

文章编号: 1000-0615(2018)08-1273-12

DOI: 10.11964/jfc.20171010997

## 草鱼野生与选育群体遗传变异微卫星分析

王沈同<sup>1,2,3</sup>, 沈玉帮<sup>1,2,3\*</sup>, 孟新展<sup>1,2,3</sup>, 王荣泉<sup>4</sup>, 李家乐<sup>1,2,3</sup>

(1. 上海海洋大学农业部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306;

2. 上海海洋大学上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306;

3. 上海海洋大学水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306;

4. 苏州市申航生态科技发展股份有限公司,

农业部大宗淡水鱼类繁育与健康养殖技术重点实验室, 江苏 苏州 215221)

**摘要:** 为探究经过2个选育世代后选育群体遗传多样性和遗传结构的变化, 实验采用多重PCR技术对4个野生草鱼群体(邗江、九江、石首、吴江)和2个选育群体( $F_1$ 和 $F_2$ )进行了微卫星序列遗传变异分析。结果显示, 6个草鱼群体遗传多样性水平较高, 2个选育群体除了平均等位基因数( $N_a$ )外, 其他遗传多样性参数均小于4个野生群体。哈迪—温伯格平衡(Hardy-Weinberg equilibrium)检测显示, 在120个群体—位点组合中有62个位点显著偏离哈迪—温伯格平衡, 62个群体—位点组合中只有11个组合其近交系数( $F_{is}$ )值为负值, 其余的51个组合的 $F_{is}$ 均为正值。6个草鱼群体AMOVA分析结果显示, 3.75%的变异来自于群体间, 96.25%的变异来自于群体内, 整体的遗传分化指数( $F_{st}$ )值为0.038。进一步分析各个群体间 $F_{st}$ , 只有石首群体与 $F_1$ 、 $F_2$ 群体之间的 $F_{st}$ 大于0.05, 处于中等分化, 其余群体间分化程度较低, 且 $F_2$ 群体与4个野生群体之间 $F_{st}$ 比 $F_1$ 群体与4个野生群体之间的 $F_{st}$ 大。奈氏标准遗传距离( $D_n$ )分析结果显示, 2个选育群体与野生群体之间的遗传距离大于野生群体之间的遗传距离。基于 $D_n$ 建立的UPGMA系统发育树得出了相同的结果, 即2个选育群体与野生群体之间的亲缘关系比4个野生群体之间的亲缘关系要远。研究表明, 经过2个世代选育后, 相比4个野生群体, 2个选育群体遗传多样性虽有部分下降, 但仍处于较高的水平, 2个选育群体的遗传结构已发生变化, 但其遗传分化程度尚不明显。本研究结果为制定出更加完善有效的选育方案提供了重要参考。

**关键词:** 草鱼; 选育群体; 野生群体; 微卫星; 遗传变异

**中图分类号:** Q 347; S 965.112

**文献标志码:** A

草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)是我国重要的淡水养殖鱼类, 分布广泛, 北至我国的黑龙江水系, 南至珠江水系, 从唐代以来已有1 300多年的养殖历史<sup>[1]</sup>。据FAO统计, 我国草鱼的年产量在2014年位于世界淡水鱼品种产量的第一位<sup>[2]</sup>。在我国, 草鱼的年产量如此之高, 但其苗种的发展仍较为落后, 迄今没有系统选育出草鱼新品种<sup>[3]</sup>, 而且大多数养殖场并未对所养殖草鱼进行遗传背景方面的了解, 加之落后的养殖方式

和其他因素, 使得近年来草鱼种质资源退化日益严重, 具体表现为群体的近交系数变高, 遗传多样性下降, 进而导致其繁殖率降低和疾病发生率升高等一系列问题<sup>[4]</sup>。

近年来, 随着水产养殖业的迅猛发展, 良种缺乏成为制约我国水产养殖业健康可持续发展的重要因素之一<sup>[5]</sup>, 选择育种作为一种培育新优品种的有效途径, 已经在多种生物的选育中采用并取得成功<sup>[6]</sup>。在开展选择育种工作的过

收稿日期: 2017-10-11 修回日期: 2018-01-18

资助项目: 现代农业产业技术体系专项(CARS-45-03); 上海市工程中心提升项目(16DZ2281200)

通信作者: 沈玉帮, E-mail: ybshen@shou.edu.cn

程中, 群体遗传多样性和遗传结构的跟踪调查显得尤为重要, 较高的遗传多样性有助于提高育种效率, 提升群体的适应能力和抗病能力<sup>[7]</sup>。因此, 在开展选择育种的过程中有必要对选育群体进行遗传多样性和遗传结构方面的跟踪调查, 促进我国水产养殖业健康、稳定、可持续发展。

微卫星标记在群体遗传学、亲缘关系鉴定、遗传多样性分析等方面应用十分广泛<sup>[8-9]</sup>, 其具有共显性遗传特性、数量多、分布广泛而均匀、多态性丰富、杂合度高、通用性好、扩增反应所需模板量少、结果稳定和检测方便等一系列优点<sup>[10]</sup>, 是方便进行群体遗传信息调查的有效工具。近几年来, 关于运用微卫星标记研究草鱼群体遗传多样性和遗传结构的报道大多集中于野生群体和养殖群体<sup>[11-13]</sup>, 对于草鱼选育群体遗传多样性和遗传结构的报道较少。本实验室于2016年开展了对于草鱼野生群体(邗江、九江、石首、吴江)和选育群体( $F_1$ 和 $F_2$ )线粒体DNA控制区D-loop的遗传变异分析<sup>[14]</sup>, 在初步获得野生和选育群体遗传信息的基础上, 采用本实验室自行开发的多重SSR-PCR体系对4个野生群体(邗江、九江、石首、吴江)和2个选育群体( $F_1$ 和 $F_2$ )的遗传多样性和遗传结构进行分析, 旨在获得更加全面可靠的群体遗传信息, 为今后制定出更加合理有效的选育方案提供有力的参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料与DNA提取

本实验所用的邗江、九江、石首、吴江、 $F_1$ 和 $F_2$  6个群体从苏州申航生态科技发展股份有限公司采集(表1)。2007—2008年分别收集了4个长江水系野生群体, 经过遗传分析后构建了长江水系基础群体。2010年从基础群体中随机选取88尾亲本采用定向交配和随机交配(个体间遗传距离设计)结合的方式繁殖产生了 $F_1$ <sup>[3]</sup>。经过5年的培育, 2015年选取来自不同家系的106尾 $F_1$ 采用随机交配的方法繁殖产生了 $F_2$ <sup>[14]</sup>。对本实验中的所有样品剪取草鱼胸鳍组织, 保存于无水乙醇中, 随后采用海洋动物组织基因组DNA提取试剂盒(天根生化科技北京有限公司)提取基因组DNA, 通过1%的琼脂糖凝胶电泳检测其完整

