

上海引种美洲鲈养殖和野生群体遗传变异的微卫星分析

于爱清, 施永海, 徐嘉波, 刘永士, 杨 明, 蒋 飞, 严银龙

(上海市水产研究所、上海市水产技术推广站, 上海 200433)

摘 要: 美洲鲈是我国近年来引进的名优经济鱼类, 因其具有较高的规模化养殖推广价值而备受关注。本研究利用20个微卫星标记对美洲鲈3个养殖群体和2个野生世代的共计150尾个体开展了遗传多样性和遗传结构分析, 以期能够为科学地评估上海引种美洲鲈不同群体的种质资源现状及其新品系的选育提供理论基础。结果显示, 20个微卫星标记在150个个体中总共检测到201个等位基因, 每个位点平均可检测到10.05个等位基因; 5个群体的平均有效等位基因数(N_e) 在2.675 4~4.136 0, 平均观测杂合度(H_o) 和平均期望杂合度(H_e) 分别在0.675 0~0.775 0和0.601 8~0.729 8, 平均多态信息含量(PIC) 在0.547 3~0.698 8。分子方差和遗传分化分析的结果表明, 5.07%的遗传变异来自于群体间, 94.93%的遗传变异来自于所有个体间; Y_{SF}_1 与 Y_{ZF}_4 、 Y_{ZF}_5 的遗传分化均为中等程度($0.05 < F_{st} < 0.15$), 其余两两群体间的遗传分化微弱($F_{st} < 0.05$)。哈迪-温伯格平衡检测结果显示, 有31%的群体位点显著偏离哈迪-温伯格平衡($P < 0.05$)。基于遗传距离构建的UPGMA进化树显示, 5个美洲鲈群体可分为2个聚类簇, PCoA分析和贝叶斯Structure聚类分析亦获得了类似的结果。结果表明, 上海引种美洲鲈养殖群体仍保持着相对较高的遗传变异水平和潜在的遗传育种价值。

关键词: 美洲鲈; 养殖群体; 微卫星标记; 遗传多样性; 遗传分化

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

美洲鲈(*Alosa sapidissima*), 隶属于鲱形目(Clupeiformes)、鲱科(Clupeidae)、鲈亚科(Alosinae)、西鲱属(*Alosa*), 与中国长江鲈(*Tenualosa reevesii*)同属鲈亚科, 其自然群体广泛分布于北美洲, 从加拿大魁北克省到美国佛罗里达州的附近水域均能发现其踪迹, 因其肉鲜味美, 营养丰富、养殖和经济价值高而被世界各地广泛引种^[1-3]。中国长江鲈(*T. reevesii*), 作为曾经的“长江三鲜”之一, 在20世纪末, 由于受到过度捕捞, 生存环境的污染、栖息地退化和水利工程建设等多重因素的影响, 其自然种群数量急剧下降, 近年来在长江流域已鲜见其踪迹^[3]。鉴于目前长江鲈已处于“生态性”灭绝状态, 上海市水产研究所(上海市水产技术推广站)自1998年以来, 积极从美国密西西比河水域引进美洲鲈受精卵, 并致力于其人工繁养研究, 旨在开发出符合中国

养殖和消费市场需求“长江鲈”理想替代养殖品种^[1]。经过不懈努力, 成功突破了美洲鲈的苗种培育、养殖和繁育等技术难关, 养殖规模和产量亦日益扩大。然而, 优质美洲鲈养殖品种的匮乏仍然是制约其养殖产业健康、可持续发展的的重要因素^[3]。美洲鲈优质养殖品种的开发, 需要辅以科学有效的育种策略, 否则极易导致生长和抗逆性等经济性状的退化, 因此, 需要适时地对现有美洲鲈养殖群体的遗传多样性进行检测, 以最大限度地降低种质退化和近亲繁殖衰退带来的风险^[3]。

分子标记技术的迅猛发展, 使得随机扩增多态性DNA(Random amplification polymorphic DNA, RAPD)、扩增片段长度多态性(Amplified fragment length polymorphism, AFLP)、间简单重复序列(Inter simple sequence repeat, ISSR)、简单

收稿日期: 2024-11-08 修回日期: 2025-01-14

基金项目: 上海市科技兴农重点攻关项目(2021-02-08-00-12-F00788); 上海领军人才项目(沪人社专2021-67号); 上海长江口主要经济水生动物人工繁育工程技术研究中心项目(13DZ2251800)

作者简介: 于爱清(1985—), 男, 博士, 高级工程师, 研究方向为动物遗传育种。E-mail: aiqingyu0125@163.com

通信作者: 施永海, E-mail: yonghais@163.com

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

重复序列(Simple sequence repeat, SSR, 又称为微卫星)及单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP)等分子标记技术陆续成为水产动物种质资源评估的有力工具。在这些分子标记中,微卫星标记,是基因组中以1~6个核苷酸为基本重复单位组成的串联重复序列,具有重复性好、多态性高及共显性遗传等优点^[4],被广泛应用于水产动物群体遗传变异分析、亲子鉴定^[5]、生长性状的关联分析、遗传图谱构建^[6]及分子标记辅助育种等研究领域^[3,7-9]。目前,已成功应用于中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)^[10]、绿鳍马面鲈(*Thamnaconus modestus*)^[11]、许氏平鲈(*Sebastes schlegelii*)^[12]和暗纹东方鲈(*Takifugu fasciatus*)^[13]等水产动物的野生和养殖群体的遗传多样性研究。

近年来,美洲鲈的研究主要集中在形态特征^[14]、胚胎发育^[15]、生长特性^[1-2]、病害防治^[16-18]、性腺发育^[19]、环境胁迫^[20-24]、养殖模式^[25-26]及同工酶鉴定^[27]等方面,然而,在群体遗传分析方面的研究相对较少,仅见于国外学者利用微卫星标记和线粒体研究不同水域或纬度群体的遗传结构和遗传分化^[28-29]以及国内学者利用微卫星标记和线粒体研究苏南地区美洲鲈不同养殖群体的遗传多样性^[30]。截至目前,中国水产科学研究院珠江水产研究所、淡水渔业研究中心,中洋集团以及其他美洲鲈繁育生产企业等多家单位亦开展了美洲鲈引种研究,仅李玉林等^[30]对苏南地区引种养殖美洲鲈群体的遗传多样性开展了相关研究,而关于上海引种美洲鲈养殖和野生群体间的遗传变异情况尚未有相关报道。因此,本研究利用20个多态性较好的微卫星分子标记,对美洲鲈3个养殖群体和2个野生世代的遗传变异情况进行了探究,以期能够为上海引种美洲鲈种质资源的充分开发、利用及遗传改良提供理论指导和科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所用的美洲鲈包括2个养殖群体、2个野生世代和1个对照群体,共计5个群体。其中,2个上海引种美洲鲈养殖群体取自上海市水产研究所(上海市水产技术推广站)奉贤科研基地,其基础群体(F_0 代)是由2013年从美国密西西比河

