

DOI: 10.11964/jfc.20230714083

许氏平鲉和褐菖鲉全基因组微卫星分布规律及其比较分析

瞿才惠¹, 瞿印权¹, 贺艳², 赵祥³, 高天翔^{1*}

1. 浙江海洋大学水产学院, 浙江 舟山 316022; 2. 中国海洋大学海洋生命学院, 山东 青岛 266003; 3. 中国海洋大学水产学院, 山东 青岛 266003

第一作者: 瞿才惠, 从事渔业资源研究, E-mail: 1580357070@qq.com



摘要:

【目的】探究许氏平鲉和褐菖鲉全基因组中微卫星的分布规律。

【方法】使用 MISA 软件对许氏平鲉和褐菖鲉两种鱼类全基因组中完整型微卫星序列进行搜索和统计, 通过 Excel 软件制作图表, 对微卫星统计结果进行比较分析。

【结果】许氏平鲉基因组序列总长度为 848 024 649 bp, 序列总数为 741 条, 其中有 635 条序列含有 534 272 个微卫星位点, 微卫星序列总长度为 14 151 681 bp, 占基因组总长度的 1.67%, 平均每 1 587.25 bp 含有 1 个微卫星位点。不同重复类型微卫星表现为二碱基 (46.37%) > 单碱基 (30.97%) > 三碱基 (15.42%) > 四碱基 (5.7%) > 五碱基 (1.19%) > 六碱基 (0.35%)。褐菖鲉基因组序列总长度为 795 691 141 bp, 序列总数为 90 条, 其中有 77 条序列含有 571 370 个微卫星位点, 微卫星序列总长度为 15 854 826 bp, 占基因组总长度的 1.99%, 平均每 1 392.60 bp 含有 1 个微卫星位点。不同重复类型微卫星表现为二碱基 (47.63%) > 单碱基 (32.90%) > 三碱基 (13.63%) > 四碱基 (4.26%) > 五碱基 (1.04%) > 六碱基 (0.53%)。

【结论】许氏平鲉和褐菖鲉的不同重复类型微卫星表现相同。随着微卫星序列扩增长度的增加, 两种鱼类核苷酸出现的频次整体呈逐渐下降的趋势。本研究对许氏平鲉和褐菖鲉全基因组微卫星分布规律进行了比较分析, 为今后两种鱼类种群遗传结构和遗传多样性等研究奠定了基础。

关键词:许氏平鲉; 褐菖鲉; 全基因组; 微卫星; 特征分析

通信作者: 高天翔, 从事渔业资源及其种群遗传学研究。现任中国鱼类学会理事、全国水产标准化技术委员会海水养殖分技术委员会委员。主持完成国家自然科学基金项目6项, E-mail: gaotianxiang0611@163.com



资助项目: 国家自然科学基金 (32072966)

收稿日期: 2023-07-17

修回日期: 2023-10-17

文章编号: 1000-0615(2025)05-059103-12

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

作者声明本文无利益冲突

©《水产学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)
Copyright © Editorial Office of Journal of Fisheries of China (CC BY-NC-ND 4.0)

微卫星又称为简单重复序列 (SSRs), 一般由 1~6 个碱基串联重复而成, 广泛分布于真核生物和原核生物的基因组中^[1]。微卫星包括核心序列和侧翼序列两部分, 利用微卫星侧翼序列的保守性及核心序列的高突变性、拷贝丰富性设计引物, 对基因组 DNA 进行 PCR 扩增, 可探究物种内微卫星位点的多态性^[1-3]。微卫星具有杂合率高、共显性遗传等特点, 已被广泛应用于物种遗传多样性分析、亲缘关系鉴定^[4-5]、性别标记筛选及遗传图谱构建^[6-7]等研究。近年来, 已有关于瓦氏黄颡鱼 (*Pelteobagrus vachelli*)^[8]、草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)^[9]、斑点叉



尾鲷 (*Ictalurus punctatus*)^[10]、石斑鱼 (*Epinephelus* spp.)^[11] 及鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*)、鳙 (*Aristichthys nobilis*)^[12] 等鱼类全基因组微卫星序列的特征分析和标记开发研究。

许氏平鲷 (*Sebastes schlegelii*) 属鲷形目 (Scorpaeniformes) 平鲷科 (Sebastiae) 平鲷属 (*Sebastes*)^[13-14], 是一种冷温性近海底层经济鱼类, 在我国渤海、黄海和东海均有分布。秋天雄性许氏平鲷先成熟, 在自然海区 11 月前后交尾, 精子留在雌性体内, 待次年 3 月底卵成熟时受精, 胚胎发育在雌体内进行, 属于典型的卵胎生鱼类。利用分子生物学手段辅助许氏平鲷种质资源开发, 了解其种质资源状况是进行渔业资源保护、良种选育和增殖放流工作的重要技术基础^[15-19]。

褐菖鲷 (*Sebastes marmoratus*) 隶属鲷形目鲷科 (Scorpaenidae) 菖鲷属 (*Sebastes*)^[13-14], 是一种暖水性底层鱼类, 主要栖息于近海底层岩礁区; 主要分布于西北太平洋中部、南部沿海暖水地带, 在我国渤海、黄海、东海和南海均有分布, 是重要的广布型海洋经济鱼类; 繁殖方式为卵胎生, 体内受精^[16, 20-21]。与此同时, 褐菖鲷也被作为海洋水系生态环境的指示生物, 用于监测海域生态环境, 在生态系统中的物质循环和能量流动方面发挥着重要作用^[22]。

生物以 DNA 作为遗传信息的载体, 得到 DNA 序列信息有利于生命的探索。自 1990 年人类基因组计划推进以来, DNA 测序技术的发展速度迅猛, 生物研究进入了组学时代^[23]。本研究利用微卫星筛选软件 MISA^[24-26], 对许氏平鲷和褐菖鲷两种鱼类全基因组中的微卫星进行筛选并统计分析, 初步探究这两种鱼类基因组中微卫星的分布规律, 为进一步研究许氏平鲷和褐菖鲷全基因组的特征提供参考, 并为今后开展两种鱼类种质资源评估和遗传育种等工作奠定基础。

1 材料与方法

1.1 全基因组来源

许氏平鲷全基因组数据来自 NCBI Genome 数据库下载, 以 FASTA 格式文件保存 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Sebastes+schlegelii>)。褐菖鲷全基因组数据来自 NCBI

数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Sebastes+marmoratus>)。

1.2 数据分析

利用微卫星搜索软件 MISA(<http://pgrc.ipk-gatersleben.de/misa/>) 对许氏平鲷和褐菖鲷全基因组中完整型微卫星序列进行搜索和统计。MISA 工具 (MicroSatellite identification tool) 是一套开源的 perl 语言脚本, 用于高通量的微卫星位点搜索与引物设计, 并适用于 EST 和 RNA 测序序列 (RNA-seq)、文库核酸序列 (nucleotide) 及基因组测序片段 (genome) 等^[23]。MISA 软件具有运行指令较简单、运行耗时短以及可与多种工具联用等优点, 已成为大部分微卫星筛选及引物设计的首选工具^[24-25]。本研究统计标准设置为 MISA 默认参数, 经过前期研究可知, 以此标准搜索全基因组微卫星得出的结果最优^[27], 即单碱基重复序列最小拷贝数设置为 10, 二碱基重复序列最小拷贝数设置为 6, 三、四、五、六碱基重复序列最小拷贝数设置为 5。考虑碱基互补配对原则和碱基排列顺序的差异, 对聚为同一类型的微卫星进行兼并统计。

