

文章编号: 1000-0615(2001)01-0084-06

• 综述 •

头足类遗传变异研究进展

Advances of studies on Cephalopoda genetic variation

郑小东, 王如才, 王昭萍

ZHENG Xiao-dong, WANG Ru-cai, WANG Zhao-ping

(青岛海洋大学国家教育部海水养殖重点实验室, 山东 青岛 266003)

(Mariculture Research Lab of Educational Department, Qingdao Ocean University, Qingdao 266003, China)

关键词: 头足类; 遗传变异

Key words: Cephalopoda; genetic variation

中图分类号: Q31; S917 文献标识码: A

头足类在分类上属软体动物门头足纲动物, 主要包括乌贼、枪乌贼、柔鱼和蛸四大类, 全部海产。近几十年来, 它逐步成为世界主要的海洋渔业之一, 尤其在无脊椎动物中占有重要地位。1978-1988年间, 全世界头足类产量已达 2×10^6 t^[1]。头足类具有高营养、生活史较短(通常为一年)和生长快等特点, 是一类很有前途的海水养殖种类和海洋中最大、最具潜在价值的蛋白质资源^[2], 而且占据着海洋生物食物链举足轻重的位置。现存的头足类种类有 983 种, 共计 206 属, 有效种名的 650 种左右^[3]。我国是世界捕捞头足类的主要国家之一, 而且有丰富的种质资源, 已发现的种类达 95 种, 分属 6 目, 21 科, 45 属^[4]。半世纪来, 在头足类的分类区系、形态解剖、胚胎发育、生理生态和渔业资源等基础研究和应用研究方面做了许多工作, 进展迅速^[5-7], 但是, 有关遗传学的研究尚属空白。了解和掌握它们的遗传变异情况、种群之间以及种内的遗传差异程度、群体结构, 对于我国头足类资源的保护和管理、合理的开发以及永续利用都有着相当重要的意义, 也为进一步的育种和遗传改良工作提供理论指导。遗传变异研究主要体现在以下几个层次: 表型水平、染色体水平、蛋白质水平和分子水平。本文将逐一对照近年来有关头足类的遗传变异研究进行总结和评述, 以期我国在此领域的研究能尽快、更好的发展。

1 形态学研究

在渔业生物学中, 传统的分类特征可以描述许多头足类物种的地理性变异^[8,9]。与分子遗传学标记不同, 表型变异受环境因子影响显著, 而且这些变异的遗传组成又不能确定。此外, 不同研究者在数据的测量和记录上存在差别, 可能人为增大了样品间的差异。尽管形态学研究存在缺陷, 但是外套膜、鳍、腕以及触腕穗的大小和茎化腕等形态学特征由于易测量^[10,11], 仍然广泛应用于头足类的种群研究, 其中, 对滑柔鱼属 *Illex* 研究较为深入^[12]。通过对西南大西洋的阿根廷滑柔鱼(*Illex argentinus*) 四季产卵群体的外套膜宽度和厚度、鳍和头部的长和宽、腕长、触腕和触腕吸盘的直径, 以及茎化腕、齿舌的形态和精囊复合体结构的检测表明: 绝大多数形态学特征在这些季节性群体中表现为重叠性变化。仅有精囊腺的大小存在显著差别: 夏生群的个体比秋、冬群体大(约 1.5 倍)。这一差别与不同群的生长状况有关, 不是一个稳定的标记。Nigmatullin^[12] 认为阿根廷滑柔鱼的形态学研究在群体鉴定方面的作用有限。

采用形态学分析与同工酶方法^[13]相结合手段, 对阿根廷滑柔鱼进行过研究。象先前对嘎氏枪乌贼(*Loligo gahi*) 的研

收稿日期: 2000-03-21

第一作者: 郑小东(1971-), 男, 山东寿光人, 博士生, 主要从事贝类遗传育种研究。Tel: 0532-2032873, E-mail: xczheng@mail.ouqf.

