

彩虹明樱蛤基因组 DNA 提取及 RAPD 扩增的初步研究

於 宏, 薛良义, 张佳峰

(宁波大学 生命科学与生物工程学院, 浙江 宁波 315211)

摘要:对采自浙江温岭的彩虹明樱蛤(*Moerella iridescens*)养殖群体的 DNA 提取和 RAPD 扩增条件进行了研究。从 38 种随机引物中筛选到重复性好的 6 种引物分别对 11 个个体的 DNA 进行扩增, 共产生 247 个 DNA 条带(300~1 600 bp), 总共检测到 43 个位点, 其中多态位点 32 个, 多态位点比例为 74.42%。11 个个体间的遗传相似系数在 0.553~0.884 之间, 平均为 0.691, 个体间的平均遗传距离为 0.309。表明该群体的遗传多样性比较丰富, 种质资源处于良好状态。

关键词: 彩虹明樱蛤 (*Moerella iridescens*); 基因组 DNA 提取; RAPD; 遗传多样性

中图分类号: S932.6

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2009)03-0004-06

彩虹明樱蛤(*Moerella iridescens*), 俗称海瓜子、黄蛤、梅蛤等, 隶属瓣鳃纲(Lamellibranchia), 真瓣鳃目(Eulamellibranchi), 樱蛤科(Tellinidae), 广泛分布于中国南北沿海, 尤以浙江、福建沿海产量最大。该蛤个体虽小, 但生物量大, 出肉率高, 肉质细嫩味美, 深受沿海群众喜爱, 是一种具有较高经济价值的小型贝类。近几年来, 由于大片滩涂被围垦, 该蛤的栖息环境破坏严重, 使该蛤的资源急剧下降, 因此有必要研究其遗传多样性状况, 以制订合理的种质资源保护措施。

目前对栉孔扇贝(*Chlamys farrei*)^[1]、合浦珠母贝(*Pinctada martensii*)^[2]、缢蛏^[3](*Sinonovacula constricta*)、菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)^[4]、海湾扇贝^[5](*Argopecten irradians*)、皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)、杂色鲍^[6](*Haliotis diversicolor*)、大连湾牡蛎^[7](*Ostrea talienwhanensis*)、文蛤^[8](*Meretrix meretrix*)、泥蚶(*Tegillarca granosa*)^[9]等贝类 DNA 提取及其 RAPD 研究已有报道, 这些为研究其他贝类的遗传多样性提供了基础, 有利于制订种质资源的保护策略。国外在贝类的 RAPD 研究方面有很多报道, 如 Klinbunga 等^[10]利用 RAPD 技术对泰国 5 个牡蛎种群的物种特异性标记作过研究。对于彩虹明樱蛤的研究多数集中在育苗、中间培育^[11]和对生态因子的敏感性^[12,13]等传统的水产养殖方面, 而在分子生物学方面的研究未见报道。作者对彩虹明樱蛤基因组 DNA 提取进行多方面探索 and 比较, 并进行 RAPD 分析, 对其遗传多样性作了初步研究。

1 材料和方法

1.1 材料与设备

彩虹明樱蛤采自浙江温岭的养殖滩涂。活体取

回后立即剪取肌肉组织(约 100 mg)于 1.5 mL 离心管中(每管只取一个个体), 置于一 20℃ 保存备用。

PCR 反应试剂(上海生工生物工程有限公司), DNeasy Tissue Kit(美国 QIAGEN 公司), iCycler-PCR 仪(美国 BIO-RAD 公司), SmartSpec™ 3000 紫外分光光度计(美国 BIO-RAD 公司), FR-200 紫外与可见分析装置(上海复日科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取

