

• 生物技术与方法 •

基于 SSR 标记分析 15 个凡纳滨对虾家系遗传多样性和遗传结构

陈文淳^{1,2}, 彭凯², 黄敏伟², 赵吉臣², 张志豪⁴, 郭慧¹, 刘锦上⁵,
刘振兴³, 鲁慧杰^{2*}, 黄文^{1,2*}

1 广东海洋大学 水产学院, 广东 湛江 524088

2 广东省农业科学院动物科学研究所 农业农村部华南动物营养与饲料重点实验室 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广东 广州 510640

3 广东省农业科学院动物卫生研究所, 广东 广州 510640

4 汕尾市农业科学院, 广东 汕尾 516600

5 广东金阳生物技术有限公司, 广东 茂名 525400

陈文淳, 彭凯, 黄敏伟, 赵吉臣, 张志豪, 郭慧, 刘锦上, 刘振兴, 鲁慧杰, 黄文. 基于 SSR 标记分析 15 个凡纳滨对虾家系遗传多样性和遗传结构[J]. 生物工程学报, 2024, 40(12): 4628-4644.

CHEN Wenchun, PENG Kai, HUANG Minwei, ZHAO Jichen, ZHANG Zhihao, GUO Hui, LIU Jinshang, LIU Zhenxing, LU Huijie, HUANG Wen. Genetic diversity and structure of 15 full-sib families of *Litopenaeus vannamei* based on SSR markers[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(12): 4628-4644.

摘要: 为明确凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*) F1 代核心群体的遗传多样性和遗传结构, 本研究利用 15 对多态性较高的微卫星引物对 15 个凡纳滨对虾全同胞家系进行简单重复序列(simple sequence repeat, SSR)分子标记和遗传多样性分析。结果显示, 在选择 15 个 SSRs 位点中, 共检测出 112 个等位基因(number of alleles, N_a), 60.453 个有效等位基因(number of effective alleles, N_e), 多态性信息含量(polymorphism information content, PIC)均值为 0.648。15 个 F1 代核心选育家系的平均 N_e 为 1.925–2.626, 平均观测杂合度(observed heterozygosity, H_o)为 0.425–0.783, 平均期望杂合度(expected heterozygosity, H_e)为 0.403–0.572。聚类分析表明, 15 个家系主要分为 3 个类群, 遗传距离在 0.252–0.574 之间。各家系间遗传分化系数(fixation index, F_{st})为 0.112–0.278, 表明群体间存在较大的遗传分化。本研究证明 15 个凡纳滨对虾家系的遗传多样性适中, 为后续耐受高水平豆

资助项目: 国家自然科学基金(32302977); 广东省基础与应用基础研究基金(2023A1515011066, 2023A1515010117); 广东省农业科学院协同创新中心项目(202138, XT202301); 广东省乡村振兴战略专项资金种业振兴项目(2024-SPY-00-006); “十四五”广东省农业科技创新十大主攻方向“揭榜挂帅”项目(2022SDZG01)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32302977), the Guangdong Basic and Applied Basic Research Foundation (2023A1515011066, 2023A1515010117), the Guangdong Academy of Agricultural Sciences Collaborative Innovation Center Project (202138, XT202301), the Guangdong Rural Revitalization Strategy Special Fund Seed Industry Revitalization Project (2024-SPY-00-006), and the Open Competition Program of Top Ten Critical Priorities of Agricultural Science and Technology Innovation for the 14th Five-year Plan in Guangdong Province (2022SDZG01).

*Corresponding authors. E-mail: LU Huijie, luhuijie@gdaas.cn; HUANG Wen, huangwen@gdaas.cn

Received: 2024-07-07; Accepted: 2024-11-13; Published online: 2024-11-13

粕饲料的凡纳滨对虾家系选育工作提供了遗传学证据。

关键词：凡纳滨对虾；分子标记；核心育种群体；遗传多样性；遗传结构

Genetic diversity and structure of 15 full-sib families of *Litopenaeus vannamei* based on SSR markers

CHEN Wenchun^{1,2}, PENG Kai², HUANG Minwei², ZHAO Jichen², ZHANG Zhihao⁴, GUO Hui¹, LIU Jinshang⁵, LIU Zhenxing³, LU Huijie^{2*}, HUANG Wen^{1,2*}

1 College of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, Guangdong, China

2 Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science in South China of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Key Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, Guangdong, China

3 Institute of Animal Health, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, Guangdong, China

4 Shanwei Academy of Agricultural Sciences, Shanwei 516600, Guangdong, China

5 Guangdong Jinyang Biotechnology Co., Ltd., Maoming 525400, Guangdong, China

Abstract: To clarify the genetic diversity and structure of the nucleus population of F1-generation *Litopenaeus vannamei*, this study utilized 15 pairs of highly polymorphic microsatellite primers to analyze the simple sequence repeat (SSR) markers and genetic diversity in 15 full-sib families of *L. vannamei*. A total of 112 alleles (N_a) and 60.453 effective alleles (N_e) were identified among the selected 15 SSR loci, with the average polymorphic information content (PIC) of 0.648. The average N_e , observed heterozygosity (H_o), and expected heterozygosity (H_e) in the 15 F1 families varied from 1.925 to 2.626, 0.425 to 0.783, and 0.403 to 0.572, respectively. The 15 full-sib families were primarily clustered into three categories in the phylogenetic analysis, with the genetic distance between families ranging from 0.252 to 0.574. Additionally, the genetic differentiation coefficient (F_{st}) among the families varied from 0.112 to 0.278, indicating substantial genetic differentiation. Overall, this study suggested that the genetic diversity of the 15 full-sib families was moderate, providing valuable genetic insights for the subsequent breeding initiatives aimed at enhancing the tolerance of *L. vannamei* to high levels of soybean meal.

Keywords: *Litopenaeus vannamei*; molecular markers; nucleus population; genetic diversity; genetic structure

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)原产于北美太平洋海域,广泛分布于太平洋西海岸至墨西哥湾中部,具有生长速度快、抗病能力强、适应性广等特点,是极具经济价值的水产养殖品种之一^[1]。统计数据显示,2022年我国凡纳

滨对虾年产量达209.94万t,占对虾总产量的91.58%^[2]。随着凡纳滨对虾养殖产业的快速发展,对优质种苗的需求持续上升。近年来,我国相继培育出‘中科1号’‘中兴1号’和‘正金阳1号’等适应本土养殖环境的凡纳滨对虾新品种

(系)^[3]。然而,由于野生亲体资源受限、缺乏系统的选育体系等原因,导致国内凡纳滨对虾核心群体和扩繁群体迭代速度快、后代遗传背景复杂、群体遗传多样性降低、优良性状退化等^[3-4]。在大规模表型选择的实践中,生长迅速的个体往往更受青睐,被选作亲本用于产生下一代^[4]。然而,这种人工选择虽然可以在累代的近亲交配中增强特定遗传特征的纯合度,但在实际生产中也可能产生近交衰退(inbreeding depression),导致繁育后代的遗传多样性的减少,极大地限制了种质资源的利用及产业可持续发展^[5]。遗传多样性是生物多样性的基础,是物种生存和生态系统多样性的重要基础,与物种进化潜力及应对环境变化的能力密切相关^[6]。因此,需要利用现代分子生物学技术,及时评估凡纳滨对虾育种群体的遗传多样性和群体结构,减少累代近亲繁殖所产生的近交衰退现象,为科学系统地选育凡纳滨对虾优良新品种(系)提供理论支撑。

微卫星标记,是指以少数几个核苷酸(一般为 1-6 个)经多次重复组成的简单重复序列(simple sequence repeats, SSRs),又称为短串联重复序列(simple tandem repeats, STRs),具有高度多态性、高度复制性、信息含量丰富和高分辨率等特点^[7]。目前,SSRs 已广泛应用于动植物及微生物领域,为研究物种遗传多样性、亲权鉴定和育种改良等提供了重要支撑^[8-9]。近年来,部分研究使用 SSRs 标记对凡纳滨对虾群体进行遗传多样性和遗传结构分析^[10-11]。张留所等^[12]利用 10 个 SSRs 位点鉴定了 2 个凡纳滨对虾选育家系的亲子关系,并首次在凡纳滨对虾中发现了较大比例的无效等位基因。Zhang 等^[13]利用 108 个扩增酶切片段长度多态性标记(amplified fragment length polymorphism, AFLP)组合和 30 个 SSRs 标记构建了凡纳滨对虾遗传

连锁图谱。孙坤等^[14]利用 8 个 SSRs 位点对凡纳滨对虾 69 个家系母本和子代进行系谱重构和分子亲缘相关度的计算。黄小帅等^[15]对广东 3 个主要对虾产区的 7 个养殖群体的种苗样本进行了遗传多样性分析,结果显示 7 个群体聚集为 3 个分支,表明不同养殖群体的遗传特征存在差异。因此,SSRs 标记是评价凡纳滨对虾遗传多样性的良好工具,能够为凡纳滨对虾良种选育提供遗传背景分析数据。