性, 经NanoDrop 2000C分光光度计检测其纯度及浓度, 并将DNA样品稀释成20 ng/ $\mu$ L于-20 °C保存备用。

表1 样品采样地点和数量

Tab. 1 Sites and the number of the samples in this study

群体 population	经纬度 latitude and longitude	样本数量 number
邗江(HJ) Hanjiang population	+119°25'48", +32°21'	27
九江(JJ) Jiujiang population	+116°, +29°43'48"	28
石首(SS) Shishou population	+112°30'36", +29°44'24"	27
吴江(WJ) Wujiang population	+120°39'36", +31°	27
$F_1$ $F_1$ population	+120°38'24", +30°58'48"	57
$F_2$ $F_2$ population	+120°38'24", +30°58'48"	59

### 1.2 微卫星引物与PCR扩增

本研究所用的20对微卫星标记来自于本实验室自行开发的多重SSR-PCR体系, 已知本体系中的16对微卫星标记均匀分布于草鱼的12条染色体上<sup>[15]</sup>, 因此其实验数据基本能够有效代表个体的遗传信息情况。标记的引物由上海迈浦生物科技有限公司合成, 分别在上游引物5'端添加HEX和6-FAM荧光标记(表2)。PCR扩增体系: 2×*Taq* Mastermix 10  $\mu$ L、4对上下游引物共2  $\mu$ L (10  $\mu$ mol/L)、DNA模板3  $\mu$ L (20 ng/ $\mu$ L)和ddH<sub>2</sub>O 5  $\mu$ L, 共20  $\mu$ L。PCR反应程序: 94 °C预变性2 min; 94 °C变性30 s、55 °C退火30 s、72 °C延伸40 s, 35个循环; 72 °C终延伸10 min。扩增反应在Eppendorf梯度PCR仪上完成, PCR产物加样至ABI3730XL全自动遗传分析仪(美国ABI公司)中进行毛细管电泳检测, 加样时每一个加样孔中都加入内标LIZ500, 使基因型读数更加准确, 每个个体微卫星位点所对应的基因型使用GeneMapper 3.5软件进行统计与分析。

### 1.3 数据分析

采用POPGENE (Version 1.32)软件包<sup>[16]</sup>, 计算各个群体的等位基因数( $N_a$ )、有效等位基因数( $N_e$ )、观测杂合度( $H_o$ )、期望杂合度( $H_e$ )、近交系数(inbreeding coefficient,  $F_{is}$ )、群体间奈氏标准遗传距离(standard genetic distance,  $D_n$ )<sup>[17]</sup>, 并对位点偏离哈迪—温伯格平衡值(Hardy-Weinberg equilibrium, *HWE*)进行卡方检验。由于等位基因数可能

表 2 20对微卫星引物详细信息

Tab. 2 Detailed information for 20 pairs of microsatellite primers

组别 set	位点 locus	引物序列(5'-3') primer sequence(5'-3')	重复单位 repeat unit	退火温度/°C annealing temperature	浓度/( $\mu\text{mol/L}$ ) concentration	参考产物长度/bp reference product length	登录号 accession number
Set A	CID0474	F: FAM-GGGCGCTGTCTTGAAACAA	(GT) <sub>12</sub>	55	0.075	126~158	FJ883334
		R: TTGGGAATGAGCTGCTAACAAG					
	CID0173	F: FAM-CGTGCCGACTTTCAGACTA	(TG) <sub>7</sub>		0.175	212~254	FJ883248
		R: CCAATTCCTTACCTTGCTAATAC					
CID1533	F: FAM-GCCCGCTTGCCATTCTCAGT	(GA) <sub>44</sub>		0.100	306~336	FJ883458	
	R: GTCGACGATCTGTCCATCAGTGTG						
CID0869	F: HEX-GCACGAGCCTCTAAAGTCCGTCAG	(GT) <sub>8</sub>		0.150	434~442	FJ883407	
	R: CATAGCGCCACCGGAGTTCA						
Set B	CID0042	F: FAM-CACGGATAAATCCAGATACACTCA	(GT) <sub>8</sub>	55	0.150	124~132	FJ883183
		R: GTCCGGCGACCAGACTCAC					
	CID0347	F: HEX-GTAACCCAACCGCTGAACCA	(CA) <sub>12</sub>		0.100	184~208	FJ883304
		R: TTCCCGTCTGAACATCGTGAT					
CID0615	F: HEX-AGAGCCGTGAGGAGGAGTTGG	(GA) <sub>6</sub> ...		0.125	228~256	FJ883360	
	R: ACTGGGGGCCCTTGTTTCTGC	(CA) <sub>16</sub>					
CID1528	F: FAM-GCTGGTTTAAACAGGCACACCTTC	(CT) <sub>18</sub>		0.125	320~338	FJ883453	
	R: TTGGGACGGAAAGCTGCTCTG						
Set C	CID0047	F: HEX-GTCCAGCACGGCCTTCTTCA	(AC) <sub>8</sub>	55	0.100	134~150	FJ883185
		R: GCATGTGTTCAGTGTGTT					
	CID0382	F: FAM-CCAGCTTAGGCTAACTGTTTGT	(AC) <sub>17</sub>		0.100	200~214	FJ883312
		R: CATGCTGCCAGTCACTTATTA					
CID1531	F: HEX-CTACCCCGGAAAATGTGTTTGTGA	(GT) <sub>23</sub>		0.150	360~384	FJ883456	
	R: GGCCCCAGCGCAGTGTA						
CID1532	F: FAM-CAATGCCCTTAAACTATACTCTTG	(CT) <sub>30</sub>		0.150	448~456	FJ883457	
	R: GAGACCTGTTGAAAATAACTTGT						
Set D	CID0283	F: HEX-CATATAATTACTIONCAGGTGTGTG	(GT) <sub>14</sub>	55	0.125	138~174	FJ883284
		R: ACGAAAATTGTATCCGTCTTGA					
	Ci390	F: HEX-TCCCTGATGGTTGCTATG	(TG) <sub>18</sub> ...		0.150	198~222	JX847639
		R: TAGGAAATTGTGAATGACTTG	(TG) <sub>6</sub>				
Ci398	F: HEX-GTTAAGTTTAGGTATTGGGTAG	(CA) <sub>11</sub>		0.150	270~304	JX847640	
	R: CAGCAGGAAATGTAGATGG						
CID1535	F: FAM-CGCTTGGGGACATAAATCATTG	(CT) <sub>27</sub>		0.075	314~336	FJ883460	
	R: GAAACGGATACCCCTTATGC						
Set E	CID1512	F: FAM-GCGCGTTGTTGGTGTGC	(CT) <sub>22</sub>	55	0.100	132~154	FJ883438
		R: GCAGGACTAGGATCGTGGTCATT					
	Ci240	F: FAM-AGCCTTGTGTTGGCATT	(TG) <sub>10</sub>		0.125	199~235	JX847631
		R: CAGCAGGGAGTCCACTT					
Ci120	F: FAM-TTGAGACAAAATGGAGA	(CA) <sub>10</sub>		0.175	274~298	JX847629	
	R: TTGACGCTAGAGCAGACG						
CID0598	F: HEX-CACCCACTGTTGATTTGAAGAGG	(CA) <sub>9</sub>		0.100	316~352	FJ883358	
	R: AGCCGCAGGGTAAAAGTGATT						

