

许珊华,章嘉淇,卢婷,等. 基于微卫星标记的不同种质资源罗氏沼虾遗传多样性研究[J]. 江苏农业科学,2021,49(6):45-51.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.06.007

基于微卫星标记的不同种质资源罗氏沼虾遗传多样性研究

许珊华¹, 章嘉淇¹, 卢婷¹, 符圆¹, 唐潇¹, 唐琼英², 夏正龙³, 蔡缪荧³, 高权新², 李景芬², 杨国梁^{2,3}

(1. 湖州师范学院求真学院, 浙江湖州 313000; 2. 湖州师范学院/浙江省水生生物资源养护与开发技术重点实验室/中国水产科学研究院水生动物繁育与营养重点实验室, 浙江湖州 313000; 3. 江苏数丰水产种业有限公司, 江苏高邮 225654)

摘要:为探究江浙地区不同罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)群体的遗传多样性和遗传结构,利用 16 个微卫星标记对潮丰(CF)、蓝天(LT)、源泉 A(YQA)、源泉 B(YQB)、嘉丰(JF)、南太湖(NTH)等 6 个江浙地区养殖群体和 1 个泰国正大(ZD)引进群体进行遗传变异分析。结果显示,16 个微卫星位点均为高度多态位点;7 个群体均为较高的遗传多样性,期望杂合度(H_e)和多态信息含量(PIC)均大于 0.7,遗传多样性大小排序为 ZD > YQA > YQB > JF > LT > NTH > CF;遗传分化指数(F_{st})分析结果显示,泰国正大与江浙地区各群体间存在中等程度的遗传分化, F_{st} 介于 0.101 45 ~ 0.123 48 之间;江浙地区群体除 NTH 与 CF 群体间为中等程度遗传分化(F_{st} = 0.050 98)外,其余群体间的遗传分化程度较低, F_{st} 介于 0.015 71 ~ 0.040 99 之间。AMOVA 分析结果显示,遗传变异主要发生在个体内和群体内个体间,群体间遗传变异仅占 2.10%。依据 Nei's 遗传距离构建的非加权组平均法(UPGMA)系统进化树显示,泰国正大群体独占一支,江浙地区 6 个群体聚为另一支。Structure 分析结果显示,所有样本被划分为 2 个理论群,江浙地区 6 个群体为一个集群,泰国正大群体为一个集群。该研究不但揭示了江浙地区罗氏沼虾养殖群体的遗传多样性现状,而且也为罗氏沼虾种质资源的保护、利用以及优良品种的选育提供了参考信息。

关键词:罗氏沼虾;微卫星标记;遗传多样性;遗传结构;种质资源

中图分类号: S917.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2021)06-0045-07

罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)别称马来西亚大虾、泰国虾、淡水长臂大虾等,是世界上最大的淡水虾,原产于东南亚地区,具有重要的经济价值和营养价值^[1-2]。其食性广、生长快、个体大、壳薄体肥、肉质鲜嫩、营养丰富,因而成为广泛养殖的

淡水虾,2016 年全球产量达 23.4 万 t^[3-4]。罗氏沼虾于 1976 年由中国农业科学院首次引入我国大陆^[5],随后在我国十多个省市自治区广泛进行养殖,且产量不断增加,2018 年产量达 13.33 万 t^[6]。目前,我国已成为全球罗氏沼虾养殖量最多的国家,养殖产量占世界总产量的 50% 以上^[7]。但在罗氏沼虾产业迅速发展的同时也面临诸多问题,如抗病力下降、生长速度减缓、个体质量减小、性成熟提早等,究其原因主要在于种质资源遗传多样性的丧失。养殖的罗氏沼虾在世代繁衍过程中,往往由于亲本更新不及时和种群较小,而出现近亲繁殖的现象,导致了其遗传多样性的逐渐丧失和种质的退化^[8-10]。Miao 等报道了一些养殖物种因近交而产生了遗传衰退,而这种遗传衰退已经是一个很严重

收稿日期:2020-08-01

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项(编号:CARS-48);浙江省农业(水产)新品种选育重大科技专项(编号:2016C02055-2-1);湖州师范学院求真学院大学生创新创业训练科研项目(编号:201902050)。

作者简介:许珊华(1999—),女,浙江金华人,主要从事水产动物遗传育种研究。E-mail:1904810322@qq.com。

通信作者:李景芬,博士,副教授,从事水产动物遗传育种研究, E-mail:lijingfen@zjhu.edu.cn;杨国梁,研究员,从事水产动物遗传育种研究, E-mail:ygl0572@163.com。

[10] 李更森,孔晋亮,罗劲,等. 铜绿假单胞菌密度感应系统对铜绿假单胞菌-烟曲霉菌早期混合生物被膜的体外作用研究[J]. 中华医院感染学杂志,2019,29(7):961-965,970.

[11] Zhu Y L, Hou H M, Zhang G L, et al. AHLs regulate biofilm formation and swimming motility of *Hafnia alvei* H4[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10:1330.

