

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

赵广泰, 刘贤德, 王志勇*, 蔡明夷, 姚翠鸾

(集美大学水产学院,福建省高校水产科学技术与食品安全重点实验室,福建 厦门 361021)

摘要:利用13个多态性微卫星位点分析了大黄鱼“官井洋优快01”品系 F_1 到 F_4 4个选育世代的遗传结构与遗传多样性变化情况。结果显示,随着选育的进行,4个世代群体遗传多样性指标值渐次下降, F_1 到 F_4 13个微卫星位点的平均多态信息含量从0.638下降到0.524,平均等位基因数从5.462下降到4.308,平均观测杂合度从0.779下降到0.532,平均Shannon多样性指数从1.356下降为1.092。 F_1 与其后各代遗传相似系数逐渐减小(从0.7194到0.5813),遗传距离逐渐增加,而相邻世代间的遗传相似性逐步升高,遗传分化指数(F_{ST})渐次变小($F_1 \sim F_2$ 为0.0619, $F_2 \sim F_3$ 为0.0511, $F_3 \sim F_4$ 则为0.0475)。随着选育的进行,微卫星位点LYC0002和LYC0054等位基因频率有规律地发生变化,推测其可能与选育性状存在遗传上的相关。结果表明,经过连续4代的选育,部分不利基因遭到淘汰,选育群体的遗传基础逐步得到纯化,基因型逐渐趋向纯合、稳定,经进一步的选育可望获得较稳定的品系。

关键词:大黄鱼;微卫星;遗传多样性;遗传结构;选育群体

中图分类号:Q953;S917

文献标识码:A

大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)属于鲈形目(Perciformes)、石首鱼科(Sciaenidae)、黄鱼属(*Pseudosciaena*),俗称黄花鱼,为暖水性鱼类。大黄鱼是中国传统四大海洋经济鱼类之一,主要产于福建(官井洋)、浙江(岱衢洋)海域^[1]。自大黄鱼人工繁殖育苗技术1987年取得成功之后,大黄鱼养殖业发展迅速,至2005年大黄鱼年育苗量超过20亿尾,养殖产量接近7万吨,是中国目前养殖量最大的海水鱼类^[2]。

然而,目前养殖的大黄鱼均是由野生群体繁育而来,尚未形成品种。经过持续多代的人工繁殖,特别是部分苗种培育单位使用规格和质量等都不甚理想的个体繁衍后代,直接导致苗种品质下降,大黄鱼的生长速度、抗病力和抗逆性均有所降低^[3]。为改善这种状况,从2000年起,集美大学大黄鱼遗传育种课题组开始着手大黄鱼优质、抗逆品种的培育,现已构建“官井洋优快01”、“官井洋优快02”和“黄体色选育系”等多个选育系和

数十个家系^[4]。其中“官井洋优快01”品系在选育过程中结合了雌核发育技术,即在 F_1 和 F_2 成熟之时,分别挑选少数优秀雌鱼诱导异质雌核发育,繁育 F_3 和 F_4 时,掺入了部分(20%左右)优选的雌核发育个体作为雌性亲本,每代选择压力为2.5%左右,该品系生长速度和成活率提高比较显著,已在生产上初步推广使用, F_4 在示范养殖中增产幅度达30%以上,显示出较好的选育效果。为做得更好进一步的选育工作,提高后续选育工作的效率,本文利用多态性微卫星标记分析了该选育系 $F_1 \sim F_4$ 4个世代的遗传多样性与群体遗传结构的变化情况,以期确定后续的育种策略提供理论参考,并为鱼类遗传育种学研究积累资料。

1 材料与与方法

1.1 实验材料

所检测的品系是1998-1999年在官井洋采捕的野生大黄鱼鱼种经驯化、养成后,2001年春

收稿日期:2009-09-04 修回日期:2009-11-09

资助项目:国家“八六三”高技术研究发展计划(2006AA10A405);集美大学创新团队基金(2006A001);福建省青年人才项目(2007F3074)

