

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2011.00029

基于 16S rDNA 序列的中国沿海短蛸种群遗传结构

吕振明, 李焕, 吴常文, 樊甄姣, 张建设

浙江海洋学院, 浙江省海洋养殖装备与工程技术重点实验室, 浙江 舟山 316000

摘要:采用线粒体基因测序技术, 对中国沿海 7 个短蛸(*Octopus ocellatus*)群体的遗传结构和变异进行分析, 以探讨种群扩散潜力对遗传结构的影响。共测定了 100 个短蛸样本的 485 bp 的 16S rDNA 序列, 经 UPGMA 聚类分析表明, 中国沿海的短蛸群体存在着明显的种群结构。7 个群体明显地分化为两大类群: 一个类群由北方沿海的大连、烟台、青岛、连云港群体组成, 另一个类群由南方沿海的上海、舟山和广东群体组成; 两类群间存在 14 个固定核苷酸碱基的替换。两类群间的遗传分化系数 F_{ST} 和基因流 N_m 分别达 0.878 和 0.069, 并达到显著分化水平 ($P < 0.05$)。AMOVA 检验表明, 两类群间的差异有 87.76% 存在于群体间, 而仅有 12.24% 存在于群体内。两类群间的净遗传距离为 0.019, 表明可能为中度的种内群体间分化水平。依据分子钟理论推断, 两类群的分化时间约为晚更新世冰期。两类群的分化可能与短蛸缺乏浮游幼体生活史和无长距离迁移习性有关, 基因流与地理距离间的相关性符合脚踏石模型, 进一步证实了这一点。同时短蛸群体的这种分化格局还可能与晚更新世以来中国沿海海平面的反复升降和长江口淡水的阻隔有关。 [中国水产科学, 2011, 18(1): 29–37]

关键词: 短蛸; 16S rDNA; 种群遗传结构

中图分类号: S917

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2011)01-0029-09

海洋生物的种群扩散力是影响其种群遗传结构的重要因素^[1]。一般而言, 种群扩散力相对较强, 生境中又缺乏明显地理阻隔的海洋物种, 往往具有相对贫乏的种群遗传结构^[2]; 相反, 那些种群扩散能力相对较弱, 缺乏长距离种群扩散机制或由于特殊的生境需求(如隐蔽物、水质需求或其他生态因子需求等)而被局限于特定生境的物种, 却往往由于群体间基因流的阻隔, 而产生较大的种群分化^[3-4]。这样的例子在诸多的海洋生物类群中已多有发现。例如, 生活于澳大利亚大堡礁的多刺棘光鳃鲷(*Acanthochromis polyacanthus*)存在着显著的种群遗传结构, 其原因可能与该鱼缺乏迁移能力较强的浮游幼体阶段和生活史中具有显著的生境保守性有关^[5]。又如生活于中国南海岛礁中的黄斑胡椒鲷(*Plectorhinchus flavomaculatus*)也表现出较大的群体遗传分化, 其原因可能与该

种鱼类具有较弱的种群迁移力, 妨碍了群体间正常的基因交流有关^[6]。相似的例子还在种群扩散力较弱的潮间带种类高冠海马(*Hippocampus barbouri*), 大海马(*H.kuda*)^[7], 河口区种类凤鲚(*Coilia mystus*)^[8], 穴居性种类幽灵虾(*Callichirus islagrande*)^[9], 枪虾(*Alpheus angulosus*)^[10]等动物中被证实。

短蛸(*Octopus ocellatus*)是一种种群扩散力相对较弱的海洋生物类群。它是中国重要的海洋经济头足类, 广泛分布于中国的黄、渤海、东海和南海海域^[11]。在整个生活史中, 短蛸均未表现出长距离种群扩散力^[11-12]。在成体阶段, 短蛸主要经营底栖生活或营底泥和泥沙中的穴居生活, 无长距离的洄游和迁移习性; 在繁殖季节, 成蛸将黏性的受精卵产于洞穴或贝壳中, 用其粗壮的腕将其黏附于洞穴和贝壳壁上, 进一步防止了受精卵

收稿日期: 2010-02-24; 修订日期: 2010-05-10.

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2007BAD43B00); 国家 863 计划项目(2010AA10A404).

作者简介: 吕振明(1976-), 男, 副教授, 博士, 研究方向为海洋生物遗传育种. E-mail: nblzmn@163.com

和种群的扩散;幼体孵出后即具成体形态,孵出不久便沉入海底并快速长成成体,从此不再做长距离的洄游^[12]。短蛸的这种生物学特性大大降低了其种群的扩散力,并预示较丰富的种群遗传结构和较大的遗传分化潜力。迄今为止,关于中国短蛸种群遗传结构的研究较少,仅见于高强等^[13]对中国渤海海域 5 个短蛸群体遗传变异分析和张龙岗等^[14]对中国黄、渤海 4 个短蛸种群遗传结构的报道。但这些同工酶数据和 AFLP 分析结果并未揭示出上述海域短蛸群体的明显分化。这使得进一步弄清中国短蛸群体的遗传结构和种群分化更显必要。

