

虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 5 个群体的遗传多样性

常亚青, 陈晓霞, 丁 君, 曹学彬, 李润玲, 孙效文

(大连水产学院, 农业部海洋水产增养殖学与生物技术重点开放实验室, 大连 116023)

摘要 虾夷扇贝为 20 世纪 80 年代初从日本引入我国并逐渐开展养殖的双壳贝类, 目前已在我国北方地区大面积养殖。实验采用微卫星分子遗传标记技术对大连獐子岛底播增殖放流群体 (CC)、黄海北部海区采集的野生群体 (HQ)、日本青森养殖群体 (JX)、俄罗斯远东日本海沿岸养殖群体 (RX) 及大连大长山岛养殖上壳白化群体 (ZB) 等 5 个虾夷扇贝群体的遗传多样性进行研究。其中 HQ 群体为本课题组 2005 年在黄海北部采集的野生群体, 本研究筛选出一个该群体的特异性遗传标记。用 8 个微卫星位点进行扩增, 共获得 45 个等位基因, 每个位点的等位基因数处于 3~9 之间, 大小为 100~340bp, 平均有效等位基因数为 3.1535, 基因型数为 3~21 个, PIC (Polymorphism Information Content) 值处于 0.0322~0.5944 之间。5 个群体的平均观测杂合度分别为 0.3292、0.3048、0.3167、0.2708、0.3042, 平均期望杂合度分别为 0.4595、0.4002、0.3838、0.3620、0.3885, 群体间的多态性差异不显著。根据群体间遗传相似性系数、遗传距离及 UPGMA 聚类分析发现, CC 和 HQ 群体亲缘关系最近, JX 和 RX 群体的亲缘关系较近, ZB 群体与 JX 和 RX 群体的亲缘关系较近。通过 Hardy-Weinberg 平衡及 F-检验发现, 5 个群体都不同程度的偏离平衡, 表明各群体基因频率和基因型频率的稳定性较低, 且 5 个群体均处于不同程度的杂合子缺失状态, 群体间的遗传分化程度较高, 但遗传变异主要来自群体内的个体间。

关键词 虾夷扇贝; 微卫星; 遗传多样性

文章编号: 1000-0933 (2007) 03-1145-08 中图分类号: Q14 文献标识码: A

Genetic diversity in five scallop populations of the Japanese scallop (*Patinopecten yessoensis*)

CHANG Ya-Qing, CHEN Xiao-Xia, DING Jun, CAO Xue-Bin, LI Run-Ling, SUN Xiao-Wen

Dalian Fisheries University, Ministry of Agriculture Key Laboratory of Mariculture and Biotechnology, Dalian 116023, China

Acta Ecologica Sinica 2007 27 (3) 1145~1152.

Abstract: The Japanese scallop (*Patinopecten yessoensis*) was introduced from Japan to Dalian in the 1980's. It has been cultured on large scale in this area. In this study genetic diversity of 5 cultured and natural populations of Japanese scallop were investigated by microsatellites. The 5 populations were the population in Zhangzidao island (CC), the natural population in north area of the Yellow Sea (HQ), Japanese cultured population (JX), Russian population (RX) and albino population collected in Dachangshan island (ZB). HQ is a natural population which has been collected in north area of Yellow Sea in 2005. A specific genetic marker was found in this population. Thirty individuals from each population were analyzed. Amplifications were performed in a PCR reactor with 8 microsatellite loci, tested by agarose gel electrophoresis and

基金项目: 国家“863”计划资助项目 (2006AA10A408); 国家教育部“新世纪优秀人才支持计划”资助项目 (NCET-05-0299); 辽宁省高等学校优秀人才支持计划资助项目 (RC-04-01); 国家农业部“948”资助项目 (2006-G55 (D))

收稿日期: 2006-07-07; 修订日期: 2007-01-14

作者简介: 常亚青 (1967~), 男, 河北省邢台人, 博士, 教授, 主要从事海洋动物遗传育种与养殖技术研究。

Foundation item: The project was financially supported by National 863 Program, China (No. 2006AA10A408); Program for Ministry of Education New century Excellent Talents in University (No. NCET-05-299); New Century Excellent Talents in Liaoning Province University, China (No. RC-04-01); Ministry of Agriculture “948” program, China (No. 2006-G55 (D))

Received date 2006-07-07; **Accepted date** 2007-01-14

Biography: CHANG Ya-Qing, Ph. D., Professor, mainly engaged in marine animal genetic breeding and aquaculture. E-mail: yqchang@dlfu.edu.cn

analyzed by gel analysis software. In this study 45 alleles were obtained. The number of alleles of each locus ranged from 3 to 9, and allele size ranged from 100 to 340bp. The mean number of effective alleles (a_e) was 3.1535 and the number of genotypes ranged from 3 to 21 in each locus. PIC (Polymorphism Information Content) per locus ranged from 0.0322 to 0.5944. The average observed heterozygosity (H_o) for the five populations was 0.3292, 0.3048, 0.3167, 0.2708 and 0.3042, respectively. The average expected heterozygosity (H_e) for the 5 populations was 0.4595, 0.4002, 0.3838, 0.3620 and 0.3885, respectively. The difference in genetic diversity among the 5 populations is not significant. According to their genetic similarity (I) and genetic distance (D), we found that the genetic distance between CC and HQ was the least, followed by that of JX and RX. The distance between ZB to JX and RX were both closer than those of CC and HQ. The P value test of Hardy-Weinberg equilibrium showed that the populations departed from Hardy-Weinberg equilibrium in some loci. All 5 populations showed the absence of heterozygosity. The results of the F-test suggested high genetic differentiations among the 5 populations, and mainly due to individual difference.

