

doi: 10.7541/2016.157

两种眉足蟹科蟹类的形态特征与遗传多样性研究

丁鹏伟¹ 宋娜¹ 王雪梅² 韩志强³ 高天翔³

(1. 中国海洋大学海洋水产学院, 青岛 266003; 2. 日照市海洋与渔业研究所, 日照 276800;
3. 浙江海洋大学水产学院, 舟山 316022)

摘要: 研究描述了解放眉足蟹和日本冠鞭蟹的形态特征, 并基于线粒体 COI 基因片段分析了解放眉足蟹和日本冠鞭蟹的遗传多样性现状。解放眉足蟹的主要形态特征为体白色, 甲壳呈琵琶形, 背部中线隆起, 表面较光滑, 步足扁平, 指节弯曲明显; 日本冠鞭蟹的主要形态特征为体红褐色, 甲壳呈卵形, 头胸甲长大于甲宽, 有许多白色斑点, 步足简化成铲, 上有刚毛。在长度为659 bp的线粒体 COI 基因片段上, 解放眉足蟹20个个体共检测到15个单倍型, 平均GC含量为33.26%, 单倍型多样性为0.9421, 核苷酸多样性为0.0059; 日本冠鞭蟹20个个体共检测到15个单倍型, 平均GC含量为47.65%, 单倍型多样性为0.9415, 核苷酸多样性为0.0061。基于K-2P模型计算得到解放眉足蟹和日本冠鞭蟹种间遗传距离为0.2705, 解放眉足蟹个体间平均遗传距离为0.006, 日本冠鞭蟹个体间平均遗传距离为0.006, 种间遗传距离显著大于种内遗传距离。以*Emerita emeritus*为外群构建系统树, 不同蟹类分别形成各自独立的分支, 表明 COI 基因可以作为蟹类DNA条形码辅助分类。

关键词: 解放眉足蟹; 日本冠鞭蟹; 形态特征; 遗传多样性; 种类鉴定

中图分类号: Q173 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2016)06-1208-07

解放眉足蟹(*Blepharipoda liberate*)隶属于节肢动物门(Arthropoda)、软甲纲(Malacostraca)、十足目(Decapoda)、蟹总科(Hippoidea)、眉足蟹科(Blepharipodidae)、眉足蟹属(*Blepharipoda*)^[1]。日本冠鞭蟹(*Lophomastix japonica*)隶属于眉足蟹科(Blepharipodidae)、冠鞭蟹属(*Lophomastix*)^[2]。解放眉足蟹在我国主要分布于黄海沿岸, 在日本北海道到九州各部的沿海亦有分布。成体多为白色或青色, 常潜居在浅海底或岸边的砂中。日本冠鞭蟹在我国主要分布于黄海沿岸, 在日本北海道以北、库页岛以南鄂霍次克海亦有分布, 成体体色为红色或红褐色, 常隐伏在低潮线附近的细砂中^[1]。两种蟹类肉味鲜美, 有较高的经济价值。甲壳动物在我国开发利用广泛, 目前在山东省开展的增殖放流活动中, 甲壳类增殖放流的规模最大、分布最广, 属增殖效益高、见效快、收益广的种类, 在增殖放流中占绝对优势^[3]。近年来, 日照市水产研究所开展了解放眉足蟹的人工苗种培育工作, 目前解放眉足

蟹已被列为日照市财政资助的地方增殖放流品种。迄今, 国内外学者对两种蟹类的研究较少, 仅见日本学者对日本冠鞭蟹幼体发育的研究报道^[2]。

蟹类的传统鉴别方法主要是依据其外部形态, 包括头胸甲形状及表面的分布特征、颜色、侧齿的数目、各步足形态等。但是, 采用常规形态学方法鉴定蟹类存在以下几个缺陷^[4, 5]: (1)外部形态特征易受外界环境影响, 导致鉴定结果不准确; (2)形态学方法无法对隐存的分类单元进行鉴定; (3)形态学方法易受生物性别和发育阶段的影响。2003年, Hebert等首次提出利用线粒体细胞色素 c 氧化酶 I (COI)基因构建物种鉴别体系, 即DNA条形码技术(DNA barcoding)。DNA条形码作为一种物种鉴定的新兴技术, 可辅助形态学进行物种分类鉴定^[6]。近些年来, 许多研究证明基于 COI 的DNA条形码技术在物种鉴定、新记录种或新种的发现、隐存种发掘等发面的准确性^[7]。