DNA 分子标记是群体遗传结构及其分化研究的有力工具,其在物种种群隔离、遗传分化和鉴定、以及资源管理和保护方面显示出了卓越功效^[15]。随着 DNA 分子标记的运用,许多原本被认定为无明显分化的海洋生物均被证实存在着显著的遗传结构^[16-17]。海洋头足类一直被认为是一类遗传变异相对贫乏的海洋生物类群^[18],但近年来随着研究的不断深入,特别是随着 DNA 分子标记技术在海洋头足类遗传变异中的广泛运用,丰富的遗传变异和复杂的种群遗传结构已逐渐在海洋头足类种群中陆续得以证实,隐种或亚种现象已在乌贼、章鱼、鱿鱼等多种海洋头足类中陆续被发现^[17,19]。这些工作为国际海洋头足类资源的开发和管理奠定了很好的基础。本研究拟采用线粒体 16S rDNA 测序技术对中国沿海 7 个短蛸群体的遗传变异进行研究,其目标是揭示中国短蛸群体中可能存在的种群遗传结构,探讨其可能的形成机制,同时也为中国今后短蛸渔业资源合理开发和管理提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料

短蛸取自中国黄、渤海、东海和南海海域,采集地点分别为辽宁大连黑石礁海区(20 尾)、山东青岛沙子口海区(15 尾)、烟台四十里湾海区(20 尾)、江苏连云港海州湾海区(17 尾)、浙江舟山东极海区(10 尾)、上海芦潮港海区(8 尾)、广东广州

南沙区(10 尾)海域的鱼码头或农贸市场。所取样本为体质量为 130.3~345.8 g 的性成熟个体,样本解剖后取新鲜肌肉样品放入 70%酒精固定液中保存,带回实验室备用。

1.2 DNA 提取和 PCR 扩增

基因组 DNA 的提取采用常规的蛋白酶 K 裂解,酚-氯仿法抽提^[20],线粒体 16S rDNA 片段的扩增参照 Zheng 等^[21]的方法进行,稍加改进。扩增引物 16SF: 5'-CGCCTGTTTAHYAAAAACAT-3' (正向), 16SR: 5'-CCGGTCTGAACTCAGMTCA YGT-3' (反向);序列扩增采用 50 μ L 反应体系,其中含模板 DNA 50 ng,含 1 $\times$ 缓冲液,2.0 mmol/L $MgCl_2$,0.2 mmol/L 每种 dNTP,0.2 μ mol/L 每个引物,及 4 U *Taq* 酶。反应在 PTC-200 (BIORAD, America) PCR 仪中进行。PCR 反应程序为:94 预变性 5 min;94 变性 1 min,51 退火 1 min,72 延伸 1 min,共 35 个循环;最后 72 延伸 5 min。PCR 扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测,并采用 Gel Extraction Mini Kit 试剂盒进行纯化。纯化后的 PCR 产物送至 Invitrogen 公司测序。

1.3 数据分析

DNA 序列采用 Clustal W1.83 软件进行编辑和排序^[22],采用 DNAsp4.10 软件对单倍型数、多态位点数、转换、颠换数、单倍型多样性指数(h)、核苷酸多样性指数(π)、平均核苷酸差异数(K)等遗传多样性参数进行计算^[22],采用 Mega3.1 软件进行遗传距离计算和聚类分析^[6],系统树采用 UPGMA 模型构建,并采用 bootstrap(重复次数 1 000)检验聚类树各分支置信度,为更好地展示群体间的分化,引入同属的 *Octopus aegina*(登录号 AB191111.1), *O. luteus*(登录号 AJ252749.1), *O. variabilis*(登录号 EU234591.1), *O. ornatus*(登录号 AJ252753.1), *O. vulgaris*(登录号 EF016336.1), *O. cyanea*(登录号 AB191115.1), *O. bimaculoides*(登录号 AJ252748.1) 和 *O. magnificus*(登录号 AJ252750.1) 作为外群进行聚类。采用 ARLEQUIN 3.01 构建单倍型网络关系图,并进行人工绘制^[23],单倍型网络关系图显示各单倍型间的变异程度。采用 F_{ST} 统计量评估种群遗传结构,其显著性采

用Arlequin3.01 进行 1 000 次重复计算。为检测群体遗传结构是否符合地理隔离模型^[24], 对 $(1-F_{ST})/2F_{ST}$ 与样本地理距离间的关系进行作图。群体的遗传结构进一步采用Arlequin3.01 软件中的分子变异分析(AMOVA)方法进行检测。

种群的历史动态采用 2 种方法进行: (1)采用 Tajima's D和Fu's F_s 检验来检测中性假说是否成立, Tajima's D和Fu's F_s 中性检验结果如为负值并且显著偏离中性, 则可能是由于群体扩张引起的^[25-26]; (2)采用核苷酸不配对分布(mismatch distribution)分析来检验是否存在群体扩张^[27], 不配对分布检验和中性假说检验均采用Arlequin3.01 软件进行。采用分子钟理论进一步计算不同类群间的分化时间, 16S rDNA的进化速率采用 2%/百万年(MY)计算^[28]。

