

# 洪泽湖河蚬(*Corbicula fluminea*) 2 种表型 群体的遗传变异分析\*

李大命<sup>1</sup> 张彤晴<sup>1①</sup> 唐晟凯<sup>1</sup> 钟立强<sup>1</sup>  
黄越峰<sup>2</sup> 穆欢<sup>2</sup> 刘燕山<sup>1</sup> 刘小维<sup>1</sup>

(1. 江苏省淡水水产研究所 江苏省内陆水域渔业资源重点实验室 南京 210017;

2. 江苏省洪泽湖渔业管理委员会办公室 淮安 223002)

**摘要** 采用形态学分析(壳长、壳宽和壳高)和分子标记技术(细胞色素氧化酶 I 基因, *COI*)对洪泽湖河蚬(*Corbicula fluminea*)黄色和黑色 2 个群体的形态和遗传多样性特征进行研究。形态参数统计分析结果显示, 2 个群体的形态特征之间有显著性差异。经 PCR 扩增和序列测定, 获得 614 bp *COI* 基因序列, 2 个群体的 *COI* 基因序列的碱基组成高度一致, 均表现出 A+T 的含量(64.8%)明显高于 G+C 的含量(35.2%)。28 个黑色个体发现 7 种单倍型, 单倍型多样性和核苷酸多样性分别为 0.794 和 0.04274; 30 个黄色个体发现 5 种单倍型, 单倍型多样性和核苷酸多样性分别为 0.607 和 0.02825。单倍型之间的遗传距离在 0.002–0.091 之间, 其 NJ 和 MP 系统发生树表明, *COI* 基因单倍型聚为 2 个明显分支。分子方差分析(AMOVA)结果显示,  $F_{st} = 0.21736$  ( $P < 0.01$ ), 21.74% 的变异来自群体间, 78.26% 的变异来自群体内, 2 个群体之间有显著的遗传分化。研究表明, 应将洪泽湖河蚬黑色和黄色群体分别作为独立单元进行管理和保护。

**关键词** 河蚬; 细胞色素氧化酶 I; 遗传多样性; 分子方差分析; 洪泽湖

**中图分类号** S936.2 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2017)04-0111-07

河蚬(*Corbicula fluminea*)属软体动物门、瓣鳃纲、真瓣鳃目、蚬科、蚬属, 是我国常见的小型双壳经济贝类, 在淡水、咸淡水的江河、湖泊、池塘中广泛分布, 是底栖动物群落中的优势种群(杞桑等, 1987; 蔡炜等, 2010; 李德亮等, 2013)。河蚬在水生态系统的物质循环和能量流动中具有重要作用, 也是构建生物浮床净化富营养化水体常用的底栖生物种类(Li *et al.*, 2010)。同时, 河蚬营养丰富、味道鲜美, 是很多国家居民的美食, 国际市场对河蚬需求量也在逐渐增加。近年来, 河蚬养殖业悄然兴起, 已成为淡水经济贝类的养殖热点之一。由于养殖所需苗种主要来自于

采捕野生苗, 导致对河蚬资源的捕捞强度逐渐加大, 再加之水环境污染, 使得其天然资源量呈现急剧下降。因此, 保护和恢复河蚬野生种质资源成为亟待解决的问题。

洪泽湖是中国第四大淡水湖泊, 位于江苏省西部淮河干流中下游, 是具有防洪、灌溉、调水、水产、水运、水电等综合利用功能的平原型浅水湖(王兆群等, 2010)。历史上洪泽湖河蚬资源量较为丰富, 分布遍及全湖, 是洪泽湖重要的出口创汇水产品之一。在 20 世纪 80 年代初期, 洪泽湖年产河蚬 32 万 t, 到 90 年代初减少到 21.29 万 t。近年来, 资源量下降到 5 万 t,

\* 江苏省三新工程项目(Y2015-18)和江苏省渔业生态环境与资源监测项目(2016)共同资助[This work was supported by the Three Innovation Program of Jiangsu Province (Y2015-18), and the Freshwater Ecological Environment and Resources Program of Jiangsu Province (2016)]. 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: 2016-06-02, 收修改稿日期: 2016-06-21

