

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20190527004

http://www.yykxjz.cn/

方振朋, 孟宪红, 李旭鹏, 栾生, 曹家旺, 陈宝龙, 孔杰, 闫茂仓, 胡利华. 基于微卫星分子标记的凡纳滨对虾商业苗种遗传多样性分析. 渔业科学进展, 2020, 41(5): 101-109

Fang ZP, Meng XH, Li XP, Luan S, Cao JW, Chen BL, Kong J, Yan MC, Hu LH. Genetic diversity analysis of domestic commercial brands seedlings of *Litopenaeus vannamei* based on microsatellite molecular markers. Progress in Fishery Sciences, 2020, 41(5): 101-109

## 基于微卫星分子标记的凡纳滨对虾 商业苗种遗传多样性分析\*

方振朋<sup>1,2</sup> 孟宪红<sup>2①</sup> 李旭鹏<sup>2</sup> 栾生<sup>2</sup>  
曹家旺<sup>2</sup> 陈宝龙<sup>2</sup> 孔杰<sup>2</sup> 闫茂仓<sup>3</sup> 胡利华<sup>3</sup>

(1. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306; 2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 农业农村部海洋渔业可持续发展重点实验室 青岛海洋科学与技术试点国家实验室海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室 青岛 266071; 3. 浙江省近岸水域生物资源开发与保护重点实验室 温州 325005)

**摘要** 为研究我国凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)商业苗种的遗传多样性特征,于河北、山东、广东、海南等地采集了6个有代表性的凡纳滨对虾品牌苗种,分别命名为黄骅R、东营M、广州P、广州Z、海南S和海南Z,以8个微卫星标记检测其遗传多样性。结果显示,6个品牌的凡纳滨对虾在8个位点呈现不同程度的多态性,其平均等位基因数( $N_a$ )、期望杂合度( $H_e$ )、观测杂合度( $H_o$ )和多态信息含量(PIC)分别为4.5~9.5、0.516~0.733、0.346~0.550和0.472~0.700,各品牌遗传多样性丰富程度从高到低分别为黄骅R>广州Z>广州P>海南Z>东营M>海南S。哈迪-温伯格平衡(HWE)检验显示,4.17%(2/48)的检测结果表明为显著的偏离( $0.01 < P < 0.05$ ),58.33%(28/48)表现为极显著偏离( $P < 0.01$ )。分子变异方差分析(AMOVA)发现,12%的变异来自品牌间,24%的变异来自品牌内个体间,其余64%的变异均来自所有品牌个体。UPGMA聚类分析结果显示,6个品牌的凡纳滨对虾聚为2个明显的分支,广州P和广州Z聚为一支,东营M、黄骅R、海南Z和海南S聚为一支。主成分分析(PCA)结果显示,各品牌凡纳滨对虾无法单独进行聚类。本研究初步分析了当前国内养殖凡纳滨对虾的遗传背景,实验结果可为凡纳滨对虾良种选育提供数据支撑。

**关键词** 凡纳滨对虾; 商业苗种; 微卫星; 遗传多样性

**中图分类号** S917.4 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2020)05-0012-09

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)原产地主要为中、南美的秘鲁北部至墨西哥太平洋沿岸,尤其以

\* 浙江省近岸水域生物资源开发与保护重点实验室开放基金项目(J2018003)、中国水产科学研究院基本科研业务费(2018GH10)、山东省农业良种工程(2017LZN011)、泰山学者良种工程项目和现代农业产业技术体系专项资金(CARS-48)共同资助 [This work was supported by Open Research Fund from Zhejiang Key Laboratory of Exploitation and Preservation of Coastal Bio-Resource (J2018003), Central Public-Interest Scientific Institution Basal Research Fund, CAFS (2018GH10), Shandong Province Agricultural Seed Improvement Project (2017LZN011), Taishan Scholar Program for Seed Industry, and China Agriculture Research System(CARS-48)]. 方振朋, E-mail: fangzhenpeng@126.com

① 通讯作者: 孟宪红, 研究员, E-mail: mengxianhong@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2019-05-27, 收修改稿日期: 2019-06-15

厄瓜多尔沿岸分布最为密集(王兴强等, 2004)。凡纳滨对虾为世界三大养殖对虾之一(张伟权, 1990), 其产量约占全球对虾产量的 70%(张龙等, 2019), 具有成活率高、食性广、生长快、适应能力强等优点。凡纳滨对虾于 1988 年从美国引入, 之后迅速在全国范围内普及(于洋, 2014; 唐扬等, 2018), 成为我国海水养殖动物中养殖发展最快的一个种类(马春艳等, 2011)。目前, 我国已成为世界上凡纳滨对虾养殖产量最高的国家(颀晓勇等, 2008; 童馨等, 2009)。

随着我国凡纳滨对虾市场需求量的增大, 对虾苗种培育方式也出现了转变。目前, 在集约化苗种培育技术已达峰值的背景下, 有些育苗场为了进一步降低成本, 种虾不经选育, 长期近交繁殖, 随着养殖产量的增大, 随之而来的问题也越来越多。最大的问题莫过于养殖对虾遗传多样性下降, 加之外来亲本得不到更新, 国内养殖对虾出现了种质退化、病害暴发频繁的现象。从长远角度来看, 查清我国凡纳滨对虾遗传背景, 对进一步培育优良品种和促进可持续健康养殖具有重要指导意义。