2 结果与分析

2.1 序列组成和遗传多态性

对来自 7 个短蛸群体的 100 个个体的 16S rDNA 序列进行测定, 经 Clustal W1.83 软件编辑和比对后, 获得了 1 个长度为 485 bp 的同源序列, 经 Mega 3.1 软件分析, 结果表明, 该序列的 A、T、C、G 碱基含量分别为 35.1%、39.1%、9.6%和 16.3%。DNAsp4.10 软件分析显示, 100 个个体共检测到 26 个变异位点, 其中转换位点 15 个, 颠换位点 10 个, 转换与颠换共存位点 1 个, 插入或缺失位点 8 个(表 1); 这些变异在 100 个个体中共确定了 25 个单倍型, 单倍型多样性指数达 0.829 ± 0.027 , 核苷酸多样性指数达 0.011 ± 0.001 ; 在 25 个单倍型中, 无一单倍型为所有群体共有, 而有 17 个单倍型仅存在于单一群体中。各群体的单倍型多样性指数和核苷酸多样性指数分别达 0.250~0.822, 0.001 2~0.005 1; 遗传多样性参数基本呈现北部沿海相对较低, 南部沿海相对较高的趋势(表 2)。

2.2 种群遗传结构

采用UPGMA聚类法对所有个体序列进行聚类分析表明, 中国沿海短蛸群体明显地分化为两

大类群: 一个类群由大连、烟台、青岛、连云港 4 个群体组成, 命名为类群A, 含 13 个单倍型; 另一个类群由上海、舟山、广州 3 个群体组成, 命名为类群B, 含 12 个单倍型, 两类群间无共有单倍型(图 1)。与UPGMA聚类分析结果相似, 单倍型网络关系图也揭示了类群A和类群B间的分化, 两类群的单倍型网络关系图均以各自的主单倍型为中心呈星状辐射(图 2)。在类群A中, 主单倍型H1 构成了网络关系图的中心, 该单倍型为大连、烟台、青岛、连云港群体所共有。而在类群B中, 主单倍型H16 构成了网络关系图的中心, 该单倍型为上海、舟山和广州群体所共有。两类群的分化进一步得到了AMOVA 分析的证实, AMOVA 分析表明有 87.76%的遗传变异存在于两群体之间, 而仅有 12.24 %的遗传变异存在于各群体内部。Arlequin3.01 分析显示, 两类群间的遗传分化指数 F_{ST} 达 0.878, 并达到极显著水平($P < 0.01$); 两类群间的基因流 N_m 较小, 仅为 0.069。但在A类群内部, 各群体间的遗传分化指数 F_{ST} 较小, 为 0.013~0.262, 基因流 N_m 均大于 1; 而在B类群内部, 各群体间的遗传分化指数 F_{ST} 相对较大, 基因流也多小于 1(表 3)。对 $(1-F_{ST}) / 2F_{ST}$ 和群体间地理距离关系进行作图, 结果表明两者存在很强的线性关系($r^2 = 0.543$), 表明群体遗传结构符合地理隔离模型(图 3), 地理隔离可以解释 54%的群体间的遗传变异。采用MEGA3.1 软件对两类群的遗传距离进行分析, 表明两类群间的净遗传距离达 1.9%, 并已形成了 14 个固定核苷酸碱基的替换(表 1); 依据 16S rRNA序列的进化速率 (2%/MY), 两类群间的分化时间约为 1 000 000 年前的晚更新世冰期。

2.3 群体历史动态和中性检验

采用核苷酸不配对分布(mismatch distribution)分析对短蛸群体的历史动态进行了检验, 结果表明, 类群 A 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 4), 表明该类群历史上可能经历过种群扩张。然而对于类群 B, 核苷酸不配对分布呈双峰状, 揭示该群体为

表 1 短蛸 16S rDNA 序列单倍型及在群体中的分布
Tab.1 Haplotypes of 16S rDNA and its distribution in seven populations of *Octopus ocellatus*

单倍型 haplotype	变异类型和发生位点 sequence variation and corresponding site				群体名称 population						
	111222	222222233	333333444	444	DL	YT	QD	LY	SH	ZS	GZ
	46369111	1123688900	0022390033	478							
	4590698134	6779316956	7817322356	193							
H1	AATCCGAGC	G-AGACTC--	--C-GAACTA	CGT	13	12	6	4			
H2				.A.	2		6	9			
H3				.G	5	2	2				
H4	A....			...		1					
H5			GT	G.		1					
H6	...T.....			...		1					
H7			TTG.	...		1					
H8			G.	...		1		1			
H9	..A.....			...		1					
H10	G-.....			...			1				
H11		...T.....		.A.				1			
H12			G	...				1			
H13		T....		...				1			
H14	.T.T.A.AT	.AT.G-A..	..TAG....	.A.					5	1	
H15	.T.T.A.AT	.AT.G-AA.	.TTAG....	.A.					2	1	
H16	.T.T.AGAT	AAT...-AA.	.TTAA....	...					1	3	1
H17	.T.T.A.AT	AAT...-AA.	.TTAA....	...						2	4
H18	.T.T.AGAT	AAT...-AAT	ATT.AA....	...						1	
H19	.T.T.A.AT	.AT.G-A..	..TAG....	...						1	
H20	.T.T.AGAT	AAT...-AA.	.TTAA....	.A.						1	
H21	.T.T.A.AT	AAT...-AAT	ATT.AA....	...							1
H22	.T.T.A.AT	AAT...-AA.	.TTAA....	.AG							1
H23	.T.T.AGAT	AAT...-AA.	.TTAA....	.G							1
H24	.T.T.AGAT	AAT...-AA.	.TTTAA....	...							1
H25	.T.T.AGAT	AAT.G-AA.	.TTTAA....	.G							1

注: DL、YT、QD、LY、SH、ZS、GZ 分别代表大连、烟台、青岛、连云港、上海、舟山、广州群体; “-”代表插入序列; “.”表示与代表序列碱基相同。
Note: DL,YT, QD, LY, SH, ZS, GZ represent Dalian, Yantai, Qingdao, Lianyungang, Shanghai, Zhoushan, Guangzhou populations, respectively. “-” represents gap. “.” represents the same nucleotide base with the representative sequence.

