

沅江常德段蚬属贝类的谱系、倍性与性别特征

占江凡 裴宏谦 李科静 皮杰 曾聪 李德亮

CHARACTERISTICS OF LINEAGE, PLOIDY AND SEX OF *CORBICULA* CLAMS FROM THE YUAN RIVER IN CHANGDE CITY

ZHAN Jiang-Fan, PEI Hong-Qian, LI Ke-Jing, PI Jie, ZENG Cong, LI De-Liang

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7541/2021.2019.195>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

捞刀河浏阳段河蚬的遗传多样性及生殖特征研究

GENETIC DIVERSITY AND REPRODUCTIVE CHARACTERISTICS OF *CORBICULA FLUMINEA* FROM THE LAODAO RIVER IN LIUYANG CITY

水生生物学报. 2018, 42(5): 913–918 <https://doi.org/10.7541/2018.112>

赤水河两种荷马条鳅属鱼类的遗传多样性及谱系生物地理学过程分析

GENETIC DIVERSITY AND PHYLOGEOGRAPHY OF TWO *HOMATULA* SPECIES (TELEOSTEI: NEMACHEILIDAE) IN THE CHISHUI RIVER

水生生物学报. 2017, 41(2): 356–362 <https://doi.org/10.7541/2017.43>

翘嘴红雌雄基因组差异及太湖野生群体遗传多样性现状的AFLP分析

AFLP ANALYSIS ON GENOMIC SEXUAL DIMORPHISM OF *ERYTHROCULTER ILISHAEFORMIS* AND CURRENT GENETIC DIVERSITY OF THE TAIHU STRAIN

水生生物学报. 2017, 41(6): 1200–1206 <https://doi.org/10.7541/2017.149>

基于线粒体CO I 序列的南海北部栉江珧遗传多样性分析

GENETIC DIVERSITY OF *ATRINA PECTINATA* FROM THE NORTHERN SOUTH CHINA SEA BASED ON MITOCHONDRIAL DNA CO I SEQUENCE

水生生物学报. 2019, 43(3): 494–503 <https://doi.org/10.7541/2019.061>

基于线粒体CO I 基因序列的东南沿海可口革囊星虫遗传多样性分析

THE GENETIC DIVERSITY OF *PHASCOLOSOMA ESCULENTA* IN THE COASTAL ZONE OF SOUTH-EASTERN CHINA BASED ON SEQUENCE ANALYSIS OF MITOCHONDRIAL CO I GENE

水生生物学报. 2017, 41(6): 1257–1264 <https://doi.org/10.7541/2017.156>

赤水河半鲮的遗传多样性和种群历史动态分析

GENETIC DIVERSITY AND POPULATION DEMOGRAPHIC HISTORY OF *HEMICULTERELLA SAUVAGEI* IN THE CHISHUI RIVER

水生生物学报. 2018, 42(1): 106–113 <https://doi.org/10.7541/2018.014>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

doi: 10.7541/2021.2019.195

## 沅江常德段蚬属贝类的谱系、倍性与性别特征

占江凡<sup>1</sup> 裴宏谦<sup>1</sup> 李科静<sup>1</sup> 皮杰<sup>2</sup> 曾聪<sup>1</sup> 李德亮<sup>1</sup>

(1. 湖南农业大学动物科学技术学院, 长沙 410128; 2. 湖南应用技术学院农林科技学院, 常德 415000)

**摘要:** 研究以沅江常德段蚬 *Corbicula* 为例, 采用线粒体 *CO I* 分子标记对其进行谱系构建, 梳理谱系与形态、倍性、性别和遗传多样性之间的关系, 以期为蚬属的系统分类和生殖特征研究提供理论参考。结果显示, 99条 *CO I* 序列(526 bp)中存在12个单倍型, 共有17个变异位点, 单倍型多样性、核苷酸多样性和平均核苷酸差异数分别为0.599、0.01236和6.503。12个单倍型在系统进化树中被聚为独立的两支(谱系RA和RlcB), 但谱系间壳长、壳高和壳宽没有显著差异( $P>0.05$ )。99个样品中有二倍体50个、三倍体49个、雌雄同体71个、雌性21个、雄性7个。卡方检验发现, 谱系与性别及倍性与性别之间均存在显著的相关性( $P<0.05$ )。谱系RlcB的单倍型数、变异位点数、单倍型多样性、核苷酸多样性和平均核苷酸差异数均高于谱系RA。结果表明, 虽然形态、倍性、性别和遗传多样性在谱系RA和RlcB蚬之间存在一定的差异, 但均不足以作为区分两个谱系的生物学特征, 而不同谱系是否为不同的种还有待于进一步的证实。

**关键词:** 蚬属; 谱系; 形态; 倍性; 雌雄同体; 雌雄异体; 遗传多样性

中图分类号: Q959.21

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2021)01-0125-07



蚬属 (*Corbicula*) 贝类 (简称蚬) 原产于亚洲、非洲、澳洲和中东地区, 自1924年首次在不列颠哥伦比亚省温哥华岛被发现后<sup>[1, 2]</sup>, 逐步开始在北美、南美和欧洲大陆迅速扩散<sup>[3-6]</sup>。目前蚬已经成为广布世界各地咸淡水水域的底栖动物优势类群, 且对入侵地的生态和经济均造成严重危害<sup>[7]</sup>。但由于形态的多样性和高度可塑性, 导致蚬属的分类仍未得到准确厘定<sup>[5, 8-10]</sup>, 蚬属基于形态的分类体系中被证实存在大量同物异名种<sup>[11, 12]</sup>, 亟需更为准确和有效的分类鉴定方法。随着分子生物学技术的飞速发展, 以传统形态分类方法为基础, 采用基于DNA条形码的系统分类方法, 结合倍性、生殖方式等基础生物学特征的综合方法被认为是准确厘定蚬属分类的最有效方法<sup>[13, 14]</sup>。

