

长江中下游褶纹冠蚌 10 个群体 CO₁ 基因序列变异分析

贾名静 李家乐* 牛东红 白志毅

(上海海洋大学 省部共建水产种质资源挖掘与利用教育部重点实验室 上海 200090)

摘要: 以线粒体 CO₁ 基因为分子标记,对长江中下游褶纹冠蚌 (*Cristaria plicata*) 10 个群体共 200 个个体的遗传多样性进行了研究。获得了 620 bp 的同源序列, A+T 的平均含量为 60.1%, 明显高于 G+C 含量 (39.9%), 有 105 个核苷酸变异位点, 占全部碱基数的 17%, 转换和颠换之比达到 8.7, 检测到了 58 个单倍型 (GenBank 登录号: EU698893 ~ EU698950), Hap-5 是主体单倍型, 占总个体数的 41%。褶纹冠蚌鄱阳湖群体 (PY) 平均核苷酸差异数和核苷酸多样性指数均最高, 分别为 25.426 和 0.041 01, 太湖群体 (TH) 和衢州群体 (QZ) 遗传多样性参数较低。基于群体间遗传距离构建的 NJ 系统树中, 洪泽湖内的 3 个群体与巢湖群体首先聚为一支, 然后与由钱塘江群体、太湖群体、衢州群体和洪湖群体聚成的分支聚在一起, 而后与洞庭湖群体聚在一起, 最外侧一支为鄱阳湖群体。分子方差分析 (AMOVA) 得出群体间的遗传分化指数 (F_{st}) 为 0.208 1 ($P < 0.001$), 说明我国褶纹冠蚌不同群体间存在一定的遗传分化。

关键词: 褶纹冠蚌; CO₁ 基因; 长江中下游; 遗传多样性; 鄱阳湖

中图分类号: Q951 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2009)01-01-08

Sequence Variation of CO₁ Gene in Ten Populations of *Cristaria plicata* from the Middle and Lower Yangtze River

JIA Ming-Jing LI Jia-Le* NIU Dong-Hong BAI Zhi-Yi

(Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Shanghai Ocean University, Ministry of Education, Shanghai 200090, China)

Abstract: The genetic diversity of *Cristaria plicata* were conducted by using mitochondria DNA CO₁ gene as molecular marker. 620 bp lengths of homological fragments in 200 individuals from ten stocks captured in the middle and lower Yangtze River were sequenced. The average contents of A + T (60.1%) were significantly higher than those of G + C (39.9%). The sequences contained 105 polymorphic nucleotide variable sites, accounting for 17% of the total number of bases. The ratio of transition and transversion was 8.7. Fifty eight haplotypes were defined (GenBank accession number: EU698893 - EU698950) in this study, in which Hap-5 was the major haplotype, accounting for 41% of the total individual number. The average nucleotide difference and nucleotide diversity index of Poyanghu population were 25.426 and 0.041 01 respectively, which were the highest. Genetic diversity parameters of Taihu and Quzhou populations were lowest. Based on the genetic distance among populations, Neighbor-Joining (NJ) tree suggested that three populations of Hongzehu were clustered firstly and then clustered with Chaohu population.

基金项目 国家科技支撑计划课题 (No. 2006BAD01A13), 农业部农业结构调整重大技术研究专项项目 (No. 06-05-05B), 上海市科委基础重大项目 (No. 06DJ14003), 上海市水产养殖重点学科建设项目 (Y1101);

* 通讯作者, E-mail: jlli@shou.edu.cn;

第一作者介绍 贾名静, 女, 硕士研究生; 研究方向: 水产动物种质资源与种苗工程; E-mail: mingjingjia666@163.com。

收稿日期: 2008-07-03, **修回日期:** 2008-11-05

The second clade comprised Qiantangjiang population, Taihu population, Quanzhou population, as well as Honghu population. The third clade included Dongtinghu population, and finally clustered with Poyanghu population. The fixation index (F_d) calculated by the analysis of molecular variance (AMOVA) reached to 0.2081 ($P < 0.001$), indicating that there were some genetic differentiations in different populations of *C. plicata* in China.