2 结果

2.1 微卫星位点的分布特点

利用 MISA 检测的许氏平鲷基因组序列总长度为 848 024 649 bp, 序列总数为 741 条, 其中有 635 条序列含有 534 272 个微卫星位点, 微卫星序列总长度为 14 151 681 bp, 占基因组总长度的 1.67%, 平均每 1 587.25 bp 含有 1 个微卫星位点 (表 1)。包含 1 个以上微卫星位点的序列有 584 条, 占发生微卫星位点序列的 91.97%。51 条序列包含 1 个微卫星位点, 占包含微卫星位点序列的 8.03%。所有微卫星位点中, 共包含 125 415 个复合型微卫星 (C 型微卫星), 占微卫星位点总数的 23.47%。褐菖鲷基因组序列总长度为 795 691 141 bp, 序列总数为 90 条, 其中有 77 条序列含有 571 370 个微卫星位点, 微卫星序列总长度为 15 854 826 bp, 占基因组总长度的 1.99%, 平均每 1 392.60 bp 含有 1 个微卫星位点 (表 1)。其中包含 1 个以上微卫星位点的序列有 74 条, 占发生微卫星位点序列的 96.10%; 3 条序列包含 1 个微卫星位点, 占包

表 1 两种鱼类的基因组 SSR 位点信息

检索项目 retrieval item	许氏平鲈 <i>S. schlegelii</i>	褐菖鲉 <i>S. marmoratus</i>
检测序列总数/个 total number of sequences examined	741	90
检测序列总长度/bp total size of examined sequences	848 024 649	795 691 141
检测到的SSRs总数/个 total number of identified SSRs	534 272	571 370
包含有SSR重复单元的序列 数/个 number of SSR containing sequences	635	77
包含1个以上的SSR的序列数/个 number of sequences containing more than 1 SSR	584	74
复合SSR数/个 number of SSRs present in compound formation	125 415	141 336
微卫星平均跨度/bp average distance of SSR	1 587.25	1 392.60

含微卫星位点序列的 3.70%。所有微卫星位点中共包含 141 336 个复合型微卫星 (C 型微卫星), 占微卫星位点总数的 24.73%。

2.2 微卫星重复类型

许氏平鲈基因组微卫星核苷酸重复基元种类丰富, 共存在 316 种类型, 重复基元的碱基变化为 1~6。单核苷酸数量共 165 455 个, 重复基元有 A/T 和 C/G 两种类型, 其中以 A/T 为主, 共有 152 749 个位点, 占单核苷酸重复基元的 92.32%。二核苷酸数量共 247 744 个, 重复基元有 AC/GT、AT/AT、AG/CT 和 CG/CG 四种类型, 其中以 AC/GT 为主, 有 147 630 个位点, 占二核苷酸重复基元的 59.59%; CG/CG 重复基元

最少, 仅有 179 个, 占二核苷酸重复基元的 0.72%。三核苷酸数量共 82 391 个, 重复基元共有 10 种类型, 其中以 AAT/ATT 为主要重复基元, 其位点数为 26 883 个, 占三核苷酸重复基元的 32.63%; ACG/CGT 重复基元最少, 仅有 274 个, 占三核苷酸重复基元的 0.33%。四核苷酸和五核苷酸重复类型较多, 分别有 33 种和 98 种重复类型, 但数目较少, 仅占总微卫星位点的 5.70% 和 1.19%。六核苷酸重复类型最多, 有 169 种, 但数目最少, 仅占总微卫星位点的 0.35% (表 2)。不同重复类型微卫星表现为二碱基 (46.37%) > 单碱基 (30.97%) > 三碱基 (15.42%) > 四碱基 (5.70%) > 五碱基 (1.19%) > 六碱基 (0.35%)。

褐菖鲉基因组微卫星核苷酸重复基元种类丰富, 共存在 308 种类型, 重复基元的碱基变化为 1~6。单核苷酸数量共 187 994 个, 重复基元有 A/T 和 C/G 两种类型, 其中以 A/T 为主, 共有 172 594 个位点, 占单核苷酸重复基元的 91.81%。二核苷酸数量共 272 148 个, 重复基元有 AC/GT、AT/AT、AG/CT 和 CG/CG 四种类型, 其中以 AC/GT 为主, 共有 157 437 个位点, 占二核苷酸重复基元的 57.85%; CG/CG 重复基元最少, 仅有 166 个, 占二核苷酸重复基元的 0.67%。三核苷酸数量共 82 391 个, 重复基元共有 10 种类型, 其中以 AAT/ATT 为主要重复基元, 其位点数为 25 347 个, 占三核苷酸重复基元的 32.54%; ACG/CGT 重复基元最少, 仅有 176 个, 占三核苷酸重复基元的 0.21%。四核苷酸和五核苷酸重复类型较多, 分别有 33 种和 95 种重复类型, 但数目较少, 仅占总微卫星位点的 4.26% 和 1.04%。六核苷酸重复类型最多, 有 164 种, 但数目最少, 仅占总微卫星

表 2 许氏平鲈基因组微卫星位点重复类型和重复次数的统计分析

微卫星类型 SSR type	数量 number	百分比/% percentage	种类 type	重复单元类型 repeat unit type	
				优势重复单元 advantage repeat unit	在该类中占比/% percentage in this type
单核苷酸 mono-nucleotide	165 455	30.97	2	A/T	92.32
二核苷酸 di-nucleotide	247 744	46.37	4	AC/GT	59.59
三核苷酸 tri-nucleotide	82 391	15.42	10	AAT/ATT	32.63
四核苷酸 tetra-nucleotide	30 428	5.70	33	ACAG/CTGT	27.48
五核苷酸 penta-nucleotide	6 371	1.19	98	AGAGG/CCTCT	20.28
六核苷酸 hexa-nucleotide	1 883	0.35	169	AACCCT/AGGGTT	21.14
总计 total	534 272	100	316		

位点的 0.53% (表 3)。不同重复类型微卫星表现为二碱基 (47.63%) > 单碱基 (32.90%) > 三碱基

(13.63%) > 四碱基 (4.26%) > 五碱基 (1.04%) > 六碱基 (0.53%)。

表 3 褐菖鲉基因组微卫星位点重复类型和重复次数的统计分析

Tab. 3 Statistical analysis of repeat types and repeat times of microsatellite loci in *S. marmoratus* genome

