

## 中国沿海脉红螺群体遗传多样性及其遗传结构

杨智鹏, 于红\*, 于瑞海, 孔令锋, 李琪

(中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003)

**摘要:** 我国脉红螺自然资源日趋衰减, 为制定相应保护措施, 需要对脉红螺遗传多样性及遗传结构进行分析研究。本实验利用 9 个微卫星标记分析了我国沿海脉红螺 9 个群体的遗传多样性和遗传分化水平。遗传多样性分析结果显示, 群体平均等位基因丰度( $A_R$ )为 8.6~9.5, 期望杂合度( $H_E$ )为 0.705~0.777, 观测杂合度( $H_o$ )为 0.498~0.626。遗传分化分析结果显示, 群体间遗传分化指数( $F_{ST}$ )范围为 0.012 2~0.093 6, 各群体间没有显著的遗传分化, 遗传距离( $D_C$ )为 0.212~0.349。本研究结果表明, 我国沿海脉红螺群体具有较高的遗传多样性, 各群体间没有显著分化。

**关键词:** 脉红螺; 微卫星; 遗传多样性; 遗传结构

**中图分类号:** Q 346; S 968.3

**文献标志码:** A

脉红螺(*Rapana venosa*), 俗称海螺、红螺, 属软体动物门(Mollusca)、腹足纲(Gastropoda)、新腹足目(Neogastropoda)、骨螺科(Muricidae)、红螺属(*Rapana*), 广泛分布于朝鲜半岛、日本沿海以及我国渤海、黄海和东海<sup>[1-2]</sup>。脉红螺足部肥大、肉味鲜美, 是亚洲地区具有重要经济价值的大型海产腹足类, 也是我国重要的渔业捕捞对象<sup>[3-4]</sup>。近年来, 随着我国脉红螺资源生物量的日益衰减及市场需求的不断扩大, 脉红螺已成为我国重要的养殖开发品种<sup>[5-8]</sup>。了解物种群体内(间)的遗传结构及关系, 将为物种的种质资源保护和人工繁育提供重要的科学依据<sup>[9]</sup>。因此, 开展脉红螺群体遗传多样性和遗传结构的研究对脉红螺的种质保护及人工繁育具有重要意义。

微卫星 DNA 标记, 又称简单序列重复(simple sequence repeat, SSR), 是一种广泛分布于真核生物基因组中的串状重复序列。与其他分子标记相比, 微卫星标记具有多态性高、共显性遗传、易于扩增等特点, 因此被广泛地应用于海洋无脊椎动物群体遗传研究<sup>[10-11]</sup>。Li 等<sup>[12]</sup>利用 7 个高多态性微卫星位点分析了中国沿海太平洋牡

蛎(*Crassostrea gigas*)5 个养殖群体的遗传结构, 结果表明 5 个群体都呈现出较高的遗传多样性, 并且出现了遗传分化现象。Ni 等<sup>[13]</sup>通过对中国蛤蜊(*Macra chinensis*)8 个群体的微卫星标记分析, 得出这 8 个群体之间存在显著的遗传分化。基于微卫星标记, Li 等<sup>[14]</sup>分析比较了中国养殖虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)3 个群体和日本野生虾夷扇贝 2 个群体之间的遗传多样性, 结果显示由于地理隔离和遗传漂变导致中国养殖群体遗传多样性低于日本野生群体。相对于其他经济贝类(如牡蛎、扇贝), 脉红螺的微卫星标记开发相对较晚, An 等<sup>[15]</sup>首次开发了 23 个脉红螺微卫星标记, 随后 Xue 等<sup>[16]</sup>和 Sun 等<sup>[17]</sup>分别相继开发了 24 和 57 个脉红螺微卫星标记, 为脉红螺群体遗传多样性和遗传分化研究提供了充足的标记。

本研究利用 9 个微卫星位点, 分析了我国沿海脉红螺 9 个群体的遗传多样性和遗传结构, 揭示了脉红螺 9 个群体间的遗传关系, 以为我国脉红螺种质资源保护和人工繁育等工作提供理论基础。

收稿日期:2015-05-05 修回日期:2015-06-18

资助项目:国家自然科学基金(31201998); 国家科技支撑计划(2011BAD13B01); 青岛市科技计划基础研究项目(13-1-4-178-jch)

