

基于微卫星标记的中华蜜蜂5个自然群体遗传多样性分析*

张爽,周俊,胡冲,吕言,石鹏,许金山

(重庆师范大学 重庆市媒介昆虫重点实验室 重庆市动物生物学重点实验室,重庆 401331)

摘要:【目的】分析中国四川阿坝、黄土高原、海南岛、浙闽丘陵、滇南地区等地的中华蜜蜂(*Apis cerana cerana*)自然群体遗传多样性。【方法】提取样品基因组DNA后进行PCR扩增,并用聚丙烯酰胺凝胶电泳检测。通过计算15对微卫星标记在5个中华蜜蜂自然群体中的等位基因数、多态信息含量、期望杂合度、观测杂合度、遗传距离、遗传相似系数和遗传分化系数,进而评估各中华蜜蜂种群遗传多样性和各种群间遗传分化。【结果】15个微卫星位点共检测到64个等位基因,每个位点的等位基因数平均为4.2667个,单个位点的等位基因数为2~6个。各群体平均等位基因数为2.6~3.0667个,平均观测杂合度为0.5503~0.6643,平均期望杂合度为0.5244~0.5667,平均多态信息量为0.4103~0.4927。四川阿坝群体与黄土高原、海南岛、浙闽丘陵、滇南地区等地群体在Acc001,Acc096,Acc131等3个位点上存在明显分化;黄土高原群体与海南岛、浙闽丘陵、滇南地区等地群体在Acc114,Acc121,Acc132等3个位点上表现出一定程度的遗传分化;海南岛群体与浙闽丘陵、滇南地区两地群体在Acc001,Acc002,Acc004,Acc131,Acc132等5个位点上均表现出较强的遗传分化;浙闽丘陵与滇南地区群体间在Acc002,Acc121,Acc131等3个位点上遗传分化极明显。5个中华蜜蜂自然群体之间的遗传距离在0.1601~0.4910之间。【结论】5个中华蜜蜂群体遗传多样性丰富,群体间遗传分化明显。

关键词:微卫星标记;中华蜜蜂;自然种群;遗传多样性

中图分类号:Q175

文献标志码:A

文章编号:1672-6693(2019)03-0044-07

中华蜜蜂(*Apis cerana cerana*),属于东方蜜蜂(*Apis cerana*)的亚种,在中国通常被称为“土蜂”,是中国特有蜜蜂种质资源。中国地域范围广,地貌差异大,中华蜜蜂经过长期的适应,形成了多种生态型,遗传多样性十分丰富,现已被中国畜禽种质资源委员会设为种质资源保护对象。在加强对中华蜜蜂种质资源保护的各项工作,有关中华蜜蜂群体资源遗传特性的研究有着十分重要的意义。

微卫星(Microsatellite)是广泛分布于真核生物基因组中的一种简单重复序列(Simple sequence repeat, SSR),一般由2~6个核苷酸重复片段组成。由于个体间串联重复单元的重复次数呈现高度变异性且在基因组中数量丰富,因此微卫星标记广泛应用于生物的系统发育、遗传结构、遗传多样性和保护生物学等研究领域^[1]。近10余年来,众多研究者开始尝试用微卫星标记开展蜜蜂种群遗传特征、遗传分化、遗传多样性等问题的研究^[2~5]。特别地,已有研究者借鉴意大利蜜蜂(*Apis mellifera*)分子标记来研究中国的中华蜜蜂种群遗传分化,明确了长白山^[6]、福建^[7]、武夷山^[8]、皖南山区与皖西大别山区^[9]的中华蜜蜂遗传分化。Takahashi等人^[10]首先利用了微卫星标记研究了日本的东方蜜蜂的遗传多样性,之后许多学者利用他们提出的微卫星位点分别研究了贵州^[11]、海南^[12]、黄土高原^[13]、陕西秦巴山区^[14~15]等地的中华蜜蜂遗传多样性。然而,利用微卫星标记对中国多个地点的中华蜜蜂自然群体遗传多样性进行研究的报道,目前很难见到。为此,本研究基于刘璐等人^[16]在研究重庆地区的中华蜜蜂遗传分化时提出的15个东方蜜蜂微卫星位点对四川阿坝、黄土高原、海南岛、浙闽丘陵、滇南地区等地的中华蜜蜂自然群体进行遗传多样性和遗传分化进行分析,以期为中华蜜蜂种质资源保护及良种选育工作提供参考依据。

