

基于 SSR 标记的魁蚶(*Scapharca broughtonii*) 不同群体遗传结构的分析*

吴彪¹ 梁超² 杨爱国¹ 周丽青¹ 刘志鸿¹

(1. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071;

2. 江苏省出入境检验检疫局 南京 210000)

提要 运用 6 对微卫星分子标记分析了山东蓬莱(SP)、山东黄岛(SH)、江苏前三岛(JQ)、韩国统营(Korea)等魁蚶 4 个地理群体的遗传结构。结果表明, 4 个魁蚶群体在 6 个位点的等位基因数(a)为 11.3333—14.3333, 平均有效等位基因数(a_e)为 6.2977—9.5873; 平均杂合度观察值(H_o)为 0.4083—0.5641, 平均杂合度期望值(H_e)0.7849—0.8753, 各位点平均多态信息含量(PIC)值为 0.7703—0.9102, 遗传多样性非常丰富。聚类分析结果表明黄岛群体与前三岛群体聚在一起, 蓬莱群体与统营群体聚在一起最后聚类。本研究结果可为今后魁蚶种质资源保护和遗传育种提供遗传学资料。

关键词 魁蚶, 遗传结构, SSR

中图分类号 Q75

魁蚶(*Scapharca broughtonii* Schrenck)俗称赤贝、血贝、大毛蛤, 是一种大型冷蚶类, 广泛分布于太平洋西部沿岸, 日本北海道以南, 朝鲜、菲律宾、俄罗斯东南部, 在我国主要分布在辽东半岛, 山东半岛等海区, 分布区从近岸水深 3m 到外海近 60m 处, 喜泥质或泥沙质海底(刘世禄等, 2005)。魁蚶成体个大体肥, 肉质鲜美, 营养及经济价值很高, 近年来由于国内市场 and 出口大量需求, 自然资源已经不能满足市场需求, 苗种放流及人工养殖规模正逐步扩大。

近年来, 山东长岛、蓬莱等地在引进韩国魁蚶进行苗种培育及养殖过程中, 发现中国魁蚶与韩国魁蚶在生长速度、成活率等方面存在一定差异。吴彪等(2010)也曾对中国江苏魁蚶与韩国统营魁蚶进行了外形性状对体质量影响的研究, 结果表明所选性状对体质量影响效果不同。目前, 韩国魁蚶在一定程度上吸引着一些国内的育苗厂家, 经常从韩国引进魁蚶种贝进行苗种生产。除对韩国魁蚶与国内魁蚶在生

产、形态等方面进行研究外, 分析中国与韩国的魁蚶种群的遗传结构, 了解它们的种质资源状况和遗传差异, 对我国魁蚶的种质资源的合理开发和保护及遗传改良都具有重要理论和现实意义。目前, 有关魁蚶群体遗传结构的研究相对较少, 只有喻子牛等(1997, 1998)和 Cho 等(2007)分别采用淀粉凝胶电泳技术和线粒体 COI 基因序列研究了不同地理群体魁蚶群体的遗传结构。

微卫星是由 1—6 个核苷酸组成的简单串联重复序列, 具有多态性丰富、遵循孟德尔分离定律、共显性遗传、等位基因易检测、技术操作简单, 重复性和可比性高等特点, 已经广泛应用于水生生物种群结构分析、种质鉴定、遗传图谱构建等研究领域。本实验采用 SSR 技术对魁蚶中国 3 个地理群体和韩国 1 个地理群体进行遗传结构的研究, 分析各群体的遗传多样性以及 4 个群体之间的差异大小, 并探讨利用这些群体进行种质遗传改良的可行性, 以期在今后

* 山东省科技攻关项目, 2010GHY10513 号; 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助, 20603022011013 号。吴彪, 助理研究员, E-mail: wubiao@ysfri.ac.cn

通讯作者: 杨爱国, 研究员, E-mail: yangag@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2011-06-09, 收修改稿日期: 2011-08-15

魁蚶种质资源保护和遗传育种提供遗传学资料。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用魁蚶(*Scapharca broughtonii*)分别于韩国统营(Korea)、山东蓬莱(SP)、山东黄岛(SH)和江苏前三岛(JQ)四个海区随机采集,均为自然群体,有效样本数量分别为31、38、36、28。

