

文章编号: 1004-7271(2008)02-0134-06

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

冯冰冰¹, 李家乐¹, 牛东红¹, 陈琳², 周志强², 郑岳夫², 郑凯宏²

(1. 上海水产大学农业部水产种质资源与养殖生态重点开放实验室, 上海 200090;

2. 浙江省象山县水产技术推广站, 浙江象山 315700)

摘要:通过对我国四大海域野生三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*) 9个群体线粒体DNA控制区基因片段进行扩增和测序, 得到长度为530 bp的片段。分析结果表明: 83条序列T、C、A、G 4种核苷酸的平均含量分别为36.6%、16.1%、36.6%、10.7%。共检测到91个变异位点, 其中缺失/插入位点2个, 转换位点76个, 颠换位点3个, 转换、颠换同时存在位点10个。83个个体具有66种单倍型(haplotype), 单倍型比率为79.5%, 对9个群体用MEGA3.1构建NJ分子树, 聚类结果显示黄海、东海、渤海6个群体之间的相对遗传距离比较近, 聚在了一起, 南海3个群体相对遗传距离比较近, 单独聚在一起。我国四大海域的野生三疣梭子蟹不同群体间有一定遗传分化。

关键词:三疣梭子蟹; 线粒体DNA; 控制区; 遗传多样性

中图分类号: S 917 文献标识码: A

Sequence analysis of mitochondrial putative control region gene fragments of wild *Portunus trituberculatus* in four sea regions in China

FENG Bing-bing¹, LI Jia-le¹, NIU Dong-hong¹, CHEN Lin², ZHOU Zhi-qiang²,
ZHENG Yue-fu², ZHENG Kai-hong²

(1. The Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquacultural Ecology Certificated by the

Ministry of Agriculture, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China;

2. Xiangshan Fisheries Technology Station, Xiangshan 315700, China)

Abstract: Mitochondrial putative control region gene fragments were amplified and sequenced from 9 wild stocks of *Portunus trituberculatus* from four seas of China. 530 bp long partial gene fragments were obtained. The results showed that the A, T, G and C mean contents in those fragments were 36.6%, 16.1%, 36.6%, 10.7%, respectively. There were 91 variation sites in those gene fragments, which included 2 deletion/insert sites, 76 transition sites, 3 transversion sites, 10 transition and transversion sites. Comparisons of these 83 partial putative control region sequences revealed 66 mitochondrial haplotypes in *P. trituberculatus*, the haplotype rate was 79.5%. The molecular phylogenetic tree were constructed with NJ method using software

收稿日期: 2007-09-06

基金项目: 上海市重点学科建设项目(Y1101); 浙江象山县科技局项目(061301)

作者简介: 冯冰冰(1981-), 男, 河南济源人, 硕士研究生, 专业方向为水产动物种质资源与种苗工程。E-mail: fbb-1981@163.com

通讯作者: 李家乐, E-mail: jlli@shfu.edu.cn

MEGA 3.1. The genetic distance and cluster analysis showed that genetic distances were nearest among six stocks of Yellow Sea, East China Sea, Bohai Sea, while the genetic distances were nearest among three stocks of South China Sea. So these indicated that there were some genetic differentiation in different wild stocks of *P. trituberculatus* in China.

Key words: *P. trituberculatus*; mtDNA; putative control region; genetic diversity

三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*),俗称海蟹或大蟹,属于甲壳纲,十足目,梭子蟹科,广泛分布在我国山东、浙江、广西、广东、福建、海南以及日本、朝鲜、马来西亚群岛等水域^[1]。三疣梭子蟹是我国大型海洋经济蟹类,是沿海重要的渔业对象,具有肉质好、食物链短、生长快、产量较高等优点。近年来我国沿海各地进行了人工养殖、半人工采苗、人工育苗等养殖活动,取得了很好的经济效益。

国内外对有关三疣梭子蟹的养殖习性、生理生态、胚胎发育,生化遗传等方面的研究较多^[2-9],而对三疣梭子蟹的遗传多样性方面报道较少,仅有利用同工酶对舟山海域野生三疣梭子蟹遗传多样性分析^[10],对潍坊养殖三疣梭子蟹线粒体 DNA16S rRNA 和 COI 基因片断序列进行比较研究种内变异程度^[11]等方面。本研究利用线粒体 DNA 控制区(putative control region, CR)片段分析我国四大海域九个野生群体的遗传多样性,以期为我国三疣梭子蟹的种质保护和利用提供基础材料。

