

文章编号: 1674 - 5566(2014)03 - 0329 - 09

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

蒋 飞¹, 戴习林¹, 朱其建¹, 过正乾¹, 苏 建¹, 鞠 波¹, 丁福江²

(1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 上海申漕特种水产开发公司, 上海 201516)

摘 要: 采用单因素完全随机设计和荧光标记混养两种实验方法, 对罗氏沼虾 5 个专门化品系选择系 A、B、C、D、E 的子二代进行生长性能测定及比较分析。结果显示无论是单因素完全随机实验还是荧光标记混养实验, 各选择系子二代的绝对增重率和特定增重率的大小顺序依次为: D > B > E > C > A; 经方差分析和 Duncan 氏法多重比较, 选择系 B 和 D 的子二代表现出明显的生长优势。子二代中符合各选择系的体型比例较于一代有所增加; 子二代的体重变异程度比于一代的体重变异程度小, 其中 B 降幅最为明显, 高达 49.22%, 说明子二代规格相对于子一代更加整齐。应用微卫星分子标记对罗氏沼虾 5 个选择系子二代共 630 尾虾的遗传多样性和遗传分化进行了研究, 分析表明: 各位点的平均等位基因数为 6.25; 平均有效等位基因数为 3.666 2; 平均杂合度观测值为 0.435 0, 平均杂合度期望值为 0.707 6。5 个选择系的多态信息含量 (PIC) 从小到大依次为 C(0.434 0) < A(0.480 4) < D(0.513 4) < B(0.519 3) < E(0.555 7), 为中度和高度多态性。各位点平均遗传分化系数 (G_{ST}) 为 0.074 5, 大部分遗传变异来源于各选择系内, 表明各选择系尚具有进一步选育的潜力。

研究亮点: 采用单因素完全随机设计和荧光标记混养两种实验方法对罗氏沼虾 5 个专门化品系选择系 A、B、C、D、E 的子二代进行生长性能测定及比较, 具有一定的创新性。同时应用微卫星分子标记技术对其遗传结构进行分析, 以为罗氏沼虾选育提供基础材料和技术指导。

关键词: 罗氏沼虾; 专门化品系选择系; 生长; 遗传多样性

中图分类号: S 917; S 968.22
文献标志码: A

罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 亦称马来西亚大虾, 是一种大型长臂淡水虾, 原产于东南亚、南亚、西太平洋岛屿^[1], 具有食性广、生长快、养殖周期短、抗病能力强、肉质鲜美、营养丰富等特点。自 1976 年从日本引入我国, 尤其是人工育苗技术突破以后, 迅速在全国各地推广, 成为我国主要淡水养殖虾类。近年来, 罗氏沼虾种质退化现象严重, 主要表现为生长缓慢, 性早熟, 抗病性减弱以及繁殖力下降等^[2-6], 因此迫切需要对罗氏沼虾开展人工选育, 进行遗传改良, 从而培育出优质、抗逆、高产的养殖新品种, 恢复并提高罗氏沼虾原有的优良经济性状, 促进罗氏沼虾产业健康可持续发展。

虾类选育虽然起步比较晚, 但是在多种经济虾类的遗传改良上已取得了明显的效果, 生长性能和抗病力都显著提高^[7]。李健等^[8]选育出的中国明对虾新品种“黄海一号”, 极大地改良了中国明对虾的生长与抗病性状。其他经过人工定向选育并取得了明显遗传进展的养殖虾类还包括凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*)^[9]、斑节对虾 (*Penaeus monodon*)^[10]、日本囊对虾 (*Marsupenaeus japonicus*)^[11]、细角滨对虾 (*Litopenaeus stylirostris*)^[12]等。在定向选育过程中, 进行经济性状 (如生长性状) 改良的同时, 需对选育群体的遗传变异进行分析。微卫星在基因组中分布广、多态性高、遵循孟德尔遗传定律,

收稿日期: 2014-01-22 修回日期: 2014-03-17

基金项目: 上海市科学技术委员会重点攻关项目 (11391901400); 上海市科技兴农重点攻关项目 [沪农科攻字 (2010) 第 1-6 号]; 上海市教育委员会重点学科建设项目 (J50701)

作者简介: 蒋 飞 (1989—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物种质资源与种苗工程。E-mail: yglj214@163.com

通信作者: 戴习林, E-mail: xldai@shou.edu.cn

可区分纯合子和杂合子表现共显性等^[13-14],被广泛应用于分子标记辅助选择育种、资源及品种(系)鉴定以及遗传图谱构建等多方面研究^[15]。本文于2013年1月至10月开展了罗氏沼虾各选择系子二代生长对比实验,并采用微卫星标记技术对子二代的遗传多样性进行分析,以期罗氏沼虾选育及其相关研究的进一步开展提供基础材料和技术指导。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用虾来源于依据马来西亚罗氏沼虾上海养殖群体的外部形态(体长、体重、头胸甲宽、第一腹节宽、第一腹节高)差异,并结合聚类分析结果,建立的5个罗氏沼虾专门化品系选择系的

