

吉 挺, 沈 芳, 孟祥金, 等. 太湖地区与皖南地区中华蜜蜂微卫星 DNA 遗传多样性分析[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(12): 21–25.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.12.006

太湖地区与皖南地区中华蜜蜂微卫星 DNA 遗传多样性分析

吉 挺¹, 沈 芳¹, 孟祥金², 王 帅¹, 李文明³

(1. 扬州大学动物科学与技术学院, 江苏扬州 225009; 2. 安徽省农业委员会, 安徽合肥 230001;

3. 江苏省苏州山町蜂产品有限公司, 江苏苏州 215000)

摘要:利用筛选后的 12 对荧光标记微卫星引物, 研究太湖地区与皖南山区中华蜜蜂(以下简称中蜂)间的遗传多样性并分析其遗传分化。研究检测判定了 60 个中蜂个体的基因型, 计算 2 个群体的优势等位基因频率(P_i)、期望杂合度(H_e)、多态信息含量(PIC)、群体内近交系数(F_{is}), 并分析中蜂群体内与群体间的遗传变异, 采取配对试验均数差异 t 检验比较太湖中蜂与皖南中蜂群体的遗传差异。结果表明, 太湖地区与皖南山区 2 个中蜂群体间的 P_i 、 H_e 、PIC、 F_{is} 差异均不显著($P_i = 0.356 > 0.05$, $P_{H_e} = 0.391 > 0.05$, $P_{PIC} = 0.260 > 0.05$, $P_{F_{is}} = 0.428 > 0.05$)。可见, 太湖地区与皖南地区两地中蜂群体存在一定的遗传多样性, 但遗传分化程度不大。本研究结果对江苏与安徽两地中华蜜蜂品种的选育和保护也具有一定的指导意义。

关键词:太湖地区; 皖南地区; 中华蜜蜂; 微卫星 DNA 标记; 遗传多样性

中图分类号: S891+.8 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)12-0021-05

中华蜜蜂(*Apis cerana cerana*)简称中蜂, 指分布于我国境内东方蜜蜂地理亚种的总称, 是我国特有的遗传资源, 家养历史悠久, 2006 年被列入国家畜禽保护名录中^[1]。江苏省自古以来是我国野生中蜂的聚居区, 也是最早引入新法饲养的地区之一^[2]。近几十年来, 由于西方蜜蜂大量引入及自然条件的破坏, 江苏省中蜂遗传资源已消失殆尽, 目前仅在环太湖地区略有分布, 种质资源保护迫在眉睫^[3]。同时, 随着近几年环太湖地区设施农业的快速发展, 蜜蜂授粉尤其是中蜂授粉的需求越来越多, 现有的中蜂资源已不能满足农业生产的需求。皖南地区地形复杂, 植被丰富, 适宜中蜂栖息, 中蜂资源十分丰富^[4], 而且皖南地区与太湖地区相隔较近, 没有任何地理隔离, 所以从皖南地区引入蜂群可能是解决太湖地区中蜂资源缺乏的有效方法。但是引入后是否会改变太湖地区原有中蜂的遗传结构, 继而对当地种质资源保护造成负面影响是该考虑的首要问题, 所以需要 2 个地区现有中蜂资源的遗传结构与遗传多样性进行比较分析。

微卫星是目前普遍使用的分子遗传标记, 具有多态性好、共显性、易于鉴定、检测重复性好、在基因组分布广泛等优点。联合国粮农组织(FAO)在其持续发展和管理动物遗传资源的战略计划中, 推荐将微卫星标记作为优先考虑的分析工具^[5-6]。近几年来, 微卫星标记已广泛应用于我国各地蜜蜂种质资源的分析中, 但是目前普遍采用聚丙烯酰胺电泳加放

射显影或银染的方法, 不仅费时费力效率低, 而且误差较大^[7-9]。本研究利用筛选后的 12 对荧光标记微卫星引物对太湖地区与皖南地区的中蜂进行遗传多样性比较和遗传分化分析, 旨在初步评价 2 个地区中蜂群体遗传结构的差异, 继而探讨江苏省太湖地区异地引入蜂群的可能性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

