

节织纹螺(*Nassarius hepaticus*)贝壳差异的 CO 基因分析*

蔡立哲 王 雯

(近海海洋环境科学国家重点实验室(厦门大学) 厦门大学海洋与环境学院 厦门 361005)

提要 选择在厦门港市场购买的节织纹螺(*Nassarius hepaticus*), 挑选五种典型贝壳形态, 每种形态各 5 个个体, 研究其 CO 基因序列及其分子系统发育。结果表明, 节织纹螺五种贝壳类型的齿舌形态基本一致, 但个体间齿列数和中央齿上缘小齿数有差异; CO 基因序列存在较大的变异, 678—679bp 的片段上有 31 个变异位点, 其中 20 个为密码子第三位碱基, 6 个为密码子第二位碱基, 5 个为密码子第一位碱基; 贝壳、齿舌变异与 DNA 变异不存在关系, 同类型和不同类型的个体在 DNA 序列上差异较小, 根据 Kimura 2-parameter 法计算 25 个个体的遗传距离在 0.001—0.010 之间, 平均值为 0.007。以 CO 基因序列计算的遗传距离和构建的系统发育树证实五种贝壳形态的 25 个个体同属于节织纹螺。

关键词 节织纹螺, 贝壳形态, CO 基因, 分子系统发育, 遗传距离

中图分类号 Q13; Q178.53

织纹螺是软体动物门(Mollusca)、腹足纲(Gastropoda)、前鳃亚纲(Prosobranchia)、狭舌目(Stenoglossa)、织纹螺科(Nassariidae)动物的统称, 俗称海丝螺、海狮螺、麦螺或白螺, 有些地方还称作割香螺、甲锥螺, 目前世界上记录的织纹螺科动物有 286 种(王雯等, 2007)。织纹螺肉质鲜嫩, 我国居民有食用它们的习惯, 但有些织纹螺体内含有毒素, 食用织纹螺中毒事件时有发生, 1985—2005 年, 我国共报道织纹螺中毒事件 50 起, 中毒人数 369 人, 其中 43 人死亡(张农等, 2007)。节织纹螺(*Nassarius hepaticus*)是东海和南海沙质或泥沙质海底的习见种, 在福建沿海常见(齐钟彦等, 1983; 王如才, 1988; 李荣冠等, 1993; 李荣冠, 2003; 蔡英亚等, 2006; 黄宗国, 2006, 2008)。

贝壳形态特征一直是螺类的重要分类依据。除了受遗传物质的控制外, 贝壳形态还受外界生物或非生物因素的影响, 如生物竞争、寄生虫、食物、底质和盐度等(Wilke *et al.*, 2001)。一方面, 一些种间个体由于贝壳形态和内脏解剖特征极为相似难以区分

(Bargues *et al.*, 1997); 另一方面, 一些种内个体的贝壳形态又存在很大的变异(Guiller *et al.*, 2001; Teshima *et al.*, 2003)。因此, 仅将贝壳形态特征作为分类依据, 在部分螺类的分类上具有争议(王雯等, 2007)。

基因序列的分析结果不依赖于生物的生理状态, 也不受环境因素的影响, 避免了表型可塑性造成的问题。特定的核苷酸序列是传统分类的重要补充, 也为鉴定形态上难以区分的种类提供了有力的工具(Stothard *et al.*, 2002)。本文观察了 5 种贝壳形态 25 个个体的节织纹螺, 测定了它们的 CO 基因序列, 并构建了它们的分子发育树, 分析它们的同源性和种属关系, 为织纹螺的分类以及为预防织纹螺中毒提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

购自厦门港市场和大排档上的节织纹螺(*Nassarius hepaticus*), 挑选出具有典型贝壳差异的 5 种形态类型, 分类为 Nh-1、Nh-2、Nh-3、Nh-4 和 Nh-5, 每种

* 福建省科技厅重点项目, 20041010 号。蔡立哲, 博士, 教授, E-mail: cailizhe@xmu.edu.cn

收稿日期: 2009-02-25, 收修改稿日期: 2009-04-15

形态 5 个个体, 一共 25 个个体, 分别编号为 Nh-1-1、Nh-1-2、Nh-1-3、.....、Nh-5-3、Nh-5-4 和 Nh-5-5, 冷冻待测。

1.2 DNA 的提取及目的片段的扩增

使用上海生工的柱式动物基因组 DNA 抽提试剂盒提取 DNA, 取织纹螺的肌肉组织 100mg, 经过研磨、匀浆、离心、洗涤、洗脱等步骤完成, 使用的试剂包括 Solution A、RNase A1、Solution B、Solution C 和 DB Buffer 等均为上海生工的产品。