会受抽样多少的影响, 本实验采用FSTAT 2.9.3软件对不同群体的等位基因丰度( $A_r$ )进行计算<sup>[18]</sup>。采用Cervus 3.0<sup>[19]</sup>软件计算多态性信息含量(polymorphism information content,  $PIC$ )。采用SPSS 20.0<sup>[20]</sup>软件中非参数检验(Kruskal-Wallis test,  $KW$  test)对6个群体的 $N_a$ 、 $N_e$ 、 $H_o$ 、 $H_e$ 、 $A_r$ 和 $PIC$ 进行显著性检测。采用Arlequin 3.5<sup>[21]</sup>软件计算6个群体的分子方差分析(AMOVA), 并计算6个群体两两之间的遗传分化指数( $F_{st}$ ), 利用排列测验法(permutation test)进行显著性检验(重复次数为1 000)。采用Mega 5.1<sup>[22]</sup>软件根据群体间奈氏标准遗传距离构建UPGMA系统发育树。

## 2 结果

### 2.1 微卫星位点多态性

采用20对微卫星引物对6个草鱼群体共225个个体进行了遗传变异分析, 共得到341个等位基因, 每个位点得到7~26个等位基因, 平均每个位点的 $N_a$ 为17.050、 $N_e$ 为10.733、 $H_o$ 为0.780、 $H_e$ 为0.903、 $PIC$ 为0.876(表3)。

### 2.2 草鱼群体遗传多样性

4个野生群体各位点平均变化范围 $N_a$ 为13.400~14.650、 $N_e$ 为7.704~9.113、 $H_o$ 为0.800~0.833、 $H_e$ 为0.865~0.889、 $A_r$ 为12.701~14.253、 $PIC$ 为0.833~0.858; 2个选育群体( $F_1$ ,  $F_2$ )以上参数变化范围分别为13.000~13.950、6.602~6.736、0.749~0.752、0.842~0.847、10.754~11.226、0.819~0.821(表3)。对6个群体的平均 $N_a$ 、 $N_e$ 、 $H_o$ 、 $H_e$ 、 $A_r$ 和 $PIC$ 进行 $KW$  test检验, 结果显示, 6个群体间只有平均 $H_e$ 和平均 $A_r$ 差异显著( $P<0.05$ ), 其中 $F_1$ 群体的平均 $A_r$ 显著低于邗江、九江和吴江群体。

$HWE$ 结果显示, 在120个群体一位点组合中有62个位点显著偏离哈迪—温伯格平衡( $P<0.05$ ), 其中邗江群体有7个, 九江群体有9个, 石首群体有12个, 吴江群体有5个,  $F_1$ 群体有15个,  $F_2$ 群体有14个(表3)。62个群体一位点组合中, 野生群体有8个组合其 $F_{is}$ 值为负值, 选育群体有3个组合其 $F_{is}$ 值为负值, 其余的51个组合的 $F_{is}$ 均为正值, 表现出一定的杂合子缺失。6个群体的平均 $F_{is}$ 均为正值, 采用 $KW$  test检验6个群体的 $F_{is}$ , 结果显示,  $F_{is}$ 值在6个群体间无显著性差异( $P>0.05$ )。

### 2.3 群体间的遗传分化

6个草鱼群体的AMOVA分析结果显示, 3.75%的变异来自群体间, 96.25%的变异来自群体内, 整体的 $F_{st}$ 值为0.038( $P<0.01$ )(表4)。进一步对6个群体间的 $F_{st}$ 进行分析, 结果显示, 其数值范围为0.013~0.072, 其中遗传分化最小的是邗江和吴江群体, 遗传分化最大的是石首和 $F_2$ 群体, 两两群体之间均存在极显著差异的 $F_{st}$ 值( $P<0.01$ ), 而且 $F_2$ 群体与4个野生群体之间的遗传分化系数比 $F_1$ 群体与4个野生群体之间的遗传分化系数大(表5)。

对草鱼6个群体的 $D_n$ 进行计算, 结果显示, 6个群体遗传距离变化范围为0.316~0.671, 遗传距离最小的2个群体是九江和石首群体, 最大的2个群体是石首和 $F_2$ 群体, 2个选育群体与野生群体之间的遗传距离高于野生群体之间的遗传距离(表5)。基于 $D_n$ 用UPGMA法构建了6个群体的系统发育树, 结果显示, 6个群体中4个野生群体最先聚类为一支, 再与 $F_1$ 群体聚为一支,  $F_2$ 群体独立为一支(图1)。

## 3 讨论

等位基因数、杂合度和多态性信息含量是群体遗传多样性评价的重要参数<sup>[23]</sup>。本研究中, 6个草鱼群体平均每个位点的 $N_a$ 为17.050、 $N_e$ 为10.733、 $H_o$ 为0.780、 $H_e$ 为0.903、 $PIC$ 为0.876(表3)。6个草鱼群体遗传多样性高于池喜峰等<sup>[24]</sup>对鲤(*Cyprinus carpio*)易捕性状选育群体遗传多样性的估计, 也明显高于鲁翠云等<sup>[25]</sup>对于镜鲤选育群体遗传多样性分析的结果, 一方面说明本实验所研究的6个群体具有较高的遗传多样性, 具有进一步选育的价值; 另一方面也能说明, 本实验室自行开发的多重SSR-PCR体系内包含的微卫星标记具有较高的多态性。根据Barker<sup>[26]</sup>对微卫星选择的标准, 每个微卫星标记至少应有4个等位基因方能较好地用于遗传多样性的评估, 本研究中群体的平均 $N_a$ 远高于Barker<sup>[26]</sup>所界定的标准( $N_a=17.050$ ), 数据表明, 本实验所采用的多重SSR-PCR体系基本能够有效和灵敏地反映草鱼群体的大部分遗传信息。

进一步分析6个群体遗传多样性参数的差异, 结果显示, 6个群体间只有平均 $H_e$ 和平均 $A_r$ 差异显著( $P<0.05$ ), 其余遗传多样性参数在群体间无显著性差异( $P>0.05$ ), 其中 $F_1$ 群体的平均

表 3 草鱼6个群体遗传多样性参数  
Tab. 3 The genetic diversity parameters of six *C. idella* populations

