线粒体基因片段在梭子蟹系统发育及物种鉴定中的应用

张 姝^{1,2},李喜莲^{1,2},崔朝霞²,王鸿霞²,王春琳³,刘小林¹

(1. 西北农林科技大学 动物科技学院,陕西 杨陵 712100;2. 中国科学院 海洋研究所,山东 青岛 266071;3. 宁波大学 生命科学与生物工程学院,浙江 宁波 315211)

摘要:测定三疣梭子蟹(Portunus trituber cul atus) 9 个个体 COI 基因部分序列 467 bp, 7 个个体 16S rRNA 基因部分序列 519 bp,同时测定样品蟹 1 个个体 COI 基因部分序列 468 bp。结合 GenBank 中收集的梭子蟹科 COI, 16S rRNA 两 个基因所有同源序列信息,使用 Kimura 双参数模型采用 邻接法(NJ)、最大简约法(MP) 构建梭子蟹科分子系统发育树;将样品蟹测得的 COI 基因序列和已知蟳属的其他蟹同源序列(429 bp)进行比对分析。结果分析表明:两个基因片段序列平均碱基 AT 数量分数都明显高于 GC 数量分数;梭子蟹属与美青蟹属关系 最近,蟳属应为区别于梭子蟹属、美青蟹属、青蟹属的另一支,支持蟳属应划分在短桨蟹亚科的观点;根据遗传距离以及转换/颠换(R)值分析,判定出样品蟳为锐齿蟳。本试验运用线粒体基因片段探讨了 梭子蟹类的系统发育关系以及样品蟹的种类鉴定,为线粒体基因片段在梭子蟹的物种鉴定和系统发育重建 中的开发和利用提供重要参考。

关键词:线粒体基因;核子蟹;系统发育;分子分类 中图分类号:Q178;Q953 文献标识码:A

线粒体 DNA(mtDNA)遗传方式为母性遗传,与 核 DNA 相比,具有结构简单、一级结构的碱基突变 率高、进化速度快等特点,开发潜力较大。近年来, 陆续报道了 5 种蟹类的线粒体基因组全序列^[1~5]。 但线粒体基因组序列全长的测定费时而且花费大, 因此根据不同的物种以及物种亲缘关系的远近选取 适合的线粒体基因片段,构建正确、可信度高的分子 系统发育树,可为有争议、未定义种的鉴别以及从基 因的角度阐释生命起源进化等提供科学的工具。随 着分子生物学技术的发展以及蟹类研究的推进,线 粒体 DNA 做为一种有效的分子遗传标记,在蟹类的 系统发育重建及分类研究等方面也得到越来越多的 应用。

蟹类的分子分类研究运用的线粒体序列主要为 16S rRNA, COI 等基因片段。COI 基因较 12S rRNA, 16S rRNA 等基因变异高,突变率为 1.4%/Ma^[6],更适于对亲缘关系较近的物种的研究, 作为分子分类工具(Barcode)一般用于区分种间差 异^[7-9],也常联合其他线粒体基因共同分析^[10-13]。 马凌波等^[14]利用 COI 基因部分序列成功鉴别出采 于中国东南沿海的样品为 Scylla paramamosian。 可见 COI 基因在判别蟹类的物种鉴定上有较大的潜 力。线粒体 16S rRNA 基因在系统发育研究中的适 用性较好^[15,16],不仅在一些微生物的分子分类鉴定 和分子检测中发挥了巨大的作用^[17],更被广泛用于 研究不同阶元的系统发育关系^[18-20]。 文章编号:1000 3096(2008) 04 0009 10

梭子蟹隶属节肢动物门,甲壳纲、十足目,属于 高等蟹类,具有真正的蟹类形态,体形宽大,额部平 拱,一般呈梭形,末对步足为桨状,可以游泳,为中国 重要的经济甲壳类动物。梭子蟹科约 35 个属 300 余种,我国大约有 60 种。由于种类繁多,其中一些 种类的分类地位并不明确,如蟳属的争议是其隶属 梭子蟹亚科还是短桨蟹亚科。同时,蟳属种类较多, 近缘种从形态上难以鉴别。作者运用线粒体 COI, 16S rRNA 基因部分序列的信息,探讨梭子蟹类的系 统发育关系,并运用 COI 基因序列对样品蟳的种类 进行鉴定,为梭子蟹的系统发育重建研究及蟳属的 物种鉴定等方面提供重要参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

三疣梭子蟹(Portunus trituber culatus)样品分 别采自辽宁省丹东(DD)、辽宁省营口(YK)、山东省 莱州(LZ)、山东省青岛(QD)、浙江省宁波(ZJ)。样

收稿日期: 2007-06 06;修回日期: 2008-01-07

基金项目:国家自然科学基金资助项目(40676085);国家高技术研究 发展计划项目(2006AA10A406)

作者简介: 张妹(1982-), 女, 重庆万州人, 硕士研究生, 主要从事水生 生物遗传资源与分子系统学研究, E-mail: zhangshu1222@ yahoo. com. cn; 崔朝霞, 通讯作者, E-mail: zhxcui@ yahoo. com. cn

品蟹(蟳)采自广东省湛江,是当地一种常见的蟹类, 采样时先对其形态初步观察,根据其末对步足呈桨 状、体形不为典型的梭形、额具6齿、前侧缘具6齿、 具细微颗粒及隆线等特征,确认为蟳属蟹类。样品 采集后低温冷冻运输回实验室,-20℃保存。

1.2 提取基因组 DNA

取附肢肌肉大约 50 mg,采用高盐法^[21],稍做修 改进行基因组提取,0.8%琼脂糖凝胶电泳检测后备 用。

1.3 线粒体基因片段扩增

线粒体 COI 基因片段扩增采用通用引物 LCO1490: 5-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3': HCO2198: 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3'。16S rRNA 基 因片段扩增采用通用引物、16Sar-L: 5-CGC CTG TTT ATC AAA AAC AT-3': 16S br-H: 5'-CCG GTC TGA ACT CAG ATC ACG T-3'。PCR 扩增 在 Bio-rad MyCycler TM PCR 仪上进行。反应体系为 25 µL. 包括 2. 5 µL 10 × buffer. 1. 5 µL Mg²⁺ (25 mmol/L), 0.5 ^µL dN TP(10 mmol/L), 0.3 ^µL 每条 引物(10^µmol/L),1U Taq 酶(上海 Promega),其余 用超纯水补足。PCR 反应程序: 95℃预变性 3 min. 然后 30 个循环包括 95 ℃变性 30 s, 55 ℃退火 30 s, 72 ℃延伸45 s。最后,72 ℃延伸 7 min。PCR 扩增产 物经0.8%的琼脂糖凝胶电泳检测,电泳缓冲液为 0.5×TBE(pH8.0), 电压为 100 V/cm, EB 染色, 凝 胶成像系统下观察并拍照记录。

1.4 PCR 产物纯化及测序

PCR 产物用 Biospin Gel Extracion Kit 进行胶回收,送上海捷瑞生物工程有限公司测序。测序结 果经 DNAStar5.01 软件进行人工核对矫正。

1.5 分子系统发育分析以及物种的鉴定

在 GenBank 中收集 梭子蟹 科 COI 基因 和 16S rRNA 基因的同源序列,用 Clustal X 和 M EGA 3.1 软件对测定的三疣梭子蟹序列和 GenBank 中其 他蟹类的同源片段序列进行编辑、排序,使用 Kimur ra 双参数模型采用邻接法(NJ)构建分子系统发育 树;采用 Clustal X 软件,选取样品蟹和 GenBank 中 蟳属所有 COI 基因同源序列进行比对分析。

2 结果

2.1 线粒体基因片段测定

2.1.1 COI 基因片段测定

测得三疣梭子蟹 9 个个体(DD 16, DD 22, DD 24, YK 1, YK 17, QD 9, QD 11, ZJ 35, LZ 3) *COI* 同源序列 467 bp, 样品蟳 1 个个体 *COI* 序列 468 bp。平均 A, T, C, G 数量分数组成见表 1(*A*, *T*, *C*, *G*(%) 分别表 示碱基 A, T, C, G 的数量分数),均表现出明显的偏 倚性, *A* + *T* 都显著高于 *G* + *C*。三疣梭子蟹 *COI* 序 列比对分析表明,碱基间的替代主要以转换为主,转 换/颠换(*R*) = 3.172,序列间不存在插入和缺失的位 点, 三个变异位点包括 181 bp(C-T) 和 430 bp(G-A) 位点上各有一处转换, 235 bp(C-A) 位点上碱基的 颠换(图 1(a)),个体间序列变异为 0.5%。

表 1	测定样品的线粒体基因部分序列的各碱基平均数量分数

Tab. 1 The average content of base of partial fragment in the sampled specimen

样品名称	样品数量	A (%)	T(%)	<i>C</i> (%)	G(%)	A + T(%)	C + G(%)
三疣梭子蟹 COI 基因	9	25.7	38.9	19.7	15.7	64. 6	35.4
样品鲟 COI 基因	1	25.6	38.1	20.7	15.6	63. 6	36.4
三疣梭子蟹 16S rRNA 基因	7	35.1	34.8	12.2	17.9	69. 9	30. 1

2.1.2 16S rRNA 基因片段测定

测定三疣梭子蟹 7 个个体(DD2, DD4, ZJ1, ZJ9, Yk4, Yk10, Yk27) *16S* rRNA 基因同源序列 519 bp。16S rRNA 基因非常保守,长为 519 bp 的同源 序列中不存在插入和缺失的位点,只在 224 bp 处有 一个 C-T 转换,个体间序列变异为 0.2% (图 1(b))。

(a)

(b)

图 1 三疣梭子蟹 COI(a)和 16S rRNA(b)基因部分序列

Fig. 1 The sequences of partial COI gene(a) and partial 16S rRNA gene(b) of Portunus trituberculatus

