研究论文 · Jinn ARTICLE

3个花鳗鲡地理种群的 AFLP 分析

朱友芳¹,林凤钦²,王艺磊²,谢芳靖²

(1. 福建省莆田市水产科学研究所, 福建 莆田 351100; 2. 集美大学 水产学院 福建省高校水产科学技术与 食品安全重点实验室,福建 厦门 361021)

摘要:应用 AFLP 分子标记技术首次对澳大利亚、海南岛和菲律宾 3 个种群的共 60 尾花鳗鲡(Anguilla marmorata)幼鱼样品进行了遗传多样性分析。4对选择性扩增引物共扩增得到180个位点,平均每对引 物扩增出 45个位点。澳大利亚、海南岛和菲律宾 3个种群的多态位点分别为 78.33%、79.44%和 84.44%、 Nei's 遗传多样性指数分别为 0.330 2±0.188 9、0.337 2±0.194 6 和 0.357 1±0.176 7, Shannon's 多样性指 数分别为 0.477 3±0.264 7、0.484 4±0.270 2 和 0.514 6±0.243 3;根据基因分化系数和 AMOVA 分析估算、 3个花鳗鲡种群遗传变异分别有 89.25%和 96.07%存在于种群内, 10.75%和 3.93%存在于种群间。基因 分化系数、AMOVA分析、遗传距离、基因流、系统树和显性基因型频率分析结果表明:3个花鳗鲡种 群间出现了遗传分化、地理距离越大遗传分化程度越高、三者之间出现一定的基因交流。研究结果对 花鳗鲡养殖具有指导意义。

关键词:花鳗鲕(Anguilla marmorata);种群;AFLP;遗传变异 中图分类号: Q347 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2011)08-0083-06

花鳗鲡 (Anguilla marmorata) 隶属鳗鲡目 (Anguilliforme)、鳗鲡科(Anguillidae)、鳗鲡属 (Anguilla), 属热带和亚热带江海洄游鱼类, 分布范 围广, 东达太平洋中部诸岛, 西达非洲东部, 南达澳 大利亚南部、北达朝鲜、日本南部、中国产于长江以 南至海南岛各江河水域^[1-2]。

有关不同种群花鳗鲡的骨骼结构差异及遗传多 样性已有研究报道, Watanabe 等^[3]通过对花鳗鲡脊椎 骨的数目研究、得出了密克罗西尼亚岛(Micronesia) 的花鳗鲡脊椎骨的数目与印度洋及太平洋其他 12 个 花鳗鲡种群存在明显差异的结论; Minegishi 等^[4]采 用线粒体 DNA 和微卫星分析的方法,得出了可以将 花鳗鲡划分为南太平洋、北太平洋、东印度洋和西 印度洋4个种群的结论; Gong 等^[5]采用微卫星分析的 方法,得出了花鳗鲡的 Aus(澳大利亚)种群和中国种 群的多样性指数相似、所有位点均符合哈迪-温伯格 平衡的结论; 齐兴柱等^[6]通过对线粒体细胞色素b基 因的测序、得出了花鳗鲡的日本和夏威夷种群的地 理差异小于 Hai(中国海南岛)种群与它们之间的地理 差异的结论。

扩增片段长度多态性(Amplified Fragment Length Polymorphism,简称 AFLP)具有多态性强, 谱 带丰富且清晰可辨、实验结果稳定性、重复性好的特

点、可以在一次实验中同时观察到大量的限制性片 段。因此, AFLP 技术广泛应用于种质鉴定、基因克 隆和定位、遗传图谱构建和遗传差异分析等研 究^[7-12]。目前中国花鳗鲡养殖的苗种主要来源于澳大 利亚、海南岛和菲律宾三地,三者在水温、驯食和抗 病力等方面均存在差异。为了分析产生这些差异的 原因、本研究首次采用 AFLP 技术对花鳗鲡的 Aus 种群、Hai 种群和 Phi(菲律宾)种群进行遗传多样性 分析、研究结果对花鳗鲡养殖具有一定的指导意义。

