

斑点叉尾鲌中国养殖群体遗传多样性的 AFLP 分析

赫崇波¹, 陈姝君^{1,2}, 高祥刚¹, 周遵春¹, 刘卫东¹, 宋文涛^{1,2}

(1. 辽宁省海洋水产科学研究院, 辽宁省海洋水产分子生物学重点实验室, 辽宁省应用海洋生物技术开放实验室, 辽宁 大连 116023; 2. 辽宁师范大学生命科学院, 辽宁 大连 116029)

摘要: 采用 AFLP 分子遗传标记技术, 对来自福建和湖北的 1984 年引进的斑点叉尾鲌 (*Ictalurus punctatus*) 养殖群体 (P1984)、来自福建和辽宁的 1997 年引进的养殖群体 (P1997)、来自湖南的 2004 年引进的养殖群体 (P2004) 和来自湖北的 1984 年与 1997 年引进养殖群体的杂交群体 (P8497) 的遗传多样性进行研究。用 10 对选择性引物共扩增出 523 个位点, 其中, 243 个位点为多态位点, 多态位点比例为 46.46%; 没有发现可以用于区分 4 个群体的特异性位点, 但找到一些潜在的群体鉴别片段; P1984、P1997、P2004 和 P8497 群体的多态位点比例 (P) 分别为 28.93%、38.90%、31.02% 和 41.66%, Shannon 多样性指数 (I) 分别为 0.143 9、0.208 1、0.154 5 和 0.237 3, 平均杂合度 (H) 分别为 0.078 1、0.094 9、0.080 3 和 0.113 7。群体间的遗传分化系数 (F_{st}) 值为 0.103 6; 根据 4 个群体之间的基因分化系数 (G_{st})、遗传距离 (D)、遗传相似度 (S) 以及 UPGMA 聚类分析发现, P2004 和 P1997 亲缘关系最近, P2004 和 P1984 亲缘关系最远。通过比较分析认为, 4 个养殖群体的遗传多样性水平均较低。[中国水产科学, 2008, 15(5): 722-728]

关键词: 斑点叉尾鲌; 遗传多样性; AFLP; 多态性; 标记

中图分类号: Q959.46

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2008)05-0722-07

斑点叉尾鲌 (*Ictalurus punctatus*) 是广泛分布于美国中南部、加拿大南部和大西洋沿岸地区的淡水鱼类, 具有适温范围广、生长速度快、抗病能力强等优点。1984 年首次由湖北省水产研究所从美国引进 1 500 尾鱼苗, 并于 1987 年人工繁殖成功, 目前国内 20 多个省(市)开展了斑点叉尾鲌的养殖, 年产商品鱼 10 万 t 以上^[1], 成为中国重要的淡水养殖经济鱼类^[2]。目前, 对斑点叉尾鲌中国养殖群体的研究主要集中在苗种生产、养殖技术、病害防治和加工技术等方面^[3-5], 在分子遗传学方面的研究报道较少^[6]。经过 20 多年的累代繁殖和养殖之后, 中国的斑点叉尾鲌群体的分子遗传结构和分化如何, 是否发生种质退化, 尚需深入研究。国外对斑点叉尾鲌分子水平的研究较多, 包括遗传图谱构建^[7-8]、功能基因研究^[9-10]和群体遗传学分析^[11-12]等方面。本研究采用扩增片段长度多态性 (AFLP) 技术^[13], 对中国 1984 年、1997 年、2004 年引进的斑点叉尾鲌群体以及 1984 年和 1997 年群体的杂交 F_1 代群体的遗传多样性进行研究, 同时与国外研究结果进行比较, 以期对国内斑点叉尾鲌种质状况进

行分子遗传学评价, 为斑点叉尾鲌苗种繁育、种质资源的保存和利用以及种质鉴定等提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

根据斑点叉尾鲌中国养殖群体现状, 本研究选择 4 个斑点叉尾鲌养殖群体作为研究材料, 分别是: 福建和湖北 1984 年引进的群体 (P1984), 体长 15~25 cm; 福建和辽宁 1997 年从美国密西西比州和亚拉巴马州引进的群体 (P1997), 体长 30~40 cm; 湖北 1984 年与 1997 年引进群体的杂交群体 (P8497), 体长为 25~35 cm; 湖南 2004 年从美国南卡罗来纳州引进的群体 (P2004), 体长为 28~35 cm。每个群体分别取鱼 30 尾, 取其背部肌肉组织, 70% 酒精保存备用。

1.2 DNA 提取

基因组 DNA 的提取采用蛋白酶 K 和苯酚/氯仿法^[14]。用 Hitachi U-2001 紫外分光光度计测定 DNA 纯度, 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的完整性, 置 4℃ 保存备用。

收稿日期: 2007-10-10; 修订日期: 2008-03-25.

