

文章编号: 1674 - 5566(2011)01 - 0001 - 07

“新吉富”罗非鱼选育 $F_{10} \sim F_{13}$ 遗传变异微卫星分析

于爱清, 李思发, 蔡完其

(上海海洋大学 农业部水产种质资源与利用重点开放实验室, 上海 201306)

摘要: 利用微卫星分子标记技术,对“新吉富”罗非鱼选育后期的 F_{10} 、 F_{11} 、 F_{12} 、 F_{13} 4 个世代群体的遗传结构及异同进行了分析。结果表明:13 个微卫星位点扩增后,共得到 78 个等位基因,扩增片段长度大小在 100 ~ 295 bp 之间,4 个选育世代的平均有效等位基因数 (N_e) 为 2.84 ~ 3.27,平均期望杂合度 (H_e) 为 0.627 1 ~ 0.676 2,平均多态信息含量 (C_{PI}) 为 0.567 6 ~ 0.622 9,3 个遗传参数都一致呈现随着选育世代数累进而稳定下降的趋势,表明“新吉富”罗非鱼在长期选育过程里越来越趋于纯化之中。另一方面,4 个选育世代两两间遗传分化 F_{ST} 值为 0.019 07 ~ 0.133 54,世代间亦存在中等程度的遗传分化,显示“新吉富”罗非鱼的选育技术路线(黄河、长江及珠江 3 大农业生态区同步选育、适时交流,始终注意保持繁育群体的有效大小,严格的择优四步程序等)可使选育群体保持较丰富的遗传变异水平,有利于长期选育的持续开展。

研究亮点: 首次应用微卫星分子标记技术对“新吉富”罗非鱼选育后期的 F_{10} 、 F_{11} 、 F_{12} 、 F_{13} 4 个世代群体的遗传结构及异同进行了分析。结果发现“新吉富”罗非鱼在长期选育过程中遗传结构越来越趋纯化的历程,即“趋同性”,尚在延续之中。与此同时,“新吉富”罗非鱼的选育技术,对选育世代的遗传变异亦造成了一定程度的影响,在世代间产生了一定程度的遗传离异,即“趋异性”。本文首次从遗传“趋同性”和“趋异性”的两个角度探讨了人工选择这把“双刃剑”对水产经济动物遗传变异的影响。

关键词: “新吉富”罗非鱼; 选育世代; 遗传变异

中图分类号: S 917

文献标识码: A

“新吉富”罗非鱼是上海海洋大学以 1994 年引入的尼罗罗非鱼“GIFT”品系第 3 代为基础群体(F_0),从 1996 年开始经 10 年系统选育,其 F_8 于 2006 年 1 月经全国水产原种和良种审定委员会审定、命名(登记号 GS01 - 001 - 2005),农业部公告(第 631 号)全国推广的优良品种^[1-3],已成为我国罗非鱼产业的主导品种。为巩固、保护并进一步提高其优良品质,课题组继续进行选育研究,2009 年已选育至 13 代。为了解吉富品系罗非鱼在经历 10 多世代选育过程中遗传型方面的变化,有必要继续对后期世代群体的遗传变异进行检测,以制定相应的科学措施,保证育种工作顺利地进行。

微卫星序列是以 2 ~ 6 个核苷酸为重复单位

的多次串联重复的 DNA 序列,亦称简单重复序列(Simple Sequence Repeats,SSR),是 20 世纪 80 年代末期发展起来的一种新型 DNA 标记,因数量多、分布广、多态性丰富、呈共显性遗传方式以及检测快速方便等优点,被广泛应用于群体遗传分析、家系鉴定、辅助育种、数量性状基因座的定位、遗传多样性和种群结构的评估等方面^[3-4]。利用分子标记技术分析水产经济动物由于人工选育而造成的群体遗传差异的研究,在“新吉富”罗非鱼、中国对虾“黄海 1 号”、团头鲂“浦江 1 号”等 3 个选育品种中已经有所报道^[3,5-7]。然而,在分子水平上对“新吉富”罗非鱼选育后期世代群体遗传结构差异的研究尚未进行。本研究是继颀晓勇^[3]利用微卫星分子标记技术研究“新

