

# 脊尾白虾 3 个野生群体线粒体 COI 基因的遗传多样性及其系统发育分析

马 朋<sup>1,2</sup> 刘 萍<sup>2\*</sup> 李 健<sup>2</sup> 李吉涛<sup>2</sup> 陈 萍<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 大连海洋大学, 116023)

(<sup>2</sup> 农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

**摘 要** 采用 PCR 扩增技术对脊尾白虾的莱州湾、海洲湾、象山湾的 3 个野生群体共计 62 个个体的线粒体 COI 基因片段进行扩增和测序, 获得长度为 658 bp 核苷酸序列。62 条序列 T、C、A、G 和 A+T 的平均含量分别为 31.53%、22.63%、27.30%、18.53% 和 58.83%, A+T 含量显著高于 G+C 含量, 这一结果与甲壳类、双壳贝类等的 COI 线粒体基因片段中的观察结果相似。通过统计变异位点、核苷酸多样性指数和平均核苷酸差异数进行基因序列变异分析。AMOVA 分析表明, 3 群体间总遗传分化系数  $F_{st} = 0.3611$  ( $P < 0.01$ ), 群体间存在较高的遗传分化, 其中象山湾群体与莱州湾群体之间的遗传分化系数最高, 莱州湾群体与海洲湾群体之间的遗传分化系数最低。另外用 MEGA 4.0 软件中的 NJ 法构建分子进化树, 同时由 NCBI 下载同源序列, 探讨了长臂虾亚科几个种的系统进化关系, 用 NJ 法构建的系统树显示, 脊尾白虾不同单倍型先与长臂虾属和小长臂虾属聚为一支, 然后与沼虾属聚为一支。

**关键词** 脊尾白虾 野生群体 COI 基因 遗传多样性 系统进化

**中图分类号** S961.6 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2011)06-0050-07

## The genetic diversity and phylogenetic analysis of COI gene in mitochondrial DNA of three populations of *Exopalaemon carinicauda*

MA Peng<sup>1,2</sup> LIU Ping<sup>2\*</sup> LI Jian<sup>2</sup> LI Ji-tao<sup>2</sup> CHEN Ping<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> Ocean University of Dalian, 116023)

(<sup>2</sup> Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

**ABSTRACT** Fragments from mitochondrial gene of *Exopalaemon carinicauda* sampled from three sites (Haizhou Bay, Xiangshan Bay, and Laizhou Bay) were amplified and sequenced. Six hundred and fifty eight bp COI fragments were obtained. The T, C, A, G, and A+T mean contents in those fragments were 31.53%, 22.63%, 27.30%, 18.53%, and 58.83% respectively, which were similar to the results of crustaceans and bivalves. Variable sites, nucleo-

国家高技术研究发展计划项目(2012AA100809)、国家自然科学基金(30871933)和中国水产科学研究院黄海水产研究所基本科研业务费(2012-ts-11)共同资助

\* 通讯作者。E-mail: liuping@ysfri.ac.cn, Tel: (0532)85823291

收稿日期: 2011-03-15; 接受日期: 2011-05-25

作者简介: 马 朋(1980-), 女, 硕士研究生, 主要从事海水养殖生物种质资源与遗传育种研究。E-mail: mapeng0622@163.com

gene diversity and average number of nucleotide differences were calculated to analyze the gene sequence variation. The fixation indices ( $F_{st}$ ) analyzed by Analysis of Molecular Variance (AMOVA) of Arlequin Version 3.1 totaled to 0.3611 ( $P < 0.01$ ), indicated significant genetic fixation among three populations. Among them, the genetic differentiation between Xiangshan Bay and Laizhou Bay was the highest, the lowest between Laizhou Bay and Haizhou Bay. The molecular phylogenetic tree constructed by NJ method using software MEGA 4.0 to study molecular phylogeny of several species of the by Palaemonidae. The phylogenetic tree showed that different haplotypes of *E. carinicauda* were more closely related to *Palaemon* and *Palaemonetes* than to *Macrobrachium*.

