

中国东南沿海地区球状伪镖水蚤种群遗传多样性及遗传结构研究*

王龙升¹ 李浩然¹ 郭东晖^{1, 2, 3, 4}

(1. 厦门大学海洋与地球学院 厦门 361102; 2. 海洋生物多样性与全球变化研究中心 厦门 361102; 3. 厦门市海湾生态保护与修复重点实验室 厦门 361102; 4. 福建省海陆界面生态环境重点实验室 厦门 361102)

摘要 为了探究球状伪镖水蚤群体的遗传多样性及其遗传结构,本研究以线粒体细胞色素氧化酶(mtCO₁)基因作为分子标记,提取了中国东南沿海地区 5 个采样点 135 只球状伪镖水蚤个体的基因组 DNA 并进行分析。结果表明:在获得的 580bp 的 CO₁ 基因序列中,碱基 A+T 的平均含量为 63.4%,明显高于 G+C 的含量(36.6%),显示出较强的 AT 偏好性。5 个采样群体共检测到 49 个多态位点和 38 个单倍型,单倍型多样性指数(h : 0.6285—0.9214)和核苷酸多样性指数(π : 0.00766—0.02010)均处于较高水平,各群体之间遗传距离为 0.009—0.031。系统进化树和单倍型网络图显示:5 个采样群体聚成多个支系;除广州与顺德、上海与无锡以外,其他各采样群体之间均具有显著遗传分化;5 个采样群体可以划分为 3 个种群。中性检验和核苷酸不配对分布显示,各种群均未经历过种群扩张事件。

关键词 桡足类;球状伪镖水蚤;mtCO₁;遗传多样性;遗传分化

中图分类号 Q958 **doi**: 10.11693/hyh20200300056

遗传多样性作为生物多样性的的重要组成部分,是物种多样性和生态系统多样性的基础。物种的进化潜力及其对环境变化的适应能力取决于物种种内的遗传多样性或变异性(施立明, 1990)。开展种群遗传多样性及遗传结构的研究,对于了解种群数量变动规律和补充机制、揭示种群间的遗传差异与进化关系具有重要的意义。

球状伪镖水蚤(*Pseudodiaptomus forbesi*)隶属于节肢动物门(Arthropoda)、甲壳动物亚门(Crustacea)、六肢幼虫纲(Hexanauplia)、桡足亚纲(Copepoda)、哲水蚤目(Calanoida)、伪镖水蚤科(Pseudodiaptomidae)、伪镖水蚤属(*Pseudodiaptomus*)。其主要生活于淡水和咸淡水,广泛分布于我国东南地区沿海及内陆的湖泊、池塘和江河中(沈嘉瑞等, 1979),在湖泊、河口等

水体的生态系统中扮演着重要的角色。因此,对其种群遗传多样性的研究具有十分重要的意义。

线粒体细胞色素氧化还原酶(mtCO₁)基因是动物线粒体基因组中发现的一种较为保守的蛋白质编码基因(Brown, 1985),其作为后生动物种群遗传和进化研究中最常用的 DNA 条形码之一(Shao *et al*, 2007; Bucklin *et al*, 2011),广泛应用于水母类、桡足类等浮游生物及鱼类等游泳生物的研究(Bernatchez *et al*, 1992; Makino *et al*, 2010; 程方平等, 2012)。mtCO₁ 基因在伪镖水蚤研究中也较多的应用,可作为伪镖水蚤形态学分类的辅助手段,为新种的发现提供分子生物学方面支持(Sakaguchi *et al*, 2010; Soh *et al*, 2012; 王博文等, 2019a, b);也能在伪镖水蚤类群划分和系统发育的研究中,提供分子系统学

* 国家重点研发计划资助项目, 2018YFC1406301 号; 国家自然科学基金项目, 41476114 号; 厦门市海洋经济发展专项资金项目, 14CZY042HJ16 号; 自然资源部全球变化与海气相互作用专项(生物系统分类研究)。王龙升, 硕士研究生, E-mail: 1615337201@qq.com

通信作者: 郭东晖, 副教授, E-mail: guodh@xmu.edu.cn

收稿日期: 2020-03-05, 收修改稿日期: 2020-06-09

上的证据(Eyun *et al.*, 2007; 王博文, 2019)。目前利用 CO 基因对伪镖水蚤的研究主要聚焦于种类鉴定及系统发育学, 在种群遗传学上的研究工作较少。本研究基于 mtCO 序列, 对我国东南沿海 5 个地区的球状伪镖水蚤群体进行种群遗传学研究, 从遗传多样性、遗传结构和历史动态方面对其进行群体遗传分析, 以期更好地了解其地理分化格局和群体动态。

表 1 球状伪镖水蚤样本采集信息
Tab.1 Sampling information of *P. forbesi*

群体	采样地点	经度	纬度	采样日期(年.月.日)
无锡	无锡蠡湖	120°14'E	31°31'N	2018.09.28
上海	上海奉贤区	121°32'E	30°49'N	2018.09.29
漳州	漳州九龙江	117°47'E	24°29'N	2017.04.26
广州	广州珠江	113°18'E	23°07'N	2017.11.23
顺德	顺德顺峰山公园	113°17'E	22°49'N	2018.10.31

