

凡纳滨对虾选育系间杂交的生长性状及遗传多样性分析

吴怡迪¹ 骆 轩¹ 杨章武² 黄永春³ 游伟伟^{1*}

(1. 厦门大学海洋与地球学院 福建 厦门 361102; 2. 福建省水产研究所, 福建 厦门 361013; 3. 集美大学水产学院 福建 厦门 361021)

摘要: 对 2 个凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*) 选育系(A 和 B) 的自繁与杂交后代的生长性状及遗传多样性进行了分析. 养殖对比实验结果表明, 杂交组合 AB 生长性状优于其他各组, 表现出较好的杂种优势. 使用 11 对荧光标记的微卫星引物对 4 个凡纳滨对虾自繁与杂交群体以及 1 个从美国引进的初代亲本 SIS 群体的基因组 DNA 进行扩增, 结果显示除 AA 群体外, 其余 4 个群体均表现出较丰富的遗传多样性, 观测到的平均等位基因数(N_a) 为 4. 273~5. 636, 平均期望杂合度(H_e) 为 0. 586~0. 629, 平均多态信息含量(PIC) 为 0. 512~0. 556. 遗传距离分析结果显示, SIS 群体和 AA 群体的遗传距离最远(0. 670 4), 而与 AB 群体的最近(0. 131 4). 研究结果表明, 引自美国的凡纳滨对虾群体经多代自繁后, 其遗传多样性水平降低; 而选育系间杂交则可使杂交后代的生长性状和遗传多样性水平得到改善.

关键词: 凡纳滨对虾; 生长性状; 遗传多样性; 微卫星; 杂交

中图分类号: S 917. 4

文献标志码: A

文章编号: 0438-0479(2016) 05-0646-08

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*) 又名南美白对虾, 原产自南太平洋和美洲沿海水域, 自 1988 年引入我国以来, 已成为我国水产养殖的主要品种^[1]. 作为水产经济虾类的重要养殖品种, 我国每年的凡纳滨对虾种苗需求量高达 4 000 亿尾以上^[2]. 然而近年来由于各种虾类疾病相继入侵及养殖过程中频繁近交导致的种质退化等原因, 我国凡纳滨对虾在养殖过程中出现了个体小型化、生长速度慢、抗病性差等问题. 因此, 从分子水平上了解现有凡纳滨对虾群体的遗传变异情况, 并在此基础上培育适合福建海域养殖的凡纳滨对虾新品种显得十分迫切.

微卫星标记技术作为第二代分子标记的代表, 已被广泛应用于水产生物的遗传分析研究中^[3]. Maggioni 等^[4] 用 10 个微卫星标记对巴西 9 个凡纳滨对虾养殖场的亲虾群体进行评估, 结果显示 9 个亲虾群体的遗传多样性程度与来自中美洲的野生群体一致, 处于较高水平. Artiles 等^[5] 用 4 个微卫星标记对古巴 1 个凡纳滨对虾引进群体的不同世代进行遗传多样性分析, 结果表明各后代群体的遗传多样性水平近似, 但后代

群体与基础群体间存在明显的遗传差异. 此外, 还有研究用微卫星标记对凡纳滨对虾的遗传多样性进行了分析, 发现随繁育世代增加, 养殖群体后代的遗传多样性呈下降趋势, 并建议在后续繁育工作中通过增加杂交来改善或避免近交衰退的现象^[6].

2008 年起, 厦门市厦兴龙水产种苗有限公司与福建省水产研究所等单位合作开展凡纳滨对虾良种选育工作. 本研究针对该育种项目中的 4 个群体和 1 个美国引进群体, 采用微卫星标记对其遗传结构和遗传多样性进行分析, 从而监测该育种项目中各对虾群体的遗传变异情况.

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用的 2 个选育群体(A 和 B) 以及它们的 2 个杂交群体取自厦门市厦兴龙水产种苗有限公司, 初代亲虾群体则引自美国 SIS 公司(Shrimp Improvement

收稿日期: 2015-11-09 录用日期: 2016-02-23

基金项目: 厦门市海洋经济创新发展区域示范项目(13PZY001SF25)

* 通信作者: wwyu@xmu.edu.cn

引文格式: 吴怡迪, 骆轩, 杨章武, 等. 凡纳滨对虾选育系间杂交的生长性状及遗传多样性分析[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2016, 55(5): 646-653.