**KEY WORDS** *Exopalaemon carinicauda* Wild population COI gene  
Genetics diversity Phylogenetic tree

脊尾白虾 *Exopalaemon carinicauda* 又名白虾、绒虾、迎春虾等, 隶属节肢动物门 Arthropoda、甲壳纲 Crustacea、十足目 Decapoda、游泳亚目 Natantia、长臂虾科 Palaemonidae、白虾属 *Exopalaemon*。一般生活于浅海、近岸或河口附近的咸淡水中, 喜泥沙底质, 是我国特有的经济虾类之一, 具有繁殖能力强、生长速度快、生长季节长和环境适应性广等优点。近年来, 随着中国对虾 *Fenneropenaeus chinensis*、日本对虾 *Marsupenaeus japonicus* 等传统虾类养殖病害频发以及对虾养殖向低盐度区域的逐步拓展, 脊尾白虾的养殖面积迅速扩大, 成为池塘单、混养和虾池秋冬季养殖的重要品种(时冬晴等 2005)。脊尾白虾人工养殖已经在我国沿海地区广泛展开, 这不仅增加了个体间的基因交流, 而且随着养殖规模的发展和环境恶化, 对野生资源的影响越来越大, 造成了种质退化和遗传多样性降低等问题。因此, 研究脊尾白虾的种质资源情况及其遗传多样性现状, 对于保护这一重要的经济虾类具有极其重要的作用。

线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 是单(母系)遗传, 具有较快的进化速率, 并且突变固定后形成的多态位点可反映出群体的遗传结构, 已成为一种探讨种群遗传结构、种内遗传分化的有效分子标记(张 辉等 2010)。而 COI (细胞色素氧化酶亚基) 在物种进化中属于中度变异, 可以用于群体水平的遗传多样性分析(张亚平等 1992)。目前关于脊尾白虾的研究主要集中在生物学特性、生活习性、养殖繁殖技术和繁殖生物学特性(王绪峨 1987; 王兴强等 2005; 梁象秋等 1988; 刘重斌等 2009)等方面。本研究通过分析 3 个不同地理群体脊尾白虾 COI 基因片段序列的多态性, 为进一步开展脊尾白虾群体遗传多样性分析、种质资源的研究及遗传育种提供基础资料。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

实验用脊尾白虾于 2010 年 9 月分别采自渤海的莱州湾(LZ)、黄海的海州湾(HZ)和东海的象山湾(XS), 带回实验室后  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 基因组 DNA 的提取与检测

每个群体中随机抽取 20~21 个个体, 每个个体取约 100 mg 腹部肌肉, 剪碎组织, 加入 475  $\mu\text{l}$  组织匀浆缓冲液(10 mmol/L Tris-HCl, pH=8.0; 50 mmol/L EDTA, pH=8.0), 充分混匀, 依次加入终浓度为 10% 的 SDS 和 20  $\mu\text{g/ml}$  的蛋白酶 K, 55  $^{\circ}\text{C}$  裂解至澄清, 用酚: 氯仿(1:1)和氯仿各抽提 1 次。用 DNA 定量仪测定样品 DNA 的浓度和纯度, 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 采用美国 UVP 公司型号为 EC3 的生物成像系统, 于凝胶成像系统下观察并拍照记录,  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存备用。

### 1.2.2 线粒体 COI 基因片段的扩增

COI 基因片段扩增的引物(戴艳菊等 2010)为 COIL1490:5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3';COIH2198:5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAAATCA-3',由上海生工生物工程技术有限公司合成。PCR 反应条件:94 °C 预变性 2 min,94 °C 变性 45 s,48 °C 退火 1 min,72 °C 延伸 1 min,35 个循环;72 °C 延伸 5 min。PCR 反应总体积体系为 25  $\mu$ l,10 $\times$ PCR Buffer 2.5  $\mu$ l,dNTPs 0.2 mmol/L,MgCl<sub>2</sub> 2 mmol/L,Taq 酶 1U。上、下游引物各 0.12  $\mu$ mol/L,模板 DNA 50~100ng。PCR 扩增产物经 1.0% 琼脂糖凝胶检测,电泳缓冲液为 1 $\times$ TBE(pH=8.0),电压为 4 V/cm,GeneFinder 染色,于凝胶成像系统下观察并拍照记录。

