

基于线粒体 *CO I* 基因的中国沿海和 泰国普吉岛里氏拟石磺群体遗传结构分析

周 娜, 沈和定*, 陈 诚

(上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 通过对 *CO I* 序列的分析, 研究了中国沿海及泰国普吉岛 8 个里氏拟石磺群体的种群遗传结构, 171 个样本中共检测出单倍型 101 个, 117 个多态性位点, 里氏拟石磺具有高的单倍型多样性 (0.974 ± 0.005) 和核苷酸多样性 (0.0322 ± 0.0013)。分子方差分析 (AMOVA) 表明, 50.99% 的变异存在于种群间, 49.01% 的变异发生在种群内。群体间遗传分化固定指数 (F_{st})、基因流 (N_m) 及遗传距离分析表明, 里氏拟石磺已明显分化为显著的遗传结构。遗传距离模式 (IBD) 检测显示, 里氏拟石磺群体的遗传距离与地理距离之间不存在明显的线性关系。历史动态检验推断, 湛江 (ZJ)、苍南 (CN)、东寨港 (HN)、文昌 (WC) 及普吉岛 (TH) 种群可能经历过历史上的种群扩张事件。中国沿海群体扩张时间推测大约为 0.781 ~ 0.725 Ma BP, 泰国普吉岛群体约为 0.035 Ma BP, 两者可能伴随更新世冰期的气候变暖、冰川消融和海平面上升等现象发生。

关键词: 里氏拟石磺; 细胞色素 c 氧化酶亚基 I (*CO I*); 遗传结构; 中国; 泰国

中图分类号: Q 347; S 932.4

文献标志码: A

石磺科 (Onchidiidae) 属软体动物门 (Mollusca)、腹足纲 (Gastropoda)、有肺亚纲 (Pulmonata)、缩眼目 (Systellomatophora)^[1], 为栖息于滩涂及红树林地区的一群潮间带和潮上带贝类, 广泛分布于除极地外的世界各地, 包含 100 多个物种^[2]。石磺科贝类被认为是软体动物中水生到陆生的过渡物种, 不仅具有重要的科研价值, 而且具有很高的营养和药用价值^[3-5]。

近年来, 海洋生物遗传结构的研究引起人们巨大的兴趣, 它不仅为生物进化的研究提供基础数据支持, 还对海洋生物的合理开采及管理措施的实施提供指导^[6-7]。海洋软体动物遗传结构的研究已广泛受到关注, 其中, 包括蛤类、扇贝及贻贝等^[8-11]。2012 年, Marín 等^[12] 利用线粒体和核基因分析了秘鲁海岸 3 个地区 (城市湾、萨曼库湾及委内瑞拉湾) 的紫扇贝的遗传结构, 发现紫扇贝种群整体的遗传多样性较高, 线粒体 DNA 数据分析未发现显著的遗

传结构, 而核基因数据显示出种群间遗传结构的存 在, 其主要的变异发生在委内瑞拉湾群体。Prasankok 等^[13] 在对泰国和马来西亚陆生有肺蜗牛 (*Cryptozonia siamensis*) 的遗传结构分析中, 未发现明显的遗传结构, 样本间遗传变异较低, 并证明不存在显著的遗传距离。最近, 关于中国沿海软体动物遗传结构研究中却发现有明显遗传结构的存 在^[14-16], 而有关里氏拟石磺 (*Paraoncidium reevesii*) 的遗传结构及遗传多样性研究至今未见报道。

线粒体 DNA 具有母系遗传, 几乎不发生重组等特征, 在反映种群内和种群间遗传变异方面具有独特的优势, 已被广泛地用于探讨种群遗传结构或有机体变异历史^[17-18]。本实验通过对里氏拟石磺的 *CO I* 基因进行测序分析, 旨在对其遗传多样性、遗传结构及其成因进行探讨, 同时也为该物种的资源保护和合理开发利用提供理论依据。

收稿日期: 2013-07-15 修回日期: 2013-11-04

资助项目: 国家自然科学基金项目 (30972259, 41276157)

通信作者: 沈和定, E-mail: hdshen@shou.edu.cn

1 材料与方

1.1 实验材料

实验样本采自中国沿海及泰国普吉岛 8 个地区,共计 171 个个体,其中福建宁德(ND) 10 个、

广东湛江(ZJ) 30 个、广西北海(BH) 28 个、广西东兴(DX) 25 个、海南东寨港(HN) 12 个、海南文昌(WC) 15 个、泰国普吉岛(TH) 20 个、浙江苍南(CN) 31 个(表 1)。所有样本经鉴定后均保存于 75% 无水乙醇并置于 4 °C 冰箱中备用。

表 1 不同群体里氏拟石磺的遗传多样性参数及中性检验

Tab. 1 Neutrality tests and parameters of genetic diversity from *P. reevesii* populations

