

文蛤(*Meretrix meretrix*)4 个壳色花纹品系的遗传差异分析*

朱东丽^{1,2} 林志华¹ 董迎辉¹ 姚韩韩³

(1. 浙江万里学院生物与环境学院 宁波 315100; 2. 中国海洋大学水产学院 青岛 266003;
3. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306)

提要 应用 AFLP 技术对文蛤红壳(RS)、黑斑(BS)、细纹(TC)、暗纹(DF)4 个壳色花纹品系进行遗传差异分析。利用 15 对 AFLP 引物组合对 4 品系共 128 个个体进行了 PCR 扩增和电泳检测, 共得到 789 个位点, 总多态位点比例 90.75%。Nei's 基因多样性和 Shannon's 信息指数显示, 4 个品系的遗传多样性大小依次为 BS 品系>RS 品系>DF 品系>TC 品系。AMOVA 分析表明, 79.45%的变异来自品系内, 品系间的变异只占 20.55%。聚类分析结果表明, 4 个品系间存在较明显的遗传差异, TC 品系与其他品系的遗传差异最大, DF 品系和 RS 品系的遗传差异相对较小。发现 1 个 TC 品系特有的 AFLP 标记, 其出现频率为 1.000, 可作为品系鉴别的特征性标记。

关键词 文蛤, 壳色花纹, AFLP, 遗传差异

中图分类号 S968.3

我国沿海不同海域分布的文蛤的表型有着很大的差别, 其区别主要在于壳色花纹, 随着地理分布不同发生着规律性的变化; 而在同一个地区, 文蛤贝壳的颜色和花纹也在一定范围内变化(李太武等, 2006)。近年来相关研究表明, 作为质量性状的壳色性状, 其遗传受单基因或少数基因控制(郑怀平等, 2005), 经少数几代选育即可固定, 所以壳色花纹选择纯化成为一个重要的育种目标。目前, 以壳色花纹为目标性状进行定向选育, 已在皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*) (刘晓等, 2003)、海湾扇贝(*Argopecten irradians*) (Zheng *et al.*, 2005)、菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*) (闫喜武, 2005)¹⁾和 马氏珠母贝(*Pinctada martensii*) (何毛贤, 2006)等贝类中取得了重要进展。

目前利用 AFLP 及 fAFLP 技术对文蛤不同群体的遗传学研究已有不少报道(林志华等, 2008, 2009),

但利用 AFLP 分子标记对文蛤的壳色花纹品系的研究尚未见报道。本研究以本课题组培育的文蛤 4 个壳色花纹品系为研究对象, 利用 AFLP 技术对其遗传差异进行了比较分析, 旨在筛查出与壳色花纹性状相关的分子遗传标记, 为分子标记辅助育种提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用文蛤(*Meretrix meretrix*)细纹(TC)、黑斑(BS)、暗纹(DF)和红壳(RS)4 个壳色花纹品系(图 1), 于 2009 年 7 月采自浙江省海洋水产养殖研究所清江基地, 各品系随机选取 60 粒, 活体解剖取闭壳肌, 保存于-80 超低温冰箱中, 用于 DNA 提取。

实验所用 *EcoR*、*Mse* 内切酶和 T_4 -DNA 连接酶均为 Fermentas 公司产品, PCR 扩增体系中的 *Taq*

* 国家自然科学基金项目, 30972255 号; 浙江省自然科学基金项目, Y3110080 号; 温州市重大科技项目, S20080019 号。朱东丽, E-mail: dongli1000@163.com

