

DOI: 10.12264/JFSC2023-0342

基于 CO I 和 16S rRNA 基因序列分析与比较中国沿海 7 个脊尾白虾群体的遗传多样性

袁杭洋, 周万铠, 郑泽延, 林国锡, 徐永健

宁波大学海洋学院, 浙江 宁波, 315832

摘要: 脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)作为我国沿海特有经济虾类之一, 具有繁殖能力强、环境适应能力强、生长周期快等生物学优点。为探究我国沿海脊尾白虾不同地理群体的遗传变异状况, 采用 PCR 产物纯化测序方法, 分别测定了两个空间序列, 包括小尺度序列(浙北、浙中、浙南)和大尺度序列[渤海、黄海、东海(浙江)、东海(福建)及南海], 共 7 个野生群体总计 210 个脊尾白虾样品的 CO I 和 16S rRNA 基因序列。获得了长度为 515 bp 的 CO I 基因序列, 其 A+T 含量为 58.65%; 获得了长度为 520 bp 的 16S rRNA 基因序列, 其 A+T 含量为 62.02%。CO I 与 16S rRNA 基因序列分析结果一致, 黄海群体的遗传多样性最高, 南海群体的遗传多样性最低。AMOVA 结果分析也一致, 群体内的遗传变异大于群体间的遗传变异。两个基因序列分析的不同在于: CO I 基因序列分析共检测到有 63 个变异位点, 单倍型多样性(Hd)为 0.353~0.809, 核苷酸多样性 Pi 为 0.00140~0.00497; 16S rRNA 基因序列分析共检测到有 41 个变异位点, 单倍型多样性(Hd)为 0.265~0.801, 核苷酸多样性(Pi)为 0.00102~0.00403。结论认为, CO I 基因的变异更大, 可以分辨更小尺度空间序列上的样本间的遗传差异。本研究结果可为脊尾白虾种质资源保护提供基础数据。

关键词: 脊尾白虾; CO I; 16S rRNA; 遗传多样性; 空间序列

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2024)02-0165-12

脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)广泛分布于我国沿海, 为我国三大土著经济虾类之一^[1]。与其他虾类相比, 脊尾白虾具有繁殖能力强、环境适应能力强、生长周期快等优点^[2]。随着我国脊尾白虾人工养殖面积的不断扩大, 不同地区间虾的基因交流有所增加, 但养殖规模和环境情况的变化仍导致脊尾白虾群体遗传多样性降低、优质种质性状退化等问题出现^[3]。因此, 遗传多样性现状研究对于开展脊尾白虾人工养殖工作和野生资源保护具有重要的意义。

线粒体 DNA 作为一种普遍存在于真核生物线粒体中可遗传物质, 已经成为研究物种起源及其分化、近缘种、亚种以及不同地理种群之间亲

缘关系, 群体遗传结构及分化分析等问题的重要手段^[4]。其中的 16S rRNA 基因片段, 既含有保守序列也含有可变序列, 常利用其保守序列设计引物进行 PCR 扩增, 而被应用于遗传多样性研究^[5]。周发林等^[6]曾对中国南海海域 5 个野生斑节对虾(*Penaeus monodon*)群体分析 16S rRNA 序列比较了它们的亲缘关系, 获得了较好的结果。CO I 基因也是线粒体 DNA 上的一段序列片段。该基因表达的 CO I 是线粒体呼吸链中的一个关键酶复合物, 参与细胞内能量产生过程^[7]。CO I 基因的序列变异也常被用于动植物的种群遗传学和物种鉴定研究。因为它既具有高度保守性, 又存在足够的变异性, 可以用于区分不同物种和相关物种^[8]。

收稿日期: 2023-12-19; 修订日期: 2024-01-14。

基金项目: 宁波市自然科学基金项目(2022A610282); 宁波大学‘海洋生物技术与海洋工程’学科群专项研究基因(422004582); 三门县农业农村局重点科技攻关项目(三招采-2021-GK135 号; 建科三-2023-006 号)。

作者简介: 袁杭洋(1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向为脊尾白虾养殖技术优化。E-mail: 584443120@qq.com

通信作者: 徐永健, 教授, 博士生导师, 研究方向为精准养殖技术研究。E-mail: xuyongjian@nbu.edu.cn

被 Gintis^[9]认为可以用作识别物种的 DNA 条形码。马朋等^[10]曾对 3 个脊尾白虾野生群体的 CO I 基因序列进行比较分析,证实 CO I 基因序列能反应脊尾白虾不同群体间的遗传多样性和遗传分化程度。但较少研究涉及同时采用两个基因片段进行遗传多样性分析和比较,戴艳菊等^[11]曾采用 CO I 和 16S rRNA 分析了 16 个三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)样本,研究发现相比含 4 个变异位点和 5 种单倍型的 CO I 基因,含 1 个变异位点和 2 种单倍型的 16S rRNA 基因明显保守,也证实两个方法所得的遗传分化结果会出现差异。另外,从本研究的预实验结果看,样本来源(采样地点的间隔距离)也应该会影响到分析的结果。这一方面前人工作鲜有涉及。

本研究在前人工作的基础上,采集了我国沿海两个空间序列的 7 个脊尾白虾野生群体样本,提取线粒体 DNA,分析与比较各群体间的 CO I 和 16S rRNA 基因序列,评估我国脊尾白虾野生群体的遗传多样性及遗传分化状况,并明确分析样本采集的适宜距离大小与遗传变异程度的关系。以期为脊尾白虾群体种质资源的健康发展及遗传育种开发提供基础数据参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

采集我国沿海 7 个脊尾白虾野生群体。以样本采集地的空间间隔距离分为两个比较序列,浙江省内的小尺度空间序列,分别为:浙北(浙江嘉善)、浙中(浙江三门)和浙南(浙江平阳);国内的大尺度空间序列,分别为:渤海(河北黄骅)、黄海(江苏连云港)、东海(浙江台州、福建厦门)和南海(广东广州)。脊尾白虾样本的具体采集点、数量见图 1 和表 1。采集的活虾运回实验室,测量相关形态数据后,保存于-80 ℃冰箱备用。

1.2 实验方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取与检测 分别从每个群体中随机选取 30 个个体。每个个体取约 100 mg 腹部肌肉,剪碎放入洁净试管中,并加入 475 μL 组织匀浆缓冲液(10 mmol/L Tris-HCl, pH 8.0; 50 mmol/L EDTA, pH 8.0),充分混匀,再依次加

入终浓度为 10%的 SDS 和 20 μg/mL 蛋白酶 K, 55 ℃ 裂解至澄清,用酚:氯仿(1:1)和氯仿各抽提 1 次。用 NanoDrop 分光光度计测定样品 DNA 的浓度和纯度,-80 ℃保存备用^[12]。

