

基于 COI 和 ITS-1 基因对魁蚶野生群体和人工繁育子代的遗传分析

陈 桢^{1,2}, 邱兆星³, 王鸿霞², 张秀梅¹, 刘保忠²

(1. 中国海洋大学 海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003; 2. 中国科学院 实验海洋生物学重点实验室, 山东 青岛 266071; 3. 山东省海水养殖研究所, 山东 青岛 266002)

摘要: 采用线粒体 *COI* 基因和核糖体第一内转录间隔区 *ITS-1* 基因, 对荣成(RC)和即墨(JM)2 个魁蚶 (*Scapharca broughtonii* Schrenck)野生地理群体及一个人工繁育的即墨子代(JZ)群体, 进行遗传多样性和遗传结构分析, 探讨即墨人工繁育的子代作为荣成魁蚶底播增殖苗种的可行性。分子方差分析 (AMOVA)结果表明, 3 个群体的遗传差异主要存在群体内。荣成野生群体和即墨野生群体间的 F_{st} 值, 基于 *COI* 基因和 *ITS-1* 基因分别为 0.1678 和 0.1193, 表明荣成野生群体与即墨野生群体之间存在中等程度的遗传分化。单倍型多样性和核苷酸多样性分析结果表明, 人工繁育的即墨子代群体的遗传多样性明显降低。荣成野生群体与即墨子代群体之间的遗传差异, 较之与即墨野生群体间的遗传差异更大。如果采用即墨子代在荣成底播, 可能会对荣成野生魁蚶野生群体的遗传结构产生一定影响, 因此, 采用即墨人工繁育子代作为荣成魁蚶底播增殖的苗种来源时必须十分慎重, 并在苗种繁育时尽量采用大群体有效亲本。

关键词: 魁蚶 (*Scapharca broughtonii* Schrenck); 遗传多样性; *COI* 基因; *ITS-1* 基因

中图分类号: S917 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2013)07-0024-09

魁蚶 (*Scapharca broughtonii* Schrenck) 俗称赤贝、血贝、大毛蚶, 隶属软体动物门 (Mollusca), 双壳纲 (Bivalvia), 翼形亚纲 (Pterimorphia), 蚶目 (Arcoida), 蚶科 (Arcidae), 是一种大型经济贝类, 主要分布于中国、日本、朝鲜半岛及俄罗斯东南部沿海。在我国以黄海北部较多, 主要在山东及辽宁沿海分布^[1]。迄今为止, 对魁蚶的研究工作已开展较多, 包括生殖生物学和苗种繁育^[2-6]、资源生态^[7-8]、群体遗传结构^[9-12]等。

山东荣成濒临黄海北部, 沿岸浅海水域历来就有魁蚶这一优势种质资源的自然分布。20 世纪 80 年代初, 海岸带生物资源调查发现, 魁蚶自然资源在荣成海域的集中分布面积约 7000 ha, 其蕴藏量超过 2 万 t, 平均生物密度达 0.476 个/m², 是荣成近岸水域资源开发的重要经济种^[13]。自 20 世纪 90 年代以来, 由于资源过度开发, 使原有的魁蚶资源受到极大破坏, 自然种群生物量显著下降。目前, 荣成海域内魁蚶自然资源分布区域面积锐减, 按原始资源面积计算, 自然生物量少于 0.01 个/m²^[13]。因此, 荣成市海洋与渔业局广泛组织、发动沿海魁蚶资源引进、增殖和修复技术。

近年来, 为满足魁蚶资源保护和增殖的需要, 魁蚶的底播增殖研究日益受到重视, 并取得一定

的生态和经济效益^[14-17]。在资源增殖过程中, 人们更多地关注资源量的增加, 而对人工苗种对本底生物资源可能带来的遗传影响重视不够。不合理的繁育和增殖方式可能导致近交快速积累、有效群体不断减少等负面效果, 引起近交衰退, 使种苗遗传多样性下降, 表现为生长减缓、抗病力减弱、品质退化等。有报道指出, 群体的遗传多样性每丧失 10%, 就会对其繁育能力、存活率、生长等重要性状产生很大的负面影响^[18]。

本研究采用线粒体 *COI* 基因和核糖体 *ITS-1* 基因序列, 对荣成和即墨 2 个魁蚶野生群体进行遗传多样性研究, 探讨了即墨群体人工繁育子一代群体的遗传多样性变化及其在荣成底播增殖的可行性。

1 材料与方法

1.1 实验材料

于 2009 年 9 月, 从荣成 (编号 RC) 采集 26 个野

收稿日期: 2012-10-12; 修回日期: 2012-12-25

基金项目: 海洋公益性行业科研专项经费项目 (200805069)

作者简介: 陈桢 (1987-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 贝类种群遗传学; 王鸿霞, 通信作者, 副研究员, E-mail: hongxiawang007@163.com

生魁蚶个体;从即墨采集一批野生魁蚶(数量 > 100 个)作为亲本,通过人工育苗的方式得到一批子代,从亲本群体中随机取 37 个个体(编号 JM),从子代中随机取 40 个个体(编号 JZ)(子代生长到 2010 年 5 月进行采集),共对 103 个魁蚶个体进行分析。

