

小清河河口邻近海域口虾蛄(*Oratosquilla oratoria*)COI序列特征及遗传多样性分析

刘 英^{1,2}, 王全超¹, 李海汇³, 纪莹璐⁴, 陈琳琳¹, 李宝泉^{1,2}

(1. 中国科学院烟台海岸带研究所, 山东 烟台 264003; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 寿光市渔业发展中心, 山东 寿光 262700; 4. 国家海洋局北海预报中心, 山东 青岛 266061)

摘要: 受河流沿岸工农业发展以及人口急剧增加影响, 小清河河口及邻近海域受到严重污染。口虾蛄(*Oratosquilla oratoria*)作为小清河河口及邻近海域重要渔业资源之一, 承受着巨大的捕捞和生存压力。为了掌握口虾蛄种群在该区域的种群遗传多样性, 本研究于2020年6—10月在小清河河口及邻近海域采集口虾蛄生物样本, 进行了基于线粒体 COI 基因的种群遗传多样性分析。研究结果表明, 基于 216 条长度为 655 bp 的 COI 基因片段, 共定义 90 个单倍型, 63 个多态位点, 其中包括 59 个转换位点, 1 个颠换位点和 3 个转换与颠换同时存在的位点, 核苷酸多样性指数和单倍型多样性分别为 0.970 0 和 0.005 1。与其他海域相比, 小清河河口种群遗传多样性处于相对较高水平; 同时遗传结构分析发现黄渤海与东海及南海分布的口虾蛄种群遗传变异较大, 但黄渤海海域内遗传变异较小。通过本研究基本掌握了小清河河口及邻近海域口虾蛄种群遗传多样性背景, 也可为口虾蛄资源管理以及种质资源库建立等提供科学的基础理论依据。

关键词: 小清河河口及邻近海域; 口虾蛄; 线粒体 COI; 遗传多样性

中图分类号: S917.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2022)11-0038-09
DOI: 10.11759/hyxx20210618001

口虾蛄(*Oratosquilla oratoria*), 俗称爬虾、虾爬子, 隶属于节肢动物门(Arthropoda)、甲壳纲(Crustacea)、口足目(Stomatopoda)、虾蛄科(Squillidae), 自然分布于西太平洋亚热带浅水海区, 在中国沿海均广泛分布, 其中以黄渤海产量最大^[1]。口虾蛄栖息于潮下带泥沙质海底, 其食性主要以贝类及甲壳类为主^[2]。口虾蛄具有个体大、产量高、繁殖周期短、易捕捞等优点, 使其具有很高的经济价值, 是中国沿海重要的海产经济种类, 同时其肉质鲜美、营养价值高, 沿海民众喜食。因此, 口虾蛄多年来均作为近海渔业主要捕捞对象之一^[3]。特别在渤海, 口虾蛄已成为支柱渔业之一^[4]。但近年来, 由于全球气候变化、环境污染、养殖疾病危害以及过度捕捞等导致口虾蛄野生资源急剧减少^[5], 并进而影响或降低口虾蛄野生种群的遗传多样性。

鉴于口虾蛄重要的经济价值, 国内对该物种已开展了较多研究, 涉及到生物学特征^[6-8]、生理生态^[9]、渔业资源^[10-11]和人工繁育^[12-13]等方面。随着分子生物学技术发展以及口虾蛄资源管理和种质资源保护的需要, 对口虾蛄种群遗传多样性的研究也日渐增

多。刘海映等^[14]基于随机扩增多态性 DNA 标记(random amplified polymorphic DNA, RAPD)分析了大连海域口虾蛄遗传多样性; Liu 等^[15]报道了口虾蛄线粒体全长序列, 自此关于利用线粒体基因作为遗传标记研究其种群遗传多样性的报道也日渐增多; Zhang 等^[16]使用线粒体 ND5 基因作为遗传标记分析了口虾蛄在中国海域的地理分布、扩散与遗传差异; Du 等^[17]以 16S rRNA 作为遗传标记分析口虾蛄在渤海、黄海和东海的遗传多样性; 隋宥珍等^[18]基于细胞色素 b(cytochrome b, Cyt b)基因分析了口虾蛄黄渤海种群、东海种群、南海种群的遗传多样性; 隋宥珍等^[19]基于细胞色素氧化酶亚基 I(cytochrome oxi-

收稿日期: 2021-06-18; 修回日期: 2021-07-06

基金项目: 美丽中国生态文明建设科技工程专项(XDA23050304); 山东省自然科学基金面上项目(ZR2021MD084)

[Foundation: The Strategic Priority Research Program of the Chinese Academy of Sciences, No. XDA23050304; the Shandong Provincial Natural Science Foundation, No. ZR2021MD084]

作者简介: 刘英(1996—), 女, 四川内江人, 硕士, 主要从事大型底栖动物生理生态研究, E-mail: 3104931657@qq.com; 李宝泉(1972—), 通信作者, 男, 研究员, 主要从事海洋生物多样性、底栖动物生理生态和生态健康评价研究, E-mail: bqli@yic.ac.cn

dase subunit I, *COI*)基因分析了东海海域口虾蛄遗传多样性。上述研究基本摸清了中国不同海域口虾蛄种群的遗传多样性现状和不同地理种群的遗传分化。但对个别区域,尤其是具有重要生态意义的河口区如小清河河口,口虾蛄种群的遗传多样性研究迄今尚未详细开展。