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30571410).

作者简介: 赫崇波 (1961-), 男, 博士, 研究员, 主要从事水产分子遗传学的研究. E-mail: hechongbo@hotmail.com

1.3 AFLP分析

AFLP 实验操作程序参照 Vos 等^[13]、Mickett 等^[11]和 Wang 等^[15]的方法。*EcoRI* 和 *MseI* 接头、预扩和选扩引物由上海生工生物工程公司合成, PCR 扩增使用 Eppendorf 梯度 PCR 仪。主要包括

EcoRI/ *MseI* 双酶切及接头的连接, 连接产物的预扩增和选择性扩增引物 (表 1)^[12] 的选择扩增, 对选扩产物进行变性聚丙烯酰胺凝胶电泳及硝酸银染色, 以及用 BioImaging Systems 进行图像分析和处理^[13]等步骤。

表 1 AFLP 分析所用的接头、预扩增和选择性扩增引物^[12]

Tab.1 Adaptor and primer sequences used in AFLP analysis

引物 Primer	序列 Sequence (5' → 3')
接头 Adapters	
<i>EcoRI</i> -adapter	CTCGTAGACTGCGTACCCTGACGCATGGTTAA
<i>MseI</i> -adapter	GACGATGAGTCCTGAGTACTCAGGACTCAT
预扩引物 Pre-amplification primer	
<i>EcoRI</i> -A	AGACTGCGTACCAATTCA
<i>MseI</i> -C	GATGAGTCCTGAGTAAC
选择性扩增引物 Selective amplification primer	
<i>EcoRI</i> -AAG/ <i>MseI</i> -CAC (locus 1)	AGACTGCGTACCAATTCAAG GATGAGTCCTGAGTAACAC
<i>EcoRI</i> -ACA/ <i>MseI</i> -CAG (locus 2)	AGACTGCGTACCAATTCACA GATGAGTCCTGAGTAACAG
<i>EcoRI</i> -ACT/ <i>MseI</i> -CTG (locus 3)	AGACTGCGTACCAATTCACT GATGAGTCCTGAGTAAGT
<i>EcoRI</i> -AAG/ <i>MseI</i> -CAT (locus 4)	AGACTGCGTACCAATTCAAG GATGAGTCCTGAGTAACAT
<i>EcoRI</i> -ACA/ <i>MseI</i> -CTC (locus 5)	AGACTGCGTACCAATTCACA GATGAGTCCTGAGTAAGTC
<i>EcoRI</i> -AAG/ <i>MseI</i> -CAG (locus 6)	AGACTGCGTACCAATTCAAG GATGAGTCCTGAGTAACAG
<i>EcoRI</i> -ACA/ <i>MseI</i> -CAC (locus 7)	AGACTGCGTACCAATTCACA GATGAGTCCTGAGTAACAC
<i>EcoRI</i> -ACG/ <i>MseI</i> -CTC (locus 8)	AGACTGCGTACCAATTCACG GATGAGTCCTGAGTAAGTC
<i>EcoRI</i> -ACA/ <i>MseI</i> -CTT (locus 9)	AGACTGCGTACCAATTCACA GATGAGTCCTGAGTAAGTT
<i>EcoRI</i> -ACG/ <i>MseI</i> -CTT (locus 10)	AGACTGCGTACCAATTCACG GATGAGTCCTGAGTAAGTT

1.4 AFLP的统计和分析

利用 AFLP 分析软件 Cross Checker version 2.91^[16] 进行条带统计并配合手工校对, 将每个条带作为 1 个位点, 有扩增条带且清晰记为 1, 反之则记为 0, 构建 0/1 矩阵。