收集的野生美洲鲈受精卵孵化而成的1万尾左右的仔稚鱼组成,历经四代和五代的人工培育,于2021年和2023年获得的繁育群体(以下简称 YZF_4 和 YZF_5);上海引种美洲鲈野生群体则来源于2019年从美国密西西比河采集的野生美洲鲈受精卵孵化的养成群体及其繁育子一代(以下简称 YSF_0 和 YSF_1);对照群体则于2023年采购于江苏常州的养殖群体(以下简称JS)。每个群体均随机选取了30尾美洲鲈作为试验样本,剪取其部分尾鳍,置于含有95%乙醇的1.5 mL离心管中,并保存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰柜中备用。

1.2 基因组DNA提取

每个美洲鲈尾鳍样品剪取约30 mg,经灭菌 ddH_2O 清洗后,将其剪碎并置于1.5 mL离心管中,然后,参照天根生化科技(北京)有限公司的海洋动物组织基因组DNA提取试剂盒(DP324-03)的说明书提取基因组DNA。利用1.5%琼脂糖凝胶电泳和NanoVue Plus紫外可见分光光度计对样本DNA的质量和浓度进行评估:电泳结果显示,DNA条带清晰,无拖尾降解现象,且 $\text{OD}_{260\text{ nm}}/\text{OD}_{280\text{ nm}}$ 在1.8~2.0内的DNA样品,被稀释到50 ng/ μL 后,保存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰柜备用。

1.3 微卫星引物

本研究所用20对微卫星引物中,As-01~05引物是参考已报道文献^[28],经过试验验证、筛选,证明其具有较好的多态性;而As06-20引物是本课题组自主开发的多态性微卫星引物(具体引物信息详见表1)。随后,本研究对20对微卫星引物进行了荧光修饰(FAM、HEX、TAMRA和ROX),并委托上海吉真生物科技有限公司进行合成。

1.4 PCR扩增及产物检测

从每个美洲鲈群体中各随机选取1个DNA样本,共计5个DNA样本等量混合后作为后续PCR扩增的模板。在Eppendorf Mastercycler X50s梯度PCR仪(ABI,美国)上进行扩增,筛选出各引物的最适退火温度,以确保PCR扩增的特异性和有效性。PCR反应体系为10 μL ,其中包括:模板DNA 1 μL ,正、反引物(10 $\mu\text{mol/L}$)各0.25 μL , $2\times\text{Taq PCR MasterMix}$ (天根生化,KT201)5 μL ,然后用 ddH_2O 补足总体积至10 μL ;反应程序为94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min,94 $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s,退火(48~68 $^{\circ}\text{C}$)30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s,35个循环

后, 72 °C 延伸 10 min, 4 °C 保存。PCR 产物经过 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测后, 然后利用紫外凝胶成像系统对电泳结果进行了拍照和保存, 随后基

于电泳条带的清晰度和特异性, 评估了 20 对微卫星引物的最佳退火温度。

表 1 20 个美洲鲈微卫星位点信息

Tab. 1 Information on twenty microsatellite loci in *A. sapidissima*

位点 Locus	引物序列(5'-3') Primer sequences(5'-3')	产物大小 Product size/ bp	重复基序 Repeat motif	退火温度 T _m / °C	荧光标记 Fluorescent label
As-01	F: GTAAGTCGCTTTGGACTACCAG R: TCTAAATGCCCAAGGTAAAGATG	262~335	(GAAT) ₇ (GTAT) ₁₃	60	FAM
As-02	F: CCACAGCATCATCTCTTTACTG R: ACCTTGAATTCTCCTTGGG	97~184	(CTAT) ₂₃	60	HEX
As-03	F: TTCCTGATATTCTTGTGAGGG R: ATTTCTGTGGAAACCTTTTGG	195~241	(CTAT) ₁₄	60	TAMRA
As-04	F: ACTGGTCAATTGTAAGACACCC R: CAAGATGACCAAGGGTTAAGAC	147~212	(CTAT) ₁₂	60	ROX
As-05	F: ATGAAGGCATTGACACAGTTAG R: TGACAAGGTTTGAAAGACACAG	144~165	(CTAT) ₁₃	60	FAM
As-06	F: TTGGACTGGGAGTGCTTTTT R: ATGTGGCATATGGGTCCACT	246~356	(ATGAT) ₁₂	60	HEX
As-07	F: TTAGTGCTTCATGCGTCCTG R: CCTGCTTCACAAACCACTGA	243~295	(TGTGT) ₁₂	60	TAMRA
As-08	F: CGGCTGGCTTCTAAATCTTG R: AACCTCAGTCTCTCAGGGCA	246~310	(GGAGA) ₁₀	60	ROX
As-09	F: GGAACAGGCATCTACCCAGA R: TGTGGAATGGGAAACAACA	222~247	(AACAT) ₁₂	60	FAM
As-10	F: TGAGCTAAATTGACCCCTG R: AGGAACACCATTTACCTCG	207~312	(CTCTA) ₁₃	53	HEX
As-11	F: TGAGTGCTGAGACTGATGGC R: GGCTCGTTTGTGTGTGG	214~258	(CGCCAC) ₅	54	TAMRA
As-12	F: GAGGAGGAGTGATGACGAA R: GTGAGTGTGTGTGCTCAGGG	216~258	(ACACAG) ₇	64	ROX
As-13	F: AAAAGAATGTCCCGAACCAA R: CATGTAGCATCAGAACCCCA	213~239	(TGCGTG) ₆	64	FAM
As-14	F: ATGGTATGGTGTGGGCTCAT R: TGATCTGCTCTTTCACACGG	158~182	(GATATC) ₇	64	HEX
As-15	F: GCCATAGCACTGAAAGCTCC R: GCTCATATGGCGACAAAACA	131~200	(AGAGAC) ₅	58	TAMRA
As-16	F: TTTGCACTCCCTCTCGTTCT R: TGTTTGGGATGCAAATCAGA	230~255	(ACTC) ₁₁	60	ROX
As-17	F: TCCTCTGGAAGCCTCAACAC R: CCCATTAAGCAAACCTCCCAA	149~189	(TATC) ₁₁	58	FAM
As-18	F: ACACCTTGAATTTCCCCCTC R: GATTTGTGTCTTCACCACTCT	120~189	(TATC) ₁₅	60	HEX
As-19	F: AATGGGCCTTAATCATGCAG R: CGCAAATGCCTTTTGTTTTT	259~313	(GATG) ₁₀	60	TAMRA
As-20	F: GTGCAGATTTTCTGGGAGG R: GAATGCACATATGCCGTCAC	185~246	(ATCT) ₁₂	52	ROX