入侵地蚬的形态和遗传多样性均显著地低于原产地<sup>[4, 15]</sup>。欧洲和美洲均分布有三种形态的蚬, 分别为形态R、Rlc、S及形态A、B、C。形态R与A、S与C蚬分别共有相同的线粒体 *CO I* 基因单

倍型, 形态Rlc和B蚬 *CO I* 基因单倍型仅相差1个碱基<sup>[15]</sup>。因在基于 *CO I* 基因单倍型构建的系统进化树中, 形态R与A、Rlc与B及S与C蚬聚成相互独立的三支而分别被称为谱系RA、RlcB、SC<sup>[15]</sup>。分别采用线粒体 *CO I* 基因标记和 *Cytb* 基因标记对洞庭湖区蚬属进行系统分类, 均证实谱系RA和RlcB共存于洞庭湖区, 且不同谱系蚬壳长、壳宽和和高之间没有显著差异<sup>[16, 17]</sup>。洞庭湖<sup>[17]</sup>和洪泽湖<sup>[18, 19]</sup>流域河蚬的遗传多样性要显著地高于欧美等入侵地国家。这种遗传多样性的差异推测主要是由生殖方式的差异所造成<sup>[14, 17, 20]</sup>。

蚬存在雌雄同体和雌雄异体两种性别系统, 其中入侵地蚬均为雌雄同体, 通过自体或异体受精营无性生殖 (专性雄核生殖), 而原产地蚬则雌雄同体和雌雄异体共存, 且两性生殖与无性生殖共存<sup>[5, 21]</sup>。我国蚬属贝类性别特征存在较大的地域差异性。黄河三角洲徒骇河<sup>[22]</sup>的河蚬为雌雄异体。辽宁大洋河河蚬在性别分化尚未完全时有少量雌雄同体,

收稿日期: 2019-09-10; 修订日期: 2020-03-14

基金项目: 国家自然科学基金 (31772832); 湖南省科技计划项目 (2017NK2291); 湖南省现代农业产业技术体系项目 (湘农发[2019]105号) 资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31772832); Hunan Provincial Scientific and Technological Program (2017NK2291); Hunan Provincial Modern Agricultural Research System]

作者简介: 占江凡 (1994—), 男, 硕士研究生; 研究方向为渔业资源与环境。E-mail: 2602735841@qq.com

通信作者: 曾聪, 博士; E-mail: congzeng@hunau.edu.cn; 李德亮, 博士, 教授; E-mail: lideliang80@aliyun.com

性成熟后完全是雌雄异体且性比为 1:1<sup>[23]</sup>。淀山湖<sup>[24]</sup>、珠江<sup>[25]</sup>和修河<sup>[26]</sup>以雌雄异体为主, 并存雌雄同体个体。但洞庭湖<sup>[17]</sup>、大通湖<sup>[27]</sup>、湘江支流捞刀河<sup>[20]</sup>、赣江<sup>[26]</sup>及太湖流域的麻漾<sup>[28]</sup>却均以雌雄同体为主, 并存一定比例的雄性和雌性个体。此外, 闽江河蚬为雌雄同体和雄性个体共存<sup>[29]</sup>。蚬属贝类的倍性具有多态性, 存在有二倍体、三倍体和四倍体三种倍性<sup>[30-32]</sup>。黄勤通过分析比较发现, 虽然均栖息于淡水生境, 但福州闽江河蚬为二倍体且雌雄异体, 日本的 (*C. leana*) 则为三倍体且雌雄同体, 而栖息于海水生境的日本蚬 *C. japonica* 为二倍体, 雌雄异体<sup>[33]</sup>。此外, 蚬属贝类的谱系、倍性和性别特征之间的关系尚未有全面的分析和报道, 而这些问题的梳理对于全面厘定蚬属的系统分类, 掌握其生殖特征具有重要意义。

本研究以沅江常德段蚬为研究对象, 采用线粒体 *CO I* 基因标记对其进行谱系构建, 分析其形态、倍性、性别和遗传多样性特征, 重点梳理谱系与上述特征之间的关系, 以期为蚬属的系统分类和生殖特征研究提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 形态测量

蚬采集于洞庭湖支流-沅江常德鼎城区段 (111.693°E, 28.987°N)。样品壳长 (SL)、壳宽 (SW) 和壳高 (SH) 采用数显游标卡尺测量。分离外壳与软组织后, 用电子天平称量外壳湿重 (W), 剪取少量外套膜、性腺和闭壳肌用于后续分析。

### 1.2 *CO I* 基因扩增

采用组织基因组 DNA 提取试剂盒提取新鲜样品外套膜 DNA, 测定其光密度, 确定其浓度后, 保存于 -20°C 条件备用。*CO I* 基因序列扩增采用通用引物 LCO 1490 和 HCO 2198<sup>[34]</sup>。PCR 反应体系为 20  $\mu$ L, 包括: DNA 模板 1  $\mu$ L (100 ng/ $\mu$ L), 上下游引物各 1  $\mu$ L (10  $\mu$ mol/L), PCR Mix 10  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 7  $\mu$ L。反应条件程序为 94°C 预变性 5min; 94°C 变性 1min, 52°C 退火 45s, 72°C 延伸 1min, 共 35 个循环; 最后 72°C 延伸 5min。扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳确定为目的产物, 纯化回收送公司测序。