微卫星位点 locus	CID0474	CID0173	CID1533	CID0869	CID0042	CID0347	CID0615	CID1528	CID0047	CID0382	CID1531	CID1532	CID0283	C390	C398	CID1535	CID1512	C1240	C1120	CID0598	平均值 mean
荆江 Hanjiang																					
$N_a$	12	7	25	8	16	11	13	13	12	12	16	15	21	15	20	11	15	14	12	10	13.900
$N_c$	6.451	5.688	17.633	5.454	9.121	5.454	9.446	6.961	7.347	9.043	11.626	8.464	7.297	10.173	10.475	5.317	8.672	6.046	7.197	4.283	8.107
$H_o$	0.913	0.913	0.870	0.913	0.826	0.609	0.783	0.870	0.783	0.870	0.783	0.696	0.870	0.739	0.696	0.870	0.913	0.913	0.826	0.609	0.813
$H_e$	0.864	0.843	0.964	0.835	0.910	0.835	0.914	0.875	0.883	0.909	0.934	0.901	0.882	0.922	0.925	0.830	0.904	0.853	0.880	0.784	0.882
$A_r$	12.000	7.000	25.000	8.000	16.000	11.000	13.000	13.000	12.000	12.000	16.000	15.000	21.000	15.000	20.000	11.000	15.000	14.000	12.000	10.000	13.900
$PIC$	0.828	0.801	0.940	0.794	0.881	0.794	0.885	0.841	0.849	0.880	0.908	0.871	0.856	0.894	0.899	0.790	0.874	0.822	0.847	0.742	0.850
$F_{is}$	-0.081	-0.108	0.078	-0.118	0.072	0.255	0.125	-0.016	0.094	0.022	0.144	0.211	-0.008	0.180	0.231	-0.071	-0.032	-0.094	0.041	0.206	0.057
$HWE$	0.951	0.344	0.023*	0.828	0.490	0.278	0.130	0.097	0.119	0.038*	0.301	0.000*	0.989	0.000*	0.009*	0.848	0.881	0.988	0.007*	0.006*	
九江 Jiujiang																					
$N_a$	17	12	26	11	17	10	14	10	18	12	20	19	15	12	12	11	16	17	9	11	14.450
$N_c$	13.714	6.128	18.885	7.529	11.185	6.031	10.868	5.053	11.294	8.348	13.714	14.049	8.113	7.432	4.085	5.031	11.755	6.737	5.009	7.291	9.113
$H_o$	0.958	0.792	1.000	0.667	0.958	0.833	0.958	0.875	0.958	0.875	0.792	0.792	0.708	0.750	0.625	0.917	0.958	0.833	0.792	0.625	0.833
$H_e$	0.947	0.855	0.967	0.886	0.930	0.852	0.927	0.819	0.931	0.899	0.947	0.949	0.895	0.884	0.771	0.818	0.934	0.870	0.817	0.881	0.889
$A_r$	16.871	11.832	25.451	10.956	16.747	9.915	13.873	9.832	17.664	11.915	19.702	18.746	14.707	11.873	11.789	10.872	15.910	16.662	8.916	10.832	14.253
$PIC$	0.922	0.818	0.945	0.854	0.904	0.816	0.901	0.776	0.905	0.869	0.923	0.924	0.865	0.852	0.733	0.780	0.909	0.840	0.776	0.848	0.858
$F_{is}$	-0.034	0.054	-0.056	0.231	-0.052	0.001	-0.055	-0.091	-0.051	0.006	0.146	0.148	0.192	0.133	0.172	-0.144	-0.047	0.021	0.011	0.276	0.043
$HWE$	0.103	0.102	0.210	0.000*	0.180	0.395	0.627	0.703	0.820	0.551	0.006*	0.000*	0.004*	0.011*	0.002*	0.001*	0.500	0.000*	0.715	0.000*	
石首 Shishou																					
$N_a$	10	11	14	11	13	8	13	12	21	12	22	20	14	12	14	8	18	13	8	14	13.400
$N_c$	4.643	6.451	12.050	5.063	5.855	4.276	8.237	6.285	13.376	7.755	13.018	11.758	8.783	7.327	6.509	3.941	12.462	4.202	4.876	7.218	7.704
$H_o$	0.852	0.963	0.815	0.778	0.778	0.815	0.889	0.889	0.889	0.852	0.741	0.741	0.667	0.778	0.889	0.704	0.963	0.815	0.630	0.556	0.800

·续表3·

微卫星位点 locus		平均值 mean																				
		CID0474	CID0173	CID1533	CID0869	CID0042	CID0347	CID0615	CID1528	CID0047	CID0382	CID1531	CID1532	CID0283	C1390	Ci398	CID1535	CID1512	C1240	Ci120	CID0598	平均值 mean
$H_e$		0.799	0.861	0.934	0.818	0.845	0.781	0.895	0.857	0.943	0.887	0.941	0.932	0.903	0.880	0.862	0.760	0.937	0.776	0.810	0.878	0.865
$A_r$		9.555	10.662	13.694	10.385	12.329	7.553	12.494	11.366	19.802	11.734	20.161	18.584	13.364	11.734	12.924	7.556	17.283	11.793	7.958	13.087	12.701
$PIC$		0.766	0.828	0.911	0.779	0.813	0.730	0.867	0.824	0.921	0.858	0.918	0.909	0.876	0.849	0.830	0.716	0.914	0.733	0.768	0.848	0.833
$F_{is}$		-0.086	-0.140	0.111	0.031	0.062	-0.064	-0.012	-0.057	0.039	0.022	0.198	0.190	0.248	0.099	-0.050	0.057	-0.047	-0.069	0.208	0.355	0.055
$HWE$		0.000*	0.472	0.009*	0.939	0.006*	0.984	0.000*	0.007*	0.489	0.228	0.028*	0.002*	0.007*	0.103	0.000*	0.157	0.004*	0.725	0.000*	0.000*	0.000*
吴江 Wujiang																						
$N_a$	12	16	26	12	16	12	16	15	15	16	11	17	17	17	11	14	15	15	15	10	11	14.650
$N_e$	8.145	8.945	19.440	7.554	10.196	4.166	4.166	9.785	7.516	8.890	6.152	8.731	9.720	7.674	7.674	7.674	6.688	12.252	8.145	4.812	4.734	8.445
$H_0$	0.926	0.852	0.963	0.889	0.852	0.481	0.963	0.852	0.852	0.704	0.815	0.815	0.815	0.667	0.667	0.741	0.889	1.000	0.852	0.852	0.704	0.815
$H_e$	0.894	0.905	0.966	0.884	0.919	0.774	0.915	0.883	0.883	0.904	0.853	0.902	0.914	0.886	0.886	0.886	0.867	0.936	0.894	0.807	0.804	0.884
$A_r$	11.771	14.921	24.099	11.257	15.290	11.237	14.472	14.067	14.067	14.919	10.368	15.901	16.011	15.606	10.645	13.344	14.030	14.640	14.215	9.388	10.604	13.839
$PIC$	0.865	0.878	0.946	0.853	0.894	0.742	0.889	0.854	0.878	0.818	0.876	0.876	0.889	0.857	0.856	0.857	0.835	0.912	0.867	0.765	0.765	0.855
$F_{is}$	-0.056	0.041	-0.015	-0.025	0.056	0.366	-0.073	0.017	0.207	0.027	0.080	0.080	0.092	0.233	0.233	0.148	-0.045	-0.089	0.029	-0.075	0.108	0.063
$HWE$	0.000*	0.016*	0.369	0.807	0.542	0.025*	0.554	0.521	0.877	0.940	0.995	0.995	0.854	0.816	0.429	0.012*	0.198	0.720	0.514	0.000*	0.302	0.000*
$F_1$																						
$N_a$	13	12	21	10	14	8	8	12	10	12	13	13	15	22	11	13	11	19	12	8	13	13.000
$N_e$	6.278	6.224	11.223	5.037	8.246	3.694	8.439	6.453	7.102	6.987	5.870	5.870	7.618	9.101	8.205	4.774	4.258	8.722	4.995	4.347	7.156	6.736
$H_0$	0.947	0.807	0.754	0.895	0.912	0.456	0.719	0.860	0.596	0.789	0.667	0.667	0.719	0.825	0.789	0.421	0.754	0.684	0.895	0.825	0.667	0.749
$H_e$	0.848	0.847	0.919	0.809	0.887	0.736	0.889	0.853	0.867	0.864	0.837	0.837	0.876	0.898	0.886	0.798	0.772	0.893	0.807	0.777	0.868	0.847
$A_r$	11.041	9.937	16.677	8.486	11.855	7.470	11.586	9.575	10.651	10.822	10.542	10.542	12.041	15.659	9.921	9.787	8.122	14.247	9.690	7.052	9.913	10.754
$PIC$	0.823	0.822	0.905	0.774	0.868	0.692	0.871	0.827	0.844	0.842	0.812	0.812	0.856	0.882	0.866	0.766	0.737	0.876	0.775	0.737	0.845	0.821
$F_{is}$	-0.127	0.039	0.172	-0.116	-0.038	0.375	0.184	-0.017	0.306	0.079	0.196	0.196	0.172	0.074	0.101	0.467	0.014	0.227	-0.119	-0.071	0.225	0.107
$HWE$	0.093	0.112	0.000*	0.000*	0.160	0.000*	0.000*	0.017*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.461	0.614	0.000*	0.000*

