

半滑舌鳎生长相关基因的微卫星及其在种群遗传结构分析中的应用

马 骞^{1,2} 林 琳^{1,2} 柳淑芳^{1*} 钟声平² 庄志猛¹ 苏永全² 唐启升¹

⁽¹⁾农业部海洋渔业可持续发展重点实验室, 山东省渔业资源与生态环境重点实验室

中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

⁽²⁾厦门大学海洋与环境学院 361005)

摘 要 利用在生长激素(GH)、生长激素释放激素(GHRH)和垂体腺苷酸环化酶激活多肽(PACAP)基因中发现的 7 个微卫星位点, 分析了半滑舌鳎两个野生群体(渤海群体和黄海群体)和 1 个养殖群体间以及各群体内雌雄个体间的遗传多态性差异。结果表明, 7 个位点中有 4 个位点表现出多态性, 在 3 个群体中的等位基因数的分布范围为 2~37, 平均为 9.5; 有效等位基因数分布范围为 2~28.9, 平均为 8.4。各位点的平均观测杂合度、平均期望杂合度和平均多态信息含量分布范围分别为 0.514 5~0.773 8、0.569 0~0.867 1 和 0.482 9~0.831 4。群体间的成对 F_{ST} 值及个体分配分析的结果表明, 半滑舌鳎野生群体和养殖群体之间存在显著性遗传差异, 而在两个野生群体之间差异不显著。此外, 等位基因分布和双倍体基因型分布的差异性检测结果表明, 这 4 个多态性位点在 3 个群体的雌、雄性性别间均不存在显著性差异。

关键词 半滑舌鳎 生长相关基因 微卫星分析 遗传多样性 雌雄差异

中图分类号 S965.335 S965.399 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2012)04-0018-08

Microsatellites in the growth-related genes of female and male Tongue sole *Cynoglossus semilaevis* and their application in the population genetic analysis

MA Qian^{1,2} LIN Lin^{1,2} LIU Shu-fang^{1*} ZHONG Sheng-ping²
ZHUANG Zhi-meng¹ SU Yong-quan² TANG Qi-sheng¹

⁽¹⁾Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Key Laboratory for Fishery Resources and Ecological Environment of Shandong, Yellow Sea Fisheries Research Institute,

Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

⁽²⁾ College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, 361005)

ABSTRACT Seven microsatellite loci were identified in the GH, GHRH and PACAP genes of *Cynoglossus semilaevis*, and were used as polymorphic markers to analyze the genetic diversi-

国家自然科学基金(30871913)、山东省泰山学者工程专项(2009.03-2014.02)和山东省自主创新成果转化重大专项(2009ZHZX1A1201)共同资助

* 通讯作者。E-mail: liusf@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2011-10-19; 接受日期: 2011-12-05

作者简介: 马 骞(1983-), 女, 博士, 主要从事渔业资源分子生态学研究。E-mail: maqian@ysfri.ac.cn, Tel: (0532)85836344

ty and genetic structure of two wild populations (BS and YS) and a cultured population (HS). The results revealed that no genetic polymorphism was detected in three loci out of seven. The numbers of alleles in the other four loci ranged from 2 to 37, with an average of 9.5, and the numbers of effective alleles ranged from 2 to 28.9, with an average of 8.4. The observed and expected heterozygosities ranged from 0.514 5 to 0.773 8 and from 0.569 0 to 0.867 1, respectively. The average polymorphism information content per locus ranged from 0.482 9 to 0.831 4. The results of pairwise F_{ST} and individual distribution analysis demonstrated that there was no significant difference between the wild populations, while significant differences were observed between the wild and the cultured populations. Moreover, based on the distribution of alleles and diploid genotypes, no significant difference was observed between female and male in any of the three populations.

