

4个暗纹东方鲀群体的遗传多样性分析

程长洪^{1,2} 张敏莹¹ 徐东坡¹
刘凯¹ 段金荣¹ 周彦锋¹ 施炜纲^{1,2}

1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心/农业部长江下游渔业资源环境科学观测实验站/
中国水产科学研究院内陆渔业生态环境和资源重点开放实验室, 无锡 214081;
2. 南京农业大学无锡渔业学院, 无锡 214081

摘要 采用10对暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*)和16对红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)微卫星引物对4个暗纹东方鲀群体(1个长江常熟江段捕捞群体, 1个江苏扬中放流群体和2个养殖群体)的遗传多样性进行分析。结果显示, 20个微卫星位点能成功扩增出片段并且具有一定的多态性, 在4个群体中共检测到113个等位基因。每个群体的平均等位基因数为4.95~5.50, 平均观测杂合度为0.6867~0.7617, 平均期望杂合度为0.6530~0.7000, 平均多态信息含量为0.6013~0.6384。各个群体都有一些微卫星位点偏离Hardy-Weinberg平衡($P < 0.05$), 主要表现为杂合子不足。群体间遗传分化系数为0.0406, 基因流值为5.9056, 群体间遗传分化程度较小, 群体间基因流水平较高。4个群体间的遗传相似系数为0.8590~0.9158, 遗传距离为0.0880~0.1519, 采用UPGMA法对4个群体进行聚类, 可分2类: 上海养殖群体单独为一类, 扬中放流群体、常熟江段捕捞群体和南通养殖群体为另一类。

关键词 暗纹东方鲀; 群体; 微卫星标记; 遗传多样性; 遗传变异

中图分类号 S 917 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2012)05-0634-07

暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*)是江海洄游性鱼类, 性成熟的亲鱼春末夏初由东海进入长江中下游产卵, 幼鱼在淡水中育肥, 第2年春天回归海中^[1]。暗纹东方鲀肉质细嫩, 营养丰富, 有“鱼中之王”美誉, 从其内脏提取的河鲀毒素更是一种致命的生物毒素, 同时也是一种强效的麻醉药和戒毒良药^[2]。近年来, 由于过度捕捞、水环境恶化等原因, 暗纹东方鲀自然资源量急剧下降, 种质资源面临枯竭^[3]。

从2002年起, 人们开始对其进行人工放流, 但是大规模的增殖放流是否会导致其自然种群遗传多样性下降, 人工养殖种群的种质资源现状如何, 这些都未见报道。因此, 开展暗纹东方鲀种群遗传多样性研究对于指导其人工增殖放流和恢复其自然种群数量具有重要意义。

微卫星DNA(microsatellite DNA)又称短串联

重复序列, 其位点数目巨大且广泛分布于真核生物的整个基因组中。它具有多态性高、操作简单、共显性遗传和重复性好等特点, 已广泛应用于动植物的群体遗传多样性分析、遗传图谱构建、种质资源鉴定及亲缘关系分析等方面^[4]。

本研究利用微卫星分子标记对4个暗纹东方鲀群体进行了遗传多样性分析, 探讨其种群遗传多样性及遗传分化, 旨在为暗纹东方鲀的人工增殖放流和苗种选育提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料来源和基因组DNA的提取

试验所分析的暗纹东方鲀群体为4个, 分别是2010年5月采自长江常熟江段捕捞群体(CS)、2010年6月扬中现场采集的增殖放流群体(YZ, 来源于镇江市绿色农业科技, 其亲本均来自长江野生

收稿日期: 2011-11-12

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项/长江下游水生生物增殖放流研究及数字化平台开发(200903048-03)和中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(中国水产科学研究院淡水渔业研究中心)资助项目(2011JBFA05, 2011JBFA06)

程长洪, 硕士, 研究方向: 渔业种质资源研究与保护, E-mail: chengchanghong09@163.com

通讯作者: 施炜纲, 研究员, 研究方向: 大水面增养殖和渔业资源, E-mail: shiwg@ffrc.cn

群体)、南通养殖场群体 (NT, 其母本来自长江野生群体, 父本为养殖场自留的野生群体 F_2 代) 和上海养殖场群体 (SH, 其母本来自长江野生群体, 父本为养殖场自留的野生群体 F_2 代)。每个群体随机挑选 30 尾, 采用常规苯酚-氯仿抽提法从肌肉组织中提取基因组 DNA。