·续表3·

微卫星位点 locus	平均 mean																			
	CID0474	CID0173	CID1533	CID0869	CID0042	CID0347	CID0615	CID1528	CID0047	CID0382	CID1531	CID1532	CID0283	C390	C398	CID1535	CID1512	C120	CID0598	
$F_2$																				
$N_a$	14	13	19	9	13	12	14	12	13	14	11	16	17	15	20	14	19	15	8	11
$N_e$	7.336	5.508	9.246	6.631	6.631	3.307	8.681	5.628	7.527	7.328	5.056	5.389	5.935	7.344	8.429	5.274	12.108	4.212	4.801	5.669
$H_o$	0.780	0.746	0.864	0.831	0.881	0.508	0.559	0.712	0.492	0.797	0.661	0.847	0.746	0.780	0.763	0.949	0.915	0.729	0.729	0.746
$H_e$	0.871	0.825	0.899	0.856	0.856	0.704	0.892	0.829	0.875	0.871	0.809	0.821	0.839	0.871	0.889	0.817	0.925	0.769	0.798	0.831
$A_r$	11.178	11.037	14.955	8.240	10.685	9.359	12.305	10.180	11.141	11.216	9.812	12.381	12.881	11.510	15.112	10.663	15.229	10.726	6.795	9.113
$PIC$	0.850	0.799	0.884	0.831	0.834	0.678	0.875	0.806	0.855	0.849	0.785	0.800	0.815	0.850	0.872	0.789	0.911	0.742	0.762	0.802
$F_{is}$	0.097	0.089	0.031	0.022	-0.038	0.271	0.368	0.134	0.433	0.078	0.176	-0.041	0.103	0.097	0.135	-0.171	0.002	0.044	0.080	0.095
$HWE$	0.005*	0.001*	0.000*	0.704	0.000*	0.012*	0.000*	0.126	0.000*	0.003*	0.000*	0.357	0.628	0.000*	0.000*	0.077	0.000*	0.024*	0.969	0.003*
汇总 total																				
$N_a$	17	16	26	12	17	12	15	15	21	14	22	20	22	15	20	15	19	17	12	14
$N_e$	9.671	8.846	18.546	8.060	11.787	7.610	11.908	8.377	13.615	11.896	13.024	10.873	11.295	10.724	11.516	7.459	15.011	7.728	7.970	8.753
$H_o$	0.885	0.825	0.857	0.839	0.876	0.576	0.760	0.825	0.677	0.820	0.719	0.774	0.756	0.760	0.664	0.848	0.876	0.830	0.774	0.668
$H_e$	0.899	0.889	0.948	0.878	0.917	0.871	0.918	0.883	0.929	0.918	0.925	0.910	0.914	0.909	0.915	0.868	0.936	0.873	0.877	0.888
$PIC$	0.904	0.858	0.946	0.880	0.901	0.796	0.907	0.849	0.910	0.897	0.887	0.891	0.883	0.924	0.871	0.816	0.931	0.823	0.797	0.848

注: \*代表群体在此位点偏离哈迪-温伯格平衡  
Notes: \* represents population deviates from Hardy-Weinberg equilibrium at this locus

表 4 草鱼6个群体间遗传差异的分子方差分析

Tab. 4 Analysis of molecular variance (AMOVA) of six populations of *C. idella*

变异来源 source of variation	自由度 df	平方和 sum of squares	变异组分 variance components	变异百分比/% percentage of variation
群体间 among populations	5	159.981	0.335 71V <sub>a</sub>	3.75
群体内 within populations	428	3 684.007	8.607 49V <sub>b</sub>	96.25
总体 total	433	3 843.988	8.9432	

注:  $F_{st}=0.038(P<0.01)$ ; V<sub>a</sub>为群体间方差组分, V<sub>b</sub>为群体内方差组分  
Notes:  $F_{st}=0.038(P<0.01)$ ; V<sub>a</sub> is variance component among populations, V<sub>b</sub> is variance component within populations

表 5 草鱼6个群体间遗传分化F<sub>st</sub>值和奈氏标准遗传距离(D<sub>n</sub>)

Tab. 5 Genetic differentiation F<sub>st</sub> values and Nei's genetic distance D<sub>n</sub> among six populations of *C. idella*