收稿日期: 2010-06-23

修回日期: 2010-07-26

基金项目: 罗非鱼产业技术体系(nycytx-48-03);公益性行业(农业)科研专项(nyhyzx07-044-01)

作者简介: 于爱清(1985-),男,硕士研究生,专业方向为水产动物种质资源与种苗工程。E-mail: aiqingyu0125@163.com

通讯作者: 李思发, Tel: 021-61900450, E-mail: sfli@shou.edu.cn

“新吉富”罗非鱼选育 $F_6 - F_9$ 的遗传变异之后,以“新吉富”罗非鱼最新选育世代 $F_{10} - F_{13}$ 为研究材料,继续选用微卫星分子标记技术跟踪“新吉富”罗非鱼在长期选育过程中遗传变异的动态,为鱼类人工选育、种质资源保护利用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

从上海海洋大学南汇鱼类种质试验站分别取“新吉富”罗非鱼选育系 F_{10} 、 F_{11} 、 F_{12} 、 F_{13} 的样本各 30 尾,每尾标本剪取尾鳍,95% 乙醇中保存备

用,分别编号。

1.2 实验方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取

参照常规的酚-氯仿抽提程序进行,并通过琼脂糖凝胶电泳检测 DNA。

1.2.2 微卫星引物

参考尼罗罗非鱼第二代遗传连锁图谱及相关文献^[3,8-9]提供的微卫星序列,由上海生工生物工程技术有限公司合成 30 对微卫星引物,从中筛选出 13 对有效扩增微卫星引物,其序列、GenBank 登录号及 PCR 反应条件见表 1。

表 1 13 对有效扩增的微卫星引物

Tab. 1 Thirteen microsatellite primers effective for PCR amplification

位点	GenBank 登录号	引物序列(5'→3')	退火温度(°C)
GM012	BV005569	F: CCATTGGGTGTTCAAATAAA R: GCCTAACAGGGCACTTCTTA	54
GM047	BV005287	F: GTCGCAGGTAGACTGAAGG R: TCTTGGGGACAGAAGTGTATT	55
GM102	BV005307	F: CATTATCCTGACGGCACTCT R: TTTCCGATCTCTGCTCTCCT	62
GM139	BV005269	F: GTGGGATCTACCAAGAAGAG R: TTTGAGTAACCACCCTAACAC	52.4
GM283	BV005394	F: ATTGTGACAAGGAGCCAGAAC R: AAGTCCGAGGTGACAGAGTG	60.5
GM294	BV005399	F: GCTCGTCTATCTTTAGAACA R: AAACCAGCCCGCTATT	62
GM323	BV005408	F: CGCTTCCTGAACCAAA R: GTTCTCCTCTGTATCCCATTA	57.4
GM532	BV005480	F: CACAGATGCATAGTCTCAGG R: TCCCAAGAAGAAGGCGAGTA	57.2
GM578	BV005505	F: GGGGCTTGGACACACACT R: CTGCTGGCAGACATGTTGTT	62.4
UNH155	G12307	F: CCCACTTCATATAAACACAGCA R: CGACTGACATTTCCACACTC	53
UNH846	G68201	F: TGGAGCAGCTTCTTCTACATCA R: CACATGATGGAAGCCGTGTA	52.4
UNH904	G68218	F: GTCAGTCTGAGCCCTTTA R: GCATTGAGAGTCCAGAGTTC	57.2
UNH1007	G68283	F: TTCTCTACCTGTGAACATTTGC R: AAGGCAGTCTGCTCTATGC	54.2

注:F 为正向引物;R 为反向引物。

1.2.3 微卫星 PCR 反应和电泳检测

用 13 对微卫星引物对提取的 DNA 样品进行聚合酶链式反应(PCR)扩增。PCR 扩增反应总体积为 25 μ L,内含约 50 ng 基因组 DNA,3 μ L buffer(10 mmol/L Tris-HCl,pH = 9.0,50 mmol/L KCl,3.0 mmol/L $MgCl_2$,0.001% 的明胶),0.1

mmol/L dNTP,引物浓度 0.2 μ mol/L,1.0 U Taq 酶。在 Eppendorf Mastercycler Gradient PCR 仪上摸索引物的最适退火温度。PCR 反应体系为:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,接着 94 $^{\circ}$ C 30 s,45 ~ 65 $^{\circ}$ C (根据引物的退火温度进行调整)30 s,72 $^{\circ}$ C 30 s。35 个循环后,72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,各引物的退火温度

