

文章编号: 1674 - 5566(2016)03 - 0359 - 08

DOI:10.12024/jsou.20150401409

东海海区东方鲀属鱼类的杂交现象

尹璐, 龚小玲, 鲍宝龙

(上海海洋大学 省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306)

摘要: 从东海海区采集的 15 尾东方鲀属鱼类中的 11 尾个体, 兼具点状和条状花纹, 很可能是东方鲀属鱼类的杂交后代。线粒体基因 *CO I* 显示这些个体与菊黄东方鲀 (*Takifugu flavidus*) 和双斑东方鲀 (*T. bimaculatus*) 关系最为接近, 然后是横纹东方鲀 (*T. oblongus*), 最后是暗纹东方鲀 (*T. obscurus*)。利用 EPIC 标记 (Exon-primed intron-crossing markers) 技术调查了此 15 尾个体及本实验室收集的菊黄东方鲀、双斑东方鲀和暗纹东方鲀的内含子序列, 显示此 15 尾个体与菊黄东方鲀、双斑东方鲀和暗纹东方鲀关系均非常接近, 难以区分。进一步通过比较此 15 尾东方鲀属鱼类的体色以及背鳍、臀鳍和胸鳍的鳍条数, 可以明确这些个体中至少部分是菊黄东方鲀与双斑东方鲀、或与暗纹东方鲀、或与横纹东方鲀的杂交体, 但也不排除部分个体是横纹东方鲀与菊黄东方鲀、或与双斑东方鲀、或与暗纹东方鲀的杂交体, 表明东海海区存在东方鲀属的杂交体或天然杂交现象。

关键词: 东海海区; 东方鲀属; 杂交; 体纹; 鳍条数

中图分类号: S 917 **文献标志码:** A

东方鲀属 (*Takifugu*) 鱼类是隶属于鲀形目 (Tetraodontiformes) 的一个地域性分布类群, 主要分布于日本岛至中国沿海海域^[1-3]。据中国动物志记载我国东方鲀属鱼类有 22 种, 分布在珠江、长江等大的河口区及渤海、黄海、东海和南海等海域^[4]。该属鱼类肉质鲜美, 但多数种类有剧毒, 鱼种鉴别错误造成误食的事件也时有发生, 东方鲀属鱼类形态差异不大, 准确鉴定种类不易。AKIRA 等^[5]对暗纹东方鲀 (*T. obscurus*) 等 6 种东方鲀构建分子系统发生树, 表明东方鲀属内的亲缘关系很接近。此外, 东方鲀属内近缘杂交频率较高^[6], MASUDA 等^[7]报道了黄鳍东方鲀 (*T. xanthopterus*) 与虫纹东方鲀 (*T. vermicularis*) 的天然杂交现象, 杂交后代兼有亲本的性状, 而近些年来放流规模不断扩大, 有可能更促进了其属内的杂交^[8]。渤海海区也有红鳍东方鲀 (*T. rubripes*) 和假睛东方鲀 (*T. pseudommus*) 天然杂交种的报道^[9]。本研究在东海自然海区采集到 15 尾东方鲀属的鱼类, 外形非常相似, 其中, 11

尾个体的体表兼具点状和条状花纹, 有些个体与任何目前描述东方鲀属鱼类的形态特征不一致, 推测这些个体有可能是东方鲀属鱼类的杂交体, 结合调查线粒体基因 *CO I* 和核基因组内含子序列, 表明东海自然海区存在东方鲀属鱼类的杂交现象。

1 材料与方法

1.1 样本采集与形态学鉴定

2013 年 7 月在上海市芦潮港收购到 15 尾野生河鲀, 采样信息见表 1, 参照中国动物志硬骨鱼纲^[4]与 Fishbase 网站 (<http://fishbase.org/>) 初步鉴定为东方鲀属, 但由于其体表花纹不尽相同, 分别为纹状、点状和点纹兼有的个体, 与已知东方鲀属鱼类的体表描述有一定差异, 故无法确定其确切的种类。在分别对所有个体拍照、编号并测量其体长、体质量后, 取每尾个体的背部肌肉组织, 用 95% 乙醇固定, 4 °C 保存备用作后续基因序列分析。另外在上海芦潮港和上海崇明收

收稿日期: 2015-04-16 修回日期: 2015-12-24

基金项目: 国家自然科学基金(41176108); 上海市教育委员会创新重点项目(14zz145)

