

脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)回交家系遗传变异的微卫星分析*

刘九美^{1,2} 李吉涛² 刘萍^{2,3①} 窦全伟^{1,2} 王佳佳² 李健^{2,3}

(1. 大连海洋大学水产与生命学院 大连 116023; 2. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071; 3. 青岛海洋科学与技术国家实验室 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室 青岛 266071)

摘要 为解析脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)回交家系的遗传变异规律,本研究利用自行开发的25个微卫星标记对本实验室构建的A、B、C3个回交家系的遗传结构特征进行了分析。结果显示,回交家系A、B、C的平均等位基因数(N_a)分别为2.21、2.18、2.09,观测杂合度(H_o)分别为0.3805、0.3703、0.2489,期望杂合度(H_e)分别为0.3629、0.3998、0.2503,多态信息含量(PIC)分别为0.3257、0.3391、0.2585,相较于野生群体与杂交家系已有了大幅度的降低,属中度或低度多态。回交家系A、B、C在25个位点共得到62个等位基因,其中,A家系56个,B家系54个,C家系51个,3个回交家系共同存在的等位基因为39个,6个位点在回交家系中已经纯合(其中,ECL10在A、B、C中都已纯合),计算得出3个回交家系的纯合率分别达到了53.86%、56.53%、63.33%。由此可见,回交家系的基因纯化速率较快,适用于脊尾白虾重要经济性状的遗传解析和优良种质的选育。

关键词 脊尾白虾;回交家系;微卫星;遗传变异

中图分类号 S961.2 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2017)03-0133-07

脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)是我国沿海重要的中小型经济虾类之一,以黄、渤海产量最高,具有生长速度快、繁殖能力强、环境适应性广等优点。近年来其养殖面积迅速扩大,成为沿海滩涂地区主要的特色水产养殖品种(王兴强等,2008)。但是,目前脊尾白虾养殖的苗种主要依赖捕捞野生天然苗或投放抱卵亲虾自行繁殖,而上述方式无法避免种质来源不稳定和携带病源等问题的干扰(梁俊平等,2012;梁俊平,2013¹⁾)。影响脊尾白虾养殖产业可持续发展

的瓶颈问题是良种缺乏,培育生长速度快、抗逆性强的优良品种是产业亟需解决的问题(李吉涛等,2013;王有昆等,2015)。

回交作为杂交育种的重要手段,旨在通过杂交后代与亲本的再次杂交,从而使杂交后代进一步加强轮回亲本的某些优良性状,减少杂交后代性状的分离,同时保留非轮回亲本的某些优良性状。因此,回交更有利于提高品种的优越性、有利于正确选择具有某些特定性状的优良品种。回交育种已经在农作物中广泛

* 国家虾产业技术体系(CARS-47)、泰山产业领军人才工程项目(LJNY2015002)、国家自然科学基金项目(31472275)和青岛海洋科学与技术国家实验室鳌山科技创新计划项目(2015ASKJ02)共同资助[This work was supported by the earmarked fund for Modern Agro-Industry Technology Research System (CARS-47), the Program of Shandong Leading Talent (LJNY2015002), National Natural Science Foundation of China (31472275) and the Scientific and Technological Innovation Project Financially Supported by Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology (2015ASKJ02)]. 刘九美, E-mail: 358829479@qq.com

① 通讯作者:刘萍,研究员, E-mail: liuping@ysfri.ac.cn

收稿日期:2016-12-29, 收修改稿日期:2017-01-18

1) Liang JP. Study on the technology of artificial breeding and expression of genes involving in reproducing of *Exopalaemon carinicauda*. Doctoral Dissertation of Ocean University of China, 2013 [梁俊平. 脊尾白虾全人工繁育及繁殖相关基因的研究. 中国海洋大学博士研究生学位论文, 2013]

应用,何云霞等(2009)¹⁾应用回交育种和 QTL 聚合改良粳稻抗旱性;赵福宽等(2004)用高代回交材料筛选与番茄(*Lycopersicon*)耐冷性相关的 RAPD 分子标记。鱼类中也有相关报道(Sekino *et al.*, 2005; Ruan *et al.*, 2010),如利用微卫星技术对尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)、萨罗罗非鱼(*Sarotherodon melanotheron*)及其正反杂交鱼的正反回交子代进行了遗传变异分析,探讨了回交的遗传效应(李腾云等, 2008; 吴俊伟等, 2015; 刘于信等, 2009); 储志远等(2011)利用 132 对 SSRs 标记和 63 对 EST-SSRs 标记对柏氏鲤(*Cyprinus pellegrini* Tchang)和荷包红鲤(*Cyprinus carpio* var. *wuyuanensis*)抗寒品系回交子代的 84 个个体进行检测,并与生长性状进行了相关性分析。

