

洪泽湖野生河蚬(*Corbicula fluminea*)线粒体 CO I 基因序列的遗传多样性分析*

李大命 张彤晴^① 唐晟凯 钟立强 刘小维

(江苏省淡水水产研究所 江苏省内陆水体渔业资源与环境重点实验室 南京 210017)

摘要 利用线粒体细胞色素氧化酶亚基 I (CO I) 分子标记对洪泽湖河蚬(*Corbicula fluminea*)野生种群的遗传多样性水平进行分析。采集洪泽湖野生河蚬 50 个个体,对 CO I 基因序列片段进行 PCR 扩增和序列测定。结果显示,长度为 614 bp 的 CO I 基因片段中,碱基 A、T、G 和 C 的平均含量分别为 22.6%、42.4%、21.0%和 14.0%,A+T 的含量(65.0%)显著高于 G+C 的含量(35.0%)。CO I 基因序列中有 67 个核苷酸变异位点,总变异率为 10.9%,其中简约信息位点 63 个,单一信息位点 4 个。50 条 CO I 基因序列共定义了 15 个单倍型,单倍型多样性指数(h)和核苷酸多样性指数(π)分别为 0.870 和 0.045,平均碱基差异数(K)为 27.370,单倍型序列间的遗传距离为 0.002–0.095。采用邻接法(NJ)和最大简约法(MP)构建 CO I 单倍型系统进化树,15 个单倍型聚为两个明显分支,表明洪泽湖河蚬种群出现了遗传分化。中性检验结果和歧点分布图显示,洪泽湖河蚬种群大小保持相对稳定,未经历种群扩张。本研究结果表明,洪泽湖河蚬种群具有较高的遗传多样性水平,该结果可为合理开发、利用及保护洪泽湖河蚬野生种质资源提供科学参考。

关键词 河蚬; 细胞色素氧化酶亚基 I; 遗传多样性; 洪泽湖

中图分类号 S932.6 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2015)05-0081-06

河蚬(*Corbicula fluminea*)俗称沙蚬、蚬潦,隶属于瓣鳃纲(Lamellibranchia)、真瓣鳃目(Eulamellibranchia)、异齿亚目(Heterodonta)、蚬科(Corbiculidae)、蚬属(*Corbicula*),是一种栖息于江河湖泊中的常见双壳经济贝类,原产于我国和东南亚地区,20 世纪 30 年代引入北美,现已广泛分布于世界各地水域,是淡水水体中重要的底栖动物和常见的优势种类,对当地水生生态系统的物质循环有重要影响(Hakenkamp *et al.*, 1999)。河蚬营养丰富,味道鲜美,具有很高的食用价值和保健作用,深受我国东南沿海、日本、韩国和东南亚等国家居民的喜爱。近年来,国内外市场对河蚬需求量逐渐增大,河蚬养殖业已成为淡水经济贝类养殖的热点之一。由于过度捕捞、环境污染和富营养化等多种因素的影响,我国湖泊中河蚬天然资源量渐

趋贫乏(袁永浒等,1994;邓道贵等,2005;严维辉等,2007;蔡炜等,2010)。洪泽湖是中国第四大淡水湖泊,河蚬是其底栖软体动物中的第一优势种(张超文等,2012),也是洪泽湖出口创汇的重要水产品之一。随着湖泊污染和富营养化不断加剧,洪泽湖河蚬产量呈显著下降趋势,较大制约了河蚬产业的发展。

目前,国内有关河蚬的研究主要集中在其生物学、营养价值和作为环境指示生物等方面(丁怀宇等,2011),但有关河蚬种质资源遗传多样性的研究鲜有报道。线粒体 DNA(Mitochondrial DNA, mtDNA)是一个环形 DNA 分子,因具有母性遗传、进化速度快、核苷酸替代率高、无组织特异性等特点,mtDNA 已成为分子系统学特别是群体遗传学及系统发育等研究的有效遗传标记(刘云国等,2009)。细胞色素氧化

