

象山港黄墩支港菲律宾蛤仔种群 COI 和 ITS1 基因 序列特征及遗传多样性分析

李多云, 王礼闪, 苗 亮, 穆方申, 杜静雅

(宁波大学 农产品质量安全危害因子与风险防控国家重点实验室, 浙江 宁波 315211)

摘要: 为了解象山港黄墩支港菲律宾蛤仔种质资源的遗传多样性现状, 采用 COI 和 ITS1 分子标记对该种群进行了基因序列特征和遗传多样性分析. 结果表明: 在该种群 30 个个体中扩增得到的 COI 基因序列长度均为 709 bp, ITS1 序列长度范围在 693~729 bp(共有 746 个位点). COI 基因序列的位点中有 670 个保守位点(占 94.50%)、39 个变异位点(占 5.50%); ITS1 序列的位点中有保守位点 671 个(占 89.95%)、变异位点 62 个(占 8.31%)和缺失/插入位点 13 个(占 1.74%). COI 基因序列的保守性高于 ITS1 序列. 在 COI 基因序列中碱基(A+T)的占比(65.84%)高于(C+G), 而 ITS1 序列中则是碱基(A+T)占比(37.59%)低于(C+G). COI 和 ITS1 序列的遗传距离分析均显示群体内遗传分化不明显. 基于 COI 基因序列和 ITS1 序列构建的遗传进化树显示: 各科贝类分别相聚, 象山港菲律宾蛤仔位于帘蛤科的分支中, 其 COI 序列与杂色蛤进化关系最近. 遗传进化树中各种贝类的聚类关系与传统分类学结果相一致, 可作为分类的参考. COI 和 ITS1 序列的平均核苷酸差异数分别为 5.497 和 6.549, 核苷酸多样性指数分别为 0.007 75 和 0.009 73, 单倍型数目分别为 21 和 28, 单倍型多样性分别为 0.963 和 0.993, 根据 COI 和 ITS1 两个序列计算得到的菲律宾蛤仔象山港群体单倍型多样性均大于 0.5, 核苷酸多样性指数均大于 0.005, 表明该种群遗传多样性丰富, 并处于稳定状态. 本研究结果补充了菲律宾蛤仔遗传多样性方面的研究资料, 并可为象山港菲律宾蛤仔种质资源保护和遗传育种提供理论基础.

关键词: 菲律宾蛤仔; 象山港黄墩支港; 序列特征; 遗传多样性; 线粒体细胞色素氧化酶 I (COI); 内转录间隔区 1 (ITS1)

中图分类号: S917.4

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2020) 06-0001-06

菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)象山港种群主要分布于宁波市宁海县象山港黄墩支港一个半封闭的港湾中, 历来为沿海渔民的捕捞对象和主要收入来源之一, 年产量 4 000~5 000 t^[1-2]. 象山港黄墩支港也是一个重要的菲律宾蛤仔附苗场所, 经调查, 该港中低潮区和港心沙洲地带附苗量达 36 000 个·m⁻², 是一个天然的种质资源库和苗种供应地^[3]. 20 世纪 80 年代后期, 由于对虾养殖出口受阻以及病害频发, 对虾养殖经济效益大幅下降、亏

损的养殖户越来越多. 为了增加对虾塘的经济效益, 降低养殖风险, 全国沿海各地开展了对虾塘立体养殖, 很多采用了对虾与菲律宾蛤仔混养模式的虾塘养殖者纷纷前来象山港黄墩支港采购菲律宾蛤仔种苗, 也有单位购去用于增殖放流^[4]. 为了保护象山港黄墩支港菲律宾蛤仔资源, 早在 20 世纪 80 年代就有对菲律宾蛤仔的年龄与生长及种群动态的研究, 并提出了资源保护的可捕量措施^[1,3], 但迄今尚无对该港菲律宾蛤仔种质资源的遗传多

收稿日期: 2020-02-03.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journal.lg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 长江学者和创新团队发展计划 (IRT0734).

第一作者: 李多云 (1942-), 男, 浙江舟山人, 博导/教授, 主要研究方向: 水产经济动物遗传育种、种质资源保护及增养殖.

