

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20170513001

http://www.yykxjz.cn/

李瑶瑶, 刘云国, 刘晓玲, 刘凌霄, 马超. 基于线粒体基因组 *COI* 和 *12S rRNA* 序列的魁蚶中国群体分类学地位研究. 渔业科学进展, 2018, 39(5): 73–80

Li YY, Liu YG, Liu XL, Liu LX, Ma C. The taxonomic status of Chinese population of *Scapharca brouhtonii* based on sequences of *COI* and *12S rRNA* genes. Progress in Fishery Sciences, 2018, 39(5): 73–80

基于线粒体基因组 *COI* 和 *12S rRNA* 序列的 魁蚶中国群体分类学地位研究*

李瑶瑶¹ 刘云国^{1,2①} 刘晓玲¹ 刘凌霄³ 马 超⁴

(1. 烟台大学生命科学学院 烟台 264005; 2. 新疆大学生命科学与技术学院 乌鲁木齐 830046;
3. 临沂市农业科学院 临沂 276012; 4. 烟台蓝白餐饮有限公司 烟台 264001)

摘要 东北亚地区不同地理种群魁蚶(*Scapharca brouhtonii*)的分类学地位仍存在较大争议。为探讨魁蚶中国群体的分类地位,测定了魁蚶中国群体线粒体基因组 *COI* 和 *12S rRNA* 序列,并从 GenBank 中下载了蚶科 26 种贝类的同源序列进行分析。以贻贝科的贻贝(*Mytilus edulis*)为外群,用邻近法和最大简约法构建了蚶科贝类的分子系统进化树,分析其分子系统进化关系和分类等级。结果显示,魁蚶中国群体的 *COI* 和 *12S rRNA* 基因的碱基组成、密码子使用率及变异位点等与魁蚶日本群体和粗饰蚶属的 *Anadara sativa* 相似,且遗传距离很小,进化树中聚为一支,亲缘关系很近,初步确定魁蚶中国群体的分类地位和魁蚶日本群体一致。本研究结果初步阐明了魁蚶中国群体的分子系统进化地位,有利于掌握魁蚶的遗传背景和资源状况,以应用于自然资源的保护和推动养殖业的发展。

关键词 魁蚶; *COI* 和 *12S rRNA*; 系统发育; 分类地位

中图分类号 Q75 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2018)05-0073-08

魁蚶(*Scapharca brouhtonii*)俗称赤贝、血贝、大毛蛤,是一种大型底栖经济贝类(孙楠等, 2015)。魁蚶广泛分布于太平洋西部沿岸、日本北海道以南、朝鲜半岛和俄罗斯东南部(姚红伟等, 2010)。在我国,魁蚶主要分布于辽东半岛东南部、山东半岛北部和东部等海区。魁蚶属于大型蚶,成体个大体肥、肉质鲜美,具有很高的经济价值。目前,对于不同地理种群魁蚶的分类学地位存在较大争议(梁超等, 2010; 孔晓瑜等, 2001; 喻子牛等, 1998a、b),无论是在外部

形态上,还是线粒体基因组的序列特征上,不同群体魁蚶都显示了较大的差异(Yokogawa *et al*, 1997; Liu *et al*, 2013、2014; Cho *et al*, 2007)。魁蚶养殖业的发展需了解养殖品种清晰的遗传背景和分类进化地位,明确分类等级,理清相互之间的进化关系,以掌握其资源状况,为魁蚶养殖业的发展奠定基础。

随着 DNA 测序技术和生物信息学的飞速发展,分子系统学日臻完善。线粒体 DNA(mtDNA)因具有进化速率快、群体内变异大、分子结构简单、极少发

* 新疆天山学者科研启动金(45030)和新疆高层次人才引进工程专项经费(45049)共同资助 [This work was supported by grants from the Tianshan Scholar High-Level Talent Project of Xinjiang Uygur Autonomous Region(45030), and Special Funds for Introduction of High-Level Talents of Xinjiang Uygur Autonomous Region(45049)]. 李瑶瑶, E-mail: liyaoyao678@126.com

① 通讯作者: 刘云国, 教授级高级工程师, E-mail: yuoliu@163.com

收稿日期: 2017-05-13, 收修改稿日期: 2017-06-08

生重组等特点,在分子系统学研究中得到了较广泛的应用,已成为物种起源、分类学定位、分子进化和系统发育研究的重要分子标记(孔晓瑜等,2001;崔文涛等,2013;金逍逍等,2013;梁日深等,2014;孙毅,2015)。分子生物学分析方法能克服贝类形态学分析的困难,更能真实有效地反映其分类地位及进化关系。目前,包括毛蚶属贝类在内的双壳贝类的线粒体基因组测序工作正在大量开展(Serb *et al.*, 2003; Smith *et al.*, 2007; Mjelle *et al.*, 2008; Yu *et al.*, 2008; Xu *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2015; Hou *et al.*, 2016),已测出4种蚶科贝类的线粒体全基因组序列,为本研究的实施创造了条件。

很多蚶科贝类的线粒体基因组全序列测定工作陆续完成。目前,对于魁蚶的研究主要集中在生物学特性(张玉玺等,1995;周玮等,2011;王子臣等,1987;常亚青等,1992;吴彪等,2010)、营养组分分析(王颖等,2013)及繁育技术(邹琰等,2010;张启刚等,2003;杨青等,2011)等,而利用分子生物学手段对遗传信息