见表 1。PCR 扩增产物用 8% (W/V) 的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行检测,银染,数码相机拍照。

1.3 数据分析

根据凝胶上 DNA 泳动距离进行判断,如果电泳条带表现为一条,且泳动距离一致,则认为该等位基因座是纯合的;如果表现为两条带,则认为该座位为杂合。利用 Gel-Pro Analyzer 软件估算电泳条带中的每一条带的分子量大小,按大小转化成字母,利用 Popgene 1.31 软件^[10] 计算每个群体的等位基因数 (N_a)、有效等位基因数 (N_e)、观测杂合度 (H_o)、期望杂合度 (H_e)。根据 NEI^[11] 计算群体间遗传相似系数和群体间遗传距离。利用 Arlequin 2.000 软件^[12], 计算群体遗传分化指数 F_{ST} , 估计群体间的遗传分化, 分析群体内和群体间的分子方差 (Analysis of Molecular, AMOVA)。并根据下式计算多态信息含量 (Polymorphism Information Content, C_{PI})^[13]:

$$C_{PI} = 1 - \left(\sum_{i=1}^n p_i \right) - \left(\sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i^2 p_j^2 \right) \quad (1)$$

式中: p_i 和 p_j 分别为第 i 和第 j 个等位基因的频率; n 为等位基因数目。

2 结果

2.1 PCR 扩增结果

采用所选取的 13 对微卫星引物对 4 个选育世代共 120 尾样本进行比较分析。经梯度 PCR 摸索最适退火温度,所有引物均稳定地扩增出相应的同源序列,重复性好。采用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶低电压电泳, DNA 条带分离效果好。因引物序列不同,各引物扩增得到的等位基因数

分别为 2 ~ 7 个,共 78 个等位基因,大小在 100 ~ 295 bp。图 1 中 a、b 所示分别为引物 GM012 和引物 GM294 在 4 个选育世代中的部分扩增图谱。

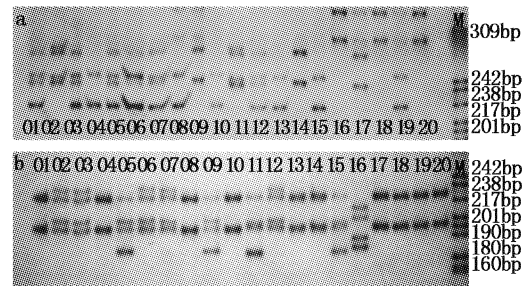


图 1 引物 GM012 和引物 GM294 在 4 选育世代的 PCR 扩增结果

Fig. 1 PCR results of GM012 and GM294 in four lasted selected generations of “NEW GIFT”

Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

a. 引物 GM012; b. 引物 GM294; 01 - 05. F₁₀;

06 - 10. F₁₁; 11 - 15. F₁₂; 16 - 20. F₁₃;

M. Marker (pBR322DNA/MspI)。

2.2 4 个选育世代间的遗传多样性

等位基因数可反映群体在多个位点上的遗传变异,是度量群体遗传多样性的重要参数之一。本研究中 13 个微卫星位点共检测到 78 个等位基因,其中在 F₁₀ 检测到 69 个等位基因,在 F₁₁ 检测到 63 个等位基因,在 F₁₂ 检测到 55 个等位基因,在 F₁₃ 检测到 60 个等位基因。4 个选育世代的平均等位基因数依次为 F₁₀ (5.31) > F₁₁ (4.85) > F₁₃ (4.61) > F₁₂ (4.23), 平均有效等位基因数依次为 F₁₀ (3.27) > F₁₁ (3.12) > F₁₂ (2.90) > F₁₃ (2.84) (表 2)。

表 2 “新吉富”罗非鱼 F₁₀ - F₁₃ 代的遗传多样性

Tab. 2 Genetic diversity of four recent selected generations of “NEW GIFT” Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

