

# 日本囊对虾 4 个地理群体线粒体 16S rRNA 序列及遗传结构分析

徐田军 孙悦娜 廖 智 王日昕\*

(浙江海洋学院海洋科学学院 海洋生物资源与分子工程实验室 舟山 316000)

**摘要:** 对我国东南沿海日本囊对虾 (*Marsupenaeus japonicus*) 的 4 个地理群体广东群体 (GD)、台湾群体 (TW)、福建群体 (FJ) 和浙江群体 (ZJ) 的线粒体 16S rRNA 基因片段进行 PCR 扩增,对产物进行测序后分析。经比对获得 470 bp 的核苷酸分析序列,发现了 16 个变异位点,得到了 10 种单倍型。广东、台湾、福建和浙江群体的核苷酸多样性依次分别为 0.000 8、0.001 0、0.005 1、0.001 5,各群体均存在独有的单倍型和共有单倍型。群体遗传距离分析表明各群体间保持着一定的遗传差异,其中福建群体与其他群体之间存在着较远的遗传距离并保持了较高的遗传多样性。另外,利用其 423 bp 的 16S rRNA 同源序列探讨了其对虾科 6 个属共 12 种对虾的系统进化关系,囊对虾属与沟对虾属亲缘关系较近聚为一支,其他 4 个属的 10 种对虾聚为一支。

**关键词:** 日本囊对虾;16S rRNA;遗传多样性;群体

**中图分类号:** Q951 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2010)02-93-08

## Genetic Structure and Sequence Analysis of Four Stocks of *Marsupenaeus japonicus* Using Mitochondrial 16S rRNA

XU Tian-Jun SUN Yue-Na LIAO Zhi WANG Ri-Xin\*

(School of Marine Science, Zhejiang Ocean University, Laboratory for Marine Living Resources and Molecular Engineering Zhoushan 316000, China)

**Abstract:** The aim of this study was to investigate mitochondrial 16S rRNA sequence variation to assess genetic structure and polymorphism of in four stocks of *Marsupenaeus japonicus*. The samples of *M. japonicus* were obtained from the East Sea and South Sea of Guangdong (GD), Taiwan (TW), Fujian (FJ) and Zhejiang (ZJ) Province in China. The PCR technique was used to amplify the mtDNA 16S rRNA gene fragment. Four hundred and seventy bp nucleotide sequence of partial 16S rRNA was obtained, and 16 variable sites and 10 haplotypes were detected among all sequences. Nucleotide diversities in GD stock, TW stock, FJ stock and ZJ stock were 0.000 8, 0.001 0, 0.005 1 and 0.001 5 respectively. Each stock had shared haplotype and unique haplotype.  $F_{st}$  analysis showed that genetic difference existed among four stocks, and significant genetic differentiations were observed between FJ stock and other three stocks. The Kimura-2-parameter genetic distance calculated by the MEGA software between the stock of FJ and TW was the highest, up to 0.003 2, while that between the stock of ZJ and GD was the lowest to 0.000 9. NJ phylogenetic tree was constructed using 12 Penaeidae shrimp. These results will be important and useful for making scientific strategy for the family

基金项目 浙江省重大科技专项重点项目 (No. 2006C12010), 国家科技支撑计划项目 (No. 2007BAD43B08);

\* 通讯作者, E-mail: wangrixin1123@126.com;

第一作者介绍 徐田军,男,博士,讲师;研究方向:水产生物技术及分子辅助育种; E-mail: tianjunxu@163.com。

收稿日期:2009-09-16, 修回日期:2009-12-21

selective breeding and molecular marker assisted selective breeding.

**Key words:** *Marsupenaeus japonicus*; 16S rRNA; Polymorphism; Stock

日本囊对虾 (*Marsupenaeus japonicus*) 属于对虾科囊对虾属,自然分布于日本沿海、我国东南沿海及东南亚沿海等海域。由于具有耐受性强、经济价值高的优势,在我国的对虾主养品种中具有重要的地位<sup>[1-2]</sup>,大规模养殖主要分布于我国的浙江、福建、广东及台湾等东南沿海省份,黄渤海海域也进行过苗种的引进和增养殖实验<sup>[2]</sup>。随着日本囊对虾养殖业的迅速增长,苗种问题日益凸显,主要表现在缺乏丰富的野生亲本资源,原有亲本的长期留种导致近亲交配严重,后代抗病、抗逆性能衰退,出现生长速度减慢等现象。种质是决定水产养殖业健康高效发展的最关键因素,因此如何利用现有的日本囊对虾亲本资源进行有效的遗传评估,分析其遗传结构背景和多样性水平,进而可以有根据地进行科学的家系选育、群体选育和分子标记辅助育种,最终获得改良后的优良养殖品种就显得极为重要。

