

# 斑节对虾 4 个地理群体遗传多样性的 AFLP 分析

孙苗苗<sup>1,2</sup>, 杨其彬<sup>1</sup>, 陈百尧<sup>2</sup>, 朱彩艳<sup>1</sup>, 黄建华<sup>1</sup>, 江世贵<sup>1</sup>, 周发林<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院 南海水产研究所, 农业部南海渔业资源开发利用重点实验室, 广东 广州 510300;  
2. 连云港市海洋与水产科学研究所, 江苏 连云港 222044)

**摘要:** 为研究斑节对虾(*Penaeus monodon*)4 个地理群体的遗传背景, 作者应用 AFLP 分子标记技术对非洲(F)、中国三亚(S)、泰国(T)和印度尼西亚(Y)的斑节对虾群体进行遗传多样性分析。选取 8 对引物组合对斑节对虾 4 个群体共 128 个个体进行分析比较, 共获得 1 000 个位点, 其中多态性位点数为 830 个, 各群体多态位点比率为 47.8%~58.5%; 群体 Nei's 遗传多样性指数为 0.0917~0.1271, Shannon's 信息指数为 0.1484~0.2032。4 个群体间的遗传距离, Y 与 F 之间最大, 为 0.331, T 与 S 之间最小, 为 0.217。4 个群体 UPGMA 聚类时, S、T 与 Y 聚为一支, F 为单独一支; 128 个个体的 UPGMA 聚类结果表明, F 群体除 4 个个体外其余个体聚为一大支, S、T、Y 群体的部分个体互相混杂。AMOVA 分析发现, 35.92% 的变异来自于群体间, 64.08% 的变异来自于群体内, 群体间的遗传分化系数为 0.3592, 表明 4 个群体间的遗传分化程度很大。本研究为斑节对虾遗传育种提供了种质遗传背景资料, 并为斑节对虾资源的开发与利用提供基础数据。

**关键词:** 斑节对虾; 遗传多样性; AFLP; 地理群体

中图分类号: S917 文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2017)03-0041-07

DOI: 10.11759//hykx20160314001

斑节对虾(*Penaeus monodon*) 是个体最大的对虾种, 广泛分布于印度洋和西太平洋的大部分海区, 是世界上最主要的养殖对虾之一, 也是中国南方沿海诸省的重要养殖对象。有关其分子水平研究, 国内外一些学者也做了相关的研究, 如谭树华等<sup>[1]</sup>运用同工酶和 RAPD 技术对不同斑节对虾养殖群体的遗传多样性进行了研究。姜永杰等<sup>[2]</sup>对深圳海域斑节对虾野生种群线粒体控制区序列的多态性进行了探讨。周发林等<sup>[3]</sup>对海南三亚斑节对虾野生种群 mtDNA 16S rRNA 基因和控制区序列的多态性进行了研究。Tassanakajon 等<sup>[4]</sup>运用 RAPD 技术分析了野生种群的基因多样性水平。Pan 等<sup>[5]</sup>筛选了 23 对多态性较高的微卫星标记用于斑节对虾的遗传多样性和种群结构的分析。Xu 等<sup>[6]</sup>运用微卫星标记技术研究了菲律宾野生和养殖的斑节对虾群体的遗传多样性水平。而利用 AFLP 分析斑节对虾遗传多样性研究未见报道。

AFLP 是迄今最有效的分子标记之一, 在水生生物中已被广泛应用于遗传多样性分析<sup>[7-10]</sup>、系统进化和亲缘关系的鉴定<sup>[11-12]</sup>、基因定位克隆<sup>[13]</sup>、遗传图谱构建<sup>[14]</sup>等诸多领域。本研究采用 AFLP 技术对斑节对虾 4 个不同地理来源的亲本进行遗传分析, 以了解其遗传多样性、种群遗传结构和遗传特征等信息,

为斑节对虾的遗传育种积累材料和提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

4 个地理群体斑节对虾分别从印度尼西亚、泰国、非洲和中国三亚 4 个地区引进。体长 116.10~255.00 mm, 体质量 122.6~294.8 g。取眼柄或腹足保存于 95% 的酒精中, 用于 DNA 的抽提。样品的详细信息见表 1。