作者简介: 尹璐 (1991—), 女, 硕士研究生, 研究方向为鱼类发育生物学。E-mail: yinlubaobao@126.com

通信作者: 鲍宝龙, E-mail: blbao@shou.edu.cn

购到野生黄鳍东方鲀和双斑东方鲀,在上海市水产研究所和江苏靖江购得养殖的暗纹东方鲀和菊黄东方鲀(表1)。

表1 本研究所采集的东方鲀样品信息

Tab. 1 The information of collected samples of *Takifugu*

编号 number	体长/cm length	体质量/g weight	采样地 sampling site	采样时间 sampling time
361	12.1	95	上海芦潮港	2013.7.12
358	13.2	100	上海芦潮港	2013.7.12
360	12.7	98	上海芦潮港	2013.7.12
365	12.3	95	上海芦潮港	2013.7.12
355	14.0	102	上海芦潮港	2013.7.12
356	14.2	98	上海芦潮港	2013.7.12
357	12.9	92	上海芦潮港	2013.7.12
366	13.4	96	上海芦潮港	2013.7.12
350	12.2	85	上海芦潮港	2013.7.12
494	11.9	90	上海芦潮港	2013.7.12
354	12.3	92	上海芦潮港	2013.7.12
363	11.4	90	上海芦潮港	2013.7.12
364	13.9	100	上海芦潮港	2013.7.12
359	12.8	96	上海芦潮港	2013.7.12
496	13.2	98	上海芦潮港	2013.7.12
<i>T. flavidus</i>	20.2	370	江苏靖江水产品批发市场	2013.5.4
<i>T. bimaculatus</i>	24.2	473	上海崇明	2012.11.10
<i>T. obscurus</i>	15.0	78	上海市水产研究所青浦养殖基地	2012.8.20
<i>T. xanthopterus</i>	11.4	100	上海芦潮港	2013.7.12

1.2 DNA 提取、PCR 扩增及测序

取约 100 mg 肌肉组织经蛋白酶 K 消化后,使用酚/氯仿法抽提基因组 DNA,经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后, -20 °C 保存。从 NCBI 数据库中下载暗纹东方鲀等东方鲀属所有已有的 11 种鱼的 CO I 基因序列, 比对之后在此基因保守区设计引物, 引物序列为 F: 5'-CACCCTATACCTAGTTTTTGGTGCC-3', R: 5'-GAAGGTTGTATTTAGGTTTCGGTCA G-3', 扩增片段长度 610 bp; 此外, 采用了 EPIC 标记技术, 选用了两对非模式硬骨鱼跨越内含子通用引物^[10] 55378E1 F: 5'-ATGARGAAAATGAGGCCAACTTGCT-3', R: 5'-GCCACCTGKGTATTGATTATAGCTGAG-3' 与 55305E1 F: 5'-CCTAGTGGACTGTARTAACGCCCCYCT-3', R: 5'-AAGCCATCCAGTTTGCATAAACACTATC-3'。用于扩增 CO I 基因的 PCR 反应总体积为 20 μL, 其中包含: ddH₂O 8 μL, 2 × Taq mix 10 μL, 上下游引物各 0.5 μL 和 DNA 模板 1 μL。PCR 反应条件为: 95 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 30 s, 56 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 35 个循环; 72 °C 延伸 10 min。用于扩增 55378E1 与 55305E1 片段的 PCR 反应总体积为

20 μL, 其中包含: ddH₂O 7.92 μL, 2 × Taq mix 10 μL, 上下游引物各 0.64 μL, DNA 模板 0.8 μL。PCR 反应采用两步法, 条件为: 95 °C 预变性 30 s, 98 °C 变性 10 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 15 个循环; 98 °C 变性 10 s, 58 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 15 个循环。所有的 PCR 反应均在 Eppendorf PCR 仪上完成。每组 PCR 反应均设置阴性对照以检验是否存在污染。扩增产物使用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后, 将目的产物使用天根 DNA 凝胶回收试剂盒回收, 经连接、转化后, 送上海生工生物工程有限公司测序。