1.4 美洲鲈不同群体的种质资源评估

以 150 个美洲鲈 DNA 样本为试验材料, 利用 20 对筛选获得的多态性微卫星引物(表 1)在 Eppendorf MastercyclerX50s 梯度 PCR 仪器上进行 PCR 扩增。PCR 反应体系为 15 μL, 其中包括:

模板 DNA 1 μL, 正、反引物 (10 μmol/L) 各 0.15 μL, 10×buffer 1.5 μL, MgCl₂ (25 mmol) 1.5 μL, DNTP (10 μmol/L) 0.3 μL, 然后用 ddH₂O 补足总体积至 15 μL; 反应程序为 94 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 30 s, 退火(表 1 中最佳退火温

度)30 s,72 °C延伸30 s,35个循环后,72 °C延伸10 min,4 °C ∞保存。根据琼脂糖凝胶电泳结果估计PCR产物浓度,并将产物稀释10倍后,与LIZ500内标(大小分别为35,50,75,100,139,150,160,200,250,300,340,350,400,450,490,500 base)混匀,放置于ABI 3730XL测序仪样本架上,利用毛细管电泳技术进行检测(上海吉真生物科技有限公司)。

1.5 数据处理与分析

本研究使用GeneMarker 2.2软件读取了ABI 3730XL基因测序仪测序结果,对PCR产物片段大小进行了详细统计,并将统计结果录入Excel中,以便于后续分析和保存备用。随后,利用GenAlEx 6.0软件^[31]计算美洲鲈不同群体的等位基因数(Number of allele, N_a)、有效等位基因数(Effective number of allele, N_e)、观测杂合度(Observed heterozygosity, H_o)和期望杂合度(Expected heterozygosity, H_e)、群体间Nei's遗传距离和遗传相似度及群体间遗传分化指数等遗传多样性参数,并进行主坐标分析(Principal coordinates analysis, PCoA)和哈迪-温伯格平衡(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE)检验。参照BOSTEIN等^[32]的计算公式计算不同微卫星位点的多态信息含量(Polymorphism information content, PIC)。利用MEGA软件构建美洲鲈不同群体的UPGMA(Unweighted pair-group method with arithmetic means)聚类树。利用Structure(version 2.3.4)软件^[33]进行遗传结构作图,Structure Harvester软件^[34]确定最适K值,CLUMPP软件^[35]对K值矩阵进行合并,Distruct软件^[36]绘制贝叶斯基因型聚类图。

2 结果

2.1 美洲鲈不同群体的遗传多样性

在本研究中,美洲鲈不同群体的遗传多样性参数见表2。结果显示,20个微卫星位点总共检测到201个等位基因,平均每个微卫星位点可鉴定到10.05个等位基因。在5个美洲鲈群体中,JS群体的平均有效等位基因数最多(4.136 0),而YSF₁群体最低(2.675 4)。平均观测杂合度方面,从最低的YSF₁群体(0.675 0)到最高的JS群体(0.775 0)不等;平均期望杂合度也是从YSF₁群体(0.601 8)最低到JS群体(0.729 8)最高。此外,平

均多态信息含量最高的也是JS群体(0.698 8),其次分别是YZF₄(0.683 2)、YZF₅(0.659 9)、YSF₀(0.651 7)和YSF₁(0.547 3)。20个微卫星位点中,位点As09、As12和As18表现为中度多态性,其余17个微卫星位点均表现为高度多态性(表3)。

2.2 哈迪-温伯格(Hardy-Weinberg)平衡检测

20个微卫星位点在5个美洲鲈群体中的哈迪-温伯格平衡检测结果(表3)显示,微卫星位点As14在5个美洲鲈群体中均显著偏离哈迪-温伯格平衡($P<0.05$),群体YSF₀和YZF₅均有7个微卫星位点显著偏离哈迪-温伯格平衡($P<0.05$),JS群体显著偏离哈迪-温伯格平衡的位点最少,仅有5个($P<0.05$)。在总共100个群体-位点组合中(5群体×20位点),有69个符合哈迪-温伯格平衡的群体位点;其余31个群体位点显著偏离哈迪-温伯格平衡($P<0.05$)。

2.3 美洲鲈不同群体的遗传距离、遗传相似度和UPGMA聚类分析

美洲鲈不同群体间的遗传距离和遗传相似系数见表4。基于表中的遗传距离的结果,美洲鲈野生和养殖群体间的遗传距离范围从0.011 6到0.259 9,平均每两个群体间的遗传距离为0.126 9;而2个野生世代间和养殖世代间的遗传距离分别为0.077 7和0.011 6。遗传相似度的结果显示,美洲鲈YZF₄和YZF₅具有最高的遗传相似度(0.988 5),而YSF₁则与YZF₅具有最低的遗传相似度(0.771 1)。整体来看,美洲鲈不同群体间存在不同程度的遗传差异,但是某些群体间亦呈现出较高的遗传相似性。

基于Nei's遗传距离构建的UPGMA聚类分析的结果亦显示,YSF₀和YSF₁首先聚为一支,表明它们具有较近的亲缘关系,再与JS群体聚为一支,最后这3个群体组成的聚类与YZF₄和YZF₅聚为一支。这个结果表明,2个上海引种美洲鲈野生世代(YSF₀和YSF₁)和2个上海引种美洲鲈养殖群体(YZF₄和YZF₅)的亲缘关系相对较远,特别是YSF₁和YZF₅,它们在聚类分析中处于最远的分支,表明它们之间的亲缘关系最远,遗传距离最大。

2.4 美洲鲈不同群体间的遗传分化

美洲鲈不同群体间的遗传分化指数从0.011 4到0.065 5(表5)。结果显示,大部分遗传变异来源于群体内个体间(94.65%),而仅有5.35%的遗

传变异来源于群体间。美洲鲈 YSF₁ 和 2 个养殖世代 (YZF₄ 和 YZF₅) 已产生中等程度的遗传分化, 其遗传分化指数在 0.054 6 到 0.065 5 之间, 相比之下, 其余两两群体间的遗传分化微弱 (0.011 4~0.045 6)。此外, 美洲鲈群体间的平均近交系数 (F_{is}) 和遗传分化指数 (F_{st}) 分别为 -0.036 6 和 0.053 5, 表明美洲鲈不同群体间存在一定的遗传

分化; 而基因流 (N_m) 为 5.707 6, 可能在一定程度上促进了美洲鲈不同群体间的基因交流。

分子方差分析 (AMOVA) 的结果显示, 在总的遗传变异中, 来源群体间的遗传变异占比 5.07%, 大部分的遗传变异 (约 94.93%) 来源于群体内个体间的遗传差异 (表 6)。