太湖地区中蜂(DS)来自于江苏省苏州市吴中区东山镇, 皖南山区中蜂(JX)来自于安徽省宣城市泾县山区, 每个地区各随机选取 30 群, 蜂群尽量以野生种群为主, 每群随机采集成年工蜂 10 只, 用无水乙醇溶液浸泡保存。中蜂群体的采集信息见表 1。

参照吉挺所建立的方法^[10]提取中蜂基因组 DNA, 用微量紫外可见光度计(NanoDrop ND-1000)测定其含量与纯度, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.2 微卫星引物的筛选及 PCR 条件的优化

根据笔者所在课题组对中华蜜蜂转录组测序结果^[11]所获得的 3 000 多个微卫星位点进行筛选, 每条染色体选择 2~3 对微卫星引物, 共初步选取 54 对微卫星引物, 送往上海生工生物工程有限公司合成。根据 GenBank 和相应文献提供的微卫星引物对所选 54 对引物进行优化, 进一步筛选出 30 对扩增效果较好的微卫星引物, 具体所选微卫星引物信息见表 2。

由于 PCR 反应中影响因素较多, 试验分别设计了以 DNA 模板浓度、 Mg^{2+} 浓度、Taq 酶用量、退火温度为因素的梯度试验, 最终确定 PCR 的反应体系: $10\times\text{Buffer}$ 2.0 μL , 25 mmol/L MgCl_2 1.0 μL , 10 mmol/L dNTPs 0.5 μL , 10 pmol/ μL 上游引物 1.0 μL , 10 pmol/ μL 下游引物 1.0 μL , 5 U/ μL Taq DNA 聚

收稿日期: 2014-09-01

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 31372382); 国家蜂产业技术体系项目(编号: CARS-45-SYZ6); 江苏省苏州市科技项目(编号: SNG201328)。

作者简介: 吉 挺(1974—), 男, 江苏东台人, 博士, 副教授, 研究方向为蜜蜂遗传资源调查分析和保护。E-mail: tj@yzu.edu.cn。

表 1 试验中蜂群体的采集信息

采集地点	采集群数	纬度	经度	海拔 (m)
江苏省苏州市吴中区东山镇	30	北纬 31°05'05"	东经 120°24'24"	17.3
安徽省宣城市泾县山区	30	北纬 30°41'06"	东经 118°24'46"	169.4