动物线粒体 DNA (mtDNA) 具有绝大多数母系遗传、进化速度快、结构简单等优点,已经广泛应用于研究动物的遗传多样性及系统进化。在水产动物中,16S rRNA 基因序列被应用于分析其遗传结构和探讨物种间及群体间的系统发生关系<sup>[3-4]</sup>。日本囊对虾作为我国的主要养殖对虾品种之一,对其遗传结构的评估却很少<sup>[1-2,5]</sup>,而利用线粒体 DNA 分析其遗传背景,仅有郑连明等<sup>[6]</sup>扩增了日本囊对虾的 CO I 部分序列。本研究拟利用线粒体 16S rRNA 基因序列的变异来评估我国东海及南海海域日本囊对虾 4 个主要地理群体的遗传多样性水平,探讨其遗传进化并对各群体的遗传结构进行分析。

## 1 材料与方法

**1.1 实验材料** 实验所用的日本囊对虾 4 个地理群体的样本分别采于我国东南沿海的浙江 (ZJ)、福建 (FJ)、广东 (GD) 及台湾 (TW) 沿海,

新鲜样品低温冰冻后长期保存。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 基因组 DNA 的提取** 采取常规苯酚氯仿提取法提取总 DNA,每个样本取 100 mg 左右的尾部肌肉,剪碎后加入 500  $\mu$ l 组织匀浆缓冲液 (10 mmol/L Tris-HCl, pH 8.0; 50 mmol/L EDTA, pH 8.0),混匀后加入终浓度为 1% 的 SDS 和 200  $\mu$ g/ml 的蛋白酶 K,55 $^{\circ}$ C 水浴 3 h。等体积的 Tris-饱和酚、Tris-饱和酚:氯仿:异戊醇 (25:24:1)、氯仿:异戊醇 (24:1) 各抽提一次。无水乙醇沉淀,70% 乙醇洗涤两次,TE 溶解。紫外分光光度计测定样品 DNA 的 OD<sub>260</sub>、OD<sub>280</sub> 值,确定其浓度和纯度,4 $^{\circ}$ C 保存备用。

**1.2.2 PCR 扩增和产物鉴定** 用于扩增 16S rRNA 基因片段的引物为 L2510: 5'-CGC CTG TTT AAC AAA AAC AT-3' 和 H3059: 5'-CCG GTC TGA ACT CAG ATC ATG T-3',引物由上海捷瑞生物公司合成。PCR 反应体系为 50  $\mu$ l,包括:模板 DNA 50 ~ 100 ng,10  $\times$  Buffer 5  $\mu$ l, dNTP 各 0.2 mmol/L,上、下游引物各 0.2  $\mu$ mol/L, *Taq* plus DNA 聚合酶 2 U, MgCl<sub>2</sub> 1.5 mmol/L。反应在 ABI 9700 PCR 仪上进行。反应条件如下:94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min;94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 50 $^{\circ}$ C 退火 45 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s,35 个循环;72 $^{\circ}$ C 后延伸 7 min。每次反应都设不含模板的空白对照。PCR 扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测,EB 染色,Bio-Rad GD2000 型凝胶成像系统拍照记录。

**1.2.3 DNA 序列测定** 将 PCR 产物送往上海美季生物公司,纯化后在 ABI 3730 测序仪上进行测序,测序引物为 L2510。福建、广东、浙江和台湾每个群体分别测 15、13、15 和 12 个样本。

**1.2.4 序列的数据处理与遗传结构变异分析** 获得的序列经过人工校正后通过 NCBI 中 BLAST 同源检索后确认所得的序列片段,并从 GenBank 数据库中下载其他对虾物种的 16S rRNA 序列以用于系统发生关系的分析。利用

MEGA 4.1 软件分析 DNA 序列的变异位点, 计算碱基组成比例和遗传距离并构建系统进化树; 利用 DnaSP 4.0 软件进行多态性指数、群体分化指数及基因流的计算。单倍型命名采用如下方式: 例如单倍型 Maja-hap\_1, Maja 代表日本囊对虾拉丁名两个单词前两个字母, hap\_1 表示第一个单倍型。

