

中国境内松江鲈鱼群体遗传变异的 ISSR 分析

马召腾, 刘至治, 潘连德*, 蒋 鑫

(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: 运用 ISSR 分子标记技术, 分析中国境内松江鲈鱼浙江(Z)、山东(S)、河北(H)、辽宁鸭绿江(Y)等 4 个不同群体间的遗传变异。从 100 个 ISSR 引物中筛选出多态性引物 15 个, 对每群体各 30 个个体进行分析。每引物的扩增条带为 6~17 条, 共得到有效位点 181 个, 其中多态位点 136 个, 多态位点百分率为 75.14%。4 群体中, H 群体的有效等位基因数、Nei 氏基因多样性、Shannon 氏信息指数及多态位点百分率为最低, 分别为 1.258 5、0.153 0、0.232 2、49.17%; 而 Y 群体的相应值为最高, 分别为 1.479 4、0.277 7、0.411 2、74.03%; Z 和 S 两群体的值明显高于 H 群体、略低于 Y 群体。若将 4 群体作为一个整体, 则总的 Nei 氏基因多样性指数为 0.269 1、Shannon 氏信息指数为 0.400 9, 显示松江鲈鱼的遗传多样性较丰富。群体间的遗传分化系数(G_{ST})为 0.131 3, 基因流(N_m)为 3.309 4, 表明松江鲈鱼群体间存在中等程度的遗传分化和一定程度的基因交流。分子方差分析(AMOVA)表明: 在总的遗传变异中, 85.54%的变异来自种群内个体间, 14.46%的变异来自种群间; 同样, 群体间存在显著($P < 0.05$)或极显著的遗传分化($P < 0.01$)。根据群体间 Nei 氏遗传距离构建的 UPGMA 树中, Z 群体首先与 S 群体聚类、再与 Y 群体聚类, 呈现出从南向北的地理分布格局, 但 H 群体却单独为一支, 与其他群体间的距离较远。

关键词: 松江鲈鱼; 种群; 遗传变异; 简单序列重复区间扩增多态性

中图分类号: Q 347; S 917.4

文献标志码: A

松江鲈鱼(*Trachidermus fasciatus*)是我国渤海、黄海、东海沿岸及相邻淡水水域中常见的降河洄游性鱼类, 被誉为“中国四大名鱼”之首。因种种原因, 其资源日益枯竭、种群濒危, 于 1988 年被列为国家二级保护野生动物^[1-2]。以往对松江鲈鱼生态^[3-4]、胚胎发育与繁殖习性^[1,5-8]、养殖病害^[9]等方面的研究, 得知其生物学和生态学特点突出, 具有较高的科学研究价值。随后有关于松江鲈鱼染色体组型^[10]、同工酶分析^[11]等遗传学方面和群体遗传多样性的报道。从表型性状上看, 松江鲈鱼鸭绿江群体与山东的青龙河、浙江的富春江群体存在较大差异^[4]; 在分子水平上, 辽宁丹东和河北秦皇岛两个地区松江鲈鱼群体的遗传多样性水平较低,

群体间的遗传分化不大^[12-13]; 而刘海林等^[14]通过对线粒体控制区序列的分析, 认为这两个群体间的遗传分化较大。上述研究中使用的群体代表性不够、样本数量和引物数量等偏少, 所得研究结果尚不能全面、客观的反映中国境内松江鲈鱼野生种群遗传多样性现状。

简单序列重复区间扩增多态性(inter-simple sequence repeat, ISSR)是由 Zietkiewicz 等^[15]于 1994 年创建的一种 DNA 分子标记技术, 具有重复性好、多态性高、稳定性较强等特点, 目前已越来越多的被应用于水产动物的群体遗传变异分析^[12-13,16-19]。本实验利用 ISSR 技术, 对中国境内从南到北的 4 个代表性松江鲈鱼群体的遗传变异进行分析, 以

收稿日期: 2011-11-08 修回日期: 2012-03-19

资助项目: 上海市科技兴农项目(沪农科推字 2006-3-5); 上海市重点学科建设项目(Y1101); 上海市水生生物学重点学科建设项目(S30701)

通讯作者: 潘连德, E-mail: ldpan@shou.edu.cn

期了解松江鲈鱼群体间的遗传结构和遗传多样性, 为松江鲈鱼种质资源的保护、开发和利用提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