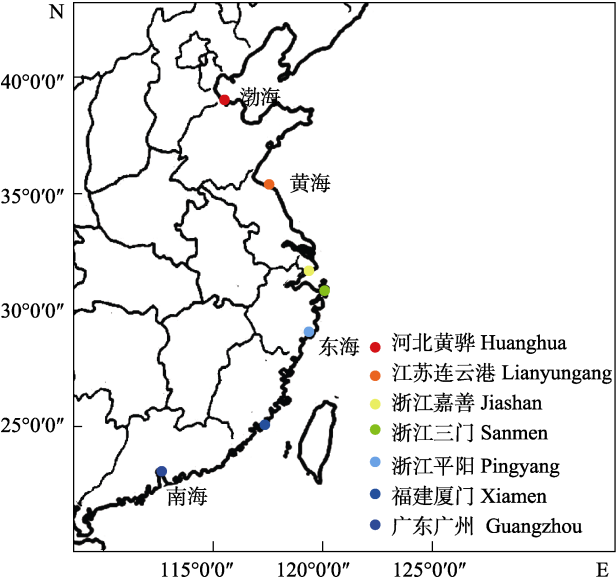


图 1 中国沿海脊尾白虾群体的采样地点
Fig. 1 Sampling sites of *Exopalaemon carinicauda* population off the coast of China

表 1 中国沿海脊尾白虾不同群体样本数、采样地点
Tab. 1 Number of samples and sampling locations of different populations of *Exopalaemon carinicauda* in China.

群体 population	样本数 sample size	采样地点 location	经度/(°E) longitude	纬度/(°N) latitude
浙北 Zhebei	30	浙江嘉善	120.92	30.84
浙中 Zhezong	30	浙江三门	121.39	29.10
浙南 Zhenan	30	浙江平阳	120.78	27.32
渤海 Bohai Sea	30	河北黄骅	117.33	38.41
黄海 Huanghai Sea	30	江苏连云港	119.17	34.60
东海(浙江) East China Sea (Zhejiang)	30	浙江台州	121.39	29.10
东海(福建) East China Sea (Fujian)	30	福建厦门	118.10	24.46
南海 South China Sea	30	广东广州	113.56	22.85

1.2.2 线粒体基因片段扩增 脊尾白虾线粒体 DNA 中的 16S rRNA 和 CO I 基因片段的引物序列参考《中华人民共和国国家标准》GBT35896-2018。其中,

16S rRNA 基因片段扩增的引物序列为:

AR: 5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3'
BR: 5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACG-3'
CO I 基因片段扩增的引物序列为:
L1490: 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'
H2198: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'
两对引物均由上海生工生物工程股份有限公司合成。

PCR 为 20 μL 反应体系: 10 μL 2×Taq Plus Master Mix, 上下游引物各 1 μL 引物(100 μmol/L), 模板 2 μL, ddH₂O 补至 20 μL。PCR 反应程序: 95 ℃ 预变性 5 min; 95 ℃ 变性 45 s, 48 ℃ 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 1 min, 35 个循环; 72 ℃ 延伸 5 min。

PCR 扩增产物经过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 于凝胶成像系统下观察并拍照记录。

将 PCR 产物送往上海生工生物工程股份有限公司, 进行测序。

1.2.3 脊尾白虾线粒体基因数据统计分析 利用 BioEdit 软件将引物扩增引物进行编辑并辅以人工核查, 用 ClustalX 软件多重比对后, 剪切冗余片段备用。将比对的 DNA 序列导入 MEGA7.0^[13] 软件计算基因序列的碱基组成、序列特征、碱基的转换与颠换值, 并在 Kimura's 2-parameter 参数模型下计算不同群体间的遗传距离。用 DNASp5.0 软件计算各个群体线粒体 DNA 的单倍型、单倍型多样性(Hd)、平均核苷酸差异数(K)、核苷酸多态性(Pi)等遗传参数。采用 Arlequin3.1 软件中的分子变异分析方法(AMOVA)估算种群间遗传分化系数(F-statistics, F_{st}), 基因流(Nm)由公式 $Nm=1-F_{st}/4F_{st}$ 计算得出。

2 结果与分析

2.1 脊尾白虾线粒体基因序列分析

实验共提取到了 7 个脊尾白虾野生群体的全基因组 DNA。分别用 2 对引物经 PCR 扩增后, 各得到了 7 个脊尾白虾群体的线粒体 DNA 基因序列片段。通过 BLAST 分析比较, 确认所得片段分别为 16S rRNA 和 CO I 的基因片段。再经 Clutal X 同源排序, 得到了 515 bp 的 CO I 片段和 520 bp 的 16S rRNA 片段。利用 MEGA7.0 软件分别计算各群体 16S rRNA 和 CO I 的碱基组成, 结果见表 2。

表 2 7 个脊尾白虾野生群体的 CO I 和 16S rRNA 基因片段序列碱基组成比较
Tab. 2 Comparisons of the base composition of CO I and 16S rRNA gene fragment sequences among seven wild populations of *Exopalaemon carinicauda* in China %

基因标记 genetic marker	群体来源 population	T	C	A	G	A+T
CO I	浙北 Zhebei	31.5	22.1	27.1	19.3	58.6
	浙中 Zhezhong	31.5	22.1	27.1	19.3	58.6
	浙南 Zhenan	31.6	22.1	27.1	19.2	58.7
	平均值 average value	31.53	22.10	27.10	19.27	58.63
	渤海 Bohai Sea	31.4	22.1	27.3	19.2	58.7
	黄海 Huanghai Sea	31.5	22.1	27.2	19.2	58.7
	东海(浙江) East China Sea (Zhejiang)	31.5	22.1	27.1	19.3	58.6
	东海(福建) East China Sea (Fujian)	31.5	22.1	27.1	19.3	58.6
	南海 South China Sea	31.6	22.1	27.1	19.3	58.7
	平均值 average value	31.51	22.10	27.16	19.26	58.66
16S rRNA	浙北 Zhebei	32.8	20.7	29.3	17.2	62.1
	浙中 Zhezhong	32.9	20.7	29.3	17.1	62.2
	浙南 Zhenan	32.8	20.9	29.0	17.3	61.8
	平均值 average value	32.83	20.77	29.20	17.20	62.03
	渤海 Bohai Sea	32.9	20.7	29.1	17.3	62.0
	黄海 Huanghai Sea	32.8	20.8	29.1	17.3	61.9
	东海(浙江) East China Sea (Zhejiang)	32.9	20.7	29.3	17.1	62.2
	东海(福建) East China Sea (Fujian)	32.9	20.8	29.1	17.2	62.0
	南海 South China Sea	32.8	20.8	29.2	17.2	62.0
	平均值 average value	32.86	20.76	29.16	17.22	62.02

从表中看,脊尾白虾各群体间各种碱基的含量组成基本一致。其中,CO I 基因的 4 种碱基 T、C、A、G 的平均含量分别为 31.51%、21.10%、27.14%、19.26%,其中的 A+T (58.65%)含量明显高于 C+G (41.35%);而 16S rRNA 基因中 T、C、A、G 平均含量分别为 32.86%、20.76%、29.16%、17.22%,其中 A+T 含量达到 62.02%。两个基因都表现出较强的少 G 偏倚性。