微卫星类型 SSR type	数量 number	百分比/% percentage	种类 types	重复单元类型 repeat unit type	
				优势重复单元 advantage repeat unit	在该类中占比/% percentages in this type
单核苷酸 mono-nucleotide	187 994	32.90	2	A/T	91.81
二核苷酸 di-nucleotide	272 148	47.63	4	AC/GT	57.85
三核苷酸 tri-nucleotide	77 888	13.63	10	AAT/ATT	32.54
四核苷酸 tetra-nucleotide	24 367	4.26	33	AGAT/ATCT	27.31
五核苷酸 penta-nucleotide	5 954	1.04	95	AGAGG/CCTCT	22.49
六核苷酸 hexa-nucleotide	3 019	0.53	164	AACCCT/AGGGTT	56.71
总计 total	571 370	100	308		

2.3 微卫星位点基元重复次数

从许氏平鲉核苷酸重复次数来看, 核苷酸基元重复次数主要集中在 5~17 次。其中重复次数为 6 的位点数量最多, 有 91 669 个, 占总数的 17.66%; 重复 5、7、8、9、10、11、12 次的微卫星位点分别有 48 668、54 053、34 229、23 745、78 822、46 319 和 31 230 个; 其他重复频率较少 (图 1)。单核苷酸重复次数主要集中在 10~13 次, 重复次数为 10 的位点数量最多, 有 60 732 个, 占单核苷酸总数的 36.71%; 重复 11、12、13 次的微卫星位点分别有 32 081 个 (19.39%)、19 507 个 (11.79%)、13 387 个 (8.09%)。二核苷酸重复次数主要集中在 6~12 次, 重复次数为 6 的位点数量最多, 有 65 885 个, 占二核苷酸总数的 26.59%; 重复 7、8、9、10、11、

12 次的微卫星位点分别有 38 633 个 (15.59%)、24 565 个 (9.92%)、17 289 个 (6.98%)、13 644 个 (5.51%)、11 154 个 (4.50%)、9 631 个 (3.89%)。三核苷酸重复基元主要集中在 5~10 次, 重复次数为 5 的位点数量最多, 有 32 429 个, 占三核苷酸总数的 39.36%; 重复 6、7、8、9、10 次的微卫星位点分别有 17 225 个 (20.91%)、10 596 个 (12.86%)、6 835 个 (8.30%)、4 575 个 (5.55%)、3 159 个 (3.83%)。四、五、六核苷酸重复次数主要集中在 5~8 次, 其他重复次数见表 2。

褐菖鲉核苷酸基元重复次数主要集中在 5~17 次, 其中重复次数为 6 的位点数量最多, 有 92 776 个, 占总数的 16.72%。重复 5、7、8、9、10、11、12 次的微卫星位点分别有 44 874、54 678、35 674、25 218、83 310、51 241 和 34 796 个, 其他重复频率较少 (图 1)。单核苷酸重复次

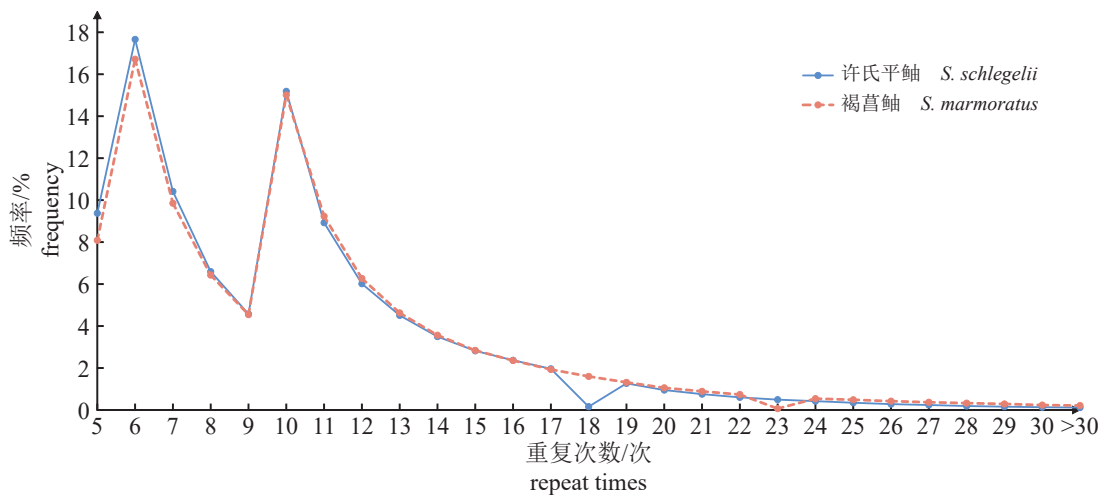


图 1 两种鱼类的基因组微卫星重复次数与频率的关系

Fig. 1 Relationship between microsatellite repeats and frequencies in the genomes of two fishes

数主要集中在 10~14 次, 重复次数为 10 的位点数量最多, 有 64 690 个, 占单核苷酸总数的 34.41%。重复 11、12、13、14 次的微卫星位点分别有 36 226 个 (19.27%)、22 550 个 (12%)、15 745 个 (8.38%) 和 11 125 个 (5.92%)。二核苷酸重复次数主要集中在 6~11 次, 重复次数为 6 的位点数量最多, 有 69 393 个, 占二核苷酸总数的 25.5%。重复 7、8、9、10、11 次的微卫星位点分别有 41 017 个 (15.07%)、26 813 个 (9.85%)、19 410 个 (7.13%)、14 682 个 (5.39%)、12 176 个 (4.47%)。三核苷酸重复基元主要集中在 5~9 次, 重复次数为 5 的位点数量最多, 有 30 829 个, 占三核苷酸总数的 39.58%。重复 6、7、8、9 次的微卫星位点分别有 16 668 个 (21.4%)、9 957 个 (12.78%)、6 592 个 (8.46%)、4 301 个 (5.52%)。四、五、六核苷酸重复次数主要集中在 5~6 次, 其他重复次数见表 3。

2.4 微卫星序列长度及变异分析

许氏平鲉微卫星序列长度分布于 10~392 bp, 平均长度为 34.59 bp。不同重复单元类型的微卫星序列长度具有多态性。随着微卫星序列长度的增加, 其出现的频次整体呈逐渐下降的趋势 (图 2)。二核苷酸重复基元最丰富, 共 144 648 个位点, 占总数的 42.23%, 平均长度为 23.93 bp。其次为单核苷酸重复, 有 139 066 个位点, 占总数的 40.60%, 平均长度为 12.32 bp。三核苷酸共有 41 076 个位点, 占总数的 11.99%, 平均长度为 20.54 bp。其他重复类型较少, 分别为四核苷酸重复 13 218 个 (3.86%), 五核苷酸重复 3 512 个 (1.03%), 六核苷酸重复 986 个

(0.29%) (图 3)。此外, 不考虑微卫星重复基元类型, 序列长度为 12 bp 的微卫星位点数量最多, 为 55 599 条, 占总位点数的 15.85%。其次为长度 10 bp 的位点, 为 51 301 条, 占总位点数的 14.62%。其他长度数量及所占频率见图 2。