本研究前期基于广东地区现有的主养品种(系),收集了来自广东省茂名市、佛山市和湛江市 8 个养殖场的 10 个不同养殖群体共 600 尾凡纳滨对虾,对其进行了为期 42 d 的高豆粕低鱼粉饲料(表 1)养殖实验。根据体长和体重性状参数,每个养殖群体筛选耐受高豆粕低鱼粉饲料的凡纳滨对虾雌雄各 15 尾,共计 300 尾作为 F0 代基础选育亲本。采用半定向交尾方式,构建了 20 个 F1 代全同胞家系,对 15 个存活率高、生长均一的家系进行了遗传结构和遗传多样性分析。本研究旨在明确凡纳滨对虾核心育种群体,为培育具有耐受高水平豆粕性状的凡纳滨对虾新品种(系)提供遗传学证据。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

基础群体选取来自广东省茂名市、佛山市和湛江市共 8 个养殖场的 10 个养殖群体,其中 8 个国内群体(‘正金阳 1 号’‘兴海 1 号’‘中兴 1 号’和‘桂海 1 号’各 2 个),2 个国外引进群体(‘Primo 全抗苗’),共挑选 600 尾对虾[初始体重(0.8±0.15) g],分配到 20 个桶中,在豆粕含量为 35%的饲料条件下进行了为期 42 d 的耐受豆粕养殖实验。所用饲料配方见表 1。实验结束后,称量每一尾对虾的体长、体重,根据收获体长和体重参数每个桶选取生长性能前 15 的

个体, 共计 300 尾对虾组成 F0 代亲本群体, 进行人工繁育。采用半定向交尾的方式构建了 20 个全同胞家系(F1 代), 从中选取孵化时间相近、大小均一、存活率高的 15 个家系, 每个家系随机选取 8 尾对虾, 共 120 尾 F1 代对虾, 采集肌肉组织用无水乙醇固定保存, 用作不同家系遗传多样性评估的样本。

表 1 饲料配方及近似组成(干物质)

Table 1 Formulation and proximate composition of experiment diets (dry matter)

Item	Dry matter (%)
Peru fish meal	15.00
Soybean meal	35.00
Peanut bran	12.00
Chicken meal	10.00
Wheat flour	18.00
Fish oil	2.00
Soybean lecithin	2.70
Monocalcium phosphate	1.50
Vitamin premix ^a	0.20
Mineral premix ^b	0.50
Lysine	0.05
Methionine	0.35
Choline chloride	0.20
NaCl	0.30
Sodium alginate	1.20
Microcrystalline cellulose	1.00
Total	100.00
Nutrient levels ^c	
Crude protein	41.95
Crude lipid	7.66
Moisture	7.62
Ash	10.72

^a: One kilogram of diet provided: VA, 3 230 IU; VD, 1 600 IU; VE, 160 mg; VK3, 4 mg; VB1, 4 mg; VB2, 8 mg; VB6, 4.8 mg; VB12, 0.016 mg; nicotinic acid, 28 mg; pantothenic acid calcium, 16 mg; biotin, 0.064 mg; folic acid, 1.285 mg; inositol, 40 mg. ^b: One kilogram of diet provided: Ca, 1 150 mg; K, 180 mg; Mg, 45 mg; Fe, 50 mg; Zn, 40 mg; Mn, 9.5 mg; Cu, 7.5 mg; Co, 1.25 mg; I, 0.16 mg; Se, 0.25 mg. ^c: Nutrient levels were measured values.

1.2 凡纳滨对虾基因组 DNA 提取及检测

取 30–50 mg 对虾肌肉样品适当剪碎放置提取板对应孔位; 向样品板中每孔加入 400 μ L 组织裂解液(武汉天一辉远基因科技有限公司)和 5 μ L 蛋白酶 K(BioFroxx), 振荡混匀, 置于 65 $^{\circ}$ C 恒温箱过夜消化; 在新的提取板中每孔分装 100 μ L 磁珠, 分装 3 板 500 μ L/孔的 75%乙醇, 洗脱板每孔分装 100 μ L/80 μ L/60 μ L (根据样品状态分装对应体积)洗脱液; 次日将提取板取出, 打开 NanoMagBio S-96 全自动核酸提取仪(武汉纳磁生物科技有限公司), 启动程序裂解 15 min, 裂解完成后, 向样品板每个孔中加入 280 μ L 异丙醇; 选择对应的程序, 检查仪器状态和提取板信息后运行; 运行完成之后, 取 2 μ L DNA 原液在 NanoDrop 8000 分光光度计(Thermo Fisher)上进行 DNA 浓度检测, 取 2 μ L DNA 原液添加 2 μ L 溴酚蓝进行琼脂糖凝胶电泳检测, 检测合格后, 样本保存于 4 $^{\circ}$ C 冰箱备用。

1.3 SSR 分型引物设计合成

根据凡纳滨对虾参考基因组序列分析设计 SSR 引物, 从中得到 15 对引物用于实验(表 2)。SSR 引物序列合成及相关检测分析由武汉天一华煜基因科技有限公司完成。引物采用接头法合成, 即合成时在上游引物加上 21 bp 的接头序列。采用接头法进行 PCR 扩增时, 第一步为带接头的上游引物、下游引物与模板结合, 得到带有接头序列的 PCR 产物, 第二步为带荧光基团的接头引物、下游引物与第一步的 PCR 产物结合, 得到带有荧光基团和 21 bp 接头序列的 PCR 产物(以上步骤均在一个 PCR 体系和程序中完成)。采用荧光引物进行 PCR 扩增时, 使用 5'端带有荧光基团的上游引物与下游引物直接对 DNA 模板进行扩增, 得到带有荧光基团的 PCR 产物。

表 2 用于凡纳滨对虾基因分型的 SSR 标记信息

Table 2 SSR markers employed for genotyping the *Litopenaeus vannamei* samples

No.	Locus	Primer sequence (5'→3')	Fluorescence labeling	Genomic location	Physical position
1	Lv1017	F: TACAACAGGCGTCCGAGTTG R: GACAATCCGCGTGATTCTGC	HEX	LVANscaffold 1017	601 406
2	Lv1021	F: TAGACAGACGGGAAGCCTGA R: ACTCCCAGCGTCTCTTCTCT	HEX	LVANscaffold 1021	86 894
3	Lv1034	F: AGAAGCTGCGAGCAATCACT R: ATTCTTACCATCGCGAGTCG	FAM	LVANscaffold 1034	380 533
4	Lv1065	F: CACTCGCAAACGTGTTGGAA R: GTGGTCGGCCGTGGTATTAT	FAM	LVANscaffold 1065	637 356
5	Lv1093	F: TCCGCGAAGTGAAATGGGAA R: CGCTCGAGCATTACAGGTA	FHEX	LVANscaffold 1093	679 356
6	Lv1113	F: CCGCCGCCATTAATACTATTGC R: GTTTCGCCAAAGCACGTGAT	FAM	LVANscaffold 1113	304 518
7	Lv1143	F: GGGTCGTAACGTCGCTAGTT R: TGGGTTTCGCCTTACCACA	ROX	LVANscaffold 1143	38 676
8	Lv1186	F: TCACGCAGCTTCTTCTACG R: TCCTTTACCTGCTGCCTCT	HEX	LVANscaffold 1186	1 142 179
9	Lv1208	F: TATCACCCAGTCGCATGCAG R: AGCCGTGTTATTGTGAGCGA	ROX	LVANscaffold 1208	158 647
10	Lv1237	F: GTTTAGTAGCCGTGCTTGCG R: TCGTTTCGGGTGATTTCGGT	ROX	LVANscaffold 1237	56 788
11	Lv1259	F: TGGTGGTGCAACACAATCCA R: ATAGCGAGGGAATTCTGCGG	FAM	LVANscaffold 1259	12 427
12	Lv1279	F: AAGGTGTCTTACGACCGTC R: CTTCGCTCCTCTTCCCCTC	ROX	LVANscaffold 1279	640 228
13	Lv1340	F: GGCGAGAGTGCAACAGTACT R: TTGCTCTGCTTGTGCTCACT	FAM	LVANscaffold 1340	32 622
14	Lv1378	F: GCGCGTGCATGTGACATATT R: CTGTGTCCTGTGCAAAGCTG	HEX	LVANscaffold 1378	1 184 322
15	Lv1391	F: GGTCTACTCCACTCCGTCCT R: GGAGGGCAACACAAAGCAAG	FAM	LVANscaffold 1391	140 807

1.4 荧光 PCR 扩增

采用 15 对多态性高的引物检测 120 尾对虾样本, 反应在 ABI Veriti 384well 梯度 PCR 仪 (Applied Biosystems) 上进行。10 μ L PCR 扩增反应体系包括: 5 μ L $2\times$ Taq PCR Master Mix (Gene Tech), 1 μ L 基因组 DNA (约 20 ng), 0.5 μ L 上游引物(浓度 10 pmol/ μ L), 0.5 μ L 下游引物(浓度 10 pmol/ μ L)和 3 μ L ddH₂O。PCR 扩增程序设置为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 62–52 $^{\circ}$ C 梯度退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 10 个

