

## ◆ 水产渔业 ◆

广西地区中华圆田螺不同地理种群遗传多样性分析<sup>\*</sup>

周康奇, 李育森, 林 勇, 彭金霞, 陈秀荔, 覃俊奇, 陈 忠, 黄 姻, 张彩群, 杜雪松, 何革萍, 韦嫔媛, 潘贤辉<sup>\*\*</sup>

(广西壮族自治区水产科学研究院, 广西水产遗传育种与健康养殖重点实验室, 广西南宁 530021)

**摘要:**为探究珠江流域广西境内中华圆田螺(*Cipangopaludina cathayensis*)种群的遗传多样性特征,本研究采用12对微卫星引物对广西地区中华圆田螺10个地理种群的遗传多样性和遗传分化进行分析。结果显示:12个微卫星位点共检测到140个等位基因,多态信息含量(PIC)为0.373–0.923,其中有9个为高度多态性位点,有3个为中度多态性位点。10个地理种群的香农信息指数( $I$ )为0.415–1.226,观测杂合度( $H_o$ )为0.231–0.540,期望杂合度( $H_e$ )为0.239–0.608,说明这些种群具有较高的遗传多样性。分子方差分析(AMOVA)结果显示,种群内的遗传变异占75%,种群间的遗传变异占25%,遗传分化指数( $F_{st}$ )为0.248,种群间的遗传分化程度较高。基因流( $N_m$ )为0.391–21.807,除河池都安(HCDA)种群和百色那坡(BSNP)种群外,其余8个种群间的基因交流频繁( $N_m > 1.000$ )。种群结构分析发现,BSNP种群与玉林陆川(YLLC)种群的遗传距离较远( $D=0.047$ ),遗传分化程度较高( $F_{st}=0.277$ )。聚类分析和主坐标分析(PCoA)结果显示,HCDA种群和BSNP种群单独为一支,表明这两个种群与其他种群亲缘关系较远。Mantel分析发现,地理距离不是影响各种群间遗传距离大小的主要原因。综上,广西地区中华圆田螺种质资源良好,其中HCDA种群和BSNP种群仍保持着较好的野生资源,具有潜在的开发利用价值。

**关键词:**中华圆田螺;广西地区;微卫星;遗传多样性;遗传分化

中图分类号:S917.4 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2024)02-0269-10

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.20230712.001

中华圆田螺(*Cipangopaludina cathayensis*)是全国水产十大优异种质资源之一,隶属于腹足纲(Gastropoda)田螺科(Viviparidae)圆田螺属

(*Cipangopaludina*),广泛分布于中国湖泊、水库、沼泽及稻田等环境,因其肉味鲜美、风味独特、营养丰富而成为实体店热销的美食,年产值超百亿元<sup>[1-3]</sup>。同

收稿日期:2022-11-26

修回日期:2023-01-04

<sup>\*</sup>国家重点研发计划项目(2022YFD2400704),广西科技基地与人才项目(AD21220010),广西自然科学基金项目(2020GXNSFBA297067),广西创新驱动发展专项资金项目(AA17204080-5)和国家现代农业产业技术体系广西特色淡水鱼产业创新团队建设项目(nycytxgxcxt-2021-08)资助。

【第一作者简介】

周康奇(1990—),女,硕士,助理研究员,主要从事水产遗传育种与资源增殖研究。

【\*\*通信作者简介】

潘贤辉(1992—),男,博士,助理研究员,主要从事水产遗传育种与资源增殖研究,E-mail:15002381261@163.com。

【引用本文】

周康奇,李育森,林勇,等.广西地区中华圆田螺不同地理种群遗传多样性分析[J].广西科学,2024,31(2):269-278.

ZHOU K Q, LI Y S, LIN Y, et al. Genetic Diversity Analysis of Different Geographical Populations of *Cipangopaludina cathayensis* in Guangxi Region [J]. Guangxi Sciences, 2024, 31(2): 269-278.

时,田螺也是青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)、中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)、家禽等经济物种的重要饵料来源,在维持水生生态系统平衡中发挥着至关重要的作用,具有重要的经济价值和生态效益<sup>[4,5]</sup>。目前对中华圆田螺的研究主要集中在精子形态<sup>[6]</sup>、养殖技术<sup>[7,8]</sup>、水体修复<sup>[9]</sup>、生物活性功能<sup>[10,11]</sup>、形态特征<sup>[12]</sup>等方面,而对中华圆田螺种群遗传多样性和遗传分化的研究仍较为薄弱。

微卫星(Microsatellite)又称为简单重复序列(Sample Sequence Repeats, SSR),普遍存在于动物的基因组中,因其具有随机分布性和高水平的等位基因变异性,使其作为遗传标记具有科学有效的应用价值<sup>[13,14]</sup>。目前,该技术已广泛应用于梨形环棱螺(*Bellamya purificata*)<sup>[15]</sup>、厚壳贻贝(*Mytilus unguiculatus*)<sup>[16]</sup>、方斑东风螺(*Babylonia areolata*)<sup>[17]</sup>等经济腹足类动物种群遗传结构的研究中。近年来,本课题组进行了走访调研,发现中国的田螺养殖长期采用“养繁一体”的模式,使种质趋于小型化,优质性状退化严重,导致养殖产量低,经济效益差,加之福寿螺(*Pomacea canaliculata*)入侵严重,侵占了田螺的

表 1 广西中华圆田螺采样点信息

Table 1 Sampling sites information of *C. cathayensis* in Guangxi

种群 Population	采集点 Sampling site	经纬度 Longitude and latitude	样本数/个 Number of sample/ind.	采集日期 Sampling date
HCDA	Du'an Yao Autonomous County	23.93°N, 108.10°E	30	April 2022
GGGP	Guiping City	23.39°N, 110.07°E	30	May 2022
GLLS	Longsheng Various Nationalities Autonomous County	25.79°N, 110.01°E	30	May 2022
HZBB	Babu District, Hezhou City	24.41°N, 111.55°E	30	June 2022
LZRS	Rongshui Miao Autonomous County	25.06°N, 109.25°E	30	May 2022
WZTX	Teng County	23.37°N, 110.91°E	30	April 2022
YLLC	Luchuan County	22.32°N, 110.26°E	30	June 2022
NNHZ	Hengzhou City	22.68°N, 109.26°E	30	May 2022
BSNP	Napo County	23.38°N, 105.83°E	30	June 2022
BSTL	Tianlin County	24.29°N, 106.22°E	30	June 2022

