

脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)3 个野生群体 mtDNA 16S rRNA 序列差异及长臂虾科 系统进化关系*

马朋^{1,2} 刘萍¹ 李健¹ 李吉涛¹ 高保全¹

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071; 2. 大连海洋大学 大连 116023)

摘要 采用 PCR 扩增和序列测定等技术, 对脊尾白虾 3 个野生群体共计 58 个个体的线粒体 16S rRNA 基因片段进行初步研究。结果表明, 在获得的长度为 509bp 核苷酸序列中, 共检测到 7 个变异位点、8 种单倍型, 除象山湾群体外其它两个群体遗传多样性水平都较低。AMOVA 分析表明, 象山湾与莱州湾群体有显著的遗传差异, 其余群体间的遗传差异不显著。另外, 将本研究所得序列与 GenBank 中长臂虾科 11 个种的 16S rRNA 基因片段序列进行比较后, 发现其聚类关系与传统分类略有不同, 并依据 16S rRNA 序列变异百分比推测了长臂虾科 12 个种的大致分化时间。

关键词 脊尾白虾, 16S rRNA 基因, 遗传多样性, 系统进化

中图分类号 Q347

脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)又名白虾, 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*)。广布于整个中国大陆沿岸和朝鲜半岛西岸的浅海低盐水域, 渤海和黄海数量最大, 为最重要的小型经济虾类(许文军等, 2010)。

目前国内学者对脊尾白虾的生物学、养殖生态学等(刘重斌等, 2009)方面进行了不同程度的研究。但分子遗传学的研究报道较少, 运用分子生物学手段可以有效地进行物种间的分类学研究(黎中宝等, 2008; 杨建敏等, 2008)。线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA)序列分析是 DNA 多态分析技术中最有效的方法之一, 16S rRNA 基因是动物线粒体非编码基因, 变异较大, 适合于遗传多样性、种类鉴定和亲缘关系的研究。本文以莱州湾、海州湾、象山湾脊尾白虾为研究对象, 对其 16S rRNA 基因片段序列进行

了初步分析, 并探讨了长臂虾科系统进化关系。以期 为脊尾白虾种质资源的管理、保护和利用提供理论上的依据, 同时为长臂虾科系统发育重建工作提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)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℃保存备用。

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 19—20 个个体, 每个个体取约 100mg 腹部肌肉, 剪碎组织, 加入 475μl 组织匀浆缓冲液(10mmol/L Tris-HCl, pH 8.0; 50mmol/L EDTA, pH 8.0), 充分混匀, 依次加入终浓度为 10%的 SDS 和 20μg/ml 的蛋白酶 K, 55℃裂解至澄清, 用酚、酚 氯仿(1:1)和氯仿

* 国家高技术研究发展计划项目资助, “主要养殖甲壳类良种培育”, 2012AA10A409 号; 山东省科技发展计划项目资助, 2011GHY11526 号; 农业科技成果转化资金项目资助, 2010GB23260589 号。马朋, E-mail: mapeng0622@163.com

通讯作者: 刘萍, 研究员, E-mail: liuping@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2010-12-25, 收修改稿日期: 2011-04-12

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, 全自动凝胶成像系统拍照, -20°C 保存备用。

1.2.2 线粒体 COI 基因片段的扩增 采用无脊椎动物 16S 基因通用引物进行 PCR 扩增, 引物为: 16S AR: 5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3', 16S BR: 5'-CCGGTCTGAACTC AGATCACG-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 2min, 94°C 变性 45s, 48°C 退火 1min, 72°C 延伸 1min, 35 个循环; 72°C 延伸 5min。PCR 反应总体积体系为 25 μl , 10 \times PCR buffer 2.5 μl , dNTPs 0.2mmol/L, MgCl_2 2mmol/L, *Taq* 酶 1U。上、下游引物各 0.12 $\mu\text{mol/L}$, 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 4V/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 DNASTAR 软件计算两两序列的序列差异百分比。再用 DnaSp5.0 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。用 ARLEQUIN 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005) 中的分子变异分析 (AMOVA) 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}), 计算并用排列测验法 (permutation test) 检验 F_{st} 的显著性 (重复次数为 1000)。MEGA4.0 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、不同群体间以及种间的 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 1000 次重复抽样检验的自引导值 (Bootstrap value) 表示。