分布区域也大大缩小(袁永浒等, 1994; 严维辉等, 2007; 毕婷婷等, 2014), 这较大地制约了河蚬产业的可持续发展。目前, 有关洪泽湖河蚬的研究主要集中在资源量调查及其分布、种群年龄结构、营养价值等方面(袁永浒等, 1994; 严维辉等, 2007; 毕婷婷等, 2014; 张超文等, 2012; 刘晶晶等, 2014), 而对于其种质资源遗传多样性的研究较少(丁怀宇等, 2011; 李大命等, 2015)。在本研究中, 以洪泽湖河蚬 2 种表型群体(黑色和黄色)为研究对象, 采用形态学分析和分子标记技术(*COI* 基因)研究河蚬 2 种群体的形态及遗传多样性, 以期洪泽湖河蚬种质资源保护提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样本来源及形态学测量

本研究于 2015 年 3 月在洪泽湖临淮水域采集河蚬样品, 采用工具为划耙, 耙齿间距为 8 mm, 耙宽为 70 cm。根据河蚬外壳颜色差异, 将洪泽湖河蚬分为黑色群体和黄色群体(图1)。随机选择部分河蚬样品, 其中, 黑色河蚬 28 个, 黄色河蚬 30 个。用电子天平称量河蚬湿重(Wet weight, WW), 精确到 0.01 g。称量前, 用滤纸将河蚬体表的水分吸干。用电子游标卡尺测量河蚬壳长(Shell length, SL)、壳宽(Shell width, SW)和壳高(Shell height, SH), 精确到 0.01 mm。



图 1 河蚬外壳差异

Fig.1 Distinct difference of external shell color of *C. fluminea*

### 1.2 DNA 提取、PCR 扩增及测序

取河蚬的肌肉组织, 用无水乙醇固定,  $-20^{\circ}\text{C}$  保存备用。基因组 DNA 的提取方法为酚-氯仿抽提法(Sambrook *et al.*, 1995)。DNA 经 75% (体积分数)乙

醇洗涤并在室温干燥, 最后用 100  $\mu\text{l}$  TE 溶解, 置于  $-20^{\circ}\text{C}$  保存备用。

*COI* 基因扩增引物分别为 F(5'-GGTCAACAAA-TCATAAAGATATTGG-3')、R(5'-TAAACTTCAGG-GTGACCAAAAATCA-3') (Folmer *et al.*, 1994)。PCR 反应体积为 50  $\mu\text{l}$ , 其中, 包括 25  $\mu\text{l}$  PCR mix, 上、下游引物各 2  $\mu\text{l}$  (10  $\mu\text{mol/L}$ ), 模板 2  $\mu\text{l}$ , 其余部分用超纯水补足。PCR 反应条件:  $94^{\circ}\text{C}$  预变性 4 min;  $94^{\circ}\text{C}$  变性 40 s,  $50^{\circ}\text{C}$  退火 40 s,  $72^{\circ}\text{C}$  延伸 50 s, 30 个循环;  $72^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min; 最后保持在  $4^{\circ}\text{C}$ 。

取 PCR 扩增产物进行 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 采用 DNA 凝胶回收试剂盒对目的片段进行回收纯化, 然后送上海生工生物技术有限公司进行双向测序。

### 1.3 数据处理和分析

采用 SPSS 16.0 软件对 2 种河蚬群体的形态学参数进行 *t* 检验, 当  $P < 0.05$  时为显著性差异。采用 Bioedit 7.5 软件对 *COI* 基因序列进行编辑、排序和比对, 并辅以人工校对。利用 MEGA 4.0 软件计算序列的碱基组成、多态性位点及转换/颠换比值(Tamura *et al.*, 2007)。利用邻接法(Neighbor joining)构建 *COI* 单倍型分子系统进化树, 经 1000 次重复抽样检测其置信度。运用 DnaSP 5.0 软件计算群体的遗传多样性参数, 包括单倍型数、单倍型多样性指数、核苷酸多样性指数和平均核苷酸差异数(Librado *et al.*, 2007)。使用 Arlequin 3.1 软件中的分子方差分析(AMOVA)方法估算遗传变异在群体间和群体内的分布, 并计算群体间遗传分化指数  $F_{st}$  值(F-statistics,  $F_{st}$ )及其 *P* 值(Excoffier *et al.*, 2005)。

