

谭云飞, 蓬国辉, 熊礼静, 等. 长江中下游流域 13 个克氏原螯虾群体遗传多样性和遗传结构分析 [J]. 华中农业大学学报, 2020, 39(2): 33-39.
DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2020.02.005

长江中下游流域 13 个克氏原螯虾群体 遗传多样性和遗传结构分析

谭云飞^{1,2}, 蓬国辉^{1,2}, 熊礼静^{1,2}, 彭波^{1,2}, 吴毅博², 宋朝伟², 白旭峰^{1,2}

1. 华中农业大学双水双绿研究院/作物遗传改良国家重点实验室, 武汉 430070;

2. 华中农业大学水产学院, 武汉 430070

摘要 用 8 个 SSR (simple sequence repeats) 分子标记分别对我国长江中下游流域的 13 个克氏原螯虾野生群体的等位基因数 (N_a)、期望杂合度 (H_e)、观测杂合度 (H_o)、多态性信息含量 (PIC)、Hardy-Weinberg 平衡指数与遗传距离等进行研究。结果显示: 各群体不同标记位点的等位基因数为 3~5 个, 平均期望杂合度、平均观测杂合度与多态性信息含量分别分布在 0.37~0.57、0.23~0.48 与 0.40~0.56, 表明在这些群体中存在较丰富的遗传多样性。群体遗传距离聚类分析得出: 13 个克氏原螯虾群体初步分化为 3 个类群, 分别为以太湖 (TH) 与鄱阳湖 (PYH) 为代表的类群, 以重庆与巢湖为代表的类群和以洪湖、洞庭湖与洪泽湖等为代表的类群。以上结果表明我国具有遗传多样的克氏原螯虾种质资源。

关键词 克氏原螯虾; SSR 标记; 遗传多样性; 遗传结构; 群体分化

中图分类号 Q 959.223+.63 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2020)02-0033-07

克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*), 俗称小龙虾, 在动物分类学上隶属于节肢动物门 (Arthropoda)、甲壳纲 (Crustacea)、十足目 (Decapoda)、螯虾科 (Cambaridae)、原螯虾属 (*Procambarus*)^[1-3]; 也有文献中称其为螯蛄科 (Astacidae)^[4-5]。克氏原螯虾属于底栖水生杂食性动物, 可在 10~30 °C 的淡水环境中生长与繁殖^[6-9]。该物种原产于美国路易斯安那州, 最初由日本商人作为饲料动物源引入日本国内, 并在 20 世纪 30 年代引入中国南京地区^[2-3, 5-6]; 之后, 沿着我国长江与淮河流域迅速扩展开来^[3, 6]。

我国农户早在 2005 年以前就已开始在稻田中养殖克氏原螯虾^[10], 目前已形成了巨大的产业链。捕大留小、逆向选择以及种苗自繁自育的养殖模式导致养殖的克氏原螯虾个头逐年变小、病害频发、种质退化严重。而良种繁育是解决克氏原螯虾这些问题的关键。

SSR (simple sequence repeats) 分子标记是对动植物群体遗传分析与分子育种的重要标记。Li 等^[11]利用 12 对 SSR 标记对我国 35 个克氏原螯

群体的基因组 DNA 进行 PCR (polymerase chain reaction) 扩增与遗传分析得出我国境内的克氏原螯虾遗传多样性较高。邢智珺等^[6]对江苏省的 8 个地域的克氏原螯虾群体进行采样, 并利用 8 个 SSR 标记鉴定其基因型, 发现各地域群体存在遗传结构差异, 且遗传多样性丰富。丰富的种质群体是克氏原螯虾遗传育种的重要资源。近年来, 随着养殖区域的不断扩张, 野生种质资源的多样性濒临枯竭。因此, 收集、鉴定与保护野生克氏原螯虾种质资源显得迫在眉睫。

目前, 已报道的我国克氏原螯虾群体样本采集地点相对较少或者较为集中, 致使群体代表性不强。为此, 本研究在我国安徽、江苏、浙江、江西、湖北、湖南以及重庆等长江流域的 13 个地域对野生克氏原螯虾进行了采样。利用 8 个 SSR 分子标记对上述克氏原螯虾群体进行检测, 对其遗传结构与遗传多样性进行分析, 鉴定克氏原螯虾不同地域品系, 并收集与保种, 以为克氏原螯虾遗传育种提供种质资源。