Citation: WU Y D, LUO X, YANG Z W, et al. Growth performance and genetic diversity analysis of hybrids between selective lines of *Litopenaeus vannamei* [J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2016, 55(5): 646-653. (in Chinese)



<http://jxmu.xmu.edu.cn>

System, USA) ,命名为 SIS.选育系 A 来源于 2008 年由美国 SIS 公司引进亲虾的子一代,选育系 B 来源于 2010 年引自广东的另一个凡纳滨对虾繁育群体,随后针对生长与抗病性状对 2 个群体进行了连续多代的群体选育.2014 年,用选育系 A 的 F₆ 代群体以及选育系 B 的 F₄ 代群体作为亲本,采用双列杂交获得了它们的自繁以及正、反杂交后代,并分别命名为 AA(A ♀ × A ♂)、BB(B ♀ × B ♂)、AB(A ♀ × B ♂ ,正交)和 BA(B ♀ × A ♂ ,反交).5 个凡纳滨对虾群体分别于 2014 年 7—9 月随机取样 30 尾,活体运回实验室后,用无菌手术剪和镊子取对虾的尾节肌肉,保存于 95%(体积分数)乙醇中备用.

1.2 实验方法

1.2.1 4 个群体生长指标的跟踪测量

4 个群体的养殖对比实验于 2014 年 7—11 月在厦兴龙水产种苗有限公司的晋江基地进行.2014 年 7 月 31 日,将每个交配组合的仔虾分别养殖在室外水泥池,每池 6 m²,投苗密度 100 尾/m²,每组设置 2 个对照池.养殖期间随对虾生长阶段进行定期投饵,并保持

不间断充气.在养殖 40、60、80 和 100 d 时对各群体对虾进行取样测量,每池取 30 尾,用游标卡尺(精确度 0.01 mm)和电子天平(精确度 0.01 g)对其体长、头胸甲长和体质量 3 个指标进行测量并记录.

1.2.2 微卫星分析

基因组 DNA 的提取: 实验所用凡纳滨对虾的基因组 DNA 采用北京天根生化科技有限公司的海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒进行提取,并用 1.2%(质量分数)琼脂糖凝胶电泳和 NanoDrop2000 分光光度计分别检测所提取基因组 DNA 的质量和浓度,之后于 -20 ℃ 保存备用.

微卫星引物的筛选及 PCR 扩增: 实验所用微卫星引物参考文献 [7] 选取并合成了 44 对引物进行 PCR 扩增,从中挑选出 11 对特异性强、多态性较高且重复性好的微卫星引物(表 1),并在每对引物的 5'端设计添加不同类型的特异性荧光标记(FAM、HEX 或 ROX)用于后期混样检测目的条带,再交由上海生工生物工程股份有限公司合成.

PCR 反应体系(25 μL): 10 × PCR Buffer (含 Mg²⁺) 2.5 μL, dNTPs(2.5 mmol/L) 2 μL,正、反向引

表 1 凡纳滨对虾 11 对微卫星引物的信息

Tab. 1 The information for 11 microsatellite primer pairs of *L. vannamei*

位点	荧光标记类型	引物序列(5'→3')	退火温度/℃	片段大小/bp	GenBank 登录号
TUMXLv7. 121	FAM	F: GGCACACTGTTTAGTCCTCG R: CGAACAGAATGGCAGAGGAG	56	192~246	AF360043
TUMXLv7. 56	ROX	F: CCATGGCTTTCCTCTCTTTC R: AGGTAGGGAAGTCGTGAGGG	62	280~491	AF360055
TUMXLv7. 97	FAM	F: TGTCGTTAGTGCAGCTCATTC R: GGGGAGGAATAAGAGGAAAGG	52	160~181	AF360057
TUMXLv8. 25	HEX	F: ATTCTTTGTGTTTCTTCGCC R: CGTCCCTGAAACTTTATCTCC	52	104~111	AF360075
Pvan1815	HEX	F: GATCATTCCGCCCTCTTTT R: ATCTACGGTTCGAGAGCAGA	55	126~139	AY062925
TUMXLv8. 176	HEX	F: GCAACGCAATATAGCTC R: TCAAGGGAACAAAGTCAAG	52	162~166	AF360063
TUMXLv9. 178	ROX	F: CATTGAAAACGGAATCCTCG R: GATATCCCATCAACACAGCG	57	194~200	AF360105
TUMXLv10. 207	FAM	F: GATCACTAGCCATATTTTCATCC R: ATCGCATAATGAGCAAACCTGG	56	81~107	AF359963
TUMXLv10. 255	HEX	F: CTAATAAAATCACGGGTTGGG R: CCTTCTGGTTTACTGTTGAGGC	57	208~215	AF359977
TUMXLv10. 312	HEX	F: ATACGAAACACCCCATCCC R: GTGGTCTTACCTCGTGGCTC	59	165~177	AF359989
TUMXLv10. 481	FAM	F: CATAAGACTGCACACGTAGCG R: TTTAAAACGTGCTTCTGTGG	57	207~213	AF360009

物(10 mmol/L) 各 1 μL, *Taq* DNA 聚合酶(5 U/μL) 0.25 μL, 模板 DNA(80~100 ng/μL) 1 μL, 加 ddH₂O 补足至 25 μL. PCR 反应程序: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 相应退火温度退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 35 个循环; 72 °C 延伸 7 min. PCR 产物经电泳检测和筛选后, 委托上海生工生物工程股份有限公司进行短串联重复序列(STR)分型分析.