野生松江鲈鱼样本, 于 2010 年 10 月至 2011 年 3 月, 分别采自浙江富春江(简称富春江群体, 用 Z 表示)、山东黄河入海口(简称黄河群体, 用 S 表示)、河北滦河(简称滦河群体, 用 H 表示)、辽宁鸭绿江(简称鸭绿江群体, 用 Y 表示)。4 个群体分布见图 1。每群体采集活鱼 30 尾, 剪取部分右胸鳍, 用 75% 酒精保存于 4 °C 冰箱中备用。



图 1 松江鲈鱼 4 个群体的地理位置
Fig. 1 The geographic locations map of four *T. fasciatus* populations

1.2 基因组 DNA 的提取和 ISSR 扩增

基因组 DNA 提取参照文献[20]的方法, 采用“酚—氯仿”法。DNA 溶液保存于 -20 °C 冰箱备用。ISSR 引物为 University of British Columbia 设计的 100 个成套引物序列, 由上海生工生物工程有限公司合成。PCR 反应体系参照文献[12-13]方法并加以改进, 所用试剂均购自北京艾德莱生物科技有限公司。反应体系 20 μ L: 包括 DNA 模板 1 μ L (约 30 ng)、ISSR 引物 1 μ L (0.4 μ mol/L)、10 \times PCR Buffer 2 μ L (Mg^{2+} 2.5 mmol/L)、dNTP 1 μ L (250

μ mol/L)、*Taq* 酶 0.2 μ L (5 U/ μ L)、ddH₂O 14.8 μ L。PCR 反应程序: 95 °C 预变性 3 min, 接着 94 °C 30 s、退火 45 s (表 1), 72 °C 延伸 60 s, 40 个循环后, 72 °C 延伸 5 min, 4 °C 保存。所有反应均在 Eppendorf-AG22331 型 PCR 仪上进行, 扩增产物经 1.5% 琼脂糖 (含 EB 0.5 ng/ μ L) 凝胶电泳 (电压 5 V/cm) 后, 用 BIO-RAD GelDoc XR 凝胶成像系统拍照、记录和观察。

本研究从 100 个 ISSR 引物中筛选出 15 个扩增条带清楚、多态性丰富的引物 (表 1), 用于群体大样本分析。

表 1 15 个 ISSR 引物序列及其退火温度
Tab. 1 Sequences and annealing temperature of fifteen ISSR primers

引物编号 primer code	引物序列(5'-3') primer sequence	退火温度/°C annealing temperature
ISSR-807	AGA GAG AGA GAG AGA GT	50.4
ISSR-808	AGA GAG AGA GAG AGA GC	50.8
ISSR-810	AGA GAG AGA GAG AGA GGA	50.1
ISSR-811	GAG AGA GAG AGA GAG AT	51.6
ISSR-812	GAG AGA GAG AG AGA GAA	50.1
ISSR-822	TCT CTC TCT CTC TCT CA	50.8
ISSR-823	GAG AGA GAG AGA GAG AA	50.1
ISSR-834	AGA GAG AGA GAG AGA GYT	50.8
ISSR-836	AGA GAG AGA GAG AGA GYA	50.4
ISSR-840	GAG AGA GAG AGA GAG AYT	50.4
ISSR-844	CTC TCT CTC TCT CTC TRC	51.2
ISSR-846	CAC ACA CAC ACA CAC ART	51.6
ISSR-873	GAC AGA CAG ACA GAC A	50.4
ISSR-881	GGG TGG GGT GGG GTG	51.2
ISSR-901	AGA GAG AGA GAG AGA GGT	50.1

Notes: R = (A, G), Y = (C, T).

1.3 数据处理

ISSR 是显性标记, 在琼脂糖凝胶电泳图谱上, 同一引物扩增产物中电泳迁移率一致的条带为同一位点。统计各个样品的扩增条带, 有带记为“1”, 无带记为“0”, 缺失的用“.”表示。建立 (0, 1) 数据矩阵, 然后用 POPGENE 1.32 软件进行遗传参数分析^[21], 并假定各群体在这些 ISSR 标记位点处于 Hardy-Weinberg 平衡状态。分析的遗传参数包括: 多态位点百分率 [$P(\%) = \text{多态位点数} / \text{位点总数} \times 100$]、等位基因数 (N_a)、有效等位基因数 (N_e)、Nei

