

中国沿海多鳞四指马鲛(*Eleutheronema rhadinum*) 与四指马鲛(*E. tridactylum*)形态与遗传位点 差异分析*

赵 优^{1, 2, 3} 庄 平² 张 涛² 赵 峰²

(1. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306; 2. 中国水产科学研究院东海水产研究所 农业部东海与远洋渔业资源开发利用重点实验室 上海 200090; 3. 唐山出入境检验检疫局 唐山 063000)

摘要 多鳞四指马鲛(*Eleutheronema rhadinum*)与四指马鲛(*Eleutheronema tridactylum*)是四指马鲛属(*Eleutheronema*)中的名贵经济鱼类, 具有良好的养殖开发前景。本文对中国沿海多鳞四指马鲛与四指马鲛群体的 26 个形态特征值进行了多变量比较分析, 提取了 7 个主成分, 累计贡献率达到 91.112%, 前三个主成分贡献率分别为 28.759%、21.467%、15.469%。多鳞四指马鲛与四指马鲛形态差异主要体现在头背部、尾柄部、背腹轴及头尾轴的特征。利用 4 个形态学参数建立了 2 群体判别公式, 综合判别准确率达 100%, 可作为多鳞四指马鲛与四指马鲛物种资源的初步判定方法。另外, 利用简化基因组测序开发出多鳞四指马鲛与四指马鲛 SNP 标记 69207 个、InDel 标记 12884 个, 丰富了四指马鲛属鱼类遗传结构研究数据。本研究为进一步开展四指马鲛数属物种资源评估与保护、选育、功能基因研究提供基础资料。

关键词 多鳞四指马鲛; 四指马鲛; 形态差异; 遗传位点差异

中图分类号 Q954 doi: 10.11693/hyhz20150400126

多鳞四指马鲛(*Eleutheronema rhadinum*)与四指马鲛(*E. tridactylum*)均隶属于辐鳍鱼纲(Actinopterygii)、鲈形目(Perciformes)、马鲛科(Polynemoidea)、四指马鲛属(*Eleutheronema*)(庄平等, 2006)。由于多鳞四指马鲛与四指马鲛在形态上相似度高, 曾一度将多鳞四指马鲛与四指马鲛混淆, 直到 Motomura 等(2002)对四指马鲛属鱼类进行重新划分, 才将多鳞四指马鲛从四指马鲛种中划分出来, 并确定四指马鲛属包括多鳞四指马鲛、四指马鲛、三趾四指马鲛(*Eleutheronema tridactylum*)三个种。目前, 在我国常见为多鳞四指马鲛与四指马鲛, 主要分布在我国东海及南海海域。多鳞四指马鲛及四指马鲛均为大型经济鱼类, 具有生长速度快、盐度适应范围广、经济价

值高等特点, 是海水鱼类中的名贵种, 具有较好养殖开发前景, 已被 FAO 作为重点推广的养殖鱼类(Rainboth, 1996)。但由于对四指马鲛属鱼类研究起步较晚, 仅在资源调查(蒋日进等, 2008; 陈渊戈等, 2011; 龚小玲等, 2011)、遗传结构(林少珍等, 2012; Horne *et al.*, 2013; Sun *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2014)、生物学(黄桂云等, 2012; 常有民等, 2013)及人工繁育(毛连环, 2009)等方面有相关报道, 特别是利用遗传结构开展资源鉴定方面的研究较为罕见, 目前仅靠个别形态特征进行多鳞四指马鲛和四指马鲛鱼类的物种鉴定, 给两物种资源评估与人工养殖开发带来一定困难。

形态学具有易操作、受样品状态影响小、结果直

* 公益性行业(农业)科研专项, 201203065; 国家科技支撑计划, 2011BAD13B08; 中央级公益性科研院所基本科研业务费重点项目, 2011Z01。赵优, E-mail: you19821224@163.com

