

DNA条形码技术在海洋贝类鉴定中的实践: 以大亚湾生态监控区为例

李海涛* 张保学 高 阳 时小军 周 鹏

(国家海洋局南海环境监测中心, 广州 510300)

摘要: 为提高物种鉴定的准确性, 本研究采用DNA条形码技术对大亚湾生态监控区冬季采集的贝类样品进行了种类鉴定。结果表明, 26个形态种中, 有15个可以通过线粒体COI和16S rRNA基因的系统发育分析鉴定到种的水平。部分形态上难以鉴定的种类, 如线缝摺塔螺(*Ptychobela suturalis*)和区系螺(*Funa* sp.)可以通过条形码实现有效鉴定。锯齿巴非蛤(*Paphia gallus*)、西格织纹螺(*Nassarius siquijorensis*)、爪哇拟塔螺(*Turricula javana*)等种类存在相当大的种内遗传距离, 有存在隐存种的可能性。尽管基于线粒体COI和16S rRNA基因的种内遗传距离和属内种间的遗传距离发生重合, 无明显的条形码间隙, 但通过系统树的方法仍能有效鉴定物种。可见, DNA条形码技术能有效提高海洋贝类物种鉴定的准确性并发现隐存种。

关键词: DNA条形码, 生物多样性, 监测, COI基因, 16S rRNA基因, 海洋贝类

DNA barcoding in species identification of seashells: a case study in the ecological monitoring zone of Daya Bay, Guangdong

Haitao Li*, Baoxue Zhang, Yang Gao, Xiaojun Shi, Peng Zhou

South China Sea Environmental Monitoring Center, State Oceanic Administration, Guangzhou 510300

Abstract: To improve the accuracy of seashell species identification in the ecological monitoring zone of Daya Bay, Guangdong, we used DNA barcoding based on mitochondrial COI and 16S rRNA genes from specimens sampled in the winter of 2013. Among the 26 morphospecies, 15 can be identified to the species level using phylogenetic analyses. Some species, *Ptychobela suturalis* and *Funa* sp., were difficult to identify by shell morphology but were successfully identified using DNA barcoding. A high level of intraspecific sequence variation was observed in *Paphia gallus*, *Nassarius siquijorensis* and *Turricula javana*, suggesting that cryptic species may occur in these three morphospecies. Although the barcoding gap does not exist between intra- and interspecific variations based on COI and 16S rRNA genes, a phylogenetic approach can provide effective identification. DNA barcoding is an effective tool for accurate species identification and discovery of cryptic species in seashells.

Key words: DNA barcoding, biodiversity, monitoring, COI, 16S rRNA, seashells

海洋贝类是种类极为丰富的一大类群, 具有重要的经济、生态和工艺价值。长期以来, 外部形态特征尤其是贝壳一直是贝类种类鉴定和区分的主要依据。但传统的形态学鉴定存在着诸多缺陷: 趋同进化和表型可塑性会导致物种的错误鉴定, 如贝壳的形态特征会受到生物或非生物因素的影响

(Wilke & Falniowski, 2001); 隐存种在海洋贝类中广泛存在(Terranova *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2011), 而传统的形态鉴定难以识别和区分这些种类; 部分种类两性异形或形态受生长发育的影响(Johnson *et al.*, 2008); 以及形态鉴定极大地依赖于分类者的经验和水平, 主观性较强等。

收稿日期: 2014-12-17; 接受日期: 2015-04-13

基金项目: 海洋公益性行业科研专项(201305010, 201005015)和南海区海洋环境质量综合评价方法(DOME(P(MEA)-01-03)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: haitaoli1981@126.com

生物多样性监测对于了解生物类群的现状、演化趋势及驱动因子具有重要作用,并可为开展相应的保护和管理工作提供理论指导。快速、准确地鉴定物种,是生物多样性监测的关键环节(Hajibabaei *et al.*, 2007)。在物种鉴定领域,DNA条形码技术(Hebert *et al.*, 2003a, b)已被广泛应用到各类海洋生物的物种鉴定中(柳淑芳等, 2010; Chen *et al.*, 2011; 王敏晓等, 2011),但大多聚焦于特定类群(科、属等)的种类鉴定,很少应用到生物多样性监测中。

