



罗氏沼虾 SNP 标记筛选及不同群体的遗传多样性

周晓敏^{1,2,3}, 戴习林^{1,2,3*}

- (1. 上海海洋大学, 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306;
2. 上海海洋大学, 水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306;
3. 上海海洋大学, 水产动物遗传育种中心上海市协同创新中心, 上海 201306)

摘要: 罗氏沼虾因其自身的生长优势, 已成为我国重要的养殖虾类, 为保证其养殖的持续健康发展, 对其进行遗传多样性分析。利用罗氏沼虾性腺组织转录组测序结果, 参考 NCBI 数据库, 选取 60 个 SNP 位点, 以马来西亚野生群体 (MW) 为样本, 采用直接测序技术进行位点多态性检测, 得到 25 个 (41.7%) 具有二态性等位基因位点。并对罗氏沼虾上海 (SH)、浙江 (ZJ)、马来西亚养殖群体 (MF)、生长快速品系选育群体 (BG) 及 MW 群体 5 个群体的 150 尾个体进行遗传多样性分析, 其观测杂合度 H_o 和期望杂合度 H_e 的分布范围分别为 0.18~0.30 和 0.28~0.37, 平均多态性信息含量依次为 0.29、0.24、0.21、0.26 和 0.33, 表现为中低等多态水平; 群体间的遗传相似性系数和遗传距离变化范围分别为 0.659~0.968 和 0.032~0.417, MF 群体和 BG 群体遗传相似系数最小、遗传距离最大, SH 群体和 ZJ 群体遗传相似系数最大、遗传距离最小; 遗传分化指数和基因流的范围分别为 0.045~0.363 和 0.440~5.293, MF 群体和 MW 群体之间出现最高值, SH 群体和 ZJ 群体出现最低值, SH 群体和 ZJ 群体基因流最高, MF 群体和 MW 群体最低; AMOVA 分子方差分析显示, 遗传变异主要来源于群体内, 群体间的变异为 26.33%。5 个群体近交系数为 0.151~0.342, 3 个养殖群体的平均近交系数均高于野生群体, 对 25 个位点在 5 个群体中的基因型进行统计分析, 有 9 个位点处的 BG 群体的基因型与其他 3 个养殖群体基因型分离方向相反, 14 个位点处 3 个养殖群体中杂合个体频数较 MW 群体低。研究结果为进一步开展罗氏沼虾遗传育种研究及保护政策的制定提供了参考。

关键词: 罗氏沼虾; SNP; 直接测序法; 遗传多样性

中图分类号: Q 347; S 917.4

文献标志码: A

罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*), 又称马来西亚大虾, 自引进中国以来, 因其自身的生长优势, 已成为我国重要的养殖虾类, 但随着养殖规模的不断扩大, 近亲繁殖、亲本逆向保留等原因, 导致罗氏沼虾出现了种质退化、生长缓慢等现象, 已对该虾养殖的持续健康发展产生影响。因此, 罗氏沼虾的遗传改良和优良品种的培育是当前提高罗氏沼虾养殖效益和

健康养殖水平的重要措施。

罗氏沼虾分子标记的开发是挖掘优异种质资源、分析其与经济性状的关联性、建立分子遗传育种技术及培育优良品种的基础性工作之一。单核苷酸多态性标记 (single nucleotide polymorphism, SNP) 是指单个核苷酸发生改变而引起的 DNA 序列多态性, 最早于 1996 年由美国学者 Lander 提出, 是继扩增片段长度多态性 (AFLP)、

收稿日期: 2019-04-11 修回日期: 2019-11-05

资助项目: 上海市虾类产业技术体系建设项目 (沪农科产字 [2014] 第 5 号)

通信作者: 戴习林, E-mail: xldai@shou.edu.cn

微卫星 (SSR) 等之后的第三代 DNA 遗传分子标记^[1]。由于具有数量多、密度大、遗传稳定性高、便于高通量自动化检测分析等优点, SNP 标记被广泛应用于高密度遗传连锁图谱构建、基因定位、品种鉴定、群体遗传学研究和分子辅助育种等领域^[2-4]。

近年来, 水产动物中 SNP 标记的开发和应用已有若干报道, 如鱼类的大西洋鳕 (*Gadus morhua*)^[5]、大菱鲂 (*Scophthalmus maximus*)^[6]、日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*)^[7]、甲壳类的日本沼虾 (*Macrobrachium nipponense*)^[8]、凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*)、斑节对虾 (*Penaeus monodon*)^[9]、拟穴青蟹 (*Scylla paramamosain*)^[10-11]、三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*)^[12]、贝类的栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*)^[13]、虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*)^[14]、长牡蛎 (*Crassostrea gigas*)^[15]。随着 SNP 技术的日渐成熟, 现已成为分子标记遗传学研究的主要技术, 然而在罗氏沼虾中还鲜有报道, 目前尚以微卫星标记^[16-19] 为主。

本研究基于马来西亚野生群体和罗氏沼虾转录组高通量测序数据, 开发 SNP 标记, 并选取上海、浙江、马来西亚养殖群体及本实验室生长快速品系选育群体, 进行种群遗传结构和遗传多样性的分析, 旨在为罗氏沼虾不同群体的遗传检测提供新技术, 并为罗氏沼虾的选育工作提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验样品为马来西亚野生群体 (MW) 及上海 (SH)、浙江 (ZJ)、马来西亚 (MF) 3 个地区养殖场养殖群体和实验室生长快速品系选育群体 (BG, 亲本为马来西亚野生罗氏沼虾)。每个群体各随机选取 30 尾, 体长为 4.12~8.27 cm, 体质量为 1.68~14.61 g。取肌肉组织固定于无水乙醇, -20 °C 保存备用。

1.2 实验方法

基因组 DNA 提取 罗氏沼虾 DNA 提取采用海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒 (上海傲益生物科技有限公司)。

SNP 位点引物设计 从本实验室前期利用罗氏沼虾大颚腺与卵巢转录组测序得到的转录组数据库中挑选表达丰度高、有功能注释且

SNP 位点较多的 Unigene 序列, 使用 Primer Premier 5.0 软件设计引物, 并送上海生工生物工程股份有限公司合成。

SNP 位点筛选 利用 MW 10 个个体筛选引物, PCR 反应体系总体积为 10 μ L: 2 \times Mastermix 5 μ L, ddH₂O 4 μ L, 上、下游引物 (10 μ mol/L) 各 0.3 μ L, 模板 DNA (50 ng/ μ L) 0.4 μ L。PCR 扩增程序为 95 °C 预变性 4 min, 95 °C 变性 30 s, 各引物的最适退火温度为 45 s, 72 °C 延伸 1 min, 35 个循环, 72 °C 延伸 10 min。选取扩增条带明亮、单一的引物, 再利用 MW 30 个个体对筛选合格的引物进行 PCR 扩增, 将检测合格的 PCR 未纯化产物交至上海迈浦生物科技有限公司测序, 读取峰图, 筛选碱基突变率 $\geq 20\%$ 的 SNP 位点。

不同群体遗传多样性分析 选择在 MW 群体中检测为多态的位点, 对 SH、ZJ、MF、BG 和 MW 5 个群体 150 个个体再次进行扩增、测序、分型筛选, 并对 5 个群体进行相关遗传参数的统计。

1.3 数据分析

利用 PopGene 3.2 软件对其进行群体遗传分析, 计算观测杂合度 (H_o)、期望杂合度 (H_e)、基因多样性指数 N_{ei} 、哈迪-温伯格 (Hardy-Weinberg) 平衡偏离、遗传相似性系数及遗传距离, 由 F 检验得出群体平均近郊系数 (F_{is} 、 F_{it} 、 F_{st}), 由 Cervus 软件得出多态性信息含量 (PIC), 由 Arlequin V 3.5 软件得出遗传分化指数 (G_{st}) 和基因流 (N_m), 采用 MEGA 5.0 软件 UPGMA 进行聚类分析^[20]。

