

我国沿海缢蛏群体遗传结构的 mtDNA-CO I 分析

牛东红^① 陈慧^② 王树亮^① 林国文^② 李家乐^{①③*}

(^① 上海海洋大学 水产与生命学院 上海 201306; ^② 福建省闽东水产研究所 宁德 352100;

^③ 上海市高校水产养殖学 E 研究院 上海 201306)

摘要:采集了我国沿海共计 9 个缢蛏 (*Sinonovacula constricta*) 地理群体的 197 个样本,分别是北部组群的 3 个群体:辽宁省庄河群体 (ZH),天津市汉沽群体 (HG),山东省海阳群体 (HY);中部组群的 3 个群体:江苏省盐城群体 (YC),上海市崇明县东滩群体 (DT) 和堡镇群体 (BZ);以及南部组群的 3 个群体:浙江省宁波群体 (NB),浙江省台州群体 (TZ) 以及福建省宁德群体 (ND)。利用线粒体 CO I 标记分析了 9 个群体的遗传多样性和遗传分化。结果表明,在共计 197 个个体中检测到 125 个单倍型和 96 个变异位点,核苷酸多样性指数位于 2.176 4~7.497 0 之间,其中中部组群的群体遗传多样性指数最高。AMOVA 分析结果显示,组间遗传变异量占总变异的 80.27%,18.74% 来自于群体内,只有 0.99% 来自于组内群体间。群体间遗传分化系数位于 0.021 9~0.870 6 之间,不同群体间具有一定的遗传分化,尤其是中部群体与其他群体间遗传分化值达到了 0.8 以上,为极高度分化。遗传距离和聚类结果显示,北部 3 群体和南部 3 群体首先聚在一起,之后与中部 3 群体聚类。

关键词:缢蛏;线粒体 DNA;群体遗传;遗传结构

中图分类号:Q951 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2010)02-11-08

Population Genetic Structure of *Sinonovacula constricta* along the Coast of China

NIU Dong-Hong^① CHEN Hui^② WANG Shu-Liang^① LIN Guo-Wen^② LI Jia-Le^{①③*}

(^① College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306; ^② Mindong Fisheries Research Institute, Ningde 352100; ^③ Aquaculture Division, E-Institute of Shanghai Universities, Shanghai 201306, China)

Abstract: The Razor Clam (*Sinonovacula constricta*) is an important shellfish in China, Japan and Korea. We sequenced mitochondrial cytochrome oxidase I (CO I) genes of 197 individuals from nine populations to investigate population genetic structure of the northern (ZH, HG, HY), the mid-regional (YC, DT, BZ) and the southern (NB, TZ, ND) groups of *S. constricta* along the coast of China. We identified 125 haplotypes and 96 variable sites from 556 bp of CO I. Nucleotide diversity ranged from 2.176 4 to 7.497 0. Analysis of molecular variance (AMOVA) showed that interpopulation variance accounted for 80.27% ($P < 0.05$), whereas the remaining 18.74% and 0.99% were detected within population and among populations of same groups respectively, indicating significant genetic differentiation among populations. Phylogenetic tree analysis and genetic distance analysis showed that the nine populations were clustered into three distinct groups, with the northern group clustering first with the southern group and then with the mid-regional group.

基金项目 国家“863”计划项目 (No. 2006AA10A410) 福建省海洋与渔业局重点项目 (闽渔海 2007015);

* 通讯作者, E-mail: jlli@shou.edu.cn;

第一作者介绍 牛东红,女,博士,讲师;研究方向:海洋生物学;E-mail: dhniu@shou.edu.cn.

收稿日期:2009-09-16,修回日期:2009-12-21

Key words: *Sinonovacula constricta*; mtDNA; Population genetics; Genetic structure

缢蛏 (*Sinonovacula constricta*) 俗称蛏子、泥蛏、蜻, 属软体动物门 (Mollusca) 瓣鳃纲 (Lamellibranchia) 异齿亚纲 (Heterodonta) 帘蛤目 (Veneroidea) 灯塔蛤科 (Pharellidae) 缢蛏属, 为广温广盐性海产双壳类, 广泛分布于我国、日本和朝鲜等国的河口或有少量淡水注入的内湾潮间带中、下区软泥滩。由于其贝壳自壳顶至腹缘有一条微凹的斜沟, 形似绳索的缢痕, 因此得名“缢蛏”。缢蛏生长快, 养殖周期短, 养殖历史悠久, 早在《本草纲目》中就已经对福建缢蛏养殖进行了记载^[1], 其与太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas*)、泥蚶 (*Tegillarca granosa*) 和菲律宾蛤 (*Ruditapes philippinarum*) 成为我国四大养殖贝类。

