

漠斑牙鲆养殖群体微卫星遗传多样性的初步分析

覃盼^{1,2}, 廖梅杰², 徐永江², 潘传燕^{2,3}, 李彬², 王印庚², 张正²

(1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 青岛市海水鱼类种子工程与生物技术重点实验室, 山东 青岛 266071; 3. 中国海洋大学 水产学院, 山东 青岛 266100)

摘要: 为评估养殖过程对漠斑牙鲆遗传结构的影响, 本研究利用微卫星标记对漠斑牙鲆(*Paralichthys lethostigma*)山东胶南养殖群体(子一代)和江苏南通养殖群体(子三代)的遗传结构进行分析比较, 结果表明所使用的 14 对引物中, 11 对引物在所选取的群体中具有多态性, 两个群体中共检测出了 70 个等位基因(42 个有效等位基因), 总群体的平均观察杂合度(Ho)和期望杂合度(He)分别为 0.36 和 0.60。两个群体的 Shannon's 遗传多样性指数分别为 1.18 和 1.07, Nei's 遗传多样性指数分别为 0.56 和 0.51, 表明山东胶南群体的遗传多样性显著高于江苏南通养殖群体。两个养殖群体间的两群体间的遗传分化系数 Fst 平均为 0.1246, 遗传距离(Ds)为 0.171, 遗传相似度为 0.8432, 表明两个群体中度分化。由此可以得出, 在中国随着漠斑牙鲆亲代养殖的开展, 其遗传多样性下降显著, 遗传结构已经出现了显著分化。因此, 在将来的繁育过程中应制定合理的育苗规划以维持漠斑牙鲆的多样性水平并保障产业可持续发展。

关键词: 漠斑牙鲆(*Paralichthys lethostigma*); 养殖群体; 微卫星; 遗传多样性

中图分类号: Q347

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2013)12-0010-07

漠斑牙鲆(*Paralichthys lethostigma*), 又名南方鲆, 是原产于美国的深海底栖鱼类。漠斑牙鲆不仅具有食性杂、饲料系数低等优点^[1], 而且对环境因子适应能力较强, 可以在海水、半咸水甚至淡水中生存^[2], 并且具有广温性, 上述优点促使漠斑牙鲆养殖业迅猛发展^[3]。漠斑牙鲆于 21 世纪初从美国引种到中国后, 其养殖规模逐步扩大, 经过近 10 年的养殖, 漠斑牙鲆已经形成以工业化养殖和池塘养殖为主的养殖模式, 前景十分广阔。

由于鱼、虾、贝类等养殖群体容易受人为因素干扰, 导致群体遗传多样性水平下降, 进而导致生长率、抗病性和繁殖能力下降, 甚至危及种群的生存^[4-7], 因而从分子水平了解漠斑牙鲆群体的遗传资源现状对于该养殖产业的发展具有重要意义。近几年国内外学者对于漠斑牙鲆的遗传结构进行了研究: Blandon 等^[8]利用同工酶方法对美国漠斑牙鲆野生群体进行了群体多态性分析; 李鹏飞等^[9]采用同工酶方法对漠斑牙鲆引进种群进行遗传多态性分析; 李鹏飞等^[10-12]还利用 RAPD、微卫星方法分别分析了漠斑牙鲆引进群体子一代以及漠斑牙鲆养殖群体遗传多样性; 然而, 目前对国内漠斑牙鲆养殖群体间遗传多样性研究相对较少。为探讨养殖过程对漠斑牙鲆种质结构的影响, 本研究运用微卫星分子标记对中国江苏南通和山东胶南两个养殖群体进行遗传多样

性和遗传结构进行了研究, 并与美国野生群体进行对比分析, 以期通过对不同区域的养殖群体遗传结构的比较, 对养殖过程中漠斑牙鲆遗传多样性降低的风险评估工作以及种质资源保护提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