大亚湾位于珠江口东侧,面积约600 km²,属亚热带海湾。大亚湾海洋生物资源与生物种类丰富,建有惠东港口海龟国家级自然保护区和大亚湾水产资源省级自然保护区。同时,大亚湾是一个受人类活动影响较为显著的海湾生态系统,其北岸为大亚湾石化基地,西岸有大亚湾和岭澳两座核电站,东岸有巽寮旅游度假区和平海电厂。大亚湾海域目前已成为社会关注和科学研究的热点区域,也被国家海洋局列为重点监测的海洋生态监控区。自2004年以来,每年均对大亚湾开展例行的海洋生物多样性监测。本文以2013年大亚湾冬季底栖拖网样品的贝类为材料,采用形态学与DNA条形码技术相结合的方式对其进行种类鉴定,一方面是为了提高种类鉴定的准确性,另一方面也可探索DNA条形码技术在海洋生物多样性监测中的应用前景。

1 材料与方法

1.1 样品采集与鉴定

2013年12月1–5日,在大亚湾设置18个采样站位,采用拖网法(阿氏拖网,网宽1.5 m)采集底栖贝类,每站拖网约10 min。其中有14个站位采集到贝类。样品冷冻保存带回实验室后进行形态学鉴定和计数,用于分子生物学分析的样品存放入–80℃超低温冰箱。

1.2 分子生物学分析

采用CTAB法抽提样品总DNA(Williams *et al.*, 2003)。首先采用引物LCO-1490(5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3')和LCO-2198(5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3') (Folmer, 1994)扩增线粒体COI基因片段。如上述引物扩增失败,则使用引物16sar-L(5'-CGC CTG TTT ATC AAA AAC AT-3')和16sbr-H(5'-CCG GTC TGA AC-T CAG ATC ACG T-3') (Simon, 1994)扩增线粒体

16S rRNA基因片段。部分种类同时扩增了COI和16S rRNA基因片段序列。

PCR反应体系总体积为50 μL,其中: 2×buffer 25 μL, dNTP 400 μM, 引物各0.3 μM, KOD FX高保真PCR酶(TOYOBO公司) 1 U, 模板DNA 1 μL, 加去离子水补足至50 μL。PCR反应条件为: 94℃预变性2 min; 98℃变性15 s, 52℃退火30 s, 68℃延伸45 s, 共35个循环; 最后68℃延伸10 min。PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳检测后回收纯化, 然后进行双向测序, 测序引物与扩增引物相同。

1.3 数据分析

将所测的序列同时在NCBI和BOLD数据库中进行比对, 获得与之最相似的物种序列(附录1)。测序获得的序列与相似物种的序列一起用DAMBE 5.3.109软件内置的Clustalw程序进行多重序列比对。使用MEGA 5.10软件计算碱基组成和基于Kimura双参数模型(Kimura 2-parameter, K2P)的遗传距离, 并利用该软件中的邻接法(neighbor-joining, NJ)构建系统进化树, 可靠性经过1,000次自展(bootstrap)检验。同时利用MrBayes 3.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003)构建贝叶斯树(Bayesian inference, BI), 分子进化模型使用jModelTest (Posada, 2008)根据Bayesian information criteria (BIC)标准计算得出。COI和16S rRNA基因的最佳进化模型分别为TVM+I+G和TrN+G。在缺省的Markov Chain Monte Carlo (MCMC)参数下运行200万代, 每100代抽样一次, 前50万代作为老化样本(burn-in samples)舍去。BI树各分支置信度用后验概率(posterior probability, PP)表示。

2 结果

2.1 测序结果

本研究共获得45条COI基因序列和29条16S rRNA基因序列(附录1), 序列上传至GenBank, 序列号为KP252965–253038。测序获得的COI基因序列长度均为658 bp (不含引物区), 16S rRNA基因序列长度为383–535 bp。

2.2 遗传距离

对COI基因的K2P遗传距离分析结果表明, 种内的遗传距离在0–0.138之间, 平均值为0.007。部分种类显示出较大的种内遗传距离, 如锯齿巴非蛤(*Paphia gallus*) (0.138)、西格织纹螺(*Nassarius*

siqijorensis) (0.063) 和爪哇拟塔螺 (*Turricula javana*) (0.051)。西格织纹螺的序列明显可分为2组, 一组包括XG-1、XG-4和XG-6在内, 组内遗传距离在0–0.006之间; 另一组包括XG-2、XG-3和XG-5, 组内遗传距离也在0–0.006之间。而组间的遗传距离则在0.059–0.063之间, 高出组内一个数量级。COI基因序列的属内种间遗传距离在0.040–0.157之间, 平均值为0.079。

