

粤东海域口虾蛄遗传多样性

黄映萍 王莹 苗素英*

中山大学生命科学学院 广州 510275

摘要:采用线粒体 *CO I* 基因序列对粤东汕尾和深圳 2 个海域口虾蛄 (*Oratosquilla oratoria*) 的遗传多样性进行了分析。研究表明,所分析的口虾蛄 mtDNA *CO I* 基因(592 bp)共检测到 21 个变异位点,占总位点的 3.55%。转换和颠换位点数分别为 18 和 3 个,碱基替换的饱和性分析表明,口虾蛄 *CO I* 基因碱基替换未达到饱和,*CO I* 基因适合作为分析口虾蛄遗传多样性研究的分子标记。所检测的个体一共有 15 个单倍型,单倍型多样性为 0.971,核苷酸多样性为 0.007 55。单倍型之间的遗传距离在 0.047 6 ~ 0.428 6 之间,平均遗传距离为 0.214 1。两群体间遗传分化系数 F_{ST} 为 0.036,群体单倍型之间的 UPGAM 聚类以及 NETWORK 亲缘关系网状图并未显示明显的地理聚类结果。粤东海域口虾蛄总体遗传多样性水平较高,遗传分化小。

关键词:口虾蛄;遗传多样性;线粒体 DNA;*CO I* 基因

中图分类号:Q953 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2011)02-82-08

Genetic Diversity Analysis of Mantis Shrimps (*Oratosquilla oratoria*) from the Eastern Coast of Guangdong Province

HUANG Ying-Ping WANG Ying MIAO Su-Ying*

School of Life Science, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China

Abstract: As a routine and important polymorphic marker, mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (*CO I*) gene was used to analyze the genetic diversity for two populations of *Oratosquilla oratoria* from Shenzhen and Shanwei coast of Guangdong Province. The result revealed that 21 of the 592 bp (3.55%) nucleotides were variable, among which 18 and 3 sites were identified as transition and transversion respectively. The substitution saturation analysis indicated that *CO I* gene was not saturated in *O. oratoria* and could be used as an effective molecular tool for population genetic studies. Totally, 15 haplotypes were detected. The nucleotide diversity and haplotype diversity were 0.007 55 and 0.971 respectively. The fixation index (F_{ST}) was 0.036 between two populations, suggesting little differentiation between them. There was no geographic clustering of haplotypes in the UPGAM tree and the network. Genetic distances among haplotypes ranged from 0.047 6 to 0.428 6, with an average value of 0.214 1. In summary, a high level of genetic diversity and little genetic differentiation are observed in *O. oratoria* from the eastern coast of Guangdong province.

Key words: *Oratosquilla oratoria*; Genetic diversity; Mitochondrial DNA; Cytochrome oxidase subunit I

口虾蛄 (*Oratosquilla oratoria*) 属于节肢动物门 (Arthropoda) 甲壳纲 (Crustacea) 口足目 (Stomatopoda) 虾蛄科 (Squillae) 口虾蛄属, 俗称“虾蛄”、“琵琶虾”, 广泛分布于我国沿海、日本沿海、菲律宾、马来半岛以及夏威夷群岛, 是

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 30671612);

* 通讯作者, E-mail: miaosy@mail.sysu.edu.cn;

第一作者介绍 黄映萍, 女, 研究生; 研究方向: 群体遗传学与分子系统学; E-mail: merryhunan@163.com.

收稿日期: 2010-10-19, 修回日期: 2010-12-28

口足目的优势种^[1]。口虾蛄是中国沿海地区重要的渔业物种,近年来由于渔业资源逐年减少,口虾蛄的经济地位逐渐受到重视^[2]。目前,国内外对口虾蛄的研究主要集中在形态学和生物学特征、营养成分和药用价值以及繁殖发育和人工育苗技术等方面^[3-5]。近年来,有关口虾蛄物种遗传多样性也有报道,如通过线粒体 DNA 的控制区(control region 或 D-loop 区)序列分析了香港海域口虾蛄的遗传多样性^[6],并通过 RAPD 的分子标记技术分析了我国大连海域口虾蛄资源遗传多样性^[7]。

