

中国近海带鱼种群生化遗传结构 及其鉴别的研究*

王可玲 张培军 刘兰英 尤 锋 徐 成 王建飞

(中国科学院海洋研究所, 青岛)

摘 要 用淀粉胶和聚丙烯酰胺凝胶电泳, 分析了中国近海带鱼(*Trichiurus*) 9个取样群体472尾鱼的11种同工酶。并对它们进行了生化遗传分析, 共记录出24个基因座位。各取样群体遗传相似度和遗传距离的计算表明, 中国近海的带鱼不是过去认为的一个种、3~5个种群, 而是存在3个不同的种8个种群。

关键词 带鱼 同工酶 种群 生化遗传

前 言

种群是鱼类数量变动的基本单元, 也是现代分类学的基本单位, 因而成为渔业生物学和鱼类学工作者关注的一个重要研究课题。目前研究鱼类种群大致有3种方法, 即形态学方法、生态学方法和生化遗传方法(主要是同工酶方法)。带鱼是中国第1大经济鱼类, 年产量40~50万吨, 约占该鱼世界产量的4/5。过去国内外对带鱼从形态和生态角度进行了大量的工作, 其结果多认为中国的带鱼为1个种, 但不同的学者却分别认为存在3、4和5个种群, 可谓众说纷纭^[1~4]。中国近海的带鱼量大面广, 种群复杂, 看来单靠形态和生态学方法分类是难于解决的。

生物的变异最终是通过基因的突变遗传下来的。然而形态的变异不一定都能遗传, 遗传的信息也不一定都在形态上表现出来。近30年来, 同工酶作为基因的生化表型, 作为遗传的生化指标, 已广泛应用于分子遗传, 种群遗传, 系统分类, 物种的起源与演化, 种质资源考察, 原种群间基因流动以及生物多样性研究等许多方面并取得了可喜的结果^[5~12]。

从1976年开始, 笔者主要以生化遗传方法同时辅之以形态学资料, 以种群为基本研究单位, 对中国近海的带鱼进行了较系统的研究。80年代, 笔者曾发表了几篇有关带鱼肌浆蛋白和酯酶的研究报告^[13~16], 把中国近海的带鱼分为几个类群, 同时也观察到在同一海区内还存在着不同的类群。然而, 这些类群之间的关系如何, 这是肌浆蛋白和酯酶的资料难于回答的, 它们可以发现差异却不能确定差异的分类阶元。本文主要总结带鱼各种群的同工酶的资料, 它们可以记录其基因座位, 统计各种群各个等位基因的频率, 从而计算种群内和种群间

本文于1992-10-08收到, 修改稿于1993-05-28收到。

• 国家自然科学基金和中国科学院海洋研究所实验海洋生物学开放研究实验室资助项目。

的遗传变异, 定量的描述各种群的差异, 为带鱼的种群和分种问题, 提供了可靠的依据。在讨论中还评估了生化遗传方法与形态学方法在本课题研究中的作用及其各自的优势和局限性; 同时, 对应用同工酶方法研究鱼类种群的问题也进行了讨论。

1 材料和方法

1976~1992年, 先后5次去海南、广东省, 多次去福建、浙江、江苏和山东等省近海, 共收集与分析了9个生殖群体472尾带鱼同工酶的生化样品(表1), 另有近千尾带鱼的肌浆蛋白、酯酶以及形态学的样品(取样地点见图1)。样品取自活鱼或捕后冰藏1天之内的鲜鱼。每尾鱼取其背部肌肉、肝尖各2块及2只眼球, 分别置于小塑料袋内编号, 并立即放入液氮中带回实验室保存至分析。在取样现场同时进行了生物学和形态学测定, 固定了形态标本。

供分析的样品, 经匀浆, 4°C、1.6万r/min、离心15min, 上清液用于电泳。主要使用水平的淀粉胶电泳, 唯酯酶使用聚丙烯酰胺凝胶垂直板电泳。淀粉胶是采用两种国产淀粉混合制成1.2cm的淀粉胶, 电泳后各切成6片分染5种同工酶。笔者先后普查了24种同工酶, 从中筛选出11种同工酶进行了常规分析。11种同工酶的名称及各自采用的组织、电泳缓冲液系