1) 闫喜武, 2005. 菲律宾蛤仔养殖生物学、养殖技术和品种选育. 青岛: 中国科学院海洋研究所博士学位论文, 200—203

通讯作者: 林志华, E-mail: zhihua9988@126.com

收稿日期: 2010-04-19, 收修改稿日期: 2010-06-26

酶、dNTP、Buffer、 $MgCl_2$ 购自大连宝生物工程有
限公司, AFLP 分析所用人工接头和引物均由上海生工
合成, 其序列见表 1。

1.2 DNA 的提取和 AFLP 分析

1.2.1 DNA 的提取及纯度的检测 取文蛤闭壳肌,
采用常规酚/氯仿/异戊醇法提取基因组 DNA, 得到的
DNA 样品用 1% 的琼脂糖电泳和紫外分光光度仪
(Varian Cary50 型) 进行定量, 无菌超纯水稀释至
100ng/ μ l。

1.2.2 AFLP 分析 根据预试验结果, 从 42 对引
物组合中筛选出 15 对扩增带数适中、条带清晰、多
态性高的引物组合, 用于对 4 个文蛤品系共 128 个
个体进行 AFLP 分析, 各引物组合分别为 E32M51、
E32M54、E32M55、E32M61、E32M62、E33M51、
E33M61、E35M48、E35M58、E38M54、E38M61、
E45M54、E45M48、E45M61、E45M51。

AFLP 过程参照 Vos 等(1995)的方法略加改动。
采用限制性内切酶 *EcoRI* 和 *MseI* 进行双酶切, 酶切

后用 T_4 -DNA 连接酶连接人工接头, 并进行 PCR 扩
增。选择扩增产物用 4.5% 变性聚丙烯酰胺胶电泳检
测, 60W 恒功率, 电泳 2h 后银染, 胶室温下自然干燥,
统计带型, 利用 ScanMarker9700XL 扫描仪成像记录
结果, 以便对 AFLP 图谱分析。

1.3 数据处理与分析

分析 AFLP 扩增图谱, 根据每个个体在银染凝胶
的不同迁移率处扩增条带的缺失或呈现进行统计,
转换成 0/1 数据矩阵, 根据统计结果, 找出各品系
的特异性扩增位点并计算其出现频率; 根据每个个
体的 0/1 数据矩阵, 用 Popgen1.32 生物分析软件计算
各品系的多态率(P)、Nei's 基因多样性指数(H)、
Shannon's 信息指数(I)、品系间基因分化系数(G_{st})以
及品系间的相对遗传距离(D)和遗传相似性系数; 运
用 Arlequin3.1 软件对其进行 AMOVA 分析得出遗传
分化系数(F_{st})和变异程度; 根据遗传距离, 用
MEGA4 软件的 UPGMA 和 NJ 作图法对其进行聚类
分析。

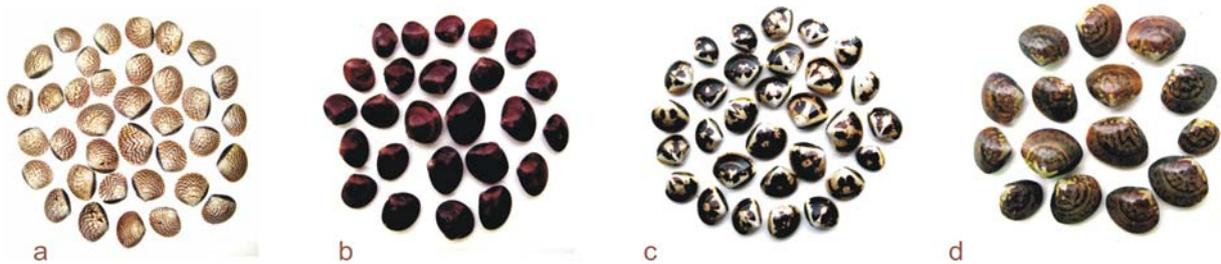


图 1 文蛤 4 个壳色花纹品系

Fig.1 Four *M. meretrix* strains with different shell colors and decorative patterns
注: a. 细纹(TC); b. 红壳(RS); c. 黑斑(BS); d. 暗纹(DF)、

