

张茜茜, 朱志煌, 王健鑫, 等. 梭子蟹科线粒体基因组特征与系统发育遗传分析[J]. 渔业研究, xxxx, xx(x): 1–13.

Zhang X X, Zhu Z H, Wang J X, et al. Mitochondrial genome characteristics and phylogenetic analysis in Portunidae[J]. Journal of Fisheries Research, xxxx, xx(x): 1–13.



梭子蟹科线粒体基因组特征与系统发育遗传分析

张茜茜^{1,2,3,4}, 朱志煌^{1,3,4}, 王健鑫², 石 戈^{2*}, 林 琪^{1,3,4*}

(1. 福建省水产研究所, 福建 厦门 361013;

2. 浙江海洋大学海洋科学与技术学院, 浙江 舟山 316022;

3. 福建省海洋生物增殖与高值化利用重点实验室, 福建 厦门 361013;

4. 海洋生物种业技术国家地方联合工程研究中心, 福建 厦门 361013)

摘要:【目的】线粒体基因在物种鉴定、起源和进化研究中展现出较高的效率和准确性, 目前已有 23 种梭子蟹完成了线粒体全基因组测序, 但基于比较基因组学方法对梭子蟹科线粒体进行基因组特征及系统进化关系的研究仍较少。本研究旨在探究梭子蟹科 (Portunidae) 蟹类的线粒体基因组特征, 筛选适用于梭子蟹科物种快速鉴定的分子标记, 并阐明梭子蟹科的系统发育关系。【方法】采用比较基因组学方法, 对 23 种梭子蟹的线粒体全基因组序列进行分析。通过差异位点分析筛选物种快速鉴定的分子标记, 并基于 13 个蛋白质编码基因 (PCGs) 的核苷酸序列, 运用最大似然法 (ML) 和贝叶斯推断法 (BI) 构建系统发育树, 同时进行分歧时间估算。【结果】梭子蟹科线粒体基因组具有高度保守性, 未发现基因重排现象, 且表现出显著的 AT 偏好性。选择压力分析显示, 13 个 PCGs 的 Ka/Ks 值均在 0 到 1 之间, 表明这些基因均受到纯化选择作用。差异位点分析显示, *nad5*、*nad4* 和 *rrnL* 基因因较长的序列长度和较高的变异位点比例, 可作为梭子蟹科物种快速鉴定的理想分子标记。系统发育分析表明, 光背蟹属 (*Lissocarcinus*)、狼牙蟹属 (*Lupocycloporus*)、单梭蟹属 (*Monomia*)、梭子蟹属 (*Portunus*)、青蟹属 (*Scylla*)、蟬属 (*Charybdis*) 及美青蟹属 (*Callinectes*) 7 个属均为单系群, 双额短桨蟹 (*Thalamita sima*) 未与短桨蟹属 (*Thalamita*) 聚为一支, 而是与蟬属 (*Charybdis*) 关系更密切, 这一结果得到遗传距离分析的支持。分歧时间估算结果显示, 梭子蟹科的起源至少可追溯至三叠纪, 其中光背蟹属是较为古老的一支, 现存梭子蟹大多分化自古近纪。【结论】23 种梭子蟹线粒体基因组较保守, 其中 *nad5*、*nad4* 以及 *rrnL* 基因是梭子蟹科物种快速鉴定的理想分子标记。在系统发育树中, 短桨蟹属呈现出非单系群的分布特征。本研究结果为梭子蟹科物种的快速鉴定、遗传进化研究及分歧时间推断提供了重要的理论依据和数据支持。

关键词: 梭子蟹; 线粒体基因; 系统发育; 分歧时间

中图分类号: S917.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096–9848 (xxxx) 00–0001–13

收稿日期: 2025-02-19

修回日期: 2025-03-15

基金项目: 福建省海洋服务与渔业高质量发展专项 (FJHY-YYKJ-2022-1-7); 厦门市海洋与渔业发展专项资金青年科技创新项目 (23YYST0710CA14); 福建省属公益类科研院所基本科研专项 (2024R1013007)

第一作者: 张茜茜, 女, 硕士研究生, 研究方向为蟹类分子系统学。E-mail: xixizhang202404@163.com

通信作者: 石 戈, 女, 教授, 研究方向为海洋生物化学与分子生物学。E-mail: sg2610105@126.com

林 琪, 男, 研究员, 研究方向为水产养殖。E-mail: xmqlin@sina.com

梭子蟹科 (Portunidae) 隶属于节肢动物门 (Arthropoda)、甲壳纲 (Crustacea)、十足目 (Decapoda), 是一类具有重要经济和生态价值的海洋生物^[1], 广泛分布于全球温带至热带海域的潮间带至深海区域^[2], 该科包含 35 属、300 余种, 其中中国海域记录的种类超过 60 种^[3]。作为海洋生态系统的重要组成部分, 梭子蟹不仅是渔业资源的重要物种, 其营养与药用价值亦备受关注^[2]。研究表明, 梭子蟹肌肉组织富含钙、铁等矿物质及抗氧化活性肽, 具有显著的营养保健价值^[4]。例如三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) 的卵油具有预防肥胖和改善肠道健康的潜力^[5]; 锯缘青蟹 (*Scylla serrata*) 的壳聚糖可以通过减轻炎症反应有效地改善肾脏和肝脏功能^[6]。在生态领域, 梭子蟹对维持海洋生态系统平衡发挥重要作用^[7], 同时部分种类如蓝蟹 (*Callinectes sapidus*) 作为入侵物种影响入侵地区生物群落结构^[8]。此外, 蓝蟹因对环境污染物的敏感性, 在生态毒理学研究中被广泛用作模式生物^[9]。

在分类研究方面, 尽管过去二十年间梭子蟹科的新物种不断被发现^[7], 但由于梭子蟹的形态特征较为相似, 仅凭形态特征进行鉴定的准确性较低^[10-11]。例如 *Xiphonectes unidens* 与 *Xiphonectes hastatoides* 在形态上极为相似, 极易造成鉴定错误^[12]。相比之下, 线粒体基因在物种鉴定、起源和进化研究中展现出更高的效率和准确性^[13-14]。目前, 梭子蟹的分子鉴定主要采用 *cox1* 或 16S rRNA 基因作为分子标记^[15], 例如通过 *cox1* 基因分析, 从 40 尾梭子蟹中成功鉴定出 39 个 *Portunus segnis*^[16]。利用 *cox1* 和 16S rRNA 基因从 15 种短尾蟹幼体中准确鉴定出 9 种梭子蟹^[15]。然而, 学术界尚未就梭子蟹科物种快速鉴定的分子标记基因达成共识, 且梭子蟹科的系统发育关系仍需进一步明确^[17-18]。当前的研究大多依赖单基因片段构建系统发育树, 但以不同单基因片段构建的系统发育树在拓扑结构上存在显著差异, 影响了各物种间分类地位的界定^[2]。例如基于 16S rRNA 和 *cox1* 基因分别构建的梭子蟹科系统发育树显示, 两者之间存在显著的拓扑结构差异^[19]。因此, 梭子蟹科内部的系统发育关系仍需进一步探索和完善。