世代	N_a	N_e	H_o	H_e	C_{PI}
F ₁₀	5.31	3.27	0.574 4	0.676 2	0.622 9
F ₁₁	4.85	3.12	0.535 9	0.666 8	0.614 1
F ₁₂	4.23	2.91	0.471 8	0.635 9	0.578 4
F ₁₃	4.61	2.84	0.525 6	0.627 1	0.567 6

注: N_a 为平均等位基因数; N_e 为平均有效等位基因数; H_o 为平均观测杂合度; H_e 为平均期望杂合度; C_{PI} 为平均多态信息含量。

多态信息含量和遗传杂合度是度量群体遗传多样性两个常用参数。本研究中 13 个微卫星位点在 4 个选育世代中的平均观测杂合度 (H_o)、期望杂合度 (H_e) 和多态信息含量 (C_{PI}) 3 个参数

的变化范围分别为: 0.471 8 ~ 0.574 4、0.627 1 ~ 0.676 2、0.567 6 ~ 0.622 9 (表 2), 这 3 个参数在 4 个选育世代中呈现出随着选育代数增加而降低的趋势 (图 2)。我们注意到, 4 个选育世代各自

的平均观测杂合度都略低于平均期望杂合度,说明存在一定程度的杂合子缺失,其中两个参数在世代 F_{12} 的差值(0.164 1)相对较大,表明 F_{12} 的杂合子缺失程度相对较大一些,这可能是导致其观测杂合度在变化曲线中出现波动的因素之一。

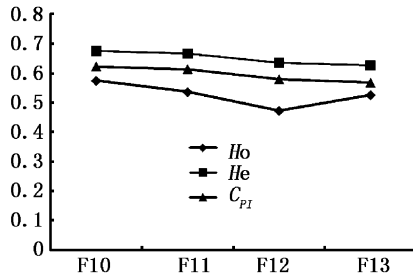


图2 3个遗传参数在“新吉富”罗非鱼4个选育世代中的变化曲线

Fig.2 Variation curve of three genetic parameters in four recent selected generations of “NEW GIFT” Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

2.3 4个选育世代间的遗传差异

2.3.1 遗传距离、遗传相似系数及UPGMA聚类分析

以等位基因频率计算的遗传距离通常被用来衡量群体间遗传关系,是衡量群体间遗传变异程度的可靠参数,遗传距离越大表明群体间遗传

关系越远。4个选育世代的遗传距离和遗传相似系数如表3所示。选育世代 F_{10} 与 F_{11} 的遗传距离最小(0.042 7),遗传相似系数最大(0.958 2);选育世代 F_{12} 与 F_{13} 的遗传距离最大(0.323 7),遗传相似系数最小(0.723 4)。

基于 Nei's 遗传距离构建的UPGMA(图2)显示, F_{10} 先与 F_{11} 聚为一支,然后与 F_{12} 聚为一支,最后再与 F_{13} 聚为一支。

2.3.2 4个选育世代间的遗传分化

据 WRIGHT^[14]的分级类,群体遗传分化指数 F_{ST} 在0~0.05之间表示群体间遗传分化微弱,0.05~0.15之间表示群体遗传分化中等,0.15~0.25之间表示遗传分化较大,大于0.25时,表示遗传分化极大。本研究4个选育世代间的配对比较 F_{ST} 实测值在0.019 07~0.133 54之间,除 F_{10} 与 F_{11} 之间的遗传分化微弱外,其余任意两两选育世代间的遗传分化水平处于中等程度的遗传分化(表4)。

分子方差分析(AMOVA)显示(表5),4个世代的遗传变异有89.26%来自于选育世代内部,10.74%来自于选育世代间,表明选育后期世代的遗传变异主要源于各选育世代内个体间的遗传差别。

表3 “新吉富”罗非鱼 F_{10} - F_{13} Nei 遗传相似性系数(对角线上方)及遗传距离(对角线下方)

Tab.3 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) of four recent selected generations of “NEW GIFT” Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

	F_{10}	F_{11}	F_{12}	F_{13}
F_{10}	-	0.958 2	0.863 1	0.828 8
F_{11}	0.042 7	-	0.883 9	0.863 2
F_{12}	0.147 3	0.123 5	-	0.723 4
F_{13}	0.187 7	0.147 1	0.323 7	-