子二代。各专门化品系的体型是根据随机选取的基础群体的头胸甲宽、第一腹节宽、第一腹节高与体长的比值,按照一定的范围而划分的。实验用虾挑选自各选择系继代选育的子二代中体格健壮的罗氏沼虾,体长3~4 cm。子一代部分生长数据来源于本实验室开展罗氏沼虾选育研究而保留的原始数据。

实验用微卫星引物8对,其中2对(编号为SUGbp8-103b、SUGbp8-137)为本实验室自主开发,另6对具多态性高的引物,筛选自文献[16-18]。引物由上海生工生物工程有限公司合成,引物信息见表1。红、橙、黄、绿4种荧光标记材料VIF(visible implant fluorescence)购自青岛海星仪器有限公司。

表1 罗氏沼虾8对微卫星位点的特征

Tab.1 Characterization of eight microsatellite loci of tested *M. rosenbergii*

位点	引物序列	退火温度/℃	核心重复序列	GenBank 登录号
Mr7-88	F: TATTACGATTCCGTGGCACA R: ATATTCTTTGTAGCGGCTGG	53	(CT) ₇	EU847619
SUGbp8-103b	F: ATTCGGTATCAGCTCTGC R: AGTCATCACCCCTTTCCA	58	(CTG) ₇	DQ019869
SUGbp8-101b	F: CCCTGGCTGAGAGTTTCATAC R: GGGGAATAAAGGACCTCTGG	60	(CAT) ₂ (CTT) ₂ (TAAA) ₂	EF204177
SUGbp8-101c	F: ATAGATGCCAACAGCACAGG R: GACAGTGAGGCACTTTTACCG	60	(CAC) ₂	EF204177
SUGbp8-103a	F: AGGATTTCTGCCAGGCTCTTG R: CGTGTGTCTTTCATAGGCTTC	60	(TCT) ₂ (ATA) ₂	EF204178
MRMB11	F: GACCTGCCCCAAAAGAAAAG R: ACCGTGCCATTAACCTTCCAA	44	(CT) ₃₀	EF515170
SUGbp8-137	F: CCACTGGCTGCTATTTAT R: CGCTGACGTTTATTCTGT	55	(ATT) ₁₅	EF204180
MRMD	F: TTGGCTGCAGGAAGTCTTCT R: GGGTCTTGGGAGATTTCACTG	46	(GA) ₁₀	EF515175

1.2 实验水槽

单因素完全随机生长对比实验采用尼龙网箱(1.0 m×0.75 m×0.8 m)为实验水槽,荧光标记混养生长对比实验采用水泥池(5.0 m×1.5 m×0.8 m)为实验水槽,两者均位于上海申漕特种水产开发公司的苗种培育玻璃温室。实验用水为已二级沉淀与1×10⁻⁵有效氯消毒后检测无余氯的河水。

1.3 生长对比实验

1.3.1 单因素完全随机实验

在每个选择系各4个父系半同胞群体中分

别挑选体长为3~4 cm的罗氏沼虾,按完全随机实验方法放养至各网箱,每个网箱30尾,各设两个重复,实验周期30 d。

1.3.2 荧光标记混养实验

从各父系半同胞群体随机挑选体长为3~4 cm的罗氏沼虾各15尾,采用不同颜色组合和不同注射部位相结合的方法^[19],对每个选择系各4个父系半同胞群体进行标记区分,每个混养实验池放养300尾,混养实验设两个重复,实验周期30 d。

1.3.3 养殖日常管理

实验期间,池口上方遮盖尼龙网防跳,黑色尼龙薄膜调节光线,中午光强小于 5 000 lx,金刚石散气石连续充气;水位始终保持在 55 cm,每 10 天换同温淡水 75%;水温(28.0 ± 0.7) °C,采用热水恒温;每日早晚各投喂一次野杂鱼或螺蛳肉,日投饵量约 5% ~ 10%,每日及时清除残饵和死虾。

1.4 微卫星分析

1.4.1 DNA 提取

参照 STRAUSS^[20]的 DNA 提取方法,用蛋白酶 K 消化肌肉组织,经酚-氯仿法抽提,无水乙醇沉淀,提取罗氏沼虾肌肉组织中 DNA,用 TE 缓冲液稀释后用于 SSR 分析。

1.4.2 PCR 扩增及电泳

参考戴习林等^[21]的反应体系和扩增程序,采用 Eppendorf 公司 PCR 仪(22331HAMBURG),对 5 个选择系子二代的 DNA 进行 PCR 扩增,PCR 产物通过 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳和硝酸银染色后进行个体基因型检测。

1.5 数据处理与分析

生长指标用绝对增重率、特定增重率和体重变异系数来表示,参照李思发^[22]的方法统计分析,其计算公式为

$$\text{绝对增重率: } A_{GR}(\text{g/d}) = (W_2 - W_1) / (t_2 - t_1) \quad (1)$$

$$\text{特定增重率: } S_{GR}(\% / \text{d}) = [(\ln W_2 - \ln W_1) / (t_2 - t_1)] \times 100 \quad (2)$$