* 收稿日期:2019-03-08 修回日期:2019-04-12 网络出版时间:2019-05-09 19:30

资助项目:农业部现代农业产业技术体系建设专项资金(No. CARS-44-KXJ21)

第一作者简介:张爽,女,研究方向为生物化学与分子生物学,E-mail:m177549261991@163.com;通信作者:许金山,男,教授,博士,E-mail:xujinshan2003@aliyun.com

网络出版地址:<http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20190509.1930.042.html>

1 材料和方法

1.1 实验材料

中华蜜蜂样本于四川阿坝、海南岛、滇南地区等地各分别采集10群,于黄土高原、浙闽丘陵等地各分别采集9群。所有样本均浸泡在无水乙醇中并放置于4℃冰箱内保存备用。

1.2 实验操作及方法

1.2.1 DNA提取 去除中华蜜蜂样本腹部,余下组织采用CTAB法提取DNA。用NanoDrop检测DNA质量浓度,并用质量分数为1%的琼脂糖凝胶电泳检测DNA完整性。

1.2.2 PCR扩增 基于东方蜜蜂基因组微卫星筛选分析^[16],选取了Acc001,Acc002,Acc004,Acc008,Acc044,Acc050,Acc055,Acc064,Acc096,Acc114,Acc121,Acc128,Acc131,Acc132,Acc134等15个微卫星位点对样本基因组进行分析。微卫星DNA的PCR反应体系为20 μL,其中包括上下游引物各1 μL,DNA样本1 μL, premix Taq 10 μL,剩余体积用ddH₂O补齐。PCR反应程序为:95℃预变性5 min;94℃变性1 min,退火30 s,72℃延伸2 min,该过程共进行30个循环;72℃延伸10 min。之后用质量分数为8%的聚丙烯酰胺凝胶电泳检测PCR扩增产物,根据电泳结果,判断15个微卫星标记在5个自然群体间的基因分型情况。

1.2.3 种群遗传统计分析 利用Popgen 1.32计算5个自然群体在15个微卫星位点上的观测杂合度、期望杂合度、等位基因数、群体间的遗传距离和遗传相似数指数,利用Genepop 4.2软件计算群体间的遗传分化指数,利用PIC-CALC软件计算多态信息含量。

2 结果与分析

2.1 微卫星位点遗传多样性

表1显示:在5个中华蜜蜂自然群体15个微卫星位点上共检测到64个等位基因。各位点的等位基因数量在2~6个之间,其中等位基因数最多和最少的位点分别为Acc134和Acc050。所有位点的等位基因数平均为4.266 7个。各位点观测杂合度在0.189 2~0.977 8之间,平均值为0.607 3,有8个位点的观测杂合度高于平均值。各位点期望杂合度在0.219 5~0.813 6之间,平均值为0.618 1,有9个位点的期望杂合度高于平均值。此外,各位点的多态信息量在0.198 1~0.775 5之间,平均值为0.548 1,有9个位点的多态信息量高于平均值。

表1 中华蜜蜂15个微卫星位点的遗传多样性参数

Tab. 1 Genetic diversity parameters of 15 microsatellite loci of *A. cerana cerana*

位点	等位基因 个数	观测 杂合度	期望 杂合度	多态 信息量	位点	等位基因 个数	观测 杂合度	期望 杂合度	多态 信息量
Acc001	3.000 0	0.189 2	0.568 3	0.477 2	Acc096	4.000 0	0.619 0	0.631 4	0.558 7
Acc002	4.000 0	0.214 3	0.622 8	0.555 3	Acc114	5.000 0	0.604 7	0.645 7	0.572 2
Acc004	5.000 0	0.795 5	0.783 4	0.739 4	Acc121	5.000 0	0.428 6	0.686 1	0.616 7
Acc008	4.000 0	0.641 0	0.607 1	0.543 7	Acc128	3.000 0	0.195 1	0.219 5	0.198 1
Acc044	4.000 0	0.888 9	0.564 3	0.462 6	Acc131	5.000 0	0.378 4	0.724 2	0.668 1
Acc050	2.000 0	0.977 8	0.505 4	0.374 9	Acc132	5.000 0	0.472 2	0.726 5	0.674 8
Acc055	5.000 0	0.933 3	0.649 4	0.580 2	Acc134	6.000 0	0.950 0	0.813 6	0.775 5
Acc064	4.000 0	0.822 2	0.523 6	0.423 5	平均值	4.266 7	0.607 3	0.618 1	0.548 1

