

ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA QUÁ TRÌNH GIA HÓA LÊN SỰ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA QUẦN ĐÀN TÔM CÀNG XANH (*MACROBRACHIUM ROSENBERGII*) PHỤC VỤ CHƯƠNG TRÌNH CHỌN GIỐNG Ở VIỆT NAM

Nguyễn Minh Thành^{1,✉}, Peter Mather²

¹Trường Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

²Queensland University of Technology (QUT)

✉Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: nmthanh@hcmiu.edu.vn

Ngày gửi bài: 18.11.2016

Ngày nhận đăng: 30.3.2017

TÓM TẮT

Nghiên cứu sử dụng 6 chi thị phân tử microsatellite đánh giá mức độ đa dạng di truyền các quần đàn tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) của phép lai nội dòng có nguồn gốc từ phép lai hỗn hợp giữa 2 dòng tôm Việt Nam (Đồng Nai và Mê Kông) và dòng tôm Hawaii. Kết quả cho thấy tất cả các quần đàn gia hóa có nguồn gốc từ phép lai nội dòng có mức độ đa dạng di truyền cao với số lượng allele trung bình trên 1 vị trí dao động từ 13 tới 15 allele. Mức độ dị hợp tử thực tế (H_o) dao động 0,84-0,89 và mức độ dị hợp tử lý thuyết (H_e) dao động 0,87-0,89. Số liệu microsatellite của các phép lai nội dòng được gộp chung thành quần đàn gia hóa để so sánh sự đa dạng di truyền với quần đàn tự nhiên. Kết quả phân tích cho thấy không có sự khác biệt của sự đa dạng di truyền giữa quần đàn gia hóa và quần đàn có nguồn gốc từ tự nhiên. Số lượng allele trung bình của quần đàn gia hóa là 24,33 và quần đàn tự nhiên cũng là 24,33. Mức độ dị hợp tử thực tế của quần đàn gia hóa là 0,87 trong khi đó chỉ số này ở quần đàn tự nhiên là 0,90. Mức độ dị hợp tử lý thuyết của quần đàn gia hóa là 0,94 và chỉ số này ở quần đàn tự nhiên là 0,95. Kết quả này cho thấy quần đàn tôm càng xanh gốc hình thành từ các phép lai nội dòng không bị suy giảm mức độ đa dạng di truyền trong quá trình gia hóa. Vì vậy quần đàn tôm càng xanh ban đầu này có thể sử dụng là nguồn vật liệu phục vụ cho chương trình chọn giống tôm càng xanh trong tương lai ở Việt Nam.

Từ khóa: Đa dạng di truyền, gia hóa, *Macrobrachium rosenbergii*, microsatellite, tôm càng xanh

MỞ ĐẦU

Tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) là một trong những đối tượng thủy sản nước ngọt có giá trị kinh tế cao ở Việt Nam và nhiều nơi trên thế giới. Tuy nhiên nghề nuôi tôm càng xanh hiện nay vẫn còn phụ thuộc nguồn tôm giống chưa được cải thiện chất lượng di truyền nên đạt sản lượng thấp và dễ mắc cảm với dịch bệnh, ảnh hưởng đến sự phát triển bền vững của nghề nuôi. Ngoài ra, nghiên cứu di truyền trên tôm càng xanh còn rất hạn chế, mặc dù loài này là đối tượng nuôi nước ngọt phổ biến ở nhiều nơi trên thế giới. Hiện trạng này cho thấy sự cần thiết của chương trình nâng cao chất lượng di truyền cho tôm càng xanh nhằm cải thiện một số tính trạng có giá trị kinh tế.

Phương pháp chọn giống cho thấy có nhiều tiềm năng cải thiện chất lượng con giống thủy sản bởi hiệu quả chọn lọc của đối tượng thủy sản thường cao

hơn các động vật nuôi khác (Olesen *et al.*, 2003). Hiệu quả của chương trình chọn giống là làm thay đổi tần số allele ở các vị trí (locus) có ảnh hưởng đến tính trạng chọn lọc bằng cách tăng số lượng allele có lợi và giảm thiểu hoặc loại trừ allele bất lợi đến tính trạng quan tâm (Gjedrem, Thodesen, 2005). Sự thành công của chương trình chọn giống về lâu dài sẽ phụ thuộc đáng kể vào mức độ biến dị di truyền của quần đàn gốc phục vụ cho chương trình chọn giống (Falconer, Mackay, 1996). Vì vậy ước tính mức độ đa dạng di truyền của quần đàn gia hóa ban đầu có ý nghĩa quan trọng trước khi tiến hành chương trình chọn giống.