1.2 基因组 DNA 提取

样本低温运回实验室后活体解剖,取100mg左右的外套膜加入1.5ml离心管中,加入475μl抽提缓冲液(Tris-HCl 10mmol/L, pH 8.0; EDTA 10mmol/L, pH 8.0),无菌条件下剪刀剪碎,加入25μl SDS (10%)和5μl 蛋白酶 K (20mg/L),55℃水浴中消化4h,消化液用等体积的酚抽提10min,离心10min (12000r/min);上清用等体积氯仿 酚(1:1)抽提,离心10min (12000r/min),重复一次该步骤;上清用等体积氯仿抽提10min,离心10min (12000r/min),取上清,加入1/25上清体积的5mol/L NaCl溶液和2倍体积预冷的无水乙醇,出现絮状沉淀,12000r/min离心10min;沉淀用70%的乙醇洗涤2—3次后,风干;加入100μl TE (Tris-HCl 10mmol/L, pH 8.0; EDTA 0.1mmol/L, pH 8.0)溶解,-20℃保存备用。

1.3 PCR 扩增

预实验筛选得到的6对微卫星引物来自AN等(2005),序列及退火温度见表1。优化后的SSR扩增反应体系为:10×PCR buffer 1μl; dNTPs (2.5mmol/L) 0.8μl; MgCl₂ (25mmol/L) 0.8μl; Tag 酶(5U/μl) 0.05μl; 引物 F(5μmol/L)1μl, 引物 R(5μmol/L)1μl; 基因组DNA(50ng/μl)2μl; 超纯水补足到10μl。PCR反应条件为:94℃预变性3min; 94℃变性1min,退火1min,72℃延伸1min,共35个循环;72℃延伸5min。

1.4 数据统计分析

PCR产物在8%的变性聚丙烯酰胺凝胶中分离、银染后,统计各群体样本基因型。用POPGENE VERSION 1.31计算6个微卫星位点在4个群体中的等位基因数(a)、有效等位基因数(a_e)、观察杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、各群体遗传距离(D)和遗传相似性(I);PIC-CAL计算多态信息含量(PIC);FSTAT 2.9.3计算各个群体的 F_{IS} 值和群体两两之间的遗传分化指数 F_{ST} ;采用UPGMA方法根据4个群体的遗传距离(D)进行聚类分析。有关计算公式如下:

$$\text{平均等位基因数: } a = \frac{1}{10} \sum_{i=1}^{10} X_i;$$

$$\text{有效等位基因数: } a_e = \frac{1}{\sum p_i^2};$$

观察杂合度: $H_o = (\text{观察到的杂合个体总数}) / (\text{观察到的个体总数})$;

$$\text{无偏倚期望杂合度: } H_e = \frac{N(1 - \sum p_i^2)}{(N-1)};$$

$$F_{IS} \text{ 值: } F_{IS} = \frac{(H_S - H_O)}{H_S};$$

群体间遗传相似性指数(I)、遗传距离(D): $I =$

$$\frac{\sum p_i q_i}{\sqrt{\sum p_i^2 \sum q_i^2}}, D = -\ln I; (\text{Nei, 1972, 1978});$$

$$\text{遗传分化系数: } F_{ST} = \frac{(H_T - H_S)}{H_T}; (\text{Nei, 1977});$$

$$\text{多态信息含量: } PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i^2 p_j^2;$$

(Botstein, 1980);

以上公式中, x_i 代表第*i*个位点上的等位基因数, p_i, p_j 分别代表某一位点第*i, j*个等位基因的频率, p_i, q_i 分别代表某一位点在四群体中第*i*'个等位基因的频

表1 所用的6对微卫星引物信息

Tab.1 The information of the six microsatellite primers used in this study

位点	重复单位	引物序列(5'—3')	等位基因范围(bp)	复性温度 T_a (°C)	GenBank 登录号
KSB16	(CA) ₃ ATA(CA) ₄ TACG(CA) ₁₁ CT(CA) ₅	F: CGCTACAACGTTAACCTCAT R: TTCAATATACACGCAAGCAA	154—246	58	AY957418
KSB84	(TA) ₄ (TG) ₇ CT(TG) ₆	F: CTAAGGCATGCAATCATCAT R: GCCATATCTTTGCAACTCGT	194—236	60	AY957420
KSB97	(CA) ₆ CGAA(CA) ₂ TA(CA) ₄	F: TCAGGCACACAATCTCAAGT R: AGCAGAAGCGATAAGGAAAT	186—250	58	AY957421
KSB132	(TG) ₈ CG(TG) ₉	F: TTTGACTAAACTTCCGTTCC R: ACTCATTTGGTAAAAAGGCA	168—254	58	AY957423
KSB230	(TG) ₁₁ CGTA(TG) ₉	F: TCTTGCTAAACTTTAGGTGC R: GAGAGGTGAGAAGTGTGTT	144—188	58	AY957427
KSB311	(TA) ₄ (TG) ₇ CT(TG) ₆	F: CTAAGGCATGCAATCATCAT R: GCCATATCTTTGCAACTCGT	194—234	58	AY957428

