

基于线粒体 COI 基因的毛蚶群体遗传多样性

田吉腾¹, 侯 丫^{1,2}, 刘志鸿¹, 杨爱国¹, 吴 彪¹, 周丽青¹, 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 PCR 技术, 扩增了大连、乳山、烟台、舟山 4 个毛蚶(*Scapharca subcrenata*)地理群体共 38 个个体的线粒体 COI 基因部分序列, 并分析了 4 个毛蚶群体的遗传多样性和系统发育关系。研究结果显示: 38 个毛蚶 COI 部分序列经处理得到长度均为 625bp 的基因片段, 共分为 30 种单倍型; 基于 COI 部分序列的分析结果, 毛蚶 4 个地理群体总的变异位点为 301 个, 多样性指数 P_i 为 0.15048, 平均核苷酸差异数为 92.242, 单倍型多样性指数 S 为 241。聚类分析显示毛蚶大连群体、乳山群体和烟台群体具有高度的遗传多样性, 3 个群体交叉聚在一起, 没有明显的群体分化; 舟山群体单独聚为一支, 与其他 3 个群体分化明显。研究表明, 线粒体 COI 基因不能单独做为毛蚶大连、乳山和烟台群体的遗传标记, 但可以作为毛蚶舟山群体的有效群体遗传标记, 为线粒体 COI 基因在群体遗传学的应用提供了基础资料。

关键词: 毛蚶(*Scapharca subcrenata*); COI 基因; 群体; 遗传多样性

中图分类号: S917.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2016)01-0001-09
doi: 10.11759/hyxx20140429002

毛蚶(*Scapharca subcrenata*), 俗称瓦楞子或毛蛤, 属软体动物门(Mollusca), 双壳纲(Bivalvia), 翼形亚纲(Pteriomorpha), 蚶目(Arcoida), 蚶科(Arcidae), 毛蚶属(*Scapharca*), 广泛分布于中国、朝鲜和日本沿海^[1], 在中国的渤海、黄海、东海、南海均有大量分布, 是中国北方重要经济贝类之一。毛蚶普遍生活在低潮线以下, 至水深几十米的海域, 喜欢栖息于软泥质底或泥沙质底^[2-3]。20 世纪 60~70 年代, 毛蚶资源丰富, 曾为主要的捕捞对象之一。但由于捕捞强度过大, 毛蚶资源遭到了严重的破坏, 资源衰退。近年来, 毛蚶的增养殖工作以及各方面的研究已经引起人们的重视^[4]。迄今人们对于毛蚶的研究, 主要集中在亲贝的促熟、苗种的培育和养成技术, 以及生理生化、生态习性、饵料需求等方面^[4-7], 分子遗传多样性方面未见报道。

群体遗传多样性水平与生物的生长速度、抗病能力和物种的进化速度有重要的关系。近年来, 线粒体基因组的研究在一定程度上促进了群体遗传学的发展, 并且实现了从分子水平上对自然群体的保护^[8]。线粒体中的 COI 基因, 即线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基, 作为一种分子标记, 具有多种优势: (1)COI 基因在物种进化中属于中度变异, 其进化速率一般大于 ITS-1 的进化速率, 能够从 DNA 分子水平上成功的

区分物种。(2)COI 基因的引物通用性比较强, 可操作性强。(3)COI 基因密码子的第 3 个位点存在更多的碱基置换, 并且长度约为 650bp, 能够表现出足够物种的的差异和变化, 同时也刚好适宜进行扩增和后期检测。

在海洋贝类中, 线粒体 COI 基因也广泛用于分析群体的遗传多样性, 如对文蛤^[9], 光滑圆蓝蛤^[10], 泥蚶^[11], 缢蛏^[12]等研究表明, COI 基因可以用于分析物种的群体内和群体间的遗传距离, 分析个体差异, 从而推断群体的遗传分化水平及基因交流的可能性。本实验通过测定毛蚶群体的线粒体的 COI 基因部分序列, 进行遗传分析, 构建系统进化树, 旨在分析毛蚶遗传多样性水平和不同地理群体的系统进化关系, 并推测线粒体 COI 基因能否作为区分毛蚶不同群体的有效分子标记, 同时为毛蚶的资源保护及