[12] Subramoni S, Venturi V. LuxR-family 'solos': bachelor sensors/regulators of signalling molecules[J]. Microbiology, 2009, 155(5): 1377-1385.

[13] 舒琴,牛永武,陈启和. 细菌生物被膜中群体感应调控机制及其控制研究展望[J]. 生物加工过程, 2019, 17(3): 292-299.

的问题了,因为它不仅影响产量和经济效益,还影响了衰退物种所在的自然生态系统和发展的可持续性^[11]。遗传多样性是物种进化依赖的基础,与种群的适应能力、生存能力及进化能力呈正相关^[12]。准确评价种质资源的遗传多样性可以为亲本选择、后代遗传变异和杂种优势预测提供预测指导,提高育种效率^[13]。因此,了解现有罗氏沼虾种质资源的遗传多样性和遗传结构对种质资源的有效保护、高效利用,现有性状的改良,新品种的选育等都至关重要。

微卫星(microsatellite)标记凭借着其在基因组中分布广泛、多态性丰富、具有共显性、高突变率等优点而被广泛用于群体遗传多样性检测和遗传结构的分析^[14-15]。目前,已有一些采用微卫星标记对罗氏沼虾不同养殖和野生群体进行遗传多样性研究的报道,但这些报道多数是研究我国台湾^[16]和国外^[17-21]罗氏沼虾群体遗传多样性的,我国大陆报道的研究主要集中在广东和广西地区^[19-22]的罗氏沼虾养殖群体,而关于江苏省和浙江省的罗氏沼虾养殖群体的报道较少,仅见于文献^[19-21],且群体数量较少。江苏省和浙江省是罗氏沼虾的主要养殖区,2018 年这 2 个省的产量占全国罗氏沼虾养殖总产量的 62%,这 2 个省也均是罗氏沼虾苗种的培育基地^[6]。罗氏沼虾引入我国已有 44 年,这期间尽管有多次小规模地重新引种,也有选育新品种(南太湖 2 号),但多数育苗场仍然缺乏科学的选育技术和保种措施^[20]。因此,本研究选取江苏和浙江地区的 6 个养殖群体和 1 个泰国引进群体(作为参比群体),利用微卫星标记对江浙和泰国群体的遗传变异进行比较分析,旨在了解江浙地区现有罗氏沼虾种质资源遗传多样性的现状,以期为我国罗氏沼虾种质的保护利用和优良品种的选育提供参考信息。

1 材料与方法

1.1 试验材料与基因组 DNA 的提取

试验样品分别取材于不同的罗氏沼虾养殖户,其虾苗来源于 6 家育苗企业(图 1)。江浙地区 6 个养殖群体分别为潮丰(CF,30 尾,湖州市潮丰水产育苗公司)、蓝天(LT,30 尾,浙江蓝天生态农业开发有限公司)、源泉 A(YQA,30 尾,湖州源泉水产有限公司)、源泉 B(YQB,30 尾,湖州源泉水产有限公司)、嘉丰(JF,30 尾,扬州市嘉丰罗氏沼虾良种繁殖有限公司)和南太湖(NTH,30 尾,浙江南太湖淡水