群体 population	经纬度 coordinates	样本数量 sample size	单倍 型数 N_h	多态 位点数 N_s	单倍型 多样性 h	核苷酸 多样性 π	中性检验 neutrality test	
							Tajima's D	Fu's F_s
福建宁德(ND)	26°54'N, 120°05'E	10	10	54	1.000 ± 0.045	0.023 2 ± 0.008 1	-1.396 6	-2.654 1
广东湛江(ZJ)	21°02'N, 110°06'E	30	22	26	0.956 ± 0.027	0.009 0 ± 0.000 5	-0.695 5	-12.600 8**
广西北海(BH)	21°33'N, 109°24'E	28	21	58	0.958 ± 0.025	0.030 5 ± 0.003 6	0.766 3	-1.609 6
广西东兴(DX)	21°32'N, 107°58'E	25	19	63	0.970 ± 0.022	0.030 2 ± 0.004 0	0.239 6	-1.972 7
海南东寨港(HN)	19°59'N, 110°34'E	12	11	32	0.985 ± 0.040	0.016 5 ± 0.002 5	-0.389 5	-2.966 0*
海南文昌(WC)	19°34'N, 110°47'E	15	14	50	0.990 ± 0.028	0.017 2 ± 0.004 9	-1.484 2	-4.959 8*
泰国普吉岛(TH)	07°59'N, 098°21'E	20	8	10	0.589 ± 0.130	0.001 7 ± 0.000 6	-2.256 3**	-5.024 6*
浙江苍南(CN)	27°22'N, 120°29'E	31	22	37	0.955 ± 0.024	0.010 7 ± 0.001 0	-1.177 9	-10.136 4**

注: * 表示显著性水平 $P < 0.05$, ** 表示显著性水平 $P < 0.01$

Notes: * indicated significance $P < 0.05$, ** indicated significance $P < 0.01$

1.2 实验方法

基因组 DNA 提取 基因组 DNA 的提取采用传统的酚-氯仿抽提的方法^[19]。

PCR 扩增与测序 采用通用引物 LCO I 1 490: 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' 和 HCO I 2 198: 5'-TAAACTTCAGGGTGAC-CAAAAAATCA-3' 扩增 CO I 基因^[20]。引物由生工生物(上海)公司合成。PCR 反应体系为 50 μ L, 包括上下游引物各 1 μ L、模板 DNA 1 μ L、2 × Taq PCR Master Mix 25 μ L 和去离子水 22 μ L。反应条件: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 30 s, 54 °C 30 s, 72 °C 30 s, 共 30 个循环; 72 °C 延伸 8 min。PCR 产物经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测后送美吉生物医药科技(上海)有限公司测序。

数据分析 测序结果在 NCBI 上分析比对后,用 Clustal X 1.83^[21] 软件进行编辑、校对和排序,并辅以手工校正。MEGA 5.0^[22] 软件统计序列的平均碱基组成和基因交流值,并根据 Kimura 双参数模型计算各群体间的遗传距离和基因交流值。用 DnaSP 5.10^[23] 软件确定所测序列的单倍型,统计多态位点数、单倍型数以及计算单倍型多样性和核苷酸多样性。不配对分布分析和 Tajima's D 、Fu's F_s 两种中性假说检验均采用 Arlequin 3.5^[24] 软件进行。利用软件 Arlequin 3.5 中的分子方差分析(AMOVA)计算群体间、群

体内的遗传分化及 F_{st} 值。SAMOVA 1.0^[25] 软件对群体遗传结构进行检测分析。用 IBDWS^[26] 软件中的 Mantel 检测评估里氏拟石磺群体的遗传距离和地理距离的相关性。

2 结果

2.1 遗传多样性分析

对来自 8 个里氏拟石磺群体的 171 个个体的 CO I 序列进行测定,经编辑和比对后,获得了 1 个长度为 587 bp 的同源序列,经 MEGA 5.0 软件分析,该群体平均 T、C、A、G 碱基含量分别为 38.0%、15.3%、25.3% 和 21.3%, A + T 的含量(63.3%)明显高于 G + C 的含量(36.7%)。171 个个体共检测到 117 个变异位点,其中单变异位点 42 个,简约信息位点 75 个,这些变异在 171 个个体中共确定了 101 个单倍型。群体间共享单倍型 14 个,仅占单倍型总数的 13.9%,其余单倍型均为某个群体所特有。其中, Hap4 和 Hap6 为 6 个群体所共有,拥有的频次最高。里氏拟石磺的平均单倍型多样性指数为 0.974 ± 0.005,平均核苷酸多样性指数为 0.032 2 ± 0.001 3,各群体的单倍型多样性指数和核苷酸多样性指数分别达 0.589 ~ 1.000, 0.001 7 ~ 0.030 5,东兴(DX) 群体具有较高的核苷酸多样性和单倍型多样性,而泰国普吉岛(TH) 群体核苷酸多样性指数和单倍型