1.2 DNA 提取、mtCO 序列扩增与测序

使用微量基因组 DNA 试剂盒(北京全式金生物技术有限公司, EasyPure Micro Genomic DNA Kit)提取单只球状伪镖水蚤的基因组 DNA。采用通用引物进行 mtCO 基因片段的扩增(Folmer *et al.*, 1994), 引物分别为 LCO-1490(5'-GGTCAACAAATCATAAAG ATATTGG-3')和 HCO-2198(5'-TAAACTTCAGGGTG ACCAAAAAATCA-3')。PCR 扩增体系总体积 50 μ L, 其中基因组 DNA 模板 5 μ L, 正反向引物各 0.6 μ L (50 μ mol/L), Taq DNA 聚合酶(TaKaRa Premix Taq)25 μ L, 纯水 18.8 μ L。PCR 反应的程序为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 4min; 94 $^{\circ}$ C 变性 1min, 40 $^{\circ}$ C 退火 1min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1min, 循环 35 次; 最后 72 $^{\circ}$ C 充分延伸 10min。PCR 产物经电泳检测后, 交由生工生物工程(上海)股份有限公司以 Sanger 法进行正反向测序。

1.3 数据处理与分析

测序所获得的原始序列首先与对应的峰图进行对比以确保数据的准确性, 对比后的 mtCO 序列在软件 BioEdit v7.2.5(Hall, 1999)及其所附带 Clustal W 中进行正反向拼接及多重比对, 删除两端不对齐的序列后获得 580bp 的 mtCO 序列。剪切后的 CO 序列使用 Arlequin 3.5(Excoffier *et al.*, 2010)计算碱基组成、转换/颠换、单倍型多样性(h)、核苷酸多样性(π)等遗传多样性参数, 并通过软件的分子变异分析(Analysis of Molecular Variance, AMOVA)来评估群体间的遗传变异、遗传分化系数(F_{st})、基因流(N_m)及其

1 材料与方法

1.1 样品采集与保存

2017 年 4 月—2018 年 10 月, 采用浮游生物网在中国东南沿海地区(无锡、上海、漳州、广州、顺德)5 个采样点进行浮游动物样品的采集(表 1), 现场以无水乙醇固定、保存。实验室内对浮游动物样品进行鉴定并挑出球状伪镖水蚤单独存放于无水乙醇中, 4 $^{\circ}$ C 低温保存用于后续分析。

显著性。MEGA 5.0 计算 Kimura 2-Parameter 遗传距离。通过 Tajima's D (Tajima, 1989)和 Fu's F_s (Fu, 1997)中性检验(Neutrality tests)和核苷酸不配对分布(Mismatch distribution analysis)检测球状伪镖水蚤种群历史动态。以中华异水蚤(*Acartiella sinensis* GenBank 登录号: MT800776)作为外群, 使用 PhyML v3.0 基于 AIC 准则下的 HKY+I 模型通过最大似然法(Maximum Likelihood, ML)构建系统进化树(Guindon *et al.*, 2010), 各分支的置信度经过重复抽样分析(bootstrap test)1000 次检验; 基于贝叶斯法以 MrBayes 3.27 构建进化树(Ronquist *et al.*, 2012), 采用马尔可夫蒙特卡洛分析, 使用 4 条马尔科夫链(1 条热链, 3 条冷链), 运行 1000000 代, 每 100 代抽样一次。各分支可信度通过后验概率(Posterior probability, PP)检验, 当 PP>95%时该分支可视为有效。通过 Haploviewer 软件构建 CO 单倍型网络图(Salzbarger *et al.*, 2011)。

2 结果

2.1 mtCO 序列特征及遗传多样性

本研究共获得 5 个采样群体 135 条 580bp 的 mtCO 序列(GenBank 登录号: MT776177—MT776311), 所有序列中, 碱基 A+T 的平均含量为 63.4%, 明显高于 G+C 的含量(36.6%), 显示出较强的 AT 偏好性, 5 个群体间的 CO 基因序列碱基组成无明显差异。共检测到 49 个核苷酸变异位点, 占分析

总位点数的 8.4%, 包括 8 个单核苷酸变异位点, 41 个多态简约信息位点, 无插入和缺失位点; 转换数(T_s)共有 43 次, 明显高于颠换数(T_v)(9 次), $T_s/T_v=4.78$, 表明 mtDNA 序列未达到突变饱和状态, 适合遗传变异研究。

135 条序列共检测到 38 个单倍型, 其中单倍型

H1、H2 和 H26 出现次数较多, 共包含 60 只个体, 占总样本数的 44.4%; 未出现 5 个采样群体共享的单倍型, 且漳州群体与其他 4 个群体之间均无共享单倍型(表 2)。遗传多样性参数显示, 5 个群体的球状伪镖水蚤单倍型多样性指数在 0.6285—0.9214 之间, 核苷酸

表 2 球状伪镖水蚤 5 个群体单倍型分布
Tab.2 Distribution of haplotypes in the five *P. forbesi* assemblages