1.3 系统发生分析

使用 MEGA 5.2 软件, 基于 Kimura-2-parameter 双参模型计算遗传距离。从 NCBI 库中下载库内所有东方鲀属 CO I 基因序列, 使用软件 Clustal X 比对序列, 通过 JModeltext 对建树模型进行选择, 分别使用软件 RaxML, 以 GTRGAMA 模型构建最大似然法系统进化树; 使用 Mrbayes 软件, 以 GTRCAT 模型构建贝叶斯法系统进化树, 初步判断 15 尾未知东方鲀样本与已知东方鲀鱼类的进化关系。再将两个 EPIC 标记片段比对后联合进行分析, 使用 JModeltext 对建树模型

进行选择,分别使用软件 RaxML,以 GTRGAMA 模型构建最大似然法系统进化树;使用 MrBayes 软件,以 GTRCAT 模型构建贝叶斯法系统进化树。

2 结果

2.1 基于 CO I 基因序列的系统关系

为确定 15 尾杂交东方鲀的系统发生关系,克隆了此 15 尾个体及本实验室采集的暗纹东方鲀、双斑东方鲀、黄鳍东方鲀与菊黄东方鲀的 CO I 基因序列。所测定的 19 条 CO I 序列长度均为 610 bp,无插入与缺失。其平均碱基组成为 T:27.2%、C:30.5%、A:24.3%、G:18.0%,A+T 含量为 51.5%,G+C 含量为 48.5%,序列的碱基组成无明显的偏好性。19 尾个体之间的平均遗传距离为 0.005。

将测序得到的 CO I 序列比对分析,结果显示,所有个体均与暗纹东方鲀、菊黄东方鲀、双斑东方鲀 CO I 序列一致性大于 98%;从 NCBI 库中下载所有已知东方鲀属鱼类 CO I 基因序列,包括暗纹东方鲀、星点东方鲀(*T. niphobles*)、横纹东方鲀(*T. oblongus*)、弓斑东方鲀(*T. ocellatus*)、豹纹东方鲀(*T. pardalis*)、斑点东方鲀(*T. poecilonotus*)、紫色东方鲀(*T. porphyreus*)、红鳍东方鲀、密点东方鲀(*T. stictonotus*)、虫纹东方鲀和黄鳍东方鲀,使用 Clustal X 软件比对序列,并以最大似然法与贝叶斯法构建系统发生树,使用 SH 检验两种系统发生树间的差异是否显著,结果显示基于 CO I 序列构建的两种系统发生树 SH 检验的 *P* 值均大于临界值 0.05,即两种系统发生树之间无显著差异,故初步判断 15 尾杂交东方鲀样本与菊黄东方鲀、双斑东方鲀的进化关系最为相近,其次是横纹东方鲀,然后是暗纹东方鲀(图 1)。