通讯作者:王志勇,E-mail:zywang@jmu.edu.cn

季从中挑选 58 尾(38 ♀, 20 ♂) 优良个体, 以生长速度为主要目标性状, 兼顾健康状况与体型、体色进行群体选育而来, 于 2003 年、2005 年和 2007 年分别繁育出 F_2 、 F_3 和 F_4 , 在福建省宁德市三都澳海区进行网箱养殖。每个世代取达到商品规格的成鱼 50 尾左右, 剪取部分尾鳍, 固定于 95% 的乙醇中, 用于 DNA 的提取。

1.2 实验方法

DNA 的提取与检测 用常规的苯酚/氯仿/异戊醇法^[5] 抽提 DNA, 挑选质量好的 DNA 将浓度稀释至 50 ng/ μ L, 保存于 -20 °C 备用。

F_1 、 F_2 、 F_3 和 F_4 分别提取了 47、42、52、48 个质量较好的 DNA 样品。

PCR 反应体系及反应程序 PCR 反应体系: 反应总体积为 20 μ L, 其中模板 DNA 1.0 μ L (50 ng), 10 \times PCR Buffer 2.0 μ L, 25 mmol/L MgCl₂ 1.6 μ L, 10 mmol/L dNTPs 0.14 μ L, 10 mmol/L 正向与反向引物各 0.2 μ L, 5 U/ μ L *Taq* 酶 0.1 μ L, 灭菌超纯水 14.76 μ L。实验中所用的引物为本实验室开发, 微卫星位点、引物序列、核心序列及退火温度见表 1。

表 1 大黄鱼 13 个微卫星位点的引物序列及其特征

Tab.1 Primer sequences and characteristics of 13 microsatellites of large yellow croaker used in the present study

微卫星位点 locus	核心序列 motif	引物序列 primer sequence	退火温度(°C) annealing temperature
LYC0002	(TG) ₂ (AC) ₂ TC(AC) ₁₀ CTAG(AC) ₅	F:5' - ACCTCCAGTGGGATGIGA - 3' R:5' - GGCTGTTTGTATAATTTGTG - 3'	50
LYC0004	(TG) ₁₁	F:5' - CTCTTAGCCGTCATTCATCC - 3' R: 5' - CATTAGCCAAGTTCACCTCC - 3'	55
LYC0007	(CA) ₈ CCCCA	F:5' - GACTCCITTGCTCGGTCTGA - 3' R:5' - ACATGGTTATCCTTCCGTTCC - 3'	55
LYC0009	(GT) ₁₀ TTA(TG) ₄ CTG	F:5' - GTCAATCACGTCGTCTCTGC - 3' R:5' - TCAGCCAATTGTCTGTGAGGT - 3'	60
LYC0011	(TG) ₁₁	F:5' - CTTTTATTGGCTCCGTATGA - 3' R:5' - CACTCACACTAGCACGCAC - 3'	55
LYC0016	(GT) ₃ ATTT(GT) ₁₁ A(TG) ₄	F:5' - GAGCCTTGTGTGGTGAGCA - 3' R:5' - GAAAACCCAGACCGTATTGT - 3'	55
LYC0027	(AT) ₂ (GT) ₉ G(GA) ₂ AAT(GA) ₂ TGGTAA(TGA) ₃ (TG) ₄	F:5' - CACCCAATAATATCGCCATA - 3' R:5' - GCACACACAATCATCATCAIT - 3'	50
LYC0036	TATC(TA) ₂ CT(CA) ₉	F:5' - GCATTCATGGATTAGACTGC - 3' R:5' - GGGTGAGTGTCCGGAAGTTC - 3'	50
LYC0039	(CA) ₁₀	F:5' - AATGAGCGGCTTCCTAT - 3' R:5' - TGCAAAGCGCATACCTC - 3'	51
LYC0044	(AC) ₁₃	F5' - GCTTCTTGACAACACC - 3' R:5' - TGCTCACCTTCGTCTGT - 3'	51
LYC0053	(GT) ₆ -(GT) ₆ -(GT) ₇ -(GT) ₆ -(GT) ₆	F:5' - CCCACAATACCTGGACAA - 3' R: TGCCACCACCACCTGGATAACAAA - 3'	55
LYC0054	(AC) ₁₃	F:5' - AGGACTTACCGCTTGACA - 3' R:5' - TCCTTTGCCCTTTIACCA - 3'	55
LYC0114	(CA) ₂₈	F:5' - GACCAGGTAICTCAATCACTC - 3' R:3' - CTATTCCAGGTGTAGGTAGG - 5'	55