表 1 AFLP 所用接头和引物的序列

Tab.1 Sequence of adaptors and primers used for the AFLP analysis

接头/引物	序列	接头/引物	序列
<i>EcoR</i> I 接头	5'-CTCGTAGACTGCGTACC-3' 3'-CTGACGCATGGTTAA-5'	<i>Mse</i> 接头	5'-GACGATGAGTCCTGAG-3' 3'-TACTCAGGACTCAT-5'
<i>EcoR</i> I 引物		<i>Mse</i> I 引物	
E01	5'- GACTGCGTACCAATTC A-3'	M02	5'-GATGAGTCCTGAGTAA C-3'
E32	5'-GACTGCGTACCAATTC AAC-3'	M48	5'-GATGAGTCCTGAGTAA CAC-3'
E33	5'-GACTGCGTACCAATTC AAG-3'	M51	5'-GATGAGTCCTGAGTAA CCA-3'
E35	5'-GACTGCGTACCAATTC ACA-3'	M54	5'-GATGAGTCCTGAGTAA CCT-3'
E38	5'-GACTGCGTACCAATTC ACT-3'	M55	5'-GATGAGTCCTGAGTAA CGA-3'
E45	5'-GACTGCGTACCAATTC ATG-3'	M58	5'-GATGAGTCCTGAGTAA CGT-3'
		M61	5'-GATGAGTCCTGAGTAA CTG-3'
		M62	5'-GATGAGTCCTGAGTAA CTT-3'

2 结果与分析

2.1 文蛤不同品系的 AFLP 扩增位点数和遗传多样性

应用筛选出的 15 对引物组合, 对 4 个品系共 128 个个体的基因组 DNA 进行了 AFLP 分析, 结果得到 789 个扩增位点, 总的多态位点比率达到 90.75%。15 对引物组合的扩增条带均很丰富, 平均每对引物扩增出 52.6 个位点。遗传多样性常用的指标包括多态位点比例和 Shannon's 信息指数(表 2), 4 个品系内的平均多态位点比率为 69.26%, 其中 TC、BS、DF 和 RS 品系的多态位点比例分别为 61.34%、75.16%、68.31%和 72.24%, 各品系的 Nei's 基因多样性指数为 0.2133—0.2305; Shannon's 信息指数为 0.3170—0.3487。从 Nei's 基因多样性和 Shannon's 信息指数来看, 遗传多样性大小依次为: BS 品系 > RS 品系 > DF 品系 > TC 品系。

表 2 4 个品系的多态位点比例、Nei's 基因多样性和 Shannon's 信息指数

Tab.2 Percentage of polymorphic loci, Nei's gene diversity index and Shannon's information index of the four *M. meretrix* strains

品系	多态位点百分率(%)	Nei's 基因多样性指数(H)	Shannon's 信息指数(I)
TC	61.34	0.2133±0.2045	0.3170±0.2905
BS	75.16	0.2305±0.1835	0.3487±0.2579
DF	68.31	0.2292±0.1946	0.3446±0.2762
RS	72.24	0.2295±0.1901	0.3483±0.2674
品系水平	69.26	0.2249±0.1932	0.3397±0.2730
物种水平	90.75	0.2649±0.1649	0.4093±0.2211

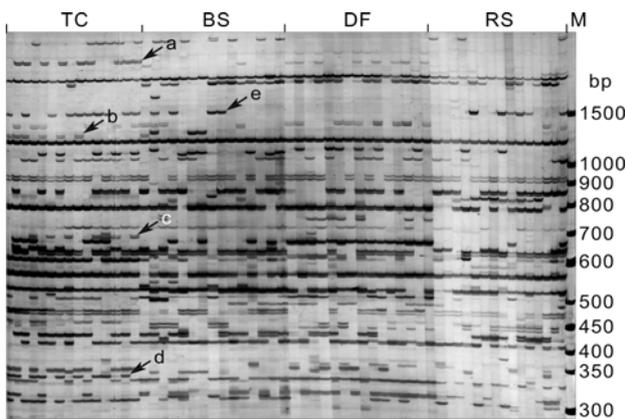


图 2 引物组合 E35M58 对 4 个品系部分个体的扩增图谱
Fig.2 A portion of an AFLP gel with primer E35M58 of the four *M. meretrix* strains