多样性指数均为最低(表 1)。

2.2 种群遗传结构分析

AMOVA 分析表明:50.99% 的遗传变异存在于种群间,49.01% 的变异发生在群体内(表 2),平均 F_{st} 值是 0.509 9 ($P < 0.01$)。群体间遗传分化固定指数(F_{st})和基因流(N_m)分析显示(表 3,表 4),TH 群体与其他群体之间具有最高的固定指数(0.545 1~0.892 4)和最小的基因流($N_m < 0.5$);其次位于广西的北海(BH)和东兴(DX)群体与其他群体间也存在相对明显的固定指数和较小的基因流,但两群体之间却存在较明显的基因流($N_m = 76.42$),此外,东寨港(HN)群体与各群

体间也具有相对低的基因流和高的 F_{st} 。群体间遗传距离显示(表 4),TH 群体与中国沿海里氏拟石磺群体遗传距离较远(0.040 5~0.060 9),其次是位于中国沿海的 BH 和 DX 群体与各群体的遗传距离也相对较远,均大于 0.04。可见,TH、BH 和 DX 群体与其它群体分化明显,进一步的 SAMOVA 也显示,群体划分为 3 类群时,其 F_{ct} 最大,为 0.601 3,即 TH 群体为一类群,中国沿海的 BH 和 DX 群体分化为一类群,其余 5 个群体为一类群。所有里氏拟石磺群体和中国沿海群体分别进行 IBD 分析显示,每一组均不存在显著的距离遗传模式(图 1)。

表 2 里氏拟石磺群体差异的 AMOVA 分析

Tab. 2 Analysis of molecular variance (AMOVA) among populations of *P. reevesii*

变异来源 source of variation	自由度 df	平方和 sum of squares	方差组分 variance of components	变异百分比/% variation	固定指数 fixation indices	<i>P</i>
群体间 among populations	7	836.724	5.450 1Va	50.99		
群体内 within populations	163	835.993	5.239 2Vb	49.01	$F_{st}: 0.509 9$	<0.01

表 3 里氏拟石磺两两群体间的遗传分化固定指数 (F_{st})

Tab. 3 The fixation index (F_{st}) between every two populations of *P. reevesii*

群体 population	ND	ZJ	BH	DX	HN	WC	TH	CN
ND	0.000 0							
ZJ	0.080 6	0.000 0						
BH	0.342 9*	0.515 0**	0.000 0					
DX	0.358 0	0.532 5**	-0.032 9	0.000 0				
HN	0.135 3*	0.155 9**	0.461 8*	0.471 2*	0.000 0			
WC	0.002 3	-0.010 2	0.390 1*	0.402 8**	0.064 2	0.000 0		
TH	0.826 4**	0.892 4*	0.545 1**	0.564 1**	0.878 6*	0.847 0**	0.000 0	
CN	0.090 2*	0.005 5	0.506 6**	0.520 8**	0.110 6*	0.006 3	0.874 5*	0.000 0

注: * 表示显著性水平 $P < 0.05$, ** 表示显著性水平 $P < 0.01$

Notes: * indicated significance $P < 0.05$. ** indicated significance $P < 0.01$

表 4 里氏拟石磺各群体间的 N_m (右上角)和基于 Kimura 双参数模型各群体之间遗传距离(左下角)

Tab. 4 The gene flow (N_m) among *P. reevesii* populations (above the diagonal) and genetic distance of each population calculated based on Kimura 2-parameter model (below the diagonal)

群体 population	ND	ZJ	BH	DX	HN	WC	TH	CN
ND		4.080 0	1.050 0	0.930 0	1.860 0	5.510 0	0.110 0	3.890 0
ZJ	0.017 3 ± 0.002 8		0.450 0	0.420 0	2.420 0	13.300 0	0.060 0	12.670 0
BH	0.044 1 ± 0.006 2	0.042 0 ± 0.006 3		76.420 0	0.630 0	0.780 0	0.390 0	0.470 0
DX	0.044 7 ± 0.006 2	0.042 3 ± 0.006 3	0.030 9 ± 0.004 4		0.580 0	0.710 0	0.360 0	0.450 0
HN	0.023 6 ± 0.003 7	0.014 8 ± 0.002 9	0.048 4 ± 0.006 6	0.048 5 ± 0.006 7		3.290 0	0.070 0	3.280 0
WC	0.020 9 ± 0.003 1	0.013 1 ± 0.002 6	0.042 4 ± 0.006 2	0.042 7 ± 0.006 3	0.018 4 ± 0.003 1		0.090 0	9.710 0
TH	0.054 9 ± 0.008 9	0.056 5 ± 0.009 6	0.040 5 ± 0.006 5	0.040 7 ± 0.006 7	0.060 9 ± 0.009 7	0.056 4 ± 0.009 3		0.080 0
CN	0.018 4 ± 0.003 0	0.010 0 ± 0.002 4	0.042 8 ± 0.006 3	0.043 0 ± 0.006 3	0.015 2 ± 0.002 9	0.014 2 ± 0.002 6	0.056 9 ± 0.009 6	