PCR 反应程序: 95 °C 5 min; 94 °C 30 s, 退火温度 72 °C 30 s, 循环 30 次; 72 °C 10 min; 4 °C 保存。

扩增产物的检测 PCR 产物采用美国 Bio-Rad 公司的 PowerPac 3000 电泳仪和 Sequi-Gen GT System 38 cm \times 30 cm 电泳槽, 6% 的变性聚丙烯酰胺凝胶进行电泳。恒功率 80 W 预电泳

30 min。将扩增产物加上 1/6 体积的 6 \times Loading Buffer 于 95 °C 变性 5 min, 迅速放入冰中冷却 5 ~ 10 min, 每个样品取 3 μ L 上样, 恒功率 80 W 电泳 1 h 左右。凝胶银染参照文献[5] 的方法进行。

1.3 统计分析

根据每个个体产生的条带位置确定其基因型, 用 POPGENE 1.31 软件^[6] 进行数据处理,

AMOVA(分子方差分析)用 ARLEQUIN 3.1 软件^[7]进行。计算 4 个世代每个标记位点的多态信息含量(polymorphism information content, PIC)^[8], 以及各个世代样本的等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)^[9]、Shannon 多样性指数(H')^[10]、观测杂合度(H_o)和预期杂合度(H_e)^[11]等参数, 并计算世代间的遗传相似性系数、遗传距离和遗传分化系数。聚类关系图由 UPGMA 法构建。具体参数的计算方法如下:

①多态信息含量

$PIC = 2 \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n P_i P_j (1 - P_i P_j)$, P_i 、 P_j 分别为群体中第 i 、 j 个等位基因频率, n 为等位基因数。

②有效等位基因数

$N_e = 1 / \sum_{i=1}^n P_i^2$, P_i 为该位点上第 i 个等位基因的频率。

③Shannon 多样性指数

$H' = - \sum (P_i \ln P_i)$, P_i 为位点 i 在某一群体的出现频率。

④观测杂合度

$H_o = \text{杂合子观察数} / \text{观察个体总数}$ 。

期望杂合度

$H_e = 1 - \sum P_i^2$, P_i 为该位点上第 i 个等位基因的频率。

⑤群体间的相似性系数 $I = \sum (X_i Y_i) / \{ \sum (X_i)^2 \sum (Y_i)^2 \}^{1/2}$, X_i 、 Y_i 分别为 X 和 Y 群体第 i 个位点的等位基因频率。

⑥群体间遗传距离

$D = -\ln I$

2 结果

2.1 4 个选育世代的微卫星遗传多样性

对 $F_1 \sim F_4$ 4 个世代样本 13 个微卫星位点进行分析的结果, 分别检测到 71、77、66、56 个等位基因, 每个世代检测到的等位基因不完全一致, 共出现 79 个不同的等位基因, 每个位点观察到的等位基因数 2~11 个不等。4 个世代样本平均等位基因数(N_a)、平均有效等位基因数(N_e)、平均多态信息含量(PIC)、平均观测杂合度(H_o)、平均期望值杂合度(H_e)和平均香农多样性指数(H')如表 2 所示。总体上, 随着选育的进行, 上述各项参数的计算值逐渐降低, 反映出选育群体在遗传上逐渐得到纯化。

