

DOI: 10.12264/JFSC2022-0113

## 草鱼选育群体不同世代遗传变异的微卫星分析

余成晨<sup>1,2</sup>, 张伟<sup>1,2</sup>, 徐晓雁<sup>1,2</sup>, 王荣泉<sup>3</sup>, 李家乐<sup>1,2</sup>, 沈玉帮<sup>1,2</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. 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:** 为了分析草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)选育群体不同世代的遗传变异和遗传结构, 本研究利用了已建立的一套标准微卫星标记对草鱼长江选育群体  $F_0$ 、 $F_3$ 、 $F_4$  进行了遗传变异的评估, 并与黑龙江选育群体和珠江选育群体进行了遗传变异的比较分析。实验结果表明长江选育群体的各世代均具有高度的遗传多样性( $PIC > 0.05$ ), 且长江选育群体的遗传多样性相对于黑龙江和珠江选育群体的遗传多样性水平更高( $P < 0.05$ )。遗传分化指数( $F_{st}$ )分析结果表明, 长江选育群体  $F_0$ 、 $F_3$ 、 $F_4$  之间遗传分化的水平较低( $0 < F_{st} < 0.05$ ); 长江选育群体, 与黑龙江和珠江选育群体之间都具有中等程度的遗传分化水平( $0.05 < F_{st} < 0.15$ )。分子方差分析(AMOVA)显示了长江选育群体各世代之间 4.05% 的变异来自于群体间, 95.95% 的变异来自于群体内; 而对于草鱼 5 个群体, AMOVA 显示了 8.46% 的变异来自于群体间, 91.54% 的变异来自于群体内。Structure 分析显示出草鱼 5 个群体可以划分为 3 个聚类簇。通过基于  $F_{st}$  距离矩阵构建的 5 个草鱼群体的 UPGMA 系统发育树, 结果显示长江选育群体  $F_0$ 、 $F_3$  聚为一支后与长江选育群体  $F_4$  聚类为一支, 再与黑龙江选育群体聚为一支, 最后与珠江选育群体聚为一支。该研究结果将为草鱼选育工作的进一步开展提供参考。

**关键词:** 草鱼; 遗传多样性; 遗传结构; 选育群体; 微卫星

**中图分类号:** S961

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1005–8737–(2022)08–1109–10

草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)广泛分布于长江、珠江及黑龙江水系<sup>[1]</sup>。由于饲养成本低, 生长迅速, 易于养殖等诸多特点, 在池塘、湖泊和水库中均有广泛的养殖, 是我国重要的主导养殖鱼类, 目前也是我国乃至世界水产养殖产量最高的养殖鱼类<sup>[2]</sup>。自 1982 年对草鱼种质资源进行研究以来<sup>[3]</sup>, 草鱼的种质资源的保护开发和利用已取得重要进展<sup>[4–8]</sup>。但由于草鱼长达 4~5 年的性成熟时间以及选育起步时间相对较晚, 截止目前还尚未有草鱼新品种被审定, 草鱼的选育工作尚在进行中。

遗传多样性影响着生物种群的增长、稳定和

对环境的适应能力<sup>[9]</sup>。遗传多样性对物种的进化具有重要意义<sup>[10]</sup>, 同时也为选择育种提供了原始的遗传材料, 对种质资源的保护和育种策略的制定等方面均具有指导意义。在选择育种的进程中, 良种场的基础群体常是利用野外获得的野生群体进行构建。由于引入的群体数量有限, 在建立者效应以及后续育种的定向选择<sup>[11]</sup>的影响下, 如果未能有有计划的选择育种, 野生群体的遗传多样性在数代之间可能会造成大幅度的衰减<sup>[12]</sup>。因此对遗传变异的持续监测是选择育种进程的重要部分。

**收稿日期:** 2022-04-22; **修订日期:** 2022-04-25.

**基金项目:** 上海市科委国内科技合作项目(20015801000); 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-45-03); 江苏省种业振兴项目(JBGS(2021)139)。

**作者简介:** 余成晨(1995–), 男, 博士研究生, 研究方向为水产动物种质资源与苗种工程. E-mail: ccyu549@163.com

**通信作者:** 沈玉帮, 副教授, 研究方向为水产动物种质资源与苗种工程. E-mail: ybshen@shou.edu.cn

微卫星标记, 也被称为简单重复序列(simple sequence repeats, SSRs)或短串联重复序列(short tandem repeats, STRs), 常由 1~6 个碱基的重复单元所组成, 其多态性表现为重复单元数目的差异。由于具有分布广泛、多态性高、易于检测、呈共显性遗传等特点<sup>[13]</sup>, 在水产动物的群体遗传多样性评估、控制近亲交配、分子标记辅助育种等方面<sup>[14-17]</sup>具有广泛的引用。微卫星多重 PCR 的广泛应用<sup>[18]</sup>和毛细管电泳检测技术提供的高分辨率<sup>[19]</sup>, 使其在水产动物的遗传变异研究方面具有独特的优势<sup>[20]</sup>。前期本课题组已经建立了一套草鱼标准微卫星标记用于草鱼遗传分析<sup>[21]</sup>。本研究利用标准微卫星标记, 对草鱼选育群体各世代之间, 以及不同选育群体之间的遗传变异进行评估, 以期对目前的草鱼选育群体的种质资料有更加完善的了解, 并为制定更为合理可行的育种方案提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验用鱼和 DNA 提取

该研究所用的 5 个草鱼群体分别为长江选育群体的 F<sub>0</sub>、F<sub>3</sub>、F<sub>4</sub> 子一代, 珠江的选育群体的 F<sub>2</sub> 子一代(ZJ)和黑龙江选育群体的 F<sub>2</sub> 子一代(HLJ)(表 1)。课题组在广泛收集的长江、珠江和黑龙江草鱼种质资源的基础上构建了以长江邗江野生群体为基础群体, 利用家系选育法, 经过 4 代选育获得 F<sub>4</sub> 选育群体, 并命名为“沪苏 2 号”。而收集的珠江和黑龙江水系野生群体, 经过 2 代群体选育后得到 ZJ 和 HLJ 选育群体。

各群体的实验用鱼均剪取鳍条并保存于无水乙醇, 以备用于基因组 DNA 的提取。DNA 的提取利用 96 孔板 DNA 提取试剂盒(Pall Corporation, 美国)。DNA 溶解在双蒸水中, 经过 1%琼脂糖凝胶电泳检测后, 将质量合格的基因组 DNA 利用 NanoDrop2000 (Thermo Scientific, 美国)进行浓度测量, 将 DNA 浓度稀释为 20 ng/μL 于 96 孔板中, -20 ℃保存备用。