E-mail: limingyun@nbu.edu.cn

样性的研究.

遗传多样性是生物进化与分化的基础,是评价自然生物资源的重要依据,因此,研究生物种群的遗传多样性对于该物种的可持续开发利用、保护和维持生态系统的稳定具有重要意义^[5].对菲律宾蛤仔遗传多样性的研究已有不少报道,很多学者采用 SSR 标记研究了不同种群的遗传多样性^[6-10].李旭光等^[11]采用同工酶标记对菲律宾蛤仔 4 个不同地理分布的野生群体进行了生化遗传特征分析,刘相全等^[12]采用 AFLP 分子标记分析了 4 个菲律宾蛤仔群体的遗传多样性. COI (cytochrome oxidase subunit I) 基因位于线粒体 DNA 上,编码细胞色素氧化酶亚基 I, COI 作为结构和动力学研究比较清楚并且测序最多的基因之一,在物种鉴定、系统发育关系分析、遗传分化和遗传多样性研究中有广泛应用^[13]. ITS1 (internal transcribed spacer 1) 是核基因组上 18S rRNA 基因与 5.8S rRNA 基因间的内转录 1 区,具有种内变异较大和长度适中等特点,是进行遗传多样性研究的常用标记之一^[14].目前未见有我国菲律宾蛤仔 ITS1 遗传多样性方面的分析, COI 基因遗传多样性研究也较少见,仅胡丽莎等^[15]用 COI 基因分析了湛江、荣成、大连、钦州、霞浦、广州、连云港、阳江、莆田和儋州 10 个群体的单倍型多样性和核苷酸多样性,但该研究并未包括象山港菲律宾蛤仔群体.

本文通过扩增象山港菲律宾蛤仔的 COI 与 ITS1 基因片段序列,分析其遗传多样性,研究结果对于补充菲律宾蛤仔遗传多样性方面的研究资料以及保护象山港黄墩支港的菲律宾蛤仔种质资源和遗传育种都具有重要意义.

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用菲律宾蛤仔为 2016 年 5 月采自宁波象山港黄墩支港海区的野生个体,共 30 只(编号为 XS-1 到 XS-30),平均壳长 2.56 cm,平均体重 7.0 g,为 3 龄以上的成年贝.解剖取闭壳肌置于 -80°C 冰箱保存,用于提取基因组 DNA.

1.2 方法

采用 DNA 提取试剂盒(OMEGA E.Z.N.A. Tissue DNA Kit)提取基因组,用核酸蛋白检测仪检测

DNA 纯度和质量浓度后调整质量浓度至 $100\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$.使用 Folmer 等^[16]的 COI 基因扩增引物和 King 等^[17]的 ITS1 扩增引物,引物信息见表 1,由生工生物工程(上海)股份有限公司合成.

表 1 引物信息

引物名称	序列(5'→3')
COI-F	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG
COI-R	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA
ITS1-F	AAAAAGCTTCCGTAGGTGAACCTGCG
ITS1-R	AGCTTGCTGCGTTCCTCATCG

20 μL 的 PCR 扩增体系包括: DNA 模板($100\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) 1 μL , 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的正、反向引物各 1 μL , 2 $\times$ Taq Premix 10 μL .扩增条件为: 94°C 预变性 5 min, (94°C 变性 30 s, 55°C 退火 30 s, 72°C 延伸 1 min) $\times$ 35 个循环, 72°C 延伸 10 min, 4°C 保存.

PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测后切取目的条带,用胶回收试剂盒(上海博彩生物科技有限公司)纯化回收后与 pMD-19 载体(TaKaRa)连接,随后转化大肠杆菌 TG1 感受态细胞,培养后经蓝白斑筛选挑取阳性克隆送至上海华大基因科技有限公司进行测序.

对测序结果进行拼接后获得象山港菲律宾蛤仔的 COI 和 ITS1 序列.从 NCBI 网站上通过 BLAST 比对检索并下载其他物种的 COI 与 ITS1 基因序列,各序列的 GenBank 登录号见图 1 和图 2.通过 MEGA 5.05 软件进行位点变异性、碱基含量、转换和颠换的分析,计算遗传距离,构建最大似然(Maximum Likelihood, ML)法遗传进化树(用 Bootstrap 法检验各分支置信度,重复次数 1000 次).利用 DnaSP 5.1 软件分析该群体的遗传多样性参数,包括多态位点数(S)、平均核苷酸差异(K)、核苷酸多样性指数(P_i)、单倍型个数(H)和单倍型多样性(H_d)等.

