

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2011.01327

应用 SSR 分析 5 个三疣梭子蟹野生群体的遗传多样性

李晓萍, 刘萍, 李健, 高保全

中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071

摘要: 利用本实验室筛选的 8 个微卫星分子标记, 对中国舟山(ZS)、海州湾(HZ)、青岛会场(HC)、莱州湾(LZ)和鸭绿江口(YL)5 个三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)野生群体共计 120 个个体进行了遗传多样性分析。结果显示, 8 个位点共扩增到 72 个等位基因, 平均等位基因数为 9.0, 平均有效等位基因数为 5.467 7; 平均多态信息含量为 0.696 7; 平均期望杂合度(H_e)为 0.750 8。5 个群体的期望杂合度由高到低依次为 LZ(0.770 4)、HC(0.758 8)、YL(0.755 2)、HZ(0.741 5)、ZS(0.728 3)。卡方检验可知, 34 个群体位点组合符合 Hardy-Weinberg 平衡, 占总数的 85%。5 个群体间的遗传距离在 0.245 1~0.517 9 之间, HC 和 HZ 的遗传距离最小, LZ 和 ZS 的遗传距离最大; 通过构建 UPGMA 聚类树, 发现 5 个群体聚为南北两大支, HC 和 HZ 两个群体遗传距离最近先聚到一起, 再与 ZS 群体相聚, 形成南方群体; YL 与 LZ 群体相聚形成北方群体, 最后南北两大群体聚为一支。分析群体间的 F_{st} 值可知, 两两群体间的 F_{st} 值在 0.054 8~0.108 3 ($0.05 < F_{st} < 0.15$) 之间, 群体间产生了极显著的遗传分化。

关键词: 三疣梭子蟹; 野生群体; 遗传多样性; 微卫星

中图分类号: S96

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2011)06-1327-08

三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)隶属甲壳纲(Crustacea)、十足目(Decapoda)、梭子蟹科(Portunidae)、梭子蟹属(*portunus*), 是一种重要的大型海产经济蟹类, 广泛分布于中国的北从辽东半岛、山东半岛, 南到广东、广西的各海区, 以及日本、朝鲜、马来西亚群岛等水域^[1-2]。由于其生长快、个体大、肉味鲜美, 适合于沿海池塘海水养殖, 已成为中国重要的海水养殖对象^[3], 尤其以渤海、黄海和东海的捕捞量和养殖面积最多^[4]。随着分子标记技术的飞速发展, 对三疣梭子蟹的群体遗传学分析得到深入开展, 主要包括同工酶标记^[5-7]、线粒体 DNA 分子标记^[8]、AFLP 标记^[9-10]、RAPD 标记^[11]和遗传连锁图谱的构建^[12], 但目前尚未有利用 SSR 技术分析野生三疣梭子蟹群体遗传结构的研究报道。

微卫星分子标记(SSR)由于具有共显性、多态信息含量高、遗传稳定、重复性好、较易操作等优势, 在家系鉴定、遗传作图、群体遗传分析、育种计划及系统发生研究等多个领域得到广泛应用^[13-16]。三疣梭子蟹作为中国重要的渔业经济种类, 由于长期捕捞导致野生资源下降, 人工养殖过程中各种病害相继暴发, 为满足保护野生资源及种质开发的需要, 本研究采用 SSR 标记对三疣梭子蟹野生群体的遗传多样性进行相关分析, 以期为精确评估不同群体的遗传背景和人工选择育种提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料

本实验所用三疣梭子蟹样品分别取自中国沿海 5 个不同区域, 具体采样信息见表 1。样品采集后, 活

收稿日期: 2010-12-17; 修订日期: 2011-06-23.

基金项目: 国家 863 计划项目(2006AA10A406); 国家自然科学基金资助项目(30871933; 40806067); 农业科技成果转化资金资助项目(2010GB23260589); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项基金资助项目(2008 - ts - 11).

作者简介: 李晓萍(1983 -), 女, 硕士, 主要从事海洋生物种质资源与遗传多样性研究.