线粒体基因(mitochondrial DNA, mtDNA)具有严格的母性遗传、进化速度快等特点而被广泛的用于动物遗传多样性、种群遗传结构分析、物种和品系鉴定和保护遗传学等方面^[8],成为序列分析技术中使用的热门工具。线粒体 DNA 不同基因进化速度不一样,编码蛋白的基因进化速率较为适中,是比较常用的分子标记,尤以编码线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 1 (cytochrome oxidase subunit I, CO I) 基因在海洋动物遗传多样性研究中应用最为广泛^[9]。

本研究通过 PCR 成功扩增得到分布于粤东深圳和汕尾海域的口虾蛄种群的 CO I 基因序列,确定了 CO I 基因可以作为分析口虾蛄群体遗传多样性的有效分子标记工具。分析了这 2 个地理海域的口虾蛄的 CO I 基因序列变异特征、遗传多样性水平以及 2 个种群的遗传分化程度。为今后制定有效的捕捞措施、合理的资源管理方案提供了理论依据,从而更好地利用和保护该物种的种质资源。

1 材料与方法

1.1 实验材料 实验采用的 19 个口虾蛄个体于 2009 年 3~6 月采集于广东省深圳大亚湾(11 个个体)和汕尾陆丰海域(8 个个体),95% 酒精保存。

1.2 实验方法

1.2.1 样品的预处理 取口虾蛄背部肌肉 50 mg 左右,于 0.01 mol/L PBS 的缓冲液中浸泡 2~3 h,换液一次,洗去表面污物,控干组织表面

水分。

1.2.2 总 DNA 提取 总 DNA 的提取根据饱和酚-氯仿法。加 500 μ l 裂解液(1% SDS, 0.5 mol/L Tris-HCl, 0.2 mol/L NaCl, 2 mol/L EDTA)和 0.02 mg/L 蛋白酶 K 5 μ l 冰上匀浆。55 $^{\circ}$ C 水浴 2~3 h,经过 Tris 饱和酚、酚/氯仿(1:1)和氯仿/异戊醇(24:1)分别抽提一次。无水乙醇沉淀,70% 的乙醇洗涤,TE (pH = 8.0) 溶解稀释并进行电泳检测后即可用于 PCR 反应。

1.2.3 PCR 扩增 PCR 的上下游引物分别为 LCO1490: 5'-GGTCAAATCATAAAGATATTGG-3' 和 HCO2198: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAATCA-3',由英骏生物技术有限公司广州分公司合成。扩增反应的体积 40 μ l,按照东盛 TaqMix Kit 的说明书,配制 PCR 反应体系,其中含有 Mix 20 μ l, 10 μ mol/L 的引物 2 μ l, DNA 模板 2 μ l, 5 U/L Taq 酶 0.4 μ l, 用灭菌的双蒸水定容到 40 μ l。反应程序为 95 $^{\circ}$ C 预变性 4 min, 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 44 $^{\circ}$ C 退火 40 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 40 s, 共进行 35 个循环, 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min。PCR 反应在 ABI PCR 仪上进行。取 3 μ l PCR 产物在 1% 的琼脂糖凝胶上进行电泳检测,并在紫外投射分析仪上观察并拍照。

1.2.4 序列测定及分析 PCR 产物送华大基因生物技术公司深圳分公司纯化并用引物 LCO1490 进行测序,部分序列双向测序。序列经过 DNASTar 软件包的 SeqMan 进行编辑并辅以人工校正。用 Clustal X 进行 19 个虾蛄个体的 CO I 基因同源序列比对。碱基组成、转换和颠换用 Arlequin 3.0^[10] 进行分析,采用 DNASP 5.0^[11] 确定单倍型多态性(haplotype diversity, h) 和现今核苷酸多样性指数(nucleotide diversity, $\theta\pi$)、群体的历史核苷酸遗传多样性指数($\theta\omega$)、平均核苷酸差异数(average number of nucleotide differences)以及两群体间的遗传分化系数(F_{ST}),基因流(N_m)。中性检验使用 Tajima's D 检验和 Fu's F_s 检验。采用软件 DAMEB 5.2.0.5^[12] 分析 CO I 序列的碱基替换饱和度。运用 Mega 4.0^[13] 构建群体单倍型的