## 2 结果

**2.1 日本囊对虾 16S rRNA 序列特征及变异分析** 经 PCR 反应条件优化后, 扩增出单一清晰的条带, 见图 1。比对所测日本囊对虾 4 群

体的 16S rRNA 序列后, 共得到了 470 bp 用于分析的基因序列, 与 GenBank 数据库中的序列比对后发现与对虾科的其他虾类具有很高的同源性, 说明序列正确并可进行下一步的分析。序列组成见表 1, 从中可以看出 T、C、A、G 碱基在日本囊对虾所有样本中的平均含量分别为 33.4%、13.0%、32.6%、21.0%, 碱基分布在不同种群间没有明显的差异, A + T 平均含量为 66.0%, 明显高于 G + C 的含量 34.0%。其他 11 种对虾也具有类似的碱基分布, 所有对虾的 A + T 碱基平均含量为 67.7%, G + C 含量为 32.3%。

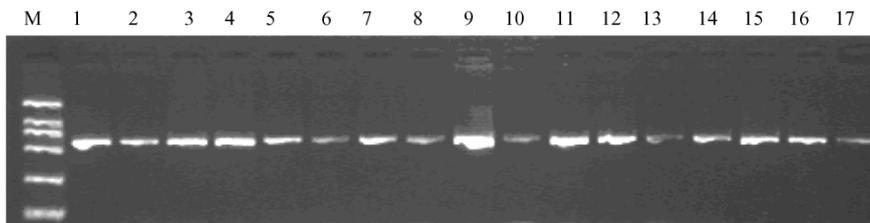


图 1 线粒体 DNA 16S rRNA 基因片段 PCR 扩增结果

Fig. 1 mtDNA 16S rRNA gene fragment of *Marsupenaeus japonicus*

M: DL2000 DNA 分子量标准; 1~17: 部分样本的扩增产物。

M: DL2000 DNA ladder marker; 1-17: Partial product of PCR amplification.

表 1 12 种对虾 mtDNA-16S rRNA 基因序列的碱基组成

Table 1 Base composition in 16S rRNA gene sequences of 12 species of Penaeidae

物种 Species	T (%)	C (%)	A (%)	G (%)	A + T (%)	G + C (%)	片段长度 Length (bp)	数据来源 Data resource
日本囊对虾 <i>Marsupenaeus japonicus</i>	33.4	13.0	32.6	21.0	66.0	34.0	470	本文
长毛对虾 <i>Fenneropenaeus penicillatus</i>	33.6	11.6	35.0	19.9	68.6	31.5	423	FJ435647
中国对虾 <i>F. chinensis</i>	33.6	11.8	34.3	20.3	67.9	32.1	423	FJ435643
墨吉对虾 <i>F. merguensis</i>	33.3	11.6	35.2	19.9	68.5	31.5	423	FJ435646
食用对虾 <i>Penaeus esculentus</i>	33.3	11.4	33.7	21.6	67.0	33.0	421	AF279828
短沟对虾 <i>P. semisulcatus</i>	35.3	10.0	34.4	20.4	69.7	30.4	422	EU024682
斑节对虾 <i>P. monodon</i>	35.0	10.9	35.2	18.9	70.2	29.8	423	EU105473
桃红对虾 <i>Farfantepenaeus duorarum</i>	32.9	11.6	34.3	21.3	67.2	32.9	423	AF279812
加州对虾 <i>F. californiensis</i>	33.1	11.3	34.8	20.8	67.9	32.1	423	EU497054
细角对虾 <i>Litopenaeus stylirostris</i>	34.0	12.1	33.6	20.3	67.6	32.4	423	EU517503
凡那滨对虾 <i>L. vannamei</i>	32.6	12.5	34.0	20.8	66.6	33.3	423	EF584003
缘沟对虾 <i>Melicertus marginatus</i>	32.5	13.0	33.6	20.9	66.1	33.9	422	AY264907
平均值 Average	33.6	11.7	34.2	20.5	67.7	32.3		