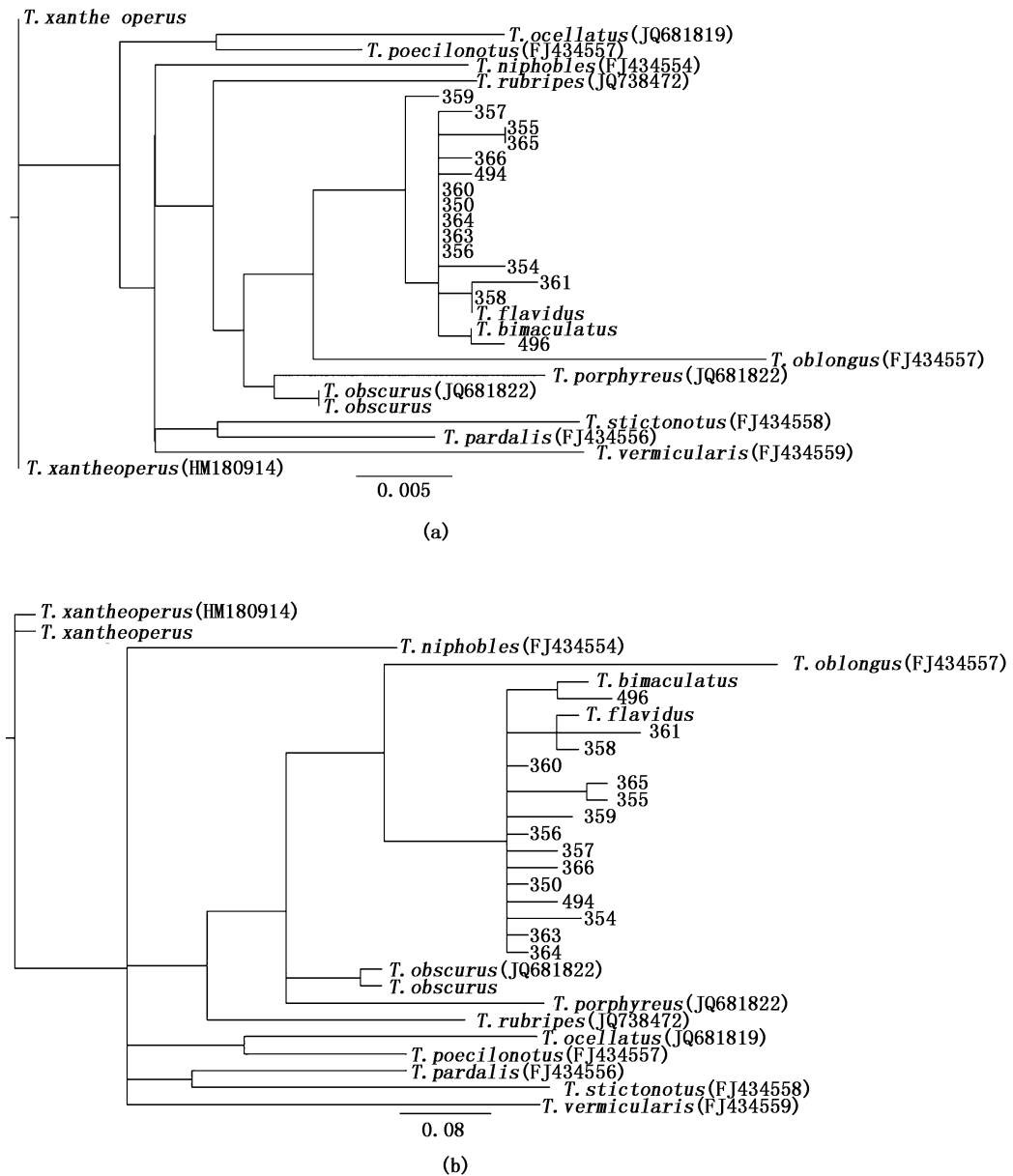
2.2 基于内含子序列的系统关系

东方鲀属内的亲缘关系比较接近,为进一步调查此 15 尾鱼的种属关系,采用了两个核基因的内含子序列 55378E1 和 55305E1。由于 GenBank 尚无此东方鲀属鱼类的内含子序列可供比较,我们只克隆和比较了此 15 尾个体以及本

实验室所采集的菊黄东方鲀、双斑东方鲀和暗纹东方鲀的内含子序列。所测定的 18 条 55378E1 片段序列长度在 1 032~1 066 bp 之间,所有个体在 256~278、362~368 位点上均有不同个数的连续碱基 G、在 755~770 位点上有不同个数的连续碱基 TG,菊黄东方鲀、暗纹东方鲀与个体 356 在 471~475 位点上缺失 5 个碱基,18 尾个体之间的平均遗传距离为 0.011。所测定的 18 条 55305E1 序列长度在 956~966 bp 之间,361 个体在 269 位插入碱基 A,个体 357、359 与 360 在 556~567 位点缺失 11 个碱基,18 尾个体之间的平均遗传距离为 0.005。将 2 个内含子片段编辑在一起,分别构建最大似然法(图 2a)和贝叶斯(图 2b)系统进化树。使用 SH 检验两种系统发生树间的差异是否显著,结果显示基于 2 个内含子序列构建的两种系统发生树 SH 检验的 *P* 值大于临界值 0.05,即两种系统发生树之间无显著差异,显示此 15 尾个体混杂在菊黄东方鲀、暗纹东方鲀和双斑东方鲀之中。

2.3 形态学数据

以上的分子系统关系表明此 15 尾个体与菊黄东方鲀、双斑东方鲀、暗纹东方鲀和横纹东方鲀关系最为接近。同样,此 15 尾个体的形态特征尤其是体纹、鳍条数目也与此 4 种鱼类相近。15 尾个体的体纹可分为 3 类:点状个体、纹状个体和点纹兼有个体(表 2)。只有个体 364 和菊黄东方鲀一样,其背部密布白色圆点,此外,其背鳍鳍条数 16,臀鳍鳍条数 14,胸鳍鳍条数 17,也与菊黄东方鲀的各鳍条数相似,因此,个体 364 有可能就是菊黄东方鲀。个体 494、354 和 363 背部全身均匀分布白色条纹,其臀鳍鳍条数 14,只符合暗纹东方鲀的体纹和鳍条数的特征,很有可能就是暗纹东方鲀。而个体 496 的臀鳍鳍条数只有 12,体纹是点纹兼有,符合横纹东方鲀的形态特征。其余 10 尾个体 366、350、358、360、361、365、355、359、357 和 356 为点纹兼有。在体纹和各鳍条数等两方面,此 10 尾个体没有与菊黄东方鲀、双斑东方鲀、暗纹东方鲀和横纹东方鲀完全一致的描述。

