

胡倩,王齐帅,黄瑾,等.基于形态性状和SSR标记的克氏原螯虾养殖群体遗传多样性分析[J].华中农业大学学报,2024,43(3):258-266.
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2024.03.027

基于形态性状和SSR标记的克氏原螯虾养殖群体遗传多样性分析

胡倩¹,王齐帅¹,黄瑾²,朱威霖²,陈晓汉²,陈秀荔²,李艳和¹,彭敏²

1. 华中农业大学水产学院/农业农村部淡水生物繁育重点实验室,武汉 430070; 2. 广西壮族自治区水产科学研究院/广西水产遗传育种与健康养殖重点实验室,南宁 530021

摘要 为客观评估广西南宁周边地区克氏原螯虾养殖群体的遗传多样性,采集来自南宁的3个克氏原螯虾群体——埃及群体(AJ)、良庆群体(LQ)和上林群体(SL),以及湖北荆州(JZ)和江西湖口(HK)的群体各1个,采用形态学结合微卫星分子标记的方法分析其遗传多样性水平。形态分析结果显示,雌性群体的综合判别准确率为68.59%,雄性群体的综合判别准确率为73.60%;3个南宁群体(AJ,LQ,SL)与JZ群体聚为一类,3个南宁群体间具有较高的形态相似度。微卫星分析结果显示,AJ群体和LQ群体的遗传多样性最高,SL群体和HK群体次之;LQ群体与SL群体的遗传分化系数和遗传距离最小。结果表明广西南宁克氏原螯虾群体具有较高的遗传多样性,从国外引种或国内不同地理来源群体的杂交可能是提高克氏原螯虾群体遗传多样性的重要途径。

关键词 克氏原螯虾;形态性状;微卫星;遗传多样性

中图分类号 S917.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2024)03-0258-09

克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*),俗称淡水小龙虾,因具有较高的商业价值和食用价值而深受养殖者及消费者的欢迎^[1-2],现已被广泛养殖,是一种重要的水产养殖品种^[3]。但由于克氏原螯虾属于外来物种,在我国的养殖时间较短,加之人们对其种质资源的保护和利用缺乏重视,这导致克氏原螯虾种质退化和病害肆虐等问题日益突出。为了克氏原螯虾种质资源的保护和良种培育,对克氏原螯虾群体的遗传多样性与遗传结构进行研究具有重要意义。

物种或种群的遗传多样性大小是其生存适应和发展进化的先决条件^[4]。了解种群的遗传多样性和遗传结构有助于防止过度捕捞、保护种质资源并确保种群的可持续开发。形态学方法是进行种群遗传变异分析的最传统、最直接的方法,已被广泛应用于克氏原螯虾的种群变异及种群鉴定等研究中^[5-7]。但由于形态性状受到遗传和外部环境的共同作用,会随着环境出现适应性进化^[8],基于形态学的研究方法在一定情况下不能准确反映遗传变异信息^[9],且易受生物生长阶段和数据处理方法的影响^[10]。因此,

形态学方法还需要与遗传分子标记方法相结合,才能对研究对象的遗传多样性进行客观的评估。微卫星分子标记因其具有多态性和共显性特征而在遗传分析中越来越受青睐,已被广泛应用于水产动物的遗传多样性分析、亲子鉴定、连锁图谱构建和QTL定位等领域^[11-13]。因此,为进行更加客观地评估,本研究分别采用形态学和微卫星分子标记的分析方法对来自广西南宁(3个群体)、湖北荆州(1个群体)和江西湖口(1个群体)共5个克氏原螯虾群体的遗传多样性进行分析,旨在更好地了解广西南宁周边地区克氏原螯虾养殖群体的遗传多样性,为克氏原螯虾的综合养殖和科学育种提供参考资料。

1 材料与方法

1.1 样本采集

本试验采集的5个克氏原螯虾群体,包括3个广西南宁群体(埃及群体、良庆群体和上林群体)、1个湖北荆州群体和1个江西湖口群体。其中,埃及群体为2019年从埃及引种抗逆性较强的克氏原螯虾品种

收稿日期:2023-05-20

基金项目:广西科技计划项目(桂科AB21076020)

胡倩, E-mail: HQ0828@webmail.hzau.edu.cn

通信作者: 彭敏, E-mail: 837969487@qq.com

亲本的F₂代;良庆群体为2019年从湖北荆州和江西鄱阳湖引种亲本自然交配产生的F₃代;上林群体为2018年从湖北监利引种亲本的F₄代;荆州群体为2016年采集自湖北荆州区长江中游南岸;湖口群体

为2016年采集自江西九江湖口县,为长江与鄱阳湖的交汇处。各群体具体采样信息见表1。对所有样本进行了形态参数的测量,并取腹部肌肉组织保存于无水乙醇中待用于提取DNA。