表 2 利用 13 个微卫星标记检测获得 $F_1 \sim F_4$ 的平均遗传多样性参数值

Tab. 2 Average genetic variability of the 13 microsatellite loci in each selective breeding generation

	F_1	F_2	F_3	F_4
N_a	5.462	5.923	5.077	4.308
N_e	3.627	4.031	3.121	2.890
PIC	0.638	0.667	0.587	0.524
H_o	0.779	0.688	0.538	0.532
H_e	0.693	0.723	0.640	0.581
H'	1.356	1.455	1.233	1.092

2.2 世代间等位基因频率变化

为了解 4 个世代选育过程中群体遗传结构的变化情况, 计算了每个世代所有位点各个等位基因的频率(图 1)。从图 1 可见, 13 个微卫星位点的等位基因频率的变化大致可分为如下几类: (1) 随着选育的进行, 基因频率趋向上升, 如 $LYC0002-D$, $LYC0004-B$, $LYC0027-C$, $LYC0016-B$, $LYC0036-B$ (后缀字母表示所对应位点的等位基因)等, 在初期世代中只有很低的频率, 但随着选育的进行, 其基因频率逐步上升, 成为群体中的优势等位基因; (2) 随着选育进行, 基因频率趋向

下降, 如: $LYC0002-C$, $LYC0002-E$, $LYC0011-E$, $LYC0027-A$, $LYC0016-C$, $LYC0016-E$, $LYC0044-F$ 等, 在 F_1 有较高的基因频率, 但随着选育的进行, 基因频率大幅下降, 甚至消失; (3) 在选育中呈现随机变化, 在不同的选育世代间表现为上下波动, 或几乎维持不变, 如 $LYC0011-G$, $LYC0114-B$, $LYC0009-D$, $LYC0007-A$ 等。另外, 有不少低频等位基因在选育过程中逐渐丢失, 如 $LYC0002-F$, $LYC0011-H$, $LYC0114-H$, $LYC0027-E$, $LYC0027-F$, $LYC0039-D$, $LYC0044-A$, $LYC0044-G$, $LYC0054-D$ 等。