小清河河口及邻近海域曾经是渤海莱州湾重要的渔业区,是渤海生态系统中渔业生物的产卵场与索饵场。小清河是典型受污染河流之一,沿河污染物随河流入海,使河口及邻近海域污染加重^[20-22],且导致河口内出现低氧区^[23]。小清河河口及邻近海域的污染加重以及不断增大的捕捞强度,必然导致该区口虾蛄种群数量的维持和生存受到影响。因此有必要对口虾蛄开展遗传多样性研究,摸清该海域口虾蛄的遗传分化潜力,以维持资源生产力。线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)为母系遗传,基因结构简单,且容易提取扩增,是研究海洋生物遗传多样性的重要手段。*COI* 基因是线粒体基因的重要组成部分,具有结构简单、进化速率适中、具有较高的多态性以及易被通用引物扩增的优势,已被广泛用于种群遗传多样性研究。本研究采集了小清河河口及邻近海域口虾蛄生物样本,基于口虾蛄种群*COI* 基因标记研究其遗传多样性,评估小清河河口及邻近海域口虾蛄种质资源现状,为该种群健康维持、资源合理开发利用以及相关部门管理决策的制定提供理论性参考。

1 材料与方法

1.1 材料

2020 年 6—10 月于小清河河口及其邻近海域(表 1),采用渔业拖网方式,采集口虾蛄生物样品。随机选取部分样品放于体积分数 95%的乙醇中暂存并转移至实验室备用。

1.2 DNA 提取、扩增及测序

取口虾蛄背部肌肉,使用海洋动物组织基因组DNA 提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]按照操作说明书提取每个口虾蛄个体总 DNA。用 NanoDrop 1000 分光光度计(NanoDrop, Wilmington, DE, USA)测定提取DNA 的纯度和完整性,并进行1%琼脂糖凝胶电泳。合格DNA 放于-20℃暂存备用。

COI 基因片段扩增引物为通用引物,引物序列: LCO1490: 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'; HCO2198: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-

表 1 口虾蛄样本采集信息

Tab. 1 *O. oratoria* sampling information

站位号	经度/°E	纬度/°N
1	119.018 2	37.352 0
2	119.071 4	37.310 3
3	119.119 0	37.276 2
4	119.161 3	37.243 4
5	119.092 5	37.366 1
6	119.148 1	37.329 2
7	119.194 4	37.295 3
8	119.241 2	37.263 7
9	119.168 7	37.379 9
10	119.224 4	37.348 6
11	119.266 4	37.324 6
12	119.293 6	37.401 8

3^[24]。PCR 扩增在 50 μL 反应体系中进行。50 μL 反应体系包括: 25 μL 含 DNA 聚合酶反应混合物[天根生化科技(北京)有限公司], 17 μL ddH₂O, 上游引物和下游引物各 2 μL(100 μmol/L)及模板 DNA 4 μL。PCR 扩增按照以下热循环程序进行: 94℃初步变性 5 min; 随后 94℃变性 45 s, 40℃退火 45 s, 72℃延伸 30 s, 进行 35 个循环; 最后在 72℃下延伸 10 min, 10℃保存。PCR 产物经 1%琼脂糖凝胶电泳检验合格后,送测序公司[生工生物工程(上海)股份有限公司]进行双向测序。

1.3 数据分析

通过 BioEdit 软件对获得的序列进行可视化、修剪、编辑、拼接以及人工校对,获得完整无误的序列,并在 NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)上进行复检。在 MEGA 7.0.26 进行 CLUSTAL 比对和序列碱基组成及变异分析。采用 DAMEB 7 软件分析 *COI* 基因序列的碱基替换饱和度。使用 DNAsp v6.12.03 计算多态位点(*S*)、总变异位点(*η*)、单倍型数量(*h*)、单倍型多样性指数(*H_d*)、遗传多样性指数(*π*)、平均核苷酸差异数(*K*)等遗传多样性参数,分析种群遗传多样性。

为明确小清河河口及邻近海域口虾蛄种群遗传结构现状,采用从 GenBank 上额外下载的唐山、青岛、舟山和广州口虾蛄种群的 *COI* 序列,进行系统发育树构建和遗传结构分析。*COI* 序列包括唐山种群(GenBank 登录号: MF173560-MF173566)、青岛种群(GenBank 登录号: MF173526-MF173534)、舟山种群(GenBank 登录号: MF173576-MF173598)^[25]以及广

州种群(GenBank 登录号: HQ621811-HQ621829)^[26]。分子系统发育树的重建是在 MEGA 7.0.26 中使用基于 Kimura 双参数法模型(Kimura 2-parameter)遗传距离的非加权分组平均法(unweighted pair group method using arithmetic average, UPGMA)进行,并选用 bootstrap 法进行 1 000 次重复自举检验,评估系统发育树。遗传结构分析是利用 Arlequin 3.5.2.2 软件开展分子方差分析(AMOVA)和遗传分化系数 F_{ST} 计算。