2.2 蟹类系统发育分析

2.2.1 梭子蟹 COI 序列分析及分子系统发育树的 构建

蟹类 COI 序列扩增多采用 Folmer 等^[22]和 Pahumbi 等^[23]设计的通用引物。两对引物扩增不同的 COI 片段,且无重叠部分。本试验采用 Palumbi 等 设计的通用引物,扩增片段为 COI 基因的后半段。 在 GenBank 中收集梭子蟹科 COI 基因序列,共计 7 个属 22 个种的数据。其中除去 3 个属 6 个种 COI 片段序列为 COI 基因序列的前半段外,与本试验测 定 COI 序列同源的数据包括 4 个属(梭子蟹属(Portunus)、美青蟹属(Callinectes)、蟳属(Charybdis)、青 蟹属(Scylla)) 16 个种(表 2) 的数据。比对处理后得 到 433 bp 的同源序列,其中变异位点 163 个,简约信 息位点 132 个,单个突变位点 31 个,序列平均总变 异为 17.2%。序列之间没有插入或缺失的位点,碱 基组成及转换/颠换值见表 3。构建的分子系统发育 树(图 2)显示,青蟹属 4 个种中,拟穴青蟹(Scylla paramamosain)和紫螯青蟹(Scylla tranquebarica) 先聚在一起,再和锯缘青蟹(Scylla serrata)相聚,最 后和榄绿青蟹(Scylla olivacea)相聚; 蟳属中近亲蟳 (Charybdis af finis)和日本蟳(Charybdis j aponica), 锐齿蟳(Charybdis acuta)和钝齿蟳(Charybdis helleri),锈斑蟳(Charybdis f eriatus)和 Charybdis j aubertensis 等亲缘关系较近的聚在一起; 梭子蟹亚 科 4 个属分为两大支, 梭子蟹属、美青蟹属、青蟹属 聚为一支, 蟳属的 9 个种类聚为另一支。