率, n 代表某一位点上的等位基因数, N 代表样本数, H_T 为群体总平均遗传多态性指数, H_O 为群体内平均遗传多态性指数, H_S 为群体内期望平均遗传多态性指数, H_o 为群体内观察杂合度, H_e 为群体内期望杂合度。

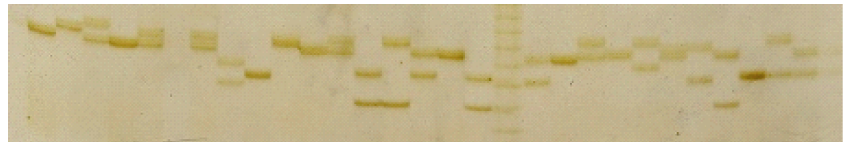


图 1 微卫星位点 KSB230 在韩国群体样本中的扩增结果

Fig.1 The pattern of microsatellite locus amplified by primer KSB230 in the Korea populations

2 结果

2.1 PCR 扩增结果及群体遗传多样性

经过优化反应条件, 6 对微卫星引物在魁蚶 4 个群体中均能够稳定扩增出相应条带, 且表现多态性。图 1 是位点 KSB230 在韩国统营群体中的扩增图谱。

反映各个基因座在 4 个群体遗传多样性的参数 a 、 a_e 、 H_o 、 H_e 和 PIC 值见表 2。

根据 Botstein 等(1980)的方法: $PIC > 0.5$ 时, 该位点为高度多态位点; $0.25 < PIC < 0.5$ 时为中度多态位点; $PIC < 0.25$ 时为低度多态位点。研究中最低 PIC 是统营群体的 KSB16 位点(0.4048), 为中度多态位点, 其它位点在群体中都表现为高度多态位点, 最高为前三岛的 KSB84 (0.9481)。群体方面, 4 个群体 PIC 的平均值为 0.7703—0.9102, 统营群体最低, 前三岛群体最高。结果显示, 实验选用的 6 对微卫星具有非常丰富的多态性, 能够有效分析 4 个群体遗传多态性。魁蚶 4 个群体在 6 个位点的平均观察杂合度为 0.4083—0.5641, 由小到大依次为统营群体、前三岛群体、蓬莱群体、黄岛群体; 平均期望杂合度为 0.7849—0.8753, 由小到大分别为统营群体、前三岛群体、蓬莱群体、黄岛群体。

2.2 群体遗传距离、遗传相似性系数及聚类分析

据 Nei's 的方法所计算出的各群体之间的遗传距离(D)和遗传相似性系数(I)见表 3。可见黄岛群体与前三岛群体遗传距离最近为 0.0891, 蓬莱群体与黄岛群体遗传距离最远为 0.2478。聚类分析得到图 2 所示, 可以看到黄岛群体与前三岛群体聚在一起, 蓬莱群体与统营群体聚在一起。

2.3 群体遗传分化及 F_{IS} 值

四个魁蚶群体两两之间的遗传分化计算结果表明: 遗传分化指数在 0.0051—0.1242 之间, 其中韩国群体与中国群体之间的遗传分化指数(0.0868—0.1242)大于中国 3 个群体内部之间的遗传分化指数(0.0051—0.0565); 韩国群体与前三岛群体遗传分化指数最大为 0.1242, 黄岛群体与前三岛群体的遗传分化指数最小为 0.0051。显著性检验表明黄岛与前三岛