分子标记目前已广泛运用于水产动物育种中(张琼等, 2011; 孙苗苗等, 2017; 王军等, 2018), 其中, 又以微卫星(Microsatellite或Simple Sequence Repeats)分子标记应用最为普遍。微卫星标记是 2~6 个碱基为核心的短串联重复序列, 重复单位的重复次数在个体间呈高度变异性且数量丰富, 分布于生物体整个基因组中(Tautz, 1989; Schlötterer *et al.*, 1992)。微卫星标记具有多态性高、重复性好、操作简单、共显性遗传等优点, 被广泛用于对虾群体遗传多样性分析(Bringmann *et al.*, 1996; Postlethwait *et al.*, 1998; 张天时等, 2005; 曾地刚等, 2008)。本研究利用 8 个扩增稳定的微卫星位点, 对国内 6 个商业品牌凡纳滨对虾苗种进行遗传多样性分析, 初步分析当前国内养殖凡纳滨对虾的遗传背景, 为凡纳滨对虾优良品种的选育提供基础数据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

选用我国有代表性的 6 个品牌凡纳滨对虾商业苗种[平均体长为(49.73±1.53) mm, 平均体重为(1.41±0.11) g], 分别命名为黄骅 R、海南 Z、海南 S、广州 Z、广州 P 和东营 M。每个品牌取 30 尾个体进行肌肉组织 DNA 提取, 共计 180 尾凡纳滨对虾个体。

### 1.2 实验方法

采用天根海洋动物组织 DNA 提取试剂盒进行肌肉组织 DNA 提取, 利用紫外分光光度计(BioImaging systems, UVP)进行 DNA 浓度测量, 并根据测量结果将 DNA 稀释至 50 ng/μl。将稀释得到的 DNA 利用 8 个微卫星位点进行 PCR 扩增。PCR 反应体系: 总体积为 20 μl, 其中, 模板 DNA 1.5 μl, (Vazyme) 2 × Taq Master Mix (Dye Plus) 10 μl, 正向和反向引物(10 mmol/L)各 0.8 μl, 灭菌超纯水 6.9 μl。PCR 反应程序: 95℃ 预变性 3 min; 95℃ 变性 30 s; 72℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 共 30 个循环; 72℃ 延伸 5 min; 4℃ 保存。PCR 产物微卫星分型于生工生物工程(上海)股份有限公司, 利用 ABI 3730XL 测序仪完成, 所用微卫星位点及其引物信息见表 1。

### 1.3 数据处理

对 6 个品牌凡纳滨对虾商业苗种进行哈迪-温伯格平衡(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE)检测和遗传多样性分析。利用 GENEPOP version 3.4 软件进行 HWE 检验, 得到精确  $P$  值( $P_{H-W}$ )。通过 Cervus 3.0 计算各位点的等位基因数目(Number of alleles,  $N_a$ ), 观测杂合度(Observed heterozygosities,  $H_o$ )、期望杂合度(Expected heterozygosities,  $H_e$ )、8 个微卫星位点的多态信息含量(Polymorphism information content, PIC)和无效等位基因频率[Null alleles frequency,  $F(\text{Null})$ ]。利用 GenAlEx 6.51 软件计算 6 个品牌凡纳滨对虾在各位点的香农多样性指数(Shannon's diversity index)、8 个位点每个品牌特有等位基因(Private alleles)平均值、各品牌间的遗传分化程度和基因流(包括总的  $F_{ST}$  值以及两两品牌间的  $F_{ST}$  值); 分子变异方差分析(Analysis of molecular variance, AMOVA), 估测遗传变异在品牌内和品牌间的分配情况; 6 个品牌间 Nei's 无偏遗传距离、遗传相似性系数、品牌间遗传距离矩阵、个体间遗传距离矩阵; 利用品牌间和个体间遗传距离矩阵进行主成分分析(Principal coordinate analysis, PCA)。利用 NTSYSpc 2.1 软件按照遗传一致度进行 6 个品牌凡纳滨对虾 UPGMA 聚类。

## 2 结果

### 2.1 6 个商业品牌凡纳滨对虾苗种遗传多样性分析

6 个品牌凡纳滨对虾商业苗种的遗传多样性参数见表 2 和图 1。在 8 个微卫星位点中, 6 个品牌凡纳滨对虾总等位基因数为 36~76 个, 最大为黄骅 R, 最小为东营 M。各品牌平均等位基因数为 4.5~9.5 个。

表 1 8 个微卫星位点信息  
Tab.1 The information of 8 microsatellites loci

位点 Loci	引物序列(5'~3')及荧光类型 Primer sequences (5'~3') and the fluorescence labeling of primers	退火温度 Annealing temperature (°C)	产物片段范围 Amplified fragment size (bp)
TUMXLv7.121	F: HEX-GGCACACTGTTTAGTCCTCG R: CGAACAGAATGGCAGAGGAG	58	194~244
TUMXLv9.90	F: TAMRA-GACCAAAGGATATTGGCTCG R: GTAATCAGGAGATGGTCCGC	58	282~292
M1103	F: 6-FAM-GGCTGTGTTTGCGGTGTAGTTT R: TCATACGATAATGGCATAGAAGG	55	376~391
TUMXLv9.103	F: ROX-CACCAAAACGAACGAAACG R: GGATAAAAACGAATTGTATACCG	58	199~393
Lv12	F: 6-FAM-GATCATTCGCCCTCTTTTT R: ATCTACGGTTCGAGAGCAGA	55	125~134
TUMXLv10.33	F: HEX-CGAAGAGATTTATCCAGGG R: CGTGCATTATTATCCTTTCC	56	252~324
TUMXLv8.256	F: ROX-GGACTCACACTTCTGGTTC R: GGCTGCACCTTGTAAGTC	55	150~163
TUMXLv7.56	F: TAMRA-CCATGGCTTCTCTTCTTTTC R: AGGTAGGGAAGTCGTGAGGG	62	311~490