通讯作者: 庄平, 研究员, 博士生导师, E-mail: pzhuang@online.sh.cn

收稿日期: 2015-04-26, 收修改稿日期: 2015-12-27

观等优势,已被许多研究者应用于鱼类群体及物种间差异分析的研究中。多变量形态度量学方法是基于框架位点而引入多元统计的一种分析方法,是对鱼类外部形态的连续性特征差异的分析,可更加全面反应种内及种间差异(Bookstein *et al.*, 1985)。简化基因组测序技术是目前最高效的群体分析的手段之一,近年发展起来的方法主要有 GBS、RAD-seq、SLAF-seq 等。该技术通过选取合适的限制性内切酶结合高通量群体测序构建 SNP 分子标记,性价比高、稳定性好,可广泛用于群体进化分析、高密度遗传图谱构建、QTL 定位以及辅助基因组组装连接染色体等领域(陈士强等, 2013)。基于 SLAF-seq 技术的 SNP 多态分子标记以及 InDEL 分子标记的开发,通过测序扫描整个基因组中存在的单核苷酸多态性(SNP)、结构变异(SV)等遗传变异,开展遗传图谱研究,完善鱼类育种和选择技术。

表 1 多鳞四指马鲛与四指马鲛群体观测样本数量和规格
Tab.1 The number and size of samples of *E. rhadinum* and *E. tridactylum* populations

群体	样本	体长(cm)		体质量(kg)	
		范围	平均值±标准差	范围	平均值±标准差
多鳞四指马鲛	40	18.0—24.6	22.22±1.90	0.139—0.273	0.211±0.046
四指马鲛	40	21.8—27.5	23.86±1.78	0.176—0.309	0.243±0.055

1.2 形态学分析

1.2.1 形态学数据测量与校正 测量数据分为传统形态学测量数据和框架形态数据两部分。传统形态数据包括全长(TL)、头长(HL)、肛前体长(LBA)、叉长(FL)、体高(BH)、眼后头长(PL);并参照杨阳等(2013)的框架测量方法建立多鳞四指马鲛框架定标点,形态学测量参数用钢尺和游标卡尺测量,精确至 0.1mm,框架数据测量图见图 1。

1.2.2 形态学数据分析 为消除样品个体规格差异对形态分析的影响,采用 Reist(1985)的方法对原始测量数据进行校正,校正公式为: $e = \exp[\ln Y - b(\ln X - \ln X_L)]$ 。其中 e 为校正值, Y 为测量值, b 为 $\ln Y$ 与 $\ln X$ 的斜率, X 为样本体长, X_L 为所有样本的平均体长。校正后可量性状及框架性状的标准数据运用 SPSS (version 19.0)统计软件进行分析。

采用利用多变量方差分析方法对多鳞四指马鲛群体及四指马鲛群体的 26 个形态特征值进行主成分分析(principal component analysis, PCA),提取主成分,并对主成分中相关变量贡献率进行分析。

针对多鳞四指马鲛与四指马鲛种质鉴定研究较为缺乏的现状,本研究首次应用框架形态学方法对多鳞四指马鲛及四指马鲛两物种形态差异进行比较,并利用简化基因组测序技术(SLAF-Seq),对我国两种易混淆的四指马鲛鱼类进行多态性标记分析,获得大量的变异信息(SNPs、InDels),为进一步开展多鳞四指马鲛及四指马鲛物种资源评估与管理、人工选育和功能基因开发等提供基础参考。

1 材料与方法

1.1 材料

本实验于 2013 年 11—12 月,在湛江海域采集多鳞四指马鲛与四指马鲛样本。所有样本采用 Motomura 等(2002)形态鉴定方法进行初步鉴定后,用于形态数据测量,并取背部肌肉放置于 95%的酒精中,低温保存。观察样本数量和规格见表 1。

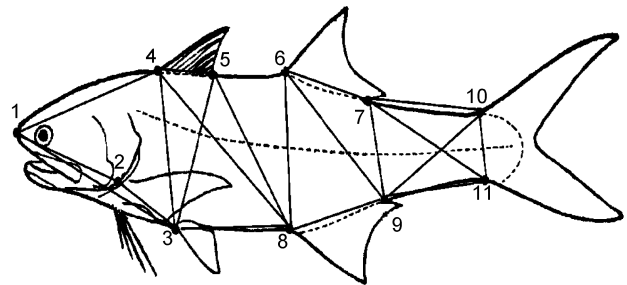


图 1 多鳞四指马鲛与四指马鲛的框架测量图(杨阳等, 2013)