群体之间遗传分化不显著, 其余所有群体之间遗传分化显著(表 4)。魁蚶 4 个群体在 6 个位点的 F_{IS} 指数见表 5。

3 讨论

3.1 魁蚶 4 个群体的遗传变异、遗传多样性

基因是生物遗传信息的载体, 基因的变化从根本上反应了生物遗传信息的变化, 遗传多样性就是衡量生物所携带遗传信息的丰富程度, 是生物多样性的重要组成部分, 遗传多样性的大小对生物群体的繁育能力、存活率、生长速度等重要的经济性状会产生重要的影响。多态信息含量和杂合度是衡量群体遗传多样性的适宜指标, 其值大小反映群体遗传多样性高低。本研究中, 魁蚶 4 个群体在 6 个位点平均多态信息含量(PIC)为 0.7703—0.9102, 平均期望杂合度为 0.7849—0.8753, 说明 4 个群体的遗传信息含量很丰富, 遗传多样性较高。计算出的 4 个群体在各个位点的 F_{IS} 值, 发现除黄岛群体在位点 KSB311 外, 4 个群体在 6 个位点都存在相当明显的杂合子缺失现象。喻子牛等(1997, 1998)采用淀粉凝胶电泳技术对青岛近海魁蚶自然群体的等位基因酶遗传变异进行研究, 检测到的二十二个基因位点平均观察杂合度为 0.105, 遗传多样性较低, 并存在相当明显的杂合子缺失现象, 对秦皇岛、大连、青岛、韩国釜山四个魁蚶群体样本的等位基因酶遗传变异研究时发现, 4 个群体的平均杂合度为 0.087—0.105, 群体遗传多样性较低, 在所检测的基因位点也存在着明显杂合子缺失现象。与本研究结果相比, 喻子牛等(1997, 1998)计算出的杂合度低得多, 分析其原因为等位基因酶电泳只能检测编码蛋白的基因位点, 而非结构的基因则不能检测, 而且分析的遗传位点数目不会很多, 只占整个基因组的很小部分, 所以, 酶电泳技术可能会低估群体遗传变异水平, 而微卫星标记技术以其高度多态性、共显性、基因组中含量丰富及随机分布等特点, 被广泛应用于水生动物群体遗传结构的研究, 其分析优势也被证实。Fisher(1936)提出共

表 2 魁蚶 4 个群体在 6 个微卫星位点的等位基因数(a)、有效等位基因数(a_e)、观察杂合度(H_o)、无偏倚期望杂合度(H_e)、多态信息含量(PIC)

Tab.2 Number of alleles (a), number of effective alleles (a_e), observed heterozygosity (H_o), unbiased expected heterozygosity (H_e) and polymorphism information content (PIC) at the 6 microsatellite loci in four *S. broughtonii* populations

位点	遗传参数	韩国统营(Korea) ($n=28$)	山东蓬莱(SP) ($n=31$)	山东黄岛(SH) ($n=36$)	江苏前三岛(JQ) ($n=38$)
KSB16	a	6	19	25	31
	a_e	1.7307	13.1644	16.7808	14.4400
	H_o	0.3571	0.6387	0.7143	0.5263
	H_e	0.4292	0.9248	0.9404	0.9307
	PIC	0.4048	0.9189	0.9373	0.9149
KSB84	a	10	17	18	27
	a_e	7.3529	10.0513	12.1121	9.8000
	H_o	0.2000	0.4643	0.5278	0.2857
	H_e	0.8640	0.9005	0.9174	0.8980
	PIC	0.8492	0.8927	0.9116	0.9481
KSB97	a	13	10	10	19
	a_e	9.1241	5.6696	5.5577	6.4318
	H_o	0.2400	0.5484	0.4706	0.6111
	H_e	0.8964	0.8236	0.8201	0.8445
	PIC	0.8807	0.8033	0.7959	0.8822
KSB132	a	10	12	6	16
	a_e	7.0785	5.2174	4.8387	3.6835
	H_o	0.4231	0.5333	0.4667	0.1250
	H_e	0.8587	0.8083	0.7933	0.7285
	PIC	0.8435	0.7881	0.7635	0.8896
KSB230	a	16	11	13	20
	a_e	7.1122	8.2373	8.9109	10.2484
	H_o	0.6296	0.4074	0.4000	0.3929
	H_e	0.8594	0.8786	0.8878	0.9024
	PIC	0.8458	0.8671	0.8775	0.9201
KSB311	a	13	17	13	21
	a_e	5.3879	11.7914	9.3237	7.6460
	H_o	0.6000	0.3871	0.8056	0.9444
	H_e	0.8144	0.9152	0.8927	0.8692
	PIC	0.7976	0.9089	0.8832	0.9061
平均值	Aa	11.3333	14.3333	14.1667	13.5000
	Aa_e	6.2977	9.0219	9.5873	8.7083
	AH_o	0.4083	0.5299	0.5641	0.4809
	AH_e	0.7849	0.8750	0.8753	0.8622
	$APIC$	0.7703	0.8632	0.8615	0.9102

