

大黄鱼野生群体与养殖群体遗传多样性研究

陈淑吟¹, 徐士霞², 张志勇¹, 郭忠仁¹, 孙中响^{1,3}, 朱立静^{1,3}

(1. 江苏省海洋水产研究所, 江苏 南通 226007; 2. 南京师范大学 生命科学院 动物遗传资源研究所, 江苏 南京, 210097; 3. 苏州大学 医学部基础医学与生物科学学院, 江苏 苏州 215123)

摘要: 利用线粒体 COI 基因序列片段与 ISSR 标记方法, 研究江苏海域大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)野生群体(JS)的遗传多样性水平, 并比较其与浙江(ZJ)、福建(FJ)养殖群体的遗传差异。结果表明: (1)扩增 COI 基因序列片段 625bp, 3 个群体 65 个序列中有 15 个单倍型, 群体间有 3 个共享单倍型; JS 野生群体有 9 个独享单倍型, 另有 2 个单倍型与 ZJ 群体共享; 群体间的遗传分化水平很低, 其中: JS 与 ZJ、FJ 的遗传分化系数(G_{st})分别为-0.0196 和 0.02115, FJ 与 ZJ 的 G_{st} 为-0.0125; (2)筛选出 10 个 ISSR 标记多态引物, 分析得出 JS、ZJ 及 FJ 的多态位点百分率分别为 74.59%、63.93%及 59.02%; 群体间的 Nei's 遗传一致度(I)为 0.9246~0.8310。其中 JS 与 ZJ、FJ 的 I 分别为 0.9246 和 0.8310, FJ 与 ZJ 的 I 为 0.8826。

关键词: 大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*); COI; ISSR; 遗传多样性; 群体遗传差异

中图分类号: Q953

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2011)12-0082-06

大黄鱼(*Pseudosciaena crocea* Richardson 1846)隶属鲈形目(Perciformes)、石首鱼科(Sciaenidae)、黄鱼属(*Pseudosciaena*), 主要分布于中国黄海南部、东海和南海, 为暖温性近海集群洄游鱼类, 一般体长 20~40 cm, 最大可达 75 cm, 曾是中国传统的“四大海鱼”之一。20 世纪 70 年代以前, 大黄鱼具有明显的渔场和渔汛期^[1]。由于酷渔滥捕和环境污染, 大黄鱼自然资源几近枯竭, 到 80 年代以后形不成渔汛。渔业部门虽然制订了许多资源保护措施, 但至今大黄鱼仍属东海区资源严重衰退的种类^[2]。20 世纪 80 年代末刘家富等^[3]研究成功人工繁育大黄鱼, 现在大黄鱼人工养殖产业化规模在福建、浙江等地不断壮大, 但伴随着产业发展又面临着大黄鱼品质下降、病害频发的局面, 进行科学管理对保护和恢复大黄鱼资源相当必要^[4]。近几年来, 开展的人工放流大黄鱼对恢复几近枯竭的自然资源具有积极意义, 而对现有遗传资源的了解有助于进一步保护该资源的遗传多样性。

中国黄海南部的吕泗渔场为大黄鱼主要自然分布区之一, 目前大黄鱼自然资源也十分稀少, 有关该海区大黄鱼的种质状况及其与其他群体的遗传差异未有报道; 而且, 该海区是目前尚未开发人工养殖的大黄鱼主要分布海域。线粒体 COI 基因序列作为功能稳定又具较多变异的序列, 作为分子标记已

被应用于许多水生生物种群遗传学研究中, 但目前尚未见用于大黄鱼的群体遗传学研究。作者利用线粒体 COI 基因序列片段与 ISSR 标记方法研究大黄鱼江苏吕泗渔场自然群体的遗传多样性, 并比较其与浙江、福建主产区两个养殖群体间遗传差异, 为大黄鱼资源保护与利用提供更多依据。

1 材料与方法

1.1 样本来源与总基因组 DNA 提取

大黄鱼 3 个群体样本取样时间在 2009 年 9~10 月。江苏野生群体样本(JS, 30 个)于吕泗渔场海区为 3 次捕捞得到, 体长 22.2~24.8 cm; 两个养殖群体样本分别来自浙江象山港(ZJ, 30 个)和福建宁德(FJ, 30 个)养殖海区, 体长分别为 8.2~9.2 cm、20.3~21.6 cm。