1.2 微卫星引物合成

使用 10 对暗纹东方鲀和 16 对红鳍东方鲀微卫星引物对暗纹东方鲀群体进行 PCR 扩增, 经筛选发现有 20 个位点能扩增出产物, 其引物序列参照 Ma 等^[5] 和郝君等^[6] 的文献, 引物均由上海生工生物工程技术有限公司合成, 引物信息见表 1。

表 1 经筛选的 20 对暗纹东方鲀微卫星引物

Table 1 Twenty SSR primers available to PCR amplification in *Takifugu obscurus*

位点 Locus	引物序列 (5'-3') Primer sequences (5'-3')	退火温度/°C Annealing temperature	产物长度范围/bp Product size
Tob10	ACCCACTCCGTCCTTCCT TCAACCGCCCTTCCAAC	61	310~380
Tob11	GCCATATTGACCACTCACC ACCACAGAATGTCCTGCTT	57	191~296
Tob13	AGTAGAACGCTCGGTCAG GTTTGTAAATCATCAAAAGG	59	309~344
Tob25	ACTCTTTCTCCAGCTCTTC TGCTTCCTTTGATTGTAT	55	242~276
Tob53	CCTACATCTCACCCAGTG AGGAAGCAAGACAAATAAG	55	222~280
Tob55	GCGCAGCTTGCACTGTAT TAGCCTCTTTAGTCTTGATGG	56	190~205
Tob61	AGAGGCTCCTGGGGAATT CAGCCCTGTCTCACACAT	58	123~190
Tob91	ATTACATCGACCAGAGCCT CACCTATACATCTTAGAATACCC	59	125~250
Tob107	GACCAGTCTCACTCCCTCC TGTGGTAACGGCCATTCT	58	232~286
Tob108	TCCATTACCACAGAATGTCCTG GTGCCATATTGACCACTCACCTA	59	168~270
F0001	ACCCAATCTCACCTCCTG AACCCAAAGTTTGACCCT	58	217~268
F0002	AAACACCAAAGAAAGCCACT ATTACCGCACTCCCTACC	56	130~185
F0003	CCTTGCCCTGTCCTTTAC AGCCACCTACATCCTTCAC	56	201~266
F0005	TCTCCCTTACACCAAACG TTCCCACTGCTGAAGACC	54	220~238
F0006	TTTCCATCGTGGCTTTGT CGTTGCTCATTTCTCTGCT	55	198~246
F0012	GAAGGGCTGGCAGAACAC CCCCTTAGAATCCTGTT	58	123~180
F0013	CACTCGGCATAGCAGACC TATCAGGCACCGCAAGAA	56	161~246
F0015	CCCGCTGTGGTTTGTTC TGTGGGTATGATGTGATGC	56	230~238
F0019	CCATCTAACTGCGGGTAA TGAGACTCTGCCTTCGTG	52	112~155
F0020	ACAATGAGGCGTGGAAGT GTGAATGGATGTGGAGCA	56	130~162

1.3 PCR 扩增及产物电泳检测

PCR 反应体系为 10 μL , 包括 10 \times buffer (含 Mg^{2+}) 1 μL 、2.5 mmol/L dNTP 0.5 μL 、10 $\mu\text{mol/L}$ 上下游引物各 0.35 μL 、5 U *Taq* DNA 聚合酶 0.1 μL 、50 ng/ μL 的 DNA 模板 1 μL , 用超纯水补足 10 μL 。PCR 反应在 ABI 2720 PCR 仪中进行, 反应程序为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 4 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 52~61 $^{\circ}\text{C}$ (根据引物的不同选择温度) 复性 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 45 s, 30 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 终延伸 8 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。PCR 产物采用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 快速银染检测, 拍照保存。