表 2 短蛸群体的遗传变异参数统计
Tab.2 Genetic variation parameters in *Octopus ocellatus* populations

群体名称 population	样本容量 sample size	遗传变异参数 genetic variation parameter				
		<i>h</i>	<i>π</i>	<i>K</i>	Tajima D-test	Fu's <i>F_s</i> test
大连群体 Dalian population	20	0.532 ± 0.100	0.0012 ± 0.0003	0.584	0.0851	0.0840
烟台群体 Yantai population	20	0.647 ± 0.120	0.0024 ± 0.0007	1.158	-1.8693*	-4.3609**
青岛群体 Qingdao population	15	0.705 ± 0.074	0.0019 ± 0.0003	0.895	-0.0883	-0.5793
连云港群体 Lianyungang population	17	0.691 ± 0.103	0.0021 ± 0.0004	0.985	-1.0771	-1.6032
上海群体 Shanghai population	8	0.250 ± 0.180	0.0026 ± 0.0018	1.250	-1.5952*	-2.1504*
舟山群体 Zhoushan population	10	0.822 ± 0.097	0.0051 ± 0.0010	2.422	-1.4856*	-2.6713*
广州群体 Guangzhou population	10	0.756 ± 0.130	0.0029 ± 0.0007	1.400	-0.0379	-4.5226**

注: *h*, *π*, *K* 分别代表单倍型多样性指数、核苷酸多样性指数和平均核苷酸差异数。*表示检验达显著水平($P<0.05$); **表示检验达到极显著水平($P<0.01$)。
Note: *h*, *π*, *K* represent haplotype diversity, nucleotide diversity and average number of pairwise difference. *represents the test result arrives at significant level ($P<0.05$). ** represents the test result arrives at extremely significant level ($P<0.01$).

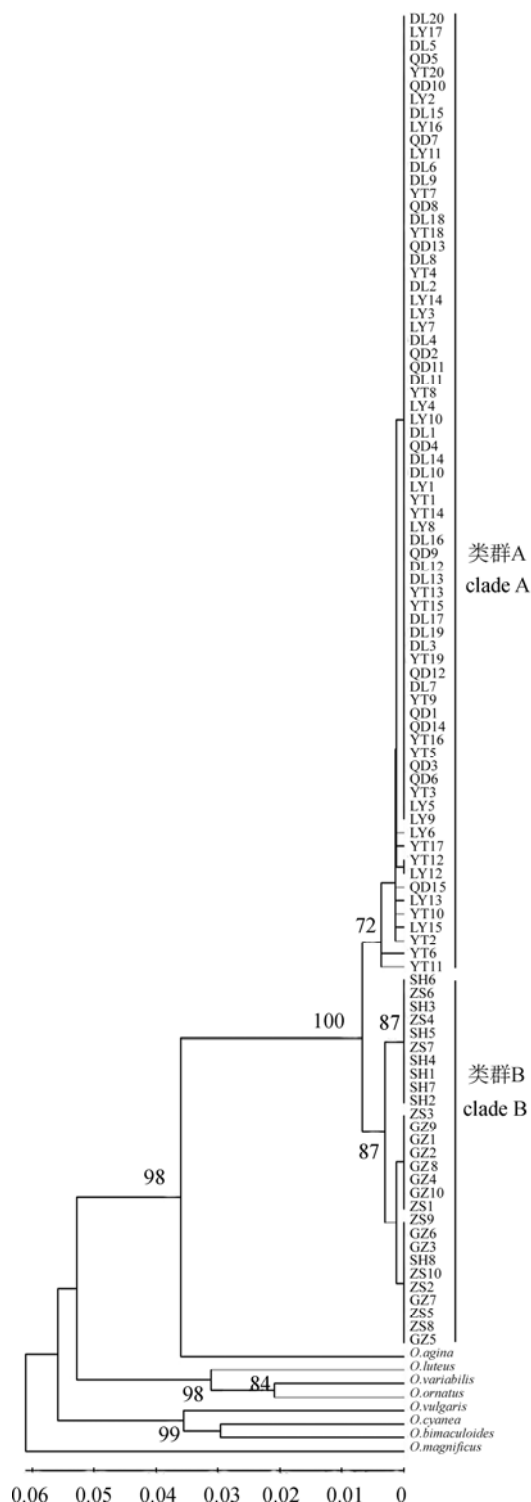


图 1 基于 16S rDNA 序列的短蛸群体 UPGMA 聚类分析
DL、YT、QD、LY、SH、ZS、GZ 分别代表大连、烟台、青岛、连云港、上海、舟山、广州群体。

Fig. 1 UPGMA tree constructed using Nei's distances for 16S rDNA of *Octopus ocellatus*
DL, YT, QD, LY, SH, ZS, GZ represent Dalian, Yantai, Qingdao, Lianyungang, Shanghai, Zhoushan, Guangzhou populations, respectively.