基因组总 DNA 提取采用 DNA 提取试剂盒(Takara, DV811A), 按试剂盒说明书要求操作, 最后洗脱定溶于 TE(100 mg/L)溶液中, 4℃ 保存备用。

1.2 COI 引物设计与 PCR 扩增

根据鱼类 COI 通用引物^[5]以及从 NCBI 数据库下

收稿日期: 2010-08-11; 修回日期: 2011-02-06

基金项目: “十一五” 国家科技支撑计划重大项目 (2006BAD09A01)

作者简介: 陈淑吟(1966-), 女, 广东汕尾人, 研究员, 博士, 主要从事海洋水产种苗繁育与遗传资源研究, 电话: 13862908366, E-mail: shuyinchen89@163.com

载大黄鱼的 COI 序列, 设计扩增 COI 基因序列引物, 序列为: COI-F: 5' -TCT ACT AAT CAC AAA GAC ATC GGC AC-3' /COI-R: 5'-GAC CTC AGG ATG GCC GAA GAA TCA-3'。引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

PCR 反应总体积为 50 μ L, 含有: DNA 模板约 50 ng, 浓度为 10 pmol 引物各 1 μ L, 25 μ L *Premix Ex Taq* 聚合酶混合液(Takara, Code: D332A)。PCR 扩增参数为: 94 预处理 5 min; 进行 35 循环: 94 30 s, 55 30 s, 72 1 min; 最后 72 延伸 10 min。

PCR 产物在 1.5% 琼脂糖凝胶中电泳, 溴化乙锭 (Ethidium bromide, EB) 染色, 凝胶成像系统检测。产物经试剂盒 (BBI, Code: BS364) 切胶纯化后送上海 Sangon 用 PCR 反应引物双向测序。测序仪器为 ABI PRISM 3730, 测序试剂为 BigDye terminator v3.1。

1.3 COI 序列数据分析

所得 DNA 序列在 NCBI 数据库中进行 BLAST 同源检测确认; 利用 ClustalX1.81^[6] 软件进行序列比对及波形图谱校正。用 MEGA4.0 软件^[7] 统计序列的核苷酸组成、多态性位点及构建基于 Kimura's 2-parameter 模型 (Kimura, 1980) 的邻接法 (Neighbor-joining, NJ) 与非加权分组平均法 (Unweighted pair-group method with arithmetic mean, UPGMA) 系统树 (bootstrap 重复 1000 次)。用 DNAsp 4.0 软件^[8] 计算单倍型数量 (Number of haplotypes, N_h)、单倍型多态性 (Haplotype diversity, 简称 H_d)、平均核苷酸差异 (Average number of differences, 简称 K)、核苷酸多样性 (Nucleotide diversity, 简称 P_i)、应用 Nei (1973) 基因多样性法计算遗传分化系数 (G_{st}) 及基因流 (N_m) 等。

1.4 ISSR 引物筛选与 PCR 扩增

引物为加拿大哥伦比亚大学 UBC 公司公布的第 9 套 ISSR 引物序列, 由上海生工合成。每个群体各选取 3 个 DNA 模板在 15 μ L 的反应体系中进行扩增筛选, 从初选的 48 个引物中进一步筛选 10 个扩增条带清晰、重复性好的引物 (表 2) 进行分析。

PCR 反应总体积为 25 μ L, 引物 0.5 mmol/L, DNA 模板约 20 ng, 12.5 μ L *Premix Ex Taq* 聚合酶混合液 (Takara)。PCR 扩增参数为: 94 预变性 5 min 后进入 36 个循环: 94 45 s, 52 45 s, 72 2 min; 最后 72 延伸 10 min。

1.5 ISSR 扩增的电泳检测及数据分析

PCR 扩增产物在 minicell EC350 电泳仪上进行检测, 电泳缓冲液为 0.5 \times TBE, 琼脂糖凝胶浓度为 1.5% (含 0.5 μ g/mL EB), 电压不超过 5 V/cm, 电泳 2~3 h 后取出, 于 BIO-RAD 紫外成像仪下拍照记录。