16S rRNA基因的种内的遗传距离在0–0.008之间, 平均值为0.001。西格织纹螺和纹狸螺(*Lataxiena fimbriata*)的种内最大遗传距离均达到0.008。属内种间遗传距离在0.004–0.201之间, 平均值为0.021。基于传统形态特征鉴定出的形态种(morphospecies), 其COI和16S rRNA基因序列的种内遗传距离与种间遗传距离均发生较大范围的重叠, 无明显的条形码间隙。

2.3 分子系统树

NJ树和BI树具有大体一致的拓扑结构, 因此本文仅给出NJ树(图1, 图2), BI树的后验概率值同时在NJ树中给出。NJ树和BI树中, 大多数形态种的不同个体聚集在同一支系内, 并获得很高的支持率。西格织纹螺在NJ树和BI树中均形成2个不同的支系, 且支系I在图2中与红带织纹螺(*Nassarius succinctus*)和顶尖织纹螺(*N. acuminatus*)亲缘关系更近。此外, 锯齿巴非蛤、爪哇拟塔螺和纹狸螺也分化成2个不同的支系(图1)。

科、属级分类阶元的单系性在系统树中也得到显现。需要指出的是, 拟塔螺属(*Turricula*)属于棒螺科(Clavatulidae), 区系螺属(*Funa*)和长吻螺属(*Cheungbeia*)属于西美螺科(Pseudomelatomidae), 而在我国这些种类现阶段均被归入塔螺科(Turridae)。

2.4 物种鉴定结果

基于DNA条形码技术, 26个形态种中有15个种可以实现有效鉴定(含*Funa* sp.)。其中, 13个种的形态鉴定结果与分子鉴定的结果相同; 另2个种即线缝摺塔螺(*Ptychobela suturalis*)和区系螺(*Funa* sp.), 通过形态学难以鉴定, 本文采用DNA条形码鉴定的结果。其余种类则只能依据形态特征进行鉴定。

大亚湾的2个纹狸螺(WL-1和WL-2)间的COI基因遗传距离为0.006, 两者与来源于澳大利亚Moreton Bay的个体(HE584039)的遗传距离达到

0.020–0.021, 在NJ树和BI树上形成2个不同的单系。但就16 rRNA基因序列而言, 同样的3个个体, 来自澳大利亚的个体(HE583964)与纹狸螺WL-1个体的遗传距离仅为0.004, 而与纹狸螺WL-2个体的遗传距离则为0.008。可见, 这3个个体同为纹狸螺, 但其种内的遗传距离却达到了一些种间的变异水平。

Solen sp.最初依据贝壳形态特征被鉴定为直线竹蛭(*S. linearis*), 但测序后BLAST比对表明其16S rRNA基因序列与数据库中已知的直线竹蛭序列(EU169032)的相似性较低(约85%)。由于采集到的2个竹蛭个体均为幼体, 为慎重起见, 最终将其按未定种*Solen* sp.处理。依据日本学者菱田嘉一(2000)的资料, 尖高旋螺(*Acrilla acuminata*)起初被误定为佛塔锥螺(*Turritella duplicata*), 但分子鉴定的结果表明该种并不属于锥螺科(Turritellidae), 而与梯螺科(Epitonidae)种类序列的相似性更高, 因此进一步核实后将该种定为尖高旋螺。

3 讨论

3.1 大亚湾贝类的种类组成

目前已有大量有关大亚湾贝类(底栖生物)种类组成的报道(徐恭昭, 1989; 杜飞雁等, 2008a, b, 2009, 2011)。贝类是大亚湾拖网底栖生物中种类最多的类群, 20世纪80年代, 4个航次用拖网共采获87种(徐恭昭, 1989), 明显高于本研究1个航次的种类数。前期报道的一些种类, 在我们10年来的生物多样性监测中从未采集到, 这一方面可能是由于存在鉴定错误, 另一方面可能也暗示部分种类已区域性灭绝。在大亚湾较为常见的锈狸螺(*Lataxiena blosvillei*), 除了张素萍(2007)有过报道外, 未见其他报道。此次通过形态和条形码均能实现准确鉴定的骨螺科(Muricidae)种类纹狸螺, 可能为先前报道(徐恭昭, 1989)的珊瑚螺科(Coralliophilidae)种类纤细珊瑚友螺(*Coralliophila (Lataxiena) fimbriata*)。通过条形码鉴定出的线缝摺塔螺和区系螺则系大亚湾的首次记录, 且线缝摺塔螺具有较多的数量。由此可见, 条形码技术能对形态学难以识别或鉴定者不熟悉的种类实现鉴定, 丰富和完善种类的组成信息。