收稿日期: 2015-05-09; 修回日期: 2015-09-10

基金项目: 国家科技部基础工作专项 (2013FY110700); 黄海水产研究所级基本科研业务费资助(20603022013032)

[Foundation : National Basic Research Special Foundation of China (2013FY110700); Special Scientific Research Funds for Central Non-profit Institutes, Yellow Sea Fisheries Research Institutes (20603022013032)]

作者简介: 田吉腾(1986-), 男, 助理研究员, 主要从事海洋生物种质资源与遗传育种的研究, E-mail: 0708jixiang@163.com; 刘志鸿(1972-), 通信作者, 女, 研究员, E-mail: liuzh@ysfri.ac.cn, 电话: 0532-85836340

群体遗传学研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究所用的 4 个毛蚶地理群体样品分别取自辽宁大连旅顺(2013 年 6 月 1 日), 山东乳山白沙滩(2013 年 4 月 2 日), 山东烟台芝罘岛(2013 年 4 月 1 日), 浙江舟山普陀(2013 年 4 月 18 日)近海, 样品是活体加冰运输, 迅速解剖, 取出闭壳肌部分, 置于 -80°C 超低温冰箱保存。

1.2 基因组 DNA 提取和 PCR 扩增

每个群体随机选取 9~10 个样品, 采用常规的酚氯仿法提取基因组 DNA^[13], 最终得到的 DNA 模板稀释至 $100\text{ng}/\mu\text{L}$ 。使用 COI 通用引物(F: GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G; R: TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA^[14])进行毛蚶 4 个群体 COI 基因片段的扩增。PCR 采用 Easy Taq DNA 聚合酶进行扩增, PCR 反应在 Eppendorf PCR 仪上进行。反应体系为 $30\mu\text{L}$, 包括 $3\mu\text{L}$ PCR 缓冲液(Mg^{2+} plus), $4\mu\text{L}$ 高纯度的脱氧核糖核苷三磷酸(2.5 mmol/L), $10\mu\text{mol/L}$ 的正反方向引物各 $2\mu\text{L}$, $1\mu\text{L}$ Taq 酶($5\text{ U}/\mu\text{L}$), $2\mu\text{L}$ DNA 模板($80\text{ ng}/\mu\text{L}$), $16\mu\text{L}$ 灭菌水。PCR 反应程序为: 94°C 预变性 5 min ; (94°C : 20 s , 52°C : 50 s , 72°C : 1 min ;) 30 个循环, 最后 72°C 延伸 10 min 。所得 PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后利用美国 UVP 凝胶成像系统进行观察拍照。

表 1 毛蚶不同群体 COI 基因部分序列的碱基组成

Tab. 1 Base compositions of COI gene partial sequences of four populations of *S. subcrenata*

碱基(%)	大连 DL	乳山 RS	烟台 YT	舟山 ZS	均值
A	28.83	27.52	27.69	22.43	26.62
G	19.74	20.16	19.55	21.27	20.18
T	33.69	35.12	34.71	40.25	35.94
C	17.73	17.20	18.05	16.05	17.26
A+T	62.53	62.64	62.40	62.68	62.56

2.2 遗传多样性分析

毛蚶群体 COI 基因片段遗传多样性指数(表 2), 大连、乳山和烟台群体序列之间差异不大, 多态位点分别占总数的 28.8%, 35.0%和 28.0%, 多样性丰富。乳山群体的平均核苷酸差异指数最高, 为 106.58。舟山群体 9 个个体的 COI 基因部分序列中仅有 2 个多态位点, 群体特征明显, 群体遗传分化很小, 平均核

1.3 测序和数据处理

将琼脂糖凝胶电泳检测结果中条带较单一的 PCR 扩增产物样品送于北京华大基因生物有限公司进行 PCR 产物纯化测序。所得的结果进行 NCBI BLAST 比对验证同源性, 保证测序结果的可靠性。利用 DnaSP 5 软件^[15]分析毛蚶群体单倍型数(Number of Haplotype, H)、平均核苷酸差异(Average number of nucleotide difference, K)及核苷酸多样性指数(Nucleotide diversity, P_i)等遗传多样性参数, 运用 MEGA 5.0 软件^[16]对序列的碱基组成(Nucleotide composition)、多态位点(Number of polymorphic sites, S)、变异位点(Variable sites)进行分析, 采用 NJ(Neighbor-joining)法构建毛蚶 4 个地理群体的系统发育树, Bootstrap 置信值设为 1000。

