

DOI: 10.11964/jfc.20230313946

大管鞭虾线粒体全基因组测定及对虾总科的系统发育



孙毓蔓¹, 陈健¹, 徐开达^{2,3*}, 叶莹莹^{1*}

1. 浙江海洋大学, 海洋与渔业研究所, 国家海洋设施养殖工程技术研究中心, 浙江舟山 316022; 2. 浙江省海洋水产研究所, 浙江舟山 316021; 3. 农业农村部重点渔场渔业资源科学观测实验站, 浙江省海洋渔业资源可持续利用技术研究重点实验室, 浙江舟山 316021

摘要:

【目的】拓展管鞭虾科虾类的分子鉴定技术、种质资源评价以及系统进化等研究。

【方法】通过二代高通量测序技术得到大管鞭虾线粒体全基因组, 对线粒体基因进行注释并对其序列结构进行分析。

【结果】大管鞭虾线粒体全基因组序列全长为 15 940 bp, 碱基组成为 A (35.66%)、T (32%)、G (11.14%)、C (21.20%); A+T 含量为 67.66%, 表现出明显的 AT 偏向性。大管鞭虾线粒体共编码 37 个基因, 包括 13 个蛋白质编码基因 (PCGs), 22 个 tRNA 和 2 个 rRNA; 其中 14 个基因位于负链, 23 个基因位于正链, 与其他管鞭虾线粒体基因组相似。从对虾总科下的 5 科中选取 10 个物种为代表进行选择压力分析, 发现在进化过程中对虾总科所有蛋白质编码基因都受到纯化选择作用。另外通过结合对虾总科下 5 科共 32 个物种的线粒体全基因组的 13 个蛋白质编码基因构建了系统发育树, 结果支持管鞭虾科的单系性, 以及大管鞭虾与中华管鞭虾亲缘关系最近。

【结论】研究结果弥补了大管鞭虾分子生物学领域的空白, 明确了大管鞭虾的系统进化地位, 通过比较物种之间的基因重排特点和构建系统发育树来探讨对虾总科种间进化规律, 为对虾总科系统发育的研究提供了更多参考。

关键词: 大管鞭虾; 对虾总科; 线粒体基因组; 系统发育分析

第一作者: 孙毓蔓, 从事海洋生物学研究, E-mail: 929691700@qq.com



通信作者: 徐开达, 从事渔业资源和海洋生态研究, E-mail: xkd1981@163.com;

叶莹莹, 从事海洋生物学研究, E-mail: yeyy@zjou.edu.cn

资助项目: 2023年浙江渔场渔业资源动态监测调查项目; 舟山市科技计划项目 (2021C21017)

收稿日期: 2023-03-22

修回日期: 2023-07-22

文章编号:

1000-0615(2025)03-039102-16

中图分类号: Q 785; S 917.4

文献标志码: A

作者声明本文无利益冲突

©《水产学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)
Copyright © Editorial Office of Journal of Fisheries of China (CC BY-NC-ND 4.0)

十足目 (Decapoda) 枝鳃亚目 (Dendrobranchiata) 包含对虾总科 (Penaeoidea) 和樱虾总科 (Sergestoidea) 两个总科, 其中对虾总科物种更为丰富, 包含 400 多个物种, 是浅水和深海底栖动物群落的重要成员, 是世界海洋深层、中层, 甚至浮游生物群落的贡献者^[1-2]。对虾总科物种具有重要的经济价值, 其捕获量占每年野生甲壳类动物捕获量的三分之一以上^[3]。由于对虾总科具有较高的形态多样性和生态多样性 (栖息环境复杂、生活方式丰富多样)^[4], 这一总科一直是生物学和遗传学研究的热点。早期的研究确定了对虾总科内的 4 个科, 分



别是管鞭虾科 (Solenoceridae)、匙指虾科 (Aristeidae)、对虾科 (Penaeidae) 和单肢虾科 (Sicyoniidae) [5-6]。随着一些学者对对虾总科分类学研究的深入, 深对虾科 (Benthescymidae) 被加入这一总科 [3, 7]。

关于对虾总科内部的分类学和系统学一直存在争议, 先前的一些基于线粒体基因或核基因的系统发育研究结果显示, 除了单肢虾科和对虾科, 对虾总科其余 3 科的物种各自聚为一支, 而单肢虾科因为在系统发育树中嵌入对虾科一支, 被认为可能不是一个有效的科 [2-3, 7-8]。Cronin 等 [8] 基于 13 个线粒体蛋白质编码基因 (PCGs) 进行的系统发育结果显示, 对虾科的哈氏仿对虾 (*Mierspenaeopsis hardwickii*) 聚在管鞭虾科一支中。而 Vázquez-Bader 等 [9] 基于 16S rRNA 构建的系统发育树则显示, 对虾科中的假长缝拟对虾 (*Parapenaeus fissuroides*)、须赤虾 (*Metapenaeopsis barbata*) 和 *Penaeopsis serrata* 与管鞭虾科的物种聚为一支, 同时深对虾科和匙指虾科又嵌入单肢虾科一支。上述结果表明管鞭虾科和单肢虾科似乎也具有多系性。尽管已有不少利用分子生物学手段对对虾总科内部发育问题的探讨 [2-3, 7-9], 但由于这些研究所涉及的物种不多或仅仅是基于部分基因片段研究, 对虾总科内部的系统进化关系一直没有得到全面的研究。

大管鞭虾 (*Solenocera melantho*) 隶属于对虾总科管鞭虾科管鞭虾属 (*Solenocera*), 俗称大红虾或外海红虾 [10], 体表为淡红色, 是一般体长 40~130 mm、体重 1~25 g 的中型虾类 [11], 其栖息地广泛分布于日本沿海以及中国的东海和南海海域 [1, 12-14]。大管鞭虾的生物量丰富, 近年来占据甲壳动物的第 2 位 [15], 是东海外海的生态系统中重要的底栖生物之一 [16-17], 也是东海北部外海和南海海域拖网作业的重要捕捞物种之一, 具有很高的经济价值 [11]。目前对于大管鞭虾的研究有生物学特性、生态分布特征、人工饲养等方面 [10-14, 18-19], 有关其分子生物学及系统进化地位等的研究较少, 尚未有关于其线粒体基因组的分析。

后生动物基因组包括核基因组 (nuclear genomes) 和线粒体基因组 (mitochondrial genomes), 由于线粒体基因组 DNA (mt DNA) 相对核基因组来说序列长度较短, 基因信息丰富, 易于

分离 [20], 并且具有母系遗传、高保守低突变、基因进化速率快等特点 [21-22], 常被用于群体遗传结构、基因组进化、物种鉴定及系统发育等方面的研究 [21, 23-24]。后生动物的线粒体基因组通常为闭合的环状双链结构, 分子长度约为 14~20 kb, 包括 13 个蛋白质编码基因、22 个 tRNA 基因、2 个 rRNA 基因和 1 个控制区 (control region) [25]。近年来, 由于新一代测序技术快速发展, 高通测序技术也日趋成熟, 完整的线粒体基因组变得更容易获得 [22]。本研究利用二代高通量测序技术对大管鞭虾的线粒体基因组进行测序, 分析其线粒体基因组特征和功能, 并通过评估蛋白编码基因的 AT 偏斜值和相对同义密码子使用频率 (RSCU) 以了解基因功能, 弥补了大管鞭虾分子生物学领域的空白, 明确了大管鞭虾的系统进化地位, 为管鞭虾科虾类的分类鉴定、种质资源评价提供了分子证据和理论参考。同时通过比较物种之间的基因重排特点和构建系统发育树来探讨对虾总科种间进化规律, 以期为更好地理解对虾总科亲缘关系及对对虾总科分类提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集、鉴定和 DNA 提取

大管鞭虾的标本采集自中国浙江省舟山附近海域 (30°54'2"N, 122°31'33"E), 2019 年 4 月通过底拖网捕捞并参照《中国海洋生物图集》(第六册) [26] 对标本进行初步的形态鉴定, 并咨询浙江海洋大学海洋生物博物馆形态学专家来确认鉴定结果。解剖大管鞭虾得到新鲜腹节肌肉组织, 并在提取 DNA 前保存于无水乙醇中。使用盐析法提取总 DNA [27], 并通过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的质量, 提取的 DNA 储存在 -20 °C。本研究获得了浙江海洋大学实验动物管理和使用伦理委员会批准, 实验过程中操作人员严格遵守浙江海洋大学伦理规范, 并按照浙江海洋大学伦理委员会制定的规章制度执行。

1.2 线粒体基因组的注释以及序列的组装和分析

大管鞭虾的完整线粒体基因组由上海元莘生物医药科技有限公司使用二代测序技术进行

测序。提取的 DNA 样品在检测合格后进行纯化构建测序文库。测序前对建好的文库进行质检, 质检合格后采用 Illumina HiSeq™ 平台测序。下机后的数据进行质控, 过滤测序质量值低的读段和重复读段 (duplication reads), 获得高质量的读段 (clean data)。使用 NOVOPlasty 软件^[28]对高质量的读段进行组装。通过在线软件 MITOS(<http://mitos2.bioinf.uni-leipzig.de/index.py>)进行结构功能注释, 识别其 tRNA 的数量和二级结构, 而后使用 PhotoShop 软件对 tRNA 的二级结构图进行美化, 并手动校正起始、终止密码子位置。为了确保序列正确, 实验将组装的线粒体基因组与其他管鞭虾科物种进行了比较, 并使用 *cox1* 条形码序列通过 NCBI (美国国家生物技术信息中心) BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 搜索鉴定线粒体基因组序列^[29]。使用 Sequin 软件对大管鞭虾全基因组序列进行注释。利用 CGView 服务器 (<http://cgview.ca/>) 绘制线粒体基因组环形图。利用 MEGA 7^[30] 计算大管鞭虾线粒体基因组的碱基组成、氨基酸使用情况及相对同义密码子使用率 (relative synonymous codon usage, RSCU)。AT 和 GC 偏斜值计算公式: $AT-skew=(A-T)/(A+T)$ 和 $GC-skew=(G-C)/(G+C)$ ^[31]。同时使用 DnaSP6.0^[32] 计算 *Ka/Ks* (非同义替换值与同义替换值) 比值。