edu.cn

究一样^[14, 15], 形态学数据与遗传学数据没有一致的联系。纯合样品, 形态上有显著差异; 而电泳中表现较高变异的样品, 形态学上则无显著差异^[16]。

耳石也是一种用于群体结构分析的标记^[17]。对西南大西洋的阿根廷滑柔鱼的两类产卵群体(夏生群和北巴塔哥尼亚群体)耳石的总长、丘部长和宽、吻部长、翼宽等特征进行了比较表明雌雄之间、同一性别不同群体间有显著差别。对阿根廷渔业区的阿根廷滑柔鱼的海洋性和大陆架群体的最新研究也表明耳石结构(生长环的颜色、清晰度和丰富度)存在显著稳定的差别^[18]。耳石已广泛地应用于枪乌贼种群的生长率和年龄组成研究^[19], 同时所提供的数据表明耳石在群体鉴定标记方面具有潜在的利用价值^[17, 18]。对柔鱼(*Todarodes sagittatus*)坚硬结构(内壳和角质颚, 特别是上颚)的研究表明这些结构可能在群体鉴定方面比传统的软体部形态学研究更有效^[9], 而且为探索与遗传组成相关的表型变异开辟了一条新路。

2 染色体多态性研究

头足类染色体多态性研究即染色体数目、组型分析, 最早的报道来自 Inaba^[20], 他以真蛸(*Octopus vulgaris*)和长蛸(*O. variabilis*)的精原细胞和初级精母细胞为实验材料, 对其染色体进行了研究, 结果两者的单倍染色体数都为 28, 正常二倍体有 56 条染色体。Vitturi 等^[21]采用初级精母细胞研究了乌贼(*Sepia officinalis*)和真蛸的染色体, 其结果是乌贼单倍染色体数 52 条, 真蛸 28 条。直至高悦勉等^[22]对 7 种头足类进行了核型研究, 才有了直接采用体细胞(胚胎)研究头足类染色体组型的报道。其中, 有关真蛸的结果与前人的不同, 而乌贼目、枪乌贼目中研究的种类染色体为 92 条。通过研究认为, 从系统发生的角度看, 枪形目与乌贼目彼此间的亲缘关系比与八腕目的亲缘关系近; 蛸属的真蛸和短蛸核型有显著不同, 表明彼此间亲缘关系相对较远, 属内染色体可能发生了较频繁的易位和/或倒位现象。

3 蛋白质(酶)多态性

蛋白质多态性可以通过氨基酸序列分析来进行, 但遗传变异需不同种群的许多个体进行分析, 工作量巨大。目前, 主要运用同工酶电泳技术比较基因表达产物—蛋白质的异同来探讨遗传变异情况。利用同工酶遗传基因的多态性, 可以较为容易的获得有关生物系统分化、种系发生和遗传多样性的信息, 而且可用于资源评估和管理。

3.1 种质鉴定

在头足类中可靠而稳定的分类学特征较少^[23], 同时又缺乏对稚仔和幼乌贼发育期的了解以及种内变异的研究。因此, 在对由所谓的隐藏种或姊妹种组成的种群进行研究时, 就会遇到种质鉴定问题。

不同种的鉴定: 形态上相似或基本无差别的种类, 如: 皮氏枪乌贼(*Loligo pealei*)和普氏枪乌贼(*L. plei*), 由于它们在同工酶水平上存在明显差异, 其中, 九分之五的酶完全不同而被区分开来^[24]。

地理种: 新西兰群岛的双柔鱼(*Nototodarus sloani*)通过同工酶检查^[11], 并与形态学特征加以比较, 被划分为两个区域姊妹种: 位于新西兰南部海域的是双柔鱼(又叫新西兰双柔鱼)(*N. sloani*), 位于新西兰北部及澳洲南部海域的为澳洲双柔鱼(*N. gouldi*)。

地理亚种: 枪乌贼(*Loligo vulgaris*)和(*L. reynaudii*)分别生活在非洲南部和西北部, 形态学上无差异。同工酶分析^[8]表明彼此间的差别是亚种水平的[mean Nei's D = 0.030, 而与外群乳光枪乌贼(*L. opalescens*)相比, D = 0.686]。(*L. reynaudii*)成为(*L. vulgaris*)的一个亚种, 种名为(*L. vulgaris reynaudii*)。分析认为南部非洲的西部存在寒冷而且溶解氧缺乏的水域可能是造成地理隔离的原因。