1.2 微卫星分型

该研究所用的 15 对引物来自本实验室已建立的一套草鱼标准微卫星标记<sup>[21]</sup>(表 2)。微卫星标

表 1 草鱼 5 个群体的样本信息  
Tab. 1 Sample information of five populations of *Ctenopharyngodon idella*

| 群体<br>population                                           | 群体编号<br>population<br>code | 样本数量<br>sample<br>number | 采样日期<br>date |
|------------------------------------------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------|
| 长江选育群体 F <sub>0</sub><br>Yangtze population F <sub>0</sub> | F <sub>0</sub>             | 58                       | 2021.07      |
| 长江选育群体 F <sub>3</sub><br>Yangtze population F <sub>3</sub> | F <sub>3</sub>             | 58                       | 2021.07      |
| 长江选育群体 F <sub>4</sub><br>Yangtze population F <sub>4</sub> | F <sub>4</sub>             | 58                       | 2021.11      |
| 珠江选育群体<br>Pearl River population                           | ZJ                         | 58                       | 2021.08      |
| 黑龙江选育群体<br>Heilongjiang population                         | HLJ                        | 56                       | 2021.07      |

记的引物由上海迈浦生物科技有限公司合成, 引物的荧光修饰为在上游引物的 5'端增加的 Fam 或 Hex 荧光修饰。利用合成的荧光引物和提取的 5 个草鱼群体的 DNA, 进行 PCR 扩增。PCR 扩增反应总体积为 20 μL, 包括 10 μL Taq PCR Master Mix (2×), 3 μL 模板 DNA, 上下游引物各 1 μL (10 μmol/L), 5 μL ddH<sub>2</sub>O。PCR 扩增反应程序为: 94 ℃预变性 2 min; 94 ℃变性 30 s, 55 ℃退火 30 s, 72 ℃延伸 30 s, 35 个循环; 最后 72 ℃延伸 10 min。PCR 产物利用 ABI3730XL 遗传分析仪 (Applied Biosystems, 美国)进行毛细管电泳检测, 其中用于判定微卫星标记片段长度所用的内标为 LIZ500。

1.3 数据统计和分析

GeneMapper 4.0 软件(Applied Biosystems, CA, 美国)用于读取和转化微卫星分型的数据。Popgene 1.32 软件<sup>[22]</sup>和 GenAlex 6.5<sup>[23]</sup>软件计算 15 个微卫星位点的观测等位基因数( $N_a$ )、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( $F_{is}$ ), 并进行哈迪—温伯格平衡(Hardy–Weinberg equilibrium, HWE)检验。FSTAT 2.9.3 软件<sup>[24]</sup>对草鱼 5 个群体的等位基因丰度( $A_i$ )进行计算。Cervus 3.0 软件<sup>[25]</sup>对草鱼 5 个群体的多态信息含量(polymorphism information content, PIC)进行分析。利用 SPSS 26 软件<sup>[26]</sup>中的 K-W 检验(Kruskal–Wallis test)对草鱼各个群体的遗传参数进行非参数检验。Arlequin 3.5 软件<sup>[27]</sup>进行分子方差分析

表 2 草鱼 15 对微卫星标记特征

Tab. 2 Characterization of 15 microsatellite loci of *Ctenopharyngodon idella*

| 位点<br>locus | 引物序列(5'-3')<br>primer sequences (5'-3')                        | 重复单元<br>repeat motif                        | 退火温度/℃<br>$T_a$ | 序列号<br>accession number |
|-------------|----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------|-------------------------|
| CID0474     | F: FAM-GGGCGCTGTCTTGAAACAA<br>R: TTGGGAATGAGCTGCTAACAAG        | (GT) <sub>12</sub>                          | 55              | FJ883334                |
| CID0173     | F: FAM-CGTGCCGACTTTCCAGACTA<br>R: CCAATTCCTTCACCTTGCTAATAC     | (TG) <sub>7</sub>                           | 55              | FJ883248                |
| CID1533     | F: FAM-GCCCGCTTGCCATTCTCAGT<br>R: GTCGACGATCTGTCCATCAGTGTG     | (GA) <sub>44</sub>                          | 55              | FJ883458                |
| CID0042     | F: FAM-CACGGATAAATCCAGATACACTCA<br>R: GTCCGGCGACCAGACTCAC      | (GT) <sub>8</sub>                           | 55              | FJ883183                |
| CID0347     | F: HEX-GTAACCCAACCGCTGAACCA<br>R: TTCCCGTCTGAACATCGTGAT        | (CA) <sub>12</sub>                          | 55              | FJ883304                |
| CID0615     | F: HEX-AGAGCCGTGAGGAGGAGGTTGG<br>R: ACTGGGGGCCCTTGTTTCTGC      | (GA) <sub>6</sub> ...<br>(CA) <sub>16</sub> | 55              | FJ883360                |
| CID0047     | F: HEX-GTCCAGCACGGCCTTCTTCA<br>R: GCATGTGTCACTGCAGTTGTGTT      | (AC) <sub>8</sub>                           | 55              | FJ883185                |
| CID0382     | F: FAM-CCAGCTTAGGCTAACTGTTTGT<br>R: CATGCTGCCAGTCACTCTTATTA    | (AC) <sub>17</sub>                          | 55              | FJ883312                |
| CID1532     | F: FAM-CAATGCCCTTAAACTATACTCTTG<br>R: GAGACCTGGTTGAAAATAACTTGT | (CT) <sub>30</sub>                          | 55              | FJ883457                |
| CID0283     | F: HEX-CATATAATTACTCAGGTGTGTG<br>R: ACGAAAATTGTATCCGCTCTTTGA   | (GT) <sub>14</sub>                          | 55              | FJ883284                |
| CID1535     | F: FAM-CGCTTGGGGACATAAATCATTG<br>R: GAAACGGATAACCCCTTTATGC     | (CT) <sub>27</sub>                          | 55              | FJ883460                |
| CID1512     | F: FAM-GCGCGTTGTTTGGTGTGC<br>R: GCAGGACTAGGATCGTGGTCATT        | (CT) <sub>22</sub>                          | 55              | FJ883438                |
| CID240      | F: FAM-AGCCTTTGTTTGGCATT<br>R: CAGCAGGGAGTCCACTTT              | (TG) <sub>10</sub>                          | 55              | JX847631                |
| CID120      | F: FAM-TTGGAGCACAAATGGAGA<br>R: TTGACGCTAGAGCAGACG             | (CA) <sub>10</sub>                          | 55              | JX847629                |
| CID0598     | F: HEX-CACCCACTGTTGATTGAAGAGG<br>R: AGCCGCAGGGTAAAAGTGATT      | (CA) <sub>9</sub>                           | 55              | FJ883358                |

(AMOVA)和评估各群体的遗传分化指数( $F_{st}$ )。MEGA 5.2 软件<sup>[28]</sup>用于构建 UPGMA 系统发育树。Structure 2.3.4 软件<sup>[29]</sup>用于评估草鱼 5 个群体的遗传结构,假设类群  $K$  值为 2~5,重复次数 3 次。对于每个  $K$  值,运行参数设置 Burnin Period 设为 10000, MCMC Reps 设为 100000。利用 Structure Harvester 在线工具<sup>[30]</sup>的 Delta  $K$  值确定最佳  $K$  值,利用 Cluster 程序<sup>[31]</sup>重复抽样分析聚类簇,并利用 Distruct 程序<sup>[32]</sup>,图形化显示遗传结构结果。

