

# 基于 COI 基因的中国沿海青蚶野生群体 遗传结构及种群动态研究\*

王玲 李琪<sup>①</sup> 孔令锋 于红

(中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室 青岛 266003)

**摘要** 本研究利用形态学方法和基于线粒体细胞色素氧化酶亚基 I (COI)的遗传学方法分析了我国沿海青蚶(*Barbatia virescens*) 6 个地理群体的形态差异、遗传多样性、遗传结构及其种群历史动态。单因素方差分析(ANOVA)和 Tukey 检验表明, 青蚶不同地理种群间表现出显著形态差异( $P < 0.05$ )。经 PCR 扩增测序获得长度为 587bp 的 COI 基因片段, 112 个个体共检测到 18 个多态性位点、17 个单倍型, 每个群体均有特有单倍型。青蚶群体的遗传多样性水平较低, 总群体的平均单倍型多样性为 0.5472, 平均核苷酸多样性为 0.000974。AMOVA 分析表明, 群体内个体间的遗传分化是青蚶群体遗传变异的主要原因, 占 87.40%。阳江群体与其他群体之间存在显著的低程度的遗传分化, 而其他群体间的遗传分化不显著。单倍型网络关系图呈典型的星状拓扑结构, 没有表现出显著的地理谱系结构。单倍型邻接树结果也没有明显分支, 未呈现出地域性差异。中性检验和核苷酸不配对分析结果揭示青蚶种群历史上经历了群体扩事件, 扩张时间约为 26 万年前。研究结果为青蚶资源的保护和可持续利用提供了基础资料。

**关键词** 青蚶; 细胞色素氧化酶亚基 I; 遗传多样性; 遗传结构; 种群历史动态

中图分类号 S917.4 doi: 10.11693/hyhz20170300058

青蚶(*Barbatia virescens*) 隶属于软体动物门(Mollusca)、双壳纲(Bivalvia)、列齿目(Taxodonta)、蚶科(Arcidae)、须蚶属(*Barbatia*), 主要分布于我国浙江嵊山以南至海南沿海, 日本、越南、菲律宾等国也有分布(徐凤山等, 2008)。青蚶主要栖息于潮间带到数十米深的浅水区, 以足丝附着于岩礁缝隙中(蔡如星等, 1991)。青蚶作为蚶科贝类中的新兴品种, 肉味鲜美、营养丰富, 具有较大的养殖开发潜力。目前对于青蚶的研究相对较少, 仅在青蚶的人工育苗、精子超微结构、血红蛋白亚基结构等方面有报道(Suzuki *et al.*, 1989; 竺俊全等, 2004; 张鹏等, 2011), 其种群遗传结构及其遗传多样性现状还不明确。物种种群的遗传结构是物种种质资源保护的重要科学依据, 因此, 开展青蚶不同地理种群的分子遗传学研究, 了解其

遗传结构, 对我国青蚶种质资源的保护及可持续开发利用具有重要意义。

线粒体 DNA (Mitochondria DNA, *mtDNA*) 因其具有单亲遗传、进化速度快、核苷酸替代率高、分子量小(Brown *et al.*, 1979; Whitmoer *et al.*, 1994)的特点, 已作为一种重要的分子标记, 广泛应用于群体遗传学和系统发生的研究中(Hallerman, 2003)。其中, 线粒体 COI 基因作为最常用的分子标记, 在青蛤(*Cyclina sinensis*)、长牡蛎(*Crassostrea gigas*)、菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)等海洋双壳贝类的遗传多样性及种群结构研究中发挥了重要作用(Ni *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2015; Cordero *et al.*, 2017)。

本研究对中国沿海青蚶 6 个地理群体进行了形态变异分析, 利用线粒体 COI 基因探讨了其遗传结

\* 国家自然科学基金项目, 41276138 号; 教育部博士点基金, 20130132110009 号。王玲, 硕士研究生, E-mail: 875566368@qq.com

通讯作者: 李琪, 博士生导师, 教授, E-mail: qili66@ouc.edu.cn

收稿日期: 2017-03-17, 收修改稿日期: 2017-05-31

构与种群历史动态,以期阐明青蚶的遗传多样性现状,为合理有效利用和保护青蚶种质资源提供参考资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品的采集

6个青蚶群体的样品分别采集自浙江嵊泗(SS)、浙江南麂岛(NJD)、福建霞浦(XP)、福建平潭(PT)、广东阳江(YJ)和广西北海(BH)(图1)。每个群体数量为9—28个,共计112个。样品采集后用95%酒精固定保存。

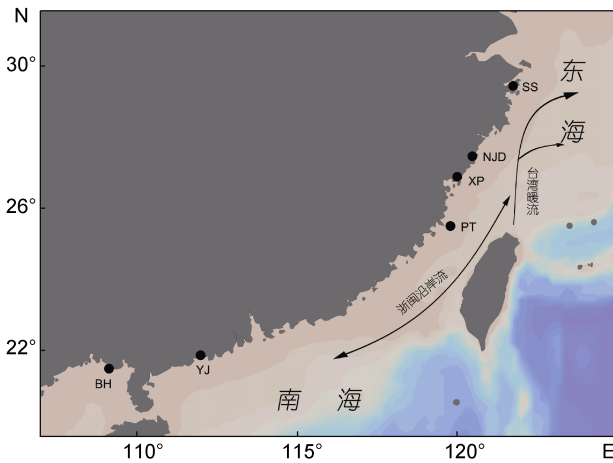


图1 青蚶群体采样分布点  
Fig.1 Map of sampling sites for *B. virescens*

### 1.2 形态指标及测定

根据青蚶的外部形态,测量各个体的形态指标。采用游标卡尺作为测量工具(精度0.01mm),测量壳长( $L$ )、壳宽( $W$ )、壳高( $H$ )、壳顶宽( $w$ )、外韧带长( $l$ )、背缘长( $x$ )6个指标,每个指标测3次后取平均值。