近年来,微卫星技术在脊尾白虾遗传育种研究中得到了广泛地应用(马朋等, 2011)。贾舒雯等(2012)、Jia 等(2013)利用微卫星对脊尾白虾 3 个不同地理群体的遗传多样性和遗传结构进行了分析。王日芳等(2016)²⁾利用微卫星对近交家系的遗传多样性分析,得出 3 个近交家系 7-9 世代的纯合率已经达到 56.21%-77.59%,并且家系间已呈分化趋势。由于虾类大多属于一年生,目前,在虾类中进行回交并开展相关研究较少。本研究利用脊尾白虾一年可多次性成熟的特性,首次构建了脊尾白虾的回交家系,采用 25 个微卫星标记对 3 个回交家系进行了遗传多样性分析,旨在分子水平上探讨回交家系的遗传特性,为脊尾白虾遗传育种工作提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 家系构建及样品采集

从浙江象山野生群体和山东日照野生群体中选择体型好、个体大、性成熟的个体作为原始亲本。3 个回交家系及杂交家系 F₁ 的构建方法:A. 象山♀ × (象山♀ × 日照♂)♂; B. 日照♀ × (日照♀ × 象山♂)♂; C. (象山♀ × 日照♂)♀ × 日照♂; F₁. 象山♀ × 日照♂。

1.1.1 回交群体的幼体培育和养殖 每个回交家系各取 500 尾 I 期蚤状幼体,单独放入 200 L 桶中,采用常规方法培育。不同家系同一阶段的培育条件一致。幼体以褶皱臂尾轮虫(*Brachinonus plicatilis*)、卤虫(*Artemia sinica*)为主要饵料,每天换水 10%,连续充气

培养。幼体转成仔虾后,每个家系各取 300 尾仔虾,转入 500 L 桶中,继续养殖,养殖条件保持一致。

待各家系个体养成成虾,各家系随机选取 30 尾,取肌肉,放入 95%乙醇保存,待提取 DNA。

1.2 基因组 DNA 的提取

基因组 DNA 的提取参照刘萍等(2000)传统酚氯仿方法,从脊尾白虾腹部肌肉中提取基因组 DNA,溶解于灭菌 ddH₂O 中,稀释至 60-80 ng/μl 备用。

1.3 脊尾白虾基因组 DNA 的微卫星分析

选取自行开发的多态性较好的 25 对微卫星标记引物(表 1),交由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。PCR 扩增体系(20 μl): 2 μl 基因组 DNA (60-80 ng/μl),正、反向引物(100 μmol/ml)各 1 μl, 10 μl 2 × TsingKe™ Master Mix, 6 μl 灭菌水。PCR 反应程序: 95℃ 预变性 5 min, 95℃ 变性 40 s, 退火温度(49℃ -63℃) 40 s, 72℃ 延伸 40 s, 30-35 个循环, 72℃ 充分延伸 10 min。PCR 扩增产物用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离、银染检测,数码相机拍照。

1.4 微卫星数据统计

胶染色后,在灯照下通过与 DNA 分子量标准(PBR322 DNA marker)对比判读每尾个体的基因型大小及基因分型。其中,无扩增条带则为无效等位基因,1 条条带的为纯合子,2 条条带的为杂合子。利用群体遗传分析软件 PopGene 32,计算 3 个回交家系 25 个标记位点的等位基因数(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),遗传距离(D),并计算各家系间 Nei 氏标准遗传距离(1972),进行系统聚类分析。计算 3 个回交家系、野生群体、杂交家系在 25 个微卫星座位的平均基因纯合率(个体样本为纯合子的基因位点数占全部基因位点数的百分比)。

2 结果

2.1 遗传多样性

3 个回交家系各个位点的遗传多样性参数 N_a 、 H_o 、 H_e 、PIC 见表 2。25 个位点在 3 个家系中共检测到 62 个等位基因。各家系的等位基因数分别为 56、

1) He YX. Improving drought tolerance of japonica rice by BC breeding and QTL pyramiding. Doctoral Dissertation of Shenyang Agricultural University, 2009 [何云霞. 应用回交育种和 QTL 聚合改良粳稻抗旱性. 沈阳农业大学博士研究生学位论文, 2009]