Key words: *Cristaria plicata*; CO gene; Middle and lower Yangtze River; Genetic diversity; Poyang Lake

褶纹冠蚌 (*Cristaria plicata*) 俗称“鸡冠蚌”、“湖蚌”, 曾经是我国最主要的淡水育珠母蚌。它主要分布于江苏、浙江、湖南、湖北等长江中下游湖泊及河流中。1978 年以前, 我国淡水育珠蚌都是采集天然水体中的褶纹冠蚌和三角帆蚌 (*Hyriopsis cumingii*), 随着养殖规模的扩大, 天然蚌源已经无法满足生产的需要。在 20 世纪 70 年代后期, 我国首先突破了褶纹冠蚌的人工繁殖技术, 褶纹冠蚌因其幼蚌生长快、成蚌抗病力强、培育的珍珠颗粒大、产量高等优点而曾被广泛应用。

目前, 褶纹冠蚌种质资源的研究工作还很少。在生化遗传方面, 孙家美等^[1]初步研究了褶纹冠蚌的酯酶同工酶; 在分子遗传方面, 姬伟等^[2]利用国外两种淡水双壳类的 20 对微卫星引物对江西青岚湖内的褶纹冠蚌进行了遗传多样性分析, 黄艳艳等^[3]分析了包括褶纹冠蚌在内的中国淡水贝类蚌科 13 个属的代表种类的

线粒体 16S rRNA 序列。国外利用 mtDNA CO 基因对淡水贝类做了一些研究, 如 Park 等^[4]用 CO 基因对亚洲不同区域蚬属 (*Corbicula*) 种类的系统发生进行了分析, David^[5]等运用线粒体 CO 等基因对蚌科 21 属 49 种的 Lampsilini 族淡水蚌构建了系统树。国内仅见对中国五大湖的三角帆蚌进行过分析^[6]。本文通过测定长江中下游 10 个褶纹冠蚌群体的 CO 基因序列, 分析其遗传多样性和亲缘关系, 以为褶纹冠蚌种质资源的保护及利用提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 样品采集 褶纹冠蚌群体于 2007 年 10 月至 2008 年 4 月分别在鄱阳湖、洞庭湖、巢湖、太湖、洪湖、浙江衢州市狮子口水库、钱塘江以及洪泽湖区的老子山、临淮、马坝等地采集, 具体采样地点和样本数见表 1。取新鲜的外套膜组织, 自来水洗净, 无水乙醇固定保存。

表 1 褶纹冠蚌采集地和样本数

Table 1 Sample number and collection sites of *Cristaria plicata*

群体 Population	个体数 Sample number	采集地 Collection sites	经度 Longitude	纬度 Latitude
鄱阳湖 Poyanghu	20	江西省万年县湖云乡	117°06' E	28°42' N
洞庭湖 Dongtinghu	20	湖南省常德市津市黑山嘴乡	111°42' E	29°06' N
巢湖 Chaohu	19	安徽省巢湖市无为县	117°54' E	31°36' N
太湖 Taihu	21	江苏省无锡市马山镇	120°18' E	31°36' N
衢州 Quzhou	20	浙江省衢州市常山县狮子口水库	118°54' E	29°00' N
洪湖 Honghu	22	湖北省洪湖市新堤镇	113°24' E	29°42' N
钱塘江 Qiantangjiang	20	浙江省杭州市双浦镇小江村	120°12' E	30°18' N
老子山 Laozishan	20	江苏省淮安市洪泽县老子山镇	118°54' E	33°18' N
临淮 Linhuai	21	江苏省宿迁市泗洪县临淮镇	118°12' E	33°30' N
马坝 Maba	17	江苏省淮安市盱眙县马坝镇	118°06' E	33°00' N

1.2 基因组 DNA 提取 取 100 mg 外套膜放入 1.5 ml 的离心管中, 剪碎, 加入 500 μ l 组织匀浆缓冲液 (10 mmol/L Tris-HCl, pH 8.0; 50 mmol/L

EDTA, pH 8.0), 混匀后加入终浓度为 1% 的 SDS 和 200 μ g/ml 的蛋白酶 K, 55 $^{\circ}$ C 裂解。采用酚/氯法提取 DNA, 使用紫外分光光度计测定 DNA 的

OD 值,确定纯度和浓度,并通过 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的质量,4 保存备用。

1.3 PCR 扩增和序列测定 mtDNA CO 基因的通用引物是:LCO1490:5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3' 和 HCO2198:5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3'^[7],由上海生工生物工程有限公司合成。