从所有的核苷酸变异序列中定义了 10 种单倍型,命名为 Maja-hap\_1 ~ Maja-hap\_10,单倍型及其变异位点见图 2。群体间共享单倍型只有 1 个(Maja-hap\_2),其余为某个群体所特有。福建、浙江、广东和台湾群体分别有 5、3、2 和 3 个单倍型。Maja-hap\_1 为广东群体独有的单倍型,Maja-hap\_3 和 Maja-hap\_4 为台湾群体独有的单倍型,Maja-hap\_5 和 Maja-hap\_6 为浙江群体独有的单倍型,Maja-hap\_7、Maja-hap\_8 和 Maja-hap\_9 是福建群体独有的单倍型。日

本囊对虾 4 个群体的遗传多样性参数见表 2,福建群体具有最高的遗传多样性水平,其单倍型多样性及核苷酸多样性分别为 0.667 和 0.005 1,遗传多样性水平最低的广东群体其单倍型多样性及核苷酸多样性分别为 0.389 和 0.000 8。综合各项参数可知,日本囊对虾 4 个地理群体遗传多样性水平从高到低分别是福建群体、台湾群体、浙江群体和广东群体。所测序列经过人工校正后共发现 16 个变异位点,占分析位点总数的 3.4%,这些变异位点中包括 10

