

# 中华绒螯蟹 3 个育种基础群体遗传特征的微卫星分析

唐刘秀<sup>1,2</sup>, 许志强<sup>2</sup>, 葛家春<sup>1,2,3</sup>, 陈乙荣<sup>4</sup>, 赵沐子<sup>2</sup>, 杨家新<sup>1</sup>

(1. 南京师范大学生命科学学院, 江苏 南京 210023)  
(2. 江苏省淡水水产研究所, 江苏 南京 210017)  
(3. 南京淳一水产科技发展有限公司, 江苏 高淳 211316)  
(4. 高淳县固城湖石臼湖管理委员会, 江苏 高淳 211300)

**[摘要]** 为进行长江水系中华绒螯蟹优良品系的选育, 本研究利用 16 对微卫星引物对长江水系中华绒螯蟹 3 个育种基础群体(第一群体采自长江口崇明团结沙, 第二群体采自长江扬中江段, 第三群体采自长江靖江、六合、江浦江段)共计 89 个个体的遗传特征进行分析. 结果表明: 3 个中华绒螯蟹基础群体均具有较高的遗传多样性(其总体平均期望杂合度  $H_e$  为 0.701 4). 各群体在 16 个微卫星位点上的观察杂合度( $H_o$ )均高于期望杂合度( $H_e$ ), 第一群体、第二群体和第三群体的平均观察杂合度分别为 0.775 0、0.745 7、0.791 7, 平均期望杂合度分别为 0.705 0、0.702 9、0.696 4. 第一群体的平均期望杂合度最高, 第三群体最低, 各群体间无显著性差异( $P>0.05$ ). 3 个基础群体在 16 个微卫星位点上的固定指数  $F_{is}$  多为负值, 其中第三群体的  $F_{is}$  最小(-0.156 1), 第二群体的  $F_{is}$  最大(-0.079 6), 提示本研究中各群体内部存在着较为明显的远缘繁殖现象. 3 个群体的 Hardy-Weinberg 平衡偏离指数( $D$ )在-0.379 4~0.966 6, 每个群体均有 5 个微卫星位点存在杂合子缺失现象. 本研究中各群体间遗传距离介于 0.032 1~0.038 4, 其中第一群体与第二群体间的遗传距离最小(0.032 1), 第二群体与第三群体间的遗传距离最大(0.038 4). 总体而言, 本次研究所选的 3 个基础群体遗传多样性指数均较高, 适合作为选育的材料.

**[关键词]** 中华绒螯蟹, 微卫星, 育种基础群体, 遗传多样性  
**[中图分类号]** Q953 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2013)02-0084-07

## Microsatellite Analysis on the Genetic Structure of Three Breeding Stocks of *Eriocheir Sinensis*

Tang Liuxiu<sup>1,2</sup>, Xu Zhiqiang<sup>2</sup>, Ge Jiachun<sup>1,2,3</sup>, Chen Yirong<sup>4</sup>, Zhao Muzi<sup>2</sup>, Yang Jiaxin<sup>1</sup>

(1. School of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)  
(2. Freshwater Fisheries Research Institute of Jiangsu Province, Nanjing 210017, China)  
(3. Nanjing Purity Aquaculture Development Co., Ltd., Gaochun 211316, China)  
(4. Gaochun Gucheng Shijiu Lakes Administration Committee, Gaochun 211300, China)

**Abstract:** In order to select excellent germplasm of *Eriocheir sinensis*, 16 pairs of microsatellite primers were used to analyze the genetic characters of 3 base stocks which were collected from Chongming Tuanjiesha of Yangtze River Delta, Yangzhong section, and Jingjiang, Liuhe, Jiang Pu sections of Yangtze River respectively. The results showed that the genetic diversity indices of the 3 stocks are high with average expected heterozygosities( $H_e$ ) as 0.701 4, and the average observed heterozygosities( $H_o$ ) of the 3 stocks were higher than the average expected heterozygosities( $H_e$ ) in the all 16 microsatellite loci. The average observed heterozygosities( $H_o$ ) of the 3 stocks were 0.775 0, 0.745 7 and 0.791 7, and the average expected heterozygosities( $H_e$ ) were 0.705 0, 0.702 9, and 0.696 4 respectively. The first stock had the highest  $H_e$ , while the third stock had the lowest value, but there was no significant difference among the three stocks( $P>0.05$ ). The fixation indices( $F_{is}$ ) were used to evaluate the inbreeding or outcrossing of the 3 stocks, and the negative values were observed at almost all 16 microsatellite loci for the 3 stocks. The Hardy-Weinberg equilibrium( $D$ ) among the three stocks ranged from -0.379 4 to 0.966 6, and there were heterozygous reduction at five locus in each of these