统等见表2。同工酶的染色方法参照Harris^[17]并略加修改。

11种同工酶共记录出24个基因座位, 统计各取样生殖群体的等位基因频率, 计算了各个生殖群体的多态座位比例(P)、平均杂合度(H)以及各种群的遗传相似度(I)和遗传距离(D), 公式如下。

$$P = \text{多态座位数} / \text{总座位数},$$

$$H = \frac{\sum(1 - \sum x_i^2)}{n},$$

$$I = \sum_{i=1}^n x_i y_i / \sqrt{\sum x_i^2 \sum y_i^2},$$

$$D = -\ln I.$$

其中, x_i —— x 种群第 i 个等位基因的频率; y_i —— y 种群第

i 个等位基因的频率; n ——所测座位数。

同工酶缩写、编号、座位、等位基因等的命名基本采用Shaklee等^[18]推荐的方法。

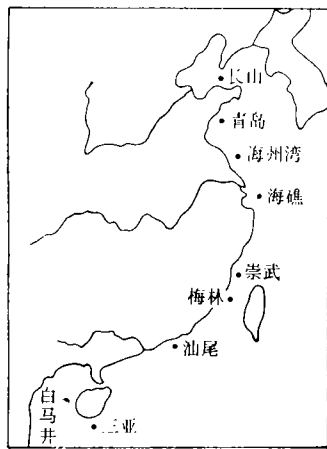


图1 取样地点分布

2 结果

2.1 酶的表达

2.1.1 LDH

为四聚体酶, 由A、B、C3个基因座位编码, 其中B基因座位很容易失活或降解。3个基因座位皆为多态且具有组织特异性, 在眼组织中3个基因座位都存在; 在肌肉和肝中则无C基

表1 同工酶有效样本大小和取样地点

酶名称	短带鱼		南海带鱼		带		鱼		
	三亚	白马井	三亚	汕尾	三亚	汕尾	梅林	海礁	海州湾
LOH	50	60	54	20	61	50	68	57	52
MDH	50	60	60	20	58	50	66	57	52
IDHP	50	60	61	19	61	50	66	57	52
MEP	51	60	61	20	62	50	68	57	52
ADH	47	58	56	20	68	48	62	54	52
SDH	51	57	57	20	69	49	63	53	50
PGM	32	46	28	11	38	14	48	42	52
SOD	51	58	57	20	70	50	64	54	52
G6PDH	52	57	57	19	57	50	52	30	52
CAT	47	56	46	19	59	50	63	48	45
EST	28	58	41	11	54	23	42	32	52