水产种业有限公司),1 个泰国正大引进群体(ZD,30 尾,嘉兴丰源农业科技有限公司)。每尾虾均剪取其背部肌肉组织,放置于无水乙醇中储存。

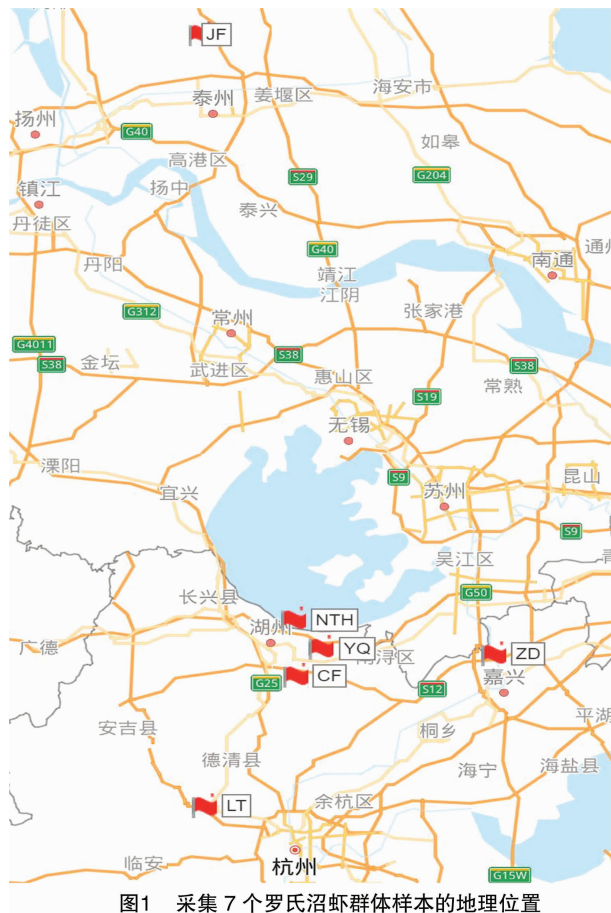


图1 采集 7 个罗氏沼虾群体样本的地理位置

取少量样品于 1.5 mL 的离心管中,尽量剪碎,于烘箱中烘干。加入 HOM Buffer 和蛋白酶 K,摇匀后置于 55 ℃ 摇床中消化至透明,再加入三氯甲烷抽提,离心,将上清液转移,于 -20 ℃ 沉淀,最后漂洗、干燥,加入双蒸水溶解。采用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的纯度和完整性。采用紫外分光光度计检测 DNA 质量和浓度,部分稀释至 50 ng/μL,剩余 DNA 保存于 -20 ℃ 冰箱中。

1.2 微卫星引物、PCR 扩增和 PCR 样品测序

16 对引物来自文献^[20-22],由表 1 可知,引物均由武汉天一辉远生物科技有限公司合成。

PCR 扩增体系为 25 μL,含 MgCl₂ (25 mmol/L) 1.5 μL、dNTP (2.5 mmol/L) 1.0 μL、10 × Buffer 2.5 μL、上下游引物各 1.0 μL、ddH₂O 15.9 μL、DNA 2.0 μL、rTaq 0.1 μL。PCR 扩增程序:95 ℃ 预变性 3 min;95 ℃ 变性 30 s,55 ~ 65 ℃ 退火 40 s,72 ℃ 延伸 30 s,35 个循环;最后 72 ℃ 延伸 10 min。

合格的 PCR 样品委托武汉天一辉远生物科技

表 1 用于罗氏沼虾微卫星扩增的引物信息

位点	引物序列 (5'→3')	退火温度 (℃)	重复单元	等位基因大小 (bp)
HQ2922	F:FAM-TGATACTCGCTCCTCCATACGTC;R:GCCAGTGTGCCGTAATAAATCAG	64	(GT) _n	234~304
HQ2924	F:FAM-GATCCACGCTGACTCTAGTAATG;R:CGATGGTATTTTCTGGCTGTACG	64	(AG) _n	159~219
HQ2929	F:FAM-CAGCTCTAACCTGATTGAAAGAC;R:GCAGGCATTATCGTTACTTCTCC	55	(CT) _n	232~262
HQ2930	F:FAM-GAAGACAATCGGCAACGAAAATA;R:TCAGGGTGTAGTCTCTCGTTCTG	65	(GA) _n	223~279
HQ2931	F:HEX-GGGAGCATTTCAGAACACGAAAC;R:ACACAGACACGGTAACGAACACA	55	(TG) _n	222~244
HQ2933	F:FAM-GCCTCGAACCGATTTCTCTAC;R:GACTTCTCAAGGGCTGGTAATG	65	(GA) _n	184~234
HQ2934	F:HEX-TTCCTGTGTGAATGTTGAGATGC;R:GAGAACTTTCGGTTTACCCCTTCC	57.6	(TG) _n	222~262
EMR81	F:FAM-GGAACCACTGAAAAAGCAATGA;R:GGGGTGCATTCAAAAAATAGGT	58	(CT) _n	242~306
EMR85	F:FAM-GACGGACAGACATTCTAGCC;R:ATTCACCCACACATTTGACATT	58	(AG) _n	211~265
Mbr-5	F:FAM-CAAGGCTCGTCTCTTGTTC;R:GCTTGTACTTGTTCAGCTTTTGC	62	(AG) _n	274~322
HQ2923	F:HEX-GCTGGTAGAATGTCGTCAACAGG;R:TGGCTTTAGTGAAAATGGCTATAC	64	(TC) _n	178~302
HQ2928	F:HEX-GCTCATTCGCTCTACATTCCTC;R:GGGTACTTATCCCTCCCATTGC	64	(AG) _n	185~265
HQ2932	F:FAM-GGTCCTATCAGCCATCCATCTG;R:CTCTCCCAAAACCGAAATCTACC	55	(GA) _n	243~311
Mbr-3	F:FAM-CAACTCTATGTTTCGGCATTTGG;R:GGGGAATTTTACCGATGTTTCTG	62	(AG) _n	227~285
Mbr-2	F:HEX-TTCCCGACCAATTTCTCTTTCTC;R:GGCAAAAATGATCTTGGATTACAC	60	(GT) _n	299~341
EMR-31B	F:FAM-GCTGTGCTCCAAAATCTCTCTC;R:CTCACCACATACTTGACAACGAC	58	(CA) _n	196~254

