

波纹巴非蛤 5 个地理群体的遗传多样性分析

骆 轩 徐小伟 张鹏飞 虞晋晋 黄妙琴 柯才焕*

(厦门大学 海洋与地球学院 福建省海洋生物资源开发利用协同创新中心 福建 厦门 361102)

摘要: 采用形态特征和微卫星分子标记对来自菲律宾(PH)、泰国(TH)、福建云霄(YX)、海南儋州(HN)和广西北海(BH)的 5 个地理群体的波纹巴非蛤(*Paphia undulata*)进行遗传多样性分析.形态差异分析结果显示,国外群体和国内群体形态差异明显:2 个国外群体(PH 和 TH)形态接近,聚为一支;国内支系中,YX 和 HN 群体的形态较近,先聚为一支,而 BH 群体的外部形态与前两者差异较大.Hardy-Weinberg 平衡检验检测到所有群体在 5 个位点上均出现不同程度地偏离平衡.5 个群体间遗传分化指数(F_{ST} , 0.000 5~0.183 1)、基因流值(Nm , 2.230 46~1 066.23)以及分子方差分析(AMOVA, 群体间的变异贡献率为 10.21% $p < 0.000 1$)结果表明,群体间存在中等程度的分化.基于遗传距离的非加权组平均法(UPGMA)聚类分析显示:2 个国外群体和 3 个国内群体分别聚为一支,再聚为一个整体;国内支系中,YX 和 BH 群体先聚为一体,再与 HN 群体聚类.研究结果揭示了波纹巴非蛤较高的遗传多样性水平和中等程度的遗传分化水平,同时也暗示其现有的遗传分化程度受到人类生产活动的干扰.

关键词: 波纹巴非蛤; 遗传多样性; 形态特征; 微卫星; 地理群体

中图分类号: S 968.3

文献标志码: A

文章编号: 0438-0479(2016)05-0637-09

遗传多样性是生物多样性的主要形式之一,多指种内遗传多样性^[1],是生命进化和物种分化的基础,更是评价自然生物资源的重要依据^[2].遗传多样性的高低决定了一个物种抵御恶劣环境的能力和自身进化的潜力.

波纹巴非蛤(*Paphia undulata*)隶属帘蛤科(Veneridae)^[3],是我国东南沿海一种重要的经济贝类,在我国自然分布于浙江南部、福建、广东、海南和广西沿岸海域,俗称“油蛤”、“花蚶”和“花甲螺”^[4].由于营养价值高且经济效益好,波纹巴非蛤现已成为一个优良的海水养殖品种.然而,近年来随着需求的增加和出口量的增大,波纹巴非蛤所面临的采捕压力也逐年增大,其海区自然资源受到了严重破坏.目前,国内外对波纹巴非蛤的研究还主要集中于生物学和生态学特性^[4-7]、增养殖技术^[8-9]、食品应用^[10]以及微卫星标记开发^[11]等方面,有关其遗传多样性的研究鲜有报道.

通过对我国东南沿海各个波纹巴非蛤产区的资源调查发现,市售波纹巴非蛤来源混杂,其中广西北

海(BH)、海南儋州(HN)及福建云霄(YX)几处的波纹巴非蛤几乎占据了整个波纹巴非蛤的市场,并且相互间存在着交换和苗种贸易,可见人类水产活动对其自然状态的干扰强度日渐增大.这种非自然的交流对种质保持是不利的,长此以往将影响我国东南沿海波纹巴非蛤的遗传多样性水平.因此,充分认识波纹巴非蛤群体的遗传多样性现状对其种质资源的合理开发、利用和保护具有重要意义.

贝类的形态学差异建立在一定的遗传基础之上,因而不同地理种群的表型差异也能在一定程度上体现其遗传多样性.虽然已有关于波纹巴非蛤形态差异分析的报道^[12],但结合分子标记分析能更充分反映群体内和群体间的遗传变异水平.微卫星 DNA 标记具有多态性高、重复性好、共显性等优势,已广泛应用于长牡蛎(*Crassostrea gigas*)^[13]、虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)^[14]、中国蛤蜊(*Macra chinensis*)^[15]、栉江珧(*Atrina pectinata*)^[16]、香港巨牡蛎(*Crassostrea hongkongensis*)^[17]和魁蚶(*Scapharca broughtonii*)^[18]等海洋双壳贝类的遗传多样性研究.本研

收稿日期: 2016-05-04 录用日期: 2016-06-23

基金项目: 海洋公益性行业科研专项(201205021-2); 国家贝类产业技术体系项目(CARS-48)

* 通信作者: chke@xmu.edu.cn

引文格式: 骆轩,徐小伟,张鹏飞,等.波纹巴非蛤 5 个地理群体的遗传多样性分析[J].厦门大学学报(自然科学版),2016,55(5): 637-645.

Citation: LUO X, XU X W, ZHANG P F, et al. Genetic diversity analysis of five populations of *Paphia undulata* [J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2016, 55(5): 637-645. (in Chinese)



<http://jxmu.xmu.edu.cn>

究基于形态特征与微卫星标记,分析了波纹巴非蛤的遗传多样性,以期为其种质资源的利用和保护提供基础数据和科学依据.

