

中国东南沿海青蟹属不同种类的 mtDNA COI 基因序列分析及其系统发育

林 琪^{1*}, 李少菁^{1**}, 黎中宝², 王桂忠¹

(1. 厦门大学海洋与环境学院, 近海海洋环境科学国家重点实验室, 福建 厦门 361005;

2. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021)

摘要: 对采自中国东南沿海青蟹属的 4 种青蟹锯缘青蟹 *Scylla serrata* (Forskål, 1775), 紫螯青蟹 *S. tranquebarica* (Fabricius, 1798), 榄绿青蟹 *S. olivacea* (Herbst, 1796), 拟穴青蟹 *S. paramamosain* (Estampador, 1949) 的线粒体 COI 基因片段进行了测定, 分析研究了其种间遗传差异及系统发育关系. 研究结果显示: 4 种青蟹在 COI 基因片段上存在差异, 种间序列差异远大于种内差异. 青蟹属在我国的优势种与 GenBank 上的 *S. paramamosain* 的遗传距离为 0.001 3, 与 *S. serrata* 的遗传距离为 0.121 3. 序列特征、遗传距离和系统进化等分析结果表明中国青蟹属的优势种为拟穴青蟹 *S. paramamosain*.

关键词: 青蟹属; mtDNA COI; 基因序列; 系统发育

中图分类号: P 735; Q 7

文献标识码: A

文章编号: 0438-0479(2008)02-0268-06

青蟹属(*Scylla*)是由 de Haan 于 1833 年建立的, 并将锯缘黄道蟹更名为锯缘青蟹 [*Scylla serrata* (Forskål)]. 此后, 学者们陆续发现不同的种类^[1-11]. Keenan 等^[12] 根据同工酶和 mtDNA 的 COI 序列分析, 结合形态、生态学特征, 确认从东非到印度-西太平洋分布着 4 种青蟹, 即锯缘青蟹 *Scylla serrata* (Forskål, 1775), 紫螯青蟹 *S. tranquebarica* (Fabricius, 1798), 榄绿青蟹 *S. olivacea* (Herbst, 1796), 拟穴青蟹 *S. paramamosain* (Estampador, 1949). 通过对 NCBI 的 GenBank 中数据的检索分析, 有关青蟹属 mtDNA 序列研究, 国内外学者已对澳大利亚、印度、日本、越南、马达加斯加、坦桑尼亚等地的 4 种青蟹 mtDNA 的 COI、12S、16S、18S 片段进行了测序. 我们通过形态学比较确认中国青蟹属包含 4 个种^[13], 但对我国青蟹属仅测定了拟穴青蟹的 COI 测序^[14-16], 其它 3 个种的 COI 片段序列尚未见报道.

本研究通过分析我国 4 种青蟹 mtDNA COI 片段序列, 以阐明其遗传差异和系统进化关系, 并从分子生物学角度进一步验证我国青蟹属的种类组成.

1 材料与方法

1.1 实验材料

于 2005 年 5 月至 2006 年 11 月, 采集了浙江、福建、广东、广西、海南等 13 个地区的野生青蟹个体. 参照 Keenan^[12] 对青蟹属的分类方法对样品鉴定分类^[13].

1.2 实验方法

1.2.1 基因组 DNA 提取

取 100 mg 足部肌肉, 放入 1.5 mL eppendorf 管中, 加入 700 μ L 2 $\times$ CTAB 缓冲溶液 (100 mmol/L Tris-HCl, 200 mmol/L EDTA, 1.4 mol/L NaCl, 2% 十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB), 0.2% β -巯基乙醇, pH 8.0) 和 8 μ L (20 mg/mL) 蛋白酶 K, 55 $^{\circ}$ C 水浴过夜. 用 600 μ L 的混合液 ($V_{\text{酚}}:V_{\text{氯仿}}:V_{\text{异戊醇}} = 25:24:1$) 抽提 2 次, 混合液 ($V_{\text{氯仿}}:V_{\text{异戊醇}} = 24:1$) 抽提 1 次. 加入 -20 $^{\circ}$ C 预冷的异丙醇, -20 $^{\circ}$ C 2 h. 离心后用 70% 和 100% 乙醇各洗一次, 加入 100 μ L 双蒸水溶解, -20 $^{\circ}$ C 保存备用^[17]. 用 0.8% 琼脂糖电泳检测 DNA 完整度, 用紫外分光光度计测 DNA 含量.