1.3 系统发育进化树构建

从 GenBank 中下载对虾总科下的 36 个物种线粒体全基因组序列 (表 1), 以和樱虾总科下的 2 个物种樱花虾 (*Lucensosergia lucens* NC_037043) 和中国毛虾 (*Acetes chinensis* NC_061931) 的线粒体全基因组序列为外群。使用 DAMBE 7^[33] 识别每个物种的 13 个蛋白质编码基因, 将每个物种的蛋白质编码基因以相同的顺序连接在一起, 组合成一个统一的序列, 得到用来构建系统发育树的序列集。使用 MEGA X^[34] 的 ClustalW 比对这 39 个物种的蛋白质编码基因, 比对后的序列用来构建系统发育树。

通过使用程序 MrBayes v3.2^[35] 进行贝叶斯法 (BI) 建树时, 贝叶斯建树模型测试首先使用 PAUP 4 软件进行格式转换, 再结合 MrModeltest 中的 PAUP 4、ModelTest 3.7^[36] 和 MRModelTest 2.3^[37] 软件, 根据 AIC 信息准则^[38-39] 确定最佳替代模型 GTR+I+G。通过 MCMC (Markov

Chain Monte Carlo) 抽样法进行 BI 树分析, 每 1 000 代抽样 1 次, 一共运行 200 万代, 初始 25% 的采样数据作为老化数据丢弃, 根据剩余样本构建发育树。通过程序 IQ-TREE 进行最大似然法 (ML) 建树^[40] 时, 使用 ModelFinder 计算筛选最佳替换模型 (GTR+F+I+G4) 构建 ML 树^[41]。最后使用软件 FigTree v1.4.3 对进化树进行编辑和美化^[42]。

2 结果

2.1 线粒体基因组结构与特征

将获得的大管鞭虾线粒体全基因组序列经过注释后上传至 NCBI 数据库, 获得 GenBank 登录号为 ON243750。大管鞭虾线粒体全基因组序列为典型的环状结构 (图 1), 线粒体基因组全长为 15 940 bp, 基因组各基因排列紧密, 基因之间存在部分碱基重叠现象, 在 12S *rRNA* 和 *trnI* 之间存在非编码碱基序列。基因组碱基组成为 A (35.66%)、T (32.00%)、G (11.14%)、C (21.20%); A+T 含量为 (67.66%), 高于 G+C 的含量 (33.34%), 表现出明显的 AT 偏向, 且 AT 偏斜值为 0.054, 而 GC 偏斜值为 -0.311 (表 2)。大管鞭虾线粒体全基因组序列共包含了 13 个蛋白质编码基因, 22 个 tRNA 基因和 2 个 rRNA 基因。

2.2 大管鞭虾线粒体基因组 rRNA、tRNA 分析

大管鞭虾线粒体基因组序列中的 12S *rRNA* 由 856 个碱基组成, 16S *rRNA* 由 1 402 个碱基组成, 其中 12S *rRNA* 位于 *trnV* 和 *trnI* 之间, 而 16S *rRNA* 则位于 *trnL1* 和 *trnV* 之间 (表 2)。22 个 tRNA 的序列总长度为 1 479 bp, 长度范围为 58~72 bp, 长度最短的为 *trnY*, 最长的为 *trnV*, 其中 *trnS* 和 *trnL* 基因各有 2 个 (图 3)。*trnS1* 基因缺失二氢尿嘧啶臂 (DHU arm), *trnY* 基因缺失氨基酸接受臂 (accepter stem), 其余 20 个 tRNA 均具有典型的三叶草二级结构 (图 2)。共出现 32 对错配: DHU 臂和反密码子臂上各有 7 对, 氨基酸接受臂上有 13 对, TΨC 臂上有 5 对; 错配数量最多的为 G-U, 共 29 对。此外, *trnS2* 基因的反密码子臂上存在 1 对 U-U 不配对, TΨC 臂上存在 1 对 G-G 不配对; *trnE* 基因的氨基酸接受臂上存在 1 对 A-A 不配对。

表 1 本研究中分析的物种列表及其 GenBank 登录号

Tab. 1 List of species analyzed in this study with their GenBank accession numbers

总科 superfamily	科 family	种 species	长度/bp length	登录号 GenBank accession no.	
对虾总科 Penaeoidea	管鞭虾科 Solenoceridae	*大管鞭虾 <i>S. melantho</i>	15 940	ON243750	
		阿根廷红虾 <i>Pleoticus muelleri</i>	16 189	NC_039964	
		海神膜对虾 <i>Hymenopenaeus neptunus</i>	15 905	NC_039169	
		中华管鞭虾 <i>S. crassicornis</i>	15 942	MF379621	
			/ <i>Gordonella paravillosa</i>	15 916	NC_039172
	对虾科 Penaeidae	鹰爪虾 <i>Trachysalambria curvirostris</i>	15 956	MK681887	
		刀额新对虾 <i>Metapenaeus ensis</i>	15 956	MK500697	
		周氏新对虾 <i>M. joyneri</i>	16 008	NC_042173	
		近缘新对虾 <i>M. affinis</i>	16 027	NC_039179	
		中型新对虾 <i>M. intermedius</i>	15 966	NC_079639	
		/ <i>Alcockpenaeopsis hungerfordii</i>	15 952	NC_038069	
		加州对虾 <i>Penaeus californiensis</i>	15 975	EU497054	
		南美蓝对虾 <i>P. stylirostris</i>	15 988	EU517503	
		日本囊对虾 <i>P. japonicus</i>	15 966	MG772559	
		中国明对虾 <i>Fenneropenaeus chinensis</i>	16 009	DQ656600	
		印度对虾 <i>P. indicus</i>	16 071	NC_031366	
		墨吉对虾 <i>P. merguensis</i>	16 023	NC_026884	
		长毛对虾 <i>P. penicillatus</i>	16 034	KX891351	
		宽沟对虾 <i>P. latisulcatus</i>	15 971	NC_040140	
		斑节对虾 <i>P. monodon</i>	15 984	NC_002184	
		凡纳滨对虾 <i>Litopenaeus vannamei</i>	15 990	NC_009626	
		短沟对虾 <i>P. semisulcatus</i>	16 002	MG821354	
		对虾未定种 <i>Penaeus</i> sp.	15 991	MG650292	
		/ <i>P. duorarum</i>	15 971	NC_068255	
		须赤虾 <i>M. barbata</i>	15 973	NC_040139	
	戴氏赤虾 <i>M. dalei</i>	15 939	NC_029457		
	细巧仿对虾 <i>Batepenaeopsis tenella</i>	15 893	MK164420		
哈氏仿对虾 <i>M. hardwickii</i>	15 959	KU899136			
假长缝拟对虾 <i>P. fissuroides</i>	15 937	MN602453			
深对虾科 Benthescymidae	/ <i>Benthonectes filipes</i>	17 361	NC_039171		
	小屈腕虾 <i>Gennadas parvus</i>	15 917	NC_039170		
匙指虾科 Aristeidae	叶状拟须虾 <i>Aristaeomorpha foliacea</i>	15 926	NC_039153		
	雄壮鬚虾 <i>Aristeus virilis</i>	15 936	NC_039154		
	长带似须虾 <i>Aristaeopsis edwardsiana</i>	15 921	OP650928		
单肢虾科 Sicyoniidae	副日单肢虾 <i>Sicyonia parajaponica</i>	15 918	MF379619		
	披针单肢虾 <i>S. lancifer</i>	15 926	NC_039168		
	日本单肢虾 <i>S. japonica</i>	15 918	NC_039167		
樱虾总科 Sergestoidea	樱虾科 Sergestidae	樱花虾 <i>L. lucens</i>	16 087	NC_037043	
		中国毛虾 <i>A. chinensis</i>	15 740	NC_017600	

注: 新测序的大管鞭虾用*标记; “/”代表该物种无中文名, 图6同。

Notes: The newly sequenced *S. melantho* is marked with “*”; the “/” indicates that there is no Chinese name for the species, the same as Fig.6.