收稿日期: 2019-07-18

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项 (2662018YJ042)

谭云飞, 硕士研究生. 研究方向: 克氏原螯虾遗传育种. E-mail: yunfeitan@webmail.hzau.edu.cn

通信作者: 白旭峰, 博士, 研究员. 研究方向: 克氏原螯虾遗传育种. E-mail: xufengbai@mail.hzau.edu.cn

1 材料与方法

1.1 材料

样品采集自重庆(CQ)、宜昌(YC)、丹江口(DJK)、监利(JL)、洪湖(HH)、洞庭湖-岳阳(DTH-YY)、洞庭湖-沅江(DTH-YJ)、九江(JJ)、安庆(AQ)、巢湖(CH)、鄱阳湖(PYH)、太湖(TH)与洪泽湖(HZH),共 13 个地域的 326 尾克氏原螯虾种质群体;群体平均个体数为 25 尾。分别取虾腹肌肉置于无水乙醇中 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存,备用于提取基因组 DNA。

1.2 试验方法

1)DNA 提取。取适量(约 50 mg)克氏原螯虾腹肌肉剪碎后放入 2 mL 离心管内,采用苯酚/氯仿法提取基因组 DNA^[3]。用 200 μL 超纯水溶解 DNA,经琼脂糖凝胶电泳检测合格后存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中待用。

2)PCR 扩增。扩增引物为已报道的 8 个 SSR

标记引物(PCLG2、PCLG10、PCLG13、PCLG15、PCLG16、PCLG29、PCLG35 与 PCLG37)^[12]。扩增体系:10 \times Buffer 4 μL ;dNTP 1 μL ;r-Taq 酶 0.1 μL ;引物 2 μL ;克氏原螯虾基因组 DNA 模板 2 μL ;补充 ddH₂O 至 20 μL 。扩增条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s;58 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s;35 次循环后;72 $^{\circ}\text{C}$ 再延伸 7 min;4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

3)聚丙烯酰胺凝胶电泳。电泳检测 PCR 扩增产物,并对每个标记的各样本电泳条带进行统计分析。

1.3 遗传统计分析

利用 8 个 SSR 标记鉴定我国 13 个克氏原螯虾群体(表 1)的基因型,通过 POPGENE 3.2 软件^[13]对 13 个群体的观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、等位基因数(N_a)、多态信息含量(PIC)、Hardy-Weinberg 平衡指数与遗传距离等进行分析。根据遗传距离数据利用 MEGA 4.0 软件^[14]对 13 个群体进行遗传聚类分析。

表 1 克氏原螯虾群体采集地点与样本量

Table 1 The Geographical distribution and sample size of the 13 crayfish (*Procambarus clarkii*) populations

地名 Location	纬度 Latitude	经度 Longitude	样本量 Sample size
宜昌 YC	N30°76'60.79"	E111°28'47.55"	23
丹江口 DJK	N32°59'36.80"	E111°48'75.40"	23
监利 JL	N29°82'09.51"	E112°82'04.32"	25
洞庭湖-岳阳 DTH-YY	N29°17'58.95"	E113°08'02.94"	24
洞庭湖-沅江 DTH-YJ	N28°84'27.48"	E112°39'59.24"	27
洪泽湖 HZH	N33°23'35.75"	E118°59'55.19"	29
洪湖 HH	N29°95'48.40"	E113°47'11.45"	28
太湖 TH	N31°01'43.40"	E120°03'74.22"	24
巢湖 CH	N31°59'94.79"	E117°57'60.29"	24
九江 JJ	N29°67'24.70"	E115°85'86.23"	27
鄱阳湖 PYH	N28°89'39.70"	E116°33'75.68"	22
安庆 AQ	N30°55'98.51"	E117°13'54.37"	24
重庆 CQ	N29°90'36.53"	E106°11'11.79"	26