现阶段人类活动对缢蛏的现状影响巨大, 首先海区环境污染的不断加剧导致缢蛏的栖息地逐渐减少, 其天然资源量呈现下降趋势。同时缢蛏的养殖规模也在不断扩大, 除浙闽地区的主要产区外, 逐渐扩展到了江苏和山东一带沿海, 但是这种养殖模式主要依靠采集浙闽一带的野生苗种, 引种到其他地区, 由于缢蛏特殊的生活习性, 有可能造成异地苗种之间的基因混杂, 导致某些基因的流失。因此, 缢蛏养殖业

的健康和可持续性发展成为关注的焦点, 缢蛏种质资源的保护、种质鉴定、种质改良提上日程。

由于线粒体所受环境压力较小, 进化速度较快, 使其在水产动物的遗传结构和系统进化研究中得到了广泛的应用^[2-5]。作者曾利用 mtDNA-CO I 评价了我国江浙闽地区缢蛏养殖群体和野生群体间的遗传差异, 揭示养殖群体较低的遗传多样性水平, 而且在江苏沿海一带, 养殖群体并未对当地的土著群体造成显著的影响^[6]。由于缢蛏养殖规模不断扩大, 引种加剧, 为了更加全面了解我国目前缢蛏群体的遗传结构现状, 本研究利用 mtDNA-CO I 标记进一步分析我国沿海 9 个缢蛏群体的遗传多样性和遗传分化水平, 为缢蛏种质资源的合理管理和保护提供理论依据, 为其种质评价和优异种质筛选及良种选育奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料 于 2006 ~ 2008 年, 在我国沿海共采集缢蛏 9 个地理群体 (表 1)。样本在当地采集后, 取其外套膜组织, 于无水乙醇中固定备用。

表 1 缢蛏样本采集地点、时间

Table 1 Sampling sites and time of *Sinonovacula constricta* populations

群体 Populations	采集地点 (东经/北纬 °) Collection sites (East longitude/North latitude °)	采集时间 (年-月) Sample time (Year-Month)
庄河 Zhuanghe	辽宁省庄河市明阳镇大张村 (123.0/39.7)	2007-05
汉沽 Hangu	天津市汉沽区蔡家堡 (117.9/39.3)	2007-10
海阳 Haiyang	山东省海阳市行村镇丁子咀 (121.2/36.8)	2007-05
盐城 Yancheng	江苏省盐城市射阳县海通镇 (120.3/33.8)	2008-05
东滩 Dongtan	上海市崇明县东滩湿地 (121.9/31.5)	2007-05
堡镇 Baozhen	上海市崇明县堡镇 (121.7/31.6)	2007-04
宁波 Ningbo	浙江省宁波市象山县高塘镇花岙岛 (121.8/29.5)	2006-09
台州 Taizhou	浙江省台州市路桥区蓬街镇十塘 (121.3/28.7)	2007-10
宁德 Ningde	福建省宁德市霞浦县沙江镇 (120.0/26.9)	2006-10

1.2 实验方法

1.2.1 基因组 DNA 提取 每个样本取 0.5 g

外套膜组织剪碎后, 加入 500 μ l 组织匀浆缓冲液 (10 mmol/L Tris-HCl, pH = 8.0; 50 mmol/L

EDTA, pH = 8.0), 混匀后加入终浓度为 1% 的 SDS 和 200 $\mu\text{g/L}$ 的蛋白酶 K, 55 $^{\circ}\text{C}$ 消化澄清。用等体积的酚:氯仿:异戊醇(25:24:1) 提取 2 次, 然后加入 2 倍体积预冷的无水乙醇沉淀, 70% 乙醇洗涤两遍后干燥, TE 溶解。紫外分光光度计测定样品 DNA 的 OD₂₆₀、OD₂₈₀ 值, 确定其浓度和纯度, 母液置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.2.2 PCR 反应及产物纯化和测序 CO I 序列的扩增引物: LCO1490: 5' GGTCAACAAATC ATAAAGATATTGG 3', HCO2198: 5' TAAACT TCAGGGTGACCAAAAAATCA 3'^[7], 由上海生物工程技术有限公司合成。