2 结果与分析

2.1 序列的碱基组成

测序后获得的 COI 基因片段长度不一, 经序列对准去除序列两端部分碱基后, 得到 38 条长度均为 625 bp 的 COI 基因片段。4 个群体毛蚶 COI 基因部分片段的碱基组成(表 1), A+T 含量普遍高于 G+C 含量, 这与 Medina 等的研究一致^[17]。大连、乳山、烟台 3 个群体 COI 序列碱基组成相差不大, 而舟山群体尽管在 A+T 含量上与其他 3 个群体相近, 但其碱基 A 的含量比其他 3 个群体低 19.9%, T 的含量高 16.7%。说明舟山群体在遗传系统分化上可能占有较为特殊的地位。

苷酸差异指数最低, 仅为 0.44。

由于大连群体中 DL1 和烟台群体中 YT7 单倍型是相同的, 因此本文研究的 38 个毛蚶个体中共存在 30 个单倍型, GenBank 序列号为 KP253046-KP253075, 对应的个体依次为 DL(2、3、4、6、7、8), RS(6、5、8、10), YT(5、8、9、10), ZS(2、1、5、6), YT(1、2、3、4), RS(3、4、1、2), DL(5、9), RS(9、7)。30 个

单倍型的核苷酸多态位点见表 3。

2.3 遗传距离

根据 4 种毛蚶群体 COI 基因部分序列计算的群体内和群体间的遗传距离如表 4 所示。乳山群体内

遗传距离最大, 为 0.21, 舟山群体内遗传距离最小, 为 0.0011。群体间遗传分析表明, 毛蚶舟山群体和大连群体间的遗传距离最大, 为 0.26, 烟台群体和大连群体之间遗传距离最小, 为 0.15。

表 2 毛蚶不同群体 COI 基因片段的遗传多样性指数

Tab. 2 The genetic diversity parameters of COI gene partial sequences in different populations of *S. subcrenata*

群体	样本数目	单倍型数 h	单倍型多样性 H_d	多态位点 S	平均核苷酸差异数 k	核苷酸多样性指数 P_i
DL	9	9	1.00	180	71.78	0.11
RS	10	10	1.00	219	106.58	0.17
YT	10	9	0.98	175	87.42	0.17
ZS	9	3	0.42	2	0.44	0.00071

2.4 分子系统进化树的构建

根据 4 种毛蚶群体 COI 基因部分序列建立的系统进化树(图 1)。可以看出, 舟山群体首先单独聚在一起, 乳山群体、烟台群体和大连群体则相互交叉聚合在一起, 没有明显的先聚在一起的情况。

3 讨论

3.1 毛蚶 4 个群体的遗传多样性

本实验中毛蚶群体的多态位点较多, 核苷酸多样性指数较高, 可能的原因分以下两种: (1)选取样品的时候要先调查其来源, 距离较近的物种可能受到外来物种的污染或人为因素的干扰, 如群体中的个体经过捕捞作业和商户之间的转手买卖可能群体之间的交叉所致。(2)烟台和乳山地理位置较近, 在遗传分化上不明显, 两群体和大连群体均与黄海相邻, 地理群体之间可能存在一定的基因交流。

李旭光等^[18]对毛蚶江苏海州湾群体、浙江象山港群体和辽宁辽东湾群体的同工酶遗传多样性进行了研究, 发现毛蚶群体具有较为丰富的遗传多样性, 这与本文的研究结果相一致。毛蚶大连、烟台和乳山群体均具有较高的遗传变异水平, 这说明毛蚶对环境的适应能力很强, 也是毛蚶能够在中国沿海地区广泛分布的原因之一^[19]。王晓梅等^[20]对毛蚶 3 个群体核糖体 ITS 区进行了 RFLP 分析, 发现遗传多样性最低的为宁波样本, 而宁波群体和舟山群体距离很近, 存在一定的基因流, 从而与本实验中舟山群体遗传多样性的研究结果一致。