表 2 用于分析的梭子蟹物种信息

Tab. 2The data of portunid crab

辺海根子盤(Portanus pel agicus Linnaeus, 1760) 中国「西」「东,福建,浙江,白茶, 日本,漢大和型、泰国,马来群岛、东, 市営, 可用「西」「东,福建,浙江、山东, 学島、渤海湾、江东半岛、日本,朝 、新海湾、江东半岛、日本,朝 、大和学品、日本,朝 、大和学品、日本,朝 、大和学品、日本,朝 、大和学品、日本,朝 、大和学品、日本,朝 、大和学品、日本,朝 、大和学品、日本,朝 、大和学品、日本,朝 、大和学品、日本,朝 、大和学品、日本,朝 、大和学品、日本,朝 、大和学品、日本,朝 、大和学品、日本,朝 、大和学品、日本,朝 、大和学品、日本,朝 、大和学品、日本,朝 、大和学品、日本、「西」、海本, イマ 19937(COI) AY 19937(COI) AY 19937(COI) AY 19937(COI) AY 19937(COI) AY 19937(COI) AY 19937(COI) AY 19937(COI) AY 199320(165 r.RNA) 業営青蟹(Seylla transpactories Fabricius, 1798) 田本等海域 、大和学、日本等海域 、大和学、日本等海域 、大和学、日本等海域 、大和学語、日本、海湾、電田、神律家、印度 、大和学、日本等海域 、大和学語、日本、海湾、電田、神律家、印度 、石建、台湾、新江沿海山、 AY 193353(COI) AF 199320(165 r.RNA) AY 313535(COI) AF 199320(165 r.RNA) AY 313535(COI) AF 199320(165 r.RNA) AY 313535(COI) AF 199320(165 r.RNA) AF 199320(165 r.RNA	种名	地理分布	GenBank 登录号		
Bard 使生 (Portuma p digical Limanus, 1/69) E 表 澳大和亚、泰国、马来群岛、东 AP (2017) E 表 没有法 (Portuma striuberculatus Miers, 1876) 日本、澳大和亚、泰国、马来群岛、东 AP (2017) E 表 浅海湾、江东半岛、日本、朝 年島、渤海湾、江东半岛、日本、朝 年島、渤海湾、江东半岛、日本、朝 女孩子部, 日本、朝 女孩子部, 日本、新 女孩子部, 日本、新 女孩子部, 日本、新 女孩子部, 日本、新 女孩子部, 日本、新 女孩子部, 日本、海湾、江东半岛、日本、朝 女孩子部, 日本、新 女孩子部, 日本、海湾、 女孩子部, 日本、新 女孩子部, 日本、海湾、 女孩子部, 日本、海湾、 女孩, 二、日本、海湾、 女孩, 二、日本、海湾、 女孩, 二、日本、海湾、 女孩, 二、日本、海湾、 女孩, 二、日本、 女孩, 二、日本、 子弟, 二、日本、 子弟, 二、日本、 子弟, 二、日本、 子弟, 二、日本、 子弟, 二、日本、 子弟, 二、日本、 女孩, 二、日本、 子弟, 二、日本、 女孩, 二、日本、 女孩, 二、女子弟, 二、 女孩, 二、 女孩, 二、 女孩, 二、 女子部, 二、 女子部, 二、 女孩, 二、 女孩, 二、 女子部, 二、 女子部, 二、 女孩, 二、 女子部, 二、 女子部, 二、 女子部, 二、 女子部, 二、 女子部, 二、 女孩, 二、 女子部, 二、 女子, 二、 女子部, 二、 女子, 二、 女子部, 二、 女子, 二、 本, 二、		中国广西、广东、福建、浙江、台湾,	A E0007202(COD)		
主張梭子蟹(Portumas tritubereulatus Miers, 1876) 非層地 DQ38032(165 rRNA) 室底梭子蟹(Portumas sayi Gibbes, 1850) 大西洋沿岸, 美国等 DQ38033(165 rRNA) 煤気電気(Portumas sayi Gibbes, 1850) 大西洋沿岸, 美国等 DQ38033(165 rRNA) 煤気電気(Scylla paramamosala Sam pador, 1949) 中国浙江, 福建, 广东, 广西, 清南, 台湾等沿岸, 水域, 以及东南亚, 澳 大利亚, 日本等海域 N750037(COI) A194126(165 rRNA) 紫雪青蟹(Scylla tranquebaricus Fabricius, 1798) 中国浙江, 福建, 广东, 广西, 清南, 台湾等沿岸, 水域, 以及东南亚, 澳 大利亚, 日本等海域 N7373353(COI) A1940320(165 rRNA) 複爆青蟹(Scylla olivacea Herbst, 1796) 澳大利亚等 A1970323(COI) A190321(165 rRNA) 複爆青蟹(Scylla olivacea Herbst, 1796) 澳大利亚等 A1970323(COI) A190321(165 rRNA) 電線青蟹(Scylla olivacea Herbst, 1796) 澳大利亚等 A1970323(COI) A190321(165 rRNA) 電線青蟹(Scylla serrata Forskal, 1775) 中国广东, 福建, 台湾, 浙江沿海峡, Zala, 地市海, 东和栗, 南部与红海等 Q1407677(165 rRNA) Callinectes aff inis Fausto, 1860 南大西洋和墨西哥湾 Q152097(COI) A1288(0165 rRNA) A19321800(165 rRNA) 可山美貴蟹(Charybdis feriatus) 市友古洋和墨西哥湾 Q1407677(165 rRNA) A19321800(165 rRNA) 「ゴ油 地中島广东, 福建, 浙江、白葉, 山菜, 山菜, 日本寺湾は, 山菜, 非 家, 江海, 地車, 赤和 A1328190(165 rRNA) A193218107(1601) D4040666(165 rRNA) 「ゴム 地中山美山美士島, 古本, 野山美, 山菜, 山菜, 市主, 安达麦美島, 日本, 雪波震 A17351870(COI) D40662727(165 rRNA)<	远海梭于蟹(Portunus p el agicus Linnaeus, 1766)	日本、澳大利亚、泰国、马来群岛、东	A F082732(COI)		
半島、渤海湾,江东半島、日本、観、本は勉測定 戦、み来群さ、江河 家天枝子鷲(Partamus xayi Gilbes, 1850) れ穴青鷺(Syilla paramamas ain Stam pador, 1949) 常愛奇麗水域、以及东南画、調、 大部、日本等消域 中国浙江,福建,广东、广西、海南、 台湾等沿岸水域、以及东南画、調、 大部、日本等消域 中国浙江,福建,广东、广西、海南、 台湾等沿岸水域、以及东南画、調、 大部、日本等消域 中国形式,福速,广东、广西、海南、 台湾等沿岸水域、以及东南画、調、 大部、日本等消域 市政等消域 市政第一本等前域 市政第一本等前域 市政第一本等消域 市政第一本等前域 市政第一本等消域 市政第一本等前域 市政第一本等前域 市政第一本等前域 市政第一本等前域 市政第一本等前域 市政第一本等前域 市政第一本等消域 市政第一本等前域 市政第一本等前域 市政第一本等前域 市政第一本等前域 市政第一本等前域 市政第一本等前域 市政第一本等前域 市政第一本等前域 市政第一本等前域 市政第一本等前域 市政第一本等前域 市政第一本等前述 市政第一本述 市政第一本等前述 市政第一本等前述 市政第一本等前述 市政第一本等前述 市政第一本等前述 市政第一本等前述 市政第一本述 市政第一本等前述 市政第一本述 市域 市域 市域 市域 市域 市域 市域 市域 市域 市域	三疣梭子蟹(Portunus trituberculatus Miers, 1876)	非等地 中国广西、广东、福建、浙江、山东	$DQ388052(105\ rKNA)$		
第二、日本時期 第二、日本時期 100380031(55 rRNA) 第二、日本時期 20138003(55 rRNA) 20138003(55 rRNA) 第二、日本時期 20138003(55 rRNA) 201303(50 rRNA) 第二、日本時期 20138003(55 rRNA) 201303(50 rRNA) 第二、日本時期 20138003(55 rRNA) 201303(50 rRNA) 第二、日本時期 20138000(55 rRNA) 201333(50 rRNA) 第二、日本時期 2013800(55 rRNA) 201333(50 rRNA) 福建時間(501110 ranguebarica Fabricius, 1795) 週末日本時期 20137(50 rRNA) 福建時間(50110 ranguebarica Fabricius, 1795) 週末日本時期 20137(50 rRNA) 第二、日本時期 201307(7010) 20107(71(155 rRNA) 第二、日本時期 20107(71(155 rRNA) 20107(71(155 rRNA)) 第二日本時期 10155 rRNA) 20107(71(155 rRNA)) 第二日本時期(5111110 ranguebarica Fabricus, 1860) 市内工商単に方东, 前町里町市美国注助(55 rRNA) 20107(71(155 rRNA)) 1011111111111111111111111111111111111		半岛、渤海湾、辽东半岛,日本、朝	本试验测定		
薬氏梭子蟹(Portumus sayi Gibbes, 1850) 大西洋沿岸, 美国等 DQ388053(165 rRNA) 拟穴青蟹(Seylla paramamosain Stam pador, 1949) 台湾谷市水は、以及东南亚、辺、 大利亚、日本等海域、 中国浙江、福建、广东、广西、海南、 台湾谷市水は、以及东南亚、辺、 大利亚、日本等海域、 中国浙江、福建、广东、广西、海南、 公式3356(01) AY 50037(C01) AY 84136(165 rRNA) 爆撃青蟹(Seylla tranquebarica Fabricius, 1798) 湖大利亚等 AY 373353(C01) AY 100320(165 rRNA) 機械青蟹(Seylla serveta Forskal, 1775) 湖大利亚等 AY 97002(165 rRNA) 電話 AY 97002(165 rRNA) AY 97002(165 rRNA) Callinectes aff inis Fausto, 1860 南大西洋和亜西哥湾 OH407671(165 rRNA) Callinectes sapidus Rathbun, 1896) 南大西洋和墨西哥湾 OH407671(165 rRNA) 可出美賓(Callinectes sapidus Rathbun, 1896) 南大西洋和墨西哥湾 AY 351872(C01) AY 351872(C01) N 251872(C01) AY 351872(C01) AY 351872(C01) N 251872(C01) AY 351872(C01) DQ407666(165 rRNA) B本鉄県(Charybdis japonica A. Milne Edwards, 1861) 中国广西、广东、福建、浙江、台湾、日本、 梁洲、印度、北京、台湾、日本、 梁洲、印度、北京半島、吉本、 梁山和国、山皮、北京和国、 法(ATA) AY 351872(C01) Calaix (Charybdis af f inis Dana, 1852) 中国「西、广东、福建、吉江、台湾、日本 AY 351877(C01) J海太朝近、白虎、山田山 小女 351373(C01) AY 351879(C01) Jaski (Charybdis acuta A. Milne Edwards, 1861) 中国「西、河海、山島、白湾、日本 AY 351879(C01)		鲜、马来群岛、红海			
 以穴青鹭(<i>Scylla paramamosain</i> Stam pador, 1949) 中国浙江、福建、「东、广西、海南、	塞氏梭子蟹(Portunus sayi Gibbes, 1850)	大西洋沿岸,美国等	DQ388053(16S rRNA)		
Rac (Approxの ない (Approxの Approxの Approx	拟穴青蟹(<i>Scylla paramamosain</i> Stam pador,1949)	中国浙江、福建、广东、广西、海南、	A Y 750937(<i>COI</i>)		
素整青鬢(Seylla tranquebarica Fabricius, 1798) ハロシロ・クラペ 中国浙江、福建,「太、下西、海湾、 台湾等沿岸水域、以及东南亚、澳 大利亚、日本等海域、 和TUP 320(165 rRNA) A Y 373353(COI) AF109320(165 rRNA) 糖繊青螯(Seylla olivacea Herbat, 1796) 澳大利亚、日本等海域、 和TUP, 石等海域、 和TUP, ATUP,			A Y 84 1366 ($16SrRNA$)		
西海海江岸水域、以及东闸业、漠 大利亚、日本等海域 (私望青鳌(Seylla olivacea Herbst, 1796) 漢大利亚、日本等海域 (A Y373356(COI) AF109321(16SrRNA) 福雄青鳌(Seylla serrata Forskal, 1775) 中国广东,福建台湾,浙江沿海山 及日本,越南,泰国,菲律案,印度 (A Y7002(COI) Callinectes aff inis Fausto, 1860 南大西洋和墨西哥湾 Q1407677(16SrRNA) Callinectes similes Wilbams, 1966 南大西洋和墨西哥湾 Q15209 (16SrRNA) 可口莫青蟹(Callinectes sapidus Rathbun, 1896) 南大西洋和墨西哥湾 Q1407677(16SrRNA) 可口莫青蟹(Callinectes sapidus Rathbun, 1896) 南大西洋和墨西哥湾 AY351872(COI) AJ398190(16SrRNA) 甘菇虫(Charybdis hellerii A. Milne Edwards, 1867) 中国广东,「东,新可里多尼亚、马 来群岛,安达兔,巴基斯坦,这斯 湾(紅海,地中海,东非 AY351872(COI) Q407666(16SrRNA) 日本虫(Charybdis f eriatus) 中国广东,「石製, 前本,马来西亚、 JT海 AY351877(COI) Q040766(16SrRNA) Charybdis f eriatus) 中国广东,「石製, 白湾, 白海, 日本、 南北及马达加斯加 AY351877(COI) Q040766(16SrRNA) 近菜蚪(Charybdis aff inis Dana, 1852) 中国东南沿海, 白湾, 日本、 家国, 新加坡, 印度 AY351879(COI) 近素軾(Charybdis miles De Haan, 1835) 中国东南沿海, 台湾, 日本、 東, 菲律案, 新加坡, 印度 AY351870(COI) 武士軾(Charybdis nutatar Herbst, 1798) 印度、西太平洋中国台湾地区 AY351870(COI) 董嶽(Charybdis nutatar Herbst, 1794) 石製坊 AY351874(COI)	紫螯青蟹(Scylla tranquebarica Fabricius, 1798)	ス利亚、ロ本等/海域 中国浙江、福建、广东、广西、海南、 ム海道、川田・北洋、川田・古市、海南、	A Y 373353(<i>COI</i>)		
根袋青蟹(Scylla olivacea Herlst, 1796) 澳大利亚等 A7 373356(CO/) AF109321(16S rRNA) 锯缘青蟹(Scylla serrata Forskal, 1775) 中国广东,福建,台湾,浙江沿海以 及日本,越商,泰国,菲律宾,印度 A7 97002(COI) Callinectes aff inis Fausto, 1860 南大西洋,巴西等 00407677(16S rRNA) Callinectes sapidus Rathbun, 1896 南大西洋和墨西哥湾 U7 5209 (16S rRNA) 可口美青蟹(Callinectes sapidus Rathbun, 1896) 南大西洋和墨西哥湾 A7 35 1872(COI) A1298190(16S rRNA) 학忠虫(Charybdis hellerii A. Milne Edwards, 1867) 中国广东, 福建、新江,台湾,山东 半岛, 江东半岛, 日本,马来西亚 海(知道, 印度, 坦桑尼亚, 非洲东岸) A7 35 1872(COI) 00407666(16S rRNA) 管斑虫(Charybdis f eriatus) 迎流(Dig L型桑尼亚, 非洲东岸) A7 35 1872(COI) 00407660(16S rRNA) 近海県(Charybdis f eriatus) 迎流(Dig L型桑尼亚, 非洲东岸) A7 35 1877(COI) 00407660(16S rRNA) 近海県(Charybdis aff inis Dana, 1852) 中国东南沿海, 台湾, 日本, 印 索国, 新加坡, 印度 A7 35 1877(COI) 0040727(16S rRNA) 武士峡(Charybdis actata A. Milne Edwards, 1869) 中国东南沿海, 台湾, 日本, 印 索国, 新加坡, 印度 A7 35 1870(COI) 近海峡(Charybdis actata A. Milne Edwards, 1869) 中国东南沿海, 台湾, 日本, 印 索国, 新加坡, 印度 A7 35 1870(COI) 武士峡(Charybdis actata A. Milne Edwards, 1869) 中国东南沿海, 台湾, 日本, 印 索国, 新加坡, 印度 A7 35 1870(COI) 武士城城(Charybdis actata A. Milne Edwards, 1869) 中国东南沿海, 台湾, 日本, 印 索国, 新加坡, 印度 A7 35 1870(COI)		台湾寺沿岸水域,以及东南亚、澳 大利亚、日本等海域	AF109320(16S rRNA)		