Key Words: *Patinopecten yessoensis*; microsatellites; genetic diversity

虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 是广泛分布于日本、俄罗斯远东及朝鲜部分水域的冷水性双壳贝类, 具有个体大、抗病力强等优点。20 世纪 80 年代初由辽宁省水产科学研究院从日本青森县陆奥湾引入我国并展开规模化养殖^[1]。现在, 虾夷扇贝的养殖面积已达 70 多公顷, 成为北方沿海地区重要的经济养殖贝类。到目前为止, 日本、韩国、俄罗斯和我国都对虾夷扇贝进行养殖, 但只有我国是全人工室内育苗, 其他国家养殖的苗种均采自天然海区, 而且我国的养殖群体自引种以来几乎没有再引入新群体, 个别养殖群体中出现了上壳白化个体, 本课题组还在黄海北部海域采集到天然虾夷扇贝群体。现阶段对该种扇贝的研究主要集中在生态习性、苗种生产、增养殖以及精液的低温保存、多倍体诱导等方面^[2-3], 生物遗传多样性、群体遗传结构及分化等方面的报道相对较少。

微卫星是存在于真核生物基因组中的短串联重复序列, 具有多态信息含量大、重复性好、基因座位数目大、呈共显性遗传且突变率高等优点, 已广泛应用于, 如鲈、鲑、扇贝及牡蛎等海洋动物的种群遗传多样性分析、遗传图谱构建、种质鉴定及辅助育种等方面^[4-5]。国外曾用微卫星对虾夷扇贝群体进行遗传多样性分析^[6], 但对我国虾夷扇贝群体的研究仅见于用同工酶分析虾夷扇贝养殖群体的遗传结构^[7]。本文选用微卫星分子遗传标记探讨 5 个虾夷扇贝群体的遗传多样性, 在分子水平上分析处于不同地理区域的同种生物, 受不同生态环境影响时, 各群体在基因频率、等位基因数、杂合度等方面的差异, 比较 5 个群体间的遗传变异、遗传距离及遗传相似性, 为养殖生态学、分子生态学、生物进化的历史和适应潜力、物种保护、生物资源的保存和利用及种质鉴定等提供一定的理论基础^[8-11]。

1 材料与方法

1.1 材料

本实验共使用了 5 个虾夷扇贝群体, 分别是大连獐子岛底播增殖放流群体 (CC)、黄海北部海区采集的野生群体 (HQ) (本课题组自 2004 年以来每年都在黄海北部海区采集虾夷扇贝野生群体, 此群体为 2005 年采集样本)、日本青森养殖群体 (JX)、俄罗斯远东日本海沿岸养殖群体 (RX) 及大连大长山岛养殖上壳白化群体 (ZB)。各群体分别取 30 个个体, 活体运回实验室, 取其闭壳肌存放在 -80°C 冰箱备用。

1.2 基因组 DNA 的提取

基因组 DNA 的提取方法参照文献^[12]的方法, 稍加修改。

1.3 PCR 扩增

从 H. S. AN 等^[1]分离出的 10 对微卫星引物中选出 8 对, 由上海生工生物技术公司合成, 微卫星标记核心序列、引物序列及退火温度见表 1。PCR 反应采用 25 μl 体系, 包括 50 ng 模板 DNA, 0.4 $\mu\text{mol/L}$ 引物, 1 $\times$ PCR 反应缓冲液, 200 $\mu\text{mol/L}$ dNTPs 及 1U 的 TaqDNA 聚合酶 (大连宝生物公司)。PCR 反应程序是 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变

性 5 min ,再经过 38 个循环 ,每个循环包括 94 ℃ 变性 30 s ,退火 30 s ,72 ℃ 延伸 30 s ,最后 72 ℃ 延伸 5 min。

1.4 电泳检测

PCR 扩增产物用 2 % 的琼脂糖凝胶电泳检测 ,溴化乙锭染色 ,用 KODAK 凝胶成像系统紫外成像 ,并用其随机附带的分析软件对扩增条带进行分析。

1.5 数据的统计分析

用 POPGENE (VERSION 1.31)软件包处理数据 ,分析群体的基因频率、基因型频率、位点杂合度值、群体间的遗传距离、相似性系数和遗传分化指数等遗传参数 ,并用 GENEPOP (VERSION 3.4)软件进行群体的 Hardy-Weinberg 平衡检验。

参照 Botstein 等^[13]的方法 ,计算每个位点的多态性信息含量 (*PIC* ,Polymorphism Information Content):