### 1.2.3 DNA 序列测定

将 PCR 产物送往上海生工生物工程技术有限公司,纯化后双向测序。

### 1.2.4 序列分析

将测得的序列用 BioEdit 软件进行编辑并辅以人工核查,用 ClustalX 1.83 软件比对,并确定序列长度。用 DnaSp 5.0 软件计算各个群体的单倍型、单倍型多态性、多态位点数、平均核苷酸差异数、核苷酸多样性指数。MEGA 4.0 软件计算序列的碱基组成、变异位点、简约信息位点、转换/颠换以及不同群体间的 Kimura2-paramter 遗传距离,用邻接法(NJ)构建系统树,系统树各节点的支持率以序列数据集 1 000 次重复抽样检验的自引导值(Bootstrap value)表示。用 ARLEQUIN 3.1 (Excoffier *et al.* 2005)中的分子变异分析方法(AMOVA)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),基因流由公式  $Nm = [(1/F_{st}) - 1]/2$  计算得出。

## 2 结果与分析

### 2.1 COI 基因序列分析

对 3 个群体脊尾白虾的总 DNA 进行 PCR 扩增,均获得特异性很好的 COI 基因片段。经 ClustalX 同源排序,除去引物及部分端部序列,得到 658 bp 的 COI 基因片段。通过 BLAST 分析比较,确认所得片段为 COI 基因片段。利用 MEGA 4.0 软件计算 62 个样品 COI 序列碱基组成(表 1),3 群体各碱基含量基本一致,T、C、A、G 和 A+T 的平均含量分别为 31.53%、22.63%、27.30%、18.53%、58.83%,A+T 含量显著高于 G+C 含量,3 个群体共检测到 17 个变异位点,其中单一变异位点 9 个,简约信息位点 8 个,转换位点 10 个,颠换位点 6 个,转换和颠换同时存在的位点 1 个,转换和颠换比约为 1.67,无插入和缺失位点。COI 片段编码的肽链长度为 219 个氨基酸,碱基替换在氨基酸密码子 1、2、3 位置上都存在,但主要发生在第 3 位密码子上,尽管 62 个个体存在 17 个位点的差异,但只有 4 个氨基酸发生突变,氨基酸变异如图 1 所示。

表 1 3 个野生群体脊尾白虾 mtDNA COI 序列的碱基组成  
Table 1 Compositions of COI sequences of three wild populations of *E. carinicauda*

群体 Population	T%	C%	A%	G%	A+T%
海州湾 HZ	31.5	22.6	27.4	18.5	58.9
象山湾 XS	31.6	22.6	27.2	18.5	58.8
莱州湾 LZ	31.5	22.7	27.3	18.6	58.8
平均值 Avg	31.53	22.63	27.30	18.53	58.83

利用 DnaSp 5.0 计算群体遗传多样性参数(表 2),由平均核苷酸差异数和核苷酸多样性指数显示,象山

表 2 脊尾白虾 3 个野生群体 COI 基因片段的遗传多样性参数

Table 2 Genetic diversity parameters of COI gene fragments among 3 wild populations of *E. carinicauda*

群体 Population	样本数 N	多态位点数 P	单倍型数 H	单倍型多态性 Hd	平均核苷酸差异数 K	核苷酸多样性指数 Pi
海州湾 HZ	21	2	3	0.495	0.524	0.000 853
象山湾 XS	20	4	3	0.279	0.668	0.001 02
莱州湾 LZ	21	14	10	0.843	3.267	0.004 96
总计 Total	62	17	13	0.671	2.075	0.003 15

H: Number of haplotypes; Hd: Haplotype diversity; K: Average number of nucleotide differences; Pi: Nucleotide diversity

群体最高,海洲湾群体次之,莱州湾群体最低。共检测到 13 种单倍型,已在 GenBank 中注册(登录号码为 JF767303~JF767315)。多态位点的分布见表 3,海洲湾群体和莱州湾群体都检测到 3 种单倍型,象山群体检测到 10 种单倍型,其中单倍体 5 为 3 个群体共享,单倍体 1 为海洲湾群体和象山群体所共享,其余单倍体为 3 个群体所特有。