通信作者:于红, E-mail: hongyu@ouc.edu.cn

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集和 DNA 提取

本研究在中国沿海共采集了脉红螺 9 个自然群体(表 1),每个群体 48 个个体。剪取脉红螺新鲜个体腹足肌,置于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱保存备用。基因组 DNA 提取采用常规酚/氯仿法,每个样本取 0.1 g 冰冻的腹足肌,切成细末,加入裂解缓冲液 400  $\mu\text{L}$  (6 mol/L 尿素, 10 mmol/L Tris - HCl, 125 mmol/L NaCl, 1% SDS, 10 mmol/L EDTA, pH 7.5), 蛋白酶 K 10  $\mu\text{L}$  (20 mg/mL),  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  消化过夜。用等体积的酚:氯仿:异戊醇(V:V:V = 25:24:1) 提取 3 次。等体积的氯仿和异戊醇混合液氯仿:异戊醇(V:V = 24:1) 提取 2 次。然后加入 2 倍体积预冷的无水乙醇沉淀,70% 乙醇洗涤 2 遍后干燥,TE 溶解。紫外分光光度计测定 DNA 的浓度和纯度,母液置于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存备用,将工作液浓度稀释至 100 ng/ $\mu\text{L}$ 。

### 1.2 微卫星分析

根据 Sun 等<sup>[17]</sup>报道的脉红螺 59 个微卫星标记,从中筛选出 9 个多态性较高的位点用于本研究:Rv050, Rv040, Rv013, Rv012, Rv009, Rv004, Rv019, Rv029 和 Rv015。PCR 反应体系为 10  $\mu\text{L}$ , 含 0.25 U Taq DNA 聚合酶, 2.0 mM  $\text{MgCl}_2$ , 1  $\times$  PCR Buffer, 0.2 mM dNTP 混合液, 1  $\mu\text{M}$  引物和 100 ng 模版 DNA。PCR 反应条件: $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  预变性 3 min, 35 个循环; $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  变性 45 s, 最适退火温度 45 s,  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  延伸 45 s, 最后  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  延伸 5 min。PCR 产物采用 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测,硝酸银法染色。10 bp DNA ladder 作为 Marker 检测等位基因的大小,为确保读数的准确性,用同一个参照样在每一次电泳中作为对照。

### 1.3 数据分析

用软件 MICROSATELLITE ANALYSER (MSA) 计算各位点的等位基因数( $N$ ),期望杂合度( $H_E$ ),观测杂合度( $H_O$ )和遗传距离( $D_C$ )<sup>[18]</sup>。等位基因丰度( $A_R$ )用软件 FSTAT 计算(<http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>)。用软件 GENEPOP 计算哈迪-温伯格(HWE)平衡和位点之间的连锁不平衡(linkage disequilibria)<sup>[19]</sup>。用软件 MICRO-CHECKER 2.2.3 检查无效等位基因<sup>[20]</sup>。利用软件 ARLEQUIN 3.0 计算遗传分化指数( $F_{ST}$ )<sup>[21]</sup>。用

群体遗传分析软件 IBDWS 分析 IBD (isolation-by-distance) (<http://phage.sdsu.edu/~jensen/>)。用 Bonferroni correction 法对多重比较的显著性水平进行校正。

表 1 脉红螺群体采集地点

Tab. 1 Sampling sites of populations of *R. venos. a*

群体 population	代码 code	采集地点 sampling sites
青岛 Qingdao	QD	36°08'58"N—120°14'08"E
烟台 Yantai	YT	37°36'46"N—121°14'56"E
连云港 Lianyungang	LYG	34°43'02"N—119°32'55"E
大连 Dalian	DL	39°13'18"N—122°36'11"E
东营 Dongying	DY	38°01'37"N—118°37'25"E
日照 Rizhao	RZ	35°21'57"N—119°34'13"E
丹东 Dandong	DD	40°00'20"N—124°20'21"E
舟山 Zhoushan	ZS	30°10'09"N—122°14'39"E
秦皇岛 Qinhuangdao	QHD	39°52'52"N—119°40'47"E