	邗江 Hanjiang	九江 Jiujiang	石首 Shishou	吴江 Wujiang	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>
邗江 Hanjiang		0.384	0.416	0.439	0.492	0.565
九江 Jiujiang	0.032*		0.316	0.352	0.585	0.478
石首 Shishou	0.051*	0.024*		0.475	0.505	0.671
吴江 Wujiang	0.013*	0.019*	0.037*		0.548	0.476
F <sub>1</sub>	0.020*	0.043*	0.063*	0.024*		0.594
F <sub>2</sub>	0.027*	0.049*	0.072*	0.031*	0.032*	

注: \*代表P<0.01, 对角线以上是奈氏标准遗传距离(D<sub>n</sub>), 对角线以下是遗传分化指数(F<sub>st</sub>)

Notes: \* represents P<0.01, Nei's genetic distance (above diagonal) and F<sub>st</sub> (below diagonal)

A<sub>r</sub>显著低于邗江、九江和吴江群体, 并且发现2个选育群体除了平均N<sub>a</sub>水平上, 其余各遗传多样性参数均小于4个野生群体。在选育的过程中, 发现F<sub>1</sub>群体的平均A<sub>r</sub>显著低于邗江、九江和吴江群体, 而F<sub>2</sub>群体未表现出显著性的差异, 这可能是由于采样等原因存在的较小误差所造成的。但总体分析, F<sub>1</sub>和F<sub>2</sub>选育群体的遗传多样性相比野生群体有下降的趋势, 这种情况在其他物种的选育过程中同样出现过。赵广泰等<sup>[27]</sup>对连续选育4代的大黄鱼(*Larimichthys crocea*)群体进行遗传多样性研究, 结果表明, 随着选育的进行, F<sub>1</sub>到F<sub>4</sub>遗传多样性参数呈下降趋势; 郑荷子等<sup>[28]</sup>对连续4代鳊(*Siniperca chuatsi*)选育群体的遗传多样性及遗传结构进行研究, 其结果显示, 从F<sub>1</sub>到F<sub>4</sub>, 遗传多样性参数逐渐下降。本实验中, 选育群体的遗传多样性虽有下降, 但仍

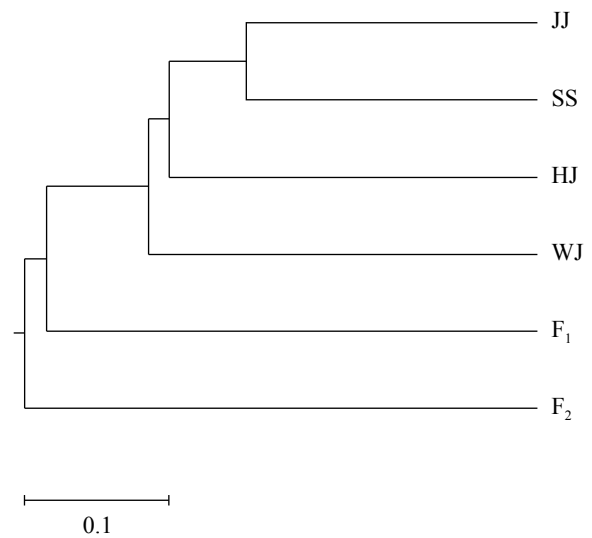


图 1 基于奈氏标准遗传距离构建的6个草鱼群体的UPGMA系统发育树

JJ. 九江群体; SS. 石首群体; HJ. 邗江群体; WJ. 吴江群体; F<sub>1</sub>. F<sub>1</sub>群体; F<sub>2</sub>. F<sub>2</sub>群体

Fig. 1 The UPGMA phylogenetic tree of the six *C. idella* populations based on Nei's genetic distance

JJ. Jiujiang population; SS. Shishou population; HJ. Hanjiang population; WJ. Wujiang population; F<sub>1</sub>. F<sub>1</sub> population; F<sub>2</sub>. F<sub>2</sub> population

处于一个较高的遗传多样性水平, 这与本实验室之前开展的对于草鱼野生群体(邗江、九江、石首、吴江)和选育群体(F<sub>1</sub>和F<sub>2</sub>)线粒体DNA控制区D-loop的遗传变异分析所得到的结果不尽相同, 之前实验所得到的选育群体遗传多样性下降较为明显, 推测其原因可能是由于线粒体DNA具有母系无性遗传特点, 对于遗传漂变的影响会更为敏感, 因此利用线粒体DNA部分片段分析群体遗传漂变现象存在过分夸大的可能性<sup>[29]</sup>, 其他学者同样指出, 当对一个物种运用不同的标记进行遗传多样性分析时, 可能会产生不同的结果<sup>[30]</sup>, 因此有必要运用不同的分子标记对后代群体的遗传多样性进一步分析, 以检验当前微卫星标记和线粒体DNA部分片段分析所得结果。

通过各个位点哈迪—温伯格平衡的卡方检验发现, 4个野生群体中偏离哈迪—温伯格平衡的位点有5~12个, F<sub>1</sub>和F<sub>2</sub>群体中偏离平衡的位点分别有15个和14个。此结果首先可能是由于2个选育群体所采集的样本量多于4个野生群体样本量致使采集到的近缘个体增加所导致的<sup>[24]</sup>; 其次, 也可能由于F<sub>1</sub>和F<sub>2</sub>选育群体的基因型频率发生了改变所导致, 这说明经过人工定向选育,



群体的遗传结构已经发生了一些变化,体现了一定的人工定向选育效应;再者,本实验繁育过程中的雌雄比大约为1:1<sup>[31]</sup>,但是有研究表明,在繁育时雄性之间具有竞争性,会导致个别雄性后代个数增加,且个头越大,体质量越重,肥满度越高的个体在竞争时更具有优势,往往后代越多<sup>[31-32]</sup>,因此在随机交配的情况下会出现后代各家系数目不均衡的现象,进而导致群体遗传漂变的发生,使其后代出现偏离哈迪—温伯格平衡的位点增多;同时,有些学者认为在水产动物中杂合子缺失是形成偏离哈迪—温伯格平衡状态的因素之一<sup>[33]</sup>,本实验中,野生群体偏离哈迪—温伯格平衡位点的 $F_{is}>0$ 的比例占到75.76%,而选育群体偏离哈迪—温伯格平衡位点的 $F_{is}>0$ 的比例高达89.66%, $F_{is}>0$ 表明群体存在杂合子缺失的现象,而本实验所研究的选育群体相比野生群体杂合子缺失的现象更明显,有研究表明,近亲交配是造成杂合子缺失现象的原因之一<sup>[34]</sup>,这与分析2个选育群体的遗传多样性,发现其有所下降的结果相一致。因此在本实验中,认为 $F_1$ 和 $F_2$ 选育群体存在这种不平衡的遗传结构是由于样本量、人工选育、交配方案和近亲交配等多种因素所共同造成的,这为今后制定出更加合理有效的选育方案提供参考。