2 结果

2.1 小清河河口及邻近海域口虾蛄 COI 序列

获得序列后经剪切、人工校正及 NCBI 复检后,共获得 216 条长度为 655 bp 的口虾蛄 COI 基因部分序列片段。序列片段无插入和缺失。所有序列 A、G、C、T 的平均含量分别为 36.6%、17.1%、18.4%和 27.9%, A+T 含量明显高于 G+C 含量。4 种碱基在密码子第 1 位上分布较为均匀(A=26.48%, G=32.96%, C=16.90%, T=24.65%), 第 2 位上 T 的含量较高(A=13.30%, G=18.81%, C=25.23%, T=42.66%), 第 3 位上呈现 G 和 C 的含量较低的偏倚现象(A=43.83%, G=4.32%, C=9.22%, T=42.63%)。

所有序列共发现 66 个变异位点, 其中 63 个多态位点, 由 30 个单一突变位点和 33 个简约信息位点组成。63 个多态位点中包括 59 个转换位点, 1 个颠换位点和 3 个转换与颠换同时存在的位点。4 个变异位点发生在密码子的第 1 位, 59 个变异位点发生在第 3 位, 无变异位点发生在第 2 位。655 bp 的 COI 基因序列共定义 218 个氨基酸, 且碱基的替换并未导致氨基酸序列发生变化。

碱基的替换饱和和分析见图 1, 成对碱基的转换率、颠换率都与遗传距离成线性相关, 其中, 94.18%的碱基转换和 5.84%的碱基颠换能分别得到相关线性分析。COI 序列碱基替换饱和度分析结果也表明, 标准碱基替换饱和值($I_{ss,c}$)显著大于实际检测到的 COI 基因碱基替换值(I_{ss})($P<0.05$)。

2.2 小清河河口口虾蛄种群遗传多样性以及与其他海域的比较

该海域口虾蛄种群 H_d 为 0.970 0, π 为 0.005 1, K 为 3.330 0。所有序列共定义 90 个单倍型, 其中, 单倍型 Hap-1、Hap-16、和 Hap-27 分别为 20、19 和 15 个个体所有, 是优势单倍型。

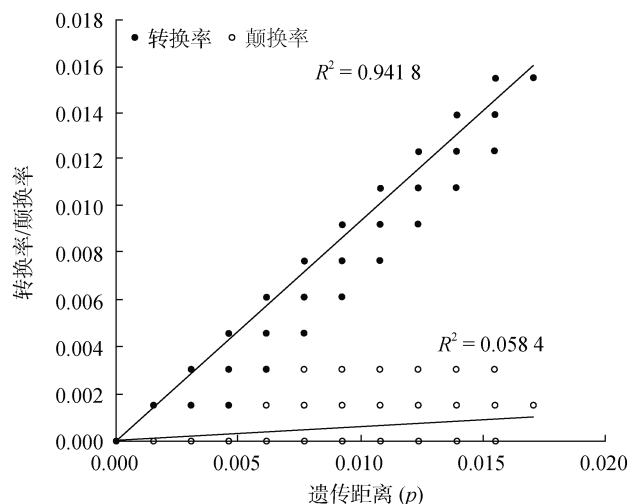


图 1 小清河河口口虾蛄种群 COI 基因碱基替换饱和和分析
Fig. 1 Substitution saturation analysis of the COI fragments in the *O. oratoria* population at Xiaoqing River Estuary

本研究口虾蛄种群单倍型多样性与粤东海种群、东海种群相当, 略高于渤海湾种群、皮口种群、绥中种群和青岛种群; 与 Zhu 等^[25]研究的唐山种群、龙口种群、青岛种群、连云港种群以及七星列岛种群单倍型多样性相当, 但略高于东营种群、小洋山种群、舟山种群和三门种群; 核苷酸多样性低于粤东海种群、东海种群, 高于渤海湾种群、辽东湾种群和青岛种群, 低于 Zhu 等^[25]研究中的青岛种群、连云港种群和七星列岛种群, 高于唐山种群、小洋山种群和三门种群(表 2)。

2.3 口虾蛄种群遗传结构

小清河河口口虾蛄种群与唐山种群、青岛种群、舟山种群以及广州种群之间的亲缘关系和遗传结构见图 2。分子系统发育树显示所有单倍型聚为两支: 小清河河口种群首先与青岛种群聚集在一起, 然后再与唐山种群汇合, 组成一支, 广州种群和舟山种群组成则组成另一支。

AMOVA 分析结果显示, 5 个口虾蛄种群遗传变异主要来自于种群间, 且 5 个口虾蛄种群间具有显著的遗传分化水平($F_{ST}=0.857\ 38$, $P<0.05$)(表 3)。不同种群间成对 F_{ST} 范围在-0.020 62~0.900 91 之间(表 4)。结果表明, 唐山种群、小清河河口种群及青岛种群与舟山种群和广州种群间存在显著遗传分化($P<0.05$), 但唐山种群、小清河河口种群和青岛种群间不存在显著遗传分化($P>0.05$), 广州种群和舟山种群间不存在显著遗传分化($P>0.05$)。

表 2 其他海域口虾蛄种群遗传多样性

Tab. 2 *O. oratoria* population genetic diversity in other sea areas

海域	片段长度	单倍型多样性指数	核苷酸多样性指数	参考文献
皮口	585	0.878 3	0.003 2	董鑫等 ^[27]
绥中	585	0.896 8	0.003 9	
青岛	585	0.906 0	0.003 9	
广州	585	0.933 8	0.004 9	
东海	658	0.963 0	0.005 9	隋宥珍等 ^[19]
粤东海	592	0.971 0	0.007 6	黄映萍等 ^[26]
渤海湾	633	0.947 0	0.004 9	张代臻等 ^[28]
唐山	658	0.963 8	0.004 1	Zhu 等 ^[25]
东营	658	0.926 4	0.005 2	
龙口	658	0.978 0	0.005 1	
青岛	658	0.980 4	0.006 0	
连云港	658	0.978 4	0.005 8	
小洋山	658	0.934 6	0.004 7	
舟山	658	0.935 7	0.005 4	
三门	658	0.866 7	0.004 4	
七星列岛	658	0.971 4	0.006 0	