1.2.2 PCR 扩增

引物由英骏生物技术有限公司合成, 2 个引物分别为: COIa AGTA TAA GCGTCTCCCGA GTC, COIb CCTGCA GGA GGA GGA GA YCC^[12]. Taq 酶购自 Vivo-tech 公司. PCR 25 μ L 反应体系中含有 2.5 μ L

收稿日期: 2007-05-18

基金项目: 国家自然科学基金 (40376044), 福建省重中之重项目“福建海岸优良种质生物学和生物活性物质的基础应用研究”资助

* 现在福建省水产研究所工作

** 通讯作者: sjli@xmu.edu.cn

10 ×buffer ,0.2 μmol/L dNTPs ,20 ng DNA ,引物(5 μmol/L) 1 μL 及 1 U *Taq* 酶.经 94 变性 5min 后; 94 变性 30 s ,47 退火 30 s ,72 延伸 60 s ,运行 35 个循环 ;最后在 72 延伸 10 min .扩增产物用 2.0 %琼脂糖凝胶电泳分离 ,EB 染色 ,凝胶成像系统观察、记录.

1.2.3 测序及数据分析

PCR 扩增产物由英骏生物技术有限公司进行测序.将测序结果提交 GenBank. 已知的 4 种青蟹 COI 序列来源为 GenBank: A Y373341 , A Y373354 , A Y373355 ,A Y373351. 以日本蟳 (*Charybdis japonica*) 为外群 ,GenBank 登录号为 A Y351869. 用 DNA-MAN 和 MEGA3.1 软件进行所测序列的编辑、排序、系统发育和遗传学分析.使用 UPGMA、NJ 法构建系统树 ,各分支的置信度均进行 1 000 次的重复检验.

2 结 果

2.1 4 种青蟹 COI 基因序列及其差异

4 种青蟹 COI 序列长度分别为 :*S. olivacea* 537 bp ,*S. paramamosain* 633 bp ,*S. serrata* 626 bp ,*S. tranquebarica* 539 bp .其 A、G、T、C 含量见表 1.

表 1 4 种青蟹 mtDNA COI 片段的 A、G、T、C 含量
Tab.1 The content of A ,G ,T ,C of mtDNA COI gene fragment among 4 *Scylla* species

	A	G	T	C	AT	GC
拟穴青蟹	28.75	15.48	36.81	18.96	65.56	34.44
榄绿青蟹	28.12	16.39	34.45	21.04	62.57	37.43
锯缘青蟹	27.12	16.61	39.48	16.79	66.61	33.39
紫螯青蟹	29.11	15.31	39.13	16.26	68.24	31.76

4 种青蟹 mtDNA COI 部分序列排序见图 1. 仅有锯缘青蟹有 1 个缺失的位点 ,4 种青蟹序列间共有 129 个变异位点 ,定义了 129 个核苷酸替代. 其中转换 97 个 ,颠换 32 个. 各种内的遗传距离和种间遗传距离见表 2. 种间遗传距离平均为 0.141 3 ,碱基相差在 55 个以上. 种内遗传距离平均为 0.006 2 ,碱基相差在 5 个以内. 种间的碱基变异有 32 个为 A/ T ,G/ C 颠换 ,种内的为 A/ G ,T/ C 转换.

2.2 青蟹属种间遗传距离与分子进化树

采用 NJ 法构建了 4 种青蟹的遗传关系 ,未发现种间 mtDNA 渐渗现象 (图 2). 拟穴青蟹首先和紫螯青蟹聚到一起 ,然后与锯缘青蟹聚到一起 ,最后才与榄绿青蟹聚到一起. 采自中国沿海的 4 个种均首先与 GenBank 中的相应种聚为一类.