### 1.2 基因组 DNA 提取

斑节对虾基因组 DNA 提取参照熊小飞<sup>[15]</sup>的方

收稿日期: 2016-03-14; 修回日期: 2016-10-08

基金项目: 现代农业产业技术体系(CARS47); 广东省海洋渔业科技与产业发展专项重点项目(A201501A06); 广东省科技计划项目(2013B020201001); 广东省科技计划项目(2014B020202003)

[Foundation: China Agriculture Research System, No.CARS-47; Guangdong Marine Fishery Science & Technology and Industry Development Special Key Project, No. A201501A06; Science and Technology Planning Project of Guangdong Province, No.2013B020201001; Science and Technology Planning Project of Guangdong Province, No. 2014B020202003]

作者简介: 孙苗苗(1983-), 男, 江苏徐州人, 博士, 主要从事水产动物遗传育种与增养殖学研究, E-mail: miaosun2007@163.com; 周发林, 通信作者, E-mail: zhoufalun@aliyun.com

法提取的 DNA 用 10g/L 琼脂糖凝胶电泳检测, 并制成终质量浓度为 50 ng/ $\mu$ L 的模板 DNA 备用。

表 1 实验所用的样品信息

Tab. 1 Sample information of the four populations

样品名称	缩写	亲本来源	经纬度	样本数(尾)
非洲群体	F	非洲(莫桑比克)	19°10'S, 35°56'E	32
中国三亚群体	S	中国三亚	18°47'N, 109°26'E	32
泰国群体	T	泰国	09°12'N, 100°03'E	32
印尼群体	Y	印度尼西亚	05°30'N, 94°40'E	32

### 1.3 AFLP 分析

用于 AFLP 分析的内切酶为 *EcoR* I 和 *Mse* I, 均为 NEB 公司生产; 实验所用的接头和引物由英骏公司合成, 序列列表 2; T4 DNA 连接酶由 Takara 公司生产。反应步骤和反应体系如下:

(1) *EcoR* I 酶切反应: DNA (20 ng/ $\mu$ L) 5  $\mu$ L, *EcoR* I (10 U/ $\mu$ L) 0.5  $\mu$ L, 10 $\times$ *EcoR* I Buffer 1  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 补齐至 10  $\mu$ L, 37°C 酶切 1 h。

(2) *Mse* I 酶切反应: *EcoR* I 酶切反应液 10  $\mu$ L, *Mse* I (10 U/ $\mu$ L) 0.2  $\mu$ L, 10 $\times$ *Mse* I Buffer 0.1  $\mu$ L, 37°C 酶切 2.5 h。

(3) 接头连接反应: 双酶切产物 10  $\mu$ L, 10 $\times$ T4 DNA 连接酶 Buffer 2  $\mu$ L, E 接头(2.5  $\mu$ mol/L)1  $\mu$ L, M 接头(12.5  $\mu$ mol/L)2  $\mu$ L, T4 连接酶(6 U/ $\mu$ L)0.2  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 补齐至 20  $\mu$ L, 37°C 反应 1 h, 16°C 连接 20 h。

(4) 预扩增: 10 $\times$ PCR Buffer (Mg<sup>2+</sup>) 2.5  $\mu$ L, *EcoR* I +1 引物(50 ng/ $\mu$ L)1  $\mu$ L, *Mse* I +1 引物(50 ng/ $\mu$ L)1  $\mu$ L, dNTPs (2 mmol/L) 3  $\mu$ L, rTap 酶(5 U/ $\mu$ L)0.3  $\mu$ L, 模板 DNA 的连接产物 4 $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 补齐至 25 $\mu$ L。反应程序: 94°C 变性 3 min 后, 进行 24 个循环(94°C 30 s, 56°C 30 s, 72°C 30 s), 最后 72°C 延伸 10 min。

(5) 选择扩增: 10 $\times$ PCR Buffer (Mg<sup>2+</sup>)2.1  $\mu$ L, *EcoR* I +3 引物(100 ng/ $\mu$ L)2  $\mu$ L, *Mse* I +3 引物(100 ng/ $\mu$ L) 2  $\mu$ L, dNTPs (2 Mm/each)1.5  $\mu$ L, rTap 酶(5 U/ $\mu$ L)0.1  $\mu$ L, 预扩增产物 5  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 补齐至 25  $\mu$ L。反应程序: 94°C 变性 3 min, 进入 9 个循环(94°C 30 s, 65°C 30 s, 72°C 60 s), 然后进行 24 个循环(94°C 30 s, 56°C 30 s, 72°C 60 s), 最后 72°C 延伸 10 min。