式中: W_1 和 W_2 分别为时间 t_1 与 t_2 时各选择系子二代中存活虾的体重平均数。

$$\text{体重变异系数: } C_V(\%) = \text{标准差} / \text{均值} \times 100 \quad (3)$$

Excel 统计选择系子二代始末体长与体重的平均数和标准差,采用 SPSS 17.0 对绝对增重率和特定增重率进行方差分析(ANOVA)及 Duncan 氏多重比较^[23],离差分析法^[24-25]比较分析子二代末重,即先求出每个实验条件下所有选择系子二代罗氏沼虾的总平均体重,然后将每个选择系子二代的平均体重减去此总平均体重,得离差值,再用各子二代的离差值对总平均体重作离差分析图。

利用 Gel-Pro Analyzer 4.5^[26]对银染后得到

的电泳条带进行统计分析。微卫星基因座上的等位基因数(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)、遗传分化系数(G_{st})、基因流(N_m)和 Nei's 遗传距离(D)^[27]均由群体遗传学软件 PopGene 3.2^[28]计算。根据 BOTSTEIN 等^[29]公式计算多态信息含量:

$$C_{PI} = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i P_j^2 \quad (4)$$

式中: C_{PI} 为多态信息含量; n 为某位点上等位基因数; P_i 、 P_j 分别为第 i 和第 j 个等位基因在群体中的频率, $j = i + 1$ 。

根据遗传距离,利用 MEGA 4.0 软件采用非加权配对算术平均法(unweighted pair group method using arithmetic average, UPGMA)构建系统进化树。

2 结果与分析

2.1 生长比较

2.1.1 生长结果差异

经过 30 d 的生长对比实验,单因素完全随机实验和荧光标记混养实验的罗氏沼虾 A、B、C、D 和 E 各选择系子二代的实验末重、绝对增重率和特定增重率列于表 2。由表 2 可以看出,单因素完全随机实验的各选择系 F_2 的绝对增重率和特定增重率大小顺序均为 $D > B > E > C > A$ 。经方差分析和 Duncan 氏法多重比较,无论是绝对增重率还是特定增重率, D 与其余各选择系间均有显著差异($P < 0.05$),而 B 与 A 间的特定增重率差异也显著($P < 0.05$)。同时分析显示单因素完全随机实验中各选择系 F_2 的绝对增重率和特定增重率与荧光标记混养实验中各选择系 F_2 的绝对增重率和特定增重率均无显著性差异($P < 0.05$)。

由表 3 可以看出,除了 E 中符合 E 体型的比例较少以外,其余 4 个品系选择系所占比例均较高。子二代中符合各选择系体型的比例较子一代都有所增加。在体重变异系数方面,子二代明显低于子一代,其中 B 降幅最为明显,单因素完全随机实验子二代比子一代下降了 45.36%,荧光标记混养实验子二代比子一代降低了 49.22% (表 4)。

表 2 5 个罗氏沼虾专门化品系选择系子二代生长结果比较 (30 d)

Tab. 2 Comparison of growth rate among F_2 of 5 specialized strains of *M. rosenbergii* (30 days)

选择系	单因素完全随机实验				荧光标记混养实验			
	实验初重 /g	实验末重 /g	绝对增重率 /(g/d)	特定增重率 /(%/d)	实验初重 /g	实验末重 /g	绝对增重率 /(g/d)	特定增重率 /(%/d)
A	1.16 ± 0.28	3.37 ± 1.37	0.074 ^a	3.560 ^a	1.17 ± 0.25	3.28 ± 0.93	0.070 ^a	3.435 ^a
B	1.09 ± 0.23	3.86 ± 1.30	0.092 ^a	4.201 ^b	1.13 ± 0.26	3.84 ± 1.17	0.090 ^b	4.074 ^b
C	1.14 ± 0.19	3.44 ± 1.09	0.077 ^a	3.647 ^{ab}	1.11 ± 0.24	3.35 ± 0.87	0.075 ^{ab}	3.677 ^{ab}
D	1.05 ± 0.31	4.37 ± 0.99	0.111 ^b	4.766 ^c	1.16 ± 0.32	4.74 ± 1.46	0.119 ^c	4.693 ^c
E	1.17 ± 0.34	3.55 ± 1.08	0.079 ^a	3.697 ^{ab}	1.23 ± 0.31	3.76 ± 0.74	0.084 ^{ab}	3.739 ^{ab}

注: 同列数据相同字母表示差异不显著 ($P > 0.05$), 不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

表 3 子一代和子二代各选择系体型百分比

Tab. 3 The percentage of body form of F_1 and F_2

	A	B	C	D	E
子一代 F_1	51.40	29.00	51.90	56.50	2.20
子二代 F_2	62.26	57.83	58.33	68.09	12.77

