

西施舌(*Coelomactra antiquata*)群体 遗传多样性与分化的研究*

黎中宝 王展林 张桂玲 陈锦 赵斌丽 吴宁 林小云

(集美大学水产学院 厦门 361021; 集美大学水产生物技术研究所 厦门 361021;
福建省高校水产科学技术与食品安全重点实验室 厦门 361021)

摘要 采用不连续垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳技术,对广西北海、福建漳港和江苏启东 3 个西施舌自然群体的 7 个等位酶 12 个位点进行检测分析。结果表明,西施舌群体的遗传多样性较高,平均每位点等位基因数目(A)范围为 1.5833—2.0000、平均每位点有效等位基因数目(A_e)范围为 1.2850—1.5373、多态位点百分数(P)为 33.33%、观察杂合度(H_o)为 0.2389—0.3083、期望杂合度(H_e)为 0.1496—0.2041 之间。西施舌群体间有一定的遗传分化,遗传分化系数(F_{ST})为 0.0719,福建漳港群体与广西北海群体之间的 F_{ST} 为 0.0413,但福建漳港群体和广西北海群体与江苏启东群体之间的 F_{ST} 为 0.0505。

关键词 西施舌, 等位酶, 遗传多样性, 遗传分化

中图分类号 Q953

西施舌(*Coelomactra antiquata* Spengler)隶属于软体动物门(Mollusca)、瓣鳃纲(Lamillibranchia)、异齿亚纲(Heterodonta)、帘蛤目(Veneroida)、蛤蜊科(Mactridae)、腔蛤蜊属(*Coelomactra*),在我国沿海均有分布,印度半岛、日本沿海也有分布。西施舌俗称“海蚌”,个体较大,滋味鲜美,营养丰富,可与海参、鲍媲美,是一种经济价值比较高的名贵海产贝类。西施舌既是久负盛名的筵席珍品佳肴,还具有极高的医疗保健价值。据《本草纲目拾遗》中记载,西施舌为“润肺脏,益精补阴要药”(邢湘成,2004)。但由于滥捕和长期只捕不养,近年来产量急剧下降,一些海区已很少见到西施舌的踪迹。目前,关于西施舌的研究主要集中在生物学(刘德经等,2003;齐秋贞等,1996)、养殖学(刘德经等,2004)和遗传学(程汉良等,2006;姚丽娅等,2006;尤仲杰等,2007;孔令锋等,2008;林昕等,2008)等方面,而利用等位酶技术对西施舌进行群体遗传学的研究并不多见。等位酶(Allozyme)指同一基因位点的不同等位基因所编码的

一种酶的不同形式,是同工酶的一种特殊形式。等位酶谱带与等位基因之间关系明确,其变化直接反映了 DNA 分子水平上的变化,等位酶分析已成为一种有效的遗传多样性检测技术,是近一、二十年来应用最普遍的方法。迄今为止,通过等位酶电泳技术研究遗传多样性、遗传结构的海洋贝类主要有:蛤(薛明等,2006)、贻贝(黄荣莲等,2008)、扇贝(张喜昌等,2002)、珠母贝(李广丽等,2002)、牡蛎(杨锐等,2000)、蚶(喻子牛等,1997,1998)、鲍(黎中宝等,2005)等。本研究采用等位酶技术对西施舌群体遗传学进行研究,以期对西施舌的遗传多样性、遗传结构、种质鉴定及其种质资源的保护和利用提供可靠依据。

1 材料与方 法

西施舌样品于 2008 年 5 月分别取自:江苏启东自然海区西施舌群体 33 个,长 7—8cm;福建漳港自然海区西施舌群体 30 个,长 9—10cm;广西北海自然海区西施舌群体 32 个,长 10—11cm。样品采集后活

* 福建省自然科学基金资助项目, B0640010 号;福建省高等教育新世纪优秀人才支持计划项目, 闽教科[2006]35 号;福建省高校水产科学技术与食品安全重点实验室基金, 2007J202 号;集美大学创新团队基金, 2007A001 号。黎中宝, 博士, 教授, E-mail: lizhongbao@jmu.edu.cn