氏基因多样性指数($H=1-\sum X_i^2$)、Shannon 氏信息指数(I)、种群总基因多样性(H_t)、种群内的基因多样性(H_s)、遗传分化系数(G_{ST})及基因流(N_m)。用 POPGENE 1.32^[21]计算群体内和群体间 Nei 氏遗传距离和遗传相似系数。用 Arlequin 3.0 软件^[22]计算群体间遗传分化系数(F_{ST} 值)及分子方差分析(AMOVA)。根据群体间的遗传距离,采用 UPGMA 进行聚类分析^[20]。

2 结果

2.1 扩增结果

本研究从 100 对引物中选出 15 对多态性 ISSR 引物,对松江鲈鱼的 4 个群体共 120 个体进行扩增,扩增条带在 200~2 000 bp,条带清晰(图 2),共获得 181 个有效位点,其中多态性位点 136 个,占 75.14%。每个引物检测到的位点数平均 12 个(表 2)。

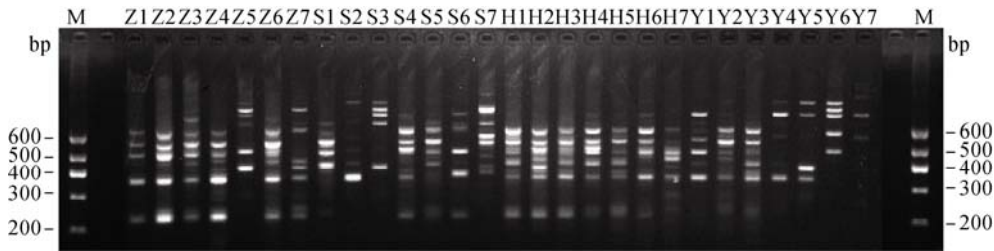


图 2 822 引物 ISSR-PCR 反应扩增多态性结果

Fig. 2 The ISSR-PCR amplification result of primer 822

表 2 ISSR 引物在松江鲈鱼群体中扩增结果

Tab. 2 PCR amplification results of ISSR primers in *T. fasciatus* populations

引物编号 primer code	位点数 site number	多态位点数 polymorphic site number	多态位点比率/% polymorphic site ratio
ISSR-807	13	9	69.23
ISSR-808	15	13	86.67
ISSR-810	15	11	73.33
ISSR-811	15	11	73.33
ISSR-812	10	10	100.00
ISSR-822	9	7	77.78
ISSR-823	9	5	55.56
ISSR-834	16	13	81.25
ISSR-836	10	7	70.00
ISSR-840	17	14	82.35
ISSR-844	11	9	81.82
ISSR-846	6	6	100.00
ISSR-873	10	6	60.00
ISSR-881	14	9	64.29
ISSR-901	11	6	54.55
总数 total	181	136	75.14
平均 average	12	9	75.00

2.2 群体遗传多样性

松江鲈鱼 4 个群体中,滦河群体(H)的有效等位基因数、Nei 氏基因多样性、Shannon 氏信息指

数及多态位点百分率为最低,分别为 1.258 5、0.153 0、0.232 2、49.17%;而鸭绿江群体(Y)为最高,分别为 1.479 4、0.277 7、0.411 2、74.03%。富春江群体(Z)、黄河群体(S)的相应数值,明显高于 H 群体,略低于 Y 群体(表 3)。

2.3 群体遗传变异与遗传分化

根据 Nei 氏基因多样性指数(H_e)计算的 4 个群体总的遗传多样性(H_t)、种群内遗传多样性(H_s)、遗传分化系数(G_{ST})分别为 0.268 8、0.233 6、0.131 3。由 G_{ST} 计算种群间的基因流值为 3.309 4,说明不同松江鲈鱼群体间存在着一定程度的基因交流。

分子方差分析(AMOVA)表明,85.54%的遗传变异存在于群体内个体间,群体间的遗传变异占 14.46%(表 4)。H 与 Y、S、Z 3 群体间的遗传分化指数(F_{ST})都较大(0.249 2~0.298 9),S、Y 群体之间的遗传分化指数最小(0.019 7)。4 群体间存在着显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)的遗传分化(表 5)。

2.4 聚类分析

H 和 S 群体之间的遗传距离最大(0.115 9),Z 和 S 群体之间的遗传距离最小(0.008 8)(表 5)。在 UPGMA 聚类树中,Z 与 S 群体首先聚类,再与 Y 群体聚类,最后与单独为一支的 H 群体聚类(图 3)。