注: a、b、c、d 是 TC 品系特有位点, e 为 TC、BS、RS 品系共有位点, 而在 DF 品系中未出现

2.2 4 个文蛤品系的 AFLP 扩增带谱及特异性标记

4 个品系的多态位点很多, TC 品系和其他 3 个品系的图谱相差稍大, 出现的特异性位点较多(图 2a、b、c、d, 图 3a、b)且频率较高, 另外其他 3 个品系也有其特异性位点(表 3)。

由图 2、图 3 可以看出, 4 个品系 AFLP 扩增片段大部分在 1000bp 以下, 而在 300—800bp 之间最多, 多态位点比例也很高。TC 品系扩增图谱和其他 3 个品系有所差异, 出现的特有位点较多。

对 4 个品系特异性 AFLP 位点出现的频率进行了统计, 统计结果见表 3, 在 789 个位点中找出 4 个品系的特异性位点 29 个, 这些位点在各品系中的频率为 0.219—1.000, 其中 10 个为 TC 品系所特有, 10 个为 BS 品系所特有, 3 个为 DF 品系所特有, 6 个为 RS 品系所特有, 而 E45M51-27 为 TC 品系所特有的条带, 出现频率为 100%, 由此初步推断为 TC 品系的特征性带, 可作为与其他品系鉴别的特征性标记。

2.3 各品系间遗传分化程度

4 个文蛤品系间遗传分化系数 G_{st} 为 0.1512, 表明总的遗传变异中有 15.12% 的变异存在于品系间, 品系内的遗传变异为 84.88%, 品系间的基因流 (N_m) 为 2.8058。利用 Arlequin3.1 对遗传变异的来源进行 AMOVA 分析, 所得结果与 Nei's 上述分析结果基本一致(表 4), 总的遗传变异中有 20.55% 的变异发生在品系间, 79.45% 的变异发生在品系内, 品系间和品系内的变异极显著 ($P < 0.001$)。 F_{st} 值为 0.20550。

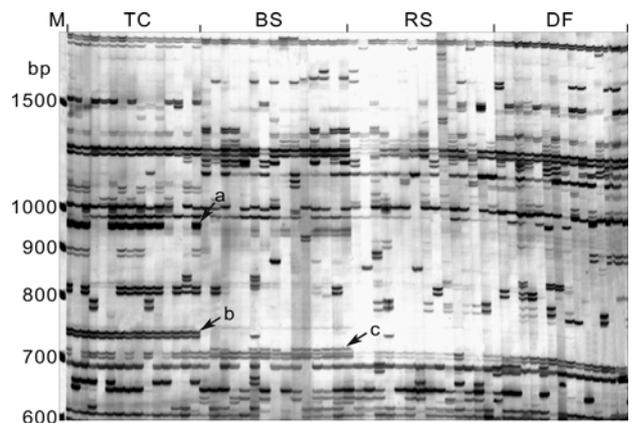


图 3 引物组合 E45M51 对 4 个品系部分个体的扩增图谱
Fig.3 A portion of an AFLP gel with primer E45M51 of the four *M. meretrix* strains