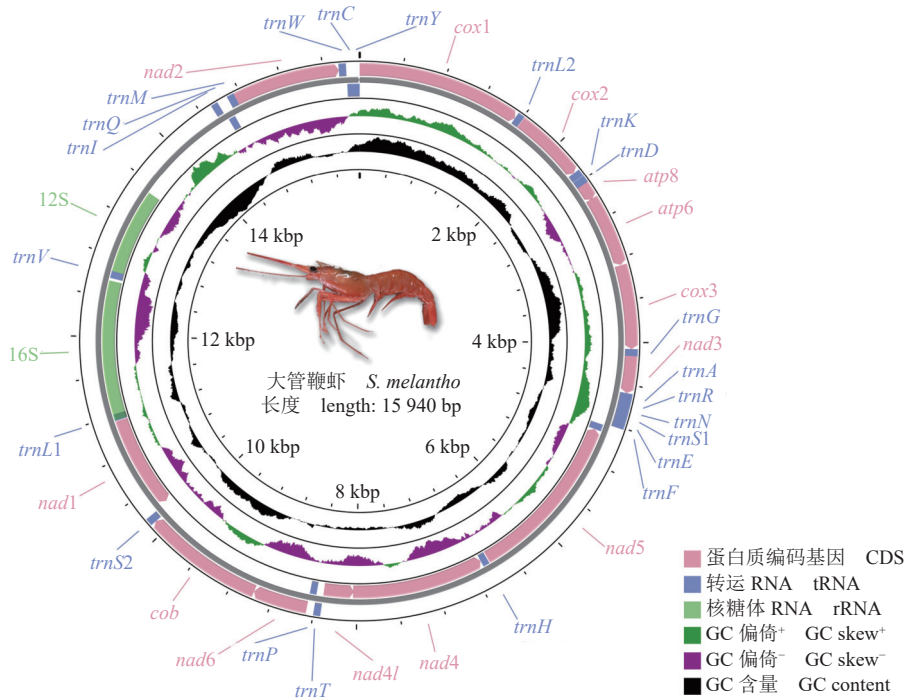


图 1 大管鞭虾线粒体基因组图谱

Fig. 1 Gene map of the mitochondrial genome of *S. melantho*

2.3 大管鞭虾蛋白质编码基因分析

大管鞭虾线粒体基因组含有 13 个蛋白质编码基因, 9 个 (*cox1*、*cox2*、*atp8*、*atp6*、*cox3*、*nad3*、*nad2*、*nad6*、*cob*) 在正链上编码蛋白, 4 个 (*nad5*、*nad4*、*nad4l*、*nad1*) 在负链上编码蛋白 (表 3)。PCGs 序列全长为 11 169 bp, A+T 含量为 65.88%, AT 偏度为 -0.158, 具有明显的 AT 偏好性 (表 2)。

大管鞭虾的 13 个蛋白质编码基因有 5 种起始密码子 (ATG、ACG、ATC、ATT、ATA), 其中以 ATG 为起始密码子的基因有 7 个, 为 *cox2*、*atp6*、*cox3*、*nad4*、*nad4l*、*cob* 和 *nad1*; 以 ATT 为起始密码子的是 *nad2*、*nad5* 和 *nad6*; *cox1*、*atp8* 和 *nad5* 的起始密码子分别为 ACG、ATC 和 ATA。至于终止密码子, *cox1*、*cox2*、*cox3*、*nad3* 和 *nad5* 基因的终止密码子为不完全密码子, 均为 T--, *cob* 的终止密码子为 TAG, 其余所有蛋白质编码基因均使用 TAA 作为终止密码子 (表 3)。

2.4 大管鞭虾同义密码子相对使用频率 (RSCU) 分析

使用 MEGA 7 分析得到大管鞭虾线粒体全基因组同义密码子相对使用频率 (RSCU), 对密

码子使用偏好性进行分析 (图 3, 表 4)。结果显示, 大管鞭虾 13 个蛋白质编码基因中存在 33 个偏好密码子 ($RSCU \geq 1$)。从蛋白编码基因密码子使用频率表可以看出, 密码子使用频率较高的依次是 GGA (G)、UUA (L) 和 CGA (R), 使用频率相对较低的为 GCG (A)、GUG (V)、ACG (T)、CUG (L) 和 UCG (S)。密码子第 3 位是 A、U 碱基的密码子但除 CGU (R)、AGU (S) 和 GCA (A) 以外, 密码子相对使用频率值均大于 1, 表现出对这 2 种碱基的使用偏好性。总长度为 11 169 bp 的蛋白质编码基因序列共编码氨基酸的数量为 3 723 个, 从氨基酸的组成来看, 大管鞭虾线粒体基因组中最常见氨基酸为亮氨酸 (Leu), 含量为 13.24%, 其次是丝氨酸 (Ser)。使用最少的是半胱氨酸 (Cys) 和精氨酸 (Arg), 含量分别是 1.11% 和 1.57%。

2.5 选择压力分析

本研究从对虾总科下选取 10 个物种为代表来研究对虾总科线粒体基因组选择压力, 这 10 个物种包括管鞭虾科的大管鞭虾和阿根廷红虾, 对虾科的日本囊对虾和斑节对虾, 深对虾科的小屈腕虾和 *B. filipes*, 匙指虾科的叶状拟须虾和 *A. virilis*, 以及单肢体虾科的披针单肢虾

表 2 大管鞭虾线粒体基因组碱基组成比较

Tab. 2 The skewness of the *S. melantho* mitogenome

基因名称 genes name	长度/bp length	A/%	T/%	G/%	C/%	A+T/%	C+G/%	AT-skew	GC-skew
Mitogenome	15 940	35.66	32.00	11.14	21.20	67.66	32.34	0.054	-0.311
PCGs	11 169	27.75	38.13	15.88	18.24	65.88	34.12	-0.158	-0.069
<i>cox1</i>	1 543	29.03	32.27	15.62	23.07	61.30	38.70	-0.053	-0.193
<i>cox2</i>	688	30.52	32.85	13.66	22.97	63.37	36.63	-0.037	-0.254
<i>atp8</i>	159	38.36	34.59	4.40	22.64	72.95	27.05	0.052	-0.674
<i>atp6</i>	675	30.37	36.00	11.41	22.22	66.37	33.63	-0.085	-0.322
<i>cox3</i>	790	27.85	32.41	15.70	24.05	60.26	39.74	-0.076	-0.210
<i>nad3</i>	352	30.97	33.24	11.93	23.86	64.21	35.79	-0.035	-0.333
<i>nad1</i>	942	23.67	44.59	21.87	9.87	68.26	31.74	-0.306	0.377
<i>nad5</i>	1 724	26.62	42.92	20.13	10.32	69.54	30.46	-0.234	0.322
<i>nad4</i>	1 341	23.12	45.12	22.45	9.32	68.24	31.76	-0.322	0.413
<i>nad4l</i>	300	23.33	47.33	20.67	8.67	70.66	29.34	-0.340	0.409
<i>nad6</i>	516	30.62	37.40	7.75	24.22	68.02	31.98	-0.099	-0.515
<i>cob</i>	1 137	29.11	34.04	12.93	23.92	63.15	36.85	-0.078	-0.298
<i>nad2</i>	1 002	29.44	37.62	8.58	24.35	67.06	32.94	-0.122	-0.479
tRNAs	1 479	34.08	32.45	18.53	14.94	66.53	33.47	0.024	0.107
rRNAs	2 258	34.19	36.09	20.24	9.48	70.28	29.72	-0.027	0.362

和日本单肢虾。实验对所选物种的每一条蛋白质编码基因的同义替换值 (Ka) 和非同义替换值 (Ks) 以及其比值进行了计算, 构建柱状图以及折线图。*atp8* 的 Ka/Ks 值最大为 0.314, 其次是 *nad6*、*nad2*、*nad5*、*nad4*、*atp6*、*nad4l* 和 *nad3* (Ka/Ks 值分别为 0.305、0.286、0.195、0.159、0.156、0.148 和 0.141), 表明在对虾总科中, 和其他蛋白质编码基因相比, 这些基因承受的选择压力较小 (图 4)。*cox1* 的 Ka/Ks 值最小为 0.048, 其次是 *cox2*、*nad1*、*cox3* 和 *cob* (Ka/Ks 值分别为 0.088、0.094、0.095 和 0.097)。13 个蛋白质编码基因的 Ka/Ks 比值均小于 1, 说明在进化过程中对虾总科蛋白质编码基因受到纯化选择作用。

2.6 对虾总科线粒体基因排序比较分析

将对虾总科下各科基因序列以 *cox1* 基因为起点进行排序, 和十足目动物线粒体基因组原始排列顺序作比较 (图 5), 发现所有物种都拥有完整的 13 个蛋白质编码基因, 管鞭虾科、匙

指虾科和单肢虾科与祖先基因排列顺序一致, 在深对虾科和对虾科中出现基因重组现象。对虾科中的加州对虾和细角滨对虾拥有完全相同的基因排列顺序, 与祖先序列相比, 这 2 个物种的 *trnL1* 和 *trnL2* 基因发生了移位现象 (translocation); 深对虾科中的 *B. filipes* 的 *trnA*、*trnR* 和 *trnN* 基因出现了 2 次重复。本研究下载的其余对虾总科物种均未发生基因重组, 与祖先基因排列顺序一致。大管鞭虾与本研究下载的其他同科物种基因排列顺序一致, 未出现重组现象。

2.7 系统发育树分析

为了进一步研究对虾总科的系统发育关系, 本研究涉及了对虾总科现有的 5 科 (管鞭虾科、深对虾科、匙指虾科、对虾科、单肢虾科) 物种, 以樱花虾和中国毛虾为外群, 基于 13 个蛋白质编码基因的核苷酸序列同时构建了对虾总科的贝叶斯树 (BI) 和最大似然法树 (ML)。2 种方法构建得到的系统发育树树型基本一致 (图 6),

