

中国常见贻贝基于 28S rDNA 序列的 系统发育分析*

郭 笏^{1,3} 谢慧盈³ 张 振^{1,4} 胡利莎^{1,2,4} 刘玉盟^{1,2,4}
马培振^{1,4} 王海艳^{1,4} 李 翠^{1,4}

(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. 中国海洋大学 青岛 266100; 4. 中国科学院海洋大科学研究中心 青岛 266071)

摘要 贻贝隶属于软体动物门 (Mollusca)、双壳纲 (Bivalvia)、翼形亚纲 (Pteriomorphia)、贻贝目 (Mytilida)、贻贝超科 (Mytiloidea), 大约有 400 种贻贝分布在世界各地, 可适应淡水、潮间带至深海多种生境。本实验以贻贝科 6 亚科 12 属 28 种中国沿海常见贻贝的 28S rDNA 为目的片段, 构建系统发育进化树, 运用最大似然法和贝叶斯推演法分析了贻贝科的系统发生, 并追踪贻贝科物种系统演化历史。结果显示: 贻贝亚科 Mytilinae、偏顶蛤亚科 Modiolinae、石蛭亚科 Lithophaginae 均非单系群。在属阶元, 深海偏顶蛤属 *Bathymodiolus*、贻贝属 *Mytilus* 和股贻贝属 *Perna* 为单系群。本研究应接受将原隔贻贝属 *Septifer* 分为 *Septifer* 属和 *Mytilisepta* 属的分类提议; 应接受将原石蛭属 *Lithophaga* 中的膜石蛭亚属 *Leiosolenus* 提升至属的地位的分类提议。此外, 短齿蛤属 *Brachidontes* 的单系性不被支持, 刻缘短齿蛤 *Brachidontes setiger* 并未与短齿蛤属其他物种在系统发育树上聚拢, 亲缘关系较远, 为不同属物种, 建议恢复刻缘短齿蛤原属名 *Volsella* (Dunker, 1857)。

关键词 贻贝; 28S rRNA; 系统发育

中图分类号 P745; Q19 **doi:** 10.11693/hyh20200200038

贻贝科在分类单元上属于软体动物门 (Mollusca)、双壳纲 (Bivalvia)、翼形亚纲 (Pteriomorphia)、贻贝目 (Mytilida), 中国记载在册的种有 70 余种 (王祯瑞, 1997), 是我国重要的海洋经济作物。对贻贝科较为系统的分类始于 Newell (1969), 他结合现生和化石双壳类特征, 将贻贝科 Mytilidae 并分为 4 个亚科, 分别为: 贻贝亚科 Mytilinae; 细齿蛤亚科 Crenellinae; 偏顶蛤亚科 Modiolinae; 石蛭亚科 Lithophaginae。后来的分类学者在此基础上不断增加新的亚科, Bieler 等 (2010) 在前人基础上将贻贝科分为 8 个亚科, 包括贻贝亚

科 Mytilinae、细齿蛤亚科 Crenellinae、石蛭亚科 Lithophaginae、偏顶蛤亚科 Modiolinae、深海贻贝亚科 Bathymodiolinae、亚科 Septiferinae、亚科 Dacrydiinae、亚科 Limnoperninae; Morton (2015) 将贻贝科提升到超科水平并重新划分为 4 个科 13 个亚科。目前, 国内外分类学者依据形态对贻贝科内各阶元的划分尚未达成一致结论。我国分类学者王祯瑞 (1997) 主要依据 Newell (1969) 的分类观点系统建立了中国海域贻贝分类系统 (见表 1), 此后我国分类学者多沿用王祯瑞 (1997) 的分类系统 (徐凤山等, 2008; 杨文等, 2013)。

* 国家自然科学基金项目, 41776179 号, 41906083 号; 中国海域贻贝超科系统分类与关键性状演化研究; 十三五“蓝色粮仓科技创新”国家重点研发计划项目, 2019YFD0901303 号; 中国科学院战略生物资源能力建设项目, KFJ-BRP-017-40 号。郭 笏, E-mail: gj9683@stu.ouc.edu.cn

通信作者: 王海艳, 研究员, E-mail: haiyanang@qdio.ac.cn; 李 翠, 博士, E-mail: licui19877322@163.com

收稿日期: 2020-02-10, 收修改稿日期: 2020-03-18

表 1 王祯瑞(1997)采用的分类系统
Tab.1 Classification system used in Wang (1997)

科	亚科	属	种数(种)
Mytilidae	Mytilinae	<i>Mytilus</i>	2
		<i>Perna</i>	1
		<i>Trichomya</i>	1
		<i>Septifer</i>	6
		<i>Brachidontes</i>	3
		<i>Hormomya</i>	2
	Crenellinae	<i>Musculus</i>	8
		<i>Arvella</i>	1
		<i>Solamen</i>	1
		<i>Arcuatula</i>	1
		<i>Gregariella</i>	2
		<i>Trichomusculus</i>	2
	Lithophaginae	<i>Lithophaga</i>	16
	Modiolinae	<i>Modiolus</i>	12
		<i>Idasola</i>	1
		<i>Amygdalum</i>	3
		<i>Botula</i>	1
		<i>Xenostrobus</i>	1
		<i>Stavelia</i>	1
		<i>Limnoperna</i>	1