表2 所分析的同工酶及其电泳条件

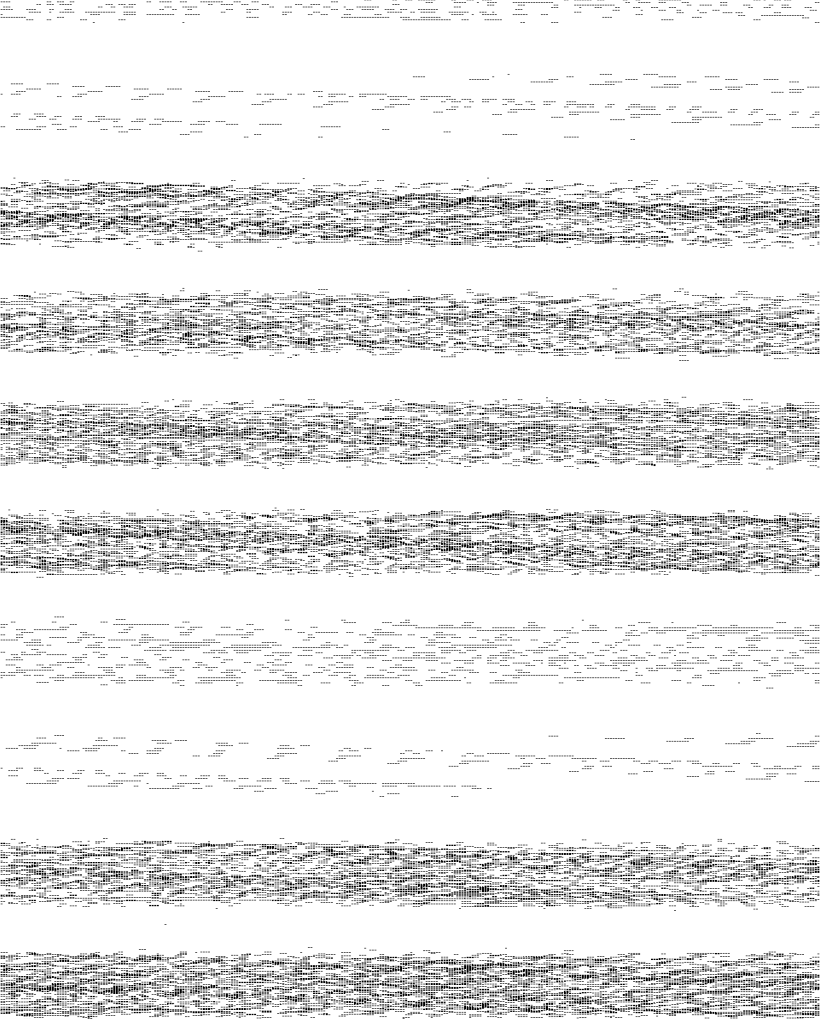
酶的名称	缩 写	酶编号	分析的组织	缓冲液系统	电泳支持物
乳酸脱氢酶	LDH	1、1、1、27	眼、肌	TC	SG
苹果酸氢酶	MDH	1、1、1、37	肌	TC	SG
异柠檬酸脱酶氢	IDHP	1、1、1、42	眼、肌	TC	SG
苹果酸酶	MEP	1、1、1、40	眼、肌	TC	SG
醇脱氢酶	ADH	1、1、1、1	肝	EBT	SG
山梨醇脱氢酶	SDH	1、1、1、14	肝	EBT	SG
磷酸葡萄糖变位酶	PGM	5、4、2、2	眼、肌、肝	EBT	SG
超氧化物歧化酶	SOD	1、15、1、1	肝	EBT	SG
葡萄糖-6-磷酸脱氢酶	G6PDH	1、1、1、49	肝	EBT	SG
过氧化氢酶	GAT	1、11、1、6	肝	EBT	SG
酯酶	EST	3、1、1、一	肝	TG	PAG

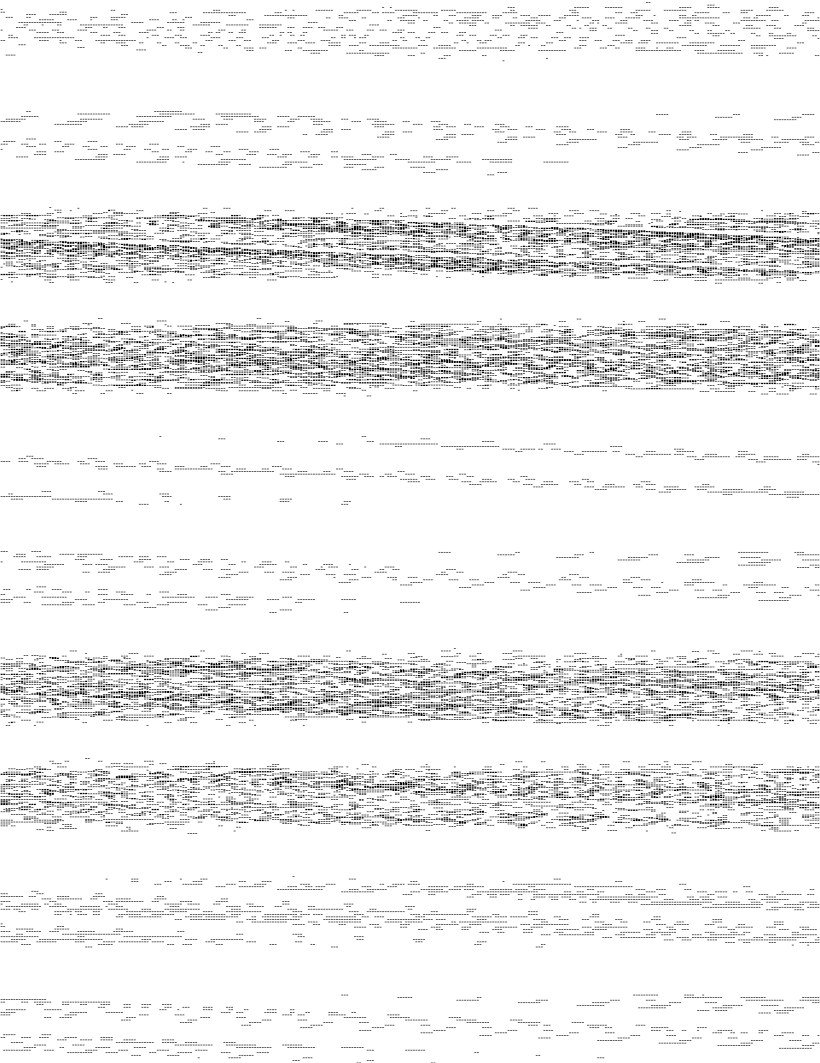
T——Tris，C——柠檬酸，G——甘氨酸，B——硼酸，E——EDTA，SG——淀粉胶，PAG——聚丙烯酰胺凝胶。