* 江苏省 333 工程科研项目“河蚬资源增殖技术研究示范推广”(BRA2014319)和江苏省海洋与渔业局项目“内陆水体渔业资源与环境调查”共同资助。李大命, E-mail: ldm8212@126.com

^① 通讯作者: 张彤晴, 研究员, E-mail: zhtq3@126.com

收稿日期: 2014-10-22, 收修改稿日期: 2014-12-22

酶亚基 I (CO I) 是线粒体 DNA 标记中最常用的标记之一, 其进化速率中等, 被广泛用于鱼类和双壳类等水生生物的种群遗传学研究(史兼华等, 2006; 董丽娜等, 2011; 刘连为等, 2013)。目前, 该标记在河蚬地理系统进化关系研究上已有较多应用(Giribet *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2005), 但迄今, 将 mtDNA 用于河蚬种群遗传多样性的研究尚未见报道。

为了保护河蚬资源, 2007 年 12 月在洪泽湖建立了首个国家级河蚬种质资源保护区。已有研究调查了洪泽湖河蚬资源的时空分布(袁永浒等, 1994; 严维辉等, 2007; 张超文等, 2012), 但尚无利用 mtDNA 序列分析洪泽湖河蚬遗传多样性的研究报道。本研究采用 CO I 基因片段作为分子标记, 分析洪泽湖河蚬遗传多样性水平和遗传结构, 以期为河蚬种质资源保护及合理开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料采集

本研究所用的河蚬于 2013 年 5 月采自洪泽湖野生种群。从河蚬样品中随机挑选 50 个个体, 用无水乙醇固定, 带回实验室, -20°C 保存备用。

1.2 基因组 DNA 提取

采用苯酚-氯仿法提取外套膜肌肉组织基因组 DNA(Sambrook *et al.*, 2001), TE(pH=8.0)溶解, 置于 -20°C 冰箱保存。用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的完整性, Eppendorf Biophotometer 核酸蛋白测定仪测定 DNA 的浓度和纯度。

1.3 PCR 扩增和测序

CO I 基因序列扩增引物为 LCO1490(5'-GGTCA-ACAAATCATAAAGATATTGG-3') 和 HCO2198(5'-TA-AACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') (Folmer *et al.*, 1994), 引物由上海生工生物技术有限公司合成。PCR 反应体系总体积为 50 μl , 包括 50–100 ng 模板 DNA、上下游引物(10 $\mu\text{mol/L}$)各 2 μl 、 $2\times\text{PCR mix}$ 25 μl (包含 *Taq* 酶 2.5 U、dNTPs 10 $\mu\text{mol/L}$ 、 MgCl_2 0.1 mmol/L), 其余体积用超纯水补足。PCR 反应程序: 94°C 预变性 5 min; 94°C 变性 40 s, 50°C 退火 40 s, 72°C 延伸 1 min, 共 30 个循环; 72°C 延伸 10 min。PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测, 电泳缓冲液为 $0.5\times\text{TBE}$ (pH=8.0), 常温电泳, Goldview 染色, 凝胶成像系统下观察和拍照。将 PCR 产物纯化后送至上海生工生物技术有限公司进行双向测序。

1.4 数据处理

用 ClustalX 1.81 软件对 DNA 序列进行编辑和比对, 并辅以人工校对。多态位点数(Polymorphic sites, *S*)、单倍型数(Number of haplotype, *N*)、单倍型多样性指数(Haplotype diversity, *h*)、核苷酸多样性指数(Nucleotide diversity, π)、平均核苷酸差异数(Average number of nucleotide difference, *k*)等遗传多样性参数由 DNASP 4.0 软件计算。采用 MEGA 4.0 软件统计 DNA 序列的碱基组成和变异位点。利用 Kimura 双参数模型计算单倍型间的遗传距离, 采用 NJ 法和 MP 法构建 CO I 单倍型系统进化树, 并对所得系统树进行自检法检验(1000 次重复)。采用 Tajima's *D* 中性检验和核苷酸不配对分布图检测河蚬种群的历史动态。