目前国际上关于蟹类的分类还存在争议, Boyko

收稿日期: 2015-11-09; 修订日期: 2016-04-25

基金项目: 海洋公益性行业科研专项(201405010); 山东省农业良种工程(2013LZA11001)资助 [Supported by the Public Science and Technology Research Funds Projects of Ocean (201405010); Agricultural Engineering in Shandong Province (2013LZA11001)]

作者简介: 丁鹏伟(1990—), 男, 山东潍坊人; 硕士研究生; 主要从事渔业生态学研究。E-mail: dpw5wyq@163.com

通信作者: 高天翔(1962—), E-mail: gaotianxiang0611@163.com

于2002年利用形态特征将蝉蟹总科种类重新分类^[8], 但是采用线粒体 $CO I$ 基因作为DNA条形码进行蝉蟹鉴定的研究还未见报道。本研究采集了解放眉足蟹和日本冠鞭蟹的标本, 对其形态特征进行详细的描述, 并测定线粒体 $CO I$ 基因片段序列, 给出其正确的DNA条形码, 以期对蝉蟹分类及其深入研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究中的解放眉足蟹和日本冠鞭蟹于2013年10月采自日照近海。所有样品取肌肉于95%酒精中固定保存于中国海洋大学渔业生态学实验室。

1.2 实验方法

形态学研究对样品进行传统形态学测定并观察其形态特征。用游标卡尺测量其头胸甲长、头胸甲宽、第一触角长、第二触角长、第一侧齿间长、第二侧齿间长、第三侧齿间长, 精确到0.1 mm (图 1)。

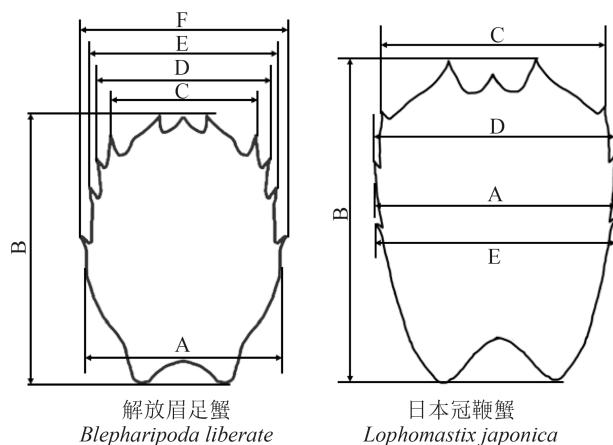


图 1 形态测量部位

Fig. 1 Body parts for morphological analysis

A. 头胸甲宽; B. 头胸甲长; C. 第一侧齿间长; D. 第二侧齿间长; E. 第三侧齿间长; F. 第四侧齿间长

A. carapace width; B. carapace length; C. the length between the first paired lateral denticles; D. the length between the second paired lateral denticles; E. the length between the third paired lateral denticles; F. the length between the fourth paired lateral denticles

遗传学研究取两种蟹适量肌肉组织, 采用酚-氯仿方法提取基因组DNA, 将乙醇沉淀后的基因组DNA溶解于100 μ L蒸馏水中, 4℃保存备用。用于扩增线粒体DNA $CO I$ 片段的引物为LCOI1490: 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'; HCO 2198: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATC A-3'^[9]。PCR反应体系为25 μ L, 包括1.25 U Taq DNA

聚合酶, 各种反应组分的终浓度为200 nmol/L的正反向引物; 200 μ mol/L的dNTP, 10 mmol/L Tris (pH 8.3), 50 mmol/L KCl和1.5 mmol/L $MgCl_2$; 反应条件为94℃预变性3min; 94℃变性45s, 50℃退火45s, 72℃延伸45s, 35个循环; 72℃延伸10min。以上反应均设阴性对照以排除DNA污染的情况。取2 μ L PCR扩增产物进行1%琼脂糖凝胶电泳检测($U=5$ V/cm), 用UNIQ-10柱式DNA胶回收试剂盒进行目的片段的回收纯化, 送上海桑尼生物科技有限公司进行双向测序。

1.3 数据处理

将测得的 $CO I$ 基因片段序列用DNASTar (DNASTAR, Inc)软件包中的Seqman软件进行比对, 并辅以人工校正。单倍型数目、多态位点、转换、颠换、插入/缺失等分子多态性指数使用ARLEQUIN软件进行统计获得。从GenBank上下载*Emerita emmeritus* (序列号为AF246159)作为外群用于本研究分析。用MEGA 4.0计算序列的碱基组成、种内和种间遗传距离, 并构建系统发育树。