目前已有 23 种梭子蟹完成了线粒体全基因组测序 [如远海梭子蟹 (*Portunus pelagicus*)^[20]、双额短桨蟹 (*Thalamita sima*)^[21] 等], 初步揭示了

其基因组成、碱基偏好及密码子使用模式等特征。然而, 现有研究多集中于单一物种或少数近缘种的基因组描述, 缺乏对梭子蟹科物种间线粒体基因组特征的系统性比较。此外, 尽管梭子蟹线粒体基因排列模式与短尾次目祖先物种高度相似, 但针对梭子蟹科内部基因重排事件的探究仍较为匮乏, 难以全面评估其基因组重排的进化规律。例如拟曼赛因青蟹 (*Scylla paramamosain*) 的线粒体基因排列与大多数节肢动物一致, 但其与梭子蟹科其他物种间的基因顺序差异尚未得到充分解析^[22]。在系统发育研究领域, 现有文献多聚焦于单一物种线粒体基因组特征的描述性报道, 并以此为基础进行辅助性系统发育树构建, 但普遍存在分类单元覆盖度不足与拓扑结构可靠性较低的问题。例如针对钝齿蜆 (*Charybdis hellerii*) 的线粒体基因组研究所构建的梭子蟹科系统发育树仅纳入 17 个物种, 受限于样本量不足, 其部分节点支持率较低, 难以全面反映梭子蟹科的多样性^[23]。尽管比较基因组学方法在解析基因组特征与系统进化关系方面具有显著优势^[24-25], 但其在梭子蟹科中的应用仍较为稀缺。因此, 本研究通过对 23 种梭子蟹线粒体基因组的结构特征进行分析, 筛选适用于物种快速鉴定的分子标记, 并基于多基因联合数据集探讨梭子蟹科内部的系统发育关系及分化时间, 旨在为梭子蟹的快速鉴定提供可靠的遗传标记, 也为厘清梭子蟹科内各物种间的进化关系及演化历史奠定分子基础。

1 材料与方法

1.1 数据获取

从 GenBank 公共数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>) 检索并获取了梭子蟹科 8 属 23 种梭子蟹线粒体基因组全序列, 其物种名称及 GenBank 登录号等详见表 1。

1.2 线粒体基因组序列分析

使用 MAFFT 7.505^[26] 对 23 种梭子蟹 13 个蛋白质编码基因 (Protein-coding genes, PCGs) 进行单基因比对。通过 PhyloSuite 1.2.3^[27] 分析各氨基酸同义密码子相对使用度 (Relative synonymous codon usage, RSCU)。利用 KaKs_calculator 2.0^[28] 计算同义替换率 (K_s) 和非同义替换率 (K_a), 遗传密码子选择无脊椎动物线粒体密码子, 计算方法选择近似法中的 Yang-Nielsen 法 (YN)。此外, 使用 DnaSP 6^[29] 对比对后的 13 个 PCGs 和 2 个 rRNA

基因进行差异分析，分别统计总位点数、保守位点
数、变异位点数、单现突变数、简约突变数以及计
算变异位点比例。使用 MEGA X^[30] 对梭子蟹科

23 个物种线粒体基因组的 13 个 PCGs 进行单基因
比对再串联，采用 kimura 2-parameter 模型计算各
物种之间的遗传距离。

表 1 梭子蟹科物种线粒体基因组的基本特征
Tab. 1 Basic characteristics of mitogenome of Portunidae

属 Genera	种名 Species	GenBank 接收号 GenBank accession number	长度/bp Length	AT 含量/% AT content	AT 偏倚 AT-skew	GC 偏倚 GC-skew
短桨蟹属 <i>Thalamita</i>	刺腕短桨蟹 <i>Thalamita spinicarpa</i>	NC_069015.1	15 783	69.2	-0.018	-0.227
	底栖短桨蟹 <i>Thalamita prymna</i>	NC_069014.1	15 807	68.7	0.011	-0.269
	整洁短桨蟹 <i>Thalamita integra</i>	NC_069013.1	15 773	66.7	-0.039	-0.188
	少刺短桨蟹 <i>Thalamita danae</i>	NC_069012.1	15 809	69.9	0.004	0.272
	双额短桨蟹 <i>Thalamita sima</i>	NC_039640.1	15 831	71.7	-0.016	-0.242
	钝齿短桨蟹 <i>Thalamita crenata</i>	NC_024438.1	15 787	69.7	-0.013	-0.240
	环纹蜉 <i>Charybdis annulata</i>	NC_069011.1	15 747	67.8	-0.014	-0.269
蜉属 <i>Charybdis</i>	钝齿蜉 <i>Charybdis hellerii</i>	NC_060621.1	15 913	70.2	-0.038	-0.252
	双斑蜉 <i>Charybdis bimaculata</i>	NC_037695.1	15 714	71.6	-0.051	-0.194
	善泳蜉 <i>Charybdis natator</i>	NC_036132.1	15 664	70.4	-0.034	-0.253
	锈斑蜉 <i>Charybdis feriata</i>	NC_024632.1	15 660	70.2	-0.028	-0.246
光背蟹属 <i>Lissocarcinus</i>	日本蜉 <i>Charybdis japonica</i>	NC_013246.1	15 738	69.2	-0.024	-0.228
	阿嘎光背蟹 <i>Lissocarcinus arkati</i>	NC_057302.1	15 510	67.2	-0.012	-0.311
狼牙蟹属 <i>Lupocycloporus</i>	纤手梭子蟹 <i>Lupocycloporus gracilimanus</i>	NC_040124.1	15 990	69.7	-0.024	-0.258
单梭蟹属 <i>Monomia</i>	拥剑梭子蟹 <i>Monomia gladiator</i>	NC_037173.1	15 878	69.0	-0.034	-0.242
梭子蟹属 <i>Portunus</i>	红星梭子蟹 <i>Portunus sanguinolentus</i>	NC_028225.1	16 024	65.6	-0.037	-0.250
	远海梭子蟹 <i>Portunus pelagicus</i>	NC_026209.1	16 157	68.7	-0.019	-0.219
	三疣梭子蟹 <i>Portunus trituberculatus</i>	NC_005037.1	16 026	70.2	-0.051	-0.241
青蟹属 <i>Scylla</i>	拟曼赛因青蟹 <i>Scylla paramamosain</i>	NC_012572.1	15 825	73.0	-0.047	-0.247
	橄榄青蟹 <i>Scylla olivacea</i>	NC_012569.1	15 723	69.4	-0.035	-0.267
	特兰克巴尔青蟹 <i>Scylla tranquebarica</i>	NC_012567.1	15 833	73.7	-0.047	-0.247
	锯缘青蟹 <i>Scylla serrata</i>	NC_012565.1	15 775	72.6	-0.047	-0.242
	蓝蟹 <i>Callinectes sapidus</i>	NC_006281.1	16 263	69.1	-0.011	-0.279