Fig.1 The framework measurement diagram of *E. rhadinum* and *E. tridactylum*

1—11 为定位点; 1: 吻前端; 2: 鳃盖腹部末端; 3: 腹鳍起点; 4: 第一背鳍起点; 5: 第一背鳍末端; 6: 第二背鳍起点; 7: 第二背鳍末端; 8: 臀鳍起点; 9: 臀鳍末端; 10: 尾鳍上叶起点; 11: 尾鳍下叶起点

应用逐步判别法对多鳞四指马鲛及四指马鲛群体进行判别分析(discriminant analysis)。

判别准确率的计算公式为:

判别准确率 $P_1 = (O/M) \times 100\%$;

综合判别率 $P_2 = (\sum_{i=1}^k A_i / \sum_{i=1}^k B_i) \times 100\%$

式中: O =该群体判别正确的尾数, M =该群体实际尾数, A_i =第 i 个群体中判别正确的尾数, B_i =第 i 个群体中的实际尾数, k =群体数。将校正数据在 SPSS 19.0 软件运用逐步判别法进行判别分析, 构建 2 个群体的判别函数。

1.3 简化基因组测序

采用蛋白酶 K 和苯酚/氯仿法提取基因组 DNA (马洪雨等, 2006), 以半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*) (GC 含量 40.81%)作为参考基因组设计酶切方案。分别取多鳞四指马鲛和四指马鲛基因组 DNA 各 500 ng, 加 0.6 U *Mse* I (NEB, Hitchin, Herts, UK)、T4 DNA 连接酶(NEB)、ATP (NEB)和 *Mse* I 接头(NEB)在 37 °C 下反应 15 h, 65 °C 退火 1 h, 然后加限制性内切酶 *Hae* III 和 *Bfa* I 在 37 °C 下反应 3 h。反应结束后用 Quick Spin column (Qiagen)纯化酶切产物。

以回收的酶切产物为模板进行 PCR 反应, 反应体系 25 μ L, 包括模板 DNA 100ng、10 $\times$ buffer 2.5 μ L、2.5 mmol/L dNTP 2 μ L、5U 的 Taq DNA 合成酶(NEB) 0.3 μ L、10 μ mol/L *Mse* I 引物 2 μ L、ddH₂O 加至 25 μ L。PCR 产物经 E.Z.N.A. Cycle Pure Kit (Omega)纯化后, 加入 *Mse* I、T4 DNA 连接酶、ATP 及 Solexa 接头, 37 °C 下反应 5 h。利用 Quick Spin Column (Qiagen)纯化产物, 2%琼脂糖胶电泳, 并以其为模板, 在含 Phusion Master Mix (NEB)和 Solexa 引物混合物中进行 PCR 扩增, 扩增产物经纯化后用 Illumina GAIIx (Illumina, San Diego, CA, USA)测序。

2 结果与分析

2.1 两群体形态差异分析

2.1.1 可数性状比较 从外部形态特征比较, 多鳞四指马鲛无梨骨齿板, 胸鳍基部有黑色斑块, 侧线鳞 83—97, 侧线上鳞 12—14, 侧线下鳞 15—17; 四指马鲛有梨骨齿板, 胸鳍基部有黄色斑块, 侧线鳞 71—79, 侧线上鳞 9—12, 侧线下鳞 13—15。两群体可数性状特征比较如表 2 所示。

表 2 多鳞四指马鲛与四指马鲛群体形态特征比较
Tab.2 The morphological comparison between *E. rhadinum* and *E. tridactylum* populations

群体	鳞式	胸鳍	背鳍	腹鳍	臀鳍	尾鳍
多鳞四指马鲛	83—97 12—14 15—17	17—18	—, 13—14	1—5	—14	18—22
四指马鲛	71—79 9—12 13—15	17—19	—, 13—14	1—5	—15	19—23