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i^2 P_j^2$$

式中 P_i 、 P_j 分别表示群体中第 i 和第 j 个等位基因频率 n 为等位基因数。

表 1 微卫星标记核心序列、引物序列及其退火温度

Table 1 Core sequences , primer sequences and annealing temperatures of microsatellite DNA marker		
位点 Locus	核心序列 Core sequence	引物序列 (5'-3') Primer sequence
AY949033	(TG)5TC (TG)5	F : CGAAGGCAGAGTTTACACTG R : CAGAAGCCTTCAGCATCTTT
AY949034	(AG)4 (TG)2TT (TG)6 (AG) (TG)4	F : AGGCGGTGTAATACGAGAAT R : GCTCCTTTCCCAAACAATG
AY949035	(TG)2AG (TG)8	F : TGTGCAGGTTTACAGCCTAT R : CACCAAAAAGGACGTTGAAAT
AY949038	(GT)10	F : AAATACCATCGACCATTGCT R : CACCACCTTAACCCTTTCA
AY949039	(TG)4GA (TG)6 GA (TG)3	F : AAATAAAAAGACAAAGGAAGG R : TGTAGCACACATTACTCAAA
AY949040	(CA)20	F : TGACTTTTGGTGTTAAACCC R : CTGCCATAACTGTTACATCG
AY949041	(TG)20	F : TGGGACGGTATGAATCA R : TGCCTCAGAGAATCAGTATT
AY949042	(TG)2TTAG (TG)11	F : CAAGGAAGGAACACTTACGC R : ATAGCCTTACTCGGGAATGA

2 结果

2.1 PCR 扩增结果

本文应用 8 个微卫星引物对 5 个虾夷扇贝群体进行 PCR 扩增 ,除了 AY949039 位点在 HQ 群体中没有扩增产物 ,可以作为群体特异性标记外 ,其余 7 个微卫星位点均能在其他各群体中稳定重复地扩增出相应的条带 (图 1) 除了 AY949033、AY949034 及 AY949042 的多态性稍低外 ,其他位点均表现出较高的多态性。每对微卫星引物在各群体中扩增出的等位基因频率见表 2。

2.2 遗传多样性分析

应用 POPGENE 数据处理软件对虾夷扇贝群体进行遗传多样性分析 ,8 个微卫星位点在 5 个群体中扩增出的等位基因数、有效等位基因数、观测杂合度以及期望杂合度见表 3。以 RX 群体为例 ,计算各微卫星位点的多态性信息含量 (*PIC*) ,其中 AY949033、AY949034 和 AY949042 的 *PIC* 值较低 ,分别是 0.0322、0.0322 和 0.0633 外 ,其他 5 个位点的 *PIC* 值均大于 0.25 ,能够提供一定程度的多态性信息 ,基本满足研究需要。而且 8 个位点中 ,除了 AY949034 只在 RX 群体中有 2 个等位基因 ,在剩余群体中均为单态外 ,其他 7 个位点均为多态性位点。从群体有效等位基因数和期望杂合度可以看出 ,CC 群体分别为 2.2370 和 0.4595 ,比其他群体略高些。

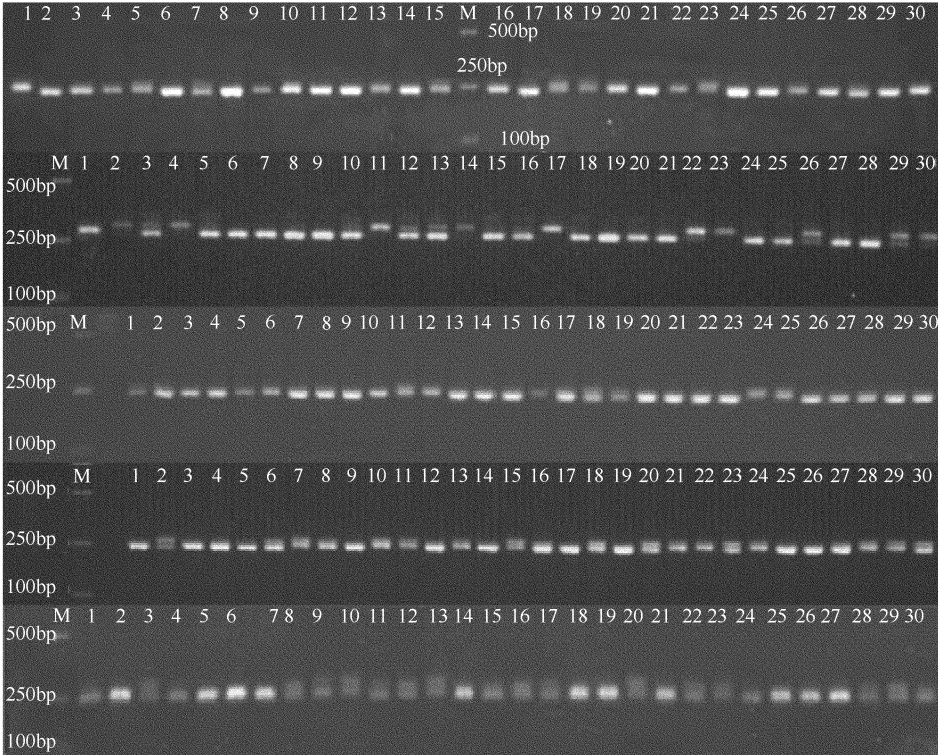


图1 引物 AY949038 在 CC、HX、JX、RX 及 ZB 群体中的扩增产物电泳图

Fig. 1 PCR result of population CC , HX , JX , RX and ZB amplified by primer AY949038