PCR 反应体系为 50 μ l,其中包括:模板 DNA 2 μ l (50 ng/ μ l),5.0 μ l 的 10 \times Buffer,dNTPs 各 0.2 mmol/L,MgCl₂ 2 mmol/L,引物各 0.3 μ mol/L,Taq DNA 聚合酶 1 U (2.5 U/ μ l),ddH₂O 补足体积,每次反应都设不含模板的空白对照。

PCR 反应程序为:94 预变性 5 min;94 变性 30 s,48 退火 1 min,72 延伸 1 min,共 35 个循环;最后 72 延伸 8 min。PCR 扩增产物经 1.0% 琼脂糖凝胶检测,于凝胶成像系统下观察并拍照记录。将 PCR 产物送往上海生工生物工程公司,纯化后直接进行测序反应。

1.4 数据分析 使用 Bioedit 7.0 软件进行 CO 基因序列的编辑、排序、比对。利用 DNAsp 4.0 软件分析 10 个群体的遗传多样性参数。采用 Arlequin 3.1 软件中的分子方差分析 (AMOVA) 方法估算群体间的遗传分化指数 (F_{st})。运用 MEGA 4.0 软件统计序列的碱基组成、替换与颠换之比,并统计发生在密码子第 1 位、第 2 位和第 3 位的变异位点数,基于 Kimura 双参数模型计算遗传距离,NJ 法构建系统进化树。

2 结果

2.1 褶纹冠蚌群体 CO 基因序列变异 经 PCR 扩增,得到了 600 bp 左右的 CO 基因片段,序列比对后,获得了 200 个个体长度为 620 bp 的同源序列。A、T、G、C 的平均含量分别为 38.7%、17.0%、21.4% 和 22.9%,其中 A+T 含量为 60.1%,明显高于 G+C 含量(表 2)。

共发现了 105 个变异位点,约占总分析位点的 17%,包括 24 个单一变异位点,81 个简约

信息位点,碱基的转换颠换之比 (T_s/T_v) 为 8.7,没有插入缺失位点。扩增的 CO 基因片段编码 206 个氨基酸,碱基替换的位置在氨基酸密码子的第 1、2、3 位上都存在,12 处发生在密码子的第 1 位,4 处发生在密码子的第 2 位,89 处发生在密码子的第 3 位,编码的肽链中有 7 个氨基酸变异位点。

表 2 10 个褶纹冠蚌群体 mtDNA CO 基因片段的碱基组成 (%)

Table 2 Base compositions of mtDNA CO gene fragments of ten *Cristaria plicata* populations

群体 Population	A	T	G	C	A+T	G+C
鄱阳湖 Poyanghu	21.4	38.4	23.0	17.2	59.8	40.2
洞庭湖 Dongtinghu	21.3	38.7	23.1	16.9	60.0	40.0
巢湖 Chaohu	21.5	38.7	22.8	17.0	60.2	39.7
太湖 Taihu	21.5	38.7	22.9	16.9	60.2	39.8
衢州 Quzhou	21.4	38.8	22.9	16.9	60.2	39.8
洪湖 Honghu	21.5	38.8	22.9	16.8	60.3	39.7
钱塘江 Qiantangjiang	21.5	38.6	22.9	17.0	60.1	39.9
老子山 Laozishan	21.5	38.7	22.9	16.9	60.2	39.8
临淮 Linhuai	21.4	38.6	22.9	17.1	60.0	40.0
马坝 Maba	21.5	38.7	22.8	17.0	60.2	39.8
平均值 Average	21.4	38.7	22.9	17.0	60.1	39.9

2.2 褶纹冠蚌的遗传多样性参数 利用 DNAsp 4.0 软件计算各群体的遗传多样性参数(表 3),群体的遗传信息含量相差较大。从变异位点角度来看,鄱阳湖群体及洞庭湖群体变异位点最多,分别是 69 个和 66 个,洪泽湖内老子山群体、临淮群体以及马坝群体分别为 19 个、23 个和 20 个,巢湖群体变异位点为 18 个,洪湖群体和钱塘江群体的变异位点分别为 7 个和 6 个,而太湖群体和衢州群体最少,都为 4 个。10 个群体的平均核苷酸差异数在 0.467~25.426 之间,核苷酸变异指数在 0.000 75~0.041 01 之间,鄱阳湖的遗传指数均最高,洞庭湖其次,洪泽湖内的 3 个群体相差不大,巢湖群体内的平均核苷酸差异数和核苷酸变异指数分别为 5.485 和 0.008 85,洪湖群体和钱塘江群体接近,低于巢湖群体,最低的是太湖群体。