的研究相对较少。东北亚不同地理种群魁蚶存在形态学和遗传学上的差异(喻子牛等,1997、1998; Cho *et al.*, 2007; 梁超等,2010)。本研究通过测定魁蚶中国群体线粒体基因组 *COI* 和 *12S rRNA* 序列,从 GenBank 中下载了蚶科 26 种贝类的同源序列进行比对和系统发育分析,从分子水平上探讨魁蚶中国群体的分类学地位。

1 材料与方法

1.1 样品的采集

选取蚶科 27 种贝类样本进行分析,其中,魁蚶中国群体的线粒体 *COI* 和 *12S rRNA* 的全长序列为本研究首次获取,其他线粒体基因组序列从 NCBI 的 GenBank 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)中检索并下载得到,所有物种的命名和分类地位采用 Nelson(2006)提出的分类标准。本研究涉及物种的种名及序列 GenBank 登录号等相关信息见表 1。

表 1 蚶科 26 种贝类的线粒体基因组的基本信息
Tab.1 Basic mitochondrial genome information of 26 Arcidae shellfish

亚科 Subfamily	属 Genus	物种 Species	基因登录号 GenBank No.		
			<i>COI</i>	<i>12S rRNA</i>	
蚶亚科 Arcinae	蚶属 <i>Arca</i>	舟蚶 <i>Arca navicularis</i>	HQ258825	JN974670	
		偏胀蚶 <i>Arca ventricosa</i>	AB076935		
		椿蚶 <i>Arca avellana</i>	HM180483		
		布氏蚶 <i>Arca boucardi</i>	KJ774462		
	须蚶属 <i>Barbatia</i>		<i>Barbatia fusca</i>	AB050899	
			<i>Barbatia lacerata</i>	AB076932	
			青蚶 <i>Barbatia virescens</i>	HQ258841	
	白蚶属 <i>Acar</i>		褶白蚶 <i>Acar plicata</i>	FJ480472	
	扭蚶属 <i>Trisidos</i>		鳞片扭蚶 <i>Trisidos kiyonoi</i>	HQ258846	JN974675
			扭蚶 <i>Trisidos tortuosa</i>	KX713506	
	深海蚶属 <i>Batharca</i>		<i>Batharca glacialis</i>	KP976044	
			<i>Batharca pectunculoides</i>	KF644132	
	底蚶属 <i>Bentharca</i>		彩红底蚶 <i>Bentharca rubrotincta</i>	KJ774471	
	粗饰蚶亚科 Anadarinae	粗饰蚶属 <i>Anadara</i>	夹粗饰蚶 <i>Anadara vellicata</i>	NC_028227	
			<i>Anadara sativa</i>	NC_024927	
密肋粗饰蚶 <i>Anadara crebricostata</i>			HQ258847	JN974643	
		古蚶 <i>Anadara antiquata</i>	AB050895	JN974645	
毛蚶属 <i>Scapharca</i>			魁蚶 <i>Scapharca broughtonii</i>	AB729113	
			毛蚶 <i>Scapharca kagoshimensis</i>	NC_025509	
			角毛蚶 <i>Scapharca cornea</i>	HQ258860	
			圆毛蚶 <i>Scapharca globosa ursus</i>	AB254194	
			舵毛蚶 <i>Scapharca gubernaculum</i>	HQ258857	JN974646
		不等壳毛蚶 <i>Scapharca inaequivalvis</i>	AB076937	JN974651	
球蚶属 <i>Potiarca</i>		球毛蚶 <i>Potiarca pilula</i>	HQ258862	JN974660	
泥蚶属 <i>Tegillarca</i>		泥蚶 <i>Tegillarca granosa</i>	AB050897		
		结蚶 <i>Tegillarca nodifera</i>	AB050893	JN974657	

魁蚶样品采自山东威海乳山, 均为自然群体, 样品采集后即保存在 -20°C 冰箱中备用, 鉴定后取闭壳肌肌肉组织提取 DNA。

1.2 基因组 DNA 提取

20 个样品中各取闭壳肌约 100 mg, 充分剪碎, 用动物细胞组织线粒体 DNA 萃取试剂盒(上海哈灵生物有限公司)提取线粒体基因组, 0.8%的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量。

1.3 PCR 扩增和测序

*COI*引物设计参考孔晓瑜等(2001), 扩展序列为魁蚶线粒体基因组 1490~2198 bp 的片段(AB729113)。引物序列: COIL1490: 5'-GGTCAACAAATCATAAA-GATATTGG-3'; COIH2198: 5'-TAAACTTCAGGGT-GACCAAAAATCA-3'。*12S rRNA* 基因的引物设计在魁蚶日本群体 *12S rRNA* 基因序列的基础上, 使用 Primer Premier 5.0 设计。引物序列: F1: 5'-GCGGCTA ATGTAATGCCAGCAG-3'; R1: 5'-ACGGGAACGTGT CTCCTCAC-3'。

PCR 反应体系为 40 μl , 包含 20 μl 2 \times U *taq* PCR MasterMix, 14 μl ddH₂O, 上、下游引物(10 $\mu\text{mol/L}$)

