

doi: 10.7541/2023.2022.0261

中华绒螯蟹“长荡湖1号”连续3个世代的遗传多样性分析

庄振俊¹ 唐美君¹ 张冬冬¹ 陈文彬² 罗明² 成永旭¹ 吴旭干^{1,3,4} 陈晓武^{1,3}

(1. 上海海洋大学农业农村部淡水种质资源重点实验室, 上海 201306; 2. 常州市金坛区水产技术中心, 常州 213200; 3. 上海市水产动物良种创制与绿色养殖协同创新中心, 上海 201306; 4. 上海海洋大学水产科学国家级实验教学示范心, 上海 201306)

摘要: 为了解选育对中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)“长荡湖1号”遗传多样性的影响, 研究采用20个微卫星位点对“长荡湖1号”A系和B系各连续3个世代进行遗传多样性分析。结果如下: 20个微卫星标记在6个群体中共检测到551个等位基因, 各位点的平均等位基因数(N_a)和平均有效等位基因数(N_e)分别为27.55和13.61, 平均观测杂合度(H_o)和平均期望杂合度(H_e)分别为0.72和0.90, 平均香农信息指数(I)和多态信息含量(PIC)分别为2.73和0.89。在选育过程中, A系和B系3个世代的PIC均有下降趋势, 各群体的 H_e 和 H_o 均维持较高水平。A系子一代(G1)和子二代(G2)的有效群体数量(N_e)分别为72.7和111.8, B系G1和G2的有效群体数量分别为67.7和115.8, 均维持在较高水平。Hardy-Weinber平衡检验结果显示, 有72.5%的数据偏离Hardy-Weinber平衡, 表明选育群体的遗传结构处于相对不稳定的状态。A系和B系后代与G0的遗传距离均逐代增大, 其中A系从0.2455增大到0.2607, B系从0.1736增大到0.1751。各群体之间遗传分化指数(F_{st})均小于0.05, 表明各群体间遗传分化程度微弱。AMOVA分析结果表明, “长荡湖1号”仅0.87%的变异存在于各群体间, 而99.13%的变异发生在群体内个体间。综上所述, 中华绒螯蟹“长荡湖1号”经过2代选育, 选育群体的遗传多样性和有效群体数量依然保持较高水平, 但群体遗传结构处于相对不稳定状态, 今后选育过程中应该保持足够的繁殖亲本数量和遗传多样性, 防止近交退化。

关键词: 新品系选育; 微卫星标记; 遗传多样性; 有效群体大小; 中华绒螯蟹

中图分类号: Q346⁺.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2023)09-1523-11



中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)俗称河蟹、毛蟹和大闸蟹等, 因其饮食文化悠久和风味独特而受到消费者欢迎, 已经成为我国重要的养殖种类, 全国每年成蟹养殖产量达80万吨左右^[1]。目前, 中华绒螯蟹的主产区集中在长江中下游地区, 经过多年市场培养, 出现了以产地为特征的地域品牌, 如“阳澄湖大闸蟹”“太湖大闸蟹”和“长荡湖大闸蟹”等^[2]。经过多年的人工养殖, 养殖群体的种质退化和种质混杂已经成为影响中华绒螯蟹养殖产业可持续发展的重要问题之一, 这严重制约着中华绒螯蟹产业的发展^[3,4]。优良品种选育是提高中华绒螯蟹养殖性能的重要途径之一。尽管我国已经通过群体选育获得5个经过

国家水产原良种委员会审定的中华绒螯蟹新品种, 在一定程度上促进了河蟹养殖产业的发展, 但这些新品种主要以生长速度和成蟹规格为选育目标^[5], 但尚不能满足河蟹养殖产业的多样化需求。

常州市金坛区的长荡湖是野生中华绒螯蟹的重要栖息地, 该湖泊所产中华绒螯蟹品质优良, “长荡湖大闸蟹”成为一个有影响力的地域公共品牌^[6]。经过多年发展, 中华绒螯蟹养殖已经成为金坛区的农业主导产业, 年产量达2万吨左右, 整体养殖技术水平和养殖效益引导全国, 有多项技术已经在全国大面积推广^[7]。目前长荡湖地区的中华绒螯蟹养殖尚缺乏适应当地自然条件和养殖模式的专用良种,

收稿日期: 2022-06-25; 修订日期: 2022-11-02

基金项目: 国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”重点专项(2018YFD0900103); 江苏省农业农村厅种业振兴揭榜挂帅项目(JBGS[2021]127); 江苏金坛区农业农村局科技项目(JTNL2019001)资助 [Supported by the Key National and Special Project of Blue Granary Science and Technology Innovation (2018YFD0900103); Jiangsu Provincial Department of Agriculture and Rural Development Seed Industry Zhengxing Guashai Projects (JBGS[2021]127); Science and Technology Project of Agriculture and Rural Affairs Bureau, Jintan District, Jiangsu Province]

作者简介: 庄振俊(1996—), 男, 硕士研究生; 研究方向为水产养殖。E-mail: 2248954347@qq.com

通信作者: 陈晓武, E-mail: xwchen@shou.edu.cn

这已然成为该地区中华绒螯蟹产业升级的重要瓶颈之一^[8]。因此,金坛区水产技术推广中心联合上海海洋大学,自2017年开始进行“长荡湖1号”的选育工作,以培育适合长荡湖地区养殖模式的专用品种,目前已经选育到第二代。

群体选育和配套系选育具有操作简单、选择强度大和育种设施要求低等优点,已被广泛应用于水产动物遗传育种中,但是群体选育和配套系选育通常会面临近交衰退和遗传多样性下降等风险^[9]。因此,群体选育过程中采用合适的分子标记进行系谱鉴定和遗传多样性评估,可以有效避免近亲繁殖和遗传衰退^[10]。微卫星分子标记具有可供选择的标记数量多、多态性高、个体特异性强和共显性遗传等优点,已在中华绒螯蟹种质资源评价和遗传育种中得到了广泛的应用^[11, 12]。先前研究已经在中华绒螯蟹基因组中开发出大量多态性高、遗传稳定和易PCR扩增的SSR分子标记^[13],并且在其遗传育种和种质鉴定中得到了初步应用^[10, 14]。特别是随着中华绒螯蟹基因组测序数据的积累,全基因组分析可筛选出886782个完整型微卫星,为微卫星分子标记的应用奠定了坚实基础^[15]。在红壳色品系的中华绒螯蟹中,微卫星可以成功用于红壳蟹和2个绿壳蟹品系间遗传距离与遗传分化系数分析^[16]。虽然遗传育种研究中有更多新的分子标记可以选择,但是微卫星还是可以作为一种经济、方便的遗传学研究工具。

本研究筛选了20个多态性较高的微卫星,较系统地评估了中华绒螯蟹“长荡湖1号”3个连续选育世代的群体遗传多样性和遗传分化,以期“长荡湖1号”的进一步选育提供实践参考。

1 材料与方法

1.1 选育群体和采样

中华绒螯蟹“长荡湖1号”选育系分为A系(耐高密度)和B系(高体重),两个选育系的奠基群亲本(G0)均于2018年11月中旬选自常州市金坛区的两个河蟹养殖场,这些亲本蟹均经过多代人工繁殖,基本适应了当地自然环境和养殖模式,所选亲本在位于江苏如东县的上海海洋大学河蟹遗传育种中心进行人工繁殖,获得选育子一代(G1)大眼幼体,大眼幼体被运送到金坛区水产技术推广中心试验基地进行扣蟹和成蟹养殖;2020年11月中旬,分别挑选A系和B系亲本作为选育第二代(G2)的父母本,人工繁殖、扣蟹和成蟹的养殖过程同第一代,两个选育系各选育世代的亲本数量见表1。分别于2018年12月、2020年12月和2021年12月采集G0、G1和G2选育群