表 3 松江鲈鱼 4 个群体的遗传多样性比较
Tab. 3 The comparison of genetic diversity among the four *T. fasciatus* populations

种群 population	N_a	N_e	H_e	I	$P/\%$
Z	1.7348	1.3754	0.2330	0.3578	73.48
S	1.7348	1.4584	0.2705	0.4031	73.48
H	1.4917	1.2585	0.1530	0.2322	49.17
Y	1.7403	1.4794	0.2777	0.4112	74.03
总体 multi-populations	1.7403	1.4606	0.2691	0.4009	74.03

表 4 4 个松江鲈鱼群体分子方差分析
Tab. 4 AMOVA analysis among the four populations of *T. fasciatus*

变异来源 source of variation	自由度 df	平方和 sum of squares	方差组分 variance components	方差比例 percentage of variation
群体间 among populations	3	303.842	2.81996	14.46
群体内 within populations	116	1935.100	16.68190	85.54
总变异 total variation	119	2238.942	19.50185	

表 5 松江鲈四个群体间的遗传分化指数 F_{ST}
(对角线上)和遗传距离(对角线下)

Tab. 5 Genetic differentiation(above diagonal)
and genetic distance(below diagonal)values
among the four populations of *T. fasciatus*

群体 population	Z	S	H	Y
Z		0.0380 ($P<0.01$)	0.2511 ($P<0.01$)	0.0296 ($P<0.01$)
S	0.0088		0.2989 ($P<0.01$)	0.0197 ($0.01<P<0.05$)
H	0.1003	0.1159		0.2492 ($P<0.01$)
Y	0.0106	0.0100	0.0879	

显然, Z、S、Y 3 群体间的亲缘关系与彼此间地理距离的远近密切相关, 呈现出从南到北的地理分布格局; 它们与 H 群体间的亲缘关系似乎与相互间地理距离的远近关联不紧密。

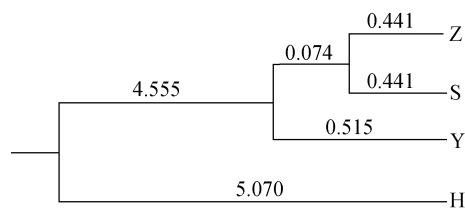


图 3 松江鲈鱼 4 群体 Nei(1978)遗传距离的
UPGMA 聚类图

Fig. 3 UPGMA Dendrogram for 4 populations of
T. fasciatus based on Nei's(1978)genetic distance

3 讨论

3.1 松江鲈鱼群体的遗传多样性

遗传多样性是种群生存和进化的基础^[2]。物种的遗传多样性越高, 其环境适应能力就越强, 这一点对于濒危物种尤为重要。本研究发现, 松江鲈鱼群体总的多态位点百分率(P)为 74.03%、Shannon 氏信息指数为 0.400 9, 均显著高于长竹蛭(*Solen strictus* Gould)、黄河鲤(*Cyprinus carpio haematopterus*)等水生生物的对值(表 6), 表明松江鲈鱼的遗传多样性较丰富。Mattner 等^[23]曾在研究植物 *Hemigenia exilis* (Lamiaceae)中指出, 处于濒危状态的物种也会保持着较高的遗传多样性, 这与本研究的结论相似。

4 群体中, 鸭绿江群体(Y)的遗传多样性最高, 滦河群体(H)的值明显低于 Y 群体(表 3), 这与刘海林等^[14]线粒体控制区(D-loop)的分析结果——丹东群体比河北秦皇岛和盘锦两个群体遗传多样性水平高的结论相吻合。不过, 徐建荣等^[27]用 AFLP 方法研究后却认为, Y 和 H 两个群体的遗传多样性处于同一水平。另外, 我们的结果明显高于徐建荣等^[13]的辽宁丹东、河北秦皇岛群体的多态位点百分率和 Shannon 氏信息指数, 这种差异可能与研究者所采用的引物数量太少(4 个)有关。比较而言, 我们的群体样本数量大, 多态性引物多, 研究结果更接近实际(表 6)。

表 6 几种水生动物遗传多样性的 ISSR 研究比较
Tab. 6 Comparison of the genetic diversity in several aquatic animals by ISSR analysis