通信作者: 刘萍, 研究员.E-mail: liuping@ysfri.ac.cn

体运回实验室,取大鳌于-80℃冰箱中保存备用。

1.2 基因组 DNA 提取

每个群体选取 24 个样品进行基因组 DNA 的提取,提取方法参照 Liu 等^[17]的方法,琼脂糖检测及核酸定量仪定量后,-20℃保存备用。

1.3 PCR 反应

所用 PCR 反应体系为 25 μL,包括 100 ng 基因组 DNA、10× PCR buffer、2.0 mmol/L Mg²⁺、0.2 mmol/L dNTP、0.8 μmol/L 引物、1 U Taq 酶。微卫星引物 8 对来自本实验室筛选的微卫星序列,引物特征见表 2,引物由上海生工生物技术有限公司合成。PCR 程序为:94℃预变性 5 min;94℃变性 40 s、退火 1 min、72℃延伸 1 min,25 个循环;72℃延伸 5 min,4℃保存。PCR 扩增产物用 8% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行检测,银染法进行显色、定影,Marker 采用 PBR322/BsuR I Marker。

1.4 数据处理

待凝胶干燥后对各群体条带进行统计,PopGene((Version 3.2)、Cervus、Genepop V4 软件统计各微卫星位点的等位基因数(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 χ² 检验概率值 (P)、遗传距离(genetic distance, D)、遗传相似性指数(I)。参照 Botstein 等^[18]的方法计算多态性信息含量(PIC):

$$PIC=1-\sum_{i=1}^m P_i^2-\sum_{i=1}^{m-1} \sum_{j=i+1}^m P_i^2 P_j^2$$

式中: P_i、P_j 分别为群体中第 i 个和第 j 个等位基因频率, m 为等位基因数。

群体遗传分化指数(F_{st})使用软件 FSTAT2.9.2 完成,根据遗传距离采用 Mega3.1 构建 5 个群体的 UPGMA 聚类树。

2 结果与分析

2.1 遗传多样性

8 对微卫星引物在 5 个群体中均能扩增出清晰稳定的带谱,如图 1 为位点 PTR33a 在 5 个群体中的电泳图。

8 个位点的遗传多样性参数见表 3,共得到 72 个等位基因,平均等位基因数目为 9.0 个,其中位点 PTR112 获得了 12 个等位基因,数量最多;有效等位基因数为 2.905 8~7.790 1,平均有效等位基因数为 5.467 7;观测杂合度(H_o)为 0.586 5~0.800 0,平均为 0.707 3;期望杂合度(H_e)为 0.608 5~0.841 7,平均为 0.750 8;PIC 值均大于 0.5,呈高度多态性,平均多态信息含量为 0.696 7。5 个三疣梭子蟹群体的遗传多样性参数见表 4,平均等位基因数为 5.750 0~6.375 0,有效等位基因数为 3.865 0~4.334 4, HZ 群体产生的平均等位基因数最多,为 6.375 0。各群体的平均观测杂合度(H_o)为 0.648 1~0.760 4,平均期望杂合度(H_e)为 0.728 3~0.770 4, LZ 群体的平均期望杂合度(H_e)最高为 0.770 4,平均多态信息含量为 0.674 8~0.713 8,呈现高度多态性。

2.3 Hardy-Weinberg 平衡分析

通过对 40 个群体位点组合(8 位点×5 群体)的 Hardy-Weinberg 平衡χ² 检验概率值 P(表 5)可知, LZ 群体和 HC 群体的 PTR145 位点、HZ 群体的 PTR98a 和 PTR112 位点以及 ZS 群体的 PTR98a 和 PTR103b 位点,共 6 个位点表现为显著和极显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡,占总数的 15%; 剩余 34 个群体位点组合符合 Hardy-Weinberg 平衡,占总数的 85%。

表 1 三疣梭子蟹样品资料
Tab. 1 Sources of Portunus trituberculatus sampled in this study

群体 population	采集地点 sampling site	采集时间 time	样本数量 number
舟山 Zhoushan (ZS)	舟山群岛近海 Zhoushan coastal sea	2005	59
海州湾 Haizhou Bay (HZ)	连云港海州湾近海 Lianyungang Haizhou Bay	2005	61
会场 Huichang coastal sea (HC)	青岛即墨会场 Qingdao Huichang coastal sea	2008	24
莱州湾 Laizhou Bay (LZ)	昌邑下营港近海 Changyi Xiaying Hubor	2005	60
鸭绿江 Yalujiang (YL)	鸭绿江口近海 Yalujiang estuary	2005	50