1.2 实验方法

1.2.1 基因组 DNA 提取及 PCR 扩增

采用 TIANGEN 海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒提取魁蚶的基因组 DNA 后,保存-20℃待用。

先用 COI 通用引物(COI L1490: 5'-GGTCAACA-AATCATAAAGATATTGG-3'和 COI H2198: 5'-TAAA-CTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3')扩增得到 2 个魁蚶个体的 COI 序列;再根据得到的序列,用 Primer Premier 5.0 软件设计 COI 特异引物,序列为: COI-1: 5'-CAAATGTTGGAATAGTAAAGGA-3'; COI-2: 5'-TATTTTCAGGATTCTGGGCA-3'。所用的 ITS-1 引物^[19]为: ITS-1A: 5'-GGTTCTGTAGGTGAACCTGC-3'; ITS-1B: 5'-CTGCGCCATCGACCC-3'。

PCR 反应体系 25 μ L: ddH₂O 17.25 μ L; DNA 模板 1 μ L; 10 \times PCR buffer 2.5 μ L; MgCl₂(25 mmol/L)1.5 μ L; dNTPs(10mM)0.5 μ L; 引物 F(10mM)1 μ L; 引物 R(10mM)1 μ L; Taq DNA Polymerase(5U/ μ L)0.25 μ L。PCR 反应程序为: 94℃变性 5 min, 1 个循环; 94℃变性 20 s, 50℃/58℃退火 30 s, 72℃延伸 30 s, 34 个循环; 72℃延伸 10 min, 1 个循环; 4℃保存。

所有 PCR 扩增在 Takara T650 PCR 仪上进行。

1.2.2 COI 基因 PCR 产物纯化、克隆及测序

PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳确定为单一目的条带。用上海生工 SanPrep 柱式 DNA 胶回收试剂盒回收纯化。将纯化产物与 pMD19-T 载体(大连宝生物)连接,连接反应体系为 5 μ L(solution I 2.5 μ L, vector 0.4 μ L, 纯化产物 2.1 μ L), 16℃连接过夜。连接产物 42℃转化到大肠杆菌 TOP10 感受态细胞中,并涂布于 LB 平板上 37℃过夜。挑取边缘清晰的菌落作模板,用 M13 通用引物(M13 F: 5'-AGCGGATAACAA-TTTCACACAGG-3'; M13 R: 5'-CGCCAGGGTTTTC-CCAGTCACGAC-3')进行 PCR 扩增,筛选阳性克隆。将阳性克隆扩大培养,送交北京六合华大基因科技有限公司测序。

1.2.3 ITS-1 基因 PCR 产物纯化及测序

PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳确定为单一目的条带。用上海生工 SanPrep 柱式 DNA 胶回收试剂盒回收纯化。将纯化产物送交北京六合华大基因科技有

限公司测序。

1.2.4 数据分析

所有序列均由 Mega 4.0 软件^[20]进行编辑、校对和比对,并对比对结果进行分析和手工校正,并去除序列中不确定的部分。一共得到 63 个魁蚶野生个体(荣成 26 个和即墨 37 个)和 40 个即墨人工繁育子代的 605bp 的 COI 基因序列 (NCBI 登录号为: KC588467- KC588503)和相应的 354bp 的 ITS-1 基因序列(NCBI 登录号为: KC555313- KC555327)。

采用 Mega 4.0 软件按照 Kimura 等^[21]双参数进化模型计算单倍型间的遗传距离,构建单倍型的邻接关系树,并采用 1000 次重抽样检验系统树分支的可靠性。

用 DnaSP 5.0^[22]软件计算序列中核苷酸组成、多态位点数(S)、核苷酸多样性(π)、单倍型数(h)和单倍型多样性指数(Hd),分析群体的多样性水平。

利用 Arlequin3.11 软件^[23]计算单倍型间的关系和核苷酸替换数,手工绘制最小跨度树(Minimum spanning tree)。采用 Arlequin 3.11 软件计算魁蚶群体之间的遗传分化指数 F_{st} 值来检验群体遗传结构。 F_{st} 值的显著水平通过 10000 次重抽样来检验,并用 Bonferroni 方法^[24]对其进行校正。

2 结果

2.1 序列分析

实验共获得长度为 605bp 的 COI 基因序列片段和长度为 354bp 的 ITS-1 基因序列片段各 103 条。COI 基因片段的 T、C、A、G 碱基平均含量分别为 23.7%, 21.4%, 40.1%, 14.8%, A+T 含量明显高于 C+G 含量,而 ITS-1 基因片段的 T、C、A、G 碱基平均含量分别为 25.6%, 26.9%, 20.1%, 27.4%, A+T 含量低于 C+G 含量。

