

尼罗罗非鱼、奥利亚罗非鱼及其正、反杂交群体的遗传多样性

李莉好^{1,2}, 喻达辉¹, 黄桂菊¹, 叶卫³, 杜博^{1,4}, 符云³, 童馨^{1,4}, 郭奕惠¹

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东 广州 510300; 2. 上海海洋大学, 上海 200090; 3. 广东省国家级罗非鱼良种场, 广东 广州 511453; 4. 华中农业大学水产学院, 湖北 武汉 430070)

摘要: 用 7 对微卫星引物检测了尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 和奥利亚罗非鱼 (*O. aureus*) 群体及其正、反交群体共 128 个个体的遗传多样性。共检测到 38 个等位基因, 尼罗罗非鱼、奥利亚罗非鱼、正交群体和反交群体的平均等位基因数分别为 4.0、1.4、5.3 和 2.7, 平均 PIC 值分别为 0.557、0.099、0.590 和 0.497, 平均观测杂合度分别为 0.505、0.071、0.826 和 0.883, 平均期望杂合度分别为 0.622、0.117、0.684 和 0.598, 杂合子偏离指数 (D) 分别为 -0.146、-0.241、0.215 和 0.522。结果表明, 正交群体的遗传多样性比两个亲本群体都高, 反交群体介于两个亲本群体之间; 正交群体的观测杂合度和期望杂合度也高于两亲本群体, 反交群体的期望杂合度介于两者之间, 但实际观测杂合度却最高; 两亲本群体存在一定的杂合子缺失, 而杂交群体则存在杂合子增加的现象, 尤其是反交群体的观测杂合度大量增加。卡方检验表明, 正交群体偏离 Hardy-Weinberg 平衡的位点较少 (3 个位点), 而其他 3 个群体大部分位点均偏离平衡, 存在遗传漂变现象。4 个养殖群体间遗传分化具有显著性 (F_{ST} 为 0.081~0.610, $P < 0.01$)。UPGMA 系统树显示, 正交种与尼罗罗非鱼的亲缘关系较近。表明正交群体受亲本群体的影响最大, 其生长优势除了性别因素外, 遗传因素可能也具有重要作用。[中国水产科学, 2008, 15 (4): 585-592]

关键词: 杂交罗非鱼; 遗传多样性; 遗传分化; 微卫星 DNA

中图分类号: Q959

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2008)04-0585-08

罗非鱼 (*Tilapia*) 是世界性养殖鱼类。目前, 中国养殖的罗非鱼主要是尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 及其与奥利亚罗非鱼 (*O. aureus*) 的杂交种 (尼罗罗非鱼 ♀ × 奥利亚罗非鱼 ♂), 俗称“全雄罗非鱼”或“雄性化罗非鱼”等, 养殖产量居世界首位^[1]。罗非鱼杂交种具有雄性率高, 生长快于双亲的特点, 受到养殖者的喜爱^[2-3]。而罗非鱼雄性生长快, 一般认为罗非鱼杂交种的这种快速生长主要得益于性别差异, 但对其遗传因素影响的研究较少。夏德全等^[4]的结果显示, 正交奥尼罗非鱼 (尼罗罗非鱼 ♀ × 奥利亚罗非鱼 ♂) 在遗传关系上介于两亲本之间, 不表现出明显的倾向性, 而反交群体 (奥利亚罗非鱼 ♀ × 尼罗罗非鱼 ♂) 却与母本奥利亚罗非鱼极其相似。许玉德等^[5]的结果显示, 正交奥尼罗非鱼群体的乳酸脱氢酶 (LDH) 活力和比活力则介于父母本之间, 与母本尼罗罗非鱼无显著差异。正交群体除了继承母本尼罗罗非鱼的全部 LDH 同工酶带

外, 还继承了父本奥利亚罗非鱼的某些 LDH 同工酶特征, 在酶学上表现出兼容双亲特征。许玉德等^[6]用 RAPD 标记比较了尼罗罗非鱼和奥利亚罗非鱼及其正交群体基因组 DNA。结果表明, 杂交子代基因杂合性增加。但对正、反交群体及其与亲本群体的遗传多样性尚缺乏比较研究。由于 RAPD 是显性标记, 无法区分杂合子和纯合子, 且只有 2 个等位基因, 不能充分反映研究对象的遗传多样性状况^[7]。因此, 本研究用微卫星分子标记对尼罗罗非鱼、奥利亚罗非鱼及其正、反交群体的遗传多样性进行分析, 探讨杂交群体的遗传多样性状况及其来源, 为罗非鱼的杂种优势利用和杂交制种提供遗传依据。

1 材料与方法

1.1 罗非鱼来源

尼罗罗非鱼、奥利亚罗非鱼和正交群体 (*O. niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂) 样品采于 2005 年 8 月, 奥

收稿日期: 2007-05-25; 修订日期: 2007-12-21.

