

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2018.17384

## 福建牡蛎选育群体的遗传多样性

郭香, 曾志南, 郑雅友, 巫旗生, 宁岳, 祁剑飞, 贾圆圆

福建省水产研究所, 福建省海洋生物增养殖与高值化利用重点实验室, 福建省海洋生物资源开发利用协同创新中心, 福建 厦门 361000

**摘要:** 利用 8 个微卫星标记对福建牡蛎(*Crassostrea angulata*)基础群体、‘金蛎 1 号’选育系 F6 和野生群体进行遗传多样性分析。结果表明, 每个位点在各群体的等位基因数为 7~24 个, 各群体在所有位点的平均等位基因数为 10.3~17.6 个, 平均等位基因丰度为 9.8~16.8。平均观测杂合度和平均期望杂合度分别为 0.655~0.662 和 0.788~0.872。经邦弗朗尼校正, 哈迪-温伯格平衡检验结果显示, 在 24 个群体-位点组合中 18 个群体-位点组合显著偏离平衡 ( $P<0.01$ )。群体内近交系数  $F_{is}$  值介于 0.0095~0.2874, 平均值为 0.1992, 遗传分化系数  $F_{st}$  介于 0.0224~0.1627, 平均值为 0.0767, 暗示选育群体中存在较低水平的非随机交配现象, 属于中度偏低分化。研究表明, 连续的选育对群体的遗传分化产生了一定的影响, 但是, 选育群体仍然具有较高水平的遗传多样性。

**关键词:** 福建牡蛎; 微卫星; 群体遗传; 遗传多样性

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2018)05-1131-06

中国是牡蛎养殖大国, 长久以来养殖量稳居世界首位。其中, 福建牡蛎(*Crassostrea angulata*)又名葡萄牙牡蛎, 是中国南方沿海地区的主要养殖品种, 尤其福建省是中国最大的福建牡蛎育苗与养殖区, 2014 年福建牡蛎养殖产量达 161 万 t<sup>[1]</sup>。随着养殖规模的日益扩大, 人工养殖的累代效应和养殖环境的恶化导致养殖牡蛎的经济性状出现了退化, 如个体变小、夏季高温死亡率低等。近年来, 福建省水产研究所贝类课题组以壳色和体重为目标性状, 通过群体定向选育, 经连续 6 代选育, 获得了壳色金黄、生长速度较快的新品种‘金蛎 1 号’。

微卫星标记由 2~6 个核苷酸的简单串联重复序列(simple sequence repeats, SSR)构成, 广泛存在于真核生物中, 具有多态性丰富、呈共显性遗传、数量众多且分布广泛而均匀等特点。目前, 微卫星标记已在水产经济动物的遗传育种研究中广

泛应用, 包括检测种群遗传结构、评估和确定养殖种群的亲缘关系、种质资源的评价与保护、分子遗传图谱的构建和数量性状定位等<sup>[2-3]</sup>。对一些经济贝类人工选育群体遗传多样性的研究已有不少报道, 如长牡蛎(*Crassostrea gigas*)<sup>[4]</sup>、菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)<sup>[5]</sup>、马氏珠母贝(*Pinctada martensii*)<sup>[6]</sup>和泥蚶(*Tegillarca granosa*)<sup>[7]</sup>等。对福建牡蛎的分子遗传学研究, 仅见翁朝红等<sup>[8]</sup>选取 10 对微卫星引物分析了 3 个养殖群体和 1 个野生群体种群的遗传变异; 巫旗生等<sup>[9]</sup>利用 AFLP 技术对 4 个福建牡蛎自然苗群体和 4 个人工苗群体的遗传多样性进行了分析。对福建牡蛎人工选育群体与野生群体遗传多样性的比较研究尚未见报道。

目前, SSR 标记多态性检测主要采用聚丙烯酰胺凝胶电泳方法, 该方法不仅耗时耗力, 而且在大规模、多批次的数据采集时, 人为误差较大。而近年来, 新兴的荧光标记毛细管电泳检测技术

收稿日期: 2017-10-17; 修订日期: 2018-02-10.

