DOI: 10.3724/SP.J.1035.2012.00102

企鹅珍珠贝不同地理群体遗传多样性的 fAFLP 分析

彭 敏 陈秀荔 蒋伟明 杨春玲 李咏梅

(广西壮族自治区水产研究所, 广西水产遗传育种与健康养殖重点实验室, 南宁 530021)

摘要: 为阐明企鹅珍珠贝(*Pteria penguin*)不同地理种群的遗传多样性机制, 采用荧光标记扩增片段长度多态性(fAFLP)技术分析了企鹅珍珠贝广西涠洲岛、广东流沙湾和海南黎安 3 个不同地理群体的遗传多样性。选取 7 对引物组合对 90 个个体(每个群体 30 个)进行 fAFLP 扩增, 结果发现每个个体均能扩增出清晰的、可重复的扩增条带, 每对引物的扩增位点数在 100—163 之间, 共得到 895 个扩增位点, 多态位点数为 865 个; 涠洲岛、流沙湾和黎安群体的多态位点比例分别为 70.73%、63.13%、66.82%。Nei 遗传多样性指数为 0.1634、0.1558、0.1783, Shannon 遗传多样性指数为 0.2635、0.2474、0.2932。3 个群体间遗传相似度在 0.9722—0.9824 之间, 遗传距离在 0.0177—0.0282 之间。根据遗传距离绘制 UPGMA 聚类图, 但 Mantel 检验结果显示企鹅珍珠贝三群体间的遗传距离与地理距离之间无显著相关。Shannon 遗传多样性指数和 AMOVA 分析, 结果均显示企鹅珍珠贝的遗传变异主要来源于群体内个体间, 7.91%的遗传变异来自群体间, 92.09%的遗传变异来自群体内。分析群体的显性基因型频率分布和基因流 N_m 发现 3 个群体有基本相同的遗传结构, 有明显的基因交流。研究结果表明北海涠洲岛群体、湛江流沙湾群体和海南黎安群体的企鹅珍珠贝种质有较高的多态位点比例, 但未发生显著地理分化。这一结果为我国企鹅珍珠贝的良种选育以及种质资源保护措施的制定提供了参考依据。

关键词: 企鹅珍珠贝野生群体; 荧光标记扩增片段长度多态性; 遗传多样性

中图分类号: Q346$^+$.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2012)01-0102-07

企鹅珍珠贝(*Pteria penguin*), 属软体动物门, 瓣鳃纲, 珍珠贝目, 珍珠贝科, 珍珠贝属, 分布于我国台湾、广东、海南和广西沿海以及日本九州的南部, 琉球群岛直至菲律宾等地。企鹅珍珠贝为大型海产珍珠贝类, 成体大者可达 25 cm, 贝壳内表面珍珠层具虹彩光泽。该贝生长速度快, 生命力强, 对环境适应力强, 成活率高, 外套膜分泌珍珠质机能旺盛, 并且壳比较宽厚, 适于黏贴较大的珠核, 作为培育高品质的大型附壳珠和稀有的正圆珠的理想母贝, 已成为我国南方养殖海水珍珠的贝类新品种。

扩增片段长度多态性(Amplified fragment length polymorphism, AFLP)技术是目前最有效的分子标记方法之一, 是由荷兰科学家 Zabeau 和 Vos 在 RFLP 和 RAPD 技术的基础上发展起来的一种新的 DNA 分子标记检测技术[1, 2]。该技术对基因组检测不需要预先掌握其序列特征, 易于标准化; 检出的多态位点不仅能覆盖整个基因组, 而且具有稳定性好、谱带丰富、DNA 用量少及灵敏度高等特点, 已在水生动物的遗传多样性、种质研究与鉴定、群体间亲缘关系和系谱分析中得到广泛的应用[3—6]。本实验采用的 AFLP 荧光标记(fAFLP)技术, 既继承了常规 AFLP 技术的上述优点, 且因采用自动 DNA 测序仪进行样品检测, 一次上样量可达 96 个, 比常规 AFLP 技术更加高效, 加之在 DNA 测序仪上电泳较一般电泳的条件更加稳定, 其结果可比性更大。与常规 AFLP 相比, fAFLP 具有数据收集自动化、定量

