

长牡蛎(*Crassostrea gigas*)壳宽快速生长选育群体遗传多样性及遗传结构的微卫星标记分析*

张荣良^{1,2} 王卫军² 冯艳微² 杨建敏^{2①} 唐海田³ 纪仁平^{1,2}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306; 2. 山东省海洋资源与环境研究院 山东省海洋生态修复重点实验室 烟台 264006; 3. 国家海洋局烟台海洋环境监测中心站 烟台 264006)

摘要 为了监测长牡蛎(*Crassostrea gigas*)在选育过程中的遗传变异、分析选育对其遗传结构的影响,本研究以选育目标为壳宽快速生长的长牡蛎为实验材料,利用微卫星(Simple Sequence Repeats)标记技术,对长牡蛎基础群体(P0)和连续两代选育群体(F1 和 F2)进行遗传多样性评估。结果发现,所有微卫星位点在 3 个群体中都表现出了较高的多态性,P0、F1 和 F2 代群体的平均等位基因数分别为 16.5、12.2 和 12.8;P0、F1 和 F2 代群体多态性信息含量(Pic)的平均数值分别为 0.9068、0.8982 和 0.8836。所有群体 10 个位点的观测杂合度值(H_o)均小于期望杂合度值(H_e),观测杂合度平均值的大小范围为 0.5775–0.6484,期望杂合度范围为 0.8594–0.9279。哈迪–温伯格平衡(HWE)结果显示,3 个群体在 10 个位点上有 24 个群体的位点组合显著偏离 HWE($P<0.05$),说明人工选育对选育群体的遗传结构有一定的影响。3 个群体在 10 个位点上的 F_{is} 值均为正值,平均范围为 0.1541–0.2341,表明群体内各位点上的杂合子比例有所下降;各群体间 F_{st} 值范围为 0.0093–0.0245,遗传分化程度较弱。此研究表明,以壳宽快速生长为选育目的,长牡蛎连续选育群体仍具有很高遗传多样性,人工选育过程中保持一定选择压力,仍然会使长牡蛎的优良生长性状得到不断提高。

关键词 长牡蛎;微卫星;遗传结构;遗传多样性

中图分类号 S917.4 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2016)04-0090-07

长牡蛎(*Crassostrea gigas*)也称太平洋牡蛎,属瓣鳃纲、珍珠贝目、牡蛎科,广泛分布于西北太平洋海域,是世界上第一大养殖贝类,也是我国四大养殖贝类之一。随着牡蛎养殖规模的扩大,我国牡蛎养殖产量逐渐跃居到世界首位,但就牡蛎产业创造的价值而言,我国远远落后于欧美等发达国家,尤其近年来,养殖长牡蛎出现品质下降、种质退化等现象,表现为出肉率低、死亡率高、肉质下降等,严重影响我国牡蛎的国际竞争力。为维护行业的健康发展、保护长牡蛎种质资源,开展优良群体的选育工作已成为必然。

牡蛎具有繁殖力高、繁殖周期短、野生群体遗传

变异水平高的优点,非常适合开展选育工作(Newkirk, 1983)。有研究表明,通过家系选育或群体选育能实现长牡蛎的快速生长,降低长牡蛎的夏季死亡率,提高生产性能等(Hershberger *et al*, 1984; Dégremont *et al*, 2007; Beattie *et al*, 1980; Ward *et al*, 2000; Langdon *et al*, 2003)。Li 等(2006)发现,我国长牡蛎的养殖群体仍保持着较丰富的遗传多样性,这为实施长牡蛎的选择育种计划提供了有利条件。

群体遗传结构的研究是遗传资源利用和物种保护的基础(李昂等, 2002)。进行人工选育时,一定的人工选择压力或者外部环境会使群体的遗传结构产

* 国家自然科学基金青年项目(31402298)和山东省农业良种工程项目—大宗经济贝类新品种选育及应用共同资助。张荣良, E-mail: zrl11598@163.com