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项(nycytx-49); 省属公益类科研院所基本科研专项(2017R1003-6); 国家科技基础条件平台建设运行项目(2017DKA30470); 福建省海洋与渔业结构调整专项。

作者简介: 郭香(1983-), 女, 助理研究员, 从事贝类分子遗传育种. E-mail: guoxiang432@163.com

通信作者: 曾志南, 研究员, 主要从事贝类遗传育种与养殖. E-mail: xmzzn@sina.com

基于 DNA 遗传自动分析仪, 利用电脑软件进行图像收集和分析, 具有高通量、自动化和精准度高的优点, 已经应用于多种水生生物如欧洲牡蛎 (*Crassostrea virginica*)<sup>[10]</sup>、长牡蛎<sup>[11]</sup>和钝吻黄盖鲽 (*Pleuronectes yokohamae*)<sup>[12]</sup>, 显示出良好的应用前景。本研究利用微卫星标记和荧光标记分型技术分析了福建牡蛎‘金蛎 1 号’、基础群体和野生群体的遗传结构, 以期为品种培育提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料来源

2009 年 4 月, 以福建省和广东省收集的福建牡蛎野生群体和养殖群体的人工繁殖后代 2 万枚个体为基础群体(F0), 金黄壳色和总重为目标性状, 采用群体选育技术, 连续 6 代选择培育出‘金蛎 1 号’(F6)。每代所用亲本数量及选择率见表 1。2009 年, 从基础群体取样 40 个个体, 剪取闭壳肌, -80℃保存备用。2016 年 5 月, 从‘金蛎 1 号’F6 选育系和福建石狮野生群体(W)各随机取样 48 个体, 剪取闭壳肌, -80℃保存备用。

### 1.2 引物筛选

从已发表的牡蛎微卫星文章中选择 8 个扩增

稳定的引物用于遗传分析, SSR 位点的重复结构、引物序列及 PCR 扩增条件见表 2。

**表 1 ‘金蛎 1 号’F1-F6 选育系有效繁殖亲本数**  
**Tab. 1 Effective reproductive parent number of F1-F6 from ‘Golden oyster 1#’**

选育世代 breeding generation	F1	F2	F3	F4	F5	F6
选择强度 selection intensity	1.85	1.88	1.83	1.92	1.86	1.80
父本数 no. of male parent	67	70	78	95	105	135
母本数 no. of female parent	53	65	69	87	107	118

### 1.3 DNA 提取及 PCR 扩增

DNA 的提取采用 OMEGA 软体动物 DNA 提取试剂盒, 参照试剂盒说明书操作。DNA 工作液置于-20℃保存备用。

PCR 反应体系为 20 μL: 模板 DNA 2 μL, 10 × PCR buffer (10 mmol/L) 1.5 μL, dNTPs (4 mmol/L) 1 μL, MgCl<sub>2</sub> (25 mmol/L) 1.5 μL, Taq (1 U/μL) 1 μL, 引物(上下游)各 0.3 μL (10 μmol/L), ddH<sub>2</sub>O 12.4 μL。PCR 反应程序为: 94℃ 3 min 预变性; 94℃ 30 s, 55℃ 45 s, 72℃ 30 s 延伸, 35 个循环; 72℃ 5 min。最后, 4℃保存。PCR 产物先在 1.0% 的琼

**表 2 福建牡蛎 8 个微卫星引物序列和退火温度**  
**Tab. 2 Characteristics of the 8 polymorphic microsatellite loci from *Crassostrea angulata***

