

DOI: 10.11758/yykxjz.20161013001

http://www.yykxjz.cn/

# 秦皇岛近海增殖放流区牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)回捕群体的遗传多样性分析

司 飞<sup>1</sup> 孙朝徽<sup>1</sup> 于姗姗<sup>2</sup> 赵雅贤<sup>1</sup> 宋立民<sup>1</sup>  
王树亮<sup>3</sup> 王青林<sup>1①</sup> 姜秀凤<sup>1</sup> 王玉芬<sup>1</sup> 于清海<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院北戴河中心实验站 秦皇岛 066100; 2. 河北农业大学海洋学院 秦皇岛 066100;  
3. 潍坊市海洋与渔业局 潍坊 261000)

**摘要** 本研究利用 12 对微卫星标记对秦皇岛近海增殖放流区内的牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)回捕群体的遗传多样性进行分析,并与放流用牙鲆亲本群体和放流前群体的遗传多样性进行对比。结果显示,在 3 个群体中,等位基因数( $N_a$ )为 11.917–22.167 个,平均观测杂合度( $H_o$ )为 0.800–0.836,平均期望杂合度( $H_e$ )为 0.814–0.845,平均多态信息含量(PIC)为 0.775–0.818。其中,回捕群体的平均  $N_a$  最多,为 22.167,放流前群体的平均  $N_a$  最少,为 11.917。平均  $H_o$  最大的是回捕群体(0.836),最小的是放流前群体(0.800)。平均  $H_e$  最大的是亲本群体(0.845),最小的是放流前群体(0.814)。在 36 个群体–位点组合中,有 23 个群体–位点组合显著偏离哈迪–温伯格平衡状态( $P < 0.05$ )。3 个群体的基因分化系数  $G_{st}$  值为 0.005–0.043,遗传分化均为较弱。研究表明,3 个群体均保持较高的遗传多样性,放流人工培育苗种对回捕群体的遗传多样性和遗传结构未产生明显的影响。

**关键词** 牙鲆; 回捕群体; 增殖放流; 遗传多样性

中图分类号 Q953 文献标识码 A 文章编号 2095-9869(2017)06-0018-07

牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)是渤海重要土著经济鱼类,其个体硕大、肉质细嫩鲜美,深受消费者喜爱。但由于掠夺式的捕捞和严重的近海污染等原因,牙鲆野生资源日渐枯竭。为了应对资源衰退,我国自 20 世纪 80 年代开始在渤海海域进行牙鲆的增殖放流活动(金显仕等, 2014)。秦皇岛近海增殖放流区位于河北省东北部近海,每年有数百万的牙鲆苗种被投放到该海域,是我国牙鲆增殖放流的主要区域之一。增殖放流活动在促进渔民增产增收和修复渔业种群资源方面起到了积极的作用,但大规模放流人工培育群体所引起的生态和遗传风险同样不能忽视(Araki *et al*,

2010; González-Wangüemert *et al*, 2012; Taranger *et al*, 2015)。

遗传多样性是生物多样性的的重要组成部分,它是衡量一个种群种质资源质量的重要标准,通过衡量生物所携带遗传信息的变异程度来反映遗传多样性的高低,由于 DNA 是遗传信息的载体,所以 DNA 的变化直接反应了物种遗传变异的程度(刘海金等, 2008; 姚韩韩, 2011<sup>1)</sup>)。微卫星 DNA 分子标记,又称简单序列重复(Simple sequence repeat, SSR),在基因组中数量众多且分布均匀,具有多态性丰富、杂合度高和检测方便等优点,已经广泛应用于群体遗传多样

\* 中国水产科学研究院基本科研业务费(2013B01XK02)资助 [This work was supported by Special Scientific Research Funds for Central Non-profit Institutes, Chinese Academy of Fishery Science (2013B01XK02)]. 司 飞, E-mail: beyond702@163.com

① 通讯作者: 王青林, 副研究员, E-mail: wangqinglin\_1984@163.com

收稿日期: 2016-10-13, 收修改稿日期: 2016-10-31

1) Yao HH. Studies on molecular genetic basis of wild and breeding populations in *Tegillarca granosa*. Master's Thesis of Shanghai Ocean University, 2011, 70–90 [姚韩韩. 泥蚶野生群体与选育群体的分子遗传基础研究. 上海海洋大学硕士研究生学位论文, 2011, 70–90]