基金项目: 广东省科技计划项目 (2002B2150105); 番禺科技计划项目 (2004-2-61-1).

作者简介: 李莉好 (1982-), 硕士研究生, 从事海洋生物遗传育种研究. E-mail: lih0823@163.com

通讯作者: 喻达辉. E-mail: pearlydh@163.com

尼罗非鱼反交群体于同年10月采样,样品均采自广东国家级罗非鱼良种场(广州番禺),4个群体均为生产中产生的随机群体。其中尼罗罗非鱼是1994年从菲律宾引进的“吉富”的后代,奥利亚罗非鱼是1999年从无锡淡水渔业研究中心引进的后代。随机采取尼罗罗非鱼、奥利亚罗非鱼和正、反交群体各32尾,取肌肉样品保存于95%酒精中。

1.2 基因组DNA的提取

每个个体分别取约25 mg肌肉组织,用纯水洗2次后,放入1.5 mL离心管内,先加入100 μ L TEN9细胞裂解缓冲液(50 mmol/L Tris·HCl, pH 9.0; 100 mmol/L EDTA; 200 mmol/L NaCl),剪碎,再分别加入400 μ L TEN9裂解液、150 μ L SDS(10%)和10 μ L 蛋白酶K(10 mg/mL),混匀后于56 $^{\circ}$ C消化至溶液澄清。然后用酚、氯仿、异戊醇常规方法^[8]抽提DNA,用去离子超纯水溶解。提取的基因组DNA定量后配成20 ng/ μ L的工作溶液备用。

1.3 微卫星引物种间扩增筛选及其产物检测

从Carleton^[9]分离的尼罗罗非鱼微卫星引物中选取20对,由上海生物工程技术服务有限公司合成。用尼罗罗非鱼、奥利亚罗非鱼和正、反交群体的DNA对微卫星引物进行PCR筛选。PCR反应体系为20 μ L,包括:2 μ L PCR buffer(10 $\times$), 2 μ L dNTP(2 mmol/L), 1.6 μ L Mg^{2+} (25 mmol/L), 正反向引物(10 μ mol/L)各0.5 μ L, 0.2 μ L Taq DNA聚合酶(5 u/ μ L), 2 μ L DNA(20 ng/ μ L),其余为纯水。反应程序为:94 $^{\circ}$ C变性5 min,然后30个循环,每个循环包括:94 $^{\circ}$ C变性30 s, 55 $^{\circ}$ C退火30 s, 72 $^{\circ}$ C延伸1 min,最后72 $^{\circ}$ C延伸10 min。每次PCR设置空白对照,共筛选出特异性强、重复性好的9对微卫星引物,其序列见表1。

PCR扩增产物检测:PCR扩增产物先用1.5%琼脂糖凝胶电泳检测,EB染色。然后用5%(W/V)的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,银染检测。具体的电泳和银染检测步骤参照王小玉等^[10]的方法进行。

表1 筛选的罗非鱼微卫星引物的序列
Tab. 1 Sequences of screened SSR primers of tilapia

位点 Locus	引物序列 5'-3' Primer sequence 5'-3'	重复单元 Repeat unit	GenBank 注册号 GeneBank accession no.
UNH735	F: GTGCACACAGCAGAGGCTAA R: CTTTGCTGCTGTCGGAGTTT	GT	G63984
UNH846	F: TGGAGCAGCTTCTTCTACATCA R: CACATGATGGAAGCCGTGTA	CA	G68185
UNH855	F: ACTCCCGCTGTTGCTGTTAG R: GAGGGGAGCCTACAACGTAA	AC	G68191
UNH871	F: CGTGACAGCTGTGTATGCAA R: TGGCATTGAGATTGAAATGGT	AC	G68201
UNH985	F: GCGTCTTGATGCAGGATACA R: TCCCGACGAGCAACTGTTAT	CA	G68266
UNH995	F: CCAGCCCTCTGCATAAAGAC R: GCAGACAACCACAGTGCTA	GT	G68274
UNH1007	F: TTCTCTACCTGTGAACATTGTC R: AAGGCAGTCCTGCTCTATGC	CA	G68283

