

广东徐闻地区滨珊瑚遗传多样性和系统发生关系*

刘 丽 李文娟 刘楚吾

(广东海洋大学水产学院 南海水产经济动物增殖广东省普通高校重点实验室 湛江 524025)

提要 利用 ITS 区和 12S rRNA 基因对广东徐闻地区 7 种滨珊瑚科珊瑚的遗传多样性和系统发生关系进行了研究。结果表明: (1) 基于 ITS1 检测到在 58 个样本中有 48 个单倍型, 多样性在 0.800—1.000 之间, 多态位点数在 5—62 之间, 核苷酸多样性指数在 0.012—0.094 之间; 基于 ITS2 检测到 43 个单倍型, 多样性在 0.742—1.000 之间, 多态位点数在 22—75 之间, 核苷酸多样性指数在 0.017—0.175 之间。基于 ITS 区所得遗传分化系数在 -0.00409 — 0.12170 之间($P < 0.001$), 遗传分化不明显, 7 种珊瑚中, 二异角孔珊瑚的遗传多样性最丰富。(2) 以 12S rRNA 基因建立的系统发育树与传统的形态学分类系统基本吻合, 7 种珊瑚被分成了 3 个支系, 滨珊瑚属 3 种为一个支系, 二异角孔珊瑚为一个支系, 其余 3 种角孔珊瑚为一个支系。

关键词 滨珊瑚科; ITS 区; 12S rRNA 基因; 遗传多样性; 系统发生关系

中图分类号 Q959.133

滨珊瑚分布范围广, 散播能力较强(Fadlallah, 1983), 是很多海区的优势种, 在维护海洋生态系统稳定中发挥着不可替代的作用。滨珊瑚骨骼存在着明显的形态可塑性, 光照、水流等因子都能影响珊瑚的骨骼特征(Todd, 2008; Fukami *et al.*, 2004)。另外, 在石珊瑚近缘种之间普遍存在种间杂交现象, 滨珊瑚属的形态进化特征十分复杂(Brakel, 1977), 也带来了单独依赖形态学对其进行分类的困难。

随着分子生物学技术的发展, 许多基因片段被广泛应用于物种的辅助分类、遗传多样性及系统发生关系的研究。ITS(Internal Transcribed Spacer)基因, 即内转录间隔区, 包括 ITS-1、5.8S rRNA 和 ITS-2, 由于具有所受的选择压力较小、DNA 碱基替换速率快、较大的拷贝数、适中的长度和快速的同步化等特点, 可以提供丰富的变异位点和信息位点(牛宪立等, 2003), 使其成为研究种内及种间遗传多样性的重要分子标记。12S rRNA 是由 12S rDNA 转录的线粒体

核糖体序列, 具有分子量小、母性遗传及比核基因进化速度快等特点, 被广泛应用于系统发生关系的研究(Hixson *et al.*, 1986; Chen *et al.*, 2000)。广东徐闻地区珊瑚礁是中国大陆沿岸唯一的大面积珊瑚礁, 近年来, 由于气候变化及环境污染, 珊瑚物种组成结构发生了改变, 部分站点珊瑚优势种从鹿角珊瑚转为滨珊瑚。为了加深对滨珊瑚的研究, 本文分析了 7 种滨珊瑚 58 个样本的 ITS 序列和线粒体 12S rRNA 基因部分序列, 研究了其多样性和系统发生关系。以期揭示滨珊瑚种质资源状况和遗传多样性保护提供理论支持, 同时也为滨珊瑚的准确分类提供 DNA 水平上的依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品 7 种珊瑚 58 个样品均采自广东省徐闻珊瑚礁国家级自然保护区($20^{\circ}10'36''N$ — $20^{\circ}27'00''N$)

*国家海洋公益性行业科研专项, 201105012 号; 广东省自然科学基金项目, S2011010000269 号, 10152408801000005 号。刘丽, 副教授, E-mail: zjouliuli@163.com

通讯作者: 刘楚吾, 教授, E-mail: liucw5206@163.com

收稿日期: 2012-02-23, 收修稿日期: 2012-05-09

(表 1)。

1.1.2 试剂 dNTPs、PCR 缓冲液、*rTaq* 酶等分子生物学试剂均购自 Takara 公司(大连), 引物由上海生物工程技术有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 DNA 制备 参照卢圣栋(1999)的方法提取 DNA, 4℃低温保存备用。