### 1.3 性别与倍性鉴定

Bouin's 固定液保存的性腺标本, 经酒精脱水、二甲苯透明及透蜡, 于石蜡包埋和切片, HE 染色后封片, 镜检, 以确定其性别<sup>[20]</sup>。新鲜闭壳肌放入 DAPI 染料, 震荡后静置几分钟, 过滤, 滤液用流式细胞仪 (Sysmex) 测相对 DNA 含量, 以判断其倍性。

## 1.4 数据处理与分析

参考 GenBank 中其他蚬属贝类 *CO I* 基因序列, 使用 Geneious R11 软件<sup>[35]</sup>对测序所得序列进行编辑、排序、校对。采用 MEGA 6.0 软件<sup>[36]</sup>中的 Clustal W 软件包对校正后的序列 (526 bp) 进行多重比对, 以 *Corbicula* sp. H7 *CO I* 基因序列 (GenBank 登录号: KT373825) 作为谱系构建的外类群, 采用 Geneious R11 构建基于最大似然法 (ML) 和贝叶斯法 (BI) 单倍型进化树 (迭代数 200 万)。采用 DNASP 5.0 软件<sup>[37]</sup>分析序列的单倍型数 (*H*), 并计算种群的单倍型变异位点数 (*S*)、单倍型多样性 (*H<sub>d</sub>*)、核苷酸多样性 ( $\pi$ ) 和平均核苷酸差异数 (*k*)。运用 SPSS 中的交叉表及 Pearson 卡方检验, 分别分析性腺、谱系及倍性之间的相关性。形态参数之间的比较采用以壳重为协变量的协方差分析方法, 壳长、壳宽和壳高校正后的数据, 以平均值 $\pm$ 标准差表示。

## 2 结果

### 2.1 谱系聚类

经分析, 99 条 *CO I* 基因序列中存在 12 个单倍型, 共有 17 个变异位点 (表 1), 单倍型多样性、核苷酸多样性和平均核苷酸差异数分别为 0.599、0.01236 和 6.503。基于最大似然法和贝叶斯法构建的单倍型系统进化树中, 单倍型 1、4、5、6、7、10、12 聚为独立的一支, 单倍型 2、3、8、9、11 聚类为另一支, 分别为对应已报道的谱系 RlcB 和谱系 RA。外源单倍型 KT373825 聚为独立的一支, 对应谱系 SC (图 1)。

### 2.2 倍性与性别特征

99 个样品中有二倍体 50 个、三倍体 49 个, 雌雄同体 71 个、雌性 21 个、雄性 7 个。谱系 RA 中雌雄同体、雌性和雄性蚬分别为 51、15、1, 而谱系 RlcB 中分别为 20、6、6; 三倍体雌雄同体、雌性和雄性个体分别为 33、17、1, 而二倍体分别为 38、5、6 (图 2)。卡方检验发现, 谱系与性别 ( $P=0.004$ ) 及倍性与性别 ( $P=0.005$ ) 之间均存在显著的相关性。

### 2.3 群体形态特征

所分析蚬的壳重、壳长、壳宽和壳高分别为 1.63—5.45 g、20.07—32.96 mm、18.61—30.56 mm、13.28—19.16 mm (表 2)。协方差分析显示, 三倍体蚬的壳长和壳高均显著大于二倍体, 不同性别蚬的壳宽和壳高之间存在显著差异 ( $P<0.05$ )。此外, 不同谱系、倍性和性别蚬的壳长、壳宽和壳高之间差异不显著 ( $P>0.05$ )。

## 2.4 群体遗传多样性

谱系 RlcB 的单倍型数、变异位点数、单倍型多样性、核苷酸多样和平均核苷酸变异数均高于谱系 RA。三倍体的单倍型和变异位点低于二倍体,但其单倍型多样性、核苷酸多样性及平均核苷酸变异均高于二倍体。雌性蜆的核苷酸变异位点、核苷酸多样性及平均核苷酸差异数均高于雌雄同体和雄性个体,但雌雄同体单倍型最多,雄性的单倍型多样性最高(表 3)。

## 3 讨论

### 3.1 蜆的谱系与形态

作为原产地,亚洲的蜆根据以 *CO I* 标记所构建的系统进化树,可以分为淡水和海水两个类群,且在淡水类群中谱系 Subclade A 和 B 的蜆具有更广

泛的分布水域<sup>[11]</sup>。在入侵地北美、南美和欧洲,基于 *CO I* 标记的系统进化树将蜆聚类为三个分支,分别对应谱系 RA、RlcB 和 SC<sup>[14,38]</sup>。原产地蜆的谱系 Subclade A 和 B 分别对应入侵地谱系 RA 和 RlcB。本研究进一步证实了谱系 RA 和 RlcB 分布区域的广泛性<sup>[11]</sup>,同时也再次证实采用 *CO I* 标记<sup>[16]</sup>和采用 *Cytb* 标记<sup>[17]</sup>在洞庭湖蜆中的研究结果,即谱系 RA 和 RlcB 共存于洞庭湖区。入侵地不同蜆的形态特征特异,谱系 RA、RlcB 和 SC 蜆在美洲的形态分别为 A、B、C,而在欧洲分别对应形态 R、Rlc、S<sup>[5,39]</sup>。洞庭湖区两种不同谱系蜆的壳长、壳高和壳宽之间没有显著差异,进一步证实之前的结果<sup>[16,17]</sup>。形态的高度多样性和可塑性对采用传统形态特征对蜆属进行分类带来极大的困难,也使得以传统形态分类为基础,采用基于 DNA 条

表 1 12 种 *CO I* 单倍型和外类群参考序列(KT373825)的核苷酸变异位点

Tab. 1 Variable nucleotide sites of 12 mitochondrial *CO I* haplotypes and outgroup reference sequence (GeneBank: KT373825)