实验所用漠斑牙鲆养殖群体分别采集于山东省胶南某养殖场和江苏省南通某养殖场。其中山东胶南群体为利用从美国引进的野生群体所培育的子一代个体, 江苏南通群体为子三代个体, 每个群体各采集 30 个样本, 剪胸鳍保存于无水乙醇中运回实验室, 并保存于-20℃冰箱。

1.2 实验方法

1.2.1 基因组 DNA 提取

使用海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒

收稿日期: 2012-07-13; 修回日期: 2013-01-18

基金项目: 国家科技支撑计划课题(2012BAD17B03); 国家鲆鲽类产业技术体系(CARS-50); 公益性行业(农业)科研专项经费项目(nyhyzx07-046-鲆鲽)

作者简介: 覃盼(1987-), 男, 湖北宜昌人, 土家族, 硕士, 主要从事水产养殖动物健康养殖和疾病控制研究, E-mail: qinpan1208@126.com; 王印庚, 通信作者, 电话: 0532-85841732, E-mail: wangyg@ysfri.ac.cn

(Tiangen)提取基因组 DNA。用 1%的琼脂糖凝胶电泳检测基因组 DNA 完整性,紫外分光光度计测定其浓度后稀释到 50 ng/ μ L, -20℃保存备用。

1.2.2 引物筛选

利用本实验室刘智超等^[13]开发的美国漠斑牙鲆微卫星标记,对江苏南通养殖群体和山东胶南养殖群体的 60 个样本进行多态性检测。PCR 扩增体系为: 10×Buffer 2.5 μ L, 10 mmol/L dNTP 0.5 μ L, 10 μ mol/L 引物各 0.5 μ L, 50 ng/ μ L 模板 2 μ L, TaKaRa Taq (5 U/ μ L) 0.2 μ L, 加水到 25 μ L。PCR 反应程序为 94℃ 预变性 10min, 94℃ 变性 1 min, 复性温度(表 1)复性 1 min, 72℃延伸 1 min, 循环 30 次, 最后 72℃延伸 10 min。PCR 扩增产物通过 6%变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行检测,根据迁移速度对条带依次编号,迁移最快的条带记为 A,依次类推。

1.2.3 江苏南通和山东胶南养殖漠斑牙鲆群体的遗传多样性及遗传结构分析

利用 Popgene32 软件^[14]计算各微卫星位点在两个群体及总群体的等位基因数(Na)、有效等位基因数(Ne)、计算观测杂合度(Ho)、期望杂合度(He),利用 Botstein^[15]等提供的方法,计算各位点的多态信息含量(polymorphic index content, PIC),用 χ^2 检验估计群体 Hardy-Weinberg 平衡偏离,利用 genepop 软件^[16]在线分析各微卫星位点间是否处于连锁不平衡状态,显著性检验利用 Bonferroni correcting 进行校正^[17]。利用 Popgene 软件计算各个位点的固定指数(Fit、Fis、Fst)及 Nei's 标准遗传距离(Ds)来检测群体的遗传分化程度。同时,利用该软件计算各群体及总群体的 Nei's 指数和 Shannon's 指数,按照遗传多样性(Ht)可分为群体内遗传多样性(Hwp)和群体间遗传多样性(Hbp)两部分^[18],群体间的遗传分化(GD)计算公式为 $Hbp/Ht \times 100\%$ 的方法来计算两个群体的遗传距离。

2 结果

2.1 微卫星位点的选择

利用本实验室开发的 14 对漠斑牙鲆微卫星引物^[13]在江苏南通和山东胶南两养殖群体中扩增,琼脂糖电泳结果显示 GA34 位点在两个养殖群体中均没有扩增产物, PAGE 电泳结果显示 GA12 和 GA13 为单态性位点,因此利用 11 个具有多态性的微卫星位点对两个群体的遗传多样性和遗传结构进行分析(表 1)。

