

基于 ISSR 标记的扁玉螺 (*Neverita didyma*) 自然居群遗传结构

孙始威, 孙振兴*, 葛宜和, 闫冬春, 黄清荣

(鲁东大学生命科学学院, 烟台 264025)

摘要: 利用 ISSR 分子标记技术, 对采自大连 (DL)、烟台 (YT) 及青岛 (QD) 近海的扁玉螺 3 个自然居群的遗传结构和遗传多样性进行了分析。用 13 个引物对 90 个个体进行了 PCR 扩增, 共检测到 161 个位点, 3 个居群的多态位点比例为 74.53% ~ 85.09%, 各居群遗传多样性水平的高低依次为 YT > QD > DL。扁玉螺在物种水平上的 Nei's 基因多样性指数和 Shannon's 信息指数分别为 0.3395 和 0.5113, 在居群水平上分别为 0.2811 和 0.4189, 显示出扁玉螺有着较高的遗传多样性。AMOVA 分子变异分析表明, 扁玉螺的遗传变异有 27.16% 发生在居群间, 72.84% 发生在居群内, 居群内的遗传变异大于居群间的遗传变异。扁玉螺 3 个居群间的遗传分化系数 (G_{st}) 为 0.1720, 基因流 (N_m) 为 2.4063, Nei's 遗传距离平均值为 0.1228, 表明扁玉螺居群间虽然存在着一定程度的遗传分化, 但仍属于种内正常分化的范畴。上述结果为保护和利用扁玉螺资源提供了科学依据。

关键词: 扁玉螺; 遗传结构; ISSR

文章编号: 1000-0933(2008)11-5499-07 中图分类号: Q145 文献标识码: A

Genetic structure of natural population of *Neverita didyma* based on ISSR markers

SUN Shi-Wei, SUN Zhen-Xing*, GE Yi-He, YAN Dong-Chun, HUANG Qing-Rong

College of Life Science, Ludong University, Yantai 264025, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(11): 5499 ~ 5505.

Abstract: The genetic structure and genetic diversity in three natural populations of *Neverita didyma* were analyzed by using the molecular marker technique of inter simple sequence repeat (ISSR). The samples of the three populations were taken from the offshores of Dalian (DL), Yantai (YT) and Qingdao (QD), respectively. A total of 161 loci from 90 individuals were polymerase-chain-reaction (PCR) amplified with 13 primers. The proportion of polymorphic loci in the three populations ranged from 74.53 % to 85.09 %. The abundance of genetic diversity in the three populations arranged in a decent order was YT > QD > DL. The Nei's gene diversity and Shannon's information index of *Neverita didyma* was 0.3395 and 0.5113 at species level, 0.2811 and 0.4189 at population level, respectively, showing that the genetic diversity of *Neverita didyma* was relatively high. An analysis of the molecular variance (AMOVA) demonstrated that the among-population component accounted for 27.16 % of the total variation, while the within-population component accounted for 72.84 %. The within-population genetic variation was apparently larger than the among-population. The genetic differentiation coefficient (G_{st}), gene flow (N_m) and the average Nei's genetic distance were 0.1720, 2.4063 and

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目 (Y200D12)

收稿日期: 2008-04-02; 修订日期: 2008-07-21

作者简介: 孙始威 (1982 ~), 女, 山东青岛人, 硕士生, 主要从事海洋动物遗传学研究. E-mail: 311master@163.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: sunzx@public.ytptt.sd.cn

Foundation item: The project was financially supported by Natural Science Foundation of Shandong Province (No. Y200D12)

Received date: 2008-04-02; **Accepted date:** 2008-07-21

Biography: SUN Shi-Wei, Master candidate, mainly engaged in marine animal genetics. E-mail: 311master@163.com

0.1228, respectively among the three populations. The results indicate that although there is genetic differentiation of some extent among the three populations of *Neverita didyma*, such differentiation is well contained in the context of normal differentiation within the species. The results have laid the scientific basis for the conservation and utilization of the *Neverita didyma* resources.