种群 population	样本量 sample size	引物数 number of primer	H_e	I	$P/\%$	参考文献 references
松江鲈鱼 <i>Trachidermus fasciatus</i>	120	15	0.2691	0.4009	74.03	本文 this paper
长竹蛭 <i>Solen strictus</i> Gould	100	13	0.1674	0.2530	52.64	[24]
黄河鲤 <i>Cyprinus carpio haematopterus</i>	120	8	0.05~0.13	0.08~0.19	48.44	[25]
江豚 <i>Neophocaena phocaenoides</i>	36	16	0.1643	0.2413	41.71	[17]
日本沼虾 <i>Macrobrachium pponense</i>	60	9	0.10~0.17	0.15~0.27	30.00~62.00	[18]
牙鲆 <i>Paralichthys olivaceus</i>	35	12		0.1432	33.92	[19]
文昌鱼 <i>Branchiostoma balcheri</i>	17	5		0.06~0.51	50.70	[26]
松江鲈鱼 <i>Trachidermus fasciatus</i>	48	4		0.2848	44.44	[13]

3.2 松江鲈鱼群体间的遗传分化

种群遗传结构是指遗传多样性在群内和群间的分布,即遗传分化。由于温度、海沟或者人为干扰等因素对近海鱼类交流的影响,改变了海洋中鱼类不存在显著遗传结构的传统观点^[28]。 G_{ST} 是衡量群体间遗传分化程度大小的重要参数,参照 Buso 等^[29]的标准, G_{ST} 值介于 0.05~0.15 为分化程度中等。本研究中,野生松江鲈鱼群体间的 G_{ST} 为 0.131 3,显示它们存在中等程度的遗传分化。AMOVA 分析表明,4 群体间存在着显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)的遗传分化(表 5),这与 G_{ST} 分析结果相佐证。徐建荣等^[13]和刘海林等^[14]对松江鲈鱼的研究也证实了这一点。野生松江鲈鱼有着典型的降河洄游习性,一生经历江河和海洋两种环境;生活在不同地理位置的 4 个群体,生存环境存在差异^[8],地理位置上的相互隔离,使得不同群体会为适应周围环境而发生不同方向的基因突变,经过长时期的遗传累积,必然会出现一定程度的遗传分化。

在群体遗传学理论中,Wright^[30]以基因流 N_m 的临界点为判别标准,不管种群大小,只要基因流 N_m 大于或等于 1 时,就可以防止由遗传漂变引起的种群间遗传分化。本研究中,松江鲈鱼的基因流 N_m 为 3.309 4,说明大部分野生松江鲈鱼群体间存在一定程度的基因流,因此,遗传漂变并不是影响野生松江鲈鱼种群间分化的主要因素,所以遗传分化的产生主要是来自于种群内部的遗传变异。本研究表明(表 5),不同群体之间的遗传分化程度有差别,如 H 群体与其他群体的遗传分化指数(F_{ST} 为 0.24~0.30)已达到了极大程度,而 Z、S、Y 3 个群体之间分化程度相对较小(F_{ST} 为 0.020~0.039)。H

群体和 Y 群体虽处于同一纬度,但受周围复杂的环境和洋流等因素影响,虽有一定的基因交流,也会令两个群体之间因所承受的生境选择压力的差异而发生遗传分化。黄渤海间水系连通,又受到季节性海洋沿岸流影响,加上松江鲈鱼的产卵场在近海,因此,S 和 Y 群体间虽地理距离较远,仍有一定的基因交流,使得它们间的遗传分化最小($F_{ST}=0.019 7$)。UPGMA 聚类分析(图 3)表明,Z、S、Y 3 个群体按地理位置从南到北进行类聚,而唯独河北滦河群体单独为一支,显示出与其他群体较大的差异性。刘海林等^[14]也认为,辽宁丹东与河北秦皇岛种群间基因交流最少、遗传分化相对较大;宋娜等^[28]基于线粒体 DNA 对丹东和天津两地、同样生活在沿海地区的斑尾复虾虎鱼(*Synechogobius ommaturus*)进行遗传多样性研究,结果同样表明存在较大的遗传分化。从地理位置上可以看出,渤海湾与中国其他海域相比,环境较为封闭,而河北群体又处于海湾的最内部,与其他群体的交流相应会受到极大阻碍^[31]。本研究证明,松江鲈鱼群体间遗传距离的大小不能简单的依照地理距离的远近进行判断,还需综合考虑各群体生存环境的差别以及人为和自然因素的影响。