Chi thị phân tử microsatellite có tính đa hình cao và xuất hiện nhiều trong hệ gen của đa số các loài động vật và di truyền theo quy luật Mendel đồng tính trội (Liu, 2007). Vì vậy, microsatellite được sử dụng rộng rãi để nghiên cứu đa dạng di truyền của quần đàn tự nhiên và quần đàn gia hóa của nhiều đối

trương thủy sản. Nhiều microsatellite cho tôm càng xanh đã được công bố (Bhassu *et al.*, 2008; Chand *et al.*, 2005; Chareontawee *et al.*, 2006; Divu *et al.*, 2008; See *et al.*, 2009) có thể sử dụng để đánh giá đa dạng di truyền trên tôm càng xanh (Banu *et al.*, 2015; Hai *et al.*, 2015; Karaket *et al.*, 2011; Schneider *et al.*, 2013). Trước khi bắt đầu chương trình chọn giống tôm càng xanh, phương pháp lai hỗn hợp giữa các dòng khác nhau là bước đi cần thiết để đánh giá các dòng tôm làm cơ sở hình thành quần đàn gốc cho chương trình chọn giống sau này. Mục tiêu của nghiên cứu là: (i) đánh giá mức độ đa dạng di truyền của quần đàn gia hóa đầu tiên (quần đàn gốc), (ii) so sánh mức độ đa dạng di truyền giữa quần đàn tôm gia hóa sau 1 thế hệ và quần đàn tôm có nguồn gốc từ tự nhiên.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Đối tượng nghiên cứu

Tôm càng xanh sử dụng trong phép lai hỗn hợp bao gồm 2 dòng tôm Việt Nam có nguồn gốc tự nhiên thu thập từ sông Đồng Nai (ĐN) và sông Mê Kông (MK) và dòng tôm thứ 3 có nguồn gốc từ Hawaii (HW). Phép lai hỗn hợp bao gồm 3 phép lai nội dòng (ĐNxĐN, MKxMK, HWxHW) và 6 phép lai khác dòng. Tôm giống từ nhiều gia đình của 1 phép lai được trộn lẫn nhau và thả nuôi trong giai lưới có kích thước 4x8x1.5m. Mẫu chân bơi từ các cá thể của phép lai nội dòng (140 mẫu) được thu thập cho thí nghiệm phân tích microsatellite của quần đàn gia hóa sau 1 thế hệ. Tương tự, mẫu chân bơi của tôm tự nhiên có nguồn gốc từ sông Đồng Nai và Mê Kông (30 mẫu) và nguồn gốc từ Malaysia (30

mẫu) được thu thập để phân tích microsatellite của quần đàn tự nhiên.

Tách chiết DNA, phản ứng PCR và phân tích microsatellite

DNA tổng số được tách chiết từ mẫu chân bơi bằng dung dịch muối theo phương pháp của Miller và đồng tác giả (1988).

Sáu chỉ thị microsatellite được sàng lọc bao gồm 3 cặp mỗi của nhóm nghiên cứu Charoentawee và đồng tác giả (2006) công bố và 3 cặp mỗi được phát triển tại Phòng thí nghiệm Sinh thái phân tử của Đại học Công nghệ Queensland (Bảng 1). Phản ứng PCR có thể tích 25 µL bao gồm 50-100 ng DNA, 1 đơn vị *Taq* (Roche), 0,5 µM mỗi xuôi (đánh dấu màu huỳnh quang HEX), 0,5 µM mỗi ngược, 0,1 mM dNTP, và dung dịch đệm 10x (100 mM Tris-HCL, 15 mM MgCl₂, 500 mM KCl, pH 8,3). DNA được làm biến tính ở nhiệt độ 94°C trong thời gian 3 phút, tiếp theo là chu trình nhiệt 30 chu kỳ bao gồm: DNA biến tính trong 30 giây ở nhiệt độ 94°C, phản ứng lại trong 45 giây ở nhiệt độ đặc hiệu cho từng cặp mỗi (Bảng 1), phản ứng tổng hợp sợi DNA mới trong 1 phút ở nhiệt độ 72°C. Sau chu kỳ cuối, phản ứng PCR được duy trì thêm 10 phút ở nhiệt độ 72°C. Hỗn hợp sản phẩm PCR và dung dịch phẩm màu (tỉ lệ 1:1) được làm biến tính ở 95°C trong thời gian 3 phút và làm lạnh trên đá trong 3 phút trước khi điện di. Sản phẩm PCR được điện di trên gel acrylamide 5% bằng thiết bị Gelscan 2000 (Corbett Research). Kích thước của microsatellite được so sánh với thang chuẩn TAMRA (Genescan-350) và phân tích bằng phần mềm ONE-DSCAN (Scanalytics).