利用 TFPGA 软件估算平均杂合度 (H)、多态位点百分率 (P) 和遗传分化系数值 (F_{st})。先估算每个位点的平均杂合度, 然后再计算出所有位点的 Nei's 无偏平均杂合度, 根据 Weir and Cockerham 的方法计算 F_{st} 值, 根据 Nei's 无偏距离法^[17] 估算群体间遗传距离 (D), 依 UPGMA (Unweighted Pair

Group Method Using Arithmetic Average) 进行聚类分析。利用 Popgen1.32 软件, 计算香农遗传多样性指数 (I)。

1.5 潜在的群体鉴别差异片段

本研究的目的之一是在所获得的大量 AFLP 片段中寻找群体特异性片段, 但是在实际分析中, 很难找到某一群体的特征性片段。因此, 本研究试图通过量化的方法确定出群体鉴别差异的片段, 即如果某些 AFLP 片段的等位基因频率在不同群体中显著不同, 那么这些位点可能就是群体鉴别的重要标记。本研究采用 2 个标准来鉴别有价值的 AFLP

片段: (1) 在某个群体中, 该等位基因频率大于 0.5; (2) 该群体中此等位基因频率 (≥ 0.5) 比其他任何群体中的该等位基因频率高 3 倍以上^[12]。

2 结果与分析

2.1 AFLP扩增谱带统计

利用 10 对引物组合对斑点叉尾鲷 4 个群体

的 120 个个体的 DNA 样品进行扩增。120 个个体共扩增得到 523 个位点, 其中多态位点 243 个, 占位点总数的 46.46% (表 2)。引物 E-AAG/M-CAT 扩增得到的多态位点比例最大, 为 75.47%; 引物 E-ACT/M-CTG 扩增得到的多态位点比例最小, 仅 24.53%。

表 2 选择性扩增引物组合及其从斑点叉尾鲷基因组 DNA 中检出位点

Tab.2 Primer pairs used for AFLP and amplified bands observed from AFLP analysis of *Ictalurus punctatus*

引物组合 Primer pair	位点数 Number of loci	多态位点数 Number of polymorphic loci	多态位点百分比 % Percentage of polymorphism (P)
E-AAG/M-CAC	51	27	52.94
E-ACA/M-CAG	50	15	30.00
E-ACT/M-CTG	53	13	24.53
E-AAG/M-CAT	53	40	75.47
E-ACA/M-CTC	56	25	44.64
E-AAG/M-CAG	52	22	42.31
E-ACA/M-CAC	51	20	39.22
E-ACG/M-CTC	54	33	61.11
E-ACA/M-CTT	53	29	54.72
E-ACG/M-CTT	50	19	38.00
平均 Average	52.3	24.3	46.46

2.2 潜在的群体鉴别差异片段

本实验没有找到可以区分出群体的特异性标记片段, 但观察到一些基因频率在群体间有很大差别的标记片段, 笔者称其为潜在的群体鉴别差异片段。图 1 是引物组合 E-AAG/M-CAT 的扩增电泳图, 箭头所标示的就是鉴别差异片段。表 3 所示为 4 个群体间所有的鉴别差异片段, 其中, 有 3 个鉴别差异片段在群体 P1984 有较高的基因频率, 分别是由第 4 对引物产生的位点 4-7 和 4-16, 第 7 对引物产生的位点 7-15; 有 5 个鉴别差异片段在群体 P8497 有较高的基因频率, 即第 1 对引物产生的位点 1-36, 第 4 对引物产生的位点 4-45、4-46, 第 5 对引物产生的位点 5-14, 第 8 对引物产生的位点 8-21; 有 3 个鉴别差异片段在群体 P2004 有较高的基因频率, 它们是第 3 对引物产生的位点 3-3、3-20, 第 4 对引物产生的位点 4-29。由此可见, 第 1、3、4、5、7 和 8 对引物组合对生成群体 AFLP 特征标记非常有用。虽然这些标记片段不是群体特异性片段, 但是它们具有高度差异的基因频率, 通过组合, 有望能应用于群体鉴别。

2.3 群体的遗传结构和遗传多样性分析

对 4 个斑点叉尾鲷群体的遗传多样性分析可以看出, P8497 的群体多态位点比例 (P) 最大 (41.66%), P1984 的最小 (28.93%) (表 4)。香农多样性指数 (H) 表示的遗传变异度也呈现出同样的态势, 由大到小依次为: P8497 (0.237 3)、P1997 (0.208 1)、P2004 (0.154 5)、P1984 (0.143 9)。如果根据 Hardy-Weinberg 平衡假设计算, 4 个群体的平均杂合度 (H) 由大到小依次为: P8497、P1997、P2004、P1984。