2.2 遗传多样性

在 COI 基因序列的 605 个位点中,多态位点 73 个,其中简约信息位点 29 个。这些多态位点共定义了 37 个单倍型(表 1),其中有 Hap1 出现频率最高,为 37.8%的即墨野生(亲代)群体和 77.5%的即墨子代群体所共享,在荣成野生群体中未检测到单倍型 Hap1; Hap4 为 18.9%的即墨野生群体与 61.5%的荣成野生群体共享,而其他 35 个单倍型为各个群体私有且只在一个个体中发现。即墨野生群体中私有单倍型占总单倍型的 43.3%,荣成野生群体的私有单倍

型占总单倍型的 38.5%，即墨子代群体的私有单倍型占总单倍型的 22.5%。

表 1 *COI* 序列单倍型在各群体中分布
Tab.1 Distribution of *COI* haplotypes of *S. broughtonii* among localities

	RC	JM	JZ
Hap1		14	31
Hap2		1	
Hap3		1	
Hap4	16	7	
Hap5		1	
Hap6		1	
Hap7		1	
Hap8		1	
Hap9		1	
Hap10		1	
Hap11		1	
Hap12		1	
Hap13		1	
Hap14		1	
Hap15		1	
Hap16		1	
Hap17		1	
Hap18		1	
Hap19	1		
Hap20	1		
Hap21	1		
Hap22	1		
Hap23	1		
Hap24	1		
Hap25	1		
Hap26	1		
Hap27	1		
Hap28	1		
Hap29			1
Hap30			1
Hap31			1
Hap32			1
Hap33			1
Hap34			1
Hap35			1
Hap36			1
Hap37			1

在 *ITS-1* 基因序列的 354 个位点中，检测到插入/缺失 3 处，多态位点 10 个，其中简约信息位点 7 个。这些多态位点共定义了 15 个单倍型(表 2)，其中有 5

个单倍型为 3 个群体共有享，H1 是出现频率最高的单倍型，有 2 个单倍型为即墨野生群体和即墨子代群体共享，其他 8 个单倍型为各个群体私有且只在一个个体中发现。

表 2 *ITS-1* 序列单倍型在各群体中分布
Tab.2 Distribution of *ITS-1* haplotypes of *S. broughtonii* among localities

	RC	JM	JZ
H1	7	25	26
H2	3	1	5
H3		1	1
H4	4	2	4
H5	1	3	1
H6		1	1
H7			1
H8	6	2	1
H9		1	
H10		1	
H11	1		
H12	1		
H13	1		
H14	1		
H15	1		

基于多态位点得到各群体的核苷酸多样性指数(π)，多态位点数(S)，单倍型数(h)和单倍型多样性指数(Hd)见表 3 和表 4。分析 *COI* 基因序列发现，荣成和即墨野生群体的单倍型多样性指数分别为 0.631 和 0.832，核苷酸多样性指数分别为 0.0015 和 0.0252；即墨人工培育子代群体的单倍型多样性指数为 0.404，核苷酸多样性指数为 0.0008，显然比 2 个野生群体的多样性指数低。分析 *ITS-1* 基因序列的结果，发现野生群体和人工培育即墨子代群体间的单倍型多样性和核苷酸多样性指数差异不大。

2.3 系统发育关系

基于 *COI* 基因片段定义的 37 个单倍型的邻接关系树显示，所有单倍型明显分为 2 个类群(图 1)，并得到很高的置信度支持。全部荣成野生群体的单倍型和部分即墨野生群体单倍型聚成类群 I，部分即墨野生群体的单倍型和全部即墨子代群体的单倍型聚成类群 II。而基于 *ITS-1* 基因片段定义的 15 个单倍型的邻接关系树置信度低，单倍型之间的关系无法确定(图 2)。

表 3 魁蚶样品数和基于线粒体 *COI* 基因的多态位点数(S), 单倍型数(h), 单倍型多样性(Hd)和核苷酸多样性(π)及其标准差(Standard deviation, SD)

Tab.3 Sample size and number of variable sites (S), number of haplotype (h), haplotype diversity (Hd), nucleotide diversity (π) of *S. broughtonii* based on *COI*. SD: Standard deviation

样品来源	样品数 (个)	<i>COI</i>			
		S	h	Hd \pm SD	$\pi \pm$ SD
RC	26	12	11	0.631 \pm 0.111	0.0015 \pm 0.0004
JM	37	56	18	0.832 \pm 0.053	0.0252 \pm 0.0016
JZ	40	10	10	0.404 \pm 0.099	0.0008 \pm 0.0002
总计	103	73	37	0.763 \pm 0.037	0.0235 \pm 0.0010

表 4 魁蚶样品数和基于核糖体内转录间隔区 *ITS-1* 的多态位点数(S), 单倍型数(h), 单倍型多样性(Hd)和核苷酸多样性(π)及其标准差(Standard deviation, SD)

Tab.4 Sample size and number of variable sites (S), number of haplotype (h), haplotype diversity (Hd), nucleotide diversity (π) of *S. broughtonii* based on *ITS-1*. SD: Standard deviation