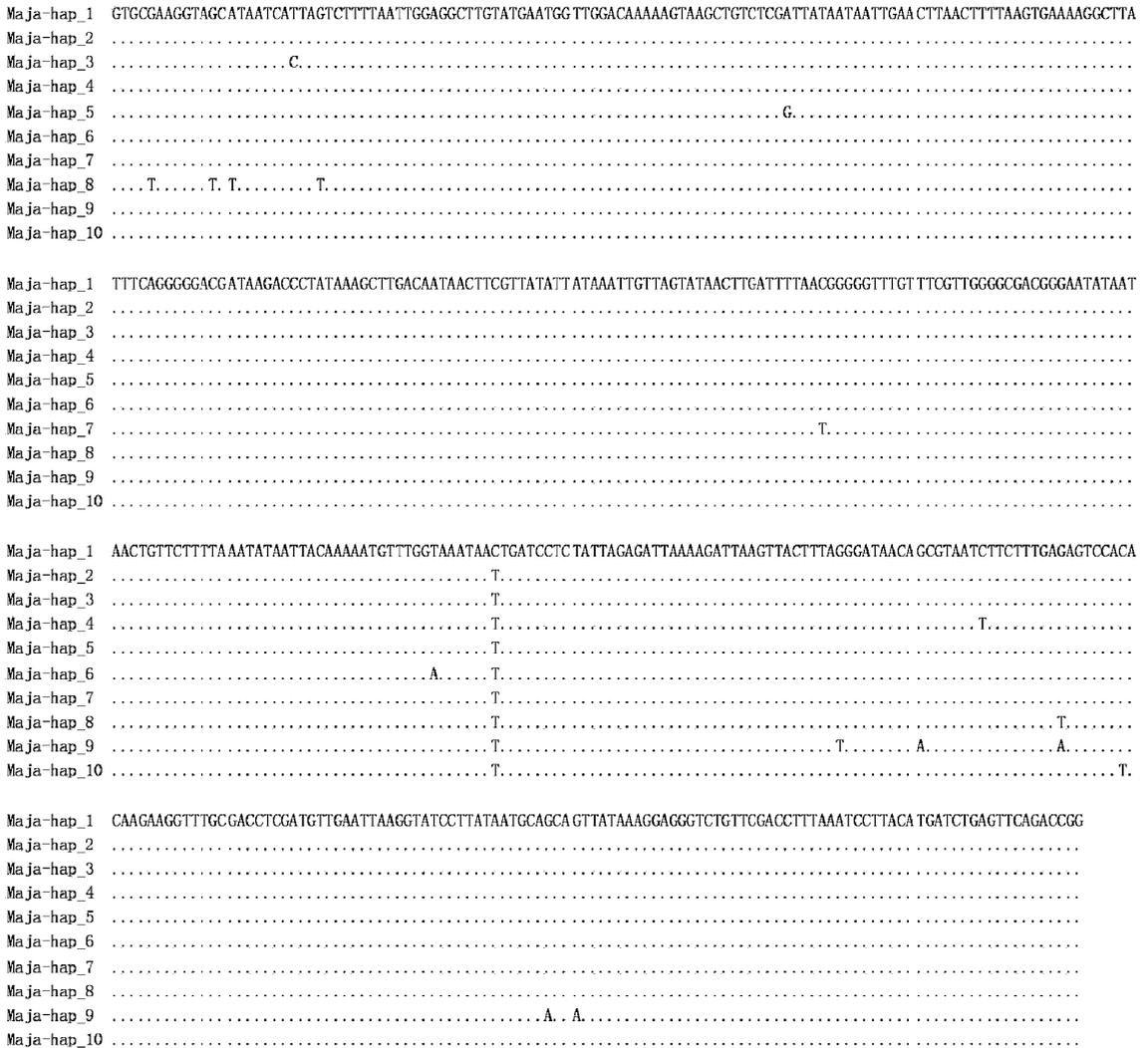


图 2 日本囊对虾 16S rRNA 序列核苷酸变异位点及其各单倍型

Fig.2 Nucleotide polymorphic sites and haplotypes in 16S rRNA gene sequences of *Marsupenaeus japonicus*

第一行序列表示单倍型 Maja-hap\_1 的碱基序列;“.”表示与单倍型 Maja-hap\_1 碱基相同。

Top sequences indicate nucleotide sequences of the haplotype Maja-hap\_1; Dots indicate identity with the top sequence.

表 2 日本囊对虾 4 个群体的遗传多样性参数

Table 2 Parameter summary of genetic diversity of *Marsupenaeus japonicus* from the four stocks

群体 Stocks	单倍型数 ( $N$ ) Number of haplotypes	单倍型多样性 ( $H$ ) Haplotype diversity	核苷酸多样性 ( $P_i$ ) Nucleotide diversity	核苷酸变异数 ( $K$ ) number of nucleotide difference
广东 Guangdong	2	0.389	0.000 8	0.389
台湾 Taiwan	3	0.439	0.001 0	0.470
浙江 Zhejiang	3	0.378	0.001 5	0.400
福建 Fujian	5	0.667	0.005 1	2.378
平均值 Average		0.467	0.002 0	0.921

个转换位点和 7 个颠换位点,没有插入及缺失位点,其中多样性水平最高的福建群体所分析序列的转换和颠换数也分别达到了 10 个和 7 个。

**2.2 群体遗传分化及遗传结构分析** 利用 MEGA 软件计算了日本囊对虾群体间的遗传距离并统计了群体间的变异位点数(表 3) 4 个群体间的遗传距离在 0.000 9 ~ 0.003 2 之间,其中福建群体与台湾群体遗传距离最大,为 0.003 2,广东群体与浙江群体的遗传距离最小,为 0.000 9,所有个体间的平均遗传距离为 0.002 0。计算了各群体内个体间的遗传距离,广东、台湾、浙江和福建群体内个体间的平均遗传距离分别为 0.000 8、0.001 0、0.000 9 和 0.005 1,这与表 2 中各群体的遗传多样性水平类似。表 3 中列出的群体间变异位点数显示福建群体与其他群体间存在较多的变异位点,存在较大的遗传变异。

表 3 日本囊对虾 4 群体间的相对遗传距离  
(对角线下)和变异位点数(对角线上)Table 3 Genetic distance (below the diagonal) and variation sites (above the diagonal) among four stocks of *Marsupenaeus japonicus*

群体 Stocks	广东 Guangdong	台湾 Taiwan	浙江 Zhejiang	福建 Fujian
广东 Guangdong		3	3	13
台湾 Taiwan	0.001 0		4	14
浙江 Zhejiang	0.000 9	0.001 0		14
福建 Fujian	0.003 1	0.003 2	0.003 1	

利用 16S rRNA 序列计算得到的 4 个群体间的遗传分化系数及基因流数据(表 4),广东群体与台湾群体间、广东群体与浙江群体之间存在中度的遗传分化( $0.05 < F_{st} < 0.15$ ),其他

群体之间均存在轻度遗传分化( $F_{st} < 0.05$ )。平均遗传分化系数为 0.04,表明约 4% 的遗传分化来自于群体之间,约 96% 的遗传分化来自于群体内。基因流( $N_m$ )越大表明遗传分化程度越低,同样可以说明各群体之间的遗传分化水平。

表 4 日本囊对虾 4 群体间的群体遗传分化系数  
 $F_{st}$ (对角线下)和基因流  $N_m$ (对角线上)Table 4 Pairwise genetic fixations index (below the diagonal) and gene flow (above the diagonal) among four stocks of *Marsupenaeus japonicus*