## 2 结果

### 2.1 河蚬形态学特征

洪泽湖黑色和黄色河蚬群体的形态学参数见表 1。由表 1 可以看出, 黑色河蚬群体的重量、壳长、壳宽、壳高、壳长/壳宽、壳高/壳宽均大于黄色河蚬群体, 而壳长/壳高则小于黄色群体。统计分析结果显示, 除壳长/壳高之外, 2 个群体的形态学指标均存在极显著性差异( $P < 0.01$ )。

### 2.2 河蚬 *COI* 基因序列分析

黑色和黄色河蚬群体的 *COI* 基因序列碱基组成基本一致, *COI* 基因为 614 bp, 碱基序列中 A、T、G 和 C 的平均含量分别为 22.5%、42.3%、21.2% 和 14.0%, 均表现出碱基 A+T 含量(64.8%)大于 G+C 含

表 1 河蚬 2 个表型群体形态学参数  
Tab.1 Morphological parameters of two different phenotypical population of *C. fluminea*

表型 Phenotype	重量 WW	长度 SL	宽度 SW	高度 SH	长/宽比 SL/SW	长/高比 SL/SH	高/宽比 SH/SW
黑色群体 Black population	6.815±0.382	26.038±0.531	16.616±0.252	24.718±0.486	1.566±0.018	1.054±0.009	1.486±0.014
黄色群体 Yellow population	2.820±0.345	18.529±0.604	12.642±0.364	17.258±0.645	1.464±0.012	1.079±0.010	1.358±0.012

量(35.2%)。2 个群体的 *COI* 基因序列中均检出 53 个多态性位点, 转换/颠换比分别为 2.71 和 2.74, 没有插入、缺失位点。

### 2.3 种群遗传多样性参数

黑色河蚬群体检出 7 个单倍型(Hb1–Hb7), 黄色种群检出 5 个单倍型(Hy1–Hy5)。单倍型 Hb1、Hy5 及 Hb5、Hy2 是 2 个群体的共享单倍型。黑色群体中单倍型 Hb1 的数量最多(10 个), 占比 35.7%; 黄色群体中单倍型 Hy2 的数量最多(16 个), 占比 53.3%。2 个河蚬群体的遗传多样性见表 2。从表 2 可以看出, 共检出洪泽湖河蚬单倍型 10 个, 单倍型多样性指数为 0.726, 核苷酸多样性指数为 0.04021, 平均核苷酸差异数为 24.687。由表 2 可以得出, 洪泽湖河蚬群体的遗传多样性较高, 其中, 黑色群体的遗传多样性高于黄色群体。

### 2.4 群体遗传结构分析

洪泽湖河蚬 2 个群体的方差分析 (AMOVA) 结果显示(表 3), 遗传变异固定指数  $F_{st}=0.2174$ , 且统计

结果为极显著( $P<0.01$ ), 表明 2 个群体之间存在显著的遗传分化。在整个遗传变异中, 2 个群体之间的遗传变异占 21.74%, 而大部分变异(78.26%)发生在群体内部。

### 2.5 单倍型间的遗传距离及系统进化树

分析比较了 10 个单倍型之间的 Kimura-2-parameter 遗传距离, 其值在 0.002–0.091 之间, 平均遗传距离为 0.048 (表 4)。根据遗传距离大小, 可以将 10 个单倍型分为 2 个类群, 其中, 单倍型 Hb1/Hy5、Hb2、Hb3 和 Hb4 为一个类群, 而单倍型 Hy1、Hy2/Hb5、Hy3、Hy4、Hb6 和 Hb7 为另一个类群。

以中国圆蛤(*Mercenaria mercenaria*)为外群, 采用邻接法(NJ)和最大简约法(MP)构建 *COI* 基因单倍型系统发生树(图 2 和图 3)。结果显示, 10 个单倍型聚为 2 个明显的分支, 其中, 单倍型 Hy1、Hy2/Hb5、Hy3、Hy4、Hb6 和 Hb7 聚为一支, 单倍型 Hb1/Hy5、Hb2、Hb3 和 Hb4 聚为另一支。2 个分支系统树的置信度统计值较高, 说明 *COI* 单倍型系统进化树具有较高的可信度。