1.3 系统发育分析

选择短额琵琶蟹（*Lyreidus brevifrons*）为外群，使用 MAFFT 7.505^[26] 将外群及 23 种梭子蟹的 PCGs 进行比对，比对后的数据通过 Gblocks^[31] 去除不可靠的序列，并使用 ModelInde 2.2.0^[32] 估算

最适的核苷酸替代模型。采用最大似然法（Maximum likelihood, ML）和贝叶斯推断法（Bayesian inference, BI）分析梭子蟹的进化关系。使用 IQ-TREE 2.2.0^[33] 构建最大似然树，GTR+R4+F 为最佳的替代模型，其中检验次数设置为 1000，依据

自展概率 (Bootstrap probability, BP) 评估分枝节点的可靠性。同时, 使用 MrBayes 3.2.7^[34] 构建贝叶斯树, 选择 GTR+I+G+F 模型, 运行 4 条蒙特卡罗马尔夫链 (Markov chain monte carlo, MCMC) 2000000 代, 抽样频率为 1000, 摒弃 25% 老化样本, 并计算后验概率 (Posterior probability, PP) 以评估分枝节点的可靠性。

1.4 分歧时间估计

使用 MEGA X^[30] 对 23 种梭子蟹的分歧时间进行估算, 将 13 个 PCGs 进行单基因比对、串联, 选择非脊椎动物密码子表, 使用 ModelFinder 2.2.0^[32] 估算最佳模型, 共设置 4 个校准节点, 分别是青蟹属 (*Scylla*) 的分化时间, 橄榄青蟹 (*Scylla olivacea*) 的分化时间, 美青蟹属 (*Callinectes*) 与螯属 (*Charybdis*) 的分化时间, 以及美青蟹属 (*Callinectes*) 与梭子蟹属 (*Portunus*) 的分化时间^[35]。

2 结果与分析

2.1 线粒体基因组特征

23 种梭子蟹线粒体基因组均为双链环状结构, 共编码 37 个基因, 即 13 个 PCGs、2 个 rRNAs 和 22 个 tRNAs。线粒体基因组全长介于 15510~16263 bp 之间, 其中蓝蟹的线粒体基因组最大, 阿嘎光背蟹 (*Lissocarcinus arkati*) 的线粒体基因

组最小 (表 1)。通过比较基因组排列模式发现, 所有物种的基因顺序高度保守, 未检测到基因重排现象, 表明梭子蟹科物种线粒体基因组在进化过程中具有显著的结构稳定性 (图 1)。核苷酸组成分析显示, 该科线粒体基因组普遍呈现 AT 偏好性, 其中特兰克巴尔青蟹的 AT 含量最高 (73.7%), 而红星梭子蟹的 AT 含量最低 (65.6%)。进一步通过核苷酸偏倚指数 (AT-skew 和 GC-skew) 评估碱基组成异质性, 结果显示, 除短桨蟹属中的底栖短桨蟹和少刺短桨蟹外, 其余物种 AT 偏倚均为负值, 表明 T 碱基占比略高于 A 碱基; 所有物种的 GC 偏倚均为负值, 表明 C 碱基占比高于 G 碱基。

2.2 蛋白质编码基因分析

对梭子蟹科线粒体基因组的 RSCU 分析显示 (图 2), 所有氨基酸均由 2 种或以上同义密码子编码, 在非脊椎动物的 64 个遗传密码子中, 共鉴定出 28 个高频使用密码子 (RSCU>1.00)。这些高频密码子在第三碱基位点偏好使用 A 碱基和 U 碱基, 其中 15 个密码子以 U 碱基结尾, 13 个以 A 碱基结尾, 进一步分析发现, 以 A 碱基或 U 碱基为第三碱基的密码子中仅存在 3 个例外情况: CUA [亮氨酸 (Leu1), RSCU=0.91]、CCA [谷氨酰胺 (Gln), RSCU=0.97] 和 AGU [丝氨酸 (Ser1), RSCU=0.6] 未达到高频密码子阈值。

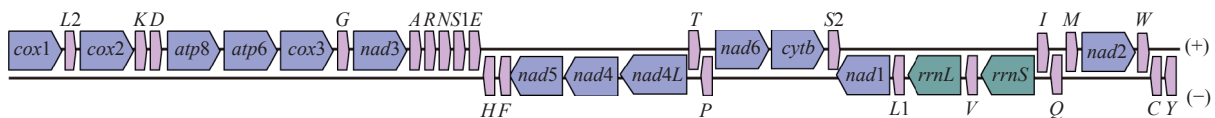


图 1 梭子蟹科物种线粒体基因组排列顺序
Fig. 1 Mitochondrial gene arrangement in Portunidae

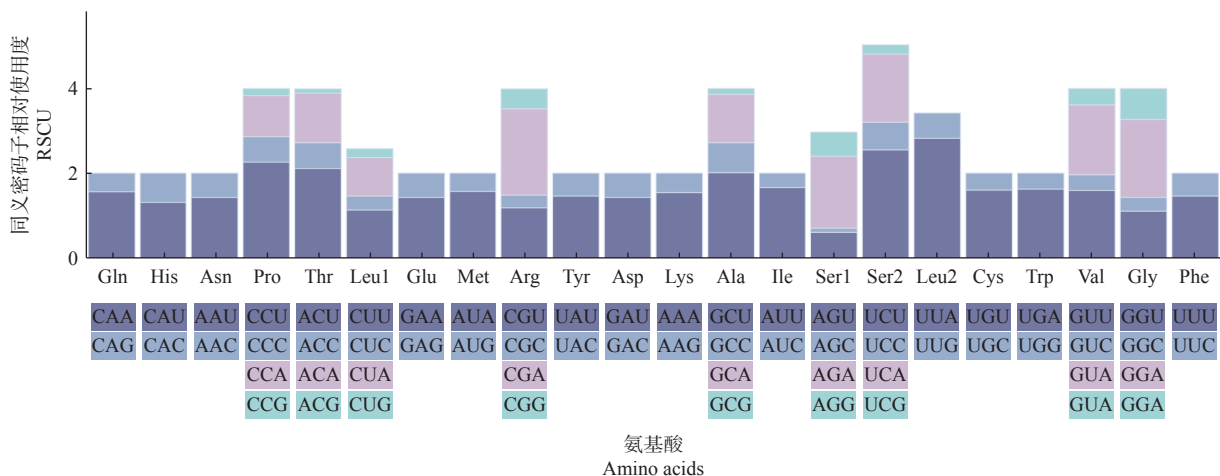


图 2 梭子蟹科物种线粒体基因组密码子 RSCU 分布情况
Fig. 2 RSCU distribution of mitochondrial genome codon in Portunidae