1 材料与方法

1.1 样品采集与处理

实验样品于2011年12月至2013年12月分别采自泰国(TH)、菲律宾(PH)、YX、HN和BH自然海区,各采样点地理位置如图1所示.每个群体包含的个体数不少于30,活体样本经冰块保鲜运回实验室后,随机选取外壳完好的个体,取其斧足及闭壳肌肌肉样保存于95%(体积分数)乙醇中,以备DNA的提取,壳样经洗净擦干后以备测量.

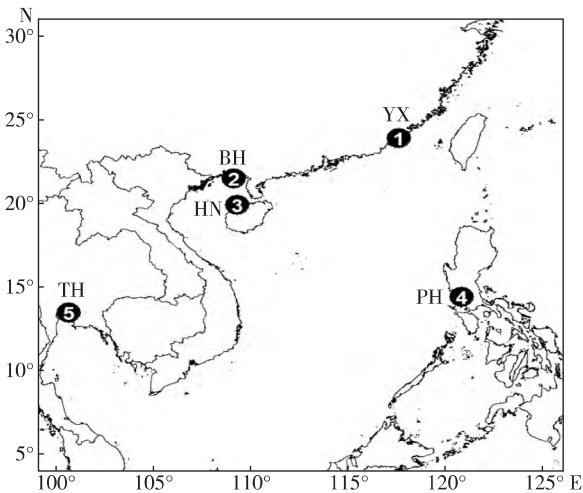


图1 采样点的地理位置 Fig. 1 Locations of the sampling stations

1.2 表观形态参数的测量

采用游标卡尺作为测量工具(精确到0.01 mm),获得壳长(Ls,前端到后端的距离)、壳高(Hs,壳顶到腹缘的距离)、壳宽(Ws,左右两壳面间最大的距离)、韧带长(LH,铰合部背面褐色几丁质韧带的长度)、前端-腹缘距(Af,前端到腹缘的距离)、后端-腹缘距(Ap,后端到腹缘的距离)6个数量性状,各测量部位见图2.参考刘建勇等[12]用电子天平(精确到0.01 g)称得壳质量(ms,去除软体部分并吸干表面水分后的壳质量).

1.3 基因组DNA的提取

采用北京天根生化科技有限公司的海洋动物组织基因组DNA提取试剂盒提取波纹巴非蛤的基因组

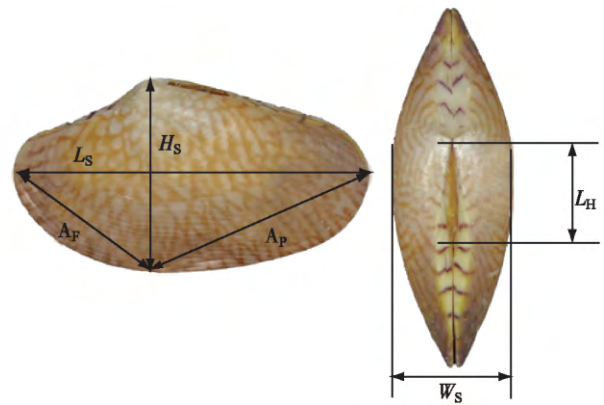


图2 波纹巴非蛤形态学测量 Fig. 2 Morphological measurements of P. undulata

DNA,用1%(质量分数)的琼脂糖凝胶电泳检测其纯度,用微量紫外分光光度计(ND 2000)检测其浓度,随后将其稀释到适合PCR的最佳浓度,置于4℃冰箱中保存备用.

1.4 微卫星引物的合成

本研究采用8对能够在5个波纹巴非蛤群体中进行有效扩增、结果稳定且重复性高的微卫星引物(表1),并由上海生工生物工程股份有限公司合成.

1.5 PCR扩增及产物检测

每个群体随机选取32个个体用于PCR反应.PCR体系为20 μL,内含10×PCR Buffer(含Mg2+) 2 μL, Taq酶(5 U/μL) 0.16 μL,正、反向引物(10 mmol/L)各0.8 μL, dNTPs(10 mmol/L) 1.6 μL,用ddH2O补足至20 μL.PCR反应条件为:94℃预变性5 min;94℃变性30 s,退火30 s,72℃延伸30 s,30个循环;72℃延伸7 min;10℃保存.将PCR产物送至上海生工生物工程股份有限公司,使用ABI公司的3730测序仪进行毛细管电泳测序分析.

1.6 数据分析

1.6.1 形态数据分析

为消除不同群体波纹巴非蛤规格大小对形态特征造成的影响,选用比例性状作为形态特征校正值来衡量各群体间的差异,共选用5个比例性状(分别为Hs/Ls, Ws/Ls, LH/Ls, ms/Ls和Af/Ap),采用SPSS 20.0软件进行分析.利用聚类分析、主成分分析和判别分析等多种多元统计分析方法对5个波纹巴非蛤群体的形态差异进行研究.