黄骅 R 平均每个微卫星位点存在 1.625 个特有等位基因, 在所有品牌中最多。东营 M 平均每个位点存在 0.125 个特有等位基因, 为各品牌中最少。8 个微卫星位点的多态信息含量(PIC)值为 0.343~0.925, 最高为 TuMXLv7.56 位点, 最低为 M1103 位点, 除 M1103 位点外, 其他 7 个微卫星位点 PIC 都大于 0.5。黄骅 R、广州 Z 和海南 Z 的香农多样性指数较高, 其他 3 个品牌较低。8 个微卫星位点的无效等位基因频率范围为 0.031~0.403, 5 个位点存在无效等位基因。8 个微卫星位点分别对 6 个品牌凡纳滨对虾进行了 48 次 HWE 检验。其中, 4.17%(2/48)的检测结果表明为显著的偏离( $0.01 < P < 0.05$ ), 58.33%(28/48)表现为极显著偏离( $P < 0.01$ ), 其余的 37.5%(18/48)符合 HWE ( $P > 0.05$ )。

## 2.2 6 个商业品牌凡纳滨对虾的遗传分化

分子变异方差分析(AMOVA)发现, 仅有 12% 的遗传变异来自品牌间, 24% 来自品牌内个体间, 其余 64% 的变异均来自所有品牌个体, 这表明遗传变异主要存在于个体间(表 3)。

6 个品牌凡纳滨对虾商业苗种的  $F$  统计量分别为 0.359 ( $F_{IT}$ ), 0.273 ( $F_{IS}$ ), 0.118 ( $F_{ST}$ )。两两品牌间的值  $F_{ST}$  在 0.034 和 0.111 之间, 均  $< 0.15$ (表 4), 且明显的分成两部分。其中, 小于 0.05 的为 4 组, 占全部 15 组的 26.67%, 没有出现遗传分化( $F_{ST} < 0.05$ ); 介于 0.05 和 0.15 之间的为 11 组, 占全部 15 组的 73.33%,

为中等程度分化( $0.05 < F_{ST} < 0.15$ )。另外, 从基因流分布情况来看, 两两群体间  $N_m > 1$ , 范围为 1.806~7.027 (表 4)。

## 2.3 6 个商业品牌凡纳滨对虾的遗传聚类

从表 5 可以看出, 东营 M 和海南 Z 品牌间的遗传距离最近(0.128), 遗传相似性系数最大(0.880), 亲缘关系最近; 广州 P 和海南 S 品牌间的遗传距离最远(0.549), 遗传相似性系数最小(0.578), 亲缘关系最远。由图 2 可以看出, 6 个品牌的凡纳滨对虾聚为 2 个明显的分支, 广州 P 和广州 Z 聚为一支, 东营 M、黄骅 R、海南 Z 和海南 S 聚为一支。

## 2.4 6 个商业品牌凡纳滨对虾遗传关系主成分分析

主成分分析(PCA)结果显示(图 3), 6 个品牌凡纳滨对虾商业苗种产生了明显的遗传歧化。其中, 广州 P 和广州 Z 最为聚集, 其次为东营 M 和海南 Z, 之后为黄骅 R 和海南 S, 主成分 1 (Coord.1)和主成分 2 (Coord.2)共解释了总遗传变异的 71.22%。在个体水平上, 主成分 1 (Coord.1)和主成分 2 (Coord.2)共解释了总遗传变异的 20.05%。从图 3 可知, 6 个品牌的 180 尾凡纳滨对虾个体聚集较为集中, 其中, 广州 P、广州 Z 和黄骅 R 3 个品牌的凡纳滨对虾交集最大。同时, 每个品牌的凡纳滨对虾个体无法单独聚为一类。

表2 6个品牌凡纳滨对虾在8个微卫星位点中的遗传多样性参数  
Tab.2 Genetic diversity indices of 8 microsatellite loci of *L. vannamei* from 6 brands