1 材料和方法

1.1 实验材料

分别于 2006 年 6 月至 9 月从我国渤海海域潍坊(WF)、黄骅(HH),黄海海域青岛(QD)、连云港(LY),东海海域象山(XS)、莆田(PT),南海海域南澳(NA)、湛江(ZJ)、乌石(WS)采集当地的野生三疣梭子蟹。在采集地或带回实验室活体解剖,将其两只螯用无水乙醇固定,备用。

1.2 实验方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取

每个三疣梭子蟹群体随机选取 9-10 个个体,每个个体取 0.5 g 螯部肌肉组织剪碎后,加入 500 μ 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 μ g/mL 的蛋白酶 K, 55 $^{\circ}$ C 裂解澄清。采用苯酚-氯仿的抽提方法提取基因组 DNA。紫外分光光度计测定样品 DNA 的 OD₂₆₀、OD₂₈₀ 值,确定其浓度和纯度,4 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.2.2 PCR 反应

控制区序列片段扩增引物:根据 Yamauechi 等^[12]发表的三疣梭子蟹线粒体 DNA 全序列文章中的控制区片段用 Primer 5.0 设计得来,CR-AR:5' ACTAC ACGCA ACAAC TCTCA 3', CR-BR:5' AATCT TTCTG GATTC TCCTA 3',由上海生工生物工程有限公司合成。反应在 Eppendorf Mastercycler 5333 型 PCR 仪上进行。反应条件如下:94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 50 s, 45 $^{\circ}$ C 退火 50 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min。经 35 个循环后再在 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。扩增反应为 25 μ l 的反应体积,其中含 10 \times Buffer 2.5 μ l, dATP、dCTP、dGTP 和 dTTP 各 0.2 mmol/L,上、下游引物各 0.2 μ mol/L,模板 DNA 50~100 ng, *Taq* plus DNA 聚合酶 1 U(Tiagen), MgCl₂ 1.5 mmol/L。每次反应都设不含模板的空白实验。PCR 扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶检测,电泳缓冲液为 0.5 \times TBE(pH 8.0),电压为 5 V/cm,常温电泳,EB 染色,于凝胶成像系统下观察并拍照记录。



图 1 九个群体的采样分布点
Fig. 1 Nine shaded areas showing the sampling locations of *P. trituberculatus*

1.2.3 扩增产物的纯化和测序

PCR 产物的纯化和测序工作由国家人类基因组南方研究中心完成。

1.2.4 序列分析

DNA 序列用 Bioedit^[13] 进行编辑并辅以人工核查,用 ClustalX 1.81^[14] 进行同源排序比对,并确定序列长度。用 DNASP4.0^[15] 单倍型多态性 (Haplotypic diversity) 和核苷酸多样性指数 (Nucleotide diversity) 等。

用 MEGA 3.1^[16] 计算不同序列间的碱基组成、变异位点、简约信息位点和不同地理种群的 Kimura 2-paramter 遗传距离,采用 Kimura 2-paramter 距离矩阵,采用邻接法 (NJ) 构建分子系统树。

用 ARLEQUIN Version 3.1^[17] 中的分子变异分析 (Analysis of molecular variance, 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指数 (F-statistics, F_{st}), 并计算并用排列测验法 (Permutation test) 检验 F_{st} 的显著性 (重复次数为 1 000)。

2 结果

2.1 四大海域三疣梭子蟹群体控制区基因部分序列碱基组成

经 PCR 扩增,均得到了特异性很好的控制区基因片段扩增产物 (图 2)。序列测定表明,控制区序列长度大约 600 bp,通过 BLAST 分析比较确认所得片段为控制区基因片段。经 Clustal W 同源排序,除去引物和部分端序列得到了长度为 530 bp 的控制区序列。

利用 MEGA 3.1 软件计算三疣梭子蟹群体控制区序列碱基 (T、C、A、G、A + T) 组成 (表 1),控制区基因序列 T、C、A、G 和 A + T 的平均含量分别为 36.6%、16.1%、36.6%、10.7%、73.2%, A + T 含量显著高于 G + C 含量。