褐菖鲉微卫星序列长度分布于 10~682 bp, 平均长度为 36.87 bp。不同重复单元类型的微卫星序列长度具有多态性。随着微卫星序列长度的增加, 其出现的频次整体呈逐渐下降的趋势 (图 2)。单核苷酸重复基元最丰富, 共 148 313 个位点, 占总数的 41.81%, 平均长度为 26.74 bp。其次为二核苷酸重复, 有 147 208 个位点, 占总数的 41.50%, 平均长度为 12.48 bp。三核苷酸共有 41 756 个位点, 占总数的 11.77%, 平均长度为 20.62 bp。其他重复类型较少, 分别为四核苷酸重复 12 855 个 (3.62%), 五核苷酸重复 3 557 个 (1.00%), 六核苷酸重复 1 024 个 (0.29%) (图 4)。此外, 不考虑微卫星重复基元类型, 序列长度为 12 bp 的微卫星位点数量最多, 为 55 942 条, 占总位点数的 15.66%; 其次为长度 10 bp 的位点, 为 51 744 条, 占总位点数的 14.49%。其他长度数量及所占频率见图 2。

3 讨论

3.1 许氏平鲉和褐菖鲉微卫星在全基因组中的含量比较

以许氏平鲉和褐菖鲉全基因组为基础, 对基因组中 1~6 碱基重复完整型微卫星进行统计分析。许氏平鲉基因组序列总长度 (848 024 649 bp) 大于褐菖鲉 (795 691 141 bp), 微卫星位点

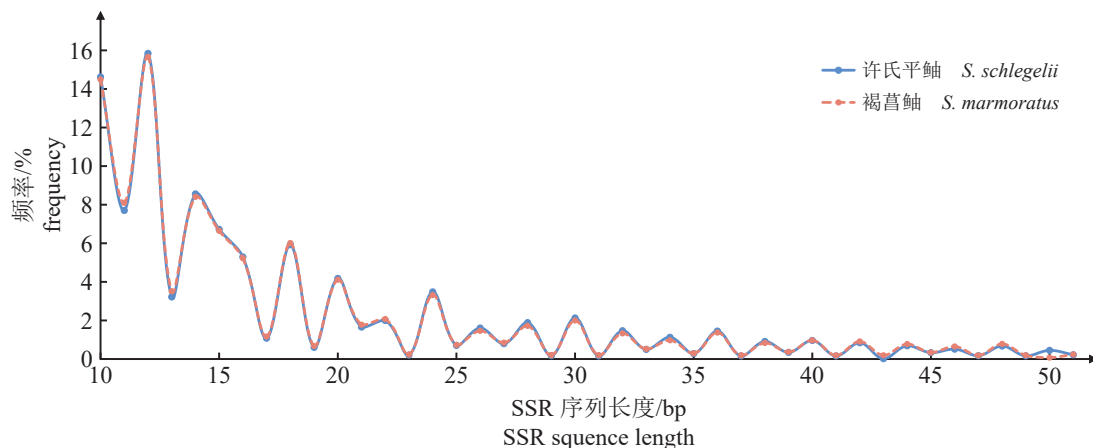


图 2 两种鱼类的基因组不同微卫星序列长度的出现频率

Fig. 2 Frequency of different microsatellite sequence lengths in the genomes of two fishes

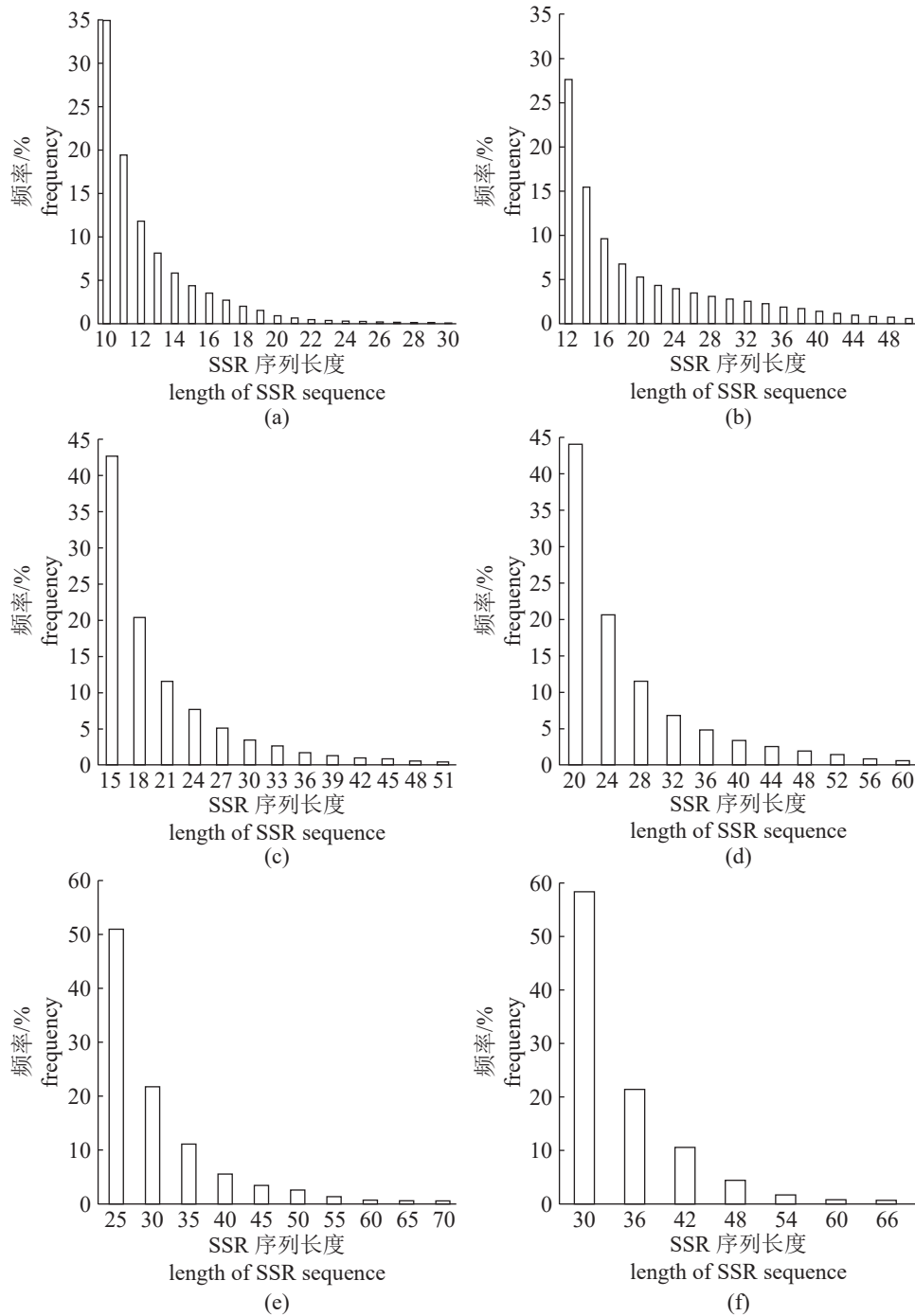


图3 许氏平鲈不同SSR重复单元预期扩增的序列长度变异

(a) 单核苷酸, (b) 二核苷酸, (c) 三核苷酸, (d) 四核苷酸, (e) 五核苷酸, (f) 六核苷酸, 下同。

Fig. 3 Variation in sequence length of expected amplification of different SSR repeat units in *S. schlegelii*

(a) mono-nucleotide, (b) di-nucleotide, (c) tri-nucleotide, (d) tetra-nucleotide, (e) penta-nucleotide, (f) hexa-nucleotide, the same below.