因座位。与大多数鱼类一样，A基因座位在肌肉中超显性，依此可帮助对A基因座位 的生化遗传分析。在带鱼中A、B两个基因座位的表达产物缩合成3种多肽聚合体，在电泳中显示为3条区带，它们可能是A₄、A₂B₂和B₄。LDH在带鱼中具有种的特异性：3种带鱼中的带鱼(*Trichiurus haumela*)的各个种群中所有的个体无一例外，LDH-B基因座位都缺失，它们的LDH-A后的杂合体偏向A₄，LDH-C基因座位的Rf值102~104（图2）。而另外两种带鱼的A₂B₂在A₄和B₄中间，它们LDH-C的Rf值均为100。

2.1.2 MDH

为二聚体酶，由4个基因座位编码，3种带鱼各种群的MDH4个基因座位皆为单态。它们在3种组织中都有活性，但肌肉的图谱表达最清楚。在肌肉组织中存在两类MDH，一种是s-MDH，有两个基因座位并互相缩合成3条带。另一种是m-MDH，也有两个基因座位但互





000	1000000	1.	00000000000000000000	1.
000	1000000	1.	00000000000000000000	1.
000	1001000	01.	00000000000000000000	11.
000	1001000	01.	00000000000000000000	11.
000	1001000	01.	00000000000000000000	11.
000	1001000	01.	00000000000000000000	11.
07031	0017500000	07.	00000000000000000000	00.7
029105000	0.	049200	258090	00.2
0078100276	0.	1070000	203050	00.2
000	1001000	01.	00000000000000000000	11.0

=====

续表

基 因	等 位	短带鱼		南海带鱼		带		鱼			
		基 因	三 亚	白 马 井	三 亚	汕 尾	三 亚	汕 尾	梅 林	海 礁	海 州 湾
Pgm		100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
	Adh	—56	0	0	0.446	0.400	0.044	0.063	0	0.019	0
		—90	0	0	0	0.200	0.022	0.115	0.032	0	0.077
		—100	1.000	1.000	0.482	0.300	0.434	0.510	0.806	0.945	0.827
		—110	0	0	0.036	0.100	0.441	0.125	0.162	0.037	0.096
		—120	0	0	0.036	0	0.059	0.187	0	0	0
Sdh	50	0	0	0.053	0	0.355	0.378	0.444	0.462	0.440	
	70	0	0	0	0	0.116	0.020	0	0	0	
	100	1.000	1.000	0.728	0.700	0.449	0.490	0.445	0.519	0.540	
	110	0	0	0.105	0.300	0.029	0.071	0.111	0.019	0	
	130	0	0	0.088	0	0.029	0.010	0	0	0.020	
	150	0	0	0.026	0	0.022	0.031	0	0	0	
G6pdh	35	0	0	0	0	0.018	0.040	0	0	0	
	70	0	0	0	0.053	0.035	0.040	0.038	0	0	
	90	0	0	0.035	0.210	0.263	0.240	0.058	0	0	
	100	1.000	1.000	0.737	0.632	0.649	0.680	0.865	1.000	1.000	
	105	0	0	0.211	0.105	0.035	0	0.039	0	0	
	120	0	0	0.017	0	0	0	0	0	0	
m-Sod	100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
s-Sod-1	100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
s-Sod-2	100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
Cat	40	0.723	0.223	0.435	0.184	0.559	0.490	0.468	0.385	0.067	
	100	0.266	0.705	0.348	0.342	0.322	0.360	0.270	0.365	0.311	
	170	0.011	0.072	0.217	0.474	0.119	0.150	0.262	0.250	0.622	
Est-1	93	0	0	0.154	0	0	0	0	0	0	
	95	0	0	0.513	0.818	0	0	0	0	0	
	96	1.000	1.000	0.333	0.182	0	0.030	0	0	0	
	100	0	0	0	0	0.849	0.909	0.714	0.656	0.333	
	102	0	0	0	0	0.151	0.061	0.167	0.125	0.583	
	104	0	0	0	0	0	0	0.119	0.219	0.084	
Est-2	90	0	0	0.024	0	0	0	0	0	0	
	94	0	0	0.951	1.000	0	0	0	0	0	
	97	1.000	1.000	0.025	0	0	0	0	0	0	
	100	0	0	0	0	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
Est-3	93	1.000	1.000	0	0	0	0	0	0	0	
	94	0	0	0.850	0.818	0	0	0	0	0	
	96	0	0	0.150	0.182	0	0	0	0	0	
	100	0	0	0	0	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	

