

马氏珠母贝(*Pinctada martensii*)四种壳色选育系 F₅ 的生长及遗传多样性分析*

朱晓闻 刘志刚 王辉 邬思荣

(广东海洋大学水产学院 湛江 524025)

提要 采用跟踪测量和微卫星(SSR)技术研究了马氏珠母贝四种壳色选育系 F₅ 和对照组的存活率、生长情况及遗传多样性。结果表明,四种壳色选育系和对照组的生长性状之间均存在显著差异($P < 0.05$)。从 30 对微卫星引物中扩增筛选获得 8 个多态位点,多态位点比例为 26.67%,它们在 4 个壳色选育系共 120 个个体中产生了 42 个等位基因,平均每个多态位点产生 5.25 个。4 个选育系的平均期望杂合度范围为 0.6622—0.6850,平均观察杂合度范围为 0.2708—0.4667,平均多态信息含量 PIC 值范围为 0.6025—0.6190,说明 4 个选育系的遗传多样性处于较高水平,具有育种潜力;平均遗传偏离指数均为负值,4 个选育系均存在不同程度的杂合子缺失。遗传分化和遗传距离分析表明白壳色选育系与红壳色选育系之间的亲缘关系最近,黑壳色与白壳色之间的遗传距离最大。

关键词 马氏珠母贝,壳色选育系,生长,遗传多样性,微卫星

中图分类号 Q789

马氏珠母贝(*Pinctada martensii*)又称合浦珠母贝,属于软体动物门、双壳纲、珍珠贝目、珍珠贝科,是生产珍珠的主要贝种。在我国主要分布在广西、广东、海南等沿海一带。近年来,随着雷州半岛珍珠贝养殖规模不断扩大,多种不同基因型来源的马氏珠母贝养殖群体在一些数量性状上表现出较大的差异;同时由于长期累代的人工选育以及养殖环境的不断恶化等影响,使养殖性状发生了严重的退化。本课题组通过 6 年的努力,采用不同养殖种群杂交及群体继代选育的方法获得了具有高生长率的马氏珠母贝黑、白、红、黄四种壳色选育系,本实验拟对其生长优势进行跟踪并采取微卫星分子标记技术来分析其遗传变异程度。

微卫星(microsatellite)是指以少数几个核苷酸(多数为 2—4 个)为单位多次串联重复的 DNA 序列,亦称简单序列重复(simple sequencerepeat, SSR)或简单序列长度多态性(simple sequence length polymor-

phism)。微卫星具有十分丰富的多态性,非常适用于亲缘关系很近的物种的遗传分析(孙孝德等,2011)。目前,一些学者利用 RAPD、AFLP 和 SSR 等技术对马氏珠母贝遗传多样性进行了研究(苏天凤等,2002;王爱民等,2003;姜因萍等,2007;曲妮妮等,2009;陈静等,2010;代悦等,2010),但有关马氏珠母贝四种壳色选育系微卫星方面的研究尚未见报道。本文结合生长性状比较和遗传变异分析,旨在揭示马氏珠母贝不同壳色选育系的生长差异及遗传结构变异,为其种群遗传多样性检测及遗传图谱的构建提供更多的分子标记,进一步为马氏珠母贝的选择育种工作提供理论和方向。

1 材料与方法

1.1 材料来源

实验用马氏珠母贝(*Pinctada martensii*)为经广东海洋大学培育的四种壳色选育系 F₅ 代,同时以未经

* 国家星火计划项目,2011GA780001 号;广东省科技计划项目,2010B020201014 号;广东高校热带海产无脊椎动物养殖工程研究中心建设项目,GCZX-A0909 号。朱晓闻, E-mail: gdouzxw@126.com

通讯作者: 刘志刚, 教授, E-mail: liuzg@gdou.edu.cn

收稿日期: 2011-03-10, 收修改稿日期: 2011-05-23

选育的普通养殖群体作为对照组(对照组仅用于生长性状对照, 不用于微卫星分析), 分别统计 10 万只稚贝吊养于雷州市乌石镇外海海域, 五个群体养殖环境和密度均相同。