单倍型	群体					个体数 合计
	无锡	上海	漳州	广州	顺德	
H1		5		15	4	24
H2		1		8	9	18
H3				1		1
H4		1		4	4	9
H5				1	1	2
H6				1	1	2
H7				1	1	2
H8		1		1		2
H9			6			6
H10			1			1
H11			3			3
H12			1			1
H13			2			2
H14			2			2
H15			4			4
H16			5			5
H17			3			3
H18			1			1
H19			1			1
H20			1			1
H21			1			1
H22			1			1
H23					1	1
H24	1				1	2
H25		1				1
H26	14	4				18
H27	3	1				4
H28	1	1				2
H29		1				1
H30		1				1
H31		6				6
H32		1				1
H33		1				1
H34		1				1
H35	1					1
H36	1					1
H37	1					1
H38	1					1
单倍型数	8	14	14	8	8	38

多样性指数在 0.00766—0.02010 之间, 其中上海群体遗传多样性最高 ($h=0.9046\pm 0.0366$; $\pi=0.02010\pm 0.01048$), 其他四个群体遗传多样性差别不大, 同样也处于较高水平, 表明各个球状伪镖水蚤群体均具有较丰富的遗传多样性(表 3)。

2.2 种群遗传结构

对 5 个采样群体间的遗传分化系数(F_{st})和基因流(N_m)进行检测, 结果显示(表 4), 无锡与上海群体之间产生中度遗传分化 ($F_{st}=0.20863$, $P<0.01$; $N_m=0.94829$); 广州与顺德群体之间遗传分化不显著,

基因交流频繁($F_{st}=0.04972$, $P>0.05$; $N_m=4.77816$); 其他各群体之间均存在显著遗传分化 (F_{st} : 0.26611—0.69248, $P<0.01$; N_m : 0.11102—0.68946)。基于 Kimura 2-parameter 计算的群体内及群体间遗传距离显示, 上海群体的群体内遗传距离为 0.021, 其他群体的群体内遗传距离在 0.008—0.010 之间; 广州与顺德群体间遗传距离(0.009)为各群体间最小, 与二者间未产生显著遗传分化和较高的基因流相对应, 无锡与上海群体间遗传距离为 0.019, 其他各群体间遗传距离在 0.015—0.031 之间。

表 3 球状伪镖水蚤遗传多样性参数
Tab.3 Molecular diversity indices of *P. forbesi*

群体	个体数	单倍型数	单倍型多样性(h)	核苷酸变异位点	转换/颠换	核苷酸多样性(π)
无锡	23	8	0.6285 ± 0.1115	30	27/3	0.00915 ± 0.00511
上海	26	14	0.9046 ± 0.0366	33	31/2	0.02010 ± 0.01048
漳州	32	14	0.9214 ± 0.0240	27	22/5	0.00973 ± 0.00533
广州	32	8	0.7198 ± 0.0628	14	13/3	0.00766 ± 0.00431
顺德	22	8	0.7922 ± 0.0673	22	21/2	0.00890 ± 0.00500
总计	135	38	0.9244 ± 0.0115	49	43/9	0.01819 ± 0.00924

表 4 球状伪镖水蚤 5 个群体间的遗传分化系数(F_{st})和基因流(N_m)
Tab.4 The fixation index (F_{st}) and gene flow (N_m) among five assemblages of *P. forbesi*

群体	无锡	上海	漳州	广州	顺德
无锡	—	0.94829	0.12120	0.11102	0.12982
上海	0.20863*	—	0.43768	0.55239	0.68946
漳州	0.67349*	0.36354*	—	0.38009	0.39081
广州	0.69248*	0.31157*	0.39677*	—	4.77816
顺德	0.65820*	0.26611*	0.39013*	0.04972	—

注: 上三角为基因流 N_m , 下三角为遗传分化系数 F_{st} , *表示差异极显著($P<0.01$)

根据上述结果, 将广州与顺德群体合并为珠江种群, 无锡与上海群体合并为长江种群, 漳州群体即为九龙江种群。再次进行种群遗传结构分析, F_{st} 和 N_m 显示(表 5): 3 个球状伪镖水蚤种群相互间均存在显著遗传分化(F_{st} : 0.38675—0.48758, $P<0.01$; N_m 绝对值: 0.26274—0.39641)。对 3 个种群进行分子方差分析(AMOVA), 结果显示(表 6): 54.82%的遗传变异出现在种群内, 45.18%种群间总的遗传分化系数 F_{st} 为 0.45183, 差异显著($P<0.01$), 支持 3 个球状伪镖水蚤种群间存在一定程度的遗传分化。基于 Kimura 2-parameter 计算的种群内及种群间遗传距离显示, 种群间遗传距离(0.015—0.028)高于种群内遗传距离(0.009—0.018)。上述遗传结构分析结果

显示, 合并后的长江、九龙江和珠江 3 个球状伪镖水蚤种群之间已经产生了显著遗传分化。

表 5 球状伪镖水蚤 3 个种群间的遗传分化系数(F_{st})和基因流(N_m)