2) Wang RF. Genetic diversity in inbred lines of *Exopalaemon carinicauda* based on microsatellite loci. Master's Thesis of Shanghai Ocean University, 2016 [王日芳. 脊尾白虾近交系遗传多样性的微卫星分析. 上海海洋大学硕士研究生学位论文, 2016]

表 1 脊尾白虾微卫星引物的序列
Tab.1 Microsatellite primers of *E. carinicauda* used in this study

位点 Locus	登录号 Accession Number	核心重复序列 Repeat motif	引物序列 Primer sequence(5'-3')	退火温度 Annealing temperature(°C)
ECL01	KX394743	(TG)6	F:AAGGGTGAAAAGGAGGAG R:AAGGGTGAAAAGGAGGAG	51
ECL02	KX394744	(TA)7	F:GGCGAACCAAAGAAGATA R:CACAGCAAAATAGCACCA	51
ECL03	KX394745	(TCA)5	F:AGTGTGGAATACCGTGGGA R:GTGCCTCCCAAGTAAGAA	57
ECL04	KX394746	(TAG)13	F:ATTGCACAGGAGAGCTTAG R:CAACACAACTACTGAGCG	55
ECL05	KX394747	(TAT)5	F:ACCCTTATGGTACTCTGT R:GAGGCTCAATACTACACA	57
ECL06	KX394748	(TCC)5	F:TGTGGTGATTCTCTCCTG R:GACAGATTCTCAGCAGCA	57
ECL07	KX394749	(GAT)5	F:TAGGAGATGGTGAATGGA R:ACATCCTCAATGGCACTA	55
ECL08	KX394750	(ATT)7	F:AATGGTGGTGGGGTAGTT R:CTATTTGGAGCCCTTGTG	53
ECL09	KX394751	(T)12a(T)10	F:TCGCAATCAGACAAGCAG R:CCATACACAACCCCTCAA	53
ECL10	KX394752	(AT)9(GT)6	F:GCGGTGTTTCGGGATAGT R:GTGCTTGTGTGTGGGGT	53
ECL11	KX394753	(T)10ctag(T)10	F:CAGTCCTGGGGAAAATAG R:TCCTTGACCTCATCCTGT	51
ECL12	KX394754	(A)10tatt(A)10	F:CAAATCGGAAACAAGGCT R:GCACGCATTCAACAAAAC	54
ECL13	KX394755	(TG)7taca(TG)7	F:GTCACGGAAACGGCAACA R:TAGCGGACGGGTAGCATT	51
ECL16	KX394758	(T)14ctttatga(T)11	F:TGTGTTTCATACCAAGGGG R:ACCAATGTCCAGCAGTCA	53
ECL17	KX394759	(A)10cattgacgta(AC)7	F:GCTTCTCACAAAACCTCCC R:CTTAGGTGGTGGCTCTTT	51
ECL18	KX394760	(AC)7ttagatatac(CA)7	F:AGACGAAGCGAGATTGAG R:GGTGACTCCACAAAGCAT	54
ECL19	KX394761	(AT)6gcacacatctgta(TA)6	F:GCCAGACTTTACCAATGC R:CGAAGCAGATGAGGAATG	53
ECL20	KX394762	(GGGTTA)5ggattaggg(TTAGGA)5	F:GTGTTTCGTGCGTTCGGTTT R:CGAAAAGGCTTCAGGCAC	53
ECL23	KX394765	(AC)6gcacatg(CA)8	F:ATCTTGTCCACGACCGCA R:AAACCCTAACCTTCCCCC	51
ECL24	KX394766	(GT)9a(TG)6	F:CCCCTGCGTAAGTTTCTG R:TGTAGTGCTCGTTGTGGC	53
ECL25	KX394767	(CA)7ac(A)10	F:GAGTGTTCCTGTTCCCATT R:CTTTCGTGTATGCGTTGAC	53
ECL26	KX394768	(T)11actgttgatgtt(TG)7	F:ATGCTTTATGCGTCCTCT R:AAACAGAACCACAAAGGG	54
ECL27	KX394769	(ATA)5	F:TGAGAAGTTCAAACCTGC R:AGCCACGATTGTCATAAC	51
ECL29	KX394771	(GCA)6	F:CTTTGTTGGTCTGCGGTC R:GTTTGTGGAGGAGGGGAA	51
ECL31	KX394773	(AAC)5	F:GTTCTGACAAAAACCTCG R:CGTAAACGAAATCAGTCC	52