PCR 的反应体系为: DNA 模板 0.5—2 μ l, Taq DNA 聚合酶 0.25 μ l(上海生工, 5U/ μ l), 10 \times PCR Buffer 2.5 μ l, Mg²⁺ 2.0 μ l, 引物各 0.5 μ l, dNTP 0.5 μ l, 以灭菌蒸馏水补至总体积为 25 μ l。扩增在 PCR 仪上进行, 反应条件为 95 4min, 95 30s, 48 50s, 72 90s, 39 个循环后 72 延伸 10min。所用的引物为:

Upper :5'-TTGATTTTTTGGTCATCCAGAAGT-3'

Lower : 5'-TTAAGTCCTAGAAAATGTTGRGGG A-3'

PCR 产物用 1%琼脂糖凝胶电泳及溴化乙锭染色检验大小。

1.3 目的基因克隆转化及测序

电泳后将特异扩增的 DNA 条带切下, 用柱式 DNA 胶回收试剂盒进行纯化(上海生工的产品)。纯化后的产物连接到载体 pMD18-T 上(上海生工), 转化大肠杆菌 JM109 感受态细胞, 用 Amp、X-gal 和 IPTG 的抗性平板筛选, 挑取白色菌落培养, 经质粒 PCR 和双酶切鉴定后, 送往大连宝生物公司(上海生工)进行测序。

1.4 序列的分析

用 DNAMAN 软件(5.1 版)对序列进行缺省参数的对位排列(alignment), 以 Kimura 2-parameter 法计

算遗传距离; 以邻接法(Neighbor-Joining, NJ)和最大简约法(Maximum parsimony, MP)构建系统树, 进行了 1000 次的自展(bootstrap)以估计所建进化树的真实性。在判断单系起源的显著性程度时, 作者采用 Shaffer 等(1997)的标准, 即自展值大于 90%时为极显著, 70%—89%时为较显著, 小于 70%时则认为不显著。

2 结果

2.1 贝壳差异

节织纹螺贝壳呈长卵圆形, 缝合线相当深, 各螺层呈阶梯状, 壳面刻有光滑而发达的纵肋, 在每一螺层缝合线的下方有一列念珠状突起, 壳表灰色, 在螺层的中部有一条灰白色色带。但根据它们贝壳内唇、外唇厚薄以及是否有齿可以分成 5 种贝壳类型: 类型 (Nh-1)外唇薄, 外侧无唇脊, 内侧无齿, 内唇不扩展; 类型 (Nh-2)外唇厚, 外侧无唇脊, 内侧无齿, 内唇扩展; 类型 (Nh-3)、外唇厚, 外侧有唇脊, 内侧有齿, 内唇扩展, 后沟明显有 2 尖齿; 类型 (Nh-4)外唇厚, 外侧有唇脊, 内侧有齿, 内唇扩展; 类型 (Nh-5)外唇厚, 外侧有唇脊, 内侧无齿, 内唇扩展(图 1)。

上述五种形态的节织纹螺各取 5 个齿舌观察。五种形态个体的齿舌形态基本一致(图 2), 齿舌呈带状, 每排舌齿的齿式为 0, 1, 1, 1, 0, 即无缘齿, 左右各 1 个侧齿, 1 个中央齿。齿列数 51—79 排, 侧齿尖角状, 中央齿发达, 弧形, 上缘小齿 9—14 枚, 从中间到两边呈逐渐变小的趋势。同一贝壳形态的个体的中央齿上缘小齿数也不尽相同。

