

杨明柳, 徐岩, 高霆炜, 等. 基于 CO I 基因片段的我国南部沿海近亲拟相手蟹的群体遗传多样性研究[J]. 海洋学报, 2021, 43(2): 105–115, doi:10.12284/hyxb2021026

Yang Mingliu, Xu Yan, Gao Tingwei, et al. Genetic diversity of *Parasesarma affine* from the South China Sea based on mitochondrial DNA CO I gene[J]. Haiyang Xuebao, 2021, 43(2): 105–115, doi:10.12284/hyxb2021026

基于 CO I 基因片段的我国南部沿海近亲拟相手蟹的群体遗传多样性研究

杨明柳¹, 徐岩^{1,2}, 高霆炜¹, 潘红平², 吴斌¹, 阎冰^{1*}

(1. 广西科学院 广西红树林研究中心 广西红树林保护与利用重点实验室, 广西 北海 536007; 2. 广西大学 动物科学技术学院, 广西 南宁 530005)

摘要: 为了研究我国南部沿海近亲拟相手蟹 (*Parasesarma affine*) 的群体遗传结构, 本研究对 12 个地理群体共 222 个个体的线粒体 DNA 的细胞色素氧化酶亚基 I (CO I) 基因片段进行了分析。结果表明, 612 bp 的 CO I 基因片段检测到 34 个变异位点, 共定义了 40 个单倍型, 其中 Hap2 为 12 个群体的共享单倍型, 占个体总数的 69.81%。总群体的单倍型多样性水平 H_d 为 0.508 9, 核苷酸多样性水平 P_i 为 0.001 126, 表现出中等水平的 H_d 和低水平的 P_i 。单倍型邻接发育树和单倍型中介网络图没有形成明显的地理系谱结构。近亲拟相手蟹群体内的遗传距离为 0.000 36~0.001 73, 群体间的遗传距离为 0.000 48~0.001 72。群体间的遗传分化系数 (F_{st}) 和分子方差分析 (AMOVA) 结果表明, 近亲拟相手蟹群体遗传分化水平低, 其变异主要来自群体内。中性检验和核苷酸不配对分布结果提示, 近亲拟相手蟹近期经历了群体扩张事件, 扩张时间大约发生于 5.1 万年前的更新世晚期。研究表明, 较长的幼虫浮游期以及海洋环境中缺少影响群体扩散的屏障可能是近亲拟相手蟹各地理群体间能进行广泛的基因交流, 从而表现出较低的遗传分化水平的重要原因, 更新世的剧烈气候变迁亦可能对其群体的遗传结构和分布格局产生影响。研究结果为近亲拟相手蟹自然资源的保护及合理开发利用提供了一定理论依据。

关键词: 近亲拟相手蟹; CO I 基因; 遗传多样性; 遗传结构

中图分类号: Q347

文献标志码: A

文章编号: 0253-4193(2021)02-0105-11

1 引言

近亲拟相手蟹 (*Parasesarma affine*) 隶属于方蟹总科 (Grapsoidea), 相手蟹科 (Sesamidae), 拟相手蟹属 (*Parasesarma*), 广泛分布于东海、南海、印度-西太平洋^[1], 栖息于红树林湿地中, 以红树植物凋落物、沉积物、藻类等为食, 是一种活动能力和适应能力均很强的常见种与优势种^[2-3]。近亲拟相手蟹是红树林蟹类中重要种类之一, 在红树林生态系统的结构和功能中

扮演着非常重要的角色^[4]。目前, 国内外有关于近亲拟相手蟹的研究已涉及生物学、摄食行为、形态分类、线粒体 DNA 全基因组等方面^[5-8], 但未见其群体遗传相关的研究报道。近年来, 我国红树林遭到了不同程度的破坏, 天然红树林植被的退化和生境的破碎化对红树林蟹类群落造成了一定影响, 环境污染、围塘养殖、港口建设等人为活动也使得蟹类资源面临着巨大威胁^[2, 9-10]。因此, 开展近亲拟相手蟹群体遗传的研究, 对全面了解近亲拟相手蟹群体遗传多样性现

收稿日期: 2020-04-23; 修订日期: 2020-09-28。

基金项目: 国家重点研发计划科技基础资源调查专项 (2017FY100704); 广西自然科学基金项目 (2017GXNSFBA198163); 广西“红树林和海草系统保育与生态监测”特聘专家岗基金资助。

作者简介: 杨明柳 (1988—), 女, 广西省桂林市人, 助理研究员, 主要从事海洋生物研究。E-mail: yangmingliu2010@163.com

* 通信作者: 阎冰 (1966—), 男, 研究员, 主要从事红树林污染生态研究。E-mail: gxybing@tom.com

状及加强红树林蟹类资源保护工作具有重要意义。

线粒体 DNA 具有分子结构稳定、母系遗传、进化速度快、核苷酸替代速率高等特征,是研究动物分子系统发育和群体遗传的重要遗传标记^[11]。细胞色素氧化酶 I (COI) 基因是线粒体 DNA 中最常用的标记之一,可用于揭示种群之间遗传结构,目前已被广泛地应用于蟹类的群体遗传研究中^[12-15]。本研究采用线粒体 COI 基因对我国南部沿海 12 个近亲拟相手蟹群体进行群体遗传学研究,分析近亲拟相手蟹群体的遗传结构和历史动态,以期为红树林蟹类的资源

保护与利用提供基础资料。

2 材料与方法

2.1 样品采集

本研究所用的近亲拟相手蟹于 2012 年 7 月至 2013 年 6 月采集于福建龙海、福建云霄、广东珠海、广东阳江、广东雷州、广东徐闻、广西合浦山口、广西北海、广西防城港、海南洋浦、海南东方等 12 个采样地,共计 222 个个体(表 1, 图 1)。所有个体置于 95% 酒精中固定,并保存于 -20℃ 冰箱。

表 1 中国南部沿海近亲拟相手蟹的采样信息

Table 1 The sampling information of *P. affine* from the South China Sea

群体	采样地点	经纬度	样本数	采集时间
LH	福建龙海	24°28'06.4"N, 117°54'19.5"E	22	2012年9月
YX	福建云霄	23°55'15.3"N, 117°25'01.5"E	22	2012年9月
ZH	广东珠海	22°23'45.4"N, 113°38'37.8"E	22	2013年6月
YJ	广东阳江	21°46'12.4"N, 111°44'49.8"E	14	2013年6月
LF	广东雷州附城镇	20°53'18.2"N, 110°10'30.1"E	22	2012年10月
LQ	广东雷州企水镇	20°48'13.2"N, 109°44'9.7"E	22	2012年10月
XW	广东徐闻	20°14'47.7"N, 110°7'19.3"E	14	2012年10月
SK	广西合浦山口镇	21°29'55.5"N, 109°45'41.0"E	10	2012年7月
BH	广西北海	21°24'51.3"N, 109°10'25.2"E	21	2012年7月
FCG	广西防城港	21°37'06.2"N, 108°14'07.9"E	22	2012年7月
YP	海南洋浦	19°46'08.8"N, 109°15'15.0"E	22	2012年10月
DF	海南东方	19°12'58.4"N, 108°38'15.2"E	9	2012年10月