注: 体型百分比是符合各选择系体型的比例。

表 4 子一代和子二代各选择系体重变异系数

Tab. 4 Variation coefficient of body weight of F_1 and F_2

	A	B	C	D	E	
子一代 F_1	36.76	54.17	40.12	39.78	37.61	
子二代 F_2	单因素完全随机实验	4.15	8.81	19.19	6.18	8.73
	荧光标记混养实验	6.40	4.95	10.45	16.03	5.05

2.1.2 离差分析

实验结束时, 对两种实验方法的选择系 A、B、C、D 和 E 的实验末重进行离差分析, 结果如图 1 显示, 无论是单因素完全随机实验还是荧光标

记混养实验, 选择系 B 和 D 子二代的平均体重均大于 A、C 和 E 子二代的平均体重, 由此表明选择系 B 和 D 子二代的生长速度明显优于 A、C 和 E 子二代的生长速度。

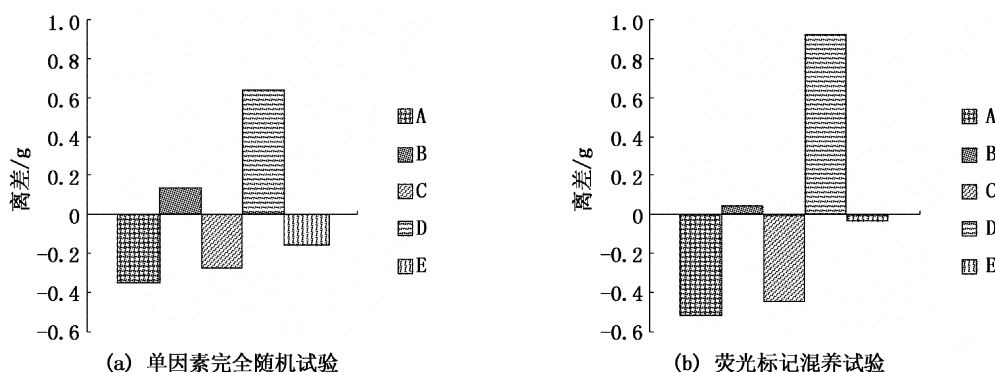


图 1 5 个罗氏沼虾专门化品系选择系子二代实验末重离差图

Fig. 1 Residuals of final body weight of F_2 of 5 specialized strains of *M. rosenbergii*

2.2 微卫星分析

2.2.1 遗传多样性

利用 8 对微卫星引物 (表 1) 对罗氏沼虾专门化品系选择系子二代进行 SSR 扩增。8 对微卫星

引物在 5 个选择系中共检测到了 50 个等位基因。反映各座位在罗氏沼虾子二代中遗传多样性的参数 N_e 、 N_s 、 H_o 、 H_e 和 PIC 值列于表 5。各座位的等位基因数 (N_e) 为 4 ~ 12 个, 平均等位基因数是

6.25 个;有效等位基因 (N_e) 为 2.471 9 ~ 5.903 1,平均有效等位基因数为 3.666 2。各位点的平均杂合度观测值 (H_o) 为 0.435 0,平均杂合度期望值 (H_e) 为 0.707 6。各个座位的多态信息含量 (PIC) 在 0.529 4 ~ 0.813 1 之间,均为高度多态。5 个选择系的多态信息含量从小到大依

次为:C(0.434 0)、A(0.480 4)、D(0.513 4)、B(0.519 3)和 E(0.555 7),为中度和高度多态性。各选择系的遗传参数列于表 6。除了 H_o 和 PIC 外,其余 4 项遗传多样性指标大小顺序依次为: $B > E > A > D > C$ 。

表 5 8 个微卫星座位在罗氏沼虾专门化品系选择系子二代的遗传参数

Tab.5 Genetic diversity parameters at the 8 microsatellite loci of F_2 of specialized strains of *M. rosenbergii*

位点	等位基因数	有效等位基因数	观测杂合度	期望杂合度	多态信息含量
Mr7-88	7	3.873 5	0.389 5	0.742 4	0.710 3
SUGbp8-103b	5	2.942 1	0.270 3	0.660 6	0.596 9
SUGbp8-101b	5	3.006 8	0.901 4	0.668 0	0.610 3
SUGbp8-101c	4	2.471 9	0.475 0	0.595 9	0.529 4
SUGbp8-103a	12	5.903 1	0.310 0	0.831 3	0.813 1
MRMB11	7	4.082 1	0.480 1	0.755 6	0.723 2
SUGbp8-137	4	2.775 9	0.162 2	0.640 3	0.568 0
MRMD	6	4.273 9	0.491 3	0.766 6	0.727 2
平均值	6.25	3.666 2	0.435 0	0.707 6	0.659 8

表 6 罗氏沼虾专门化品系选择系子二代在 8 个微卫星座位上的遗传参数

Tab.6 Genetic diversity parameters at the 8 microsatellite loci of F_2 of specialized strains of *M. rosenbergii*