表 2 30 对微卫星引物信息

编码	引物名称	序列(5'→3')	重复单元	NCBI 登录名
A	27 - CL1650. Contig2F	AATAATTTTGGGTGACTGCAAAAG	(AT) ₆	NW_003378017.1
	27 - CL1650. Contig2R	TTGTGTTGCATCAACATACTTGTC		
B	28 - CL1650. Contig3F	TTGTGTTGCATCAACATACTTGTC	(AT) ₆	NW_003378017.1
	28 - CL1650. Contig3R	AATAATTTTGGGTGACTGCAAAAG		
C	31 - CL1157. Contig15F	TGATGCGAGATATAGGAGAGAGC	(TA) ₆	NW_003377892.1
	31 - CL1157. Contig15R	ATAATCCGGTCTCTTACACACCC		
D	36 - CL1121. Contig4F	TCGTGATCCGTTTCTCATTTTAT	(CG) ₈	NW_003378095.1
	36 - CL1121. Contig4R	CGATGATGTTGAGATTGTTTGTCT		
E	21 - CL1470. Contig3F	AACAAAGATTTTATGAGCGACGA	(GC) ₆	NW_003378059.1
	21 - CL1470. Contig3R	ACTCTCATCCTCTCTCACCCCTCT		
F	30 - CL182. Contig3F	CGATGCCTGGAAGACATTTAT	(GA) ₆	NW_003377986.1
	30 - CL182. Contig3R	ACGCGTTGATATACACGATTCTT		
G	34 - CL1470. Contig3F	GAGTGGAACAAGAACGAAAGAGA	(GA) ₇	NW_003378113.1
	34 - CL1470. Contig3R	CTCTCTGGATATTCCCTGGATTT		
H	41 - CL1470. Contig2F	GAAAAACGAGTGAAGAGCGAGT	(CTT) ₆	NW_003378085.1
	41 - CL1470. Contig2R	ACTTCTTCAGGGAGAGAGGGTCT		
I	24 - CL172. Contig54F	GTAATAAATTTGCGACGGTGTTC	(AT) ₇	NW_003378152.1
	24 - CL172. Contig54R	GTGCGAGATGGTGTGTTCTCT		
J	26 - CL1324. Contig2F	GGCATACTCTCTACTCGTTCCT	(TTG) ₇	NW_003378171.1
	26 - CL1324. Contig2R	GAGCGTTCTTGACGATGTGAC		
K	29 - CL1229. Contig33F	CACAAGGAGTTCTTTCTCGACAT	(AT) ₈	NW_003377929.1
	29 - CL1229. Contig33R	TTCCACCGTATTGGAATTGATTA		
L	33 - CL1360. Contig14F	AGTTCGACAGACCAAGCTGTAAG	(TG) ₆	NW_003378041.1
	33 - CL1360. Contig14R	CTTGTGCGAACATAGAACAAAGA		
M	1 - CL1229. Contig27F	ATTCTACGATACGGCACGTTACA	(AT) ₈	NW_003378122.1
	1 - CL1229. Contig27R	ATTGTGAGTGGGTACAGTTTCGT		
N	3 - CL1244. Contig6F	GGATTATTAGGACAACACTACAACTTGAAA	(AAT) ₆	NW_003378183.1
	3 - CL1244. Contig6R	CATGCTGTTTTATAAATCATTCCA		
O	5 - CL1306. Contig1F	CAAACACTGTTTCATCTCTCGTC	(TTC) ₅	NW_003378074.1
	5 - CL1306. Contig1R	AAACACGAAAAGACCGGATTC		
P	7 - CL1278. Contig1F	TGTGATAGAATCGTGTCTTTACG	(TG) ₇	NW_003378123.1
	7 - CL1278. Contig1R	GCCAATGTAATAACGATAGTCC		
Q	11 - CL133. Contig41F	AGAGGGGGAAGAAAAGAAAAGAA	(TCG) ₆	NW_003377943.1
	11 - CL133. Contig4R	GACCGGTTAATCACTGGTGTC		
R	14 - CL1549. Contig3F	CGTCCAAGTCTGTACTCCAGC	(CCG) ₅	NW_003378143.1
	14 - CL1549. Contig3R	AGTAAGTGACGAACACCGTATCG		
S	17 - CL1462. Contig5F	AACAAATAGGCCTCGTTAATGTTT	(AC) ₉	NW_003377909.1
	17 - CL1462. Contig5R	CGGCTGCTCTTTCTCTTTTTAT		
T	18 - CL1470. Contig3F	AATCGATAGACGATGAATTTGGA	(TAA) ₅	NW_003377909.1
	18 - CL1470. Contig3R	GGACGAAATGGATCAAAGTAAGA		
U	23 - CL172. Contig1F	TGATCTCGAATFCCCGTATAATC	(TA) ₆	NW_003378152.1
	23 - CL172. Contig1R	TATTTTGGCCAAGGTTTTATCC		
V	32 - CL1249. Contig1F	CCTTACCTTGTGCGAAACTTTAC	(AG) ₆	NW_003378056.1
	32 - CL1249. Contig1R	TTGGACTTGTCTCTTTGCTTTTC		
W	37 - CL1293. Contig1F	GATAGTTACACGCCGCTTAAATG	(AT) ₈	NW_003377999.1
	37 - CL1293. Contig1R	GATTACTAGATCCAGCGCACATC		
X	39 - CL308. Contig6F	TAGAGGTGGAAGGCAATTATCTG	(AT) ₆	NW_003377999.1
	39 - CL308. Contig6R	AAATTATGTGATTATTACAATGAGTACC		