表1 采样地点的地理坐标和每个群体的样本数量

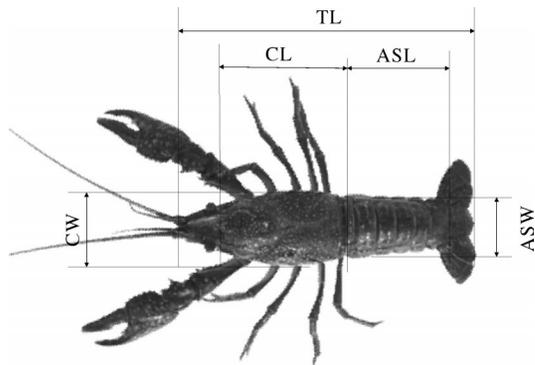
群体 Population	采样时间 Sampling time	采集地点 Sampling site	地理坐标 Geographical location	样本数 Number of specimens
埃及 AJ	2021.10	广西南宁良庆区大塘镇 Datang Town, Liangqing District, Nanning, Guangxi	N 22°23', E 108°22'	56
良庆 LQ	2022.07	广西南宁良庆区大塘镇 Datang Town, Liangqing District, Nanning, Guangxi	N 22°23', E 108°22'	72
上林 SL	2022.08	广西南宁上林县三里镇 Sanli Town, Shanglin District, Nanning, Guangxi	N 23°31', E 108°44'	54
荆州 JZ	2016.08	湖北荆州荆州区弥市镇 Mishi Town, Jingzhou District, Jingzhou, Hubei	N 30°14', E 112°08'	50
湖口 HK	2016.07	江西九江湖口县四官村 Siguan Village, Hukou County, Jiujiang, Jiangxi	N 29°46', E 116°20'	49

1.2 形态参数测量与数据处理

参照王克行^[14]的测量方法,使用游标卡尺(精度为0.01 mm)测量每个个体的形态性状,包括全长(TL)、头胸甲长(CL)、头胸甲宽(CW)、腹节长(ASL)、腹节宽(ASW)(图1)。为了消除形态特征的个体大小依赖性,测量的5项形态性状均标准化为以全长为基数的比值或2个形态性状的比值。本研究共使用了6项形态比例参数,分别为:CL/TL、CW/TL、ASL/TL、ASW/TL、CL/CW和ASL/ASW。

1.3 DNA的提取和PCR扩增

采用醋酸铵/异丙醇的方法^[15]进行克氏原螯虾



TL: 全长 Total length; CL: 头胸甲长 Carapace length; CW: 头胸甲宽 Carapace width; ASL: 腹节长 Abdominal segment length; ASW: 腹节宽 Abdominal segment width.

图1 克氏原螯虾形态性状测量

Fig. 1 Morphological characteristics measurement for *P. clarkii*

基因组DNA的提取,检测浓度和质量后,稀释至100 ng/ μ L保存于-20 °C冰箱备用。从Wang等^[16]开发的克氏原螯虾微卫星标记中选择具有较高多态性的四碱基重复位点12个,具体信息见表2。上述微卫星位点引物对的正向引物5'端分别用FAM、HEX、ROX进行荧光修饰并合成。12对荧光引物在5个克氏原螯虾群体上得到扩增并进行基因分型。PCR扩增体系为10 μ L,包括PCR Mix 5 μ L, ddH₂O 4 μ L, 正反引物(10 μ mol/L)各0.25 μ L和DNA模板(100 ng/ μ L) 0.5 μ L。PCR扩增程序为:95 °C预变性5 min;95 °C变性30 s,最适退火温度下退火30 s,72 °C延伸30 s,35个循环;72 °C延伸5 min,最后4 °C保存。PCR扩增产物由武汉擎科生物有限公司在ABI 3730XL遗传分析仪上进行分离,利用Gene Marker v1.75软件读取各个体在各微卫星位点的基因型。

1.4 数据分析

本研究中形态数据以平均值和标准差(SD)的形式呈现。采用SPSS 23.0进行单因素方差分析,通过公式 $CV = (M_1 - M_2) / (S_1 + S_2)$ ^[17] 计算差异系数(CV),式中M₁和M₂表示某项形态参数的平均值,S₁和S₂为标准差。若CV值小于1.28,则表示2个群体在这项形态参数上的差异未达到亚种水平。使用SPSS 23.0软件对6项经过标准化的形态参数采用逐步判别的方法进行判别分析,在计算每个群体的6项形态比例参数的平均值后,采用欧式最短距离系统聚类法进行聚类分析。

表2 克氏原螯虾微卫星位点引物序列及退火温度

Table 2 Microsatellite primer sequences and the annealing temperature of *P. clarkii*