2.2 中华蜜蜂5个自然群体的遗传多样性

2.2.1 等位基因多样性 四川阿坝群体和滇南地区群体在15个微卫星位点上均共检测出46个等位基因,平均每个位点有3.066 7个等位基因,数量最多;海南岛群体共检测到43个等位基因,平均每个位点有2.866 7个等位基因;浙闽丘陵群体共检测到42个等位基因,平均每个位点有2.8个等位基因;黄土高原群体共检测到39个等位基因,平均每个位点检测到2.6个等位基因,数量最少(表2)。

表2 5个中华蜜蜂群体的等位基因数

Tab. 2 The number of alleles of five *A. cerana cerana* populations

个

位点	四川阿坝 群体	黄土高原 群体	海南岛 群体	浙闽丘陵 群体	滇南地区 群体	位点	四川阿坝 群体	黄土高原 群体	海南岛 群体	浙闽丘陵 群体	滇南地区 群体
Acc001	2.000 0	2.000 0	2.000 0	2.000 0	2.000 0	Acc096	3.000 0	4.000 0	3.000 0	3.000 0	4.000 0
Acc002	3.000 0	3.000 0	2.000 0	2.000 0	3.000 0	Acc114	4.000 0	2.000 0	3.000 0	2.000 0	4.000 0
Acc004	4.000 0	2.000 0	3.000 0	4.000 0	4.000 0	Acc121	3.000 0	2.000 0	5.000 0	3.000 0	2.000 0
Acc008	3.000 0	2.000 0	4.000 0	3.000 0	4.000 0	Acc128	1.000 0	2.000 0	2.000 0	2.000 0	3.000 0
Acc044	2.000 0	4.000 0	2.000 0	2.000 0	4.000 0	Acc131	3.000 0	4.000 0	2.000 0	4.000 0	3.000 0
Acc050	2.000 0	2.000 0	2.000 0	2.000 0	2.000 0	Acc132	4.000 0	2.000 0	4.000 0	3.000 0	2.000 0
Acc055	5.000 0	2.000 0	3.000 0	2.000 0	2.000 0	Acc134	4.000 0	4.000 0	4.000 0	5.000 0	4.000 0
Acc064	3.000 0	2.000 0	2.000 0	3.000 0	3.000 0	平均值	3.066 7	2.600 0	2.866 7	2.800 0	3.066 7

2.2.2 杂合度 分析5个中华蜜蜂自然群体15个微卫星位点基因型的杂合度,可知:四川阿坝群体基因型观测杂合度为0.608 2,期望杂合度为0.566 7;海南岛群体基因型观测杂合度为0.664 3,期望杂合度0.544 1;浙闽丘陵群体基因型观测杂合度为0.648 7,期望杂合度0.557 8;滇南地区群体基因型观测杂合度为0.580 2,期望杂合度0.540 7;黄土高原群体基因型观测杂合度为0.550 3,期望杂合度0.524 4,均为最低(表3)。

表3 5个中华蜜蜂群体15个微卫星位点的观测杂合度和期望杂合度

Tab. 3 Observed heterozygosities and expected heterozygosities of 15 microsatellite loci of five *A. cerana cerana* populations