1.4 数据处理和分析

利用 Gel-Pro Analyzer 4.5 软件对电泳图片进行分析, 用 POPGENE 1.31 软件统计每个位点的

等位基因数(A)、有效等位基因数(N_e)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、Hardy-Weinberg 平衡检验概率值(P)、遗传偏离指数(d)、遗传相似系数(I)、遗传距离(D)、基因分化系数(F_{st})、基因流(N_m)。多态信息含量(PIC)参照 Bostein 等^[7]的方法计算。根据种群间遗传距离使用 MEGA4.1 软件, 采用 UPGMA 方法构建 4 个群体的 UPGMA 聚类图。

2 结果与分析

2.1 微卫星 PCR 结果

经筛选共有 20 个位点能在暗纹东方鲀群体中扩增出清晰稳定的片段, 并且具有一定的多态性。图 1 为 Tob55 位点在 4 个群体中扩增的结果。

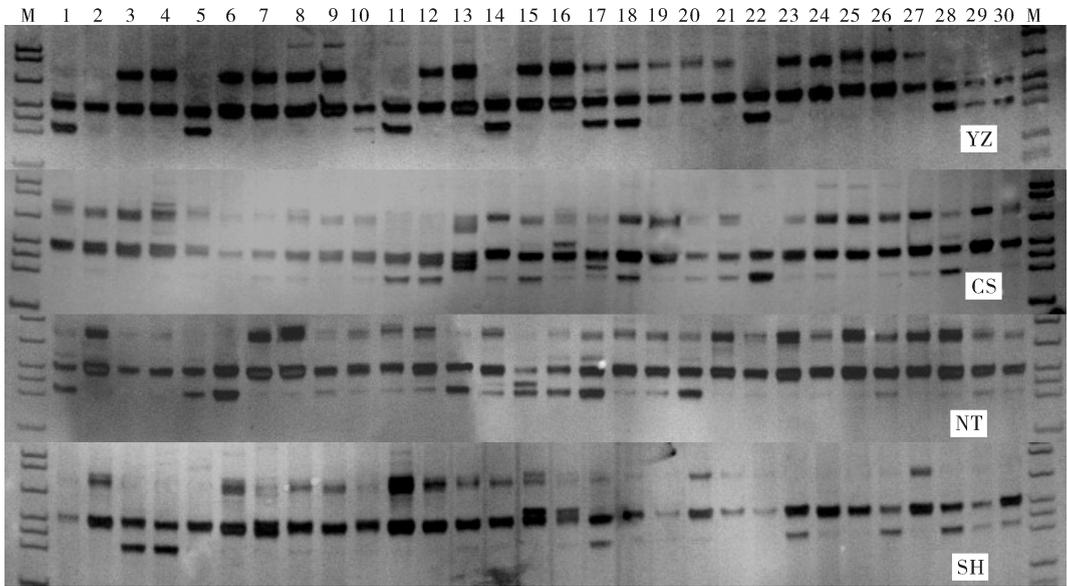


图 1 微卫星 Tob55 位点在 4 个群体中的扩增电泳图

Fig. 1 The electrophoresis pattern amplified production by locus Tob55

2.2 遗传多样性分析

20 个微卫星位点在 4 个群体中扩增出的等位基因数、有效等位基因数、观测杂合度、期望杂合度、多态信息含量见表 2。20 个微卫星位点总共扩增出 113 个等位基因, 平均等位基因数为 5.65, 平均有效等位基因数为 3.960 7。每个位点的观测杂合度为 0.091 7~0.925 0, 平均值为 0.722 1, 期望杂合度为 0.464 1~0.887 5, 平均值为 0.695 7, 多态信息含量为 0.373 6~0.872 4, 平均值为 0.644 3。15 个位点表现为高度多态($\text{PIC} > 0.50$), 5 个位点表现为

中度多态($0.25 < \text{PIC} < 0.50$), 由此说明本试验所选用的 20 个微卫星位点具有丰富的多态性, 可以作为暗纹东方鲀群体遗传多样性分析。