位点 Locus	重复单元 Repeat motif	引物序列 Primer sequences	退火温度/°C Annealing temperature	片段大小/bp Fragment
PC4-G19	(TAAA)9	F:AAGCGCTCTAAGCGTTTCTG R:CAGGATTTGATGGAGGTGCT	58	193~209
PC4-G28	(ATTT)8	F:TGCTAAGTCCCCAATTGTC R:TGCGCGTACTAGTGGTTTCA	58	212~228
PC4-G4	(AATA)8	F:GATAAGCCAGGCCACAACAT R:TGAGGCTCTCGTCTTCAGGT	60	218~238
PC4-G6	(TAAA)8	F:CCGTGGAAGTAGTGGGAAAA R:TGATGCTTTCATGTCTGCTTG	58	228~268
PC4-G48	(AGTG)8	F:TTGGAAGCCATGACTGTGAG R:TTAGCCCGCCTCATTAGTGT	58	214~226
PC4-G123	(ATAC)20	F:TGCAAGGTTGCCTTTGTATC R:GCTTGTTTTTATAGTGTGTGGTGTG	62	164~204
PC4-G97	(ATGT)35	F:TGCGAACCCTCAAACCTTGT R:AGGCTAGCTCCAAGCATCTG	62	168~204
PC4-T1	(CAGC)20	F:CGGTCCTGTACCTGCTTGA R:GGTCGCCTAGGATAGCAAAA	62	242~322
PC4-G110	(TGTA)26	F:TTGCAGTCTGTCTGAGTTGCTTG R:CGTAGTTCTGACCAGCTTCCA	62	127~179
PC4-G98	(TCTG)16	F:GAAACACCCACAAGGTCTCG R:TCTGGAATGTGTGTGTGTGC	60	177~241
PC4-G81	(TTCC)15	F:TCTTCTCCCCTCTCAGTCA R:CGCTGTCTTTCTCGTTGTCA	60	181~225
PC4-G119	(AAGG)21	F:ATGGCGGAAGAGGAGAAACT R:TTAATCATCGTGTGCTTCTG	62	210~238

在读取各群体在各微卫星位点的基因型并校准后,使用Cervus 3.0软件计算每个位点的等位基因数(number of alleles, N_a)、观测杂合度(observed heterozygosity, H_o)、期望杂合度(expected heterozygosity, H_e)和多态信息含量(polymorphism information content, PIC),使用GenAIEx v6.51软件计算每个位点的有效等位基因数(effective number of alleles, N_e)、固定指数(fixation index, F_{st})及Nei's遗传距离(genetic distance, D_A)。并基于Nei's遗传距离用Mega 7.0构建UPGMA系统进化树。

2 结果与分析

2.1 形态学分析

1)单因素方差分析。分别对克氏原螯虾雌雄群体的6项形态比例参数进行单因素方差分析。结果表明,雌雄群体中,6项形态比例参数在群体之间均存在显著性差异。对克氏原螯虾雌雄群体的形态比例参数进行差异分析,最大差异系数的结果显示,雌性群体中,在6项形态比例参数中仅有2项

(ASW/TL和ASL/ASW)的最大差异系数值大于临界值(1.28);而雄性群体中有3项(CL/TL、ASW/TL和CL/CW)的最大差异系数值大于临界值(表3)。群体之间的最大差异系数主要体现在上林群体和湖口群体之间,雄性群体间的形态差异大于雌性。

2)判别分析。对克氏原螯虾雌雄群体6项形态比例参数的判别 F 检验结果表明,判别结果均较好($P<0.01$)。利用前2个判别函数绘制散点图可以更直观地表现出5个克氏原螯虾群体的分离和重叠情况(图2 A、B)。雌雄群体的散点图显示了相似的结果:5个克氏原螯虾雌性群体间存在不同程度的重叠,其中埃及群体和上林群体的重叠比例较大,相对难以区分,而良庆群体、荆州群体和湖口群体的重叠比例较小,相对容易区分。5个克氏原螯虾雄性群体的散布趋势与雌性群体基于一致,但群体之间的重叠比例均较小。判别分析结果显示,雌性群体中,湖口群体的判别准确率最高为82.61%,而上林群体的

表 3 克氏原螯虾雌雄群体的标准化形态参数统计量及最大差异系数
Table 3 Statistics of standardized morphological parameters and maximum coefficient of variation in the female and male population of *P. clarkii*

性别 Sex	形态参数 Morphological parameter	群体 Population					CV
		埃及 AJ	良庆 LQ	上林 SL	荆州 JZ	湖口 HK	
雌性 Female	CL/TL	0.40±0.01b	0.40±0.01b	0.42±0.02a	0.40±0.02b	0.38±0.02c	0.775
	CW/TL	0.23±0.01b	0.24±0.01a	0.24±0.01a	0.24±0.01a	0.24±0.02a	0.738
	ASL/TL	0.36±0.02bc	0.37±0.01a	0.36±0.03ab	0.35±0.01c	0.37±0.02a	0.743
	ASW/TL	0.20±0.01b	0.20±0.01b	0.21±0.01a	0.18±0.01c	0.17±0.01d	1.772
	CL/CW	1.74±0.07a	1.66±0.05b	1.75±0.06a	1.65±0.05b	1.64±0.24b	0.354
	ASL/ASW	1.77±0.11d	1.85±0.14c	1.74±0.12d	1.94±0.19b	2.17±0.16a	1.491
雄性 Male	CL/TL	0.41±0.01b	0.40±0.01b	0.43±0.01a	0.41±0.04b	0.39±0.02c	1.345
	CW/TL	0.24±0.01b	0.24±0.01ab	0.24±0.01ab	0.25±0.02a	0.24±0.01ab	0.307
	ASL/TL	0.36±0.01c	0.37±0.01ab	0.38±0.03a	0.33±0.01d	0.36±0.03bc	1.277
	ASW/TL	0.20±0.01a	0.19±0.01b	0.20±0.09a	0.18±0.01c	0.17±0.01d	1.784
	CL/CW	1.74±0.05a	1.66±0.07b	1.78±0.07a	1.66±0.18bc	1.61±0.04c	1.567
	ASL/ASW	1.80±0.08c	1.94±0.11b	1.89±0.13bc	1.81±0.15c	2.15±0.23a	1.091

注：每行中小写字母不同的数值表示差异显著($P<0.05$)。Note: Values in each row without a common lowercase letter are significantly different ($P<0.05$).