从斑点叉尾鲷 4 个群体之间的基因分化系数 (G_{st})、遗传距离 (D) 和遗传相似度 (S) 看出 (表 5), P1997 与 P2004 的基因分化系数和遗传距离最小, 分别为 0.079 8 和 0.007 9。P1984 和 P2004 的基因分化系数和遗传距离最大, 为 0.119 2 和 0.015 8。遗传相似度与遗传距离正好相反, P1997 与 P2004 间的遗传相似度最大, 为 0.992 2, P1984 和 P2004 间的遗传相似度最小, 为 0.984 3。而 4 个群体所有位点平均遗传分化系数 (F_{st}) 值为 0.103 7 (95% CI, 0.072 3~0.134 2), 即只有 10.37% 的变异来源于群体间。

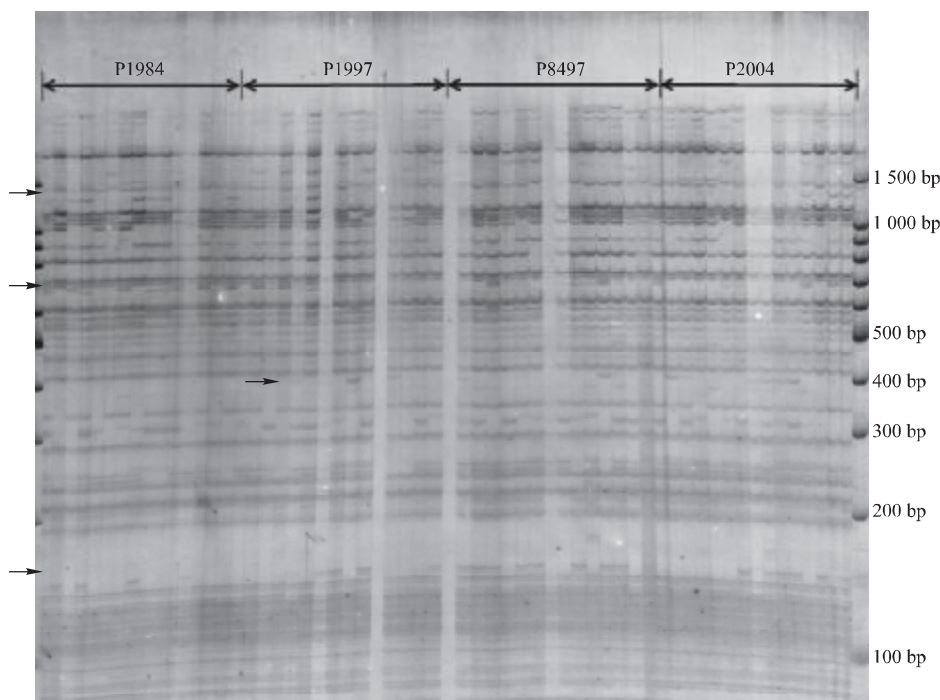


图1 用 E-AAG/M-CAT 引物扩增得到的斑点叉尾鲷 AFLP 电泳图

注: 箭头所示为基因频率鉴别差异片段; P1984 表示来自福建和湖北的 1984 年引进的斑点叉尾鲷养殖群体; P1997 表示来自福建和辽宁的 1997 年引进的养殖群体; P8497 表示来自湖北的 1984 和 1997 年引进养殖群体的杂交群体; P2004 表示来自湖南的 2004 年引进的养殖群体。

Fig.1 Electrophoretic figure of *Ictalurus punctatus* using primer pair of E-AAG/M-CAT

Note: Arrows show the allele frequencies discrimination fragments; P1984 is the population in Fujian and Hubei province which was introduced in 1984; P1997 is the population in Fujian and Liaoning province which was introduced in 1997; P8497 is the population in Hubei province which was the hybrid by crossbreeding between P1984 and P1997; P2004 is the population in Hunan which was introduced in 2004.