表 2 河蚬群体的遗传多样性参数  
Tab.2 Genetic diversity parameters of two populations of *C. fluminea*

遗传多样性参数 Genetic diversity parameters	黑色群体 Black population	黄色群体 Yellow population	总计 Total
个体数 Individual number	28	30	58
变异位点 Variable sites	53	53	55
单倍型数 Number of haplotype	7	5	10
单倍型多样性 Haplotype diversity	0.794	0.607	0.726
核苷酸多样性 Nucleotide diversity	0.04274	0.02825	0.04021
平均核苷酸差异数 Average number of nucleotide differences	26.243	17.343	24.687

表 3 洪泽湖河蚬群体 *COI* 基因的 AMOVA 分析  
Tab.3 AMOVA analysis of all mtDNA *COI* gene sequences from two *C. fluminea* populations

变异来源 Sources of variation	自由度 <i>df</i>	平方和 Sum of square	方差组分 Variance component	方差比例 Variance proportion (%)
群体间 Among populations	1	97.834	3.00415 Va	21.74
群体内 Within populations	56	605.752	10.81701 Vb	78.26
总体 Total	57	703.586	13.82116	100.00
固定指数 Fixation index			$F_{st}=0.2174 (P<0.01)$	

表4 河蚬10个COI单倍型之间的遗传距离  
Tab.4 Genetic distances among 10 COI gene haplotypes of *C. fluminea*

单倍型 Haplotype	Hb1/Hy5	Hb2	Hb3	Hb4	Hb5/Hy2	Hb6	Hb7	Hy1	Hy3	Hy4
Hb1/Hy5	0									
Hb2	0.002	0								
Hb3	0.005	0.003	0							
Hb4	0.007	0.005	0.002	0						
Hb5/Hy2	0.089	0.087	0.085	0.087	0					
Hb6	0.091	0.089	0.087	0.089	0.002	0				
Hb7	0.087	0.085	0.083	0.085	0.002	0.003	0			
Hy1	0.091	0.089	0.087	0.089	0.003	0.003	0.003	0		
Hy3	0.089	0.087	0.085	0.087	0.003	0.005	0.005	0.005	0	
Hy4	0.085	0.083	0.081	0.083	0.003	0.005	0.005	0.005	0.003	0

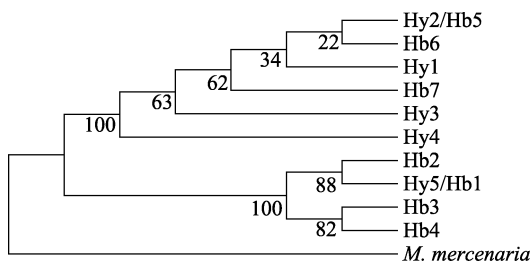


图2 河蚬COI基因10个单倍型NJ系统发生树  
Fig.2 Phylogenetic tree of 10 COI haplotypes of *C. fluminea*

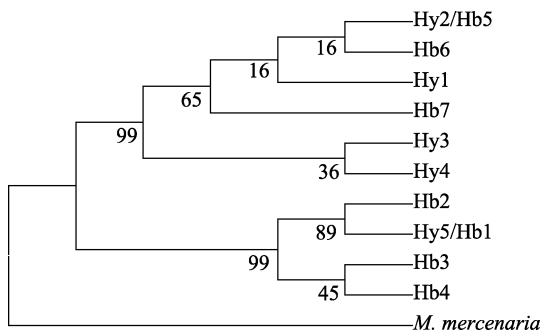


图3 河蚬COI基因10个单倍型MP系统发生树  
Fig.3 Maximum parsimony tree of 10 COI haplotypes of *C. fluminea*

### 3 讨论

#### 3.1 河蚬 mtDNA COI 基因序列特征分析

本研究中洪泽湖黑色河蚬和黄色河蚬群体的 mtDNA COI 基因序列中的 4 种碱基组成平均值为 T(42.3%)、A(22.5%)、C(14.0%)和 G(21.2%)，其中，A+T 的平均含量为 64.8%，远高于 G+C 的含量 (35.2%)，显示出明显的碱基组成偏倚性，与 Park 等 (2003)研究的亚洲 8 个国家和地区的河蚬 mtDNA COI 基因序列组成相似，其中，A+T 的含量平均值为 64.5%。