群体 Stocks	广东 Guangdong	台湾 Taiwan	浙江 Zhejiang	福建 Fujian
广东 Guangdong		2.50	3.55	8.89
台湾 Taiwan	0.091		7.18	13.55
浙江 Zhejiang	0.066	0.034		31.25
福建 Fujian	0.027	0.018	0.008	

**2.3 分子系统进化分析** 为了探讨日本囊对虾 4 个群体之间及对虾科内其他对虾的系统发生关系,选择 423 bp 的 16S rRNA 同源序列利用 DAMBE 软件评测了遗传距离与对应的转换和颠换数的关系,根据对核苷酸变异的预测,所分析序列的核苷酸转换和颠换数随着遗传距离的增加而呈线性增加关系(图 3),核苷酸变异没有达到替换饱和,适宜进行系统发生关系的分析。利用 NJ 法构建了日本囊对虾 4 个群体及其他 11 种对虾同源序列的分子系统树,从图 4 中可以看出,福建群体与其他群体之间由于遗传距离最大而保持较远的遗传进化关系。从对虾科 6 个属 12 种对虾的系统进化可以看出,每个属的几个物种会首先聚在一起,形成进化树中的一个分支。对虾属与明对虾属亲缘关系较近,对虾属的食用对虾与明对虾属的 3 种对

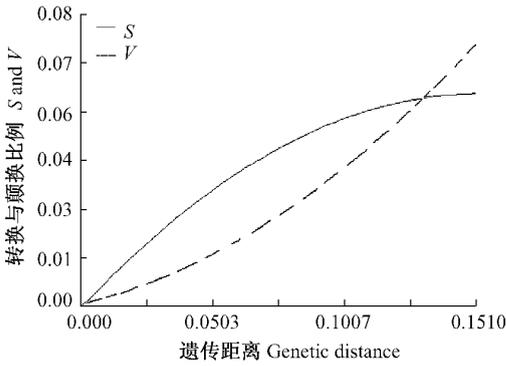


图 3 16S rRNA 基因序列变异位点的核苷酸转换 (S) 和颠换 (V) 与遗传距离的相关性

Fig. 3 Transition (S) and transversion (V) versus genetic distance among 16S rRNA gene sequences

虾首先聚在一起,显示了遗传上较强的同源性。美对虾属与滨对虾属在系统树中显示了较近的亲缘关系,而囊对虾属与沟对虾属单独聚为一支与其他 4 个属的对虾保持了一定的遗传距离。

### 3 讨论

线粒体 16S rRNA 基因序列是目前广泛应用于水生动物群体遗传多样性和系统进化分析研究的分子标记。周发林等<sup>[7]</sup>利用 16S rRNA 基因序列对中国南海海域斑节对虾 5 个地理群体进行了遗传结构的分析,发现 5 个野生群体可以为选择育种提供 2 个基础群体;孙悦娜等<sup>[8]</sup>通过 16S rRNA 序列的比较对日本沼虾