2 结果

2.1 形态描述

解放眉足蟹头胸甲长17.2—26.4 mm, 头胸甲宽14.9—22.1 mm, 第一触角长20.5—22.2 mm, 第二触角长12.7—15.6 mm, 第一侧齿间长15.9—17.6 mm, 第二侧齿间长17.3—19.4 mm, 第三侧齿间长17.5—19.9 mm。解放眉足蟹体白色, 甲壳呈琵琶形, 胸部有头胸甲覆盖, 壳薄脆, 有4对胸足, 第一对胸足为螯足, 另3对为步足。螯足发育不完全, 指节由不动指节和可动指节组成, 不动指的咬合边有5个锐利的齿, 可动指呈弧状, 有2个大的锐利的齿。步足呈扁平状, 指节弯曲明显。头胸甲长明显大于甲宽, 背面中央有很深的W形细沟, 后侧缘内凹明显, 前侧缘每侧各有4个朝前的侧齿, 与头胸甲细沟相连, 额角明显, 分3齿, 左右两前齿更加突出, 前缘有许多小的齿状突起。腹部长且退化, 左右对称, 折于头胸甲之下, 较柔软, 上有一步足, 即第四步足。眼分前后两节, 前节较细, 比后节略微长点, 后节较粗, 可以向下曲折。尾部呈椭圆形(图 2)。

日本冠鞭蟹头胸甲长19.9—26.3 mm, 头胸甲宽14.2—23.1 mm, 第一触角长15.4—18.7 mm, 第二触角长12—14.7 mm, 第一侧齿间长12.4—14 mm, 第二侧齿间长14—17.6 mm, 第三侧齿间长15.7—20.1 mm。日本冠鞭蟹体红褐色, 头胸甲近卵形, 甲长明显大于甲宽, 前部有许多白色斑点, 头胸甲背面没有刚毛, 分步较多颗粒, 不光滑。额分三齿, 中

齿较小,另两齿较明显,尖锐。前侧缘每侧具明显的3个朝前的侧齿,侧齿尖锐,第二侧齿与第三侧齿间距较小,侧齿的数目为属间分类的重要依据。颈沟明显,近中部斜向内有一纵宽沟。眼呈细长的筒状,左右分开,第一触角比第二触角长。螯足上刚毛较多,表面具颗粒,发育不完全,上有不动指节,形态与步足显著不同,不动指节的内边缘有4到5个锐利的齿,指节呈钳状。步足呈扁平状,具颗粒和刚毛,指节弯曲明显,腕节呈三角形,长于掌节,外侧具纵沟。所有步足都简化成铲,便于挖掘(图2)。

2.2 CO I 基因序列特征及其变异

对解放眉足蟹和日本冠鞭蟹的CO I 基因片段进行PCR扩增双向测序,分别得到710 bp和704 bp的序列。经人工校正及比对分析得到同源片段序列长度为659 bp,编码219个氨基酸。解放眉足蟹种内个体间检测到了18个多态位点,简约信息位点10个,共定义了15个单倍型,19个核苷酸替代中出现了13个转换、6个颠换,转换颠换比为2.17,种内遗传距离0.006;日本冠鞭蟹上共检测到了18个多态位点,共定义了15个单倍型,20个核苷酸替代中14个转换、6个颠换,转换颠换比2.33,种内遗传距离0.006。解放眉足蟹的单倍型多样性、核苷酸多样性以及两两序列比较的平均碱基差异数分别为(0.9421±0.043)、(0.0059±0.0034)和(3.921±2.051);日本冠鞭蟹的单倍型多样性、核苷酸多样性及两

两序列比较的碱基差异数分别为(0.9415±0.048)、(0.0061±0.0035)和(4.169±2.168)(表1)。

用MEGA 4.0计算解放眉足蟹和日本冠鞭蟹序列的碱基组成,平均碱基组成为:解放眉足蟹: A: 30.20%、T: 36.54%、C: 16.44%、G: 16.81%, A+T含量(66.74%)高于C+G含量(33.26%);日本冠鞭蟹: A: 20.34%、T: 32.01%、C: 22.93%、G: 24.73%, A+T含量(52.35%)高于C+G含量(47.65%)。

