

青蛤两个异域种群的遗传多样性与分化研究

潘宝平¹ 宋林生² 卜文俊¹ 孙金生³

(1. 南开大学生命科学学院, 天津 300071; 2. 中国科学院海洋研究所, 青岛 266071; 3. 天津市水产研究所, 天津 300221)

摘要: 利用 RAPD 技术对分布于中国辽宁庄河(LZ)及广东惠东(GH)的两个青蛤(*Cyclina sinensis*)野生种群遗传多样性及其遗传分化进行了分析。22 个 10 碱基引物从两个种群分别扩增到 179 和 181 条扩增谱带, 全部扩增片段长度在 210—2850bp 之间。根据扩增结果计算出两个种群的多态位点比例(P)分别为 76.92% 和 81.31%, 平均杂合度(H)分别为 0.2815 和 0.3012。两种群间遗传距离(D)和近交系数(F_{st})分别达到 0.103 及 0.1997, 结果表明两个异域种群不但遗传多态性较高, 而且出现了明显的种群分化现象。文章还初步讨论了青蛤种群分化的机制、遗传结构与异地引种关系等问题。

关键词: 青蛤; RAPD; 遗传多样性; 种群分化

中图分类号: Q789 文献标识码: A 文章编号: 1009-3207(2005)04-0372-07

青蛤(*Cyclina sinensis* Gmelin)是研究开发的海产养殖贝类,它具有肉质鲜美、广温广盐性分布、养殖产出率高、离水后存活时间长等集产业化和商品化的共同优点^[1]。从现有的国内外文献看来,国内外有关双壳类种群遗传结构的研究主要在牡蛎、扇贝等已形成规模化养殖的类群;如 Orbach 等^[2]利用 mtDNA 的 RFLP 分析了虾夷扇贝(*Patinpecten yessoensis*)分布在西伯利亚的种群遗传多态性。Hare 等^[3]对美洲牡蛎(*Crassostrea virginica*)的种内渐变群进行了遗传结构分析。陈再忠等^[4]对栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)三个自然群体遗传多样性进行了初步研究。潘洁等^[5]利用 AFLP 对分布在中国、韩国的栉孔扇贝三个种群进行了多态性比较等。对于青蛤的种群遗传多样性及种群间的遗传分化问题的研究尚未见任何报道。此外,目前国内外有关经济贝类的种群遗传结构研究主要目的是寻找造成品种衰退、抗逆性变差、病害侵袭等养殖问题的原因,但这些工作都是在不甚了解养殖对象的种质特征和遗传背景的情况下已开展了大规模养殖活动,当发现养殖对象出现问题后进行的跟踪性研究。由于青蛤正

处于开发养殖阶段,近年来只在我国的江苏、福建、天津等地进行了人工育苗和工厂化养殖的探索^[6],尚未形成规模化的养殖产业。因此,本研究对于搞清青蛤遗传资源的状况、良种开发、异地引种、品系评估及养殖区规划等问题具有实际意义。另外,由于青蛤属中国沿海广布的习见贝类^[7],其分布区自北起辽宁、南至海南的各个沿海省份均有记录,在日本、朝鲜、越南、菲律宾也有记载。由此看来,搞清青蛤不同种群间的遗传特性对于揭示广布双壳类动物在地域间的种群结构、种群遗传分化及其与生境的演替关系等问题具有一定的理论价值。

1 材料与方法

1.1 材料 试验所用青蛤均为野生个体。于 2003 年 4 月分别采自黄河北部的辽宁省庄河口及南海中部的广东省惠东滨海(以下分别用 LZ 和 GH 表示)。经过严格的形态分类鉴定后,每个种群随机抽取 25 个成熟个体,活体解剖后取闭壳肌组织固定。两组动物的形态特征及栖息地的自然地理特征如表 1、表 2。