2.2 漠斑牙鲆养殖群体的遗传多样性分析

由表 1 可见,对由 2 个养殖漠斑牙鲆群体组成的总群体,11 个多态性位点共获得了 70 个等位基因,各位点扩增得到的 2~14 个等位基因,平均每一个位点的等位基因数目为 6.36 个,平均有效等位基因数为 3.82 个。11 个多态性位点中,观测杂合度的范围为 0.03~0.67,平均的观测杂合度为 0.36,期望杂合度范围为 0.03~0.86,平均的期望杂合度为 0.60,总群体的 Shannon's 遗传多样性指数为 1.31, Nei's 遗传多样性指数为 0.59。而作为两个独立的群体进行遗传多样性的统计结果看,在山东胶南群体中,11 个位点均表现出多态性,11 个位点共获得了 66 个等位基因,各位点扩增得到的 2~13 个等位基因,平均每一个位点的等位基因数目为 6.3 个,平均有效等位基因数为 3.50 个。11 个位点的观测杂合度的范围为 0.07~0.83,平均的观测杂合度为 0.38,期望杂合度范围为 0.07~0.86,平均的期望杂合度为 0.60,群体的 Shannon's 遗传多样性指数为 1.18, Nei's 遗传多样性指数为 0.56;而对于江苏南通养殖群体,11 个位点中只有 8 个位点为多态性位点,BCA27 位点在该群体中无扩增产物,BCA65 和 GA5 位点在该群体中为单态位点,10 个有扩增产物的位点共获得了 48 个等位基因,各位点扩增得到的 1~8 个等位基因,平均每一个位点的等位基因数目为 4.8 个,平均有效等位基因数为 3.03 个。10 个位点的观测杂合度的范围为 0~0.83,平均的观测杂合度为 0.32,期望杂合度范围为 0~0.84,平均的期望杂合度为 0.52,群体的 Shannon's 遗传多样性指数为 1.07, Nei's 遗传多样性指数为 0.51。由数据可知,山东胶南养殖群体多态性位点数目、等位基因数、杂合度整体水平较江苏南通养殖群体略高,其遗传多样性也显著高于江苏南通养殖群体($P < 0.05$)。

根据总群体的 PIC 值结果判定,8 个位点(BCA27、BCA52、BCA50、BCA68、BCA70、BCA83、BCA84、GA94)为高度多态位点($PIC > 0.5$),1 个位点(GA31)为中度多态位点($0.25 < PIC < 0.5$),2 个位点(BCA65、GA5)为低度多态位点($PIC < 0.25$)。

利用 Genepop 软件对总群体的 11 个位点进行连锁不平衡分析,结果表明:所分析的 11 个多态性位点均没有表现出显著的连锁不平衡($P > 0.05$)。另外对 11 个微卫星位点进行哈德-温伯格平衡(HWE)分析,利用连续性 Bonferroni 方法对多重检验的显著

表 1 漠斑牙鲆江苏南通养殖群体和山东胶南养殖群体在 11 个微卫星位点的遗传多样性

Tab. 1 The genetic diversity indices of 11 microsatellite DNA markers for the two populations