收稿日期: 2012-12-19.  
基金项目: 江苏省农业科技自主创新资金项目(cx(10)125).  
通讯联系人: 葛家春, 研究员, 研究方向: 水产动物育种. E-mail: gjc09@hotmail.com

stocks. The pairwise genetic distance among the three stocks ranged from 0.032 1 to 0.038 4. The Ds between the first and second stock was smaller(0.032 1) than any others and it can be inferred that the genetic exchange between them was more frequent. Overall, the three base stocks in the present study had relatively higher genetic diversities, and it was suitable for selective breeding.

**Key words:** *Eriocheir sinensis*, microsatellite, base stocks for breeding, genetic diversity

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis* H. Milne-Edwards, 1853) 俗称河蟹, 隶属于节肢动物门(Arthropoda)、甲壳纲(Crustacea)、十足目(Decapoda)、方蟹科(Grapsidae)、绒螯蟹属(*Eriocheir*), 主要分布于中国长江、辽河、瓯江等水域, 但群体自然分布以长江流域为主. 多年来, 由于各水系中华绒螯蟹无序引种和培育苗种的盲目放流, 加上人工养殖群体向自然水体的逃逸, 打破了各水系中华绒螯蟹的天然分布格局, 各水系群体间的基因交流非常频繁, 由此产生了中华绒螯蟹的种质混杂问题<sup>[1-3]</sup>. 目前, 中华绒螯蟹种质混杂现象在生产中已有所体现, 主要表现为性早熟比例增加、成蟹规格小、抗病能力下降等特征. 因此, 进行长江水系中华绒螯蟹优良品系选育已成当务之急.

当前鱼类等水产动物的选育工作进展比较顺利, 如斑点叉尾鮰(*Ictalurus punctatus*)<sup>[4]</sup>、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)<sup>[5]</sup>、大西洋鲑(*Salmo salar*)<sup>[6]</sup>、银大麻哈鱼(*Oncorhynchus kisutch*)<sup>[7]</sup>、尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)<sup>[8-11]</sup>和奥利亚罗非鱼(*O. aureus*)<sup>[12]</sup>等, 都取得了较好的选育结果. 在传统人工选育过程中, 由于对育种群体的遗传背景研究不足, 对育种过程中的遗传变异缺乏监测, 育种群体遗传多样性水平降低、发病率增加、性成熟个体变小等种质衰退现象时常发生<sup>[13]</sup>. 因此, 在育种过程中, 有针对性地对育种群体的遗传特征进行分析监测, 对于克服育种过程中的近交现象、进而加快育种进程具有重要的意义. 中华绒螯蟹的人工选育起步较晚、进展较慢. 2010 年课题组开始进行长江水系中华绒螯蟹良种选育, 本研究采用微卫星技术分析了选育过程中所构建的 3 个育种基础群体的遗传特征, 以期为后期深入开展长江水系中华绒螯蟹优良品系选育积累有益资料.

1 材料与方法

1.1 材料

3 个长江水系中华绒螯蟹基础群体的大眼幼体或蟹种均来源于天然水域, 其中第一群体的大眼幼体采自长江口崇明团结沙, 采样时间为 2010 年 5 月下旬, 第二群体的蟹种采自长江扬中江段, 采样时间为 2011 年 1 月 17 日, 第三群体的蟹种采自长江靖江、六合、江浦江段, 采样时间为 2011 年 2 月 21 日至 2011 年 3 月 5 日. 3 个群体的大眼幼体或蟹种均运至高淳固城湖中华绒螯蟹原种场经人工养殖成成蟹. 2011 年 10 月, 分别从第一、第二和第三群体中随机取 30、29、30 只成蟹用于实验研究, 样品均活体运输至实验室后于 -20 ℃ 保存备用.

1.2 微卫星引物

采用 Hanfling 等<sup>[14]</sup>报道的 10 对微卫星引物序列(*ES06 ~ ES87*)和 Ma 等<sup>[15]</sup>报道的 6 对微卫星引物序列(*ESA67HLJ ~ ESD11HLJ*), 引物由上海英骏生物公司合成, 引物序列、PCR 反应条件、扩增产物长度等信息见表 1.