收稿日期: 2007-11-06, 收修改稿日期: 2008-02-16

体带回实验室, 冰上解剖剪取肝脏, -80°C 保存。实验过程中每个样品取 0.5g 的肝脏组织, 加入 2—3 倍体积的磷酸缓冲液(pH 7.4), 在冰浴中研磨。4 离心 10min (12000r/min), 取上清液, 加浓度 40% 的蔗糖溶液, 上清液与蔗糖溶液的比为 2 : 1, 然后滴加 $20\ \mu\text{l}$ 的溴酚蓝, 在 4°C 下保存备用。

等位酶电泳采用垂直板型不连续聚丙烯酰胺凝胶(PAGE), 点样后于 4°C 冰箱中进行电泳。浓缩胶和分离胶浓度分别为 2.5% 和 7.5%, pH 值分别为 8.9 和 6.7。浓缩胶保持 100V 的电压, 分离胶的电压为 150V。电泳条件、染色方法、酶谱判译、等位酶的缩写参照 Li 等(2004)的方法, 实验分析得到的 7 个酶系统, 分别为: 超氧化物歧化酶(SOD, E.C. 1.15.1.1)、天冬氨酸转氨酶(AAT, E.C. 2.6.1.1)、苹果酸酶(ME, E.C. 1.1.1.40)、苹果酸脱氢酶(MDH, E.C. 1.1.1.37)、酯酶(EST, E.C. 3.1.1.1)、酸性磷酸酶(ACP, E.C. 3.1.3.2)、淀粉酶(AMY, E.C. 3.2.1.1)。

数据处理采用 PopGen1.32 软件, 遗传多样性统计分析采用了每位点的等位基因频率、平均每位点的等位基因数目(A)、平均每位点有效等位基因数目(A_e)、多态位点百分数(P)、观察杂合度(H_o)与期望杂合度(H_e); 群体的遗传结构的分析包括群体间遗传分化系数(F_{ST})和遗传距离(D)等。

2 结果

2.1 西施舌群体的等位基因频率

实验分析得到的 7 个酶系统, 有 12 个位点, 共有 25 个等位基因, 其中有 8 个位点为单态位点, 即 *Aat-1*、*Me-1*、*Est-2*、*Est-4*、*Acp-1*、*Acp-2*、*Amy-1*、*Amy-2*; 有 4 个多态位点, 即 *Sod-1*、*Mdh-1*、*Est-1*、*Est-3*。3 个西施舌群体的等位基因频率见表 1。

2.2 西施舌群体的遗传多样性和遗传分化

3 个西施舌群体平均每位点等位基因数目(A)为 1.7500; 平均每位点有效等位基因数目(A_e)为 1.3939; 多态位点百分数($P_{0.99}$)为 33.33%。观察杂合度(H_o) 在 0.2389—0.3083 之间, 平均值为 0.2750; 期望杂合度(H_e) 在 0.1496—0.2041 之间, 平均值为 0.1765。物种水平上: 平均每位点等位基因数目(A)为 2.0833, 平均每位点有效等位基因数目(A_e)为 1.4336, 多态位点百分数($P_{0.99}$)为 33.33%, 观察杂合度(H_o)为 0.2750, 期望杂合度(H_e)为 0.1880(表 2)。

群体间遗传分化系数 F_{ST} 用来衡量群体间的遗传

表 1 3 个西施舌群体的等位基因频率

Tab.1 Allele frequencies in 3 <i>C. antiquata</i> populations				
位点	等位基因	江苏启东	福建漳港	广西北海
<i>Sod-1</i>	a	—	0.0167	0.0167
	b	0.4667	0.4333	0.4333
	c	0.4500	0.5500	0.5333
	d	0.0667	—	0.0167
	e	0.0167	—	—
<i>Aat-1</i>	a	1.0000	1.0000	1.0000
<i>Me-1</i>	a	1.0000	1.0000	1.0000
<i>Mdh-1</i>	a	0.5000	0.5000	0.5000
	b	0.5000	0.5000	0.5000
<i>Est-1</i>	a	0.0167	—	—
	b	0.0500	—	—
	c	0.0833	—	—
	d	0.0833	0.0500	0.4833
	e	0.4167	0.8667	0.5000
	f	0.0333	0.0833	—
	g	0.3167	—	0.0167
<i>Est-2</i>	a	1.0000	1.0000	1.0000
<i>Est-3</i>	a	0.4167	0.5000	0.5000
	b	0.1667	0.4833	0.4667
	c	0.4167	0.0167	0.0333
<i>Est-4</i>	a	1.0000	1.0000	1.0000
<i>Acp-1</i>	a	1.0000	1.0000	1.0000
<i>Acp-2</i>	a	1.0000	1.0000	1.0000
<i>Amy-1</i>	a	1.0000	1.0000	1.0000
<i>Amy-2</i>	a	1.0000	1.0000	1.0000