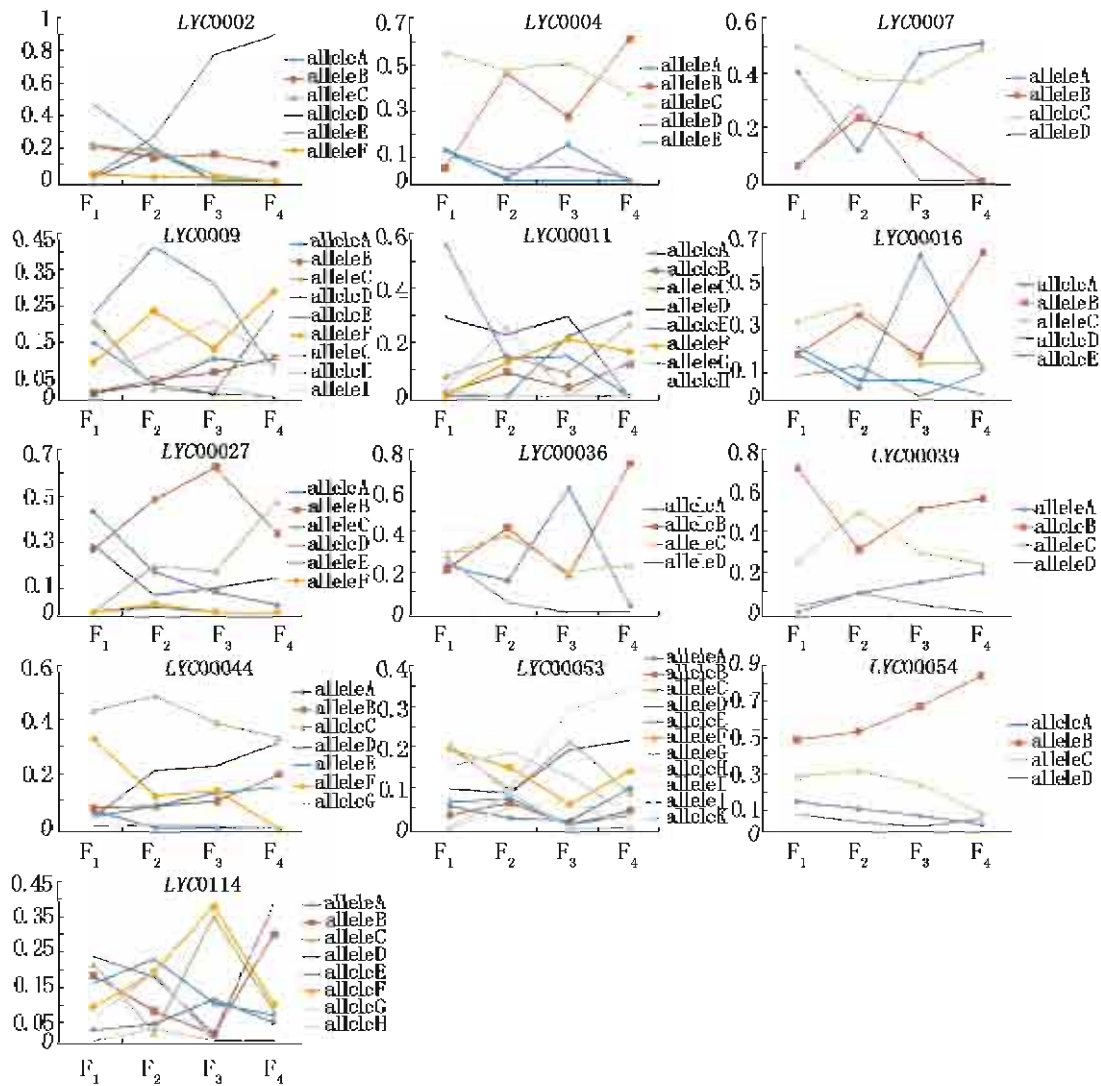


图1 4个选育世代13个微卫星位点的基因频率变化

横坐标为各世代,纵坐标为等位基因频率。

Fig.1 Microsatellite allele frequency changes in the four generations

Abscissa represents for $F_1 - F_4$, the vertical axis represents for the allele frequencies.

2.3 世代间的遗传变异与分化

采用 Nei 氏方法计算 4 个世代样本间的遗传距离和遗传相似性(表 3)。随着选育的进行,后续世代与 F_1 的遗传距离逐代增大,遗传相似性逐代减小;而相邻世代间的遗传距离则逐代减小,遗

传相似性逐代增大。根据表 3 中遗传距离数值,用 UPGMA 法构建聚类图, F_1 单独成一支, F_3 和 F_4 首先聚合后,再与 F_2 聚成一支,然后同 F_1 聚在一起,直观地显示出各选育世代之间的遗传相似性(图 2)。

表 3 $F_1 \sim F_4$ 群体的 Nei 氏遗传距离(下三角)及遗传相似性系数(上三角)

Tab.3 Nei's genetic distance (below) and genetic identity (above) between the $F_1 - F_4$

pop ID	F_1	F_2	F_3	F_4
F_1	-	0.719 4	0.664 6	0.581 3
F_2	0.329 4	-	0.774 8	0.772 9
F_3	0.408 6	0.255 1	-	0.783 1
F_4	0.542 4	0.257 7	0.244 5	-