① 通讯作者: 杨建敏, 研究员, E-mail: ladderup@126.com

收稿日期: 2015-05-26, 收修改稿日期: 2015-07-10

生变化,近交几率增加以及有效亲本数的减少,导致选育群体的遗传多样性下降,甚至出现性状衰退的现象。虽然一些研究报道了贝类养殖群体的遗传多样性与野生群体相比未发生明显变化(Li *et al.*, 2006; English *et al.*, 2000; Durand *et al.*, 1993; Zhao *et al.*, 2009),但在贝类的种苗培育和群体选育过程中,常因亲本数量过少、亲本贡献不均、雌雄比例不当、配子质量差异、人工选择交配等因素,引起有效群体的数量的降低,从而降低选育群体的遗传多样性(Hedgecock *et al.*, 1990; Boudry *et al.*, 2002; Taris *et al.*, 2006; Appleyard *et al.*, 2006)。因此,将分子标记技术应用于长牡蛎遗传育种的研究,对养殖群体的遗传变异进行监测,对群体间的各遗传参数进行评估,显得尤其重要。

微卫星(Simple Sequence Repeats)技术亦称为简单重复序列,它由1-6个碱基组成的基本序列串联而成,由于具有多态位点多、信息量大、每个位点的多态性呈共显性遗传、易与PCR技术结合、多态性检测快捷等优点,被广泛应用于水产动物遗传多样性分析和遗传图谱构建等研究中。本研究以壳宽快速生长为选育目标的长牡蛎选育群体为材料,利用微卫星(SSR)分子标记技术,对基础群体(P0)和两代选育群体(F1和F2)的遗传多样性进行跟踪监测,分析人工定向选育对养殖群体遗传结构的影响,为我国长牡蛎资源的保护和健康发展及更有效开展选育提供数据和资料。

1 材料与方法

1.1 样品采集

本研究采集的样本为长牡蛎烟台崆峒岛选育基础群体(P0)和连续两代选育群体(F1和F2),共3个群体(表1)。基础群体系2012年采自烟台崆峒岛近海的半人工采苗野生群体,2013-2014年连续两年从壳宽快速生长的个体中留选亲本进行群体选育,保证雌雄亲本数目皆不少于50。亲本自海上采集后,经过暂养促熟阶段后,人工采集精子和卵子,并使之按一定比例混合,待受精卵孵化后进入幼苗培育及养成阶段,具体方法参见Li等(2011)和Wang等(2012)的报

道,每个世代的样品分别从连续选育群体的成体个体中随机选择。样品采集完之后,取长牡蛎的闭壳肌保存于95%的酒精中,存放于-20℃低温冰柜中保存。

1.2 DNA提取

DNA的提取采用常规酚/氯仿法,具体操作参照Li等(2006)的方法,DNA浓度的检测通过紫外分光光度计Ultrospec 2100 pro UV/visible spectrophotometer(Amersham Inc.)来完成。用灭菌水稀释成100 μg/ml的模板DNA,-20℃备用。

1.3 微卫星分析

本研究共选用了10个长牡蛎多态性较高的微卫星位点进行分析:ucdCg-149、ucdCg-138、ucdCg-194、ucdCg-157、ucdCg-160、ucdCg-162、ucdCg-109、ucdCg-177、ucdCg-175和ucdCg-140(Li *et al.*, 2003)(表2)。

PCR反应体系为10 μl,包含100 ng模板DNA、1×PCR buffer、0.2 mmol/L dNTP混合液、1 μmol/L引物、1 mmol/L MgCl₂和0.25 U *Taq* DNA聚合酶(TaKaRa Inc.)。

PCR反应条件:94℃预变性3 min;35个循环为94℃ 1 min,退火1 min,72℃ 1 min;72℃延伸5 min。PCR反应于GeneAmp® RCR System 9700上进行。

PCR产物在6%变性聚丙烯酰胺凝胶中电泳,硝酸银法染色。为避免不同凝胶之间条带位置的误差,用同一个参照样在每一块胶上进行电泳作为对照。用10 bp DNA ladder (Invitrogen)作为Marker检测等位基因位置。

1.4 统计分析

使用软件POPGENE Version 1.32计算各微卫星位点在3个群体中的等位基因数 N ,多态性信息含量(Pic)(Botstein *et al.*, 1980)、期望杂合度(H_e),观测杂合度(H_o),哈迪温伯格平衡(HWE)的偏离情况(Raymond *et al.*, 1995)以及遗传分化(F_{st}),固定系数(F_{is})(Levene *et al.*, 1949)。用Genepop 1.4软件计算Nei(1987)群体间的相似性系数(I)和群体间遗传距离(D_A)。