分化程度。3 个西施舌群体之间的 F_{ST} 为 0.0719, 说明群体之间的变异占总变异的 7.19%, 有 92.81% 的变异发生在群体内部。福建漳港群体与广西北海群体之间的 F_{ST} 为 0.0413。以北纬 30 度为界, 以南的福建漳港群体和广西北海群体, 与以北的江苏启东群体之间的 F_{ST} 为 0.0505。

3 个西施舌群体的平均遗传距离为 0.0245, 平均遗传相似度为 0.9758。福建漳港的西施舌群体与江苏启东群体遗传距离最大($D = 0.0302$); 福建漳港群体与广西北海群体的遗传距离最小($D = 0.0164$)(表 3)。利用 UPGMA 法对三个群体进行了聚类分析(图 1)。

3 讨论

3.1 西施舌群体遗传多样性分析

多态位点百分数(P)、平均每位点等位基因数目(A)、平均每位点有效等位基因数目(A_e)、观察杂合度(H_o)和期望杂合度(H_e)是群体遗传多样性度量的主要

表 2 3 个西施舌群体的遗传多样性
Tab.2 Indices of genetic diversity in 3 *C. antiquata* populations

群体	平均每位点等位基因数目 A	平均每位点有效等位基因数目 A_e	多态位点百分数 $P_{0.99}$	观察杂合度 H_o	期望杂合度 H_e
江苏启东	2.0000 (1.8586)	1.5373 (0.8550)	33.33%	0.2778 (0.4300)	0.2041 (0.3050)
福建漳港	1.5833 (0.9003)	1.2850 (0.4613)	33.33%	0.2389 (0.4045)	0.1496 (0.2322)
广西北海	1.6667 (1.0731)	1.3595 (0.5320)	33.33%	0.3083 (0.4621)	0.1758 (0.2598)
平均值	1.7500	1.3939	33.33%	0.2750	0.1765
物种水平	2.0833 (1.9752)	1.4336 (0.6552)	33.33%	0.2750 (0.4205)	0.1880 (0.2790)

注：括号内数值为标准差

表 3 3 个西施舌群体间的遗传相似度(上三角)和遗传距离(下三角)

Tab.3 Genetic similarity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) between 3 *C. antiquata* populations

群体	江苏启东	福建漳港	广西北海
江苏启东	—	0.9703	0.9734
福建漳港	0.0302	—	0.9837
广西北海	0.0270	0.0164	—

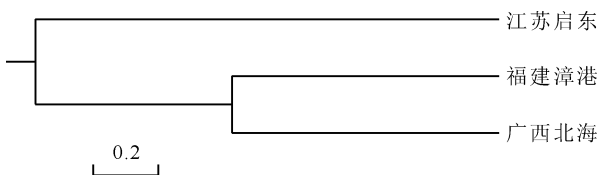


图 1 3 个西施舌群体间的 UPGMA 聚类分析图

Fig.1 UPGMA dendrogram of 3 *C. antiquata* populations

参数。本研究中西施舌的平均多态位点百分数($P = 35.33\%$)与孔令锋等(2008)对山东即墨的西施舌进行同工酶分析的结果($P = 33.33\%$)相近, 观察杂合度($H_o = 0.2750$)和期望杂合度($H_e = 0.1880$)低于其结果($H_o = 0.36, H_e = 0.51$)。与其它贝类比较(表 4), 西施舌的平均多态位点百分数($P = 33.33\%$)低于 48 种贝类的平均水平($P = 47.1\%$) (Singh *et al*, 1984), 也低于作者所统计的 15 种经济贝类的平均值($P = 39.62\%$); 平均每位点等位基因数和平均每位点有效等位基因数目($A = 1.7500, A_e = 1.3939$)均高于 15 种经济贝类的平均值($A = 1.4348, A_e = 1.3390$), 其中平均每位点有效等位基因数 A_e 与薛钦昭(1999)对 49 种主要海洋贝类群体的遗传变异统计的结果相符($A_e = 1.0—1.5$), 并且处于较高水平; 观察杂合度($H_o = 0.2750$)明显高于 10 种海