## 2 结果

### 2.1 群体的遗传多样性

9 个位点在所有群体中均表现出较高的多态性,共检测到 137 个等位基因(表 2)。每个位点的等位基因数为 3 ~ 24,等位基因丰度为 2.8 ~ 20.5。9 个群体的等位基因丰度之间没有显著性差异( $P = 0.959$ ),平均等位基因丰度依次为 RZ (9.5), ZS (9.5), QD (9.3), LY (9.2), DY (9.1), QHD (9.0), YT (8.9), DD (8.8) 和 DL (8.6)。

经过 Bonferroni 校正,各位点之间不存在连锁不平衡。9 个群体的平均观测杂合度值均小于平均期望杂合度值。观测杂合度( $H_O$ )和期望杂合度( $H_E$ )在不同群体间没有显著差异( $P > 0.05$ ),平均观测杂合度为 0.498 ~ 0.626,平均期望杂合度为 0.705 ~ 0.777,青岛群体平均  $H_E$  最低(0.705),日照群体平均  $H_E$  最高(0.777)。经 Bonferroni 校正的 HWE 平衡检验结果显示,9 个群体在 9 个位点上有 32 个群体一位点组合显著偏离 HWE 平衡( $P < 0.01/9$ )。

### 2.2 遗传分化

不同群体间的遗传分化指数  $F_{ST}$  值为 0.012 2 ~ 0.093 6,各群体间  $F_{ST}$  值差异不显著( $P > 0.01$ )(表 3)。9 个群体间的遗传距离  $D_C$  为 0.212 ~ 0.349。IBD 分析结果显示脉红螺群体之间遗传距离和地理距离不存在显著相关性( $P > 0.05$ ),不符合距离隔离模式(图 1)。

表 2 9 个脉红螺群体的遗传多样性  
 Tab.2 The genetic diversity of nine populations of *R. venosa*