根据本研究的结果,建议对松江鲈鱼进行不同原产地的保护,也可选择遗传距离较大的群体进行杂交试验,有望获得更具生存竞争力的优良后代,将其培育为具有较高养殖性能的松江鲈鱼优良品种。

辽宁省水产苗种管理局检验检疫中心唐作鹏研究员、丹东市水产技术推广站梁天红高级工程师、山东省垦利县周先生和浙江省杭州市金先生等

同仁, 协助采集松江鲈鱼样品; 上海海洋大学水产与生命学院的曾珍、李雪松、王从涛、陈阅、邱凉、赵雪锦等研究生, 在实验过程中给予了很多帮助, 在此一并致谢。

参考文献:

- [1] 邵炳绪, 唐子英, 孙幅英, 等. 松江鲈鱼繁殖习性的调查研究[J]. 水产学报, 1980, 4(1): 81-88.
- [2] 陈灵芝. 中国的生物多样性现状及其保护对策[M]. 北京: 科学出版社, 1993: 93-113.
- [3] Takeshita N, Onikura N, Nagata S, *et al.* A note on the reproductive ecology of the catadromous fourspine scupin, *Cottus kazika*(Scorpaeniformes:Cottidae)[J]. Ichthyological Research, 1998, 46(3): 309-313.
- [4] 王金秋, 梁鸿子. 基于形态性状的松江鲈鱼(*Trachidermus fasciatus*)种群鉴别[J]. 海洋与湖沼, 2008, 39(4): 348-353.
- [5] 周明, 韦正道, 陈海明. 松江鲈鱼初期胚后发育阶段消化系统组织学的初步研究[J]. 现代渔业信息, 1996, 11(11): 1-3.
- [6] 王金秋, 潘连德, 梁天红, 等. 松江鲈鱼(*Trachidermus fasciatus*)胚胎发育的初步观察[J]. 复旦学报: 自然科学版, 2004, 43(2): 250-254.
- [7] Takeshita N, Onikura N, Matsui S, *et al.* Embryonic larval and juvenile development of the roughskin sculpin[J]. Ichthyological Research, 1997, 44(3): 257-266.
- [8] Takeshita N, Norio O, Seiichi M, *et al.* Comparison of early life-history in two catadromous sculpin, *Trachidermus fasciatus* and *Cottus kazika*[J]. Journal of National Fisheries University (Japan), 2004, 52(3): 83-92.
- [9] 蔡飞, 潘连德. 养殖松江鲈鱼车轮虫病的病原种类鉴定[J]. 江苏农业科学, 2011, 1: 264-268.
- [10] 陈建华, 赵志安, 李堃宝. 松江鲈鱼的染色体组型分析[J]. 动物学研究, 1984, 5(1): 103-105.
- [11] 王金秋, 石椿. 松江鲈鱼(*Trachidermus fasciatus*)不同组织同工酶的研究[J]. 复旦学报: 自然科学版, 2001, 40(5): 465-470.
- [12] 郁建锋, 鲍峰, 韩晓磊, 等. 松江鲈鱼 ISSR-PCR 反应体系的建立及优化研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(33): 14420-14421, 14465.
- [13] 徐建荣, 韩晓磊, 郁建锋, 等. 松江鲈群体遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 淡水渔业, 2009, 39(1): 21-35.
- [14] 刘海林, 章群, 唐优良, 等. 黄渤海松江鲈鱼线粒体控制区结构与序列多态性分析[J]. 海洋通报, 2010, 29(3): 283-288.
- [15] Zietkiewicz E, Rafalske A, Labuda D. Genome finger printing by simple sequence repeat anchored polymerase chain reaction and plification[J]. Genome, 1994, 20: 178-183.
- [16] 赵岩, 李思发, 唐首杰. 团头鲂“浦江 1 号”选育后期世代群体同野生群体间遗传变异的 ISSR 分析[J]. 水产学报, 2009, 33(6): 893-900.
- [17] 李东明, 林刚, 郑劲松. 两个不同江豚群体 ISSR 遗传多样性初步分析[J]. 南昌大学学报: 理科版, 2005, 29(6): 546-550.
- [18] Yang P, Chen L Q, Wang W, *et al.* Genetic diversity of oriental river prawn(*Macrobrachium nipponense* De Haan) revealed by ISSR markers[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(5): 913-921.
- [19] Liu Y G, Chen S L, Li J. Genetic diversity in three Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) populations revealed by ISSR markers[J]. Aquaculture, 2006, 255(1-4): 565-572.
- [20] 刘至治, 杨金权, 王正琦, 等. 长江口及其南部邻近地区大弹涂鱼种群遗传结构及种群历史分析[J]. 动物学研究, 2009, 30(1): 1-10.
- [21] Yeh F C, Boyle T J B. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits[J]. Belgian Journal of Botany, 1997, 129(2): 157.
- [22] Excoffier, Laval L G, Schneider S. Arlequin ver.3.0: An integrated software package for population genetics data analysis[J]. Evolutionary Bioinformatics Online, 2005, 1: 47-50.
- [23] Mattner J, Zanko G, Rossetto M. Conservation genetics and implications for restoration of *Hemigenia exilis* (Lamiaceae), a serpentine endemic from western Australia[J]. Biological Conservation, 2002, 107: 37-45.
- [24] 陈燕妮, 孙振兴, 常林瑞. 长竹蛭不同地理居群的遗传多样性[J]. 水生生物学报, 2010, 34(2): 270-277.
- [25] 关建义, 张芹, 屈长义, 等. 野生和人工选育黄河鲤遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 河南师范大学学报: 自然科学版, 2010, 38(4): 128-131.
- [26] Zhou H T, Gao Y Y, Chen X, *et al.* Study on genetic diversity and resource conservation of amphioxus (*Branchiostoma balcheri* Gray) population[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2005, 24(2): 102-112.
- [27] 徐建荣, 韩晓磊, 李宁, 等. 松江鲈鱼群体遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 大连水产学院学报, 2008, 23(6): 437-441.
- [28] 宋娜, 宋林, 高天翔, 等. 斑尾复虾虎鱼群体遗传多样性比较分析[J]. 水产学报, 2011, 35(3): 321-325.
- [29] Buso G S C, Rangel P H, Ferreira M E. Analysis of genetic variability in South American wild rice populations (*Oryza glumaepatula*) with isozymes and RAPD markers[J]. Molecular Ecology, 1998, 7(1): 107-117.
- [30] Wright S. Evolution in Mendelian population[M]. Genetics, 1931, 16: 97-159.
- [31] 舒妙安, 周宇芳, 朱晓宇, 等. 中国沿海拟穴青蟹群体遗传多样性的微卫星分析[J]. 水产学报, 2011, 35(7): 977-984.

