

两种蛤仔线粒体 16S rRNA 基因和 CO I 基因的序列比较

刘相全¹, 包振民², 方建光³, 王如才²

(1. 山东省海洋水产研究所, 山东 烟台 264006; 2. 中国海洋大学, 山东 青岛 266003; 3. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 对菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)和杂色蛤仔(*Ruditapes variegata*)的线粒体 16S rRNA 基因和 CO I 基因序列进行了分析。结果表明, 16S 序列共有 117 个变异位点, CO I 序列共有 160 个变异位点, CO I 基因编码的 219 个氨基酸序列中有 29 个不同。根据 16S 序列和 CO I 基因编码的氨基酸序列进行聚类分析, 两种蛤仔与硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*)之间的聚类结果并不一致, 有必要对缀锦蛤亚科更多的相近种进行序列分析。

关键词: 菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*); 杂色蛤仔(*Ruditapes variegata*); mtDNA; 16S rRNA 基因; CO I 基因

中图分类号: S968.3

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2011)10-0027-07

线粒体 DNA(mtDNA) 由于具有分子质量小、结构简单、表现为母系遗传、进化速度快等特点,成为动物群体遗传学和系统进化研究中的重要对象。对于选定的基因或基因片段,可通过互补于高度保守区域的通用引物进行 PCR 扩增,然后进行分子克隆测序或 PCR 产物直接测序,对序列数据进行分析。在海洋贝类方面,根据 mtDNA 区段或基因的序列来构建分子系统树,并进而进行分类和进化分析的研究已有许多报道。

Canapa 等^[1-3]根据 16S rRNA 基因序列分别对 8 种、14 种帘蛤科贝类进行聚类分析表明,缀锦蛤亚科的 6 个种类尽管可以聚在一起,但在属的水平上的分类则不能很好的对应;对 8 种扇贝科贝类的系统发生进行了研究,发现有两种扇贝应为同一种类。Barucca 等^[4]分析了 23 种扇贝科贝类的 16S 和 12S 基因片段,两个片段反应的扇贝间的亲缘关系基本一致。Matsumoto 等^[5-6]根据 CO I 的氨基酸序列对 17 种扇贝科贝类的分类进行了研究,结果支持 Waller 的形态学分类系统;对翼形亚纲的分类进行了研究,并与 18S rDNA 的分类结果进行了比较。Yu 等^[7]根据 16S 和 CO I 两个片段的序列分析了中国沿海 4 种牡蛎的分类情况。杨建敏等^[8]研究了 3 种鲍的 16S rRNA 基因。Therriault 等^[9]根据 16S 和 CO I 两个片段的序列对黑海饰贝科的分类进行了研究,分清了同物异名的两个种;16S 和 CO I 两个片段对种内生态型之间的差异则不能很好地区分。

蛤仔属(*Ruditapes*)作为帘蛤科的一个属,是 Fischer-Piette 等对缀锦蛤亚科订正后提出的。在我国蛤仔属只有两个种,即菲律宾蛤仔(*R. philippinarum*)和杂色蛤仔(*R. variegata*)。为了进一步比较这两种在外形上酷似的帘蛤科贝类,本文通过对线粒体 DNA 的 16S 和 CO I 两个片段进行扩增、测序,分析了两个序列的基本特征,并引用 Genbank 中其他 2 种贝类的序列,进行了系统发生的比较。

1 材料与方法

1.1 样品收集和 DNA 提取

菲律宾蛤仔(*R. philippinarum*, 简称 RP)取自青岛,杂色蛤(*R. variegata*, 简称 RV)取自湛江硇洲岛。常规酚氯仿法提取基因组 DNA。

1.2 PCR 扩增、克隆和测序

PCR 扩增用引物: 16S 采用 Palumbi 等^[10]设计的通用引物, 16sar-L (5'-CGCCTGTTTATCAAAAA-CAT-3')和 16sbr-H (5'-CCGGTCTGAACTCAGATCA-CGT-3'); CO I 采用 Folmer 等^[11]设计的引物 COIL1490/COIH2198: GGTCAACAAATCATAAAG-ATATTGG/TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA。