2.1.2 主成分分析 对多鳞四指马鲛群体与四指马鲛群体的形态测量数据进行主成分分析, 共提取了 7 个主成分, 累积贡献率为 96.112%, 其中前三个主成分贡献率分别为 28.759%、21.467%、15.469%, 累计贡献率 65.695%。在第一主成分中 D1-2、D1-4、D5-8、D6-8、D6-9、D7-9、D7-10、D7-11 的负荷绝对值较大, 主要反应的是鱼体头部、后半部分体侧及尾柄部特征; 第二主成分中头长、叉长、肛前体长、眼后头长、D9-11 的负荷绝对值较大, 主要反应的是鱼体头尾轴特征; 第三主成分中 D3-4、D3-5、D3-8、D4-8 的负荷绝对值较大, 反应的是鱼体前半部体侧的形态特征(详见表 3)。

图 2 为多鳞四指马鲛与四指马鲛群体形态分析前两个主成分的散点图, 从散点图分析, 利用前两个主成分可将多鳞四指马鲛群体与四指马鲛群体进行划分, 并且 2 个群体在主成分 1 坐标轴上的差异比主成分 2 坐标轴的差异显著。

2.1.3 判别分析 本研究利用逐步判别方法, 对 2 个群体野形态比例性状进行判别分析。根据逐步判别法, 筛选变量, 从特征性状中筛选出 PL、D9-11、D5-8、D6-8 四个特征值进行判别分析, 综合判定准确率即可达到 100%, 该判别函数对于两物种的形态鉴定提供了重要参考。利用个形态特征值构建了多鳞四指马鲛群体与四指马鲛群体的判别函数, 其判别公式如下:

E. rhadinum:

$$Y=-879.116+1727.685X_1+2789.212X_2+762.232X_3+3153.413X_4$$

E. tetradactylum:

$$Y=-942.321+2925.802X_1+3348.728X_2+298.423X_3+2525.998X_4$$

其中, X_1 — X_4 分别代表 PL、D9-11、D5-8、D6-8。将判别函数带入多鳞四指马鲛与四指马鲛群体进行检验, 综合判定准确率为 100%(表 4)。

2.2 两群体遗传位点差异分析

2.2.1 SLAF 标签信息统计 利用多鳞四指马鲛及四指马鲛样本总共开发出 SLAF 标签数为 140973 个, 多鳞四指马鲛样品得到 SLAF 标签 109005 个, 四指马鲛样本得到 SLAF 标签 93036 个。其中, 多鳞四指马鲛与四指马鲛共有 SLAF 标签 33428 个。图 3 显示对两份样本得到的 140973 个 SLAF 标签进行分型, 最终得到 3 种类型的 SLAF 标签, 包括重复序列 (Repeat) 9619 个(6.82%), 多态性标签(Marker) 32216 个(22.85%), 非多态标签(No Poly) 99138 个(70.32%)。

表 3 2 个群体形态变量主成分分析中的因子负荷矩阵的特征向量及累计贡献率
Tab.3 Eigenvectors and cumulative contribution rates of factor loadings in principal component analysis on morphological variation in two populations

