

池蝶蚌 mtDNA CO I 基因序列分析

王军花¹, 曾柳根¹, 林巧惠¹, 盛军庆¹, 徐毛喜², 龚贵如¹, 洪一江¹

(1. 南昌大学生命科学与食品工程学院, 江西 南昌 330031; 2. 江西抚州市洪门水库开发公司, 江西 抚州 344712)

摘要:以三角帆蚌(*Hyriopsis cumingii*)线粒体 DNA 设计特异性引物,对池蝶蚌(*H. schlegelii*)的线粒体 CO I 基因进行 PCR 扩增,以期了解池蝶蚌的选育效果。结果表明:在 10 个个体中均得到序列一致的 CO I 序列,长度为 1 542 bp;A、T、G、C 含量分别为 18.1% (280 个)、41.8% (644 个)、25.4% (392 个)和 14.7% (226 个),A + T 含量(59.9%)明显高于 G + C 含量(40.1%),与其他无脊椎动物相同基因片段碱基含量相似。该基因中密码子 T(U)的使用频率很高,第 1 位核苷酸中 T 和 G 的含量较为一致分别为 32.0% 和 30.8%;密码子第 2 位上碱基 T 的使用比率高达 42.7%,碱基 G 的使用比率低至 17.2%;密码子第 3 位上碱基 T 的使用比率高达 50.7%,而碱基 C 的使用比率仅为 6.6%。BLAST 结果显示池蝶蚌与其他淡水贝类的 CO I 基因具有较高的同源性,其中与三角帆蚌的相似性为 95%,MP 法构建的分子系统进化树表明:池蝶蚌 CO I 基因与三角帆蚌 CO I 基因亲缘关系最近。以上结果表明:池蝶蚌经过人工选育后已初步成为一个纯系,遗传性状趋于稳定。

关键词:池蝶蚌;线粒体;CO I 基因;人工选育;序列分析

中图分类号:Q523 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-3075(2010)05-0021-06

线粒体 DNA (Mitochondrial DNA, mtDNA) 作为分子遗传标记在分子系统学研究中得到了广泛的应用,细胞色素氧化酶 I 亚基 (Cytochrome oxidase subunit I, CO I) 是线粒体氧化呼吸链的重要成员,它有着比核基因进化快的位点,特别是编码子的第 3 位点对于推断更近的支序发生有着潜在的作用 (Miyama et al, 2003; Medina M & Walsh P J, 2000)。国内外应用 mtDNA CO I 基因对贝类进行遗传进化方面的研究有较多报道,利用 CO I 基因序列分析了葡萄牙牡蛎以及牡蛎的种间和属间的遗传距离 (Foighil D et al, 1998);不同地点的翡翠贻贝的 3 种近缘种的种间及种内变异研究 (Blair D et al, 2006);我国五大淡水湖三角帆蚌群体 CO I 基因片段的遗传变异 (李家乐等, 2008);长江中下游褶皱纹冠蚌 10 个群体变异分析 (贾名静等, 2009) 和泥蚶线粒体的遗传分化 (郑文娟等, 2009)。

池蝶蚌 (*Hyriopsis schlegelii*) 为优质淡水珍珠育珍珠,隶属瓣鳃纲、蚌科、帆蚌属,原产于日本滋贺县的琵琶湖。本项目组已对池蝶蚌及其人工选育后代的育珠性能 (周春花等, 2003)、抗病害 (徐毛喜等, 2004; 洪一江等, 2008)、胚胎发育 (余颖等,

2008)、同工酶 (罗洁等, 2008) 和基因组 DNA (郭红军等, 2008) 的遗传多样性等方面展开了研究,而关于线粒体 DNA 方面的研究比较少。本研究分析人工选育 F₃ 代池蝶蚌的 mtDNA CO I 基因的序列,以期了解池蝶蚌的选育效果,为池蝶蚌的选育和优良品种培育提供一定的理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料