AMOVA分析结果显示,来自群体间的变异达到3.75%,96.25%的变异是来自于群体内个体间,说明各个群体间的遗传分化程度较低。 $F_{st}$ 是反映群体间遗传分化程度的重要参数,本实验中,6个群体间 $F_{st}=0.038(P<0.01)$ ,根据Wright<sup>[35]</sup>对 $F_{st}$ 的划分,6个群体间遗传分化程度处于较低的水平。进一步分析各个群体间 $F_{st}$ ,结果发现,只有石首群体与 $F_1$ 和 $F_2$ 群体之间的 $F_{st}$ 大于0.05,处于中等分化,其余两两群体间的 $F_{st}$ 均小于0.05,其分化程度较低,这可能是由于最初建立基础群体时,石首群体(11尾)在其中所占的比例较低,导致其对后代的遗传贡献率较低,进而导致其与选育后代的遗传分化较明显。本研究发现, $F_2$ 群体与4个野生群体之间的遗传分化指数比 $F_1$ 群体与4个野生群体之间的遗传分化指数大,而且从 $D_n$ 角度分析,2个选育群体与野生群体之间的遗传距离高于野生群体之间的遗传距离,这与分析群体间 $F_{st}$ 时得出的结论相同。根据 $D_n$ 建立的UPGMA系统发育树得到了相同的结果,即2个选育群体和野生群体之间

的亲缘关系比4个野生群体之间的亲缘关系要远。以上研究表明,在人工定向选育压力下,2个选育群体与野生群体之间已经出现了一定水平的遗传分化,而且 $F_2$ 群体相比 $F_1$ 群体分化更明显,2代选育群体的遗传结构已发生变化,但由于选育世代较短和选育方案等原因,这种分化仍不显著,总体尚处于较低水平,表明本实验所研究的选育群体还有进一步选育的潜力。

本研究采用多重SSR-PCR方法对草鱼4个野生群体和2个选育群体进行了遗传变异分析。研究表明,经过2个世代选育后,2个选育群体相比4个野生群体其遗传多样性虽有部分下降,但仍处于较高水平;2个选育群体的遗传结构已发生变化,但遗传分化尚不明显,而且有数据表明,草鱼 $F_2$ 选育群体相比 $F_1$ 群体,其体质量增长率更快、规格更整齐,总体的选育效果较为明显,可以认为在现阶段草鱼选育过程中,选育群体仍具有一定的选育价值,这为今后开展草鱼选择育种工作打下了坚实的基础,也为其他物种的选育工作提供了参考。

#### 参考文献:

- [1] 沈玉帮,张俊彬,李家乐.草鱼种质资源研究进展[J].中国农学通报,2011,27(7):369-373.  
Shen Y B, Zhang J B, Li J L. Advances in studies on genetic resources of grass carp[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(7): 369-373(in Chinese).
- [2] FAO. Fishery and aquaculture statistics[R]. Roma, Italy: Fao, 2014.
- [3] Fu J J, Shen Y B, Xu X Y, et al. Genetic parameter estimates for growth of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*, at 10 and 18 months of age[J]. Aquaculture, 2016, 450: 342-348.
- [4] 廖亚明,刘金炉,汤学林.浅析“四大家鱼”性状退化的原因及重视种质保护的提议[J].水产科技情报,1994,21(2):62-63.  
Liao Y M, Liu J L, Tang X L. Analysis of the reasons for the degeneration of characters of four major chinese carps suggestions for concersion of germplasm[J]. Fisheries Science & Technology Information, 1994, 21(2): 62-63(in Chinese).
- [5] 桂建芳.鱼类品种改良的遗传和发育基础研究的现状和将来[J].生命科学,2005,17(2):112-118.  
Gui J F. The current status and further of development of

- basic research and inheritance of varietal improvement of fish[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2005, 17(2): 112-118(in Chinese).
- [6] 李学军, 胡灿灿, 王磊, 等. 鱼类家系选育的研究进展[J]. 水产科学, 2016, 35(1): 81-86.  
Li X J, Hu C C, Wang L, *et al.* Current research progress of fish family selective breeding[J]. Fisheries Science, 2016, 35(1): 81-86(in Chinese).
- [7] Waples R S. Genetic interactions between hatchery and wild salmonids: lessons from the Pacific Northwest[J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1991, 48(S1): 124-133.
- [8] 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.
- [9] 郑国栋, 陈杰, 蒋霞云, 等. 长江草鱼不同群体EST-SSR多态性标记的筛选及其遗传结构分析[J]. 水生生物学报, 2015, 39(5): 1003-1011.  
Zheng G D, Chen J, Jiang X Y, *et al.* Detection of EST-SSRs markers and genetic structure of different populations of grass carp in Yangtze River system[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2015, 39(5): 1003-1011(in Chinese).
- [10] Wang Y H, Fu D K, Xia J J. The genetic diversity of the noble scallop (*Chlamys nobilis*, Reeve 1852) in China assessed using five microsatellite markers[J]. Marine Genomics, 2013, 9: 63-67.
- [11] 傅建军, 王荣泉, 刘峰, 等. 草鱼长江和珠江群体及长江♀×珠江♂杂交组合遗传差异的微卫星分析[J]. 上海海洋大学学报, 2010, 19(4): 433-439.  
Fu J J, Wang R Q, Liu F, *et al.* Microsatellite analysis of genetic variation in Yangtze River, Zhujiang River, and Yangtze River♀×Zhujiang River♂ groups of *Ctenopharyngodon idella*[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2010, 19(4): 433-439(in Chinese).
- [12] Chen Q, Wang C H, Lu G Q, *et al.* Microsatellite genetic diversity and differentiation of native and introduced grass carp populations in three continents[J]. Genetica, 2012, 140(4-6): 115-123.
- [13] Liu F, Xia J H, Bai Z Y, *et al.* High genetic diversity and substantial population differentiation in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) revealed by microsatellite analysis[J]. Aquaculture, 2009, 297(1-4): 51-56.
- [14] 王沈同, 张猛, 党云飞, 等. 草鱼野生与选育群体线粒体DNA控制区D-loop遗传变异分析[J]. 水生生物学报, 2017, 41(5): 947-955.  
Wang S T, Zhang M, Dang Y F, *et al.* Genetic variation of mitochondrial DNA D-Loop region in wild and breeding populations of grass carp[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2017, 41(5): 947-955(in Chinese).
- [15] 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: 135.
- [16] Yeh F C, Yang R C, Boyle T J B, *et al.* POPGENE, the User-Friendly shareware for population genetic analysis[M]. Canada: Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, 1997.
- [17] Nei M. Genetic distance between populations[J]. The American Naturalist, 1972, 106(949): 283-292.
- [18] Goudet, J. Fstat, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices, 2002. Available online: <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm> (accessed on 5 May 2017).
- [19] Kalinowski S T, Taper M L, Marshall T C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment[J]. Molecular Ecology, 2007, 16(5): 1099-1106.
- [20] Coakes S J. SPSS version 20.0 for Windows: analysis without anguish[M]. Milton: John Wiley & Sons, 2013.
- [21] Excoffier L, Lischer H E L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows[J]. Molecular Ecology Resources, 2010, 10(3): 564-567.
- [22] Tamura K, Peterson D, Peterson N, *et al.* MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods[J]. Molecular Biology and Evolution, 2011, 28(10): 2731-2739.
- [23] Beardmore J A, Mair G C, Lewis R I. Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture[J]. Aquaculture Research, 1997, 28(10): 829-839.
- [24] 池喜峰, 贾智英, 李池陶, 等. 鲤鱼捕性性状选育群体不同世代微卫星分析[J]. 上海海洋大学学报, 2010, 19(3): 308-313.  
Chi X F, Jia Z Y, Li C T, *et al.* SSR analysis of selected high-harvesting populations of common carp (*Cyprinus*