表 3 褶纹冠蚌 CO 基因片段遗传多样性参数

Table 3 Genetic diversity parameters of mtDNA CO gene fragments of *Cristaria plicata*

群体 Population	多态位点 Polymorphic sites	单倍型个数 Number of haplotype	单倍型多样性 Haplotype diversity	平均核苷酸差异数 Average number of nucleotide differences	核苷酸多样性指数 Nucleotide diversity index
鄱阳湖 Poyanghu	69	10	0.868	25.426	0.041 01
洞庭湖 Dongtinghu	66	9	0.826	17.247	0.027 82
巢湖 Chaohu	18	10	0.906	5.485	0.008 85
太湖 Taihu	4	5	0.352	0.467	0.000 75
衢州 Quzhou	4	3	0.353	0.905	0.001 46
洪湖 Honghu	7	7	0.597	1.628	0.002 63
钱塘江 Qiantangjiang	6	8	0.742	1.553	0.002 50
老子山 Laozishan	19	12	0.937	4.795	0.007 73
临淮 Linhuai	23	14	0.938	5.105	0.008 23
马坝 Maba	20	13	0.963	5.074	0.008 18

表 4 显示了 58 个单倍型在褶纹冠蚌群体中的分布 (GenBank 登录号: EU698893 ~ EU698950), 有 15 个共享单倍型 (26%), 其他单倍型均为某个群体所特有。Hap-5 为 10 个群体所共有, 是主体单倍型, 占褶纹冠蚌总个体的 37%; Hap-1 和 Hap-4 为巢湖和 3 个洪泽湖群体所共享; Hap-8、

Hap-11、Hap-20、Hap-28、Hap-30、Hap-33 为 3 个群体共享; Hap-6、Hap-7、Hap-13、Hap-25、Hap-27、Hap-37 为 2 个群体共有。洪泽湖的临淮群体单倍型数最多, 为 14 个, 老子山群体和马坝群体分别为 12、13 个, 鄱阳湖群体和巢湖群体各有 10 个, 而衢州群体只有 3 个单倍型。

表 4 58 个单倍型在 10 个褶纹冠蚌群体中的分布

Table 4 Distribution of fifty eight haplotypes in ten *Cristaria plicata* populations

单倍型 Haplotype	群体单倍型数 Number of haplotypes											登录号 Accession number
	鄱阳湖 Poyanghu	洞庭湖 Dongtinghu	巢湖 Chaohu	太湖 Taihu	衢州 Quzhou	洪湖 Honghu	钱塘江 Qiantangjiang	老子山 Laozishan	临淮 Linhuai	马坝 Maba	总体 Total	
Hap-1			4					3	2	2	11	EU698893
Hap-2			4								4	EU698894
Hap-3			2								2	EU698895
Hap-4			1					4	5	3	13	EU698896
Hap-5	7	3	1	17	16	14	10	2	2	2	74	EU698897
Hap-6			3					2			5	EU698898
Hap-7			1							1	2	EU698899
Hap-8			1	1				1			3	EU698900
Hap-9			1								1	EU698901
Hap-10			1								1	EU698902
Hap-11		8			3	2					13	EU698903
Hap-12		1									1	EU698904
Hap-13	2	2									4	EU698905
Hap-14		1									1	EU698906
Hap-15		1									1	EU698907
Hap-16		1									1	EU698908
Hap-17		2									2	EU698909