稳定种群, 未经历过历史种群扩张。Tajima's D 和 Fu's F_s 的中性检验也支持这种分析结果, 因为在类群 A 中 Tajima's D 和 Fu's F_s 的检验值多为较小的负值, 且检验多不显著 ($P > 0.05$), 而在类群 B 中, 2 种检验的结果多为较大的负值, 而且检验也均达显著水平 ($P < 0.05$) (表 2)。

3 讨论

本研究结果进一步证实了笔者先前对短蛸种群结构的预测, 即中国沿海的短蛸群体确实存在着明显的遗传分化。聚类分析表明, 7 个短蛸群体明显地分化为南北两大类群: A 类群由大连、烟台、青岛和连云港 4 个群体组成; B 类群由上海、舟山和广州 3 个群体组成。两类群间的净遗传距离达到 0.019, 两者的遗传分化指数 F_{ST} 达到 0.878, 并达到显著分化水平 ($P < 0.01$)。即使在 2 个分化类群内部, 不同群体间有的也存在显著的遗传分化 ($P < 0.05$), 这种显著的遗传分化甚至存在于地理距离相当近的群体间, 如上海和舟山群体之间 ($P < 0.05$)。中国短蛸群体的这种遗传分化反过来也进一步证实了该物种在中国沿海海域的种群扩散力是极其有限的, 否则群体间个体的扩散和迁移足以消除各群体间的分化。依据上海和舟山两群体的基因流推测, 中国短蛸在沿海的扩散能力应小于两者间的中线距离。对基因流与地理距离作图的结果也正说明了这一点, 因为基因流与地理距离呈负相关, 即所谓的地理隔离模型(脚踏石模型)更易在扩散能力相对较小的物种中得以检测 [29]。

对于造成中国短蛸群体遗传分化的原因, 可能有以下 2 种不同的解释。第一种解释是, 较弱的种群扩散力可能是造成中国短蛸群体显著分化的最重要的原因。这是因为短蛸生殖方式为直接发生类型, 幼体从受精卵中孵化出后即为主要营底栖生活的幼蛸, 缺乏浮游幼虫阶段, 同时成体时又缺乏长距离迁移力 [12], 因而大大限制了不同短蛸群体间的基因流, 从而造成遗传分化。然而, 这种解释并不能说明为什么在类群 A 内部大部分群体间并不存在明显的遗传分化 (表 3), 类群 A 主

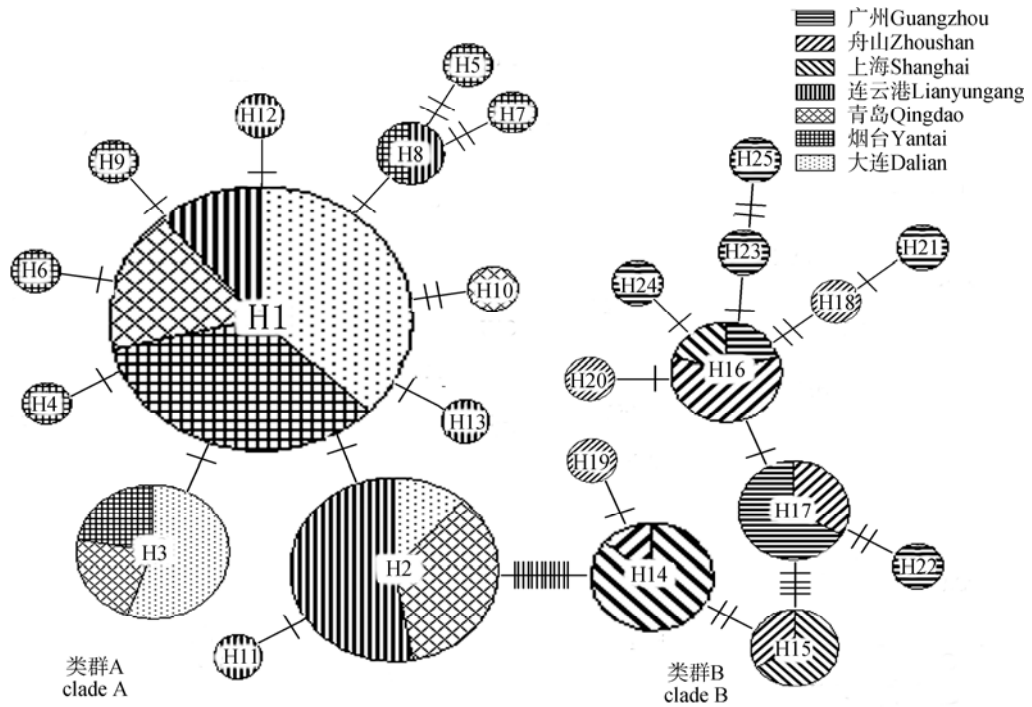


图 2 基于 16S rDNA 序列的短蛸单倍型网络关系图

图中圆圈面积与单倍型频率成正比,短划线代表单倍型间的核苷酸替换数目。

Fig. 2 Unrooted minimum spanning trees showing genetic relationship among 16S rDNA haloypes of *Octopus ocellatus* Sizes of circles are proportional to haplotype frequency. Perpendicular tick marks on lines joining haplotypes show number of nucleotide substitutions.

