

基于线粒体 COI 和 16S rRNA 基因研究 3 个地理群体黑龙江河蓝蛤的遗传多样性

孙超^{1,2}, 刘志鸿¹, 杨爱国¹, 周丽青¹, 吴彪¹, 严加坤^{1,2}, 侯宇^{1,2}, 董春光^{1,2}

(1. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室, 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071; 2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 采用通用引物对辽宁盘锦、辽宁大连、山东日照的 3 个地理群体黑龙江河蓝蛤(*Potamocorbula amurensis*) COI 和 16S rRNA 序列进行扩增、测序分析, 得到 30 条 658bp 的 COI 基因部分序列和 27 条 450 bp 的 16S rRNA 基因部分序列。其中 COI 和 16S rRNA 基因部分序列 T、C、A、G 和 A+T 的平均含量分别为 45.4%和 32.0%、13.5%和 13.3%、20.7%和 29.3%、20.4%和 25.3%、66.1%和 61.3%, AT 含量高于 GC 含量, 这与其他软体动物门动物的 COI 和 16S rRNA 的观测结果相近。COI 和 16S rRNA 分别检测到了 24 个单倍型、43 个核苷酸多态位点和 9 个单倍型、19 个核苷酸多态性位点。AMOVA 分析表明, 3 个群体间 COI 和 16S rRNA 部分基因总遗传分化系数分别为 $F_{st} = 0.0090 (P < 0.001)$ 和 $F_{st} = 0.0674 (P < 0.001)$, 群体内遗传分化远大于群体间、群体内存在较高的遗传分化。用 NJ 法构建分子进化树, 3 个地理群体的黑龙江河蓝蛤聚为一个族群, 有少数个体和其他群体的个体聚在一起。

关键词: 黑龙江河蓝蛤(*Potamocorbula amurensis*); 线粒体; 16S rRNA; COI; 遗传分化

中图分类号: S917.4; Q786 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2015)01-0039-07

doi: 10.11759/hyxx20130603002

黑龙江河蓝蛤(*Potamocorbula amurensis*), 俗称蓝蛤, 隶属于软体动物门(Mollusca)瓣鳃纲(Lamellibranchia)、海螂目(Myoida)、抱蛤科(Corbulidae)、河蓝蛤属(*potamocorbula*), 系广温性底栖贝类, 是生活在河流入海口处的一类小型经济贝类, 在我国从南到北均有分布^[1]。虾蟹产业对黑龙江河蓝蛤的巨大需求导致人们对其大量捕捞, 从而造成了资源量的大幅下降, 种质质量也受到了一定程度的破坏。目前, 在我国能够进行规模化采捕黑龙江河蓝蛤的滩涂越来越少。

线粒体 DNA 是环状分子, 长度为 14~17 kb^[2], 它具有母系遗传、进化速度快、核苷酸替代率高^[3-4]等特点, 已成为种类鉴别、群体遗传学以及系统发育等研究的有效遗传标记^[5]。线粒体 DNA 基因序列的差异在遗传多样性系统学关系的研究中使用较多^[6-7]。

目前国内有关黑龙江河蓝蛤的相关研究资料较少, 在分子方面研究尚未见有报道。本文对 3 个地理群体的黑龙江河蓝蛤的线粒体 COI 和 16S rRNA 基因片段进行了测序分析, 以期为黑龙江河蓝蛤的种质资源保护及其分子系统学与种群遗传学研究提供

基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

黑龙江河蓝蛤 3 个群体样本分别采自盘锦(2012 年 4 月), 日照(2012 年 5 月), 大连(2012 年 7 月), 样品保存于-80℃冰箱, 测序时随机提取 10 个个体进行实验。

1.2 基因组 DNA 提取

采用酚-氯仿-异戊醇常规方法抽提 DNA。分别取约 20 mg 黑龙江河蓝蛤肌肉组织, 加入 400 μL TEN 细胞裂解缓冲液(50 mmol/L Tris-HCl, pH 9.0; 100 mmol/L EDTA ; 200 mmol/L NaCl), 剪碎, 再分别加入 40 μL SDS(10%)和 8 μL 蛋白酶 K(10 g/L), 于 56℃ 消化至溶液澄清, 用酚-氯仿抽提, 异戊醇沉淀, 然

收稿日期: 2014-01-11; 修回日期: 2014-05-06

基金项目: 国家科技基础条件平台项目; 国家科技部基础工作专项(2013FY110700)