项 目		位 点											
		BCA27	BCA52	BCA50	BCA65	BCA68	BCA70	BCA83	BCA84	GA5	GA31	GA94	平均
		序列号(#代表 JF5020)											
		#35	#40	#39	#41	#42	#44	#45	#46	#48	#53	#58	
		温度(℃)											
		57	57	54	54	57	54	57	57	54	57	54	
Na		0	8	8	1	4	5	6	5	1	3	7	4.8
江 Ne		0	5.57	5.96	1	1.79	2.88	5	3.06	1	1.41	2.66	3.03
苏 Ho		0	0.48	0.25	0	0.50	0.47	0.43	0.83	0	0.07	0.13	0.32
南 He		0	0.84	0.85	—	0.45	0.66	0.81	0.68	0	0.30	0.64	0.52
通 PIC		—	0.80	0.81	—	0.40	0.61	0.77	0.61	—	0.27	0.60	0.61
群 Shannon's		0.00	1.84	1.91	0.00	0.82	1.30	1.68	1.21	0.00	0.56	1.38	1.07
体 Nei's		0.00	0.82	0.83	0.00	0.44	0.65	0.80	0.67	0.00	0.29	0.62	0.51
<i>p</i>		—	0.00*	0.00*	—	1	0.05	0.00*	0.04	—	0.00*	0.00*	—
Na		9	6	8	2	5	6	7	5	2	3	13	6.3
山 Ne		5.31	4.94	3.89	1.07	2.62	2.26	6.25	3.12	1.07	1.69	6.35	3.50
东 Ho		0.45	0.18	0.30	0.07	0.67	0.83	0.53	0.50	0.07	0.17	0.39	0.38
胶 He		0.83	0.84	0.76	0.07	0.63	0.57	0.85	0.69	0.07	0.41	0.86	0.60
南 PIC		0.79	0.77	0.71	0.06	0.58	0.49	0.82	0.62	0.06	0.35	0.83	0.55
群 Shannon's		1.94	1.69	1.61	0.15	1.20	1.04	1.88	1.28	0.15	0.68	2.15	1.18
体 Nei's		0.81	0.80	0.74	0.06	0.62	0.56	0.84	0.68	0.06	0.41	0.84	0.56
<i>p</i>		0.00*	0.00*	0.00*	1	0.42	0.01	0.00*	0.03	1	0.00*	0.00*	—
Na		9	8	8	2	5	6	7	6	2	3	14	6.36
Ne		5.31	6.51	6.93	1.03	2.21	3.83	5.71	3.34	1.03	1.56	4.55	3.82
Ho		0.45	0.38	0.27	0.03	0.58	0.65	0.48	0.67	0.03	0.12	0.26	0.36
He		0.83	0.86	0.86	0.03	0.55	0.75	0.83	0.71	0.03	0.36	0.79	0.60
PIC		0.79	0.83	0.84	0.03	0.51	0.69	0.80	0.65	0.03	0.33	0.76	0.57
Shanon's		1.94	1.94	2.00	0.08	1.09	1.46	1.81	1.39	0.08	0.66	2.00	1.31
Nei's		0.81	0.85	0.86	0.03	0.55	0.74	0.83	0.70	0.03	0.36	0.78	0.59
<i>p</i>		0.00*	0.00*	0.00*	1	0.77	0.00*	0.00*	0.00*	1	0.00*	0.00*	—

注: *p*: 哈德-温伯格平衡检验; *.Bonferroni 校正后显著偏离哈德温伯格平衡

性标准进行校正, 结果显示, 在总群体中只有 3 个位点(BCA65、BCA68 和 GA5)符合哈德-温伯格平衡, 江苏南通养殖群体中只有 3 个位点(BCA68、BCA70 和 BCA84)符合哈德-温伯格平衡, 山东胶南群体中有 5 个位点(BCA65、BCA68、BCA70、BCA84 和 GA5)符合哈德-温伯格平衡(HWE), 其余位点均偏离哈德-温伯格平衡, 这些偏离平衡的位点均由杂合体缺失导致, 这可能是由于无效等位基因、大等位基因缺失或其他标记本身缺陷造成。

2.3 漠斑牙鲆养殖群体间的遗传变异分析

由于 BCA27 位点在江苏南通群体中无扩增产

物, 因此选取其余 10 个多态性位点对两个群体的遗传结构和遗传变异进行分析, 结果见表 2。在基于等位基因频率计算的 Nei's 基因多样性上, 江苏漠斑牙鲆养殖群体的基因多样性指数为 0.51, 山东胶南漠斑牙鲆养殖群体基因多样性指数为 0.56, 两个养殖群体内遗传多样性(Hwp)为 0.54, 群体间遗传多样性(Hbp)为 0.04, 两个群体间的遗传分化平均为 6.17%; 在基于基因型频率计算的香农氏信息指数上, 江苏南通漠斑牙鲆养殖群体的基因多样性指数为 1.07, 山东胶南漠斑牙鲆养殖群体基因多样性指数为 1.18。两个养殖群体内遗传多样性(Hwp)为 1.13, 群体间遗传