2 结果

2.1 COI 和 ITS1 基因的碱基组成和遗传距离

扩增得到的象山港菲律宾蛤仔 COI 基因序列长度均为 709 bp, 4 种碱基的占比见表 2, A/T/C/G 的平均占比分别为 41.70%、24.10%、21.30%和 12.80%, 其中(A+T)占比(65.84%)要远高于(C+G)占比(34.16%).该种群 COI 基因序列中共有变异位

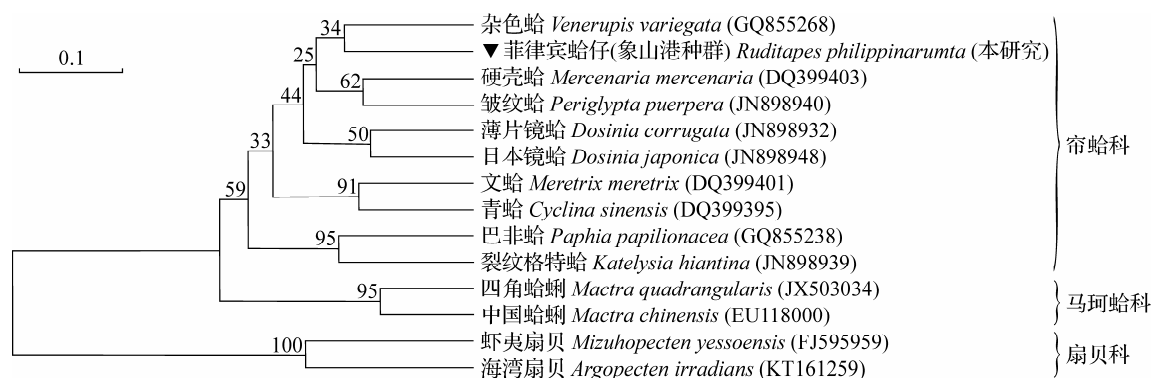


图1 基于 COI 基因序列构建的遗传进化树(ML 法)

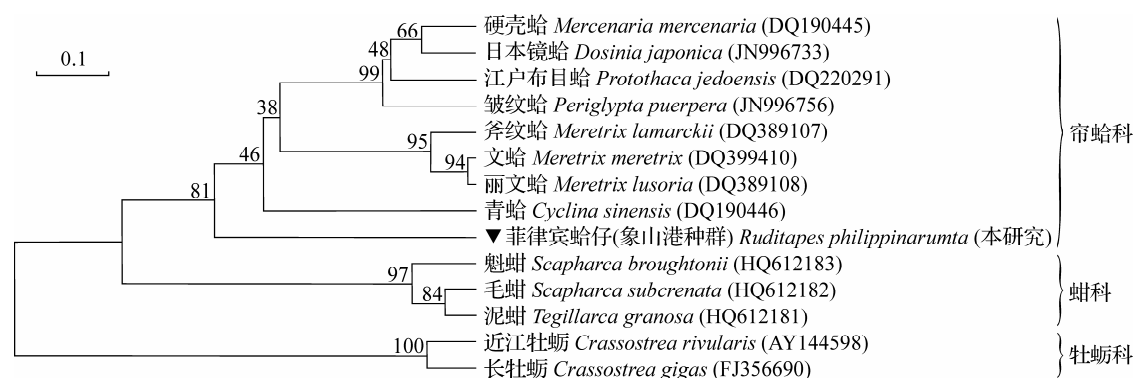


图2 基于 ITS1 序列构建的遗传进化树(ML 法)

点 39 个(占 5.50%), 保守位点 670 个(占 94.50%); 变异位点中有简约信息位点 11 个, 单突变位点 28 个; 这些变异位点中包括转换位点(S_i) 4 个, 颠换位点(S_v) 1 个, R 值($R=S_i/S_v$)为 4.0, 表明碱基替换还未达到饱和^[18].