表4 “新吉富”罗非鱼 F_{10} - F_{13} 配对比较 F_{ST} 值

Tab.4 Pair-wise comparison of F_{ST} Values of four recent selected generations of “NEW GIFT” Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

世代	F_{10}	F_{11}	F_{12}	F_{13}
F_{10}				
F_{11}	0.019 07			
F_{12}	0.064 67	0.056 33		
F_{13}	0.081 12	0.067 08	0.133 54	

表 5 “新吉富”罗非鱼 $F_{10} - F_{13}$ 代的 AMOVA 方差分析
 Tab. 5 AMOVA analysis of four recent selected generations of
 “NEW GIFT” Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

变异来源	自由度	方差总和	变异组分	所占比例(%)
世代间	3	144.291 7	1.255 3(Va)	10.74
世代内	116	1 210.666 7	10.436 8(Vb)	89.26
总和	119	1 354.958 3	11.692 1	

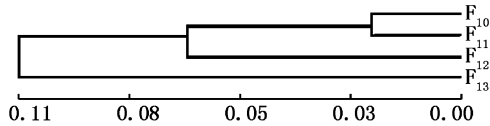


图 3 基于群体间的遗传距离,采用 UPGMA 法构建的
 “新吉富”罗非鱼 $F_{10} - F_{13}$ 代的系统进化树

Fig. 3 UPGMA dendrogram based Nei's genetic
 distance of four lasted selected generations of
 “NEW GIFT” Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

3 讨论

人工选育是长期而复杂的过程,每一代的外部环境及人工选择压力均会造成选育群体遗传变异水平的波动,前者如养育水体理化环境的变动所导致应激反应或适应性反应,后者如有效繁育群体数量的减少所导致的近交概率增大,进而导致群体遗传变异程度降低和遗传多样性指数减小。进行长期的选育工作尤其需要使选育群体保持足够的遗传变异水平以及预定经济性状指标(如生长率)一定的遗传响应。本实验室对“新吉富”罗非鱼和团头鲂“浦江 1 号”的选育均已持续 10 多代,对它们的各世代一直进行跟踪研究。在“新吉富”罗非鱼的生长表型方面, F_{12} 之前的研究结果一致表明,选育群体的生长速度逐代提高,尾鳍条纹逐代趋于整齐,体重变异系数逐代降低,群体规格更加趋于一致^[7,15-18];而在遗传型特征方面,则逐代趋于纯化。如颀晓勇^[3]用微卫星标记技术分析“吉富”品系(F_0, F_{6-9})的遗传变异时发现,9 代选育在“新吉富”罗非鱼世代间造成程度虽小但却可以检测到的遗传变化,多态位点百分数、群体内 F_{ST} 指数及平均基因多样性指数等遗传参数在整体上呈现出随选育世代的累进而降低的趋势。张传涛等^[18]用 RAPD 标记技术分析“新吉富”罗非鱼 F_{6-9} 4 个选育世代的遗传多样性指数发现,4 代选育虽未导致选育群体遗传多样性产生显著的差异,但是 4 个选

育世代的 Nei's 遗传相似指数和 Shannon 多样性指数逐代降低。本研究对“新吉富”罗非鱼最近的 4 个选育世代(F_{10-13})的平均有效等位基因数、平均期望杂合度、平均多态信息含量及遗传距离进行了测定和比较,发现这 4 个指标都呈现出随选育世代的累进而逐渐降低的明显趋势,遗传相似系数则呈现随选育世代的增加而升高的明显趋势,证明“新吉富”罗非鱼在长期选育过程中遗传结构也越来越趋纯化的历程,即趋同性,尚在延续之中。

众所周知,各种动植物在从野生到养殖的过程中,经过累代的人为干预后,遗传变异水平往往会显著降低,这是养殖性状往往出现衰退的内在因素;相对于养殖生产和养殖群体而言,科学的选育活动和选育群体则是要通过种质创新,对养殖性状(如生长速度)予以改良,对遗传纯度予以提高和稳定(即淘汰或弱化不希望的基因,保留或强化希望要的基因)。这是一把“双刃剑”。选育群体往往是更为封闭的群体,尤其容易发生瓶颈效应,造成种质的同质化,产生近交衰退。