UPAMG 系统树,并使用 NETWORK 4.0^[14]构建单倍型之间的网络关系图,分析群体单倍型之间的关系。

2 结果

2.1 口虾蛄 CO I 基因的序列特征和变异分布

所有口虾蛄个体的 DNA 经 PCR 扩增得到的均为单一条带,测序后得到 19 条有效长度为 592 bp 的同源序列 (GenBank 登录号为 HQ621811 ~ HQ621829),19 条 CO I 序列的 4 种核苷酸 A、T、G、C 平均含量分别为 27.1%、36.4%、18.9%、17.6%,其中 T 含量最高 (36.4%),C 的平均含量最低 (17.6%),A + T 的含量明显高于 G + C 的含量。

在所测序 19 条 CO I 序列片段中,共检测到 21 个多态性位点,占总位点的 3.55%,其中单变异位点 10 个,占总变异位点的 47.62%,

简约信息位点 11 个,占总变异位点的 52.38%。变异位点分布情况见表 1。21 个多态位点共定义了 18 个转换 (transition, Ti),3 个颠换 (transversion, Tv),转换颠换的比例为 6:1,所测序的 CO I 基因片段中,并没有出现插入缺失序列。

碱基的替换饱和分析表明 (图 1),成对碱基的转换率、颠换率都与遗传距离成线性相关,其中,93.6% 的碱基转换以及 33.2% 的颠换能分别得到相关线性分析。比较碱基达到替换饱和时的标准期望值 ($I_{ss,c}$) 与实际观测值 (I_{ss}) 间的大小判断序列碱基是否达到碱基替换饱和,标准碱基替换饱和值 ($I_{ss,c} = 0.724$) 要远大于实际检测到的 CO I 基因碱基替换值 ($I_{ss} = 0.009$),表明 CO I 序列碱基替换没有达到饱和状态。

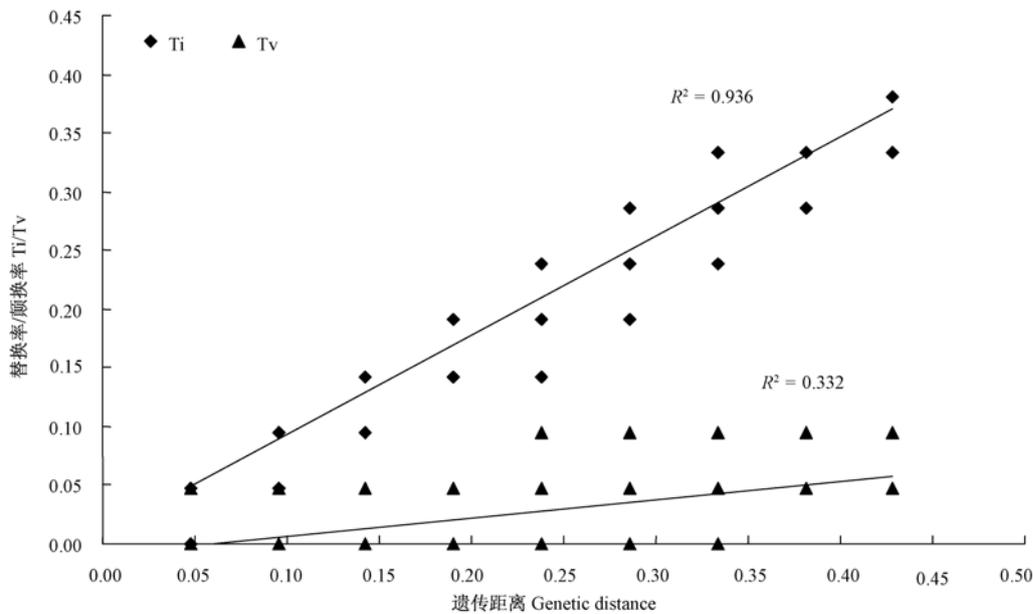


图 1 口虾蛄群体 mtDNA CO I 基因碱基替换饱和性分析

Fig. 1 The substitution saturation analysis of mtDNA CO I fragments in the population of *Oratosquilla oratoria*