### 1.3 DNA的提取、扩增及测序

分别取青蚶闭壳肌肌肉约100mg,采用苯酚氯仿法提取基因组DNA(Li *et al.*, 2002),置于 $-20^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。用1%的琼脂糖凝胶电泳检测DNA的完整性,紫外分光光度计测定DNA的浓度和纯度。

本研究设计了1对通用性较高的青蚶COI引物:COIQ-F:TCATATTCGGCTAAATCTT, COIQ-R:CATCTTTCCACACCTCAA对青蚶群体进行扩增。PCR反应总体系为 $30\mu\text{L}$ ,包括:模板DNA 100ng,  $3\mu\text{L}$   $10\times$  PCR buffer,  $2.0\text{mmol/L}$   $\text{MgCl}_2$ ,  $25\text{mmol/L}$  dNTPs, 正反向引物各  $10\mu\text{mol/L}$ ,  $1.5\text{U}$  Taq DNA聚合酶(TaKaRa)。反应条件为: $94^{\circ}\text{C}$ 预变性5min,  $94^{\circ}\text{C}$ 变性30s,  $48^{\circ}\text{C}$ 退火30s,  $72^{\circ}\text{C}$ 延伸1min, 35个循环, 最终 $72^{\circ}\text{C}$ 延伸5min。扩增产物送深圳华大基因科技有限

公司进行纯化测序。

### 1.4 数据统计与分析

**1.4.1 形态学分析** 在SPSS22.0中采用单因素方差分析(ANOVA)对6个青蚶群体的形态差异进行比较和分析。将每个个体所测参数的平均数除以自身的壳长,得到校正值后再进行数据处理以消除个体大小对形态特征的影响(张尧庭等, 1982; 余建英等, 2003)。

**1.4.2 序列分析** 测序获得的双向序列利用SeqMan (Swindell *et al.*, 1997)根据峰值图进行比对拼接。将拼接校正后的DNA序列导入MEGA6.0 (Tamura *et al.*, 2013)进行ClusterW序列比对,辅助人工检查结果的可靠性,确定序列的长度、遗传距离及碱基组成等。在DnaSP v5 (Librado *et al.*, 2009)中统计群体的总单倍型数及总多态位点数。青蚶群体的遗传多样性参数[每个群体的单倍型数( $H$ )、单倍型多样性( $h$ )、核苷酸多样性( $\pi$ )及两两序列比对平均核苷酸差异数( $k$ )]的计算在Arlequin3.5 (Excoffier *et al.*, 2010)中完成。

**1.4.3 群体遗传结构分析** 利用Arlequin3.5进行分子变异方差分析(AMOVA),组间、组内群体间、群体内个体间的协方差的显著性通过1000次重抽样来检验。基于Tamura-Nei模型下的群体分化指数( $F_{st}$ )分析两两群体间的遗传差异,  $F_{st}$ 值的显著性通过1000次重抽样检验,并对多重检验进行班费罗尼校正(Rice, 1989)。利用Popart1.7 (<http://popart.otago.ac.nz>)基于TCS法建立单倍型网络关系图。在MEGA6.0中利用邻接法(neighbor-joining method)以Kimura 2 parameter模型构建单倍型系统发育进化树,各支点的支持率采用bootstrap法,重复1000次。

**1.4.4 历史动态分析** 种群历史动态分析在Arlequin3.5中进行。利用Tajima's  $D$ 检验(Tajima, 1989)和Fu's  $F_s$ 检验(Fu, 1997)的统计值及其显著性检测中性假说与否成立,利用核苷酸不配对分布(Mismatch Distribution)分析检测群体是否经历扩张事件。根据公式  $t = \tau / (2\mu k)$  估算种群扩张时间,其中 $\tau$ 是突然扩张模型下的参数,  $k$ 为该研究中的序列长度,  $\mu$ 为整个序列长度的突变速率,计算所得到的 $t$ 值即为群体扩张到现在经历的时间。演化速率采用0.7%每百万年(Marko, 2002)。

## 2 结果

### 2.1 形态差异比较

6个地理群体青蚶形态特征的描述性统计值和Tukey多重比较分析结果见表1和2。单因子方差分

析结果表明, 对于壳高( $H$ ), 北海群体与阳江、平潭群体间有显著差异( $P<0.05$ ); 对于壳宽( $W$ ), 阳江群体与南麂岛、霞浦、平潭群体有显著差异( $P<0.05$ ); 对于

壳顶宽( $w$ ), 嵊泗和平潭群体与其他四个群体有显著差异( $P<0.05$ ); 对于外韧带长( $l$ ), 南麂岛和阳江群体分别与其他五个群体有显著差异( $P<0.05$ )。

表 1 不同地理种群青蚶形态特征的描述性统计值

Tab.1 Descriptive statistics on morphological characteristics of *B.virescens* from different geographical populations