王晓梅等^[20]发现毛蚶 ITS 区限制性片段长度多态性很低, ITS 区 564 bp 的序列中多态位点仅为

3.37%, 与本研究中高多态性的结果不一致, 原因是在线粒体基因组中, 不同基因的进化速率并不相同, 而 COI 基因的进化速率一般大于 ITS-1 的进化速率, 因此所得出的结论并不矛盾。

3.2 群体间的遗传进化关系

陈蓉^[1]等采用形态性状多变量分析方法, 对中国 5 个野生毛蚶群体进行了分析, 发现在形态学方面, 毛蚶天津塘沽和山东青岛群体最为接近, 广西北海群体与其他群体差异最大。形态最为一致说明具有较近的进化关系, 与本研究结果中山东青岛与辽宁大连群体遗传关系相近的结果基本一致。

王晓梅等^[20]构建的 NJ 系统发育树中显示毛蚶大连群体和塘沽群体没有明显的群体分化, 宁波群体单独聚为一支。李旭光等人^[18]的聚类分析中, 江苏海州湾群体首先与宁波象山港群体相聚, 后与辽东湾群体聚类。系统发育关系均表明环渤海湾的群体遗传距离较近, 和东海海岸附近的群体遗传关系较远。

3.3 COI 基因作为群体之间遗传进化关系标记的讨论

本研究分析表明, 线粒体 COI 基因的进化速度相对适中, 不仅对相近的物种进行识别鉴定, 也可以对具有地理隔离的群体进行分类鉴定。

4 结论

基于 COI 基因片段的研究结果表明, 中国北部的毛蚶群体如烟台、大连、乳山群体具有较高的遗传多样性, 群体内差异大, 群体间差异不大。而舟山群体遗传多样性较低, 群体内遗传差异很小, 与北方群体具有较大的遗传距离。

表 3 毛蚶 4 个地理群体 30 个单倍型的核苷酸多态位点

Tab. 3 Nucleotide polymorphism in four geographical populations of 30 haplotypes of *S. subcrenata*

H1	CGGGATTTGGTCAGCATTGA	TAGGGATTGTTAAGGTTTC	ATATTCGTGTTAATTAGCGC	AGCCGGCAGGTCTTTATGTAG	AAGTTAGTCAGCTGTATAATG
H2
H3
H4
H5
H6C.....
H7	-C.....
H8	-C.....
H9	-C.....
H10	-C.....
H11	--C.G.....
H12	--C.G.....
H13	--C.G.....
H14	--C.G.....
H15	-----G..TC.TG	.T..TG.G.....C	.C..C..C.C..CC.T..C	...C.GT...A....AGG	..A.GG...A..T.....
H16	-----G..TC.TG	.T..TG.G.....C	.C..C..C.C..CC.T..C	...C.GT...A....AGG	..A.GG...A..T.....
H17	-----G..TC.TG	.T..TG.G.....C	.C..C..C.C..CC.T..C	...C.GT...A....AGG	..A.GG...A..T.....
H18	-----G..TC.TG	.T..TG.G.....C	.C..C..C.C..CC.T..C	...C.GT...A....AGG	..A.GG...A..T.....
H19	--C.G.....G..TC.CG	.T..TG.G.....CC.C..CC.T..C	...C.GT...A....AGG	..A.AG...A..T.....
H20	--C.G.....G..TC.CG	.T..TG.G.....CC.C..CC.T..C	...C.GT...A....AGG	..A.AG...A..T.....
H21	--C.G.....G..TC.TG	.T..TG.G.....CC.C..CC.T..C	...C.GT...A....AGG	..A.AG...A..T.....
H22	--C.G.....G..TC.CG	.T..TG.G.....CC.C..CC.T..C	...C.GT...A....AGG	..A.AG...A..T.....
H23	-C..G.....G..TC.TG	.T..TG.G.....CC.C..CC.T..C	...C.GT...A....AGG	..A.AG...A..T.....
H24	-C..G.....G..TC.TG	.T..TG.G.....CT.C..CC.T..C	...C.GT...A....AGG	..A.AG...A..T.....
H25	-C.....T..T.....C..T.....GT...A....G..A..T.....
H26	-C..G.....G..TC.TG	.T..TG.G.....CC.C..CC.T..C	...C.GT...A....AGG	..A.AG...A..T.....
H27	.T..G.....G..TC.TG	.T..TG.G.....CC.C..CC.T..C	...C.GT...A....AGG	..A.AG...A..T.....
H28	.T..G.....G..TC.CG	.T..TG.G.....CC.C..CC.T..C	...C.GT...A....AGG	..A.AG...A..T.....
H29	-C..G.....GTG...C.TG	.T..TGAG..C....T...	.C..C..T.G..A..G.GT	.A..C.GG..GA....AGG	..A.AG...A..T....A
H30	-C..G...T.G.G...C.TG	.T..TG.G..G....T...	.C..C..T.G...G..T	.A..T.GG...A...T.AGG	..A.AG...A..T....A
	TGATTACTAGGCATGCAT	TTATTATGATTTTTTTTCG	TTATACCAGTAATAAGGGGGG	GGTTGGGTAATTGACTGATTC	CAATTATAGTTGGGGGGGGG
A.....
T.....
T.....T..A.....
T.....T..A.....
T.....T.....
T..A.....
T..A.....
A.....G.....