收稿日期: 2004-09-01; 修订日期: 2004-10-10

基金项目: 国家重点基础研究 973(No. G1999012008)及天津市高校科技发展项目(No. 020801)资助

作者简介: 潘宝平(1955—),男,江苏溧阳人;天津师范大学副教授;博士研究生。研究方向: 贝类遗传与系统学。E-mail: hsxypb@mail.tjnu.edu.cn

通讯作者: 宋林生, E-mail: lshsong@ms.qdio.ac.cn; 电话 0532-2898552

表 1 青蛤两个种群的形态测量值
Tab. 1 The outside measurement in two populations of *C. sinensis*

种群	平均壳长(mm)	平均壳高(mm)	平均壳宽(mm)	平均重量(g)
LZ	58.4	61.7	38.9	23.6
GH	49.5	51.3	32.2	18.8

表 2 青蛤两个种群栖息地的自然地理条件
Tab. 2 The physical geographic conditions of two populatons of *C. sinensis*

种群	采集地	气候类型	年均气温	年均水温	经度(E)	纬度(N)	底质
LZ	辽宁庄河黑岛	暖温带季风	9.5℃	10.6℃	122°39'E	39°47'N	泥沙
GH	广东惠东稔山	亚热带季风	22.1℃	23.05℃	114°47'E	22°49'N	泥沙

1.2 方法 基因组 DNA 提取: 每个体取 50mg 闭壳肌组织, 在 450μL Buffer 匀浆液(50mmol/L EDTA, 10mmol/L Tris-HCl pH8.0) 中研碎, 加入终浓度为 1% 的 SDS 及 100μg/mL 的蛋白酶 K, 于 55℃水浴中消化 3h。先后用等体积的酚 氯仿: 异戊醇(25: 24: 1) 提取 2 次。加 0.2 体积的 10mol/L 乙酸钠和 2 倍体积预冷的无水乙醇沉淀, 70% 乙醇洗涤两遍后干燥, ddH₂O 溶解。DNA 纯度、浓度用(Beckman DU600, USA) 紫外分光光度仪及琼脂糖电泳检测; 每种群最

终选取 20 个 DNA OD₂₆₀/ OD₂₈₀ 值接近 1.8、电泳后 DNA 无明显降解的个体, 模板 DNA 的 OD₂₆₀值统一平衡为 0.2, 母液置于- 20℃低温柜保存。
引物: 56 种 RAPD 引物在预试验的基础上, 最终选取 22 个谱带清晰、稳定性较好的引物进行扩增, 每种引物均经过重复扩增试验。优选后的 22 种引物包括 Operon 公司、Biotechnology lab of the British Columbia(Canada) 和上海 Sangon 公司产品, 三类引物分别用 OP-、BG-、S 字头表示, 各引物的名称及其序列如表 3 所示。

表 3 用于青蛤种群遗传标记的 RAPD 引物序列
Tab. 3 Sequence of primers for RAPD used to generate markers in populations of *C. sinensis*

引物 Primer	序列 Sequence	引物 Primer	序列 Sequence
OPV01	5'-TGACGCATGG-3'	BC167	5'-CCAATTCACG-3'
OPV02	5-AGTCACTCCG-3'	BC178	5'-CCGTCATTGG-3'
OPV06	5'-ACGCCCAGGT-3'	BC181	5'-ATGACGACGG-3'
OPV08	5'-GGACGGCGTG-3'	S23	5-AGTCAGCCAG-3'
OPV10	5'-GGACCTGCTG-3'	S30	5'-GTCATCGCAG-3'
OPV12	5'-ACCCCCACF-3'	S40	5'-GTTGCGATCG-3'
OPV20	5'-CAGCATGGTG-3'	S43	5'-GTCGCCGTCA-3'
OPI07	5'-CAGCGACAAG-3'	S45	5'-TGAGCGGACA-3'
OPI12	5'-AGAGGGCACA-3'	S104	5'-GGAAGTCGCG-3'
OPI14	5'-TGACGGCGGT-3'	S105	5'-AGTCGTCGCG-3'
OPI19	5'-AATGCGGGAG-3	S108	5'-GAAACACCCG-3'

