

梭鱼(*Liza haematocheila*) 4 个野生地理群体 遗传多样性的微卫星分析*

毛守康^{1,2,3} 马爱军^{1,2①} 丁福红¹ 闫喜武³ 罗海忠⁴
李伟业⁴ 徐宝荣⁵ 王怀忠⁶ 王宝义⁷ 王广宁^{1,2}

(1. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 青岛市海水鱼类种子工程与生物技术重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071; 2. 青岛海洋科学与技术国家实验室 海洋生物学与生物技术功能实验室 青岛 266237; 3. 大连海洋大学 大连 116023; 4. 舟山市水产研究所 舟山 316699; 5. 青岛宝荣水产科技有限公司 青岛 266300; 6. 连云港仙忠水产有限公司 连云港 222000; 7. 兴城龙运井盐水产养殖有限责任公司 兴城 125100)

摘要 利用 14 对微卫星引物, 对采捕于辽宁葫芦岛、山东青岛、江苏连云港以及浙江舟山附近海域的梭鱼(*Liza haematocheila*) 4 个野生地理群体进行群体遗传多样性分析。结果显示, 14 对微卫星引物均能扩增出清晰的条带且具有一定的多态性, 4 个野生群体的多态性百分率分别为 92.86%、92.87%、100.00% 和 85.71%。4 个群体共扩增出 61 个等位基因, 4 个群体的等位基因数为 3.786–4.000, 有效等位基因数为 2.673–2.899, 观测杂合度为 0.359–0.389, 期望杂合度为 0.503–0.561, 多态信息含量为 0.465–0.513, 说明 4 个群体遗传多样性处于中等多态水平。运用 SPSS 软件对杂合度期望值进行 Kruskal-Wallis 检验, 其结果($H=0.187$, $df=3$, $P=0.980$)表明, 4 个群体间的遗传多样性差异无统计学意义($P>0.05$), 各群体大部分微卫星位点偏离 Hardy-Weinberg 平衡($P<0.05$)。另外, 研究发现, 葫芦岛和舟山均出现两个位点呈现杂合子过剩, 其他两群体均出现 3 个位点呈现杂合子过剩($Fis<0$), 表明近期可能出现过瓶颈效应。所有群体间遗传分化系数为 0.148, 基因流值为 1.444, 群体间出现中度遗传分化, 群体间出现一定程度基因流。两群体间的遗传相似性系数为 0.623–0.818, 遗传距离为 0.202–0.473, 青岛和葫芦岛的遗传距离最近(0.202), 而连云港和舟山的最远(0.473), 这可能与梭鱼幼体的扩散能力及近海沿岸生态环境及群落结构有关。采用 UPGMA 法对 4 个群体进行聚类分析, 结果显示, 4 个地理群体按其地理位置由北向南依次聚为一类。

关键词 梭鱼; 地理群体; 微卫星; 遗传多样性

中图分类号 Q953 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2016)02-0068-08

梭鱼(*Liza haematocheila*)即鲅鱼, 隶属于鲷形目、鲷科、梭属, 分布于西北太平洋沿岸海域。梭鱼的基础生物学特征(李明德, 1992)、移殖驯养(李明德, 1993)、人工繁殖(陈惠彬, 1989)等取得了显著进展。目前, 梭鱼已经从传统的咸水虾池套养, 逐渐发展到

与鲫、缙蛭和脊尾白虾无公害综合养殖(梅肖乐等, 2005)及淡水池塘主养(卓丽军等, 2011)和高位池零排放循环水养殖(郭益顿等, 2011), 梭鱼逐渐成为我国内陆湖泊、淡水池塘、沿海低盐度滩塘和海水池塘的重要养殖经济鱼类。

* 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(20603022013008)、山东省自然科学基金项目(ZR2011CQ004)、国家现代农业产业技术体系(CARS-50-G01)和 2013 年国家留学人员科技项目(20603022012005)共同资助。毛守康, E-mail: 1015617263@qq.com

① 通讯作者: 马爱军, 研究员, E-mail: maaj@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2015-04-07, 收修改稿日期: 2015-05-21

目前,我国梭鱼原种场(如天津原种场)主要利用采捕自然海域苗种培育亲鱼进行亲鱼供给、繁育苗种销售,以及考虑到渤海海域增殖放流等情况(姚欣华, 2012),对我国沿海梭鱼野生群体及人工养殖群体进行遗传结构分析显得更为迫切。近年来,微卫星DNA(Microsatellite DNA)作为分子标记,具有高多态性、操作简单和重复性好等特点,广泛应用于动植物的群体遗传多样性分析(陆丽君等, 2013)、遗传图谱构建(罗云等, 2010)、种质资源鉴定(杜长斌等, 2000)及亲缘关系分析(李雪燕等, 2013)等。目前,仅限 Xu 等(2009)通过微卫星富集文库筛选 10 对多态微卫星引物,对山东海阳附近沿海梭鱼自然群体进行遗传多样性分析。本研究利用微卫星 DNA 多态性检测技术 SSR (Simple Sequence Repeat), 对我国沿海梭鱼 4 个野生地理群体遗传多样性进行分析研究,旨在为我国梭鱼野生种质资源保护和遗传育种及增殖放流提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料来源