位点 locus	退火温度/℃ annealing temperature	核心序列 repeat motif sequence	引物序列(5'-3') primer sequence (5'-3')
cmrCg143	55	(TAGA) <sub>n</sub>	F: CTTGCCATATTGCCATGTGCTTGCATATTGCCATGTGT R: CTTTTACATGGAATTGTCACAGG
L10	55	(AG) <sub>n</sub>	F: CAATTCAAAGTCATTTCCCTCA R: CATGTTTCCCTTGACTGATCC
L48	55	(GA) <sub>n</sub>	F: TCAAACCATCTGCTCGTCTACG R: TCCGAAAATCCAGGAATACCGG
ucdCg194	55	(GAT) <sub>n</sub> (GAG) <sub>n</sub>	F: CCCAGTAAAACCTGGAGACA R: TTTCGAATCGGGAAATACG
ucdCg195	55	(CAT) <sub>n</sub>	F: CCAACAAACAGGGCACCTACT R: GGTCCAGTTGGCATCCTCTA
ucdCg120	55	(CA) <sub>n</sub> (GA) <sub>n</sub>	F: GGGTGAGATTAGGGGGAGA R: CTCCATCAAACCTGCCAAC
ucdCg148	55	(GA) <sub>n</sub>	F: TGTTGGTTGGTAGGTTG R: TGTCAAACGTCGAGATTGG
ucdCg160	55	(GA) <sub>n</sub> (GACA) <sub>n</sub>	F: GGAGCCATTAACAACACCACA R: TCTCTCCCTCCCCCTCTTA

脂糖上进行检测, 然后 4 种不同荧光染料标记的 PCR 产物各取 1  $\mu\text{L}$  混合, 之后在 ABI3730 XL 自动分析仪上进行毛细管电泳检测。

#### 1.4 数据分析与统计处理

采用 Microsatellite analyser 软件<sup>[13]</sup>计算各微卫星位点的等位基因数( $N$ )、观测杂合度( $H_o$ )、期望杂合度( $H_e$ )、 $F$ -统计量及群体间的遗传分化系数( $F_{st}$ ); 哈迪-温伯格平衡检验通过 Genepop 4.0 软件<sup>[14]</sup>进行计算。平均等位基因丰度( $A_R$ )通过 FSTAT 2.9.3 进行计算<sup>[15]</sup>。采用 SPSS19.0 的 Kruskal-Wallis 检验来检验各群体间的等位基因丰度和平均期望杂合度是否存在显著差异<sup>[16]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 遗传多样性

福建牡蛎选育群体与野生群体的微卫星遗传参数见表 3。实验中的 8 个微卫星位点均呈现出多态性, ‘金蛎 1 号’、基础群体和野生群体的等位基因数分别介于 7~14、11~15 和 14~24 个, 其中, 位点 *ucdCg120* 在野生群体中产生的等位基因数最多, 为 24 个。3 个群体在所有位点的平均等位基因数为 10.3~17.6 个, 平均等位基因丰度为 9.8~16.8, 平均观测杂合度为 0.647~0.655, 平均期望杂合度为 0.788~0.872。Kruskal-Wallis 检验结果显示, 3 个群体在等位基因丰度( $df=2, P=0.001$ )和平均期望杂合度( $df=2, P=0.028$ )上都存在显著差异。经邦弗朗尼校正, 哈迪-温伯格平衡检验结果显示在 24 个群体-位点组合中 18 个群体-位点组合显著偏离平衡( $P<0.01$ )。

### 2.2 遗传分化

3 个群体不同微卫星位点的遗传分化参数与基因流见表 4。其中, 遗传分化系数  $F_{st}$  介于 0.0224~0.1627, 平均值为 0.0767, 表明群体的分化处于中等偏低水平; 基因流  $N_m$  值介于 1.2862~10.9187, 平均值为 4.6768, 表明群体间的基因交流水平较高; 群体内近交系数  $F_{is}$  值介于 0.0095~0.2874, 平均值为 0.1992; 总群体近交系数  $F_{it}$  值介于 0.0728~0.3655, 平均值为 0.2544, 表明群体的近交程度较高。

表 3 福建牡蛎 3 个群体的遗传多样性参数  
Tab. 3 Genetic diversity parameters of three *Crassostrea angulata* populations