表 4 西施舌与其它经济贝类生化遗传学参数的比较

Tab.4 Allozyme indexes of genetics of economic shellfish

物种	等位基因数 A	有效等位基因数 A_e	多态位点比例 $P_{0.99}$	观察杂合度 H_o	遗传距离 D	文献来源
文蛤 <i>Meretrix meretrix</i>	—	1.458	38.87%	0.2773	0.0240	薛明等, 2006
缢蛏 <i>Sinonovacula constricta</i>	—	1.1640	16.96%	0.0346	0.007	王冬群等, 2005
翡翠贻贝 <i>Perna viridis</i>	1.4033	—	34.93%	0.6132	0.0227	黄荣莲等, 2008
海湾扇贝 <i>Argopecten irradians</i>	—	1.1190	30.68%	0.0700	0.0013	张喜昌等, 2002
栉孔扇贝 <i>Chlamys farreri</i>	—	1.5828	43.32%	0.1413	—	李太武等, 2001
合浦珠母贝 <i>Pinctada martensii</i>	—	—	42.30%	0.1124	0.0159	李广丽等, 2002
企鹅珍珠贝 <i>Pteria penguin</i>	—	—	88.8%	0.3960	—	余祥勇等, 2004
欧洲牡蛎 <i>Ostrea edulis</i>	1.6500	—	50.00%	0.1125	—	沈琪等, 1999
褶牡蛎 <i>Crassostrea plicatula</i>	—	1.2982	57.50%	0.1788	0.0309	杨锐等, 2000
泥蚶 <i>Tegillarca granosa</i>	—	1.3723	41.95%	0.0757	0.0251	喻子牛等, 1997
魁蚶 <i>Scapharca broughtonii</i>	—	1.3240	53.45%	0.1090	0.0353	喻子牛等, 1998
盘鲍 <i>H. discus discus</i>	1.2000	—	16.67%	0.1090	—	黎中宝等, 2005
皱纹盘鲍 <i>H. discus hannai</i>	1.1000	—	11.11%	0.0930	—	黎中宝等, 2005
杂色鲍 <i>H. diversicolor diversicolor</i>	1.4400	—	33.33%	0.1060	—	黎中宝等, 2005
九孔鲍 <i>H. diversicolor supertexta</i>	1.5000	—	33.33%	0.1350	—	黎中宝等, 2005
平均值	1.4348	1.3390	39.62%	0.1756	0.0274	
48 种贝类的平均值	—	—	47.1%	0.1470	—	Singh <i>et al</i> , 1984
西施舌 <i>Coelomactra antiquata</i>	1.7500	1.3939	33.3%	0.2750	0.0245	本研究

洋无脊椎动物($H_0 = 0.098$) (Powell, 1975), 也明显高于 48 种贝类的平均水平($H_0 = 0.147$) (Singh *et al.*, 1984)和 15 种经济贝类的平均值($H_0 = 0.1756$), 在 15 种经济贝类中仅低于文蛤($H_0 = 0.291$) (薛明等, 2006)和企鹅珍珠贝($H_0 = 0.396$) (余祥勇等, 2004), 这些充分说明西施舌种质资源状况较好, 但也要及时采取相应的保护措施, 防止过度的捕捞使其资源量严重衰减以及对种质资源和遗传多样性产生不可低估的影响。