Key Words: *Neverita didyma*; genetic structure; ISSR

物种的遗传结构和遗传多样性是一个物种的重要特征,遗传结构的分布与物种的繁育机制以及自然选择效应密切相关,遗传多样性则反映一个物种适应环境的能力和对环境变迁持续进化的潜力^[1]。因此,研究物种的遗传多样性和遗传结构,对生物资源的合理开发利用和种质保护,有着重要的意义。简单重复序列区间(inter simple sequence repeat, ISSR)是一种新型分子标记技术,它以模板 DNA 用量少、多态性丰富、稳定性好等特点^[2],被广泛用于各种经济动植物的群体遗传学研究。

扁玉螺(*Neverita didyma* Roding)属于腹足纲、前鳃亚纲,分布于我国南北方沿海及朝鲜半岛、日本和东南亚海域,是一种中型食用贝类,其肉味鲜美、营养丰富,有一定的经济价值。但近年来扁玉螺的资源量日趋减少,已成为贝类增殖养殖潜在的开发对象。利用 ISSR 方法研究海洋经济动物,已有一些鱼类^[3~6]和双壳贝类^[7~8]等方面的报道,迄今国内外尚未见有关扁玉螺群体遗传学的研究报道。本文以我国北方沿海的扁玉螺为对象,利用 ISSR 分子标记技术,探讨了扁玉螺不同地理居群的遗传结构和遗传多样性差异,以期扁玉螺种质资源的保护和利用提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料分别采自辽宁大连、山东烟台及青岛近海的 3 个自然居群,扁玉螺活体运回实验室后,解剖取足肌,放入 -74℃ 超低温冰箱中保存;每个居群各随机取 30 个样品,共 90 个样品(表 1)。

表 1 扁玉螺居群的地理位置及采样数目

Table 1 Locations of *Neverita didyma* populations and the numbers of individuals sampled

居群名称 Name of population	样品采集地 Sampled area	经度/ 纬度 Longitude / Latitude	取样个体数 No. of individuals
大连 DL	辽宁大连近海 Offshore of Dalian, Liaoning	E121°38' / N38°54'	30
烟台 YT	山东烟台近海 Offshore of Yantai, Shandong	E121°20' / N37°33'	30
青岛 QD	山东青岛近海 Offshore of Qingdao, Shandong	E120°19' / N36°04'	30

1.2 基因组 DNA 提取

采用常规的蛋白酶 K 消化和酚-氯仿抽提法^[9]提取基因组 DNA,用 0.7% 琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度法检测 DNA 纯度, -20℃ 保存备用。

1.3 ISSR 引物筛选和 PCR 扩增

ISSR 引物是根据加拿大哥伦比亚大学公布的序列(<http://www.biotech.ubc.ca/services/naps/primers>),由上海生工生物工程技术有限公司合成。

PCR 扩增在 PE-9600 型 PCR 仪上进行。反应总体积为 25 μl, 经优化的反应体系包括 10 × buffer, 2.0 mmol/L 的 Mg²⁺, 0.25 mmol/L 的 dNTP, 0.8 U 的 *Taq* DNA 聚合酶, 0.2 μmol/L 的 ISSR 引物, 20 ng 模板 DNA。PCR 反应程序为 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 45 s, 52℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 90 s, 45 个循环后, 72℃ 延伸 10 min, 4℃ 保存。利用优化后的反应体系, 从 30 个 ISSR 引物中筛选出了 13 个重复性好、特异性高的引物用于 ISSR-PCR 反应(表 2)。