位点 locus	QD(48)	YT(48)	LY(48)	DL(48)	DY(48)	RZ(48)	DD(48)	ZS(48)	QHD(48)
<i>N</i>	17	15	19	15	17	16	15	19	18
Rv004	<i>H<sub>O</sub></i> 0.756	0.739	0.591	0.667	0.725	0.429	0.681	0.650	0.500
	<i>H<sub>E</sub></i> 0.911	0.905	0.901	0.906	0.910	0.903	0.892	0.880	0.919
	<i>P</i> 0.008	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
	<i>A<sub>R</sub></i> 15.3	13.6	15.4	13.8	15.5	14.1	13.7	16.7	16.8
Rv009	<i>N</i> 5	5	5	5	6	5	5	5	6
	<i>H<sub>O</sub></i> 0.548	0.745	0.708	0.702	0.804	0.625	0.587	0.762	0.727
	<i>H<sub>E</sub></i> 0.705	0.727	0.682	0.701	0.705	0.707	0.708	0.692	0.704
	<i>P</i> 0.003	0.987	0.657	0.221	0.422	0.226	0.157	0.154	0.181
	<i>A<sub>R</sub></i> 4.8	4.9	4.6	4.8	5.4	4.9	4.9	4.8	5.2
Rv012	<i>N</i> 20	18	17	18	19	18	18	24	18
	<i>H<sub>O</sub></i> 0.795	0.667	0.675	0.805	0.674	0.780	0.909	0.905	0.730
	<i>H<sub>E</sub></i> 0.944	0.859	0.889	0.898	0.865	0.921	0.915	0.944	0.890
	<i>P</i> 0.003	<b>0.000</b>	0.003	0.144	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	0.406	0.269	0.002
	<i>A<sub>R</sub></i> 19.0	15.7	15.8	15.1	15.6	16.8	16.1	20.5	16.4
Rv013	<i>N</i> 3	3	4	4	4	5	3	4	4
	<i>H<sub>O</sub></i> 0.061	0.281	0.140	0.348	0.231	0.364	0.478	0.227	0.435
	<i>H<sub>E</sub></i> 0.117	0.408	0.548	0.402	0.256	0.553	0.424	0.396	0.604
	<i>P</i> 0.092	0.036	<b>0.000</b>	0.177	0.559	0.005	0.070	<b>0.001</b>	0.023
	<i>A<sub>R</sub></i> 2.8	3.0	3.6	4.0	3.7	4.5	3.0	3.8	3.6
Rv015	<i>N</i> 8	8	9	6	6	8	7	6	9
	<i>H<sub>O</sub></i> 0.265	0.293	0.242	0.429	0.382	0.229	0.200	0.323	0.206
	<i>H<sub>E</sub></i> 0.843	0.784	0.707	0.744	0.765	0.828	0.771	0.797	0.763
	<i>P</i> <b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
	<i>A<sub>R</sub></i> 8.0	7.5	8.6	6.0	6.0	7.9	6.9	6.0	8.7
Rv019	<i>N</i> 17	18	18	18	19	19	18	17	18
	<i>H<sub>O</sub></i> 0.649	0.575	0.610	0.600	0.800	0.722	0.581	0.595	0.432
	<i>H<sub>E</sub></i> 0.937	0.939	0.941	0.919	0.941	0.946	0.933	0.936	0.941
	<i>P</i> <b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
	<i>A<sub>R</sub></i> 16.3	16.5	17.2	16.3	17.9	18.0	16.4	16.3	17.2
Rv029	<i>N</i> 7	8	7	7	7	7	7	6	6
	<i>H<sub>O</sub></i> 0.595	0.675	0.628	0.739	0.727	0.619	0.723	0.634	0.600
	<i>H<sub>E</sub></i> 0.696	0.706	0.655	0.741	0.728	0.762	0.760	0.674	0.675
	<i>P</i> 0.080	0.771	0.249	0.266	0.211	0.084	0.176	0.799	0.084
	<i>A<sub>R</sub></i> 6.9	7.7	6.9	6.8	7.0	6.9	6.9	5.6	5.7
Rv040	<i>N</i> 4	4	5	3	4	4	5	5	3
	<i>H<sub>O</sub></i> 0.442	0.341	0.421	0.341	0.463	0.424	0.444	0.500	0.406
	<i>H<sub>E</sub></i> 0.610	0.563	0.565	0.528	0.684	0.669	0.504	0.592	0.534
	<i>P</i> 0.034	0.005	0.077	0.010	<b>0.000</b>	0.004	0.180	0.038	0.253
	<i>A<sub>R</sub></i> 4.0	3.9	4.7	3.0	4.0	4.0	5.0	4.8	3.0
Rv050	<i>N</i> 7	8	6	8	8	9	7	7	5
	<i>H<sub>O</sub></i> 0.512	0.522	0.500	0.511	0.826	0.788	0.478	0.550	0.441
	<i>H<sub>E</sub></i> 0.585	0.712	0.565	0.617	0.652	0.705	0.529	0.512	0.494
	<i>P</i> 0.394	0.002	0.465	0.190	0.010	0.760	0.258	0.950	0.387
	<i>A<sub>R</sub></i> 6.8	7.0	5.8	7.3	6.6	8.5	6.0	6.6	4.8
average	<i>N</i> 9.8	9.7	10.0	9.3	10.0	10.1	9.4	10.3	9.7
	<i>H<sub>O</sub></i> 0.513	0.538	0.502	0.571	0.626	0.553	0.565	0.572	0.498
	<i>H<sub>E</sub></i> 0.705	0.734	0.717	0.717	0.723	0.777	0.715	0.714	0.725
	<i>A<sub>R</sub></i> 9.3	8.9	9.2	8.6	9.1	9.5	8.8	9.5	9.0

注:加粗表示显著偏离 HWE 平衡 ( $P < 0.01/9$ , Bonferroni 方法校正值)

Notes: bold type indicates significant deviations from Hardy-Weinberg equilibrium ( $P < 0.01/9$ , Bonferroni-corrected value)

表 3 脉红螺群体间的遗传分化指数和群体间的遗传距离(对角线上:遗传距离;对角线下,遗传分化指数)

	QD	YT	LY	DL	DY	RZ	DD	ZS	HB
QD	0	0.255	0.239	0.242	0.229	0.272	0.212	0.276	0.258
YT	0.0298	0	0.276	0.222	0.277	0.234	0.240	0.324	0.314
LY	0.0510	0.0630	0	0.278	0.273	0.281	0.236	0.292	0.294
DL	0.0323	0.0029	0.0735	0	0.270	0.245	0.235	0.315	0.287
DY	0.0407	0.0482	0.0793	0.0618	0	0.313	0.250	0.227	0.314
RZ	0.0727	0.0346	0.0656	0.0420	0.0834	0	0.251	0.349	0.285
DD	0.0058	0.0292	0.0409	0.0281	0.0454	0.0470	0	0.289	0.274
ZS	0.0543	0.0755	0.0704	0.0853	0.0122	0.0936	0.0610	0	0.332
HB	0.0297	0.0528	0.0486	0.0510	0.0670	0.0415	0.0183	0.0845	0