3.2 形态鉴定的局限性及DNA条形码技术的优势

由于海洋生物门类众多, 种类十分丰富, 很难准确鉴定。在实际的海洋生物多样性监测中, 鉴定者通常都是对照参考资料进行物种鉴别, 鉴定方式

较为粗放, 加上鉴定者的知识水平参差不齐, 会造成鉴定结果存在出入。因此, 尽管至今已开展了多年的海洋生物多样性监测, 但是仍缺少完整的生物物种的准确名录与分布记录, 不能满足研究需要(刘瑞玉, 2011)。

分子鉴定是形态学鉴定的有益补充, 不仅能在一定程度上修正形态鉴定的错误, 还可以揭示更加丰富的物种信息。由于隐存种在海洋生物中广泛存

在, 物种多样性往往会被低估(Knowlton, 1993)。在本研究中, 西格织纹螺、锯齿巴非蛤、爪哇拟塔螺等多个种类表现出相当大的种内遗传距离, 有存在隐存种的可能性。基于多个群体的多基因测序分析结果也表明(结果另文发表), 西格织纹螺在南海沿岸可能至少存在2个隐存种。使用限制性内切酶Bgl II对COI基因的PCR扩增产物进行酶切, 能有效区分西格织纹螺的2个隐存种。

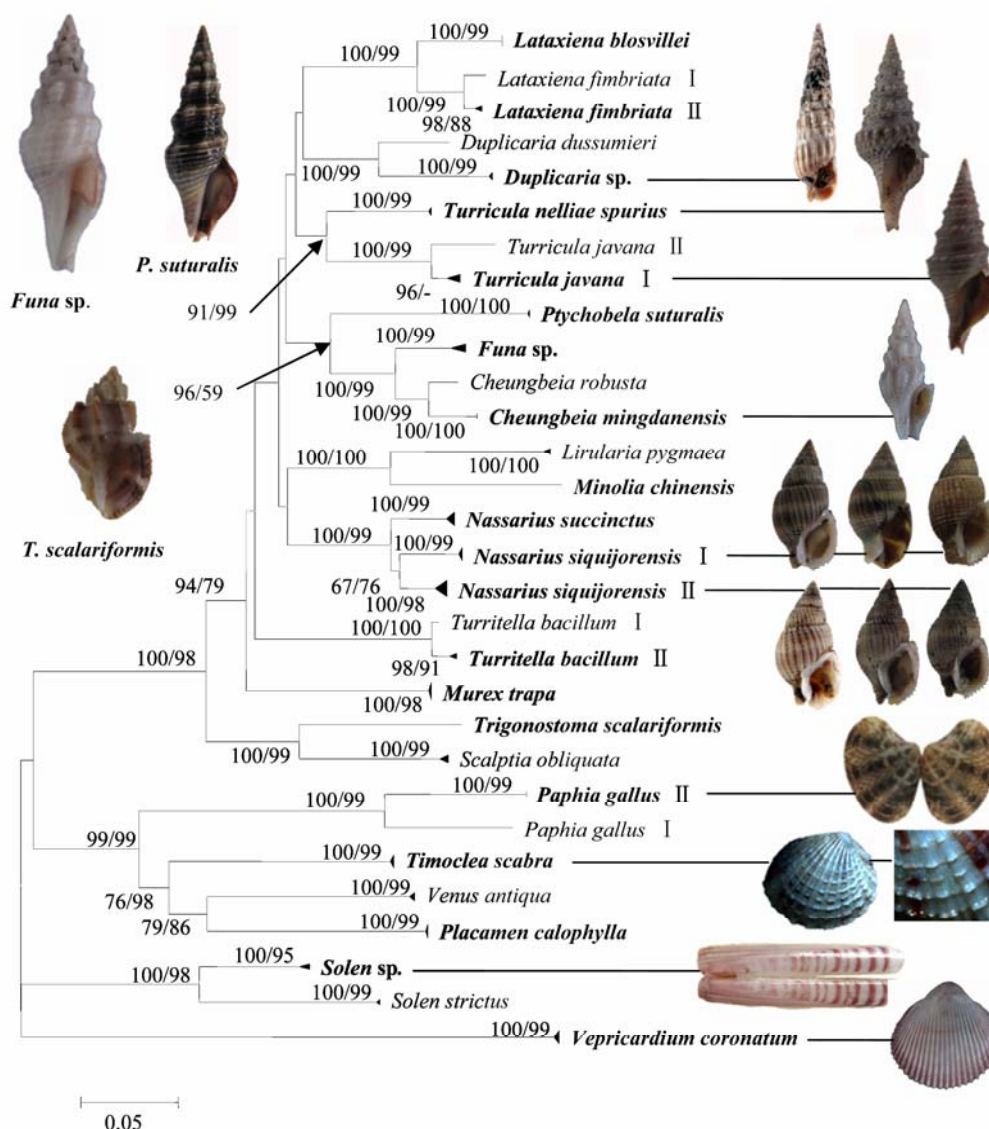


图1 基于COI基因序列通过邻接法构建的系统发育树(黑体显示的种名表示含有本研究测得的序列, 节点处数值表示自展支持率和贝叶斯树后验概率)

Fig. 1 Phylogenetic tree based on COI gene sequences using neighbor-joining (NJ) method. Species names in bold contain sequences obtained from this study. NJ bootstrap values (>50%) and Bayesian inference posterior probabilities (in percentage) are shown at nodes.