各 2.0 μl 和 2.0 μl 的 DNA 模板。PCR 反应条件: 94°C 预变性 5 min, 94°C 条件下变性 45 s, 52°C 退火 40 s, 72°C 延伸 1 min, 共循环 30 次, 72°C 充分延伸 5 min。将 PCR 扩增产物经 1%琼脂糖凝胶电泳检测后, PCR 扩增产物送深圳市恒创基因科技有限公司测序, 为保证序列的准确性, 序列经正反 2 次重复测定。

1.4 基因组序列分析

将双向测序的结果用 ClustalX 1.8 进行全序列自动对准, 并辅以人工校对。利用 MEGA5.05(Kumar *et al.*, 2001)软件对基因序列进行比对, 统计分析序列组成、碱基含量、结构特征及变异特点等信息, 并计算转换(Ts)/颠换(Tv)比和两两序列间的遗传距离。

1.5 系统发育分析

利用软件 ClustalX 对蚶科贝类线粒体基因组序列进行多重比对并人工校正, 以贻贝科的贻贝(*Mytilus edulis*)为外群, 通过 MEGA 5.05 软件进行整理和分类, 并用邻接法(Neighbor-joining, NJ)和最大简约法(Maximum-Parsimony, MP)构建了蚶科贝类的系统进化树(图 1 和图 2), 其各分支的置信度经 Bootstrap 法检验, 共 1000 次循环(金道造等, 2013)。

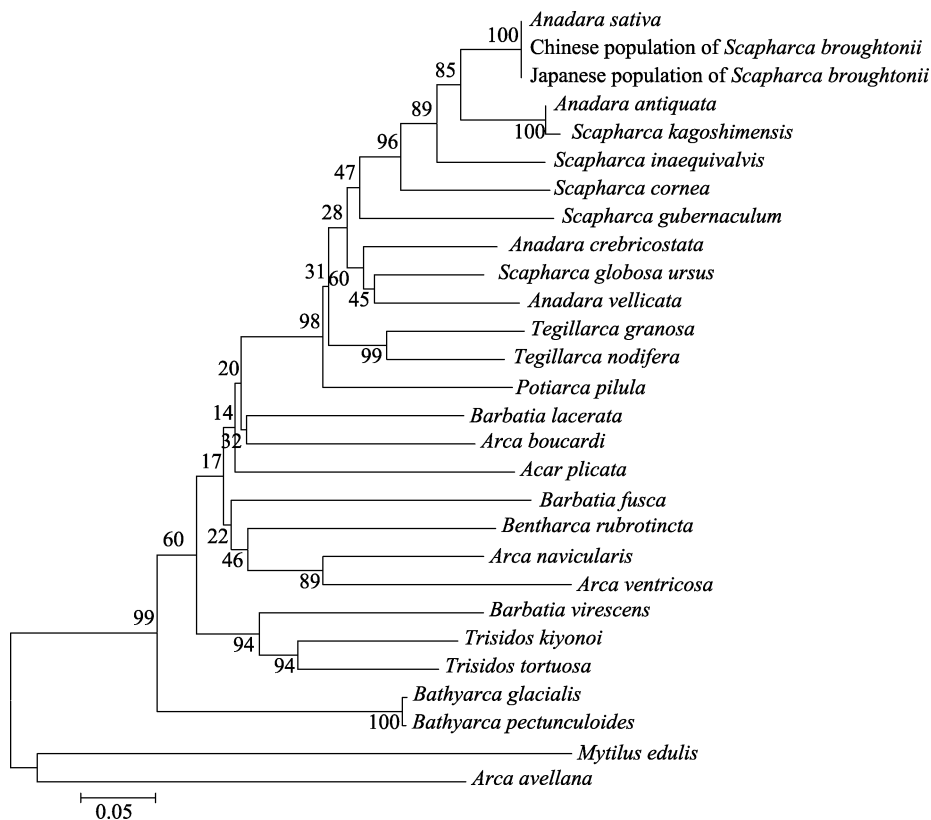


图 1 根据 *COI* 基因序列构建的 NJ 系统发育树

Fig.1 NJ phylogenetic tree constructed according to the sequence of *COI* gene

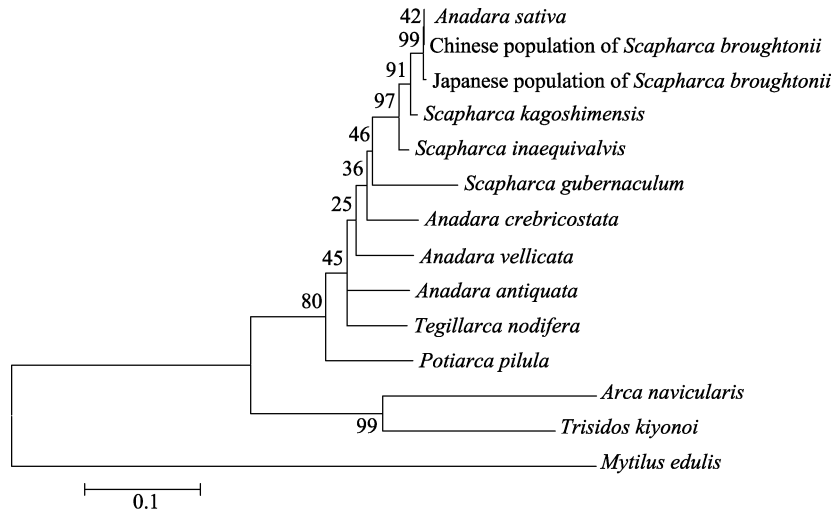


图 2 根据 12S rRNA 基因序列构建的 NJ 系统发育树

Fig.2 NJ phylogenetic tree constructed according to the sequence of 12S rRNA gene