2.2 DNA 序列变异和遗传距离

测序结果提交 GenBank, 获得收录号: FJ660643—FJ660667。25 个个体的 COI 基因片段均为 678—

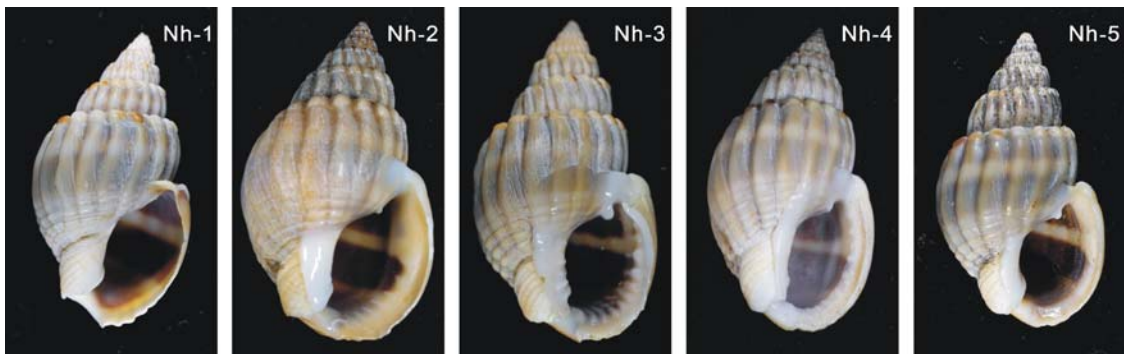


图 1 五种贝壳形态类型节织纹螺腹面观
Fig.1 Views of five shell shapes of *N. hepaticus*

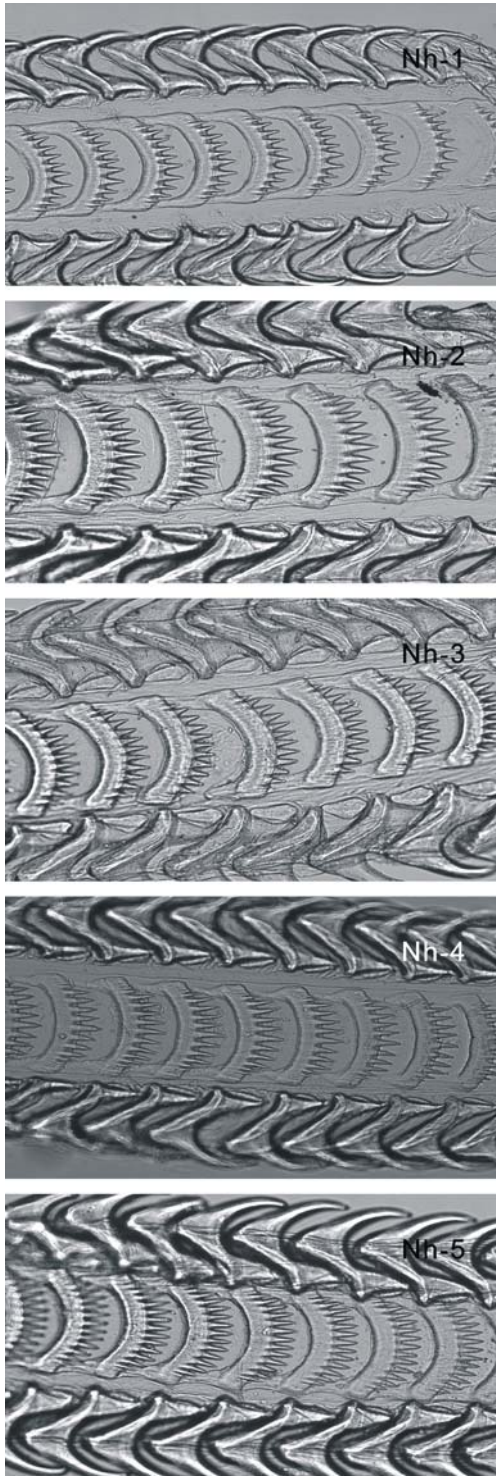


图2 五种贝壳形态类型节织纹螺的齿舌
Fig.2 The radula morphology of five shell shapes

679 bp, 同源性为 99.36%, 25 条序列有 31 个变异位点, 其中发生颠换的位点为 1 个, 转换的位点 26 个, 插入/缺失位点为 4 个(表 1)。CO₁ 的 31 个变异位点中 20 个为密码子第三位碱基, 6 个为密码子第二位碱基, 5

个为密码子第一位碱基。

根据 Kimura 2-parameter 法计算 25 个节织纹螺个体的遗传距离在 0.001—0.010 之间, 平均值为 0.007; 与其它织纹螺之间的种间遗传距离在 0.050—0.177 之间, 平均值为 0.126(表 2)。可见, 种内与种间的遗传距离相差很大。碱基组成: T 平均 25.4% (25.1%—25.8%); A 平均 39.76% (39.4%—40.4%); G 平均 16.8% (16.4%—17.0%); C 平均 18.68% (18.1%—18.6%)。4 种碱基含量相差较大, A+T 明显高于 G+C 含量。

2.3 节织纹螺 CO₁ 基因序列的系统学分析

通过邻位加入法(NJ)和最大简约法(MP)构建的系统拓扑结构是一致的, 文中仅给出 NJ 法构建的系统树(图 3), MP 法所构建系统发育树的 bootstrap 大于 50%支持率列于其中。节织纹螺五种贝壳形态类型的个体混合、分散在各个分支, 并没有相同形态的 5 个个体先聚合在一起, 再与其它形态的个体聚合在一起, 系统发育树所得的结果表明节织纹螺五种贝壳形态类型的个体同属一个种, 即节织纹螺。