3 讨 论

本实验所获得的青蟹属 4 个种 COI 序列与 GenBank 数据库中相应种 COI 序列相比较 ,序列的同源性为 97.92 %~ 99.81 % ,可以排除所得到的 COI 片段序列为假基因的可能性. COI 序列的 AT ,GC 含量平均为 65.55 %和 34.46 % ,AT 含量明显高于 GC 含量 ,这与蟹类、哲水蚤、磷虾等无脊椎动物的 COI 基因片段研究结果相似^[18- 21]. 采用 NJ 法构建的 4 种青蟹的遗传关系与 Keenan^[12]报道的进化树结果一致 ,未发现种间 mtDNA 渐渗现象. 本研究获得的线粒体 COI 序列在 GenBank 的登陆号为 EF203942-EF203947 ,EU274297.

我们从形态学上对中国东南沿海的青蟹属进行了研究 ,确认在我国分布的青蟹属有 4 个种^[13]. 对其 mtDNA COI 序列的研究结果也表明 ,其种间差异比种内差异大得多. 这个结果也进一步证实了形态分类

表 2 中国青蟹属 4 种与 GenBank 中相应种的遗传距离(下三角)遗传相似性(上三角)
Tab.2 Genetic distance (below diagonal) and genetic identity (above diagonal) among 4 *Scylla* species for mtDNA COI

	<i>S. p</i> (China)	<i>S. o</i> (China)	<i>S. s</i> (China)	<i>S. t</i> (China)	<i>S. o</i> (GenBank)	<i>S. p</i> (GenBank)	<i>S. s</i> (GenBank)	<i>S. t</i> (GenBank)
<i>S. p</i> (China)		0.8431	0.8809	0.8941	0.8374	0.9943	0.8790	0.9017
<i>S. o</i> (China)	0.1732		0.8412	0.8507	0.9792	0.8450	0.8393	0.8544
<i>S. s</i> (China)	0.1219	0.1771		0.8790	0.8412	0.8790	0.9981	0.8847
<i>S. t</i> (China)	0.0939	0.1534	0.1117		0.8431	0.8960	0.8771	0.9831
<i>S. o</i> (GenBank)	0.1767	0.0061	0.1771	0.1576		0.8393	0.8393	0.8469
<i>S. p</i> (GenBank)	0.0031	0.1734	0.1232	0.0940	0.1768		0.8771	0.9036
<i>S. s</i> (GenBank)	0.1251	0.1803	0.0047	0.1145	0.1803	0.1261		0.8809
<i>S. t</i> (GenBank)	0.0916	0.1508	0.1093	0.0058	0.1551	0.0917	0.1122	