表 3 4 个斑点叉尾鲷群体间群体鉴别差异片段的基因频率 (黑体字部分)

Tab.3 Highly differential allele frequencies of discrimination fragments among 4 *Ictalurus punctatus* populations (bold part)

位点 /Locus	群体 Population			
	P1984	P1997	P8497	P2004
1-36	0.100 0	0	0.533 3	0
3-3	0	0.100 0	0.166 7	0.566 7
3-20	0	0.133 3	0.200 0	0.666 7
4-7	0.566 7	0.066 7	0	0.133 3
4-16	0.533 3	0.100 0	0.133 3	0.166 7
4-29	0	0.133 3	0.100 0	0.466 7
4-45	0.133 3	0.166 7	0.666 7	0.233 3
4-46	0.133 3	0.166 7	0.666 7	0.233 3
5-14	0	0.066 7	0.466 7	0.200 0
7-15	0.666 7	0	0.133 3	0
8-21	0.133 3	0.100 0	0.566 7	0

注: P1984 表示来自福建和湖北的 1984 年引进的斑点叉尾鲷养殖群体; P1997 表示来自福建和辽宁的 1997 年引进的养殖群体; P8497 表示来自湖北的 1984 和 1997 年引进养殖群体的杂交群体; P2004 表示来自湖南的 2004 年引进的养殖群体。

Note: P1984 is the population in Fujian and Hubei province which was introduced in 1984; P1997 is the population in Fujian and Liaoning province which was introduced in 1997; P8497 is the population in Hubei province which was the hybrid by crossbreeding between P1984 and P1997; P2004 is the population in Hunan which was introduced in 2004.

表 4 4 个斑点叉尾鲴群体的遗传多样性参数

Tab.4 Parameters of genetic diversity for four *Ictalurus punctatus* populations based on AFLP data

群体 Population	样本数 Number sampled (N)	多态位点比例 /% Percentage of polymorphism (P)	Shannon 多样性指数 Shannon Information index (I)	平均杂合度 Mean heterozygosity (H)
P1984	30	28.93	0.1439	0.0781
P1997	30	38.90	0.2081	0.0949
P2004	30	31.02	0.1545	0.0803
P8497	30	41.66	0.2373	0.1137

注: P1984 表示来自福建和湖北的 1984 年引进的斑点叉尾鲴养殖群体; P1997 表示来自福建和辽宁的 1997 年引进的养殖群体; P8497 表示来自湖北的 1984 和 1997 年引进养殖群体的杂交群体; P2004 表示来自湖南的 2004 年引进的养殖群体。

Note: P1984 is the population in Fujian and Hubei province which was introduced in 1984; P1997 is the population in Fujian and Liaoning province which was introduced in 1997; P8497 is the population in Hubei province which was the hybrid by crossbreeding between P1984 and P1997; P2004 is the population in Hunan which was introduced in 2004.

表 5 斑点叉尾鲴群体间基因分化系数 (G_{st}) (对角线上) 和遗传距离 (D)/遗传相似度 (S) (对角线下)Tab.5 Coefficient of gene differentiation (G_{st}) (above diagonal) and genetic distance (D)/genetic similarity (S) (below diagonal) among four *Ictalurus punctatus* populations based on AFLP data

群体 Population	P1984	P1997	P2004	P8497
P1984		0.1011	0.1192	0.1003
P1997	0.012 9/0.9872		0.0798	0.0842
P2004	0.015 8/0.9843	0.007 9/0.9922		0.0891
P8497	0.010 9/0.9893	0.011 3/0.9889	0.012 2/0.9879	

注: P1984 表示来自福建和湖北的 1984 年引进的斑点叉尾鲴养殖群体; P1997 表示来自福建和辽宁的 1997 年引进的养殖群体; P8497 表示来自湖北的 1984 和 1997 年引进养殖群体的杂交群体; P2004 表示来自湖南的 2004 年引进的养殖群体。

Note: P1984 is the population in Fujian and Hubei province which was introduced in 1984; P1997 is the population in Fujian and Liaoning province which was introduced in 1997; P8497 is the population in Hubei province which was the hybrid by crossbreeding between P1984 and P1997; P2004 is the population in Hunan which was introduced in 2004.