1.2 数据采集与分析

五个实验组在养殖 18 个月后分取 50 个个体进行测量, 并统计存活数量。用游标卡尺测量壳高(Shell high, *SH*)、壳长(Shell length, *SL*)、壳宽(Shell width, *SW*)、绞合线长(Hinge length, *HL*)精确到 0.01mm, 用电子分析天平称量全重(Body weight, *BW*)、软体重(Tissue weight, *TW*)及壳重(Shell weight, *SWT*)精确到 0.01g。测量结果用平均值 \pm 标准差(Mean \pm S.D.)表示, Tukey 法进行多重比较。养成存活计算公式如下: 养成存活率(%)=最后存活数/投苗数 \times 100%。

1.3 微卫星分析

1.3.1 样品收集 根据 Tajima(1983)以及 Mathur 等(1994)的研究结果, 从上述四种壳色选育系中各采集 30 个个体用于微卫星分析, 取闭壳肌组织于 -70°C 冰箱保存。

1.3.2 基因组 DNA 提取 取 -70°C 保存的马氏珠母贝闭壳肌 0.2g, 用 0.8% NaCl 液冲洗后置于灭菌的 1.5ml Eppendorf 管中。加入裂解缓冲液 200 μl , 20mg/ml 蛋白酶 K 5 μl , 用小型眼科剪剪至糜状。加入裂解缓冲液[50mmol/L Tris-Cl (pH 8.0), 100mmol/L EDTA, 200mmol/L NaCl] 250 μl , 10% SDS 50 μl , 混匀。置于恒温水浴锅中 55°C 消化 1—2h, 其间轻轻摇动多次。用酚: 氯仿(1:1)等体积抽提两次后, 缓慢来回颠倒 Eppendorf 管 10min, 12000r/min 离心 10min, 用移液器小心取出上层水相至另一干净 Eppendorf 管中。加入等体积的氯仿后, 缓慢来回颠倒 Eppendorf 管 10min, 12000r/min 离心 10min, 取上清液。加入 2 倍体积预冷的无水乙醇和 0.1 倍体积的乙酸钠(3mol/L, pH 5.2), 温和混匀, -20°C 条件下沉淀 2h 以上, 12000r/min 离心 10min, 弃上清。用 70%乙醇洗涤沉淀两次, 室温干燥。加入 100 μl ddH₂O 溶解 DNA。0.7%的琼脂糖凝胶电泳检测后, 用紫外分光光度计检测 DNA 的纯度与浓度, 选取质量好的 DNA 样品分装, 置于 4°C 保存。

1.3.3 微卫星引物筛选及 PCR 扩增 根据实验需要, 设计微卫星引物 30 对, 由上海生工生物工程有限公司合成。用合成引物对四种壳色选育系全部的 DNA 样品进行 PCR 扩增, 每种壳色选育系 30 个 DNA 样品, 基因组 DNA 根据所测浓度稀释至 20ng/ μl 作为

模板。反应总体积为 15 μl , 其中 10 \times PCR Buffer 1.5 μl , dNTP Mixture (2.5mmol/L) 0.6 μl , 上游引物 1 μl , 下游引物 1 μl , TakaRa Taq(5U/ μl) 0.075 μl , 模板 DNA 0.8 μl , 超纯水 10.025 μl , 上述 PCR 扩增液除引物和超纯水外均由宝生物工程(大连)有限公司提供。PCR 扩增程序为: 94°C 预变性 5min, 然后 36 个循环, 每个循环包括: 94°C 变性 40s, $45\text{—}60^\circ\text{C}$ 退火 40s, 72°C 延伸 45s; 72°C 延伸 7 min, 将扩增产物于 4°C 冰箱保存。