PCR 反应体系: 25μL 体系含 10× buffer 2.5 μL, dNTP 100 μmol/L, MgCl₂ 2mmol/L, Taq 聚合酶 1U, 引物 25ng, 模板 DNA 20ng, 加 ddH₂O 至 25μL。在 PTG-

100(USA) PCR 仪上扩增, 反应条件为: 94℃变性 5min 后进行 45 个循环, 每循环包括 94℃ 1min, 36℃ 1min, 72℃ 2 min, 最后于 72℃延伸 10 min。每次反

应均设不含模板 DNA 的空白对照。PCR 产物在 1.5% 琼脂糖凝胶中经电泳分离, EB 染色后在凝胶成像系统观察并拍照。

数据处理: 电泳后的扩增谱带数据利用 *Mark P. Miller* 的种群分析 TFGA(Tools For Population Genetic Analyses) 软件包处理。将每一条带的迁移位置记为一个位点, 按照 1 出现、2 缺失、0 不能确定三种方式输入微机。群体多态位点比例(*P*) 根据 *Ayala et al.* 1984^[8] 定义进行推算; $P = \frac{\text{该群体的多态位点数}}{\text{所测位点总数}} \times 100\%$ 。群体平均杂合度(*H*) 参考 *Nei*^[9] 方法, 用 Shannon 多样性指数进行量化; $H = -\sum (1 - \sum p_i^2) / n$; 其中, p_i 为第 *i* 个等位基因的频率。群体间遗传距离(*D*) 根据 *Lynch*^[10] 的方法推算; 种群间近交系数(*Fst*) 的公式; $Fst = \sigma^2 q / pq$, 其中 *p* 及 *q* 为基因平均频率。 α_q 为基因频率的方差;

$\alpha_q = \sum_{i=1}^n (q_i - q)^2 / N$ 。种群间分化值(*Nem*) 参考 *Wright*^[11] 的公式计算; $Fst = 1 / (4Nem + 1)$ 。

2 结果

试验所用的 22 个 10 碱基引物在两个种群分别扩增到 179 和 181 条扩增谱带, 平均每个引物出现 8.2 个标记, 全部扩增片段长度在 210—2850bp 之间。在两个种群的 RAPD 标记中, LZ 种群有 138 条多态性标记, 多态性位点比例为 76.9%; GH 种群有 147 条多态性标记, 多态性位点比例为 81.3%。在两个种群的 40 个个体中有 24 个标记(占总标记的 24%) 表现为单型性, 认为是青蛤的 RAPD 种质标记。有 2 条扩增谱带仅出现于 GH 种群, 初步认为是该种群的特有标记。