表 2 虾夷扇贝 5 个群体微卫星等位基因频率

Table 2 Allelic frequencies of microsatellite in 5 populations of Japanese scallop																
基因座位 Locus	AY949033					AY949034			AY949035							
等位基因 Allele	1	2	3	4	5	1	2	3	1	2	3	4	5	6	7	8
CC	0.0000	0.0000	0.9333	0.0667	0.0000	0.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0167	0.1000	0.4000	0.1333	0.0667	0.2167	0.0667
HQ	0.0000	0.0000	0.8500	0.1500	0.0000	0.0000	0.0000	1.0000	0.5333	0.1500	0.0667	0.1333	0.0000	0.1167	0.0000	0.0000
JX	0.0500	0.0000	0.9333	0.0000	0.0167	0.0000	1.0000	0.0000	0.1500	0.0000	0.4833	0.1333	0.0000	0.2333	0.0000	0.0000
RX	0.0000	0.0167	0.9833	0.0000	0.0000	0.0167	0.9833	0.0000	0.0333	0.0000	0.1167	0.6333	0.0000	0.1500	0.0667	0.0000
ZB	0.0000	0.0167	0.9667	0.0000	0.0167	0.0000	1.0000	0.0000	0.0167	0.0000	0.5333	0.3167	0.0000	0.0500	0.0667	0.0167

基因座位 Locus	AY949038							AT949039					AY949042		
等位基因 Allele	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	1	2	3
CC	0.0000	0.0000	0.0000	0.1333	0.0000	0.3667	0.5000	0.0000	0.4000	0.0000	0.0000	0.6000	0.0000	0.4333	0.5667
HQ	0.0000	0.0167	0.2000	0.5833	0.0000	0.2000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.2000	0.8000	0.0000
JX	0.0000	0.0000	0.0500	0.2333	0.0000	0.7167	0.0000	0.1500	0.0000	0.0000	0.7500	0.1000	0.0000	0.4000	0.6000
RX	0.0000	0.0000	0.0000	0.1167	0.1667	0.1833	0.5333	0.0000	0.3500	0.0000	0.0000	0.6500	0.4333	0.0000	0.5667
ZB	0.0833	0.1667	0.4833	0.2667	0.0000	0.0000	0.0000	0.3000	0.0000	0.7000	0.0000	0.0000	0.4667	0.0000	0.5333

基因座位 Locus	AY949040									AT949041				
等位基因 Allele	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5
CC	0.0000	0.0833	0.0000	0.3833	0.4000	0.0000	0.0000	0.1333	0.0000	0.0000	0.1000	0.2167	0.6167	0.0667
HQ	0.0000	0.1167	0.0000	0.3500	0.5000	0.0333	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0167	0.1833	0.7667	0.0333
JX	0.0000	0.0667	0.2167	0.3167	0.3500	0.0000	0.0500	0.0000	0.0000	0.0167	0.1167	0.8667	0.0000	0.0000
RX	0.0000	0.0000	0.0333	0.2500	0.5500	0.0000	0.0167	0.0667	0.0833	0.0000	0.0333	0.9667	0.0000	0.0000
ZB	0.0667	0.0833	0.0000	0.6500	0.0000	0.2000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.1667	0.0333	0.8000	0.0000