此外, 分布于南美洲南部和南极锋带的柔鱼(*Martialia hyadesi*)^[25], 以及西南大西洋的阿根廷滑柔鱼^[13, 26]、剑先枪乌贼(*Phaodoligo edulis*)根据同工酶数据均被证明至少存在两个隐藏种。

3.2 遗传多样性

生物的遗传多样性, 在一定程度上决定了该物种在自然或人为条件下对环境改变的适应能力, 因此, 遗传多样性水平是种群结构的重要组成部分。鱼类有关这方面的研究已相当多了, 对于头足类来说, 可比性数据却很少, 而采用电泳技术所获得的同工酶数据, 主要指多态位点比例(*P*)和平均杂合度观察值(*H_o*)。

在已研究的头足类中(表 1), 存在一显著特点: 除贝乌贼(*Beryteuthis magister*)以外^[27], 绝大多数种类变异性相当低。通常情况下, 这种低水平的变异性仅发生在种群大小严重衰退的种群中^[28]。而在任何其它的主要无脊椎动物群体中则很少能观察到此类特征^[29]。

表1 头足类自然群体遗传多样性
Tab.1 Levels of genetic diversity in Cephalopoda

种类	位点数	多态位点比例	平均杂合度(观察值)	样品数	参考文献
滑柔鱼(<i>Illex illecebrosus</i>)	11	0.09(0.99)	0.005	10-156	[30]
阿根廷滑柔鱼(<i>I. argentinus</i>)	29	0.172(0.95)	0.011		[26]
	25	0.28(0.95)	0.011	588	[13]
科氏滑柔鱼(<i>I. coindetii</i>)	32	0.033(0.95)	0.003		[31]
柔鱼(<i>Ommastrephes bartramii</i>)	35	0.46(0.99)	0.066	41	[27]
双柔鱼(<i>Nototodarus sloani</i>)	9	0.22(0.99)	0.060	36-100	[27]
须柔鱼(<i>Martialia</i> sp.1)	39	0.179(0.95)	0.013		[25]
须柔鱼(<i>M.</i> sp.2)	39	0.051(0.95)	0.003		[25]
剑先枪乌贼(<i>Photololigo edulis</i>)	43	0.209(未标出)			[32]
乳光枪乌贼(<i>Loligo opalescens</i>)	30	0.17(0.99)	0.037	45	[8]
		0.100(0.95)			
长枪乌贼(<i>L. bleekeri</i>)	23	0.089(0.95)	0.03		[33]
皮氏枪乌贼(<i>L. pealei</i>)	19	0.05(0.95)	0.006	40-994	[24]
普氏枪乌贼(<i>L. plei</i>)	9	0(0.95)	0.000	8	[24]
枪乌贼(<i>L. vulgaris reynaudii</i>)	30	0.23(0.99)	0.030	44	[8]
		0.060(0.95)			
枪乌贼(<i>L. vulgaris Lamark</i>)	30	0.07(0.99)	0.011	15	[8]
		0.060(0.95)			
中国枪乌贼(<i>L. chinensis</i>)	11	0(0.95)	0.007		[34]
嘎氏枪乌贼(<i>Loligo gahi</i>)	21	0.273(0.95)	0.0693	1189	[14]
福氏枪乌贼(<i>L. forbesi</i>)	33	0.069(0.95)	0.05		[35]
	33	0.182(0.99)		116	[36]
		0.100(0.95)			
莱氏拟乌贼(<i>Sepioteuthis lessoniana</i>)	11	0.091	0.012	84	[37]
圆鳍枪乌贼(<i>Lolligunaula brevis</i>)	9	0(0.99)	0.000	8	[24]
乌贼(<i>Sepia officinalis</i>)	32	0.097(0.95)	0.028		[31]
奥氏乌贼(<i>S. orbignyana</i>)	32	0.161(0.95)	0.034		[31]
华美乌贼(<i>S. elegans</i>)	32	0.226(0.95)	0.061		[31]
贝乌贼(<i>Beryteuthis magister</i>)	23	0.43(0.99)	0.131	440	[27]
		0.348(0.95)			
总计	640				
平均		0.150±0.120	0.0295±0.0317		
贝类(Mollusca)		0.412	0.147		[38]
海洋无脊椎动物(marine invertebrate)		0.587(0.95)	0.147		[39]