比较 2 个空间序列样本:小尺度序列的 CO I 基因的碱基组成,浙北和浙中两样本之间完全一致,浙南样本比前两者的 T 高 1%、G 低 1%,总 A+T 含量也高 1%。大尺度序列的 CO I 基因的碱基组成也略有差异。主要在 A 和 T 的含量上,渤海样本的 T 含量最低、A 最高,南海则相反。小尺度序列的 16S rRNA 基因的碱基组成,浙中样本的 T 比浙北和浙南都高 1%,而浙北的 G 比浙

中和浙南都低;在大尺度序列的 16S rRNA 基因的碱基组成上,其中渤海、东海(浙江)、东海(福建)样本中的 T 含量最高为 32.9%,另外,东海(浙江)样本中的 A 含量最高为 29.3%,而 G 含量最低为 17.1%。总之,脊尾白虾的 16S rRNA 基因片段的 A、T 以及 A+T 含量都要高于其 CO I 基因。

2.2 脊尾白虾群体遗传多样性分析

利用 DNAsp7.0 计算出各脊尾白虾样本的群体遗传多样性参数见表 3。

2.2.1 基于 CO I 基因序列分析 比较 CO I 基因序列发现,我国脊尾白虾的不同群体间存在一定的遗传差距。在 CO I 基因序列中,共检测到 63 个变异位点。基于 7 个脊尾白虾群体 CO I 序列共界定出 43 个单倍型,黄海群体分布的单倍型最多(12 种),南海群体分布的单倍型最少(5 种)。

从小尺度序列看,3 个浙江沿海的脊尾白虾群

表 3 基于 CO I 和 16S rRNA 基因片段的脊尾白虾 7 个群体遗传多样性参数比较
Tab. 3 Comparisons of genetic diversity parameters among seven populations of *Exopalaemon carinicauda* based on CO I and 16S rRNA gene fragment sequences

基因 gene	群体来源 population	单倍型数量 haplotype number	单倍型多样性 Hd haplotype diversity	多态位点数 P polymorphic loci	平均核苷酸差异数 K average number of nucleotide differences	核苷酸多样性指数 Pi nucleotide diversity index
CO I	浙北 Zhebei	8	0.687	10	2.694	0.00431
	浙中 Zhezhong	10	0.761	13	3.103	0.00477
	浙南 Zhenan	7	0.726	10	2.959	0.00455
	渤海 Bohai Sea	6	0.516	9	1.358	0.00220
	黄海 Huanghai Sea	12	0.809	14	3.352	0.00497
	东海(浙江) East China Sea (Zhejiang)	10	0.761	13	3.103	0.00477
	东海(福建) East China Sea (Fujian)	6	0.506	9	1.224	0.00185
	南海 South China Sea	5	0.353	8	0.906	0.00140
16S rRNA	浙北 Zhebei	6	0.508	7	1.163	0.00177
	浙中 Zhezhong	8	0.717	10	2.586	0.00364
	浙南 Zhenan	6	0.514	8	1.169	0.00234
	渤海 Bohai Sea	5	0.348	7	0.877	0.00143
	黄海 Huanghai Sea	9	0.801	11	2.944	0.00403
	东海(浙江) East China Sea (Zhejiang)	8	0.717	10	2.586	0.00364
	东海(福建) East China Sea (Fujian)	4	0.327	5	0.669	0.00133
	南海 South China Sea	3	0.265	4	0.574	0.00102

体的 Hd、K 和 Pi 的变异范围分别为 0.687~0.761、2.694~3.103 和 0.00431~0.00477。Hd 和 Pi 值用来衡量群体遗传多样性丰富程度^[14]。3 个群体均表现出了较高的遗传多样性, 其中浙中最高, 最低出现在浙北。此外, 浙中样本的单倍型数量有 10 个、多态位点数(P)有 13 个, 在 3 个群体中也是最多的。从大尺度序列看, 从北到南不同海区脊尾白虾群体的 Hd、K 和 Pi 的变异范围分别为 0.353~0.809、0.906~3.352 和 0.00140~0.00497。黄海群体的遗传多样性最高, 南海最低。单倍型数量和多态位点数(P)也都是黄海最高, 东海次之, 而南海最低。分析 7 个群体的 Hd 和 Pi 值发现, 除了南海外, 其他群体都有“低 Pi (<0.005) 高 Hd (>0.5)”现象, 为“高 Hd 低 Pi”的遗传多样性模式。

2.2.2 基于 16S rRNA 基因序列分析 从 16S rRNA 基因序列看, 我国脊尾白虾野生群体间也存在遗传差距(表 2)。在 16S rRNA 基因序列中, 共检测到 41 个变异位点。基于 7 个脊尾白虾群体 CO I 序列共界定出 30 个单倍型, 黄海群体分布的单倍型最多(9 种), 南海群体分布的单倍型最少(3 种)。

从小尺度序列看, 3 个群体的 Hd、K 和 Pi 变化范围分别为 0.508~0.717、1.163~2.586 和 0.00140~0.00364, 有较高的遗传多样性。与 CO I 结果一致, 浙中最高、浙北最小。从单倍型数量和多态位点数(P)看, 也浙中最高、浙北最低。从大尺度序列看, 不同海区脊尾白虾群体的 Hd、K 和 Pi 的变化范围分别为 0.265~0.821、0.574~2.944 和 0.00102~0.00403, 加上单倍型数量和多态位点数(P), 能得出与 CO I 类似结果: 黄海群体的遗传多样性最高, 南海最低。不过, 所有 16S rRNA 的分析结果值都低于相对的 CO I 值(表 2)。

根据 Hd 和 Pi 值, 利用 CO I 方法可以把我国脊尾白虾群体的遗传多样性大致分为 3 档: 黄海、和东海(浙江)较高, 渤海和东海(福建)适中, 南海较低; 而 16S rRNA 方法大致只能分成两档: 黄海和东海(浙江)较高, 而渤海、东海(福建)和南海较低。

2.3 群体间的遗传分化分析

2.3.1 基于 CO I 基因序列分析 基于 CO I 基因序列的 AMOVA 分析结果见表 4。从表中看, 我国脊尾白虾的遗传变异是以群体内变异为主导,

群体内的变异百分数为 95.92%, 群体间的变异值仅为 4.08%。脊尾白虾各群体间的遗传距离的计算结果, 见表 5 和表 6。小尺度序列中(表 5), 浙北和浙中群体间的遗传距离最小为 0.193, 浙中与浙南间次之为 0.204, 而浙北与浙南间最大为 0.223。从大尺度序列看(表 6), 大致是样本间的空间距离越远, 相应的遗传距离就越大。所以渤海和南海群体之间的遗传距离最大为 0.311, 其次是黄海与南海群体间以及渤海与东海(福建)群体间, 两者的遗传距离都在 0.29 以上; 最小的是东海(福建)与南海群体之间的遗传距离, 仅为 0.228。不过仍比小尺度序列中的最大值要大一点。