方法一: 取 100 mg 肌肉组织, 用眼科剪快速剪碎(冰浴操作), 加入 500 μL 裂解液(1% SDS + 10 mmol/L EDTA + 100 mmol/L Tris-HCl, pH 约 8.0)和 10 μL 蛋白酶 K(10 g/L), 混匀, 55℃ 水浴过夜; 加入 RNA 酶 5 μL(20 g/L), 37℃ 水浴 30 min; 等体积酚: 氯仿: 异戊醇(25: 24: 1)抽提 3 次, 每次抽提后 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清; 最后的上清液中加 1/10 体积的乙酸胺(3 mol/L, pH 5.22), 充分混匀, 再加入 2 倍体积 100% 冰乙醇, -20℃ 放置至少 2 h; 12 000 r/min 离心 20 min, 弃乙醇, 用 70% 冷乙醇洗涤两次, 室温自然干燥 20 min; 最后将 DNA 溶于 100 μL PCR 专用水中。

方法二: 如方法一取样, 加入裂解液和蛋白酶, 混匀, 65℃ 水浴 2 h(其间不时摇匀); 加入 150 μL 饱

收稿日期: 2006-10-10; 修回日期: 2006-12-12

基金项目: 浙江省科技厅资助项目(991102071)

作者简介: 於宏(1969-), 男, 浙江宁波人, 硕士, 主要从事水产养殖学研究, 电话: 0574-87600893, E-mail: y4566@nbip.net

和 NaCl, 12 000 r/min 离心 10 min; 取上清加入 RNA 酶 5 μL (20 g/L), 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 30 min; 冷却至室温, 等体积饱和酚。酚: 氯仿: 异戊醇 (25: 24: 1) 抽提 2 次, 每次抽提后 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清; 最后的上清液加等体积的异丙醇, -20 $^{\circ}\text{C}$ 放置 30 min; 12 000 r/min 离心 20 min, 弃乙醇, 用 70% 冷乙醇洗涤 2 次, 室温自然干燥 20 min; 最后将 DNA 溶于 100 μL PCR 专用水中。

方法三: 采用美国 QIAGEN 公司生产的 DNeasy Tissue Kit, 实验步骤按试剂盒说明书进行。

1.2.2 DNA 的浓度和纯度检测

取 3 μL 待测 DNA 样品与 1 μL 6 \times 加样缓冲液 (0.25% 溴酚蓝, 40% 蔗糖) 混匀, 通过 1.0% 的琼脂糖凝胶 (含 0.5 mg/L 的溴化乙锭) 分离 (1 \times TAE, 3~4 V/cm 电压电泳 1.0 h)。利用 FR-200 紫外与可见分析装置观察, 使用 Smart ViewTM 生物电泳图像分析仪照相。根据电泳图谱检测提取的 DNA 是否完整以及是否混有 RNA 等。以 ddH₂O 为空白对照, 将待测的 DNA 样品稀释 50 倍, 通过 Smart-SpecTM 3000 型紫外分光光度计检测 260 nm 和 280 nm 的光吸收值 (*A* 值)。在波长 260 nm 下, 10*A* 值相当于双链 DNA 质量浓度为 50 mg/L, 因此 DNA 样品的质量浓度 (g/L) = $A_{260} \times 50 \times N$, *N* 为核酸稀释倍数; 纯度根据 A_{260}/A_{280} 进行判断, 在 1.7~1.9 时为纯度较好。

1.2.3 PCR 反应

采用 25 μL 的 PCR 反应体系: 10 \times PCR buffer 2.5 μL , 模板 DNA 1 μL (100~200 ng), 引物 (50 mg/L) 1 μL , MgCl₂ (20 mmol/L) 1.25 μL , dNTP (各 10 mmol/L) 0.5 μL , Taq 酶 (5 U/ μL) 0.25 μL , 用 PCR 专用水补足 25 μL 。设立空白对照以检测可能的污染。

反应程序为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min, 36 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 2 min, 共 40 个循环; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保温^[10]。

1.2.4 扩增产物的检测

取 20 μL 的 PCR 扩增产物与 4 μL 6 \times 加样缓冲液混匀, 点入含有 0.5 mg/L 溴化乙锭 (EB) 的 1.0% 琼脂糖凝胶中, 电泳 2 h (1 \times TAE, 3~4 V/cm), 紫外与可见分析装置观察并照相。

1.2.5 RAPD 数据处理

电泳图谱中的每一条带即为一个分子标记, 并代表一个引物结合位点。当某一扩增条带存在 (显性) 时计为 1, 不存在 (隐性) 时计为 0, 将 RAPD 结果转换成二元数据矩阵。