54、51, 3个回交家系共同存在39个等位基因, 其中, A家系的等位基因数最多。经进一步计算, 将3个回交家系、杂交家系、野生群体的25个位点的遗传多样性的相应指标平均值罗列在表3, 可更直观的进行家系间的差异对比。由表3可知, A、B和C家系的平均等位基因 N_a 分别为2.21、2.18、2.09; 观

测杂合度 H_o 分别为0.3805、0.3703、0.2489; 期望杂合度 H_e 分别为0.3629、0.3998、0.2503; 多态信息含量 PIC 分别为0.3257、0.3391、0.2585。A、B回交家系呈现中度多态($0.5 < PIC < 0.25$), 而C回交家系为低度多态($PIC < 0.25$), 相较于野生群体与杂交家系显著降低。

表2 各回交家系25微卫星位点的遗传多样性参数值
Tab.2 The genetic parameters of 25 microsatellite loci of each backcross family

位点 Locus	回交群体 A Backcross family A				回交群体 B Backcross family B				回交群体 C Backcross family C			
	N_a	H_o	H_e	PIC	N_a	H_o	H_e	PIC	N_a	H_o	H_e	PIC
ECL01	2	0.0491	0.0491	0.0467	2	0.4471	0.5089	0.3072	2	0.1221	0.0761	0.0700
ECL02	3	0.6365	0.7333	0.4600	3	0.5336	0.6356	0.4921	3	0.8007	0.7835	0.4921
ECL03	2	0.5221	0.4721	0.5683	3	0.6705	0.8705	0.6641	2	0.6154	0.6901	0.3550
ECL04	1	0.0000	0.0000	0.0000	1	0.0000	0.0000	0.0000	2	0.0000	0.0000	0.0061
ECL05	2	0.6027	0.5000	0.6111	2	0.3174	0.4079	0.3967	2	0.3332	0.3289	0.4410
ECL06	3	0.8996	0.9116	0.5539	2	0.7714	0.6740	0.5539	*	*	*	*
ECL07	2	0.1237	0.0222	0.0317	2	0.0000	0.0000	0.0018	2	0.0000	0.0000	0.0041
ECL08	4	0.5611	0.7000	0.6798	4	0.6373	0.7338	0.6853	3	0.4437	0.5698	0.6420
ECL09	3	0.6721	0.6333	0.6311	3	0.8251	0.7887	0.7378	2	0.1034	0.0244	0.1270
ECL10	1	0.0000	0.0000	0.0000	1	0.0000	0.0000	0.0000	1	0.0000	0.0000	0.0000
ECL11	2	0.3142	0.2000	0.1638	2	0.2221	0.1723	0.1638	2	0.0312	0.0151	0.1410
ECL12	2	0.1546	0.1079	0.2310	3	0.2135	0.3559	0.4499	2	0.1393	0.1339	0.2014
ECL13	2	0.3121	0.2000	0.1638	1	0.0000	0.0000	0.0000	1	0.0000	0.0000	0.0000
ECL16	3	0.6667	0.5667	0.6167	3	0.5774	0.6356	0.6030	3	0.7835	0.7835	0.6050
ECL17	2	0.2166	0.1667	0.1529	3	0.4907	0.4705	0.5312	3	0.3359	0.3359	0.3821
ECL18	2	0.1998	0.2667	0.1416	2	0.1392	0.2326	0.1410	2	0.0225	0.0225	0.1849
ECL19	2	0.2118	0.2000	0.2937	1	0.0000	0.0000	0.0000	1	0.0000	0.0000	0.0000
ECL20	3	0.5124	0.4667	0.5925	2	0.6831	0.6740	0.5814	3	0.4211	0.4211	0.5804
ECL23	2	0.0892	0.0333	0.0323	*	*	*	*	2	0.0517	0.0517	0.1167
ECL24	2	0.1007	0.1667	0.1411	2	0.1667	0.1338	0.1268	2	0.0037	0.0037	0.0603
ECL25	*	*	*	*	1	0.0000	0.0000	0.0000	1	0.0000	0.0000	0.0000
ECL26	2	0.5731	0.6000	0.6004	3	0.6221	0.6751	0.5896	3	0.6393	0.6393	0.5946
ECL27	4	0.6796	0.7333	0.7082	3	0.6387	0.6723	0.6820	3	0.5951	0.5951	0.7002
ECL29	3	0.9333	0.9667	0.3499	3	0.9333	0.9559	0.4292	3	0.5336	0.5336	0.5001
ECL31	2	0.1033	0.0134	0.0465	2	0.0000	0.0000	0.0021	1	0.0000	0.0000	0.0000