2 结果与分析

2.1 微卫星标记的多态性

采用 15 对微卫星标记用于对 288 个个体进行了微卫星分型,共得到 270 个等位基因,每个位点得到 10~27 个等位基因(表 3)。 $N_a$  介于 10~27,  $N_e$  介于 4.335~16.178,  $H_o$  介于 0.771~0.940,  $H_e$  介于 0.769~0.938, PIC 含量介于 0.751~0.935。平

表 3 草鱼 15 对微卫星标记的遗传变异参数

Tab. 3 Genetic parameters of 15 microsatellite loci for *Ctenopharyngodon idella*

| 微卫星位点<br>locus | 观测等位基<br>因数 $N_a$ | 有效等位<br>基因数 $N_e$ | 观测杂<br>合度 $H_o$ | 期望杂<br>合度 $H_e$ | 多态信息<br>含量 PIC |
|----------------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|----------------|
| CID0173        | 21                | 7.123             | 0.861           | 0.860           | 0.846          |
| CID0474        | 16                | 7.179             | 0.862           | 0.861           | 0.848          |
| CID1533        | 27                | 16.178            | 0.940           | 0.938           | 0.935          |
| CID0042        | 16                | 8.738             | 0.887           | 0.886           | 0.875          |
| CID0347        | 14                | 4.335             | 0.771           | 0.769           | 0.751          |
| CID0047        | 15                | 8.258             | 0.880           | 0.879           | 0.867          |
| CID0382        | 15                | 8.696             | 0.887           | 0.885           | 0.874          |
| CID1532        | 19                | 7.318             | 0.865           | 0.863           | 0.850          |
| CID0283        | 24                | 10.395            | 0.905           | 0.904           | 0.897          |
| CID1535        | 17                | 8.973             | 0.890           | 0.889           | 0.878          |
| CID0598        | 16                | 8.339             | 0.882           | 0.880           | 0.869          |
| CID1512        | 18                | 13.499            | 0.928           | 0.926           | 0.921          |
| Ci120          | 10                | 4.564             | 0.782           | 0.781           | 0.751          |
| Ci240          | 21                | 9.574             | 0.897           | 0.896           | 0.887          |
| CID0615        | 21                | 12.498            | 0.922           | 0.920           | 0.914          |
| 平均数 mean       | 18                | 9.044             | 0.877           | 0.876           | 0.864          |

均每个位点的  $N_a$  为 18,  $N_e$  为 9.044,  $H_o$  为 0.826,  $H_e$  为 0.877, PIC 为 0.864。

2.2 群体的遗传变异

在群体水平上, 各草鱼群体的平均遗传变异参数的变化范围(表 4),  $N_a$  为 8.333(HLJ)~14.400( $F_0$ ),  $N_e$  为 4.041(ZJ)~7.775( $F_0$ ),  $H_o$  为 0.797 (HLJ)~0.872 ( $F_3$ ),  $H_e$  为 0.736 (ZJ)~0.864 ( $F_0$ ,  $F_3$ ),  $A_r$  为 8.229(HLJ)~13.996 ( $F_0$ ), PIC 为 0.690 (ZJ)~0.842 ( $F_0$ )。

长江选育群体  $F_0$ ~ $F_4$  之间各遗传变异参数世代间  $N_e$  (7.775~6.478)、 $H_e$  (0.864~0.832)、PIC (0.842~0.806)有逐级递减的趋势, 但是通过 K-W

检验草鱼 5 个群体的各遗传变异参数, 显示长江选育群体  $F_0$ ~ $F_4$  之间各遗传变异参数均无显著差异( $P>0.05$ ); 而长江选育群体  $F_0$ ~ $F_4$  的各遗传变异参数均显著大于 ZJ 和 HLJ 的各遗传参数( $P<0.05$ ); ZJ 和 HLJ 各遗传变异参数之间均无显著差异( $P>0.05$ )。 $F_{is}$  在 ZJ、HLJ、 $F_3$  中均小于 0, 在  $F_0$ 、 $F_4$  中均大于 0, 显示出在 ZJ、HLJ 和  $F_3$  中出现杂合子缺失情况。HWE 显示  $F_0$ 、 $F_3$ 、 $F_4$ 、ZJ、HLJ 分别有 7 个、6 个、6 个、15 个、8 个位点偏离 Hardy–Weinberg 平衡( $P<0.01$ )。各草鱼群体详细的遗传变异参数信息见表 5。

表 4 15 对微卫星标记在草鱼 5 个群体中的平均遗传变异参数  
Tab. 4 Mean genetic parameters of 15 microsatellite loci in the five populations of *Ctenopharyngodon idella*

| 项目 item | $N_a$               | $N_e$              | $H_o$              | $H_e$              | $A_r$               | PIC                | $F_{is}$ | d(HWE) |
|---------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|----------|--------|
| $F_0$   | 14.400 <sup>a</sup> | 7.775 <sup>a</sup> | 0.816 <sup>a</sup> | 0.864 <sup>a</sup> | 13.996 <sup>a</sup> | 0.842 <sup>a</sup> | 0.044    | 7      |
| $F_3$   | 13.333 <sup>a</sup> | 7.765 <sup>a</sup> | 0.872 <sup>a</sup> | 0.864 <sup>a</sup> | 13.069 <sup>a</sup> | 0.841 <sup>a</sup> | −0.017   | 6      |
| $F_4$   | 12.467 <sup>a</sup> | 6.478 <sup>a</sup> | 0.815 <sup>a</sup> | 0.832 <sup>a</sup> | 12.208 <sup>a</sup> | 0.806 <sup>a</sup> | 0.009    | 6      |
| ZJ      | 9.133 <sup>b</sup>  | 4.041 <sup>b</sup> | 0.830 <sup>b</sup> | 0.736 <sup>b</sup> | 8.878 <sup>b</sup>  | 0.690 <sup>b</sup> | −0.143   | 15     |
| HLJ     | 8.333 <sup>b</sup>  | 4.861 <sup>b</sup> | 0.797 <sup>b</sup> | 0.781 <sup>b</sup> | 8.229 <sup>b</sup>  | 0.746 <sup>b</sup> | −0.034   | 8      |

注: d(HWE)表示偏离哈迪–温伯格平衡数; 同一列上标不同字母的均值有显著差异( $P<0.05$ )。  
Note: d(HWE) means number of loci deviating from Hardy–Weinberg equilibrium; Means in the same column superscripted by different letters were significantly different ( $P<0.05$ ).