2.2 遗传多样性 利用 DNASP 5.0 计算种群的遗传多样性指数^[15],得到扩增口虾蛄 CO I 片段的多样性参数 (表 1)。比较种群的现今核苷酸多样性指数 ($\theta\pi$) 与群体的历史核苷酸遗传

多样性指数 ($\theta\omega$) 大小;若 $\theta\pi > \theta\omega$,表明种群经历了扩张,若 $\theta\pi < \theta\omega$,表明群体经历过瓶颈效应^[16]。结果表明,检测到的现今核苷酸多样性指数较低 ($\theta\pi = 0.00755$),并且 $\theta\pi < \theta\omega$,说明

口虾蛄群体在历史上经历了瓶颈效应。对群体是否存在历史扩张的 Tajima's D 检验和 Fu's F_s 检验的平均检验值分别为 -0.991 和 -0.915, 均为负值, 差异不显著。

表 1 口虾蛄 COI 基因的遗传多样性指数

Table 1 Genetic diversity of COI gene in the populations of *Oratosquilla oratoria*

遗传多样性指数 Genetic diversity index	数值 Value
单倍型数 Number of haplotypes	15
单倍型多态性 Haplotype diversity	0.971 ± 0.027
群体现今核苷酸多样性指数 Current nucleotide diversity ($\theta\pi$)	0.00755 ± 0.00403
群体历史核苷酸多样性指数 Historical genetic diversity ($\theta\omega$)	0.01015 ± 0.00211
平均核苷酸差异数 Average number of nucleotide differences	4.468

19 个口虾蛄序列共定义了 15 个单倍型, 单倍型多态性很高(0.971), H1 单倍型占的比例最高, 为 3 个个体所共享的单倍型(表 2), H5 及 H11 次之, 为 2 个个体共有。其中, 深圳居群共检测到 11 个单倍型, 汕尾居群为 7 个单倍型, 两群体间共享的单倍型有 3 个, 分别为 H1、H5 和 H11。利用 Mega 4.0 软件选择 P-distance 核苷酸替换模型计算 15 个单倍型两两之间的遗传距离, 从表 3 可以看到, 单倍型之间

遗传距离最大为 0.4286, 单倍型间的最小遗传距离为 0.0467, 平均遗传距离为 0.2141。

利用 DNASP 5.0 计算得到深圳和汕尾 2 个群体间的遗传分化系数(F_{ST})为 0.036, 群体间不存在明显的遗传分化($F_{ST} < 0.05$)。并且群体间的基因流(N_m)为 6.66, 基因流较大($N_m > 1$), 推测两群体间存在某种能增加基因流的渠道。粤东口虾蛄群体具有较高的遗传多样性水平和较低的遗传分化。

表 2 口虾蛄 COI 基因片段变异位点以及单倍型

Table 2 Variable sites and haplotypes of mtDNA COI fragments in the population of *Oratosquilla oratoria*

单倍型 Haplotype	变异位点 Variable site																			单倍型数 Number of haplotypes		
	4	4	1	1	1	1	2	2	2	2	3	3	3	4	4	4	4	5	5	5	5	
	1	4	1	2	3	6	0	0	7	8	0	5	8	1	2	3	9	1	4	6	7	
			4	5	1	7	3	9	2	7	8	3	6	9	5	7	4	5	8	3	8	
H1	A	A	A	C	A	A	A	T	A	G	C	A	G	C	A	G	T	A	G	T	A	3
H2	.	G	C	.	.	T	.	.	T	G	.	.	T	.	.	.	1
H3	C	.	.	T	.	.	T	G	.	.	T	.	.	G	1
H4	.	.	G	C	.	A	T	.	A	T	G	.	.	T	.	.	.	1
H5	C	.	A	T	.	A	T	G	.	.	T	.	.	.	2
H6	G	T	.	.	T	G	.	C	T	A	.	.	1
H7	G	C	.	.	T	G	A	T	G	.	.	T	.	.	.	1
H8	T	.	.	T	G	.	.	T	A	.	.	1
H9	G	.	C	.	.	T	.	.	T	G	.	.	T	.	.	.	1
H10	C	.	A	T	.	A	T	G	.	.	T	.	.	G	1
H11	C	.	.	T	.	.	T	G	.	.	T	.	.	.	2
H12	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	T	G	.	T	G	A	.	T	.	G	.	1
H13	A	1
H14	C	G	.	T	.	.	T	G	.	.	T	.	.	.	1
H15	C	C	.	.	T	.	.	T	G	.	.	T	.	.	.	1