将解放眉足蟹和日本冠鞭蟹共40个个体序列进行聚类 and 排序,共有同源序列长度为659 bp。用MEGA4.0计算了这40条序列的碱基组成,分析眉足蟹科线粒体CO I 基因特征。由表2可见,第3个密码子位点G+C含量(43.1%)显著高于第1和第2密码子位点(37.3%和40.7%),平均碱基组成为: A 28.5%、T 31.1%、G 20.5%、C 19.8%, A+T含量(59.6%)高于G+C(40.4%)。

在CO I 蛋白质编码基因部分片段中,大部分的突变是同义突变,最普遍的核苷酸替代是发生在密码子第三位点上的转换,其次是密码子第三位点上的颠换和第一位点上的无义转换^[10]。所有个体序列核苷酸变异情况见表3。全部位点中不变位点有464个,转换位点有131个,颠换位点有56个。其中不变位点属第三密码子位点最多,为161个;转换位点属第二密码子最多为49个、颠换位点属第三密码子最多为23个(表3)。



图2 解放眉足蟹和日本冠鞭蟹的背面及腹面图片
Fig. 2 The pictures of *Blepharipoda liberate* and *Lophomastix japonica* on upper and lower surfaces

表1 本研究中两种蟹类的各项遗传多样性参数

Tab. 1 Molecular diversity indices of *B. liberate* and *L. japonica*

物种名称 Species	解放眉足蟹 <i>Blepharipoda liberate</i>	日本冠鞭蟹 <i>Lophomastix japonica</i>
样本量Sample size	20	20
单倍型数目No. of haplotypes	15	15
单倍型多样性Haplotype diversity (<i>h</i>)	0.9421±0.043	0.9415±0.048
核苷酸多样性Nucleotides diversity (π)	0.0059±0.0034	0.0061±0.0035
两两序列间核苷酸差异数Average number of pairwise differences (<i>k</i>)	3.921±2.051	4.169±2.168

表 2 解放眉足蟹和日本冠鞭蟹共40个个体的CO I 基因部分序列中各碱基平均分布频率

Tab. 2 Average nucleotide frequencies of CO I partial sequences of *B. liberate* and *L. japonica* (%)

碱基 Base	总频率 Frequencies	1 st 位点 1 st conдон	2 nd 位点 2 nd codon	3 rd 位点 3 rd codon
T	31.1	35	26	32
C	19.8	18.7	15.4	25.3
A	28.5	27.5	33.6	24.6
G	20.5	18.6	25.3	17.8

基于核苷酸最佳替换模型HKY分别计算了不同种类蝉蟹间的遗传距离以及同种蝉蟹不同个体之间的平均遗传距离。解放眉足蟹和日本冠鞭蟹的种内遗传距离均为0.006, 其种间遗传距离为0.2705, 种间遗传距离明显大于种内遗传距离, 符合Hebert等推荐的10倍种内变异作为标记物种遗传分化的“标准序列阈值”^[5], 表明以CO I 基因作为DNA条形码对蝉蟹进行种类鉴定具有可行性。

以*Emerita emeritus*为外群构建邻接系统发育树(图 3), 进行1000次自展检验, 采用*P-distance*方法计算。从系统树可以看出, 同种蝉蟹的多个个体各自形成单系, 并且各节点支持率较高。

解放眉足蟹Tajima’s *D*值与Fu’s *F_s*值均未显著偏离中性(表 4), 核苷酸不配对分布分析的结果表明(图 4), 观测分布表现出双峰, 期望分布表现出单峰, 拟合优度检验显示观测分布与期望分布拟合较差, 观测分布平滑度较低(*SSD*=0.043, *P_{SSD}*=0.091, *H_{ri}*=0.131, *P_{Hri}*=0.074), 提示群体未发生群体扩张事件。日本冠鞭蟹核苷酸不配对分布呈单峰类型(图 4), 且观测值没有明显偏离期望值(*SSD*=0.005, *P_{SSD}*=0.862, *H_{ri}*=0.017, *P_{Hri}*=0.951), Fu’s检验中*F_s*值的结果与核苷酸不配对分布分析的结果也是一致的, *F_s*值显著偏离中性, 这一结果提示日本冠鞭蟹经历过近期群体扩张事件。