- carpio*)[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2010, 19(3): 308-313(in Chinese).
- [25] 鲁翠云, 金万昆, 李超, 等. 微卫星分子标记指导镜鲤群体选育[J]. 水产学杂志, 2011, 24(3): 29-34, 47.  
Lu C Y, Jin W K, Li C, *et al.* Population selection in mirror carp *Cyprinus carpio* L. assisted by microsatellite markers[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2011, 24(3): 29-34, 47(in Chinese).
- [26] Barker J S F. A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds, in: proceeding of the 5<sup>th</sup> world congress on genetics applied to livestock production[C]. Canada, University of Guelph, 1994, 21: 501-508.
- [27] 赵广泰, 刘贤德, 王志勇, 等. 大黄鱼连续4代选育群体遗传多样性与遗传结构的微卫星分析[J]. 水产学报, 2010, 34(4): 500-507.  
Zhao G T, Liu X D, Wang Z Y, *et al.* Genetic structure and genetic diversity analysis of four consecutive breeding generations of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) using microsatellite markers[J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(4): 500-507(in Chinese).
- [28] 郑荷子, 易提林, 梁旭方, 等. 翘嘴鲌连续4代选育群体遗传多样性及遗传结构分析[J]. 淡水渔业, 2013, 43(6): 8-12.  
Zheng H Z, Yi T L, Liang X F, *et al.* Genetic structure and genetic diversity analysis of four consecutive breeding generations of *Siniperca chuatsi*[J]. Freshwater Fisheries, 2013, 43(6): 8-12(in Chinese).
- [29] Bembo D G, Carvalho G R, Snow M, *et al.* Stock discrimination among European anchovies, *Engraulis encrasicolus*, by means of PCR-amplified mitochondrial DNA analysis[J]. Oceanographic Literature Review, 1996, 43(12): 1274.
- [30] Karl S A, Avise J C. Balancing selection at allozyme loci in oysters: implications from nuclear RFLPs[J]. Science, 1992, 256(5053): 100-102.
- [31] Fessehaye Y, El-Bialy Z, Rezk M A, *et al.* Mating systems and male reproductive success in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in breeding hapas: a microsatellite analysis[J]. Aquaculture, 2006, 256(1-4): 148-158.
- [32] Frost L A, Evans B S, Jerry D R. Loss of genetic diversity due to hatchery culture practices in barramundi (*Lates calcarifer*)[J]. Aquaculture, 2007, 272(S1): S272.
- [33] Evans B, Bartlett J, Sweijid N, *et al.* Loss of genetic variation at microsatellite loci in hatchery produced abalone in Australia (*Haliotis rubra*) and South Africa (*Haliotis midae*)[J]. Aquaculture, 2004, 233(1-4): 109-127.
- [34] Cannas R, Sacco F, Follesa M C, *et al.* Genetic variability of the blue and red shrimp *Aristeus antennatus* in the Western Mediterranean Sea inferred by DNA microsatellite loci[J]. Marine Ecology, 2012, 33(3): 350-363.
- [35] Wright S. Evolution and the Genetics of Populations Vol. 4: Variability within and among Natural Populations[M]. Chicago: University of Chicago Press, 1978: 439-459.

## Genetic variability in wild and selected populations of *Ctenopharyngodon idella* using microsatellite markers

WANG Shentong<sup>1,2,3</sup>, SHEN Yubang<sup>1,2,3\*</sup>, MENG Xinzhan<sup>1,2,3</sup>, WANG Rongquan<sup>4</sup>, LI Jiale<sup>1,2,3</sup>

(1. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

4. Key Laboratory of Conventional Freshwater Fish Breeding and Health Culture Technology Germplasm Resources, Suzhou Shenheng Eco-technology Development Limited Company, Suzhou 215221, China)

**Abstract:** To evaluate the genetic diversity and population structure in two generations of selected populations after using selective breeding, we carried out the genetic analysis in four wild populations (Hanjiang, Jiujiang, Shishou, Wujiang) and two selected populations ( $F_1$  and  $F_2$ ) of *Ctenopharyngodon idella* using a multiplex microsatellite PCR method. The results showed that the genetic variations of six *C. idella* populations were relative high and the genetic diversity parameters of two selected populations lower than wild populations except for average number of alleles ( $N_a$ ). The Hardy-Weinberg equilibrium results showed that 62 loci of the 120 population-locus combinations deviated significantly from the Hardy-Weinberg equilibrium. The  $F_{is}$  of 51 loci were positive value while the others were negative in the 62 population-loci combinations. The AMOVA analysis showed that 3.75% of the variation were among populations, and 96.25% of that were within populations. The overall genetic differentiation index ( $F_{st}$ ) was 0.038. The  $F_{st}$  analysis showed that the  $F_{st}$  values between the Shishou population,  $F_1$  population and  $F_2$  population were higher than 0.05, which were moderately differentiated. There was lower differentiation among the remaining populations. The  $F_{st}$  between  $F_2$  population and four wild populations were higher than those between  $F_1$  population and four wild populations. The Nei's genetic distance ( $D_n$ ) results showed that the  $D_n$  values between two selected populations and four wild populations were higher than those among four wild populations. The UPGMA phylogenetic tree based on Nei's genetic distance showed genetic relationships between selected populations and wild populations were farther than those among four wild populations. The above results showed that the genetic diversity of two selected populations decreased compared to four wild populations, but they still have higher level of genetic diversity. The selective breeding had already changed population structure of two selected populations, but the change was not obvious. The results in this study provided an important reference for the establishment of a more complete and effective breeding program.

**Key words:** *Ctenopharyngodon idella*; breeding populations; wild populations; microsatellite; genetic variation

**Corresponding author:** SHEN Yubang. E-mail: ybshen@shou.edu.cn

**Funding projects:** China Agriculture Research System (CARS-45-03); Shanghai Engineering and Technology Center for Promoting Ability (16DZ2281200)