实验所用的梭鱼 4 个野生地理群体分别采捕于辽宁葫芦岛(2014 年 6 月)、山东青岛(2013 年 10 月)、江苏连云港(2014 年 5 月)及浙江舟山(2013 年 11 月)附近的海域,冰冻后冷藏带回实验室,各群体按照相似规格随机抽取 30 尾,体长为(16.54±1.35) cm,体重为(98.3±12.5) g,并用采捕海域就近的城市命名。剪取尾鳍用于基因组提取, -20℃ 保存。

1.2 DNA 提取及检测

称取各梭鱼群体低温保存尾鳍 30 mg,采用柱式海洋生物 DNA 提取试剂盒提取 DNA。将 DNA 样品用含有 Dufinder 的 1%琼脂糖凝胶电泳检测,样品无大量蛋白质及降解的 DNA 片段。利用 NanoDrop 定量测定样品 DNA 浓度($A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ 的值介于 1.8-2.0),并将其稀释至 50 ng/μl, -20℃ 冷冻保存,作为模板用于 SSR 分析。

1.3 SSR 引物合成

引物根据 Gotoh 等(2013),选取具有多态性的引物,交由上海生工生物工程有限公司合成,经 PCR 扩增及电泳检测筛选出 14 对,其引物信息见表 1。

1.4 PCR 扩增及产物电泳检测

PCR 为 15 μl 反应体系: *Taq* 酶(5 U/μl) 0.2 μl,

dNTP(0.2 mmol/L) 1.3 μl, Buffer(10×) 1.6 μl, Forward/Reverse Primer(10 μmol/L)各 0.7 μl, Template DNA(50 ng/μl) 1.2 μl, dd H₂O(1 mg/ml) 9.3 μl。PCR 反应程序: 95℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 30 s, 退火温度 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 35 个循环; 72℃ 延伸 10 min; 4℃ 保存。PCR 扩增产物变性(95℃, 5 min)后采用 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳,银染,自然晾干拍照,用于检测。

1.5 数据处理与分析

根据电泳图谱,参照引物设计时片段大小统计条带,记录 4 个群体所有个体不同位点的基因型。利用 Popgene 32 Version 1.32 软件计算各位点的等位基因数、有效等位基因数、观测杂合度、期望杂合度,并计算各群体的 Hardy-Weinberg 平衡检验概率值、遗传固定指数、遗传分化系数、基因流、遗传相似性系数和遗传距离。根据 Botstein 等(1980)的方法,计算多态信息含量。用 SPSS 13.0 软件对各位点的期望杂合度(*He*)进行 Kruskal-Wallis 检验。根据 Nei (1978)标准计算遗传距离,基于该遗传距离绘制 UPGMA 聚类图。

2 结果与分析

2.1 微卫星位点多样性

对所有合成的引物经过 PCR 扩增及电泳检测,共筛选出 14 个位点能够在梭鱼野生地理群体扩增出清晰的多态性条带,部分引物扩增条带结果见图 1。所有梭鱼群体全部 14 个位点多态信息见表 2。由表 2 可知,14 个位点共扩增出 61 个等位基因,每个位点等位基因数为 2-8 个,有效等位基因数为 1.563-5.617 个,在 Or1a21-231 位点扩增出等位基因数和有效等位基因数最多,在 Or1a16-32 位点扩增出等位基因数和有效等位基因数最少,所有位点平均等位基因数为 4.357,平均有效等位基因数为 3.172。每个位点观测杂合度为 0.033-0.633,期望杂合度为 0.360-0.822,二者的平均值分别为 0.368 和 0.632。14 个位点的多态信息含量(*PIC*)为 0.306-0.798,平均值为 0.575。由此可见,所有梭鱼群体的 14 个位点中有 10 个表现为高多态性($PIC > 0.5$),4 个表现为中多态性($0.25 < PIC < 0.5$),这些位点具有丰富的多态性,能够用于梭鱼遗传多样性的分析。

2.2 不同野生地理群体遗传多样性

梭鱼 4 个不同地理群体的遗传多样性参数见表 3。由表 3 可知,14 个位点在所有群体的多态性百分率分别为 92.86%、92.87%、100.00%和 85.71%。各

