

我国沿海大竹蛭(*Solen grandis*)野生群体及增殖放流群体遗传多样性的 ISSR 分析*

曹 奕¹ 吴洪喜² 陈爱华¹ 吴杨平¹ 张 雨¹
王 超¹ 张志伟¹ 姚国兴¹ 蔡永祥¹

(1. 江苏省海洋水产研究所 江苏省海洋经济贝类研究开发中心 南通 226007;
2. 浙江省海洋水产养殖研究所 浙江省近岸水域生物资源开发与保护重点实验室 温州 325005)

摘要 近年来,大竹蛭野生资源因过度捕捞等原因急剧减少,主要通过人工增殖放流方式进行补充。对我国沿海大竹蛭群体进行遗传多样性研究,评判增殖放流活动对野生群体遗传结构的影响,能够了解大竹蛭当前的种质资源状况,为合理保护该资源提供科学依据。采用 ISSR 分子标记技术,对广西北海(BH)、江苏启东(QD)、山东日照(RZ)、辽宁营口(YK)、河北秦皇岛(QH)5 个野生大竹蛭群体及江苏蒋家沙增殖放流群体(JJ)共 150 个样品进行了研究。实验结果表明,我国沿海大竹蛭遗传多样性水平高,但各野生群体间已出现显著的遗传分化;江苏蒋家沙增殖放流群体较启东野生群体遗传多样性有所下降,但两群体间的遗传分化并不明显。所以在苗种培育过程中,应当保证亲本数量及品质,扩大亲本选择区域来提高遗传多样性水平,同时应加大本地原种保护力度来避免种质混杂。

关键词 大竹蛭; ISSR; 遗传多样性; 遗传结构

中图分类号 S917 doi: 10.11693/hyhz20150100037

大竹蛭(*Solen grandis*)隶属瓣鳃纲、竹蛭科、竹蛭属,在渤海辽东湾与莱州湾、南海北部湾、黄海朝鲜湾、海州湾及南部海域均有分布。其个体较大,肉质鲜美,是我国重要的经济贝类。近年来,因大竹蛭市场需求扩大导致的过度采捕,以及海洋生态环境的恶化,造成了大竹蛭野生资源量的急剧减少,故需通过人工增殖放流等手段来对大竹蛭资源进行保护。近十几年以来,江苏、山东等地均开展了对于大竹蛭人工繁育技术的研究(侯和要等, 2004; 陈爱华等, 2009),并进行了规模不等的增殖放流活动;其中,江苏省海洋水产研究所江苏启东大竹蛭群体为亲本育成幼苗放流至江苏蒋家沙海域的规模为最大,自 2007 年来,共计放流 4.5mm 左右的苗种 6.26×10^8 ind,江苏大竹蛭资源量上升明显。然而,人工繁育群体的瓶颈效

应和近交衰退现象较野生群体更为明显,在一定程度上会导致群体遗传多样性的改变。而遗传多样性水平与生长速度、抗病能力等生产性状密切相关(李俊清等, 2006)。因此,对大竹蛭野生群体和增殖放流群体遗传多样性水平进行鉴定,一方面能够确保我国种质资源的可持续利用,另一方面能为后续良种选育研究提供理论数据。

ISSR 作为一种共显性、重复性好、稳定性高、价格低廉的分子标记,已被广泛运用在贝类遗传学研究中。目前国内对大竹蛭群体的研究主要采用 SSR 和 AFLP 等方法(乔洪金等, 2012; 张滔等, 2013),本文通过该技术对我国沿海大竹蛭群体进行遗传多样性研究,评判增殖放流活动对野生群体遗传结构的影响,能够了解大竹蛭当前的种质资源状况,为合理

* 江苏省自然科学基金青年项目, BK2012235 号; 江苏省农业科技自主创新资金项目, CX(14)2083 号; 江苏省“六大人才高峰”项目, 2013-NY-013 号; 南通市农业科技创新项目, HL2014018 号; 浙江省近岸水域生物资源开发与保护重点实验室开放课题, J2013008 号。曹奕, 研究实习员, E-mail: caoyi19881123@126.com