1.6.2 微卫星数据分析

利用POPGENE32[21]计算各位点的Shannon's多

表 1 8 对微卫星引物的特征
Tab. 1 Characterization of 8 microsatellite primer pairs

引物名称	引物序列(5'→3')	退火温度/℃	核心重复序列	目的片段长度/bp
P15 ^[11]	F: TATGGTGTGGTGTGGTGTGG R: CACTCGAACACGTCAACGC	56	(TGGCG) ₆	94~146
P22 ^[11]	F: TGTAATAATGTATGAATGTATGTGCG R: AGTGCTCTTCTGATGATGCC	54	(GT) ₈	264~356
P34 ^[11]	F: GGTATGGTGTGGTGTGGTGT R: ACTCGAACATGTCAACGCC	57	(TGGCG) ₆	90~144
P48 ^[11]	F: TCAGGAGCATTTTGGTTTTATG R: TGTGCTACCTACCTACCGACC	50	(GT) ₈ (GTGC) ₉ N(GC) ₆ N(GT) ₂₂	202~294
P51 ^[11]	F: TGGATTGCTGTGTCGGTAGA R: TTGGCTATCGTGTAGTTATCA	54	(GT) ₈ (GTGC) ₉ N(GC) ₆ N(GT) ₂₃	180~276
P67 ^[11]	F: TGTGTGTCGGTAGGTCGGTA R: TCCATGTTATGGTTCAAGGAAG	54	(AT) ₇	262~288
P79 ^[19]	F: GCCAAGGGACACTACACAGAGGG R: TGGGGATGGGACAACGAAAATG	60	(CA) ₃	180~219
P8R ^[20]	F: ACAAGGTGATGTGAGGTG R: TCTGTCATCACTGAAGGC	55	(AT) ₅	139~168

态信息指数(PIC)、等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、固定指数(F_{is})、Hardy-Weinberg 遗传偏离指数(HWD)、群体间的遗传分化系数(F_{ST})、群体间的遗传距离(GD) 和遗传相似性系数(GI)。采用 MEGA 6.0^[22] 软件根据已获得的 GD,对 5 个群体进行聚类分析构建亲缘关系图。

利用 Arlequin 3.5 软件^[23]对 5 个群体间和群体内的遗传变异进行分子方差分析(analysis of molecular variance, AMOVA) 探讨群体间的遗传结构。

2 结果与分析

2.1 形态特征分析

2.1.1 表观形态参数测量

5 个波纹巴非蛤群体的表观形态特征参数测量结果如表 2 所示。

2.1.2 聚类分析

聚类分析(图 3)表明:国内 3 个群体和国外 2 个群体差异明显,各自聚成一支;其中, YX 群体与 HN 群体距离最短, TH 群体与 PH 群体次之,说明两组形态都比较接近;而 BH 群体与 YX、HN 群体趋异程度

较大。

2.1.3 主成分分析

对所有样本的 5 个比例性状进行主成分分析后,得到 2 个主成分 PC1 和 PC2,贡献率分别为 38.114% 和 29.221%,累计贡献率为 67.335%,即 2 个主成分可以解释不同群体之间形态差异的 67.335%(表 3)。在 PC1 中, H_s/L_s 的影响最大,贡献率为 87.0%; W_s/L_s 次之,贡献率为 76.6%。PC2 中 m_s/L_s 影响最大,贡献率为 79.4%。

PC1 和 PC2 的散布图见图 4。由图可见 5 个群体大体分成 2 簇:左上方主要为 2 个国外群体的重叠区,几乎难以区分;右下方则为 3 个国内群体的重叠区,其中 YX 与 HN 重叠区明显,而 BH 群体与前两者趋异程度更大。该分布规律与聚类分析结果一致。

2.1.4 判别分析

通过逐步判别分析,筛选出 4 个比例性状的特征值建立 5 个波纹巴非蛤群体的判别函数。

X_1, X_2, X_3, X_4 分别代表 $H_s/L_s, W_s/L_s, L_H/L_s, m_s/L_s$ 4 个比例性状的特征值。

5 个群体的费歇尔判别公式如下:

$$Y_{PH} = 3.289.824X_1 + 123.88X_2 + 448.522X_3 - 652.233X_4 - 988.107,$$

<http://jxmu.xmu.edu.cn>

表2 波纹巴非蛤5个地理群体样本数及形态测量指标

Tab. 2 The sample size and morphological indices of five *P. undulata* populations

群体	<i>n</i>	<i>L_S</i> /mm	<i>H_S</i> /mm	<i>W_S</i> /mm	<i>L_H</i> /mm	<i>A_F</i> /mm	<i>A_P</i> /mm	<i>m_S</i> /g
TH	50	45.05±2.05	25.57±1.20	13.80±0.81	13.19±0.97	22.06±1.56	29.31±1.66	4.39±0.87
PH	50	46.20±2.38	26.17±1.28	14.04±0.77	13.75±0.97	23.26±1.39	29.90±1.96	4.27±0.63
YX	35	37.99±1.93	22.03±1.16	12.58±0.63	11.34±0.84	19.74±1.58	23.89±1.44	2.70±0.45
HN	35	40.11±1.84	22.90±1.03	13.32±0.66	11.81±0.75	20.85±1.39	25.50±1.63	3.35±0.50
BH	36	43.12±2.57	24.11±1.58	13.65±0.86	11.56±0.99	22.34±1.58	27.40±2.14	3.15±0.70