收稿日期: 2010-09-20; 修订日期: 2011-08-21

基金项目: 国家科技支撑计划专题(2007BAD29B03-5)资助

作者简介: 彭敏(1972—), 女, 水族, 广西宜州人; 高级工程师, 硕士; 主要从事水产动物遗传育种研究。E-mail: gxnnpm@yahoo.com.cn

通讯作者: 李咏梅(1962—), E-mail: liyongmei915@163.com

化、灵敏性更好、速度更快、效率更高等特点, 在高效性、稳定性、准确性和可重复性方面表现得更为突出。

迄今为止, 对企鹅珍珠贝的研究大多集中在育苗、养成和珍珠培育以及同工酶分析等方面, 对于我国不同地理群体企鹅珍珠贝的遗传多样性的研究仍未见有相关报道。本实验应用 fAFLP 技术对我国企鹅珍珠贝三个不同地理群体的遗传多样性进行研究, 旨在为我国企鹅珍珠贝的良种选育以及种质资源保护措施的制定提供理论依据和数据参考。

1　材料与方法

1.1　样品

实验用贝分别取自广西北海涠洲岛(WZ)、广东湛江流沙湾(LS)和海南陵水黎安(LA)三个自然海域(表 1)。每个群体采样 30 个个体, 冰鲜运输, 取其闭壳肌肉于–80℃冰箱保存。

表 **1**　实验用贝材料的数量以及采集地点

Tab. 1　The location and the abbreviations for the populations of Pteria penguin in this study

群体 Population	缩写 Abbreviation	来源 Source	数量 Data samples	采集地 Location
涠洲岛	WZ	野生	30	广西北海涠洲岛
流沙湾	LS	野生	30	广东湛江流沙湾
黎安	LA	野生	30	海南陵水黎安

1.2　基因组 **DNA** 的提取

采用 SDS-CTAB 改进法抽提并纯化企鹅珍珠贝基因组 DNA[7, 8], 用 1%琼脂糖凝胶(含 0.03‰ GELRED 染料)电泳检测提取的 DNA 的完整性, 并用 BioRAD 核酸蛋白测定仪测定其浓度和纯度。

1.3　**fAFLP** 分析

引物筛选与扩增　　经过预备实验, 从 256 对引物组合中筛选出 7 对多态性较高、电泳谱带较为清晰的引物组合(表 2)。用 7 对引物对企鹅珍珠贝三个群体进行选择性扩增(*Eco*R I 引物的 5′端加 FAM 荧光标记), 实验方法参照 Vos, *et al*.[1, 2]。选扩增产物送北京基诺博实生物技术有限公司, 用 3730 xL 型测序仪(ABI 公司)进行检测。

数据处理和分析　　fAFLP 条带处理: fAFLP 检测结果用 GeneMarker Version1.9 软件进行分析, 将 60—500 bp 的扩增带谱转换成 0、1 数据矩阵(扩增阳性赋值为 1, 阴性赋值为 0)。

数据处理: 统计得到的 0/1 数据输入 Popgen 32 软件, 进行遗传多态位点比例(*P*)、观测等位基因数(*Na*)、有效等位基因数(*Ne*); Nei 遗传多样性(*H*)、Shannon 信息指数(*I*); 群体总的基因多样性(H_T)、群体内的基因多样性(H_S)、群体间的基因多样性(D_{ST})、群体间遗传分化度(G_{ST}); 基因流(N_m); 群体间遗传相似度(*S*)和遗传距离(*D*)。

应用 Arlequin3.31 软件计算群体遗传固定指数(F_{ST}), 用分子方差分析(AMOVA)方法对各群体遗传多样性来源以及群体间和群体内的变异度进行分析。

采用 TFPGA 软件进行 mantel 检验来评估遗传距离和样本地理距离的相关性。根据遗传距离应用 MEGA3 软件的 UPGMA 法和 NJ 法进行聚类分析, 构建系统树。

2　结果

2.1　企鹅珍珠贝三个群体的 **fAFLP** 扩增结果

所选用的 7 对选择性引物对企鹅珍珠贝的三个群体共 90 个样品进行了扩增, 共获得 895 条清晰可辨的带, 其中显性基因型频率为 100%的位点有 30 个(3.35%)(表 3)。对各引物组合扩增的位点数及多