Genetic variation analysis of roughskin sculpin (*Trachidermus fasciatus*) in native populations of China by ISSR

MA Zhao-teng, LIU Zhi-zhi, PAN Lian-de*, JIANG Xin

(Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education,
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The inter-simple sequence repeat (ISSR) was conducted to analyze the genetic variation of four native populations of *Trachidermus fasciatus* in China – Zhejiang population (Z), Shangdong population (S), Hebei population (H) and Yalujiang population (Y), with 15 polymorphic primers selected from 100 ISSR primers. For each population, 30 samples were used in the study. Six to seventeen bands were amplified for each primer. Altogether, 181 useful loci were detected and out of them, 136 ones were polymorphic, accounting for 75.14%. Among the four populations, H population had the lowest effective allele number (1.258 5), Nei's gene diversity (0.153 0), Shannon's information index (0.232 2), and polymorphic loci percentage (49.17%), while Y population's indexes (1.479 4, 0.277 7, 0.411 2, and 74.03%, respectively) were the highest. The corresponding values of Z and S populations were higher than those of H population and lower than those of Y population. Taking the four populations as a whole, the total Nei's gene diversity and Shannon's information index were 0.269 1 and 0.400 9, respectively, showing a relatively high diversity of *T. fasciatus*. The values of G_{ST} and N_m were 0.131 3 and 3.309 4, indicating medium differentiation and some degree of gene exchange that existed among the populations. As results of AMOVA indicated, there were 85.54% variation that existed in the individuals and 14.46% variation among populations. At the same time, there was significant differentiation among the four populations ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), too. In the UPGMA tree conducted on the genetic distance, Z and S populations clustered firstly, then with Y population, and finally joined to H population. Obviously, the Z, S, and Y populations had a relative close relationship according to their geographic distance, whereas H population showed clear divergence from the other three populations.

Key words: *Trachidermus fasciatus*; population; genetic variation; inter-simple sequence repeat (ISSR)

Corresponding author: PAN Lian-de. E-mail: ldpan@shou.edu.cn