性的研究(Wang *et al.*, 2013)。至今, 利用微卫星 DNA 分子标记进行牙鲆遗传多样性及遗传结构分析报道较多, 主要集中在自然群体、养殖群体和繁育后代群体, 如马晓冰等(2012)和刘永新等(2013)分别用 18 对和 72 对微卫星分子标记对 90 尾和 74 尾野生牙鲆群体进行了遗传多样性分析; 刘海金等(2008)和邵长伟等(2009)分别利用 5 对和 16 对微卫星分子标记对 3 个和 5 个牙鲆养殖群体进行了遗传多样性分析; 徐田军等(2009)利用 10 对微卫星分子标记对由 3 个牙鲆基础群体组合交配建立的 4 个选择性繁育后代群体进行遗传多样性分析。但关于增殖放流对牙鲆回捕群体遗传多样性影响的研究还未见报道。本研究利用 12 对微卫星分子标记对秦皇岛近海增殖放流区内的牙鲆回捕群体的遗传多样性进行分析, 并与放流用牙鲆亲本和放流前群体的遗传多样性进行对比, 从分子遗传学角度对牙鲆增殖放流可能引起的遗传风险进行评估, 以期为我国牙鲆种质资源保护和增殖放流工作提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集和 DNA 提取

共 3 个群体: 2015 年河北北戴河中心实验站放流用野生牙鲆亲鱼(以下简称亲本 M)、增殖放流前牙鲆幼鱼(以下简称放流前群体 P)及 2015 年禁渔期结束后从秦皇岛近海增殖放流区回捕的牙鲆幼鱼(以下简称回捕群体 C)。亲本群体及放流前群体各采集样本 30 尾。其中, 亲本 M 体重为(3675.22±1572.45) g, 体长为(81.66±12.38) cm; 放流前群体 P 体重为(1.59±1.06) g, 体长为(5.94±0.97) cm。回捕群体 C 分别从河北山海关、北戴河和昌黎码头收集, 每处采集样本 30 尾, 该群体体重为(55.84±48.65) g, 体长为(12.49±6.82) cm。剪取胸鳍平铺于采样纸上, 37℃烘干后保存。使用海洋动物基因组 DNA 提取试剂盒(TIANGEN, DP324)提取基因组 DNA。提取完成后, 采用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计分别检测 DNA 的质量和浓度。

### 1.2 微卫星分析

从马晓冰等(2012)和刘永新等(2013)发表的 72 对牙鲆微卫星标记中选取 12 对多态性高的标记用于本研究。各标记的名称、引物序列、退火温度等见表 1, 引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。PCR 反应体系为 20  $\mu$ l: dH<sub>2</sub>O 7.4  $\mu$ l, 2×Es Taq MasterMix 10  $\mu$ l, 上下游引物(10 pmol/ $\mu$ l)各 0.3  $\mu$ l, DNA 模板 2  $\mu$ l。PCR

反应程序为: 94℃预变性 5 min; 94℃变性 30 s, 54℃复性 35 s, 72℃延伸 40 s, 共 35 个循环; 最终 72℃延伸 3 min。PCR 扩增在 PE9700 型 PCR 仪上进行。将甲酰胺与分子量内标按 100 : 1 的体积比混匀后, 取 15  $\mu$ l 加入上样板中, 再加入 1  $\mu$ l 稀释 10 倍的 PCR 产物。然后使用 3730XL 测序仪进行毛细管电泳, 利用 Genemarker 中的 Fragment (Plant)片段分析软件对测序仪得到的原始数据进行分析, 将各泳道内分子量内标的位置与各样品峰值的位置进行比较分析, 得到片段大小。

### 1.3 数据分析

利用 Genepop 4.0 软件分析分型结果, 统计各位点等位基因数( $N_a$ )、观测杂合度( $H_o$ )、期望杂合度( $H_e$ )和多态信息含量(PIC), 并分析群体的 Hardy-Weinberg 遗传平衡状态。计算群体间各群体的基因分化系数( $G_{st}$ )、基因流、遗传相似性系数( $I$  对角线下方)和 Nei 氏遗传距离。使用 MEGA 5.0 软件, 采用 UPGMA 方法根据 3 个群体的遗传距离进行聚类。