4 个群体的遗传多样性参数如表 3 所示, 各群体平均等位基因数为 4.95~5.50, 有效等位基因数为 3.411 2~3.743 5, 观测杂合度为 0.686 7~0.761 7, 期望杂合度为 0.653 0~0.700 0, 多态信息含量为 0.602 6~0.638 4, 由此可知, 4 个暗纹东方鲀群体遗传多样性比较丰富, 同时长江捕捞群体遗传多样性指数均高于放流和养殖群体。

表 2 暗纹东方鲀在 20 个微卫星位点遗传多样性指数

Table 2 Genetic diversity parameters of 20 microsatellite loci of *Takifugu obscurus*

位点 Locus	A	N_e	H_o	H_e	PIC	F_{st}	N_m
Tob10	7	3.936 0	0.825 0	0.749 1	0.704 5	0.018 2	13.485 9
Tob11	9	6.710 2	0.866 7	0.854 5	0.834 1	0.023 8	10.241 4
Tob13	3	1.873 5	0.500 0	0.468 2	0.394 7	0.103 4	2.168 6
Tob25	3	2.119 0	0.091 7	0.530 3	0.429 0	0.210 2	0.939 3
Tob53	6	3.956 6	0.725 0	0.750 4	0.706 3	0.017 7	13.871 4
Tob55	3	1.940 8	0.650 0	0.486 8	0.429 4	0.021 6	11.345 5
Tob61	8	4.238 4	0.808 3	0.767 3	0.738 5	0.041 7	5.749 2
Tob91	6	3.041 2	0.700 0	0.674 0	0.617 1	0.035 1	6.877 6
Tob107	6	4.806 4	0.775 0	0.795 3	0.759 7	0.061 4	3.822 9
Tob108	10	8.607 3	0.858 3	0.887 5	0.872 4	0.046 0	5.188 9
F0001	6	3.623 6	0.791 7	0.727 1	0.688 5	0.018 6	13.185 6
F0002	6	4.058 1	0.725 0	0.756 7	0.715 3	0.013 8	17.896 3
F0003	4	2.806 7	0.708 3	0.646 4	0.594 5	0.017 4	14.099 1
F0005	4	3.202 5	0.725 0	0.690 6	0.632 5	0.017 5	14.020 2
F0006	4	3.475 3	0.800 0	0.715 2	0.658 4	0.026 8	9.091 1
F0012	10	7.024 4	0.816 7	0.861 2	0.842 1	0.041 8	5.733 5
F0013	8	5.895 6	0.825 0	0.833 9	0.807 6	0.020 0	12.231 7
F0015	2	1.988 8	0.925 0	0.499 3	0.373 6	0.008 6	28.853 7
F0019	5	4.050 1	0.675 0	0.756 2	0.706 9	0.042 8	5.586 7
F0020	3	1.859 4	0.650 0	0.464 1	0.380 5	0.100 0	2.250 2
平均值 Means	5.65	3.960 7	0.722 1	0.695 7	0.644 3	0.040 6	5.905 6

表 3 4 个群体遗传多样性参数

Table 3 Genetic diversity parameters of the four populations

群体 Population	A	N_e	H_o	H_e	PIC
YZ	5.250 0	3.548 8	0.686 7	0.653 0	0.601 3
CS	5.500 0	3.743 5	0.761 7	0.700 0	0.638 4
NT	5.050 0	3.411 2	0.705 0	0.667 2	0.602 6
SH	4.950 0	3.581 5	0.735 0	0.683 5	0.621 2

行 Hardy-Weinberg 平衡检验,其概率值(P)结果如表 4,每个群体均有不同位点发生了偏离 Hardy-Weinberg 平衡,共有 39 个位点偏离 Hardy-Weinberg 平衡,占总位点数的 48.8%。进一步计算遗传偏离指数 d 值(表 4),YZ、CS、NT 和 SH 4 个群体中分别有 14、15、10 和 13 个位点表现为杂合子缺失($d < 0$),因此可见,4 个群体在这些位点均表现出一定程度的杂合子缺失。

2.3 Hardy-Weinberg 平衡分析

对 80 个群体位点组合中(4 群体 \times 20 位点)进

表 4 Hardy-Weinberg 平衡检验概率值(P)与遗传偏离指数(d)