扩增得到的象山港菲律宾蛤仔 30 个个体 ITS1 序列长度在 693~729 bp 之间, 4 种碱基的占比见表 2, A/T/C/G 的平均占比分别为 17.99%、19.60%、30.35%和 32.08%, 其中(A+T)占比(37.59%)小于(C+G)占比(62.41%). 将所有个体的 ITS1 序列两端对齐后, 包括缺失和插入的碱基在内共有 746 个碱基位点, 其中保守位点 671 个(占 89.95%), 突变位点 62 个(占 8.31%), 缺失/插入位点 13 个(1.74%); 在 62 个突变位点中有简约信息位点 29 个, 单突变位点 33 个; 这些突变位点中包含转换位点 5 个, 颠换位点 3 个, R 值为 1.67.

表2 COI 和 ITS1 基因的 4 种碱基占比 %

基因	A	T	C	G
COI	41.30~42.00	23.70~24.30	21.20~21.70	12.60~13.10
ITS1	17.40~18.30	19.30~19.90	29.80~30.90	31.60~32.50

30 个象山港菲律宾蛤仔 COI 基因序列和 ITS1 序列的个体间遗传距离分别为 0~0.017 和 0.002~0.026, 种群内的平均遗传距离分别为 0.008 和 0.011.

2.2 遗传进化分析

基于 COI 基因序列构建的遗传进化树(图 1)显示: 包括象山港菲律宾蛤仔在内的 10 种帘蛤科双壳贝类聚为一个大支, 扇贝科贝类则聚为另外一支; 象山港菲律宾蛤仔与杂色蛤优先相聚, 表明二者进化关系最近.

基于 ITS1 序列构建的遗传进化树(图 2)显示: 象山港菲律宾蛤仔与其他 8 种帘蛤科贝类聚为一支, 然后再与蚌科的分支相聚, 牡蛎科种类则单独聚为一支; 在帘蛤科的大支中象山港菲律宾蛤仔单独成为一支, 表明该种群与本科其他种类有较大遗传分歧.

2.3 遗传多样性

基于 COI 基因序列的遗传多样性分析显示, 象山港菲律宾蛤仔种群的多态位点数为 39, 单倍型数目为 21, 单倍型多样性为 0.963, 平均核苷酸

差异数为 5.497, 核苷酸多样性指数为 0.007 75.

基于 ITS1 序列的遗传多样性分析显示, 象山港菲律宾蛤仔种群的多态位点数、单倍型数目、单倍型多样性、平均核苷酸差异数、核苷酸多样性指数分别为 49、28、0.993、6.549 和 0.009 73.

3 讨论

象山港菲律宾蛤仔群体的 COI 基因序列长度均为 709 bp, 分析显示这些序列 A/T/C/G 4 种碱基的平均占比分别为 41.7%、24.1%、21.3%和 12.8%, (A+T)为 65.8%, (C+G)为 34.2%, (A+T)占比远大于(C+G). 这是由于动物线粒体基因组具有 A、T、C、G 碱基分布不均一的特性, 例如对三疣梭子蟹^[19]、泥蚶^[20]、中华绒螯蟹和日本绒螯蟹^[21]、中华假磷虾^[22]以及金龟子^[23]的 COI 基因序列分析结果均为 (A+T)的占比大于(C+G).

COI 基因序列分析显示象山港菲律宾蛤仔群体内遗传距离在 0~0.017 之间, 平均遗传距离为 0.008, 表明该种群内没有明显的遗传分化. 究其原因, 可能与分布区为一个半封闭内港有关, 且周围养殖区混养的苗种全部是本地种. 毕晓欣^[24]对中国沿海 9 个不同菲律宾蛤仔种群的遗传分析也显示各种群未见明显的种群分化.