2 结果

2.1 河蚬 CO I 基因片段序列分析

经 PCR 扩增、测序、比对得到 614 bp 的 CO I 基因序列, 其碱基 A、T、G 和 C 的平均含量分别为 22.6%、42.4%、21.0% 和 14.0%, A+T 的含量(65.0%)明显高于 G+C 的含量(35.0%), 符合无脊椎动物线粒体 DNA 序列特征。在该编码序列片段使用的密码子中, A、T、G、C 在第 1、2、3 位点的平均含量差异很大, 其中 C 的平均含量变化最大, 在第 1、2、3 位分别为 15.0%、25.5%、1.6%, 表明密码子的碱基使用频率存在明显的偏向性。

2.2 河蚬 CO I 基因的遗传多样性分析

在 CO I 基因序列中, 共检出 67 个核苷酸变异位点, 占核苷酸总数的 10.9%, 其中包括 63 个简约信息位点和 4 个单一信息位点, 变异位点分布如图 1 所示, 没有插入或缺失位点, 转换/颠换比值为 2.83。50 条 CO I 基因序列中定义了 15 个单倍型, 其中, 单倍型 H9 和 H7 出现的频率较高, 分别为 26.0% 和 22.0%。河蚬种群的单倍型多样性为 0.870 ± 0.028 , 核苷酸多样性为 0.045 ± 0.002 , 平均核苷酸差异数为 27.370(表 1), 表明洪泽湖河蚬野生群体具有较高的遗传多样性。

2.3 单倍型聚类分析

对河蚬的 15 个 CO I 基因单倍型的核苷酸序列进行比对, 根据 Kimura 双参数模型计算单倍型间的遗传距离(表 2)。可以得出, 15 个单倍型之间的遗传距离在 0.002–0.095 之间, 表明单倍型之间的遗传距离差异较大。采用 NJ 法和 MP 法构建的洪泽湖河蚬 15 个单倍型分子系统树(图 2 和图 3)。两种方法构建

```

[          1111111 1222222222 2222333333 3333444444 4444445555 55555666]
[    334557788 8892344557 8011334456 6789001234 5567001235 5666890345 5679900]
[    4153021325 6864958172 1547284705 8462479519 2543062721 4016765214 6875817]
#H1  GAAATATGTA TACGATGACG TGTAGAGTGG GAAATACTCT TGATTGATGA AATTGAAAAA AATATTA
#H2  ...G.....
#H3  .....C..
#H4  .....C..
#H5  ....G....
#H6  .....T.....
#H7  .....G.....
#H8  A.....A..G.....C.....
#H9  AG..CTCAGG .G.A.AAGTA AAA.AGA.AA TGGTGGT.AC GA..AA.C.. GGC.AT.GG. GTCGA.G
#H10 AG..CTCAGG .G.A.AAGTA AAA.AGA.AA TGGTGGT.AC GA..AA.C.G GGC.AT.GG. GTCGA.G
#H11 AG..CTCAG. .G.A.AAGTA AAA.AGA.AA TGGTGGT.AC GA..AA.C.. GGC.AT.GG. GTCGA.G
#H12 AG..CTCAGG .G.A.AAGTA AAA..GA.AA TGGTGGT.A. GA..AAGC.. GGC.AT.GG. GTCGA.G
#H13 AG..CTCAGG .G.A.AAGTA AAA.AGA.AA TGGTGGT.A. GA..AAGC.. GGC.AT.GG. GTCGA.G
#H14 AG..CTCAGG .G.A.AAGTA AAA.AGA.AA TGGTGGT.AC GA..AA... GGC.AT.GG. G.CGA.G
#H15 AGG.CT.AGG CG.AGAA.TA AAAGAGA.A. T.GTGGTCAC GA.CAA.C.. T.CCAT..G. .TCGACG
    
```