Tab.5 The pairwise fixation index (F_{st}) and gene flow (N_m) among three populations of *P. forbesi*

种群	长江	九龙江	珠江
长江	—	0.26274	0.29801
九龙江	0.48758*	—	0.39641
珠江	0.45620*	0.38675*	—

注: 上三角为基因流 N_m , 下三角为遗传分化系数 F_{st} , *表示差异极显著($P<0.01$)

表 6 球状伪镖水蚤 3 个种群间遗传差异的分子方差分析表(AMOVA)
Tab.6 Analysis of molecular variance (AMOVA) in the three populations of *P. forbesi*

变异来源	自由度 d.f.	平方和	方差组分	变异百分率(%)	遗传分化系数 F_{st}
种群间	2	255.205	2.82131	45.18	0.45183
种群内	132	451.825	3.42292	54.82	($P < 0.01$)
合计	134	707.03	6.24423		

以中华异水蚤(*Acartiella sinensis*)作为外群, 基于贝叶斯法和最大似然法构建球状伪镖水蚤 135 个个体的系统进化树, 两种方法构建的进化树基本一致。基于贝叶斯法构建的系统进化树(图 1)显示: 球状伪镖水蚤均以较高支持率形成多个进化分支。其中, 漳州群体形成 2 个独立的分支(ZZ), 广州、顺德群体与少数上海群体个体合并为一支(GZ/SD/SH), 另外广州与顺德群体形成 1 个独立分支(GD/SD), 无锡与上海群体也单独形成一分支(WX/SH)。单倍型网络图(图 2)与贝叶斯进化树(图 1)结果基本一致, 漳州群体形成 2 个独立支系, 无锡与上海群体于网络图右侧形成一独立支系, 广州与顺德群体聚集于网络图中部, 并与少量上海群体共享部分单倍型(表 2, 图 2), 各支系间未出现共有的祖先单倍型。系统进化树和单倍型网络图结果均表明, 5 个采样群体聚为多个支系, 群体遗传结构与 F_{st} 和 N_m 所得到的结果基本一致。

2.3 种群历史动态

中性检验结果如表 7 所示, 3 个种群中性检验结果均不显著($P > 0.1$), 表明 3 个种群在过去并未出现过种群扩张。核苷酸不配对分析结果与中性检验结果吻合, 3 个种群的观测曲线均呈现出多峰曲线分布, 与预期曲线相背离(图 3), 表明 3 个种群均未经历种群扩张, 种群大小维持稳定。

3 讨论

3.1 球状伪镖水蚤种群遗传多样性分析

本研究中, 球状伪镖水蚤 mtCO 序列的碱基组成显示出较强的 AT 偏好性(63.4%), 与其他桡足类的 mtCO 基因序列碱基组成特点相同(Huang *et al.*, 2014; 王兴霞等, 2018; 王博文等, 2019a, b)。在部分鱼类、双壳类和介形类中, CO 碱基组成同样也显示出较强的 AT 偏好性(沈玉帮等, 2011; 刘连为等, 2013; Xu *et al.*, 2019)。AT 碱基的占比与线粒体 DNA 进化地位的高低呈正相关(Folmer *et al.*, 1994), 球状伪镖水蚤的 A+T 碱基占比高达 63.4%, 表明其具有较明显的进化优势, 这与本研究球状伪镖水蚤高度遗传分

化的结果相一致。五个采样群体的单倍型多样性指数在 0.6285—0.9214 之间, 核苷酸多样性指数 π 在 0.00766—0.02010 之间, 各群体遗传多样性均处于较高水平(表 3)。从生物学和生态学的角度来说, 维持

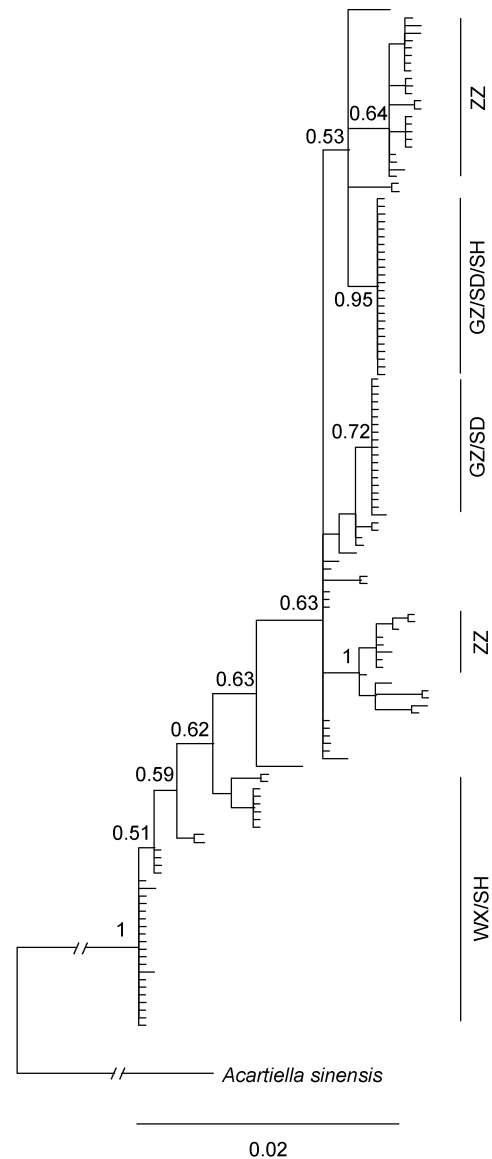


图 1 基于贝叶斯法构建的球状伪镖水蚤系统进化树
Fig.1 The phylogenetic tree of *P. forbesi* based on BI method
注: GZ. 广州群体; SD. 顺德群体; SH. 上海群体; WX. 无锡群体;
ZZ. 漳州群体