2 结果与分析

2.1 不同地域群体 SSR 标记基因型分析

通过聚丙烯酰胺凝胶电泳检测各标记 PCR 产物(图 1)发现:各标记在整个克氏原螯虾样本群体中的等位基因数均为 3~5;其中,标记 PCLG15 有 5 个等位基因,标记 PCLG13、PCLG16 与 PCLG35 均有 4 个等位基因,其余的分别为 3 个等位基因。各标记位点等位基因按照 PCR 产物片段大小依次定义为“A”“B”“C”“D”“E”不同等位基因。为了区别

不同群体中主要基因型的差异,本研究将各标记位点在不同群体中基因型频率大于 0.30 的基因型作为该群体的主要基因型;通过对各群体不同标记位点的主要基因型的比较发现:洞庭湖-岳阳、洪湖与洪泽湖等区域的克氏原螯虾在多个标记位点(PCLG10、PCLG15 与 PCLG37)的主要基因型相同,但它们不同于太湖与鄱阳湖等区域的主要基因型(表 2)。所有检测到的主要基因型(84 个)中纯合子(58 个)约占比 69%,推测近交可能是致使克氏原螯虾种质群体纯化的主要原因。

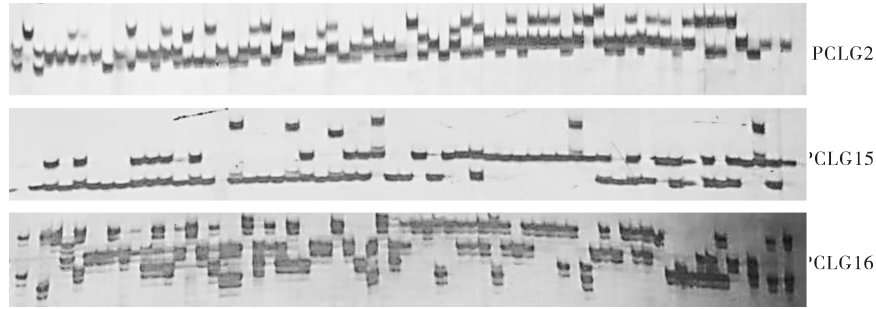


图 1 部分 SSR 标记 PCR 扩增产物的聚丙烯酰胺凝胶电泳图

Fig.1 The polyacrylamide gel electrophoresis for the partial PCR products of the SSR markers

表 2 8 个 SSR 标记位点在 13 个克氏原螯虾群体中的主要基因型

Table 2 The major genotypes of eight SSR makers in the 13 crayfish (*Procambarus clarkii*) populations

标记 Markers	等位基因数 N_a^*	宜昌 YC	丹江口 DJK	监利 JL	洞庭湖- 岳阳 YY	洞庭湖- 沅江 YJ	洪泽湖 HZH	洪湖 HH	太湖 TH	巢湖 CH	九江 JJ	鄱阳湖 PYH	安庆 AQ	重庆 CQ
PCLG13	4	AB	AA	AB	AB	BB	BB	BB	AA	DD	AA	AB	AB	AB
PCLG15	5	EE	EE	DE	EE	DD	EE	EE	—	BC	EE	EE	EE	DD
PCLG02	3	CC	CC	BC	BC	CC	BC	BC	BB	BC	BB	BC	AC	AB
PCLG16	4	BB	BB	—	—	BB	—	AC	AB	—	—	—	BC	—
PCLG29	3	CC	BB	BB	—	—	—	—	CC	AB	AB	AA	BB	AB
PCLG10	3	BB	AA	AA	AA	—	AA	AA	—	—	BB	BB	—	—
PCLG35	4	BB	CC	—	AA	AA	—	AA	DD	—	AA	BC	BD	AB
PCLG37	3	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	AA	BC	AA	AA	AA	BB

注: N_a^* , 等位基因数, 基因型频率大于 0.3 的基因型被定义为主要基因型, “—” 表示该群体中无主要基因型。Note: N_a^* , Allele number, the genotype with a frequency more than 0.3 was defined as the major genotype, “—” indicated no major genotype in that population.