2.2 实验方法

取近亲拟相手蟹步足肌肉 10 mg 左右,采用 E. Z. N. A.™SQ Tissue DNA Kit 试剂盒 (Omega 公司) 提取

总 DNA, 于 -20℃ 分管保存备用。使用无脊椎动物通用引物 COIL490: 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATA-TTGG-3'; COIH2198: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAA-AAAATCA-3'^[16] 扩增 COI 基因片段,引物由广州英潍捷基测序公司合成。PCR 反应体系为 50 μL, 其中包含 2×Taq10 MasterMix (北京奥赛博公司)25 μL, 模板 DNA 2 μL, 引物各 2 μL, 其余用 Milli-Q-Water 补足到 50 μL。PCR 反应条件为 94℃ 预变性 2 min, 94℃ 变性 45 s, 47℃ 退火 50 s, 72℃ 延伸 1 min, 35 个循环, 最后 72℃ 再延伸 8 min。PCR 产物经 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测确认为目的片段后,将样品送至广州英潍捷基测序公司进行纯化,并用 ABI3730XL 测序仪进行正反链双向测序。

2.3 数据处理

所获得的序列均由 DNASTAR 7.1^[17] 软件包中的 SeqMan、MegAlign 进行校对、编辑、排序。Dnasp v5.0^[18]

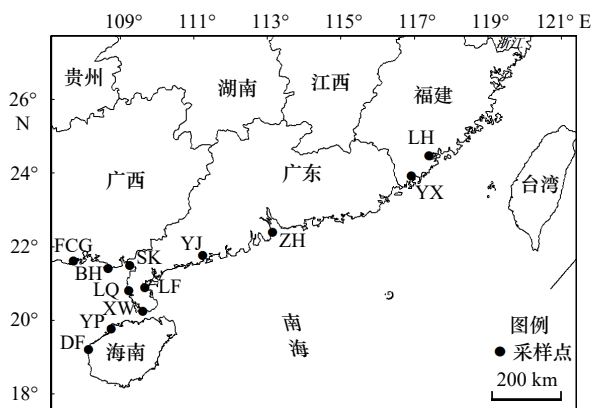


图 1 近亲拟相手蟹的采样点地理位置

Fig. 1 Locations of the sampling stations of *P. affine*

统计单倍型数目、多态位点数、简约信息位点数, Arlequin3.1^[19] 计算单倍型多样性和核苷酸多样性。采用 MEGA7.0^[20] 软件计算近亲拟相手蟹群体内和群体间平均遗传距离, 并基于 Kimura 2-parameter 模型构建单倍型邻接树(1 000 次自展重复)。使用 Network 4.51^[21] 软件包中介邻接网络法(Median Joining, MJ)构建单倍型中介网络图。利用 Arlequin 3.1^[19] 软件进行分子方差分析(Analysis of Molecular Variance, AMOVA), 来评估近亲拟相手蟹群体间的遗传变异, 计算群体间的遗传分化指数 F_{st} 值, 并用 Tajima's D 和 Fu's F_s 中性检验及核苷酸不配对分布, 来进行群体的历史动态评估^[22-23]。采用公式 $\tau=2ut$ 估算群体扩张发生的大致时间, 其中 t 为群体发生扩张的时间, u 为所研究的整个序列的进化速率, u 采用 2.3% 每百万年的核苷酸分歧速率^[24-25]。

3 结果

3.1 序列分析

本研究的近亲拟相手蟹 12 个群体共 222 条序列经比对分析后, 获得长度为 612 bp 的 CO I 基因片段, 其 A、T、C、G 的平均含量分别为 28.93%、37.25%、17.17%、16.65%, A+T 含量(66.18%)明显大于 C+G 含量(33.82%), 碱基存在明显的偏向性(表 2)。共检测

到 34 个变异位点, 包括 19 个单核苷酸变异位点, 15 个简约信息位点, 无插入或缺失位点。34 个变异位点共发生了 35 次核苷酸替换, 其中有 30 次转换, 5 次颠换, 转换和颠换之比为 6.0。

3.2 序列多态性分析

近亲拟相手蟹总群体的单倍型多样性指数 H_d 为 0.508 9, 核苷酸多样性指数 P_i 为 0.001 126。各群体间的单倍型多样性指数 H_d 在 0.222 2~0.710 0 之间, 核苷酸多样性指数 P_i 在 0.000 362~0.001 726 之间, 其中雷州企水群体的单倍型多样性和核苷酸多样性最高, 海南东方群体的单倍型多样性和核苷酸多样性相对较低。

在 222 个个体中, CO I 基因片段检测到的 34 个变异位点共定义了 40 个单倍型, 由表 3 可知, 有 29 个独有单倍型和 11 个共享单倍型。其中单倍型 Hap2 在 12 个群体中均有分布, 在群体中所占比例高达 69.82%, 为主体单倍型。Hap3 为 10 个群体共享, 在群体中所占比例为 6.31%; Hap22 为 4 个群体共享, Hap30 为 3 个群体共享, Hap7、Hap12、Hap18、Hap20、Hap29、Hap34 各为 2 个群体共享。在 12 个群体中, 雷州企水群体的单倍型数量最多(10 个), 其次为广西北海群体(9 个), 海南东方群体的单倍型最少(2 个)。由于部分群体的样本个体数量较少, 这可能会在一定程度上

表 2 近亲拟相手蟹不同群体 CO I 基因片段的碱基组成和遗传多样性

Table 2 The base composition and genetic diversity parameters of CO I gene fragments among different population of *P. affine*