表1 长牡蛎群体的取样时间、地点、群体类型和样本数
Tab.1 The sampling location, population, time and size of *C. gigas*

群体 Population	采样地点 Sampling location	采样时间 Sampling time	群体类型 Type of population	样本数 Sample size
P0	中国烟台 Yantai, China	20130525	基础群体 Basic population	40
F1	中国烟台 Yantai, China	20140529	F1 选育群体 F1 population	40
F2	中国烟台 Yantai, China	20151226	F2 选育群体 F2 population	40

表 2 10 对长牡蛎微卫星位点特征

Tab.2 Characteristics of the ten microsatellite loci of *C. gigas*

位点 Locus	GenBank 登录号 GenBank accession No.	重复位点数 Repeat array	引物序列 Primer sequence (5'-3')	退火温度 $T_m(^{\circ}\text{C})$
ucd-Cg149	AF468551	(GA) _n (GACA) _N	TGATTAACGTGGGTGATTCAG TTTCTGACTGTCCGTCTGTGA	60
ucd-Cg138	AF468542	(GA) _N	CCTCGAACAGCACTCCAAAT TTCAGTTCAACGCTCTTGCT	57
ucd-Cg194	AF468592	(GAT) _n (GAG) _N	CCCAGTGAAAACCTGGAGACA TTTCGAATCGGGAAAATACG	52
ucd-Cg157	AF468558	(GA) _N (TAGA) _N	GGGGGATGTCCGAGAAGTAT AACAGAGAAAGGTGGATTTTAGGA	58
ucd-Cg160	AF468560	(GA) _n (GACA) _n	GGAGCCATTAACAACACCACA TCTCTCCCTCCCCCTCTTA	57
ucd-Cg162	AF468562	(TTCA) _N (AT-CT) _n (GTCT) _N	CCAAATCACCGTTTTAGTTTGT AGCGACACAGAGACCACCTT	52
ucd-Cg109	AF468525	(CAT) _n	GCTATGGTTGTCATCCTCGAA TGCCTTTATCGGTTTTGCTT	53
ucd-Cg177	AF468575	(GA) _n	GCTCCGGGAATTAACCAT TCAAGAAAAAGTCGACGGGTA	57
ucd-Cg175	AF468573	(CAT) _n	GGGCATGGATCAACTCCTAA CCAACCAGCCCTAGTCTGTG	55
ucd-Cg140	AF468544	(CT) _N	TGCTCAATTCACAGCAATCAG TCTGACTGCTGAACAGCAAAAT	60

2 结果

2.1 群体内的遗传多样性

运用 10 对微卫星引物, 对长牡蛎基础群体以及连续选育两代群体的所有采集样本, 进行多样性分析, 10 个位点在所有群体中均表现出较高的多态性, P0 的平均等位基因数为 16.5, F1 代和 F2 代选育群体的平均等位基因数为 12.2、12.8。3 个群体的多态信息含量(Pic)平均值依次为 0.9068、0.8982、0.8836。所有群体在 10 个位点的观测杂合度均小于期望杂合度, 观测杂合度平均值范围 0.5775–0.6484, 期望杂合度范围为 0.8594–0.9279。经过 Bonferroni (Rice, 1989)校正后, HWE 平衡结果显示, 3 个群体在 10 个位点仍有 24 个群体的位点组合显著偏离 HWE 平衡。固定系数 F_{is} 均为正值, 平均范围为 0.1541–0.2341, 表明 3 个群体在所有位点上, 表现出了一定程度的杂合子缺失(详见表 3)。

2.2 群体间的遗传变异分析

计算不同群体配对比较的 F_{st} 值, 均小于 0.05, 遗传分化仍属于较低的弱分化水平, 所有 10 个微卫星位点计算群体间总的遗传分化系数为 0.0487, 表明只有 4.87% 的遗传变异来自群体间, 95.2% 的遗传变

异来自于群体内(表 4)。运用 Genepop1.4 软件计算长牡蛎 3 个群体间的遗传相似性系数(I)和遗传距离(D_A), 不同世代群体间的相似性系数为 0.8814–0.9132, 遗传距离为 0.27121–0.5203, 群体间遗传距离大的遗传相似性低(表 5)。