## 2 结果

### 2.1 遗传多样性分析

12 对微卫星标记的遗传多样性参数  $N_a$ 、 $H_o$ 、 $H_e$ 、PIC 值列于表 2。从表 2 可以看出, 12 对微卫星标记在 3 个群体中的 PCR 扩增得到的平均  $N_a$  为 11.917–22.167 个, 平均  $H_o$  为 0.800–0.836, 平均  $H_e$  为 0.814–0.845, 平均 PIC 为 0.775–0.818。其中, 回捕群体 C 的平均  $N_a$  最多, 为 22.167, 放流前群体 P 的平均  $N_a$  最少, 为 11.917。平均  $H_o$  最大的是回捕群体 C (0.836), 最小的是放流前群体 P (0.800)。平均  $H_e$  最大的是亲本 M (0.845), 最小的是放流前群体 P (0.814)。哈迪–温伯格平衡检验结果显示, 在 36 个群体–位点组合中, 有 23 个群体–位点组合显著偏离哈迪–温伯格平衡状态( $P < 0.05$ )。在 3 个群体中偏离哈迪–温伯格平衡相对最少的是放流前群体 P, 仅在微卫星标记 *Poli1396TUF*、*8-D2* 和 *Poli1024TUF* 中显著偏离( $P < 0.05$ )。偏离哈迪–温伯格平衡相对最多的是回捕群体 C。

### 2.2 遗传分化

3 个群体各位点的基因分化系数  $G_{st}$  值为 0.005–0.043, 位点 *HLJYP90* 的基因分化系数  $G_{st}$  值最大(0.043), 位点 *Poli1408TUF* 的基因分化系数  $G_{st}$  值最小(0.005)。3 个群体各位点的基因流  $N_m$  值为 5.515–45.983(表 3)。位点 *Poli1408TUF* 的  $N_m$  值最大,

表 1 12 对微卫星标记的名称、重复序列、引物序列、退火温度及 GenBank 登录号

Tab.1 Loci, repeat motifs, primer sequences, annealing temperatures and GenBank accession numbers of 12 microsatellite markers

位点 Locus	引物序列 Primer sequence (5'-3')	退火温度 Annealing temperature (°C)	GenBank 登录号 GenBank accession No.
<i>Poli1345TUF</i>	F: AATGGTGAGGAGCCAGATTG R: AGTGGGCGATGGAGATGTAG	60	DQ888920
<i>Poli1491TUF</i>	F: AGGGAGGGAACAAGCACTG R: TGATACCACGCTGTGTCGTC	60	DQ889053
<i>HLJYP90</i>	F: TTCTACACAAAACACCCGACT R: GAGCTTTGAGCAGTACCTGGAT	60	FJ915043
<i>Poli1124TUF</i>	F: CTAGAAGACGGACCCACGAG R: AACACAACATGGCAGCTGAG	60	EF112920
<i>Newpao202</i>	F: GTCCAGACCAGGACAGTGGT R: AGGCATGGCCCTACCTACAT	60	HQ528205
<i>Poli1396TUF</i>	F: ACATGTGACAGCTCGTGAGGC R: AGGATCACAGCCACAGTTTGGAC	60	DQ888961
<i>8-G3</i>	F: CCCTAAATCTTCTGCGTGGA R: AGGGAGGCAAGAGGAGAGAG	60	GQ421174
<i>8-D2</i>	F: CTGGTGGTGTGGAGTCACAT R: AAAGGGCTGAAAACCTGAGCA	60	GQ421181
<i>Poli1024TUF</i>	F: CACCAACTGGCCTTTGTTTT R: CCCACCACAACCTGGTCTTT	60	AB458916
<i>Poli1408TUF</i>	F: AGCAACAGCTCAGTATGGCAGTGTA R: TTCCAGAGGCCAGGGAGTT	60	DQ888973
<i>Poli1377TUF</i>	F: CCCTCGGGGATGAATAAAGT R: TGAGTGCATTTCCATTTTCAG	60	DQ888946
<i>Poli866TUF</i>	F: TGTGTGCTCTTGCATGCTCT R: GAGCGATAGGGACTGTCAGG	57	EF112814

表 2 牙鲆不同群体的哈迪-温伯格平衡(HWE)检验及遗传多样性

Tab.2 The genetic diversity and HWE test of different populations of *P. olivaceus*