群体	碱基组成/%						单倍型多样性(H_d)	核苷酸多样性(P_i)
	T	C	A	G	A+T	C+G		
LH	37.25	17.16	28.94	16.64	66.19	23.9	0.259 7±0.120 2	0.000 594±0.000 664
YX	37.24	17.18	28.92	16.66	66.16	33.84	0.593 1±0.116 7	0.001 146±0.001 003
ZH	37.25	17.16	28.91	16.67	66.16	33.93	0.545 5±0.127 6	0.001 040±0.000 941
YJ	37.22	17.18	28.94	16.65	66.16	33.83	0.494 5±0.150 6	0.000 898±0.000 880
LF	37.23	17.18	28.91	16.67	66.14	33.85	0.601 7±0.120 6	0.001 174±0.001 019
LQ	37.25	17.16	28.92	16.66	66.17	33.82	0.710 0±0.106 4	0.001 726±0.001 326
XW	37.24	17.17	28.94	16.64	66.18	33.81	0.395 6±0.158 8	0.000 700±0.000 753
SK	37.25	17.16	28.92	16.67	66.17	33.83	0.377 8±0.181 3	0.000 654±0.000 745
BH	37.25	17.17	28.94	16.64	66.19	33.81	0.681 0±0.113 1	0.001 696±0.001 313
FCG	37.28	17.14	18.96	16.62	56.24	33.76	0.541 1±0.125 3	0.001 712±0.001 319
YP	37.24	17.17	28.94	16.65	66.18	33.82	0.411 3±0.130 8	0.000 891±0.000 852
DF	37.27	17.14	28.92	16.67	66.19	33.81	0.222 2±0.166 2	0.000 362±0.000 534
总群体	37.25	17.17	28.93	16.65	66.18	33.82	0.508 9±0.041 9	0.001 126±0.000 951

表 3 近亲拟相手蟹 12 个群体单倍型分布情况

Table 3 Haplotype distribution of *P. affine* in twelve populations

单倍型	群体												合计	基因登记号
	LH	YX	ZH	YJ	LF	LQ	XW	SK	BH	FCG	YP	DF		
Hap1	-	-	-	-	-	1	-	-	2	-	-	-	3	MT310974
Hap2	19	14	15	10	14	12	11	8	12	15	17	8	155	MT310975
Hap3	1	3	-	2	2	1	1	1	1	1	1	-	14	MT310976
Hap4	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	MT310977
Hap5	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	MT310978
Hap6	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	MT310979
Hap7	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	2	MT310980
Hap8	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	MT310981
Hap9	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	MT310982
Hap10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	MT310983
Hap11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	MT310984
Hap12	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	2	MT310985
Hap13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	2	MT310986
Hap14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	MT310987
Hap15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	MT310988
Hap16	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	MT310989
Hap17	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	MT310990
Hap18	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	2	MT310991
Hap19	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	2	MT310992
Hap20	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	2	MT310993
Hap21	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	MT310994
Hap22	-	-	-	-	1	1	1	-	-	-	1	-	4	MT310995
Hap23	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	MT310996
Hap24	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	MT310997
Hap25	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	MT310998
Hap26	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	MT310999
Hap27	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	MT311000
Hap28	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	MT311001
Hap29	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	2	MT311002
Hap30	-	1	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	3	MT311003
Hap31	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	MT311004
Hap32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	MT311005
Hap33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	MT311006
Hap34	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	MT311007
Hap35	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	MT311008
Hap36	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	MT311009
Hap37	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	MT311010
Hap38	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	MT311011
Hap39	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	MT311012
Hap40	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	MT311013
合计	22	22	22	14	22	22	14	10	21	22	22	9	222	-

注: -代表未检测到单倍型。

上影响单倍型数量、单倍型多样性和核苷酸多样性的统计结果。

3.3 系统发育分析与单倍型中介网络图

为了更好地了解近亲拟相手蟹各单倍型之间的关系,以弧边招潮(*Uca arcua*, 基因登陆号: LC053370)为外群,构建了单倍型邻接发育树(图2)。从系统发育树可以看出,40个单倍型没有分成明显的支系,不同地理群体的单倍型并没有出现明显的地域分群。利用中介网络邻接法构建的单倍型网络中介图呈星

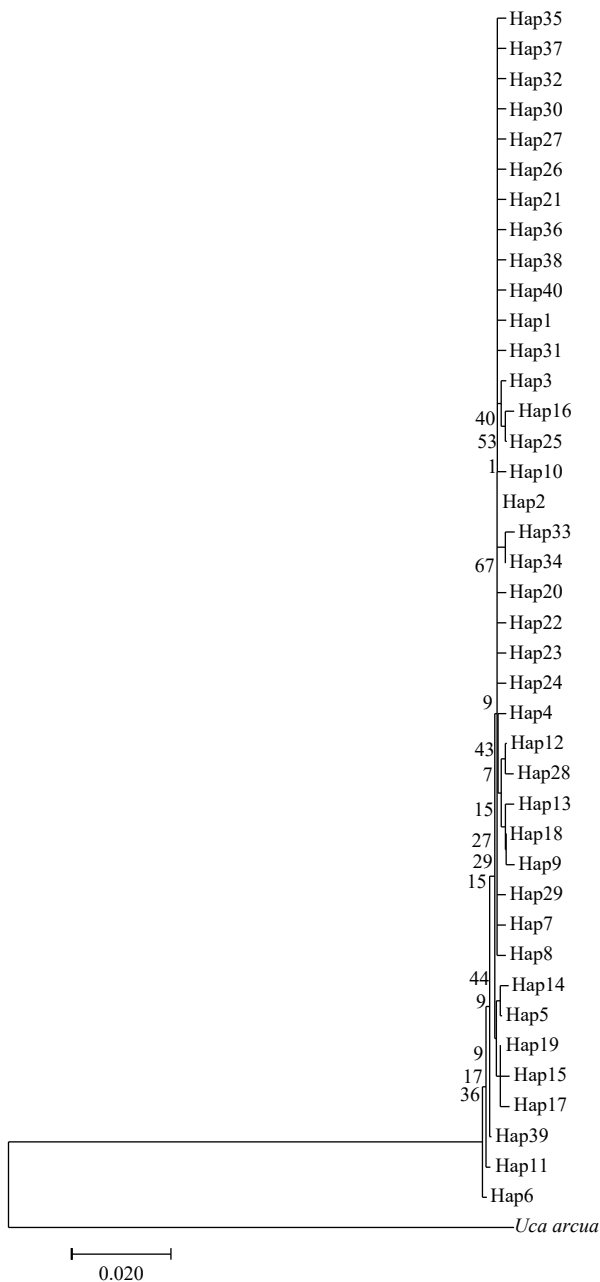


图2 基于近亲拟相手蟹 CO I 基因构建的 40 个单倍型邻接系统发育树

Fig. 2 Neighbor-joining tree for 40 haplotypes of *P. affine* based on CO I gene

状散射分布,主体单倍型为 Hap2,其他单倍型与主体单倍型 Hap2 仅保留一步或两步突变。中介网络图中近亲拟相手蟹各群体的单倍型呈零散分布,没有明显的地理系谱结构,其结果进一步支持了系统发育树的分析(图3)。