按照电泳图谱中同一位置上 DNA 带的有无进行统计, 有带记为“1”, 无带记为“0”, 记录清晰、稳定且长度在 200~2000 bp 范围内的扩增带, 将图谱转化为 0/1 矩阵。应用 Popgene1.31^[9] 软件在假定种群处于 Hardy-Weinberg 平衡状态下, 应用 Nei (1987) 分析群体遗传参数方法, 分别计算多态位点百分率 (PPL)、群体总基因多样性 (H_t)、群体内基因多样性 (H_s)、群体间的遗传分化系数 (G_{st}), 并根据 Nei's 遗传距离, 对群体进行 UPGMA 树聚类分析。

群体多态性位点百分率 $PPL = \frac{\text{该群的多态性位点数}}{\text{位点总数}}$

以 G_{st} 估算基因流: $N_m = 0.5(1 - G_{st})/G_{st}$ ^[10]

2 结果

2.1 不同群体 COI 基因片段扩增结果与序列分析

大黄鱼 mt DNA 基因 COI 片段的 PCR 扩增产物电泳检测结果为单一条带, 长度约 700bp, 空白对照没有出现扩增产物。序列经比对后得到片段长度为 625 bp, 经 NCBI 数据库相似性检测确认为大黄鱼 COI 基因序列。测序成功 65 个序列, 分别为: JS 群体 28 个、ZJ 群体 19 及 FJ 群体 18 个。

序列共检测到 18 个多态位点, 其中 11 个为简约信息位点, 无插入或缺失位点, 转换与颠换比值为 4.089, 序列的碱基组成 T、C、A 及 G 的平均含量分别为 27.7%、30.7%、22.4% 及 19.2%, A+T 含量 (50.1%) 与 G+C 相当。共有 15 个单倍型, 单倍型多态性 (H_d) 为 0.714, 不同单倍型多态位点分布见图 1。JS 野生群体 28 个样本中有 9 个群体独享单倍型, 占群体 14 个单倍型的 64.28%, 这些单倍型没有共同变异位点; ZJ 群体独享单倍型 1 个 (h5), 占群体单倍型的 9.09%; FJ 群体没有独享单倍型; 3 群体间共享 3 个单倍型 (h1、h4 及 h11), 其中单倍型 h1 拥有最多个体数, 分别为来自 JS 群体 8 个、ZJ 群体 10 个及 FJ 群体的 16 个样本; 另外, 有 2 个单倍型 (h2 及 h13) 为 ZJ 与 JS 两群体共享。从表 1 几项指标中表明 JS 群体具有最

高的遗传多样性, FJ 群体的遗传多样性明显偏低。序列单倍型 GenBank 的登录号为: FJ851334- FJ851355 和 GQ864238-GQ864250。

表 1 基于 COI 部分序列的大黄鱼 3 个群体的遗传多样性
Tab. 1 Genetic diversity of the three populations of *P. crocea* based on mtDNA COI sequences

群体	群体单倍型数	H_d	K	P_i
JS	14	0.915	2.585	0.00412
ZJ	6	0.6830	1.379	0.00233
FJ	3	0.3235	0.409	0.00073
物种水平	15	0.713	1.643	0.00263

h₁ ATTTAGACCCATCCCTCA
h₂T...T.
h₃ G.....
h₄C.....
h₅G
h₆ ..C.....C.G
h₇A....C.....
h₈C..T.....
h₉TT...
h₁₀T....
h₁₁T.....C..
h₁₂ ...CT...T.G.....
h₁₃ ...CT.....G.....
h₁₄ .C.....
h₁₅ ...C.....

图 1 基于 COI 部分序列的不同单倍型的变异位点分布 (“.”代表相同位点)

Fig. 1 Different sites among 15 haplotypes of mtDNA COI sequences (The “.” represents the same site)

群体间的遗传分化估算值(Genetic differentiation estimates, P -value)为 0.9854($P>0.05$, nt significant), 且群体间的遗传分化指数 (F_{st}) 小于 0(-0.00333), 表明群体间没有明显遗传分化; 另外, 依据 Nei(1973)计算得出群体间 $G_{st}=0.05318$, 基因流为 $N_mCOI=4.45$ 。从两两群体间 G_{st} 反映出 3 个群体间的亲缘关系, JS 与 FJ、FJ 与 ZJ 及 ZJ 与 JS 群体的 G_{st} 分别为 0.02115、-0.0125 及 -0.0196, 即 JS 与 FJ 群体的亲缘关系最远, ZJ 与 JS 群体的亲缘关系最近。由 15 个单倍型构建 NJ 与 UPGMA 系统树中拓扑结构相似, 3 个群体的多数单倍型并列在一起, 见图 2。