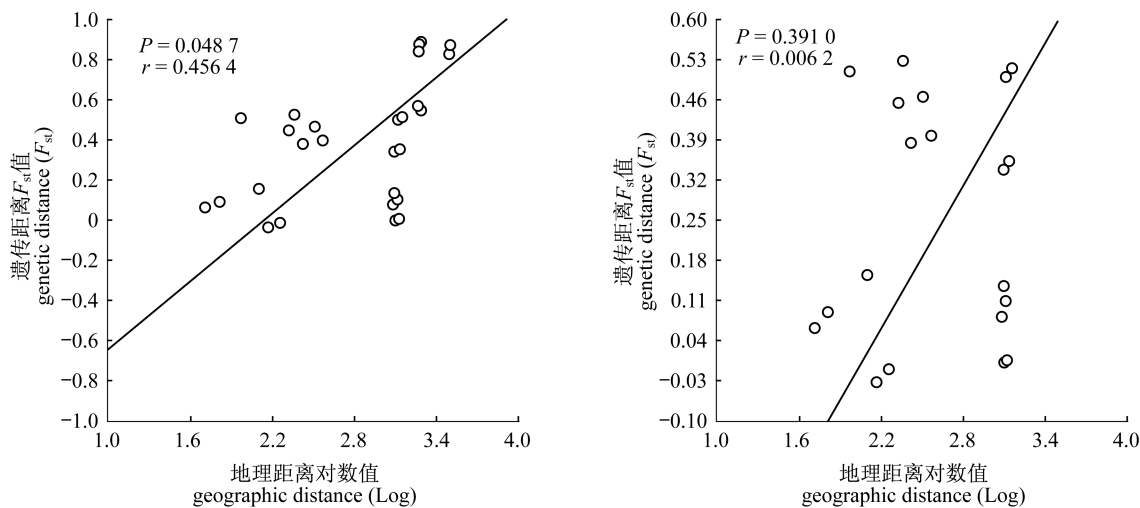


图1 两组里氏拟石磺群体的IBD分析

(左)所有群体;(右)中国沿海群体(除去TH)

Fig.1 IBD plots for two groupings of *P. reevesii* populations

(Left) The whole populations; (Right) Chinese populations (except TH)

2.3 种群历史动态和中性检验

采用核苷酸不配对分布 (mismatch distribution) 分析里氏拟石磺群体的历史动态, 结果表明, 5 个种群 (ZJ、HN、WC、TH、CN) 的核苷酸不配对分布呈单峰状, 与种群扩张模式下的期望分布吻合较好 (图 2), 表明该类群可能经历过历史上种群扩张。这些群体的 F_u' s F_s 的中性检验均为显著负值, 其中 TH 群体 Tajima's D 和 F_u' s F_s 两检验均具有显著负性^[27-29], 故 Tajima's D 和 F_u' s F_s 的中性检验也支持不配对分析结果。根据公式 $T = t \times$ 世代时间, $t = \tau/2M\mu$, $CO I$ 基因的进化速率设为 1% 每百万年^[30]。各群体 τ 值由 AMOVA 分析得出, 经调查显示, 里氏拟石磺的性成熟约为 1 年, 由此推断, 中国沿海里氏拟石磺群体扩张时间大约在 0.781 ~ 0.725 Ma BP, 泰国群体扩张时间大约为 0.035 Ma BP。

3 讨论

3.1 种群遗传多样性

遗传多样性是生物多样性形成的基础, 一般而言, 物种遗传多样性的高低与其适应环境的能力以及进化潜力密切相关。遗传多样性的降低或丧失, 对于生活在多变环境中的野生群体是一个极大的威胁。本实验测定的 171 个个体共获得了 101 个单倍型, 除 57 个个体有共享单倍型外, 其余 114 个样本均一一对应惟一的单倍型, 单倍型多样性达 0.974 ± 0.005 , 核苷酸多样性为

0.0322 ± 0.0013 , 表现出非常丰富的遗传多样性。遗传多样性较高的原因, 作者推测可能为里氏拟石磺分布范围较广, 广阔的生境使其自然选择压力较小, 从而比一些狭布种积累较多的遗传变异获得更高的遗传多样性^[31]; 该物种性成熟早, 世代时间短, 资源更新及恢复力强, 从而也有利于其保持较高的遗传变异^[32]。

