

厦门文昌鱼遗传多样性研究*

周涵韬¹ 连玉武¹ 邱检萍¹ 叶帆¹ 曾国寿²

(¹ 厦门大学生命科学学院 厦门 361005)

(² 厦门第一中学 厦门 361009)

摘要 运用分子标记技术,对厦门现有文昌鱼(*Branchiostoma balchei* Gray) 海域(蟹口海域、南线海域、黄厝海域)文昌鱼种群进行遗传多样性研究。通过 10 个有效引物的 RAPD 反应,共扩增出 238 条条带,其中多态性条带为 121,占总扩增条带的 50.84%。Nei 指数法分析和 UPGMA 统计分析表明:厦门 3 个海域文昌鱼可分为 2 个组,平均遗传距离为 0.11。南线海域文昌鱼和黄厝海域文昌鱼的遗传距离为 0.07,亲缘关系较近,聚类于同一组;蟹口海域文昌鱼与南线海域文昌鱼和黄厝海域文昌鱼的遗传距离分别为 0.12 和 0.14,亲缘关系较远,单独为一组,结论与 3 个海域的文昌鱼形态比较结果一致,出现遗传分化。Shannon 遗传多样性指数统计结果表明:蟹口海域种群为 0.616,南线海域种群为 0.497,黄厝海域种群为 0.391。厦门文昌鱼种群遗传多样性是各种群的遗传特性与该海域各种环境生态因子长期作用的结果,三元线性相关分析发现目前主要生态因素是底质和海水深度,3 个海域中以蟹口海域的自然环境最为优越(其底质为中粗沙或粗中沙、水深 8~15 m)。根据以上研究结果,本文提出了厦门海域文昌鱼资源的保护建议。

关键词 厦门文昌鱼(*Branchiostoma balchei* Gray),遗传多样性,分子标记

中图分类号 Q75 **文献标识码** A **文章编号** 1000-3096(2003)11-0068-07

文昌鱼(又称双尖鱼 *Amphioxus*) 是一类低等的脊索动物,属脊索动物门的头索动物亚门、文昌鱼纲,为国家二级保护动物。文昌鱼为世界上最古老的生物之一,是无脊椎动物演化至脊椎动物过渡典型的活标本。因此对文昌鱼的研究和保护,无论在动物分类学和动物进化上都具有重要的意义^[1,2]。

厦门文昌鱼(*Branchiostoma balchei* Gray) 广泛分布于中国近海,常栖息在海水透明度较高,水质洁净,底质为细小沙砾或粗沙与细沙掺杂,并且要求一定的酸碱度和盐度环境。厦门地区是其主要产地,一度闻名世界的刘五店渔场年产量曾达 57 t 之多。但自 20 世纪 60 年代以来,由于环境破坏,厦门文昌鱼的栖息地越来越小,导致厦门文昌鱼资源趋于枯竭^[3]。本研究运用 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 分子标记技术^[4,5],对厦门现有文昌鱼海域文昌鱼种群进行遗传多样性研究,探讨并提出目前厦门文昌鱼资源的保护建议。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 厦门文昌鱼样品

2001 年 9~12 月分别到厦门文昌鱼保护区内黄厝海域(5 个站点)、南线海域(4 个站点)、蟹口海域(4 个站点)、刘五店-鳄鱼屿海域(4 个站点)运用淘洗法采文昌鱼(2 龄期)样品^[3](见图 1),每个站点随机取 50 条鱼。同时监测各海区内 pH 值、水温、盐度、底质、水质等情况;并且采访厦门文昌鱼保护区有关单

* 福建省青年科技人才创新项目 2001J033 号。

第一作者:周涵韬,出生 1970 年,博士,副教授,研究方向:分子生物学。电话:0592-5916403; E-mail:htzhou@jingxian.xmu.edu.cn