通讯作者: 陈爱华, 研究员, E-mail: chenah540540@aliyun.com

收稿日期: 2015-01-29, 收修改稿日期: 2015-07-09

保护该资源提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 样品采集

2013 年 11 月至 2014 年 3 月, 通过实地采样获得广西北海、江苏启东、山东日照、辽宁营口、河北秦皇岛、江苏蒋家沙增殖放流区等处大竹蛭(采样信息见表 1)。每个群体选取 25 个规格较为一致的健康个体, 取其斧足, 用于实验。

表 1 大竹蛭样品采集时间及经纬度
Tab.1 Sampling time, longitudes and latitudes of the *S. grandis* population

群体名称	简称	经纬度	采集时间(年.月)
广西北海群体	BH	109.25°E, 21.40°N	2014.03
江苏启东群体	QD	121.60°E, 32.20°N	2014.03
山东日照群体	RZ	119.55°E, 35.29°N	2013.11
辽宁营口群体	YK	120.22°E, 40.65°N	2013.12
河北秦皇岛群体	QH	120.35°E, 39.81°N	2013.12
江苏蒋家沙增殖 放流群体	JJ	121.25°E, 32.70°N	2013.12

1.2 DNA 提取

采用传统的酚-氯仿法进行提取。紫外分光光度计 OD-1000 测定样品 DNA 的浓度和纯度, 并进行电泳验证, 提取所得的 DNA 保存在 -20°C 环境下。

1.3 引物合成及筛选

由上海生工生物工程有限公司合成 60 条 ISSR 引物用于筛选, 其序列均来自哥伦比亚大学(UBC)。PCR 反应体系含 50ng/ μL 模板 DNA 1.0 μL , 10 \times PCR buffer (含 Mg^{2+}) 2.5 μL , 10mmol/L dNTP 1.0 μL , 10 $\mu\text{mol/L}$ 引物 1 μL , 5U/ μL Taq 酶 0.2 μL , 加 ddH₂O 至 25 μL ; 反

应条件如下: 反应前 94°C 预变性 4min, 94°C 变性 45s, $38\text{--}55^{\circ}\text{C}$ 退火 45s, 72°C 延伸 60s, 共 35 个循环, 反应后 72°C 延伸 7min。

1.4 ISSR-PCR

筛选得出 10 条结果较佳的引物对大竹蛭 6 个群体共 150 个样品进行 ISSR-PCR 扩增, 产物进行 2% 琼脂糖电泳(120V, 100mA, 90min), EB 染色后用 Bio-Rad Doc XR 凝胶成像系统拍照。对所得电泳图进行分析。电泳结果如图 1 所示。

1.5 数据分析

获得 ISSR 电泳图谱后, 用 Quantity One 软件进行分析, 将所得结果进行归类。采用 Popgene32 软件进行遗传参数分析, 并根据各群体遗传多样性参数计算了群体内基因多样性(H_s)、群体总基因多样性(H_t)、各群体间的遗传分化指数(G_{st}) ($G_{st}=1-H_s/H_t$) (Slatkin *et al*, 1989)、遗传距离(D) (Nei, 1978)。基于遗传距离, 用 Mega5.0 软件构建 6 个群体及 150 个样品的 UPGMA 聚类树。利用 Arlequin 3.5 软件 (Excoffier *et al*, 2010)对所有群体间和群体内的遗传变异进行分子变异分析(AMOVA), 计算群体间遗传分化系数(Φ_{st})。

2 结果与分析

2.1 大竹蛭群体内的遗传分析

筛选得出的 10 条引物序列见表 2, 从所有 6 个群体中共扩增得到清晰位点 127 个, 其中多态性位点 118 个(PPB=92.91%)。5 个野生群体的 H 值和 I 值分别在 0.0982—0.1633 和 0.1603—0.2776 之间(见表 3), 江苏蒋家沙增殖放流各项遗传多样性参数均低于亲本 QD 野生群体。