表1 14对微卫星引物信息及在本实验中的退火温度

Tab.1 Information and specific annealing temperatures of 14 pairs of microsatellite marker primers used in this study

位点 Locus	引物序列 Primer sequence(5'-3')	重复单位 Repeat motif	片段长度 Product size (bp)	退火温度 Annealing temperature(°C)
Orla3-185	F: TCGCCATGTAAATGTGCTC R: AACYGCMCACCAAAACAGGA	(CA) ₇	151	59
Orla4-222	F: CTTGGTTCATCCCACACAG R: GGAGCTGCTTCACACTGAG	(GT) ₅ , (GT) ₆	123	58
Orla9-38	F: ACAAACTTAATAGCCGGCAG R: CACTGCTTCATTCCCAATCC	(CA) ₁₀ , (CTC) ₅	239	56
Orla9-204	F: TATGCTGACCTGCTGTGACC R: CGCCAGATGTCGCAAATAC	(CA) ₅ , (CA) ₁₀	269	59
Orla10-175	F: ATTTGGGGAAYTCCAAAATTAG R: GACCTAAGGAGACAGAGTGTGAC	(CA) ₇	140	58
Orla14-137	F: TGACACTTGTGAGCCCTCTG R: CTGGCAGCCATCTTTACTC	(CA) ₁₂	251	55
Orla15-84	F: CGCTTTAGCCACAGGCCAAC R: TTCAGAGGGCCAGTTAGCAC	(GT) ₁₂	244	57
Orla15-260	F: TAAGCATGGCTTGGTGATCC R: AATTGCAAATGGTCCTCTCC	(CA) ₇	230	55
Orla16-32	F: TAATTGCCTGGGCATGTGCC R: TAGCAAGGAGAGCCTGATGC	(GT) ₅	243	59
Orla17-260	F: CATGCAGTGCAGATAGCRCC R: TTACCCACRGCAACCTCTCC	(CA) ₈	226	60
Orla18-49	F: GCCTCCAGATGGTTTGTGAG R: GAGAGTCAGGTGTCAAGTTYACC	(CA) ₁₀ , (CA) ₈	180	57
Orla19-63	F: TTTAAAAGCAGCTCTGCGGGCAG R: GAGCTGTCGCCTCTTGTTAG	(CA) ₇	167	59
Orla20-134	F: AATCCAAAACACCAGSCAAG R: TACAAGGTGGAGGTGGGTGAC	(CA) ₈	223	55
Orla21-231	F: CCCGAGGGCCRTTGAAAG R: CTGGCCTYTCTCTTGAC	(CA) ₅ TA(CA) ₁₀	208	61

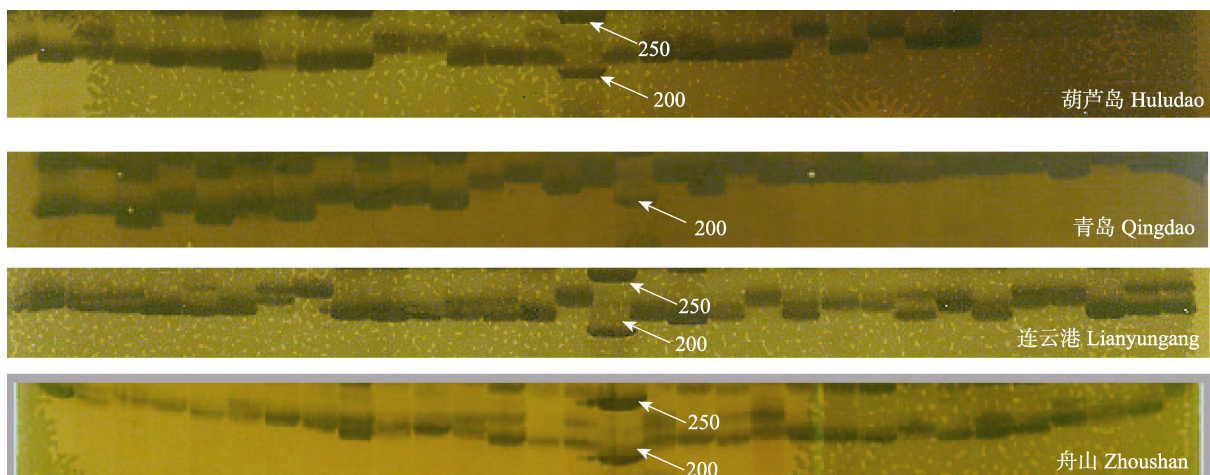


图1 引物 Orla17-260 在 4 个群体的扩增电泳

Fig.1 The electrophoresis of products amplified with Orla17-260

表 2 梭鱼 14 个微卫星位点的遗传多样性指数

Tab.2 Genetic diversity parameters of 14 microsatellite loci of *L. haematocheila*