注: a、b 为 TC 品系的特有位点, c 为 BS 品系的特有位点

表 3 4 个品系特异性 AFLP 位点的出现频率

Tab.3 Frequency of unique loci in the four *M. meretrix* strains

序号	AFLP 位点	TC	BS	DF	RS
1	E38M61-21	0.344	0	0	0
2	E38M61-22	0.781	0	0	0
3	E38M61-38	0	0	0	0.500
4	E33M51-5	0	0	0.438	0
5	E32M61-14	0	0	0.219	0
6	E32M54-9	0.750	0	0	0
7	E35M48-4	0.375	0	0	0
8	E35M48-7	0.281	0	0	0
9	E38M54-6	0.781	0	0	0
10	E38M54-9	0	0.531	0	0
11	E38M54-12	0	0.344	0	0
12	E38M54-20	0.500	0	0	0
13	E45M48-3	0	0	0	0.406
14	E45M48-5	0	0.250	0	0
15	E45M48-7	0	0.281	0	0
16	E45M48-10	0	0.344	0	0
17	E45M48-17	0	0	0.438	0
18	E35M58-7	0	0	0	0.313
19	E35M58-32	0	0	0	0.469
20	E35M58-43	0.500	0	0	0
21	E45M51-9	0	0.375	0	0
22	E45M51-27	1.000	0	0	0
23	E32M51-11	0	0.219	0	0
24	E32M51-12	0	0	0	0.219
25	E32M51-19	0.313	0	0	0
26	E32M51-42	0	0	0	0.438
27	E32M51-48	0	0.250	0	0
28	E32M55-8	0	0.250	0	0
29	E32M55-34	0	0.219	0	0

注: 表中黑体部分标注此位点在 TC 品系中的频率为 1.000

表 4 文蛤品系间和品系内分子变异的 AMOVA 分析

Fig.4 Analysis of molecular variance among and within the four *M. meretrix* strains

变异来源	自由度	方差总和	方差分量	变异比例(%)
品系间	3	2618.945	24.33994	20.55
品系内	124	11668.844	94.10358	79.45
总计	127	14287.789	118.44352	100

2.4 遗传相似性系数、遗传距离及聚类分析

品系间的遗传相似度和遗传距离(表 5)分析表明, 各品系的遗传距离在 0.0460—0.0826 之间, 平均值为 0.0685; 遗传相似性系数在 0.9207—0.9551 之间, 平均值为 0.9356; 其中, DF 品系与 RS 品系之间的遗传距离最近, 为 0.0460; 而 TC 与 DF 品系之间的遗传距

离最大, 为 0.0826。聚类分析结果由图 4 可知, DF 品系和 RS 品系遗传距离最近, 首先聚为一支, 之后与 BS 品系聚在一起, 最后才与 TC 品系聚为一支。表明 TC 品系明显区别于其它品系, 与其它品系间的亲缘关系较远, 可见其在基因组水平上有明显特性。

表 5 文蛤 4 个品系间的遗传相似性系数和相对遗传距离 (根据 Nei 公式)

Tab.5 Nei's genetic similarity and genetic distance among the four *M. meretrix* strains

品系	TC	BS	DF	RS
TC	—	0.9324	0.9207	0.9245
BS	0.0700	—	0.9345	0.9455
DF	0.0826	0.0677	—	0.9551
RS	0.0785	0.0560	0.0460	—

注: 对角线以上为遗传相似系数, 对角线以下为遗传距离

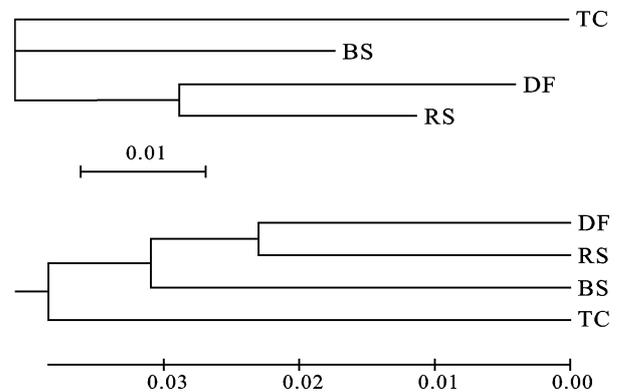


图 4 根据品系间遗传距离用 NJ 法和 UPGMA 法构建的 4 个品系的系统树

Fig.4 Phylogenetic tree based on genetic distance of the four *M. meretrix* strains using the NJ method and the UPGMA method