图 1 基于 *CO I* 基因的系统进化树Fig. 1 Phylogenetic trees based on *CO I* gene

(a) 基于 *CO I* 基因构建的最大似然法树; (b) 基于 *CO I* 基因构建的贝叶斯树。

(a) the ML tree based on the *CO I* gene; (b) the Bayes tree based on the *CO I* gene.

3 讨论

相对于体内受精的种类, 体外受精的鱼类种间天然杂交的现象更普遍^[11-13], 天然种间杂交后代形态学上兼具两种亲本的特征^[14]。在东方鲷属鱼类, 已有关于种间天然杂交的报道, 日本学者曾发现 6 尾未知东方鲷属鱼类, 经形态学与

同工酶分析认为此 6 尾鱼为虫纹东方鲷与黄鳍东方鲷的杂交后代^[7]。细胞色素 b 和 12S rDNA 基因序列分析表明, 东方鲷属鱼类的进化关系较近, 物种分化时间较短^[15]。在东方鲷属中, 菊黄东方鲷、双斑东方鲷、暗纹东方鲷和横纹东方鲷之间的进化关系十分接近^[5], 此外, 菊黄东方鲷和暗纹东方鲷的染色体数目均为 44 条^[16], 表明这两种东方鲷发生杂交是完全可能的。