2 结果

2.1 引物筛选

根据 60 个位点设计的 27 对引物, 经过扩增分析, 将测序结果进行序列比对, 读取峰图, 记录杂合位点对应的基因型 (图 1), 由 3 个箭头所指位置可看出, 由同一引物扩增的 3 个样本个体的同一位点有套峰出现, 这 3 个个体此处 SNP 位点的基因型分别记录为 AA、AG 和 GG, 在 MW 群体中进行基因分型验证发现, 10 组引物 (37%) 无扩增产物, 5 组引物 (18%) 无多态性, 12 组 (45%) 引物扩增产物中共 25 个 SNP 等位基因具有二态性 (表 1)。根据所得数据分析, 筛出的候选 SNP 位点一共有 8 个颠换, 17 个转换, 其

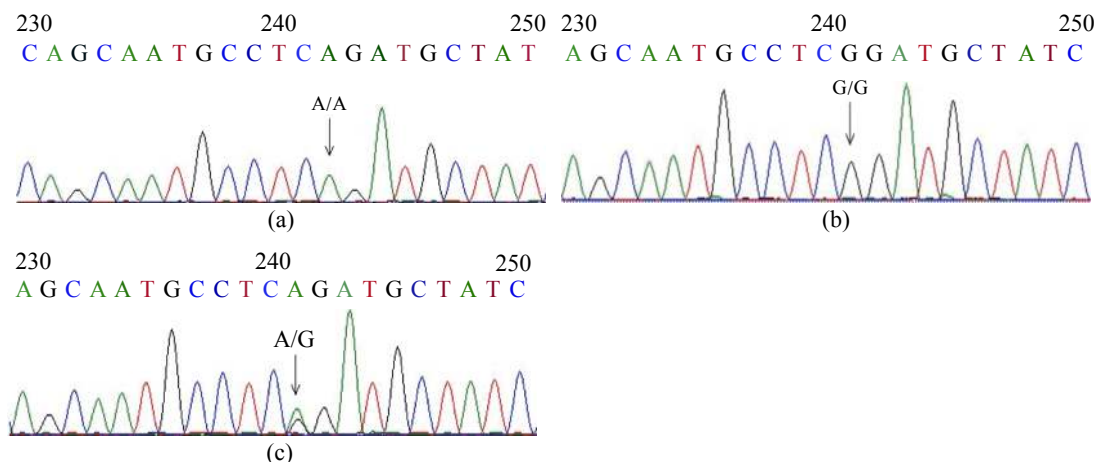


图 1 HSP90-1 位点的测序峰图

Fig. 1 Sequencing peak map of HSP90-1 locus

表 1 部分罗氏沼虾 SNP 引物序列信息

Tab. 1 SNP primer sequence information of *M. rosenbergii*

引物名称 primer name	SNP标记个数 SNP site	引物序列 primer sequence	目的片段长度/bp product length	退火温度/°C T_m
calmodulin	2	F: AAGAAGATGACGGTAGCCATG R: CTCCTCGTCCTTCTTAATTG	332	57
YARS	3	F: TACTGTGGTCCAGACACGCA R: TATTCCCCTCCTCACAAAAG	276	57
1-Ty3-G-1	4	F: GACGGCCTTCTCCTAGATTG R: CGACAGTCTGAAGGCAGTTAG	279	57
2-Ty3-trans-1	5	F: TGGCACATCAACAAGAAAGAG R: CACTCTGTGGGAAGGACCTGA	287	57
chymotrypsinB II	1	F: CTGAAAGAGGAAGAGCCCGA R: CTGGATAGCATCTGTGAACTGAA	141	57
EGFR-1	2	F: GTGATATAAAGCAGACGGGCA R: CAGACTCCGCAGATGGCTTTG	153	57
EGFR-2	1	F: TATCCTACGACTCAGCCATTT R: TTCCTTGGGACTGGTGGTTGG	135	57
HSP90	2	F: CCAAGCAGAAGTAAATCGGA R: TCTGAAGTTGCCGAATCCTG	670	57
HSP21	2	F: ATTTATCGAACCATGCAAGCAC R: GTCCACTGAGTTGACCTCACA	221	57
putative-1	3	F: GTTGGTGCCGAACCTCCCGAG R: CCTGTCGTAGCAGCACTTGTC	194	57
phosphatase	3	F: ATGGCACCAGGTGTAAAGC R: TCCTGTAGCACCTTCTTG	323	57
tigger-1	1	F: GAATCTGCTACCCGTACATTG R: GAAGCAACCAGTTCCGCCAG	309	57
myosin-1-1	3	F: GAAACTCACGCTCCAGTACAA R: TCATGTCAAAGTGATTCTGGC	310	57
SETMYND	2	F: CTTGGAAACAAATGCACTACC R: AGCGTCTCTAACTGGTCTGG	199	57
centromere-1	2	F: GCTAGATTTGGCATGAAACCT R: TCTGCTGGATATTGCTTTGAGT	286	57

· 续表 1 ·

引物名称 primer name	SNP标记个数 SNP site	引物序列 primer sequence	目的片段长度/bp product length	退火温度/°C T_m
centromere-2	2	F: CTCTTATGGCTAAAGTATGTGAA R: ACGGGCTGAAGATATTGAGGG	252	57
similar	2	F: TCCGCAAAGTTGAAAAAGCAC R: GAAGGCTGCTTTTGTGGAGAC	400	57
HGS	1	F: CAATGGGTCCACAGATATTGA R: AATGGTCTTTGAAGGGGCTA	200	57
TS-1	5	F: TACTGTGGTTCCAGACACGCA R: TATCCCCTCCTCACAAAAAG	276	57
trehalose	3	F: GTGCTTCCAGTGTGTCTCCCT R: GCCATCATCAGGTGGTAGTCAT	400	57
pho-carboxykinase	2	F: ACTTGGGGATGAGGATTTCTGT R: ATTCTGAGAGCAAAGCATTCT	201	57
ATP-dependent	3	F: AAATCCCTGGTGATGTCTTGT R: CACCACCACTTTGCGACCTAT	218	57
Toll2	2	F: CAATATATGTTGCAGATAATCCTC R: ATTATCCCTCGCACATTGA	497	57
TTK	2	F: CAGGTTCCAGAGTGGACAAGAAGA R: TTGGGAGGACGGATTTCACTA	248	57
SMG1	2	F: AGCAGGCACACGAGAAGGATT R: CGAGCATTGGTAATAACAGCCT	312	57

中 C/T 最常见, 占候选 SNP 位点总数的 44.0%。

2.2 SNP 标记在不同群体中的多态性

SH、ZJ、MW、BG 和 MW 5 个群体的遗传多样性分析结果, H_o 为 0.18~0.30, 平均值为 0.24; H_e 为 0.28~0.37, 平均值为 0.33。其中, 平均 H_e 最高的为 SH 群体 (0.37), 最低的为 MF 群体 (0.28); 5 个群体中哈温平衡常数均发生了不同程度的偏离, SH 群体中有 9 个位点偏离哈温平衡, ZJ 群体中有 10 个位点偏离哈温平衡, MF 群体中有 11 个位点偏离哈温平衡, BG 群体中有 7 个位点偏离哈温平衡, 而 MW 群体中仅有 1 个位点未达到哈温平衡; 平均遗传多样性指数依次为 0.36、0.30、0.27、0.33 和 0.35, 在各群体中, SH、BG 和 MW 群体的遗传多样性高于 ZJ 和 MF 群体 (表 2)。SH、BG 和 MW 群体的 PIC 分别为 0.29、0.27 和 0.33, 属于中度多态水平 ($0.25 < PIC < 0.5$), ZJ 和 MF 群体的 PIC 分别为 0.24 和 0.21, 属于低度多态水平 ($PIC < 0.25$)^[21]。因此, 这 25 个标记可以用于群体遗传学分析及未来罗氏沼虾遗传结构的解析和种群适应本地环境机制的研究。