1.3.4 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳 取 PCR 产物 2 μl , 用 8%变性聚丙烯酰胺凝胶进行电泳, 电泳缓冲液为 $1\times\text{TBE}$ 。电泳完毕后, 硝酸银染色, 然后 Na₂CO₃ 显色。

1.3.5 数据统计与分析 统计每个位点的等位基因数量(*na*), 用 Popgene1.32 (Yeh *et al*, 1997)软件得出各群体的有效等位基因数(*ne*)、表观杂合度(*H_o*)、期望杂合度(*H_e*)和 Hardy-Weinberg 平衡检测, 计算出衡量杂合子缺失或杂合子过剩的遗传偏离指数(*D*值)。再根据 Botstein 等(1980)的方法计算每个微卫星位点的多态信息含量(Polymorphism Information Content, *PIC*), 每个位点在群体中的 *PIC* 值, 需先统计每个等位基因在群体中发生的频率, 再利用 *PIC-CALC* 软件计算每个位点的多态信息含量, 其计算公式如下:

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

式中, *n* 为某微卫星位点的等位基因个数, *P_i*、*P_j* 为群体第 *i*、*j* 等位基因的基因频率。

用 Popgene 32 对各微卫星位点进行 *F*-统计量分析, 计算群体间的遗传距离(Nei, 1972); 采用非加权组成配对法(unweighted pair group method arithmetic averages, UPGMA)对马氏珠母贝四种壳色选育系群体进行聚类分析, 绘制出 4 个选育系群体间的聚类图。

2 结果

2.1 四种壳色选育系与对照组的生长情况

对四种壳色马氏珠母贝和对照组进行形态学测量并与对照组进行比较(表 1), 结果显示, 四种壳色选育系和对照组在各个生长指标上均有显著差异($P < 0.05$), 说明选育结果有效。

各壳色选育系 F_5 代及对照组的最终存活量分别为黑壳色选育系 47684 只、白壳色选育系 45632 只、红壳色选育系 46815 只、黄壳色选育系 46925 只、普通养殖群体 39471 只, 存活率依次为 47.68%、

45.63%、46.82%、46.93%、39.47%，选育系平均存活率比对照组提高 18.48%。

2.2 PCR 扩增结果

从筛选的 30 对引物中，经过扩增发现其中 8 对具有较丰富多态性，多态位点比例为 26.67%(表 2)。

2.3 四种壳色选育系之间的遗传多样性

马氏珠母贝 4 种壳色选育系的平均等位基因数、平均有效等位基因数、平均表观杂合度、平均期望杂合度、Shannon 多样性指数、平均多态信息含量及平均 Hardy-Weinberg 平衡遗传偏离指数见表 3。4 个选育系群体在 8 个微卫星位点中共检测出 42 个等位基因，平均每个位点产生 5.25 个，每个位点的等位基因数为 4—7 个不等，均表现出较好的多态性，其中 M2 位点产生的等位基因个数最多，为 7 个。

2.4 四种壳色选育系间的遗传变异、遗传距离和聚类分析

F -统计量包括群体内近交系数(F_{is})、总群体内亚群间的近交系数(F_{it})和遗传分化系数(F_{st})，通过使用 Popgene 32 对各微卫星位点进行 F -统计量分析，结合

表 4 可以得出，4 个选育系的群体内近交系数 F_{is} 值在 0.0701—0.7952 之间，平均值为 0.4608；总群体内亚群间的近交系数 F_{it} 值在 0.0927—0.8023 之间，平均值为 0.4848。而遗传分化系数 F_{st} 在 0.0236—0.1057 之间，平均值 F_{st} 为 0.0445，表明 4 个壳色选育系群体内存在一定程度的近交。基因流(Nm)在 2.1142—10.3254 之间，平均值为 5.3618，其中 M213 位点有最大基因流，M12 位点有最小基因流。