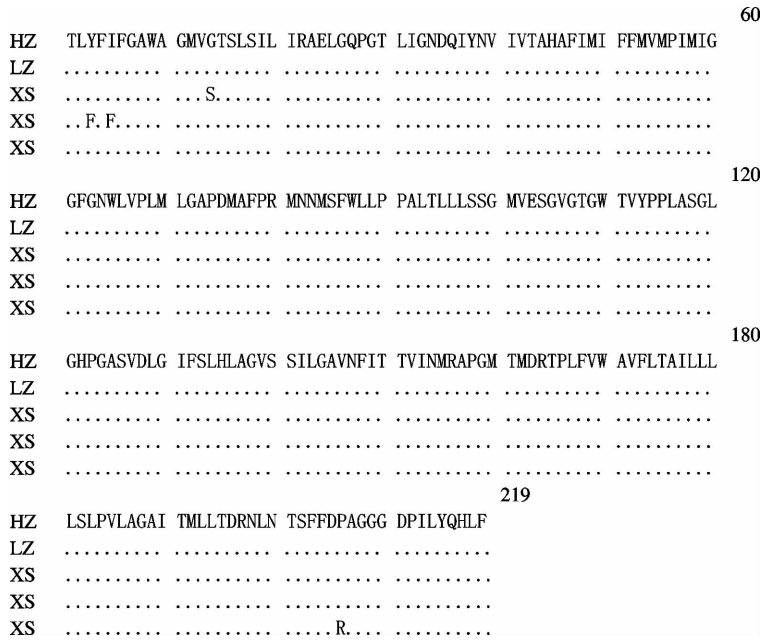


图 1 COI 基因变异氨基酸序列比对

Fig. 1 Sequence alignment of COI variation amino acids

2.2 群体间的遗传差异分析

群体间的分子变异等级分析(AMO-VA),3 个群体作为一个组进行 AMOVA 分析(表 4)。结果表明,群体间的分子变异显著( $F_{st}=0.084881, P=0.0000 < 0.05$ )。群体间遗传分化系数  $F_{st}=0.3611 (P < 0.01)$ ,表明在整个遗传变异中群体间的变异占 36.11%,63.89% 的遗传变异来自于群体内部,群体间具有较高度度的遗传分化。3 个群体中,象山湾群体与莱州湾群体之间的遗传分化系数最高为 0.43143,其次是象山湾群体与海洲湾群体之间的遗传分化系数为 0.33074,莱州湾群体与海洲湾群体之间的遗传分化系数最低为 0.12821,3 群体两两之间都具有极显著的遗传分化(表 5)。

2.3 长臂虾亚科遗传距离和聚类分析

将获得的 658bp 脊尾白虾 COI 结合 GenBank 中检索到的长臂虾亚科 6 种虾,见表 6。利用 MEGA4.0 软件的 Kumara2-parameter 模型计算长臂虾

表 3 COI 基因核苷酸多态位点及各单倍型在群体中的分布

Table 3 COI nucleotide polymorphisms and the haplotype distribution in the population

核苷酸多态位点	1122	2233466	群体单倍型数总计			
Nucleotide polymorphism	113452524	7746112	Total number of haplotypes			总 计
	9344197191	1831288	LZ	HZ	XS	Total
Hap_1	ACAGGCATGA	CTAAACT	0	2	8	10
Hap_2	.....	.....G.	0	0	1	1
Hap_3	.....T....	.....	0	0	2	2
Hap_4	.....C..	.....G.A	0	0	1	1
Hap_5	.....	AC..G..	14	17	3	34
Hap_6	.T.....	AC..G..	0	1	0	1
Hap_7	....A....	AC..G..	0	0	1	1
Hap_8	T.T.....	AC..G..	0	0	1	1
Hap_9	.....G	AC..G..	6	0	0	6
Hap_10	...C.....	AC..G..	1	0	0	1
Hap_11	.....G...	T.GTG..	0	0	2	2
Hap_12	.....G.A.	T.GTG..	0	0	1	1
Hap_13	.....	T.GTG..	0	0	1	1

表4 群体间遗传变异的分子变异等级分析(AMOVA)

