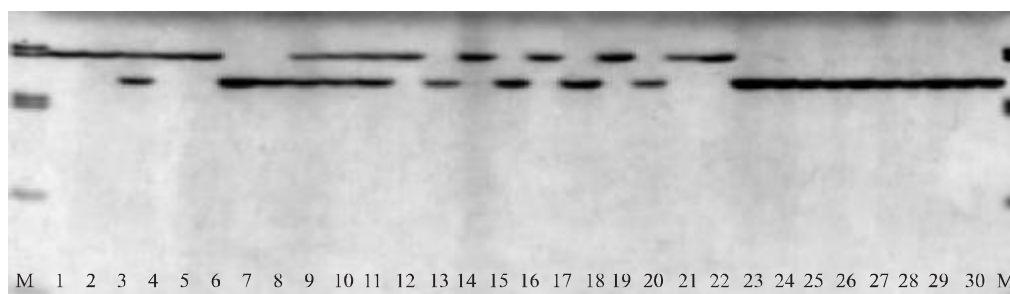


图 2 位点 *Msc036* 对剑尾鱼 RW-H 系扩增的结果

1~30 为 RW-H 系个体, M 为北京鼎国 SSR marker II。

Fig.2 Analysis of PCR products for Locus *Msa036* amplifying genomic DNA of RW-H *X. helleri*

1-30 indicate individuals of Strain RW-H; M is SSR marker II of Dingguo Company.

表 2 RW-H 近交系 20 个位点的微卫星等位基因频率

Tab.2 Microsatellite allele frequencies for 20 loci in RW-H *X. helleri*

基因位点 Gene locus	等位基因频率 Allele frequency	基因位点 Gene locus	等位基因频率 Allele frequency	基因位点 Gene Locus	等位基因频率 Allele frequency
<i>Msa012</i>	a:0.750 0 b:0.250 0	<i>Msa095</i>	a:1.000 0	<i>Msc036</i>	a:0.400 0 b:0.600 0
<i>Msa014</i>	a:1.000 0	<i>Msa102</i>	a:1.000 0	<i>Msd003</i>	a:1.000 0
<i>Msa017</i>	a:1.000 0	<i>Msa115</i>	a:1.000 0	<i>Msd032</i>	a:1.000 0
<i>Msa033</i>	a:0.666 7 b:0.333 3	<i>Msb025</i>	a:1.000 0	<i>Msd034</i>	a:1.000 0
<i>Msa034</i>	a:1.000 0	<i>Msb032</i>	a:1.000 0	<i>Msd050</i>	a:1.000 0
<i>Msa044</i>	a:1.000 0	<i>Msb063</i>	a:1.000 0	<i>Msd051</i>	a:1.000 0
		<i>Msc014</i>	a:1.000 0		
		<i>Msc016</i>	a:1.000 0		

2.2 剑尾鱼 RW-H 系各样品间遗传距离和遗传相似系数

遗传距离和遗传相似系数是描述群体的遗传结构和种系间差异的指标。根据 20 个微卫星位点的扩增结果,用 Pop-gene 3.2 软件分析得出剑尾鱼 RW-H 系个体间遗传相似系数的最小值为 0.850 0,最大值为 1.000 0,平均遗传相似系数为 0.951 8;遗传距离的最小值为 0.000 0,最大值为 0.162 5,平均遗传距离为 0.048 2,说明剑尾鱼 RW-H 系的近交程度较高。

2.3 剑尾鱼 RW-H 系 20 个微卫星位点的基因纯合率

根据个体基因型计算剑尾鱼 RW-H 系在 20 个微卫星位点的基因纯合率(表 3)。全部基因位点平均基因纯合率为 95.83%,平均期望基因纯合率为 93.39%。17 个微卫星位点为单个等位基因纯合,其遗传杂合度和多态信息含量值都为 0;其余 3 个多态基因位点的遗传杂合度及多态信息含量见表 4,全部基因位点平均多态信息含量为 0.050 8,平均观测遗传杂合度为 0.041 7,平均期望遗传杂合度 0.066 1,说明剑尾鱼 RW-H 系遗传多样性很低。

表 3 剑尾鱼 RW-H 系 20 个微卫星基因位点的纯合率

Tab.3 Homozygote rate for 20 microsatellite loci in RW-H *X. helleri*

样本 Sample no.	纯合率 / % Homozygote rate	样本 Sample no.	纯合率 / % Homozygote rate	样本 Sample no.	纯合率 / % Homozygote rate
1	90.00	11	95.00	21	100.00
2	85.00	12	100.00	22	100.00
3	90.00	13	100.00	23	100.00
4	100.00	14	100.00	24	100.00
5	95.00	15	95.00	25	95.00
6	95.00	16	100.00	26	95.00
7	95.00	17	90.00	27	100.00
8	90.00	18	90.00	28	100.00
9	90.00	19	95.00	29	100.00
10	95.00	20	95.00	30	100.00