表 3 虾夷扇贝各群体遗传多态性及 Hardy-Weinberg 平衡检验

Table 3 Genetic diversity and <i>P</i> -values of each Japanese scallop population									
	949033	949034	949035	949038	949039	949040	949041	949042	平均值 Mean
PIC	0.0322	0.0322	0.5228	0.5944	0.3515	0.5753	0.5112	0.0633	0.3354
CC A	2	1	7	3	2	4	4	2	3.1250
a _e	1.1421	1.0000	4.1002	2.4862	1.9231	3.0151	2.2642	1.9651	2.2370
Ho	0	0	0.4667	0.2667	0	0.6333	0.4000	0.8667	0.3292
He	0.1244	0	0.7561	0.5978	0.4800	0.6683	0.5583	0.4911	0.4595
P	0.0009 **	—	0.0000 **	0.0000 **	0.0000 **	0.7387	0.0061 **	0.0000 **	
HQ A	2	1	5	4	0	4	4	2	3.1429
a _e	1.3423	1.0000	2.9137	2.3778	0	2.5825	1.6057	1.4706	1.8995
Ho	0.0333	0	0.5667	0.3667	0	0.4000	0.3667	0.4000	0.3048
He	0.2550	0	0.6572	0.5794	0	0.6128	0.3772	0.3200	0.4002
P	0.0001 **	—	0.0402 *	0.0000 **	—	0.0005 **	0.0060 **	0.5603	
JX A	3	1	4	3	3	5	3	2	3.0000
a _e	1.1443	1.000	3.0457	1.7527	1.6807	3.6145	1.3072	1.9231	1.9335
Ho	0.1333	0	0.5000	0.1000	0.2333	0.5000	0.2667	0.8000	0.3167
He	0.1261	0	0.6717	0.4294	0.4050	0.7233	0.2350	0.4800	0.3838
P	1.0000	—	0.0046 **	0.0000 **	0.0000 **	0.0014 **	1.0000	0.0003 **	
RX A	2	2	5	4	2	6	2	2	3.1250
a _e	1.0339	1.0339	2.2585	2.7821	1.8349	2.6471	1.0689	1.9651	1.8280
Ho	0.0333	0.0333	0.1667	0.5667	0.1000	0.3333	0.0667	0.8667	0.2708
He	0.0328	0.0328	0.5572	0.6406	0.4550	0.6222	0.0644	0.4911	0.3620
P	—	—	0.0000 **	0.0000 **	0.0000 **	0.0001 **	1.0000	0.0000 **	
ZB A	3	1	6	4	2	4	3	2	3.1250
a _e	1.0695	1.0000	2.5496	2.9460	1.7241	2.1102	1.4950	1.9912	1.8607
Ho	0.0667	0	0.2333	0.5000	0	0.3000	0.4000	0.9333	0.3042
He	0.0650	0	0.6078	0.6606	0.4200	0.5261	0.3311	0.4978	0.3885
P	1.0000	—	0.0000 **	0.0002 **	0.0000 **	0.0000 **	0.7002	0.0000 **	

* 平衡显著偏离 significant deviation from equilibrium , * * 平衡极显著偏离 terribly significant deviation from equilibrium (等位基因数 Number of Alleles (A) 有效等位基因数 Effective Number of Alleles (ae) ,观测杂合度 Observed Heterozygosity (Ho) ,期望杂合度 Expected Heterozygosity (He) *P* 值 *P* value

2.3 Hardy-Weinberg 平衡检验

应用 GENEPOP 数据分析软件 ,基于马可夫链模型 (Markov chain method)对各群体每个位点的 Hardy-Weinberg *P* 值进行无偏估计 除 AY949034 位点及 RX 群体中的 AY949033 位点没能计算出 *P* 值外 5 个群体的检验结果均表现出不同程度的平衡偏离 ,有 65% 的群体位点偏离了 Hardy-Weinberg 平衡 (如表 3)。这说明各群体这些位点的基因频率和基因型频率稳定性较差。

2.4 群体变异分析

根据 Nei 's [4] 的方法计算群体间的无偏遗传相似性指数和遗传距离 (表 4) 通过群体间的遗传距离可以看出 ,CC 和 HQ 群体之间的遗传距离最近 相似性指数最高 ,JX 和 RX 群体之间的遗传距离次之 ,与 CC、HQ 群体相比 ,群体 ZB 与 JX 和 RX 群体的遗传距离相对较近。以群体间的遗传距离为依据 ,用 UPGMA 进行聚类分析得到的聚类分析图 ,能够更直观地体现出群体间的关系 (图 2)。

表 4 虾夷扇贝 5 个群体的遗传距离和相似性指数

Table 4 Genetic distance and genetic identity of 5 Japanese scallop population					
群体 Population	CC	HQ	JX	RX	ZB
CC		0.7634	0.5061	0.6307	0.4840
HQ	0.2700		0.4452	0.3681	0.4723
JX	0.6811	0.8092		0.7548	0.5994
RX	0.4609	0.9995	0.2813		0.5924
ZB	0.7256	0.7502	0.5118	0.5235	

表 5 虾夷扇贝 5 个群体 8 个微卫星位点的 F -检验

	F_{is}					F_{is}	F_{it}	F_{st}
	CC	HQ	JX	RX	ZB	所有群体 Allpopulation	所有群体 Allpopulation	所有群体 Allpopulation
AY949033	1.0000	0.8693	-0.0573	-0.0169	-0.0256	0.5580	0.5795	0.0485
AY949034	-	-	-	-0.0169	-	-0.0169	0.9862	0.9865
AY949035	0.3828	0.1378	0.2556	0.7009	0.6161	0.4051	0.5069	0.1711
AY949038	0.5539	0.3672	0.7671	0.1154	0.2431	0.3810	0.5360	0.2505
AY949039	1.0000	1.0000	0.4239	0.7802	1.0000	0.8106	0.9220	0.5880
AY949040	0.0524	0.3472	0.3088	0.4643	0.4298	0.3128	0.3866	0.1075
AY949041	0.2836	0.0280	-0.1348	-0.0345	-0.2081	0.0422	0.4966	0.4744
AY949042	-0.7647	-0.2500	-0.6667	-0.7647	-0.8750	-0.6959	-0.2095	0.2868
平均值 Mean	0.3135	0.3124	0.1121	0.1535	0.1475	0.2285	0.5141	0.3702