2.3 罗氏沼虾不同群体间的遗传关系

5 个罗氏沼虾群体 25 个 SNP 标记的近交系

数中, SH、ZJ、MF、BG 及 MW 中分别有 15、17、19、13 和 24 个位点的近交系数值为正值, 近交系数为 0.151~0.342, 平均值为 0.253, 且 3 个养殖群体的平均近交系数均高于野生群体 (表 3); 5 个罗氏沼虾群体间的遗传相似系数为 0.659~0.968, 其中, SH 群体和 ZJ 群体之间的遗传相似系数最大 (0.968), MF 群体和 BG 群体遗传相似系数最小 (0.659), 遗传距离变化范围为 0.032~0.417, MF 群体和 BG 群体遗传距离最大 (0.417), SH 群体和 ZJ 群体遗传距离最小 (0.032) (表 4); G_{st} 和 N_m 的范围分别为 0.045~0.363 和 0.440~5.293, MF 群体和 MW 群体之间遗传分化指数出现最高值 (0.363), 属于高度遗传分化 ($G_{st} > 0.25$), 最低值出现在 SH 群体和 ZJ 群体 (0.045), 属于轻度遗传分化 ($G_{st} < 0.05$); SH 群体和 ZJ 群体的 N_m 出现最高值 (5.293), 最低值出现在 MF 群体和 MW 群体之间 (0.440) (表 5)。基于 SNP 数据的 5 个群体罗氏沼虾的 AMOVA 分析结果显示, 遗传变异主要来源于群体内, 群体间的变异为 26.33%, 群体内个体间变异为 73.67%, 且随机排列检验显示群体间差异极显著 ($P < 0.01$) (表 6)。遗传分化系数和遗传距离分析结果表明, SH 群体、ZJ 群体和 MF 群体遗传分化较小, 遗传关系紧密。BG

表 2 罗氏沼虾 5 个群体 SNP 标记多态性

Tab. 2 SNP marker polymorphism of five groups of *M. rosenbergii*

位点编号 no.	突变类型 mutation type	所在基因名称 gene name	遗传参数 genetic index	群体 groups				
				上海群体 SH	浙江群体 ZJ	马来西亚 养殖群体 MF	生长快速品 系选育群体 BG	马来西亚 野生群体 MW
SNP1	A/G	<i>Calmodulin</i>	H_o	0.50	0.17	0.07	0.47	0.33
			H_e	0.44	0.21	0.14	0.36	0.49
			N_{ei}	0.43	0.21	0.13	0.36	0.48
			HW	0.45	0.23	0.00	0.11	0.08
			PIC	0.34	0.19	0.12	0.29	0.37
SNP2	C/T	<i>Calmodulin</i>	H_o	0.13	0.07	0.18	0.13	0.23
			H_e	0.51	0.40	0.17	0.45	0.35
			N_{ei}	0.50	0.39	0.16	0.44	0.34
			HW	0.00	0.00	0.65	0.00	0.07
			PIC	0.38	0.32	0.15	0.35	0.28
SNP3	A/C	<i>YARS</i>	H_o	0.27	0.47	0.39	0.50	0.43
			H_e	0.40	0.50	0.40	0.48	0.50
			N_{ei}	0.39	0.49	0.39	0.47	0.50
			HW	0.06	0.71	0.93	0.82	0.44
			PIC	0.32	0.37	0.32	0.36	0.37
SNP4	A/G	<i>YARS</i>	H_o	0.07	0.10	0.14	0.13	0.27
			H_e	0.33	0.10	0.19	0.28	0.36
			N_{ei}	0.32	0.10	0.19	0.28	0.36
			HW	0.00	0.82	0.13	0.00	0.13
			PIC	0.27	0.09	0.17	0.24	0.29
SNP5	A/G	<i>YARS</i>	H_o	0.03	0.07	0.04	0.20	0.30
			H_e	0.35	0.18	0.17	0.24	0.41
			N_{ei}	0.34	0.18	0.16	0.23	0.41
			HW	0.00	0.00	0.00	0.39	0.12
			PIC	0.28	0.16	0.15	0.20	0.34
SNP6	C/T	<i>ChymotrypsinB II</i>	H_o	0.22	0.03	0.07	0.20	0.30
			H_e	0.45	0.16	0.47	0.49	0.44
			N_{ei}	0.44	0.16	0.46	0.48	0.43
			HW	0.01	0.00	0.00	0.00	0.07
			PIC	0.35	0.15	0.36	0.37	0.32
SNP7	A/G	<i>HSP90</i>	H_o	0.25	0.46	0.08	0.37	0.33
			H_e	0.34	0.43	0.16	0.35	0.36
			N_{ei}	0.33	0.42	0.15	0.34	0.36
			HW	0.19	0.67	0.01	0.72	0.64
			PIC	0.28	0.33	0.14	0.28	0.29
SNP8	G/T	<i>HSP90</i>	H_o	0.46	0.57	0.17	0.10	0.37
			H_e	0.47	0.47	0.28	0.16	0.51
			N_{ei}	0.46	0.46	0.28	0.15	0.50
			HW	0.92	0.23	0.03	0.03	0.12
			PIC	0.35	0.35	0.24	0.14	0.38
SNP9	C/T	<i>Phosphatase</i>	H_o	0.31	0.20	0.43	0.23	0.30
			H_e	0.35	0.36	0.48	0.21	0.41
			N_{ei}	0.35	0.36	0.47	0.21	0.41
			HW	0.49	0.01	0.58	0.51	0.12
			PIC	0.29	0.29	0.36	0.19	0.34

· 续表 2 ·

位点编号 no.	突变类型 mutation type	所在基因名称 gene name	遗传参数 genetic index	群体 groups				
				上海群体 SH	浙江群体 ZJ	马来西亚 养殖群体 MF	生长快速品 系选育群体 BG	马来西亚 野生群体 MW
SNP10	C/T	<i>Phosphatase</i>	H_o	0.17	0.00	0.07	0.20	0.23
			H_e	0.22	0.00	0.07	0.49	0.35
			N_{ei}	0.21	0.00	0.06	0.48	0.34
			HW	0.24	0.00	0.89	0.00	0.07
			PIC	0.19	0.00	0.06	0.37	0.28
SNP11	C/T	<i>Phosphatase</i>	H_o	0.38	0.47	0.13	0.20	0.33
			H_e	0.39	0.51	0.13	0.24	0.40
			N_{ei}	0.38	0.50	0.12	0.23	0.39
			HW	0.88	0.66	0.74	0.39	0.36
			PIC	0.31	0.37	0.12	0.20	0.35
SNP12	C/T	<i>SETMYND</i>	H_o	0.30	0.00	0.15	0.00	0.27
			H_e	0.30	0.00	0.21	0.00	0.33
			N_{ei}	0.30	0.00	0.20	0.00	0.32
			HW	0.93	0.00	0.15	0.00	0.30
			PIC	0.26	0.00	0.18	0.00	0.27
SNP13	C/T	<i>SETMYND</i>	H_o	0.13	0.07	0.08	0.50	0.20
			H_e	0.13	0.07	0.08	0.38	0.24
			N_{ei}	0.12	0.06	0.07	0.38	0.23
			HW	0.74	0.89	0.89	0.08	0.24
			PIC	0.12	0.06	0.13	0.31	0.22
SNP14	A/G	<i>Similar</i>	H_o	0.30	0.20	0.04	0.17	0.33
			H_e	0.30	0.18	0.22	0.26	0.47
			N_{ei}	0.30	0.18	0.22	0.26	0.46
			HW	0.93	0.58	0.00	0.04	0.10
			PIC	0.26	0.16	0.15	0.22	0.36
SNP15	G/T	<i>Similar</i>	H_o	0.50	0.50	0.36	0.47	0.50
			H_e	0.51	0.48	0.51	0.45	0.51
			N_{ei}	0.50	0.47	0.50	0.44	0.50
			HW	0.93	0.52	0.11	0.86	0.93
			PIC	0.38	0.36	0.38	0.35	0.38
SNP16	A/G	<i>HGS</i>	H_o	0.15	0.07	0.08	0.40	0.27
			H_e	0.32	0.24	0.14	0.50	0.47
			N_{ei}	0.31	0.24	0.14	0.49	0.46
			HW	0.01	0.00	0.01	0.27	0.02
			PIC	0.26	0.21	0.07	0.37	0.35
SNP17	C/T	<i>Trehalose</i>	H_o	0.15	0.17	0.08	0.27	0.20
			H_e	0.32	0.31	0.21	0.28	0.24
			N_{ei}	0.31	0.31	0.20	0.28	0.23
			HW	0.01	0.01	0.00	0.75	0.39
			PIC	0.26	0.26	0.18	0.24	0.37
SNP18	A/G	<i>Pho-carboxykinase</i>	H_o	0.08	0.07	0.08	0.20	0.33
			H_e	0.27	0.24	0.21	0.24	0.47
			N_{ei}	0.26	0.24	0.20	0.23	0.46
			HW	0.00	0.00	0.00	0.39	0.10
			PIC	0.23	0.21	0.18	0.20	0.36