变量	主成分						
	1	2	3	4	5	6	7
TL	0.475	-0.105	0.004	0.615	0.405	0.311	-0.072
HL	-0.269	-0.626*	0.088	-0.219	0.284	-0.258	0.022
FL	-0.447	0.698*	-0.048	0.169	-0.275	-0.193	0.286
BH	-0.261	-0.575	0.015	0.370	0.132	0.507	0.234
LBA	0.390	-0.813*	-0.331	0.432	0.335	-0.488	0.311
PL	0.297	0.625*	-0.099	0.158	-0.150	-0.155	0.312
D1-2	0.705*	0.490	0.454	-0.359	0.033	-0.394	0.542
D1-3	0.329	0.234	0.254	0.045	0.067	-0.291	-0.335
D1-4	0.782*	0.430	0.356	0.097	-0.349	0.327	-0.054
D2-3	0.228	0.577	-0.294	0.481	0.395	0.123	0.015
D3-4	0.406	0.232	0.795*	-0.017	0.159	0.055	0.206
D3-5	0.497	0.348	0.674*	-0.099	0.254	0.174	0.243
D3-8	-0.325	-0.297	-0.685 *	0.082	0.043	0.120	0.144
D4-5	0.202	-0.476	0.156	0.275	0.418	-0.442	-0.360
D4-8	-0.306	0.282	-0.610*	-0.481	-0.002	0.334	0.224
D5-8	0.755*	0.346	-0.522	-0.358	0.075	-0.324	0.004
D6-7	0.571	0.127	-0.063	-0.428	0.294	0.125	-0.147
D6-8	0.799*	0.467	-0.023	0.099	-0.027	0.196	-0.056
D6-9	0.688*	0.258	0.081	0.331	-0.543	-0.060	0.160
D7-9	0.654*	0.437	-0.238	0.419	-0.403	-0.418	0.109
D7-10	-0.740*	0.142	0.447	0.259	-0.436	0.068	-0.193
D7-11	-0.767*	0.353	0.322	0.139	-0.415	0.184	0.010
D8-9	0.599	-0.333	0.257	0.127	0.060	0.167	0.011
D9-10	-0.535	0.341	0.412	0.247	0.354	-0.101	-0.147
D9-11	0.254	0.764*	0.175	-0.188	0.554	-0.047	0.089
D10-11	0.129	0.202	0.134	-0.025	0.321	-0.033	0.105
特征值	6.267	5.501	3.770	2.748	2.001	1.878	1.021
贡献率(%)	28.759	21.467	15.469	9.423	7.893	7.310	5.791
累计贡献率(%)	28.759	50.196	65.695	75.118	83.011	90.321	96.112

*表示载荷值>0.600

根据开发得到的 32216 个 Marker, 利用 GATK 进行基于 2 个样品的群体内部 SNP 以及 INDEL 检测。多鳞四指马鲛及四指马鲛样品之间共开发出 SNP 68992 个, InDel 12884 个。

2.2.2 SNP 及 InDel 信息统计 表 5 所示利用简化基因组测序技术, 开发出多鳞四指马鲛与四指马鲛 SNP 69207 个, 其中转换类型中: C/T 22458 个 (32.45%), A/G 类型 22173 个(32.04%); 颠换类型中 A/T 7900 (11.42%); A/C 6171 (8.92%); T/G 6040 (8.73%); C/G 4465 (6.45%)。

多鳞四指马鲛样本和四指马鲛样本之间总共开发出 12884 个 InDel, 包含转化类型 773 个(6.00%), 颠换类型 8031 个(62.33%), 样品中杂合类型 4080 个 (31.67%)。

3 讨论

3.1 多鳞四指马鲛与四指马鲛形态学分析

早在 19 世纪, 研究学者 Bleeker(1862)开始对多鳞四指马鲛进行分类鉴定, 将其鳞片大小、有无犁骨齿板等定义为区分四指马鲛属鱼类的主要形态特征。

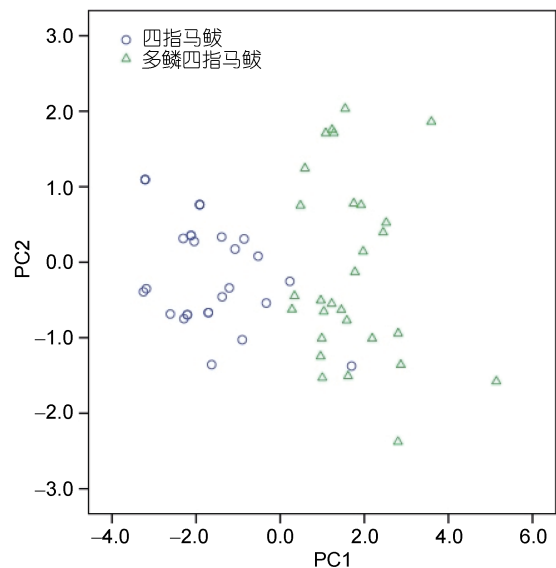


图 2 2 个群体形态特征前两个主成分分布图

Fig.2 The distribution of first 2 principal components in morphological indices of the two populations

表 4 多鳞四指马鲛与四指马鲛群体判别分析结果

Tab.4 The discrimination results between *E. rhadinum* and *E. tridactylum* populations