随着分子系统学研究的不断深入, DNA 条形码技术(Hebert *et al*, 2003)、分子系统发育分析被用于解决贻贝分类问题, 如 Owada(2007)通过分子数据构建系统发育关系, 发现 *Lithophaginae* 为并系群, *Leiosolenus* 和 *Lithophaga* 形态相似是由于趋同进化导

致。Lee 等(2004)通过比较 DNA 序列发现佛罗里达 *Brachidontes exustus* 群体存在 4 种隐存种。我国近年来仍旧沿用依据形态分类构建的贻贝分类系统, 亟需辅助分子手段重建贻贝科演化关系。28S rDNA 是核糖体编码基因中最长的序列, 包含 12 个变异率较高的序列(D1-D12), 其中 D2、D3 区不仅变异率高且保守度高, 故而常作为物种间亲缘关系及系统进化的研究依据(Dietrich *et al*, 2001)。本研究将着眼于贻贝科这一重要海洋经济类群, 利用 28S rDNA 基因序列片段进行系统发育分析, 探讨中国常见贻贝物种之间的亲缘关系, 这一工作将对完善我国海洋贝类分类体系有重要意义, 为中国的海洋生物多样性开发与保护提供重要资料。

1 材料与方法

1.1 样本信息采集

本研究所用样品涉及贻贝科 6 亚科 12 属 28 种, 其中 10 种为本次研究测序, 18 种来自 GenBank。测序样品采集于 2011—2018 年, 95%酒精固定保存并拍照记录其壳形(见图 1)。外群的合理选择直接影响系统发生分析的可靠性, 本研究选取与贻贝目贻贝科物种亲缘关系较近的帘蛤目(Veneroida)的沙筛贝(*Mytilopsis sallei*)作为系统发育树的外群, 在 GenBank 检索贻贝科常见物种以及外群沙筛贝共计 31 条 28S rDNA 基因片段序列, 各物种所属科属和登录号等信息见表 2。

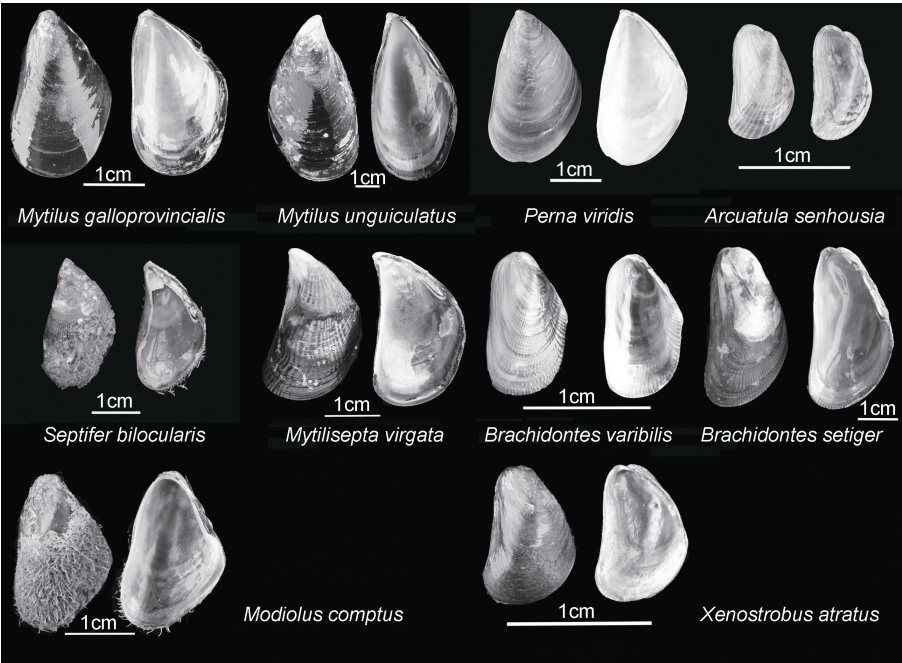


图 1 本实验测序样本照片
Fig.1 Photos of sequenced samples in this study

表 2 贻贝科物种及外群 28S rDNA 基因序列号
Tab.2 28S rDNA gene ID for *Mytilidae* and outgroup species