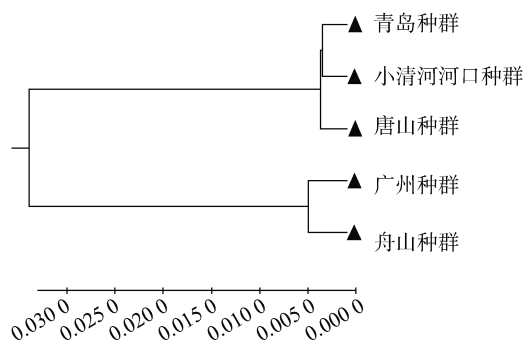


图 2 基于 5 个口虾蛄种群 *COI* 单倍型序列遗传距离构建的 UPGMA 系统发育树

Fig. 2 Unweighted pair group method using arithmetic average (UPGMA) tree based on the genetic distance of *COI* haplotypes in 5 *O. oratoria* populations

3 讨论

遗传多样性是生物多样性的基础，开展遗传多样性的研究，对于渔业资源管理的可持续利用以及渔业资源的管理和保护都具有重要意义^[29]。一般而言，遗传多样性水平高的物种，具有较强的环境适应能力、生存能力和进化潜力。因此，物种遗传多样性一旦降低，可导致物种适应及生存能力降低、物种退化甚至灭绝^[30]。

物种在基因水平上的遗传变异最直接的表现就是碱基组成的差异。目前已观测到的无脊椎动物线粒体基因组中碱基组成基本规律均为 A+T 含量显著高于 G+C 含量^[31]。本研究中口虾蛄种群的 *COI*

表 3 基于 *COI* 序列的口虾蛄 5 个地理种群间的 AMOVA 分析

Tab. 3 AMOVA based on *COI* sequences in 5 *O. oratoria* populations

变异来源	自由度	平方和	变异组分	变异百分数	遗传分化系数
种群间	4	927.577	11.273 90	85.74	0.857 38($P<0.05$)
种群内	139	260.680	1.875 40	14.26	
总计	143	1 188.257	13.149 29		

注: $P<0.05$ 差异显著

表 4 基于 *COI* 序列的口虾蛄 5 个地理种群间的 F_{ST} 值
Tab. 4 F_{ST} based on *COI* genes from 5 *O. oratoria* populations

	广州种群	小清河河口种群	青岛种群	唐山种群
小清河河口种群	0.901 73*			
青岛种群	0.903 07*	-0.020 67		
唐山种群	0.887 70*	0.003 64	0.038 78	
舟山种群	-0.006 13	0.896 01*	0.885 28*	0.872 59*

注: *表示种群间差异显著, $P < 0.05$ 差异显著

序列碱基组成 A+T 含量高于 G+C 含量, 该结果与三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*)^[32]、脊尾白虾 (*Exopalaemon carinicauda*)^[33]、芋螺^[34]的 *COI* 基因片段研究结果相似。本研究中, 口虾蛄的 *COI* 序列碱基转换与颠换之比为 9, 远大于基因变异达到饱和状态的临界值 2^[35], 说明小清河河口的 *COI* 序列变异还未达到饱和状态。碱基转换数大于颠换数, 符合在动物线粒体进化过程中碱基的替换主要以转换为主的结论^[36]。并且一般在线粒体 DNA 进化过程中, 亲缘关系较近物种间, 转换更容易频繁发生, 而颠换则在亲缘关系较远的物种间更容易发生。同一物种内部, 转换数量高于颠换数量^[37]。同时, *COI* 基因片段的碱基饱和性分析显示小清河河口口虾蛄种群实际碱基替换值显著低于期望碱基替换饱和值, 表明 *COI* 基因碱基替换未达到饱和状态。基于 *COI* 基因未校正的转换、颠换与遗传距离的散点分布图得到的线性关系也表明小清河河口口虾蛄种群的 *COI* 基因序列未达到饱和状态, 因此, 线粒体 *COI* 基因适合作为研究口虾蛄群体遗传多样性的分子标记。

在所有碱基变异中, 有 59 个变异位点发生在密码子的第 3 位上, 仅有 4 个变异位点发生在密码子的第 1 位上, 无变异位点发生在密码子的第 2 位上。可见, 密码子第 3 位的变异率明显高于第 1 位和第 2 位, 这与密码子第 1 位相对保守、第 2 位非常保守以及第 3 位具有摇摆性的特点相符, 这与某些鱼类研究结果一致^[38-39]。同时本结果检测到的所有核苷酸变异均为同义突变。这进一步说明密码子简并性大多发生在密码子第 3 位上且在物种稳定上起着重要作用。

Grant 和 Bowen^[40]根据线粒体基因序列的单倍型多样性和核苷酸多样性, 将海洋生物的遗传多样性分为 4 种类型: 第 1 类, 低单倍型多样性 ($H_d > 0.5$), 低核苷酸多样性 ($\pi < 0.005$) 型, 近期种群瓶颈或是由单一、少数种群所产生的建立者效应; 第 2 类, 高单倍型多样性 ($H_d > 0.5$), 低核苷酸多样性 ($\pi < 0.005$) 型,

