

基于线粒体 DNA 12S rRNA 和 CO_I 基因序列研究 中国沿海 7 个长蛸(*Octopus variabilis*)野生群体的 遗传多样性*

徐梅英^{1,2} 李继姬¹ 郭宝英¹ 吕振明¹ 周超¹ 吴常文¹

(1. 浙江海洋学院海洋科学院 浙江省海洋养殖装备与工程技术重点实验室 舟山 316004;

2. 浙江大海洋科技有限公司 舟山 316004)

提要 基于线粒体 DNA 的 12S rRNA 和 CO_I 基因序列对我国沿海重要经济头足类长蛸不同群体(大连、烟台、青岛、连云港、舟山、温州、厦门)进行了遗传多样性和遗传结构的分析。由 PCR 扩增获得 80 个个体的 12S rRNA 基因 416bp、CO_I 基因 512bp 的部分序列, 两者多态性遗传参数统计显示, 80 个个体分别检出 64 (12S)和 27 (CO_I) 个单倍型, 总群体单倍型多样性指数(H_d)分别为 0.984 (12S)和 0.909 (CO_I), 核苷酸多样性指数(P_i)分别为 0.028 (12S)和 0.034 (CO_I), 平均核苷酸差异数(K)分别为 9.403 (12S)和 17.265 (CO_I), 显示出较丰富的遗传多样性。两种基因遗传分析结果均显示厦门群体与其它群体的显著分化。初步分析长蛸各群体遗传分化的原因之一可能是洋流格局的形成阻隔了群体间的基因交流。

关键词 长蛸, 12S rRNA, CO_I, 遗传多样性, 分子标记技术
中图分类号 Q24

长蛸(*Octopus variabilis* Sasaki)是我国沿海重要的海洋头足类, 又名马蛸、长腿蛸、大蛸, 隶属于软体动物门(Mollusca)、头足纲(Cephalopoda)、蛸科(Octopodidae)、蛸属(*Octopus*), 分布在我国南北近海(董正之, 1988)。长蛸肉味鲜美, 可鲜食, 也可晒成干品, 具有补气养血, 收敛生肌的作用, 其内骨骼(中药名海螵蛸)和墨囊具有较高的药用价值, 有止血、抗癌等功效, 经济价值较高, 是畅销国内外市场的水产品, 也一直是我国重要的海洋捕捞种类之一。近年来, 由于我国沿海头足类资源的大力开发, 捕捞强度日益加大, 长蛸资源量日趋衰退(许星鸿等, 2008), 目前我国沿海已逐渐开展了长蛸的人工养殖。

目前, 有关长蛸的研究主要集中在形态学、组织学、生理生态、人工育苗及养殖等方面(董正之, 1988; Wells *et al*, 1995; 崔龙波等, 2000), 分子遗传学方面的研究不多, 仅见高强等(2009)采用等位酶技术对渤海海域长蛸群体的遗传变异进行了分析, 常抗美等(2010)、孙宝超等(2010)对中国沿海长蛸群体线粒体 CO_I 的遗传变异进行了研究, 李焕等(2010)研究了中国沿海 4 个长蛸群体 16S rRNA 基因的遗传变异。在此研究背景下, 本文采用线粒体基因 12S rRNA 和 CO_I 序列分析技术对黄海、渤海、东海 7 个地理群体长蛸资源的遗传多样性和遗传结构进行研究, 以期合理有效的利用和保护蛸科种质资源提供理论依据。

* 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目“名贵头足类苗种规模繁育关键技术”, 2010AA10A404 号; 国家海洋公益性行业科研专项, 201005013 号; 海洋渔业科学与技术浙江省重中之重学科开放课题, 20100105 号; 浙江海洋学院人才引进启动项目, 21135011509 号。徐梅英, E-mail: xmy5530@163.com

通讯作者: 吴常文, 教授, E-mail: wucw08@126.com

收稿日期: 2010-06-18, 收修改稿日期: 2010-08-25

1 材料与amp;方法

1.1 样品的采集

长蛸(*Octopus variabilis*)样品于2008年1—6月期间取自渤海、黄海、东海海域,采集地点分别辽宁大连(DL)、山东烟台(YT)、青岛(QD)、江苏连云港(LYG)、浙江舟山(ZS)、温州(WZ)、福建厦门(XM),样本取新鲜肌肉保存于95%酒精,带回实验室备用。

1.2 DNA的提取、扩增及测序

取长蛸外套肌组织,采用《分子克隆实验指南》(Sambrook *et al.*, 2002)蛋白酶K、酚/氯仿提取法(稍作修改)提取基因组DNA。

细胞色素氧化酶亚基和线粒体DNA 12S rRNA基因片段的扩增引物源自文献(Allcock *et al.*, 2008), CO 基因片段的两条引物分别为: F1 (5' CAATG ATGAC GAGAT ATTAT YCG 3'), R1 (5' TCAAC AAAGT GTCAG TATCA 3'); 12S rRNA基因片段的两条引物分别为: F2 (5' AAGAG CGACG GGCGA TATGT A 3'), R2 (5' AGACT AGGAT TAGAG ACCCT ATTA 3'); 引物由上海英骏生物技术公司合成。PCR反应体系为:总体积 25 μ l, 其中 ddH₂O 13.75 μ l, 2.5mmol/L dNTPs 2.5 μ l, 10 \times buffer 2.5 μ l, 5U/ μ l *Taq* DNA polymerase 0.25 μ l, 20mmol/L Mg²⁺ 2 μ l, 10 μ mol/L 引物各 1 μ l, 模板DNA溶液(10—100ng/ μ l) 2 μ l; 循环条件为: 94 预变性 5min, 94 40s, 50 40s, 72 90s, 38个循环后, 72 延伸 10min。两个基因的PCR反应条件相同。