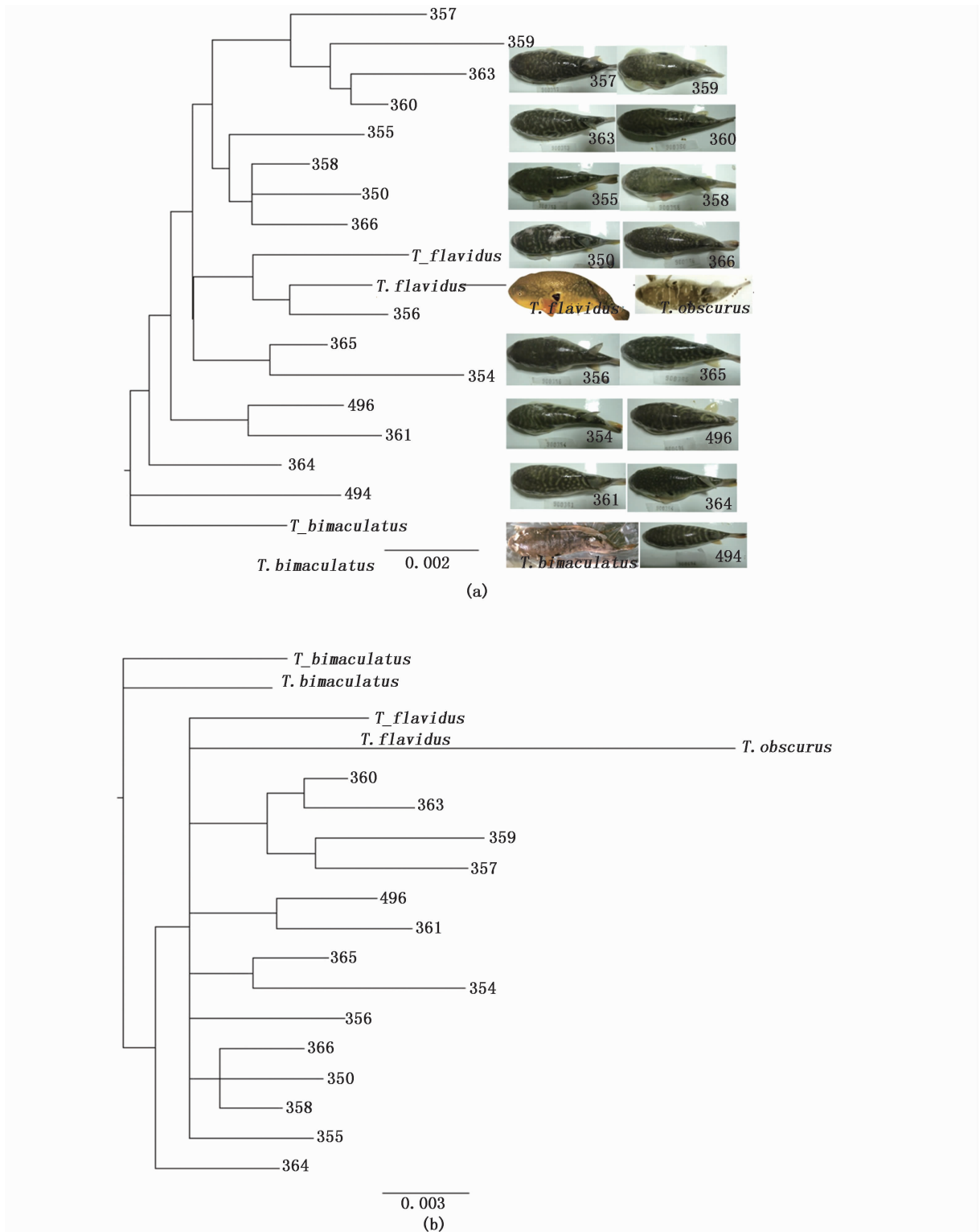


图2 基于内含子片段的系统发生树

Fig.2 Phylogenetic trees based on 2 intron fragments

(a) 基于内含子片段构建的最大似然法树; (b) 基于内含子片段构建的贝叶斯树。

(a) the ML tree based on the intron fragments; (b) the Bayes tree based on the intron fragments.

表 2 形态学特征比较

Tab. 2 Comparisons of morphological features

形态特征 morphological features		样本编号 sample No.	参考文献描述的形态特征 ^[4] morphological features described in reference
体纹 body color pattern	点状	364	菊黄东方鲀为点状体纹, 双斑东方鲀和暗纹东方鲀为纹状条纹, 横纹东方鲀为点纹兼有的体纹
	纹状	354, 363, 494	
	点-纹-点	366, 350, 358, 360, 361, 365	
	点-纹-纹	496, 355, 359, 357, 356	
背鳍 条数 dorsal fin ray No.	16	364	菊黄东方鲀背鳍条数为 15 - 16, 双斑东方鲀为 13 - 14, 暗纹东方鲀为 15 - 18, 横纹东方鲀为 12 - 14
	15	355, 359, 357, 356, 366, 350, 358, 360, 361, 365, 354, 363, 494	
	14	496	
臀鳍 条数 anal fin ray No.	14	355, 359, 357, 356, 366, 350, 358, 364, 361, 365, 354, 363, 494	菊黄东方鲀背鳍条数为 13 - 14, 双斑东方鲀为 12, 暗纹东方鲀为 13 - 16, 横纹东方鲀为 10 - 12
	13	360	
	12	496	
胸鳍 条数 pectoral fin ray No.	18	361, 360	菊黄东方鲀背鳍条数为 17 - 18, 双斑东方鲀为 15 - 18, 暗纹东方鲀为 16 - 18, 横纹东方鲀为 15 - 17
	17	358, 365, 355, 366, 494, 364, 359	
	16	356, 357, 350, 354, 363, 496	

由于东方属鱼类物种分化时间较短^[17], 不易准确区分东方鲀属种之间的关系。利用与已公开发表的 13 种东方鲀属鱼类的线粒体基因 *CO I* 序列, 不管利用最大似然法构建的进化树还是利用贝叶斯树, 此 15 尾个体与菊黄东方鲀的点状和双斑东方鲀聚为一支, 表明此 15 尾个体与这两种鱼类关系最为接近, 然后依次为横纹东方鲀和暗纹东方鲀。为了进一步确定 15 尾个体的种属关系, 我们利用两对内含子通用引物扩增了内含子序列, 比较了核基因的内含子序列, 表明此 15 尾个体混杂在菊黄东方鲀、暗纹东方鲀和双斑东方鲀之间。由于本实验室没有横纹东方鲀的样品, 无法比较横纹东方鲀的相应内含子序列, 鉴于依据 *CO I* 序列构建的系统关系树中, 此 15 尾个体与横纹东方鲀也很接近, 不排除此 15 尾个体也可能是横纹东方鲀和菊黄东方鲀、双斑东方鲀或暗纹东方鲀的杂交体。