2.2 不同地域群体遗传多样性分析

对不同地域群体的平均杂合度(8 个标记的杂合度均值)进行分析得出: 不同地域群体的平均期望杂合度(H_e)分布在 0.37~0.57, 平均观测杂合度(H_o)分布在 0.23~0.48(表 3)。此外, 不同地域群体的平均多态信息含量(PIC 值)分布在 0.40~0.56。当 PIC 值大于 0.5 时, 表示具有高多态性; 0.25<PIC<0.5 时, 表示中度多态性^[15]。本研究中, 3 个地域(宜昌、丹江口与洪泽湖)的克氏原螯虾群体平均 PIC 值均大于 0.5, 表现为高多态性; 其余地域的平均 PIC 值均大于 0.25, 达到了中度多态性。上述 13 个不同地域克氏原螯虾群体的 2 种杂合度(H_e 与 H_o)与多态性信息含量(PIC 值)等结果表明: 我国长江中下游流域的克氏原螯虾群体具有相对较高的遗传多样性。

2.3 不同地域群体 Hardy-Weinberg 平衡分析

根据所有的标记基因型进行 Hardy-Weinberg 平衡分析。其结果表明, 8 个标记位点中, 标记 PCLG13 位点在 13 个群体中基因型分布均处于 Hardy-Weinberg 平衡($P>0.05$); 标记 PCLG02 位点只在宜昌(YC)群体中基因型分布偏离 Hardy-Weinberg 平衡($P<0.05$), PCLG15 与 PCLG35 位点在 2 个群体中基因型分布偏离 Hardy-Weinberg 平衡($P<0.05$)(表 4); 其余 4 个标记位点均在 2 个以上群体的基因型分布偏离 Hardy-Weinberg 平衡($P<0.05$)。此外, 所有 8 个标记在整个群体中的基因型分布均偏离 Hardy-Weinberg 平衡($P<0.05$)(表 4)。综合上述结果与各标记位点基因型纯合率较高等结果, 表明各标记位点均存在杂合子缺失。

表 3 8 个 SSR 标记位点在 13 个克氏原螯虾群体中的平均多态信息含量与平均杂合度

Table 3 The polymorphism information content and heterozygosity of eight SSR makers loci in the 13 populations of crayfish (*Procambarus clarkii*)

群体 Population	多态信息含量 PIC Mean±SD	观测杂合度 H_o Mean±SD	期望杂合度 H_e Mean±SD
宜昌 YC	0.52±0.20	0.31±0.14	0.54±0.20
丹江口 DJK	0.52±0.11	0.23±0.19	0.54±0.11
监利 JL	0.49±0.10	0.36±0.24	0.52±0.10
太湖 TH	0.44±0.18	0.35±0.26	0.48±0.18
巢湖 CH	0.45±0.20	0.46±0.23	0.43±0.20
洞庭湖-岳阳 DTH-YY	0.44±0.15	0.41±0.23	0.48±0.15
洞庭湖-沅江 DTH-YJ	0.48±0.20	0.33±0.19	0.42±0.21
洪泽湖 HZH	0.56±0.14	0.45±0.28	0.57±0.14
洪湖 HH	0.41±0.15	0.38±0.24	0.48±0.16
九江 JJ	0.40±0.21	0.33±0.23	0.37±0.22
鄱阳湖 PYH	0.47±0.22	0.31±0.20	0.45±0.22
安庆 AQ	0.48±0.22	0.42±0.26	0.50±0.22
重庆 CQ	0.48±0.24	0.48±0.20	0.56±0.15

注 Note: H_o : 观测杂合度 Observed heterozygosity; H_e : 期望杂合度 Expected heterozygosity; SD: 标准差 Standard deviation.