收稿日期: 2011-07-18; 修回日期: 2011-09-06

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2002AA603015); 山东省农业良种工程课题“优质高产抗逆贝类良种选育”

作者简介: 刘相全(1968-), 男, 山东莒县人, 副研究员, 博士, 研究方向: 水产动物遗传育种, E-mail: lxq6808@163.com

PCR 扩增采用 25 μ L 体系, 包括 30~50 ng 基因组 DNA, 0.2 mmol/L dNTP, 1 μ mol/L 引物, 缓冲液 (10 mmol/L Tris-HCl, 1.5 mmol/L MgCl₂, 50 mmol/L KCl), 以及 0.025 U *Taq* 酶/ μ L。94 $^{\circ}$ C 变性 2 min, 然后 35 个循环(94 $^{\circ}$ C 40 s, 56 $^{\circ}$ C 1min, 72 $^{\circ}$ C 1min)最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。扩增片段在 2%的琼脂糖胶上检测。PCR 产物连接到 PMD18-T, 然后转化到 *E.coli* DH5 α 细胞, 37 $^{\circ}$ C 培养, 涂平板, 挑克隆, 载体引物检测, 双向测序。序列提交到 Genbank。

1.3 序列分析

测序结果去掉两端引物序列后, 用 CLUSTALX 1 软件进行比对, 用 MEGA 2 软件(Kumar 等, 2001)的距离法对序列进行分析。根据 Kimura(1980)双参数法计算距离, 产生的矩阵根据 NJ 法(Saitou and Nei, 1987)分析系统发生的关系。系统发生关系的置信度用自展(bootstrap)重复分析验证(重复次数 NJ 为 1 000, MP 为 100)。引用的序列包括硬壳蛤 (*Mercenaria mercenaria*, 简称 MM。16S: AJ548773,

CO I : U47648)和白斑乌贼(*Sepia latimanus*, 简称 Sla。16S: AB192322, CO I : AB192338)以及菲律宾蛤仔 16S 的序列 AF484296。菲律宾蛤仔 CO I 和杂色蛤仔 CO I、16S 的序列号为 JN248565~JN248567。

2 结果

每种蛤仔用 10 只个体进行 PCR 扩增, 所有扩增结果均为单一产物。两种蛤仔的序列长度和 4 种碱基的含量见表 1、表 2。菲律宾蛤仔和杂色蛤仔 16S 序列长度分别为 511 bp 和 476 bp, CO I 序列的长度都是 658 bp, 结合对软体动物相关片段的分析, 这两个片段具有明显的长度保守性。两个片段的 GC 含量菲律宾蛤仔都低于杂色蛤仔, 而 GC 含量都低于 AT 含量, 符合线粒体 DNA 的碱基组成特点。两个片段的 GC 含量比较接近, 但 CO I 基因片段碱基 T 的含量要明显高于 16S rRNA 基因片段核苷酸中 T 碱基的含量。

表 1 两种蛤仔 16S 序列的长度以及碱基组成

Tab. 1 Size and GC content of the 16S rRNA gene

物种	总长(bp)	T(%)	C(%)	A(%)	G(%)	GC(%)	注册号
菲律宾蛤仔	511	33.3	10.8	33.5	22.5	33.3	AF484296
杂色蛤仔	476	31.1	12.4	32.6	23.9	36.3	JN248567

表 2 两种蛤仔 CO I 序列的长度以及碱基组成

Tab. 2 Size and GC content of the CO I gene

物种	总长(bp)	T(%)	C(%)	A(%)	G(%)	GC(%)	注册号
菲律宾蛤仔	658	42.2	12.8	23.4	21.6	34.4	JN248566
杂色蛤仔	658	39.7	13.4	22.9	24.0	37.4	JN248565