象山港菲律宾蛤仔种群的 ITS1 序列长度在 693~729 bp 之间, 将 30 个个体的 ITS1 序列进行比对发现每条序列都存在插入和缺失的位点; 而扩增得到的该种群 COI 基因序列长度都为 709 bp, 不存在碱基的插入和缺失. 从遗传距离上看, 由 ITS1 序列计算出的平均遗传距离为 0.011, 略大于由 COI 基因序列计算的平均遗传距离 0.008. 这是由于 ITS1 不编码蛋白, 所受的自然选择压力小, 因此遗传变异速率大于编码蛋白的 COI 基因序列. 有研究表明在有些物种中 ITS 序列的进化速率是 COI 基因序列进化速率的 2.5 倍^[25]. ITS1 的碱基占比在不同的物种中表现不同, 如西施舌 ITS1 序列的(C+G)碱基占比大于(A+T)^[14], 魁蚶 ITS1 序列中则是(A+T)占比大于(C+G)的占比^[26]. 象山港菲律宾蛤仔的 ITS1 序列(C+G)占比高于(A+T), 这一点与西施舌相同.

采用最大似然法构建的基于 COI 基因序列遗传进化树显示, 菲律宾蛤仔与杂色蛤聚在一起, 遗

传关系较近, 这与传统分类学结果相一致; 基于象山港菲律宾蛤仔和其他贝类 ITS1 序列构建的遗传进化树中各物种聚类分支情况也与传统分类相符合. 说明对菲律宾蛤仔等贝类而言, 最大似然法构建的遗传进化树拓扑结构比较好, 可供分类时参考.

在衡量一个群体遗传多样性的时候, 单倍型多样性(H_d)和核苷酸多样性指数(P_i)是重要的指标. 基于 COI 序列计算出的象山港菲律宾蛤仔种群 H_d 和 P_i 分别为 0.963 和 0.007 75, 由 ITS1 序列计算出的 H_d 和 P_i 分别为 0.993 和 0.009 73. Grant 等^[27]在对鱼类线粒体 DNA 进行序列研究时, 将这 2 个指数的组合分为了 4 类: (1) $H_d > 0.5$ 、 $P_i > 0.005$; (2) $H_d > 0.5$ 、 $P_i < 0.005$; (3) $H_d < 0.5$ 、 $P_i > 0.005$; (4) $H_d < 0.5$ 、 $P_i < 0.005$. 他们认为当 $H_d > 0.5$ 、 $P_i > 0.005$ 时说明群体的遗传多样性较丰富, 并且这种丰富的遗传多样性来自于一个大且稳定的群体, 是长期进化的结果. 由此可看出象山港群体的遗传多样性较丰富, 并且该群体处于稳定的状态. 胡丽莎等^[15]用 COI 基因序列分析的湛江、荣成、大连、钦州、霞浦、广州、连云港、阳江、莆田和儋州 10 个种群的单倍型多样性和核苷酸多样性指数都分别大于 0.5 和大于 0.005, 表明在我国沿海分布的各菲律宾蛤仔种群均有高度遗传多样性. 这种高度遗传多样性可能与菲律宾蛤仔种群的数量大、生活环境多样或该物种具有优于其他物种的适应能力等原因有关^[28]. 董建宇等^[29]、梁健等^[30]的研究均表明我国菲律宾蛤仔不同地理群体之间存在较明显的表型差异, 但双壳贝类普遍具有较强的表型可塑性^[31], 栖息地环境、营养等条件都会显著影响菲律宾蛤仔的表型特征, 因此在人工养殖、选育中更要注意对当地群体的遗传资源保护, 避免种质混杂. 本研究表明象山港黄墩支港菲律宾蛤仔群体具有较高的遗传多样性水平, 今后可深入比较分析该群体与国内其他地理群体的遗传差异, 以便能够更好地保护、开发和利用象山港的菲律宾蛤仔资源.

参考文献:

- [1] 李祥云, 薛学朗, 冯坚, 等. 象山港黄墩支港菲律宾蛤仔的种群动态及其繁殖保护措施的探讨[J]. 生态学报, 1989, 9(4):297-303.