表 **2**　**fAFLP** 的接头及 **PCR** 扩增的引物序列

Tab. 2　Adaptors and primers sequences used in the study

序列长率 Sequence		
接头 *Eco*R I Adaptor	5′CTCgTAgACTgCgTACC3′ 5′AATTggTACgCAgTC3′	
接头 *Mse* I Adaptor	5′gACgATgAgTCCTgAg3′ 5′TACTCAggACTCAT3′	
预扩增引物 *Eco*R I+1/*Mse* I+1 Sequence of pre-amplification primers	gACTgCgTACCAATTCA/gATgAgTCCTgAgTAAC	
选择性扩增引物 *Eco*R I+3/*Mse* I+3 Sequence of selective amplification primers	E-ACC/M-CCA	E-AgT/M-CCg
	E-ACC/M-CCC	E-AgT/M-CTA
	E-ACC/M-CgA	E-AgT/M-CTC
	E-ACC/M-CgT	

态位点比例统计结果表明, 不同引物组合的扩增结果存在差异, 产生的扩增条带从 100 到 163 不等, 扩增出的多态条带范围为 97—158 条, 多态位点比率范围为 93.64%—99.05%。各对引物扩增出的基因型数目与标本数目一致, 未发现任何两个个体间的基因型完全相同的现象, 这表明每个个体在 DNA 序列上都存在差异, 所用引物能够有效地检测出这些差别。图 1 显示了引物在企鹅珍珠贝群体中的局部扩增图谱。

2.2 企鹅珍珠贝三个群体的遗传多样性

在 895 条扩增片段中, 多态性条带 865 条, 总多态带比率为 96.65%。在 WZ、LS 和 LA 三个群体中分别扩增出 633、565 和 598 个位点, 平均多态位点比率为 70.73%、63.13%和 66.82%(表 4)。在三个群体之间未发现有稳定的、可以用以进行群体鉴别的标记谱带。观测等位基因和有效等位基因的范围分别为 1.6313±0.4827 至 1.7073±0.4553 和 1.2493±0.3194 至 1.2798±0.3237。三群体的 Nei 遗传多样性与 Shannon 信息指数一致, 由高至低依次为: LA>WZ>LS, 但相差不明显, 基本处于同一水平。三群体总的基因多样性为 0.1783±0.0258, 群体内基因多样性为 0.1648±0.0219, 群体间基因多样性为 0.0135±0.0039。

2.3 企鹅珍珠贝三个群体的遗传结构

企鹅珍珠贝三个群体间的平均遗传距离差异不大(表 5), WZ 和 LS 的遗传相似度最大, 为 0.9824, 遗传距离最小, 为 0.0177; LS 和 LA 的遗传距离最大, 为 0.0282, 遗传相似度最小, 为 0.9722。

表 3 七对 **fAFLP** 引物选择性扩增结果

Tab. 3 The result of selective amplification by seven primers

引物 Primer	总扩增位点数 Number of all loci	多态位点数/多态位点比例 Number of polymorphic loci / Percentage of polymorphic loci (%)						
		WZ	LS	LA	WZ-LS	WZ-LA	LS-LA	WZ-LS-LA
E-ACC/M-CCA	124	99/79.84	81/65.32	88/70.97	109/87.90	114/91.94	103/83.06	118/95.16
E-ACC/M-CCC	110	70/63.64	59/53.64	60/54.55	89/80.91	89/80.91	84/76.36	103/93.64
E-ACC/M-CgA	163	97/59.51	101/61.96	102/62.58	133/81.60	134/82.21	136/83.44	158/96.93
E-ACC/M-CgT	100	57/57.00	60/60.00	66/66.00	81/81.00	82/82.00	86/86.00	97/97.00
E-AgT/M-CCg	105	73/69.52	65/61.90	81/77.14	85/80.95	94/89.52	96/91.43	104/99.05
E-AgT/M-CTA	157	116/73.89	105/66.88	101/64.33	136/86.62	143/91.08	126/80.25	152/96.82
E-AgT/M-CTC	136	121/88.97	99/72.79	99/72.79	130/95.59	129/94.85	110/80.88	133/97.79