表 2 美洲鲈 5 个群体的遗传多样性参数
Tab. 2 Genetic diversity parameters of five *A. sapidissima* populations

群体 Pop.	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	多态信息含量 PIC
YSF ₀	6.80	3.59	0.688 3	0.689 8	0.651 7
YSF ₁	5.20	2.67	0.675 0	0.601 8	0.547 3
JS	7.85	4.14	0.775 0	0.729 8	0.698 8
YZF ₄	6.20	4.02	0.711 7	0.722 2	0.683 2
YZF ₅	6.50	3.99	0.716 7	0.700 7	0.659 9
平均值 Mean	6.51	3.68	0.713 3	0.688 9	0.648 2

表 3 美洲鲈 20 个微卫星位点的遗传多样性参数
Tab. 3 Genetic diversity parameters of 20 microsatellite loci in *A. sapidissima*

群体 Pop.	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	多态信息含 量 PIC	哈迪-温伯格平衡 P_{HWE}				
						YSF ₀	YSF ₁	JS	YZF ₄	YZF ₅
As01	7.00	3.82	0.766 7	0.722 9	0.690 1	0.817 3	0.722 7	0.582 3	0.093 0	0*
As02	9.20	4.76	0.746 7	0.770 9	0.740 4	0*	0.000 4*	0.000 4*	0.080 2	0*
As03	7.20	4.26	0.800 0	0.737 8	0.701 7	0*	0.007 7*	0.362 5	0.053 7	0.232 7
As04	9.60	4.69	0.700 0	0.751 9	0.789 0	0*	0*	0.353 8	0.132 4	0*
As05	4.40	3.03	0.473 3	0.657 6	0.597 8	0.079 2	0*	0.000 2*	0*	0.098 3
As06	7.80	3.95	0.760 0	0.691 9	0.663 8	0.000 1*	0.986 2	0.058 4	0.282 8	0.603 9
As07	6.80	3.83	0.793 3	0.712 0	0.669 1	0.316 0	0.071 9	0.464 1	0.928 7	0.136 5
As08	10.40	5.40	0.813 3	0.797 9	0.771 2	0.239 4	0.362 9	0.645 2	0.035 6*	0.342 1
As09	3.40	2.11	0.593 3	0.524 2	0.438 6	0.214 7	0.636 8	0.815 9	0.620 3	0.065 1
As10	7.60	5.06	0.760 0	0.799 6	0.772 9	0.323 5	0.256 3	0.147 0	0.047 6*	0*
As11	4.20	2.68	0.606 7	0.616 0	0.552 1	0.156 2	0.539 5	0.528 8	0.012 1*	0*
As12	4.80	2.34	0.560 0	0.537 4	0.498 6	0.974 7	0.958 7	0.534 0	0.295 0	0.566 2
As13	5.00	3.29	0.606 7	0.688 2	0.635 3	0.446 8	0.644 0	0.406 7	0.032 2*	0.265 9
As14	6.60	3.39	0.960 0	0.696 8	0.655 2	0.021 1*	0*	0.004 2*	0.002 8*	0.044 4*
As15	6.60	3.94	0.946 7	0.742 8	0.701 6	0.003 0*	0.157 0	0.029 2*	0.109 1	0.444 3
As16	4.20	2.88	0.700 0	0.650 9	0.582 0	0.920 8	0.468 7	0.874 5	0.870 4	0.045 3*
As17	6.60	3.87	0.713 3	0.731 6	0.687 7	0.023 7*	0.000 3*	0.168 4	0.235 4	0.427 7
As18	4.00	1.95	0.486 7	0.472 3	0.422 6	0.984 6	0.250 1	0.762 6	0.240 8	0.753 0
As19	5.80	3.42	0.726 7	0.696 4	0.647 1	0.272 3	0.980 7	0.784 9	0.394 2	0.825 1
As20	9.00	4.99	0.753 3	0.778 3	0.746 8	0.324 9	0.004 7	0.045 9*	0.650 7	0.405 0
平均值 Mean	6.51	3.68	0.713 3	0.688 9	0.648 2	-				

注: * $P < 0.05$ 。Notes: * $P < 0.05$ 。

表4 美洲鲈5个群体的遗传相似系数(左下角)和遗传距离(右上角)
Tab. 4 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) of five *A. sapidissima* populations

群体 Pop.	YSF ₀	YSF ₁	JS	YZF ₄	YZF ₅
YSF ₀	1.000 0	0.077 7	0.083 3	0.125 4	0.160 3
YSF ₁	0.925 3	1.000 0	0.164 1	0.206 2	0.259 9
JS	0.920 1	0.848 7	1.000 0	0.071 3	0.109 0
YZF ₄	0.882 2	0.813 7	0.931 2	1.000 0	0.011 6
YZF ₅	0.851 9	0.771 1	0.896 7	0.988 5	1.000 0

表5 美洲鲈5个群体间的遗传分化指数
Tab. 5 Genetic differentiation index of five *A. sapidissima* populations

群体 Pop.	YSF ₀	YSF ₁	JS	YZF ₄	YZF ₅
YSF ₀	0				
YSF ₁	0.028 3	0			
JS	0.023 1	0.045 6	0		
YZF ₄	0.030 8	0.054 6	0.020 5	0	
YZF ₅	0.037 2	0.065 5	0.028 0	0.011 4	0

表6 美洲鲈5个群体的分子方差分析
Tab. 6 Analysis of molecular variance of five *A. sapidissima* populations

变异来源 Source of variation	自由度 df	方差 SS	均方差 MS	变异组分 Variance components	所占比例 Percentage of variation/%
群体间 Among populations	4	118.877	29.719	0.381	5.07
个体间 Among individuals	145	996.600	6.873	0	0
个体内 Within individuals	150	1 070.000	7.133	7.133	94.93
合计 Total	299	2 185.477		7.514	100.00

2.5 美洲鲈不同群体的遗传结构

基于美洲鲈不同个体间的Nei's遗传距离开展主坐标分析(PCoA)结果显示(图2),YSF₀和YSF₁的个体与其他群体的个体之间具有明显的差异,其中YZF₄和YZF₅群体内的个体间遗传差异最小,YSF1和YZF5群体内的个体间遗传差异最大。

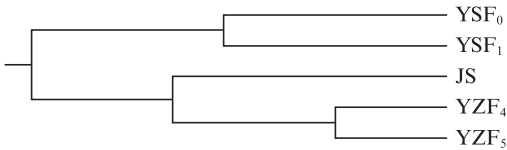


图1 基于Nei's遗传距离构建的美洲鲈5个群体UPGMA聚类图
Fig. 1 UPGMA dendrogram based on Nei's genetic distance of five *A. sapidissima* populations