3.2 种群遗传结构及历史动态

Balloux 等^[33]指出 F_{st} 在 0 ~ 0.05 时, 群体间无遗传分化; 在 0.05 ~ 0.15 时, 群体间存在中等程度的遗传分化; 在 0.15 ~ 0.25 时, 存在较大的遗传分化; $F_{st} > 0.25$ 时, 表示群体间遗传分化极大, Kartavtsev 等^[34]提出 $CO I$ 基因遗传距离在同种群间为 $0.55\% \pm 0.19\%$, 而在有生殖隔离的近似种间为 $4.91\% \pm 0.83\%$, TH 群体以及位于广西的 BH、DX 群体与其他群体间 F_{st} 值均大于 0.25, 遗传距离均大于 0.04。Wright^[35]认为 $N_m < 1$ 时, 基因流不足以抵制群体间的遗传漂变, 导致群体间差异产生, 同样对于 TH、DX、BH 群体与其余群体而言, 基因流受到严格限制, 均小于 1, 由此可见, TH 群体与中国沿海各群体间差异较为显著, 甚至达到了生殖隔离的水平; 其次, BH 和 DX 群体与中国其他地区群体之间也存在明显的分化现象。SAMOVA 分析进一步证实, 里氏拟石磺群体可分为 3 大支系结构: TH 群体为一大支系; 中国沿海 BH 和 DX 群体为一支系; 其余 5 大群体 (CN、WC、ND、HN、ZJ) 为一支系。形