选择系	等位基因数	有效等位基因数	观测杂合度	期望杂合度	多态信息含量	香农指数
A	4.875 0	3.039 0	0.387 5	0.656 6	0.480 4	1.212 6
B	5.625 0	3.527 9	0.418 1	0.710 9	0.519 3	1.391 0
C	3.750 0	2.792 2	0.517 7	0.606 0	0.434 0	1.062 0
D	4.500 0	2.803 3	0.418 8	0.616 6	0.513 4	1.103 2
E	5.500 0	3.423 7	0.444 8	0.693 6	0.555 7	1.356 2

2.2.2 各选择系间的遗传分化

通过分析表 7 中 5 个选择系各位点的遗传分化系数 (G_{ST}) 和基因流 (N_m) 发现,中度遗传分化 ($0.05 < G_{ST} < 0.15$) 的位点有 6 个;遗传分化微弱 ($0 < G_{ST} < 0.05$) 的位点有 2 个。各选择系的平均遗传分化系数为 0.074 5,表明 7.45% 的遗传

分化来自选择系间,92.55% 的遗传分化来自选择系内个体间。 N_m 与 G_{ST} 是负相关的,根据基因流的大小,在选择系间遗传分化较小 ($N_m > 4$) 的位点有 3 个,分别为 Mr7-88、SUGbp8-101b 和 SUGbp8-101c;其余 5 个位点在各选择系之间存在一定程度的分化。

表 7 罗氏沼虾各位点的基因分化系数和基因流

Tab.7 G_{ST} and N_m at 8 microsatellite loci of *M. rosenbergii*

位点	基因分化系数	基因流	位点	基因分化系数	基因流
Mr7-88	0.050 8	4.672 4	MRMB11	0.070 9	3.277 2
SUGbp8-103b	0.098 0	2.299 9	SUGbp8-137	0.082 3	2.789 4
SUGbp8-101b	0.027 1	8.976 7	MRMD	0.101 5	2.212 8
SUGbp8-101c	0.018 0	13.615 3	平均值	0.074 5	3.104 5
SUGbp8-103a	0.128 1	1.701 1			

2.2.3 各选择系间的遗传距离与聚类分析

5 个罗氏沼虾选择系子二代的遗传距离和遗

传相似系数如表 8 所示。选择系 A 和选择系 C 之间的遗传距离最大为 0.350 6,遗传相似系数

最小(0.704 2);选择系 B 和选择系 E 之间的遗传距离最小为 0.095 8,遗传相似系数最大(0.908 7)。根据罗氏沼虾 5 个专门化品系选择系间的遗传距离,用 UPGMA 法进行聚类分析(图

2)。从图中可以看出 B 和 E 先聚在一起,再与 A 聚在一起,然后与 D 聚在一起,最终和 C 聚在一起。

表 8 5 个罗氏沼虾专门化品系选择系子二代 Nei's 遗传距离与遗传相似系数
Tab. 8 Nei's genetic distance and genetic identity in F_2 of 5 specialized strains of *M. rosenbergii*

	A	B	C	D	E
A	-	0.817 5	0.704 2	0.793 7	0.868 4
B	0.201 5	-	0.794 8	0.811 6	0.908 7
C	0.350 6	0.229 7	-	0.728 7	0.873 1
D	0.231 0	0.208 8	0.316 5	-	0.867 5
E	0.141 1	0.095 8	0.135 7	0.142 2	-

注:对角线以上为遗传相似性指数,对角线以下为遗传距离。

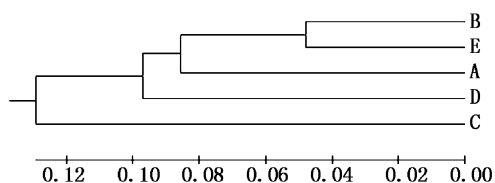


图 2 根据遗传距离用 UPGMA 法构建
5 个罗氏沼虾专门化品系选择系
子二代的系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree based on genetic distance
of F_2 of 5 specialized strains of *M. rosenbergii*
by UPGMA methods

3 讨论

3.1 罗氏沼虾各选择系生长比较分析

本文通过 5 个罗氏沼虾专门化品系选择系子二代的生长比较分析,发现选择系间的生长表现有明显差异。在水产动物生长比较研究中,导致实验结果产生差异的主要原因包括养殖环境、饲养密度、所摄取饵料的质量以及实验对象本身的遗传差异等^[30-33]。由于本实验的养殖环境和管理条件等都基本控制在相同的条件下,尽量避免这些因素对罗氏沼虾生长造成的影响,因此可以认为这些差异是各选择系间遗传结构不同所引起的。为使生长对比实验更具准确性和可靠性,首先采用单因素完全随机设计和荧光标记后混养两种实验形式进行罗氏沼虾专门化品系选择系子二代生长比较,结果表明两种实验分析结果基本一致;其次使用绝对增重率和特定增重率对罗氏沼虾的生长快慢进行综合分析,有利于