2.2 ISSR 标记的引物筛选与扩增结果

从 100 个引物中最终筛选出 10 个扩增效果较好

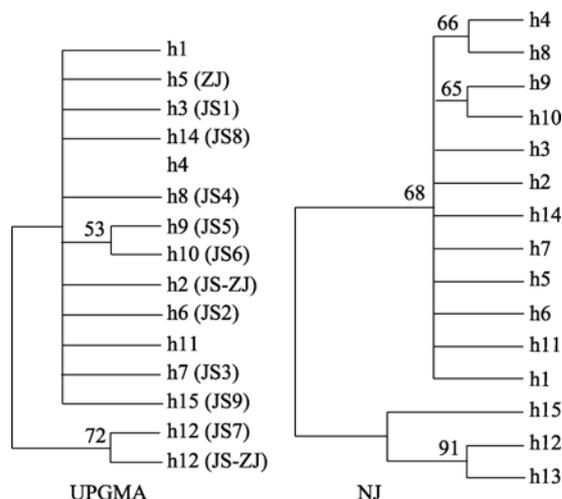


图 2 大黄鱼 3 个群体 COI 单倍型的 NJ 与 UPGMA 法聚类树(节点上数字为大于 50%置信度)

Fig. 2 NJ and UPGMA phylogenetic tree based on mt COI gene sequences across 15 haplotypes of *P. crocea*. (Numbers represent bootstrap percentages that above 50%)

的引物, 见表 2, 其中有 4 个引物为双碱基重复类型。这些引物扩增所得条带数多在 8~18, 分子量在 200~2000 bp 范围内。3 个群体大部分引物扩增的多态性差别较大。有 2 个引物扩增得出电泳图谱在不同群体的条带分布明显不同, 如引物 873 扩增出 FJ 群体在 200~300 bp 处及 400~500 bp 处各有 3 条及 1 条不同于其他两群体的特异性条带(图 3); 在图 4 中, 引物 895 扩增图谱在 500~600 bp 处有 2 条带的可以确定样品来自 ZJ 群体。利用引物扩增上存在的这些差异条带, 可以进行不同种群样本的鉴定。

通过 Nei's(1987)分子进化分析, 群体内的基因多样性(H_s)为 0.2494, 群体总的基因多样性(H_t)为 0.3131, 群体内的基因多样性所占比率(H_s/H_t)为 0.7965, 即群体的变异大部分来自群内, 群间遗传差异不大。对 3 个群体进行 UPGMA 聚类分析表明 JS 群体与 ZJ 群体系统亲缘关系较近(表 3, 图 5)。

3 讨论

3.1 大黄鱼群体遗传多样性与种质保护

DNA 序列的单倍型多样性(H_d)是衡量一个群体遗传变异程度的重要指标, H_d 高表明群体具有较高的遗传多样性。本研究表明, 江苏野生群体具有丰富的遗传多样性($H_d=0.9150$), 而浙江养殖群体又比福建养殖群体具有较高的遗传多样性水平, $H_dZJ=0.6830>H_dFJ=0.3235$; 人工养殖群体由于亲本

表 2 大黄鱼 ISSR 引物及群体多态性

Tab. 2 ISSR primers sequences and the diversity of *P. crocea*

引物号	引物序列	总条带数	多态性条带		
			JS	ZJ	FJ
841	(GA) ₈ YC	14	12	10	10
842	(GA) ₈ YG	12	8	8	5
853	(TC) ₈ RT	10	8	6	7
854	(TC) ₈ RG	8	4	7	4
873	(GACA) ₄	9	5	4	6
880	(GGAGA) ₃	15	12	7	10
881	(GGGGT) ₃	18	17	11	14
895	AGA GTT AGC TCT TGA TC	11	5	9	4
899	CAT GGT GTT GGT CAT TGT TCCA	16	14	8	6
900	ACT TCC CAA CAG GTT AAC ACA	9	6	8	6
	合计	122	91	78	72
	多态性条带比例(%)		74.59	63.93	59.02