## 1.2 基因组 DNA 提取、PCR 扩增和测序

取 20 mg 新鲜腹足肌肉,采用磁珠法基因组 DNA 提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]提取基因组 DNA,经凝胶成像系统(BIO-RAD, Gel DocTM XR+)和 1% 琼脂糖凝胶电泳检测合格后,于 -20 °C 保存备用。本课题组前期对中国圆田螺的全长转录组数据[美国国家生物技术信息中心(NCBI)登录号为 PRJNA817831]进行筛选验证,获得了 22 对中高多态性微卫星引物,多态信息含量(PIC)为 0.247—0.848,本研究从中选择 12 对 PIC 大于 0.50

生态位,进而改变了生境中田螺的生物多样性<sup>[18]</sup>。因此,为探究广西地区中华圆田螺的遗传多样性和种群结构,本研究采用微卫星分子标记技术分析其 10 个不同地理种群的遗传资源信息,并筛选出适合广西当地气候条件的养殖种群,为有效开发优异种质资源,开展田螺大规模养殖和选育工作提供科学资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 样本采集

中华圆田螺样本于 2022 年 4—6 月分别采集于河池都安(HCDA)、贵港桂平(GGGP)、玉林陆川(YLLC)、梧州藤县(WZTX)、柳州融水(LZRS)、桂林龙胜(GLLS)、贺州八步(HZBB)、南宁横州(NNHZ)、百色田林(BSTL)和百色那坡(BSNP)等 10 个不同的地理种群,每个种群 30 个个体(表 1)。将采集到的 300 个活体野生田螺采用泡沫盒包装加冰袋的方式保持低温,运回实验室后进行肌肉 DNA 样本采集,并加入适量无水乙醇置于 -20 °C 保存备用。采样点地理位置如图 1 所示。

的微卫星引物进行分析。12 对微卫星引物序列使用 M13 通用接头序列(TGTAAAACGACGGCCAGT)在上游引物 5' 方向进行修饰,并合成带不同荧光基团的 M13 接头序列(表 2)。PCR 反应体系总体积为 15 μL,包含 2×Taq PCR Master Mix 7.5 μL, Mix primer 2.0 μL, DNA 模板 1 μL 和 ddH<sub>2</sub>O 4.5 μL。PCR 扩增程序:96 °C 预变性 3 min;94 °C 变性 30 s, 62—52 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min, 共 30 个循环;72 °C 延伸 10 min, 4 °C 保存。取 3 μL 荧光 PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳鉴定合格后,再经 ABI3730xl