表 2 8 对微卫星引物的特征

Tab. 2 Characteristics of 8 pairs of microsatellite primers

位点 locus	引物序列(5'-3') primer sequence (5'-3')	退火温度/℃ Ta	核心重复序列 core repeats	等位基因 数目 allele no.	等位基因 大小范围 allele size range	<i>P</i>	PIC	观测 杂合度 <i>H</i> _o	期望 杂合度 <i>H</i> _e	GenBank 注册号 GenBank accession no.
<i>PTR33a</i>	F:ACAACGCCAA CAATAGCA R:CACCGCA CTTTACAGCAC	63.0	(CT) ₁₆ ...(GT) ₃₉	10	359 - 442	0.7910	0.817	0.8667	0.8503	GQ466030
<i>PTR45</i>	F:AGAGGAGTG ACTGGAGGGTA R:TAAGGCT AAGGACAGGATGA	63.0	(AC) ₁₅ ...(CA) ₁₁	9	250 - 317	0.3845	0.807	0.8000	0.8401	GQ466032
<i>PTR93</i>	F:AAGACAAAGC GACAAGCC R:CGCAATAACT CCCAACAA	56.0	(TG) ₉ ...(TG) ₃₃	7	250 - 321	0.6510	0.784	0.8333	0.8243	GQ466039
<i>PTR95</i>	F:CCTTGCCTTTC ACTATACAC R:GACCCACTTG TTATCGTTTT	58.7	(GT) ₃₁ ...(CCT) ₅ ... (TCA) ₅ (TCT) ₆	7	312 - 359	0.5880	0.782	0.8333	0.8237	GQ466041
<i>PTR98a</i>	F:GGATGAAGAG GAGGACTG R:TGGTGGAG GATTATGAGA	56.0	(CTA) ₇ ...(CTA) ₁₄ ... (TC) ₃₁	8	169 - 204	0.0362	0.738	0.6667	0.7785	GQ466042
<i>PTR103b</i>	F:GGAGTGTG GTGGTGGGT R:AGGATTGGTA TGCCGAGA	61.5	(GT) ₂₈ ...(TGT) ₈	4	258 - 283	0.6925	0.449	0.5667	0.5435	GU177171
<i>PTR112</i>	F:AGGACCAGT GCCAACC R:TTCACGCAG CCCATCTTC	61.5	(GT) ₃₄ ...(CT) ₂₈	6	308 - 375	0.2211	0.739	0.7333	0.7853	GU177179
<i>PTR145</i>	F:ATCGTCATCG CCGAATAA R:GAGTGAGGA AGCCCAACC	56.0	(ATC) ₇ ...(TC) ₂₃	8	310 - 388	0.2832	0.799	0.8000	0.8362	GU177204

表 3 8 个位点的遗传多样性参数

Tab. 3 Numbers of alleles(*N*_a), effective alleles, polymorphism information content, observed heterozygosity(*H*_o), expected heterozygosity (*H*_e) of eight SSR loci

位点 locus	等位基因数 <i>A</i>	有效等位基因 <i>N</i> _e	观测杂合度 <i>H</i> _o	期望杂合度 <i>H</i> _e	多态信息含量 PIC
<i>PTR33a</i>	11	6.6930	0.7583	0.7940	0.7486
<i>PTR45</i>	8	5.9333	0.7750	0.7786	0.7260
<i>PTR93</i>	9	4.6922	0.7217	0.7706	0.7147
<i>PTR95</i>	6	3.5424	0.6000	0.6270	0.5554
<i>PTR98a</i>	10	6.2136	0.6917	0.8000	0.7536
<i>PTR103b</i>	6	2.9058	0.5865	0.6085	0.5394
<i>PTR112</i>	12	7.7901	0.8000	0.8417	0.8003
<i>PTR145</i>	10	5.9714	0.7250	0.7865	0.7354
average	9	5.4677	0.7073	0.7508	0.6967