3 讨论

遗传多样性是生物多样性的基础, 与其生存繁衍和进化潜力密切联系。人工群体选育的目的是在维持选育群体具有一定遗传多样性的基础上, 获得具有目标性状的选育新品种。在长期累代选育过程中需要保持足够的遗传变异水平及一定的遗传响应, 这就需要对选育群体的遗传结构的研究与监测。本研究结果中, 选育群体较野生基础群体, 等位基因数及多态信息含量均略有下降, 但二者都保持在较高水平上; 同样, 在杂合度方面, 选育群体也未出现明显下降的现象, 各群体都表现出了较高的遗传多样性。有很多学者认为, 选育群体较野生群体会出现遗传多样性下降的现象。王庆志等(2012)在对以快速生长为选育目标的长牡蛎连续三代选育群体进行研究发现, 选育群体与野生群体和基础群体比较, 等位基因丰富度下降了 14.5%和 8.7%。赵广泰等(2010)在对大黄鱼连续 4 代选育群体遗传多样性与遗传结构的微卫星分析时发

表3 长牡蛎基础群体和连续选育世代的遗传多样性分析
 Tab.3 Genetic diversity of the wild population and successive selection stocks of *C. gigas*

位点 Locus		基础群体 P0 (n=40)	选育群体 F1 (n=40)	选育群体 F2 (n=40)
ucdcg-157	<i>N</i>	16	11	15
	<i>Pic</i>	0.9088	0.8169	0.9093
	<i>H_o</i>	0.7188	0.7273	0.6563
	<i>H_e</i>	0.9276	0.8462	0.9301
	<i>F_{is}</i>	0.2145	0.1321	0.2832
	<i>P</i>	0*	0.0711	0*
ucdcg-160	<i>N</i>	15	11	12
	<i>Pic</i>	0.9027	0.8807	0.8705
	<i>H_o</i>	0.8438	0.6667	0.7005
	<i>H_e</i>	0.9241	0.9044	0.8942
	<i>F_{is}</i>	0.0725	0.2611	0.5421
	<i>P</i>	0.1670	0.0030*	0.0020*
ucdcg-162	<i>N</i>	16	11	17
	<i>Pic</i>	0.8912	0.8651	0.9220
	<i>H_o</i>	0.3871	0.6970	0.6563
	<i>H_e</i>	0.9173	0.8909	0.9415
	<i>F_{is}</i>	0.5697	0.4197	0.2919
	<i>P</i>	0*	0*	0*
Udcg-194	<i>N</i>	18	12	8
	<i>Pic</i>	0.9206	0.8772	0.8344
	<i>H_o</i>	0.2000	0.3939	0.4063
	<i>H_e</i>	0.9412	0.9012	0.8651
	<i>F_{is}</i>	0.7839	0.5759	0.5229
	<i>P</i>	0*	0*	0*
ucdcg-177	<i>N</i>	20	11	13
	<i>Pic</i>	0.9161	0.8651	0.8945
	<i>H_o</i>	0.7188	0.6970	0.8438
	<i>H_e</i>	0.9360	0.8907	0.9167
	<i>F_{is}</i>	0.2199	0.2134	0.0649
	<i>P</i>	0*	0*	0.2724
ucdcg-138	<i>N</i>	19	10	12
	<i>Pic</i>	0.9161	0.8526	0.8681
	<i>H_o</i>	0.4688	0.5758	0.8750
	<i>H_e</i>	0.9360	0.8802	0.8938
	<i>F_{is}</i>	0.4913	0.3477	0.0055
	<i>P</i>	0*	0*	0.1095
ucdcg-140	<i>N</i>	16	11	11
	<i>Pic</i>	0.9004	0.8461	0.8732
	<i>H_o</i>	0.5000	0.3939	0.3438
	<i>H_e</i>	0.9221	0.8727	0.8983
	<i>F_{is}</i>	0.4492	0.5626	0.6113
	<i>P</i>	0*	0*	0*
ucdcg-109	<i>N</i>	16	12	14
	<i>Pic</i>	0.9176	0.8715	0.8903
	<i>H_o</i>	0.7813	0.8788	0.7188
	<i>H_e</i>	0.9375	0.8965	0.9132
	<i>F_{is}</i>	0.1534	0.0050	0.2004
	<i>P</i>	0*	0.5421	0.0015*