2 结果与分析

2.1 目的片段的序列分析

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 16S rRNA 基因片段。经 Clustal X 同源排序, 除去引物及部分端部序列, 得到 509bp 的 16S rRNA 基因片段。通过 BLAST 分析比较, 确认所得片段为 16S rRNA 基因片段。利用 MEGA4.0 软件计算 58 个样品 16S rRNA 序列碱基组成见表 1, 海州湾群体和莱州湾群体各碱基含量相同, 象山湾群

体也只有 T 碱基的百分含量与其它两群体不同。T、C、A、G 和 A+T 的平均含量分别为 35.57%、12.60%、30.50%、21.40%、66.07%, A+T 含量显著高于 G+C 含量, 3 个群体共检测到 7 个变异位点, 其中单一变异位点 6 个, 简约信息位点 1 个, 转换位点 7 个, 不存在颠换位点, 无插入和缺失位点。

表 1 三个野生群体脊尾白虾 mtDNA 16S rRNA 序列的碱基组成 (%)

Tab.1 Nucleotide composition of the 16S rRNA sequences of *E. carinicauda* from three wild populations (%)

群体	T	C	A	G	A+T
海州湾(HZ)	35.6	12.6	30.5	21.4	66.1
莱州湾(LZ)	35.6	12.6	30.5	21.4	66.1
象山湾(XS)	35.5	12.6	30.5	21.4	66.0
平均值	35.6	12.6	30.5	21.4	66.1

利用 DnaSp5.0 计算群体遗传多样性参数见表 2, 由平均核苷酸差异数和核苷酸多样性指数显示, 象山湾群体多样性指数最高, 海州湾群体和莱州湾群体多样性指数较低。共检测到 8 种单倍型, 多态位点的分布见表 3, 海州湾群体和莱州湾群体都检测到 2 种单倍型, 象山群体检测到 6 种单倍型, 其中 Haplotype1 为 3 个群体共享, 其余单倍型为 3 个群体所特有。

表 2 脊尾白虾 3 个野生群体 16S rRNA 基因片段的遗传多样性参数

Tab.2 Genetic diversity of the 16S rRNA gene fragments from three wild populations of *E. carinicauda*

群体	样本数 <i>N</i>	多态位 点数 <i>P</i>	单倍型 数 <i>H</i>	单倍型 多态性 <i>Hd</i>	平均核 苷酸差 异数 <i>K</i>	核苷酸 多样性 指数 <i>Pi</i>
HZ	20	1	2	0.105	0.105	0.00021
LZ	19	1	2	0.105	0.105	0.00021
XS	19	5	6	0.538	0.620	0.00122
总计	58	7	8	0.258	0.275	0.00054

2.2 群体间的遗传差异分析

群体间的分子变异等级分析 (AMOVA 分析) 把 3 个群体作为一组进行 AMOVA 分析 (表 4), 结果表明群体间的分子变异不显著 ($F_{st} = 0.0149$, $P > 0.05$), 表明在整个遗传变异中群体间的变异占 1.49%, 98.51% 的遗传变异来自于群体内部, 群体间遗传分化程度较低。三个群体中, 象山湾群体与莱州湾群体之间的遗传分化系数最高为 0.01822, 其次是象山湾群体与海州湾群体之间的遗传分化系数为 0.01587, 莱州湾

群体与海州湾群体之间的遗传分化系数最低为 0.00007, 象山湾和莱州湾两群体间的遗传分化系数显著($P < 0.05$), 其它群体间遗传分化均不显著。三群体间的遗传距离均较小, 海州湾和莱州湾群体间的遗传距离最小, 亲缘关系最近(表 5)。