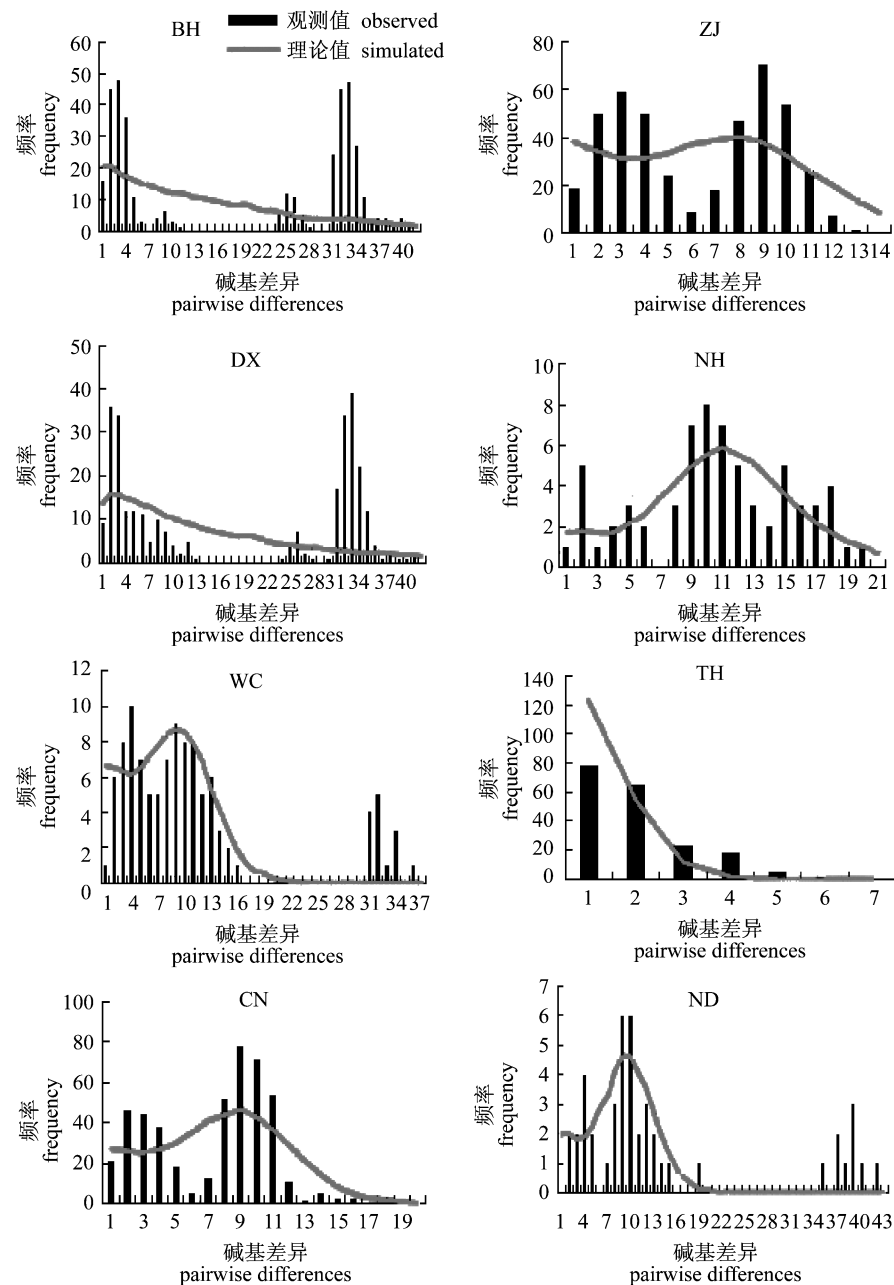


图 2 里氏拟石磺各群体的失配分析

Fig. 2 Mismatch distribution of *P. reevesii* population

成这种地理格局的原因, Mantel 检验表明群体间分化与地理距离没有显著的相关性, 不符合距离隔离模型, 为此推断, 位于印度洋安达曼海东北部的 TH 群体与位于中国沿海地区的群体属于异域分布类群, 由于受到长时间的地理隔离, 有效基因交流受到限制, 从而导致群体间存在高度的遗传分化, 同样位于东南亚的许多脊椎动物, 无脊椎动物中也检测到存在印度洋与太平洋之间的系统地理学隔离^[17,36-37]。而对于同域分布的中国沿海

的广西群体与其他群体间分化的产生, 其主要原因很可能是由于北部湾海域与中国其它海域相比处于一个较封闭的环境, 且里氏拟石磺浮游幼虫期只有 10 d 左右, 自然水流的作用导致基因交流的机会甚微, 更促使群体间分化的产生, 这与路心平等^[38]采用 *CO I* 基因对中国东南沿海拟穴青蟹种群遗传结构研究中, 位于北部湾的群体与其它海域的种群个体基因交流较少的结果一致。

大量研究表明, 现存海洋生物的种群结构很大

程度上受到以往地理历史事件的影响,特别是更新世以来,地球经历了冰期与间冰期的气候变化,由此引起的全球性海域面积胀缩是现今许多海洋物种遗传变异和种群结构形成的原因^[39-40]。在西北太平洋,冰期引起的海平面变化剧烈,在冰盛期,海平面大约下降 120 ~ 140 m,台湾海峡形成陆桥,台湾岛与亚洲大陆相连致使南海与东海完全隔离^[41]。本实验研究发现,中国沿海里氏拟石磺群体种群扩张时间在 0.781 ~ 0.725 Ma BP,而 TH 群体扩张时间晚于中国群体,约 0.035 Ma BP,均在更新世(2 588 000 ~ 11 700 a)。因此,本实验推断大范围的周期性的海陆变迁对海水温度,海岸栖息地等产生了很大的影响,极可能会波及到南海区域,里氏拟石磺群体极可能受其影响,例如海水温度的影响。沈和定等^[42]研究发现当水温低于 23 °C 时石磺胚胎便停止发育,伴随着间冰期的冰川消融,气候变换,发生种群扩张,这在中国南海大陆架的鳐(*Chelon haematocheilus*)群体中也检测到更新世群体扩张事件^[43]。CO I 序列标记分析反映了里氏拟石磺存在着较丰富的遗传多样性,已形成了明显的遗传结构,预示着里氏拟石磺具有相对高的生态适应性和进化潜能。同时,中国沿海里氏拟石磺群体也存在遗传分化,特别是广西与其他群体分化尤其显著,因此在今后的保护和管理中需区别对待。

参考文献:

- [1] Bouchet P, Rocroi J P. Classification and nomenclator of gastropod families [J]. *Malacologia*, 2005, 47 (1 - 2): 1 - 97.
- [2] Shen H D, Li K, Chen H C, *et al.* Experimental ecology and hibernation of *Onchidium struma* (Gastropoda: Pulmonata: Systellommatophora) [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2011, 396 (2): 71 - 76.
- [3] Huang J T, Shen B P, Wang Z S. The observation on ecological habits of *Onchidium struma* [J]. *Marine Fisheries*, 2004, 26 (2): 103 - 109. [黄金田, 沈伯平, 王资生. 瘤背石磺的生态习性观察. *海洋渔业*, 2004, 26 (2): 103 - 109.]
- [4] Shen H D, Li J L, Zhang H R. Biology characteristics and enhancement foreground of *Onchidium verruculatum* Cuvier [J]. *China Fisheries*, 2004 (1): 60 - 63. [沈和定, 李家乐, 张缓溶. 石磺的生物学特性及其增养殖前景分析. *中国水产*, 2004 (1): 60 - 63.]
- [5] Shen H D, Chen H C, Chen X L, *et al.* Preliminary studies on the absorption rates and the feeding effects of different diets on sea-slug *Onchidium* sp [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2004, 13 (4): 293 - 297. [沈和定, 陈汉春, 陈贤龙, 等. 几种饲料对石磺的暂养效果及其消化率的初步研究. *上海水产大学学报*, 2004, 13 (4): 293 - 297.]
- [6] Roldán M I, Perrotta R G, Cortey M, *et al.* Molecular and morphologic approaches to discrimination of variability patterns in chub mackerel, *Scomber japonicus* [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2000, 253 (1): 63 - 74.
- [7] Tudela S, Garcia-Marín J, Pla C. Genetic structure of the European anchovy, *Engraulis encrasicolus* L., in the north-west Mediterranean [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1999, 234 (1): 95 - 109.
- [8] Luttkhuizen P C, Drent J, Baker A J. Disjunct distribution of highly diverged mitochondrial lineage clade and population subdivision in a marine bivalve with pelagic larval dispersal [J]. *Molecular Ecology*, 2003, 12 (8): 2215 - 2229.
- [9] Ni L H, Li Q, Kong L F. Microsatellites reveal fine-scale genetic structure of the Chinese surf clam *Macra chinensis* (Mollusca, Bivalvia, Mactridae) in Northern China [J]. *Marine Ecology*, 2011, 32 (4): 488 - 497.
- [10] Ridgway G. Interpopulation variation in blue mussels, *Mytilus edulis* L., over short distances [J]. *Sarsia*, 2001, 86 (2): 157 - 161.
- [11] Zhan A B, Hu J J, Hu X L, *et al.* Fine-scale population genetic structure of Zhikong scallop (*Chlamys farreri*): do local marine currents drive geographical differentiation? [J]. *Marine Biotechnology*, 2009, 11 (2): 223 - 235.
- [12] Marín A, Fujimoto T, Arai K. Genetic structure of the Peruvian scallop *Argopecten purpuratus* inferred from mitochondrial and nuclear DNA variation [J]. *Marine Genomics*, 2013, 9: 1 - 8.
- [13] Prasankok P, Panha S. Genetic structure of the common terrestrial pulmonate snail, *Cryptozona siamensis* (Pfeiffer, 1856), in Thailand [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2011, 39 (4): 449 - 457.
- [14] Niu D H, Chen H, Wang S L, *et al.* Population genetic structure of *Sinonovacula constricta* along the coast of China [J]. *Chinese Journal of Zoology*,

- 2010,45(2):11-18. [牛东红,陈慧,王树亮,等. 我国沿海缢蛏群体遗传结构的 mtDNA-*CO I* 分析. 动物学杂志,2010,45(2):11-18.]
- [15] Niu D H, Feng B B, Liu D B, *et al.* Microsatellites and mitochondrial *CO I* analysis of population genetic structure of *Sinonovacula constricta* along the coast of Zhejiang and Fujian Provinces [J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(12):1805-1813. [牛东红,冯冰冰,刘达博,等. 浙闽沿海缢蛏群体遗传结构的微卫星和线粒体 *CO I* 序列分析. 水产学报,2011,35(12):1805-1813.]
- [16] Liu X, Sun X S, Gao Y M, *et al.* Genetic structure and variation in *Meretrix meretrix* from Northern China [J]. Fisheries Science, 2006, 25(4):179-183. [刘馨,孙祥山,高悦勉. 文蛤北方种群生化遗传结构与变异的研究. 水产科学,2006,25(4):179-183.]
- [17] Avise J C. Phylogeography: The history and formation of species [M]. Cambridge: Harvard University Press, 2000:20-147.
- [18] Liu Z J, Cordes J F. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics [J]. Aquaculture, 2004, 238(1):1-37.
- [19] Sam Brooke, Larsell. Guide to molecular cloning [M]. Huang P T, translate. Beijing: Science Press, 2005:8. [萨姆布鲁克,黄培堂(译). 分子克隆实验指南. 北京:科学出版社,2005:8.]
- [20] Folmer O, Black M, Hoeh W, *et al.* DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates [J]. Molecular marine biology and biotechnology, 1994, 3(5):294-299.
- [21] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, *et al.* The Clustal X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. Nucleic Acids Research, 1997, 25(24):876-4882.
- [22] Tamura K, Peterson D, Peterson N, *et al.* MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. Molecular Biology and Evolution, 2011, 28(10):2731-2739.
- [23] Librado P, Rozas J. DnaSPv5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. Bioinformatics, 2009, 25(11):1451-1452.
- [24] Excoffier L, Lischer H E L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows [J]. Molecular Ecology Resources, 2010, 10(3):564-567.
- [25] Dupanloup I, Schneider S, Excoffier L. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations [J]. Molecular Ecology, 2002, 11(12):2571-2581.
- [26] Jensen J L, Bohonak A J, Kelley S T. Isolation by distance, web service [J]. BMC genetics, 2005, 6(1):13.
- [27] Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism [J]. Genetics, 1989, 123(3):585-595.
- [28] Fu Y X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection [J]. Genetics, 1997, 147(2):915-925.
- [29] Rogers A R, Harpending H. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences [J]. Molecular Biology and Evolution, 1992, 9(3):552-569.
- [30] Meyer C P, Geller J B, Paulay G. Fine scale endemism on coral reefs: Archipelagic differentiation in turbinid gastropods [J]. Evolution, 2005, 59(1):113-125.
- [31] Qian Y Q, Ma K P. The principles and methods of biodiversity research [M]. Beijing: Science Press, 1994:141-165. [钱迎倩,马克平. 生物多样性研究的原理方法. 北京:科学出版社,1994:141-165.]
- [32] Frankham R. Relationship of genetic variation to population size in wildlife [J]. Conservation Biology, 1996, 10(6):1500-1508.
- [33] Balloux F, Lugon-Moulin N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers [J]. Molecular Ecology, 2002, 11(2):155-165.
- [34] Kartavtsev Y P, Lee J S. Analysis of nucleotide diversity at the cytochrome b and cytochrome oxidase I genes at the population, species, and genus levels [J]. Russian Journal of Genetics, 2006, 42(4):41-362.
- [35] Wright S. Evolution in Mendelian populations [J]. Genetics, 1931, 16(2):97-159.
- [36] Mcmillan W O, Palumbi S R. Concordant evolutionary patterns among Indo-West Pacific butterflyfishes [J]. Proceedings of the Royal Society of London-Series B: Biological Sciences, 1995, 260(1358):229-236.
- [37] Chenoweth S F, Hughes J M, Keenan C P, *et al.* When oceans meet: A teleost shows secondary intergradation at an Indian-Pacific interface [J].