2.4 聚类分析

依据其遗传距离,按照 UPGMA 方法进行聚类分析显示 (图 2), P1997 和 P2004 首先聚到一起, P8497 和 P1984 各自聚为 1 支。

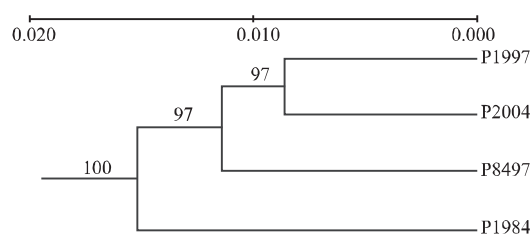


图 2 斑点叉尾鲴 4 个群体聚类图

比例尺上数字为遗传距离; 节点上的数值为 1000 次重复的置信度 (%)。

Fig.2 Clustering of four cultured *Ictalurus punctatus* populations by UPGMA method based on Nei's genetic distance

Values in the scale represent genetic distance. Numbers on the nodes are bootstrapping values of 1000 replicates (%).

3 讨论

斑点叉尾鲴在中国没有自然分布,中国目前养殖的斑点叉尾鲴全部是由美国引进。从 1984 年至 2006 年的 20 多年间,一共进行了 4 次引种。其中 1984 年湖北省水产科学研究所引进 1 500 尾 (体长 1.5 cm) 斑点叉尾鲴鱼苗,这部分鱼苗经过成功繁殖后,成为目前国内主要的养殖亲本来源。全国水产技术推广总站于 1997 年从美国密西西比和亚拉巴马州引进斑点叉尾鲴卵黄苗 (1~4 日龄) 40 万尾, 1999 年从美国阿肯色州引进 70 万尾, 2004 年中国渔业协会鲴鱼分会从美国南卡罗来纳州引进 60 万尾,这些苗种分布于湖北、湖南、江苏、福建和江西等地养殖^[18]。本研究采集的斑点叉尾鲴样品有 1984、1997、2004 年引进的群体以及 1984 与 1997 年引进群体的杂交群体,基本代表了中国斑点叉尾鲴种质资源状况。实验中各群体的多态位点比例和平均杂合度分别为 28.93%~41.66% 和 0.078 1~0.113 7, 其中 P1984 最低, P8497 最高, P1984 和 P8497 的平均

杂合度和多态位点比例相差比较大, P1984 群体与其他群体之间也有显著差异 ($P<0.05$)。说明经过 20 多年的人工繁育和养殖, 中国斑点叉尾鲷 P1984 群体遗传多样性水平出现下降趋势。原因可能是 P1984 群体在 20 多年来, 都是当年引进少数个体的繁殖后代, 由于遗传漂变的发生, 使基因频率发生变化, 导致遗传多样性水平的下降。

由于本研究所采用的 AFLP 选择扩增引物以及多态位点比例和平均杂合度等参数的统计和计算方法, 与 Simmons 等^[12] 在研究美国本土斑点叉尾鲷野生和养殖群体遗传结构所采用的方法完全相同, 实验结果具有较强的可比性。在 Simmons 等^[12] 研究的 8 个养殖群体中, 平均杂合度和多态位点比例分别为 0.141 8~0.183 4 和 46.1%~75.4%。本研究中, 用 10 对引物对 4 个养殖群体分析所得的平均杂合度 (0.078 1~0.113 7) 和多态位点比例 (28.93%~41.66%) 明显低于美国的养殖群体, 这都说明中国斑点叉尾鲷养殖群体的遗传多样性较低。而用与 Simmons 等^[12] 所用的完全相同的前 5 对引物单独进行分析的结果表明, 对 4 个养殖群体分析所得平均杂合度 (0.076 0~0.110 7) 和多态位点比例 (28.52%~41.06%) 与用 10 对引物分析的结果相差不大。同样使用 AFLP 的分析方法, 斑点叉尾鲷中国养殖群体的多态位点比例与尼罗罗非鱼 (*Tilapia nilotica*)^[19] (62.21%)、紫红笛鲷 (*Lutjanus argentimaculatus*) 养殖群体^[20] (41.89%~57.14%), 半滑舌鲷 (*Areliscus semilaevis*) 养殖群体^[21] (40.2%) 和牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 养殖群体^[22] (40.07%) 相比, 同样相对贫乏。