表 2 用于 ISSR 分析的 13 个引物序列

Table 2 Sequences of 13 primers used in ISSR analysis

引物编号 Primer code	引物序列(5'-3') Primer sequence	引物编号 Primer code	引物序列(5'-3') Primer sequence
UBC 811	(GA) ₈ C	UBC 835	(AG) ₈ YC
UBC 812	(GA) ₈ A	UBC 836	(AG) ₈ YA
UBC 813	(CT) ₈ T	UBC 840	(GA) ₈ YT
UBC 814	(CT) ₈ A	UBC 856	(AC) ₈ YA
UBC 815	(CT) ₈ G	UBC 857	(AC) ₈ YG
UBC 825	(AC) ₈ T	UBC 873	(GACA) ₄
UBC 834	(AG) ₈ YT		

1.4 扩增产物的电泳检测与条带记录

PCR 扩增产物以 200 ~ 2000 bp 的标准分子量(DNA Ladder IV Marker, 北京鼎国公司产)作为参照, 阴性对照加入除模板 DNA 以外的其它各成分, 用双蒸水代替模板 DNA。以 1.2% 的琼脂糖凝胶进行电泳检测(胶中含终浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的溴化乙锭), 电泳后在凝胶成像系统下观察并拍照。由同一引物扩增的电泳迁移率一致的条带作为同一位点, 记录清晰稳定的电泳条带, 按条带的有无分别记为“1”和“0”, 构成 ISSR 表型数据矩阵。

1.5 数据分析

用 POPGENE(VERSION 1.32) 软件^[10]对 ISSR 表型数据矩阵进行遗传参数分析, 分别计算: 多态位点比例(proportion of polymorphic loci, *PPB*)、观测等位基因数(observed number of alleles, *N_a*)、有效等位基因数(effective number of alleles, *N_e*)、Nei's 基因多样性指数(Nei's gene diversity, *h*)、Shannon's 信息指数(Shannon's information index, *I*)、居群间的遗传分化系数(coefficient of genetic differentiation, *G_{st}*)、基因流(gene flow, *N_m*)、遗传相似度(genetic similarity, *S*)和遗传距离(genetic distance, *D*)。

利用 Shannon's 信息指数, 按照 Wachira 等^[11]的公式, 分别计算基于各引物扩增位点在居群(*H_{pop}*)和物种水平的遗传多态度(*H_{sp}*), 并根据 *H_{pop}* / *H_{sp}* 和 (*H_{sp}* - *H_{pop}*) / *H_{sp}* 分别计算居群内和居群间遗传变异所占的比例:

$$H_o = -\frac{1}{N} \sum X_i \ln X_i$$

式中, *H_o* 为各居群的遗传多态度, *X_i* 为位点 *i* 在某一居群中出现的频率, *N* 为在该居群中检测到的位点总数。

$$H_{pop} = \frac{1}{n} \sum H_o$$

式中, *H_{pop}* 为居群内遗传多态度, *n* 为所研究的居群数。

$$H_{sp} = -\frac{1}{N} \sum X \ln X$$

式中, *H_{sp}* 为居群总的遗传多态度, *X* 为 *n* 个居群的综合表型频率。

以 DCFA(VERSION 1.1) 软件计算 Euclidean 距离平方^[12], 利用 WINAMOVA(VERSION 1.55) 软件对居群间和居群内的遗传变异进行分子变异分析(analysis of molecular variance, AMOVA)^[13]。

2 结果

2.1 扁玉螺居群的遗传多样性

13 个 ISSR 引物对扁玉螺 3 个居群的 90 只个体共扩增出 161 个位点, 平均每个引物记录 12.4 个位点, 扩增产物的分子量大多在 200 ~ 1600 bp 之间(图 1)。3 个居群的多态位点比例、观测等位基因数、有效等位基因数、Nei's 基因多样性指数和 Shannon's 信息指数如表 3 所示。从表 3 可以看出, 烟台居群的多态位点比例最高、为 85.09%, 虽然大连居群和青岛居群的多态位点比例相同, 但根据 Nei's 基因多样性指数(*h*)和