在 GenBank 中找到织纹螺科 7 个物种的 CO₁ 片段序列, 加上本文测定的节织纹螺五种贝壳形态类型各取一个个体的 CO₁ 序列, 使用软件 DNAMAN 的邻位加入法建立了织纹螺科种类 CO₁ 片段的系统发育树。系统树中同种织纹螺均聚在一起, 具有很高的 bootstrap 支持率。节织纹螺 Nh-2-1 和 Nh-5-1 先聚在一起, 然后分别与 Nh-1-1、Nh-4-1、Nh-3-1 聚在一起(图 4)。从系统树上可以看出, 节织纹螺与西格织纹螺(*Nassarius siquijorensis*)亲缘关系较近, 其次是 *Nassarius kraussianus*。

3 讨论

3.1 贝壳形态差异的生态学原因

螺类贝壳形态在种内的差异往往是表型可塑性引起的。贝壳的轻重、厚薄和硬度会受到水温和捕食者的影响, 水温较高和捕食者较多的地方贝壳会相对较重、较厚、较坚硬(Trussell, 2000; Brookes *et al.*, 2007)。因此, 不同纬度上生活的同一种类在形态上可能会出现差异。一些螺类感染吸虫后会比正常个体大很多, 螺类壳体的颜色会随着生长不断加深(Wilke *et al.*, 2001)。织纹螺的贝壳是在其生长过程中不断分泌而增厚的, 因而是动态的, 随着贝龄的增加, 可能导致外唇增厚或内唇扩展; 此外, 由于织纹螺有角质的厣, 厣的边缘也是锯齿状的, 足部的伸缩经常带来肌

表1 节织纹螺 CO I 基因核苷酸变异位点

Tab.1 Nucleotide variation position of CO I gene sequences in the five shell shapes

个体编号	1111222223333334455555556666 2250117045692557794811578890357 0304036689362365910219981730637	个体编号	1111222223333334455555556666 2250117045692557794811578890357 0304036689362365910219981730637
Nh-1-1	TACTTTAGTCAAACCTGAACGGAGATT.GTTC	Nh-3-4	TACTTTAGT.AAACTGAACGG.GATT.GCTC
Nh-1-2	TACTTTAGT.AAA TCGAATGG.GA TT.GTTC	Nh-3-5	TACTTTAGC.GAACTGAACGG.GATT.GTTC
Nh-1-3	TACTTTGGT.AAACTGAGCGG.GA TTGGTTT	Nh-4-1	TACTTTAGT.AAACC GAACGG.GATT.ACTC
Nh-1-4	TACTTTAGT.AAACTGAACGG.GA TT.GTTC	Nh-4-2	TACTTTAGT.AAACTGAACGG.GATT.GTTC
Nh-1-5	TACTTTAGT.AAACTGAACGG.GA CT.GTTC	Nh-4-3	TACTTTAGT.AAACTGAACGG.GATT.GTTC
Nh-2-1	TACTTTAGT.AAACTGAACGG.GA TT.GCTC	Nh-4-4	TACTTTAGT.AAACTGAACGGA.ACT.GTTC
Nh-2-2	CACCTTAGT.CAAACTGAACGAAGATT.GTTC	Nh-4-5	TACTTTAGT.AAACTGAACGG.GATT.GTTC
Nh-2-3	TACTTTAGT.AAACTGGACGG.GA TT.GTTC	Nh-5-1	TACTCTAGT.AAACTGAACGG.GATT.GTTC
Nh-2-4	TACTTTAGT.AAACTGAATGG.GA TT.GTTC	Nh-5-2	TACTTTAGT.AGACTGAACAG.GATT.GTTC
Nh-2-5	TACTTCAGT.AAACTGAACGG.GC TT.GTTC	Nh-5-3	CACCTTAGT.AAACTAAACGG.GATT.GTTC
Nh-3-1	TACTTTAAT.AAGCTGAACGG.GA TC.GTTC	Nh-5-4	TACTTTAGT.AAACTGAACGG.GATT.GTCC
Nh-3-2	TACTTCAGT.AAACTGAACGG.GTT.GTTT	Nh-5-5	TACTTTAGT.AAACTGAACGG.GATT.GTTC
Nh-3-3	TGTTTTAGT.AAACTGAACGGA.ATT.GTTC		