循环; 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 52 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 25 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 20 min, 4 $^{\circ}$ C 保存。PCR 反应结束后, 扩增产物经荧光毛细管电泳检测。使用 GeneMarker 软件对结果进行分析, 获得每个样品的等位基因数、峰图和基因型。

1.5 荧光标记毛细管电泳检测

荧光标记毛细管电泳检测由武汉天一华煜基因科技有限公司完成。具体步骤如下: (1) 荧光 PCR 扩增完成后, 取 2 μ L PCR 产物进行琼

脂糖凝胶电泳检测(1%浓度),通过 PCR 产物的带型和亮度判断各 SSR 引物扩增的特异性和扩增效率,根据样本上机检测浓度要求,对各荧光 PCR 产物进行稀释,得到浓度均一的荧光 PCR 产物。(2) 将稀释至统一浓度的荧光 PCR 产物加至 384 孔反应板中,随后加入混合后的检测试剂,每个反应孔的总体积为 10 μ L,包括 1 μ L 荧光 PCR 产物、0.5 μ L GeneScan™500 LIZ™ (Applied Biosystems)、8.5 μ L Hi-Di™ Formamide (Applied Biosystems)。将加好样本和试剂的待检测板离心(4 000 r/min)后放到 PCR 仪上运行变性程序(95 $^{\circ}$ C, 3 min),变性完成后立即冷却。(3) 使用 ABI 一代测序仪 3730xl (Applied Biosystems)进行毛细管电泳检测,根据上机操作流程,选择待检测板名称对应的检测文件,运行 SSR 样本分析检测程序。

1.6 数据分析

1.6.1 原始数据分析

从 ABI 一代测序仪 3730xl 上导出.fsa 格式原始数据,按检测位点进行归类后,分别导入到 GeneMarker 分析软件中,进行基因型数据的读取,并按位点名称分别导出 Excel 基因型原始数据和 PDF 分型峰图文件。

1.6.2 遗传多样性分析

在 GenAlEx version 6.501 等软件中,计算 SSR 位点和群体的各项遗传多样性指标,包括观测等位基因(number of alleles, N_a)、有效等位基因(number of effective alleles, N_e)、香农指数(Shannon's information index, I)、多态性信息指数(polymorphism information content, PIC)、观测杂合度(observed heterozygosity, H_o)、期望杂合度(expected heterozygosity, H_e)、近交系数(inbreeding coefficient, F_{is})和固定指数(fixed index, F)。

1.6.3 群体遗传结构分析

利用 powermarker 软件计算各群体间的遗传

距离。利用非加权配对算术平均法(unweighted pair group method with arithmetic mean, UPGMA)进行聚类分析,并绘制环状聚类图。利用 STRUCTURE 2.3.4 软件对 120 个样本进行群体结构分析,设置群体数(true number of populations, K)为 1–19, Burn-in 周期为 10 000,马尔科夫链蒙特卡洛值(Markov Chain Monte Carlo, MCMC)设为 100 000,每个 K 值运行 20 次,并利用在线工具 STRUCTURE HARVESTER 算出最佳 ΔK 值(即为最佳群体分层情况)。根据最佳 K 值结果作图。结构分析的结果图用 CLUMPP 和 DISTRICT 软件绘制。

1.6.4 分子方差分析和基因流估算

根据群体遗传结构分析结果,在 GenAlEx version 6.501 软件中计算各群体间和群体内的变异、分化并进行显著性检验;计算遗传分化系数(fixation index, F_{st})和基因流(N_m), N_m 按 Wright^[16]的公式进行计算: $N_m=0.25(1-F_{st})/F_{st}$ 。

2 结果与分析

2.1 15 对引物多态性分析

通过荧光 PCR 和毛细管电泳测序,得到各位点等位基因的片段大小(图 1)。由表 3 可见,15 对引物在 120 个样本中共检测出 112 个 N_a ,其中,最小 N_a 数目为 3,最大 N_a 数目为 12,平均每个位点 N_a 数目为 7.467。 N_e 总数为 60.453,数值变化范围为 1.425–7.595,平均每个位点 N_e 为 4.03。 I 的平均值为 1.491。 H_o 平均值 0.573。 H_e 的数值平均值为 0.680。PIC 的数值范围为 0.269–0.855,平均值 0.648。 F_{is} 平均值为 -0.208,数值为 -0.543–0.325。

2.2 家系间的遗传多样性

由表 4 可见,15 个家系中 N_a 为 2.267–2.993, N_e 为 1.925–2.626, I 为 0.645–0.957, H_o 为 0.425–0.783, H_e 为 0.403–0.572。其中 POP15 家系的 N_a 、 N_e 分别为 2.933 和 2.626, I 为 0.957,

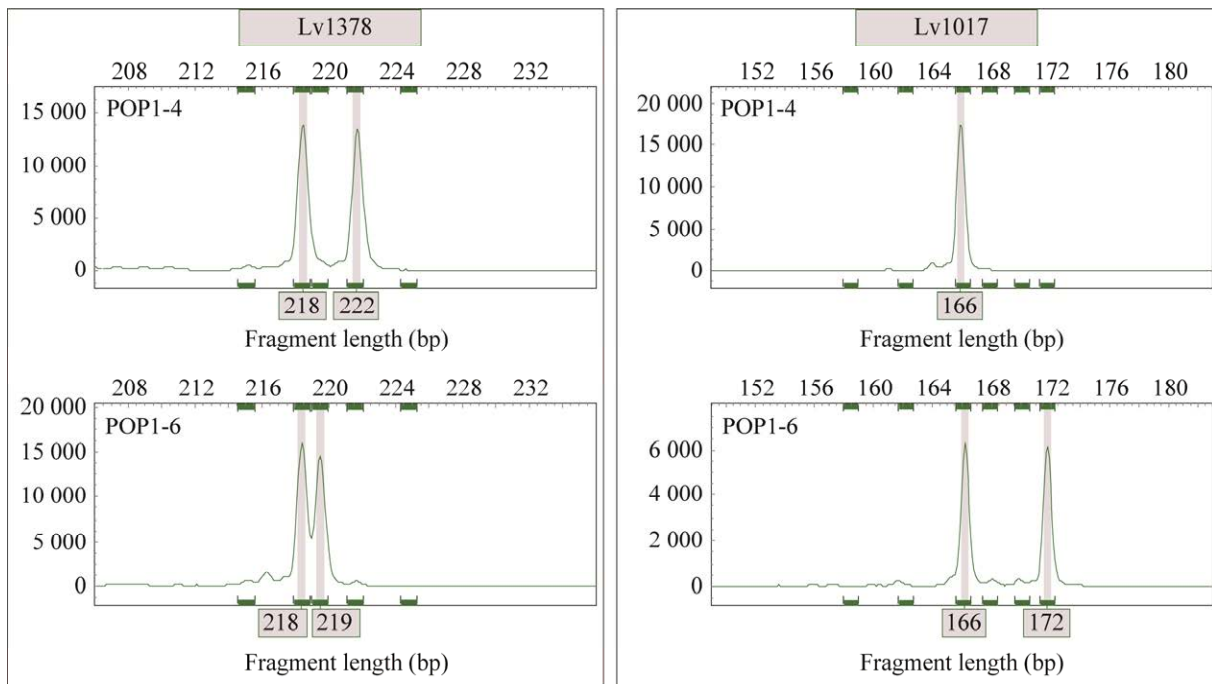


图 1 不同样品在部分 SSR 标记(Lv1378 和 Lv1017)下的分型峰图

Figure 1 The example of genetic polymorphism identification (molecular genotyping) in partial SSR markers (Lv1378 and Lv1017).

表 3 SSR 位点多态性信息表

Table 3 Polymorphism at the SSR loci

SSR locus	N_a	N_e	I	H_o	H_e	F_{is}	PIC	Significance
Lv1017	5.000	2.443	1.086	0.605	0.591	-0.299	0.530	***
Lv1021	6.000	3.565	1.514	0.683	0.719	-0.384	0.688	***
Lv1034	9.000	2.737	1.369	0.630	0.635	-0.287	0.598	***
Lv1065	12.000	7.595	2.198	0.563	0.868	0.034	0.855	***
Lv1093	11.000	7.349	2.119	0.420	0.864	0.201	0.849	***
Lv1113	6.000	2.363	1.199	0.602	0.577	-0.317	0.545	ns
Lv1143	5.000	2.473	1.111	0.567	0.596	-0.543	0.542	***
Lv1186	3.000	1.425	0.548	0.333	0.298	-0.419	0.269	ns
Lv1208	11.000	5.388	1.926	0.633	0.814	-0.083	0.793	***
Lv1237	11.000	6.758	2.100	0.874	0.852	-0.373	0.836	***
Lv1259	5.000	1.766	0.900	0.317	0.434	-0.061	0.410	***
Lv1279	5.000	3.697	1.455	0.617	0.730	-0.192	0.691	***
Lv1340	9.000	3.164	1.539	0.267	0.684	0.325	0.656	***
Lv1378	5.000	3.272	1.307	0.689	0.694	-0.362	0.638	**
Lv1391	9.000	6.458	1.989	0.800	0.845	-0.358	0.827	***
Mean	7.467	4.030	1.491	0.573	0.680	-0.208	0.648	—

“ns” means not significant, that is the population conforms to HWE; “*” means significant difference $P < 0.05$; “***” means significant difference $P < 0.01$; “****” means significant difference $P < 0.001$.