KEY WORDS *Cynoglossus semilaevis* Growth related gene Microsatellite analysis
Genetic diversity Sexual difference

生长激素(Growth hormone, GH)、生长激素释放激素(Growth hormone release hormone, GHRH)和垂体腺苷酸环化酶激活多肽(Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide, PACAP)作为重要的神经内分泌因子,在鱼类个体生长的内分泌调控系统中具有十分重要的作用。GHRH和PACAP作为有效的GH释放因子,在垂体水平调节GH的分泌。而GH作为调节鱼体生长发育的主体激素,具有促进蛋白质合成及脂肪代谢(Emtner *et al.* 1990)、增加鱼类食欲和提高食物转化效率(Donaldson *et al.* 1979)、影响鱼类渗透压(Bolton *et al.* 1987)等生理功能。

鱼类GH、GHRH和PACAP基因存在丰富的多态性,并与生长性状存在一定的相关性。Kang等(2002)发现,不同体重褐牙鲆 *Paralichthys olivaceus* GH基因的单倍型和基因型频率存在显著的异质性。在红点鲑 *Salvelinus alpinus* 中,GHRH/PACAP2的1个特定的SNP等位基因与早期生长表现出显著的相关性(Tao *et al.* 2003)。迄今已经在多种硬骨鱼类如尖吻鲈 *Lates calcarifer* (Yue *et al.* 2001)和浅色黄姑鱼 *Nibea coibor* (Zhang *et al.* 2009)的GH基因非编码区发现微卫星序列。另有研究表明,位于GH基因启动子区的微卫星位点可以作为候选的遗传标记,可用于亲鱼培育和生长筛选(Almuly *et al.* 2005)。此外,在红点鲑(Stein *et al.* 2002)和尼罗罗非鱼 *Oreochromis niloticus* (Lee *et al.* 2003)中还检测到与性别连锁的微卫星标记。随后,在尼罗罗非鱼和虹鳟 *Salmo gaidnerii* 的GH基因上也发现了与性别连锁的微卫星标记(Blanck *et al.* 2009; Perry *et al.* 2005)。由此可以推断,位于生长相关功能基因中的微卫星位点很可能与生长性状和性别相关。

半滑舌鳎 *Cynoglossus semilaevis*, 属鲽形目Pleuronectiformes、舌鳎科Cynoglossidae、舌鳎属 *Cynoglossus*, 主要分布于渤海、黄海,是我国重要的名贵海水鱼类和理想的近海增养殖对象。但其同龄雌雄个体的大小和生长速度存在显著差异,雌鱼的生长速度是雄鱼的2~3倍。半滑舌鳎这种雌雄个体大小和生长速度的差异严重制约了其养殖产业化进程。通过对已克隆的半滑舌鳎GH、GHRH和PACAP基因进行序列分析,在其启动子和内含子区域发现了微卫星位点。因此本研究采集了渤海、黄海两个半滑舌鳎野生地理群体,与本实验室前期建立的全同胞家系一并分析,用于比较生长轴相关基因GH、GHRH和PACAP在不同群体间及群体内雌雄个体间的微卫星多态性差异,以期从种群水平探讨生长激素轴中关键神经内分泌因子的基因多态性与性别之间是否存在相关性,为探明半滑舌鳎个体发育的性别差异奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

两个半滑舌鳎野生群体于2007年分别采自渤海和黄海,渤海群体(BS)共70尾;黄海群体(YS)共61尾,

体重为 72.4~216.9 g。此外,选取一个养殖群体(HS)共 93 尾样品,系 2009 年取自本实验室构建的半滑舌鳎全同胞家系,体重为 0.9~8.6 g,其雌、雄亲鱼均为捕获于黄海的野生个体。上述群体样品取其背部肌肉保存于酒精,在-30℃冰箱保存。

1.2 方法

1.2.1 基因组总 DNA 的提取

使用酚/氯仿抽提方法提取半滑舌鳎肌肉组织的基因组 DNA(Sambrook *et al.* 1989)。利用 NanoVue™核酸定量仪(GE Healthcare)测定样品基因组 DNA 的浓度和纯度,并将其浓度稀释至 100 ng/ μ l,于-20℃保存备用。

1.2.2 遗传性别鉴定

利用雌性特异引物 CseF382N1 和 CseF382C1(Chen *et al.* 2007),采用 PCR 方法鉴定半滑舌鳎样品的遗传性别。PCR 扩增反应的体系及程序按上述文献中的优化条件,在 Veriti 96-well 热循环仪(ABI)上进行。PCR 产物经 1.5%琼脂糖凝胶电泳检测。扩增出 350 bp 雌性特异条带的个体,判定其遗传性别为雌,反之为雄。此外,利用另一对在雌、雄个体均可扩增出特异性条带的引物检验上述结果的准确性(未发表)。