表 3 16S rRNA 基因核苷酸多态位点及各单倍型在群体中的分布

Tab.3 16S rRNA nucleotide polymorphic sites and the haplotype distribution

核苷酸多态位点	112344 1797489 0961259	群体单倍型数			总计
		LZ	HZ	XS	
Hap_1	GAGCAGT	18	19	13	50
Hap_2	A.....	1	0	0	1
Hap_3	.G.....	0	0	1	1
Hap_4	..A....	0	0	1	1
Hap_5A.	0	0	1	1
Hap_6C	0	0	2	2
Hap_7G..	0	0	1	1
Hap_8	...T...	0	1	0	1

表 4 群体间的遗传变异的分子变异等级分析(AMOVA)

Tab.4 The result of the analysis of molecular variance (AMOVA)

变异来源	自由度 df	平方和	方差组分	方差比例(%)
群体间	2	0.351	0.00205	1.49
群体内	55	7.476	0.13593	98.51
总变异	57	7.828	0.13799	

表 7 基于 16S rRNA 基因片段的 Kumara2-parameter 遗传距离(左下方)

Tab.7 Kumara2-parameter genetic distances (lower left) based on the 16S rRNA gene fragment

物种	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	—											
2	0.0838	—										
3	0.0754	0.0597	—									
4	0.2329	0.2164	0.2197	—								
5	0.2295	0.2130	0.2163	0.0025	—							
6	0.2163	0.1935	0.1868	0.0622	0.0595	—						
7	0.2585	0.2338	0.2412	0.2235	0.2201	0.2104	—					
8	0.2260	0.2125	0.2159	0.1794	0.1761	0.1448	0.2009	—				
9	0.2366	0.2159	0.2094	0.1503	0.1472	0.1203	0.1844	0.0899	—			
10	0.2266	0.2193	0.2298	0.1944	0.1910	0.1621	0.2036	0.1479	0.1446	—		
11	0.2451	0.2284	0.2469	0.3067	0.3027	0.2754	0.2641	0.2980	0.3016	0.3155	—	
12	0.2680	0.2606	0.2641	0.2739	0.2703	0.2704	0.3253	0.2779	0.2744	0.2890	0.2903	—

注: 1. *M. mammillodactylus*, 2. *M. maculatum*, 3. *M. nipponense*, 4. *E. carinicauda*, 5. *E. orientis*, 6. *E. modestus*, 7. *C. tonkinensis*, 8. *P. serenus*, 9. *P. australis*, 10. *P. debilis*, 11. *P. wilsoni*, 12. *A. miersi*

2.3 长臂虾科遗传距离及系统进化

将扩增获得的 509bp 脊尾白虾 16S rRNA 序列结合 Genbank 中检索到的长臂虾科 11 种虾, 见表 6。利用 MEGA4.0 软件的 Kumara 2-parameter 模型计算长臂虾科 11 种虾的相对遗传距离见表 7, 基于 16S

表 5 群体间的 F_{st} (对角线左下方)和相对遗传距离(对角线右上方)

Tab.5 Pairwise F_{st} (lower left) and genetic distances (upper right)

群体	HZ	LZ	XS
HZ	—	0.00020	0.00072
LZ	0.00007	—	0.00073
XS	0.01587	0.01822*	—

注: *表示差异显著($P < 0.05$)

表 6 外源序列物种名称、来源和长度

Tab.6 Origin, length, and the abbreviations of the exogenous sequences

种名	属名	登录号	片段长度(bp)
<i>Macrobrachium mammillodactylus</i>	沼虾属	DQ194915	528
<i>Macrobrachium maculatum</i>	沼虾属	DQ194910	525
<i>Macrobrachium nipponense</i>	沼虾属	EU493147	549
<i>Exopalaemon orientis</i>	白虾属	DQ194972	527
<i>Exopalaemon modestus</i>	白虾属	DQ194971	526
<i>Coutierella tonkinensis</i>	古洁虾属	EU920920	452
<i>Palaemon serenus</i>	长臂虾属	AF439518	489
<i>Palaemonetes australis</i>	小长臂虾属	AF439517	489
<i>Palaemon debilis</i>	长臂虾属	FM986598	519
<i>Periclimenaeus wilsoni</i>	小岩虾属	EU868702	576
<i>Anchistus miersi</i>	贝隐虾属	DQ642877	497