表 3 大管鞭虾线粒体基因组

Tab. 3 Annotation of the *S. melantho* mitochondrial genome

基因 gene	编码链 strand	位点 position		长度/bp length	氨基酸 amino acid	起始/终止密码子 start/stop codon	间隔长度/bp intergenic nucleotides	反密码 anticodon
		from	to					
<i>cox1</i>	+	1	1 543	1 543	514	ACG/T(AA)	0	—
<i>trnL2</i>	+	1 544	1 608	65	—	—	3	TTA
<i>cox2</i>	+	1 612	2 299	688	229	ATG/T(AA)	0	—
<i>trnK</i>	+	2 300	2 368	69	—	—	2	AAA
<i>trnD</i>	+	2 371	2 439	69	—	—	0	GAC
<i>atp8</i>	+	2 440	2 598	159	53	ATC/TAA	-7	—
<i>atp6</i>	+	2 592	3 266	675	225	ATG/TAA	4	—
<i>cox3</i>	+	3 271	4 060	790	263	ATG/T(AA)	0	—
<i>trnG</i>	+	4 061	4 126	66	—	—	0	GGA
<i>nad3</i>	+	4 127	4 478	352	117	ATA/T(AA)	0	—
<i>trnA</i>	+	4 479	4 545	67	—	—	0	GCA
<i>trnR</i>	+	4 546	4 610	65	—	—	0	CGA
<i>trnN</i>	+	4 611	4 675	65	—	—	0	AAC
<i>trnS1</i>	+	4 676	4 742	67	—	—	0	AGC
<i>trnE</i>	+	4 743	4 813	71	—	—	17	GAA
<i>trnF</i>	-	4 831	4 898	68	—	—	-1	TTC
<i>nad5</i>	-	4 898	6 621	1 724	574	ATT/T(AA)	9	—
<i>trnH</i>	-	6 631	6 697	67	—	—	0	CAC
<i>nad4</i>	-	6 698	8 038	1 341	447	ATG/TAA	-7	—
<i>nad4l</i>	-	8 032	8 331	300	100	ATG/TAA	2	—
<i>trnT</i>	+	8 334	8 399	66	—	—	0	ACA
<i>trnP</i>	-	8 400	8 466	67	—	—	1	CCA
<i>nad6</i>	+	8 468	8 983	516	172	ATT/TAA	-1	—
<i>cob</i>	+	8 983	10 119	1 137	379	ATG/TAG	-2	—
<i>trnS2</i>	+	10 118	10 187	70	—	—	14	TCA
<i>nad1</i>	-	10 202	11 143	942	314	ATG/TAG	5	—
<i>trnL1</i>	-	11 149	11 217	69	—	—	-61	CTA
16S	-	11 157	12 558	1 402	—	—	26	—
<i>trnV</i>	-	12 585	12 656	72	—	—	-1	GTA
12S	-	12 656	13 511	856	—	—	999	—
<i>trnI</i>	+	14 511	14 577	67	—	—	11	ATC
<i>trnQ</i>	-	14 589	14 658	70	—	—	19	CAA
<i>trnM</i>	+	14 678	14 745	68	—	—	0	ATG
<i>nad2</i>	+	14 746	15 747	1 002	334	ATT/TAA	-2	—
<i>trnW</i>	+	15 746	15 814	69	—	—	4	TGA
<i>trnC</i>	-	15 819	15 882	64	—	—	0	TGC
<i>trnY</i>	-	15 883	15 940	58	—	—	-1	TAC

注：“—”表示无。

Notes: "—" represents none.

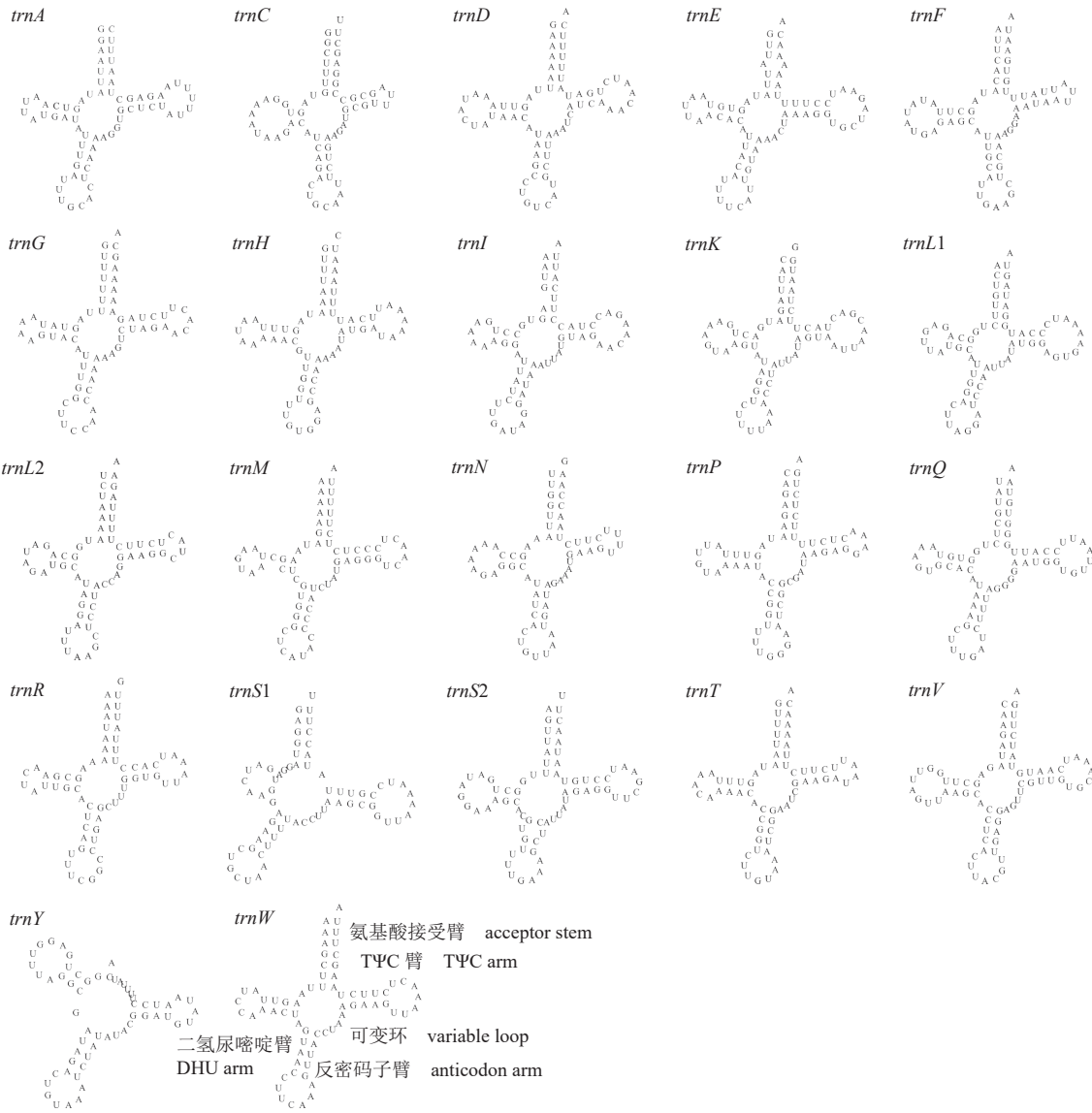


图2 大管鞭虾线粒体 tRNA 二级结构

Fig. 2 The secondary structure of *S. melantho* mitochondrial tRNA

大多数节点都得到了较高的支持度, 但部分分支节点支持度略有区别。贝叶斯树的支持度普遍高于最大似然树, 绝大多数节点支持度为 1; 最大似然法树的支持度除一处为 61% 外 (单肢虾科嵌入对虾科一支处的节点), 其余均在 75%~100%。对虾总科系统发育树结果显示, 管鞭虾科、深对虾科、匙指虾科和单肢虾科的物种均各自聚为一支, 其中单肢虾科又嵌入对虾科一支中。深对虾科和匙指虾科亲缘关系最近, 二者为姐妹群关系后与管鞭虾科聚在一起, 且支持度较高。在管鞭虾科内, 本研究测定的大管鞭虾与中华管鞭虾亲缘关系最近, 聚为一小支, 后与管鞭虾科的阿根廷红虾和海神膜对

虾聚为一支, 并具有高支持度。

3 讨论

3.1 大管鞭虾线粒体基因组特征

通过研究发现大管鞭虾线粒体基因组及其各组分的碱基含量呈现出明显的 AT 偏好性, AT 含量高是十足目动物线粒体基因组普遍存在的现象^[43]。大管鞭虾 13 个蛋白质编码基因中有 5 个基因 (*cox1*、*cox2*、*cox3*、*nad3*、*nad5*) 出现了不完全终止子 T--, 而不完全终止子 (T--或 TA-) 在后生动物线粒体基因组中很常见^[44-45]。tRNA 二级结构分析发现, *trnS1* 基因没有明显