作者简介: 孙超(1987-), 男, 硕士, 主要从事贝类遗传育种研究, E-mail: yuheng2008@163.com; 刘志鸿, 通信作者, 研究员, 电话: 0532-85836340, E-mail: liuzh@ysfri.ac.cn

后用去离子超纯水溶解。提取的基因组 DNA 定量后配成 20 ng/μL 的工作溶液备用。

1.3 PCR 扩增与电泳检测

所用 COI 基因引物序列为 AR: 5'-GGTCAACA AATCATAAAGATATTGG-3'与 BR: 5'-TAAACTTCA GGGTGACCAAAAAATCA-3', 16S rRNA 基因片段扩增所用引物为 16S AR: 5'-CGCCTGTTTATCAA AAACAT-3', 16S BR: 5'-CCGGTCTGAACTCAGAT CACG-3'。由上海生物工程技术服务有限公司合成。PCR 反应在 Eppendorf 扩增仪上进行, 设置 30μL 反应体系, 反应体系为 3μL PCR 10×buffer (Mg²⁺ plus), 4μL dNTP (2 mmol/L), 10μmol/L 的引物各 2 μL, 0.5 μL Taq 酶(5 U/μL), 2μL DNA(20 ng/μL), 其余为纯水。PCR 反应条件设置为: COI: 94℃预变性 3 min ; 94℃变性 40 s, 55℃退火 40 s, 72℃延伸 1 min, 35 个循环 ; 最后 72℃延伸 10 min。16S: 94℃预变性 3 min ; 94℃变性 40 s, 44℃退火 40 s, 72℃延伸 1 min, 35 个循环 ; 最后 72℃延伸 10 min。反应多次重复, PCR 结束后取扩增产物于琼脂糖凝胶电泳检测(1×TAE, 5V/cm 恒压), 利用凝胶成像系统(UVP, Biolmaging Systems)进行观察和拍照。

1.4 测序和数据处理

PCR 产物送由北京华大基因进行测序, 将测序

得到的序列用 MegAlign 软件分析。用 MegAlign 软件对所获得基因片段序列进行比较。用 DnaSp5.0 软件计算群体的单倍型数(*H*)、平均核苷酸差异(*K*)及核苷酸多样性指数(*P_i*)。用 MEGA5.0 软件计算序列的碱基组成、变异位点及群体间的 Kimura2-paramter 遗传距离, 用 NJ 法构建系统发育进化树, 系统树各结点的支持率以序列数据集 1000 次重复抽样检验的自引导值(Boot-Strap value)表示。

2 结果与分析

2.1 线粒体 COI 和 16S rRNA 基因片段序列分析

测序得到的目的片段经过 clustal W 比对后, 去除引物、及测序起始的部分序列, 并经过在线 BLAST 分析, 确认得到 658 bp 的 COI 基因序列和 450 bp 的 16S 基因序列。利用 MEGA 软件计算这两段序列的碱基组成(表 1), 3 个群体碱基组成基本一致, COI 基因序列 T、C、A、G 和 A+T 的平均含量分别为 45.4%、13.5%、20.7%、20.4%及 66.1%, 16S 基因序列 T、C、A、G 和 A+T 的平均含量分别为 32.0%、13.3%、29.3%、25.3%及 61.3%, A+T 含量显著高于 G+C 含量, 这与线粒体 DNA 碱基组成特点是相符的。

表 1 黑龙江河蓝蛤 COI 和 16S 基因片段的碱基组成

Tab. 1 The base compositions of COI and 16S gene fragments among three populations of *P. amurensis*

碱基	盘锦 PJ	大连 DL	日照 RZ	均值
T	45.3/32.0	45.4/32.0	45.4/32.0	45.4/32.0
C	13.7/13.3	13.4/13.3	13.5/13.3	13.5/13.3
A	20.7/29.3	20.7/29.3	20.7/29.3	20.7/29.3
G	20.4/25.3	20.5/25.3	20.4/25.3	20.4/25.3
A+T	66.0/61.3	66.1/61.3	66.1/61.3	66.1/61.3