1.2.3 数据统计与分析

4 个群体的生长数据用 PASWStatistics18 软件进行比较分析. 群体间各指标的比较采用单因素方差分析进行, 差异显著性水平为 $p < 0.05$. 根据 Falconer^[8] 的方法, 对 2 个杂交组合 AB 和 BA 的中亲杂种优势率 H_{MP} 及单亲杂种优势率 H_A 、 H_B 进行计算.

微卫星数据用 PopGene 3.2 软件进行统计分析, 计算 5 个群体各微卫星位点的等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、观测杂合度(H_o) 和期望杂合度(H_e), 用以评估各群体的遗传多样性; Hardy-Weinberg (H-W) 平衡检验和固定指数(F_{is}) 的计算则分别用以检测 H_o 和 H_e 之间的差异和评估杂合子缺失情况; 计算两两群体间的 Nei's 无偏遗传距离(D_s) 用以评估群体间的遗传差异. 根据 Botstein 等^[9] 的方法, 采用 PIC-CALC 0.6 软件, 依据等位基因频率计算各个位点的多

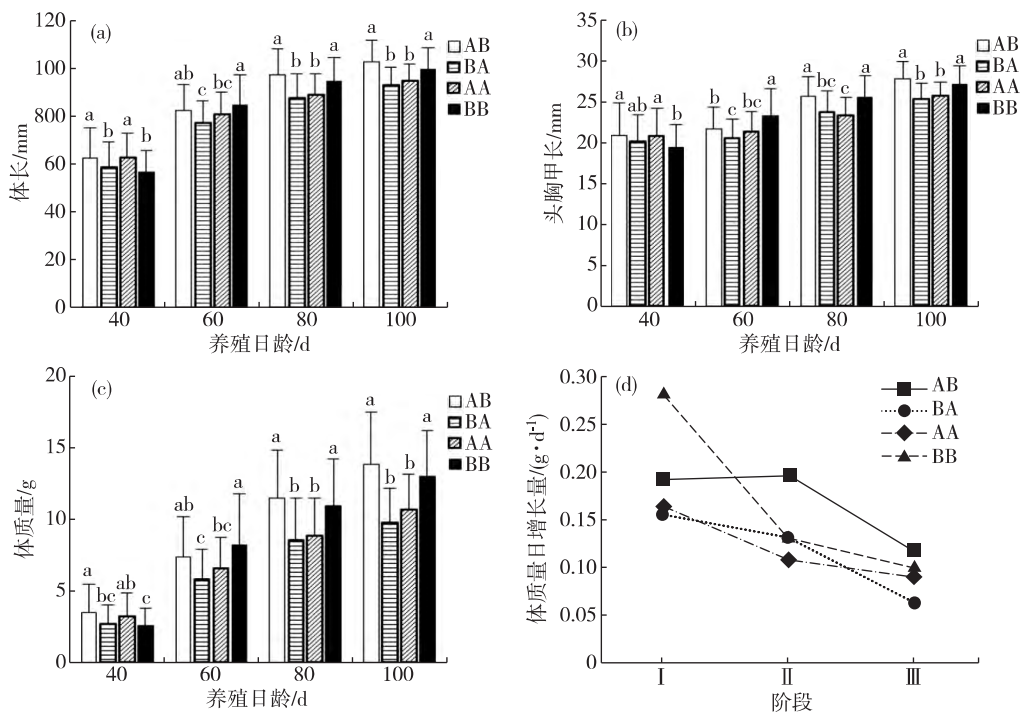
态信息含量(PIC). 群体间遗传分化指数(F_{ST})、群体内和群体间的分子变异分析(AMOVA) 均采用 Arlequin 3.5 软件进行.

2 结果与分析

2.1 自繁及杂交群体的生长及杂种优势分析

各取样时期内 4 个选育群体的体长、头胸甲长和体质量数据如图 1(a)、(b) 和 (c) 所示. 由图中可见 4 个群体的各指标都随生长天数的增加而增加. 对群体间各指标进行单因素方差分析, 结果显示: 在养殖 40 d 时, AB 和 AA 群体的各项指标均高于另外 2 个群体(BA 和 BB), 且 AB 群体与这 2 个群体差异显著; 而至 80 d 后 AB 和 BB 群体的各指标显著高于 BA 和 AA 群体. 图 1(d) 中体质量日增长量的统计分析结果表明: AA、BB 和 BA 3 个群体的体质量日增长量随生长天数的增加而下降; 自繁子代群体 AA 和 BB 的体质量日增长量在 I 至 II 阶段明显下降, 其中 BB 群体的体质量日增长量下降了 53.7%; 杂交子代群体 AB 和 BA 的下降幅度较小, 其中 AB 群体的体质量日增长量在 I 至 II 阶段基本保持不变.