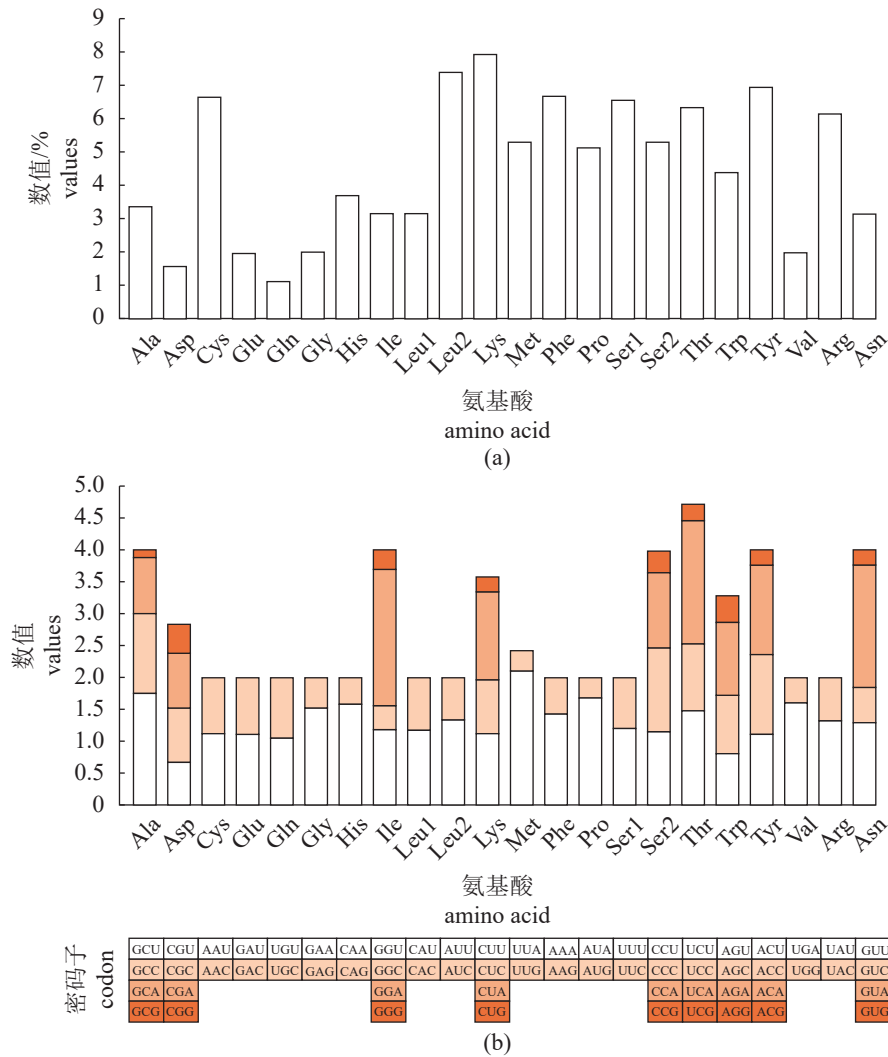


图3 大管鞭虾线粒体基因组的氨基酸组成及同义密码子使用频率

(a) 大管鞭虾线粒体基因氨基酸组成; (b) 大管鞭虾线粒体基因同义密码子使用频率。

Fig. 3 Amino acid composition and relative synonymous codon usage (RSCU) in the mitogenomes of *S. melantho*

(a) amino acid composition of *S. melantho* mitochondrial genes; (b) frequency of synonymous codon usage in *S. melantho* mitochondrial genes.

的二氢尿嘧啶臂 (DHU arm), *trnY* 基因缺失氨基酸接受臂 (accepter stem), 二者均不能形成典型的三叶草结构, 其中 *trnS1* 基因的二级结构与已报道的同一总科下的鹰爪虾类似^[2]。

3.2 对虾总科选择压力分析

在遗传学中, Ka/Ks 表示的是非同义替换值 (Ka) 和同义替换值 (Ks) 之间的比例, 用来判断蛋白质编码基因是否有选择压力的作用^[46]。当 $Ka/Ks > 1$ 时, 认为有正选择作用 (positive selection); 当 $Ka/Ks = 1$ 时, 认为有中性选择作用 (neutral evolution); 当 $Ka/Ks < 1$ 时, 认为有纯化选择作用 (purify selection)^[47-48]。且 Ka/Ks 值与

核苷酸序列大致呈负相关, 受选择压力较大的基因, 其基因序列相对比较保守^[49]。在本研究中, 对虾总科下 10 个物种的 13 个 PCGs 的 Ka/Ks 值均小于 1, 表明这 13 个蛋白质编码基因受到纯化选择作用, 其中 *cox1* 基因的 Ka/Ks 值最小, 表明 *cox1* 基因承受的选择压力最大, 基因序列相对比较保守, 这与已报道的一些后生动物线粒体基因的研究中呈现的规律一致^[48, 50-52]。而 *atp8* 基因的 Ka/Ks 值最大, 表明 *atp8* 基因承受的选择压力最小, 这与朱陇强等^[43] 针对长臂虾科 (Palaeomonidae) 线粒体基因组以及朱雷宇等^[52] 针对龙虾科 (Palinuridae) 线粒体基因组的研究结果相似。

表 4 大管鞭虾 13 个编码蛋白编码基因密码子使用频率

Tab. 4 The codon number and relative synonymous codon usage in the mitochondrial genomes of *S. melantho*

氨基酸 amino acid	密码子 codon	使用次数 <i>n</i>	同义密码子相对 使用频率 RSCU	氨基酸 amino acid	密码子 codon	使用次数 <i>n</i>	同义密码子相对 使用频率 RSCU
丙氨酸 Ala(A)	GCU	74	1.74	脯氨酸 Pro(P)	CCU	77	1.15
	GCC	54	1.27		CCC	88	1.32
	GCA	37	0.87		CCA	79	1.18
	GCG	5	0.12		CCG	23	0.34
半胱氨酸 Cys(C)	UGU	29	1.04	谷氨酰胺 Gln(Q)	CAA	147	1.58
	UGC	27	0.96		CAG	39	0.42
天冬氨酸 Asp(D)	GAU	55	1.11	精氨酸 Arg(R)	CGU	13	0.66
	GAC	44	0.89		CGC	17	0.86
谷氨酸 Glu(E)	GAA	77	1.52		CGA	40	2.03
	GAG	24	0.48		CGG	9	0.46
苯丙氨酸 Phe(F)	UUU	199	1.20	丝氨酸 Ser(S)	UCU	100	1.48
	UUC	132	0.80		UCC	71	1.05
甘氨酸 Gly(G)	GGU	47	1.18		UCA	131	1.94
	GGC	15	0.38		UCG	17	0.25
	GGA	85	2.14		AGU	54	0.80
	GGG	12	0.30		AGC	62	0.92
组氨酸 His(H)	CAU	93	1.17		AGA	78	1.15
	CAC	66	0.83		AGG	28	0.41
异亮氨酸 Ile(I)	AUU	248	1.33	苏氨酸 Thr(T)	ACU	97	1.11
	AUC	125	0.67		ACC	111	1.26
赖氨酸 Lys(K)	AAA	240	1.42		ACA	123	1.40
	AAG	97	0.58		ACG	20	0.23
亮氨酸 Leu(L)	UUA	233	2.10	缬氨酸 Val(V)	GUU	51	1.29
	UUG	36	0.32		GUC	22	0.56
	CUU	125	1.12		GUA	76	1.92
	CUC	94	0.85	GUG	9	0.23	
	CUA	153	1.38	色氨酸 Trp(W)	UGA	80	1.60
	CUG	26	0.23		UGG	20	0.40
甲硫氨酸 Met(M)	AUA	217	1.68	酪氨酸 Tyr(Y)	UAU	204	1.32
	AUG	42	0.32		UAC	106	0.68
天冬酰胺 Asn(N)	AAU	188	1.12	终止 end	UAA	209	1.53
	AAC	148	0.88		UAG	65	0.47

3.3 对虾总科的基因排列顺序

线粒体基因组的重组事件分析可用于系统地理学和系统发育学研究，这一点在很多脊椎动物研究中都得到了证实^[53-56]。一般而言，线粒体基因组排列顺序在鱼、两栖动物和大多数哺乳动物为代表的脊椎动物中比较稳定，而在无脊椎动物的线粒体基因组普遍存在不同规模的基因重组现象^[57]。在之前的研究中，申欣等^[45]

报道了 6 个对虾科物种的线粒体基因组排列顺序，发现与祖先线粒体基因组排列顺序一致。但随着 GenBank 数据库逐渐丰富，本研究中发现对虾科中有 2 个存在基因重组现象的物种(加州对虾和细角滨对虾)，这 2 个物种的 *trnL1* 和 *trnL2* 基因发生了移位现象；深对虾科中的 *B. filipes* 的 *trnA*、*trnR* 和 *trnN* 基因出现了重复 2 次的现象。除了这 3 个物种，其余对虾总科的物种尚未发现基因重组。

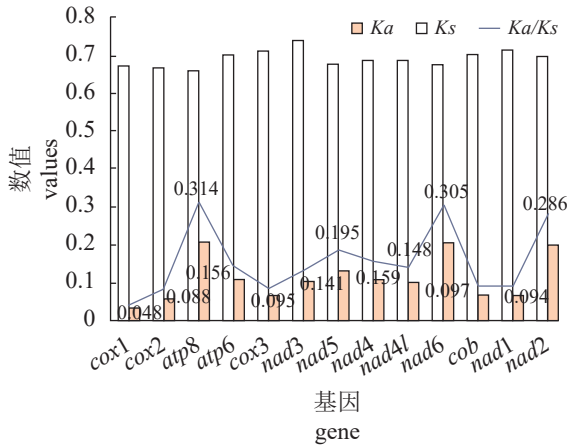


图 4 对虾总科物种选择压力分析

Fig. 4 Analysis of the selection pressure of Penaeoidea

本研究中的大管鞭虾线粒体基因组排列顺序与十足目动物线粒体基因组的排列顺序相比, 并未发生变化, 其同科的中华管鞭虾、阿根廷红虾、海神膜对虾和 *G. paravillosa* 也均未出现基因重组现象, 表明管鞭虾科物种在进化中相当保守。

3.4 对虾总科的系统发育关系

本研究利用 37 种对虾总科线粒体全基因组和 2 种樱虾总科线粒体全基因组作为外群构建系统发育树, 结果显示对虾总科内部发育关系为: [(对虾科+单肢虾科)+对虾科]+[管鞭虾科+(匙指虾科+深对虾科)]。在科级阶元, 除了单肢虾科聚在对虾科一支中, 其余每个科都形成了单独一支, 表明单肢虾科可能不是一个有效的