H_o 为 0.783, H_e 为 0.572, 均高于其他家系, 表明 POP15 家系的群体遗传多样性比其他家系更丰富。此外, 仅有 POP5 家系的 F 为正数 0.008, 其余家系均为负数。对 15 个家系通过 15 个 SSRs 位点进行哈迪-温伯格遗传平衡(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE)检验(表 5), 所有家系都至少在 8 个位点上符合 HWE, 各家系分别在部分位点表现出 HWE 偏离, 且在少部分位点发生了杂合子缺失现象。

2.3 遗传距离与聚类分析

利用 powermarker 计算 15 个家系间的遗传距离^[17], 其中家系 POP01 与 POP07 之间遗传距离最大(0.574), POP01 与 POP09 之间遗传距离最小(0.252) (图 2)。基于 Nei's 遗传距离, 采用 UPGMA 法对 120 尾凡纳滨对虾进行聚类分析, 可将其划分为 3 个主要类群(图 3)。其中, Cluster I 包括 POP7 和 POP15 共 2 个家系; Cluster II 包括 POP1、POP3、POP4、POP5、POP9

表 4 15 个凡纳滨对虾全同胞家系间遗传多样性比较

Table 4 Comparison of genetic diversity among 15 full-sib families of *Litopenaeus vannamei*

Family		N_a	N_e	I	H_o	H_e	F
POP01	Mean	2.667	2.240	0.804	0.542	0.480	-0.112
	SE	0.232	0.205	0.106	0.097	0.061	0.117
POP02	Mean	2.400	2.004	0.687	0.475	0.421	-0.102
	SE	0.235	0.185	0.108	0.091	0.065	0.103
POP03	Mean	2.267	1.925	0.661	0.458	0.418	-0.097
	SE	0.182	0.160	0.092	0.088	0.057	0.128
POP04	Mean	2.267	1.928	0.645	0.425	0.403	-0.067
	SE	0.228	0.194	0.104	0.077	0.061	0.101
POP05	Mean	2.400	2.108	0.766	0.492	0.490	0.008
	SE	0.163	0.176	0.067	0.086	0.032	0.151
POP06	Mean	2.800	2.467	0.883	0.683	0.523	-0.295
	SE	0.243	0.243	0.105	0.084	0.056	0.070
POP07	Mean	2.733	2.283	0.867	0.717	0.531	-0.349
	SE	0.182	0.163	0.068	0.051	0.032	0.047
POP09	Mean	2.600	2.308	0.837	0.575	0.518	-0.071
	SE	0.214	0.188	0.089	0.100	0.047	0.148
POP10	Mean	2.600	2.127	0.790	0.567	0.480	-0.092
	SE	0.163	0.184	0.078	0.081	0.043	0.130
POP12	Mean	2.533	2.175	0.792	0.567	0.490	-0.127
	SE	0.192	0.204	0.081	0.076	0.040	0.107
POP13	Mean	2.400	2.115	0.731	0.575	0.449	-0.290
	SE	0.214	0.188	0.109	0.089	0.065	0.072
POP14	Mean	2.400	2.027	0.722	0.567	0.452	-0.257
	SE	0.190	0.180	0.085	0.081	0.048	0.107
POP15	Mean	2.933	2.626	0.957	0.783	0.572	-0.362
	SE	0.228	0.231	0.088	0.065	0.040	0.071
POP17	Mean	2.667	2.152	0.756	0.617	0.446	-0.364
	SE	0.270	0.236	0.114	0.091	0.062	0.038
POP19	Mean	2.533	2.112	0.763	0.558	0.469	-0.210
	SE	0.215	0.201	0.090	0.063	0.048	0.071
Total	Mean	2.547	2.173	0.777	0.573	0.476	-0.187
	SE	0.055	0.051	0.024	0.021	0.013	0.027

表 5 Hardy-Weinberg 平衡检测

Table 5 A test for deviations from Hardy-Weinberg equilibrium

Family		Locus														
		Lv 1021	Lv 1034	Lv 1065	Lv 1093	Lv 1113	Lv 1143	Lv 1186	Lv 1208	Lv 1237	Lv 1259	Lv 1279	Lv 1340	Lv 1378	Lv 1391	Lv 1017
POP01	Probability	0.205	0.346	0.199	0.031	0.040	0.046	—	—	0.124	0.134	0.046	0.141	0.135	0.686	0.010
	value															
POP01	Significance	ns	ns	ns	*	*	*	—	—	ns	ns	*	ns	ns	ns	**
POP02	Probability	0.028	0.850	0.686	0.009	0.045	0.469	—	—	0.572	0.046	—	0.100	1.000	0.081	0.154
	value															
POP02	Significance	*	ns	ns	**	*	ns	—	—	ns	*	—	ns	ns	ns	ns
POP03	Probability	0.501	—	0.076	0.850	0.005	0.346	0.005	—	0.040	0.081	0.199	0.353	0.514	0.733	0.217
	value															
POP03	Significance	ns	—	ns	ns	**	ns	**	—	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
POP04	Probability	1.000	0.346	—	0.176	0.148	0.514	—	0.199	0.090	0.198	—	0.346	0.040	0.405	0.667
	value															
POP04	Significance	ns	ns	—	ns	ns	ns	—	ns	ns	ns	—	ns	*	ns	ns
POP05	Probability	0.346	0.514	0.501	0.015	0.005	0.199	0.046	0.090	0.161	0.346	0.346	0.035	0.005	0.405	0.062
	value															
POP05	Significance	ns	ns	ns	*	**	ns	*	ns	ns	ns	ns	*	**	ns	ns
POP06	Probability	0.028	0.475	0.410	0.154	0.170	0.501	0.686	—	0.233	0.082	0.514	0.346	0.212	0.046	0.314
	value															
POP06	Significance	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	—	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns
POP07	Probability	0.353	0.522	0.514	0.238	0.199	0.346	0.199	0.199	0.184	0.239	0.161	0.134	0.320	0.09	0.046
	value															
POP07	Significance	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*
POP09	Probability	0.445	0.046	0.624	0.217	0.005	—	0.346	0.046	0.045	0.205	0.346	0.046	0.005	0.17	0.469
	value															
POP09	Significance	ns	*	ns	ns	**	—	ns	*	*	ns	ns	*	**	ns	ns
POP10	Probability	0.090	0.046	0.346	0.053	0.514	0.514	0.046	0.346	0.217	0.170	0.005	0.013	0.005	0.161	0.198
	value															
POP10	Significance	ns	*	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	**	*	**	ns	ns
POP12	Probability	0.514	0.046	0.239	0.346	0.013	0.199	0.353	0.199	0.075	0.233	0.686	0.501	0.005	0.199	0.346
	value															
POP12	Significance	ns	*	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns
POP13	Probability	0.046	0.053	0.011	0.193	0.667	0.314	0.199	—	0.469	0.046	—	0.514	—	0.028	0.733
	value															
POP13	Significance	*	ns	*	ns	ns	ns	ns	—	ns	*	—	ns	—	*	ns
POP14	Probability	0.514	0.092	0.046	0.828	0.012	0.199	0.005	0.514	0.572	0.038	0.035	0.199	—	0.514	0.346
	value															
POP14	Significance	ns	ns	*	ns	*	ns	**	ns	ns	*	*	ns	—	ns	ns
POP15	Probability	0.686	0.090	0.028	0.310	0.522	0.021	0.046	0.850	0.192	0.238	0.346	0.046	0.501	0.184	0.222
	value															
POP15	Significance	ns	ns	*	ns	ns	*	*	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns
POP17	Probability	0.471	0.452	0.339	0.273	0.310	0.914	0.346	—	0.514	0.082	—	0.184	0.090	0.659	0.238
	value															
POP17	Significance	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	—	ns	ns	—	ns	ns	ns	ns

(待续)

(续表 5)

Family	Locus	Lv	Lv	Lv	Lv	Lv	Lv	Lv	Lv	Lv	Lv	Lv	Lv	Lv	Lv	
		1021	1034	1065	1093	1113	1143	1186	1208	1237	1259	1279	1340	1378	1391	1017
POP19	Probability value	0.053	0.346	0.082	0.557	0.212	0.170	0.514	—	0.013	0.090	0.320	0.199	0.346	0.199	0.346
	Significance	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	—	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns

“ns” refers to Hardy-Weinberg equilibrium; “*” refers to a significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium; “***” refers to a significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium; “—” refers to only one genotype at this locus in the population, without this value.