图 1 CO I 基因序列核苷酸变异位点分布

Fig.1 The distribution of variable sites in CO I gene sequence

表 1 河蚬 CO I 基因多态性指数

Tab.1 The haplotype and nucleotide diversity of CO I gene of *C. fluminea*

种群 Population	单倍型数 <i>N</i>	多态位点数 <i>S</i>	单倍型多样性 <i>h</i>	核苷酸多样性 π	平均核苷酸差异数 <i>k</i>
河蚬 <i>C. fluminea</i>	15	67	0.870±0.028	0.045±0.002	27.370

表 2 河蚬不同单倍型序列间的遗传距离

Tab.2 The genetic distance of different haplotypes in *C. fluminea*

单倍型 Haplotype	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14	H15
H1	1.000														
H2	0.003	1.000													
H3	0.003	0.007	1.000												
H4	0.002	0.005	0.002	1.000											
H5	0.002	0.005	0.005	0.003	1.000										
H6	0.005	0.008	0.008	0.007	0.007	1.000									
H7	0.003	0.007	0.007	0.005	0.005	0.002	1.000								
H8	0.007	0.010	0.010	0.008	0.008	0.005	0.003	1.000							
H9	0.087	0.091	0.091	0.089	0.087	0.093	0.091	0.087	1.000						
H10	0.089	0.093	0.093	0.091	0.089	0.095	0.093	0.089	0.002	1.000					
H11	0.085	0.089	0.089	0.087	0.085	0.091	0.089	0.085	0.002	0.003	1.000				
H12	0.085	0.089	0.089	0.087	0.085	0.091	0.089	0.085	0.005	0.007	0.007	1.000			
H13	0.087	0.091	0.091	0.089	0.087	0.093	0.091	0.087	0.003	0.005	0.005	0.002	1.000		
H14	0.083	0.087	0.087	0.085	0.083	0.089	0.087	0.084	0.003	0.005	0.005	0.008	0.007	1.000	
H15	0.089	0.093	0.093	0.091	0.089	0.095	0.093	0.089	0.027	0.028	0.028	0.032	0.030	0.030	1.000

的系统树的单倍型的分布基本一致, 15 个 CO I 单倍型被分成两个分支, 其中分支 I 包括单倍型 H1-H8, 分支 II 包括单倍型 H9-H15。分支内单倍型间遗传距离较小, 而分支间单倍型遗传距离较大。

2.4 群体动态分析

采用 Tajima's *D* 中性检测和歧点分布分析洪泽湖河蚬是否经历种群扩张。结果显示, 洪泽湖河蚬种群

的检测中, 歧点分布(Mismatch-distribution)分析图谱呈现多峰型(图 4), 在中性检验中 Tajima's *D* ($D=2.724$, $P<0.01$) 值为正值, 且统计结果为显著, 表明洪泽湖河蚬种群大小保持相对稳定, 未发生明显的种群扩张。

3 讨论

A、T、C 和 G 碱基在线粒体基因组中的分布呈不均一性, 是动物线粒体基因组的共性(Thompson *et al*,

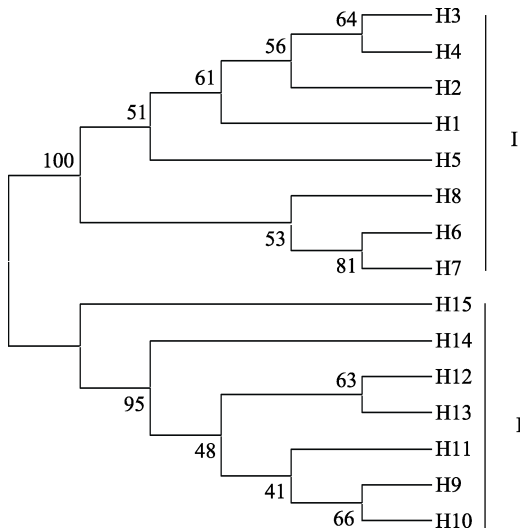


图2 河蚬 CO I 基因序列单倍型的 NJ 系统进化树
Fig.2 The neighbor-joining tree of CO I haplotypes in *C. fluminea*