Table 4 Analysis of molecular variance(AMOVA)among populations

变异来源 Source of variation	自由度 df	平方和 Sum of squares	方差组分 Variance components	方差比例(%) Percentage variance
群体间 Among population	2	19.019	0.423 96VA	36.11
群体内 With population	59	44.255	0.750 08Vb	63.89
总变异 Total variance	61	63.274	1.174 04	

亚科7种虾的相对遗传距离及标准误差见表7,基于COI基因片段,7种虾之间的遗传距离在 $0.225 \pm 0.025 \sim 0.293 \pm 0.029$ 之间。利用MEGA 4.0软件,将3群体的13种单倍型与长臂虾亚科的其他6种虾对应的COI基因片段序列做NJ分析,并对各分支均进行1000次的重复检验(图2),该系统树分为两支,脊尾白虾的不同单倍型先聚在一起,然后与小长臂虾属和长臂虾属聚为一支,沼虾属的3个种聚为另一支。

表5 群体间的 $N_m$ (对角线上方)和 $F_{st}$ (对角线下方)Table 5 Population pairwise  $F_{st}$ (above diagonal) and  $N_m$ (below diagonal) values

群体 Population	莱州湾 LZ	海洲湾 HZ	象山湾 XS
LZ		3.399 85	0.658 94
HZ	0.128 21**		1.011 76
XS	0.431 43**	0.330 74**	

注: \* 示差异显著( $P < 0.05$ ); \*\* 示差异极显著( $P < 0.01$ )

Notes: \* means significant difference( $P < 0.05$ );

\*\* means significant difference( $P < 0.01$ )

表6 外源序列物种名称、来源和长度

Table 6 Origin, length and abbreviations of outgroup sequences

种名 Species	属名 Genus	登录号 Locus	片段长度 Length of fragments(bp)
<i>Macrobrachium australe</i>	沼虾属	GU205042	923
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	沼虾属	FJ958195	649
<i>Macrobrachium hainanense</i>	沼虾属	FM958068	615
<i>Palaemon longirostris</i>	长臂虾属	AJ640121	658
<i>Palaemon elegans</i>	长臂虾属	DQ882102	658
<i>Palaemonetes vulgaris</i>	小长臂虾属	FJ581834	658

表7 基于COI基因片段的Kumara2-parameter遗传距离(左下)及标准误差(右上)

Table 7 Kumara2-parameter genetic distances (lower left) and standard errors (upper right) based on COI gene fragment

物种 Species	1	2	3	4	5	6	7
<i>E. carinicauda</i>	—	0.024	0.027	0.029	0.025	0.026	0.028
<i>M. hainanense</i>	0.230	—	0.026	0.025	0.027	0.030	0.027
<i>M. rosenbergii</i>	0.249	0.223	—	0.029	0.027	0.029	0.027
<i>M. australe</i>	0.293	0.217	0.259	—	0.028	0.037	0.031
<i>P. vulgaris</i>	0.225	0.253	0.242	0.277	—	0.027	0.024
<i>P. elegans</i>	0.234	0.286	0.281	0.358	0.233	—	0.023
<i>P. longirostris</i>	0.264	0.258	0.257	0.302	0.205	0.185	—

### 3 讨论

#### 3.1 COI基因变异比较分析

本研究脊尾白虾的mtDNA中COI序列AT平均含量为58.83%,明显高于GC含量,这与戴艳菊等(2010)研究的三疣梭子蟹*Portunus triuberbuculatus*、Quan等(2001)研究的对虾属12种对虾类、冯建彬等(2008)研究的日本沼虾*Macrobrachium nipponense*、牛东红等(2008)研究的缢蛏*Sinonovacula constricta*中AT的平均含量明显高于GC的平均含量的结果相一致,这是目前观测到的无脊椎动物线粒体DNA序列中的

普遍现象(杨建敏等 2003)。在线粒体序列变异中,变异位点的转换较易在近亲种间较频繁地发生,而颠换在较远缘种间逐渐明显;在同种动物中,转换往往在数量上远超过颠换(Kocher *et al.* 1989)。3 群体共检测到 17 个变异位点,其中转换颠换比约为 1.67,这与核苷酸的替换主要以转换为主,转换多于颠换,表现出较高的转换偏向的规律相符(Karl *et al.* 2001)。可见,3 群体脊尾白虾线粒体的变异属于种内变异,并未发现种内近亲交配和亚种分化。