(534 272) 少于褐菖鲉 (571 370)。许氏平鲈微卫星序列占基因组总长度的 1.67%，小于褐菖鲉 (1.99%)。许氏平鲈平均每 1 587.25 bp 含有 1 个微卫星位点，褐菖鲉每 1 392.60 bp 含有 1 个微卫星位点，而斑鲃 (*Siniperca scherzeri*)^[28] 平均

跨度 (3 300 bp/个) 大于褐菖鲉和许氏平鲈。草鱼^[29] 平均跨度 (1 329 bp/个) 小于褐菖鲉和许氏平鲈。巨鲈 (*Bagarius yarrelli*)^[30] 平均跨度 (1 585 bp/个) 小于许氏平鲈，大于褐菖鲉。在草鱼体内共筛选到 677 363 个微卫星序列，总长度为

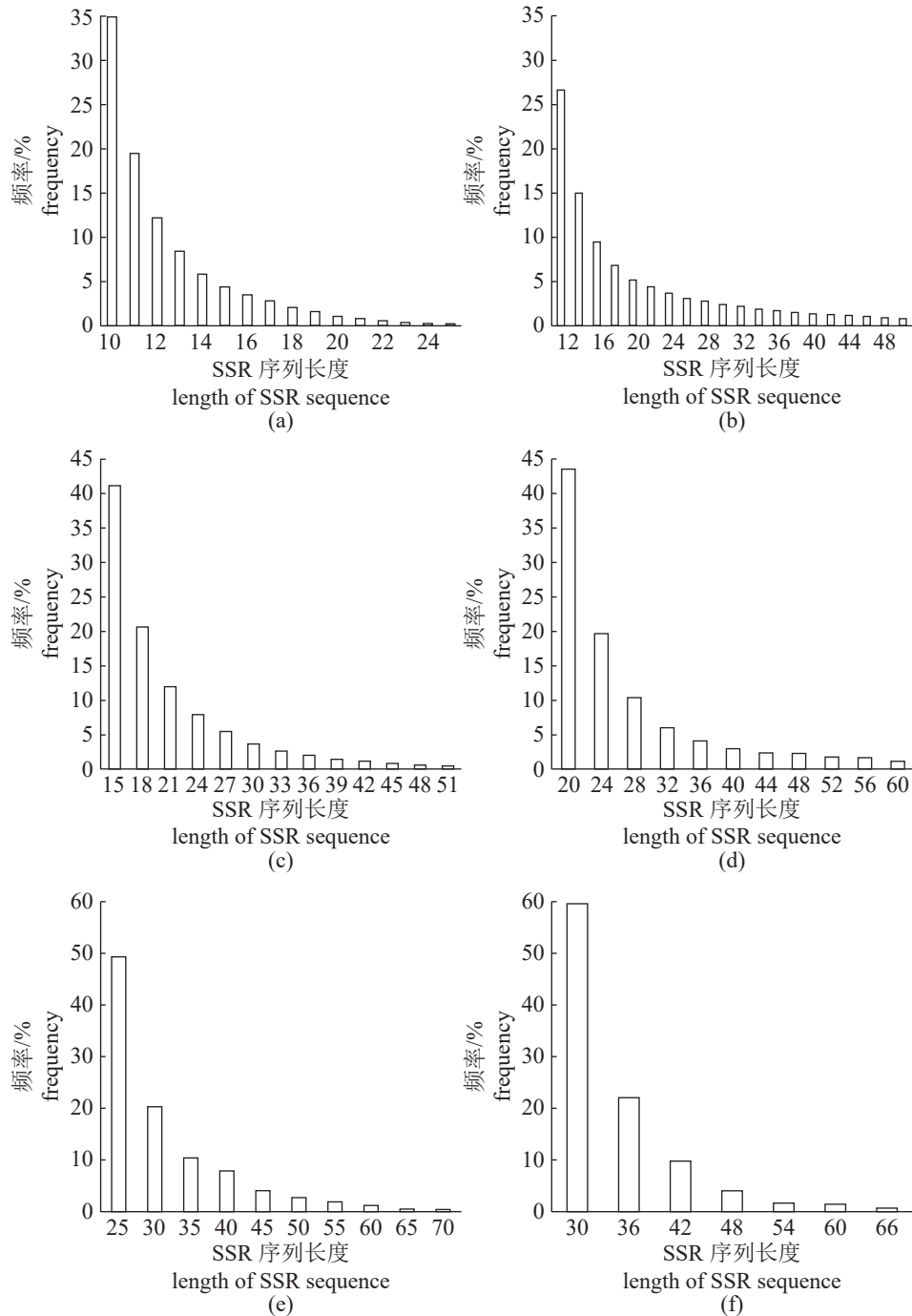


图4 褐菖鲉不同SSR重复单元预期扩增的序列长度变异

Fig. 4 Variation in sequence length of expected amplification of different SSR repeat units in *S. marmoratus*

12 835 407 bp, 平均跨度为 1 329.43 bp^[31], 平均跨度小于许氏平鲉 (1 587.25 bp) 和褐菖鲉 (1 392.60 bp)。翘嘴鲈 (*Culter alburnus*)^[32] 微卫星总长度占全基因组大小的 1.35%, 小于许氏平鲉 (1.67%) 和褐菖鲉 (1.99%) 中微卫星在全基因组中的含量。这些结果表明, 不同物种的微卫星数量在全基因组中的含量存在明显差异, 可

能是不同物种基因组大小的差异造成的^[33], 也可能有物种进化差异的原因^[30]。

3.2 微卫星基元类型特征分析

许氏平鲉单核苷酸数量共 165 455 个, 褐菖鲉单核苷酸数量共 187 994 个, 两种鱼中单核苷酸重复基元以 A/T 为主, 这一结果与斑点

叉尾鲷^[10]、鲢^[34]等鱼类相同。许氏平鲷二核苷酸数量共 247 744 个, 重复基元以 AC/GT 为主, 有 147 630 个, 占二核苷酸重复基元的 59.59%; CG/CG 重复基元最少, 仅有 179 个, 占二核苷酸重复基元的 0.72%。褐菖鲷二核苷酸数量共 272 148 个, 重复基元以 AC/GT 为主, 有 157 437 个, 占二核苷酸重复基元的 57.85%; CG/CG 重复基元最少, 仅有 166 个, 占二核苷酸重复基元的 0.67%。在斑点叉尾鲷^[7]中 AC/GT 为主要基元, 占二碱基微卫星重复总数的 58%, 与许氏平鲷和褐菖鲷结果一致。王九龙等^[35]认为 DNA 复制过程中发生滑移错配而使重复单元的重复次数发生变化, 而 DNA 复制发生滑移错配的概率与序列的 GC 含量成反比。这可能是因为 C/G 碱基之间通过 3 个氢键连接, 而 A/T 之间只有 2 个氢键, GC 含量高的 DNA 序列需要更多能量打开双链而不易发生滑动, 因此, 微卫星中 GC/CG 类型的发生频率较低^[36]。