两种蛤仔 CO I 基因片段 658 个核苷酸编码的 20 种氨基酸组成的 219 个氨基酸序列中, 都是亮氨酸 (Leu) 含量最高, 分别为 16.44%(RP) 和 14.16%(RV)。排在其后的氨基酸含量两种蛤仔略有

不同, 菲律宾蛤仔依次是甘氨酸(Gly), 甲硫氨酸 (Met), 而杂色蛤仔为甲硫氨酸(Met), 甘氨酸(Gly)。从总体看, 两种蛤仔的氨基酸组成还是具有较高的相似性(表 3)。

表 3 两种蛤仔 CO I 基因的氨基酸组成

Tab. 3 The amino acid composition(%) of the CO I gene

物种	Ala	Cys	Asp	Glu	Phe	Gly	His	Ile	Lys	Leu
菲律宾蛤仔	5.48	0.91	3.65	0.46	7.76	10.96	2.28	7.31	0.91	16.44
杂色蛤仔	7.31	0.91	3.65	0.46	7.76	9.13	1.83	6.39	0.91	14.16
物种	Met	Asn	Pro	Gln	Arg	Ser	Thr	Val	Trp	Tyr
菲律宾蛤仔	8.68	2.74	4.57	0.46	2.28	7.31	5.48	7.76	2.28	2.28
杂色蛤仔	9.59	3.20	4.57	0.46	2.28	8.22	5.48	9.13	2.28	2.28

两种蛤仔 16S 序列比对结果见图 1。516 个位点中共有 117 个变异位点(其中, 插入缺失 44, 多态位点 73 个), CO I 序列 658 个位点中共有 160 个变异位

点, 全是多态位点, 没有插入缺失(图 2)。CO I 基因编码的 219 个氨基酸序列, 两种蛤仔有 29 个氨基酸不同(图 3)。

		*	20	*	40	*	60	*	
RP	GGCTTTT	TGAGTATTTA	-AATAATAAAAA	AGTCTGGCCTGCC	CAGTGAGTATA	-TTAAATGGCTG	CAACGA		68
RV		--CT....T....	-.....G.....	G....A...A....	C....T....				66
		80	*	100	*	120	*	140	
RP	GAGTTGT	ACTAAGGTAGCG	GATAAATTTGTCT	CTTAATTAGAGA	ATGGTATGAAGGG	TTAGACGTGGG	AT		138
RV		A.G.....		G.....	A...T.T.A.A	AGC			136
		*	160	*	180	*	200	*	
RP	TATTGTCT	CTAAAAA	TACAGTTAAGTT	TCCTTTTAAATG	AAAAGGTTTAA	ATTAT-TAAAAG	ACGAGA		207
RV	GG.....	TA...G..A...	T.....		AA.AA.....				206
		220	*	240	*	260	*	280	
RP	AGACCCTG	TCGAGCTTAAT	TAAATAAAAAA	CTAGATATGGT	TAAATGAAAAG	TGTTAATAGTT	TAAATTGT		277
RV		AG.....GA.G...	G...TCT...C..	GC.-----		-----			257
		*	300	*	320	*	340	*	
RP	TGGCTGAG	TTTTTAATTGA	AGTTTAGTTGGG	GAGAGCTGAGTT	TAAAGGTAATA	AACTTA-AGAA	ATACTA		346
RV	..--.A..	-----	...--.....	AG.T..GAC..	C.AA.....	GT.C.T.TT..	--.-.		310
		360	*	380	*	400	*	420	
RP	AAGATCCT	CTTTGAGAGAA	-GTTAGCAAAAG	CTACCGCAGGG	ATAACAGCGTA	ATTCTTTTAA	GAGATC		415
RV	T.....	T....A...A...	G.....G.....	G...T..C.....					380
		*	440	*	460	*	480	*	
RP	TTATTGAGG	GAAGAGTTTG	CGACCTCGATG	TGATTAGAAAA	CTTTTGGTGTAG	CAGCTAGAAG	TTG		485
RV	G.....	A.....		G.....C.....	C.....AG....				450
		500	*						
RP	TAAGACTG	TTCGTCTTTT	AATTTTCT						511
RV		A..C..							476