根据 Nei(1972)的方法计算得出四种壳色选育系两两群体之间的遗传距离在 0.0629—0.1729 之间，其中白壳色选育系与红壳色选育系之间的遗传距离最小，黑壳色选育系与白壳色选育系之间的遗传距离最大；相对应地，4 个群体的遗传相似性系数在 0.8412—0.9391 之间，见表 5。

使用 MEGA 4.0 软件对 4 个选育系群体进行聚类分析，得到 UPGMA 聚类树(图 1)，更直观地说明了这 4 个选育系群体间的遗传关系。聚类分析结果表明，黑壳色与黄壳色选育系聚为一支，而白壳色与红壳色选育系聚为一支。

表 1 四种壳色选育系与对照组的生物学数据

Tab.1 Biology data of four shell color lines and control group

性状	黑壳色	白壳色	红壳色	黄壳色	对照组
SL(mm)	68.99 ^b ±3.77	75.47 ^a ±4.28	70.12 ^b ±5.12	68.19 ^b ±3.48	64.12 ^c ±2.68
SW(mm)	27.91 ^{ab} ±1.44	29.17 ^a ±1.95	28.06 ^{ab} ±1.79	26.77 ^b ±1.71	23.05 ^c ±1.87
SH(mm)	66.91 ^b ±4.42	71.39 ^a ±4.34	67.99 ^b ±4.29	63.48 ^c ±4.01	58.21 ^d ±3.20
HL(mm)	61.45 ^b ±3.81	67.25 ^a ±4.76	62.43 ^b ±4.11	60.64 ^b ±4.04	57.97 ^c ±3.95
BW(g)	41.58 ^{bc} ±4.12	46.76 ^a ±5.73	43.73 ^{ab} ±8.66	39.22 ^c ±6.50	31.69 ^d ±2.92
TW(g)	14.96 ^a ±5.66	15.36 ^a ±2.84	15.98 ^a ±3.94	13.60 ^b ±3.00	9.76 ^b ±1.40
SWT(g)	27.48 ^b ±2.81	31.29 ^a ±3.48	28.05 ^b ±5.79	25.51 ^b ±4.10	21.90 ^c ±1.92

注：同行数据右上角不同字母表示差异显著($P < 0.05$)

表 2 微卫星位点引物序列和退火温度

Tab.2 Primer sequence and annealing temperature of microsatellite DNA

位点	片段长度(bp)	引物序列 (5'—3')	退火温度(°C)	MgCl ₂ (mmol/μl)
M2	164	F: CCATACCCACCCACCATC R: TATCAAAGTCGGGAGGCA	52	1.5
M3	147	F: CCAAGAAAGTCGATCTACCA R: ACAATCCTGACAAGCATAAA	50	1.5
M10	169	F: GGACCAGACGTGTTGGTCATT R: TGATTCCTTCTCCCTTCTC	52	1.5
M12	140	F: TAATAAGTACTGTGGATAGGC R: CTCCATTGTTATGTCTTTATC	50	1.5
M113	241	F: TGCAGTCATTTGTTTCGTG R: TTGCTTTGTCTCCTATGCTATT	52	1.5
M138	349	F: TGCAAAGGTCGGTGTTCATT R: AGCAAAGAGCACAGGACAAAC	52	1.5
M213	242	F: AGTTGACATAACCAGGGTG R: CCATACAAAACAGACAGCAT	52	1.5
M287	226	F: TTAGACCCAATGAAAATCTG R: TTGAAGTTGAACATAGCCAC	51	1.5

注：F 为正向引物，R 为反向引物

表 3 马氏珠母贝 4 个壳色选育系的遗传多样性

Tab.3 Genetic diversity in the four color lines of *P. martensii*

参数	黑壳色	白壳色	红壳色	黄壳色
na	4.7500	4.8750	4.6250	4.5000
ne	3.2018	3.1160	3.1117	3.0792
I	1.2750	1.2743	1.2565	1.2338
H_o	0.3750	0.2708	0.4667	0.3208
H_e	0.6850	0.6831	0.6730	0.6622
PIC	0.6190	0.6182	0.6130	0.6025
D	-0.4526	-0.6036	-0.3065	-0.5156