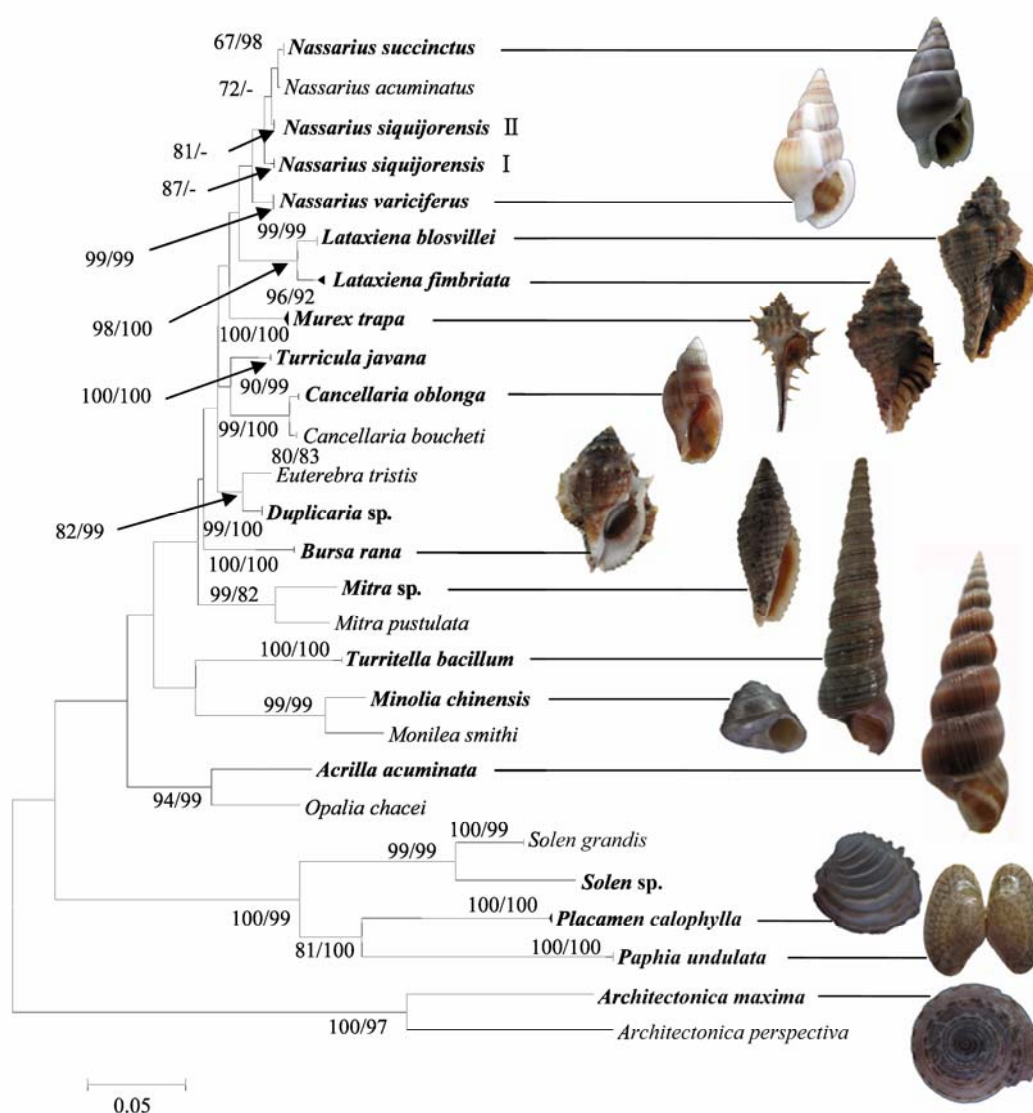


图2 基于16S rRNA基因序列通过邻接法构建的系统发育树(黑体显示的种名表示含有本研究测得的序列, 节点处数值表示自展支持率和贝叶斯树后验概率)

Fig. 2 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences using neighbor-joining (NJ) method. Species names in bold contain sequences obtained from this study. NJ bootstrap values (>50%) and Bayesian inference posterior probabilities (in percentage) are shown at nodes.

3.3 DNA条形码技术在海洋生物多样性监测中的应用前景和挑战

基于DNA序列的物种鉴定, 其准确性取决于当前遗传学数据库的完备程度(Puillandre *et al.*, 2009)。但目前绝大部分海洋生物的COI或16S rRNA基因序列还未被GenBank和BOLD等数据库收录, 如GenBank中收录的轮螺科(Architectonicidae)序列极少。所以单纯依靠DNA条形码目前还难以将大多数种类鉴定到种。此外, 提交到数据库中的DNA序

列中包含一些误定的种类(Shen *et al.*, 2013), 这也阻碍了条形码技术的应用。对于一些数据库中缺乏高度相似性物种信息的序列, 一般可通过系统发育分析来确定其分类地位。但是, 单个基因数据有时并不能准确反映真实的系统发育关系(Puillandre *et al.*, 2009)。

传统的形态鉴定仍然是当前海洋生物多样性监测的主要手段。但因为专业的分类学家稀缺, 将DNA条形码技术应用到业务化监测中已十分迫切。

形态鉴定和DNA条形码技术相结合,会极大地提升生物多样性的监测水平,提高监测数据的准确性。可以在分类学家的帮助下,尝试建立我国自己的海洋生物DNA条形码数据库,可以先从某个重要的功能区(或监控区)或某个重要的生物类群开始。条形码数据库应包含测序物种的图像信息,测序标本也应予以留存,以备相互核对和订正。