2 结果与分析

2.1 魁蚶中国群体线粒体 *COI* 和 *12S rRNA* 基因序列

COI 是编码细胞色素 C 氧化酶基因亚基 I 的蛋白质编码基因, 全长 1584 bp, T、C、A 和 G 含量分别为 39.3%、14.3%、24.9% 和 21.5%, A+T、G+C 含量分别为 64.2%、35.8%。*COI* 基因编码 518 个氨基酸, 密码子 3 个位点的碱基频率统计值见表 2: 在 3 个位点上均表现出明显的 AT 偏向性, 特别是第 3 个密码子, AT 含量达 77.1%, 与无脊椎动物偏好以 A 或 T 结尾一致(Brown, 1985)。密码子第 3 位点表现出明显的不平衡性, T 的频率达到 47%, 而 C 只有 7.2%。

12S rRNA 为编码核糖体核糖核酸的基因, 全长为 673 bp, T、C、A 和 G 含量分别为 26.3%、19.0%、27.3% 和 27.3%, A+T、G+C 含量分别为 53.6%、46.3%。

2.2 蚶科 27 种贝类 *COI* 和 *12S rRNA* 基因序列变异及碱基组成

将魁蚶中国群体的 *COI* 和 *12S rRNA* 基因与另外 26 种蚶科贝类的 *COI* 和 *12S rRNA* 基因序列进行比对分析。*COI* 基因的长度为 1455~1584 bp, T、C、A 和 G 碱基平均含量为 40.2%、14.7%、21.4 和 23.7%, A+T 的平均含量(61.6%)大于 G+C 的平均含量(38.4%)。*COI* 基因编码 302 个氨基酸, 密码子 3 个位点的碱基使用频率统计值见表 2: 在 3 个位点上均表现出明显的 AT 偏向性, 特别是在第 1 位点上, 达到 71.7%。按照无脊椎动物线粒体密码表, 编码苯丙氨酸 Phe 和色氨酸 Trp 的密码子 UUU 和 UGG 是使用最频繁的密码子, 分别达 26.7% 和 15.8%, 存在明显的密码子使用偏好。蚶科 27 种贝类 3 个密码子位

点上碱基使用频率无显著差异, 显示出相似的序列组成特征。特别是魁蚶中国群体、魁蚶日本群体和 *Anadara sativa* 在某些位点上碱基组成相同。蚶科 27 种贝类 *COI* 基因共有 787 个变异位点, 占总位点数的 49.7%; 其中含有简约信息位点 531 个, 为总变异位点的 67.4%; 核苷酸的替换以颠换为主, 转换/颠换比值平均为 0.79。与外群比对后长度为 1665 bp, 有 660 个变异位点, 占总位点数的 39.6%, 各种间序列变异位点明显颠换多于转换。

12S rRNA 基因的平均长度为 673 bp, T、C、A 和 G 碱基平均含量为 26.8%、19.0%、27.1% 和 27.1%, A+T 的平均含量(53.9%)大于 G+C 的平均含量(46.1%)。13 种蚶科贝类共有 344 个变异位点, 占总位点数的 51.1%; 其中, 含简约信息位点 148 个, 为总变异位点的 43.0%; 核苷酸的替换以转换为主, 转换/颠换比值平均为 1.24。对 13 种蚶科贝类的 *12S rRNA* 基因用 Kimura 双参数法计算遗传距离, 计算结果见表 3, 魁蚶中国群体和魁蚶日本群体以及 *Anadara sativa* 的遗传距离为最小, 说明它们的亲缘关系最近, 与毛蚶的遗传距离为 0.019, 亲缘关系次之。

2.3 系统发育分析

COI 和 *12S rRNA* 是蚶科贝类线粒体内具有较好的系统发育信息的基因, 通过对其进行 PCR 扩增和序列测定, 分析比较蚶科贝类的种间变异程度和亲缘关系。*COI* 和 *12S rRNA* 都是蚶科线粒体中相对保守的序列, 可以用于分析物种进化关系。

以贻贝为外群, 蚶科 27 种贝类的 *COI* 和 *12S rRNA* 基因为基础, 使用 MEGA5.05 软件中的 NJ 法和 ML 法构建了蚶科贝类的分子系统进化树, 结果如

表 2 蚶科 27 种贝类密码子不同位点碱基组成频率
Tab.2 Nucleotide composition frequency of three code sites of 27 Arcidae shellfish