体的样品蟹,每个选育系均随机采样30只以上个体(公母近似各50%),共6个选育群体,具体采样信息见图1。采样个体冰浴麻醉后,分别取其附肢肌肉固定于95%乙醇中,每只个体的肌肉样品均单独固定于5 mL离心管中,于-20℃冰箱中保存备用。

1.2 基因组DNA提取

每个群体随机选用30个样品(雌雄各半),用酚-氯仿法^[17]提取基因组DNA,用琼脂糖凝胶电泳和凝胶成像系统(Bio-rad, USA)检测DNA质量,并使用Quawell Q5000(Quawell, USA)检测DNA浓度及纯度,用无菌超纯水稀释至50 ng/μL。

1.3 PCR反应

参考已发表文献^[10, 11, 18]和本课题组新开发的中华绒螯蟹微卫星标记中选择20个多态性较高的微卫星用于本研究,具体信息见表2。PCR反应总体积为12.5 μL,其中Mix 6.5 μL,无菌水4 μL,上游引物0.5 μL(10 pmol/μL),下游引物0.5 μL(10 pmol/μL),DNA模板1 μL(50 ng/μL)。PCR反应程序:94℃预变性3min;94℃变性30s,退火30s,72℃延伸90s,30个循环;72℃延伸6min,12℃保存。

1.4 微卫星分型

用1%的琼脂糖凝胶对PCR产物进行电泳,检测其扩增效果。若PCR产物目的条带清晰,则将PCR产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司进

表1 中华绒螯蟹“长荡湖1号”选育两世代的亲本数量

Tab. 1 The number of parents for two generations of *Eriocheir sinensis* “Changdang Lake 1”

世代Generation	A系 Strain A		B系 Strain B	
	雌体 Female	雄体 Male	雌体 Female	雄体 Male
子一代Generation 1	548	168	262	80
子二代Generation 2	1251	370	789	269

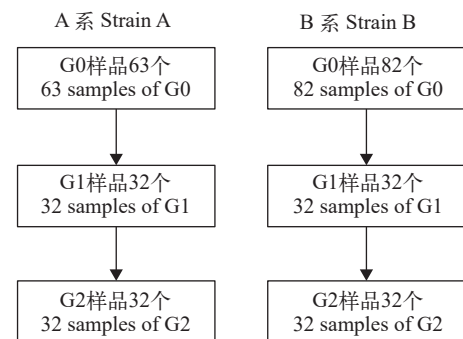


图1 中华绒螯蟹“长荡湖1号”样品信息

Fig. 1 Sample information of *Eriocheir sinensis* “Changdang Lake 1”

G0为基础群体; G1为子一代; G2为子二代

G0 is the base population; G1 is generation 1; G2 is generation 2

行毛细管电泳分型, 记录每个中华绒螯蟹样品各微卫星位点的基因型。

1.5 数据分析

使用POPGEN 3.2^[19]软件计算有效等位基因数(N_e)、观测等位基因数(N_a)、期望杂合度(H_e)、观测杂合度(H_o)、香农信息指数(I)和群体间遗传距离(D); 应用PIC-CALC0.6^[20]软件计算位点的多态信息含量(PIC); 使用Cervus 3.0^[21]软件计算各群体的多态性信息含量(PIC); 用ARLEQUIN3.1^[22]软件计算群体间遗传分化指数(F_{st})和分子方差分析(AMOVA); 通过Genepop 1.2^[23]软件检验Hardy-Weinberg平衡; 利用NeEstimator V2^[24]软件的连锁不平衡法(Linkage Disequilibrium)估计各群体的有效群体数量(N_e)。

2 结果

2.1 微卫星位点多态性

本实验选用的20个微卫星位点在“长荡湖1号”

6个群体中均能成功扩增, 且具有多态性(表3)。共检测到551个等位基因, 各位点的等位基因数(N_a)在10—52, 平均值为27.55。有效等位基因数(N_e)最小为3.7780(Esin67), 最大为26.4274(Esin36), 平均值为13.6080。观测杂合度(H_o)介于0.4091—0.9556, 平均值为0.7151。期望杂合度(H_e)在0.7374—0.9648, 平均值为0.9023香农信息指数(I)为1.8047—3.5411, 平均值为2.7276。多态信息含量(PIC)介于0.7141—0.9609, 平均值为0.8918。

2.2 中华绒螯蟹“长荡湖1号”的遗传多样性

从平均等位基因数(N_a)、平均有效等位基因数(N_e)、平均观测杂合度(H_o)、平均期望杂合度(H_e)、平均香农信息指数(I)和平均多态信息含量(PIC)均可看出, 中华绒螯蟹“长荡湖1号”A系和B系群体遗传多样性均呈下降趋势(图2)。就A系而言, 3代群体的平均等位基因数为15.8000—18.9500, 平均有效等位基因数为10.1091—12.7130; 平均观测

表2 20个微卫星位点引物信息

Tab. 2 Information of 20 microsatellite markers

位点 Locus	片段大小 Size range (bp)	退火温度 Annealing temperature (°C)	引物序列 Primer sequences (5'—3')	位点 Locus	片段大小 Size range (bp)	退火温度 Annealing temperature (°C)	引物序列 Primer sequences (5'—3')
A9	200—282	60	GCAATGAGACTCAACAGGAG A AATGTGGCTCACCTGACGT	JPX10	187—275	58	TGGAAGGGTTGAGGATGA TGTGAGACAGGACCCCATAT
B3	198—233	60	GAGAAACGAGCAGCATTTC CACAACAACACGGAGTATCG G	LCX256	358—463	55	ATGGCTCTCTCTGGTGGCT TGCTGAAATCGGAAGGTT
ES17	392—500	56	ACTATGCCTTTGCCTATGTAT GAA GCGGTTGTAAAGCCAGAAT	LCX401	385—436	55	TCACACAGCACTTTCTTTTC GTCATCCCCCTCCTTATC
Esin36	212—336	55	GAGCGAGTATGCAAATGAGT AAT TTCATTCACGAACAAAACAC TAA	CJ1	461—491	55	CTCGTTTGCCTTAATCGTGTC TC TGTTCTCTACTTCTCCACT TTCT
Esin42	215—281	55	GCACCGCAGTGATAATGTAG TGG GATCCTCGTGTGGGCGTGCT TAC	LH1	445—475	55	GAAGCCAGTCTGGTAAT TGCCCTGAAGAGCGATACAG
Esin67	222—348	55	TTTGGGATTACCTTGTC AAC TT CGACGCACGACAGAGGAGA GG	LH2	483—524	55	GCCATCAGGGCTCGTAAGTT AGGTGAAAAGAGGCGGGAG G
HLJE25	202—292	55	AAGGACAACACGATGACA AAGAGGAGGAAGAGGCAG	LH4	494—541	55	TTACACGCACCCTCAGTCTCT T CATACCGAAGGCTTTCATTG C
HLJE34	113—191	55	AACAAC TACCCAGCACCT CTCATCACGCTACCACCT	HH1	470—510	55	CGTGTGTTTGCTCATTAGTTC G AGGATGAGGACGAGAGGTG G
HLJE42	320—386	55	ACCCTCAGCAGTTATCGTG CGCTACAACAAAGGCAAG	Q822	87—147	55	GGGTTTTGAAATAAGGAAGA ACATGA CTTGGTTTTGGGTGTGTTTT GTT
HLJE88	208—306	55	TACGGCAAATCCATCCTC ACGCCAATAAACTGACCAA	Q840	112—235	55	TGTTCTCTGTGTTCTGTTTTG TTCC GGTTGCTTAATGGTGGCTTAT GAA