1.2.3 引物设计及微卫星分析

如表 1 所示,在半滑舌鳎 GH、GHRH 及 PACAP 基因启动子及内含子区域发现 7 个微卫星多态性位点,在其两端保守区设计引物用于微卫星片段的扩增。PCR 扩增反应体系 15 μ l,包括 0.3 U Taq 酶(Promega),2.5 mmol/L dNTPs 1.2 μ l,25 mmol/L MgCl₂ 1.2 μ l,10× Taq Buffer 1.5 μ l,20 μ mol/L 的引物各 0.6 μ l,模板 DNA 0.5 μ l,最后加灭菌 ddH₂O 补至 15 μ l。反应程序:94℃预变性 5 min;94℃变性 45 s,55℃复性 45 s,72℃延伸 45 s,共 35 个循环;最后 72℃延伸 10 min。PCR 产物中加入等体积的甲酰胺变性剂,95℃变性 10 min,随后进行 6%聚丙烯酰胺凝胶电泳检测,银染后扫描保存图像。

1.2.4 数据分析

对照 DNA 片段长度标准 pBR322/MspI(Tiangen,北京)确定每个个体的基因型。使用 Genepop 4.0(Rousset *et al.* 2008)统计各群体的等位基因数(A)和基因丰富度(R_S),计算各群体的表观杂合度(H_O)、期望杂合度(H_E)和多态信息含量(PIC),进行“哈迪·温伯格”(Hardy-Weinberg)平衡测试和成对标记间连锁不平衡检验,并利用“exact G test”分别检测半滑舌鳎各群体内雌雄个体组之间等位基因分布和双倍体基因型分布的差异;使用顺序 Bonferroni 法(Sequential Bonferroni method)(Rice *et al.* 1989)校正本研究中所有多元统计的 P 值;使用软件 Arlequin 3.5(Excoffier *et al.* 2010)计算各群体间的固定指数(F_{ST})(Weir *et al.* 1984)。使用软件 Structure 2.3.3 探索种群遗传结构并进行个体分配分析(Pritchard *et al.* 2000)。

2 结果与分析

2.1 群体的遗传多样性

本研究选取的 7 个微卫星位点均位于生长轴神经内分泌因子基因组序列中,其在基因中的具体位置见表 1。利用这些在基因启动子和内含子区域中检测到的微卫星位点分析半滑舌鳎野生群体和养殖群体的遗传多样性。7 个位点中,有 3 个位点在 3 个群体中均呈单态,其余 4 个位点(GH-SSR1、GH-SSR2、GHRH-SSR2 和 PACAP-SSR)均显示出了不同水平的多态性。其中,GH-SSR1 位点的多态性最高。4 个多态性微卫星位点中共检测到 60 个等位基因,GH-SSR1 位点检测到的等位基因最多,为 37 个;而 PACAP-SSR 检测到的等位基因最少,仅为 5 个等位基因。

如表 2 所示,4 个位点在 3 个群体中的等位基因数(A)的范围为 2~37,平均等位基因数为 9.5;有效等位基因数范围为 2~28.9,平均有效等位基因数为 8.4。所有位点的有效等位基因数均小于或等于观察到的等位基因数。此外,观测杂合度(H_O)的范围为 0.427 0~0.885 2,平均值为 0.608 6;期望杂合度(H_E)的范围为 0.502 3~0.969 4,平均值为 0.671 9。各位点的平均多态信息含量(PIC)的范围为 0.374 7~0.960 1,平均值

为 0.602 8。根据 Bostein 等(1980)的分类标准, PACAP-SSR 位点属于中度多态位点($0.25 < PIC < 0.5$), 而其余 3 个位点均为高度多态位点($PIC > 0.5$)。各位点在野生群体中的 A_s 、 R_s 、 H_o 、 H_e 和 PIC 均高于养殖群体。Hardy-Weinberg 平衡检验结果表明, GH-SSR1、GHRH-SSR2 和 PACAP-SSR 3 个位点在养殖群体中的 P 值均小于 0.012 5, 说明在养殖群体中上述 3 个位点显著偏离“哈迪·温伯格”平衡, 而 4 个多态性位点在野生群体中均通过“哈迪·温伯格”平衡检测。