品牌 Brands	参数 Indices	位点 Loci							
		TuMXLv 8.256	M1103	TuMXLv 7.121	TuMXLv 9.90	Lv12	TuMXLv 9.103	TuMXLv 7.56	TuMXLv 10.33
广州 P	$N_a$	5	5	4	8	9	10	12	7
	$N_e$	2.590	2.187	3.209	4.775	5.279	4.986	6.977	4.235
	$I$	1.195	1.109	1.261	1.731	1.839	1.870	2.176	1.619
	$H_o$	0.233	0.533	0.733	0.567	0.600	0.600	0.867	0.200
	$H_e$	0.614	0.543	0.688	0.791	0.811	0.799	0.857	0.764
	$P_{H-w}$	0	0.090	0.570	0	0.270	0	0	0
广州 Z	$N_a$	6	5	5	8	7	15	16	7
	$N_e$	2.667	1.933	2.857	4.523	4.327	8.219	9.677	3.082
	$I$	1.278	0.873	1.288	1.742	1.630	2.409	2.451	1.433
	$H_o$	0.267	0.533	0.500	0.433	0.433	0.633	0.867	0.133
	$H_e$	0.625	0.483	0.650	0.779	0.769	0.878	0.897	0.676
	$P_{H-w}$	0	1.000	0.040	0	0	0	0	0
海南 Z	$N_a$	6	5	6	11	6	12	10	7
	$N_e$	2.795	1.421	3.020	4.986	2.975	5.863	7.087	4.337
	$I$	1.321	0.649	1.361	1.920	1.316	2.013	2.087	1.653
	$H_o$	0.267	0.300	0.867	0.800	0.633	0.700	0.833	0.533
	$H_e$	0.642	0.296	0.669	0.799	0.664	0.829	0.859	0.769
	$P_{H-w}$	0	0.140	0.370	0	0	0	0.440	0.130
东营 M	$N_a$	3	2	5	7	5	4	8	2
	$N_e$	1.665	1.514	2.643	4.433	2.242	3.141	4.412	1.342
	$I$	0.642	0.523	1.235	1.680	1.093	1.231	1.647	0.423
	$H_o$	0.467	0.233	0.633	0.767	0.133	0.400	0.700	0.233
	$H_e$	0.399	0.339	0.622	0.774	0.554	0.682	0.773	0.255
	$P_{H-w}$	0.750	0.090	0.980	0.170	0	0.010	0.520	0.640
黄骅 R	$N_a$	8	3	6	11	10	12	15	11
	$N_e$	3.066	1.439	3.346	8.108	5.573	5.769	11.842	3.364
	$I$	1.525	0.532	1.393	2.231	1.942	2.060	2.569	1.622
	$H_o$	0.433	0.300	0.700	0.800	0.467	0.333	0.633	0.333
	$H_e$	0.674	0.305	0.701	0.877	0.821	0.827	0.916	0.703
	$P_{H-w}$	0	0.990	0.140	0.620	0	0	0	0
海南 S	$N_a$	6	2	5	4	3	4	7	7
	$N_e$	2.927	1.142	2.296	2.353	1.106	3.025	4.412	3.015
	$I$	1.291	0.245	1.028	1.002	0.230	1.212	1.624	1.359
	$H_o$	0.300	0.133	0.333	0.433	0.033	0.467	0.700	0.367
	$H_e$	0.658	0.124	0.564	0.575	0.096	0.669	0.773	0.668
	$P_{H-w}$	0	0.700	0	0.100	0	0	0	0

### 3 讨论

微卫星分子标记在种内有高度的遗传变异,是群体遗传分化分析的有效标记(孙效文等, 2008)。微卫星分子标记广泛分布于基因组中,数量众多,容易检测,在分子辅助育种和物种多样性检测等方面被广泛

应用(张丽娟等, 2014)。群体的遗传多样性来源于物种适应复杂环境和生存进化(Li *et al.*, 2016),其主要表现在等位基因数的丰富和均匀程度、遗传杂合度的大小、多态信息含量的高低 3 个方面(Beardmore *et al.*, 1997; 王鹤等, 2016)。研究发现,等位基因越丰富,遗传杂合度数值越大,多态信息含量越高,则群体遗

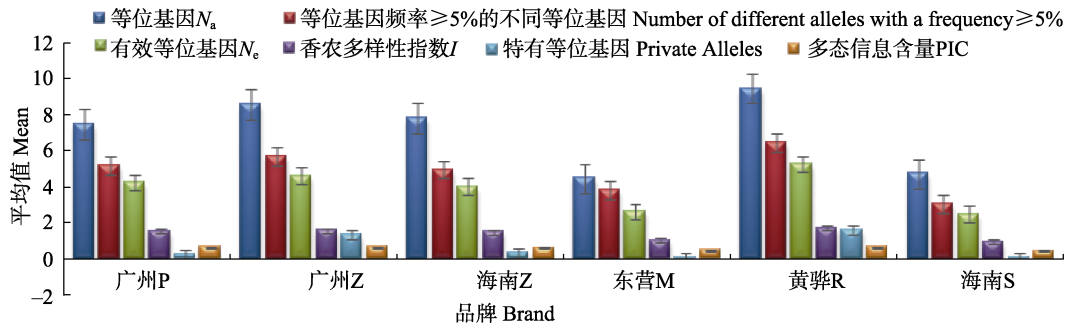


图 1 6 个品牌凡纳滨对虾商业苗种遗传多样性参数均值(8 个微卫星位点)

Fig. 1 Mean value of genetic diversity parameters of *L. vannamei* from 6 brands (8 microsatellite loci)

表 3 6 个品牌凡纳滨对虾分子变异方差分析

Tab.3 Analysis of molecular variances (AMOVA) of microsatellites in 6 brands of *L. vannamei*

变异 Source of variation	自由度 df	总方差 Sum of squares	变异组分 Variance components	占总变异的百分比 Percentage of variation	固定系数 Fixation indices	P
品牌间 Among brands	5	124.825	0.359	12%	0.118	0.001
品牌内个体间 Among individuals	174	594.033	0.732	24%	0.273	0.001
所有个体间 Within individuals	180	351.000	1.950	64%	0.359	0.001
总计 Total	359	1069.858	3.041	100%		