群体 Populations	位点 Loci	遗传参数 Genetic parameters				
		$N_a$	$H_o$	$H_e$	PIC	$P$
亲本 M Brood stock	<i>Poli1345TUF</i>	29	0.967	0.942	0.930	0**
	<i>Poli1491TUF</i>	7	0.717	0.732	0.681	0.215
	<i>HLJYP90</i>	7	0.433	0.767	0.722	0**
	<i>Poli1124TUF</i>	21	0.900	0.907	0.891	0**
	<i>Newpao202</i>	21	0.900	0.879	0.860	0.004*
	<i>Poli1396TUF</i>	8	0.817	0.791	0.754	0.516
	<i>8-G3</i>	21	0.900	0.896	0.880	0**
	<i>8-D2</i>	8	0.717	0.829	0.798	0.051
	<i>Poli1024TUF</i>	20	0.867	0.888	0.870	0**
	<i>Poli1408TUF</i>	6	0.617	0.619	0.565	0.009*
	<i>Poli1377TUF</i>	36	0.917	0.941	0.930	0**
	<i>Poli866TUF</i>	28	0.983	0.949	0.938	0**
	平均值 Mean	17.667	0.811	0.845	0.818	
放流前群体 P Pre-releasing population	<i>Poli1345TUF</i>	21	0.967	0.926	0.904	0.117
	<i>Poli1491TUF</i>	6	0.667	0.737	0.681	0.590
	<i>HLJYP90</i>	6	0.567	0.740	0.681	0.118
	<i>Poli1124TUF</i>	13	0.933	0.897	0.871	0.287

续表

群体 Population	位点 Loci	遗传参数 Genetic parameters				
		$N_a$	$H_o$	$H_e$	PIC	$P$
放流前群体 P Pre-releasing population	<i>Newpao202</i>	13	0.900	0.859	0.828	0.401
	<i>Poli1396TUF</i>	7	0.833	0.778	0.729	0**
	<i>8-G3</i>	16	0.833	0.893	0.868	0.118
	<i>8-D2</i>	5	0.567	0.764	0.715	0.003*
	<i>Poli1024TUF</i>	10	0.867	0.802	0.761	0.003*
	<i>Poli1408TUF</i>	5	0.600	0.535	0.482	0.992
	<i>Poli1377TUF</i>	23	0.967	0.933	0.912	0.574
	<i>Poli866TUF</i>	18	0.900	0.898	0.873	0.445
	平均值 Mean	11.917	0.800	0.814	0.775	
回捕群体 C Captured population	<i>Poli1345TUF</i>	41	0.965	0.952	0.944	0**
	<i>Poli1491TUF</i>	10	0.802	0.747	0.710	0**
	<i>HLJYP90</i>	9	0.419	0.730	0.676	0**
	<i>Poli1124TUF</i>	21	0.930	0.867	0.848	0.340
	<i>Newpao202</i>	20	0.872	0.869	0.851	0**
	<i>Poli1396TUF</i>	14	0.872	0.825	0.800	0**
	<i>8-G3</i>	29	0.907	0.887	0.873	0**
	<i>8-D2</i>	9	0.756	0.791	0.760	0**
	<i>Poli1024TUF</i>	28	0.849	0.865	0.850	0**
	<i>Poli1408TUF</i>	10	0.791	0.657	0.617	0**
	<i>Poli1377TUF</i>	40	0.895	0.924	0.914	0**
	<i>Poli866TUF</i>	35	0.977	0.936	0.927	0**
	平均值 Mean	22.167	0.836	0.838	0.814	
总计 Total	<i>Poli1345TUF</i>	46	0.966	0.958	0.954	
	<i>Poli1491TUF</i>	11	0.750	0.744	0.706	
	<i>HLJYP90</i>	10	0.449	0.774	0.736	
	<i>Poli1124TUF</i>	27	0.920	0.897	0.886	
	<i>Newpao202</i>	24	0.886	0.879	0.866	
	<i>Poli1396TUF</i>	16	0.847	0.807	0.781	
	<i>8-G3</i>	34	0.892	0.900	0.890	
	<i>8-D2</i>	10	0.710	0.809	0.783	
	<i>Poli1024TUF</i>	34	0.858	0.870	0.857	
	<i>Poli1408TUF</i>	10	0.699	0.622	0.579	
	<i>Poli1377TUF</i>	51	0.915	0.939	0.934	
	<i>Poli866TUF</i>	43	0.966	0.943	0.937	
	平均值 Mean	26.333	0.822	0.843	0.826	