Bảng 1. Trình tự mỗi (primer), nhiệt độ gắn mỗi và trình tự lặp lại của các microsatellite. Charoentawee *et al.* (2006)

Primer	Trình tự 5'-3'	Nhiệt độ gắn mỗi (°C)	Trình tự lặp lại
Qut807	F(HEX): TA CGT GAT TCG AGG CAT GAG R: CTA GCG GGA CTA GTG GAA CG	55	(GA) ₂₇
Qut817	F(HEX): AT GGC CAA GAT GAA AGA TGC R: CTG TCT GTA CCG CAG TCG AA	57	(CT) ₂₀
Qut819	F(HEX):TG ATG GGT CGT GTT TTG TGT R: CCC CTC TCG GGA AGA GTA AT	50	(CT) ₃₄
Qut822	F(HEX):GA AAG AAC ATC CGG CAA AAA R: AAT CAA AAG CAA TCA CGG AGT	54	(TC) ₂₀
Mbr3 [*]	F(HEX): CA ACT CTA TGT TTC GGC ATT TGG R: GGG GAA TTT TAC CGA TGT TTC TG	62	(AG) ₁₄
Mbr10 [*]	F(HEX):AT GAC GAT GAT GAG GAA TGA AGC R: TTT CAG GCT ATA TCA AGC AAC AG	60	(ATG) ₃ A(ATG) ₄

Phân tích số liệu

Số liệu microsatellite được kiểm tra các allele ảo (null allele) bằng phần mềm MICROCHECKER 2.2.3 (Oosterhout *et al.*, 2004) trước khi được phân tích tiếp theo. Sự đa dạng di truyền của các quần đàn tôm được ước tính dựa vào các chỉ số: số lượng allele (A – allele), mức độ đa dạng allele (A_r – allelic richness), allele đặc trưng (A_p – private allele), tỷ lệ dị hợp tử thực tế (H_o – observed heterozygosity) và tỷ lệ dị hợp tử lý thuyết (H_e – expected heterozygosity). Số lượng allele và mức độ đa dạng allele được tính toán bằng chương trình FSTAT 2.9.3.2 (Goudet, 2002), trong khi đó allele đặc trưng và tỷ lệ dị hợp tử được phân tích bằng phần mềm Arlequin 3.1 (Excoffier *et al.*, 2006). Chương trình GENEPOP 4.0 được sử dụng kiểm tra cân bằng Hardy-Weinberg (Raymond, Rousset, 1995).

Nghiên cứu so sánh sự đa dạng di truyền của quần đàn gia hóa và tự nhiên dựa trên 3 microsatellite là qut17, qut22 và mbr3. Sự sai khác có ý nghĩa thống kê của các chỉ tiêu A , A_r , H_o và H_e giữa 2 quần đàn được kiểm tra dựa vào phép thử Student's t -test (Sokal, Rohlf, 1995). Chương trình GENEPOP 4.0 được sử dụng để ước tính F_{ST} và kiểm tra độ tin cậy thống kê (Raymond, Rousset, 1995).