收稿日期:2003-03-12;修回日期:2003-09-01

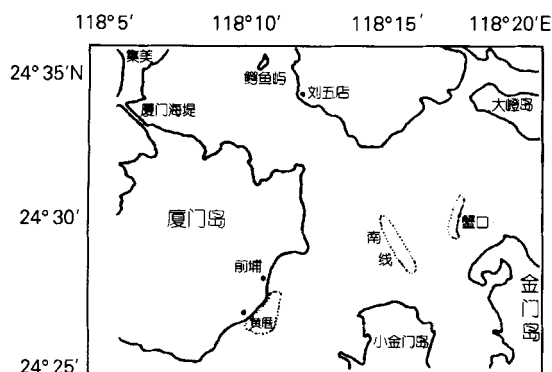


图1 厦门文昌鱼分布

Fig.1 Map of the distributions of *Bmchiostoma belcheri* Gray

位,调查生态环境的资料。测定各站文昌鱼的栖息密度,分析文昌鱼的形态结构。

1.1.2 试剂

Taq DNA 聚合酶、单核苷酸 (dNTPs)、分子 Marker、CTAB 等均为 Promega 公司产品;所用引物为 Sangon 公司产品;其它试剂均为国产分析纯试剂。

1.1.3 仪器

PCR 仪: PE 公司, 480 型;紫外分光光度计: 752 型;电泳仪: BIO-RAD 公司, Power300 型;凝胶成像系统: UVP 公司, GDS8000。

1.2 实验方法

1.2.1 文昌鱼 DNA 的提取及检测

称取 0.2 g 文昌鱼肌肉,加入预热至 56 °C 的抽提缓冲液 (STE 缓冲液 200 μL, 10 % SDS 75 μL, 蛋白酶 K (10 mg/L) 10 μL) 混匀, 56 °C 恒温 2 h。加入 RNase 至终浓度为 50 ng/mL, 置于 37 °C 恒温水浴 60 min。加入等体积酚: 氯仿: 异戊醇 (25: 24: 1) 抽提 2 次, 于 15 000 r/min 离心 5 min。取上清液, 加入 1/10 体积 3 mol/L NaAc 和 2 倍体积的无水乙醇, 置于 -20 °C 冰箱中 90 min, 于 15 000 r/min 离心 10 min, 弃上清液, 沉淀用 70 % 的酒精洗 2 次。待酒精挥发干后, 加入 100 μL TE 缓冲液溶解。

1.2.2 DNA 纯度、浓度的测定和电泳检测

DNA 溶液稀释后以 TE 缓冲液为空白对照检测其在 260 nm 及 280 nm 波长的紫外吸收, 计算 DNA 的浓度和得率, 并判断其纯度。用 1 × TBE 配制的 0.8 % 琼脂糖凝胶电泳检测判别 DNA 分子的大小及基因组是否降解。将符合条件的样品稀释至 20 mg/L 用于 RAPD 分析。

1.2.3 RAPD 反应

聚合酶链式反应 (PCR) 体系 10 × buffer 2.5 μL, Taq DNA 聚合酶 1 U, 引物 0.2 μmol/L, dNTPs 0.1 mmol/L, MgCl₂ 2.5 mmol/L, 模板 DNA 80 ng, 加超纯水至 25 μL。PCR 循环设置为: 首先 94 °C 变性 3 min, 36 °C 复性 3 min, 72 °C 延伸 3 min, 3 个循环, 然后 94 °C 变性 75 s, 36 °C 复性 50 s, 72 °C 延伸 100 s, 36 个循环。72 °C 延伸 7 min 最后将结果置于 4 °C 冰箱保存。

1.2.4 电泳及观察

将 PCR 扩增产物在 1.5 % 的琼脂糖凝胶中电泳分离。3 V/cm 的恒压下电泳 2.5 h。电泳结束后在紫外检测仪上观察记录扩增产物的条带, 并在凝胶成像系统中保存图象。

1.2.5 数据的统计与分析

1.2.5.1 RAPD 扩增结果的记录 RAPD 扩增的电泳图谱需能重复 3 次。在 RAPD 扩增结果的电泳图谱中, 每一条 DNA 条带均为一个分子标记, 并代表一个引物结合位点。根据各分子标记的迁移率及其有无统计所得位点的二源数据: 有带计为“1”, 无带计为“0”, 强带和弱带的赋值均为“1”。