材料和方法 1

1.1 实验鱼

收集 Aus 墨尔本附近海域、Hai 东海岸和 Phi 棉兰老岛东部的花鳗鲡幼鱼各 20 尾, 取肌肉固定 于 95%的酒精中、4 保存备用。

1.2 基因组 DNA 提取

DNA 提取和纯化参照 Sambrook 等^[13],采用苯

Marine Sciences / Vol. 35, No. 8 / 2011

收稿日期: 2010-12-08; 修回日期: 2011-06-13

基金项目: 福建省高校水产科学技术与食品安全重点实验室基金资助 项目(2008J201)

作者简介:朱友芳(1964-),男,福建仙游人,副研究员,硕士研究生, 主要从事水产养殖及病害防治的研究, 电话: 0594-6298821, E-mail: e365cn@163.com

酚/氯仿法提取总 DNA。DU640 紫外分光光度仪测定 DNA 浓度,用无菌双蒸水将模板的一部分稀释到 20 mg/L,置于4 中保存,其余的未稀释的模板母液放 于-20 冰箱中备用,通过 1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的完整性以及纯度,凝胶电泳采用 GDST500紫 外凝胶成像分析系统。

1.3 AFLP 指纹图谱构建

参照 Vos 等^[14]和 Wang 等^[15]方法构建 AFLP 指 纹图谱。AFLP 接头和预扩增引物序列见表 1。2 种 内切酶分别为 EcoR I 和 Mse I。经过预实验从 8 种 EcoR I 引物(E-AA、E-AC、E-AG、E-AT、E-TA、 E-TC、E-TG 和 E-TT)和 8 种 Mse I 引物(M-CAA、 M-CAC、M-CAG、M-CAT、M-CTA、M-CTC、M-CTG 和 M-CTT)共 64 对引物组合中,筛选出 4 对选择性 扩增引物组合(4 对引物组合分别为: E- TG/M-CAC, E-TG/M-CAT, E-AA/M-CAC, E-AA/M-CAA)进行 AFLP 分析。AFLP 试剂盒购自 invitrogen 公司。

表1 AFLP 接头及预扩增引物序列

 Tab. 1
 Adaptors and pre-amplification primer sequences in AFLP analysis

引物/接头	序 列(5'-3')
EcoR I 接头	CTCGTAGACTGCGTACC
	AATTGGTACGCAGTCTAC
Mse I 接头	GACGTGAGTCCTGAG
	TACTCAGGACTCAT
预扩增引物	E ₀ GACTGCGTACCAATTC
	M ₀ GATGAGTCCTGAGTAA

1.3.1 酶切反应

每个样品的酶切混合液包括: 160 ng 的 DNA 样 品, 0.2 µL的Mse I(Mse I 10 mol/L), 4 µL的10×Tango 反应缓冲液,再加双蒸水至反应总体积 18 µL。将反 应混合液置于 MJ-PTC200 温度梯度 PCR 仪中进行 Mse I 酶切, Mse I 酶切反应条件: 65 3 h. 80 15 min, 4 5 min。反应结束后, 再加入 0.2 μL 的 EcoR I(EcoR I 10 mol/L), 加双蒸水至总反应体积 20 μL, 进行 EcoR I 酶切, EcoR I 酶切反应条件: 37 3 h. 5 min。1%的琼脂糖凝胶电泳检测 80 15 min, 4 酶切效果,4 下保存备用。

1.3.2 连接反应

每个连接反应混合液包括: 酶切样品 10 μL, 10 nmol/L EcoR I/Mse I 接头 0.8 μL, 10 × T₄反应缓冲液 2 μL, 1 mol/L T₄ 连接酶 0.5 μL, 加双蒸水至总体积 20 μL, 22 恒温过夜。-20 下保存备用。 1.3.3 预扩增反应

反应混合液包括: 2 μ L 的连接产物, 2 μ L 的 10×Taq buffer, 1.6 μ L 的 25 nmol/L MgCl₂, 0.5 μ L 的 dNTPs(10 mmol/L), 0.17 μ L 的 E₀(33 mol/L), 0.17 μ L 的 M₀(33 mol/L), 13.46 μ L 的无菌双蒸水, 0.1 μ L 的 Taq DNA 聚合酶(5 U / μ L), 共 20 μ L。PCR 反应条件: 先 94 1 min; 再 94 30 s, 56 60 s, 72 60 s, 共 20 个循环; 4 5 min。预扩增完成后,将产物在 1%琼脂糖凝胶中检测预扩增产物的效果。将预扩增 产物取出 5 μ L 加入 45 μ L 双蒸水,混合均匀作为选 择性扩增模板。