多态位点比例 $P = (k/n) \times 100\%$, 其中 *k* 为多态位点数, *n* 为位点总数。任意两个个体间的遗传相似系数和遗传距离分别用以下公式计算: $S_{xy} = 2N_{xy} /$

$$(N_x + N_y), D = 1 - S_{xy}$$

式中, S_{xy} 为两个个体 (*x* 与 *y*) 间的遗传相似系数; *D* 为两个个体间的遗传距离; N_x 和 N_y 分别为 *x* 和 *y* 个体的位点数, N_{xy} 为两个个体共享的位点数。S 值愈小 (或 *D* 值越大), 则个体间变异度愈大。

2 结果

2.1 DNA 提取方法的比较

采用 3 种方法提取的 DNA 电泳结果见图 1。由图 1 可知, 3 种方法所提取的 DNA 主带清晰完整, 不含显著的 RNA, 1~4 稍有拖尾, 可能是提取的部分 DNA 受到微小损伤, 而 5、6 几乎没有拖尾。根据紫外分光光度计的检测结果 (表 1) 发现 DNA 纯度良好, 浓度符合实验要求。这说明 3 种方法都适用于彩虹明樱蛤 DNA 的提取。方法 1 和方法 2 繁易程度相当, 两者的效果没有显著差异。异丙醇有毒, 对实验人员有一定的危害, 而使用无水乙醇沉淀 DNA 相比则更安全, 因此建议优先选用无水乙醇。方法 3 使用试剂盒提取 DNA 十分简便、快速和高效, 整个实验过程只需 40 min (除裂解时间), 且所用组织的量少 (25 mg), 提取的 DNA 效果良好 (图 1)。经过比较, 作者在后续的 RAPD 分析中主要采用方法 3 进行 DNA 的提取。

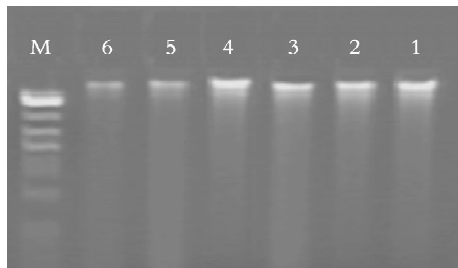


图 1 3 种方法提取的 DNA 电泳图

Fig. 1 Electrophoretogram of genomic DNA extracted by three methods

M. $\lambda\text{DNA}/\text{Eco47 I (Ava II)}$; 1, 2. 方法 1 提取的 DNA; 3, 4. 方法 2 提取的 DNA; 5, 6. 方法 3 提取的 DNA

M. $\lambda\text{DNA}/\text{Eco47 I (Ava II)}$; 1, 2. DNA extracted by method 1; 3, 4. DNA extracted by method 2; 5, 6. DNA extracted by method 3

表 1 紫外分光光度计的检测结果

Tab. 1 Data of the genomic DNA measured by ultraviolet spectrophotometer

提取方法	A_{260}	A_{280}	A_{260}/A_{280}	稀释倍数	DNA 质量浓度 (mg/L)
方法 1	0.179	0.095	1.884	50	447.5
方法 2	0.094	0.051	1.843	50	235
方法 3	0.122	0.062	1.968	50	305

使用引物 S208 对 3 种方法提取的 DNA 进行 PCR 扩增, 结果都能获得较好的扩增条带 (图 2), 这表明 3 种方法提取的 DNA 都适用于 RAPD 扩增。

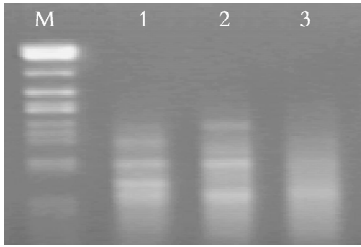


图2 3种方法提取的DNA的RAPD扩增结果(S208)

Fig.2 RAPD amplification products of DNA extracted by three methods using primer S208

M. λ DNA/*Eco47 I* (*Ava II*); 1,2,3. 分别用方法1,2,3提取的DNA
M. λ DNA/*Eco47 I* (*Ava II*); 1,2,3. DNA extracted by method 1,2,3