rRNA 基因片段, 11 种虾之间的遗传距离在 0.0025—0.3253 之间。利用 MEGA4.0 软件, 对长臂虾科的 12 种虾对应的 16S rRNA 基因片段序列构建 NJ 系统发生树, 用 Bootstrap 法检验, 1000 次重复抽样得到结点的置信度如图 1 所示, 从系统树可以看出, 同属的不同种首先聚在一起, 长臂虾科的白虾属与长臂虾属及小长臂虾属相聚再与古洁虾属和沼虾属以较高的置信值聚为一支, 隐虾亚科的贝隐虾属和小岩虾属聚为另一支。另外, 长臂虾属的 *P. serenus* 先与小长臂虾属的 *P. australis* 相聚, 然后再与长臂虾属的 *P. debilis* 聚集, 出现长臂虾属和小长臂虾属混合相聚的现象。用 DNASTAR 软件分析发现序列差异百分比最大值为 27.8, 最小值为 0.2(表 8)。

3 讨论

3.1 目的片段序列变异比较分析

本研究分析的脊尾白虾 mtDNA 中 16S rRNA 序列 AT 平均含量为 66.07%, 与王玉江等(2005)研究的青蟹(*Scylla serrata*)、程起群等(2007)研究的 3 种沼虾、张健等(2010)研究的天牛科 9 种昆虫、牛东红等(2008)研究的缢蛭(*Sinonovacula constricta*)AT 的平均含量明显高于 GC 的平均含量的结果相一致在 58 个样品中共检测到 8 种单倍型, 7 个变异位点, 其中单一变异位点 6 个, 简约信息位点 1 个, 转换位点 7 个, 不

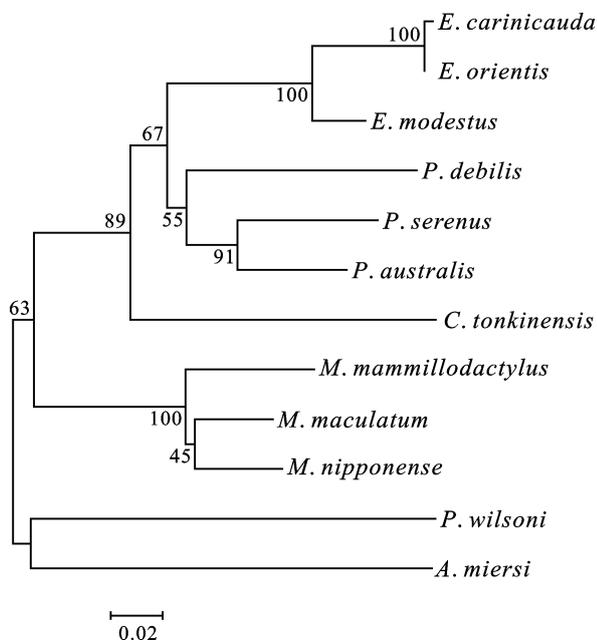


图 1 脊尾白虾 16S rRNA 基因序列构建的 NJ 分子进化树
Fig.1 NJ molecular phylogenetic tree of *E. carinicauda* based on 16S rRNA gene sequences