对于头足类较低的遗传变异率,存在几种解释:

与瓶颈效应有关。过度的捕捞可能引起种群的衰退,特别对那些由较少个体组成的种群影响更大。大多数头足类,特别是那些经济性种类一年生,没有世代重叠。它们的遗传多样性,尤其遭到过度捕捞而且又被过高的估计了逃逸率的情况下,受瓶颈效应的作用相当显著。就种群而言,有可能造成资源衰竭,物种灭绝,遗传变异率很低也不可避免。这种解释对于未曾遭到过度捕捞,而且受禁渔期保护的种类,如:阿根廷滑柔鱼,很难说明它们也表现出的低变异率(表1)。而远洋性种类具有生长速度快、高度迁移性等特点,对其进行过度捕捞的可能性是非常小的。

Nevo等^[40]对众多海洋生物遗传多样性研究后指出,许多海洋物种具有低水平的多态性,特别是那些生活在极地水域的种类杂合度偏低。这个结论在以后的研究中得到了一定程度的支持^[41,42]。当然,它也可以较好地解释南美南端巴塔哥尼亚水域的阿根廷滑柔鱼的遗传变异问题。但无法解释生活在相同水域的*Loligo gahi*表现出的较高杂合度($P_{0.95} = 0.273, H_0 = 0.069$)。另外,还存在一种解释:深海生活的头足类(例:滑柔鱼, $P_{0.99} = 0.09, H_0 = 0.005$)比沿岸的种类(*Loligo gahi*, $H_0 = 0.069$)杂合度低。由于目前研究的头足类的种类、个体的数量以及基因位点数还不够充足,这个结论尚待进一步证实。

对于那些始终由较少个体组成的种群表现出较低的多态性是可能的。就头足类而言,可能存在正处于膨胀期(生长期)的种群,它们的遗传多样性也处于增加阶段,尚未达到一个新的平衡。减少捕食者(如海洋哺乳类、大型鱼类)的数量

就有利于增强同期头足类的繁殖水平,进而增大种群数量^[43]。不过,很难解释较高变异率的物种(如贝乌贼)。

检测手段(如同工酶电泳技术)的局限性也可能是造成头足类遗传多样性低的原因之一。如何证实是由于同工酶电泳技术的局限性造成的头足类遗传多样性低,可采用以下方法:(1)使用同样的手段对其它的头足类群体进行遗传多样性分析;(2)采用更灵敏的测试手段,如 mtDNA、RAPD、微卫星 DNA,来显示多态性。

总之,迄今采用同工酶电泳技术所研究的 20 多种头足类中,绝大多数都表现出很低的遗传多样性,无论是由哪种原因引起的,如此低的生物多样性很可能降低了这些物种对环境的适应能力,尤其是人们在改造自然、开发海洋过程中对环境的破坏,如海水污染、添海造田、盲目捕捞等,必然使它们面临毁灭的危险,一旦遭到打击基本无法恢复,例如,曼氏无针乌贼的产量曾占中国各种乌贼总产量的大半,是中国东南沿海传统的四大渔业之一^[44]。80 年代以来,东海区的捕捞力度剧增,致使其产量迅速下降,作为主要捕捞种的地位已被其它物种取代。

4 DNA 多态性

近年来, DNA 分子标记技术迅速发展,相继建立了限制性酶切片断长度多态性(RFLP)、DNA 指纹、微卫星 DNA、随机扩增多态性 DNA(RAPD)、线粒体 DNA(mtDNA)等专门技术,成为遗传多样性研究的又一热点。