海洲湾群体的单倍型多态性、平均核苷酸差异数、核苷酸多样性指数分别为 0.279、0.843、0.495;象山湾群体分别为 0.668、3.267、0.524;莱州湾群体分别为 0.001 02、0.004 96、0.000 853,可见 3 个群体多样性指数差异较大;单倍型多态性都低于冯建彬等(2008)研究的日本对虾的单倍型多态性(0.919±0.014),低于冯冰冰等(2008a、b)研究的三疣梭子蟹单倍型多态性(0.992±0.004),象山湾脊尾白虾单倍型多态性高于周发林等(2009)研究的斑节对虾 *Penaeus monodon* 的单倍型多态性(0.633 5±0.050 0);脊尾白虾核苷酸多样性指数高于中国对虾、保罗美对虾 *P. paulensi*、巴西美对虾 *Farfantepenaeus brasiliensis* 的 COI 基因片段核苷酸多样性指数(0.000 4、0.000 0、0.000 4)(Quan *et al.* 2001),其中象山湾和海洲湾群体的核苷酸多样性指数高于冯冰冰等(2008a、b)研究的三疣梭子蟹核苷酸多样性指数(0.003 64±0.000 36)。综合以上数据,表明脊尾白虾象山湾群体的遗传多样性最高,海洲湾群体次之,莱州湾群体最低,虽然脊尾白虾的单倍型多态性较低,但 3 个群体均有各自的单倍型,说明每个群体依然拥有各自的遗传多样性优势,莱州湾遗传多样性低可能是由于渤海是比较封闭的内海,基因交流少造成的原因(高保全等 2007)。

### 3.2 系统进化关系

$F_{st}$  是用来测量群体之间遗传分化的指标,当  $F_{st}$  接近于 0 时,说明群体间没有发生遗传分化(冯冰冰等 2008)。本研究中象山湾群体与海洲湾群体和莱州湾群体的遗传分化系数分别为 0.330 74、0.431 43,海洲湾群体和莱州湾群体的遗传分化系数为 0.128 21,3 群体两两间的  $F_{st}$  都达到了极显著( $P < 0.01$ ),其中象山湾群体与莱州湾群体  $F_{st}$  最大,象山湾群体与海洲湾次之,莱州湾与象山湾最小,3 个地理群体的系统发育关系在一定程度上是由群体的地理位置分布决定的,即群体间地理位置越近其亲缘关系也越近,反之则较远,因为象山湾与其他两个群体的地理位置相对较远,所以象山湾与其他两群体的遗传分化系数较大。但群体之间的遗传差异不仅与群体之间的距离有关,与群体所处的地理位置也有很大关系,周发林等(2009)对斑节对虾 5 个地理群体的研究证实了这点(结果表明群体间的遗传差异是否显著,也与其所处的地理位置有关)。

### 3.3 基于 COI 基因片段的长臂虾亚科遗传距离及系统进化研究

为比较本研究脊尾白虾与长臂虾亚科其他种之间的遗传距离及进化关系,从 GenBank 中检索到长臂虾亚科 6 个种的 COI 基因片段,其中沼虾属 3 个种,长臂虾属两个种,小长臂虾属 1 个种。从遗传距离分析结果可以看到,7 种虾之间的遗传距离在 0.225±0.025~0.293±0.029 之间。可见脊尾白虾与其他 6 种虾之间的遗

