

广东雷州半岛东部沿岸潮间带 常见牡蛎的种类及其分布*

崔宗梅^{1,2} 黄津伟³ 王海艳^{1①} 胡利莎^{1,2} 刘玉盟^{1,2}

(1. 中国科学院海洋研究所 青岛 266071; 2. 中国科学院大学 北京 100049; 3. 天津师范大学 天津 300387)

摘要 在形态分类的基础上,采用多重 PCR(Multiplex Species-Specific PCR)和 DNA 序列分析,基于细胞色素氧化酶 I (cytochrome oxidase I, COI)基因构建系统进化树鉴定牡蛎种类及确定其分类地位,研究了广东雷州半岛东部沿岸牡蛎科(Ostreidae)常见牡蛎的种类及分布。本次研究从雷州半岛东部沿岸的 11 个地点采集了 363 个野生牡蛎样品,并对全部样品进行了形态分析和多重 PCR 的鉴定,对未鉴定出来的 114 个样品进行 COI 基因的扩增并测序,构建系统进化树进行种类分析,共检测出 3 属 5 种牡蛎。巨蛎属(*Crassostrea*)有两种,分别为熊本牡蛎(*C. sikamea*)185 个和福建牡蛎(*C. gigas angulata*)109 个;小蛎属(*Saccostrea*)有两种,棘刺牡蛎(*S. echinata*)48 个和团聚牡蛎(*S. malabonensis*)19 个,牡蛎属未定种 *Ostrea* sp.1 有 2 个。结果表明,雷州半岛东部沿岸牡蛎种类丰富,至少有 5 种牡蛎分布于潮间带,其中优势种为熊本牡蛎和福建牡蛎,分布范围比较广。小蛎属和牡蛎属牡蛎数量较少,分布比较集中。

关键词 雷州半岛;牡蛎科;多重 PCR;COI

中图分类号 Q959.215 **doi:** 10.11693/hyhz20180300054

牡蛎属于软体动物门、双壳纲、牡蛎目、牡蛎总科、牡蛎科,分布区域面积广,而且肉味鲜美,具有很高的经济价值。由于牡蛎是营固着生活的软体动物,栖息环境复杂,贝壳形态随栖息环境变化极大,单纯依靠贝壳的形态特征进行种类的分类鉴定容易导致分类的混乱,如 Harry(1985)记录世界上现存的 100 多种牡蛎中大约有近 2/3 是同物异名。随着分子生物学的发展和应用,许多分类学者结合牡蛎的形态特征和分子标记对牡蛎的种类和系统发育进行了分析,解决了牡蛎的很多分类争议。王海艳等(2004)结合形态和分子生物学的方法对我国沿海常见牡蛎的种类和分布进行了研究,开发了巨蛎属(*Crassostrea*)常见牡蛎的种特异性标记(Wang *et al.*, 2008),可以快速对种类鉴定,并把福建牡蛎(*C. gigas angulata*)订为长牡

蛎(*C. gigas gigas*)的亚种(Wang *et al.*, 2010)。Lam 等(2003, 2004)通过线粒体基因 COI 和 16S rRNA 发现了牡蛎新种香港牡蛎(*C. hongkongensis*),并根据形态特征和 COI 基因序列鉴定,描述了从香港采集到的 12 种牡蛎的形态特征、栖息环境及其分布。Wang 等(2004)发现香港牡蛎不只分布在香港,在我国南方沿海有大量分布,是当地重要经济贝类,并把当地渔民称为的“白肉”定为香港牡蛎,“红肉”定为近江牡蛎(*C. ariakensis*)。

雷州半岛沿海属热带季风气候,具有优越的地理环境和自然条件,生物资源丰富。《广东潮间带生物调查报告》中记录了牡蛎科(Ostreidae)16 种,其中粤西中西部有咬齿牡蛎(*Saccostrea mordax*)和近江牡蛎(*C. ariakensis*)两种。韩维栋等于 2002 年记录了雷

*国家自然科学基金项目,41776179 号,40406032 号,40876084 号;现代农业产业技术体系建设专项资金, CARS-47 号;中国科学院战略性先导科技专项, XDA10020305 号;国家科技基础性工作专项, 2014FY110500 号;大学生创新创业训练计划项目, 201710065032 号。崔宗梅, 硕士研究生, E-mail: cuizongmei@qq.com; 同等贡献第一作者: 黄津伟, E-mail: 13821295232@163.com

通讯作者: 王海艳, 博士生导师, 研究员, E-mail: haiyanwang@qdio.ac.cn

收稿日期: 2018-03-15, 收修改稿日期: 2018-06-22

州半岛红树林区牡蛎科(Ostreidae)的 4 种牡蛎, 近江牡蛎、*S. glomerata*、猫爪牡蛎(*Talonostrea talonata*)以及一种巨蛎属 sp, 其中仅巨蛎属 sp 牡蛎分布在雷州半岛东部沿岸(韩维栋等, 2009)。梁超愉等(2005)对雷州半岛红树林潮间带底栖生物种类的组成调查中, 发现了棘刺牡蛎(*S. echinata*)、咬齿牡蛎、近江牡蛎和一种巨蛎属 sp 牡蛎 4 种, 其中仅棘刺牡蛎分布在东部沿岸。由于调查者没有进行系统的形态和分子生物学分析, 可能会有同物异名或异物同名的现象发生。