为明确蛋白编码基因在不同梭子蟹间的保守程度，分析了 PCGs 的进化速率，结果显示 13 个 PCGs 的 Ka/Ks 值均小于 1，表明所有 PCGs 都受到纯化选择，但不同基因的进化速率不同（图 3）。13 个 PCGs 的进化速率顺序由慢到快依次为 $cox3 < cytb <$

$cox1 < cox2 < atp6 < nad1 < nad5 < nad3 < nad4L < nad4 < nad2 < nad6 < atp8$ 。在梭子蟹科中， Ka/Ks 值最低的为 $cox3$ 基因（0.006 6），表明其承受较强的纯化选择压力，相对保守； $atp8$ 基因（0.167 5）的 Ka/Ks 值最高，其承受较弱的选择压力。

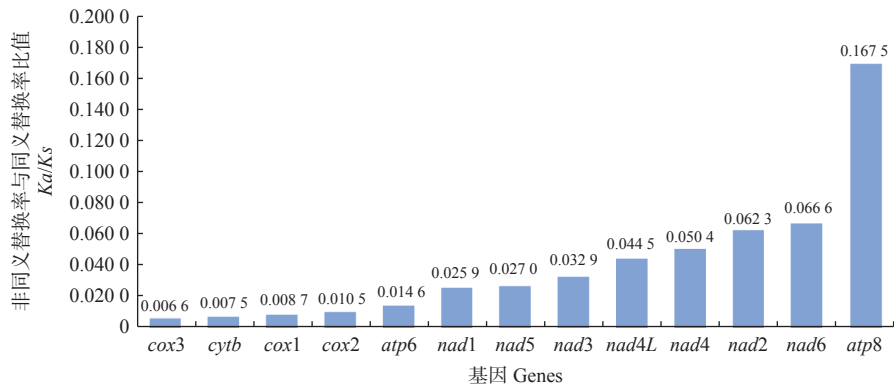


图 3 梭子蟹科物种线粒体基因选择压力分析

Fig. 3 Selection pressure analysis of mitogenome in Portunidae

2.3 分子标记筛选与评估

对 23 种梭子蟹线粒体基因的核苷酸多态性分析表明，不同基因的保守性存在显著差异（表 2）， $cox1$ 基因保守性最强，其核苷酸变异率仅为 38.32%，是唯一变异率低于 40.00% 的基因，而 $nad2$ 基因多态性水平最高，变异率达 65.60%。从序列特征来看， $nad5$ 基因总位点数最多（1723 bp），

其次是 $cox1$ （1532 bp）、 $nad4$ （1335 bp）和 $rrnL$ （1262 bp）。变异位点数排名前 3 的基因依次为 $nad5$ （947 个）、 $nad4$ （720 个）和 $rrnL$ （681 个）。由于 $nad5$ 、 $nad4$ 和 $rrnL$ 3 个基因具备较长的长度、较多的差异位点数以及较高的变异位点比例，因此它们可作为梭子蟹科物种快速鉴定的理想分子标记。

表 2 梭子蟹科物种线粒体基因的差异分析

Tab. 2 Differential analysis of mitochondrial genes in Portunidae

参数 Parameters	基因名称 Gene names														
	<i>atp6</i>	<i>atp8</i>	<i>cox1</i>	<i>cox2</i>	<i>cox3</i>	<i>cytb</i>	<i>nad1</i>	<i>nad2</i>	<i>nad3</i>	<i>nad4</i>	<i>nad4L</i>	<i>nad5</i>	<i>nad6</i>	<i>rrnL</i>	<i>rrnS</i>
总位点数* Total number of sites	671	159	1532	685	784	1135	929	1003	348	1335	303	1723	506	1262	737
保守位点数 Invariable sites	352	59	945	387	446	641	475	345	164	615	146	776	187	581	361
变异位点数 Variable sites	319	100	587	298	338	494	454	658	184	720	157	947	319	681	376
单现突变数 Singleton variable sites	53	11	67	28	48	73	77	92	23	103	34	152	42	158	99
简约突变数 Parsimony informative sites	266	89	520	270	290	421	377	566	161	617	123	795	277	523	277
变异位点比例/% Ratio of variable sites	47.54	62.89	38.32	43.50	43.11	43.52	48.87	65.60	52.87	53.93	51.82	54.96	63.04	53.96	51.02

注：*总位点数不包含缺失位点。
Notes:*The total number of sites does not include missing sites.

2.4 遗传距离分析

基于核苷酸序列的遗传距离分析表明，梭子蟹物种间的遗传分化程度存在显著差异（图 4）。刺腕短桨蟹与钝齿短桨蟹之间的遗传距离最小（0.06），而最大遗传距离（0.35）出现在红星梭子蟹与蓝蟹之间，

以及整洁短桨蟹与远海梭子蟹之间，表明跨属物种的遗传分化显著高于属内物种。在短桨蟹属内部，遗传距离呈现明显的聚类，刺腕短桨蟹、底栖短桨蟹、少刺短桨蟹和钝齿短桨蟹之间的遗传距离较小（0.06~0.13），提示这四者可能具有较近的进化关

系；上述 4 个物种与双额短桨蟹和整洁短桨蟹的遗传距离显著增大 (0.20~0.24)，表明短桨蟹属内部分类群的遗传结构存在显著异质性。值得注意的

是，双额短桨蟹与蝎属物种的遗传距离 (0.17~0.21)，甚至低于其与同属部分物种的遗传距离 (0.20~0.24)，暗示其分类地位或需结合形态学证据进一步验证。