至于中国斑点叉尾鲷的群体遗传多样性水平为何普遍偏低, 可能有 2 个原因, 一是斑点叉尾鲷种质资源比较单一, 群体基数较小。因为中国没有斑点叉尾鲷的自然分布, 目前养殖所需的苗种完全依赖于 1984 年引进的少量个体以及近年来引进的卵黄苗的繁育。二是引进的卵黄苗本身遗传结构单一, 遗传多样性水平较低, 因为每次引进的数 10 万尾卵黄苗可能仅来源于 1 组或数组亲鱼 (这就是 P2004 的遗传多样性水平仍然较低的原因)。而利用同一批引进的鱼苗进行繁育, 很可能产生近亲繁殖现象。为了避免近亲繁殖, 苗种生产单位经常将 P1984 与近年来引进的群体 (如 P1997) 进行组合“杂交”育苗, 表现出了一定的杂交优势, 养殖性状得到改善, 杂交群体 P8497 的多态位点比例和杂合

度比 P1984 和 P1997 有所提高。

本研究使用的 10 对引物对 4 个养殖群体进行分析, 并没能找到群体特异性的 AFLP 条带 (等位基因), 其原因可能与该鱼引进后在国内保种并不十分严格, 或者各地区间人为的相互引种和扩散, 导致群体之间一定程度的融合 (混杂) 有关。尽管如此, 本实验中还是观察到一些等位基因频率在某些群体中有很大差异, 即为潜在的群体鉴别位点, 如在群体 P1984 有较高的基因频率的位点 4-7、7-15 和 4-16, 在群体 P8497 的位点 1-36、8-21 位点, 在群体 P2004 的 3-3、3-20 和 4-29 位点等。它们虽然不是群体特异性 AFLP 标记, 但是对中国斑点叉尾鲷群体选育和种质改良研究, 具有潜在的应用价值。

致谢: 论文作者在本研究的样品采集过程中, 得到了中国渔业协会鲷鱼分会、湖南益阳益华水产有限公司、湖北嘉鱼渔跃水产有限公司、沈阳金山水产有限公司和福州百洋水产养殖有限公司等单位领导的大力支持与协助, 在此一并表示感谢。

参考文献:

- [1] 钟传明. 斑点叉尾鲷养殖产业化发展研究 [J]. 福建水产, 2006, 3(1): 75-77.
- [2] 张幼敏. 斑点叉尾鲷养殖业现存问题分析与建议 [J]. 水利渔业, 2007, 27(1): 36-39.
- [3] 李凤晨. 斑点叉尾鲷健康养殖技术 [J]. 河北渔业, 2007, 1: 22-36.
- [4] 张林, 孟彦, 罗晓松, 等. 斑点叉尾鲷主要疾病及其防治概述 [J]. 淡水渔业, 2007, 37(1): 76-79.
- [5] 耿毅, 汪开毓, 陈德芳, 等. 斑点叉尾鲷一株致病菌的分离鉴定及系统发育分析 [J]. 微生物学报, 2006, 46(4): 649-652.
- [6] 葛陇利, 高祥刚, 赫崇波, 等. 利用 mtDNA 控制区序列分析中国斑点叉尾鲷的遗传多样性 [J]. 水产科学, 2007, 26(10): 546-550.
- [7] Waldbieser G C, Bosworth B G, Nonneman D J, et al. A microsatellite-based genetic linkage map for channel catfish, *Ictalurus punctatus* [J]. Genetics, 2001, 158: 727-734.
- [8] Quiniou S M, Waldbieser G C, Duke M V. A first generation BAC-based physical map of the channel catfish genome [J]. BioMed Central (BMC) Genom, 2007, 8: 40-42.
- [9] Wang S L, Xu P, Thorsen J, et al. Characterization of a BAC library from channel catfish (*Ictalurus punctatus*): indications of high levels of chromosomal reshuffling among teleost genomes [J]. Mar Biotechnol, 2007, 9(6): 701-711.
- [10] Nandi S, Peatman E, Xu P, et al. Repeat structure of the catfish genome: a genomic and transcriptomic assessment of *Tc1*-like transposon elements in channel catfish (*Ictalurus*