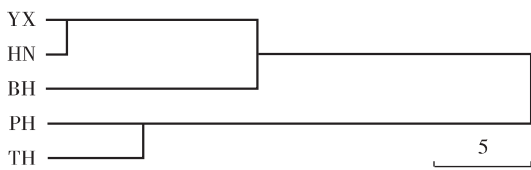


图3 波纹巴非蛤5个地理群体聚类分析图

Fig. 3 Diagram of cluster analysis of five *P. undulata* populations

$$Y_{TH} = 3288.987X_1 + 110.671X_2 + 482.855X_3 - 692.221X_4 - 989.962,$$

$$Y_{YX} = 3267.434X_1 + 456.939X_2 + 465.905X_3 - 968.773X_4 - 1060.37,$$

$$Y_{HN} = 3176.063X_1 + 485.317X_2 + 442.205X_3 - 858.268X_4 - 1018.68,$$

$$Y_{BH} = 3186.31X_1 + 409.991X_2 + 346.032X_3 - 868.656X_4 - 972.148.$$

表3 波纹巴非蛤形态特征的主成分的负荷值和贡献率

Tab. 3 Contribution and load of principal components on morphological characteristics of *P. undulata*

参数	负荷值	
	PC1	PC2
<i>H_S</i> / <i>L_S</i>	0.870	0.044
<i>W_S</i> / <i>L_S</i>	0.766	-0.376
<i>L_H</i> / <i>L_S</i>	0.640	0.497
<i>m_S</i> / <i>L_S</i>	0.196	0.794
<i>A_F</i> / <i>A_P</i>	0.337	-0.664
主成分值	1.906	1.461
贡献率/%	38.114	29.221
累计贡献率/%	67.335	

判别分析结果如表4所示:判别准确率 *P*₁ 为 54.0%~80.0%,判别准确率 *P*₂ 为 18.0%~52.0%,5

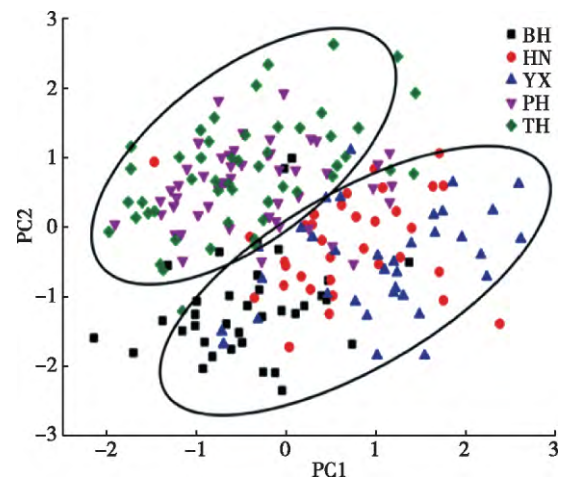


图4 波纹巴非蛤5个地理种群的第一、二主成分的散布图

Fig. 4 Scatter diagram for PC1 and PC2 of five *P. undulata* populations

个群体的综合判别准确率为 65.0%。

表4 波纹巴非蛤5个群体的判别分析结果

Tab. 4 Discriminant results of five *P. undulata* populations

种群	<i>n</i>	判别准确率/%		预测分类				
		<i>P</i> ₁	<i>P</i> ₂	PH	TH	YX	HN	BH
PH	50	54.0	52.0	27	20	0	0	3
TH	50	58.0	45.8	19	29	0	2	0
YX	35	80.0	19.9	0	1	28	2	4
HN	35	65.7	18.0	1	1	5	23	5
BH	36	75.0	31.7	4	0	2	3	27
合计	206	65.0		51	51	35	30	39

2.2 微卫星数据分析

2.2.1 群体内的遗传多样性

本研究采用8个微卫星分子标记对5个波纹巴非蛤群体共160个个体进行遗传多样性分析.由表5可知:5个群体的遗传差异较小,平均 *N_a* 为 7.500~

12.252, 平均 N_e 为 3.169~3.588, 平均 H_o 为 0.963~0.986, 平均 H_e 为 0.670~0.706, 平均 PIC 为 1.391~1.648. 综合各遗传多样性指数看, 5 个群体中 TH 群体的遗传多样性最高(平均 H_e 为 0.706, 平均 PIC 为 1.648), HN 群体的遗传多样性最低(平均 H_e 为

0.679, 平均 PIC 为 1.391).

Hardy-Weinberg 平衡检测得到的 HWD 表明, 所有群体除了在 P67、P79、P8R 3 个位点上表现为平衡状态外, 在其他 5 个位点均表现为偏离平衡, 表明 5 个波纹巴非蛤地理群体均不同程度地偏离平衡状态.