1.2.5.2 遗传距离 遗传一致度及聚类分析 根据 RAPD 扩增结果所统计的数据, 遗传距离 (D) 和遗传一致度 (遗传相似性系数 S) 的计算运用 Nei 指数法^[6]。

$$S = 2 N_{xy} / (N_x + N_y)$$

N_{xy} 为种间共有的扩增带, N_x 为 X 种具有的扩增带, N_y 为 Y 种具有的扩增带,

$$D = 1 - S$$

聚类分析运用无权配对比算术平均数法 (unweighted pair group mean arithmetic average, UPGMA) 进行。

1.2.5.3 Shannon 遗传多样性指数 Le winton^[7] 最早将 Shannon 遗传多样性指数用于人类遗传多样性的研究。King & Schaal^[8] 用其检测核糖体 DNA 限制性位点的变异。Chal mer 等^[9] 则发展了此方法, 并将其用于处理 RAPD 数据的统计和分析工作中:

$$H = - \sum P_i \ln P_i$$

其中 P_i 是种群 (亚种群) 内一条扩增产物存在的频率, 或称 RAPD 表型频率; H 为遗传多样性指数。

2 结果与分析

2.1 厦门文昌鱼保护区生态环境及其资源现状

2.1.1 厦门海域生态环境

本次调查 3 个海域在春季、夏季、冬季的水温、盐度、pH 值、溶解氧 (DO)、化学耗氧量 (COD) 等监测项

目,测量值分布具有区域性差异,可分成同安湾海域(即鳄鱼屿海域)、厦门东海域(即黄厝海域)和大嶝岛海域(包括南线至十八线海域与蟹口海域)3个区域描述。3个海区的自然环境状况调查表明:3个海区底层温度变化不大,5~8月为19.58~28.82℃,11月为11.5~18℃。盐度为26.19~31.24,其中南线至十八线的盐度较高,为27.50~32.41,pH为8.17~8.26。3个海区水中溶解氧5月份平均为8.39~8.51 mg/dm³,8月份为6.13~6.28 mg/dm³。化学耗氧量(COD)为0.53 mg/dm³。上述文昌鱼分布的3个海域水体中水温、盐度、pH值、溶解氧(DO)、化学耗氧量(COD)等项目的测定结果均符合一类海水水质标准。

2.1.2 底质状况

黄厝5个站底质类型是砾砂、中粗砂、粗中砂, $D_{0.075}$ 值为0.33~0.81。站点2 $D_{0.075}$ 值为0.61,分选程度很好;站点3,4,5 $D_{0.075}$ 值为1.10~1.22,分选程度好,上述4个站点仍是文昌鱼栖息地。站点1 $D_{0.075}$ 值为1.55,分选程度中常,粉砂和粘土占18.1%,现已没有文昌鱼分布,说明底质表层沉积粉砂和粘土至18%左右就不适应文昌鱼的生存。南线底质类型为中粗砂,粗砂,砾砂3种, $D_{0.075}$ 值为-0.65~0.48,粒度大; $D_{0.075}$ 值为0.78~0.98,分选程度较好,适宜厦门文昌鱼的生长发育。蟹口海域文昌鱼栖息地5个站点底质类型为中粗沙和粗中沙, $D_{0.075}$ 值为0.78~1.29; $D_{0.075}$ 值为0.59~0.99,分选很好,最适宜文昌鱼的生长发育。

2.1.3 厦门文昌鱼种群组成及形态比较

2.1.3.1 厦门文昌鱼的分布

本次实地调查、访问渔民和“厦门文昌鱼资源调查”的资料(2001年5~8月)结果表明,厦门文昌鱼仅分布于黄厝海域、南线、蟹口海域;1991年建立的文昌鱼保护区内的小嶝海区、同安刘五店(鳄鱼屿附近)海区已没有文昌鱼分布,主要原因是底质表层沉积淤泥造成的。2001年11月17日~18日、12月4日的调查结果表明黄厝文昌鱼分布密度平均为58.5尾/m²;南线文昌鱼分布密度平均为102.5尾/m²;蟹口文昌鱼分布密度平均为105.2尾/m²。从厦门现有文昌鱼海域的分布看,黄厝海域距离南线海域20 nmile,距离蟹口海域28 nmile,南线海域距离蟹口海域10 nmile,分布无连续性。

2.1.3.2 厦门文昌鱼形态比较

厦门文昌鱼长年累月生活在不同海域,世代繁衍,这些遗传分化也已在形态特征上反映出来。目前,不同海域内厦门文昌鱼种群的体色、个体大小及其种群组成、体长与体高及各躯段比例等形态特征已有一定差异。

体长 本调查从黄厝、南线、蟹口海域分别获得

文昌鱼(2龄)样品117尾、359尾、263尾,体长测定结果表明,这些海域位点中的文昌鱼体长组成有一定差异。黄厝海域文昌鱼体长范围10~46 mm,平均值为29.3 mm;南线海域文昌鱼体长范围7~63 mm,平均值为31.3 mm;蟹口海域文昌鱼体长范围16~62 mm,平均值为40.3 mm。可以看出,黄厝海域与南线海域文昌鱼体长较短,平均值只相差2 mm;而蟹口海域文昌鱼平均体长达40.3 mm,分别比南线海域与黄厝海域的文昌鱼长9 mm和11 mm。

