

文章编号:1000-0615(2009)02-0208-07

中国南海野生斑节对虾5个地理群体线粒体 16S rRNA 基因序列比较分析

周发林^{1,2}, 江世贵¹, 姜永杰¹, 黄建华¹, 马之明¹

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东 广州 510300;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要:对中国南海海域5个斑节对虾野生群体三亚群体(SY)、深圳群体(SZ)、阳江群体(YJ)、湛江群体(ZJ)、北海群体(BH)——100个样品的16S rRNA序列进行PCR扩增,并对扩增产物进行了测序。用CLUSTAL_X排序软件对测序所得的100个16S rRNA序列进行比对。通过ARLEQUIN软件对所得100个16S rRNA序列进行比较分析,共检测出28个变异位点,19种单倍型。三亚、深圳、阳江、湛江以及北海等5个野生群体的核苷酸多样性(π)依次分别为0.004 35, 0.005 86, 0.010 50, 0.010 81, 0.011 68。三亚、深圳、阳江、湛江以及北海等5个野生群体的单倍型多样性(H)依次分别为0.689 5, 0.521 1, 0.573 7, 0.600 0, 0.721 1。对5个野生群体的16S rRNA序列进行 F_{ST} 分析,结果表明湛江、北海群体分别与三亚、深圳两个群体有显著的遗传差异,其余群体之间的遗传差异不显著。对5个群体进行AMOVA分析结果表明,5个群体间存在显著性遗传差异。对5个群体构建分子系统树,结果表明,三亚和深圳群体之间的亲缘关系最近;北海、湛江群体与三亚、深圳群体的亲缘关系很远。实验表明,中国南海海域5个斑节对虾野生群体可以为斑节对虾的选择育种提供两个基础群体:一个是三亚、深圳野生原种基础群体;另一个是湛江和北海野生原种基础群体。

关键词:斑节对虾;16S rRNA;遗传多样性;中国南海

中图分类号:S 917

文献标识码:A

斑节对虾(*Penaeus monodon*)属于对虾科(Penaeidae),对虾属,广泛分布于西太平洋和印度洋沿岸的大部分地区,我国的南海沿岸都有分布。这种虾具有生长快、个体大、产量高、肉味鲜美、营养丰富等优点,是我国南方重要的对虾养殖种类。高密度的人工育苗和养殖斑节对虾可能使我国海域的野生斑节对虾遗传多样性及遗传结构受到一定的影响。因此,研究我国海域野生斑节对虾的遗传结构和遗传变异水平,对于管理、保护和利用该海域的斑节对虾资源具有重要意义,同时为斑节对虾育种的基础群体的选择提供重要的理论依据。

在国外,有关斑节对虾野生群体的遗传结构和遗传多样性水平的报道较多^[1-5],在国内有关这方面的研究只有姜永杰等^[6]和周发林等^[7]利用mtDNA序列对中国南海的个别斑节对虾野生群体的遗传多样性进行了评估。动物线粒体DNA由于具有分子量小、结构简单、母性遗传、一级结构进化速度快等特征而作为作为一种优良的分子标记广泛应用于动物的群体遗传学和系统进化研究^[8]。因此,本文欲通过对中国南海海域的斑节对虾线粒体DNA 16S rRNA序列变异分析,了解我国南海海域斑节对虾野生群体的种群遗传结构及遗传多样性水平。

收稿日期:2007-12-04 修回日期:2008-04-28

资助项目:国家“八六三”高技术研究发展计划(2003AA603120,2006AA10A406);广东省科技计划项目(2005B20301001);农业结构调整项目(06-05-01B)

通讯作者:江世贵, E-mail: jiangsg@21cn.com

1 材料与方法

1.1 样品采集和 DNA 的提取

2003-2006 年,陆续对中国南海海域 5 个斑节对虾野生群体三亚群体(SY)、深圳群体(SZ)、阳江群体(YJ)、湛江群体(ZJ)、北海群体(BH)——进行了样品采集。由于深圳等个别地点的样品采集难度较大,只采集到 20 个样品。因此,本文对采集的 5 个野生群体的样品,统一选取 20 个样品进行了分析。采集的样品于 75% 酒精中 4 ℃ 冰箱保存。采集的样品所在地见图 1。每个样品取约 100 mg 肌肉剪碎,使其乙醇完全挥发后,按 CTAB 法提取样品的总 DNA。