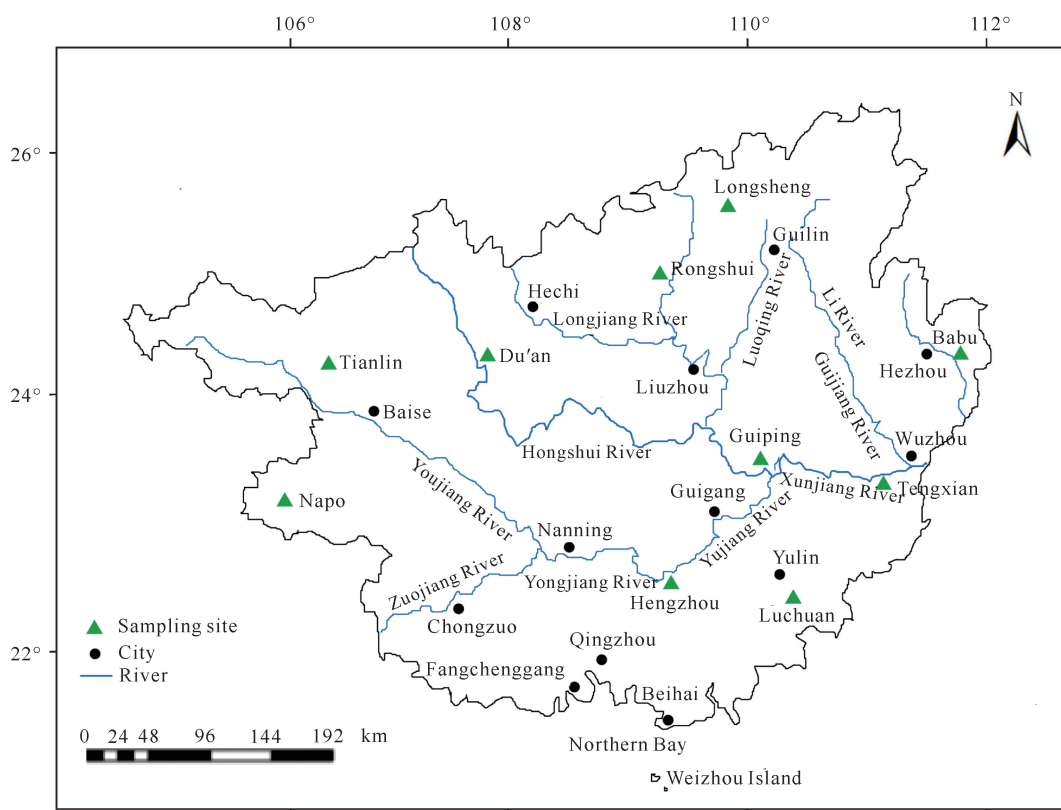


图1 采样点地理位置

Fig. 1 Geographic location of sampling points

表2 中华圆田螺 12 对微卫星引物序列

Table 2 Sequences of 12 pairs of microsatellite primers in *C. cathayensis*

位点 Locus	重复单元 Repeat motif	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'→3')	产物大小/bp Size of product/bp	荧光标记(5') Fluorescence labeling (5')
CMS063	(TA) <sub>6</sub>	F:CGTCCTGCTTCTTCTATCGC R:GATGCCAGACAACAGAATGC	160-169	FAM
CMS046	(AG) <sub>10</sub>	F:AAAGGGCAGCATAGGATTCA R:TTGTGGAACGCGATAATTGA	209-221	FAM
CMS085	(TTG) <sub>6</sub>	F:TCCTTGCTACTGCGGGTACT R:GCATGCACAACAACGAAGCTT	252-325	FAM
CMS143	(GA) <sub>10</sub>	F:GGCCTTAAGTGTCGGAATCA R:TGCCTACTGTCCAGGTTTC	176-192	HEX
CMS072	(AC) <sub>14</sub>	F:CCGCCTGAATAGAATGATG R:GAGGAGGAGTGCCATTCTG	233-262	HEX
CMS042	(CA) <sub>8</sub>	F:TGCAATCGACTTGATTCTGC R:TCACTTTCAGATGGGAGCCT	195-201	TAMRA
CMS058	(GA) <sub>7</sub>	F:CAATCATGCAGAGCCTGAAA R:ATGCGTTTACCCATGCCTAT	273-281	TAMRA
CMS016	(AG) <sub>6</sub>	F:ATTGCATGCATGTGGTCATT R:AAGGGAAAGTCATCATCCCA	196-209	FAM
CMS190	(AT) <sub>6</sub>	F:GTCACCACTGAATGACACCG R:AGACTTTGGCAATTGGTGCT	242-246	FAM
CMS055	(AT) <sub>7</sub>	F:ATTACACATGTGGCAGTGC R:ATCGGTAGCAACAATCCGAA	285-289	FAM
CMS066	(CT) <sub>9</sub>	F:ATGATCGACGAGGTGGAAAAG R:GATCGATACGGACAGACGGT	212-305	HEX
CMS092	(AT) <sub>7</sub>	F:TAAATCGTTCCACGTGCTCA R:GCAATTTTCATGCCTAGCTCA	237-257	TAMRA

DNA 测序仪(Applied Biosystem, Inc., USA)进行荧光电泳检测,并使用软件 AGeneMarker V2. 2. 0 对原始数据进行条带分型。

### 1.3 数据分析

使用 GenAIex v6. 501 软件<sup>[19]</sup>计算 12 个微卫星位点在 10 个地理种群中的等位基因数( $N_a$ )、有效等位基因数( $N_e$ )、观测杂合度( $H_o$ )、期望杂合度( $H_e$ ),并分析种群间的 Nei's 遗传距离<sup>[20]</sup>、两两种群间的遗传分化指数( $F_{st}$ )和香农信息指数( $I$ )以及进行主坐标分析(PCoA)。各种群间的基因流( $N_m$ )计算公式为  $N_m = 0.25(1 - F_{st})/F_{st}$ 。采用固定指数( $F$ )衡量观测杂合度偏离哈代-温伯格(Hardy-weinberg)平衡的程度,计算公式为  $F = (H_e - H_o)/H_e$ 。运用 Cervus 3.0 软件计算各个位点的多态信息含量,采用分子方差分析(AMOVA)计算种群间的遗传结构<sup>[21]</sup>。种群间的聚类分析采用 Phylip 3. 6. 6 软件的非加权组平均法(UPGMA)构建系统进化树。采用 Arcmap v10. 8. 1 软件记录各中华圆

表 3 中华圆田螺 12 对微卫星引物的遗传多态性

Table 3 Genetic diversity of 12 pairs of microsatellite primers in *C. cathayensis*

位点 Locus	等位 基因数( $N_a$ ) Number of allele types ( $N_a$ )	有效等位 基因数( $N_e$ ) Number of effective alleles ( $N_e$ )	香农信息 指数( $I$ ) Shannon's information index ( $I$ )	观测杂合度 ( $H_o$ ) Observed heterozygosity ( $H_o$ )	期望杂合度 ( $H_e$ ) Expected heterozygosity ( $H_e$ )	固定指数( $F$ ) Fixation index ( $F$ )	多态信息 含量(PIC) Polymorphic information content (PIC)
CMS016	5	2.146	0.846	0.318	0.534	0.404	0.428
CMS190	11	5.674	1.931	0.483	0.824	0.414	0.801
CMS055	8	3.320	1.399	0.253	0.699	0.639	0.655
CMS066	15	4.575	1.816	0.498	0.781	0.362	0.755
CMS092	30	13.871	2.869	0.393	0.928	0.576	0.923
CMS063	6	1.674	0.822	0.323	0.403	0.198	0.373
CMS046	10	1.931	1.023	0.388	0.482	0.196	0.453
CMS085	6	2.681	1.165	0.476	0.627	0.241	0.556
CMS143	19	3.005	1.664	0.522	0.667	0.217	0.640
CMS072	17	5.098	2.029	0.651	0.804	0.191	0.781
CMS042	7	3.325	1.420	0.469	0.699	0.329	0.654
CMS058	6	2.735	1.172	0.433	0.634	0.317	0.565
Average value	12	4.170	1.513	0.434	0.674	0.340	0.632

### 2.2 中华圆田螺 10 个地理种群的遗传多样性

中华圆田螺 10 个地理种群的遗传多样性如表 4 所示。中华圆田螺 10 个地理种群的  $N_a$  为 2.0—6.0,  $N_e$  为 1.474—3.467,  $I$  为 0.415—1.226,  $H_o$  为 0.231—0.540,  $H_e$  为 0.239—0.608, 表明不同地理

田螺种群的位置信息,用 R 软件“vegan”包对遗传距离与地理距离进行 Mantel 分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 微卫星位点的多态性