目	科	亚科	属	种	GenBank 序列号
Mytilida	Mytilidae	Crenellinae	<i>Arcuatula</i>	<i>Arcuatula senhousia</i>	AB103122.1
				<i>Arcuatula senhousia</i>	* MN892536
		Bathymodiolinae	<i>Bathymodiolus</i>	<i>Bathymodiolus heckerae</i>	MG520058.1
				<i>Gigantidas childressi</i>	MG520057.1
				<i>Gigantidas mauritanicus</i>	MG520059.1
		Lithophaginae	<i>Leiosolenus</i>	<i>Leiosolenus lima</i>	KY081354.1
				<i>Leiosolenus lischkei</i>	AB103123.1
			<i>Lithophaga</i>	<i>Lithophaga nigra</i>	AB103127.1
				<i>Lithophaga teres</i>	KY081359.1
		Modiolinae	<i>Botula</i>	<i>Botula cinnamomea</i>	AB103128.1
				<i>Botula cinnamomea</i>	* MN889038
			<i>Modiolus</i>	<i>Modiolus auriculatus</i>	AJ307537.1
				<i>Modiolus comptus</i>	* MN892541
				<i>Modiolus modiolus</i>	EF526455.1
				<i>Modiolus nipponicus</i>	AB103125.1
				<i>Modiolus rufus</i>	KC429423.1
			<i>Xenostrobus</i>	<i>Xenostrobus atratus</i>	AB594397.1
				<i>Xenostrobus atratus</i>	* MN889242
		Mytilinae	<i>Mytilus</i>	<i>Mytilus edulis</i>	KC429424.1
				<i>Mytilus galloprovincialis</i>	* MN892539
				<i>Mytilus galloprovincialis</i>	AB103129.1
				<i>Mytilus unguiculatus</i>	* MN889245
			<i>Brachidontes</i>	<i>Mytilus unguiculatus</i>	* MN892543
				<i>Brachidontes exustus</i>	KT757838.1
				<i>Brachidontes mutabilis</i>	KY081353.1
				<i>Brachidontes mutabilis</i>	AB103124.1
				<i>Brachidontes setiger</i>	* MN892542
				<i>Brachidontes variabilis</i>	* MN892540
				<i>Brachidontes variabilis</i>	KY081350.1
			<i>Perna</i>	<i>Perna canaliculus</i>	MK419109.1
				<i>Perna viridis</i>	KY081366.1
				<i>Perna viridis</i>	* MN892544
		Septiferinae	<i>Mytilisepta</i>	<i>Mytilisepta bifurcata</i>	KJ453830.1
				<i>Mytilisepta virgata</i>	AB103126.1
				<i>Mytilisepta virgata</i>	* MN892545
				<i>Mytilisepta virgata</i>	KJ453833.1
				<i>Mytilisepta virgata</i>	KJ453832.1
			<i>Septifer</i>	<i>Septifer bilocularis</i>	* MN889243
				<i>Septifer excisus</i>	AB103130.1
				<i>Septifer excisus</i>	KY081368.1
				<i>Septifer excisus</i>	KY081367.1
Veneroida	Dreissenidae		<i>Mytilopsis</i>	<i>Mytilopsis sallei</i>	JX099497.1

注: *表示本次研究测序的样本

1.2 DNA 提取及目的基因 PCR 扩增

从贻贝样品中取出闭壳肌处肌肉 20—30 μ g, 参照 TIANamp Marine Animals DNA Kit 试剂盒(离心柱型)操作说明提取 DNA。通过聚合酶链式反应 polymerase chain reaction(PCR)获得 28S rDNA 基因片段。实验扩增使用引物序列为: 28SF: 5'-GGGACTA CCCCCTGAATTTAAGCAT-3', 28SR: 5'-CCAGCTA TCCTGAGGGAACTTCG-3'。25 μ L 的 PCR 反应体系, 其中引物 0.2 μ mol/L, 50—70ng DNA 模板, 2 $\times$ PCR Taq mix 12.5 μ L, ddH₂O 加至 25 μ L。PCR 仪循环参数设置如下: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5min, 30 个扩增循环(94 $^{\circ}$ C 变性 45s, 56 $^{\circ}$ C 退火 1min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1min), 72 $^{\circ}$ C 延伸 10min, 4 $^{\circ}$ C 保存。PCR 扩增产物送至上海生工有限公司进行测序。使用 BLAST(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)对所得序列进行同源性检索, 以检验物种鉴别的正确性, 为系统发育分析做准备。

1.3 系统发育分析与遗传距离

本次研究获得的 28S rDNA 片段使用 Clustal W(Thompson *et al*, 1994)进行多序列比对, 并进行人工校对, 删除结果中的空位及其他对比模糊区域, 调整部分空位位置。使用 MEGA X(Kumar *et al*, 2018)分析序列的碱基组成, 计算物种两两之间的 Kimura 2-parameter 遗传距离。

本研究选用最大似然法(Maximum Likelihood, ML)和贝叶斯推论法(Bayesian inference, BI)进行系统发生分析。系统发育树的构建使用 PhyloSuite v1.1.16(Zhang *et al*, 2020)软件, 操作步骤如下: 选择 MAFFT(Katoh *et al*, 2013)自动模式进行序列常规对比; 应用 ModelFinder(Kalyaanamoorthy *et al*, 2017)对 28S rDNA 部分序列筛选模型, 得到基于贝叶斯信息准则(Bayesian Information Criterion, BIC)选择核苷酸最佳替换模型, 并估计相关参数; 以沙筛贝为外群, 使用 MrBayes 3.2.6(Ronquist *et al*, 2012)构建贝叶斯树时, 采用 ModelFinder 推荐的最佳替换模型 GTR+F+I+G4, 同时构建 4 条马尔代夫链, 以随机数为起始树, 共运行 1000 万代, 每 10000 代抽样一次, 初始 25% 的采样数据作为老化数据丢弃, 根据剩余样本构建一致树; ML 树的构建使用软件 IQ-TREE(Nguyen *et al*, 2015)自动选择模式, 对 5000 个超快样本进行引导, 并使用 SH-aLRT branch test(Guindon *et al*, 2010), 经 1000 次自展法(bootstrap)确定拓扑结构的置信度。最终得到的系统发育树使用软件 Figtree v 1.4.3(<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>)查看和编辑。