· 续表 2 ·

位点编号 no.	突变类型 mutation type	所在基因名称 gene name	遗传参数 genetic index	群体 groups				
				上海群体 SH	浙江群体 ZJ	马来西亚 养殖群体 MF	生长快速品 系选育群体 BG	马来西亚 野生群体 MW
SNP19	C/T	<i>Pho-carboxykinase</i>	H_o	0.12	0.07	0.23	0.23	0.30
			H_e	0.47	0.33	0.51	0.44	0.44
			N_{ei}	0.46	0.33	0.50	0.43	0.43
			HW	0.00	0.00	0.00	0.01	0.07
			PIC	0.36	0.27	0.37	0.34	0.34
SNP20	G/T	<i>Toll2</i>	H_o	0.48	0.30	0.26	0.47	0.27
			H_e	0.46	0.44	0.46	0.36	0.40
			N_{ei}	0.45	0.43	0.46	0.36	0.39
			HW	0.78	0.07	0.02	0.11	0.06
			PIC	0.35	0.34	0.35	0.29	0.32
SNP21	C/T	<i>Toll2</i>	H_o	0.52	0.33	0.33	0.77	0.27
			H_e	0.49	0.47	0.41	0.49	0.40
			N_{ei}	0.48	0.46	0.40	0.49	0.39
			HW	0.73	0.10	0.32	0.00	0.06
			PIC	0.36	0.36	0.32	0.37	0.32
SNP22	C/T	<i>TTK</i>	H_o	0.38	0.37	0.33	0.50	0.40
			H_e	0.35	0.46	0.46	0.48	0.50
			N_{ei}	0.35	0.46	0.46	0.47	0.49
			HW	0.69	0.25	0.13	0.82	0.27
			PIC	0.29	0.35	0.35	0.36	0.37
SNP23	A/G	<i>TTK</i>	H_o	0.13	0.07	0.07	0.10	0.17
			H_e	0.48	0.29	0.19	0.10	0.41
			N_{ei}	0.47	0.29	0.19	0.10	0.41
			HW	0.00	0.00	0.00	0.82	0.00
			PIC	0.36	0.25	0.17	0.09	0.32
SNP24	C/G	<i>SMG</i>	H_o	0.13	0.17	0.57	0.13	0.33
			H_e	0.18	0.21	0.50	0.13	0.45
			N_{ei}	0.18	0.21	0.50	0.12	0.44
			HW	0.11	0.23	0.48	0.74	0.14
			PIC	0.16	0.19	0.37	0.12	0.35
SNP25	A/G	<i>SMG</i>	H_o	0.53	0.37	0.07	0.47	0.37
			H_e	0.47	0.49	0.18	0.43	0.38
			N_{ei}	0.46	0.49	0.18	0.42	0.38
			HW	0.47	0.15	0.00	0.60	0.83
			PIC	0.36	0.37	0.16	0.33	0.31
平均 mean			H_o	0.27	0.21	0.18	0.30	0.26
			H_e	0.37	0.30	0.28	0.33	0.35
			N_{ei}	0.36	0.30	0.27	0.33	0.35
			HW	0.38	0.25	0.24	0.34	0.23
			PIC	0.29	0.24	0.21	0.26	0.33

群体与 MW 群体和其他 3 个群体遗传分化较大, 亲缘关系相应较远。

2.4 罗氏沼虾不同群体的聚类分析

图 2 为基于遗传距离矩阵构建的 5 个群体的 UPGMA 系统树, 5 个罗氏沼虾群体可分为

2 组, 其中 3 个养殖群体聚为一支, MW 群体和 BG 群体聚为另一支。

2.5 罗氏沼虾不同群体的 SNP 位点基因型的分布规律

SNP 位点的基因型百分比柱状图显示, 5 个

表 3 罗氏沼虾不同群体 25 个 SNP 位点的 F -检验

Tab. 3 F -statistics of 25 SNP loci of five groups of *M. rosenbergii*

位点 loci	F_{is}					F_{is}	F_{it}	F_{st}
	上海群体 SH	浙江群体 ZJ	马来西亚 养殖群体 MF	生长快速品 系选育群体 BG	马来西亚 野生群体 MW			
SNP1	-0.155	0.191	0.462	-0.304	0.590	0.107	0.156	0.055
SNP2	0.733	0.830	-0.098	0.700	0.313	0.595	0.631	0.091
SNP3	0.318	0.050	-0.002	-0.058	0.125	0.082	0.174	0.101
SNP4	0.792	-0.053	0.253	0.520	0.282	0.424	0.470	0.079
SNP5	0.902	0.630	0.780	0.280	0.318	0.554	0.801	0.553
SNP6	0.500	0.781	0.857	0.080	0.068	0.420	0.697	0.478
SNP7	0.242	-0.098	0.455	0.583	0.307	0.286	0.612	0.456
SNP8	-0.002	-0.244	0.400	0.346	0.266	0.099	0.334	0.261
SNP9	0.108	0.441	0.083	-0.132	0.261	0.175	0.290	0.139
SNP10	0.188		-0.035	0.583	0.313	0.387	0.484	0.159
SNP11	0.011	0.063	-0.071	0.644	0.250	0.248	0.416	0.223
SNP12	-0.002		0.246		0.167	0.125	0.198	0.083
SNP13	-0.071	-0.035	-0.040	-0.333	0.135	-0.124	-0.045	0.070
SNP14	-0.002	-0.111	0.837	0.634	0.255	0.359	0.425	0.103
SNP15	-0.001	-0.058	0.286	-0.050	-0.001	0.038	0.070	0.034
SNP16	0.505	0.710	0.458	0.040	0.306	0.379	0.723	0.554
SNP17	0.505	0.439	0.623	0.186	0.135	0.350	0.606	0.394
SNP18	0.705	0.710	0.623	0.149	0.282	0.461	0.515	0.101
SNP19	0.751	0.790	0.536	0.461	0.341	0.564	0.609	0.102
SNP20	-0.068	0.307	0.432	-0.304	0.318	0.150	0.159	0.010
SNP21	-0.081	0.282	0.169	-0.577	0.318	0.002	0.097	0.096
SNP22	-0.091	0.194	0.269	-0.058	0.186	0.110	0.202	0.103
SNP23	0.720	0.758	0.627	-0.053	0.341	0.551	0.733	0.407
SNP24	0.259	0.191	-0.145	-0.111	0.022	-0.014	0.332	0.342
SNP25	-0.148	0.246	0.630	-0.071	0.250	0.157	0.356	0.237
平均 mean	0.265	0.278	0.342	0.151	0.249	0.253	0.437	0.246