表 3 口虾蛄群体内单倍型间的遗传距离

Table 3 Pairwise genetic distance between mtDNA haplotypes in the population of *Oratosquilla oratoria*

单倍型 Haplotype	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14
H1														
H2	0.285 7													
H3	0.285 7	0.095 2												
H4	0.381 0	0.190 5	0.190 5											
H5	0.333 3	0.142 9	0.142 9	0.047 6										
H6	0.333 3	0.238 1	0.238 1	0.333 3	0.285 7									
H7	0.381 0	0.190 5	0.190 5	0.190 5	0.142 9	0.333 3								
H8	0.238 1	0.142 9	0.142 9	0.238 1	0.190 5	0.095 2	0.238 1							
H9	0.285 7	0.095 2	0.095 2	0.190 5	0.142 9	0.238 1	0.190 5	0.142 9						
H10	0.381 0	0.190 5	0.095 2	0.095 2	<i>0.047 6</i>	0.333 3	0.190 5	0.238 1	0.190 5					
H11	0.238 1	<i>0.047 6</i>	<i>0.047 6</i>	0.142 9	0.095 2	0.190 5	0.142 9	0.095 2	<i>0.047 6</i>	0.142 9				
H12	0.428 6	0.238 1	0.238 1	0.333 3	0.285 7	0.381 0	0.238 1	0.285 7	0.238 1	0.333 3	0.190 5			
H13	<i>0.047 6</i>	0.333 3	0.333 3	0.428 6	0.381 0	0.381 0	0.428 6	0.285 7	0.333 3	0.428 6	0.285 7	0.381 0		
H14	0.285 7	0.095 2	0.095 2	0.190 5	0.238 1	0.238 1	0.190 5	0.142 9	0.095 2	0.190 5	<i>0.047 6</i>	0.238 1	0.333 3	
H15	0.285 7	0.095 2	0.095 2	0.190 5	0.238 1	0.238 1	0.190 5	0.142 9	0.095 2	0.190 5	<i>0.047 6</i>	0.238 1	0.333 3	0.095 2

表中黑体数字表示最大遗传距离,斜体数字表示最小遗传距离。

Figures in bold stand for the largest genetic distance; Italic numbers indicate the smallest genetic distance.

2.3 单倍型遗传关系 使用 Mega 4.0 构建 15 个单倍型间的邻接关系树(图 2),UPGMA 聚类法的自检验值(bootstrap 值)设置为 1 000 个重复。图 2 表明,单倍型邻接关系树的大部分节点分支支持率较低(<50%),没有明显的地理谱系结构。15 个单倍型可以聚类为两大支,其中 H1 和 H13 的关系最近,支持率为 96%,H11 与 H14、H2、H3、H9、H15 的亲缘关系都比较近,而 H1 与 H12、H10 与 H13 的亲缘关系较远,这与表 3 中计算得到的两两单倍型之间的遗传距离(P-distance)所显示的结果是一致的。同时,我们还使用 NETWORK 4.0 软件构建口虾蛄单倍型网络关系图(图略),CO I 基因单倍型主干网络结构图呈星状结构,存在一个主体单倍型(H1),位于网络结构图中心,不具明显的地理结构,与构建单倍型之间的 UPGAM 关系图结果一致。

3 讨论

3.1 口虾蛄 mtDNA CO I 基因片段的序列变异 口虾蛄粤东群体的 CO I 序列 592 bp 片段中,碱基组成以 T 含量最高,A、T、G、C 平均含量分别为 27.1%、36.4%、18.9%、17.6%,这