Table 4 P value of Chi-square test for Hardy-Weinberg equilibrium and d value of heterozygote deficiency or excess

位点 Locus	YZ		CS		NT		SH	
	P	d	P	d	P	d	P	d
Tob10	0.036 8*	-0.093 4	0.000 0**	-0.058 8	0.017 4*	-0.315 6	0.008 2**	-0.046 2
Tob11	0.629 5	-0.132 8	0.000 0**	-0.083 6	0.501 5	0.122 9	0.000 5**	-0.081 4
Tob13	0.581 4	-0.111 1	0.001 6**	0.113 8	0.013 9*	-0.463 4	0.023 2*	-0.428 6
Tob25	0.000 0**	0.757 7	0.000 0**	0.692 3	0.000 0**	1.000 0	0.000 0**	0.719 2
Tob53	0.065 5	0.017 1	0.100 1	0.186 9	0.483 4	0.000 8	0.584 4	-0.172 8
Tob55	0.002 2**	-0.463 4	0.109 3	-0.402 2	0.466 4	-0.212 1	0.069 9	-0.357 5
Tob61	0.011 2*	-0.177 4	0.526 2	-0.329 9	0.138 2	0.086 3	0.130 1	-0.032 3
Tob91	0.000 3**	-0.211 5	0.387 1	-0.216 2	0.197 4	0.097 7	0.803 3	-0.014 5
Tob107	0.065 1	0.160 8	0.040 1*	-0.216 2	0.677 0	-0.150 0	0.068 1	-0.083 5
Tob108	0.023 5*	-0.043 8	0.132 0	0.107 4	0.158 5	0.003 3	0.063 9	-0.144 4
F0001	0.203 2	-0.179 2	0.006 7**	-0.100 9	0.239 3	-0.201 9	0.007 3**	0.033 1
F0002	0.040 4*	-0.110 3	0.034 3*	-0.268 2	0.083 1	0.301 2	0.002 4**	0.182 2
F0003	0.619 5	-0.037 3	0.002 4**	-0.149 2	0.087 9	-0.356 9	0.289 1	0.038 0
F0005	0.060 0	-0.191 4	0.283 4	-0.022 4	0.003 9**	0.104 5	0.275 6	-0.182 3
F0006	0.000 3**	-0.177 4	0.051 9	-0.296 8	0.000 0**	-0.044 3	0.002 4**	-0.104 0
F0012	0.065 1	0.156 6	0.198 1	-0.003 5	0.135 4	-0.155 4	0.000 6**	0.022 2
F0013	0.023 5*	0.069 5	0.090 7	0.033 6	0.243 9	0.028 9	0.020 6*	-0.187 7
F0015	0.000 9**	-0.621 6	0.000 0**	-1.000 0	0.000 0**	-0.935 5	0.000 0**	-0.935 5
F0019	0.661 1	0.025 2	0.144 7	-0.202 7	0.082 0	0.163 0	0.030 3*	0.280 0
F0020	0.658 6	-0.090 9	0.023 2*	-0.428 6	0.000 0**	-0.825 8	0.001 2**	-0.543 0

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$.

2.4 群体遗传结构分析

4 个群体在各位点的基因分化数和基因流见表 2。有 16 个位点存在着轻度分化 ($0.00 < F_{st} < 0.05$), 3 个位点存在着中度分化 ($0.05 < F_{st} < 0.15$), 1 个位点有较大遗传分化 ($0.15 < F_{st} < 0.25$), 总基因分化系数为 0.040 6, 这说明 4.06% 的遗传变异由种群分化引起, 而有 95.94% 的遗传差异主要来自群体内。基因流是影响群体内部和群体之间遗传变异程度的重要因素。4 个群体间的平均基因流为 5.905 6, 说明群体之间存在着一定的基因流动。

本研究根据 Nei 的方法^[8] 计算了 4 个群体的遗传距离和遗传相似指数(表 5)。利用遗传距离采用 UPGMA 方法对 4 个群体进行聚类分析(图 2), 从图 2 可以看出 4 个暗纹东方鲀群体可以分为两大类。扬中、常熟、南通群体聚为一类, 上海群体单独聚为另一类。