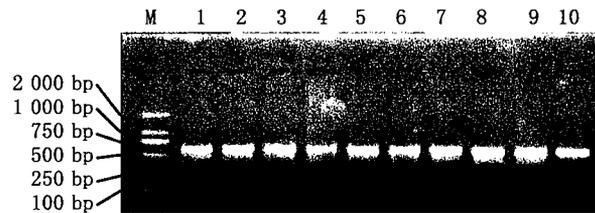


图 2 由引物 CR-AR 和 CR-BR 扩增出的 mtDNA 控制区基因片段

Fig. 2 mtDNA CR gene fragment of *P. trituberculatus* amplified by primer CR-AR and CR-BR

表 1 三疣梭子蟹九个群体控制区基因片段的碱基组成

Tab. 1 Base compositions of CR gene fragments of nine stocks of *P. trituberculatus*

群体	个体数	T	C	A	G	A + T	%
WF	9	36.6	16.1	36.8	10.5	73.4	
HH	9	36.6	16.2	36.5	10.7	73.1	
QD	9	36.7	16.0	36.7	10.6	73.4	
LY	10	36.8	16.0	36.4	10.9	73.2	
XS	8	36.8	15.9	36.4	10.9	73.2	
PT	9	36.6	16.1	36.6	10.7	73.2	
NA	10	36.5	16.3	36.6	10.6	73.1	
ZJ	10	36.6	16.1	36.7	10.6	73.3	
WS	9	36.4	16.4	36.6	10.6	73.0	
Ave.	83	36.6	16.1	36.6	10.7	73.2	

2.2 三疣梭子蟹群体遗传多样性分析

利用 DNASP 4.10 计算群体遗传多样性参数,结果见表 2。

根据控制区基因序列计算遗传多样性参数,在 83 个三疣梭子蟹个体中,共检测到了 66 个单倍型,且每个群体都具有各自的单倍型,91 个核苷酸多态位点,包括 27 个单一变异位点 (Singleton variable sites),64 个简约信息位点 (Parsimony informative sites),其中缺失/插入位点 2 个,转换位点 76 个,颠换位点 3 个,转换、颠换同时存在位点 10 个,平均核苷酸差异数为 12.117 54,核苷酸多样性指数为 $0.022\ 95 \pm 0.000\ 72$ 。结果显示潍坊和黄骅群体的核苷酸多态位点数,平均核苷酸差异数和核苷酸多样

性指数均较高,青岛和象山群体遗传多样性参数较低,且群体内部没有显著差异。

表 2 三疣梭子蟹九个群体控制区基因片段遗传多样性参数

Tab. 2 Genetic diversity parameters of CR gene fragments among nine stocks of *P. trituberculatus*

群体	样体数	单倍型数 (NHap)	单倍型多态性 (Hd)	多态位点数 (S)	简约信息位点数 (Pi)	平均核苷酸差异数 (k)	核苷酸多样性指数 (P)
WF	9	9	1.000 ± 0.052	39	23	13.666 67	0.025 88 ± 0.002 68
HH	9	9	1.000 ± 0.052	44	14	13.444 44	0.025 41 ± 0.002 30
QD	9	9	1.000 ± 0.052	29	7	8.694 44	0.016 44 ± 0.002 21
LY	10	9	0.978 ± 0.054	40	10	10.666 67	0.020 16 ± 0.002 88
XS	8	7	0.964 ± 0.077	32	11	10.285 71	0.019 44 ± 0.002 89
PT	9	9	1.000 ± 0.052	38	15	12.305 56	0.023 26 ± 0.002 25
NA	10	7	0.911 ± 0.077	32	15	11.244 44	0.021 26 ± 0.002 22
ZJ	10	10	1.000 ± 0.045	31	23	11.600 00	0.021 93 ± 0.002 37
WS	9	9	1.000 ± 0.052	30	14	10.750 00	0.020 36 ± 0.003 44
Total	83	66	0.992 ± 0.004	91	64	12.11754	0.022 95 ± 0.000 72

2.3 三疣梭子蟹群体间的遗传分化指数

对三疣梭子蟹 9 群体间的控制区的遗传差异进行 AMOVA 分析表明,在遗传差异的总方差中,有 93.57% 的差异来自各群体内部,只有 6.43% 的差异来自群体间(表 3)。三疣梭子蟹 9 群体间总的遗传分化指数(F_{st})为 0.064 34,个别群体间达到显著的遗传分化,主要是乌石群体与除南澳以外的其他群体间的遗传分化指数(F_{st})都有显著的差异(表 4)。基因流(Nm)为 1.42,群体间存在一定的基因交流。