为了弥补雷州半岛东部沿岸牡蛎资源调查研究的匮乏, 我们采集了该地区大量的野生牡蛎样品, 并对样品进行了形态及分子生物学鉴定, 以期明确我国雷州半岛东部沿岸常见牡蛎的种类及分布。

1 材料与方法

1.1 样品采集与保存

本次牡蛎调查区域从北至南包括广东省茂名市、湛江市、雷州市潮间带共 11 个站位。样品采集地点见图 1。采样时不分样品大小, 采集形态差别较大个体, 样品保存于 95%的乙醇中。

1.2 样品形态特征鉴定

观察记录牡蛎贝壳的各部分特征, 包括壳型、壳上鳞片情况、壳表面的颜色、放射肋分布、韧带槽形状及大小、壳内面颜色、闭壳肌痕颜色及形状等。通过形态特征对牡蛎进行初步鉴定。

1.3 基因组 DNA 的提取和目的基因 PCR 扩增

利用 Wang 等(2008)开发的巨蛎属牡蛎的种特异性标记, 通过多重 PCR 的方法快速将巨蛎属牡蛎鉴定到种, 对无法通过该方法鉴定到种的巨蛎属及其他属样品进行细胞色素氧化酶 I (cytochrome oxidase I, COI)基因扩增, 并结合系统发育分析的方法, 确定每个样品的种名。

从牡蛎闭壳肌中取出 20—30g 闭壳肌组织, 将组织中的酒精晾干之后使用 Dneasy™ Tissue Kit (Tiangen)试剂盒, 提取牡蛎基因组 DNA。通过聚合酶链式反应

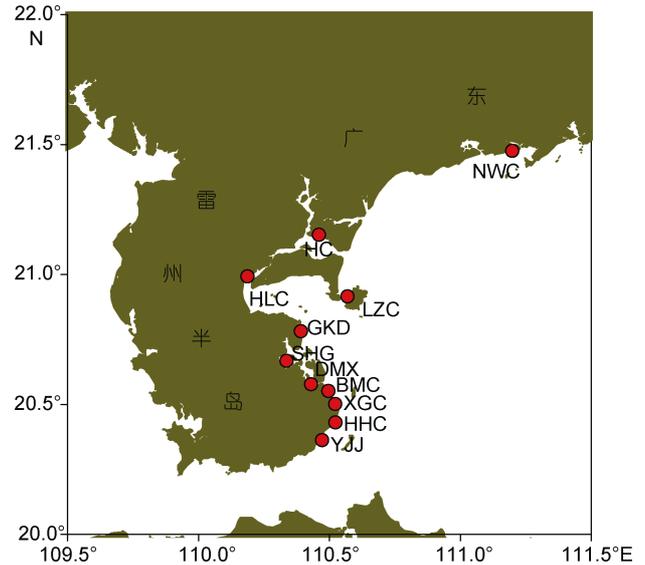


图 1 本次实验牡蛎样品采集地点

Fig. 1 Location of oysters sampling

注: NWC: 茂名市博贺镇那尾村; HC: 湛江市南三岛湖村; HLC: 雷州市沈塘镇海岚村; LZC: 湛江市硇洲岛六竹村; GKD: 雷州市东里镇沟口东村; SHG: 湛江市和安镇松树港; DMX: 湛江市锦和镇东门下村; BMC: 湛江市外罗镇白茅村; XGC: 湛江市下洋镇下港村; HHC: 湛江市前山镇后海村; YJJ: 湛江市前山镇盐井角

(polymerase chain reaction, PCR)扩增巨蛎属牡蛎的特异性片段和 COI 基因片段, 扩增使用引物见表 1(Folmer *et al*, 1994; Wang *et al*, 2008)。多重 PCR 反应体系为 25 μ L, 包括 8 μ L ddH₂O, 12.5 μ L 2 \times TSINGKE Master Mix, 0.5 μ L COI 引物, 0.4 μ L 特异性引物和 1.5 μ L DNA 模板。COI 基因 PCR 反应体系为 25 μ L, 包括 9.5 μ L ddH₂O, 12.5 μ L 2 \times TSINGKE Master Mix, 0.5 μ L 引物和 2 μ L DNA 模板。使用 BIO-RAD thermal cycler 进行 PCR, 循环参数如下: 预变性 95 $^{\circ}$ C 加热 2min, 变性 95 $^{\circ}$ C 加热 1min, 引物退火 48—51 $^{\circ}$ C 1min, 引物延伸 72 $^{\circ}$ C 进行 1min, 循环数 35, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10min。多重 PCR 获得的产物用 1.5%的琼脂糖凝胶电泳进行检测, 通过 PCR 产物的长度将样品鉴定到种。