1.3 方法

1.3.1 DNA 模板制备

分别取中华绒螯蟹样本个体肌肉组织, 常规酚/氯仿法提取基因组 DNA, 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量, 紫外分光光度法测定 DNA 浓度和纯度, 双蒸水稀释至 50 μg/mL 后备用.

1.3.2 PCR 扩增与 SSR 引物筛选

以 Biometra PCR 仪进行 PCR 扩增, PCR 反应体系(TaKaRa)为 25 μL, 包括: 10×buffer 2.5 μL, Mg<sup>2+</sup> (2.5 mmol/L) 5 μL, dNTP (2.5 mmol/L) 2 μL, 正反向引物 (10 μmol/L) 各 1 μL, Taq 酶 0.5 U, 最后加 ddH<sub>2</sub>O 补足体积至 25 μL. PCR 反应共计 30 个循环, 循环前 96 ℃ 预变性 3 min, 每个循环包括 94 ℃ 变性 1 min, 退火 1 min, 72 ℃ 延伸 1 min, 循环结束后于 72 ℃ 延伸 10 min, 扩增产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测.

1.3.3 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测

PCR 扩增产物以 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳和硝酸银染色检验其多态性. 制备 8% 变性聚丙烯酰胺凝

胶,以 15 W 恒定功率电泳 2 h~3 h. 电泳完毕后,取下凝胶放入固定液(10% 冰乙酸+10% 乙醇)中固定 30 min,用双蒸水漂洗,转移至 0.1% AgNO<sub>3</sub> 溶液中染色 30 min,双蒸水漂洗后放入显色液(3.0% NaOH, 5 mL 甲醛)中待条带充分显现后对电泳图谱拍照并分析.

1.3.4 数据统计与分析

考虑到中华绒螯蟹属于二倍体,数据统计过程中,先根据 Marker 确定每个样本的条带位置,再采用 Bio-Rad Quantity One 软件结合人工读带的方式对每个样本的基因型进行判定,最后用 Popgen 1.32 软件来分析微卫星位点的有效等位基因数(Ne)、基因观测杂合度(Ho)、基因期望杂合度(He)、遗传相似系数(I)以及群体间遗传距离(Ds),采用固定指数 Fis 评估种群内个体间的近交程度:Fis=1-Ho/He,同时计算 Hardy-Weinberg 平衡偏离指数(D):D=(Ho-He)/He.

表 1 16 个中华绒螯蟹微卫星位点的特征  
Table 1 Characterization of 16 microsatellites loci in *E. sinensis*

微卫星位点	引物	退火温度/℃	PCR 产物长度/bp
ES06	F:CCCTTCCATTATCTTAACCTG R:CTGTGCTTCGTCTGTGTATG	58	105~180
ES18	F:CACCGTAAGGTTCCGTAA R:AAGCACCCATAAGTCAATGTA	58	170~225
ES36	F:GAGCGAGTATGCAAATGAGTAAT R:TTCATTACGAACAAAACACTAA	50	227~430
ES38	F:CTCATCAGTGTTCATGCAACA R:TGGAAACTATTCAACTTATCAC	50	90~185
ES42	F:GCACCGCAGTGATAATGTAGTGG R:GATCCTCGTGTGGGCGTGCCTAC	53	235~275
ES55	F:GCAGCAGACGAAGAGGTG R:CCAGTTTCACTTAAATTAGCC	55	82~160
ES67	F:TTTGGGATTACCTTGTCAACTT R:CGACGCACGACAGAGGAGAGG	53	105~170
ES74	F:ACAGCAAGTGGCAACAGGTAAAC R:CCGCCAGCCTCCCGTCAAC	58	105~195
ES75	F:CGGCAGTGAAAGATTACAGGCTG R:TTCCAAATAGTTATGACGGATGA	52	162~222
ES87	F:CGGAGTGTTCGTTGTTGTC R:ATCATCAGCAGCAACCAC	55	134~189
ESA67HLJ	F:TCAGACCAGGATGAAGCA R:TGTGGGATTATCGCAGAG	52	213~309
ESB88HLJ	F:TACGGCAAATCCATCCTC R:ACGCCAATAAACTGACCAA	52	213~270
ESC20HLJ	F:AACCAGGTGTTTCCCAGC R:GGGTTCCTGAGAGCG	50	193~257
ESC29HLJ	F:CCTCTTTTCTCTTAGCCG R:AACTGAATGAAGCCAAGC	50	245~287
ESD02HLJ	F:AGGCAGGTGGGATTACAT R:CACAGTCATTAGCGAGGG	60	125~176
ESD11HLJ	F:TGAGGAGGAAAATGGTGC R:TTTGCTCCCGTTCTTGTG	53	186~290