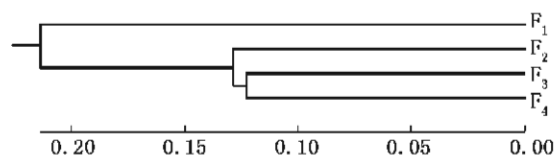


图2 根据 Nei 氏遗传距离绘制的 UPGMA 聚类树

Fig.2 Dendrogram based on Nei's genetic distance; Method = UPGMA

为了进一步了解各选育世代之间的遗传变

异与遗传分化程度,对所获数据进行了 AMOVA 分析(表 4)。世代间和世代内的变异分别占总变异量的 12.91% 和 87.09%,遗传变异大部分来自世代内个体间。总的遗传分化指数(F_{ST})为 0.129 2,4 个群体间有显著的遗传分化($P < 0.01$)。世代间的遗传分化指数见表 5,随着选育的进行,相邻世代间的遗传分化逐步减小(0.061 9→0.051 1→0.047 5),显示群体的遗传结构逐步趋向稳定。

表 4 4 个世代的分子方差分析(AMOVA)

Tab.4 Analysis of molecular variance (AMOVA) of 4 generations

变异来源 source of variation	自由度 df	平方和 sum of squares	方差组分 variance components	变异百分比 percentage of variation
世代间 among generations	3	167.764	0.553 33 (V_a)	12.91
世代内 within generations	374	1 395.437	3.731 12 (V_b)	87.09
总和 total	377	1 563.201	4.284 44	100

表 5 4 个世代间 F_{ST} 值比较

Tab.5 F_{ST} values of pairwise comparison among the four generations

群体 population	F_1	F_2	F_3
F_2	0.061 9		
F_3	0.081 7	0.051 1	
F_4	0.108 6	0.062 4	0.047 5

3 讨论

“官井洋优快 01”品系是采用常规选择,结合雌核发育技术,经过持续多年努力培育而来的,与目前生产上使用的常规苗种相比,其生长速度和养殖成活率表现出明显的优势。因此,对该品系各世代的遗传结构进行检测,了解各代群体之间的遗传结构变化情况,对下一步制定相应的育种策略具有非常重要的意义。目前,已有不少利用微卫星标记对选育群体进行遗传监测的研究^[12-16],但在大黄鱼的育种方面尚未见有报道。本研究中,选用的微卫星位点在 F_1 世代的的多态信息含量(PIC)在 0.358~0.820,平均为 0.638,每个位点的等位基因数在 3~9,平均值均为 5.460,具有较高的多态性水平。根据 Barker^[17] 微卫星选择标准,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评估,说明这 13 个

微卫星标记能够较好用于本研究。

通过选育手段对群体基因库进行选择可能会造成群体基因水平上的多样性在一定程度上降低。目标性状相关基因纯化有利于选育性状的稳定和品种特性的形成,但与适应性相关基因位点多样性的降低,可能会导致群体适应性下降。因此,在选育过程中如何使与目标性状相关的基因尽快纯合固定,而其它基因位点尽可能保持多态,从而保证群体有较高的适应性和进一步改良的潜力,是一个非常值得探讨的问题。通过构建遗传连锁图谱进行 QTL(quantitative trait loci)分析,或利用尽可能多的分子标记进行性状与标记的关联分析,查明控制各种性状的基因在连锁群中的位置及与其连锁或关联的标记,将有助于利用分子标记进行准确地选择,既能达到快速改良目标性状的目的,又能够尽可能保持群体的遗传多样性,从而获得较好的选育效果。本研究检测的 13 个微卫星位点基因频率在 4 个选育世代的变化,表现为 3 种不同类型。类型(1)、(2)的等位基因随着选育的进行呈一定规律的变化,这些等位基因可能与选育的目标性状或者繁殖率、存活率存在相关(正相关或者负相关);类型(3)的等位基因频率变化主要受随机因素(亲本选择、取样误差)影响,这些位点显然与选育性状不存

在直接的相关。同时,观测到 *LYC0002*、*LYC0054* 两个微卫星位点基因频率变化比较有规律,多属于(1)和(2)类型,未出现有较大幅度波动的情况,说明其基因频率的变化主要是由选育压力引起的。与选育性状相关基因紧密连锁的位点,将较有可能出现此种情况,因此这两个位点有可能与选育性状存在遗传上的相关性,但具体还需要进一步的 QTL 分析或性状与标记的关联分析工作证实,以期作为一种可靠的分子标记用于指导或辅助后续世代的选育工作。