体长与体宽及各躯段比例 黄厝、南线和蟹口海域的文昌鱼的体宽随着体长增长而增大,其平均体长与平均体宽的比例分别为9.38,11.15和10.49,其中黄厝与蟹口海域的比值相差较小,而与南线海域的相差较大。同样,文昌鱼腹孔前段长度与腹孔后段长度比值分别为:2.12,2.39,1.74;肛门前长度与后段长度的比值分别为:8.95,10.23,6.75;其中黄厝海域与南线海域的比值较接近,而与蟹口海域的比值相差较大。

体色 3个海域内文昌鱼均呈乳白色、半透明、光滑无鳞。但蟹口海域的文昌鱼体色浅。南线、黄厝海域的文昌鱼体色深,呈略带粉红的乳白色。

肌节 厦门文昌鱼躯体细长,两端尖细,左右稍扁;肌节呈“C”形排列,尖头向头部,肌节数目相似,为62~65节。其中,黄厝海域文昌鱼肌节数范围62~63,平均值为62.4;南线海域文昌鱼肌节数范围62~65,平均值为62.1;蟹口文昌鱼肌节数范围62~65,平均值为62.1。虽然3个海域文昌鱼体长有较大差别,但是肌节数相差不大。

2.2 厦门文昌鱼基因组遗传多样性分析结果

2.2.1 厦门文昌鱼遗传分化情况

2.2.1.1 文昌鱼基因组 RAPD 扩增结果

每个海域各站点提取的文昌鱼 DNA 混合代表该海域文昌鱼基因组。经10个10mer随机引物在厦门3个海域文昌鱼基因组中PCR扩增后,电泳图谱见图2,具体扩增情况见表1。

由图2可知各引物在厦门3个海域文昌鱼基因组中扩增的条带数为4~9条,扩增片段的大小在0.35~3.5 kb之间。引物扩增的条带重复性好(重复2次以上),条带清晰,易于统计。由表3可知10个引物在厦门3个海域文昌鱼基因组中扩增出238条带,121条为多态性带,多态位点率为50.84%。厦门海域文昌鱼基因组较高的多态位点率,反映其丰富的遗传多样性。

2.2.1.2 遗传一致性及遗传距离聚类分析

利用 Nei 指数法得出厦门3个海域文昌鱼的遗传一致

表 1 10 个引物在厦门 3 个海域文昌鱼中 PCR 扩增情况
Tab.1 Amplification of 10 effective primers on *Branchiostoma balcheri* Gray in the 3 sea areas

引物号	序列	扩增条带	多态性条带	多态性条带占百分比(%)
S11	GTAGACCCGT	29	17	58.62
S13	TTCCCCGCT	28	16	57.14
S14	TCCGCTCTGG	24	12	50.00
S15	GGAGGGTGTT	13	4	30.77
S16	TTTGCCCGGA	34	22	64.71
S17	AGGGAACGAG	22	7	31.82
S18	CCACAGCAGT	33	12	36.36
S20	GGACCCTTAC	24	12	50.00
S22	TGCCTAGCTG	15	9	60.00
S29	GGGTAACGCC	16	10	62.50
总数		238	121	
平均值		23.8	12.1	50.84

度和遗传距离(见表 2)。并运用 UPGMA 法对厦门 3 个海域文昌鱼遗传关系进行聚类分析(见图 3)。

由表 2 可知,厦门 3 个海域文昌鱼种群发生了遗传分化:南线海域文昌鱼和黄厝海域文昌鱼遗传距离为 0.07,亲缘关系较近;蟹口海域文昌鱼与南线海域文昌鱼和黄厝海域文昌鱼遗传距离分别为 0.12 和 0.14,亲缘关系较远。由图 3 可知,厦门 3 个海域文昌鱼可分为 2 个组,南线海域文昌鱼和黄厝海域文昌鱼聚类于同一组,蟹口海域文昌鱼单独为一组;结果与遗传距离分析结论一致。