注: na 为等位基因数, ne 为有效等位基因数, H_o 为表观杂合度, H_e 为期望杂合度, I 为 Shannon 多样性指数, PIC 为多态信息含量, D 为遗传偏离指数

表 4 马氏珠母贝 4 个选育系各位点的 F-statistics 统计分析结果和基因流

Tab.4 The results of F-statistics and gene flow for all loci of four color lines of *P. martensii*

位点	F_{is}	F_{it}	F_{st}	Nm
M2	0.3467	0.3887	0.0643	3.6366
M3	0.0701	0.0927	0.0242	10.0624
M10	0.2872	0.3141	0.0376	6.3948
M12	0.5133	0.5648	0.1057	2.1142
M113	0.5356	0.5501	0.0312	7.7646
M138	0.7952	0.8023	0.0347	6.9470
M213	0.5210	0.5323	0.0236	10.3254
M287	0.6730	0.6832	0.0311	7.7860
平均	0.4608	0.4848	0.0445	5.3618

表 5 马氏珠母贝 4 个选育系遗传相似性和遗传距离

Tab.5 Genetic identity and genetic distances among four color lines of *P. martensii*

选育系	黑壳色	白壳色	红壳色	黄壳色
黑	—	0.8412	0.8512	0.8900
白	0.1729	—	0.9391	0.8957
红	0.1611	0.0629	—	0.8449
黄	0.1165	0.1101	0.1686	—

注: 对角线上方为遗传相似性, 对角线下方为遗传距离

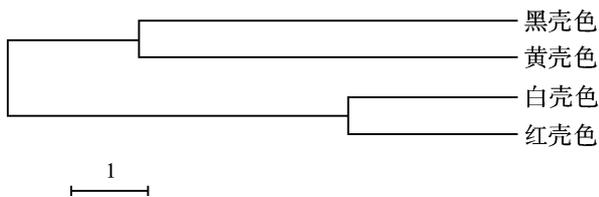


图 1 马氏珠母贝 4 个选育系的聚类分析图

Fig.1 Cluster analysis of four color lines of *P. martensii*

3 讨论

3.1 四种壳色选育系的生长优势

贝类不同壳色个体的生长存在显著差异, 王庆恒等(2008)的研究结果表明, 马氏珠母贝四种壳色选育系幼虫的生长性能高于普通群体, 在此基础上, 王庆恒等(2009)还对其耗氧率和排氮率进行了比较。表 1 得出, 马氏珠母贝四种壳色选育系在壳长、壳高、壳宽、绞合线长、体重、软体重、壳重上均高于对照组, 且与对照组之间有显著差异($P < 0.05$)。对其最终存活率进行统计, 四种壳色选育系比对照组平均提高 18.48%, 说明四种壳色选育系在生长性能上已显示出绝对优势, 壳色选育途径是有效的。Sokolova 等(2000)认为控制壳色的基因具有多效性或者控制壳色基因与决定生理性状基因紧密连锁, 因此壳色与生长性状之间存在密切的相关性。

3.2 马氏珠母贝不同壳色选育系群体内遗传多样性分析

一个物种的遗传多样性高低与其适应能力、生存能力和进化潜力密切相关, 遗传多样性的降低可以导致其适应能力降低、有害隐性基因表达增加及经济性状衰退, 最后致使物种退化; 丰富的遗传多样性则意味着拥有较高的适应生存能力, 蕴涵着较大的进化潜能以及较丰富的育种和遗传改良能力(曲妮妮等, 2009)。一些研究表明, 由于遗传漂变和瓶颈效应, 经过人工选育的养殖群体, 其遗传多样性要比野生群体的低(张国范等, 1993)。但是, 有些研究工作者发现很多海洋经济贝类养殖群体也具有较高的遗传多样性(Yu *et al.*, 2007; 刘相全等, 2010)。导致这种现象发生的原因可能是由于在人工育苗生产过程中采用了较多的亲本, 受精卵在成熟过程中可能发生了染色体交换, 致使染色体基因重组, 从而保持了较高的遗传多样性。