注: 上图为 NJ 法, 下图为 UPGMA 法

3 讨论

3.1 文蛤壳色花纹选育品系的遗传多样性

对文蛤遗传标记的研究目前主要集中在不同地理群体或养殖群体, 利用 RAPD、AFLP、fAFLP 和 ISSR 等分子标记技术分析群体遗传多样性差异(杜晓东等, 2004; 陈大鹏等, 2004); 而针对文蛤某一性状的特异性标记的研究尚未见报道。本研究针对文蛤的壳色花纹这一性状, 利用 AFLP 分子标记技术对 4 个壳色花纹品系进行了遗传差异分析。研究结果表明, 文蛤 4 个品系的遗传多样性水平为 0.2249(*H*)和 0.3397(*I*), 而林志华等(2008)利用 AFLP 技术研究的山东群体的遗传多样性结果为 0.2308(*H*)和 0.3462(*I*)。可以看出, 4 个壳色花纹品系遗传多样性比野生群体

的遗传多样性结果有所偏低;这与其它研究结果相类似,许多研究表明了经过人工选择后海洋动物选育系的遗传多样性小于野生群体或基础选育群体(代悦等,2010),Yu等(2005)利用 AFLP 和 SSR 技术对美洲牡蛎的研究及 Liu 等(2005)运用 SSR 标记对日本牙鲆的研究中也出现选育品系遗传多样性下降的现象,因在人工选育过程中,经常发生不确定因素,如近交几率增加,有效亲本数目减少等,有可能导致遗传多样性降低。其它一些水生生物中也有同样现象出现(Mgaya *et al.*, 1995)。本研究用于繁育基础群为黄河口附近的山东东营野生文蛤群体,经过 3 代选育出 4 个壳色花纹品系,在文蛤壳色花纹群体选育过程中,可能因亲本数量有限,产生近交衰退,导致选育系遗传多样性下降。为避免遗传多样性的降低,一方面应适当扩大文蛤基础群,与其它地理群体中相同壳色花纹的文蛤进行杂交;另一方面,建立不同壳色花纹文蛤家系,让不同家系间合理组配,以防近交衰退,提高品系的遗传多样性。

3.2 贝类壳色花纹多态性与遗传的关系

贝类壳色花纹多态性丰富,如皱纹盘鲍在自然海域中壳色常为暗绿、褐色或棕褐色,人工养殖的鲍壳色多呈翠绿色,少量变异个体壳色呈浅棕红色;海湾扇贝具有橙、棕、黄、紫、灰和白色等色彩;日本马氏珠母贝(*Pinctada fucata martensii*)的壳色有褐色(最常见)、红色、黄色和白色 4 种。贝类壳色多态性受环境影响或由基因控制的遗传变异。袁涛等(2009)¹⁾研究结果表明,华贵栉孔扇贝的壳色性状是受遗传控制的;Newkirk(1980)对不同壳色贻贝(*Mytilus edulis*)研究也证明了壳色在贻贝的可遗传性。Figueroa 等(1992)通过杂交对智利牡蛎(*Tiostrea chilensis*)壳色多态与遗传的关系研究,结果发现在相同的条件下,牡蛎划分为三种壳色类型,即两壳有条带、一壳有条带、两壳均无条带,两壳均无条带类型的表现为隐性,受一对等位基因的控制;Innes 等(1977)对贻贝壳色多态的可遗传性研究发现,少见的棕壳色个体受一对显性等位基因控制,而常见的黑壳色个体受另外一对等位基因控制,并且认为壳色主要受基因决