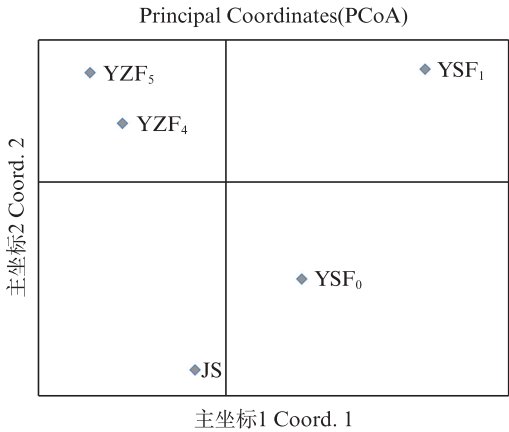


图2 5个美洲鲈群体基于Nei's遗传距离构建的主坐标分析
Fig. 2 Principal coordinates analysis results based on Nei's genetic distance of five *A. sapidissima* populations

为探究美洲鲈不同群体的遗传结构,本研究使用了 Structure 软件中的 δK 法,通过假设 K 值为 1-10,并绘制 δK 变化曲线图来确定最佳 K 值,当 δK 达到最大值时,得到最佳 K 值为 2(图 3),这表明 150 个美洲鲈个体最佳能够划分为 2 个聚类簇。其中,聚类簇 1 主要包含美洲鲈的野生群体(YSF_0 和 YSF_1),而聚类簇 2 则包含美洲鲈的养殖群体。在聚类图中,不同颜色代表不同的美洲鲈个体,结果显示,5 个美洲鲈群体的不同个体在遗传结构上存在不同程度的混杂,特别是野生群体和养殖群体之间的遗传组成较为多样化。历经数代的人工繁育,2 个上海引种美洲鲈养殖群体的遗传结构与野生世代已产生了显著的遗传差异。

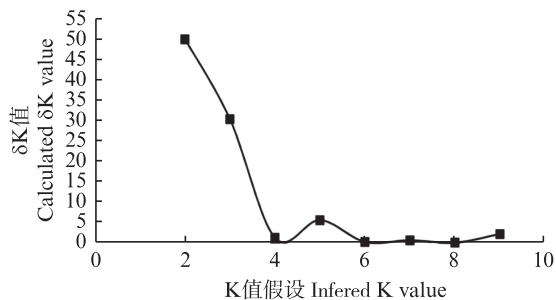


图 3 基于不同 K 值假设的 δK 计算结果

Fig. 3 Calculated δK value based on different K values

3 讨论

3.1 美洲鲈不同群体的遗传变异

遗传多样性是水产动物种质资源评估的重要理论依据,在众多分子标记中,基于微卫星标记的遗传多样性分析是最常用且有效的分析方法,备受水产研究人员的青睐。尽管近年来单核苷酸多态性(SNP)、插入/缺失(Insertion/Deletion, InDel)等新兴分子标记的涌现对微卫星标记的关注度产生了一定程度的影响,但是相对于 SNP 标记的二态性特征,微卫星标记凭借其较高的多态性,具有较好的重复性及易于自动化分析等优势,仍然被认为是水产动物群体遗传分析的有力工具^[37]。有研究表明,与 SNP 标记相比较,中等密度的微卫星标记研究种群关系的效果更好^[37],因此该标记在群体遗传分析方面仍具有较为广阔的应用前景。

哈迪-温伯格平衡定律(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE)亦称为遗传学平衡定律,是群

体有性繁殖上下代之间基因频率和基因型频率是否能够保持平衡的检验尺度^[38],亦是水产动物开展保种和新品种(系)选育的重要理论依据。在本研究中, YSF_0 和 YSF_1 分别有 7 和 6 个微卫星位点显著偏离哈迪-温伯格平衡($P<0.05$),对于 JS 养殖群体和 2 个养殖世代分别有 5、6 和 7 个微卫星位点显著偏离哈迪-温伯格平衡($P<0.05$)。特别值得注意的是,微卫星位点 As14 在 5 个美洲鲈群体中均显著偏离哈迪-温伯格平衡($P<0.05$),总体而言,在 100 个群体位点组合中,31% 的微卫星位点显著偏离哈迪-温伯格平衡($P<0.05$),这一现象在水产动物中较为普遍,尤其是在水产动物的选育群体中出现频率最高^[39]。例如,在鲤(*Cyprinus carpio*)^[39]、菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)^[40]和拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*)^[41]的研究中,分别有 91.70%、52.50% 和 88.24% 的微卫星标记显著偏离哈迪-温伯格平衡,这种现象可能与海洋动物的遗传变异度较高有关^[37],此外,人工养殖或选育群体中的固定交配策略和定向选择对哈迪-温伯格平衡亦有不同程度的影响^[39]。

丰富的遗传变异是动物适应性进化和人工选育的重要基础和先决条件,而杂合度(H_o 和 H_e)和多态信息含量(PIC)则是评估群体遗传变异程度的重要参考指标,参数值越大,表明遗传变异程度越高^[3]。在本研究中,5 个美洲鲈群体的平均 H_o 和 H_e 分别为 0.713 3 和 0.688 9,这些值略高于苏南地区 7 个美洲鲈养殖群体($H_o=0.661$, $H_e=0.687$)^[30],但是显著低于 JULIAN 等^[28]利用微卫星标记所获得的野生美洲鲈的遗传变异程度($H_o=0.811$, $H_e=0.53$)。究其原因,国内美洲鲈养殖群体历经多代的人工繁育,容易受到不同程度的人工选择压力,导致遗传多样性有所降低,而 JULIAN 等^[28]所选用的野生美洲鲈则受到人类干扰相对较小,且有效繁育亲本的数量亦相对较多。此外,基于 Botstein 对多态信息含量(PIC)的评估标准,当 $PIC \geq 0.5$ 、 $0.25 \leq PIC < 0.5$ 和 $PIC < 0.25$ 时分别代表高度多态、中度多态和低度多态性^[32]。本研究中,85% 的位点为高度多态(PIC 值为 0.552 1~0.789 0),15% 的位点为中度多态(PIC 值为 0.422 6~0.498 6),而 5 个美洲鲈群体的平均多态信息含量均大于 0.5,表明这 5 个美洲鲈群体仍然具有较高的基因丰度和遗传多样性水平。

值得注意的是,与2个美洲鲈野生世代相比,3个美洲鲈养殖群体的遗传多样性略高一些,这主要是由于野生美洲鲈引进时数量相对较少,且在受精卵孵化后,养殖至亚成鱼阶段时,其应激性较强且耐热性差,导致夏季死亡率相对较高,最终