位点	四川阿坝群体		黄土高原群体		海南岛群体		浙闽丘陵群体		滇南地区群体	
	观测	期望								
	杂合度									
Acc001	0.125 0	0.525 0	0.000 0	0.355 6	0.111 1	0.111 1	0.571 4	0.439 6	0.125 0	0.525 0
Acc002	0.333 3	0.307 2	0.500 0	0.625 0	0.000 0	0.522 9	0.000 0	0.470 6	0.285 7	0.472 5
Acc004	0.888 9	0.758 2	0.888 9	0.522 9	1.000 0	0.660 1	0.750 0	0.766 7	0.444 4	0.679 7
Acc008	0.750 0	0.708 3	0.500 0	0.400 0	0.875 0	0.691 7	0.857 1	0.615 4	0.250 0	0.591 7
Acc044	0.666 7	0.470 6	1.000 0	0.634 0	1.000 0	0.529 4	0.888 9	0.522 9	0.888 9	0.705 9
Acc050	1.000 0	0.529 4	1.000 0	0.529 4	1.000 0	0.529 4	1.000 0	0.529 4	0.888 9	0.522 9
Acc055	1.000 0	0.790 8	0.777 8	0.503 3	1.000 0	0.660 1	1.000 0	0.529 4	0.888 9	0.522 9
Acc064	0.888 9	0.601 3	0.666 7	0.470 6	0.777 8	0.503 3	0.888 9	0.568 6	0.888 9	0.568 6
Acc096	0.142 9	0.604 4	0.777 8	0.660 1	0.777 8	0.660 1	0.555 6	0.503 3	0.750 0	0.675 0
Acc114	0.555 6	0.607 8	0.875 0	0.525 0	0.666 7	0.620 9	0.250 0	0.233 3	0.666 7	0.575 2
Acc121	0.400 0	0.711 1	0.142 9	0.362 6	0.444 4	0.712 4	0.714 3	0.648 4	0.428 6	0.362 6
Acc128	0.000 0	0.000 0	0.111 1	0.294 1	0.375 0	0.325 0	0.222 2	0.209 2	0.250 0	0.241 7
Acc131	0.800 0	0.644 4	0.125 0	0.725 0	0.222 2	0.209 2	0.571 4	0.791 2	0.375 0	0.425 0
Acc132	0.571 4	0.571 4	0.000 0	0.500 0	0.714 3	0.626 4	0.571 4	0.703 3	0.571 4	0.439 6
Acc134	1.000 0	0.670 3	0.888 9	0.758 2	1.000 0	0.800 0	0.888 9	0.836 6	1.000 0	0.802 2
平均值	0.608 2	0.566 7	0.550 3	0.524 4	0.664 3	0.544 1	0.648 7	0.557 8	0.580 2	0.540 7

2.2.3 多态信息量 考察5个中华蜜蜂自然群体15个微卫星位点平均多态信息量,可知:四川阿坝群体的平均多态信息量最高,为0.492 7;海南岛、浙闽丘陵、滇南地区等地群体的平均多态信息量依次分别为0.441 3,0.448 1,0.437 3;黄土高原群体的平均多态信息量最低,为0.410 3(表4)。从表4还可以看出:四川阿坝群体Acc055位点上的多态信息量为0.709 2,与该群体其他微卫星位点的多态信息量相比为最高;黄土高原、海南岛、浙闽丘陵、滇南地区等4地的群体Acc134位点上的多态信息量与各自群体其他微卫星位点相比均为最高,分别

为0.6627,0.7031,0.7560,0.6974;四川群体Acc128位点未检测到多态性,多态信息量为0.0000。

表4 5个中华蜜蜂群体15个微卫星位点的多态信息量

Tab. 4 PIC values of 15 microsatellite loci of five *A. cerana cerana* populations

位点	四川阿坝 群体	黄土高原 群体	海南岛 群体	浙闽丘陵 群体	滇南地区 群体	位点	四川阿坝 群体	黄土高原 群体	海南岛 群体	浙闽丘陵 群体	滇南地区 群体
Acc001	0.3711	0.2688	0.0995	0.3249	0.3711	Acc096	0.4649	0.5567	0.5444	0.4035	0.5703
Acc002	0.2687	0.5197	0.3719	0.3457	0.3862	Acc114	0.5332	0.3711	0.5173	0.1948	0.4801
Acc004	0.6658	0.3719	0.5526	0.6675	0.5830	Acc121	0.5632	0.2801	0.6174	0.5229	0.2801
Acc008	0.5901	0.3047	0.5925	0.5015	0.5105	Acc128	0.0000	0.2392	0.2583	0.1780	0.2146
Acc044	0.3457	0.5159	0.3750	0.3719	0.6021	Acc131	0.4918	0.6216	0.1780	0.6847	0.3542
Acc050	0.3750	0.3750	0.3750	0.3750	0.3719	Acc132	0.4832	0.3589	0.5199	0.5798	0.3249
Acc055	0.7092	0.3624	0.5526	0.3750	0.3719	Acc134	0.5474	0.6627	0.7031	0.7560	0.6974
Acc064	0.4889	0.3457	0.3624	0.4409	0.4408	平均值	0.4927	0.4103	0.4413	0.4481	0.4373