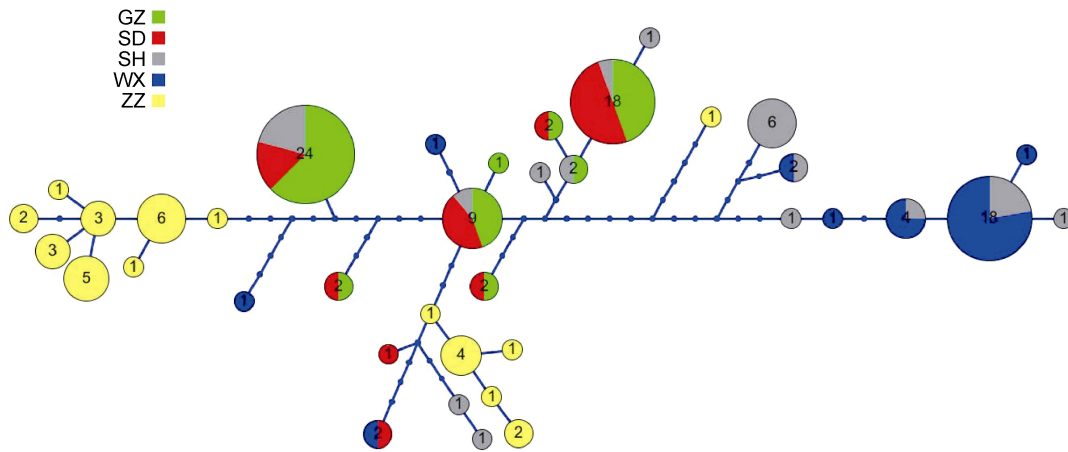


图 2 球状伪镖水蚤 CO 单倍型网络图

Fig.2 Haplotype network of *P. forbesi* based on CO

注: GZ. 广州群体; SD. 顺德群体; SH. 上海群体; WX. 无锡群体; ZZ. 漳州群体

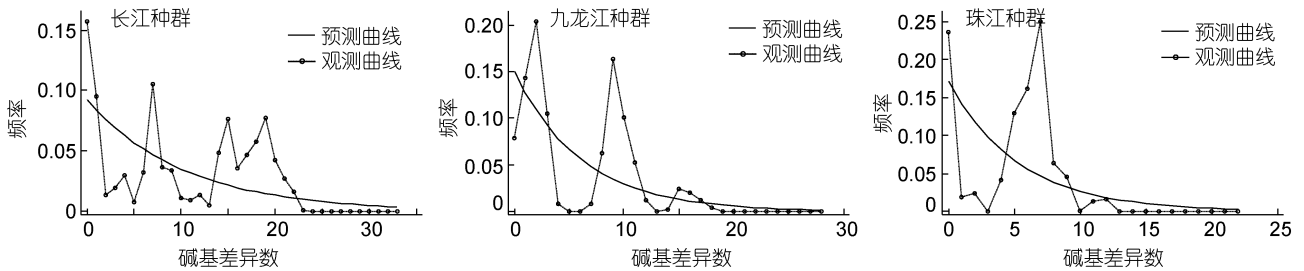


图 3 球状伪镖水蚤核苷酸不配对分布

Fig.3 The nucleotide mismatch distribution of *P. forbesi*

表 7 球状伪镖水蚤 3 个种群中性检验结果
Tab.7 Neutral test among three populations of *P. forbesi*

种群	Tajima's <i>D</i>	Fu's <i>F_s</i>
长江	0.61954($P>0.1$)	-0.28719($P>0.1$)
九龙江	-0.55957($P>0.1$)	-1.62624($P>0.1$)
珠江	0.02186($P>0.1$)	1.91827($P>0.1$)

自然种群较高的遗传多样性需要有大的有效种群、环境异质性以及适于群体快速增长的生活环境作为基础;从历史进化的角度看,种群的高遗传多样性特征通常是由一个大而稳定的有效种群经过长时间进化所产生(Nei, 1987)。球状伪镖水蚤在中国东南沿海地区的湖泊、池塘及河流中分布很广,表明其对环境有较强的适应能力,同时广阔的生境使其面临较小的自然选择压力。这些合适的环境条件及自身因素可能是球状伪镖水蚤各群体维持较高的遗传多样性的主要原因。