致谢: 感谢中国科学院海洋研究所张素萍研究员和瑞士苏黎世大学Markus Huber博士在样品鉴定方面给予的帮助。

参考文献

- Chen J, Li Q, Kong L, Yu H (2011) How DNA barcodes complement taxonomy and explore species diversity: the case study of a poorly understood marine fauna. *PLoS ONE*, **6**, e21326.
- Du FY (杜飞雁), Zhang HH (张汉华), Li CH (李纯厚), Wang XH (王雪辉), Jia XP (贾晓平) (2008a) Species composition and diversity of macrobenthic fauna in Daya Bay. *Journal of Fishery Sciences of China* (中国水产科学), **15**, 252–259. (in Chinese with English abstract)
- Du FY (杜飞雁), Zhang HH (张汉华), Li CH (李纯厚), Wang XH (王雪辉), Jia XP (贾晓平) (2008b) Study on species diversity of macrobenthos in Daya Bay, South China Sea. *South China Fisheries Science* (南方水产科学), **4**(6), 33–41. (in Chinese with English abstract)
- Du FY (杜飞雁), Wang XH (王雪辉), Li CH (李纯厚), Zhang HH (张汉华), Jia XP (贾晓平) (2009) Macrobenthic community structure in Daya Bay, South China Sea. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), **29**, 1091–1098. (in Chinese with English abstract)
- Du FY (杜飞雁), Wang XH (王雪辉), Jia XP (贾晓平), Yang SY (杨圣云), Ma SW (马胜伟), Chen HG (陈海刚), Li CH (李纯厚) (2011) Species composition and characteristics of macrobenthic fauna in Daya Bay, South China Sea. *Journal of Fishery Sciences of China* (中国水产科学), **18**, 877–892. (in Chinese with English abstract)
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit 1 from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, **3**, 294–299.
- Hajibabaei M, Singer GA, Clare EL, Hebert PD (2007) Design and applicability of DNA arrays and DNA barcodes in biodiversity monitoring. *BMC Biology*, **5**, 24.
- Hebert PD, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR (2003a) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **270**, 313–321.
- Hebert PD, Ratnasingham S, deWaard JR (2003b) Barcoding animal life: cytochrome *c* oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **270**(Suppl. 1), S96–99.
- Hishida Y (菱田嘉一) (2000) *The Great Pictorial Book of Seashells*. Kumi Corporation, Tokyo. (in Japanese)
- Johnson SB, Warén A, Vrijenhoek RC (2008) DNA barcoding of *Lepetodrilus* limpets reveals cryptic species. *Journal of Shellfish Research*, **27**, 43–51.
- Knowlton N (1993) Sibling species in the sea. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **24**, 189–216.
- Liu J, Li Q, Kong L, Zheng X (2011) Cryptic diversity in the pen shell *Atrina pectinata* (Bivalvia: Pinnidae): high divergence and hybridization revealed by molecular and morphological data. *Molecular Ecology*, **20**, 4332–4345.