*表示无效等位基因位点

* indicated null allele loci

表3 各群体在25个微卫星位点上的遗传多样性参数
Tab.3 Genetic diversity parameters of 25 microsatellite loci of each population

群体 Population	平均有效 等位基因数 N_e	平均等位 基因数 N_a	平均期望 杂合度 H_o	平均观测 杂合度 H_e	平均多态 信息含量 PIC
野生群体 Wild population	2.97	4.48	0.5891	0.6535	0.5821
杂交家系 Hybrid family	2.78	4.32	0.6138	0.7006	0.6123
回交家系 A Backcross family A	1.45	2.21	0.3805	0.3629	0.3257
回交家系 B Backcross family B	1.32	2.18	0.3703	0.3998	0.3391
回交家系 C Backcross family C	1.09	2.09	0.2489	0.2503	0.2585

2.2 纯合率

3 个家系 25 个位点中分别有部分位点发生纯合(表 4), 其中, ECL10 在 3 个回交家系中都发生了纯合, ECL13、ECL19、ECL25 位点在 B、C 家系中发生了纯合, ECL04 在 A、B 家系中发生纯合, ECL31 在 C 家系中表现为纯合。基因纯合率是各个体的纯合座位占总检测座位的比率。各家系的平均纯合率分别为 53.86%、56.53%、63.33%, 显著高于野生群体基因纯合率(16.91%)和杂交家系的基因纯合率(15.38%)(表 4)。且在 3 个家系中各发现了一个无效等位基因位点(如表 4 所示, A 家系中的无效等位基

因位点 ECL25, B 家系中的无效等位基因位点 ECL23, C 家系中的无效等位基因位点 ECL06)。

2.3 家系间的遗传距离及遗传相似度

使用 PopGene 软件, 计算出脊尾白虾 3 个回交家系的 Nei 氏标准遗传距离和遗传相似系数(表 5), 遗传距离介于 0.0899–0.1649, 遗传相似度介于 0.8479–0.9140。B 家系和 C 家系之间的遗传距离最短, A 家系和 C 家系拥有相对长的遗传距离。通过 UPGMA 法构建的聚类图(图 1)显示, B 家系和 C 家系先聚为一支, 再与 A 群体聚为一支。

表 4 各群体的纯合位点及纯合率
Tab.4 Homozygous sites and homozygosity rates of each population

群体 Population	无效等位基因位点 Null allele loci	纯合位点 Homozygous site	纯合率 Homozygosity rate (%)
回交家系 A Backcross family A	ECL25	ECL04 ECL10	53.86
回交家系 B Backcross family B	ECL23	ECL04 ECL10 ECL13 ECL19 ECL25	56.53
回交家系 C Backcross family C	ECL06	ECL10 ECL13 ECL19 ECL25 ECL31	63.33
野生群体 Wild population			16.91
杂交家系 Hybrid family			15.38

表 5 3 个脊尾白虾回交家系间的遗传距离(D, 对角线下)及遗传相似性(I, 对角线上)

Tab.5 Nei's genetic distance (D, below diagonal) and genetic identity (I, above diagonal) among three backcross families

	回交家系 A Backcross family A	回交家系 B Backcross family B	回交家系 C Backcross family C
回交家系 A Backcross family A	**	0.8568	0.8479
回交家系 B Backcross family B	0.1545	**	0.9140
回交家系 C Backcross family C	0.1649	0.0899	**