3.2 球状伪镖水蚤种群遗传结构及历史动态分析

遗传分化系数 F_{st} 是用于反映种群间遗传分化大小的重要参数,其值在 0 到 1 之间,数值越大表明种群间的遗传分化越显著。当 $F_{st}>0.25$ 时,表明不同种群间存在非常高的遗传分化;当 F_{st} 值处于 0.15—0.25 之间,表示种群间出现了中度分化;当 F_{st} 值处于 0.05—0.15 之间,表示两种群间的分化程度较低;当 $F_{st}<0.05$ 时,表示两种群间没有发生遗传分化(Wright, 1978)。

球状伪镖水蚤 5 个采样群体遗传分化系数 F_{st} 值在 0.04972—0.69248 之间(表 4),广州与顺德群体之间遗传分化程度较低,无锡与上海群体之间产生中度遗传分化,其他各群体之间均存在显著遗传差异。将球状伪镖水蚤 5 个地区个体分为长江、九龙江和珠江种群后,各种群之间的遗传分化指数 F_{st} 在 0.38675—0.48758 之间(表 5),且差异均极显著;表 6 的 AMOVA 分析结果显示:种群间总的 F_{st} 值为 0.45183($P<0.01$),种群间和种群内变异所占的百分比

相差不大,表明长江、九龙江和珠江 3 个种群之间遗传分化程度很高。类似的种群遗传学研究在淡水桡足类中镖水蚤(*Sinodiaptomus valkanovi*)、咸淡水桡足类近缘真宽水蚤(*Eurytemora affinis*)、海水桡足类剑乳点水蚤(*Pleuromamma xiphias*)和虎斑猛水蚤(*Tigriopus californicus*)中均有报道(Edmands, 2001; Winkler *et al*, 2008; Makino *et al*, 2010; Goetze, 2011)。其中淡水桡足类和咸淡水桡足类相对于海水生活的桡足类更容易形成种群遗传分化,其原因可能是淡水和半咸淡水之间比较容易形成地理阻隔,且咸淡水的环境条件多变,导致生活在不同地区的同一桡足类比较容易产生显著的遗传分化;海水的连通性较强,地理距离较大的地区之间也能有较强的基因交流,因此较难产生遗传差异。在以往鱼类和双壳类的种群遗传学研究中也有类似的结果,如鲆(*Silurus asotus*)、乌鳢(*Channa argus*)和松江鲈(*Trachidermus fasciatus*)的种群在不同水系或河流之间各自形成显著遗传差异(高天翔等, 2013; 董新培等, 2014; 周伟等, 2017; 徐丹丹等, 2017); 而位于同一湖泊或河流的洪泽湖河蚬(*Corbicula fluminea*)、松江鲈和墨脱裂腹鱼(*Schizothorax molesworthi*)的种群之间均未产生显著遗传分化(高天翔等, 2013; 李大命等, 2015; 俞丹等, 2019)。

本研究中无锡与上海的采样点均地处长江水系,相距约 130km; 广州与顺德采样点距离约为 40km,同属珠江水系; 漳州采样点则位于九龙江水系。九龙江水系与长江水系及珠江水系各采样点间的直线距离分别为 800km 和 500km 左右,长江与珠江水系采样点之间的直线距离约为 1200km。同一水系内采样点的地理距离相近,水体间有一定连通性,因此群体之间基因交流相对频繁,遗传分化不显著。广州与顺德之间的地理距离较近,且水体连通性大于无锡与上海,这可能是无锡与上海之间种群遗传分化大于前二者的原因。长江、九龙江和珠江 3 个水系之间相距较远,连通性差;且球状伪镖水蚤属于低盐种,无法在高盐度的海水中生活,海水的盐度阻隔及水系间的空间距离使得各种群之间产生地理隔离,导致基因交流的匮乏,各个种群经过长期的分化形成了显著的遗传结构。

单倍型网络图和系统进化树显示,长江、九龙江及珠江 3 个种群均形成了独立的分支(图 1, 图 2),与 3 个种群之间形成显著遗传分化的结果(表 5, 表 6)相一致。无锡群体与上海群体不仅形成独立的分支,还

分别与珠江种群共享单倍型,其中上海群体还与珠江种群共同形成独立分支,使得类群的划分更为复杂。上海群体与多个其他群体形成共同的分支和单倍型,可能与其具有最高的遗传多样性和群体内遗传距离有关。在本研究的基础上,若进一步扩大采样范围,采用隐种划分的方式来划分类群(Belyaeva *et al*, 2009; Kordbacheh *et al*, 2017),则能更深入地探讨球状伪镖水蚤隐种存在的可能性。

种群历史动态通过 Tajima's D 和 F_u 's 的中性检验以及核苷酸不配对分布来检测。中性检验的统计值如果是负值并且显著性差异,说明种群扩张引起了偏离中性的进化(Tajima, 1989; Fu, 1997); 核苷酸不配对分布图谱呈现单峰分布,说明种群可能经历了扩张,反之,如呈现多峰分布,说明种群十分稳定。本研究中,中性检验以及核苷酸不配对分布均显示(表 7 及图 3),球状伪镖水蚤种群保持相对稳定,未经历过种群扩张事件。单倍型网络图也没有显示出与种群扩张相对应的星状演化关系(Winkler *et al*, 2008; Huang *et al*, 2014; 刘硕博等, 2019),而是分化成为多个明显的支系,也表明种群未经历过种群扩张事件,符合种群历史动态结果。