1.2.2 目的片段的 PCR 扩增和序列测定 所用引物均为石珊瑚的通用引物(Odorico *et al*, 1997; Chaolun *et al*, 2002)。

PCR 反应体系均为 25 μ l, 内含 10 \times Buffer (含 mg²⁺) 2.5 μ l, dNTPs 2 μ l, 引物各 1 μ l, *rTaq* DNA 聚合酶 2.5U, 总 DNA 约 100ng。

ITS(7 种珊瑚, 58 个样品)的扩增条件为: 94℃变性 30s, 56℃30s, 72℃延伸 2min, 30 个循环, 最后 72℃总延伸 10min。

12S rRNA 基因(7 种珊瑚, 58 个样品)的扩增条件为: 94℃变性 45s, 52℃退火 45s, 72℃延伸 45s, 35 个循环, 最后 72℃延伸 10min。

1%琼脂糖电泳检测, PCR 产物直接由上海生物工程技术有限公司进行双向测序。

1.2.3 数据分析 测序结果用 seqman 软件拼接, 辅以人工校正。用 MEGA5.0 软件、邻近法(NJ)、Bootstrap 重复检测 1000 次计算基于 ITS 各区段种内

的遗传距离, 并构建基于 12S rRNA 的 NJ 树; 用 DnaSP 软件统计各种之间的单倍型数量及单倍型多样性(H_D)、多态性位点(Polymorphic site, Pol. site)、平均核苷酸差异(Average number of nucleotide differences, k)、群内的核苷酸多样性(Nucleotide diversity, π)、遗传分化系数(F_{st}), 基于 ITS(去除 5.8S 区)的基因流(N_m)由公式 $N_m = (0.5/F_{st}) - 0.5$ 获得。

2 结果

2.1 基于 ITS 的遗传距离及遗传多样性分析

2.1.1 遗传距离 在 7 种珊瑚中, 二异角孔珊瑚三个区段的平均遗传距离均为最大, 柱形角孔珊瑚的平均遗传距离在这 7 种珊瑚中都是最小的。除柱形角孔珊瑚外, 基于 ITS2 得到的各种的平均遗传距离都大于基于 ITS1 得到的平均遗传距离, 基于 5.8S 基因得到的平均遗传距离最小(表 2)。

2.1.2 遗传多样性分析 根据 ITS1 检测到 48 个单倍型, 基于 ITS2 检测到 43 个单倍型。在所检测的 7 种珊瑚中, 二异角孔珊瑚基于 ITS1 和 ITS2 检测到的单倍型多样性、平均核苷酸差异均最高, 柱形角孔珊瑚的各个参数均最小。澄黄滨珊瑚基于 ITS1 检测到的核苷酸多样性指数最小。二异角孔珊瑚具有较高的遗传多样性, 而柱形角孔珊瑚的遗传多样性较低(表 3)。

在 7 种珊瑚中, 7 个种两两之间的 F_{st} 最大值在

表 1 样品种类和数目
Tab.1 Number and species of samples

科	属	种	样品数
滨珊瑚科 Poritidae	滨珊瑚属 <i>Porites</i>	澄黄滨珊瑚 <i>Porites lutea</i>	11
		普哥滨珊瑚 <i>Porites pukoensis</i>	13
		灰黑滨珊瑚 <i>Porites nigrescens</i>	8
	角孔珊瑚属 <i>Goniopora</i>	柱形角孔珊瑚 <i>Goniopora columna</i>	6
		细角孔珊瑚 <i>Goniopora gracilis</i>	9
		二异角孔珊瑚 <i>Goniopora duofasciat</i>	4
		小角孔珊瑚 <i>Goniopora minor</i>	7

表 2 7 种滨珊瑚的种内遗传距离
Tab.2 Species genetic distance between seven species of Poritidae corals