1.4 等位基因统计与数据处理

根据PCR扩增产物在变性聚丙烯酰胺凝胶电泳上的迁移距离确定等位基因并编码,离加样孔最近的带(即等位基因)编码为大写字母A,跑在相

同位置的带为同一个等位基因。运用POPGEN32软件^[11]计算等位基因数(Number of alleles, A)、等位基因频率 Allelic frequency, F)、观测杂合度(Obsevered heterozygosity, H_o)、期望杂合度

(Expected heterozygosity, H_e) 和 Nei's 遗传距离。计算杂合子偏离度 D 值。根据 Botstein 等^[12] 计算每个微卫星位点的多态信息含量 (Polymorphism information content, PIC), 计算公式如下:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^m p_i^2 - \sum_{i=1}^{m-1} \sum_{j=i+1}^m 2p_i^2 p_j^2$$

其中, p_i 和 p_j 分别表示第 i 和第 j 个等位基因在群体中的频率, m 为等位基因数。依据各位点的基因型频率对 4 个罗非鱼养殖群体进行偏离 Hardy-Weinberg 平衡的显著性检测。用 Arlequin 3.0^[13] 计算两两种群遗传分化指数 F_{ST} 。然后根据群体间遗传距离, 采用软件 MEGA 3.0^[14] 非加权配对算术平均法 (Unweighted Paired-Group Method using arithmetic Average, UPGMA) 构建 4 个罗非鱼群体的系统树, 以分析群体间的亲缘关系。

2 结果与分析

2.1 等位基因分析

4 个群体在 7 个微卫星位点共扩增 38 个等位基因, 每个位点的平均等位基因数为 5.43, 等位基因频率分布在 0.016~1.000 之间 (表 2)。其中, 尼罗罗非鱼共扩增 28 个等位基因, 正交群体 37 个, 反交群体 19 个, 奥利亚罗非鱼 10 个。尼罗罗非鱼的 28 个等位基因中, 有 14 个等位基因只在尼罗罗非鱼和正交群体中出现, 有 1 个等位基因在正、反交群体中均没有出现, 其余 13 个等位基因在正、反交群体中均有出现, 其中只有 2 个等位基因在 4 个群体中都出现, 分别为 UNH985 的等位基因 B 和 UNH995 的等位基因 B, 但尚未发现只在尼罗罗非鱼和反交群体中出现的等位基因。在奥利亚罗非鱼的 10 个等位基因中, 有 8 个等位基因在正、反交群体中出现 (含在 4 个群体中都出现的 2 个等位基因), 有 2 个等位基因只在奥利亚罗非鱼和正交群体中出现, 而没有只在奥利亚罗非鱼和反交群体中出现的等位基因。此外, 正交群体中有 2 个等位基因在尼罗罗非鱼和奥利亚罗非鱼均未发现相同的等位基因。7 个位点中, UNH995 扩增的等位基因数最多 (9 个), 而 UNH855 最少 (3 个), 详见表 2。

位点 UNH985、UNH871、UNH855 和 UNH735 在奥利亚罗非鱼群体表现为单态。图 1 为引物 UNH985 从尼罗罗非鱼和奥利亚罗非鱼群体中扩增的微卫星电泳图。

2.2 等位基因数量、杂合度、多态信息含量和杂合子偏离指数 (D)

尼罗罗非鱼群体的等位基因数量在 2~8 之间, 平均为 4 (表 3)。奥利亚罗非鱼群体的等位基因数量在 1~2 之间, 平均为 1.4。正交群体的等位基因数量在 3~9 之间, 平均为 5.3。反交群体的等位基因数量在 2~4 之间, 平均为 2.7。