位点 Locus	A	Ne	Ho	He	PIC	Fst	Nm
Orla3-185	3	1.886	0.442	0.472	0.419	0.014	17.745
Orla4-222	4	2.665	0.252	0.628	0.570	0.029	8.287
Orla9-38	5	3.508	0.633	0.718	0.661	0.086	2.663
Orla9-204	2	1.986	0.033	0.499	0.373	0.375	0.416
Orla10-175	5	3.125	0.267	0.683	0.627	0.189	1.074
Orla14-137	3	1.563	0.058	0.362	0.306	0.815	0.057
Orla15-84	4	3.549	0.59	0.721	0.664	0.105	2.128
Orla15-260	4	2.227	0.533	0.553	0.511	0.022	11.282
Orla16-32	2	1.684	0.017	0.408	0.324	0.849	0.044
Orla17-260	3	2.681	0.462	0.630	0.55	0.063	3.747
Orla18-49	7	5.239	0.567	0.813	0.781	0.070	3.313
Orla19-63	6	4.885	0.322	0.799	0.765	0.032	7.535
Orla20-134	5	3.792	0.392	0.739	0.691	0.019	12.871
Orla21-231	8	5.617	0.583	0.825	0.798	0.046	5.205
平均 Mean	4.357	3.172	0.368	0.632	0.574	0.148	1.444

表 3 4 个群体遗传多样性参数

Tab.3 Genetic diversity parameters of the four populations

群体 Population	多态性百分率 Polymorphic percentage (%)	A	Ne	Ho	He	PIC
葫芦岛 Huludao	92.86	3.929	2.673	0.364	0.532	0.487
青岛 Qingdao	92.86	3.786	2.682	0.36	0.503	0.465
连云港 Lianyungang	100.00	3.929	2.703	0.389	0.561	0.513
舟山 Zhoushan	85.71	4.000	2.899	0.359	0.550	0.509

群体的等位基因数为 3.786–4.000, 有效等位基因数为 2.673–2.899, 观测杂合度为 0.359–0.389, 期望杂合度为 0.503–0.561, 多态信息含量为 0.465–0.513, 由此分析, 梭鱼 4 个地理野生群体的遗传多样性比较丰富。同时, 各群体期望杂合度表明, 4 个群体遗传多样性差异无统计学意义($P > 0.05$)。另外, 对所有群体个体的全部位点的等位基因型频率进行 Hardy-Weinberg 平衡检验, 并进一步计算各位点遗传固定指数, 其概率值(P)和遗传固定指数(Fis)的结果见表 4。由表 4 可知, 4 个地理群体中大部分位点偏离 Hardy-Weinberg 平衡, 如青岛群体有 8 个, 葫芦岛群体和连云港群体分别有 9 个位点, 而舟山群体除了两个位点为单态性外, 其他位点均偏离 Hardy-Weinberg 平衡。对 4 个群体的各位点遗传固定指数(Fis)的研究发现, 葫芦岛和舟山均有两个位点呈现杂合子过剩, 其他两群体均有 3 个位点呈现杂合子过剩。

2.3 不同野生地理群体间遗传分化及遗传距离

14 个位点在 4 个地理群体间遗传分化指数(Fst)

和基因流(Nm)如表 2 所示, 群体间各位点表现出不同程度的遗传分化, 所有位点的平均遗传分化指数为 0.148, 平均基因流为 1.444, 说明各群体间存在中度遗传分化, 存在一定程度的基因交流。

梭鱼的所有地理群体两两之间的遗传分化指数(Fst)和基因流(Nm)见表 5。由表 5 可知, 梭鱼两群体间的遗传分化系数为 0.025–0.133, 基因流为 1.673–9.701, 在葫芦岛和青岛群体间遗传分化指数最小, 基因流出现最大值; 连云港和舟山群体间遗传分化指数最大, 基因流为最小值。

根据 Nei (1978) 的计算方法, 计算梭鱼各地理群体间遗传相似性系数(I)和遗传距离(D) (表 6)。由表 6 可知, 两群体间的遗传相似性系数为 0.623–0.818, 遗传距离为 0.202–0.473, 青岛和葫芦岛群体的遗传相似性系数最高, 连云港和舟山群体的遗传相似性系数最低。对遗传距离研究发现相同的结果, 即青岛和葫芦岛群体的遗传距离最近, 而连云港和舟山群体的遗传距离最远(图 2)。

表4 Hardy-Weinberg 平衡检验概率值(P)与遗传固定指数(F_{is})Tab.4 P value of Chi-square test for Hardy-Weinberg equilibrium and F_{is} value of heterozygote deficiency or excess