注：变异位点序号由 DAMBE 软件进行多序列对位分析时所产生。测序从第二密码子开始

表2 节织纹螺与其它织纹螺之间 CO I 基因序列的遗传距离

Tab.2 The heredity distance among CO I sequences of *N. hepaticus* and other nassariids

个体编号	Nh-1	Nh-2	Nh-3	Nh-4	Nh-5	Zs	Nk	Nr	Nn	Nb
Nh-1-1 (FJ660643)	0									
Nh-2-1 (FJ660648)	0.001	0								
Nh-3-1 (FJ660653)	0.004	0.006	0							
Nh-4-1 (FJ660658)	0.004	0.003	0.009	0						
Nh-5-1 (FJ660663)	0.001	0.003	0.006	0.006	0					
Ns (EU124789)	0.052	0.053	0.050	0.053	0.053	0				
Nk (EF636006)	0.093	0.094	0.095	0.090	0.095	0.090	0			
Nr (EF571446)	0.144	0.145	0.140	0.147	0.142	0.149	0.170	0		
Nn (EF571481)	0.154	0.155	0.155	0.157	0.157	0.159	0.175	0.109	0	
Nb (AY296837)	0.133	0.134	0.138	0.134	0.135	0.136	0.148	0.177	0.177	0

注：Ns = *Nassarius siquijorensis* or *Zeuxis siquijorensis*; Nk = *Nassarius kraussianus*; Nr = *Nassarius reticulatus*; Nn = *Nassarius nitidus*; Nb = *Nassarius burchardi*

肉、厣与壳口内外唇的摩擦，对壳口的形态也有一定的影响。种内形态上的差异会造成对物种多样性的错误估计，即有可能把一个种误认为好几个不同的种。某些形态特征虽然有助于种类鉴定，但作为种内或种间的判定依据其作用是有限的。通过贝壳形态特征难以确定种的界限也许正是织纹螺分类混乱的原因所在。此外，雌雄异形(sexual dimorphism)也有可能是造成螺类种内贝壳不一样的原因(Samadi *et al.*, 2000)。节织纹螺五种贝壳形态类型是否属于雌雄差异尚需通过解剖学证据来证实。在陆地腹足类中，有许多适应性分化的例子，它们大多是发生在岛屿或

新的、闲置的栖息地(Chiba, 1999, 2004; Goodacre *et al.*, 2000; Goodacre, 2002; Holland *et al.*, 2004; Rundell *et al.*, 2004; Davision *et al.*, 2006)。例如，夏威夷 Succineidae 科的种类按生境分化成多种分支，从山区的雨林到干燥的海岸沙丘，贝壳形态反映了生态条件(Davision *et al.*, 2006)。海洋螺类的浮游幼体可以随海流扩散到较远的距离，能够促进彼此的基因交流(Palumbi, 1994)。

3.2 序列变异与系统学分析

节织纹螺种内 CO I 基因序列变异不大，且都属于同义替代，在氨基酸水平上无变异。在其它螺类中

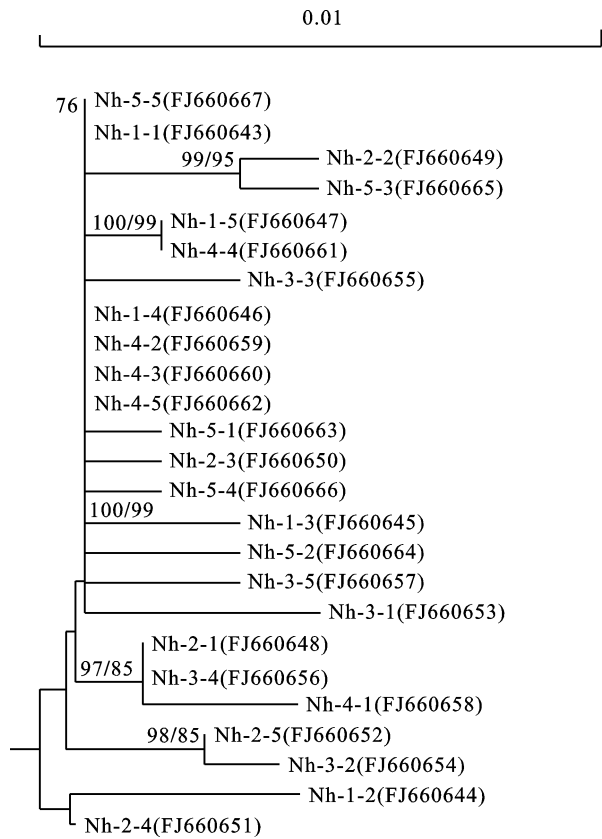


图3 用邻位加入法构建的五种贝壳形态 25 个个体的 CO 系统发育树

Fig.3 The CO phylogenetic tree for 25 individuals of five shell shapes reconstructed by neighbor-joining method