表 2 漠斑牙鲆江苏南通养殖群体和山东胶南养殖群体的遗传多样性和遗传分化

Tab.2 Genetic diversities and genetic differentiation of the two cultured populations

基因座	Shannon's 信息指数						Nei's 基因多样性					
	南通群体	胶南群体	总群体	Hwp	Hbp	GD(%)	南通群体	胶南群体	总群体	Hwp	Hbp	G(%)
BCA52	1.83	1.69	1.94	1.79	0.15	7.57	0.82	0.8	0.85	0.81	0.03	3.96
BCA50	1.91	1.61	2	1.77	0.23	11.73	0.83	0.74	0.86	0.79	0.07	7.87
BCA65	0	0.15	0.08	0.07	0.01	13.86	0	0.06	0.03	0.03	0	1.83
BCA68	0.82	1.2	1.09	1.01	0.08	7.47	0.44	0.62	0.55	0.53	0.02	3.09
BCA70	1.3	1.04	1.46	1.17	0.29	19.66	0.65	0.56	0.74	0.6	0.13	18.17
BCA83	1.68	1.88	1.81	1.78	0.03	1.84	0.8	0.84	0.83	0.82	0	0.61
BCA84	1.21	1.28	1.39	1.25	0.14	10.13	0.67	0.68	0.7	0.68	0.02	3.42
GA5	0	0.15	0.08	0.07	0.01	13.86	0	0.06	0.03	0.03	0	1.83
GA31	0.56	0.68	0.66	0.62	0.03	5.31	0.29	0.41	0.36	0.35	0.01	2.92
GA94	1.38	2.15	2	1.75	0.25	12.48	0.62	0.84	0.78	0.73	0.05	6.45
平均	1.07	1.18	1.25	1.13	0.13	10.05	0.51	0.56	0.57	0.54	0.04	6.17

传多样性(Hbp)为 0.13, 两个群体间的遗传分化平均为 10.05%。

利用 Popgene32 软件对漠斑牙鲆江苏南通养殖群体和山东胶南养殖群体在各座位的 F 统计量结果见表 3, 利用 11 个位点计算群体内的近交系数 Fis 平均为 0.3663, 为正值, 说明所研究的群体处于杂合子缺失状态, 存在不同程度的近交现象; 群体间的遗传分化系数 Fst 平均为 0.1246(0.05 < Fst < 0.15), 说明江苏南通漠斑牙鲆养殖群体和山东胶南漠斑牙鲆养殖群体呈中等遗传分化。两个群体间的 Nei's 标准遗传距离(Ds)为 0.171, 遗传相似度为 0.8432 (表 4)。

表 3 漠斑牙鲆江苏南通养殖群体和山东胶南养殖群体在 11 个微卫星位点的 F-统计量

Tab. 3 Effective number of Fixation index (F) of 11 microsatellite DNA markers in two populations

卫星位点	Fit	Fis	Fst
BCA27	0.765	0.4476	0.5742
BCA52	0.61	0.592	0.0451
BCA50	0.681	0.6532	0.0788
BCA65	-0.02	-0.0345	0.0169
BCA68	-0.07	-0.1001	0.031
BCA70	0.121	-0.0749	0.1817
BCA83	0.414	0.4106	0.0061
BCA84	0.048	0.0144	0.0341
GA5	-0.02	-0.0345	0.0169
GA31	0.675	0.6656	0.0294
GA94	0.664	0.6413	0.0643
平均数	0.445	0.3663	0.1246