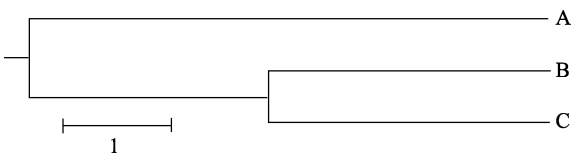


图 1 基于遗传距离的 UPGMA 聚类图

Fig.1 UPGMA clustering tree based on D genetic distance

3 讨论

3.1 脊尾白虾回交家系的遗传分析

本研究分析了 3 个回交家系在 25 个位点上的遗传多样性的相应指标(N_a 、 N_e 、 H_o 、 H_e 、PIC)的平均值见表 3, 等位基因数(N_a)平均值, 有效等位基因数(N_e)平均值, 平均多态信息含量 PIC, 平均杂合度(H_o 、 H_e)都有所降低, 与野生群体和杂交家系相比有了明显的降低, 这与王磊等(2011)所做的牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)回交家系与野生亲本家系的对比、朱晓平等(2012)所做线纹尖塘鳢(*Oxyeleotris lineolatus*)和云斑尖塘鳢(*Oxyeleotris marmoratus*)回交家系与亲本家系的对比结果相同。回交家系的遗传多样性整体降低符合孟德尔遗传定律, 证明随着回交的进行杂合度自然下降, 回交家系的杂合子减少, 纯合子增加, 但也不排除由于脊尾白虾回交家系构建过程中人工选择单一的亲本个体, 并由这些个体产生大量的后代, 造成部分等位基因的缺失。但也有些位点一直维持较高的杂合度(ECL02、ECL16、ECL29 等)。推测这些位点可能是脊尾白虾种质特有的, 而这些位点也不会随回交代数的递进而降低。王日芳(2016)¹⁾利用微卫星对

1) Wang RF. Genetic diversity in inbred lines of *Exopalaemon carinicauda* based on microsatellite loci. Master's Thesis of Shanghai Ocean University, 2016 [王日芳. 脊尾白虾近交系遗传多样性的微卫星分析. 上海海洋大学硕士研究生学位论文, 2016]

脊尾白虾近交家系进行遗传多样性的相关分析, 同样发现类似的位点, 这些位点被认为是脊尾白虾近交系特异的“生命基因”(李凯等, 2009), 但这些位点有待进一步验证。

3.2 家系基因纯合率分析

A 家系的纯合位点 3 个, B、C 的纯合位点都为 5 个, 3 个回交家系存在一个共同的纯合位点 ECL10。有些位点(ECL04、ECL24 在 C 家系中)虽然没有达到完全的纯合, 但杂合度已经减小, 这些位点可能随着回交代数的增加而表现为完全纯合(王日芳, 2016)¹⁾。同时, 在回交家系中发现了个别无效等位基因位点(如 A 家系中的 ECL06 位点), 这可能是由于微卫星两侧翼的序列保守性低发生了突变, 引物不能与之结合, 从而导致无扩增条带的结果, 也可能因为回交家系是由少量脊尾白虾亲本产生大量的子代, 导致其后代群体等位基因数量缺失, 从而产生了遗传漂变和偏离平衡。

基因的纯合率是每个个体的纯合座位占总检测座位的比率。本研究中所有回交家系回交一代的纯合率都达到了 50%以上, 与野生群体的纯合率(16.91%)和杂交家系的纯合率(15.38%)相比显著增高, 说明 3 个回交家系的基因纯合的速率都较快。与吴俊伟等(2015)在尼罗罗非鱼与萨罗罗非鱼的回交群体和刘于信等(2009)在耐盐罗非鱼的回交群体中所得到的回交家系的遗传多样性降低、基因纯合性升高的结论相似。同时, 经比较回交家系回交一代的基因纯合率与王日芳(2016)¹⁾所做的脊尾白虾 3 个近交系 7 世代结果相近, 说明回交相较于近交可更快的获得基因纯合的个体。

3.3 家系间的遗传距离及遗传相似度分析

由表 5 和图 1 可知, 3 个家系间的遗传距离相对较小, 在 0.0899–0.1649 之间, 与尼罗罗非鱼与萨罗罗非鱼各回交家系间的遗传距离(0.062–0.182)相似(李腾云等, 2008)。说明回交家系亲缘关系较近, 可能是由于 3 个家系的原始亲本都是来自相同的地理群体。其中, B、C 家系的遗传距离最小为 0.0899, 遗传相似度为 0.9140, 并且 B、C 家系最后聚为一支, 而吴俊伟等(2015)根据理论的基因频率和实验结果发现, 在尼罗罗非鱼和萨罗罗非鱼回交一代和回交二代中, 轮回亲本的遗传组成必定超过 50%。故推测, 此结果可能是由于 B、C 的轮回亲本都为日照野生个体。

