文蛤遺傳多樣性之調查研究(II)-非致命採樣技術之建立

宋嘉軒¹、陳高松¹、陳佳香¹、蕭聖代² 「企劃資訊組、²海洋漁業組

文蛤是臺灣重要的養殖二枚貝,主要養殖 地區集中於彰、雲、嘉、南沿海,近4年平均 產量為5.09萬噸,平均產值達41.81億元(圖 1)。



圖 1 2018 年四大縣市產量與產值

文蛤屬於軟體動物門雙殼綱簾蛤科文蛤屬,根據相關文獻記載,臺灣記錄的文蛤屬種類包含臺灣文蛤(Meretrix meretrix)、文蛤(M. lusoria)、韓國文蛤(M. lamarckii)、中華文蛤(M. petechialis)及皺肋文蛤(M. lyrata)等 5種。各種文蛤在外觀上有時不易明顯區分,必須搭配 DNA 序列資料來協助判別。本研究本年度以 ITS (Internal transcribed spacer) 為目標片段,分析文蛤是否雜交,並嘗試以表皮及拭子方式進行採樣,期能確保文蛤於採樣後能夠持續活存。

非致命性採樣技術以文蛤的殼皮與組織碎屑為採樣標的,分別使用刮刀及採樣刷進行採樣(圖 2)。





圖 2 非致命性採樣技術(圖左:殼皮;圖右:組織碎屑)

利用 Chelex 樹脂進行 DNA 萃取,使用文蛤 COIIs 基因引子進行 PCR 分析,反應條件為54 度,擴增片段為280 bp,並以 DNA 定序確認擴增片段之序列。結果顯示,2 項非致命性採樣皆可完成 DNA 之萃取及 PCR 反應,PCR 擴增的目標片段長度以300 bp以下者較佳(圖3)。

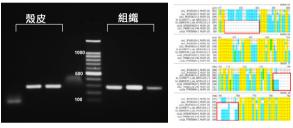
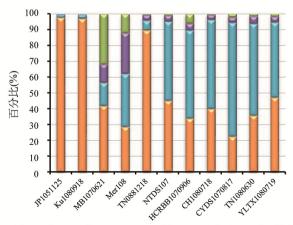


圖 3 不同採樣方式之 PCR 及定序分析(圖左: PCR 之電泳分析; 圖右: 目標片段 DNA 定序及比對)

以 maximum likelihood (ML) 法 (Bootstrap 值為 1000) 持續進行文蛤親緣性分析,結果顯示臺灣產文蛤與日本產 M. lusoria 分屬不同類群,應屬不同物種。

另,經過次世代定序分析,臺灣產文蛤 ITS 序列應非屬純系,且具有一定程度的雜交狀況 (圖 4)。



■ Meretrix lusoria ■ Meretrix meretrix ■ Meretrix petechialis ■ unclassified 圖 4 以次世代定序進行文蛤 ITS 基因序列分析