杂合度为0.6605—0.7139, 平均期望杂合度为0.8838—0.9155; 平均香农信息指数为2.3969—2.6158, 平均多态信息含量为0.8574—0.8911。就B系而言, 3代

群体的平均等位基因为16.1000—17.4500, 平均有效等位基因为9.5155—10.8750; 平均观测杂合度为0.7256—0.7510, 平均期望杂合度为0.8838—0.9023;

表 3 中华绒螯蟹“长荡湖1号”选育群体20个微卫星位点的多态性

Tab. 3 Genetic polymorphism of 20 microsatellite markers of “Changdang Lake 1”

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	香农信息指数 I	多态信息含量PIC
A9	35.00	19.9446	0.8212	0.9525	3.2049	0.9476
B3	27.00	13.8287	0.8588	0.9303	2.8550	0.9231
CJ1	10.00	5.2738	0.4971	0.8127	1.9254	0.7910
ES17	28.00	13.9178	0.4091	0.9312	2.8858	0.9237
Esin36	52.00	26.4274	0.8389	0.9648	3.5411	0.9609
Esin42	19.00	10.3614	0.6611	0.9060	2.5284	0.8957
Esin67	14.00	3.7780	0.6780	0.7374	1.8047	0.7141
HH1	41.00	18.2587	0.8944	0.9479	3.1754	0.9426
HLJE25	33.00	18.4781	0.7374	0.9485	3.1020	0.9432
HLJE34	32.00	18.5263	0.8580	0.9487	3.1196	0.9434
HLJEs42	20.00	8.9251	0.7135	0.8905	2.4321	0.8781
HLJEsB88	37.00	22.4709	0.8483	0.9582	3.3071	0.9537
JPX10	32.00	14.4524	0.6592	0.9334	2.9602	0.9269
LCX256	40.00	23.3345	0.9556	0.9598	3.3632	0.9555
LCX401	23.00	8.7767	0.7753	0.8886	2.4301	0.8754
LH1	17.00	4.8624	0.6089	0.7966	2.0175	0.7773
LH2	17.00	7.2605	0.5819	0.8647	2.3033	0.8500
LH4	16.00	6.1073	0.4277	0.8387	2.0909	0.8178
Q822	18.00	8.6550	0.6444	0.8869	2.3362	0.8733
Q840	40.00	18.5196	0.8333	0.9486	3.1685	0.9434
Mean	27.55	13.6080	0.7151	0.9023	2.7276	0.8918

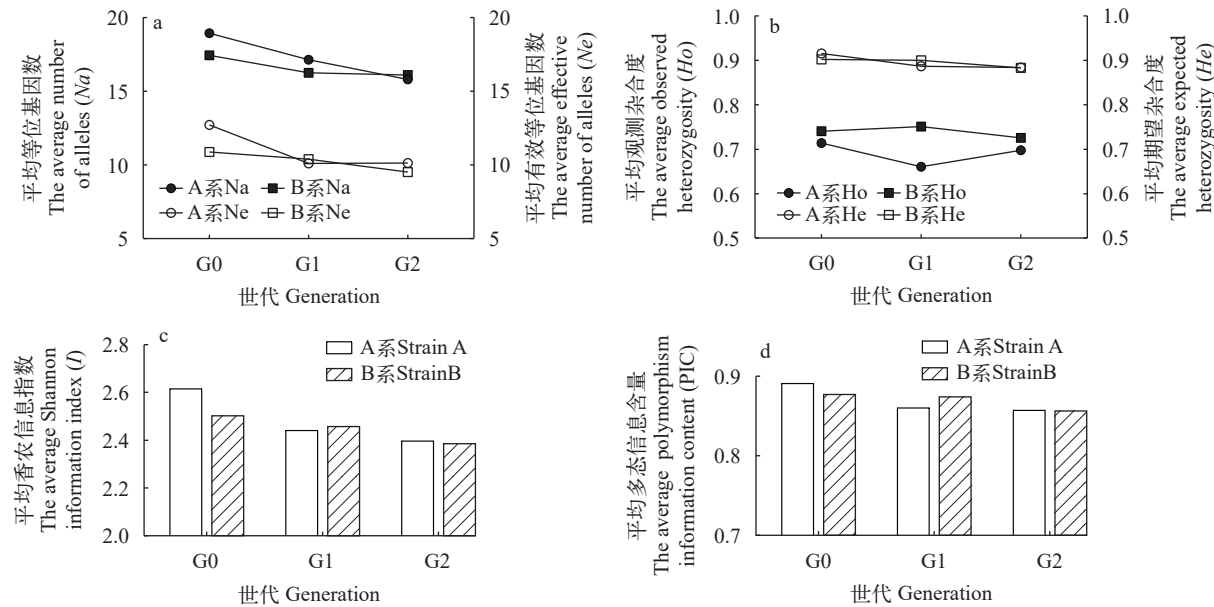


图 2 “长荡湖1号”连续三代遗传多样性参数

Fig. 2 Genetic diversity parameters of 3 generations of “Changdang Lake 1”

a. 平均等位基因数和平均有效等位基因数; b. 平均观测杂合度和平均期望杂合度; c. 平均香农信息指数; d. 平均多态信息含量
a. the average number of alleles and the average effective number of alleles; b. the average observed heterozygosity and the average expected heterozygosity; c. the average Shannon information index; d. the average polymorphic information content

平均香农信息指数为2.3865—2.5033, 平均多态信息含量为0.8565—0.8775。

中华绒螯蟹“长荡湖1号”子代的有效群体数量(N_e)相对基础群体有所下降, 但各群体的 N_e 均保持在较高水平(图3)。A系G0的有效群体数量为395.9, G1和G2的有效群体数量分别为72.7和111.8; B系G0的有效群体数量为122.2, G0、G1和G2的有效群体数量分别为67.7和115.8。

2.3 中华绒螯蟹“长荡湖1号”的遗传分化

Hardy-Weinberg平衡的检测结果显示, 在检测的240个数据中, 有83个处于Hardy-Weinberg平衡, 157个显著偏离Hardy-Weinberg平衡($P<0.05$), 其中74个极显著偏离Hardy-Weinberg平衡($P<0.01$; 表4)。A系有78.33%的数据显著偏离Hardy-Weinberg平衡, 而B系中显著偏离Hardy-Weinberg平衡的数据占66.67%。位点CJ1、ES17、Esin42、JPX10、LH2、LH4和Q822在所有群体中均显著偏离Hardy-Weinberg平衡($P<0.05$), 占有位点的35%。显著偏离Hardy-Weinberg平衡位点个数最多的群体是