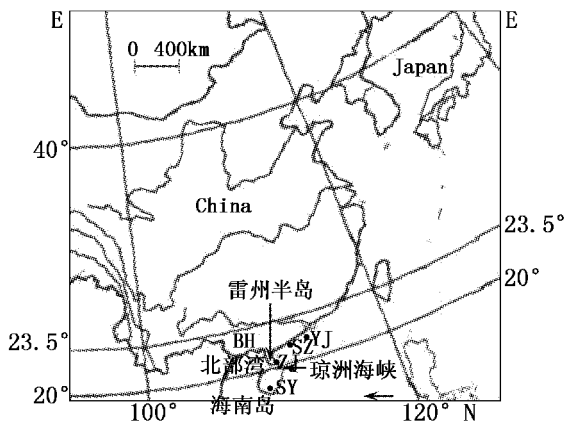


图 1 样品采集所在位置

Fig. 1 Location of wild *P. monodon* sample collection sites in South China Sea

SY indicates Sanya putative population; SZ indicates Shenzhen putative population; YJ indicates Yangjiang putative population; ZJ indicates Zhanjiang putative population; BH indicates Beihai putative population

1.2 PCR 扩增及序列测定

用于 16S rRNA 序列扩增的引物为:L2510 (5' - CGCCTGTTTAAACAAAACAT - 3') 和 H3059 (5' - CCGGTCTGAACTCAGATCATGT - 3')^[9]。扩增的反应总体积 60 μL,其中 10 × Ex Taq Buffer (Takara) 6 μL, Ex Taq polymerase (Takara 5 U/μL) 0.3 μL, dNTP (Takara 2.5 mmol/L) 4 μL, 10 pmol/μL 引物 2 μL, 1 μL 模板 DNA, 补足灭菌双蒸水至 60 μL。扩增条件: 94 ℃ 预变性 3 min, 之后进行 35 个循环(94 ℃ 45 s, 50 ℃ 45 s, 72 ℃ 60 s), 最后 72 ℃ 延伸 7 min。扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 胶回收纯化。纯化后的产物送至测序公司(英骏)测序。

1.3 数据分析

用 CLUSTAL_X 程序对所获得的序列进行

比对^[10]。群体的遗传多样性指标单倍型多样性 (gene diversity, H) 和核苷酸多样性 (nucleotide diversity, π) 由 ARLEQUIN^[11] 统计软件计算获得。群体间的群体遗传差异 F 统计量 (F -statistics, F_{ST})^[12] 的计算在 ARLEQUIN 中完成。群体间的基因流^[13] 由公式 $N_m = [(1/F_{ST}) - 1]/2$ 计算得出。用 MEGA 软件^[14] 构建群体间的分子系统树。群体遗传变异的分子变异等级分析 (AMOVA)^[15] 在 ARLEQUIN 中完成。

2 结果

2.1 目的片段的序列特征、群体内及群体间的序列变异分析

对斑节对虾 100 个样品的 16S rRNA 部分序列进行了 PCR 扩增, 均获得了特异性很好的 PCR 产物。PCR 产物经序列测定, 获得的 16S rRNA 序列的片段大小约为 440 bp。对 100 个样品的 16S rRNA 序列进行比较分析, 共发现 28 个变异位点, 19 个单倍型 (GenBank 号为 EF693899-EF693905, EU084985-EU084990, EU08992-EU084997, 表 1)。从表 1 可知, 为 5 个群体共享的单倍型有单倍型 7, 为 4 个群体共享的单倍型有单倍型 11, 为两个群体共享的单倍型有单倍型 2、4, 其余的单倍型只在一个群体中出现。5 个群体的 16S rRNA 序列的单倍型多样性 (H), 核苷酸多样性 (π) 见表 2。