样品来源	样品数	<i>ITS-1</i>			
		S	h	Hd \pm SD	$\pi \pm$ SD
RC	26	8	11	0.871 \pm 0.041	0.0057 \pm 0.0007
JM	37	6	9	0.542 \pm 0.097	0.0024 \pm 0.0006
JZ	40	6	8	0.563 \pm 0.087	0.0027 \pm 0.0005
总计	103	10	15	0.661 \pm 0.049	0.0035 \pm 0.0004

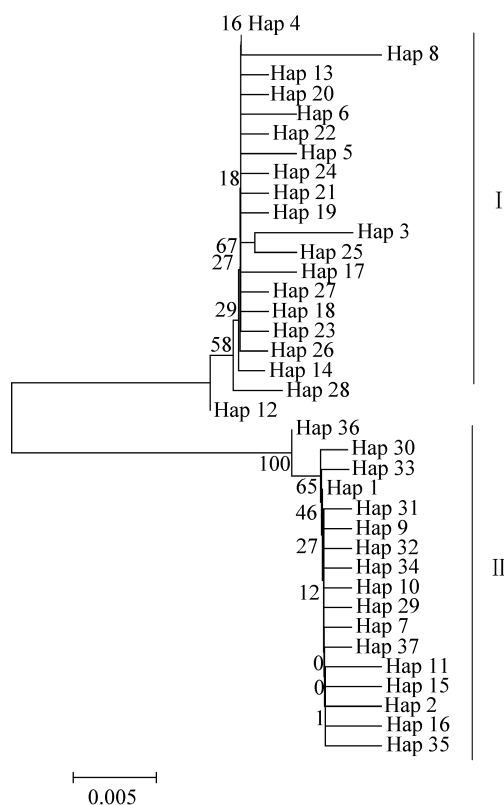


图 1 用 Mega 4.0 构建的魁蚶 *COI* 基因单倍型间的邻接关系树

Fig.1 Neighbor-joining tree of haplotypes of *S. broughtonii* based on *COI* sequences constructed by Mega 4.0

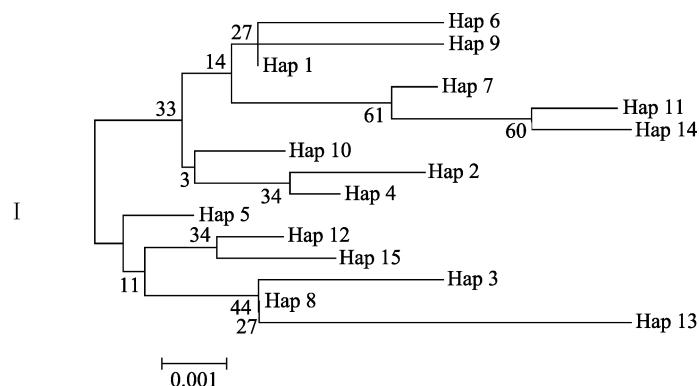


图 2 用 Mega 4.0 构建的魁蚶 *ITS-1* 基因单倍型间的邻接关系树

Fig.2 Neighbor-joining tree of haplotypes of *S. broughtonii* based on *ITS-1* sequences constructed by Mega 4.0

基于 *COI* 和 *ITS-1* 基因构建的单倍型最小跨度树有相似的结构, 都呈星形辐射状。处在星状结构中心的都为出现频率最高的单倍型(基于 *COI* 和 *ITS-1* 基因分别为 Hap1 和 H1), 如图 3 和图 4 与表 1 和表 2。*COI* 基因单倍型中, Hap1 只在即墨野生和子代群体中出现, 荣成群体中未出现; 而 *ITS-1* 单倍型中, H1 在 3 个群体中均有出现。

2.4 群体遗传结构

基于 *COI* 基因序列片段, AMOVA 分析结果表明, 魁蚶群体的群体间差异占 26.74%, 群体内差异占

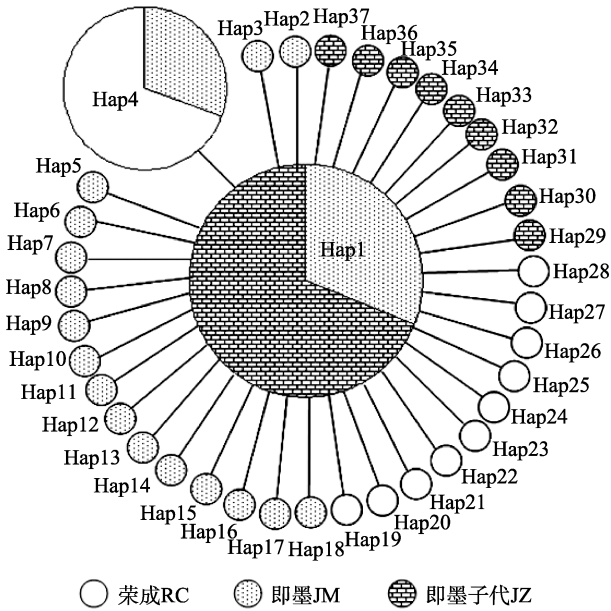


图3 魁蚶 37 个 *COI* 基因单倍型的最小跨度树

Fig.3 Minimum spanning tree of the 37 haplotypes of the *S. broughtonii* based on *COI* sequences