表 1 7 对微卫星引物的序列及退火温度

Table 1 Sequence and their specific annealing temperature of seven pairs of microsatellite primers

微卫星位点 Locus	重复序列 Repeat motif	基因 Gene	位置 Location	退火温度(°C) Annealing temperature	引物序列 Primer sequences(5'-3')
GH-SSR1	(TAGA) ₃₀	GH	第二内含子	55	F: TTTATTTTACATTAGCTGAGAC R: GTGCTGATGTGAACCTGTAT
GH-SSR1	(TG) ₁₂	GH	第二内含子	55	F: ACATACAAGTTCACATCAGCAC R: TTGTTGTCGGGGATGATA
GHRH-SSR1	(AT) ₅	GHRH	启动子区	53	F: TGTATGCCTAATTATCCTAAT R: GTCGTAACCTGATGTCTTTTTC
GHRH-SSR2	(AG) ₁₂	GHRH	启动子区	53	F: AGTAAATAGTTCACAGGCATAA R: TAGTCACTCCACATCACAT
GHRH-SSR3	(TC) ₅	GHRH	第一内含子	55	F: CCTTCTAATCCTCTCTATTTCCC R: AAGACAGAGTGATGAAGACAACC
GHRH-SSR4	(GA) ₇	GHRH	第二内含子	50	F: TTTCATAACCTTCACAAATCA R: AATGTCACCTCTGGTACAGCAC
PACAP-SSR	(ATT) ₆	PACAP	第三内含子	55	F: ATGACAGTTCGTGCAGGGTA R: TCACGCCACCAAACAACA

2.2 群体间的遗传分歧

计算各个群体对之间的 F_{ST} 值并对其进行显著性检验(表 3)。结果表明, 渤海和黄海群体间不存在显著性遗传差异($P = 0.833$), 而养殖群体与渤海、黄海群体间均存在显著性遗传差异($P < 0.001$), 并且差异的程度都很高(HS 和 BS 间 $F_{ST} = 0.240 8$, HS 和 YS 间 $F_{ST} = 0.255 4$)。

2.3 个体分配分析

由半滑舌鳎各群体的个体分配图(图 1)和个体分配表(表 4)的结果可见, 将种群数(K)设定为 2 时, 两个野生群体和养殖群体的分配图谱存在明显的差异, 而渤海和黄海野生群体之间不存在明显的差异。这一结果表明, 两个野生群体之间没有显著的遗传差异, 可以将其聚类为一个种群。

2.4 雌雄差异分析

遗传性别鉴定结果显示, 70 尾渤海野生群体样品中有 42 尾为雌性, 61 尾黄海野生群体样品中有 42 尾为雌性, 93 尾养殖群体样品中有 54 尾为雌性。根据上述性别鉴定结果, 人为地将 3 个群体各自划分为雌、雄两组, 并利用“exact G test”对每个群体两组数据的等位基因及双倍体基因型分布进行了差异分析。结果如表 5 所示, 基于等位基因分布的差异分析的 P 值范围在 0.067 4~1.000 0 之间, 而基于双倍体基因型分布的 P 值

范围在 0.058 6~1.000 0 之间,均未达到差异显著性分析中 $P>0.05$ 的标准。因此,4 个微卫星多态性位点在 3 个群体的雌雄性间均不存在显著差异。

表 2 4 个微卫星位点在 3 个半滑舌鲷群体中的分析结果

Table 2 The analysis of four microsatellite loci in three populations of *Cynoglossus semilacvis*