3 讨论

解放眉足蟹为我国学者沈嘉瑞于1948年在山东烟台海岸带物种调查时首次发现, 于1949年为其

正式命名, 并将其列入管须蟹科。2002年, Boyko将解放眉足蟹从管须蟹科移出, 并新设立眉足蟹科, 同时将冠鞭蟹属从管须蟹科移出, 放入眉足蟹科中。到目前为止, 我国关于蝉蟹总科的研究较少^[11, 12]。在爬行的十足类中, 除虾类(长尾类)和蟹类(短尾类)外, 还有一类介于虾蟹之间的异尾类, 其种类繁多, 有些甚至还保持着虾类的外形, 但身体构造比虾类复杂, 有些外表上已接近蟹类, 但构造和真正的蟹类仍存在一定差异^[1, 13]。解放眉足蟹和日本冠鞭蟹与铠甲虾总科同隶属于异尾下目, 但从外部形态上观察, 铠甲虾科种类与虾类亲缘关系更接近, 而解放眉足蟹和日本冠鞭蟹其头胸甲与蟹类较相似, 但其腹部没有腹甲, 与虾类较相似, 在形态上呈现了虾、蟹之间的过渡类型。解放眉足蟹和日本冠鞭蟹的胸部附肢一般比虾类更加粗壮有力, 腹部附肢与虾类相比显著退化^[14], 解放眉足蟹前侧缘共有侧齿4个, 而日本冠鞭蟹侧齿为3个, 侧齿的数目是属间重要的分类依据。与解放眉足蟹相比, 日本冠鞭蟹头胸甲上颗粒较多, 且背部横纹明显。解放眉足蟹第三步足背侧缘凹陷, 而日本冠鞭蟹则较平滑, 这也是其分类的重要依据之一。

蝉蟹的形态特征会因生长阶段和外部环境的不同而存在差异, 给传统形态分类工作带来很大困难, DNA条形码技术为其分类鉴定提供了辅助手段, 解决了形态学分类的一些问题。到目前为止CO I 基因片段是种类鉴定最有效的DNA条形码之一^[15], 已被广泛应用于物种鉴定^[5, 15]、隐存种的发掘^[16, 17]以及新纪录种或新种^[18, 19]的发现。Meyer等^[20]认为, 理想的DNA条形码检测到的同属内种间遗传差异应该明显大于种内遗传差异, 并在二者之间有一个明显的间隔区, 称作barding gap。较大的种间序列差异是对物种进行准确鉴定的先行条件, 本研究中, 解放眉足蟹和日本冠鞭蟹种间遗传距离为0.2705, 种内遗传距离为0.006, 种间遗传距离明显大于其种内遗传距离, 符合Hebert提出的理论, 表明线粒体CO I 序列作为解放眉足蟹和日本冠鞭蟹的DNA条形码具有可行性。

表 3 解放眉足蟹和日本冠鞭蟹共40个个体的CO I 部分序列各密码子碱基变异情况

Tab. 3 Variation sequences of CO I gene of *B. liberate* and *L. japonica*

密码子位点 Site	不变位点(个) Invariable sites	转换位点(<i>T_s</i>)(个) Transition sites	颠换位点(<i>T_v</i>)(个) Transversion sites	<i>R</i> = <i>T_s</i> / <i>T_v</i>
1 st 位点	150	46	20	2.3
2 nd 位点	153	49	13	3.76
3 rd 位点	161	36	23	1.56
全部位点	464	131	56	2.33