A系奇年G1群体, 为17个。
中华绒螯蟹“长荡湖1号”A系和B系后代与

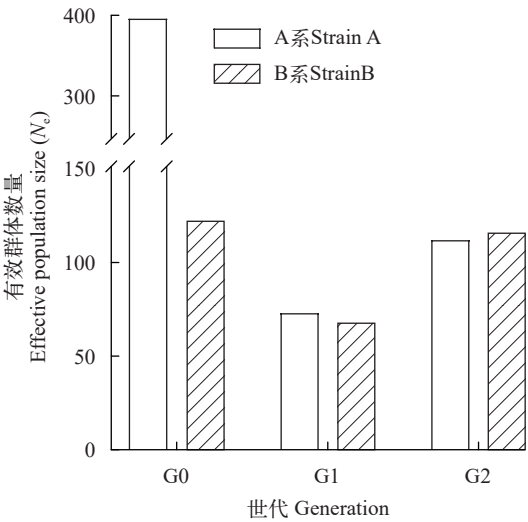


图3 “长荡湖1号”连续三代有效群体数量
Fig. 3 Effective population size (N_e) of 3 consecutive generations of “Changdang Lake 1”

表4 20个微卫星位点在“长荡湖1号”中的Hardy-Weinberg平衡P值
Tab. 4 Hardy-Weinberg equilibrium P value of 20 microsatellite loci of “Changdang Lake 1”

位点Locus	群体Population					
	A0	A1	A2	B0	B1	B2
A9	0.0217*	0.0044**	0.0627	0.0147*	0.0030**	0.0084**
B3	0.0047**	0.0963	0**	0.3599	0.2612	0.7926
CJ1	0.0004**	0.0002**	0.0028**	0.0034**	0**	0**
ES17	0**	0**	0**	0**	0**	0**
Esin36	0**	0**	0**	0.0097**	0.4078	0.0094**
Esin42	0**	0**	0**	0**	0.0068**	0.0069**
Esin67	0.5829	0.0956	0.0252*	0.1920	0.1429	0.2142
HH1	0**	0**	0.0301*	0.3213	0.1039	0.2528
HLJE25	0**	0**	0**	0.4187	0**	0.0015**
HLJE34	0.3162	0**	0.0047**	0**	0.1022	0.1541
HLJEsa42	0.2696	0.0014**	0.0091**	0.0141*	0.0052**	0**
HLJEsB88	0**	0.0296*	0.3790	0.0147*	0.0069**	0.0475*
JPX10	0**	0**	0**	0**	0.0060**	0**
LCX256	0.5622	0.0385**	1	1	0.3705	0.3429
LCX401	0.0771	0**	0.6867	0.0052**	0.5852	0.0936
LH1	0**	0**	0.2023	0.1165	0.0154*	0.0022**
LH2	0**	0**	0.0102*	0**	0**	0**
LH4	0**	0**	0**	0**	0**	0**
Q822	0**	0**	0**	0.0182*	0**	0.0082**
Q840	0**	0.0662	0**	0.0395*	0.0340*	0.3305

注: *表示显著偏离Hardy-Weinberg平衡($P<0.05$), **表示极显著偏离Hardy-Weinberg平衡($P<0.01$); A0为A系G0; A1为A系G1; A2为A系G2; B0为A系B0; B1为B系G1; B2为B系G2
Note: *indicates a significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium ($P<0.05$), **indicates very significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium ($P<0.01$); A0 is the base population of strain A; A1 is generation 1 of strain A; A2 is generation 2 of strain A; B0 is the base population of strain B; B1 is generation 1 of strain B; B2 is generation 2 of strain B

G0的遗传距离均逐代增大(表 5)。A0与A1的遗传距离为0.2455, A0与A2的遗传距离为0.2607; B0与B1的遗传距离为0.1736, B0与B2的遗传距离为0.1751。“长荡湖1号”A系和B系后代与G0的遗传分化指数 F_{st} 均逐渐增大。A0与A1群体间 F_{st} 为0.0100, A0与A2群体间 F_{st} 为0.0125; B0与B1群体间 F_{st} 为0.0026, B0与B2群体间 F_{st} 为0.0047。

中华绒螯蟹“长荡湖1号”6个群体基于20个微卫星位点的分子方差分析结果显示, 群体间变异仅占0.87%, 群体内个体间变异占99.13%, 说明“长荡湖1号”各群体间遗传分化较弱(表 6)。其中A系3代群体间变异占1.04%, 群体内个体间变异占98.96%; B系3代群体间变异占0.59%, 群体内个体间变异占99.41%。

表 5 “长荡湖1号”连续三代遗传距离D(对角线以下)和遗传分化指数 F_{st} (对角线以上)

Tab. 5 Matrix of pair-wise genetic distance (below diagonal) and F_{st} values (above diagonal) between 3 generations of “Changdang Lake 1”

群体 Population	A0	A1	A2	B0	B1	B2
A0	*****	0.0100	0.0125	0.0076	0.0077	0.0118
A1	0.2455	*****	0.0086	0.0049	0.0087	0.0067
A2	0.2607	0.1970	*****	0.0116	0.0105	0.0118
B0	0.2410	0.1815	0.2336	*****	0.0026	0.0047
B1	0.2382	0.2102	0.2179	0.1736	*****	0.0114
B2	0.2592	0.1809	0.2203	0.1751	0.2391	*****

表 6 基于20个微卫星位点的分子方差分析

Tab. 6 AMOVA based on 20 microsatellite markers

变异来源 Source of variation	自由度 Degree of freedom	平方和 Sum of squares	方差组分 Variance components	方差比例 Percentage of variation (%)
所有群体All populations				
群体间Among populations	5	63.686	0.07347	0.87
群体内个体间 Within populations	354	2948.433	8.32891	99.13
总变异Total variation	359	3012.119	8.40238	100
A系群体Strain A				
群体间Among populations	2	27.122	0.08727	1.04
群体内个体间 Within populations	177	1473.517	8.32495	98.96
总变异Total variation	179	1500.639	8.41222	100
B系群体Strain B				
群体间Among populations	2	21.567	0.04694	0.59
群体内个体间 Within populations	177	1410.100	7.96667	99.41
总变异Total variation	179	1431.667	8.01361	100

3 讨论

3.1 微卫星位点多态性

位点多态性是最受关注的微卫星位点指标。本研究选用的20个微卫星位点的平均等位基因数为27.55, 平均多态信息含量为0.8918, 均高于先前河蟹微卫星遗传多样性研究报道^[10, 11, 25]。根据Botstein等^[26]的判断标准, 当 $PIC > 0.50$ 时, 为高度多态性; 当 $0.25 < PIC < 0.50$ 时, 为中度多态性; 当 $PIC < 0.25$ 时, 为低度多态性。本研究中所有位点 PIC 均高于0.5, 表明本研究选用的20个微卫星位点具有高度多态性, 可作为有效的河蟹遗传多样性研究标记。

本研究中20个微卫星位点均在某些群体中出现显著偏离Hardy-Weinberg平衡, 这与期望杂合度略高于观测杂合度的结果相一致。在马氏珠母贝(*Pinctada martensi*)^[27]、华南鲤(*Cyprinus carpio rubrofuscus*)^[28]、凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)^[29]、三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)^[30]和中华绒螯蟹等物种的微卫星遗传多样性研究中均出现了位点显著偏离Hardy-Weinberg平衡的现象, 这是微卫星分析群体遗传多样性时出现的普遍现象。因此本研究选用的微卫星位点可用于河蟹群体的遗传多样性分析研究。

3.2 中华绒螯蟹“长荡湖1号”的遗传多样性

品种选育成功的关键在于维持遗传改良和遗传变异之间的平衡。选育的目的是培育具有优良性状的品种, 但长期的人工选择可能导致种群的遗传多样性下降, 引起目标种群的种质衰退^[31]。微卫星标记是评估种群遗传多样性的重要手段, 在刺参(*Stichopus japonicus*)^[32]、大黄鱼(*Larimichthys crocea*)^[33]、中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)^[34]、罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)^[35]和中华绒螯蟹^[36]等水产物种上都有相关研究。