Shannon's 信息指数(I)来看,二者的大小趋势相同,即各居群遗传多样性水平的高低依次为 $YT > QD > DL$ 。

表3 扁玉螺3个居群的遗传多样性

Table 3 The genetic diversity within three populations of *Neverita didyma*

居群名称 Population name	多态位点数 Number of polymorphic loci	多态位点比例 PPB(%)	观测等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	Nei's 基因 多样性指数 h	Shannon's 信息指数 I
大连 DL	120	74.53	1.7453 ± 0.4370	1.4280 ± 0.3553	0.2546 ± 0.1859	0.3836 ± 0.2619
烟台 YT	137	85.09	1.8509 ± 0.3573	1.5434 ± 0.3496	0.3134 ± 0.1750	0.4642 ± 0.2393
青岛 QD	120	74.53	1.7453 ± 0.4370	1.4734 ± 0.3648	0.2753 ± 0.1900	0.4088 ± 0.2673

* PPB: Proportion of polymorphic loci; N_a : Observed number of alleles; N_e : Effective number of alleles; h : Nei's gene diversity; I : Shannon's information index

Nei's 基因多样性指数(h)和 Shannon's 信息指数(I)在居群水平上分别为 0.2811 和 0.4189,在物种水平上分别为 0.3395 和 0.5113,显示出扁玉螺居群拥有较高的遗传多样性水平,物种水平的遗传多样性高于居群水平。

从 Shannon's 信息指数(I)在扁玉螺居群中的分布情况看,物种水平的遗传多态度(H_{sp})为 0.3130,居群水平的遗传多态度(H_{pop})为 0.2457;扁玉螺的遗传变异有 78.73% 存在于居群内,21.27% 的变异存在于居群间(表4)。

2.2 扁玉螺居群的遗传结构

2.2.1 居群间的遗传距离和遗传相似度

遗传距离(D)和遗传相似度(S)是衡量居群间遗传变异程度的重要参数, S 值越大,表明亲缘关系越近,遗传变异越小;而 D 值越大,则表明亲缘关系越远,遗传变异越大。根据 Nei 的公式^[14]计算居群间的无偏遗传距离和遗传相似度的结果如表5,可见遗传距离与遗传相似度所得结果是一致的,即在扁玉螺3个居群中,DL与YT之间的亲缘关系较近,DL与QD之间的亲缘关系较远。

2.2.2 居群间的遗传分化

利用 AMOVA 的等级剖分法得出的居群间和居群内对总遗传变异的贡献率表明,扁玉螺 27.16% 的变异发生在居群间,72.84% 的变异发生在居群内(表6),显著性检验显示扁玉螺居群间和居群内均有极显著的遗传分化($\Phi_{st} = 0.2720, P < 0.001$)。居群间遗传分化系数(G_{st})为 0.1720,由 G_{st} 估算的基因流(N_m)为 2.4063。

3 讨论

3.1 关于扁玉螺的遗传多样性

遗传多样性可评价物种对环境的适应能力以及进化潜力,多态位点比例则是这种评价的量化参数之一。本文中扁玉螺的多态位点比例为 74.53% ~ 85.09%,与用 ISSR 方法得出的其它海洋动物多态位点比例相比,扁玉螺自然居群的遗传多样性水平较高。如小黄鱼(*Pseudosciaena polyactis*)为 65.63%^[3],牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)为 27.45% ~ 33.92%^[4],刀鲚(*Coilia ectenes*)为 57.58% ~ 68.18%^[5],斜带髯鲷(*Haplogenyx nitens*)