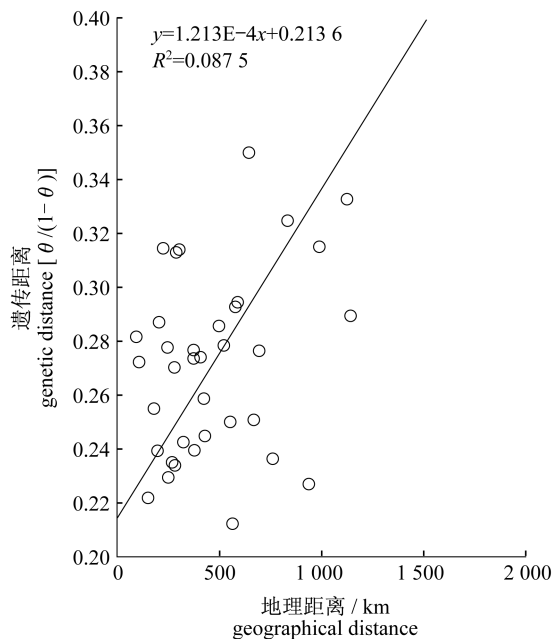


图 1 脉红螺遗传距离和地理距离的相关性分析 ( $y = 1.213E - 4x + 0.2136$ ,  $R^2 = 0.0875$ ,  $P = 0.1438$ )

Fig.1 Correlation between geographical distance and genetic distance in *R. venosa* by IBD analysis

### 3 讨论

有学者利用同工酶和线粒体 DNA 16S rRNA 分别对中国沿海脉红螺自然群体遗传结构进行了研究<sup>[2,22]</sup>,同工酶分析结果显示,7 个脉红螺自然群体之间存在显著的遗传分化,然而线粒体 DNA 16S rRNA 研究结果显示,中国沿海脉红螺 7 个自然群体之间不存在显著的遗传分化。由于同工酶和 mtDNA 标记在群体遗传结构分析中均存在着一定的局限性,如同工酶的多态性低,而 mtDNA 遗传模式为母系遗传,仅能代表雌性个体的历史

演化过程,不能全面地反映群体的遗传水平。因此有必要使用新的分子标记技术对我国脉红螺群体结构及多样性进行研究。微卫星 DNA 标记由于其高多态性、共显性、易于扩增等特点被广泛应用于动植物群体遗传学研究<sup>[23-24]</sup>。本研究中,9 个微卫星位点在脉红螺 9 个群体中均表现出了较高的多态性,平均等位基因丰度为 8.6 ~ 9.5,平均期望杂合度为 0.705 ~ 0.777,明显高于同工酶标记(平均等位基因丰度 1.65 ~ 2.13,平均期望杂合度 0.086 ~ 0.149)<sup>[22]</sup>。

本研究中,9 个微卫星位点在各群体中都表现出了较高的多态性,说明中国沿海野生脉红螺群体还保持着较高的遗传多样性。杨建敏等<sup>[2]</sup>用线粒体 DNA 16S rRNA 对中国沿海脉红螺 7 个自然群体的遗传特性进行了研究,结果表明 7 个群体都存在丰富的种群内变异,与本研究结果类似。高水平的遗传多样性在许多其他贝类群体中也有发现,例如, Yu 等<sup>[25]</sup>利用 7 个微卫星位点分析了中国沿海魁蚶 (*Scapharca broughtonii*) 7 个野生群体的遗传多样性水平,得出位点的平均等位基因丰度为 (11.3 ~ 12.5),期望杂合度为 0.835 ~ 0.867;牛东红等<sup>[26]</sup>对我国浙闽沿海缢蛏 (*Sinonovacula constricta*) 8 个群体遗传结构进行了微卫星位点分析,结果显示平均有效等位基因数为 6.2 ~ 9.0,期望杂合度为 0.806 ~ 0.875。较高的遗传多样性可能与贝类高繁殖力和较强的幼虫扩散能力有关<sup>[25,27]</sup>。脉红螺繁殖力较强,每个雌螺平均产卵量约 75.4 万粒,前期幼虫被卵袋保护,卵袋经卵裂期、囊胚期、原肠胚期、膜内担轮幼虫期、膜内面盘幼虫期,经过 20 ~ 26 d 面盘幼虫从卵袋中孵出,开始浮游幼虫阶段<sup>[5-7]</sup>。卵袋可以使脉红螺幼虫度过前期一些不可预测的环境变