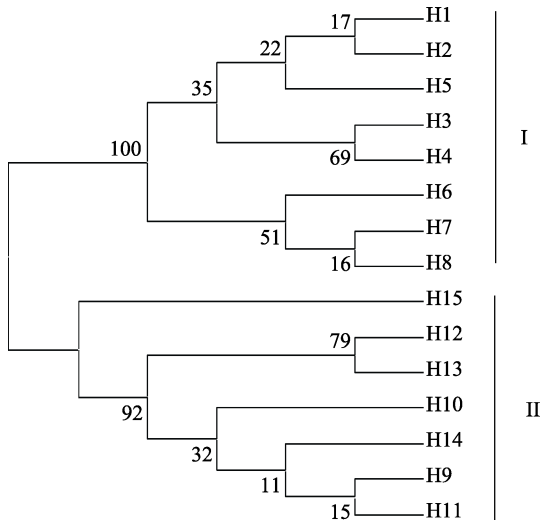


图3 河蚬 CO I 基因序列单倍型的 MP 系统进化树
Fig.3 The maximum-parsimony tree of CO I haplotypes in *C. fluminea*

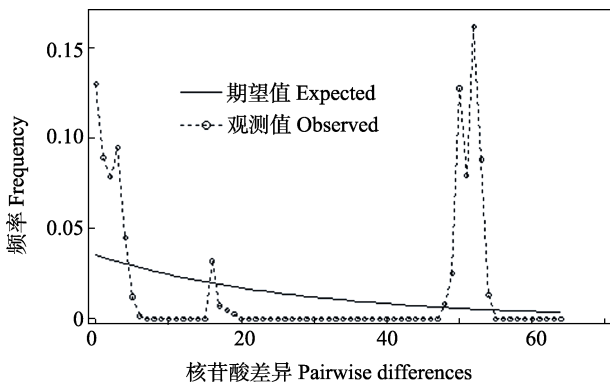


图4 洪泽湖河蚬种群的歧点分布
Fig.4 The mismatch-distribution analysis of *C. fluminea* population

1997)。洪泽湖河蚬的 CO I 序列中 A、T、G、C 碱基含量分别为 22.6%、42.4%、21.0%和 14.0%，A+T 的含量(65.0%)明显高于 G+C 的含量(35.0%)，表现出较为明显的碱基偏倚性。这与三角帆蚌(*Hyriopsisicum ingii*) (李家乐等, 2008)、褶皱冠蚌(*Cristaria plicata*) (贾名静等, 2009)、厚壳贻贝(*Mytilus coruscus*) (毛阳丽等, 2014)、紫贻贝(*Mytilus edulis*) (沈玉帮等, 2011)、牡蛎(李咏梅等, 2009)等贝类线粒体 CO I 基因序列结果相似，也符合无脊椎动物线粒体 DNA 的序列特征。同时，4 种碱基在密码子的第 1、2 和 3 位的使用频率不同，特别是碱基 C，其在密码子第 1、2 位含量较高，而在第 3 位使用较少，表明河蚬 CO I 基因密码子的碱基使用频率存在很强的偏向性。