存在较大的 CO 基因序列变异, 如 Ponder 等(2003)对几种陆生螺类研究表明, 其种内的平均遗传距离(Kimura 2-parameter 法)在 0.0028—0.0630 之间, 种间遗传距离则普遍大于 0.1000。西格织纹螺(*Nassarius siquijorensis*)5 个个体间的遗传距离在 0.003—0.052 之间, 平均值 0.034, 而种间遗传距离普遍在 0.100 以上(李海涛等, 2008)。这与本文得到的结果一致, 且节织纹螺个体间的遗传距离及其平均值比西格织纹螺更低。

在 *Arianta arbustorum* 种内, CO 基因序列差异最高可达 13.27%, 甚至在氨基酸水平上都有 3.18% 的差异(Haase *et al*, 2003)。CO 基因序列在种内的显著变异, 可能与线粒体进化速率快和自然选择等因素有关(Thomaz *et al*, 1996)。王莹(2006)¹⁾测定了宝贝科 11 种软体动物的 mtDNA CO 基因序列, 结合得自 GenBank 上的 18 种宝贝科软体动物的同源序列, 用

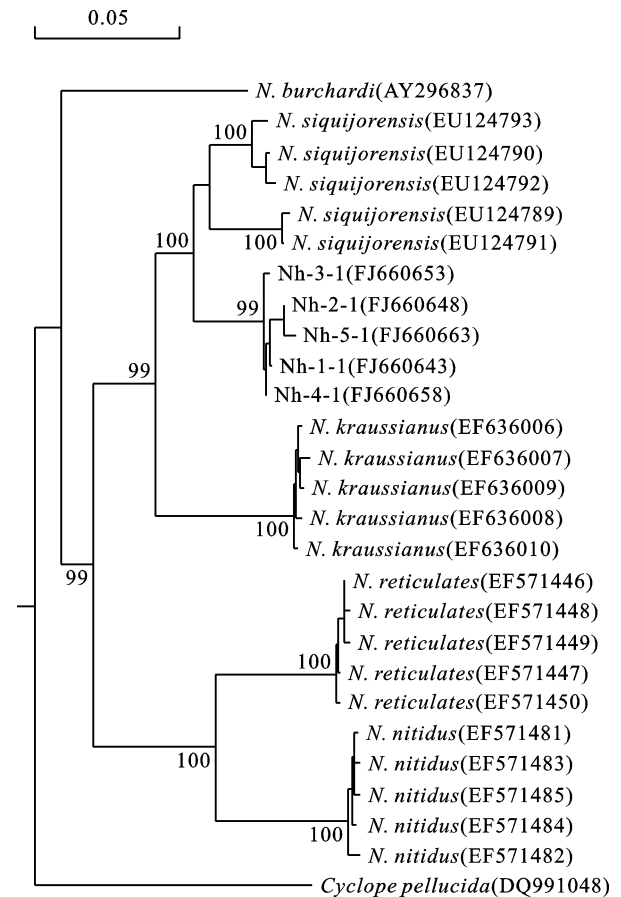


图4 用邻位加入法构建的织纹螺科种类的 CO 系统发育树

Fig.4 The CO phylogenetic tree of Nassariidae species reconstructed by neighbor-joining method

邻接法(Neighbor-joining method, 简称 NJ 法)、最大似然法(maximum likelihood method, 简称 ML 法)以及贝叶斯法构建了分子系统树, 结果表明宝贝科 28 种动物的分子系统树大部分与形态学分类一致。Vidigal 等(2000)将分布于巴西的双脐螺属(*Biomphaleria*)的 10 个种的 ITS2 序列分别用最大简约法(maximum parsimony)和最大似然法构建分子系统树, 其结果同形态学特征得到的结论相一致。Schilthuizen 等(1995)分析了烟管螺科 5 个种的 ITS1 序列差异和二级结构, 指出以壳形和条纹以及分布地为分类指标的分类系统更加接近自然真实。Mejía 等(2007)根据 26 个已知种和 2 个未定种的线粒体 16S rDNA、部分 ITS 区和核糖体大亚基(5.8S + ITS-2 + 28S)序列, 运用简约法和贝叶斯法分析了 *Humboldtiana* 属各种的系统发