2.2 群体间的遗传差异分析

群体间的 F_{ST} 及 N_m 分析 5 个群体间的 F_{ST} 及 N_m 值见表 3。从表 3 可以看出, 三亚群体与湛江、北海群体之间的遗传差异显著, 深圳群体与湛江、北海群体之间的遗传差异显著。

群体间的分子变异等级分析 (AMOVA 分析) 把 5 个群体作为一个组进行 AMOVA 分析 (表 4), 结果表明群体间分子变异显著 ($F_{ST} = 0.084881, P = 0.01594 < 0.05$)。

2.3 5 个斑节对虾群体线粒体 16S rRNA 的分子系统树

以日本囊对虾 (*Marsupenaeus japonicus*) 的 1 个 16S rRNA 序列 (序列号: AY742275) 为外群, 基于 5 个群体间的线粒体 16S rRNA 的序列差异, 构建了 NJ 分子系统树 (图 2)。从图 2 可知, 三亚和深圳群体之间的亲缘关系最近; 北海、湛江群体与三亚、深圳群体的亲缘关系很远。

表 1 16S rRNA 序列多态性核苷酸位点及各单倍型在五个群体中的分布
Tab.1 The distribution of variable nucleotides and haplotypes in 16S rRNA fragments of the five populations

	群体 population				
	SY	SZ	YJ	ZJ	BH
1111 1111112222 22223344 156670011 4899992256 68880224 8093516935 9201345965 65788550					
01 AATTGTGATG AATTAATAGT TTTTGTTG	2	0	0	0	0
02 A. A. G.	1	1	0	0	0
03 A. . C. G.	1	0	0	0	0
04 A. AG. . . GA. . G. G. . . C. - A. . .	1	0	0	0	1
05 A. G. C	1	0	0	0	0
06 A. G. C. .	3	0	0	0	0
07 A. G.	11	14	12	11	10
08 AC. CG.	0	1	0	0	0
09 .. CGAC. G.	0	1	0	0	0
10 A. AG. A GGA. . GC. . . C. - A. . .	0	1	0	0	0
11 A. AG. . . GA. . GC. . . C. - A. . .	0	1	6	7	4
12 A. G. . . . C	0	1	0	0	0
13 A. AG. . . GA. . G. G. . . CC - A. . .	0	0	0	0	1
14 A. AG. . . GA. . GC. . . C. - A. . C	0	0	0	0	2
15 A. G. T	0	0	0	0	2
16 AG. . . GA. . GC. . . C. - A. . .	0	0	0	1	0
17 A. G. . . . C.	0	0	0	1	0
18 GC. . A. G.	0	0	1	0	0
19 A. AG. . . GA. . GC. A. . C. - A. . .	0	0	1	0	0

表 2 5 个斑节对虾群体各种多样性指标
Tab.2 Measure (\pm SD) of genetic diversity in the five populations

群体 population	样品数 (n) no. of individuals	单倍型多样性 (H) haplotype diversity	核苷酸多样性 (π) nucleotide diversity
三亚 (SY)	20	0.6895 \pm 0.1053	0.00435 \pm 0.002887
深圳 (SZ)	20	0.5211 \pm 0.1346	0.00586 \pm 0.003664
阳江 (YJ)	20	0.5737 \pm 0.0904	0.01050 \pm 0.006008
湛江 (ZJ)	20	0.6000 \pm 0.0771	0.01081 \pm 0.006165
北海 (BH)	20	0.7211 \pm 0.0892	0.01168 \pm 0.006604
总计 (Total)	100	0.6335 \pm 0.0500	0.009246 \pm 0.005152

表 3 群体间的 (对角线上方) N_m 和 F_{ST} (对角线下方)
Tab.3 Population pairwise F_{ST} (above diagonal) and N_m (below diagonal) values