两两单倍型间有一个核苷酸替换

There is a single nucleotide substitution between two haplotypes

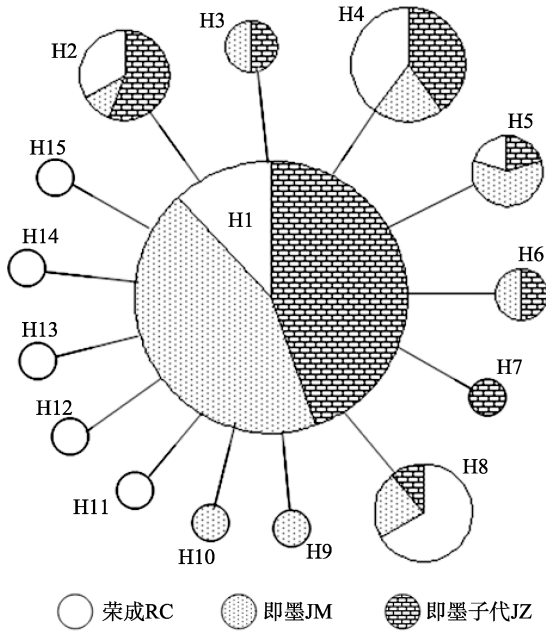


图4 魁蚶 15 个 *ITS-1* 基因单倍型的最小跨度树

Fig.4 Minimum spanning tree of the 15 haplotypes of the *S. broughtonii* based on *ITS-1* sequences

两两单倍型间有一个核苷酸替换

There is a single nucleotide substitution between two haplotypes

73.26%, 分子差异主要在群体内(表 5)。基于 *ITS-1* 基因序列片段, AMOVA 分析结果也表明分子差异主要在群体内, 群体间与群体内分子差异分别占 6.86%和 93.14%(表 5)。2 个基因序列分析得到的固定指数分别

为 0.2674 和 0.0686, 统计检验结果都为极显著($P < 0.01$), 表明魁蚶群体中存在明显的遗传结构。表现群体间遗传分化的 F_{st} 值见表 6。基于 *COI* 基因得到的荣成和即墨 2 个野生魁蚶群体之间的 F_{st} 值为 0.168, 基于 *ITS-1* 基因得到的两群体间 F_{st} 值为 0.1193, 表明 2 个野生群体之间存在一定程度的遗传分化。

3 讨论

从本研究的结果看, *COI* 基因的碱基含量分布不均匀, A+T 含量高于 C+G 含量, 表现出明显的碱基偏向性, 这与在其他无脊椎动物的 *COI* 基因中观察到的结果是一致的^[25-26]。而 *ITS-1* 基因的碱基含量分布表现为 A+T 含量低于 C+G 含量, 陈琳琳^[27]在日本、俄罗斯海参崴和中国威海 3 个魁蚶地理群体中也发现类似结果, 这与其他贝类的 *ITS* 序列中观察到的结果相似^[28]。

遗传多样性降低在人工繁殖群体中是一个较普遍的现象。方耀林等^[29]在采用 mtDNA 控制区序列, 对野生大鲵及其人工繁殖后代的遗传多样性进行分析时发现, 两组亲本的单倍型多样性及核苷酸多样性均高于各自的子代。王鸿霞等^[30]发现凡纳滨对虾人工繁育的子代的等位基因数比亲代低 11.11%, 平均期望杂合度、平均观测杂合度和平均多态性信息含量等指标均低于亲代。已有群体遗传学研究表明, 遗传多样性的保持和有效群体大小密切相关。当有效群体较小时, 由于瓶颈效应, 野生或养殖群体倾向于近交水平的增加^[31], 引起种群遗传多样性水平的下降。在本研究中, 虽然采用了 100 个个体以上规模的亲本群, 但基于 *COI* 基因序列片段的的结果看, 即墨人工繁育的子代群体的单倍型多样性和核苷酸多样性明显比即墨野生群体低。又有研究证实, 在水产动物的自然繁育中, 只有很少的亲本参与了子代基因库的构成, 有效群体比繁育亲本群体要小的多。如 Sekino 等^[32]利用 4 个高度多态性的微卫星位点对牙鲆子代群体进行了家系鉴定, 结果表明不同的亲本对子代的贡献率不同, 18 个亲本中仅一半对后代基因有贡献。Vandeputte 等^[33], 王鸿霞等^[30]在对子代群体进行家系鉴定时也发现相似的现象。也就是说, 亲本数量和亲本对子代的不同贡献率可能是造成子代群体遗传多样性低于亲代群体的原因。

在对 *COI* 基因序列分析时发现, 即墨人工繁育群体的核苷酸多样性比野生亲代群体有明显降低, 但基于 *ITS-1* 基因序列分析时发现, 两群体的多态位点数和核苷酸多样性指数相差不大。同样, 在即

表 5 3 个魁蚶群体的分子方差分析

Tab.5 Analysis of molecular variance(AMOVA)of *COI* and *ITS-1* haplotypes of *S. broughtonii* populations