在其他双壳贝类中 mtDNA COI 基因序列组成也有类似规律，比如缢蛏(*Sinonovacula constricta*)的 COI 基因序列中 A+T 的含量为 66.2% (牛东红等, 2008)，褶纹冠蚌(*Cristaria plicata*)的 A+T 含量为 60.1% (贾名静等, 2009)，三角帆蚌(*Hyriopsis cumingii*) 10 个群体的 COI 基因序列中 A+T 的含量都明显高于 G+C 的含量 (李家乐等, 2008)，说明 COI 基因序列中 A+T 含量较高在双壳贝类中普遍存在，也符合动物线粒体基因组组成不均一的特征。

#### 3.2 河蚬遗传多样性及群体结构分析

遗传多样性即基因多样性是生物多样性的核心。生物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。单倍型多样性( $H_d$ )和核苷酸多样性( $P_i$ )是衡量生物遗传多样性的 2 个重要指标。本研究中，基于线粒体 COI 基因序列研究了洪泽湖河蚬黑色和黄色群体的遗传多样性。结果显示，黑色和黄色群体的单倍型多样性和核苷酸多样性指数分别为 0.794 和 0.04274、0.607 和 0.02825 (表 2)。根据线粒体 DNA 序列的遗传变异分析，可以将不同核苷酸多样性和单倍型多样性间的组合分成 4 种类型[低  $P_i$  (< 0.005)与低  $H_d$  (< 0.5); 低  $P_i$  (< 0.005)与高  $H_d$  (> 0.5); 高  $P_i$  (> 0.005)与低  $H_d$  (< 0.5); 高  $P_i$  (> 0.005)与高  $H_d$  (> 0.5)] (Grant *et al*, 1998)。本研究表明，2 个河蚬群体的  $P_i$  和  $H_d$  均较高，属于第 4 种类型，表明洪泽湖河蚬群体的遗传多样性较高。丁怀宇等(2011)采用微卫星分子标记对洪泽湖 4 个河蚬群体遗传特征进行了研究，结果显示，4 个群体的平均期望杂合度均大于 0.752，显示出较高的遗传多样性水平。李大命等(2015)研究表明，洪泽湖河蚬的单倍型多样性指数和核苷酸多样性指数分别为 0.870 和 0.045，均与本研究结果一致。整体来看，一方面，洪泽湖河蚬种质资源具有较高的

遗传多样性,意味着河蚬群体有较强的环境适应能力及进化潜力,为河蚬良种选育及资源可持续发展和利用提供了保证;另一方面,洪泽湖河蚬天然资源量急剧下降,目前已无法形成捕捞群体。因此,必须加强洪泽湖河蚬种质资源的保护,通过建立种质资源保护区、增殖放流、控制捕捞强度及延长禁渔期等措施避免河蚬资源进一步衰减,以保护其种质资源的多样性及完整性。

根据 Balloux 等(2002)提出的标准,  $F_{st}$  值在 0–0.05、0.05–0.15、0.15–0.25 分别表明群体间的低、中、高遗传分化水平。在本研究中,方差分析结果显示,2个群体的遗传变异主要发生在群体内,占 78.26%,而种群间遗传变异占 21.74%。群体间遗传分化系数  $F_{st} = 0.2174$ ,且统计结果为极显著( $P < 0.01$ ),表明洪泽湖河蚬黑色和黄色河蚬群体之间存在较高的遗传分化。因此,应将洪泽湖河蚬黑色和黄色群体作为独立单元分别进行管理和保护。

### 3.3 河蚬单倍型遗传分化分析

在本研究中,共检测出 10 个单倍型,NJ 系统进化树显示,*COI* 单倍型分为 2 个明显分支,且 2 个分支内单倍型之间的遗传距离较小(0.002–0.005),而 2 个分支间单倍型之间的遗传距离较大(0.081–0.091)(表 4)。根据 Hebert 等(2003)提出的物种鉴定最小种间距离为 2%,且种间遗传距离大于种内的遗传距离大约 10 倍的标准,可以初步认定,洪泽湖河蚬存在 2 个种类的 *COI* 单倍型,二者之间有明显的遗传差异。同样,基于 *COI* 基因序列,对德国、法国、荷兰及中国多个水体河蚬群体的遗传多样性进行研究,也发现了河蚬群体 *COI* 单倍型呈现出明显遗传分化(Renard *et al.*, 2000; Pfenninger *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2014)。由此可以推测,河蚬群体内部 *COI* 单倍型出现遗传分化是一个普遍存在的现象,可能是由于河蚬种源不同或环境差异所致(Baker *et al.*, 2003; Sousar *et al.*, 2007)。