2.2 大竹蛭群体间的遗传分化

野生群体间 $G_{st}=0.1065$, 增殖放流群体(JJ)与其

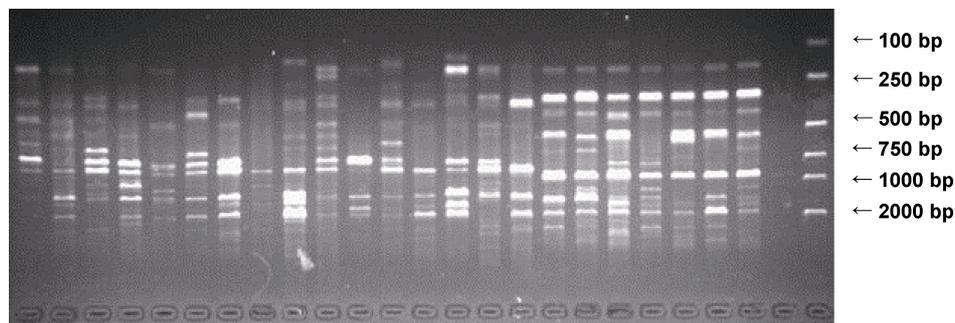


图 1 UBC 824 引物对 BH 群体的扩增结果

Fig.1 The result of ISSR-PCR of primer UBC 824 to BH population

表 2 筛选获得引物序列
Tab.2 The nucleotide sequences of selected primer

Primer 名称	序列(5'-3')	碱基数
UBC 808	AGA GAG AGA GAG AGA GC	17
UBC 810	GAG AGA GAG AGA GAG AT	17
UBC 815	CTC TCT CTC TCT CTC TG	17
UBC 818	CAC ACA CAC ACA CAC AG	17
UBC 824	TCT CTC TCT CTC TCT CG	17
UBC 836	AGA GAG AGA GAG AGA GYA	18
UBC 844	CTC TCT CTC TCT CTC TRC	18
UBC 845	CTC TCT CTC TCT CTC TRG	18
UBC 873	GAC AGA CAG ACA GAC A	16
UBC 881	GGG TGG GGT GGG GTG	15

B=C, G, T; D=A, G, T; H=A, C, T; Y=C, T; V=A, C, G

亲本 QD 群体的 $G_{st}=0.0235$, 所有群体的遗传分化系数 $G_{st}=0.1370$ (见表 4)。野生群体两两间 G_{st} 在 0.0525—0.0857 间, 其中 BH 群体与其余野生群体间 G_{st} 均在 0.07 以上(见表 6)。

而从 AMOVA 分析结果可以看出, $\Phi_{st}=0.1268$, 即在总变异中, 12.68% 的变异归因于大竹蛭群体间的变异, 87.32% 的变异归因于群体内的变异, 群体间和群体内变异均显著($P<0.01$)(见表 5), 该结果与分析所得的 G_{st} 值基本一致。

2.3 遗传距离与聚类分析

利用 Popgene32 软件计算了大竹蛭各群体间的 Nei's 遗传距离(见表 6)。5 个大竹蛭野生群体间遗传距离值变化范围为 0.0139—0.0387, 而增殖放流群体(JJ)与其亲本 QD 群体的遗传距离仅为 0.0088。

表 3 大竹蛭 6 个群体遗传多样性参数
Tab.3 Genetic diversity of the six *S. grandis* populations

群体	样品数	等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	多态位点百分率 PPB(%)	Nei's 基因多样性 H	Shannon's 信息指数 I
BH	25	1.6945	1.2802	69.45	0.1633	0.2776
QD	25	1.6602	1.2245	66.02	0.1507	0.2655
RZ	25	1.6718	1.1937	67.18	0.1432	0.2433
YK	25	1.6125	1.1424	61.25	0.1329	0.2025
QH	25	1.5823	1.1208	58.23	0.0982	0.1603
JJ	25	1.6017	1.1523	60.17	0.1054	0.1850
合计	150	1.9291	1.2352	92.91	0.1533	0.2950