综上所述, 脊尾白虾回交家系的基因纯合率较高, 更容易得到基因纯合的个体, 利用回交育种适合于选育具有生长速度快、环境适应性广、抗逆性强的

脊尾白虾优良品种, 为脊尾白虾的遗传改良提供了理论依据和技术支持。

参 考 文 献

- Chu ZY, Zhang XF, Cao Z, *et al.* Correlation analysis of the 4 growth traits in the common carp backcross population. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(1): 10–19 [储志远, 张晓峰, 曹柱, 等. 鲤回交群体 4 种生长性状的相关性分析. *水产学报*, 2011, 35(1): 10–19]
- Jia SW, Liu P, Li J, *et al.* Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in the ridgetail white prawn *Exopalaemon carinicauda*. *Genetics and Molecular Research*, 2013, 12(3): 2816–2820
- Jia SW, Liu P, Li J, *et al.* Microsatellite analysis of genetic diversity in 3 wild populations of *Exopalaemon carinicauda*. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(12): 1819–1825 [贾舒雯, 刘萍, 李健, 等. 脊尾白虾 3 个野生群体遗传多样性的微卫星分析. *水产学报*, 2012, 36(12): 1819–1825]
- Li JT, Li J, Liu P, *et al.* Heritability of body length and weight for the ridgetail white prawn *Exopalaemon carinicauda*. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2013, 44(4): 968–972 [李吉涛, 李健, 刘萍, 等. 脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)体长和体重遗传力的估计. *海洋与湖沼*, 2013, 44(4): 968–972]
- Li K, Feng ST, Mou YL, *et al.* Study on genetic regulation of microsatellite loci gene of three inbred families of Wuzhishan Miniature pig. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(5): 1751–1760 [李凯, 冯书堂, 牟玉莲, 等. 五指山猪 3 个近交家系内微卫星等位基因的遗传变化. *中国农业科学*, 2009, 42(5): 1751–1760]
- Li TY, Li SF. Microsatellite marker analysis of genetic variation in the backcross progenies from *Oreochromis niloticus* and *Sarotherodon melanothron*. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2008, 17(4): 396–401 [李腾云, 李思发. 尼罗罗非鱼与萨罗罗非鱼回交子代遗传变异的微卫星分析. *上海水产大学学报*, 2008, 17(4): 396–401]
- Liang JP, Li J, Liu P, *et al.* Research progress of biological characteristics and artificial breeding of ridgetail white prawn, *Exopalaemon carinicauda*. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2012, 28(17): 109–116 [梁俊平, 李健, 刘萍, 等. 脊尾白虾生物学特性与人工繁育的研究进展. *中国农学通报*, 2012, 28(17): 109–116]
- Liu P, Kong J, Shi T, *et al.* RAPD analysis of wild stock of penaeid shrimp (*Penaeus chinensis*) in the China's coastal waters of Huanghai and Bohai Seas. *Acta Oceanologica Sinica*, 2000, 22(5): 89–93 [刘萍, 孔杰, 石拓, 等. 中国对虾黄、渤海沿岸地理群的 RAPD 分析. *海洋学报*, 2000, 22(5): 89–93]
- Liu YX, Li SF, Cai WQ, *et al.* Evaluation of backcrossing breeding effect in selection of salt-tolerant tilapia. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2009, 16(3): 332–339 [刘于信, 李思发, 蔡完其, 等. 耐盐罗非鱼育种回交效应评估. *中国水产科学*, 2009, 16(3): 332–339]
- Ma P, Liu P, Li J, *et al.* The genetic diversity and phylogenetic analysis of COI gene in mitochondrial DNA of three

1) Wang RF. Genetic diversity in inbred lines of *Exopalaemon carinicauda* based on microsatellite loci. Master's Thesis of Shanghai Ocean University, 2016 [王日芳. 脊尾白虾近交系遗传多样性的微卫星分析. 上海海洋大学硕士研究生学位论文, 2016]