群体	2 个群体预测数目(尾)			准确率 P_1 (%)	综合判别 率 P_2 (%)
	数量	多鳞四指马鲛	四指马鲛		
多鳞四指马鲛	40	40	0	100	100
四指马鲛	40	0	40	100	

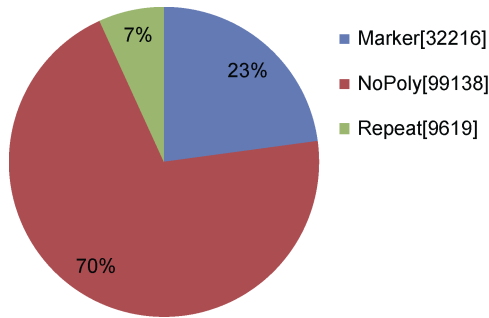


图 3 SLAF 标签分型统计结果

Fig.3 The statistical results of SLAF tag type

表 5 2 个群体间 SNP 类型统计

Tab.5 The statistical results of SNP type between *E. rhadinum* and *E. tridactylum* populations

Type of SNP	Count	Frequency per kb	P (%)
Transition			
C/T	22458	0.20	32.45
A/G	22173	0.19	32.04
Transversion			
A/T	7900	0.07	11.42
A/C	6171	0.06	8.92
T/G	6040	0.06	8.73
C/G	4465	0.04	6.45

Motomura 等(2002)利用测定鱼体可量性状、可数性状以及外部典型特征区分四指马鲛属多鳞四指马鲛、四指马鲛、三趾四指马鲛三个物种。但传统的鱼类形态学研究参数主要遵循 Hubbs 等(1947)提出的在鱼体头尾轴及背腹轴水平及垂直方向的测定方法,而框架测量法利用鱼体的解剖学同源坐标点,可有效反映鱼体纵向、斜向和中间部分的许多信息(Erguden *et al*, 2005)。目前国内外已广泛开展了利用多变量形态学方法对鱼类形态差异的比较研究,如狼鲈(*Dicentrarchus labrax*) (Erguden *et al*, 2005)、澳洲鲈(*Scomber australasicus*) (Tzeng, 2004)、鲻鱼(*Mugil cephalus*) (刘建勇等, 2009)等,均得到较好的判定效果。

从主成分分析结果来看,多鳞四指马鲛与四指马鲛形态差异主要体现在鱼体头背部、尾柄部、头尾轴及背腹轴的特征上。两群体形态特征差异与栖息的水域环境及游泳运动相关,以适应其生活环境及洄游、摄食等生活习性。其中背腹轴及头尾轴差异影响了鱼体的体型特征,头尾轴长、背腹轴短鱼类体形为纺锤型,在水中游动阻力小,承受水压能力强,更适宜在水流湍急的环境中游动;尾柄则起到平衡及前进助推的作用;而鱼体头背部形状对其游泳速度可产生影响。目前已有研究资料报道,多鳞四指马鲛与四指马鲛主要栖息在河口近岸(Motomura *et al*, 2002),多鳞四指马鲛具有生殖洄游习性,幼鱼在河口索饵育肥(陈渊戈等, 2011; 龚小玲等, 2011)。多鳞四指马鲛与四指马鲛具有纺锤型体形,对两种群适宜沿岸近海水流湍急的栖息环境及洄游习性具有重要意义。目前关于多鳞四指马鲛及四指马鲛背景资源缺乏,后续可结合两个物种资源调查数据对两种群的栖息地、生活习性、摄食方式等开展进一步的研究。

本研究利用 4 个形态特征值建立了多鳞四指马鲛与四指马鲛判别函数,判别函数经回代检验综合判别准确率达到 100%,相比传统形态学鉴定,该方法更加全面反映多鳞四指马鲛与四指马鲛的形态差异。赵峰等(2011)利用 4 个形态参数将三种鲷鱼 100%予以区分;王新安等(2008)利用多元分析方法建立七带石斑鱼不同地理群体的判别函数,综合判定准确率同样达到了 100%。本研究结果进一步证实利用传统形态学及框架数据进行多变量分析是一种理想的形态学鉴定方法。