表 4 脊尾白虾 7 个群体间的 CO I 基因的分子变异等级分析

Tab. 4 Rank analysis of molecular variation in the CO I gene among seven populations of <i>Exopalaemon carinicauda</i>				
变异来源 source of variation	自由度 degrees of freedom	平方和 sum of squares	方差组分 variance components	变异百分比/% percentage of variation
群体间 among population	4	64.254	0.09882	4.08
群体内 within population	205	1276.617	5.57827	95.92

表 5 基于 CO I 的小尺度序列脊尾白虾群体 Kumara2-parameter 遗传距离

Tab. 5 CO I-based Kumara2-parameter genetic distances for small-scale sequential populations of <i>Exopalaemon carinicauda</i>			
群体来源 population	浙北 Zhebei	浙中 Zhezhong	浙南 Zhenan
浙北 Zhebei	0		
浙中 Zhezhong	0.193	0	
浙南 Zhenan	0.223	0.204	0

基于 CO I 基因的不同脊尾白虾群体间的遗传分化分析结果见表 7 和表 8。两两群体间 F_{st} 值的计算结果显示, 我国脊尾白虾群体间的遗传分化系数在 0.08724~0.47328 之间。小尺度序列中的浙北与浙中群体之间以及浙中与浙南群体之间, 他们的遗传分化系数分别为 0.08724 和 0.09272 (表 7), 都小于 0.1。在大尺度序列上(表 8), 分化系数类似于遗传距离的结果, 距离越远分化系数

越大。最大值出现在渤海与南海群体之间, 分化系数为 0.47328, 最小在东海(福建)与南海群体之间, 遗传分化系数为 0.12813, 比小尺度序列中浙北与浙南间的分化系数(0.16411)还要小。

表 6 基于 CO I 的大尺度序列脊尾白虾群体 Kumara2-parameter 遗传距离

Tab. 6 CO I-based Kumara2-parameter genetic distances for large-scale sequential populations of *Exopalaemon carinicauda*

群体来源 population	渤海 Bohai Sea	黄海 Huanghai Sea	东海(浙江) East China Sea (Zhejiang)	东海(福建) East China Sea (Fujian)	南海 South China Sea
渤海 Bohai Sea	0				
黄海 Huanghai Sea	0.252	0			
东海(浙江) East China Sea (Zhejiang)	0.279	0.235	0		
东海(福建) East China Sea (Fujian)	0.298	0.268	0.233	0	
南海 South China Sea	0.311	0.290	0.261	0.228	0

表 7 小尺度序列脊尾白虾群体间 CO I 基因遗传分化系数(对角线下)和基因流(上)比较

Tab. 7 Comparisons of genetic differentiation coefficients (below diagonal) and gene flows (above) of CO I genes among 3 small-scale populations in *Exopalaemon carinicauda* Zhejiang

群体来源 population	浙北 Zhebei	浙中 Zhezhong	浙南 Zhenan
浙北 Zhebei	0	2.446	1.273
浙中 Zhezhong	0.08724*	0	2.616
浙南 Zhenan	0.16411**	0.09272*	0

注: *表示差异显著($P<0.05$); **表示差异极显著($P<0.01$).
Note: * means significant difference ($P<0.05$); ** means extremely significant difference ($P<0.01$).

2.3.2 基于 16S rRNA 基因序列分析 基于 16S

表 8 大尺度序列脊尾白虾群体间 CO I 基因遗传分化系数(对角线下)和基因流(上)比较

Tab. 8 Comparisons of genetic differentiation coefficients (below diagonal) and gene flows (above) of CO I genes among 5 large-scale sequence populations *Exopalaemon carinicauda* in China

群体来源 population	渤海 Bohai Sea	黄海 Huanghai Sea	东海(浙江) East China Sea (Zhejiang)	东海(福建) East China Sea (Fujian)	南海 South China Sea
渤海 Bohai Sea	0	0.696	0.355	0.304	0.278
黄海 Huanghai sea	0.26421**	0	0.879	0.436	0.314
东海(浙江)East China Sea (Zhejiang)	0.41328**	0.22142**	0	0.919	0.536
东海(福建)East China Sea (Fujian)	0.45143**	0.36428**	0.21380**	0	1.701
南海 South China Sea	0.47328**	0.44328**	0.31821**	0.12813**	0

注: *表示差异显著($P<0.05$); **表示差异极显著($P<0.01$).
Note: * means significant difference ($P<0.05$); ** means extremely significant difference ($P<0.01$).

基于 16S rRNA 基因的不同脊尾白虾群体间的遗传分化分析结果见表 12 和表 13。两两群体之间的遗传分化在 0.02787~0.26781。从小尺度序列看, 3 个群体间的遗传分化不明显, 分化系数都小于 0.1 (表 12)。从大尺度序列看(表 13), 类似于

rRNA 基因序列的 AMOVA 分析结果见表 9。我国脊尾白虾的群体间和群体内分子变异分别为 7.24%和 92.76%。群体内的遗传变异为主导, 与 CO I 的结果一致。脊尾白虾群体间的遗传距离的计算结果见表 10 和表 11。小尺度序列上 3 个群体间的遗传距离非常接近, 在 0.134~0.157 之间(表 11)。其中, 浙北和浙中间最小, 浙北与浙南最大。在大尺度序列上(表 11), 也类似于 CO I, 同样表现为样本的空间距离越远, 相对应的遗传距离越大。所以渤海和南海群体之间的遗传距离最大为 0.246。

CO I, 群体间的分化系数与样本的间隔距离成正比, 渤海与南海群体间的遗传分化系数最大为 0.26781。从表 13 中还能看出, 有 3 组(黄海与东海浙江、东海浙江与东海福建、东海福建与南海)群体间的遗传分化系数也很小且很接近, 这对群

体间的遗传分化也不明显。此外, 比较 CO I 与 16S rRNA 相对应的值, 后者的遗传距离和遗传分化系数等数值都要小一些。

表 9 脊尾白虾 7 个群体间 16S rRNA 基因的分子变异等级分析

Tab. 9 Rank analysis of molecular variation in the 16S rRNA gene among seven populations of *Exopalaemon carinicauda*

变异来源 source of variation	自由度 degrees of freedom	平方和 sum of squares	方差组分 variance components	变异百分/% percentage of variation
群体间 among population	12	108.854	0.02787	7.24
群体内 within population	196	854.277	3.54798	92.76

表 10 基于 16S rRNA 的小尺度序列脊尾白虾 3 个群体的遗传距离

Tab. 10 16S rRNA-based Kumara2-parameter genetic distances for small-scale sequential populations of *Exopalaemon carinicauda*

群体来源 population	浙北 Zhebei	浙中 Zhezhong	浙南 Zhenan
浙北 Zhebei	0		
浙中 Zhezhong	0.134	0	
浙南 Zhenan	0.157	0.140	0