2.2 RAPD 扩增

2.2.1 引物筛选

对38种10 bp随机引物进行筛选,结果14种引物有扩增产物产生(图3)。用筛选出的引物对同一个体的DNA进行扩增,发现每种引物的扩增带型呈现较大的差异性(图4),这是由于引物的碱基序列各不相同,引物结合的位点和结合的数目不同,从而造成PCR产物的不同,也就引起了扩增图谱上的差异。

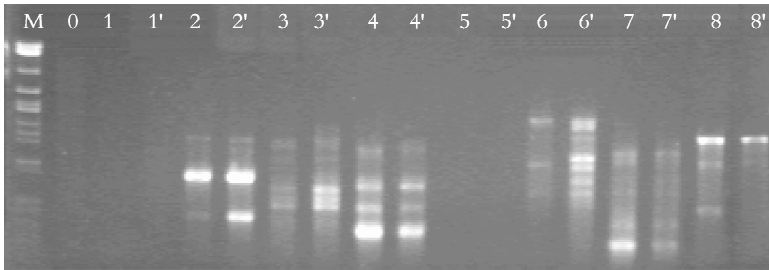


图3 引物筛选图谱

Fig.3 RAPD amplification products (in the process of primers selection)

M. λ DNA/*Eco47 I* (*Ava II*); 0. 空白; 1(1'), 2(2'), 3(3'), 4(4'), 5(5'), 6(6'), 7(7') 和 8(8'). 分别用引物 S417, S419, S404, S210, S58, S206, S415, S211 进行 RAPD 扩增的产物, 1(1') 和 5(5') 未扩增出产物

$n(n')$. 同一样本分别用方法1和方法3提取的DNA进行扩增的结果, $n=1-8$

M. λ DNA/*Eco47 I* (*Ava II*); 0. blank; 1(1'), 2(2'), 3(3'), 4(4'), 5(5'), 6(6'), 7(7') 和 8(8'). RAPD products amplified by primer S417, S419, S404, S210, S58, S206, S415, S211, 1(1') and 5(5') haven't got products

$n(n')$. DNA extracted from the same individual; n . DNA extracted by method 1; n' . DNA extracted by method 3, $n=1-8$



图4 13种引物对同一个体的DNA的扩增图

Fig.4 RAPD patterns generated with 13 primers on single DNA

M. λ DNA/*Eco47 I* (*Ava II*); 0. 空白; 1-13. 引物分别为 S208, S207, S313, S404, S417, S48, S45, S415, S416, S206, S419, S58 和 S215

M. λ DNA/*Eco47 I* (*Ava II*); 0. blank; 1~13. the primer is S208, S207, S313, S404, S417, S48, S45, S415, S416, S206, S419, S58 and S215

通过引物筛选,并经过重复性检验,最终确定6种引物(表2)及11个个体的DNA用于进一步的RAPD分析。

表2 用于RAPD分析的随机引物及其序列

Tab.2 The sequences of the selected primers

引物	序列(5'→3')
S42	GGACCCAACC
S48	GTGTGCCCCA
S58	GAGAGCCAAC
S215	GGATGCCACT
S313	ACGGGAGCAA
S416	GTAACCAGCC

2.2.2 RAPD 结果初步分析

使用6种引物分别对11个彩虹明樱蛤个体的DNA进行扩增(表3),共扩增产生247个DNA条带(300~1600 bp),每个引物对每一个体的DNA平均扩增产生3.74个条带。检测到的位点总数为43个,其中多态位点32个,多态位点比例为74.42%。每种引物平均检测到7.17个位点,说明所用引物的多态性检出率较高。