表 4 哈迪-温伯格平衡检验

Table 4 Hardy-Weinberg equilibrium test

标记 Markers	宜昌 YC	丹江口 DJK	监利 JL	洞庭湖-岳阳 DTH-YY	洞庭湖-沅江 DTH-YJ	洪泽湖 HZH	洪湖 HH	太湖 TH	巢湖 CH	九江 JJ	鄱阳湖 PYH	安庆 AQ	重庆 CQ	总体 All
PCLG13														0.00
PCLG15									0.00	0.01				0.00
PCLG02	0.00													0.00
PCLG16	0.00				0.01							0.02		0.00
PCLG29	0.01							0.01			0.00	0.00		0.00
PCLG10	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00		0.00				0.00
PCLG35	0.00	0.00												0.00
PCLG37		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01		0.00	0.00

注 Note: 仅列出 $P < 0.05$ 的数值, The P value less than 0.05 were listed.

2.4 不同地域群体的遗传距离分析

通过遗传距离分析发现: 监利(JL)、丹江口(DJK)、洞庭湖-岳阳(DTH-YY)、洪泽湖(HZH)与洪湖(HH)5个地域群体中, 任意两群体之间的遗传距离(D)均小于0.1(表5); 据遗传距离进行聚类分析, 结果显示: 该5个群体与洞庭湖-沅江(DTH-YJ)群体聚为一类(第一类)(图2)。宜昌群体与第一个类群的5个群体的遗传距离相对较近($D < 0.2$)。太湖(TH)、九江(JJ)、安庆(AQ)与鄱阳湖(PYH)地域群体的遗传距离相对较近, 属于同一类(第二类), 它们之间的遗传距离(D)分布在0.08~0.37(表5)。此外, 巢湖(CH)与重庆(CQ)群体分别与其他群体的遗传距离相对较远, 而它们之间遗传距离相对较近($D = 0.26$), 聚为一类(第三类)(图2)。

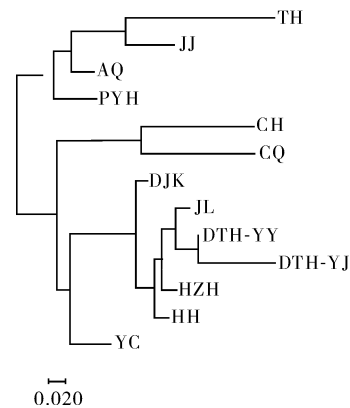


图 2 13 个克氏原螯虾群体的 Neighbor-Joining 聚类分析图

Fig.2 Dendrogram of the 13 crayfish (*Procambarus clarkii*) populations based on Neighbor-Joining cluster analysis

表5 13个克氏原螯虾群体的遗传距离

Table 5 The genetic distance among the 13 crayfish (*Procambarus clarkii*) populations

群体 Population	宜昌 YC	丹江口 DJK	监利 JL	太湖 TH	巢湖 CH	洞庭湖-岳阳 DTH-YY	洞庭湖-沅江 DTH-YJ	洪泽湖 HZH	洪湖 HH	九江 JJ	鄱阳湖 PYH	安庆 AQ
丹江口 DJK	0.13											
监利 JL	0.17	0.05										
太湖 TH	0.38	0.43	0.47									
巢湖 CH	0.24	0.38	0.31	0.40								
洞庭湖-岳阳 DTH-YY	0.19	0.06	0.06	0.51	0.53							
洞庭湖-沅江 DTH-YJ	0.36	0.19	0.09	0.69	0.56	0.08						
洪泽湖 HZH	0.16	0.07	0.06	0.48	0.44	0.04	0.13					
洪湖 HH	0.14	0.06	0.06	0.55	0.41	0.05	0.15	0.04				
九江 JJ	0.32	0.34	0.32	0.23	0.37	0.38	0.61	0.30	0.33			
鄱阳湖 PYH	0.18	0.20	0.27	0.37	0.33	0.33	0.56	0.22	0.20	0.16		
安庆 AQ	0.19	0.22	0.26	0.24	0.23	0.36	0.54	0.26	0.22	0.17	0.08	
重庆 CQ	0.36	0.36	0.25	0.59	0.26	0.38	0.29	0.35	0.38	0.54	0.48	0.42