性状	群体					
	嵊泗( $n=9$ )	南麂岛( $n=9$ )	霞浦( $n=28$ )	平潭( $n=23$ )	阳江( $n=22$ )	北海( $n=21$ )
$L$ (cm)	2.392±0.039 (1.622—2.923)	2.563±0.049 (1.732—3.360)	2.952±0.025 (2.553—3.562)	3.289±0.026 (2.774—3.969)	1.792±0.037 (1.252—2.846)	2.756±0.074 (1.849—3.897)
$H$ (cm)	1.408±0.031 (0.839—1.886)	1.407±0.028 (0.879—1.896)	1.659±0.016 (1.343—1.940)	1.776±0.016 (1.422—2.145)	1.144±0.034 (0.662—1.836)	1.554±0.039 (1.090—2.135)
$W$ (cm)	9.113±0.019 (0.581—1.217)	1.041±0.022 (0.682—1.491)	1.147±0.010 (0.984—1.386)	1.216±0.016 (0.963—1.466)	6.632±0.020 (0.385—1.142)	1.140±0.035 (0.610—1.553)
$w$ (cm)	0.388±0.007 (0.293—0.528)	0.544±0.013 (0.314—0.746)	0.614±0.011 (0.452—0.941)	0.495±0.011 (0.206—0.830)	0.336±0.011 (0.162—0.597)	0.599±0.021 (0.235—0.910)
$l$ (cm)	0.849±0.015 (0.589—1.070)	0.968±0.022 (0.626—1.467)	0.995±0.013 (0.738—1.245)	1.110±0.016 (0.828—1.414)	0.501±0.021 (0.311—0.940)	0.969±0.031 (0.528—1.671)
$x$ (cm)	1.669±0.029 (1.280—2.173)	1.702±0.039 (1.224—2.499)	1.929±0.019 (1.525—2.307)	2.188±0.020 (1.827—2.701)	1.296±0.032 (0.906—1.749)	1.777±0.047 (1.175—2.489)

注:  $L$ : 壳长;  $W$ : 壳宽;  $H$ : 壳高;  $w$ : 壳顶宽;  $l$ : 外韧带长;  $x$ : 背缘长

表 2 青蚶不同地理种群性状的 Tukey 多重比较

Tab.2 Turkey multiple comparisons for characters of different regional populations of *B.virescens*

变量	显著性水平	平均值及其多重比较					
		嵊泗	南麂岛	霞浦	平潭	阳江	北海
$W/L$	$\alpha=0.05$	0.5847±0.05904 <sup>ab</sup>	0.5500±0.04917 <sup>ab</sup>	0.5641±0.05686 <sup>ab</sup>	0.5414±0.04494 <sup>bc</sup>	0.6347±0.11872 <sup>bc</sup>	0.5677±0.04021 <sup>a</sup>
$H/L$	$\alpha=0.05$	0.3790±0.02810 <sup>ac</sup>	0.4056±0.03338 <sup>ab</sup>	0.3897±0.03484 <sup>ab</sup>	0.3706±0.04651 <sup>ab</sup>	0.3652±0.04577 <sup>c</sup>	0.4118±0.05102 <sup>a</sup>
$w/L$	$\alpha=0.05$	0.1622±0.04901 <sup>b</sup>	0.2118±0.03066 <sup>a</sup>	0.2088±0.03839 <sup>a</sup>	0.1505±0.03003 <sup>b</sup>	0.1865±0.04412 <sup>a</sup>	0.2166±0.05318 <sup>a</sup>
$l/L$	$\alpha=0.05$	0.3645±0.10372 <sup>a</sup>	0.3776±0.04100 <sup>b</sup>	0.3384±0.04485 <sup>a</sup>	0.3380±0.04649 <sup>a</sup>	0.5010±0.06990 <sup>c</sup>	0.3530±0.07092 <sup>a</sup>
$x/L$	$\alpha=0.05$	0.6993±0.05025 <sup>ab</sup>	0.6637±0.06556 <sup>ab</sup>	0.6552±0.05989 <sup>b</sup>	0.6663±0.04808 <sup>ab</sup>	0.7232±0.10373 <sup>a</sup>	0.6494±0.07005 <sup>ab</sup>

注: 平均值为  $X \pm SD$ , 字母完全不同表示差异显著

## 2.2 遗传多样性分析

将测序所得序列经 SeqMan 矫正去除引物序列及部分端序列后得到 587bp 的等长同源序列。利用 Mega6.0 对青蚶 112 条 COI 序列进行分析, 其中 A、T、C、G 的平均含量分别为 16.0%、41.4%、15.3%、27.3%, AT 含量(57.4%)高于 GC 含量(42.6%), 各群体碱基组成相近。

112 条同源序列中共检测出 18 个多态性位点, 其中单突变位点 14 个, 简约信息位点 4 个。共定义了 17 个单倍型, 包括 3 个共享单倍型, 占总数的 17.6%。其中 Hap\_1 拷贝数最多, 为 84 次, 占序列总数的 75.0%, 同时也是所有群体共享的单倍型; Hap\_2 是第二多的单倍型, 共有 9 个拷贝, 占序列总数的 8.0%, 为三个群体共享(平潭、阳江、北海); Hap\_12 为三个群体共享的单倍型(嵊泗、霞浦、平潭), 但每个群体