PCR扩增产物纯化后送交上海英骏生物技术公司测序。

1.3 数据分析

序列结果利用MEGA3.1软件中的Clustal X插件进行DNA序列排列,并辅以人工较对。用MEGA3.1软件进行序列比较和变异检测,确定变异位点和单倍型。用DnaSP4.10软件计算核苷酸多样性(Nucleotide diversity, π)、单倍型多样性(haplotype diversity, h)和核苷酸歧异度(Pairwise divergence)。用Arlequin3.01软件中的分子变异分析(AMOVA)方法估算遗传变异在群体内和群体间的分布,并计算群体间遗传分化系数(F-statistics, F_{st})及其显著性(重复次数 1000),种群间基因流用 Nm 来估计: $Nm = (1 / F_{st} - 1) / 2$ 。

2 结果

2.1 12S rRNA 基因序列分析结果

经PCR扩增,得到12S rRNA基因片段的扩增产

物,经测序,除去引物及部分端部序列,得到可清楚判读的碱基数为416bp。各群体长蛸12S rRNA基因片段中T、A、C、G平均含量分别为36.7%、44.4%、12.5%和6.4%,A+T含量(81.1%)明显高于G+C含量(18.9%)。

12S rRNA基因序列经DnaSP4.10软件分析显示,80个个体共检测到46个变异位点,占分析位点总数的11.1%,其中单突变位点6个,简约信息位点40个。同时还检测到76个插入或缺失位点,碱基插入或缺失主要发生在314—405bp之间的区域,以TA重复片段的形式进行。多态性遗传参数统计显示,80个个体共检出64个单倍型(表1),总群体单倍型多样性指数(Hd)为0.984,核苷酸多样性指数(Pi) 0.028,平均核苷酸差异数(K) 9.403,显示出较丰富的遗传多样性。

遗传结构分析方面,7个群体的12S rRNA基因序列比较结果表明,各群体在核苷酸组成上和遗传参数上均存在显著差异。温州、厦门群体在核苷酸组成上与其它群体存在显著差异,如表1所示。遗传参数统计表明,各群体多态位点比例在1.20%—2.89%之间;单倍型多样性指数在0.934—1.000之间;核苷酸多样性指数在0.018—0.030之间;平均核苷酸差异数在6.505—9.109之间,如表2所示。各群体间的遗传分化系数和基因流计算结果如表3所示,温州群体与其它群体之间分化系数为0.346—0.779,厦门群体与其它群体之间分化系数更高,为0.774—0.829,均达到极显著水平($P < 0.01$),基因流 Nm 也均小于1;连云港与烟台、青岛群体,舟山与烟台群体之间虽分化显著($0.01 < P < 0.05$),但仍具有一定的基因流($Nm > 1$);大连与连云港、青岛、烟台、舟山群体,连云港与舟山群体,青岛与烟台、舟山群体,遗传分化不显著($P > 0.05$)。大连与烟台群体,青岛与舟山群体的遗传分化系数为负值,说明了群体内部的分化占据主导。AMOVA进一步分析显示在整个遗传变异中有64.06%存在于群体内部,35.94%存在于群体之间,进一步证实了长蛸群体内部分化为遗传变异的主要部分。

经MEGA 3.1软件的UPGMA聚类分析(图1A)结果表明,所有个体可以明显聚为2支,厦门群体所有个体组成一支,另一支由大连、烟台、青岛、连云港、舟山和温州6群体的个体组成,后者中温州又单独成一小支,与其它5个群体并列相存;遗传距离分析表明,厦门群体与其它6个群体的净遗传距离为0.045—0.053,温州群体与其它5个群体的净遗传距离为0.008—0.011,剩余5个群体之间的净遗传距离

表 1 长蛸群体 12S rRNA 基因序列单倍型及在群体中的分布
Tab.1 Haplotypes of 12S gene and its distribution in seven populations of the seven *O. variabilis* populations