3 讨论

3.1 我国克氏原螯虾具有较为丰富的遗传多样性

研究者们为研究克氏原螯虾入侵我国的路线,收集我国不同地域的克氏原螯虾种质群体进行遗传分析,其结果表明克氏原螯虾是从我国南京地区登陆,并随着长江与淮河等水系逐步扩展开来^[3,16-17];同时,众多研究者发现我国的克氏原螯虾具有较高的遗传多样性^[3,5-6,13]。相较前人研究,本研究的采样点分布相对均匀(表1)。利用8个SSR标记对该13个地域群体进行遗传分析得出各标记位点在检测群体中的平均期望杂合度(H_e)分布在0.37~0.57、平均多态信息含量(PIC)分布在0.40~0.56;这些结果表明:该13个地域的克氏原螯虾具有较高的遗传多样性。综上,尽管本研究与已报道的克氏原螯虾群体样本并不相同,但是二者得出了相似的结论,即我国长江中下游流域的克氏原螯虾群体具有较高的遗传多样性,能为遗传育种研究提供种质资源。

3.2 我国克氏原螯虾初步形成不同遗传群体

克氏原螯虾的扩展途径主要为随水系自然传播与人为引种。克氏原螯虾被引入我国南京地区,以及在向其他地域传播的过程中,人为引种扮演了重要的角色^[3,6,16-21]。人为引种的群体数量通常较小,由于奠基者效应,易使引入不同地域的群体基因型产生差异,从而导致群体分化。本研究通过对13个地域的克氏原螯虾群体进行Hardy-Weinberg平衡

分析得出:8个标记位点在13个群体中达到Hardy-Weinberg平衡的平均群体数为9.1个;尤其,标记PCLG13位点在上述13个群体中均达到了Hardy-Weinberg平衡。然而,在整个群体中所有检测标记位点均偏离Hardy-Weinberg平衡($P < 0.01$) (表4)。这些结果表明多数地域群体内部各基因型分布均衡,但在不同地域群体间的基因型存在分布失衡或差异;推测不同地域群体已经出现遗传分化。尤其,通过遗传距离聚类分析发现:13个不同地域的群体可以分为3个类群;其中,以洪湖与洪泽湖等群体为代表的类群和以太湖与鄱阳湖群体为代表的类群遗传距离差异最大(图2)。对这两类群的主要基因型分析也发现:它们之间存在明显的等位基因差异(表2)。这些结果表明这两类群的遗传结构已出现差异。因此,推测奠基者效应很大可能是导致我国不同地域克氏原螯虾种群分化的原因,但也难以排除克氏原螯虾进入我国南京地区后向不同地域扩展的历程中,为了适应不同环境的选择压力而发生了进化变异的可能。此外,洞庭湖、洪湖与洪泽湖等附近存在克氏原螯虾人工养殖区域,它们之间存在人为相互引种与基因交流,可能导致了上述几个湖区的野生种质之间产生同质化。而鄱阳湖和太湖区域并非克氏原螯虾养殖区,无人引种,同时存在地理隔离,从而形成相对独立的类群;综上表明我国克氏原螯虾有向不同遗传群体分化的趋势。

3.3 克氏原螯虾种质保护与遗传育种

近年来,我国克氏原螯虾养殖规模发展迅猛,各

养殖区的人为相互引种与种苗自繁自育模式加剧了它们的种质退化。本研究发现处于克氏原螯虾养殖区附近的天然湖泊,如洪湖、洞庭湖与洪泽湖中的克氏原螯虾野生种质同质化严重,它们之间的遗传距离最小值为 0.04(表 5);表明这些湖区之间的克氏原螯虾野生种质资源多样性遭受到了严重的破坏,这对它们适应环境变化与可持续繁衍是极为不利的。为此,鉴定与保护克氏原螯虾种质资源多样性显得尤为重要。我国克氏原螯虾养殖过程中病害频繁发生,如“5 月魔咒”等;良种繁育是解决当前克氏原螯虾病害与个体较小等问题的重要途径。遗传多样的种质资源是良种繁育的遗传基础和基因资源。本研究鉴定到 3 个不同的克氏原螯虾类群(图 2),它们之间存在一定的遗传多样性,对它们进行收集与保种,进而为克氏原螯虾杂交育种提供种质资源。我国克氏原螯虾属于外来物种,较它们的原产地群体,其遗传多样性仍有很大的局限性。因此,除了利用我国境内的克氏原螯虾野生种质进行遗传育种,从原产地或者世界其他地域引种也是获得克氏原螯虾优良种质资源的重要途径。