从本研究的结果来看,人工选育对选育群体的遗传结构产生了显著影响,群体总遗传分化指数为 0.129 2,根据 Wright^[18]对遗传分化指数的界定,属中等分化水平。群体的平均观测杂合度、等位基因数、Shannon 多样性指数等参数都随着选育世代的进行而逐步降低,反映出选育群体遗传基础逐步趋向纯化。表 5 的观测结果表明,随着选育的进行,世代间的遗传分化指数逐步降低, F_3 与 F_4 群体间已经是弱分化水平($0 < 0.047 5 < 0.05$);同样地,对 4 个世代群体间遗传距离和遗传相似性的计算结果显示,相邻世代的遗传距离逐步减小,遗传相似性逐步增大(表 3),表明选育群体的遗传结构在逐步趋向稳定。这与选育群体目标性状逐渐趋向稳定的观测结果相一致(体型趋于一致,体长、体重等的变异系数减小;待发表资料)。以上结果表明,选择压力在一定程度上改变了选育群体的遗传结构,使之朝向一个方向变化,并逐步趋向稳定,这正是选择育种期望取得的结果,可以使目标性状的遗传性得到稳定,最终形成稳定的品系。表 2 的结果显示,该品系 F_3 与 F_4 有效等位基因数、*PIC*、*H_e* 等下降较为显著,这可能与掺入了部分雌核发育个体作为其亲本有关,研究表明雌核发育能够使大黄鱼的基因纯合度大幅度提升^[16]。

本研究中所用的 F_1 亲本是野捕而来的优良野生个体,具有较高的遗传多样性,是开展品种培育的优良材料。随后的各代,每一代都是从上一代中挑选生长快且体质健壮的优良个体繁育而来,故选育的后代在生长性状方面有着优良的表现,养殖存活率也逐代有所提高。检测样本间的遗传变异,大部分存在于同一世代内的个体之间,只有少部分来自于世代之间(表 4),从表 2 的结果看,与 F_1 相比 F_4 群体尚保留有 80% 左右的多

样性或遗传变异量(以 F_4 的多样性指标值除以 F_1 的指标值),表明 F_4 尚具有一定的选育潜力。尽管如此,与 F_1 相比 F_4 的遗传变异量毕竟已经有相当程度的下降,遗传多样性的降低虽然是进行人工选育的必然结果,但因为遗传多样性太低的群体将缺乏继续选育的潜力,并且可能发生近交衰退。因此,在该品系进行进一步选育时,仍可继续保持一定的选择育种压力,使选育群体的优良生长性状及抗逆性/抗病力继续得到提高;同时,应考虑适当增加每代繁育亲本的数量,以减少近交可能带来的负面影响,并逐步进行扩繁,使其得到更大面积的推广应用,让育种工作真正起到促进生产发展的作用。

感谢湖南农业大学的叶华博士在论文撰写、修改方面提供的热心帮助!

参考文献:

- [1] 苏永全,张彩兰,王军,等. 大黄鱼养殖[M]. 北京:海洋出版社,2004:1-10.
- [2] Wang Z Y, Xie F J, Cai M Y, et al. Aquaculture and breeding of large yellow croaker in China[R]. San Antonio: Aquaculture 2007, 2007: 973.
- [3] 王小平. 闽东大黄鱼养殖业现状及其发展对策[J]. 福建水产,2000,6(2):52-57.
- [4] 林利民,王秋荣,王志勇,等. 不同家系大黄鱼肌肉营养成分的比较[J]. 中国水产科学,2006,13(2):286-291.
- [5] Wang Z Y, Tsoi K H, Chu K H. Applications of AFLP technology in genetic and phylogenetic analysis of penaeid shrimp [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2004, 32(4): 399-407.
- [6] Yeh F, Yang R C, Boyle T. POPGENE: A User-friendly shareware for population genetic analysis [CP/DK]. Edmonton: Molecular and Biotechnology Center, University of Alberta, 1997.
- [7] Laval E L G, Schneider S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis [CP/DK]. Evolutionary Bioinformatics Online, 2005, 1:47-50.
- [8] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. American Journal of Human Genetics, 1980, 32(3):314-331.