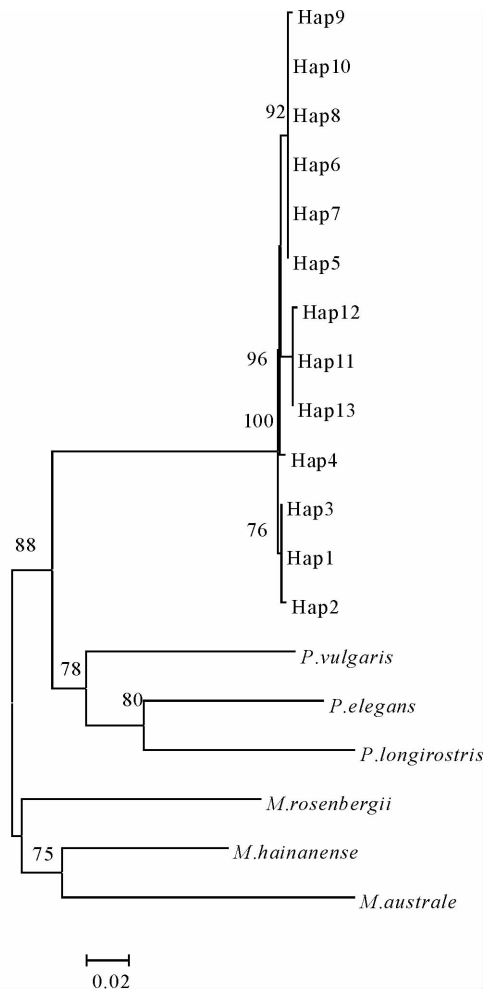


图 2 脊尾白虾 COI 基因序列构建的 NJ 分子进化树  
Fig. 2 NJ molecular phylogenetic tree of *E. carinicauda* based on COI gene sequences

传距离都较近, *E. carinicauda* 与 *M. australe* 的遗传距离最远, 与 *P. vulgaris* 的遗传距离最近。沼虾属 3 个种两两之间的遗传距离在 0.019~0.063 之间, 而小长臂虾属的 *P. vulgaris* 与长臂虾属的 *P. elegans*、*P. longirostris* 的遗传距离仅为 0.009、0.039。可见, 以上数据出现了属间遗传距离小于种间遗传距离的现象, 这说明小长臂虾属与长臂虾属之间的亲缘关系很近, 在窦红霞等(2008)研究的长臂虾亚科 9 个种系统发育关系的研究中也出现了小长臂虾属与长臂虾属混合相聚的情况。形态学上以大颚有无触须作为鉴定标准, 分类确定出了长臂虾属和小长臂虾属这两个近缘属, 从本实验和窦红霞等(2008)所做的实验结果表明, 二者的真实亲缘关系尚需结合其他的分类标准进行进一步审定。

构建分子系统树应选择有足够变异信息的序列, 但如果序列变异太大(如 mtDNA 控制区序列), 会发生核苷酸替换过饱和现象, 用这一序列构建的系统树同样是不可靠的。细胞色素氧化酶 I 亚基(Cytochrome Oxidase Subunit I, COI)基因具有进化速率适中的特点, 可作为种属系统进化研究的良好标记。用 NJ 和 MP 两种方法建立长臂虾亚科 7 种虾类之间的系统发生关系, 两种方法构建的系统树趋势一致, 用 NJ 法和 MP 法构建的系统树都显示脊尾白虾不同单倍型先与长臂虾属和小长臂虾属聚为一支, 然后与沼虾属聚为一支, 窦红霞等(2008)利用 16S rRNA 对长臂虾亚科 9 个种做的系统树和本实验用 NJ 法构建的系统树相一致, Shen 等(2009)对脊尾白虾全序列的研究中所构建的系统树显示脊尾白虾先与沼虾属聚在一起, 但其构建的系统树中未包括长臂虾属和小长臂虾属, NJ 法和 MP 法两种方法建立的系统进化树显示的长臂虾亚科 7 种虾类之间的系统发生树趋势一致, 且属间结点置信值以及聚集情况稳定, 说明长臂虾亚科 4 个属 7 种虾的 mtDNA COI 序列可用属间的系统发生关系分析, 构建的进化树结果可靠。线粒体 DNA 不同区域的变异率存在差异, 遗传变异解析能力也不相同, 因此要进行较全面的研究, 应再选择 mtDNA 其他不同的基因区域(如 12S rRNA、16S rRNA、ND5 等), 以得到多组序列数据。