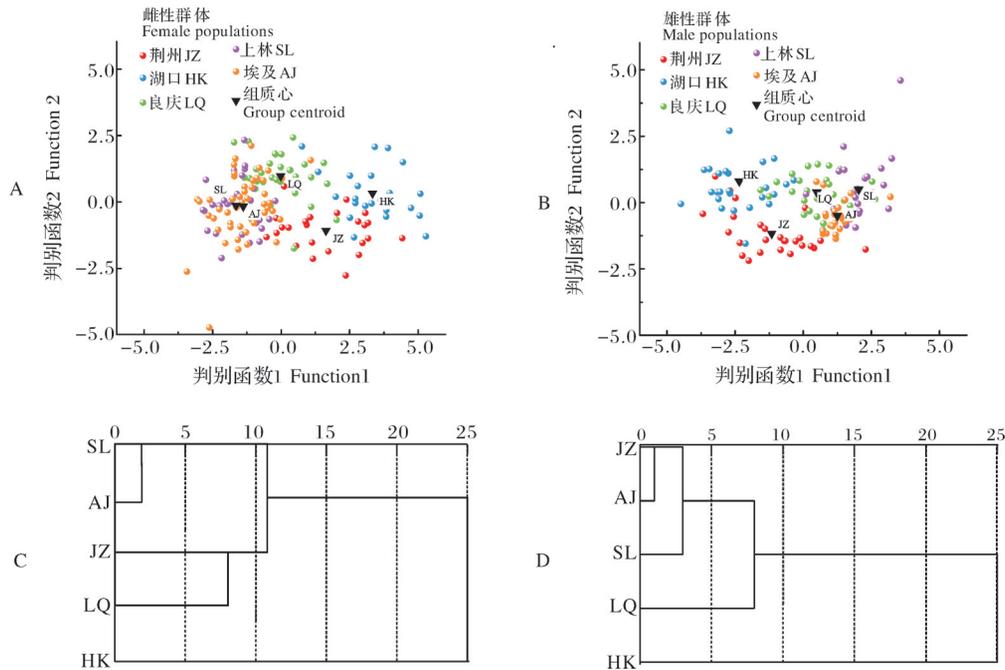


图 2 5 个克氏原螯虾群体雌性(A 和 C)和雄性(B 和 D)的判别散点图和聚类图
 Fig. 2 Discriminant scatter plots and cluster plots of five populations of female (A and C) and male (B and D) *P. clarkii*

判别准确率最低为 46.67%，综合判别准确率为 68.59%；雄性群体中，判别准确率最高的是埃及群体 (83.33%)，最低的仍是上林群体 (66.67%)，综合判别准确率为 73.60% (表 4)。

3) 聚类分析。在形态比例参数平均值聚类分析

中，雌性和雄性群体呈现出相似的分组 (图 2 C、D)。5 个群体被分为 2 支，其中湖口群体单独聚为一支，其他 4 个群体则聚为另一支。结果表明，埃及群体、上林群体和荆州群体的形态相似度较高，湖口群体与其他 4 个群体的形态差异较大。

表4 5个克氏原螯虾群体根据形态的判别分析结果

Table 4 Discriminant analysis results of five populations of *P. clarkii* based on morphology %

群体 Population	雌性群体 Female population		雄性群体 Male population	
	判别准确率 Discrimination accuracy	综合判别准确率 Total discrimination accuracy	判别准确率 Discrimination accuracy	综合判别准确率 Total discrimination accuracy
埃及 AJ	79.17		83.33	
良庆 LQ	70.97		68.00	
上林 SL	46.67	68.59	66.67	73.60
荆州 JZ	58.33		73.08	
湖口 HK	82.61		76.92	

2.2 微卫星分析

1) 群体遗传多样性分析。5个克氏原螯虾群体在12个微卫星位点的等位基因数介于4~12个(平均9.250个),有效等位基因数介于3.268~6.981个(平均4.940个),观测杂合度介于0.430~0.815,期望杂合度介于0.696~0.859,多态信息含量介于0.632~0.840(表5)。12个微卫星位点均属于高度多态性位点($PIC > 0.5$),可用于对克氏原螯虾遗传结构的分析。

表5 12个微卫星位点在5个克氏原螯虾群体上的特征

Table 5 Characterization of 12 microsatellite loci in five *P. clarkii* populations

位点 Locus	等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	多态信息含量 PIC
PC4-G123	12	6.162	0.815	0.840	0.819
PC4-G97	9	4.576	0.733	0.783	0.755
PC4-G48	4	3.478	0.703	0.714	0.657
PC4-G110	8	4.732	0.720	0.790	0.759
PC4-G81	11	3.268	0.672	0.696	0.632
PC4-G119	10	3.453	0.447	0.712	0.660
PC4-G19	9	6.495	0.603	0.848	0.827
PC4-G98	9	6.981	0.599	0.859	0.840
PC4-T1	12	5.013	0.430	0.802	0.781
PC4-G4	8	4.255	0.552	0.767	0.730
PC4-G28	10	6.514	0.625	0.848	0.828
PC4-G6	9	4.348	0.471	0.772	0.736
平均值 Mean	9.250	4.940	0.614	0.786	0.752