注:  $N_a$  为等位基因数,  $H_o$  为观测杂合度,  $H_e$  为期望杂合度, PIC 为多态信息含量, 哈迪-温伯格平衡检验经过 Bonferroni 校正, \*为显著偏离( $P<0.05$ ), \*\*为极显著偏离( $P<0.01$ )

Note:  $N_a$ : Number of alleles;  $H_o$ : Observed heterozygosity;  $H_e$ : Expected heterozygosity; PIC: Polymorphism information content. HWE test was corrected by Bonferroni, \* Indicated significant difference ( $P<0.05$ ), \*\* Indicated highly significant difference ( $P<0.01$ )

为 45.983, 位点 *HLJYP90* 的  $N_m$  值最小, 为 5.515。3 个群体相互间的遗传相似系数和 Nei 氏遗传距离分别为 0.848–0.941 和 0.061–0.164(表 4)。根据各群体

之间的遗传距离, 对 3 个群体进行聚类(图 1), 3 个群体主要分为两类, 放流前群体 P 和回捕群体 C 遗传距离较小, 首先聚类, 然后再与亲本 M 聚类。

表 3 牙鲈 3 个群体各位点的基因分化系数( $G_{st}$ )和基因流( $N_m$ )Tab.3 The coefficient of gene differentiation ( $G_{st}$ ) and gene flow ( $N_m$ ) among three *P. olivaceus* populations

位点 Loci	$G_{st}$	$N_m$	位点 Loci	$G_{st}$	$N_m$
<i>Poli1345TUF</i>	0.023	10.491	8-G3	0.018	13.974
<i>Poli1491TUF</i>	0.011	21.983	8-D2	0.021	11.965
<i>HLJYP90</i>	0.043	5.515	<i>Poli1024TUF</i>	0.018	13.383
<i>Poli1124TUF</i>	0.019	13.139	<i>Poli1408TUF</i>	0.005	45.983
<i>Newpao202</i>	0.019	12.896	<i>Poli1377TUF</i>	0.017	14.106
<i>Poli1396TUF</i>	0.010	25.330	<i>Poli866TUF</i>	0.018	13.326
平均值 Mean	0.019	13.025			

表 4 牙鲈 3 个群体遗传相似性系数( $I$  对角线下方)和 Nei 氏遗传距离( $D$  对角线上方)Tab.4 The genetic identity (under the diagonal) and Nei's unbiased genetic distances (above the diagonal) of three *P. olivaceus* populations

群体 Populations	亲本 M Brood stock	放流前群体 P Pre-releasing population	回捕群体 C Captured population
亲本 M Brood stock	—	0.164	0.132
放流前群体 P Pre-releasing population	0.848	—	0.061
回捕群体 C Captured population	0.876	0.941	—

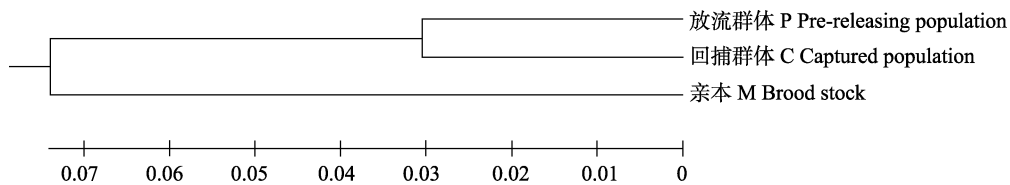


图 1 根据 Nei 氏遗传距离用 UPGMA 法构建的牙鲈 3 个群体的进化树

Fig.1 UPGMA dendrogram for three *P. olivaceus* populations based on Nei's unbiased genetic distances

### 3 讨论

牙鲈是黄渤海重要的增殖放流鱼类,北戴河中心实验站自2009年开始在秦皇岛近海增殖放流区进行牙鲈增殖放流活动,至今累计放流不同规格牙鲈苗种1300万尾。随着放流数量的增多,放流群体对固有群体遗传多样性的影响值得关注。鉴于此,本研究以秦皇岛近海增殖放流区域捕捞的牙鲈幼鱼为研究对象,分析回捕群体的遗传多样性,并与放流用牙鲈亲鱼和放流前群体的遗传多样性参数作对比分析。