2 结果与分析

2.1 序列组成及遗传距离分析结果

本研究共获得贻贝科 40 个个体的 28S rDNA 序列, 与作为外群的沙筛贝共同进行序列比对后, 去除引物段碱基并删除缺失位点后, 对 773bp 共有序列进行分析显示, 保守位点 447 个, 约占 57.83%; 变异位点 326 个, 简约信息位点 233 个, 自裔位点 93 个。T、C、A、G 碱基平均含量为 20.02%、27.24%、20.39%、32.35%。其中, A+T 含量(40.41%)小于 G+C 含量(59.59%), 表现出一定的碱基组成偏倚。

通过计算物种 28S rDNA 基因片段序列两两之间遗传距离, 获得种内、属内、属间物种遗传距离分布箱线图(图 2)。研究发现: 本研究贻贝科种内遗传距离的平均值为 0.01; 同属物种间的平均遗传距离值为 0.034, 其中 80% 小于 0.08, 但刻缘短齿蛤与短齿蛤属其他物种的遗传距离均大于 0.1, 显著大于属内种间平均遗传距离 0.034; 不同属物种间的遗传距离平均值为 0.115, 91% 在 0.08—0.20 之间; 以上数据说明遗传距离随着分类阶元的不断提高而增大。由图可知, 一般情况下, 同属物种的遗传距离差异较小, 只有短齿蛤属的属内种间遗传距离波动范围较大; 此外, 原隔贻贝属(王祯瑞, 1997)在国际上已经划分为 *Mytilisepta* 属和 *Septifer* 属, 原石蛭属(王祯瑞, 1997)已经划分为 *Lithophaga* 属和 *Leiosolenus* 属, 本研究中, *Mytilisepta* 属和 *Septifer* 属之间的平均遗传距离显著大于 0.1, 明显位于属间物种平均遗传距离范围中, 本研究结果支持国际最新划分标准。总体来看, 贻贝种间、属间 28S rDNA 基因遗传距离差异显著, DNA 间隙明显, 因此, 28S rDNA 基因可用于贻贝系统分类。

2.2 系统发育分析结果

基于 28S rDNA 重建贝叶斯树和最大似然树(见图 3)。从拓扑结构上来看, 贝叶斯树与最大似然树的结构保持一致, 部分分支的结构与支持率有所差异。两种方法获得的系统发育树均发现贻贝科为单系发生。本研究涉及了贻贝科的 6 个亚科, 其中深海贻贝亚科 Bathymodiolinae 和隔贻贝亚科 Septiferinae 分别为单系群; 贻贝亚科 Mytilinae、偏顶蛤亚科 Modiolinae、石蛭亚科 Lithophaginae 的单系性不被支持; 由于细齿蛤亚科 Crenellinae 仅有一个物种参与建树, 其单系性无法验证。贻贝亚科为多系群, 本亚科中的贻贝属 *Mytilus*、股贻贝属 *Perna*、短齿蛤属