种群瓶颈, 随后是种群快速增长和突变积累; 第 3 类, 低单倍型多样性 ($H_d < 0.5$), 高核苷酸多样性 ($\pi > 0.005$) 型, 种群差异, 这种差异可能来自孤立种群间的二次接触或者是一个大而稳定的种群中发生过瓶颈效应; 第 4 类, 高单倍型多样性 ($H_d > 0.5$), 高核苷酸多样性 ($\pi > 0.005$) 型, 种群由一个大而稳定的种群经过长时间演化所产生, 或是两个不同系群的种群二次接触产生。本研究口虾蛄种群总的单倍型多样性 H_d 为 0.970 0, 核苷酸多样性 π 为 0.005 1, 属于第 4 类种群状态, 即种群属于高单倍型多样性和高核苷酸多样性模式, 种群遗传多样性较高, 处于长期稳定状态。本研究口虾蛄种群单倍型多样性和核苷酸多样性在中国沿海多数海域中处于相对较高水平, 这说明小清河河口口虾蛄种群的遗传多样性在我国沿海处于相对较高的水平, 可考虑作为种质资源选育及建立种质资源库的选择之一。

种群遗传结构受地理隔离、洋流、生境、人类活动、迁移和历史因素等多种因素的影响^[41-42]。唐山种群、小清河河口种群和青岛种群位于黄渤海, 这 3 个种群间两两相互聚为姐妹群, AMOVA 和 F_{ST} 分析也显示 3 个种群间没有显著遗传分化, 表明 3 个种群间极可能存在基因交流, 而且小清河河口种群与青岛种群交流更为频繁。一方面在黄渤海水交换过程中, 黄海沿岸流流动方向基本终年不变, 沿山东半岛北岸从渤海进入北黄海, 然后南下到达南黄海^[43], 另一方面口虾蛄具有大约 2 个月的幼虫浮游期。因此, 口虾蛄幼体可在海洋环流的驱动下发生扩散, 从而维持口虾蛄种群连通性^[44]。此外, 本研究中 AOMVA、 F_{ST} 和分子系统发育树也均显示以长江为界, 长江口以北口虾蛄种群和长江口以南的种群间存在显著的遗传分化。但目前, 关于中国沿海口虾蛄种群遗传结构尚未得到统一。Cheng 和 Sha^[45]通过线粒体 *COI* 基因标记和核基因 *ITS* 标记分析认为, 在长江入海口两侧存在两个口虾蛄亚种。一些学者分别通过对 16S *rRNA* 和 *COI* 分析, 认为东海和黄海的口

虾蛄种群的遗传分化的原因可能是由长江淡水的注入形成的物理屏障和局部适应造成^[17, 25]。也有学者通过以线粒体 *ND5* 基因和核基因 *H3* 为遗传标记, 认为口虾蛄在冰川时期受台湾海峡分隔, 长期隔离形成了南海种群孤立于其他海域种群的一个显著的南北种群结构^[16]。因此未来对中国沿海口虾蛄种群的遗传研究中, 在选择遗传标记时, 应综合考虑遗传标记的进化速度、多态性、遗传信息的全面性等。

4 结论与展望

口虾蛄作为小清河河口及邻近海域常年优势种之一, 面临着巨大的捕捞和生存压力。研究结果表明小清河河口及邻近海域口虾蛄种群遗传多样性目前还处于较高水平, 为以后口虾蛄的苗种选育、野生种质资源保护和合理开发利用提供了新的依据。为了维持该海域口虾蛄种群的遗传多样性水平, 建议加强口虾蛄资源保护, 基于现有资源量的科学评估, 进行合理捕捞, 如控制网具网目大小, 减小网目尺寸, 以利于口虾蛄幼体的存活和自然种群的延续, 保障口虾蛄野生资源可持续利用。同时, 由于口虾蛄在 4 月下旬便进入繁殖期, 而目前休渔期在 5 月 1 日至 9 月 1 日, 有必要考虑适当延长休渔时间至 4 月下旬。

参考文献:

[1] 吴强, 陈瑞盛, 黄经献, 等. 莱州湾口虾蛄的生物学特征与时空分布[J]. 水产学报, 2015, 39(8): 1166-1177.
WU Qiang, CHEN Ruisheng, HUANG Jingxian, et al. Fishery biology characteristics, temporal and spatial distribution of *Oratosquilla oratoria* in Laizhou Bay, Bohai Sea[J]. Journal of Fisheries of China, 2015, 39(8): 1166-1177.

[2] 宁加佳, 杜飞雁, 王雪辉, 等. 基于稳定同位素的口虾蛄食性分析[J]. 水产学报, 2016, 40(6): 903-910.
NING Jiajia, DU Feiyan, WANG Xuehui, et al. Feeding habits of mantis shrimp based on stable isotope analysis[J]. Journal of Fisheries of China, 2016, 40(6): 903-910.

[3] 刘修泽, 郭栋, 王爱勇, 等. 辽东湾海域口虾蛄的资源特征及变化[J]. 水生生物学报, 2014, 38(3): 602-608.
LIU Xiuzhe, GUO Dong, WANG Aiyong, et al. The resource characteristics and their variation of *Oratosquilla oratoria* in Liaodong Bay[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2014, 38(3): 602-608.