表 4 剑尾鱼 RW-H 系 3 个多态微卫星位点的 PIC 值及遗传杂合度

Tab.3 PIC and heterozygosity for 3 polymorphism microsatellite loci in RW-H *X. helleri*

基因位点 Gene locus	多态信息含量 PIC	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e
<i>Msa012</i>	0.304 7	0.366 7	0.381 4
<i>Msa033</i>	0.345 7	0.266 7	0.452 0
<i>Msc036</i>	0.364 8	0.200 0	0.488 1
平均 * Avearage*	0.050 8	0.041 7	0.066 1

注: * 结果为 20 个位点的平均值。

Note: * The average of 20 loci.

3 讨论

近交在遗传学上又称为同型交配,交配个体间的遗传关系比随机交配时的更为紧密,近交的结果是基因趋于纯合。Tascon 等^[13]用微卫星标记对 6 个来源于 400 年前同一祖先的美丽努绵羊 (Merino sheep) 群体进行分析,结果表明,不同近交程度的群体有不同的遗传多样性,部分微卫星标记可明显区分 6 个群体。商海涛等^[5]用微卫星标记研究版纳小耳猪 (*Xishuangbanna miniature pig*) 近交系,JB 系近交 10 代左右,JS 系近交 14 代左右,得到 JB、JS 两个亚系的平均基因纯合率为 86.20% 和 87.71%。本实验得出剑尾鱼 RW-H 系 15 代个体 20 个微卫星基因位点的平均基因纯合率达到了 95.83%,表明该品系具有较好的遗传均一性。研究得出其平均遗传相似系数为 0.951 8,比李霞等^[8]对第 8 代近交系的遗传结构的分析结果 (平均遗传相似系数 0.934 5) 要高,说明剑尾鱼 RW-H 系又经过 7 代的近交培育基因纯合度有了进一步提高。应用 20 个微卫星基因位点的分析结果也更准确地反映了近交系的遗传结构。

近交系动物中微卫星长度变化发生率很低,微卫星位点的等位基因可能是某一近交系动物的恒定参数^[13-16],可以用来鉴别不同的近交系动物,本实验得出剑尾鱼 RW-H 系在 17 个位点都为单个等位基因纯合,可做为该品系的标志基因用于遗传监测。

多态性微卫星位点的多态性水平可用多态信息含量值 (PIC) 衡量。一般情况下当 $PIC > 0.5$ 时基因位点为高度多态基因位点; $0.25 < PIC < 0.5$ 为中度多态基因位点;当 $PIC < 0.25$ 时为低度多态基因位点^[17]。本实验得出的 3 个多态位点 *Msa012*、*Msa033* 和 *Msa036*,多态信息含量值分别为 0.304 7、0.345 7 和 0.364 8,均低于 0.5,用这 3 个微卫星位点对野生型剑尾鱼进行分析时,其多态信息含量都达到了 0.5 以上 (另文发表),进一步说明了剑尾鱼 RW-H 系与野生剑尾鱼相比较有较高的遗传纯合度。3 个多态性微卫星位点的发现,有利于近交系的同基因型选配,若不同个体在某一位点上出现 AA 型、AB 型和 BB 型 3 种基因型,如果其他位点已全部纯合,则可针对性地纯合此位点,即用 AA 型和 AA 型交配,则后代将全部出现 AA 型,用 BB 型和

BB 型交配,则后代将全部出现 BB 型,从而达到分子水平上真正的近交,避免了常规育种造成的 AA 型和 AB 型、BB 型和 AB 型以及 AB 型和 AB 型的交配。这样可以加快近交系的基因纯合进展速度。

参考文献:

- [1] 杜雄伟,于博,李叶,等.剑尾鱼感染嗜水气单胞菌的动态病理变化观察[J].中国兽医科技,2004,34(10):22-25.
- [2] 王宏,沈英娃,卢玲,等.几种典型有害化学品对水生生物的急性毒性[J].应用与环境生物学报,2003,9(1):49-52.
- [3] Meyer A, Salzburger W, Scharl M. Hybrid origin of a swordtail species (Teleostei: *Xiphophorus clemenciae*) driven by sexual selection[J]. *Molecul Ecol*, 2006, 28(10): 29-37.
- [4] 吴淑勤,黄志斌,李凯彬,等.水生实验动物—剑尾鱼[M].北京:中国农业出版社,2005.
- [5] 商海涛,牛荣,魏泓,等.三品系小型猪 35 个微卫星基因座的遗传学研究[J].遗传,2001,23(1):17-20.
- [6] 陈振文,欧阳兆和,董昱,等.用微卫星标记技术对国内小鼠遗传质量的分析[J].遗传,2004,26(6):845-848.
- [7] 牛荣,黄中波,魏泓,等.用 12 对微卫星引物对版纳小耳猪近交系的遗传学分析[J].中国实验动物学报,2003,11(1):42-45.
- [8] 李霞,白俊杰,吴淑勤,等.剑尾鱼 RW-H 近交系的遗传结构分析[J].水产学报,2004,28(4):365-370.
- [9] 萨姆布鲁克 J, 弗里奇 E F, 曼压阿蒂斯 T. 分子克隆实验指南:第 2 版[M].北京:科学出版社,1999.
- [10] Walter R B, Rains J D, Russel J E, et al. A microsatellite genetic linkage map for *Xiphophorus* [J]. *Genetics*, 2004, 168: 363-372.
- [11] 霍金龙,曾嵘,潘伟荣,等.微卫星 PCR 聚丙烯酰胺凝胶银染法影响因素的分析研究[J].云南农业大学学报,2005,20(1):67-71.
- [12] Botstein D, White R L, Skolnick M. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. *Am J Anim Gen*, 1980, 32: 314.
- [13] Tascon C D, Littlejohn R P, Almeida A R, et al. Genetic variation within the Merino sheep breed: analysis of closely related populations using microsatellites[J]. *Anim Genet*, 2000, 31: 243-251.
- [14] Martinez A M, Delgado J V, Roder A. Genetic structure of the Iberian pig breed using microsatellites [J]. *Anim Genet*, 2000, 31: 295-301.
- [15] Da11as J F. Estimation of microsatellite mutation rates in recombinant inbred strains of mouse[J]. *Mammal Gen*, 1992, 3: 452-456.
- [16] Montagutelli X, Guenet J L. Genetic monitoring of inbred strains by analysis of microsatellite polymorphisms [C]. Fifth FEILASA Symposium: Welfare and Science. 1993: 183-186.
- [17] 战爱斌,包振民,陆维,等.仿刺参的微卫星标记[J].水产学报,2006,30(2):192-196.

Genetic structure of 20 microsatellite loci in RW-H swordtail fish (*Xiphophorus helleri*) inbred strain

LIU Yu-fei^{1,2}, BAI Jun-jie¹, LI Kai-bin¹, HUANG Zhi-bin¹, QUAN ying-chun¹

((1. Key Laboratory of Tropical and Subtropical Fish Breeding & Cultivation, Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China; 2. College of Aqua-life Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China))

Abstract: Swordtail fish (*Xiphophorus helleri* Heckel 1848) is a small scale tropic freshwater fish which belongs to Cyprinodontiformes, Cyprinodontidae, *Xiphophorus*. It is suitable to be used as aquatic laboratory animal with the characters of short propagation period, strong reproductive capacity and easy breeding. Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, began to inbreed them as laboratory animal in 1987 and the swordtail fish RW-H (red eye and white body) inbred strain has reached 15th generation so far. Researches on its biological characters, diet and nutrition, disease and disease monitoring etc. indicate that swordtail fish is suitable for study on genetics, toxicology and bacteriology. But researches about genetic structure and genetic inspection of the inbred strain were limited. In order to further understand the genetic structure and find the special gene loci for genetic inspection, 30 individuals of RW-H inbreeding swordtail fish were analyzed using polymorphism microsatellite loci. Among 20 microsatellite loci, 17 microsatellite loci showed no polymorphism in the inbreeding swordtail fish and would be used as special gene loci for RW-H strain's genetic inspecting. The other 3 microsatellite loci, Msa012, Msa033 and Msc036 revealed polymorphism and can be used for directing further inbreeding. The PIC values of Msa012, Msa033 and Msc036 polymorphism loci were 0.304 7, 0.345 7 and 0.364 8 respectively. The results analyzed by Pop-gene 3.2 showed that the average rate of homozygote for 20 microsatellite loci was 95.83%, and the mean genetic distance index was 0.048 2 (0.000 0 – 0.162 5); the mean genetic similarity index was 0.951 8 (0.850 0 – 1.000 0). It suggested that the inbreeding degree of RW-H swordtail fish was quite high for 15 generations inbreeding. The results of this paper also provided the data for establishing the genetic monitoring standard of aquatic laboratory animal. [Journal of Fishery Sciences of China, 200714 (4): 602 – 607]

Key words: *Xiphophorus helleri*; inbred strain; microsatellite; genetic structure

Corresponding author: BAI Jun-jie. E-mail: baijj2005@21cn.com