遗传多样性(Genetic diversity)是生物多样性的核心，又称为基因多样性(Gene diversity)。单倍型多样性指数和核苷酸多样性指数是评价种群遗传多样性的两个重要指标。本研究中洪泽湖 50 个河蚬个体共定义了 15 个单倍型，占个体总数的 30.0%，单倍型多样性指数和核苷酸多样指数分别为 0.870 和 0.045，平均核苷酸差异数为 27.370，表现出较高的遗传多样性。Grant 等(1998)根据鱼类线粒体 DNA 序列的遗传变异分析，将不同的单倍型多样性(h)和核苷酸多样性(π)间的组合分成 4 种类型(低 h ，低 π ；高 h ，低 π ；低 h ，高 π ；高 h ，高 π)。从本研究结果可以得出，洪泽湖河蚬种群具有较高 h 和 π ，说明洪泽湖河蚬种质资源遗传多样性比较丰富。从进化角度来看，洪泽湖河蚬种群遗传多样性的状况被认为可能是由一个大而稳定的种群经过长时间演化所形成的。另外，较大的种群数量、环境的多样性或具有适应种群快速增长的生活特征也有利于种群具备较高的遗传多样性(Nei, 1987)。河蚬是洪泽湖底栖动物中的常见和优势土著种类，资源量较大，在洪泽湖分布广泛，湖区间河蚬种群交流频繁，从而有利于形成和维持河蚬种群遗传多样性。

本研究共定义了 15 个单倍型(H1-H15)，单倍型间的遗传距离在 0.002-0.095 之间。根据 Hebert 等(2003)对动物界物种的线粒体 COI 基因序列比较分析后发现，大部分的种内遗传距离小于 0.010，最小种间遗传距离为 0.02，可见部分单倍型间的遗传距离已超过种间差异。基于遗传距离构建的 NJ 系统树和 MP 系统树均明显分为两支，其中单倍型 H1-H8 聚为一支(I)，H9-H15 聚为另一支(II)，分支内单倍型间的遗传距离非常低，而分支间的单倍型之间的遗传距离较高。根据遗传距离和系统树，推断洪泽湖河蚬 CO I 单倍型出现了较为明显的遗传分化，可以将河蚬种群

分化为两个亚种。一般认为, 具有浮游幼虫期的双壳贝类, 可以在广泛的区域内自由扩散, 从而具有较低的遗传分化水平(Arnaud *et al.*, 2000)。另外, 频繁的捕捞活动有利于洪泽湖不同湖区河蚬群体间的基因交流, 河蚬群体间也不存在地理隔离, 这些因素导致河蚬群体间遗传分化微弱。丁怀宇等(2011)通过微卫星技术分析了洪泽湖河蚬群体的遗传结构, 结果也表明不同湖区河蚬群体没有形成显著的遗传结构。因此, 分支内的单倍型遗传距离较小, 遗传变异较低。

群体遗传学研究认为, 引起群体分化的主要原因是遗传漂变和自然选择(郑向忠等, 1997), 同时也受到种群历史动态的影响(孙鹏等, 2011)。种群历史演化通常通过两种方法来检测, 其一是通过中性选择分析, 如 Tajima's *D* 检验(Tajima, 1989), *D* 呈负值并且有显著性意义时, 即显示种群经历过扩张事件; 其二是碱基不配对分析, 这种方法是基于无限位点模式(Infinite-site model), 对样本中两两序列进行差异分析, 个体间碱基不配对分布曲线呈明显的单峰型被认为种群历史有扩张现象, 反之, 如果种群呈稳定状态, 在歧点分布分析图谱上呈现多峰型。本研究结果显示, 洪泽湖河蚬种群的 Tajima's *D* 中性检验结果($D=2.724$)为正值, 且歧点分布图谱呈现多峰型, 这表明历史上洪泽湖河蚬种群较为稳定, 没有经历过种群扩张。但中性检验结果差异为极显著($P<0.01$), 说明河蚬种群进化过程偏离了中性选择, 部分种群发生了基因突变, 从而导致种群内部出现遗传分化, 进而不同种群间遗传距离上有较大差异。