AF109321(16S rRNA) 電場青蟹(Seylla serrata Forskal, 1775) 電気青蟹(Seylla serrata Forskal, 1775) 中国广东,福建、台湾、浙江沿海以 及日本、越南、泰国、菲律宾、印度 和5109318(16S rRNA) 三、非洲东南部与红海萼 南大西洋和墨西哥湾 Callinectes aff inis Fausto, 1860 南大西洋和墨西哥湾 可口美青蟹(Callinectes sapidus Rathbun, 1896) 南大西洋和墨西哥湾 可口美青蟹(Callinectes sapidus Rathbun, 1896) 南大西洋和墨西哥湾 和7 682077(COI) AJ 298190(16S rRNA) 平町广东,新可里多尼亚,马 来群岛、安达曼、巴基斯坦、波斯 湾、红海、地中海、东非 中国广东,福建、浙江、台湾、山东 半岛、文达曼、巴基斯坦、波斯 湾、红海、地中海、东非 中国广东,福建、浙江、台湾、山东 半岛、江东半岛、日本、马来西亚、 和7 35 1872(COI) DQ407666(16S rRNA) DQ407666(16S rRNA) 和7 35 1872(COI) DQ407666(16S rRNA) 和7 35 1877(COI) DQ407666(16S rRNA) 和7 35 1879(COI) 红海 邻斑绿(Charybdis f eriatus) 中国广西,广东、福建、台湾、日本、 澳洲、印度、坦桑尼亚、非洲东岸 南非及马达加斯加 加坡、印度 和5 1879(COI) 五丁森웍(Charybdis actata A. Milne Edwards, 1869) 中国东南沿海、台湾、日本、印尼 泰国、新加坡、印度 和47 35 1879(COI) 五丁森웍(Charybdis acta A. Milne Edwards, 1869) 中国东南沿海、台湾、日本、印本 素国、新加坡、印度 五丁森和南海及日本、澳大利 亚、菲律宾、新加坡、印度等 AY 35 1870(COI) 本7 35 1870(COI) 和5 1870(COI) 和5 1870(COI) 和5 1870(COI) 和5 1870(COI) 二丁葉介布于印度-西太平洋喂水 海域 Charybdis natator Herbst, 1794) 第四	楷绿書聲(Scylla olivaçea Herbst 1796)	澜大利亚等	A Y 373356(COI)		
及日本、越南、泰国、菲律宾、印度 AY97002(COI) Callinectes aff inis Fausto, 1860 南大西洋和墨西哥湾 QD407677(16S rRNA) Callinectes similes Williams, 1966 南大西洋和墨西哥湾 U75209 (16S rRNA) 可口美青蟹(Callinectes sapid us Rathbun, 1896) 南大西洋和墨西哥湾 AY982077(COI) A1298190(16S rRNA) 電力美青蟹(Charybdis hellerii A.Milne Edwards, 1867) 中国广西、广东, 新可里多尼亚、马 来群岛、安达曼、巴基斯坦、波斯 湾、红海、地中海、东非 AY351872(COI) DQ407666(16S rRNA) 日本稣(Charybdis japonica A.Milne Edwards, 1861) 中国广东、福建、浙江、台湾、山东 半岛、江东半岛、日本、马来西亚、 红海 AY351877(COI) DQ407666(16S rRNA) 管斑鳅(Charybdis f criatus) 中国广西、广东、福建、治理、日本、日本、 澳洲、印度、坦桑尼亚、非洲东岸 AY351877(COI) DQ407666(16S rRNA) 近京時(Charybdis f criatus) 中国广西、广东、福建、台湾、日本、 梁武、和亚 AY351877(COI) DQ407227(16S rRNA) 近京時(Charybdis acuta A. Milne Edwards, 1861) 中国东南沿海、台湾、日本、印尼 AY351879(COI) 近京時(Charybdis acuta A. Milne Edwards, 1869) 中国东南沿海、台湾、日本、印尼 AY351870(COI) 近京時(Charybdis acuta A. Milne Edwards, 1869) 中国东南沿海、台湾、日本、印尼 AY351870(COI) 武士稣(Charybdis miles De Haan, 1835) 印度、西和南海及日本、澳大利 AY351870(COI) 武士稣(Charybdis miles De Haan, 1835) 印度、西和市海及日本、澳大和 AY351870(COI) 董毓敏(Charybdis natator Herbst, 1794) 加度、西和市東上市地域 AY351874(COI) <td>锯缘青蟹(Scylla serrata Forskal, 1775)</td> <td>中国广东、福建、台湾、浙江沿海以</td> <td>A F109321(16 S rRNA)</td>	锯缘青蟹(Scylla serrata Forskal, 1775)	中国广东、福建、台湾、浙江沿海以	A F109321(16 S rRNA)		
尼西亚、夏威夷、澳大利亚、新西 AF109318(16S rRNA) Callinectes aff inis Fausto, 1860 南大西洋、巴西等 QD407677(16S rRNA) Callinectes similes Williams, 1966 南大西洋和墨西哥湾 U75209 (16S rRNA) 可口美青蟹(Callinectes sapid us Rathbun, 1896) 南大西洋和墨西哥湾 AY 68 2077(COI) AJ 298190(16S rRNA) 핵达島朝(Charybdis hellerii A. Milne Edwards, 1867) 中国广西、广东、新可里多尼亚、马 来群岛、安达曼、巴基斯坦、波斯 湾、紅海、地中海东非 AY 35 1872(COI) DQ407666(16S rRNA) 日本時(Charybdis japonica A. Milne Edwards, 1861) 中国广西、广东、福建、埼湾、日本、马来西亚、 4X 35 1869(COI) AY 35 1877(COI) DQ062727(16S rRNA) 修斑県(Charybdis f eriatus) 中国广西、广东、福建、台湾、日本、印尼、 南非及马达加斯加 AY 35 1879(COI) 近海 中国广西、广东、福建、台湾、日本、印尼、 4X 35 1879(COI) AY 35 1879(COI) 近京時代 Charybdis actua A. Milne Edwards, 1869) 中国东南沿海、台湾、日本、印尼、 泰国、新加坡、印度 AY 35 1869(COI) 武士朝(Charybdis actua A. Milne Edwards, 1869) 中国东南沿海、台湾、日本、印 AY 35 1870(COI) 武士朝(Charybdis actua A. Milne Edwards, 1869) 中国东南沿海、台湾、日本、 印 AY 35 1870(COI) 武士朝(Charybdis miles De Haan, 1835) 印度、西太平洋、中国台湾地区 AY 35 1870(COI) 直額時(Charybdis miles De Haan, 1835) 印度、西太平洋、中国台湾地区 AY 35 1870(COI) 董额時(Charybdis natator Herbst, 1794) 市度、西太平洋、中国台湾地区 AY 35 1874(COI)		及日本、越南、泰国、菲律宾、印度	AY97002(COI)		
Callinectes aff inis Fausto, 1860南大西洋和墨西哥湾QD407677(16S rRNA)Callinectes similes Williams, 1966南大西洋和墨西哥湾U75209 (16S rRNA)可口美青蟹(Callinectes sapidus Rathbun, 1896)南大西洋和墨西哥湾AY 68 2077(COI) A J298190(16S rRNA)핵広鎮敏(Charybdis hellerii A. Milne Edwards, 1867)中国广西、广东、新可里多尼亚、马 来群岛、安达曼、巴基斯坦、波斯 湾、红海、地中海、东非 中国广东、福建、浙江、台湾、山东 半岛、辽东半岛、日本、马来西亚、 红海AY 35 1872(COI) DQ407666(16S rRNA)日本県(Charybdis japonica A. Milne Edwards, 1861)中国广西、福建、浙江、台湾、山东 半岛、辽东半岛、日本、马来西亚、 近寨地(Charybdis f eriatus)AY 35 1877(COI) DQ062727(16S rRNA)防斑蝦(Charybdis f eriatus)澳大利亚AY 35 1877(COI) DQ062727(16S rRNA)近寨蜿(Charybdis aff inis Dana, 1852)中国东南沿海、台湾、日本、印尼、 本国东南沿海、台湾、日本AY 35 1879(COI)战齿鲸(Charybdis acuta A. Milne Edwards, 1869)中国东南沿海、台湾、日本、 和加坡、印度AY 35 1869(COI)就土鲸(Charybdis acuta A. Milne Edwards, 1869)中国东南沿海、台湾、日本AY 35 1879(COI)武士鲸(Charybdis miles De Haan, 1835)中国东南沿海、台湾、日本、 取、菲律宾、新加坡、印度等AY 35 1870(COI)古额鲸(Charybdis natator H erbst, 1794)广泛分布于印度-西太平洋暖水 海域AY 35 1874(COI)		尼西亚、夏威夷、澳大利亚、新西 兰、非洲东南部与红海等	A F109318(16 S rRNA)		
Callinectes similes Williams, 1966 南大西洋和墨西哥湾 U75209 (165 rRNA) 可口美青蟹(Callinectes sapidus Rathbun, 1896) 南大西洋和墨西哥湾 AY 68 2077(COI) AJ 98190(165 rRNA) 钝齿绿(Charybdis hellerii A. Milne Edwards, 1867) 中国广西、广东, 新可里多尼亚、马 来群岛、安达曼、巴基斯坦、波斯 湾、红海、地中海、东非 AY 35 1872(COI) DQ407666(165 rRNA) 日本绿(Charybdis japonica A. Milne Edwards, 1861) 中国广西、广东、福建、浙江、台湾、山东 半岛、辽东半岛、日本、马来西亚、 红海 AY 35 1869(COI) 锈斑绿(Charybdis f eriatus) 中国广西、广东、福建、治湾、日本、 、澳洲、印度、坦桑尼亚、非洲东岸、 南非及马达加斯加 AY 35 1877(COI) DQ062727(165 rRNA) Charybdis f eriatus) 澳大利亚 AY 35 1879(COI) 近亲绿(Charybdis acuta A. Milne Edwards, 1869) 中国东南沿海、台湾、日本、 新加坡、印度 AY 35 1879(COI) 武士绿(Charybdis miles De Haan, 1835) 中国东南沿海、台湾、日本 AY 35 1869(COI) 武士绿(Charybdis natator Herbst, 1798) 印度、西太平洋、中国台湾地区 AY 35 1870(COI) 普泳绿(Charybdis natator Herbst, 1794) 广泛分布于印度-西太平洋暖 AY 35 1870(COI)	Callinectes aff inis Fausto, 1860	南大西洋,巴西等	Q D407677(16S rRNA)		
可口美青蟹(Callinectes sapidus Rathbun, 1896) 南大西洋和墨西哥湾 AY682077(COI) AJ298190(16 S rRNA) 钝齿峡(Charybdis hellerii A. Milne Edwards, 1867) 中国广西、广东、新可里多尼亚、青水 来群岛、安达曼、巴基斯坦、波斯 之道、地中海、东非 AY351872(COI) DQ407666(16S rRNA) 日本峡(Charybdis japonica A. Milne Edwards, 1867) 中国广东、福建、浙江、台湾、山东 光岛、辽东半岛、日本、马来西亚 公理》 AY351869(COI) 锈斑峡(Charybdis f eriatus) 中国广东、福建、治江、台湾、山东 光岛、夏水半岛、日本、马来西亚 公理》 AY351877(COI) DQ407666(16S rRNA) びたいりします 中国广东、福建、治江、台湾、山东 光島、夏水 AY351870(COI) び方和 地口 AY351879(COI) 夏家県(Charybdis f eriatus) 澳大利亚 AY351879(COI) 近京県は、白本り付は sacuta A. Milne Edwards, 1869) 中国东南沿海、台湾、日本 AY351869(COI) 武士峡(Charybdis acuta A. Milne Edwards, 1869) 中国东南沿海、台湾、日本 AY351869(COI) 武士峡(Charybdis natiaes De Haan, 1835) 中国东海和南海及日本、澳大利 AY351870(COI) 直額峡(Charybdis natiaes Labericus, 1798) 印度、西太平洋、中国台湾地区 AY351870(COI) 音额峡(Charybdis nataer Herbst, 1794) 广泛分布于印度-西太平洋暖水 AY351874(COI)	Callinectes similes Williams, 1966	南大西洋和墨西哥湾	U75209 (16S rRNA)		
FJ 日実育量(Cathredessapia us Kalinuli, 1990)南大田洋和聖日前海AJ298190(16S rRNA)钝齿峡(Charybdis hellerii A. Milne Edwards, 1867)中国广西、广东、新可里多尼亚、马 来群岛、安达曼、巴基斯坦、波斯 湾、红海、地中海、东非 中国广东、福建、浙江、台湾、山东 半岛、辽东半岛、日本、马来西亚、 红海AY 35 1872(COI) DQ407666(16S rRNA)日本峡(Charybdis japonica A. Milne Edwards, 1861)中国广东、福建、浙江、台湾、山东 半岛、辽东半岛、日本、马来西亚、 红海AY 35 1877(COI) DQ062727(16S rRNA)锈斑峡(Charybdis f eriatus)中国广西、广东、福建、台湾、日本、 澳洲、印度、坦桑尼亚、非洲东岸、 南非及马达加斯加 放大利亚AY 35 1877(COI) DQ062727(16S rRNA)Charybdis jaubertensis 近亲峡(Charybdis aff inis Dana, 1852)中国东南沿海、台湾、日本、印尼、 泰国、新加坡、印度AY 35 1879(COI)战齿峡(Charybdis miles De Haan, 1835)中国东海沿南海及日本、澳大利 亚、菲律宾、新加坡、印度等AY 35 1870(COI)直額峡(Charybdis natator Herbst, 1794)广泛分布于印度-西太平洋暖水 海域AY 35 1874(COI)	可口兰書解(Callingston sanidus Bothhun, 1806)	南十西洋和黑西可迹	AY 68 2077(COI)		