3.4 遗传距离分析

从表4可以看出,12个近亲拟相手蟹群体内的遗传距离在0.00036~0.00173之间,海南东方群体内的遗传距离最小,为0.00036;雷州企水群体内的遗传距离最大,为0.00173。在不同地理群体间的遗传距离范围为0.00048~0.00172,其中雷州企水群体与广西北海群体遗传距离最大,为0.00172,而海南东方群体与福建龙海群体之间的遗传距离最小,为0.00048。这表明群体内和群体间的遗传分化程度均很低,各群体间没有形成地理隔离现象。遗传分化系数 F_{st} 结果显示,12个群体间的 F_{st} 值均较小,范围为-0.05504~0.02151,且统计学差异不显著($p>0.05$),表明各群体间没有发生明显的遗传分化。绝大多数群体间的 F_{st} 值为负值,表明大部分群体内的遗传差异水平大于群体间的遗传差异水平。

3.5 分子方差分析

根据群体间遗传距离及遗传分化情况,将12个群体作为一个整体进行分子方差分析,结果显示,群体间的变异百分比为-0.4%,而组群内的变异百分比为100.4%,这亦表明了群体间的遗传分化程度低,且群体的遗传变异主要来自群体内,而不是群体间。总的固定指数(F_{ST})为-0.00402,表明来自同一个群体的两个随机个体比来自不同群体的两个随机个体有更大的遗传差异(表5)。

3.6 群体动态分析

由于近亲拟相手蟹群体间没有显著的遗传分化,因此将12个群体合并为一个大群体进行历史动态分析。中性检验显示(表6),总群体的Tajima's D 检验(Tajima's $D=-2.49780$, $p<0.05$)和Fu's F_s 检验(Fu's $F_s=-29.92997$, $p<0.05$)结果均为负值,差异显著,并且Fu's F_s 检验的绝对值大于Tajima's D 检验绝对值,提示近亲拟相手蟹曾经发生过群体扩张事件。此外,核苷酸不配对分析结果表明,偏离方差(SSD)和Rg(Raggedness index)均较小,统计结果不显著($p>0.05$),表明未显著偏离群体扩张模型,进一步暗示了近亲拟相手蟹可能经历过群体扩张。并且,近亲拟相手蟹的单倍型核苷酸不配对分布图呈明显的单峰泊松分布,且观测值不明显偏离模拟值(图4)。由此可见,中性检验和核苷酸不配对结果一致,均提示近亲拟相手蟹

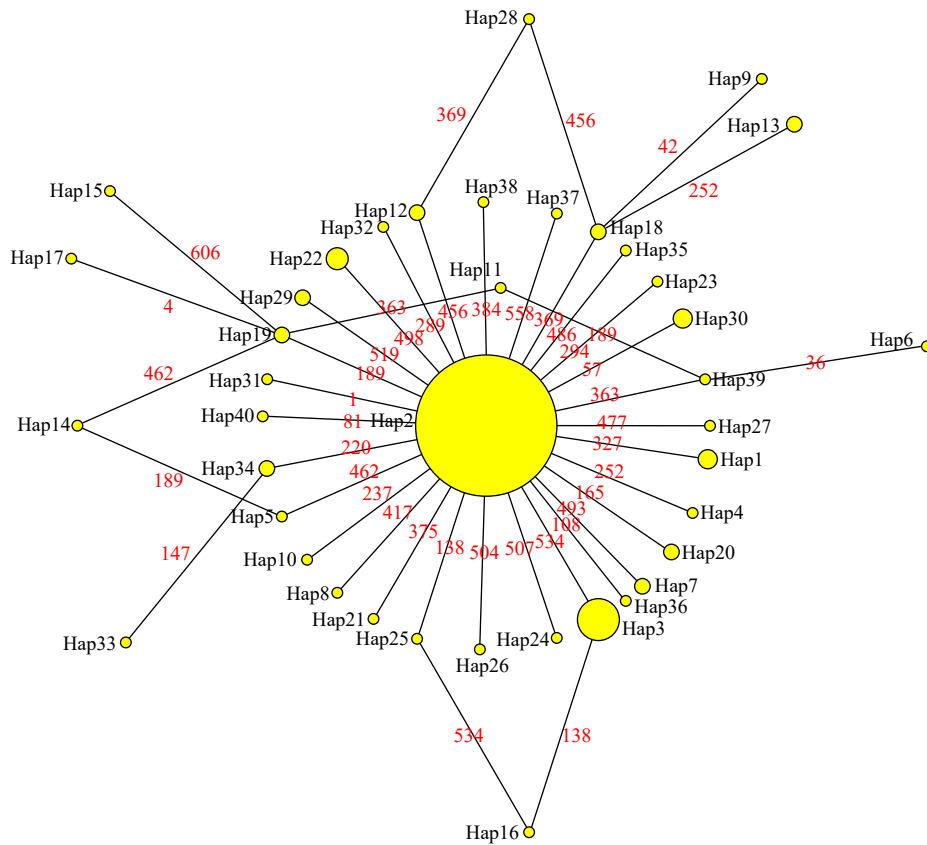


图 3 近亲拟相手蟹 12 个群体 CO I 基因单倍型中介网络图

Fig. 3 The median-joining network of CO I gene haplotypes in twelve populations of *P. affinis*

表 4 基于 CO I 基因序列的近亲拟相手蟹群体间遗传分化系数 F_{st} 值 (对角线下) 和群体内 (对角线) 及群体间 (对角线上) 遗传距离

Table 4 F -statistics (below diagonal) within populations and genetic distance within (diagonal) and between (above diagonal) populations of *P. affinis* based on CO I gene