3.2 两群体遗传位点差异分析

由于生物形态是物种多个性状的集合,是遗传因子和环境因素共同作用的结果。因此分析及鉴定多

鳞四指马鲛与四指马鲛种群差异,应在形态学判定的基础上,结合两群体遗传结构差异,进一步进行比较研究。目前开发 SNP 标记的方法很多,但大多技术繁琐、成本高。SLAF-seq 技术是基于生物信息学、高通量测序仪等的高度自动化技术,获得的海量序列信息可满足任何密度的全基因组分布,以实现候选功能区域的精细定位,数字化信号和高覆盖保证了获得标签的准确性,高通量分子标记开发成本低于常规分子标记,可以一次性获得大量的特异 DNA 序列,为开发大量的特异分子标记提供了序列基础。据北京百迈客公司统计,SLAF-seq 技术开发分子标记的平均成本不到 AFLP 技术的 1/8,而其效率却高近 27 倍,与转录组技术相比在也可以较低成本获得大量标记。可见,利用 SLAF-seq 技术开发四指马鲛属鱼类特异分子标记具有很高的重复性、特异性及实用性。目前,国内外尚无多鳞四指马鲛与四指马鲛遗传差异相关报道,本研究利用 SLAF-seq 技术首次对四指马鲛属两个重要经济物种进行遗传结构差异分析,挖掘出两近似种遗传结构上存在的大量差异位点,大大降低了试验成本,由于方法原理差异,本研究得出四指马鲛属两种鱼类的 SNP 位点转换的概率远大于颠换概率,此结果与利用转录组技术开发鲤鱼(*Cyprinus carpio*) (Li *et al*, 2015) SNP 结果不同。本研究为后续开发多鳞四指马鲛与四指马鲛共显性分子标记,在遗传结构上进行物种鉴定提供有力的基础研究参考,也对开发四指马鲛属鱼类相关功能基因、群体遗传学、基因组作图、物种间比较基因组学等研究具有重要意义。