钝齿峡(Charybdishellerii A. Milne Edwards, 1867)中国广西、广东、新可里多尼亚、马 来群岛、安达曼、巴基斯坦、波斯 湾、红海、地中海、东非 中国广东、福建、浙江、台湾、山东 半岛、辽东半岛、日本、马来西亚、 红海AY 35 1872(COI) DQ407666(16S rRNA)日本峡(Charybdisjaponica A. Milne Edwards, 1861)中国广东、福建、浙江、台湾、山东 半岛、辽东半岛、日本、马来西亚、 红海AY 35 1869(COI) (25)锈斑峡(Charybdisf eriatus)中国广西、广东、福建、台湾、日本、 漠洲、印度、坦桑尼亚、非洲东岸、 南非及马达加斯加 放大利亚AY 35 1877(COI) DQ062727(16S rRNA)Charybdis j aubertensisウ国东南沿海、台湾、日本、印尼、 泰国、新加坡、印度AY 35 1879(COI)近亲峡(Charybdis aff inis Dana, 1852)中国东南沿海、台湾、日本、 和国东南沿海、台湾、日本AY 35 1869(COI)锐齿峡(Charybdis acuta A. Milne Edwards, 1869)中国东南沿海、台湾、日本、 和国东海和南海及日本、澳大利 亚、菲律宾、新加坡、印度等AY 35 1870(COI)直额峡(Charybdis miles De Haan, 1835)印度、西太平洋、中国台湾地区AY 35 1870(COI)直额峡(Charybdis natator Herbst, 1794)沪泛分布于印度 - 西太平洋暖水 海域AY 35 1874(COI)	可口关育蛋(Catthectes sapta us Kathbur, 1890)	用八四八和墨四司冯	A J 298190($16SrRNA$)		
来群岛、安达曼、巴基斯坦、波斯 湾、红海、地中海、东非 中国广东、福建、浙江、台湾、山东 半岛、辽东半岛、日本、马来西亚、 红海AY 35 1872 (COI) DQ407666 (16S rRNA)日本峡(Charybdis j aponica A. Milne Edwards, 1861)中国广东、福建、浙江、台湾、山东 半岛、辽东半岛、日本、马来西亚、 红海AY 35 1879 (COI) DQ062727 (16S rRNA)锈斑峡(Charybdis f eriatus)中国广西、广东、福建、台湾、日本、 澳洲、印度、坦桑尼亚、非洲东岸、 南非及马达加斯加 东和亚AY 35 1877 (COI) DQ062727 (16S rRNA)Charybdis j aubertensis 近亲峡(Charybdis aff inis Dana, 1852)中国东南沿海、台湾、日本、印尼、 本国、新加坡、印度AY 35 1879 (COI)锐齿峡(Charybdis acuta A. Milne Edwards, 1869)中国东南沿海、台湾、日本AY 35 1869 (COI)武士峡(Charybdis miles De Haan, 1835)中国东海和南海及日本、澳大利 亚、菲律宾、新加坡、印度等AY 35 1870 (COI)直额峡(Charybdis natator Herbst, 1794)沪泛分布于印度 - 西太平洋暖水 海域AY 35 1874 (COI)	钝齿峙(Charybdis hellerii A. Milne Edwards, 1867)	中国广西、广东,新可里多尼亚、马			
濤、紅海、地中海、东非DQ407606(755 FRNA)日本蟳(Charybdisjaponica A. Milne Edwards, 1861)中国广东、福建、浙江、台湾、山东 半岛、辽东半岛,日本、马来西亚、 4Y 35 1869(COI) 红海A Y 35 1869(COI) 20062727(165 rRNA)锈斑蟳(Charybdisf eriatus)中国广西、广东、福建、台湾、日本、 海非及马达加斯加 南非及马达加斯加A Y 35 1877(COI) DQ062727(165 rRNA)Charybdis jaubertensis 近亲蟳(Charybdis aff inis Dana, 1852)中国东南沿海、台湾、日本、印尼、 泰国、新加坡、印度A Y 35 1879(COI)锐齿蟳(Charybdis acuta A. Milne Edwards, 1869)中国东南沿海、台湾、日本A Y 35 1869(COI)武士蟳(Charybdis miles De Haan, 1835)中国东南沿海、台湾、日本A Y 35 1870(COI)武士蟳(Charybdis truncata Fabricius, 1798)印度、西太平洋、中国台湾地区A Y 35 1876(COI)蕾泳蟳(Charybdis natator Herbst, 1794)广泛分布于印度-西太平洋暖水 海域AY 35 1874(COI)		来群岛、安达曼、巴基斯坦、波斯	A Y 35 18/2(COI)		
日本感 Charybdis j aponica A. Milne Edwards, 1861)中国广东、福建、浙江、台湾、山东 半岛、辽东半岛、日本、马来西亚、 公第AY 35 1869 (COI) (COI)锈斑感 Charybdis f eriatus)中国广西、广东、福建、台湾、日本、 澳洲、印度、坦桑尼亚、非洲东岸 南非及马达加斯加AY 35 1877 (COI) DQ 0627 27 (16S rRNA) DQ 0627 27 (16S rRNA)Charybdis j aubertensis澳大利亚AY 35 1879 (COI)近亲鲸(Charybdis aff inis Dana, 1852)中国东南沿海、台湾、日本、印尼、 泰国、新加坡、印度AY 35 1879 (COI)锐齿鲸 (Charybdis acuta A. Milne Edwards, 1869)中国东南沿海、台湾、日本AY 35 1869 (COI)武士鲸(Charybdis miles De Haan, 1835)中国东海和南海及日本、澳大利 亚、菲律宾、新加坡、印度等AY 35 1870 (COI)直额鲸(Charybdis runcata Fabricius, 1798)印度、西太平洋、中国台湾地区AY 35 1876 (COI)善家蚋领(Charybdis natator Herbst, 1794)广泛分布于印度 - 西太平洋暖水 海域AY 35 1874 (COI)		湾、红海、地中海、东非	$DQ40/000(105 \ rKNA)$		
 出本録(Charybais f apointea A: Millie Edwards, 1801) 半岛、辽东半岛、日本、马来西亚、AY 351869(COI) 近海 特斑球(Charybais f eriatus) 中国广西、广东、福建、台湾、日本、 澳洲、印度、坦桑尼亚、非洲东岸、 南非及马达加斯加 AY 351877(COI) DQ062727(16S rRNA) AY 351879(COI) 近亲蚌(Charybais aff inis Dana, 1852) 中国东南沿海、台湾、日本、印尼、 泰国、新加坡、印度 税齿蚌(Charybais acuta A. Milne Edwards, 1869) 中国东南沿海、台湾、日本、澳大利 AY 351869(COI) 截虫県(Charybais miles De Haan, 1835) 中国东海和南海及日本、澳大利 本Y 351870(COI) 重額県(Charybais nutcata Fabricius, 1798) 印度、西太平洋、中国台湾地区 AY 351874(COI) 着泳県(Charybais natator Herbst, 1794) 	日本曲(Charybdiei apopias A Milpa Edwards 1861)	中国广东、福建、浙江、台湾、山东			
 <	口本示(<i>Charyoutsjupontea</i> A. Mille Edwards, 1001)	半岛、辽东半岛,日本、马来西亚、 红海	A Y 35 1869(<i>COI</i>)		
A Y 35 1877(<i>COI</i>) 澳洲、印度、坦桑尼亚、非洲东岸、 南非及马达加斯加 近亲峙(<i>Charybdis aff inis</i> Dana, 1852) 位素峙(<i>Charybdis acuta</i> A. Milne Edwards, 1869) 立士峠(<i>Charybdis miles</i> De Haan, 1835) 直额峠(<i>Charybdis miles</i> De Haan, 1835) 中国东海和南海及日本、澳大利 亚、菲律宾、新加坡、印度等 A Y 35 1879(<i>COI</i>) 本 Y 35 1879(<i>COI</i>) 本 Y 35 1869(<i>COI</i>) 本 Y 35 1870(<i>COI</i>) 本 Y 35 1870(<i>COI</i>) 本 Y 35 1870(<i>COI</i>) 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二	锈斑蚓(Charybdisf eriatus)	中国广西、广东、福建、台湾、日本、			
前非及马达加斯加DQ062727(16S rRNA)南非及马达加斯加澳大利亚AY 351879(COI)近亲鲟(Charybdis aff inis Dana, 1852)中国东南沿海、台湾,日本、印尼、 泰国、新加坡、印度AF082733(COI)锐齿鲟(Charybdis acuta A. Milne Edwards, 1869)中国东南沿海、台湾,日本AY 351869(COI)武士鲟(Charybdis miles De Haan, 1835)中国东海和南海及日本、澳大利 亚、菲律宾、新加坡、印度等AY 351870(COI)直额鲟(Charybdis truncata Fabricius, 1798)印度、西太平洋、中国台湾地区AY 351876(COI)善泳鲟(Charybdis natator Herbst, 1794)广泛分布于印度-西太平洋暖水 海域AY 351874(COI)		澳洲、印度、坦桑尼亚、非洲东岸、	A Y 35 1877(<i>COI</i>)		
Charybdis jaubertensis 澳大利亚 AY 35 1879(COI) 近亲蚵(Charybdis aff inis Dana, 1852) 中国东南沿海、台湾,日本、印尼、 泰国、新加坡、印度 AF082733(COI) 锐齿蚵(Charybdis acuta A. Milne Edwards, 1869) 中国东南沿海、台湾,日本 AY 35 1869(COI) 武士蚵(Charybdis miles De Haan, 1835) 中国东海和南海及日本、澳大利 AY 35 1870(COI) 直额蚵(Charybdis truncata Fabricius, 1798) 印度、西太平洋、中国台湾地区 AY 35 1876(COI) 善泳蚵(Charybdis natafor Herbst, 1794) 广泛分布于印度 - 西太平洋略水 海域 AY 35 1874(COI)		南非及马达加斯加	DQ062727(16S rRNA)		
近亲鲟(Charybdis aff inis Dana, 1852)中国东南沿海、台湾,日本、印尼、 泰国、新加坡、印度AF082733(COI)锐齿鲟(Charybdis acuta A. Milne Edwards, 1869)中国东南沿海、台湾,日本AY 351869(COI)武士鲟(Charybdis miles De Haan, 1835)中国东海和南海及日本、澳大利 亚、菲律宾、新加坡、印度等AY 351870(COI)直额鲟(Charybdis truncata Fabricius, 1798)印度、西太平洋、中国台湾地区AY 351876(COI)善泳鲟(Charybdis natator Herbst, 1794)广泛分布于印度 - 西太平洋暖水 海域AY 351874(COI)	Charybdis j aubertensis	澳大利亚	A Y 351879(COI)		
茶国、新加坡、印度AF082733(COI)锐齿鲟(Charybdis acuta A. Milne Edwards, 1869)中国东南沿海、台湾,日本AY 351869(COI)武士鲟(Charybdis miles De Haan, 1835)中国东海和南海及日本、澳大利 亚、菲律宾、新加坡、印度等AY 351870(COI)直额鲟(Charybdis truncata Fabricius, 1798)印度、西太平洋、中国台湾地区AY 351876(COI)善泳鲟(Charybdis natator Herbst, 1794)广泛分布于印度 - 西太平洋暖水 海域AY 351874(COI)	近亲蚓(Charybdis af f inis Dana, 1852)	中国东南沿海、台湾,日本、印尼、			
锐齿蟳(Charybdis acuta A. Milne Edwards, 1869)中国东南沿海、台湾,日本AY 351869(COI)武士蟳(Charybdis miles De Haan, 1835)中国东海和南海及日本、澳大利 亚、菲律宾、新加坡、印度等AY 351870(COI)直额蟳(Charybdis truncata Fabricius, 1798)印度、西太平洋、中国台湾地区AY 351876(COI)善泳蟳(Charybdis natator Herbst, 1794)广泛分布于印度 - 西太平洋暖水 海域AY 351874(COI)		泰国、新加坡、印度	A F082733(<i>COI</i>)		
 锐齿蟳(Charybdis acuta A. Milne Edwards, 1869) 中国东南沿海、台湾,日本 AY 351869(COI) 武士蟳(Charybdis miles De Haan, 1835) 中国东海和南海及日本、澳大利 亚、菲律宾、新加坡、印度等 AY 351870(COI) 直额蟳(Charybdis truncata Fabricius, 1798) 印度、西太平洋、中国台湾地区 AY 351876(COI) 善泳蟳(Charybdis natator Herbst, 1794) 广泛分布于印度 - 西太平洋暖水 海域 AY 351874(COI) 					
武士蟳(<i>Charybdis miles</i> De Haan, 1835) 中国东海和南海及日本、澳大利 亚、菲律宾、新加坡、印度等 AY 35 1870(<i>COI</i>) 百额蟳(<i>Charybdis truncata</i> Fabricius, 1798) 印度、西太平洋、中国台湾地区 AY 35 1876(<i>COI</i>) 善詠蟳(<i>Charybdis natator</i> Herbst, 1794) 广泛分布于印度 - 西太平洋暖水 海域 AY 35 1874(<i>COI</i>)	锐齿畤(<i>Charybdis acuta</i> A. Milne Edwards, 1869)	中国东南沿海、台湾,日本	A Y 35 1869(<i>COI</i>)		
武士蟳(Charybdis miles De Haan, 1835) 中国东海和南海及日本、澳大利 亚、菲律宾、新加坡、印度等 AY 35 1870(COI) 首額蟳(Charybdis truncata Fabricius, 1798) 印度、西太平洋、中国台湾地区 AY 35 1876(COI) 善泳蟳(Charybdis natator Herbst, 1794) 广泛分布于印度 - 西太平洋暖水 海域 AY 35 1874(COI)					
亚、菲律宾、新加坡、印度等 直额蟳(Charybdis truncata Fabricius, 1798) 善泳蟳(Charybdis natator Herbst, 1794) 正泛分布于印度-西太平洋暖水 海域	武士蛶(Charybdis miles De Haan, 1835)	中国东海和南海及日本、澳大利	A Y 351870(COI)		
直额鲟(Charybdis truncata Fabricius, 1798) 印度、西太平洋、中国台湾地区 AY 351876(COI) 善泳鲟(Charybdis natator Herbst, 1794) 广泛分布于印度 - 西太平洋暖水 海域 AY 351874(COI)		亚、菲律宾、新加坡、印度等	11 1 55 107 0(0 01)		
直额蟳(Charybdis truncata Fabricius, 1798) 印度、西太平洋、中国台湾地区 AY 35 1876(COI) 善泳蟳(Charybdis natator Herbst, 1794) 广泛分布于印度-西太平洋暖水 海域 AY 35 1874(COI)					
善泳時(Charybdis natator Herbst, 1794) 海域 A Y 35 1874(COI)	直额峙(Charybdistruncata Fabricius, 1798)	印度、西太平洋、中国台湾地区	A Y 351876(<i>COI</i>)		
善泳県(Charybdis natator Herbst, 1794) 「 こ分布于印度- 西太平洋暖水 海域 AY 35 1874(COI)					
	善泳蟳(Charybdis natator Herbst, 1794)	厂泛分布于印度 – 西太平洋暖水 海域	A Y 35 1874(<i>COI</i>)		