单倍型	变异类型和发生位点				群体名称						
	1111112222	2222333333	3333334444	44	大	烟	青	连	舟	温	厦
445567799	2245990000	2449377777	8888990000	11				云			
4031710609	7817671467	1199646789	1589690457	15	连	台	岛	港	山	州	门
H1	TATTCACCTT	ACAATGTTAT	ATAATTCTTA	GAAACCTTCA	AA	1	1				
H2A..AT.	.T	1					
H3A..	GT	3	4		2	1	
H4TA..	A...TT..TC	..	1		1			
H5C.....A.A..A..	..	1					
H6C.....A..	G.	1					
H7C.....A..	.T	1					
H8TA..	A...AT.A.C	..	1					
H9C.....A.....A..	GT	1					
H10TA..	...TTC.TC	..				1		
H11TA..	...T.A..	..				1		
H12TA..	...TT..TC	..				1		
H13TA..	A...AT..TC	..				1		
H14C.TA..	A...TT.AT.	..				1		
H15TA..	A...TT.AT.	..				1		
H16C.A..	G.				1		
H17A..	..				2		
H18A.A..T.A..	..				1		
H19A....A..T.A..	..			1			
H20A.A..	...TT..T.	..			1			
H21A.A..T....	..			1			
H22C.A.A..A..	.T			1			
H23C.A..	GT			1			
H24A.A.TT...T.	..			1			
H25C.A.-T.A..	.T			1			
H26A..A..	G.			1			
H27C.....A.AC.A..	..			1			
H28CA..	A...TT..T.	..			1			
H29	C....T...G.A.A.A..	..					2	
H30	C....T...G.A.AC.	...AT..T.	..					1	
H31	C....T...G.CAA.G	...TT..A.	..					1	
H32	C....T...G.A.A.	...TT..A.	..					1	
H33	C....T...G.....A..	GT					2	
H34	C....T...G.A.AC.T.A..	..					1	
H35	C....T...C..	...G.A.A.	...A.A..	..					1	
H36	C....T...C..	...G.....T.A..	..					1	
H37	C....T...G.....A..	G.					1	
H38	.TCCATTT..	TTT...A.TA	.C.G.A.A.	A...T.A..	..						1
H39	.TCCATTT..	TTT...A.TA	.C.G.A.A.	A...T..T.	..						1
H40	.TCCATTT..	TTT...A.TA	.C.G.ATA..	A...T.AT.	..						1
H41	.TCCATTT..	TTT...A.TA	.CGG.A.A.T.A..	..						1
H42	.TCCATTT..	TTT...A.TA	.C.G.AAA..	AGGG.T..T.	..						1
H43	.TCCATTT..	TTT...A.TA	.C.G.A.A.T.A..	..						2
H44	.TCCATTT..	TTT...A.TA	.C.G.C.A.	..G..T.A..	..						1
H45	.TCCATTT..	TTT...A.TA	.C.G...A.T.AA.	..						1
H46	.TCCATTT..	TTT...A.TA	.C.G..TA..	A...T.AA.	..						1

续表

单倍型	变异类型和发生位点					群体名称						
						大	烟	青	连	舟	温	厦
	1111112222	2222333333	3333334444	44								
	445567799	2245990000	2449377777	8888990000	11				云			
	4031710609	7817671467	1199646789	1589690457	15	连	台	岛	港	山	州	门
H47	.TCCATTT..	TTT...A.TA	.C.G..TA..T.AA.	..							1
H48A..A..	.G	2						
H49A..T..AA.	.G	1						
H50A..	GG	1						
H51A..	A...TTC.T.	..	1						
H52C.A.A..AT.	G.	1						
H53A..	.T	1						
H54T...A..	..	1						
H55A.A..	...AT..T.	..					1		
H56A....A..	GT					1		
H57A..	G.					1		
H58A.AC.T.A..	..					1		
H59A.AC.	...TT.AT.	..					1		
H60A..	...T..A..	..					1		
H61G.....AAA..	...TT.AT.	G.					1		
H62G.....ATA..	A...AT.AA.	..					1		
H63A..A..	G.					1		
H64-A.AC.	...T...T.	..					1		

表 2 基于 12S 序列的长蛸群体的遗传变异参数统计

Tab.2 Statistics of genetic variation parameter of 12S gene in the seven *O. variabilis* populations

群体变异参数	大连	烟台	青岛	连云港	舟山	温州	厦门
个体数	11	14	11	11	11	11	11
多态位点比例(%)	1.202	2.885	2.404	1.442	1.202	1.923	1.683
单倍型数	9	11	11	10	11	9	11
单倍型多样性(Hd)	0.945±0.066	0.934±0.061	1.000±0.039	0.982±0.046	1.000±0.039	0.964±0.051	1.000±0.039
核苷酸多样性(Pi)	0.0197±0.0041	0.0183±0.0041	0.0247±0.0023	0.0273±0.0024	0.0238±0.0023	0.0300±0.0046	0.0220±0.0029
平均核苷酸差异数(K)	6.873	6.505	7.891	9.109	8.709	7.855	7.164
Tajima's D 检验统计量	0.7948	-0.7038	0.1573	0.5809	0.0913	0.6443	1.1242
P-value	0.8250	0.2530	0.5820	0.7580	0.5870	0.7850	0.9080
Fu's Fs 检验统计量	-2.2320	-4.0552	-1.8386	-1.9138	-1.4440	-2.1216	-2.8376
P-value	0.0880	0.0230	0.1020	0.0930	0.1630	0.0970	0.0590