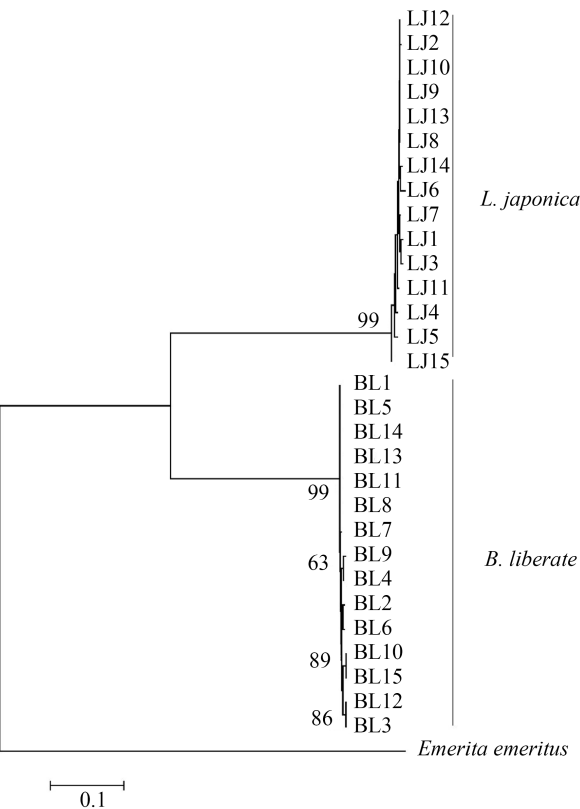


图3 基于蝉蟹CO I 序列构建的NJ树

Fig. 3 Neighbor-joining tree based on the mtDNA CO I gene data

A、T、C和G4种核苷酸在线粒体基因组中的分布呈不均一性, 是动物线粒体基因组的一个共性^[21, 22]。在本研究中, 解放眉足蟹CO I 基因序列GC含量为33.26%, 日本冠鞭蟹CO I 基因序列GC含量为47.65%, 其中, 第三密码子GC含量最高。本实验

表4 解放眉足蟹和日本冠鞭蟹中性检验参数

Tab. 4 Neutrality test for sudden expansion of *B. liberate* and *L. japonica*

物种Species	中性检验 Neutrality test			
	Tajima's D		Fu's F_s	
	D	P	F_s	P
解放眉足蟹 <i>Blepharipoda liberate</i>	-0.230	0.429	-1.510	0.179
日本冠鞭蟹 <i>Lophomastix japonica</i>	-0.912	0.191	-5.886	0.002

中解放眉足蟹和日本冠鞭蟹A+T含量均高于C+G含量, 与Pema和Kocher^[23]提出大多数后生动物线粒体基因组的共同特征是偏好于碱基A和T的观点一致。

历史动态分析结果显示, 解放眉足蟹的核苷酸不配对分布与群体扩张模型下的预期分布拟合度较差, 提示解放眉足蟹种群稳定, 没有经历群体扩张事件; 而日本冠鞭蟹的核苷酸不配对分布与群体扩张模型下的预期分布吻合良好, Fu's F_s 值呈负值且统计检验显著($P<0.05$), 表明日本冠鞭蟹历史上曾发生过群体扩张事件。遗传多样性是生物多样性的重要组成部分, 一个种群的遗传多样性与其对环境的适应能力呈正相关关系。本研究中, 解放眉足蟹和日本冠鞭蟹的单倍型多样性(h)和核苷酸多样性(π)均较高, 表现出丰富的遗传多样性。

DNA条形码技术与传统形态学分类相结合, 可以极大的提高分类效率, 本研究中解放眉足蟹和日本冠鞭蟹各自的所有个体都形成单系, 表明利用线粒体CO I 基因片段区解放眉足蟹和日本冠鞭蟹