(6) 取 10  $\mu$ L 产物, 采用 ABI 3730 DNA 分析仪进行分析。

### 1.4 数据分析

根据所获得的 AFLP 峰值, 将分子量大小一致的峰值看作 1 个位点, 在各位点上, 针对不同个体若

存在清晰可辨的扩增峰则标记为 1, 否则标记为 0, 由此构建 0-1 矩阵。统计多样性位点比率, 并采用 POPGENE3.2<sup>[16]</sup>计算该种群内部观测等位基因数、有效等位基因数、Nei's 基因多样性指数以及 Shannon's 多样性信息指数, 分析种群内和种群间的遗传距离。然后根据遗传距离表, 采用 MEGA 软件构建遗传距离聚类图, 对 4 个群体的数据用 Arlequin 软件进行 AMOVA 分析。

## 2 结果

### 2.1 AFLP 扩增多态性

采用 8 对 AFLP 引物对 4 个群体共 128 个个体进行 DNA 扩增。共得到 1 000 个 AFLP 位点。每对引物扩增位点在 111~130 个, 平均每对引物扩增出 125 个 AFLP 位点。扩增位点最多的引物对是 E2M2 和 E5M5, 扩增位点数均为 130。每对引物扩增的多态位点均较高(>75%)。其中, E2M2 引物对产生的位点多态比例最高, 为 95.38%。8 对引物在 4 个群体中共产生了群体特异性位点 245 个, 其中, F 群体中出现的特异性位点 70 个, S 群体 62 个, T 群体 50 个, Y 群体 63 个(表 3)。

### 2.2 各群体遗传结构和遗传多样性分析

由表 4 可知, 8 个引物对在非洲、中国三亚、泰国、印尼 4 个斑节对虾群体中检测出多态位点数及比例分别为: 478 个(47.8%)、525 个(52.5%)、585 个(58.5%)、530 个(53.0%), 其中非洲群体的多态位点数最低。F 群体的 Nei's 遗传多样性指数和 Shannon's 指数最小, 分别为 0.0917、0.1484。

### 2.3 群体间遗传相似度和遗传距离

群体间遗传相似度和遗传距离见表 5。F 与 S、T 和 Y 之间的遗传距离均较远, 分别为 0.299、0.330 和 0.331; S、T 与 Y 之间遗传距离均较近。

表 2 用于 AFLP 分析的接头和引物序列

Tab. 2 Adaptor and primer sequences used for AFLP analysis

	接头序列	预扩增引物序列	选择性扩增引物序列
<i>EcoR</i> I	1: 5'>CTC GTA GAC TGC GTA CC<3' 2: 5'>AAT TGG TAC GCA GTC TAC<3'	5'>GAC TGC GTA CCA- ATT CA<3'	E-1: 5'>GAC TGC GTA CCA ATT CAA C<3'
			E-2: 5'>GAC TGC GTA CCA ATT CAA G<3'
			E-3: 5'>GAC TGC GTA CCA ATT CAC A<3'
			E-4: 5'>GAC TGC GTA CCA ATT CAC T<3'
			E-5: 5'>GAC TGC GTA CCA ATT CAC C<3'
			E-6: 5'>GAC TGC GTA CCA ATT CAC G<3'
			E-7: 5'>GAC TGC GTA CCA ATT CAG C<3'
			E-8: 5'>GAC TGC GTA CCA ATT CAG G<3'
<i>Mse</i> I	1: 5'>GAC GAT GAG TCC TGA G<3' 2: 5'>TAC TCA GGA CTC AT<3'	5'>GAT GAG TCC TGA- GTA AC<3'	M-1: 5'>GAT GAG TCC TGA GTA ACA A<3'
			M-2: 5'>GAT GAG TCC TGA GTA ACA C<3'
			M-3: 5'>GAT GAG TCC TGA GTA ACA G<3'
			M-4: 5'>GAT GAG TCC TGA GTA ACA T<3'
			M-5: 5'>GAT GAG TCC TGA GTA ACT A<3'
			M-6: 5'>GAT GAG TCC TGA GTA ACT C<3'
			M-7: 5'>GAT GAG TCC TGA GTA ACT G<3'
			M-8: 5'>GAT GAG TCC TGA GTA ACT T<3'