表 5 15 对微卫星标记在草鱼 5 个群体中的遗传多样性分析  
Tab. 5 Genetic diversity analysis of 15 microsatellite loci in the five populations of *Ctenopharyngodon idella*

| 项目 item  | CID 0173 | CID 0474 | CID 1533 | CID 0042 | CID 0347 | CID 0047 | CID 0382 | CID 1532 | CID 0283 | CID 1535 | CID 0598 | CID 1512 | Ci 120 | Ci 240 | CID 0615 |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|--------|--------|----------|
| $F_0$    |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |        |        |          |
| $N_a$    | 14       | 14       | 22       | 14       | 8        | 13       | 14       | 17       | 18       | 14       | 13       | 16       | 10     | 13     | 16       |
| $N_e$    | 5.451    | 4.436    | 13.429   | 8.783    | 4.189    | 7.773    | 7.509    | 9.489    | 8.795    | 8.817    | 6.781    | 10.367   | 4.528  | 6.353  | 9.923    |
| $H_o$    | 0.807    | 0.731    | 0.672    | 0.931    | 0.759    | 0.947    | 0.759    | 0.517    | 0.810    | 0.895    | 0.857    | 0.879    | 0.897  | 0.810  | 0.966    |
| $H_e$    | 0.824    | 0.782    | 0.934    | 0.894    | 0.768    | 0.879    | 0.874    | 0.902    | 0.894    | 0.894    | 0.860    | 0.911    | 0.786  | 0.850  | 0.907    |
| $A_r$    | 13.493   | 13.846   | 20.890   | 13.704   | 7.724    | 12.753   | 13.961   | 16.410   | 17.304   | 13.630   | 12.870   | 15.412   | 9.568  | 12.567 | 15.806   |
| PIC      | 0.799    | 0.757    | 0.921    | 0.876    | 0.731    | 0.86     | 0.856    | 0.886    | 0.877    | 0.876    | 0.838    | 0.895    | 0.747  | 0.825  | 0.891    |
| $F_{is}$ | 0.012    | 0.057    | 0.274    | −0.051   | 0.004    | −0.087   | 0.125    | 0.422    | 0.086    | −0.009   | −0.005   | 0.027    | −0.151 | 0.038  | −0.074   |
| HWE      | 0.021    | 0.170    | 0.000*   | 0.000*   | 0.053    | 0.780    | 0.227    | 0.000*   | 0.000*   | 0.303    | 0.025    | 0.009*   | 0.000* | 0.006* | 0.026    |
| $F_3$    |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |        |        |          |
| $N_a$    | 14       | 13       | 22       | 11       | 11       | 10       | 14       | 10       | 17       | 11       | 13       | 13       | 7      | 17     | 17       |
| $N_e$    | 5.951    | 6.353    | 14.344   | 6.789    | 4.395    | 6.288    | 9.423    | 4.899    | 9.771    | 6.473    | 6.446    | 9.831    | 4.817  | 11.032 | 9.655    |
| $H_o$    | 0.911    | 0.621    | 0.965    | 0.897    | 0.707    | 0.776    | 0.931    | 0.836    | 0.965    | 0.893    | 0.912    | 0.930    | 0.860  | 0.930  | 0.947    |
| $H_e$    | 0.839    | 0.850    | 0.939    | 0.860    | 0.779    | 0.848    | 0.902    | 0.803    | 0.906    | 0.853    | 0.852    | 0.906    | 0.799  | 0.917  | 0.904    |
| $A_r$    | 13.347   | 12.806   | 21.477   | 10.975   | 10.704   | 9.998    | 13.824   | 9.720    | 16.614   | 10.775   | 12.509   | 12.983   | 6.986  | 16.602 | 16.721   |
| PIC      | 0.814    | 0.827    | 0.926    | 0.836    | 0.751    | 0.825    | 0.885    | 0.767    | 0.89     | 0.828    | 0.83     | 0.889    | 0.763  | 0.902  | 0.889    |
| $F_{is}$ | −0.095   | 0.263    | −0.037   | −0.051   | 0.085    | 0.077    | −0.042   | −0.051   | −0.075   | −0.056   | −0.080   | −0.035   | −0.085 | −0.023 | −0.057   |
| HWE      | 0.244    | 0.000*   | 0.002*   | 0.299    | 0.000*   | 0.062    | 0.558    | 0.199    | 0.866    | 0.000*   | 0.004*   | 0.330    | 0.160  | 0.569  | 0.000*   |

(待续 to be continued)

| (续表 5 Tab. 5 continued) |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |           |           |             |
|-------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-----------|-----------|-------------|
| 项目<br>item              | CID<br>0173 | CID<br>0474 | CID<br>1533 | CID<br>0042 | CID<br>0347 | CID<br>0047 | CID<br>0382 | CID<br>1532 | CID<br>0283 | CID<br>1535 | CID<br>0598 | CID<br>1512 | Ci<br>120 | Ci<br>240 | CID<br>0615 |
| F <sub>4</sub>          |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |           |           |             |
| N <sub>a</sub>          | 13          | 14          | 16          | 10          | 9           | 13          | 13          | 11          | 20          | 12          | 11          | 12          | 6         | 11        | 16          |
| N <sub>e</sub>          | 4.583       | 7.052       | 8.175       | 5.866       | 2.552       | 7.203       | 6.803       | 6.150       | 11.445      | 7.627       | 4.830       | 8.453       | 4.321     | 4.258     | 7.850       |
| H <sub>o</sub>          | 0.862       | 0.776       | 0.776       | 0.862       | 0.614       | 0.897       | 0.793       | 0.655       | 0.946       | 0.702       | 0.897       | 0.911       | 0.759     | 0.862     | 0.911       |
| H <sub>e</sub>          | 0.789       | 0.866       | 0.885       | 0.837       | 0.614       | 0.869       | 0.860       | 0.845       | 0.921       | 0.877       | 0.800       | 0.890       | 0.775     | 0.772     | 0.881       |
| A <sub>r</sub>          | 12.428      | 13.701      | 15.783      | 9.722       | 8.861       | 12.857      | 12.702      | 10.808      | 19.442      | 11.997      | 10.582      | 11.998      | 6.000     | 10.683    | 15.549      |
| PIC                     | 0.756       | 0.845       | 0.867       | 0.809       | 0.582       | 0.849       | 0.838       | 0.817       | 0.906       | 0.856       | 0.767       | 0.871       | 0.734     | 0.730     | 0.860       |
| F <sub>is</sub>         | -0.103      | 0.096       | 0.116       | -0.039      | -0.010      | -0.041      | 0.070       | 0.218       | -0.037      | 0.192       | -0.131      | -0.033      | 0.013     | -0.127    | -0.044      |
| HWE                     | 0.000*      | 0.007*      | 0.000*      | 0.964       | 0.008*      | 0.170       | 0.176       | 0.022       | 0.993       | 0.000*      | 0.000*      | 0.093       | 0.426     | 0.168     | 0.069       |
| ZJ                      |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |           |           |             |
| N <sub>a</sub>          | 13          | 11          | 14          | 9           | 6           | 6           | 7           | 6           | 10          | 10          | 8           | 10          | 7         | 8         | 12          |
| N <sub>e</sub>          | 6.297       | 3.808       | 4.305       | 3.440       | 2.986       | 2.677       | 2.973       | 2.672       | 5.661       | 4.255       | 4.403       | 5.875       | 2.299     | 3.801     | 5.171       |
| H <sub>o</sub>          | 0.983       | 0.776       | 0.828       | 0.684       | 0.719       | 0.607       | 0.679       | 0.692       | 0.982       | 0.727       | 0.966       | 1.000       | 1.000     | 0.810     | 1.000       |
| H <sub>e</sub>          | 0.849       | 0.744       | 0.774       | 0.716       | 0.671       | 0.632       | 0.670       | 0.632       | 0.831       | 0.772       | 0.780       | 0.837       | 0.570     | 0.743     | 0.814       |
| A <sub>r</sub>          | 12.709      | 10.532      | 13.270      | 8.725       | 5.740       | 5.979       | 6.989       | 5.962       | 9.871       | 9.901       | 7.824       | 9.739       | 6.448     | 7.862     | 11.620      |
| PIC                     | 0.823       | 0.708       | 0.737       | 0.665       | 0.602       | 0.583       | 0.613       | 0.579       | 0.801       | 0.738       | 0.736       | 0.807       | 0.47      | 0.705     | 0.778       |
| F <sub>is</sub>         | -0.168      | -0.052      | -0.078      | 0.035       | -0.081      | 0.031       | -0.024      | -0.106      | -0.193      | 0.049       | -0.249      | -0.205      | -0.770    | -0.100    | -0.240      |
| HWE                     | 0.000*      | 0.000*      | 0.000*      | 0.000*      | 0.000*      | 0.000*      | 0.000*      | 0.000*      | 0.000*      | 0.000*      | 0.000*      | 0.000*      | 0.000*    | 0.000*    | 0.000*      |
| HLJ                     |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |           |           |             |
| N <sub>a</sub>          | 8           | 8           | 12          | 9           | 6           | 7           | 6           | 8           | 9           | 9           | 10          | 10          | 5         | 7         | 11          |
| N <sub>e</sub>          | 4.026       | 4.044       | 4.939       | 5.681       | 2.991       | 4.347       | 2.628       | 3.652       | 6.534       | 6.235       | 4.207       | 7.786       | 3.469     | 5.238     | 7.133       |
| H <sub>o</sub>          | 0.893       | 0.804       | 0.821       | 0.821       | 0.714       | 0.929       | 0.625       | 0.827       | 0.618       | 0.875       | 0.764       | 0.926       | 0.764     | 0.836     | 0.740       |
| H <sub>e</sub>          | 0.758       | 0.760       | 0.805       | 0.831       | 0.672       | 0.777       | 0.625       | 0.733       | 0.855       | 0.847       | 0.769       | 0.880       | 0.718     | 0.817     | 0.869       |
| A <sub>r</sub>          | 7.882       | 7.786       | 11.657      | 8.893       | 5.989       | 6.786       | 5.893       | 7.846       | 8.902       | 8.989       | 9.887       | 9.926       | 5.000     | 6.999     | 11.000      |
| PIC                     | 0.721       | 0.726       | 0.774       | 0.802       | 0.621       | 0.734       | 0.583       | 0.684       | 0.828       | 0.820       | 0.737       | 0.858       | 0.667     | 0.784     | 0.845       |
| F <sub>is</sub>         | -0.188      | -0.068      | -0.030      | 0.003       | -0.073      | -0.206      | -0.009      | -0.139      | 0.270       | -0.042      | -0.002      | -0.062      | -0.073    | -0.034    | 0.139       |
| HWE                     | 0.000*      | 0.869       | 0.000*      | 0.415       | 0.469       | 0.096       | 0.242       | 0.000*      | 0.000*      | 0.005*      | 0.000*      | 0.560       | 0.161     | 0.000*    | 0.000*      |