	16	52	67	120	132	198	220	246	255	275	306	340	354	408	432	435	441	447	513	516	522
Hap-1	A	C	T	A	G	A	C	A	G	C	T	G	T	C	A	G	G	T	G	A	G
Hap-2	G	T	C	G	A	G	C	G	A	C	C	G	C	C	A	T	A	C	A	A	G
Hap-3	G	T	C	G	A	G	C	G	A	C	C	A	C	C	A	T	A	C	A	A	G
Hap-4	A	C	T	A	G	A	C	A	G	C	T	G	T	C	G	G	G	T	G	A	G
Hap-5	A	C	T	A	G	A	C	A	G	C	T	A	T	C	A	G	G	T	G	A	G
Hap-6	A	C	T	A	G	A	C	A	G	C	T	A	T	C	G	G	G	T	G	A	G
Hap-7	A	T	T	A	A	A	C	A	G	C	T	A	T	C	A	G	G	T	G	A	G
Hap-8	A	T	C	G	G	G	C	G	A	C	C	A	T	C	A	T	A	C	A	A	G
Hap-9	G	T	C	G	A	G	T	G	A	C	C	G	C	C	A	T	A	C	A	A	G
Hap-10	A	C	T	A	G	A	C	A	G	C	T	G	T	C	G	T	G	T	G	A	G
Hap-11	A	T	C	G	A	G	C	G	A	C	C	A	C	C	A	T	A	C	A	A	G
Hap-12	A	T	T	A	G	A	C	A	G	C	T	G	T	C	G	G	G	T	A	A	G
KT373825	A	T	C	G	G	G	C	G	G	T	T	G	T	T	A	A	G	C	G	G	A

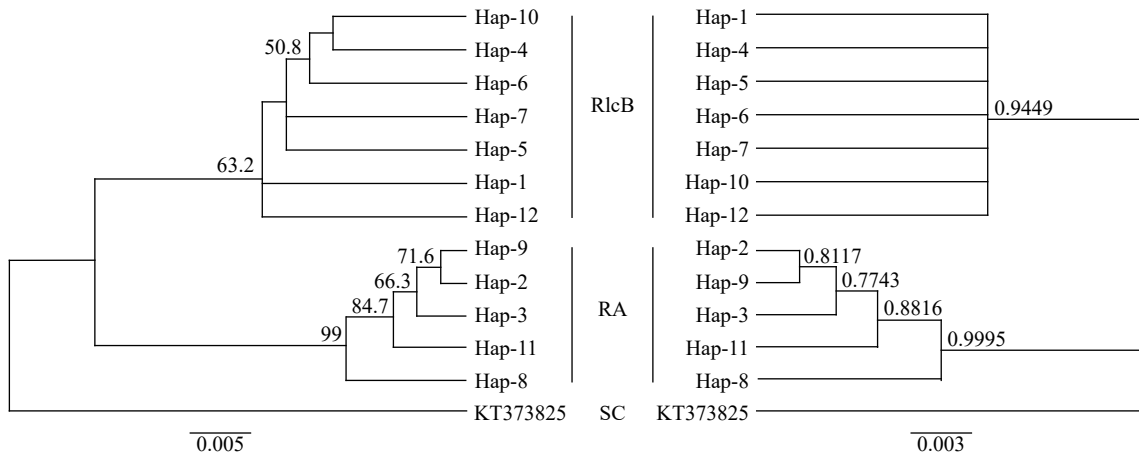


图 1 基于最大似然法(左)和贝叶斯法(右)构建的 *CO I* 基因单倍型系统进化树(支持率在各节点附近显示)

Fig. 1 Phylogenetic trees for the mt *CO I* haplotypes based on the Maximum Likelihood (left) and Bayesian Inference (right, support values are showed next to the nodes)

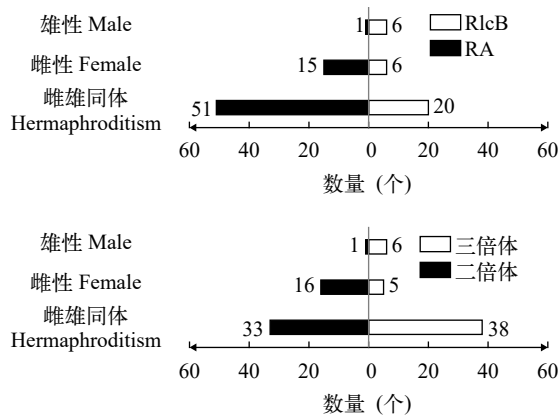


图2 不同谱系和倍性蚬的性别组成

Fig. 2 Sex composition of different lineages and ploidies of *Corbicula* clams

形码的系统分类方法, 结合倍性、生殖方式等基础生物学特征的综合方法被认为是准确厘定蚬属分类的最有效方法<sup>[13, 14]</sup>。此外, 本研究还发现三倍体蚬的壳长和壳高均显著高于二倍体。三倍体较二倍体具有显著生长优势的现象在鱼类等高等脊椎动物中非常常见<sup>[40]</sup>, 但这种因生殖不育给三倍体带来生长优势的机制似乎在蚬中并不适用, 因为三倍体蚬无论是雌性、雄性还是雌雄同体均可参与生殖。因此, 其确切机制还有待与进一步研究。

### 3.2 蚬的谱系与性别

虽然蚬已经成为广布世界各地咸淡水水域的底栖动物优势类群, 但其性别的分布具有较大地域差异。入侵地蚬均为雌雄同体且营无性的雄核生殖, 原产地蚬则存在雌雄异体和雌雄同体两种性别体系, 且两性生殖和无性生殖共存<sup>[5, 21]</sup>。*Corbicula sandai* 和 *C. japonica* 均是雌雄异体且营两性生殖, 前者仅分布日本的琵琶 (Biwa) 湖, 后者分布于东亚的咸淡水水域, 另有少量的两性蚬分布于印度尼西亚<sup>[41, 42]</sup>。我国黄河三角洲徒骇河<sup>[22]</sup>的河蚬为雌