2.2.2 厦门海域文昌鱼种群遗传多样性比较结果

10 个 10 mer 随机引物在厦门 3 个海域文昌鱼种群中 PCR 扩增图谱见图 4,具体扩增情况见表 3。10 个引物在厦门 3 个海域文昌鱼种群中扩增条带重复性好(重复 2 次以上),条带清晰,易于统计。蟹口海域多态位点率最高,为 62.99%;南线海域多

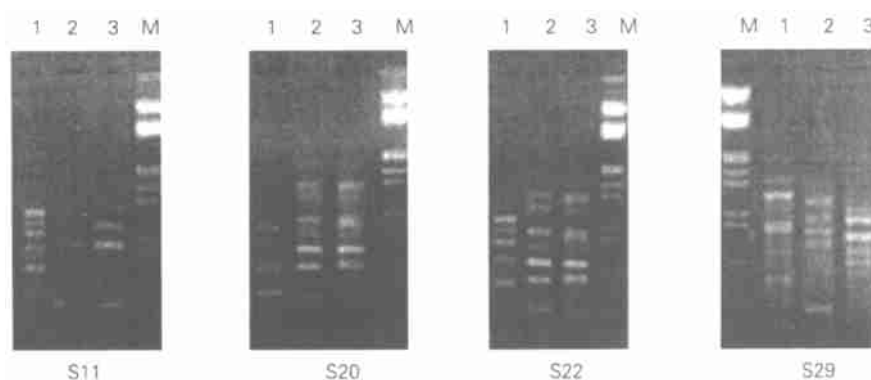


图 2 厦门 3 个海域文昌鱼基因组 PCR 扩增的指纹图谱

Fig.2 Genomic DNA fingerprints of *Branchiostoma balcheri* Gray in the 3 sea areas
1. 蟹口海域; 2. 黄厝海域; 3. 南线海域, M- λ DNA EcoR I/ Hind III
1. Xiekou sea area; 2. Huangcuo sea area; 3. Nanxian sea area; M- λ DNA EcoR I/ Hind III

表 2 厦门 3 个海域文昌鱼的遗传距离(下三角)及遗传一致度(上三角)

Tab.2 Similarity matrix and genetic distance of *Branchiostoma balcheri* Gray in the 3 sea areas based on Nei's estimate of similarity and genetic distance

海域	南线海域	黄厝海域	蟹口海域
南线海域	0	0.86	0.88
黄厝海域	0.07	0	0.93
蟹口海域	0.12	0.14	0

态位点率为 51.66%,黄厝海域多态位点率为 40.55%。较高的多态位点率反映种群丰富的遗传多样性。进一步运用 Shannon 遗传多样性指数对 PCR 扩增结果统计分析(表 4)。由表 4 可知,蟹口海域的遗传多样性指数最高为 0.616,表明蟹口海域文昌鱼种群的遗传多样性最丰富,最适合文昌鱼的栖息。这是文昌鱼种群的遗传特性和该海域各种环境生态因子长期作用的结果。

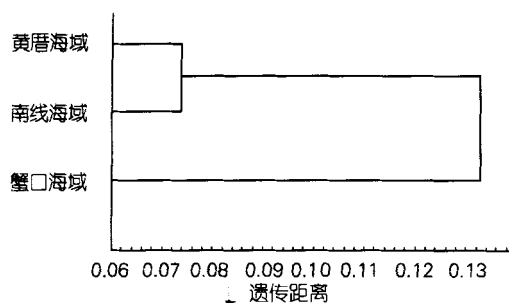


图3 厦门3个海域文昌鱼遗传分化聚类关系
Fig.3 DNA molecular dendrogram of *Branchiostoma balcheri* Gray in the 3 sea areas

3 讨论

3.1 厦门海域文昌鱼形态差异与遗传分化的关系

从厦门现有文昌鱼海域的分布看,黄厝海域距离南线海域 20 n mile,距离蟹口海域 28 n mile,南线海域距离蟹口海域 10 n mile。由于文昌鱼成鱼生活习性为钻沙避光生活,游动性很小。鱼的卵和精子虽然随潮汐有一定的漂流性,但国家海洋局对厦门海域水流和潮汐监测结果^[10]表明,厦门海域海水回流最大距离为 4 n mile,因此,相距 10 n mile 以上的南线、蟹口、黄厝海域文昌鱼的精子和卵也不可能交流,文昌鱼分布无连续性 3 个海域文昌鱼形成了地理和生殖隔离。厦

表3 10个引物在厦门3个文昌鱼种群PCR扩增情况

Tab.3 Amplification of 10 effective primers on the population of *Branchiostoma balcheri* Gray in the 3 sea areas