参考文献 References

- [1] 魏青山. 关于河(螯)虾类名称的商榷[J]. 动物学杂志, 1989, 24(6): 50-51. WEI Q S. Discussion on the names of river (crayfish) shrimps [J]. Chinese journal of zoology, 1989, 24(6): 50-51 (in Chinese).
- [2] 刘国兴, 李玲, 彭刚, 等. 放养密度对克氏原螯虾生长和养殖水质的影响[J]. 江西农业学报, 2014, 26(4): 86-89. LIU G X, LI L, PENG G, et al. Effects of stocking density on growth of *Procambarus clarkii* and aquaculture water quality [J]. Acta agriculturae Jiangxi, 2014, 26(4): 86-89 (in Chinese with English abstract).
- [3] 李艳和. 克氏原螯虾在我国的人侵遗传学研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013. LI Y H. Invasion genetics of *Procambarus Clarkii* in China [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2013 (in Chinese with English abstract).
- [4] 于宁, 朱站英, 冯文和, 等. 克氏原螯虾饲料最适能量蛋白质比[J]. 动物营养学报, 2014, 26(4): 1111-1119. YU N, ZHU Z Y, FENG W H, et al. Optimum energy-protein ratios in diets of *Procambarus clarkii* [J]. Chinese journal of animal nutrition, 2014, (4): 1111-1119 (in Chinese with English abstract).
- [5] 张莎, 俞树惠, 邱高峰. 克氏原螯虾染色体及其核型[J]. 水产学报, 2018, 42(10): 1513-1519. ZHANG S, YU S H, QIU G F. Chromosome and karyotype of the crayfish (*Procambarus clarkii*) [J]. Journal of fisheries of China, 2018, 42(10): 1513-1519 (in Chinese with English abstract).
- [6] 邢智珺, 姜虎成, 陆伟, 等. 江苏 8 个克氏原螯虾群体遗传多样性微卫星分析[J]. 上海海洋大学学报, 2014, 23(5): 656-662. XING Z J, JIAN H C, LU W, et al. Genetic diversity analysis of eight *Procambarus clarkii* stocks in Jiangsu Province based on microsatellites [J]. Acta of Shanghai Ocean University, 2014, 23(5): 656-662 (in Chinese with English abstract).
- [7] 倪静静, 魏万红, 郑友, 等. 不同水温对克氏原螯虾食性影响的研究[J]. 水产养殖, 2015, 36(10): 11-14. NI J J, WEI W H, ZHENG Y, et al. Research on feeding effect of *Procambarus clarkii* under different water temperature [J]. Journal of aquaculture, 2015, 36(10): 11-14 (in Chinese with English abstract).
- [8] 倪静静. 水温、pH 和饲料对克氏原螯虾摄食行为及其肉质的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2016. NI J J. Effects of water temperature, pH and fodder on feeding behavior and meat quality of red swamp crayfish (*Procambarus Clarkii*) [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2016 (in Chinese with English abstract).
- [9] 徐进, 魏开金, 徐滨, 等. 克氏原螯虾对高温应激的生理学响应[J]. 淡水渔业, 2017, 47(6): 9-13. XU J, WEI K J, XU B, et al. Physiological responses of *Procambarus clarkii* to high temperature stress [J]. Freshwater fisheries, 2017, 47(6): 9-13 (in Chinese with English abstract).
- [10] 赵亚东, 朱良成. 低湖田调出高效益[J]. 渔业致富指南, 2006(30): 14-15. ZHAO Y D, ZHU L C. High benefit could be produced in low lake field [J]. Guide of fishery enrichment, 2006(30): 14-15 (in Chinese).
- [11] LI Y H, GUO X W, CAO X J, et al. Population genetic structure and post-establishment dispersal patterns of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii* in China [J/OL]. PLoS One, 2012, 7(7): e40652 [2019-07-17]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040652>.
- [12] BELFIORE N M, MAY B. Variable microsatellite loci in red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*, and their characterization in other crayfish taxa [J]. Molecular ecology, 2000, 9(12): 2231-2234.
- [13] YEH F C, BOYLE T J B. Population genetic analysis of codominant and dominant markers and quantitative traits [J]. Belgian journal botany, 1997, 129: 157-163.
- [14] KUMAR S, NEI M, DUDLEY J, et al. MEGA: a biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences [J]. Briefings in bioinformatics, 2008, 9(4): 299-306.
- [15] 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 human genetics, 1980, 32(3): 314-331.
- [16] 黄羽. 鄱阳湖流域克氏原螯虾的资源状况及长江中下游克氏原螯虾遗传多样性研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2012. HUANG Y. The genetic resource of red swamp crayfish in the Poyang Lake and its genetic diversity in the middle and lower reaches of Yangtze River [D]. Nanchang: Nanchang University, 2012 (in Chinese with English abstract).