微卫星位点 Locus	群体 Sample	N	A	R _S	H _O	H _E	PIC	P
GH-SSR1	BS	70	37	28.9	0.885 2	0.969 4	0.960 1	0.019 6
	YS	61	28	28.0	0.827 6	0.965 5	0.946 5	0.033 8
	HS	93	3	3.0	0.608 7	0.666 5	0.587 7	0.000 0*
	平均 Average		23	20.0	0.773 8	0.867 1	0.831 4	
GH-SSR2	BS	70	6	5.8	0.660 0	0.686 7	0.629 5	0.303 8
	YS	61	6	5.7	0.456 5	0.608 2	0.526 3	0.101 7
	HS	93	2	2.0	0.427 0	0.502 3	0.374 7	0.203 8
	平均 Average		5	4.5	0.514 5	0.599 1	0.510 2	
GHRH-SSR2	BS	70	9	6.8	0.750 0	0.674 9	0.609 6	0.219 2
	YS	61	7	5.7	0.647 1	0.662 8	0.602 8	0.723 5
	HS	93	4	3.6	0.428 6	0.619 3	0.547 9	0.000 0*
	平均 Average		7	5.4	0.608 6	0.652 3	0.586 8	
PACAP-SSR	BS	70	5	4.8	0.655 7	0.603 7	0.520 2	0.035 7
	YS	61	4	3.9	0.525 0	0.575 0	0.474 1	0.312 3
	HS	93	3	3.0	0.431 2	0.528 2	0.454 5	0.002 1*
	平均 Average		4	3.9	0.537 3	0.569 0	0.482 9	

注: N 表示样本量, A 表示等位基因数, R_S 表示等位基因丰富度, N_E 表示有效等位基因数, H_O 表示表观测杂合度, H_E 表示期望杂合度, PIC 表示多态信息含量, P 表示“哈迪-温伯格平衡”检验 P 值(校正 P 值 = 0.012 5), * 表示位点背离“哈迪-温伯格平衡”

3 讨论

3.1 生长轴神经内分泌因子基因序列的多态性

鱼类 GH 基因的非编码区存在丰富的多态性,而其编码区具有较高的同源性。Gross 等(1995)首先在鲑科鱼类中检测到 GH 基因多态性,随后又在淡水鱼类欧白鱼 *Abramis brama* 中检测到多态性(Gross *et al.* 1996)。有报道, GH 基因可作为候选基因并已实际应用于遗传变异与多种生长数量性状间的相关性研究(DeSantis *et al.* 2007)。

在鱼类中, GH 及其相关基因的 DNA 多态性被指与体重等生长性状相关。Kang 等(2002)选取了 60 尾的褐牙鲈养殖群体样品,并根据体重将其分为 3 组,比较分析了其 GH 基因结构,发现在不同组别间 GH 基因在单倍型和基因型频率存在显著的异质性。此外, GHRH 多态性是影响菜牛产量的一种重要遗传因子(Cheong *et al.* 2006),并与猪平均日增重和脂肪厚度具有相关性。国内有关于鱼类 GH 基因微卫星多态性的研究报道较少。刘峰等(2009)对 3 种鳃属主要经济鱼类的 GH 基因进行了序列长度及微卫星多态性检测,并进一步确认了基因差异与生长性状之间存在联系。上述研究进一步证实了 GH 及其相关基因多态性在生长性状相关研究及标记辅助选育中的潜在功能(Franco *et al.* 2005)。

3.2 基于生长相关基因微卫星位点的群体遗传结构分析

迄今,已从半滑舌鳎 RAPD 扩增产物、cDNA 文库中筛选出大量微卫星位点(Liu *et al.* 2008a; Sha *et al.* 2010)。此外, Liao 等(2007)从半滑舌鳎基因组(GT)_n微卫星富集文库中获得 57 个微卫星位点并从中开发出 17 个多态性标记。Zhong 等(2009)开发了 12 个微卫星标记并在测试群体中对这些标记的种群遗传学属性进行了检测。结果表明,这些标记可以应用于种群遗传结构分析。尽管已获得大量微卫星标记,但利用这些微卫星位点分析半滑舌鳎种群遗传结构的研究却鲜有报道,仅见徐莹等(2011)利用微卫星标记分析半滑舌鳎养殖群体和减数分裂雌核发育群体的遗传多样性。