表 4 不同群体间的遗传分化分析
Tab.4 Analysis of genetic differentiation among populations

群体	总基因多样性 H_t	群体内基因多样性 H_s	遗传分化系数 G_{st}
野生群体	0.1479	0.1321	0.1065
江苏南通群体(QD, JJ)	0.1311	0.128	0.0235
所有群体	0.1533	0.1323	0.1370

表 5 大竹蛭群体间和群体内分子变异的 AMOVA 分析结果
Tab.5 Analysis of molecular variance (AMOVA) within/among *S. grandis* populations

变异来源	自由度 df	总方差 SSD	平均方差 MSD	变异组分	总变异百分率(%)	P
群体间	5	490.62	98.13	2.68	12.68	<0.01
群体内	144	2723.04	18.91	18.91	87.32	<0.01

表 6 大竹蛭 6 个群体间遗传距离和遗传分化系数
Tab.6 Genetic distance and genetic diversity coefficient of the six *S. grandis* populations

群体	BH	QD	RZ	YK	QH	JJ
BH	—	0.0313	0.0356	0.0387	0.0377	0.0320
QD	0.0710	—	0.0245	0.0290	0.0310	0.0088
RZ	0.0802	0.0644	—	0.0260	0.0275	0.0230
YK	0.0857	0.0685	0.0651	—	0.0139	0.0295
QH	0.0835	0.0720	0.0713	0.0525	—	0.0302
JJ	0.0725	0.0235	0.0678	0.0695	0.0738	—

对角线以上为遗传距离, 对角线以下为遗传分化系数

根据实验结果计算所得的遗传距离, 通过 Mega5.0 软件构建了 UPGMA 聚类树。6 个大竹蛭群体的聚类结果见图 2。QD 群体与 JJ 群体首先聚为一支, 接着与 RZ 群体聚为一支, QH 群体与 YK 群体聚为另一支, 最后与 BH 群体聚在一起。150 个个体的聚类结果见图 3。由图 3 可见, 6 个群体中大部分个体各自独立汇聚成一支。只有少数个体出现在其它支系中, 该情况 QD、JJ 群体中各有 3 个, YK、QH 群体各有 1 个。从不同群体角度来看, 个体间的聚类结果与群体间的聚类结果相一致。