池蝶蚌取自江西省抚州市洪门水库开发公司国家级池蝶蚌良种场, F₃ 为 2004 ~ 2005 年繁殖的子三代,样本数目为 10 个,取新鲜的性腺组织, -20℃ 保存备用。

1.2 DNA 提取

性腺基因组总 DNA 的提取参照标准酚-氯仿抽提程序进行 (Sambrook J et al, 1989)。琼脂糖电泳及紫外吸光度值 (A) 定量 DNA 参照周莉等 (1998) 的文献。

1.3 引物设计与 PCR 扩增

根据 GenBank 数据库中三角帆蚌 (*H. cumingii*) 的线粒体全基因序列 (GenBank 登录号为 NC011763), 运用 Oligo 6.0 软件 (Wojciech R & Robert E R, 1989) 设计可以覆盖池蝶蚌的线粒体 CO I 基因全序列的引物 2 对: F₁ (TGGAACAAGCCTTCTATGA) 与 R₁ (AAAAGTGGAGCCACCTACTT), 及 F₂ (AAGACCTACTCAATGCCCTACCC) 与 R₂ (TTTGGGTGATTATGTTCTACGA), 并确保 2 引物

收稿日期: 2009-12-11

基金项目: 农业部 948 项目 (2004-T9), 国家发改委办 ([2005] 1899) 资助。

通讯作者: 洪一江。E-mail: yjhong2008@163.com

作者简介: 王军花, 1974 年生, 女, 江西泰和人, 硕士研究生, 从事水生动物发育遗传学研究。

之间的重叠区域在 500 bp 以上。引物的相对位置见图 1。

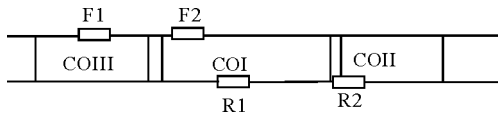


图 1 池蝶蚌线粒体 DNA CO I 基因 2 个引物的示意

Fig. 1 Diagrammatic representation of the sequences between two primers in *Hyriopsis schlegeli*

以池蝶蚌性腺的基因组 DNA 为模板扩增 CO I 基因。PCR 反应体系为 50 μ L, 含 5 μ L 10 \times PCR 缓冲液, 3 μ L 25 mmol/L MgCl₂, 10 pmol/ μ L 引物各 1 μ L, 1 μ L 10 mmol/L dNTP, 2 U *Taq* 聚合酶, 1 μ L 模板 DNA (约 100 ng)。PCR 反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 进行 35 个循环, 每个循环包括 94 $^{\circ}$ C 变性 40 s, 54 $^{\circ}$ C/52 $^{\circ}$ C 复性 45 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 60 s, 最后一个循环结束后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳分离, 利用胶回收试剂盒进行纯化 (BBI), 转入大肠杆菌 (*Escherichia coli*) DH5 α 感受态细胞 (Sambrook J et al, 1989), 筛选克隆测序 (上海生工)。

1.4 序列分析

用 Clustal X (Thompson J D et al, 1997) 软件对所得序列进行编辑和排序比对, 并用 SEAVIEW 人工手动排检, 用 MEGA 4.0 (Tamura K et al, 2007) 软件统计和比较它们的碱基含量变化、序列差异及氨基酸利用率等信息。结合 GenBank 数据库中部分贝类的线粒体 DNA 全序列, 包括来自 *Inversidens* 属 *I. japonensis*; *Lamplisilis* 属的 *L. ornate*; *Cristaria* 属的 *C. plicata* 和同属的 *H. cumingii*, 探讨池蝶蚌的遗传多样性和分类地位。

2 结果

2.1 PCR 扩增

根据设计的 2 对引物, 对池蝶蚌性腺总 DNA 进行了扩增、电泳, 得到清晰的基因片段, 10 个个体均扩增到一条清晰的条带, 部分样品的电泳结果如图 2 和图 3 所示。