PCR 反应条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 40 s, 50 $^{\circ}\text{C}$ 退火 50 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 50 s, 35 个循环; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。PCR 反应体系为 25 μl , 含 10 \times Buffer 2.5 μl , Mg²⁺ 2.0 mmol/L, dNTP 0.2 mmol/L, TaqDNA 聚合酶 1 U, 上、下游引物各 0.2 $\mu\text{mol/L}$, 模板 DNA 50 ~ 100 ng。PCR 扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶检测, EB 染色, 于凝胶成像系统下观察并拍照记录。PCR 产物的纯化和测序工作由上海生物工程技术有限公司完成。

1.2.3 数据统计和分析 DNA 序列利用 Bioedit 7.0^[8] 进行编辑、校对和排序, Clustal X 进行同源比对。利用 DNASP 4.0^[9] 计算群体单倍型 (haplotype) 数、单倍型多样性 (haplotype diversity) 和变异位点 (mutation site)。核苷酸

多样性指数 (nucleotide diversity index) 由 ARLEQUIN 3.0^[10] 计算。

序列变异的方差分析 (AMOVA) 采用 ARLEQUIN 3.0^[10] 计算, 利用其中的分子变异分析方法估算遗传变异在群体内和群体间的分布及遗传分化系数 (F-statistics, F_{ST}), 并用排列测验法 (permutation test) 检验 F_{ST} 的显著性 (重复次数为 1 000)。

利用 MEGA 3.1^[11] 计算群体间的 Kimura 2-parameter 遗传距离, 采用邻接法 (NJ) 构建群体系统树和单倍型系统树。

2 结果

2.1 群体遗传多样性 序列经排序、剪辑和比对后, 得到 556 bp 的同源基因序列 (GenBank Accession No. FJ555060 ~ FJ555184)。在 9 个群体共计 197 个个体中, 发现了 125 个单倍型, 96 个变异位点, 其中单变异位点 34 个, 简约信息位点 62 个。

9 个缢蛭群体的遗传多样性结果显示, 单倍型多态性在 0.924 9 ~ 0.989 4 之间, 核苷酸多样性指数位于 2.176 4 ~ 7.497 0 之间。3 个组群中, 中部组群的群体遗传多样性指数较南北部群体高 (表 2)。不同群体间具有特有单倍型, 中部群体和南北部群体间具有特异的碱基序列。

表 2 缢蛭群体 CO I 基因片段遗传多样性参数

Table 2 Genetic diversity parameters of CO I gene fragment in *Sinonovacula constricta* populations

组群 Group	群体 Population	个体数 Number	单倍型 Number of haplotypes	单倍型多态性 Haplotype diversity	核苷酸多样性指数 Nucleotide diversity index
北部组群 Northern group	庄河 Zhuanghe	17	11	0.926 4	2.176 4
	汉沽 Hangu	20	18	0.989 4	4.015 7
	海阳 Haiyang	20	14	0.947 3	3.736 8
中部组群 Mid-regional group	盐城 Yancheng	19	16	0.976 6	7.497 0
	东滩 Dongtan	23	16	0.932 8	5.968 3
	堡镇 Baozhen	30	22	0.972 4	5.880 4
南部组群 Southern group	宁波 Ningbo	22	18	0.969 7	4.380 9
	台州 Taizhou	23	19	0.984 1	5.027 6
	宁德 Ningde	23	15	0.924 9	2.972 3
总计 Total		197	125	0.988 1	4.628 4

2.2 群体间遗传分化和遗传距离 AMOVA 分析结果显示,组间遗传变异量占总变异的 80.27% ,18.74% 来自于群体内,说明遗传差异主要来自于群体间(表 3)。群体间遗传分化系数位于 0.021 9 ~ 0.870 6 之间,不同群体间具有一定的遗传分化,尤其是中部群体与其他群

体间遗传分化值达到了 0.8 以上,为极高度分化。同时群体间遗传距离位于 0.005 ~ 0.063 之间,其中,中部群体与南北群体间遗传距离最大,达到了 0.06 以上,南北部组群的群体之间遗传距离较小(表 4)。

表 3 缙蛭群体的分子方差分析

Table 3 Analysis of molecular variance (AMOVA) of *Sinonovacula constricta* populations

变异来源 Source of variation	自由度 Degree of freedom <i>df</i>	平方和 Sum of squares	方差组分 Variance components	方差比例(%) Percentage of variance
组间 Among groups	2	1 330.827 0	10.102 4	80.267 1
组内群体间 Among populations within groups	6	30.419 0	0.124 7	0.991 4
群体内 Within populations	188	443.454 0	2.358 8	18.741 5
总计 Total	196	1 804.701 0	12.585 9	