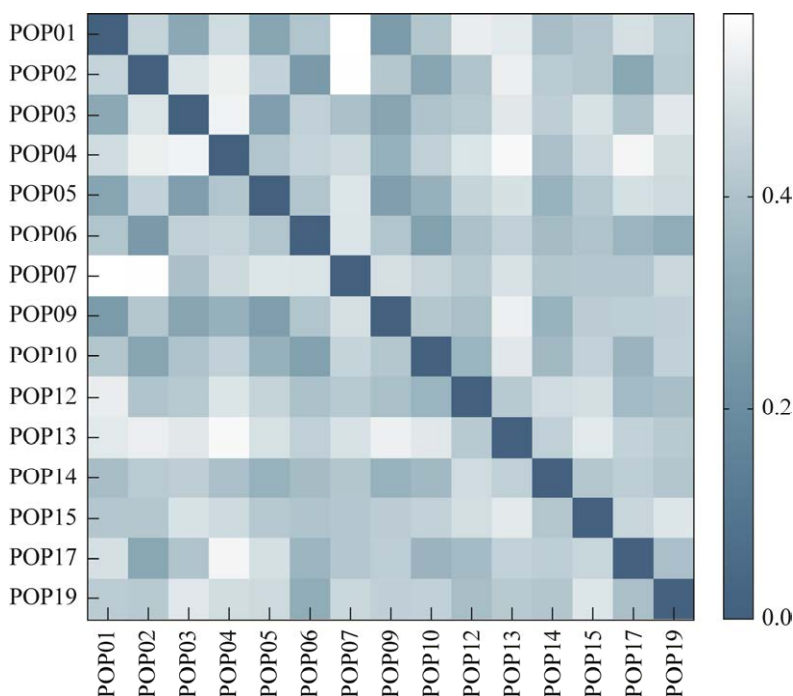


图 2 15 个凡纳滨对虾全同胞家系遗传距离热图

Figure 2 Heat map of genetic distances among 15 full-sib families of *Litopenaeus vannamei*.

和 POP14 共 6 个家系；Cluster III 包括 POP2、POP6、POP10、POP12、POP13、POP17 和 POP19 共 7 个家系。这 3 个主要的大类群又可细分为 15 个小分支，与家系类别具有高度相关性。

2.4 群体结构分析

利用 15 个分子标记对 120 个样本的群体结构进行评估，根据似然值最大原则，判断最佳 K 值为 3 (图 4A)，可以将 120 个样本划分为 3 个亚群(图 4B)。从群体结构来看，大部分凡纳滨对虾亲缘关系较为单一，少部分对虾的亲缘关

系相对复杂。分子变异方差分析(analysis of molecular variance, AMOVA)结果表明，群体间的遗传变异为 25%，个体内的遗传变异为 75% (表 6)。对 15 个家系群体间 N_m 和 F_{st} 的分析显示(表 7)，各个家系之间的 F_{st} 在 0.112–0.278 之间，提示这些家系之间存在较高程度的遗传分化；其中最大的 F_{st} 值为 0.278 (POP3/POP4)，表明 POP3 和 POP4 家系间存在极大的遗传分化。15 个凡纳滨对虾家系的 N_m 值介于 0.650–2.224，均值为 1.162。

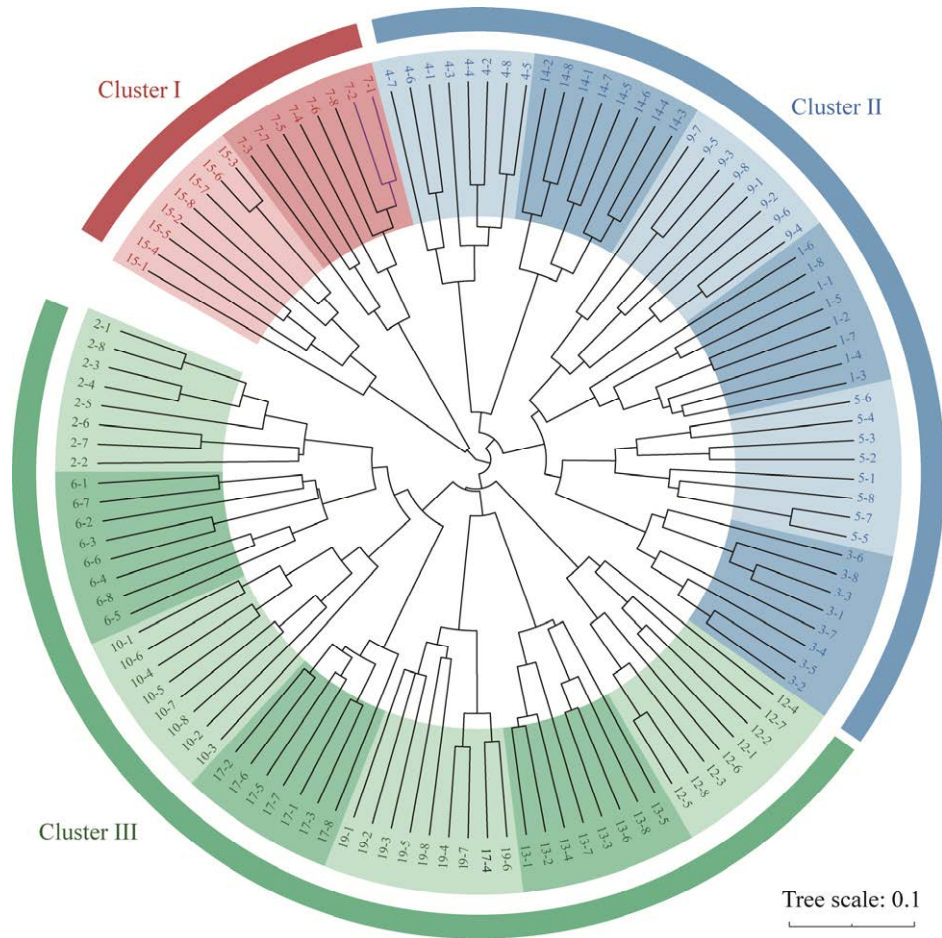


图3 120尾凡纳滨对虾的聚类分析图

Figure 3 Dendrogram derived from UPGMA cluster analysis of fifteen SSR marker alleles of 120 *Litopenaeus vannamei* individuals distributed in three clusters.

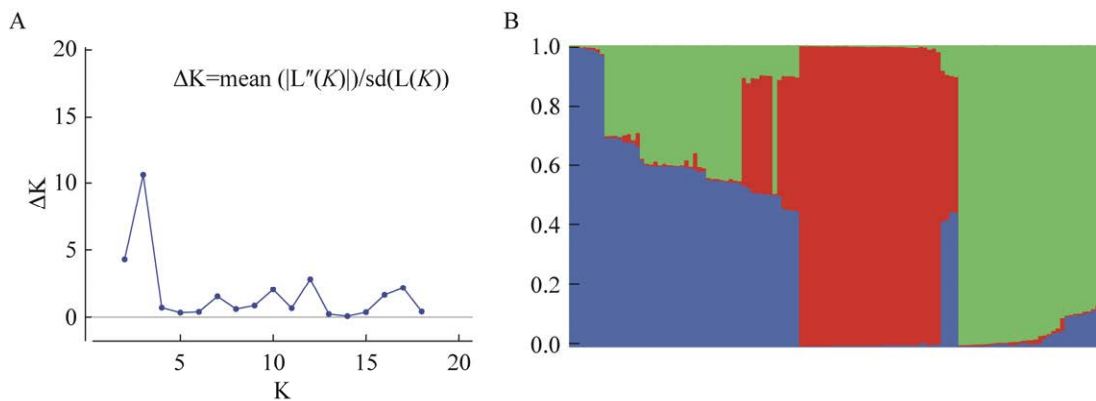


图4 120尾凡纳滨对虾群体遗传结构分析

A: Structure 模型分析 ΔK 与 K 值折线图. B: 120尾凡纳滨对虾群体遗传结构图

Figure 4 Population structure analysis of 120 *Litopenaeus vannamei* individuals. A: Line chart of delta K and K values based on structure model analysis. B: Population genetic structure diagram of germplasm resources of 120 *Litopenaeus vannamei* individuals.

表 6 种群的分子方差分析(AMOVA)

Table 6 Molecular analysis of variance (AMOVA) of population

Source	DF	SS	MS	Est. Var	Percentage of variation (%)
Among Pops	14.000	364.808	26.058	1.418	25
Among Indiv	105.000	353.438	3.366	0.000	0
Within Indiv	120.000	513.000	4.275	4.275	75
Total	239.000	1 231.246		5.693	100

DF: Degrees of freedom; SS: Stdev square; MS: Mean squared; Est. Var.: Estimated value at risk; Among Pops: Among populations; Among Indiv: Among individuals; Within Indiv: Within individuals, which refers to genetic differences caused by heterozygous alleles, the magnitude of which is related to the number of heterozygous loci in an individual, i.e., the genetic diversity of the individual.