	LH	YX	ZH	YJ	LF	LQ	XW	SK	BH	FCG	YP	DF
LH	0.000 60	0.000 87	0.000 82	0.000 73	0.000 88	0.001 17	0.000 63	0.000 61	0.001 14	0.001 16	0.000 74	0.000 48
YX	-0.006 70	0.001 15	0.001 10	0.001 00	0.001 15	0.001 44	0.000 91	0.000 86	0.001 43	0.001 46	0.001 02	0.000 78
ZH	0.000 00	0.007 01	0.001 04	0.000 99	0.001 12	0.001 41	0.000 87	0.000 83	0.001 37	0.001 41	0.000 96	0.000 70
YJ	-0.014 01	-0.027 17	0.016 03	0.000 90	0.001 02	0.001 32	0.000 79	0.000 75	0.001 30	0.001 34	0.000 89	0.000 65
LF	-0.007 33	-0.010 64	0.006 35	-0.020 15	0.001 18	0.001 45	0.000 91	0.000 89	0.001 44	0.001 48	0.001 02	0.000 78
LQ	0.006 88	0.001 56	0.015 34	-0.005 18	-0.003 56	0.001 73	0.001 21	0.001 19	0.001 72	0.001 70	0.001 32	0.001 08
XW	-0.032 20	-0.017 28	-0.005 01	-0.019 64	-0.032 32	-0.013 10	0.000 70	0.000 65	0.001 20	0.001 22	0.000 78	0.000 53
SK	-0.022 01	-0.055 04	-0.028 66	-0.042 29	-0.038 04	-0.023 05	-0.036 58	0.000 65	0.001 17	0.001 21	0.000 76	0.000 51
BH	-0.004 57	0.000 93	0.001 05	-0.004 57	0.000 90	0.000 39	-0.012 07	-0.026 96	0.001 70	0.001 71	0.001 29	0.001 04
FCG	0.007 20	0.015 73	0.020 38	0.014 93	0.019 66	-0.014 23	0.000 47	-0.006 72	0.000 40	0.001 72	0.001 33	0.001 08
YP	-0.009 17	-0.005 71	-0.007 04	-0.003 57	-0.012 93	0.006 11	-0.029 92	-0.026 99	-0.004 28	0.021 51	0.000 89	0.000 63
DF	-0.015 02	-0.005 80	-0.027 68	0.009 76	-0.022 01	-0.013 50	-0.012 41	-0.003 32	-0.028 18	-0.007 85	-0.024 65	0.000 36

表 5 近亲拟相手蟹 12 个群体的 AMOVA 分析

Table 5 Analysis of molecular variance (AMOVA) for the twelve *P. affine* populations

变异来源	自由度	平方和	变异组成	变异百分比/%	固定值 F_{ST}
组群间	11	3.526	-0.001 38 V_a	-0.4	-0.004 02 ($p=0.757 6$)
种群内	210	72.654	0.345 97 V_b	100.4	
合计	221	76.18	0.344 59	100	

注: V_a 表示组群间方差; V_b 表示组群内群体间方差。

表 6 近亲拟相手蟹 12 个群体的中性检验和核苷酸不配对分布

Table 6 Neutral testes and mismatch distributions of nucleotide in twelve *P. affine* populations

群体	Tajima's D		Fu's F_s		核苷酸不配对分布		
	D	p	F_s	p	τ	SSD	R_g
LH	-1.877 63	0.011 00	-2.205 61	0.006 00	3.000 00	0.002 13	0.343 72
YX	-1.778 56	0.019 00	-4.749 13	0.000 00	0.875 00	0.017 16	0.159 63
ZH	-2.139 60	0.001 00	-6.978 93	0.000 00	0.783 20	0.011 77	0.140 50
YJ	-1.278 26	0.085 00	-1.727 37	0.012 00	0.683 59	0.012 90	0.155 30
LF	-2.002 53	0.007 00	-6.347 57	0.000 00	0.894 53	0.016 49	0.156 56
LQ	-1.917 76	0.008 00	-7.818 78	0.000 00	1.166 02	0.005 87	0.092 15
XW	-1.670 53	0.026 00	-2.288 11	0.002 00	0.505 86	0.005 27	0.168 22
SK	-1.400 85	0.077 00	-1.163 94	0.036 00	0.490 23	0.005 79	0.182 72
DG	-2.162 55	0.004 00	-6.321 53	0.000 00	1.115 23	0.001 64	0.067 10
FCG	-1.715 70	0.018 00	-3.162 46	0.007 00	2.312 50	0.055 27	0.243 44
YP	-2.071 98	0.002 00	-4.121 61	0.000 00	0.705 08	0.000 06	0.131 67
DF	-1.088 23	0.191 00	-0.263 48	0.154 00	2.929 69	0.306 72	0.358 02
合计	-2.497 80	0.000 00	-29.929 97	0.000 00	0.714 84	0.000 00	0.950 00

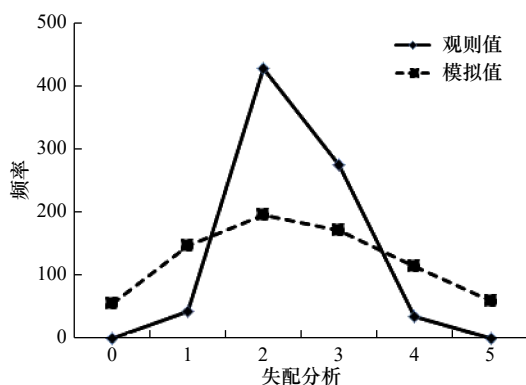


图 4 近亲拟相手蟹 CO I 基因单倍型的核苷酸不配对分布

Fig. 4 Mismatch distributions based on CO I gene haplotypes of *P. affine*

群体在历史上可能发生过群体扩张。基于核苷酸不配对分布得到的总群体扩张参数 τ 值为 0.714 84, 估算得出中国南部沿海近亲拟相手蟹群体发生扩张时间大约在 5.1 万年前。

4 讨论

4.1 遗传多样性分析

本研究中, 我国南部沿海 12 个近亲拟相手蟹群体 222 个个体的 CO I 碱基组成中 A+T 含量占总碱基的 66.18%, 表现出较强的 AT 偏向性, 与已经报道的相手蟹科的双齿近相手蟹 (*Perisesarma bidens*)^[14]、迈纳新胀蟹 (*Neosarmatium meinerti*)^[26]、其他软体动物 (疣荔枝螺 *Reishia clavigera*)^[27]、星虫动物 (可口革囊星虫 *Phascolosoma esculenta*)^[28] 等的 CO I 碱基组成

特点相似,符合无脊椎动物线粒体 DNA 的碱基组成特征。

单倍型多样性指数和核苷酸多样性指数是衡量群体遗传多样性的一项重要指标^[29]。根据单倍型多样性指数和核苷酸多样性指数的特征, Grant 和 Bowen^[30]对遗传多样性划分为低 H_d 和低 P_i ($H_d < 0.5$, $P_i < 0.5\%$)、高 H_d 和低 P_i 、低 H_d 和高 P_i 、高 H_d 和高 P_i 等 4 种遗传特征类型。近亲拟相手蟹 12 个群体的单倍型多样性指数为 0.508 9, 核苷酸多样性指数为 0.001 126, 符合高 H_d 和低 P_i 类型, 暗示其群体近期可能经历了快速扩张事件^[30]。这种高 H_d 和低 P_i 的遗传多样性特征不仅存在于蟹类等甲壳动物中^[13, 31], 许多种海洋无脊椎动物, 尤其是具有浮游幼体阶段和高繁殖潜力的海洋无脊椎动物也存在这种特征^[27-28, 32]。此外, 近亲拟相手蟹群体较低的核苷酸多样性可能是由于新形成的单倍型存在的时间较短, 其累积的核苷酸突变很快就随之消失而造成^[33], 瓶颈效应及随后的群体扩张也可能导致这种遗传多样性格局。