多态信息含量(polymorphism information Content, PIC), 是反映基因变异程度的一个指标, 根据 Botstein 等(1980)的划分标准: 当 $PIC > 0.5$ 时, 该位点为高度多态位点; $0.25 < PIC < 0.5$ 时, 该位点为中度多态位点; $PIC < 0.25$ 时, 为低度多态位点。根据此标准, 本研究中, 黑、白、红、黄 4 种壳色选育系群体的平均多态信息含量 PIC 分别为 0.6190、0.6182、0.6230、0.6025, 且均大于 0.5, 表明马氏珠母贝 4 个壳色选育系群体均保持了较高的遗传多样性。此外, 黑、白、红、黄 4 种壳色选育系群体的平均等位基因数、平均

表观杂合度、平均期望杂合度以及 Shannon 多样性指数都比较高,说明 4 个选育系群体的遗传多样性较高,具有较大的遗传选育潜力。

迄今为止,在海水双壳贝类中,杂合子缺失早已被研究者发现(Zouros *et al.*, 1984; Fairbrother *et al.*, 1993; Huvet *et al.*, 2000; Yu *et al.*, 2007)。Adamkewicz 等(1984)研究认为杂合子缺失会导致某些等位基因从基因库中消失,造成群体遗传多样性的降低,从而降低物种适应环境变化的能力(杨锐等, 2000)。目前关于杂合子缺失的解释,存在许多种观点,如:群体存在近交,自然选择, Wahlund 效应,电泳图谱将杂合子误判为纯合子等(张国范等, 1993)。本研究发现,4 种壳色选育系群体的平均遗传偏离指数 D 值均为负值,表明这 4 个选育系群体均存在不同程度的杂合子缺失,可能是由于在经 5 代壳色选育纯化过程中杂色表型被淘汰所引起的。另外,4 个群体的平均近交系数 F_{is} 为 0.4608,表明 4 个选育系群体之间存在一定程度的近交,可能是由于各壳色选育系群体内小群体自交繁殖所导致的。张国范等(1993)认为,在人工育苗繁殖中,近交程度比较严重,可以导致杂合子严重缺失。鉴于人工养殖会降低贝类的遗传多样性,在已纯化的各壳色品系中,可以通过以增加亲本数量进行生产性育苗,以便提高养殖群体的遗传多样性,避免近交现象发生。

3.3 遗传变异与遗传分化

遗传分化系数(F_{st})是衡量群体间遗传分化程度的重要参数。本研究结果表明马氏珠母贝 4 种壳色选育系群体间的 F_{st} 在 0.0236—0.1057 之间,表明各个壳色群体在经过 5 代的选育后,群体间存在较明显的遗传分化。一般认为,当 F_{st} 值为 0—0.05 时,群体间遗传分化较小;当 F_{st} 值为 0.05—0.15 时,群体间遗传分化为中等;当 F_{st} 值为 0.15—0.25 时,表明群体间存在较大的程度遗传分化;而当 F_{st} 值大于 0.25 时,则表明群体间存在着极大的遗传分化(Wright, 1978)。本研究中,4 个选育系的群体内近交系数 F_{is} 在 0.0701—0.7952 之间,平均值为 0.4608;总群体内亚群间的近交系数 F_{it} 在 0.0927—0.8023 之间,平均值为 0.4848;4 个选育系群体两两间的遗传分化系数 F_{st} 在 0.0236—0.1057 之间,平均值为 0.0445,表明群体之间属于轻度偏中度分化水平。此外,本研究中每个位点的基因流较大(Nm 值均大于 1),群体基因流 Nm 的平均值为 5.3618,揭示 4 个选育系群体的基因交流程度较高,从而导致它们的遗传分化较小且显著。