表 1 巨蛎属牡蛎的特异性引物和通用 COI 引物的序列及长度

Tab.1 Species-specific PCR primer and expected product size

引物名称	种的特异性	引物序列	长度(bp)
COL 1490 (forward)	所有种	5'-GGTCACAAATCATAAAGATATTGG-3'	
COCar183r	近江牡蛎 <i>C. ariakensis</i>	5'-AAAAAAGATTATAACTAATGCATGTCG(T)G-3'	183
COCan222r	福建牡蛎 <i>C. gigas angulata</i>	5'-AGTTACCAAACCCCAATTATCAG(C)G-3'	222
COCgi269r	长牡蛎 <i>C. gigas gigas</i>	5'-TCGAGGAAATTGCATGTCTGCTACA(T)A-3'	269
COChk387r	香港牡蛎 <i>C. hongkongensis</i>	5'-GGAGTAAGTGGATAAGGGTGGATAG-3'	387
COCsi546r	熊本牡蛎 <i>C. sikamea</i>	5'-AAGTAACCTTAATAGATCAGGGAAC(A)C-3'	546
COH 2198 (reverse)	所有种	5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'	697

1.4 遗传距离和系统发育分析

多重 PCR 未鉴定出来的种, 进行 COI 基因扩增并测序。本次实验获得 114 个牡蛎样品的 COI 片段, 表 2 为从 NCBI 下载的相关序列。使用 MEGA v.7.0.26 (Kumar *et al*, 2016) 进行序列比对, 单倍型的计算使用 DNASP v.5.10.01 (Librado *et al*, 2009)。获得的单倍型和从 NCBI 上下载的相关序列用于系统发育分析。应用 ModelTest 3.7 (Posada *et al*, 1998) 基于 Akaike Information Criterion (AIC) 为 COI 基因片段选择核苷

酸最佳替换模型, 并估计相关参数, 用于 BI (Bayesian inference) 和 ML (Maximum likelihood tree) 方法建树。

利用软件 MrBayes 3.2.6 (Ronquist *et al*, 2012) 构建贝叶斯树, 以随机树为起始树运行 200 万代, 每 10000 代抽样一次。使用 MEGA v.7.0.26 构建 ML 树, 参数设置使用 Model Test 3.7 的结果进行设置。使用 MEGA v.7.0.26 计算牡蛎物种间和种内的 Kimura 2-parameter 遗传距离 (Kimura, 1980)。

表 2 从 GenBank 数据库中下载的 COI 基因序列信息
Tab.2 Details of COI gene nucleotide sequences from the GenBank database

物种名称	序列号	样品地点	参考文献	备注
<i>C. sikamea</i>	FJ841966	Shatian, China	Wu <i>et al</i> , 2010	complete mitogenome
<i>C. angulata</i>	FJ841965	Dianbai, China	Wu <i>et al</i> , 2010	complete mitogenome
<i>Saccostrea</i> sp. XL-13	KU947216	Daya Bay, China		non- <i>mordax</i> ineage F
<i>Saccostrea</i> sp. LJ-13	KU947207	Daya Bay, China		non- <i>mordax</i> lineage B
<i>Ostrea</i> sp. STH-2012	JQ027291	PT, Taiwan, China		
<i>Striostrea prismatica</i>	KT317606	Baja California Sur, Mexico	Raith, 2016	

2 结果与分析

2.1 形态特征及多重 PCR 鉴定、COI 基因扩增

本次采集的牡蛎经过形态特征和多重 PCR 鉴定, 可以确定到种的巨砾属牡蛎有两种。从琼脂糖凝胶电泳图(图 2)中可以看出, 9 个样品中 1、2、3、6 号样品的特异性条带与对照组福建牡蛎(Can)的特异性条带位置相同, 再结合形态特征, 将这 4 个样品定为福建牡蛎。对照熊本牡蛎(Csi)特异性条带与 4、5、7、9 号样品的特异性条带位置相同, 再结合形态特征, 将这 4 个样品定为熊本牡蛎。通过多重 PCR 的方法本次实验的 363 个牡蛎样品中鉴定出 137 个熊本牡蛎, 101 个福建牡蛎。对形态鉴定不属于巨砾属的牡蛎, 如图 2 中 8 号样品属于 *Ostrea* 属, 只扩增

出 COI 基因条带, 随后将其进行 COI 基因测序, 共对 114 个样品的 COI 基因进行测序并进行系统发育分析。

(1) 熊本牡蛎, 图 3A—B

个体偏小, 肉质细腻, 其软体部相对较大, 具有较高的经济价值。贝壳呈长形或近长形, 扁平。壳表面放射肋不明显, 常呈青色, 带有褐色花纹。壳质薄, 内面白色, 闭壳肌痕黄褐色或白色。壳边缘处有褶皱。

(2) 福建牡蛎, 图 3C—D

又名葡萄牙牡蛎, Wang 等(2010)通过形态比较、地理分布和分子生物学分析将此种定为长牡蛎的亚种。壳近长形或椭圆形, 附着面大, 右壳较平, 有明显放射肋。壳面常呈褐色, 生长线呈鳞片状, 壳内面白色, 闭壳肌痕褐色。