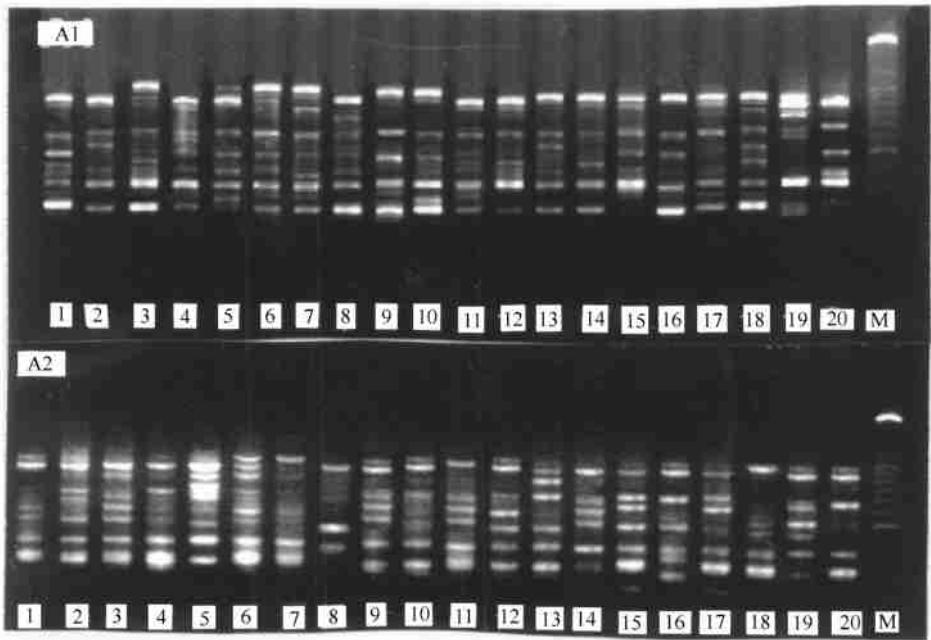


图 1 随机引物 OPV01 对青蛤两个地理种群(A1: LZ 种群; A2: GH 种群) 的扩增结果

Fig 1 RAPD Results from two geography populations of *Cyclina sinensis* amplified with primer OPV01

A1: 引物 OPV01 在 LZ 种群共扩增出 10 条谱带, 其中第 5 条谱带(750bp) 和第 9 条(300bp) 在该种群扩增的产物中表现为共享带(单型性)。第 1 条谱带(2600bp)、第 2 条谱带(2100bp) 和第 10 条谱带(250bp) 虽然扩增的产物含量较高, 但在有些个体出现缺失。其他各带都表现出明显的多态性。图 1 中的照片 A2: 引物 OPV01 在 GH 种群亦扩增出 10 条谱带, 其中仅第 9 条(300bp) 表现为共享带(单型性), 其他谱带和 LZ 种群扩增结果近似, 除具有明显的多态性表现外, 每个体扩增出的带数明显增加

A1: OPV01 primer yielded 10 amplifications fragments from LZ population, the two fragments of 5(750bp) and 9(300bp) showed monotype, there were 3 bands with the high-yield, fragments of 1(2600bp)、2(2100bp) and 10(250bp) but absent in some individual, the other amplified bands were considered as polymorphism in the LZ population The picture of A2 yielded 10 amplifications fragments from GH population, only one fragment of 9(300bp) was monotype, the others bands same as LZ population, but the number of bands more than former

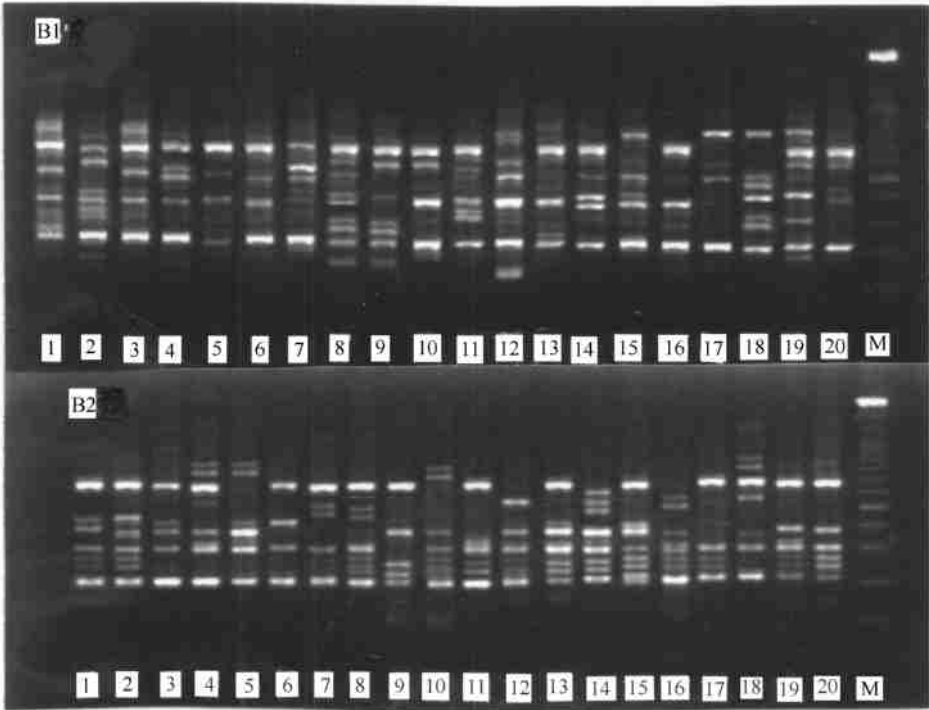


图 2 随机 BC181 引物对青蛤两个地理种群(B1: LZ 种群; B2: GH 种群) 的扩增结果

Fig 2 RAPD Result from two geography populations of *Cyclina sinensis* amplified with primer BC181