位点 Locus	葫芦岛 Huludao		青岛 Qingdao		连云港 Lianyungang		舟山 Zhoushan	
	P	F_{is}	P	F_{is}	P	F_{is}	P	F_{is}
Orla3-185	0.747	-0.140	0.008**	-0.030	0.116	0.218	0.004**	0.119
Orla4-222	0.002**	0.380	0**	0.748	0**	0.775	0**	0.403
Orla9-38	0.006**	0.215	0.229	0.128	0.164	-0.158	0.010*	-0.037
Orla9-204	0**	0.705	0**	1.000	0**	0.933	0**	1.000
Orla10-175	0**	0.839	0**	1.000	0.010**	0.146	0**	0.536
Orla14-137	—	—	—	—	0.023*	0.123	—	—
Orla15-84	0.775	0	0.001**	0.448	0.029*	0.083	0**	-0.238
Orla15-260	0.795	-0.126	0.386	-0.315	0.810	-0.030	0**	0.516
Orla16-32	0**	1.000	1.000	-0.017	1.000	-0.017	—	—
Orla17-260	0.795	0.234	0.307	0.062	0.033*	0.204	0.002**	0.359
Orla18-49	0.004**	0.013	0**	0.137	0**	0.383	0.001**	0.462
Orla19-63	0**	0.487	0**	0.484	0**	0.865	0**	0.499
Orla20-134	0.015*	0.436	0**	0.550	0**	0.383	0.001**	0.462
Orla21-231	0**	0.431	0.178	0.194	0.767	0.009	0**	0.354

* 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$; — 表示单态性位点* represents $P < 0.05$, ** represents $P < 0.01$; — represents monomorphism locus表5 梭鱼群体间基因流 N_m (对角线以上)和遗传分化系数 F_{st} (对角线以下)Tab.5 Gene flow estimates N_m (above diagonal) and F-statistics estimates F_{st} (below diagonal) among the four populations of *L. haematocheila*

群体 Population	葫芦岛 Huludao	青岛 Qingdao	连云港 Lianyungang	舟山 Zhoushan
葫芦岛 Huludao		9.701	2.440	3.046
青岛 Qingdao	0.025		2.173	1.673
连云港 Lianyungang	0.093	0.103		1.628
舟山 Zhoushan	0.076	0.130	0.133	

表6 梭鱼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)Tab.6 Genetic identity I (above diagonal) and Nei's genetic distance D (below diagonal) among the four populations of *L. haematocheila*

群体 Population	葫芦岛 Huludao	青岛 Qingdao	连云港 Lianyungang	舟山 Zhoushan
葫芦岛 Huludao		0.818	0.761	0.815
青岛 Qingdao	0.202		0.747	0.675
连云港 Lianyungang	0.273	0.292		0.623
舟山 Zhoushan	0.205	0.393	0.473	

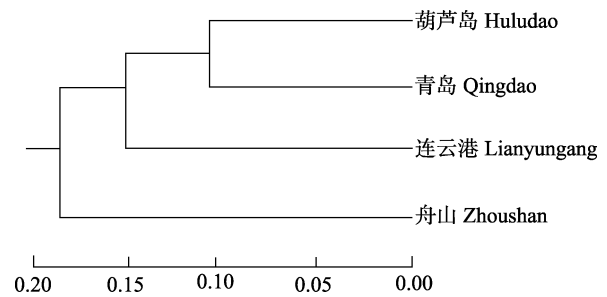


图2 基于 Nei 无偏遗传距离构建的 4 个梭鱼群体的 UPGMA 聚类

Fig.2 UPGMA dendrogram based on Nei unbiased genetic distances of the four populations of *L. haematocheila*

3 讨论

3.1 微卫星标记遗传多样性分析

在对物种群体的遗传信息进行分析探讨时,采用不同的分子标记往往出现不同的遗传参数,如杨锐等(2002)和权洁霞等(2000)分别利用水平淀粉凝胶电泳技术和随机扩增多态 DNA(RAPD)技术对采自河北黄骅的梭鱼自然群体和养殖群体进行遗传多样性分析,发现利用 RAPD 技术测得的自然群体和养殖群体的遗传多样性均高于水平淀粉凝胶电泳的结果。申雪艳等(2004)对从不同国家引进的 3 个大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)地理群体进行研究,运用微卫星引物计算的遗传距离(0.068-0.120)高于 RAPD 引物计算的结果(0.012-0.019)。另外,England 等(1996)研究表明,微卫星作为分子标记具有一定的优越性。因此,本研