注: a 表示等位基因数, a_e 表示有效等位基因数, H_o 表示观察杂合度, H_e 表示期望杂合度, A 表示平均值

表 3 魁蚶 4 个群体的遗传距离和遗传相似性

Tab.3 Genetic distance and genetic similarity of four *S. broughtonii* populations

群体	韩国统营(Korea)	山东蓬莱(SP)	山东黄岛(SH)	江苏前三岛(JQ)
韩国统营(Korea)	—	0.8659	0.8853	0.8234
山东蓬莱(SP)	0.1365	—	0.7563	0.8894
山东黄岛(SH)	0.1127	0.2478	—	0.9353
江苏前三岛(JQ)	0.1801	0.1159	0.0891	—

注: 对角线以下为遗传距离, 对角线以上为遗传相似性系数

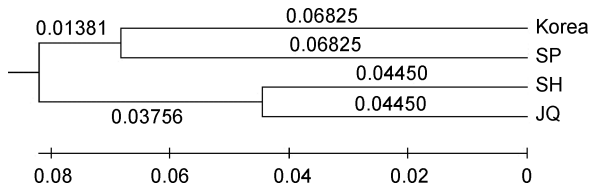


图2 魁蚶4个群体基于Nei(1972)遗传距离的聚类分析图
Fig.2 UPGMA dendrogram based Nei(1972) Genetic distance among the four *S. broughtonii* populations

显性标记在种群遗传结构分析及性状等研究上都明显优于隐性标记, 后来很多学者的研究也证明了这个说法, Desvignes 等(2001)用微卫星与同工酶标记研究法国和捷克鲤鱼养殖群体的遗传变异, 发现微卫星揭示的变异水平要比同工酶高的多。王强等(1996)用同工酶技术检测黑龙江水系不同野鲤群体的平均杂合度(0.1355)明显低于杜长斌等(2009)应用微卫星分析结果(0.64)。尤锋等(2001)采用同工酶技术检测山东近海牙鲆得到平均杂合度为0.0802和0.0788, 采用

RAPD 技术得到的平均杂合度为0.2739和0.2255, 而王伟等(2004)利用微卫星标记分析山东近海牙鲆群体, 结果表明平均杂合度为0.8120和0.7310, 也比尤锋等(2001)利用同工酶和 RAPD 技术得出的结果高的多。

本研究采用的魁蚶4个群体存在着明显的杂合子缺失现象, 究其原因可能为: 一是群体样本含量较小; 二是无效等位基因的存在, 通常是由引物结合部位的点突变、插入或缺失引起(Callen *et al*, 1993), 使杂合子在电泳时只表现出一条带, 无效等位基因在很多生物中都有报道。在群体结构研究中, 如果无效等位基因存在, 就会出现在统计时把杂合子计算为纯合子, 产生杂合子缺失现象; 三是短等位基因显性, 指在含有两个长短不同等位基因的微卫星杂合位点中, 只有短等位基因被检测的现象(Day *et al*, 1996; Van *et al*, 1995); 四是与魁蚶群体的自身结构有关, 如亲缘近交、过度捕捞等导致基因纯合率增大及稀有基因丢失。

表4 魁蚶4个群体两两之间的遗传分化系数(F_{ST})及其显著性检验
Tab.4 F_{ST} estimates for pairwise comparisons of *S. broughtonii* populations and its significance test

群体	韩国统营(Korea)	山东蓬莱(SP)	山东黄岛(SH)	江苏前三岛(JQ)
韩国统营(Korea)	—			
山东蓬莱(SP)	0.0868*	—		
山东黄岛(SH)	0.1198*	0.0375*	—	
江苏前三岛(JQ)	0.1242*	0.0565*	0.0051	—

注: *表示遗传分化显著($P < 0.05$)

表5 魁蚶4个群体在6个位点的 F_{IS} 指数
Tab.5 F_{IS} index of four *S. broughtonii* populations at the 6 microsatellite loci