	变异来源	自由度	离差平方和	方差组分	方差比例	固定指数	P 值
<i>COI</i>	群体间	2	8.199	0.11218 Va	26.74	0.26741	0.00000
	群体内	100	30.733	0.30733 Vb	73.26		
	总变异	102	38.932	0.41951			
<i>ITS-1</i>	群体间	2	2.198	0.02319 Va	6.86	0.06857	0.00098
	群体内	100	31.501	0.31501 Vb	93.14		
	总变异	102	33.699	0.33820			

表 6 基于 *COI*(对角线以上)和 *ITS-1*(对角线以下)基因序列单倍型分析得到的群体间遗传分化指数 F_{st} 值

Tab.6 Population pairwise(F_{st})between *S.broughtonii* populations based on *COI*(above diagonal)和 *ITS-1*(below diagonal)sequences

F_{st}	RC	JM	JZ
RC	-	0.1678**	0.4958**
JM	0.1193**	-	0.1279*
JZ	0.1034*	-0.0094	-

注: *表示 $P < 0.05$; **表示 $P < 0.01$

即墨群体与荣成群体之间, 基于 *COI* 基因序列分析结果发现两者的多态位点数和核苷酸多样性指数差异显著, 两群体的多态位点数分别为 56 和 12, 核苷酸多样性分别为 0.0252 和 0.0015, 呈现明显的倍数关系。而基于 *ITS-1* 基因序列分析却发现, 两群体的多态位点数和核苷酸多样性指数相差不大。这可能是由于线粒体基因比核基因的进化速率快^[34]和 *ITS-1* 基因种内变异小^[35]的特点造成的。*ITS-1* 基因种内变异小的现象在其他研究中也发现, 如 Philips 等^[36]对不同地理种群的红点鲑的 *ITS-1* 进行测序分析, 发现种内不同种群之间的序列相似性较大; 林昕等^[37]采用 *ITS-1* 基因序列片段, 发现福建沿海不同养殖区泥蚶群体具有较高的遗传相似性。因此, 作者认为基于 *COI* 基因序列检测魁蚶群体水平多态性比 *ITS-1* 基因更为敏感。

在单倍型邻接关系树中, 基于 *COI* 基因序列得到的单倍型以高置信度聚成 2 个类群, 而基于 *ITS-1* 基因序列得到的单倍型邻接关系树置信度低, 单倍型之间的关系无法确定, 该结果可能也与 *ITS-1* 基因的种内变异小有关系。在 *COI* 基因序列单倍型的邻接关系树中, 荣成野生群体和部分即墨野生群体聚在同一个类群(类群 I)中, 另一部分即墨野生群体与即墨子代聚在类群 II, 表明荣成和即墨野生群体之间存在某些程度的遗传分化。根据 Wright^[38]对遗传分化程度划分的等级, F_{st} 为 0.05~0.15, 说明群体间存在中等程度的遗传分化。而即墨和荣成野生群体

之间的 F_{st} 值基于 *COI* 和 *ITS-1* 基因分别为 0.1678 和 0.1193, 表明魁蚶 2 个野生群体之间的遗传分化程度为中等水平。在本研究中, 基于 *COI* 和 *ITS-1* 基因构建的单倍型最小跨度树都为星状结构, 这通常被认为是种群经历过种群扩张的结果^[39], 处于星状结构中心的单倍型(*COI* 和 *ITS-1* 基因序列中分别为 Hap1 和 H1)推测为祖先单倍型。在 *COI* 单倍型分布中, 可能是祖先单倍型的 Hap1 在荣成野生群体中未出现, 这可能与分析样品数量有关。

2 种基因序列片段的分子方差分析(AMOVA)结果都表明, 魁蚶 3 个群体内的分子遗传变异明显大于群体间的遗传变异。研究中发现, 相对于 *ITS-1* 基因的 AMOVA 分析结果, 基于 *COI* 基因序列分析时群体间的遗传变异比例较大(26.74%)。进行 F_{st} 分析时同样发现这样的问题, 基于 *COI* 基因序列得到的群体间 F_{st} 值比 *ITS* 基因序列得到的 F_{st} 值大。我们认为这可能是由于 2 个基因的进化速率不同和 *ITS-1* 种内变异小的特性共同导致的结果。同时也注意到, 基于 *COI* 基因序列分析得到的荣成野生群体与即墨子代之间的 F_{st} 值最大(为 0.4958), 两群体间遗传差异较大, 这可能会对荣成魁蚶野生群体的遗传结构产生不可忽略的影响, 底播时应慎重。方耀林等^[29]在研究野生大鲵及其人工繁殖后代的遗传多样性分析时, 发现 2 个子代种群的 F_{st} 值较大, 认为不同大鲵人工繁殖的后代, 遗传分化有扩大的趋势。这提示人们也可进一步对人工繁育的荣成群体子代和即墨群体子代的遗传多样性和遗传结构进行研究, 以更准确地揭示魁蚶不同地理群体的遗传多样性和遗传分化关系, 为魁蚶的底播增殖工作提供科学的参考依据。