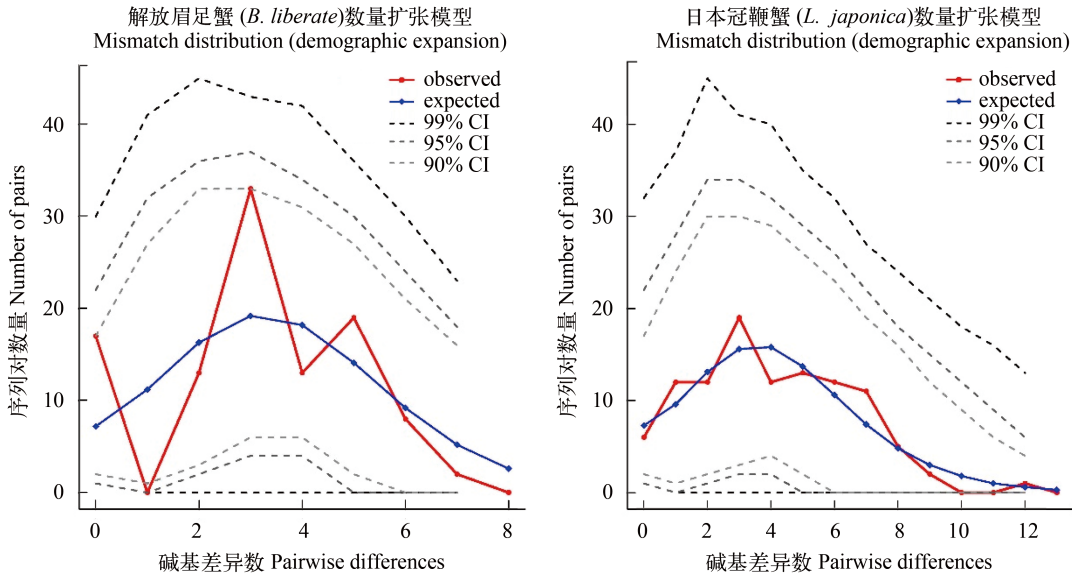


图4 解放眉足蟹(左)和日本冠鞭蟹(右)核苷酸不配对分布图

Fig. 4 The mismatch distribution of *B. liberate* (left) and *L. japonica* (right) based on mtDNA cytochrome oxidase I sequences

具有可行性。同时 *CO I* 基因片段也阐明了两种眉足蟹科蟹类的遗传多样性现状, 为后续相关研究的开展奠定基础。

参考文献:

- [1] Shen J R, Liu R Y. China's Shrimps and Crabs [M]. Beijing: Science Press. 1976, 14—129 [沈嘉瑞, 刘瑞玉. 我国的虾蟹. 北京: 科学出版社. 1976, 14—129]
- [2] Konishi K. Larval development of the spiny sand crab *Lophomastix japonica* (Duroufflé, 1889) (Crustacea, Anomura, Albuneidae) under laboratory conditions [J]. *Publications of the Seto Marine Biological Laboratory*, 1987, **32**(1—3): 123—139
- [3] Zhang X M, Wang X J, Tu Z, *et al.* Current status and prospect of fisheries resource enhancement in Shandong Province [J]. *Chinese Fisheries Economics*, 2009, **27**(2): 51—58 [张秀梅, 王熙杰, 涂忠, 等. 山东省渔业资源增殖放流现状与展望. 中国渔业经济, 2009, **27**(2): 51—58]
- [4] Arndt A, Marquez C, Lambert P, *et al.* Molecular phylogeny of eastern Pacific sea cucumbers (Echinodermata: Holothuroidea) based on mitochondrial DNA sequence [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1996, **6**(3): 425—437
- [5] Hebert P D N, Cywinska A, Ball S L. Biological identifications through DNA barcodes [J]. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 2003, **270**(1512): 313—321
- [6] Liu S F, Chen L L, Dai F Q, *et al.* Application of DNA barcoding gene *CO I* for classifying family Sciaenidae [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2010, **41**(2): 223—232 [柳淑芳, 陈亮亮, 戴芳群, 等. 基于线粒体 *CO I* 基因的DNA条形码在石首鱼科(Sciaenidae)鱼类系统分类中的应用. 海洋与湖沼, 2010, **41**(2): 223—232]
- [7] Hajibabaei M, Janzen D H, Burns J M, *et al.* DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, **103**(4): 968—971
- [8] Boyko C B. A Worldwide Revision of the Recent and Fossil Sand Crabs of the Albuneidae Stimpson and Blepharipodidae, New Family (Crustacea: Decapoda: Anomura: Hippoidea) [M]. Bulletin of the American Museum of Natural History. 2002, 1—396
- [9] Folmer O, Black M, Hoeh W, *et al.* DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates [J]. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1994, **3**(5): 294—299
- [10] Meyer A. Evolution of mitochondrial DNA in fishes [J]. *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*, 1993, **2**: 1—38
- [11] Yang S L, Sun X M. A new record of Albuneidae (Crustacea: Decapoda) from China [J]. *Zoological Systematics*, 1979, **4**(3): 203 [杨思谅, 孙秀敏. 中国管须蟹科新记录. 动物分类学报, 1979, **4**(3): 203]
- [12] Wang F Z. A new record of Hippidea from China [J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 1989, **8**(1): 39 [王复振. 中国蝉蟹类新记录. 四川动物, 1989, **8**(1): 39]
- [13] Hu Y T, Yang S R, Li M Z, *et al.* Population differentiation of *Cultrichthys erythropterus* in Poyang Lake and Dongting Lake [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2015, **39**(1): 13—23 [胡玉婷, 杨少荣, 黎明政, 等. 鄱阳湖及洞庭湖红鳍原鲃的群体分化研究. 水生生物学报, 2015, **39**(1): 13—23]
- [14] Chen H L, Sun H B. Fauna Sinica [M]. Beijing: Science Press. 2002, 3—17 [陈惠莲, 孙海宝. 中国动物志无脊椎动物甲壳动物亚门十足目海洋低等蟹类. 北京: 科学出版社. 2002, 3—17]
- [15] Zhang X Y, Liu Y, Zhang X M, *et al.* Species identification of some commercial fishes in Southwest Atlantic based on *CO I* barcoding [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, **38**(6): 1161—1167 [张馨月, 刘岩, 张秀梅, 等. 基于 *CO I* 基因的西南大西洋部分经济鱼类DNA条形码鉴定. 水生生物学报, 2014, **38**(6): 1161—1167]
- [16] Hajibabaei M, Singer G A C, Hebert P D N, *et al.* DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics [J]. *Trends in Genetics*, 2007, **23**(4): 167—172
- [17] Zemlak T S, Ward R D, Connell A D, *et al.* DNA barcoding reveals overlooked marine fishes [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2009, **9**(Sup.): 237—242
- [18] Gao T X, Ji D P, Xiao Y S, *et al.* Description and DNA barcoding of a new *Sillago* species, *Sillago sinica* (Perciformes: Sillaginidae), from coastal waters of China [J]. *Zoological Studies*, 2011, **50**(2): 254—263
- [19] Li Y, Zhang L Y, Song P Q, *et al.* A new record of *Sillago* species in Fujian coastal waters—*Sillago sinica* (Gao and Xue, 2011) [J]. *Journal of Applied Oceanography*, 2014, **33**(4): 546—552 [李渊, 张丽艳, 宋普庆, 等. 福建省沿海鲳属(*Sillago*)鱼类新记录种—中国鲳(*Sillago sinica* Gao and Xue, 2011). 应用海洋学学报, 2014, **33**(4): 546—552]
- [20] Meyer C P, Paulay G. DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling [J]. *PLoS Biology*, 2005, **3**(12): 2229—2238
- [21] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, *et al.* The CLUSTAL X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. *Nucleic Acids Research*, 1997, **25**(24): 4876—4882
- [22] Guan C L, Li J J, Guo B Y. Genetic diversity evaluation