注: F_{is} 、 F_{it} 和 F_{st} 为所有群体值

Notes: F_{is} , F_{it} and F_{st} are values from five groups

表 4 罗氏沼虾 5 个群体 N_{ci} 氏遗传相似性系数(上三角)及遗传距离(下三角)

Tab. 4 N_{ci} 's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) in five groups of *M. rosenbergii*

群体 group	上海群体 SH	浙江群体 ZJ	马来西亚养殖群体 MF	生长快速品系选育群体 BG	马来西亚野生群体 MW
上海群体 SH		0.968	0.920	0.688	0.785
浙江群体 ZJ	0.032		0.914	0.700	0.761
马来西亚养殖群体 MF	0.084	0.090		0.659	0.733
生长快速品系选育群体 BG	0.374	0.357	0.417		0.804
马来西亚野生群体 MW	0.242	0.273	0.310	0.218	

表 5 罗氏沼虾 5 个群体间遗传分化指数 (G_{st} , 对角线上) 和基因流 (N_m , 对角线下)

Tab. 5 Genetic diversity (G_{st} , above diagonal) and gene flow (N_m , below diagonal) in five groups of *M. rosenbergii*

群体 group	上海群体 SH	浙江群体 ZJ	马来西亚养殖群体 MF	生长快速品系选育群体 BG	马来西亚野生群体 MW
上海群体 SH		0.045	0.178	0.239	0.283
浙江群体 ZJ	5.293		0.148	0.242	0.324
马来西亚养殖群体 MF	1.158	1.439		0.186	0.363
生长快速品系选育群体 BG	0.797	0.782	1.093		0.267
马来西亚野生群体 MW	0.634	0.522	0.440	0.685	

表 6 罗氏沼虾 5 个群体遗传差异的分子方差分析

Tab. 6 AMOVA of five groups of *M. rosenbergii*

变异来源 sources of variation	自由度 df	平方和 sum of squares	方差组成 variance components	变异百分比/% variation percentage
群体间 among populations	4	361.21	2.75	26.33
群体内 within populations	145	1 117.27	7.71	73.67
合计 total	149	1 047.86	9.22	100.00

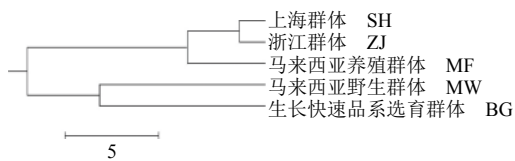


图 2 基于 N_{ei} 's 遗传距离的群体 UPGMA 聚类图

Fig. 2 Group break UPGMA clustering map based on N_{ei} 's genetic distance

群体在 25 个位点上所对应的 3 种基因型样本量各有不同(图 3), 其中 SNP6、SNP7、SNP9、SNP10、SNP11、SNP13、SNP19、SNP24、SNP25 这 9 个 SNP 位点处, 以 MW 群体为标准, BG 群体的基因型与其他 3 个养殖群体基因型分离方向不一致, 以 SNP10 为例, 以 MW 群体为参照, 3 个养殖群体的 CT 和 TT 基因型频率下降, CC 基因型频率上升, 而 BG 群体的 TT 基因型频率上升, CC 基因型频率下降。在 SNP2、SNP3、SNP4、SNP5、SNP6、SNP7、SNP10、SNP13、SNP16、SNP17、SNP18、SNP19、SNP23 和 SNP24 位点处, SH、ZJ 和 MF 这 3 个养殖群体较 MW 群体, 杂合体数量普遍降低, 如 SNP4 位点的 3 种基因型为 AA、AG 和 GG, MW 群体中各基因型样本量分别为 47%、33% 和 20%, 而 SH、ZJ 和 MF 群体的 AG 基因型由 33% 分别降至 7%、10% 和 13%。

3 讨论

目前保护罗氏沼虾种质资源比较有效的措

施就是进行人工选育, 但是传统的选育方式选育周期长, 优质种质资源筛选困难, 而分子遗传标记辅助育种可加快选育的速率。如 Smith 等^[22]成功地使用 10 个 SNPs 标记将美国和加拿大领域内的大鳞大麻哈鱼 (*Chinook salmon*) 区分开来, 精确度达到 95%; 彭敏等^[23]对凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 淀粉酶基因进行研究, 并使用直接测序法发掘 9 个与凡纳滨对虾生长性状相关联的 SNP 位点。而 SNP 标记作为第三代分子标记育种方法, 虽然与微卫星相比信息量少得多, 但它们数量多、分布广泛, 并且与微卫星相比潜在的误差更小。因此, 识别个体和亲本的能力可能更高^[24]。目前已经在群体遗传学的种群进化和群体结构上有了很好的研究进展, 并且研究证实了它们与标准微卫星相比的有用性。如 Stickney 等^[25]对水产模式动物斑马鱼采用寡核苷酸微阵列 (oligonucleotide microarrays) 技术进行大规模扫描, 得到了 2 035 个 SNPs, 成功构建第一幅斑马鱼的 SNP 遗传图谱, 定位了用微卫星图谱没有定位成功的突变。但是目前, 罗氏沼虾分子标记仍主要以微卫星标记为主, 如孙成飞等^[17]采用微卫星分子标记技术对中国和泰国罗氏沼虾养殖群体的遗传多样性及遗传结构进行了比较; 朱其建等^[19]利用微卫星分子标记技术分析了罗氏沼虾抗病选育群体的抗病性能及群体遗传多样性; 钟丹丹等^[26]利用 12 个微卫星标记对罗氏沼虾广西和广东 2 个种群的遗传多样性进行