表 7 15 个凡纳滨对虾全同胞家系间的基因流(上三角)和遗传分化系数(下三角)

Table 7 Genetic flow (upper triangle) and genetic differentiation coefficient (lower triangle) among 15 full-sib families of *Litopenaeus vannamei*

Family	POP01	POP02	POP03	POP04	POP05	POP06	POP07	POP09	POP10	POP12	POP13	POP14	POP15	POP17	POP19
POP01	–	1.043	1.253	0.753	1.465	1.659	0.909	1.729	1.269	0.835	1.055	1.129	1.241	0.925	1.229
POP02	0.193	–	0.831	0.723	1.072	2.224	0.772	1.211	1.599	1.089	0.834	0.929	1.066	1.609	1.034
POP03	0.166	0.231	–	0.650	1.500	1.179	1.331	1.341	1.355	0.954	0.750	0.956	0.953	0.990	0.841
POP04	0.249	0.257	0.278	–	1.010	0.984	0.888	1.243	1.070	0.915	0.719	0.926	0.904	0.768	0.805
POP05	0.146	0.189	0.143	0.198	–	1.449	1.165	1.899	1.648	1.218	0.925	1.418	1.564	1.098	0.984
POP06	0.131	0.101	0.175	0.203	0.147	–	1.173	1.611	1.929	1.428	1.492	1.439	1.533	1.514	1.987
POP07	0.216	0.245	0.158	0.220	0.177	0.176	–	1.194	1.193	1.215	0.951	1.261	1.377	1.077	1.135
POP09	0.126	0.171	0.157	0.167	0.116	0.134	0.173	–	1.493	1.372	1.045	1.233	1.325	1.223	1.154
POP10	0.165	0.135	0.156	0.189	0.132	0.115	0.173	0.143	–	1.390	0.888	1.392	1.176	1.715	1.161
POP12	0.230	0.187	0.208	0.215	0.170	0.149	0.171	0.154	0.152	–	1.180	0.895	1.271	1.344	1.111
POP13	0.192	0.231	0.250	0.258	0.213	0.144	0.208	0.193	0.220	0.175	–	0.922	0.983	0.958	1.183
POP14	0.181	0.212	0.207	0.213	0.150	0.148	0.165	0.169	0.152	0.218	0.213	–	1.252	1.014	1.193
POP15	0.168	0.190	0.208	0.217	0.138	0.140	0.154	0.159	0.175	0.164	0.203	0.166	–	1.113	0.979
POP17	0.213	0.134	0.202	0.245	0.185	0.142	0.188	0.170	0.127	0.157	0.207	0.198	0.183	–	1.166
POP19	0.169	0.195	0.229	0.237	0.203	0.112	0.181	0.178	0.177	0.184	0.174	0.173	0.203	0.177	–

3 讨论

近年来, 由于全球鱼粉价格持续攀升, 导致对虾饲料成本不断上涨, 亟须寻找经济、可持续的鱼粉替代蛋白源^[18]。豆粕由于其相对较高的蛋白质含量、平衡的氨基酸谱和稳定的供应量, 是目前使用最多的鱼粉替代蛋白源之一^[19]。然而, 豆粕中富含大豆球蛋白、 β -伴大豆球蛋白以及大豆凝集素等多种抗营养因子, 影响动物的营养吸收和健康, 限制了其在水产饲料中

的添加比重^[19]。因此, 通过对凡纳滨对虾进行遗传改良, 选育出适应豆粕替代部分鱼粉(低鱼粉水平饲料)的对虾新品种(系), 是解决上述问题的有效途径。本课题组前期基于广东地区现有的主养品种(系), 收集了 10 个不同养殖群体的凡纳滨对虾进行高豆粕低鱼粉饲料养殖实验, 通过个体选择的方式筛选出 F0 代基础选育亲本。后续采用半定向交尾方式, 构建了 F1 代核心育种群体, 拟通过家系选择的方式持续开展耐受高水平豆粕性状的凡纳滨对虾新品种

(系)选育工作。然而,人工养殖的大部分苗种是由有限繁育群体产生的,由此会引起群体遗传多样性的瓶颈效应和近交衰退等现象^[5]。已有研究表明,近交对于凡纳滨对虾生长、抗病等性状具有显著影响^[20]。因此,在进行家系选择的时候,需明确核心选育群体的群体结构和遗传多样性,从而为设计高效的选育方案提供重要参考。

SSRs 标记具有遗传稳定、受外界环境影响小、准确率高等优点,已广泛应用于水产动物品种选育及种质鉴定等领域^[21-23]。其中, PIC 是用于评估位点多态性程度的指标,反映了一个给定基因座上的等位基因的多样性^[24]。PIC 取值范围在 0 到 1 之间,高度多态性位点 $PIC > 0.5$; 中度多态位点 $0.25 \leq PIC \leq 0.5$; 低度多态位点 $PIC < 0.25$ ^[25]。方振朋等^[26]利用 8 个 SSRs 位点对凡纳滨对虾商业苗种进行遗传多样性分析, PIC 的数值范围为 0.472–0.700, 属于中度或高度多态。唐芳等^[27]利用 13 个 SSRs 位点对 9 个凡纳滨对虾养殖群体进行遗传多样性分析, PIC 为 0.129 2–0.679 9, 平均为 0.332 6, 仅有 1 个 SSR 位点呈高度多态性, 4 个 SSRs 位点呈低度多态性, 其余 8 个 SSRs 位点则呈中度多态性。陈锦豪等^[28]在 5 个凡纳滨对虾亲虾群体中所用的 8 对 SSRs 引物 PIC 值在 0.450–0.918 之间, 平均 PIC 值为 0.639, 呈高度多态性。本研究从 192 对备选引物中筛选出 15 对多态性较高的引物, 用于凡纳滨对虾家系分型, 共检测到 112 个等位基因, 平均等位基因数为 7.467。15 个 SSRs 位点的 PIC 的数值范围为 0.269–0.855, 平均值为 0.648, 其中 2 个位点属于中度多态, 13 个位点属于高度多态, 表明本研究所选的 15 个 SSRs 位点可作为凡纳滨对虾核心选育家系遗传多样性及遗传结构分析的评价工具。

遗传多样性是生物多样性的一个重要组成

部分, 对维持生态平衡、适应环境变化以及物种的生存和繁衍都起着关键作用^[29-30]。遗传多样性高的群体具有较强的生存和适应能力, 遗传多样性低则可能导致种群衰退^[31]。在选择育种中, 与目标性状相关的基因通常会被保留, 而不利的等位基因往往被消除, 从而导致遗传多样性降低^[32]。 N_a 、 N_e 、 H_o 、 H_e 等遗传多样性参数可以反映不同种群间或种群内不同个体间遗传变异水平^[33-34]。其中, 等位基因杂合度(H)是衡量群体遗传变异的最适参数, 主要反映群体的遗传变异程度, 群体中杂合子比重越高, 其遗传结构越稳定^[35-36]; H_e 是衡量一个物种遗传多样性水平高低的标准^[37-40]。此外, F 反应 H_o 和 H_e 之间的平衡关系, F 值的大小在 -1 和 1 之间, 负数表示杂合子丰富^[16,36,40]。本研究 15 个家系中 N_a 为 2.267–2.993, N_e 为 1.925–2.626, I 为 0.645–0.957, H_o 为 0.425–0.783, H_e 为 0.403–0.572, 总体上各家系的基因丰富度较高。其中, POP15 家系的 N_a 、 N_e 分别为 2.933 和 2.626, I 为 0.957, H_o 为 0.783, H_e 为 0.572, 均高于其他家系, 表明 POP15 家系的群体遗传多样性比其他家系更丰富。此外, 各家系 $H_o > H_e$, 且仅有 POP5 家系的 F 为正数, 表明大部分家系杂合子丰富, 群体间不存在近交现象。同时, 每个家系至少在 8 个位点上符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡, 表明这些家系没有面临强烈的自然选择或人工选择压力, 保持了较稳定的基因型。

遗传分化指数(F_{st})是用于衡量群体或亚群体间遗传分化程度的统计学指标^[41]。 F_{st} 的值范围在 0 到 1 之间, 通常近缘物种 F_{st} 值较低, 远缘物种 F_{st} 值较高^[42]。Wright^[43]认为, $0 \leq F_{st} < 0.05$, 表示遗传分化水平极低, 可以不予考虑; $0.05 \leq F_{st} < 0.15$, 表明遗传分化处于中等水平; $0.15 \leq F_{st} < 0.25$, 表示遗传分化较大; $F_{st} > 0.25$,

表示群体间有极大的遗传分化。选择遗传分化指数大的群体间进行杂交,可发挥杂种优势,减缓育种群体之间近亲繁殖带来的影响^[44-45]。本研究中,15个凡纳滨对虾家系的 F_{st} 为0.112–0.278,表明各家系间存在中高水平的遗传分化。其中,POP2和POP4家系($F_{st}=0.257$)、POP3和POP4家系($F_{st}=0.278$)、POP3和POP13家系($F_{st}=0.250$)以及POP4和POP13家系($F_{st}=0.258$)间发生了极大的遗传分化,具有较高的选育潜力。基因流是影响群体内部和群体之间遗传变异程度的重要因素,与遗传分化呈负相关^[46]。基因流可能通过阻止对当地条件的适应来限制进化,也可能通过在整个物种范围内传播新的基因和基因组合来促进进化^[47-48]。普遍认为,当 $N_m < 1$ 时,种群间基因交流较弱,遗传分化程度较强;当 $1 < N_m < 4$ 时,种群间具有中等程度的基因交流,遗传分化程度中等^[49]。本研究中15个凡纳滨对虾家系的 N_m 值介于0.650–2.224,均值为1.162,表明家系间存在中高度遗传分化。此外,分子方差分析显示,25%的遗传变异来自群体间,75%的变异来自个体内。这些结果表明,本研究中F1代凡纳滨对虾核心选育群体具有相当的选育潜力,能够为耐受高水平豆粕的凡纳滨对虾选择育种提供一个遗传背景丰富、无近交繁殖压力的核心育种群体。