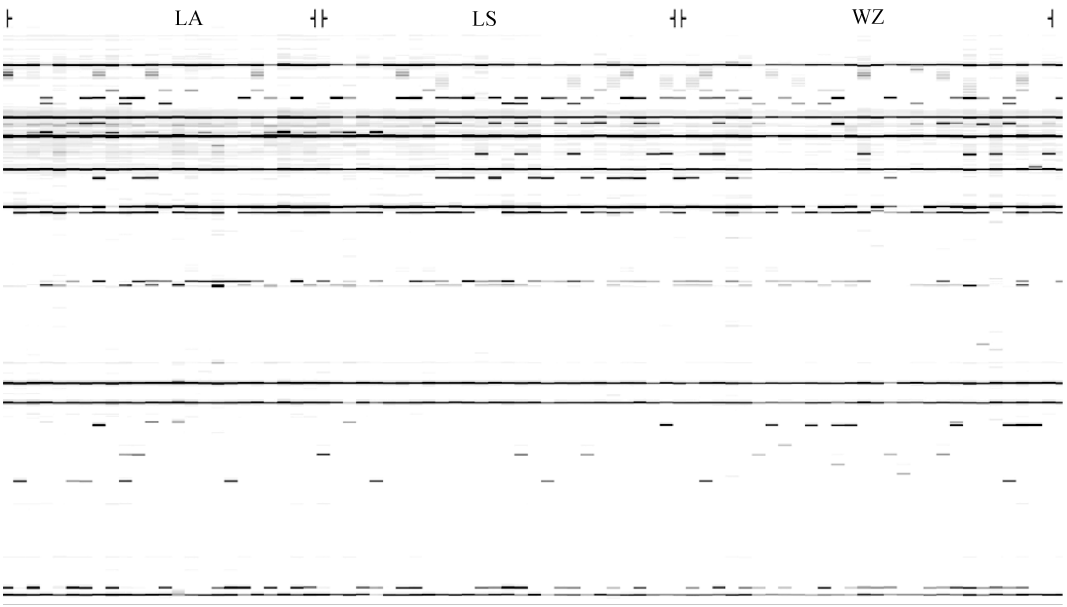


图 1 企鹅珍珠贝 fAFLP 扩增的部分图谱(引物 E-ACC/M-CCC)

Fig. 1 PCR amplified products of E-ACC/M-CCC primer

表 4　fAFLP 分析所得企鹅珍珠贝三群体遗传参数
Tab. 4　Population genetics parameters for the three populations of *Pteria penguin* analyzed by fAFLP

Pop.	*P*	*Na*	*Ne*	*H*	*I*
WZ	70.73	1.7073±0.4553	1.2560±0.3097	0.1634±0.1668	0.2635±0.2364
LS	63.13	1.6313±0.4827	1.2493±0.3194	0.1558±0.1735	0.2474±0.2480
LA	66.82	1.6680±0.4711	1.2798±0.3237	0.1752±0.1748	0.2764±0.2494
WZ-LS-LA	96.65	1.9665±0.1801	1.2756±0.3041	0.1783±0.1607	0.2932±0.2183
		H_T=0.1783±0.0258	H_S=0.1648±0.0219	D_{ST}=0.0135±0.0039	N_m=3.0415

表 5　各群体间遗传相似度(右上角)和遗传距离(左下角)矩阵
Tab. 5　Population pairwise genetic similarity (above diagonal) and genetic distance values (below diagonal)

Pop.	WZ	LS	LA
WZ		0.9824	0.9724
LS	0.0177		0.9722
LA	0.0280	0.0282	

企鹅珍珠贝三个群体之间总的基因流 N_m 值为 3.0415(表 4), 表明存在着广泛的基因交流, 其中 WZ 和 LS 群体之间的基因流最大(5.3982)(表 6), 而 LS 和 LA 群体的基因流最小(3.5600)。群体间的 G_{ST} 最大值出现在 LS 和 LA 群体之间(0.0656), WZ 和 LS 群体之间的 G_{ST} 值最小(0.0443)。AMOVA 分析结果显示(表 7), 三群体总 F_{ST} 为 0.07906, 7.91%的遗传变异来自群体间, 而群体内的遗传变异则高达 92.09%(P<0.01)。