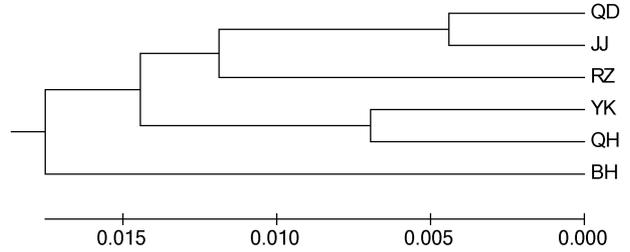


图 2 大竹蛭野生群体和增殖放流群体的 UPGMA 聚类图

Fig.2 The UPGMA phylogenetic tree of stock and wild *S. grandis* populations

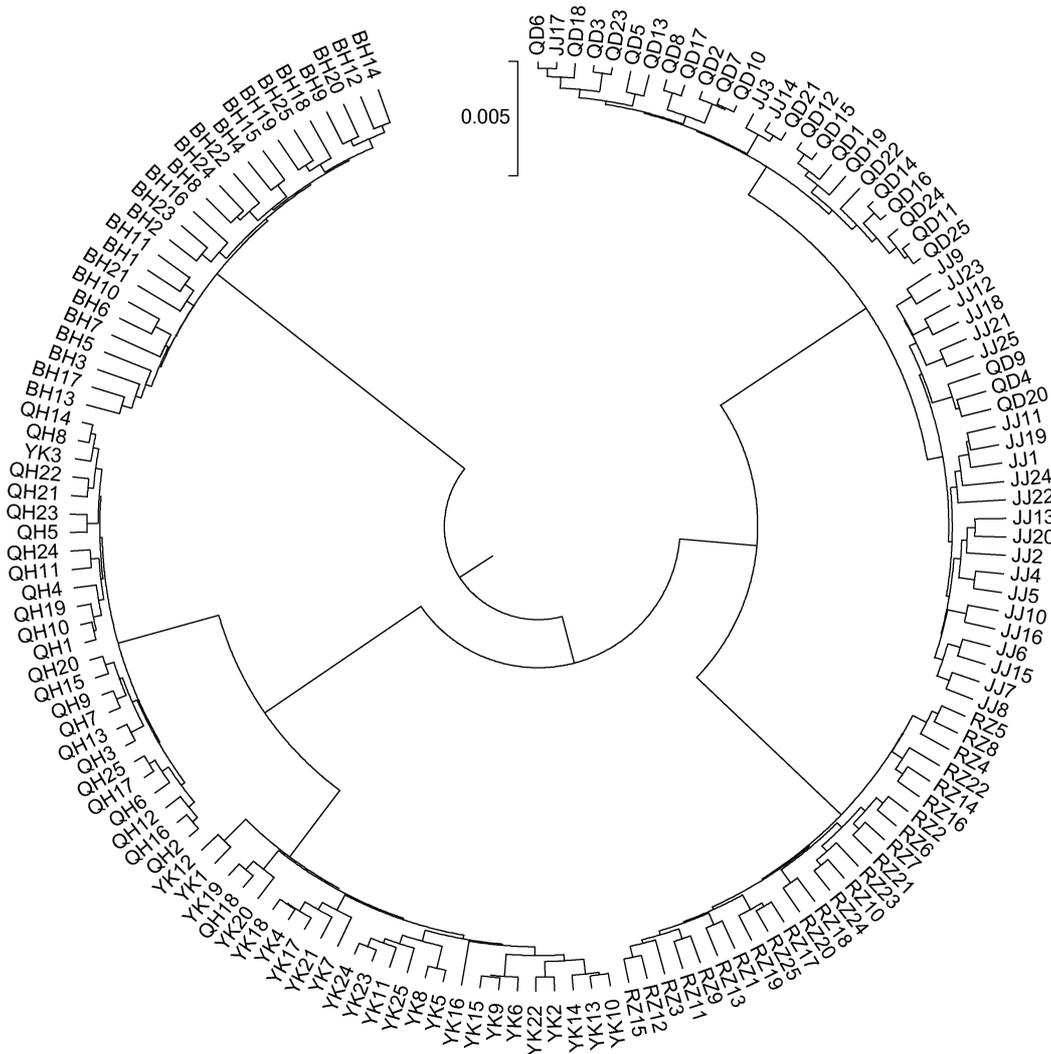


图 3 大竹蛭 150 个个体的 UPGMA 聚类图

Fig.3 The UPGMA dendrogram of 150 individuals from the six population of *S. grandis*

3 讨论

3.1 大竹蛭群体间的遗传多样性分析

表 3 显示, BH 群体的 PPB、*H*、*I* 值分别为 0.1633、0.2776, 和 69.45%, 为 5 个野生群体的最高值, QH 群

体的相应指标则为 0.0982、0.1603 和 58.23%, 为 5 个野生群体的最低值。QH 群体遗传多样性水平的低下可能与所处海域有关。秦皇岛位于环渤海经济圈中心地带, 陆域污染源较多, 同时自身水动力条件较差

决定了该海域自净能力有限,造成该区域种群长期遭受环境污染,从而使得种群数量减少或敏感性个体缺失,群体遗传多样性水平下降,大大降低了生物资源的利用率(Krane *et al.*, 1999)。