位点 loci	参数 parameter	群体 population		
		F6	F0	W
<i>ucdCg194</i>	$N$	11	12	18
	$A_R$	10.5	11.5	17.1
	$H_o$	0.850	0.846	0.737
	$H_e$	0.839	0.815	0.805
<i>ucdCg195</i>	$P$	0.018	0.0035	0.0052
	$N$	7	11	14
	$A_R$	6.8	10.7	13.4
	$H_o$	0.778	0.775	0.556
<i>ucdCg120</i>	$H_e$	0.751	0.799	0.690
	$P$	0.0002*	0.6212	0.0048
	$N$	10	15	24
	$A_R$	9.3	14.6	22.9
<i>ucdCg160</i>	$H_o$	0.725	0.714	0.622
	$H_e$	0.761	0.848	0.943
	$P$	0.5058	0.0000*	0.0000*
	$N$	10	13	17
<i>ucdCg148</i>	$A_R$	9.7	12.6	15.7
	$H_o$	0.667	0.600	0.667
	$H_e$	0.826	0.874	0.870
	$P$	0.0000*	0.0000*	0.0000*
<i>L10</i>	$N$	12	15	14
	$A_R$	11.8	14.6	13.5
	$H_o$	0.514	0.467	0.658
	$H_e$	0.836	0.869	0.908
<i>cmrCg141</i>	$P$	0.0000*	0.0000*	0.0000*
	$N$	14	12	16
	$A_R$	13.3	11.7	15.7
	$H_o$	0.700	0.676	0.513
<i>L48</i>	$H_e$	0.857	0.817	0.901
	$P$	0.0000*	0.0000*	0.0000*
	$N$	9	12	19
	$A_R$	8.0	11.6	17.7
<i>L48</i>	$H_o$	0.475	0.718	0.684
	$H_e$	0.782	0.874	0.922
	$P$	0.0000*	0.0000*	0.0000*
	$N$	9	15	19
<i>ucdCg194</i>	$A_R$	9.0	14.6	18.6
	$H_o$	0.531	0.500	0.735
	$H_e$	0.655	0.875	0.933
	$P$	0.0000*	0.0000*	0.0000*
<i>ucdCg195</i>	$N$	10.3	13.1	17.6
	$A_R$	9.8	12.8	16.8
	$H_o$	0.655	0.662	0.647
	$H_e$	0.788	0.846	0.872

注:  $N$  为等位基因数,  $A_R$  为等位基因丰度,  $H_o$  为观测杂合度,  $H_e$  为期望杂合度。\*表示经邦弗朗尼校正后偏离哈迪-温伯格平衡( $P<0.01$ )。

Note:  $N$ , number of alleles;  $A_R$ , allelic richness;  $H_o$ , the observed heterozygosity;  $H_e$ , the expected heterozygosity. \* indicates significant departure from Hardy-Weinberg equilibrium after Bonferroni correction ( $P<0.01$ ).

表 4 3 个福建牡蛎群体的遗传分化与基因流  
Tab. 4 Genetic differentiations and gene flow of three *Crassostrea angulata* populations

位点 locus	遗传分化系数 $F_{st}$	总群体近交系数 $F_{it}$	群体近交系数 $F_{is}$	基因流 $N_m$
<i>ucdCg194</i>	0.0639	0.0728	0.0095	3.6627
<i>ucdCg195</i>	0.1627	0.2119	0.0588	1.2862
<i>ucdCg120</i>	0.0687	0.2473	0.1918	3.3880
<i>ucdCg160</i>	0.0265	0.2692	0.2493	9.1719
<i>ucdCg148</i>	0.1117	0.2719	0.2517	1.9887
<i>L10</i>	0.0224	0.2863	0.2700	10.9187
<i>M141</i>	0.0479	0.3100	0.2753	4.9657
<i>L48</i>	0.1095	0.3655	0.2874	2.0329
平均值 mean	0.0767	0.2544	0.1992	4.6768

注: 基因流估计值 =  $0.25 \times (1 - F_{st}) / F_{st}$ 。

Note: estimated value of gene flow =  $0.25 \times (1 - F_{st}) / F_{st}$ .