研究报告 REPORTS



图 2 基于 COI 基因部分序列而使用 Kimura 双参数模型构建的梭子蟹 NJ 树

- Fig. 2 Neighbor Joining tree of portunid crab constructed with Kimura 2 parameter model based on partial COI gene sequences * 表示用于分析的序列为本试验所测定(图 3,图 4 同),图 2 中节点支持率低于 50 则不显示
 - * stand for this experiment detected sequnces, the same as Fig. 3 and Fig. 4 bootstrapvalue less than 50 are not displayed in Fig. 2

2.2.2 梭子蟹 16S rRNA 序列分析及分子系统发 育树的构建

在 GenBank 中收集梭子蟹科 16S rRNA 基因 序列,共计 10 个属 44 个种的数据,选取梭子蟹属、 美青蟹属、蟳属、青蟹属,4 个属共 12 个种基因序列 信息。其中蟳属和青蟹属的所有 16S rRNA 信息都 采用,梭子蟹属、美青蟹属由于数据过多只采用部分 代表信息进行分析(表 2)。比对后得到 500 bp 同源 序列,其中变异位点 157 个,简约信息位点 108 个, 单个突变位点 49 个,序列平均总变异为 13%。序列 之间存在插入或缺失的位点,发现美青蟹属3个个体在355 bp和356 bp处与其他三个属种类同源序列间存在碱基的缺失,碱基组成及转换/颠换值见表3。使用16SrRNA同源序列构建的NJ分子系统发育树(图3)显示:梭子蟹亚科4个属分为两支,梭子蟹属、美青蟹属聚为一支,鲟属、青蟹属聚为另一支;MP法构建的系统发育树(图4)显示:梭子蟹亚科4个属中梭子蟹属、美青蟹属、青蟹属先后聚在一起后再和蟳属种类相聚。

表 3 线粒体基因片段同源序列分析结果

Tab. 3 Homologous sequences analysis of partial mitochondrial fragment

分析	生物属	N	T(%)	C(%)	A(%)	G(%)	转换/ 颠换(R)
	蟳属	9	38.8	18.5	26.7	16	1.604
	梭子蟹属	2	38.3	18.9	26.8	16	2.351
601 举凶万权问源序列力机	青蟹属	4	39.3	18	27	15.7	2.764
	美青蟹属	1	35.8	21.2	26.3	16.7	_
	蟳属	2	37.0	10. 9	33.9	18.2	0.833
16S rRNA 基因片段同源序列分	梭子蟹属	3	34. 5	12.9	34. 6	17.9	2.035
析	青蟹属	4	34. 7	11.2	35.9	18.2	2.556
	美青蟹属	3	34. 1	13.6	33. 8	18.5	1.946