- [9] Kimura M, Crow J F. The number of alleles that can be maintained in a finite population[J]. *Genetics*, 1964, 49:725 - 738.
- [10] Shannon C E, Weaver W. The mathematical theory of communication[M]. USA: Uban University of Illinois Press, 1949.
- [11] Nei M. Estimation of average heterogosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. *Genetics*, 1978, 19: 533 - 590.
- [12] 张天时,王清印,刘萍,等. 中国对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*)人工选育群体不同世代的微卫星分析[J]. *水产学报*, 2005,29(1):6 - 12.
- [13] 颀晓勇,李思发,蔡完其,等. 吉富品系尼罗罗非鱼选育过程中遗传变异的微卫星分析[J]. *水产学报*,2007, 31(3):385 - 390.
- [14] Zheng K, Lin K, Liu Z, *et al.* Comparative microsatellite analysis of grass carp genomes of two gynogenetic groups and the Xiangjiang river group [J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2007, 34 (4) : 321 - 330.
- [15] 李思发,陈林,蔡完其. 吉奥罗非鱼(新吉富罗非鱼♀×奥利亚罗非鱼♂)和4个近缘遗传型罗非鱼的遗传差异的RAPD,SSR比较分析[J]. *水产学报*,2008, 32 (5): 657 - 664.
- [16] 叶小军,王志勇,刘贤德,等. 大黄鱼连续两代人工雌核发育群体的微卫星标记分析[J]. *水生生物学报*, 2009, 33(6): 121 - 128.
- [17] Barker J S F. A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breed : proceedings of the 5th world congress on genetics applied to livestock production [C]. Canada: University of Guelph, 1994, 21: 501 - 508.
- [18] Wright S. Variability within and among natural populations[M]. Chicago: The University of Chicago Press, 1978.

Genetic structure and genetic diversity analysis of four consecutive breeding generations of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) using microsatellite markers

ZHAO Guang-tai, LIU Xian-de, WANG Zhi-yong*, CAI Ming-yi, YAO Cui-luan

(Key Laboratory of Science and Technology for Aquaculture and Food Safety,

Fujian Province University, Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: Thirteen microsatellite markers were used to analyze the genetic structure and genetic diversity of the breeding populations "Guanjingyang Youkuai 01" from F_1 to F_4 . The results showed that the genetic diversity of the breeding population was decreasing, the average polymorphism information content (PIC) of the 13 microsatellite markers decreased from 0.638 to 0.524, the average allele number from 5.462 to 4.308, the average heterozygosity from 0.779 to 0.532, and the average Shannon's gene diversity index from 1.356 to 1.092, respectively. The genetic identity between F_1 and its descendant generations (F_2 , F_3 , F_4) decreased (from 0.719 4 to 0.581 3) while the genetic distance increased. The genetic identity between the adjacent generations increased and the F_{ST} values decreased (0.061 9 in $F_1 - F_2$; 0.051 1 in $F_2 - F_3$; 0.047 5 in $F_3 - F_4$). The allele frequency of the loci LYC0002 and LYC0054 changed regularly in the four breeding generations and they might correlate with the selected traits, which should be proved by further research. Our study suggested that the selective breeding work was efficient, some adverse genes were phased out, the hereditary basis of the population was getting pure and the genetic structure would be stable with the continuation of the breeding work.

Key words: *Pseudosciaena crocea*; microsatellite; genetic diversity; genetic structure; selective breeding population

Corresponding author: WANG Zhi-yong. E-mail: zywang@jmu.edu.cn