尼罗罗非鱼群体的观测杂合度和期望杂合度分别在 0.250~0.688 和 0.222~0.866 之间, 平均为 0.505 和 0.622。奥利亚罗非鱼群体的观测杂合度和期望杂合度分别在 0.000~0.500 和 0.000~0.381 之间, 平均为 0.071 和 0.117。正交群体的观测杂合度和期望杂合度分别在 0.688~0.906 和 0.594~0.808 之间, 平均为 0.826 和 0.684。反交群体的观测杂合度和期望杂合度分别在 0.594~1.000 和 0.500~0.758 之间, 平均为 0.883 和 0.598。

尼罗罗非鱼群体的多态信息含量在 0.195~0.835 之间, 平均为 0.557。奥利亚罗非鱼群体的多态信息含量在 0.000~0.305 之间, 平均为 0.099。正交群体的多态信息含量在 0.502~0.774 之间, 平均为 0.590。反交群体的多态信息含量在 0.371~0.698 之间, 平均为 0.491。

尼罗罗非鱼群体的杂合子偏离指数 (D) 在 -0.458~0.126 之间, 平均为 0.146。奥利亚罗非鱼群体的杂合子偏离指数在 -1.000~0.312 之间, 平均为 -0.241。正交群体的杂合子偏离指数在 0.059~0.525 之间, 平均为 0.215。反交群体的杂合子偏离指数在 -0.112~0.969 之间, 平均为 0.522。

2.3 Hardy-Weinberg 平衡的 χ^2 检验

7 个位点中, 尼罗罗非鱼有 4 个位点偏离 Hardy-Weinberg ($P < 0.05$), 正交群体有 3 个, 反交群体有 6 个, 奥利亚罗非鱼有 6 个 (表 4)。其中只有位点 UNH846 在尼罗罗非鱼、正交和反交群体中均呈现 Hardy-Weinberg 平衡。

表 2 4 个罗非鱼群体 7 个微卫星位点的等位基因频率
Tab. 2 Allele frequencies at seven microsatellite loci among four stocks of tilapia

位点 Locus	等位基因 Allele	尼罗罗非鱼 <i>O. niloticus</i>	正交 <i>O. niloticus</i> ♀× <i>O. aureus</i> ♂	反交 <i>O. niloticus</i> ♂× <i>O. aureus</i> ♀	奥利亚罗非鱼 <i>O. aureus</i>
UNH985	A	0.109	0.016	0.140	0.000
	B	0.328	0.516	0.563	1.000
	C	0.438	0.375	0.297	0.000
	D	0.125	0.094	0.000	0.000
UNH871	A	0.000	0.387	0.452	1.000
	B	0.047	0.000	0.000	0.000
	C	0.313	0.323	0.258	0.000
	D	0.109	0.048	0.000	0.000
UNH995	E	0.406	0.177	0.000	0.000
	F	0.125	0.065	0.290	0.000
	A	0.000	0.375	0.200	0.750
	B	0.125	0.172	0.283	0.250
UNH855	C	0.109	0.063	0.283	0.000
	D	0.094	0.109	0.000	0.000
	E	0.094	0.016	0.000	0.000
	F	0.219	0.047	0.234	0.000
UNH1007	G	0.172	0.094	0.000	0.000
	H	0.153	0.063	0.000	0.000
	I	0.031	0.063	0.000	0.000
	A	0.000	0.469	0.562	1.000
UNH846	B	0.125	0.281	0.000	0.000
	C	0.875	0.250	0.438	0.000
	A	0.000	0.063	0.000	0.156
	B	0.000	0.438	0.500	0.844
UNH735	C	0.125	0.063	0.000	0.000
	D	0.500	0.125	0.500	0.000
	E	0.375	0.313	0.000	0.000
	A	0.000	0.141	0.000	0.094
UNH846	B	0.000	0.031	0.281	0.906
	C	0.344	0.484	0.406	0.000
	D	0.188	0.078	0.000	0.000
	E	0.469	0.266	0.313	0.000
UNH735	A	0.156	0.094	0.500	0.000
	B	0.359	0.063	0.000	0.000
	C	0.484	0.094	0.000	0.000
	D	0.000	0.578	0.500	1.000
UNH735	E	0.000	0.094	0.000	0.000
	F	0.000	0.078	0.000	0.000