表 5 8 个微卫星位点在 5 个波纹巴非蛤群体上的遗传多样性及 Hardy-Weinberg 平衡检验

Tab. 5 Genetic diversity and Hardy-Weinberg equilibrium test in five *P. undulata* populations for 8 microsatellite loci

群体	位点	N_a	N_e	H_o	H_e	PIC	HWD
PH	P15	17	3.243	0.922	0.697	1.887	1.000 0
	P22	19	3.665	1.000	0.733	2.001	1.000 0
	P34	16	3.693	1.000	0.735	1.981	1.000 0
	P48	17	5.218	1.000	0.815	2.090	0.980 9
	P51	15	4.903	0.968	0.803	2.019	0.009 9
	P67	4	2.130	1.000	0.535	0.831	0.000 0
	P79	4	2.738	1.000	0.640	1.126	0.000 0
	P8R	3	2.659	1.000	0.629	1.038	0.000 0
	平均值		11.875	3.531	0.986	0.698	1.622
TH	P15	13	3.449	0.984	0.716	1.778	0.944 8
	P22	22	4.178	0.969	0.767	2.201	1.000 0
	P34	11	3.199	0.938	0.693	1.675	0.703 7
	P48	20	4.903	0.984	0.802	2.170	1.000 0
	P51	20	5.172	0.922	0.813	2.229	1.000 0
	P67	6	2.722	1.000	0.638	1.138	0.000 0
	P79	3	2.667	1.000	0.630	1.040	0.000 0
	P8R	3	2.412	1.000	0.590	0.956	0.000 0
	平均值		12.252	3.588	0.975	0.706	1.648
YX	P15	14	3.362	1.000	0.708	1.706	0.988 9
	P22	19	3.675	1.000	0.734	2.012	1.000 0
	P34	11	2.736	0.844	0.640	1.511	0.990 7
	P48	15	4.881	0.891	0.804	1.963	0.023 7
	P51	20	3.579	0.968	0.727	2.003	0.751 2
	P67	5	2.556	1.000	0.614	1.098	0.000 0
	P79	3	2.253	1.000	0.561	0.885	0.000 0
	P8R	3	2.332	1.000	0.576	0.923	0.000 0
	平均值		11.251	3.172	0.963	0.670	1.513
HN	P15	7	3.039	1.000	0.677	1.395	0.000 0
	P22	14	3.529	1.000	0.723	1.824	0.996 3
	P34	10	2.521	0.828	0.608	1.356	0.939 9
	P48	5	4.571	1.000	0.833	1.56	0.151 4
	P51	14	4.188	1.000	0.773	1.975	0.998 1

续表

群体	位点	N_a	N_e	H_o	H_e	PIC	HWD
	P67	4	2.556	1.000	0.614	1.069	0.000 0
	P79	3	2.605	1.000	0.621	1.022	0.000 0
	P8R	3	2.340	1.000	0.581	0.926	0.000 0
	平均值	7.500	3.169	0.979	0.679	1.391	
BH	P15	10	3.320	1.000	0.704	1.584	0.056 1
	P22	20	3.592	0.983	0.728	2.022	1.000 0
	P34	13	2.884	0.875	0.658	1.624	1.000 0
	P48	10	4.667	1.000	0.800	1.835	0.748 5
	P51	19	4.382	0.980	0.780	2.146	1.000 0
	P67	4	2.742	1.000	0.640	1.141	0.000 0
	P79	3	2.304	1.000	0.570	0.910	0.000 0
	P8R	3	2.355	1.000	0.581	0.933	0.000 0
	平均值	10.252	3.281	0.980	0.683	1.524	

2.2.2 群体间的遗传分化及基因流(Nm)分析

AMOVA 分析结果(表6)表明,10.21%的遗传差异来源于群体间,且达到极显著水平($p < 0.0001$),17.77%来自于群体内,个体间的遗传变异占总遗传变异的72.02%。5个群体间两两分化的 F_{ST} 和 Nm 见表7。 F_{ST} 介于0.0005~0.1831之间,除YX与BH群体外,其余两两群体间的遗传分化均达到极显著水平($p < 0.0001$)。3个国内群体(YX、HN和BH)和2个国外群体(PH和TH)两两比较的 F_{ST} 比国内群体间两两比较的 F_{ST} 更大,表明国内和国外的波纹巴非蛤群体遗传分化显著。YX与BH群体的 F_{ST} 最小,且差异不显著。5个群体间两两的 Nm 均为正值,YX与BH群体间的估测值高达1066.23,其次为HN与BH群体, Nm 为9.95593,表明5个群体间均存在较频繁的基因交流,分化水平有限(F_{ST} 最大仅为0.1831)。

表6 波纹巴非蛤5个地理群体的 AMOVA
Tab.6 AMOVA of five *P. undulata* populations

变异来源	自由度	变异组分	变异贡献率/%
群体间	4	0.18964 ^{Va}	10.21 ^a
群体内	155	0.33004 ^{Vb}	17.77
个体间	160	1.33750 ^{Vc}	72.02
总计	319	1.85718	

注: Va, Vb, Vc 表示差异显著; a 表示 $p < 0.0001$ 。

2.2.3 遗传距离与聚类分析

按照1978年Nei^[24]提出的方法计算出5个群体

之间的GD和GI,结果(表7)表明:YX群体和BH群体的GD最近(0.0080),遗传一致性最高(GI为0.9920);PH群体和HN群体的GD最远(0.1153),遗传一致性最低(GI为0.8911)。

表7 波纹巴非蛤5个地理群体间的遗传分化系数、基因流、遗传相似性指数和遗传距离

Tab.7 Coefficient of gene differentiation (F_{ST}), gene flow (Nm), genetic identity (GI) and genetic distance (GD) among five *P. undulata* populations