化,从而保障了较高幼虫存活率。

本研究发现,9个脉红螺群体间遗传分化水平为0.012 2~0.093 6,群体之间没有显著的遗传分化,IBD分析结果显示脉红螺群体不符合距离隔离模式,说明群体之间可能存在较强的基因流。杨建敏等<sup>[2]</sup>用线粒体DNA 16S rRNA对中国沿海脉红螺7个自然群体的遗传特性进行了研究也得到类似的结果:群体之间的遗传相似度和遗传渗透极高,无法构建出群体聚类图谱。类似的结果在其他海洋无脊椎动物中也有报道,如Xue等<sup>[28]</sup>利用微卫星标记和COI序列对中国和韩国栉江珧(*Atrina pectinata*)8个群体的遗传结构进行研究,结果显示由于基因流的影响导致群体间没有显著的遗传分化。目前,研究者普遍认为海洋无脊椎动物不同地理群体之间遗传分化的原因主要有两方面:浮游幼虫扩散能力的强弱和海洋环境<sup>[28-32]</sup>。对于有浮游幼虫期的海洋无脊椎动物,浮游幼虫期的长短被认为可以影响基因流的大小,幼虫浮游时间越长,基因流将会越大<sup>[33]</sup>。脉红螺浮游幼虫可分为1螺层期、2螺层期、3螺层初期、3螺层中后期和4螺层期5个时期,浮游幼虫期持续30~33 d<sup>[6]</sup>,这增加了群体间基因流的机会和可能性。其次,与双壳类相比,成体脉红螺具有发达的腹足,有很强的迁移能力,也增加了与其他地理群体间基因流的机会。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Xue D,Zhang T,Liu J X. Microsatellite evidence for high frequency of multiple paternity in the marine gastropod *Rapana venosa* [ J ]. PloS One, 2014, 9 ( 1 ): e86508.
- [ 2 ] Yang J M,Li Q,Zheng X D, et al. Genetic diversity in populations of *Rapana venosa* in coastal waters of China [ J ]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2008, 39(3): 257 - 262. [ 杨建敏,李琪,郑小东,等. 中国沿海脉红螺(*Rapana venosa*)自然群体线粒体DNA 16S rRNA遗传特性研究. 海洋与湖沼,2008, 39(3): 257 - 262. ]
- [ 3 ] Sun X P,Yuan C Y,Cui Q M, et al. Extraction and comparison of contents of taurine and glycosaminoglycans from 4 kinds of shellfish in offshore of Tianjin [ J ]. Journal of Hydroecology, 2010, 3 ( 2 ): 80 - 83. [ 孙晓朋,袁春营,崔青曼,等. 4种天津近海产贝类牛磺酸和糖胺聚糖的粗提及含量比较. 水生态学杂志,2010,3(2): 80 - 83. ]
- [ 4 ] Ban S J,Xue D X,Zhang T, et al. Variance analysis of three color morphs of *Rapana venosa* based on morphological traits and mt16S rRNA and COI partial sequences [ J ]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2012, 43(6): 1209 - 1217. [ 班绍君,薛东秀,张涛,等. 三种壳口颜色脉红螺(*Rapana venosa*)形态学和线粒体16S rRNA与COI基因片段差异比较分析. 海洋与湖沼,2012,43(6): 1209 - 1217. ]
- [ 5 ] Wei L P,Qiu S Y,Wang B G, et al. Studies on the reproductive biology of *Rapana venosa* [ J ]. Journal of Fisheries of China, 1999, 23(2): 150 - 155. [ 魏利平,邱盛尧,王宝钢,等. 脉红螺繁殖生物学的研究. 水产学报,1999,23(2): 150 - 155. ]
- [ 6 ] Pan Y, Qiu T L, Zhang T, et al. Morphological studies on the early development of *Rapana venosa* [ J ]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37 ( 10 ): 1503 - 1512. [ 潘洋,邱天龙,张涛,等. 脉红螺早期发育的形态观察. 水产学报,2013,37(10): 1503 - 1512. ]
- [ 7 ] Hao Z L, Yu Y Y, Song J, et al. Observation on early development of snail *Rapana venosa* [ J ]. Journal of Dalian Ocean University, 2014, 29(1): 1 - 4. [ 郝振林,于洋洋,宋坚,等. 脉红螺早期发育的观察. 大连海洋大学学报,2014,29(1): 1 - 4. ]
- [ 8 ] Liang S X, Ni X J, Zhao X R, et al. Determination of PCBs and PBDEs in *Rapana Venosa* collected from Bohai Bay [ J ]. Research of Environmental Sciences, 2012, 25(4): 441 - 446. [ 梁淑轩,倪新娟,赵兴茹,等. 渤海湾脉红螺中多氯联苯和多溴联苯醚的测定分析. 环境科学研究,2012,25(4): 441 - 446. ]
- [ 9 ] Zhang J B, Huang H, Cai Z P, et al. Research advances in the population genetics of marine animals [ J ]. Marine Science Bulletin, 2005, 24(6): 65 - 74. [ 张俊彬,黄晖,蔡泽平,等. 海洋动物群体遗传学的研究进展. 海洋通报,2005,24(6): 65 - 74. ]
- [ 10 ] Arias P A, Fernández T J, Gaspar M B, et al. Isolation of microsatellite markers and analysis of genetic diversity among east atlantic populations of the sword razor shell *Ensis siliqua*; a tool for population management [ J ]. Biochemical Genetics, 2012, 50(5 - 6): 397 - 415.
- [ 11 ] Lallias D, Boudry P, Lapegue S, et al. Strategies for the retention of high genetic variability in European flat oyster (*Ostrea edulis*) restoration programmes [ J ]. Conservation Genetics, 2010, 11 ( 5 ): 1899 - 1910.
- [ 12 ] Li Q, Yu H, Yu R H. Genetic variability assessed by