- populations of *Exopalaemon carinicauda*. Progress in Fishery Sciences, 2011, 32(6): 50–56 [马朋, 刘萍, 李健, 等. 脊尾白虾3个野生群体线粒体COI基因的遗传多样性及其系统发育分析. 渔业科学进展, 2011, 32(6): 50–56]
- Ruan XH, Wang WJ, Kong J, *et al.* Genetic linkage mapping of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) using microsatellite markers and its application in QTL analysis. Aquaculture, 2010, 308(3–4): 89–100
- Sekino M, Saido T, Fujita T, *et al.* Microsatellite DNA markers of Ezo abalone (*Haliotis discus hannai*): A preliminary assessment of natural populations sampled from heavily stocked areas. Aquaculture, 2005, 243(1–4): 33–47
- Wang L, Chen SL, Tian YS, *et al.* Genetic structure analysis for the backcross inbreeding and parents family of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* by microsatellite markers. Progress in Fishery Sciences, 2011, 32(3): 38–43 [王磊, 陈松林, 田永胜, 等. 牙鲆回交、全同胞近交及其亲本家系的微卫星研究. 渔业科学进展, 2011, 32(3): 38–43]
- Wang XQ, Cao M, Yan BF, *et al.* Techniques for the culture of ridgetail white prawn *Exopalaemon carinicauda*. Fisheries Science and Technology Information, 2008, 35(6): 265–269 [王兴强, 曹梅, 阎斌伦, 等. 脊尾白虾养殖技术研究. 水产科技情报, 2008, 35(6): 265–269]
- Wang YK, Liu P, Duan YF, *et al.* The cloning and expression of alpha2-macrogloblin gene of *Exopalaemon carinicauda*. Progress in Fishery Sciences, 2015, 36(2): 63–70 [王有昆, 刘萍, 段亚飞, 等. 脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*) 2-巨球蛋白cDNA全长的克隆和表达分析. 渔业科学进展, 2015, 36(2): 63–70]
- Wu JW, Jia JH, Zhang YH, *et al.* Genetic characteristics of the first and the second backcross generations of *Oreochromis niloticus* and *Sarotherodon melanotheron* by microsatellite marker analysis. Freshwater Fisheries, 2015, 45(4): 10–14 [吴俊伟, 策金华, 张艳红, 等. 尼罗罗非鱼与萨罗罗非鱼回交一代与回交二代群体遗传特征的微卫星分析. 淡水渔业, 2015, 45(4): 10–14]
- Zhao FK, Yang R, Lin C, *et al.* Selection of RAPD marker linked to tomato cold tolerance using higher progeny material of backcross. Biotechnology, 2004, 14(4): 8–9 [赵福宽, 杨瑞, 林成, 等. 用高代回交材料筛选与番茄耐冷性相关的RAPD分子标记. 生物技术, 2004, 14(4): 8–9]
- Zhu XP, Luo J, Yin SC, *et al.* Microsatellite marker analysis of genetic variation in hybrid progenies and backcross progenies from *Oxyeotris lineolatus* (♀) and *Oxyeotris marmoratus* (♂). Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(17): 147–153 [朱晓平, 骆剑, 尹绍武, 等. 线纹尖塘鳢(♀)、云斑尖塘鳢(♂)及其杂交、回交子代遗传变异的微卫星分析. 中国农学通报, 2012, 28(17): 147–153]

(编辑 马瑾艳)

Microsatellite Marker Analysis on Genetic Variation of the Ridgetail White Prawn *Exopalaemon carinicauda* Backcross Populations

LIU Jiumei^{1,2}, LI Jitao², LIU Ping^{2,3①}, DOU Quanwei^{1,2}, WANG Jiajia², LI Jian^{2,3}

(1. College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian 116023; 2. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071; 3. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071)

Abstract In order to analyze genetic effect of the ridgetail white prawn (*Exopalaemon carinicauda*) backcross families, 25 microsatellite loci were selected to detect the genetic characteristics of three backcross family A, B, C, generated by our laboratory. The results showed that among A, B and C families, the average number of alleles (N_a) were 2.21, 2.18 and 2.09, the observed heterozygosity (H_o) were 0.3805, 0.3703 and 0.2489, the expected heterozygosity (H_e) were 0.3629, 0.3998 and 0.2503 and the polymorphism information content (PIC) were 0.3257, 0.3391 and 0.2585 respectively. Compared to the wild and hybrid population, the genetic diversities of the backcross families were greatly reduced which belonged to moderate or low polymorphism. 62 alleles were obtained in the three backcross families in total using 25 loci. Specifically, 56, 54 and 51 alleles were obtained in A, B and C backcross families, respectively. In addition, there were 39 common alleles in the three backcross families. Six loci have homozygosity in all backcross families (ECL10 in A, B and C families). The average homozygous rate was 53.86%, 56.53% and 63.33% respectively, which showed that the purification rate of gene was rapid and the backcross is suitable for selective breeding in *E. carinicauda*.

Key words *Exopalaemon carinicauda*; Backcross populations; Microsatellite; Genetic variation

① Corresponding author: LIU Ping, E-mail: liuping@ysfri.ac.cn