定,环境只是起到影响作用;Peiqnon 等(1995)主要对菲律宾蛤仔壳色、壳面花纹的遗传变异原理进行了研究,认为贝壳着色至少被二个基因控制。以上研究只是证明壳色花纹是受基因控制的遗传现象,但未通过分子遗传标记筛选出与贝类壳色花纹相关的分子标记,对于壳色花纹多态的分子机制还有待于进一步研究。而不同壳色花纹特征差异明显,有不少学者对不同花纹文蛤进行了蛋白质组学研究(苏秀榕等,2009),结果分析了差异蛋白对壳色花纹形成的影响,找到了可能与贝壳的颜色和花纹形成相关的差异蛋白点,但是单纯靠有限的生化位点来找各群体的遗传差异远远不够。本研究利用 AFLP 分子标记技术对 4 个不同壳色花纹品系的文蛤的遗传差异分析,结果找出了 1 个 TC 品系特异性条带,出现频率为 1.000,可作为品系鉴别的特征性标记,但后续工作需要壳色花纹相关的分子标记进一步克隆、测序、定位,对筛选出的特异基因是否与调控壳色花纹的形成还需进一步证实。

3.3 以壳色花纹为目标性状选育在贝类新品种培育中的应用

近年来,在贝类选择育种上,以壳色花纹作为目标性状,国内已选育出许多新的品种(系)(张国范等,2003;刘晓等,2004;战爱斌,2007²⁾;闫喜武,2005³⁾;丁君等,2008⁴⁾;何毛贤,2006)。由此培育出的壳色花纹漂亮、抗逆性强、产量高、种质好的贝类养殖新品种(系),对提升其商品价值无疑具有重要意义。

总之,将壳色花纹作为一个明显的目的性状,已广泛应用于贝类选择育种中。本课题组开展的文蛤壳色花纹品系选育工作还在进一步进行,在 4 个壳色花纹品系培育的基础上,把现代分子标记技术与家系杂交、定向选育等传统育种技术有机结合起来,培育出壳色和花纹美观漂亮又具有快速生长、抗逆等优良性状的文蛤新品种。

参 考 文 献

代悦,喻子牛,赵晓霞等,2010. 马氏珠母贝 4 个壳色选育系 F 遗传结构的 AFLP 分析. 基因组学与应用生物学, 29(2): 252—258

1) 袁涛,何毛贤,2009. 华贵栉孔扇贝遗传连锁图谱构建和壳色 SCAR 标记的鉴定. 见:中国动物学会、中国海洋湖沼学会贝类学会分会第十四次学会研讨会论文摘要汇编, 87

2) 战爱斌,2007. 栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)微卫星标记的筛选及应用. 青岛:中国海洋大学博士学位论文, 120—130