<i>S. paramamosain</i>	A T T T T G C C A G C A T T T G G T A T A A T C T C C C A C A T T G T A A G T C	40
<i>S. serrata</i>	- - - - a - - - - - - c - - - - - - t - - t - - - - - - g - - - -	40
<i>S. olivacea</i>	- - c - - a - - - - - - - - - - - - - - - t - - a - - - - - - - - c -	40
<i>S. tranquebarica</i>	- - - - a - - - - - - c - - - - - - c t - - - - - t - - - - - - - -	40
<i>S. paramamosain</i>	A G G A A T C T G G G A A A A A G A A T C A T T C G G A A C T T T A G G T A T	80
<i>S. serrata</i>	- a - - - - - - - a - - - - - - - - - - - - - - - c c - g - - - - -	80
<i>S. olivacea</i>	- a - - - - - a - - a - - - - - - - - - - - - - t - - a - - - - - -	80
<i>S. tranquebarica</i>	- a - - g - - - - - - - - - - - - - - - - - t - - - - - - - - - - -	80
<i>S. paramamosain</i>	A A T C T A T G C T A T A A T G G C T A T T G G T A T T C T A G G G T T T A T T	120
<i>S. serrata</i>	- - - - - c - - - - - - - - - - - - - - - - - - - a - - - - - -	120
<i>S. olivacea</i>	- - - - - - - - - - - - - - - c - - - - - - - c t - g - - a - - c - - -	120
<i>S. tranquebarica</i>	- - - - - - - - - - - - - a - c - - - a - - - - - - - a - a - - - - -	120
<i>S. paramamosain</i>	G T C T G A G C T C A T C A T A T A T T T A C A G T C G G A A T G G A T G T T G	160
<i>S. serrata</i>	- - - - - - - - - - - c - - - - - - - - - g - - - - - a - - c - - - -	160
<i>S. olivacea</i>	- - - - - - - - - - - - - g - - - - - - - a - - t - - a - - c - - - -	160
<i>S. tranquebarica</i>	- - t - - - - - - - - - - - - - - - - - a - - - - - a - - - - - -	160
<i>S. paramamosain</i>	A C A C A C G A G C C T A T T T T A C A T C A G C A A C A A T A A T C A T T G C	200
<i>S. serrata</i>	- t - - t - - - - - t - - - - - - - - - g - - - - - - - - t - - - - -	200
<i>S. olivacea</i>	- t - - - - - - - t - - c - - - - - - - - - - - - - t - - - - - -	200
<i>S. tranquebarica</i>	- t - - - - - - - t - - - - - - - - - - - - - - - - - t - - - - - -	200
<i>S. paramamosain</i>	T G T T C C A A C A G G A A T C A A A A T T T T T A G A T G A C T A A G A A C T	240
<i>S. serrata</i>	- - - - - c - - - - - - - t - - - - - - - c - - - - - - - t - - - - -	240
<i>S. olivacea</i>	- - - c - - c - - g - - t - - - - - - - - - - - - - - - t - - - - - c	240
<i>S. tranquebarica</i>	- - - c - - - - - - - - - t - - - - - - - - - - - - - c - - - - - c	240
<i>S. paramamosain</i>	C T T C A T G G T A C A C A A A T T A A T T A T A G G C C T T C A A T A T T A T	280
<i>S. serrata</i>	- - c - - - - - a - - - - - - - - - - - - - - - - - - t - - - - - -	280
<i>S. olivacea</i>	- - - - - - - g - - t - - - - c - - c - - c - - a - - c - - - - g c - t -	280
<i>S. tranquebarica</i>	- - c - - - a - a - - c - - - - - - - - - - - - - a - - - - - - g c - -	280
<i>S. paramamosain</i>	G A G C T T T A G G A T T T A T C T T C T T A T T T A C T G T T G G G G G T C T	320
<i>S. serrata</i>	- g - - - - - - - - - - - t - - - - - - - c - - - - - - - t - - - - -	320
<i>S. olivacea</i>	- - - c - - - - - c - - - - - t - - t - - - - c - - - - a - - t - - - -	320
<i>S. tranquebarica</i>	- a - - a - - - - -	320
<i>S. paramamosain</i>	T A C A G G A G T T G T T T T A G C T A A T T C A T C A A T T G A C A T T A T T	360
<i>S. serrata</i>	- - - t - - g - - - - - - - - - - - g - - - - - - - t - - - - - -	360
<i>S. olivacea</i>	- - - c - - - - - c - - - c - - - - - c - - - - - c - - c - - t - - - - c	360
<i>S. tranquebarica</i>	- - - t - t - - - - - -	360
<i>S. paramamosain</i>	C T C C A C G A T A C A T A C T A T G T C G T A G C C C A T T T C C A C T A T G	400
<i>S. serrata</i>	- - t - - t - - c - - - - - t - - - - - t - - - - - - - - - - - t - - - -	400
<i>S. olivacea</i>	- - a - - t - - - - - - - - - - - t - - - - - t - - c - - - - - - c -	400
<i>S. tranquebarica</i>	- - - - - t - - - - - - - t - - - - - t - - - - - t - - - - - - - - -	400