单倍型中介网络图中单倍型呈星状散射分布, Hap2 位于网络中介图中心, 其广泛分布于各个群体, 占总个体数的 69.81%, 这暗示着 Hap2 为祖先单倍型。本研究检测到 40 种单倍型中有 11 个共享单倍型和 29 个独有单倍型, 独有单倍型仅在 1 个群体中的 1 个个体表现, 并且其他单倍型与主体单倍型 Hap2 仅保留一步或两步突变, 这种现象通常可以认为是群体瓶颈效应后, 少量有效群体近期迅速扩张事件引起^[34], 进一步表明近亲拟相手蟹可能经历过群体快速爆发事件。

4.2 群体遗传结构特征与群体历史动态

遗传分化系数 F_{st} 结果显示, 近亲拟相手蟹 12 个群体间的 F_{st} 值范围为 $-0.055\ 04 \sim 0.021\ 51$, 统计学差异不显著 ($p > 0.05$), 群体间的遗传分化水平很低。基于遗传距离分析的结果发现, 群体间的遗传距离接近甚至小于群体内的遗传距离, 各群体间没有形成地理隔离, AMOVA 分析结果也表明, 群体间的遗传分化程度低, 群体的遗传变异主要来自群体内。这些结果暗示着近亲拟相手蟹各群体间存在广泛的基因交流, 并且不同地理群体可以以随机交配的方式进行基因交流^[29], 推测中国南部沿海可能缺少能明显影响近亲拟相手蟹群体扩散的地理屏障。

许多具有浮游阶段且有较强潜在扩散能力的海洋生物, 在非常广阔的范围内通常会表现出很低的遗传分化^[35]。在大多数海洋无脊椎动物中, 浮游性幼虫发育是它们繁殖策略中很重要的一部分, 浮游幼虫期

持续的时间越长, 它们可能在洋流的作用下扩散得越远, 不同地理群体在较大的地理范围内潜在的基因流就越高, 从而导致遗传同质性^[36]。近亲拟相手蟹是一种广泛分布于红树林中的常见种类, 与大多数红树林蟹类一样, 会与潮汐同步释放幼虫, 这些浮游幼虫可能会借助潮汐和洋流运输作用跨越数十千米至数百千米进行扩散^[37-38]。相手蟹的幼虫发育通常经过 4~5 个溞状幼体期和 1 个大眼幼体期, 幼虫期持续将近 1 个月, 有的甚至超过 1 个月^[26, 31, 39]。较长的幼虫浮游期以及海洋环境中缺少影响群体扩散的屏障可能是近亲拟相手蟹群体能进行频繁的基因交流, 从而在较大地理范围内表现出较低的遗传分化水平的重要原因。类似的结果在双齿近相手蟹^[14]、环纹招潮 (*Uca annulipes*)^[40] 的群体遗传研究中有报道。

本研究中单倍型中介网络图呈星状结构、中性检验和核苷酸不配对分析的结果均暗示着近亲拟相手蟹近期发生过群体扩张事件, 根据核苷酸不配对 τ 值估算群体扩张时间大约发生在 5.1 万年前的更新世晚期。更新世的剧烈气候波动, 冰期和间冰期变化频繁, 冰川不断进退消融, 由此引起的海平面的升降对地球上的动植物地理空间分布格局和遗传结构均产生了重大影响^[41-42]。更新世海平面周期性的波动使海洋生物经历了栖息地的反复收缩和扩张, 尤其是末次冰盛期, 大部分地区为巨大的冰原所覆盖, 西太平洋边缘海平面下降, 栖息地急剧收缩, 迫使众多海洋生物进入生物避难所, 随着冰川消退和气温回升, 海平面上升, 栖息地范围扩大, 幸存物种开始重新扩散并快速增长^[41, 43]。近亲拟相手蟹的群体扩张时间大约发生在 5.1 万年前, 推测近亲拟相手蟹在更新世冰盛期经历了栖息地剧烈收缩和种群数量的减少, 随着气温回升, 海平面的上升和栖息地范围的扩大, 适宜的环境让近亲拟相手蟹幸存种群开始迅速扩张。不少研究也发现蟹类在更新世发生过群体扩张事件^[12, 14, 40], 海平面和温度的变化可能导致了其群体遗传结构的变化。由此可见, 更新世的剧烈气候变迁对海洋蟹类群体的遗传结构和分布格局产生了巨大影响。

综上所述, 近亲拟相手蟹 12 个地理群体内和群体间的遗传距离小, 不同地理群体的单倍型没有明显的地理系谱结构, 群体间的遗传分化程度低, 群体的遗传变异主要来自群体内, 这些暗示着近亲拟相手蟹不同地理群体间存在着广泛的基因交流。幼虫浮游期长和较强的潜在扩散能力, 海洋环境中缺少影响群体扩散的屏障以及近期的群体扩张事件, 可能是近亲拟相手蟹不同地理群体间存在着广泛的基因交流, 没

有形成显著遗传结构的重要原因, 研究结果为近亲拟相手蟹自然资源的保护及合理开发利用提供了一定理论依据。然而, 浮游幼虫的扩散是非常复杂的过程, 易受到生活史特征、洋流、地理屏障等生物和非生物因素的影响, 也有越来越多研究证明, 海洋区域中存在着边界和屏障, 导致一些蟹类群体的基因交流受限和出现遗传分化^[26, 44-45]。此外, 近年来中国沿海环境不断发生变化, 特别是人为干扰的加剧, 可能会对近亲拟相手蟹这种生活于潮间带区域的蟹类种群动态产生较大影响。本研究的样品采集于2012-2013年, 至于这几年的沿海环境变化和人为活动是否会导致近亲拟相手蟹群体的遗传结构在不同时间尺度上