- Proceedings of the Royal Society of London-Series B: Biological Sciences, 1998, 265(1394): 415 – 420.
- [38] Lu X P, Ma L B, Qiao Z G, *et al.* Population genetic structure of *Scylla paramamosain* from the coast of the Southeastern China based on mtDNA COI sequences [J]. Journal of Fisheries of China, 2009, 33(1): 15 – 23. [路心平, 马凌波, 乔镇国, 等. DNA 标记分析中国东南沿海拟穴青蟹种群遗传结构. 水产学报, 2009, 33(1): 15 – 23.]
- [39] Hearty P J, Hollin J T, Neumann A C, *et al.* Global sea-level fluctuations during the Last Interglacial (MIS 5e) [J]. Quaternary Science Reviews, 2007, 26(17): 2090 – 2112.
- [40] Liu J X, Gao T X, Yokogawa K, *et al.* Differential population structuring and demographic history of two closely related fish species, Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) and spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) in Northwestern Pacific [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2006, 39(3): 799 – 811.
- [41] Lambeck K, Esat T M, Potter E K. Links between climate and sea levels for the past three million years [J]. Nature, 2002, 419: 199 – 206.
- [42] Shen H D, Chen X L, Chen H C, *et al.* Effects of water temperature on embryonic development of *Onchidium* sp. [J]. Journal of Fisheries of China, 2005, 29(6): 776 – 782. [沈和定, 陈贤龙, 陈汉春, 等. 水温对石磺胚胎发育的影响. 水产学报, 2005, 29(6): 776 – 782.]
- [43] Liu J X, Gao T X, Wu S F, *et al.* Pleistocene isolation in the Northwestern Pacific marginal seas and limited dispersal in a marine fish, *Chelon haematocheilus* (Temminck & Schlegel, 1845) [J]. Molecular Ecology, 2007, 16(2): 275 – 288.

Genetic structure and variation of *Paraoncidium reevesii* from the coastal area of China and Phuket Island of Thailand based on mtCO I

ZHOU Na, SHEN Heding*, CHEN Cheng

(College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The genetic diversity and population genetic structure of *Paraoncidium reevesii* were investigated using mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (CO I) gene sequences. A total of 171 individuals representing 8 collection sites were included in the analysis. Overall, 101 haplotypes were defined and 117 polymorphic sites were observed. The *P. reevesii* populations had high haplotype diversity (0.974 ± 0.005) and nucleotide diversity (0.0322 ± 0.0013). The AMOVA test of *P. reevesii* populations based on haplotype frequencies revealed that 49.01% of the genetic variation occurred within the populations, whereas 50.99% of the genetic variation occurred among populations. Pairwise fixation index (F_{st}), gene flow (N_m) and IBD analysis indicated significant genetic structure have appeared in *P. reevesii* populations. Demographic analyses indicated populations ZJ, CN, HN, WC and TH might have experienced population expansion, and the time of expansion of Chinese populations could be 0.781 – 0.725 Ma BP, whereas the time of expansion of population TH could be 0.035 Ma BP. The phenomenon might occur in Pleistocene period with melting of glaciers, changes of climate warming and rising of sea level.

Key words: *Paraoncidium reevesii*; cytochrome c oxidase subunit I (CO I); genetic structure; China; Thailand

Corresponding author: SHEN Heding. E-mail: hdshen@shou.edu.cn