究选取 14 个微卫星标记位点对梭鱼 4 个地理野生群体进行遗传多样性分析。

本研究发现, 14 个微卫星位点在梭鱼野生群体中均能扩增出清晰的条带且具有多态性, 这些位点具有丰富的多态性, 能够用于群体遗传多样性的分析。

3.2 不同野生地理群体遗传多样性分析

群体的遗传多样性是指群体全部遗传信息的总和, 包括群体遗传变异程度和遗传结构, 是群体适应环境变化、维持长期生存和进化的基础, 也可以用来衡量群体适应环境变化能力的强弱(张文静等, 2003; O'Connell *et al.*, 1997)。本研究发现, 来自葫芦岛、青岛、连云港及舟山等的梭鱼地理群体的微卫星位点的等位基因数为 3.786–4.000, 有效等位基因数 2.673–2.899, 其微卫星位点等位基因数相对较少, 恰好可以用来进行群体遗传学的研究(O'Reilly *et al.*, 1995)。群体遗传杂合度即基因多样性, 度量群体各位点的遗传变异的最适参数, 梭鱼 4 个地理野生群体的观测杂合度为 0.359–0.389, 期望杂合度为 0.503–0.561。比杨锐等(2002)和王茜等(2005)利用水平式淀粉凝胶电泳法及权洁霞等(2000)利用随机扩增多态 DNA(RAPD)技术测定的梭鱼野生群体的杂合度要高, 但各群体的观测杂合度和期望杂合度均低于 Xu 等(2009)的研究结果。

在本研究中, 观测杂合度与期望杂合度差异较大, 群体遗传处于不平衡状态, 这与利用等位基因型频率进行 Hardy-Weinberg 平衡检验并计算各位点遗传固定指数的研究结果相符。4 个地理群体中, 大部分位点偏离 Hardy-Weinberg 平衡, 且对 4 个群体的各位点遗传固定指数(F_{is})的研究发现, 葫芦岛和舟山群体均有两个位点呈现杂合子过剩, 其他两群体均有 3 个位点呈现杂合子过剩。可能受到地理因素及洋流模式等外界环境影响, 梭鱼幼体扩散能力与实验所捕捞的野生样本等因素有关。如 Liu 等(2007)利用梭鱼为广泛分布海洋性鱼类的特点, 采用 mtDNA 控制区部分序列分析其系统地理格局, 研究发现, 梭鱼幼体分布在近海岸浅水区域, 其扩散能力有限, 各地理群体的单倍型由梭鱼在更新世冰期低于海平面时在西北太平洋 3 个边缘海中被隔离分化形成, 而东海组群同时出现 3 个单倍型类群, 由于在末次冰期过后东海架坡度较小, 随海平面上升产生大量的沿岸浅海栖息地, 导致梭鱼群体的重建。在陈澄璟(2012)利用梭鱼线粒体控制区片段序列和 *Cyt b* 全序列研究发现, 梭鱼野生群体种内的遗传水平归为第二类遗传多样性水平模式, 即较高的单倍型多样性和较低的核苷酸多样性(Grant *et al.*, 1998), Gao 等(2014)对来自西北太平

洋梭鱼 5 个地理群体的研究结果相同, 提示梭鱼群体在经历过瓶颈效应或奠基者效应之后, 从一个小的群体发生急剧的群体扩张事件, 这与本研究中梭鱼出现微卫星位点偏离 Hardy-Weinberg 平衡及产生杂合子过剩现象相符合。

另外, 从 4 个梭鱼野生群体的多态信息含量分析其遗传多样性比较丰富。同时, 对各群体期望杂合度分析结果表明, 4 个群体遗传多样性差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3.3 不同野生地理群体间遗传分化及遗传距离分析

群体间遗传分化系数(F_{st})作为衡量群体间遗传分化程度的重要指标, 常常与群体间基因流(Nm)共同阐述各群体间遗传分化的内在机制。在本研究中, 梭鱼野生群体的 14 个位点平均遗传分化指数为 0.148 ($0.05 < F_{st} < 0.15$), 表现为中等水平, 平均基因流为 1.444 ($1 < Nm < 4$), 群体间基因交流通畅, 能够抵制遗传漂变作用, 防止群体间遗传分化。对两群体间的遗传变异研究发现, 梭鱼两群体间的遗传分化系数为 0.025–0.133, 基因流为 1.673–9.701, 在葫芦岛和青岛群体间遗传分化指数最小, 基因流出现最大值, 而连云港和舟山群体遗传分化指数最大, 基因流为最小值, 这可能与梭鱼幼体的扩散能力及近海沿岸生态环境及群落结构有关(朱鑫华等, 2001)。