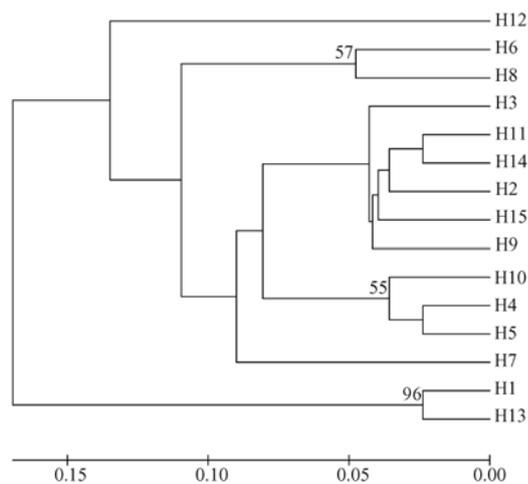


图 2 15 个口虾蛄单倍型的聚类分析图
Fig. 2 UPGMA dendrogram of 15 *Oratosquilla oratoria* haplotypes

与 Barber 等研究的大趾虾蛄属 (*Gonodactyloidea*)28 个种的平均核苷酸碱基含量(A = 27.6%, T = 33.0%, G = 19.5%, C = 19.9%)^[17]相当,在一定程度上反应口足目的 CO I 基因具有相似的序列组成特点。A + T 的含量明显高于 G + C 的含量与其他研究者在甲壳动物的 CO I 基因中观察到的结果一致。本

研究中,转换颠换的比值为 6,一般在线粒体序列变异中,变异的转换较易在近亲种间频繁发生,而颠换在远缘种间发生的概率比较大,在同种动物中,转换在数量上多于颠换^[18]。*CO I* 基因片段的碱基替换饱和性分析表明实际碱基替换饱和性指数要远远低于期望碱基替换饱和性指数,这表明,*CO I* 基因碱基替换没有达到饱和状态,基于 *CO I* 基因未校正的转换、颠换与遗传距离点状分布图(图 1)统计得到线性相关性也说明口虾蛄群体的 *CO I* 基因碱基替换未达到饱和状态,因此,mtDNA *CO I* 基因适合用作研究口虾蛄群体遗传多样性的分子标记。

3.2 粤东口虾蛄群体的遗传多样性 遗传距离是评价遗传变异差异水平的重要指标之一,本研究用 P-距离模型得到广东省口虾蛄群体两两单倍型之间最小遗传距离为 0.047 6,最大遗传距离为 0.428 6,遗传距离越大,亲缘关系越远,反之,亲缘关系越近。一般认为,遗传距离在 0.01 以上的,则被认为群体内的遗传变异较大^[19],本研究单倍型之间遗传距离均远大于 0.01,反应了粤东口虾蛄群体处在较高的遗传多样性水平。

另一类衡量指标为系列遗传多样性参数,据 Nei 对这些遗传参数的定义^[15],一般认为 $\theta\pi > 0.5\%$, $h > 0.5$,则认为种群具有高的核苷酸多态性和高的单倍型多态性,种群的遗传多样性水平也比较高^[20]。本研究中,口虾蛄的 $\theta\pi$ 值为 0.007 55, h 为 0.97 1,平均核苷酸差异数为 4.468,显示了粤东口虾蛄群体遗传多样性水平较高。但是相对于高度多样的单倍型水平,核苷酸多样性水平偏低。这与目前其他中国海域口虾蛄的遗传多样性研究结果类似,如香港近海海域口虾蛄 D-loop 序列分析,当地口虾蛄处于高的单倍型性 ($h = 0.886$) 和较低水平的核苷酸多态性 ($\theta\pi = 0.002 6$)^[6];大连海域口虾蛄 RAPD 分析结果也表明,当地的口虾蛄群体遗传多样性比较丰富^[7]。海洋动物的核苷酸多样性一般在 1% 以内^[21],参照 Grant 等高单倍型低核苷酸多样性群体 $h > 0.5$,并且 $\theta\pi < 0.5\%$ 的划分标准^[20],推断粤东海域以及