应用 POPGENE 数据分析软件对虾夷扇贝 5 个群体各位点进行 F -检验 (表 5)。由 F_{is} 值可知,CC 和 HQ 群体只有 1 个位点处于杂合子过剩状态,JX 群体有 3 个位点处于杂合子过剩状态,RX 群体有 4 个位点处于杂合子过剩状态,而 ZB 群体有 3 个位点处于杂合子过剩状态,由此可见 5 个群体均表现出一定程度的杂合子缺失。位点 AY949039 的所有群体的 F_{is} 值最高为 0.8106,而 AY949042 的最低为 -0.6959;AY949034 位点的所有群体 F_{it} 值最高,AY949042 的最低。如所有群体间 F_{st} 值 (见表 5)所示,8 个位点中只有 AY949033 低于 0.05,表明 5 个群体间存在一定程度的分化。而由表 6 两两群体间的 F_{st} 值可知,RX 与 HQ 群体间的遗传分化程度最高,CC 与 HQ 和 JX 与 RX 群体间的遗传分化程度相对较弱,群体间发生一定程度的分化。然而任意两群体间的遗传分化指数都没超过 0.5,说明遗传变异主要来自群体内个体之间。

3 讨论

群体的遗传多样性主要表现在杂合度和等位基因数两个方面^[5]。杂合度是群体在随机交配情况下,一个个体的两个等位基因处于杂合状态的概率。杂合度期望值越高,群体的遗传结构越复杂^[8]。本实验中所得的各群体平均观测和期望杂合度分别为 0.2708~0.3292 和 0.3620~0.4595,虽然 CC 群体的平均杂合度最高,RX 群体最低,但 5 个群体之间的差异并不显著。各群体每个位点的杂合度期望值也没有明显差异,说明遗传结构的复杂程度差别不大。再从等位基因数来看,每个位点的等位基因数为 3~9 个,而各群体每个位点的等位基因数从 1 到 7 不等,各群体间的差异也不明显,每个位点的有效等位基因数反映了在群体中起作用的等位基因数目,CC 群体较其他群体略高些,差异亦不显著,这与期望杂合度的检测结果基本一致。

虾夷扇贝在我国原没有自然分布,本文中的 CC 和 ZB 群体是 20 世纪 80 年代初从日本青森县陆奥湾引入并人工繁殖的后代群体。其中 CC 群体是大连獐子岛地区底播增殖放流群体,自引进以来一直采取筏式养殖至 3~4 cm 后,在獐子岛附近海域底播放流养殖,再从底播放流群体中选出亲贝育苗、筏式养殖、底播,如此反复,时至今日已繁殖了大约 6 代。在这么多年的苗种繁育过程中,是否有过外来苗种的参与已不能确定,但

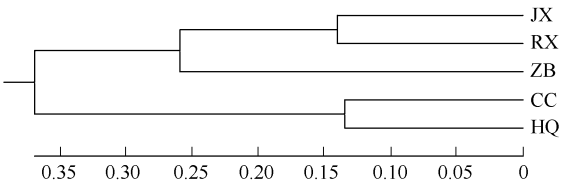


图 2 虾夷扇贝 5 个群体的 UPGMA 聚类图
Fig. 2 UPGMA dendrogram among 5 Japanese scallop populations

表 6 虾夷扇贝 5 个群体间的遗传分化指数 F_{st} 值

Table 6 F_{st} values between each population of Japanese scallop					
群体 Population	CC	HQ	JX	RX	ZB
CC					
HQ	0.1895				
JX	0.2546	0.3364			
RX	0.2120	0.3796	0.1732		
ZB	0.2610	0.3264	0.2429	0.2547	-

可知外来苗种的引入不只一次。JX 群体是日本青森海域天然苗种采集后,吊耳养殖的群体,而 RX 群体是采自俄罗斯远东日本海沿岸的苗种,吊笼养殖的群体。Sbordoni 等^[6]利用同工酶技术跟踪日本对虾引入意大利后养殖群体的遗传多样性变化,发现第 1 代至第 6 代的平均杂合度从 0.102 持续下降至 0.039。一般认为,由于引种养殖过程中的有效群体过小,导致个体间近交,造成奠基者效应 (Founder effect),会引起遗传多样性水平下降。然而本实验中,CC 群体虽然经过几次传代,但遗传多态性水平与 RX、JX 群体并无明显差异,分析其原因一方面可能是良好的育苗条件减少了自然条件下环境压力对群体的选择作用,使自然条件下应被淘汰的个体保留下来,保持了群体的遗传多样性,虽然苗种长到 3 cm 后采取底播养殖方式,自然环境的选择作用会对不优秀基因进行筛选,但我国与日本海域生态条件接近,群体由于环境改变而受到的选择压力相对较小,使得该群体保持了一定的多态性水平;另一方面,多态性检测方法不同,物种本身的差别,以及引入基础群体数量上的差异都会对养殖群体遗传多样性是否下降的判定产生影响。CC 群体养殖过程中的引种数量较少,虽然保持了一定的遗传多态性水平,但杂合子缺失程度较高。