T.....T.....T..T.....
A.....A.....G.....

T.....T..A.....
	.A..G.....T.....C	...A..A.....TTT..C	.A..C..A..C...T.AG.G	.CT.AT.TA....A.CA...

续表

GAACTCTTTACCCCCCTTT	CGGGTTGGATCTATCAAAAAA	GTCCGGCGCTGGATATGGTTA	TTCTTTCTTGCATATTGCTG	GGTTGGCTCAATAATAAGGT
A.....T.....G.....G.....
A.....
A.....T.....	.T.....
A.....	.T.....	.C...C.....G.....
A.....G.....
A.....G.....A.....
A.....T.....C.....G.....G.....G.....A.....
.....C.....G.....
.....T.....	.T.....T.G..G.....
.....C.....T.....
.....C.T.....	.T.....T.....
.....A.....
...AT.G.T.A...A	.AA.C.A.T.T...T...	...T..TT.AA.....AGCC.T...C.A.	.A...G.G.....T.
...AT.G.T.A...A	.AA.C.A.T.T...T...	...T..TT.AA.....AGCC.T...C.A.	.A...G.G.....T.
...AT.G.T.A...A	.AA.C.A.T.T...T...	...T..TT.AA.....AGCC.T...C.A.	.A...G.G.....T.
...AT.G.T.A...A	.AA.C.A.T.T...T...	...T..TT.AA.....AGCC.T...C.A.	.A...G.G.....T.
...T.G.T.....A	.AA.C.A.T.T...T...	...T..TT.AA.....GGCC.T...C.A.	.A...G.....T.
...AT.G.....A	.AA.C.A.T.T...T...	...T..TT.AA.....GGCC.T...C.A.	.A...G.....T.
...T.G.....A	.AA.C.A.T.T...T...	...T..TT.AA.....GGCC.T...C.A.	.A...G.....T.
...T.G.T.....A	.AA.C.A.T.T...T...	...T..TT.AA.....GGCC.T...C.A.	.A...G.....T.
...AT.G.....A	.AA.C.A.T.T...T...	...T..TT.AA.....GGCC.T...C.A.	.A...G.....T.
...AT.G.T.A...A	.AA.C.A.T.T...T.G..	...T..TT.A.....GGCC.T...C.A.	.A...G.....T.
.....T.....	.AA...A.T.T...T.G..T.....GC.....A.	.A...G.....
...T.G.....	.AA.C.A.T.T...T...TT.AA.....GGCC.T...C.A.	.A...G.....T.
...AT.G.T.A...A	.AA.C.A.T.T...T.G..	...T..TT.A.....GGCC.T...C.A.	.A...G.....T.
...AT.G.T.A...A	.AA.C.A.T.T...T.G..	...T..TT.A.....GGCC.T...C.A.	.A...G.....T.
.G..GT.A.T.T...T.A	.AA.G.A.T.T...T.G..	...A..TT.A...A.A.C.T..C...A.	.A...G.....T.
.G..GT.A.T.T...T.A	.AA.G.A.T.T...T.G..	...A..TT.A...A.A.C.T..C...A.	.A...G.....T.
CITTAATTTTATGTGACTA	TAATTACAAGTCGTTTTATG	CTATAATCCAAAGCGAATAC	CTGTGTTTTGTTGGTCAATGT	TTGTTACATCTGGGTATTAT
.....T.....
.....	A.....T.....
.....	A.....T.....G.....T.....
.....	A.....T.....G.C.C.....T.....
.....G.....T.....
.....T.....T.....
.....T.....T.....
.....G.G...G.....T.....
...T.....	A.....G.....T.....
.....T.....T.....
.....T.....T.....
..C.....A.C.G.	...C...GC...G...T..	T.T...T..TG.....	...T.....A.G...	...A.G...T...G.G.
..C.....A.C.G.	...C...GC...G...T..	T.T...T..TG.....	...T.....A.G...	...A.G...T...G.G.