12 对微卫星引物在 10 个地理种群中共检测到 140 个等位基因,等位基因数( $N_a$ )为 5—30,平均值为 12,其中 CMS092 位点的  $N_a$  最多(30 个),CMS016 位点最少(5 个);有效等位基因数( $N_e$ )为 1.674—13.871,平均值为 4.170(表 3)。香农信息指数( $I$ )为 0.822—2.869,观测杂合度( $H_o$ )为 0.253—0.651,期望杂合度( $H_e$ )为 0.403—0.928。固定指数( $F$ )为 0.191—0.639,12 个位点的  $F$  均大于 0,表明各位点均偏离哈代-温伯格(Hardy-weinberg)平衡。12 个位点的多态信息含量(PIC)为 0.373—0.923,平均值为 0.632,其中有 9 个处于高度多态位点( $PIC \geq 0.5$ ),有 3 个处于中度多态性位点( $0.25 \leq PIC < 0.5$ )。

种群的遗传多样性较为丰富; $F$  为 0.045—0.210,各种群均偏离 Hardy-weinberg 平衡,表明种群内的纯合体数量过多。其中,NNHZ 种群的遗传多样性水平最高,BSNP 种群的遗传多样性水平最低。

表 4 中华圆田螺 10 个地理种群的遗传多样性

Table 4 Genetic diversity among 10 geographical populations of *C. cathayensis*

种群 Population	数量 Number	等位 基因数( $N_a$ ) Number of allele types ( $N_a$ )	有效等位 基因数( $N_e$ ) Number of effective alleles ( $N_e$ )	香农信息 指数( $I$ ) Shannon's information index ( $I$ )	观测杂合度 ( $H_o$ ) Observed heterozygosity ( $H_o$ )	期望杂合度 ( $H_e$ ) Expected heterozygosity ( $H_e$ )	固定指数 ( $F$ ) Fixation index ( $F$ )
BSNP	30	2.0	1.474	0.415	0.236	0.239	0.053
NNHZ	30	6.0	3.467	1.226	0.459	0.592	0.210
BSTL	30	6.0	2.893	1.121	0.471	0.560	0.124
HCDA	30	3.0	1.675	0.531	0.231	0.300	0.199
GGGP	30	5.0	2.554	1.022	0.415	0.530	0.182
GLLS	30	3.0	2.229	0.903	0.498	0.524	0.045
HZBB	30	6.0	3.276	1.194	0.540	0.581	0.035
LZRS	30	6.0	3.301	1.184	0.499	0.608	0.161
WZTX	30	6.0	3.132	1.172	0.486	0.558	0.109
YLLC	30	5.0	2.710	1.046	0.475	0.562	0.124
Average value	30	4.8	2.671	0.981	0.431	0.505	0.124

### 2.3 遗传距离和聚类分析

中华圆田螺 10 个地理种群间的遗传距离( $D$ )和遗传一致性( $DI$ )分别为 0.032—0.961 和 0.383—0.969,其中 HZBB 种群与 NNHZ 种群的遗传距离最远( $D=0.032$ ),遗传一致性最大( $DI=0.969$ ); HCDA 种群与 GLLS 种群的遗传距离最近( $D=0.961$ ),遗传一致性最小( $DI=0.383$ )(表 5)。种群

聚类结果显示,HCDA 种群和 BSNP 种群各单独为一支;而 GLLS、GGGP、WZTX、HZBB、YLLC、BSTL、LZRS 和 NNHZ 种群聚为一支,表明 8 个种群亲缘关系较近(图 2)。PCoA 结果表明,HCDA 种群与 BSNP 种群各聚为一类,其余种群则相互汇聚在一起,这与 UPGMA 聚类结果一致(图 3)。

表 5 中华圆田螺 10 个地理种群间的遗传距离( $D$ , 对角线下)和遗传一致性( $DI$ , 对角线上)Table 5 Genetic distance ( $D$ , below diagonal) and genetic identity ( $DI$ , above diagonal) of 10 geographical populations of *C. cathayensis*

	BSNP	NNHZ	BSTL	HCDA	GGGP	GLLS	HZBB	LZRS	WZTX	YLLC
BSNP		0.527	0.555	0.413	0.464	0.445	0.519	0.621	0.405	0.491
NNHZ	0.641		0.856	0.505	0.797	0.565	0.969	0.835	0.946	0.854
BSTL	0.589	0.156		0.480	0.691	0.675	0.841	0.839	0.832	0.954
HCDA	0.885	0.684	0.733		0.409	0.383	0.523	0.506	0.477	0.461
GGGP	0.768	0.227	0.369	0.895		0.497	0.769	0.658	0.747	0.674
GLLS	0.810	0.571	0.394	0.961	0.700		0.553	0.594	0.553	0.601
HZBB	0.656	0.032	0.173	0.648	0.263	0.593		0.831	0.911	0.841
LZRS	0.477	0.180	0.176	0.681	0.418	0.520	0.185		0.754	0.847
WZTX	0.905	0.055	0.184	0.740	0.291	0.593	0.094	0.283		0.819
YLLC	0.712	0.158	0.047	0.775	0.394	0.509	0.173	0.166	0.200	