表 3 基于 12S 序列的长蛸群体间遗传分化系数(对角线下)和基因流(对角线上)

Tab.3 Genetic fixation index (below diagonal) and gene flow (above diagonal) of 12S gene among the seven *O. variabilis* populations

群体	大连	烟台	青岛	连云港	舟山	温州	厦门
大连	—	-44.7870	4.1882	5.5002	5.0303	0.6834	0.1232
烟台	-0.0113*	—	2.8813	3.0577	3.7387	0.5903	0.1030
青岛	0.1067*	0.1479*	—	23.7836	-45.6264	0.8743	0.1461
连云港	0.0833*	0.1405**	0.0206**	—	11.5831	0.7410	0.1437
舟山	0.0904*	0.1180**	-0.0111*	0.0414*	—	0.9437	0.1463
温州	0.4225***	0.4586***	0.3638***	0.4029***	0.3463***	—	0.1420
厦门	0.8023***	0.8291***	0.7739***	0.7767***	0.7737***	0.7789***	—

*示差异不显著($P>0.05$); **示差异显著($0.01<P<0.05$); ***示差异极显著($P<0.01$)

在 0.000—0.002 之间; 7 个群体的 Tajima's *D* 和 Fu's *F_s* 检验结果表明, 尽管有些群体的 Tajima's *D* 和 Fu's *F_s* 值为负值, 但均未达到显著水平($P>0.05$), 因此不支持这些群体历史上经过种群扩张。

2.2 CO 基因序列分析结果

按照 12S rRNA 基因序列分析手段和方法, 得到 CO 基因片段同源序列 512bp。各群体长蛸 CO 基因片段中 T、A、C、G 平均含量分别为 41.1%、31.1%、16.8% 和 11.0%, A+T 含量(72.2%)明显高于 G+C 含量(17.8%), 与 12S rRNA 基因序列相似。

80 个 CO 基因片段共检测到 76 个变异位点, 占分析位点总数的 14.8%, 其中单突变位点 4 个, 简约信息位点 72 个, 同时还检测到 8 个插入或缺失位点。多态性遗传参数统计显示, 80 个个体共检出 27 个单倍型(表 4), 总群体单倍型多样性指数(*H_d*)为 0.909, 核苷酸多样性指数(*P_i*)为 0.034, 平均核苷酸差异数(*K*)为 17.265, 显示出较丰富的遗传多样性。

遗传结构分析方面, 7 个群体的 CO 基因序列比较结果表明, 各群体在核苷酸组成上和遗传参数上均存在显著差异。温州、厦门群体在核苷酸组成上与其它群体存在较大差异, 如表 4 所示。遗传参数统计表明, 各群体多态位点比例在 0.78%—3.52%之间; 单倍型多样性指数(*H_d*)在 0.564—0.964 之间; 核苷酸多样性指数(*P_i*)在 0.003—0.014 之间; 平均核苷酸差

异数(*K*)在 1.345—6.909 之间, 如表 5 所示。各群体间的遗传分化系数和基因流计算结果如表 6 所示, 温州群体、厦门群体与其它群体之间分化系数高于其它群体之间的系数, 且均达到极显著水平($P<0.01$), 基因流 *Nm* 也均小于 1; 大连、烟台、青岛、连云港与舟