物种的遗传多样性高低与其适应能力、生存能力和进化潜力密切相关。丰富的遗传多样性意味着较高的适应生存潜力, 蕴藏着较大的进化潜能, 遗传多样性的减少将会使一个物种降低对环境改变的适应能力, 降低群体中变异的丰富度, 导致渔业资源的匮乏, 甚至导致物种的灭绝。本研究结果表明, 洪泽湖河蚬种群具有较高的遗传多样性水平, 种质资源较为丰富。但人类活动(环境污染、过度捕捞)亦会导致洪泽湖野生河蚬资源量衰竭和遗传多样性下降, 因此有必要采取科学的保护和管理措施来维持河蚬野生资源的可持续开发和利用。

参 考 文 献

- 丁怀宇, 姜虎成, 冯建彬, 等. 河蚬微卫星引物筛选及洪泽湖野生群体遗传结构分析. 水产学报, 2011, 35(11): 1624-1632
- 毛阳丽, 宋娜, 高天翔, 等. 浙江和福建沿海厚壳贻贝 *Mytilus coruscus* 群体的 CO I 序列比较分析. 海洋湖沼通报, 2014(2): 82-88
- 邓道贵, 李洪远, 胡万明, 等. 巢湖富营养化对河蚬和环棱螺分布及种群密度影响. 应用生态学报, 2005, 16(8): 1502-1506
- 史兼华, 何毛贤, 万军伟. 海洋珍珠贝类遗传标记研究进展. 海洋通报, 2006, 25(3): 80-86
- 刘云国, 刘贤德, 高焕, 等. 水产生物 DNA 分子标记技术. 北京: 科学出版社, 2009, 59-62
- 刘连为, 许强华, 陈新军. 基于线粒体 DNA 分子标记的东太平洋茎柔鱼群体遗传多样性比较分析. 水产学报, 2013, 37(11): 1618-1625
- 孙鹏, 彭士明, 尹飞, 等. 南海海区鲮鱼(*Mugil cephalus*) CO I 基因序列的遗传多样性分析. 海洋与湖沼, 2011, 42(1): 131-136
- 严维辉, 潘元潮, 郝忱, 等. 洪泽湖底栖生物调查报告. 水利渔业, 2007, 27(3): 65-66
- 张超文, 张堂林, 朱挺兵, 等. 洪泽湖大型底栖动物群落结构及其与环境因子的关系. 水生态学杂志, 2012, 33(3): 27-33
- 李咏梅, 陈秀荔, 彭敏, 等. 基于线粒体 CO I 基因序列探讨广西钦州湾牡蛎的遗传分化. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2009, 37(3): 60-65
- 李家乐, 王建军, 汪桂玲, 等. 我国五大淡水湖三角帆蚌群体 mtDNA CO I 基因片段变异分析. 水生生物学报, 2008, 32(5): 779-782
- 沈玉帮, 张俊彬, 冯冰冰, 等. 基于线粒体 COI 序列分析对紫贻贝群体遗传多样性的研究分析. 海洋通报, 2011, 30(4): 435-440
- 郑向忠, 徐宏发, 陆厚基. 动物种群遗传异质性研究进展. 生物多样性, 1997, 5(3): 210-216
- 袁永浒, 王兴元, 陈安来, 等. 洪泽湖螺蚬资源调查报告. 水产养殖, 1994, (6): 15-16
- 贾名静, 李家乐, 牛东红, 等. 长江中下游褶纹冠蚌 10 个群体 CO I 基因序列变异分析. 动物学杂志, 2009, 44(1): 1-8
- 董丽娜, 黄梓荣, 艾红, 等. 北部湾 3 种金线鱼属鱼类 CO I 基因序列的比较分析. 中国水产科学, 2011, 18(3): 508-514
- 蔡炜, 蔡永久, 龚志军, 等. 太湖河蚬时空格局. 湖泊科学, 2010, 22(5): 714-722
- Arnaud S, Monteforte M, Galtier N, *et al.* Population structure and genetic variability of pearl oyster *Pinctada mazatlanica* along Pacific coasts from Mexico to Panama. *Conserv Genet*, 2000, 1(4): 299-308
- Folmer O, Black M, Lutz R, *et al.* DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol Mar Biol Biotechnol*, 1994, 3(5): 294-299
- Giribet G, Wheeler W. On bivalve phylogeny: a high-level analysis of the *Bivalvia* (Mollusca) based on combined morphology and DNA sequence data. *Invertebr Biol*, 2002, 121(4): 271-324
- Grant WS, Bowen BW. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insight from sardines and anchovies and lessons for conservation. *J Hered*, 1998, 89: 415-426