物种名	ITS1	5.8S	ITS2
澄黄滨珊瑚 <i>Porites lutea</i>	0.000—0.033 (0.012)	0.000—0.032 (0.008)	0.000—0.034 (0.024)
灰黑滨珊瑚 <i>Porites nigrescens</i>	0.000—0.057 (0.026)	0.000—0.065 (0.007)	0.000—0.149 (0.035)
普哥滨珊瑚 <i>Porites pukoensis</i>	0.000—0.032 (0.020)	0.000—0.009 (0.006)	0.000—0.339 (0.096)
柱形角孔珊瑚 <i>Goniopora columna</i>	0.000—0.010 (0.006)	0.000—0.004 (0.001)	0.000—0.008 (0.003)
细角孔珊瑚 <i>Goniopora gracilis</i>	0.000—0.042 (0.037)	0.000—0.031 (0.007)	0.000—0.075 (0.037)
二异角孔珊瑚 <i>Goniopora duofasciat</i>	0.004—0.198 (0.099)	0.055—0.123 (0.086)	0.090—0.235 (0.165)
小角孔珊瑚 <i>Goniopora minor</i>	0.000—0.068 (0.032)	0.000—0.068 (0.032)	0.003—0.040 (0.034)

注: 括号内为平均值

表 3 滨珊瑚科各种遗传结构多样性分析(ITS1/ITS2)
Tab.3 Analysis of diversity of the genetic structure of every species of Poritidae corals (ITS1/ITS2)

物种名	单倍型数 (<i>H</i>)	单倍型多样性 (<i>H_b</i>)	多态位点数 (Pol. site)	平均核苷酸差异 (<i>K</i>)	核苷酸多样性指数 (π)
澄黄滨珊瑚 <i>Porites lutea</i>	8/7	0.945/0.837	7/22	2.655/4.436	0.012/0.023
普格滨珊瑚 <i>Porites pukoensis</i>	11/8	0.962/0.742	62/29	15.718/5.628	0.078/0.094
灰黑滨珊瑚 <i>Porites nigrescens</i>	8/8	0.891/0.088	31/48	11.709/13.850	0.087/0.084
柱形角孔珊瑚 <i>Goniopora columna</i>	4/5	0.800/0.803	5/13	2.067/4.212	0.094/0.017
细角孔珊瑚 <i>Goniopora gracilis</i>	9/7	1.000/0.889	17/32	6.639/9.150	0.035/0.037
二异角孔珊瑚 <i>Goniopora duofasciat</i>	4/4	1.000/1.000	33/75	16.833/43.333	0.088/0.175
小角孔珊瑚 <i>Goniopora minor</i>	4/4	0.952/0.943	31/47	12.143/14.571	0.065/0.059

-0.00409—0.12170 之间, 统计检验显著 ($P < 0.001$), 澄黄滨珊瑚和柱形角孔珊瑚之间的 F_{st} 最大, 说明这两种珊瑚之间的遗传差异也较大; 小角孔珊瑚和细角孔珊瑚之间的 F_{st} 最小, 两者之间的遗传差异较小, 亲缘关系较近。基因流的计算结果显示, 在普格滨珊瑚和澄黄滨珊瑚及灰黑滨珊瑚和澄黄滨珊瑚间的 $N_m > 1$ (表 4)。

2.2 基于 12S rRNA 基因系统发生关系的分析

2.2.1 7 种滨珊瑚 12S rRNA 基因序列分析 7 种珊瑚的 G+C 含量均小于 A+T 的含量, 且 G+C 含量变化不大, 在 37.8%—40.0% 之间(表 5)。A、T、C、G 的含量在 7 个种之间也无明显的变化, C 在 7 个种的

含量明显小于其它三种碱基, A 碱基的含量最高。

2.2.2 滨珊瑚系统发生关系 7 种珊瑚之间的平均遗传距离为 0.010, 细角孔珊瑚和二异角孔珊瑚之间的遗传距离最大为 0.025。滨珊瑚属的三个种之间遗传距离最小为 0.002 (表 6)。

发育树的单系性比较明显, 7 种珊瑚位于 3 个支系, 滨珊瑚属三个种在一个支系上, 二异角孔珊瑚在一个单独的支系上, 角孔珊瑚属的其它三个种为一个支系。在滨珊瑚属的这个支系中, 澄黄滨珊瑚与普格滨珊瑚聚为一支, 灰黑滨珊瑚作为单独的一支。在角孔珊瑚属的支系上, 细角孔珊瑚与小角孔珊瑚聚为一支, 然后再与柱形角孔珊瑚聚为一支(图 1)。