一般来说,双壳贝类具有较强的表型可塑性以适应不同的环境和生态条件(Baker *et al.*, 2003)。根据河蚬壳表面颜色差异,可将河蚬分为不同的群体类型。在太湖和洪泽湖中均发现河蚬有黑色和黄色 2 个群体。通过调查发现,太湖河蚬黑色和黄色群体的分布区域不同,且黑蚬高产区的底泥硫化物含量较高(曹文明等, 2000)。而洪泽湖河蚬黑色和黄色群体的分布区域一致,导致其颜色差异的环境因子还有待进一步研究。另外,统计分析结果显示,洪泽湖河蚬黑色和黄色群体的形态学特征有显著差异,而湖南大通湖河蚬白色和紫色群体的形态学参数无显著性差

异(Wang *et al.*, 2014)。研究还发现,根据颜色划分河蚬类群与其遗传特征不具有对应性。本研究中黑色和黄色河蚬群体拥有 2 个共享单倍型(Hb1、Hy5 及 Hb5、Hy2),却分布在 2 个不同的分支上(图 2),且群体内单倍型之间的遗传距离大于群体间的遗传距离(表 4)。在大通湖河蚬 2 个群体(白色和紫色)中,基于 mtDNA *COI* 基因序列分析得到 4 种单倍型(DT-1、DT-7、DT-19 和 DT-31),单倍型 DT-7 与另外 3 种单倍型有明显遗传差异,其中,单倍型 DT-31 仅在白色群体中出现,其他 3 种单倍型在 2 个群体中都有出现(Wang *et al.*, 2014)。基于形态学和 *COI* 基因序列对葡萄牙 2 个地理分布河蚬群体进行比较分析,结果显示,2 个河蚬群体的形态学参数具有显著性差异,而 *COI* 基因序列却高度相似,Sousar 等(2007)认为,应将 2 个地理分布群体归为同一河蚬种类。因此,只有将形态学和遗传学特征结合起来,才能准确认识不同表型河蚬群体之间的相互关系。