出现差异尚不明确。稳定的遗传变异对群体的演化及适应环境变化有重要作用, 不同区域动物群体遗传变异在时间尺度上具有一定的稳定性^[46], 但也有研究发现在不同的年份中, 人为干扰严重的区域一些动物群体的遗传结构出现分化, 而远离人为干扰环境中的群体, 在不同年份中群体之间遗传结构不存在差异^[47]。由于本研究的采样时间、地点和样品量存在一定局限性, 至于近亲拟相手蟹群体在更大的地理范围内是否存在基因交流限制和显著遗传结构, 以及在不同的时间尺度上群体遗传结构是否存在差异, 还需扩大研究范围, 深入研究群体遗传变异的时空动态变化, 并运用多种分子标记手段, 以得出更全面和客观的结论。

参考文献:

- [1] 刘瑞玉. 中国海洋生物名录[M]. 北京: 科学出版社, 2008: 801-802.
Liu Ruiyu. Checklist of Marine Biota of China Seas[M]. Beijing: Science Press, 2008: 801-802.
- [2] 杨明柳, 徐敬明, 吴斌, 等. 北部湾红树林蟹类多样性初步研究[J]. 四川动物, 2014, 33(3): 347-352, 357.
Yang Mingliu, Xu Jingming, Wu Bin, et al. A preliminary study on crabs diversity for Beibu Gulf mangrove[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2014, 33(3): 347-352, 357.
- [3] Chen Guangcheng, Ye Yong. Leaf consumption by *Sesarma plicata* in a mangrove forest at Jiulongjiang Estuary, China[J]. *Marine Biology*, 2008, 154(6): 997-1007.
- [4] Lee S Y. Ecological role of grapsid crabs in mangrove ecosystems: a review[J]. *Marine and Freshwater Research*, 1998, 49(4): 335-343.
- [5] Lee S Y, Kwok P W. The importance of mangrove species association to the population biology of the sesarmine crabs *Parasesarma affinis* and *Perisesarma bidens*[J]. *Wetlands Ecology and Management*, 2002, 10(3): 215-226.
- [6] Chen G C, Lu Changyi, Li Rong, et al. Effects of foraging leaf litter of *Aegiceras corniculatum* (Ericales, Myrsinaceae) by *Parasesarma plicatum* (Brachyura, Sesarmidae) crabs on properties of mangrove sediment: a laboratory experiment[J]. *Hydrobiologia*, 2016, 763(1): 125-133.
- [7] Wang Zhengfei, Wang Ziqian, Shi Xuejia, et al. Complete mitochondrial genome of *Parasesarma affine* (Brachyura: Sesarmidae): gene rearrangements in Sesarmidae and phylogenetic analysis of the Brachyura[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 118: 31-40.
- [8] 杨明柳, 徐敬明, 吴斌, 等. 基于形态和16S rRNA基因的拟相手蟹分类研究[J]. 海洋学报, 2016, 38(8): 62-72.
Yang Mingliu, Xu Jingming, Wu Bin, et al. Taxonomic study on the genus *Parasesarma* based on the morphology characteristics and mtDNA 16S rRNA gene[J]. *Haiyang Xuebao*, 2016, 38(8): 62-72.
- [9] 陈光程, 余丹, 叶勇, 等. 红树林植被对大型底栖动物群落的影响[J]. 生态学报, 2013, 33(2): 327-336.
Chen Guangcheng, Yu Dan, Ye Yong, et al. Impacts of mangrove vegetation on macro-benthic faunal communities[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(2): 327-336.
- [10] 卢元平, 徐卫华, 张志明, 等. 中国红树林生态系统保护空缺分析[J]. 生态学报, 2019, 39(2): 684-691.
Lu Yuanping, Xu Weihua, Zhang Zhiming, et al. Gap analysis of mangrove ecosystem conservation in China[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(2): 684-691.
- [11] Moritz C, Dowling T E, Brown W M. Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics[J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1987, 18(1): 269-292.
- [12] Xu Jingming, Yang Fan, Sun Shichun. Population genetic structure and phylogeography of the mud-flat crabs *Helice tientsinensis* and *Helice latimera* along the coast of China seas based on mitochondrial DNA[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2012, 11(16): 3738-3750.
- [13] Ma Hongyu, Ma Chunyan, Ma Lingbo. Population genetic diversity of mud crab (*Scylla paramamosain*) in Hainan Island of China based on mitochondrial DNA[J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2011, 39(4/6): 434-440.
- [14] Zhou Haolang, Xu Jingming, Yang Mingliu, et al. Population genetic diversity of sesarmid crab (*Perisesarma bidens*) in China based on mitochondrial DNA[J]. *Mitochondrial DNA Part A*, 2016, 27(5): 3255-3262.
- [15] 王景, 张凤英, 蒋科技, 等. 基于线粒体CO I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 Oxi-