2 结果与分析

2.1 各基因位点的遗传多态性

16 对微卫星引物在 3 个长江水系中华绒螯蟹群体中均得到了较好的扩增,图 1 为中华绒螯蟹位点 ESD11HLJ 在第一群体和 ESC20HLJ 在第三群体的电泳图.

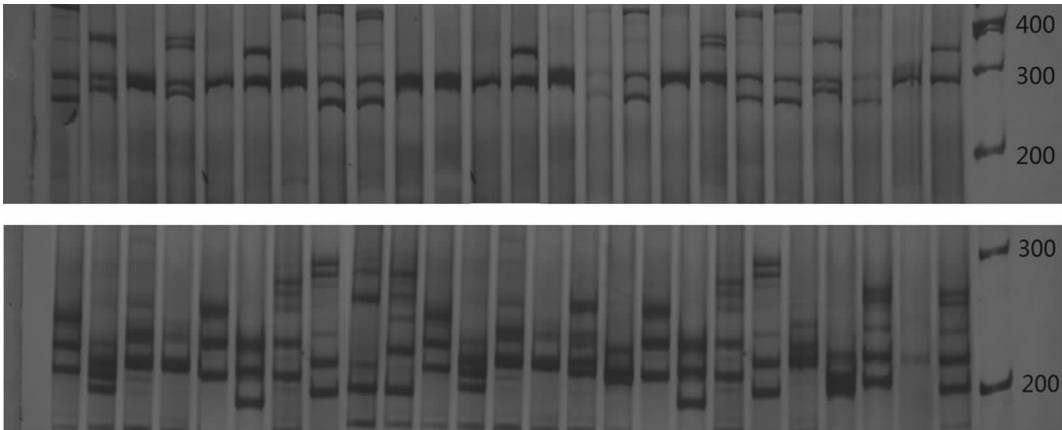


图 1 中华绒螯蟹位点 ESD11HLJ 在第一群体(上)和位点 ESC20HLJ 在第三群体(下)的电泳图  
Fig.1 Electrophoresis of microsatellite locus amplified by ESD11HLJ in the first stock(upper) and by ESC20HLJ in the third stock(bottom) of *E. sinensis*

3 个基础群体的遗传多样性参数如表 2 所示. 由表可知,3 个群体均具有较高的遗传多样性(总体平均  $He$  为 0.701 4). 各群体的平均有效等位基因数在 3.896 1~3.947 1,3 个群体在 16 个微卫星位点上的观察杂合度( $Ho$ )均高于期望杂合度( $He$ ),其中第一群体、第二群体和第三群体的平均观察杂合度分别为 0.775 0、0.745 7、0.791 7,平均期望杂合度分别为 0.705 0、0.702 9、0.696 4. 第一群体的平均期望杂合度最高(平均  $He$  为 0.705 0),第三群体最低(平均  $He$  为 0.696 4),各群体间无显著性差异( $P>0.05$ ).