注: R=A 或 G; Y=C 或 T

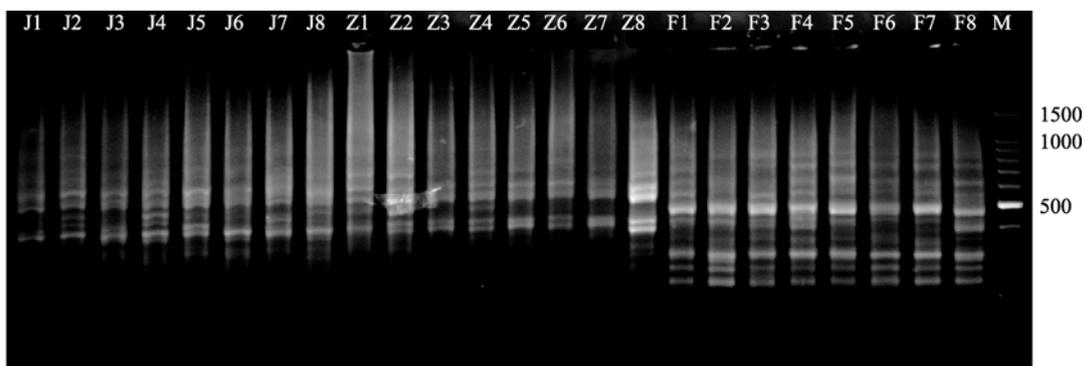


图 3 引物 873 对 3 个群体的扩增电泳

Fig. 3 PCR result of primer 873 in three populations

J1~J8. JS 群体; Z1~Z8. ZJ 群体; F1~F8. FJ 群体

J1~J8. JS population; Z1~Z8. ZJ population; F1~F8. FJ population

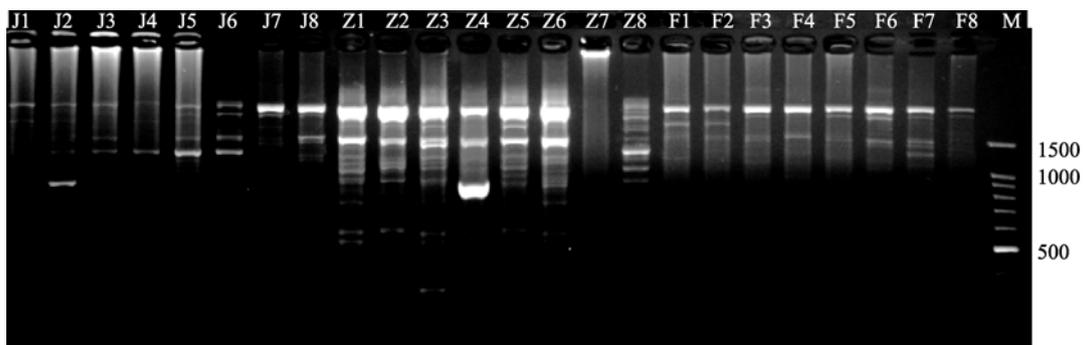


图 4 引物 895 对 3 个群体的扩增电泳

Fig. 4 PCR result of primer 895 in three populations

个体数少及近亲杂交等因素, 不可避免地丧失某些特定的等位基因, 造成其遗传变异度及遗传多样性水平均低于野生种群的状况^[11-13]。养殖群体原有亲

本的进化潜力也对其后代遗传多样性高低有直接影响, 本研究得出浙江象山养殖群体表现有较高于福建宁德养殖群体的遗传多样性, 这可能与福建人工

养殖亲本更早人工驯化繁育、遗传进化潜力水平偏低相关。陈锦等^[14]利用同工酶技术分析得出湄洲的野生群体遗传多样性较宁德的野生群体高，而宁德野生和养殖群体及连江养殖群体遗传多样性水平几乎一致；这可能由于人工放流和养殖逃逸的影响，致使野生群体和养殖群体间存在很大的基因交流，而当地海区野生数量稀少也加剧了这种影响。由于自然资源的稀少，除了加强对捕捞的管理，开展大黄鱼人工放流是增加、恢复其资源量的有效方法。

表 3 大黄鱼不同群体的遗传一致度(上)及遗传距离(下)
Tab. 3 Nei's genetic identity (upper diagonal) and genetic distance (lower diagonal) among populations of *P. crocea*

群体名称	JS	ZJ	FJ
JS	***	0.9246	0.8310
ZJ	0.0783	***	0.8826
FJ	0.1852	0.1249	***

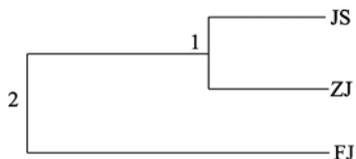


图 5 基于 ISSR 的大黄鱼 3 个群体 UPGMA 聚类

Fig. 5 UPGMA dendrogram for three populations of *P. crocea* based on ISSR analysis