注: N 表示分析序列的种类数

研究报告 REPORTS



图 3 基于 16S rRNA 基因部分序列而使用 Kimura 双参数模型构建的梭子蟹 NJ 树

Fig. 3 Neighbor Joining tree of portunid crab constructed with Kimura 2 parameter model based on partial 16S rRNA gene sequences



图 4 基于 16S rRNA 基因部分序列而构建的梭子蟹 M P 树

Fig. 4 Maximum Parsimony tree of portunid crab based on partial 16S rRNA gene sequences

枝上的数值为 1 000 次重复抽样检验得到的支持率,树长为 274, 一致性指数为 0. 718 9,保留指数为 0.694 4

Numbers around branches are percentage of bootstrap values by 1 000 replicates. Tree length is 274, CI is 0.718 9, RI is 0.694 4

2.3 样品鲟与鲟属基因同源序列比较

将样品蟳测得的 COI 基因序列和已知蟳属 9 个 物种(表 2) 共 10 个个体的序列进行比对,得到 429 bp同源序列,利用 MEGA4.0 估算出遗传距离, 结果显示:9 个物种与样品蟳的遗传距离为 0.014~ 0.175,样品蟳与钝齿蟳和锐齿蟳的遗传距离最近,分 别为 0.014和 0.017,序列同源性最高,序列间不存 在插入或缺失的位点。三种蟹类的序列比对结果如 图 5,样品蟳、钝齿蟳和锐齿蟳三种蟹两两之间序列 的转换/颜换(*R*)值:样品蟳-锐齿蟳(2.176),样品 蟳-钝齿蟳(0.741),锐齿蟳-钝齿蟳(1.016),可以 看出样品蟳、锐齿蟳分别和钝齿蟳序列间的*R*值 (0.741,1.016)相近,判定样品蟳为锐齿蟳。

研究报告 REPORTS

图 5 样品鲟和钝齿鲟、锐齿鲟 COI 基因同缘序列比对结果

Fig. 5 Homologous sequences alignment of partial COI gene fragment in sampled crab, Charybdis hellerii and Charybdis acuta 注: 灰度处表示序列间的差异位点

Note: The nucleotide differences of the sequences weve marked with shadow

3 讨论

三疣梭子蟹线粒体 COI 基因和16S rRNA 基因 同源序列的分析表明, AT 碱基数量分数都明显高于 GC 碱基的数量分数,这与许多研究者在蟹类的线粒 体基因中观察到的结果相似^[7,24],高AT 数量分数是 无脊椎动物线粒体 DNA 序列中普遍存在的现象。 COI 基因在种内的变异较小(0.5%),这与其他蟹 类 COI 基因研究结果一致^[14, 25, 26]; COI 基因的同源 序列三处碱基变化都发生在密码子的第一位,使编 码的氨基酸发生改变, 辽宁省营口群体(YK1, YK17) 在181 bp 位点上的碱基都为 C 而其他种群 这个位点都为 T. 此位点的碱基变异可能是区分营 口群体与其他种群的特异标记,但需要更多的数据 进行验证。16S rRNA 基因较 COI 基因更为保守. 个体间序列变异仅为0.2%,适用于种以上水平的变 异分析。对三疣梭子蟹种群的研究需要选择进化速 率更快的线粒体序列如 D- Loop 区信息作为分子遗 传标记。

郭天慧等^[25]对三疣梭子蟹线粒体 DNA 16S rRNA和 COI 基因片段进行初步研究,利用 GenBank中的16S rRNA 同源序列构建了梭子蟹 科部分属的系统发育树; Mantelatto等^[27]利用线粒 体16S rRNA 基因片段序列对西大西洋分布的梭子 蟹属的14个种的系统发生关系进行了研究,也构建 了梭子蟹科部分种类的系统发育树。以上研究都没 有将蟳属纳入分析,利用分子手段研究蟳属与梭子 蟹亚科关系尚未见报道。由表 3 可以看出, 蟳属转 换/ 颠换值(*R*) 最小, 青蟹属和美青蟹属、梭子蟹属都 明显大于蟳属; 梭子蟹属、美青蟹属、青蟹属 A, T, C, G 数量分数相当, 蟳属 A, T 碱基数量分数较前面三 属高。基于线粒体 *COI* 基因和*I6S rRNA* 基因部分 片段序列分析比较表明, 蟳属与梭子蟹属、美青蟹 属、青蟹属在序列碱基数量分数和 *R* 值上具有一定 的差异, 蟳属种类序列碱基组成和排列机制有所不 同。

本研究中构建的分子系统发育树显示,青蟹属4 个种, S. p ar ama mosa in 和 S. tranquebarica 先聚在 一起, 再和 S. serrata 相聚, 最后和 S. olivacea 相聚. 与马凌波等[14] 对青蟹属的研究结果相同: 蟳属种类 间亲缘关系与 Sim th 等^[28] 研究结果基本一致: 梭子 蟹亚科4个属分为两大支,梭子蟹属、美青蟹属、青 蟹属聚为一支, 蟳属的 9 个种类聚 为另一支。传统 分类学主要是依据体形以及头胸甲、口器、前侧齿的 数目等来区分蟹类。戴爱云^[29]在《中国海洋蟹类》一 书中以前侧齿是否多于7个作为标准,将青蟹属、梭 子蟹属和蟳属区分开来。梭子蟹属和青蟹属聚为一 支再和鲟属聚到一起,符合传统分类学从前侧齿数 目来区分属的结果,金珊等^[30]对梭子蟹科6种海产 蟹的 RAPD 标记研究也得出类似的结论。美青蟹属 在中国没有分布,也具有9个前侧齿,头胸甲形状等 形态特征与亚洲的一些游水蟹品种十分相似,包括 产自印度尼西亚、菲律宾的远海梭子蟹和产自中国 的三疣梭子蟹。美青蟹属与梭子蟹属、青蟹属亲缘 关系较近,与蟳属关系较远,与传统分类相一致。

基于 16S rRNA 基因部分片段序列信息构建的 M P 和 NJ 系统发育树所反映的分类关系并不完全 一致,主要不同在于鲟属的分类关系上。NJ 树显 示, 梭子蟹亚科 4 个属分为两支, 梭子蟹属、美青蟹 属聚为一支, 蟳属、青蟹属聚为另一支。 MP 树显示: 梭子蟹亚科4个属中梭子蟹属、美青蟹属、青蟹属先 后聚在一起后再和蟳属种类相聚。分析原因主要是 因为两者采取的计算方法不同, Felsenstein 指出, 如 果在进化时间范围内碱基变更的量较小,则简约法 是很合理的。此外,最大简约法对于分析某些特殊 的分子数据如插入、缺失等序列是更为有用。 梭子 蟹线粒体 16S r RNA 基因保守, 碱基的变异较小, 比 较的序列间具有碱基的插入和缺失,因此认为最大 节约法反应的属间拓扑结果更为合理,即射属应为 区别于梭子蟹属、美青蟹属、青蟹属的另一支系。结 合本研究中构建的所有系统发育树,有一些分类关 系始终是一致的: 梭子蟹属与美青蟹属的亲缘关系 最近: 塞氏梭子蟹是与美青蟹属关系最近的梭子蟹 属物种等。这些结论与 Stephenson 等^[31] 的形态学 分类鉴定及 M antelatto 等[27]的研究结果相一致。

鲟属由 de Haan 于 1833 年命名, 在中国海洋蟹 类一书中将其划分在梭子蟹亚科^[29],在台湾蟹类总 名录上面划分为短桨蟹亚科^[32]。从本研究线粒体基 因同源序列分析得出的结论, 鲟属应为区别于梭子 蟹亚科的属,支持蟳属应划分在短桨蟹亚科的观点。 蟳属中又分亚属,其中一些种的鉴别比较困难。 Pfeiler 等^[33]对 Callinectes bellicosus 不同群体进行 了研究,结果表明: COI 基因序列在种间的变异远大 于种群间的差异,也说明 COI 基因在区分和鉴别种 类方面有较大的优势。Chu 等^[34] 对中国 4 种鲟的 COI 基因序列的差别进行了研究,在从台湾和珠江 所取样品中, Charybdis af f inis 和 Charybdis j aponica 两个种内不同个体间都没有序列变异,研究显示 COI 基因序列种内的变异不大。由于 COI 基因序列 是区分种间差异的有效分子标记,因此可以利用 COI 基因序列将因地理环境等因素造成表形各异的 不同物种和其他种区分开来。本研究中样品鲟与钝 齿鲟以及锐齿鲟序列差异最小,计算出的遗传距离 仅为样品蟹与其他鲟属种类的约 1/10。COI 基因在 种内较保守,一般种间变异较大,说明样品蟳应为钝 齿鲟或锐齿鲟中的一种。进一步分析发现,样品鲟与 钝齿鲟同缘序列间有 6 个变异位点,碱基的转换和 颠换各 3 处; 样品鲟与锐齿鲟序列间有 7 个变异位 点,包括4处碱基间的转换和2处颠换。样品鲟与 钝齿蜗序列差异最小,但序列间有3处碱基颠换,比