养殖群体由于有效群体大小的减小导致等位基因缺失,因而表现出较低的遗传多样性(Norris *et al.* 1999)。Liu 等(2008b)利用 ISSR 技术比较了半滑舌鳎 4 个野生群体(莱州、威海、日照和青岛)和 1 个养殖群体的遗传多样性。结果显示,养殖群体具有最低的遗传多样性水平,并且在 4 个野生群体中,两两群体之间大多存在显著的差异(Liu *et al.* 2008b)。本研究对 PACAP、GHRH 和 GH 3 个基因中获得的微卫星位点多态性的分析结果表明,在所有的位点中野生群体与从全同胞家系中采集的养殖群体相比,均具有较高的遗传多样性水平。尽管在野生群体和养殖群体之间存在显著的遗传差异,但野生群体之间未见显著的遗传差异。本研究选取渤海、黄海两个半滑舌鳎主要地理分布群体及一个养殖群体,保证每个群体足够的样本量,确保研究结果具有代表性和可信性。上述研究结果进一步补充了利用微卫星技术分析半滑舌鳎种群遗传结构的研究资料。

表 3 半滑舌鳎 3 个群体两两间 F_{ST} 值(对角线下)和对应的显著性检验 P 值(对角线上)

Table 3 F_{ST} values (the below diagonal) and significant P values (the upper diagonal) for the pairwise comparison of the samples of *C. semilaevis*

群体 Population	HS	BS	YS
HS	—	< 0.001***	< 0.001***
BS	0.240 8	—	0.833 3
YS	0.255 4	0.001 8	—

注:***表示群体间的差异极显著

Note:*** means significant difference between populations

表 4 半滑舌鳎 3 个群体在两个假设种群($K=2$)中的个体分配百分比
Table 4 Percentages of three *C. semilaevis* sole populations in two hypothetical populations

群体 Population	假定种群 1 Hypothetical population 1 (%)	假定种群 2 Hypothetical population 2 (%)	样本量 Number of individuals
BS	0.011	0.989	70
YS	0.017	0.983	61
HS	0.982	0.018	93

表 5 半滑舌鳎群体内雌雄个体组间等位基因分布和双倍体基因型分布的差异检测

Table 5 P values of the difference between female and male *C. semilaevis* based on the distribution of alleles and diploid genotypes

群体 Population	雌雄差异分析的 P 值 P values of the difference between female and male					
	GH-SSR1	GH-SSR2	GHRH-SSR2	PACAP-SSR	Global	
等位基因分布 Allele distribution	BS	0.511 3	0.624 7	0.067 4	0.1483	0.175 7
	YS	0.206 6	0.788 8	0.624 9	0.285 6	0.530 6
	HS	0.167 1	1.000 0	0.164 2	0.806 2	0.165 7
双倍体基因型分布 Diploid genotype distribution	BS	0.609 6	0.633 7	0.058 6	0.170 8	0.195 9
	YS	N/A	0.812 7	0.632 6	0.350 2	0.755 3
	HS	0.217 4	1.000 0	0.082 1	0.749 3	0.216 8

3.3 基于生长相关基因微卫星位点的性别关联分析

有研究表明,在鲑鱼中发现了雄性特异的 GH 基因和假基因(Du *et al.* 1993; Devlin *et al.* 2001)。此外,在红点鲑和尼罗罗非鱼中均检测到与性别连锁的微卫星标记(Stein *et al.* 1993; Lee *et al.* 2001)。本研究分析了生长轴相关基因的微卫星多态性在性别之间的差异,结果表明,在检测的半滑舌鲷 3 个群体的雌雄个体之间没有显著的遗传差异,即 GH 及相关基因的微卫星多态性与性别无显著相关性。迄今为止,未见生长相关基因的微卫星多态性与性别相关的报道。

为了验证在半滑舌鲷 GH、GHRH 和 PACAP 基因中检测到的多态性微卫星位点是否与性别存在关联,本研究选取了两个主要地理分布群体及一个养殖群体进行多态性分析,以期探讨雌雄性别间的多态性差异,获得与性别相关的微卫星标记,但并未获得预期结果。推测其原因,可能是由于本研究利用特异性分子标记鉴定遗传性别,而在半滑舌鲷发育过程中,其性别决定除了受遗传因素影响外,还受到温度等各种外部环境因素及种群内部因素的影响。即具有雌性特异标记的个体也可发育为雄性表型(邓思平等 2007)。因此,这种性别表型的变化对核苷酸多态性的雌雄差异分析造成了一定的影响。但本研究对研究半滑舌鲷的生长的性别二态性的调控机制仍具有重要的意义,另外,得到的微卫星标记也可作为检验半滑舌鲷种群遗传结构的有效标记。