结果显示, 2 对引物的扩增片段, 分别是 900 bp 和 1 500 bp 左右, 与预期的结果一致。

2.2 序列测定结果

利用 Clustal X 软件对 DNA 序列进行比对, 人工手动排检编辑后得到 2 300 bp 的序列, 其中包括池蝶蚌 CO I 基因全序列 1 542 个碱基 (图 4), 含 1 个起始密码子 TTG 和 1 个 TAG 的终止密码子, 以及

CO III 基因的部分碱基。10 个个体的 CO I 基因的碱基均一致; 并用软件 Sequin 9.50 将 CO I 基因片段翻译成氨基酸序列, 共包含 513 氨基酸残基。所获得的基因序列已登录入 GenBank 数据库, 序号为 GQ360034。

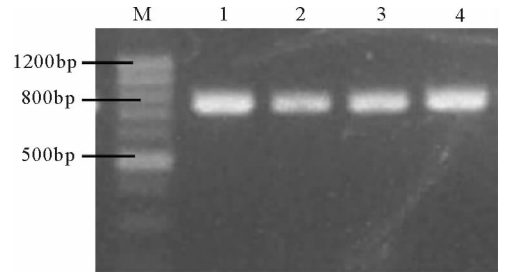


图 2 引物 R₁ 与 F₁ 部分扩增结果

Fig. 2 PCR products of primer R₁ and F₁

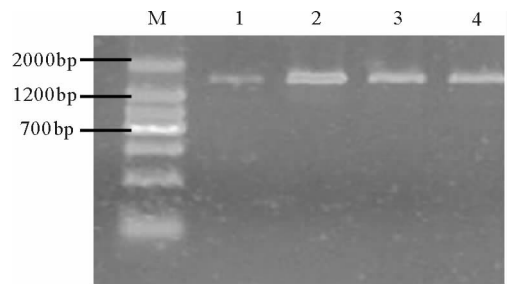


图 3 引物 R₂ 与 F₂ 部分扩增结果

Fig. 3 PCR products of primer R₂ and F₂

2.3 CO I 基因片段序列分析

由图 4 可知, CO I 基因序列中 A、T、G 和 C 碱基的平均含量分别为 18.1% (280 个)、41.8% (644 个)、25.4% (392 个) 和 14.7% (226 个)。该基因中密码子使用中 T(U) 的使用频率很高, 第 1 位核苷酸中 T 和 G 的含量较为一致分别为 32.0% 和 30.8%, 第 2 位上碱基 T 的使用比率高达 42.7%, 碱基 G 的使用比率低至 17.1%; 密码子第 3 位上碱基 T 的使用比率高达 50.6%, 而碱基 C 的使用比率仅为 6.6%。

由表 1 可见, 在由核苷酸推导的氨基酸序列中, Leu 所占比例最高, 为 13.45%; 其次为 Val, 所占比例为 9.75%; Cys 所占比例最少, 为 0.19%。