根据公式计算了11个个体间的遗传相似系数(表4)。11个个体间的遗传相似系数为0.553~0.884,平均遗传相似系数为0.691,平均遗传距离为

0.309。7号个体与10号个体的遗传差异最大,遗传相似系数为0.553,遗传距离为0.447;3号个体与6

号个体的遗传差异最小,遗传相似系数为0.884,遗传距离为0.116。

表3 RAPD 扩增结果

Tab.3 The results of RAPD amplification

引物	扩增出的条带数(条)	分子量(bp)	扩增条带(条)	单态位点数目(个)	多态位点数目(个)	位点总数(个)
S42	3~5	550~1 400	44	2	4	6
S48	3~6	300~1 200	51	2	8	10
S58	2~5	350~1 300	39	2	5	7
S215	1~4	500~1 300	30	1	4	5
S313	2~7	350~1 400	42	2	5	7
S416	2~5	500~1 600	41	2	6	8
总计		300~1 600	247	11	32	43

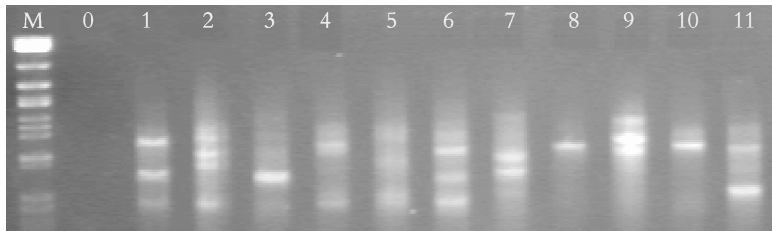


图5 S42对11个个体的DNA的RAPD扩增图谱

Fig.5 Electrophoretogram of RAPD products using primer S42

M. λ DNA/*Eco47* I (*Ava* II); 0. 空白; 1~11. 11个不同的彩虹明樱蛤个体

M. λ DNA/*Eco47* I (*Ava* II); 0. blank; 1~11. 11 *Moerella iridescens* individuals

表4 11个个体间的遗传相似系数

Tab.4 Genetic similarity indices between 11 individuals

个体	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
2	0.585									
3	0.700	0.667								
4	0.706	0.711	0.636							
5	0.611	0.638	0.696	0.750						
6	0.605	0.741	0.884	0.638	0.612					
7	0.619	0.717	0.731	0.609	0.667	0.727				
8	0.737	0.735	0.750	0.667	0.591	0.784	0.680			
9	0.743	0.652	0.756	0.718	0.585	0.708	0.681	0.744		
10	0.686	0.696	0.756	0.769	0.683	0.625	0.553	0.744	0.700	
11	0.684	0.735	0.708	0.762	0.636	0.745	0.640	0.696	0.651	0.744

3 讨论

3.1 彩虹明樱蛤基因组 DNA 的提取

常规的DNA提取的主要步骤,无外乎是破碎细胞,去除与DNA结合的蛋白质及多糖、脂类等大分子,去除RNA分子,沉淀DNA,去除盐类、有机溶剂等杂质,纯化DNA等。

DNA抽提液一般有饱和酚、酚:氯仿:异戊醇(体积比25:24:1)、氯仿:异戊醇(体积比24:1)、氯仿等。酚和氯仿都是蛋白质变性剂,在DNA

的常规提取中几乎都会用到,其中氯仿的比重大,可使有机相和水相完全分开。异戊醇具有消除泡沫、稳定两相的界面的作用。常规的抽提方法是饱和酚,酚:氯仿:异戊醇,氯仿:异戊醇各抽提一次,也有单独用酚或氯仿抽提。考虑到酚:氯仿:异戊醇的多重效果,作者主要使用酚:氯仿:异戊醇抽提3次,也尝试了第一次使用饱和酚,接着使用酚:氯仿:异戊醇抽提2次,以及使用饱和酚、酚:氯仿:异戊醇和氯仿:异戊醇各抽提1次,结果表明各种方法的效果没有显著差异,都能取得较好的实验结果。酚对Taq酶有抑制作用,最后一次抽提未用氯仿:异戊

醇或氯仿去除残留酚,实验结果表明,残留的酚量极其微小,对 PCR 扩增不会产生不利影响,可能在使用无水乙醇或异丙醇沉淀 DNA,经离心去上清后,大量的残留酚被溶解去除;用 70% 乙醇洗涤 DNA 两次也会去除残留酚;在 PCR 反应中,取的 DNA 量为 1 μ L,而最后的反应体积是 25 μ L,也即稀释了 25 倍,因此 PCR 反应体系中酚的终浓度极低。另外从作者的 RAPD 扩增结果看,残留的酚没有造成不利影响(图 4,图 5)。