- dase Subunit I Sequence from the East China Sea[J]. *Marine Fisheries*, 2015, 37(2): 114–121.
- [16] 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.
- [17] Burland T G. DNASTAR's Lasergene sequence analysis software[M]//Misener S, Krawetz S A. *Bioinformatics Methods and Protocols*. Totowa, NJ: Humana Press, 2000: 71–91.
- [18] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data[J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(11): 1451–1452.
- [19] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis[J]. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 2005, 1: 47–50.
- [20] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(7): 1870–1874.
- [21] Polzin T, Daneshmand S V. On Steiner trees and minimum spanning trees in hypergraphs[J]. *Operations Research Letters*, 2003, 31(1): 12–20.
- [22] Fu Y X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection[J]. *Genetics*, 1997, 147(2): 915–925.
- [23] Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism[J]. *Genetics*, 1989, 123(3): 585–595.
- [24] Schubart C D, Diesel R, Hedges S B. Rapid evolution to terrestrial life in Jamaican crabs[J]. *Nature*, 1998, 393(6683): 363–365.
- [25] Daniels S R, Stewart B A, Gouws G, et al. Phylogenetic relationships of the southern African freshwater crab fauna (Decapoda: Potamonautidae: *Potamonautes*) derived from multiple data sets reveal biogeographic patterning[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2002, 25(3): 511–523.
- [26] Ragionieri L, Cannicci S, Schubart C D, et al. Gene flow and demographic history of the mangrove crab *Neosarmatium meinerti*: a case study from the western Indian Ocean[J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2010, 86(2): 179–188.
- [27] 吴晓雯, 余海, 陈青萍, 等. 基于CO I 基因对温州沿海岛屿疣荔枝螺遗传多样性研究[J]. *动物学杂志*, 2019, 54(2): 254–269.
Wu Xiaowen, Yu Hai, Chen Qingping, et al. Genetic diversity of *Reishia clavigera* on the coastal islands of wenzhou based on CO I gene[J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2019, 54(2): 254–269.
- [28] 金丹璐, 娄剑锋, 高心明, 等. 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[J]. *水生生物学报*, 2017, 41(6): 1257–1264.
Jin Danlu, Lou Jianfeng, Gao Xinming, et al. The genetic diversity of *Phascolosoma esculenta* in the coastal zone of south-eastern China based on sequence analysis of mitochondrial CO I gene[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2017, 41(6): 1257–1264.
- [29] 宋忠魁, 李梦芸, 聂振平, 等. 北部湾拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*)群体遗传结构及其扩张分析[J]. *海洋与湖沼*, 2012, 43(4): 828–836.
Song Zhongkui, Li Mengyun, Nie Zhenping, et al. Population genetic structure and expansion analysis of green mud crab (*Scylla paramamosain*) from Beibu Gulf[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2012, 43(4): 828–836.
- [30] 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.
- [31] Silva I C, Mesquita N, Paula J. Genetic and morphological differentiation of the mangrove crab *Perisesarma guttatum* (Brachyura: Sesarimidae) along an East African latitudinal gradient[J]. *Biological Journal of the Linnean Society*, 2010, 99(1): 28–46.
- [32] Li Jiji, Ye Yingying, Wu Changwen, et al. Genetic variation of *Mytilus coruscus* Gould (Bivalvia: Mytilidae) populations in the East China Sea inferred from mtDNA COI gene sequence[J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2013, 50: 30–38.
- [33] Cassone B J, Boulding E G. Genetic structure and phylogeography of the lined shore crab, *Pachygrapsus crassipes*, along the northeastern and western Pacific coasts[J]. *Marine Biology*, 2006, 149(2): 213–226.
- [34] Slatkin M, Hudson R R. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations[J]. *Genetics*, 1991, 129(2): 555–562.
- [35] Hewitt G. The genetic legacy of the Quaternary ice ages[J]. *Nature*, 2000, 405(6789): 907–913.
- [36] Palumbi S R. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation[J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1994, 25(1): 547–572.
- [37] Skov M W, Hartnoll R G, Ruwa R K, et al. Marching to a different drummer: crabs synchronize reproduction to a 14-month lunar-tidal cycle[J]. *Ecology*, 2005, 86(5): 1164–1171.
- [38] Palumbi S R. Population genetics, demographic connectivity, and the design of marine reserves[J]. *Ecological Applications*, 2003, 13(S1): 146–158.
- [39] Krishnan T, Kannupandi T. Larval development of the mangrove crab *Sesarma bidens* (De Haan, 1853) in the laboratory (Brachyura: Grapsidae: Sesarminae)[J]. *Mahasagar*, 1987, 20(3): 171–181.
- [40] Silva I C, Mesquita N, Paula J. Lack of population structure in the fiddler crab *Uca annulipes* along an East African latitudinal gradient: genetic and morphometric evidence[J]. *Marine Biology*, 2010, 157(5): 1113–1126.
- [41] 沈浪, 陈小勇, 李媛媛. 生物冰期避难所与冰期后的重新扩散[J]. *生态学报*, 2002, 22(11): 1983–1990.

- Shen Lang, Chen Xiaoyong, Li Yuanyuan. Glacial refugia and postglacial recolonization patterns of organisms[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(11): 1983–1990.
- [42] Hewitt G M. Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2004, 359(1442): 183–195.
- [43] Lambeck K, Esat T M, Potter E K. Links between climate and sea levels for the past three million years[J]. *Nature*, 2002, 419(6903): 199–206.
- [44] Laurenzano C, Costa T M, Schubart C D. Contrasting patterns of clinal genetic diversity and potential colonization pathways in two species of western Atlantic fiddler crabs[J]. *PLoS One*, 2016, 11(11): e0166518.
- [45] Laurenzano C, Mantelatto F L M, Schubart C D. South American homogeneity versus Caribbean heterogeneity: population genetic structure of the western Atlantic fiddler crab *Uca rapax* (Brachyura, Ocypodidae)[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2013, 449: 22–27.
- [46] 柯富士, 尤士骏, 黄素梅, 等. 中国小菜蛾群体遗传变异的时空动态[J]. *昆虫学报*, 2019, 62(5): 624–633.
- Ke Fushi, You Shijun, Huang Sumei, et al. Spatiotemporal dynamics of genetic variation in populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), in China[J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2019, 62(5): 624–633.
- [47] Okeyo W A, Saarman N P, Mengual M, et al. Temporal genetic differentiation in *Glossina pallidipes* tsetse fly populations in Kenya[J]. *Parasites & Vectors*, 2017, 10(1): 471.

Genetic diversity of *Parasesarma affine* from the South China Sea based on mitochondrial DNA CO I gene

Yang Mingliu¹, Xu Yan^{1,2}, Gao Tingwei¹, Pan Hongping², Wu Bin¹, Yan Bing¹

(1. Guangxi Key Lab of Mangrove Conservation and Utilization, Guangxi Mangrove Research Center, Guangxi Academy of Sciences, Beihai 536007, China; 2. College of Animal Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530005, China)

Abstract: In this study, the population genetic diversity and structure of *Parasesarma affine* in the South China Sea were analyzed based on 222 individuals of twelve populations using Cytochrome Oxidase I (CO I) sequence. A 612 bp fragment of CO I gene were sequenced, from which 34 polymorphic sites were tested and 40 haplotypes were defined. The most frequent haplotype was Hap2 with the highest frequency of 69.81%, which was shared in all twelve populations. Total haplotype diversity (H_d) and nucleotide diversity (P_i) were 0.508 9, 0.001 126, respectively, which represented a moderate level of haplotype diversity and a low level of nucleotide diversity. No clustering corresponding to sampling localities was found in neighbor-joining tree and haplotype network. The genetic distance ranged from 0.000 36 to 0.001 73 within populations and from 0.000 48 to 0.001 72 between populations. Genetic fixation index (F_{st}) and analysis of molecular variance (AMOVA) indicated that the genetic variance mainly came from individuals within populations, and a low level of genetic differentiation among twelve populations. Both neutral test and mismatch-distribution analysis implied that the populations of *P. affine* had a recent population expansion event that occurred in about 51 000 years ago in the late Pleistocene epoch. In summary, the longer time of the planktonic larval phase and the lack of evident geographical barriers in the marine realm might be major reasons for that *P. affine* could carry out extensive gene flow and possessed a low level of genetic differentiation among all twelve populations. In addition, the severe climate change of pleistocene epoch might also have important effects on the genetic structure and patterns of distribution of *P. affine* populations. The research results could provide a theoretical basis for the conservation and utilization of *P. affine*.

Key words: *Parasesarma affine*; CO I gene; genetic diversity; genetic structure