表 4 毛蚶 4 个群体内和群体间的遗传距离
 Tab. 4 The genetic distance within and between different populations of *S. subcrenata*

群体	舟山 ZS	烟台 YT	乳山 RS	大连 DL
舟山 ZS	0.0011			
烟台 YT	0.21	0.18		
乳山 RS	0.20	0.19	0.21	
大连 DL	0.26	0.15	0.18	0.14

注: 加粗的表示群体内的遗传距离, 其他为群体间的遗传距离。

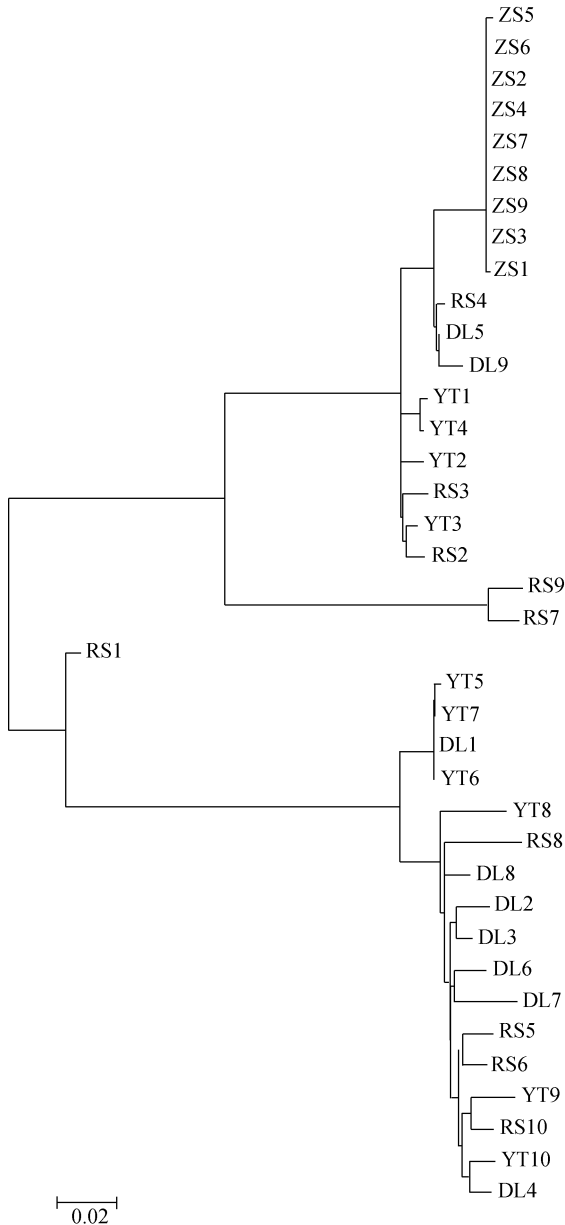


图 1 基于毛蚶 4 个群体 COI 部分序列建立的系统发育关系
 Fig. 1 Phylogenetic relationships among four groups of *S. subcrenata* based on COI gene partial sequences