两种鱼类微卫星不同重复类型的含量差别不大, 都以二碱基微卫星占优势, 其次是单核苷酸, 其余 4 种碱基类型微卫星含量较少。在已发表的全基因组微卫星特征的研究中, 军曹鱼 (*Rachycentron canadum*) (50.5%)、暗纹东方鲀 (*Takifugu obscurus*) (47.72%)、鲤 (*Cyprinus carpio*) (59.19%) 等全基因组中单碱基微卫星数目最多^[33,37-38], 南极鱼 (*Patagonotothen ramsayi*) (87.00%)、绒杜父鱼 (*Hemitripterus villosus*) (55.61%)、花斑无须鲷 (*Ageneiosus marmoratus*) (43.24%)、金钱鱼 (*Scatophagus argus*) (52.64%) 等以二碱基微卫星数目占优势^[31,39-42]。因此, 不同物种的优势微卫星类型存在差异。

3.3 微卫星基元重复次数分析

从许氏平鲷核苷酸重复次数来看, 核苷酸基元重复次数主要集中在 5~17 次, 6 次最多, 有 91 669 个位点, 占总数的 17.66%; 褐菖鲷核苷酸重复基元以 5 次最多, 有 92 776 个位点, 占总数的 16.72%。黄纬杰^[29]研究发现, 草鱼核苷酸基元重复次数以 10 次为主, 占总数的 23.23%, 与许氏平鲷和褐菖鲷结果存在差异。许氏平鲷和褐菖鲷单核苷酸重复次数以 10~14 次为主, 草鱼单核苷酸重复次数最多, 以 10~29 次为主^[43], 鲷亚科 (*Culterinae*) 鱼类^[44]单核苷酸重复次数以 10~24 次为主, 单核苷酸重复次数大于许氏平鲷和褐菖鲷。许氏平鲷二核苷酸重复基元主要集中在 6~12 次, 以重复 6 次

最为常见, 有 65 885 个位点, 占二核苷酸总数的 26.59%; 褐菖鲷二核苷酸重复基元主要集中在 6~11 次, 以重复 6 次最为常见, 有 69 393 个位点, 占二核苷酸总数的 25.5%。因此, 该研究中两种鱼类微卫星重复单元的重复次数主要分布在 6~12 次, 随着重复次数的增加, 对应位点总数呈递减的趋势。

3.4 微卫星序列长度及变异分析

随着微卫星序列扩增长度的增加, 两种鱼类核苷酸出现的频次整体呈逐渐下降的趋势。许氏平鲷微卫星序列长度分布于 10~392 bp, 平均长度为 34.59 bp, 序列长度为 12 bp 的微卫星位点数量最多, 为 55 599 条, 占总位点数的 15.83%。褐菖鲷微卫星序列长度分布于 10~682 bp, 平均长度为 36.87 bp, 序列长度为 12 bp 的微卫星位点数量最多, 为 55 942 条, 占总位点数的 15.66%; 其次为长度 10 bp 的位点, 为 51 744 条, 占总位点数的 14.79%。研究表明, 除二碱基和三碱基重复拷贝数有轻微波动外, 6 种碱基类型的总体变化特点, 就是随着重复拷贝数的增加, 各类别微卫星的数目逐渐递减, 以上这种现象在黄颡鱼^[45]、绿鳍马面鲀 (*Thamnaconus modestus*)^[35]、中国花鲈 (*Lateolabrax maculatus*)^[4]、红鳍东方鲀 (*T. rubripes*)^[46] 等物种全基因组微卫星中也有出现。对此, Wierdl 等^[47]认为, 一方面微卫星长度与微卫星稳定性有关, 即随微卫星长度的增加, 其稳定性下降; 另一方面, 微卫星的突变率与其重复拷贝数呈正相关, 即微卫星重复拷贝数越高, 突变率就越大, 使得越长的微卫星序列数目越少。

4 结论

本研究对许氏平鲷和褐菖鲷两种卵胎生鱼类全基因组微卫星含量、微卫星重复类型、微卫星基元重复次数、微卫星序列长度及变异等四个方面进行了比较分析, 为深入开展鱼类种质资源研究及遗传育种等提供了数据支持。

感谢浙江海洋大学刘焘和武汉万摩科技有限公司刘启在数据分析和论文撰写方面的帮助。

参考文献 (References):

- [1] Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general

- source for polymorphic DNA markers[J]. *Nucleic Acids Research*, 1989, 17(16): 6463-6471.
- [2] Litt M, Luty J A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene[J]. *American Journal of Human Genetics*, 1989, 44(3): 397-401.
- [3] Madesis P, Ganopoulos I, Tsaftaris A. Microsatellites: evolution and contribution[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2013, 1006: 1-13.
- [4] Fan S G, Huang H, Liu Y, *et al.* Genome-wide identification of microsatellite and development of polymorphic SSR markers for spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*)[J]. *Aquaculture Reports*, 2021, 20: 100677.
- [5] Serbezov D, Bernatchez L, Olsen E M, *et al.* Mating patterns and determinants of individual reproductive success in brown trout (*Salmo trutta*) revealed by parentage analysis of an entire stream living population[J]. *Molecular Ecology*, 2010, 19(15): 3193-3205.
- [6] Shen X Y, Yang G P, Liu Y J, *et al.* Construction of genetic linkage maps of guppy (*Poecilia reticulata*) based on AFLP and microsatellite DNA markers[J]. *Aquaculture*, 2007, 271(1-4): 178-187.
- [7] Xia J H, Liu F, Zhu Z Y, *et al.* A consensus linkage map of the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) based on microsatellites and SNPs[J]. *BMC Genomics*, 2010, 11(1): 135.
- [8] 彭冶, 李杰, 王涛, 等. 瓦氏黄颡鱼全基因组微卫星的分布特征及其定位的初步研究 [J]. *南方水产科学*, 2022, 18(1): 90-98.
- Peng Y, Li J, Wang T, *et al.* Preliminary study on distribution characteristics and positioning of microsatellites in whole genome of *Pelteobagrus vachelli*[J]. *South China Fisheries Science*, 2022, 18(1): 90-98 (in Chinese).
- [9] Fu J J, Shen Y B, Xu X Y, *et al.* Multiplex microsatellite PCR sets for parentage assignment of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Aquaculture International*, 2013, 21(6): 1195-1207.
- [10] 钟立强, 张世勇, 姜虎成, 等. 斑点叉尾鲷全基因组完整型微卫星生物信息学分析 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2022, 41(3): 504-513.
- Zhong L Q, Zhang S Y, Jiang H C, *et al.* Bioinformatics analysis of perfect microsatellite in the whole genomes of channel catfish, *Ictalurus punctatus*[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2022, 41(3): 504-513 (in Chinese).
- [11] 王旭蕾, 高进, 齐鑫, 等. 5 种石斑鱼全基因组微卫星筛选与特征分析 [J]. *渔业科学进展*, 2024, 45(3): 149-158.
- Wang X L, Gao J, Qi X, *et al.* Screening and characteristics analysis of microsatellites in the whole genome of five groupers[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2024, 45(3): 149-158 (in Chinese).
- [12] Jian J B, Yang L D, Gan X N, *et al.* Whole genome sequencing of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) provide novel insights into their evolution and speciation[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2021, 21(3): 912-923.
- [13] 金鑫波. 中国动物志 硬骨鱼纲 鲷形目 [M]. 北京: 科学出版社, 2006.
- Jin X B. *Fauna Sinica Ostichthyes Scorpaeniformes*[M]. Beijing: Science Press, 2006 (in Chinese).
- [14] 中坊徹次. 日本鱼类检索 [M]. 东京: 东海大学出版会, 2013: 429-437.
- Nakabo T. *Fishes of Japan with pictorial keys to the species*[M]. Tokyo: Tokai University Press, 2013: 429-437 (in Chinese).
- [15] 贾超峰, 马海涛, 姜海滨, 等. 许氏平鲈微卫星标记的开发及评价 [J]. *上海海洋大学学报*, 2014, 23(3): 345-350.
- Jia C F, Ma H T, Jiang H B, *et al.* Isolation and characterization of microsatellite markers for black rockfish *Sebastes schlegelii*[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2014, 23(3): 345-350 (in Chinese).
- [16] 山田梅芳, 时村宗春, 堀川博史, 等. 东海黄海鱼类志 [M]. 东京: 东海大学出版会, 2007.
- Umeyoshi Y, Muneharu T, Hiroshi H, *et al.* *Fishes and fisheries of the East China Sea and Yellow Sea*[M]. Tokyo: Tokai University Press, 2007 (in Chinese).
- [17] 贾超峰. 许氏平鲈微卫星标记开发及群体遗传结构分析 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2014.
- Jia C F. *Development of microsatellite DNA markers and population genetics assessment for the black rockfish, Sebastes schlegelii*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2014 (in Chinese).
- [18] 韩承慧. 许氏平鲈微卫星标记开发及应用 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.
- Han C H. *Development and application of microsatellite DNA markers for the black rockfish, Sebastes schlegelii*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2016 (in Chinese).
- [19] 韩承慧, 马海涛, 姜海滨, 等. 许氏平鲈 (*Sebastes schlegelii*) 微卫星标记开发及野生、养殖群体遗传多样性分析 [J]. *海洋与湖沼*, 2016, 47(1): 213-220.