## 参 考 文 献

- Baker AM, Bartlett C, Bunn SE, *et al.* Cryptic species and morphological plasticity in long-lived bivalves (Unionoida: Hyriidae) from inland Australia. *Molecular Ecology*, 2003, 12(10): 2707–2717
- Balloux F, Lugon-Moulin N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology*, 2002, 11(2): 155–165
- Bi TT, Hou G, Zhang SY, *et al.* Study on age structure, growth and mortality of *Corbicula fluminea* in Hongze Lake, China, through shell length-frequency data analysis. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, 38(4): 797–800 [毕婷婷, 侯刚, 张胜宇, 等. 基于壳长频率分析的洪泽湖河蚬渔获物年龄结构、生长与死亡参数估计. *水生生物学报*, 2014, 38(4): 797–800]
- Cai W, Cai YJ, Gong ZJ, *et al.* Temporal and spatial patterns of *Corbicula fluminea* in Lake Taihu. *Journal of Lake Sciences*, 2010, 22(5): 714–722 [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]
- Cao WM, Zhou G, Sheng JM, *et al.* The present situation and evolution of the *Corbicula fluminea* resources in Tai Lake. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Science Edition)*, 2000, 24(S1): 125–128 [曹文明, 周刚, 盛建明, 等. 太湖河蚬资源现状及演变. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2000, 24(S1): 125–128]
- Ding HY, Jiang HC, Feng JB, *et al.* Isolation of microsatellite loci and population genetic structure analysis of wild *Corbicula fluminea* in Hongze Lake. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(11): 1624–1632 [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]
- Excoffier L, Laval G, Schneiders S. Arlequin Ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolution Bioinformatics Online*, 2005, 1(1): 47–50
- Folmer O, Black M, Hoeh W, *et al.* DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1994, 3(5): 294–299
- Grant WS, Bowen BW. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*, 1998, 89(5): 415–426
- Hebert PD, Ratnasingham S, Dewaard JR. Barcoding animal life: Cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B: Biology Sciences*, 2003, 270(S1): 96–99
- Jia MJ, Li JL, Niu DH, *et al.* Sequence variation of COI gene in ten populations of *Cristaria plicata* from the middle and lower Yangtze River. *Chinese Journal of Zoology*, 2009, 44(1): 1–8 [贾名静, 李家乐, 牛东红, 等. 长江中下游褶纹冠蚌 10 个群体 COI 基因序列变异分析. *动物学杂志*, 2009, 44(1): 1–8]
- Li DM, Zhang TQ, Tang SK, *et al.* Genetic diversity of wild *Corbicula fluminea* population in the Hongze Lake analyzed by mitochondrial DNA COI gene sequence. *Progress in Fishery Sciences*, 2015, 36(5): 81–86 [李大命, 张彤晴, 唐晟凯, 等. 洪泽湖野生河蚬(*Corbicula fluminea*)线粒体 COI 基因序列的遗传多样性分析. *渔业科学进展*, 2015, 36(5): 81–86]
- Li DL, Zhang T, Xiao TY, *et al.* Standing crops and temporal-spatial distribution of *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in Lake Datong, Hunan Province. *Journal of Lake Sciences*, 2013, 25(5): 743–748 [李德亮, 张婷, 肖调义, 等. 湖南省大通湖河蚬(*Corbicula fluminea*)现存量及其时空分布. *湖泊科学*, 2013, 25(5): 743–748]
- Li JL, Wang JJ, Wang GL, *et al.* Sequence analysis of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene of *Hyriopsis cumingii* from the five freshwater lakes of China. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2008, 32(5): 779–82 [李家乐, 王建军, 汪桂玲, 等. 我国五大淡水湖三角帆蚌群体 mtDNA COI 基因片段变异分析. *水生生物学报*, 2008, 32(5): 779–782]
- Li XN, Song HL, Li W, *et al.* An integrated ecological floating-bed employing plant, freshwater clam and biofilm carrier for purification of eutrophic water. *Ecological Engineering*, 2010, 36(4): 382–390
- Librado P, Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 2009, 25(11): 1451–1452
- Liu JJ, Xu YJ, Han YP, *et al.* Analysis and evaluation on the nutritional components of wild *Corbicula fluminea* from Hongze Lake. *Science and Technology of Food Industry*, 2014, 35(15): 360–364 [刘晶晶, 徐云婕, 韩曜平, 等. 洪泽湖野生河蚬营养成分的分析与评价. *食品工业科技*, 2014, 35(15): 360–364]
- Niu DH, Li JL, Shen HD, *et al.* Sequence variability of mitochondrial DNA--COI gene fragment and population genetic structure of six *Sinonovacula constricta* populations. *Acta Oceanologica Sinica*, 2008, 30(3): 109–116 [牛东红, 李家乐, 沈和定, 等. 缢蛏六群体线粒体 mtDNA-COI 基因序列变异及群体遗传结构分析. *海洋学报*, 2008, 30(3): 109–116]
- Park JK, Kim W. Two *Corbicula* (Corbiculidae: Bivalvia) mitochondrial lineages are widely distributed in Asian freshwater environment. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2003, 29(3): 529–539
- Pfenninger M, Reinhardt F, Streit B. Evidence for cryptic hybridization between different evolutionary lineages of the invasive clam genus *Corbicula* (Veneroidea, Bivalvia). *Journal of Evolutionary Biology*, 2002, 15(5): 818–829
- Qi S, Lin MX. Studies on ecological aspects of the population of *Corbicula fluminea* (Müller) (Mollusca) in the pearl river, Guangzhou. *Acta Ecologica Sinica*, 1987, 7(2): 161–169 [杞桑, 林美心. 珠江广州段河蚬种群的若干生态学研究. *生态学报*, 1987, 7(2): 161–169]
- Renard E, Bachmann V, Cariou ML, *et al.* Morphological and molecular differentiation of invasive freshwater species of the genus *Corbicula* (Bivalvia, Corbiculidea) suggest the presence of three taxa in French rivers. *Molecular Ecology*, 2000, 9(12): 2009–2016
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular cloning: A laboratory manual*. Beijing: Science Press, 1995, 27–29
- Sousar R, Freire R, Rufino M, *et al.* Genetic and shell morphological variability of the invasive bivalve *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in two Portuguese estuaries. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 2007, 74(1–2): 166–174
- Tamura K, Dudley J, Nei M, *et al.* MEGA 4: Molecular evolutionary genetic analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 2007, 24(8): 1596–1599
- Wang GP, Zhang T, Zhang J, *et al.* Morphological and molecular differentiation of genus *Corbicula* suggests that two species are sympatrically distributed in Datong Lake in the Central Yangtze River Basin. *Zoological Studies*, 2014, 53(1): 1–8
- Wang ZQ, Zhang NH, Zhang Y, *et al.* Eutrophication assessment of water quality in Hongze Lake. *Environmental Monitoring and Forewarning*, 2010, 2(6): 31–35 [王兆群, 张宁红, 张咏, 等. 洪泽湖水水质富营养化评价. *环境监测与预警*, 2010, 2(6): 31–35]
- Yan WH, Pan YC, Hao C, *et al.* Investigation reports of benthos in Hongze Lake. *Reservoir Fisheries*, 2007, 27(3): 65–66 [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]
- Yuan YH, Wang XY, Chen AL, *et al.* Investigation of resources of *Margarya* and *Corbicula* in Hongze Lake. *Aquaculture*,