注: N<sub>a</sub>—观测等位基因数, N<sub>e</sub>—有效等位基因数, H<sub>o</sub>—观测杂合度, H<sub>e</sub>—期望杂合度, A<sub>r</sub>—等位基因丰度, PIC—多态信息含量, F<sub>is</sub>—近交系数; “\*”表示显著偏离哈迪—温伯格平衡(P<0.01).

Note: N<sub>a</sub>—number of observed alleles, N<sub>e</sub>—number of expected alleles, H<sub>o</sub>—observed heterozygosity, H<sub>e</sub>—expected heterozygosity, A<sub>r</sub>—allelic richness, PIC—polymorphism information content, F<sub>is</sub>—inbreeding coefficient; “\*” represents significantly deviated from Hardy-Weinberg equilibrium (P<0.01).

2.3 群体间的遗传分化和种群结构

Structure 种群结构分析假设的类群 K 值为 2~5。根据最大的 ΔK 值确定了最佳 K 值为 3(图 1)。根据最佳 K 值, 表明草鱼 5 个群体可以划分成 3 个聚类簇(图 2), 其中聚类簇 1 中为长江选育群体, 分别包含 97.8%的 F<sub>0</sub>, 94.1%的 F<sub>3</sub>, 98.4%的 F<sub>4</sub>, 聚类簇 2 中包含 94%的 ZJ, 聚类簇 3 中包含 96.1%的 HLJ。

草鱼 5 个群体间的分子方差分析(AMOVA)结果显示 91.54%的变异来自于群体内, 8.46%的变异来自于群体间, 整体 F<sub>st</sub> 数值为 0.085 (P<0.01), 而针对于长江选育群体之间的 AMOVA 结果显示

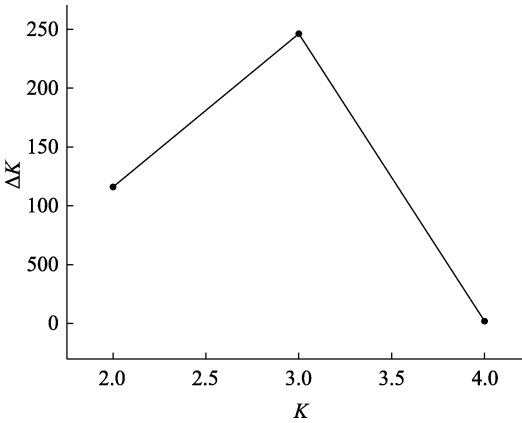


图 1 ΔK 值随 K 值变化的折线图

Fig. 1 The graph of the variation of Delta K with the value of K

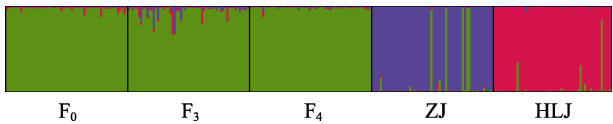


图 2 根据最佳  $K$  值( $K=3$ )构建的草鱼遗传结构图

Fig. 2 The genetic structuring of populations of *Ctenopharyngodon idella* according to the optimum value of  $K$  ( $K=3$ )

95.95%的变异来自于群体内, 4.05%的变异来自于群体间, 整体  $F_{st}$  数值为 0.040 ( $P<0.01$ )(表 6)。

表 6 草鱼 5 个群体间和长江选育群体间的遗传差异的分子方差分析

Tab. 6 Analysis of molecular variance (AMOVA) for five populations and Yangtze population of *Ctenopharyngodon idella*

| 变异来源<br>source of variation                      | 自由度<br>df | 平方和<br>sum of squares | 方差组分<br>variance components | 变异百分比<br>percentage of variation | 整体遗传分化指数<br>global $F_{st}$ |
|--------------------------------------------------|-----------|-----------------------|-----------------------------|----------------------------------|-----------------------------|
| 草鱼 5 个群体 among 5 populations of <i>C. idella</i> |           |                       |                             |                                  |                             |
| 群体间 among populations                            | 4         | 275.624               | 0.547 $V_a$                 | 8.46                             |                             |
| 群体内 within populations                           | 571       | 3378.347              | 5.917 $V_b$                 | 91.54                            |                             |
| 总体 total                                         | 575       | 3653.970              | 6.463                       | 100                              | 0.085*                      |
| 长江选育群体 among Yangtze population                  |           |                       |                             |                                  |                             |
| 群体间 among populations                            | 2         | 73.566                | 0.263 $V_a$                 | 4.05                             |                             |
| 群体内 within populations                           | 345       | 2153.405              | 6.242 $V_b$                 | 95.95                            |                             |
| 总体 total                                         | 347       | 2226.971              | 6.505                       | 100                              | 0.040*                      |

注:  $V_a$  为群体间方差组分;  $V_b$  为群体内方差组分; “\*”表示  $P<0.01$ 。

Note:  $V_a$  is variance component among populations;  $V_b$  is variance component within populations; “\*” represents significant at  $P<0.01$ .