在生物进化过程中,人工选择可诱导等位基因的变异,从而产生遗传上的分化^[19],而群体间的遗传分化指数(F_{ST})被认为度量群体间基因分化相对大小的一个较好指标^[20],其数值越大表明两群体间的遗传分化水平越高。在本研究中,“新吉富”罗非鱼 4 选育世代间的遗传分化指数(F_{ST})在 0.019 07 ~ 0.133 54 之间,除选育世代 F_{10} 与 F_{11} 之间的遗传分化微弱外($F_{ST} < 0.05$),其余任意两两选育世代间的遗传分化水平处于中等程度的遗传分化($0.05 < F_{ST} < 0.15$),表明“新吉富”罗非鱼的选育技术,对选育世代的遗传变异造成了一定程度的影响,在世代间产生了一定程度的遗传离异,即“趋异性”。童馨等^[21]采用微卫星标记技术对凡纳滨对虾 4 个世代 7 个养殖群体的遗传多样性进行分析发现 7 个群体间存在显著的遗传差异,表现出较高的遗传分化水

平;吕耀平等^[22]利用 ISSR 技术对“全红”瓯江彩鲤 4 个世代群体的遗传结构及分化进行分析发现 4 世代间任意两世代群体间的遗传分化达到较大的水平。这些研究和我们的研究都可表明,人工选择对水产经济动物选育群体的遗传变异起着重要作用,既可导致选育群体种质的“趋同”,也可导致选育群体种质的“趋异”。

研究在相对闭锁的群体内做连续世代的长期选择所可能产生的遗传变异,不仅有利于了解动植物育种的长期选择效应,而且有利于理解其进化机制^[23]。“新吉富”罗非鱼在历经 10 多代的选育后,生长速度继续得到改良,但尚未到达极限^[7],在群体遗传多态性持续降低的同时,选育仍使世代间保存中等程度的遗传分化,即选育群体仍具有较为丰富的遗传变异水平,这是由于我们采取的黄河、长江及珠江 3 大农业生态区同步选育、适时交流,始终注意保持繁育群体的有效大小、严格的择优程序等技术路线,从而最大可能地避免了种质混杂、瓶颈效应、近交衰退等的发生,较好地保存了选育的遗传物质基础,挖掘了经济性状改良的潜力,这对鱼类种质资源的保护与利用有指导意义。

参考文献:

- [1] 李家乐,李思发. 中国大陆尼罗罗非鱼引进及其研究进展[J]. 水产学报, 2001, 25 (1): 90-95.
- [2] 李思发. 吉富品系尼罗罗非鱼引进史[J]. 中国水产, 2001(10): 52-53.
- [3] 颀晓勇. 新吉富罗非鱼选育过程中遗传变异跟踪研究[D]. 上海:上海水产大学, 2008.
- [4] 王长忠,梁宏伟,邹桂伟,等. 长江中下游两个鲢鱼群体遗传变异的微卫星分析[J]. 遗传, 2008, 30 (10): 1341-1348.
- [5] 张天时,刘萍,李健,等. 用微卫星 DNA 技术对中国对虾人工选育群体遗传多样性的研究[J]. 水产学报, 2005, 29 (1): 6-12.
- [6] 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]. 海洋与湖沼, 2005, 36 (1): 71-80.
- [7] 赵岩. 鱼类长期选育后期世代生长和遗传差异分析—以“新吉富”罗非鱼,团头鲂“浦江 1 号”为例[D]. 上海:上海海洋大学, 2009.
- [8] 李莉好,喻达辉,黄桂菊,等. 吉富罗非鱼不同选育群体的遗传多样性[J]. 南方水产, 2007, 10 (5): 40-48.
- [9] 李思发,陈林,蔡完其. 吉奥罗非鱼(新吉富罗非鱼♀×奥里亚罗非鱼♂)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, 19 (5): 657-664.
- [10] YEH J C, YANG R, BOYLE T. Popgene, version 1.31, microsoft window-based freeware for population genetic analysis[M]. Canada:University of Alberta and Tim Boyle, Centre for International Forestry Research, 1999.
- [11] NEI M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals[J]. Genetics, 1978, 89: 583-590.
- [12] SCHNEIDER S, ROESSLI D, EXCOFFIER L. Arlequin version 2.000: a software for population genetics data analysis[M]. Switzerland:Genetics and biometry laboratory, University of Geneva, 2000.
- [13] BOTSTEIN D, WHILE R L. Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. Am J of Hum Genet, 1980, 32 (3): 314-331.
- [14] WRIGHT S. Evolution and the genetics of population variability within and among natural population [M]. Chicago: University of Chicago Press, 1978: 4.
- [15] 李思发,李晨红,李家乐,等. 尼罗罗非鱼选育三代效果评价[J]. 上海水产大学学报, 2001, 10 (4): 289-292.
- [16] 赵金良,李思发,何学军,等. 吉富品系尼罗罗非鱼选育 F₆ 评估[J]. 上海水产大学学报, 2003, 12 (3): 201-204.
- [17] 胡国成,李思发,何学军,等. 吉富品系尼罗罗非鱼选育 F₆~F₈ 生长效果改良[J]. 上海水产大学学报, 2005, 14 (3): 327-331.
- [18] 张涛涛,李思发,颀晓勇. 吉富品系尼罗罗非鱼选育系 F₆~F₉ 遗传变异的 RAPD 分析[J]. 上海水产大学学报, 2007, 16 (1): 7-10.
- [19] APPUKUTTAN R P, SHANKAR N C, CHIRAKKARA V N. Genetic differentiation induced by selection in an inbred population of the silkworm *Bombyx mori*, revealed by RAPD and ISSR marker systems[J]. Appl Genet, 2005, 46 (3): 291-298.
- [20] LEHOCZKY I, MAGYARY I, HANZC C, et al. Preliminary studies on the genetic variability of six Hungarian common carp strains using microsatellite DNA markers [J]. Hydrobiologia, 2005, 533: 223-228.
- [21] 童馨,杜博,黄桂菊,等. 凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 不同世代养殖群体的遗传多样性分析[J]. 海洋与湖沼, 2009, 40 (2): 214-220.
- [22] 吕耀平,叶丽平,劳沈颖,等. “全红”瓯江彩鲤不同世代间的遗传结构及遗传分化初步分析[J]. 水生生物学报, 2010, 34 (1): 65-71.
- [23] 楼允东. 鱼类育种学[M]. 北京:中国农业出版社, 1999.

Genetic variations among the recent selected generations $F_{10} - F_{13}$ of NEW GIFT strain Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by SSR analysis

YU Ai-qing, LI Si-fa, CAI Wan-qi

(The Key Laboratory of Aquatic Genetic Resource and Utilization Certificated by the Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Simple Sequence Repeats (SSR) marker analysis was used to measure the genetic structure and genetic differentiation of four successively selected generations (F_{10} , F_{11} , F_{12} , F_{13}) of NEW GIFT strain Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). The results showed that: total of 78 alleles (100 – 295 bp) were found among the four populations of 120 individuals with 13 polymorphic microsatellite loci. The mean number of effective alleles of four generations ranged from 2.84 to 3.27, the average polymorphism information content and the expected value of mean heterozygosity varied from 0.567 6 to 0.622 9 and from 0.627 1 to 0.676 2 in four selected generations, respectively. Three genetic parameters all indicated the same tendency that they have been steadily decreasing with the increasing of selected generations, which proved that the purifying experience of NEW GIFT strain Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) was still continuing in the course of long-term selective breeding. On the other hand, pair-wise F_{ST} values between the two arbitrary generations ranged from 0.019 07 to 0.133 54, which indicated that the selective breeding generations also generated moderate genetic differentiation. The above results showed that our applied breeding technique strategy (synchronized selection at Yellow River, Yangtze River and Pearl River ecosystems, exchange periodically, keep effective breeding number, as well as strict super-fish four-steps selection proceeding) for the NEW GIFT strain Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) could enable the selective breeding populations to maintain abundant genetic variation, which would be beneficial to the sustainable development of long-term selective breeding.

Key words: NEW GIFT Nile tilapia strain (*Oreochromis niloticus*); selective breeding generation; genetic variation