[4] 李显森, 吴亚飞, 尤宗博, 等. 渤海口虾蛄三重刺网渔获组成及其捕捞性能分析[J]. 海洋渔业, 2016, 38(5): 516-524.
LI Xiansen, WU Yafei, YOU Zongbo, et al. Analysis on the catch composition by trammel net and its fishing performance for *Oratosquilla oratoria* in the Bohai Sea[J]. Marine Fisheries, 2016, 38(5): 516-524.

[5] 谷德贤, 刘茂利. 天津海域口虾蛄群体结构及资源量分析[J]. 河北渔业, 2011, 212(8): 24-26.
GU Dexian, LIU Maoli. Analysis on the Population structure and abundance of in Tianjin Sea Area[J]. Hebei Fisheries, 2011, 212(8): 24-26.

[6] 王春琳, 徐善良, 梅文骧, 等. 口虾蛄的生物学基本特征[J]. 浙江水产学院学报, 1996, 15(1): 60-62.
WANG Chunling, XU Shanliang, MEI Wenxiang, et al. A biological basic character of *Oratosquilla oratoria*[J]. Journal of Zhenjian College of Fisheries, 1996, 15(1): 60-62.

[7] 林月娇, 刘海映, 徐海龙, 等. 大连近海口虾蛄形态参数关系的研究[J]. 大连水产学院学报, 2008, 23(3): 215-217.
LIN Yuejiao, LIU Haiying, XU Hailong, et al. Morphometry of mantis shrimp *Oratosquilla oratoria* in Dalian coast[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2008, 23(3): 215-217.

[8] 孙东昱, 王蕾, 邱盛尧, 等. 海阳和烟台近岸口虾蛄群体的形态比较[J]. 渔业科学进展, 2021, 42(1): 154-164.
SUN Dongyu, WANG Lei, QIU Shengyao, et al. Morphological comparison of *Oratosquilla oratoria* stocks along the coast of Haiyang and Yantai[J]. Progress in Fishery Sciences, 2021, 42(1): 154-164.

[9] 王春琳, 母昌考, 丁爱侠, 等. 口虾蛄(*Oratosquilla oratoria*)同工酶的组织特异性及生化遗传分析[J]. 海洋与湖沼, 2004, 35(3): 258-263.
WANG Chunlin, MU Changkao, DING Aixia, et al. Tissue specificity and biochemical genetic analysis of isozyme on crustacean *Oratosquilla oratoria*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2004, 35(3): 258-263.

[10] 潘国良, 张龙, 朱增军, 等. 浙江南部近岸海域春季口虾蛄生物量的时空分布[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(2): 366-370.
PAN Guoliang, ZHANG Long, ZHU Zengjun, et al. Spatial-temporal distribution of the biomass of *Oratosquilla oratoria* in the coastal waters of south Zhejiang during spring[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013, 44(2): 366-370.

[11] 李鹏程, 张崇良, 任一平, 等. 山东近海口虾蛄空间分布特征及其与环境因子的关系[J]. 中国水产科学, 2020, 27(12): 1515-1523.
LI Pengcheng, ZHANG Chongliang, REN Yiping, et al.