样品鲟与锐齿鲟间的颠换还多一处。蟹类 COI 基因 全长约 1.5 kb, 本文用于比对分析的片段序列仅为 429 bp, 不到总长的 1/3, 信息含量较少, 特别是序列 间的差异非常小时,不能仅仅依靠序列碱基的差异 来判定种类的归属。使用 M EGA4.0 计算得出样品 蚂、钝齿蚂和锐齿鲟三种蟹两两之间序列的转换/颤 换(R)值,再根据同类(亲缘关系更为相近)序列内部 的一致性,样品鲟、锐齿鲟为同类而钝齿鲟即为非同 类,说明样品蟳和锐齿蟳亲缘关系更近,而且样品蟳 与锐齿蟳序列间的差异仅为0.017,远小于一般种间 的差异,因此判定样品鲟为锐齿鲟。在鲟属其他种类 关系的研究中此规律也同样适用。后将样品蟳送中 国科学院海洋研究所标本馆鉴定,从形态学上也基 本确认为锐齿鲟。钝齿鲟和锐齿鲟在传统的分类中 属于近缘种,隶属同一个亚属,从腕足是否具刺来区 分两个种, 钝齿 导腕足具刺而锐齿 导不具刺。本研 究利用 COI 基因部分序列信息,并提出采用转换/颠 换(R)值进行多重分析的有效方法,鉴别出了样品蟹 的种类。分子分类采用的分子标记是 DNA 水平遗 传变异的直接反映,能对各发育时期的个体、各个组 织、器官甚至细胞作检测,既不受环境的影响,也不 受基因表达与否的限制,信息丰富,遗传稳定。特别 是对于幼体和成体表形差异很大的蟹类,从形态区 分有较大的困难,或是样品残缺如由于冰冻运输致 使附肢脱落等,一些重要的形态特征无法观察考证, 分子标记就能显示其极大的优越性。结合 GenBank 中丰富的基因序列信息,线粒体基因作为分子标记 在蟹类系统发育重建以及分类学鉴定等方面有很好 的应用前景。

参考文献:

- Hickerson M J, Cunningham C W. Dramatic mitochondrial gene rearrangements in the hermit crab *Pagurus longicar pus* (Crustacea, anomura) [J]. Mol Biol Evol, 2000, 17 (4): 639-644.
- Yamauchi M M, Miya M U, Nishida M. Complete mitochondrial DNA sequence of the swimming crab. *Portunus trituberculatus* (Crustacea: Decapoda: Brachyura)
 [J]. Gene, 2003, 311: 129-135.
- [3] Miller A D, Murphy N P, Burridge C P, et al. Complete mitochondrial DNA sequences of the decapod crustaceans *Pseudocarcinus gigas* (Menippidae) and Macrobrachium rosenbergii (Palaemonidae) [J]. Mar Biotechnol, 2005, 7 (4): 339 349.
- [4] Sun H, Zhou K, Song D. Mitochondrial genome of the Chinese mitten crab *Eriocheir japonica sinenesis* (Brachyura: Thoracotremata: Grapsoidea) reveals a

16

novel gene order and two target regions of gene rearrangements[J]. **Gene**, 2005, 349: 207-217.

- [5] Segawa R D, Aotsuka T. The mitochondrial genome of the Japanese freshwater crab, *Geothelphusa dehaani* (Crustacea: Brachyura): Evidence for its evolution via gene duplication[J]. Gene, 2005, 355: 28-39.
- [6] Knowlton N, Weigt L A. New dates and new rates for divergence across the Isthmus of Panama[J]. Proceeding of the Royal Society London Series B, 1998, 265: 2257-2263.
- [7] 孔晓瑜,喻子牛,刘亚军,等.中华绒螯蟹与日本绒螯 蟹线粒体 COI 基因片段的序列比较研究[J].青岛海洋 大学学报,2001,31(6):861-866.
- [8] Zhao J L, Murphy R W, Li S F. Relation ships of mitten crabs (*Eriocheir*) from inland rivers of China inferred from cytochrome oxidase subunit I sequences [J].
 Biochemical Systematics and Ecology, 2002, 30: 931-941.
- [9] Harrison M K, Crespi B J. Phylogenetics of Cancer crabs (Crustatea: Decapoda: Brachyura) [J]. Molecular Phyloge netics and Evolution, 1999, 12(2): 186 199.
- [10] Schubart C D, Diesel R, Hedges S B. Rapid evolution to terrestrial life in Jamaican crabs[J]. Nature, 1998, 393: 363-365.
- [11] Schubart C D, Neigel J E, Felder D L. Molecular phylogeny of mud crabs (Braehyura: Panopeidae) from the northwestern Atlantic and the role of morphological stasis and convergence[J]. Marine Biology, 2000, 137: 1118.
- [12] Shih H T, Ng P K L, Schubart C D, et al. Phylogeny and phylogeography of the genus Geothelphusa (Crustacea : Decapoda, Brachyura, Potamidae) in southwestern T aiwan based on two mitochondrial genes)[J]. Zoological Science, 2007, 24(1): 57-66.
- T ang B P, Zhou K Y, Song D X, et al. M olecular systematics of the Asian mitten crabs, genus Eriocheir (Crustacea: Brachyura) [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2003, 29(2): 309-316.
- [14] 马凌波,张凤英,乔振国,等.中国东南沿海青蟹线
 粒体 COI 基因部分序列分析[J].水产学报,2006,30
 (4):463468.
- [15] Kochzius M, Soller R, Khalaf M A, et al. Molecular phylogeny of the lionfish genera *Dendrochirus* and *Pterois* (Scorpaenidae, Pteroinae) based on mitochondrial DNA sequences[J]. **Mol Phyl Evol**, 2003, 28: 396.
- [16] Harrison S J. Evolution, biogeography, and the utility of mitochondrial 16S and COI genes in phylogenetic analysis of the crab genus Austinixa (Decada: Pinnotheridae) [J].
 Mol Phyl Evol, 2004, 30(3): 743.
- [17] 洪义国,孙谧,张云波,等. 16S rRNA 在海洋微生物 系统分子分类鉴定及分子检测中的应用[J].海洋水 产研究,2002,23(1):78 83.

- [18] Kuo C H, Huang S, Lee S C. Phylogeny of hagfish based on the mitochondrial 16S rRNA gene[J]. Mol Phylogenet Evol, 2003, 28(3): 448 457.
- [19] Orti G, Petry P, Porto J I R, et al. Patterns of nucleotide change in mitochondrial ribosomal RNA genes and the phylogeny of piranhas[J]. J Mol Evol, 1996, 42(1): 169 182.
- [20] Orti G, Meyer A. The radiation of characiform fishes and the limits of resolution of mitochondrial ribosomal DNA sequences[J]. Syst Biol, 1997, 46(1): 75-100.
- [21] Salan M A, Leiar M. Universal and rapid salt extraction of high quality genomic DNA for PCR based techniques
 [J]. Nucleic Acids Reseach, 1997, 25 (22): 4 692-4 693.
- [22] Folmer O, Black M, Hoeh W, et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates [J]. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 1994, 3: 294 299.
- [23] Palumbi S, Martin A, Romano S, et al. The simple fools guide to PCR version 2. 0 [M]. Honolulu: Department of Zoology and Kewalo Marine Laboratory, University of Hawaii, 1991.
- [24] 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
 [J]. 中国海洋大学学报, 2004, 34(1): 22 28.
- [25] 郑芳, 吕秀玲, 孙红英, 等. 基于线粒体 COI 基因序 列探讨长江华溪蟹的遗传分化[J].南京师大学报(自 然科学版), 2006, 29(2):103 105.
- [26] Roman J, Palumbi S R. A global invader at home: population structure of the green crab, *Carcinus maenas*, in Europe[J]. Molecular Ecology, 2004, 13: 2891-2898.
- [27] Mantelatto F L, Robles R, Felder D L. Molecular phylogeny of the western Atlantic species of the genus *Portunus* (Crustacea, Brachyura, Portunidae) [J].
 Zoological Journal of the Linnean Society, 2007, 150: 211 220.
- [28] Simth P J, Webber W R, McVEAGH S M, et al. DNA and morphological identification of an invasive swimming crab, *Charybdis j aponica*, in New Zealand water[J]. New Zealand Journal of Marine and Fresh water Research, 2003, 37:753-762.
- [29] 戴爱云,杨思谅,宋玉枝,等.中国海洋蟹类[M].北京:海洋出版社,1986.189.
- [30] 金珊,赵青松,王春琳,等. 梭子蟹科六种海产蟹的 RAPD标记[J].动物学研究,2004,25(2):172-176.
- [31] Stephenson W, Williams W T, Lance G N. Numerical approaches to the relationships of certain American swimming crabs (Crustacea: Portunidae) [J].
 Proceedings of the United States of Natural Museum, 1968, 124(3645): F25.
- [32] 黄嶺麟, 王嘉祥, 何平合, 等. 台湾产短尾蟹类之注

解名录(甲壳类:十足目)[A]. 中国台湾博物馆. 中国 台湾博物馆专题论著(11)[C]. 中国台湾: 中国台湾 博物馆, 2001. 18.

- [33] Pfeiler E, Hurtado L A, Knowles L L, et al. Population genetics of the swimming crab Callinectes bellicosus (Brachyura: Portunidae) from the eastern Pacific
- Ocean[J]. Marine Biology, 2005, 146: 559-569.
 [34] Chu K H, Tong J, Chan T Y. Mitochondrial cytochrome oxidase I sequence divergence in some Chinese species of *Charybdis* (Crustacea: Decapoda: Portunidae) [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 1999, 27 (5): 461-468.

The Applications of mitochondrial DNA in phylogeny reconstruction and species identification of portunid crab

ZHANG Shu^{1, 2}, LI Xi-lian^{1, 2}, CUI Zhao xia², WANG Hong xia², WANG Chun lin³, LIU Xiao lin¹

(1. College of Animal Sciences and Technology, Northwest Sci Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100, China; 2. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 3. College of Life Science& Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Received: Jun., 6, 2007 Key words: mitochondrial DNA; portunid crab; phylogeny; barcode

Abstract: The partial sequences of COI and 16S genes were determined from *Portunus trituber culatus*, and partial sequences of COI was determined from sampled specimen. All homologous partial sequences of COI and 16S in Portunidae were collected from GenBank and aligned with the homologous sequences of P. trituberculatus. The NJ tree and MP tree were constructed using Kimura 2 parameter model. Homologous sequences (429 bp) of sampled specimen and genus *Charybdis* were aligned. The results show that the average content of AT is obviously higher than that of GC in both genes. *Charybdis* is a different group which separated from *Portunus*, *Callinectes* and *Scylla*. *Charybdis* should be included in subfamily Thalamitinae but not in subfamily Portuninae. Sampled specimen is identified as *Charybdis acuta* for its genetic distance and R value. This experiment researched on the phylogenetic relationships of portunid crab and identificar tion of sampled specimen, and it provides important information for the phylogeny reconstruction and species identification of portunid crab.

(本文编辑:刘珊珊)