实验中也试验用试剂盒提取 DNA(方法 3),这种 DNA 提取方法避免了酚等有机溶剂和机械剪切对 DNA 的损伤作用,有利于保持基因组 DNA 的完整性,由图 1 可见,使用试剂盒提取的 DNA 十分完整,几乎没有拖尾。通过固态膜选择性吸附 DNA,只需离心洗涤即可去除杂质,整个过程操作简便、耗时少,足见其是一种十分高效的 DNA 提取方法。

图 2 所示,3 种方法提取的 DNA 在利用同一引物扩增时,图谱显示强带一致,弱带略有差异,这可能与 DNA 提取的质量和 RAPD 对条件微弱变化的敏感性有关。

3.2 RAPD 扩增的模板 DNA 的质量

汪小全^[13]等认为,用 RAPD 作遗传标记时,PCR 模板中含 RNA 及一定量的蛋白质均不影响扩增,但一经纯化,模板中若含酶解或抽提、纯化过程中的某些残留成分反而会影响扩增结果,并认为模板浓度在一个相当大的范围内不影响扩增结果。

在实验过程中发现,部分模板 DNA 经紫外分光光度计检测纯度不甚理想(A_{260}/A_{280} 低于 1.7 或高于 2.0),但电泳检测效果良好,最终 RAPD 扩增结果仍然较好。所以,在评价用于 RAPD 的 DNA 质量时,主要应根据电泳图谱,而对 A_{260}/A_{280} 要求可降低,一般在 1.6~2.1 即可。显然,作者的实验结果也验证了 RAPD 的其中一个优点,即对模板 DNA 的质量和浓度要求不高。另外,在 PCR 扩增中使用的模板 DNA 量自 100~200 ng 不等,但扩增结果未受影响,这点与汪小全等认为“模板浓度在一个相当大的范围内不影响扩增结果”的结论是一致的。

3.3 彩虹明樱蛤的遗传多样性

由于 RAPD 技术的诸多优点,它在遗传多样性研究方面应用广泛。许多海生贝类都具有较高的遗传多样性,多态位点比例一般在 50% 以上(表 5),这可能与海生贝类特有的生存方式和生存环境有关。研究遗传多样性的高低与种属本身的特点、生存方式和生存环境等的相互关系将是一项十分有意义的工作,它将加深人们对于遗传与环境相互关系等问题的认识。

利用 RAPD 技术对浙江温岭的彩虹明樱蛤养殖

群体的研究表明,该群体的遗传多样性比较丰富,存在着较高度的遗传变异,种质资源处于良好状态,也表明人工养殖还未对其种质资源造成不利影响。建议从两方面保护其优质资源:(1) 注意筛选和保存优质的纯系群体,减少近亲间的繁殖。(2) 建立标记辅助选育技术,选育优良苗种,促进彩虹明樱蛤人工养殖业的发展。

表 5 部分海生贝类的多态位点比例

Tab. 5 Percentages of polymorphic loci in some kinds of shellfishes

种群	多态位点比例(%)	文献
广东和广西地区野生文蛤 7 个群体	85.71~94.74	[14]
杂色鲍	53.05	[6]
合浦珠母贝海南养殖群体	65.0	[2]
泥蚶温岭养殖群体	73.43	[9]
彩虹明樱蛤温岭养殖群体	74.42	本文

参考文献:

- [1] 王玲玲,宋林生,李红蕾. AFLP 和 RAPD 标记技术在栉孔扇贝遗传多样性研究中的应用比较[J]. 动物学杂志, 2003, **38**(4): 35-39.
- [2] 苏天凤,蔡云川,张殿昌,等. 合浦珠母贝 3 个养殖群体的 RAPD 分析[J]. 中国水产科学, 2002, **9**(2): 106-109.
- [3] 李太武,杨志彪,孟凡丽,等. 缢蛭 RAPD 扩增条件的优化及遗传分析初报[J]. 宁波大学学报(理工版), 2002, **15**(1): 45-49.
- [4] 骆轩,江树勋,高如承,等. 菲律宾蛤仔基因组 DNA 的提取及其 RAPD 分析[J]. 生物技术通讯, 2003, **14**(5): 361-363.
- [5] 相建海,宋林生,刘保忠. 海湾扇贝样品不同保存条件下 DNA 的提取及 RAPD 扩增比较[J]. 海洋科学, 2001, **25**(3): 51-52.
- [6] 李太武,杨文新,宋林生,等. 皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai* Ino) 和杂色鲍 (*Haliotis diversicolor* Reeve) 遗传多样性的 RAPD 研究[J]. 海洋与湖沼, 2003, **34**(4): 444-449.
- [7] 刘必谦,喻子牛. RAPD 标记在大连湾牡蛎种群研究中的应用[J]. 青岛海洋大学学报(自然科学版), 1998, **28**(1): 82-88.
- [8] 阎冰,邓岳文,杜晓东,等. 广西地区文蛤的遗传多样性研究[J]. 海洋科学, 2002, **26**(5): 5-8.
- [9] 李太武,李成华,宋林生,等. 5 个泥蚶群体遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 生物多样性, 2003, **11**(2): 118-124.
- [10] Klinbunga S, Ampayup P, Tassanakajon A, et al. Development of species-specific markers of the tropical oyster (*Crassostrea belcheri*) in Thailand [J]. *Hydrobiologia* 2000, **2**(5): 476-484.
- [11] 王华青. 彩虹明樱蛤苗种中间培育技术 [J]. 科学养鱼, 2004, 10: 32-33.
- [12] 王志铮,史海东,张义浩,等. 浙江北部沿海婆罗囊螺 *Retusa borneensis* 生态敏感因子的筛选研究[J]. 海洋

与湖沼, 2004, 5: 432-437.

954-959.

[13] 汪小全, 邹喻苹, 张大明, 等. RAPD 应用于遗传多样性和系统学研究中的问题[J]. 植物学报, 1996, 38(12):

[14] 杜晓东, 邓岳文, 叶富良, 等. 广东和广西地区野生文蛤的遗传多样性[J]. 中国水产科学, 2004, 11(1): 41-46.

Genomic DNA isolation and RAPD analysis on *Moerella iridescens*

YU Hong, XUE Liang-yi, ZHANG Jia-feng

(Faculty of Life Science and Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315010, China)

Received: Oct. , 10, 2006

Key words: *Moerella iridescens*; genomic DNA extraction; RAPD; genetic diversity

Abstract: Studies of DNA extraction and RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA) analysis were performed on the cultured population of *Moerella iridescens* in Wenling, Zhejiang Province. Among 11 individuals, six screened from thirty-eight primers, which were reproducible, amplified a total of 247 fragments ranging from 300 bp to 1 600 bp. 43 loci were detected and the polymorphic loci(P) were 74. 42%. Genetic similarity index(S) among individuals were 0. 691 and the average genetic distance(D) were 0. 309. The result indicates that the degree of genetic polymorphism in the analyzed population is high.

(本文编辑:张培新)

(上接第 3 页)

Design and development of a mini-type ocean color surface spectroradiometer based on S2000

CHEN Yong-hua¹, LI Si-ren²

(1. Qingdao University of Science and Technology, Qingdao 266061, China; 2. Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Received: Nov. , 28, 2006

Key words: ocean color surface spectroradiometer; S2000 radiometer; design and development; irradiance; radiance

Abstract: This paper describes the design and deployment of an ocean color surface spectral radiometer based on S2000 radiometer. The data measured by the radiometer is diffused on a moving platform, such as a ship for in situ measurements. It can detect two indispensable parameters—water-leaving spectral radiance and irradiance. In this paper, not only the whole design scheme is introduced, but also the designs of optics components—irradiance sensor and radiance sensor are illuminated. This paper also describes how to measure the water-leaving radiance by the change of mechanical configuration. From the calibration and experiment results of the spectral radiometer, we can see the spectral radiometer is fairly accurate and the results satisfactory. It can provide sufficient irradiant data to meet the need of scientific study and has it a bright application prospect.

(本文编辑:刘珊珊)