存在颠换位点, 无插入和缺失位点, 一般认为转换与颠换比值小于 2.0 时, 则此基因序列突变已经达到饱和状态, 本研究中脊尾白虾没有颠换, 说明脊尾白虾基因序列突变没有达到饱和。本实验利用 16S rRNA 基因片段对 3 个脊尾白虾野生群体遗传多样性研究, 结果表明脊尾白虾的 16S rRNA 核苷酸多样性比栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)(Boulding *et al*, 1993)、近江牡蛎(*Crassostrea rivulari*)(刘亚军等, 2002)(0.0034、0.0068)等物种的低很多, 象山湾群体的核苷酸多样性高于中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)、保罗美对虾(*Farfantepenaeus paulensis*)和巴西美对虾(*Farfantepenaeus brasiliensis*)的 COI 基因片段核苷酸多样性指数(0.00040, 0.00000, 0.00040)(孙悦娜等, 2007), 说明本实验象山湾群体的遗传多样性尚处于较高水平, 海州湾和莱州湾群体的遗传多样性水平较低, 遗传多样性较低一种可能是受到人为干扰, 捕捞强度增大以及环境污染的原因。目前线粒体基因在进化生物学和群体遗传学研究得到广泛应用, 用的最多的线粒体基因为 Cyt *b*、12S rRNA、16S rRNA、COI 和 D-loop 等基因(Quan *et al*, 2004; Shen *et al*, 2009)。由于不同基因的进化速率不同, 因此在进行系统学、起源和进化、种群识别和种质鉴定及种群遗传多样性研究时, 对基因有一定的选择性。但是, 对于不同的种或者种群, 即使是在相同的区域, 基因的进化速率也有一定的差异(苏天凤等, 2007)。如高俊娜等(2010)、蒋钦杨等(2005)都发现 16S rRNA 基因片段是相当保守的。相比之下, 邱高峰等(2000)、Boulding 等(1993)研究发现, 个体间的 16S rRNA 核苷酸碱基存在丰富的变异。所以本实验下一步的工作可望从线粒体其他变异较大的基因(如 D-loop)上进一步分析, 以得到更多的遗传信息。

3.2 基于 16S rRNA 基因片段的长臂虾科遗传距离及系统进化

用 16S rRNA 基因探求甲壳类种内或种间的进化关系已经被证明是有用的, 为比较本研究脊尾白虾与长臂虾科其它种之间的遗传距离及进化关系, 从 GenBank 中检索到长臂虾科 7 属 11 个种的 16S rRNA 基因片段, 从遗传距离分析结果可以看到, 7 种虾之间的遗传距离在 0.0025—0.3253 之间, 其中 *A. miersi* 与 *C. tonkinensis* 的遗传距离最大, 脊尾白虾与 *E. orientis* 的遗传距离最小, 为 0.0025, 一般认为 0.05 以内的差异应该是亚种水平的差异, 据此推测, 两者

表 8 基于 16S rRNA 基因片段的差异百分比(对角线左下方)及分化的大致时间(对角线右上方)(单位: 百万年)

Tab.8 Percentage of divergence sequences (lower left) and differentiation time deduced base on 16S rRNA (upper right) (Unit: million years)

物种	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	—	20.0	22.3	54.5	51.5	50.3	59.5	54.5	55.0	49.8	55.3	57.3
2	8.0	—	18.5	49.0	46.8	44.5	55.0	50.0	48.5	49.0	51.8	56.3
3	8.9	7.4	—	51.0	52.0	48.3	61.5	48.3	45.8	51.3	59.5	55.3
4	21.8	19.6	20.4	—	0.5	13.9	53.3	41.0	38.8	46.0	65.0	58.8
5	20.6	18.7	20.8	0.2	—	12.8	50.0	40.0	37.3	41.3	62.0	58.3
6	20.1	17.8	19.3	5.56	5.1	—	48.3	35.3	32.8	41.3	59.8	58.8
7	23.8	22.0	24.6	21.3	20.0	19.3	—	50.3	47.0	52.5	60.8	69.5
8	21.8	20.0	19.3	16.4	16.0	14.1	20.1	—	20.0	32.8	63.3	59.5
9	22.0	19.4	18.3	15.2	14.9	13.1	18.8	7.98	—	31.8	62.8	59.5
10	19.9	19.6	20.5	18.4	18.2	16.5	21.0	13.1	12.7	—	62.8	59.3
11	22.1	20.7	23.8	26.0	24.8	23.9	24.3	25.3	25.1	25.1	—	60.3
12	22.9	22.5	22.1	23.5	23.3	23.5	27.8	23.8	23.8	23.7	24.1	—