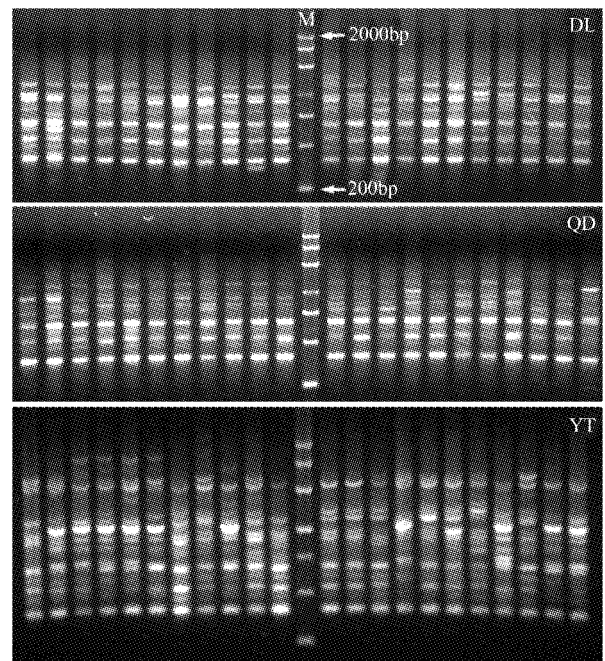


图1 引物 UBC835 对 DL、QD 和 YT 居群扩增的电泳图谱
Fig. 1 Electrophoretogram of PCR product from population DL, YT and QD by primer UBC835

表 4 扁玉螺 3 个居群内和居群间 Shannon's 信息指数的分布
Table 4 Partition of the Shannon's index within and among 3 populations of *Neverita didyma*

引物 Primers	各居群的遗传多态度 <i>H_o</i> Shannon's index of 3 populations			居群内遗传多态度 <i>H_{pop}</i>	居群总的遗传多态度 <i>H_{sp}</i>	居群内遗传多态度比例 <i>H_{pop} / H_{sp}</i>	居群间遗传多态度比例 (<i>H_{sp}-H_{pop}</i>) / <i>H_{sp}</i>
	DL	YT	QD				
UBC 811	0.2268	0.1984	0.2025	0.2092	0.3238	0.6463	0.3537
UBC 812	0.3070	0.2683	0.2043	0.2599	0.2974	0.8739	0.1261
UBC 813	0.2606	0.3068	0.2430	0.2701	0.3198	0.8447	0.1553
UBC 814	0.1953	0.2774	0.3375	0.2701	0.3206	0.8423	0.1577
UBC 815	0.3075	0.3061	0.2229	0.2788	0.2893	0.9636	0.0364
UBC 825	0.2404	0.2910	0.2270	0.2528	0.3183	0.7943	0.2057
UBC 834	0.2187	0.2628	0.2458	0.2424	0.3233	0.7498	0.2502
UBC 835	0.1813	0.2846	0.1474	0.2044	0.2863	0.7139	0.2861
UBC 836	0.2433	0.2096	0.2489	0.2340	0.3222	0.7262	0.2738
UBC 840	0.2110	0.2688	0.2556	0.2451	0.3212	0.7632	0.2368
UBC 856	0.2403	0.2611	0.1975	0.2330	0.3226	0.7221	0.2779
UBC 857	0.2570	0.2575	0.3139	0.2761	0.2987	0.9245	0.0755
UBC 873	0.2171	0.2432	0.1944	0.2183	0.3259	0.6697	0.3303
平均 Mean	0.2389	0.2643	0.2339	0.2457	0.3130	0.7873	0.2127

* *H_{pop}*: Genetic diversity within populations; *H_{sp}*: Total genetic diversity; *H_{pop}/H_{sp}*: Ratio of genetic diversity within populations; (*H_{sp}-H_{pop}*)/*H_{sp}*: Ratio of genetic diversity among populations

为 44.83% ~ 51.72%^[6], 文蛤 (*Meretrix meretrix*) 为 68.40% ~ 80.70%^[7], 翡翠贻贝 (*Perna viridis*) 为 57.14% ~ 60.78%^[8]。这是由于在上述海洋动物中除小黄鱼和刀鲚为自然居群外, 其余种类中包括人工养殖群体, 由于多代连续人工养殖造成的瓶颈效应、遗传渐渗和近亲交配等不利因素, 势必导致遗传多样性水平的下降^[15,16], 而扁玉螺目前仍为自然居群, 尚未进行人工养殖或放流增殖, 因而避免了对其遗传多样性的不利影响。