遗传距离是研究物种遗传多样性的基础, Crawford 等(1998)指出, 由微卫星得出的遗传距离更能反映分化时间的长短, 能客观反映品种间的遗传变异和分化。本研究利用 14 个微卫星位点进行不同地理野生群体的遗传多样性分析, 根据 Nei (1978)的计算方法计算了各地理群体间遗传相似性系数(I)和遗传距离(D)。研究结果显示, 梭鱼 4 个野生地理群体依据地理位置由北向南依次聚在一起。

本研究的多项遗传多样性参数表明, 我国沿海梭鱼不同地理野生群体遗传多样性处于中等偏上的水平, 同时, 存在微卫星位点偏离 Hardy-Weinberg 平衡及产生杂合子过剩现象。再结合其他学者对梭鱼自然与养殖群体的研究结果, 对梭鱼种质资源保护及开发利用提出几点建议: 1) 梭鱼野生群体虽具有丰富的遗传多样性, 但应该进行海岸工程来加强梭鱼产卵场及保育场的保护, 维持天然的种群结构; 2) 由于梭鱼野生群体存在偏离 Hardy-Weinberg 平衡及产生杂合子过剩现象, 故在对沿岸海域进行人工苗种的增殖放流时, 要注意其遗传结构, 避免人为因素加快梭鱼天然种质资源的衰竭; 3) 在对梭鱼繁育养殖时, 可以通过采捕不同海域的苗种培育亲鱼, 分析其遗传信

息, 利用不同群体间的交配提高梭鱼的养殖效益。

参 考 文 献

- 王茜, 边靖. 梭鱼养殖群体与自然群体的遗传结构研究. 安徽农业科学, 2013, 41(3): 1145-1147
- 王茜, 董仕. 梭鱼等位酶遗传结构的分析. 动物学报, 2005, 51(增刊): 237-242
- 申雪艳, 宫庆礼, 雷霖霖, 等. 进口大菱鲂 *Scophthalmus maximus* L 苗种的遗传结构分析. 海洋与湖沼, 2004, 35(4): 332-341
- 权洁霞, 戴继勋, 沈颂东, 等. 梭鱼人工养殖群体与自然群体的随机扩增多态 DNA(RAPD)分析. 海洋学报, 2000, 22(5): 82-87
- 朱鑫华, 缪锋, 刘栋, 等. 黄河口及邻近海域鱼类群落时空格局与优势种特征研究. 海洋科学集刊, 2001(43): 141-151
- 杜长斌, 孙孝文. 微卫星在水产动物种质资源研究方面的应用. 水产学杂志, 2000, 13(1): 68-73
- 李明德. 中国梭鱼42年来的研究概况. 海洋通报. 1993, 12(6): 81-86
- 李明德. 梭鱼的生物学及养殖. 天津: 南开大学出版社, 1992, 15-21
- 李雪燕, 孙国华, 杨建敏, 等. 微卫星标记在刺参(*Apostichopus japonicus*)人工繁育中亲本识别的应用. 海洋与湖沼, 2013, 44(5): 1263-1269
- 杨锐, 庄志猛, 喻子牛, 等. 梭鱼养殖群体与自然群体等位基因酶的遗传变异. 海洋水产研究, 2002, 23(3): 15-19
- 张文静, 余育, 沈蕴芬. 微卫星 DNA 遗传分析在原生动物学中的研究进展. 水生生物学报, 2003, 27(2): 185-190
- 陆丽君, 马爱军, 王新安, 等. 5 个红鳍东方鲀养殖群体微卫星 DNA 遗传多态性分析. 渔业科学进展, 2013, 34(4): 27-34
- 陈惠彬. 淡水养殖梭鱼的人工繁殖机理. 水产学报, 1989, 13(2): 109-114
- 卓丽军, 王韧辰, 李爱顺. 梭鱼淡水池塘主养密度对比试验. 水产养殖, 2011(9): 16-17
- 罗云, 高保全, 刘萍, 等. 三疣梭子蟹遗传连锁图谱的初步构建. 渔业科学进展, 2010, 31(3): 56-65
- 姚欣华. 原种梭鱼的保种技术. 河北渔业, 2012(8): 26-28
- 郭益顿, 顾向军, 徐国昌, 等. 高位池塘循环水养鱼系统生产性试验总结. 渔业现代化, 2011, 38(3): 23-27
- 梅肖乐, 倪金佛, 陈焕根, 等. 梭鱼梭鱼、缙蛭、脊尾白虾无公害综合养殖技术. 水产养殖, 2005(26): 24-25, 33
- Botstein D, White RL. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am J Hum Genet, 1980, 32(3): 31-34
- Crawford AM, Littlepohn RP. The use of DNA marker in deciding conservation priorities in sheep and other livestock. Anim Genet Res Inform, 1998, 23(1): 21-26
- England PR, Briscoe DA, Frankham R. Microsatellite polymorphisms in a wild population of *Drosophila melanogaster*. Genet Res, 1996, 67(3): 285-290
- Gao T, Li Y, Chen C, et al. Genetic diversity and population structure in the mtDNA control region of *Liza haematocheilus* (Temminck & Schlegel, 1845). J Appl Ichthyol, 2014, 30(5): 941-947
- Gotoh RO, Tamate S, Yokoyama J, et al. Characterization of comparative genome-derived simple sequence repeats for acanthopterygian fishes. Mol Ecol Resour, 2013, 13(3): 461-472
- Grant W, Bowen BW. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. J Hered, 1998, 89(5): 415-426
- Liu J, Gao T, Wu S, et al. Pleistocene isolation in the Northwestern Pacific marginal seas and limited dispersal in a marine fish, *Chelon haematocheilus* (Temminck and Schlegel, 1845). Mol Ecol, 2007, 16(2): 275-288
- Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 1978, 89(3): 583-590
- O'Connell M, Wright JM. Microsatellite DNA in fishes. Rev Fish Biol Fisher, 1997, 7(3): 331-363
- O'Reilly P, Wright JM. The evolving technology of DNA fingerprinting and its application to fisheries and aquaculture. J Fish Biol, 1995, 47(Suppl A): 29-55
- Xu GB, Shao CW, Liao XL, et al. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci from so-iuy mullet (*Mugil soiyu* Basilewsky 1855). Conserv Genet, 2009, 10(3): 653-655