参考文献:

[1] 陈蓉, 刘建勇, 唐连俊, 等. 中国 5 个海区不同群体

毛蚶形态差异分析[J]. 海洋科学, 2009, 33(7): 64-69.
 Chen Rong, Liu Jianyong, Tang Lianjun, et al. Morphological variations analysis of five different populations of *Scapharca subcrenata* in China [J]. Marine Sciences, 2009, 33(7): 64-69.
 [2] 齐钟彦. 中国经济软体动物[M]. 北京市: 中国农业出版社, 1998.
 Qi Zhongyan. Economic Mollusc of China [M]. Beijing: Chinese Agricultural Press, 1998.
 [3] 赵汝翼. 大连海产软体动物志[M]. 北京市: 海洋出版社, 1982.
 Zhao Ruyi. Zoography of Dalian Marine Mollusc [M]. Beijing: Ocean Press, 1982.
 [4] 陈建华, 阎斌伦, 高焕. 毛蚶生物学特性及其研究进展[J]. 河北渔业, 2006, 9(1): 24-26.
 Chen Jianhua, Yan Binlun, Gao Huan. Biological characteristics of ark shell *Scapharca subcrenata* and the research progress[J]. Hebei Fisheries, 2006, 9(1): 24-26.
 [5] 赵新生, 徐国成, 万东善. 毛蚶升温促熟人工育苗技术研究[J]. 中国水产, 2008, 3: 58-61.
 Zhao Xinsheng, Xu Guocheng, Wan Dongshan. Study on artificial seeding technique of *Scapharca subcrenata* by promoting temperature for sexual maturity [J]. China Fisheries, 2008, 3: 58-61.
 [6] 杨光, 杨玉香. 毛蚶幼体下沉原因分析及解决方法[J]. 河北渔业, 2012, 6: 32-48.
 Yang Guang, Yang Yuxiang. Analysis and solution of the *Scapharca subcrenata* larvae subsidence[J]. Hebei Fisheries, 2012, 6: 32-48.
 [7] 阎斌伦, 许星鸿, 郑家声, 等. 毛蚶的性腺发育和生殖周期[J]. 海洋湖沼通报, 2005, 4: 92-98.
 Yan Binlun, Xu Xinghong, Zheng Jiasheng, et al. Gonadal development and the reproductive cycle of ark shell *Scapharca subcrenata*[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2005, 4: 92-98.
 [8] Mao Yangli, Gao Tianxiang, Takashi Yanagimoto, et al. Molecular phylogeography of Ruditapes philippinarum in the Northwestern Pacific Ocean based on COI gene[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 2011, 407: 171-181.
 [9] 程汉良, 夏德全, 吴婷婷, 等. 6 种帘蛤科贝类及 4 个地理种群文蛤线粒体 COI 基因片段序列分析[J]. 海洋学报(中文版), 2007, 5: 109-116.
 Cheng Hanliang, Xia Dequan, Wu Tingting, et al. Sequence analysis of mitochondrial COI gene fragment of six Veneridae clams (Mollusca: Bivalvia) and four populations of *Meretrix meretrix*[J]. Acta Oceanologica Sinica. 2007, 5: 109-116.
 [10] 孙超, 刘志鸿, 杨爱国, 等. 光滑河蓝蛤 3 个野生群体线粒体 COI 基因遗传多样性研究[J]. 湖南农业科学, 2013, 7: 4-7.
 Sun Chao, Liu Zhihong, Yang Aiguo, et al. Genetic diversity of mitochondrial COI gene in three wild populations of *Potamocorbula laevis*[J]. Hunan Agricultural Sciences. 2013, 7: 4-7.
 [11] 郑文娟, 朱世华, 沈锡权, 等. 基于线粒体 COI 基因序