注: 斜线左边为 COI 基因序列碱基含量, 右边为 16S 基因序列碱基含量

对这 3 个不同地理群体的 30 个黑龙江河蓝蛤的 COI 基因片段进行分析, 检测到 43 个多态性位点, 46 个变异位点, 其中检测到 26 个单一变异位点, 20 个简约信息位点。转换位点 6 个, 颠换位点 1 个, 3 个插入/缺失位点。碱基转换与颠换的平均比值 $R=5.94$ 。平均核苷酸差异数为 6.2690, 核苷酸多样性指数为 0.0096, 共检测到 24 种单倍型, 大连群体和日照群体有 1 个共用单倍型, 盘锦群体和日照群体有 2 个共用单倍型, 其余单倍型均为每个群体独有, 单倍型及其在 3 个群体中的分布如表 2 所示。

对 3 个群体 27 条黑龙江河蓝蛤的 16S rRNA 基因部分序列进行分析, 检测到 19 个多态性位点, 19 个变异位点, 其中 17 个单一变异位点, 2 个简约信息位点。转换位点 1 个, 颠换位点 1 个, 没有插入/缺失位点。碱基转换与颠换的平均比值 $R=1.61$ 。平均核苷酸差异数为 1.5440, 核苷酸多样性指数为 0.0034。共检测到 4 个单倍型, 盘锦群体有 2 个独有的单倍型和 1 个共有单倍型, 日照群体有 1 个独有单倍型和 1 个共有单倍型, 大连群体只有 1 个共有单倍型, 单倍型及其在 3 个群体中的分布如表 3 所示。

表 2 COI 基因单倍型片段序列及变异位点

Tab. 2 Variable nucleotide positions in part of the COI region of 24 haplotypes, and number of individuals of each haplotype found in each locality

单体型	1112222333	3344444444	4444555555	566666	变异位点			GENBAN K 注册号	
	11577	4770478012	4512233445	6789033369	912345	大连 DL	盘锦 PJ		日照 RZ
Hap-1	TTATTCTTAGC	GCGATCCGA	TTGTGCTGTT			1	0	0	KJ522929
		TTTCATCAGT	TTGCAG						
Hap-2	T..G.....	..C.G.....			1	0	0	KJ522930
Hap-3	TT..G.....				1	0	0	KJ522931
Hap-4	C.....T..G.....TG..G.G..			1	0	0	KJ522932
Hap-5		..T.....T..G.....A...			1	0	0	KJ522933
Hap-6	T..G.....	A.....			1	0	0	KJ522934
Hap-7	T...T..CG.....				1	0	0	KJ522935
Hap-8		-.....C...A...T..G.....	C.....TG.....			1	0	1	KJ522936
Hap-9	T..GA.....A.....			1	0	0	KJ522937
Hap-10	A...T..G.....				1	0	0	KJ522938
Hap-11	C...AG.T..G.....	C.....TG.....			0	2	1	KJ522939
Hap-12	C.T.....C.....			0	1	0	KJ522940
Hap-13	C.....T..G.....TG.....			0	1	0	KJ522941
Hap-14	T.G.G.....A.....			0	2	0	KJ522942
Hap-15		..T...C.....T..G.....TG.....			0	1	0	KJ522943
Hap-16		C.C...C...AG.T..G.....	C.....TG.....			0	1	0	KJ522944
Hap-17	C...A...T..G.A...C.....TG.....			0	1	1	KJ522945
Hap-18		--C.TCC.....T..G.....TG.....			0	1	0	KJ522946
Hap-19		A.T.CT.....T.....C...T.....	T.....T			0	0	1	KJ522947
Hap-20	CA TA.....TA..G...T.....C.....			0	0	2	KJ522948
Hap-21	T...C.....				0	0	1	KJ522949
Hap-22	T..G...A...G.....				0	0	1	KJ522950
Hap-23	T..G...C.....G			0	0	1	KJ522951
Hap-24	A...T..G.....C C...-			0	0	1	KJ522952

表 3 16S 基因单倍型片段序列及变异位点

Tab.3 Variable nucleotide positions in part of the 16S rRNA region of 4 haplotypes, and number of individuals of each haplotype found in each locality

单体型	11233	333344444	变异位点			GENBANK 注册号
	1468956702	236922444	大连 DL	盘锦 PJ	日照 RZ	
Hap-1	GATAAAGGTAGGGAGTCCG		10	5	7	KJ522925
Hap-2C.....		0	2	0	KJ522926
Hap-3G.....		0	2	0	KJ522927
Hap-4	TGGGGTAT . T AAT . AAATA		0	0	1	KJ522928