表 4 漠斑牙鲆江苏养殖群体和山东养殖群体的遗传距离和相似性指数

Tab. 4 Genetic identity and genetic distance in Jiangsu and Shangdong cultured populations

群体	南通群体	胶南群体
南通群体	****	0.8432
胶南群体	0.171	****

注: 对角线以下数据为遗传距离, 对角线以上数据为相似性指数

3 讨论

在漠斑牙鲆遗传多样性分析方面, Blandon^[8]和李鹏飞^[9]利用同工酶的方法分别对美国漠斑牙鲆野生群体和漠斑牙鲆在中国的引进群体进行了群体多样性分析, 表明群体的杂合度范围为 0.03~0.12, 这与同工酶标记的等位形式少有关。相对于同工酶, 微卫星具有多态性高, 符合孟德尔遗传等优点被广泛应用于遗传多样性检测中, 尤峰等^[11]采用跨物种扩增的方法利用牙鲆微卫星引物对漠斑牙鲆养殖群体遗传多态性进行分析, 检测到漠斑牙鲆养殖群体等位基因数为 2~6 个, 观察杂合度值为 0.291 7~0.958 3, 期望杂合度值为 0.405 3~0.755 3; 多态信息含量 PIC 为 0.353~0.746。Shao 等^[19]开发了 10 个漠斑牙鲆微卫星位点并对养殖群体进行了遗传分析, 等位基因数范围是 2~9, 观测杂合度范围是 0.250~0.900, 期望杂合度范围是 0.4469~0.8514。刘智超等^[13]利用 FIASCO 方法开发了 14 个漠斑牙鲆多态性微卫星分子标记, 尤峰等^[11], Shao 等^[19]开发了 10 个漠斑牙鲆微卫星位点并对养殖群体进行了遗传分析, 范围是 2~9, 观测杂合度范围是 0.250~0.900, 期望杂合度范

围是 0.4469~0.8514。开发的标记分析了漠斑牙鲆野生群体和养殖群体的遗传多样性,结果显示所使用的微卫星标记的等位基因范围是 2~16,观察杂合度为 0~0.65(平均 0.36),期望杂合度为 0.07~0.90,利用所分离的 14 个多态性微卫星标记检测到美国野生群体的 Shannon's 遗传多样性指数为 1.33, Nei's 遗传多样性指数为 0.57。本研究利用刘智超^[13]等所开发的微卫星标记分析了引入中国的漠斑牙鲆子一代和子三代养殖群体的遗传多样性,显示,14 个微卫星标记中,GA34 引物在南通养殖群体和胶南养殖群体中均未扩增产物,BCA27 标记在江苏南通群体中没有扩增产物,但在胶南养殖群体中有扩增产物,这或许是因为在美国漠斑牙鲆群体和国内的漠斑牙鲆养殖群体存的微卫星位点存在差异,在引物序列处可能有个别碱基的突变、缺失等情况,这可能是长期养殖驯养而造成,也可能是位点在漠斑牙鲆中的保守性较低造成。GA12 和 GA13 在所检测的两个群体中为单态性位点,所使用的 11 个多态性标记在总群体中等位基因范围是 2~14 个等位基因观测杂合度的范围为 0.03~0.67,平均的观测杂合度为 0.36,期望杂合度范围为 0.03~0.86,平均的期望杂合度为 0.60,总群体的 Shannon's 遗传多样性指数为 1.31, Nei's 遗传多样性指数为 0.59。而将两个养殖群体分别进行分析,山东胶南养殖群体的多态性(PIC 指数)、等位基因数、杂合度整体水平均高于江苏南通养殖群体,根据遗传多样性指数(Shannon's 指数和 Nei's 指数)可以看出,山东胶南群体的遗传多样性指数显著高于江苏南通群体,但两者的遗传多样性指数都低于美国野生群体,由此可以得出,漠斑牙鲆群体引入中国后,经过多代苗种繁育和养殖,其遗传多样性在逐步降低。在中国水产养殖过程中,养殖群体遗传多样性降低的现象在多个养殖品种中均有报道^[20-24]。