表 4 缙蛭群体间的遗传分化(对角线下)和遗传距离(对角线上)

Table 4 Population pairwise *F*_{ST} (below diagonal) and genetic distance (above diagonal) between the nine populations of *Sinonovacula constricta*

	庄河 Zhuanghe	汉沽 Hangu	海阳 Haiyang	盐城 Yancheng	东滩 Dongtan	堡镇 Baozhen	宁波 Ningbo	台州 Taizhou	宁德 Ningde
庄河 Zhuanghe		0.006	0.005	0.062	0.060	0.060	0.007	0.007	0.006
汉沽 Hangu	0.018 6		0.007	0.064	0.062	0.061	0.009	0.008	0.008
海阳 Haiyang	0.014 6	0.001 5		0.063	0.061	0.061	0.008	0.008	0.008
盐城 Yancheng	0.857 2 **	0.839 5 **	0.842 6 **		0.012	0.013	0.062	0.063	0.061
东滩 Dongtan	0.870 6 **	0.853 2 **	0.855 8 **	0.036 1 *		0.010	0.060	0.061	0.059
堡镇 Baozhen	0.865 2 **	0.850 6 **	0.852 7 **	0.062 3 **	0.021 9		0.060	0.061	0.059
宁波 Ningbo	0.091 4 **	0.135 5 **	0.142 2 **	0.832 1 **	0.845 0 **	0.843 0 **		0.010	0.007
台州 Taizhou	0.074 1 **	0.038 7 *	0.063 9 **	0.826 2 **	0.840 0 **	0.839 0 **	0.115 4 **		0.009
宁德 Ningde	0.175 1 **	0.240 4 **	0.230 7 **	0.853 1 **	0.864 1 **	0.859 7 **	0.200 8 *	0.184 5 **	

** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

2.3 群体间聚类分析 以苹果螺 (*Pila ampullacea*) 为外群构建系统树,结果表明,9 个群体明显分为 2 支,其中中部组群的 3 个群体(盐城、东滩和堡镇)聚为一支,另一个分支包括南北部组群,其中北部 3 个群体首先聚类之后与南部 3 个群体聚类(图 1)。将 125 个单倍型进行聚类分析,结果同样显示所有单倍型明显聚类为 2 个分支,一个分支包括中部 3 个群体盐城、东滩和堡镇所有单倍型,另一个分支包括南北部群体的所有单倍型,且这一分支的群

体之间单倍型出现混杂现象(图 2)。

3 讨论

3.1 群体遗传多样性分析 一个物种遗传多样性的高低与其适应能力、生存能力和进化潜力密切相关,遗传多样性的降低可导致其适应能力降低,有害隐性基因增加及经济性状衰退,最终导致种质退化。丰富的遗传多样性意味着比较高的适应生存能力,蕴涵着比较大的进化潜能以及丰富的遗传改良潜力^[12]。

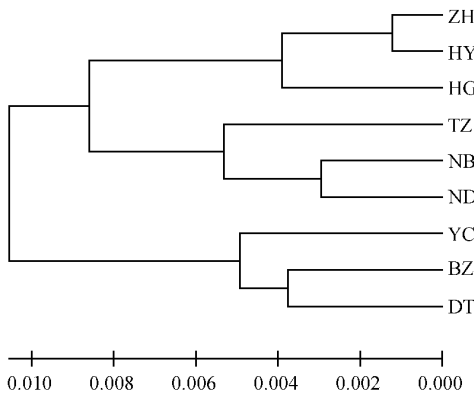


图 1 基于 COI 基因缢蛭群体的 NJ 系统树

Fig. 1 NJ phylogenetic tree based on COI gene fragment of *Sinonovacula constricta* populations

ZH: 庄河群体; HG: 汉沽群体; HY: 海阳群体; YC: 盐城群体; DT: 东滩群体; BZ: 堡镇群体; NB: 宁波群体; TZ: 台州群体; ND: 宁德群体。标尺为枝长标准, 表示遗传距离。

ZH: Zhuanghe population; HG: Hangu population; HY: Haiyang population; YC: Yancheng population; DT: Dongtan population; BZ: Baozhen population; NB: Ningbo population; TZ: Taizhou population; ND: Ningde population. Bar means branch scale.