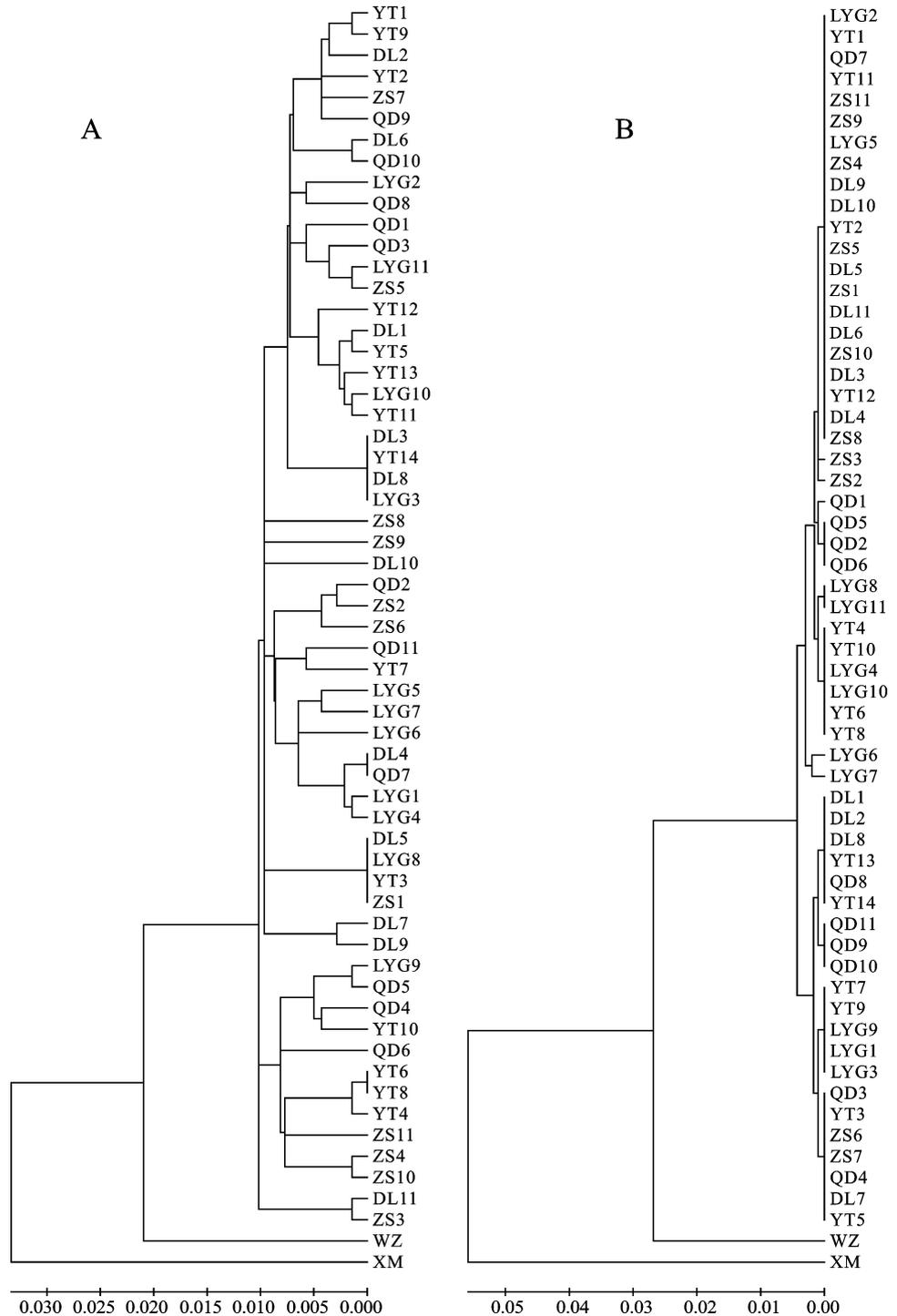


图 1 基于 12S 序列(A)和 CO 序列(B)的 UPGMA 聚类分析图

Fig.1 UPGMA trees of 12S gene (A) and COIII gene (B) constructed from genetic distance among the *O. variabilis* individuals

表 5 基于 COIII 序列的长蛸群体的遗传变异参数统计

Tab.5 Statistics of genetic variation parameter of COIII gene in *O. variabilis* populations

群体变异参数	大连	烟台	青岛	连云港	舟山	温州	厦门
个体数	11	14	11	11	11	11	11
多态位点比例(%)	0.7813	0.9766	1.3672	1.3672	0.9766	3.5156	1.1719
单倍型数	3	5	6	6	4	5	9
单倍型多样性(<i>Hd</i>)	0.564±0.134	0.835±0.057	0.873±0.071	0.891±0.063	0.600±0.154	0.873±0.059	0.964±0.051
核苷酸多样性(<i>Pi</i>)	0.0038±0.0008	0.0046±0.0005	0.0069±0.0008	0.0050±0.0008	0.0026±0.0009	0.0135±0.0037	0.0041±0.0006
平均核苷酸差异数(<i>K</i>)	1.964	2.374	3.527	2.582	1.345	6.909	2.073
Tajima's <i>D</i> 检验统计量	1.6033	1.7647	1.9312	0.3258	-0.8117	0.5588	0.0468
<i>P</i> -value	0.9520	0.9640	0.9830	0.6440	0.2450	0.7220	0.5290
Fu's <i>F_s</i> 检验统计量	2.1066	0.5056	-0.1380	-0.9046	-0.1098	2.8839	-6.3059
<i>P</i> -value	0.8750	0.6360	0.4680	0.2650	0.4110	0.9220	0.0010

表 6 基于 COIII 序列的长蛸群体间的遗传分化系数(对角线下)和基因流(对角线上)

Tab.6 Genetic fixation index (below diagonal) and gene flow (above diagonal) of COIII gene among the *O. variabilis* populations

群体	大连	烟台	青岛	连云港	舟山	温州	厦门
大连	—	27.6849	9.8864	1.6768	20.8584	0.1947	0.0207
烟台	0.0177*	—	4.7698	7.8098	3.6129	0.2004	0.0229
青岛	0.0481*	0.0949**	—	1.3353	2.0137	0.2257	0.0289
连云港	0.2297***	0.0602*	0.2724***	—	1.5153	0.1930	0.0236
舟山	0.0234*	0.1216*	0.1989**	0.2481***	—	0.1770	0.0172
温州	0.7197***	0.7139***	0.6890***	0.7215***	0.7385***	—	0.0445
厦门	0.9602***	0.9562***	0.9454***	0.9549***	0.9667***	0.9183***	—

*示差异不显著($P>0.05$); **示差异显著($0.01<P<0.05$); ***示差异极显著($P<0.01$)

山五个群体之间部分分化系数虽显著($0.01<P<0.05$)或极显著($P<0.01$),但仍具有一定的基因流($Nm>1$)。AMOVA 进一步分析显示在整个遗传变异中有 15.12%存在于群体内部,84.88%存在于群体之间,支持长蛸群体间的分化。