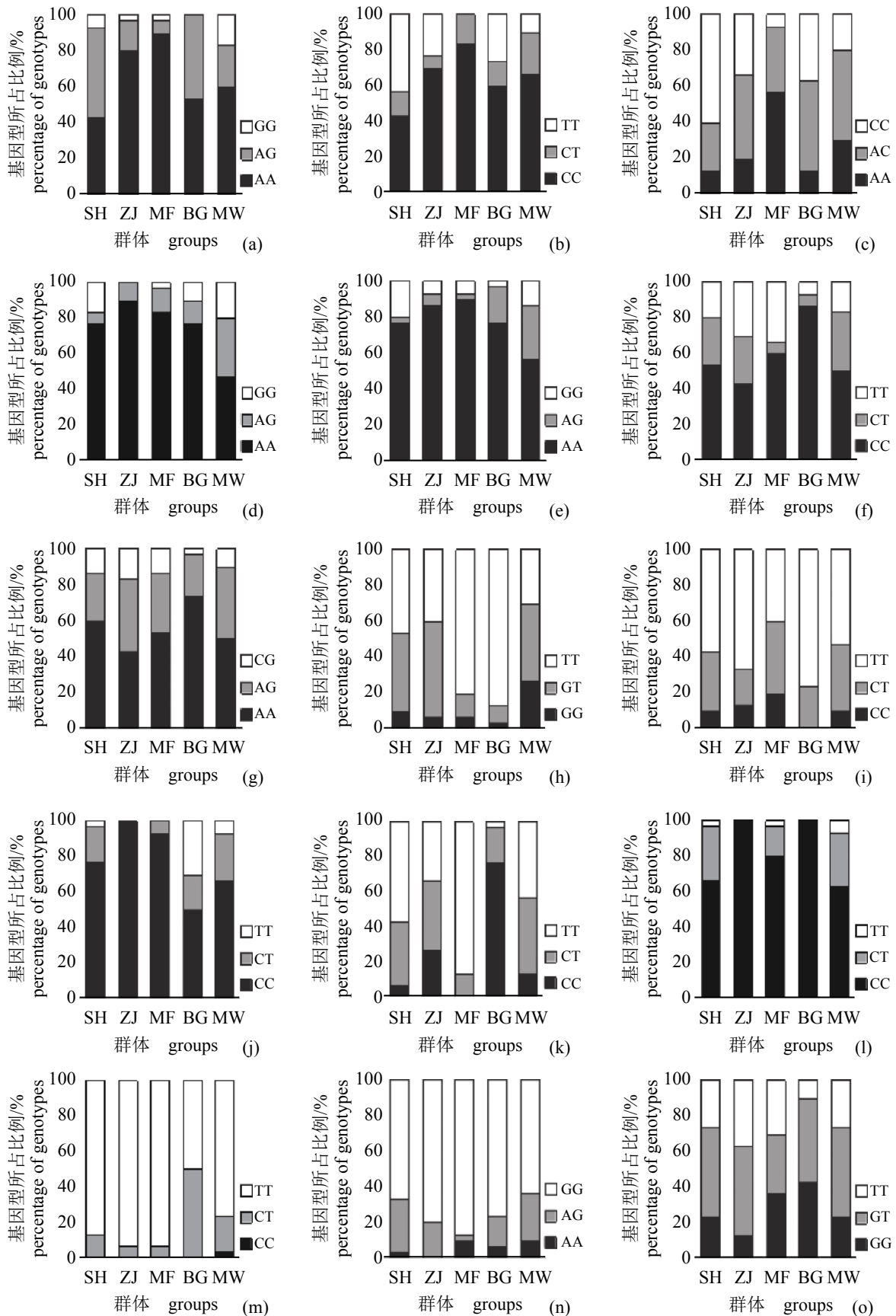


图3 Fig. 3

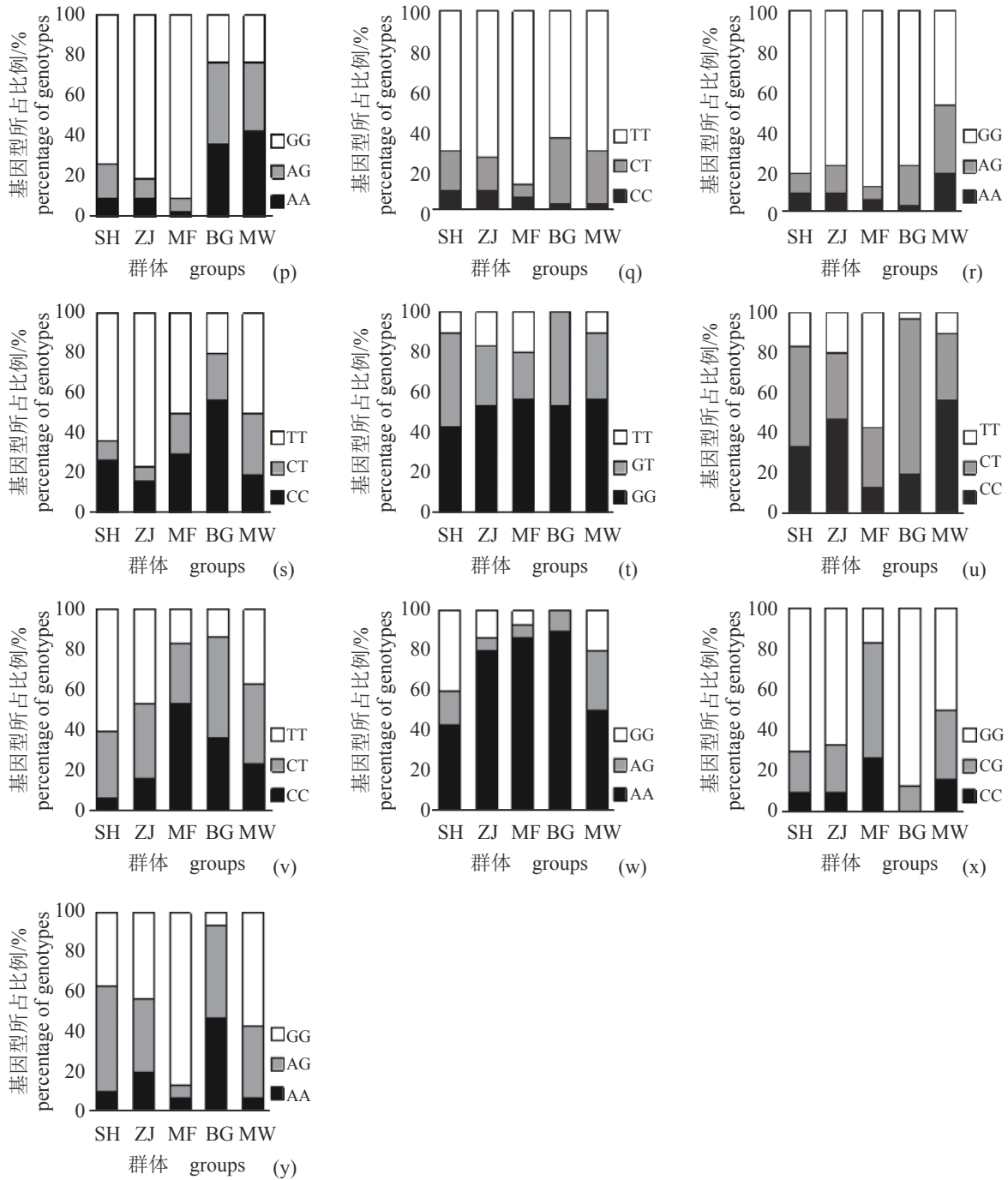


图 3 部分位点基因型在不同群体中的分布

图中 a-y 分别表示 SNP1~SNP25 各位点处基因型在不同群体中所占比例

Fig. 3 Distribution of genotypes of some loci in five groups

In the figure, a-y indicate the proportion of genotypes at different points in SNP1-SNP25 in five groups

了分析。罗氏沼虾中 SNP 的鉴定和应用仅在最近才开始^[27-28], 并且关于不同国家和地区的养殖和野生种群的遗传多样性的信息非常少。实验所开发的 25 个 SNP 位点为罗氏沼虾下一步的遗传育种及遗传图谱的构建提供了参考。

遗传多样性是生物多样性的重要组成部分,

包括群体间或群体内的遗传变异的总和。由本实验筛选出的 25 个 SNP 位点标记对罗氏沼虾 5 个群体的遗传多样性进行分析, 表现出了丰富的多态性, 其中 SH 群体的平均期望杂合度最高 (0.37), MF 群体的平均期望杂合度最低 (0.28)。对比显示, SNP 标记揭示的群体多样性指数, 如