科, 与前人研究的结果一致^[2-3, 7-8]。深对虾科和匙指虾科亲缘关系最近, 二者为姐妹群关系后与管鞭虾科聚在一起, 且支持率较高, 这一结果与 Cheng 等^[7] 和 Guo 等^[2] 基于 13 个蛋白质编码基因以及 Ma 等^[3] 基于部分核基因进行的系统发育研究结果一致。但本研究结果与 Cronin 等^[8] 的研究结果出现了差异, 他们的结果显示管鞭虾科与对虾科互为姐妹群, 且对虾科的哈氏仿对虾嵌入了管鞭虾科一支中。这些差异也许是所使用数据的异质性造成的, Cronin 等^[8] 使用哈氏仿对虾数据的登录号为 NC030277, 而本研究所使用哈氏仿对虾数据的登录号为 KU899136。为了验证本研究系统发育结果的准确性, 使用 NCBI BLAST 功能分别将这 2 个数据的 *cox1* 基因序列与 GenBank 数据库里的序列做比对, 发现与登录号 NC030277 的数据比对结果最高的均为管鞭虾科物种序列, 而登录号 KU899136 的数据比对结果最高的均为哈氏仿对虾序列。因此我们推测登录号为 NC030277 的物种并非哈氏仿对虾, 而是管鞭虾科物种。这些研究结果表明, 仅根据形态学对物种鉴定是不准确的, 且 GenBank 数据库里的数据也存在命名错误的可能, 在物种分类及鉴定的研究中结合系统发育来推断或许是有必要的。同时, 本研究结果与 Vázquez-Bader 等^[9] 基于 16S *rRNA* 进行的系统发育结果不同, 他们的结果显示管鞭虾科嵌入对虾科一支, 深对虾科和匙指虾科又嵌入单肢虾科一支, 这些差异或许是使用分析的序列长短以及物种的不同所导致的。在对

十足目动物线粒体基因组原始排列 primitive arrangement of mitochondrial genomes in Decapoda animals

cox1 L2 cox2 K D atp8 atp6 cox3 G nad3 A R N S1 E F nad5 H nad4 nad4L T P nad6 cob S2 nad1 L1 rrnL V rrnS I Q M nad2 W C Y

管鞭虾科 Solenoceridae 匙指虾科 Aristeidae 单肢虾科 Sicyoniidae

cox1 L2 cox2 K D atp8 atp6 cox3 G nad3 A R N S1 E F nad5 H nad4 nad4L T P nad6 cob S2 nad1 L1 rrnL V rrnS I Q M nad2 W C Y

深对虾科 Benthescymidae

cox1 L2 cox2 K D atp8 atp6 cox3 G nad3 A R N S1 E F nad5 H nad4 nad4L T P nad6 cob S2 nad1 L1 rrnL V rrnS I Q M nad2 W C Y

B. filipes

cox1 L2 cox2 K D atp8 atp6 cox3 G nad3 A R N A R N A R N S1 E F nad5 H nad4 nad4L T P nad6 cob S2 nad1 L1 rrnL V rrnS I Q M nad2 W C Y

对虾科 Penaeidae

cox1 L2 cox2 K D atp8 atp6 cox3 G nad3 A R N S1 E F nad5 H nad4 nad4L T P nad6 cob S2 nad1 L1 rrnL V rrnS I Q M nad2 W C Y

加州对虾 *P. californiensis* 细角滨对虾 *P. stylirostris*

cox1 L1 cox2 K D atp8 atp6 cox3 G nad3 A R N S1 E F nad5 H nad4 nad4L T P nad6 cob S2 nad1 L2 rrnL V rrnS I Q M nad2 W C Y

图 5 对虾总科线粒体基因排序比较

红色方框代表与祖先序列相比位置发生变化的基因。

Fig. 5 Comparison of mitochondrial gene rearrangements of the superfamily Penaeoidea

The red boxes represent genes that have undergone changes in position compared to the ancestral sequence.

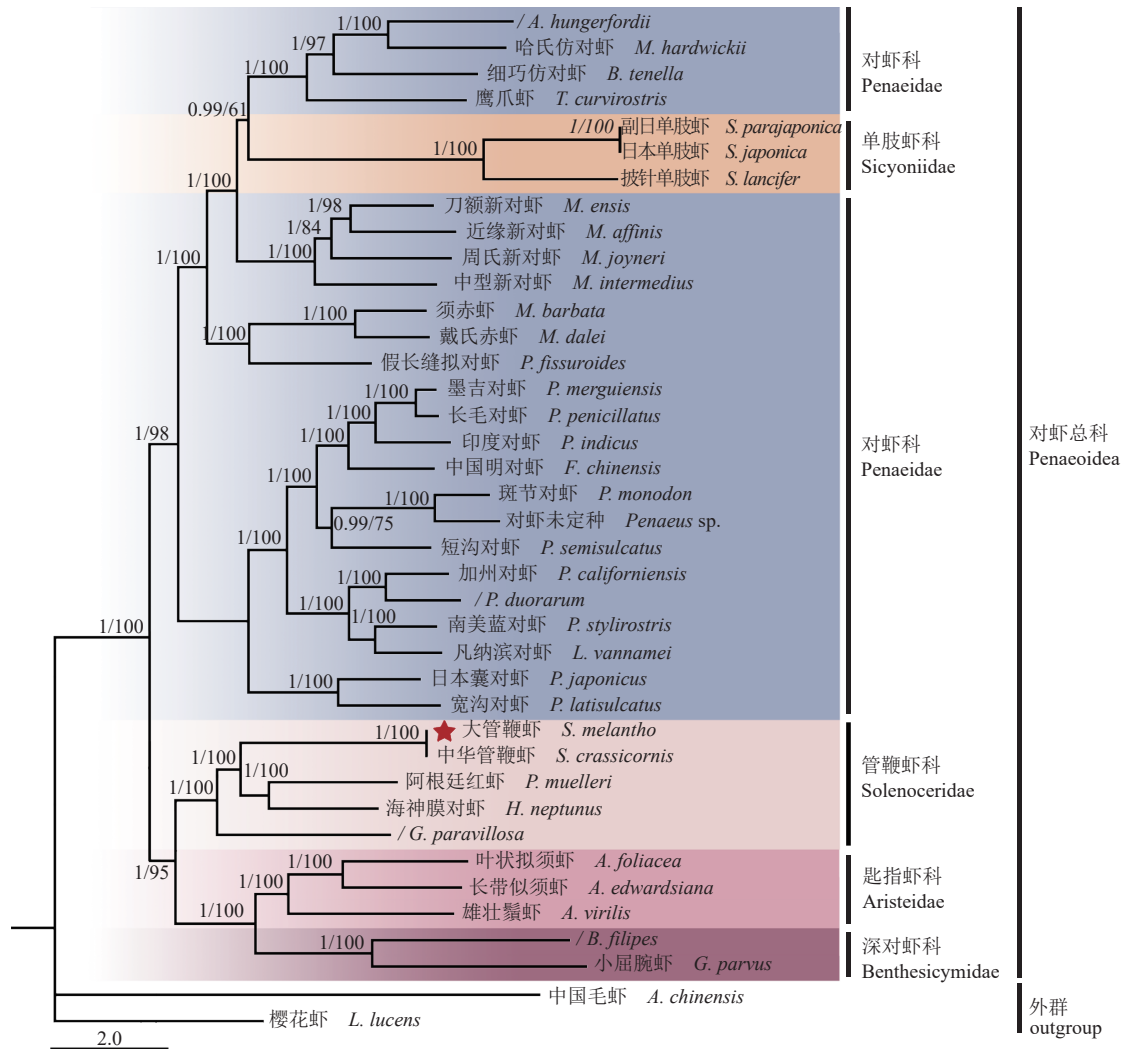


图 6 基于 13 个蛋白质编码基因构建的对虾总科系统发育树
 Fig. 6 The phylogenetic tree of Penaeoidea based on 13 PCGs

虾科分类问题上, Burkenroad^[58]曾提出将对虾科分成 3 个群体的设想, 这一设想在易喙^[59]的研究中得到了支持, 作者利用对虾科 15 种虾类的 *cox1* 基因构建系统发育树, 发现 9 个属的虾类可以分为 3 个进化枝。在本研究中, 8 个属的虾类也分为了 3 个进化支, 第 1 个进化支包含了 *Alcockpenaeopsis*、*Mierspenaeopsis*、*Batepenaeopsis*、鹰爪虾属 (*Trachysalambria*) 和新对虾属 (*Metapenaeus*) 的 7 个物种; 第 2 个进化支包含了赤虾属 (*Metapenaeopsis*) 的 2 个物种和拟对虾属 (*Parapenaeus*) 的 1 个物种; 第 3 个进化支包含了对虾属 (*Penaeus*) 的 11 个物种, 研究结果支持将对虾科分成 3 个群体。在属级阶元, 所有属均单独聚为一支。本研究中假长缝拟对虾 (*P. fissuroides*) 和赤虾属关系最近, 与 Guo^[2]等的结果一致, 与易喙等^[60]的结果不一致, 他

们利用 23 种虾类的 *cox1* 基因构建系统发育树, 结果显示, 赤虾属、新对虾属和仿对虾属关系最近, 假长缝拟对虾则在其他支系, 这一差异可归因于系统发育分析所使用的序列长度不同。在物种阶元, 本研究测定的大管鞭虾在管鞭虾科内的进化关系为 [(大管鞭虾+中华管鞭虾)+(阿根廷红虾+海神膜对虾)]+*G. paravillosa*。研究结果支持大管鞭虾与中华管鞭虾亲缘关系最近, 二者间可能有相似的遗传背景, 同时验证了管鞭虾科的单系性, 支持在对虾总科中管鞭虾科与匙指虾科和深对虾科的亲缘关系最近。