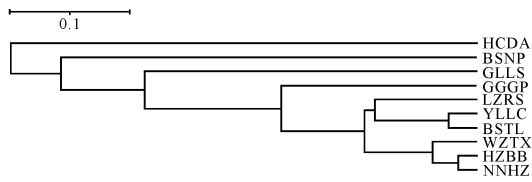


图2 UPGMA 聚类法构建的分支图

Fig. 2 Branch diagram constructed by UPGMA cluster method

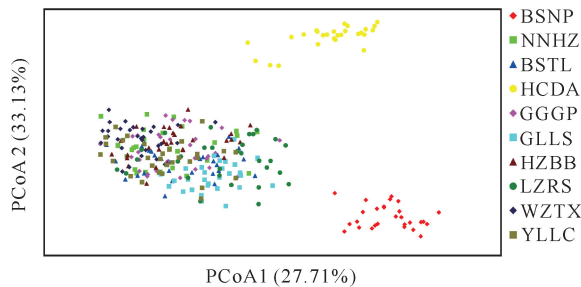


图3 中华圆田螺 10 个地理种群的主坐标分析

Fig. 3 PCoA of 10 geographical populations of *C. cathayensis*

## 2.4 种群间的遗传变异

中华圆田螺 10 个地理种群间的遗传分化指数 ( $F_{st}$ ) 和基因流 ( $N_m$ ) 结果见表 6。各种群间的  $F_{st}$  为 0.011–0.390, 其中 HZBB 种群与 NNHZ 种群的遗传分化程度最小 ( $F_{st} = 0.011$ ), HCDA 种群与 BSNP 种群的遗传分化程度最大 ( $F_{st} = 0.390$ ), 且这两个种群与其他种群的  $F_{st}$  均高于 0.200。10 个地理种群间的  $N_m$  为 0.391–21.807, 其中 HCDA 种群、BSNP 种群与其他 8 个种群的  $N_m$  均小于 1.000。分子方差分析结果(表 7)表明, 75% 的遗传变异来自种群内, 25% 的遗传变异来自种群间, 种群间呈现出高程度的分化 ( $F_{st} = 0.248, P < 0.001$ ), 其中 HCDA 种群、BSNP 种群与其他种群的遗传分化贡献程度较高、基因流水平低。由 Mantel 分析结果可知,  $r$  值为 0.1917,  $P$  值为 0.187(图 4), 表明地理距离对遗传距离的影响较小, 并不是主要的影响因素。

表 6 中华圆田螺 10 个地理种群的遗传分化指数 ( $F_{st}$ , 对角线下) 和基因流 ( $N_m$ , 对角线上)Table 6 Genetic differentiation index ( $F_{st}$ , below diagonal) and gene flow ( $N_m$ , above diagonal) of 10 geographical populations of *C. cathayensis*

	BSNP	NNHZ	BSTL	HCDA	GGGP	GLLS	HZBB	LZRS	WZTX	YLLC
BSNP		0.747	0.782	0.391	0.604	0.635	0.750	0.971	0.549	0.653
NNHZ	0.251		5.231	0.838	3.227	1.543	21.807	4.020	11.513	4.509
BSTL	0.242	0.046		0.762	2.049	2.007	4.719	4.289	3.843	13.819
HCDA	0.390	0.230	0.247		0.588	0.584	0.907	0.852	0.748	0.734
GGGP	0.293	0.072	0.109	0.298		1.138	2.692	1.691	2.390	1.856
GLLS	0.282	0.139	0.111	0.300	0.180		1.500	1.629	1.379	1.550
HZBB	0.250	0.011	0.050	0.216	0.085	0.143		4.244	6.778	4.355
LZRS	0.205	0.059	0.055	0.227	0.129	0.133	0.056		2.445	4.494
WZTX	0.313	0.021	0.061	0.251	0.095	0.153	0.036	0.093		3.387
YLLC	0.277	0.053	0.018	0.254	0.119	0.139	0.054	0.053	0.069	

表 7 中华圆田螺 10 个地理种群的分子方差分析

Table 7 AMOVA analysis of 10 geographic populations of *C. cathayensis*

差异来源 Source of differences	自由度 Degree of freedom	总方差 Sum of squares	均方差 Mean square	估算的差异值 Estimated variance value	差异值的百分比/% Percentage of variation/%	遗传分化指数 ( $F_{st}$ ) Genetic differentiation index ( $F_{st}$ )	$P$ 值 $P$ value
Among populations	9	578.068	64.230	1.036	25	0.248	<0.001
Within populations	574	1800.723	6.294	3.147	75		
Total	583	2378.791		4.183	100		

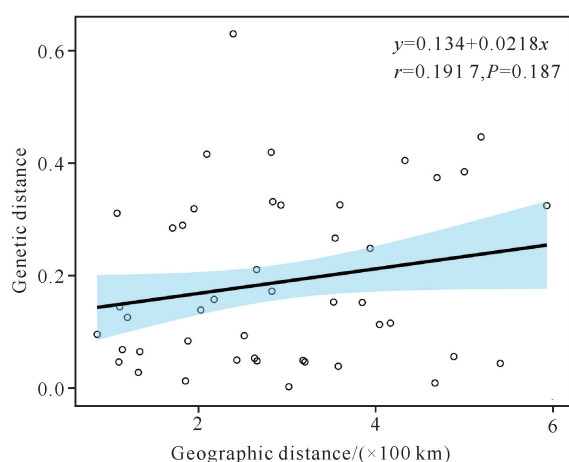


图4 地理距离与遗传距离的Mantel分析

Fig. 4 Mantel analysis between geographical distance and genetic distance

### 3 讨论

#### 3.1 微卫星引物多样性

近年来,高通量测序技术逐渐发展成熟,为DNA分子标记的开发提供了一种高效便捷的科学方法。王忠良等<sup>[22]</sup>基于马氏珠母贝(*Pinctada martensi*)转录组数据挖掘到17对高多态性的EST-SSR引物,为其良种培育奠定了良好基础。熊钢<sup>[23]</sup>从泥东风螺(*Babylonia lutosa*)的转录组数据中筛选得到13 962个EST-SSR序列并发掘到7个含EST-SSR序列的生长相关基因,并将其成功应用于野生种群和人工养殖种群的遗传多样性研究中。卢玮筱等<sup>[24]</sup>通过RNA-seq测序技术获得扁玉螺(*Neverita didyma*)SSR文库,并从中筛选获得一批高多态性的微卫星分子标记。本研究选用的12对微卫星引物的多态信息含量(PIC)平均值为0.632,其中处于高度多态性位点数量为9个( $\text{PIC} \geq 0.5$ ),中度多态性位点数量为3个( $0.25 \leq \text{PIC} < 0.5$ )<sup>[25,26]</sup>。因此,本研究首次基于近源物种中华圆田螺全长转录组数据获得多态性微卫星标记,并成功应用到中华圆田螺的种群遗传多样性分析中且取得较好的效果,对于后续的研究具有一定参考价值。