续表

基 因 座 位	等 位 基 因	短带鱼		南海带鱼		带 鱼		带 鱼		
		三 亚	白 马 井	三 亚	汕 尾	三 亚	汕 尾	梅 林	海 礁	海 州 湾
Est-4	90	1.000	1.000	0	0	0	0	0	0	0
	97	0	0	0	0.182	0	0.065	0	0	0
	100	0	0	1.000	0.818	1.000	0.935	1.000	1.000	1.000
Est-5	90	0	0	0	0	0.074	0.065	0	0	0
	94	0	0	0.024	0	0	0	0	0	0
	96	0	0	0	0	0.130	0.129	0.122	0.200	0.318
	100	0	0	0.024	0	0.759	0.806	0.878	0.800	0.682
	106	0	0	0.952	1.000	0.037	0	0	0	0

2.2.2 9个取样群体的多态座位比例、平均杂合度

以各取样群体为单位，据其多态座位数及等位基因频率，计算出其多态座位比例和平均杂合度，见表4。

表4 9个取样群体的多态座位比例（*P*）、平均杂合度（*H*）

取样群体	三亚短带鱼	白马井短带鱼	三亚南海带鱼	汕尾南海带鱼	三亚带鱼	汕尾带鱼	梅林带鱼	海礁带鱼	海州湾带鱼
<i>P</i>	0.125	0.125	0.375	0.375	0.375	0.417	0.375	0.292	0.208
<i>H</i>	0.042	0.045	0.095	0.089	0.103	0.103	0.077	0.067	0.073

由表4看出，3种带鱼各取样群体的平均杂合度在0.042~0.103之间，而一般脊椎动物的平均杂合度在0.03~0.08之间^[7]，鱼是低等脊椎动物，故带鱼的平均杂合度在脊椎动物中位于上限附近的结果与一般鱼是相符的。另外，平均杂合度还与种群大小有关，短带鱼各取样群体最小，故平均杂合度也小。

2.3 各种群间的遗传变异及其度量

2.3.1 遗传相似度和遗传距离

3种带鱼各取样群体的遗传相似度与遗传距离的结果如表5所示。
由表5可见，中国近海带鱼9个取样群体的*D*值波动在0.004~0.048，其中除梅林与海礁两取样群体间*D*值为0.004之外，其他群体间*D*值的差异（0.007~0.048）均在已发表的鱼类种群间的*D*值范围（0.01左右^[12]）附近，可为种群间的差异，而梅林与海礁两个取样群体间*D*值差异较小，可视为一个种群。这种分析与渔业生产实际和其他生态资料也是一致的。

2.3.2 聚类分析

将上述9个群体的*I*值进行聚类分析，则可得到图13。
由图13可看出，中国近海带鱼存在着3个水平的差异，右边3条线差异很大，应为3个不同的种，中间的8条线差异较小，可为8个不同的种群，最左边的2条线差异最小，两者可视为1个种群，同时，从图中也能反映出中国近海带鱼的变异、分化及其亲疏关系。综上所述，