<i>S. paramamosain</i>	T T T T A T C T A T A G G A G C T G T A T T T G G T A T T T T T G C T G G T A T	440
<i>S. serrata</i>	- - c - t - a - - - - -	440
<i>S. olivacea</i>	- g - - - - - c - - - - - - - - - - - - - - - c - - - - - c - - - - -	440
<i>S. tranquebarica</i>	- c - - - - - - - - - - - - - - - c - - - - - - - - - t - - - c - -	440
<i>S. paramamosain</i>	T G C A C A C T G A T T C C C T C T A T T T A C C G G T T T A T C T C T A A A T	480
<i>S. serrata</i>	- - - - - t - - - - - - - - - t - - - - a - - - - - - - - t - - -	480
<i>S. olivacea</i>	c - - c - - - - - - t - - a - - t - - - - a - - - - g - - c - - t - - -	480
<i>S. tranquebarica</i>	- - - - - t - - - - - t - - a - - t - - - - - - - - - - - - - t - - -	480
<i>S. paramamosain</i>	C C T A A A T G A A T A A A A A T C C A C T T T T T T A T T A T A T T C A C A G	520
<i>S. serrata</i>	- - - - - - - - - - - - - - - t - - t - - - - c - - - - - g - - t g - t -	520
<i>S. olivacea</i>	- - - - - - - - - - - - - - - t - - t - - c - c - - - - - - - g - - -	520
<i>S. tranquebarica</i>	- - - - - - - - - - - - - - - t - - t - - - c c c - - - - - - - t - - t -	520
<i>S. paramamosain</i>	G T G T A A A T A T C A C C T T C T T T C C C	543
<i>S. serrata</i>	- a - - g - - c - - t - . - - - t c - - - - -	542
<i>S. olivacea</i>	- a - - - - - - - t - - g - - - - c - - -	543
<i>S. tranquebarica</i>	- - - - c - - - - - - - - - t - - - - - t	543

图 1 4 种青蟹 mtDNA COI 部分序列差异比较

Fig. 1 The variation sites of mtDNA COI gene fragment among 4 *Scylla* species

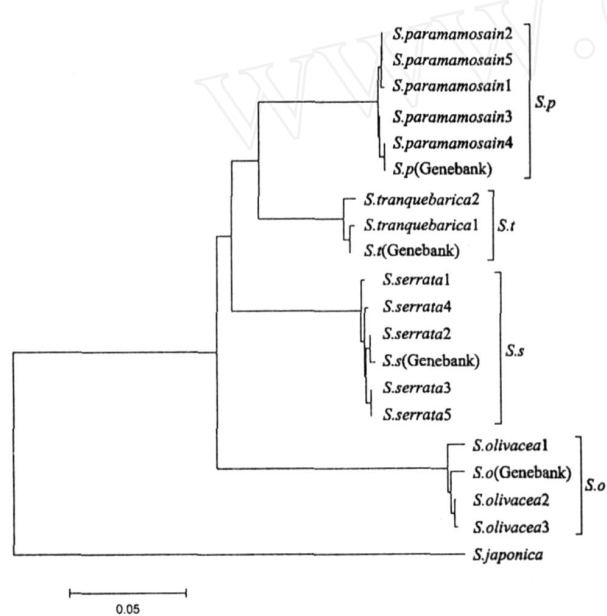


图 2 青蟹属 COI 序列 NJ 进化树,以日本蟳为外群

Fig. 2 NJ clustering of geographically isolated specimens from 4 species of mud crabs and an outgroup species for the COI mtDNA gene sequence

的结论.自青蟹属(*Scylla*)建立后,青蟹属的种类组成问题一直存有争议.1949 年,Estampador^[1]通过对前人记录的探讨,并结合菲律宾产青蟹甲壳、螯足等部位花纹、额齿的形状、刚毛以及栖息地点等认为,该属应

分为 3 个种和 1 个新变种. Ser ñe^[2] 在越南发现了 4 个种,支持了 Estampador 的观点.然而 Stephenson 和 Campbell^[3] 指出所发现的证据只能证明一个种,即 *Scylla serrata*.认为 Estampador、Ser ñe 观察到的体色变化、额齿、螯足腕节外缘棘的形态差异是磨擦损耗和栖息环境影响的结果,属于个体间的变异. Holthuis^[4] 随后也对 Estampador 和 Ser ñe 命名的准确性提出了疑问.在随后几年里陆续报道发现了 6 个种或亚种,但有关这些种或亚种之间差异的描述一直含糊不清^[5-10].由于青蟹属 4 个种间的形态差别较细微,而且所处的环境条件长期不同可能导致生物的形态分化.因此利用分子标记技术进行种类的鉴别是有力的辅助手段. Ketut Sugama^[11] 采用等位酶电泳技术研究了印度尼西亚的 3 种青蟹: *S. olivacea*, *S. tranquebarica* 和 *S. paramamosian*. Klinbunga 等^[22] 用 UBC456, UBC457, YNZ22 3 个引物对泰国东部 3 种青蟹的遗传多样性进行 RAPD 分析并找到种间标记. Keenan^[12] 根据同工酶和 mtDNA 的 COI 序列分析方法,结合形态、生态学特征,确认从东非到印度-西太平洋分布着 4 种青蟹,即 *S. serrata*、*S. tranquebarica*、*S. olivacea* 和 *S. paramamosain*. 高天翔^[23] 采用 Estampador 的分类系统,对采自泰国、马达加斯加和日本的 *S. serrata*、*S. oceanica*、*S. tranquebarica* 3 种青蟹的 mtDNA 12SrRNA 基因片段序列进行了测定分析. 这