图 1 两种蛤仔 16S 序列的比对图

Fig. 1 Alignment of 16S rDNA sequences of two clams

以 16S 序列计算两种蛤仔与其他几种贝类的碱基替换/颠换率以及距离, 以 CO I 基因编码的氨基酸序列计算两两之间的遗传距离, 结果见表 4。两两之间的遗传距离最小值 16S 的结果在菲律宾蛤仔与杂色蛤仔之间为 0.17, 而 CO I 氨基酸序列的结果在杂色蛤仔与硬壳蛤之间为 0.14, 不过与两种蛤仔之间的遗传距离 0.15 非常接近。

系统关系分析分别用 16S 序列和 CO I 编码的蛋白序列进行。根据 16S 序列构建的系统树见图 4, NJ 树和 MP 树完全一致, 两种蛤仔都聚为一支, 硬壳蛤与白斑乌贼单独聚为一支, 这与传统的分类是一致的。而根据 CO I 基因编码的蛋白序列构建的系统树(图 5), 与 16S 序列的结果不太一致, NJ 树虽将两种蛤仔聚在一起, 但这一支的置信度比较低, 也就是

```

          *      20      *      40      *      60      *
RV  GACTTTATATTTATTTTCTATTTGAGCCGGCCTTATAGGGACTGCGTTTAGAGTAATTATTCGAATG  70
RP  T..A.....C.....A....G..T..T..G..G.....T....T..T.....T..A  70

          80      *      100      *      120      *      140
RV  GAATTAGCTATGCCTGGGAAGATATTGGATGATGGTCAGTTATATAATTTAGTGGTAACGCGCATGGTT  140
RP  ..G..G.....G....A..GC.A.....C.T.....T.....T....A.  140

          *      160      *      180      *      200      *
RV  TGGAATAATTTCTTTTGTAGTAATACCTATAATGATTGGGGGTTTGGGAATTGGTTGGTGCCTTTAAT  210
RP  .A..T..G....T..C.....A....A..C..T..G....T.....A..T..G....  210

          220      *      240      *      260      *      280
RV  ATTAAAGGCACCTGACATGGCTTTTGCACGAATAAATAATTTGAGTTTCTGGCTTTTACCTGTGTCTATA  280
RP  .....AAT.....T..A..A..C.T.....A....T...T.AC.T....A..A..  280

          *      300      *      320      *      340      *
RV  ATGTTATTGTTGAGGTCCAGGTATGTGGATGGTGGTGCTGGAACGGGTGAACTATTTATCCGCCTTTAT  350
RP  T.....A..AG...TGCA.....G....T..T.....AG.G..C..T.TG..G.  350

          360      *      380      *      400      *      420
RV  CTAGTGCTATTTACATTCTGGGTGTGCTATGGACTATGTCATCTTTTCTTTACATGTTGGGGGAATATC  420
RP  .GTCAAT.GGG.TC....A..T.....G....T....A..T.....C.T..C..A..T..TG.C..  420

          *      440      *      460      *      480      *
RV  CTCTATTACAGCATCTATTAATTTTCGTTATTACTACAGTTCTTATACGGAGGGGGGTGATAGTATTATTC  490
RP  T..A...TT...T.....T..A.....TCAT.G..G..A.CA..T..C..GT..A..T..G  490

          500      *      520      *      540      *      560
RV  CGGGCTAGAATGTTAGTGTGGTGCTTAGGAGTAACTGCTTTCTTGTGGTAGTGGCGATACCTGTGCTGG  560
RP  ..TAG...T..A....CT....T.....A.G...TC.T...A..T..A..T....A..TT...  560

          *      580      *      600      *      620      *
RV  CGGGAGCTTTAACTATGTTATTAAGTATGTAAGTTTAACTACAAGGTTTTTGTATCCAGTAGGAATAGG  630
RP  .A..G.G.....C.GC.T.G.....C.T.....CA.....A....GT.G..  630

          640      *
RV  GGACCCTATTTATTTATTCATTTGTTT  658
RP  A.....A...  658