表 5 暗纹东方鲀群体间遗传相似系数 I (对角线以上) 和遗传距离 D (对角线以下)

Table 5 Genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) among four populations of *Takifugu obscurus*

群体 Population	YZ	CS	NT	SH
YZ	* * * *	0.915 8	0.902 2	0.859 0
CS	0.088 0	* * * *	0.889 2	0.887 8
NT	0.102 9	0.117 5	* * * *	0.879 6
SH	0.151 9	0.119 1	0.128 2	* * * *

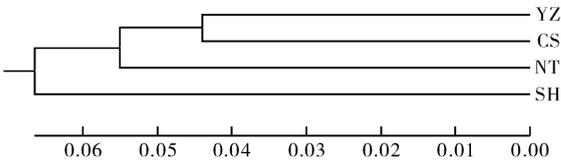


图 2 基于 Nei's 无偏遗传距离构建的暗纹东方鲀 4 个群体的 UPGMA 聚类图

Fig. 2 UPGMA dendrogram based on Nei's unbiased genetic distances of four populations of *Takifugu obscurus*

3 讨论

3.1 引物适用性

微卫星位点由于其侧翼序列具有相当高的保守性, 所以一个物种的微卫星引物可应用于相近的物种^[9]。在鱼类研究中, 常见利用近源物种微卫星标记进行种群遗传多样性研究的报道。陈建武等^[10]

用 6 对圆口铜鱼微卫星引物对长江 4 个江段铜鱼进行遗传多样性分析, 结果表明 6 对圆口铜鱼引物都能够在铜鱼群体中扩增出产物, 其产物都具有多态性。本研究从 16 对红鳍东方鲀微卫星位点中筛选出 10 对, 占总比例的 62.5%, 可见红鳍东方鲀微卫星引物在暗纹东方鲀中具有较好的适用性, 可以用于暗纹东方鲀群体的遗传多样性分析。

3.2 群体遗传多样性分析

本研究 4 个群体的平均等位基因数由大到小依次为常熟捕捞群体(5.50)、扬中放流群体(5.25)、南通养殖群体(5.05)和上海养殖群体(4.95), 可以看出 4 个暗纹东方鲀群体对环境有较强的适应能力。然而放流和养殖群体的等位基因数明显低于长江捕捞群体, 这主要是因为人工养殖条件下一个封闭的群体比自然群体更容易产生近交, 进而造成了一些稀有等位基因的消失。Li 等^[11] 用 6 个微卫星标记对鲍 3 个养殖群体和 2 个野生群体进行分析, 结果表明所有养殖群体等位基因减少了 76%, 他推断是因为繁殖的亲本量太少导致了遗传漂变。张志伟等^[12] 运用微卫星标记对 1 个野生草鱼群体和 2 个养殖草鱼群体进行分析, 结果表明 2 个养殖群体的等位基因显著低于野生群体, 他认为引起养殖群体等位基因丢失的主要原因在于建群者效应。近些年来由于长江野生暗纹东方鲀资源急剧下降, 野生亲本数量极少, 价格昂贵。一些养殖场自繁后代留作亲本, 加上养殖规模小, 群体数量不大, 这样很容易发生瓶颈效应和近交衰退现象, 造成了养殖群体等位基因的缺失。

杂合度能反映各群体在多个位点上的遗传变异, 是度量群体遗传变异的一个最适参数^[13]。本研究 4 个群体平均观测杂合度为 0.686 7~0.735 0, 高于 Woody 等^[14] 基于 13 种淡水鱼微卫星标记统计得到的平均观测杂合度(约为 0.46)的结论。廖小林等^[15] 利用 6 对多态微卫星引物研究了长江水系的 4 个草鱼群体的遗传结构, 结果显示每个群体平均观测杂合度在 0.400 0 与 0.574 1 之间; 姬长虹等^[16] 采用 34 个微卫星分子标记对长江湘江、监利和枞阳的 3 个鲢群体进行了分子标记, 得到 3 个群体平均观测杂合度分别为 0.416 9~0.461 9, 相比长江流域其他野生鱼类, 可见 4 个暗纹东方鲀群体遗传多样性是较为丰富的。