表 4 滨珊瑚科两两物种间遗传分化系数(F_{st})
Tab.4 Genetic differentiation coefficient (F_{st}) between every two species of Poritidae corals

序号	物种名	1	2	3	4	5	6	7
1	澄黄滨珊瑚 <i>Porites lutea</i>	—	0.00764	0.00584	0.12170	0.02606	0.01459	0.03233
2	普格滨珊瑚 <i>Porites pukoensis</i>	3.427421	—	0.00835	0.10369	0.01460	0.01332	0.02170
3	灰黑滨珊瑚 <i>Porites nigrescens</i>	2.862927	0.551547	—	0.11779	0.01627	0.01821	0.02146
4	柱形角孔珊瑚 <i>Goniopora columna</i>	0.205517	0.404372	0.046693	—	0.11306	0.11542	0.12382
5	细角孔珊瑚 <i>Goniopora gracilis</i>	0.253511	0.248738	0.083356	0.014049	—	0.01902	-0.00409
6	二异角孔珊瑚 <i>Goniopora duofasciat</i>	0.401372	2.080246	0.107393	0.205866	0.067112	—	0.01833
7	小角孔珊瑚 <i>Goniopora minor</i>	0.276156	0.27076	0.100420	0.02532	-19.7012	0.079865	—

表 5 7 种滨珊瑚的 12S rRNA 基因碱基组成(%)
Tab.5 Base constitution (%) of region of 12S rRNA in seven species of Poritidae corals

物种名	合计	T	C	A	G	G+C
二异角孔珊瑚 <i>Goniopora duofasciat</i>	788	27.5	15.7	32.7	24.0	39.7
细角孔珊瑚 <i>Goniopora gracilis</i>	659	29.4	14.6	32.8	23.2	37.8
柱形角孔珊瑚 <i>Goniopora columna</i>	786	28.1	15.3	33.1	23.5	38.8
小角孔珊瑚 <i>Goniopora minor</i>	788	27.5	15.7	32.7	24.0	39.7
灰黑滨珊瑚 <i>Porites nigrescens</i>	883	28.5	14.9	31.9	24.6	39.5
澄黄滨珊瑚 <i>Porites lutea</i>	892	28.5	14.6	32.4	24.6	39.2
普格滨珊瑚 <i>Porites pukoensis</i>	920	28.2	16.0	31.8	24.0	40.0
平均值	816	28.2	15.3	32.5	24.0	39.3

表 6 7 种滨珊瑚的 12S rRNA 基因的遗传距离
Tab.6 Genetic distance base on region of 12S rRNA of seven Poritidae corals

序号	种名	1	2	3	4	5	6	7
1	二异角孔珊瑚 <i>Goniopora duofasciat</i>	—						
2	细角孔珊瑚 <i>Goniopora gracilis</i>	0.025	—					
3	柱形角孔珊瑚 <i>Goniopora columna</i>	0.019	0.012	—				
4	小角孔珊瑚 <i>Goniopora minor</i>	0.019	0.008	0.008	—			
5	灰黑滨珊瑚 <i>Porites nigrescens</i>	0.016	0.012	0.008	0.009	—		
6	澄黄滨珊瑚 <i>Porites lutea</i>	0.014	0.011	0.006	0.005	0.002	—	
7	普格滨珊瑚 <i>Porites pukoensis</i>	0.014	0.011	0.006	0.005	0.002	0.002	—

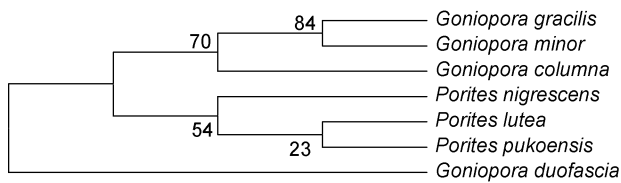


图 1 以邻近法构建基于 12S rRNA 基因的系统发育树
Fig.1 Neighbor-joining phylogenetic analysis based on the 12S rRNA