由图 2a 可知平均有效等位基因数(N_e)小于平均等位基因数(N_a)。 N_e 表示等位基因频率均匀分布的位点上产生相同的期望杂合度时所需的等位基因数, 根据公式 $N_e = 1 / \sum p_i^2$ (式中 p_i 为第 i 个等位基因的频率)可知, N_e 是基因纯合度的倒数, 等位基因在群体中分布越均匀, N_e 就越接近实际观察到的等位基因数(N_a)⁵。综上, N_a 与 N_e 绝对值相差大的原因可能是: 河蟹选育群体是受强烈人工干预的群体, 某些等位基因的频率在高强度累代选育过程中可能迅速升高或降低, 而另外一些等位基因频率则可能发生随机波动, 因此, 文中抽样的微卫星位点上的等位基因在群体中的分布很不均匀, 导致 N_a 与 N_e 差异较大。

杂合度是衡量一个种群遗传多样性的重要标准, 代表微卫星位点上杂合子基因型所占比例, 反映了群体的遗传变异程度^[37]。观测杂合度 H_o 受样本数量影响较大, 而期望杂合度 H_e 更能够稳定反映群体的遗传多样性^[38]。本研究中“长荡湖1号”各群体的 H_e 为0.8832—0.9155, 显示出了很高的遗传多样性水平, 这与以往对中华绒螯蟹的研究一致^[39, 40]。A系和B系三代群体的 H_e 均逐代下降, 但不同选育世代之间 H_e 差异不大, 且下降的速度逐代变慢, 说明“长荡湖1号”的遗传多样性在选育过程中并无明显变化, 这在鲤^[41]和中国对虾^[34]的选育过程中 H_e 也有类似结果。 H_e 高于 H_o , 表明中华绒螯蟹“长荡湖1号”选育群体存在杂合子缺失现象, 与南美白对虾^[42]的相关研究结果一致。导致群体中杂合子缺失的原因很多, 如非随机交配、奠基者效应、瓶颈效应、随机遗传漂变等^[43]。对于人工选育群体而言, 导致群体内杂合子缺失的主要原因是非随机交配引起等位基因在群体中的不均匀分布, 一些等位基因在选育过程中被固定下来, 频率逐代升高, 另一些等位基因则被逐渐稀释, 频率下降, 甚至丢失。为防范因杂合子缺失导致的近交程度上升等问题, 有必要对每个选育世代建立系谱档案, 监测每代群体等位基因频率的变化, 根据杂合子缺失具体情况, 适当调整选育计划, 降低近交风险。

多态信息含量(PIC)是评价群体遗传多样性的重要参数。本研究中各群体PIC为0.8565—0.8911, 均大于0.5, 为高度多态性, 说明“长荡湖1号”各群体均具有丰富的遗传变异。A系和B系三个世代的PIC从G0到G2稍有降低, 与华南鲤^[28]、带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)和凡纳滨对虾^[44]等选育品种PIC变化趋势相一致。因此, 连续多代的人工选择对中华绒螯蟹“长荡湖1号”的遗传多样性造成了影响, 其中A系和B系的PIC都有所降低, 但各群体的遗传多态性依然很高。

本研究中“长荡湖1号”子代的有效群体数量(N_e)相对基础群体有所下降, 但各群体的 N_e 均保持在较高水平, 与中华绒螯蟹^[10]、哲罗鱼(*Hucho taimen*)^[45]和半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)^[46]等研究结果相似。对于人工选育群体(中华绒螯蟹长荡湖1号)而言, 考虑到育种工作的工作量、成本投入等因素, 保持每代近交增量(ΔF)控制在0.1%以内是比较理想的, 鉴于此, 根据公式 $\Delta F=1/2N_e$, 则每代 N_e 应不少于500。

3.3 中华绒螯蟹“长荡湖1号”的遗传分化

Hardy-Weinberg平衡检验是评估群体遗传结构稳定性的重要工具^[47]。“长荡湖1号”各群体在20个

微卫星位点中的Hardy-Weinberg平衡检测到的240个数据中, 有87个显著偏离Hardy-Weinberg平衡($P<0.05$), 占72.50%, 表明“长荡湖1号”的遗传结构处于相对不稳定的状态。在红壳色文蛤(*Meretrix meretrix*)^[48]、细鳞鲱(*Brachymystax lenok*)^[49]和中国对虾^[50]等水产物种的选育过程中, 亦发现了各代选育群体显著偏离Hardy-Weinberg平衡的现象。样本数量少、侧翼序列出现变异和近亲繁殖引起杂合子缺失都会导致群体基因型偏离Hardy-Weinberg平衡^[51]。而本实验每个群体有30个样本, 已达到进行微卫星遗传多样性分析所需的样本量^[52, 53]。因此, 导致“长荡湖1号”中华绒螯蟹各位点偏离Hardy-Weinberg平衡的原因可能是近亲交配。相比较而言, A系有78.33%的数据显著偏离Hardy-Weinberg平衡, 而B系中显著偏离Hardy-Weinberg平衡的数据占66.67%, 因此“长荡湖1号”A系的遗传结构更不稳定。

遗传分化指数 F_{st} 是评价群体间遗传分化程度的指标。根据Wright^[54]的划分, F_{st} 为0—0.05, 群体间遗传分化很小, 可以不考虑; F_{st} 为0.05—0.15, 群体间存在中等程度的遗传分化; F_{st} 为0.15—0.25, 群体间遗传分化较大; F_{st} 为0.25以上, 群体间遗传分化极大。本实验结果各群体之间 F_{st} 为0.0026—0.0125, 均小于0.05, 表明“长荡湖1号”各群体间遗传分化程度微弱, 这与以往中华绒螯蟹微卫星遗传多样性研究结果一致。

AMOVA分析结果表明, “长荡湖1号”仅0.87%的变异存在于各群体间, 而99.13%的变异发生在群体内个体间, 表明“长荡湖1号”各群体间遗传分化较弱, 这与以往研究一致^[11, 18]。其中, A系3个世代各群体间的变异所占比例高于B系, 表明B系各世代群体间遗传结构较稳定。

总的来说, 采用微卫星标记估算河蟹群体遗传多样性参数的精度受到两个因素的影响, 一是采样河蟹样本大小, 二是微卫星标记的数量多少, 一般情况下, 样本容量越大, 微卫星标记数量越多, 则遗传多样性参数(H_o 和 H_e)的估计值越精确。但考虑到微卫星标记的局限性, 后续的检测拟采用单核苷酸多态性(SNPs)来进行评估分析。SNPs具有多态性丰富, 分布广泛和易于检测等优点在遗传多样性研究、品种鉴定和动植物育种等领域受到广泛使用^[55—57]。本课题组也在进行“长荡湖1号”分子育种芯片的开发, 初步完成30K位点的筛选, 后续完成开发的芯片将被用于检测与性状相关的位点, 以此来提高选育效率, 并且能够做到大规模遗传多样性和有效种群的分析监控。