1.3.4 选择性扩增反应

取 5.0 μL 的选择性扩增模板, 各加入 15.0 μL 选 择性扩增反应混合液: 2.0 μL 的 10×Taq buffer, 1.2 μL 的 25 nmol/L MgCl₂, 0.4 µL 的 dNTPs(10 mmol/L), 10.2 μL 的无菌双蒸水, 0.5 μL 的 EcoR I 引物(10 μmoL/L), 0.5 μL 的 Mse I 引物(10 μmoL/L)。 0.2 μL 的 Taq DNA 聚合酶(5 U /µL)。PCR 反应条件: 首先 1 min; 再 94 30 s, 65 30 s, 72 94 60 s、 循 环 13 次(每一循环退火温度减少 0.7), 然后 94 30 s, 65 30 s, 72 60 s, 23 个循环; 72 10 min; 5 min。最后 4 保存。 4

1.3.5 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳

AFLP 扩增产物(共 20 μL)在电泳前加入 10 μL 上样缓冲液, 95 变性 5 min, 立即放入冰盒中冷却 (防止复性)。采用 6%的变性聚丙烯酰胺凝胶, 电泳 缓冲液为 1×TBE, 在恒电压 2 000 V 下使用美国 Bio-Rad 聚丙烯酰胺凝胶电泳仪电泳, 先预电泳 30~45 min, 直至温度达到 55 。然后每个样品取 5 μL 上样, 恒电压 2000V 电泳 2 h 左右, 用银染法显 示电泳结果。

1.4 数据统计分析

对所有扩增清晰的条带进行记录,采用"0-1" 系统记录谱带位置,观察扩增条带的有无,有带记 为"1",无带记为"0"。将上述获得的 AFLP 指纹 图谱转换成 1 和 0 构成的数字矩阵,结果填入 Microsoft Excel 表格中。在种群处于 Hardy-Weinberg 平衡的条件下,利用 POPGENE VERSION 1.31^[16]软 件统计位点总数、多态位点数,计算多态位点频率、 显性基因型频率、Nei's 基因多样性指数、Shannon's 多样性指数、种群总基因多样性、种群内基因多样



性、种群间的 G_{st} (基因分化系数)、种群间的 N_m (基因 流系数)、遗传相似度和遗传距离等。利用 Arlequin 3.5 进行 AMOVA 分析,采用 MEGA 3 软件以 UPGMA 法对 3 个种群进行聚类分析,构建群体间亲 缘演化系统树图谱。

2 结果

2.1 3个种群 AFLP 扩增结果及遗传多样性

用 4 对选择性引物(即引物组合 E-TG/M-CAC,

表 2 3 个种群扩增结果及遗传学参数

E-TG/M-CAT, E-AA/M-CAC, E-AA/M-CAA)对花鳗 鲡 3 个种群共 60 个样本的 DNA 进行 AFLP 分析,共 扩增出 180 条清晰的条带,其中多态性条带为 160 条, Aus、Hai 和 Phi 3 个种群的多态位点分别为 78.33%、 79.44%和 84.44%,总多态位点比率为 88.89%(表 2)。 将每个扩增片段视为一个基因位点,每对引物检出 的位点数从 34~50 个不等,平均每对引物检出 45 个 位点。在 3 个种群中,Phi 种群的遗传多样性最高,而 Aus 种群的遗传多样性最低。

Aus 种群~Phi 种群 > Hai 种群~Phi 种群、可见地理距

限的、若 $N_m > 1$ 、说明种群间通过某种渠道进行基因

交流[18]。花鳗鲡两两种群间的 $N_{\rm m}$ 和 3 个种群的总

N_m均超过1, 说明种群间有基因交流。3 个花鳗鲡种

单位划分区间,0和1分别设为一个单独的区间,统

计显性基因型频率位于各区间内的位点数。通过对

不同种群的显性基因型频率在各区间内的位点数的

走势比较、可以分析出各种群遗传结构是否存在差

异。由图 1 可以看出 3 个种群的曲线走势呈现出规

群间的 N_m 以 Hai 种群~Phi 种群最高。

通常认为种群间的 N_m<1、种群间基因交流是有

将 180 个扩增位点的显性基因型频率以 10%为

离越大遗传分化程度越高。

Tab. 2 Amplification results and parameters of genetic diversity in the three Anguilla marmorata populations