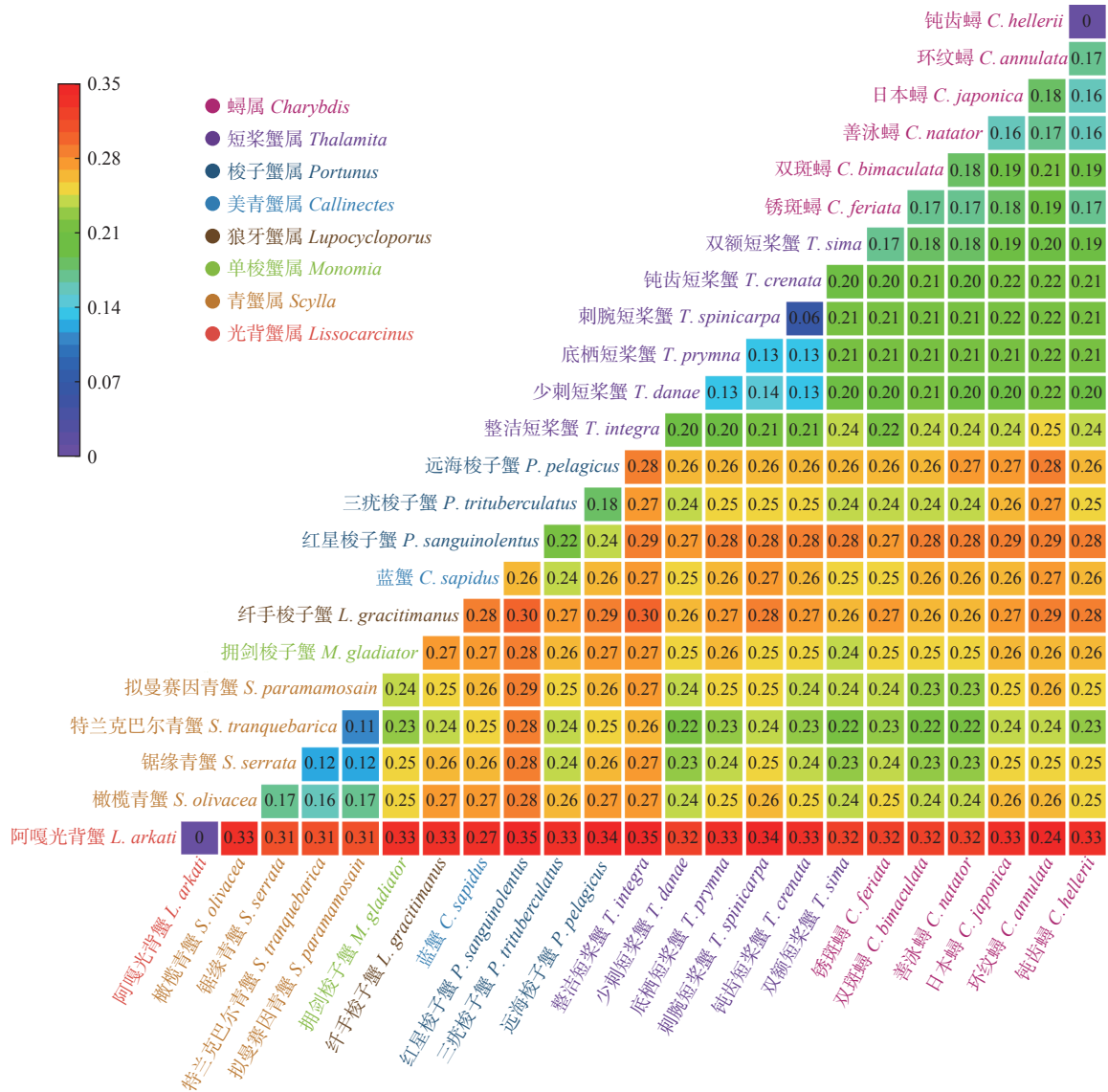


图 4 梭子蟹科物种线粒体基因组 13 个 PCGs 遗传距离

Fig. 4 Genetic distance of 13 protein-coding genes of mitogenome in Portunidae

2.5 系统发育分析

基于 13 个 PCGs 的核苷酸序列，本研究构建了梭子蟹科的 BI 和 ML。结果显示，2 种方法构建的系统发育树拓扑结构一致 (图 5)，纤手梭子蟹和拥剑梭子蟹形成了 1 个独立的分支，并呈现姊妹群关系，表明它们具有较近的共同祖先。此外，梭子蟹属与美青蟹属也表现出较近的亲缘关系，2 种系统发育树均未支持短桨蟹属的单系性，短桨蟹属中的双额短桨蟹并未与同属物种形成聚类，而是和蝎属关系更近。在支持率方面，贝叶斯树的表现相

对较高，除缺少阿嘎光背蟹与其他物种分化的支持率，以及环纹蝎和钝齿蝎间的后验概率为 0.794 外，其他支持率均在 0.9 以上，表明大部分分支关系具有较高的可靠性。ML 的支持结果与 BI 基本一致，不同属间分化的支持率普遍较高，但蝎属内部物种分化的支持率相对较低，提示该属内部的系统发育关系可能存在一定的不确定性。

2.6 分歧时间估算

基于分子钟分析 (图 6)，梭子蟹科的起源可追溯至三叠系，其中阿嘎光背蟹与其他梭子蟹的分

化时间约为 2.065 亿万年前。青蟹属的分支形成于 0.965 亿万年前，其内部物种的分歧时间集中于 0.251~0.529 亿万年前，表明该属在古近纪经历了显著的物种分化。纤手梭子蟹与拥剑梭子蟹的分歧时间为 0.787 亿万年前。美青蟹属与梭子蟹属的分化发生于 0.600 亿万年前。螯属于 0.464 亿万年前与其他梭子蟹类群分离，其内部物种分化呈现阶段性

特征, 锈斑螭与双斑螭的分歧时间约为 0.378 亿万年前, 而钝齿螭与环纹螭的分化较晚 (0.253 亿万年前), 表明螭属的物种形成具有阶段性特征。在分析的 23 种梭子蟹中, 刺腕短桨蟹与钝齿短桨蟹的分化最晚 (0.073 亿万年前), 且二者是新近系中唯一发生分化的梭子蟹物种。分歧时间估算揭示了梭子蟹科自三叠系至新近系跨越约 2 亿万年的演化历史。