表 4 6 个品牌凡纳滨对虾  $F_{ST}$  值(下三角)与  $N_m$  值(上三角)

Tab. 4 Pair-wise  $F_{ST}$  (below the diagonal) and  $N_m$  (above the diagonal) between six brands of *L. vannamei*

	广州 P	广州 Z	海南 Z	东营 M	黄骅 R	海南 S
广州 P	1	7.027	4.175	2.061	4.995	1.806
广州 Z	0.034	1	4.015	2.657	6.108	1.988
海南 Z	0.056	0.059	1	5.146	5.231	3.205
东营 M	0.059	0.086	0.046	1		2.093
黄骅 R	0.108	0.039	0.046	0.085	1	3.394
海南 S	0.086	0.111	0.072	0.107	0.069	1

表 5 6 个品牌凡纳滨对虾遗传相似性系数(下三角)与遗传距离(上三角)

Tab.5 Genetic similarity coefficient (below the diagonal) and genetic distance (above the diagonal) of six brands' *L. vannamei*

	广州 P	广州 Z	海南 Z	东营 M	黄骅 R	海南 S
广州 P	1	0.172	0.314	0.510	0.286	0.549
广州 Z	0.842	1	0.317	0.359	0.212	0.447
海南 Z	0.730	0.729	1	0.128	0.241	0.222
东营 M	0.601	0.698	0.880	1	0.366	0.318
黄骅 R	0.751	0.809	0.786	0.694	1	0.206
海南 S	0.578	0.639	0.801	0.728	0.814	1

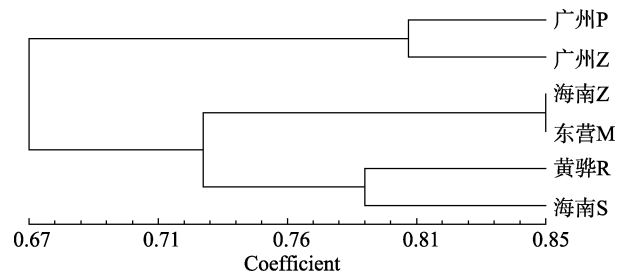


图 2 根据遗传一致度构建的 UPGMA 树

Fig. 2 UPGMA dendrogram based on genetic identity of *L. vannamei* from 6 brands

传变异更高, 更能应对环境变化, 也更能产生优质的种质资源(Eschenroeder *et al*, 2016)。

关于凡纳滨对虾微卫星标记开发和筛选的工作已有大量报道(Meehan, *et al*, 2003; 马宁等, 2013; 杨铭等, 2017)。本研究从实验室发表过的文章(李东宇等, 2016)中筛选出 8 个扩增稳定的微卫星位点, 分析了 6 个国内品牌的凡纳滨对虾商业苗种的遗传多样性、遗传结构和亲缘关系。结果显示, 87.5% (7/8) 的位点平均多态信息含量(PIC)都在 0.5 以上。根据 Botstein 等(1980)提出的衡量标准, 当  $PIC > 0.5$  时, 意味着该位点为高度多态位点, 这也说明本研究所引用的微卫星标记的多态性较高。基因杂合度是衡量群体