续表 4

单倍型 Haplotype	群体单倍型数 Number of haplotypes											登录号 Accession number
	鄱阳湖 Poyanghu	洞庭湖 Dongtinghu	巢湖 Chaohu	太湖 Taihu	衢州 Quzhou	洪湖 Honghu	钱塘江 Qiantangjiang	老子山 Laozishan	临淮 Linhuai	马坝 Maba	总体 Total	
Hap-18		1									1	EU698910
Hap-19								1			1	EU698911
Hap-20							1	1	1		3	EU698912
Hap-21								1			1	EU698913
Hap-22								2			2	EU698914
Hap-23								1			1	EU698915
Hap-24								1			1	EU698916
Hap-25								1	1		2	EU698917
Hap-26								1			1	EU698918
Hap-27							1		1		2	EU698919
Hap-28								1	1	1	3	EU698920
Hap-29									1		1	EU698921
Hap-30				1		1				1	3	EU698922
Hap-31						1					1	EU698923
Hap-32						1					1	EU698924
Hap-33	2			1		2					5	EU698925
Hap-34						1					1	EU698926
Hap-35					1						1	EU698927
Hap-36								2			2	EU698928
Hap-37								1		1	2	EU698929
Hap-38								1			1	EU698930
Hap-39								1			1	EU698931
Hap-40								1			1	EU698932
Hap-41										1	1	EU698933
Hap-42										1	1	EU698934
Hap-43										1	1	EU698935
Hap-44										1	1	EU698936
Hap-45	1										1	EU698937
Hap-46	1										1	EU698938
Hap-47	2										2	EU698939
Hap-48	2										2	EU698940
Hap-49	1										1	EU698941
Hap-50	1										1	EU698942
Hap-51	1										1	EU698943
Hap-52				1							1	EU698944
Hap-53							1				1	EU698945
Hap-54							2				2	EU698946
Hap-55							3				3	EU698947
Hap-56							1				1	EU698948
Hap-57							1				1	EU698949
Hap-58							1				1	EU698950

2.3 褶纹冠蚌群体间的遗传距离和 NJ 系统树

利用 MEGA 4.0 软件中 Kumara 双参数模型计算群体间的遗传距离(表 5),由表可知,长江中

下游 10 个褶纹冠蚌群体遗传距离在 0.001 ~ 0.038 之间,其中鄱阳湖群体与洞庭湖群体之间的遗传距离最远,达到 0.038,衢州群体和太

湖群体间的遗传距离最近,洪泽湖区 3 个群体间的遗传距离均为 0.008。

基于群体间的遗传距离,构建 10 个群体之间的 NJ 系统树(图 1)。10 个群体分为 4 支,巢湖群体与洪泽湖的 3 个群体亲缘关系最近,首先聚为一支,然后与由钱塘江群体、太湖群体、衢州群体和洪湖群体聚成的分支聚在一起,而后与洞庭湖群体聚在一起,处于分子系统树最外侧一支的为鄱阳湖群体。

2.4 褶纹冠蚌群体的遗传分化 10 个群体间的遗传分化指数 (F_{st}) 在 0.002 ~ 0.473 之间(表 5),鄱阳湖群体与洞庭湖群体之间的遗传分化指数最小,而老子山群体和太湖群体间遗传分化指数最大。在获得的 45 个组对中,32 个组对的 F_{st} 值统计检验为极显著差异 ($P < 0.01$),4 个组对为显著差异 ($P < 0.05$),仅有 9 个组对为差异不显著 ($P > 0.05$),其中洞庭湖群体、洪湖群体以及钱塘江群体遗传分化指数均为极显著。

对 10 个褶纹冠蚌群体进行分子方差分析 (AMOVA),群体内遗传变异占 79.19%,群体间的遗传变异为 20.81%,总的遗传分化指数为 0.2081 ($P < 0.001$),说明褶纹冠蚌群体间存在一定的遗传分化。按照 NJ 树,将洪泽湖内 3 个群体与巢湖群体分为第一组群(简称巢湖组

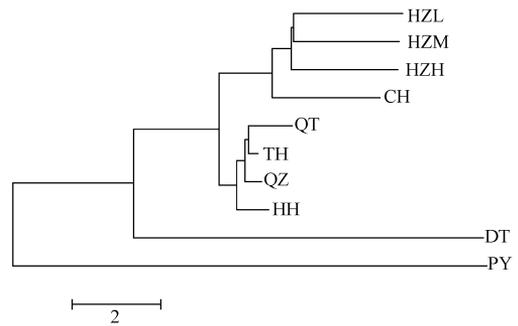


图 1 褶纹冠蚌 10 个群体 mtDNA COI 基因的 NJ 系统树

Fig. 1 mtDNA COI Neighbor-joining phylogenetic tree of ten *Cristaria plicata* populations

PY:鄱阳湖群体;DT:洞庭湖群体;CH:巢湖群体;TH:太湖群体;QZ:衢州群体;HH:洪湖群体;QT:钱塘江群体;HZZ:洪泽湖老子山群体;HZZ:洪泽湖临淮群体;HZZ:洪泽湖马坝群体。标尺为枝长标准,表示遗传距离。

PY: Poyanghu population; DT: Dongtinghu population; CH: Chaohu population; TH: Taihu population; QZ: Quzhou population; QT: Qiantangjiang population; HZZ: Hongzehu Laozishan population; HZZ: Hongzehu Linhuai population; HZZ: Hongzehu Maba population. Bar means branch scale.