- Han C H, Ma H T, Jiang H B, *et al.* Isolation of microsatellite markers for black rockfish *Sebastes schlegeli* and genetic diversity of wild and cultured populations[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2016, 47(1): 213-220 (in Chinese).
- [20] 刘静, 陈咏霞, 马琳. 黄渤海鱼类图志 [M]. 北京: 科学出版社, 2015.
- Liu J, Chen Y X, Ma L. Fishes of the Bohai Sea and Yellow Sea[M]. Beijing: Science Press, 2015 (in Chinese).
- [21] 刘璐, 周永东, 高天翔. 褐菖鲈不同地理群体的形态学比较研究 [J]. *水生态学杂志*, 2023, 44(2): 81-88.
- Liu L, Zhou Y D, Gao T X. Comparison of morphological characteristics of marbled rockfish (*Sebasticus marmoratus*) among different geographic populations[J]. *Journal of Hydroecology*, 2023, 44(2): 81-88 (in Chinese).
- [22] 孙文静, 王晓艳, 祁鹏志, 等. 苯并[a]芘 (BaP) 对褐菖鲈 (*Sebasticus marmoratus*) 肝 CYP1A1 酶活性、基因表达及蛋白表达的影响 [J]. *海洋与湖沼*, 2018, 49(4): 897-903.
- Sun W J, Wang X Y, Qi P Z, *et al.* Effects of benzo[a]pyrene on erod activity, mrna expression, and protein expression of cyp1a1 in the liver of *Sebasticus marmoratus*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2018, 49(4): 897-903 (in Chinese).
- [23] Venter J C, Smith H O, Adams M D. The sequence of the human genome[J]. *Clinical Chemistry*, 2015, 61(9): 1207-1208.
- [24] 王希, 陈丽, 赵春雷. 利用 MISA 工具对不同序列进行 SSR 标记位点挖掘的探讨 [J]. *中国农学通报*, 2016, 32(10): 150-156.
- Wang X, Chen L, Zhao C L. Mining SSR molecular marker sites with MISA tool for different types of sequences[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2016, 32(10): 150-156 (in Chinese).
- [25] Qu J T, Liu J. A genome-wide analysis of simple sequence repeats in maize and the development of polymorphism markers from next-generation sequence data[J]. *BMC Research Notes*, 2013, 6: 403.
- [26] Wei C H, Tao X, Li M, *et al.* De novo transcriptome assembly of *Ipomoea nil* using Illumina sequencing for gene discovery and SSR marker identification[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2015, 290(5): 1873-1884.
- [27] 徐杰杰, 郑翔, 李杰, 等. 黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 全基因组微卫星分布特征分析 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2020, 39(12): 5488-5498.
- Xu J J, Zheng X, Li J, *et al.* Distribution characteristics of whole genome microsatellite of *Peheobagrus fulvidraco*[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2020, 39(12): 5488-5498 (in Chinese).
- [28] 潘秋芝. 斑鳊微卫星标记开发及其遗传多样性评价 [D]. 贵阳: 贵州大学, 2022.
- Pan Q Z. Development of *Siniperca scherzeri* microsatellite markers and evaluation of genetic diversity[D]. Guiyang: Guizhou University, 2022 (in Chinese).
- [29] 黄纬杰. 草鱼多态性微卫星标记开发及肌肉刺数性状遗传参数评估 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2022.
- Huang W J. Development of polymorphic microsatellite markers and genetic parameter evaluation of intermuscular bone number for *Ctenopharyngodon idella*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2022 (in Chinese).
- [30] 杨汶珊, 唐荣叶, 苏孟园, 等. 巨鲈 (*Bagarius yarrelli*) 全基因组微卫星分布特征分析 [J]. *南京师范大学学报 (工程技术版)*, 2021, 21(3): 62-68.
- Yang W S, Tang R Y, Su M Y, *et al.* Analysis of microsatellite distribution characteristics in the whole genome of *Bagarius yarrelli*[J]. *Journal of Nanjing Normal University (Engineering and Technology Edition)*, 2021, 21(3): 62-68 (in Chinese).
- [31] Wang Y P, Lu Y, Zhang Y, *et al.* The draft genome of the grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) provides insights into its evolution and vegetarian adaptation[J]. *Nature Genetics*, 2015, 47(6): 625-631.
- [32] 刘士力. 翘嘴鲌微卫星重复序列特征及生长性状相关微卫星标记筛选 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2021.
- Liu S L. Characterization of microsatellite repeat sequences and screening of microsatellite markers associated with growth traits in *Culter alburnus*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2021 (in Chinese).
- [33] 徐杰杰. 暗纹东方鲀全基因组微卫星标记的开发及应用 [D]. 南京: 南京师范大学, 2021.
- Xu J J. Development and application of whole genome microsatellite markers for *Takifugu obscurus*[D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2021 (in Chinese).
- [34] Wang Y J, Sha H, Li X H, *et al.* Microsatellite characteristics of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) genome and genetic diversity analysis in four cultured populations[J]. *Genes*, 2022, 13(7): 1267.
- [35] 王九龙, 李洪莉, 尹硕, 等. 绿鳍马面鲀全基因组微卫星分布特征 [J]. *烟台大学学报 (自然科学与工程版)*, 2022, 35(3): 285-293.
- Wang J L, Li H L, Yin S, *et al.* Distribution characteristics of