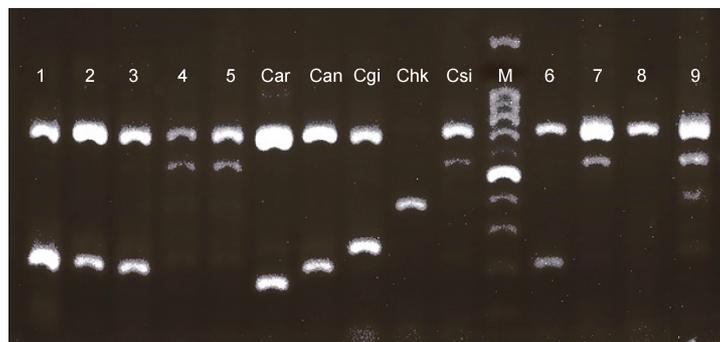


图 2 多重 PCR(7 种引物)琼脂糖凝胶电泳图

Fig. 2 Multiplex species-specific PCR with 7 primers from the COI gene

注: 1—9: 本次实验的 9 个样品; M: 100bp DNA ladder, 最亮的条带为 500bp; Car: 近江牡蛎 *C. ariakensis*; Can: 福建牡蛎 *C. gigas angulata*; Cgi: 长牡蛎 *C. gigas gigas*; Chk: 香港牡蛎 *C. hongkongensis*; Csi: 熊本牡蛎 *C. sikamea*

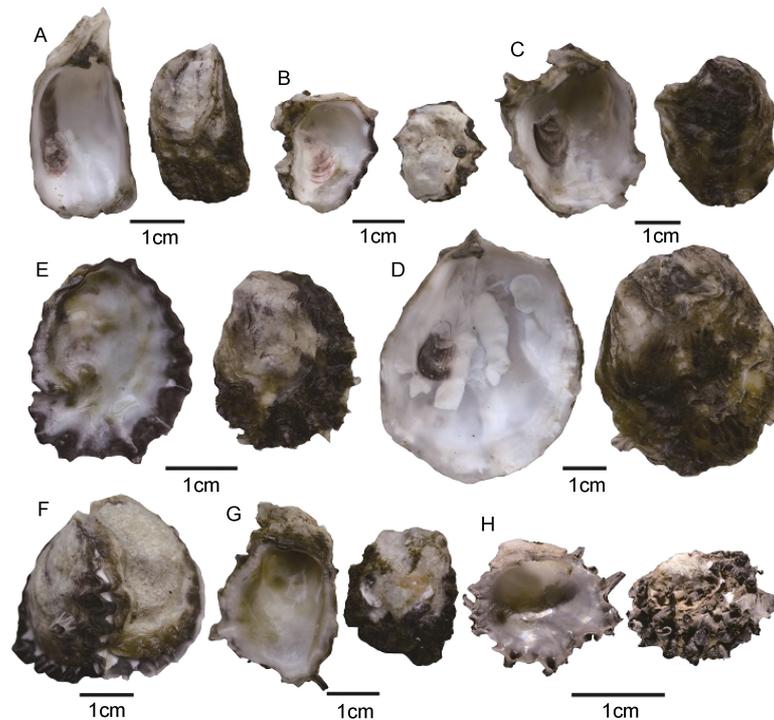


图 3 雷州半岛东部沿岸采集到的常见牡蛎种类的贝壳形态

Fig. 3 The shell morphology of common oysters collected from the eastern coast of Leizhou Peninsula, China

注: A—B. 熊本牡蛎 *C. sikamea*; C—D. 福建牡蛎 *C. gigas angulata*; E—F. 团聚牡蛎 *Saccostrea malabonensis*; G—H. 棘刺牡蛎 *S. echinata*

2.2 系统发育分析结果

使用 DnaSPv.5.10.01 计算本次实验所获得的 114 条 COI 序列的单倍型, 共获得 52 个单倍型。采用 MEGA v.7.0.26 构建的最大似然树和使用 MrBayes 3.2.6 构建的贝叶斯树拓扑结构相同, 最大似然树如图 4, 以 *Striostrea prismatica* 作为外群。

由图 4 可以看出, 有 23 个单倍型与熊本牡蛎 *C. sikamea* (FJ841966) 聚为一支, 且贝叶斯后验概率 (Posterior probabilities) 为 0.99, 表现出很高的支持率, 结合熊本牡蛎的形态特征, 将它们定为熊本牡蛎。单倍型 23—28 与福建牡蛎 *C. gigas angulata* (FJ841965) 聚在一起, 且支持率较高 (Posterior probabilities = 0.94, Bootstrap value = 0.98), 结合形态特征定为福建牡蛎。单倍型 1、2 与牡蛎属 sp. (JQ027291) 聚在一起, 贝叶斯后验概率为 1, 暂定为 *Ostrea* sp.1, 本次采样仅在博贺镇采集到少量样品。

两个分支属于小蛎属牡蛎, Lam 等 (2006) 利用线粒体基因 16S rRNA 对印度-西太平洋的小蛎属牡蛎进行了系统分析, 将其分为两个大的分支, 分别为僧帽牡蛎复合体 (*Saccostrea cucullata* superspecies) 和咬齿牡蛎复合体 (*Saccostrea mordax* superspecies), 这两