“长荡湖1号”群体选育过程中,留种率是4.5%。选择压力越高时,每代留种的个体越少,有效群体数量下降越快,群体内杂合度下降越快,群体内遗传一致度(遗传纯度)升高越快。为防止遗传纯度上升过快而引起近交衰退加速,有必要根据河蟹自身的生物学特性(繁殖力、世代间隔等)和科研、生产单位的预先制定的育种计划,设定合理的选择压力,一方面保证每代足够的遗传进展,另一方面,防止遗传一致度过快上升和近交衰退的发生,保护选育群体的遗传性能。

由于人为对优良性状的长期选育,导致“长荡湖1号”遗传多样性下降。为避免遗传多样性的进一步下降导致种质退化,同时也要保持优良性状,控制群体内平均近交系数,笔者认为应该采用以下技术措施:建立河蟹育种核心群体的谱系档案,采用现代可靠的分子遗传标记对每只亲蟹进行基因分型,并计算个体间的亲缘系数(Relatedness),根据计算结果对其编号,在人工繁殖时,尽可能挑选亲缘系数较小的亲本进行随机配组,从而最低限度降低子代的近交风险。与此同时,保证每代参加繁育的亲本有效群体大小在500只以上,从而最大程度保留亲本群体的杂合度。为增加A系和B系群体的遗传一致度,可以适时采用建立全同胞或半同胞家系的方法,逐代提高选育群体的遗传纯度。

4 结论

中华绒螯蟹“长荡湖1号”经过2代选育,出现杂合子缺失和多态信息含量降低现象,遗传结构处于相对不稳定的状态,但各群体的遗传多样性依然较高,遗传分化程度微弱,表明该品系仍具备继续选育的条件和潜力。在今后的研究中,应保持足够的繁殖亲本数量和遗传多样性,防止近交退化;同时结合分子标记辅助育种和全基因组关联育种技术,加快选育进程,使得A系和B系选育品系的优良性状不断纯化和聚合,培育出优质中华绒螯蟹新品种。

参考文献:

- [1] Fishery and Fishery Administration, et al. China Fishery Statistical Yearbook-2021 [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2021. [农业农村部渔业渔政管理局等. 中国渔业统计年鉴-2021 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2021.]
- [2] Wang C, Tan C L. Analysis on industry organization of the hairy crabs [J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2012, **40**(9): 1013-1016. [王超, 谭春兰. 大闸蟹行业的产业组织分析 [J]. 山西农业科学, 2012, **40**(9): 1013-1016.]
- [3] Jiang X, Wang H, Cheng Y, et al. Growth performance, gonad development and nutritional composition of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* selected for growth and different maturity time [J]. *Aquaculture*, 2020(523): 735194.
- [4] Zhang S Y, Fu H T, Qiao H, et al. Research progression genetics and breeding of eriocheirsinensis [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2013, **29**(20): 39-45. [张世勇, 傅洪拓, 乔慧, 等. 中华绒螯蟹遗传育种研究进展 [J]. 中国农学通报, 2013, **29**(20): 39-45.]
- [5] Wang J, Xu P, Zhou G, et al. Genetic improvement and breeding practices for Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2018, **49**(2): 292-301.
- [6] Xu J H, Zhang X, Cao Y Q, et al. Current situation and development countermeasures of crab Industry in Changdang Lake [J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2014(13): 325-326. [徐俊华, 张响, 曹迎庆, 等. 长荡湖河蟹产业现状及发展对策 [J]. 现代农业科技, 2014(13): 325-326.]
- [7] Zhou W Q, Zhang J B, Zhou W, et al. Effects of feeding compound feed and iced fresh fish on the growth and benefit of *Eriocheir sinensis* in small fine and high culture mode [J]. *Scientific Fish Farming*, 2019(2): 67-68. [周文全, 张金彪, 周威, 等. 河蟹小精高养殖模式下投喂配合饲料与冰鲜鱼对河蟹生长及效益的影响 [J]. 科学养鱼, 2019(2): 67-68.]
- [8] Luo M, Zhou W, Wang S B, et al. A preliminary study on culture performance of the first selective generation of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) “Changdang Lake 1” during the juvenile culture stage [J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2020, **47**(6): 324-328. [罗明, 周威, 王少兵, 等. “长荡湖1号”河蟹选育子一代扣蟹养殖性能的初步研究 [J]. 水产科技情报, 2020, **47**(6): 324-328.]
- [9] Sun X W. Molecular Breeding of Fish [M]. Beijing: Ocean Press, 2010. [孙效文. 鱼类分子育种学 [M]. 北京: 海洋出版社, 2010.]
- [10] Li Q, Wu X, He J, et al. Can genetic diversity be maintained during mass selection of the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* [J]? *Aquaculture Research*, 2018, **49**(4): 1606-1615.
- [11] Xiao Q Z, Liu Q, Wu X G, et al. Genetic diversity analysis of wild and cultured megalopa population of *Eriocheir sinensis* from Yangtze River [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2017, **36**(5): 1935-1945. [肖起珍, 刘青, 吴旭干, 等. 长江水系中华绒螯蟹野生和人工繁殖大眼幼体的遗传多样性分析 [J]. 基因组学与应用生物学, 2017, **36**(5): 1935-1945.]
- [12] Liu Q, Liu H, Wu X G, et al. Genetic variation of wild and cultured populations of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* from the Yangtze, Huanghe, and Liaohe River Basins using microsatellite marker [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2015, **46**(4): 958-968. [刘青, 刘皓, 吴旭干, 等. 长江、黄河和辽河水系中华绒螯蟹野生和养