续表 2

编码	引物名称	序列(5'→3')	重复单元	NCBI 登录名
Y	42 - CL1818. Contig4F	CTTTGCACTTGTTTCCATTTTCT	(AT) ₈	NW_003378078.1
	42 - CL1818. Contig4R	TTTTGTGTCGTCGTACAAGTTAAAA		
Z	43 - CL1228. Contig3F	TCTTGATATCACTCGTTAGTGGC	(AG) ₉	NW_003378088.1
	43 - CL1228. Contig3R	GTCCAAATCGTTCAGACTTCAAT		
α	45 - CL1540. Contig2F	ATTAAATTTTCGTTTCACCGATGG	(CG) ₈	NW_003378088.1
	45 - CL1540. Contig2R	GGATCATCGTTCAAGGATTTTCAC		
β	50 - CL1126. Contig1F	CATCCTTCGTTTTCTTCTGTGAT	(CG) ₈	NW_003378065.1
	50 - CL1126. Contig1R	AAAAATTTCTATGCGTCGTTTTCA		
γ	51 - CL1114. Contig15F	TCGAATGTTAGGATTTTCGTGAT	(CG) ₆	NW_003378039.1
	51 - CL1114. Contig15R	ATGCGAGTACGTGTGAATGTATG		
δ	53 - CL1392. Contig1F	CGAGAGTGTGAGAGAAAGGAGAG	(TA) ₉	NW_003377938.1
	53 - CL1392. Contig1R	TATGCTCCACAGAAATAGCCACT		

注:引物纯化方式为高亲和纯化(high affinity purification,HAP)。

合酶 0.2 μL,100 ng/μL DNA 模板 1.0 μL,超纯水 13.3 μL。PCR 扩增程序:95 ℃ 预变性 5 min;95 ℃ 变性 50 s,59 ~ 62 ℃ (因不同引物而异)退火 50 s,72 ℃ 延伸 50 s,30 个循环;72 ℃ 再延伸 10 min,4 ℃ 保存。

1.3 PCR 产物检测

配制 3% 琼脂糖凝胶,点样 6 μL,120 V 电泳 20 min,检查产物的有无。如有产物,配制 8% 聚丙烯酰胺凝胶 80 mL 体系,100 V 预电泳 5 min,点样 10 μL,120 V 电泳 3 h。进行硝酸银染色,直至出现清晰的等位基因条带。

1.4 荧光引物的筛选和组合

根据聚丙烯酰胺凝胶电泳的结果,尽量选择不同染色体上的标记,淘汰掉无法扩增以及无多态性的引物,最终选出相

对较理想的 12 对多态性较丰富的微卫星引物:7 - CL1278. Contig1 (P)、51 - CL1114. Contig1 (γ)、39 - CL308. Contig6 (X)、17 - CL1462. Contig5 (S)、18 - CL1470. Contig3 (T)、37 - CL1293. Contig1 (W)、29 - CL1229. Contig33 (K)、28 - CL1650. Contig3 (B)、33 - CL1360. Contig14 (L)、1 - CL1229. Contig27 (M)、14 - CL1549. Contig3 (R)、11 - CL133. Contig41 (Q)。每对引物的上游 5' 端分别用荧光染料 FAM(蓝色)、HEX(绿色)、TAMRA(黄色)进行标记,获得的荧光标记引物避光保存。按照微卫星引物的碱基长度进行组合,为了便于区分得精确一些,组合的引物长度至少相差 20 bp,获得的 5 个荧光标记微卫星引物组合信息见表 3。