从本文得出的 Nei's 基因多样性指数(*h*) 和 Shannon's 信息指数(*I*) 两项参数看, 扁玉螺在物种水平的遗传多样性高于居群水平, 而造成居群内遗传多样性降低和遗传衰退的原因有选择效应、有效繁育个体数量减少、遗传漂变以及近交等^[17]。

表 5 扁玉螺 3 个居群间的遗传距离和遗传相似度
Table 5 Genetic distances and genetic identities index among 3 populations of *Neverita didyma*

居群名称 Population name	大连 DL	烟台 YT	青岛 QD
大连 DL	—	0.8987	0.8683
烟台 YT	0.1069	—	0.8867
青岛 QD	0.1412	0.1203	—

* 对角线右上方为遗传相似度, 左下方为遗传距离 Genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal)

表 6 扁玉螺 3 个居群遗传变异的 AMOVA 分析
Table 6 Analysis of molecular variance (AMOVA) of *Neverita didyma* three populations

变异来源 Source of variance	自由度 df	离差平方和 SSD	均方 MS	变异组分 Variance component	变异百分率 Percentage of variation (%)	<i>P</i> *
居群间 Among populations	2	547.9778	273.9889	8.3835	27.16	< 0.001
居群内 Within populations	87	1956.0667	22.4835	22.4835	72.84	< 0.001

* 交换 1000 次单倍型的显著性检验 Significant differences were calculated using 1000 permuted samples; df: Degree of freedom; SSD: Sum of square deviation; MS: Mean square

3.2 扁玉螺居群的遗传结构与遗传分化分析

AMOVA 分析从基因型的分化程度出发研究居群的遗传结构, 是分析 RAPD、ISSR 等显性标记数据的一种有效方法^[12]。本研究结果中, AMOVA 分析与 Shannon's 信息指数分析变异在居群内和居群间的分布情况

基本一致,即有 70% 以上的变异存在于各居群内,仅有小部分存在于居群间,居群内的遗传分化大于居群间的遗传分化。

本文由 POPGENE 基于 Nei's 遗传距离估算出的扁玉螺居群间遗传分化系数 G_{st} 为 0.1720,由 AMOVA 分析基于 Euclidean 距离平方得出的 Φ_{st} 为 0.2720,两种估算方法在数值上虽然不同,但二者的评价标准相同,都是反映居群遗传分化程度的重要指标^[18]。Euclidean 距离平方事实上是两个基因型的差的平方,从方差的定义出发,显然更适合用其计算离差平方和^[12],因此 WINAMOVA 软件中推荐使用 Euclidean 距离平方^[13]。Buso 等认为, G_{st} 或 Φ_{st} 值介于 0~0.05 之间表示居群间遗传分化程度很弱;0.05~0.15 为分化程度中等;0.15~0.25 为分化程度较大;大于 0.25 为分化程度很大^[18]。由此可见,扁玉螺居群间已发生了较大程度的遗传分化, G_{st} 与 Φ_{st} 值反映的遗传分化趋势是一致的。

影响居群遗传结构最重要的因素是基因交流程度和繁育方式^[19]。群体遗传学理论认为,不管居群大小,如果基因流 $Nm < 1$,遗传漂变就成为影响居群遗传结构的主导因素;但只要基因流是多向的,当每世代居群间迁移者大于或等于 1 时($Nm \geq 1$),基因流就可以防止居群间由遗传漂变引起的遗传分化^[20]。本研究中扁玉螺 3 个居群间的基因流 $Nm = 2.4063$,表明居群间存在着有效的基因流,遗传漂变不是影响扁玉螺居群遗传分化的主要因素。引起扁玉螺居群遗传分化可能与其繁育方式、各居群之间分布不连续造成的地理隔离、以及人为过度采捕导致资源量减少等因素有关。扁玉螺行交尾繁殖,其面盘幼虫的浮游期极为短暂,成体在海底匍匐生活,迁移范围较小,这些都在一定程度上限制了基因的交流。