KẾT QUẢ

Sự đa dạng di truyền của quần đàn gia hóa sau một thế hệ

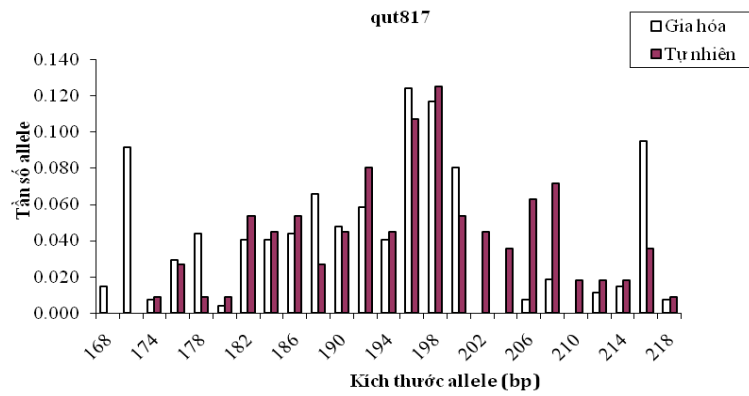
Bảng 2 trình bày các chỉ số đa dạng di truyền của quần đàn gia hóa khi phân tích 6 microsatellite. Nghiên cứu xác định được tổng cộng 121 allele cho 6 microsatellite. Đa số các allele có mức độ đa dạng cao dao động từ 18 allele cho vị trí qut807 tới 29 allele cho vị trí mbr3. Vị trí mbr10 có mức độ đa dạng thấp nhất với số lượng allele xác định được là 10 allele. Mức độ đa dạng allele (A_r) trong đó có sự hiệu chỉnh số lượng mẫu phân tích cho kết quả ước tính là 8,78 allele cho vị trí mbr10 và cao nhất là

24,66 allele cho vị trí mbr3. Tỷ lệ dị hợp tử thực tế (H_e) cho tất cả microsatellite là tương tự nhau, khoảng dao động 0,84 - 0,89 và không sai khác có ý nghĩa thống kê khi so sánh với tỷ lệ dị hợp tử lý thuyết (0,87 - 0,89).

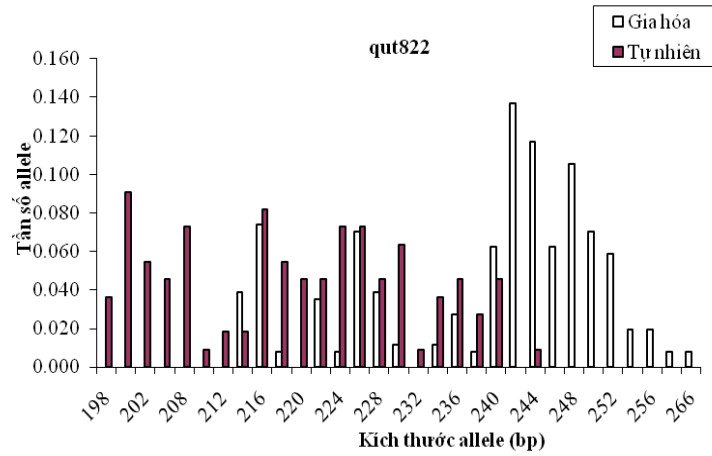
So sánh mức độ đa dạng di truyền của quần đàn gia hóa và quần đàn tự nhiên

Các chỉ số đa dạng di truyền của quần đàn gia hóa và quần đàn tự nhiên được trình bày ở Bảng 3. Kết quả phân tích 3 microsatellite cho thấy số lượng allele trung bình/microsatellite giữa quần đàn gia hóa và tự nhiên là không khác nhau (24,33/microsatellite). Trong khi đó mức độ đa dạng allele (A_r) của quần đàn gia hóa và tự nhiên lần lượt là 22,18 và 24,25, nhưng sai khác này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0.05$). Tương tự, mức độ dị hợp tử thực tế của quần đàn gia hóa và tự nhiên lần lượt là 0,87 và 0,90. Sự sai khác này cũng không có ý nghĩa thống kê ($p > 0.05$).