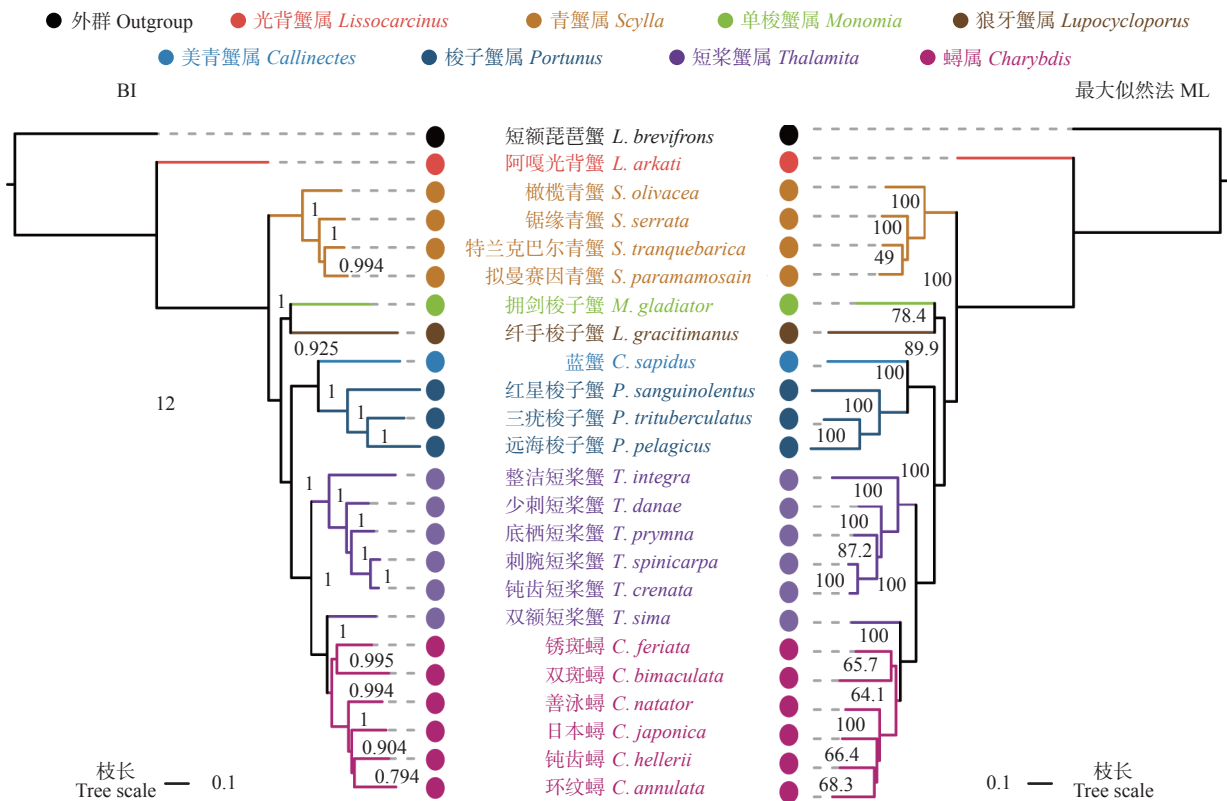


图5 基于13个PCGs核苷酸序列构建的梭子蟹科贝叶斯树(BI)和最大似然树(ML)

Fig. 5 Phylogenetic tree of Portunidae inferred from the nucleotide sequences of 13 PCGs based on Bayesian inference (BI) and maximum likelihood (ML) analysis

3 讨论

3.1 梭子蟹线粒体基因组特征

本研究通过对 23 种梭子蟹线粒体基因组的比较分析发现, 其基因组均由 13 个 PCGs、2 个 rRNAs 和 22 个 tRNAs 组成, 且基因排列模式与短尾次目祖先物种高度一致^[36], 未检测到基因重排现象。这一发现进一步证实了梭子蟹线粒体基因组在进化过程中具有显著的结构保守性。短尾次目物种普遍存在基因重排现象, 研究显示在已测序的 113 个短尾类物种中已鉴定出 15 种不同的基因排列模式^[37], 其中淡水蟹的线粒体基因重排也较频繁, 例如雅安华溪蟹 (*Sinopotamon yaanense*) 和扬子华溪蟹 (*Sinopotamon yangtsekiense*) 的线粒体基因组中,

trnM-nad2trnW-trnC-trnY 基因簇及 *trnQ* 基因均发生显著易位^[38]。梭子蟹基因组的保守性可能与其对海洋环境具有较高的适应性, 以及高效的线粒体复制修复机制有关。此外, 在碱基组成上, 23 种梭子蟹线粒体基因组表现出显著的 AT 偏好性, 与后生动物线粒体基因的一般规律相符^[13], 如对虾科^[39] 和长臂虾科^[40] 物种均含有较高的 A 碱基和 T 碱基。同义密码子相对使用度分析进一步揭示, 梭子蟹 PCGs 在第三位密码子上显著偏好 AT 碱基。这一特征与十足目类群 [如白纹方蟹 (*Grapsus albolineatus*)^[41] 等] 的进化策略一致, 可能通过优化 tRNA 丰度与密码子的匹配效率来提升翻译速率。

选择压力分析 (Ka/Ks 值) 是评估基因进化保

守性的重要指标^[42]。本研究发现,梭子蟹 13 个 PCGs 的 Ka/Ks 值均显著低于 1,表明所有基因在进化过程中均受到强烈的纯化选择作用。这一现象与海洋生物线粒体基因的普遍进化模式一致,例如闪电涡螺 (*Fulgoraria rupestris*) 的 PCGs 同样表现出显著的纯化选择特征^[43]。*cox3*、*cytb* 和 *cox1* 基因的 Ka/Ks 值相近且较低,表明这些基因更倾向于

保持其原始功能,避免发生有害突变。相较而言,*atp8* 基因的 Ka/Ks 值明显高于其他基因,表明其承受的纯化选择压力相对较弱,这一特征可能与其功能冗余性相关,并可部分解释该基因在某些后生动物线粒体基因组中的缺失现象^[44]。本研究通过比较梭子蟹线粒体基因组,为解析不同物种间的遗传多样性提供依据。