遗传距离(D)是估计群体间遗传变异的另一个重要指标,一般认为,同科属间的物种相似性系数在 0.1—0.5 之间,遗传距离在 0.5—0.9 之间;不同物种间相似性系数在 0.2—0.8 之间,遗传距离在 0.2—0.8 之间;而同种群相似性系数在 0.8—0.97 之间,遗传距离在 0.03—0.2 之间(Thorpe, 1982)。本研究所得遗传距离表明,四种壳色选育系两两群体之间的遗传距离在 0.0619—0.1718 之间,其中白壳色选育系与红壳色选育系之间的遗传距离最小(0.0619),黑壳色选育系与白壳色选育系之间的遗传距离最大(0.1718);相对应地,4 个选育系群体的遗传相似性系数在 0.8421—0.9400 之间。

表 4 和图 1 结果与陈静等(2010)和代悦等(2010)的研究结果存在差异,可能是因为雷州半岛马氏珠母贝来源复杂,有北部湾本地种多年自繁养殖的后代、北部湾种群与日本种群杂交后代经多年自繁的后代、北部湾种群与印度尼西亚种群杂交后代经多年自繁的后代等,使得挑选的亲本基因型来源不同,遗传结构也有所不同。

不同群体马氏珠贝形态测量结果(表 1)显示,四种壳色选育系各形态性状与对照组之间存在显著差异($P < 0.05$),且四种壳色选育系生长性能均高于对照组,说明经过连续 5 代闭锁繁育,控制壳色和生长的优良基因被纯化,杂色和不良生长性状被弃除,这也符合微卫星分析结果显示的杂合度有所下降。结合形态学数据和微卫星分析,表明四种壳色选育系经过 5 代壳色选育后,在存活率、生长速度和经济性状上均取得了较显著的遗传进展。

参 考 文 献

- 王庆恒, 邓岳文, 杜晓东等, 2008. 马氏珠母贝 4 个壳色选系 F_1 幼虫的生长比较. 中国水产科学, 15(3): 487—492
- 王庆恒, 张善发, 杜晓东等, 2009. 马氏珠母贝黄壳色选系 F_1 与对照组耗氧率和排氨率的比较. 水产学报, 33(5): 790—796
- 王爱民, 阎冰, 叶力, 2003. 三个野生种群马氏珠母贝遗传多样性的 RAPD 分析. 农业生物技术学报, 11(2): 163—168
- 代悦, 喻子牛, 杜晓东等, 2010. 马氏珠母贝 4 种壳色选育系 F_1 遗传结构的 AFLP 分析. 基因组学与应用生物学, 29(2): 252—258
- 曲妮妮, 龚世元, 黄桂菊等, 2009. 合浦珠母贝三个养殖群体遗传多样性的微卫星分析. 水生态学杂志, 2(4): 89—93
- 刘相全, 包振民, 胡景杰等, 2010. 两种蛤仔群体遗传多样性的形态参数及 AFLP 分析. 海洋与湖沼, 41(3): 359—364
- 孙孝德, 孙国华, 袁廷柱等, 2011. 刺参(*Apostichopus japonicus*)