个分支分别包括 9 个和 2 个支系, *S. cucullata*-A、B、C、D、E、F、G、*S. kegaki*、*S. glomerata* 和 *S. mordax*-A、B。Sekino 等 (2016) 通过僧帽牡蛎 (*S. cucullata*) 的模式标本产地及描述认为僧帽牡蛎不能代表印度-西太平洋的小蛎属牡蛎, 建议用 non-*mordax* 分支代替僧帽牡蛎复合体 (*Saccostrea cucullata* superspecies), 同时又提出三个分支, non-*mordax* lineage H、I、J。本次实验中单倍型 3—5 和 *Saccostrea* sp. XL-13 (KU947216) 聚为一支 (Bootstrap value = 1, Posterior probabilities = 1), 该序列之后被证明属于 *Saccostrea* non-*mordax* lineage F 分支。该分支样品近长圆形, 壳质薄, 左壳深凹、右壳较平, 壳面褐色或黑褐色, 放射肋不明显, 壳边缘具鳞片, 常多个个体聚在一起生长, 有些个体附着于螺上生长, 右壳边缘有均匀褶皱, 壳顶腔靠近前侧。其形态特征与团聚牡蛎的形态特征相似, 因此定为团聚牡蛎 (*S. malabonensis*), 图 3 E—F。

单倍型 6—22 与 *Saccostrea* sp. LJ-13 (KU947207) 聚在一起, 而且具有较高的支持率, 该序列之后被证明属于 *Saccostrea* non-*mordax* lineage B 分支。通过形态观察, 单倍型 6—22 样品多圆形或椭圆形, 左壳常以

整面固着在岩石上,壳表黑色或紫褐色,生长线细密呈鳞片状,鳞片边缘卷曲成管状棘刺,棘刺的多少强弱与个体所处环境有关。壳内颜色多变,右壳内边缘有明显的单行小齿,分布于整个或部分壳边缘,闭壳肌痕形状不规则。其形态特征与我国南方沿海潮间带最常见种类棘刺牡蛎的形态特征相符,因此单倍型 6—22 定为棘刺

牡蛎,图 3G—H。梁超愉等(2005)在雷州半岛东部沿岸红树林潮间带也发现了棘刺牡蛎,与本文结果相同。

2.3 遗传距离分析

使用 MEGA v.7.0.26 计算根据系统进化树得到的 5 个分支之间的 Kimura 2-parameter 平均遗传距离,结果如表 3 所示。

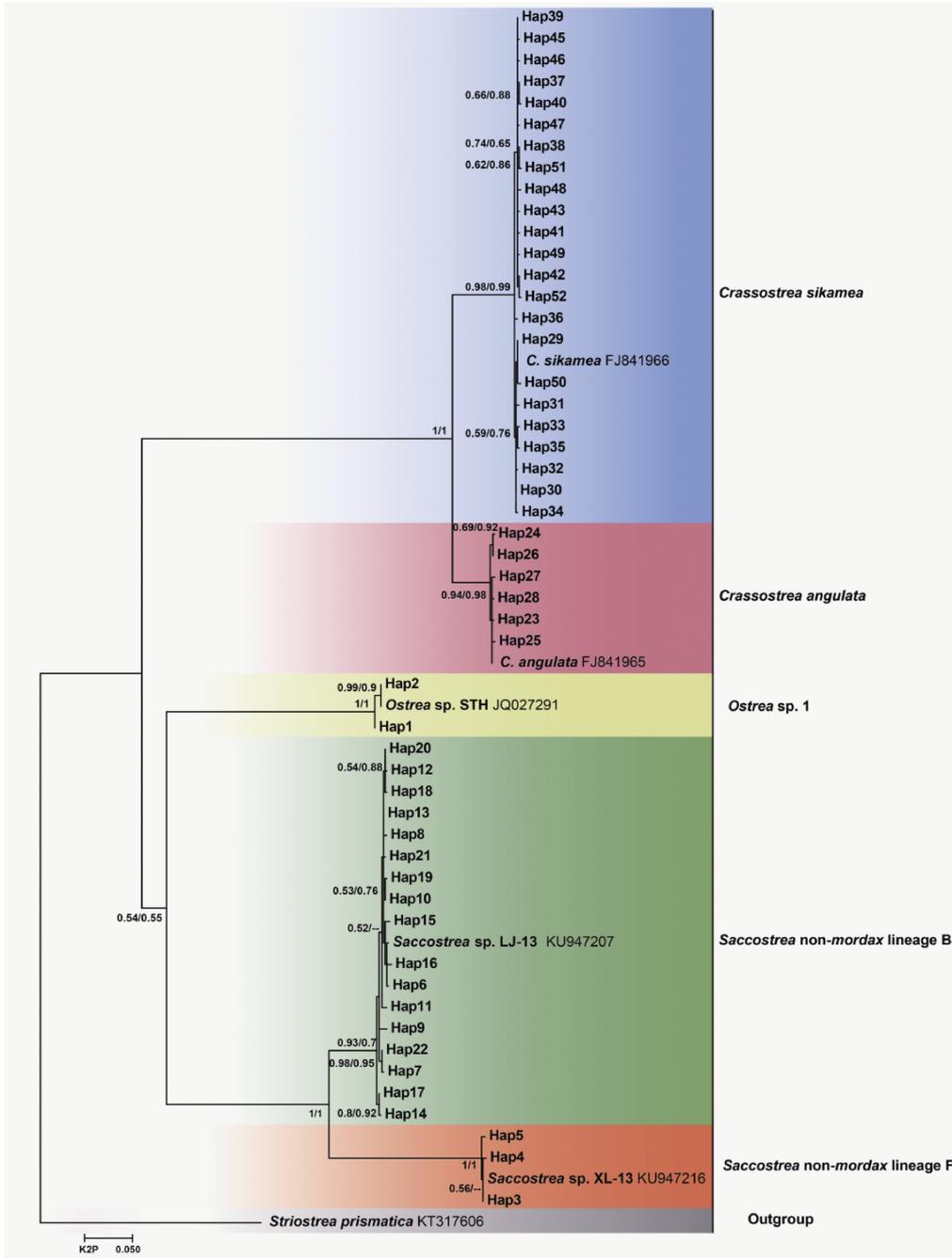


图 4 基于 COI 基因使用最大似然法(ML)构建的系统进化树

Fig.4 The maximum likelihood tree (ML) based on COI gene

注: 支上数字表示 Bootstrap value/ Posterior probabilities, --表示 Bootstrap value 或 Posterior probabilities 的值小于 0.5