- Liu RY (刘瑞玉) (2011) Progress of marine biodiversity studies in China seas. *Biodiversity Science* (生物多样性), **19**, 614–626. (in Chinese with English abstract)
- Liu SF (柳淑芳), Chen LL (陈亮亮), Dai FQ (戴芳群), Zhuang ZM (庄志猛) (2010) Application of DNA barcoding gene COI for classification family Sciaenidae. *Oceanologia et Limnologia Sinica* (海洋与湖沼), **41**, 223–232. (in Chinese with English abstract)
- Posada D (2008) jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*, **25**, 1253–1256.
- Puillandre N, Strong EE, Bouchet P, Boisselier MC, Couloux A, Samadi S (2009) Identifying gastropod spawn from DNA barcodes: possible but not yet practicable. *Molecular Ecology Resources*, **9**, 1311–1321.
- Ronquist F, Huelsenbeck JP (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, **19**, 1572–1574.
- Shen Y, Chen X, Murphy RW (2013) Assessing DNA barcoding as a tool for species identification and data quality control. *PLoS ONE*, **8**, e57125.
- Simon C, Frati F, Beckenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P (1994) Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*, **87**, 651–701.
- Terranova MS, Brutto SL, Arculeo M, Mitton JB (2007) A mitochondrial phylogeography of *Brachidontes variabilis* (Bivalvia: Mytilidea) reveals three cryptic species. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, **45**, 289–298.
- Wang MX (王敏晓), Cheng FP (程方平), Li CL (李超伦), Sun S (孙松) (2011) DNA barcoding of zooplankton in the Jiaozhou Bay for species identification. *Oceanologia et Limnologia Sinica* (海洋与湖沼), **42**, 702–710. (in Chinese with English abstract)
- Wilke T, Falniowski A (2001) The genus *Adriohydrobia* (Hydrobiidae: Gastropoda): polytypic species or polymorphic populations? *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, **39**, 227–234.

- Williams ST, Reid DG, Littlewood DT (2003) A molecular phylogeny of the Littorininae (Gastropoda: Littorinidae): unequal evolutionary rates, morphological parallelism, and biogeography of the Southern Ocean. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **28**, 60–86.
- Xu GZ (徐恭昭) (1989) *Environments and Resources of Daya Bay* (大亚湾环境与资源). Anhui Science and Technology Press, Hefei. (in Chinese)
- Zhang SP (张素萍) (2007) On nine new record species of Eragalataxinae (Gastropoda, Muricidae) from China coast. *Oceanologia et Limnologia Sinica* (海洋与湖沼), **38**, 542–548. (in Chinese with English abstract)

(责任编辑: 高天翔 责任编辑: 时意专)

附录 Supplementary Material

附录1 标本采集信息及DNA序列的BLAST结果

Appendix 1 Specimen information and BLAST results of DNA sequences
<http://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/w2014-261-1.pdf>