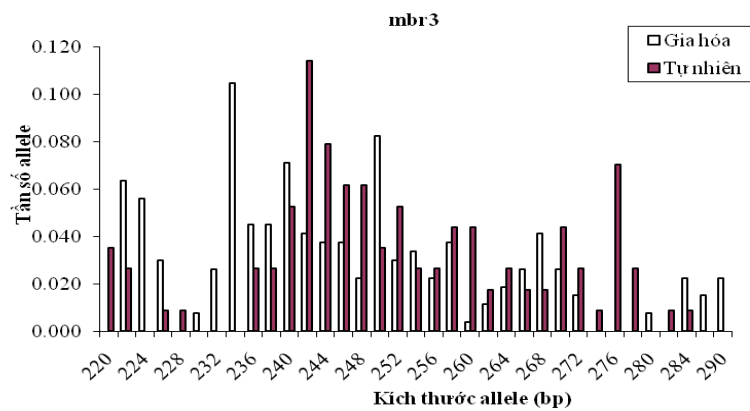
Tuy nhiên sự phân bố allele của quần đàn gia hóa và tự nhiên tương đối khác nhau. Kết quả phân tích vị trí qut817 cho thấy cả hai quần đàn có nhiều allele có kích thước 182–200 bp. Tuy nhiên quần đàn gia hóa có tần số đáng kể allele có kích thước 170 và 216 bp (Hình 1). Đối với vị trí qut822, đa số allele của quần đàn gia hóa có kích thước lớn (242, 244 và 248 bp), trong khi đó đa số allele của quần đàn tự nhiên có kích thước nhỏ (200 và 216 bp) (Hình 2). Đối với vị trí mbr3, đa số allele của quần đàn gia hóa có kích thước là 234 và 250 bp, và đa số allele của quần đàn tự nhiên có kích thước là 242 và 244 bp (Hình 3). Số lượng allele đặc trưng của 2 quần đàn là giống nhau (Bảng 4). Kết quả so sánh giữa 2 quần đàn cho thấy sự đa dạng di truyền dựa trên mức độ đa dạng allele và mức độ dị hợp tử là gần như giống nhau giữa 2 quần đàn. Tuy nhiên sự khác nhau của số allele phổ biến và tần số xuất hiện của nó góp phần vào sự sai khác có ý nghĩa thống kê của giá trị F_{ST} khi so sánh giữa 2 quần đàn ($F_{ST} = 0,02$, $p < 0,01$).



Hình 1. Kích thước allele và tần số allele của microsatellite qut817 của quần đàn gia hóa và quần đàn tự nhiên.



Hình 2. Kích thước allele và tần số allele của microsatellite qut822 của quần đàn gia hóa và quần đàn tự nhiên.



Hình 3. Kích thước allele và tần số allele của microsatellite mbr3 của quần đàn gia hóa và quần đàn tự nhiên.

Bảng 2. Sự đa dạng di truyền của các microsatellite của các quần đàn tôm càng xanh gia hóa (DN, MK, HW). n-số lượng mẫu, A-số lượng allele, A_r -sự đa dạng allele, H_o -tỷ lệ dị hợp tử lý thuyết, H_e -tỷ lệ dị hợp tử thực tế.

Vị trí	Chỉ số	Quần đàn gia hóa			Quần đàn gia hóa cộng gộp
		DN	MK	HW	
qut807	n	40	41	59	
	A	15	15	15	18
	A_r	14,68	14,76	13,99	16,19
	H_o	0,80	0,93	0,83	0,85
qut817	H_e	0,90	0,90	0,90	0,90
	A	17	13	17	22
	A_r	16,58	12,71	15,61	18,18
	H_o	0,88	0,80	0,88	0,85
qut819	H_e	0,87	0,86	0,92	0,88
	A	15	11	16	20
	A_r	14,77	10,84	15,41	17,06
	H_o	0,88	0,90	0,93	0,90
qut822	H_e	0,88	0,85	0,91	0,88
	F_{is}	0,01	-0,06	-0,02	-0,02
	A	14	14	15	22
	A_r	14,00	13,75	14,75	18,07
mbr3	H_o	0,86	0,85	0,94	0,88
	H_e	0,87	0,85	0,92	0,88
	A	18	18	21	29
	A_r	17,79	17,68	19,89	24,66
mbr10	H_o	0,79	0,90	0,86	0,85
	H_e	0,92	0,93	0,95	0,93
	A	8	7	6	10
	A_r	7,98	7,00	5,85	8,78
Trung bình (tất cả vị trí)	H_o	0,83	0,92	0,92	0,89
	H_e	0,81	0,82	0,72	0,79
	A	14,50	13,00	15,00	
	A_r	14,30	12,79	14,25	
	H_o	0,84	0,88	0,89	
	H_e	0,87	0,87	0,89	

Bảng 3. Sự đa dạng di truyền của quần đàn tôm càng xanh gia hóa và tự nhiên.