本研究弥补了大管鞭虾分子生物学领域的空白, 对管鞭虾科线粒体基因组数据库进行了补充, 为管鞭虾科虾类的分类鉴定、种质资源评价提供了分子证据和理论参考。通过重建对

虾总科系统进化树明确了大管鞭虾的系统进化地位, 验证了先前的一些关于对虾总科系统进化研究的结果, 为管鞭虾科的进化地位提供了支持, 并为对虾总科系统发育的研究提供了更多参考。

参考文献 (References):

- [1] Pérez-Farfante I, Kensley B. Penaeoid and sergestoid shrimps and prawns of the world. Keys and Diagnoses for the Families and Genera[M]. Paris: Memoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, 1997, 175: 1-233.
- [2] Guo Y H, Liu H X, Feng J T, *et al.* Characterization of the complete mitochondrial genomes of two species of Penaeidae (Decapoda: Dendrobranchiata) and the phylogenetic implications for Penaeoidea[J]. *Genomics*, 2021, 113(1): 1054-1063.
- [3] Ma K Y, Chan T Y, Chu K H. Phylogeny of penaeoid shrimps (Decapoda: Penaeoidea) inferred from nuclear protein-coding genes[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2009, 53(1): 45-55.
- [4] 徐琰. 中国近海仿对虾属分子系统演化及近似种问题的研究 [D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2005.
- Xu Y. Study on the molecular phylogeny of coastal *Gunus parapenaeopsis* based on Chinese species and the classification status of close species[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2005 (in Chinese).
- [5] 刘瑞玉. 关于对虾类(属)学名的改变和统一问题 [M]//中国甲壳动物学会. 甲壳动物学论文集 (第四辑). 北京: 科学出版社, 2003.
- Liu R Y. On the unification of the scientific name of penaeid shrimp (Crustacea Decapoda)[M]//Chinese Crustacean Society. Transactions of the Chinese Crustacean Society. No. 4. Beijing: Science Press, 2003 (in Chinese).
- [6] Burkenroad M D. Littoral Penaeoidea chiefly from the Bingham Oceanographic Collection, with a revision of *Penaeopsis* and descriptions of two new genera and eleven new American species[C]//Bulletin of the Bingham Oceanographic Collection. Vol. 4. New Haven: Yale Peabody Museum, 1934: 1927-1967.
- [7] Cheng J, Chan T Y, Zhang N, *et al.* Mitochondrial phylogenomics reveals insights into taxonomy and evolution of Penaeoidea (Crustacea: Decapoda)[J]. *Zoologica Scripta*, 2018, 47(5): 582-594.
- [8] Cronin T J, Conrad J, Kerkhove T R H, *et al.* Characterization of the complete mitochondrial genome of the Atlantic seabob shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* Heller, 1862 (Decapoda: Dendrobranchiata: Penaeidae), with insights into the phylogeny of Penaeidae[J]. *Journal of Crustacean Biology*, 2022, 42(1): ruac004.
- [9] Vázquez-Bader A R, Carrero J, García-Varela M, *et al.* Molecular phylogeny of Superfamily Penaeoidea Rafinesque-Schmaltz, 1815, based on mitochondrial *16S* partial sequence analysis[J]. *Journal of Shellfish Research*, 2004, 23(3): 911-917.
- [10] 李惠玉, 金艳, 李圣法. 东海北部大管鞭虾的食性 [J]. 应用生态学报, 2016, 27(3): 937-945.
- Li H Y, Jin Y, Li S F. Feeding habits of *Solenocera melanthero* in the northern East China Sea[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2016, 27(3): 937-945 (in Chinese).
- [11] 薛利建, 宋海棠. 东海大管鞭虾的数量分布和生物学特性 [J]. 浙江海洋学院学报 (自然科学版), 2004, 23(3): 199-202, 206.
- Xue L J, Song H T. Study on the biomass distribution & biological characteristics of *Solenocera melanthero* in the East China Sea[J]. *Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science Edition)*, 2004, 23(3): 199-202, 206 (in Chinese).
- [12] Holthuis L B. FAO species catalogue. Volume 1: Shrimps and prawns of the world. An annotated catalogue of species of interest to fisheries[J]. FAO Fisheries Synopsis, 1980(125): 366.
- [13] Oh T Y, Choi J H, Cha H K, *et al.* Growth and reproduction of deep-water mud shrimp (*Solenocera melanthero*) around Geomun Island, Korea[J]. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2005, 38(4): 232-238.
- [14] Jun O, Katsumi N. Rearing trial of the deep-water mud shrimp *Solenocera melanthero* De Man, 1907[J]. *Cancer*, 1997(6): 23-26.
- [15] 李惠玉, 凌建忠, 李圣法. 黄、东海底栖性甲壳动物种类组成的季节变化 [J]. 渔业科学进展, 2009, 30(3): 13-19.
- Li H Y, Ling J Z, Li S F. Seasonal composition of crustacean species in the East China Sea and Yellow Sea[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2009, 30(3): 13-19 (in Chinese).
- [16] 张学健, 程家骅, 沈伟, 等. 黄海南部黄鳊摄食生态 [J]. 生态学报, 2010, 30(12): 3117-3125.
- Zhang X J, Cheng J H, Shen W, *et al.* Feeding ecology of *Lopholatilus litulon* in the south of Yellow Sea[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(12): 3117-3125 (in Chinese).
- [17] 潘绪伟, 程家骅. 长江口外海域龙头鱼营养生态学特征 [J]. 中国水产科学, 2011, 18(5): 1132-1140.
- Pan X W, Cheng J H. Feeding ecology of *Harpadon nehereus* in areas adjacent to Changjiang River estuary[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2011, 18(5): 1132-1140 (in Chinese).
- [18] 薛利建, 朱江峰, 贺舟挺, 等. 东海大管鞭虾生长参数及持续

- 渔获量分析[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2009, 28(3): 292-297,378.
- Xue L J, Zhu J F, He Z T, *et al.* Population dynamics and estimation of sustaining yield for *Solenocera melantho* in the East China Sea[J]. Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science Edition), 2009, 28(3): 292-297,378 (in Chinese).
- [19] Ohtomi J, Yamamoto S. The timing of mating related to ovarian maturation in the open-thelycum Penaeoid Shrimp *Solenocera melantho*[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 2001, 67(3): 469-474.
- [20] 申欣. 软甲纲动物和星虫动物线粒体基因组特征及分子进化研究[D]. 青岛: 中国科学院研究生院, 2008.
- Shen X. Mitochondrial genomic characters of malacostracans and sipunculans and the molecular evolutionary research based on mitochondrial genomes[D]. Qingdao: Chinese Academy of Sciences, 2008 (in Chinese).
- [21] 邢晶晶. 分子遗传标记及其技术在水产生物中的研究与应用[J]. 水产学杂志, 2002, 15(1): 61-70.
- Xing J J. The types of molecular markers and the research and applications of molecular markers technology on the aquatic creature[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2002, 15(1): 61-70 (in Chinese).
- [22] 杨婧, 黄原. 线粒体基因组的高通量测序策略[J]. 生命科学, 2016, 28(1): 112-117.
- Yang J, Huang Y. Strategy of high-throughput sequencing technology in the mitochondrial genome sequencing[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2016, 28(1): 112-117 (in Chinese).
- [23] Elmerot C, Arnason U, Gojobori T, *et al.* The mitochondrial genome of the pufferfish, *Fugu rubripes*, and ordinal teleostean relationships[J]. *Gene*, 2002, 295(2): 163-172.
- [24] Gong L, Jiang H, Zhu K H, *et al.* Large-scale mitochondrial gene rearrangements in the hermit crab *Pagurus nigrofascia* and phylogenetic analysis of the Anomura[J]. *Gene*, 2019, 695: 75-83.
- [25] Boore J L. Animal mitochondrial genomes[J]. *Nucleic Acids Research*, 1999, 27(8): 1767-1780.
- [26] 黄宗国, 林茂. 中国海洋生物图集-第三册, 1-动物界[M]. 北京: 海洋出版社, 2012.
- Huang Z G, Lin M. An illustrated guide to species in China's seas[M]. Beijing: China Ocean Press, 2012 (in Chinese).
- [27] Aljanabi S M, Martinez I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques[J]. *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(22): 4692-4693.
- [28] Dierckxsens N, Mardulyn P, Smits G. NOVOPlasty: *De novo* assembly of organelle genomes from whole genome data[J]. *Nucleic Acids Research*, 2017, 45(4): e18.
- [29] Altschul S F, Madden T L, Schäffer A A, *et al.* Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs[J]. *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(17): 3389-3402.
- [30] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [31] Hassanin A, Léger N, Deutsch J. Evidence for multiple reversals of asymmetric mutational constraints during the evolution of the mitochondrial genome of Metazoa, and consequences for phylogenetic inferences[J]. *Systematic Biology*, 2005, 54(2): 277-298.
- [32] Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-Delbarrio J C, *et al.* DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2017, 34(12): 3299-3302.
- [33] Xia X H. DAMBE7: new and improved tools for data analysis in molecular biology and evolution[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2018, 35(6): 1550-1552.
- [34] Kumar S, Stecher G, Li M, *et al.* MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2018, 35(6): 1547-1549.
- [35] Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, *et al.* MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space[J]. *Systematic Biology*, 2012, 61(3): 539-542.
- [36] Posada D. Modeltest: A tool to select the best-fit model of nucleotide substitution. Version 3.7[J]. Available from: darwin.uvigo. es. 2005.
- [37] Nylander J A A. MrModeltest v2. Program distributed by the author[D]. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, 2004.
- [38] Posada D, Crandall K A. MODELTEST: testing the model of DNA substitution[J]. *Bioinformatics*, 1998, 14(9): 817-818.
- [39] Swofford D L. PAUP. Phylogenetic analysis using parsimony (*and Other Methods). Version 4.0b10[M]. Sunderland: Sinauer Associates, 2002.
- [40] Nguyen L T, Schmidt H A, Von Haeseler A, *et al.* IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2015, 32(1): 268-274.
- [41] Kalyaanamoorthy S, Minh B Q, Wong T K F, *et al.* ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates[J]. *Nature Methods*, 2017, 14(6): 587-589.
- [42] Rambaut A. FigTree-version 1.4. 3, a graphical viewer of