位点	韩国统营(Korea)	山东蓬莱(SP)	山东黄岛(SH)	江苏前三岛(JQ)
KSB16	0.172	0.109	0.276	0.445
KSB84	0.777	0.498	0.436	0.689
KSB97	0.740	0.349	0.437	0.294
KSB132	0.522	0.360	0.426	0.840
KSB230	0.285	0.550	0.599	0.477
KSB311	0.279	0.588	0.112	-0.073
总位点	0.495	0.410	0.379	0.456

魁蚶4个群体遗传多样性的分析结果表明这四个魁蚶群体的遗传多样性丰富, 具有较大的育种潜力, 但是群体结构及种质资源都受到了影响, 需要加强对魁蚶遗传多样性及生态环境的保护, 应采取有效措施进行监测、保护及合理利用。

3.2 4个群体的遗传分化、遗传距离和聚类分析

魁蚶4个群体两两之间遗传分化计算结果表明,

除黄岛群体与前三岛群体之间分化不显著外, 其余两两群体间分化显著, 其中韩国群体与中国3个群体间遗传分化指数大于中国3个群体之间的遗传分化指数, 这与根据Nei's计算方法计算出的群体间的遗传距离结果基本相一致。虽然4个群体之间有显著分化, 但是根据Thorp(1982)的理论, 魁蚶4个群体间还没有达到种的分化。

根据魁蚶 4 个群体之间 Nei's 遗传距离, 用 UPGMA 方法进行聚类分析结果表明了它们之间的亲缘关系: 黄岛群体与前三岛群体首先聚在一起, 蓬莱群体与韩国群体聚类, 聚类分析图与地理关系基本一致。如黄岛、前三岛群体之间的地理距离最近, 并且黄岛群体与前三岛群体之间没有地理屏障, 受洋流的影响, 两个群体之间可以进行基因交流, 所以两群体间遗传距离最近, 遗传分化最小, 体现在聚类分析图上, 黄岛群体与前三岛群体首先聚类。地理屏障使同物种的不同群体在一定程度上相互隔离, 受到不同栖息环境的影响, 如果环境因子差别较大并长期作用于种群, 就会导致不同地理种群在遗传上形成一定的差异, 魁蚶生活史具有短暂的幼虫浮游期, 其扩散能力也较差, 受洋流、地理屏障影响较大。喻子牛等(1997)对青岛、秦皇岛、大连、韩国釜山 4 个魁蚶群体样本的等位基因酶的遗传变异进行研究, 发现韩国群体与其它 3 个群体存在较大遗传差异, 同样说明这种遗传差异与地理距离存在一定的关系。Cho 等(2007)对俄罗斯、韩国、中国 3 个地理区域的魁蚶群体研究结果也表明不同地理区域的魁蚶群体有较为明显的遗传分化。在其它物种中, Launey 等(2002)利用微卫星标记分析了从挪威至黑海的欧洲沿海 15 个欧洲牡蛎种群的遗传分化, 结果表明, 种群间存在着显著的地理隔离。全迎春等(2006)采取微卫星标记对镜鲤群体进行遗传多样性分析, 聚类的先后与它们在地理分布上的距离远近有相关性。

根据本研究结果, 韩国魁蚶群体与中国魁蚶群体在遗传上分化显著, 而在生产实践中, 韩国魁蚶表现出较中国魁蚶优越的生物学性状, 说明这种遗传上的差异可能是韩国魁蚶比中国魁蚶优越的生物学性状的产生原因。另外, 本研究中的魁蚶 4 个群体遗传多样性高, 在下一步的生产过程中可以采用杂交、选择等手段进行育种以培育新品种或品系。