by the comparative analysis on mitochondrial *CO I* gene between wild and cultured populations of *Mytilus coruscus* [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2012, **40**(13): 7660—7662 [管成林, 李继姬, 郭宝英. 基于线粒体 *CO I* 基因比较分析野生与养殖厚壳贻贝种群的遗传多样性. 安徽农业科学, 2012, **40**(13): 7660—7662]

[23] Perna N T, Kocher T D. Patterns of nucleotide composition at fourfold degenerate site of animal mitochondrial genomes [J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1995, **41**(3): 353—358

THE MORPHOLOGICAL CHARACTERS AND GENETIC DIVERSITY OF *BLEPHARIPODA LIBERATE* SHEN AND *LOPHOMASTIX JAPONICA*

DING Peng-Wei¹, SONG Na¹, WANG Xue-Mei², HAN Zhi-Qiang³ and GAO Tian-Xiang³

(1. Fisheries College, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Rizhao Ocean & Fisheries Research Institute, Rizhao 276800, China; 3. Fishery College, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China)

Abstract: The present study described the morphological characters of *Blepharipoda liberate* and *Lophomastix japonica*, and analyzed the genetic diversity of two species based on *CO I* gene. The diagnostic characters of *B. liberate* are as following: Carapace approximately 1.3 times longer than wide; strongly keeled medially; anterior margin with large rugosi spine on either side of ocular sinus; frontal region smooth with few low teeth posterior to rostrum. The diagnostic characters of *L. japonica* are as following: Carapace approximately 1.2 times longer than wide; gently keeled medially; anterior margin with proximally broad and distally narrowing rugose outer-ocular spines on either side of ocular sinus, concave medially. The gene diversity and nucleotide diversity of *B. liberate* based on *CO I* gene were 0.942 ± 0.043 and 0.0059 ± 0.0034 , respectively. The gene diversity and the nucleotide diversity of *L. japonica* were 0.941 ± 0.0048 and 0.0061 ± 0.0035 , respectively. The K-2P distance was 0.2705 between the *B. liberate* and *L. japonica*, and these two species were distributed into two distinct branches based on neighbor-joining tree analysis, which reinforces the validity of DNA barcoding on classification of Blepharipodidae based on *CO I* gene.

Key words: *Blepharipoda liberate* Shen; *Lophomastix japonica*; Morphological characters; Genetic diversity; Identification