- 殖群体遗传变异的微卫星分析 [J]. *海洋与湖沼*, 2015, **46**(4): 958-968.]
- [13] Xiong L W, Liu Z Q, Yan Y L, *et al.* The segregation patterns of 37 polymorphism tri-nucleotide microsatellite markers in an F1 family of the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, **39**(2): 174-181. [熊良伟, 刘志强, 严银龙, 等. 中华绒螯蟹37个多态性微卫星标记在亲子遗传中的分离方式分析 [J]. 水产学报, 2015, **39**(2): 174-181.]
- [14] Xiao Q Z, Liu Q, Li Q Q, *et al.* Development and application of multiplex PCR panels of microsatellites in Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2018, **25**(2): 325-335. [肖起珍, 刘青, 李清清, 等. 中华绒螯蟹微卫星多重PCR体系的建立及其亲子鉴定应用 [J]. 中国水产科学, 2018, **25**(2): 325-335.]
- [15] Xu J J, Bi Y H, Cheng J H, *et al.* Study on distribution characteristics of whole genome microsatellite of *Eriocheir sinensis* [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2021, **40**(S2): 2422-2429. [徐杰杰, 毕宜慧, 程景颢, 等. 中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)全基因组微卫星分布特征研究 [J]. 基因组学与应用生物学, 2021, **40**(S2): 2422-2429.]
- [16] Wang Z G, Li X D, Jiang Y S, *et al.* Population genetic analysis on *Eriocheir sinensis* with the red shell using microsatellite markers [J]. *Chinese Fishery Quality and Standards*, 2018, **8**(3): 34-41. [王正光, 李晓东, 姜玉声, 等. 红壳色中华绒螯蟹群体遗传特征的微卫星分析 [J]. 中国渔业质量与标准, 2018, **8**(3): 34-41.]
- [17] Sambrook J. Molecular cloning: a laboratory manual [M]. Array Cold Spring Harbor, N. Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001
- [18] Wang Z Q, Huang S, Mao H C, *et al.* Genetic differentiation analysis of the even and odd year populations of Chinese mitten crab [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2013, **22**(5): 657-664. [王中清, 黄姝, 茅海成, 等. 中华绒螯蟹奇、偶年天然群体的遗传差异分析 [J]. 上海海洋大学学报, 2013, **22**(5): 657-664.]
- [19] Yeh F C, Boyle J. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis [J]. 1997.
- [20] Nagy S, Poczai P, Cernák I, *et al.* PICcalc: an online program to calculate polymorphic information content for molecular genetic studies [J]. *Biochemical Genetics*, 2012, **50**(9): 670-672.
- [21] Kalinowski S T, Taper M L, Marshall T C. Revising how the computer program cervus accommodates genotyping error increases success in paternity assignment [J]. *Molecular Ecology*, 2007, **16**(5): 1099-1106.
- [22] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis [J]. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 2007(1): 47-50.
- [23] Raymond M, Rousset F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism [J]. *Journal of Heredity*, 1995, **86**(3): 248-249.
- [24] Do C, Waples R S, Peel D, *et al.* NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (N_e) from genetic data [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2014, **14**(1): 209-214.
- [25] Chang Y, Liang L, Ma H, *et al.* Microsatellite analysis of genetic diversity and population structure of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2008, **35**(3): 171-176.
- [26] 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.
- [27] Su X Y, Dai Y X, Tan J, *et al.* Analysis of genetic diversity in black shell color populations of *Pinctada martensii* by SSR markers [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2021, **40**(2): 615-621. [苏晓盈, 代永仙, 谭杰, 等. 马氏珠母贝(*Pinctada martensii*)黑壳色养殖群体SSR遗传多样性分析 [J]. 基因组学与应用生物学, 2021, **40**(2): 615-621.]
- [28] Ma D M, Su H H, Zhu H P, *et al.* Genetic diversity and genetic structure analysis of different selective breeding generations in *Cyprinus carpio rubrofasciatus* using microsatellite markers [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2018, **42**(5): 887-895. [马冬梅, 苏焕换, 朱华平, 等. 华南鲤选育群体不同世代遗传多样性与遗传结构的微卫星分析 [J]. 水生生物学报, 2018, **42**(5): 887-895.]
- [29] Ma C Y, Ma H Y, Ma L B, *et al.* Microsatellite analysis on genetic variation of imported *Litopenaeus vannamei*-population and cultured stocks [J]. *Marine Fisheries*, 2011, **33**(1): 1-8. [马春艳, 马洪雨, 马凌波, 等. 凡纳滨对虾引进群体和2个养殖群体遗传变异的微卫星分析 [J]. 海洋渔业, 2011, **33**(1): 1-8.]
- [30] Li X P, Liu P, Li J, *et al.* Genetic diversity among five wild populations of *Portunus trituberculatus* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2011, **18**(6): 1327-1334. [李晓萍, 刘萍, 李健, 等. 应用SSR分析5个三疣梭子蟹野生群体的遗传多样性 [J]. 中国水产科学, 2011, **18**(6): 1327-1334.]
- [31] Ma D Y, Hu H L, Kong J. Inbreeding and its impact on aquaculture [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2005, **29**(6): 849-856. [马大勇, 胡红浪, 孔杰. 近交及其对水产养殖的影响 [J]. 水产学报, 2005, **29**(6): 849-856.]
- [32] Sun X D, Sun G H, Yuan T Z, *et al.* Genetic variations of wild and selectively bred populations of a sea cucumber *Apostichopus japonicus* [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2011, **42**(3): 380-386. [孙孝德, 孙国华, 袁廷柱, 等. 刺参(*Apostichopus japonicus*)野生及两代选育群体间遗传变异的微卫星标记研究 [J]. 海洋与湖沼, 2011, **42**(3): 380-386.]
- [33] Zhao G T, Liu X D, Wang Z Y, *et al.* Genetic structure and genetic diversity analysis of four consecutive breeding generations of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) using microsatellite markers [J]. *Journal of Fish-*

- ries of China*, 2010, **34**(4): 500-507. [赵广泰, 刘贤德, 王志勇, 等. 大黄鱼连续4代选育群体遗传多样性与遗传结构的微卫星分析 [J]. *水产学报*, 2010, **34**(4): 500-507.]
- [34] Zhang T S, Wang Q Y, Liu P, *et al.* Genetic diversity analysis on selected populations of shrimp *Fenneropenaeus chinensis* by microsatellites [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2005, **36**(1): 72-80. [张天时, 王清印, 刘萍, 李健, 孔杰. 中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)人工选育群体不同世代的微卫星分析 [J]. *海洋与湖沼*, 2005, **36**(1): 72-80.]
- [35] Sun C F, Ye X, Dong J J, *et al.* Genetic diversity analysis of six cultured populations of *Macrobrachium rosenbergii* using microsatellite markers [J]. *South China Fisheries Science*, 2015, **11**(2): 20-26. [孙成飞, 叶星, 董浚键, 等. 罗氏沼虾6个养殖群体遗传多样性的微卫星分析 [J]. *南方水产科学*, 2015, **11**(2): 20-26.]
- [36] Xiong L W, Li Z, Ma K Y, *et al.* Analysis of genetic diversity in cultured populations of the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) by microsatellite markers [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2012, **20**(12): 1441-1448.
- [37] Appleyard S A, Ward R D. Genetic diversity and effective population size in mass selection lines of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) [J]. *Aquaculture*, 2006, **254**(1/2/3/4): 148-159.
- [38] Qin Y, Shi G, Sun Y. Evaluation of genetic diversity in *Pampus argenteus* using SSR markers [J]. *Genetics and Molecular Research*, 2013, **12**(4): 5833-5841.
- [39] Tang L X, Xu Z Q, Ge J C, *et al.* Microsatellite analysis on the genetic structure of three breeding stocks of *Eriocheir sinensis* [J]. *Journal of Nanjing Normal University (Natural Science Edition)*, 2013, **36**(2): 84-90. [唐刘秀, 许志强, 葛家春, 等. 中华绒螯蟹3个育种基础群体遗传特征微卫星分析 [J]. *南京师大学报(自然科学版)*, 2013, **36**(2): 84-90.]
- [40] Xu Z Q, Ge J C, Li Y H, *et al.* The population genetic structure analysis on four stocks of *Eriocheir sinensis* from different water systems using microsatellite markers [J]. *Journal of Nanjing University (Natural Sciences)*, 2011, **47**(1): 82-90. [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微卫星标记分析 [J]. *南京大学学报(自然科学版)*, 2011, **47**(1): 82-90.]
- [41] Chi X F, Jia Z Y, Li C T, *et al.* SSR analysis of selected high-harvesting populations of common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2010, **19**(3): 308-313. [池喜峰, 贾智英, 李池陶, 等. 鲤鱼捕性性状选育群体不同世代微卫星分析 [J]. *上海海洋大学学报*, 2010, **19**(3): 308-313.]
- [42] Valles-Jimenez R, Cruz P, Perez-Enriquez R. Population genetic structure of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from Mexico to Panama: microsatellite DNA variation [J]. *Marine Biotechnology*, 2004, **6**(5): 475-484.
- [43] Antoro S, Na-Nakorn U, Koedprang W. Study of genetic diversity of orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, from Thailand and Indonesia using microsatellite markers [J]. *Marine Biotechnology*, 2006, **8**(1): 17-26.
- [44] Peng M, Chen H F, Li Q Y, *et al.* Genetic diversity of three consecutive generations of *Litopenaeus vannamei* [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2020, **51**(6): 1442-1450. [彭敏, 陈慧芳, 李强勇, 等. 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.]
- [45] Liu B, Kuang Y Y, Tong G X, *et al.* Analysis of genetic diversity on 9 wild stocks of Taimen (*Hucho taimen*) by microsatellite markers [J]. *Zoological Research*, 2011, **32**(06): 597-604. [刘博, 匡友谊, 佟广香, 等. 微卫星分析9个哲罗鱼野生群体的遗传多样性 [J]. *动物学研究*, 2011, **32**(06): 597-604.]
- [46] Wang W F, Cui Y, Jiang L, *et al.* Effective population size estimation of half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, **43**(4): 997-1004. [王伟峰, 崔瑜, 蒋丽, 等. 半滑舌鳎有效群体大小估计 [J]. *水产学报*, 2019, **43**(4): 997-1004.]
- [47] Crane P A, Lewis C J, Kretschmer E J, *et al.* Characterization and inheritance of seven microsatellite loci from Dolly Varden, *Salvelinus malma*, and cross-species amplification in Arctic char, *S* [J]. *Conservation Genetics*, 2004, **5**(5): 737-741.
- [48] Tian Z, Chen A H, Cao Y, *et al.* Microsatellite analysis on genetic diversity of breeding populations of red shell color *Meretrix meretrix* [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2021, **52**(9): 2582-2589. [田镇, 陈爱华, 曹奕, 等. 红壳色文蛤选育群体遗传多样性的微卫星分析 [J]. *南方农业学报*, 2021, **52**(9): 2582-2589.]
- [49] Huang T Q, Xu G F, Gu W, *et al.* Genetic structure of three consecutive breeding generations of *Brachymystax lenok* revealed by microsatellite markers [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2018, **49**(4): 858-865. [黄天晴, 徐革锋, 谷伟, 等. 用微卫星分析细鳞鲑(*Brachymystax lenok*)连续3代选育群体的遗传结构 [J]. *海洋与湖沼*, 2018, **49**(4): 858-865.]
- [50] Gai C W, Li X P, Cao B X, *et al.* Genetic diversity analysis and SNP loci screening of four generations of *Fenneropenaeus chinensis* and one wild population [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2021, **28**(12): 1505-1514. [盖超伟, 李旭鹏, 曹宝祥, 等. 中国对虾4代人工选育群体与1个野生群体遗传多样性分析及差异SNP位点筛查 [J]. *中国水产科学*, 2021, **28**(12): 1505-1514.]
- [51] Song W, Meng Y Y, Jiang K J, *et al.* Analysis of genetic diversity among seven wild *Collichthys lucidus* populations by using microsatellite marker [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, **41**(1): 31-39. [宋炜, 孟永永, 蒋科技, 等. 棘头梅童鱼七个野生群体遗传多样性的微卫星分析 [J]. *水产学报*, 2017, **41**(1): 31-39.]
- [52] Dai X L, Liu J, Li J J, *et al.* Effects of sample size and loci number on genetic diversity index in *Macrobrachium rosenbergii* with microsatellite markers [J]. *Journal of*