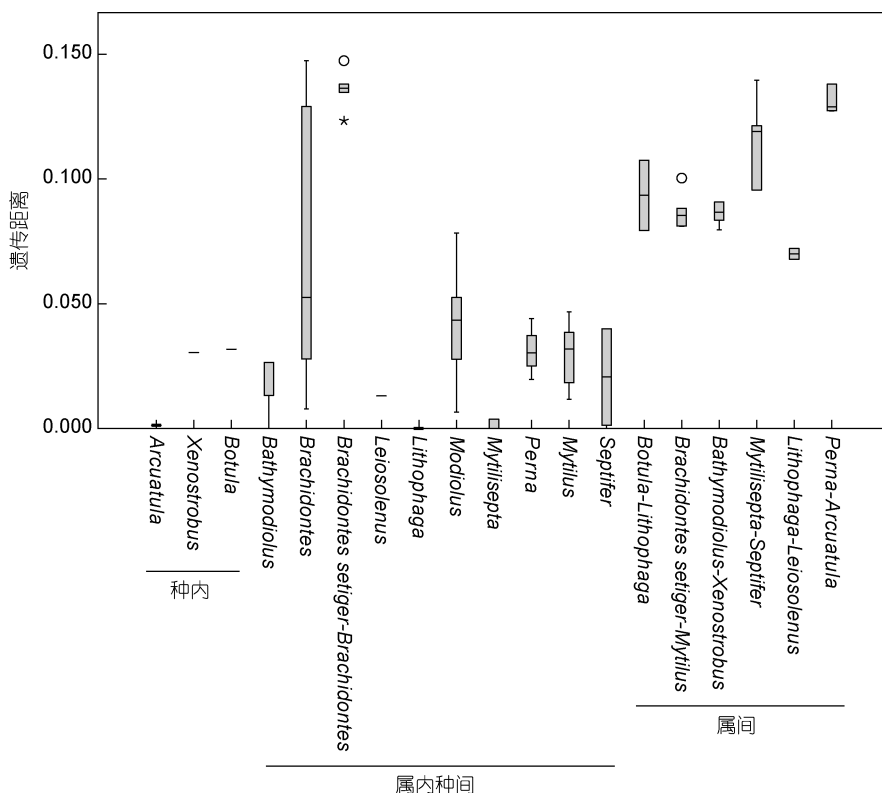


图 2 基于贻贝科 6 亚科 28S rDNA 基因片段序列构建的两两物种间遗传距离箱线图

Fig. 2 Boxplot of genetic distance between each two species for 28S rDNA gene fragments of 6 subfamilies of Mytilidae
注: ‘*’为极值; ‘o’为离群值; ‘-’为平均值; 横轴字母表示属名; 其中 *Brachidontes setiger-Brachidontes* 为刻缘短齿蛤与短齿蛤属其他物种间的遗传距离; *Brachidontes setiger-Mytilus* 表示刻缘短齿蛤与贻贝属其他物种之间的遗传距离; *Lithophaga-Leiosolenus*、*Mytilisepta-Septifer*、*Botula-Lithophaga*、*Bathymodiolus-Xenostrobus*、*Perna-Arcuatula* 均表示两两属间的遗传距离

Brachidontes 未聚集在一起。石蛭亚科的膜石蛭属 *Leiosolenus* 的短石蛭 *Leiosolenus lischkei* 和锉石蛭 *Leiosolenus lima* 单独聚集在一个分支(PP=1, BP=100), 并未与石蛭属 *Lithophaga* 的光石蛭 *Lithophaga teres* 和 *Lithophaga nigra* 聚集在同一枝系。其中石蛭属与偏顶蛤亚科的短壳肠蛤 *Botula cinnamomea* 聚集在同一分支, 但贝叶斯后验概率不高; 膜石蛭属则与深海偏顶蛤亚科物种以及偏顶蛤亚科的 *Xenostrobus* 属物种聚集在一起。偏顶蛤亚科 *Modiolinae* 中 *Xenostrobus* 属、*Botula* 属和偏顶蛤属也未聚为一支, 为多系群。

从属单系性来看, 本次研究中, 有 8 个属在系统发育树中表现为单系群并获得较高支持率, 即: *Bathymodiolus* 属(PP=1, BP=100)、膜石蛭属 *Leiosolenus* (PP=1, BP=100)、*Modiolus* 属(PP=1, BP=100)、石蛭属 *Lithophaga*(PP=1, BP=99)、*Perna* 属(PP=1, BP=97)、*Mytilus* 属(PP=1, BP=83)、*Mytilisepta* 属(PP=1, BP=92) 和 *Septifer* 属(PP=1, BP=100); 短齿蛤属 *Brachidontes* 的单系性不被支持, 其中, 刻缘短齿蛤 *Brachidontes*

setiger 并未与短齿蛤属其他物种聚集在一处, 而是与贻贝属的物种聚集在同一个分支且节点支持率较高(PP=1, BP=99); 另外 *Xenostrobus* 属、*Botula* 属和 *Arcuatula* 属在本次研究中只有一个物种参与构建系统发育树, 目前无法判断其单系性。

3 讨论

3.1 不同建树方法的比较

ML 法和 BI 法构建的系统发育树基本结构相同; ML 树与 BI 树之间的差异主要表现在: 隔贻贝属与 *Mytilisepta* 属是否为姊妹群, 共同构成隔贻贝亚科; *Lithophaga* 属和 *Botula* 属是否为姊妹群; *Xenostrobus* 属与深海偏顶蛤属是否为姊妹群; 此外, 最大似然树的部分节点置信度优于贝叶斯树的节点后验概率, 但贝叶斯树的拓扑结构明显优于最大似然树; 对于属阶元分支的节点支持率, 两种树基本保持一致。总的来说, 支持率较低或不一致的节点出现在大枝系节点, 多为属间或亚科之间关系的节点, 同样的问题