4 结论

(1) 基于 DNA 条形码(mtCO₁)序列,中国东南沿海地区 5 个球状伪镖水蚤采样群体均具有较高的遗传多样性。

(2) 除广州与顺德群体、上海与无锡群体以外,其他各采样群体间均存在显著遗传分化;各群体间无共同的祖先单倍型。

(3) 5 个采样群体可整合为长江、九龙江和珠江 3 个种群,种群间差异明显,地理隔离可能是造成种群分化的主要因素。中性检验表明,各种群均尚未经历过扩张事件。

参 考 文 献

- 王兴霞, 徐 磊, 王亮根等, 2018. 基于 CO₁ 基因序列的长腹剑水蚤系统进化关系. 海洋学报, 40(6): 92—103
- 王博文, 2019. 中国东南 9 种伪镖水蚤的形态学与系统发育学研究. 厦门: 厦门大学硕士学位论文, 72—85
- 王博文, 郭东晖, 2019a. 厦门湾伪镖水蚤科一新种——郑氏伪镖水蚤. 厦门大学学报(自然科学版), 58(3): 375—381
- 王博文, 郭东晖, 2019b. 九龙江口伪镖水蚤科一新种——沈氏伪镖水蚤. 海洋学报, 41(6): 93—102
- 刘连为, 许强华, 陈新军等, 2013. 基于线粒体 DNA 分子标记的东太平洋茎柔鱼群体遗传多样性比较分析. 水产学报,

- 37(11): 1618—1624
- 刘硕博, 唐祖蓉, 申望等, 2019. 基于 F 型 mtDNA D-Loop 的厚壳贻贝(*Mytilus coruscus*)群体遗传多样性研究. 海洋与湖沼, 50(2): 355—364
- 李大命, 张彤晴, 唐晟凯等, 2015. 基于线粒体 CO₁ 序列的洪泽湖河蚬(*Corbicula fluminea*)遗传多样性和种群结构分析. 海洋与湖沼, 46(6): 1339—1346
- 沈玉帮, 张俊彬, 冯冰冰等, 2011. 基于线粒体 CO₁ 序列分析对紫贻贝群体遗传多样性的研究分析. 海洋通报, 30(4): 435—440
- 沈嘉瑞, 戴爱云, 张崇洲, 1979. 中国动物志-节肢动物门 甲壳纲 淡水桡足类. 北京: 科学出版社, 69
- 周伟, 高天翔, 王俊等, 2017. 乌鳢群体遗传多样性和遗传结构分析. 水产学报, 41(10): 1521—1532
- 俞丹, 张智, 张健等, 2019. 基于 Cyt b 基因的雅鲁藏布江下游墨脱江段及察隅河墨脱裂腹鱼的遗传多样性及种群历史动态分析. 水生生物学报, 43(5): 923—929
- 施立明, 1990. 遗传多样性及其保存. 生物科学信息, 2(4): 158—164
- 徐丹丹, 黄燕, 曾庆等, 2017. 基于 mtDNA Cytb 基因序列的我国不同水系野生鲈种群遗传多样性与种群历史分析. 水产学报, 41(10): 1489—1499
- 高天翔, 毕潇潇, 赵林林等, 2013. 基于线粒体 Cytb 基因全序列的松江鲈群体遗传结构分析. 水生生物学报, 37(2): 199—207
- 董新培, 穆淑梅, 周楠等, 2014. 不同地理群体乌鳢线粒体 DNA 控制区结构分析及遗传多样性. 水产学报, 38(9): 1277—1285
- 程方平, 王敏晓, 王彦涛等, 2012. 中国北方习见水母类的 DNA 条形码分析. 海洋与湖沼, 43(3): 451—459
- Belyaeva M, Taylor D J, 2009. Cryptic species within the *Chydorus sphaericus* species complex (Crustacea: Cladocera) revealed by molecular markers and sexual stage morphology. Molecular Phylogenetics and Evolution, 50(3): 534—546
- Bernatchez L, Guyomard R, Bonhomme F, 1992. DNA sequence variation of the mitochondrial control region among geographically and morphologically remote European brown trout *Salmo trutta* populations. Molecular Ecology, 1(3): 161—173
- Brown W M, 1985. The mitochondrial genome of animals. In: MacIntyre R H ed. Molecular Evolutionary Genetics. New York: Plenum Press, 95—130
- Bucklin A, Steinke D, Blanco-Bercial L, 2011. DNA barcoding of marine Metazoa. Annual Review of Marine Science, 3: 471—508
- Edmands S, 2001. Phylogeography of the intertidal copepod *Tigriopus californicus* reveals substantially reduced population differentiation at northern latitudes. Molecular Ecology, 10(7): 1743—1750
- 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. Molecular Ecology Resources, 10(3): 564—567
- Eyun S I, Lee Y H, Suh H L *et al*, 2007. Genetic identification and molecular phylogeny of *Pseudodiaptomus* species (Calanoida, Pseudodiaptomidae) in Korean waters. Zoological Science, 24(3): 265—271
- Folmer O, Black M, Hoeh W *et al*, 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 3(5): 294—299
- Fu Y X, 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. Genetics, 147(2): 915—925
- Goetze E, 2011. Population differentiation in the open sea: Insights from the pelagic copepod *Pleuromamma xiphias*. Integrative and Comparative Biology, 51(4): 580—597
- Guindon S, Dufayard J F, Lefort V *et al*, 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. Systematic Biology, 59(3): 307—321
- Hall T A, 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series, 41(41): 95—98
- Huang Y S, Liu G X, Cheng X F, 2014. Molecular phylogeography and population genetic structure of the planktonic copepod *Calanus sinicus* Brodsky in the coastal waters of China. Acta Oceanologica Sinica, 33(10): 74—84
- Kordbacheh A, Garbalena G, Walsh E J, 2017. Population structure and cryptic species in the cosmopolitan rotifer *Euchlanis dilatata*. Zoological Journal of the Linnean Society, 181(4): 757—777
- Makino W, Knox M A, Duggan I C, 2010. Invasion, genetic variation and species identity of the calanoid copepod *Sinodiaptomus valkanovi*. Freshwater Biology, 55(2): 375—386
- Nei M, 1987. Molecular Evolutionary Genetics. New York: Columbia University Press, 185
- Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P *et al*, 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. Systematic Biology, 61(3): 539—542
- Sakaguchi S O, Ueda H, 2010. A new species of *Pseudodiaptomus* (Copepoda: Calanoida) from Japan, with notes on the closely related *P. inopinus* Burckhardt, 1913 from Kyushu Island. Zootaxa, 2623(1): 52—68
- Salzburger W, Ewing G B, Von Haeseler A, 2011. The performance of phylogenetic algorithms in estimating haplotype genealogies with migration. Molecular Ecology, 20(9): 1952—1963
- Shao R, Barker S C, 2007. Mitochondrial genomes of parasitic arthropods: Implications for studies of population genetics and evolution. Parasitology, 134(2): 153—167
- Soh H Y, Kwon S W, Lee W *et al*, 2012. A new *Pseudodiaptomus* (Copepoda, Calanoida) from Korea supported by molecular data. Zootaxa, 3368(1): 229—244
- Tajima F, 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. Genetics, 123(3): 585—595
- Winkler G, Dodson J J, Lee C E, 2008. Heterogeneity within the