- 列探讨泥蚶的遗传分化[J]. 动物学研究, 2009, 1: 17-23.
Zheng Wenjuan, Zhu Shihua, Shen Xiquan, et al. Genetic differentiation of *Tegillarca granosa* based on mitochondrial COI gene sequences[J]. Zoological Research, 2009, 1: 17-23.
- [12] 牛东红, 季家乐, 沈和定, 等. 缢蛏六群体线粒体 DNA-COI 基因序列变异及群体遗传结构分析[J]. 海洋学报(中文版), 2008, 3: 109-116.
Niu Donghong, Li Jiale, Shen Heding, et al. Sequence variability of mitochondrial DNA-COI gene fragment and population genetic structure of six *Sinonovacula constricta* populations[J]. Acta oceanologica sinica. 2008, 3: 109-116.
- [13] Green M R, Sambrook J. Molecular cloning: a laboratory manual[M]. Cold Spring Harbor Laboratory Press Cold Spring Harbor, New York, 2012.
- [14] Vrijenhoek R. 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.
- [15] Rozas J, Sánchez-DelBarrio J C, Messeguer X, et al. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods [J]. Bioinformatics, 2003, 19: 2496-2497.
- [16] Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary distance, and maximum parsimony methods[J]. Mol Biol Evol, 2011, 28: 2731-2739.
- [17] Medina M, Walsh P J. Molecular systematics of the order Anaspeidea based on mitochondrial DNA sequence (12S, 16S, and COI) [J]. Mol Phylogenet Evol, 2000, 15(1): 41-58.
- [18] 李旭光, 阎斌伦, 许广平, 等. 毛蚶三个地理群体生化遗传特征分析[J]. 海洋渔业, 2007, 3: 207-213.
Li Xuguang, Yan Binlun, Xu Guangping, et al. Analysis on biochemical genetic variation in three geographical populations of *Scapharca subcrenata*[J]. Marine Fisheries, 2007, 3: 207-213.
- [19] Buroker N E. Population genetics of the American oyster *Crassostrea* II along the Atlantic coast and the Gulf of Mexico[J]. Mar Biol, 1983, 75, 99-112.
- [20] 王晓梅, 郭永军, 戴伟, 等. 不同群体毛蚶 rDNA 转录间隔区 RFLP 及序列分析[J]. 四川动物, 2008, 5: 774-776.
Wang Xiaomei, Guo Yongjun, Dai Wei, et al. RFLP and Sequence Analysis of Ribosomal DNA Internal Transcribed Spacers of Different Geographical Populations of *Scapharca subcrenata*[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2008, 5: 774-776.

Genetic diversity of different populations of *Scapharca subcrenata* based on mitochondrial COI gene

TIAN Ji-teng¹, HOU Ya^{1, 2}, LIU Zhi-hong¹, YANG Ai-guo¹, WU Biao¹, ZHOU Li-qing¹, DONG Chun-guang^{1, 2}

(1. Key Laboratory of sustainable development of marine fisheries, Ministry of agriculture, the Yellow Sea Institute of fisheries, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China; 2. College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Received: May, 9, 2015

Key words: *Scapharca subcrenata*; COI gene; population; diversity

Abstract: General PCR technology was used for the amplification of mitochondrial COI gene partial sequences of four groups of *Scapharca subcrenata* (Dalian, Rushan, Yantai, and Zhoushan). A total of 38 sequences from different populations were determined and analyzed. The results are as follows: (a) After excluding both sides of the inaccurate sequences, 38 COI gene partial sequences of *S. subcrenata*, 625 bp each, were eventually identified, among which 30 haploid types were detected. (b) Based on partial COI gene sequence analysis of the four groups of *S. subcrenata*, the total variation loci, haploid type diversity index *S*, nucleotide diversity index *Pi*, and average nucleotide difference index were 301, 241, 0.15048, and 92.242, respectively. (c) Cluster analysis showed that ark shells from three groups, Rushan, Dalian, and Yantai, had a high degree of genetic diversity, and they clustered across, without the obvious characteristics of the groups. However, ark shells from the Zhoushan group gathered themselves together, apart from the other three groups obviously. The genetic diversity index of Zhoushan group was much lower than that of other groups. (d) Mitochondrial COI gene could not separate the ark shells from Rushan, Dalian, and Yantai but can be a marker for Zhoushan populations of *S. subcrenata*, which provides more basic data for the application of mitochondrial COI gene in population genetics.

(本文编辑: 梁德海)