```

图 2 两种蛤仔 CO I 序列的比对图

Fig. 2 Alignment of CO I gene sequences of two clams

		*	20	*	40	*	60	*																													
RV	TL	YF	IF	SI*AG	LIG	TA	FR	VI	IRMEL	AM	PG	KIL	DD	GQ	LY	NLV	VT	AH	GL	VI	IF	FL	VI	PIM	IG	GF	GN	LV	PL	IL	KA	72					
RP		W		S																										I	73						
		80	*	100	*	120	*	140																													
RV	PD	MA	FA	R	IN	NS	FW	LP	VS	IM	LL	RS	RY	VD	GG	AG	TG-TI	YP	PL	SS	AI	SH	SG	CA	MD	YV	IF	SL	HV	GG	IS	IT	ASI	144			
RP		P																														L...	145				
		*	160	*	180	*	200	*																													
RV	NF	VI	TT	VL	IR	RG	VI	LV	FR	AR	ML	VW	CL	GV	TA	FL	VV	AI	PV	LA	GA	LT	ML	LT	DR	NF	NT	RF	FD	PV	GI	GP	IL	FI	HL	F	217
RP		S	...	T		L	SS	..	A		G		G		H	...	T																		218		

图3 两种蛤仔 CO I 蛋白序列的比对图

Fig. 3 Alignment of the amino acid sequences of CO I gene of two clams

表4 4种贝类两两之间的遗传距离(分别对16S和CO I编码的氨基酸序列)

Tab. 4 The pair-wise genetic distance matrix of CO I and 16S rRNA gene

	菲律宾蛤仔	杂色蛤仔	硬壳蛤	白斑乌贼
菲律宾蛤仔	—	2.39/—	1.97/—	1.60/—
杂色蛤仔	0.17/0.15	—	1.54/—	1.75/—
硬壳蛤	0.22/0.16	0.24/0.14	—	1.21/—
白斑乌贼	0.41/0.46	0.44/0.44	0.38/0.44	—