引物号	蟹口海域			南线海域			黄厝海域		
	扩增条带	多态性条带	多态性条带占百分比(%)	扩增条带	多态性条带	多态性条带占百分比(%)	扩增条带	多态性条带	多态性条带占百分比(%)
S11	46	26	56.52	33	12	36.36	28	10	55.56
S13	45	24	53.33	34	11	32.35	26	8	30.77
S14	34	24	70.59	24	12	50	39	19	48.72
S15	39	26	66.67	28	14	50	36	15	41.67
S16	54	44	81.48	39	23	58.97	44	20	45.45
S17	52	41	78.85	42	24	57.14	33	11	33.33
S18	48	27	56.25	36	20	55.56	24	6	25.00
S20	46	26	56.52	29	13	44.83	51	27	52.94
S22	51	21	41.18	39	19	48.72	34	14	41.18
S29	62	46	74.19	27	23	85.19	50	18	36.00
平均	47.70	30.05	62.99	33.10	17.10	51.66	36.50	14.80	40.55

表4 10个引物估测的厦门3个文昌鱼种群的遗传多样性

Tab.4 Estimates of genetic diversity (H) within population of *Branchiostoma balcheri* Gray in the 3 sea areas using 10 arbitrary oligonucleotide primers

引物号	序列	H		
		蟹口海域	南线海域	黄厝海域
S11	GTAGACCCGT	0.543	0.324	0.536
S13	TTCCCCGCT	0.521	0.301	0.288
S14	TCCGCTCTGG	0.695	0.480	0.467
S15	GGAGGGTGTT	0.643	0.480	0.397
S16	TTTGCCCGGA	0.801	0.568	0.434
S17	AGGGAACGAG	0.764	0.551	0.313
S18	CCACAGCAGT	0.531	0.536	0.231
S20	GGACCCTTAC	0.543	0.428	0.501
S22	TGCCTAGCTG	0.392	0.467	0.392
S29	GGGTAACGCC	0.722	0.831	0.341
平均		0.616	0.497	0.391

门文昌鱼不同种群由于适应不同海域生态环境,不仅形态上产生了一定的差异,而且其种群遗传特性也产生了分化。通过对厦门海域文昌鱼形态的比较发现,不同海域内厦门文昌鱼种群的体色、个体大小及其种群组成、体长与体高及各躯段比例等形态特征已有一定差异。并且从这一系列形态学比较的结果可知,黄厝海域与南线海域文昌鱼的形态特征比较相近,而它们与蟹口海域文昌鱼的形态特征相差较大。同时我们运用 RAPD 分子标记技术对厦门 3 个海域文昌鱼遗传分化的研究也发现,厦门海域文昌鱼种群发生了遗传分化。南线海域文昌鱼和黄厝海域文昌鱼遗传距离为 0.07,亲缘关系较近,分子聚类于同一组;蟹口海域文昌鱼与南线海域文昌鱼和黄厝海域文昌鱼遗传距离分别为 0.12 和 0.14,亲缘关系较远单独为一组。由此可见,形态学比较的结果与遗传分化研究的结果一致。