固定指数( $F$ )是评价自然选择和遗传漂变作用下种群内的杂合度与总种群杂合度比较后的减少数值<sup>[27]</sup>。本研究中中华圆田螺10个种群的 $F$ 值均大于0,均出现偏离Hardy-weinberg平衡的现象,说明这10个种群中的纯合子出现过量的情况,可能是受无效等位基因扩增、杂合子缺少等多种因素的影响,类似的结果在梨形环棱螺<sup>[15]</sup>和铜锈环棱螺(*Bel-*

*lamya aeruginosa*)<sup>[28]</sup>种群多样性研究中也发现。

#### 3.2 种群遗传多样性

一般认为有效等位基因( $N_e$ )越接近等位基因数( $N_a$ )的绝对值,则说明种群中的等位基因分布越均匀。本研究中中华圆田螺10个种群的 $N_a$ 均大于 $N_e$ (约2倍),表明各种群间均出现等位基因数量分布不均匀的现象,其中在WZTX种群表现的最为突出( $N_a/N_e = 6.0/3.132$ ),而这种现象在罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)<sup>[29]</sup>、花鲈(*Lateolabrax maculatus*)<sup>[30]</sup>等其他水产物种中也出现过。

香农信息指数( $I$ )是评估种群分布均匀度和种群内遗传分化程度的一个重要指标,其数值越大表明种群的遗传多样性越大,种群分化程度越高<sup>[31]</sup>。郭思荣<sup>[32]</sup>采用8对微卫星引物对4个壳色马氏珠母贝选育种群进行分析,其种群的 $I$ 为1.233 8—1.275 0,表明这些种群具有较高的遗传多样性和较大的遗传选育潜力。阮惠婷等<sup>[33]</sup>对广西主要流域的飘鱼(*Pseudolaubuca sinensis*)种群进行遗传多样性分析,发现飘鱼 $I$ 的平均值为0.596 9,说明该种群是随机交配和分布的。本研究中中华圆田螺种群 $I$ 的平均值为0.981,其中NNHZ种群的 $I$ 最高( $I = 1.226$ ),BSNP种群最低( $I = 0.415$ ),说明广西地区中华圆田螺种群的整体遗传多样性水平较高。

杂合度是评估种群遗传多样性高低的一个重要指标。期望杂合度能根据每个等位基因的基因频率进行计算,不易受样本量的影响,能更好地反映种群遗传多样性水平<sup>[34]</sup>。本研究结果显示,中华圆田螺10个种群 $H_e$ 的平均值为0.505,其中BSNP种群表现出较低的多态性( $H_e = 0.239$ ),这与香农信息指数分析所得的结果一致。此外,本研究还发现观测杂合度均小于期望杂合度,推测这些种群可能出现了杂合子缺失的情况<sup>[33]</sup>。目前大部分研究认为种群的遗传多样性受多种因素的影响,包括人为活动、地理分布、自然灾害、生活习性、进化地位等<sup>[35]</sup>。虽然人为捕捞、农药滥用、工程改造、福寿螺入侵等对渔业生态造成了严重的影响,但是本研究结果显示广西地区的中华圆田螺仍具有较高的遗传多样性。

#### 3.3 种群间遗传分化

基于Nei's方法计算群体间的遗传距离对探索品种起源、分析种群间的亲缘关系、绘制系统发育树、指导亲本选配等方面具有重要作用<sup>[36]</sup>。本研究结果显示,中华圆田螺10个地理种群的遗传距离( $D$ )为0.032—0.961,遗传一致性( $DI$ )为0.383—0.969,

其中 HCDA 种群与 GLLS 种群的  $D$  值最大 ( $D = 0.961$ ),  $DI$  值最小 ( $DI = 0.383$ ), 说明这两个种群的分化时间长、遗传关系远、遗传变异大。聚类分析和 PCoA 结果显示, HCDA 种群和 BSNP 种群各单独为一支, 而其他 8 个种群聚为一支, 说明这两个种群可能受地理隔离的影响导致与外界交流水平低, 人为干扰程度少。

AMOVA 结果显示, 中华圆田螺以种群内遗传变异 (75%) 为主, 这与梨形环棱螺、铜锈环棱螺等淡水螺的研究结果相似<sup>[15,28]</sup>。遗传分化指数 ( $F_{st}$ ) 是评价种群遗传分化程度的重要指标, 与基因流 ( $N_m$ ) 呈负相关关系<sup>[37]</sup>。本研究发现 BSNP 种群和 HCDA 种群的  $F_{st}$  最大 (0.390),  $N_m$  最小 (0.391), 且 BSNP 种群、HCDA 种群与其他种群的  $F_{st}$  均大于 0.200,  $N_m$  均小于 1.000。研究表明, 当  $0.15 \leq F_{st} < 0.25$  时, 种群间有较大的遗传分化;  $F_{st} \geq 0.25$  时, 种群间存在极大的遗传分化<sup>[26]</sup>。综上结果可知, BSNP 种群和 HCDA 种群与其他 8 个种群遗传分化较大, 基因交流较少, 可能已经发生由遗传漂变引发的实质性遗传分化现象, 这与 Nei's 遗传距离的分析结果一致。另外, 除 BSNP 种群和 HCDA 种群外, 其余 8 个地理种群间的  $F_{st}$  为 0.011—0.180,  $N_m$  均大于 1.000, 说明这些种群间的遗传分化程度水平较低, 基因交流频繁, 能够有效地抑制遗传漂变的作用, 降低种群间出现遗传分化的风险<sup>[38]</sup>。Mantel 分析结果显示, 中华圆田螺各种群间遗传距离与地理距离相关性较低, 且 NNHZ、GLLS、GGGP、WZTX、HZBB、YLLC、BSTL 和 LZRS 种群的基因交流频繁, 受地理隔离影响小, 无明显分化现象, 保持着较高的遗传多样性水平。因此, 笔者推测出现该结果的原因可能有以下两个方面: (1) 随着广西地区稻螺人工养殖规模逐步扩大, 人为耕作和引种活动频繁, 本研究采集的野生种群中可能有一部分为人工养殖逃逸的样本; (2) 近年来广西湘江流域、西江流域等地区洪涝灾害频发, 而田螺幼仔偏好吸附于枯枝烂叶、塑料薄膜等漂浮物表面, 从而促进了中华圆田螺种群的扩散和交流。