有限公司进行测序分析。

1.3 数据统计和分析

利用 PopGene 1.32 软件计算等位基因数 (N_a)、有效等位基因数 (N_e)、Shannon 信息指数 (I)、观测杂合度 (H_o)、期望杂合度 (H_e)、Nei 氏遗传距离、遗传相似度、近交系数 (F_{is})、基因流 (N_m)^[23]; 采用 Cervus 3.0 软件进行多态信息含量 (PIC) 的计算^[24]。根据 Nei 氏遗传距离用 MEGA 4.0 软件来构建群体间聚类图^[25]。采用 Arlequin 3.5 软件进行群体间遗传分化指数 (F_{st}) 计算和分子方差分析 (AMOVA)^[26]。采用 Structure 2.3.1 软件分析群体遗传结构^[27], 利用在线软件 (<http://clumpak.tau.ac.il/>) 得出最佳的理论群体数 (K 值), 并绘制群体遗传结构图。

1.4 试验时间和地点

试验于 2018 年 7 月开始, 2019 年 12 月结束。试验地点为中国水产科学研究院水生动物繁育与营养重点实验室。

2 结果与分析

2.1 微卫星位点的多态性分析

由微卫星位点多样性统计结果 (表 2) 可知, 16 个位点共检测出 323 个等位基因 (N_a), N_a 为 10 ~ 29 个, 每个位点平均有 20 个。 N_e 为 2.611 5 ~

12.431 6 个, 平均值为 7.939 3 个。 N_a 与 N_e 数值相差较大, 说明群体中等位基因分布不均匀。 I 为 1.376 0 ~ 2.738 2, 平均值为 2.276 5, I 值较大, 说明群体的遗传多样性高。 H_o 为 0.329 7 ~ 1.000 0, 平均值为 0.650 2。 H_e 为 0.618 6 ~ 0.921 8, 平均值为 0.834 7。 16 个位点中有 13 个位点的 H_o 低于 H_e , 说明群体内自交率较高。 PIC 为 0.539 7 ~ 0.872 4, 平均值为 0.776 1。 根据 Botstein 等划分标准, 16 个位点的 PIC 均高于 0.5, 为高度多态性^[28]。 F 检验数据显示, 有 4 个位点的 F_{is} 为负值, 其余 12 个为正值, 说明近交程度高。 根据 Wright 建议, 有 6 个位点的遗传分化很小 ($F_{st} < 0.05$), 有 10 个位点的遗传分化为中等 ($0.05 < F_{st} < 0.15$)^[29]。 每个位点的基因流值都大于 1, 平均值为 3.792 1。

2.2 罗氏沼虾 7 个群体多态性分析

7 个群体的遗传多样性。由表 3 可知, 7 个群体的 N_a 介于 9.625 0 ~ 12.187 5 之间, N_e 介于 5.078 1 ~ 7.261 2 之间, I 介于 1.770 6 ~ 2.148 4 之间, H_o 介于 0.621 4 ~ 0.702 8 之间, H_e 介于 0.764 4 ~ 0.859 6 之间, PIC 介于 0.744 3 ~ 0.825 8 之间。泰国正大群体的遗传多样性参数均高于江浙地区的 6 个罗氏沼虾群体, CF 群体的各参数均为最小。 N_e 、 I 和 PIC 在 7 个群体内趋势一致, 表现为 ZD > YQA > YQB > JF > LT > NTH > CF。 7 个群体的多态信息含

表 2 微卫星位点遗传多样性参数和基因流估计

位点	等位基因 数量(个)	有效等位基因 数量(个)	Shannon 指数	观测杂合度	期望杂合度	多态信息 含量	近交系数	遗传分化 指数	基因流
HQ2931	10	3.247 8	1.432 5	0.661 7	0.693 8	0.598 1	-0.078 9	0.114 6	1.930 8
HQ2934	10	3.058 4	1.376 0	0.524 5	0.674 7	0.620 7	0.195 5	0.032 1	7.537 9
HQ2930	19	2.697 3	1.376 0	0.431 5	0.630 9	0.571 6	0.220 2	0.132 8	1.632 6
EMR81	23	12.431 6	2.729 2	0.502 4	0.921 8	0.859 7	0.419 8	0.066 9	4.146 9
HQ2922	25	8.136 8	2.512 7	0.605 9	0.879 3	0.811 6	0.260 4	0.067 8	3.434 7
EMR-31B	25	9.345 2	2.535 1	0.329 7	0.895 5	0.840 1	0.607 3	0.052 5	4.510 6
EMR85	21	8.451 0	2.371 3	0.646 5	0.883 9	0.828 1	0.221 1	0.059 4	3.958 4
HQ2924	21	8.425 2	2.479 1	0.680 6	0.883 6	0.834 9	0.182 7	0.054 5	4.334 7
Mbr-2	14	2.611 5	1.457 4	0.371 9	0.618 6	0.539 7	0.313 7	0.131 0	1.658 1
HQ2933	18	10.411 8	2.526 2	0.995 0	0.906 2	0.870 3	-0.137 3	0.032 1	7.542 8
HQ2929	19	9.824 0	2.440 8	1.000 0	0.900 4	0.852 3	-0.167 1	0.046 3	5.147 6
HQ2923	29	9.390 0	2.714 7	0.604 1	0.895 8	0.818 0	0.267 8	0.067 3	3.462 9
HQ2928	26	11.591 0	2.738 2	0.835 1	0.916 1	0.850 9	0.023 0	0.059 1	3.982 7
HQ2932	24	12.261 9	2.726 0	0.680 2	0.920 8	0.872 4	0.232 7	0.037 8	6.364 7
Mbr-5	21	8.794 1	2.542 1	0.906 4	0.888 5	0.838 6	-0.071 4	0.047 1	5.058 7
Mbr-3	18	6.351 1	2.139 1	0.627 7	0.844 8	0.810 9	0.218 8	0.045 4	5.258 4
平均值	20.187 5	7.939 3	2.276 5	0.650 2	0.834 7	0.776 1	0.167 6	0.061 8	3.792 1