Vị trí	Chỉ số	Quần đàn	
		Gia hóa	Tự nhiên
qut817	n	140	60
	A	22	23
	A _r	19,76	22,93
	H _o	0,85	0,95
qut822	H _e	0,93	0,94
	A	22	22
	A _r	19,86	22,00
	H _o	0,89	0,89
mbr3	H _e	0,93	0,95
	A	29	28
	A _r	26,92	27,82
	H _o	0,85	0,88
Trung bình (tất cả vị trí)	H _e	0,95	0,96
	A	24,33	24,33
	A _r	22,18	24,25
	H _o	0,87	0,90
	H _e	0,94	0,95

Bảng 4. Số lượng allele đặc trưng của 3 microsatellite ở quần đàn gia hóa và tự nhiên.

Vị trí	Quần đàn		Tổng cộng
	Gia hóa	Tự nhiên	
qut817	2	3	5
qut822	9	9	18
mbr3	7	6	13
Total	18	18	

THẢO LUẬN

Tất cả microsatellite của nghiên cứu hiện tại cho thấy có tính đa hình cao. Đặc điểm này đã được công bố khi sử dụng microsatellite nghiên cứu trên tôm sú *Penaeus monodon* với số lượng allele/vị trí là 6-14 khi microsatellite có trình tự lặp lại < 20 và số lượng allele/vị trí lên tới 54 khi microsatellites có trình tự lặp lại lớn (Xu *et al.*, 2001). Số lượng allele/vị trí của nghiên cứu chúng tôi phát hiện được cũng tương tự với các công bố trước đây sử dụng cùng loại microsatellite để nghiên cứu trên tôm càng xanh (Chareontawee *et al.*, 2006, 2007). Kết quả kiểm tra phân bố các allele theo cân bằng Hardy-Weinberg cho thấy có sự sai lệch cân bằng ở tất cả 6 microsatellite (p < 0,01). Kết quả này không nằm ngoài dự đoán vì các mẫu phân tích được thu từ phép

lai nội dòng, không phải mẫu thu từ ghép phối ngẫu nhiên của quần đàn.

Kết quả nghiên cứu hiện tại cho thấy mức độ dị hợp tử thực tế của quần đàn gia hóa sau 1 thế hệ không sai khác có ý nghĩa thống kê so với quần đàn tự nhiên. Kết quả này tương tự với các nghiên cứu mức độ đa dạng di truyền của các quần đàn gia hóa ở ốc bào ngư *Haliotis tuberculata* (Mgaya *et al.*, 1995) và tôm thẻ *Marsupenaeus japonicus* (Luan *et al.*, 2006). Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu khác công bố sự đa dạng di truyền của các quần đàn tôm biển bị suy giảm qua nhiều thế hệ gia hóa (Cruz *et al.*, 2004; Dixon *et al.*, 2008; Goyard *et al.*, 2003; Wolfus *et al.*, 1997; Xu *et al.*, 2001). Kích thước quần đàn nhỏ, và hiện tượng cận huyết xảy ra ở các quần đàn nhỏ thường được cho là nguyên nhân làm giảm đa dạng di truyền của các quần đàn gia hóa (Lowe *et al.*,

2004). Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy quá trình gia hóa đến thời điểm hiện tại không tác động đáng kể đến sự đa dạng di truyền và nguồn vật liệu ban đầu đảm bảo hiệu quả chọn giống lâu dài. Điều này có thể lý giải từ thiết kế giao phối từng cặp và tối thiểu 8 gia đình/phép lai đảm bảo duy trì mức độ đa dạng di truyền ở quần đàn gia hóa. Kết quả của chúng tôi tương tự với kết quả nghiên cứu sự đa dạng di truyền của quần đàn tôm càng xanh gia hóa ở Thái Lan. Nghiên cứu này cho thấy quần đàn gia hóa vẫn duy trì mức độ đa dạng di truyền cao khi so sánh với quần đàn tôm tự nhiên mặc dù tôm càng xanh ở Thái Lan đã được gia hóa từ những năm 1970 (Chareontawee *et al.*, 2007). Ngoài ra, nghiên cứu hiện tại cũng cho thấy phân tích đa dạng di truyền sử dụng các chỉ thị phân tử là phương pháp hữu hiệu trong quản lý quần đàn bố mẹ sau mỗi thế hệ chọn giống (Koljonen *et al.*, 2002).