注: 对角线的右上栏为16S序列间的碱基替换/颠换率; 左下栏前面为16S序列间的距离, 后面为CO I编码的氨基酸序列间的距离

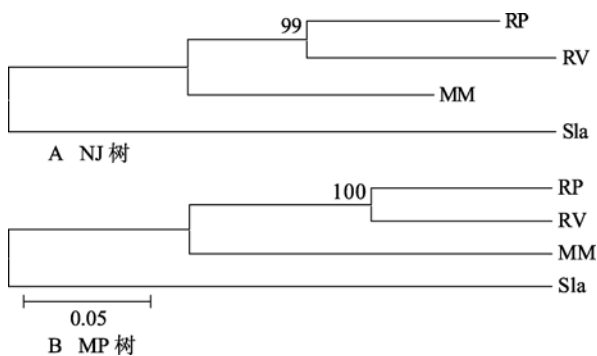


图4 根据16S序列构建的系统树

Fig. 4 Phylogenetic relationships based on 16S rRNA sequences

说, 两种蛤仔与硬壳蛤的差异不是很大; 而MP树则将两种蛤仔与硬壳蛤聚为一支, 说明这三种蛤之间的差异非常小。

3 讨论

帘蛤科贝类在全世界广为分布, 包括500多个种类, 许多种类都具有重要经济价值。帘蛤科贝类生活习性比较一致, 形态也比较相似, 这使得根据形

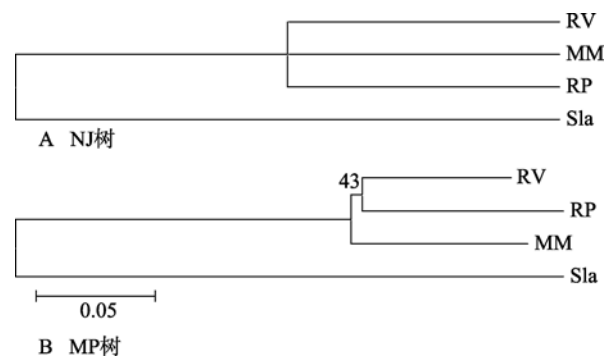


图5 根据CO I基因编码的蛋白序列构建的系统树

Fig. 5 Phylogenetic relationships based on the amino acid sequences of CO I genes

态对系统发生关系的分析非常困难。因此, 许多的生化手段被用来研究帘蛤科的分类问题, 而分子生物学的研究还刚刚开始。本文得到了两种蛤仔线粒体DNA 16S rRNA和CO I两个片段的序列, 分析了两种蛤仔这两个片段的序列特征, 并从进化的角度分析了它们的变异, 为利用分子生物学的方法研究帘蛤科分类提供了一定的依据。

蛤仔属在帘蛤科中的分类地位一直存在着争议,其属下种的归属问题也曾经比较混乱。因为蛤仔属 *Ruditapes* 和缀锦蛤属 *Tapes*、石蛤属 *Venerupis* 的亲缘关系很近,形态结构非常相似。1951 年,Keen 把 *Ruditapes* 作为 *Tapes* 的亚属。1971 年,法国自然史博物馆 Fischer-Piette 和 Metivier 对缀锦蛤亚科各个属铰合部主齿板的形态进行了仔细比较研究后,把 *Ruditapes* 提升为属,根据他们的分类系统,菲律宾蛤仔与杂色蛤仔都应当是在 *Ruditapes* 的属下^[12]。

本文对 16S 序列的分析结果表明,两种蛤仔的亲缘关系比较接近,而与同为帘蛤科的硬壳蛤有明显的差异。但对 CO I 序列的分析结果则表明,两种蛤仔之间的关系以及它们与硬壳蛤之间的关系差异不明显。不同的 DNA 片段进行聚类分析会产生不同的结果^[13],这说明蛤仔属与其他相近属种的亲缘关系非常接近。潘鹤婷等^[14]的聚类结果也表明两种蛤仔不能聚为一支。Canapa 等^[3]对帘蛤科贝类根据 16S rRNA 基因序列的研究表明,缀锦蛤亚科的 6 个种类尽管可以聚在一起,但在属的水平上的分类则不能很好的对应,其中的菲律宾蛤仔与错纹蛤仔 (*Ruditapes decussatus*)就不能在属的水平上聚类。一般认为,CO I 序列比 16S 序列具有更大的变异性,因此,在区分近缘种的分类关系上,CO I 序列比 16S 序列更灵敏。Boudry 等^[15]用 9 种内切酶对太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 和葡萄牙牡蛎 (*Crassostrea angulata*) 的 253 个个体的 16S 序列 PCR 产物进行酶切,未发现有任何酶切位点变异;但用 4 种内切酶对同样个体的 CO I 序列 PCR 产物进行酶切,却检测到了明显的多态性。

对帘蛤科缀锦蛤亚科各个属及属内包含的种进行细致明确的分类,需要对更多相近种分析更多的 DNA 序列,包括核 DNA 和线粒体 DNA 的序列。在系统演化研究中,采用多组分子生物学数据并结合形态特征、解剖结构等分析,将有助于正确阐述物种间真实的进化关系以及某个物种在系统演化中的确切地位。

参考文献:

- [1] Canapa A, Barucca M, Marinelli A, et al. Molecular data from the 16S rRNA gene for the phylogeny of Pectinidae (Mollusca: Bivalvia) [J]. J Mol Evol, 2000, 50: 93-97.
- [2] Canapa A, Marota I, Rollo F, et al. Phylogenetic analysis of Veneridae (Bivalvia): Comparison of molecular and palaeontological data[J]. J Mol Evol, 1996, 43: 517-522.
- [3] Canapa A, Schiaparelli S, Marota, et al. Molecular data from the 16S rRNA gene for the phylogeny of Veneridae (Mollusca: Bivalvia) [J]. Marine Biology, 2003, 142: 1125-1130.
- [4] Barucca M, Olmo E, Schiaparelli S, et al. Molecular phylogeny of the family Pectinidae (Mollusca: Bivalvia) based on mitochondrial 16S and 12S rRNA genes[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2004, 31: 89-95.
- [5] Matsumoto M. Phylogenetic analysis of the subclass Pteriomorphia (Bivalvia) from mtDNA COI sequences[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2003, 27: 429-440.
- [6] Matsumoto M, Hayami I. Phylogenetic analysis of the family Pectinidae (Bivalvia) based on mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I[J]. J Moll Stud, 2000, 66: 477-488.
- [7] Yu Z N, Kong X Y, Zhang L S, et al. Taxonomic status of four Crassostrea oysters from China as inferred from mitochondrial DNA sequences[J]. Journal of Shellfish Research, 2003, 22(1): 31-38.
- [8] 杨建敏, 郑小东, 王如才, 等. 3 种鲍 16S rRNA 基因片段序列的初步研究[J]. 青岛海洋大学学报, 2003, 33(1): 36-40.
- [9] Therriault T W, Docker M F, Orlova M I, et al. Molecular resolution of the family Dreissenidae (Mollusca: Bivalvia) with emphasis on Ponto-Caspian species, including first report of *Mytilopsis leucophaeata* in the Black Sea basin[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2004, 30(3): 479-489.
- [10] Palumbi S R, Martin A, Romano S, et al. The simple fool's guide to PCR[J]. Honolulu: University of Hawaii Press, 1991.
- [11] Folmer O, Black M, Hoeh W, et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates[J]. Mol

- Mar Biol Biotechnol, 1994, 3: 294-299.
- [12] 庄启谦. 中国动物志: 软体动物门 双壳纲 帘蛤科 [M]. 北京: 科学出版社, 2001: 41-52.
- [13] 刘相全, 包振民, 胡景杰, 等. 几种帘形目贝类 rDNA ITS 序列的比较[J]. 高技术通讯, 2007, 17(4): 435-440.
- [14] 潘鹤婷, 袁媛, 吴琪, 等. 缀锦蛤亚科(Tapetinae)贝类线粒体 DNA 序列的系统学分析[J]. 海洋与湖沼, 2008, 39(3): 284-290.
- [15] Boudry P S, Heurtebise S, Collet B, et al. Differentiation between population of the Portuguese oyster, *Crassostrea angulata*(Lamark)and the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), revealed by mtDNA RFLP analysis[J]. J Exp Mar Biol Eco, 1998, 226: 279-291.

Molecular phylogeny of the genus *Ruditapes* (Mollusca: Bivalvia) based on mitochondrial 16S and COI sequences

LIU Xiang-quan¹, BAO Zhen-min², FANG Jian-guang³, WANG Ru-cai²

(1. Shandong Marine Fisheries Research Institute, Yantai 264006, China; 2. Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 3. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Qingdao 266071, China)

Received: Jul., 18, 2011

Key words: *Ruditapes philippinarum*; *Ruditapes variegata*; mtDNA; 16S rRNA gene; CO I gene

Abstract: DNA sequence comparisons of two mitochondrial DNA genes were used to infer phylogenetic relationships of the genus *Ruditapes*. The 16S rRNA gene displayed 117 variable sites and the CO I gene displayed 160. There were 29 variable amino acid residues among the 219 of the CO I gene. Phylogenetic analysis using sequences of 16S rRNA gene and CO I gene yielded trees with different topology. More sequences among more species of subfamily Tapetinae would contribute to improve existing classification systems.

(本文编辑: 康亦兼)