表 2 3 个群体中华绒螯蟹 16 个微卫星位点的遗传多态性

Table 2 Polymorphic of 3 stocks of *E. sinensis* at 16 microsatellite loci

位点	统计指标	第一群体	第二群体	第三群体	位点	统计指标	第一群体	第二群体	第三群体
ES06	Ne	6.716 4	7.218 9	6.020 1	ES87	Ne	1.394 3	1.711 1	1.495 0
	Ho	0.733 3	0.862 1	0.600 0		Ho	0.266 7	0.448 3	0.400 0
	He	0.865 5	0.876 6	0.848 0		He	0.287 6	0.422 9	0.336 7
	Fis	0.138 4	-0.000 7	0.280 5		Fis	0.057 0	-0.078 7	-0.208 1
	D	-0.152 7	-0.016 5	-0.292 5		D	-0.072 7	0.060 1	0.188 0
ES18	Ne	4.522 6	4.724 7	4.663 2	ESA67HLJ	Ne	3.321 0	2.920 1	3.383 5
	Ho	0.900 0	0.793 1	0.900 0		Ho	0.833 3	0.724 1	0.966 7
	He	0.792 1	0.802 2	0.798 9		He	0.710 7	0.669 1	0.716 4
	Fis	-0.155 5	-0.006 0	-0.145 7		Fis	-0.192 4	-0.101 3	-0.372 2
	D	0.136 2	-0.011 3	0.126 5		D	0.172 5	0.082 2	0.349 4
ES36	Ne	5.882 4	6.050 4	7.114 6	ESB88HLJ	Ne	3.742 2	4.215 5	4.195 8
	Ho	0.933 3	1.000 0	0.866 7		Ho	1.000 0	1.000 0	1.000 0
	He	0.844 1	0.849 4	0.874 0		He	0.745 2	0.776 2	0.774 6
	Fis	-0.124 5	-0.198 0	-0.008 4		Fis	-0.364 7	-0.311 0	-0.312 9
	D	0.105 7	0.177 3	-0.008 4		D	0.341 9	0.288 3	0.291 0
ES38	Ne	5.027 9	4.247 5	3.651 1	ESC20HLJ	Ne	4.100 2	3.995 2	3.829 8
	Ho	0.800 0	0.482 8	0.733 3		Ho	0.866 7	0.827 6	0.900 0
	He	0.814 7	0.778 0	0.738 4		He	0.768 9	0.762 9	0.751 4
	Fis	0.001 4	0.368 6	-0.009 9		Fis	-0.146 2	-0.103 9	-0.218 0
	D	-0.018 0	-0.379 4	-0.006 9		D	0.127 2	0.084 8	0.197 8
ES42	Ne	4.119 0	5.051 1	4.275 5	ESC29HLJ	Ne	2.088 2	1.609 6	1.717 6
	Ho	0.666 7	0.862 1	0.866 7		Ho	0.666 7	0.448 3	0.500 0
	He	0.770 1	0.816 1	0.779 1		He	0.529 9	0.385 4	0.424 9
	Fis	0.119 6	-0.074 9	-0.131 3		Fis	-0.279 3	-0.183 7	-0.196 8
	D	-0.134 3	0.056 4	0.112 4		D	0.258 2	0.163 2	0.176 7
ES55	Ne	4.255 3	4.620 9	4.878 0	ESD02HLJ	Ne	5.572 8	5.356 7	4.851 8
	Ho	0.833 3	0.758 6	0.833 3		Ho	1.000 0	1.000 0	1.000 0
	He	0.778 0	0.797 3	0.808 5		He	0.834 5	0.827 6	0.807 3
	Fis	-0.089 3	0.031 9	-0.048 2		Fis	-0.218 7	-0.229 5	-0.259 6
	D	0.071 1	-0.048 5	0.030 7		D	0.198 3	0.208 3	0.238 7
ES67	Ne	1.773 4	1.834 2	1.701 3	ESD11HLJ	Ne	2.322 6	2.063 8	2.000 0
	Ho	0.533 3	0.551 7	0.500 0		Ho	0.733 3	0.689 7	1.000 0
	He	0.443 5	0.462 8	0.419 2		He	0.579 1	0.524 5	0.508 5
	Fis	-0.222 9	-0.213 1	-0.212 9		Fis	-0.287 8	-0.337 9	-1.000 0
	D	0.202 5	0.192 1	0.192 7		D	0.266 3	0.315 0	0.966 6
ES74	Ne	3.564 4	3.746 1	3.956 0	Mean	Ne	3.924 6	3.947 1	3.896 1
	Ho	1.000 0	1.000 0	1.000 0		Ho	0.775 0	0.745 7	0.791 7
	He	0.731 6	0.745 9	0.759 9		He	0.705 0	0.702 9	0.696 4
	Fis	-0.390 0	-0.364 2	-0.338 3		Fis	-0.117 8	-0.079 6	-0.156 1
	D	0.366 9	0.340 7	0.316 0		D	0.104 7	0.072 3	0.164 5
ES75	Ne	4.390 2	3.788 3	4.603 6					
	Ho	0.633 3	0.482 8	0.600 0					
	He	0.785 3	0.748 9	0.796 0					
	Fis	0.179 9	0.344 1	0.233 5					
	D	-0.193 6	-0.355 3	-0.246 2					

采用固定指数  $Fis$  来评估各群体内个体间的近交情况. 结果显示,3 个群体在 16 个微卫星位点上的固定指数  $Fis$  多为负值,其中第三群体的平均  $Fis$  值最小,为 -0.156 1,第二群体的平均  $Fis$  值最大,

为-0.079 6.