本研究中基于线粒体序列分析结果, 缢蛭种水平的核苷酸多样性指数为 4.628 4, 尤其是单倍型多态性达到了 0.988 1。利用 RAPD 技术检测了辽宁大连、浙江象山和福建的缢蛭养殖群体以及浙江临海滩涂野生群体的遗传多样性水平, 其多态位点比例均大于 0.55, 遗传平均杂合度均大于 0.19, 高于海洋贝类种群的平均遗传变异水平 (多态位点比例平均为 0.46, 遗传平均杂合度观测值平均为 0.147), 说明缢蛭的遗传多样性水平仍较丰富^[13]。由此可见, 其物种水平的遗传多样性是比较高的。这种高水平的遗传多样性与其生物学特征有一定的相关性, 由于不同物种生活习性的不同, 其群体间多样性水平的差异也有所不同。翡翠贻贝 (*Penera viridis*)^[14]、大珠母贝 (*Pinctada maxima*)^[15] 和马氏珠母贝 (*P. martensi*)^[16] 属于暖水性种类, 分布范围较小, 在我国仅限于南方地区, 其各个群体间遗传多样性差异相差甚微。

而广布种贝类, 如四角蛤蜊 (*Mactra veneriformis*)^[17]、菲律宾蛤^[18]、文蛤 (*Meretrix meretrix*)^[19] 和青蛤 (*Cyclina sinensis*)^[20] 群体间遗传差异就相对较大, 由此可见, 广布种比狭域分布的物种具有更多的遗传差异^[21]。缢蛭属于广温、广盐性滩涂贝类, 营体外产卵受精, 每次产卵数量上百万粒, 主要是依靠后代的数量来保证物种的延续性, 而后期短暂的浮游幼虫期又在一定程度上减少了个体间的近亲交配, 使得缢蛭在种水平上保持着较高的遗传多样性。

将沿海 9 个缢蛭群体划分为 3 个组群, 分别是北部组群、中部组群和南部组群, 基于线粒体 CO I 基因序列分析结果显示, 中部组群核苷酸多样性最高, 南北部组群遗传多样性较低。缢蛭群体间遗传多样性的差异很可能与其养殖历史有一定的相关性。缢蛭养殖最早在 800 年前开展于福建沿海, 500 年前传播到浙江, 之后传播到辽宁、河北和山东沿海^[1], 而在江苏和上海沿海缢蛭养殖是近些年来逐步开展起来的。人类干预已经成为影响遗传结构的重要因素之一^[22], 这种影响会导致较小的有效奠基群体, 从而在一定程度上有可能导致不同沿海地区群体遗传多样性水平的不同。因此, 在养殖历史较为悠久的南方组群和引种养殖较早的北方组群遗传多样性较低, 而在中部地区则遗传多样性较高。此外, 由于各地养殖苗种大多来自于浙闽地区, 而目前缢蛭养殖死亡率又不断增加, 这不仅与环境污染有一定关系, 同时也说明群体的适应性有所下降。因此, 针对目前缢蛭苗种死亡率增加的现象, 加快缢蛭的育种步伐已经迫在眉睫。

3.2 群体间遗传分化 Wright 认为遗传分化系数 (F_{ST}) 常用于评价群体遗传分化程度, 一般评判标准是 $F_{ST} < 0.05$ 代表轻度分化, $0.05 < F_{ST} < 0.15$ 代表中等分化, $0.15 < F_{ST} < 0.25$ 代表高度分化, $0.25 < F_{ST} < 1.00$ 代表极高度分化^[23]。基于线粒体标记的遗传分化系数显示, 缢蛭不同地理群体间存在着一定的遗传分化。