表 11 基于 16S rRNA 的大尺度序列脊尾白虾 5 个群体的遗传距离

Tab. 11 16S rRNA-based Kumara2-parameter genetic distances for large-scale sequential populations of *Exopalaemon carinicauda*

群体来源 population	渤海 Bohai Sea	黄海 Huanghai Sea	东海(浙江) East China Sea (Zhengjiang)	东海(福建) East China Sea (Fujian)	南海 South China Sea
渤海 Bohai Sea	0				
黄海 Huanghai Sea	0.185	0			
东海(浙江) East China Sea (Zhejiang)	0.219	0.171	0		
东海(福建) East China Sea (Fujian)	0.239	0.191	0.165	0	
南海 South China Sea	0.246	0.222	0.183	0.156	0

表 12 小尺度序列群体间 16S rRNA 基因遗传分化系数 (对角线下)和基因流(上)比较

Tab. 12 Comparisons of genetic differentiation coefficients (below diagonal) and gene flows (above) of CO I genes among 3 small-scale populations of *Exopalaemon carinicauda* in Zhejiang

群体来源 population	浙北 Zhebei	浙中 Zhezhong	浙南 Zhenan
浙北 Zhebei	0	8.720	2.609
浙中 Zhezhong	0.02787	0	8.023
浙南 Zhenan	0.08745*	0.03022	0

注: *示差异显著($P<0.05$); **示差异极显著($P<0.01$).
Note: * means significant difference ($P<0.05$); ** means significant difference ($P<0.01$).

3 讨论

脊尾白虾线粒体 DNA 基因序列有明显的 (A+T) 碱基偏好性, CO I 和 16S rRNA 的序列片段分析也显示同样的结果。这与掌肢新米虾 (*Neocaridina palmata*)^[15]、锯齿新米虾 (*Neocaridina denticulate*)^[16] 和日本沼虾 (*Macrobrachium nipponense*)^[17] 等甲壳类的线粒体 DNA 分析结果相一致, 表现出较强的少 G 偏倚性符合无脊椎动物线粒体 DNA 序列中普遍 AT 含量较高的特点^[18]。

3.1 中国脊尾白虾的遗传多样性

遗传多样性是指物种内的遗传变异度, 可以反映物种群体发展进化的潜力大小以及对环境变化适应能力的强弱^[19]。其中, Hd 和 Pi 是衡量群体遗传多样性的两个重要参数^[20]。对于 Hd 和 Pi, 前人分别设定了 0.5 和 0.005 的重要临界数值。我国脊尾白虾群体属于“高 Hd 低 Pi”的遗传多样性模式, 即 $Hd>0.5$ 和 $Pi<0.005$, 推测我国沿海脊尾白虾在进化过程中可能经历过瓶颈效应, 然后由一个较小的有效种群经过短期快速增长^[21]。因此种群的单倍型多样性非常丰富, 但核苷酸变异还未积累。高 Hd 低 Pi 现象在水生生物中较常见, 如秀丽白虾 (*Exopalaemon modestus*)^[22]、红螯螯虾 (*Cherax quadricarinatus*)^[23]、日本沼虾 (*Macrobrachium nipponense*)^[12] 等都有相似现象。不过, 本研究中南海群体的遗传多样性却表现为“低 Hd 低 Pi”模式, 这可能是南海脊尾白虾受到环境因素与距离的影响, 与其他群体间基因流动较少的结果。

此外, 在同一种模式下, 群体选取的 mtDNA

表 13 大尺度序列群体间 16S rRNA 基因遗传分化系数(对角线下)和基因流(上)比较
Tab. 13 Comparisons of genetic differentiation coefficients (below diagonal) and gene flows (above) of CO I genes among 5 large-scale sequence populations of *Exopalaemon carinicauda* in China

群体来源 population	渤海 Bohai Sea	黄海 Huanghai Sea	东海(浙江) East China Sea (Zhejiang)	东海(福建) East China Sea (Fujian)	南海 South China Sea
渤海 Bohai Sea	0	0.997	0.864	0.775	0.683
黄海 Huanghai Sea	0.20045**	0	2.136	1.261	0.813
东海(浙江)East China Sea (Zhejiang)	0.22422**	0.10478**	0	2.389	1.077
东海(福建)East China Sea (Fujian)	0.24378**	0.16549**	0.09474**	0	1.930
南海 South China Sea	0.26781**	0.23514**	0.18835**	0.11467**	0

注: *示差异显著($P<0.05$); **示差异极显著($P<0.01$).
Note: * means significant difference ($P<0.05$); ** means significant difference ($P<0.01$).

序列间 Hd 和 Pi 的数值越大, 表明群体的遗传多样性越丰富^[19]。本研究中, CO I 和 16S rRNA 基因分析方法所得的我国脊尾白虾的群体遗传多样性的结果是一致的。但是, 相较于 16S rRNA, CO I 分析方法得到的 Hd 和 Pi 值更大, 显示有更高更丰富的群体遗传多样性。从其他遗传参数看, 如单倍体数型数量、多态位点数(P)等也都显示 CO I 分析方法所得的结果更高更大。这是因为线粒体中的 16S rRNA 基因序列具有更高的保守性, 进化速度较慢, 而 CO I 基因变异速度相对较大^[24]。在其他的水生生物中也证实这一点, 如麦维军等^[25]研究了 4 个中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)群体的 16S rRNA 和 CO I 基因片段的遗传特征, 发现 16S rRNA 基因比 CO I 基因要明显保守。徐岩等^[26]分析了中国沿海 14 种相手蟹(*Parasesarma* sp.)的 CO I 和 16S rRNA 基因序列, 显示 CO I 和 16S rRNA 基因序列间的差异分别为 5.7%~14.5%和 1.5%~12.1%, CO I 基因变异速率是 16S rRNA 的 2 倍以上。16S rRNA 基因比 CO I 基因进化速率慢, 是一个比较保守的基因序列, 贝类^[27-29]和鱼类^[30-31]中的研究均支持这一结论。同时, CO I 和 16S rRNA 都是进行物种鉴定的优良靶基因, 区分种间和种内的分子系统学研究、种群遗传结构分析选择 CO I 基因更加合适^[32], 而 16S rRNA 基因由于其相对保守性, 更适合于远缘物种研究和不同物种系统进化和分类研究^[33-34]。