表 3 短蛸群体间遗传分化系数(对角线下)和基因流(对角线上)

Tab. 3 Pairwise F_{ST} (below) and N_m (above) values among populations of *Octopus ocellatus*

群体 population	大连群体 Dalian	烟台群体 Yantai	青岛群体 Qingdao	连云港群体 Lianyungang	上海群体 Shanghai	舟山群体 Zhoushan	广州群体 Guangzhou
大连群体 Dalian		15.125	5.750	1.408	0.039	0.058	0.038
烟台群体 Yantai	0.032		3.774	1.628	0.054	0.073	0.052
青岛群体 Qingdao	0.080	0.117**		37.962	0.057	0.077	0.052
连云港群体 Lianyungang	0.262**	0.235**	0.013		0.054	0.072	0.049
上海群体 Shanghai	0.927**	0.902**	0.898**	0.902**		0.997	0.320
舟山群体 Zhoushan	0.896**	0.873**	0.866**	0.874**	0.334*		7.313
广州群体 Guangzhou	0.929**	0.906**	0.906**	0.911**	0.610**	0.064	

注: *表示两群体间具有显著遗传分化($P<0.05$), **表示两群体间的遗传分化极显著($P<0.01$).

Note: * donates significant genetic differentiation between two groups($P<0.05$). ** donates extremely significant genetic differentiation between two groups($P<0.01$).

要包括大连、烟台、青岛、连云港等黄、渤海海区的短蛸群体, 高强等^[13]和张龙岗等^[14]等采用 AFLP 和同工酶等研究也证实了该海域的短蛸群体不存在明显的遗传分化, 对于这些群体具有较

高的遗传均质性的原因, 笔者推测可能因为还有其他因素参与了短蛸遗传分化格局的形成。大量的研究表明, 地球上现有的海洋生物的种群结构极大程度上受到以往地理历史事件的影响^[30]。特

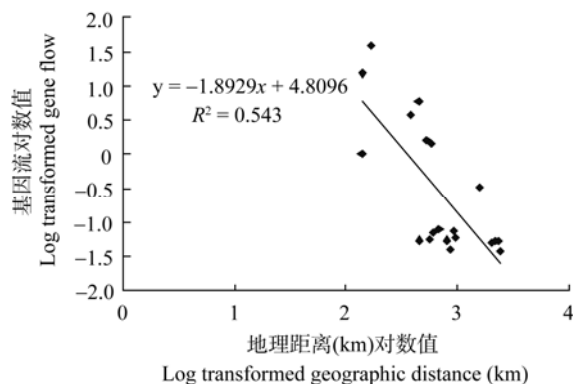


图 3 短蛸基因流与地理距离间的相关性分析

Fig. 3 Plot of gene flow (N_m) and geographic distance between populations of *Octopus ocellatus*

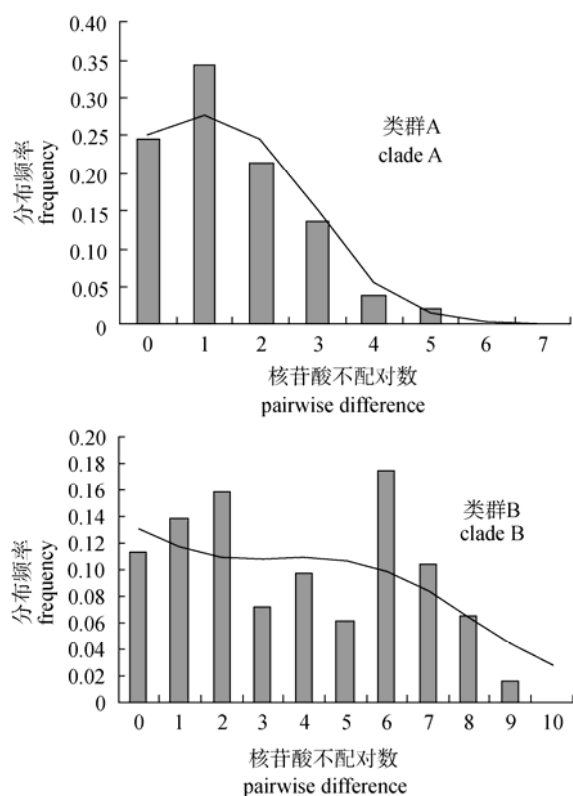


图 4 基于 16S rDNA 单倍型的短蛸种群历史动态分析
图中柱状图代表各单倍型频率的实际观测值,折线图代表种群扩张模式下各单倍型频率的期望值。

Fig. 4 Historical demography of *O. ocellatus* populations based on 16S rDNA sequences

Bars in the figure represent the observed frequencies of haplotypes. Solid lines represent expected frequency of haplotypes under sudden expansion model.