多态信息含量(PIC)为衡量标记遗传信息含量高低的主要参数,当  $PIC > 0.5$  时,表明该遗传标记具有高度的可提供遗传信息性,即高度多态;当  $0.25 < PIC < 0.5$  时,表明该遗传标记能够较为合理地提供遗传信息,为中度多态;而当  $PIC < 0.25$  时,表明该遗传标记可提供的遗传信息较差,为低度多态(McDonald *et al.*, 2003)。本研究中,除标记 *Poli1408TUF* 在放流前群体中的 PIC 值为 0.482 外,各标记的 PIC 范围为 0.565–

0.944,表明所选用的微卫星标记具有高度多态性,可以用于分析牙鲈群体的遗传多样性。各标记在 3 个群体中的平均  $N_a$  范围为 11.917–22.167,其中,回捕群体的  $N_a$  最高(22.167),说明这 3 个群体的遗传信息含量都比较丰富,且回捕群体的多态性水平要高于其他群体。马晓冰等(2012)和刘永新等(2014)分别于 2009 年和 2012 年对秦皇岛附近海域牙鲈自然群体的等位基因数进行研究,结果分别为 8.9 和 6.789,均低于本研究结果(17.667)。这说明,作为国家级牙鲈良种场,我站每年春季从秦皇岛海域捕捞野生牙鲈对放流用牙鲈亲本群体进行补充更换,确保了放流牙鲈亲本群体遗传多样性的丰富度。

杂合度包括观测杂合度( $H_o$ )和期望杂合度( $H_e$ ),是反映微卫星标记在群体中遗传变异程度的最优参数,是描述遗传多样性的最适参数,杂合度越高,表明群体内遗传多样性就越高,遗传变异程度就越大,反之则群体内遗传变异程度就小(Nei *et al.*, 1975)。本研究  $H_e$  在 3 个群体中的范围为 0.814–0.845,亲本群

体最高(0.845), 放流前群体最低(0.814)(表 2)。放流前群体  $H_e$  低于亲本群体的主要原因是并非所有的亲鱼都参与繁殖活动。之前的研究表明, 牙鲆亲本对后代的贡献率严重失衡(Hara *et al.*, 2006; 陈睿毅等, 2013), 存在有效亲本群体比实际群体小的问题, 且后代仅来自少数几尾亲本。生产上为了克服这个问题, 常用的方法是增加繁殖亲本的数量。此外, 生殖细胞移植技术在水产动物方面的发展应用为解决这个问题提供了新的方法(Lacerda *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2016)。回捕群体 C 的  $H_e$  值为 0.838, 远高于邵长伟等(2009)研究中的养殖群体, 略低于野生群体(马晓冰等, 2012), 说明秦皇岛近海增殖放流区的人工放流活动未引起明显的遗传风险。

基因分化系数( $G_{st}$ )是反映群体间遗传分化程度的重要参数。一般认为,  $G_{st}$  值在 0–0.05 之间时, 群体的遗传分化较弱, 为轻度遗传分化;  $G_{st}$  值在 0.05–0.15 之间时, 遗传分化水平中等;  $G_{st}$  值大于 0.15 时, 遗传分化较大(Balloux *et al.*, 2002)。本研究中, 牙鲆 3 个群体不同位点的遗传分化系数  $G_{st}$  值为 0.005–0.043, 3 个群体之间表现为轻度分化水平, 遗传分化均为较弱。不同群体之间遗传分化系数平均值为 0.019, 说明 3 个群体的变异中约有 1.9%是由不同群体之间的基因变异引起的, 而 98.1%的变异来源于群体内。检验结果表明, 亲本群体 M 和回捕群体 C 微卫星位点偏离哈迪-温伯格平衡较多, 其中, 亲本群体 M 多数表现出显著的杂合子缺失, 回捕群体 C 多数表现为显著的杂合子过剩。基因流是指一些个体从一个群体迁移到另一个群体时把某些基因带到新的群体, 从而产生的基因流动(曲若竹等, 2004)。基因流与基因分化系数呈负相关, 即基因流越大, 群体间相似性越大, 遗传分化越小(曲若竹等, 2004; 刘海金等, 2008)。本研究各位点基因流较大( $N_m > 5$ ), 说明 3 个群体间遗传分化较小, 足以抵抗遗传漂变, 与本研究中基因分化系数相关结果相互支持。