1) 王莹, 2006. 腹足纲及其宝贝科各主要类群的分子系统学研究. 安徽师范大学硕士学位论文

生关系,发现两种分析方法均有 4 个主要分化枝,但没有 1 个分化枝支持形态分类系统,认为 *Humboldtiana* 属这种特殊的现象可以被解释为形态辐射分化(morphostatic radiation)。杨建敏(2004)¹⁾对脉红螺(*Rapana venosa*)7 个自然居群的线粒体 DNA CO₁ 基因片段进行了扩增和测序,发现 7 个自然群体间碱基片段序列差异不显著。在作者的研究结果中,相同形态的 5 个个体没有先聚合在一起,再与其它形态的个体聚合在一起,这表明在 CO₁ 基因片段水平上无法将它们区分开,所得的遗传距离也显示出它们是同一种。

总而言之,五种贝壳形态类型的个体虽然在贝壳和齿舌形态上存在差异,但贝壳形态与 CO₁ 基因序列间不存在关系。以 25 个个体 CO₁ 基因序列计算的遗传距离和构建系统发育树证实五种贝壳形态类型的个体同属于节织纹螺。本文的结果与西格织纹螺两种贝壳形态个体的 CO₁ 基因序列分析结果相一致(李海涛等, 2008)。节织纹螺贝壳形态上的差异可能是由外界环境因素引起的,而不是遗传的结果。25 个个体虽然购自厦门同一市场,但它们在被捕捞时可能分布在各种不同地理位置。

致谢 国家海洋局第三海洋研究所林荣澄研究员为作者提供分子实验场所和相关仪器,福建省科技厅资助项目(福建省水产研究所张农副研究员主持的项目)对本研究给予了大力支持,谨致谢忱。

参 考 文 献

王 雯, 蔡立哲, 刘炜明, 2007. 福建沿海织纹螺形态分类研究. 厦门大学学报(自然科学版), 46(1): 171—175
 王如才主编, 1988. 中国水生贝类原色图鉴. 杭州: 浙江科学技术出版社, 96—100
 齐钟彦, 马绣同, 楼子康等, 1983. 中国动物图谱——软体动物. 第二册. 北京: 科学出版社, 65—84
 李荣冠, 江锦祥, 1993. 东山湾潮下带前鳃类软体动物的生态. 台湾海峡, 12(2): 171—179
 李荣冠, 2003. 中国海陆及临近海域大型底栖生物. 海洋出版社, 附录 I: 20—21
 李海涛, 张敬怀, 董燕红等, 2008. 两形态类型织纹螺(*Nassarius*)的鉴定. 海洋与湖沼, 39(4): 388—394
 张 农, 刘海新, 苏 捷等, 2007. 织纹螺及其毒性. 中国水产, (3): 72—73
 黄宗国主编, 2006. 厦门湾物种多样性. 北京: 海洋出版社, 190—191

黄宗国, 2008. 中国海洋生物种类与分布. 北京: 海洋出版社, 486—487
 蔡英亚, 谢绍河, 2006. 广东的海贝. 汕头: 汕头大学出版社, 148—151
 Bargues M D, Mas-Coma S, 1997. Phylogenetic analysis of Lymnaeid snails based on 18S rDNA sequences. Mol Biol Evol, 14(5): 569—577
 Brookes J I, Rochette R, 2007. Mechanism of a plastic phenotypic response: predator-induced shell thickening in the intertidal gastropod *Littorina obtusata*. Journal of Evolutionary Biology, 20(3): 1015—1027
 Chiba S, 1999. Accelerated evolution of land snails *Mandarina* in the oceanic Bonin islands: evidence from mitochondrial sequences. Evolution, 53: 460—471
 Chiba S, 2004. Ecological and morphological patterns in communities of land snails of the genus *Mandarina* from the Bonin islands. J Evol Biol, 17: 131—143
 Davison A S, Chiba S, 2006. Labile ecotypes accompany rapid cladogenesis in adaptive radiation of *Mandarina* (Bradybaenidae) land snails. Biol J Linn Soc, 88: 269—282
 Goodacre S L, Wade C M, 2000. Molecular evolutionary relationships between partulid land snails of the Pacific. Proc R Soc Lond B, 268: 1—7
 Goodacre S L, 2002. Population structure, history and gene flow in a group of closely related land snails: genetic variation in *Portula* from the Society Islands of the Pacific. Mol Ecol, 11: 55—68
 Guiller A, Coutellec-Verro M A, Madec L *et al*, 2001. Evolutionary history of the land snail *Helix aspersa* in the Western Mediterranean: preliminary results inferred from mitochondrial DNA sequences. Molecular Ecology, 10: 81—87
 Haase M, Misof B, Baminger T *et al*, 2003. Mitochondrial differentiation in a polymorphic land snail: evidence for Pleistocene survival within the boundaries of permafrost. J Evol Biol, 16: 415—428
 Holland B S, Hadfield M G, 2004. Origin and diversification of the endemic Hawaiian tree snails (Achatinellidae: Achatinellinae) based on molecular evidence. Molecular Phylogenetics and Evolution, 32: 588—600
 Mejía O, Zúñiga G, 2007. Phylogeny of the three brown banded land snail genus *Humboldtiana* (Pulmonata: Humboldtianidae). Molecular Phylogenetics and Evolution, 45: 587—595
 Palumbi S R, 1994. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. Annu Rev Evol Syst, 25: 547—572
 Ponder W F, Colgan D J, Gleeson D M *et al*, 2003. Relationship of *Placostylus* from Lord Howe Island: an investigation using the mitochondrial cytochrome c oxidase I gene. Molluscan Research, 23: 159—178
 Rundell R J, Holland B S, Cowie R H, 2004. Molecular phylog-