仅有一个个体。其余均为每个群体的特有单倍型。总群体的平均单倍型多样性指数为 0.5472, 平均核苷酸多样性为 0.000974, 平均核苷酸差异数为 0.571469。青蚶 6 个群体的遗传学参数如表 3。单倍型多样性最高的为嵊泗群体( $h=0.5833$ ), 最低的为霞浦群体( $h=0.2063$ ); 核苷酸多样性最高的为嵊泗群体( $\pi=0.001514$ ), 最低的为霞浦群体( $\pi=0.00036$ )。总体来看, 青蚶群体有中等水平的单倍型多样性和较低水平的核苷酸多样性, 遗传多样性最高的群体为嵊泗群体, 最低的为霞浦群体。

## 2.3 群体遗传结构分析

青蚶群体间遗传距离及群体间遗传分化系数见表 4。群体间遗传距离分布在 0.0006—0.0014 之间, 遗传距离最高的为嵊泗与阳江群体及嵊泗与北海群体间, 均为 0.0014, 北海与其他群体之间的遗传距离相

表 3 基于 COI 标记的青蚶 6 个群体的遗传学参数  
Tab.3 Genetic diversity parameters of partial COI gene in 6 *B.virescens* populations

群体	样本数目	单倍型数 $H$	多态位点数 $s$	单倍型多样性 $h$	平均核苷酸差异数 $k$	核苷酸多样性指数 $\pi$
嵎泗	9	4	4	0.5833±0.1833	0.888889±0.492170	0.001514±0.001316
南麂岛	9	3	2	0.4167±0.1907	0.444444±0.433519	0.000757±0.000838
霞浦	28	4	3	0.2063±0.1005	0.214286±0.266020	0.000365±0.000505
平潭	23	6	5	0.5178±0.1218	0.592885±0.492170	0.001010±0.000935
阳江	22	3	2	0.4805±0.0935	0.545455±0.467423	0.000929±0.000888
北海	21	6	6	0.4952±0.1298	0.742857±0.572329	0.001266±0.001088

对较高;而霞浦与其他群体之间的遗传距离相对较低,最低的为霞浦与南麂岛群体之间,遗传距离为 0.0006。

基于 COI 基因的两两群体之间的  $F_{st}$  值分布在 -0.00084—0.20522,其中阳江与霞浦间的遗传分化系数最大,南麂岛与北海间的遗传分化系数最小。阳江与其他 5 个群体之间存在显著或极显著的低程度的遗传分化( $F_{st}=0.07121$ —0.20522),除此之外,霞浦

与北海群体之间也存在显著差异( $P<0.05$ )。其他群体相互间的遗传分化表现为差异不显著( $P>0.05$ )。

AMOVA 分析结果显示(表 5),青蚶群体间遗传变异大多数来自于群体内个体间,占 87.40%,且具有显著的统计值( $P=0.0004$ ),较少部分的遗传差异来自于组间,占 11.15%( $P=0.1655$ ),而来自于组内群体间的遗传差异只占 1.45% ( $P=0.0701$ )。由此表明所研究的青蚶群体的遗传分化主要表现为群体内分化。

表 4 青蚶群体间遗传分化系数(对角线下)及遗传距离(对角线上)  
Tab.4 Genetic differentiation (below diagonal) and genetic distance (above diagonal) among *B.virescens* populations

	嵎泗	南麂岛	霞浦	平潭	阳江	北海
嵎泗		0.0011	0.0009	0.0013	0.0014	0.0014
南麂岛	0.00027		0.0006	0.0009	0.0011	0.0010
霞浦	0.04615	0.03240		0.0007	0.0008	0.0008
平潭	0.01226	0.00489	0.01609		0.0010	0.0012
阳江	0.13740*	0.14453*	0.20522**	0.07121*		0.0012
北海	0.01709	-0.00084	0.02792*	0.01412	0.09934**	

注: \*表示差异显著  $0.01 < P < 0.05$ , \*\*表示差异极显著  $P < 0.01$

表 5 基于 COI 基因序列片段的青蚶群体遗传变异的 AMOVA 分析  
Tab.5 Results of hierarchical AMOVA based on the partial COI sequences of 6 *B.virescens* populations

分组	变异来源	自由度 $df$	方差总和	方差组分	变异百分比(%)	$\Phi$	$P$
(阳江)&(嵎泗,南麂岛,霞浦,平潭,北海)	组间	1	1.556	0.03381 Va	11.15	$\Phi_{CT}=0.1115$	0.1655
	组内群体间	4	1.362	0.00439 Vb	1.45	$\Phi_{SC}=0.0163$	0.0701
	群体内个体间	106	28.091	0.26501 Vc	87.40	$\Phi_{ST}=0.1260$	0.0004
	总计	111	31.009	0.30321			

注: Va、Vb、Vc 分别表示组间、组内群体间、群体内个体间的方差变异组分;  $\Phi_{CT}$ 、 $\Phi_{SC}$ 、 $\Phi_{ST}$  分别表示组间、组内群体间、群体内个体间的遗传分化指数

图 2 为青蚶群体的单倍型网络关系图,由图可知, Hap\_1 位于单倍型中央,为所有群体共享,且拷贝数占序列总数的四分之三,呈现明显的“星状”拓扑结构。各单倍型间碱基差异小,不同群体的单倍型未呈现地理分支,没有表现出显著的地理系谱结构。17 个单倍型的 NJ 系统树(图 3)也没有表现出清晰的网状结构,支持单倍型网络图的结论。