- Relationship between *Oratosquilla oratoria* spatial distribution and environmental factors in coastal Shandong[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2020, 27(12): 1515-1523.
- [12] 王春琳, 叶选怡, 丁爱侠, 等. 虾蛄繁殖生物学与繁育技术研究[J]. 海洋湖沼通报, 2002(3): 58-64.
WANG Chunlin, YE Xuanyi, DING Aixia, et al. Studies on reproductive biology and breeding technology of squilla[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2002(3): 58-64.
- [13] 张年国, 潘桂平, 周文玉, 等. 不同饵料和水温对口虾蛄成活、生长及育肥性能的影响[J]. 动物学杂志, 2019, 54(3): 425-435.
ZHANG Nianguo, PAN Guiping, ZHOU Wenyu, et al. Effects of different diets and water temperatures on survival, growth, fattening performance of *Oratosquilla oratoria*[J]. Chinese Journal of Zoology, 2019, 54(3): 425-435.
- [14] 刘海映, 王桂娥, 王秀利. 大连海域口虾蛄资源遗传多样性的分析[J]. 大连水产学院学报, 2009, 24(4): 350-353.
LIU Haiying, WANG Guie, WANG Xiuli. Genetic diversity analysis of mantis shrimp *Oratosquilla oratoria* from Dalian coast[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2009, 24(4): 350-353.
- [15] LIU Y, CUI Z X. The complete mitochondrial genome of the mantid shrimp *Oratosquilla oratoria* (Crustacea: Malacostraca: Stomatopoda): Novel non-coding regions features and phylogenetic implications of the Stomatopoda[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics, 2010, 5(3): 190-198.
- [16] ZHANG D Z, DING G, GE B M, et al. Geographical distribution, dispersal and genetic divergence of the mantis shrimp *Oratosquilla oratoria* (Stomatopoda: Squillidae) in China Sea[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2016, 65: 1-8.
- [17] DU X W, CAI S S, YU C G, et al. Population genetic structure of mantis shrimps *Oratosquilla oratoria*: Testing the barrier effect of the Yangtze River outflow[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2016, 66: 12-18.
- [18] 隋宥珍, 刘连为, 徐开达, 等. 基于线粒体 *Cyt b* 基因的口虾蛄种群遗传结构研究[J]. 大连海洋大学学报, 2019, 34(3): 355-361.
SUI Youzhen, LIU Lianwei, XU Kaide, et al. Population genetic structure of mantis shrimp *Oratosquilla oratoria* based on the partial mitochondrial DNA cytochrome *b* gene[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2019, 34(3): 355-361.
- [19] 隋宥珍, 周永东, 卢占晖, 等. 东海海域口虾蛄种群遗传多样性[J]. 动物学杂志, 2016, 51(2): 291-300.
SUI Youzhen, ZHOU Yongdong, LU Zhanhui, et al. Genetic diversity of mantis shrimp (*Oratosquilla oratoria*) populations in the East China Sea[J]. Chinese Journal of Zoology, 2019, 51(2): 291-300.
- [20] 刘建强. 莱州湾海洋工程建设对小清河口环境影响数值研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
LIU Jianqiang. Numerical study on the environment effects of marine engineering on the mouth of Xiaoqing River in Laizhou Bay[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012.
- [21] LUO X X, ZHANG S S, YANG J Q, et al. Macrobenthic community in the Xiaoqing River Estuary in Laizhou Bay, China[J]. Journal of Ocean University of China, 2013, 12(3): 366-372.
- [22] LUO X X, LI S, YANG J Q, et al. Benthic habitat quality assessment based on biological indices in Xiaoqing River estuary and its adjacent sea of Laizhou Bay, China[J]. Journal of Ocean University of China, 2017, 16(3): 537-546.
- [23] 孟春霞, 邓春梅, 姚鹏, 等. 小清河口及邻近海域的溶解氧[J]. 海洋环境科学, 2005, 24(3): 25-28.
MENG Chunxia, DENG Chunmei, YAO Peng, et al. Dissolved oxygen in the Xiaoqinghe Estuary and Adjacent Waters[J]. Marine Environmental Science, 2005, 24(3): 25-28.
- [24] FOLMER O, BLACK M, HOEH W, et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates[J]. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 1994, 3(5): 294-299.
- [25] ZHU W B, DU X W, HAN Z Q, et al. The genetic divergence of *Oratosquilla oratoria* between the East China Sea and Yellow Sea: physical barrier and possible local adaptation[J]. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 2019, 99(3): 631-638.
- [26] 黄映萍, 王莹, 苗素英. 粤东海域口虾蛄遗传多样性[J]. 动物学杂志, 2011, 46(2): 82-89.
HUANG Yingping, WANG Ying, MIAO Suying. Genetic diversity analysis of mantis shrimp (*Oratosquilla oratoria*) from the eastern coast of Guangzhou province[J]. Chinese Journal of Zoology, 2011, 46(2): 82-89.
- [27] 董鑫, 邢坤, 隋宥珍, 等. 基于线粒体 *COI* 基因序列的 4 个海域口虾蛄群体的遗传多样性研究[J]. 海洋科学, 2015, 39(7): 29-36.
DONG Xin, XING Kun, SUI Youzhen, et al. Genetic diversity of *Oratosquilla oratoria* from four dea waters based on the mitochondrial *COI* gene sequences analysis[J]. Marine Sciences, 2015, 39(7): 29-36.
- [28] 张代臻, 丁鸽, 张华彬, 等. 渤海湾口虾蛄线粒体 *COI* 基因的遗传多样性研究[J]. 南京师大学报 (自然科学版), 2010, 33(4): 80-83.