- Hakenkamp CC, Palmer MA. Introduced bivalves in freshwater ecosystems: the impact of *Corbicula* on organic matter dynamics in a sandy stream. *Oecologia*, 1999, 119(3): 445–451
- Hebert PD, Cywinska A, Ball SL, *et al.* Biological identifications through DNA barcodes. *Proc Biol Sci*, 2003, 270(1512): 313–321
- Lee T, Siripattawan S, Ituarte CF, *et al.* Invasion of the clonal clams: *Corbicula* lineages in the New World. *Am Malacol Bull*, 2005, 20(1): 113–122
- Nei M. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York. 1987
- Sambrook J, Russell DW. *Molecular cloning: A laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001
- Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 1989, 123(3): 585–595
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, *et al.* The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res*, 1997, 25(24): 4876–4882

(编辑 冯小花)

Genetic Diversity of Wild *Corbicula fluminea* Population in the Hongze Lake Analyzed by Mitochondrial DNA CO I Gene Sequence

LI Daming, ZHANG Tongqing^①, TANG Shengkai, ZHONG Liqiang, LIU Xiaowei

(Freshwater Fisheries Research Institute of Jiangsu Province, Key Laboratory of Fisheries Resources in Inland Water, Nanjing 210017)

Abstract *Corbicula fluminea* is a common macrozoobenthos in the freshwater of the Hongze Lake, which plays an important role in the cycle of mass and energy fluxes of fresh water ecosystem. However, the wild source of *C. fluminea* has sharply decreased recently due to over-fishing and water pollution. The genetic diversity of *C. fluminea* in the Hongze Lake has not been widely investigated. The present study analyzed the genetic diversity of *C. fluminea* population in the Hongze Lake using mitochondrial DNA cytochrome oxidase subunit I (CO I) gene molecular marker. The mitochondrial DNA CO I gene fragments were amplified and sequenced from 50 individuals of wild *C. fluminea* in the Hongze Lake. The contents of A, T, G and C in the 614-base pair fragments of CO I gene were 22.6%, 42.4%, 21.0% and 14.0%, respectively, and the content of A+T was significantly higher than that of G+C. Sixty-seven polymorphic sites were detected, accounting for 10.9% of the total sequences, and of which sixty-three were parsimony-informative sites and four were singleton sites. Fifteen haplotypes were defined in 50 individuals of *C. fluminea*. The mean haplotype diversity, nucleotide diversity, and the average number of nucleotide difference in the *C. fluminea* population were 0.870, 0.045 and 27.370, respectively. The genetic distance among fifteen haplotypes ranged from 0.002 to 0.095. Neighbor-joining (NJ) and maximum-parsimony (MP) trees divided fifteen haplotypes into two clades, suggesting that *C. fluminea* populations had significant genetic difference. Mismatch distribution analysis showed a multiple type, and Tajima's *D* value (2.724) of neutrality test is positive but significantly different, demonstrating that *C. fluminea* in the Hongze Lake hadn't experience a recent population expansion. These results suggest that the genetic diversity of *C. fluminea* population in the Hongze Lake is high, which provides scientific information for the conservation and sustainable exploitation of *C. fluminea*.

Key words *Corbicula fluminea*; Cytochrome oxidase subunit I; Genetic diversity; Hongze Lake

① Corresponding author: ZHANG Tongqing, E-mail: zhtq3@126.com