本研究还特别关注了江苏蒋家沙增殖放流群体, 研究分析了增殖放流对群体的遗传结构的影响。结果表明蒋家沙增殖放流群体 Nei's 基因多样性、Shannon's 信息指数和多态位点百分率分别为 0.1054、0.1850、60.17%, 而其亲本群体即启东野生群体相应数值则为 0.1507、0.2655、66.02%。两者相比而言, 增殖放流群体的各项遗传多样性参数均有所下降。推测该结果与下列因素有关: 增殖放流群体亲本的选择区域狭窄, 仅为启东吕四港附近约 100 公顷的海域; 且有效亲本使用量较低, 每年使用亲本量大约为 50kg。以上情况均可导致培育的苗种在人工繁殖过程中出现近交现象。为避免增殖放流群体的遗传多样性下降, 可采取的措施有: 一是扩大亲本选择区域, 二是提高亲本的数量和品质。

3.2 分子标记的选择及大竹蛏与其它贝类群体遗传多样性的比较分析

通过对几种基于 PCR 技术的分子标记进行比较分析发现, 与 SSR 标记相比, ISSR 引物开发费用低,

可以在不同物种间通用。与 RAPD 单引物相比, ISSR 揭示的多态性百分率较高, 而且其具有较高的退火温度, 重复性好, 稳定性高。相对于 AFLP 而言, ISSR 费用较低, 反应体系具有一定的通用性, 操作简单, 可广泛应用。综合考虑, 本研究运用 ISSR 标记进行研究相对较好。

表 7 列举了相关海洋经济贝类分子标记的分析结果, 将 6 个群体大竹蛏的多态位点百分率、Nei's 基因多样性指数与其比较, 发现参数相近, 说明在群体水平上大竹蛏具有较高的遗传多样性。

广布种贝类如缢蛏(*S. constricta*)、四角蛤蜊(*M. veneriformis*)、青蛤(*Cyclina sinensis*), 和西施舌(*Macrta antiquata*)群体间遗传差异相对较大(Nei's 多样性指数普遍相差 0.04 以上)(表 7), 而翡翠贻贝(*Pennera viridis*)和马氏珠母贝(*Pinctada martensi*)等仅分布于东南沿海的贝类, 其各个群体间遗传多样性差异相差甚微(马氏珠母贝各群体 Nei's 多样性指数仅相差 0.0003)。由此可见, 广布种比狭域分布的物种具有更多的遗传差异。本研究结果表明大竹蛏群体间遗传多样性水平差异较大(0.0651), 符合其作为广布种的实际情况, 为物种水平上的遗传变异提供了理论基础。

表 7 大竹蛏与其它贝类的遗传多样性比较
Tab.7 Comparison in genetic diversity between *S. grandis* and other clams

种类	地理位置	方法	多态位点百分率 PPB(%)	Nei's 多样性指数 <i>H</i>	参考文献
大竹蛏	辽宁, 河北, 山东, 江苏, 广西	ISSR	58.23—69.45	0.0982—0.1633	本研究
缢蛏	辽宁, 山东, 上海, 浙江, 福建	ISSR	61.59—72.46	0.1043—0.1766	牛东红等, 2009
四角蛤蜊	辽宁, 山东, 江苏, 浙江	ISSR	72.50—96.67	0.2120—0.3420	Hou <i>et al.</i> , 2006
青蛤	辽宁, 天津, 江苏, 浙江, 福建	RAPD	68.90—73.30	0.2490—0.3070	么宗利等, 2005
西施舌	山东, 江苏, 福建, 广西	RAPD	39.16—60.36	0.1073—0.1506	孟学平等, 2011
马氏珠母贝	广西, 广东, 海南	ISSR	93.62—97.87	0.1257—0.1260	吕林兰等, 2008
翡翠贻贝	广西, 广东	ISSR	72.48—75.22	0.2457—0.2534	杜晓东等, 2007