雄异体。辽宁大洋河河蚬在性别分化尚未完全时有少量雌雄同体, 性成熟后完全是雌雄异体且性别为 1:1<sup>[23]</sup>。淀山湖、珠江、修河以雌雄异体为主, 并存雌雄同体个体<sup>[24-26]</sup>。繁殖季节洪泽湖河蚬均为雌雄异体<sup>[43]</sup>, 但也发现及少量雌雄同体<sup>[44]</sup>。但长江中游流域洞庭湖<sup>[17]</sup>、大通湖<sup>[27]</sup>、湘江支流捞刀河<sup>[20]</sup>、赣江<sup>[26]</sup>, 长江下游太湖流域的麻漾<sup>[28]</sup>却均以雌雄同体个体为主, 并存一定比例的两性个体。此外, 闽江河蚬则为雌雄同体和雄性个体共存<sup>[29]</sup>。Miyazaki<sup>[45]</sup>认为蚬属贝类的性别特征与其栖息生境密切相关, 并将蚬属贝类分为三类: 淡水生雌雄异体、淡水生雌雄同体和海水生雌雄异体。本研究结果显示, 洞庭湖区蚬属于淡水生雌雄同体和雌雄异体共存类型, 且谱系与性别之间存在显著的相关性, 但该相关性主要体现在性别比例方面, 也不足以作为区分谱系的主要生物学特征。此外, 蚬属贝类的倍性与性别或生殖方式之间的相关性也有报道, 即所有的二倍体均为雌雄异体, 营有性生殖, 而营无性生殖的蚬则二倍体、三倍体和四倍体均存在<sup>[5, 15]</sup>。洞庭湖区蚬的倍性与性别之间具有显著的相关性, 但不同倍性的生殖方式还有待于进一步地研究。

### 3.3 蚬的谱系与倍性

美洲和欧洲等入侵地三个谱系 (RA、RlcB 和 SC) 的蚬均为三倍体, 而原产地蚬的倍性具有多样性。日本的 *C. sandai* 和 *C. japonica* 均为二倍体且营两性生殖, *C. flumilea* 既有二倍体, 也有三倍体, *C. leana* 的雄性个体为二倍体, 雌雄同体为三倍体<sup>[46]</sup>。我国福建闽江的河蚬为二倍体, 但四川省安岳县溪流中的河蚬三倍体和四倍体共存, 这也是目前国际上唯一的四倍体蚬的报道<sup>[31]</sup>。沅水 99 个样品中发现二倍体 50 个、三倍体 49 个, 表明二倍体和三倍体蚬共存于洞庭湖区, 但谱系与倍性之间没有显著

表2 蚬的壳重及矫正后的形态参数

Tab. 2 The shell weight and adjusted morphological parameters of *Corbicula* clams

分组Group	样本数Sample number	壳重Shell weight (g)	壳长Shell length (mm)	壳宽Shell width (mm)	壳高Shell height (mm)
RA	67	3.09±0.74	25.34±2.17	15.80±0.88	23.59±1.73
RlcB	32	3.24±0.93	25.85±2.71	15.75±1.10	24.14±2.16
二倍体Diploid	50	3.04±0.72	24.09±0.49 <sup>a</sup>	15.54±0.23	22.78±0.41 <sup>a</sup>
三倍体Triploid	49	3.15±0.82	26.30±0.50 <sup>b</sup>	15.89±0.23	24.26±0.41 <sup>b</sup>
雌雄同体Hermaphrodite	71	3.14±0.81	26.11±0.30	15.91±0.14 <sup>b</sup>	24.31±0.38 <sup>b</sup>
雌Female	21	3.05±0.74	24.73±0.46	15.66±0.21 <sup>ab</sup>	22.71±0.83 <sup>a</sup>
雄Male	7	3.12±0.80	24.44±1.00	15.51±0.45 <sup>a</sup>	23.27±0.25 <sup>ab</sup>
所有All	99	3.14±0.81	25.50±2.42	15.79±0.97	23.77±1.93

注: 数值后面的不同字母表示不同倍性或性别蚬形态参数差异显著 ( $P < 0.05$ )

Note: Different letters indicated significant differences between ploidy or among sexes ( $P < 0.05$ )

表 3 蚬线粒体 *COI* 单倍型的遗传多样性Tab. 3 The genetic diversity of mitochondrial *COI* gene of *Corbicula* clams

分组 Group	单倍型数 $H$	变异位点数 $S$	单倍型多样性 $H_d$	核苷酸多样性 $\pi$	平均核苷酸差异数 $k$
RA	5	5	0.246	0.00069	0.362
RlcB	7	6	0.438	0.00133	0.698
二倍体 Diploid	10	17	0.540	0.01105	5.813
三倍体 Triploid	6	16	0.646	0.01352	7.112
雌雄同体 Hermaphrodite	8	16	0.539	0.01156	6.082
雌 Female	5	17	0.676	0.01217	6.400
雄 Male	4	15	0.714	0.00923	4.857
所有 All	12	17	0.599	0.01236	6.503

的相关性。因此, 倍性也不适合作为区分洞庭湖区不同谱系蚬的生物学特征。黄勤<sup>[33]</sup>通过分析和比较日本 *C. japonica* ( $2n=38$ )、*C. leana* ( $3n=54$ ) 和福建闽江河蚬 *C. fluminea* ( $2n=36$ ) 的核型, 推测三种蚬之间存在演进关系, 即: 从海水生演化到淡水生, 由雌雄异体发展到雌雄同体; 相应地, 单倍体数由  $n=19$  演化为  $n=18$ , 染色体倍数由二倍体发展为三倍体。该假说为从生殖和倍性两个方面着手研究蚬属贝类的演化提供了思路。