表 7 草鱼 5 个群体间遗传分化  $F_{st}$  值

Tab. 7 Pairwise  $F_{st}$  values among 5 populations of *Ctenopharyngodon idella*

|       | $F_0$  | $F_3$  | $F_4$  | ZJ     | HLJ |
|-------|--------|--------|--------|--------|-----|
| $F_0$ | —      |        |        |        |     |
| $F_3$ | 0.033* | —      |        |        |     |
| $F_4$ | 0.043* | 0.046* | —      |        |     |
| ZJ    | 0.107* | 0.095* | 0.124* | —      |     |
| HLJ   | 0.071* | 0.069* | 0.096* | 0.166* | —   |

注: “\*”表示  $P<0.01$ 。

Notes: “\*” represents significant at  $P<0.01$ .

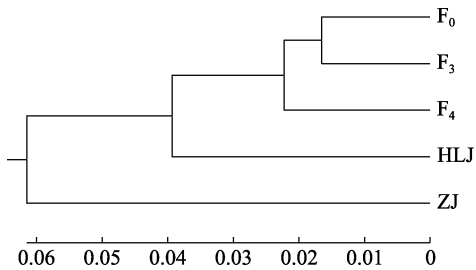


图 3 基于  $F_{st}$  距离矩阵构建的 5 个草鱼群体的 UPGMA 系统发育树

Fig. 3 The phylogenetic tree of the five *Ctenopharyngodon idella* populations based on  $F_{st}$  distance matrix using UPGMA Method

草鱼 5 个群体之间的遗传分化指数  $F_{st}$  显示的变化范围为 0.033~0.166, 而长江选育群体各世代之间的遗传分化指数  $F_{st}$  相对于 ZJ 和 HLJ 更小(表 7)。基于  $F_{st}$  距离矩阵构建的 5 个草鱼群体的 UPGMA 系统发育树(图 3), 结果显示长江选育群体  $F_0$ 、 $F_3$  聚为一支后与  $F_4$  聚类为一支, 再与黑龙江选育群体 HLJ 聚为一支, 最后与珠江选育群体 ZJ 聚为一支。

### 3 讨论

#### 3.1 微卫星标记的多态性

微卫星标记在水产动物的遗传变异和遗传结构评估方面, 具有广泛的引用<sup>[33-34]</sup>。多态信息含量、等位基因数、杂合度是评价微卫星标记多态性水平的主要参数, 结果显示出平均每个位点的 PIC 为 0.864、 $N_a$  为 18,  $N_e$  为 9.044,  $H_o$  为 0.826,  $H_e$  为 0.877。基于 Botstein<sup>[35]</sup>判定标准, 本研究所用的 15 对微卫星标记各位点均具有高度的遗传多态性(PIC>0.5)。因此本研究所用的微卫星标记具有充足的效力用于评估群体的多样性水平和研究群体的遗传结构。

#### 3.2 草鱼选育群体的遗传多样性

利用 15 对微卫星标记, 对草鱼长江选育群体的 3 个世代( $F_0$ 、 $F_3$ 、 $F_4$ )、珠江选育群体(ZJ)和黑龙江选育群体(HLJ)进行遗传变异分析, 结果发现该 5 个草鱼群体均具有高度的遗传多样性(PIC>0.5)。

对于长江选育群体  $F_0 \sim F_4$  各个世代的比较中, 研究发现尽管长江选育群体的遗传变异参数  $N_e$  (7.775~6.478)、 $H_e$  (0.864~0.832)、PIC (0.842~0.806) 在各个世代有递减的趋势, 但尚未有显著性差异 ( $P > 0.05$ )。尽管本研究的遗传多样性的下降在统计学水平上尚不显著, 但是显示出了可能有部分稀有等位基因在选择育种过程中丢失。在选择育种进程中为得到性状更加良好的个体, 会对有利的性状和基因型进行定向选择, 在选择清除和背景选择的作用下, 会造成定向选择中的遗传多样性的水平的一定程度的降低<sup>[36]</sup>。前人在相关研究中也类似的发现, Chen 等<sup>[37]</sup>利用 15 对微卫星标记在太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)  $G_0 \sim G_3$  的连续 3 个世代的遗传变异分析中, 发现 3 个世代的群体的遗传变异参数逐代下降, 且各世代间无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。赵广泰等<sup>[38]</sup>利用 13 对微卫星标记在大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)  $F_1 \sim F_4$  的连续 4 世代的遗传变异分析中, 发现 4 个世代群体遗传变异参数逐渐减小。

对于长江选育群体与珠江和黑龙江选育群体 (ZJ、HLJ) 的比较中, 结果显示出 ZJ 和 HLJ 的各遗传参数均显著小于长江选育群体 ( $P < 0.05$ ), ZJ 和 HLJ 各遗传变异参数之间均无显著差异 ( $P > 0.05$ )。傅建军等<sup>[6]</sup>对草鱼野生群体的遗传变异研究中发现, 长江和珠江野生群体的遗传多样性差异较小, 且高于黑龙江野生群体。而本研究显示了经过家系选育的长江选育群体, 相对于经历群体选育的 ZJ 和 HLJ 的具有更高的遗传多样性, 且 ZJ 和 HLJ 之间遗传多样性差异较小, 体现了人工选择促使了群体的遗传多样性的改变。高度的遗传变异为选择育种提供了原始的遗传材料, 维持充足的遗传多样性有利于后续的选择育种进程的开展<sup>[37]</sup>。该结果表明了在遗传变异方面长江选育群体相对于 ZJ 和 HLJ 在后续的选择育种进程中具有更高的育种潜力。

$F_{is}$  用于衡量因为非随机交配而造成的杂合子的缺少或增多, 可用来评估种群内近亲交配的可能<sup>[39]</sup>。 $F_{is} > 0$  说明了群体内的杂合子缺失现象, 显示了群体一定程度的近亲交配。自然群体中的无序的近亲交配会造成遗传多样性的下降以及近