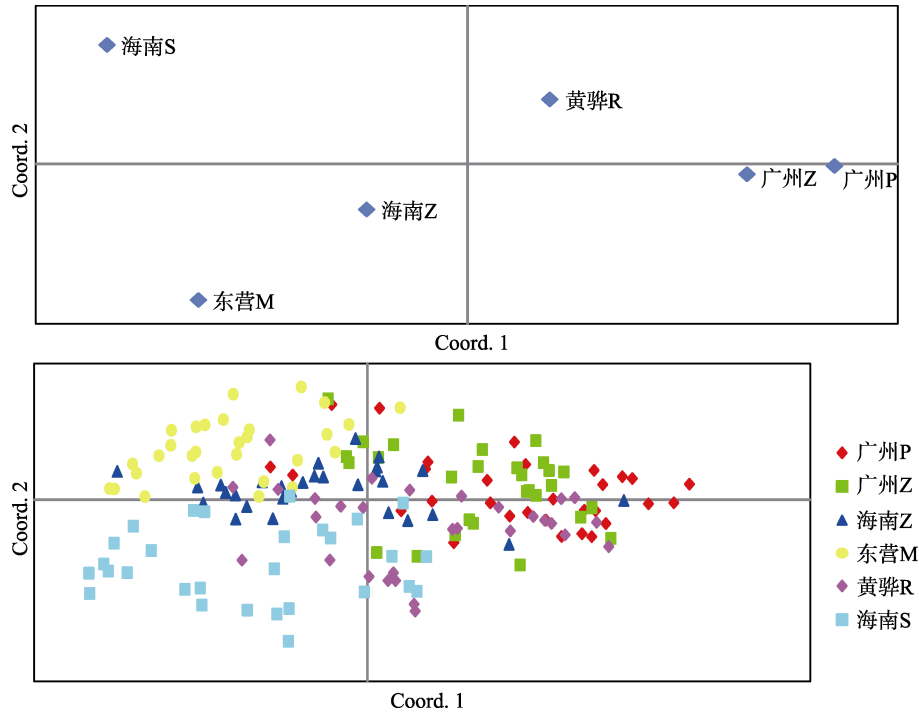


图 3 6 个品牌凡纳滨对虾主成分分析

Fig. 3 Principal coordinate analysis (PCA) for *L. vannamei* from six brands

遗传变异水平的理想参数(王日芳等, 2017), 8 个微卫星位点中的观测杂合度( $H_o$ )平均为 0.486, 期望杂合度( $H_e$ )平均为 0.745, 观测杂合度小于期望杂合度, 也从一个侧面说明了国内商业苗种凡纳滨对虾出现了杂合子缺失、纯合子过剩的情况。在进行微卫星分型的 8 个位点中, 有 5 个(62.5%)位点显著偏离 HWE ( $P < 0.05$ )。产生该结果的原因: 一方面为实验对虾纯合子过剩、杂合子缺失; 另一方面为水产动物生物结构较为简单, 从而导致的遗传变异度也较高。因此, 造成微卫星位点在同一物种不同个体中发生碱基形态和数目的变异, 无法扩增正确的等位基因, 扩增的无效等位基因会导致分型结果显著偏离 HWE (舒妙安等, 2011; 宋忠魁等, 2013)。亲缘关系的远近可以用遗传距离来反映(陈子桂等, 2016; 刘洪涛等, 2018)。在本研究中, 遗传距离最大的 2 个品牌是广州 P 和海南 S, 遗传距离最小的 2 个品牌是东营 M 和海南 Z, 并且针对个体的遗传关系主成分分析(PCA)表明, 6 个品牌的凡纳滨对虾无法依照每个品牌单独聚集, 品牌间亲缘关系较为接近。这种结果表明, 当前国内不同品牌的凡纳滨对虾来源存在一定的相似性, 也可能是二代、三代苗种导致部分品牌对虾出现近交情况, 使其亲缘关系逐渐接近。

种苗处于对虾产业链上游, 其质量对养殖成败起关键作用(黄小帅等, 2019)。本研究所分析的 6 个品

牌凡纳滨对虾商业苗种中, 黄骅 R 与广州 Z 具有较高的遗传多样性, 不同品牌的商业苗种间的遗传特征存在一定差异。在当前凡纳滨对虾养殖规模不断扩大的情况下, 研究遗传因素与养殖生产性能之间的关联尤为重要, 只有充分掌握对虾群体的遗传背景, 才能合理利用杂交优势进行良种选育。

## 参 考 文 献

- Beardmore JA, Mair GC, Lewis RI. Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. *Aquaculture Research*, 1997, 28(10): 829–839
- Botstein D, White RL, Skolnick M, *et al.* Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 1980, 32(3): 314–331
- Bringmann P, Rinke J, Appel B, *et al.* Microsatellite polymorphism and the population structure of Atlantic cod (*Gadus morhua*) in the northwest Atlantic. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1996, 53(4): 2706–2721
- Chen ZG, Wang PP, Liao Y, *et al.* Genetic diversity analysis of  $F_2$  generation families of carp hybrid lines population using microsatellite. *Fisheries Science and Technology Information*, 2016, 43(2): 83–87 [陈子桂, 王培培, 廖愚, 等. 微卫星分析鲤鱼杂交系  $F_2$  代家系群体遗传多样性. *水产科技情报*, 2016, 43(2): 83–87]
- Eschenroeder JC, Roberts JH. Novel polymorphic microsatellite