3 讨论

3.1 滨珊瑚科的遗传多样性

遗传多样性是生物多样性的基础和核心,也是物种进化的源泉。遗传多样性的降低,将会降低物种在野外复杂环境中的生存能力(Loeschcke *et al.*, 1994)。本文利用 ITS 研究了徐闻 7 种珊瑚的遗传多样性,在一定程度上揭示了徐闻滨珊瑚的遗传背景。结果显示:柱形角孔珊瑚的种间平均遗传距离和 π 都是最大的,柱形角孔珊瑚的平均遗传距离和 π 在 7 个种中都是最小的。平均遗传距离在一定程度上反映了不同的个体间综合遗传差异,而 π 值考虑了个体在群体中所占的比例,这两个值综合可以准确地反应种群的遗传多样性,平均遗传距离和 π 值较高则说明群体的遗传多样性较高(周慧等, 2006)。本文的研究结果说明二异角孔珊瑚具有较高的遗传多样性,柱形角孔珊瑚的遗传多样性较小。另外,在澄黄滨珊瑚存在着高单倍型多样性(0.945/0.837)和低核苷酸多样性(0.012/0.023)的特点。赵峰等(2011)研究银鲳鱼的群体遗传结构时也发现在有的群体中存在着这一特征。通常一个较小的有效种群在短期内数量快速增长,单倍型会变得更加丰富。然而没有足够的时间使核苷酸也产生变异,就形成了高单倍型、低核苷酸多样性的遗传模式(Grant *et al.*, 1998)。由此可见,近年来,徐闻地区的澄黄滨珊瑚种群有了快速的增长。2008 年徐

闻珊瑚礁国家级自然保护区开展的珊瑚资源调查显示,澄黄滨珊瑚在某些站点为优势种(黄晖等, 2007)。本文所研究的 7 种滨珊瑚,除柱形角孔珊瑚外,基于 ITS2 得到的种内平均遗传距离都大于基于 ITS1 所得的结果;另外,除普格滨珊瑚外,ITS2 在各种内的 π 均大于基于 ITS1 所得结果;基于 ITS2 得到的各种的平均遗传距离,除柱形角孔珊瑚外,均大于基于 ITS1 得到的遗传距离。ITS1 比 ITS2 保守,与 Nu-Wei 研究所得的结果一致(Nu-Wei *et al.*, 2006)。在长期的进化过程中,ITS2 的变异度要大于 ITS1。

F_{st} 常用来衡量不同地理条件下同一物种的遗传分化情况,遗传学认为, F_{st} 值可以表示群体间的分化程度,一般在 0—0.05 之间表示分化较弱。本文基于核糖体 ITS 得到 7 种珊瑚的 F_{st} 在 -0.00409—0.12170 ($P < 0.001$) 之间,遗传分化不明显。已有研究结果显示,石珊瑚的种间杂交普遍存在(Vollmer *et al.*, 2004),因此,即使在已经完全分化了的珊瑚种中依然没有显著的分子分化水平(Alvarez *et al.*, 2003; Vollmer *et al.*, 2004)。 N_m 越大则表示群体之间的相似性越大(曲若竹等, 2004), N_m 大于 1 说明两者之间存在基因交流。本文中所研究的 7 种珊瑚中,澄黄滨珊瑚与其它两种滨珊瑚之间存在基因交流。在地理群体中,基因交流来源于群体之间的迁徙等因素。本研究将一个种作为一个群体来研究,物种之间的基因交流只能来源于基因杂交。由于 ITS 发生突变的概率很大,用 ITS 研究物种的遗传多样性和遗传结构就不可避免地产生误差(徐田军等, 2006)。因此,澄黄滨珊瑚与其它两种滨珊瑚属珊瑚之间是否存在着基因交流,还需要选用其它手段来做进一步的研究。