3.2 中国脊尾白虾的遗传分化状况

遗传距离和遗传分化系数常用来衡量不同物种或不同群体间的分化程度^[35]。从遗传分化指数

来看, 遗传分化系数 <0.05 表示群体间存在极小分化, 0.05~0.15 表示存在中度分化, 0.15~0.25 表示存在高度分化。本研究中, 针对中国沿海不同脊尾白虾群体间的遗传分化状况, CO I 基因分析方法所得的结果值都略大于 16S rRNA。两种基因下大尺度序列 5 脊尾白虾群体间两两群体的遗传分化系数都达到了极显著($P<0.01$), 基于 CO I 基因分析的小尺度序列脊尾白虾群体间遗传分化系数, 浙北群体与浙南群体的遗传分化系数显示差异极显著($P<0.01$), 浙中群体与浙北浙南两群体的遗传分化系数为显著差异($P<0.05$)。基于 16S rRNA 基因分析的小尺度序列脊尾白虾群体间遗传分化系数, 浙北群体和浙南群体遗传分化系数差异显著。但两种方法都呈现相同的结论: 几个地理群体的分化在一定程度上是由群体的地理位置分布决定的, 即地理距离越远, 分化系数越大。两者间的差异主要在于分辨力。根据 3 个分化系数区间, 16S rRNA 基因分析方法对于小尺度序列脊尾白虾群体间遗传分化的分辨力较低或难以区分, 如浙北与浙中以及浙中与浙南这 2 对群体之间, 遗传分化系数都 <0.05 , 表明这 2 对群体间都存在极小的遗传分化, AMOVA 结果也表明, 这 2 群体内个体变异是遗传变异的主体, 并未发现种内有近亲交配和亚种分化现象^[36], 因此这 2 群体分别可以合并为同一群体^[37]。再从遗传距离看, 小尺度序列 3 个群体间的遗传距离都非常接近。因此, 采用 16S rRNA 分析方法不能展示出小尺度序列群体间存在的差异, 也说明了样本间的地理间隔距离不足。而 CO I 基因分析方法展示上述

2 对群体间的遗传分化程度为中等, 分化系数都在 0.9 附近, 可以区分为两个差异群体^[38]。对于 CO I 方法, 这种样本地理距离已足够。在大尺度序列上, 两种方法都能较好分辨群体间的遗传分化。其中, CO I 方法判定, 除南海与东海(福建)群体间为中度分化外, 其余所有群体之间都存在高度遗传分化; 而 16S rRNA 方法判定有 3 对群体间存在中度分化。因此, 可以把两种方法结合施用, 能详细显示各群体间遗传分化的梯度差异。

群体间的基因流(Nm)与遗传分化系数呈负相关。根据其大小, 可分为 3 档, 反映群体间不同程度的遗传分化。当 $Nm < 1$ 时, 基因流较弱, 遗传分化程度较强; 当 $1 < Nm < 4$ 时, 基因流中等, 遗传分化处于中等水平; 当 $Nm > 4$ 时, 基因交流强, 遗传分化水平较弱^[39]。本研究中, 线粒体 CO I 基因的 Nm 值为 0.278~2.616, 基因流在较弱到中等状态。其中, 小尺度序列群体间的基因流都为中等状态, 遗传分化也处于中等水平; 大尺度序列中, 除南海与东海(福建)群体间有中等基因流外, 其他群体间的基因流都较弱。16S rRNA 基因的 Nm 值为 0.683~8.720, 基因流从弱到强都有。其中, 小尺度序列群体间的基因流比较强, 大尺度序列群体间基因中等偏弱水平。说明小尺度序列群体间遗传分化弱, 而大尺度群体间遗传分化要大一些。对比脊尾白虾群体之间的基因流大小与地理位置之间的距离, 地理距离越远, 基因流越低。如, 渤海群体与其他群体之间的 Nm 值都 <1 , 说明渤海群体与其他群体之间的遗传分化水平较强, 造成该现象的原因可能是由于渤海相对封闭, 脊尾白虾迁移能力有限, 所以海区内的生物与其他海区间基因交流较少。贾舒雯等^[40]也认为脊尾白虾不善于长距离游泳, 扩散能力较弱, 导致渤海莱州湾与黄海东海群体出现较大的遗传分化。马朋等^[10]的研究结果也显示莱州湾脊尾白虾遗传多样性低, 认为可能渤海是比较封闭的内海, 基因交流少。

4 结论

本研究结果初步揭示中国沿海脊尾白虾群体遗传多样性的丰富程度, 但是结果也显示脊尾白

虾的群体间基因交流少, 群体间已经出现了显著遗传分化。CO I 和 16S rRNA 基因序列分析方法都能较好地反映出中国脊尾白虾的群体遗传多样性状态。对于距离间隔较近(小尺度序列)的样本, CO I 方法的分辨力更强一些。这种距离间隔与生物活动性能有关, 脊尾白虾迁移活动范围有限, 地理隔离较明显, 不同地理种群间分化程度较高。

参考文献:

- [1] Gao H, Ma H K, Sun J Q, et al. Expression and function analysis of crustacyanin gene family involved in resistance to heavy metal stress and body color formation in *Exopalaemon carinicauda*[J]. Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution, 2021, 336(4): 352-363.
- [2] Li Z G. Research on reproductive biology and artificial breeding technology of *Exopalaemon carinicauda*[D]. Qingdao: Chinese Academy of Science (Institute of Oceanology), 2013. [栗治国. 脊尾白虾繁殖生物学及人工苗种繁育技术的研究[D]. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所), 2013.]
- [3] Ma P, Liu P, Li J, et al. The genetic diversity of the 16S rRNA gene in the mitochondrial DNA of three wild populations of *Exopalaemon carinicauda*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2012, 43(1): 174-179. [马朋, 刘萍, 李健, 等. 脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)3个野生群体 mtDNA 16S rRNA 序列差异及长臂虾科系统进化关系[J]. 海洋与湖沼, 2012, 43(1): 174-179.]
- [4] Zhang H, Li P F, Gao T X, et al. Structure of mitochondrial DNA control region of *Fenneropenaeus chinensis* and phylogenetic relationship among different populations[J]. Mitochondrial DNA, 2012, 23(3): 216-222.
- [5] Zhang Y P, Shi L M. Mitochondrial DNA polymorphisms in animals: A review[J]. Zoological Research, 1992, 13(3): 289-298. [张亚平, 施立明. 动物线粒体 DNA 多态性的研究概况[J]. 动物学研究, 1992, 13(3): 289-298.]
- [6] Zhou F L, Jiang S G, Jiang Y J, et al. Assessing genetic diversity of the five wild tiger prawn (*Penaeus monodon*) populations in the coastal waters of South China Sea, based on mitochondrial DNA 16S rRNA sequences[J]. Journal of Fisheries of China, 2009, 33(2): 208-214. [周发林, 江世贵, 姜永杰, 等. 中国南海野生斑节对虾 5 个地理群体线粒体 16S rRNA 基因序列比较分析[J]. 水产学报, 2009, 33(2): 208-214.]
- [7] Zhou C J, Feng M X, Tang Y T, et al. Species diversity of freshwater shrimp in Henan Province, China, based on morphological characters and CO I mitochondrial gene[J].