表 3 基于 COI 基因的不同牡蛎种间的平均遗传距离
Tab.3 Mean sequences divergence of COI gene among oyster species

牡蛎种类	1	2	3	4	5
1. <i>Ostrea</i> sp.1					
2. <i>Saccostrea malabonensis</i>	0.288				
3. <i>Saccostrea echinata</i>	0.256	0.176			
4. <i>Crassostrea gigas angulata</i>	0.285	0.304	0.297		
5. <i>Crassostrea sikamea</i>	0.309	0.321	0.280	0.100	
6. <i>Striostrea prismatica</i>	0.294	0.319	0.283	0.319	0.309

由表 3 可知, 平均遗传距离的范围为 10.0%—32.1%, 福建牡蛎和熊本牡蛎之间的遗传距离最小为 10.0%, 小蛎属两个种之间的平均遗传距离为 17.6%。以上结果说明, 雷州半岛东部沿岸采到的牡蛎样品可以分为 3 属 5 个种, 分别为熊本牡蛎、福建牡蛎, 牡蛎属未定种(*Ostrea* sp.1), 棘刺牡蛎和团聚牡蛎(*S. malabonensis*)。

3 讨论

3.1 雷州半岛东部沿岸潮间带常见巨蛎属 *Crassostrea* 牡蛎

(1) 熊本牡蛎 *C. sikamea*

宋忠魁等(2010)利用多重 PCR 技术鉴定了广西茅尾海 3 种常见牡蛎, 其中俗称的“蚝蛎”证明是熊本牡蛎。Wang 等(2013)通过基于线粒体基因的系统发育分析, 确定了熊本牡蛎的分类地位以及在中国沿海的分布, 从江苏到海南都有分布。本次在潮间带采样发现大量熊本牡蛎, 为雷州半岛东部沿岸牡蛎优势种。其主要分布于硇洲岛和沈塘镇, 张智瀛(2014)对雷州半岛海域的溶解氧及盐度进行了调查和研究, 显示硇洲岛和沈塘镇附近海域溶解氧含量较高, 盐度较低, 因此熊本牡蛎应该更适合在低盐海域生长和繁殖。

(2) 福建牡蛎 *C. gigas angulata*

该种主要分布于西太平洋, 后被引进到葡萄牙和西班牙养殖, 生长快、产量高、适应环境能力强, 是牡蛎养殖的首选种类(Lam *et al.*, 2004)。杜玄等(2009)研究了福建沿海的巨牡蛎属牡蛎种类, 其中福建牡蛎是当地优势种。Wang 等(2010)通过基于线粒体基因的系统进化及遗传距离分析将福建牡蛎修订为长牡蛎(*C. gigas gigas*)的亚种, 该种在福建大量养殖且产量最多, 因此命名为福建牡蛎(王海艳等, 2016)。本次采样发现福建牡蛎在雷州半岛东部沿岸潮间带有大量分布, 且分布区与熊本牡蛎重叠。Lam 等(2004)仅在香港两个有持续淡水冲入的海湾发现了福建牡

蛎的栖息地。

3.2 我国沿海常见牡蛎属(*Ostrea*)牡蛎

我国南北沿海较常见的牡蛎属牡蛎主要为密鳞牡蛎(*O. denselamellosa*), 一般栖息于潮下带至水深 30m 以内的盐度较高且较稳定的浅海, 在朝鲜半岛、日本沿海均有分布(徐凤山等, 2008; 王海艳等, 2016)。密鳞牡蛎个体大, 属幼生型, 适宜繁殖的海水盐度为 27—32, 我国一般北部比南部分布多(张玺等, 1956)。本次样品采集未涉及潮下带, 所以没有发现密鳞牡蛎, 潮间带采样发现牡蛎属一未定种(*Ostrea* sp.1), 形态与密鳞牡蛎差异极大。

3.3 雷州半岛东部沿岸潮间带常见小蛎属牡蛎

(1) 棘刺牡蛎 *S. echinata*

张玺等(1956)最早报道我国沿海有棘刺牡蛎的存在, 并描述了它的形态特征。Lam 等(2006)对印度-西太平洋的小蛎属牡蛎进行了系统分析, *Saccostrea non-mordax* lineage B 在香港的海下湾(Hoi Ha Wan)和鹤咀(Cape d'Aguilar)两个取样点都有分布, lineage A 仅在日本冲绳有分布, 同时根据形态特征提出棘刺牡蛎可能是 lineage A 或 B 中的一种。Huber(2010)认为 lineage B 可能是棘刺牡蛎。本次实验采集到了 lineage B 分支的小蛎属牡蛎, 根据形态特征和分布我们将其定为棘刺牡蛎。