经 MEGA 3.1 软件的 UPGMA 聚类分析(图 1B)结果表明,所有个体可以明显聚为 2 支,厦门群体所有个体组成一支,另一支由大连、烟台、青岛、连云港、舟山和温州 6 群体的个体组成,后者中温州又单独成两小支,其中一支与其它 5 个群体并列相存;遗传距离分析表明,厦门群体与其它 6 个群体的净遗传距离为 0.103—0.108,温州群体与其它 5 个群体的净遗传距离为 0.023—0.025,剩余 5 个群体之间的净遗传距离在 0.000—0.002 之间;7 个群体的 Tajima's *D* 和 Fu's *F_s* 检验结果表明,尽管有些群体的 Tajima's *D* 和 Fu's *F_s* 值为负值,除厦门 Fu's *F_s* 值显著外($P<0.01$),其它值均未达到显著水平($P>0.05$),因此这些群体可能未经历过历史扩张事件。

3 讨论

物种的遗传变异一般能体现该物种适应环境变化能力的强弱,群体遗传变异程度以遗传多样性的高低来体现,遗传多样性的丧失对物种生存带来直接的不利影响(鲍毅新等,2008),遗传变异较低的物种的种群恢复力偏低,更承担着种群灭绝的高风险,而遗传变异较高的物种则具有较高的进化潜能和生态适应性(杨金权等,2008)。头足类是公认的遗传变异相对贫乏的生物物种,大部分物种均显现出较低的遗传变异水平,如此低的遗传变异水平通常仅发生在种群严重衰退的群体中,而在任何其它的无脊椎动物群体中则很少见(吕振明等,2010),但是本文针对 12S 和 CO 基因的研究结果表明我国的长蛸群体存在相对较高的遗传多样性。

基于 12S rRNA 基因研究的 80 个个体检出 64 个单倍型,基于 CO 基因检出 27 个单倍型,总群体单倍型多样性指数(*Hd*)分别高达 0.984 (12S)和 0.909 (CO),这种高度丰富的单倍型多样性比已研究的

真蛸(*Octopus vulgaris*)(Teske *et al.*, 2007)、曼氏无针乌贼(*Sepiella maindroni*)(Zheng *et al.*, 2001)等部分头足类要高,甚至高于部分海洋鱼类和贝类的多样性(Iguchi *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2009)。核苷酸多样性指数(P_i)分别为 0.028 (12S)和 0.034 (CO₁),与多种海洋生物种类处在同一水平。由单倍型多样性指数(H_d)和核苷酸多样性指数(P_i)来看,相对较高的遗传多样性说明我国长蛸群体具备较高的生态适应性和进化潜能,这为今后我国长蛸资源的合理开发和利用奠定了良好的理论基础。

本文通过线粒体 DNA 12S 基因和 CO₁ 基因研究了我国海域长蛸的 7 个群体的遗传多样性,综合分析两个基因序列多态性遗传参数统计数据结果显示,7 个长蛸群体呈现较丰富的遗传多样性,12S 和 CO₁ 分析厦门群体与其它 6 个群体的净遗传距离分别高达 0.045—0.053 和 0.103—0.108,据根 Nei(1976)估算,同一物种内的地区种群间 D 值变动在 0—0.05 之间,亚种间的 D 值约为 0.02—0.20,种间遗传距离的变幅为 0.10—2.00 之间,故厦门群体与其它群体间达到了亚种间的分化,但是否确认厦门群体的亚种分化仍有待进一步研究。AMOVA 分析结果有所差异,基于 12S 基因分析显示在整个遗传变异中以群体内变异为主,而基于 CO₁ 基因分析则支持长蛸群体间的分化,导致 AMOVA 分析结果产生如此大的差异的原因有待进一步探究。遗传分化系数和基因流参数显示,厦门群体与其它群体的遗传分化极显著($P < 0.01$),基因流参数也远远小于 1,温州群体也与其它群体发生较大分化,介于厦门群体和其它五个群体之间,较北方五个群体的遗传分化不明显,12S 和 CO₁ 的分析结果是一致的。

本文的分析结果与常抗美等(2010)、李焕等(2010)基本一致。常抗美等(2010)在讨论自舟山以北的五个群体之间广泛的基因交流问题上引入了更新世以来的冰期黄、渤海海平面升降论述,海平面的反复升降造成黄、渤海长蛸群体反复迁入和迁出,从而与东海部分海域(舟山)的长蛸群体产生广泛的基因交流。李焕等(2010)也持相同的观点。

本文从另一方面展开论述。海洋洋流格局的形成可能会导致长蛸群体的分化和基因交流,因海洋环境中缺乏像陆地一样能阻止生物种群扩散和基因交流的有效屏障(Ward *et al.*, 1994),导致海洋生物类群