群体 population	三亚 (SY)	深圳 (SZ)	阳江 (YJ)	湛江 (ZJ)	北海 (BH)
三亚 (SY)	-	∞	2.464 7	1.786 5	1.982 0
深圳 (SZ)	-0.006 76 ^{n.s.}	-	4.5715	2.907 6	3.171 6
阳江 (YJ)	0.168 65 ^{n.s.}	0.098 59 ^{n.s.}	-	∞	∞
湛江 (ZJ)	0.218 67*	0.146 73*	-0.044 41 ^{n.s.}	-	∞
北海 (BH)	0.201 45*	0.136 18*	-0.036 39 ^{n.s.}	-0.039 89 ^{n.s.}	-

Notes: * $P < 0.05$, n. s. means no significance ($P > 0.05$)

表 4 群体间的遗传变异的分子变异等级分析 (AMOVA)
Tab.4 Analysis of molecular variance (AMOVA)

组别 source of variation	自由度 df	遗传变异元素 sun of squares	占总变异百分比 variance components	总变异百分比 percentage of variation	F-统计量 F_{ST}	P 值 P-value
5 个群体间 among populations	4	21.560	0.175 11 Va	8.49	0.084 88	0.015 94*
群体内 within populations	95	179.350	1.887 89 Vb	91.51		
总体 total	99	200.910	2.06300			

Notes: * $P < 0.05$, n. s. means no significance ($P > 0.05$)

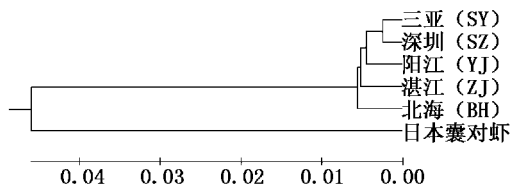


图 2 应用 NJ 法构建 5 个群体的 mtDNA 16S rRNA 序列的分子系统树

Fig.2 Neighbor-joining tree of the five population based 16S rRNA

3 讨论

16S rRNA 在群体遗传多样性研究中已经得到了广泛应用。例如邱高峰等^[16]利用 16S rRNA 基因序列对野生和养殖中国明对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 群体的遗传多样性进行了研究,结果表明被检测的 16S rRNA 基因序列具有丰富的核苷酸多态性以及群体之间存在一定的遗传分化。Machado 等^[17]对美菲对虾 (*Penaeus notialis*) 16S rRNA 基因序列进行了分析,结果发现个体间的 16S rRNA 核苷酸碱基存在丰富的变异。此外,在虾夷扇贝^[18] (*Patinopekten yessoensis*),栉孔扇贝^[19] (*Chlamys farreri*),近江牡蛎^[20] (*Crassostrea rivulari*) 和缢蛏^[24] (*Sinonovacula constricta*) 群体的 16S rRNA 基因序列中,检测到了丰富的核苷酸变异位点。本文利用 16S rRNA 基因片段对 5 个斑节对虾野生群体遗传多样性进行了研究,结果表明斑节对虾的 16S rRNA 核苷酸多样性比栉孔扇贝^[19]、近江牡蛎^[20] 等物种的高很多(表 5),这与 Klinbunga 等^[1]得到的结果基本一致。Klinbunga 等利用 RFLP 方法分析了泰国 3 个野生群体的线粒体 DNA 核苷酸多样性,表明斑节对虾群体内的线粒体 DNA 核苷酸多样性(2.21%)比一般的物种群体内的线粒体 DNA 核苷酸多样性(1.0%)高很多。不过,斑节对虾的 16S rRNA 核苷酸多样性要比缢蛏^[21]的低(表 5)。

此外,从表 2 可以看出,5 个群体的 16S rRNA 核苷酸多样性的差异非常大,北海群体的核苷酸多样性(0.011 689)最高。这与杜晓东等^[22]分析翡翠贻贝 (*Perna viridis*) 3 个野生种群遗传多样性和尤仲杰等分析中国沿海西施舌 (*Coelomactra antiquata*) 5 个自然群体的遗传多样性结果一样,都是北海群体的遗传多样性最高。