大黄鱼的集群洄游生活习性使其具有较广的扩散和分布范围。田明诚等^[15]曾依据形态特征和地理分布把中国沿海的大黄鱼分为主要 3 个地理群体：岱衢群(分布于黄海南部至东海中部)、闽-粤东群(分布于东南南部、台湾海峡和南海北部)及粤西群(分布于珠江口以西至琼州海峡的南海区)。目前这些海区的大黄鱼自然资源已非常罕见，瓶颈效应和基因渐渗使得该物种的群体遗传多样性越来越低。虽然，人工养殖后代会丢失一些亲本遗传信息，本研究中野生群体与养殖群体具有很高的遗传一致度，该结果与田明诚等^[15]有关不同海区大黄鱼地理群体区分相一致。依据 mtCOI 基因序列的得出 3 个群体间的亲缘关系由远及近为：FJ 与 JS>FJ 与 ZJ>ZJ 与 JS 群体。由 ISSR 的系统聚类树也得到与群体分布的地理距离相一致的结果。两种标记研究结果均表明群体间基因流均大于 1(N_m COI 为 7.02, N_m ISSR 为 1.9563), Wright^[16]认为群体间 $N_m > 1$ 能发挥均质化作用，从而有效抑制由遗传漂变引起的遗传分化。

3.2 不同标记方法的大黄鱼群体遗传学研究

分子遗传标记在鱼类种质资源保护与应用研究领域正发挥着越来越重要作用。RAPD、AFLP 及 SSR 标记均被用于分析、揭示大黄鱼群体遗传多样性^[12, 17-18]。作者利用 mtCOI 基因序列揭示的大黄鱼这 3 个群体的遗传特性，与利用电泳图谱分析的 ISSR 技术得到的结果基本一致。mtCOI 基因序列与 ISSR 这两种标记在本文研究结果中的相同点主要为：(1)群体间的 N_m 皆大于 1，表明群体间存在明显的基因交流，群体间的地理距离对基因交流有一定影响；(2)JS 群体具最丰富遗传多样性，且与 ZJ 群体亲缘关系更近，系统关系皆与地理分布距离相一致。两标记方法又有各自的不同点：(1)ISSR 是以条带的扩增情况来反映结果，不但 DNA 模板质量及条带统计对结果估算有一定影响，而且需要较多的引物扩增、得出较多的统计数据才能更为真实的反映群体间的差异状况；但方法简单，用于种群鉴定上有其优势，作者利用 2 个 ISSR 引物便可以简单把不同群体样品区分出来；(2)COI 基因序列标记直接反映种群的 DNA 遗传信息，可以准确得出各群体的遗传多样性水平、群体间的系统分化、遗传差异程度，并已作为动物 DNA 条形码应用于物种鉴定^[19]，结果比 ISSR 的更清晰；但 9 个 JS 群体单倍型没有具有可以作为区分群体的特异位点。利用 COI 基因序列及 ISSR 两种标记比用单一方法反映出更为确切的群体之间的遗传进化关系。作者的这些研究结果为大黄鱼的种质保护与利用研究提供了进一步的依据。

参考文献:

- [1] 胡银茂. 东海海区大黄鱼种质资源的历史演变和现状分析[J]. 绍兴文理学院学报, 2006, 26(7): 49-53.
- [2] 徐开达, 刘子藩. 东海区大黄鱼渔业资源及资源衰退原因分析[J]. 大连水产学院学报, 2007, 22(5): 392-396.
- [3] 张祖兴, 李明云. 大黄鱼种质资源研究进展[J]. 水产科学, 2006, 25 (7): 376-378.
- [4] 王军, 全成干, 苏永全, 等. 官井洋野生与养殖大黄鱼同工酶的研究[J]. 海洋科学, 2001, 25(6): 39-41.
- [5] 王中锋, 郭昱嵩, 陈荣玲, 等. 南海常见硬骨鱼类 COI 条码序列[J]. 海洋与湖沼, 2009, 40(5): 608-614.
- [6] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. The Clustal-X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools[J]. Nucleic Acids Research, 1997, 25: 4876-4882.