些研究从分子水平证实了青蟹属的分类问题,同时也表明青蟹属种间的形态学差异确实足以成为种间区分标准.虽然 mtDNA 序列的差异不能作为种类划分的主要依据,但是在青蟹属的分类研究中,利用 mtDNA 基因序列、同工酶等分析手段得到了与形态学研究完全一致的分类结果^[12,24-25].

我们的研究结果证实青蟹属的 4 个种在我国均有分布.马凌波等^[14]、王玉江等^[16]通过 COI 序列与 GenBank 上的数据比对后认为,我国大陆东海沿海的主要种为 *S. paramamosain*.但限于样品数量和采样范围,没有发现 4 个种都存在的证据.在过去对我国青蟹属的研究中,各学者对优势种的研究均采用种名“锯缘青蟹”,其原因可能有以下几点:1)关于青蟹属的分类问题长期存有争议,一些学者认为只有一个种即锯缘青蟹 *S. serrata*.所发现的种间差异是由环境造成的,属个体差异.2)过去的资料信息不发达,青蟹属 4 个种很相似,其他 3 种在我国较少见,研究者没有机会比较不同种间的差异.从我们的研究结果看,优势种在形态上与 Keenan 描述的 *S. paramamosain* 特征相符^[12],其 mtDNA COI 序列与 GenBank 中的拟穴青蟹相似性达 99.43%,而与锯缘青蟹的差异达 12.51%.因此,无论从形态上还是从分子水平看,我国的青蟹优势种种名应为拟穴青蟹(*S. paramamosain* Estampador, 1949).

参考文献:

- [1] Estampador D P. Studies on *Scylla* (Crustacea:Portunidae), 1. Revision of the genus[J]. Phillip J Sci, 1949, 78: 95 - 108.
- [2] Serène R. Les especes du genre *Scylla* àNhatrang (Vietnam) [C]//Porc Indo-Pacific Fish Coun 3rd Meeting. Madras, 1952:133 - 137.
- [3] Stephenson W, Campbell B. The Australian Portunids (Crustacea:Portunidae). Remaining genera[J]. Aust J Mar Freshwat Res, 1960, 11(1): 73 - 122.
- [4] Holthuis L B. A collection of decapod crustacea from Sumba, Lesser Sunda Islands, Indonesia[J]. Zool Verh, 1978, 162:1 - 55.
- [5] Joel D R, Raj P J S. Taxonomic remarks on two species of the genus *Scylla* de Haan (Portunidae:Brachyura) from Pulicat Lake[J]. Journal of the Inland Fisheries Society of India, 1980, 12(2): 39 - 50.
- [6] Radhakrishnan C K, Samuel C T. Report on the occurrence of one subspecies of *Scylla serrata* (Forskål) in Cochin Backwaters[J]. Fisheries Technology, 1982, 19:5 - 7.
- [7] Oshiro N. Mangrove crabs (*Scylla* spp.) [R]//Shokita S, Kakazu K, Tomori A, et al, eds. Aquaculture in Tropical Areas. Tokyo:Midori Shobo Co., Ltd., 1991:218 - 229.
- [8] Kathirval M, Srinivasagam S. Taxonomy of the mud crab, *Scylla serrata* (Forskål), from India[C]//The Mud Crab: A Report of the Seminar on the Mud Crab Culture and Trade Held at Surat Thani, Thailand. Madras India: Bay of Bengal Programme, 1992, 51:211 - 221.
- [9] Fuseya R S Watanabe. Genetic variability in the mud crab genus *Scylla* (Decapoda:Portunidae) [J]. Fish Sci, 1996, 78(1): 95 - 109.
- [10] Overton J L, Macintosh D J, Thorpe R S. Multivariate analysis of the mud crab *Scylla serrata* (Brachyura:Portunidae) from four locations in Southeast Asia[J]. Marine Biology, 1997, 128:55 - 62.
- [11] Sugama K, John H. Genetic characterisation in the mud crab *Scylla* (Brachyura:Portunidae) [C]//Mud Crab Scientific Forum. Australia:Proceedings of a Workshop Held in Darwin, 1997:20 - 24.
- [12] Keenan C P, Davies P J F, Mann D L. A revision of the genus *Scylla* de Hann, 1833 (Crustacea:Decapoda:Brachyura:Portunidae) [J]. Raffles Bull Zool, 1998, 46: 217 - 245.
- [13] 林琪, 李少菁, 黎中宝, 等. 中国东南沿海青蟹属种类调查[J]. 水产学报, 2007, 31(2): 64 - 72.
- [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): 463 - 468.
- [15] 张凤英, 马凌波, 乔振国, 等. 青蟹线粒体 COI 假基因的分离和特征分析[J]. 遗传, 2006, 28(1): 43 - 49.
- [16] 王玉江, 高天翔, 韩志强, 等. 中国和越南青蟹线粒体 16S rRNA 基因序列分析[J]. 中国海洋大学学报, 2005, 35(4): 554 - 558.
- [17] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. Phytochemistry Bulletin, 1987, 19:11 - 15.
- [18] 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.
- [19] 郭天慧, 孔晓瑜, 陈四清, 等. 三疣梭子蟹线粒体 DNA 16SrRNA 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.
- [20] 林元烧, 方旅平, 曹文清, 等. 中华哲水蚤线粒体 DNA COI 基因序列分析[J]. 厦门大学学报:自然科学版, 2005, 44(1): 90 - 93.
- [21] 林元烧, 曹文清, 方旅平, 等. 中华假磷虾线粒体 DNA COI 基因片段序列分析[J]. 厦门大学学报:自然科学版, 2004, 43(6): 482 - 486.
- [22] Klinbunga A Boonyapakdee, Pratoomchat B. Genetic diversity and species-diagnostic markers of mud crabs

- (Genus *Scylla*) in eastern Thailand determined by RAPD analysis[J]. Marine Biotechnology,2000 ,2 :180 - 187.
- [23] 高天翔,王玉江,刘进贤,等. 3 种青蟹线粒体 12SrRNA 基因序列分析[J]. 水产学报,2005 ,29(3) :313 - 317.
- [24] Brown W M. Evolution of animal mitochondrial DNAs [M]//Nei M,Koehn R K,eds. Evolution of genes and proteins. Sinauer:Sunderland MA ,1983.
- [25] Lu G,Li S. Advances in the study and application of fish mitochondrial DNA polymorphism[J]. Journal of Fisheries of China ,1998 ,3 :94 - 103.

Sequence Analysis of mtDNA COI Gene and Molecular Phylogeny of Four Species in *Scylla* from the Coast of Southeast China

L IN Qi¹*, L I Shao-jing^{1**}, L I Zhong-bao², WANG Gui-zhong¹

(1. College of Oceanography and Environmental Science, State Key Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China;

2. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract : This paper deals with the sequence analysis of mitochondrial COI gene fragment and phylogenetic relationship of 4 mud crabs from the coast of southeast China, *Scylla serrata* (Forskål, 1775), *S. tranquebarica* (Fabricius, 1798), *S. olivacea* (Herbst, 1796), *S. paramamosain* (Estampador, 1949). The results show that genetic distance of inter-species is greater than that of intra-species. The genetic distance between dominant species and *S. paramamosain* is 0.001 3, and 0.121 3 between dominant species and *S. serrata*. The results of sequence analysis, genetic distance, and NJ clustering have proved that the dominant species is *S. paramamosain*.

Key words : *Scylla*; mtDNA COI; gene sequence; phylogeny