B1: 引物 BC181 在 LZ 种群中的扩增结果, 该引物共扩增出 11 条谱带, 其中第 11 条谱带(230bp) 含量较高, 并且为共享带(单型性), 第 3 条谱带(750bp) 虽然含量较高, 但在 5、12、16 个体中缺失, 其他谱带均具有明显的多态性。图 2 中的照片 B2: BC181 在 GH 种群共扩增出 11 条谱带, 第 11 条谱带(230bp) 为共享带, 但基本带的分布与 LZ 种群有所不同, 主要集中在 600bp 以下区域

B1: BC181 primer yielded 11 amplifications fragments from LZ population, the fragments of 11(230bp) was the high yield and monotype band in the population. Although the fragments of 3(750bp) with high-yield, it was absent in the individual 5、12 and 16. The other amplified bands were considered as polymorphism in that population. The picture of B2: The primer of BC181 amplified 11 fragments from GH population, the pattern of bands were different from the LZ population, the most fragments less than 600bp.

将上述两个种群所用 22 种随机引物扩增后的全部结果输入微机, 经 TFPGA 程序处理后的结果如表 4 所示。

表 4 青蛤两个地理种群的 RAPD 图谱遗传分析

Tab. 4 The genetic analysis of patterns of RAPDs from two geography populations of *C. sinensis*

种群	多态位点比例(<i>P</i>)	平均杂合度(<i>H</i>)	遗传相似度(<i>Fij</i>)	遗传距离(<i>D</i>)	近交系数(<i>Fst</i>)	种群分化值(<i>Nem</i>)
LZ	76. 92(99%)	0. 2815	0. 8968	0. 1032	0. 1997	1. 0018
GH	81. 31(99%)	0. 3012				

表 4 的结果显示, 种群 GH 的多态位点比例(*P*) 及平均杂合度(*H*) 大于 LZ 种群, 说明青蛤 GH 种群的遗传多态性较高。在种群遗传学研究中, 遗传距离(*D*) 和近交系数(*Fst*) 常用来表示种群间遗传关系及其分化程度。本研究涉及的两个种群遗传距离达到 0. 103, 说明两个异域种群间已出现较明显的遗传差别。*Fst* 值的范围在 0—1 之间, 在衡量种群

分化程度时, 其数值越大表明种群间的分化程度越显著。根据 Wright^[12] 的界定, 在符合 Hardy-Weinberg 平衡的群体中, $F_{st} = 1/(4Nem + 1)$ 。其中 *Ne* 表示参与种群繁殖的有效个体数, *m* 表示迁移率。当 *Nem* 值小于 1 时, 表示群体间发生显著分化; *Nem* 值在 1—5 之间, 表示群体间发生重要分化; *Nem* 值大于 50 则表明分化不明显。实验结果显示, 青蛤的