附录1 标本采集信息及DNA序列的BLAST结果

Appendix 1 Specimen information and BLAST results of DNA sequences

物种 Species	标本数	COI			16S rRNA		
	No. of	序列数	参考物种及序列号	相似性	序列数	参考物种及序列号	相似性
	specimens	No. of sequences	Reference species and sequence No.	Similarity (%)	No. of sequences	Reference species and sequence No.	Similarity (%)
<i>Paphia gallus</i>	1	1	<i>P. gallus</i> (HM124597/ HQ703232)	88–100			
<i>P. undulata</i>	56				1	<i>P. undulate</i> (JN969936–37)	99–100
<i>Solen</i> sp.	2	2	<i>Solen strictus</i> (JN860006/ JN860008)	87	1	<i>Solen grandis</i> (JN859927–28)	87
<i>Vepricardium coronatum</i>	94	2	<i>V. coronatum</i> (JN860013–15)	99–100			
<i>Placamen calophylla</i>	7	1	<i>P. calophylla</i> (HQ703062–64)	99–100	1	<i>P. calophylla</i> (DQ184734/ HM124723)	99–100
<i>Timoclea scabra</i>	13,530	5	<i>Venus antiqua</i> (JF301938–40)	81–82			
<i>Trigonostoma scalariformis</i>	7	1	<i>Scalptia obliquata</i> (FR717507)	86			
<i>Murex trapa</i>	2	2	<i>M. trapa</i> (GU188195–99)	99	1	<i>M. trapa</i> (GU188086–89)	99–100
<i>Minolia chinensis</i>	1	1	<i>Lirularia pygmaea</i> (AB505308–09)	85–86	1	<i>Monilea smithi</i> (AB505353)	89
<i>Lataxiena blosvillei</i>	5	4	<i>L. fimbriata</i> (HE584039)	93	3	<i>L. fimbriata</i> (HE583964)	97
<i>L. fimbriata</i>	2	2	<i>L. fimbriata</i> (HE584039)	98	2	<i>L. fimbriata</i> (HE583964)	99
<i>Nassarius succinctus</i>	8	3	<i>N. succinctus</i> (JQ975510–11)	99	1	<i>N. succinctus</i> (JQ975658–60)	100
<i>N. siquijorensis</i>	6	6	<i>N. siquijorensis</i> (EU124789–93)	94–99	6	<i>N. acuminatus</i> (GU393377)	97–98
<i>N. variciferus</i>	1				1	<i>N. variciferus</i> (GU393372–75)	99–100
<i>Turricula javana</i>	16	2	<i>T. javana</i> (KF712332/ HQ834091)	96–99	1	<i>T. javana</i> (HQ833964)	100
<i>T. nelliae spurius</i>	78	2	<i>T. nelliae spurius</i> (JF276924)	99			
<i>Ptychobela suturalis</i>	66	2	<i>P. suturalis</i> (JF276939)	99			
<i>Funa</i> sp.	2	2	<i>Funa</i> sp. (JF276935)	98–99			
<i>Cheungbeia mingdanensis</i>	4	2	<i>C. robusta</i> (JF276934)	96			

李海涛, 张保学, 高阳, 时小军, 周鹏. DNA条形码技术在海洋贝类鉴定中的实践: 以大亚湾生态监控区为例. 生物多样性, 2015, 23(3): 299-305.
<http://www.biodiversity-science.net/CN/article/downloadArticleFile.do?attachType=PDF&id=10014>

<i>Turritella bacillum</i>	311	2	<i>T. bacillum</i> (HQ834104)	99	1	<i>T. bacillum</i> (HQ833972)	100
<i>Duplicaria</i> sp.	35	3	<i>D. dussumieri</i> (HQ834094)	91	3	<i>Euterebra tristis</i> (HQ401677)	93
<i>Cancellaria oblonga</i>	2				2	<i>C. boucheti</i> (FR718299-300)	98
<i>Bursa rana</i>	1				1	<i>B. rana</i> (HQ833983)	99
<i>Architectonica maxima</i>	5				1	<i>A. perspective</i> (FJ917251)	81
<i>Mitra</i> sp.	2				1	<i>Mitra pustulata</i> (AF108829)	89
<i>Acrilla acuminata</i>	1				1	<i>Opalia chacei</i> (JF750944)	88
合计 Total	14,245	45			29		