杂交群体杂种优势率的分析结果表明, 40~80 d



不同小写字母表示差异显著 ($p < 0.05$). I. 09-10-09-30; II. 09-31-10-21; III. 10-22-11-10.

图 1 4 个群体的体长 (a)、头胸甲长 (b)、体质量 (c) 和体质量日增长量 (d)

Fig. 1 Body length (a), carapace length (b), body weight (c) and daily growth of body weight (d) for the four populations

各生长指标的 H_{MP} 都随生长天数的增加而呈先降低后上升的趋势(表 2)。2 个杂交群体在 60 d 时都表现出负向的中亲杂种优势,且整个过程中 BA 群体的 H_{MP} 几乎全部为负值,即表现出杂种劣势。另外,2 个杂交群体子代的 H_{MP} 都介于 H_A 和 H_B 之间,且 H_A 和 H_B 之间存在明显差异。

表 2 2 个杂交群体体长、头胸甲长和体质量的杂种优势率值
Tab. 2 Heterosis of body length, carapace length and body mass for two hybrid populations

参数	群体	养殖日龄/d	杂种优势率/%			
			H_{MP}	H_A	H_B	
体长	AB	40	4.528	-0.733	10.182	
		60	-0.254	2.408	-2.792	
		80	6.290	9.667	3.114	
		100	5.711	8.628	2.946	
	BA	40	-1.526	-6.482	3.801	
		60	-6.975	-4.492	-9.342	
		80	-4.597	-1.566	-7.447	
		100	-4.630	-1.998	-7.124	
	头胸甲长	AB	40	3.774	0	7.843
			60	-2.727	1.540	-6.650
			80	5.070	9.782	0.745
			100	5.198	7.868	2.656
BA		40	0.099	-3.541	4.025	
		60	-7.868	-3.826	-11.583	
		80	-2.698	-1.666	-6.703	
		100	-3.761	-1.318	-6.086	
体质量		AB	40	19.794	6.098	37.549
			60	-0.677	11.720	-10.597
			80	15.726	29.425	4.649
			100	16.878	29.560	6.457
	BA	40	-7.745	-18.293	5.929	
		60	-21.516	-11.720	-29.354	
		80	-13.811	-3.608	-22.060	
		100	-17.215	-8.232	-24.597	

2.2 凡纳滨对虾群体的遗传多样性

11 对微卫星引物在 5 个凡纳滨对虾群体中均能扩增出目的条带。表 3 为 5 个群体在各微卫星位点上的遗

传多样性信息。结果显示: 11 个微卫星位点上共检测到 81 个等位基因,在 5 个群体中,位点 TUMXLv7.121、TUMXLv7.56、Pvan1815 和 TUMXLv10.312 的 PIC 均高于 0.5,位点 TUMXLv10.207 和 TUMXLv9.178 的 PIC 分别在 AA 和 SIS 群体中小于 0.5,其余位点的 PIC 均介于 0.25~0.5 之间。5 个群体的平均 F_{is} 均为正值,且在位点 TUMXLv9.178 的 F_{is} 也均为正值;5 个群体在 11 个微卫星位点的平均 N_a 为 3.909~5.636,平均 H_e 为 0.561~0.629,平均 PIC 为 0.493~0.556;其中 AB 群体平均 N_a 和 H_o 最高($N_a=5.636$, $H_o=0.600$),BB 群体平均 H_e 和 PIC 最高($H_e=0.629$,PIC 为 0.556),AA 群体除平均 F_{is} 值外,各项遗传多样性指标最低,SIS 群体各项遗传多样性指标都低于 AB 和 BB 群体并高于 BA 和 AA 群体;5 个群体在 11 个微卫星位点上的 H-W 平衡遗传偏离指数(HWD)显示,2 个自繁子代群体 AA 和 BB 在多数微卫星位点上都显著偏离平衡($p<0.05$)。

2.3 群体遗传分化分析

5 个凡纳滨对虾群体两两对比的 F_{ST} 和基于等位基因频率计算得到的各群体间的 D_s 见表 4: 各群体间 F_{ST} 和 D_s 分别介于 0.037 5~0.254 8 和 0.064 0~0.670 4 之间。5 个群体中 F_{ST} 且 D_s 最大的是 AA 与 SIS 群体($F_{ST}=0.254 8$, $D_s=0.670 4$),AB 与 BA 群体之间的遗传分化最小($F_{ST}=0.037 5$)。AMOVA 结果显示,81.62% 的遗传变异源于群体内,18.38% 来自群体间(表 5)。