4 结论

本研究所构建的15个凡纳滨对虾全同胞家系具有丰富的遗传变异,群体遗传结构稳定,遗传多样性适中。各家系间遗传分化水平较高,分子遗传距离较远,杂合子丰富,近交现象不明显。因此,这些家系具有较高的人工选育潜力,可作为耐受高水平豆粕的凡纳滨对虾选择育种的核心种质,为持续开展世代选育工作提供有力支撑。

REFERENCES

- [1] 曲旻, 谭建, 栾生, 强光峰, 罗坤, 隋娟, 孟宪红, 孔杰. 凡纳滨对虾幼虾耐高温性状的遗传力评估[J]. 水产科学, 2023, 42(5): 805-812.
QU M, TAN J, LUAN S, QIANG GF, LUO K, SUI J, MENG XH, KONG J. Heritability assessment of high temperature tolerance traits in juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. Fisheries Science, 2023, 42(5): 805-812 (in Chinese).
- [2] 农业农村部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2023.
Fisheries and fishery Administration Bureau, Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. China Fishery Statistical Yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2023 (in Chinese).
- [3] 孔杰, 栾生, 谭建, 隋娟, 罗坤, 李旭鹏, 代平, 孟宪红, 卢霞, 陈宝龙, 曹家旺, 曹宝祥. 对虾选择育种研究进展[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2020, 50(9): 81-97.
KONG J, LUAN S, TAN J, SUI J, LUO K, LI XP, DAI P, MENG XH, LU X, CHEN BL, CAO JW, CAO BX. Progress of study on penaeid shrimp selective breeding[J]. Periodical of Ocean University of China, 2020, 50(9): 81-97 (in Chinese).
- [4] 李鹏. 凡纳滨对虾群体亲缘关系鉴定及生长性状遗传标记筛选、优化和验证[D]. 上海: 上海海洋大学硕士学位论文, 2017.
LI P. Identification of genetic relationship of *Litopenaeus vannamei* population and screening, optimization and verification of genetic markers for growth traits[D]. Shanghai: Master's Thesis of Shanghai Ocean University, 2017 (in Chinese).
- [5] 崔朝霞, 张岷, 宋林生, 尤锋. 中国重要海洋动物遗传多样性的研究进展[J]. 生物多样性, 2011, 19(6): 815-833.
CUI ZX, ZHANG H, SONG LS, YOU F. Genetic diversity of marine animals in China: a summary and prospectiveness[J]. Biodiversity Science, 2011, 19(6): 815-833 (in Chinese).
- [6] HU YB, FAN HZ, CHEN YH, CHANG J, ZHAN XJ, WU H, ZHANG BW, WANG M, ZHANG WY, YANG L, HOU X, SHEN X, PAN T, WU W, LI J, HU HH, WEI FW. Spatial patterns and conservation of genetic and phylogenetic diversity of wildlife in China[J]. Science Advances, 2021, 7(4): eabd5725.
- [7] BALLOUX F, LUGON-MOULIN N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers[J]. Molecular Ecology, 2002, 11(2): 155-165.

- [8] 陈万光, 贾晓慧. 微卫星标记在水产动物遗传研究方面的应用[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(12): 5659-5660. CHEN WG, JIA XH. Application of microsatellite marker in genetic study of aquatic animals[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2009, 37(12): 5659-5660 (in Chinese).
- [9] SONG XM, YANG QH, BAI Y, GONG K, WU T, YU T, PEI QY, DUAN WK, HUANG ZN, WANG ZY, LIU Z, KANG X, ZHAO W, MA X. Comprehensive analysis of SSRs and database construction using all complete gene-coding sequences in major horticultural and representative plants[J]. Horticulture Research, 2021, 8(1): 122.
- [10] 徐煜, 黄小帅, 胡晓娟, 徐武杰, 苏浩昌, 文国樑, 曹煜成, 杨铿. 凡纳滨对虾进口亲虾子一代群体的遗传变异分析[J]. 南方农业学报, 2021, 52(11): 3139-3146. XU Y, HUANG XS, HU XJ, XU WJ, SU HC, WEN GL, CAO YC, YANG K. Genetic variation analysis among first filial generation of introduced *Litopenaeus vannamei* stocks[J]. Journal of Southern Agriculture, 2021, 52(11): 3139-3146 (in Chinese).
- [11] 王佳佳, 王琼, 秦楨, 陈耀辉, 李健, 李吉涛. 凡纳滨对虾全基因组 SSR 标记开发及不同养殖群体的遗传多样性[J]. 水产学报, 2023, 47(6): 62-72. WANG JJ, WANG Q, QIN Z, CHEN YH, LI J, LI JT. Development of SSR markers from genomic data for *Litopenaeus vannamei* and analysis of genetic diversity in different cultured populations[J]. Journal of Fisheries of China, 2023, 47(6): 62-72 (in Chinese).
- [12] 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. ZHANG LS, XIANG JH. A preliminary study on the inheritance of microsatellite in two selective breeding families of shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. Hereditas (Beijing), 2005, 27(6): 919-924 (in Chinese).
- [13] ZHANG LS, YANG CJ, ZHANG Y, LI L, ZHANG XM, ZHANG QL, XIANG JH. A genetic linkage map of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*): sex-linked microsatellite markers and high recombination rates[J]. Genetica, 2007, 131(1): 37-49.
- [14] 孙坤, 李旭鹏, 隋娟, 曹家旺, 谭建, 罗坤, 栾生, 孔杰, 孟宪红. 基于微卫星标记评估凡纳滨对虾收获体长、体质量以及抗 WSSV 性状的遗传参数[J]. 水产学报, 2022, 46(4): 583-593. SUN K, LI XP, SUI J, CAO JW, TAN J, LUO K, LUAN S, KONG J, MENG XH. Evaluation of genetic parameters of body length, body weight and WSSV resistance of *Litopenaeus vannamei* based on microsatellite markers[J]. Journal of Fisheries of China, 2022, 46(4): 583-593 (in Chinese).
- [15] 黄小帅, 徐煜, 胡晓娟, 徐武杰, 苏浩昌, 文国樑, 杨铿, 曹煜成. 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[J]. 南方水产科学, 2019, 15(1): 54-62. HUANG XS, XU Y, HU XJ, XU WJ, SU HC, WEN GL, YANG K, CAO YC. Genetic diversity analysis of first filial generation of seven introduced *Litopenaeus vannamei* populations using microsatellite DNA markers[J]. South China Fisheries Science, 2019, 15(1): 54-62 (in Chinese).
- [16] WRIGHT S. Evolution in Mendelian populations[J]. Genetics, 1931, 16(2): 97-159.
- [17] NEI M. Analysis of gene diversity in subdivided populations[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1973, 70(12): 3321-3323.
- [18] YAO XZ, ZHAO TF, LI XY, ZHANG XC, CHEN X, LI HM, TAN BP, XIE SW. The impacts of low fishmeal diet to the antioxidant capacity, endoplasmic reticulum stress, apoptosis and intestinal health of *Litopenaeus vannamei* as the went on of the feeding trial[J]. Animal Feed Science and Technology, 2024, 311: 115948.
- [19] 彭凯, 罗锦伟, 黄文. 植物蛋白原料替代鱼粉在水产饲料中的研究进展[J]. 饲料研究, 2022, 45(15): 136-140. PENG K, LUO JW, HUANG W. Research progress of plant protein ingredients replacing fish meal in aquatic feed[J]. Feed Research, 2022, 45(15): 136-140 (in Chinese).
- [20] MOSS DR, ARCE SM, OTOSHI CA, DOYLE RW, MOSS SM. Effects of inbreeding on survival and growth of Pacific white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*[J]. Aquaculture, 2007, 272: S30-S37.
- [21] RASOARAHONA R, WATTANADILOKCHATKUN P, PANTHUM T, THONG T, SINGCHAT W, AHMAD SF, CHAIYES A, HAN K, KRAICHAK E, MUANGMAI N, KOGA A, DUENGKAE P, ANTUNES A, SRIKULNATH K. Optimizing microsatellite marker panels for genetic diversity and population genetic studies: an ant colony algorithm approach with polymorphic information content[J]. Biology, 2023, 12(10): 1280.
- [22] 李燕平, 覃川杰, 吕云云, 龚全, 王均, 颀江, 文正