种群	多态位点数	多态位点比例(%)	Nei's 遗传多样性指数	Shannon's 多样性指数
Aus	141	78.33	0.330 2±0.188 9	0.477 3±0.264 7
Hai	143	79.44	0.337 2±0.194 6	0.484 4±0.270 2
Phi	152	84.44	0.357 1±0.176 7	0.514 6±0.243 3
总计	160	88.89	0.382 6±0.157 8	0.549 7±0.215 0

2.2 3个种群的遗传分化及聚类分析

根据 G_{st}(表 3)和 AMOVA 分析估算(表 4), 3 个花 鳗鲡种群遗传变异分别有 89.25%和 96.07%存在于种 群内, 10.75%和 3.93%存在于种群间。

根据 Wright^[17]的标准, *G*_{st} 值介于 0~0.05, 表明 种群间遗传分化较弱; 介于 0.05~0.15, 表明种群间 遗传分化中等; 0.15~0.25 表明种群间遗传分化较大; 当 *G*_{st} 值>0.25 表明分化极大。由表 3 得出 Aus 种群 ~Hai 种群、Aus 种群~Phi 种群和 Hai 种群~Phi 种群 均出现中等遗传分化。

地理距离: Aus~Hai > Aus~Phi > Hai~Phi; G_{st}(表 3): Aus 种群~Hai 种群 > Aus 种群~Phi 种群 > Hai 种 群~Phi 种群; 遗传距离(表 5): Aus 种群~Hai 种群 >

表3 3个花鳗鲡种群遗传分化

Tab. 3	Genetic differenti	ation for the th	ree populations of	f Anguilla marmorata
--------	--------------------	------------------	--------------------	----------------------

种群	总基因多样性(H _t)	种群内基因多样性(H _s)	基因分化系数(G_{st})	基因流系数(N _m)
Aus~Hai	0.371 5±0.025 1	0.333 7±0.025 1	0.101 6	4.419 0
Aus~ Phi	0.376 3±0.026 0	0.343 7±0.024 8	0.086 7	5.264 9
Hai~Phi	0.369 3±0.028 8	0.347 2±0.027 6	0.059 9	7.848 7
总计	0.382 6±0.024 9	0.341 5±0.022 8	0.107 5	4.153 0

表4 花鳗鲡种群的 AMOVA 分析数据

Tab. 4 Data derived from AMOVA of Anguilla marmorata

变异来源	自由度	方差总和	变异组成	所占比例(%)
种群间	2	62.822	0.153 6	3.93
种群内	537	2017.422	3.756 8	96.07
总计	539	2080.244	3.910 4	100

Marine Sciences / Vol. 35, No. 8 / 2011

表 5 种群间遗传相似度(对角线*上)及遗传距离(对角线* 下)

Tab. 5	Inter-population genetic identity (above diagonal)
	and genetic distance (below diagonal)

	-	-	
种群	Aus	Hai	Phi
Aus	* * * *	0.886 7	0.900 7
Hai	0.120 3	* * * *	0.932 4
Phi	0.104 6	0.070 0	* * * *





Fig. 1 Distributions of amplified loci in different frequency intervals

律性,总体趋势基本相似,但有差异:Aus种群与Phi 种群在 0~9%和 40%~69%区间走势不同;Aus 种群与 Hai 种群在 0~9%和 50%~69%区间走势不同;Hai 种 群和 Phi 种群在 40%~59%区间走势不同。说明 3 个 种群在遗传结构方面存在一定的差异。通过计算花 鳗鲡 3 个不同地理种群之间的 Nei's 遗传相似度和遗 传距离(表 5),根据遗传距离构建系统树(图 2),由图 2 中看出 Hai 种群和 Phi 种群亲缘关系较近,首先聚 在一起,它们与Aus种群亲缘关系较远,最后聚在一 起。







3 讨论

Aus 种群和 Hai 种群的 Nei's 遗传多样性指数分

别为 0.330 2±0.188 9 和 0.337 2±0.194 6、Shannon's 多样性指数分别为 0.477 3±0.264 7 和 0.484 4±0.270 2, Aus 和 Hai 两种群多样性指数相似,这与采用微卫星 分析的方法得出的花鳗鲡 Aus 种群和中国种群多样 性指数相似的结论一致^[5]。