3 讨论

3.1 4 个交配组合群体的生长及杂种优势情况

生长性状对比结果表明,整个生长过程中正交子代 AB 群体的生长相比其他 3 个群体具有明显的优势,而 AA 群体和反交子代 BA 群体的各项生长指标都较低。不同亲本所获子代的性状表现有显著差异,这种正反交性状的不对称性现象在水产生物的育种中已有不少报道^[10-11]。此外,在养殖的前 2 个阶段,2 个自繁群体的体质量日增长量随日龄的增加呈明显的下降趋势,而 2 个杂交群体的下降值低于 2 个自繁群体,这在一定程度上说明杂交子代在养殖早期的生长较稳定。

杂种优势分析结果表明,AB 群体获得了较高的与生长性状相关的杂种优势,说明选育系间杂交是提高凡纳滨对虾养殖性能的一个有效途径,这与林红军

表3 5个凡纳滨对虾群体在11个微卫星位点上的遗传多样性信息
Tab.3 The genetic diversity information of 5 *L. vannamei* populations based on 11 microsatellite loci

群体	位点	<i>N_a</i>	<i>N_e</i>	<i>H_o</i>	<i>H_e</i>	PIC	<i>F_{is}</i>	HWD
AB	TUMXLv7.121	10	5.788	0.933	0.841	0.807	-0.128	0.056
	TUMXLv7.56	9	5.426	0.862	0.830	0.793	-0.057	0.137
	TUMXLv7.97	6	1.603	0.367	0.383	0.364	0.025	0.815
	TUMXLv8.25	3	2.323	0.767	0.579	0.477	-0.346	0**
	Pvan1815	11	5.000	0.833	0.814	0.774	-0.042	0.907
	TUMXLv8.176	3	2.456	0.900	0.603	0.514	-0.518	0**
	TUMXLv9.178	4	1.813	0.100	0.456	0.409	0.777	0**
	TUMXLv10.207	6	2.179	0.276	0.551	0.498	0.490	0**
	TUMXLv10.255	3	1.638	0.433	0.396	0.335	-0.113	0**
	TUMXLv10.312	4	2.568	0.667	0.621	0.564	-0.092	0.498
	TUMXLv10.284	3	2.378	0.467	0.589	0.499	0.195	0.012*
平均值		5.636	3.015	0.600	0.606	0.548	0.017	
BA	TUMXLv7.121	9	5.217	0.900	0.822	0.782	-0.113	0**
	TUMXLv7.56	6	4.337	0.900	0.783	0.734	-0.170	0.790
	TUMXLv7.97	4	2.209	0.267	0.557	0.444	0.513	0.025*
	TUMXLv8.25	2	1.724	0.600	0.427	0.332	-0.429	0.023*
	Pvan1815	6	3.114	0.700	0.690	0.621	-0.031	0.803
	TUMXLv8.176	3	2.174	0.800	0.549	0.466	-0.482	0.005**
	TUMXLv9.178	3	1.867	0.267	0.472	0.419	0.426	0**
	TUMXLv10.207	3	0.795	0.100	0.450	0.359	0.774	0**
	TUMXLv10.255	3	1.861	0.367	0.471	0.416	0.208	0.001**
	TUMXLv10.312	5	2.826	0.400	0.657	0.586	0.381	0**
	TUMXLv10.284	3	2.261	0.333	0.567	0.478	0.402	0.001**
平均值		4.273	2.671	0.512	0.586	0.512	0.135	
AA	TUMXLv7.121	6	4.511	0.867	0.796	0.743	-0.114	0**
	TUMXLv7.56	5	3.279	0.833	0.707	0.649	-0.199	0.270
	TUMXLv7.97	4	1.403	0.067	0.292	0.262	0.768	0**
	TUMXLv8.25	3	2.113	0.000	0.536	0.419	1.000	0**
	Pvan1815	6	3.913	0.433	0.757	0.705	0.418	0**
	TUMXLv8.176	3	2.561	0.833	0.620	0.537	-0.367	0**
	TUMXLv9.178	3	2.332	0.000	0.581	0.499	1.000	0**
	TUMXLv10.207	2	1.220	0.133	0.183	0.164	0.259	0.106
	TUMXLv10.255	4	2.100	0.667	0.533	0.431	-0.273	0**
	TUMXLv10.312	4	2.507	0.900	0.611	0.539	-0.497	0.004**
	TUMXLv10.284	3	2.220	0.733	0.559	0.472	-0.335	0.100
平均值		3.909	2.560	0.497	0.561	0.493	0.151	
BB	TUMXLv7.121	8	5.455	0.767	0.831	0.793	0.061	0**
	TUMXLv7.56	8	5.861	0.931	0.844	0.808	-0.123	0.004**

