

台灣產牡蠣物種多樣性調查與研究一 利用微衛星基因座探討葡萄牙牡蠣系群結構

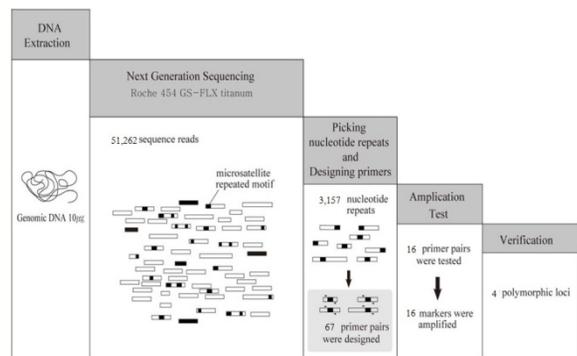
蕭聖代、莊世昌、黃閔裕、吳繼倫
海洋漁業組

葡萄牙牡蠣 (*Crassostrea angulata*) 為台灣重要經濟水產貝類，是一種營養價值極高的水產品。1998 年有學者提出台灣可能為葡萄牙牡蠣的種源中心。後續的調查發現，在大陸的沿岸地區也有少部分的葡萄牙牡蠣分布。過去有關葡萄牙牡蠣之研究主要是偏向於生理及養殖技術之研究，但對於系群的遺傳結構，則鮮少有相關研究。微衛星體基因座 (microsatellite loci) 是以 2-10 個鹼基為單元，重複出現的 DNA 片段，廣泛分布於真核生物的基因組中，為近年來在系群遺傳研究中廣被使用的一種遺傳標記。微衛星遺傳標記具有突變速率快、數量多、分布廣、共顯性高且屬於中性選汰的基因座。由於它高度的基因多型性及高解析力，已經成為探討系群遺傳、地理親緣等研究的主要標誌。為進一步探討葡萄牙牡蠣在台灣之系群遺傳多樣性並了解大陸與台灣是否為同一系群，本研究嘗試找出可供研究用的微衛星基因座，並設計出可用的引子，以作為後續的系群分析使用。

本研究分別於台灣東、西岸、澎湖、金門及大陸沿岸等地進行牡蠣樣本採集，共採集葡萄牙牡蠣 74 隻標本，取閉殼肌肌肉組織進行 DNA 萃取。微衛星基因座篩選流程如圖。篩選出四組微衛星基因座其相對引子序列、重複序列片段、片段大小等相關資料如表 1 所示。

利用這四組微衛星序列基因座，進行台灣產葡萄牙牡蠣系群遺傳學之初步研究。所有微衛星基因座在不同的系群中皆具有多型性。分析系群間的遺傳分化指數 (Fst)，並建構兩兩系群分化指數對照表 (表 2)。系群間的遺傳分化指數範圍在 0.0007-0.1764。其中彰化 (CH) 與屏東 (PT) 間的分化指數最低，而宜蘭 (IL, YL) 與中國廣西北海 (BH) 間的分化指數最

高。宜蘭烏石 (IL) 與中國廣西北海 (BH)、宜蘭烏石 (IL) 與中國福建廈門 (XM)、台東 (TT) 與金門 (KM)、中國福建廈門 (XM) 與屏東 (PT) 及宜蘭外澳 (YL) 與中國廣西北海 (BH) 間皆屬於中度分化。經檢定後，顯示宜蘭烏石 (IL) 與中國廣西北海 (BH) 及宜蘭外澳 (YL) 與中國廣西北海 (BH) 兩兩間具有顯著的遺傳差異。



微衛星基因座篩選流程

表 1 應用在葡萄牙牡蠣的四組微衛星基因座

基因座	引子序列 (5' to 3')	重複片段	片段大小 (bp)	對偶基因數	溫度 (°C)
CA01	F: FAM-TTAGAGTTAGAGTTAGA	(AGGGCT) ₄	113-145	9	50
	R: GGTTCCTTTGCATCTGGAAG				
CA02	F: FAM-TAGGATGCAGGATGCACG	(CTATC) ₅	275-289	5	57
	R: CTCCGTACTTGCCTACGAA				
CA03	F: HEX-CTTTTACTTACTAAATCCTGC	(TC) ₁₀	201-219	17	56
	R: CACTTGTGTCCGTTTGTGAC				
CA04	F: HEX-AGGAAATGCTAGGTGATG	(GA) ₁₀	121-137	9	55
	R: GTAGCTAGGTAGGGCAGAC				

表 2 葡萄牙牡蠣各系群間之遺傳分化指數(Fst)

	IL	TT	YL	KM	BH	XM	TP	CH	PT
TT	0.0328								
YL	0.0160	0.0232							
KM	0.0444	-0.1681	0.0095						
BH	0.1764*	0.0835	0.1682*	0.0242					
XM	0.1749	0.1281	0.1027	0.0108	0.0223				
TP	0.0964	-0.0568	0.0486	-0.0395	0.1129	0.0689			
CH	0.0616	0.0023	0.0130	-0.0686	0.1000	0.0321	0.0383		
PT	-0.0407	-0.0732	0.0325	-0.0277	0.1309	0.1535	0.0098	0.0007	
ZJ	0.0996	-0.0616	0.0770	-0.0188	0.0095	0.0549	0.0637	0.0079	0.0075

*significant at the p < 0.01 level