3.3 大竹蛏群体的遗传分化状况

分化系数在 0—0.05 之间, 群体间分化很弱, 0.05—0.15 之间表示中等分化, 0.15—0.25 之间表示分化大, 大于 0.25 表示分化极大(Wright, 1978)。JJ 群体与其亲本 QD 群体的 $G_{st} < 0.05$, 表明增殖放流群体与其野生亲本群体并没有产生明显的遗传分化。而各野生群体间 G_{st} 在 0.0525—0.0857 间, 均达到中等分化水平。所有群体间也达到了中等分化水平(0.1370)。该研究结果表明江苏启东大竹蛏种质状况较好, 数年来的人工育苗、增殖放流没有使得启东群

体产生明显的遗传变异, 依然可以通过增殖放流手段实现对大竹蛏资源的保护。

AMOVA 分析结果表明大竹蛏群体间和群体内分化均达到了极显著水平($P < 0.01$)。 $\Phi_{st} = 0.1268$, 即在总变异中, 87.32%的变异来自群体内, 该结果与分析所得的 G_{st} 值基本一致。

3.4 大竹蛏群体间的亲缘关系分析

遗传距离是衡量群体间亲缘关系的重要指标。Thorp 研究认为, 遗传距离 $D > 0.15$ 的两个群体, 不可能是同一物种; 同科属间 $D = 0.5—0.9$; 不同物种间

$D=0.2-0.8$; 同种不同群体 $D=0.03-0.2$ (Thorp, 1982)。6 个大竹蛭群体的遗传距离大致在 0.01—0.04 范围之内, 属于同种不同群体。聚类关系也反映了群体间亲缘关系的远近。本研究的聚类结果显示, 南通的两个群体(QD, JJ)首先聚为一支, 接着与同为南黄海区域的 RZ 群体聚为一支, 同为 渤海区域的 QH 群体与 YK 群体则聚为另一支, 最后与南海区域的 BH 群体聚在一起。由此推断沿海大竹蛭群体间亲缘关系和地理距离存在相关性。而导致这一现象的原因是大竹蛭的浮游幼虫期只有 6—8d (陈爱华等, 2009), 自然水流的作用只能在较近范围内形成基因交流。这一原因同样能够解释个体的聚类结果中少数个体出现在邻近地理群体支系中的现象。

4 结论

本研究分析了我国沿海大竹蛭的遗传多样性状况, 并对人工增殖放流活动对野生群体的影响情况进行了评价。结果表明, 我国沿海大竹蛭在保持着高遗传多样性水平的同时, 不同野生地理群体之间已经出现了显著的分化。开展的增殖放流活动会使得本地野生群体的遗传多样性有所下降, 但不会产生明显的遗传变异。可以得出结论: 人工增殖放流仍然能够作为主要的大竹蛭野生资源恢复手段, 但在苗种培育过程中, 应当在保证亲本数量及品质的情况下尽量扩大选择范围; 同时, 注意对本地原种加大保护力度, 避免异地繁养带来的遗传变异。相关监测工作仍需持续进行, 以便对我国沿海大竹蛭资源的保护状况进行准确的评估。

参 考 文 献

么宗利, 周 凯, 来琦芳等, 2005. 我国五个青蛤地理群体遗传变异的 RAPD 分析. 海洋渔业, 27(2): 102—107
牛东红, 李家乐, 冯冰冰等, 2009. 缢蛭 6 个群体遗传结构的 ISSR 分析. 应用与环境生物学报, 15(3): 332—336