克服或纠正初始规格对实验末重的影响^[34]。

在体重变异系数方面,子二代的体重变异程度比子一代的体重变异程度小,说明经过继代选育,选育群体内个体间生长速度更加趋于一致。通过比较子一代和子二代符合各选择系体型的比例发现,子二代中符合各选择系体型的比例较子一代都有明显增加,其中 B 增幅最为明显,增幅高达 28.83%,另外,子一代 E 选择系中符合 E 比例最少,只有 2.2%,但是选育至子二代时,已经达到 12.77%,可见罗氏沼虾各选择系的选育效果都朝着预计的育种方向发展。生长比较结果显示,选择系 B 和 D 的子二代的生长速度优于其他选择系子二代,具有较好的生长优势,可以作为优良的品系选择系进行进一步纯化培育。

3.2 罗氏沼虾各选择系遗传多样性分析

遗传多样性是种质资源多样性的核心。最大限度地维持种内遗传多样性,是持续利用种质资源的前提和基础,进行长期的人工选育工作更要设法尽可能地保证选育群体的遗传多样性,以保证选育工作的顺利进行,从而获得优良的选育新品种(系)^[35]。多态信息含量(PIC)和遗传杂合度(H)是度量群体遗传多样性的两个常用参数。PIC 和 H 值越大,说明群体内基因一致性越差,变异性就越大,选择的潜力也就大;反之,PIC 和 H 值越小,说明群体变异越小,选择的潜力也就小^[36-37]。本实验中,8 个微卫星座位的多态信息含量在 0.529 4~0.813 1 之间,均为高度多态。说明 8 对微卫星引物在该选育群体中能够提供比较丰富的多态信息含量进行可靠的遗传多样性分析。实验中选择系 A(0.480 4)和 C

(0.434 0) 为中度多态, 选择系 B(0.519 3)、D(0.513 4) 和 E(0.555 7) 为高度多态。表明 5 个罗氏沼虾专门化品系选择系均有较大的选育空间。各选择系的平均观测杂合度(H_o) 都略低于平均期望杂合度(H_e), 说明存在一定程度的杂合子缺失。出现这种现象的原因可能是群体在人工选育过程中近交选择引起的^[38]。在日本对虾(*Penaeus japonicus*) 引入意大利后由于有效群体数量太少, 导致近亲交配几率增加, 使得 F_1 至 F_6 的杂合度下降了 61.8%, 群体的遗传多样性水平下降^[39]。张天时等^[40] 在对中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*) 进行定向选育时采取一定的措施保证有效亲本大小, 基础群体至 F_6 的杂合度只下降了 3.5%, 有效避免了上述现象。

人工选育能够对经济性状(如生长性状)予以改良, 使基因不断纯化; 同时因为选育群体往往是封闭的群体, 所以容易发生瓶颈效应, 造成近交衰退。在对罗氏沼虾进一步人工选育时, 务必要注意保持繁育亲本群体的有效数量和质量, 尽可能地避免种质混杂、近交及瓶颈效应的发生, 有效保存繁育群体的遗传物质基础, 更好地挖掘经济性状改良的潜力, 这对罗氏沼虾种质资源的保护与利用有积极的指导意义。

3.3 罗氏沼虾各选择系遗传差异分析

群体间遗传分化系数(G_{ST}) 是度量群体间基因分化程度的一个较好指标^[38], 其数值大小与两群体间的遗传分化水平呈正相关。本实验中 8 个微卫星位点中有中度遗传分化的位点 6 个, 遗传分化微弱的位点有 2 个, 说明罗氏沼虾选育群体仍保持着较为丰富的遗传变异水平。根据各选择系的平均遗传分化系数发现, 高达 92.55% 的遗传分化来自选择系内个体间, 表明绝大部分的遗传分化是在各选择系内检测到的, 这也体现出罗氏沼虾各选择系的遗传多样性并没有显著降低。

以等位基因频率计算的两两间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^[41]。本研究用微卫星标记分析 5 个罗氏沼虾选择系子二代的遗传距离和遗传相似系数。结果表明, 选择系 A 和选择系 C 之间的遗传距离最大为 0.350 6; 选择系 B 和选择系 E 之间的遗传距离最小为 0.095 8。现代杂种优势

理论认为亲本间遗传差异的大小在一定程度上决定了杂种优势的大小, 遗传距离越大所产生的杂种优势越大^[36]。MELCHINGER 等^[42] 利用 RFLP 技术研究了玉米杂种优势与亲本遗传距离的关系, 认为在遗传距离小于 0.54 的情况下, 亲本间的遗传距离越大, 杂交子代基因型的杂合度越高, 则杂种优势越强。王炳谦等^[43] 利用微卫星标记探测的遗传距离预测 25 个虹鳟杂交组合的优劣性, 结果与利用配合力分析预测的结果基本一致。这提示在人工选育时, 利用遗传距离进行杂交优势的预测, 可以避免实际杂交实验的盲目性^[44]。因此对罗氏沼虾 5 个专门化品系进行杂交选择, 在利用常规配合力对杂交优势评估的同时, 可以考虑选择两两间遗传距离较大而又具有良好经济性状的罗氏沼虾进行杂交实验, 估测最佳杂交优势组合。