3.3 群体 Hardy-Weinberg 平衡检测

在 80 组群体位点组合中(4 群体×20 位点), 有

48.9%的位点显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡 ($P < 0.05$),而且4个群体大多数位点表现为杂合子缺失,纯合子过剩。傅洪拓等^[17]利用20个微卫星分子标记对长江6个江段的青虾群体进行遗传多样性分析,发现82.5%的位点偏离了 Hardy-Weinberg 平衡,认为主要原因是杂合子缺失导致。许多原因可能导致 Hardy-Weinberg 平衡指数的偏离,比如环境压力、人为因素、亲缘近交、种群退化等。在本研究中,4个群体在这些位点处于不平衡可能与以下原因有关:(1)从20世纪90年代至今,暗纹东方鲀捕捞强度不断加大,造成其野生群体数量急剧下降,不可避免地导致其子代群体近交的机会增加,从而使纯合子过剩;(2)长江中下游水域生态环境恶化,破坏了暗纹东方鲀产卵场,导致暗纹东方鲀基因可能出现建立者效应。

3.4 群体间遗传结构分析

基因分化系数(F_{st})是衡量群体间遗传分化程度的重要参数。Francois等^[18]认为 F_{st} 在0~0.05时,群体间无分化;在0.05~0.15时,遗传分化中等;在0.15~0.25时,高度遗传分化; $F_{st} > 0.25$ 时,表示群体间分化极大。本研究中遗传分化系数平均值为0.0406,即有4.06%的变异来自群体间,而超过95%的遗传差异来自于群体内,这说明4个群体间遗传分化微弱。

Wright^[19]认为 $N_m < 1$ 时,基因流不足以抵制群体间的遗传漂变; $N_m > 1$,基因流起主要作用,足以抵制群体间的遗传漂变。本研究中4个群体各个基因座的平均 N_m 大于1,说明4个群体存在着广泛的基因交流,这可能是因为暗纹东方鲀是江海洄游性鱼类,迁移活动范围较大,再加上近些年来长江中下游沿江一些地区对暗纹东方鲀进行了人工增殖放流,而养殖群体的亲本特别是母本主要来自长江捕捞的野生亲本,这些都加大了各个群体间的基因交流。

3.5 暗纹东方鲀资源的保护与利用策略

本研究采用微卫星标记对4个暗纹东方鲀群体(1个长江捕捞群体、1个放流群体和2个养殖群体)的遗传多样性进行了研究,结果表明,暗纹东方鲀群体遗传多样性处于较高水平,但也普遍出现了杂合子缺失现象。为了保护 and 恢复暗纹东方鲀资源,在保护其产卵场和改善水域环境条件的同时,应该严格控制其亲鱼捕捞;在加大实施暗纹东方鲀人工增殖放流时,应该严格控制放流种群的种质质量,重点

对放流群体遗传背景进行评估,确保天然种群遗传结构的稳定;应该选择等位基因数多、杂合度较高的苗种进行放流,否则暗纹东方鲀苗种遗传多样性的减少会加速暗纹东方鲀种质资源的衰退。