表 3 8 对 AFLP 引物组合的扩增结果

Tab. 3 Amplification results from eight primer combinations

引物组合	总位点数	多态位点数	多态位点百分率(%)	群体特异性位点数目			
				F	S	T	Y
E1M1	129	113	87.60	6	1	1	0
E2M2	130	124	95.38	13	1	2	12
E3M3	125	113	90.40	8	10	3	10
E4M4	111	89	80.18	11	15	11	9
E5M5	130	101	77.69	6	13	13	13
E6M6	127	98	77.17	2	3	3	0
E7M7	126	95	75.40	16	11	9	10
E8M8	122	97	79.51	8	8	8	9
合计	1000	830		70	62	50	63
平均	125	103.75	82.92				

表 4 斑节对虾 4 个群体的遗传多样性参数

Tab. 4 Genetic diversity of four *Penaeus monodon* populations

群体	多态位点数	多态位点百分率(%)	观测等位基因数	有效等位基因数	Nei's 遗传多样性指数	Shannon's 信息指数
F	478	47.80	1.478 0	1.145 0	0.091 7	0.148 4
S	525	52.50	1.525 0	1.171 6	0.107 8	0.174 1
T	585	58.50	1.585 0	1.203 2	0.127 1	0.203 2
Y	530	53.00	1.530 0	1.181 7	0.113 9	0.182 2

表 5 群体间相似度和遗传距离

Tab. 5 Inter-species genetic identity and genetic distance

群体	F	S	T	Y
F	-	0.901 5	0.907 4	0.901 4
S	0.299	-	0.980 3	0.955 1
T	0.330	0.217	-	0.975 0
Y	0.331	0.237	0.247	-

注: 对角线上为遗传相似度; 对角线下为遗传距离

### 2.4 4个群体间的遗传分化

AMOVA 分析表明, 35.92%的变异来自于群体间, 64.08% 变异来自于群体内, 群体间的遗传分化系数( $F_{st}$ )为 0.3592, 遗传分化  $P$  值小于 0.01,

表明 3 个群体间的遗传分化程度很大, 达到了显著性水平(表 6)。4 个群体之间的遗传分化指数在 0.103 48~0.502 32, 遗传分化顺序为 F-S > F-Y > F-T > S-Y > S-T > T-Y(表 7)。

表 6 4 个群体间的 AMOVA 分析

Tab. 6 AMOVA analysis of the four populations

变异来源	自由度	平方和	方差分量	方差分量百分比(%)	$F_{st}$	$P$
群体间	3	1 814.328	17.901 29 Va	35.92	0.359 20	<0.01
群体内	124	3 959.234	31.934 73 Vb	64.08		

表 7 3 个群体间的遗传分化系数和基因流

Tab. 7 Gene differentiation ( $F_{st}$ ) and gene flow ( $N_m$ ) between populations

群体	F	S	T	Y
F	—	0.495 38	0.647 45	0.563 36
S	0.502 32	—	2.304 26	1.016 07
T	0.435 75	0.178 30	—	4.331 85
Y	0.470 21	0.329 80	0.103 48	—

注: 对角线下为遗传分化系数( $F_{st}$ ), 对角线上为基因流( $N_m$ )

### 2.5 聚类分析

基于 Nei 遗传距离构建 UPGMA 系统发生树。聚类分析表明, 4 个斑节对虾群体聚成两支, 其中 F 群体独立聚为一支, S、T、Y 这 3 个群体聚为另一支(图 1)。4 个群体 128 个个体的 UPGMA 聚类结果表明, F 群体除 4 个个体外, 其余个体均聚在一起, 具有独立的遗传结构; 而 S、T、Y 3 个群体较 F 群体混杂的情况更严重一些, 说明这 3 个群体间存在较大的交流(图 2)。