表 3 三疣梭子蟹群体遗传变异的分子变异等级分析(AMOVA)

Tab. 3 AMOVA analysis of genetic variation in *P. trituberculatus* stocks

遗传差异来源	自由度	遗传变异元素	占总变异百分比
种群间	8	0.396 94	6.43
种群内	74	5.772 07	93.57
总计	82	6.169 01	100

遗传分化指数(Fixation Index); $F_{st} = 0.06434$

表 4 三疣梭子蟹各群体间的遗传分化指数(F_{st})

Tab. 4 Fixation index(F_{st}) between any stocks of *P. trituberculatus*

群体	HH	LY	NA	PT	QD	WF	WS	XS	ZJ
HH		0.021 32	-0.004 39	-0.038 38	-0.020 05	0.019 59	0.111 74 *	-0.043 55	0.023 48
LY			0.087 04 *	0.026 46	0.017 60	0.074 08 *	0.201 78	-0.031 31	0.058 09
NA				-0.013 37	0.080 74	0.090 82	0.033 10	0.078 50	0.070 61
PT					-0.011 18	0.016 78	0.131 51 *	-0.000 58	0.040 51
QD						0.049 15	0.270 87 *	-0.018 65	0.081 04
WF							0.166 50 *	0.037 72	0.096 63
WS								0.222 03 *	0.125 69 *
XS									0.073 70
ZJ									

注: * 表示差异显著($P < 0.05$),未标示表示差异不显著($P > 0.05$)

2.4 三疣梭子蟹群体遗传距离和聚类分析

利用 MEGA3.1 软件中的 Kumara 2-parameter 模型计算三疣梭子蟹群体的相对遗传距离及标准误差(表 5)。

基于控制区基因片段的三疣梭子蟹群体遗传距离在 $0.018 0 \pm 0.002 9 \sim 0.028 8 \pm 0.004 7$ 之间。

表 5 基于 Kimura 2-parameter 模型计算三疣梭子蟹群体间遗传距离(下三角)及标准误差(上三角)
Tab. 5 The average genetic distance between the *P. trituberculatus* stocks based on the Kimura 2-parameter model (lower left), standard error (upper right) estimated by bootstrap method (Replications = 500)

	HH	LY	NA	PT	QD	WF	WS	XS	ZJ
HH		0.003 5	0.003 8	0.003 5	0.003 2	0.003 8	0.004 3	0.003 4	0.003 8
LY	0.023 8		0.003 7	0.003 4	0.003 0	0.003 7	0.004 4	0.003 0	0.003 6
NA	0.023 8	0.023 2		0.003 8	0.003 7	0.004 1	0.003 8	0.003 7	0.004 0
PT	0.024 0	0.022 8	0.022 5		0.003 1	0.003 8	0.004 3	0.003 3	0.003 8
QD	0.021 0	0.019 1	0.021 0	0.020 1		0.003 5	0.004 6	0.002 9	0.003 6
WF	0.026 8	0.025 4	0.026 6	0.025 6	0.022 8		0.004 7	0.003 6	0.004 1
WS	0.026 5	0.026 1	0.022 0	0.025 9	0.026 0	0.028 8		0.004 5	0.004 1
XS	0.022 1	0.019 6	0.022 6	0.021 9	0.018 0	0.024 2	0.026 4		0.003 6
ZJ	0.024 9	0.022 9	0.023 8	0.024 1	0.021 4	0.027 1	0.024 8	0.022 9	

利用 MEGA 3.1 软件对三疣梭子蟹九群体构建 NJ 分子进化树(图 3)。聚类结果显示黄海、东海、渤海 6 个群体之间的相对遗传距离比较近,聚在了一起,南海 3 个群体相对遗传距离比较近,单独聚在一起。

3 讨论

线粒体 DNA 是研究生物多样性、群体遗传和系统进化的重要参考对象^[18,19],其中控制区为非编码区,受进化压力较小,其进化速率是 mtDNA 其他区段的 2-5 倍^[20],在水生动物群体遗传学研究中得到了一些应用。对我国斑鳗^[21]不同群体线粒体控制区序列的分析结果表明,不同群体间有较明显的遗传分化。利用线粒体控制区分析中国近海黑鲷^[22]和深圳斑节对虾野生种群^[23],表现出较为丰富的核苷酸多态性和遗传多样性水平。利用线粒体控制区分析金鱼中的龙种、蛋种各 2 个品种^[24],表明 4 个品种之间的同源性很高,而同品种金鱼的亲缘关系相对较近。