## 2.4 群体历史动态分析

检验群体在中性条件下是否经历了扩张事件方法为:如果 Tajima's  $D$  检验和 Fu's  $F_s$  检验的检验值至少有一个为负值且显著偏离中性,则表明该群体经历了扩张事件。两种中性检验结果显示(表 6):Tajima's  $D$  检验中,所有群体的检验值均为负值,除南麂岛和阳江群体外均显著偏离中性, Fu's  $F_s$  检验中,

除阳江群体外其余群体检验值均为负值且显著偏离中性, 表明青蚶群体在中性模式下经历了群体扩张事件。核苷酸不配对分布分析表明, 观测值呈现近似的单峰分布(图 4), 平方离差之和(Sum of squared

deviations, SSD)也不显著( $P>0.05$ ), 符合群体扩张模型下的预期分布。采用蚶科线粒体进化速率(0.7%每百万年)估算可知, 青蚶群体的扩张时间约为 26 万年前。

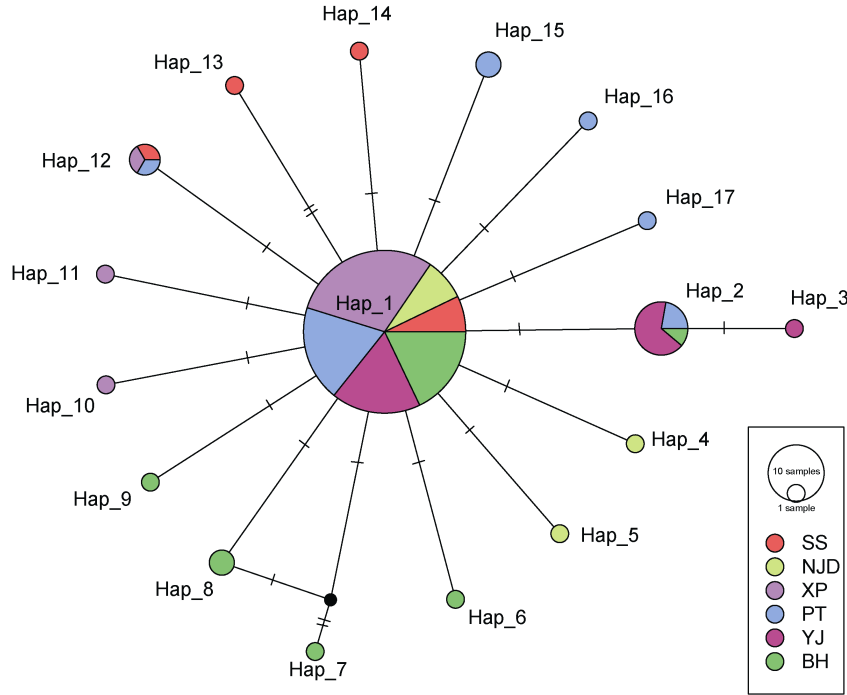


图 2 青蚶 17 个单倍型的网络关系图

Fig. 2 Haplotype network for the 17 haplotypes of *B. virescens*  
注: SS: 嵎泗; NJD: 南麂岛; XP: 霞浦; PT: 平潭; YJ: 阳江; BH: 北海

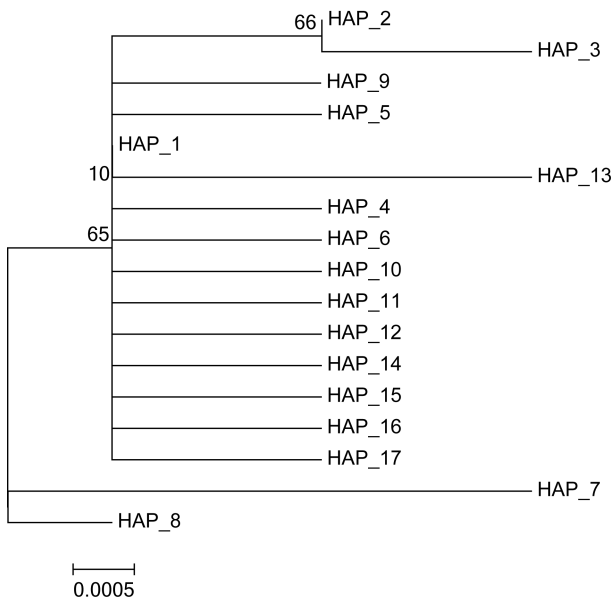


图 3 青蚶线粒体 COI 基因不同单倍型邻接树

Fig.3 Haplotype neighbor-joining tree based on *mtDNA* COI gene of *B. virescens*

### 3 讨论

#### 3.1 遗传多样性

遗传多样性是生物多样性的重要组成部分之一, 遗传多样性的高低决定了物种生存适应和发展进化的潜力。一个物种的遗传多样性的高低与其对环境的适应能力成正比, 即遗传多样性越高的物种对环境的适应能力越强, 反之亦然。正确认识物种的遗传多样性水平, 对物种遗传资源的保护、资源的可持续发展、遗传育种等方面都是至关重要的。

形态学性状可以在一定程度上对物种进行鉴定, 初步描述不同地理群体间的差异。但仅通过形态学分析得到的结论是不全面的, 因此在进行物种分类和遗传变异检测中, 应将形态学方法与遗传学方法结合起来。已有研究利用多变量形态度量学方法对魁蚶 (*Scapharca broughtonii*)、毛蚶 (*Scapharca subcrenata*)、泥蚶 (*Tegillarca granosa*) 等蚶科贝类进行不同地理群体形态差异分析, 表明不同群体间的不同性状具有