- [2] 张梦笛, 吕璐, 金狄狄, 等. 象山港大型底栖动物生产力空间插值及模型比较[J]. 生态科学, 2017, 36(4):21-29.
- [3] 李多云, 薛学朗, 丁雪燕, 等. 象山港菲律宾蛤仔年龄与生长的研究[J]. 浙江水产学院学报, 1987, 6(2):111-120.
- [4] 李多云, 刘祖祥. 对虾塘综合利用高产技术[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1991:104-172.
- [5] 张国范, 张福绥. 贝类遗传多样性及其永续利用(I)[J]. 海洋科学, 1993, 17(5):17-21.
- [6] 聂鸿涛, 李佳, 霍忠明, 等. 菲律宾蛤仔人工选育群体与野生群体的遗传多样性分析[J]. 中国水产科学, 2016, 23(3):538-546.
- [7] Yasuda N, Nagai S, Yamaguchi S, et al. Development of microsatellite markers for the Manila clam *Ruditapes philippinarum*[J]. Molecular Ecology Notes, 2006, 7(1): 43-45.
- [8] 闫路路, 秦艳杰, 闫喜武, 等. 基于转录组平台的蛤仔微卫星标记筛选[J]. 生态学报, 2015, 35(5):1573-1580.
- [9] 闫喜武, 虞志飞, 秦艳杰, 等. 菲律宾蛤仔 EST-SSRs 标记开发及不同地理群体遗传多样性[J]. 生态学报, 2011, 31(15):4190-4198.
- [10] 牛泓博, 聂鸿涛, 朱德鹏, 等. 菲律宾蛤仔 EST-SSR 标记与生长性状的相关分析[J]. 生态学报, 2015, 35(6): 1910-1916.
- [11] 李旭光, 许广平, 阎斌伦, 等. 菲律宾蛤仔不同地理群体生化遗传结构与变异的研究[J]. 海洋科学, 2009, 33(4):61-65.
- [12] 刘相全, 包振民, 胡景杰, 等. 两种蛤仔群体遗传多样性的形态参数及 AFLP 分析[J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(3):359-364.
- [13] Chen A H, Li Z X, Feng G N. Phylogenetic relationships of the genus *Meretrix* (Mollusca: Veneridae) based on mitochondrial COI gene sequences[J]. Zoological Research, 2009, 30(3):233-239.
- [14] 孟学平, 高如承, 申欣, 等. 西施舌 5 个地理群体 ITS1 序列变异及系统发生分析[J]. 生态学报, 2010, 30(20): 5555-5561.
- [15] 胡利莎, 张振, 马培振, 等. 10 个菲律宾蛤仔野生群体的遗传多样性研究[J]. 海洋与湖沼, 2016, 47(3):549-556.
- [16] Folmer O, Black M, Hoeh W, et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates[J]. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 1994, 3(5): 294-299.
- [17] King T L, Eackles M S, Gjetvaj B, et al. Intraspecific phylogeography of *Lasmigona subviridis* (Bivalvia: Unionidae): Conservation implications of range discontinuity[J]. Molecular Ecology, 1999, 8(12/S1):S65-S78.
- [18] Hauswirth W W, Laipis P J. Mitochondrial DNA polymorphism in a maternal lineage of Holstein cows[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1982, 79(15):4686-4690.
- [19] 郭天慧, 孔晓瑜, 陈四清, 等. 三疣梭子蟹线粒体 DNA 16S rRNA 和 COI 基因片段序列的比较研究[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2004, 34(1):22-28.
- [20] 郑文娟, 朱世华, 沈锡权, 等. 基于线粒体 COI 基因序列探讨泥蚶的遗传分化[J]. 动物学研究, 2009, 30(1): 17-23.
- [21] 孔晓瑜, 喻子牛, 刘亚军, 等. 中华绒螯蟹与日本绒螯蟹线粒体 COI 基因片段的序列比较研究[J]. 青岛海洋大学学报(自然科学版), 2001, 31(6):861-866.
- [22] 林元烧, 曹文清, 方旅平, 等. 中华假磷虾线粒体 DNA COI 基因片段序列分析[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2004, 43(6):842-846.
- [23] 孙娜, 郭晓华, 刘广纯. 金龟子部分种类 COI 基因序列比较分析[J]. 沈阳农业大学学报, 2009, 40(6):688-692.
- [24] 毕晓欣. 黑帽悬猴(*Cebus apella*)线粒体基因组全序列分析和菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)群体遗传学研究[D]. 烟台: 鲁东大学, 2012.
- [25] Navajas M, Lagnel J, Gutierrez J, et al. Species-wide homogeneity of nuclear ribosomal ITS2 sequences in the spider mite *Tetranychus urticae* contrasts with extensive mitochondrial COI polymorphism[J]. Heredity, 1998, 80(6):742-752.
- [26] 孙桂金, 潘杰, 刘可春, 等. 毛蚶、泥蚶和魁蚶 ITS1 核苷酸序列分析[J]. 生物技术通报, 2011(7):117-120.
- [27] Grant W S, Bowen B W. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation[J]. Journal of Heredity, 1998, 89(5):415-426.
- [28] Nei M. Molecular Evolutionary Genetics[M]. New York: Columbia University Press, 1987.
- [29] 董建宇, 胡成业, 杨晓龙, 等. 基于 GLM 模型 Logistic 回归的菲律宾蛤仔地理群体判别[J]. 海洋与湖沼, 2018, 49(6):1318-1324.
- [30] 梁健, 王俊杰, 郭永军, 等. 不同地理群体菲律宾蛤仔表型性状的相关性与通径分析[J]. 水产科学, 2020, 39(1):40-47.
- [31] de Montaudouin X, Lucia M, Binias C, et al. Why is Asari (=Manila) clam *Ruditapes philippinarum* fitness poor in Arcachon Bay: A meta-analysis to answer[J].