交衰退的发生<sup>[40]</sup>。但是对于系谱关系明确的选择育种, 通过有规划的交配构建近交系也是选择育种中重要的一部分, 有规划的近交对于选育过程中暴露和剔除有害隐性等位基因和提高低遗传力性状的选择效果有重要作用<sup>[41]</sup>。该研究中长江选育群体  $F_0$  和  $F_4$  均具有一定程度的杂合子缺失现象 ( $F_{is} > 0$ ), 在一定程度上显示出了长江选育群体  $F_0$  和  $F_4$  的在选择育种中利用近交的现象。

### 3.3 草鱼选育群体的遗传分化和遗传结构

AMOVA 结果显示了遗传变异主要来自于各世代内个体间的遗传变异 (95.95%), 而各世代之间的遗传变异较小 (4.05%), 说明了长江选育群体各世代之间的遗传分化水平较低。Structure 分析确定了草鱼群体的最佳的  $K$  值 ( $K=3$ ), 将草鱼群体划分为 3 个聚类簇, 长江选育群体  $F_0$ 、 $F_3$ 、 $F_4$  聚集到一个聚类簇, ZJ 和 HLJ 聚集到另外 2 个聚类簇。而基于  $F_{st}$  距离矩阵构建的草鱼 5 个群体的 UPGMA 系统发育树结果显示了长江水系的选育群体  $F_0$ 、 $F_3$  聚为一支后与  $F_4$  聚类为一支, 再与黑龙江水系的选育群体 HLJ 聚为一支, 最后与珠江水系的选育群体 ZJ 聚为一支, 其与 Structure 分析的结果具有一致性。

$F_{st}$  可用于衡量因为群体结构的存在而造成的杂合子的缺少, 是种群间遗传分化评价中应用最广泛的方法之一, 它可以为研究导致种群间遗传分化的进化过程提供重要依据<sup>[42]</sup>。 $F_{st}$  具有一定的物种特异性, 一般来说当  $F_{st}$  为 0~0.05, 认为群体间遗传分化较小;  $F_{st}$  为 0.05~0.15, 认为群体间存在中等程度遗传分化<sup>[43]</sup>。周盼等<sup>[44]</sup>利用微卫星标记对三江水系野生草鱼的遗传分化研究中发现长江、珠江和黑龙江野生草鱼之间, 野生群体间遗传分化水平较小 ( $0 < F_{st} < 0.05$ )。而本研究发现对于长江、珠江和黑龙江选育群体, 经历过人工选择后的选育群体之间具有中等程度的遗传分化 ( $0.05 < F_{st} < 0.15$ )。种群分化主要是受选择、遗传漂变、基因流以及它们之间的相互关系影响, 进而导致了群体的种群结构出现。不同水系的群体会因为在空间上的距离隔离产生相互之间基因流的阻碍, 从而产生遗传分化<sup>[45]</sup>。对于长江选育群体与 ZJ 和 HLJ, 由于其祖代分别来源于长江、珠江

和黑龙江水系,在经历地理隔离以及后期的人工选择后,使长江选育群体、ZJ 和 HLJ 之间产生了不同于野生草鱼群体的遗传分化水平。而对于长江选育群体,本研究显示长江选育群体各个世代之间均出现了遗传分化,虽然遗传分化水平较小( $0 < F_{st} < 0.05$ ),但在一定程度上反应了当前选择育种进程中有规划的人工选择效果。

#### 4 结论

本研究对长江选育群体的  $F_0$ 、 $F_3$ 、 $F_4$  进行了遗传变异和遗传结构的评估,并与黑龙江选育群体和珠江选育群体进行了比较分析。在遗传变异方面,表明了长江选育群体在经历过多代选育后并未出现显著的遗传多样性下降,依旧保留了较高的遗传变异水平,并且长江选育群体较珠江和黑龙江选育群体具有更高遗传多样性水平。在遗传分化和遗传结构方面,表明了长江选育群体各世代之间已显现出来较小程度的遗传分化。针对后续长江选育群体的选育工作中,应继续保持对遗传变异持续检测以及结合对育种值和选择响应的遗传评估,从而保证制定更加合理的选择育种计划。该研究将为今后制定更加合理的制定育种规划提供参考。

#### 参考文献:

- [1] Li S Z, Fang F. On the geographical distribution of the four kinds of pond-cultured carps in China[J]. Acta Zoologica Sinica, 1990, 36(3): 244-250. [李思忠, 方芳. 鲢、鳙、青、草鱼地理分布的研究[J]. 动物学报, 1990, 36(3): 244-250.]
- [2] Fishery administration of Ministry of Agriculture and Rural Affairs. China Fishery Statistical Yearbook[R]. Beijing: China Agriculture Press, 2021. [农业农村部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴[R]. 北京: 中国农业出版社, 2021.]
- [3] Li S F. Advances in the study of the genetic resources of the major cultured fishes[J]. Journal of Fisheries of China, 1993, 17(4): 344-358. [李思发. 主要养殖鱼类种质资源研究进展[J]. 水产学报, 1993, 17(4): 344-358.]
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] Fu J J, Li J L, Shen Y B, et al. Genetic variation analysis of wild populations of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) using microsatellite markers[J]. Hereditas, 2013, 35(2): 192-201. [傅建军, 李家乐, 沈玉帮, 等. 草鱼野生群体遗传变异的微卫星分析[J]. 遗传, 2013, 35(2): 192-201.]
- [7] 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.
- [8] Guo J M, Zhang M, Wang S T, et al. A high-density genetic linkage map and QTL mapping for growth related traits in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. Aquaculture, 2022, 552: 738041.
- [9] Hughes A R, Inouye B D, Johnson M T J, et al. Ecological consequences of genetic diversity[J]. Ecology Letters, 2008, 11(6): 609-623.
- [10] Ellegren H, Galtier N. Determinants of genetic diversity[J]. Nature Reviews Genetics, 2016, 17(7): 422-433.
- [11] Clegg S M, Degnan S M, Moritz C, et al. Microevolution in island forms: The roles of drift and directional selection in morphological divergence of a passerine bird[J]. Evolution; International Journal of Organic Evolution, 2002, 56(10): 2090-2099.
- [12] Lind C E, Evans B S, Knauer J, et al. Decreased genetic diversity and a reduced effective population size in cultured silver-lipped pearl oysters (*Pinctada maxima*)[J]. Aquaculture, 2009, 286(1-2): 12-19.
- [13] Wang F, Zhang J H, Shen Y B, et al. Microsatellite analysis of genetic variation of wild and cultural populations in black carp *Mylopharyngodon piceus*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2019, 43(5): 939-944. [王丰, 张家华, 沈玉帮, 等. 青鱼野生与养殖群体遗传变异的微卫星分析[J]. 水生生物学报, 2019, 43(5): 939-944.]
- [14] Wang S T, Shen Y B, Meng X Z, et al. Genetic variability in wild and selected populations of *Ctenopharyngodon idella* using microsatellite markers[J]. Journal of Fisheries of China, 2018, 42(8): 1273-1284. [王沈同, 沈玉帮, 孟新展, 等. 草鱼野生与选育群体遗传变异微卫星分析[J]. 水产学报, 2018, 42(8): 1273-1284.]
- [15] 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.
- [16] Yu C C, Xu X Y, Li J L, et al. Primary mapping of QTL for growth-related traits in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)[J]. Aquaculture International, 2020, 28(6): 2275-2285.
- [17] Yu C C, Shen Y B, Xu X Y, et al. Verification of microsa-