与陆生生物相比种群结构简单、基因交流频繁、遗传分化相对匮乏,尤其是具有长距离运动能力的海洋生物(Liu *et al.*, 2007)。但对营低栖穴居生活的长蛸而言,由于活动时间和范围的限制,以及产卵并孵化于洞穴,理论上这些因素阻断了群体间的正常的基因交流,群体遗传分化将会很明显。但本文的分析结果却与此相悖,中国沿海的 7 个长蛸群体基本分为两支,舟山及其以北的 5 个长蛸群体汇聚成一个较大的类群,与温州群体并为一支,厦门群体单独成为一支。这样看来,舟山及其以北的 5 个长蛸群体形成一大类群,符合 Ward 等(1994)的理论,而厦门、温州群体和其它群体的分化却又与长蛸的生活习性对种群结构的影响一致。

作为生活在海洋里的生物长蛸,具有短距离的生殖和越冬洄游习性(董正之, 1988),它们的生存和种族延续必然受到海洋潮流的影响。作为世界海洋第二大暖流的黑潮是影响我国海域海流的大型洋流,发源北赤道,紧贴台湾东部进入东海,在琉球群岛附近形成一支,经济州岛进入黄海和渤海,这支黄海暖流到达渤海口致使渤海内形成逆时针的环流,出渤海经山东半岛向南形成黄海沿岸流经舟山群岛一直到达南海海域,因它在南下的流动中并不完全连续,故按所在地区不同而有不同名称,自北向南有鲁北沿岸流、苏北沿岸流、浙闽沿岸流和广东沿岸流(马超, 2009)¹⁾。

自浙江东南向福建沿岸的浙闽沿岸流经过温州,与相反流向的台湾海峡流以及黑潮自台湾的西北流分支在闽东相遇,阻碍了浙闽沿岸流继续向南推进(LÜ *et al.*, 2007)。朱大勇等(2008)通过地波雷达观测了台湾海峡西南表层海流季节性变化,发现临近厦门海域的沿岸表层流基本上是周期性环形流向,表层流和其它海域缺乏交流,形成一个相对封闭的环流格局。

本研究综合分析渤海、黄海和东海的沿岸流趋向,正好与长蛸的种群遗传结构相吻合。尽管长蛸的生活习性影响着种群结构,但本文还是倾向于支持 Ward 等(1994)的观点,在黄海暖流的影响下,自渤海向南的黄海沿岸流和东中国海寒流一直到达舟山群岛,常年的水团交流必将加强长蛸群体之间的基因交流,这样就可以解释大连、烟台、青岛、连云港和舟山 5 个长蛸群体为何能形成一大类群。舟山群岛阻挡了由

1) 马超, 2009. 黑潮对东中国海主要流系的影响. 青岛: 中国海洋大学博士学位论文, 1—8

北向的沿岸流,所以相距较近的舟山和温州群体的交流程度还不及较远的北方群体,浙闽沿岸流在闽东就遭遇了北上的台湾海峡流和西进的黑潮分支流(LÜ *et al.*, 2007),台湾海峡西南部厦门海域的表层流呈现周期性环形流向(朱大勇等, 2008),这样厦门海域与温州海域不能形成稳定的水团交流,加上厦门处在半封闭的海湾内,更限制了厦门群体和其它群体间的交流,这些证据从海水交换角度支持厦门长蛸群体独立形成一大类群。

像长蛸一样营洞穴生活的海洋生物,缺乏长距离迁徙和洄游能力,人为干预和海洋环境的变化便成为影响种群遗传结构的主导因素。迄今为止没有发现能有效影响长蛸遗传结构的任何人为因素,海洋洋流分布格局便成为影响长蛸群体基因交流的天然屏障,是决定长蛸种群结构的又一大影响因素。

本文的研究结果对长蛸资源的合理开发和利用具有重要启示。厦门群体和温州及其以北的六个群体的显著遗传分化昭示着以后的长蛸资源开发管理需要因地制宜,区别对待。厦门群体的亚种分化具有一定可能性,但是确认亚种的分化需要进一步的考证与探究。本文涉及的洋流格局的形成导致群体分化的分析方法将对今后其它海洋生物的群体遗传研究有所帮助。

参 考 文 献

吕振明, 李 焕, 吴常文等, 2010. 中国沿海六个地理群体短蛸的遗传变异研究. 海洋学报, 32(1): 130—138

朱大勇, 李 立, 李 炎等, 2008. 台湾海峡西南部表层海流季节变化的地波雷达观测. 科学通报, 53(11): 1339—1344

许星鸿, 阎斌伦, 郑家声等, 2008. 长蛸生殖系统的形态学与组织学观察. 动物学杂志, 43(4): 77—84

孙宝超, 杨建敏, 孙国华等, 2010. 中国沿海长蛸(*Octopus variabilis*)自然群体线粒体 COI 基因遗传多样性研究. 海洋与湖沼, 41(2): 259—265

李 焕, 吕振明, 常抗美等. 2010. 中国沿海长蛸群体 16S rRNA 基因的遗传变异研究. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 29(4): 325—330