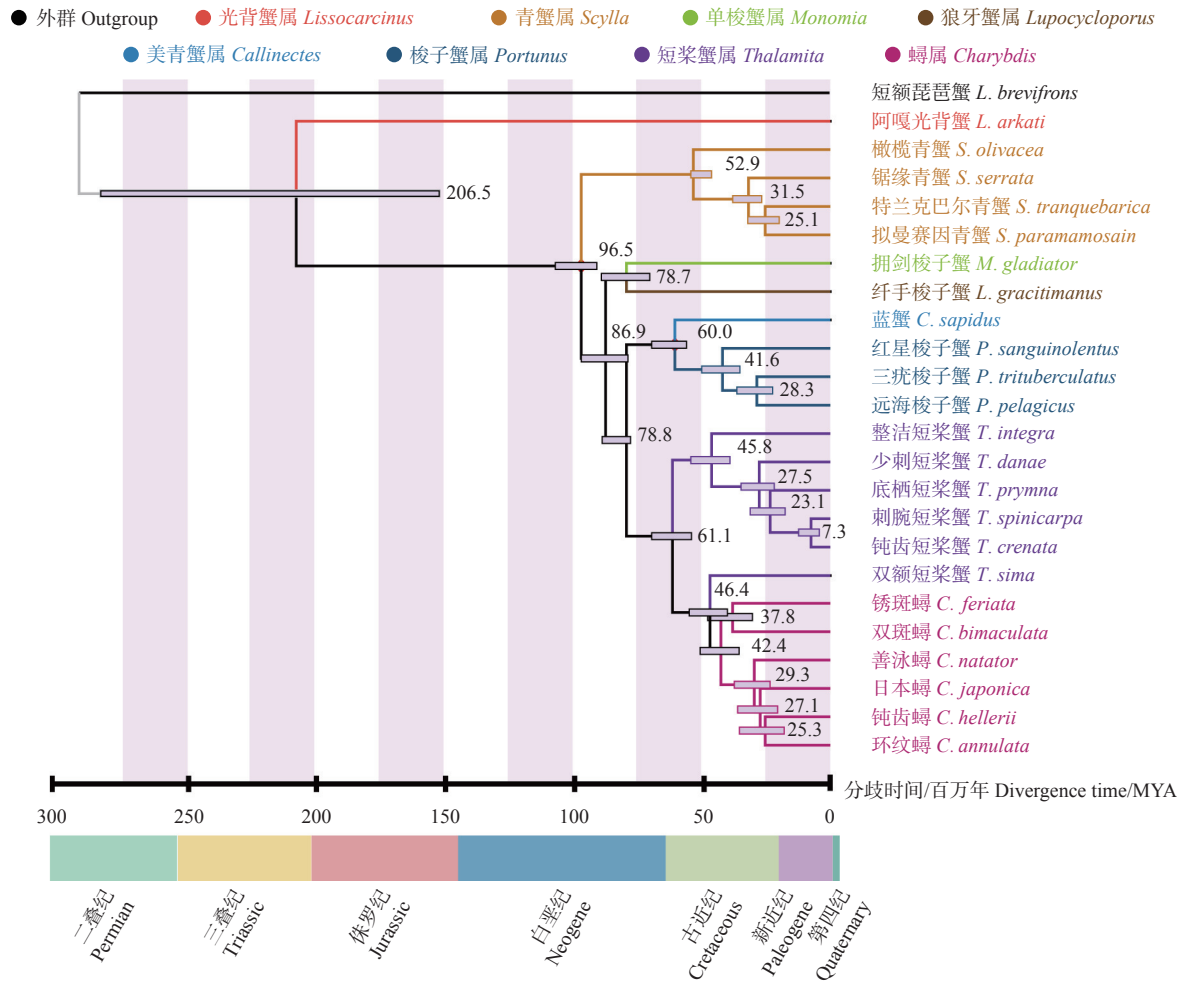


图 6 梭子蟹科物种分歧时间估算

Fig. 6 Estimation of divergence time in Portunidae

注: 数字代表节点的中间值及 95% 的置信区间。

Note: The numbers represent posterior medians and 95% posterior interval value.

3.2 梭子蟹分子标记

梭子蟹在进化学及生物地理学研究中占有重要地位^[45-46], 选择恰当的分子标记对于确保研究准确性至关重要。目前, 梭子蟹科物种的分子标记主要有 28S rRNA、16S rRNA 和 *cox1* 基因。如迟大利等^[47]借助 *cox1* 和 16S rRNA 线粒体基因对紫色和茶绿色三疣梭子蟹判定亲缘关系。然而, 已有研究指出, 尽管 *cox1* 基因适用于甲壳纲动物的分类鉴

定, 但在科级及其以下分类层次上, 难以有效区分亲缘关系密切的物种^[48]。基于此, 本研究对 23 种梭子蟹的 13 个 PCGs 和 2 个 rRNA 基因进行了差异位点分析。结果表明, *nad5*、*nad4* 和 *rrnL* 基因不仅长度较长, 而且差异位点多, 变异位点比例高, 因而可以被用于分析梭子蟹科不同物种和群体之间的生物多样性, 是梭子蟹科物种快速鉴定较为理想的分子标记。此前, 蟹类的鉴定和分类主要使

用 16SrRNA 和 *cox1* 等线粒体基因片段^[1]，但本研究发现，尽管 *cox1* 基因的长度较长，但其差异位点较少，变异位点比例低，甚至是最保守的基因，因此不建议将其作为梭子蟹科群体遗传学研究的分子标记。

3.3 梭子蟹科系统发育与分歧时间

本研究基于 13 个 PCGs，使用 ML 和 BI 构建的系统发育树拓扑结构一致，并具有较高的置信度。本结果与前人的研究基本一致，例如 Ma 等^[20] 基于 12 个 PCGs 探究了十足目物种系统发育关系，证实了青蟹属为单系群，梭子蟹属和美青蟹属互为姐妹关系。Cubelio 等^[18] 利用 *cox1* 基因构建最大似然树，支持光背蟹属、单梭蟹属、狼牙蟹属、螳属的单系性。此外，本研究发现，短桨蟹属为非单系群，具体而言，双额短桨蟹与螳属的关系更密切，可能是因为它们同属短桨蟹亚科，且在形态上极为相似，特别是螯足均长有四根刺^[17]；前人研究也指出，短桨蟹属蟹类内部形态上仍存在较大差异，系统发育分析也证实了短桨蟹属中的部分物种与螳属聚为同一分支^[2]。此外，遗传距离分析的结果亦与进化树保持一致，尤其是双额短桨蟹与其同属物种间遗传距离较大，与螳属成员间的遗传距离则相对较小。为进一步验证双额短桨蟹的分类地位，未来需结合传统分类学、生物地理学等多学科手段进行分析。

目前，关于梭子蟹科分歧时间的估算研究较少，仅有个别物种被预测。本研究对 23 种梭子蟹展开了分歧时间估算，结果显示梭子蟹科的起源至少可以追溯到三叠系，现存物种大多分化于古近纪。青蟹属与梭子蟹属的分化时间发生在 0.965 亿万年前，符合 Yang 等^[35] 约 1.000 亿万年前的估算。此外，蓝蟹在 0.600 亿万年前的分化时间与 Sun 等^[49] 的估算相近。生命进化时间信息公共知识库 (<http://www.timetree.org/>) 记录了特兰克巴尔青蟹和锯缘青蟹于 0.278 亿万年前分化，而本研究预测的分化时间为 0.315 亿万年前。综上所述，本研究得出的分子钟结果与已有研究高度一致，且分歧时间的置信区间与以往分析结果大致重合，表明此次分子钟估算具备较高的可靠性。

4 结论

本研究对 23 种梭子蟹线粒体基因组分析表明：1) 线粒体基因组成具有高度结构稳定性，未检测到基因重排现象，其基因排列模式与短尾次目

祖先物种一致。基因组呈现显著的 AT 偏好性，且 PCGs 第三位密码子偏好使用 A 碱基和 U 碱基，13 个 PCGs 均受到纯化选择作用。2) *nad5*、*nad4* 和 *rrnl* 基因因具有较长的序列长度及较高的变异位点比例，可被作为梭子蟹科物种快速鉴定的高效分子标记。相较于传统标记 *cox1* 基因，上述基因在近缘物种区分中更具分辨力。3) 基于 13 个 PCGs 构建的系统发育树支持短桨蟹属的非单系性，其中双额短桨蟹与螳属物种具有较近的亲缘关系，且得到遗传距离支持。此外，梭子蟹科的起源至少可追溯至三叠纪，现存类群的分化主要发生于古近纪。

参考文献 (References):

- [1] 张姝, 李喜莲, 崔朝霞, 等. 线粒体基因片段在梭子蟹系统发育及物种鉴定中的应用 [J]. 海洋科学, 2008, 32 (4): 9–18.
Zhang S, Li X L, Cui Z X, *et al.* The applications of mitochondrial DNA in phylogeny reconstruction and species identification of portunid crab [J]. Marine Sciences, 2008, 32(4): 9–18.
- [2] Evans N. Molecular phylogenetics of swimming crabs (Portunoidea Rafinesque, 1815) supports a revised family-level classification and suggests a single derived origin of symbiotic taxa [J]. *PeerJ*, 2018, 6: e4260.
- [3] 王秀亮, 沈璐, 韩志强. 舟山海域梭子蟹科重要种类 DNA 条形码建立及其系统发育研究 [J]. 浙江海洋学院学报 (自然科学版), 2017, 36 (1): 14–18.
Wang X L, Shen L, Han Z Q. DNA barcode and molecular phylogeny of the important species in family Portunidae [J]. Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science), 2017, 36(1): 14–18.
- [4] 向俊飞, 林琳, 姜绍通, 等. 梭子蟹的营养品质和加工产品研究进展 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13 (8): 2433–2440.
Xiang J F, Lin L, Jiang S T, *et al.* Research progress on the nutritional quality and processed products of swimming crab [J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2022, 13(8): 2433–2440.
- [5] Hu S W, Yang H C, Gao X, *et al.* Egg oil from *Portunus trituberculatus* alleviated obesity and regulated gut microbiota in mice [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 8454.
- [6] Ugbara R N, Ogungbemi K, James A S, *et al.* Chitosan from crabs (*Scylla serrata*) represses hyperlipidemia-in-