- loci for distinguishing rock bass (*Ambloplites rupestris*), Roanoke bass (*Ambloplites cavifrons*), and their hybrids. *Molecular Biology Reports*, 2016, 43(10): 1035–1039
- Huang XS, Xu Y, Hu XJ, *et al.* Genetic diversity analysis of first filial generation of seven introduced *Litopenaeus vannamei* populations using microsatellite DNA markers. *South China Fisheries Science*, 2019, 15(1): 54–62 [黄小帅, 徐煜, 胡晓娟, 等. 利用微卫星标记分析 7 个凡纳滨对虾引进群体子一代的遗传多样性. *南方水产科学*, 2019, 15(1): 54–62]
- Jie XY, Su TF, Chen W, *et al.* Analysis on genetic diversity of six cultured stocks of *Litopenaeus vannamei*. *South China Fisheries Science*, 2008, 4(6): 42–49 [颀晓勇, 苏天凤, 陈文, 等. 凡纳滨对虾 6 个养殖群体遗传多样性的比较分析. *南方水产*, 2008, 4(6): 42–49]
- Li DY, Kong J, Meng XH, *et al.* Development of multiplex PCR systems of microsatellite markers for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and its application for parentage identification. *Progress in Fishery Sciences*, 2016, 37(3): 58–67 [李东宇, 孔杰, 孟宪红, 等. 凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)微卫星多重 PCR 体系的建立及其在家系亲权鉴定中的应用. *渔业科学进展*, 2016, 37(3): 58–67]
- Li Y, Zhao H, Peng Z, *et al.* Isolation and characterization of 21 polymorphic microsatellite markers for a new labeonine fish (*Paraqianlabeo lineatus* Zhao *et al.* 2014) using illumina paired-end sequencing. *Journal of Applied Ichthyology*, 2016, 32(1): 126–128
- Liu HT, Yang MQ, He YG, *et al.* Microsatellite analysis of genetic diversity in eight geographical populations of *Litopenaeus vannamei*. *Natural Science Journal of Hainan University*, 2018, 36(2): 146–152 [刘洪涛, 杨明秋, 何玉贵, 等. 凡纳滨对虾八个地理群体遗传多样性的微卫星分析. *海南大学学报自然科学版*, 2018, 36(2): 146–152]
- Ma CY, Ma HY, Ma LB, *et al.* Microsatellite analysis on genetic variation of imported *Litopenaeus vannamei* population and culture stocks. *Marine Fisheries*, 2011, 33(1): 1–8 [马春艳, 马洪雨, 马凌波, 等. 凡纳滨对虾引进群体和 2 个养殖群体遗传变异的微卫星分析. *海洋渔业*, 2011, 33(1): 1–8]
- Ma N, Zeng DG. Isolation of microsatellite sequences from *Litopenaeus vannamei*. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2013, 26(6): 2629–2633 [马宁, 曾地刚. 凡纳滨对虾微卫星序列的筛选. *西南农业学报*, 2013, 26(6): 2629–2633]
- Meehan D, Xu Z, Zuniga G, *et al.* High frequency and large number of polymorphic microsatellites in cultured shrimp, *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* [Crustacea: Decapoda]. *Marine Biotechnology*, 2003, 5(4): 311–330
- Postlethwait JH, Yan YL, Gates MA, *et al.* Vertebrate genome evolution and the zebrafish gene map. *Nature Genetics*, 1998, 18(4): 345–349
- Schlötterer C, Tautz D. Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucleic Acids Research*, 1992, 20(2): 211–215
- Shu MA, Zhou YF, Zhu XY, *et al.* Microsatellite analysis on genetic diversity of seven wild populations of *Scylla paramamosain* in China. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(7): 977–984 [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. *水产学报*, 2011, 35(7): 977–984]
- Song ZK, Nie ZP, Wang YF. Screening for polymorphic primer pairs of (CA)<sub>n</sub> microsatellite from *Scylla paramamosain* (mud crab) genome. *Marine Sciences*, 2013, 37(10): 98–103 [宋忠魁, 聂振平, 王芳宇. 拟穴青蟹(CA)<sub>n</sub> 微卫星 DNA 多态性引物筛选. *海洋科学*, 2013, 37(10): 98–103]
- Sun MM, Yang QB, Chen BY, *et al.* Genetic diversity in four populations of *Penaeus monodon* assessed by AFLP makers. *Marine Sciences*, 2017, 41(3): 41–47 [孙苗苗, 杨其彬, 陈百尧, 等. 斑节对虾 4 个地理群体遗传多样性的 AFLP 分析. *海洋科学*, 2017, 41(3): 41–47]
- Sun XW, Zhang XF, Zhao YY, *et al.* Development and application of microsatellite markers in aquatic species. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2008, 15(4): 689–703 [孙效文, 张晓锋, 赵莹莹, 等. 水产生物微卫星标记技术研究进展及其应用. *中国水产科学*, 2008, 15(4): 689–703]
- Tang Y, Meng XF, Shen RF, *et al.* Research and application of family selective breeding in culture of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fisheries Science*, 2018, 37(4): 555–563 [唐扬, 孟小菲, 沈瑞福, 等. 凡纳滨对虾家系选育的研究与应用. *水产科学*, 2018, 37(4): 555–563]
- Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research*, 1989, 17(16): 6463–6471
- Tong X, Gong SY, Yu DH, *et al.* Genetic diversity of cultured Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) stocks of different generations in China. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2009, 40(2): 214–220 [童馨, 龚世圆, 喻达辉, 等. 凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)不同世代养殖群体的遗传多样性分析. *海洋与湖沼*, 2009, 40(2): 214–220]
- Wang H, Wang TT, Hu LP, *et al.* Microsatellite analysis of genetic characteristics in crosses between Korea population and China population of sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Fisheries Science*, 2016, 35(1): 60–66 [王鹤, 王田田, 胡丽萍, 等. 仿刺参中国群体与韩国群体杂交子代微卫星标记分析. *水产科学*, 2016, 35(1): 60–66]
- Wang J, Wang QY, Kong J, *et al.* SSR analysis on genetic diversity in breeding and wild populations of *Fenneropenaeus chinensis*. *Progress in Fishery Sciences*, 2018, 39(2): 104–111 [王军, 王清印, 孔杰, 等. 中国明对虾人工选育群体与野生群体遗传多样性的 SSR 分析. *渔业科学进展*, 2018, 39(2): 104–111]
- Wang RF, Li J, Li JT, *et al.* Genetic analysis of 33 microsatellite loci in 3 families of *Exopalaemon carinicauda* inbred line. *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(4): 78–86 [王日芳, 李健, 李吉涛, 等. 脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)近交系 3 个家系 33 个微卫星座位的遗传分析. *渔业科学进展*, 2017, 38(4): 78–86]