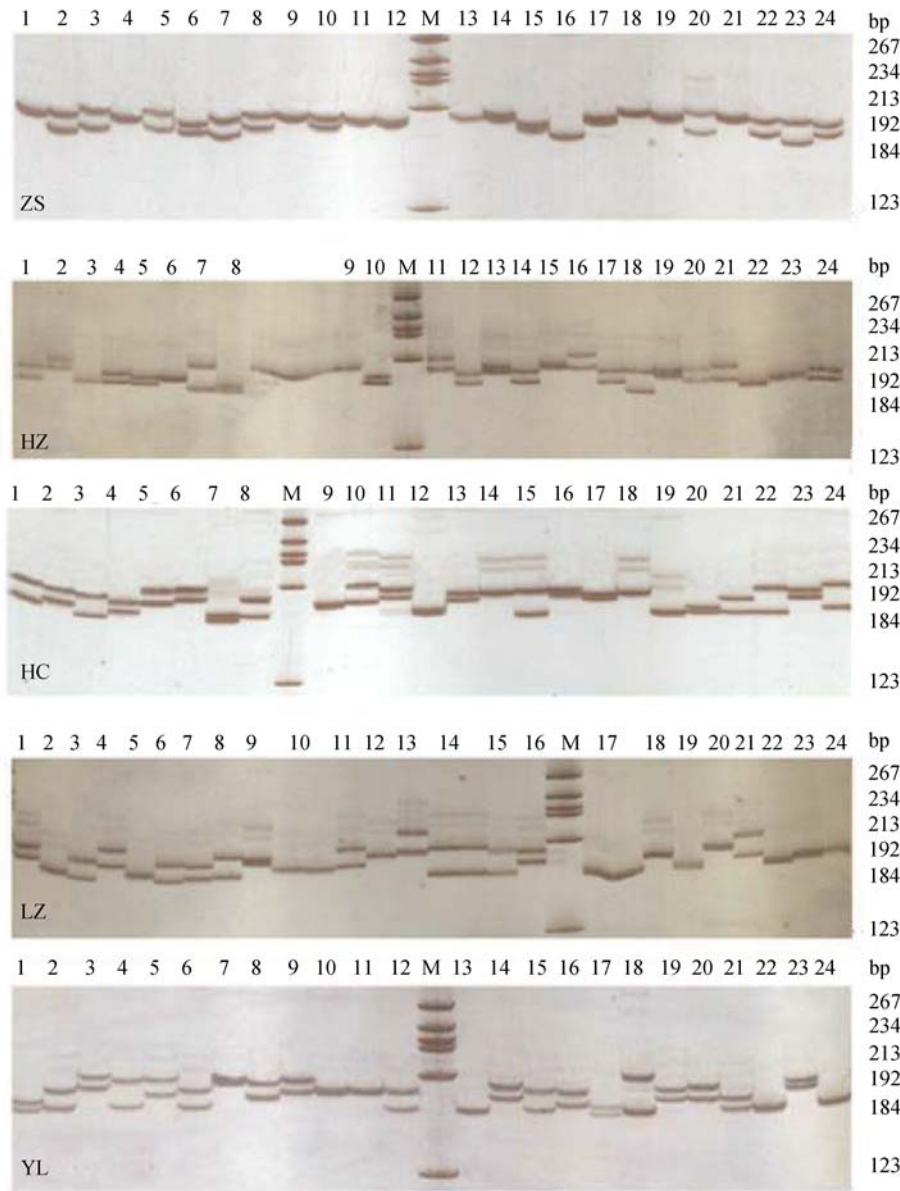


图 1 位点 *PTR33a* 在三疣梭子蟹 5 个群体中的扩增情况
Fig. 1 Amplification result of locus *PTR33a*

表 4 5 个三疣梭子蟹群体的平均等位基因数、有效等位基因数、观测杂合度、期望杂合度、多态信息含量
Tab. 4 Numbers of alleles, effective alleles, polymorphism information content, observed heterozygosity, expected heterozygosity of the five populations

群体 population	等位基因数 <i>A</i>	有效等位基因 <i>N_e</i>	观测杂合度 <i>H_o</i>	期望杂合度 <i>H_e</i>	多态信息含量 PIC
鸭绿江 YL	6.0000	4.0130	0.7448	0.7552	0.6994
莱州湾 LZ	5.7500	4.3344	0.7135	0.7704	0.7138
会场 HC	5.8750	4.2344	0.7604	0.7588	0.7050
海洲湾 HZ	6.3750	4.3174	0.6481	0.7415	0.6904
舟山 ZS	5.8750	3.8650	0.6696	0.7283	0.6748