GH 相关基因在鱼类生长调控中具有重要作用。此外,Almuly 等(2008)发现 GH 基因第一内含子中的小卫星位点在调控 GH 基因表达方面发挥了重要的作用。因此,进一步开展 GH 及相关基因微卫星多态性与生长性状的相关性研究,并分析这些微卫星位点在基因表达调控中的作用,对于从种群水平探讨雌、雄半滑舌鲷生长速度差异悬殊的特殊发育模式具有十分重要的作用。

参 考 文 献

- 邓思平, 陈松林, 田永胜, 刘本伟, 庄志猛, 王清印, 邓 寒. 2007, 半滑舌鲷的性腺分化和温度对性别决定的影响. 中国水产科学, 14(5):714~719
- 刘 峰, 鲁双庆, 刘 臻, 谢新民, 唐建洲, 匡刚桥. 2009, 三种鳊鱼(*Siniperca*)生长激素基因内含子多态性的比较研究. 海洋与湖沼, 40(4):470~478
- 孟田湘, 任胜民. 1988. 渤海半滑舌鲷的年龄与生长. 海洋水产研究, 9:173~183
- 徐 营, 邵长伟, 邓 寒, 陈松林. 2011, 半滑舌鲷养殖群体和减数分裂雌核发育群体的微卫星标记遗传多样性分析. 渔业科学进展, 32(4):14~19
- Almuly, R., Poleg-danin, Y., Gorshkov, S. *et al.* 2005. Characterization of the 5' flanking region of the growth hormone gene of the marine teleost, gilthead sea bream *Sparus aurata*: analysis of a polymorphic microsatellite in the proximal promoter. *Fisheries Science*, 71(3):479~490
- Almuly, R., Skopal, T., and Funkenstein, B. 2008. Regulatory regions in the promoter and first intron of *Sparus aurata* growth hormone gene: Repression of gene activity by a polymorphic minisatellite. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 3(1):43~50
- Blanck, D. V., Gasparino, E., Ribeiro, R. P. *et al.* 2009. Polymorphism in the GH1-PstI gene associated to corporal characteristics in Nile tilapia strains. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 44:599~604
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M. *et al.* 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32(3):314~331
- Bolton, J. P., Collie, N. L., Kawachi, H. *et al.* 1987. Osmoregulatory actions of growth hormone in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Endocrinology*, 112(1):63~68
- Chen, S. L., Li, J., Deng, S. P. *et al.* 2007. Isolation of female-specific AFLP markers and molecular identification of genetic sex in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). *Marine Biotechnology*, 9(2):273~280
- Cheong, H. S., Yoon, D. H., Kim, L. H. *et al.* 2006. Growth hormone-releasing hormone(GHRH) polymorphisms associated with carcass traits of meat in Korean cattle. *BMC Genetics*, 7(1):35

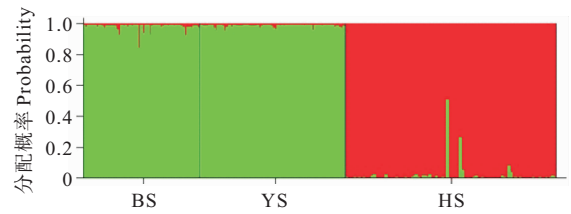


图1 半滑舌鲷 3 个群体的个体分配概率($K=2$)

Fig. 1 The probability that an individual belongs to one of two hypothetical populations