特别是晚更新世冰期以来,地球经历了一系列冰期和间冰期的周期性气候变化,据信这种周期性的气候变化造成的全球性的海域面积缩、胀是现今

许多海洋物种遗传变异和种群结构形成的重要动力^[31]。从本研究的采样地点来看,大连、烟台、青岛和连云港群体均位于中国渤海和黄海海域,该海域在晚更新世冰期以来随着冰期和间冰期的更替经历了反复的海进和海退,盛冰期期间该海域甚至出现枯竭^[4]。可能正是由于晚更新世冰期以来该海域反复的海进和海退造成该海域短蛸群体的反复迁入和迁出,从而造成了各群体间广泛的基因流和遗传均质性。依据分子钟理论推测的短蛸两类群的分化时间大致为晚更新世冰期,也从侧面印证了这个观点。第二种解释,考虑到中国短蛸群体两大类群的分化基本以长江口为界,推测长江口淡水的流入也可能在短蛸种群分化过程中扮演着重要角色。考虑到短蛸较低的盐度耐受力(幼体的盐度耐受力为 29~35^[11],该盐度几乎高于长江口附近任何海区的盐度范围^[32-33]),长江口淡水流入对短蛸种群结构形成中所起的作用是显而易见的。

至于中国短蛸群体的分化程度,研究结果表明,短蛸两类群间的遗传分化系数 F_{ST} 已达到较高的水平(0.878),且达到显著分化($P < 0.01$),两者的基因流也很低(0.069),因此认为两类群间的分化程度已达到较高水平。为更好地展示两类群间的分化程度,引入同属的 *Octopus aegina*, *O. luteus*, *O. variabilis*, *O. ornatus*, *O. vulgaris*, *O. cyanea*, *O. bimaculoides* 和 *O. magnificus* 作为外群进行聚类,结果表明两个短蛸类群与这些外群之间有着更明显的遗传差异,因此认为短蛸两类群的分化可能仍属种内群体间的分化水平;但考虑到两类群间遗传距离已达到 0.019,并产生了 14 个固定核苷酸碱基的替换,与许多头足类亚种和种间的分化相当^[34-35],因此对于它们确切的遗传分化水平还有待于进一步深入研究。

本研究的结果表明中国短蛸群体存在着较丰富的遗传多样性,该结果预示着中国短蛸资源相对较高的生态适应性和进化潜能,为今后中国该资源的开发和利用奠定了基础。同时中国沿海短蛸群体间也存在较大的遗传分化,特别是中国北方和南方群体之间的分化尤其显著,因此在今后

的开发和管理中也需区别对待。

参考文献:

- [1] Daniels S R, Stewart B A, Cook P A. Congruent patterns of genetic variation in a burrowing freshwater crab revealed by allozymes and mt DNA sequence analysis[J]. *Hydrobiologia*, 2002, 468: 171–179.
- [2] Liu J X, Gao T X, Wu S F, et al. Pleistocene isolation in the Northwest Pacific marginal seas and limited dispersal in marine fish *Chelon haematocheilus* (Temminck & Schlegel, 1845)[J]. *Mol Ecol*, 2007, 16: 275–288.
- [3] Riginos C, Victor B C. Larval spatial distributions and other early life-history characteristics predict genetic differentiation in eastern Pacific blenniod fishes[J]. *Proc Roy Soc Lond (B)*, 2001, 268: 1931–1936.
- [4] Han Z Q, Gao T X, Takashi Y, et al. Deep phylogeographic break among white croaker *Pennahia argentata* (Sciaenidae, Perciformes) populations in North-western Pacific[J]. *Fish Sci*, 2008, 74: 770–780.
- [5] Bay L K, Caley M J, Crozier R H. Meta-population structure in a coral reef fish demonstrated by genetic data on patterns of migration, extinction and re-colonisation[J]. *BMC Evol Biol*, 2008, 8: 248.
- [6] Han Z Q, Li Y Z, Gao T X, et al. Population genetic structure of coral reef species *Plectorhinchus flavomaculatus* in South China Sea[J]. *Afr J Biotechnol*, 2008, 7 (11): 1774–1781.
- [7] Lourie S A, Green D M, Vincent A C J. Dispersal, habitat differences, and comparative phylogeography of southeast Asian seahorses (Syngnathidae: Hippocampus)[J]. *Mol Ecol*, 2005, 14: 1073–1094.
- [8] Cheng Q Q, Ma C Y, Cheng H P, et al. Mitochondrial DNA diversity of *Coilia mystus* (Clupeiformes: Engraulidae) in three Chinese estuaries[J]. *Environ Biol Fish*, 2008, 83: 277–282.
- [9] Bilodeau A L, Felder D L, Neigel J E. Population structure at two geographic scales in the burrowing crustacean *Callichirus islagrande* (Decapoda, Thalassinidea): historical and contemporary barriers to planktonic dispersal[J]. *Evolution*, 2005, 59: 2125–2138.
- [10] Mathews M L. Evidence for restricted gene flow over small spatial scales in a marine snapping shrimp *Alpheus angulosus*[J]. *Mar Biol*, 2007, 152: 645–655.
- [11] 董正之. 中国动物志. 软体动物门, 头足纲[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 174–176.
- [12] 董正之. 世界海洋经济头足类生物学[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1991: 216–222.
- [13] 高强, 王昭萍, 王如才, 等. 五个短蛸群体等位基因酶的遗传变异[J]. *海洋湖沼通报*, 2002(4): 46–51.
- [14] 张龙岗, 杨建敏, 刘相全, 等. 短蛸(*Octopus ocellatus*)四个地理群体遗传特性的 AFLP 分析[J]. *海洋与湖沼*, 2009, 40(6): 803–807.
- [15] Li W H. *Molecular Evolution*[M]. Sunderland: Sinauer Associates press, 1997.
- [16] Rocha L A, Bass A L, Robertson D R, et al. Adult habitat preferences, larval dispersal, and the comparative phylogeography of three Atlantic surgeon fishes (Teleostei: Acanthuridae)[J]. *Mol Ecol*, 2002, 11: 243–252.
- [17] Kassahn K S, Donnellan S C, Fowler A J, et al. Molecular and morphological analyses of the cuttlefish *Sepia apama* indicates a complex population structure [J]. *Mar Biol*, 2003, 143: 947–962.
- [18] 郑小东, 王如才, 王昭萍. 头足类遗传变异研究进展[J]. *水产学报*, 2001, 25(1): 84–89.
- [19] Yeatman J, Benzie J A. Genetic structure and distribution of *Photololigo* spp. in Australia [J]. *Mar Biol*, 1994, 118: 79–87.
- [20] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. *Molecular cloning: A laboratory manual*[M]. 2nd ed. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- [21] Zheng X D, Wang R C, Wang X F, et al. Genetic variation in population of the common Chinese cuttlefish *Sepiella maindroni* (Mollusca: Cephalopoda) using allozymes and mitochondrial DNA sequence analysis [J]. *J. Shellfish Res*, 2001, 20: 1159–1165.
- [22] 吴常文, 许逸天, 吕振明, 等. 基于 D-LOOP 基因的中国沿海鳙鱼(*Ilisha elongata*)种群遗传结构研究[J]. *海洋与湖沼*, 2009, 40(3): 330–337.
- [23] Rohlf F. Algorithm. Hierarchical clustering using the minimum spanning tree[J]. *Comput J*, 1973, 16: 93–95.
- [24] Slatkin M. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations[J]. *Evolution*, 1993, 47: 264–279.
- [25] Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism[J]. *Genetics*, 1989, 123: 585–595.
- [26] Fu Y X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection[J]. *Genetics*, 1997, 147: 915–925.
- [27] Rogers A R, Harpending H. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences[J]. *Mol*