H_0 和 H_e 要比微卫星^[17]等其他分子标记低,这是因为SNP标记为双等位形式,每个位点所携带的多态性信息较少,本研究所使用的SNP来源于EST序列,编码区作为基因的高度保守区域,其SNP频率显著低于非编码区,且编码区SNP有一半为同义突变,可能受到更高的选择压力,因而在群体中保持较低的多态性水平。 PIC 起到衡量基因位点多态性的作用,通常能反映出某个群体的遗传变异程度、位点多样性等^[29]。5个群体中的 PIC 值为0~0.38, MF群体最低(0.21),属于低度多态($PIC < 0.25$)。且将4个群体与MW群体比较显示, MW群体的 PIC 明显高于其他3个养殖群体,这与罗氏沼虾以往的研究结果一致^[30]。野生群体之所以保持较高的遗传多样性水平,可能是野生群体未受到较强烈的人工选择的影响,依然保持着部分原有的基因型所致;而养殖群体,由于长时间的单一亲代繁殖,受封闭群体的亲本数量的限制,以及影响群体遗传多样性的瓶颈效应、遗传漂变、近交及养殖鱼类对养殖环境的适应等因素,加速养殖群体种质同质化,造成养殖群体的遗传多样性水平低于野生群体,这一结果与文蛤(*Meretrix meretrix*)^[31]、河鲈(*Perca fluviatilis*)^[32]等结果一致。表3中,群体近交系数 F_{it} 和群体内近交系数 F_{is} 均为正值,表明群体内近交程度较严重,而且3个养殖群体的平均近交系数均高于野生群体,进一步为养殖群体遗传多样性低于野生群体的现象进行了说明。另外,多态性位点百分率也能在一定程度上反映出群体的遗传丰富度^[33]。图3显示,SH、ZJ和MF3个养殖群体较野生群体在14个位点的杂合体百分率出现小幅降低,种质有所退化,进一步说明养殖群体遗传多样性降低。通过选择、人工诱变、杂交等手段可改变群体内的遗传平衡,促使群体内的遗传结构发生改变^[34],优良基因得以强化,有9个位点BG群体的基因型分离方向与其他4个群体不一致。该研究规律启示,在人工控制影响下,此9个位点的基因型分离方向与养殖群体有所偏离,此偏离对罗氏沼虾的生长是否有利可为下一步的生长关联研究提供参考。

遗传距离和遗传相似度是衡量群体间遗传关系的指标^[35]。研究结果发现, MF群体和BG群体的遗传距离最大(0.417),遗传相似系数最小(0.659),说明其亲缘关系最远,同时, SH群

体和ZJ群体遗传距离最小(0.032),遗传相似系数最大(0.968),即其亲缘关系最近。同时进行AMOVA分子方差分析显示, SH群体和ZJ群体,遗传分化指数为0.045,低于0.05,几乎没有遗传分化,分析可能是因为两个地区距离较小,基因交流相对频繁;其余各群体相互间均表现出极显著的遗传分化($P < 0.01$),但MF群体与SH和ZJ群体的遗传分化值低于0.15,说明三地的养殖模式和标准相近,遗传组成相似; MW群体与BG群体的遗传分化指数较3个养殖群体相对小,且BG群体与其他3个养殖群体的遗传分化指数均较大,这可能与群体的选育方式有关,也可能是BG群体只是对生长性状进行选育,其他性状并未进行干扰,在保留了野生群体的某些生长优势的同时,也保证了基因的多态性,某些基因的基因型更接近于野生群体。BG群体在人工繁殖的过程中,受到一定的选择压力及人工驯化的影响,导致其遗传特征变化明显。UPGMA系统进化树更直观地表现出这种关系, SH群体和ZJ群体首先聚为一支,再与MF群体聚为一支, MW群体和BG群体聚为另一支,更进一步说明5个群体的亲缘关系。

综上,筛选的25个SNP标记可用于罗氏沼虾遗传学分析。罗氏沼虾遗传标记研究也可通过生物信息学方法与试验验证结合,开展基因定位、性状遗传跟踪、目的基因作用模式以及相关表达通路,获得与特定性状相关的基因或遗传标记等研究,以便更进一步为探究罗氏沼虾生长缓慢、性早熟现象成因提供依据。当然,在追求养殖群体经济效益的同时,也应加强对遗传多样性的监测和评估,采取合适的繁殖策略,避免近亲交配,确保罗氏沼虾种质资源的可持续利用。

参考文献 (References):

- [1] Lander E S. The new genomics: global views of biology[J]. *Science*, 1996, 274(5287): 536-539.
- [2] Liu Z J, Cordes J F. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics[J]. *Aquaculture*, 2004, 238(1-4): 1-37.
- [3] Mir R R, Hiremath P J, Riera-Lizarazu O, et al. Evolving molecular marker technologies in plants: From RFLPs to GBS[M]//Lübberstedt T, Varshney R K. *Diagnostics in Plant Breeding*. Dordrecht: Springer, 2013: 229-247.

- [4] 张晓萌, 马普, 王洪迪, 等. SNPs在水产动物中的研究进展[J]. 生物技术通报, 2013(8): 7-11.
Zhang X M, Ma P, Wang H D, *et al.* Progresses of SNPs studies in aquaculture animals[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2013(8): 7-11(in Chinese).
- [5] Moen T, Hayes B, Nilsen F, *et al.* Identification and characterisation of novel SNP markers in Atlantic cod: evidence for directional selection[J]. *BMC Genetics*, 2008, 9: 18.
- [6] 董晓丽, 徐建勇, 陈松林. 磁珠富集法随机筛选大菱鲆基因组SNP标记[J]. *水产学杂志*, 2013, 26(1): 1-4.
Dong X L, Xu J Y, Chen S L. Random SNPs discovery from genome and target gene of turbot (*Scophthalmus maximus*) by using magnetic beads[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2013, 26(1): 1-4(in Chinese).
- [7] 于磊, 刘炳舰, 刘进贤. 日本鳗鲡离散SNP标记筛选及群体遗传多样性分析[J]. *中国海洋大学学报*, 2018, 48(4): 37-47.
Yu L, Liu B J, Liu J X. Outlier SNPs development and preliminary genetic diversity analysis of Japanese Eel (*Anguilla japonica*)[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2018, 48(4): 37-47(in Chinese).
- [8] 李喜莲, 杨元杰, 李飞, 等. 日本沼虾EST-SNP的筛选及多态性检测[J]. *东北农业大学学报*, 2016, 47(2): 67-73.
Li X L, Yang Y Y, Li F, *et al.* Development of single nucleotide polymorphism markers for *Macrobrachium nipponensis* using expressed sequence tags[J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2016, 47(2): 67-73(in Chinese).
- [9] Yu M, Cheng Y, Rothschild M F. SNP analysis of Molt-related genes in *Penaeus monodon* and *Litopenaeus vannamei* shrimp (Brief report)[J]. *Archives Animal Breeding*, 2006, 49(4): 411-412.
- [10] 马群群. 拟穴青蟹 SNP 和 SSR 标记开发及系谱认证技术的建立研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2012.
Ma Q Q. Development of SNP and SSR markers and establishment of parentage analysis technique in *Scylla paramamosain*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2012(in Chinese).
- [11] Ma H Y, Ma Q Q, Ma C Y, *et al.* Isolation and characterization of gene-derived single nucleotide polymorphism (SNP) markers in *Scylla paramamosain*[J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2011, 39(4-6): 419-424.
- [12] 张德宁, 吕建建, 刘萍, 等. 三疣梭子蟹生长相关SNP位点的鉴定[J]. *中国水产科学*, 2015, 22(3): 393-401.
Zhang D N, Lü J J, Liu P, *et al.* Identifying SNP markers correlated with growth of swimming crab (*Portunus trituberculatus*) based on a comparative transcriptome[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2015, 22(3): 393-401(in Chinese).
- [13] 李纪勤, 包振民, 李玲, 等. 栉孔扇贝EST-SNP标记开发及多态性分析[J]. *中国海洋大学学报*, 2013, 43(1): 56-63.
Li J Q, Bao Z M, Li L, *et al.* Development and characterization of EST-SNP in *Chlamys farreri*[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2013, 43(1): 56-63(in Chinese).
- [14] Liu W D, Li H J, Bao X B, *et al.* The first set of EST-derived single nucleotide polymorphism markers for Japanese Scallop, *Patinopecten yessoensis*[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2011, 42(3): 456-461.
- [15] Wang J L, Li Q, 20 17. Characterization of novel EST-SNP markers and their association analysis with growth-related traits in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*[J]. *Aquaculture International*, 2017, 25(5): 1707-1719.
- [16] 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.
Dai X L, Deng P P, Shi Y H, *et al.* A preliminary study on Re-developing of *Macrobrachium rosenbergii* microsatellite markers and influence factors[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2012(10): 142-149(in Chinese).
- [17] 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.
Sun C F, Ye X, Dong J J, *et al.* Genetic diversity analysis of six cultured populations of *Macrobrachium rosenbergii* using microsatellite markers[J]. *South China Fisheries Science*, 2015, 11(2): 20-26(in Chinese).
- [18] Chareontawee 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(1-4): 121-129.
- [19] 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.
Zhu Q J, Dai X L, Zou W L, *et al.* Disease resistance and genetic diversity analysis in selected populations of *Mac-*