HQ 群体是黄海北部海域采集的天然苗种生长形成的幼贝群体,在实验过程中发现,除 HQ 群体外 AY949039 位点在其他群体中都能获得扩增片段,反复实验都如此,确定该位点是 HQ 群体的特异阴性标记。群体间遗传距离、遗传相似性系数及 UPGMA 聚类分析表明 HQ 群体与 CC 群体的亲缘关系最近,但根据群体间的 F_{st} 值可知,群体间分化程度较高,虽然 HQ 与 CC 群体亲缘关系较近,但并不能说明两群体间存在必然联系。至于 HQ 群体的来源,笔者认为应该是养殖群体在自然条件下繁殖产生的后代。当自然海区环境达到虾夷扇贝个体产卵(精)的条件时,其很可能在自然海域排出卵子(精子)完成精卵结合,从而形成天然的苗种。通过本实验发现,该群体是唯一没有群体特异性等位基因的,而且虾夷扇贝个体的排卵量比同种其他贝类高很多,可达 1 亿枚左右,HQ 群体很可能是繁育过程中 AY949039 位点发生突变而缺失的个体的卵子(或精子),与其他一个或几个个体的精子(或卵子)结合形成的苗种,在自然条件下生长而成的稚贝群体。王庆成、张福绥等^[1,17]先后报道过虾夷扇贝的引种。为虾夷扇贝群体在我国北方海区的正常繁殖、生长提供了分子生物学证据。

ZB 群体是从养殖群体中挑出的上壳由红褐色褪变为白色的个体。同 CC 群体一样是 20 世纪 80 年代从日本引入我国并养殖至今的群体,大约繁殖了 8 代,具有群体特异性等位基因,遗传多态性水平与其他群体无显著差异,但是白化个体的生长性状明显优于相同养殖条件的其他个体。造成这种情况的原因可能是该群体比一般的养殖群体经过更多次的传代,在某些位点上发生了一定程度的纯化,从而使贝壳白色的性状显现出来,而这一控制贝壳呈白色的基因可能与控制生长性状的基因有某种程度的连锁,就使贝壳白化与较好的生长性状联系起来。通过本实验可证明,其亲缘关系与养殖群体较远,与其他群体间的分化指数也较大。基因流受阻、遗传漂变及近交等被认为是导致种群间遗传分化的主要原因^[8~21]。CC 和 ZB 群体同是养殖群体,但分别属于不同的养殖场很难有基因流产生,而且养殖群体的近交是很难避免的,所以养殖群体之间必定会出现分化。ZB 群体由于具有明显的体色特征,且生长性状优异,是一个养殖性状优良的核心群体,并可望进一步培育成养殖品种。

本实验中的 5 个群体都保持了一定的多态性水平,群体内和群体间均产生了遗传分化,62.98% 的遗传变异来自群体内,通过个体选择进行遗传改良,可以获得较大的遗传增益。但虾夷扇贝的种质情况并不乐观,5 个群体内均表现出一定水平的近交,造成不同程度的杂合子缺失,在部分位点显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡,而且在繁殖过程中发生了某些基因位点的丢失,说明种质资源已经受到一定程度的破坏。与其他类似研究略有不同的是,本实验发现传代养殖群体的遗传多态性水平与其他群体相比并没有明显的降低,分析原因应当是养殖场优良的条件减少了环境压力对个体的选择作用,从而使多态性水平有所提高,但这种提高只是在群体原有基因水平上的提高,那些在自然条件下本应被淘汰的具有不优秀基因的个体在养殖条件下被保留并参与到繁殖过程中,且在后代中的比率逐渐增加。如果外界条件发生变化时,那些具有不优秀基因的个体死亡,只有少数具有优秀基因的个体存活下来,便导致了现在常见的养殖群体大规模死亡的情况,所以应当及时采

取有效措施保护种质资源。

References :

[1] Wang Q C. Introduction of Japanese scallop and prospect of culture it in northern China. Fisheries Science ,1984 ,3 (4) :24 — 27.

[2] Chang Y Q ,Xiang J H ,Wang Z C ,et al. Tetraploid induction in *Patinopecten yessoensis* with chemicals. Oceanologia et Limnologia Sinica ,2002 ,33 (1) :105 — 112.

[3] Chang Y Q ,Xiang J H ,Zhang G F ,et al. Induced triploidy in scallop *Patinopecten yessoensis* and the larval cultivation. Journal of Fishery Sciences of China ,2001 ,8 (1) :18 — 22.

[4] Greg M Wolfus ,Denise K Garcia ,Acacia Alcivar-Warren. Application of the microsatellite technique for analyzing genetic diversity in shrimp breeding programs. Aquaculture ,1997 ,152 :35 — 47.

[5] Hedgecock D ,Hubert S ,Li G ,et al. Agenetic linkage map of 100 microsatellite markers for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Journal of Shellfish Research ,2002 ,21 (1) :381.

[6] AN H S ,PARK J Y ,LEE Y G ,et al. Ten polymorphic microsatellite loci in the giant scallop (*Mizuhopecten yessoensis*). Molecular Ecology Notes ,2005 ,5 (4) :806 — 808.