其中 10 尾鱼(个体 366、350、358、360、361、365、355、359、357 和 356) 在体纹和各鳍条数上, 与菊黄东方鲀、双斑东方鲀、暗纹东方鲀和横纹东方鲀没有完全一致, 体纹和鳍条数目介于此 4 种鱼之间, 形成中间类型。此外, 这 10 尾个体中, 个体 357 和 356 的体纹和各鳍条数一致, 个体 366、358 和 365 的体纹和各鳍条数一致, 而其余 5 尾个体的体纹和各鳍条数没有完全相同的, 结合此 10 尾个体在所依据 *CO I* 序列或 EPIC 所构建

的系统关系树中的位置, 可判断此 10 尾个体应为东方鲀属的杂交体, 而不太可能是新种。至于这 10 尾个体是其中哪两种杂交, 目前的证据很难确定。本研究所采集的样本直接来自东海区芦潮港渔民捕捞, 这些杂交后代生活在东海海区, 有可能是自然海区此 4 种东方鲀属鱼类的天然杂交体, 如果是天然杂交, 今后有必要调查其天然的产卵场。另外, 由于目前有人工开展菊黄东方鲀和双斑东方鲀杂交的研究^[18], 不能排除这些杂交后代是人工杂交后代在养殖过程中逃逸或人工放流的结果。如果天然海区东方鲀属鱼类的杂交, 是由于放流增殖规模的不断扩大或人工杂交种群的大量繁育逃逸的结果, 则有可能导致天然水域东方鲀属鱼类的种质混杂, 应需引起管理部门的重视。

感谢上海海洋大学李晨虹教授和旷婷同学在本研究方法上的支持和帮助!

参考文献:

- [1] 成庆泰, 王存信, 田明诚, 等. 中国东方鲀属鱼类分类研究[J]. 动物学报, 1975, 21(4): 359 - 378.
CHENG Q T, WANG C X, TIAN M C, et al. Studies on the Chinese tetraodonoid fishes of the genus *Fugu* [J]. Acta Zoologica Sinica, 1975, 21(4): 359 - 378.
- [2] 王奎旗, 陈梅, 高天翔. 东方鲀属鱼类的分类与区系分布研究[J]. 青岛海洋大学学报, 2001, 31(6): 855 - 860.