4.1 线粒体 DNA 多态性

mtDNA 广泛应用于贝类的杂交群体、种内群体间的遗传变异分析^[45-47],但所研究的头足类物种却极少。Norman 等^[48]采用 mtDNA RFLP 对东北大西洋福氏枪乌贼的遗传变异水平进行了研究。随后,Shaw 等^[49]也进行了同样的实验。其结果象同工酶一样,表现出较低的遗传变异,原因可能是仅采取变性梯度胶电泳(DGGE)法对 mtDNA CO III 基因加以分析,而不能复制出 mtDNA 中最具变异性的 D-Loop 区。

4.2 基因组 DNA 多态性

近几十年来,由于缺乏多态性强而且稳定的遗传标记,仅仅凭借形态特征限制了对头足类种群生物学、种群动态甚至种的完整性研究。同工酶、mtDNA 在许多种表现出极低的遗传变异。微卫星 DNA 技术的应用,尤其在采用其他方法检测的低变异的组织中取得了成功^[50,51],为研究头足类遗传多态性提供了一个新途径。

Shaw^[52]首次采用高度多态微卫星位点对东北大西洋的福氏枪乌贼进行了报道,随后同先前采用同工酶、mtDNA 标记所获得的数据进行了比较^[49]。微卫星 DNA 体现出高灵敏度的优势,每个位点平均 10.6 个等位基因,平均杂合度期望值 $H_E = 0.79$,平均杂合度观察值 $H_O = 0.53-0.83$;而同工酶 $H_E = 0.08$, $H_O = 0.069-0.1$; mtDNA RFLP $H_E = 0.16$ 。不过,与先前的研究结果一样,东北大西洋的欧洲大陆架海域的种群显示遗传一致性,而与亚述尔群岛种群有显著遗传差异,原因可能是由于水深和相互分离的水团等因素阻碍了种群的迁徙造成的。Adcock 等^[53]从阿根廷滑柔鱼中分离多态微卫星标记对滑柔鱼属的滑柔鱼、阿根廷滑柔鱼和科氏滑柔鱼进行了分析,其中阿根廷滑柔鱼 $H_O = 0.76$,而先前的同工酶电泳的结果是 $P_{0.95} = 0.28$, $H_O = 0.011$ ^[13]。此外,有关乌贼、真蛸的研究也已见报道^[54,55]。

5 展望

以上对迄今为止有关头足类的遗传变异研究进行了回顾,不难发现这些研究较为零散和不完整。尚需要对形态学分析的组织结构进行进一步的选择;有关的染色体多态性研究还刚刚起步,造成种群相当低的遗传变异的原因还不清楚,分子遗传标记作为一种最新的生物标记,还需对更多生物种群进行分析后才能选择确定。同时,应该加大对头足类的基础生物学,特别是分类学、生活史方面(包括产卵个体、幼乌贼的生长模式和分布情况)、种群动态中迁徙等问题的研究力度。

对头足类的形态学分析,不仅要依赖与传统方法(软体部的测量),而且要重视对坚硬组织(如:耳石,齿舌,内壳和角质颚)的结构研究,同时与分子遗传标记相结合,这样,就会较好的反映出种的特征和变异。运用耳石的生长轮,对头足类的年龄和生长情况的研究进展体现了新的研究方向^[19]。不同起源的头足类耳石间的差别还可以作为一种有用的标记有利于遗传比较。

头足类(如柔鱼)的产卵场水深一般在 20~200m,采集受精卵、胚胎十分困难,而且迄今为止,许多种类有关其卵以及幼虫分布和发育情况的资料相当匮乏。因此摸索采用成体分裂较旺盛组织的体细胞(如鳃),可能更便于对更多的种进行染色体水平的研究,同时对“解剖学特征”——核型的研究也应成为染色体多态性的重要组成部分。

同工酶电泳直接提供了与哈迪-温伯格定律相一致的基因型分布情况,它是描述种的繁殖结构最适合的方法,对更

多的种类进行更为广泛的同工酶研究,除阐明其遗传结构外,可以更好的揭示头足类变异率低的问题。除同工酶电泳以外,作为群体的专一性遗传标记,mtDNA 分析,微卫星分子标记等更敏感的方法将更为适合。