### 3 讨论

遗传多样性是选择育种的基础, 因此监测人工选育群体遗传多样性的变化十分必要<sup>[17]</sup>。等位基因遗传多样性和杂合度均可以作为群体遗传结构变异的指标<sup>[4]</sup>, 本研究微卫星分析结果显示, 3 个群体的平均观测杂合度和期望杂合度相比较, 选育群体的杂合度略有下降。同时, 选育群体的平均等位基因和等位基因丰度与基础群体和野生群体相比也出现了一定程度的下降。这表明在连续的人工选育过程中, 选育群体的遗传多样性出现了一定程度的降低。这可能归因于人工选育过程中丢失的等位基因主要是稀有等位基因, 因为稀有等位基因对于群体的杂合度估测影响甚微<sup>[18]</sup>。另外, 连续的高强度人工定向选择会引起远系繁殖衰败和遗传渐渗, 也会导致群体遗传多样性的降低<sup>[19]</sup>。目前, 在许多水产经济动物如南美白对虾(*Litopenaeus vannamei*)<sup>[20]</sup>, 大珠母贝(*Pinctada maxima*)<sup>[19]</sup>和岩牡蛎(*Saccostrea glomerata*)<sup>[21]</sup>中, 也已经观测到人工选育过程中遗传多样性会出现一定程度的降低。

哈迪-温伯格检验表明, 经邦弗朗尼校正之后, 3 个群体仍然都出现了偏分离, 8 个位点中, 除了 *ucdCg194* 在 3 个群体中均未偏离哈迪-温伯格平衡, 其余 7 个位点出现了偏分离。同时, 存在显著偏分离的 18 个位点-群体组合的观测杂合度和期望杂合度也差异较大。因此, 这暗示了 3 个群体中的哈-温不平衡主要归因于无效等位基因的

大量存在。多数海洋贝类都存在这一现象, 特别是牡蛎, 基因组中存在大量的无效等位基因已经被很多学者报道<sup>[22]</sup>。另外, 基因分型读取误差、样本量小和近交效应等也可导致偏分离, 但是这些原因对偏分离的贡献非常小<sup>[4]</sup>。

遗传分化系数  $F_{st}$  是衡量群体遗传分化程度最常用的指标之一。Wright<sup>[23]</sup>建议  $F_{st}$  值小于 0.05, 群体间分化不显著; 在 0.05~0.15 之间, 群体处于中等程度的遗传分化; 在 0.15~0.25 之间, 群体遗传分化程度较大。本研究中 8 个微卫星位点的  $F_{st}$  值介于 0.0224~0.1627, 平均值为 0.0767, 这表明 7.67% 的遗传变异是由群体分化导致的, 92.23% 的遗传变异来自于群体内部, 暗示了选育群体中存在低水平的随机交配现象, 群体间变异属于中等水平。在其他贝类的选育中, 也观测到中低水平的遗传分化, 如聂鸿涛等<sup>[5]</sup>对菲律宾蛤仔的人工选育群体与野生群体的遗传分析中, 得到的  $F_{st}$  值为 0.086~0.180, 平均值为 0.128。Guo 等<sup>[11]</sup>对长牡蛎的野生和选育群体的连锁不平衡分析中, 计算出的  $F_{st}$  值为 0.0397( $P < 0.001$ )。王学颖等<sup>[6]</sup>报道的马氏珠母贝金黄壳色系 F3 和基础群体的遗传分析比较中,  $F_{st}$  遗传分化系数为 0.0031~0.1478。而基因流可以阻止种群内遗传变异的减少, 从而避免种群分化。Wright<sup>[24]</sup>指出当  $N_m$  小于 1 时, 遗传漂变将导致群体明显分化; 当  $N_m$  大于 1 时, 由于群体可以发挥其均质化作用, 遗传漂变引起的群体分化将被抑制。本研究中 8 个微卫星位点的