棘刺牡蛎分布于我国浙江以南沿海, 附着于高低潮线间岩石上, 在日本也有分布。

(2) 团聚牡蛎 *S. malabonensis*

张玺等(1956)和徐凤山等(2008)描述的团聚牡蛎拉丁名为 *Saccostrea glomerata*。Lam 等(2006)通过对分布于印度-西太平洋小蛎属牡蛎的系统分析, 认为 *S. glomerata* 只在南半球有分部。Anderson 等(1994)利用 rDNA 内转录间隔区的相似性, 认为广泛分布于澳大利亚东部的悉尼岩牡蛎(*S. commercialis*)是 *S. glomerata* 的同物异名, 从此悉尼岩牡蛎拉丁名改为 *S. glomerata*, 并为国际学者所接受。

本次实验采集到了 19 个 lineage F 的样品, 有 3

个单倍型,常多个个体聚集在一起,通过形态以及分子生物学分析,认为它们与 *S. malabonensis* 是同一种。Lam 等(2006)对印度-西太平洋的小蛎属牡蛎的系统分析中, lineage F 在广东的两个取样点没有分布,但是在海南和台湾有分布。Hamaguchi 等(2014)第一次报道了 lineage F 在日本有分布,从形态上将 *Saccostrea malabonensis* 与小蛎属其他牡蛎区分开。Sekino 等(2016)利用线粒体和核基因对日本的小蛎属牡蛎进行了系统分析,同时通过 *Saccostrea malabonensis* 的原始描述:左壳凹陷并有较厚放射肋,且附着面容,认为 lineage F 可能是 *Saccostrea malabonensis*。Li 等(2017)通过形态和线粒体基因对缅甸的牡蛎进行了分析,认为日本及中国分布的属于 lineage F 分支的牡蛎和菲律宾的 *Saccostrea malabonensis* 是同一种。本研究部分样品的分子序列与 lineage F(*S. malabonensis*)聚为一支,并且形态与 *S. malabonensis* 的原始描述一致,表明雷州半岛东部

沿海也有 *S. malabonensis* 的分布,鉴于该种牡蛎常多个个体聚集在一起,故仍沿用团聚牡蛎的中文名。

鉴于上述研究及 *S. glomerata* 的模式标本产地在斐济岛,我们认为分布于我国浙江以南沿海潮间带的团聚牡蛎不应再沿用 *S. glomerata* 这一种名,应命名为团聚牡蛎 *S. malabonensis*。团聚牡蛎分布于我国浙江以南沿海潮间带,同时在日本、新加坡以及西表岛和吕宋岛都有分布(Inaba *et al.*, 2004)。

4 结论

雷州半岛东部沿岸潮间带物种丰富,至少有 5 种牡蛎分布于潮间带(表 4),其中熊本牡蛎和福建牡蛎为优势种。熊本牡蛎数量最多,占样品总量的 50.96%,福建牡蛎的数量次之,占样品总量的 30.03%,牡蛎属未定种(*Ostrea* sp.1)只在博贺镇有发现,且数量较少。两种小蛎属牡蛎数量也较少,且两种牡蛎分布地点有重合。

表 4 雷州半岛东部沿岸牡蛎的种类鉴定结果及分布
Tab.4 Identification and the distribution of oysters on the east coast of Leizhou Peninsula

物种名称		<i>Crassostrea sikamea</i>	<i>Crassostrea gigas angulata</i>	<i>Ostrea</i> sp.1	<i>Saccostrea echinata</i>	<i>Saccostrea malabonensis</i>
地点	样品个数	185	109	2	48	19
茂名市博贺镇那尾村	2			2		
湛江市南三岛湖村	50	31	18		2	1
雷州市沈塘镇海岚村	62	58	2		9	
湛江市硃洲岛六竹村	80	35	28		4	16
雷州市东里镇沟口东村	16	16			4	
湛江市和安镇松树港	14	8	6		1	
湛江市锦和镇东门下村	2		2			
湛江市外罗镇白茅村	3	1	2		14	
湛江市下洋镇下港村	57	23	34			
湛江市前山镇后海村	14		12		7	
湛江市前山镇盐井角	20	13	5		7	2

参 考 文 献

- 王海艳, 2004. 中国近海常见牡蛎分子系统演化和分类的研究. 青岛: 中国科学院海洋研究所博士学位论文, 39—110
- 王海艳, 张 涛, 马培振等, 2016. 中国北部湾潮间带现生贝类图鉴. 北京: 科学出版社, 104—105
- 杜 玄, 郭希明, 钱鲁闽, 2009. 福建沿海巨蛎属牡蛎的主要种类及其分布. 台湾海峡, 28(3): 399—404
- 宋忠魁, 蔡小辉, 童 潼等, 2010. 广西茅尾海常见牡蛎的分子鉴定. 海洋科学, 34(8): 11—16
- 张 玺, 楼子康, 1956. 中国牡蛎的研究. 动物学报, 8(1): 65—93
- 张智瀛, 2014. 浅析雷州半岛海域夏季溶解氧的分布特点. 中国新技术新产品, (13): 157—158
- 徐凤山, 张素萍, 2008. 中国海产双壳类图志. 北京: 科学出版社, 112—113
- 梁超愉, 张汉华, 颜晓勇等, 2005. 雷州半岛红树林滩涂底栖生物多样性的初步研究. 海洋科学, 29(2): 18—25, 31
- 韩维栋, 高秀梅, 2009. 雷州半岛红树林生态系统及其保护策略. 广州: 华南理工大学出版社, 65—66
- Anderson T J, Adlard R D, 1994. Nucleotide sequence of rDNA internal transcribed spacer supports synonymy of *Saccostrea commercialis* and *S. glomerata*. Journal of Molluscan Studies, 60: 196—197
- Folmer O, Black M, Hoeh W *et al.*, 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrate. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 3(5): 294—299