- Ecology and Evolution, 2021, 11(15): 10502-10514.
- [8] Lü D, Zhang C S, Yu Y, et al. Heritability estimations of ammonia tolerance and survival of ridgetail white prawn *Exopalaemon carinicauda*[J]. Journal of Oceanology and Limnology, 2022, 40(4): 1662-1668.
- [9] Gintis H. The hitchhiker's guide to altruism: Gene-culture coevolution, and the internalization of norms[J]. Journal of Theoretical Biology, 2003, 220(4): 407-418.
- [10] Ma P, Liu P, Li J, et al. The genetic diversity and phylogenetic analysis of CO I gene in mitochondrial DNA of three populations of *Exopalaemon carinicauda*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2011, 32(6): 50-56. [马朋, 刘萍, 李健, 等. 脊尾白虾 3 个野生群体线粒体 CO I 基因的遗传多样性及其系统发育分析[J]. 渔业科学进展, 2011, 32(6): 50-56.]
- [11] Dai Y J, Liu P, Gao B Q, et al. Sequence analysis of mitochondrial 16S rRNA and CO I gene fragments of four wild populations of *Portunus trituberculatus*[J]. Periodical of Ocean University of China, 2010, 40(3): 54-60. [戴艳菊, 刘萍, 高保全, 等. 三疣梭子蟹 4 个野生群体线粒体 16S rRNA 和 CO I 基因片段的比较分析[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2010, 40(3): 54-60.]
- [12] Feng M X, Tang Y T, Liu R Y, et al. Genetic diversity of *Macrobrachium nipponense* in Henan Province assessed using mitochondrial CO I gene[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2021, 28(12): 1548-1558. [冯梦霞, 汤永涛, 刘如垚, 等. 基于线粒体 CO I 基因的河南境内四水系日本沼虾种群遗传多样性[J]. 中国水产科学, 2021, 28(12): 1548-1558.]
- [13] Feng J B, Sun Y N, Cheng X, et al. Sequence analysis of mitochondrial CO I gene of *Macrobrachium nipponense* from the five largest freshwater lakes in China[J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(4): 517-525. [冯建彬, 孙悦娜, 程熙, 等. 我国五大淡水湖日本沼虾线粒体 CO I 基因部分片段序列比较[J]. 水产学报, 2008, 32(4): 517-525.]
- [14] Zhang Q, Zhang C S, Yu Y, et al. Analysis of genetic diversity and population structure of the ridgetail white prawn *Exopalaemon carinicauda* in China[J]. Aquaculture Reports, 2022, 27: 101369.
- [15] Zheng X Z, Chen Q H, Chen W J, et al. The genetic diversity of 7 natural populations of *Neocaridina palmate* (Crustacea: Decapoda: Atyidae) based on sequency analysis of mitochondrial CO I gene[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2019, 45(5): 522-528. [郑小壮, 陈清华, 陈文坚, 等. 基于线粒体 CO I 基因序列的掌肢新米虾 7 个自然群体遗传多样性分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2019, 45(5): 522-528.]
- [16] Ma Z G, Feng M X, Tang Y T, et al. Genetic diversity of *Neocaridina denticulata* in Henan Province based on mitochondrial CO I gene[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2023, 42(5): 481-489. [马志刚, 冯梦霞, 汤永涛, 等. 基于线粒体 CO I 基因的河南省境内锯齿新米虾种群遗传多样性研究[J]. 四川动物, 2023, 42(5): 481-489.]
- [17] Huang H, Liu K, Wang Y X, et al. Analysis of mitochondrial CO I sequences from different populations of *Macrobrachium nipponense japonicus*[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2023, 62(5): 179-182, 189. [黄辉, 刘凯, 王宇希, 等. 不同群体日本沼虾的线粒体 CO I 基因序列分析[J]. 湖北农业科学, 2023, 62(5): 179-182, 189.]
- [18] Chen L M, Kong X Y, Yu Z N, et al. Sequence comparison and phylogenetic analysis of mtDNA 16S rRNA and CO I gene fragments in three species of razor shell[J]. Marine Sciences, 2005, 29(8): 27-32. [陈丽梅, 孔晓瑜, 喻子牛, 等. 3 种蛭类线粒体 16S rRNA 和 CO I 基因片段的序列比较及其系统学初步研究[J]. 海洋科学, 2005, 29(8): 27-32.]
- [19] Vu N T T, Zenger K R, Guppy J L, et al. Fine-scale population structure and evidence for local adaptation in Australian giant black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) using SNP analysis[J]. BMC Genomics, 2020, 21(1): Article No.669.
- [20] Li D M, Yang Z P, Liu Y S, et al. Genetic diversity and genetic structure of *Hypophthalmichthys molitrix* populations in the lower reaches of Yangtze and Huaihe River based on CO I sequences[J]. Freshwater Fisheries, 2023, 53(4): 3-11. [李大命, 杨子萍, 刘燕山, 等. 基于线粒体 CO I 序列的江淮下游湖泊鲢群体遗传多样性和遗传结构分析[J]. 淡水渔业, 2023, 53(4): 3-11.]
- [21] Grant W, Bowen B. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation[J]. Journal of Heredity, 1998, 89(5): 415-426.
- [22] Zhang M Y, Xu D P, Fang D A, et al. Sequence variations and genetic differentiations in 16S rRNA gene in three geographic populations of Siberian prawn *Exopalaemon modestus*[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2018, 33(3): 323-328. [张敏莹, 徐东坡, 方弟安, 等. 秀丽白虾 3 个地理种群 mtDNA 16S rRNA 基因序列变异及遗传分化[J]. 大连海洋大学学报, 2018, 33(3): 323-328.]
- [23] Liu S L, Bian Y L, Jia Y Y, et al. Genetics analysis based on mitochondrial CO I sequences in five cultured populations of red-claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*)[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2021, 33(8): 1385-1392. [刘士力, 卞玉玲, 贾永义, 等. 基于线粒体 CO I 基因序列的红螯螯虾养殖群体遗传结构分析[J]. 浙江农业学报, 2021, 33(8): 1385-1392.]