表 3 罗氏沼虾 7 个群体的遗传多样性

群体	等位基因数(个)	有效等位基因数(个)	Shannon 指数	观测杂合度	期望杂合度	多态信息含量
潮丰	9.625 0	5.078 1	1.770 6	0.621 4	0.764 4	0.744 3
蓝天	9.625 0	5.421 6	1.839 8	0.649 1	0.798 9	0.775 4
源泉 B	11.312 5	6.371 2	1.948 8	0.647 8	0.797 8	0.778 6
源泉 A	11.062 5	6.690 4	1.970 4	0.673 7	0.804 4	0.778 8
嘉丰	10.812 5	6.040 0	1.897 7	0.646 3	0.785 9	0.776 4
南太湖	9.812 5	5.283 9	1.796 9	0.620 1	0.768 6	0.754 3
泰国正大	12.187 5	7.261 2	2.148 4	0.702 8	0.859 6	0.825 8
平均值	10.633 9	6.020 9	1.910 4	0.651 6	0.797 1	0.776 2

量均高于 0.7,说明该研究的 7 个群体有丰富的遗传多样性。

2.3 群体间遗传分化与遗传距离的分析

由表 4 可知,群体间遗传分化,泰国正大与所有群体间的 F_{st} 介于 0.101 45~0.123 48 之间,为中等程度的遗传分化($0.05 < F_{st} < 0.15$);NTH 与 CF 间的 F_{st} 为 0.050 98,为中等程度的遗传分化($0.05 < F_{st} < 0.15$)。其余所有群体间的 F_{st} 介于 0.015 71~0.040 99 之间,为轻微程度的遗传分化($F_{st} < 0.05$)。由表 5 可知,分子方差分析(AMOVA)遗传变异主要存在于个体内和群体内个体间,分别占总变异的 67.47%、21.75%,而来自群体间的遗传分化仅占 2.10%。

由表 6 可知,7 个罗氏沼虾群体的遗传距离介

于 0.095 0~1.027 4 之间,CF 和 ZD 群体遗传距离最远,为 1.027 4,遗传相似度最低,为 0.357 9。LT 和 CF 群体遗传距离最小,为 0.095 0,遗传相似度最大,为 0.909 4。由图 2 可知,为根据 Nei's 遗传距离构建的非加权组平均法(UPGMA)聚类树,此树分为 2 支:泰国正大群体独占一支,江浙地区的群体聚为一支。江浙地区的群体这一支又分为 2 支:NTH 群体为一支,其余群体为一支(此支又分为 2 支:CF 与 LT 聚为一支,YQB、JF 和 YQA 聚为一支)。

2.4 群体遗传结构分析

将 Burnin 运算长度设置为 100 000,K 值预设为 1~7,每个 K 值重复 10 次,在 $K=2$ 时,Delta K 最大,即所有参试个体最佳分组为 2 个理论群。由图 3 可知,在 $K=2$ 的情况下,江浙地区的 6 个群体为

表 4 7 个罗氏沼虾群体间的遗传分化指数 (F_{st})

群体	潮丰	蓝天	源泉 B	源泉 A	嘉丰	南太湖	泰国正大
潮丰	0.000 00						
蓝天	0.017 26 *	0.000 00					
源泉 B	0.022 30 *	0.021 80 *	0.000 00				
源泉 A	0.020 93 *	0.031 08 *	0.018 18 *	0.000 00			
嘉丰	0.035 60 *	0.026 98 *	0.015 71 *	0.017 51 *	0.000 00		
南太湖	0.050 98 *	0.040 99 *	0.034 89 *	0.032 77 *	0.023 97 *	0.000 00	
泰国正大	0.123 48 *	0.107 68 *	0.104 41 *	0.102 47 *	0.101 45 *	0.113 38 *	0.000 00

注: * 表示经 1 023 次模拟检验后显示为显著 ($P < 0.05$)。表 5 同。

表 5 7 个罗氏沼虾群体的分子方差分析

变异来源	自由度	平方和	方差组分	百分率 (%)
组间	1	82.239	0.631 73	8.67
群体间	5	86.308	0.152 98	2.10 *
群体内个体间	203	1 640.767	1.584 15	21.75 *
个体内	210	1 032.000	4.914 29	67.47 *
总变异	419	2 841.314	7.283 15	