2.2 黑龙江河蓝蛤群体多样性分析

利用 DNAsp5.0 计算群体内遗传多样性参数, 结果如表 4 所示。3 个群体的 COI 和 16S 基因片段核苷酸多样性指数(P_i)分别为 0.0096 和 0.0034, 单倍体

多态性(H_d)为 0.9840 和 0.3360。基于 COI 基因片段可以看出, 日照群体核苷酸多样性指数最高为 0.0121, 大连群体单倍体多态性最高为 1.0000, 大连群体核苷酸多样性指数最低为 0.0070, 盘锦群体和日照群体的单倍体多态性一致为 0.9780。基于 16S

表 4 黑龙江河蓝蛤 COI 和 16S 遗传多样性参数比较

Tab. 4 Summary of genetic diversity of different *P. amurensis* populations

遗传多样性参数	大连 DL	盘锦 PJ	日照 RZ	总计
单倍体型 <i>H</i>	10/1	8/3	9/2	24/4
单倍体多态性 <i>Hd</i>	1.0000/0.0000	0.9780/0.6670	0.9780/0.6430	0.9840/0.3360
多态位点 <i>S</i>	21/0	17/2	26/37	43/19
平均核苷酸差异数 <i>K</i>	4.6670/0.0000	6.0440/0.7780	7.8890/1.0143	6.2690/1.5440
核苷酸多样性指数 <i>Pi</i>	0.0070/0.0000	0.0093/0.0017	0.0121/0.0208	0.0096/0.0034

注: 斜线左边为 COI 基因参数, 右边为 16S 基因参数

基因片段可以看出, 日照群体核苷酸多样性指数最高为 0.0208, 盘锦群体的单倍体多态性最高为 0.6670, 两者最低的均出现在大连群体均为 0.0000。

对群体间的遗传多样性指数进行分析, 群体间 COI 的平均核苷酸差异数(*K*)为 5.7100~7.1900, 最低的 5.7100 出现在大连与盘锦群体之间, 而最高则出现在盘锦与日照群体之间(表 5)。群体间 16S 的平均核苷酸差异数(*K*)最低出现在大连与盘锦之间, 最高出现在盘锦和日照群体之间, 根据两个基因片段得出的结果相同。通过群体间的平均遗传距离(*D*)来看, 盘锦群体和日照群体之间的平均遗传距离最大, 大连和盘锦之间的平均遗传距离最小, 这和地理位置相吻合(表 6)。在 3 个群体中, 日照群体的核苷酸差异数最高。作者认为大连群体是 3 个群体中遗传最稳定的群体, 日照群体具有最为丰富的遗传学背景。

黑龙江河蓝蛤群体变异及遗传结构分析。基因流(*N_m*)及遗传分化系数(*F_{st}*, 表 7), 遗传分化系数最高出现在大连与盘锦群体之间。基因流最大出现在大连与日照群体之间, 说明两个群体之间有非常高

表 5 黑龙江河蓝蛤群体间平均核苷酸差异数(*K*)

Tab. 5 Average nucleotide differences between populations of *P. amurensis* (*K*)

群体	大连 DL	盘锦 PJ	日照 RZ
大连 DL	****	0.4440	2.1250
盘锦 PJ	5.7100	****	2.5690
日照 RZ	6.2800	7.2900	****

注: 对角线左下方为 COI, 右上方为 16S

表 8 黑龙江河蓝蛤群体间遗传差异的分子方差分析

Tab.8 Analysis of molecular variance (AMOVA) among populations of *P. amurensis*

变异来源	自由度 <i>df</i>	平方和	方差	百分比
群体间	2/3	1.0670/0.7040	0.0044 ^{Va} /0.0115 ^{Va}	0.9000/6.7400
群体内	27/23	13.2000/3.6670	0.4889 ^{Vb} /0.1594 ^{Vb}	99.1000/93.2600
总计	29/26	14.2670/4.3700	0.493330	0

表 6 黑龙江河蓝蛤群体间平均遗传距离(*D*)

Tab. 6 Average pairwise distances matrix between populations of *P. amurensis* (*D*)

群体	大连 DL	盘锦 PJ	日照 RZ
大连 DL	****	0.0010	0.0040
盘锦 PJ	0.0080	****	0.0060
日照 RZ	0.0100	0.0110	****