- robbrachium rosenbergii*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, 37(10): 1468-1478(in Chinese).
- [20] 王书珍, 张霖, 杨雯, 等. 大别山不同龄级映山红种群遗传多样性的SSR分析[J]. *林业科学研究*, 2018, 31(5): 125-130.
Wang S Z, Zhang L, Yang W, *et al.* Genetic diversity of *Rhododendron simsii* populations on Dabieshan at different life stages based on SSR markers[J]. *Forest Research*, 2018, 31(5): 125-130(in Chinese).
- [21] 王帅豪. 浙乌骨鸡群体遗传多样性及绿壳蛋性状相关基因 SNP 分析 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2012.
Wang S H. SNP analysis about green egg shell correlation gene and population genetic diversity of Xichuan Silky[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2012(in Chinese).
- [22] Smith C T, Templin W D, Seeb J E, *et al.* Single nucleotide polymorphisms provide rapid and accurate estimates of the proportions of U. S. and Canadian Chinook salmon caught in Yukon River fisheries[J]. *North American Journal of Fisheries Management*, 2005, 25(3): 944-953.
- [23] 彭敏, 陈晓汉, 曾地刚, 等. 凡纳滨对虾 α -淀粉酶基因的SNPs检测[J]. *水产科学*, 2008, 27(7): 363-365.
Peng M, Chen X H, Zeng D G, *et al.* SNPs detection of the alpha-amylase gene in pacific white leg shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. *Fisheries Science*, 2008, 27(7): 363-365(in Chinese).
- [24] Anderson E C, Garza J C. The power of single-nucleotide polymorphisms for large-scale parentage inference[J]. *Genetics*, 2006, 172(4): 2567-2582.
- [25] Stickney H L, Schmutz J, Woods I G, *et al.* Rapid mapping of zebrafish mutations with SNPs and oligonucleotide microarrays[J]. *Genome Research*, 2002, 12(12): 1929-1934.
- [26] 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.
Zhong D D, Lin Y, Bin S Y, *et al.* Genetic diversity of two giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* populations[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2015, 42(24): 140-145.
- [27] Thanh N M, Barnes A C, Mather P B, *et al.* Single nucleotide polymorphisms in the actin and crustacean hyperglycemic hormone genes and their correlation with individual growth performance in giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*[J]. *Aquaculture*, 2010, 301(1-4): 7-15.
- [28] Jung H, Lyons R E, Dinh H, *et al.* Transcriptomics of a giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*): De novo assembly, annotation and marker discovery[J]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e27938.
- [29] Shete S, Tiwari H, Elston R C. On estimating the heterozygosity and polymorphism information content value[J]. *Theoretical Population Biology*, 2000, 57(3): 265-271.
- [30] 陈雪峰, 杨国梁, 孔杰, 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.
Chen X F, Yang G L, Kong J, *et al.* Effect of artificial culture and selective breeding on the genetic diversity of *Macrobrachium rosenbergii*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2012, 36(5): 866-873(in Chinese).
- [31] 赫崇波, 丛林林, 葛陇利, 等. 文蛤养殖群体和野生群体遗传多样性的AFLP分析[J]. *中国水产科学*, 2008, 15(2): 215-221.
He C B, Cong L L, Ge L L, *et al.* AFLP analysis of cultured and wild hard clam (*Meretrix meretrix*) populations[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2008, 15(2): 215-221(in Chinese).
- [32] 武菲, 胡文革, 王翠华, 等. 河鲈养殖与野生群体遗传多样性比较分析[J]. *水生生物学报*, 2016, 40(1): 181-188.
Wu F, Hu W G, Wang C H, *et al.* Genetic diversity of the cultivated and natural *Perca fluviatilis*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2016, 40(1): 181-188(in Chinese).
- [33] 盛红梅, 陈拓, 安黎哲, 等. 锦鸡儿属植物的遗传多样性及其种间关系[J]. *中国沙漠*, 2005, 25(5): 697-701.
Sheng H M, Chen T, An L Z, *et al.* Genetic diversity and relationships among species of *Caragana* Fabr.[J]. *Journal of Desert Research*, 2005, 25(5): 697-701(in Chinese).
- [34] 颀晓勇, 李思发, 蔡完其. 吉富品系尼罗罗非鱼选育过程中遗传变异的微卫星分析[J]. *水产学报*, 2007, 31(3): 385-390.
Xie X Y, Li S F, Cai W Q. Analysis of genetic diversity of GIFT strain Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) during selection processing by microsatellites[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2007, 31(3): 385-390(in Chinese).

- [35] 崔蕾, 谢从新, 李艳和, 等. 斑点叉尾鲷卫星分析[J]. 华中农业大学学报, 2012, 31(6): 744-751.
- Cui L, Xie C X, Li Y H, *et al.* Analysis of genetic diversity among four different channel catfish populations by using microsatellite markers[J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2012, 31(6): 744-751(in Chinese).

Genetic diversity analysis of SNP markers in different genetic generations and populations of *Macrobrachium rosenbergii*

ZHOU Xiaomin^{1,2,3}, DAI Xilin^{1,2,3*}

(1. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. Shanghai Collaborative Innovation for Aquatic Animal Genetics and Breeding, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: After high-throughput sequencing of tissue samples from Malaysian wild (MW) giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*), twenty-five identified single nucleotide polymorphisms (SNPs) were selected to be the markers for genetic diversity analysis. Additionally, SNP analysis was performed to investigate the genetic diversity of five prawn groups: Shanghai cultured group (SH), Zhejiang cultured group (ZJ), Malaysia cultured group (MF), Malaysia wild group (MW) and breeding-growth strain group (BG). The expected heterozygosity (H_e) and observed heterozygosity (H_o) of the genetic diversity analysis were 0.28-0.37 and 0.18-0.30 respectively, and the average polymorphic information content values of five prawn groups were 0.29, 0.24, 0.21, 0.33 and 0.26, respectively. The results of the present study indicated that the polymorphism of five prawn groups was at an intermediate level. The minimal value of genetic similarity coefficient as well as maximal genetic distance was detected between MF and BG groups, on the contrary, the SH and ZJ groups showed the highest similarity coefficient and least genetic distance. Furthermore, the highest value of genetic differentiation coefficient and least gene flow were simultaneously observed between MF and MW groups. The least differentiation coefficient and the highest gene flow were detected between SH and ZJ groups. AMOVA estimated the variation of 26.33% between groups. The inbreeding coefficient was between 0.151 and 0.342. The average inbreeding coefficient of the three cultured populations was higher than that of the MW group. At 9 out of the 25 SNP loci in five groups, the result of the genotype analysis of the BG group is contrary to the other four groups. What's more, at 14 out of 25 SNPs, the number of heterozygous individuals is generally decreased in three cultured groups compared with the MW group. The findings of the present study provide a novel insight into the molecular basis of genetic breeding of *M. rosenbergii* through the specific SNPs.

Key words: *Macrobrachium rosenbergii*; SNP; direct sequencing; genetic diversity

Corresponding author: DAI Xilin. E-mail: xldai@shou.edu.cn

Funding projects: Shanghai Shrimp Industry Technology System Construction Project (Shanghai Agricultural Products[2014] No. 5)