- [7] Tamura K, Dudley J, Nei M, et al. Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2007, 24(8): 1596-1599.
- [8] Rozas J, Sánchez-DelBarrio J C, Messeguer X, et al. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods[J]. *Bioinformatics*, 2003, 19: 2496-2497.
- [9] Yeh F C, Yang R C. POPGENE Version 1. 31, Microsoft window- based freeware for population genetic analysis[CP/DK]. Edmonton, Canada: University of Alberta and Tim Boyle, Centre for International Forestry Research, 1999.
- [10] McDermott J M, McDonald B A. Gene flow in plant pathosystems[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 1993, 31: 353-373.
- [11] 李明云, 张海琪, 钟爱华, 等. 象山港养殖大黄鱼同工酶的分析[J]. *海洋学报, 增刊*, 2003, 2: 231-236.
- [12] 王志勇, 王艺磊, 林利民, 等. 福建官井洋大黄鱼 AFLP 指纹多态性的研究[J]. *中国水产科学*, 2002, 9(3): 198-213.
- [13] 黎中宝, 方秀, 陈锦, 等. 大黄鱼 (*Pseudosciaenacrocea*) 养殖群体遗传多样性的降低[J]. *海洋与湖沼*, 2009, 40(4): 446-450.
- [14] 陈锦, 黎中宝, 方秀, 等. 大黄鱼野生与养殖群体遗传结构的比较研究[J]. *海洋科学*, 2010, 34(2): 45-48.
- [15] 田明诚, 徐恭昭, 金日秀. 大黄鱼形态特征的地理变异和地理种群问题[J]. *海洋科学集刊*, 1962: 79-97.
- [16] Wright S. Evolution in Mendelian population[J]. *Genetics*, 1931, 16: 91-159.
- [17] 王文文, 常玉梅, 梁利群. 微卫星分析四个大黄鱼群体的遗传多样性[J]. *水产学杂志*, 2009, 22(2): 6-11.
- [18] 丁诗华, 黄丽英, 张海琪, 等. 大黄鱼 (*Pseudosciaenacrocea*) 岱衢洋选育群体和官井洋养殖群体的遗传差异分析[J]. *海洋与湖沼*, 2006, 37(1): 41-46.
- [19] Hebert P D N, Ratnasingham S, Jeremy R W. Barcoding animal life: cytochrome oxidase subunit 1 divergences among closely related species[J]. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 2003, 270: 96-99.

Study of genetic diversity of wild and culture populations of *Pseudosciaena crocea* using two molecular markers

CHEN Shu-yin¹, XU Shi-xia², ZHANG Zhi-yong¹, GUO Zhong-ren¹, SUN Zhong-xiang^{1,3}, ZHU Li-jing^{1,3}

(1. Marine Fisheries Research Institute of Jiangsu Province, Nantong 226007, China; 2. College of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China; 3. School of Preclinical Medicine and Biological Science, Soochow University Medical Department, Suzhou 215123, China)

Received: Aug., 11, 2010

Key words: *Pseudosciaena crocea*; COI partial sequence; ISSR; genetic diversity; population genetic differentiation

Abstract: Large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* Richardson 1846, is a commercially important marine fish and now is very scarce. The fish could be found only occasionally in the Lvsu Fisheries Region in Jiangsu(JS) province, and no researches were carried out about this wild population. In the present study, partial mitochondrial cytochrome oxidase I gene (COI) gene sequence and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers were used to investigate the genetic diversity of this wild population and two cultivated populations from Zhejiang(ZJ) and Fujian(FJ) province. The results were as follows: (1) The amplified fragment was 625 bp, revealing 15 haplotypes and three haplotypes of which were shared by these populations. The JS wild population has nine unique haplotypes and two haplotypes shared with the ZJ population. Nei's coefficient of differentiation(G_{st}) between populations were -0.0196 (JS - ZJ), 0.02115(JS- FJ) and -0.0125(FJ-ZJ), respectively; (2) Ten informative and reliable primers were selected to investigate the genetic diversity. The proportion of polymorphic loci of JS, ZJ and FJ populations were 74.59%, 63.93% and 59.02%, respectively. Nei's genetic identity between populations were 0.9246(JS-ZJ), 0.8310(JS-FJ) and 0.8826(FJ-ZJ), respectively.

(本文编辑: 谭雪静)