- WANG K Q, CHEN M, GAO T X. Study on taxonomy and fauna of *Takifugu* [J]. Journal of Ocean University of Qingdao, 2001, 31(6): 855-860.
- [3] 杨桂梅, 鲍宝龙. 河鲀和河鲀毒素之间关系的研究进展[J]. 上海水产大学学报, 2008, 17(6): 734-739.
- YANG G M, BAO B L. Research progress on the tetrodotoxin in puffer fish[J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2008, 17(6): 734-739.
- [4] 苏锦祥, 李春生. 中国动物志: 硬骨鱼纲-鲀形目-海蛾鱼目-喉盘鱼目-鲀鲷目[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- SU J X, LI C S. Chinese Fauna: Osteichthyes, Tetraodontiformes, Pegasiformes, Gobiesociformes, Lophiiformes[M]. Beijing: Science Press, 2002.
- [5] KATO A, DOI H, NAKADA T, et al. *Takifugu obscurus* is a euryhaline fugu species very close to *Takifugu rubripes* and suitable for studying osmoregulation[J]. BMC Physiology, 2005, 5: 18.
- [6] 张玉波, 何舜平. 细胞色素 b 和 12S rRNA 基因序列变异与东方鲀属鱼类系统发育[J]. 科学通报, 2007, 52(21): 2507-2516.
- ZHANG Y B, HE S P. Investigations into the perplexing interrelationship of the Genus *Takifugu* Abe, 1949 (Tetraodontiformes, Tetraodontidae) [J]. Chinese Science Bulletin, 2007, 52(21): 2507-2516.
- [7] MASUDA Y, SHINOHARA N, TAKAHASHI Y, et al. Occurrence of natural hybrid between pufferfishes, *Takifugu xanthopterus* and *T. vermicularis*, in Ariake Bay, Kyushu, Japan [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1991, 57(7): 1247-1255.
- [8] 马爱军, 陆丽君, 陈超, 等. 东方鲀属主要经济鱼种繁育养殖、育种和基因研究现状[J]. 海洋科学, 2011, 35(11): 128-133.
- MA A J, LU L J, CHEN C, et al. Breeding and genetic research of major economic species of *Fugu* [J]. Marine Science, 2011, 35(11): 128-133.
- [9] 孙铁鸥, 焦燕, 曾晓起. 渤海莱州湾红鳍东方鲀 (*Takifugu rubripes*) × 假睛东方鲀 (*Takifugu pseudommus*) 天然杂交种一例[J]. 青岛海洋大学学报, 1999, 29(2): 239-242.
- SUN T O, JIAO Y, ZENG X Q. The natural hybrid strain of *Takifugu rubripes* and *Takifugu pseudommus* in Laizhou Bay, the BohaiSea [J]. Journal of Ocean University of Qingdao, 1999, 29(2): 239-242.
- [10] LI C H, RIETHOVEN J J M, MA L B. Exon-primed intron-crossing (EPIC) markers for non-model teleost fishes [J]. BMC Evolutionary Biology, 2010, 10: 90.
- [11] TRANAH G, CAMPTON D E, MAY B. Genetic evidence for hybridization of pallid and shovelnose sturgeon [J]. Journal of Heredity, 2004, 95(6): 474-480.
- [12] HUBBS C, STRAWN K. Interfertility between two sympatric fishes, *Notropis lutrensis* and *Notropis venustus* [J]. Evolution, 1956, 10(4): 341-344.
- [13] THORGAARD G H, ALLENDORF F W. Developmental genetics in fishes [M]//MALACINSKI G M. Developmental Genetics of Animals and Plants. New York: MacMillan, 1988: 369-391.
- [14] BARTON N H. Gene flow past a cline [J]. Heredity, 1979, 43(3): 333-339.
- [15] ZHANG Y B, HE S P. Investigations into the perplexing interrelationship of the Genus *Takifugu* Abe, 1949 (Tetraodontiformes, Tetraodontidae) [J]. Chinese Science Bulletin, 2008, 53(2): 233-244.
- [16] 陈家长, 胡庚东, 尤洋, 等. 三种东方鲀核型的研究[J]. 中国畜禽种业, 2005, (7): 46-48.
- CHEN J C, HU G D, YOU Y, et al. Karyotype research of 3 *Takifugu* [J]. The Chinese Livestock Breeding, 2005, (7): 46-48.
- [17] IGARASHI Y, DOI H, YAMANOUE Y, et al. Molecular phylogenetic relationship of *Tetraodon* pufferfish based on mitochondrial DNA analysis [J]. Fisheries Science, 2013, 79(2): 243-250.
- [18] 钟建兴, 钟然, 杨盛昌. 菊黄东方鲀和双斑东方鲀及其种间杂交子代的 ISSR 分析[J]. 台湾海峡, 2008, 27(2): 152-155.
- ZHONG J X, ZHONG R, YANG S C. SSR analysis on two species of *Fugu* and their hybrid descendants [J]. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 2008, 27(2): 152-155.

Occurrence of hybrid among *Takifugu* in East China Sea

YIN Lu, GONG Xiaoling, BAO Baolong

(Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquacultural Ecology, Certificated by the Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: We harvested 15 individuals *Takifugu* in Luchao Seaport of the East China Sea, 11 of them were both spotted and striated on the dorsal skin, supposed to be the hybrids of *Takifugu*. DNA barcoding CO I gene showed these 15 individuals of *Takifugu* are most closed to *Takifugu flavidus* and *T. bimaculatus*, then to *T. oblongus*, then to *T. obscurus*. The exon-primed intron-crossing (EPIC) marker which is based on the polymorphosis of intron sequences, showed these fishes are closed to *T. flavidus*, *T. obscurus* or *T. bimaculatus*. We further compared the body color pattern and ray numbers of dorsal fin, anal fin and pectoral fin of there 15 individuals, and found these morphological features in ten individuals of them were not same as those in known *Takifugu* species, the morphological features seems to be the result of species hybrid. Taken together with proofs from the molecular and morphological data, we can say at lease some of these fish are the hybrids of *T. flavidus* with *T. bimaculatus*, or *T. obscurus*, or *T. oblongus*. It is possible as well that some of them are the hybrids of *T. oblongus* with *T. flavidus*, or *T. bimaculatus*, or *T. obscurus*. Our result showed that occurrence of hybrid among *Takifugu* in East China Sea, even so far we can not determine whether the species hybridization was wild or artificial.

Key words: East China Sea; *Takifugu*; hybrid; body color pattern; ray number