导致野生美洲鲈有效繁育亲本数量相对较少,进而使野生美洲鲈的遗传多样性略低于养殖群体,且相邻世代间的遗传多样性下降幅度相对较大。

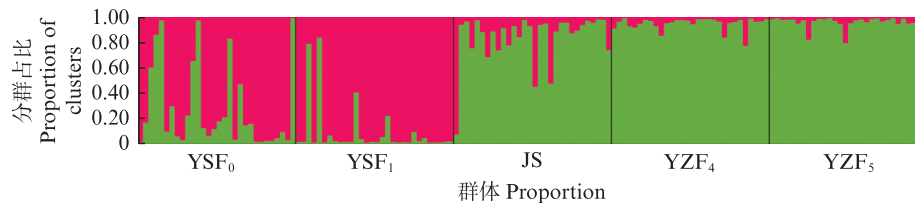


图4 在K=2假设下美洲鲈5个群体中个体的遗传结构图

Fig. 4 Genetic structure of individuals from five populations of *A. sapidissima* (K=2)

3.2 美洲鲈不同群体的遗传分化和遗传结构

探究水产经济动物野生和养殖群体间的遗传分化水平和遗传结构差异,有助于水产经济动物繁育亲本的遗传配对,进而有效地指导新品种的选育。而遗传分化指数(F_{st})则是评估群体间遗传分化程度的重要参考指标。在本研究中,野生世代YSF₁和养殖世代YZF₅遗传分化程度最高(0.065 5),养殖世代YZF₄和YZF₅遗传分化程度最小,其余两两群体间的遗传分化程度相对较低(0.011 4~0.045 6)。Structure遗传结构分析显示,美洲鲈不同群体的最佳K值为2,即5个美洲鲈群体被划分为2个聚类簇,美洲鲈野生世代聚集到一个聚类簇,美洲鲈养殖群体聚集到一个聚类簇,而基于Nei's遗传距离构建的美洲鲈5个群体的UPGMA聚类分析树和PCoA主成分分析亦获得了相似的结果。美洲鲈野生世代和养殖世代的遗传分化主要是由于人工繁育过程中的遗传漂变和奠基者效应导致的,这亦是美洲鲈后期人工选育过程中的一个重要参考指标。此外,2个养殖世代间的遗传距离相对较近,这主要是由于2个养殖世代具有相似的遗传背景和生存环境压力;而相对较大的遗传距离主要存在于养殖世代和野生世代间,表明选择强度和生境的差异能够影响养殖世代和野生世代间基因流,而产生不同程度的遗传分化^[42]。

4 结论

利用20个微卫星分子标记对美洲鲈2个野生世代和3个养殖群体的遗传变异和遗传结构进行了深入分析。在遗传变异方面,虽然上海引种

美洲鲈养殖世代已历经多代的人工繁育,其遗传多样性略低于JS群体,但是与上海引种野生世代相比,并未出现显著的下降,仍然保持着相对较高的遗传变异水平。遗传分化和遗传结构方面,上海引种美洲鲈2个野生世代间和2个养殖世代间均未检测到显著的遗传分化,仅在野生世代F₁和2个养殖世代之间检测到中等程度的遗传分化。我们在上海引种美洲鲈后续遗传育种工作中,将计划在考虑到个体大小、营养成分及抗逆性等经济性状的同时,选用遗传距离较大的繁育亲本进行配对,并结合育种值和选择响应的遗传评估结果,开展后续的人工繁育研究,以期能够培育出抗逆性强、生长性能优的美洲鲈新品系。

作者声明本文无利益冲突。

参考文献:

- [1] 施永海,徐嘉波,陆根海,等. 养殖美洲鲈的生长特性[J]. 动物学杂志, 2017, 52(4): 638-645.
SHI Y H, XU J B, LU G H, et al. Growth characteristics of cultured American shad *Alosa sapidissima* [J]. Chinese Journal of Zoology, 2017, 52(4): 638-645.
- [2] 袁新程,施永海,徐嘉波,等. 美洲鲈IV、V期卵巢营养成分、卵黄蛋白原、组织蛋白酶D及其mRNA表达的比较分析[J]. 上海海洋大学学报, 2024, 33(3): 623-634.
YUAN X C, SHI Y H, XU J B, et al. Comparison and analysis of nutrient components, vitellogenin, cathepsin D and its mRNA expression in stage IV and V ovaries of *Alosa sapidissima* [J]. Shanghai Ocean University, 2024, 33(3): 623-634.
- [3] 于爱清,施永海,徐嘉波,等. 美洲鲈脑转录组多态性EST-SSR的规模化开发与利用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2023, 51(11): 1-12.