物种 Species	位置 Position											
	1st				2nd				3rd			
	T	C	A	G	T	C	A	G	T	C	A	G
<i>Arca navicularis</i>	50	5.2	23.4	21.2	27	16.0	24.5	32.3	43	23.1	12.7	21.3
<i>Arca ventricosa</i>	37	12.9	15.2	34.4	28	17.2	21.5	32.8	43	22.2	14.2	20.5
<i>Barbatia fusca</i>	49	6.0	25.5	19.9	33	14.6	19.9	32.5	44	21.9	13.9	19.9
<i>Barbatia virescens</i>	46	9.3	7.8	36.8	30	16.0	24.5	29.4	44	20.9	11.6	23.5
<i>Trisidos kiyonoi</i>	51	6.3	17.5	25.3	29	15.2	25.3	30.1	44	19.0	12.7	23.9
<i>Tegillarca granosa</i>	47	7.0	22.8	22.8	30	15.2	27.2	27.8	42	20.5	14.9	22.5
<i>Tegillarca nodifera</i>	52	4.6	21.9	21.9	29	15.6	27.5	27.5	43	20.5	14.6	22.2
<i>Anadara crebricostata</i>	52	5.9	17.8	23.8	30	16.0	25.3	28.6	44	20.1	12.3	23.5
<i>Scapharca globosa ursus</i>	54	4.8	26.0	15.2	29	16.4	25.2	29.6	44	18.9	13.9	23.3
<i>Anadara vellicata</i>	49	5.8	23.7	21.9	29	16.7	25.8	28.0	41	18.1	18.4	22.1
<i>Potiarca pilula</i>	51	4.1	17.5	27.1	30	17.5	24.9	27.5	44	20.9	12.7	22.4
<i>Anadara antiquata</i>	47	8.6	26.5	18.2	30	16.9	25.5	27.5	44	19.5	13.9	22.2
<i>Scapharca kagoshimensis</i>	48	9.1	26.7	16.6	30	17.5	27.8	25.1	42	18.5	17.7	21.7
<i>Anadara sativa</i>	47	6.8	30.4	15.5	29	17.4	26.9	26.9	42	18.6	17.5	22.0
Chinese population of <i>S. broughtonii</i>	47	6.8	30.4	15.5	29	17.4	26.9	26.9	42	18.6	17.5	22.0
<i>Scapharca broughtonii</i>	47	6.8	30.4	15.5	29	17.6	26.9	26.7	42	18.6	17.5	22.2
<i>Scapharca inaequalvis</i>	42	9.9	32.1	15.9	29	17.9	25.5	27.5	44	19.2	14.2	22.5
<i>Scapharca cornea</i>	46	8.2	27.1	19.0	29	16.7	26.4	27.5	44	20.5	12.3	23.1
<i>Scapharca gubernaculum</i>	45	8.9	24.2	21.6	29	17.8	25.7	27.1	44	20.5	13.4	22.4
<i>Barbatia lacerata</i>	43	8.9	19.9	28.1	29	16.9	24.8	28.8	44	22.5	13.2	19.9
<i>Arca boucardi</i>	47	10.2	12.6	29.9	39	14.3	24.6	22.2	44	25.4	11.9	19.0
<i>Bentharca rubrotincta</i>	57	2.4	21.3	19.7	28	18.3	31.0	23.0	44	23.8	11.9	20.6
<i>Bathyarca glacialis</i>	46	9.3	20.1	24.5	31	17.6	27.9	23.0	45	22.9	11.2	21.0
<i>Bathyarca pectunculoides</i>	46	9.5	20.5	23.8	31	17.6	27.1	23.8	44	22.4	11.4	21.9
<i>Trisidos tortuosa</i>	58	4.1	15.5	22.3	30	17.3	25.5	26.8	45	19.1	13.6	21.8
<i>Arca avellana</i>	48	7.1	29.5	15.2	30	14.2	27.0	28.8	47	21.7	12.8	18.1
<i>Acar plicata</i>	35	4.8	20.4	39.5	29	16.1	30.4	25.0	45	23.8	12.5	18.5
平均 Average	48	7.2	23.7	21.4	30	16.7	25.9	27.7	43	20.3	14.6	21.8

图 1~图 2 所示。ML 树的拓扑结构与 NJ 树相似, 图片不再列出。通过系统发育树可得知, 蚶科表现为单系性, 但须蚶属 *Barbatia* 表现为复系, 粗饰蚶亚科 *Anadarinae* 和泥蚶属 *Tegillarca* 表现为单系群。魁蚶中国群体与毛蚶属的魁蚶日本群体和粗饰蚶属的 *Anadara sativa* 亲缘关系最近, 在 *COI* 和 *12S rRNA* 基因这 2 个序列的基础上分析, 魁蚶中国群体与魁蚶日本群体的差异不大, 隶属于双壳纲(Bivalvia)、翼形亚纲(Pteriomorpha)、蚶目(Arcoida)、蚶科(Arcidae)、毛蚶属(*Scapharca*), 但魁蚶中国群体更确切的分类地

位还需通过简化基因组测序等进一步验证。

3 讨论

Yokogawa(1997)研究了中、日两国魁蚶的壳高、壳长和壳重等形态上的差异, 魁蚶中国群体平均壳高、壳长和壳重分别是日本群体的 1.09 倍、1.11 倍和 1.58 倍, 中国群体壳面的放射肋条数为 45.83, 而日本群体只有 41.25, 形态学上的比较显示出了显著差异。并利用等位基因酶研究了其遗传差异, 计算得到的遗传距离达 0.108。该研究认为, 两国魁蚶在形态和遗

表 3 13 种蚶科贝类 *12S rRNA* 的 Kimura 双参数遗传距离
Tab.3 Kimura 2-Parametr distance on *12S rRNA* of 13 Arcidae shellfish