表 5 χ^2 显著性检验(P)
Tab. 5 Chi-square test (P)for Hardy-Weinberg equilibrium

位点 locus	鸭绿江 YL	莱州湾 LZ	会场 HC	海洲湾 HZ	舟山 ZS
<i>PTR33a</i>	0.8093	0.1904	0.5536	0.1190	0.1412
<i>PTR45</i>	0.4260	0.9830	0.2934	0.2195	0.2229
<i>PTR93</i>	0.6755	0.1341	0.5208	0.0932	0.0797
<i>PTR95</i>	0.3775	0.1815	0.9180	0.3674	0.1163
<i>PTR98a</i>	0.0557	0.1371	0.5277	0.0145*	0.0359*
<i>PTR103b</i>	0.3870	0.1623	0.5933	0.4450	0.0004**
<i>PTR112</i>	0.3644	0.3664	0.4284	0.0159*	0.2668
<i>PTR145</i>	0.5306	0.0045**	0.0446*	0.1036	0.2801

注: “*” - $P < 0.05$; “**” - $P < 0.01$.
Note: “*” - $P < 0.05$; “**” - $P < 0.01$.

2.4 群体间遗传分化分析

对 5 个群体的遗传分化指数 F_{st} 进行计算(表 6), 8 个位点的遗传分化指数在 0.054 8~0.108 3 之间, LZ-ZS 群体分歧最大(0.108 3), HC-HZ 群体分歧最小(0.054 8), 群体间的遗传分化程度达到了极显著水平。

根据 Nei(1972)的标准利用软件 PopGene 计算种群间遗传距离和遗传相似性指数(表 7), 结果表明, 三疣梭子蟹 5 个群体间的遗传距离在 0.245 1~0.517 9 之间, 遗传相似性指数为 0.595 8~0.782 6。其中 HC 与 HZ 群体的遗传距离最小, 相似性最高; LZ 与 ZS 群体的遗传距离最远, 相似性最小。根据遗传距离得出 5 个群体的 UPGMA 聚类树如图 2 所示, 聚为南北两大支, HC 和 HZ 两个群体遗传距离最近先聚到一起, 再与 ZS 群体相聚, 形成南方群体; YL 与 LZ 群体相聚形成北方群体, 最后南北两大群体聚为一支。

表 6 三疣梭子蟹 5 个群体之间的遗传分化指数(F_{st})

Tab. 6 Pairwise F_{st} (below diagonal) and among populations of swimming crab

群体 population	鸭绿 江口 YL	莱州 LZ	会场 HC	海州 HZ	舟山 ZS
鸭绿江口 YL	—				
莱州 LZ	0.0666**	—			
会场 HC	0.0625**	0.0610**	—		
海州 HZ	0.1042**	0.0871**	0.0548**	—	
舟山 ZS	0.0764**	0.1083**	0.0550**	0.0810**	—

注: “**” 表示 $P < 0.01$.
Note: “**” means $P < 0.01$.

表 7 三疣梭子蟹 5 个群体间的遗传相似性指数(上三角)及遗传距离(下三角)

Tab. 7 Inter-population genetic identification(upper triangle) and genetic distances(lower triangle) between 5 populations of swimming crab

群体 population	鸭绿江 口 YL	莱州 LZ	会场 HC	海州 HZ	舟山 ZS
鸭绿江口 YL	—	0.7195	0.7438	0.6109	0.7171
莱州 LZ	0.3292	—	0.7366	0.6551	0.5958
会场 HC	0.2959	0.3056	—	0.7826	0.7732
海州 HZ	0.4929	0.4229	0.2451	—	0.7077
舟山 ZS	0.3326	0.5179	0.2572	0.3457	—

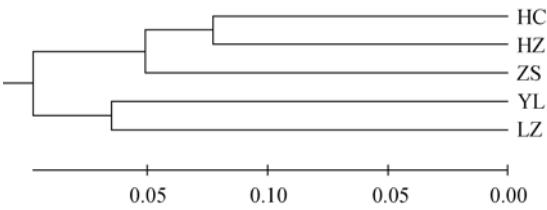


图 2 三疣梭子蟹 5 个群体的聚类分析图

Fig. 2 Cluster dendrogram among five populations of swimming crab

3 讨论

3.1 群体遗传多样性

戴艳菊等^[19]对辽东湾、莱州湾、海洲湾和舟山的三疣梭子蟹群体的 16S rRNA 和 CO I 基因比较研究中发现, 莱州湾群体的遗传多样性最为丰富; 冯冰冰等^[20]利用线粒体控制区基因片段分析了中国四大海域三疣梭子蟹的群体遗传结构, 发现潍坊和黄骅群体遗传多样性参数较高, 青岛和象山群体的多样性较低。