参考文献:

- [1] NEW M B. Farming freshwater prawns: a manual for the culture of the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) [M]. FAO, Fisheries Technical Paper, 2002: 428.
- [2] 陈宗永. 罗氏沼虾抱卵亲虾质量差和数量不足的成因与对策探讨[J]. 广西水产科技, 2000(4): 26-28.
- [3] 罗坤, 杨国梁, 孔杰, 等. 罗氏沼虾不同群体杂交效果分析[J]. 海洋水产研究, 2008, 29(3): 67-73.
- [4] 史建华, 肖雨, 徐琴英. 罗氏沼虾引种复壮技术的研究[J]. 水产科技情报, 2001, 28(2): 64-67.
- [5] 相建海. 海洋动物细胞和种群生化遗传学[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1999.
- [6] 周劲松, 曹哲明, 杨国梁, 等. 罗氏沼虾缅甸引进种和浙江本地种及其杂交种的生长性能与 SRAP 分析[J]. 中国水产科学, 2006, 13(4): 667-673.
- [7] 张吕平, 吴立峰, 沈琪, 等. 凡纳滨对虾全同胞家系的建立及生长比较[J]. 水产学报, 2009, 33(6): 932-939.
- [8] 李健, 刘萍, 何玉英, 等. 中国对虾快速生长新品种“黄海 1 号”的人工选育[J]. 水产学报, 2005, 29(1): 1-5.
- [9] ARGUE B J, ARCE S M, LOTZ J M, et al. Selective breeding of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) for growth and resistance to Taura Syndrome Virus [J]. Aquaculture, 2002, 204(3): 447-460.
- [10] KENWAY M, MACBETH M, SALMON M, et al. Heritability and genetic correlations of growth and survival in black tiger prawn *Penaeus monodon* reared in tanks [J]. Aquaculture, 2006, 259(1): 138-145.
- [11] PRESTON N P, CROCOS P J, KEYS S J, et al. Comparative growth of selected and non-selected Kuruma shrimp *Penaeus*