- Wang XQ, Ma S, Dong SL. Studies on the biology and cultural ecology of *Litopenaeus vannamei*: A review. Transactions of Oceanology and Limnology, 2004(4): 94–100 [王兴强, 马甦, 董双林. 凡纳滨对虾生物学及养殖生态学研究进展. 海洋湖沼通报, 2004(4): 94–100]
- Yang M, Yu Y, Zhang XJ, *et al.* Development of microsatellite markers from the transcriptome sequences of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Marine Sciences, 2017, 41(2): 96–102 [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. 海洋科学, 2017, 41(2): 96–102]
- Yu Y. Development of molecular markers and their applications in selective breeding of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Doctoral Dissertation of Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2014 [于洋. 凡纳滨对虾分子标记的开发及其在遗传育种中的应用. 中国科学院研究生院(海洋研究所)博士研究生学位论文, 2014]
- Zeng DG, Chen XH, Li YM, *et al.* SSR Analysis of genetic diversity of *Litopenaeus vannamei*. Reservoir Fisheries, 2008, 28(1): 31–34 [曾地刚, 陈晓汉, 李咏梅, 等. 凡纳滨对虾遗传多样性的 SSR 分析. 水利渔业, 2008, 28(1): 31–34]
- Zhang L, Chen Z, Wang L, *et al.* Effect of stocking density on intermediate cultivation of *Litopenaeus vannamei* postlarvae. Progress in Fishery Sciences, 2019, 40(1): 76–83 [张龙, 陈钊, 汪鲁, 等. 放养密度对凡纳滨对虾苗种中间培育效果的影响. 渔业科学进展, 2019, 40(1): 76–83]
- Zhang LJ, Zhu F, Yin SW, *et al.* Microsatellite analysis of *Odontobutis potamophila*, *O. yaluensis* and their hybrid progeny. Freshwater Fisheries, 2014, 44(5): 9–14 [张丽娟, 祝斐, 尹绍武, 等. 河川沙塘鳢、鸭绿沙塘鳢及其杂交子代的微卫星分析. 淡水渔业, 2014, 44(5): 9–14]
- Zhang Q, Li XL, Xue SW, *et al.* Screening and polymorphism of EST-microsatellite markers in *Litopenaeus vannamei*. Acta Oceanologica Sinica, 2011, 33(1): 121–126 [张琼, 李喜莲, 薛淑雯, 等. 凡纳滨对虾 EST-SSR 标记的筛选及遗传多态性检测. 海洋学报, 2011, 33(1): 121–126]
- Zhang TS, Liu P, Li J, *et al.* Genetic diversity of cultured populations of *Fenneropenaeus chinensis* shrimp using microsatellites. Journal of Fisheries of China, 2005, 29(1): 6–12 [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. 水产学报, 2005, 29(1): 6–12]
- Zhang WQ. An important breeding species in the world—Biology of *Litopenaeus vannamei*. Marine Sciences, 1990, 14: 69–73 [张伟权. 世界重要养殖品种——南美白对虾生物学简介. 海洋科学, 1990, 14: 69–73]

(编辑 马瑾艳)



## Genetic Diversity Analysis of Domestic Commercial Brands Seedlings of *Litopenaeus vannamei* Based on Microsatellite Molecular Markers

FANG Zhenpeng<sup>1,2</sup>, MENG Xianhong<sup>2①</sup>, LI Xupeng<sup>2</sup>, LUAN Sheng<sup>2</sup>,  
CAO Jiawang<sup>2</sup>, CHEN Baolong<sup>2</sup>, KONG Jie<sup>2</sup>, YAN Maocang<sup>3</sup>, HU Lihua<sup>3</sup>

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306; 2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Laboratory of Marine Fisheries Science and Food Production Processes,

Pilot National Laboratory of Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266071;

3. Zhejiang Key Laboratory of Exploitation and Preservation of Coastal Bio-Resource, Wenzhou 325005)

**Abstract** To clarify the genetic diversity characteristics of domestic commercial brand seedlings of *Litopenaeus vannamei*, six domestic commercial brands of *L. vannamei*, namely, Huanghua R, Dongying M, Guangzhou P, Guangzhou Z, Hainan S, and Hainan Z, were collected from Hebei, Shandong, Guangdong, and Hainan Province. Their genetic diversity was detected using eight microsatellite markers. The results showed that the average allele number ( $N_a$ ), expected heterozygosity ( $H_e$ ), observed heterozygosity ( $H_o$ ), and polymorphic information content (PIC) were 4.5~9.5, 0.516~0.733, 0.346~0.550, and 0.472~0.700, respectively. The genetic diversity of the six brands ranged from high to low: Huanghua R > Guangzhou Z > Guangzhou P > Hainan Z > Dongying M > Hainan S, and 48 Hardy-Weinberg equilibrium tests were conducted on the 6 brands of *L. vannamei* using 8 microsatellite loci. It was observed that, 4.17% (2/48) showed significant deviation ( $0.01 < P < 0.05$ ) and 58.33% (28/48) showed extremely significant deviation ( $P < 0.01$ ). Molecular variance analysis (AMOVA) showed that 12% of the variance was from the brand, 24% was from the individual within the brand, and the remaining 64% was from all individual brands. UPGMA clustering map showed that each brand of *L. vannamei* could not cluster independently. The analysis showed that the six brands of *L. vannamei* clustered into two distinct branches, Guangzhou P and Guangzhou Z clustered into one branch, and Dongying M, Huanghua R, Hainan Z, and Hainan S clustered into another branch. PCA results showed that each brand of *L. vannamei* could not cluster independently. This study preliminarily analyzed the genetic background of *L. vannamei* cultured in China. The experimental results can provide data to support the breeding of improved varieties of *L. vannamei*.

**Key words** Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*; Commercial seedling; Microsatellite; Genetic diversity

① Corresponding author: MENG Xianhong, E-mail: mengxianhong@ysfri.ac.cn