香港海域的口虾蛄群体,均显示了一定程度的高单倍型性和低核苷酸多样性的特点,Grant 等认为造成这种遗传特点的原因之一可能是该种群经历了快速增长期^[20]。口虾蛄遗传多样性的这种特点与我国沿海其他某些物种相类似,例如我国台湾海域及其邻近海域东海海域的剑虾 (*Parapenaeopsis hardwickii*) 群体的 D-loop 序列 ($h = 0.996$, $\theta\pi = 0.007 7$)^[22],东海三疣梭子蟹群体的 *CO I* ($h = 0.787$, $\theta\pi = 0.002 41$)^[23],我国渤海和东海北部的小黄鱼 (*Larimichthys polyactis*) mtDNA 的 D-loop 以及 Cyt *b* 序列(分别为 $h = 0.98$, $\theta\pi = 0.010$; $h = 0.956$, $\theta\pi = 0.003 7$)^[24-25],以及澳大利亚北部和印度-西太平洋区域的大珠母贝群体 *CO I* 基因 ($h = 0.764$, $\theta\pi = 0.004 12$)^[26],研究表明,以上物种均显示了极高的单倍型性,并且认为这些物种都经历了近期群体的扩张。粤东口虾蛄群体 *CO I* 基因的 $\theta\pi < \theta\omega$,中性检验 Tajima's D 值和 Fu's Fu 值都为负值,表明粤东的口虾蛄群体可能在历史上遭遇瓶颈效应后并同样经历了迅速的种群扩张。

在 2 个采样点中,存在较多特异的非共有单倍型(表 2),这种种内高变异性的存在,一方面可能是由于人为的采样量不足而导致的,但是另一方面也说明了口虾蛄群体 *CO I* 基因的高变性,可以作为分析其不同地理群体之间谱系亲缘关系的有效分子标记工具。粤东两个群体间的遗传分化系数较低 ($F_{ST} = 0.036$),基因流较高 ($N_m = 6.66$),并且基于群体的 *CO I* 基因片段构建的 UPGAM 单倍型之间的系统发育树没有明显的聚类分支,分支的支持率普遍不高,单倍型之间的 NETWORK 网状结构图呈星状,表明群体内部的遗传分化不大。很多研究表明,海洋动物的群体遗传结构一方面在一定程度上受到其浮游幼虫和当地洋流水文情况的影响^[27];另一方面,更新世(Pleistocene)气候周期性的变化导致冰期水平面下降也会使物种的分布范围不断经历收缩和扩张,从而对物种内群体遗传多样性产生影响^[28]。由于口虾蛄 11 个阶段的幼虫发育需要约 30 ~ 40 d 的时

间^[3],浮游幼虫随洋流迁移而影响物种的种群结构^[27]。因此,我们推断,长时间的浮游幼虫期以及中国东南海复杂的沿岸流是造成种内遗传分化不大的原因之一;另一方面,*CO I*基因的 $\theta_{\pi} < \theta_{\omega}$,口虾蛄群体在历史上经历了瓶颈后种群迅速扩张也是原因之一。此外,虽然目前已经成功进行了口虾蛄人工繁殖,但是尚未进行规模化培育应用^[3],其野外种群没有受到人工选择的影响,这也可能是其遗传多样性保持相对较高水平的原因之一。

本研究是国内首次将*CO I*基因的序列分析方法应用到口虾蛄群体遗传多样性研究中。研究表明粤东海域口虾蛄*CO I*基因具有较高的遗传变异特点,适合作为分子标记开展口虾蛄群体遗传多样性的研究。粤东海域的口虾蛄群体遗传多样性处于较高的水平。为了更好地了解口虾蛄群体的遗传多样性,将来需要扩大口虾蛄的采样范围,并结合一些核基因分子标记方法,如微卫星分子标记(SSR)进行口虾蛄的遗传多样性研究。