遗传多样性和遗传结构是种群繁衍生息的重要原因, 遗传多样性降低可能导致种群生长缓慢、个体变小、性成熟提早、抗病力下降等不良影响(黎中宝等, 2009; 李树华, 2014<sup>1)</sup>)。本研究中, 亲本群体 M 与回捕群体 C 较高的遗传多样性水平说明秦皇岛近海域牙鲆资源在增殖放流活动的实施下, 其遗传多样性得到了有效的保护, 进而说明, 保持放流亲本群体较

高的遗传多样性, 对有效提高资源量修复水平有促进作用, 对渔业资源及生态平衡保护有重要意义。

## 参 考 文 献

- Araki H, Schmid C. Is hatchery stocking a help or harm?: Evidence, limitations and future directions in ecological and genetic surveys. *Aquaculture*, 2010, 308(S1): 2–11
- Balloux F, Lugon-Moulin N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology*, 2002, 11(2): 155–165
- Chen RY, Wang GX, Liu HJ, *et al.* Difference in parental contribution to reproduction in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Journal of Fishery Science of China*, 2013, 20(4): 698–705 [陈睿毅, 王桂兴, 刘海金, 等. 牙鲆亲本对子代贡献率的实验研究. *中国水产科学*, 2013, 20(4): 698–705]
- González-Wangüemert M, Fernández TV, Pérez-Ruzafa A, *et al.* Genetic considerations on the introduction of farmed fish in marine protected areas: The case of study of white seabream restocking in the Gulf of Castellammare (Southern Tyrrhenian Sea). *Journal of Sea Research*, 2012, 68(1–2): 41–48
- Hara M, Sekino M. Efficient detection of parentage in a cultured Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* using microsatellite DNA marker. *Aquaculture*, 2003, 217(1–4): 107–114
- Jin XS, Qiu SY, Liu XZ, *et al.* The foundation and prospect of fisheries resources of Huanghai and Bohai Sea. Beijing: Science Press, 2014, 1–407 [金显仕, 邱盛尧, 柳学周, 等. 黄渤海渔业资源增殖基础与前景. 北京: 科学出版社, 2014, 1–407]
- Lacerda S, Costa GMJ, Campos-Junior PHA, *et al.* Germ cell transplantation as a potential biotechnological approach to fish reproduction. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2013, 39(1): 3–11
- Li ZB, Fang X, Chen J, *et al.* Loss of the genetic diversity in cultivated populations of *Pseudosciaena crocea* by AFLP. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2009, 40(4): 446–450 [黎中宝, 方秀, 陈锦, 等. 大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)养殖群体遗传多样性的降低. *海洋与湖沼*, 2009, 40(4): 446–450]
- Liu HJ, Zhu XC, Sun XW, *et al.* Analysis of genetic structure among 5 cultured stocks of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Fishery Science of China*, 2008, 15(1): 30–37 [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. *中国水产科学*, 2008, 15(1): 30–37]
- Liu YX, Zhu YM, Liu YJ, *et al.* Analysis of genetic diversity in Bohai natural population of *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Fisheries of China*, 2013, 37(11): 1609–1617 [刘永新, 朱以美, 刘英杰, 等. 牙鲆渤海自然群体的遗传多样性分析. *水产学报*, 2013, 37(11): 1609–1617]

1) Li SH. Genetic and enhancement effects of released parent grass carp in the middle Yangtze River. Master's Thesis of Huazhong Agriculture University, 2014, 27–44 [李树华. 长江中游草鱼亲本放流的增殖效果及遗传多样性影响评估. 华中农业大学硕士研究生学位论文, 2014, 27–44]