表 6　各群体之间的 G_{ST} 值(右上角)和基因流(左下角)
Tab. 6　Population pairwise G_{ST} values (above diagonal) and estimated gene flow (N_m) (below diagonal)

Pop.	WZ	LS	LA
WZ		0.0443	0.0634
LS	5.3982		0.0656
LA	3.6917	3.5600	

将三个群体的扩增位点的显性基因频率以 10%为单位划分区间, 绘制了三个群体的显性基因频率分布图(图 2), 结果显示, 三个群体的扩增位点在不同显性频率区间的分布呈现一定的规律, 反映了三个群体的遗传结构特点。三个群体仅在区间 1%—9%之间趋势不一致, 说明三个群体的遗传结构十分相近。

根据 Nei 遗传距离以 UPGMA 方法对所有个体进行聚类分析(图 3), 大多数是同一地区的个体先聚在一起, 随后不按地区聚类, 无明显分支, 可看出三个群体较弱的分化情况, 也表明三个群体的遗传差异并不大。再用遗传距离数据以 UPGMA 方法和 NJ 方法分别构建三个群体间的聚类关系(图 4), 两种方法得到的聚类图一致, WZ 群体和 LS 群体先聚为一类, 然后再与 LA 群体聚类。采用 Mantel 统计学检验, 比较遗传距离和地理距离的相关性, 结果显示企鹅珍珠贝三群体间的遗传距离与地理距离之间无显著相关(r=0.9981、P=0.3290)。

3　讨论

生物群体的遗传多样性是评价生物资源状况的一个重要依据, 它是物种适应多变的环境, 维持长期生存和进化的遗传基础。只有掌握物种多样性水平高低及其群体结构, 才能制定有效的保护策略和措施。通常以平均多态位点比率和平均杂合度作为衡量生物群体遗传多样性高低的重要参数[9]。在本研究中北海涠洲岛、湛江流沙湾和海南黎安三个地区野生企鹅珍珠贝的多态位点比率相当, 平均杂合度即基因多样性接近, 说明三个群体的遗传多样性

表 7　群体间和群体内的 AMOVA 分析
Tab. 7　Analysis of molecular variance (AMOVA) within and among the populations of Pteria penguin

变异源 Source of variation	自由度 *df*	方差 Sum of squares	变异成分 Variance components	变异比例 Percentage of variation	*P* 值 *P* value
群体间 Among population	2	545.333	6.54932	7.91	<0.01
群体内 Within population	87	6636.967	76.28697	92.09	<0.01
总计 Total	89	7180.933	80.62364	F_{ST}=0.07906　G_{ST}=0.0760	

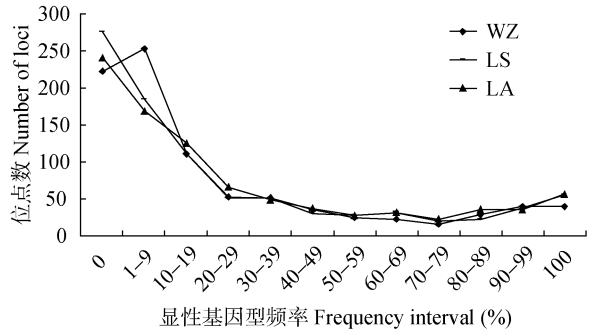


图 2 扩增位点数在不同基因型频率区间内的分布

Fig. 2 Distribution of amplified loci different frequency intervals

基本处于同一水平。根据已发表的研究报道[10—12]，利用 fAFLP 方法得到的几种海洋贝类在物种水平上的多态位点比率分别为：菲律宾蛤仔 83.0%、青蛤 81.7%、文蛤 76.8%、硬壳蛤 75.1%，而在本研究中企鹅珍珠贝的多态位点比率高达 96.6%，遗传多样性指数也较高。这说明企鹅珍珠贝存在着较为丰富的遗传多样性，种质资源状况较好，应保护这种多样性不丢失。

群体间的遗传距离揭示了群体遗传分化程度，反映了种内群体间或种间的亲缘关系的远近[13]。同一物种不同地理群体遗传距离的变化范围为 0.03—0.2(遗传相似系数为 0.8—0.97)[14]。在本研究中三个群体间的遗传距离分别为 0.0177、0.0280 和 0.0282，皆小于 0.03，说明三个群体遗传分化水平在地理群体分化水平以下；mantel 检测结果表明三群体间的遗传距离与地理距离无显著相关；而同时基因流 N_m 值均大于 1，表明这三种群体间相互交流，使三群体遗传结构趋同。从本研究结果来看，这三个群体未发生显著地理分化，可作为一个整体进行保护。