- [24] Avise J C, Nelson W S, Sibley C G. DNA sequence support for a close phylogenetic relationship between some storks and new world vultures[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1994, 91(11): 5173-5177.
- [25] Mai W J, Xie Z Y, Zhang L P, et al. Sequence comparison and phylogenetic analysis of mtDNA 16S rRNA and CO I gene Fragments in the Chinese Shrimp, *Fennerpenaeus chinensis* and five species of shrimp[J]. Natural Science Journal of Hainan University, 2009, 27(1): 15-23. [麦维军, 谢珍玉, 张吕平, 等. 中国明对虾与 5 种虾类线粒体 16S rRNA 和 CO I 基因片段的序列比较及其系统学初步研究[J]. 海南大学学报(自然科学版), 2009, 27(1): 15-23.]
- [26] Xu Y, Pan H P, Yan B, et al. Molecular phylogeny of the *sesamid* crab based on the partial sequences of mitochondrial CO I and 16S rRNA genes from the coast of China[J]. Haiyang Xuebao, 2019, 41(8): 63-71. [徐岩, 潘红平, 阎冰, 等. 基于线粒体 CO I 和 16S rRNA 基因的中国沿海相手蟹系统发育研究[J]. 海洋学报, 2019, 41(8): 63-71.]
- [27] Yan Y B, Ge Y S, Cheng Q Q, et al. Genetic diversity of four shellfishes in sea area of Qidong, Jiangsu Province based on mitochondrial 16S rRNA and CO I sequences[J]. Marine Fisheries, 2022, 44(2): 201-208. [闫永斌, 葛玉双, 程起群, 等. 基于线粒体 16S rRNA 和 CO I 序列的江苏启东海域 4 种贝类遗传多样性分析[J]. 海洋渔业, 2022, 44(2): 201-208.]
- [28] Sun C, Liu Z H, Yang A G, et al. Genetic analysis of mitochondrial CO I and 16S rRNA gene fragments in four *Potamocorbula* species[J]. Progress in Fishery Sciences, 2014, 35(1): 82-90. [孙超, 刘志鸿, 杨爱国, 等. 4 种河蓝蛤线粒体 CO I 和 16S rRNA 基因序列的种间遗传分析[J]. 渔业科学进展, 2014, 35(1): 82-90.]
- [29] Chen L M, Li Q, Li Y. Sequence analysis of mitochondrial 16S rRNA and CO I gene and molecular phylogeny of four species of sea cucumber[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15(6): 935-942. [陈丽梅, 李琪, 李赞. 4 种海参 16S rRNA 和 CO I 基因片段序列比较及系统学研究[J]. 中国水产科学, 2008, 15(6): 935-942.]
- [30] Huang Q, Jiang Z. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) DNA barcode based on bitochondrial CO I and 16S rRNA gene sequences[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2022, 44(2): 215-220. [黄权, 蒋焯. 基于线粒体 CO I 和 16S rRNA 基因序列的虹鳟 DNA 条形码研究[J]. 吉林农业大学学报, 2022, 44(2): 215-220.]
- [31] Liang R S, Chen M, Liao G W, et al. Molecular phylogenetic relationships of 40 species of *EPinephelinae* based on the partial sequences of 16S rRNA and CO I genes[J]. Haiyang Xuebao, 2020, 42(6): 9-19. [梁日深, 陈铭, 廖国威, 等. 基于 16S rRNA 与 CO I 基因 40 种石斑鱼亚科鱼类分子系统进化关系[J]. 海洋学报, 2020, 42(6): 9-19.]
- [32] Caterino M S, Cho S, Sperling F A. The current state of insect molecular systematics: A thriving Tower of Babel[J]. Annual Review of Entomology, 2000, 45(1): 1-54.
- [33] Xu C Y, Zhuang Z D, Ma C, et al. Molecular identification of fish larvae and juveniles based on CO I and 16S rRNA barcoding in Xiamen coastal areas[J]. Journal of Fisheries Research, 2021, 43(5): 451-460. [徐春燕, 庄之栋, 马超, 等. 基于 CO I 和 16S rRNA 基因片段鉴定厦门海域的仔稚鱼[J]. 渔业研究, 2021, 43(5): 451-460.]
- [34] Mao Y L, Cai H C, Li C J, et al. Molecular phylogenetics of genus *Mytilus* based on CO I and 16S rRNA sequences[J]. South China Fisheries Science, 2010, 6(5): 27-36. [毛阳丽, 蔡厚才, 李成久, 等. 基于线粒体 CO I 与 16S rRNA 基因序列探讨贻贝属的系统发育[J]. 南方水产, 2010, 6(5): 27-36.]
- [35] Hoeh W R, Stewart D T, Sutherland B W, et al. Cytochrome c oxidase sequence comparisons suggest an unusually high rate of mitochondrial DNA evolution in *Mytilus* (Mollusca: Bivalvia)[J]. Molecular Biology & Evolution, 1996, 13(2): 418-421.
- [36] Bucklin A, Questel J M, Batta-Lona P G, et al. Population genetic diversity and structure of the euphausiids *Thysanoessa inermis* and *T. raschii* in the Arctic Ocean: Inferences from CO I barcodes[J]. Marine Biodiversity, 2023, 53(5): Article No.70.
- [37] Hwang H S, Jung J, Cheng J, et al. Cryptic diversity and population genetic structure of the mantis shrimp *Oratosquilla oratoria* in South Korea[J]. Genes & Genomics, 2022, 44(11): 1343-1352.
- [38] García-Ballesteros S, Villanueva B, Fernández J, et al. Genetic parameters for uniformity of harvest weight in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. Genetics, Selection, Evolution, 2021, 53(1): Article No.26.
- [39] Slatkin M. Gene flow and the geographic structure of natural populations[J]. Science, 1987, 236(4803): 787-792.
- [40] Jia S W, Liu P, Li J, et al. Microsatellite analysis of genetic diversity in 3 wild populations of *Exopalaemon carinicauda*[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(12): 1819-1825. [贾舒雯, 刘萍, 李健, 等. 脊尾白虾 3 个野生群体遗传多样性的微卫星分析[J]. 水产学报, 2012, 36(12): 1819-1825.]

Analysis and comparison of population genetic diversity of *Exopalaemon carinicauda* along the Chinese coast based on CO I and 16S rRNA gene sequences

YUAN Hangyang, ZHOU Wankai, ZHENG Zeyan, LIN Guoxi, XU Yongjian

School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315832, China

Abstract: As an endemic economic shrimp along the coast of China, the ridge-tailed white shrimp *Exopalaemon carinicauda* has biological advantages such as strong reproductive ability, environmental adaptability, and a fast growth cycle. To investigate the genetic variation of different geographic populations of *E. carinicauda* in the China sea, we set up two spatial sequence samples, including 3 small-scale sequence samples (northern Zhejiang, central Zhejiang, and southern Zhejiang) and 5 large-scale sequence samples [Bohai Sea, Yellow Sea, East China Sea (Zhejiang), East China Sea (Fujian), and South China Sea]. These samples underwent PCR product purification and sequencing and a total of 210 samples of *E. carinicauda* from seven wild populations were sequenced for CO I and 16S rRNA gene sequences. The CO I gene sequence of 515 bps with 58.65% A+T content and the 16S rRNA gene sequence of 520 bps with 62.02% A+T content were obtained and the analysis results of two gene sequences in population genetic diversity were consistent with those of the Yellow Sea population having the highest genetic diversity and the population from the South China Sea having the lowest genetic diversity. The results of AMOVA analysis were consistent. The differences between the two gene sequence analyses were as follows: the CO I gene sequence analysis detected 63 variable sites, with a haplotype diversity (Hd) of 0.353–0.809 and a nucleotide diversity (Pi) of 0.00140–0.00497, while the 16S rRNA gene sequence analysis detected 41 variable sites, with an Hd of 0.265–0.801 and a Pi of 0.00102–0.00403. The CO I gene showed greater variation and was able to discriminate between samples in smaller-scale spatial sequences. The results of the present study provide basic data for the conservation of *Exopalaemon carinicauda* germplasm resources.

Key words: *Exopalaemon carinicauda*; CO I; 16S rRNA; genetic diversity; spatial sequencing

Corresponding author: XU Yongjian. E-mail: xuyongjian@nbu.edu.cn