3) 闫喜武,2005. 菲律宾蛤仔养殖生物学、养殖技术和品种选育. 青岛:中国科学院海洋研究所博士学位论文, 200—203

4) 丁君,银学祥,曹学彬等,2008. 双白壳虾夷扇贝的培养方法:中国专利号, CN101103709. 40—45

- 刘 晓, 张国范, 赵洪恩, 2003. 皱纹盘鲍“中国红”品系的选育. 动物学杂志, 38(4): 27—29
- 刘 晓, 高其康, 张国范, 2004. 不同壳色皱纹盘鲍杂交家系 J1RHF1 全长 cDNA 文库的构建. 水产学报, 28(1): 23—28
- 苏秀榕, 金春华, 李春艳等, 2009. 不同花纹文蛤(*Meretrix meretrix*)的外套膜蛋白质的双向电泳研究. 海洋与湖沼, 40(6): 777—780
- 杜晓东, 邓岳文, 叶富良等, 2004. 广东和广西地区野生文蛤的遗传多样性. 中国水产科学, 11(1): 41—46
- 李太武, 张安国, 苏秀榕等, 2006. 不同花纹文蛤(*Meretrix meretrix*)的 ITS2 分析. 海洋与湖沼, 37(2): 132—136
- 何毛贤, 2006. 马氏珠母贝红壳品系“南科珍珠红”的培育. 热带海洋学报, 25(2): 58
- 张国范, 刘述锡, 刘 晓等, 2003. 海湾扇贝自交家系和自交效应. 中国水产科学, 10(6): 441—445
- 林志华, 董迎辉, 李 宁等, 2008. 基于形态参数和 AFLP 标记的文蛤(*Meretrix meretrix*)不同地理群体遗传变异分析. 海洋与湖沼, 39(3): 245—251
- 林志华, 黄晓婷, 董迎辉等, 2009. 广西文蛤(*Meretrix*)的 fAFLP 及 ITS 分析. 海洋与湖沼, 40(1): 33—41
- 郑怀平, 张国范, 刘 晓等, 2005. 不同贝壳颜色海湾扇贝家系的建立及生长发育的研究. 海洋与湖沼, 36(6): 632—639
- Figueroa E, Brand E, Winkler F, 1992. Shell color polymorphism and growth in the Chilean oyster *Tiostrea chilensi*. Journal of Shellfish Research, 11(1): 194
- Innes D J, Halev L E, 1977. Inheritance of a shell color polymorphism in the mussel. J Hered, 68(3): 203—204
- Liu Y G, Chen S L, Li B F, 2005. Assessing the genetic structure of three Japanese flounder (*Paralichthys solivaceus*) stocks by microsatellite markers. Aquaculture, 243(1—4): 103—111
- Mgaya Y D, Gosling E M, Mercer J P *et al*, 1995. Genetic variation at three polymorphic loci in wild and hatchery stocks of the abalone, *Haliotis tuberculata* Linnaeus. Aquaculture, 136(1—2): 71—80
- Newkirk G F, 1980. Genetics of shell color in *Mytilus edulis* L. and the association of growth rate with shell color. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 47(1): 89—94
- Peiqnon J M, Geraed A, Naciri Y *et al*, 1995. Analysis of shell color determinism in the Manila clam *Ruditapes philippinarum*. Aquatic Living Resources, 20(8): 181—189
- Vos P, Hogers R, Bleeker M *et al*, 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research, 23: 4407—4114
- Yu Z N, Guo X M, 2005. Genetic analysis of selected strains of Eastern oyster (*Crassostrea virginica* Gmelin) using AFLP and microsatellite markers. Marine Biotechnology, 6(6): 575—586
- Zheng H P, Zhang G F, Liu X, 2005. Comparison of growth and survival of larvae among different shell color stocks of bay scallop *Argopecten irradians* (Lamarck 1819). Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 23(2): 183—188

GENETIC VARIATION ANALYSIS OF FOUR STRAINS OF *MERETRIX MERETRIX* THAT HAVE DIFFERENT SHELL COLORS AND DECORATIVE PATTERNS

ZHU Dong-Li^{1, 2}, LIN Zhi-Hua¹, DONG Ying-Hui¹, YAO Han-Han³

(1. College of Biological and Environmental Sciences, Zhejiang Wanli University, Ningbo, 315100; 2. College of Fisheries, Ocean University of China, Qingdao, 266003; 3. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai, 201306)

Abstract Genetic variations of four strains of *Meretrix meretrix*, i.e., thin checkered (TC), black spot (BS), dark fringe (DF) and red shell (RS), were examined using amplified fragment length polymorphism (AFLP). 15 AFLP primer combinations were applied to analyze the genetic diversities and relationships among these strains. 29 strain-specific bands were found in overall 789 detectable bands. These strain-specific bands may be used to distinguish these four strains. The overall percentage of the polymorphic loci of these four strains was 90.75% and the percentage of the polymorphic loci ranged from 61.34% to 75.16%. Nei's genetic diversity analysis and Shannon's information index showed that the levels of genetic diversity were in the order of BS > RS > DF > TC. AMOVA analysis indicated that the average fixation index (F_{st}) was 0.2055%, with 79.45% of variance from within strains and 20.55% of variance from among strains. The results of a cluster analysis indicated that the TC strain had the highest genetic variation, the BS strain ranked the second, and genetic variations between the DF and RS strain were the lowest. One AFLP marker only existed in the TC strain and the frequency was 100%. These results suggested that the unique band of TC strains could be a molecular marker which can be used for strain identification purposes.

Key words *Meretrix meretrix*, Shell color and decorative pattern, AFLP, Genetic variation