续表

群体	位点	N_a	N_e	H_o	H_e	PIC	F_{is}	HWD
	TUMXLv7. 97	3	2. 253	0. 233	0. 566	0. 483	0. 580	0**
	TUMXLv8. 25	2	1. 471	0. 000	0. 325	0. 269	1. 000	0**
	Pvan1815	7	3. 913	0. 400	0. 757	0. 703	0. 463	0. 004**
	TUMXLv8. 176	3	2. 469	0. 767	0. 605	0. 528	-0. 289	0. 005**
	TUMXLv9. 178	5	3. 237	0. 400	0. 703	0. 630	0. 421	0. 003**
	TUMXLv10. 207	2	1. 980	0. 767	0. 503	0. 373	-0. 549	0. 004**
	TUMXLv10. 255	3	1. 985	0. 700	0. 505	0. 402	-0. 411	0. 017*
	TUMXLv10. 312	4	3. 346	0. 667	0. 713	0. 644	0. 049	0. 808
	TUMXLv10. 284	4	2. 284	0. 633	0. 572	0. 486	-0. 127	0. 206
	平均值	4. 454	3. 114	0. 570	0. 629	0. 556	0. 098	
SIS	TUMXLv7. 121	11	6. 897	0. 733	0. 870	0. 840	0. 142	0**
	TUMXLv7. 56	5	3. 849	0. 862	0. 753	0. 702	-0. 165	0. 055
	TUMXLv7. 97	6	2. 449	0. 667	0. 602	0. 556	-0. 127	0**
	TUMXLv8. 25	4	2. 110	0. 767	0. 535	0. 444	-0. 457	0**
	Pvan1815	5	2. 744	0. 667	0. 646	0. 566	-0. 049	0. 556
	TUMXLv8. 176	3	2. 486	0. 267	0. 608	0. 517	0. 554	0**
	TUMXLv9. 178	3	1. 106	0. 033	0. 098	0. 094	0. 653	0**
	TUMXLv10. 207	3	2. 817	0. 467	0. 656	0. 569	0. 277	0**
	TUMXLv10. 255	3	2. 675	0. 367	0. 637	0. 550	0. 414	0**
	TUMXLv10. 312	3	2. 359	0. 800	0. 586	0. 507	-0. 389	0. 052
	TUMXLv10. 284	3	2. 067	0. 633	0. 525	0. 462	-0. 227	0. 133
	平均值	4. 455	2. 869	0. 569	0. 592	0. 528	0. 057	

注: * $p < 0. 05$, ** $p < 0. 01$.

表 4 5 个凡纳滨对虾群体的 F_{ST} 及 D_s

Tab. 4 F_{ST} and D_s of 5 *L. vannamei* populations

比较群体	F_{ST}	D_s
AB-BA	0. 037 5	0. 064 0
AB-AA	0. 226 5	0. 554 7
AB-BB	0. 224 4	0. 471 2
AB-SIS	0. 122 2	0. 131 4
BA-AA	0. 242 6	0. 603 4
BA-BB	0. 220 7	0. 444 2
BA-SIS	0. 141 8	0. 163 1
AA-BB	0. 116 2	0. 156 7
AA-SIS	0. 254 8	0. 670 4
BB-SIS	0. 200 0	0. 576 9

等^[12]的研究结果一致. 2 个杂交子代的 H_{MP} 在 40~80 d 内呈现先降低后上升的趋势, 可见杂种优势在早期并

不稳定, 而到了后期又逐渐恢复并保持稳定状态, 这种早期不稳定的现象可能与杂种优势在早期被母性效应掩盖有关^[13]. BA 群体表现出杂种劣势的现象则进一步说明杂交过程中母本的选择以及杂交配对起着非常重要的作用.

表 5 5 个凡纳滨对虾群体的 AMOVA

Tab. 5 AMOVA of 5 *L. vannamei* populations

变异来源	自由度	平方和	方差组分	变异百分比 / %
群体间	4	191. 79	0. 74	18. 38
群体内	295	975. 00	3. 31	81. 62
总数	299	1 166. 79	4. 05	100. 00

3. 2 5 个凡纳滨对虾群体的遗传多样性

微卫星标记是分析生物遗传多样性和遗传差异的有效工具, 衡量微卫星位点多态性的一个重要指标是 PIC. 本研究中的 11 个微卫星位点在 5 个凡纳滨对

<http://jxmu.xmu.edu.cn>

虾群体中均表现出多态性,根据 Botstein 等^[9]的划分标准,位点 TUMXLv7.121、TUMXLv7.56、Pvan1815 和 TUMXLv10.312 表现出较高的多态性 ($PIC > 0.5$), TUMXLv10.207 和 TUMXLv9.178 分别在 AA 和 SIS 群体中表现出较低的多态性 ($PIC < 0.25$),其余位点均为中度多态性.5 个群体在这 11 个微卫星位点上的平均 PIC 介于 0.512~0.556 之间,具有较高的多态性.