此外,确定产卵场的准确位置,以及群体遗传完整性对于头足类的遗传变异研究也有着相当重要的意义。

参考文献:

- [1] Carvalho G R, Nigmatullin Ch M. Stock structure analysis and species identification [A]. Rodhouse P G, et al eds: Squid recruitment dynamics [C]. Rome: FAO Fish Techn Pap. 376, 1998. 199- 232.
- [2] Nesis Kir N. Cephalopods of the world [M]. T F H Publications Inc USA. 1987. 9
- [3] Okutani T. Cuttlefish and squids of the world in color [M]. Tokyo: National Cooperative Association of Squid Processors, 1995. 8.
- [4] 郑元甲,凌建忠,严利平,等. 东海区头足类资源现状与合理利用的探讨 [J]. 中国水产科学, 1999, 6(2): 52- 56.
- [5] 李复雪. 台湾海峡头足类区系的研究 [J]. 台湾海峡, 1983, (1): 103- 107.
- [6] 李嘉泳. 金乌贼 (*Sepia esculenta* Hoyle) 在我国黄渤海生殖洄游和发育 [A]. 太平洋西部渔业研究委员会第六次全体会议论文集 [C]. 北京: 科学出版社, 1965. 61- 92.
- [7] 董正之. 中国海洋科学研究及开发 [M]. 青岛: 青岛出版社, 1993. 23- 26.
- [8] Augustyn C J, Grant W S. Biochemical and morphological systematics of *Loligo vulgaris* Lamarck and *Loligo vulgaris reynaudii* d'Orbigny Nov Comb (Cephalopoda: Myopsida) [J]. Malacologia, 1988, 215- 233.
- [9] Borges T C. Discriminant analysis of geographic variation in hard structures of *Todarodes sagittatus* (Lamarck 1798) from North Atlantic Ocean [A]. ICES Shell Symposium Paper [C], 1990, 44.
- [10] Kashiwada J, Recksiek C W. Possible morphological indicators of population structure in the market squid, *Loligo opalescens* [M]. Calif Fish & Game: Fish Bull, 1978. 169, 99- 111.
- [11] Smith P J, Roberts P E, Hurst R J. Evidence for two species of arrow squid in the New Zealand fishery [J]. N Z J Mar Fresh Res, 1981, 15: 247- 253.
- [12] Nigmatullin Ch M. Mass squids of the south-west Atlantic and brief synopsis of the squid (*Illex argentinus*) [J]. Frente Maritimo, 1989, 5 (A): 71- 81.
- [13] Carvalho G R, Thompson A, Stoner A L. Genetic diversity and population differentiation of the shortfin squid *Illex argentinus* in the south-west Atlantic [J]. J Exp Biol Ecol, 1992, 158: 105- 121.
- [14] Carvalho G R, Loney K H. Biochemical genetic studies on the Patagonian squid, *Loligo gahi* d'Orbigny. I. Electrophoretic survey of genetic variability [J]. J Exp Biol Ecol, 1989, 126: 231- 241.
- [15] Carvalho G R, Pitcher T J. Biochemical genetic studies on the Patagonian squid, *Loligo gahi* d'Orbigny. II. Population structure in Falkland waters using isozymes, morphometrics, and life history data [J]. J Exp Biol Ecol, 1989, 126: 243- 258.
- [16] Carvalho G R, Thompson A, Stoner A L. Population genetic structure of the shortfin squid, *Illex argentinus*, from Falkland and surrounding waters [J]. Res Rep Falkland Isls Govern, 1990, 61.
- [17] Brunetti N E, Ivanovic M L. Distribution and abundance of early life stages of squid (*Illex argentinus*) in the south-west Atlantic [J]. ICES J Mar Sci, 1992, 49: 175- 183.
- [18] Arkhipkin A. Age, growth, stock-structure and migratory rate of pre-spawning short-finned squid *Illex argentinus* based on statolith aging investigation [J]. Fish Res, 1993, 16: 313- 338.
- [19] Rodhouse P G, Hatfield E M C. Age determination in squid using statolith growth increments [J]. Fish Res, 1990, 8: 323- 334.
- [20] Inaba A. Notes on the chromosomes of two species of octopods (Cephalopoda, Mollusca) [J]. Jap J Genet, 1959, 34: 137- 139.
- [21] Vitturi R, Rasotto M B, Farinella-Ferruzza, N. The chromosomes of 16 molluscan species [J]. Boll Zool, 1982, 49: 61- 71.
- [22] Gao Y M, Nastukari Y. Karyological studies on seven Cephalopods [J]. Venus, 1990, 49(2): 126- 145.
- [23] Voss G L. A view of cephalopod fisheries biology [J]. Mem Natl Mus Victoria Melbourne, 1983, 44: 229- 241.
- [24] Gathwaite R L, Berg Jr C J, Harrigan J. Population genetics of the common squid *Loligo pealei* Lesueur, 1821, from cape cod to cape hatteras [J]. Biol Bull, 1989, 177: 287- 294.
- [25] Brierley A S, Rodhouse P G, Thorpe J P, et al. Genetic evidence of population heterogeneity and cryptic speciation in the ommastrephid squid *Martialia hyadesi* from the Patagonian Shelf and Antarctic Polar Frontal Zone [J]. Mar Biol, 1993, 116: 593- 602.
- [26] Thorpe J P, Havenhand J H, Patterson K R. Report of the University of Liverpool to the Falkland Islands development corporation on stock and species identities of patagonian shelf *Illex argentinus* [R]. Port Stanley, Falkland Islands, Falkland Islands Corporation, 1986. 21.
- [27] Katugin O N. Genetic variation in the squid *Berytuthis magister* (Breyer, 1913) (Oegopsida: Gonatidae) [A]. Okutani T, o' dor R K, kubodera T, eds: Recent advances in fisheries biology [C]. Tokyo: Tokai University Press, 1993. 201- 213.
- [28] O' Brien S J, Wildt DE, Bush M, et al. East African cheetahs: evidence for two population bottlenecks [J]. USA: Proc Natl Acad Sci, 1987, 84: 508- 511.