$N_m$  值均大于 1, 表明群体间存在高水平的基因交流。人工选育会引起养殖群体遗传分化增大已见于诸多报道, 如大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)<sup>[25]</sup>、南美白对虾<sup>[20]</sup>和长牡蛎<sup>[11]</sup>, 选育过程中, 有效繁殖亲本数量偏少, 子代群体中易发生遗传漂变和稀有等位基因丢失, 即使较高的基因交流也不能阻止种群的遗传分化。

#### 4 结论

综上所述, 尽管以金黄壳色和总重为目标性状, 对福建牡蛎开展了连续 6 代人工选育, 但与基础群体和野生群体相比较, ‘金蛎一号’选育系 F6 依然维持了较高水平的遗传多样性。这可能是由于我们采用群体选育技术, 在每一代选育时, 选用较大的亲本量, 且保证雌雄基本相等的性别比例。本研究结果将为后续的福建牡蛎健康可持续的育种工作提供理论指导。

#### 参考文献:

- [1] Zhao X B. 2015 China Fisheries Statistics Yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2015: 33. [赵兴斌. 2015 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2015: 33.]
- [2] Wright J M, Bentzen P. Microsatellites: genetic markers for the future[J]. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 1994, 4(3): 384-388.
- [3] Guo X, Li Q, Wang Q Z, et al. Genetic mapping and QTL analysis of growth-related traits in the Pacific oyster[J]. Marine Biotechnology, 2012, 14(2): 218-226.
- [4] Wang X, Qi L I, Hong Y U, et al. Genetic variation assessed with microsatellites in mass selection lines of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in China[J]. Journal of Ocean University of China, 2016, 15(6): 1039-1045.
- [5] Nie H T, Li J, Huo Z M, et al. Analysis of genetic variability in selected lines and a wild population of *Ruditapes philippinarum* using microsatellite markers[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2016, 23(3): 538-546. [聂鸿涛, 李佳, 霍忠明, 等. 菲律宾蛤仔人工选育群体与野生群体的遗传多样性分析[J]. 中国水产科学, 2016, 23(3): 538-546.]
- [6] Wang X Y, Gao Y Z, Du X D, et al. Genetic structure of the third generation yellow colored line and base stock of pearl oyster *Pinctada martensii* as revealed by SSR marker system[J]. Marine Science Bulletin, 2012, 31(3): 324-328. [王学颖, 高远镇, 杜晓东, 等. 马氏珠母贝金黄壳色系 F3 和基础群体遗传结构比较[J]. 海洋通报, 2012, 31(3): 324-328.]
- [7] Tian Y, Shao Y Q, Xiao G Q, et al. Analysis of genetic variability in selective bred populations of *Tegillarca granosa* by microsatellites[J]. Marine Sciences, 2015, 39(4): 1-7. [田野, 邵艳卿, 肖国强, 等. 泥蚶人工选育群体的微卫星分析[J]. 海洋科学, 2015, 39(4): 1-7.]
- [8] Wong C H, Xie Y J, Xiao Z Q, et al. Analysis of genetic diversity in several wild and hatchery populations of *Crassostrea angulata* from south Fujian and south Guangdong[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2016, 35(3): 94-98. [翁朝红, 谢仰杰, 肖志群, 等. 福建和广东南部葡萄牙牡蛎养殖群体和野生群体遗传多样性分析[J]. 热带海洋学报, 2016, 35(3): 94-98.]
- [9] Wu Q S, Ning Y, Zeng Z N, et al. Genetic diversity analysis of cultivated *Crassostrea angulata* populations along the coastline of Fujian by AFLP[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2013, 22(3): 328-333. [巫旗生, 宁岳, 曾志南, 等. 福建沿海葡萄牙牡蛎养殖群体遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 上海海洋大学学报, 2013, 22(3): 328-333.]
- [10] Wang Y, Wang X X, Wang A M, et al. A 16-microsatellite multiplex assay for parentage assignment in the eastern oyster (*Crassostrea virginica* Gmelin)[J]. Aquaculture, 2010, 308(1): S28-S33.
- [11] Guo X, Kong L F. Linkage disequilibrium in wild and cultured populations of pacific oyster (*Crassostrea gigas*)[J]. Journal of Ocean University of China, 2016, 15(2): 327-333.
- [12] Pan T, Zhang Y, Gao T, et al. Genetic diversity of *Pleurobranches yokohamae*, population revealed by fluorescence microsatellite labeled[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2014, 55(55): 118-124.
- [13] Dieringer D, Dieringer D S C, Shlötterer C. Microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets[J]. Molecular Ecology Notes, 2003, 3(1): 167-169.
- [14] Raymond M, Rousset F. GENEPOP (Version 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism[J]. Journal of Heredity, 1995, 86(3): 248-249.
- [15] Goudet J. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3) (CP/OL). <http://www.unil.ch/izea/softwares/fstat.html.2001>.
- [16] Breslow N. A generalized Kruskal-Wallis test for comparing K samples subject to unequal patterns of censorship[J]. Biometrika, 1970, 57(3): 579-594.
- [17] Appleyard S A, Ward R D. Genetic diversity and effective population size in mass selection lines of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)[J]. Aquaculture, 2006, 254(1-4): 148-159.
- [18] Allendorf F W. Genetic drift and the loss of alleles versus heterozygosity[J]. Zoo Biology, 1986, 5(2): 181-190.