两个种群间的 Nem 值为 1.0018, 表明两个异域种群已发生了重要分化并接近显著分化水平。

3 讨论

有关双壳类动物遗传多样性与养殖生产的关系问题, 国内外已有许多相关报道, 如 Pogson *et al*^[12]、Saavedra *et al*^[13]、Shikano *et al*^[14]、李红蕾等^[15]、宋林生等^[16] 分别对扇贝、牡蛎及其他双壳类的种群遗传多态性与经济性状进行了比较研究。上述工作结果普遍表明, 基因位点的杂合性与生长速率、存活率及其他优良性状呈显著的正相关性。如李红蕾利用 RAPD 方法分析栉孔扇贝的韩国野生种群、中国养殖群体及二者杂交的 F_1 代遗传结构时发现, 三种类型的多态位点比例 (P) 依次为 76.5、73.5 和 76.0, 平均杂合度 (H) 分别为 0.283、0.266 及 0.267。由于韩国尚未形成有规模的扇贝养殖业, 其野生种群的遗传多态性明显高于中国的扇贝养殖群体, 并且杂交后的 F_1 代不但遗传多态性比养殖种群提高, 还表现出了明显的生长优势, 在壳高、壳宽及体重上都超过了韩国野生种群。本研究所分析的青蛤两个异域种群均为野生状态, 其多态位点比例 (P) 分别达到 76.92 和 81.31, 平均杂合度 (H) 依次为 0.2715 和 0.3012。尽管青蛤与扇贝在种间有一定的遗传差别, 但仍可显示出两个野生种群所具有的丰富遗传多样性。

中国海域纵跨热带、亚热带和温带三个气候带, 并且海岸带的生境复杂多变。影响海洋动物区系组成的重要因素——温度、盐度、海流等决定着各海区的软体动物类型。早在 1963 年, 张玺等^[17]、刘瑞玉等^[18] 综合上述因素就曾经提出, 中国海洋软体动物分为三个不同的区系区, 以长江口及热带与亚热带两条分界线限定了多数双壳类的分布范围。徐风山指出, 上述界限对于具有暖水性质的广温广盐(或低盐)双壳类的分布不构成限制, 因为这些类群能够顺利通过“屏障”而形成全国近岸都有分布的格局。如长偏顶蛤 (*Modiolus elongata*)、栉江珧 (*Atrina pectinata*)、中国不等蛤 (*Anomia chinensis*)、菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 及青蛤等。目前, 国内外学者对于浅海广布双壳类种群分化问题已有一些报道, 如 Orbach 等在比较了虾夷扇贝的西伯利亚种群和日本的两个野生种群后发现, 西伯利亚种群不但遗传多态性明显高于日本海的种群, 而且出现了明显的遗传差别。刘必谦等应用 RAPD 技术对胶东半岛四个站位的大连湾牡蛎 (*Cassioatrea talienwanensis*) 邻域

种群进行了分析, 结果表明相邻地域种群间的遗传距离不明显, 地理位置相距越远则遗传差异越明显。Wilber 等对海湾扇贝 (*Placopeden magellanicus*) 不同地理种群进行了分析, 发现不同地理种群具有不同的遗传结构。从本实验结果看来, 青蛤的两个异域种群间的遗传距离、近交系数、分化值分别达到 0.1032、0.1997 和 1.0018, 已形成了重要的遗传分化。有关海洋双壳类动物的种群分化机制方面也有一些零星报道; 如 Hare 等在对美洲牡蛎研究中发现其幼虫的浮游可以在一定尺度内使地理群体间进行基因交流。Tremblay 等在对海湾扇贝幼虫浮游路线跟踪研究后指出, 潮汐和海流可以影响扇贝幼虫的浮游路线而造成地理种群间的基因交流(栉孔扇贝的幼虫在附着生活前有 15d 左右的浮游期)。Wright 认为, 种群间分化和种群内变异水平不同主要是遗传漂变和基因流的作用, 种群间遗传分化规模取决于地理隔离作用, 遗传变异水平的高低则与入侵及扩散能力有关。但是, 本实验中青蛤的两个跨气候带种群分布区的纬度差值达到 16.98°两站位直线距离超过 2100km。另外, 青蛤发育从卵裂、浮游幼虫至底栖的匍匐幼虫仅为 5d 左右。而且其成体的运动能力极差, 活动范围不超过 80m(养殖区可不设拦网)。如果排除人为因素, 仅靠幼虫的短期浮游只能进行短距离的扩散, 很难构成长距离的基因交流。另外, 两个异域种群的生境(如水温、气温等自然条件)差别也极为显著。Zeyl 对于广布种的小种群间遗传变异与分化曾提出了三种解释: 即地理隔离、基因库的地理适应、各地种群内的统计学随机事件。由此看来, 搞清青蛤种群间的分化机制还有待于观测更多区域的种群样本。但这里特别值得指出的是, 由于青蛤在长距离种群间已经出现了明显的遗传分化现象, 因此在养殖过程中如需进行远距离引种或采苗时应考虑到种群遗传结构问题。