表 3 荧光标记微卫星引物组合信息及反应条件

组合	编码	引物名称	基因名称	修饰	产物长度 (bp)	退火温度 (℃)	染色体位置
1	P	7 - CL1278. Contig1	<i>LOC410851</i>	FAM	159	59.5	LG2
	γ	51 - CL1114. Contig1	<i>Mblk - 1</i>	HEX	145	59.9	LG15
	X	39 - CL308. Contig6	<i>LOC412784</i>	TAMRA	114	57.5	LG9
2	S	17 - CL1462. Contig5	<i>complexin</i>	FAM	159	59.9	LG4
	T	18 - CL1470. Contig3	<i>LOC413936</i>	HEX	142	59.6	LG4
	W	37 - CL1293. Contig1	<i>LOC100749790</i>	TAMRA	89	60.1	LG9
3	K	29 - CL1229. Contig33	<i>LOC100870946</i>	FAM	156	60.1	LG7
	B	28 - CL1650. Contig3	<i>Vha16</i>	HEX	138	59.7	LG6
4	L	33 - CL1360. Contig14	<i>PMCA</i>	FAM	151	59.7	LG8
	M	1 - CL1229. Contig27	<i>LOC100870946</i>	HEX	137	60.3	LG1
5	R	14 - CL1549. Contig3	<i>RfC4</i>	FAM	150	60.2	LG3
	Q	11 - CL133. Contig41	<i>LOC100577278</i>	HEX	136	60.1	LG3

注:LG 即连锁群(linkage group),表示染色体位置。

1.5 荧光 PCR 产物 STR 分型

PCR 荧光产物 STR 分型送至上海生工生物工程有限公司进行,使用 ABI - 3730XL DNA Analyzer 全自动测序仪检测。上样的总体积为 13.5 μL,其中的上样液 Hi - Di Formamide 10 μL、GS - 500 Size Standard 0.5 μL,另外的 3 μL 为混合 PCR 产物。将 Hi - Di Formamide 和 GS - 500 Size Standard 混合均匀后与等量的同一个体的 PCR 产物进行混合,然后进行个体编号,依次加样到 96 孔板中,接着变性和检测。检测结束后,使用 GeneMapper 4.0 软件自动生成独立的

图谱文件,读取片段长度、峰值和峰面积,判断纯合子和杂合子(单峰为纯合子,双峰为杂合子),最后导出 Excel 数据表格。

1.6 遗传多样性分析公式

1.6.1 等位基因频率

$$P_i = (2n_{ii} + n_{ji} + n_{ji} + \cdots + n_{ji}) / (2N)$$

其中: P_i 为第 i 个等位基因频率; n_{ii} 为第 i 个等位基因纯合个数; j_n 为与 i 共显的第 n 个等位基因; n_{ij} 为含 i 与 j_n 共显的等位基因个体数; N 为群体中个体数。

1.6.2 杂合度

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^k P_i^2。$$

其中: k 为等位基因数; P_i 为第 i 个等位基因频率。

1.6.3 多态信息含量

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^k P_i^2 - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k 2P_i^2 P_j^2 = 2 \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k P_i P_j (1 - P_i P_j)。$$

其中: k 为等位基因数; P_i 为第 i 个等位基因频率; P_j 为第 j 个等位基因频率。

1.6.4 群体内近交系数

$$F_{is} = (H_o - H_e) / H_e。$$

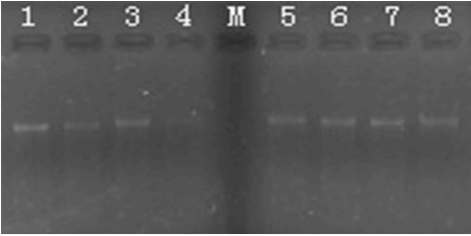
其中: H_o 为观察杂合度; H_e 为平均期望杂合度。

1.6.5 统计分析 利用 Microsatellite - Toolkit 软件根据 GeneMapper 4.0 软件导出的 Excel 表格来计算等位基因频率与期望杂合度,根据 Botstein 等的公式设计、计算群体的多态信息含量,再根据 FSTAT 程序计算群体内近交系数。