比较群体	F_{ST}	Nm	GI	GD
PH-TH	0.0508 ^{**}	9.34387	0.9534	0.0477
PH-YX	0.1655 ^{**}	2.52155	0.9054	0.0994
PH-HN	0.1831 ^{**}	2.23046	0.8911	0.1153
PH-BH	0.1284 ^{**}	3.39294	0.9273	0.0755
TH-YX	0.1264 ^{**}	3.45488	0.9187	0.0848
TH-HN	0.1593 ^{**}	2.63858	0.8999	0.1055
TH-BH	0.0949 ^{**}	4.76849	0.9444	0.0572
YX-HN	0.0511 ^{**}	9.28519	0.9719	0.0285
YX-BH	0.0005	1066.23	0.9920	0.0080
HN-BH	0.0478 ^{**}	9.95593	0.9684	0.0321

注: ** 表示 $p < 0.0001$ 。

根据各群体之间的GD构建UPGMA树,聚类分析结果(图5)表明:国外的PH与TH群体GD较近聚成一支;国内的BH与YX群体GD较近,首先聚成一支,再与HN群体聚为一类。

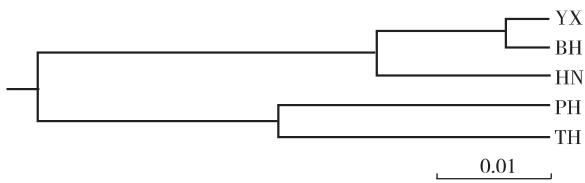


图5 波纹巴非蛤 5 个地理群体的
UPGMA 聚类分析图

Fig. 5 The UPGMA phylogenetic dendrogram of
five *P. undulata* populations

3 讨论

3.1 5 个地理群体的形态差异

本研究中, 波纹巴非蛤 5 个地理群体形态特征的主成分分析与聚类分析结果基本一致, 5 个群体大致分成两簇, 簇内群体间的主成分分别存在不同程度的重叠区域。国外 2 个群体 (PH 与 TH) 重叠率较高, 形态难以区分, 国内 3 个群体中 YX 与 HN 的重叠明显, 而 BH 群体与二者趋异较大, 该结果与刘建勇等^[12]对波纹巴非蛤的群体分析结果一致, 说明几个地理群体之间在形态上既相似又存在明显的差异。然而, 本研究构建的 2 个主成分的累计贡献率仅为 67.335%, 不符合累计贡献率大于或等于 85% 的要求, 说明用几个相互独立的因子来概括波纹巴非蛤不同群体间的形态差异并不适宜。

本研究的判别分析中, H_s/L_s 、 W_s/L_s 、 L_H/L_s 和 m_s/L_s 4 个比例性状进入判别式, 具有较大的判别贡献。对 5 个群体的判别准确率 P_1 为 54.0%~80.0%, 判别准确率 P_2 为 18.0%~52.0%, 其综合判别率为 65.0%, 低于翡翠贻贝 (*Perna viridis* (Linnaeus))^[25]、毛蚶 (*Scapharca subcrenata* (Lischke))^[26]、真曲巴非蛤 (*Paphia euglypta*)^[27] 和缢蛏 (*Sinonovacula constricta*)^[28]。但判别准确率也受判别种群跨度和差异复杂程度影响, 低判别准确率可能与种内判别有关。判别结果与实际结果基本相符, 说明所构建的判别函数是基本可靠的。

3.2 5 个地理群体的遗传多样性

本研究所选用的 8 个微卫星位点的 PIC 为 0.831~2.229, 平均值为 1.391~1.648, 根据 Botstein 等^[29]提出的标准, 属于高多态性 (PIC>0.5), 表明所用标记可提供丰富的遗传信息, 适用于波纹巴非蛤遗传多样性的分析; H_e 和 N_a 能体现出群体的遗传变异

程度, H_e 越高则遗传变异越大, 遗传信息含量丰富。波纹巴非蛤 5 个地理群体的平均 H_e 为 0.670~0.706, 平均 N_a 为 7.500~12.252, 高于魁蚶^[30] 和缢蛏^[31] 群体, 与皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai*)^[32] 和合浦珠母贝 (*Pinctada martensii*)^[33-34] 相似, 表明其遗传多样性仍处于较高水平。

3.3 形态聚类与微卫星数据聚类的比较

一般认为, 在聚类分析中, 聚类的先后顺序反映了物种或种群间亲缘关系的远近。本研究中, 形态聚类和微卫星数据聚类的结果具有一定的相似性, 均分为 2 个独立的分支, 分别对应国外群体和国内群体, 这说明形态学表型的差异是建立在一定的遗传基础之上的。然而, 二者也有细微差别: 在国内群体分支中, 形态聚类的结果是 YX 群体先与 HN 群体聚为一支, 然后再与 BH 群体聚为一支; 而微卫星数据聚类的结果则是 YX 群体先与 BH 群体聚为一支, 再与 HN 群体聚为一支。波纹巴非蛤为浅海底栖贝类, 其生活史要经历幼虫浮游期, BH 和 HN 同处北部湾内, BH 群体与 HN 群体间基因交流的可能性较大, 因此, 不论是形态聚类还是微卫星数据聚类, 理论上, 都应该是 BH 群体与 HN 群体间先聚为一支, 而后再与 YX 群体聚为一支。然而, 形态聚类和微卫星数据聚类的结果均未与理论情况相符合。究其原因, 可能是由于波纹巴非蛤在我国广泛分布于福建浅海内湾、广东沿岸、雷州半岛西面、海南浅海和北部湾海域, 是一种具有较高市场地位的经济贝类^[4], 而 BH、HN 和 YX 等作为海水贝类养殖发达区, 相互之间存在频繁的人为引种、贸易及增养放流等活动^[34-35]。因此, 波纹巴非蛤国内群体的遗传特点极有可能受到了人为活动的影响。