- [29] Ward R D, Skibinski D O F, Woodwork M. Protein heterozygosity, protein structure and taxonomic differentiation [J]. *Evolutionary Biol*, 1992, 26: 73– 159.
- [30] Romero M C L, Amaratunga T. Preliminary results of a biochemical genetic population structure study of the squid, *Illex illecebrosus* [Z]. *Nafo Scr Doc*, 1981, 103, Serial No. N405, 5.
- [31] Perez-Losada M, Guerra A, Sanjuan A. Allozyme electrophoretic technique and phylogenetic relationships in three species of *Sepia* (Cephalopoda: Sepiidae) [J]. *Comp Biochem Physiol B*, 1996, 114: 11– 18.
- [32] Natsukari Y, Nishiyama Y, Nakanishi Y. A preliminary study of the isozymes of the Loliginid squid *Photololigo edulis* (Hoyle, 1885) [J]. *Rep Coop Invest Shiro-ika Loligo edulis Inhab West Jpn Sea*, 1986, 2: 145– 151.
- [33] Suzuki H, Ichikawa M, Matsumoto G. Genetic approach for elucidation of squid family [A]. Okutani T, O' dor R K, Kubodera T, eds *Recent advances in fisheries biology*[M]. Tokyo: Tokai University Press, 1993, 531– 535.
- [34] Yeatman J, Benzie J A H. Cryptic speciation in *Loligo* from Northern Australia [A]. Okutani T, O' dor R K, Kubodera T, eds: *Recent advances in fisheries biology*[M]. Tokyo: Tokai University Press, 1993. 641– 652.
- [35] Brierley A S. Aspects of genetic diversity and population structure in squid(Ph D Thesis) [D]. UK, Liverpool: University of Liverpool, 1992. 279.
- [36] Brierley A S, Thorpe J P, Clarke M R, et al. A preliminary biochemical genetic investigation of the population structure of *Loligo forbesi* Steenstrup, 1856 from the British Isles and the Azores [A]. *Recent advances in fisheries biology*[C]. Tokyo: Tokai University Press, 1993, 61– 69.
- [37] Izuka T, Segawa S, Okutani T, et al. Evidence on the existence of three species in the oval squid *Sepioteuthis lessoniana* complex in Ishigaki Island, Okinawa, southwestern Japan, by isozyme analyses [J]. *Venus*, 1994, 53(3): 217– 228.
- [38] Fujio Y. Genetic variability and heterotic effects within population of aquatic organisms [J]. *Fish Genet Breed Sci*, 1997, 24: 43– 52.
- [39] Nevo E. Genetic variation in natural populations: patterns and theory [J]. *Theoretical Population Biol*, 1978, 13: 121– 177.
- [40] Nevo, E, Beiles A, Ben-Shlomo R. The evolutionary significance of genetic diversity: ecological, demographic and life history correlates [A]. Mani G S, ed: *Evolutionary dynamics of genetic diversity*[M]. Berlin: Springer-Verlag, 1984. 13– 213.