- YU A Q, SHI Y H, XU J B, et al. Development and application of polymorphic EST-SSR markers in cultured American shad (*Alosa sapidissima*) based on brain transcriptome datasets [J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2023, 51(11): 1-12.
- [4] 刘士力, 刘一诺, 李飞, 等. 3种鲱亚科鱼类全基因组微卫星分布特征分析[J]. 上海海洋大学学报, 2023, 32(6): 1176-1183.
- LIU S L, LIU Y N, LI F, et al. Distribution characteristics of microsatellites in the whole genome of three Culterinae species [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2023, 32(6): 1176-1183.
- [5] 鲁弘毅, 田海峰, 胡乔木, 等. 基于微卫星多重PCR的黄鳍亲子鉴定技术[J]. 南方水产科学, 2023, 19(6): 97-106.
- LU H Y, TIAN H F, HU Q M, et al. Parentage assignment of *Monopterus albus* using multiplex PCR of microsatellites [J]. South China Fisheries Science, 2023, 19(6): 97-106.
- [6] 郭香, 李琪, 孔令锋, 等. 基于微卫星标记整合长牡蛎遗传图谱[J]. 水产学报, 2013, 37(6): 823-829.
- GUO X, LI Q, KONG L F, et al. Microsatellite-based consensus map of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(6): 823-829.
- [7] 于爱清, 施永海, 徐嘉波, 等. 长江刀鲚选育群体转录组EST-SSR的分布特征分析[J]. 渔业科学进展, 2019, 40(5): 101-109.
- YU A Q, SHI Y H, XU J B, et al. Characteristic analysis of microsatellites in selected *Coilia ectenes* using a transcriptome dataset [J]. Progress in Fishery Sciences, 2019, 40(5): 101-109.
- [8] 刘洁, 高风英, 陈刚, 等. 珠江流域9个大鳞副泥鳅群体遗传多样性的微卫星分析[J]. 渔业科学进展, 2020, 41(4): 50-57.
- LIU J, GAO F Y, CHEN G, et al. Genetic diversity analysis of nine loach (*Paramisgurnus dabryanus*) populations in the pearl river basin based on microsatellite markers [J]. Progress in Fishery Sciences, 2020, 41(4): 50-57.
- [9] 薛磊, 侯鑫, 曾详健, 等. 中华绒螯蟹 *Kcna* 基因功能及其与生长性状的关联分析[J]. 上海海洋大学学报, 2024, 33(3): 533-542.
- XUE L, HOU X, ZENG X J, et al. Molecular function of *Kcna* gene and its association with growth traits in *Eriocheir sinensis* [J]. Shanghai Ocean University, 2024, 33(3): 533-542.
- [10] 田间, 马行空, 曾健成, 等. 基于微卫星标记的中华绒螯蟹遗传多样性分析[J]. 水产养殖, 2023, 44(5): 20-25.
- TIAN J, MA X K, ZENG J C, et al. Genetic diversity analysis of three populations of *Eriocheir sinensis* based on microsatellite markers [J]. Journal of Aquaculture, 2023, 44(5): 20-25.
- [11] 王九龙, 叶苗, 李洪莉, 等. 绿鳍马面鲈野生与养殖群体的微卫星遗传多样性分析[J]. 水产科学, 2024, 43(2): 312-318.
- WANG J L, YE M, LI H L, et al. Genetic diversity analysis for wild and cultured filefish *Thamnaconus modestus* populations revealed by microsatellite markers [J]. Fisheries Science, 2024, 43(2): 312-318.
- [12] 韩承慧, 马海涛, 姜海滨, 等. 许氏平鲈 (*Sebastes schlegelii*) 微卫星标记开发及野生、养殖群体遗传多样性分析[J]. 海洋与湖沼, 2016, 47(1): 213-220.
- HAN C H, MA H T, JIANG H B, et al. Isolation of microsatellite markers for black rockfish *Sebastes schlegelii* and genetic diversity of wild and cultured populations [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2016, 47(1): 213-220.
- [13] 于爱清, 施永海, 徐嘉波, 等. 暗纹东方鲈养殖和野生群体遗传变异的微卫星分析[J]. 水产科技情报, 2016, 43(6): 281-286.
- YU A Q, SHI Y H, XU J B, et al. Microsatellite analysis of genetic variation in cultured and wild populations of *Takifugu obscurus* [J]. Fisheries Science & Technology Information, 2016, 43(6): 281-286.
- [14] 洪孝友, 朱新平, 陈昆慈, 等. 孟加拉鲮、美洲鲮和中国鲮形态学比较分析[J]. 华南农业大学学报, 2013, 34(2): 203-206.
- HONG X Y, ZHU X P, CHEN K C, et al. Morphometrics analysis of *Tenualosa ilisha*, *Alosa sapidissima* and *Tenualosa reevesii* [J]. Journal of South China Agricultural University, 2013, 34(2): 203-206.
- [15] 徐钢春, 张呈祥, 郑金良, 等. 美洲鲮的人工繁殖及胚胎发育的研究[J]. 海洋科学, 2012, 36(7): 89-96.
- XU G C, ZHANG C X, ZHENG J L, et al. Artificial propagation and embryonic development of American shad, *Alosa sapidissima* [J]. Marine Sciences, 2012, 36(7): 89-96.
- [16] 王会林, 晋怀远, 高晔, 等. 美洲鲮鱼嗜水气单胞菌病原的分离与鉴定[J]. 渔业科学进展, 2024, 45(2): 257-266.
- WANG H L, JIN H Y, GAO Y, et al. Isolation and identification of *Aeromonas hydrophila* from *Alosa sapidissima* [J]. Progress in Fishery Sciences, 2024, 45(2): 257-266.
- [17] 高晓华, 高玮, 张明辉. 40种中草药对美洲鲮源温和气单胞菌的体外抑菌作用研究[J]. 饲料工业, 2023, 44(12): 67-73.
- GAO X H, GAO W, ZHANG M H. The antibacterial effect of 40 kinds of Chinese herbal medicines on *Aeromonas sobria* from *Alosa sapidissima* in vitro [J].