注: 1. *M. mammillodactylus*, 2. *M. maculatum*, 3. *M. nipponense*, 4. *E. carinicauda*, 5. *E. orientis*, 6. *E. modestus*, 7. *C. tonkinensis*, 8. *P. serenus*, 9. *P. australi*, 10. *P. debilis*, 11. *P. wilsoni*, 12. *A. miersi*

可能是亚种关系, 但两者的遗传关系还应当借助更多的分子标记, 如 Cyt *b*、D-loop、微卫星标记, 以及形态、生理特性等, 进行综合深入的研究后, 方可得出最后结论。另外, 长臂虾属的 *P. serenus*、*P. debilis* 与小长臂虾属的 *P. australi* 之间的遗传距离小于长臂虾属种内的遗传距离, 这说明小长臂虾属与长臂虾属之间的亲缘关系很近。

线粒体 16S rRNA 序列也被广泛用于研究不同阶元的系统发育关系(Near *et al*, 2004)。本文用 NJ 法构建长臂虾科 12 种虾类之间的系统发生关系, 从系统树可以看出, 每个属的不同种首先以较高的置信值聚在一起, 白虾属先与长臂虾属及小长臂虾属相聚再与古洁虾属和沼虾属以较高的置信值聚为一支, 隐虾亚科的贝隐虾属和小岩虾属聚为另一支。另外, 长臂虾属的 *P. serenus* 没有先与同属的 *P. debilis* 相聚, 而是先与小长臂虾属的 *P. australis* 形成稳定的结构位置和较高的置信度分支, 说明二者关系较近, 在窦红霞等(2008)对长臂虾亚科 9 个种系统发育关系和徐琰等(2005)对部分真虾类的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, 分类确定长臂虾属和小长臂虾属这两个近缘属, 但从本实验和已有的报道说明两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。从以上的分析当中可以看出 16S rRNA 序列数据分析所得到的分子系统发生树可以较好得反映出传统形态分类单元之间的关系,

进一步证明了 16S rRNA 序列可以作为推断属间关系的有效遗传标记。

比照 Schubart 等(1998)16S rRNA 分子钟(0.4%—0.9%), 本研究如依据 16S rRNA 分子钟, 可以推测 12 种虾大致的分化时间。脊尾白虾和 *E. orientis* 分化的时间距今最近, 约 0.2 百万年, *C. tonkinensis* 和 *A. miersi* 分化的时间距今最远, 约 27.8 百万年。

参 考 文 献

- 王玉江, 高天翔, 韩志强等, 2005. 中国和越南青蟹线粒体 16S rRNA 基因序列分析. 中国海洋大学学报, 35(4): 554—558
- 牛东红, 李家乐, 沈和定等, 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
- 刘亚军, 喻子牛, 姜艳艳等, 2002. 栉孔扇贝 16S rRNA 基因片段序列的多态性研究. 海洋与湖沼, 33(5): 477—483
- 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
- 许文军, 谢建军, 施 慧等, 2010. 池塘养殖脊尾白虾 (*Exopalaemon carinicauda*) 感染血卵涡鞭虫的研究. 海洋与湖沼, 41(3): 396—402
- 孙悦娜, 冯建彬, 李家乐等, 2007. 日本沼虾三群体线粒体 16S rRNA 基因片段序列的差异与系统进化. 动物学杂志, 42(1): 59—66
- 苏天凤, 黄建华, 吴进锋等, 2007. 2 种东风螺线粒体基因序列多态性研究. 中国水产科学, 14(3): 369—376
- 杨建敏, 李 琪, 郑小东等, 2008. 中国沿海脉红螺(*Rapana venosa*)自然群体线粒体 DNA 16S rRNA 遗传特性研究. 海洋与湖沼, 39(3): 257—262