Estuarine, Coastal and Shelf Science, 2016, 179:226-235.

Sequence characteristics and analysis of genetic diversity based on COI and ITS1 of *Ruditapes philippinarum* population at Huangdun area in Xiangshan Port

LI Mingyun, WANG Lishan, MIAO Liang, MU Fangshen, DU Jingya

(State Key Laboratory for Managing Biotic and Chemical Threats to the Quality and Safety of Agro-products,
Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: The present study was designed to understand the status of genetic diversity of *Ruditapes philippinarum* at Huangdun area in Xiangshan Port. A total number of 30 *R. philippinarum* samples were collected. The sequence characteristics and genetic diversity of COI and ITS1 molecular markers were analyzed. The results showed that the sequence lengths of COI gene of the samples were all 709 bp and the ITS1 sequence had total 746 loci. In addition, the sequence lengths were in the range of 693–729 bp. In COI gene sequence, there were 670 conserved sites (94.50%) and 39 variable sites (5.50%). There were 671 conserved sites (89.95%), 62 variable sites (8.31%) and 13 deletion/insertion sites (1.74%) in the total 746 loci of ITS1 sequence. The sequence conservation of COI gene was significantly higher than that of ITS1 sequence. In COI gene sequence, the base content of (A+T) was 65.84% and was higher than (C+G). In the ITS1 sequence, the content of (A+T) was only 37.59% and was less than (C+G). The genetic distance analysis based on COI and ITS1 showed that there was no significant genetic difference between groups. The phylogenetic tree based on COI and ITS1 showed that the shellfish of the same family grouped together. The *R. philippinarum* of Xiangshan Port was in the cluster of Veneridae and had the closest relationship of evolution to *Venerupis variegata*. The results of molecular phylogenetic tree were consistent with traditional classification. For *R. philippinarum* of Xiangshan Port, the average numbers of nucleotide differences were 5.497 for COI and 6.549 for ITS1. The nucleotide diversity indices were 0.007 75 for COI and 0.009 73 for ITS1. Haplotype numbers were 21 for COI and 28 for ITS1. Furthermore, haplotype diversity were 0.963 for COI and 0.993 for ITS1. The haplotype diversity of COI and ITS1 were both greater than 0.5. The nucleotide diversity indices of these two sequences were both greater than 0.005. The results indicated that the *R. philippinarum* population at Xiangshan Port had rich genetic diversity and the genetic state was stable. The results provided theoretical basis for germplasm conservation and genetic breeding of the *R. philippinarum* population in Xiangshan Port.

Key words: *Ruditapes philippinarum*; Huangdun area in Xiangshan Port; sequence characteristics; genetic diversity; cytochrome oxidase subunit I (COI); internal transcribed spacer 1 (ITS1)

(责任编辑 韩 超)