- cus)野生及两代选育群体间遗传变异的微卫星标记研究. 海洋与湖沼, 42(3): 380—386
- 苏天凤, 蔡云川, 张殿昌等, 2002. 合浦珠母贝 3 个养殖群体的 RAPD 分析. 中国水产科学, 9(2): 106—109
- 杨 锐, 喻子牛, 2000. 山东沿海褶牡蛎与太平洋牡蛎等位基因酶的遗传变异. 水产学报, 24(2): 130—133
- 张国范, 张福绥, 1993. 贝类遗传多样性及其永续利用(I). 海洋科学, 5: 17—21
- 陈 静, 刘志刚, 孙小真等, 2010. 马氏珠母贝 4 种壳色选育系 F₃ 的生长特性和遗传多样性比较. 上海海洋大学学报, 19(5): 588—595
- 姜因萍, 何毛贤, 林岳光, 2007. 马氏珠母贝群体内遗传多样性的 ISSR 分析. 海洋通报, 26(5): 62—66
- Adamkewicz L, Taub S R, Wall J R, 1984. Genetics of the clam *Mercenaria mercenaria* II: Size and genotype. Malacologia, 25(2): 525—533
- Botstein D, White R L, Skolnick M, 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genetics, 32(3): 314—331
- Fairbrother J E, Beaumont A R, 1993. Heterozygote deficiencies in a cohort of newly settled *Mytilus edulis* spat. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 73(3): 647—653
- Huvet A, Lapegue S, Magoulas A *et al*, 2000. Mitochondrial and nuclear DNA phylogeography of *Crassostrea angulata*, the Portuguese oyster endangered in Europe. Conservation Genetics, 154(1): 251—262
- Mathur P K, Ponsuksili S, Groen A F *et al*, 1994. Estimation of genetic variability within and between populations using DNA fingerprints Proc. 5th World Conger Genet Appl Livest Prod, Guelph, 21: 528
- Nei M, 1972. Genetic distance between populations. American Naturalist, 106: 283—292
- Sokolova I M, Berger V J, 2000. Physiological variation related to shell color polymorphism in white sea *Littorina saxatilis*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 245: 1—23
- Tajima F, 1983. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. Genetics, 105: 437—460
- Thorpe J P, 1982. The molecular clock hypothesis: biochemical evolution, genetic differentiation and systematics. Annual Review of Ecology Systematics, 13(1): 139—168
- Wright S, 1978. Evolution and the genetics of population, variability within and among natural populations. Chicago: The University of Chicago Press, 167—175
- Yeh F C, Boyle T J B, 1997. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. Belgian Journal of Botany, 129: 157
- Yu H, Li Q, 2007. Genetic variation of wild and hatchery populations of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* assessed by microsatellite markers. Journal of Genetics and Genomics, 34(12): 1114—1122
- Zouros E, Foltz D W, 1984. Possible explanations of heterozygote deficiency in bivalve mollusks. Malacologia, 25(2): 541—583

GROWTH AND GENETIC DIVERSITY FOR FOUR SHELL COLOR LINES (F₅) OF THE PEARL OYSTER *PINCTADA MARTENSII*

ZHU Xiao-Wen, LIU Zhi-Gang, WANG Hui, WU Si-Rong
(Fisheries College of Guangdong Ocean University, Zhanjiang, 524025)

Abstract Survival rate and growth traits were measured among four shell color lines and control group of the pearl oyster *Pinctada martensii*. Growth traits contained shell length, shell height, shell width, hinge line, body weight, tissue weight and shell weight. The result showed that significant variation existed in these groups. Genetic diversity of four shell color lines of *P. martensii* was analyzed using microsatellite DNA. 30 pairs of primers were designed for this research. The result shown that there were 8 polymorphic loci and the proportion of polymorphic loci was 26.67%. Total 42 alleles were observed at the 8 loci from 120 individuals, with an average of 5.25 alleles per locus. Average expected and observed heterozygosities were 0.6850, 0.6831, 0.6730, 0.6622 and 0.3750, 0.2708, 0.4667, 0.3208 for the four lines, respectively, which showed that high level genetic diversity and breeding potential existed in the four lines. Average polymorphism information contents were 0.6190, 0.6182, 0.6130, 0.6025, 0.6131, and *D* values of heterozygote deviation were -0.4526, -0.6036, -0.3065, -0.5156 for the four populations, respectively. Genetic differentiation and genetic distance analysis showed that white shell color line and red shell color line were genetically close while black shell color line and white shell color line were distant.

Key words *Pinctada martensii*, Shell color lines, Growth, Genetic diversity, Microsatellite DNA