参 考 文 献

- [1] 王春琳,徐善良. 口虾蛄的生物学基本特征. 浙江水产学院学报, 1996, 15(1): 60 - 62.
- [2] 金珊,赵青松. 虾蛄. 生物学通报, 2004, 39(6): 17.
- [3] 王波,张锡烈,孙丕喜. 口虾蛄生物学特征及其人工育苗技术. 黄渤海海洋, 1998, 16(2): 64 - 74.
- [4] 林月娇,刘海映,徐海龙,等. 大连近海口虾蛄形态参数关系研究. 大连水产学院学报, 2008, 23(3): 215 - 218.
- [5] 李明勇,黄培春,孔霞. 口虾蛄乙酸乙酯提取物对鼻咽癌 CNE-2Z 细胞增殖和周期的影响. 中华肿瘤防治杂志, 2010, 17(2): 98 - 100.
- [6] Lui K K Y, Leung P T Y, Leung K M Y. Genetic variation of *Oratosquilla oratoria* (Crustacea: Stomatopoda) across Hong Kong waters elucidated by mitochondrial DNA control region sequences. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 2010, 90: 623 - 631.
- [7] 刘海映,王桂娥,王秀利. 大连海域口虾蛄资源遗传多样性的分析. 大连水产学院学报, 2009, 24(4): 350 - 355.
- [8] Avise J C. Molecular Markers, Natural History, and Evolution. 2nd ed. Sunderland, MA: Sinauer, 2004.
- [9] 关申民,高邦全. COI 序列:影响动物分类学与生态学的 DNA barcode. 生态学杂志, 2008, 27(8): 1402 - 1412.
- [10] Excofer L, Laval G, Schneider S. Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online, 2005, 1: 47 - 50.
- [11] Rozas J, Sánchez-DelBarrio J C, Messeguer X, et al. DnaSP, DNA polymorphism analyses by coalescent and other methods. Bioinformatics, 2003, 19: 2496 - 2497.
- [12] Xia X, Xie Z. DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution. Journal of Heredity, 2001, 92: 371 - 373.
- [13] Tamura K, Dudley J, Nei M, et al. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. Molecular Biology and Evolution, 2007, 24: 1596 - 1599.
- [14] Bandelt H J, Forster P, Rohl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Molecular Biology Evolution, 1999, 16: 37 - 48.
- [15] Nei M. Molecular Evolutionary Genetics. New York: Columbia University Press, 1987.
- [16] Sara F, Lapo R, Stefano C. Stock structure and demographic history of the Indo-West Pacific mud crab *Scylla serrata*. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 2010, 86: 51 - 61.
- [17] Barber P H, Erdmann M V. Molecular systematics of the Gonodactylidae (Stomatopoda) using mitochondrial cytochrome oxidase C (subunit I) DNA sequence data. Journal of Crustacean Biology, 2000, 20: 20 - 36.
- [18] Kocher T D, Thomas W K, Meyer A, et al. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals; amplification and sequencing with conserved primers. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 1989, 86: 6196 - 6200.
- [19] Posada D, Crandall K A. Selecting the best-fit model of nucleotide substitution. Systematic Biology, 2001, 50(4): 580 - 601.
- [20] Grant W, Bowen B. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes; insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. The Journal of Heredity, 1998, 89(5): 415 - 426.
- [21] Jimenez R V, Gaffney P M, Enriquez R P. RFLP analysis of the mtDNA control region in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) populations from the eastern Pacific. Marine Biology, 2006, 148: 867 - 873.

- [22] Tzong-Der T. Population structure of the Sword Prawn (*Parapenaeopsis hardwickii*) (Decapoda: Penaeidae) in the East China Sea and Waters Adjacent to Taiwan Inferred from the mitochondrial control region. *Zoological Studies*, 2007, 46(5): 561 – 568.
- [23] Liu Y, Liu R, Ye L, et al. Genetic differentiation between populations of swimming crab *Portunus trituberculatus* along the coastal waters of the East China Sea. *Hydrobiologia*, 2009, 618: 125 – 137.
- [24] Xiao Y, Gao T, Zhang Y, et al. Genetic diversity in the mtDNA control region and population structure in the small yellow croaker *Larimichthys polyactis*. *Environmental Biology Fish*, 2009, 85: 303 – 314.
- [25] 吴仁协, 柳淑芳, 庄志猛, 等. 基于线粒体 Cyt *b* 基因的黄海、东海小黄鱼 (*Larimichthys polyactis*) 的群体遗传结构. *自然科学进展*, 2009, 19(9): 924 – 930.
- [26] Lind C E, Jerry D R, Evans B S, et al. Genetic structure and diversity of a high dispersal mollusc, *Pinctada maxima*, throughout Northern Australia and the Indo-West Pacific region. *Aquaculture*, 2007, 27(01): 285 – 286.
- [27] Robert K, Cowen S S. Larval dispersal and marine population connectivity. *Annual Review Marine Science*, 2009, 1: 443 – 460.
- [28] Campo D, Molares J, Garcia L, et al. Phylogeography of the European stalked barnacle (*Pollicipes pollicipes*): identification of glacial refugia. *Marine Biology*, 2010, 157: 147 – 150.