表 6 青蚶群体的中性检验和核苷酸不配对分析  
Tab.6 Neutral test and analysis on mismatch distribution of *B. virescens*

群体	Fu's $F_s$ 检测( $P$ )	Tajima's $D$ 检测( $P$ )	平方离差之和 SSD ( $P$ )
嵎泗	-1.2827(0.0440*)	-1.6097(0.0350*)	0.0007(0.9230)
南麂岛	-1.0811(0.0390*)	-1.3624(0.0960)	0.0087(0.6960)
霞浦	-3.2664(0.0000*)	-1.7332(0.0170*)	0.0018(0.4360)
平潭	-3.7468(0.0020*)	-1.6497(0.0330*)	0.0267(0.1423)
阳江	0.0213(0.4270)	-0.0132(0.4710)	0.0078(0.3470)
北海	-3.1288(0.0040*)	-1.7419(0.0240*)	0.0087(0.3910)

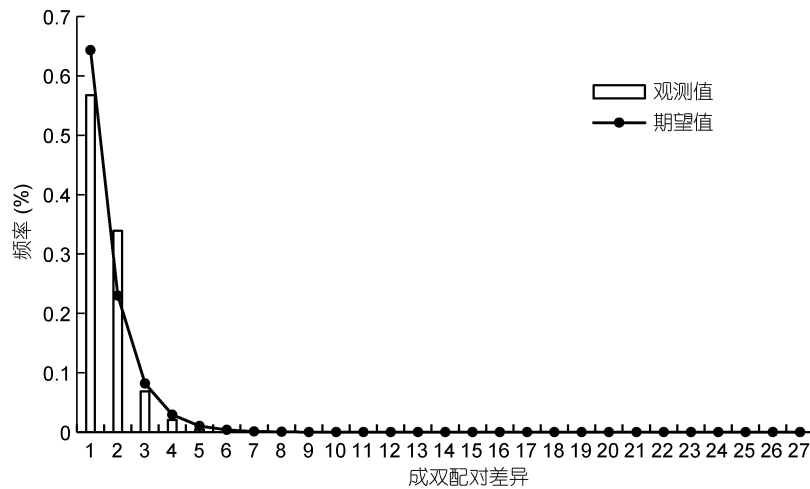


图 4 青蚶群体的 COI 基因核苷酸错配分布

Fig.4 Differences in the observed pairwise sequence and the expected mismatch distributions in population expansion model of the COI gene haplotypes for the *B. virescens* populations

显著差异(张永普等, 2004; 梁超等, 2011; 宋菲菲等, 2012)。本研究中青蚶 6 个地理种群的单因素方差分析表明, 对于进行比较的性状, 不同种群之间存在显著差异。而分子数据结果证实, 虽然不同地理群体间形态差异显著, 但不同地理群体间 COI 基因序列差异小, 不具有明显的地理谱系分化, 表明青蚶不同形态个体间遗传差异小, 环境影响是导致形态差异的主要因素。Laudien(2003)的研究也表示, 形态特征虽然由遗传因子决定, 但受物种的栖息环境影响, 包括温度、盐度、饵料等, 如果环境因子差别较大并长期作用于种群, 就会导致不同地理种群在形态上产生显著差异, 而群体间的基因交流则导致遗传均质性的产生。

单倍型多样性和核苷酸多样性是评价遗传多样性的重要指标。本研究中我们对中国南方沿海 6 个青蚶群体的 COI 基因进行扩增, 获得 587bp 的序列, 检测到 18 个多态位点和 17 个单倍型。结果表明, 青蚶具有中等水平的单倍型多样性(0.5472)和较低水平的

核苷酸多样性(0.000974), 符合 Grant 等(1998)提出的四种单倍型多样性和核苷酸多样性组合中的“高  $h$ , 低  $\pi$ ”的遗传多样性类型。这种情况在许多海洋无脊椎动物中都曾出现(Ni *et al.*, 2012; Zhou *et al.*, 2016)。而相比于蚶科中其他物种, 如泥蚶(Ni *et al.*, 2012)、毛蚶(陈辰, 2015)等, 青蚶的遗传多样性参数较低, 112 个个体中仅检测到 17 个单倍型, 暗示了青蚶种群的遗传多样性处于相对较低的水平。具有低水平遗传多样性的物种易受到环境及人为因素影响, 在不良环境下的生存也会受到威胁。因此, 对于青蚶的种质资源的保护应该得到相应的重视。

### 3.2 种群遗传结构

AMOVA 分析发现两两群体间的  $F_{st}$  值较低且多数为不显著, 表明不同群体间没有形成显著的遗传分化, 只有阳江群体与其他群体间存在低程度的遗传分化。总体来看, 青蚶群体没有形成显著的遗传结构, 遗传分化程度低, 群体间存在基因交流。

一些海洋生物通常表现出在其较大空间范围具

有较低水平的遗传分化,不具有显著的遗传结构的特点。大多数海洋无脊椎动物具有浮游期,浮游期幼虫在海流推动下扩散,使不同地理群体间保持基因交流,呈现出低水平的遗传分化,表现出遗传均质性(Palumbi *et al.*, 1994; Lee *et al.*, 2009)。