- phylogenetic trees[EB/OL]. (2017-05-01) [2023-03-01]. <http://treebio.dacuk/software/figtree>, 2017.
- [43] 朱陇强, 朱志煌, 林琪, 等. 长臂虾科线粒体基因组结构与系统进化分析[J]. *中国水产科学*, 2021, 28(7): 852-862.
- Zhu L Q, Zhu Z H, Lin Q, *et al.* Characteristics and phylogenetic analysis of the mitochondrial genome in Palaemonidae[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2021, 28(7): 852-862 (in Chinese).
- [44] 宋文涛, 高祥刚, 李云峰, 等. 双壳贝类线粒体基因组结构的比较[J]. *遗传*, 2009, 31(11): 1127-1134.
- Song W T, Gao X G, Li Y F, *et al.* Comparison of mitochondrial genomes of bivalves[J]. *Hereditas*, 2009, 31(11): 1127-1134 (in Chinese).
- [45] 申欣. 对虾科线粒体基因组特征及基因差异位点分析[J]. *水产科学*, 2010, 29(12): 711-717.
- Shen X. Analysis of mitochondrial genome characteristics and differences in genetic loci in Penaeidae[J]. *Fisheries Science*, 2010, 29(12): 711-717 (in Chinese).
- [46] 毛智超. 基于线粒体 DNA 基因序列的 5 种海洋经济虾类的系统进化分析[D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.
- Mao Z C. Phylogenetic analysis of five marine economic shrimps basing on the mtDNA genomes sequence[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2016 (in Chinese).
- [47] Nei M, Kumar S. *Molecular evolution and Phylogenetics*[M]. New York: Oxford University Press, 2000.
- [48] Yang Z H. *Computational molecular evolution*[M]. New York: Oxford University Press, 2006.
- [49] 申欣, 李晓, 徐启华. 日本鼓虾与鲜明鼓虾线粒体基因组全序列的分析比较[J]. *海洋学报*, 2012, 34(5): 147-153.
- Shen X, Li X, Xu Q H. Comparison and analysis of *Alpheus japonicus* and *A. distinguendus* complete mitochondrial genome sequences[J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2012, 34(5): 147-153 (in Chinese).
- [50] 田美, 申欣, 孟学平, 等. 短尾派线粒体基因组特征及基因差异位点分析[J]. *水产科学*, 2011, 30(1): 31-37.
- Tian M, Shen X, Meng X P, *et al.* Analysis of mitochondrial genome characteristics and genetic different loci in Brachyuran[J]. *Fisheries Science*, 2011, 30(1): 31-37 (in Chinese).
- [51] Shen X, Ren J F, Cui Z X, *et al.* The complete mitochondrial genomes of two common shrimps (*Litopenaeus vannamei* and *Fenneropenaeus chinensis*) and their phylogenomic considerations[J]. *Gene*, 2007, 403(1-2): 98-109.
- [52] 朱雷宇, 朱志煌, 朱陇强, 等. 龙虾科物种线粒体基因组特征和系统发育分析[J]. *中国水产科学*, 2022, 29(4): 525-534.
- Zhu L Y, Zhu Z H, Zhu L Q, *et al.* Characteristics and phylogenetic analysis of the mitochondrial genome in Palinuridae[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2022, 29(4): 525-534 (in Chinese).
- [53] Haring E, Kruckenhauser L, Gamauf A, *et al.* The complete sequence of the mitochondrial genome of *Buteo buteo* (Aves, Accipitridae) indicates an early split in the phylogeny of raptors[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2001, 18(10): 1892-1904.
- [54] Inoue J G, Miya M, Tsukamoto K, *et al.* Complete mitochondrial DNA sequence of *Conger myriaster* (Teleostei: Anguilliformes): novel gene order for vertebrate mitochondrial genomes and the phylogenetic implications for anguilliform families[J]. *Journal of Molecular Evolution*, 2001, 52(4): 311-320.
- [55] Kong X Y, Dong X L, Zhang Y C, *et al.* A novel rearrangement in the mitochondrial genome of tongue sole, *Cynoglossus semilaevis*: control region translocation and a tRNA gene inversion[J]. *Genome*, 2009, 52(12): 975-984.
- [56] Inoue J G, Miya M, Tsukamoto K, *et al.* Evolution of the deep-sea gulper eel mitochondrial genomes: large-scale gene rearrangements originated within the eels[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2003, 20(11): 1917-1924.
- [57] 付晓燕, 陈念, 赵树进. 动物线粒体基因重排[J]. *医学研究生学报*, 2009, 22(12): 1320-1323.
- Fu X Y, Chen N, Zhao S J. Rearrangement of animal mitochondrial gene[J]. *Journal of Medical Postgraduates*, 2009, 22(12): 1320-1323 (in Chinese).
- [58] Burkenroad M D. Natural classification of Dendrobranchiata, with a key to recent genera[M]//Schram F R. *Crustacean phylogeny*. Marine Biodiversity Center, 1983: 279-290.
- [59] 易啸. 对虾科 15 种虾类的系统发育分析及 DNA 条形码研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2017.
- Yi X. *Phylogeny and DNA barcodes of 15 species in Penaeidae*[D]. Xiamen: Xiamen University, 2017 (in Chinese).
- [60] 易啸, 王攀攀, 王军, 等. 基于线粒体 CO I 的 DNA 条形码在对虾科种类鉴定中的研究[J]. *水产学报*, 2018, 42(1): 1-9.
- Yi X, Wang P P, Wang J, *et al.* The research of CO I-based DNA barcoding in Penaeidae's identification[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2018, 42(1): 1-9 (in Chinese).

Mitochondrial genome sequencing of *Solenocera melanthero* and phylogenetic analysis of Penaeoidea

SUN Yuman¹, CHEN Jian¹, XU Kaida^{2,3*}, YE Yingying^{1*}

1. National Engineering Research Center for Marine Aquaculture,

Marine and Fisheries Institute, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China;

2. Marine Fishery Research Institute of Zhejiang Province, Zhoushan 316021, China;

3. Key Laboratory of Sustainable Utilization of Technology Research for Fisheries Resources of Zhejiang Province, Scientific Observing and Experimental Station of Fishery Resources for Key Fishing Grounds, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Zhoushan 316021, China

Abstract: To expand research on molecular identification techniques, germplasm resource evaluation, and systematic evolution in Solenoceridae shrimp, we utilized second-generation high-throughput sequencing technology to obtain the complete mitochondrial genome of *Solenocera melanthero*. The mitochondrial genes were annotated, and their sequence structure was analyzed. The total length of the *S. melanthero* mitogenome was 15 940 bp, with a base composition of A (35.66%), T (32.00%), G (11.14%), and C (21.20%); the A+T content was 67.66%, indicating a pronounced AT bias. The *S. melanthero* mitogenome encodes a total of 37 genes, including 13 protein-coding genes (PCGs), 22 tRNAs, and 2 rRNAs. Of these, 14 genes were located on the negative strand, while 23 genes were located on the positive strand, showing similarity to other Solenoceridae mitogenomes. Most PCGs initiated with typical codons ATG and ATT, but ACG for *cox1*, ATC for *atp8*, and ATA for *nad5*. The termination codons for *cox1*, *cox2*, *cox3*, *nad3*, and *nad5* were incomplete, all being T--, while *cob* terminated with TAG, and all other PCGs used TAA as the termination codon. *trnS1* lacked the DHU arm, and *trnY* lacked the acceptor stem, while the remaining 20 tRNAs exhibited the typical cloverleaf structure. Leu and Ser were the most commonly used amino acids, and GGA, UUA, and CGA were the three most frequently used codons. For selection pressure analysis, 10 representative species were selected from 5 families under Penaeoidea, revealing that all PCGs in Penaeoidea experienced purifying selection during evolution. Additionally, a phylogenetic tree was constructed using the 13 PCGs from the complete mitogenomes of 32 species from the 5 families under Penaeoidea. The results supported the monophyly of Solenoceridae and indicated that *S. melanthero* was most closely related to *S. crassicornis*. This study filled the gap in the molecular biology of *S. melanthero*, clarified its systematic evolutionary position, explored gene rearrangement characteristics among species, and provided more references for studying interspecific evolution in Penaeoidea through phylogenetic analysis.

Key words: *Solenocera melanthero*; Penaeoidea; mitochondrial genome; phylogenetic analysis

Corresponding authors: XU Kaida. E-mail: xkd1981@163.com;

YE Yingying. E-mail: yeyy@zjou.edu.cn

Funding projects: Dynamic Monitoring and Investigation Project of Fishery Resources in Zhejiang Fishery in 2023; Project of Bureau of Science and Technology of Zhoushan (2021C21017)