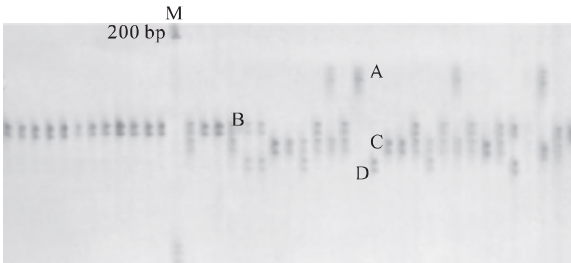


图 1 引物 UNH985 从尼罗罗非鱼 (M 右边) 和奥利亚罗非鱼 (M 左边) 群体中扩增的微卫星等位基因
A、B、C、D: 等位基因; M: 100 bp DNA 分子量标准

Fig.1 Alleles at locus UNH 985 amplified in *O. niloticus* (right of M) and *O. aureus* (left of M) cultured stocks
A, B, C, D: alleles; M: 100 bp DNA molecular weight marker

表 3 罗非鱼养殖群体在 7 个微卫星位点的遗传变异
Tab. 3 Genetic variability of four cultured tilapia stocks at seven microsatellite loci

位点 Locus	参数 Parameter	尼罗罗非鱼 <i>O. niloticus</i>	正交 <i>O. niloticus</i> ♀× <i>O. aureus</i> ♂	反交 <i>O. niloticus</i> ♂× <i>O. aureus</i> ♀	奥利亚罗非鱼 <i>O. aureus</i>
UNH985	<i>A</i>	4	4	3	1
	<i>H_o</i>	0.688	0.906	0.875	0.000
	<i>H_e</i>	0.684	0.594	0.585	0.000
	PIC	0.615	0.502	0.504	0.000
	<i>D</i>	0.006	0.525	0.496	0.000
UNH871	<i>A</i>	5	5	3	1
	<i>H_o</i>	0.563	0.903	0.936	0.000
	<i>H_e</i>	0.719	0.720	0.656	0.000
	PIC	0.660	0.657	0.572	0.000
	<i>D</i>	-0.217	0.254	0.427	0.000
UNH995	<i>A</i>	8	9	4	2
	<i>H_o</i>	0.469	0.875	0.967	0.500
	<i>H_e</i>	0.866	0.808	0.758	0.381
	PIC	0.835	0.774	0.698	0.305
	<i>D</i>	-0.458	0.083	0.276	0.312
UNH855	<i>A</i>	2	3	2	1
	<i>H_o</i>	0.250	0.875	0.875	0.000
	<i>H_e</i>	0.222	0.649	0.500	0.000
	PIC	0.195	0.567	0.371	0.000
	<i>D</i>	0.126	0.348	0.750	0.000
UNH1007	<i>A</i>	3	5	2	2
	<i>H_o</i>	0.594	0.813	0.938	0.000
	<i>H_e</i>	0.603	0.699	0.508	0.268
	PIC	0.511	0.636	0.375	0.230
	<i>D</i>	-0.015	0.163	0.846	-1.000
UNH846	<i>A</i>	3	5	3	2
	<i>H_o</i>	0.563	0.719	0.594	0.000
	<i>H_e</i>	0.637	0.679	0.669	0.173
	PIC	0.551	0.618	0.584	0.158
	<i>D</i>	-0.116	0.059	-0.112	-1.000
UNH735	<i>A</i>	3	6	2	1
	<i>H_o</i>	0.406	0.688	1.000	0.000
	<i>H_e</i>	0.622	0.640	0.508	0.000
	PIC	0.534	0.377	0.375	0.000
	<i>D</i>	-0.347	0.075	0.969	0.000
平均 Average	<i>A</i>	4.0	5.3	2.7	1.4
	<i>H_o</i>	0.505	0.826	0.883	0.071
	<i>H_e</i>	0.622	0.684	0.598	0.117
	PIC	0.557	0.590	0.497	0.099
	<i>D</i>	-0.146	0.215	0.522	-0.241

注: *A*—等位基因数; *H_o* 观测杂合度; *H_e* 期望杂合度; PIC 多态信息含量; *D* 杂合子偏离指数

Note: *A* number of alleles; *H_o* observed heterozygosity; *H_e* expected heterozygosity; PIC polymorphism information content; *D* value of heterozygote deviation.