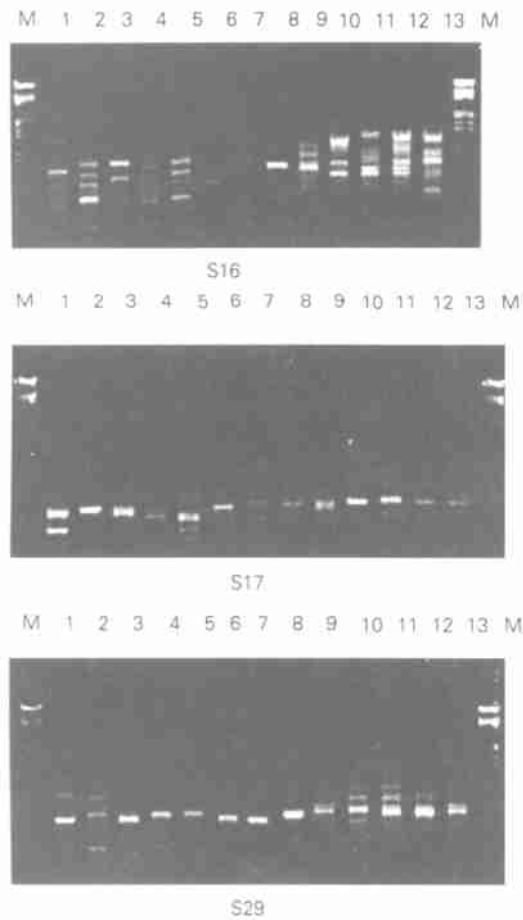


图4 厦门3个海域各站点文昌鱼种群 PCR 扩增图谱
 Fig.4 Amplification on the population of *Bmncchiostom balchei* Gray in the 3 sea areas
 1-5: 蟹口海域; 6-9: 黄厝海域, 10-13: 南线海域, M- λ DNA EcoR I/Hind III
 1-5 Xiekou sea area; 6-9 Huangcuo sea area; 10-13 Nanshan sea area; M- λ DNA EcoR I/Hind III

3.2 厦门文昌鱼种群遗传多样性与栖息海域环境因子的关系

本次生态调查结果和资料分析表明, 厦门文昌鱼分布的3个海域水体中水温、盐度、pH值、溶解氧(DO)、化学耗氧量(COD)等项目的测定结果相近均符合一类海水水质标准。目前影响厦门3个海域文昌鱼的环境因素, 主要是厦门文昌鱼栖息地的底质粒度、分选系数、海水深度等。为了研究环境因素与遗传多样性指数(H)关系, 应用三元线性回归方程进行计算, 获得厦门文昌鱼种群遗传多样性指数与水深、底质粒度、分选系数的回归方程:

$$H = 0.0219940 h + 0.0230708 D_{M_{50}} - 0.490892 D_{0.5} + 0.839127$$

其中: H表示文昌鱼多样性指数, h表示水深(6~20 m), $D_{M_{50}}$ 表示底质中值粒度(0.1~3.0 mm), $D_{0.5}$ 表示分选系数(0~3)。

从回归方程中可以看出, 在有文昌鱼分布的范围内水深、底质粒度与厦门文昌鱼多样性指数呈正相关。分选系数与文昌鱼多样性指数呈负相关, 且相关性最大。分选系数低, 遗传多样性指数就高; 而分选系数高低, 则决定于海水回流的动力。

3.3 探索厦门文昌鱼资源的保护措施

80年代厦门文昌鱼自然保护区设立以来, 在各级政府职能部门有效的管理下厦门文昌鱼资源的保护取得一定的成效。主要表现在厦门文昌鱼分布的3个海域水体中水温、盐度、pH值、溶解氧(DO)、化学耗氧量(COD)等项目的测定结果均符合一类海水水质标准, 适合厦门文昌鱼栖息; 同时厦门文昌鱼自然种群数量在栖息海域生态环境的改善及严禁滥捕文昌鱼等政策法规的保障下出现了恢复增长态势。通过近年来对厦门文昌鱼种群及其栖息海域生态环境的跟踪监测, 和本文对其遗传多样性的研究结果, 作者对目前厦门文昌鱼资源保护的提出以下建议。

3.3.1 加强保护厦门文昌鱼法规的实施与落实

在前阶段工作的基础上, 进一步加强保护文昌鱼法规的实施与落实, 维护厦门文昌鱼栖息海域良好的生态环境, 严禁滥捕文昌鱼。

3.3.2 建立不同保护功能的海域

本实验探明厦门3个海域的文昌鱼种群已发生了遗传分化, 可分为2个组: 蟹口海域文昌鱼组与南线海域、黄厝海域文昌鱼组; 其中蟹口海域文昌鱼种群的遗传多样性最丰富, 其海域最适合文昌鱼的栖息。蟹口和南线两海域水深达8~15 m, 自然环境优越, 可分别作为厦门文昌鱼两组种群保护的重点海域, 大力发展文昌鱼种群数量。黄厝海域位于厦门岛东部与小金门岛、大担岛之间, 受风浪袭击较弱, 水深6~8 m, 可作为厦门文昌鱼理想的研究基地, 开展文昌鱼人工养殖。

3.3.3 保护厦门文昌鱼栖息地的底质环境

厦门文昌鱼的敌害为鱼、虾等掠食性动物, 为躲避敌害, 文昌鱼平时半埋于砂中; 幼鱼比较喜欢栖于较细砂中, 成鱼则在较粗砂中。渔民常根据此特性, 都在粗砂中捕捞成鱼。文昌鱼无法钻入泥地, 砂太细会妨碍其呼吸, 砂粒直径以0.5~1.5 mm为宜, 太粗或掺杂有碎贝壳的底质也不适于文昌鱼生存。栖息地自然环境生态因子直接影响文昌鱼的分布、生长发育及