- punctatus*) [J]. *Genetica*, 2007, 131: 81–90.
- [11] Mickett K, Morton C, Feng J, Li P, et al. Assessing genetic diversity of domestic populations of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) in Alabama using AFLP markers [J]. *Aquaculture*, 2003, 228: 91–105.
- [12] Simmons M, Mickett K, Kucuktas H, et al. Comparison of domestic and wild channel catfish (*Ictalurus punctatus*) populations provides no evidence for genetic impact [J]. *Aquaculture*, 2006, 252: 133–146.
- [13] Vos P, Hogers R, Blecker M, et al. AFLP: A new technique for DNA finger printing [J]. *Nucl Acids Res*, 1995, 23 (21): 4 407–4 414.
- [14] Sambrook J, Russell D W. Molecular cloning: A laboratory manual [M]. 3rd ed. New York: Cold Spring Harkbor Labroatory Press, 2001.
- [15] Wang Z Y, Tsoi K H, Chu K H. Applications of AFLP technology in genetic and phylogenetic analysis of penaeid shrimp [J]. *Biochem Syst Eco*l, 2004, 32 (4): 399–407.
- [16] Buntjier J B. Cross Checker version 2.91 [CP/OL]. 1999. <http://www.spg.wau.nl/pv/pub/Cross>.
- [17] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. *Genetics*, 1978, 89: 583–590.
- [18] 周国平. 中国斑点叉尾鲴产业的现状及发展建议 [J]. *中国水产*, 2005 (6): 26–28.
- [19] 杨东, 余来宁. RAPD 和 AFLP 在分析尼罗罗非鱼遗传多样性研究中的应用比较 [J]. *江西农业学报*, 2006, 18 (2): 1–4.
- [20] 张俊彬, 黄良民. 紫红笛鲷遗传多样性的 AFLP 分析 [J]. *热带海洋学报*, 2004, 23 (5): 50–55.
- [21] 韩志强, 庄志猛, 高天翔, 等. 半滑舌鲷 DNA 的群体遗传变异 [J]. *中国水产科学*, 2007, 14 (2): 192–200.
- [22] 张全启, 徐晓斐, 齐洁, 等. 牙鲆野生群体与养殖群体的遗传多样性分析 [J]. *中国海洋大学学报*, 2004, 34 (5): 816–820.

Genetic diversity of cultured channel catfish, *Ictalurus punctatus* in China using AFLP markers

HE Chong-bo¹, CHEN Shu-jun^{1,2}, GAO Xiang-gang¹, ZHOU Zun-chun¹, LIU Wei-dong¹, SONG Wen-tao^{1,2}

(1. Liaoning Ocean and Fisheries Science Research Institute, Liaoning Key Laboratory of Marine Fishery Molecular Biology, Liaoning Open Laboratory of Applied Marine Biotechnology, Dalian 116023, China; 2. College of Life Science, Liaoning Normal University, Dalian 116029, China)

Abstract: Channel catfish (*Ictalurus punctatus*) was successfully introduced to China as an imported aquaculture species from USA in 1984 and has become one of the most important freshwater aquaculture species in China. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) was used to assess genetic diversity of channel catfish populations cultured in China in the study. The four populations were the population (P1984) from Fujian and Hubei province which was introduced in 1984, the population (P1997) from Fujian and Liaoning provinces which was introduced in 1997, the population (P2004) from Hunan province which was introduced in 2004, and the population (P8497) from Hubei province which was the hybrid by crossbreeding between P1984 and P1997. Ten primer combinations were used and 523 fragments were detected. Among the 523 fragments, 243 bands (46.46%) were polymorphic. No specific bands were observed which could be used for identification of these populations, but some bands had highly differential allele frequencies among populations which would have potential use for identification of populations. For the four populations (P1984, P1997, P2004 and P8497), the percentage of polymorphic loci (P) are 28.93%, 38.90%, 31.02% and 41.66%; the mean heterozygosities (H) are 0.078 1, 0.094 9, 0.080 3 and 0.113 7; the Shannon information indices (I) are 0.143 9, 0.208 1, 0.154 5 and 0.237 3, respectively. The difference in genetic diversity among the four populations is not significant. The genetic differentiation index (F_{st}) for all populations is 0.103 6. According to gene differentiation (G_{st}), genetic distance (D), genetic similarity (S) and UPGMA analysis, it is found that the relationship between P2004 and P1997 is the most close, and the relationship between 2004 population and 1984 population is the most distant. The genetic diversity of channel catfish cultured in China is relatively lower than that in USA based on comparison with previous studies. [Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15 (5): 722–728]

Key words: channel catfish, *Ictalurus punctatus*; AFLP; genetic diversity; polymorphism; marker