(编辑 冯小花)

Analysis of Genetic Structures of Four Wild Geographic Populations of Mullet *Liza haematocheila* by Using Microsatellite Marker Technique

MAO Shoukang^{1,2,3}, MA Aijun^{1,2①}, DING Fuhong¹, YAN Xiwu³, LUO Haizhong⁴,
LI Weiye⁴, XU Baorong⁵, WANG Huaizhong⁶, WANG Baoyi⁷, WANG Guangning¹

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; Qingdao Key Laboratory for Marine Fish Breeding and Biotechnology; Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Qingdao 266071; 2. Function Laboratory for Marine Biology and Biotechnology, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266200; 3. Dalian Ocean University, Dalian 116023; 4. Zhoushan Fisheries Research Institute, Zhoushan 316699; 5. Qingdao Baorong Aquatic Limited Corporation, Qingdao 266303; 6. Lianyungang Xianzhong Aquatic Limited Corporation, Lianyungang 222000; 7. Xingcheng Longyun Aquatic Limited Corporation, Xingcheng 125100)

Abstract In this study, fourteen markers were analyzed to assess the genetic diversity of four wild geographical populations of *Liza haematocheila* from the adjacent waters of Huludao, Qingdao, Lianyungang, and Zhoushan. The results showed that there was a certain degree of polymorphism in the four populations and the percentages of polymorphic loci were 92.86%, 92.87%, 100%, and 85.71% respectively. A total of 61 alleles were detected in the four populations, and the average number of alleles was between 3.786 and 4.000 for each population and the effective number of alleles was from 2.673 to 2.899. The average values of observed and expected heterozygosity ranged from 0.359 to 0.389 and from 0.503 to 0.561 respectively. The mean polymorphic information contents were from 0.465 to 0.513. These results suggested that there was a moderate genetic diversity among the four populations, however, the Kruskal-Wallis test (SPSS software) indicated no significant difference in the genetic diversity among the four populations ($H=0.187$, $df=3$, $P=0.980$). The majority of loci in each population were found to deviate from the Hardy-Weinberg equilibrium ($P<0.05$). Moreover the Huludao and Zhoushan populations were found to have two loci with heterozygote excess ($Fis<0$), while the other two populations had three loci with heterozygote excess. This was probably caused by recent bottleneck effect. The values of genetic differentiation coefficients and gene flow were 0.148 and 1.444 respectively, which suggested a medium level of genetic differentiation and a certain degree of gene flow between the four populations. The genetic similarity coefficients of the four populations ranged from 0.623 to 0.818 and the genetic distance was between 0.202 and 0.473 among the populations. The genetic distance was the nearest between Huludao and Qingdao, and was the farthest between Lianyungang and Zhoushan. These results could be related to the diffusion of the mullet larvae, the inshore coastal ecological environment, and the community structure. Cluster analysis with the UPGMA method showed that the four geographic populations could converge into one cluster according to their distribution from north to south.

Key words Mullet *Liza haematocheila*; Geographical population; Microsatellite; Genetic diversity

① Corresponding author: MA Aijun, E-mail: maaj@ysfri.ac.cn