其遗传多样性。因此,保护文昌鱼栖息地是发展文昌鱼种群数量的首要条件。

三元线性相关分析发现目前影响厦门文昌鱼自然种群发展的主要生态因素是底质粒度、分选程度、海水深度。其中底质分选程度的影响因素最大,分选系数低遗传多样性指数就高;而分选系数的高低,则决定于海水洄流的动力。20世纪60年代后筑海堤、围海造田、过度网箱养殖,造成厦门海域海水洄流动力减弱,分选程度差,导致淤泥沉积;刘五店砂质的文昌鱼栖息地泥化,不仅文昌鱼渔场消失,目前已没有厦门文昌鱼分布。所以应该以历史为教训,采取有效措施,如严禁违法围垦造田,合理开发海域养殖业,限制过度吊养牡蛎等,以维护海域水流正常洄流,保护厦门文昌鱼栖息地的自然环境。

参考文献

- 1 金德祥,郭仁强. 厦门的文昌鱼. 动物学报, 1953, 5(1): 65 - 78
- 2 Nizaki M, Gorbman A. The question of function homology of Hatschek's pit of amphioxus and the vertebrate adenohypophysis. Zool Sci, 1992(9): 387 - 395
- 3 方永强. 文昌鱼习性及其资源保护. 动物学杂志,

- 1987, 22(2): 41 - 45
- 4 Welsh J, McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Res, 1990, 18(24): 7 213 - 7 218
- 5 Williams J G K, Kubelic A R, Livak K J, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res, 1990, 18(22): 6 531 - 6 535
- 6 Nei M, Li W. A mathematical model for studying genetic variation in the terms of restriction endonucleases. Proc Natl Acad Sci USA, 1979, 17: 5 269 - 5 273
- 7 Lewontin R C. The apportionment of human diversity. Evol Biol, 1972(6): 381 - 398
- 8 King L M, Schaal B A. Ribosomal DNA Variation and distribution in *Rudbeckia missouriensis*. Evolution, 1989, 43: 1 117 - 1 119
- 9 Chalmers K J, Waugh R, Sprent J I, et al. Detection of genetic variation between and within population of *Clincidia septum* and *G. maculata* using RAPD markers. Heredity, 1992, 69: 465 - 472
- 10 国家技术监督局. 海洋监测规范 第4部分:海水分析 GB 17378.4. 北京:中国标准出版社, 1999.

STUDY ON THE GENETIC DIVERSITY OF AMPHIOXUS

ZHOU Han - Tao¹ LIAN Yu - Wu¹ QIU Jian - Ping¹ YE Fan¹ ZENG Guo - Shou²

(¹ School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen, 361005)

(² Xiamen First High School, Xiamen, 361009)

Received: Mar., 12, 2003

Key Words: *Branchiostoma balchei* Gray, Genetic diversity, Molecular marker

Abstract

Amphioxus (*Branchiostoma balchei* Gray) is a rare marine species under state level protection (2nd class). RAPD molecular marker technique suitable for analyzing the genetic differentiation of amphioxus was established and used in the investigation on genetic diversity of the amphioxus population in nowadays Xiamen sea areas (Xiekou, Nanxian and Huangcuo). 238 bands were amplified from RAPD analysis on 10 valid oligonucleotide arbitrary primers, of which, 121 were polymorphic bands (50.84% of the total). Nei index analysis and UPGMA statistical analysis indicated that amphioxuses in these 3 areas could be divided into two groups with the average genetic distance of 0.11. The genetic distance between animals in Nanxian and Huangcuo area was 0.07 and thus could be classified as one group due to close genetic relationships. The population in Xiekou, however, belonged to another group due to its distance, 0.12 and 0.14, from Huangcuo's population. This result was in accordance with the morphological comparison among animals from those areas. Shannon's statistics on genetic diversity, showed the indices in populations of Xiekou, Nanxian and Huangcuo, were 0.616, 0.497 and 0.391, respectively. This was reasonable because the best environment was found in the Xiekou area with a substrate of medium-coarse or coarse-medium sand and a water depth 8 - 10 m. On the basis of these results suggestions were formulated regarding amphioxus resource protection in the Xiamen sea area.

(本文编辑:刘珊珊)