续表 3 Continued Tab. 3

位点 Locus		基础群体 P0 (n=40)	选育群体 F1 (n=40)	选育群体 F2 (n=40)
ucdgc-149	<i>N</i>	12	14	15
	<i>Pic</i>	0.8762	0.9067	0.9157
	<i>H_o</i>	0.7188	0.6970	0.8438
	<i>H_e</i>	0.8998	0.9273	0.9360
	<i>F_{is}</i>	0.1885	0.2446	0.0843
	<i>P</i>	0.0070*	0.0025*	0.0204
ucdgc-175	<i>N</i>	17	15	11
	<i>Pic</i>	0.9181	0.9108	0.8448
	<i>H_o</i>	0.4375	0.7273	0.4688
	<i>H_e</i>	0.9380	0.9310	0.8735
	<i>F_{is}</i>	0.5262	0.2145	0.4549
	<i>P</i>	0*	0.0040*	0*
MEAN	<i>N</i>	16.5	12.2	12.8
	<i>Pic</i>	0.9068	0.8982	0.8836
	<i>H_o</i>	0.5775	0.6188	0.6484
	<i>H_e</i>	0.9279	0.8954	0.9066
	<i>F_{is}</i>	0.1547	0.2078	0.2341

注: 哈迪-温伯格平衡偏离水平: * $P < 0.05 / 10$

Note: Degree of deviation of Hardy-Weinberg equilibrium: * $P < 0.05 / 10$

表 4 不同群体配对比较的 F_{st} 值Tab.4 F_{st} values of pairwise comparison among all populations

Pop ID	P0	F1	F2
P0			
F1	0.0245		
F2	0.0149	0.0093	

表 5 长牡蛎 3 个群体的 Nei's 相似性系数和遗传距离

Tab.5 Nei's genetic identity and genetic distance in three populations of *C. gigas*

Pop ID	P0	F1	F2
P0		0.5944	0.6599
F1	0.5203		0.7625
F2	0.4175	0.2712	

注: 对角线以上为相似性系数, 以下为遗传距离

Note: Nei's genetic identity was shown above the diagonal, and genetic distances were shown below the diagonal

现, 4 个世代群体遗传多样性指标值渐次下降, F1-F4 代 13 个微卫星位点的平均多态信息含量从 0.638 下降到 0.524, 平均等位基因数从 5.462 下降到 4.308。类似报道在合浦珠母贝 (*Pinctada margaritifera*) (Durand *et al.*, 1993)、大珠母贝 (*Pinctada maxima*) (Lind *et al.*, 2009) 和长牡蛎 (English *et al.*, 2000; Hedgecock *et al.*, 1990) 等种类也出现过。本研究中的各代群体的遗传多样性程度并

未出现显著性下降, 分析原因可能是繁育亲本的数目较多, 而且选育初期经历的世代数比较少的缘故。此外, 本研究未对选育群体自幼虫至成员养成的各阶段中的长势弱小的个体进行人工淘汰也是遗传多样性水平保持相对稳定的原因。

本研究中, 在对各位点进行 F_{is} 值分析时发现, 各群体出现了一定程度的杂合子缺失现象, 并导致几乎所有位点显著偏离 HWE 平衡, 分析原因可能是在选育过程中由于人工选择的压力过分注重生长性状, 使得与这些性状有关的基因保留下来, 一些无关的基因丢失了, 导致基因纯化加快从而产生杂合子缺失的现象, 另外, 实验取样数目过少或者取样不均匀也可能与之有关联。此外, 无效等位基因的存在 (Ball *et al.*, 1987; 张志伟等, 2006) 也可能对结果产生干扰。

遗传分化指数 F_{st} 是反映群体之间的亲缘关系的重要参数, 本研究中两两比较所得 F_{st} 值均小于 0.05, 3 个世代群体间遗传分化较弱, 群体间总的遗传分化系数为 0.0487, 根据 Wright (1978) 对遗传分化指数的界定, F_{st} 值介于 0-0.05 之间, 表示群体遗传分化较弱, 表明经过连续人工选育, 群体间的遗传结构差异不明显, 群体仍保持了足够的选育潜力。究其原因, 可能与人工选育过程中亲本数较多, 雌雄比例平衡或者没有将生长迟缓的个体筛选有关, 此外, 选育的世代太短也是影响因素 (Li *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2012)。由 Nei (1987) 方法计算的 3 个群体的遗传相似系数为