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1													
2	0.000												
3	0.000	0.000											
4	0.019	0.019	0.019										
5	0.028	0.028	0.028	0.025									
6	0.099	0.099	0.099	0.099	0.090								
7	0.112	0.112	0.112	0.112	0.100	0.118							
8	0.099	0.099	0.099	0.099	0.087	0.141	0.109						
9	0.108	0.108	0.108	0.105	0.096	0.128	0.119	0.112					
10	0.158	0.158	0.158	0.147	0.138	0.168	0.166	0.145	0.137				
11	0.112	0.112	0.112	0.106	0.106	0.154	0.138	0.144	0.147	0.172			
12	0.428	0.428	0.428	0.427	0.422	0.497	0.429	0.440	0.404	0.433	0.414		
13	0.388	0.388	0.388	0.373	0.378	0.366	0.394	0.397	0.364	0.401	0.375	0.343	

注: 1. *A. sativa*; 2. Chinese population of *S. broughtonii*; 3. Japanese population of *S. broughtonii*; 4. *S. kagoshimensis*; 5. *S. inaequalis*; 6. *T. nodifera*; 7. *A. antiquate*; 8. *A. vellicata*; 9. *A. crebricostata*; 10. *P. pilula*; 11. *S. gubernaculum*; 12. *Atuca navicularis*; 13. *Trisidos kiyonoi*

传上差异非常明显, 已完全达到亚种甚至种的水平。依据传统分类学方法(徐凤山等, 2008), 将蚶科分为 2 个亚科: 蚶亚科和粗饰蚶亚科, 共 12 属, 中国已发现 50 多种。魁蚶隶属于蚶科、粗饰蚶亚科、毛蚶属。

目前, 可用于系统发育分析的 mtDNA 基因主要有 *12S rRNA*、*16S rRNA*、*COI*、*COII*、*ND1*、*ND2* 和 *ND5* 等, 其中以 *16S rRNA*、*COI* 作为 DNA 条形码对物种系统发生关系的研究尤为普遍, 本研究选取了线粒体基因组中的 *COI* 和 *12S rRNA* 进行了魁蚶中国群体的分类学地位研究。从 GenBank 数据库中下载已经完成测序的蚶科 *COI* 和 *12S rRNA* 基因和本研究测序得到的魁蚶中国群体线粒体 *COI* 和 *12S rRNA* 基因序列, 分析其组成结构和变异特点, 通过构建蚶科贝类的系统发育树来探讨各物种间的系统发育关系, 并与传统蚶科分类作比较。

本研究从 *COI* 和 *12S rRNA* 这 2 个基因上分析, 魁蚶中日群体的遗传距离很小, 密码子使用率和碱基组成等相似度高, 进化树中魁蚶中国群体和日本群体聚为一支, 亲缘关系很近, 说明魁蚶中国群体与传统的蚶科分类中魁蚶日本群体的分类地位相同, 隶属于蚶科、粗饰蚶亚科、毛蚶属。本研究初步探索了魁蚶中国群体的分子系统进化地位, 有利于掌握魁蚶的遗传背景和资源状况, 为魁蚶种质资源的管理、保护与合理利用提供理论基础, 从而推动魁蚶养殖业的发展。虽然 *COI* 和 *12S rRNA* 基因能够将魁蚶中国群体进行

定位, 但由于本研究所选取的物种分布不均、数量有限, 且仅凭单基因对魁蚶中国群体进行定位有其不足之处。要更加系统地对魁蚶中国群体进行分类, 还需借助于其他的分子标记或与其他基因联合分析。

参 考 文 献

- Brown WM. The mitochondrial genome of animals. In: Macintyre RJ (ed) Molecular evolutionary genetics. Plenum Press, New York, 1985, 95–130
- Chang YQ, Wang ZC. A preliminary study on the oxygen consumption rate of ark-shell *Scapharca broughtonii*. Fisheries Science, 1992(12): 1–6 [常亚青, 王子臣. 魁蚶耗氧率的初步研究. 水产科学, 1992(12): 1–6]
- Cho ES, Jung CG, Sohn SG, et al. Population genetic structure of the ark shell *Scapharca broughtonii* Schrenck from Korea, China, and Russia Based on *COI* gene sequences. Marine Biotechnology, 2007, 9(2): 203–216
- Cui WT, Liu LQ, Li HM, et al. Phylogenetic study of Octopodinae in the China seas based on *COII* partial sequences. Progress in Fishery Sciences, 2013, 34(3): 21–28 [崔文涛, 刘立芹, 李红梅, 等. 基于 *COII* 基因序列的中国近海 12 种蛸亚科动物的分子系统进化研究. 渔业科学进展, 2013, 34(3): 21–28]
- Hou Y, Wu B, Liu ZH, et al. Complete mitochondrial genome of Ark shell *Scapharca subcrenata*. Mitochondrial DNA, 2016, 27(2): 939–940
- Jin XX, Sun YN, Wang RX, et al. Characteristics and phylogenetic analysis of mitochondrial genome in the