5个克氏原螯虾群体的遗传多样性参数如表6所示。5个群体的平均等位基因数在5.167~6.167,平

均有效等位基因数在3.379~3.797,平均观测杂合度值在0.574~0.644,平均期望杂合度值在0.674~0.729,平均PIC值在0.618~0.674。结果表明,5个群体均具有较高的遗传多样性,具体表现为:良庆群体和埃及群体的遗传多样性最高,湖口群体和上林群体次之,荆州群体最低。

表6 5个克氏原螯虾群体基于微卫星的遗传多样性

Table 6 The genetic diversity of five *P. clarkii* populations based on microsatellite data

群体 Population	平均等位基因数 Mean N_a	平均有效等位基因数 Mean N_e	平均观测杂合度 Mean H_o	平均期望杂合度 Mean H_e	平均多态信息含量 Mean PIC
埃及 AJ	6.167	3.725	0.582	0.719	0.670
良庆 LQ	6.083	3.797	0.644	0.729	0.674
上林 SL	5.583	3.534	0.636	0.700	0.643
荆州 JZ	5.167	3.379	0.574	0.674	0.618
湖口 HK	5.667	3.525	0.637	0.705	0.649

2) 群体遗传分化分析。由表7可见,5个克氏原螯虾群体间发生了不同程度的分化。其中,上林群体和良庆群体间的固定指数(F_{st})最小,其次是荆州和埃及群体(0.026)与良庆和湖口群体(0.049),均属于轻微分化水平($F_{st} < 0.05$),而其他群体间处于中度分化水平($0.05 < F_{st} < 0.15$)。群体间遗传距离为0.065~0.930,结果显示,上林和良庆群体间的遗传距离最小(0.065),荆州和上林群体间的遗传距离最大(0.930)。

表7 5个克氏原螯虾群体间的遗传距离

(D_A , 对角线上)和固定指数(F_{st} , 对角线下)

Table 7 Genetic distance (D_A , above diagonal) and fixation index (F_{st} , below diagonal) among five populations of *P. clarkii*

群体 Population	埃及 AJ	良庆 LQ	上林 SL	荆州 JZ	湖口 HK
埃及 AJ		0.466	0.660	0.120	0.413
良庆 LQ	0.067		0.065	0.716	0.310
上林 SL	0.090	0.013		0.930	0.426
荆州 JZ	0.026	0.100	0.123		0.579
湖口 HK	0.066	0.049	0.067	0.092	

基于Nei's遗传距离,采用UPGMA方法构建了5个克氏原螯虾群体的聚类树。聚类结果显示,研究中涉及的5个群体可分为两大分支(图3),埃及群体和荆州群聚类为一支,而良庆群体先与上林群体聚类为一支后再与湖口群体聚类为另一支。

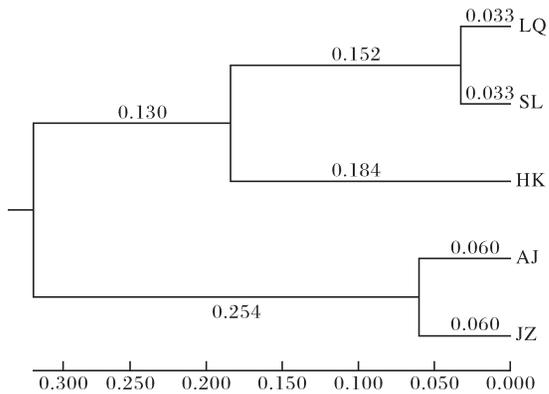


图3 基于Nei's遗传距离的5个克氏原螯虾群体的UPGMA聚类树

Fig. 3 UPGMA clustering tree of five *P. clarkii* populations based on Nei's genetic distance

3 讨论

形态学分析方法是研究物种遗传变异的有效方法之一^[18]。在本研究中,单因素方差分析结果显示,6项形态比例参数在群体之间均存在显著性差异,且最大形态差异主要体现在上林群体和湖口群体之间。判别分析结果显示,在281尾克氏原螯虾样本中,有199尾(70.82%)根据其外部形态被正确分类,分类正确率低于韩晓磊等^[5]、张萌等^[19]、徐滨等^[6]的研究结果。这与本研究使用的形态参数较少有很大关系。基于形态的聚类结果显示,埃及群体、上林群体和荆州群体的形态相似性最大,良庆群体与这3个群体聚为一支,而湖口群体单独聚为一支。聚类的结果与群体的地理分布的远近并无一致性,主要体现在荆州群体的异常分类。克氏原螯虾作为渔业产品,由于其经济的重要性被大量开发,并在世界范围内广泛养殖^[20]。因此,其苗种或成虾可能通过贸易等其他非自然因素存在于地理位置较远的水域。Yue等^[21]的研究也表明,克氏原螯虾群体的遗传距离与其地理距离的远近并无显著相关性。遗传距离和固定指数反映了不同群体之间遗传关系的远近亲疏。不同群体间的固定指数越大,群体间的遗传分化水平就越高^[10, 22],遗传距离越小,亲缘关系越近^[23]。在本研究中,5个克氏原螯虾群体的遗传距离趋势与遗传分化系数趋势一致。其中,埃及群体和荆州群体的遗传距离较小,亲缘关系较近,这与埃及群体与荆州群体的形态的相似性一致,具体原因有待进一步研究。良庆群体与上林群体的遗传距离最小,亲缘关系最近,表明两者的亲本在被引种前可能已产生了基因交流或两个群体在养殖过程中产生了