- Hamaguchi M, Shimabukuro H, Usuki H *et al*, 2014. Occurrences of the Indo-West Pacific rock oyster *Saccostrea cucullata* in mainland Japan. *Marine Biodiversity Records*, 7: e84
- Harry H W, 1985. Synopsis of the supraspecific classification of living oysters (Bivalvia: Gryphaeidae and Ostreidae). *Veliger*, 28: 121—158
- Huber M, 2010. *Compendium of Bivalves*. Hackenheim: Conch Books, 1—901
- Inaba A, Torigoe K, 2004. Oysters in the world, Part 2: systematic description of the recent oyster. Nishinomiya, Hyogo, Japan: *Bulletin of Nishinomiya Shell Museum*, 28—29
- Kimura M, 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16(2): 111—220
- Kumar S, Stecher G, Tamura K, 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7): 1870—1874
- Lam K, Morton B, 2003. Mitochondrial DNA and morphological identification of a new species of *Crassostrea* (Bivalvia: Ostreidae) cultured for centuries in the Pearl River Delta, Hong Kong, China. *Aquaculture*, 228(1-4): 1—13
- Lam K, Morton B, 2004. The oysters of Hong Kong (Bivalvia: Ostreidae and Gryphaeidae). *The Raffles Bulletin of Zoology*, 52(1): 11—28
- Lam K, Morton B, 2006. Morphological and mitochondrial-DNA analysis of the indo-west pacific rock oysters (Ostreidae: *Saccostrea* species). *Journal of Molluscan Studies*, 72(3): 235—245
- Li C, Haws M, Wang H Y *et al*, 2017. Taxonomic classification of three oyster (Ostreidae) species from Myanmar. *Journal of Shellfish Research*, 36(2): 365—371
- Librado P, Rozas J, 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 1451—1452
- Posada D, Crandall K, 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14(9): 817—818
- Raith M, Zacherl D C, Pilgrim E M *et al*, 2016. Phylogeny and species diversity of Gulf of California oysters (Ostreidae) inferred from mitochondrial DNA. *American Malacological Bulletin*, 33(2): 263—283
- Ronquist F, Teslenko M, Van Der Mark P *et al*, 2012. Mr Bayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61(3): 539—542
- Sekino M, Yamashita H, 2016. Mitochondrial and nuclear DNA analyses of *Saccostrea* oysters in Japan highlight the confused taxonomy of the genus. *Journal of Molluscan Studies*, 82(4): 492—506
- Wang H Y, Guo X M, 2008. Identification of *Crassostrea ariakensis* and related oysters by multiplex species-specific PCR. *Journal of Shellfish Research*, 27(3): 481—487
- Wang H Y, Guo X M, Zhang G F *et al*, 2004. Classification of Jinjiang oysters *Crassostrea rivularis* (Gould, 1861) from China, based on morphology and phylogenetic analysis. *Aquaculture*, 242: 137—155
- Wang H Y, Qian L M, Liu X *et al*, 2010. Classification of a common cupped oyster from southern China. *Journal of Shellfish Research*, 29(4): 857—866
- Wang H Y, Qian L M, Wang A M *et al*, 2013. Occurrence and distribution of *Crassostrea sikamea* (Amemiya 1928) in China. *Journal of Shellfish Research*, 32(2): 439—446
- Wu X Y, Xu X D, Yu Z N *et al*, 2010. Comparison of seven *Crassostrea* mitogenomes and phylogenetic analyses. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57(1): 448—454

CLASSIFICATION AND DISTRIBUTION OF OYSTERS IN EASTERN COAST OF LEIZHOU PENINSULA, CHINA

CUI Zong-Mei^{1,2}, HUANG Jin-Wei³, WANG Hai-Yan¹, HU Li-Sha^{1,2}, LIU Yu-Meng^{1,2}

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Tianjin Normal University, Tianjin 300387, China)

Abstract We used multiplex species-specific PCR and DNA barcoding to identified oysters in the eastern coast of Leizhou Peninsula, Guangdong, China. A total of 363 oysters were collected from 11 sites. All the oysters were identified by multiplex species-specific PCR and 114 oysters were identified in mitochondrial COI gene-based analysis. At least five oyster species were recognized. Two *Crassostrea* species were dominated and widely distributed: *C. sikamea* (185 samples) and *C. gigas angulata* (109 samples); two *Saccostrea* species: *S. echinata* (48 samples) and *S. malabonensis* (19 samples), limited in certain places, and 2 samples belonged to genus *Ostrea* sp.1.

Key words Leizhou Peninsula; Ostreidae; multiplex species-specific PCR; COI