依据 Shannon's 多样性指数和 Nei's 多样性指数计算江苏南通养殖群体和山东胶南养殖群体间的中的遗传分化分别为 6.17%和 10.05%;两群体间的遗传分化系数 F_{st} 平均为 0.1246($0.05 < F_{st} < 0.15$),说明江苏南通漠斑牙鲆养殖群体和山东胶南漠斑牙鲆养殖群体呈中等遗传分化。由上数据数可推知漠斑牙鲆引入中国后,子三代群体已经出现了显著的遗传分化。上述现象的产生可能是由于受养殖过程的生产条件和生产规模的限制,繁育亲本多样性较低所致。在养殖过程中,养殖群体的遗传多样性下降将导致养殖产量、群体适应环境能力和抗病性下降^[25],

因此为了能可持续的利用漠斑牙鲆这一优质养殖品种,作者在育苗过程中尽可能的保证各个环节的科学性和合理性,定期向养殖群体中补充一定数量的外来亲本。

参考文献:

- [1] 李树国, 陆锦天, 朱善央. 漠斑牙鲆养殖研究的进展[J]. 水产科技情报, 2005, 32(4): 147-150.
- [2] 白国福, 林云. 漠斑牙鲆淡水养殖试验[J]. 水产科学, 2006, 25(8): 420-421.
- [3] 张玉勇, 贾智英, 李池陶, 等. 漠斑牙鲆生物学及人工繁育[J]. 水产科学, 2006, 19(1): 77-83.
- [4] 邵艳卿, 陆荣茂, 董迎辉, 等. 三种鲆的遗传多样性分析[J]. 海洋科学, 2009, 33(10): 26-30.
- [5] 苏天凤, 朱彩艳, 江世贵. 海南岛大珠母贝遗传多样性分析[J]. 海洋科学, 2005, 29(8): 20-22.
- [6] 马春艳, 刘敏, 马凌波, 等. 长兴岛刀鲆群体的遗传多样性分析[J]. 海洋科学, 2007, 31(12): 9-12.
- [7] 尹邵武, 冯永勤, 黄海, 等. 方斑东风螺 2 个养殖群体遗传变异的 RAPD 分析[J]. 中国水产科学, 2007, 14(4): 667-670.
- [8] Blandon I R, Ward R, King T L, et al. Preliminary genetic population structure of southern flounder, *Paralichthys lethostigma*, along the Atlantic Coast and Gulf of Mexico[J]. Fishery Bulletin, 2001, 99(4): 671-678.
- [9] 李鹏飞, 刘萍, 柳学周, 等. 漠斑牙鲆引进种群同工酶的遗传多态性分析[J]. 中国水产科学, 2006, 13(1): 13-19.
- [10] 李鹏飞, 刘萍, 柳学周. 漠斑牙鲆引进群体子一代遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 渔业科学进展, 2009, 30(1): 15-18.
- [11] 尤锋, 王伟, 吴志昊, 等. 漠斑牙鲆(*Paralichthys lethostigma*)养殖群体微卫星遗传多态性的分析[J]. 海洋科学进展, 2006, 24(2): 195-202.
- [12] 尤锋, 吴志昊, 王伟, 等. 漠斑牙鲆养殖群体 RAPD 遗传多样性的初步分析[J]. 海洋科学, 2006, 30(2): 86-90.
- [13] 刘智超, 廖梅杰, 徐永江, 等. 漠斑牙鲆微卫星标记筛选及美国群体遗传结构分析[J]. 渔业科学进展, 2012, 31(1): 42-48.
- [14] Yeh F C, Yang R C, Boyle T. POPGENE version 1.31: Microsoft windows-based freeware for population genetic analysis[CP/DK]. 1999. University of Alberta and