3.2 西施舌群体遗传分化分析

遗传分化系数 F_{ST} 用来衡量群体间的分化程度, 西施舌群体间遗传分化系数 F_{ST} 为 0.0719, 即有 92.81% 的遗传变异来自群体内, 有 7.19% 的遗传变异来自群体间, 说明西施舌各个群体有了一定的遗传分化。但西施舌群体间遗传距离平均值为 0.0245, 略低于 15 种经济贝类的平均值(表 4)。福建漳港西施舌群体与广西北海群体遗传距离最小, 为 0.0164; 而江苏启东群体与福建漳港群体、广西北海群体的遗传距离都比较大, 分别为 0.0302、0.0270。林昕等(2008)利用 ITS-1 序列作为遗传标记分析了来自 3 个不同地区(江苏、福建长乐、福建深沪湾)西施舌的遗传变异情况, 发现地理位置较近的福建长乐和福建深沪湾的西施舌遗传距离较小, 江苏和福建(长乐漳港和深沪)西施舌的遗传距离较大。本研究聚类分析结果显示, 福建漳港与广西北海的两个西施舌自然群体聚为一支, 江苏启东群体另为一支, 这与尤仲杰等(2007)对中国沿海西施舌自然群体 RAPD 分析结果进行 NJ 法聚类分析结果一致。对于群体间存在的遗传差异, 有学者研究表明, 地理位置的不同导致海洋贝类群体在遗传结构和遗传多样性上存在一定的差异, 海湾扇贝不同地理群体具有各自的遗传结构特征(Wilbur *et al.*, 1997), 褶牡蛎群体间的遗传距离随地理位置远近表现出一定的正相关关系(杨锐等, 2000)。也有研究表明, 不同的环境条件造成同一物种不同群体的遗传差异, 环境的胁迫对翡翠贻贝群体遗传结构产生较大的影响(黄荣莲等, 2008), 海湾扇贝的遗传多样性水平与食物供应、环境条件等有一定的相关性(张喜昌等, 2002)。本研究发现, 3 个西施舌群体分布的地理位置中, 福建漳港(25.58°N)与广西北海(21.49°N)同属北热带, 全年水温均较高, 冬、夏季温差不大, 两地的海域气候、温度、盐度等条件因素较为接近, 这可能是造成广西与福建西施舌群体遗传距离较小的原因之一。而江苏启东处于 31.8°N, 属于

北温带, 冬季水温较低, 盐度低, 含氧量多, 与福建、广西的海域环境差别较大, 这可能是造成遗传分化的主要原因之一。在其它研究中也发现类似情况, 贻贝群体的分布与温度和盐度有密切的关系(Sarver *et al.*, 1993), 温度是造成大连湾牡蛎遗传差异的主要原因(刘必谦等, 1998)。

参 考 文 献

- 王冬群, 李太武, 苏秀榕, 2005. 象山缢蛏养殖群体和野生群体遗传多样性的比较. 中国水产科学, 12(2): 138—142
- 尤仲杰, 包永波, 张爱菊, 2007. 中国沿海西施舌 5 个自然群体形态差异和 RAPD 分析. 海洋学报, 29(3): 99—103
- 孔令锋, 李 琪, 2008. 西施舌同工酶的组织特异性与多态性初步研究. 中国水产科学, 15(1): 178—181
- 邢湘成, 2004. 西施舌的药用. 药膳食疗, 4: 32
- 刘必谦, 戴继勋, 喻子牛, 1998. RAPD 标记在大连湾牡蛎种群研究中的应用. 青岛海洋大学学报, 28(1): 82—87
- 刘德经, 黄进升, 蔡起彬等, 2004. 西施舌人工育苗高产稳产技术初步研究. 齐鲁渔业, 21(5): 31—33
- 刘德经, 谢开恩, 2003. 西施舌的繁殖生物学. 动物学杂志, 38(4): 10—15
- 齐秋贞, 邱文仁, 1996. 西施舌器官的发生和形成. 台湾海峡, 15(1): 6—15
- 李广丽, 杜晓东, 叶富良, 2002. 合浦珠母贝两个野生种群的生化遗传变异. 热带海洋学报, 21(4): 63—67
- 李太武, 孙修勤, 刘 艳等, 2001. 栉孔扇贝种群的遗传变异分析. 高技术通讯, 4: 25—27
- 杨 锐, 喻子牛, 陈再忠等, 2000. 山东沿海褶牡蛎与太平洋牡蛎等位基因酶的遗传变异. 水产学报, 24(2): 130—133
- 余祥勇, 王梅芳, 刘 永等, 2004. 企鹅珍珠贝同工酶酶谱特征及其遗传分析. 水产学报, 28(4): 376—382
- 沈 琪, Andy R Beaumont, 1999. 欧洲牡蛎两个种群的遗传变异. 热带海洋, 18(3): 45—49
- 张喜昌, 梁玉波, 刘仁沿等, 2002. 海湾扇贝养殖群体遗传多样性的研究. 海洋学报, 24(2): 107—113
- 林 昕, 梁君荣, 高亚辉, 2008. 3 个地区西施舌的 ITS-1 基因片段序列分析. 生命科学研究, 12(1): 14—19
- 姚丽娅, 肖 宁, 陈建安等, 2006. 西施舌 16S rRNA 基因片段 PCR 扩增及其核苷酸序列分析. 淮海工学院学报(自然科学版), 15(4): 59—62
- 黄荣莲, 李 康, 杜晓东, 2008. 翡翠贻贝三个野生群体的生化遗传分析. 海洋通报, 27(1): 42—46
- 喻子牛, 孔晓瑜, 1998. 魁蚶(*Scapharca broughtonii*)等位基因酶遗传变异研究. 青岛海洋大学学报, 28(1): 51—58
- 喻子牛, 孔晓瑜, 杨 锐等, 1997. 泥蚶等位基因酶遗传变异研究. 中国水产科学, 4(5): 15—20
- 程汉良, 孟学平, 董志国, 2006. 西施舌同工酶组织特异性研究. 海洋湖沼通报, 2: 44—49
- 黎中宝, 刘文彪, 韩 芳等, 2005. 4 种经济鲍遗传多样性与分化的研究. 中国生态农业学报, 13(4): 15—19