从地理位置、洋流方向看，北海涠洲岛和湛江流沙的野生企鹅珍珠贝与海南黎安的野生企鹅珍珠贝似乎应为两种不同的地理群体，其遗传结构应有较大分化。而本实验结果显示它们之间的遗传距离较小、基因交流明显，遗传结构分化不显著。这是否是由于环境改变造成野生资源量锐减、采用各地野生种做为亲本、人工养殖逃逸等原因所造成。AFLP 标记是显性分子标记，不能区分杂合和纯合位点，在群体遗传结构分析方面有一定局限性[15]。因此，有必要运用其他分子手段如线粒体 DNA 序列分析、微卫星标记等对企鹅珍珠贝群体遗传变异进行进一步深入的研究。

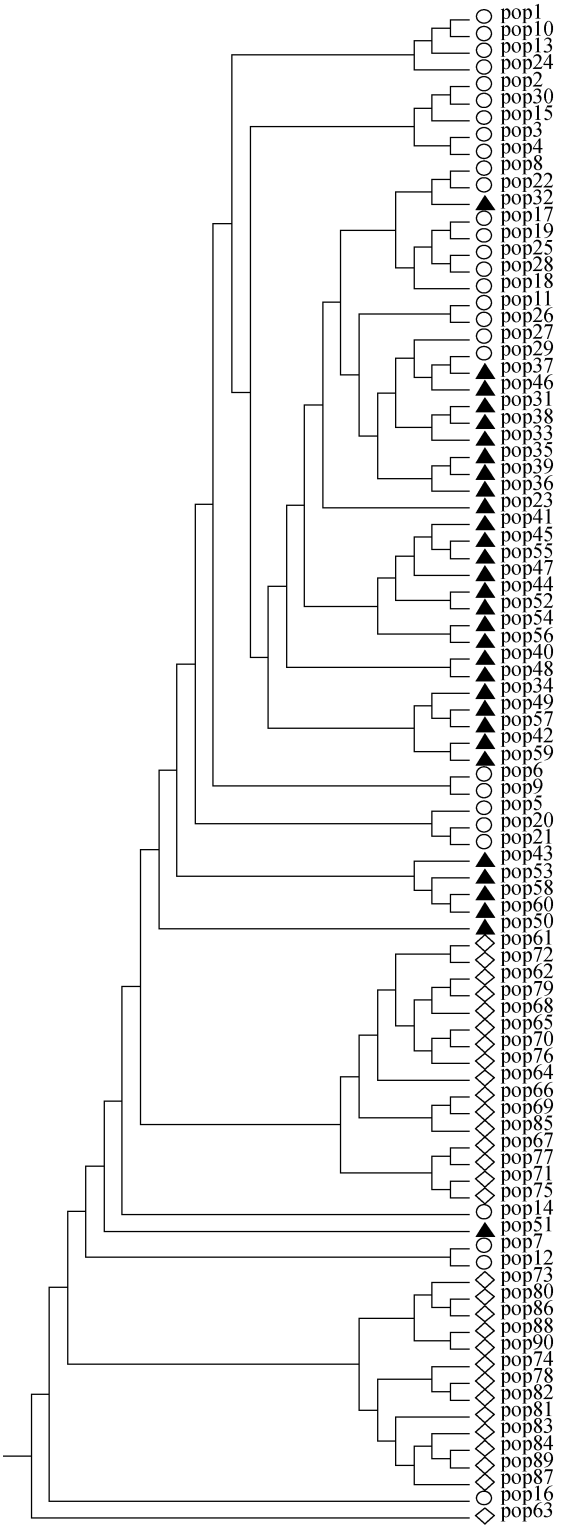


图 3 企鹅珍珠贝 3 个群体的 90 个个体基于 Nei 遗传距离的 UPGMA 聚类图

Fig. 3 Sample-wise similarity tree revealed by UPGMA cluster analysis using the Nei genetic distance values

pop1-pop30. 涠洲岛群体；pop31-pop60: 流沙湾群体；pop61-pop90. 黎安群体

pop1-pop30. WZ population; pop31-pop60. LS population; pop61-pop90: LA population