表5 9个取样群体的遗传相似度（I）与遗传距离（D）

D I	三亚 短带鱼	白马井 短带鱼	三亚 南海带鱼	汕尾 南海带鱼	三亚 带鱼	汕尾 带鱼	梅林 带鱼	海礁 带鱼	海州湾 带鱼
三亚短带鱼		0.986	0.799	0.767	0.667	0.680	0.674	0.676	0.653
白马井短带鱼	0.014		0.807	0.781	0.671	0.687	0.681	3.688	0.672
三亚南海带鱼	0.224	0.215		0.985	0.732	0.738	0.728	0.725	0.711
汕尾南海带鱼	0.265	0.247	0.015		0.714	0.721	0.708	0.703	0.700
三亚带鱼	0.404	0.400	0.313	0.337		0.993	0.978	0.975	0.953
汕尾带鱼	0.386	0.376	0.303	0.327	0.007		0.990	0.982	0.956
梅林带鱼	0.395	0.384	0.317	0.345	0.013	0.010		0.996	0.979
海礁带鱼	0.392	0.374	0.321	0.353	0.026	0.019	0.004		0.984
海州湾带鱼	0.426	0.398	0.341	0.357	0.048	0.045	0.022	0.017	

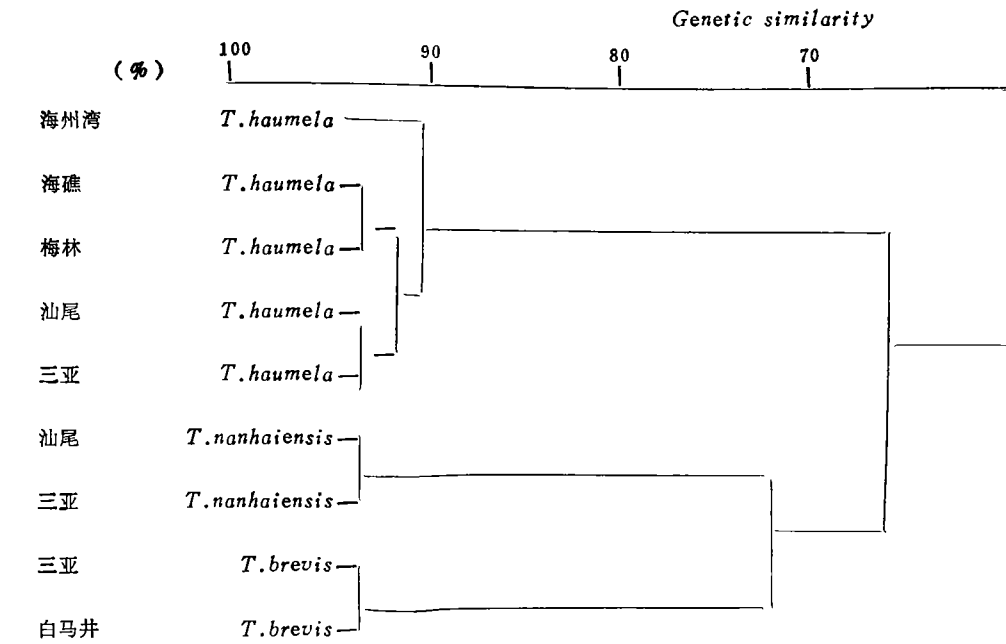


图13 3种带鱼各取样群体遗传相似度（I）的聚类分析图

我们可以说中国近海带鱼应该分为3个种、8个种群。

3 讨论

1，同工酶电泳资料与形态学资料在鱼类分类和种群鉴别应用上的比较

毋庸置疑,形态学资料在种以上的分类学研究中是其他资料不能替代的。它有几百年的历史,已自成系统,无论在物种的定名和分类位置的确定上都离不开它。而同工酶的资料应用于生物分类目前多数仅能在一个种的范围内。已有的资料表明,多数鱼类同工酶电泳资料与形态学资料在分种问题上是一致的。我们已发表的“中国近海带鱼分种的研究”中,带鱼形态学资料与同工酶的资料的结果也是一致的,都表明中国近海存在3个不同的种。