3.2 滨珊瑚的系统发生关系

石珊瑚的种阶元的分类主要是根据珊瑚杯的大小,隔片发育的轮数、大小及其附属结构等特征来进行分类的。在滨珊瑚属中,澄黄滨珊瑚与普格滨珊瑚

的珊瑚杯比灰黑滨珊瑚大(灰黑滨珊瑚的珊瑚杯直径为 1.2mm, 而澄黄滨珊瑚和普格滨珊瑚的珊瑚杯直径在 2mm 以上), 因此在传统形态学分类上, 澄黄滨珊瑚与普格滨珊瑚的亲缘关系较近。在角孔珊瑚中, 小角孔珊瑚和细角孔珊瑚的珊瑚杯较小, 二异角孔珊瑚和柱形角孔珊瑚的珊瑚杯大(直径>3mm) (朱弘复等, 1997), 但是二异角孔珊瑚存在两种截然不同的珊瑚杯, 柱形角孔珊瑚的珊瑚孔则是完全相同的(戴昌凤等, 2009)。因此在传统分类上, 小角孔珊瑚与细角孔珊瑚的关系较近, 柱形角孔珊瑚与二异角孔珊瑚的关系较近。基于 12S rRNA 基因所得系统发生关系与传统分类基本相同, 与基于核糖体 ITS 序列得到的系统发育树也是一致的(刘丽等, 2011)。

从基于 12S rRNA 基因得到的系统发育树显示, 二异角孔珊瑚和其它滨珊瑚科的珊瑚遗传差异较大。基于 ITS 各区段的平均遗传结果显示, 二异角孔珊瑚的各区段的种内平均遗传距离均大于其它滨珊瑚科的珊瑚, 二异角孔珊瑚与其它滨珊瑚之间的遗传差异, 可能是由于其余滨珊瑚科的近缘种发生了种间杂交造成的, 已有研究发现鹿角珊瑚与其近缘种之间就存在种间的杂交(Van Oppen *et al*, 2000)。另外也不能排除取样方法的设计、数据的校正和加权、系统发育分析方法等对实验结果的影响(徐宏发等, 2001)。在本文的研究中, 基于 12S rRNA 基因得到的系统发育树与形态学得到系统关系基本相符, 能够准确反映徐闻 7 种滨珊瑚的系统发生关系, 可以用来辅助传统的石珊瑚分类。

参 考 文 献

- 朱弘复, 郑作新, 黄大卫等, 1997. 中国动物志. 北京: 科学出版社, 127
- 牛宪立, 姬可平, 吴 群等, 2003. rDNA ITS 区序列分子标记技术在植物学研究中的应用. 生物信息学, 2: 269—271
- 卢圣栋, 1999. 现代分子生物学实验技术. 北京: 中国协和医科大学出版社, 61
- 曲若竹, 侯 林, 吕红丽等, 2004. 群体遗传结构中的基因流. 遗传, 26(3): 377—382
- 刘 丽, 李文娟, 刘楚吾等, 2011. 徐闻角孔珊瑚系统发育关系的研究. 海洋湖沼通报, 4: 13—17
- 周 慧, 李迪强, 张于光等, 2006. 藏羚羊 mtDNA D-loop 区遗传多样性研究. 遗传, 28(3): 299—305
- 赵 峰, 庄 平, 章龙珍等, 2011. 基于线粒体 Cyt *b* 基因的南海南部和东海银鲳群体遗传结构分析. 水生生物学报, 35(5): 745—751
- 徐田军, 刘楚吾, 刘 丽等, 2006. 基因间隔序列(ITS)在水产动物种质鉴定和遗传多样性分析中的应用. 湛江海洋大学学报, 26(1): 84—88
- 徐宏发, 王静波, 2001. 分子系统学研究进展. 生态学杂志, 20(3): 41—46
- 黄 晖, 练健生, 王华接等, 2007. 徐闻珊瑚礁及其生物多样性. 北京: 海洋出版社, 72—73
- 戴昌凤, 洪圣雯, 2009. 台湾珊瑚图鉴. 台北市: 猫头鹰出版社, 102
- Alvarez I, Wendel J F, 2003. Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. Mol Phylogenet Evol, 29(3): 417—434
- Brakel W H, 1977. Corallite variation in *Porites* and the species problem in corals. Pro Third Intl Coral Reef Symp Miami, 457—462
- Chaolun A C, Carden C W, Jackie W *et al*, 2002. Analysis of the mitochondrial 12S rRNA gene supports a two-clade hypothesis of the evolutionary history of scleractinian corals. Molecular Phylogenetics and Evolution, 23: 137—149
- Chen C A, Yu J K, 2000. Universal primers for amplification of mitochondrial small subunit ribosomal RNA-encoding gene in scleractinian corals. Mar Biotech, 2: 146—153
- Fadlallah Y H, 1983. Sexual reproduction, development and larval biology in scleractinian corals a review. Coral Reefs, 2: 129—150
- Fukami H, Budd A F, Paulay G, 2004. Conventional taxonomy obscures deep divergence between Pacific and Atlantic corals. Nature, 427: 832—832
- Grant W S, Bowen B W, 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. Journal of Heredity, 89(5): 415—426
- Hixson J E, Brown W M, 1986. A comparison of the small ribosomal RNA genes from the mitochondrial DNA of the great apes and humans: sequence, structure, evolution, and phylogenetic implications. Mol Biol Evol, 3: 1—18
- Loeschke V, Tomiuk J, Jian S K *et al*, 1994. Conservation Genetics. Basel: Birkhauser Verlag, 37—53
- Nu-Wei Vivian W, Carden C Wallace, Chang-Feng Dai *et al*, 2006. Analyses of the Ribosomal Internal Transcribed Spacers (ITS) and the 5. 8S Gene Indicate that Extremely High rDNA Heterogeneity is a Unique Feature in the Scleractinian Coral Genus *Acropora* (Scleractinia; Acroporidae). Zoological Studies, 45(3): 404—418
- Odorico D M, Miller D J, 1997. Variation in the Ribosomal Internal Transcribed Spacers and 5.8S rDNA Among Five Species of *Acropora* (Cnidaria; Scleractinia): Patterns of Variation Consistent with Reticulate Evolution. Mol Biol Evol, 14: 465—473
- Todd P, 2008. Morphological plasticity in scleractinian corals. Biol Rev, 83: 315—337
- Van Oppen M J H, Willis B L, Vugt H W J *et al*, 2000. Examination of species boundaries in the *Acropora cervicornis* group