- gobies. *Hereditas*, 2013, 35(12): 1391–1402 [金逍逍, 孙悦娜, 王日昕, 等. 虾虎鱼类线粒体全基因组序列结构特征分析及系统发育关系探讨. *遗传*, 2013, 35(12): 1391–1402]
- Kong XY, Jiang YY, Xiang JH, *et al.* Sequencing and potential uses of mitochondrial *16S rRNA* and *COI* gene fragments in blood clam *Scapharca broughtonii*. *Marine Sciences*, 2001, 25(12): 46–48 [孔晓瑜, 姜艳艳, 相建海, 等. 魁蚶线粒体 *16S rRNA* 和 *COI* 基因片段序列测定及其应用前景. *海洋科学*, 2001, 25(12): 46–48]
- Kumar S, Tamura K, Jakobsen I B, *et al.* MEGA2: Molecular evolutionary genetic analysis software. *Bioinformatics*, 2001, 17(12): 244–245
- Liang C, Yang AG, Liu ZH, *et al.* RAPD analysis of genetic variations in four geographical populations of *Scapharea broughtonii*. *Progress in Fishery Sciences*, 2010, 31(1): 59–64 [梁超, 杨爱国, 刘志鸿, 等. 魁蚶 4 个地理群体遗传结构的 RAPD 分析. *渔业科学进展*, 2010, 31(1): 59–64]
- Liang RS, Liang ZG, Fang HH, *et al.* Molecular phylogenetic relationships of 16 sweetlips fishes based on the sequence of NADH dehydrogenase subunit I gene. *Acta Oceanologica Sinica*, 2014, 36(10): 25–32 [梁日深, 梁志刚, 方浩航, 等. 基于 *ND1* 基因序列的 16 种胡椒鲷鱼类分子系统进化关系研究. *海洋学报*, 2014, 36(10): 25–32]
- Liu YG, Kurokawa T, Sekino M, *et al.* Complete mitochondrial DNA sequence of the ark shell *Scapharca broughtonii*: An ultra-large metazoan mitochondrial genome. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D Genomics Proteomics*, 2013, 8(1): 72–81
- Liu YG, Kurokawa T, Sekino M, *et al.* Tandem repeat arrays in the mitochondrial genome as a tool for detecting genetic differences among the ark shell *Scapharca broughtonii*. *Marine Ecology-An Evolutionary Perspective*, 2014, 35(3): 273–280
- Mjelle KA, Karlsen BO, Jorgensen TE, *et al.* Halibut mitochondrial genomes contain extensive heteroplasmic tandem repeat arrays involved in DNA recombination. *BMC Genomics*, 2008, 9(1): 10
- Nelson JS. *Fishes of the world*. 4th ed. New York: John Wiley and Sons, 2006
- Serb JM, Lydeard C. Complete mtDNA sequence of the North American freshwater mussel, *Lampsilis ornata* (Unionidae): An examination of the evolution and phylogenetic utility of mitochondrial genome organisation in Bivalvia (Mollusca). *Molecular Biology & Evolution*, 2003, 20(11): 1854–1866
- Smith DR, Snyder M. Complete mitochondrial DNA sequence of the scallop *Placopecten magellanicus*: Evidence of transposition leading to an uncharacteristically large mitochondrial genome. *Journal of Molecular Evolution*, 2007, 65(4): 380–391
- Sun N, Li Q, Yu H, *et al.* Parentage determination of *Scapharca broughtonii* based on microsatellite analysis. *Periodical of Ocean University of China*, 2015, 45(9): 42–48 [孙楠, 李琪, 于红, 等. 利用微卫星标记的魁蚶混交家系鉴定. *中国海洋大学学报*, 2015, 45(9): 42–48]
- Sun S, Kong L, Yu H, *et al.* The complete mitochondrial genome of *Scapharca kagoshimensis* (Bivalvia: Arcidae). *Mitochondrial DNA*, 2015, 26(6): 957–9588
- Sun Y. Phylogenetic analysis of Salmonidae based on mitochondrial genes *COX1*, *Cytb* and *ND4*. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2015, 36(9): 9–17 [孙毅. 基于线粒体基因 *COX1*、*Cytb* 和 *ND4* 的鲑科鱼类的系统发育. *畜牧与饲料科学*, 2015, 36(9): 9–17]
- Wang Y, Wu ZH, Li HY, *et al.* Analysis and evaluation of nutrition composition in soft tissue of *Anadara uropygimelana*. *Progress in Fishery Sciences*, 2013, 34(1): 133–139 [王颖, 吴志宏, 李红艳, 等. 青岛魁蚶软体部营养成分分析及评价. *渔业科学进展*, 2013, 34(1): 133–139]
- Wang ZC, Zhang GF, Gao YM, *et al.* The effects of temperature and foods on the development of gonad of the blood cockle, *Arca inflata*. *Journal of Dalian Fisheries University*, 1987, 8(2): 1–10 [王子臣, 张国范, 高悦勉, 等. 温度和饵料对魁蚶性腺发育的影响. *大连水产学院学报*, 1987, 8(2): 1–10]
- Wu B, Yang AG, Liu ZH, *et al.* The relationship between morphometric traits and body weight of *Scapharca broughtonii* in two different populations. *Progress in Fishery Sciences*, 2010, 31(6): 54–59 [吴彪, 杨爱国, 刘志鸿, 等. 魁蚶两个不同群体形态性状对体质量的影响效果分析. *渔业科学进展*, 2010, 31(6): 54–59]
- Xu FS, Zhang SP. *Marine bivalve in Chinese*. Beijing: Science Press, 2008, 27–45 [徐凤山, 张素萍. *中国海产双壳类图志*. 北京: 科学出版社, 2008, 27–45]
- Xu K, Kanno M, Yu H, *et al.* Complete mitochondrial DNA sequence and phylogenetic analysis of Zhikong scallop *Chlamys farreri* (Bivalvia: Pectinidae). *Molecular Biology Reports*, 2011, 38(5): 3067–3074
- Yang Q, Li Q, Nie HT, *et al.* Artificial induction of gynogenesis in *Scapharca broughtonii*. *Marine Sciences*, 2011, 35(10): 11–15 [杨青, 李琪, 聂鸿涛, 等. 魁蚶雌核发育的人工诱导. *海洋科学*, 2011, 35(10): 11–15]
- Yao HW, Guo J, Jing NN. Culture status and research progress on genetic diversity of *Scapharca broughtonii*. *Hebei Fisheries*, 2010(5): 45–47 [姚红伟, 郭晋, 景娜娜. 魁蚶增殖养殖状况及遗传多样性研究进展. *河北渔业*, 2010(5): 45–47]
- Yokogawa K. Morphological and genetic differences between Japanese and Chinese red ark shell *Scapharca broughtonii*. *Fisheries Science*, 1997, 63(3): 332–337
- Yu Z, Wei Z, Kong X, *et al.* Complete mitochondrial DNA sequence of oyster *Crassostrea hongkongensis*-a case of "Tandem duplication-random loss" for genome rearrangement in *Crassostrea*? *BMC Genomics*, 2008, 9(1): 477
- Yu ZN, Kong XY, Yang R, *et al.* Allozyme variation in populations of *Scapharca broughtonii*. *Journal of Ocean*