多态信息含量(PIC)和杂合度(H)是衡量群体内遗传变异的指标,其值直接反映群体内个体的均匀度,数值高则遗传变异大,反之则变异小^[21]。本研究所用的 8 对微卫星标记均表现出高度多态性,可应用于遗传结构和系谱分析;根据 H_e 值大小,5 个群体遗传多样性由高到低依次为: LZ (0.770 4)、HC (0.758 8)、YL(0.755 2)、HZ(0.741 5)、ZS (0.728 3),这一结果同戴艳菊等^[17]和冯冰冰等^[18]的结果一致。表明 5 个野生群体的遗传多样性良好。

由 Hardy-Weinberg 平衡定律可知,如果没有选择、突变和迁移等情况的发生,一个大的随机交配群体内,等位基因频率和基因型频率随世代的增加而保持不变。通过对 5 个群体中的平衡 χ^2 检验概率值 P 可知,85%的群体位点组合未偏离 Hardy-Weinberg 平衡,说明 5 个群体受到外来因素干扰较小,群体遗传结构尚处于比较稳定状态中。

遗传距离是利用基因频率的函数表示群体间的差异,根据遗传距离大小可以确定群体间亲缘关系的远近。遗传相似性指数也可以说明群体间在进化上的亲缘关系。两个群体的遗传距离越大,则基因型差异越大,也可以说明两个群体的亲缘关系越远,遗传相似性越小;反之,若遗传距离小,则群体遗传差异小,群体间的遗传相似就越大,亲缘关系越近。研究中 5 个群体间的遗传距离为 0.245 1 ~ 0.517 9, HC 和 HZ 的遗传距离最小, LZ 和 ZS 的遗传距离最远。此结果与 5 个群体的地理分布相吻合,与同工酶^[7,22]的结果相一致。聚类可知,5 个群体聚为南北两大支, HC 和 HZ 两个群体遗传距离最近先聚到一起,再与 ZS 群体相聚,形成南方群体; YL 与 LZ 群体相聚形成北方群体,最后南北两大群体聚为一支,呈现出一定的规律性。

3.2 群体间遗传分化

F_{st} 值是用来测量群体间的遗传分化程度的主要指标,张天时等^[23]在研究中国明对虾的遗传结构时认为: F_{st} 值在 0 ~ 0.05 时,群体分化较弱; 0.05 ~ 0.15 时群体分化中等; 0.15 ~ 0.25 时表示群体遗传分化较大;当 F_{st} 大于 0.25 时,表示分化极大。冯建彬等^[24]发现五大淡水湖青虾群体遗传分化系数 F_{st} 高达 0.318 7,表明湖泊青虾群体间遗传分化较大。本研所得三疣梭子蟹的遗传分化指数

在 0.054 8 ~ 0.108 3 之间($0.05 < F_{st} < 0.15$),达到中等程度的分化,且分化程度都达到了极显著水平。HC、HZ 和 ZS 3 个群体的遗传分化程度最弱,其次是 YL 和 LZ、HC 的分化程度较弱, HZ-YL 和 LZ-ZS 群体的分化程度较大。

分析其原因,可能是青岛 HC 群体生活于黄海水域, HZ 和 ZS 群体生活于东海水域,两个水域处于一种开放状态,舟山群体三疣梭子蟹活动范围比较广,北可达黄海南部的吕泗、大沙渔场^[25],可能与 HC 和 HZ 群体的三疣梭子蟹存在基因交流。

LZ 群体生活于封闭性强的渤海^[26],该群体是个地方性种群,越冬后,在 4 月上中旬开始生殖洄游,繁殖场所为渤海湾和莱州湾近岸浅水区河口附近;12 月初开始越冬洄游,越冬场所为渤海深水区,至来年 3 月^[27],整个生命活动主要局限于渤海之内,这就同 HC、HZ 和 ZS 群体之间产生了地理隔离。由于不同海域环境所造成的生长温度和栖息底质等不同,以及盐度和饵料的不同,造成莱州湾和南方群体之间差异比较大。