2 结果与分析

2.1 DNA 提取结果

DNA 提取出来以后,将其稀释到 100 ng/ μ L,部分琼脂糖凝胶用紫外透视成像系统检测,其结果如图 1 所示:纯度比较高,无拖尾现象。



1~4—太湖地区中蜂基因组; 5~8—皖南地区中蜂基因组; M—空白对照

图1 部分中蜂基因组DNA

2.2 荧光产物 STR 分型结果

使用 ABI - 3730XL DNA Analyzer 全自动测序仪进行检测扫描板,得到的部分微卫星引物的扩增结果与 STR 分型结果见图 2。图 2 所示的是太湖地区中蜂 DS01 个体在 B 位点的扩增结果,基因型为 132/134 (杂合子);皖南山区中蜂 JX03 个体在 T 位点的扩增结果,基因型为 132/132 (纯合子)。

2.3 太湖地区与皖南山区中蜂优势等位基因的比较

由表 4 可见,利用配对试验均数差异双尾 t 检验对 2 个群体优势等位基因频率进行处理,结果 $P_i = 0.356 > 0.05$,即太湖地区与皖南山区中蜂群体在这 12 对微卫星引物标记上检测出来的优势等位基因差异不显著。

2.4 群体间相关参数分析

由表 5 可知,太湖地区中蜂群体的 H_e 、 PIC 、 F_{is} 平均为 0.551、0.519、0.053,均略高于皖南山区中蜂群体 (0.473、0.423、0.125)。对 2 个群体的 H_e 、 PIC 、 F_{is} 进行 t 检验,结果显示,2 个群体的 3 个参数差异均不显著 ($P_{H_e} = 0.391$ 、 $P_{PIC} = 0.260$ 、 $P_{F_{is}} = 0.428$)。

3 结论与讨论

从 2006 年开始,陆续有研究者利用西方蜜蜂微卫星标记

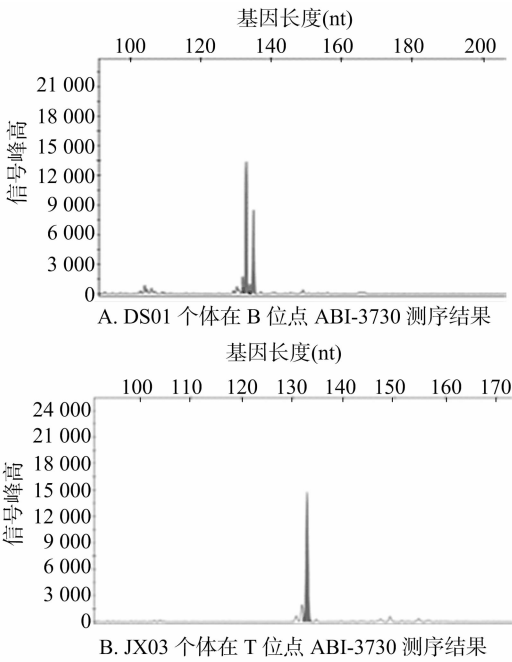


图2 部分个体在微卫星位点上的STR分型结果 (HEX标记)

表4 2个中蜂群体在12个微卫星位点的优势等位基因及其频率

位点	优势等位基因 (bp)	频率(%)	
		DS	JX
P	161	38.33	15.00
S	147	96.67	65.00
K	258	80.00	83.33
L	151	96.67	96.67
R	147	68.33	60.00
γ	139	23.33	40.00
T	132	36.67	63.33
B	132	25.00	100.00
M	147	85.00	78.33
Q	146	66.67	63.33
X	112	30.00	48.33
W	93	26.67	53.33