率 在 68.39%~71.20%。在本研究中, 斑节对虾 4 个地理群体多态位点百分比为 47.80%~58.50%, 因此可以认为这 4 个群体斑节对虾具有较高的遗传多样性。非洲群体亲本较其他 3 个群体遗传多样性较低, 多态位点百分比为 47.80%, Nei's 遗传多样性指数(0.091 7)和 Shannon's 信息指数(0.148 4)均低于其他 3 个群体。

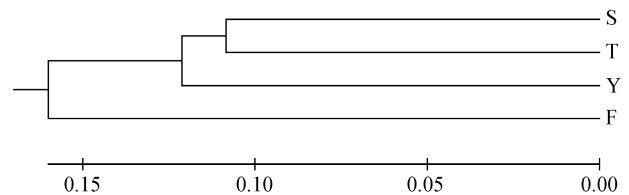


图 1 斑节对虾 4 个群体的 UPGMA 聚类图  
Fig. 1 UPGMA dendrogram of the 4 populations  
标尺为遗传距离(图 2 同)  
Bar: genetic distance (the same as Fig.2)

## 3 讨论

遗传多样性是生物对复杂环境适应能力的一种反应, 对该生物的可持续发展、合理开发利用有着重要的意义<sup>[17]</sup>。遗传多样性是评价生物资源状况的重要依据, 是物种适应环境变化、维持生存与进化的遗传基础。平均多态位点比例和平均杂合度是衡量生物群体遗传多样性高低的重要参数<sup>[18]</sup>。在 AFLP 分析中, 多态位点比率既与研究的样本来源及其数量有关, 也与各个引物的扩增效率有关。黄羽等<sup>[19]</sup>采用 AFLP 技术分析了 6 个克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)群体遗传多样性, 结果发现多态位点百分比为 39.53%~75.74%。颀晓勇等<sup>[20]</sup>利用 AFLP 方法, 依靠 6 对引物对 6 个群体 180 尾凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)进行分析, 结果显示各群体的多态位点比