参考文献:

- [1] Liu W S, Ma Y H, Hu S Y, *et al*. Rearing Venus clam seed, *Cydnina sinensis* (Gmelin), on a commercial scale[J]. *Aquaculture*, 2002, **211**: 109—114
- [2] Orbach E A, Wilbur A E. RFLP analysis of genetic diversity in a Siberian population of the Japanese scallop (*Patinopecten yessoensis*) [J]. *Journal of Shellfish Research*. 1996, **15** (2): 477—479
- [3] Hare M P, Avise J C. Molecular genetic analysis of a stepped multilocus cline in the American oyster (*Crassostrea virginica*) [J]. *Evolution*. 1996, **50** (6): 2305—2315
- [4] Chen Z Z, Yu Z N, Kong X Y, *et al*. Preliminary study on allozyme variation in three natural populations of the scallop (*Chlamys farreri*)

- [M]. *Transactions of the Chinese Society of Malacology* No. ③ Beijing: Ocean press 2001, 53—58[陈再忠, 喻子牛, 孔晓瑜, 等. 栉孔扇贝三个自然群体遗传多样性的初步研究. 贝类学论文集 ③北京: 海洋出版社. 2001, 53—58]
- [5] Pan J, Bao Z M, Zhao Y, *et al.* The genetic diversity of different geographical Zhikong scallop (*Chlamys farreri*) populations [J]. *High Technology Letters*, 2002, **12**(12): 78—82[潘洁, 包振民, 赵洋, 等. 栉孔扇贝不同地理群体的遗传多样性分析. 高技术通讯, 2002, **12**(12): 78—82]
- [6] Liu X Q, Fang J G, Bao Z M, *et al.* Progress in Seed Production And Mariculture Technology in Economically Significant Species of Clams in China [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2003, **38**(4): 114—119 [刘相全, 方建光, 包振民, 等. 中国沿海帘蛤科贝类主要经济种苗与养殖技术研究进展. 动物学杂志, 2003, **38**(4): 114—119]
- [7] Zhuang Q Q. Fauna Sinica Phylum Mollusca Class Bivalvia Family Veneridae [M]. Beijing: Science Press, 2001[庄启谦. 中国动物志 软体动物门 双壳纲 帘蛤科. 北京: 科学出版社, 2001]
- [8] Ayala F J, Kiger Jr J. A Modern Genetics (second edition) [M]. The Benjaming/ Cummings Publishing Company, Inc. 1984
- [9] Nei M. The theory of genetic distance and evolution of human races [J]. *Journal of human genetics*. 1978, **23**(4): 341—369
- [10] Lynch M. The similarity index and DNA fingerprinting [J]. *Mol. Biol. Evol.*, 1990, **7**: 478
- [11] Wright S. Evolution and the Genetics of Population, Variability With and Among Natural population [M]. Chicago: University of Chicago Press. 1978
- [12] Pogson G H, Zouros E. Allozyme and RFLP heterozygosities as correlates of growth rate in the scallop (*Placopeden agellanicus*) a test of the associative overdominance hypothesis [J]. *Genetics*. 1994, **137**(1): 221—231
- [13] Saavedra C, Guerra A. Allozyme heterozygosity, founder effect and fitness traits in a cultured population of the European oyster (*Ostrea edulis*) [J]. *Aquaculture*, 1996, **139**: 203—224
- [14] Shikano T, Chiyokubo T, Nacade M, *et al.* The relationship between allozyme heterozygosity and salinity tolerance in wild and domestic population of guppy (*Poecilia reticulata*) [J]. *Aquaculture*, 2000, **184**: 233—245
- [15] Li H L, Song L S, Liu B Z, *et al.* Study on the genetic structure of different population of *Chlamys farreri* and their hybrids' heterosis [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*. 2002, **33**(2): 188—195[李红蕾, 宋林生, 刘保忠, 等. 栉孔扇贝不同种群的遗传结构及其杂种优势. 海洋与湖沼, 2002, **33**(2): 188—195]
- [16] Song L S, Li J Q, Li H L, *et al.* The genetic structure and genetic differentiation of the natural population and the hatchery stock of *Chlamys farreri* revealed by the RAPD analysis [J]. *High Technology Letters*, 2002, **12**(7): 83—86[宋林生, 李俊强, 李红蕾, 等. 用 RAPD 技术对我国栉孔扇贝野生种群与养殖群体的遗传结构及遗传分化的研究 (J). 高技术通讯, 2002, **12**(7): 83—86]
- [17] Zhang X, Qi Z Y, Zhang F S, *et al.* A preliminary study of the demarcation of marine molluscan faunal regions of and its adjacent waters [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 1963, **5**(2): 124—138[张玺, 齐钟彦, 张福绥, 等. 中国软体动物区系划分的初步研究. 海洋与湖沼, 1963, **5**(2): 124—138]
- [18] Liu R Y, Xu F S. Preliminary studies on the benthic fauna of the Yellow Sea and the east China Sea [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 1963, **5**(4): 306—321[刘瑞玉, 徐风山. 黄、东海底栖动物区系的特点. 海洋与湖沼, 1963, **5**(4): 306—321]
- [19] Xu F S. Bivalve Mollusca of China Seas [M]. Beijing: Science Press, 1997[徐风山. 中国海双壳类软体动物. 北京: 科学出版社, 1997]