- [41] Fevolden S E, Hang T, Vader W. Intra- and interspecific allozymic variation in *Liparis fabricii* and *Liparis gibbus* (Teleostei, Liparidae) from Spitsbergen waters [J]. *Polar Biol*, 1989, 10: 107– 111.
- [42] Patamello T, Bisol, P M, Varotto V, et al. A study of enzyme polymorphism in the Antarctic amphipod, *Paramoera walkeri* Stebbing [J]. *Polar Biol*, 1990, (10): 495– 498.
- [43] Rodhouse P G. Squid fisheries in the South Atlantic [J]. *N E R C News*, 1988, (5): 20– 21.
- [44] 唐逸民, 李星颜. 海洋渔业生物学[M]. 北京: 农业出版社, 1991, 641– 686.
- [45] Gardner J P A, Skibinski D O F. Mitochondrial DNA and allozyme covariation in a hybrid mussel population [J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 1991, 149: 45– 54.
- [46] Karl S A, Avise J C. Balancing selection at allozyme loci in oysters: implications from nuclear RFLPs [J]. *Science*, 1992, 256: 100– 102.
- [47] Rigga A, Cellos D, Mormerot M. Mitochondrial DNA from the scallop *Pecten maximus*: an unusual polymorphism detected by restriction fragment length polymorphism analysis [J]. *Heredity*, 1997, 79: 380– 387.
- [48] Norman J, Murphy J M, Pierce G, et al. Preliminary molecular genetic analysis of stock structures in the squid *Loligo forbesi* (Steenstrup) [A]. ICES Shellfish Committee C M [C]. 1994/ K. 23, 8.
- [49] Shaw P W, Pierce G J, Boyle P R. Subtle population structuring within a highly vagile marine invertebrate, the veined squid *Loligo forbesi*, demonstrated with microsatellite DNA markers [J]. *Molecular Ecology*, 1999, 8: 407– 417.
- [50] Hughes C R, Queller D C. Detection of highly polymorphic microsatellite loci in a species with little allozyme polymorphism [J]. *Molecular Ecology*, 1993, 2: 131– 137.
- [51] Jarne P, Viard F, Delay B, et al. Variable microsatellites in a highly selfing snail *Bulinus truncatus* (Basommatophora: Planorbidae) [J]. *Molecular Ecology*, 1994, 3: 527– 528.
- [52] Shaw P W. Polymorphic microsatellite DNA markers in the veined squid *Loligo forbesi* [J]. *Molecular Ecology*, 1997, 6: 297– 298.
- [53] Adcock G J, Carvalho G R, Rodhouse P G, et al. Highly polymorphic microsatellite loci of the heavily fished squid genus *Illex* (Ommastrephidae) [J]. *Molecular Ecology*, 1999, 8: 165– 166.
- [54] Shaw P W, Perez-Losada M. Polymorphic microsatellites in the common cuttlefish *Sepia officinalis* (Cephalopoda) [J]. *Mol Ecol*, 2000, 9 (2): 237– 238.
- [55] Greated E C, Jones C S, Murphy J, et al. Microsatellite markers for investigating population structure in *Octopus vulgaris* (Mollusca: Cephalopoda) [J]. *Mol Ecol*, 2000. 9(5): 641– 21.