0.8814–0.9132, 群体间的遗传距离 0.2712–0.5203, 相邻世代的遗传距离逐步减小, 遗传相似性逐步增大(详见表 4), 说明随着选育时间的推进, 选育群体的遗传背景趋于一致, 遗传结构也在逐步趋向稳定。以上结果表明, 选育群体的遗传结构在选择压力下会发生一定程度上的改变, 朝向目标性状一致的方向变化, 并逐步趋向稳定, 而这恰恰正是选择育种期望取得的结果。

本研究中的长牡蛎亲本来源于山东烟台崆峒岛野捕的自然野生个体, 具备很高的遗传多样性, 是开展良种选育的理想材料。在继代选育过程中, 每一代都是从上一代中挑选壳宽生长快且体质健壮的优良个体繁育而来, 故选育的后代在生长性状方面有着较为优良的表现。本研究结果表明, 持续的人工选育对长牡蛎壳宽选育群体的遗传结构产生了显著影响, 继续保持一定的选择压力不会对群体产生不良影响, 虽然人工选育带来的必然结果是遗传多样性的下降, 但此程度处于较低水平, 长牡蛎选育群体仍有较大的选育潜力。在今后的选育工作中, 完善各项管理工作的同时, 还应充分考虑增加有效群体数量, 以防止近交几率的提高, 以保证长牡蛎良种选育工作的顺利进行。

参 考 文 献

- 王庆志, 李琪, 孔令峰. 长牡蛎 3 代人工选育群体的微卫星分析. 水产学报, 2012, 36(10): 1529–1536
- 李昂, 葛颂. 植物保护遗传学研究进展: 生物多样性, 2002, 10(1): 61–71
- 张志伟, 曹哲明, 杨弘, 等. 草鱼野生和养殖群体间遗传变异的微卫星分析. 动物学研究, 2006, 27(2): 189–196
- 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. 水产学报, 2010, 34(4): 500–508
- Appleyard SA, Ward RD. Genetic diversity and effective population size in mass selection lines of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). Aquaculture, 2006, 254(1–4): 148–159
- Ball AO, Leonard S, Chapman RW. Characterization of (GT)_n microsatellite from native white shrimp *Penaeus setiferus*. Mol Ecol, 1987, 7(7): 1251–1253
- Beattie JH, Chew KK, Hershberger WK. Differential survival of selected strains of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) during summer mortality. Proc Natl Shellfish Assoc, 1980, 70: 184–189
- Botstein D, White RL, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restricted fragment length polymorphisms. Am J Human Gen, 1980, 32(3): 314–331
- Boudry P, Collet B, Cornette F, et al. High variance in reproductive success of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) Thunberg revealed by microsatellite-based parentage analysis of multifactorial crosses. Aquaculture, 2002, 204(3–4): 283–296
- Dégremont L, Ernande B, Bédier E, et al. Summer mortality of hatchery-produced Pacific oyster spat (*Crassostrea gigas*). I. Estimation of genetic parameters for survival and growth. Aquaculture, 2007, 262(1): 41–53
- Durand P, Wada KT, Blanc F. Genetic variation in wild and hatchery stocks of the black pearl oyster, *Pinctada margaritifera*, from Japan. Aquaculture, 1993, 110(1): 27–40
- English LJ, Maguire GB, Ward RD. Genetic variation of wild and hatchery populations of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), in Australia. Aquaculture, 2000, 187(3–4): 283–298
- Hedgecock D, Sly F. Genetic drift and effective population sizes of hatchery-propagated stocks of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. Aquaculture, 1990, 88(1): 21–38
- Hershberger WK, Perdue JA, Beattie JH. Genetic selection and systematic breeding in Pacific oyster culture. Aquaculture, 1984, 39(1–4): 237–245
- Langdon C, Evans F, Jacobson D, et al. Yields of cultured Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) Thunberg improved after one generation of selection. Aquaculture, 2003, 220(1–4): 227–244
- Levene H. On a matching problem in genetics. Ann Math Stat, 1949, 20(1): 91–94
- Li G, Hubert S, Bucklin K, et al. Characterization of 79 microsatellite DNA markers in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Mol Ecol Notes, 2003, 3(2): 228–232
- Li Q, Wang QZ, Liu SK, et al. Selection response and realized heritability for growth in three stocks of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Fisheries Sci, 2011, 77(4): 643–648
- Li Q, Yu H, Yu RH. Genetic variability assessed by microsatellites in cultured populations of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in China. Aquaculture, 2006, 259(1–4): 95–102
- Li RH, Li Q, Yu RH. Parentage determination and effective population size estimation in mass spawning Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) based on microsatellite loci analysis. J World Aquacult Soc, 2009, 40(5): 667–677
- Lind CE, Evans BS, Knauer J, et al. Decreased genetic diversity and a reduced effective population size in cultured silver-lipped pearl oysters (*Pinctada maxima*). Aquaculture, 2009, 286(1–2): 12–19
- Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 1978, 89(3): 583–590
- Newkirk GF. Applied breeding of commercially important molluscs: a summary of discussion. Aquaculture, 1983, 33(1–4): 415–422
- Raymond M, Rousset F. GENEPOP (Version 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. J Hered, 1995, 86(3): 248–249
- Rice WR. Analyzing tables of statistical tests. Evolution, 1989, 43(1): 223–225
- Taris N, Ernande B, McCombie H, et al. Phenotypic and genetic