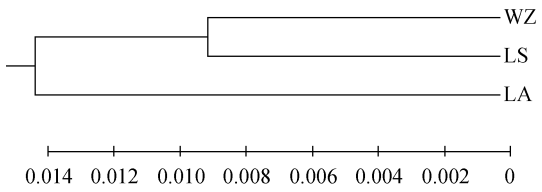


图 4　企鹅珍珠贝 3 个群体基于 Nei 遗传距离的 UPGMA 聚类图
Fig. 4　Population-wise similarity tree revealed by UPGMA cluster analysis using the Nei genetic distance values

参考文献:

[1] Vos P, Hogers R, Blecker M, *et al*. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting [J]. *Nucleic Acid Research*, 1995, **23**(21): 4407—4414

[2] Zabeau M, Vos P. Selective restriction fragment amplification: A general method for DNA fingerprinting [P]. Publication 0534858A1. Munich, Germany: European Patent Office. 1993

[3] Liu B Q, Dong W Q, Wang Y J, *et al*. Identification of germ plasm in *Pseudosciaena crocea* TAI-CHU race by AFLP [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, **29**(4): 413—416 [刘必谦, 董闻琦, 王亚军, 等. 岱衢族大黄鱼种质的 AFLP 分析. 水生生物学报, 2005, **29**(4): 413—416]

[4] Wang W W, Zhao J L, Li S F, *et al*. Genetic variation of *Siniperca scherzeri* Steindachner from different geographical populations by AFLP analysis [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2009, **33**(2): 304—309 [王伟伟, 赵金良, 李思发, 等. 斑鳜不同地理群体遗传变异的 AFLP 分析. 水生生物学报, 2009, **33**(2): 304—309]

[5] Cheng F, Xie S G, Ye W, *et al*. Genetic analysis of *Cranoglanis bouderius* by molecular marker AFLP [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2009, **33**(3): 539—545 [程飞, 谢松光, 叶卫, 等. 长臀鮠的 AFLP 分析. 水生生物学报, 2009, **33**(3): 539—545]

[6] Zhang L S, Kong X Y, Yu Z N, *et al*. Application and prospects of AFLP in genetics studies of aquatic animals [J]. *High Technology Letters*, 2003, **13**(4): 95—98, 104 [张留所, 孔晓瑜, 喻子牛, 等. AFLP 技术在水生动物遗传学研究中的应用及前景展望. 高技术通讯, 2003, **13**(4): 95—98, 104]

[7] Peng M, Jiang W M, Chen X L, *et al*. A simple method of high quality genomic DNA extraction from mollusks [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2010, **30**(6): 78—81 [彭敏, 蒋伟明, 陈秀荔, 等. 一种提取高质量贝类基因组 DNA 的简易方法. 广东海洋大学学报, 2010, **30**(6): 78—81]

[8] Peng M, Chen X H, Chen X L, *et al*. Establishment of AFLP reaction system for *Pteria penguin* [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2011, **24**(1): 340—346 [彭敏, 陈晓汉, 陈秀荔, 等. 企鹅珍珠贝 AFLP 反应体系建立的研究. 西南农业学报, 2011, **24**(1): 340—346]

[9] Christine R, Paul L L. Temporak changes in allele frequencies and a population's history of severe bottlenecks [J]. *Conservation Biology*, 1996, **10**(3): 832—839

[10] Peng Y X, Chen H L, Xia D Q, *et al*. Fluorescent amplified fragment length polymorphism (fAFLP) analysis of population genetic diversity and species relationships of four species of cultured clams in family Veneridae (Mollusca: Bivalvia) [J]. *Marine Sciences*, 2008, **32**(1): 45—51[彭永兴, 程汉良, 夏德全, 等. 帘蛤科 4 种养殖蛤群体遗传多样性和种间关系的 fAFLP 分析. 海洋科学, 2008, **32**(1): 45—51]