注: 对角线左下方为 COI, 右上方为 16S

表 7 基因流 *N_m* 和遗传分化系数(*F_{st}*)

Tab.7 Gene flow (*N_m*) and genetic fixations index (*F_{st}*) between and within three populations of *P. amurensis*

群体	大连 DL	盘锦 PJ	日照 RZ
大连 DL	****	0.0003/0.0000	0.1345/0.1246
盘锦 PJ	0.1341/0.1250	****	0.0609/0.0222
日照 RZ	0.0004/0.0000	0.0604/0.0216	****

注: 对角线左下方为 *F_{st}*, 右上方为 *N_m*, 斜线左边为 COI 基因参数, 右边为 16S 基因参数

的基因交流频率。对 3 个群体进行 AMOVA 分析, 如表 8 所示: 两个基因的遗传分化系数(*F_{st}*)为 0.0090 和 0.0674(*P*<0.0010, *P*=0.0000)表明在整个变异中群体间的变异占 0.90%和 6.74%, 可见在群体间遗传分化低于群体内遗传分化程度, 群体内存在较为显著的遗传分化。

分别构建的基于 16S r RNA 和 COI 基因片的系统发生 NJ 树(图 1 和图 2), 拓扑结构图显示少数不同群体间的个体聚合在一起, 绝大部分同一群体内个体首先聚在一起。

3 个群体之间的遗传分化较弱或只有中度分化。从地理位置上来看,大连距离日照较远,距离盘锦较近,而大连群体却和盘锦群体之间的基因流最小,遗传分化最大,和日照群体之间的基因流最大,遗传分化最小,分析其原因,可能是盘锦群体生活在封闭性较强的渤海,导致盘锦群体和大连群体很难产生基因交流,从而跟大连群体之间产生了较大的遗传分化。日照地区虾蟹养殖比较多,作为虾蟹可口饵料的黑龙江河蓝蛤在渤海被大量捕捞后运到日照地区,造成了一定程度上小范围的基因交流,所以盘锦群体和日照群体之间的遗传分化与大连群体相比要小些。孟学平等^[21]在研究西施舌 5 个地理群体间遗传分化也遇到了类似问题,广西北海群体与黄海的 3 个群体遗传分化很弱,这也说明地理位置不是决定遗传分化程度的决定性因素。

虽然本研究中发现 3 个群体的黑龙江河蓝蛤存在一定的遗传差异,但群体变异较少、多样性水平丰富度不够。因此要提高检测的遗传多样性的水平,应再选择线粒体 DNA 其他不同的基因区域得到多组序列数据,以更全面翔实、客观的分析黑龙江河蓝蛤群体遗传水平。

参考文献:

[1] 庄启谦. 中国近海帘蛤科的研究[C]//中国科学院海洋研究所. 海洋科学集刊.北京: 科学出版社, 1964.

[2] Wolstenholme D R. Animal mitochondrial DNA: structure and evolution [J]. *International Review of Cytology*, 1992, 141: 173-216.

[3] Brown M, Georger J, Wilson A C. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA [J]. *PNAS*. 1979, 76(4): 1967-1971.

[4] Whitmoer D H, Thaith, Craftm. The largemouth bass *cytochrome b* gene [J]. *Fish Bio*, 1994, 44 (4): 637-645.

[5] Hallerman E M. Population genetics: Principle and applications for fisheries scientist [M]. Bethesda, MD: American Fisheries Society, 2003: 59-100.

[6] Kappner I, Bieler R. Phylogeny of venus clams (Bivalvia: Veneri-nae) as inferred from nuclear and mitochondrial gene sequences[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2006, 40: 317-331.

[7] Cannas R, Caul A, Deianal A M, et al. Discrimination between the Mediterranean spiny lobsters *Palinurus elephas* and *P. mauritanicus* (Crustacea: Decapoda) by mitochondrial sequence analysis[J]. *Hydrobiologia*,

2006, 557: 1-4.

[8] 郭天慧, 孔晓瑜, 陈四清. 三疣梭子蟹线粒体 DNA 16S rRNA 和 COI 基因片段序列的比较研究[J]. *中国海洋大学学报*, 2004, 34(1): 22-28.

[9] 陈丽梅, 孔晓瑜, 喻子牛, 等. 3 种蛭类线粒体 16S rRNA 和 COI 基因片段的序列比较及其系统学初步研究[J]. *海洋科学*, 2005, 29(8): 27-32.