对我国中蜂遗传资源及遗传多样性进行分析,但普遍方法是在 PCR 扩增后采用聚丙烯酰胺电泳加放射显影或银染的方法,通过人为观察主观地对多态性条带进行分析,这种方法最令人质疑的在于很难将相邻近的 2 个条带准确区分开来,而造成判型误差^[7-8]。目前利用荧光引物扩增的微卫星位点具有较高的分辨率和灵敏度,对扩增产物在单碱基水平和表达量方面也具有较高的准确性。本试验利用 ABI 基因测序分析仪对荧光标记 DNA 片段进行检测,并利用分子量内标对 DNA 片段长度进行计算,使 2 个地区的中蜂 STR 分型方法较传统方法更精确,更能真实反映 2 个群体内的遗传多样性及群体间的遗传分化。

本研究在笔者所在课题组对中华蜜蜂转录组测序结果所获得的 3 000 多个微卫星位点基础上筛选出 12 个微卫星位点,尽量保证其在多条染色体或连锁群中都有分布,因此得出的数据有一定的代表性和可比性。群体中频率最高的等位基因是该物种中最原始、最保守的等位基因,其余等位基因是进化过程中由该等位基因突变形成的,因此微卫星的多态性能

表 5 2 个中蜂蜂群在 12 个微卫星位点的期望杂合度、多态信息含量、群体内近交系数的比较结果

位点	H_e		PIC		F_{is}	
	DS	JX	DS	JX	DS	JX
P	0.822 0	0.852 5	0.793 6	0.8192	0.192	0.023
S	0.066 1	0.484 7	0.064 0	0.391 4	-0.009	0.864
K	0.359 3	0.300 6	0.344 8	0.281 6	0.167	0.561
L	0.065 5	0.066 1	0.062 4	0.064 0	1.000	0.500
R	0.498 9	0.545 8	0.450 0	0.461 7	0.133	0.085
γ	0.787 0	0.748 0	0.742 4	0.696 8	0.112	0.065
T	0.659 9	0.524 9	0.579 7	0.449 3	0.550	-0.081
B	0.875 1	0.000 0	0.846 8	0.000 0	0.241	NA
M	0.269 5	0.358 2	0.246 9	0.310 3	0.011	-0.024
Q	0.529 4	0.541 2	0.488 8	0.478 2	0.184	-0.048
X	0.853 7	0.585 3	0.822 8	0.485 2	0.103	-0.730
W	0.828 2	0.674 6	0.789 6	0.632 5	0.320	0.262
平均值 \pm 标准差	0.551 \pm 0.087	0.473 \pm 0.074	0.519 \pm 0.084	0.423 \pm 0.069	0.250 \pm 0.080	0.123 \pm 0.115

注:NA 为无效分析,即该位点只有 1 种等位基因,分析 F_{is} 平均值时视为 0。

够反映物种的进化历史^[12]。本研究发现 2 个群体的优势等位基因频率间存在差异,但差异不显著($P_i = 0.356 > 0.05$),表明太湖地区中蜂群体(DS)与皖南地区(JX)各自维持着一定的种质特性,但两者之间遗传分化较小。这可能与这 2 个地区相隔距离较近、两者基因流动值较高有关,表明从皖南山区引入部分中蜂蜂群,扩大太湖地区中蜂种群数量,进行蜂蜜生产与授粉,不会对当地中蜂遗传资源产生较大影响。

多态信息含量是衡量基因片段多态性较好的指标,当 $PIC > 0.5$ 时,该座位为高度多态性座位;当 $0.25 < PIC \leq 0.5$ 时,为中度多态性座位;当 $PIC \leq 0.25$ 时,为低度多态性座位。同时,多态信息含量关系到该座位可用性与使用效率^[13],多态信息含量越大,说明在群体中的杂合子比例越大,提供的遗传信息就越高。本研究首次选用中蜂转录组测序结果所筛选的 12 个微卫星位点,其中有 5 个位点处于高度多态,4 个位点属于中度多态。2 个群体的 PIC 平均为 0.519、0.423,说明所选择的绝大部分微卫星能为分析遗传多样性提供信息。