- 薛明, 杜晓东, 黄荣莲等, 2006. 文蛤三个野生种群的生化遗传变异. 海洋通报, 25(1): 39—42
- 薛钦昭, 1999. 海洋动物细胞和种群生化遗传学. 济南: 山东科学技术出版社, 112—123
- Li Zhong-bao, Chen Chang-sheng, 2004. Genetic structure of cultured *H. diversicolor supertexta* (Reeve) populations. Journal of Shellfish Research, 23(4): 1135—1137
- Powell J R, 1975. Protein variation in natural populations of animal. Evolutionary Biolm, 8: 79—119
- Sarver S K, Bushek D, 1993. Genetics aspects of disease complex of blue mussel. Mar Biol, 117: 105—112
- Singh S M, Green R H, 1984. Excess of allozyme homozygosity in marine mollusks and its possible biological significance. Malacologica, 25(2): 569—581
- Wilbur A E, Gaffney P M, 1997. Mitochondrial genotype variation in a Siberian population of the Japanese scallop, *Patinopecten yessoensis* (Jay). Journal of Shellfish Research, 16(1): 329

GENETIC DIVERSITY AND DIFFERENTIATION OF *COELOMACTRA ANTIQUATA* (SPENGLER) POPULATION

LI Zhong-Bao, WANG Zhan-Lin, ZHANG Gui-Ling, CHEN Jin,
ZHAO Bin-Li, WU Ning, LIN Xiao-Yun

(Fisheries College, Jimei University, Xiamen, 361021; Institute of Aquaculture Biotechnology, Jimei University, Xiamen, 361021; Key Laboratory of Aquaculture Technology and Food Safe of Fujian College, Xiamen, 361021)

Abstract 7 allozymes and 12 loci were detected in 3 natural populations of *Coelomactra antiquata* (Spengler) from South China using vertical slab polyacrylamide gel electrophoresis. High level of genetic diversity in *C. antiquata* was found. The mean number of alleles per locus (A) ranged from 1.5833 to 2.0000, and the mean effective number of alleles per locus was from 1.2850 to 1.5373; the percentages of polymorphic loci (P) was 33.33%, the observed heterozygosities (H_o) was from 0.2389 to 0.3083, the expected heterozygosities was from 0.1496 and 0.2041. Genetic differentiation among *C. antiquata* populations was obvious for having F_{ST} at 0.0719, genetic distances among populations ranged from 0.0164 to 0.0302, in average of 0.0245.

Key words *Coelmomactra antiquata*, Allozyme, Genetic diversity, Genetic differentiation