研究认为地理隔离是基因交流的天然屏

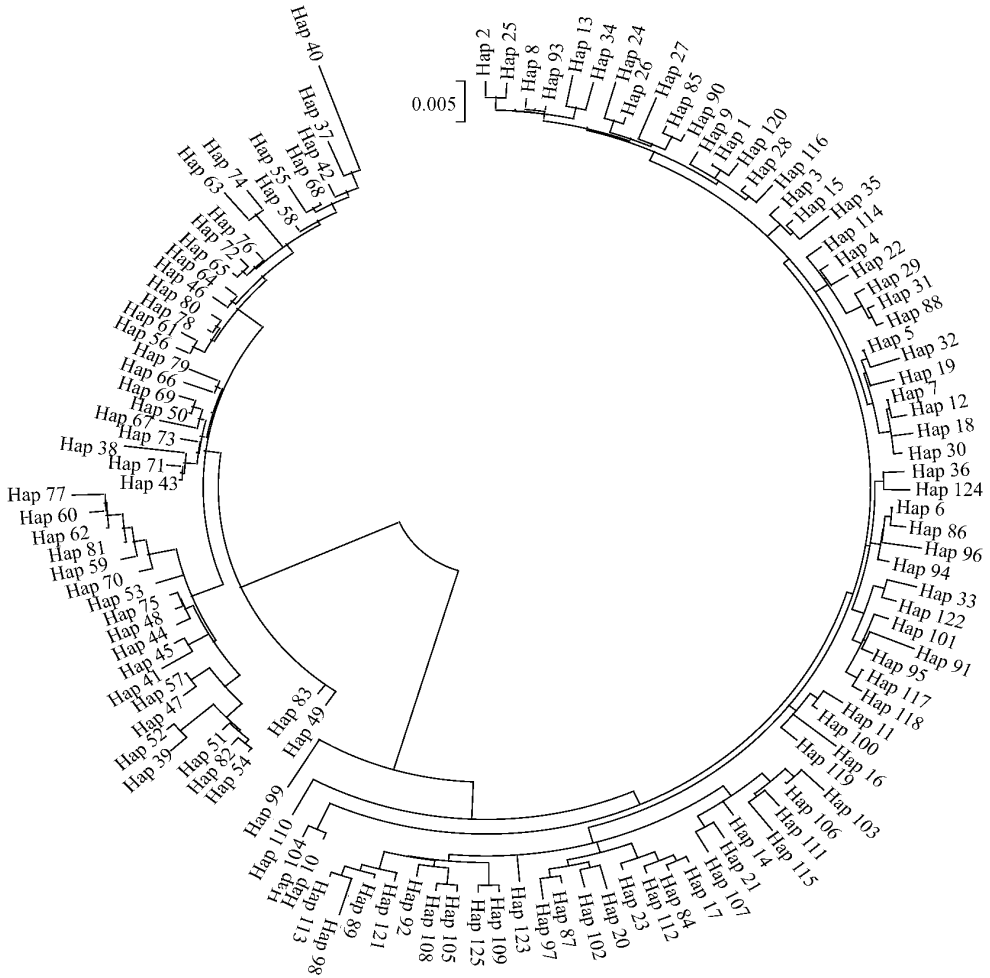


图2 基于 CO I 基因缢蛭单倍型的 NJ 系统树

Fig.2 NJ phylogenetic tree based on CO I gene fragment of haplotypes of *Sinonovacula constricta*

ZH: Hap1 – Hap11; HC: Hap3, Hap5, Hap7, Hap12 – Hap26; HY: Hap3, Hap5, Hap7, Hap13, Hap27 – Hap36; YC: Hap37 – Hap52; BZ: Hap43, Hap50 – Hap51, Hap53 – Hap65; DT: Hap43, Hap50, Hap60, Hap62, Hap66 – Hap83; NB: Hap1, Hap6, Hap13, Hap84 – Hap98; TZ: Hap5 – Hap6, Hap99 – Hap115; ND: Hap1, Hap6, Hap92, Hap94 – Hap95, Hap116 – Hap125。标尺为枝长标准,表示遗传距离。Bar means branch scale.

障,是影响遗传分化的重要因素^[24-25],同时不同地理区域的物理和生物因素也是群体间遗传分化的动力^[26-27]。自然环境的选择作用是影响种群基因型频率的重要因素,生境的多样性可以导致遗传结构的显著差异^[28]。缢蛭作为广布种,主要分布在有淡水注入的海湾和河口地带,不同的海湾自身便形成了天然的地理屏障,同时在不同地理条件和气候条件下,自然选择使其产生不完全相同的生物学特性,尤其是

其产卵期的不同就会阻止其交配的可能性,同时再加之浮游幼虫期比较短暂,只能在较小范围内进行基因交流,因此导致在较大的地理范围之间,群体产生遗传结构上的差异。

基于线粒体的遗传分化结果显示,中部组群与南北部组群分化较大,分化系数达到了0.8以上,为极高度分化,而南北部群体间也存在着不同水平的遗传分化。此外,根据遗传距离和聚类关系,发现缢蛭的南北部组群首先聚