YL 和 LZ 群体同属于北方群体,两个群体所生活海域的纬度相近,地理位置相邻,生长环境比较接近,可能引起较多的基因交流,从而使得两群体的分化程度较弱。

从本研究对三疣梭子蟹 5 个群体的多样性分析可知,目前三疣梭子蟹野生资源还保持较高的遗传多样性,出现了中等程度的遗传分化,但是从三疣梭子蟹资源的可持续开发利用角度出发,必须制定合理科学的保护措施,建立有效地监控体系,加强野生群体遗传多样性监测,采用更为有效合理的增养殖模式和放流程序,防止盲目的人工移植和引种导致的种质退化和优良性状的丧失,保证三疣梭子蟹野生种质资源得到有效保护和合理的利用。

参考文献:

- [1] 戴爱云, 杨思谅, 宋玉枝, 等. 中国海洋蟹类[M]. 北京: 海洋出版社, 1986: 213-214.
- [2] 堵南山. 甲壳动物学(下)[M]. 北京: 科学出版社, 1993: 882-883.
- [3] 吴常文, 虞顺成, 吕永林. 梭子蟹渔业技术[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1996: 28-31.

- [4] 农业部渔业局. 2010 中国渔业统计年鉴[R]. 北京: 中国农业出版社, 2010: 30.
- [5] 王国良, 金珊, 李政, 等. 三疣梭子蟹养殖群体同工酶的组织特异性及生化遗传分析[J]. 台湾海峡, 2005, 24(4): 474–480.
- [6] 余红卫, 朱东发, 韩宝芹. 三疣梭子蟹不同组织同工酶的分析[J]. 动物学杂志, 2005, 40(1): 84–87.
- [7] 高保全, 刘萍, 李健, 等. 三疣梭子蟹野生群体同工酶的遗传多态性分析[J]. 水产学报, 2007, 31(1): 1–6.
- [8] 郭天慧, 孔晓喻, 陈四清, 等. 三疣梭子蟹线粒体 DNA 16S rRNA 和 CO I 基因片段序列的比较研究[J]. 中国海洋大学学报, 2004, 34(1): 22–28.
- [9] 刘爽, 薛淑霞, 孙金生. 黄海和东海三疣梭子蟹(*Portunus triuberbuculatus*) 的 AFLP 分析[J]. 海洋与湖沼, 2008, 39(2): 152–156.
- [10] 罗云, 高保全, 刘萍, 等. 三疣梭子蟹莱州湾、舟山野生个体定向交配产生 F_2 代家系的 AFLP 分析[J]. 渔业科学进展, 2009, 30(6): 48–55.
- [11] 金珊, 赵青松, 王春琳, 等. 梭子蟹科六种海产蟹的 RAPD 标记[J]. 动物学研究, 2004, 25(2): 172–176.
- [12] 罗云, 高保全, 刘萍, 等. 三疣梭子蟹遗传连锁图谱的初步构建[J]. 渔业科学进展, 2010, 31(3): 56–65.
- [13] Nielsen E, Heino M B. Looking for a needle in a haystack: discovery of indigenous Atlantic salmon(*Salmo salar* L.) in stocked population [J]. Conservation Genetics, 200, 2: 219–232.
- [14] Nichols K M, Young W P, Danzmann R G, et al. A consolidated linkage map for rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Anita Genet, 2003, 34(2): 102–115.
- [15] 张于光, 李迪强, 饶力群, 等. 东北虎微卫星 DNA 遗传标记的筛选及在亲子鉴定中的应用[J]. 动物学报, 2003, 49(1): 118–123.
- [16] 张研, 梁利群, 常玉梅, 等. 鲤鱼体长性状的 QTL 定位及其遗传效应分析[J]. 遗传, 2007, 29(10): 1243–1248.
- [17] Liu P, Kong J, Shi T, et al. RAPD analysis of wild stock of penaeid shrimp (*Penaeus chinensis*) in Chinese coastal waters of the Huanghai Sea and coastal waters of the Bohai Sea[J]. Oceanol Sin, 2000, 7(2): 86–89.
- [18] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restricted fragment length polymorphisms[J]. Am J Hum Ge, 1980, 32(3): 314–331.
- [19] 戴艳菊, 刘萍, 高保全等. 三疣梭子蟹四个野生群体线粒体 16S rRNA 和 CO I 片断的比较分析[J]. 中国海洋大学学报, 2010, 40(3): 1–7.
- [20] 冯冰冰, 李家乐, 牛东红, 等. 我国四大海域三疣梭子蟹线粒体控制区基因片段序列比较分析[J]. 上海水产大学学报, 2008, 17(2): 134–138.
- [21] 廖信军, 常洪, 孙伟, 等. 利用微卫星标记对六个羊群体性的研究[J]. 家畜生态学报, 2006, 27(2): 13–18.
- [22] 樊祥国, 高保全, 刘萍, 等. 三疣梭子蟹 4 个野生群体遗传差异的同工酶分析[J]. 渔业科学进展, 2009, 30(4): 84–89.
- [23] 张天时, 王清印, 刘萍, 等. 中国对虾人工选育群体不同世代的微卫星分析[J]. 海洋与湖沼, 2005, 36(1): 72–79.
- [24] 冯建彬, 孙悦娜, 程熙, 等. 我国五大淡水湖日本沼虾线粒体 CO I 基因部分片段序列比较[J]. 水产学报, 2008, 32(4): 517–525.
- [25] 宋海棠, 丁耀平, 许源剑. 浙江近海三疣梭子蟹洄游分布和群体组成特征[J]. 海洋通报, 1989, 8(1): 66–74.
- [26] 薛俊增, 堵南山, 赖伟. 中国三疣梭子蟹 *Portunus trituberbuculatus* Miers 的研究[J]. 东南海洋, 1997, 15(1): 60–65.
- [27] 邓景耀, 金显仕. 渤海越冬场渔业生物资源量和群落结构的动态特征[J]. 自然资源学报, 2001, 16(1): 42–46.