参 考 文 献

- [1] 成庆泰,王存信,田明诚,等.中国东方鲀属鱼类分类研究[J].动物学报,1975,21(4):359-377.
- [2] 谷江稳,徐善良,颜付云,等.河豚毒素及其发酵生产的研究进展[J].食品科学,2010,31(11):298-302.
- [3] 施永海,张根玉,朱雅殊,等.菊黄东方鲀河口区海水全人工繁育技术研究[J].水产科技情报,2007,34(3):99-102.
- [4] 杜长斌,孙孝文,楼允东,等.微卫星在水产动物种质资源研究方面的应用[J].水产学杂志,2000,13(1):68-73.
- [5] MA H Y, CHEN S L, LIAO X L. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci from a dinucleotide-enriched genomic library of obscure puffer (*Takifugu obscurus*) and cross-species amplification [J]. Conserv Genet, 2009, 10: 955-957.
- [6] 郝君,孙效文,孟雪松.红鳍东方鲀微卫星 DNA 多态性初步分析[J].上海水产大学学报,2006,15(1):21-24.
- [7] BOSTSTEIN 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): 31-34.
- [8] NEI M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. Genetics, 1978, 89: 583-590.
- [9] 林能锋,苏永全,丁少雄,等.大黄鱼微卫星标记引物在石首鱼科几个近缘种中的通用性研究[J].中国水产科学,2008,15(2):237-243.
- [10] 陈建武,汪登强,张燕,等.长江铜鱼种群遗传结构的微卫星分析[J].长江流域资源与环境,2010,19(Z1):138-142.
- [11] LI Q, PARK C, ENDO T, et al. Loss of genetic variation at microsatellite loci in hatchery strains of the Pacific abalone (*Haliotis discus hannai*) [J]. Aquaculture, 2004, 235: 207-222.
- [12] 张志伟,曹哲明,杨弘,等.草鱼野生和养殖群体间遗传变异的微卫星分析[J].动物学研究,2006,27(2):189-196.
- [13] 刘海金,朱晓琛,孙效文,等.牙鲆5个养殖群体的遗传多样性分析[J].中国水产科学,2008,15(1):30-37.
- [14] WOODY J A, AVISE J C. Microsatellite variation in marine freshwater and anadromous fishes compared with other animals [J]. Journal of Fish Biology, 2000, 56(3): 461-473.
- [15] 廖小林,俞小牧,谭德清,等.长江水系草鱼遗传多样性的微卫星 DNA 分析[J].水生生物学报,2005,29(2):113-118.
- [16] 姬长虹,谷晶晶,毛瑞鑫,等.长江、珠江、黑龙江水系野生鲢遗传多样性的微卫星分析[J].水产学报,2009,33(3):364-371.
- [17] 傅洪拓,乔慧,李法君,等.长江不同江段青虾的遗传多样性[J].水产学报,2010,34(2):204-212.
- [18] FRANCOIS B, NICOLAS L. The estimation of population dif-

ferentiation with microsatellite markers [J]. *Molecular Ecology*, 2002, 11: 155-165. [19] WRIGHT S. The genetic structure of population [J]. *Ann Eugen*, 1951, 15: 323-354.

Analysis of genetic diversity in four *Takifugu obscurus* populations

CHENG Chang-hong^{1,2} ZHANG Min-ying¹ XU Dong-po¹
LIU Kai¹ DUAN Jin-rong¹ ZHOU Yan-feng¹ SHI Wei-gang^{1,2}

1. *Freshwater Fisheries Research Center, CAFS/Scientific Observing and Experimental Station of Fishery Resources and Environment in the Lower Reaches of Yangtze River/Ministry of Agriculture Key Laboratory of Ecological Environment and Resources of Inland Fisheries, Wuxi 214081, China;*
2. *Wuxi Fishers College of Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China*

Abstract Ten microsatellite primers of *Takifugu obscurus* and sixteen microsatellite primers of *Takifugu rubripes* were used to investigate genetic diversity of four *T. obscurus* populations (one wild population from Changshu, one released population from Yangzhong and two cultured populations from Nantong and Shanghai respectively) in this study. Twenty microsatellite markers were amplified successfully and a total of 113 alleles were detected in the four populations. In these populations the average number of alleles was from 4.95 to 5.50, the value of average observed and expected heterozygosity ranged from 0.6867 to 0.7617 and from 0.6530 to 0.7000 respectively, and the mean polymorphic information content was from 0.6013 to 0.6384. Several loci were found to deviate from Hardy-Weinberg Equilibrium in each population, which indicated that the deficiency of heterozygote existed in the four populations. The value of genetic differentiation coefficient and gene flow were 0.0406 and 5.9056 respectively. These results suggested that the four populations have a low level of differentiation and great gene exchange among them. The genetic similarity coefficient of the four populations was from 0.8590 to 0.9158 and the genetic distance was from 0.0880 to 0.1519. Cluster analysis using the UPGMA method showed that Shanghai population formed an independent cluster and the other three populations formed another cluster.

Key words *Takifugu obscurus*; population; microsatellite marker; genetic diversity; genetic variation

(责任编辑:边书京)