Nghiên cứu hiện tại cũng cho thấy số lượng allele và allele đặc trưng trong đôi phong phú ở 2 quần đàn. Tuy nhiên tần số allele có sự sai khác khi so sánh giữa 2 quần đàn. Điều này có thể giải thích do địa điểm thu mẫu để hình thành quần đàn gia hóa và địa điểm thu mẫu của quần đàn tự nhiên là khác nhau dẫn đến tần số allele ở các quần đàn là khác nhau. Ngoài ra số lượng mẫu nhỏ cũng có thể là nguyên nhân dẫn đến sai lệch khi nghiên cứu sử dụng microsatellite có tính đa hình cao (Beaumont, Hoare, 2003).

KẾT LUẬN

Microsatellite là chỉ thị phân tử được sử dụng hữu hiệu trong đánh giá đa dạng di truyền của các quần đàn tôm càng xanh. Mức độ dị hợp tử và đa dạng allele cao của quần đàn gia hóa sau 1 thế hệ cho thấy nguồn vật liệu này có thể sử dụng hiệu quả cho chương trình chọn giống tôm càng xanh ở Việt Nam.

Lời cảm ơn: Nhóm nghiên cứu chân thành cảm ơn Trung tâm Quốc gia Giống thủy sản nước ngọt Nam Bộ và Phòng thí nghiệm Sinh thái phân tử của Đại học Công nghệ Queensland, Úc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Banu MR, Siraj SS, Christianusa A, Ikhsan NFM, Rajae AH (2015) Genetic variation among different morphotypes of the male freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). *Aquacult Rep* 1: 15-19.

Beaumont AR, Boudry P, Hoare K (2010) *Biotechnology and genetics in fisheries and aquaculture*, 2nd ed. Wiley-Blackwell, Oxford, United Kingdom, 202 pp.

Bhassu S, See LM, Hassan R, Siraj SS, Tan SG (2008) Isolation and characterization of microsatellite loci in the Malaysian giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Mol Ecol Resour* 8: 983-985.

Chand V, de Bruyn M, Mather PB (2005) Microsatellites loci in the eastern form of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Mol Ecol Notes* 5: 308-310.

Chareontawee K, Poompuang S, Na-Nakorn U (2006) Isolation and characterization of microsatellites in giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Mol Ecol Notes* 6: 823-825.

Chareontawee K, Poompuang S, Na-Nakorn U, Kamonrat W (2007) Genetic diversity of hatchery stocks of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in Thailand. *Aquaculture* 271: 121-129.

Cruz P, Ibarra AM, Mejia-Ruiz H, Gaffney PM, Perez-Enriquez R (2004) Genetic variability assessed by microsatellites in a breeding program of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Mar Biotechnol* 6: 157-164.

Divu D, Khushiramani R, Malathi S, Karunasagar I, Karunasagar I (2008) Isolation, characterization and evaluation of microsatellite DNA markers in giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* from South India. *Aquaculture* 284: 281-284.

Dixon TJ, Coman GJ, Arnold SJ, Sellars MJ, Lyons RE, Dierens L, Preston NP, Li Y (2008) Shifts in genetic diversity during domestication of Black Tiger shrimp, *Penaeus monodon*, monitored using two multiplexed microsatellite systems. *Aquaculture* 283: 1-6.

Excoffier L, Laval G, Schneider S (2006) *Arlequin version 3.1: an integrated software package for population genetic s data analysis*. Institute of Zoology, University of Berne, Switzerland.

Falconer DS, Mackay TFC (1996) *Introduction to quantitative genetics*, 4th ed. Longman, Essex CM20 2JE, England, 464 pp.

Gjedrem T, Thodesen J (2005) *Selection*. In Gjedrem T, ed. *Selection and breeding programs in aquaculture*. Springer, the Netherlands: 89-111.

Goudet J (2002) *FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3.2)*.

Goyard E, Arnaud S, Vonau V, Bishoff V, Mouchel O, Pham D, Wyban J, Boudry P (2003) Residual genetic variability in domesticated populations of the Pacific blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) of New Caledonia, French Polynesia and Hawaii and some management recommendations. *Aquat Living Resour* 16: 501-508.