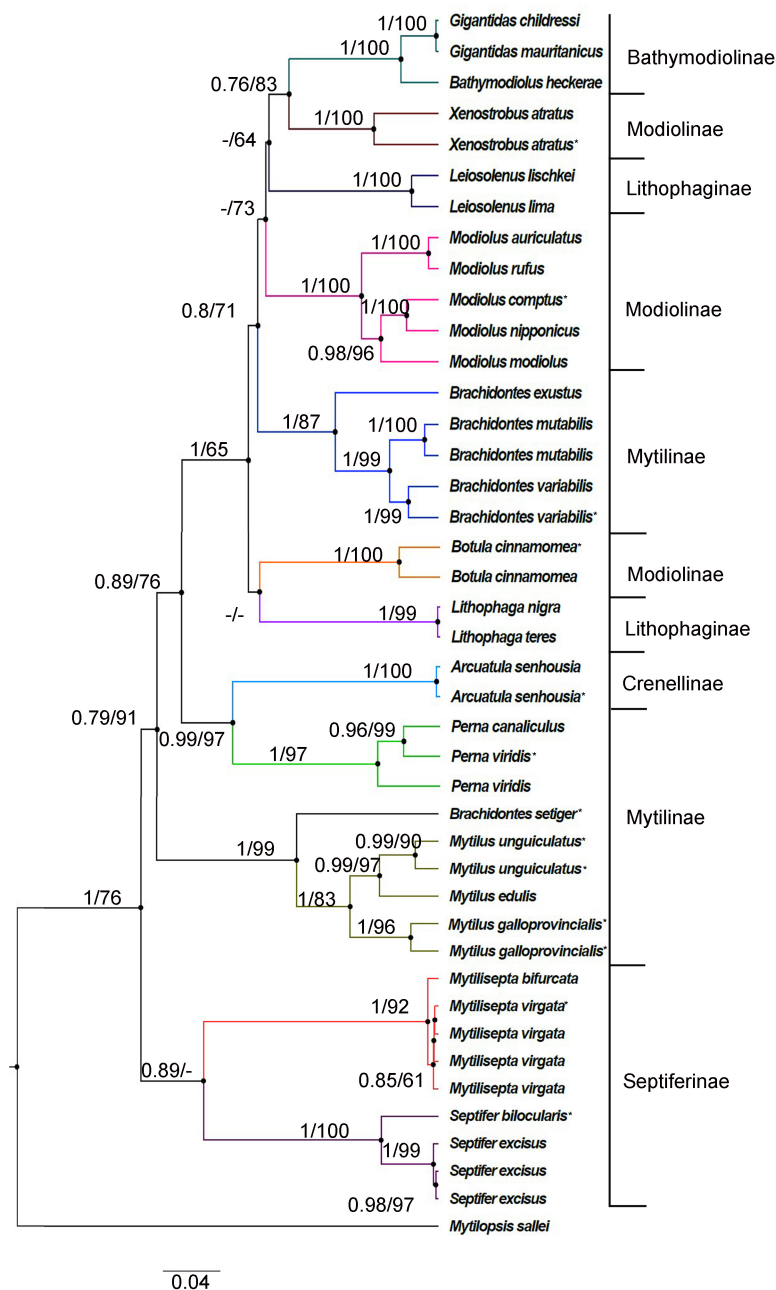


图3 贻贝科 28 物种基于 28S rDNA 序列构建的贝叶斯树(BI 树)和最大似然树(ML 树)

Fig.3 Bayesian tree (BI tree) and maximum likelihood tree (ML tree) for 28 species of *Mytilidae* based on 28S rDNA gene
注: 枝上数字代表 ML 树的自展值 bootstraps(BP)和贝叶斯树的后验概率(PP), 颜色相同的分支表示同一属; “*”表示本次实验测序物种, “-”表示节点支持率小于 50%; 进化树右侧为各属对应亚科名

也出现在线粒体基因构建的进化树(刘君等, 2011; Liu *et al.*, 2018), 这种现象可能是由于贻贝早期辐射进化造成的。通过增加物种数目和多基因联合分析, 提供物种之间完整的演化信息, 会改善深部节点的支持率 (Liu *et al.*, 2018)。

3.2 我国贻贝系统分类存在的问题

从系统发育分析结果来看, 贻贝在亚科阶元的

分类存在诸多问题, 需要获得充足的物种样本以进行亚科阶元的研究。

在我国目前的贻贝分类系统中, 条纹隔贻贝属名依然采用属名 *Septifer*。但在国际上 Trovant 等 (2015)和 Gerdol 等 (2017) 已经根据分子数据将条纹隔贻贝和 *Septifer bifurcata* 划入 *Mytilisepta* 属, 并更名为 *Mytilisepta virgate* Wiegmann, 1837 和 *Mytilisepta*

bifurcata Conrad, 1837, 这一划分方法与本研究所得结论一致: 通过系统发育进化树我们发现 *Mytilisepta* 属和 *Septifer* 属均为单系群, 且分支节点支持率较高; 此外, 通过贻贝科物种两两之间的遗传距离图可知, *Mytilisepta* 属物种与 *Septifer* 属隆起隔贻贝和隔贻贝之间的平均遗传距离为 0.114, 大于属内种间平均遗传距离。本研究所得系统发育关系与属内种间遗传距离均支持 *Mytilisepta* 属的有效性。此外, 从系统发育树我们发现 *Mytilisepta* 属与隔贻贝属 *Septifer* 的物种聚集在同一分支且表现为姊妹群, 亲缘关系较近, 目前隔贻贝亚科 *Septiferinae* 的有效性得到支持。

其次, 在我国目前的分类系统中, 膜石蛭属 *Leiosolenus* 为石蛭属 *Lithophaga* 的亚属。但国际上 Owada(2007)根据分子系统发育结果将 *Leiosolenus* 提升到属的地位, 并将两属归为同一亚科 *Lithophaginae*(Carter *et al.*, 2011; Morton, 2015)。本研究中, 根据遗传距离(图 2)可知, *Lithophaga* 属和 *Leiosolenus* 属之间的平均遗传距离为 0.07, 小于属间平均遗传距离(0.115), 亲缘关系较近; 由系统发育进化树可知, *Leiosolenus* 属与 *Lithophaga* 属分别为单系群但两属物种并未聚为一支, 石蛭亚科的单系性未获得系统发育关系的支持, 这与 Owada(2007)研究结果一致。此外, 石蛭属 *Lithophaga* 与肠蛤属在系统发育树上聚集在同一分支, 遗传距离图显示石蛭属与肠蛤属之间的平均遗传距离为 0.094, 小于属间平均遗传距离; 而膜石蛭属 *Leiosolenus* 则与偏顶蛤亚科物种亲缘关系较近, 但支持率均不高, 因此石蛭亚科的有效性需要获得更全面的物种以进一步验证。