这说明,可能北部湾(北海群体所在水域)很多物种的种质资源相对中国其它海域来说,保存良好。另外,从表 2 还可以看出,三亚、深圳群体和三亚群体的遗传多样性相对北海群体的低很多,这很有可能是这两个区域的野生斑节对虾受到其人工育苗和养殖的影响,因为这两个地方的斑节对虾育苗及养殖要比北海密集得多。人工培育的斑节对虾苗种和养殖的斑节对虾释放成野生斑节对虾可能积累了一定的近交衰退效应,从而使三亚、深圳群体的遗传多样性降低。不过,还有一种可能是由于本文采集的每个群体样品不多,还没有完全反映出三亚、深圳群体的遗传多样性程度。

表 5 4 个物种的核苷酸多样性指标
Tab.5 Measure (\pm SD) of nucleotide diversity in the four populations

物种 species	样品数(<i>n</i>) no. of individuals	16S rRNA 核苷酸 多样性(π) nucleotide diversity
斑节对虾 <i>P. monodon</i>	100	0.009 2
栉孔扇贝 <i>Chlamys farreri</i>	31	0.003 4
近江牡蛎 <i>Crassostrea rivulari</i>	105	0.006 8
缢蛏 <i>Sinonovacula constricta</i>	47	0.018 9

早在 1992 年, Benzie 等^[24]利用同工酶技术分析澳大利亚斑节对虾野生群体,结果表明有些野生群体虽然相差只有几百公里,群体间的遗传差异却很显著;有些群体相差达到几千公里,群体间遗传差异却不显著。随后, Brooker 等^[25]利用微卫星技术分析澳大利亚斑节对虾野生群体,结果与 Benzie 的基本一致。因此,在分析斑节对虾野生群体之间的遗传差异是否显著时,不单只考虑群体之间的距离有多远,群体所处的地理位置也很重要。本文利用 16S rRNA 分析了我国南海 5 个斑节对虾野生群体遗传结构,结果表明群体间的遗传差异是否显著,也与其所处的地理位置(即野生群体栖息环境的水文状况和地理阻隔)有关。北部湾(北海群体所在的水域)是一个半封闭的海湾(图 1),受到雷州半岛及海南岛的阻隔,其湾内的海洋水文状况与其他水域有显

著的差异,可能阻碍了群体之间的对虾成虾和幼体之间的自由迁徙和自由扩散,使北海群体与深圳群体、三亚群体之间保持了显著的遗传差异(表3)。张其永等^[26]和陈作志等^[27]也在研究中认为由于北部湾独特的海洋水文状况,北部湾(北海群体所在的水域)的二长棘鲷区别于其他群体而形成单独的地方种群。尤仲杰等^[23]对中国沿海西施舌5个自然群体形态差异和RAPD分析时,北海群体也与山东胶南、江苏南通、浙江台州、福建福州等4个自然群体遗传分化明显,其结果表明也与北海所处地理位置有关。另外,野生黄颡的北海群体与深圳群体、舟山群体、青岛群体的遗传差异显著^[28]。

此外,湛江群体分别与深圳群体、三亚群体遗传差异也显著。这可能是因为湛江与北海虽然被雷州半岛相隔,但由于相距很近,湛江和北海群体间的基因流非常大。因此,湛江群体可能受北海群体的影响,也分别与深圳群体、三亚群体遗传差异显著。不过16S rRNA提供遗传信息有限,需再选择mtDNA其他不同的基因区域(如D-loop等)和基因组DNA进行群体间的遗传差异分析,进一步证实湛江群体是否与深圳群体、三亚群体遗传差异显著。

根据5个群体间的16S rRNA序列的 F_{ST} 分析、AMOVA分析以及构建的分子系统树,中国南海5个野生群体可以为斑节对虾选择育种提供两个原种基础群体:一个是深圳、三亚群体;另一个是湛江和北海群体。

参考文献:

- [1] Klinbunga S, Penman DJ, McAndrew B J, et al. Mitochondrial DNA diversity in three populations of the giant tiger shrimp *Penaeus monodon* [J]. Mar Biotechnol, 1999, 1(2): 113-121.
- [2] Benzie J A H, Ballment E, Frusher S. Genetic structure of *Penaeus monodon* in Australia: concordant results from mtDNA and allozymes [J]. Aquaculture, 1993, 111: 89-93.
- [3] Sugama K, Haryanti, Benzie J A H, et al. Genetic variation and population structure of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*, in Indonesia [J]. Aquaculture, 2002, 205: 37-48.
- [4] Tassankajon A, Pongsomboon S, Rimphanitchayakit V, et al. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers for determination of genetic variation in wild populations of the black tiger prawn (*Penaeus monodon*) in Thailand [J]. Mol Mar Biol Biotechnol, 1997, 6: 110-115.
- [5] Xu Z, Primavera J H, Pena L D, et al. Genetic diversity of wild and cultured black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using microsatellites [J]. Aquaculture, 2001, 199: 13-40.
- [6] 姜永杰,周发林,黄键华,等. 深圳斑节对虾野生种群mtDNA控制区序列的多态性分析[J]. 南方水产, 2006, 2(1): 54-57.
- [7] 周发林,江世贵,姜永杰,等. 海南三亚斑节对虾野生种群mtDNA 16S rRNA基因和控制区序列的多态性[J]. 南方水产, 2006, 2(6): 13-18.
- [8] Kappner I, Bieler R. Phylogeny of *Venus clams* (Bivalvia: Venerinae) as inferred from nuclear and mitochondrial gene sequences [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2006, 40: 317-331.
- [9] Bouchon D, Souty-Grosset C, Raimond R. Mitochondrial DNA variation and markers of species identity in two penaeid shrimp species: *Penaeus monodon* Fabricius and *P. Japonicus* Bate [J]. Aquaculture, 1994, 127.
- [10] 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.
- [11] Schneider S, Roessli D, Excoffier L. ARLEQUIN, version 2.000: a software for population genetics data analysis [M]. Geneva: University of Geneva, 2000.
- [12] Wright S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating [J]. Evolution, 1965, 19: 395-420.
- [13] Nei M. Evolution of human races at the gene level [M]// Bonne T B, Cohen T, Goodman R M, ed. Human Genetics, Part A: The Unfolding Genome. New York: Alan R Liss, 1982, 167-181.
- [14] Kumar S, Tamura K, Jakobsen I B et al. MEGA 2.0: molecular evolutionary genetics analysis software [M]. Tempe: Arizona State University, 2001.
- [15] Excoffier L, Smouse P E, Quattro J M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances

- among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data[J]. *Genetics*, 1992, 131: 479 - 497.
- [16] 邱高峰,常林瑞,徐巧婷,等. 中国对虾 16S rRNA 基因序列多态性的研究[J]. *动物学研究*, 2000, 21 (1) : 35 - 40.
- [17] Machado E G, Dennebouy M, Suarez M O, *et al.* Mitochondrial 16S rRNA gene of two species of shrimps: sequence variability and secondary structure[J]. *Crustaceana*, 1993, 65 (3) : 279 - 286.
- [18] Boulding E G, Boom J, Beekenbach A T. Genetic variation in one bottlenecked and two wild populations of scallops: parameter estimates from coding regions of mtDNA[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1993, 50: 1147 - 1157.
- [19] 刘亚军,喻子牛,姜艳艳,等. 栉孔扇贝 16S rRNA 基因片段序列的多态性研究[J]. *海洋与湖沼*, 2002, 33 (5) : 477 - 483.
- [20] 苏天凤,江世贵,周发林,等. 近江牡蛎 16S rRNA 基因片段序列变异分析[J]. *高技术通讯*, 2005, 15 (2) : 100 - 103.
- [21] 牛东红,李家乐,汪桂玲,等. 缢蛏六群体 16S rRNA 基因片段序列的差异分析[J]. *上海水产大学学报*, 2007, 16(1) : 1 - 6.
- [22] 杜晓东,李康,黄荣莲,等. 翡翠贻贝 3 个野生种群遗传多样性分析[J]. *热带海洋学报*, 2007, 26 (4) : 51 - 55.
- [23] 尤仲杰,包永波,张爱菊. 中国沿海西施舌 5 个自然群体形态差异和 RAPD 分析[J]. *海洋学报*, 2007, 29(3) : 98 - 109.
- [24] Benzie J A H, Frusher S, Ballment E. Geographical variation in allozyme frequencies of populations of *Penaeus monodon* (Crustacea: Decapoda) in Australia[J]. *Aust J Mar Freshwater Res*, 1992, 43, 715 - 725.
- [25] Brooker A L, Benzie J A H, Blair D, *et al.* Population structure of the giant tiger prawn *Penaeus monodon* in Australian waters, determined using microsatellite markers[J]. *Mar Biol*, 2000, 134, 705 - 710.
- [26] 张其永,蔡泽平. 台湾海峡和北部湾二长棘鲷种群鉴别研究[J]. *海洋与湖沼*, 1983, 14 (5) : 511 - 521.
- [27] 陈作志,邱永松. 北部湾二长棘鲷的生态分布[J]. *海洋水产研究*, 2005, 26(3) : 16 - 21.
- [28] Xia J H, Jiang S G. Genetic structure of the yellowback seabream *Dentex tumifrons* in China inferred from AFLP data[J]. *Fisheries Sciences*, 2006, 8(72) : 829 - 834.

**Assessing genetic diversity of the five wild tiger prawn
(*Penaeus monodon*) populations in the coastal waters of South
China Sea, based on mitochondrial DNA 16S rRNA sequences**

ZHOU Fa-lin^{1,2}, JIANG Shi-gui¹, JIANG Yong-jie¹, HUANG Jian-hua¹, MA Zhi-ming¹

(1. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The aim of the present study was to survey mtDNA 16S rRNA sequence variation to assess genetic diversity and genetic structure of the wild tiger prawn in the coastal waters of South China. The samples of *P. monodon* had been obtained from the coastal waters of South China which included the coastal waters of Sanya (SY), Shenzhen (SZ), Zhanjiang (ZJ), Yangjiang (YJ), and Beihai (BH). 100 individuals of *P. monodon* were caught from the five putative populations (SY putative population, SZ putative population, YJ putative population, ZJ putative population and BH putative population). The PCR technique was used to amplify the mtDNA 16S rRNA among 100 individuals. The PCR products were purified and sequenced. As a result, 440 bp nucleotide sequences of partial 16S rRNA were obtained (some of the marginal sequences were excluded). 19 haplotypes and 28 variable sites were detected among all partial mitochondrial 16S rRNA sequences of 100 tiger prawns. Nucleotide diversities (π) in SY putative population, SZ putative population, YJ putative population, ZJ putative population and BH putative population were 0.00435, 0.00586, 0.01050, 0.01081 and 0.01168 respectively. Haplotype diversities (H) in SY putative population, SZ putative population, YJ putative population, ZJ putative population and BH putative population were 0.6895, 0.5211, 0.5737, 0.6000 and 0.7211 respectively. F_{ST} values between ZJ and SY, SZ putative populations, between BH and SY, SZ putative populations showed significant genetic differences, and F_{ST} values among all the other populations showed no strong genetic differences. Significant genetic differentiation among all five putative populations was found by analysis of molecular variance (AMOVA). The NJ tree of the five putative populations showed the SY and SZ putative populations had the closest relation among the five putative populations; the BH and ZJ putative populations had the greatest genetic distance from the SY and SZ putative populations among the five putative populations. Therefore, we conclude that the five putative populations can provide two basic populations for selective breeding of *P. monodon*; one is the SY and SZ geographic stock, and the other is the ZJ and BH geographic stock.

Key words: *Penaeus monodon*; 16S rRNA; genetic diversity; South China Sea