### 3.4 蚬的谱系与遗传多样性

入侵地蚬的遗传多样性极低, 谱系 RA 和 SC 个体分别共有其谱系所特有的唯一的线粒体 *COI* 基因单倍型, 谱系 RlcB 虽然有两个 *COI* 基因单倍型, 但两个单倍型仅相差 1 个碱基<sup>[5, 14, 15]</sup>。中国、越南、日本 172 条 *COI* 序列中共发现 44 个单倍型, 单倍型多样性和核苷酸多样性分别在 0.284—1.000、0.00001—0.00346<sup>[15, 47]</sup>。沅水 99 条 *COI* 基因序列共发现 12 个单倍型, 17 个变异位点, 单倍型多样性、核苷酸多样性和平均核苷酸差异数分别为 0.599、0.01236 和 6.503, 与前期研究结果相似<sup>[17]</sup>。谱系 RlcB 的单倍型数、变异位点数、单倍型多样性、核苷酸多样性和平均核苷酸变异数均高于谱系 RA, 这种差异可能与两个谱系不同的生殖方式有关, 同时也说明谱系与 *COI* 单倍型遗传多样性之间相关性不强。

### 参考文献:

- [1] Counts C L. *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Sphaeriacea) in British Columbia [J]. *Nautilus*, 1981(95): 12-13.
- [2] Araujo R, Moreno D, Ramos M A. The Asiatic clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in Europe [J]. *American Malacological Bulletin*, 1993, **10**(1): 39-49.
- [3] Sousa R, Guilhermino C. Ecology of the invasive Asian clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in aquatic ecosystems: an overview [J]. *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology*, 2008, **44**(2): 85-94.
- [4] Gomes C, Sousa R, Mendes T, *et al.* Low genetic diversity and high invasion success of *Corbicula fluminea* (Bivalvia, Corbiculidae) (Müller, 1774) in Portugal [J]. *PLoS One*, 2016, **11**(7): 1-16.
- [5] Penarrubia L, Araguas R M, Vidal O, *et al.* Genetic characterization of the Asian clam species complex (*Corbicula*) invasion in the Iberian Peninsula [J]. *Hydrobiologia*, 2017, **784**(1): 349-365.
- [6] Bepalaya Y V, Bolotov I N, Aksenova O V, *et al.* Aliens are moving to the Arctic frontiers: an integrative approach reveals selective expansion of androgenic hybrid *Corbicula* lineages towards the North of Russia [J]. *Biological Invasions*, 2018, **20**(8): 2227-2243.
- [7] Crespo D, Dolbeth M, Leston S, *et al.* Distribution of *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in the invaded range: a geographic approach with notes on species traits variability [J]. *Biological Invasions*, 2015, **17**(7): 2087-2101.
- [8] Pigneur L M, Marescaux J, Roland K, *et al.* Phylogeny and androgenesis in the invasive *Corbicula* clams (Bivalvia, Corbiculidae) in Western-Europe [J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2011, **11**(1): 147.
- [9] Pigneur L M, Risterucci A M, Dauchot N, *et al.* Development of novel microsatellite markers to identify the different invasive lineages in the *Corbicula* complex and to assess androgenesis [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2011, **11**(3): 573-577.
- [10] Komaru A, Yamada M, Houki S. Relationship between two androgenetic clam species, *Corbicula leana* and *Corbicula fluminea*, inferred from mitochondrial cytochrome *b* and nuclear 28S rRNA markers [J]. *Zoological Science*, 2013, **30**(5): 360-365.
- [11] Park J K, Kim W. Two *Corbicula* (Corbiculidae: Bivalvia) mitochondrial lineages are widely distributed in Asian freshwater environment [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2003, **29**(3): 529-539.
- [12] Skuza L, Maria A, Domagala J. Cytogenetic and morphological characterization of *Corbicula fluminalis* (O. F. Müller, 1774) (Bivalvia: Veneroida: Corbiculidae): taxonomic status assessment of a freshwater clam [J]. *Folia Biologica*, 2009, **57**(3-4): 177-185.
- [13] Hedtke S M, Stanger H K, Baker R J, *et al.* All-male asexuality: Origin and maintenance of androgenesis in the Asian clam *Corbicula* [J]. *Evolution*, 2008, **62**(5): 119-1136.
- [14] Etoundi E, Marescaux J, Vastrade M, *et al.* Distinct biogeographic origins of androgenetic *Corbicula* lineages followed by genetic captures [J]. *BioRxiv*, 2019: 1-33.
- [15] Pigneur L M, Etoundi E, Aldridge D C, *et al.* Genetic uniformity and long-distance clonal dispersal in the invasive androgenetic *Corbicula* clams [J]. *Molecular Ecology*, 2014, **23**(20): 5102-5116.
- [16] Wang G P, Zhang T, Zhang J, *et al.* Morphological and molecular differentiation of genus *Corbicula* suggests that two species are sympatrically distributed in Datong Lake in the central Yangtze River Basin [J]. *Zoological Studies*, 2014, **53**(1): 64.