2.4 池蝶蚌 CO I 基因与淡水贝类的碱基比较

用 BLAST 基因分析软件分析比较池蝶蚌与 GenBank 上其他一些贝类的 CO I 基因序列, 结果表明存在有较高的同源性, 其中与三角帆蚌 (GenBank NC_011763) 的 CO I 的碱基序列有 95% 的同源性。同时利用 MEGA4 软件比较了 5 种贝类的 CO I 基因序列的同源性, 以贻贝属的 *Mytilus trossulus* 为外源种群, 基于 CO I 基因全序列, 用 Maximum

```

1 TTGCGGTGATTATGTTCTACGAATCATAAGGATATTGGGACTTTGTATTTATTGTTGGCC
1 M R W L C S T N H K D I G T L Y L L L A
61 TTGTGGTCTGGTTTGATTGGTCTAGCTTTGAGTCTTTTGATTTCGAGCAGAGTTGGGTCAG
21 L W S G L I G L A L S L L I R A E L G Q
121 CCTGGGAGTTTGTGGGAGATGATCAGCTGTATAATGTGATTGTCAGTCTCATGCTTTT
41 P G S L L G D D Q L Y N V I V T A H A F
181 ATAATAATTTTTTCTTGGTGATACCTATAATAATTGGGGGTTTTGGTAATTGGCTTATT
61 M M I F F L V M P M M I G G F G N W L I
241 CCACTAATGATTGGGGCTCCTGATATGGCTTTTCCACGTCTTAATAATTTAAGGTTTTGG
81 P L M I G A P D M A F P R L N N L S F W
301 TTGCTTGTACCGGCTCTTTTTTTGTTGTTAAGGTCTTCTTTGGTTGAGAGGGGTGTTGGG
101 L L V P A L F L L L S S S L V E S G V G
361 ACTGGTTGGACAGTTTATCCCCCGCTATCTGGGAATGTTGCTCATTTCGGGGGCTTCGGTT
121 T G W T V Y P P L S G N V A H S G A S V
421 GATTAGCTATTTTTTCCTTACATCTTGTCTGGTGTCTTCTTATTTTGGGTGCTATTAAT
141 D L A I F S L H L A G A S S I L G A I N
481 TTTATCTCTACTGTGGGAATATGCGCTCTCCCGGGCTAGTTGCCGAACGTATTCCTTTG
161 F I S T V G N M R S P G L V A E R I P L
541 TTTGTGTGAGCTGTGACGGTGACAGCAATTTTATTGGTTGCGGCTTTGCCTGTTTTAGCT
181 F V W A V T V T A I L L V A A L P V L A
601 GGGGCTATTACAATGCTGCTTACAGACCGTAATTTAAATACATCTTTTTTTGATCCAACA
201 G A I T M L L T D R N L N T S F F D P T
661 GCGGGGGGGACCCTATTTTGTATATGCACTTGTTTTTGGTTTTTTGGGCACCCTGAAGTG
221 G G G D P I L Y M H L F W F F G H P E V
721 TATATTTTGATTTTACCTGGTTTTTGGGATGATTCGCATGTTGTTATACATTATGCTGGT
241 Y I L I L P G F G M I S H V V M H Y A G
781 AAGAAGCAAGTTTTTGGTTATTTGGGTATGGTTTATGCTATTGTTTCTATTGGGGTTTTG
261 K K Q V F G Y L G M V Y A I V S I G V L
841 GGGTTTATCGTTTGGGCTCACCATAATGTTTACTGTTGGGATAGATGTGGATACTCGAGCT
281 G F I V W A H H M F T V G M D V D T R A
901 TATTTTACAGCTGCCACGATAATTATTGCTGTTCCGACTGGGATTAAGGTGTTTAGATGG
301 Y F T A A T M I I A V P T G I K V F S W
961 TTAGCAACTATTCATGGGTTTTGTAATAAAAACCGAGCCACCTATTTTGTGGGCTCTTGGG
321 L A T I H G F V N K T E P P I L W A L G
1021 TTTATTTTTTTGTTTACCGTAGGGGGTTGACAGGCATTGTATTGTCTAACTCCTCTTTG
341 F I F L F T V G G L T G I V L S N S S L
1081 GACATTGTATTGCACGATACTTATTATGTAGTGGCCCATTTTCATTATGTGTTAAGAATG
361 D I V L H D T Y Y V V A H F H Y V L S M
1141 GGGGCTGTTTTGCTTTGTTTAGGGCTTTTAGGTATTGGTATCCTTTGATCTCTGGGGTG
381 G A V F A L F S A F S Y W Y P L I S G V
1201 ACCTTTTCATGCTGTTTGAAGAAAGTTTCATTTTGTGCTTATGTTTGTGGGGTTAACTTA
401 T F H A V W S K V H F V L M F V G V N L
1261 ACCTTTTTTTCCTCAGCATTTTTTAGGGTTAGCAGGTATACCTCGTCCGGTATTCGGATTAT
421 T F F P Q H F L G L A G M P R R Y S D Y
1321 CCCGATAGGTTTGGGAAGTGAATGTAGTGTCTTCTTGGGGTCTTTAATTTCTTTTGTG
441 P D S F A K W N V V S S W G S L I S F V
1381 TCTGTGTTATTATTATGTTTATGTTGTTGGAGTCTTTTGTCTCTCAACGATCTGTTGTG
461 S V L L F M F M L L E S F V S Q R S V V
1441 TGGGGTAGGGCATTGAGTAGGTCTTTTGTAGTGGCAAGACGCCAATTTTCCCGCGTCTTTT
481 W G S A L S S S F E W Q D A N F P A S F
1501 CATTCTAATAGTCAAATGGCAAAAGTTTTTTTTGTTTAGTTAG
501 H S N S Q M A K V F L F S *