虽然波纹巴非蛤 5 个地理群体间存在一定程度的遗传分化, 但从两两群体间的 F_{ST} 值 (0.0005~0.1831) 以及群体间的 N_m (YX 与 BH 群体间的估测值高达 1066.23) 可知, 波纹巴非蛤各群体间存在着充分的基因交流。而 YX 和 BH 群体间的 GD 最近 (0.0080), GI 最高 (0.9920), 更是从侧面说明广西和福建两省的水产贸易活动较为频繁, 以至于波纹巴非蛤的 BH 和 YX 群体的 GD 相对更近。

从形态聚类和微卫星数据聚类特点出发, 本研究推断波纹巴非蛤的遗传多样性特点在一定程度上受到了人为活动的干扰。尽管本研究监测到的波纹巴非蛤遗传多样性仍处于较高水平, 但考虑到人类活动对海洋生物遗传多样性的影响潜力, 建议在在今后资源管理和利用中, 应加强对波纹巴非蛤的遗传资源的保护, 维持原种特性, 避免因人为的基因渗透导致遗

<http://jxmu.xmu.edu.cn>

传多样性的丢失,以保证波纹巴非蛤种质资源的可持续利用。

参考文献:

- [1] GRAY J S. Marine biodiversity: patterns, threats and conservation needs [J]. *Biodiversity & Conservation*, 1997, 6(1): 153-175.
- [2] 崔朝霞, 张恒, 宋林生, 等. 中国重要海洋动物遗传多样性的研究进展 [J]. *生物多样性*, 2011, 19(6): 815-833.
- [3] 庄启谦. 中国动物志: 软体动物门 [M]. 北京: 科学出版社, 2001: 278.
- [4] 左江鹏, 黄旭忠, 黄雪芬, 等. 波纹巴非蛤的生物学及养殖技术 [J]. *水产科技*, 2008, 35(4): 16-18.
- [5] 陈坚, 柯爱英, 范景水, 等. 波纹巴非蛤生物学性状及生态习性的初步观察 [J]. *浙江海洋学院学报(自然科学版)*, 2008, 26(3): 343-346.
- [6] LEETHOCHAVALIT S, CHALERMWAT K, UPA-THAME S, et al. Occurrence of *Perkinsus* sp. in undulated surf clams *Paphia undulata* from the Gulf of Thailand [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2004, 60(2): 165-171.
- [7] 马庆涛, 林清, 李春晓, 等. 不同因素对深澳湾波纹巴非蛤滤水率的影响 [J]. *热带生物学报*, 2015, 6(1): 5.
- [8] 王万东. 波纹巴非蛤人工育苗技术的初步研究 [J]. *养殖与饲料*, 2010(8): 14-17.
- [9] 黄松木, 方火顺, 吴和平, 等. 云霄礁美海区波纹巴非蛤生物学特性及增殖研究 [J]. *福建水产*, 1984(3): 14-19.
- [10] 关志强, 李敏, 宋小勇, 等. 冻藏条件对文蛤和波纹巴非蛤组织结构影响的实验研究 [J]. *食品与发酵工业*, 2007, 33(1): 147-153.
- [11] 郭昱嵩, 谢子强, 邓岳文, 等. 利用 FIASCO 技术进行波纹巴非蛤微卫星 DNA 标记分离与筛选的研究 [J]. *中国农学通报*, 2012, 28(17): 160-164.
- [12] 刘建勇, 吴继兴, 孙成波. 我国东南沿海 5 个波纹巴非蛤 (*Paphia undulata*) 地理群体的形态差异分析 [J]. *海洋与湖沼*, 2010, 41(1): 114-120.
- [13] LI Q, YU H, YU R. Genetic variability assessed by microsatellites in cultured populations of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in China [J]. *Aquaculture*, 2006, 259(1): 95-102.
- [14] AN H S, LEE Y G, PARK J Y, et al. Genetic characterization of four East Asian giant scallop (*Mizuhopecten yessoensis*) populations using microsatellite markers [J]. *Aquaculture Research*, 2009, 40(5): 619-624.
- [15] NI L H, LI Q, KONG L F. Microsatellites reveal fine-scale genetic structure of the Chinese surf clam *Macra chinensis* (*Mollusca Bivalvia Macridae*) in Northern China [J]. *Marine Ecology*, 2011, 32(4): 488-497.
- [16] AN H S, LEE J W, DONG C M. Population genetic structure of Korean pen shell (*Atrina pectinata*) in Korea inferred from microsatellite marker analysis [J]. *Genes & Genomics*, 2012, 34(6): 681-688.
- [17] LI L, WU X Y, YU Z N. Genetic diversity and substantial population differentiation in *Crassostrea hongkongensis* revealed by mitochondrial DNA [J]. *Marine Genomics*, 2013, 11: 31-37.
- [18] YU H, GAO S, CHEN A L, et al. Genetic diversity and population structure of the ark shell *Scapharca brough-tonii* along the coast of China based on microsatellites [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2015, 58: 235-241.
- [19] 孙宏, 李佳凯, 武祥伟, 等. 基于转录组测序的波纹巴非蛤微卫星标记研究 [J]. *集美大学学报(自然科学版)*, 2015, 20(4): 260-265.
- [20] 闫喜武, 虞志飞, 秦艳杰, 等. 菲律宾蛤仔 EST-SSRs 标记开发及不同地理群体遗传多样性 [J]. *生态学报*, 2011, 31(15): 4190-4198.
- [21] YEH F C, YANG R, BOYLE T J, et al. POPGENE 32, Microsoft Windows-based freeware for population genetic analysis [M]. Alberta: Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, 2000: 153-156.
- [22] TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, 30(12): 2725-2729.
- [23] EXCOFFIER L, LISCHER H E L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2010, 10(3): 564-567.
- [24] NEI M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. *Genetics*, 1978, 89(3): 583-590.
- [25] 王庆恒, 师尚丽, 杜晓东, 等. 翡翠贻贝三个野生种群形态性状的差异分析 [J]. *广东海洋大学学报*, 2009, 29(6): 7-11.
- [26] 宋菲菲. 山东近岸毛蚶群体的形态学和遗传学研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013: 44-58.
- [27] 刘建勇, 孙成波, 李文, 等. 我国南海 4 个真曲巴非蛤自然种群的形态差异分析 [J]. *热带生物学报*, 2010, 1(1): 72-77.
- [28] 刘达博, 牛东红, 姜志勇, 等. 缢蛭 7 群体的形态差异与判别分析 [J]. *海洋渔业*, 2009, 31(4): 363-368.
- [29] BOTSTEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M, et al. Construction of a genetic-linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. *American Journal of Human Genetics*, 1980, 32(3): 314-331.
- [30] 田吉腾, 刘志鸿, 杨爱国, 等. 魁蚶 4 个地理群体遗传多样性微卫星分析 [J]. *渔业科学进展*, 2013, 34(6): 59-67.