#### 4 结论

开展广西地区中华圆田螺种群遗传多样性研究, 掌握分子系统数据有利于该物种的开发利用。本研究选取的 12 对微卫星引物为中高多态性位点, 适用于田螺种群的遗传学研究与种质资源评估。广西地

区中华圆田螺 10 个地理种群的遗传多样性较高, 现有种质资源良好, 尤其是 HCDA 种群和 BSNP 种群具有较好的开发与利用价值。但随着全国稻螺综合养殖模式的不断发展和福寿螺的入侵, 野生田螺的种质资源可能会出现逐步减少的趋势, 因此后续还需要对中华圆田螺自然资源进行全面而深入的研究, 为田螺优异种质资源的挖掘和良种选育提供科学数据。

#### 参考文献

- [1] 程果, 但小琴, 王卫民, 等. 中华圆田螺和铜锈环棱螺的主要风味物质差异性分析[J]. 食品科技, 2021, 46(5): 238-245.
- [2] 解婧媛, 孙涛, 廖芳, 等. 柳州地区中华圆田螺和方形环棱螺的含肉率及营养分析[J]. 现代食品, 2021(17): 203-205.
- [3] 薛飞, 黄凯, 宿志健, 等. 中华圆田螺氨基酸、脂肪酸营养价值与重金属安全性评价[J]. 渔业科学进展, 2022, 43(1): 180-187.
- [4] YI X, GAO J, LI L, et al. Effects of fattening diets on the nutritional quality and flavor of the adult female Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Aquaculture Reports, 2022, 25: 101223.
- [5] 樊芸慧, 杜雪松, 文衍红, 等. 不同饲料对中华圆田螺仔螺生长及存活的影响[J]. 中国饲料, 2020(7): 86-89.
- [6] 黄家锐, 郭青松, 但小琴, 等. 两种圆田螺精子的超微形态结构与活力比较研究[J]. 淡水渔业, 2021, 51(6): 11-18.
- [7] 解婧媛. 中华圆田螺稻田养殖的研究进展[J]. 农村经济与科技, 2021, 32(11): 56-57, 70.
- [8] 黄恒章. 草鱼主养池塘尾水养殖中华圆田螺试验[J]. 中国水产, 2021(7): 75-77.
- [9] 邢浩春, 李志亮, 陈梅兰, 等. 中华圆田螺+水培花卉协同净化水质的效果[J]. 贵州农业科学, 2016, 44(9): 148-151.
- [10] 陈剑杰, 曹谨玲, 李潇, 等. 氟对中华圆田螺肝脏抗氧化酶活性和 MDA 含量的影响[J]. 生态毒理学报, 2018, 13(1): 268-273.
- [11] 周妍英, 罗正明. 镉对中华圆田螺抗氧化酶活性和脂质过氧化的影响[J]. 食品工业科技, 2018, 39(15): 43-47.
- [12] 邱齐骏, 颜冬, 龚守贺, 等. 丘陵山区养殖中华圆田螺主要形态性状对螺重的相关性及通径分析[J]. 河北渔业, 2021(11): 3-6, 12.
- [13] PARK Y J, LEE M N, KANG J H, et al. Population genetic structure of *Semisulcospira gottschei*: simultaneous examination of mtDNA and microsatellite markers [J]. Molecular Biology Reports, 2021, 48(1): 97-