- whole genome microsatellite of *Thamnaconus modestus*[J]. Journal of Yantai University (Natural Science and Engineering Edition), 2022, 35(3): 285-293 (in Chinese).
- [36] Lai Y L, Sun F Z. The relationship between microsatellite slip-page mutation rate and the number of repeat units[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2003, 20(12): 2123-2131.
- [37] 梁霞, 王慧琪, 马宇璇, 等. 鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 全基因组微卫星分布特征研究 [J]. 南京师大学报 (自然科学版), 2021, 44(3): 103-111.
- Liang X, Wang H Q, Ma Y X, *et al.* Distribution characteristics of microsatellites in the whole genome of *Cyprinus carpio*, Linnaeus[J]. Journal of Nanjing Normal University (Natural Science Edition), 2021, 44(3): 103-111 (in Chinese).
- [38] 马骞, 吴雨薇, 王刘永, 等. 军曹鱼全基因组微卫星特征分析与多态性标记的筛选及应用 [J]. 渔业科学进展, 2023, 44(4): 135-144.
- Ma Q, Wu Y W, Wang L Y, *et al.* Screening and characterization of polymorphic SSR markers based on whole genome sequencing of cobia (*Rachycentron canadum*)[J]. Progress in Fishery Sciences, 2023, 44(4): 135-144 (in Chinese).
- [39] Choi E, Kim S H, Lee S J, *et al.* A first genome survey and genomic SSR marker analysis of *Trematomus loennbergii* Regan, 1913[J]. *Animals*, 2021, 11(11): 3186.
- [40] 苏孟园, 杨汶珊, 唐荣叶, 等. 花斑无须鲢 (*Ageneiosus marmoratus*) 全基因组微卫星分布特征研究 [J]. 南京师范大学学报 (工程技术版), 2021, 21(2): 65-71.
- Su M Y, Yang W S, Tang R Y, *et al.* Microsatellite distribution in the whole genome of *Ageneiosus marmoratus*[J]. Journal of Nanjing Normal University (Engineering and Technology Edition), 2021, 21(2): 65-71 (in Chinese).
- [41] 赵蕊蕊, 徐胜勇. 绒杜父鱼全基因组 survey 分析及微卫星分布特征 [J]. 中国水产科学, 2022, 29(7): 994-1001.
- Zhao R R, Xu S Y. Whole-genome analysis and microsatellite distribution characteristics of *Hemibarbus villosus*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2022, 29(7): 994-1001 (in Chinese).
- [42] 王耀嵘. 金钱鱼 (*Scatophagus argus*) 微卫星标记的开发及群体遗传学研究 [D]. 湛江: 广东海洋大学, 2020.
- Wang Y R. Development of novel microsatellites markers and population genetics study for *Scatophagus argus*[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2020 (in Chinese).
- [43] Yu L Y, Bai J J, Fan J J, *et al.* Transcriptome analysis of the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) using 454 pyrosequencing methodology for gene and marker discovery[J]. *Genetics and Molecular Research*, 2015, 14(4): 19249-19263.
- [44] 刘士力, 刘一诺, 李飞, 等. 3 种鲃亚科鱼类全基因组微卫星分布特征分析 [J]. 上海海洋大学学报, 2023, 32(6): 1176-1183.
- Liu S L, Liu Y N, Li F, *et al.* Distribution characteristics of microsatellites in the whole genome of three Culterinae species[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2023, 32(6): 1176-1183 (in Chinese).
- [45] Shan Y J, Lu C Y, Li C, *et al.* Isolation and characterization of 57 novel polynucleotide microsatellites from yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) genome for genetic analysis[J]. *Conservation Genetics Resources*, 2014, 6(1): 73-77.
- [46] Takagi M, Sato J, Monbayashi C, *et al.* Evaluation of microsatellites identified in the tiger puffer *Takifugu rubripes* DNA database[J]. *Fisheries Science*, 2003, 69(6): 1085-1095.
- [47] Wierdl M, Dominska M, Petes T D. Microsatellite instability in yeast: dependence on the length of the microsatellite[J]. *Genetics*, 1997, 146(3): 769-779.

Distribution and comparative analysis of whole genome microsatellite in *Sebastes schlegelii* and *Sebastiscus marmoratus*

QU Caihui¹, QU Yinquan¹, HE Yan², ZHAO Xiang³, GAO Tianxiang^{1*}

1. School of Fishery, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China;

2. College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

3. Fisheries College, Ocean University of China, Qingdao 266003, China

Abstract: To elucidate the distribution of microsatellites in the genomes of *Sebastes schlegelii* and *Sebastiscus marmoratus*, the MISA software was employed to search for and compare microsatellite sequences across both genomes. The results indicated that the total length of the *S. schlegelii* genome sequence was 848 024 649 bp, comprising 741 sequences, of which 635 contained 534 272 microsatellite loci. The total length of microsatellite sequence was 14 151 681 bp, with an average of one microsatellite locus per 1 587.25 bp, representing 1.67% of the genome. Of the sequences containing microsatellite loci, 584 (91.97%) contained more than one locus, while 51 (8.03%) contained a single locus. The ratios of different repeat types of microsatellites, ranked by size, were as follows: di-nucleotide (46.37%) > mono-nucleotide (30.97%) > tri-nucleotide (15.42%) > tetra-nucleotide (5.7%) > penta-nucleotide (1.19%) > hexa-nucleotide (0.35%). For *S. marmoratus*, the total genome sequence length was 795 691 141 bp, with a total of 90 sequences. Among these, 77 sequences contained 571 370 microsatellite loci. The total length of microsatellite sequences was 15 854 826 bp, with an average of one microsatellite locus per 1 392.60 bp, accounting for 1.99% of the genome. Of the sequences containing microsatellite locus, 74 (96.10%) contained more than one locus, while 3 (3.70%) sequences contained a single locus. The ratios of different repeat types of microsatellites, ranked by size, were di-nucleotide (47.63%) > mono-nucleotide (32.90%) > tri-nucleotide (13.63%) > tetra-nucleotide (4.26%) > penta-nucleotide (1.04%) > hexa-nucleotide (0.53%). Our findings demonstrate that the microsatellites of different repeat types in *S. schlegelii* and *S. marmoratus* exhibit similar characteristics. Additionally, as the amplification length of microsatellite sequences increased, the frequency of nucleotides in both fish species showed a gradual downward trend. This study, which compared the distribution of microsatellites in the genomes of *S. schlegelii* and *S. marmoratus*, provided a foundation for future research on microsatellite marker screening, genetic analysis, and molecular breeding of these two species.

Key words: *Sebastes schlegelii*; *Sebastiscus marmoratus*; whole genome; microsatellite; characteristics analysis

Corresponding author: GAO Tianxiang. E-mail: gaotianxiang0611@163.com

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (32072966)