有关研究人员采用 AFLP 技术对日本鳗鲡 (Anguilla japonica)^[9]、蓝圆鲹(Decapterus maruadsi)^[10]和鲵鱼(Miichthys miiuy)^[11]进行遗传多样性 分析,得出了这三种鱼的多态位点比例分别为 62.81%~74.10%、64.65%和68.86%~72.51%,并根据 多态位点比例认为日本鳗鲡、蓝圆鲹和鲵鱼遗传多样 性较高。3 个花鳗鲡种群多态位点比例为 78.33%~ 84.44%,高于日本鳗鲡、蓝圆鲹和鲵鱼,可见3 个花 鳗鲡种群遗传多样性目前还处在较高的水平。我们 认为与花鳗鲡自然产卵、产卵后亲鱼死亡、自然种 群分布广、人为干扰因素较少等相关。

Minegishi 等^[4]采用线粒体 DNA 和微卫星分析的 方法,将花鳗鲡划分为南太平洋、北太平洋、东印度 洋和西印度洋 4 个种群,据此分析,属于南太平洋的 Aus 种群与属于北太平洋的 Hai 种群和 Phi 种群出现 了遗传分化,这与本次研究所得的结论一致。齐兴柱 等^[6]在利用细胞色素 b 基因对不同地域花鳗鲡种群 进行分析时得出了同位于北太平洋花鳗鲡的日本种 群和 Hai 种群两者之间存在地理差异,本次研究同 样也得出了同位于北太平洋 Hai 种群和 Phi 种群间出 现了遗传分化的结论。

研究结果表明,3个花鳗鲡种群间出现了中等程 度的遗传分化,我们认为原因可能为:花鳗鲡于成 年时降河洄游到江河口附近性腺才开始发育,而后 入深海进行繁殖。初孵出仔鱼为白色薄软的叶状体, 叶状体尚不能自主游动,依靠海流将其带到陆地沿 岸后发生变态,变成短的圆线条状的幼鳗,进入淡 水河湖内索食生长。由于3个花鳗鲡种群性腺成熟 的时间及到达产卵场的时间不同,不同种群亲鱼所 产的仔鱼在不同的海流的作用下,于特定的时间到 达特定的地域,因此3个种群难以融合在一起形成1 个随机交配的大种群,3个种群间出现中等程度的遗 传分化。

花鳗鲡两两种群间的 N_m 和 3 个种群的总 N_m 均 超过 1,种群间有基因交流,遗传分化与地理距离成 正相关,原因可能是:虽然不同种群花鳗鲡的亲鱼 因产卵时间的差异而无法交配,但花鳗鲡鱼卵和仔 鱼随海流漂浮和迁移,不同年份海流的变化可能使



少数花鳗鲡的鱼卵和仔鱼的漂浮和迁移路线发生变 化,混合到其他种群中,种群内鱼卵和仔鱼的迁入 迁出减弱了种群间的遗传分化,产生了一定的基因 交流,地理距离越远,携带不同种群花鳗鲡鱼卵和 仔鱼的海流混合的机会越少,因此遗传分化与地理 距离成正相关。

中国花鳗鲡养殖苗种主要来源于 Aus、Hai 和 Phi 三地, 三者在水温、驯食和抗病力方面均表现出差异, 如与 Hai 和 Phi 的苗种相比, Aus 的苗种可适应较低 的水温, 在精养池中比较容易驯食, 但容易发生单 鳃病等病害, 而 Hai 的苗种则为三者中最难驯食的, 由水丝蚓(*Limnodrilus hoffmeisteri*)转为配合饲料往 往无法转换成功, 究其原因可能与 3 个种群间的遗 传分化有关。因此, 在今后的养殖生产中必须加强花 鳗鲡的基础生物学研究, 对不同产地的花鳗鲡采用 不同的养殖模式、驯食方式和诱食剂等, 以满足各自 生长的需要, 达到高产稳产的目的。

参考文献:

- Miller M J, Mochioka N, Otake T, et al. Evidence of a spawning area of *Anguilla marmorata* in the western North Pacific [J]. Marine Biology, 2002, 140: 809-814.
- [2] 陈锤.花鳗鲡的生态学特征与开发利用[J].北京水产, 2005, 1:54.
- [3] Watanabe S, Aoyama J, Miller M J, et al. Evidence of population structure in the giant mottled eel, Anguilla marmorata, using total number of vertebrae [J]. Copeia, 2008, 3: 680-688.
- [4] Minegishi Y, Aoyama J, Tsukamoto K. Multiple population structure of the giant mottled eel, *Anguilla marmorata* [J]. Molecular Ecology, 2008, 7(3): 3109-3122.
- [5] Gong X L, Ren S J, Chen S Q. Highly polymorphic microsatellite loci from the giant mottled eel (*Anguilla marmorata*) [J]. Molecular Ecology Resources, 2009, 9(6): 1544-1547.
- [6] 齐兴柱,尹绍武,娄甜甜,等.海南产花鳗鲡细胞色素 b 基因的克隆及序列分析[J].海南大学学报自然

科学版, 2007, 25(4): 397-401.

- [7] 王伟继,岳志芹,孔杰,等.AFLP 分子标记技术的发展及其在海洋生物中的应用[J].海洋水产研究,2005,26 (1): 82-87.
- [8] 林斌彬,张子平,王艺磊,等.AFLP技术发展及其在 水产生物学研究中的应用[J].集美大学学报(自然科 学版),2008,13(1):45-51.
- [9] 张辛,许璞,许广平,等.中国东海日本鳗鲡种群遗
 传结构的 AFLP 分析[J].水生态学杂志,2010,3(1):
 82-86.
- [10] 张丽艳,苏永全,丁少雄,等. 福建近海蓝圆鲹种群
 遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 水产学报, 2010, 34(5):
 680-687.
- [11] 彭志兰,柳敏海,傅荣兵,等.舟山鯰鱼群体遗传多
 样性的 AFLP 研究[J].上海水产大学学报,2010, 19(2):172-177.
- [12] 邵艳卿, 陆荣茂, 董迎辉. 三种蛏的遗传多样性分析[J]. 海洋科学, 2009, 33(10): 26-30.
- [13] Sambrook J, Russell D. 分子克隆实验指南(第三版)[M]//北京: 科学出版社, 2002: 463-471.
- [14] Vos P, Hogers R, Bleeker M, et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting [J]. Nucleic Acids Research, 1995, 23: 4407-4414.
- [15] Wang Z Y, Tsoi K H, Chu K H. Applications of AFLP technology in genetic and phylogenetic analysis of penaeid shrimp [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2004, 32(4): 399-407.
- [16] Yeh F C, Yang R C, Boyle T . POPGEN(version1. 3.
 1) . Microsoft Windows-based Freeware for Population Genetic Analysis [M].//Edmonton: University of Alberta, 1999: 1-28.
- [17] Wright S. The genetical structure of population [J]. Ann Eugen-ics, 1951, 15: 323-334.
- [18] 曲若竹,侯林,吕红丽,等.种群遗传结构中的基因流[J]. 遗传,2004,26(3):377-382.



AFLP analysis of three *Anguilla marmorata* geographic populations

ZHU You-fang¹, LIN Feng-qin², WANG Yi-lei², XIE Fang-jing²

(1. Putian Municipal Institute of Fishery Science, Putian 351100, China; 2. The Key Laboratory of Science and Technology for Aquaculture and Food Safety, Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Received: Dec., 08, 2010

Key words: Anguilla marmorata; population; AFLP; genetic variation

Abstract: This study is the first of its kind to document genetic diversity of giant mottled eel (*Anguilla marmorata*) among three geographic populations of Australia, Hainan Island, and Philippines. This study was performed on 60 young eels by using AFLP molecular marker technique. A total of 180 AFLP loci, of which 160 loci were polymorphic, were detected by four primer combinations. The percentage of polymorphic loci from Australia, Hainan Island, and Philippines was 78.33%, 79.44%, and 84.44%, respectively; Shannon's diversity index was 0.477 3 ± 0.264 7, 0.484 4 ± 0.270 2, and 0.514 6 ± 0.243 3, respectively. The G_{st} and AMOVA analysis showed that there were 89.25% and 96.07% genetic variation within the three populations, and 10.75% and 3.93% genetic variation among populations. Our results indicate that genetic differentiation has occurred and has a positive correlation with geographic distant. Meanwhile, gene flows exist among all three populations. These data will be important for the farming management of *A. marmorata*.

(本文编辑:谭雪静)