- Hai NT, Liu Q, Zhao L, Zhang H, Liu J (2015) Genetic diversity of the cultured giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in China based on microsatellite markers. *Biochem Syst Ecol* 59: 144-154.
- Karaket T, Poompuang S, Na-Nakorn U, Kamonrat W, Hallerman EM (2011) DNA microsatellite-based evaluation of early growth performance among strains of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* de Man. *Aquaculture* 311: 115-122.
- Koljonen ML, Tahtinen J, Saisa M, Koshiniemi J (2002) Maintenance of genetic diversity of Atlantic salmon (*Salmo salar*) by captive breeding programmes and the geographic distribution of microsatellite variation. *Aquaculture* 212: 69-92.
- Liu Z (2007) *Microsatellite markers and assessment of marker utility*. In Liu Z, ed. *Aquaculture genome technologies*. Blackwell, USA: 43-57.
- Lowe A, Harris S, Ashton P (2004) *Ecological genetics: design, analysis, and application*. Blackwell Science, USA.
- Luan S, Kong J, Wang QY (2006) Genetic variation of wild and cultured populations of the Kuruma prawn *Marsupenaeus japonicus* (Bate 1888) using microsatellites. *Aquac Res* 37: 785-792.
- Mgaya YD, Gosling EM, Mercer JP, Donlon J (1995) Genetic variation at three polymorphic loci in wild and hatchery stocks of the abalone *Haliotis tuberculata* Linnaeus. *Aquaculture* 136: 71-80.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16(3): 1215.
- Olesen I, Gjedrem T, Bentsen HB, Gjerde B, Rye M (2003) Breeding programs for sustainable aquaculture. *Journal of Applied Aquaculture* 13: 179-204.
- Oosterhout CV, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P (2004) MICROCHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol Ecol Notes* 4: 535-538.
- Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Heredity* 86: 248-249.
- Schneider KJ, Tidwell JH, Gomelsky B, Pomper KW, Waldbieser GC, Saillant E, Mather PB (2013) Genetic diversity of cultured and wild populations of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879) based on microsatellite analysis. *Aquac Res* 44: 1425-1437.
- See LM, Tan SG, Hassan R, Siraj SS, Bhassu S (2009) Development of microsatellite markers from an enriched genomic library for the genetic analysis of the Malaysian giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Biochem Genet* 4: 722-726.
- Sokal RR, Rohlf FJ (1995) *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*, 3rd ed. W.H. Freeman, New York, 887 pp.
- Wolfus GM, Garcia DK, Alcivar-Warren A (1997) Application of the microsatellite technique for analyzing genetic diversity in shrimp breeding programs. *Aquaculture* 152: 35-47.
- Xu Z, Primavera J H, de la Pena LD, Pettit P, Belak J, Alcivar-Warren A (2001) Genetic diversity of wild and cultured Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using microsatellites. *Aquaculture* 199: 13-40.

AN ASSESSMENT OF THE DOMESTICATION IMPACT ON LEVELS OF GENETIC DIVERSITY IN A SYNTHETIC LINE OF GIANT FRESHWATER PRAWN (*MACROBRACHIUM ROSENBERGII*) FOR A STOCK IMPROVEMENT PROGRAM IN VIETNAM

Nguyễn Minh Thành¹, Peter Mather²

¹International University, Vietnam National University Ho Chi Minh City

²Queensland University of Technology (QUT)

SUMMARY

Six microsatellites were used to characterize genetic diversity in three purebred giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) strains that originated from a diallel cross among two wild Vietnamese strain (Dong Nai and Mekong) and a third domesticated Hawaiian strain. All three purebred strains showed relatively high levels of genetic diversity with average number of alleles per locus (A) ranging from 13 to 15. Average observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosities across loci were 0.84 to 0.89 and 0.87 to 0.89, respectively. Microsatellite data from the three purebred strains were pooled together as a basis for estimating the levels of genetic diversity in an synthetic hatchery population and this compared with data for genetic diversity in the three wild populations combined. No significant differences were observed in the relative levels of genetic

diversity between the two combined populations. Average A , H_o , and H_e for the experimental vs. wild reference populations were 24.33 vs. 24.33, 0.87 vs. 0.90, and 0.94 vs. 0.95, respectively. Therefore, an experimental population formed by combining the genetic resources from three purebred strains showed non-significant loss of genetic diversity as a consequence of domestication process. Thus such a synthetic line can provide an important genetically diverse resource for the planned development of GFP culture in Vietnam.

Keywords: *Genetic diversity, domestication, Macrobrachium rosenbergii, microsatellite*