<http://jxmu.xmu.edu.cn>

- [31] 刘博, 邵艳卿, 王侃, 等. 4 个缢蛏群体遗传多样性和系统发生关系的微卫星分析 [J]. 海洋科学, 2013, 37(8): 96-102.
- [32] 李莉, 孙振兴, 杨树德, 等. 用微卫星标记分析皱纹盘鲍群体的遗传变异 [J]. 遗传, 2006, 28(12): 1549-1554.
- [33] 曲妮妮. 合浦珠母贝微卫星 DNA 标记分离与遗传多样性研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2008: 42-52.
- [34] 彭敏, 陈秀荔, 蒋伟明, 等. 企鹅珍珠贝不同地理群体遗传多样性的 AFLP 分析 [J]. 水生生物学报, 2012, 36(1): 102-108.
- [35] 严加坤, 杨爱国, 周丽青, 等. 基于线粒体 16S rRNA 基因研究 5 个栉江珧野生群体的遗传多样性 [J]. 海洋科学, 2013, 37(2): 36-42.

Genetic Diversity Analysis of Five Populations of *Paphia undulata*

LUO Xuan, XU Xiaowei, ZHANG Pengfei, YU Jinjin, HUANG Miaoqin, KE Caihuan*

(Fujian Collaborative Innovation Center for Exploitation and Utilization of Marine Biological Resources ,
College of Ocean & Earth Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102, China)

Abstract: Genetic diversity of five populations of *Paphia undulata* sampled from Philippines (PH), Thailand (TH), Fujian Yunxiao (YX), Hainan Danzhou (HN) and Guangxi Beihai (BH) was studied using the morphological variation analysis and 8 micro-satellite markers. The morphological variations showed significant differences between the Chinese group and the exotic group. Within the Chinese group, the samples from YX and HN populations were rather similar in morphology, whereas BH population differed greatly from the above two populations. Meanwhile, significant departures from Hardy-Weinberg equilibrium were observed in 5 of the 8 microsatellite loci in all the 5 populations. The lines of F_{ST} (0.000 5 to 0.183 1), Nm (2.230 46 to 1.066. 23) and AMOVA analysis (10.21% of genetic variation was distributed within groups with the significant value $p < 0.000 1$) across all populations indicated that there was medium level of divergence among the 5 *P. undulata* populations. The UPGMA clustering tree based on genetic distance demonstrated that the populations of PH and TH clustered into one group and the other three Chinese populations clustered into one other group. Within the Chinese group, the HN population clustered into one group, while the populations of YX and BH clustered together, which indicated that the YX population was more closely related to the BH population. In this study, high levels of genetic diversity within populations and moderate levels of genetic differentiation among populations were presented for *P. undulata*. Our data also revealed that the genetic pattern of *P. undulata* was likely to be disturbed by human-mediated passive dispersal via aquaculture activities. These results would provide scientific basis for the conservation and reasonable utilization of natural resources of *P. undulata*.

Key words: *Paphia undulata*; genetic diversity; morphological traits; microsatellites; population