(Scleractinia, Cnidaria) using nuclear DNA sequence analyses. *Molecular Ecol*, 9: 1363—1373
Vollmer S, Palumbi S R, 2004. Testing the utility of ITS se-

quences in coral. *Mol Ecol*, 13(9): 2763—2772
Vollmer S, Palumbi S R, 2004. Testing the utility of ITS se-
quences in coral. *Mol Ecol*, 13(9): 2763—2772

STUDY ON GENETIC DIVERSITY AND PHYLOGENY OF PORITIDAE IN XUWEN OF GUANGDONG

LIU LI, LI Wen-Juan, LIU Chu-Wu

(Fisheries College, Guangdong Ocean University, Key Laboratory of Aquaculture in South China Sea for Aquatic Economic Animal, Regular High Education Institution of Guangdong Province, Zhanjiang, 524025)

Abstract Seven species, 58 samples of Poritidae were selected, the sequence of ITS and partial 12S rRNA were get, to analyze their genetic diversity and phylogenetic relationship. (1) The results of the genetic diversity of the ITS1 shows, 48 haplotypes were detected, the haplotype diversity index was between 0.800—1.000, and the polymorphic loci is between 5—62. The nucleotide diversity index was between 0.012—0.094; the results of ITS2 show that 43 haplotypes were detected, haplotype diversity index was between 0.742—1.000. The polymorphic loci was between 22—75, and the nucleotide diversity was between 0.017—0.175. Among these seven species, the genetic differentiation index based on the ITS was between -0.00409 — 0.12170 ($P < 0.0124$), genetic differentiation was not obvious. *Goniopora duofasciat* has the highest genetic diversity. (2) The results of phylogenetic relationship based on the 12S rRNA is that 7 species of coral have been were divided into three branches in the phylogenetic tree, three species of *Porites* were in the same branch. *Goniopora duofasciat* was on separate branch, the other three species of *Goniopora* were on the other branch. The monophyly is relatively clear in the phylogenetic tree. Among the *Porites* genus, *Porites lutea* and *Porites pukoensis* got together, and *Porites nigrescens* was on the separate one. *Goniopora gracilis* and *Goniopora minor* got together, and *Goniopora columna* was on the separate one. The phylogenetic tree based on 12S rRNA basically consistent with traditional classification system.

Key words Poritidae; ITS; 12S rRNA; genetic diversity; phylogenetic relationship