- [17] 曹玲亮,周立志,张保卫,等. 安徽三大水系入侵物种克氏原螯虾的种群遗传格局[J]. 生物多样性, 2010, 18(4): 398-407. CAO L L, ZHOU L Z, ZHANG B W, et al. Genetic patterns of an invasive *Procambarus clarkii* population in the three river basins of Anhui province [J]. Biodiversity science, 2010, 18(4): 398-407 (in Chinese with English abstract).
- [18] 曹玲亮. 基于微卫星标记的克氏原螯虾遗传多样性研究[D]. 合肥: 安徽大学, 2010. CAO L L. Study on genetic diversity and population structure of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) using microsatellite molecular markers [D]. Hefei: Anhui University, 2010 (in Chinese with English abstract).
- [19] 张龙岗, 杨玲, 刘羽清, 等. 山东省克氏原螯虾 3 个地理群体遗传差异的 RAPD 分析[J]. 长江大学学报, 2014, 11(17): 37-41. ZHANG L G, YANG L, LIU Y Q, et al. Genetic differences a-
- nalysis among three geographic populations of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) in Shandong province using RAPD markers [J]. Acta of Yangtze University, 2014, 11(17): 37-41 (in Chinese).
- [20] 胡亚成. 微卫星标记应用于克氏原螯虾的半同胞家系分析和亲子鉴定[D]. 南京: 南京农业大学, 2015. HU Y C. Analysis on half-Sib families of *Procambarus clarkii* and the parentage assignment using microsatellite markers [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2015 (in Chinese with English abstract).
- [21] 李家乐, 董志国, 李应森, 等. 中国外来水生动植物[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2007. LI J L, DONG Z G, LI Y S, et al. Invasive species of animals and plants in China [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 2007 (in Chinese).

Genetic diversity and structure analysis of 13 red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) populations in Yangtze River basin

TAN Yunfei^{1,2}, PENG Guohui^{1,2}, XIONG Lijing^{1,2}, PENG Bo^{1,2},
WU Yibo², SONG Chaowei², BAI Xufeng^{1,2}

1. Shuangshui Shuanglü Institute/National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;
2. College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract Genetic analysis of 13 red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) populations from different regions of the Yangtze River basin in China were performed using 8 simple sequence repeats (SSR) makers. The allele number, heterozygosity, polymorphism information content (PIC), Hardy-Weinberg equilibrium index and genetic distance in the 13 populations were identified, respectively. The results showed that there were 3-5 alleles at each SSR marker locus in the population, the expected heterozygosity were 0.37-0.57, the observed heterozygosity were 0.23-0.48, and the PIC were 0.40-0.56, respectively, suggesting a higher genetic diversity among the investigated populations. In addition, 3 groups were classified by a neighbor-joining method based on the genetic distance among the populations. Taihu (TH) and Poyanghu (PYH) populations represented the first group, Chongqing (CQ) and Chaohu (CH) populations represented the second group and Honghu (HH), and Dongtinghu (DTH) and Hongzehu (HZH) populations represented the third group. These results indicate that China has a red swamp crayfish resource of high genetic diversity.

Keywords red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*); simple sequence repeats (SSR) marker; genetic diversity; genetic structure; population differentiation

(责任编辑: 边书京)