在一起,之后与中部组群聚类,这种聚类模式显然与其地理位置不存在相关性。南北部较近的亲缘关系很可能与其养殖历史存在一定的相关性,由于缢蛭养殖是从浙闽地区传播到北部地区的,这种长久以来的苗种引进,导致异地苗种和当地苗种的基因交流,经过长期的自然选择作用,群体的遗传结构发生了一定的变化。缢蛭中部组群,是比较独立的一个分支,并且存在着特有碱基序列可以用于鉴别群体。由于异地种质的基因交流在一定程度上会降低群体间的遗传分化,同时也容易造成稀有基因的丢失,因此要加强中部组群缢蛭种质资源保护和管理,防止与当地群体出现混杂。

总之,我国沿海缢蛭数量上的分布出现了不均衡现象,在东北沿海和南部沿海一带数量很少,而浙闽一带则是数量较为丰富的地区,这种现象一方面与其自身环境适应能力相关,另一方面与人类干扰存在很大的相关性;此外,近年来缢蛭死亡率的增加一方面原因来自于自身遗传结构的变化,适应力下降,另一方面则是环境污染导致其栖息地的严重破坏。因此鉴于我国沿海缢蛭群体间存在的显著遗传结构分化,将缢蛭中部组群和南北部组群分别进行地区性保护,防止稀有基因的流失,同时加快遗传育种的步伐,从而为缢蛭养殖的可持续发展提供优质而丰富的苗种来源。

参 考 文 献

- [1] 谢忠明. 海水经济贝类养殖技术. 北京:中国农业出版社,2003,792-808.
- [2] 贾名静,李家乐,牛东红,等. 长江中下游褶皱纹冠蚌不同地理群体 CO I 基序列变异分析. 动物学杂志,2009,44(1):1-8.
- [3] Yuan T, He M X, Huang L M. Intraspecific genetic variation in mitochondrial 16S rRNA and CO I genes in domestic and wild populations of Huaguizhikong scallop *Chlamys nobilis* Reeve. *Aquaculture*, 2009, 289: 19-25.
- [4] 冯冰冰,李家乐,牛东红,等. 我国三疣梭子蟹九个野生群体线粒体 CR 和 CO I 片段比较分析. 动物学杂志 2008, 43(2): 34-42.
- [5] Kappner I, Bieler R. Phylogeny of Venus clams (Bivalvia: Venerinae) as inferred from nuclear and mitochondrial gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2006, 40: 317-331.
- [6] 牛东红,李家乐,沈和定,等. 缢蛭六群体线粒体 DNA CO I 基因序列变异及群体遗传结构分析. 海洋学报,2008,30(30):109-116.
- [7] Folmer O, Black M, Hoeh W, et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrate. *Molecular Marine Biology Biotechnology*, 1994, 3: 294-299.
- [8] Hall T A. Bioedit: a user friendly biological sequence alignment editor and analysis programme for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 1999, 41: 95-98.
- [9] Rozas J, Sanchez-DelBarrio J C, Messeguer X, et al. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 2003, 19(18): 2496-2497.
- [10] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 2005, 1: 47-50.
- [11] Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics*, 2004, 5: 150-163.
- [12] Hedrick P W, Miller P S. Conservation genetics: techniques and fundamentals. *Ecological Applications*, 1992, (2): 30-46.
- [13] 李成华,李太武,宋林生,等. 4个缢蛭群体遗传结构的 RAPD 分析. 水产科学 2004, 23(12): 26-28.
- [14] 杜晓东,李康,黄荣莲,等. 翡翠贻贝 3 个野生种群遗传多样性分析. 热带海洋学报 2007, 26(4): 51-55.
- [15] 石耀华,桂建芳,王嫣,等. 大珠母贝 3 个养殖种群的遗传多样性初步分析. 水生生物学报,2007,31(1): 133-136.
- [16] 吕林兰,杜晓东,王嫣,等. 马氏珠母贝 3 个野生种群及种群间杂交后代遗传多样性的 ISSR 分析. 水生生物学报 2008, 32(1): 26-32.
- [17] Hou L, Lü H L, Zou X Y, et al. Genetic characterizations of *Macraa veneriformis* (Bivalve) along the Chinese coast using ISSR-PCR markers. *Aquaculture*, 2006, 261: 865-871.
- [18] 裴赢,王晓红,张恒庆. 大连渤海沿海菲律宾蛤仔种群的 RAPD 分析. 水产科学 2006, 25(5): 250-252.
- [19] 陈大鹏,沈怀舜,丁亚平,等. 文蛤 (*Meretrix meretrix*) 地理种群 ISSR 分子标记的初步研究. 南京师大学报:自