- 勇. 黄颡鱼养殖群体遗传多样性与遗传结构的微卫星分析[J]. 淡水渔业, 2023, 53(3): 3-14.
- LI YP, TAN CJ, LV YY, GONG Q, WANG J, XIE J, WEN ZY. Genetic diversity and genetic structure analysis of *Pelteobagrus fuloidraco* using microsatellite markers[J]. Freshwater Fisheries, 2023, 53(3): 3-14 (in Chinese).
- [23] XIAO TQ, LU CY, XU YL, LI C, ZHENG XH, CAO DC, CHENG L, MAHBOOB S, SUN XW. Screening of SSR markers associated with scale cover pattern and mapped to a genetic linkage map of common carp (*Cyprinus carpio L.*)[J]. Journal of Applied Genetics, 2015, 56(2): 261-269.
- [24] OLIYA BK, MAHARJAN L, PANT B. Genetic diversity and population structure analysis of *Paris polyphylla* Sm. revealed by SSR marker[J]. Heliyon, 2023, 9(7): e18230.
- [25] BOTSTEIN D, WHITE RL, SKOLNICK M, DAVIS RW. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. American Journal of Human Genetics, 1980, 32(3): 314-331.
- [26] 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[J]. 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[J]. Progress in Fishery Sciences, 2020, 41(5): 101-109 (in Chinese).
- [27] 唐芳, 温贝妮, 刘红. 不同凡纳滨对虾养殖群体的微卫星遗传多样性分析[J]. 南方农业学报, 2021, 52(4): 1108-1115.
- TANG F, WEN BN, LIU H. Microsatellite genetic diversity in different *Litopenaeus vannamei* breeding populations[J]. Journal of Southern Agriculture, 2021, 52(4): 1108-1115 (in Chinese).
- [28] 陈锦豪, 郑锦滨, 王攀攀, 李天骄, 毛勇, 苏永全, 王军. 凡纳滨对虾养殖亲本群体遗传多样性分析[J]. 渔业研究, 2019, 41(1): 1-10.
- CHEN JH, ZHENG JB, WANG PP, LI TJ, MAO Y, SU YQ, WANG J. Analysis for genetic diversity of broodstock populations of breeding *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Fisheries Research, 2019, 41(1): 1-10 (in Chinese).
- [29] NAIK A, MISHRA SK, NAG A, SOREN GK, PANDA AK, PANDA SK, PANIGRAHI J. Cross-genera amplification of *Cajanus spp.* specific SSR markers in *Clitoria ternatea* (L.) and their application in genetic diversity studies[J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2020, 26(12): 2371-2390.
- [30] TESFAYE G, CURTO M, MEULENBROEK P, ENGLMAIER GK, TIBIHIKA PD, ALEMAYEHU E, GETAHUN A, MEIMBERG H. Genetic diversity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) populations in Ethiopia: insights from nuclear DNA microsatellites and implications for conservation[J]. BMC Ecology and Evolution, 2021, 21(1): 113.
- [31] FANG D, HE M, REN YF, LUO H, ZHOU YF, JIANG SL, YOU Y. Assessment of genetic diversity of the salangid, *Neosalanx taihuensis*, based on the mitochondrial *COI* gene in different Chinese River Basins[J]. Biology, 2022, 11(7): 968.
- [32] HAHN MW. Molecular population genetics[M]. Sinauer Associates is an imprint of Oxford University Press, 2018.
- [33] ZHANG J, LIU JM, HAN C, PENG C, LI Y, XIA JH, ZHANG Y, LI SS, LIN HR. Full-length transcriptome sequence and SSR marker development for genetic diversity research in yellowfin seabream *Acanthopagrus latus*[J]. Journal of Oceanology and Limnology, 2023, 41(3): 1073-1083.
- [34] ZHANG MM, ZHENG CH, LI JD, WANG XY, LIU CP, LI XJ, XU ZH, DU KJ. Genetic diversity, population structure, and DNA fingerprinting of *Ailanthus altissima* var. *erythrocarpa* based on EST-SSR markers[J]. Scientific Reports, 2023, 13(1): 19315.
- [35] LEBERG PL. Estimating allelic richness: effects of sample size and bottlenecks[J]. Molecular Ecology, 2002, 11(11): 2445-2449.
- [36] 刘雷, 张伟杰, 刘岩松, 冷晓飞, 欧凡江, 臧晓宁, 李旭光, 丁君, 常亚青. 基于 SSR-seq 技术评估中间球海胆多代选育群体和普通养殖群体的遗传多样性[J]. 水产学报, 2023, 47 (03): 145-155.
- LIU L, ZHANG WJ, LIU YS, LEN XF, OU FJ, ZANG XN, LI XG, DING J, CHANG YQ. Evaluation of the genetic diversity and genetic structure of multiple generation selection populations and unselected common population of sea urchin (*Strongylocentrotus intermedius*) using SSR-seq[J]. Journal of Fisheries of China, 2023, 47(03): 145-155 (in Chinese).
- [37] 田星, 李中霁, 刘小莉, 李国栋. 基于 SSR 分子标记的灯笼花遗传多样性分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(18): 136-143.

- TIAN X, LI ZJ, LIU XL, LI GD. Genetic diversity analysis of *Erigeron breviscapus* based on SSR markers[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2021, 27(18): 136-143 (in Chinese).
- [38] 彭敏, 陈慧芳, 李强勇, 杨春玲, 曾地刚, 刘青云, 赵永贞, 陈晓汉, 林勇, 陈秀荔. 凡纳滨对虾连续3个世代选育群体的遗传多样性分析[J]. 南方农业学报, 2020, 51(6): 1442-1450.
- PENG M, CHEN HF, LI QY, YANG CL, ZENG DG, LIU QY, ZHAO YZ, CHEN XH, LIN Y, CHEN XL. Genetic diversity of three consecutive generations of *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Southern Agriculture, 2020, 51(6): 1442-1450 (in Chinese).
- [39] REN SJ, MATHER PB, TANG BG, HURWOOD DA. Levels of genetic diversity and inferred origins of *Penaeus vannamei* culture resources in China: Implications for the production of a broad synthetic base population for genetic improvement[J]. Aquaculture, 2018, 491: 221-231.
- [40] 谢丽, 陈国良, 叶富良, 栗志民. 凡纳滨对虾4个选育群体遗传多样性的SSR分析[J]. 广东海洋大学学报, 2009, 29(4): 5-9.
- XIE L, CHEN GL, YE FL, LI ZM. Genetic diversity of four selected stocks of *Litopenaeus vannamei* as revealed by SSR marker[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2009, 29(4): 5-9 (in Chinese).
- [41] 邓会栋, 乔阳, 郭利军, 华敏, 谢圣华, 冀晓昊, 吴晓慧, 冯学杰, 王海波. 基于SSR标记的海南54份榴莲种质资源遗传多样性和群体结构分析[J]. 中国果树, 2023(12): 90-98.
- DENG HD, QIAO Y, GUO LJ, HUA M, XIE SH, JI XH, WU XH, FENG XJ, WANG HB. Analysis of genetic diversity and population structure of 54 durian germplasm resources in Hainan based on SSR markers[J]. China Fruits, 2023(12): 90-98 (in Chinese).
- [42] 黄皓, 范嗣刚, 王鹏飞, 陈佳, 赵超, 闫路路, 邱丽华, 潘滢. 基于微卫星标记对6个花鲈群体的遗传多样性分析[J]. 南方水产科学, 2022, 18(1): 99-106.
- HUANG H, FAN SG, WANG PF, CHEN J, ZHAO C, YAN LL, QIU LH, PAN Y. Genetic diversity analysis of six geographical populations of *Lateolabrax maculatus* based on microsatellite markers[J]. South China Fisheries Science, 2022, 18(1): 99-106 (in Chinese).
- [43] WRIGHT S. The genetical structure of populations[J]. Annals of Eugenics, 1951, 15(4): 323-354.
- [44] 唐琼英, 谢巨洪, 夏正龙, 蔡缪荧, 吴云明, 白鹿淮, 杜厚宽, 李景芬, 杨国梁. 罗氏沼虾不同育种群体遗传多样性研究[J]. 水生生物学报, 2020, 44(5): 1097-1104.
- TANG QY, XIE JH, XIA ZL, CAI MY, WU YM, BAI LH, DU HK, LI JF, YANG GL. Genetic diversity of the breeding populations of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2020, 44(5): 1097-1104 (in Chinese).
- [45] 吴怡迪, 骆轩, 杨章武, 黄永春, 游伟伟. 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.
- WU YD, LUO X, YANG ZW, HUANG YC, YOU WW. 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).
- [46] 曲若竹, 侯林, 吕红丽, 李海燕. 群体遗传结构中的基因流[J]. 遗传, 2004, 26(3): 377-382.
- QU RZ, HOU L, LÜ HL, LI HY. The gene flow of population genetic structure[J]. Hereditas (Beijing), 2004, 26(3): 377-382 (in Chinese).
- [47] SLATKIN M. Gene flow and the geographic structure of natural populations[J]. Science, 1987, 236(4803): 787-792.
- [48] TIGANO A, FRIESEN VL. Genomics of local adaptation with gene flow[J]. Molecular Ecology, 2016, 25(10): 2144-2164.
- [49] CURNOW RN, WRIGHT S. Evolution and the genetics of populations, volume 4: variability within and among natural populations[J]. Biometrics, 1979, 35(1): 359.

(本文责编 郝丽芳)