- 邱高峰, 常林瑞, 徐巧婷等, 2000. 中国对虾 16S rRNA 基因序列多态性的研究. 动物学研究, 21(1): 35—40
- 张 健, 李晓强, 刘 斐等, 2010. 基于线粒体 16S rDNA 基因的天牛科部分种类分子系统学研究. 昆虫分类学报, 32(1): 2—7
- 徐 琰, 宋林生, 李新正, 2005. 用 16S rDNA 序列初步探讨部分真虾类的系统发育关系. 海洋科学, 29(9): 36—41
- 高俊娜, 刘 萍, 李 健等, 2010. 利用 16S rRNA 和 COI 基因序列对三疣梭子蟹不同群体遗传特征的比较分析. 渔业科学进展, 30(5): 59—68
- 蒋钦杨, 杨学明, 郭亚芬等, 2005. 3 个不同群体罗氏沼虾线粒体 16S rRNA 基因序列分析及遗传差异. 水产科学, 24(10): 28—31
- 程起群, 樊强国, 夏连军等, 2007. 3 种沼虾的 16S rRNA 基因序列分析. 浙江海洋学院学报, 26(1): 1—6
- 窦红霞, 张彤晴, 许志强等, 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
- 黎中宝, Appleyard Sharon A, Elliott Nicholas G 等, 2008. 羊鲍 (*Haliotis ovina*) 和耳鲍 (*H. asinina*) MtDNA CO 和 CO 基因片段序列的比较研究. 海洋与湖沼, 39(2): 168—173
- Boulding E G, Boom J, Beekenbaeh A T, 1993. Genetic variation in one bottlenecked and two wild populations of scallops: parameter estimates from coding regions of mtDNA. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 50: 1147—1157
- Excoffier L, Laval G, Schneider S, 2005. Arlequin ver.3.01: An integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionar Bioinformatics Online, 1: 47—50
- Near T J, Pesavento J J, Cheng C H C, 2004. Phylogenetic investigations of Antarctic notothenioid fishes (Perciformes: Notothenioidei) using complete gene sequences of the mitochondrial encoded 16S rRNA. Mol Biol Evol, 32: 881—891
- Quan J X, Zhuang Z M, Deng J Y *et al*, 2004. Low genetic variation of *Penaeus chinensis* as revealed by mitochondrial DNA COI and 16S RNA gene sequences. Biochem Genet, 39: 279—284
- Shen Xin, Sun Ming'an, Wu Zhigang *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. Science Direct Gene, 437: 1—8

THE GENETIC DIVERSITY OF THE 16S rRNA GENE IN THE MITOCHONDRIAL DNA OF THREE WILD POPULATIONS OF *EXOPALAEEMON CARINICAUDA*

MA Peng^{1,2}, LIU Ping¹, LI Jian¹, LI Ji-Tao¹, GAO Bao-Quan¹

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao, 266071;

2. Ocean University of Dalian, Dalian, 116023)

Abstract Using PCR amplification and sequencing analysis, we examined the 16S rRNA gene in the mitochondrial gene of total 58 individuals that belonged to three wild populations of *Exopalaemon carinicauda*, which were sampled in the Haizhou, the Xiangshan, and the Laizhou Bays. 16S rRNA fragments that had 509bp were obtained in our study. Through comparing the variation sites, nucleotide diversity and average number of nucleotide differences were calculated to analyze the gene sequence variation and genetic diversity. The results showed that the colonies from the Haizhou and the Laizhou Bays had lower levels of genetic diversity than that from the Xiangshan Bay. F_{st} values between the Xiangshan and the Laizhou Bays showed significant genetic differences, and F_{st} values among all the other populations showed no strong genetic differences. The molecular phylogenetic tree was constructed using the NJ method to study molecular phylogeny of several species of Palaemonidae. Our finding indicated that the Phylogenetic tree clustered into two branches: Palaemoninae clustered into one branch, and Pontoniinae clustered into the other. In addition, differentiation time of 12 species of the Palaemonidae was deduced base on the percentage of the 16S rRNA divergence.

Key words *Exopalaemon carinicauda*, 16S rRNA gene, Genetics diversity, Phylogenetic