Genetic diversity among five wild populations of *Portunus trituberculatus*

LI Xiaoping, LIU Ping, LI Jian, GAO Baoquan

Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China.

Abstract: We evaluated genetic diversity and differentiation among five wild populations of the swimming crab (*Portunus trituberculatus*) using eight polymorphic microsatellite loci. We collected crabs from Zhoushan (ZS), Haizhou Bay (HZ), Huichang (HC), Laizhou Bay (LZ), and the mouth of the Yalu River (YL). We isolated 72 alleles from eight loci among the five populations. The number of alleles ranged from 6 to 12 and the average number of alleles (A) and effective numbers of alleles (N_e) were 9.0 and 5.467 7, respectively. The mean PIC value for the eight microsatellite loci was 0.696 7. The expected heterozygosity (H_e) of each population was as follows: LZ (0.770 4), HC (0.758 8), YL (0.755 2), HZ (0.741 5), and ZS (0.728 3). The observed heterozygosity (H_o) was between 0.648 1 and 0.760 4. Six loci deviated significantly or very significantly from Hardy-Weinberg equilibrium. The genetic distances among populations ranged from 0.245 1 to 0.517 9. The UPGMA tree suggested that there were two different groups: one being composed of YL and LZ, and the other of HC, HZ and ZS. The F_{st} values ranged from 0.054 8 to 0.108 3, suggesting that the degree of differentiation was moderate among the five wild populations ($0.05 < F_{st} < 0.15$).

Key words: *Portunus trituberculatus*; wild populations; genetic diversity; microsatellite marker

Corresponding author: LIU Ping. E-mail: liuping@ysfri.ac.cn

2012 年《水产学报》征订启事

《水产学报》是由中国科协主管、中国水产学会主办、科学出版社出版的以反映我国水产科学技术成果为主的学术类核心期刊(中国科学引文数据库 CSCD 核心库和中信所核心库), 1964 年创刊, 是中国水产科学研究领域历史最为悠久的刊物之一, 中国科协“精品科技期刊示范项目”资助期刊。主要刊载水产基础研究、水产养殖和增殖、渔业水域环境保护、水产品保鲜加工与综合利用、渔业机械仪器等方面的论文和综述。

本刊为月刊, 每期 160 页, 每期订价 49.00 元, 全年订价 588.00 元。国内统一刊号: CN 31-1283/S, 国际标准刊号: ISSN 1000-0615, 国内邮发代号: 4-297, 国外发行代号: M-387。读者可在当地邮局办理订阅, 破季、漏订或补订均可直接与编辑部联系。个人订户可享受 6 折优惠。

编辑部地址: 上海市临港新城沪城环路 999 号 201 信箱(邮编: 201306)

联系人: 张美琼

联系电话与传真: 021-61900227

E-mail: mqzhang@shou.edu.cn; jfc@shou.edu.cn

Website: www.scxuebao.cn