- ZHANG Daizhen, DING Ge, ZHANG Huabin, et al. Genetic diversity of *Oratosquilla oratoria* from different sea area of Bohai Bay by mitochondrial *COI* gene[J]. Journal of Nanjing Normal University (Natural Science Edition), 2010, 33(4): 80-83.
- [29] RYMAN N, UTTER F, LAIKRE L. Protection of intraspecific biodiversity of exploited fishes[J]. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 1995, 5(4): 417-446.
- [30] 季维智, 宿兵. 遗传多样性研究的原理和方法[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1999.
- JI Weizhi, SU Bing. Principles and methodologies of genetic diversity studies[M]. Hangzhou: Zhejiang Science and Technology Publishing House, 1999.
- [31] 杨建敏, 郑小东, 王如才, 等. 3种鲍 *16S rRNA* 基因片段序列的初步研究[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2003, 33(1): 36-40.
- YANG Jianmin, ZHENG Xiaodong, WANG Rucai, et al. Comparative study on mtDNA *16S rRNA* gene sequence of three species of abalone[J]. Periodical of Ocean University of China, 2003, 33(1): 36-40.
- [32] 王景, 张凤英, 蒋科技, 等. 基于线粒体 *COI* 基因序列的三疣梭子蟹东海区群体遗传多样性分析[J]. 海洋渔业, 2015, 37(2): 114-121.
- WANG Jing, ZHANG Fengying, JIANG Keji, et al. Genetic diversity of *Portunus trituberculatus* based on the mitochondrial Cytochrome Oxidase Subunit I sequence from the East China Sea[J]. Marine Fisheries, 2015, 37(2): 114-121.
- [33] 马朋, 刘萍, 李健, 等. 脊尾白虾 3 个野生群体线粒体 *COI* 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.
- MA Peng, LIU Ping, LI Jian, et al. The genetic diversity and phylogenetic analysis of *COI* gene in mitochondrial DNA of three populations of *Exopalaemon carinicauda*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2011, 32(6): 50-26.
- [34] 陈琴, 彭超, 赵峰, 等. 基于 *COI* 序列研究南海芋螺遗传多样性[J]. 基因组学与应用生物学, 2020, 39(9): 3955-3960.
- CHEN Qin, PENG Chao, ZHAO Feng, et al. Study on genetic diversity of Cone snail in South China Sea based on *COI* sequences[J]. Genomics and Applied Biology, 2020, 39(9): 3955-3960.
- [35] KNIGHT A, MINDELL D P. Substitution bias, weighting of DNA sequence evolution, and the phylogenetic position of Fea's Viper[J]. Systematic Biology, 1993, 42(1): 18-31.
- [36] IRWIN D M, KOEHER T D, WILSON A C. Evolution of the cytochrome *b* gene of mammals[J]. Journal of Molecular Evolution, 1991, 32(2): 128-144.
- [37] KOCHER T D, THOMAS W K, MEYER A, et al. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1989, 86(16): 6196-6200.
- [38] 李鹏飞, 贺舟挺, 徐开达, 等. 基于 *COI* 基因和 *D-loop* 序列的东海鳎鱼种质资源遗传变异研究[J]. 浙江海洋学院学报 (自然科学版), 2013, 32(2): 93-98.
- LI Pengfei, HE Zhouting, XU Kaida, et al. Genetic diversity of *lilisha elongata* in the East China Sea revealed by *COI* and *D-loop* sequence[J]. Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science), 2013, 32(2): 93-98.
- [39] 李鹏飞, 周永东, 徐汉祥. 大黄鱼、鳎鱼及美国红鱼线粒体 DNA 的 *Cyt b* 基因序列比较[J]. 南方水产, 2008, 4(3): 43-47.
- LI Pengfei, ZHOU Yongdong, XU Hanxiang. Sequence analysis on mitochondrial (mtDNA) *Cyt b* genes in *Pseudosciaena crocea*, *Miichthys miiuy* and *Sciaenops ocellatus*[J]. South China Fisheries Science, 2008, 4(3): 43-47.
- [40] GRANT W S, BOWEN B W. 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.
- [41] GROSBERG R K, CUNNINGHAM C W. Genetic structure in the sea from population to community[M]. Sunderland: Marine Community Ecology, 2001.
- [42] LEHMANN T, HAWLEY W A, GREBERT H, et al. The effective population size of *Anopheles gambiae* in Kenya: implications for population structure[J]. Molecular Biology and Evolution, 1998, 15(3): 264-276.
- [43] GUAN B X. Patterns and structures of the currents in Bohai, Huanghai and East China Seas[M]. Dordrecht: Oceanology of China Seas, 1994.
- [44] YANG M, LI X Z. Population genetic structure of the mantis shrimp *Oratosquilla oratoria* (Crustacea: Scudidae) in the Yellow Sea and East China Sea[J]. Journal of Oceanology and Limnology, 2018, 36(3): 905-912.
- [45] CHENG J, SHA Z L. Cryptic diversity in the Japanese mantis shrimp *Oratosquilla oratoria* (Crustacea: Scudidae): Allopatric diversification, secondary contact and hybridization[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 1-13.

Analysis of the *COI* sequence characteristics and genetic diversity of *Oratosquilla oratoria* in the Xiaoqing River Estuary and its adjacent sea

LIU Ying^{1, 2}, WANG Quan-chao¹, LI Hai-hui³, JI Ying-lu⁴, CHEN Lin-lin³,
LI Bao-quan^{1, 2}

(1. Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Laboratory of Protection of Biological Resources Biology in Coastal Waters, Yantai 264003, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Shouguang Marine Fishery Development Center, Shouguang 262700, China; 4. North China Sea Marine Forecasting Center of State Oceanic Administration, Qingdao 266061, China)

Received: Jun. 18, 2021

Key words: Xiaoqing River Estuary and its adjacent sea areas; *Oratosquilla oratoria*; *COI* gene; genetic diversity

Abstract: The Xiaoqing River Estuary has been severely polluted due to the quick development of industry and agriculture as well as the rapid increase in the population in the region. Mantis shrimp (*Oratosquilla oratoria*) is an important fishery resource in this area that is under great threat from overfishing and pollution. In this study, samples were collected in the Xiaoqing River Estuary and its adjacent sea during June–August 2020 to understand the population genetic diversity based on *COI* gene. A total of 90 haplotypes and 63 polymorphic loci, including 59 transition loci, 1 transversion loci, and 3 loci where both a transition and transversion existed, were defined based on 216 *COI* gene fragments with a length of 655 bp. The nucleotide diversity and haplotype diversity were 0.970 0 and 0.005 1, respectively. Compared with other sea areas, we found that the genetic diversity of the Xiaoqing River Estuary population was relatively high. Meanwhile, genetic structure analysis showed an obvious difference in the genetic variation of the mantis shrimp population on a large spatial scale, e.g., the Yellow Sea and the Bohai Sea, the East China Sea and the South China Sea. Whereas, it did not show any difference on a relatively smaller spatial scale, e.g., the Yellow Sea and the Bohai Sea. The genetic diversity background of the mantis shrimp population in the Xiaoqing River Estuary and its adjacent sea could provide a theoretical basis for resource management and germplasm bank establishment.

(本文编辑: 杨 悦)