[11] Lin Z H, Huang X T, Dong Y H, *et al*. Analysis of Meretrix clams from Guangxi based on fAFLP markers and ITS sequences [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2009, **40**(1): 33—41 [林志华, 黄晓婷, 董迎辉, 等. 广西文蛤(Meretrix)的 fAFLP 及 ITS 分析. 海洋与湖沼, 2009, **40**(1): 33—41]

[12] Cheng H L. Studies on germplasm identification and population fenetic structure of several important marine economic clams (Mollusca: Bivalvia: Veneridae) in Chinese sea based on molecular markers [D]. Thesis for Ph. D Degree. Nanjing Agricultural University, Nanjing. 2006 [程汉良. 几种主要海洋经济帘蛤种质鉴定及种群遗传结构研究. 博士学位论文, 南京农业大学, 南京. 2006]

[13] Benzie J A H. Genetic structure of marine organisms and SE Asisn biogeography [C]. Biogeography and geological evoluton of SE Asia. The Netherlands: Backbuys Publishers. 1998, 197—209

[14] Thorp J P. The molecular clock hypothesis: Biochemical evolution, genetic differentiation and systematic [J]. *Annual Review of Ecology Systematics*, 1982, **13**(1): 139—168

[15] Han Z Q, Gao T X, Wang Z Y, *et al*. Analysis of genetic diversity of *Nibea albiflora* by AFLP markers [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2006, **30**(5): 640—646 [韩志强, 高天翔, 王志勇, 等. 黄姑鱼群体遗传多样性的 AFLP 分析. 水产学报, 2006, **30**(5): 640—646]

THE POPULATION GENETIC DIVERSITY OF DIFFERENT GEOGRAPHICAL *PTERIA PENGUIN* REVEALED BY FAFLP ANALYSIS

PENG Min, CHEN Xiu-Li, JIANG Wei-Ming, YANG Chun-Ling and LI Yong-Mei

(*Guangxi Key Laboratory of Aquatic Genetic Breeding and Healthy Aquaculture*, *Guangxi Institute of Fisheries*, *Nanning* 530021, *China*)

Abstract: *Pteria penguin* is one species of large pearl oysters and widely distribute in tropical and subtropical oceans. There are some wild populations distribute in Taiwan, Guangdong, Guangxi, and Hainan Island. As ideal pearl oyster producing high quality large hemispherical pearls and rare expensive round pearls, *Pteria penguin* has become a new cultivated species of pearl oyster in south China. To study the mechanism of the genetic diversity of different *Pteria penguin* populations, fluorescent amplified fragment length polymorphism (fAFLP) method was used to study the populations genetic diversity of Weizhou Island in Guangxi, Liusha Bay in Guangdong and Li'an in Hannan on three different geographical *Pteria penguin* respectively. fAFLP amplified ninety individuals from three different populations (thirty individuals per population) with seven pairs of primers. The result showed that every individual could be amplified clear and repeatable bands. The numbers of amplified loci per primer combination ranged from 100 to 163, and a total of 895 loci were detected in three populations, there were 865 polymorphic bands, the percentage of polymorphism of Guangxi Weizhou Island population, Guangdong Liusha Bay population and Hannan Li'an population were 70.73%, 63.13% and 66.82%. The Nei's gene diversity were 0.1634, 0.1558 and 0.1783, and Shannon's information index were 0.2635, 0.2474 and 0.2932, respectively. The genetic similarities were from 0.9722 to 0.9824 of three different populations. The genetic distance was from 0.0177 to 0.0282. UPGMA clustering chart was drawn according to genetic distance, but the results of Mantel test showed that there was no significant correlation between geographic distance and genetic distance of three *Pteria penguin* populations. Shannon's information index and molecular variance (AMOVA) analysis three populations diversity, the result indicated that three populations mainly came from different individuals within a population, among populations had 7.91% genetic variation and inner population had 92.09% genetic variation. The distribution of dominant gene frequency and gene flow Nm were analyzed, the result revealed that the three populations had same genetic structure, and there was clearly gene flow. The research result showed that *Pteria penguin* of Guangxi Weizhou island population, Guangdong Liusha Bay population and Hannan Li'an population had high percent of polymorphic loci, however, the populations did not exist significantly geographical differentiation. The result provided a reference evidence for breeding and establishment of protecting measures in *Pteria penguin.*

Key words: *Pteria penguin* wild population; fAFLP; Genetic diversity