在本次研究中, 刻缘短齿蛤并未与短齿蛤属其他物种聚集在一起, 而是与贻贝属的物种聚集在同一分支, 支持率较高; 通过遗传距离图可知, 刻缘短齿蛤与短齿蛤属其他物种之间的平均遗传距离远远大于属内种间平均遗传距离, 而它与贻贝属物种之间的平均遗传距离为 0.087, 同样大于属内平均遗传距离(0.034), 故也不应归为贻贝属。刻缘短齿蛤 *Brachidontes setiger* Dunker, 1857 最初被命名为 *Volsella setigera* Dunker, 1857, 因此我们建议恢复刻缘短齿蛤属名 *Volsella* Dunker, 1857。

4 结论

本次研究涉及贻贝科 6 亚科 12 属 28 种, 获得的系统发育关系在亚科阶元的节点支持率较低, 提示我们需要进一步获得更多样品进行系统发育关系构

建。本次研究中只有深海贻贝亚科 *Bathymodiolinae* 和隔贻贝亚科 *Septiferinae* 为单系群, 贻贝亚科 *Mytilinae* 和偏顶蛤亚科 *Modiolinae*, 以及石蛭亚科 *Lithophaginae* 的单系性不被支持。在属阶元, 深海偏顶蛤属 *Bathymodiolus*、贻贝属 *Mytilus* 和股贻贝属 *Perna* 为单系群。隔贻贝属(王祯瑞, 1997)的条纹隔贻贝 *Mytilisepta virgata* 和 *Mytilisepta bifurcata* 与隔贻贝属其余物种遗传距离较大, 建议接受将 *Mytilisepta* 属从原隔贻贝属 *Septifer* 划分出来。原石蛭属 *Lithophaga* 中的膜石蛭亚属 *Leiosolenus* 在系统发育树中并未与石蛭属其余物种聚集, 建议将膜石蛭亚属提升至属的地位。此外, 系统发育关系和遗传距离结果表明, 刻缘短齿蛤 *Brachidontes setiger* 与短齿蛤属其他物种亲缘关系较远, 因此建议恢复刻缘短齿蛤属名 *Volsella* Dunker, 1857。对于我国常见贻贝的初步分析显示, 我国贻贝的种类组成需要进一步明确, 分类系统亟需重新修订, 以便为贻贝物种资源的开发利用与保护提供支持。

参 考 文 献

- 王兴霞, 2018. 基于 COI 和 18S rDNA 基因序列的长腹剑水蚤属系统进化分析. 上海: 上海海洋大学硕士学位论文
- 王祯瑞, 1997. 中国动物志. 软体动物门. 双壳纲. 贻贝目. 北京: 科学出版社
- 毛阳丽, 2011. 贻贝属的系统发育及群体的形态学和遗传学研究. 青岛: 中国海洋大学硕士学位论文
- 甘志彬, 2014. 长臂虾科(甲壳动物亚门: 十足目: 真虾下目: 长臂虾总科)分子系统学研究. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所)博士学位论文
- 申 洁, 2016. 中国瘦蜂科部分属种 DNA 条形码及系统发育研究. 杭州: 浙江农林大学硕士学位论文
- 朱 明, 孟学平, 赵 军等, 2015. 基于 *cox1* 基因的贻贝科遗传差异及系统发育关系. 江苏农业科学, 43(10): 23—27
- 刘 君, 2012. 双壳贝类 DNA 分类: 贻贝科和牡蛎科 DNA 条形码及栉江珧隐存种研究. 青岛: 中国海洋大学博士学位论文
- 刘 君, 李 琪, 孔令锋等, 2011. 基于线粒体 CO 的 DNA 条形码技术在贻贝科种类鉴定中的应用. 水生生物学报, 35(5): 874—881
- 杨 文, 蔡英亚, 邝雪梅, 2013. 中国南海经济贝类原色图谱. 北京: 中国农业出版社
- 沈玉帮, 李家乐, 牟月军, 2009. 基于 16S rRNA 序列初步探讨贻贝属的系统发育. 海洋科学, 33(12): 50—55
- 张小静, 郑哲民, 赵 玲等, 2012. 基于 28SrDNA 的蝗总科部分种类的分子系统发育研究. 陕西师范大学学报(自然科学版), 40(2): 67—70, 75
- 赵 庆, 吴 彪, 刘志鸿等, 2018. 利用 DNA 条形码 COI 基因分析我国重要贝类系统进化关系. 中国水产科学, 25(4): 847—857