2.3 中华蜜蜂5个自然群体间的遗传分化

F_{st} 表示种群遗传变异占总变异的比例,反映种群遗传分化水平高低。利用PopGene 1.32软件得到中华蜜蜂5个自然群体间的遗传分化系数(F_{st})如表5所示。在Acc001,Acc096和Acc131位点上,四川阿坝群体与黄土高原、海南岛、浙闽丘陵、滇南地区等地的群体相比均表现出一定程度的遗传分化, F_{st} 在0.0673~0.4505之间;特别是位点Acc001,四川阿坝群体与其他群体的 F_{st} 分别为0.4505,0.3054,0.4096和0.1902。在Acc114,Acc121和Acc132位点上,黄土高原群体与海南岛、浙闽丘陵、滇南地区等地的群体均表现出一定程度的遗传分化, F_{st} 在0.0873~0.6132之间;在位点Acc001上,黄土高原群体与海南岛群体间 F_{st} 最高,为0.7191;在Acc114位点上,黄土高原群体与浙闽丘陵间群体的 F_{st} 最高,为0.6062;在Acc121位点上,黄土高原群体与滇南地区群体间 F_{st} 为0.6132。在Acc001,Acc002,Acc044,Acc131和Acc132位点上海南岛群体与浙闽丘陵、滇南地区等地的群体均表现出较强的遗传分化, F_{st} 在0.1515~0.6606之间;在位点Acc001上,海南岛群体与浙闽丘陵群体间 F_{st} 最高,为0.6288;在位点Acc131上,海南岛群体与滇南地区群体间 F_{st} 最高,为0.6606。此外,在Acc002,Acc121和Acc131位点上,浙闽丘陵与滇南地区群体间遗传分化极明显, F_{st} 在0.2741~0.3049之间。

2.4 遗传距离与遗传相似度

利用PopGene 1.32软件计算中华蜜蜂5个自然群体的遗传相似系数和遗传距离。从表6可知,5个群体之间的遗传距离在0.1601~0.4910之间,遗传相似系数在0.612~0.852之间。遗传相似系数与遗传距离呈反比,群体间遗传距离越小,遗传相似系数越大;反之亦然。

3 讨论

3.1 遗传多样性

遗传多样性是维持群体发展进化和长期生存的基础,可用于衡量群体抵御不良环境能力^[17]。群体杂合度和等位基因数量是评估群体遗传多样性水平的重要参数。据报道,选择等位基因大于4的微卫星位点来衡量群体遗传多样性水平较为可靠^[18],但等位基因数在一定程度上也受样本量影响^[19]。本研究的15个微卫星位点中,等位基因数并不高,这应与样本量的大小有关,毕竟本研究只使用了较少的样本。基因杂合度也被认为是衡量群体遗传变异的另一个重要参数。杂合度值越大,群体遗传变异越大;反之则越小。本研究结果显示,中华蜜蜂5个自然群体的平均期望杂合度为0.5244~0.5667,平均观测杂合度为0.5503~0.6643,表明它们的遗传多样性较为丰富。其中四川阿坝群体平均观测杂合度和平均期望杂合度都较高,说明该群体变异度较高,遗传多样性相对丰富,对不良环境的抵御能力较强,因此有可能成为种质改良的潜在素材。

多态信息含量(PIC)是描述基因变异程度的最适参数之一。当PIC大于0.5时,该座位为高度多态性座位;PIC在0.25~0.5之间时,为中度多态性座位;PIC小于0.25时,为低度多态性座位^[20]。PIC越大,说明基因一致性越低,变异性越高,选择的潜力也就越大。本研究的15个微卫星位点中,Acc002,Acc004,Acc008,Acc055,

Acc096, Acc114, Acc121, Acc131, Acc132 和 Acc134 共 10 个位点表现为高度多态性; Acc001, Acc044, Acc050 和 Acc064 共 4 个位点表现为中度多态性; 位点 Acc128 表现为低度多态性。因此总的来说, 本研究的 15 个微卫星位点的多态性较高, 而这些多态性较高的微卫星位点能为分析遗传多样性提供充分的信息, 利用潜力较大。