海流对生物的遗传分化的影响是十分重要的。存在于东海和南海的海洋环流对物种的遗传分布会造成一定程度的影响。我国浙江以南沿海的海洋环流系统主要包括两大部分,一是黑潮的支流,沿中国台湾北上入东海,即台湾暖流;二是季节性的浙闽沿岸流,在冬季和夏季分别自北向南和自南向北流动,促使不同海区间的联系加强(苏纪兰等, 2005)。青蚶历史中具有 10d 左右的浮游期(张鹏等, 2011),在此期间,在海流的推动下,各群体间基因交流频繁,可能是导致其没有形成显著遗传格局的原因。

此外,已有研究报道港湾岛屿也会对种群的遗传分化造成一定的影响,由于其会对幼虫的扩散产生一定的阻碍作用,因此会导致物种产生不同程度的遗传分化(Zhan *et al.*, 2009; Ni *et al.*, 2011; 李双等, 2015)。本研究中阳江群体与其他群体间存在显著的低程度的分化,可能与阳江所处的地理位置有一定的关系。广东省位于我国大陆南端沿海,港湾岛屿数仅次于浙江福建二省,阳江地处广东西南沿海,周围多港湾及岛屿,这些港湾和岛屿可能对该海域的青蚶幼虫的扩散形成天然的屏障,一定程度上阻碍了其与其他群体间的基因交流。

### 3.3 种群动态

本研究采用中性检验和核苷酸不配对分析来研究青蚶群体的历史动态。实验结果揭示青蚶群体经历了群体扩张事件,扩张时间约为 26 万年前。该时间对应于第四纪晚冰期的第 3 次间冰期。第四纪晚期冰期-间冰期对于东海的生物种群的分布格局具有重大影响。该时期,由于冰川作用,海平面下降,东海面积缩小,导致大量生物栖息地丧失,许多海洋生物被迫向深海避难所迁移,形成了均质性的祖先群体。冰期后,海平面上升,避难所的种群重新扩张,占据新的栖息地从而导致新的遗传格局的产生(Wang *et al.*, 1994; Shen *et al.*, 2011; Ni *et al.*, 2012)。本研究中青蚶群体具有典型的“星状”单倍型网络关系图,序列间差异小,单倍型的 NJ 系统树也不具有明显分支,因此我们推测所研究的青蚶具有同一祖先群体,来自于冰期时期东海避难所,在更新世末期发生了种群的扩张。

## 4 结论

本研究利用线粒体 COI 基因对中国南方沿海 6 个青蚶群体进行遗传结构及种群动态分析。结果显示:不同群体间在某些形态特征上存在显著差异,这些差异主要是由地理环境特性决定的;所研究的青蚶群体遗传多样性水平较低,应采取相应措施对其遗传多样性进行保护;整体来看青蚶没有形成显著的遗传结构,仅阳江群体表现出显著的低程度的遗传分化;种群历史动态分析表示,青蚶在约 26 万年前经历种群扩张,推测其具有同一祖先群体。

## 参 考 文 献

- 余建英,何旭宏,2003. 数据统计分析与 SPSS 应用. 北京:人民邮电出版社
- 宋菲菲,王其翔,刘 名等,2012. 不同地区毛蚶群体的形态差异的比较研究. 中国海洋大学学报(自然科学版), 42(11): 40—45
- 张 鹏,黄贤克,王铁杆等,2011. 青蚶人工育苗的初步研究. 上海海洋大学学报, 20(6): 838—844
- 张永普,林志华,应雪萍,2004. 不同地理种群泥蚶的形态差异与判别分析. 水产学报, 28(3): 339—342
- 张尧庭,方开泰,1982. 多元统计分析引论. 北京:科学出版社
- 李 双,李 琪,于 红等,2015. 浙闽沿海葡萄牙牡蛎群体遗传结构及种群历史分析. 中国水产科学, 22(6): 1260—1269
- 苏纪兰,袁业立,2005. 中国近海水文. 北京:海洋出版社, 367
- 陈 辰,2015. 毛蚶群体遗传学研究. 青岛:中国海洋大学博士学位论文, 62—68
- 竺俊全,杨万喜,2004. 毛蚶与青蚶精子超微结构及其所反映的蚶科进化关系. 动物学研究, 25(1): 57—62
- 徐凤山,张素萍,2008. 中国海产双壳类图志. 北京:科学出版社, 52
- 梁 超,杨爱国,刘志鸿等,2011. 4 个地理群体魁蚶 (*Scapharca broughtonii*) 的形态差异与判别分析. 海洋科学, 35(11): 108—113
- 蔡如星,黄惟灏,1991. 浙江动物志-软体动物. 杭州:浙江科学技术出版社, 157
- Brown W M, George M, Wilson A C, 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. Proc Natl Acad Sci USA, 76(4): 1967—1971
- Cordero D, Delgado M, Liu B Z *et al.*, 2017. Population genetics of the Manila clam (*Ruditapes philippinarum*) introduced in North America and Europe. Sci Rep, 7: 39745
- Excoffier L, Lischer H E L, 2010. Arlequin suite Ver 3. 5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Mol Ecol Res, 10(3): 564—567
- Fu Y X, 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. Genetics, 147(2): 915—925