期望杂合度别称基因多样性,是一个度量群体遗传变异的最适参数^[14]。本研究所选用的微卫星标记中,P、 γ 、T、R、Q、X、W 等 7 个标记有较高的多态性,群体遗传多样性丰富,具有较高的选择潜力;而 B 标记在 2 个群体间表现出完全不同的多态性,其在皖南山区中蜂群体中为纯合子,而在太湖地区群体中表现为高度多态($H_e = 0.8751$),今后可将其作为候选遗传标记区别 2 个地理群体。

本研究通过对太湖地区与皖南山区中蜂群体进行遗传多样性检测,对 2 个群体主要遗传参数进行比较,结果显示,2 个群体间的 H_e 、PIC、 F_{is} 差异均不显著,其中太湖地区中蜂群体的 H_e 、PIC 还略高于皖南山区,表明太湖地区中蜂遗传多样性仍较丰富,这可能与太湖地区蜜源植物资源丰富,适宜中蜂生存,同时该地区与种群数量较多的浙北和皖南山区没有明显的地理隔离,造成相互基因流动有一定的关系。这也说明在分析中蜂群体遗传多样性时,种群数量与其拥有的遗传多样性高低没有直接联系。

综上所述,本研究利用筛选后的 12 个微卫星 DNA 荧光标记分析了太湖地区与皖南山区中蜂群体的遗传多样性与群体间的差异,结果表明,2 个地理群体遗传多样性均较丰富,

具有较高的保种价值,且两者间遗传分化不明显,完全可能从皖南地区引入中蜂蜂群扩大太湖地区种群数量。

参考文献:

- [1] 国家畜禽遗传资源委员会组. 中国畜禽遗传资源志——蜜蜂志[M]. 北京:中国农业出版社,2011:2-20.
- [2] 吉挺,陈晶,殷灵,等. 江苏省野生及家养中华蜜蜂微卫星 DNA 遗传多样性分析[J]. 中国畜牧兽医,2007,34(12):39-41.
- [3] 何明. 江苏的中蜂资源亟待保护[J]. 蜜蜂杂志,2007,27(3):16.
- [4] 黄思思. 皖南山区中华蜜蜂遗传多样性研究[D]. 合肥:安徽农业大学,2011:1-5.
- [5] Crooijmans R P, Groen A F, van Kampen A J, et al. Microsatellite polymorphism in commercial broiler and layers lines estimated using pooled blood samples[J]. Poultry Science,1996,77(7):904-909.
- [6] Romanov M N, Weigend S. Genetic diversity in chicken populations based on microsatellite markers[C]//Proceedings of the Conference "From Jay Lush to Genomics: Visions for Animal Breeding and Genetics". 1999:17.
- [7] 徐新建,周妹娟,朱翔杰,等. 海南岛中华蜜蜂遗传多样性的微卫星 DNA 分析[J]. 昆虫学报,2013,56(5):554-560.
- [8] 于瀛龙,周妹娟,徐新建,等. 长白山中华蜜蜂(*Apis cerana cerana*)遗传多样性分析[J]. 福建农林大学学报:自然科学版,2013,42(6):643-647.
- [9] 陈晶,陈国宏,吉挺,等. 沂蒙山中华蜜蜂微卫星 DNA 遗传多样性分析[J]. 中国蜂业,2008,59(4):11-13.
- [10] 吉挺. 中国东方蜜蜂资源遗传多样性分析[D]. 扬州:扬州大学,2009:35-48.
- [11] 殷玲. 东方蜜蜂抗螨相关基因的筛选及初步验证[D]. 扬州:扬州大学,2013:31-32.
- [12] 张扬,黄正洋,陈阳,等. 采用微卫星 DNA 标记分析巢湖鸭异地小群保种效果[J]. 中国畜牧杂志,2012,48(11):7-11.
- [13] Vanhala T, Tuiskula - Haavisto M, Elo K, et al. Evaluation of genetic variability and genetic distances between eight chicken lines using microsatellite markers[J]. Poultry Science,1998,77(6):783-790.
- [14] Ott J. Analysis of human genetic linkage[M]. Baltimore: Johns Hopkins University Press,2001.