但是,在鱼类种群鉴别上,形态学资料往往不及生化遗传资料那样灵敏、准确和清楚。种群间形态的差异往往是交叉的,连续的,难于划分清楚。另外形态学资料,在种群和物种之间缺乏客观的准绳,也难于鉴别。以往从形态学角度进行的中国近海带鱼种群的调查研究结果差异如此悬殊,与方法的局限性也有关系。种群间遗传的变异在DNA水平上是基因变异引起的,只有用遗传学和生化方法才能检测出来,它们不一定能在形态上反映出来。近20~30年来,综合电泳、组织化学染色为一体的同工酶方法通过数理统计,为测定蛋白质与同工酶的遗传变异提供了较完整的生化遗传技术,使种群内和种群间基因变异的度量成为可能,从而可以定量地描述物种和种群的变异与分化,提供较客观的物种和种群划分的依据。同工酶方法是目前种群鉴定的较好方法之一。

2. 关于中国近海带鱼种群的划分

我们根据现有资料将中国近海带鱼分成了3个种,它们皆有不同种群。其中短带鱼分布范围较窄,主要在海南省,已收集到两个种群,分别称为白马井短带鱼种群和三亚短带鱼种群。南海带鱼分布较广,海南、广东甚至福建等省近海都有它的分布,已收集到两个种群的资料分别称它们为三亚南海带鱼种群和汕尾南海带鱼种群。带鱼分布范围最广,中国沿岸都有分布。我们已收集了4个带鱼的种群,分别称它们为三亚带鱼种群、汕尾带鱼种群、海礁带鱼种群和海州湾带鱼种群。由于种种原因,我们现有的资料中尚缺乏北部湾外海和粤西带鱼类的资料,这些带鱼应分别归属哪一个种群或是另外的种有待于进一步研究。

过去国内学者把中国的带鱼(*T. haumela*)分成3~5个种群,实际上他们之中的多数对黄渤海种群、东海种群和粤东带鱼种群的观点是基本上相同的,这3个种群的划分也与我们的资料是一致的,分歧在南海的带鱼。我们把南海的带鱼分成了3个种,其下还有不同的种群,以前对划分成几个种群意见也不一致。之所以会产生这些不同的结果,除了前述方法的差异之外,也与收集资料的数量、测定项目的多少以及时间、地点等因素有关。

3. 关于海州湾带鱼种群

在50~60年代,带鱼的北方种群(称为黄渤海种群)曾是黄渤海最主要的经济鱼类之一,是仅次于东海带鱼种群的另一支强大的带鱼种群,当时莱州湾、辽东湾、乳山和海州湾都是它的产卵场。由于60年代后期和70年代初期捕捞过度、“竭泽而渔”,致使北方带鱼种群遭到种群灭绝的恶运,这是我国海洋渔业的惨痛教训!

70年代后期,每年秋季在海州湾又出现近万吨的带鱼产量,是北方带鱼资源恢复了还是南方(海礁带鱼种群)带鱼北上形成的,是当时大家关心的问题。为此,作者在海州湾收集了它们的肌浆蛋白样品,比较分析了它们与海礁、渤海带鱼种群肌浆蛋白电泳图谱,结果表明,这批秋季带鱼是来自海礁渔场的带鱼。为了反证,1982年6月中旬(黄海中部带鱼产卵盛期),笔者在海州湾带鱼的中心产卵场组织了两天两夜的试捕,结果连一尾带鱼也没有捕到,说明当地资源没有恢复^[15]。

近几年海州湾在春末夏初又有一定数量的带鱼出现,当地已形成一个小渔汛。1992年6月

中旬笔者又到海州湾收集了带鱼同工酶的资料。如上所述,同工酶分析结果表明,它与海礁带鱼为不同的种群,而且它与带鱼的另外两个种群的遗传距离比海礁带鱼种群的遗传距离还要大。前者为0.045 1~0.048 4,后者为0.018 5~0.025 8,说明海州湾带鱼种群与它们之间的关系更疏远一些。生产实践和同工酶的资料都说明海州湾带鱼种群已在开始恢复了。