- consequences of size selection at the larval stage in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *J Exp Mar Biol Ecol*, 2006, 333(1): 147–158
- Wang QZ, Li Q, Kong LF, *et al.* Response to selection for fast growth in the second generation of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Journal of Ocean University of China*, 2012, 11(3): 1–6
- Ward RD, English LJ, McGoldrick DJ, *et al.* Genetic improvement of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) in Australia. *Aquaculture Research*, 2000, 31(1): 35–44
- Wright S. Variability within and among natural populations. Chicago: The University of Chicago Press, 1978: 121–124
- Zhao C, Li Q, Kong LF. Inheritance of AFLP markers and their use for genetic diversity analysis in wild and farmed scallop (*Chlamys farreri*). *Aquaculture*, 2009, 287(1–2): 67–74

(编辑 冯小花)

Assessment of Genetic Variability and Microsatellite Analysis of Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*) After Artificial Selection of the Shell Width

ZHANG Rongliang^{1,2}, WANG Weijun², FENG Yanwei², YANG Jianmin^{2①}, TANG Haitian³, JI Renping^{1,2}

(1. College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306; 2. Shandong Provincial Key Laboratory of Restoration for Marine Ecology, Shandong Marine Resource and Environment Research Institute, Yantai 264006; 3. Yantai Marine Environment Monitoring Central Station, State Oceanic Administration, Yantai 264006)

Abstract In this study we investigated how mass selection would affect the genetic properties of the successive strains such as the fast growth in the shell width. Ten polymorphic microsatellite loci were analyzed to examine the genetic variation within a population, in one base stock, and in two successive mass selection lines of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). All microsatellite loci in the three groups showed high polymorphism, demonstrated by a large number of alleles per locus ($N_{F_0}=16.5$; $N_{F_1}=12.2$; $N_{F_2}=12.8$) and high polymorphism information contents ($Pic_{F_0} = 0.9068$, $Pic_{F_1} = 0.8982$, $Pic_{F_2} = 0.8836$). In all population-locus cases (3 populations \times 10 loci), the observed heterozygosity values (H_o) of the 10 loci were lower than the expected values (H_e) ($He=0.8954-0.9297$, $Ho=0.5775-0.6484$). Twenty-four cases deviated from the Hardy-Weinberg equilibrium ($P<0.05$). The values of F_{is} ranged from 0.152 to 0.233, resulting in heterozygote deficiencies at the 10 loci in each population. F_{st} ranged from 0.0093 to 0.0245, indicating a weak genetic differentiation among the populations. The results suggested that the successive selection for rapid growing shell width might not reduce the genetic diversity. Therefore, the growth traits of *C. gigas* could be improved over generations under successive selection strains.

Key words *Crassostrea gigas*; Microsatellite; Genetic structure; Genetic diversity

① Corresponding author: YANG Jianmin, E-mail: ladderup@126.com