1994(6): 15–16 [袁永许, 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]  
Zhang CW, Zhang TL, Zhu TB, *et al.* Community structure of macrozoobenthos and its relationship with environmental

factors in Lake Hongze. *Journal of Hydroecology*, 2012, 33(3): 27–33 [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. 水生生态学杂志, 2012, 33(3): 27–33]

(编辑 陈严)

## Genetic Variation in Two Phenotypical Populations of *Corbicula fluminea* in Hongze Lake

LI Daming<sup>1</sup>, ZHANG Tongqing<sup>1</sup>①, TANG Shengkai<sup>1</sup>, ZHONG Liqiang<sup>1</sup>, HUANG Yuefeng<sup>2</sup>, MU Huan<sup>2</sup>, LIU Yanshan<sup>1</sup>, LIU Xiaowei<sup>1</sup>

(1. Freshwater Fisheries Research Institute of Jiangsu Province, Key Laboratory of Fisheries Resources in Inland Water of Jiangsu Province, Nanjing 210017; 2. Hongze Lake Fisheries Administration Committee Office of Jiangsu Province, Huai'an 223002)

**Abstract** In order to better manage and protect the genetic resources of *Corbicula fluminea* in Hongze Lake, molecular marker (mitochondrial cytochrome oxidase subunit I gene sequence, *COI*) and morphometric parameters (wet weight, shell length, width and height) were used to investigate the differences in genetic diversity and morphological characteristics of two populations with different morphology in color: black and yellow. Morphological analysis showed that the morphological parameters were significantly different between two populations. Using PCR amplification and sequencing, 614 bp of *COI* sequences were obtained. The base composition of *COI* sequences were very similar between black and yellow populations, in which the A+T content was higher than the G+C content. Seven haplotypes were found among 28 black individuals; the haplotype and nucleotide diversity were 0.794 and 0.04274, respectively. In parallel, 5 haplotypes were found among 30 yellow individuals, with the haplotype and nucleotide diversity being 0.607 and 0.02825, respectively. The genetic distance varied between 0.002 and 0.091 among all the *COI* haplotypes. Molecular phylogenetic trees were constructed using neighbor-joining and maximum parsimony, suggested that the *COI* gene haplotypes clustered into two clades. Analysis of molecular variance (AMOVA) based on *COI* sequences suggested that 78.26% variation occurred within the population, and a lower percentage of 21.74% variation occurred between two populations, and there was significant genetic differentiation in both populations ( $F_{st}=0.21736$ ,  $P<0.01$ ). The present results suggested that black and yellow *C.fluminea* populations in Hongze Lake should be protected and managed as two independent units in genetic resource.

**Key words** *Corbicula fluminea*; *COI*; Genetic diversity; AMOVA analysis; Hongze Lake

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