- [19] 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.
- [20] Donato M D, Manrique R, Ramirez R, et al. Mass selection and inbreeding effects on a cultivated strain of *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* in Venezuela[J]. Aquaculture, 2005, 247(1-4): 159-167.
- [21] In V V, Dove M, Knibb W, et al. Can genetic diversity be maintained across multiple mass selection lines of Sydney rock oyster, *Saccostrea glomerata* despite loss within each?[J]. Aquaculture, 2016, 454: 210-216.
- [22] Li L, Guo X, Zhang G. Inheritance of 15 microsatellites in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*: segregation and null allele identification for linkage analysis[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2009, 27(1): 74-79.
- [23] Wright S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating[J]. Evolution, 1965, 19(3): 395-420.
- [24] Wright S. Evolution in Mendelian populations[J]. Bulletin of Mathematical Biology, 1990, 52(1-2): 241-295.
- [25] 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, 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.]

## Genetic diversity in selected lines of *Crassostrea angulata*

GUO Xiang, ZENG Zhinan, ZHENG Yayou, WU Qisheng, NING Yue, QI Jianfei, JIA Yuanyuan

Fujian Collaborative Innovation Center for Exploitation and Utilization of Marine Biological Resources, Key Laboratory of Cultivation and High-value Utilization of Marine Organisms in Fujian Province, Institute of Fisheries of Fujian, Xiamen 361000, China

**Abstract:** On April 2009, a base population (F0) of the Fujian oyster, *Crassostrea angulata*, was selectively bred from the Fujian and Guangdong local populations. A successive six-generation selection for golden shell and body weight was carried out to produce “Golden oyster 1#” (F6). In this study, eight microsatellite markers were analyzed in the base population, selected line F6, and wild populations of *Crassostrea angulata*. The number of alleles per locus ranged from 7 to 24. The average number of alleles and average allelic richness of the three populations at all loci had ranges of 10.3–17.6 and 9.8–16.8, respectively. Expected heterozygosity and observed heterozygosity were 0.655–0.662 and 0.788–0.872, respectively. In the Hardy-Weinberg equilibrium test, for the three populations and eight microsatellites, segregation distortion was significant for 12 of the 18 groups. The inbreeding coefficient ( $F_{is}$ ) ranged between 0.0095–0.2874, with a mean of 0.1992. The  $F_{st}$  values were 0.0224–0.1627, with an average of 0.0767, indicating that there is a low level of inbreeding within populations and a high level of differentiation. Our results suggested that successive artificial breeding has a certain influence on genetic variation; however, there remains high genetic variability in the mass selection lines.

**Key words:** *Crassostrea angulata*; microsatellite markers; genetic diversity; population genetics

**Corresponding author:** ZENG Zhinan. E-mail: xmzzn@sina.com