参 考 文 献

- 马洪雨,郭金峰,岳永生,2006. 用改进的酚-氯仿法提取鱼类基因组 DNA 效果的分析. 家畜生态学报, 27(2): 85—87
- 王新安,马爱军,陈 超等,2008. 七带石斑鱼(*Epinephelus septemfasciatus*)两个野生群体形态差异分析. 海洋与湖沼, 39(6): 655—660
- 毛连环,2009. 四指马鲛人工繁殖技术. 水产科技情报, 36(6): 275—278
- 庄 平,王幼槐,李圣法等,2006. 长江口鱼类. 上海: 上海科学技术出版社, 194—195
- 刘建勇,杨廷宝,2009. 我国沿海鲻鱼(*Mugil cephalus*)不同地理群体形态差异研究. 海洋与湖沼, 40(5): 572—576
- 杨 阳,庄 平,张 涛等,2013. 多鳞四指马鲛 4 个地理群体的形态差异. 上海海洋大学学报, 22(6): 849—854
- 陈士强,秦树文,黄泽峰等,2013. 基于 SLAF-seq 技术开发长穗偃麦草染色体特异分子标记. 作物学报, 39(4): 727—734
- 陈渊戈,张 宇,钟俊生等,2011. 长江口南支和杭州湾北岸碎波带水域仔稚鱼群聚的比较. 上海海洋大学学报, 20(5): 688—696
- 林少珍,王丹丽,王亚军等,2012. 基于 CO 序列分析东海区四指马鲛(*Eleutheronema tetradactylum*)的种群遗传结构. 海洋与湖沼, 43(6): 1261—1265
- 赵 峰,马春艳,庄 平等,2011. 东海常见鲷属鱼类的形态差异及系统进化关系探讨. 海洋渔业, 33(2): 138—143
- 黄桂云,张 涛,赵 峰等,2012. 多鳞四指马鲛幼鱼消化道形态学和组织学的初步观察. 海洋渔业, 34(2): 154—162
- 龚小玲,张晓懿,朱 敏等,2011. 长江口九段沙湿地潮沟鱼类组成及其多样性. 上海海洋大学学报, 20(4): 517—524
- 常有民,张 涛,庄 平等,2013. 多鳞四指马鲛耳石形态特征. 海洋渔业, 35(1): 24—33
- 蒋日进,钟俊生,张冬良等,2008. 长江口沿岸碎波带仔稚鱼的种类组成及其多样性特征. 动物学研究, 29(3): 297—304
- Bleeker P, 1862. Noticeichthyogogue. (I—X). Verse Akad Amsterdam, 14: 123—141
- Bookstein F L, Chernoff B, Elder R *et al*, 1985. Morphometrics in Evolutionary Biology. Philadelphia: Academy of Natural Sciences of Philadelphia, 182—191
- Erguden D, Turan C, 2005. Examination of genetic and morphologic structure of sea-bass (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) populations in Turkish coastal waters. Turk J Vet Ani Sci, 29(3): 727—733
- Horne J B, Momigliano P, van Herwerden L *et al*, 2013. Murky waters: searching for structure in genetically depauperate blue threadfin populations of western Australia. Fish Res, 146: 1—6
- Hubbs C L, Lagler K F, 1947. Fishes of the Great Lake Region. Michigan: University of Michigan Press, 26
- Li G X, Zhao Y L, Liu Z H *et al*, 2015. *De novo* assembly and characterization of the spleen transcriptome of common carp (*Cyprinus carpio*) using Illumina paired-end sequencing. Fish Shellf Imm, 44(2): 420—429
- Motomura H, Iwatsuki Y, Kimura S *et al*, 2002. Revision of the Indo-West Pacific polynemid fish genus *Eleutheronema* (Teleostei: Perciformes). Ichthyol Res, 49(1): 47—61
- Rainboth W J, 1996. Fishes of the Cambodian Mekong. In: FAO Species Identification Field Guide for Fishery Purposes. Rome: FAO, 38—45
- Reist J, 1985. An empirical evaluation of several univariate methods that adjust for size variation in morphometric data. Canadian Journal of Zoology, 63(6): 1429—1439
- Sun X X, Xu D D, Lou B *et al*, 2013. Genetic diversity and population structure of *Eleutheronema rhadinum* in the East and South China Seas revealed in mitochondrial COI sequences. Chin J Oceanol Limnol, 31(6): 1276—1283
- Tzeng T D, 2004. Morphological variation between populations of spotted mackerel (*Scomber australasicus*) off Taiwan. Fish Res, 68(1—3): 45—55
- Wang J J, Sun P, Yin F, 2014. Low mtDNA Cytb diversity and shallow population structure of *Eleutheronema tetradactylum* in the East China Sea and the South China Sea. Biochem System Ecol, 55: 268—274

MORPHOLOGICAL VARIATIONS AND GENETIC LOCI VARIATIONS BETWEEN *ELEUTHERONEMA RHADINUM* AND *E. TRIDACTYLUM* ALONG CHINA COAST

ZHAO You^{1, 2, 3}, ZHUANG Ping², ZHANG Tao², ZHAO Feng²

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Key Laboratory of Marine and Estuarine Fisheries Resources and Ecology, Ministry of Agriculture of China, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China; 3. Tangshan Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Tangshan 063000, China)

Abstract *Eleutheronema rhadinum* and *E. tridactylum* are economically valuable species. We analyzed 26 morphological traits in multivariate comparison method for the two species distributed along China coast. Seven principle components were extracted and their accumulative contribution rate was 91.112%, of which the first three principle components contributed 28.759%, 21.467%, and 15.469%. Morphological variations between *E. rhadinum* and *E. tridactylum* were substantiated on back of head, caudal feature, dorso-ventral axis, and anterior-posterior axis. Discriminant functions of two populations based on 4 morphological parameters were proposed, with which overall discrimination accuracy reached 100%. These functions were used to analyze species resource of the fish. Meanwhile, using simplified genome sequencing technology, SNP and InDel between *E. rhadinum* and *E. tetradactylum* populations were obtained for 69207 and 12884, respectively, which enriched information of the genetic structure field. This study may provide a support in resource estimation and protection, selective breeding, and functional gene research of *Eleutheronema* genus.

Key words *Eleutheronema rhadinum*; *Eleutheronema tridactylum*; morphological variation; genetic loci variation