4 结论

荣成市魁蚶的底播增殖正逐步深入开展。底播苗种的选用是底播增殖能否取得显著成效的关键。人工增殖是一种重要的资源保护与修复手段。但选

择适当的种苗和增殖地点是前提。若选择不当, 不仅达不到保护资源或修复资源的作用, 反而可能对种群本身的遗传特性造成破坏。在切实开展增殖工作之前, 应采取必要的调研等相关工作, 确保增殖活动能取得预期的成效。

本研究通过对即墨和荣成两地的野生群体以及人工繁育即墨群体获得的子代进行遗传多样性和遗传结构的分析, 探讨了即墨群体人工繁育的苗种在荣成海域底播增殖的可行性。研究结果发现, 荣成和即墨 2 个野生群体本身就存在中等程度的遗传分化。人工繁育的即墨子代群体遗传多样性比即墨野生群体有所降低。荣成群体与即墨子代之间的遗传差异, 较之与即墨野生群体的差异更大。如果采用即墨子代在荣成底播, 可能会对荣成野生魁蚶野生群体的遗传结构产生一定影响, 因此, 采用即墨人工繁育子代作为荣成魁蚶底播增殖的苗种来源时必须十分慎重, 并在苗种繁育时尽量采用大群体有效亲本。

参考文献:

- [1] 王如才, 王昭萍, 张建中. 海水贝类养殖学[M]. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1993: 156.
- [2] 郭学武. 魁蚶生殖生物学初步研究[J]. 海洋水产研究, 1994, 15:55-63.
- [3] 于瑞海, 孙志刚, 王长竹, 等. 魁蚶大水体升温育苗技术研究[J]. 海洋科学, 1995, 2: 5-7.
- [4] 于瑞海, 王如才, 姜春丽, 等. 魁蚶生产性间断升温育苗技术的研究[J]. 黄渤海海洋, 1997, 15(3): 40-45.
- [5] Numaguchi K. Gonad development of the ark shell *Scapharca broughtonii* (Schrenck) broodstock in farming grounds of Japan [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1996, 62(3): 384-392.
- [6] 郑国富, 王晓波, 付卓. 魁蚶人工育苗生产中几项技术探讨[J]. 河北渔业, 2008, 1: 41-42.
- [7] 陈觉民, 王恩明, 李何. 海水中某些化学因子对魁蚶幼虫、稚贝及成体的影响[J]. 海洋与湖沼, 1989, 20(1): 15-22.
- [8] Park MS, Lim HJ, Kim PJ. Effect of environmental factors on the growth, glycogen and hemoglobin content of cultured ark shell, *Scapharca broughtonii* [J]. J Korean Fish Soc, 1998, 31: 176-185.
- [9] Lee JM, Park JW, Yoo MS, et al. Morphological characteristics and genetic diversity using the RAPD technique in the ark shell, *Scapharca broughtonii* (Schrenck) from Korea and China [J]. J Korean Fish Soc, 1997, 30: 297-304.
- [10] Yokogawa K. Morphological and genetic differences between Japanese and Chinese red ark shell *Scapharca broughtonii* [J]. Fish Sci, 1997, 63: 332-337.
- [11] 喻子牛, 孔晓瑜, 杨锐, 等. 魁蚶 (*Scapharca broughtonii*) 等位基因酶遗传变异研究[J]. 青岛海洋大学学报, 1998, 28(1): 51-58.
- [12] Cho ES, Jung CG, Sohn SG, et al. Population genetic structure of the ark shell *Scapharca broughtonii* Schrenck from Korea, China, and Russia based on COI gene sequences [J]. Marine Biotechnology, 2007, 9 (2): 203-216.
- [13] 宋云杰, 郭旭强. 荣成市魁蚶底播增殖可行性探讨[J]. 齐鲁渔业, 2010, 27(8): 53-54.
- [14] 唐启升, 王俊, 邱显寅, 郭学武. 魁蚶底播增殖的试验研究[J]. 海洋水产研究, 1994, 15: 79-86.
- [15] 孙鹏飞, 刘杰, 王卫民, 等. 浅海底播养殖魁蚶试验[J]. 河北渔业, 2009, 10: 42.
- [16] 于瑞海, 李琪. 无公害魁蚶底播增养殖稳产新技术[J]. 海洋湖沼通报, 2009, 3: 87-90.
- [17] 林培振, 刘德坤, 杜萌萌, 等. 魁蚶海区底播增养殖技术[J]. 中国水产, 2010, 11:42.
- [18] 王晓伟. 牙鲆生长相关性状遗传力估计[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2008.
- [19] 陈琳琳, 孔晓瑜, 周立石, 等. 魁蚶核糖体 DNA 基因转录间隔区的序列特征[J]. 中国水产科学, 2005, 12(1): 104-108.
- [20] Tamura K, Dudley J, Nei M, et al. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0 [J]. Molecular Biology and Evolution, 2007, 24 (8): 1596-1599.
- [21] Kimura M, Yanagimoto T, Munehara H. Maternal identification of hybrid eggs in *Hexagrammos* spp. by means of multiplex amplified product length polymorphism of mitochondrial DNA [J]. Aquatic Biology, 2007: 187-192.
- [22] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. Bioinformatics, 2009, 25 (11): 1451-1452.