2.2 Hardy-Weinberg 平衡

Hardy-Weinberg 平衡偏离指数(D)反映观测杂合度(Ho)和期望杂合度(He)之间的平衡关系,D 值越接近于零,基因型分布越接近于平衡状态,D 值的正负直观地反映了种群内杂合子的过剩或缺失状态,D 值为正表示杂合子过剩,D 值为负表示杂合子处于缺失状态,数值大小则表明缺失或过剩的程度<sup>[16]</sup>. 本研究中的 3 个群体 Hardy-Weinberg 平衡偏离指数 D 见表 2,由表可知,3 个群体 Hardy-Weinberg 平衡偏离指数(D)在-0.379 4~0.966 6,其中第一群体的微卫星位点 ES06、ES38、ES42、ES75、ES87,第二群体的微卫星位点 ES06、ES18、ES38、ES55、ES75,第三群体的微卫星位点 ES06、ES36、ES38、ES75 中 Hardy-Weinberg 平衡偏离指数均为负值,表明这些位点存在着一定程度的杂合子缺失. 第三群体平均 Hardy-Weinberg 平衡偏离指数高于其他 2 个群体,但差异不显著( $P>0.05$ ).

2.3 3 个群体间的遗传分化

由表 3 可以看到,第二群体与第三群体遗传距离最大(为 0.038 4),遗传相似系数最小(为 0.962 4). 第一群体与第二群体遗传距离最近(为 0.032 1),遗传相似系数最大(为 0.968 4).

表 3 中华绒螯蟹 3 个群体的遗传距离和遗传相似系数  
Table 3 Genetic distance and similarity of 3 stocks of *E. sinensis*

群体 Population	1	2	3
1	****	0.968 4	0.967 1
2	0.032 1	****	0.962 4
3	0.033 5	0.038 4	****

注:对角线以下为遗传距离,对角线以上为相似性系数. 1、2、3 分别为第一群体、第二群体和第三群体.  
Note:Figures under and above the diagonal line are genetic distance and similarity respectively. 1,2,3 stands for the first stock ,the second stock and the third stock respectively.

基于 Nei 氏遗传距离,用 UPGMA 法得出 3 个群体间的聚类图(图 2). 可以发现,第一群体和第二群体聚为一支,而第三群体单独聚为一支.

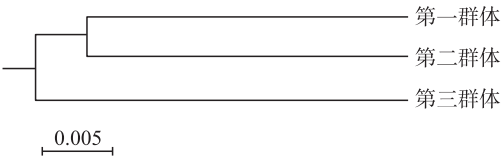


图 2 基于 Nei 氏遗传距离构建的中华绒螯蟹 3 个群体的 UPGMA 树  
Fig.2 UPGMA tree of 3 stocks of *E. sinensis* based on Nei's genetic distance

3 讨论

3.1 3 个育种基础群体的遗传多样性

遗传多样性是生命进化和物种分化的基础,在一定程度上决定了物种在自然或人为条件下对环境改变的适应能力<sup>[17]</sup>. 在育种过程中,往往需要选择一些可供研究的代表性群体,这样的群体称为育种基础群体. 研究发现,本次所选择的 3 个长江水系中华绒螯蟹育种基础群体均具有较高的遗传多样性,这与 Chang<sup>[18]</sup>、Ma<sup>[15]</sup>、潘建林<sup>[19]</sup>以及许志强等<sup>[20]</sup>用微卫星技术对中华绒螯蟹遗传多样性所进行的研究结果是一致的. 分析其原因可能是,近年来长江水系与其他水系中华绒螯蟹存在着频繁的基因交流,这种交流一方面导致了长江水系中华绒螯蟹的种质混杂,同时也在一定程度上提高了当前长江水系中华绒螯蟹的遗传多样性<sup>[21,22]</sup>. 进一步分析发现,本次研究中的期望杂合度总体上较之前许志强等<sup>[20]</sup>研究中的数值要低,但无显著性差异( $P>0.05$ ),推测其原因可能与采样方法、采样时间、采样地点不同有关,还可能与近年来长江水质污染问题严重、捕捞压力过大有关,由于长江中成蟹及苗种资源衰退情况严重而在一定程度上降低了长江河蟹资源的遗传多样性. 在当前各水系中华绒螯蟹种质混杂已经很严重的情况下,进行中华绒螯蟹优良苗种的选育已成当务之急. 本次研究结果表明,3 个基础群体遗传多样性水平均较高,可以作为选育的材料. 由于目前长江中仍然有相当数量具有典型长江水系中华绒螯蟹特征的亲蟹资源,因此可以结合长江水系中华绒螯蟹种质鉴定方法<sup>[23-26]</sup>,从以上 3 个群体中选择亲本进行选育.