参 考 文 献

- 王伟, 尤 锋, 高天翔等, 2004. 山东近海牙鲆(*Paralichthys loivaceus*)自然和养殖群体 10 个微卫星基因座位的遗传多样性分析. 海洋与湖沼, 35(6): 531—537
- 王 强, 刘明华, 张铁齐等, 1996. 黑龙江水系不同水体野鲤群体的等位基因变异. 中国水产科学, 3(1): 11—16
- 尤 锋, 王可玲, 相建海等, 2001. 山东近海褐牙鲆自然与养殖群体生化遗传结构及其遗传变异的比较分析. 海洋与湖沼, 32(5): 512—518
- 全迎春, 李大宇, 曹鼎臣等, 2006. 微卫星 DNA 标记探讨镜鲤种群结构与遗传变异. 遗传, 28(12): 1541—1548
- 刘世禄, 杨爱国, 2005. 中国主要海产贝类健康养殖技术. 北京: 海洋出版社, 176—177
- 杜长斌, 孙孝文, 楼允东, 2009. 应用微卫星技术对野鲤和两种鲤选用品系的遗传多样性分析. 上海水产大学学报, 9(4): 285—289
- 吴 彪, 杨爱国, 刘志鸿等, 2010. 魁蚶两个不同群体形态性状对体质量的影响效果分析. 渔业科学进展, 31(06): 54—59
- 喻子牛, 杨 锐, 孔晓瑜等, 1997. 青岛近海魁蚶群体等位基因酶遗传变异研究. 海洋湖沼通报, 3: 33—38
- 喻子牛, 孔晓瑜, 杨 锐, 1998. 魁蚶等位基因酶遗传变异研究. 青岛海洋大学学报, 28(1): 51—58
- AN H Y, PARK J Y, 2005. Ten new highly polymorphic microsatellite loci in the blood clam *Scapharca broughtonii*. Molecular Ecology Notes, 5: 896—898
- Botstein P, 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction length polymorphism. Am J Hum Genetic, 32: 314
- Botstein D, White R L, Skolnick M, 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length Polymorphism. Am J Hum Genet, 32: 314—331
- Callen D F, Thompson A D, Shen Y *et al*, 1993. Incidence and origin of null alleles in the (AC)_n microsatellite markers. Am J Hum Genet, 52: 922—927
- Cho Eun-Seob, Jung Choon-Goon, Sohn Sang-Gyu *et al*, 2007. Population Genetic Structure of the Ark Shell *Scapharca broughtonii* Schrenck from Korea, China, and Russia Based on COI Gene Sequences Marine Biotechnology, 9: 203—216
- Day D J, Speriser P W, Schulze E *et al*, 1996. Identification of non-amplifying CYP21 genes when using PCR-based diagnosis of 21-hydroxylase deficiency in congenital adrenal hyperplasia (CAH) affected pedigrees. Hum Mol Genet, 5: 2069—2048
- Desvignes J F, Laroche J, Durand J D *et al*, 2001. Genetic variability in reared stocks of common carp (*Cyprinus carpio* L.) based on allozymes and microsatellites. Aquaculture, 194: 291—301
- Fisher R A, 1936. Has Mendel's work been rediscovered. Annals Sci, 1: 115—137
- Launey S, Lesu C, Boudry P *et al*, 2002. Geographic structure in the European flat oyster, *Ostrea edulis* L., as revealed by microsatellite polymorphism. J Hered, 93: 331—351
- Nei M, 1972. Genetic distance between populations. Am Nat, 106: 283—292
- Nei M, 1977. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. Ann Hum Genet, Lond, 41: 225—233
- Nei M, 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 89: 583—590
- Thorpe J P, 1982. The molecular clock hypothesis: Biochemical

evolution, genetic differentiation, and systematics. Annual Review of Ecology Systematics, 13(1): 139—168
Van Pijlen I A, Amos B, Burker T, 1995. Patterns of genetic

variability at individual minisatellite loci Minke whale *Balaenoptera acutorostrata* populations from three different oceans. Mol Biol Evol, 12: 459—472

GENETIC VARIATION IN DIFFERENT POPULATIONS OF *SCAPHARCA BROUGHTONII* SCHRENCK INFERRED FROM MICROSATELLITE DATA

WU Biao¹, LIANG Chao², YANG Ai-Guo¹, ZHOU Li-Qing¹, LIU Zhi-Hong¹

(1. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao, 266071; 2. Jiangsu Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Nanjing, 210000)

Abstract The microsatellite DNA technique was applied to estimate genetic structure of the four different geographical populations of *Scapharca broughtonii*. Using six microsatellite loci, genetic parameters of the four populations were calculated: heterozygosity, polymorphism information content (*PIC*), effective allele number, genetic distance and so on. The result indicated that the four populations were in good condition. F_{ST} values showed significant genetic differentiation among the four populations except that between the populations of JQ and SH. The Neighbour-joining tree topology constructed on the genetic distances among populations showed a clear division of them. The information on the genetic distances and diversity in the four geographical populations *S. broughtonii* in this study is useful for setting up suitable guidelines for founding and maintaining of cultured stocks, and for future genetic improvement by selective breeding.

Key words *Scapharca broughtonii*, Genetic structure, SSR