1) 杨建敏, 2004. 中国沿海脉红螺遗传多样性研究. 中国海洋大学博士学位论文

- eny and biogeography of the endemic Hawaiian Succineidae (Gastropoda: Pulmonata). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31: 246—255
- Samadi S, David P, Jarne P, 2000. Variation of shell shape in the clonal snail *Melanoides tuberculata* and its consequences for the interpretation of fossil series. *Evolution*, 54(2): 492 — 502
- Schilthuizen M, Gittenberger E, Gultyaev A P, 1995. Phylogenetic relationships inferred from the sequence and secondary structure of ITS1 rRNA in *Albinaria* and putative *Isabellaria* species (Gastropoda, Pulmonata, Clausiliidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 4(4): 457—462
- Shaffer H B, Meylan P, McKnight M L, 1997. Tests of turtle phylogeny: molecular, morphological, and paleontological approaches. *Syst Biol*, 46: 235—268
- Stothard J R, Llewellyn-Hughes J, Griffin C E *et al*, 2002. Identification of snails within the *Bulinus africanus* group from East Africa by multiplex SnaPshot™ analysis of single nucleotide polymorphisms within the cytochrome oxidase subunit I. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 97 (Suppl.): 31—36
- Teshima H, Davison A, Kuwahara Y *et al*, 2003. The evolution of extreme shell shape variation in the land snail *Ainohelix editha*: a phylogeny and hybrid zone analysis. *Molecular Ecology*, 12: 1869—1878
- Thomaz D, Guiller A, Clarke B, 1996. Extreme divergence of mitochondrial DNA within species of pulmonate land snails. *Proc R Soc Lond B*, 263: 363—368
- Trussell G C, 2000. Phenotypic clines, plasticity and morphological trade-offs in an intertidal snail. *Evolution*, 54(1): 151—166
- Vidigal T H, Kissinger J C, Caldeira R L *et al*, 2000. Phylogenetic relationships among Brazilian *Biomphalaria* species (Mollusca: Planorbidae) based upon analysis of ribosomal ITS2 sequences. *Parasitology*, 121(6): 611—620
- Wilke T, Falniowski A, 2001. The genus *Adriohydrobia* (Hydrobiidae: Gastropoda): polytypic species or polymorphic populations? *J Zool Syst Evol Reserch*, 39: 227—234

THE CO₁ GENE OF DIFFERENT SHELL SHAPES OF *NASSARIUS HEPATICUS*

CAI Li-Zhe, WANG Wen

(State Key Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, College of Oceanography and Environmental Science of Xiamen University, Xiamen, 361005)

Abstract The CO₁ gene sequences and phylogeny of five groups of shell morphs of *Nassarius hepaticus* from 25 samples taken from Xiamen market were studied. The radula morphologies of the five groups of shell morphs were similar but rows of teeth and cusps on the central tooth varied between individuals. The fragment of CO₁ gene was 678—679bp in length, in which 31 sites were variable, and 20 sites, 6 sites and 5 sites occurred in the third, second and first codon position, respectively. The relationship between shell morphology and CO₁ gene sequences was not strong. For individuals of all shell morphs, DNA sequences were similar. The heredity distance ranged from 0.001 to 0.010, with an average of 0.007. The heredity distance and CO₁ phylogenetic tree indicated that all the morphological samples are the same species, namely *Nassarius hepaticus*.

Key words *Nassarius hepaticus*, Shell shape, CO₁ gene, Phylogenetics, Heredity distance