表 4 4 个罗非鱼养殖群体 Hardy-Weinberg 平衡的 χ^2 检验
Tab. 4 Chi-square values of four cultured tilapia stocks from Hardy-Weinberg equilibrium test

位点 Locus	尼罗罗非鱼 <i>O. niloticus</i>	正交群体 <i>O. niloticus</i> ♀ × <i>O. aureus</i> ♂	反交群体 <i>O. niloticus</i> ♂ × <i>O. aureus</i> ♀	奥利亚罗非鱼 <i>O. aureus</i>
UNH985	8.242	27.182*	18.600*	—
UNH871	32.019*	22.342*	20.362*	—
UNH995	91.426*	35.501	27.179*	3.298
UNH855	0.564	19.423*	18.600*	—
UNH1007	9.006*	14.423	23.625*	35.094*
UNH846	5.551	15.563	2.724	37.852*
UNH735	13.619*	18.684	31.000*	—

注：“—”表示该位点只有 1 个等位基因；“*”表示 $P<0.05$ 。
Note: “—” means there is only one allele at the locus; “*” means $P<0.05$.

2.4 遗传分化指数 (F_{ST})、遗传距离和聚类分析

两两群体间的遗传分化指数 (F_{ST}) 为 0.081 (正交与反交) - 0.610 (尼罗罗非鱼与奥利亚罗非鱼), 并且群体间分化显著 (表 5, 上三角)。尼罗罗非鱼和奥利亚罗非鱼群体间的遗传距离最大 (0.895), 正交群体与尼罗罗非鱼群体间的遗传距离最小 (0.169), 与奥利亚罗非鱼群体间的遗传距离

较大 (0.574), 而反交群体与尼罗罗非鱼和奥利亚罗非鱼群体间的遗传距离相近 (0.447 和 0.448) (表 5, 下三角)。UPGMA 系统树显示, 4 个罗非鱼群体形成两大分支, 一支由尼罗罗非鱼、正交和反交群体组成; 另一支由奥利亚罗非鱼群体单独组成 (图 2)。

表 5 罗非鱼群体间的遗传距离 (对角线下方) 及两两群体的遗传分化指数 (对角线上方)
Tab. 5 Nei's genetic distance (below diagonal) and pairwise F_{ST} (above diagonal) among four stocks of tilapia

群体 Stock	1	2	3	4
1 尼罗罗非鱼 <i>O. niloticus</i>		0.610*	0.178*	0.214*
2 奥利亚罗非鱼 <i>O. aureus</i>	0.895		0.348*	0.379*
3 正交 <i>O. niloticus</i> ♀ × <i>O. aureus</i> ♂	0.169	0.574		0.081*
4 反交 <i>O. niloticus</i> ♂ × <i>O. aureus</i> ♀	0.447	0.448	0.321	

注：“*”表示 $P<0.01$ 。
Note: “*” means $P<0.01$.

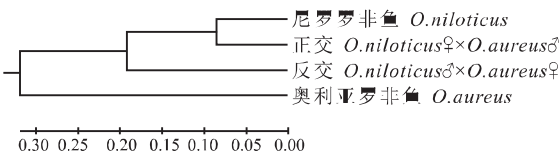


图 2 4 个罗非鱼群体的 UPGMA 系统树
Fig. 2 UPGMA tree of four stocks of tilapia

3 讨论

罗非鱼的养殖生产中主要是利用尼罗罗非鱼和奥利亚罗非鱼杂交生产全雄罗非鱼供养殖生产用。因为雄鱼生长比雌鱼快, 全雄鱼有利于提高罗非鱼的养殖产量。目前对杂交的雄性率关注较多, 而对杂交后代的遗传组成报道较少。对杂交后代

的遗传分析有利于理解杂交优势的根源, 从而为进一步提高杂交优势提供理论基础。本研究中, 从杂交群体和两个亲本群体的比较分析, 非常清楚地表明, 奥利亚罗非鱼亲本群体的绝大部分等位基因都同时贡献给了正、反杂交群体, 但尼罗罗非鱼群体只有 50% 左右的等位基因给了反交群体, 而把所有的等位基因都给了正交群体, 许玉德等^[5]的结果表明, 正交群体继承母本尼罗罗非鱼的全部乳酸脱氢酶同工酶带, 而只继承了父本奥利亚罗非鱼的某些乳酸脱氢酶带。因此正交群体的等位基因数量比两个亲本群体都高, 而反交群体处于两者之间。由于杂交群体的等位基因来源于两个亲本群体, 因此尼罗罗非鱼和奥利亚罗非鱼的等位基因如果不同, 则杂交群体的等位基因就会增加, 如果两者的不同