虽然扁玉螺自然居群已出现了一定程度的遗传分化,但从遗传距离的分析可以看出,3 个居群间的遗传距离平均值为 0.1228,这与同一物种的居群间遗传距离小于 0.16 的观点^[21]是相符的,即扁玉螺的遗传分化仍属于种内正常分化的范畴。本文中,大连居群与青岛居群的遗传距离较大,而大连居群与烟台居群的遗传距离较小,这与 3 个居群所处的地理位置有关,大连与烟台之间为渤海海峡,海流水团运动畅通无阻;而青岛地处山东半岛南部,对来自渤海和黄海西北部的海流水团运动而言,山东半岛是一天然屏障,这种特殊的地理隔离导致了居群间基因流受阻。

本研究结果表明,我国北方沿海的扁玉螺自然居群有着丰富的遗传多样性,但各居群已经出现了遗传分化。这一结果客观地反映了扁玉螺不同自然居群的遗传多样性、遗传结构及居群之间的基因交流情况,为评价扁玉螺种质资源状况提供了科学依据。在此基础上,应当对扁玉螺实施遗传多样性保护和种质资源保存的策略,并根据其自然居群的遗传多样性水平较高、遗传变异大部分存在于居群内的特点,加强对分布海域内不同居群以及居群内不同类型个体的保存,避免过度采捕、环境污染等人为因素造成扁玉螺自然资源的衰减,从而合理开发和持续利用扁玉螺资源。

References:

- [1] Sokal R R, Jacquez G M, Wooten M C. Spatial autocorrelation analysis of migration and selection. *Genetics*, 1989, 121 (4): 845—855.
- [2] Li H S, Chen G Z. Genetic diversity of mangrove plant *Sonneratia caseolaris* in Hainan Island based on ISSR analysis. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24 (8): 1657—1663.
- [3] Xu G P, Zhong X M, Ding Y P, *et al.* The research on genetic diversity of *Pseudosciaena polyactis* population from the southern part of the Yellow Sea. *Marine Sciences*, 2005, 29 (11): 34—38.
- [4] Liu Y G, Chen S L, Li J, Li B F. Genetic diversity in three Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) populations revealed by ISSR markers. *Aquaculture*, 2006, 255 (1-4): 565—572.
- [5] Zhang Y, Hu Z H, Zhou Z G, *et al.* Population genetic structure of *Coilia ectenes* sampled from Yangtze River estuary revealed by RAPD-PCR and ISSR-PCR markers. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2006, 15 (4): 390—397.
- [6] Wang S F, Du J Y, Su Y Q, *et al.* The genetic structure of nature and reared groups of *Haploerythrinus nitens* by ISSR analysis. *Acta Oceanologica Sinica*, 2007, 29 (14): 105—110.
- [7] Chen D P, Shen H S, Ding Y P, *et al.* Using inter-simple sequence repeats (ISSR) technique in two populations of *Meretrix meretrix*. *Journal of Nanjing Normal University (Natural Science)*, 2004, 27 (3): 74—77.
- [8] Du X D, Li K, Huang R L, *et al.* Genetic diversity of three populations of *Penaeus viridis* as revealed by phenotypic traits, RAPD and ISSR analyses. *Journal of Tropical Oceanography*, 2007, 26 (4): 51—55.