[10] 苏天凤, 黄建华, 吴进锋, 等. 两种东风螺线粒体基因序列多态性研究[J]. *中国水产科学*, 2007, 14(3): 369-376.

[11] 张凤英, 马凌波, 施兆鸿等, 2008. 3 种鲷属鱼类线粒体 COI 基因序列变异及系统进化[J]. *中国水产科学*, 15(3): 392-399.

[12] 杨学明, 郭亚芬, 蒋钦杨, 等. 三个群体罗氏沼虾线粒体 COI 基因的遗传多样性分析[J]. *上海海洋大学学报*, 2006. 15(2): 144-149.

[13] 林琪, 李少菁, 黎中宝, 等. 中国东南沿海青蟹属不同种类的 mtDNA COI 基因序列分析及其系统发育[J]. *厦门大学学报(自然科学版)*, 2008. 47(2): 268-273.

[14] 程汉良, 夏德全, 吴婷婷, 等. 6 种帘蛤科贝类及 4 种地理种群文蛤线粒体 COI 基因片段序列分析[J]. *海洋学报*, 2007. 29(5): 109-116.

[15] 曾晓起, 张文峰, 高天翔. 基于线粒体 16S rRNA 和 COI 基因序列的刻肋海胆属系统发育研究[J]. *中国海洋大学学报*, 2012, 42(6): 47-51.

[16] 牛东红, 李家乐, 汪桂玲, 等. 缢蛭六群体 16S rRNA 基因片段序列的差异分析[J]. *上海水产大学学报*, 2007(01): 1-6.

[17] 刘亚军, 喻子牛, 姜艳艳, 等. 栉孔扇贝 16SrRNA 基因片段序列的多态性研究[J]. *海洋与湖沼*, 2002, 33(5): 477-483.

[18] 周发林, 江世贵, 姜永杰, 等. 中国南海野生斑节对虾 5 个地理群体线粒体 16S rRNA 基因序列比较分析[J]. *水产学报*, 2009(02): 208-214.

[19] 孙宝超, 杨建敏, 孙国华, 等. 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[J]. *海洋与湖沼*, 2010, 2(41): 259-265.

[20] 杨建敏, 李琪, 郑小东, 等. 中国沿海脉红螺 (*Rapana venosa*) 自然群体线粒体 DNA 16S rRNA 遗传特性研究[J]. *海洋与湖沼*, 2008(03): 257-262.

[21] 孟学平, 高如承, 申欣, 等. 西施舌 5 个地理群体 ITS1 序列变异及系统发生分析[J]. *生态学报*, 2010, 30(20): 5556-5561.

The genetic diversity of three populations of *Potamocorbula amurensis* based on mitochondrial COI and 16S rRNA gene

SUN Chao^{1, 2}, LIU Zhi-hong¹, YANG Ai-guo¹, ZHOU Li-qing¹, WU Biao¹,
YAN Jia-kun^{1, 2}, HOU Ya^{1, 2}, DONG Chun-guang^{1, 2}

(1. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China; 2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Received: Jan., 11, 2014

Key words: *Potamocorbula amurensis*; 16S rRNA; COI; Genetic diversity

Abstract: Mitochondrial COI and 16S rRNA gene fragments of three wild populations *Potamocorbula amurensis* were amplified with universal primers; the PCR products were sequenced, and 658 bp and 450 bp nucleotide sequences were obtained. The T, C, A, G and A+T contents in the fragment (COI/16S rRNA) were 45.4%/32.0%, 13.5%/13.3%, 20.7%/29.3%, 20.4%/25.3%, and 66.1%/61.3%, respectively. The AT content was higher than the GC content. The phenomenon was similar to the results of other mollusca. 24 haplotypes and 43 polymorphisms were defined among COI from three populations. Nine (9) haplotypes and 19 polymorphisms were defined among 16S rRNA from three populations. The fixation indices (F_{st}) analyzed by AMOVA were totaled to $F_{st}=0.0090$ ($P<0.001$) and $F_{st}=0.0674$ ($P<0.001$), showing that the genetic fixation intra-populations was larger than inter-populations. It indicated that significant genetic fixation existed among the three populations. The Neighbor-joining (NJ) phylogenetic trees were made from the three populations of *P. amurensis*, showing that the three populations might have originated from one clade, while a small number of individuals may be mixed in other clades.

(本文编辑: 梁德海)