### 3.2 3个育种基础群体杂合子缺失现象的原因分析

杂合体缺失,尤其是杂合体完全缺失将导致有些基因从基因库中消失,造成种群遗传多样性的降低,从而降低其适应环境的能力.本研究中3个群体均有5个微卫星位点 Hardy-Weinberg 平衡偏离指数出现了负值,表明这些位点存在杂合子缺失现象.关于杂合体缺失的原因争论很大,可能与自然选择、种群内交、零等位基因、Wahlund 效应和性连锁座位等原因有关,但至于与哪种或哪几种更相关,还有待于进一步研究<sup>[27]</sup>.具体到本研究,作者认为可能的原因有3个:(1)近年来,由于长江受到日益增多的污染和大规模的水利建设等剧烈人类活动的影响,从而使长江水系中华绒螯蟹的种质资源受到严重干扰,这种干扰可能在一定程度上导致杂合子的缺失.(2)长期过度捕捞使其资源量严重衰减,从而对种质资源和遗传多样性产生影响.(3)当前长江水系与其他水系中华绒螯蟹种质混杂很严重,虽然这在一定程度上提高了长江水系中华绒螯蟹的遗传多样性,但却会使长江水系群体某些基因的频率降低甚至消失,从而导致杂合子的缺失.

### 3.3 3个育种基础群体的遗传结构

对几个基础群体的遗传距离进行分析可知,第一群体与第二群体间的遗传距离较小,第二群体与第三群体间的遗传距离较大.聚类分析结果也表明,第一群体与第二群体聚为一支,而第三群体单独聚为一支.从育种的角度来说,为了避免近亲交配导致的种质衰退现象的发生,可以将第一群体和第二群体看成一个育种基础群体,将第三群体看成另一个育种基础群体,分别从中选择家系选育的亲本.由于本研究中3个基础群体间的遗传距离较小,各群体间遗传距离无显著性差异( $P>0.05$ ),因此在下一步的育种工作中可能还需要继续增加育种群体的数量.固定指数  $F_{is}$  常用来表示群体内个体间的近交系数.当群体内观测杂合度小于期望杂合度,同时  $F_{is}$  为正值时,表明群体内近交程度较严重;如  $F_{is}$  为负值,同时群体内观测杂合度大于期望杂合度,则表示群体内存在远缘繁殖<sup>[17]</sup>.本研究中各群体的  $F_{is}$  值均为负值,表明本研究所涉及各长江水系天然群体内存在着较多的远缘繁殖现象.分析其原因,可能由于多年来我国各水系中华绒螯蟹无序引种,长江水系与其他水系中华绒螯蟹具有较为频繁的基因交流,从而使本次研究的3个群体内部都产生了较为明显的远缘繁殖现象.

## 4 致谢

感谢李跃华、丁淑燕、李大命在样本采集、论文修改等工作中提供了帮助.