- Grant W A S, Bowen B W, 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insight from sardines and anchovies and lessons for conservation. *J Heredity*, 89(5): 415—426
- Hallerman E, 2003. *Population Genetics: Principles and Applications for Fisheries Scientist*. Bethesda, MD: American Fisheries Society, 59—100
- Laudien J, Flint N S, Van Der Bank F H *et al*, 2003. Genetic and morphological variation in four populations of the surf clam *Donax serra* (Röding) from southern African sandy beaches. *Biochem Systemat Ecol*, 31(7): 751—772
- Lee H J E, Boulding E G, 2009. Spatial and temporal population genetic structure of four northeastern Pacific littorinid gastropods: the effect of mode of larval development on variation at one mitochondrial and two nuclear DNA markers. *Mol Ecol*, 18(10): 2165—2184
- Li Q, Park C, Kijima A, 2002. Isolation and characterization of microsatellite loci in the Pacific abalone, *Haliotis discus hannai*. *J Shellf Res*, 21(2): 811—816
- Li S, Li Q, Yu H *et al*, 2015. Genetic variation and population structure of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in the northwestern Pacific inferred from mitochondrial COI sequences. *Fisher Sci*, 81(6): 1071—1082
- Librado P, Rozas J, 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 1451—1452
- Marko P B, 2002. Fossil calibration of molecular clocks and the divergence times of geminate species pairs separated by the Isthmus of Panama. *Mol Biol Evolut*, 19(11): 2005—2021
- Ni G, Li Q, Kong L F *et al*, 2012. Phylogeography of bivalve *Cyclina sinensis*: Testing the historical glaciations and Changjiang river outflow hypotheses in Northwestern Pacific. *PLoS One*, 7(11): 1—11
- Ni L H, Li Q, Kong L F, 2011. Microsatellites reveal fine-scale genetic structure of the Chinese surf clam *Mactra chinensis* (Mollusca, Bivalvia, Mactridae) in Northern China. *Mar Ecol*, 32(4): 488—497
- Palumbi S R, 1994. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. *Annual Rev Ecol Systemat*, 25(1): 547—572
- Rice W R, 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, 43(1): 223—225
- Shen K N, Jamandre B W, Hsu C C *et al*, 2011. Plio—Pleistocene sea level and temperature fluctuations in the northwestern Pacific promoted speciation in the globally—distributed flathead mullet *Mugil cephalus*. *BMC Evolut Biol*, 11(1): 83
- Suzuki T, Shiba M, Furukohri T *et al*, 1989. Hemoglobins from the two closely related clams *Barbatia lima* and *Barbatia virescens*. Comparison of their subunit structures and N-terminal Sequence of the unusual two-domain chain: *Biochemistry. Zool Sci*, 6(2): 269—281
- Swindell S R, Plasterer T N, 1997. SEQMAN. In: Swindell S R, ed. *Sequence data analysis guidebook. Methods In Molecular Medicine™*. Totowa, NJ: Springer, 70: 75—89
- Tajima F, 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3): 585—595
- Tamura K, Stecher G, Peterson D *et al*, 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Biol Evolut*, 30(12): 2725—2729
- Wang P X, Sun X J, 1994. Last glacial maximum in China: comparison between land and sea. *Catena*, 23(3—4): 341—353
- Whitmoer D H, Thai T H, Craft C M, 1994. The largemouth bass cytochrome *b* gene. *J Fish Biol*, 44(4): 637—645
- Zhan A B, Hu J J, Hu X L *et al*, 2009. Fine-scale population genetic structure of Zhikong scallop (*Chlamys farreri*): do local marine currents drive geographical differentiation. *Mar Biotechnol*, 11(2): 223—235
- Zhou N, Shen H D, Chen C *et al*, 2016. Genetic structure of *Onchidium "struma"* (Mollusca: Gastropoda: Eupulmonata) from the coastal area of China based on mtCO I. *Mitochondrial DNA Part A: DNA Mapp Seq Anal*, 27(2): 1319—1323



## POPULATION GENETIC STRUCTURE AND DEMOGRAPHIC HISTORY OF *BARBATIA VIRESCENS* ALONG CHINESE COAST BASED ON MITOCHONDRIAL COI SEQUENCES

WANG Ling, LI Qi, KONG Ling-Feng, YU Hong

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

**Abstract** We investigated the genetic diversity, population genetic structure, and demographic history of *Barbatia virescens* along Chinese coasts. Six populations were selected including Shensi of Zhejiang, Nanji Island of Zhejiang, Xiapu of Fujian, Pingtan of Fujian, Yangjiang of Guangdong, and Beihai of Guangxi, among which morphological variations ( $P < 0.05$ ) were significant as revealed in ANOVA test. The mitochondrial cytochrome oxidase I (*mtDNA* COI) gene fragments of these populations were amplified and sequenced, from which 112 sequences of total length of 587bp nucleotide were obtained, including 18 polymorphic sites and 17 haplotypes. Overall, the mean genetic diversity was 0.5472, and mean nucleotide diversity 0.000974, suggesting that genetic diversity of *B. virescens* was relatively low. Most of the genetic variation was intra-population variation (87.40%) as indicated in AMOVA analysis. The population pairwise  $F_{st}$  values among populations were low, and no significant genetic differentiation was observed, except for Yangjiang population. In addition, no clear geographical differentiation was revealed in the haplotype network and on the NJ tree. The historical expansion time started about  $2.6 \times 10^5$  years ago determined by Tajima's  $D$  and Fu's  $F_s$  tests, and mismatch distributions. These findings would offer insights to the fine-tune conservation and fishery management measures in the future.

**Key words** *Barbatia virescens*; mitochondrial COI; genetic diversity; population structure; demography history