- [23] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1, 2005, 47-50.
- [24] Rice W. Analyzing tables of statistical tests [J]. *Evolution*, 1989, 43: 223-225.
- [25] 郑文娟, 朱世华, 沈锡权, 等. 基于线粒体 COI 基因序列探讨泥蚶的遗传分化[J]. *动物学研究*, 2009, 30(1): 17-23.
- [26] 陈丽梅, 孔晓瑜, 喻子牛, 等. 3 种蛭类线粒体 16S rRNA 和 COI 基因片段的序列比较及其系统学初步研究[J]. *海洋科学*, 2005, 29(8): 27-32.
- [27] 陈琳琳. 几种双壳贝类 ITS 区序列分析与遗传多样性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2004.
- [28] 许志强, 葛家春, 李晓辉, 等. 基于 rDNA ITS 序列研究蚌科 6 种类的系统发生关系[J]. *淡水渔业*, 2009, 39(1): 16-20.
- [29] 方耀林, 张燕, 肖汉兵, 等. 野生大鲵及其人工繁殖后代的遗传多样性分析[J]. *水生生物学学报*, 2008, 32(5): 783-786.
- [30] 王鸿霞, 吴长功, 相建海. 凡纳滨对虾繁殖中不同亲本对子代遗传贡献率的差异[J]. *动物学报*, 2006, 52(1): 175-181.
- [31] Shikano T, Chiyokubo T, Taniguchi N. Effect of inbreeding on salinity tolerance in the guppy (*Poecilia reticulata*) [J]. *Aquaculture*, 2001, 202: 45-55.
- [32] Sekino M, Saitoh K, Yamada T, et al. Microsatellite-based pedigree tracing in a Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* hatchery strain: implications for hatchery management related to stock enhancement program [J]. *Aquaculture*, 2003, 221: 255-263.
- [33] Vandeputte M, Kocour M, Magera S, et al. Heritability estimates for growth-related traits using microsatellite parentage assignment in juvenile common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Aquaculture*, 2004, 335: 223-236.
- [34] Brown W M. *Evolution of Genes and Proteins* [M]. Sunderland: Sinauer, 1983, 62-88.
- [35] 王庆, 傅洪拓, 核 rDNA ITS 区序列在水产动物研究中的应用[J]. *安徽农学通报*, 2007, 13(11): 99-101.
- [36] Philips R B, Sajdak S L, Domanico M J. Relationships among charrs bases on DNA Sequences [J]. *Nord J Frdabw Res*, 1995, 71: 378-391.
- [37] 林昕, 王鹏, 杜琦, 李振华, 等. 福建沿海不同养殖区泥蚶的 ITS-1 基因片段序列分析[J]. *福建水产*, 2008, 1: 61-65.
- [38] Wright S. The genetical structure of populations [J]. *Annals of Eugenics*, 1951, 15: 323-354.
- [39] Slatkin M, Hudson R R. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations [J]. *Genetics*, 1991, 129: 555-562.

Genetic analysis of wild ark shell (*Scapharca broughtonii*) populations and the artificially propagated progenies based on COI and ITS-1 gene

CHEN Zhen^{1,2}, QIU Zhao-xing³, WANG Hong-xia², ZHANG Xiu-mei¹, LIU Bao-zhong²

(1. Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Key Laboratory of Experimental Marine Biology, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 3. Mariculture Institute of Shandong Province, Qingdao 266002, China)

Received: Oct., 12, 2012

Key words: *Scapharca broughtonii*; genetic diversity; COI gene; ITS-1 gene

Abstract: The genetic variance and population genetic structure of wild *S. broughtonii* from Rongcheng (RC) and Jimo (JM), as well as Jimo's artificially propagated progenies (JZ) were analyzed by mitochondrial COI and ribosomal ITS-1 gene sequences. The feasibility of sowing the Jimo progenies to Rongcheng water for the enhancement of *S. broughtonii* is discussed. Analyses of molecular variance revealed that the major portion of the genetic diversity was found within populations. The *Fst* value between the RC and JM population based on COI and ITS-1 sequences was 0.1678 and 0.1193, respectively, which suggests that moderately genetic differentiation existed. The Jimo's artificially propagated progenies have lower genetic diversity than the wild populations. And the genetic divergence between Rongcheng and Jimo's progenies populations is larger than the divergence between wild populations of Rongcheng and Jimo. The population genetic structure of *S. broughtonii* in Rongcheng will be seriously affected, if the Jimo's artificially propagated progenies are sowed into Rongcheng water. Thus, sowing the Jimo progenies to Rongcheng water for the enhancement of *S. broughtonii* needs to be carried out very cautiously, and the parental population size should be as large as possible

(本文编辑: 梁德海)