表 5 5 个中华蜜蜂群体在不同位点上的 F_{st} Tab. 5 F_{st} of five *A. cerana cerana* populations at different loci

位点	群体	四川阿坝群体	黄土高原群体	海南岛群体	浙闽丘陵群体
Acc001	黄土高原群体	0.450 5			
	海南岛群体	0.305 4	0.719 1		
	浙闽丘陵群体	0.409 6	-0.092 1	0.628 8	
	滇南地区群体	0.190 2	0.103 0	0.266 4	0.061 1
Acc002	黄土高原群体	0.051 9			
	海南岛群体	0.280 9	0.077 5		
	浙闽丘陵群体	0.011 4	-0.048 7	0.250 0	
	滇南地区群体	0.549 5	0.279 8	0.456 2	0.304 9
Acc004	黄土高原群体	0.055 4			
	海南岛群体	0.046 6	0.040 8		
	浙闽丘陵群体	0.126 5	0.326 1	0.179 4	
	滇南地区群体	0.167 3	0.389 0	0.267 8	-0.013 2
Acc096	黄土高原群体	0.089 9			
	海南岛群体	0.079 6	-0.036 8		
	浙闽丘陵群体	0.153 2	-0.014 9	0.017 1	
	滇南地区群体	0.067 3	-0.051 8	-0.040 3	-0.020 0
Acc114	黄土高原群体	0.348 9			
	海南岛群体	0.145 4	0.087 3		
	浙闽丘陵群体	0.046 5	0.606 2	0.373 9	
	滇南地区群体	-0.028 2	0.364 1	0.121 6	0.065 5
Acc121	黄土高原群体	0.349 3			
	海南岛群体	-0.005 7	0.212 2		
	浙闽丘陵群体	0.091 8	0.112 1	-0.046 9	
	滇南地区群体	0.219 9	0.613 2	0.119 9	0.274 1
Acc131	黄土高原群体	0.110 9			
	海南岛群体	0.221 2	0.379 7		
	浙闽丘陵群体	0.136 1	0.005 3	0.343 2	
	滇南地区群体	0.366 1	0.071 9	0.660 6	0.299 5
Acc132	黄土高原群体	0.070 9			
	海南岛群体	-0.060 6	0.098 4		
	浙闽丘陵群体	0.160 0	0.239 8	0.151 5	
	滇南地区群体	0.461 5	0.513 2	0.435 9	0.066 7

表 6 5 个中华蜜蜂群体遗传相似系数和遗传距离

Tab. 6 Genetic identity and Nei's distance of five *A. cerana cerana* populations

群体	四川阿坝群体	黄土高原群体	海南岛群体	浙闽丘陵群体	滇南地区群体
四川阿坝群体		0.733 1	0.852 0	0.782 7	0.663 8
黄土高原群体	0.310 4		0.791 7	0.760 3	0.612 0
海南岛群体	0.160 1	0.233 6		0.747 2	0.654 6
浙闽丘陵群体	0.245 0	0.274 0	0.2915		0.841 3
滇南地区群体	0.409 8	0.491 0	0.423 8	0.172 8	

注: 右上角数据为遗传相似系数, 左下角数据为遗传距离

3.2 遗传分化及遗传距离

Wright^[21]指出: $F_{st} < 0.05$ 表示分化程度低, $0.05 < F_{st} < 0.15$ 表示分化程度中等, $0.15 < F_{st} < 0.25$ 表示分化程度高, $0.25 < F_{st} < 1$ 表示分化程度极高。因此,在 Acc001, Acc096 和 Acc131 位点上,四川阿坝群体与黄土高原、海南岛、浙闽丘陵、滇南地区等地的群体均表现出中高程度的遗传分化;在 Acc114, Acc121 和 Acc132 位点上,黄土高原群体与海南岛、浙闽丘陵、滇南地区等地的群体均表现出高程度的遗传分化;在 Acc001, Acc002, Acc004, Acc131 和 Acc132 位点上,海南岛群体与浙闽丘陵、滇南地区等地的群体均表现出较高程度的遗传分化;在 Acc002, Acc121 和 Acc131 位点上浙闽丘陵与滇南地区群体间遗传分化也较为明显。

参考文献:

- [1] HUBER K, LOAN L L, HOANG T H, et al. Genetic differentiation of the dengue vector, *Aedes aegypti* (Ho Chi Minh City, Vietnam) using microsatellite markers[J]. Molecular Ecology, 2002, 11(9): 1629-1635.
- [2] INSUAN S, DEOWANISH S, KLINBUNGA S, et al. Genetic differentiation of the giant honey bee (*Apis dorsata*) in Thailand analyzed by mitochondrial genes and microsatellites[J]. Biochemical Genetics, 2007, 45(4): 345-361.
- [3] SIMONA S, PETER K, JANEZ P, et al. Molecular characterisation of indigenous *Apis mellifera carnica* in Slovenia [J]. Apidologie, 2004, 35(6): 623-636.
- [4] De La RÚA P, HERNANDEZ GARCIA R, PEDERSEN B V, et al. Molecular diversity of honeybee *Apis mellifera iberica* L. (Hymenoptera: Apidae) from western Andalusia [J]. Archivos de Zootecnia, 2004, 53(202): 195-203.
- [5] De La RÚA P, GALIAN J, SERRANO J, et al. Microsatellite analysis of non-migratory colonies of *Apis mellifera iberica* from south-eastern Spain[J]. Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research, 2002, 40(3): 164-168.
- [6] 于瀛龙,周姝婧,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.
YU Y L, ZHOU S J, XU X J, et al. Analysis on genetic diversity of *Apis cerana cerana* in Changbai mountains[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2013, 42(6): 643-647.
- [7] 朱翔杰,周冰峰,吴显达,等.福建中华蜜蜂微卫星标记的遗传多样性分析[J].福建农林大学学报(自然科学版),2011,40(4):407-411.
ZHU X J, ZHOU B F, WU X D, et al. Genetic diversity of *Apis cerana cerana* in Fujian based on microsatellite markers[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2011, 40(4): 407-411.
- [8] 刘敏,吉挺,殷玲,等.武夷山中华蜜蜂形态特征与微卫星DNA标记的相关分析[J].福建农林大学学报(自然科学版),2009,38(5):532-536.
LIU M, JI T, YIN L, et al. Relationship between microsatellite DNA makers and morphology feature of *Apis cerana*
- cerana* populations in Wuyi mountain[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2009, 38(5): 532-536.
- [9] 陈杨,宗超,余林生,等.皖南山区与皖西大别山区中华蜜蜂群体微卫星DNA遗传多样性研究[J].中国蜂业,2011,62(Z4):8-11.
CHEN Y, ZONG C, YU L S, et al. Study on Microsatellite DNA Genetic Diversity of *Apis cerana cerana* in Wannan moutain area and Wanxi Da Bie moutain area[J]. Apiculture of China, 2011, 62(Z4): 8-11.
- [10] TAKAHASHI J, SHIMIZU S, KOYAMA S, et al. Variable microsatellite loci isolated from the Asian honeybee, *Apis cerana* (Hymenoptera; Apidae)[J]. Molecular Ecology Resources, 2010, 9(3): 819-821.
- [11] 于瀛龙,周姝婧,徐新建,等.贵州省东方蜜蜂微卫星DNA遗传分化与遗传多样性分析[J].福建农林大学学报(自然科学版),2017,46(3):323-328.
YU Y L, ZHOU S J, XU X J, et al. Genetic diversity and genetic differentiation of *Apis cerana* in Guizhou province of southwest China[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2017, 46(3): 323-328.
- [12] 徐新建,周姝婧,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.
XU X J, ZHOU S J, ZHU X J, et al. Microsatellite DNA analysis of genetic diversity of *Apis cerana cerana* in Hainan island, southern China[J]. Acta Entomologica Sinica, 2013, 56(5): 554-560.
- [13] 徐新建,周姝婧,朱翔杰,等.黄土高原中华蜜蜂遗传多样性的微卫星DNA分析[J].福建农林大学学报(自然科学版),2013,42(6):638-642.
XU X J, ZHOU S J, ZHU X J, et al. Microsatellite DNA genetic diversity of *Apis cerana cerana* from the Loess Plateau, Northwest China[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2013, 42(6): 638-642.
- [14] 郭慧萍,周姝婧,朱翔杰,等.秦巴山区中华蜜蜂种群微卫星DNA遗传分析[J].昆虫学报,2016,59(3):337-345.
GUO H P, ZHOU S J, ZHU X J, et al. Population genetic