杨金权, 胡雪莲, 唐文乔等, 2008. 长江口邻近水域刀鲚的线粒体控制区序列变异与遗传多样性. 动物学杂志, 43(1): 8—15

高 强, 郑小东, 孔令锋等, 2009. 长蛸 *Octopus variabilis* 自然群体生化遗传学研究. 中国海洋大学学报, 39(6): 1193—1197

常抗美, 李 焕, 吕振明等, 2010. 中国沿海 7 个长蛸(*Octopus variabilis*)群体 COI 基因的遗传变异研究. 海洋与湖沼,

41(3): 307—314

崔龙波, 赵 华, 2000. 长蛸消化道的组织学与组织化学研究. 烟台大学学报, 13(4): 277—281

董正之, 1988. 中国动物志. 软体动物门. 头足纲. 北京: 科学出版社, 181—182

鲍毅新, 程宏毅, 周襄武等, 2008. 黑麂(*Muntiacus crinifrons*)3 个种群的遗传多样性. 生态学报, 28(8): 4030—4036

Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T, 2002. 黄培堂译. 分子克隆实验指南(第 3 版). 北京: 科学出版社, 463—471

Allcock A L, Strugnell J M, Johnson M P, 2008. How useful are the recommended counts and indices in the systematics of the Octopodidae (Mollusca: cephalopoda). Biological Journal of the Linnean Society, 95: 205—218

Iguchi A, Takai S, Ueno M *et al.*, 2007. Comparative analysis on the genetic population structures of the deep-sea whelks *Buccinum tsubai* and *Neptunea constricta* in the Sea of Japan. Mar Biol, 151: 31—39

LÜ Huaqing, SONG Haitang, Chris BAYLY, 2007. Temporal and spatial distributions of dominant shrimp stocks and their relationship with the hydrological environment in the East China Sea. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 25(4): 386—397

Liu J X, Gao T X, Wu S F *et al.*, 2007. Pleistocene isolation in the Northwest Pacific marginal seas and limited dispersal in marine fish, *Chelon haematocheilus* (Temminck & Schlegel, 1845). Molecular Ecology, 16: 275—288

Liu Y, Liu R L, Ye L C *et al.*, 2009. Genetic differentiation between populations of swimming crab *Portunus trituberculatus* along the coastal waters of the East China Sea. Hydrobiologia, 618: 125—137

Nei M, 1976. Mathematical models of speciation and genetic distance. In: Karlin S, Nevo E ed. Population Genetics and Ecology. London: Academic Press, 723—766

Teske P R, Oosthuizen A, Papadopoulos I *et al.*, 2007. Phylogeographic structure of *Octopus vulgaris* in South Africa revisited: identification of a second lineage near Durban Harbour. Mar Biol, 151: 2119—2122

Ward R D, Woodwark M, Skibinski D F, 1994. A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater, and anadromous fishes. Journal of Fish Biology, 44: 213—232

Wells M J, Wells J, 1995. The control of ventilatory and cardiac responses to changes in ambient oxygen tension and oxygen demand in octopus. Journal of Experimental Biology, 198(8): 1717—1727

Zheng X D, Wang R C, Wang X F *et al.*, 2001. Genetic variation in population of the common Chinese cuttlefish *Sepiella maindroni* (Mollusca: Cephalopoda) using allozymes and mitochondrial DNA sequence analysis. J Shellfish Res, 20: 1159—1165

GENETIC DIVERSITY OF SEVEN POPULATIONS OF *OCTOPUS VARIABILIS* IN CHINA'S COASTAL WATERS BASED ON THE 12S rRNA AND CO_{II} GENE ANALYSIS

XU Mei-Ying^{1,2}, LI Ji-Ji¹, GUO Bao-Ying¹, LÜ Zhen-Ming¹,
ZHOU Chao¹, WU Chang-Wen¹

(1. Marine Science College of Zhejiang Ocean University, Key Laboratory of Mariculture Equipments and Engineering Technology of Zhejiang Province, Zhoushan, 316004; 2. Zhejiang Dahaiyang Science and Technology Co., Ltd., Zhoushan, 316004)

Abstract In this study, the genetic diversity and genetic structure of seven wild populations of *Octopus variabilis* in China's coastal waters (Dalian, Yantai, Qingdao, Lianyungang, Zhoushan, Wenzhou and Xiamen) were analyzed using the mitochondrial gene sequencing technology (12S rRNA and CO_{II}). The result revealed 64 haplotypes using the 12S rRNA gene and 27 haplotypes using the CO_{II} gene for total 80 individuals obtained using PCR method. The haplotype diversities (Hd) were 0.9840 (12S) and 0.9092 (CO_{II}), respectively; the nucleotide diversities (Pi) were 0.0277 (12S) and 0.0337 (CO_{II}), respectively; and the average nucleotide differences (K) were 9.403 (12S) and 17.265 (CO_{II}), respectively, showing high genetic diversity among populations. The genetic distances between the Xiamen population and other populations were up to 0.072 (12S) and 0.102 (CO_{II}), respectively, showing considerable genetic differentiation, which is probably caused by different hydrological conditions in the Xiamen site than other sites.

Key words *Octopus variabilis*, 12S rRNA, CO_{II}, Genetic diversity, Molecule marker technology