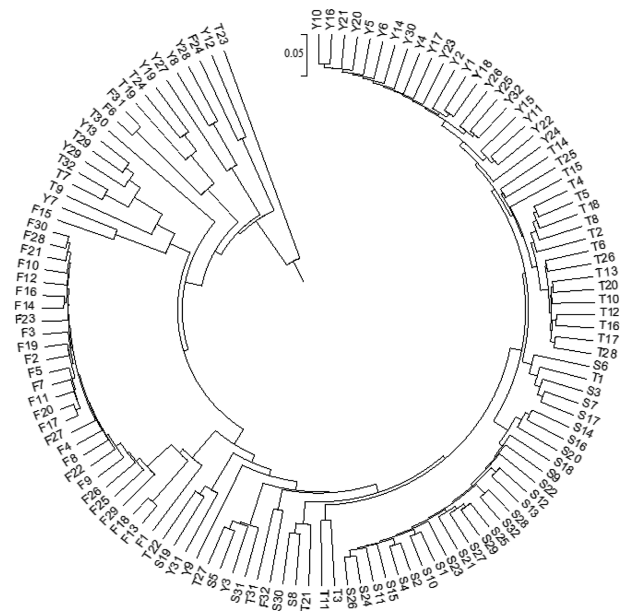


图 2 斑节对虾 128 个个体的 UPGMA 聚类图  
Fig. 2 UPGMA Dendrogram of the 128 samples

Thorp<sup>[21]</sup>研究认为,不同物种间的遗传相似系数为 0.2~0.8,同科属群体间为 0.5~0.9,同种群体间为 0.8~0.97。遗传分化系数是衡量群体再分效应的指标,反映因遗传漂变引起物种杂合度的降低程度。遗传分化系数在 0.00~0.05,表明群体分化程度较小;0.05~0.15,说明群体分化程度中等;0.15~0.25,表明群体分化程度较大;0.25~1.00 则表明群体分化程度很大<sup>[22]</sup>。当种群基因流大于 1 时,种群间存在一定的基因流动,如果种群基因流远远小于 1,种群则会出现强烈的分化<sup>[23]</sup>。在本研究中,非洲群体与中国三亚、泰国、印度尼西亚群体的遗传距离相对较大,遗传相似度较小(表 5)。本研究结果显示(表 7),非洲群体与其他 3 个群体间的遗传分化系数为 0.43575~0.50232,基因流为 0.49538~0.64745,远小于 1,说明非洲群体与中国三亚、泰国、印度尼西亚群体分化程度很大。而中国三亚、泰国、印度尼西亚群体间存在一定的基因交流,遗传分化较小。中国三亚、泰国群体位于西太平洋,印度尼西亚群体来自东印度洋,尽管不在一个大洋内,但从地理位置上讲印度尼西亚群体与中国三亚、泰国群体相隔较近,中间虽有岛屿海峡隔离,但还是存在一定程度的基因交流。而非洲群体则位于西印度洋,与其他 3 个群体相隔较远,群体间的交流受到制约。4 个群体聚类分析显示,S、T、Y 3 个群体聚为一支,F 群体独立为一支;4 个群体的 128 个个体聚类显示,S、T、Y 3 个群体个体间混杂程度较高,进一步验证了上述结论。Duda 等<sup>[24]</sup>研究证实西太平洋内部各地理群体斑节对虾之间基因交流频繁,而印度洋内部各群体之间的交流则受到一定程度的制约。其结论与作者的结论基本一致。

通过 AFLP 遗传多样性分析,尽管非洲群体遗传多样性略低于其他群体,但与其他群体间的遗传分化较大。因此,大致可以将 4 个群体分为 2 个种质类型,三亚、泰国和印度尼西亚群体可以看作是同一个种质类型,而非洲群体则为一个单独的种质类型。现代杂交优势理论认为,亲本间遗传差异的大小影响了其后代杂交优势的水平,遗传距离愈大所产生的杂交优势则愈大<sup>[25]</sup>。作者认为,在斑节对虾杂交选育工作中,将遗传分化较大的非洲群体与其他群体进行杂交可能会取得更好的杂交效果。

#### 参考文献:

[1] 谭树华,王桂忠,艾春香,等.斑节对虾养殖群体遗传多样性的同工酶和 RAPD 分析[J].中国水产科学,2005,12(6):702-707.

- Tan Shuhua, Wang Guizhong, Ai Chunxiang, et al. Genetic diversity of reared *Penaeus monodon* stock revealed by isozyme and RAPD[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2005, 12(6): 702-707.
- [2] 姜永杰,周发林,黄建华,等.深圳海域斑节对虾野生种群线粒体控制区序列的多态性研究[J].南方水产,2006,2(1):54-57.
- Jiang Yongjie, Zhou Falin, Huang Jianhua, et al. Analysis on genetic diversity of mtDNA control region sequences of the wild population of *Penaeus monodon* from Shenzhen's sea area[J]. South China Fisheries Science, 2006, 2(1): 54-57.
- [3] 周发林,江世贵,姜永杰,等.海南三亚斑节对虾野生种群 mtDNA 16S rRNA 基因和控制区序列的多态性[J].南方水产,2006,6(2):13-18.
- Zhou Falin, Jiang Shigui, Jiang Yongjie, et al. polymorphism of mtDNA 16s rRNA gene and region sequence in *Penaeus monodon* of Sanya, Hainan[J]. South China Fisheries Science, 2006, 6(2): 13-18.
- [4] Tassanakajon A, Pongsomboon S, Jarayabhand P, et al. Genetic structure in wild populations of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) using randomly amplified polymorphic DNA analysis [J]. Marine Biotechnology, 1998, 6(4): 249-254.
- [5] Pan Y W, Chou H H, You E M, et al. Isolation and characterization of 23 polymorphic microsatellite markers for diversity and stock analysis in tiger shrimp (*Penaeus monodon*)[J]. Molecular Ecology Notes, 2004, 4: 345-347.
- [6] Xu Z, Primavera J H, Pena L D, et al. Genetic diversity of wild and cultured black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using microsatellites[J]. Aquaculture, 2001, 199: 13-40.
- [7] 孟彦羽,章龙珍,赵峰,等.银鲳 4 个地理种群遗传多样性的初步研究[J].海洋渔业,2009,31(1):48-52.
- Meng Yanyu, Zhang Longzhen, Zhao Feng, et al. Preliminary study on the genetic diversity of four geographic populations of silver pomfret (*Pampus argenteus*)[J]. Marine Fisheries, 2009, 31(1): 48-52.
- [8] 孙宗红,刘志刚,欧燕燕,等.华贵栉孔扇贝四种壳色选育系 F<sub>1</sub> 遗传多样性的 AFLP 分析[J].海洋科学,2015,39(7):37-42.
- Sun Zonghong, Liu Zhigang, Ou Yanyan, et al. AFLP analysis of genetic diversity of four shell color strains (F<sub>1</sub>) of *Chlamys nobilis*[J]. Marine Sciences, 2015, 39(7): 37-42.
- [9] 邹琰,李莉,张良,等.山东沿海菲律宾蛤仔不同地理群体遗传多样性的 AFLP 分析[J].海洋科学,2014,38(2):76-79.
- Zou Yan, Li Li, Zhang Liang, et al. Analysis of genetic diversity of different geographical populations of *Ru-*