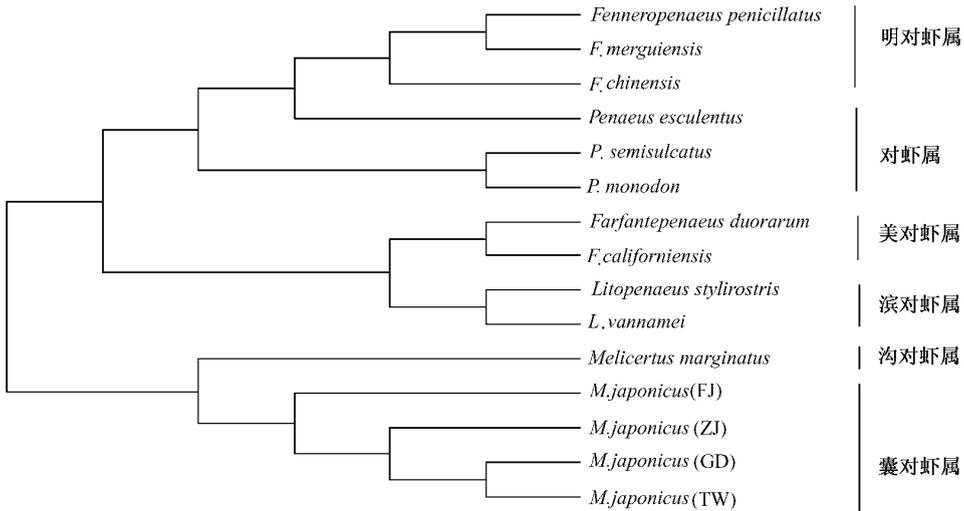


图 4 NJ 法构建的 12 种对虾的分子系统树

Fig. 4 Molecular phylogenetic tree of 12 species of Penaeidae shrimp

*M. japonicus* (FJ): 日本囊对虾福建群体; *M. japonicus* (ZJ): 日本囊对虾浙江群体; *M. japonicus* (GD): 日本囊对虾广东群体; *M. japonicus* (TW): 日本囊对虾台湾群体; *Fenneropenaeus penicillatus*: 长毛对虾 (FJ435647); *F. chinensis*: 中国对虾 (FJ435643); *F. merguensis*: 墨吉对虾 (FJ435646); *Penaeus esculentus*: 食用对虾 (AF279828); *P. semisulcatus*: 短沟对虾 (EU024682); *P. monodon*: 斑节对虾 (EU105473); *Farfantepenaeus duorarum*: 桃红对虾 (AF279812); *F. californiensis*: 加州对虾 (EU497054); *Litopenaeus stylirostris*: 细角对虾 (EU517503); *L. vannamei*: 凡那滨对虾 (EF584003); *Melicertus marginatus*: 缘沟对虾 (AY264907)。

(*M. nipponense*) 3 个群体的遗传结构进行了分析,并通过同源序列的比较探讨了 8 种沼虾的系统发生关系;高天翔等<sup>[9]</sup>对中国对虾野生群体和 4 代选育群体的 16S rRNA 序列进行分析,没有发现碱基变异,并分析了 5 个属 12 种虾类

的系统发生关系。郑文娟等<sup>[10]</sup>基于 16S rRNA 部分序列探讨了 12 种鲽科鱼类系统进化关系,发现基因序列没有达到突变饱和。吉鹏宇等<sup>[11]</sup>利用线粒体的 CO I 和 16S rRNA 对青蟹 (*Scylla serrata*) 6 个群体进行了遗传背景的简

单分析。

在本研究中,日本囊对虾 16S rRNA 序列 AT 含量(66.0%)显著高于 CG 含量(34.0%),这样的结果符合其他学者利用 mtDNA 部分基因序列研究虾类得到的结论<sup>[8-9,12-13]</sup>。而在鳊科鱼类中 16S rRNA 基因序列的 AT 含量(52.0%)与 GC 含量(48.0%)差别不是太大<sup>[10]</sup>,说明不同物种间 mtDNA 序列的碱基分布存在明显的差异性。全部序列经过人工校正后共得到了 10 种单倍型,一方面说明日本囊对虾的遗传资源还比较丰富,同时也说明 16S rRNA 是存在一定进化速度的区域,适宜进行遗传进化分析的研究。

从表 2 中看出,福建群体的各种遗传多样性指数都是最高的,说明在采集的 4 个群体中福建群体是具有良好遗传选育基础的,具有进行遗传选育的潜力,在以后的日本囊对虾育种中可以考虑利用福建群体进行优良亲本的选择和群体的选育,因为只有具有遗传差异的基础群体才可以获得明显的选育效果。在 4 个群体中浙江群体、台湾群体和广东群体相对于福建群体来说均具有较低的遗传多样性指数,很可能与这些海域的日本囊对虾养殖业非常发达,亲本已经过高强度的选择并且不断近亲交配导致近交衰退有关,同时也可能是由于样本采集的局限性所导致。

群体遗传分化系数  $F_{st}$  是利用遗传信息反映群体之间遗传分化的指标,数值越大表明两群体间的遗传分化水平越高。在本研究中,4 个群体之间大部分存在轻度或中度的遗传分化,说明群体之间都存在一定的遗传差异,福建群体与浙江群体间存在轻度遗传分化,基因流最高也说明这两个群体经过了广泛的遗传交换。但是值得注意的是利用不同的基因序列分析群体结构可能会得到数值不同的遗传差异指数,这主要是由于不同基因的进化速度不同所造成。