群),钱塘江群体、太湖群体、衢州群体和洪湖群体分为第二组群(简称钱塘江组群),洞庭湖群体为第三组群(洞庭湖组群),鄱阳湖群体为第四组群(鄱阳湖组群),对这 4 个组群进行两两比较,除洞庭湖组群与鄱阳湖组群间遗传分化

表 5 褶纹冠蚌 10 个群体间的遗传距离(左下角)和遗传分化指数 F_{st} (右上角)

Table 5 Genetic distance (below the diagonal) and fixation index (F_{st}) (above the diagonal) among ten *Cristaria plicata* populations

群体 Population	鄱阳湖 Poyanghu	洞庭湖 Dongtinghu	巢湖 Chaohu	太湖 Taihu	衢州 Quzhou	洪湖 Honghu	钱塘江 Qiantangjiang	老子山 Laozishan	临淮 Linhuai	马坝 Maba
鄱阳湖 Poyanghu		0.002	0.182**	0.208**	0.194*	0.190*	0.210**	0.220**	0.213**	0.193*
洞庭湖 Dongtinghu	0.038		0.163**	0.187**	0.149**	0.129**	0.196**	0.215**	0.202**	0.176**
巢湖 Chaohu	0.033	0.023		0.333**	0.312**	0.275**	0.333**	0.002	0.006	0.006
太湖 Taihu	0.029	0.019	0.007		0.034	0.092*	0.153**	0.478**	0.422**	0.457**
衢州 Quzhou	0.029	0.019	0.008	0.001		0.011	0.152**	0.455**	0.400**	0.424**
洪湖 Honghu	0.030	0.019	0.008	0.002	0.002		0.184**	0.412**	0.361**	0.373**
钱塘江 Qiantangjiang	0.031	0.020	0.009	0.002	0.002	0.003		0.461**	0.406**	0.439**
老子山 Laozishan	0.034	0.024	0.008	0.008	0.009	0.009	0.010		-0.029	-0.028
临淮 Linhuai	0.034	0.024	0.009	0.008	0.008	0.009	0.009	0.008		-0.032
马坝 Maba	0.034	0.024	0.009	0.008	0.008	0.008	0.009	0.008	0.008	

* 表示显著差异 ($P < 0.05$), ** 表示极显著差异 ($P < 0.01$)。

* Mean significance ($P < 0.05$), ** Mean great significance ($P < 0.01$) .

不显著外,其他组群内的变异都显著高于组群间的变异,组群间群体遗传分化极显著($P < 0.01$)。对巢湖组群和钱塘江组群分别进行 AMOVA 分析,显示巢湖组群为遗传分化不显著($P > 0.05$),钱塘江组群为遗传分化极显著。

3 讨 论

3.1 采集样本 采集野生样本是否有代表性是分析褶纹冠蚌遗传多样性的关键问题之一。为此,本文通过采集洪泽湖区内 3 个不同点的褶纹冠蚌,分析其 CO 基因片段的多态性,结果发现 3 个群体的碱基组成、核苷酸多态位点数、单倍型个数、平均核苷酸差异数以及核苷酸差异指数等指标差异很小,群体间的遗传分化指数都为负值,并且在 NJ 系统树上 3 个群体完全聚在一起,这说明湖泊内部同一物种遗传变异不大,一个采样点可以代表整个水体的情况。

褶纹冠蚌在同一湖泊不同采样点遗传差异变化不大,可能与其发育过程中具寄生特点有关。在钩介幼虫变态至稚蚌的整个过程中,褶纹冠蚌与三角帆蚌一样都是附着在鱼鳃或体表部位营寄生生活。另外,不同的水温寄生时间长短不一,一般需 7~20 d 左右,在这期间,由于宿主鱼的游动,使得稚蚌在水体内的分布比较广,增加了褶纹冠蚌间基因交流的机会,从而导致了其遗传差异很小,各个点的遗传多样性基本相同。