- tellite markers associated with growth traits in selected populations of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2021, 45(3): 321-332. [余成晨, 沈玉帮, 徐晓雁, 等. 草鱼生长相关的微卫星标记在选育群体中的验证[J]. 水产学报, 2021, 45(3): 321-332.]
- [18] Sint D, Raso L, Traugott M. Advances in multiplex PCR: Balancing primer efficiencies and improving detection success[J]. Methods in Ecology and Evolution, 2012, 3(5): 898-905.
- [19] Zhang P, Seth A, Fernandes H. Other post-PCR detection technologies[M]//Pathobiology of Human Disease. Amsterdam: Elsevier, 2014: 4074-4088.
- [20] Guichoux E, Lagache L, Wagner S, et al. Current trends in microsatellite genotyping[J]. Molecular Ecology Resources, 2011, 11(4): 591-611.
- [21] da Li, Wang S T, Shen Y B, et al. A multiplex microsatellite PCR method for evaluating genetic diversity in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)[J]. Aquaculture and Fisheries, 2018, 3(6): 238-245.
- [22] Yeh F C, Yang R, Boyle T B, et al. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis[J]. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada, 1997, 10: 295-301.
- [23] Peakall R, Smouse P E. Genalex 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research[J]. Molecular Ecology Notes, 2006, 6(1): 288-295.
- [24] Goudet J. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices, 2001. Available online: <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>.
- [25] 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.
- [26] George D, Mallery P. IBM SPSS statistics 26 step by step: A simple guide and reference[M]. Routledge, 2019.
- [27] 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.
- [28] 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.
- [29] Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data[J]. Genetics, 2000, 155(2): 945-959.
- [30] Earl D A, vonHoldt B M. STRUCTURE HARVESTER: A website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method[J]. Conservation Genetics Resources, 2012, 4(2): 359-361.
- [31] Jakobsson M, Rosenberg N A. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure[J]. Bioinformatics, 2007, 23(14): 1801-1806.
- [32] Rosenberg N A. Distruct: a program for the graphical display of population structure[J]. Molecular Ecology Notes, 2003, 4(1): 137-138.
- [33] Lu C Y, Zhang X L, Gu Y, et al. Genetic structure and genetic distance distribution between females and males in conservation populations of two common carp varieties using microsatellite markers[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2016, 23(5): 1091-1098. [鲁翠云, 张晓丽, 顾颖, 等. 福瑞鲤与豫选黄河鲤选育群体的遗传结构及亲本间遗传距离分布[J]. 中国水产科学, 2016, 23(5): 1091-1098.]
- [34] Huang H, Fan S G, Wang P F, et al. Genetic diversity analysis of six geographical populations of *Lateolabrax maculatus* based on microsatellite markers[J]. South China Fisheries Science, 2022, 18(1): 99-106. [黄皓, 范嗣刚, 王鹏飞, 等. 基于微卫星标记对 6 个花鲈群体的遗传多样性分析[J]. 南方水产科学, 2022, 18(1): 99-106.]
- [35] 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.
- [36] Hahn M W. Molecular population genetics[M]. Oxford: Oxford University Press, 2018.
- [37] Chen Y L, Xu C X, Li Q. Genetic diversity in a genetically improved line of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* with orange shell based on microsatellites and mtDNA data[J]. Aquaculture, 2022, 549: 737791.
- [38] 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 (*Pseudosciaena crocea*) using microsatellite markers[J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(4): 500-507. [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.]
- [39] Wright S. Coefficients of inbreeding and relationship[J]. The American Naturalist, 1922, 56(645): 330-338.
- [40] Wang H F, Liu P, Gao B Q, et al. Inbreeding influence to some economic traits of six inbreeding generations of *Portunus trituberculatus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(6): 1157-1165. [王好锋, 刘萍, 高保全, 等. 近交对三疣梭子蟹若干经济性状衰退的影响[J]. 中国水

- 产科学, 2013, 20(6): 1157-1165.]
- [41] Tave D. Inbreeding and brood stock management[M]. Food & Agriculture Organization, 1999.
- [42] Meirmans P G, Hedrick P W. Assessing population structure:  $F_{st}$  and related measures[J]. Molecular Ecology Resources, 2011, 11(1): 5-18.
- [43] Wright S. Evolution and the genetics of populations, variability within and among natural populations[M]. Chicago: The University of Chicago Press, 1978.
- [44] Zhou P, Zhang Y, Xu P, et al. Genetic analysis of grass carp populations from three major water-sheds based on 26 microsatellite markers[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(5): 1011-1020. [周盼, 张研, 徐鹏, 等. 基于 26 个微卫星标记的三江水系草鱼遗传多样性分析[J]. 中国水产科学, 2011, 18(5): 1011-1020.]
- [45] Shen Y B, Wang L, Fu J J, et al. Population structure, demographic history and local adaptation of the grass carp[J]. BMC Genomics, 2019, 20(1): 467.

## Genetic variations among different generations of a breeding population of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) using microsatellite markers

YU Chengchen<sup>1,2</sup>, ZHANG Wei<sup>1,2</sup>, XU Xiaoyan<sup>1,2</sup>, WANG Rongquan<sup>3</sup>, LI Jiale<sup>1,2</sup>, SHEN Yubang<sup>1,2</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. 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 variation and genetic structure of different generations of a breeding population of grass carp, the established set of standard microsatellite markers was used to assess the genetic variation of the Yangtze breeding population of grass carp ( $F_0$ ,  $F_3$ , and  $F_4$ ) and compared with that of the Heilongjiang and Pearl River breeding populations. The results showed that all generations of the Yangtze breeding population had a high level of genetic diversity ( $PIC > 0.05$ ), and the Yangtze breeding population had a higher level of genetic diversity than the Heilongjiang and Pearl River breeding populations ( $P < 0.05$ ). The results of genetic differentiation index ( $F_{st}$ ) analysis showed that the Yangtze breeding population had a low level of genetic differentiation among  $F_0$ ,  $F_3$ , and  $F_4$  ( $0 < F_{st} < 0.05$ ); and the Yangtze breeding population had a moderate level of genetic differentiation from the Heilongjiang and Pearl River breeding populations ( $0.05 < F_{st} < 0.15$ ). Molecular analysis of variance (ANOVA) showed that 4.05% of the variation among generations of the Yangtze breeding population was among populations and 95.95% within the populations, while for the five populations of grass carp, ANOVA showed that 8.46% of the variation was among populations and 91.54% within the populations. Structure analysis showed that the five grass carp groups could be divided into three clusters. The UPGMA phylogenetic tree of the five grass carp populations was constructed based on the  $F_{st}$  distance matrix, and the results showed that the breeding populations  $F_0$  and  $F_3$  clustered into one, then clustered with the selective population  $F_4$ , then clustered with the Heilongjiang breeding population, and finally clustered with the Pearl River breeding population. This study will provide a reference for further development of selective breeding programs of grass carp.

**Key words:** *Ctenopharyngodon idella*; genetic diversity; genetic structure; breeding population; SSR

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