- (*Marsupenaeus*) *japonicus* in commercial farm ponds; implications for broodstock production [J]. *Aquaculture*, 2004, 231(1): 73–82.
- [12] GOYARD E, PATROIS J, PEIGNON J, et al. Selection for better growth of *Penaeus stylirostris* in Tahiti and New Caledonia [J]. *Aquaculture*, 2002, 204(3): 461–468.
- [13] 王文文, 常玉梅, 梁利群. 微卫星分析四个大黄鱼群体的遗传多样性 [J]. *水产学杂志*, 2009, 22(2): 6–11.
- [14] 张留所, 相建海. 凡纳滨对虾微卫星位点在两个选育家系中遗传的初步研究 [J]. *遗传*, 2005, 27(6): 919–924.
- [15] ZANE L, BARGELLONI L, PATAMELLO T. Strategies for microsatellites isolation: a review [J]. *Molecular Ecology*, 2002, 11: 1–16.
- [16] BHASSU S, SEE L, HASSAN R, et al. Isolation and characterization of microsatellite loci in the Malaysian giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2008, 8(5): 983–985.
- [17] BHAT S, PATEL A, DAS P, et al. Isolation and characterization of microsatellite loci in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* [J]. *Conservation Genetics*, 2009, 10(5): 1473–1475.
- [18] DIVU D, KARUNASAGAR I. Microsatellite DNA markers in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*: a tool for genetic analysis [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2008, 8(5): 1040–1042.
- [19] 罗坤, 张天时, 孔杰, 等. 中国对虾幼虾荧光体内标记技术研究 [J]. *海洋水产研究*, 2008, 29(3): 48–52.
- [20] STRAUSS W M. Preparation of genomic DNA from mammalian tissue [J]. *Current Protocols in Molecular Biology*, 1998, 5(1): 221–223.
- [21] 戴习林, 邓平平, 施永海, 等. 罗氏沼虾 SSR 标记再开发及其影响因素初探 [J]. *生物技术通报*, 2012(10): 142–149.
- [22] 李思发. 淡水鱼类种群生态学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1990.
- [23] 明道绪. 生物统计附试验设计 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [24] 颜晓勇, 钟金香, 李思发, 等. 吉富品系尼罗罗非鱼选育系 F_6 , F_7 和 F_8 当年鱼生长对比研究 [J]. *南方水产*, 2009, 5(1): 48–53.
- [25] 李思发, 韩风进. 尼罗罗非鱼吉富品系养殖推广中试研究 [J]. *水产科技情报*, 1997, 24(6): 257–262.
- [26] HAN Z, WANG C, SONG X, et al. Characteristics, development and mapping of Gossypium hirsutum derived EST-SSRs in allotetraploid cotton [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, 112(3): 430–439.
- [27] NEI M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. *Genetics*, 1978, 89(3): 583–590.
- [28] YEH F C, YANG R C, BOYLE T B, et al. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis [M]. Molecular biology and biotechnology centre, University of Alberta, Canada, 1997.
- [29] 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: 314–331.
- [30] 高强, 栾生, 杨国梁, 等. 罗氏沼虾选育新品种——“南太湖 2 号”与非选育群体生长性能的比较 [J]. *大连海洋大学学报*, 2012, 27(2): 120–124.
- [31] 张永泉, 尹家胜, 王丙乾, 等. 养殖密度对白点鲑幼鱼生长、存活以及行为的影响 [J]. *大连水产学院学报*, 2009, 24(6): 520–524.
- [32] 郭冉, 刘永坚, 田丽霞, 等. 不同淀粉糊化度对凡纳滨对虾生长和体营养成分的影响 [J]. *大连海洋大学学报*, 2010, 25(5): 402–406.
- [33] 石宇光, 刘海金, 刘永新. 雌核发育牙鲆家系的生长比较和形态分析 [J]. *大连海洋大学学报*, 2010, 25(4): 324–329.
- [34] 李思发, 韩风进. 尼罗罗非鱼五品系生长性能评估 [J]. *水产学报*, 1998, 22(4): 314–321.
- [35] 池喜峰, 贾智英, 李池陶, 等. 鲤易捕性状选育群体不同世代微卫星分析 [J]. *上海海洋大学学报*, 2010, 19(3): 308–313.
- [36] 蒋家金, 李瑞伟, 叶富良. 罗非鱼 4 个选育群体遗传结构 SSR 分析 [J]. *广东海洋大学学报*, 2008, 28(4): 10–14.
- [37] 李金莲, 芒来, 石有斐. 利用微卫星标记对蒙古马和纯血马遗传多样性的研究 [J]. *畜牧兽医学报*, 2005, 36(1): 6–9.
- [38] 陈文华, 李建林, 徐跑, 等. 五个家系吉富罗非鱼的遗传多样性分析 [J]. *生物技术通报*, 2009(8): 83–87.
- [39] SBORDONI V, de MATTHAEIS E, COBOLLI S M, et al. Bottleneck effects and the depression of genetic variability in hatchery stocks of *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda) [J]. *Aquaculture*, 1986, 57(1): 239–251.
- [40] 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): 72–80.
- [41] 于爱清, 李思发, 蔡完其. “新吉富”罗非鱼选育 F_{10} ~ F_{13} 遗传变异微卫星分析 [J]. *上海海洋大学学报*, 2011, 20(1): 1–7.
- [42] MELCHINGER A, LEE M, LAMKEY K, et al. Genetic diversity for restriction fragment length polymorphisms and heterosis for two diallel sets of maize inbreds [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1990, 80(4): 488–496.
- [43] 王炳谦, 谷伟, 高会江, 等. 利用配合力和微卫星标记预测虹鳟品系间的杂交优势 [J]. *中国水产科学*, 2009, 16(2): 206–213.
- [44] 孙少华, 桑润滋, 师守莹, 等. 肉牛杂交优势预测评估及其应用研究 [J]. *遗传学报*, 2000, 27(7): 580–589.

Comparison of growth performance and analysis of genetic structure of 5 specialized strains of *Macrobrachium rosenbergii*

JIANG Fei¹, DAI Xi-lin¹, ZHU Qi-jian¹, GUO Zheng-qian¹, SU Jian¹, JU Bo¹, DING Fu-jiang²

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shanghai Shencao Special Fisheries Development Co. Ltd, Shanghai 201516, China)

Abstract: Growth performance of F_2 of 5 specialized strains of *Macrobrachium rosenbergii* (A, B, C, D and E) was checked by one-way completely randomized design and polyculture in concrete ponds with the fluorescent tag. The results indicated that the ranks of AGR and SGR were $D > B > E > C > A$ in either one-way completely randomized experiment or polyculture in concrete ponds with the fluorescent tag. AGR and SGR by ANOVA and Duncan for strains of multi-average revealed that F_2 of B and D were strains with the best growth traits. Every proportion of body form of F_2 was greater than F_1 ; Variation coefficient of body weight of F_2 was lower than F_1 , the most obvious decline in the comparison of F_2 and F_1 was B, decreasing 49.22%. All of them suggested preliminary benefit of strain selecting. Microsatellite markers were used to analyze the genetic diversity and genetic differentiation of F_2 of 5 specialized strains, including 630 individuals. The results showed the allele number was 6.25; average effective allele number was 3.666 2; average observed heterozygosity value was 0.435 0; the average expected heterozygosity value was 0.707 6. All of these five specialized strains in the ascending order the PIC was $C(0.434 0) < A(0.480 4) < D(0.513 4) < B(0.519 3) < E(0.555 7)$, which indicated a moderate or high level of polymorphism. The average genetic differentiation coefficient at each locus was 0.074 5, and the majority of genetic variation was attributed to difference of individuals within specialized strains, suggesting that each specialized strain also has some potential for further selective breeding.

Key words: *Macrobrachium rosenbergii*; specialized strains; growth; genetic diversity