3.2 褶纹冠蚌 CO 基因的碱基组成和遗传多样性 序列分析表明,A+T 含量为 60.1%,明显高于 G+C 含量,这与许多研究者在虾类、蟹类、贝类等^[8~10]的 CO 基因中观察到的结果相似。碱基转换(Ts)/颠换(Tv)可以作为多重替换程度的一个指标,当重建系统树时,转换与颠换比值若小于 2.0,则基因序列突变已达到了饱和状态^[11],这样的序列不适合进行系统进化分析。本研究中 Ts/Tv 比值为 8.7,说明褶纹冠蚌的 CO 基因序列突变远未达到饱和,可以将此基因应用于遗传变异和系统进化的分析。

遗传多样性高意味着适应生存能力强,蕴含着比较丰富的遗传育种和遗传改良能力,遗

传多样性降低或丧失,对于生活在多变环境中的野生群体是一个极大的威胁^[12]。由本研究结果初步得出褶纹冠蚌 10 个群体遗传多样性由高到低的顺序为:鄱阳湖群体、洞庭湖群体、巢湖群体、洪泽湖 3 个群体、洪湖群体、钱塘江群体、衢州群体、太湖群体。鄱阳湖群体的变异位点和核苷酸多样性指数最高,分别为 25.426 和 0.041 01,表现了丰富的遗传多样性,这与五大湖三角帆蚌群体的 CO、RAPD^[13]及 SSR^[14]研究获得的鄱阳湖群体遗传多样性最高相吻合。对五大湖三角帆蚌群体和诸暨养殖群体的生长性能比较研究显示,鄱阳湖群体生长性能和存活率最高^[15]。由此可见五大湖三角帆蚌群体中鄱阳湖群体的遗传多样性最高、生长最快。本次研究的 10 个褶纹冠蚌群体中,鄱阳湖群体的遗传多样性也最高,因此有必要再对其生长性能作进一步的研究,以更加全面地评价它们的种质情况。

太湖群体的核苷酸变异位点和遗传多样性参数均最低,可能与褶纹冠蚌养殖历史密切相关。苏州是我国淡水珍珠发源地,位于太湖流域之滨。长期以来是我国淡水珍珠的主要产区,曾有“天下珍珠渭塘先,渭塘珍珠甲天下”之说,这里的“渭塘”就位于现在的苏州市相城区。20 世纪 60 年代当地人已摸索了一套河蚌育珠的经验,70 年代后期褶纹冠蚌人工繁殖获得成功,解决了淡水珍珠规模化养殖过程中出现的苗种瓶颈问题。但与此同时,由于当时缺乏种质保护意识,褶纹冠蚌人工繁殖后代有可能进入到太湖天然水体,导致太湖褶纹冠蚌自然群体遗传多样性下降的现象。Clifford 等^[16]在 1998 年曾报道过因人工孵化大西洋鲑(*Salmon salar*)苗逃逸到天然水域而使自然群体的遗传多样性明显降低;朱晓东等^[17]利用 30 对微卫星标记分析长江中下游鲢群体的遗传多样性时,发现养殖的鲢鱼混到自然水域中,造成了野生群体遗传多样性下降。

3.3 群体间的亲缘关系和遗传分化 构建的 NJ 系统树显示:10 个群体分为 4 支,巢湖群体与洪泽湖 3 个群体亲缘关系最近,首先聚为一

支,然后与由钱塘江群体、太湖群体、衢州群体和洪湖群体聚成的分支聚在一起。再与洞庭湖群体聚在一起,鄱阳湖群体处于分子系统树最外侧一支。从地理位置上来看,巢湖离洪泽湖最近。洪泽湖属于淮河水系,巢湖属于长江水系且相对比较封闭,当淮河遇到强降雨天气,山洪灾害易发时,治理方案为“上截、下疏”,让巢湖做替补,把水引入长江,使得洪泽湖和巢湖之间有所交流,亲缘关系较近。洪湖群体和钱塘江群体、太湖群体以及衢州群体聚在一起,是人为移植还是其他原因,这有待于进一步的证实。

遗传分化指数 (F_s) 是用来衡量群体间遗传分化大小的重要指标,本研究中群体间的遗传分化指数达到了 0.2081 ($P < 0.001$),4 个组群进行两两比较,除鄱阳湖组群与洞庭湖组群不显著分化外,其他组群间均为极显著分化。另外,巢湖组群内的遗传分化不显著,而钱塘江组群内的遗传分化极显著,由此可推测我国褶纹冠蚌至少存在三大类群,一个位于巢湖与洪泽湖内,一个位于洞庭湖与鄱阳湖内,另外一个位于浙江与太湖境内。