- [17] Wang J P, Zhu P F, Wang J, *et al.* Genetic diversity analysis of *Corbicula fluminea* in Dongting lake based on the mitochondrial Cyt *b* gene [J]. *Journal of Hydroecology*, 2018, **39**(5): 89-94. [王剑平, 朱鹏飞, 王健, 等. 基于线粒体Cyt *b*基因序列的洞庭湖河蚬遗传多样性分析 [J]. 水生生态学杂志, 2018, **39**(5): 89-94.]
- [18] Li D M, Zhang T Q, Tang S K, *et al.* Genetic diversity of wild *Corbicula fluminea* population in the Hongze Lake analyzed by mitochondrial DNA COI gene sequence [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2015, **36**(5): 81-86. [李大命, 张彤晴, 唐晟凯, 等. 洪泽湖野生河蚬 (*Corbicula fluminea*) 线粒体 COI 基因序列的遗传多样性分析 [J]. 渔业科学进展, 2015, **36**(5): 81-86.]
- [19] Liu Y S, Zhang T Q, Tang S K, *et al.* Development and application of growth equations for *Corbicula fluminea* population in Hongze Lake [J]. *Journal of Hydroecology*, 2017, **38**(4): 82-89. [刘燕山, 张彤晴, 唐晟凯, 等. 洪泽湖河蚬种群生长方程估算及其应用 [J]. 水生生态学杂志, 2017, **38**(4): 82-89.]
- [20] Wang J P, Li D L, Zeng C, *et al.* Genetic diversity and reproductive characteristics of *Corbicula fluminea* from the Laodao River in Liuyang City [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2018, **42**(5): 913-918. [王剑平, 李德亮, 曾聪, 等. 捞刀河浏阳段河蚬的遗传多样性及生殖特征研究 [J]. 水生生物学报, 2018, **42**(5): 913-918.]
- [21] Pigneur L M, Hedtke S M, Etoundi E, *et al.* Androgenesis: a review through the study of the selfish shellfish *Corbicula* spp [J]. *Heredity*, 2012, **108**(6): 581-591.
- [22] Zhao X L, Zheng X D, Sun T Q, *et al.* The reproductive biology of *Corbicula fluminea* from the Yellow River Delta [J]. *Marine and Lake Marsh*, 2012, **43**(5): 1008-1015. [赵雪琳, 郑小东, 孙同秋, 等. 黄河三角洲河蚬 (*Corbicula fluminea*) 的繁殖生物学研究 [J]. 海洋与湖泊, 2012, **43**(5): 1008-1015.]
- [23] Wang Q Z, Chang Y Q. Reproductive biology of Asian clam *Corbicula fluminea* in Dayang River in Liaoning Province [J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2010, **25**(1): 8-13. [王庆志, 常亚青. 大洋河河蚬的繁殖生物学研究 [J]. 大连海洋大学学报, 2010, **25**(1): 8-13.]
- [24] Xu X, Qian L M, Li J Y, *et al.* The reproductive phase of gonad in Mollusca (*Corbicula fluminea* Müller) in Shanghai Diansan Lake [J]. *Journal of Animal Science*, 1988(4): 26-30. [徐信, 钱玲妹, 李建英, 等. 淀山湖河蚬性腺发育分期的研究 [J]. 动物学报, 1988(4): 26-30.]
- [25] Morton B. Some aspects of the population structure and sexual strategy of *Corbicula* cf. *fluminalis* (Bivalvia: Corbiculacea) from the Pearl River, People's Republic of China [D]. Hong Kong: The University of Hong Kong, 1982: 1-23.
- [26] Wu X P. River clam *Corbicula fluminea* (Müller) and river clam *C. fluminalis* (Müller) population ecology research [C]. China Institute of Zoology, Shellfish Learning Branch of China Marine Lacustrine Bog institute Council of the Second and Third Academic Symposium Proceedings, 1986: 54-61. [吴小平. 河蚬 *Corbicula fluminea* (Müller) 和江蚬 *C. fluminalis* (Müller) 的种群生态学研究 [C]. 中国动物学会、中国海洋湖沼学会贝类学分会第二次代表会暨第三次学术讨论会论文集, 1986: 54-61.]
- [27] Zhang J. Annual production and reproductive characteristics of *Corbicula fluminea* in Datong Lake in Hunan Province [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2016: 1-61 [张健. 大通湖河蚬的周年生产量及繁殖特性研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2016: 1-61]
- [28] Zheng Y L, Wang Y D, Lu W X. Gender and gonadal development of the *Corbicula fluminea* [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 1997(5): 84-85. [郑玉林, 王银东, 卢文轩. 河蚬的性别和性腺发育的研究 [J]. 安徽农业科学, 1997(5): 84-85.]
- [29] Cai Y Y, Zhang Y F. Cultivation of *Corbicula fluminea* [J]. *Journal of Jimei Fisheries College*, 1963(1): 10-25. [蔡英亚, 张云飞. 河蚬的养殖 [J]. 集美水产专科学校学报, 1963(1): 10-25.]
- [30] Komaru A, Konishi K. Non-reductional spermatozoa in three shell color types of the freshwater clam *Corbicula fluminea* in Taiwan [J]. *Zoological Science*, 1999(16): 105-108.
- [31] Qiu A D, Shi A, Komaru A. Yellow and brown shell color morphs of *Corbicula fluminea* (Bivalvia, Corbiculidae) from Sichuan Province, China, are triploids and tetraploids [J]. *Journal of Shellfish Research*, 2001, **20**(1): 323-328.
- [32] Lee T, Siripattawan S, Ituarte C, *et al.* Invasion of the clonal clams: *Corbicula* lineages in the New World [J]. *American Malacological Bulletin*, 2005(20): 113-122.
- [33] Huang Q. Karyotype of *Corbicula fluminea* (Müller) [J]. *Journal of Fujian University*, 1988, **4**(1): 78-82. [黄勤. 河蚬 *Corbicula fluminea* (Müller) 的核型公式 [J]. 福建师范大学学报, 1988, **4**(1): 78-82.]
- [34] Folmer O, Black M, Hoeh W, *et al.* DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates [J]. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1994, **3**(5): 294-299.
- [35] Kearse M, Moir R, Wilson A, *et al.* Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data [J]. *Bioinformatics*, 2012, **28**(12): 1647-1649.
- [36] Tamura K, Dudley J, Nei M, *et al.* MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0 [J]. *Journal of Medical Molecular Biology*, 2007, **24**(8): 1596-1599.
- [37] Rozas J, Sánchezdelbarrio J C, Messeguer X, *et al.* DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods [J]. *Bioinformatics*, 2003, **19**(18): 2496-2497.
- [38] Lopez-Soriano J, Quiñonero-Salgado S, Cappelletti C, *et al.* Unraveling the complexity of *Corbicula* clams invasion in Lake Garda (Italy) [J]. *Advances in Oceanography and Limnology*, 2018, **9**(2): 97-104.
- [39] Tiemann J S, Haponski A E, Douglass D A, *et al.* First record of a putative novel invasive *Corbicula* lineage discovered in the Illinois River, Illinois, USA [J]. *BioInva-*