- Feed Industry, 2023, 44(12): 67-73.
- [18] 施永海, 邓平平, 徐嘉波. 美洲鲈专题系列讲座 美洲鲈病害防治[J]. 科学养鱼, 2022(11): 13-14.
- SHI Y H, DENG P P, XU J B. Series of lectures on the prevention and control of diseases in *Alosa sapidissima* [J]. Scientific Fish Farming, 2022(11): 13-14.
- [19] 袁新程, 施永海, 徐嘉波, 等. 美洲鲈Ⅳ、Ⅴ期卵巢营养成分、卵黄蛋白原、组织蛋白酶D及其mRNA表达的比较分析[J]. 上海海洋大学学报, 2024, 33(3): 623-634.
- YUAN X C, SHI Y H, XU J B, et al. Comparison and analysis of nutrient components, vitellogenin, cathepsin D and its mRNA expression in stage IV and V ovaries of *Alosa sapidissima* [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2024, 33(3): 623-634.
- [20] 郭印, 戴习林. 急性盐度胁迫对美洲鲈幼鱼渗透调节的影响[J]. 水产科学, 2022, 41(4): 676-681.
- GUO Y, DAI X L. Effects of acute salinity stress on osmoregulation of juvenile American shad *Alosa sapidissima* [J]. Fisheries Science, 2022, 41(4): 676-681.
- [21] 袁新程, 蒋飞, 施永海, 等. 高温胁迫对美洲鲈1⁺龄鱼种抗氧化与非特异性免疫相关指标的影响[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2021, 47(1): 107-117.
- YUAN X C, JIANG F, SHI Y H, et al. Effects of high temperature stress on antioxidative and non-specific immunity indices of one-year-old *Alosa sapidissima* [J]. Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences), 2021, 47(1): 107-117.
- [22] 张勇, 徐钢春, 杜富宽, 等. 急性操作胁迫对美洲鲈亲鱼血清生化指标及HSP70基因表达的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2016, 25(5): 652-658.
- ZHANG Y, XU G C, DU F K, et al. Effects of acute handling stress on serum biochemical parameters and HSP70 gene expression in *Alosa sapidissima* broodstocks [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2016, 25(5): 652-658.
- [23] LUO M K, ZHU W B, LIANG Z Y, et al. High-temperature stress response: insights into the molecular regulation of American shad (*Alosa sapidissima*) using a multi-omics approach [J]. Science of the Total Environment, 2024, 916: 170329.
- [24] LIU Y, LIANG Z Y, LI Y L, et al. Integrated transcriptome and microRNA analysis reveals molecular responses to high-temperature stress in the liver of American shad (*Alosa sapidissima*) [J]. BMC Genomics, 2024, 25(1): 656.
- [25] 施永海, 徐嘉波, 刘永士, 等. 敞口池塘和遮荫池塘养殖美洲鲈当年鱼种的生长规律和差异[J]. 上海海洋大学学报, 2019, 28(2): 161-170.
- SHI Y H, XU J B, LIU Y S, et al. Growth regularity and difference of young fish American shad *Alosa sapidissima* cultured in outdoor and shaded ponds [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2019, 28(2): 161-170.
- [26] 施永海, 徐嘉波, 严银龙, 等. 池养美洲鲈亲本强化适应培育及产卵受精规律[J]. 上海海洋大学学报, 2020, 29(3): 321-330.
- SHI Y H, XU J B, YAN Y L, et al. Intensive adaptive cultivation, spawning and fertilization laws of *Alosa sapidissima* broodstock cultured in earthen ponds [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2020, 29(3): 321-330.
- [27] 张涛, 周剑光, 陈建武, 等. 美洲鲈形态特征及其两种同工酶的组织特异性分析[J]. 南方农业学报, 2018, 49(4): 773-779.
- ZHANG T, ZHOU J G, CHEN J W, et al. Morphological characteristics of *Alosa sapidissima* and tissue specificity of two kinds of isozymes in it [J]. Journal of Southern Agriculture, 2018, 49(4): 773-779.
- [28] JULIAN S E, BARTRON M L. Microsatellite DNA markers for American shad (*Alosa sapidissima*) and cross-species amplification within the family Clupeidae [J]. Molecular Ecology Notes, 2007, 7(5): 805-807.
- [29] HASSELMAN D J, BENTZEN P, NARUM S R, et al. Formation of population genetic structure following the introduction and establishment of non-native American shad (*Alosa sapidissima*) along the Pacific Coast of North America [J]. Biological Invasions, 2018, 20(11): 3123-3143.
- [30] 李玉林, 罗明坤, 冯冰冰, 等. 我国苏南地区美洲鲈7个养殖群体的遗传多样性分析[J]. 上海海洋大学学报, 2024, 33(2): 285-296.
- LI Y L, LUO M K, FENG B B, et al. Genetic diversity analysis of seven American shad (*Alosa sapidissima*) populations in southern Jiangsu, China [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2024, 33(2): 285-296.
- [31] 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.
- [32] 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.
- [33] EVANNO G, REGNAUT S, GOUDET J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study [J]. Molecular Ecology, 2005, 14(8): 2611-2620.
- [34] 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.
- [35] 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.
- [36] ROSENBERG N A. Distruct: a program for the graphical display of population structure [J]. *Molecular Ecology Notes*, 2004, 4(1): 137-138.
- [37] 杨铭, 于洋, 张晓军, 等. 基于转录组数据的凡纳滨对虾微卫星标记开发[J]. *海洋科学*, 2017, 41(2): 96-102.
- YANG M, YU Y, ZHANG X J, et al. Development of microsatellite markers from the transcriptome sequences of Pacific white shrimp (*Litopenaus vannamei*) [J]. *Marine Sciences*, 2017, 41(2): 96-102.
- [38] 管宇, 张香云, 徐群芳, 等. 哈迪-温伯格平衡检验及其基因频率的估计[J]. *浙江林学院学报*, 2009, 26(1): 122-126.
- GUAN Y, ZHANG X Y, XU Q F, et al. Hardy-Weinberg equilibrium testing and estimating of allele frequency [J]. *Journal of Zhejiang Forestry College*, 2009, 26(1): 122-126.
- [39] 董在杰, 刘念, 傅建军, 等. 6个野生与选育鲤群体的微卫星遗传分析[J]. *南方水产科学*, 2018, 14(4): 46-55.
- DONG Z J, LIU N, FU J J, et al. Genetic analysis for six wild and selection populations of common carp (*Cyprinus carpio*) using microsatellites [J]. *South China Fisheries Science*, 2018, 14(4): 46-55.
- [40] 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.
- 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.
- [41] 舒妙安, 周宇芳, 朱晓宇, 等. 中国沿海拟穴青蟹群体遗传多样性的微卫星分析[J]. *水产学报*, 2011, 35(7): 977-984.
- SHU M A, ZHOU Y F, ZHU X Y, et al. Microsatellite analysis on genetic diversity of seven wild populations of *Scylla paramamosain* in China [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(7): 977-984.
- [42] 于爱清, 施永海, 邓平平. 长江刀鲚选育和野生群体遗传多样性的微卫星分析[J]. *水产科技情报*, 2019, 46(3): 121-125.
- YU A Q, SHI Y H, DENG P P. Genetic diversity analysis of cultured and wild populations of *Coilia ectenes* by microsatellite markers [J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2019, 46(3): 121-125.

Microsatellite analysis on genetic variance in cultured and wild population of American shad (*Alosa sapidissima*) induced into Shanghai

YU Aiqing, SHI Yonghai, XU Jiabo, LIU Yongshi, YANG Ming, JIANG Fei, YAN Yinlong

(Shanghai Fisheries Research Institute, Shanghai Fisheries Technical Extension Station, Shanghai 200433, China)

Abstract: *Alosa sapidissima* has emerged as a newly imported premium fish species with high value in promoting large-scale aquaculture in China in recent years. Understanding the genetic background of cultured and wild populations of *A. sapidissima* is crucial for evaluating germplasm resources and breeding new strains. In this study, 20 polymorphic simple sequence repeats (SSRs) were selected to evaluate the genetic diversity and genetic structure of 3 cultured populations and 2 wild populations of *A. sapidissima*. A total of 201 alleles were detected from 20 polymorphic microsatellite markers average of 10.05 alleles per marker. Among the five populations, the average of the effective alleles (N_e), the observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e) and polymorphism information content (PIC) ranged from 2.675 4 to 4.136 0, from 0.675 0 to 0.775 0, from 0.601 8 to 0.729 8 and from 0.547 3 to 0.698 8, respectively. The analysis of molecular variance (AMOVA) indicated that the genetic variance within individuals accounts for 94.93% and the genetic variance among populations accounts for 5.07%. The result of genetic differentiation index (F_{st}) analysis showed that the YSF₁ had a moderate level of genetic differentiation from the YZF₄ and YZF₅ ($0.05 < F_{st} < 0.15$), and the genetic differentiation of the other pairwise populations was weak ($F_{st} < 0.05$). The result of the Hardy-Weinberg equilibrium showed that 31% of group loci were found to deviate significantly from the Hardy-Weinberg equilibrium after sequential Bonferroni correction ($P < 0.05$). The UPGMA cluster tree based on the Nei's genetic distance showed that five populations were divided into two branches and the similar result also obtained from PCoA analysis and Bayesian Structure clustering analysis. Results indicated that the cultured populations of *A. sapidissima* introduced into Shanghai retain a relatively high level of genetic variation and hold significant genetic breeding potentiality.

Key words: *Alosa sapidissima*; cultured population; microsatellite marker; genetic diversity; genetic differentiation