- 104.
- [14] PARK Y J, LEE M N, KIM E M, et al. Development and characterization of novel polymorphic microsatellite markers for the Korean freshwater snail *Semisulcospira coreana* and cross-species amplification using next-generation sequencing [J]. *Journal of Oceanology and Limnology*, 2020, 38(2): 503-508.
- [15] 金武, 曹静越, 马骋, 等. 梨形环棱螺 11 个地理种群遗传多样性和遗传分化[J]. *淡水渔业*, 2022, 52(2): 16-21.
- [16] 傅泽钦. 我国沿海厚壳贻贝 *Mytilus unguiculatus* 群体遗传结构与种群地理分布格局[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2019.
- [17] 朱丹丽. 基于线粒体和微卫星标记的方斑东风螺遗传多样性研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2016.
- [18] 张春霞. 福寿螺与本地田螺在不同生境胁迫下的响应差异与作用机制研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2016.
- [19] EXCOFFIER L P, SMOUSE P E, QUATTRO J M V. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data [J]. *Genetics*, 1992, 131(2): 479-491.
- [20] HATTEMER H H. Genetic distance between populations [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1982, 62(3): 219-223.
- [21] MEIRMANS P G. Using the AMOVA framework to estimate a standardized genetic differentiation measure [J]. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*, 2006, 60(11): 2399-2402.
- [22] 王忠良, 丁燊, 许尤厚, 等. 基于转录组数据的马氏珠母贝 EST-SSR 位点的信息分析及其多态性检测[J]. *海洋与湖沼*, 2015, 46(3): 687-693.
- [23] 熊钢. 基于转录组的泥东风螺 EST-SSR 标记开发及遗传多样性分析[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2015.
- [24] 卢玮筱, 陈永霞, 祁鹏志. 扁玉螺转录组 SSR 信息分析[J]. *浙江海洋大学学报(自然科学版)*, 2018, 37(3): 215-220.
- [25] KUMAR S P J, SUSMITA C, SRIPATHY K V, et al. Molecular characterization and genetic diversity studies of Indian soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) cultivars using SSR markers [J]. *Molecular Biology Reports*, 2022, 49(3): 2129-2140.
- [26] ALI A, PAN Y B, WANG Q N, et al. Genetic diversity and population structure analysis of *Saccharum* and *Eriarthus* genera using microsatellite (SSR) markers [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 395.
- [27] 熊钢, 王晓清, 王佩, 等. 泥东风螺 EST-SSR 开发及其群体遗传多样性分析[J]. *渔业科学进展*, 2020, 41(4): 117-124.
- [28] 顾钱洪, 熊邦喜, 陈洁, 等. 微卫星标记技术在淡水腹足类种群遗传学研究中的应用[J]. *应用与环境生物学报*, 2011, 17(2): 280-286.
- [29] 李景芬, 夏正龙, 栾生, 等. 五个罗氏沼虾群体遗传多样性的微卫星分析[J]. *水生生物学报*, 2020, 44(6): 1208-1214.
- [30] 黄皓, 范嗣刚, 王鹏飞, 等. 基于微卫星标记对 6 个花鲈群体的遗传多样性分析[J]. *南方水产科学*, 2022, 18(1): 99-106.
- [31] 张民照. 用多态位点率和香农指数分析的飞蝗地理种群遗传多样性[J]. *中国农学通报*, 2008, 24(9): 376-381.
- [32] 邹思荣. 湛江北部湾深水海域马氏珠母贝四种壳色选育系 F<sub>5</sub> 的生长速度、生长模型及其遗传多样性的 SSR 分析[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2011.
- [33] 阮惠婷, 徐姗楠, 李敏, 等. 飘鱼微卫星位点的筛选及珠江流域 5 个地理群体的遗传多样性分析[J]. *水生生物学报*, 2020, 44(3): 501-508.
- [34] QIN Y, SUN D Q, XU T J, et al. Genetic diversity and population genetic structure of the miiuy croaker, *Miichthys miiuy*, in the East China Sea by microsatellite markers [J]. *Genetics and Molecular Research: GMR*, 2014, 13(4): 10600-10606.
- [35] HOQUE A, FIEDLER J D, RAHMAN M. Genetic diversity analysis of a flax (*Linum usitatissimum* L.) global collection [J]. *BMC Genomics*, 2020, 21(1): 557.
- [36] JO K R, CHO S, CHO J H, et al. Analysis of genetic diversity and population structure among cultivated potato clones from Korea and global breeding programs [J]. *Scientific Reports*, 2022, 12(1): 10462.
- [37] 李强勇, 李旻, 曾地刚, 等. 凡纳滨对虾微卫星分子标记的开发及不同养殖家系遗传多态性分析[J]. *南方农业学报*, 2020, 51(2): 429-436.
- [38] SLATKIN M. Gene flow in natural populations [J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1985, 16: 393-430.

# Genetic Diversity Analysis of Different Geographical Populations of *Cipangopaludina cathayensis* in Guangxi Region

ZHOU Kangqi, LI Yusen, LIN Yong, PENG Jinxia, CHEN Xiuli, QIN Junqi, CHEN Zhong, HUANG Yin, ZHANG Caiqun, DU Xuesong, HE Pingping, WEI Binyuan, PAN Xianhui<sup>\* \*</sup>

(Guangxi Key Laboratory of Aquatic Genetic Breeding and Healthy Aquaculture, Guangxi Academy of Fishery Sciences, Nanning, Guangxi, 530021, China)

**Abstract:** In order to explore the genetic diversity characteristics of *Cipangopaludina cathayensis* population in Guangxi, the Pearl River Basin, China, 12 pairs of microsatellite primers were used to analyze the genetic diversity and genetic differentiation of 10 geographical populations of *C. cathayensis* in Guangxi. The results showed that a total of 140 alleles were detected at 12 pairs of microsatellite loci, and the Polymorphic Information Content (PIC) was in the range of 0.373–0.923, of which 9 were highly polymorphic loci and 3 were moderately polymorphic loci. The Shannon information index ( $I$ ) of the 10 geographical populations was 0.415–1.226, the observed heterozygosity ( $H_o$ ) was 0.231–0.540 and the expected heterozygosity ( $H_e$ ) of 0.239–0.608, which indicated that these populations had high genetic diversity. The results of Analysis of Molecular Variance (AMOVA) showed that the genetic variation within populations accounted for 75%, and the genetic variation among populations accounted for 25%. The genetic differentiation index ( $F_{st}$ ) was 0.248, and the genetic differentiation among populations was higher. The gene flow ( $Nm$ ) was 0.391–21.807, and the gene exchange was frequent among the remaining 8 populations ( $Nm > 1.000$ ) except for the Hechi Du'an (HCDA) and Baise Napo (BSNP) population. The analysis of population structure showed that the genetic distance between BSNP population and Yulin Luchuan (YLLC) population was relatively far ( $D = 0.047$ ), and the degree of genetic differentiation was high ( $F_{st} = 0.277$ ). The results of cluster analysis and Principal Coordinate Analysis (PCoA) showed that the HCDA and BSNP population were in a separate branch, indicating that this two populations was more distantly related to other populations. Mantel analysis found that geographical distance was not the main factor affecting the genetic distance among populations. In summary, the germplasm resources of *C. cathayensis* in Guangxi are good, and the HCDA population and BSNP populations still maintain good wild resources, which have potential development and utilization value.

**Key words:** *Cipangopaludina cathayensis*; Guangxi region; microsatellite; genetic diversity; genetic differentiation

责任编辑:唐淑芬



微信公众号投稿更便捷

联系电话:0771-2503923

邮箱:gxkx@gxas.cn

投稿系统网址:<http://gxkx.ijournal.cn/gxkx/ch>