- [9] Li L, Sun Z X, Yang S D, *et al.* Analysis of genetic variation of abalone (*Haliotis discus hannai*) populations with microsatellite markers. *Hereditas* (Beijing), 2006, 28 (12): 1549—1554.
- [10] Yeh F C, Boyle T J B. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belgian Journal of Botany*, 1997, 129 (2): 157.
- [11] Wachira F N, Waugh R, Hackett C A, *et al.* Detection of genetic diversity in tea (*Camellia sinensis*) using RAPD markers. *Genome*, 1995, 38 (2): 201—210.
- [12] Zhang F M, Ge S. Data analysis in population genetics. I. analysis of RAPD data with AMOVA. *Biodiversity Science*, 2002, 10 (4): 438—444.
- [13] Excoffier L, Smouse P E, Quattro J M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 1992, 131 (2): 479—491.
- [14] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 1978, 89 (3): 583—590.
- [15] Evans B, Bartlett J, Sweijd N, *et al.* Loss of genetic variation at microsatellite loci in hatchery produced abalone in Australia (*Haliotis rubra*) and South Africa (*Haliotis midae*). *Aquaculture*, 2004, 233 (1-4): 109—127.
- [16] Holtmark M, Klemetsdal G, Sonesson A K, *et al.* Establishing a base population for a breeding program in aquaculture, from multiple subpopulations, differentiated by genetic drift. II. Sensitivity to assumptions on the additive genetic relationships of base animals. *Aquaculture*, 2008, 274 (2-4): 241—246.
- [17] Chang Y Q, Chen X X, Ding J, *et al.* Genetic diversity in five scallop populations of the Japanese scallop (*Patinopecten yessoensis*). *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27 (3): 1145—1152.
- [18] 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. *Molecular Ecology*, 1998, 7 (1): 107—117.
- [19] Vignieri S N. Streams over mountains: influence of riparian connectivity on gene flow in the Pacific jumping mouse (*Zapus trinotatus*). *Molecular Ecology*, 2005, 14 (7): 1925—1937.
- [20] Walker C W, Vila C, Landa A, *et al.* Genetic variation and population structure in Scandinavian wolverine (*Gulo gulo*) populations. *Molecular Ecology*, 2001, 10 (1): 53—63.
- [21] Sites J W, Marshall J C. Delimiting species: a Renaissance issue in systematic biology. *Trends in Ecology and Evolution*, 2003, 18 (9): 462—470.

参考文献:

- [2] 李海生,陈桂珠. 海南岛红树植物海桑遗传多样性的 ISSR 分析. *生态学报*, 2004, 24(8): 1657~1663.
- [3] 许广平,仲霞铭,丁亚平,等. 黄海南部小黄鱼群体遗传多样性研究. *海洋科学*, 2005, 29(11): 34~38.
- [5] 张媛,胡则辉,周志刚,等. 利用 RAPD-PCR 与 ISSR-PCR 标记技术分析长江口刀鲚的群体遗传结构. *上海水产大学学报*, 2006, 15(4): 390~397.
- [6] 王世锋,杜佳莹,苏永全,等. 斜带髯鲷野生与养殖群体遗传结构的 ISSR 分析. *海洋学报*, 2007, 29(14): 105~110.
- [7] 陈大鹏,沈怀舜,丁亚平,等. 文蛤地理种群 ISSR 分子标记的初步研究. *南京师范大学学报(自然科学版)*, 2004, 27(3): 74~77.
- [8] 杜晓东,李康,黄荣莲,等. 翡翠贻贝 3 个野生种群遗传多样性分析. *热带海洋学报*, 2007, 26(4): 51~55.
- [9] 李莉,孙振兴,杨树德,等. 用微卫星标记分析皱纹盘鲍群体的遗传变异. *遗传*, 2006, 28(12): 1549~1554.
- [12] 张富民,葛颂. 群体遗传学研究中的数据处理方法 I. RAPD 数据的 AMOVA 分析. *生物多样性*, 2002, 10(4): 438~444.
- [17] 常亚青,陈晓霞,丁君,等. 虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 5 个群体的遗传多样性. *生态学报*, 2007, 27(3): 1145~1152.