- Ma XB, Wang GX, Liu HJ, *et al.* Genetic diversity analysis of the offshore Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) population within Qinhuangdao, China. *Journal of Fishery Science of China*, 2012, 19(6): 963–969 [马晓冰, 王桂兴, 刘海金, 等. 秦皇岛海域野生牙鲆群体遗传多样性分析. *中国水产科学*, 2012, 19(6): 963–969]
- McDonald GM, Wiley J. *Space, time and life*. Seattle: University of Washington Press, 2003: 109–120
- Nei M, Maruyama T, Chakraborty R. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*, 1975, 29(1): 1–10
- Qu RZ, Hou L, Lv HL, *et al.* The gene flow of population genetic structure. *Hereditas*, 2004, 26(3): 377–382 [曲若竹, 侯林, 吕红丽, 等. 群体遗传结构中的基因流. *遗传*, 2004, 26(3): 377–382]
- Shao CW, Liao XL, Tian YS, *et al.* Microsatellite marker analysis of genetic structures of three populations of cultured Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Progress in Fishery Sciences*, 2009, 30(1): 41–46 [邵长伟, 廖小林, 田永胜, 等. 牙鲆 3 个养殖群体遗传结构的微卫星分析. *渔业科学进展*, 2009, 30(1): 41–46]
- Silva MA, Costa GMJ, Lacerda S, *et al.* Successful xenogeneic germ cell transplantation from *Jundia catfish (Rhamdia quelen)* into adult Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) testes. *General and Comparative Endocrinology*, 2016, 230: 48–56
- Taranger GL, Karlsen Ø, Bannister RJ, *et al.* Risk assessment of the environmental impact of Norwegian Atlantic salmon farming. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, 2015, 72(3): 997–1021
- Wang YH, Fu DK, Xia JJ. The genetic diversity of the noble scallop (*Chlamys nobilis*, Reeve 1852) in China assessed using five microsatellite markers. *Marine Genomics*, 2013, 9(1): 63–67
- Xu TJ, Chen SL, Tian YS. Genetic structure analysis among four selective offspring stocks of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* by microsatellite markers. *Progress in Fishery Sciences*, 2009, 30(4): 57–63 [徐田军, 陈松林, 田永胜. 牙鲆 4 个选择性繁育后代群体遗传结构的微卫星分析. *渔业科学进展*, 2009, 30(4): 57–63]

(编辑 冯小花)

## Analysis of the Genetic Variability of the Captured Population of Japanese Flounder *Paralichthys olivaceus* in the Coastal Releasing Area of Qinhuangdao

SI Fei<sup>1</sup>, SUN Zhaohui<sup>1</sup>, YU Shanshan<sup>2</sup>, ZHAO Yaxian<sup>1</sup>, SONG Limin<sup>1</sup>, WANG Shuliang<sup>3</sup>  
WANG Qinglin<sup>1</sup>①, JIANG Xiufeng<sup>1</sup>, WANG Yufen<sup>1</sup>, YU Qinghai<sup>1</sup>

(1. Beidaihe Central Experiment Station, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qinhuangdao 066100;  
2. Ocean College, Agriculture University of Hebei, Qinhuangdao 066100;  
3. Weifang Municipal Ocean and Fishery Administration, Weifang 261000)

**Abstract** Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* is the major species of released fish in the coastal area of Qinhuangdao. In recent years, the ecological and genetic risks caused by releasing a large number of hatchery-reared fish to the sea have attracted more and more attention. In this study, we used 12 microsatellite markers to analyze the genetic variability of the captured population of *P. olivaceus* from the coastal releasing area of Qinhuangdao. We also compared parameters of genetic diversity among the brood stock, the pre-releasing population and the captured population. The mean number of alleles was between 11.917 and 22.167, and the maximum and minimum values were found in the captured population and the pre-releasing population respectively. The mean observed heterozygosity ( $H_o$ ) ranged from 0.800 to 0.836, and the mean expected heterozygosity ( $H_e$ ) was between 0.814 and 0.845. The brood stock had the highest  $H_e$  value, and the pre-releasing population had the lowest value. The mean polymorphism information content (PIC) ranged from 0.775 to 0.818. Twenty-three out of 36 group-loci combinations were significantly deviated from the Hardy-Weinberg equilibrium ( $P < 0.05$ ). The  $G_{st}$  values among the five populations varied from 0.005 to 0.043, indicating a low level of differentiation. Results of this study suggested the high genetic diversity of these three populations. Moreover, no obvious genetic risk was caused by the large-scale releasing of hatchery-reared fish in the coastal releasing area of Qinhuangdao.

**Key words** *Paralichthys olivaceus*; Captured population; Artificial release; Genetic diversity

① Corresponding author: WANG Qinglin, E-mail: wangqinglin\_1984@163.com