基因交流。另外,良庆群体与其杂交亲本来源地的2个早期野生群体的遗传距离较大,可能原因有:(1)因克氏原螯虾养殖热的兴起造成各地群体间的基因混杂,导致杂交亲本与早期野生群体间遗传差异较大;(2)杂交后的养殖群体在养殖过程中与其他群体产生了基因混杂。埃及群体作为一个从埃及引种的养殖群体,与上林群体和良庆群体的遗传距离较大,亲缘关系较远,但与生活在相近环境下的上林群体和良庆群体具有较高的形态相似度。这与甲壳动物较高的环境可塑性有关^[24],此外,物种外部形态的变化也通常被解释为对栖息地环境的适应^[25-26]。

物种的遗传多样性越高,对环境的适应能力越强,进化的潜力就越大。对物种遗传多样性的研究是育种研究的基础,明确其遗传多样性,获得理想的种质资源后才能更好地进行育种研究,提高育种效率^[27-28]。本研究结果显示,12个位点在5个群体上均表现出高多态性($0.632 < PIC < 0.840$)^[29],满足对克氏原螯虾遗传多样性分析的要求。杂合度表示位点上杂合子的频率,是对群体的遗传多样性评价的重要指标之一,杂合度越高,遗传变异程度越大。期望杂合度是指当种群处于平衡状态时的理论杂合子频率,与观测杂合度相比,能够更准确地反映群体的遗传多样性水平^[10, 30-31]。本研究中,12个微卫星位点的期望杂合度平均值为0.786,表明群体杂合度水平较高,与以往报道相比,高于江苏地区^[32]、长江水系的一些群体^[33-35]和广西地区的其他群体^[36],与安徽地区^[37-38]和原产地种群^[39]相当。本研究中的5个克氏原螯虾群体均具有高水平的遗传多样性($0.674 < H_e < 0.840$, $0.618 < PIC < 0.674$),5个群体的平均期望杂合度均远高于平均观测杂合度,说明在5个克氏原螯虾群体中均存在杂合子丢失现象^[40],这可能是由于群体的规模较小且出现了瓶颈效应,产生了遗传漂变等原因,导致了等位基因丢失^[36]。

综上所述,本研究基于12个微卫星位点对克氏原螯虾的养殖群体的遗传多样性进行评估,结果表明广西南宁周边的克氏原螯虾养殖群体具有较高的遗传多样性,从国外引种或国内不同地理来源群体的杂交可能是提高克氏原螯虾群体遗传多样性的重要途径,该研究为克氏原螯虾的综合养殖和科学育种提供了参考资料。