- Centre for International Forestry Research, Edmonton. Available at http://www.ualberta.ca/~fyeh/popgene_download.html. Accessed April 20, 2011.
- [15] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism[J]. *Am J Hum Genet*, 1980, 32: 314-331.
- [16] Rousset, F. Genepop'007: a complete reimplementation of the genepop software for windows and linux [J]. *Mol Ecol Res*, 2008, 8: 103-106.
- [17] Rice W R. Analyzing tables of statistical tests[J]. *Evolution*, 1989, 43: 223-225.
- [18] Lewontin R C. The apportionment of human diversity[J]. *Evol Biol*, 1972, 6: 381-398.
- [19] Shao C W, Liao X, Chen S L. Isolation and characterization of microsatellite DNA loci from the southern flounder, *Paralichthys lethostigma*[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2008, 8: 381-383.
- [20] 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.
- [21] Li Q, Park C, Endo T, et al. Loss of genetic variation at microsatellite loci in hatchery strains of the pacific abalone[J]. *Aquaculture*, 2004, 235: 207-222.
- [22] 谭杰, 孙慧玲, 刘萍, 等. 仿刺参自然群体和养殖群体间遗传变异的微卫星标记研究[J]. *海洋水产研究*, 2007, 28(3): 38-43.
- [23] 全迎春, 李大宇, 曹鼎辰, 等. 微卫星 DNA 标记探讨镜鲤的种群结构与遗传变异[J]. *遗传*, 2006, 28(12): 1541-1548.
- [24] 冯建彬, 马克异, 李家乐, 等. 日本沼虾微卫星引物筛选及遗传群体多样性分析[J]. *水产学报*, 2010, 34(5): 688-695.
- [25] Allendorf F W, Phelps S R. Loss of genetic variation in a hatchery stock of cutthroat trout[J]. *Trans Am Fish Soc*, 1980, 109: 537-543.

Primary analysis on genetic diversity in cultured stocks of Southern flounder(*Paralichthys lethostigma*) using microsatellite DNA marker

QIN Pan^{1,2}, LIAO Mei-jie², XU Yong-jiang², PAN Chuan-yan^{2,3}, LI Bin², WANG Yin-geng², ZHANG Zheng²

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao Key Laboratory for Marine Fish Breeding and Biotechnology Qingdao 266071, China; 3. College of Fisheries, Ocean University of China, Qingdao 266100, China)

Received: Jul.,13,2012

Key words: *Paralichthys lethostigma*; cultured stocks; microsatellite DNA marker; genetic diversity

Abstract: In this study, the genetic variation and genetic structure of the first filial generation (Jiaonan cultured stock) and the third filial generation (Nantong cultured stock) of *Paralichthys lethostigma* were investigated using microsatellite DNA techniques. Of the 14 microsatellite DNA markers, 11 loci were polymorphic. A total of 70 alleles (42 effective alleles) were detected at the 11 loci in the total populations. The number of alleles per polymorphic loci ranged from 2 to 14 with an average of 7.3, the average observed and expected heterozygosities of the 11 polymorphic loci were 0.36 and 0.6, respectively. The Shannon's index of Jiaonan and Nantong populations was 1.18 and 1.07, and the Nei's index of the two populations was 0.56 and 0.51, respectively. The results showed that the genetic diversity of the Jiaonan population was higher than that of the Nantong population. The genetic similarity coefficient and the genetic distance between the two populations was 0.8432 and 0.171, respectively. The value of the F_{st} (0.1246) indicated that the genetic differentiation between the two populations was moderate. It can be concluded that the genetic diversity of the southern flounder population degenerated dramatically and genetic structure had differentiated significantly after several generations of cultivation in China. Thus, the scientific and reasonable broodstocks mating and seedling production strategies should be carried out in the future to maintain the genetic diversity level of Chinese farmed population of southern flounder. Moreover, selective breeding program should be in process soon in order to ensure sustainable development of farming industry of southern flounder in China.

(本文编辑: 谭雪静)