STUDIES ON GENETIC DIVERSITY AND DIFFERENTIATION BETWEEN TWO
ALLOPATRIC POPULATIONS OF *CYCLINA SINENSIS*

PAN Bao-Ping¹ SONG Lin-Sheng² BU Wen-Jun¹ and SUN Jin-Sheng³

(1. School of Life Science, Nankai University, Tianjin 300071;
2. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071;
3. Fisheries Institute of Tianjin, Tianjin 300221)

Abstract: The *Cyclina sinensis*(Gmelin) is a important species for mariculture intensive exploitation of the State Tenth five-years plan due to their commercial value of fishery industry and their widely distributing of seashore in China. The paper preliminary discussed genetic diversity and genetic differentiation of wild *Cyclina sinensis* populations distributed in Zhuanghe Liaoning province(LZ) and Huidong Guangdong province(GH) areas, the physical geographic conditions including latitude, climate and temperature of habitat are much different between two populations of *Cyclina sinensis*, the annual temperature of the former area, for instant, is 12. 6 centigrade lower than that of later, and the latitude of the former area is 16. 98 higher than later. In the present study were investigated using the random amplified polymorphic DNA(RAPD) technique to detect the genetic variation and genetic differentiation of two populations. A total of 22 ten-base primers were applied in the RAPD analysis, 179 and 181 fragments ranging from 210 to 2850 bp were amplified from the above two populations respectively. The primer yielded different pattern in terms of length and intensity of amplifications fragments. There were 24 species-special and 2 population-special bands were amplified by the 22 primers from 40 individuals of two populations. After using the TFPGA(Tools For Population Genetic Analyses) package designed by Mark P. Miller(1999) to figure out the proportions of polymorphic amplified fragments(*P*) and value of Average Heterozygosity(*H*) were 76. 92% , 81. 31% and 0. 2815, 0. 3012 respectively. The genetic distance(*D*) and inbreeding index(*F_{st}*) between the two wild populations were 0. 103 and 0. 1997 respectively. The RAPD analysis revealed that the genetic diversity was remarkably high for each group and the population differentiation of *Cyclina sinensis* was significant. The genetic differentiation of the populations and the seed introduction of this species were also discussed in this paper.

Key words: *Cyclina sinensis*; RAPD; Genetic diversity; Population differentiation