- sions Records*, 2017, **6**(2): 159-166.
- [40] Liu S J, Sun Y D, Zhang C, *et al.* Triploid crucain carp-allotetraploid hybrids (♂) × goldfish (♀) [J]. *Acta Genetica Sinica*, 2004, **31**(1): 31-38. [刘少军, 孙远东, 张纯, 等. 三倍体鲫鱼-异源四倍体鲫鲤 (♂) × 金鱼 (♀) [J]. 遗传学报, 2004, **31**(1): 31-38.]
- [41] Glaubrecht M, Fehér Z, Rintelen T. Brooding in *Corbicula madagascariensis* (Bivalvia, Corbiculidae) and the repeated evolution of viviparity in corbiculids [J]. *Zoologica Scripta*, 2006, **35**(6): 641-654.
- [42] Yamada M, Ishibashi R, Toyoda K, *et al.* Phylogeography of the brackish water clam *Corbicula japonica* around the Japanese Archipelago inferred from mitochondrial COII gene sequences [J]. *Zoological Science*, 2014(31): 168-179.
- [43] Wu C D, Zhang J Q, Xia S Y, *et al.* The biological study on the breeding peak of *Corbicula fluminea* in Hongze Lake [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2020, **39**(5): 2028-2032. [吴丛迪, 张建琦, 夏思宇, 等. 洪泽湖河蚬繁殖高峰期的生物学研究 [J]. 基因组学与应用生物学, 2020, **39**(5): 2028-2032.]
- [44] Bi T T. Reproductive biology and resource assessment for *Corbicula fluminea* in the Hongze Lake [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2013: 1-63 [毕婷婷. 洪泽湖河蚬繁殖生物学特征与资源状况评价 [D]. 北京: 中国科学院大学, 2013: 1-63]
- [45] Miyazaki L. On the development of bivalves belonging to the genus *Corbicula* [J]. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1936(5): 113-124.
- [46] Houki S, Yamada M, Honda T, *et al.* Origin and possible role of males in hermaphroditic androgenetic *Corbicula* clams [J]. *Zoological Science*, 2011, **28**(7): 526-531.
- [47] Komaru A, Houki S, Yamada M, *et al.* 28S rDNA haplotypes of males are distinct from those of androgenetic hermaphrodites in the clam *Corbicula leana* [J]. *Development Genes and Evolution*, 2012, **222**(3): 181-187.

## CHARACTERISTICS OF LINEAGE, PLOIDY AND SEX OF *CORBICULA* CLAMS FROM THE YUAN RIVER IN CHANGDE CITY

ZHAN Jiang-Fan<sup>1</sup>, PEI Hong-Qian<sup>1</sup>, LI Ke-Jing<sup>1</sup>, PI Jie<sup>2</sup>, ZENG Cong<sup>1</sup> and LI De-Liang<sup>1</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. College of Agriculture and Forest Science and Technology, Hunan Applied Technology University, Changde 415000, China)

**Abstract:** Due to the extraordinary range of morphological change and plasticity, coexistence of synonyms in genus *Corbicula* has been proposed. Meanwhile, diversified reproductive modes and polyploidies furtherly complexed the classification of genus *Corbicula*, which should be solved using more comprehensive and integrated methods. In order to deduce the systematic classification and study the reproductive mode of genus *Corbicula* clams, the lineages of genus *Corbicula* clams in the Changde City section of Yuan River was constructed based on mitochondrial CO I maker, and the relationships, morphology, ploidy, sex and genetic diversity in this study were analyzed. The results showed that 17 variation sites in 12 CO I haplotypes were detected in 99 CO I sequences (526 bp), and the haplotype diversity, nucleotide diversity, and mean nucleotide variation were 0.599, 0.01236 and 6.503, respectively. All *Corbicula* clams were classified into two separate clades based on the phylogenetic tree, respectively, corresponding to the previously reported lineage RA and RlCB, but the shell length, shell height, and shell width were not different significantly between lineages ( $P>0.05$ ). Of 99 specimens analyzed, there were 50 diploids, 49 triploids, 71 hermaphrodites, 21 females, and 7 males. Chi-square tests detected significant relationships between lineage and sex ( $P=0.004$ ) and between ploidy and sex ( $P=0.005$ ). The number of haplotypes, total number of variable sites, nucleotide diversity, and mean number of nucleotide variation of lineage RlCB were higher than those of lineage RA. All above results showed that RA and RlCB have some differences in morphology, ploidy, sex, and genetic diversity, but all these biological characteristics were not enough to discriminate *Corbicula* clams from other lineages, and more directed and robust evidences should be used to further confirm that lineage RA and RlCB belong to two different species.

**Key words:** *Corbicula*; Lineages; Morphology; Ploidy; Hermaphrodite; Gonochorism; Genetic diversity