研究表明鄱阳湖群体具有最高的遗传多样性,野生种质资源较好,洞庭湖群体其次,而太湖群体的遗传多样性最低,说明长期的养殖过程降低了种质资源的丰富度。因此,建议加强保护褶纹冠蚌的野生种质资源,并且对资源遭到破坏的湖泊进行规范管理,提高其遗传多样性。在今后的遗传改良中,可将优异种质作为选育的基础群体,选择合适的育种策略,合理利用褶纹冠蚌的种质资源。

致谢 采样中得到了江苏淮阴师范学院丁怀宇副教授、江西万年县水产局吴凡局长、安徽巢湖市水产技术推广中心赖年悦主任、江苏无锡淡水渔业研究中心闻海波老师以及实验室成员的大力协助,特此致谢。

参 考 文 献

[1] 孙家美,钱万英,谢惠安等. 三种育珠蚌酯酶同功酶的初步研究. 动物学杂志, 1992, 27(4): 15~17.

- [2] 姬伟,魏开建,张桂蓉等. 江西青岚湖五种淡水蚌遗传多样性的微卫星 DNA 分析. 农业生物技术学报, 2007, 15(3): 429~433.
- [3] 黄艳艳,欧阳珊,吴小平等. 中国蚌科线粒体 16S rRNA 序列变异与系统发育. 水生生物学报, 2003, 27(3): 258~263.
- [4] Park J K, Kim W. Two *Corbicula* (Corbiculidae: Bivalvia) mitochondrial lineages are widely distributed in Asian freshwater environment. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2003, 29(3): 529~539.
- [5] Zanatta D T, Murphy R W. Evolution of active host-attraction strategies in the freshwater mussel tribe *Lampsilini* (Bivalvia: Unioniidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2006, 41(1): 195~208.
- [6] 李家乐,王建军,汪桂玲等. 我国五大淡水湖三角帆蚌群体 mtDNA CO 基因片段变异分析. 水生生物学报, 2008, 32(5): 200~203.
- [7] Folmer O, Black M, Hoeh W, et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1994, 3(5): 294~299.
- [8] Yang P, Zhang H, Chen L, et al. Genetic Structure of the oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*) from the Yangtze and Lancang Rivers, Inferred from CO 基因 sequence. *Zoological Research*, 2007, 28(2): 113~118.
- [9] 徐敬明,方华华,高天翔. 两种相手蟹线粒体 CO 基因序列的比较研究. 海洋通报, 2007, 26(6): 26~31.
- [10] 陈丽梅,孔晓瑜,喻子牛等. 3 种蛭类线粒体 16S rRNA 和 CO 基因片段的序列比较及其系统学初步研究. 海洋科学, 2005, 29(8): 27~32.
- [11] 代金霞,郑哲民. 椿科部分昆虫细胞色素 b 基因序列及其系统发育关系的探讨. 动物学研究, 2004, 25(5): 397~402.
- [12] 杨金权,胡雪莲,唐文乔等. 长江口临近水域刀鲚的线粒体控制区序列变异与遗传多样性. 动物学杂志, 2008, 43(1): 8~15.
- [13] 李家乐,钱荣华,鲍宝龙等. 中国五大湖三角帆蚌遗传多样性的 RAPD 分析. 上海水产大学学报, 2005, 14(1): 1~5.
- [14] 汪桂玲,袁一鸣,李家乐. 中国五大湖三角帆蚌群体遗传多样性及亲缘关系的 SSR 分析. 水产学报, 2007, 31(2): 152~158.
- [15] 李家乐,白志毅,钱荣华. 中国五大湖三角帆蚌群体和诸暨养殖群体生长性能比较研究. 水产科技情报, 2006, 33(6): 243~246.
- [16] Clifford S L, Meginnity P, Ferguson A. Genetic changes in an Atlantic salmon population resulting from escaped juvenile farm salmon. *Fish Biol*, 1998, 52(1): 118~127.
- [17] 朱晓东,耿波,李娇等. 利用 30 对微卫星标记分析长江中下游鲢群体的遗传多样性. 遗传, 2007, 29(6): 705~713.