参考文献References

- [1] 王蕊. 克氏原螯虾的营养保健功能及相关食品的研究与开发[J]. 水产科技情报, 2008, 35(1): 24-27. WANG R. Nutrient health food function of red swamp crayfish *Procambarus clarkii* and the related food research and development[J]. Fisheries science & technology information, 2008, 35(1): 24-27 (in Chinese).
- [2] AN Z H, YANG H, LIU X D, et al. Effects of astaxanthin on the immune response and reproduction of *Procambarus clarkii* stressed with microcystin-leucine-arginine [J]. Fisheries science, 2020, 86(5): 759-766.
- [3] 张新灿, 李小定. 氟苯尼考对克氏原螯虾药物代谢酶及相关基因表达的影响[J]. 华中农业大学学报, 2022, 41(2): 191-198. ZHANG X C, LI X D. Effects of florfenicol on changes of metabolic enzymes and related genes in *Procambarus clarkii* [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2022, 41(2): 191-198 (in Chinese with English abstract).
- [4] FIEDLER P L, JAIN S K. Conservation biology: the theory and practice of nature conservation preservation and management[M]. Boston, MA: Springer US, 1992.
- [5] 韩晓磊, 马强, 李小蕊, 等. 不同地区克氏原螯虾群体的形态差异分析[J]. 水生态学杂志, 2011, 32(3): 82-87. HAN X L, MA Q, LI X R, et al. Morphological variations analysis of different geographic populations of *Procambarus clarkii* [J]. Journal of hydroecology, 2011, 32(3): 82-87 (in Chinese with English abstract).
- [6] 徐滨, 李忠, 魏开金, 等. 6个克氏原螯虾群体形态学分析[J]. 淡水渔业, 2019, 49(6): 27-32. XU B, LI Z, WEI K J, et al. Morphological variations among six populations of *Procambarus clarkii* [J]. Freshwater fisheries, 2019, 49(6): 27-32 (in Chinese with English abstract).
- [7] 田灿, 李飞, 苏胜彦, 等. 基于图像识别的5个不同产地克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)形态差异分析[J]. 海洋与湖沼, 2020, 51(6): 1483-1492. TIAN C, LI F, SU S Y, et al. Image-based morphometric discrimination of crayfish (*Procambarus clarkii*) from 5 habitats [J]. Oceanologia et limnologia sinica, 2020, 51(6): 1483-1492 (in Chinese with English abstract).
- [8] GENG Y, WANG Z H, LIANG C Z, et al. Effect of geographical range size on plant functional traits and the relationships between plant, soil and climate in Chinese grasslands [J]. Global ecology and biogeography, 2012, 21(4): 416-427.
- [9] 施立明. 遗传多样性及其保存[J]. 生物科学信息, 1990, 2(4): 158-164. SHI L M. Genetic diversity and its preservation [J]. Chinese bulletin of life sciences, 1990, 2(4): 158-164 (in Chinese).
- [10] 侯春秀. 美国红鱼不同养殖群体的形态特征及遗传多样性分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2019. HOU C X. Morphological characteristics and genetic diversity analysis of different cultured populations of *Sciaenops ocellatus* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2019 (in Chinese with English abstract).
- [11] TONG J G, SUN X W. Genetic and genomic analyses for economically important traits and their applications in molecular breeding of cultured fish [J]. Science China life sciences, 2015, 58(2): 178-186.
- [12] YANG W Y, ZHENG J J, JIA B Y, et al. Isolation of novel microsatellite markers and their application for genetic diversity and parentage analyses in sika deer [J]. Gene, 2018, 643: 68-73.
- [13] WANG S H, LI C T, SHANG M, et al. Identification and genetic diversity analysis of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) in the Liao River Area [J]. Journal of Northeast Agricultural University (English edition), 2018, 25(2): 43-53.
- [14] 王克行. 虾蟹类增殖学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997. WANG K X. Breeding of shrimps and crabs [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1997 (in Chinese).
- [15] LI Y H, WANG W M, LIU X L, et al. DNA extraction from crayfish exoskeleton [J]. Indian journal of experimental biology, 2011, 49(12): 953-957.
- [16] WANG Q S, HU Q, YANG S Q, et al. Isolation of tetrameric microsatellite markers and its application on parentage identification in *Procambarus clarkii* [J]. Aquaculture international, 2023, 31: 2099-2111.
- [17] MAYR E. Methods and principles of systematic zoology [M]. New York: McGraw-Hill Book Company, 1953.
- [18] FARRÉ M, LOMBARTE A, RECASENS L, et al. Habitat influence in the morphological diversity of coastal fish assemblages [J]. Journal of sea research, 2015, 99: 107-117.
- [19] 张萌, 白俊, 金辉, 等. 不同地理群体的克氏原螯虾形态差异多元分析[J]. 南昌大学学报(理科版), 2016, 40(2): 188-196. ZHANG M, BAI J, JI H, et al. Morphological multi-variation analysis of different geographic populations of *Procambarus clarkii* [J]. Journal of Nanchang University (natural science), 2016, 40(2): 188-196 (in Chinese with English abstract).
- [20] LI F, GU Z M, LI X L, et al. Estimates of genetic parameters for growth-related traits of the red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* [J]. Aquaculture international, 2016, 24(1): 1-10.
- [21] YUE G H, LI J L, BAI Z Y, et al. Genetic diversity and population structure of the invasive alien red swamp crayfish [J]. Biological invasions, 2010, 12(8): 2697-2706.
- [22] 朱成科, 张其中, 袁娟, 等. 三峡水库岩原鲤线粒体控制区遗传多样性分析[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2008, 30(12): 126-133. ZHU C K, ZHANG Q Z, YUAN J, et al. Analysis of genetic diversity of the mitochondrial DNA D-loop control region of rock carp (*Procypris rabaudi* (Tchang)) in the Three Gorges Reservoir [J]. Journal of Southwest University (natural science edition), 2008, 30(12): 126-133 (in Chinese