```

图4 池蝶蚌 CO I 基因的核苷酸序列及其推测的氨基酸序列

Fig. 4 CO I gene of complete nucleic acid sequences and deduced amino acid sequences of *H. Schlegelii*

Parsimony (MP) 法构建分子系统进化树(图 5),结果显示池蝶蚌的 CO I 与三角帆蚌的 CO I 亲缘关系最近。

表 1 池蝶蚌 CO I 基因 20 种氨基酸的使用频率

Tab.1 The usage frequency of 20 amino acids in CO I gene

氨基酸	频率/%	氨基酸	频率/%
Ala	7.99	Gly	8.77
Cys	0.19	His	3.51
Asp	2.92	Ile	6.24
Glu	1.36	Lys	1.56
Phe	8.77	Leu	13.45
Met	4.48	Ser	9.16
Asn	3.12	Thr	4.68
Pro	4.48	Val	9.75
Gln	1.36	Trp	3.12
Arg	1.95	Tyr	3.12

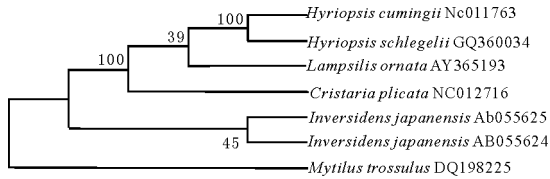


图 5 基于 CO I 基因全序列 Maximum Parsimon (MP) 法构建分子系统进化树

Fig.5 Molecular phylogenetic tree was constructed by MP method of complete CO I gene

3 讨论

以池蝶蚌为材料,通过提取性腺组织的 DNA,根据三角帆蚌的线粒体 DNA 全序列设计引物,首次获得了池蝶蚌的线粒体 CO I 基因全序列,共 1 542 个碱基。池蝶蚌的线粒体 CO I 基因序列中 A、G、T 和 C 碱基的平均含量分别为 18.1% (279 个)、25.4% (391 个)、41.8% (643 个) 和 14.7% (226 个)。其中 A + T 含量为 59.9%, G + C 含量为 41.1%, A + T 含量明显高于 G + C 含量,这一模式与其他双壳类的 CO I 基因相似(Miya M et al, 2003; Breton S et al, 2006)。在密码子碱基的使用中 T(U)所占比例最大,第 1 位核苷酸中 T 的含量为 32.0%,密码子第 2 位上碱基 T 的使用比率高达 42.7%,密码子第 3 位上碱基 T 的使用比率高达 50.7%,这表明密码子的碱基使用频率存在明显的偏向性,这与典型的无脊椎动物 DNA 碱基的组成一致(Simon C et al, 1994)。池蝶蚌的 CO I 基因含起始密码子 TTG 和终止密码子 TAG,这与同属的三角帆蚌相似,而与 *I. japonensis* 的结果不一致。