- De-Santis, C., and Jerry, D. R. 2007. Candidate growth genes in finfish-Where should we be looking? *Aquaculture*, 272(1-4):22~38
- Devlin, R. H., Biagi, C. A., and Smalilus, D. E. 2001. Genetic mapping of Y-chromosomal DNA markers in Pacific salmon. *Genetica*, 111(1):43~58
- Donaldson, E. M., Fagerlund, U. H. M., Higgs, D. A. *et al.* 1979. 9 Hormonal Enhancement of Growth. *Fish Physiology*, 8:455~597
- Du, S. J., Devlin, R. H., and Hew, C. L. 1993. Genomic structure of growth hormone genes in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*): presence of two functional genes, GH-I and GH-II, and a male-specific pseudogene, GH-4. *DNA and Cell Biology*, 12(8):739~751
- Emtner, M., Mathews, L. S., and Norstedt, G. 1990. Growth hormone (GH) stimulates protein synthesis in cells transfected with GH receptor complementary DNA. *Molecular Endocrinology*, 4(12):2 014~2 020
- Excoffier, L., and Lischer, H. E. L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3):564~567
- Franco, M. M., Antunes, R. C., Silva, H. D. *et al.* 2005. Association of PIT1, GH and GHRH polymorphisms with performance and carcass traits in Landrace pigs. *J. Appl. Genet.* 46(2):195~200
- Gross, R., and Nilsson, J. 1995. Application of heteroduplex analysis for detecting variation within the growth hormone 2 gene in *Salmo trutta* L. (brown trout). *Heredity*, 74(3):286~295
- Gross, R. 1996. Detection of allelic variation within the growth hormone gene in common bream using heteroduplex analysis. *Journal of Fish Biology*, 48(6):1 283~1 287
- Kang, J. H., Lee, S. J., Park, S. R. *et al.* 2002. DNA polymorphism in the growth hormone gene and its association with weight in olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fisheries Science*, 68(3):494~498
- Lee, B. Y., Penman, D. J., and Kocher, T. D. 2003. Identification of a sex-determining region in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using bulked segregant analysis. *Animal Genetics*, 34(5):379~383
- Liao, X. L., Shao, C. W., Tian, Y. S. *et al.* 2007. Polymorphic dinucleotide microsatellites in tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). *Molecular Ecology Notes*, 7(6): 1 147~1 149
- Liu, Y. G., Bao, B. L., Liu, L. X. *et al.* 2008a. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci from RAPD product in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) and a test of cross-species amplification. *Molecular Ecology Resources*, 8(1):202~204
- Liu, Y. G., Yu, Z. G., Bao, B. L. *et al.* 2008b. Population genetics studies of half-smooth tongue sole *Cynoglossus semilaevis* using ISSR markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36(11):821~827
- Norris, A. T., Bradley, D. G., and Cunningham, E. P. 1999. Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations. *Aquaculture*, 180(3-4):247~264
- Perry, G. M. L., Ferguson, M. M., Sakamoto, T. *et al.* 2005. Sex-linked quantitative trait loci for thermotolerance and length in the rainbow trout. *Journal of Heredity*, 96(2):97~107
- Pritchard, J. K., Stephens, M., and Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2):945~959
- Rice, W. R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, 43(1):223~225
- Rousset, F. 2008. GENEPOP007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8(1):103~106
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., and Maniatis, T. 1989. *Molecular cloning: A laboratory manual* 1-3. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sha, Z. X., Wang, S., Zhuang, Z. *et al.* 2010. Generation and analysis of 10 000 ESTs from the half-smooth tongue sole *Cynoglossus semilaevis* and identification of microsatellite and SNP markers. *Journal of Fish Biology*, 76(5):1 190~1 204
- Stein, J., Reed, K. M., Wilson, C. C. *et al.* 2002. A sex-linked microsatellite locus isolated from the Y chromosome of lake charr, *Salvelinus namaycush*. *Environmental Biology of Fishes*, 64(1):211~216
- Tao, W. J., and Boulding, E. G. 2003. Associations between single nucleotide polymorphisms in candidate genes and growth rate in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Heredity*, 91(1):60~69
- Weir, B. S., and Cockerham, C. C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38(6):1 358~1 370
- Yue, G., Li, Y., and Orban, L. 2001. Characterization of microsatellites in the IGF-2 and GH genes of Asian seabass (*Lates calcarifer*). *Marine Biotechnology*, 3(1):1~3
- Zhang, D., Shao, Y., Jiang, S. *et al.* 2009. *Nibeia coibor* growth hormone gene: Its phylogenetic significance, microsatellite variation and expression analysis. *General and Comparative Endocrinology*, 163(3):233~241
- Zhong, Q., Yu, Y., Zhang, Q. *et al.* 2009. Isolation and characterization of twenty novel microsatellite markers for half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). *Conservation Genetics*, 10(5):1 617~1 620