- ditapes philippenarum* along the coast of Shandong Province by AFLP markers[J]. Marine Sciences, 2014, 38(2): 76-79.
- [10] 李三磊, 徐冬冬, 楼宝, 等. 舟山近海条石鲷野生群体与人工放流群体遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 海洋科学, 2012, 36(8): 21-27.  
Li Sanlei, Xu Dongdong, Lou Bao, et al. The genetic diversity of wild and hatchery-released *Oplegnathus fasciatus* from inshore water of Zhoushan revealed by AFLP[J]. Marine Sciences, 2012, 36(8): 21-27.
- [11] 孙妍, 黄晓婷, 胡丽萍, 等. 紫扇贝、海湾扇贝及其正反杂交子代群体遗传结构的 AFLP 分析[J]. 海洋科学, 2013, 36(8): 1-5.  
Sun Yan, Huang Xiaoting, Hu Liping, et al. AFLP analysis of genetic structure of *Argopecten purpuratus*, *Argopecten irradians* and their positive and negative hybrid offspring[J]. Marine Sciences, 2013, 36(8): 1-5.
- [12] David L D, Rajasekaran P R, Fang J F, et al. Polymorphism in ornamental and common carp strains (*Cyprinus carpio* L.) as revealed by AFLP analysis and a new set of microsatellite markers[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2001, 266(3): 353.
- [13] Rubinstein A L, Lee D, Luo R, et al. Genes dependent on zebrafish cyclops function identified by AFLP differential gene expression screen[J]. Genesis, 2000, 26(1): 86-97.
- [14] 王伟继, 孔杰, 董世瑞, 等. 中国明对虾 AFLP 分子标记遗传连锁图谱的构建[J]. 动物学报, 2006, 52(3): 575-584.  
Wang Weiji, Kong Jie, Dong Shirui, et al. Genetic mapping of the Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis* using AFLP markers[J]. Acta Zoologica Sinica, 2006, 52(3): 575-584.
- [15] 熊小飞, 江世贵, 夏军红, 等. 中国南海海域斑节对虾群体与西印度洋、西太平洋群体种群遗传结构的比较分析[J]. 水产学报, 2008, 32(6): 855-863.  
Xiong Xiaofei, Jiang Shigui, Xia Junhong, et al. Population structure of the black tiger prawn, *Penaeus monodon*, among the south China Sea, western Pacific and western Indian Ocean populations[J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(6): 855-863.
- [16] Yeh F C, Yang R C, Boyle T, et al. POPGENE, version 1.32: the user friendly software for population genetic analysis[M]. Edmonton, AB, Canada: Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, 1999.
- [17] 李宁, 程洁, 孙鲁阳, 等. 中国北方沿海 6 个栉孔扇贝群体的 AFLP 分析[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2010, 40(4): 38-42.  
Li Ning, Cheng Jie, Sun Luyang, et al. AFLP analysis on six populations of zhikong scallop (*Chlamys farreri*) along the Northern coastline of China[J]. Periodical of Ocean University of China, 2010, 40(4): 38-42.
- [18] Richards C, Leberg P L. Temporal changes in allele frequencies and a population's history of severe bottlenecks [J]. Conservation Biology, 1996, 10(3): 832-839.
- [19] 黄羽, 戴银根, 毕成武, 等. 长江中下游地区 6 个克氏原螯虾群体遗传多样性分析 [J]. 南昌大学学报(工科版), 2011, 33(3): 243-247.  
Huang Yu, Dai Yingen, Bi Chengwu, et al. Assessment of 6 wild crayfish for evaluation of genetic diversity in the middle and lower reaches of the Yangtze River[J]. Journal of Nanchang University (Engineering & Technology), 2011, 33(3): 243-247.
- [20] 顾晓勇, 苏天凤, 陈素文, 等. 凡纳滨对虾 6 个养殖群体遗传多样性的比较分析[J]. 南方水产, 2008, 4(6): 42-49.  
Xie Xiaoyong, Su Tianfeng, Chen Suwen, et al. Analysis on genetic diversity of six cultured stocks of *Litopenaeus vannamei*[J]. South China Fisheries Science, 2008, 4(6): 42-49.
- [21] Thorp J P. The molecular clock hypothesis: Biochemical evolution, genetic differentiation, and systematics[J]. Annual Review of Ecology Systematics, 1982, 13(1): 139-168.
- [22] Wright S. Evolution and the genetics of populations, variability within and among natural populations[M]. Chicago, American: University of Chicago Press, 1978: 21-25.
- [23] 王荻, 徐革锋, 刘洋, 等. 细鳞鱼三个野生种群的遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 农业生物技术学报, 2009, 17(4): 638-644.  
Wang Di, Xu Gefeng, Liu Yang, et al. Assessment of genetic diversities in three wild *Brachymystax lenok* populations by AFLP markers[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2009, 17(4): 638-644.
- [24] Duda T F, Palumbi S R. Population structure of the black tiger prawn, *Penaeus monodon*, among western Indian Ocean and western Pacific populations [J]. Marine Biology, 1999, 134: 705-710.
- [25] 王豪杰, 蔡生力, 叶斐菲, 等. 4 个不同世代凡纳滨对虾群体 AFLP 遗传多样性分析[J]. 上海海洋大学学报, 2010, 19(6): 739-743.  
Wang Haojie, Cai Shengli, Ye Feifei, et al. AFLP analysis on genetic diversity of four different generations of *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2010, 19(6): 739-743.