mtDNA CO I 基因由于具有独特的遗传特性,被

用来分析生物遗传多样性和亲缘关系(Medina M & Walsh P J, 2000)。实验发现 CO I 基因序列在 F₃ 代池蝶蚌中表现出高度的一致性,10 个个体得到的序列一致,没有发现个体差异,表明经过人工选育后,池蝶蚌的遗传特性纯合度较高的。这与本项目组所报道的 EST、MDH 同工酶(罗洁等, 2008)和基因组 DNA 的 RAPD 的遗传多样性(郭红军等, 2008)的结果是一致的。本研究中所克隆的 CO I 基因的全序列为 1 542 bp,比三角帆蚌的 CO I 基因的全序列的碱基要多 6 bp。通过 Sequin 9.50 所推导出来的氨基酸序列为 513 个氨基酸,与三角帆蚌也要多 2 个,但与 *L. ornata* 和 *C. plicata* 的 CO I 基因的碱基数目一致。从本实验的结果来看,池蝶蚌 CO I 基因与三角帆蚌之间存在一定的差异性。CO I 等线粒体编码的基因在呼吸链上有重要作用,在热环境、动物新陈代谢特点等发生明显变化的时候正选择可能存在,CO I 基因上某些序列的分歧可能也是适应不同小环境的结果(Dalziel A C et al, 2006),这也说明本文所获得的池蝶蚌序列与同属的三角帆蚌的差异性,可能是由于环境的改变引起的。尽管从 CO I 基因的角度比较了三角帆蚌与部分淡水贝类的亲缘关系,但对它们之间的亲缘关系还在进行进一步研究。

参考文献:

- 郭红军, 罗洁, 洪一江, 等. 2008. 人工选育池蝶蚌的生长及不同世代遗传分析[J]. 水生生物学报, 32(2): 220 - 223.
- 洪一江, 余颖, 郭红军, 等. 2008. 池蝶蚌(*Hyriopsis schlegelii*)血淋巴的抗菌力、溶菌酶和酚氧化酶活力[J]. 南昌大学学报:理科版, 32(1): 66 - 69.
- 贾名静, 李家乐, 牛东红, 等. 2009. 长江中下游褶纹冠蚌 10 个群体 CO I 基因序列变异分析[J]. 动物学杂志, 44(1): 1 - 8.
- 李家乐, 王建军, 汪桂玲, 等. 2008. 我国五大淡水湖三角帆蚌群体 mtDNA CO I 基因片段变异分析[J]. 水生生物学报, 32(5): 779 - 782.
- 罗洁, 盛军庆, 邱骏, 等. 2008. 人工选育池蝶蚌的 EST 和 MDH 同工酶分析[J]. 水生态学杂志, 1(2): 48 - 52.
- 徐毛喜, 洪一江, 戴银根, 等. 2004. 池蝶蚌(*Hyriopsis schlegelii*)对三角帆蚌病源的抗病性[J]. 南昌大学学报:理科版, 28(3): 262 - 269.
- 余颖, 洪一江, 邱骏, 等. 2008. 池蝶蚌胚胎发育与繁殖季节性腺的观察[J]. 动物学杂志, 43(3): 102 - 107.
- 郑文娟, 朱世华, 沈锡权, 等. 2009. 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, 30(1): 17 -