- microsatellites in cultured populations of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in China [J]. Aquaculture, 2006, 259(1-4): 95-102.
- [13] Ni L H, Li Q, Kong L F. Microsatellites reveal fine-scale genetic structure of the Chinese surf clam *Macra chinensis* (Mollusca, Bivalvia, Mactridae) in Northern China [J]. Marine Ecology, 2011, 32(4): 488-497.
- [14] Li Q, Xu K F, Yu R H. Genetic variation in Chinese hatchery populations of the Japanese scallop (*Patinopecten yessoensis*) inferred from microsatellite data [J]. Aquaculture, 2007, 269(1-4): 211-219.
- [15] An J T, Yu H, Yu R H, et al. Isolation and characterization of 23 microsatellite loci in the veined rapa whelk (*Rapana venosa*) [J]. Conservation Genetics Resources, 2013, 5(4): 1049-1051.
- [16] Xue D X, Zhang T, Liu J X. Isolation and characterization of 24 polymorphic microsatellite loci for the veined rapa whelk, *Rapana venosa* [J]. Conservation Genetics Resources, 2014, 6(1): 131-133.
- [17] Sun X Q, Yu H, Yu R H, et al. Characterization of 57 microsatellite loci for *Rapana venosa* using genomic next generation sequencing [J]. Conservation Genetics Resources, 2014, 6(4): 941-945.
- [18] Dieringer D, Schlotterer C. Microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets [J]. Molecular Ecology Notes, 2003, 3(1): 167-169.
- [19] Guo S W, Thompson E A. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles [J]. Biometrics, 1992, 48(2): 361-372.
- [20] Van Oosterhout C, Hutchinson W F, Wills D P M, et al. Micro-Checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data [J]. Molecular Ecology Notes, 2004, 4(3): 535-538.
- [21] 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.
- [22] Yang J M, Li Q, Kong L F, et al. Genetic structure of the veined rapa whelk (*Rapana venosa*) populations along the coast of China [J]. Biochemical Genetics, 2008, 46(9-10): 539-548.
- [23] Vergara R, Gitzendanner M A, Soltis D E, et al. Population genetic structure, genetic diversity, and natural history of the South American species of *Nothofagus* subgenus *Lophozonia* (Nothofagaceae) inferred from nuclear microsatellite data [J]. Ecology and Evolution, 2014, 4(12): 2450-2471.
- [24] Li C, Mo H B, Tian D K, et al. Genetic diversity and structure of American lotus (*Nelumbo lutea* Willd.) in North America revealed from microsatellite markers [J]. Scientia Horticulturae, 2015, 189: 17-21.
- [25] Yu H, Gao S, Chen A L, et al. Genetic diversity and population structure of the ark shell *Scapharca broughtonii* along the coast of China based on microsatellites [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2015, 58: 235-241.
- [26] Niu D H, Feng B B, Liu D B, et al. Microsatellites and mitochondrial COI analysis of population genetic structure of *Sinonovacula constricta* along the coast of Zhejiang and Fujian Provinces [J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(12): 1805-1813. [牛东红, 冯冰冰, 刘达博, 等. 浙闽沿海缢蛏群体遗传结构的微卫星和线粒体 COI 序列分析. 水产学报, 2011, 35(12): 1805-1813.]
- [27] Cassista M C, Hart M W. Spatial and temporal genetic homogeneity in the Arctic surfclam (*Mactromeris polynyma*) [J]. Marine Biology, 2007, 152(3): 569-579.
- [28] Xue D X, Wang H Y, Zhang T, et al. Population genetic structure and demographic history of *Atrina pectinata* based on mitochondrial DNA and microsatellite markers [J]. PLoS One, 2014, 9(5): e95436.
- [29] Hunt A. Effects of contrasting patterns of larval dispersal on the genetic connectedness of local populations of two intertidal starfish, *Patriella calcar* and *P. exigua* [J]. Marine Ecology Progress Series, 1993, 92: 179-186.
- [30] Collin R. The effects of mode of development on phylogeography and population structure of North Atlantic *Crepidula* (Gastropoda: Calyptraeidae) [J]. Molecular Ecology, 2001, 10(9): 2249-2262.
- [31] Zhan A B, Hu J J, Hu X L, et al. Fine-scale population genetic structure of Zhikong scallop (*Chlamys farreri*): do local marine currents drive geographical differentiation? [J]. Marine Biotechnology, 2009, 11(2): 223-235.
- [32] Baus E, Darrock D J, Bruford M W. Gene-flow