## 参 考 文 献

- 牛东红, 李家乐, 沈和定, 姜志勇. 2008. 缢蛏六群体线粒体 DNA-COI 基因序列变异及群体遗传结构分析. 海洋学报, 30(3): 109~116
- 王兴强, 阎斌伦, 马 牲, 董双林. 2005. 脊尾白虾生物学及养殖生态学研究进展. 齐鲁渔业, 22(8): 21~24
- 王绪峨. 1987. 脊尾白虾繁殖生物学的初步观察. 动物学杂志, 22(1): 7~10
- 冯冰冰, 李家乐, 牛东红, 陈 琳, 郑岳夫, 郑凯宏. 2008a. 我国沿海三疣梭子蟹 9 个野生群体线粒体 CR 和 COI 片段比较分析. 动物学杂志, 43(2): 28~36
- 冯冰冰, 李家乐, 牛东红, 陈 琳, 周志强, 郑岳夫, 郑凯宏. 2008b. 我国四大海域三疣梭子蟹线粒体控制区基因片段序列比较分析. 上海水产大学学报, 17(2): 134~139
- 冯建彬, 孙悦娜, 程 熙, 李家乐. 2008. 我国五大淡水湖日本沼虾线粒体 COI 基因部分片段序列比较. 水产学报, 32(4): 517~525
- 时冬晴, 叶建生. 2007. 脊尾白虾的生物学特性及健康养殖技术. 渔业经济研究, (5): 40~42
- 刘重斌, 吴 博. 2009. 脊尾白虾生理性体温调节的初步观察. 四川动物, 28(4): 558~564
- 张亚平, 施立明. 1992. 动物线粒体 DNA 多态性的研究概况. 动物学研究, 13(3): 289~298
- 张 辉, 高天翔, 庄志猛, 金显仕. 2010. 中国对虾养殖群体与野生群体线粒体控制区序列的比较. 水产学报, 34(8): 1 149~1 155
- 周发林, 江世贵, 姜永杰, 黄建华, 马之明. 2009. 中国南海野生斑节对虾 5 个地理群体线粒体 16SrRNA 基因序列比较分析. 水产学报, 33(2): 208~214
- 杨建敏, 郑小东, 王如才, 宋志乐, 孙振兴. 2003. 3 种鲍 16S rRNA 基因片段序列的初步研究. 青岛海洋大学学报, 33(1): 36~40
- 高保全, 刘 萍, 李 健, 戴芳钰, 马 牲. 2007. 三疣梭子蟹 4 个野生群体形态差异分析. 中国水产科学, 14(2): 223~228
- 梁象秋, 李亚娟, 周昭曼. 1988. 脊尾白虾的幼体发育. 水产学报, 12(2): 157~168
- 窦红霞, 张彤晴, 许志强, 陈婵娟, 张 鑫, 葛家春, 黄亚红. 2008. 长臂虾亚科 9 个种系统发育关系的 16S rDNA 序列分析. 淡水渔业, 38(1): 40~43
- 戴艳菊, 刘 萍, 高保全, 李 健, 王清印. 2010. 三疣梭子蟹 4 个野生群体线粒体 16S rRNA 和 COI 基因片段的比较分析. 中国海洋大学学报, 40(3): 54~60
- Excoffier, L., Laval, G., and Schneider S. 2005. Arlequin (Ver. 3. 0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform. Online*, 1: 47~50
- Kocher, T. D., Thomas, W. K., Meyer, A. *et al.* 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86(16): 6 196~6 200
- Quan, J. X., Lü, X. M., Zhuang, Z. M., and Deng, J. Y. *et al.* 2001. Low genetic variation of *Penaeus chinensis* as revealed by mitochondrial DNA COI and 16S rRNA gene sequences. *Biochemical Genetics*, 39(7-8): 279~284
- Karl, S. A., and Wilson, D. S. 2001. Phylogeography and systematics of the mud turtle, *Kinosternon baurii*. *Copeia*, (3): 797~801
- Shen, X., Sun, M., Wu, Z. *et al.* 2009. The complete mitochondrial genome of the ridgetail white prawn *Exopalaemon carinicauda* Holthuis, 1950 (Crustacean; Decapoda; Palaemonidae) revealed a novel rearrangement of tRNA genes. *Gene*, 437(1-2): 1~8