在遗传育种工作中,明确基础群体的遗传多样性情况,并采用遗传多样性水平较高的群体作为亲代选育,将增强后代对环境的适应性. N_a 和 H_e 是评价群体遗传多样性的重要指标,杂合度的评估中 H_o 易受样本大小的影响,而 H_e 更能反映群体的遗传多样性^[14]. 本研究中,平均 N_a 最高的是杂交子代 AB 群体 ($N_a = 5.636$, $H_e = 0.606$),平均 H_e 最高的是 BB 群体 ($N_a = 4.454$, $H_e = 0.629$),这 2 个群体的遗传多样性参数水平略高于冯娜娜等^[15]和 Vela Avitúa 等^[16]所研究的国内及墨西哥的凡纳滨对虾养殖群体,而低于 Lima 等^[17]研究的巴西养殖群体.

对各群体 H-W 平衡检验结果表明,AA 和 BB 群体在多数位上都偏离了平衡.群体的 F_{is} 也代表其基因纯合度^[18],5 个凡纳滨对虾群体的平均 F_{is} 均为正值表明各群体均存在不同程度的近交及杂合子缺失现象,其中 AB 群体的近交程度最低 ($F_{is} = 0.017$),SIS 群体次之 ($F_{is} = 0.057$),AA 群体近交程度最高 ($F_{is} = 0.151$),说明 AA 群体的基因型已经达到了相对较纯合的状态,这与 Knibb 等^[19]的研究结果一致.另外,位点 TUMXLv9.178 的 F_{is} 在所有群体中均为正值,表明该位点存在部分纯合子过剩,这可能是由于无效等位基因的存在所致^[20].

正交子代 AB 群体遗传多样性水平在各群体中最高,而反交子代 BA 群体相对较低,这可能与亲本对子代基因库的贡献率不同相关^[21],而亲本遗传贡献率的差异则是受精率、成活率等多种因素综合影响的结果.2 个选育系杂交子代与自繁子代遗传多样性水平上的差异表明,选育系间杂交可使后代的遗传多样性水平得到明显改良.另外,SIS 群体的遗传多样性低于 AB 和 BB 群体的现象,从一定程度上证实了目前国内凡纳滨对虾亲虾市场上关于近年来 SIS 公司亲虾质量下降的报道^[22].

3.3 5 个凡纳滨对虾群体的遗传差异

在水产生物育种过程中,亲本的选择除了要保证高的遗传多样性水平之外,还应考虑遗传距离及遗传分化程度的大小.选择遗传距离远且具有良好性状的凡纳滨对虾进行杂交试验,并评估最优组合,是培育

优良新品种的有效途径^[23].

本研究对 5 个凡纳滨对虾群体 F_{ST} 和 D_s 的分析显示,选育系 A 虽然也源自于美国,但经过多代的自繁选育后已与新引进的美国 SIS 亲代群体之间发生了明显的遗传分化 ($F_{ST} = 0.2548$, $D_s = 0.6704$),这表明长期的自繁会导致同一地区来源的凡纳滨对虾后代之间发生明显的遗传分化,这种情况在罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*)^[24] 中也有发现.另外,2 个杂交子代群体 (AB 和 BA) 和 2 个自交子代群体 (AA 和 BB) 之间出现了高度遗传分化 ($F_{ST} > 0.20$, $D_s > 0.4$),而 2 个杂交子代群体与 SIS 群体之间则为中度遗传分化 ($0.05 < F_{ST} \leq 0.15$, $D_s < 0.2$).

综上所述,引进的亲虾群体经多代自繁后,其后代的遗传多样性有所下降,但基因型的纯合度得到提高.采用多代自繁的凡纳滨对虾纯合选育系进行选育系间杂交,其杂交后代能够表现出一定的杂种优势,同时遗传多样性水平也得到一定程度的提高,这有望成为培育凡纳滨对虾新品种(系)的一个有效途径.

参考文献:

- [1] 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[D].青岛:中国科学院研究生院(海洋研究所),2014:1-6.
- [2] 刘建勇.南美白对虾优质种苗培育技术(上)[J].当代水产,2014(1):1-3.
- [3] VASEEHARAN B,RAJAKAMARAN P,JAYASEELAN D,et al.Molecular markers and their application in genetic diversity of penaeid shrimp[J].Aquaculture International,2013,21(2):219-241.
- [4] MAGGIONI R,COIMBRA M R M,COSTA R B,et al.Genetic variability of marine shrimp in the Brazilian industry[J].Pesquisa Agropecuária Brasileira,2013,48(8):968-974.
- [5] ARTILES A,COBO R,BENÍTEZ L,et al.Assessment of genetic variation and productive markers through four progenies of the first introduced stock of cultured shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* in Cuba[J].International Journal of Aquaculture,2015,5(23):1-12.
- [6] LUVESUTO E,FREITAS P D,GALETTI JUNIOR P M.Genetic variation in a closed line of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Penaeidae)[J].Genetics and Molecular Biology,2007,30(4):1156-1160.
- [7] MEEHAN D,XU Z,ZUNIGA G,et al.High frequency and large number of polymorphic microsatellites in cultured shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* [Crustacea: Decapoda][J].Marine Biotechnology,2003,5(4):311-330.