# Genetic diversity in four populations of *Penaeus monodon* assessed by AFLP makers

SUN Miao-miao<sup>1,2</sup>, YANG Qi-bin<sup>1</sup>, CHEN Bai-yao<sup>2</sup>, ZHU Cai-yan<sup>1</sup>, HUANG Jian-hua<sup>1</sup>, JIANG Shi-gui<sup>1</sup>, ZHOU Fa-lin<sup>1</sup>

(1. Key Lab of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture, South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China; 2. Lianyungang Marine and Fishery Sciences Research Institution, Lianyungang 222044, China)

**Received:** Mar. 14, 2016

**Key words:** *Penaeus monodon*; genetic diversity; AFLP; geographical populations

**Abstract:** The genetic diversity of four *Penaeus monodon* populations (Africa population, F; Sanya population, S; Thailand population, T; Indonesia population, Y) was analyzed by the AFLP technique. One thousand bands were detected with eight primer combinations. The polymorphic bands of four populations and the ratio of polymorphic loci were 478–585 and 47.8%–58.5%, respectively. Nei's gene diversity index and Shannon's information index were 0.0917–0.1271 and 0.1484–0.2032, respectively. The genetic distance between populations F and Y was the largest (0.331), while it was the smallest between populations T and S (0.217). UPGMA dendrogram analysis showed that populations S, T and Y clustered onto one branch, and population F formed another branch. Except for four individuals, the other samples from population F clustered onto one branch, and most samples of populations S, T and Y clustered with their respective populations, while a small number of them were mixed together. AMOVA analysis showed that 35.92% of the variation was among populations and 64.08% variation was within populations.  $F_{st}$  (0.3592) among populations indicated large genetic differentiation. The germ styles of populations S, T and Y were similar, but they were different from that of population F. The results of this study accumulated information on the genetic background of *Penaeus monodon* that will be useful in genetics and breeding and can provide basic information for further development of specific molecular markers in different populations.

(本文编辑: 谭雪静)