- Fisheries of China*, 2017, **41**(7): 1083-1095. [戴习林, 刘洁, 李晶晶, 等. 罗氏沼虾种群SSR分析中样本量及标记量对遗传多样性指标的影响 [J]. *水产学报*, 2017, **41**(7): 1083-1095.]
- [53] Zhang G X, Ding F X, Zhao X H, *et al.* Effects of sample size and gender on population genetic diversity in microsatellite analysis [J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2011, **43**(6): 36-39. [张跟喜, 丁馥香, 赵秀华, 等. 微卫星分析中样本量和性别对群体遗传多样性的影响 [J]. *畜牧与兽医*, 2011, **43**(6): 36-39.]
- [54] Wright S. Genetic structure of populations [J]. *British Medical Journal*, 1950, **2**(4669):36.
- [55] Smith C T, Templin W D, Seeb J E, *et al.* Single nucleotide polymorphisms provide rapid and accurate estimates of the proportions of US and Canadian Chinook salmon caught in Yukon River fisheries [J]. *North American Journal of Fisheries Management*, 2005, **25**(3): 944-953.
- [56] Yamamoto K, Narukawa J, Kadono-Okuda K, *et al.* Construction of a single nucleotide polymorphism linkage map for the silkworm, *Bombyx mori*, based on bacterial artificial chromosome end sequences [J]. *Genetics*, 2006, **173**(1): 151-161.
- [57] Ciobanu D C, Bastiaansen J W, Magrin J, *et al.* A major SNP resource for dissection of phenotypic and genetic variation in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Animal Genetics*, 2010, **41**(1): 39-47.

GENETIC DIVERSITY OF THREE CONSECUTIVE GENERATIONS OF *ERIOCHEIR SINENSIS* “CHANGDANG LAKE 1”

ZHUANG Zhen-Jun¹, TANG Mei-Jun¹, ZHANG Dong-Dong¹, CHEN Wen-Bin², LUO Ming²,
CHENG Yong-Xu¹, WU Xu-Gan^{1,3,4} and CHEN Xiao-Wu^{1,3}

(1. Key Laboratory of Freshwater Germplasm Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Fisheries Technical Extension Centre of Changzhou Jintan District, Changzhou 213200, China;

3. Shanghai Collaborative Innovation Center for Cultivating Elite Breeds and Green-culture of Aquaculture Animals, Shanghai 201306, China; 4. Shanghai Ocean University, National Demonstration Centre for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai 201306, China)

Abstract: In order to explore the genetic diversity of the selective breeding population of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*, 20 microsatellite markers were used to analyze the genetic diversity of 3 consecutive generations of strain A and strain B of “Changdang Lake 1” Chinese mitten crab. The results are presented in the following, a total of 551 alleles were detected from 20 microsatellite markers for 6 populations. The average number of alleles (N_a) were 27.55, the average number of effective alleles (N_e) was 13.61, the average observed heterozygosity (H_o) was 0.72, the average expected heterozygosity (H_e) was 0.90, the average Shannon information index (I) was 2.73, and the average polymorphic information content (PIC) was 0.89. In the process of breeding, PIC of strain A and strain B had a downward trend, and H_e and H_o of each population maintained a high level. The effective population size (N_e) in G1 and G2 of strain A were 72.7 and 111.8, and the N_e in G1 and G2 of strain B were 67.7 and 115.8, maintaining a high level. The Hardy-Weinber balance test showed that 72.5% of the data deviated from Hardy-Weinber balance, indicating that the genetic structure of the breeding population was relatively unstable. The genetic distance between G0 and G1 of strain A was 0.2455, and it increased to 0.2607 between G1 and G2. The genetic distance between G0 and G1 of strain B was 0.1736, and it increased to 0.1751 between G1 and G2. The genetic differentiation coefficients (F_{st}) ranged from 0.0026 to 0.0125, indicating that the genetic differentiations among populations was light. The results of molecular variance analysis (AMOVA) analysis showed that only 0.87% of the variation originated from different populations of “Changdang Lake 1”, while 99.13% variation occurred among individuals within the population. In conclusion, the genetic diversity and the effective population size were maintained high in each population of “Changdang Lake 1” Chinese mitten crab, but the genetic structure was unstable, so enough breeding parents and genetic diversity should be maintained to prevent inbreeding depression in the future breeding of “Changdang Lake 1”. This study may provide practical reference for the breeding of new strain of Chinese mitten crab, and accumulate data onto the continuous breeding and promotion of “Changdang Lake 1”.

Key words: New strain selection; Microsatellite markers; Genetic diversity; Effective population size; *Eriocheir sinensis*