一个集群,泰国正大群体为一个集群。在 $K = 3$ 的情况下,CF、LT、YQB、YQA 和 JF 聚为一群,NTH 和 ZD 分别独立成群。在 $K = 4$ 的情况下,CF 和 LT 为一个集群,YQB、JF 和 YQA 为一个集群,NTH 和 ZD 分别独立成群。

3 讨论

3.1 微卫星位点的遗传多样性

多态信息含量可体现微卫星位点的遗传变异

表 6 罗氏沼虾 7 个群体间的遗传距离和遗传相似度

群体	潮丰	蓝天	源泉 B	源泉 A	嘉丰	南太湖	泰国正大
潮丰		0.909 4	0.888 0	0.890 2	0.830 1	0.778 1	0.357 9
蓝天	0.095 0		0.890 0	0.844 6	0.857 3	0.807 9	0.394 9
源泉 B	0.118 7	0.116 5		0.890 5	0.897 7	0.836 6	0.433 1
源泉 A	0.116 3	0.168 8	0.116 0		0.895 4	0.842 4	0.450 1
嘉丰	0.186 2	0.154 0	0.107 9	0.110 5		0.877 9	0.448 7
南太湖	0.250 9	0.213 3	0.178 5	0.171 5	0.130 3		0.411 0
泰国正大	1.027 4	0.929 0	0.836 9	0.798 2	0.801 4	0.889 0	

注:对角线以上为遗传相似度,对角线以下为遗传距离。

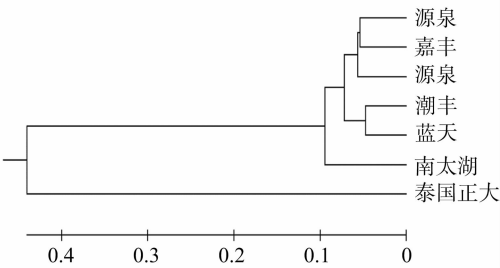


图2 基于 Nei's 遗传距离构建的 7 个罗氏沼虾群体的 UPGMA 聚类树

程度,数值越大,遗传变异程度越高,即多样性越高。该研究所用的 16 个微卫星位点均为高度多态性位点 ($PIC > 0.5$),每个位点平均等位基因数 (N_a) 为 20.19 个,与孙成飞等的研究结果^[20,22,30-31]相比,均高于这些研究的平均等位基因数,说明这些

位点可提供丰富的遗传信息,可有效地用于罗氏沼虾群体遗传变异分析。

3.2 群体遗传多样性分析

等位基因数和期望杂合度是衡量群体遗传多样性常用的 2 个参数^[32]。本研究 7 个群体的 N_a 介于 9.625 0 ~ 12.187 5 之间, H_e 介于 0.764 4 ~ 0.859 6 之间。Chareontawee 等研究了台湾 5 个养殖群体 2 个野生群体的遗传多样性,认为养殖群体和野生群体相似,且所有群体都显示出了相对较高的遗传变异, N_a 介于 7.50 ~ 10.67 之间, H_e 介于 0.64 ~ 0.73 之间^[16]。与该报道相比,本研究中 N_a 和 H_e 都较高。Schneider 等研究了美国、印度、以色列和缅甸 4 个国家 7 个养殖群体和 2 个野生群体的遗传多样性,缅甸野生群体的 N_a 和 H_e 均为最高,印