[7] Guao Y M ,Li G X ,Zhao Y L. Genetic structure of Japanese scallop *Patinopecten yessoensis* hatched population in Dalian sea areas. Journal of Dalian Fisheries University ,2004 ,19 (2) :142 — 145.

[8] Yan G M ,Heike Hertel ,Volker Schnech. Genetic diversity and population structure of *Robinia Pseudoacacia* provenances from middle Europe. Acta Ecologica Sinica ,2004 ,24 (12) :2700 — 2706.

[9] Niu R ,Shang H T ,Wei H ,et al. Genetic analysis of 35 microsatellite loci in 5 lineages of Xishuangbanna Miniature pig inbred line. Acta Genetica Sinica ,2001 ,28 (6) :518 — 526.

[10] Ardren W R ,Borer S ,Thrower F ,et al. Inheritance of 12 microsatellite loci in *Onchorhynchus mykiss*. Heredity ,1999 ,90 :529 — 536.

[11] Zhengkang Xu ,Jurgenne H. Primavera ,Leobert D de la Pena ,et al. Genetic diversity of wild and cultured Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using microsatellites. Aquaculture ,2001 ,199 :13 — 40.

[12] Chang Y M ,Sun X W ,Liang L Q. Genetic diversity analysis of genomic DNAs of several representative populations of common carp in China. Journal of Fisheries of China ,2004 ,28 (5) :481 — 486.

[13] Botstein D ,White R L. Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Animal Genetics ,1980 ,32 :314 — 331.

[14] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics ,1978 ,89 :583 — 590.

[15] Wansuk Senanan ,Anne R. Kapuscinski ,Uthairat Na-Nakorn ,et al. Genetic impacts of hybrid catfish farming (*Clarias macrocephalus C. gariepinus*) on native catfish populations in central Thailand. Aquaculture ,2004 ,235 :167 — 184.

[16] Sbordoni V ,De Matthaeis E ,Cobolli Sbordoni M ,et al. Bottleneck effects and the depression of genetic variability in hatchery stocks of *Penaeus japonicus* (Crustacea ,Decapoda). Aquaculture ,1986 ,57 :239 — 251.

[17] Zhang F S ,He Y Z ,Ma J H ,et al. Introduction ,breeding and culture test of Japanese scallop. Marine Science ,1984 ,1 (5) :38 — 45.

[18] Wang Z S ,An S Q ,Leng X ,et al. Population genetic diversity of the insular plant *Neolitsea sericea* based on random amplified polymorphic DNA (RAPD). Acta Ecologica Sinica ,2004 ,24 (3) :414 — 423.

[19] Gang Li ,Sophie Hubert ,Katherine Bucklin ,et al. Characterization of 79 microsatellite DNA markers in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Molecular Ecology Notes ,2003 ,3 :228 — 232.

[20] Manami Kanno ,Qi Li ,Akihiro Kijima. Isolation and characterization of twenty microsatellite loci in Japanese sea cucumber (*Stichopus japonicus*). Marine biotechnology ,2005 ,7 :179 — 183.

[21] Elfstrom C M ,Smith C T ,Jones K C ,et al. Characterization of 16 polymorphic microsatellite loci in Weathervane scallop *Patinopecten caurinus*. Molecular ecology notes ,2005 ,5 :514 — 516.

参考文献 :

[1] 王庆成. 虾夷扇贝的引进及其在我国北方增养殖的前景. 水产科学 ,1984 ,3 (4) :24 ~ 27.

[2] 常亚青 ,相建海 ,王子臣 等. 药物诱导虾夷扇贝四倍体的初步研究. 海洋与湖沼 ,2002 ,33 (1) :105 ~ 112.

[3] 常亚青 ,相建海 ,张国范 等. 虾夷扇贝三倍体诱导与培育技术的研究. 中国水产科学 ,2001 8 (1) :18 ~ 22.

[7] 高悦勉 ,李国喜 ,赵赵丽. 大连沿海虾夷扇贝养殖群体遗传结构的研究. 大连水产学院学报 ,2004 ,19 (2) :142 ~ 145.

[8] 杨敏生 ,Heike Hertel ,Volker Schnech. 欧洲刺槐种源群体遗传结构和多样性. 生态学报 ,2004 ,24 (12) :2700 ~ 2706.

[11] 牛荣 ,商海涛 ,魏泓 等. 版纳小耳猪近交系 5 家系 35 个微卫星座位的遗传分析. 遗传学报 ,2001 ,28 (6) :518 ~ 526.

[12] 常玉梅 ,孙效文 ,梁利群. 中国鲤几个代表种群基因组 DNA 遗传多样性分析. 水产学报 ,2004 ,28 (5) :481 ~ 486.

[17] 张福绥 ,何义朝 ,马江虎 等. 虾夷扇贝的引种、育苗及试养. 海洋科学 ,1984 ,1 (5) :38 ~ 45.

[18] 王中生 ,安树青 ,冷欣 等. 岛屿植物舟山新木姜子居群遗传多样性的 RAPD 分析. 生态学报 ,2004 ,24 (3) :414 ~ 423.