- analysis of *Apis cerana cerana* from the Qinling-Daba mountain areas based on microsatellite DNA[J]. Acta Entomologica Sinica, 2016, 59(3):337-345.
- [15] 李婉攻. 基于微卫星和线粒体 DNA 的陕西秦巴山区中华蜜蜂遗传多样性研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2017.
- LI W M. Genetic diversity of Chinese honeybees in Qinba Mountain, Shaanxi Province based on microsatellite and mitochondrial DNA[D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2017.
- [16] LIU L, QIN M Z, YANG L, et al. A genome-wide analysis of simple sequence repeats in *Apis cerana* and its development as polymorphism markers[J]. Gene, 2017, 599: 53-59.
- [17] 沈浩, 刘登义. 遗传多样性概述[J]. 生物学杂志, 2001, 18(3): 5-7.
- SHEN H, LIU D Y. Overview of genetic diversity [J].
- Journal of Biology, 2001, 18(3): 5-7.
- [18] BARKER J S F. Sequential gel electrophoretic analysis of esterase-2 in two populations of *Drosophila buzzatii* [J]. Genetica, 1994, 92(3): 165-175.
- [19] 高雅, 李生斌. 样本量对等位基因检出数量的影响[J]. 中国优生与遗传杂志, 2008(8): 7-9.
- GAO Y, LI S B. The effect of sample size on the number of alleles detected [J]. Journal of eugenics and genetics of China, 2008(8): 7-9.
- [20] BOTSTEIN D, WHITE R, SKOLNICK M. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. American Journal of Human Genetics, 1980, 32: 314-331.
- [21] WRIGHT S. The genetical structure of populations [J]. Annals of Eugenics, 1951, 15(4): 323-354.

Animal Sciences

The Analysis of Genetic Diversity on Five Wild Populations of *Apis cerana cerana* with Simple Sequence Repeat Markers

ZHANG Shuang, ZHOU Jun, HU Chong, LU Yan, SHI Peng, XU Jinshan
 (Chongqing key Laboratory of Vector Insects, Chongqing Key Laboratory of Animal Biology,
 Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract: [Purposes] Genetic diversity of five *Apis cerana cerana* natural populations in Sichuan Aba, Loess Plateau, Hainan Island, Zhejiang-Fujian hilly, and Southern Yunnan Province was analyzed. [Methods] PCR implications were performed after genomic DNAs of samples were extracted, and then PAGEs were accomplished. By calculating several parameters including number of alleles, polymorphic information content, expected heterozygosity, observed heterozygosity, Nei's distance, genetic similarity coefficient and genetic differentiation coefficient of 15 pairs of simple sequence repeat markers in five *Apis cerana cerana* wild populations, the genetic diversity and the genetic differentiation of each population were evaluated. [Findings] A total of 64 alleles were detected at all loci for all the samples, with an average of 4.266 7 alleles per locus and 2~6 alleles per locus. The average allele number of each population was ranged from 2.6 to 3.066 7, the average observed heterozygosity of each population was ranging from 0.550 3 to 0.664 3, the average expected heterozygosity of each population was 0.524 4~0.566 7, and the polymorphic information content of the 5 populations was 0.410 3~0.492 7. There were obvious differentiation between Sichuan Aba population and any of the other population at three allele loci (Acc001, Acc096, and Acc131). The Loess Plateau population showed a certain degree of genetic differentiation with the populations in Hainan Island, Zhejiang-Fujian hilly, and Southern Yunnan Province at three allele loci (Acc114, Acc121, and ACC132). The population of Hainan Island, Zhejiang-Fujian hilly, and Southern Yunnan Province showed strong genetic differentiation at five sites (Acc001, Acc002, Acc004, Acc131, and Acc132). The genetic differentiation between the Zhejiang-Fujian hilly, and Southern Yunnan Province populations was very obvious at three loci (Acc002, Acc121, and Acc131). The Nei's distance between the five natural populations ranged from 0.160 1 to 0.491 0. [Conclusions] In summary, the genetic diversity of five natural *Apis cerana cerana* populations was high, and the pairwise genetic differentiation among populations was obvious.

Keywords: microsatellite markers; *Apis cerana cerana*; wild population; genetic diversity

(责任编辑 方 兴)