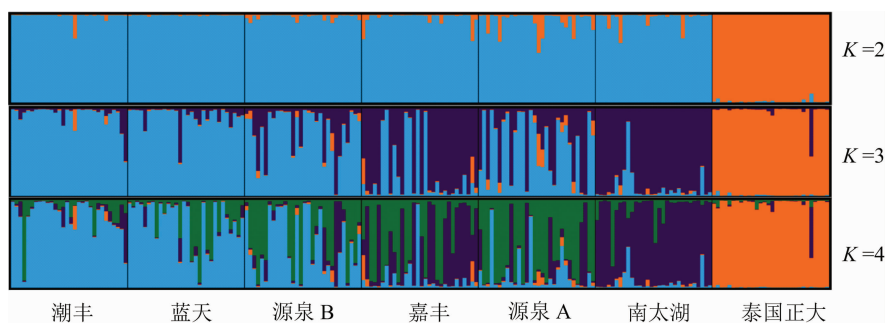


图3 在不同 K 值下罗氏沼虾群体的遗传结构

度野生群体的 N_a 和 H_e 介于 7 个养殖群体值之间, 9 个群体的 N_a 介于 3.96 ~ 20.45 之间, H_e 介于 0.579 4 ~ 0.935 6 之间^[17]。与该报道相比, 本研究的 N_a 和 H_e 都处于中等水平。Nguyen Thanh 等研究了中国 6 个养殖群体和越南 2 个野生群体的遗传多样性, 其中 1 个野生群体的 N_a 和 H_e 均为最高, 另 1 个野生群体的 N_a 和 H_e 介于 6 个养殖群体值之间, 8 个群体的 N_a 介于 9.666 ~ 12.000 之间, H_e 介于 0.785 ~ 0.835 之间^[19]。与该报道相比, 本研究的 N_a 、 H_e 与其相似。Khan 等研究了孟加拉国 3 个野生群体的遗传多样性, 3 个群体的 N_a 介于 9.28 ~ 9.57 之间, H_e 介于 0.804 ~ 0.827 之间^[18]。与该报道相比, 本研究的 N_a 高于其 N_a 、 H_e 。可见, 与同类研究相比, 本研究 7 个养殖群体的 N_a 和 H_e 相对处于中等偏高的水平, 与一些野生群体相当。当杂合度在 0.5 ~ 0.8 之间即可认为该群体具有较高的多样性^[33], 本研究 7 个群体的期望杂合度均在 0.7 以上, 故属较高的遗传多样性水平。7 个群体的多态信息含量介于 0.744 3 ~ 0.825 8 之间, 均高于 0.5, 也说明 5 个群体有丰富的遗传多样性。但是 7 个群体的观测杂合度均低于期望杂合度, 表明 7 个群体都存在一定程度的近交现象, 因而为了避免群体因进一步近交而出现衰退现象, 要及时引入外来的优势群体、野生群体或选择杂合子较多的近缘群体进行育种。

3.3 群体遗传分化与遗传结构分析

基因流 (N_m) 是不同群体间由于个体的交换而发生基因交流的过程^[34-35], 它最基本的作用是削弱群体间的遗传差异。Wright 认为 N_m 大于 1 可抑制种群间的分化, 本研究 16 个位点的 N_m 均大于 1, 均值高达 3.792 1, 表明群体间有较高的基因交流, 遗传分化程度较低^[36]。遗传分化指数分析结果表明, 除泰国正大群体与江浙地区所有群体间存在中等程度的遗传分化 (F_{st} 在 0.101 45 ~ 0.123 48 之间)

外, 江浙地区 6 个群体间遗传分化很小, 即使遗传距离最远的 NTH 和 CF 群体间 F_{st} 也仅为 0.050 98, 刚超过 0.05。采用 Evanno 等人的方法进行分析计算, 得到最佳 K 值为 2, 即所有样本被划分为 2 个理论群^[37]。该 Structure 分析结果与根据 Nei's 遗传距离构建的 UPGMA 系统树相一致, 均直观表明江浙地区的 6 个群体为一个集群, 泰国正大群体独自为一个集群。所以江浙地区的 6 个群体从遗传上讲实为一个群体, 可能是这 6 个群体所在的育苗公司地理位置较近, 平时存在亲虾或苗种的互相供给, 所以基因交流较多, 遗传差异较小。推测它们的亲本来源均与选育新品种南太湖 2 号有关。系统聚类树分支长度表明江浙的养殖群体和引进的泰国群体间亲缘关系相对较远, 此结果与孙成飞等的研究结果^[20]一致, 据此可以考虑引入泰国群体与江浙地区的群体进行杂交育种, 以获得杂种优势。

综上, 江浙地区 6 个罗氏沼虾养殖群体存在一定程度的近交, 群体间遗传分化很小, 均拥有丰富的遗传多态性, 具有良好的选育潜力和前景, 但须及时引种。与泰国正大群体相比, 江浙地区养殖群体的遗传多态性略低。同时, ZD 群体与江浙地区的 6 个罗氏沼虾群体的亲缘关系较远, 存在中等程度的遗传分化, 因此建议在今后育种时, 可考虑引入正大的罗氏沼虾个体, 以增加江浙地区种群的遗传多态性, 避免种质衰退。该研究不但揭示了江浙一带罗氏沼虾种质资源的遗传变异现状, 而且也为罗氏沼虾育种者和生产者在罗氏沼虾种质资源保护、优良品种选育以及生产实践上提供参考。

参考文献:

- [1] New M B, Singholka S. Freshwater prawn farming. A manual for the culture of *Macrobrachium rosenbergii* [M]. FAO Fisheries Technical Paper, 1982, 225: 116.
- [2] 谢忠明, 李增崇, 赵明森. 淡水经济虾类养殖技术 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.