### [参考文献]

- [1] 赵乃刚.长江中华绒螯蟹种质资源混杂对养蟹业的影响[J].内陆水产,1998,5:2-4.
- [2] 王成辉,李思发.中华绒螯蟹种质研究进展[J].中国水产科学,2002,9(1):92-96.
- [3] 王武.我国中华绒螯蟹养殖的现状和发展前景[J].内陆水产,1998,4:2-4.
- [4] Dunham R A, Brummett R E. Response of two generations of selection to increased body weight in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, compared to hybridization with blue catfish, *I. furcatus*, males[J]. J Appl Aquac, 1999, 9:37-45.
- [5] Gjerde B. Growth and reproduction in fish and shellfish[J]. Aquaculture, 1986, 57:37-55.
- [6] Myers J M, Heggelund P O, Hudson G, et al. Genetics and broodstock management of coho salmon[J]. Aquaculture, 2001, 197:43-62.
- [7] Fleming I A, Gross M R. Breeding success of hatchery and wild coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in competition[J]. Ecol Appl, 1993, 3(2):230-245.
- [8] Eknath A E, Tayamen M M, Palada-de Vera M S, et al. Genetic improvement of farmed tilapias: the growth performance of eight strains of *Oreochromis niloticus* tested in rent farm environments[J]. Aquaculture, 1993, 111:171-188.
- [9] Longalong F M, Eknath A A, Bentsen H B. Response to bidirectional selection for frequency of early maturing females in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Aquaculture, 1999, 178:13-25.
- [10] Ponzoni R W, Hamzah A, Tan S, et al. Genetic parameters and response to selection for five weight in the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Aquaculture, 2005, 247:203-210.
- [11] 颜晓勇,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.
- [12] 桂建芳. 鱼类性别和生殖的遗传基础及其人工控制[M]. 北京:科学出版社,2007:166-167.
- [13] 鲁翠云,曹顶臣,孙效文,等. 微卫星分子标记辅助镜鲤家系构建[J]. 中国水产科学,2008,15(6):893-901.
- [14] Hänfling B, Weetman D. Characterization of microsatellite loci for the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*[J]. Mol Ecol Notes,2003,3:15-17.
- [15] Ma H T, Chang Y M, Yu D M, et al. Microsatellite variations among four populations of *Eriocheir sinensis*[J]. Zoological Research,2007,28(2):126-133.
- [16] 徐成,王可玲,张培军. 鲈鱼群体生化遗传学研究 II. 种群生化遗传结构及变异[J]. 海洋与湖沼,2001,32(3):248-254.
- [17] Frankham R, Ballou J, Briscoe D. Introduction to Conservation Genetics[M]. Cambridge:Cam bridge University Press,2010,260-308.
- [18] Chang Y M, Liang L Q, Ma H T, et al. Microsatellite analysis of genetic diversity and population structure of Chinese Mitten Crab(*Eriocheir sinensis*)[J]. Journal of Genetics and Genomics,2008,35:171-176.
- [19] 潘建林,牟大凯,郝莎,等. 中华绒螯蟹 *Eriocheir sinensis* 两个地理种群的微卫星 DNA 多态性分析[J]. 南京大学学报:自然科学版,2006,42(5):457-461.
- [20] 许志强,葛家春,李跃华,等. 四水系中华绒螯蟹天然群体遗传特征的微卫星标记分析[J]. 南京大学学报:自然科学版,2011,47(1):82-90.
- [21] 葛家春,许志强,李晓晖,等. 利用线粒体 COI 序列分析 4 水系中华绒螯蟹群体遗传学特征[J]. 中国水产科学,2011,18(1):16-22.
- [22] 李晓晖,许志强,潘建林,等. 中华绒螯蟹人工选育群体的遗传多样性[J]. 中国水产科学,2010,17(2):236-242.
- [23] 许加武,任明荣,李思发. 长江、辽河、瓯江中华绒螯蟹种群的形态判别[J]. 水产学报,1997,21(3):269-274.
- [24] 王武,张文博. 绒螯蟹三个种群形态判别比较[J]. 水产科技情报,2005,32(2):81-83.
- [25] 郑曙明,吴青. 中华绒螯蟹同工酶的研究[J]. 水生生物学报,1994,18(2):183-185.
- [26] 周开亚,高志千. RAPD 标记鉴别中华绒螯蟹种群初步研究[J]. 应用与环境生物学报,1999,5(2):176-180.
- [27] Zouros E. On the relation between heterozygosity and heterosis:an evaluation of the evidence from marine mollusks[J]. Isozymes Current Topics in Biological and Medical Research,1987,15(3):255-270.

[责任编辑:黄 敏]

(上接第 83 页)

- [31] Rawadi G, Roman-Roman S. Mycoplasma membrane lipoproteins induced proinflammatory cytokines by a mechanism distinct from that of lipopolysaccharide[J]. Infect Immun,1996,64:637-643.
- [32] Razin S, Yogev D, Naot Y. Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas[J]. Microbiol Mol Biol R,1998,62:1 094-1 156.
- [33] Rottem S. Interaction of mycoplasmas with host cells[J]. Physiol Rev,2003,83:417-432.
- [34] Whitmarsh A J, Davis R J. Transcription factor AP-1 regulation by mitogen-activated protein kinase signal transduction pathways[J]. J Mol Med,1996,74:589-607.
- [35] Davis R J. Transcriptional regulation by MAP kinases[J]. Mol Reprod Dev,1995,42:459-467.

[责任编辑:黄 敏]