十足目甲壳动物遗传变异性较低是其系统发生的一个基本特征^[25],较短的生活史造成的瓶颈效应及缺乏随机漂变被认为是甲壳类遗传变异性较低的主要原因,且远低于无脊椎动物的平均水平^[26]。本文对来自 9 个不同群体共 83 个体的三疣梭子蟹的控制区基因片段序列进行分析,发现 9 个群体中潍坊与黄骅群体的平均核苷酸差异数和核苷酸多样性指数最高,而象山和青岛群体的平均核苷酸差异数和核苷酸多样性指数最低,表明三疣梭子蟹潍坊和黄骅群体的遗传多样性丰富,莆田、湛江、南澳、乌石、连云港群体次之,而象山和青岛群体的遗传多样性水平则相对较低。尽管如此,9 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。三疣梭子蟹作为我国主要的海洋经济蟹类,是沿海蟹类主要的捕捞对象,近些年来我国沿海大规模的开发,人为干扰,捕捞强度增大,使得三疣梭子蟹野生资源急剧下降,特别是青岛附近^[27]和浙江沿海^[4],可能导致象山和青岛群体的遗传多样性较低;也可能是由于野生种群缺乏遗传漂变^[28],或由于盲目的人工移殖和引种,使得不同地区的种群基因流动速度过快造成的,需要进一步研究。

分子方差 AMOVA 分析表明,在总遗传变异方差中,群体间遗传变异的方差贡献率为 6.43%,而群体内遗传变异的方差贡献率高达 93.57%,表明三疣梭子蟹群体内差异比群体间高(表 3)。Fst 是用来测量群体之间遗传分化的指标,当 Fst 接近 0 时,则说明群体间没有发生遗传分化。根据各群体间的遗传分化指数(Fst),可以看出三疣梭子蟹 9 群体间大部分的遗传分化很弱或者几乎没有,只有个别群体

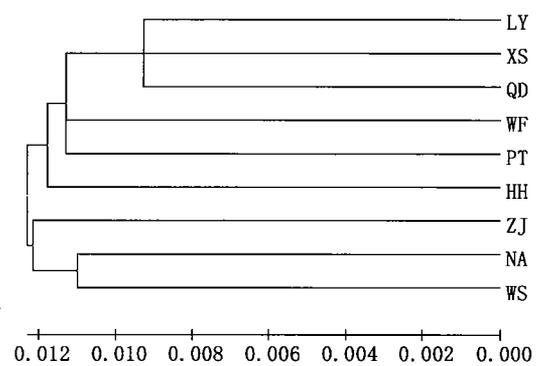


图 3 基于控制区基因三疣梭子蟹九个群体的 NJ 分子进化树
Fig. 3 NJ phylogenetic tree based on CR of nine stocks of *P. trituberculatus*

间达到显著的遗传分化,特别是乌石群体与除南澳群体以外的其他群体间都达到显著的遗传分化(表4),而乌石群体位于南海的北部湾内,与其他群体间的地理位置相对较远,出现显著遗传分化,可能是地理隔离造成的。

群体之间的遗传距离能反映群体间的亲缘关系,本文通过对三疣梭子蟹9个群体构建NJ分子进化树(图3),聚类结果显示黄海、东海、渤海6个群体之间的相对遗传距离比较近,聚在了一起,这与我国东海以北的三大海域的地理位置相对比较近有一定的关系,而我国南海3个群体相对遗传距离比较近,单独聚在一起,表明黄海、东海、渤海三海域的三疣梭子蟹亲缘关系比较近。由此看来我国四大海群体三疣梭子蟹的亲缘关系在一定程度上反映了它们一定的地理分布情况,地位位置越近的群体其亲缘关系也越近,地理关系远的群体其亲缘关系也较远。

参考文献:

- [1] 戴爱云,杨思谅,宋玉枝,等. 中国海洋蟹类[M]. 北京:海洋出版社,1986:194-196.
- [2] 孙颖民,宋志乐,严瑞深,等. 三疣梭子蟹生长的初步研究[J]. 生态学报,1984,4(1):57-64.
- [3] 薛俊增,堵南山,赖伟. 中国三疣梭子蟹 *Portunus trituberculatus* Miers 的研究[J]. 东海海洋,1997,15(4):60-65.
- [4] 薛俊增,堵南山,赖伟. 三疣梭子蟹活体胚胎发育的观察[J]. 动物学杂志,1998,33(6):45-49.
- [5] 宋海荣,丁跃平,许源剑. 浙江北部近海三疣梭子蟹生殖习性研究[J]. 浙江水产学院学报,1988,7(1):39-46.
- [6] 李太武,苏秀榕. 三疣梭子蟹消化系统的组织学研究[J]. 辽宁师范大学学报(自然科学版),1994,17(1):22-28.
- [7] 余红卫,朱冬发,韩宝芹. 三疣梭子蟹不同组织同工酶的分析[J]. 动物学杂志,2005,40(1):84-87.
- [8] 朱冬发,余红卫,王春林. 三疣梭子蟹个体发育早期的同工酶谱变化[J]. 水产学报,2005,29(6):751-756.
- [9] 王国良,金珊,李政,等. 三疣梭子蟹养殖群体同工酶的组织特异性及生化遗传分析[J]. 台湾海峡,2005,24(4):474-480.
- [10] 高保全,刘萍,李健,等. 三疣梭子蟹野生群体同工酶的遗传多态性分析[J]. 水产学报,2007,31(1):1-6.
- [11] 郭天慧,孔晓瑜,陈四清,等. 三疣梭子蟹线粒体 DNA 16S rRNA 和 CO I 基因片段序列的比较研究[J]. 中国海洋大学学报,2004,34(1):230-236.
- [12] Yamauechi 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.
- [13] Hall T A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT [M]. NuclAcid SympSer, 1998: 41, 95-98.
- [14] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. Nucleic Acids Research, 1997, 25: 4876-4882.
- [15] Rozas J, J C Sanche-delBarrio, X Messenguier, et al. DnaSp, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods [J]. Bioinformatics, 2003, 19: 2496-2497.
- [16] Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment [J]. Briefings in Bioinformatics, 2004, 5: 150-163.
- [17] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin ver. 3.01: An integrated software package for population genetics data analysis [J]. Evolutionary Bioinformatics Online, 2005, 1: 47-50.
- [18] Suneetha K B, Dagle G, Nevdal G. Analysis of mitochondrial DNA sequence from two *Maurollicus* taxa: evidence for separate species [J]. Journal of Fisheries Biology, 2000, 57: 1605-1609.
- [19] Canapa A, Barucca M, Marinelli A, et al. Molecular data from the 16S rRNA gene for the phylogeny of Pectinidae (Mollusca: Bivalvia) [J]. Journal of Molecular Evolution, 2000, 50: 93-97.
- [20] Moritz C, Dowling T E, Brown W M. Evolution of animal mitochondrial DNA relevance for population biology and systematics [J]. Ann Rev Ecol Syst, 1987, 18: 269-289.
- [21] 王伟伟,赵金良,李思发. 我国斑鳊不同群体 mtDNA 控制区序列的遗传变异[J]. 上海水产大学学报,2006,10(4):398-402.
- [22] 龚金波,苏天凤,夏军红,等. 中国近海黑鲷线粒体 DNA 控制区序列多态性分析[J]. 南方水产,2006,2(4):24-30.
- [23] 姜永杰,周发林,黄建华,等. 深圳海域斑节对虾野生种群线粒体控制区序列的多态性分析[J]. 南方水产,2006,2(1):54-57.
- [24] 宁玲玲,梁洁,乔奕,等. 龙种金鱼和蛋种金鱼线粒体 DNA 控制区的序列分析[J]. 生命科学研究,2006,10(3):119-124.
- [25] 李思发. 鱼类繁育群体遗传性能的保护[J]. 水产学报,1988,12(3):283-290.
- [26] 刘萍,孟宪红,何玉英,等. 中国对虾 (*Penaeus chinensis*) 黄、渤海3个野生地理群体遗传多样性的微卫星 DNA 分析[J]. 海洋与湖沼,2004,5(3):252-257.
- [27] 舒风月. 青岛沿海潮间带蟹类初步调查[J]. 国土与自然资源研究,2006,2:74.
- [28] Nelson K, Hedgecock D. Enzyme polymorphism and adaptive strategy in the Decapod Crustacea [J]. Amer Nat, 1980, 116(2): 228-279.