- Biol Evol, 1992, 9:552–569.
- [28] Brown W M. Evolution of animal mitochondrial DNA[M]// Nei M, Koehn R K. Evolution of genes and proteins. New York: Sinauer Assotition Inc., 1983: 62–88.
- [29] Palumbi S R. Population genetics, demographic connectivity, and the design of marine reserves[J]. Ecol Appl, 2003, 13(1): 146–158.
- [30] Hewitt G M. The genetic legacy of the Quaternary ice ages[J]. Nature, 2000, 405: 907–913.
- [31] 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 maculates*) in Northwestern Pacific[J]. Mol Phylogenet Evol, 2006; 39: 799–811.
- [32] 郑晓琴, 丁平兴, 胡克林. 长江口及邻近海域夏季温盐分布特征数值分析[J]. 华东师范大学学报, 2008, 6: 14–23.
- [33] 孔亚珍, 贺松林, 丁平兴, 等. 长江口盐度的时空变化特征及其指示意义 [J]. 海洋学报, 2004, 26(4): 9–18.
- [34] Lin X Z, Zheng X D, Xiao S. Phylogeny of the cuttlefishes (Mollusca: Cephalopoda) based on mitochondrial COI and 16S rRNA gene sequence data[J]. Acta Oceanol Sin, 2004, 23(4): 699–707.
- [35] Zheng X D, Yang J M, Lin X Z, et al. Phylogenetic relationships among the Decabrachia cephalopods inferred from mitochondrial DNA sequences[J]. J Shellfish Res, 2004, 23(3): 881–886.

Population genetic structure of *Octopus ocellatus* in coastal waters of China based on 16S rDNA sequence

LV Zhenming, LI Huan, WU Changwen, FAN Zhenjiao, ZHANG Jianshe

Zhejiang Provincial Key Laboratory of Mariculture Equipment and Technology, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316000, China

Abstract: Genetic structure of populations is greatly influenced by the dispersal ability of marine organisms. It seems intuitive that limited dispersal capability should result in greater genetic differentiation. *Octopus ocellatus* is a typical cephalopod species which shows limited dispersal potential. In this study, the effect of dispersal capability on population genetic structure was tested on seven populations of *O. ocellatus* in coastal waters of China, by applying mitochondrial gene sequencing technology. A 485 bp segment of the 16S rDNA gene was sequenced and analyzed in 100 specimens. Results showed that strong genetic structure existed in seven *O. ocellatus* populations. Two distinct clades with 14 fixed nucleotide base variation in the 16S rDNA gene region were detected: one was composed of four populations from northern coastal waters, including Dalian, Yantai, Qingdao, Lianyungang populations, the other consisted of three populations from southern coastal waters including Shanghai, Zhoushan, Guangzhou populations. The F_{ST} and N_m between the two clade were high, which amounted to 0.878 and 0.069, respectively. AMOVA test, which showed 12.24% of the genetic variation lied within populations and 87.76% lies between populations, further suggested there was genetic differentiation between the two lineages. The net genetic distance between the two lineage was 0.019, suggesting a moderate and intraspecific level of differentiation. The two lineages may diverge in late Pleistocene, suggested by molecular clock analysis. The divergence might be resulted from low dispersal ability in *O. ocellatus* at both larva and adult stages. Pattern of isolation by distance was observed in this species, further verifying this point of view. The frequent osilation of sea level during the late Pleistocene and the fresh water outflow from Changjiang River might also play an important role in the formation of genetic structure in *O. ocellatus* populations along China coasts. These findings will have important implications for better exploitation and protection of *O. ocellatus* resources in China in the near future.[Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(1): 29–37]

Key words: *Octopus ocellatus*; 16S rDNA; population genetic structure