- with English abstract).
- [23] 田华. 鲢鳙长江野生群体和养殖群体微卫星的遗传多样性分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2008. TIAN H. Genetic diversity analysis of microsatellites in wild and cultivated populations of silver carp and bighead carp in the Yangtze River[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2008 (in Chinese with English abstract).
- [24] MAGUIRE I, MARN N, KLOBUČAR G. Morphological evidence for hidden diversity in the threatened stone crayfish *Austropotamobius torrentium* (Schrank, 1803) (Decapoda: Astacoidea: Astacidae) in Croatia[J]. Journal of crustacean biology, 2017, 37(1): 7-15.
- [25] FERRITO V, MANNINO M C, PAPPALARDO A M, et al. Morphological variation among populations of *Aphanius fasciatus* Nardo, 1827 (Teleostei, Cyprinodontidae) from the Mediterranean[J]. Journal of fish biology, 2007, 70(1): 1-20.
- [26] DEMCHENKO V O, TKACHENKO M Y. Biological characteristics of the round goby, *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814), from different water bodies[J]. Archives of polish fisheries, 2017, 25(1): 51-61.
- [27] BAZIN E, GLÉMIN S, GALTIER N. Population size does not influence mitochondrial genetic diversity in animals [J]. Science, 2006, 312(5773): 570-572.
- [28] 余红喜, 刘帆, 朱国美, 等. 基于线粒体 CO I 基因滁州地区克氏原螯虾养殖群体遗传多样性分析[J]. 安徽农业科学, 2022, 50(21): 111-113. YU H X, LIU F, ZHU G M, et al. Genetic diversity analysis of *Procambarus clarkii* cultured population in Chuzhou area based on mitochondrial CO I gene [J]. Journal of Anhui agricultural sciences, 2022, 50(21): 111-113 (in Chinese with English abstract).
- [29] 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): 314-331.
- [30] NEI M, TAJIMA F, TATENO Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data [J]. Journal of molecular evolution, 1983, 19(2): 153-170.
- [31] 秦玉. 银鲳微卫星标记开发及群体遗传结构分析[D]. 宁波: 浙江海洋学院, 2013. QIN Y. Development of microsatellite markers and population genetic structure analysis of silver pomfret [D]. Ningbo: Zhejiang Ocean University, 2013 (in Chinese with English abstract).
- [32] 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, JIANG H C, LU W, et al. Genetic diversity analysis of eight *Procambarus clarkii* stocks in Jiangsu Province based on microsatellites [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2014, 23(5): 656-662 (in Chinese with English abstract).
- [33] 王长忠, 李忠, 梁宏伟, 等. 长江下游地区4个克氏原螯虾群体的遗传多样性分析[J]. 生物多样性, 2009, 17(5): 518-523. WANG C Z, LI Z, LIANG H W, et al. Genetic diversity in four *Procambarus clarkii* populations in the lower reaches of the Yangtze River [J]. Biodiversity science, 2009, 17(5): 518-523 (in Chinese with English abstract).
- [34] 李喜莲, 李飞, 朱俊杰, 等. 基于 SSR 标记的克氏原螯虾种质资源遗传多样性研究[J]. 华中农业大学学报, 2016, 35(2): 63-68. LI X L, LI F, ZHU J J, et al. Genetic diversity of the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) resources based on SSR markers [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2016, 35(2): 63-68 (in Chinese with English abstract).
- [35] 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. TAN Y F, PENG G H, XIONG L J, et al. Genetic diversity and structure analysis of 13 red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) populations in Yangtze River Basin [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2020, 39(2): 33-39 (in Chinese with English abstract).
- [36] 黄小芳, 唐章生, 刘俊丹, 等. 广西不同地区克氏原螯虾群体遗传多样性微卫星分析[J]. 南方农业学报, 2020, 51(2): 437-444. HUANG X F, TANG Z S, LIU J D, et al. Genetic diversity microsatellite analysis of *Procambarus clarkii* populations in different regions of Guangxi [J]. Journal of southern agriculture, 2020, 51(2): 437-444 (in Chinese with English abstract).
- [37] 曹玲亮, 周立志, 张保卫. 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. 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).
- [38] 崔文涛, 邹宇凡, 白志毅, 等. 安徽地区克氏原螯虾群体的遗传多样性和遗传结构分析[J]. 水产学报, 2023, 47(9): 92-101. CUI W T, ZOU Y F, BAI Z Y, et al. Genetic diversity and structure analysis of *Procambarus clarkii* stocks in Anhui Province [J]. Journal of fisheries of China, 2023, 47(9): 92-101 (in Chinese with English abstract).
- [39] 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): 2230-2234.
- [40] 王丹. 长江及珠江流域的中华沙塘鳢种群遗传多样性分析[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017. WANG D. Genetic diversity for the *Odontobutis sinensis* in Yangtze River and the Pearl River [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2017 (in Chinese with English abstract).

Genetic diversity analysis of farming *Procambarus clarkii* population based on morphology traits and SSR markers

HU Qian¹, WANG Qishuai¹, HUANG Jin², ZHU Weilin²,
CHEN Xiaohan², CHEN Xiuli², LI Yanhe¹, PENG Min²

1.College of Fisheries/Key Lab of Freshwater Animal Breeding,
Ministry of Agriculture and Rural Affair, Huazhong Agricultural University,
Wuhan 430070, China;

2.Guangxi Academy of Fishery Sciences/Guangxi Key Laboratory of Aquatic Genetic
Breeding and Healthy Aquaculture, Nanning 530021, China

Abstract To objectively assess the genetic diversity of *Procambarus clarkii* cultured populations in the vicinity of Nanning, Guangxi, three populations of *P. clarkii* from Nanning (AJ, LQ and SL), and one population each from Jingzhou, Hubei (JZ) and Hukou, Jiangxi (HK) were collected. The level of genetic diversity was investigated using morphology and microsatellite markers. Morphological analysis showed that the total discrimination accuracy of female and male populations was 68.59% and 73.60%, respectively. Morphological clustering grouped the three Nanning populations into the same branch as the JZ population, indicating that the three Nanning populations had high morphological similarity. Microsatellite analysis revealed that the AJ population and LQ population had the highest genetic diversity, followed by the SL population and HK population. The genetic differentiation coefficient and genetic distance between the LQ population and SL population were the smallest. The results indicated that the populations of *P. clarkii* in Nanning, Guangxi had high genetic diversity, and that the introduction of *P. clarkii* from abroad or hybridization between different geographical populations may be an important way to enhance the genetic diversity of *P. clarkii*.

Keywords *Procambarus clarkii*; morphology; microsatellites; genetic diversity

(责任编辑:边书京)