吕林兰, 杜晓东, 王 嫣等, 2008. 马氏珠母贝 3 个野生种群及种群间杂交后代遗传多样性的 ISSR 分析. 水生生物学报, 32(1): 26—32
乔洪金, 刘相全, 孙国华等, 2012. 大竹蛭(*Solen grandis*) cDNA 文库中微卫星标记的筛选. 海洋与湖沼, 43(6): 1128—1133
杜晓东, 李 康, 黄荣莲等, 2007. 翡翠贻贝 3 个野生种群遗传多样性分析. 热带海洋学报, 26(4): 51—55
李俊清, 李景文, 2006. 保护生物学. 北京: 中国林业出版社
张 滔, 刘相全, 孙国华等, 2013. 大竹蛭(*Solen grandis*)不同地理群体遗传多样性的 AFLP 分析. 海洋与湖沼, 44(2): 525—530
陈爱华, 姚国兴, 张志伟, 2009. 大竹蛭生产性人工繁育试验. 海洋渔业, 31(1): 66—72
孟学平, 王 帅, 高如承等, 2011. 西施舌群体遗传结构及分化的 RAPD 分析. 海洋科学, 35(2): 6—10
侯和要, 牟乃海, 宋全山等, 2004. 大竹蛭人工繁殖技术研究. 齐鲁渔业, 21(6): 32—35
Excoffier L, Lischer H E L, 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources, 10(3): 564—567
Hou L, Lü H L, Zou X Y *et al*, 2006. Genetic characterizations of *Macra veneriformis* (Bivalve) along the Chinese coast using ISSR-PCR markers. Aquaculture, 261(3): 865—871
Krane D E, Sternberg D C, Burton G A, 1999. Randomly amplified polymorphic DNA profile-based measures of genetic diversity in crayfish correlated with environmental impacts. Environmental Toxicology and Chemistry, 18(3): 504—508
Nei M, 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 89(3): 583—590
Slatkin M, Barton N H, 1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. Evolution, 43(7): 1349—1368
Thorp J P, 1982. The molecular clock hypothesis: biochemical evolution, genetic differentiation and systematics. Annual Review of Ecology and Systematics, 13(1): 139—168
Wright S, 1978. Evolution and the genetics of populations 4. Variability within and among natural populations. Chicago: University of Chicago Press, 4

ISSR ANALYSIS ON GENETIC DIVERSITY OF STOCK AND WILD *SOLEN GRANDIS* POPULATIONS ALONG COASTAL AREAS OF CHINA

CAO Yi¹, WU Hong-Xi², CHEN Ai-Hua¹, WU Yang-Ping¹, ZHANG Yu¹, WANG Chao¹,
ZHANG Zhi-Wei¹, YAO Guo-Xing¹, CAI Yong-Xiang¹

(1. Jiangsu Marine Economic Shellfish Research and Development Center, Jiangsu Marine Fisheries Research Institute, Nantong 226007, China; 2. Zhejiang Key Laboratory of Exploitation and Preservation of Coastal Bio-resource, Zhejiang Mariculture Research Institute, Wenzhou 325005, China)

Abstract Due to overfishing and other reasons, wild *Solen grandis* resources decreased sharply, to which stock enhancement reproduction and release becomes a major supplemental way. To understand *S. grandis* germplasm resources and provide a scientific basis for the protection of *S. grandis* resource, we studied the genetic diversity of its populations along coastal areas of China. Five wild populations including Beihai(BH)(Guangxi), Qidong(QD)(Jiangsu), Rizhao (RZ)(Shandong), Yingkou(YK)(Liaoning), and Qinhuangdao(QH)(Hebei), and a stock population in Jiangjia sandbar (JJ)(Jiangsu), were selected and sampled for ISSR(inter-simple sequence repeat)analysis. Results show that *S. grandis* showed a high level of genetic diversity, and genetic differentiation among wild populations had been significant. Comparing with wild population QD, the genetic diversity of population JJ decreased, but the genetic differentiation between the two populations was not significant. Therefore, we could guarantee the quantity and quality of the parents, expand parental area to increase genetic diversity, and pay great attention to protecting the local precious germplasm not to be confounded.

Key words *Solen grandis*; ISSR; genetic diversity; genetic structure