- [3] 孙丽慧, 潘 茜, 陈雪峰, 等. 罗氏沼虾高效饲料转化家系与原种后代肌肉营养成分的比较[J]. 饲料工业, 2019, 40(4): 40–45.
- [4] FAO. The state of world fisheries and aquaculture 2018: meeting the sustainable development goals[R]. Rome: FAO, 2018: 23.
- [5] Yang G L, Frinsko M, Chen X F, et al. Current status of the giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) industry in China, with special reference to live transportation [J]. Aquaculture Research, 2012, 43(7): 1049–1055.
- [6] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2019: 1–152.
- [7] 唐琼英, 夏正龙, 蔡缪荧, 等. 罗氏沼虾养殖群体表型性状间的相关性及类群差异分析[J]. 中国水产科学, 2019, 26(6): 1075–1085.
- [8] 吕 敏, 黄光华, 李 旻, 等. 异型雄性罗氏沼虾遗传多样性的微卫星分析[J]. 水产科学, 2019, 38(3): 355–360.
- [9] 韩耀全. 罗氏沼虾迅速衰落的主要原因[C]//广西水产研究所论文集, 2006: 196–198.
- [10] 肖楚康, 方 刘, 阮国良, 等. 罗氏沼虾淡化养殖的现状与展望[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(8): 29–33.
- [11] Miao W M, Ge X P. Freshwater prawn culture in China: an overview [J]. Aquaculture Asia, 2002, 7(1): 9–12.
- [12] Vandewoestijne S, Schtickzelle N, Baguette M. Positive correlation between genetic diversity and fitness in a large, well-connected metapopulation[J]. BMC Biology, 2008, 6: 46.
- [13] Liu F, Qu Y K, Geng C, et al. Analysis of the population structure and genetic diversity of the red swamp crayfish (*Procambarus clarkia*) in China using SSR markers[J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2020, 47: 59–71.
- [14] 杨子拓, 刘 丽. 微卫星分子标记技术在水产养殖行业的应用[J]. 广东农业科学, 2014, 41(18): 114–116, 126.
- [15] 陈万光, 贾晓慧. 微卫星标记在水产动物遗传研究方面的应用[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(12): 5659–5660.
- [16] Chareontawe K, Poompuang S, Na-Nakorn U, et al. Genetic diversity of hatchery stocks of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in Thailand[J]. Aquaculture, 2007, 271(1/2/3/4): 121–129.
- [17] Schneider K J, Tidwell J H, Gomelsky B, et al. Genetic diversity of cultured and wild populations of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879) based on microsatellite analysis[J]. Aquaculture Research, 2012, 44(9): 1–13.
- [18] Khan S R, Akter H, Sultana N, et al. Genetic diversity in three river populations of the giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in Bangladesh assessed by microsatellite DNA markers [J]. International Journal of Agriculture & Biology, 2014, 16(1): 195–200.
- [19] Nguyen Thanh H, Liu Q G, Zhao L J, et al. Genetic diversity of the cultured giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in China based on microsatellite markers[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2015, 59: 144–154.
- [20] 孙成飞, 叶 星, 董浚键, 等. 罗氏沼虾 6 个养殖群体遗传多样性的微卫星分析[J]. 南方水产科学, 2015, 11(2): 20–26.
- [21] 陈佳毅. 罗氏沼虾亲虾群体遗传结构分析及育苗参数比较[D]. 扬州: 扬州大学, 2016: 12–13.
- [22] 钟丹丹, 林 勇, 宾石玉, 等. 两个罗氏沼虾种群的遗传多样性研究[J]. 广东农业科学, 2015, 42(24): 140–145.
- [23] Yeh F C, Yang R C, Boyle T J, et al. PopGene32, microsoft windows-based freeware for population genetic analysis. Version 1. 32 [Z]. 2000.
- [24] 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.
- [25] Tamura K, Dudley J, Nei M, et al. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0 [J]. Molecular Biology and Evolution, 2007, 24(8): 1596–1599.
- [26] Excoffier L, Lischer H E. 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.
- [27] Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data[J]. Genetics, 2000, 155(2): 945–959.
- [28] 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.
- [29] Wright S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating[J]. Evolution, 1965, 19(3): 395–420.
- [30] 朱其建, 戴习林, 邹卫丽, 等. 罗氏沼虾抗病选育群体的抗病性能及其遗传多样性分析[J]. 水产学报, 2013, 37(10): 1468–1478.
- [31] 蒋 飞, 戴习林, 朱其建, 等. 罗氏沼虾 5 个专门化品系选择系生长比较及其遗传结构分析[J]. 上海海洋大学学报, 2014, 23(3): 329–337.
- [32] Kallinowski S T. HP-RARE 1.0: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness[J]. Molecular Ecology Notes, 2005, 5(1): 187–189.
- [33] 张 智, 俞 丹, 刘 飞, 等. 西昌华吸鳅的微卫星引物筛选及赤水河四个地理种群的遗传多样性分析[J]. 水生生物学报, 2019, 43(6): 1224–1230.
- [34] Husband B C, Barrett S H. Estimates of gene flow in *Eichhornia paniculate* (Pontederiaceae): effects of range substructure [J]. Heredity, 1995, 75(6): 549–560.
- [35] 曲若竹, 侯 林, 吕红丽, 等. 群体遗传结构中的基因流[J]. 遗传, 2004, 26(3): 377–382.
- [36] Wright S. Evolution in mendelian populations [J]. Bulletin of Mathematical Biology, 1990, 52(1/2): 241–295.
- [37] 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.