- University of Qingdao, 1998, 28(1): 51–58 [喻子牛, 孔晓喻, 杨锐, 等. 魁蚶(*Scapharca broughtonii*)等位基因酶遗传变异研究. 青岛海洋大学学报, 1998, 28(1): 51–58]
- Yu ZN, Yang R, Kong XY, *et al.* Investigation of allozyme variation in bloody clam (*Scapharca broughtonii* Schrenck) from Qingdao coastal waters. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 1998(3): 471–476 [喻子牛, 杨锐, 孔晓瑜, 等. 青岛近海毛蚶群体等位基因酶遗传变异. 中国水产科学, 1998(3): 471–476]
- Zhang QG, Wang SJ, Liao GR, *et al.* Artificial breeding technology of *Scapharca broughtonii*. *Shandong Fisheries*, 2003(8): 22–23 [张启刚, 王书军, 缪国荣, 等. 魁蚶人工育苗技术. 齐鲁渔业, 2003(8): 22–23]
- Zhang YX, Zhou XJ, Jiang HB, *et al.* Investigation on the ecological habits of *Scapharca broughtonii* from Shandong coastal waters. The collection of shellfish (5–6th series), Qingdao: Qingdao Ocean University Press, 1995 [张玉玺, 周学家, 姜海滨, 等. 山东近海魁蚶生态习性的调查. 贝类学论文集(第五–六辑). 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1995]
- Zhou W, Liu YB, Li K, *et al.* Observation of burrowing behavior and ability of spat with different sizes in *Scapharca broughtonii* Schrenck. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2011, 26(6): 550–553 [周玮, 刘一兵, 李坤, 等. 魁蚶苗种的潜沙行为观察. 大连海洋大学学报, 2011, 26(6): 550–553]
- Zou Y, Zheng YY, Qiu ZX, *et al.* Technology on maturation inducement and healthy seed rearing of *Scapharca broughtonii*. *Fisheries Science & Technology Information*, 2010, 37(2): 95–98 [邹琰, 郑永允, 邱兆星, 等. 魁蚶亲贝促熟与健康苗种培育技术. 水产科技情报, 2010, 37(2): 95–98]

(编辑 冯小花)

The Taxonomic Status of Chinese Population of *Scapharca broughtonii* Based on Sequences of *COI* and *12S rRNA* Genes

LI Yaoyao¹, LIU Yunguo^{1,2①}, LIU Xiaoling¹, LIU Lingxiao³, MA Chao⁴

(1. College of Life Science, Yantai University, Yantai 264005; 2. College of Life Sciences and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046; 3. Linyi Academy of Agricultural Sciences, Linyi 276012; 4. Yantai Lanbai Dining Co., Ltd., Yantai 264001)

Abstract There still exists considerable controversy regarding the taxonomic status of different geographical populations of *Scapharca broughtonii* in Northeast Asia. To study the taxonomic status of the Chinese population of *S. broughtonii*, the mitochondrial genomic *COI* and *12S rRNA* sequences of the Chinese population of *S. broughtonii* were determined using PCR amplification and sequencing. To analyze the molecular phylogenetic relationships and classification, the homologous sequences of 26 species of shellfish were downloaded from GenBank, the molecular phylogenetic trees of *COI* and *12S rRNA* of Arcidae molluscs were constructed using the neighbor-joining and maximum-parsimony methods with *Mytilus edulis* as the outgroup taxa. The results showed that the base composition, codon utilization, and mutation locus of *COI* and *12S rRNA* genes were similar to those of the Japanese population of *S. broughtonii* and *A. sativa*, while the genetic distance was small, showing the genetic relationship was close. The classification status of the Chinese population of *S. broughtonii* was consistent with that of *S. broughtonii*. The purpose of this research was to better understand the arkshell genetic background and resources, to protect the natural resources, and promote the development of aquaculture.

Key words *Scapharca broughtonii*; *COI* and *12S rRNA*; Phylogeny; Taxonomic status

① Corresponding author: LIU Yunguo, E-mail: yguoliu@163.com