等位基因越多,则杂交群体增加的等位基因就越多,理论上杂交优势就越明显。因此可以选择等位基因不同的亲本配对,以尽最大可能提高杂交后代的等位基因数量,实现分子标记指导下的罗非鱼杂交制种。

除了等位基因数量外,杂交群体的观测杂合度、期望杂合度和多态信息含量都得到增加,其中反交群体的观测杂合度(0.883)比正交群体(0.826)还要高。杂合子偏离指数显示,尼罗罗非鱼($D=0.146$)和奥利亚罗非鱼(-0.241)群体存在少量的杂合子缺失,正交群体(0.215)和奥尼罗非鱼反交(0.522)群体存在杂合子过剩。尼罗罗非鱼和奥利亚罗非鱼群体出现杂合子缺失可能是因为引种群体小导致近交繁殖造成的。因此在尼罗罗非鱼和奥利亚罗非鱼的育种过程中要注意亲本的选择,尤其是奥利亚罗非鱼,尽量不要选单态位点多的亲本。等位基因数量、杂合度、多态信息含量等都表明,尼罗罗非鱼和正交群体拥有较丰富的多态性,而奥利亚罗非鱼和反交群体的多态性较小,其中正交群体的遗传多样性最高,反交群体处于两亲本之间。这一结果与夏德全等^[4]和许玉德等^[6]的研究结果相吻合。即杂交一代的基因组DNA产生了更为丰富的多态性,其基因杂合性增强。表明正交群体受母本的影响最大,其生长优势除了性别因素外,遗传因素可能也是重要原因之一。

Hardy-Weinberg平衡的卡方检测发现,在7个位点中,正交群体偏离平衡的位点较少,只有3个位点,而反交群体和两个亲本群体大部分位点均偏离Hardy-Weinberg平衡($P < 0.05$),表明引进的罗非鱼群体可能存在建立者效应(Founder effect)引起的遗传漂变(Genetic drift)现象,也可能与其繁殖特性有关。罗非鱼具有配对繁殖、口含孵化的特性,可能会出现选型交配(Assortative mating)的情况,造成等位基因频率的改变。由于正交群体的等位基因来源于两亲本群体,因此偏离平衡的位点较少,而反交群体的等位基因主要来源于奥利亚罗非鱼群体,相当于发生了遗传漂变,因此偏离平衡的位点较多(6/7)。两两群体间的遗传分化指数(F_{ST} : 0.081~0.610, $P < 0.01$)表明,群体之间的遗传分化极大^[15]。表明正、反交群体与两亲本的遗传结构有明显的不同。群体间的遗传距离以及UPGMA系统树的结果表明,正交群体与尼罗罗非鱼有较近的亲缘关系,而奥利亚罗非鱼与其他3个罗非鱼群体

的亲缘关系较远,与等位基因分析结果相符。这与夏德全等^[4]的观点不同,即正交群体在遗传关系上介于尼罗罗非鱼和奥利亚罗非鱼亲代之间,不表现出明显的倾向性。

本研究中正交群体在位点UNH735出现了2个亲本群体未检测到的等位基因,可能是由于两亲本群体并非杂交群体的直接亲本的缘故,也有可能是非特异性扩增所致。具体原因有待进一步分析。

参考文献:

- [1] 李家乐,李思发,李勇,等. 尼奥鱼[尼罗罗非鱼(♀)×奥利亚罗非鱼(♂)]同其亲本的形态和判别[J]. 水产学报, 1999, 23(3): 261-265.
- [2] 王楚松,夏德全,胡玫,等. 奥尼鱼(*S. niloticus* ♀×*S. aureus* ♂)杂种优势利用的研究[J]. 淡水渔业, 1989, 6(13): 14-15.
- [3] 李家乐,李晨虹,李思发,等. 不同组合尼罗罗非鱼(♀)×奥利亚罗非鱼(♂)养殖性能差异研究[J]. 上海水产大学学报, 1997, 6(2): 96-101.
- [4] 夏德全,曹莹,杨弘,等. 罗非鱼杂交 F_1 代与亲本的遗传关系及其杂种优势的利用[J]. 中国水产科学, 1999, 6(4): 29-32.
- [5] 许玉德,钟建兴,郑森林,等. 单性罗非鱼及其亲本精巢的组织学和LDH同工酶的比较[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 1999, 38(4): 628-632.
- [6] 许玉德,许莉,钟建兴. 杂交一代(尼罗罗非鱼♀×奥利亚罗非鱼♂)及其亲本基因组DNA的比较[J]. 水产学报, 2001, 25(1): 16-19.
- [7] Liu Z J, Cordes J F. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics[J]. Aquaculture, 2004, 238(1): 1-37.
- [8] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual (second edition) [M]. Plainview, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989: 954-955.
- [9] Carleton K L, Streelman J T, Lee B Y, et al. Rapid isolation of CA microsatellites from the tilapia genome[J]. Animal Genetics, 2002, 33(2): 140-144.
- [10] 王小玉,喻达辉,黄桂菊,等. 合浦珠母贝印度家系 F_1 代的AFLP分析[J]. 中国水产科学, 2007, 14(1): 52-58.
- [11] Yeh F C, Boyle T J B. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits [J]. Belg J Bot, 1997, 129(2): 157.
- [12] Botstein D, White R L, Skolnick M. Construction of a ge-