native range: population genetic analyses of sympatric invasive and noninvasive clades of the freshwater invading copepod *Eurytemora affinis*. *Molecular Ecology*, 17(1): 415—430

Wright S, 1978. *Evolution and the Genetics of Populations*.

Chicago: University of Chicago Press, 79—506

Xu L, Li H, Wang L G *et al*, 2019. Genetic structure and haplotype pattern of marine planktonic ostracod (*Porroecia spinirostris*) from South China Sea based on mitochondrial CO Gene. *Ocean Science Journal*, 54(1): 107—116

POPULATION GENETIC DIVERSITY AND GENETIC STRUCTURE OF *PSEUDODIAPTOMUS FORBESI* FROM THE COASTAL AREAS OF SOUTHEAST CHINA

WANG Long-Sheng¹, LI Hao-Ran¹, GUO Dong-Hui^{1, 2, 3, 4}

(1. College of Ocean and Earth Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102, China; 2. Marine Biodiversity and Global Change Research Center, Xiamen 361102, China; 3. Xiamen City Key Laboratory of Urban Sea Ecological Conservation and Restoration, Xiamen 361102, China; 4. Fujian Provincial Key Laboratory for Coastal Ecology and Environmental Studies, Xiamen University, Xiamen 361102, China)

Abstract To investigate the genetic diversity and populations structure of *Pseudodiaptomus forbesi*, 135 samples, from five areas across the southeastern of China, were collected and analyzed using the mitochondrial marker cytochrome oxidase subunit (mtCO_I). The results show that the average contents of A+T (63.4%) were significantly higher than those of G+C (36.6%) in the 580bp fragment, indicating a preference for A and T base. Forty-nine polymorphic sites and 38 haplotypes were detected from the five geographic assemblages. All assemblages had high haplotype diversity (h : 0.6285—0.9214) and nucleotide diversity (π : 0.00766—0.02010). The genetic distances among five assemblages ranged from 0.009 to 0.031. Based on phylogeny and haplotype network, five assemblages were separated into several lineages. The pairwise fixation index (F_{st}) and gene flow (N_m) show that genetic differentiation was extremely significant between all assemblages except for Guangzhou and Shunde, Shanghai and Wuxi assemblages. The five assemblages could be divided into three populations. Neutrality tests and mismatch distribution analysis inferred population expansion had not taken place in all populations.

Key words Copepod; *Pseudodiaptomus forbesi*; mtCO_I; genetic diversity; genetic differentiation