- 然科学版 2004, 27(3): 75 - 78.
- [20] 么宗利, 周凯, 来琦芳, 等. 我国五个青蛤地理群体遗传变异的 RAPD 分析. 海洋渔业, 2005, 27(2): 102 - 107.
- [21] Hamrick J L, Godt M J W. Conservation genetics of endemic plant specie//Avisé J C, Hamrick J L. Conservation Genetics: Case Histories from Nature. New York: Chapman and Hall, 1996 281 - 304.
- [22] Milton H G, Peñaloza L, Clasing E. Gene flow and allozymic population structure in the clam *Venus antiqua* (King of Broderip), (*Bivalvia*, *Veneriidae*) from Southern Chile. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1998, 230: 193 - 205.
- [23] Balloux F, Lugon-Moulin N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology*, 2002, 11: 155 - 165.
- [24] De Wolf H, Verhagen R, Backeljau T. Large scale population structure and gene flow in the planktonic developing periwinkle, *Littorina striata*, in Macaronesia (Mollusca: Gastropoda). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2000, 246: 69 - 83.
- [25] Qu R Z, Hou L, Lu H L, et al. The gene flow of population genetic structure. *Hereditas*, 2004, (3): 377 - 382.
- [26] Anderson C I H, Rodhouse P G. Life cycles, oceanography and variability: ommastrephid squid in variable oceanographic environments. *Fisheries Research*, 2001, 54(1): 133 - 143.
- [27] Sandoval-Castellanos E, Uribe-Alcocerm M, Díaz-Jaimes P. Population genetic structure of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) evaluated by RAPD. *Fisheries Research*, 2007, 83: 113 - 118.
- [28] 王婷, 丁君, 于佳平, 等. 利用 ISSR 技术研究虾夷扇贝不同地理种群的遗传多样性及其分化. 烟台大学学报: 自然科学与工程版 2009, 22(1): 35 - 41.

《动物学杂志》投稿注意事项

1 稿件的投寄

稿件可通过本刊的电子信箱 (E-mail: journal@ioz.ac.cn) 投寄 (Word 文件作附件), 同时邮寄打印稿。打印稿小四号字单面 1.5 倍行距打印。

2 论文的格式要求

题目 应言简意赅。中文题目字数一般不超过 20 个字; 英文题目不超过 10 个实词, 实词首字母大写。

作者 署名人应是对论文的全部或部分内容做出主要贡献, 并能对文章内容负责的人。

单位 应写作者单位的标准全称及所在地和邮编。

摘要 中文摘要放在文首。内容必须包括: 研究目的、方法、结果 (主要数据) 和结论。用第三人称叙述。英文摘要放在中文摘要下面, 其内容应与中文摘要相对应或略详于中文摘要。

关键词 一般为 3 ~ 5 个, 中英文对应, 分别列在中英文摘要下面。

前言 结合文献阐述国内外相关研究领域的发展状况及本研究的目的和意义。

正文 材料与方法对材料的来源及方法的出处应详细陈述; 结果的数据要完整, 微观形态的稿件应有实验照片作为依据, 文字叙述要简洁明了, 与图表内容相互呼应; 讨论应依据前言的内容、结果的数据、现象展开讨论, 以达到解决问题或得出结论的目的。

全文书写规格 文中请使用国家颁布的法定计量单位和符号及规范化的名词、术语。文中首次出现的英文缩写词, 应先写出中文名称后, 再在括号内写出英文全称和缩写词。物种名称在文中第一次出现时应附拉丁学名 (种属名用斜体, 属名首字母大写)。名词术语的用法文中应前后一致。

① **小标题**: 应简短准确、层次清楚。各级标题一律采用阿拉伯数字连续编码, 左顶格编排, 如“1” (一级标)、“1.1” (二级标)、“1.1.1” (三级标)。

② **图表**: 力求精选, 反应同一数据的图与表不能重复。其序号一律采用阿拉伯数字编码, 在文中引用处注明。线条图应用计算机绘制, 激光打印机打印; 照片图要求反差适中、层次清晰。显微及电镜照片, 应注明长度标尺和放大倍数。

参考文献 应列出与本文直接有关的中外文主要文献, 作者应对所引文献的准确性负责。本刊文献的著录格式采用顺序编码制, 即以文献在文中出现的先后顺序连续编码, 加方括号标注在文中引用处, 文后文献表的文献要