DNA 序列在核苷酸替换饱和后系统发生的信息可能丧失,不适合进行系统发生关系的分析,一般认为随着遗传距离的增加,转换和颠

换数达到一个平衡,则这样的序列不适合进行进化分析<sup>[14]</sup>。以前的学者没有对 16S rRNA 序列应用于对虾类系统进化关系研究的合理性进行分析,本研究利用对虾科所有 6 个属的 12 种对虾的 16S rRNA 序列进行了遗传距离与转换和颠换数相关性的预测,结果显示,所分析的 16S rRNA 基因片段的转换和颠换数随着遗传距离的增加而呈线性增加关系,没有达到核苷酸突变饱和,因此日本囊对虾的 16S rRNA 基因序列可以应用于群体间或物种间的系统发生关系分析。利用 NJ 法构建的系统数显示,日本囊对虾的 4 个群体聚在一起,显示了各群体的物种同源性。12 种对虾聚为两大枝,囊对虾属与沟对虾属的物种首先聚在一起,其他 4 个属的 10 种对虾聚为一支,利用 16S rRNA 同源序列可以较好的进行对虾科的系统发生关系分析。尽管目前日本囊对虾养殖业非常发达,群体间仍然存在一定程度遗传分化,尤其是福建群体与其他群体之间仍然保持了较远的遗传距离,有利于进行日本囊对虾的选择育种。本研究探讨了 4 群体的遗传分化和遗传多样性水平,发现存在一定程度的群体间遗传分化,福建群体保持了较高的遗传多样性水平和遗传差异,并利用同源序列初步探讨了对虾科 6 个属的系统进化关系。本论文为日本囊对虾的家系选育、亲本选择及分子辅助育种工作的开展提供了基础。

## 参 考 文 献

- [1] 宋林生,相建海,李晨曦,等. 日本对虾野生种群和养殖种群遗传结构的 RAPD 标记研究. 海洋与湖沼, 1999, 30(3): 261-266.
- [2] 庄志猛,孔杰,石拓,等. 日本对虾野生与养殖群体遗传多样性的 RAPD 分析. 自然科学进展, 2001, 11(3): 250-255.
- [3] 郭天慧,孔晓瑜,陈四清,等. 三疣梭子蟹线粒体 DNA 16S rRNA 和 COI 基因片段序列的比较研究. 中国海洋大学学报, 2004, 34(1): 22-28.
- [4] 庆宁,林岳光. 墨吉对虾 *Penaeus merguensis* 线粒体 16S rRNA 基因序列分析. 华南师范大学学报:自然科学版, 2002, (3): 63-67.
- [5] 庄志猛,孟宪红,权洁霞,等. 日本对虾野生种群和养殖群体的同工酶遗传变异. 动物学研究, 2000, 21

- (4): 323 - 326.
- [6] 郑连明, 曹文清, 方旅平, 等. 日本囊对虾线粒体 DNA COI 基因片段序列分析. 厦门大学学报: 自然科学版, 2005, 44(6): 821 - 826.
- [7] 周发林, 江世贵, 姜永杰, 等. 中国南海野生斑节对虾 5 个地理群体线粒体 16S rRNA 基因序列比较分析. 水产学报, 2009, 33(2): 208 - 214.
- [8] 孙悦娜, 冯建彬, 李家乐, 等. 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, 2007, 42(1): 59 - 66.
- [9] 高天翔, 李健, 王清印, 等. 中国对虾线粒体 16S rRNA 基因序列分析. 中国水产科学, 2003, 10(5): 359 - 364.
- [10] 郑文娟, 朱世华, 邹记兴, 等. 基于 16S rRNA 部分序列探讨 12 种鲈科鱼类的分子系统进化关系. 水产学报, 2008, 32(6): 848 - 854.
- [11] 吉鹏宇, 沈琪, 唐小林, 等. 六个青蟹群体的线粒体 16S rRNA 和 COI 基因部分序列差异. 海洋湖沼通报, 2008, (4): 69 - 77.
- [12] Quan J X, Zhuang Z M, Deng J Y, et al. Low genetic variation of *Penaeus chinensis* as revealed by mitochondrial DNA COI and 16S RNA gene sequences. *Biochem Genet*, 2004, 39: 279 - 284.
- [13] Liu M Y, Cai Y X, Tzeng C S. Molecular systematic of the freshwater prawn genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) inferred from mtDNA sequences, with emphasis on east Asian species. *Zool Stu*, 2007, 46(3): 272 - 289.
- [14] Salemi M. Practice: the PHYLIP and TREE-PUZZLE software packages // Salemi M, Vandamme A M. *The Phylogenetic Handbook: A Practical Approach to DNA and Protein Phylogeny*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2003.