- patterns in Atlantic and Mediterranean populations of the Lusitanian sea star *Asterina gibbosa* [ J ]. Molecular Ecology, 2005, 14( 11 ): 3373 – 3382.
- [ 33 ] Selkoe K A, Toonen R J. Marine connectivity: a new look at pelagic larval duration and genetic metrics of dispersal [ J ]. Marine Ecology Progress Series, 2011, 436: 291 – 305.

## Genetic diversity and population structure of *Rapana venosa* along the coast of China

YANG Zhipeng, YU Hong\* , YU Ruihai, KONG Lingfeng, LI Qi

(The Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

**Abstract:** In the past decades, the natural resources of *Rapana venosa* in China have obviously declined because of over-exploitation and habitat destruction. It is very necessary to survey genetic diversity and population structure of *R. venosa* along the coast of China for the formulation of management policies and the protection of *R. venosa* resources. In the study, nine polymorphic microsatellite markers were used to evaluate the level of genetic diversity of nine wild *R. venosa* populations along the coast of China and estimate the degree of genetic differentiation among these populations. The analysis of genetic diversity showed that the mean allelic richness ranged from 8.6 to 9.5 and the expected heterozygosity ( $H_E$ ) ranged from 0.705 to 0.777. The analysis of genetic differentiation showed that the  $F_{ST}$  values ranged from 0.012 2 to 0.093 6 and  $D_C$  values ranged from 0.212 to 0.349. It is suggested that the *R. venosa* possessed high genetic diversity and no clear differentiation was detected between the nine populations.

**Key words:** *Rapana venosa*; microsatellite; genetic diversity; genetic differentiation

**Corresponding author:** YU Hong. E-mail: hongyu@ouc.edu.cn