- 23.
- 周春花,徐毛喜,欧阳珊,等. 2003. 池蝶蚌(*Hyriopsis schlegelii*)与三角帆蚌(*H. cumingii*)若干生物学性状比较研究. 江西科学,21(2):122~124.
- 周莉,樊连春,桂建芳. 1998. 银鲫复合种外源遗传物质整合的 RAPD 分析[J]. 水生生物学报, 22(3): 301 - 306.
- Blair D, Waycott M, Byrne L, et al. 2006. Molecular Discrimination of Perna (Mollusca: Bivalvia) Species Using the Polymerase Chain Reaction and Species - Specific Mitochondrial Primers [J]. Mar Biotechnol, 8(4): 380 - 385.
- Breton S, Burger G., Stewart D T, et al. 2006. Comparative analysis of gender - associated complete mitochondrial genomes in marine mussels (*Mytilus* spp.) [J]. Genetics, 172(2): 1107 - 1119.
- Dalziel A C, Moyes C D, Fredriksson E, et al. 2006. Molecular evolution of cytochrome c oxidase in high-performance fish (Teleostei: Scombroidei) [J]. Journal of Molecular Evolution, 62: 319 - 331.
- Foighil D, Gaffney P M, Wilbur W A. 1998. Mitochondrial cytochrome oxidase I gene sequence support an Asian origin for the Portuguese oyster *Crassostrea angulata* [J]. Mar Biol, 131: 497 - 503.
- Medina M, Walsh P J. 2000. Molecular systematics of the order Anaspidia based on mitochondrial DNA sequence (12S, 16S, and COI) [J]. Mol Phylogenet Evol, 15(1): 41 - 58.
- Miya M, Takeshima H, Endo H, et al. 2003. Major patterns of higher teleostean phylogenies: A new perspective based on 100 complete mitochondrial DNA sequences [J]. Mol Phylogenet Evol, 26: 121 - 138.
- Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual [R]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory: 463 - 468.
- Simon C, Frati F, Beckenbach A, et al. 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers [J]. Ann. Ent. Soc. Am., 87: 651 - 701.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, et al. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0 [J]. Molecular Biology and Evolution, 24(8): 1596 - 1599.
- Thompson J D, Gibson T J, Plewinak F, et al. 1997. The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. Nucleic Acids Research, 24: 4876 - 4882.
- Wojciech R, Robert E R. 1989. A computer program for choosing optimal oligonucleotides for filter hybridization, sequencing and in vitro amplification of DNA [J]. Nucleic Acids Research, 17: 8543 - 8551.

(责任编辑 杨春艳)

Sequence Analysis of Mitochondrial CO I of *Hyriopsis schlegeli*

WANG Jun-hua¹, ZENG Liu-gen¹, LIN Qiao-hui¹, SHENG Jun-hua¹,
XU Mao-xi², GONG Gui-Ru¹, HONG Yi-jiang¹

(1. College of life science and food engineering, Nanchang University, Nanchang 330031, China;
2. Fuzhou Hongmen Reservoir Exploitation Corporation Company, Fuzhou 344712, China)

Abstract: With the expectation to investigate the breeding effect of *Hyriopsis schlegeli*, mitochondrial DNA CO I gene was amplified by PCR and sequenced by two primers which were designed according to the complete mtDNA of *Hyriopsis cumingi*. The results showed that there was no difference in sequences among the ten samples. The number of its whole gene sequence was 1542 bp in length which had 18.1% (280), 41.8% (644), 25.4% (392), 14.7% (226) of A, T, G, and C, respectively, A + T (59.9%) > G + C (40.1%), similar to the sequences in other invertebrate animals. It had high content of T in cidons, the first positions of codons had 32.0% content of T and 32.8% content of G; the second positions of the codons in the gene have high content of T (42.7) but low content of G (17.2%); 50.7% content of T and 6.6% content of C were found in the third positions. The CO I gene of the *H. Schelegii* was proved to have good homology with other species of freshwater mussel recorded in the GenBank, the sequence similarity between *H. Schelegii* and *H. cumingi* was 95%. The result of Phylogenetic tree which was constructed by Maximum Parsimony method indicated that there was the closest phylogenetic relationship between *H. Schelegii* and *H. cumingi*. It indicated that the genetic characteristic of the *H. schlegeli* tends to be stable and become pure strain after 3 generation artificial selected.

Key words: *Hyriopsis schlegeli*; Mitochondrion; CO I gene; Selected breeding; Sequence analysis