现在的海州湾带鱼种群刚刚开始恢复,产量可能尚不足10t,该种群在北方其他的产卵场仍很少见到。现在黄渤海渔业资源濒于衰竭的边缘。对于带鱼这样优质鱼种,它有着潜在的可能发展成黄渤海优势种群的能力,应该采取有力措施进行繁殖保护,并人为地创造条件,让目前已处在强大渔捞压力下的弱小的海州湾种群能发展起来,千万不要重蹈覆辙。

童第周,熊全沐、王祖熊、杜若甫、徐玖瑾诸教授曾给予指导和帮助,尹青、孙德海同志参加过资料的收集与分析,在此一并致谢。

参考文献

- 1 罗秉征等.中国近海带鱼耳石生长的地理变异与地理种群的初步探讨.海洋与湖沼论文集,北京:科学出版社,1981,181~194
- 2 林景琪.带鱼.北京:农业出版社,1985,1~11
- 3 林新渥,沈晓民.东、黄海带鱼分种问题的初步研究.水产学报,10(4):331~350
- 4 山田梅芳等.东シナ海、黄海のちかな.东京:水产厅四海区水产研究所,1980,268
- 5 朱兰菲,蒋一圭.银鲫种内的遗传标记及其在选种中的应用.水生生物学报,1987,11,105~111
- 6 吴力钊,王祖熊.长江中游草鱼天然种群的生化遗传结构及其变异.遗传学报,1992,19(3):221~227
- 7 李思发等.长江、珠江、黑龙江鲢、鳙、草鱼种质资源研究.上海:上海科学技术出版社,1990,51~101
- 8 根井正利(Nei M)著,王家玉译.分子群体遗传学与进化论.北京:农业出版社,1975,121~203
- 9 日本水产学会编.鱼类种族的生化学的判别.东京:恒里社厚生阁刊,1975,65~79
- 10 Allendorf F W & F M Utter. Population genetics. In: Fish Physiology, W S Hoar, D S Randall and J R Brett, editors., 1979, 8, 407~454
- 11 Ayala F M. Molecular genetics and evolution. In: Molecular Evolution, Sinauer Assoc, Sunderland, 1976, 29~86
- 12 Maria R M & N Taniguchi. Interspecific genetic divergence in Sciaenids from Japan and its adjacent waters. Japanese Journal of Ichthyology, 1988, 35(1): 40~46
- 13 王可玲等.舟山近海带鱼与小带鱼肌浆蛋白、乳酸脱氢酶同工酶、肝酯酶的变化.鱼类学论文集,(第2辑),1983,41~46
- 14 王可玲等.中国近海带鱼肌浆蛋白电泳图谱的初步分析.海洋科学,1983,(3):43
- 15 王可玲,尹青.应用电泳资料探讨黄海中部秋季带鱼的种群和洄游.海洋科学,1985,9(5):48~49
- 16 王可玲等.东海、南海带鱼肌浆蛋白的地理变异及其分种问题的探讨.海洋与湖沼,1988,19(6):579~600
- 17 Harris H & D A Hopkinson. Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics. North-Holland Publishing Com. Amsterdam, Oxford, 1976
- 18 Shaklee J B et al. Genetic nomenclature for protein-coding loci in fish: proposed guidelines. Transaction of the American Fisheries Society, 1989, 118, 218~227
- 19 王可玲等.中国近海带鱼分种的研究.海洋学报,1993,15(2):77~83
- 20 王可玲等.南海带鱼遗传变异及其分类的研究.海洋科学,1992,2,69~72
- 21 熊全沐.同工酶电泳数据的分析及其在种群遗传上的应用.遗传,1989,8(1):1~5
- 22 Gross T F & J King. Genetic effects of hatchery rearing in Atlantic salmon. Aquaculture, 1983, 33, 33~40
- 23 Grant W S & G Stahl. Description of electrophoretic loci in Atlantic cod, *Gadus morhua*, and

-
- Comparison with Pacific cod, *Gadus macrocephalus*. *Hereditas*, 1988, 168, 27~36
- 24 Goodfellow W L *et al.* Biochemical assessment of the taxonomic status of "Rhinichthys bowersi" (Pisces: Cyprinidae). *Copeia*, 1984, (3): 652~659
- 25 Ihssen P E *et al.* Stock identification, Materials and methods. *Can. J. Fish Aquac. Sci.*, 1981, 38, 1838~1855