- netic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. *Am J Hum Genet*, 1980, 32(3): 314-331.
- [13] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin ver.3.0: An integrated software package for population genetics data analysis [J]. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 2005, 1(1): 47-50.
- [14] Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA3: an integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment [J]. *Brief Bioinformatics*, 2004, 5(2): 150-163.
- [15] Wright S. *Evolution and the genetics of population, variability within and among natural populations* [M]. Chicago: The University of Chicago Press, 1978.

Genetic diversity of *Oreochromis niloticus*, *O. aureus* and their reciprocally-crossed hybrid stocks

LI Li-hao^{1,2}, YU Da-hui¹, HUANG Gui-ju¹, YE Wei³, DU Bo^{1,4}, FU Yun³, TONG Xin^{1,4}, GUO Yi-hui¹

(1.South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China; 2.Shanghai Ocean University, Shanghai 200090, China; 3.Guangdong National Elite Tilapia Farm, Guangzhou 511453, China; 4.Fisheries College, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Hybrid tilapias produced by cross of *Oreochromis niloticus* and *O. aureus* grow much faster than parental tilapias in culture pond due to mono-sex and thus have become the favorites of fish farmers. Yet genetic variation of hybrid tilapias is less investigated and the mechanism of fast growth is not completely understood. Therefore genetic diversity of *O. niloticus*, *O. aureus*, forward hybrid *O. niloticus*♀ × *O. aureus*♂ and reverse hybrid *O. niloticus*♂ × *O. aureus*♀ stocks was investigated in this study using seven microsatellite loci. Thirty-eight alleles in total were detected from 128 individuals among the four stocks. The average numbers of alleles for the four tilapias stocks were 4, 1.4, 5.3 and 2.7, respectively. The mean levels of observed heterozygosity were 0.505, 0.071, 0.826 and 0.883, respectively. The average levels of expected heterozygosity were 0.622, 0.117, 0.684 and 0.598, respectively. The averages of polymorphism information content were 0.557, 0.099, 0.590 and 0.497, respectively. *D* values for deviation of heterozygosity were -0.146, -0.241, 0.215 and 0.522, respectively. These observations suggested that forward hybrid stock had the highest level of genetic diversity, while *O. aureus* the lowest, and that *O. niloticus* and *O. aureus* exhibit slightly heterozygote deficiency, whereas the two hybrid stocks exhibit heterozygote excess. Chi-square tests showed that most loci in forward hybrid stock (4/7) are in Hardy-Weinberg equilibrium, whereas most loci in the other three stocks deviate, suggesting occurrence of genetic drift possible due to founder effect. Genetic differentiation was significant among the stocks as revealed by random permutation test (pairwise F_{ST} 0.081-0.610, $P < 0.01$). An UPGMA tree demonstrated that forward hybrid stock is genetically near to Nile tilapia stock. These observations suggested that genetic diversity of forward hybrid stock gets more contributions from parental stocks than reverse hybrid stock and the growth dominance is not only influenced by sexuality but also possibly by added genetic diversity. [*Journal of Fishery Sciences of China*, 2008, 15(4): 585-592]

Key words: hybrid tilapia; genetic diversity; genetic differentiation; microsatellite DNA

Corresponding author: YU Da-hui. E-mail: pearlydh@163.com