- 袁剑波, 2014. 凡纳滨对虾系统发生地位及适应性进化分析. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所)博士学位论文
- 徐凤山, 张素萍, 2008. 中国海产双壳类图志. 北京: 科学出版社
- Bieler R, Carter J G, Coan E V, 2010. Classification of bivalve families. *Malacologia*, 52(2): 113—133
- Carter J G, Altaba C R, Anderson L C *et al*, 2011. A synoptical classification of the Bivalvia (Mollusca). *Paleontological Contributions*, 4: 1—47
- Dietrich C H, Rakitov R A, Holmes J L *et al*, 2001. Phylogeny of the major lineages of Membracoidea (Insecta: Hemiptera: Cicadomorpha) based on 28S rDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 18(2): 293—305
- Gerdol M, Fujii Y, Hasan I *et al*, 2017. The purplish bifurcate mussel *Mytilisepta virgata* gene expression atlas reveals a remarkable tissue functional specialization. *BMC Genomics*, 18: 590
- 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
- Hebert P D N, Cywinska A, Ball S L *et al*, 2003. Biological Identifications through DNA Barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270(1512): 313—321
- Kalyaanamoorthy S, Minh B Q, Wong T K F *et al*, 2017. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature Methods*, 14(6): 587—589
- Katoh K, Standley D M, 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4): 772—780
- Kumar S, Stecher G, Li M *et al*, 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6): 1547—1549
- Lee T, Foighil D Ó, 2004. Hidden Floridian biodiversity: mitochondrial and nuclear gene trees reveal four cryptic species within the scorched mussel, *Brachidontes exustus*, species complex. *Molecular Ecology*, 13(11): 3527—3542
- Liu J, Liu H L, Zhang H B, 2018. Phylogeny and evolutionary radiation of the marine mussels (Bivalvia: Mytilidae) based on mitochondrial and nuclear genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 126: 233—240
- Morton B, 2015. Evolution and adaptive radiation in the Mytiloidea (Bivalvia): clues from the pericardial-posterior byssal retractor musculature complex. *Molluscan Research*, 35(4): 227—245
- Newell N D, 1969. Classification of bivalvia. In: *Treatise on Invertebrate Paleontology*. The Geological Society of America and The University of Kansas, (1): 205—224
- Nguyen L T, Schmidt H A, von Haeseler A *et al*, 2015. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 32(1): 268—274
- Owada M, 2007. Functional morphology and phylogeny of the rock-boring bivalves *Leiosolenus* and *Lithophaga* (Bivalvia: Mytilidae): a third functional clade. *Marine Biology*, 150(5): 853—860
- 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
- Thompson J D, Higgins D G, Gibson T J, 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22(22): 4673—4680
- Trovant B, Orensanz J M, Ruzzante D E *et al*, 2015. Scorched mussels (BIVALVIA: MYTILIDAE: BRACHIDONTINAE) from the temperate coasts of South America: Phylogenetic relationships, trans-Pacific connections and the footprints of Quaternary glaciations. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 82: 60—74
- Wood A R, Apte S, MacAvoy E S *et al*, 2007. A molecular phylogeny of the marine mussel genus *Perna* (Bivalvia: Mytilidae) based on nuclear (ITS1&2) and mitochondrial (COI) DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44(2): 685—698
- Zhang D, Gao F L, Jakovlić I *et al*, 2020. PhyloSuite: an integrated and scalable desktop platform for streamlined molecular sequence data management and evolutionary phylogenetics studies. *Molecular Ecology Resources*, 20(1): 348—355

PHYLOGENETIC ANALYSIS BASED ON PARTIAL 28S RDNA SEQUENCE OF FAMILY MYTILIDAE IN CHINA

GUO Jia^{1,3}, XIE Hui-Ying³, ZHANG Zhen^{1,4}, HU Li-Sha^{1,2,4}, LIU Yu-Meng^{1,2,4}, MA Pei-Zhen^{1,4},
WANG Hai-Yan^{1,4}, LI Cui^{1,4}

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China; 3. Ocean University of China, Qingdao, 266100; 4. Center for Ocean Mega-Science, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract There are about 400 species of marine mussel (Mollusca: Bivalvia: Pteriomorphia: Mytilida: Mytiloidea: Mytilidae) living all over the world, and they adapt to the highly variable habitats in both intertidal zone and deep sea. In this study, 28S rDNA gene of species in this family along Chinese coasts were collected and phylogenetic trees were reconstructed by maximum likelihood and Bayesian inference methods. The results showed that subfamilies Mytilinae, Modiolinae, and Lithophaginae were not monophyletic groups. At genus level, *Bathymodiolus*, *Mytilus*, and *Perna* are monophyletic groups. The result supports the new classification scheme for genus *Septife* that should be divided into *Septifer* and *Mytilisepta* and the elevation of subgenus *Leiosolenus* (belonging to genus *Lithophaga*) to genus level. However, the monophyly of genus *Brachidontes* is not supported. The *Brachidontes setiger* has larger genetic distance from other species in the genus and they did not form a single clade in phylogenetic trees. Therefore, it is suggested *Brachidontes setiger* belongs to a different genus and we should still use its original genus name, *Volsella* (Dunker, 1857).

Key words Mytilidae; 28S rRNA; molecular phylogeny