<http://jxmu.xmu.edu.cn>

- [8] FALCONER D S. Introduction to quantitative genetics [M]. New York: The Ronald Press Company, 1960: 365.
- [9] 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.
- [10] 秦艳杰, 刘晓, 张海滨, 等. 海湾扇贝正反交两个家系形态学指标比较分析[J]. 海洋科学, 2007, 31(3): 22-27.
- [11] 李莉好, 喻达辉, 黄桂菊, 等. 尼罗罗非鱼、奥利亚罗非鱼及其正、反杂交群体的遗传多样性[J]. 中国水产科学, 2008, 15(4): 585-592.
- [12] 林红军, 沈琪, 张吕平, 等. 凡纳滨对虾生长性状的双列杂交分析[J]. 热带海洋学报, 2010, 29(6): 51-56.
- [13] YOU W W, KE C H, LUO X, et al. Growth and survival of three small abalone *Haliotis diversicolor* populations and their reciprocal crosses [J]. Aquaculture Research, 2009, 40(13): 1474-1480.
- [14] 包文斌, 束婧婷, 许盛海, 等. 样本量和性比对微卫星分析中群体遗传多样性指标的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2007, 43(1): 6-9.
- [15] 冯娜娜, 徐真, 马洪雨, 等. 凡纳滨对虾 7 个不同家系遗传差异的微卫星标记分析[J]. 生物技术通报, 2012, 11: 133-138.
- [16] VELA AVITÚA S, MONTALDO H H, MÁRQUEZVALDELAMAR L, et al. Decline of genetic variability in a captive population of Pacific white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* using microsatellite and pedigree information [J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2013, 16(4): 1-10.
- [17] LIMA A P S, SILVA S M B C, OLIVEIRA K K C, et al. Genetics of two marine shrimp hatcheries of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in Pernambuco, Brazil [J]. Ciência Rural, 2010, 40(2): 295-301.
- [18] 陈晓汉, 曾地刚, 李咏梅, 等. 凡纳滨对虾遗传多样性的微卫星 DNA 分析[J]. 广西农业科学, 2006, 37(5): 579-583.
- [19] KNIBB W, WHATMORE P, LAMONT R, et al. Can genetic diversity be maintained in long term mass selected populations without pedigree information? A case study using banana shrimp *Fenneropenaeus merguensis* [J]. Aquaculture, 2014, 428: 71-78.
- [20] PEREZ-ENRIQUEZ R, HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ F, CRUZ P. Genetic diversity status of white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* broodstock in Mexico [J]. Aquaculture, 2009, 297(1): 44-50.
- [21] 王鸿霞, 吴长功, 相建海. 凡纳滨对虾繁殖中不同亲本对子代遗传贡献率的差异[J]. 动物学报, 2006, 52(1): 175-181.
- [22] 吴群凤. 叶富良坦言: SIS 默认选育路线失当, 协会不减进口量是实事求是[J]. 当代水产, 2013(10): 30-31.
- [23] 孙少华, 师守坤. 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.
- [24] 高强, 罗坤, 宫金华, 等. 人工养殖与选育对罗氏沼虾遗传多样性的影响[J]. 水生生物学报, 2012, 36(5): 866-873.

Growth Performance and Genetic Diversity Analysis of Hybrids Between Selective Lines of *Litopenaeus vannamei*

WU Yidi¹, LUO Xuan¹, YANG Zhangwu², HUANG Yongchun³, YOU Weiwei^{1*}

(1. College of Ocean & Earth Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102, China;

2. Fisheries Research Institute of Fujian, Xiamen 361013, China; 3. College of Fisheries, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: The growth performance and genetic diversity of the inbred and crossbred progenies of two *Litopenaeus vannamei* selective lines (A and B) were analyzed in this study. The results indicated that AB group showed the best growth performance and heterosis. Eleven fluorescently labeled microsatellite markers were used to amplify microsatellite DNA from five *L. vannamei* populations. The results showed that four populations (except for AA) displayed higher genetic diversity with average numbers of alleles ($N_a = 4.273-5.636$), average expected heterozygosity ($H_e = 0.586-0.629$), and average polymorphism information content ($PIC = 0.512-0.556$). Nei's unbiased genetic distance (D_s) indicated a close genetic relationship between populations SIS and AB ($D_s = 0.1314$), while populations SIS and AA showed the farthest genetic relationship ($D_s = 0.6704$). The results demonstrated that the genetic diversity decreased after several generations of selection, while hybridization between different selective lines could improve the growth performance and genetic diversity of *L. vannamei*.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; growth performance; genetic diversity; microsatellite; hybridization

<http://jxmu.xmu.edu.cn>