- duced hepato-renal dysfunctions in rats: modulation of CD43 and p53 expression[J]. *Pathophysiology*, 2021, 28(2): 224 – 237.
- [7] 朱建新. 厦门海域蟹类资源的变化 [J]. 应用海洋学学报, 2023, 42 (3): 392 – 401.
- Zhu J X. Study on the changes of crab stocks in Xiamen sea areas[J]. *Journal of Applied Oceanography*, 2023, 42(3): 392 – 401.
- [8] Pipitone C, Zenone A, Badalamenti F, *et al.* First record of the blue crab *Callinectes sapidus* (Crustacea, Decapoda, Portunidae), a non-indigenous species in the central/southern Tyrrhenian Sea[J]. *Acta Adriatica*, 2020, 61(1): 101 – 106.
- [9] Gomes E G, Da Silva Freitas L, Maciel F E, *et al.* Combined effects of waterborne copper exposure and salinity on enzymes related to osmoregulation and ammonia excretion by blue crab *Callinectes sapidus*[J]. *Ecotoxicology*, 2019, 28(7): 781 – 789.
- [10] Negri M, Mantelatto F L. Integrative taxonomy reveals that *Charybdis variegata* (Fabricius, 1798) (Brachyura: Portunidae) has not been introduced in the South Atlantic Ocean[J]. *Journal of Crustacean Biology*, 2017, 37(3): 278 – 284.
- [11] Rumisha C, Huyghe F, Rapanoel D, *et al.* Genetic diversity and connectivity in the East African giant mud crab *Scylla serrata*: implications for fisheries management[J]. *PLoS One*, 2017, 12(10): e0186817.
- [12] Nguyen T S, Ng P K L. A revision of the swimming crabs of the Indo-West Pacific *Xiphonectes hastatoides* (Fabricius, 1798) species complex (Crustacea: Brachyura: Portunidae)[J]. *Arthropoda Selecta*, 2021, 30(3): 386 – 404.
- [13] Boore J L. Animal mitochondrial genomes[J]. *Nucleic Acids Research*, 1999, 27(8): 1767 – 1780.
- [14] Tautz D, Arctander P, Minelli A, *et al.* DNA points the way ahead in taxonomy[J]. *Nature*, 2002, 418(6897): 479.
- [15] Marco-Herrero E, Cuesta J A, González-Gordillo J I. DNA barcoding allows identification of undescribed crab megalopas from the open sea[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 20573.
- [16] Bagheri D, Farhadi A, Bargahi A, *et al.* Morphometric and genetic characterizations of blue swimming crab *Portunus segnis*, (Forsk., 1775) along the Iranian coasts of the Persian Gulf and Oman Sea[J]. *Regional Studies in Marine Science*, 2020, 34: 101091.
- [17] Spiridonov V A, Neretina T V, Schepetov D. Morphological characterization and molecular phylogeny of Portunidae Rafinesque, 1815 (Crustacea Brachyura): implications for understanding evolution of swimming capacity and revision of the family-level classification[J]. *Zoologischer Anzeiger-A Journal of Comparative Zoology*, 2014, 253(5): 404 – 429.
- [18] Cubelio S S, Venugopal V K, Sankar S, *et al.* Morphological and molecular systematics of swimming crabs (Decapoda: Brachyura: Portunidae) from India collected on-board the FORV *Sagar Sampada* (cruise no. 378, 385 and 392), with notes on biogeography of the Indian portunid fauna[J]. *Regional Studies in Marine Science*, 2023, 62: 102879.
- [19] 戴艳菊, 刘萍, 高保全, 等. 三疣梭子蟹 4 个野生群体线粒体 16S rRNA 和 CO I 基因片段的比较分析 [J]. 中国海洋大学学报 (自然科学版), 2010, 40 (3): 54 – 60.
- Dai Y J, Liu P, Gao B Q, *et al.* Sequence analysis of mitochondrial 16S rRNA and CO I gene fragments of four wild populations of *Portunus trituberculatus*[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2010, 40(3): 54 – 60.
- [20] Ma C Y, Ma H Y, Ren G J, *et al.* Characterization of the complete mitochondrial genome of *Portunus pelagicus* with implications for phylogenomics[J]. *Genetics and Molecular Research*, 2016, 15(3): gmr. 15038719.
- [21] Zhong S P, Zhao Y F, Zhang Q. The complete mitochondrial genome of *Thalamita sima* (Decapoda: Portunidae) [J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2018, 3(2): 723 – 724.
- [22] Ma H Y, Ma C Y, Li X C, *et al.* The complete mitochondrial genome sequence and gene organization of the mud crab (*Scylla paramamosain*) with phylogenetic consideration[J]. *Gene*, 2013, 519(1): 120 – 127.
- [23] 李加爱, 陈丽彬, 柳斌彬, 等. 钝齿蟳线粒体基因组全序列测定及系统发育分析 [J]. 浙江海洋大学学报 (自然科学版), 2021, 40 (3): 198 – 208.
- Li J A, Chen L B, Liu B B, *et al.* The complete mitochondrial genome of *Charybdis hellerii* (Brachyura: Portunidae) and phylogenetic analysis[J]. *Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science)*, 2021, 40(3): 198 – 208.
- [24] Huang W D, Zhu P Z, Wen M X, *et al.* Comparative and

- phylogenetic analyses of mitochondrial genomes in Elateridae (Coleoptera: Elateroidea)[J]. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2023, 114(4): e22058.
- [25] Li Z C, Xie T C, Feng X L, *et al.* The first five mitochondrial genomes for the family Nidulariaceae reveal novel gene rearrangements, intron dynamics, and phylogeny of Agaricales[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(16): 12599.
- [26] Katoh K, Standley D M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, 30(4): 772 – 780.
- [27] Zhang D, Gao F L, Jakovlić I, *et al.* PhyloSuite: an integrated and scalable desktop platform for streamlined molecular sequence data management and evolutionary phylogenetics studies[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2020, 20(1): 348 – 355.
- [28] Zhang Z, Li J, Zhao X Q, *et al.* KaKs_calculator: calculating Ka and Ks through model selection and model averaging[J]. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 2006, 4(4): 259 – 263.
- [29] 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.
- [30] 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.
- [31] Talavera G, Castresana J. Improvement of phylogenies after removing divergent and ambiguously aligned blocks from protein sequence alignments[J]. *Systematic Biology*, 2007, 56(4): 564 – 577.
- [32] 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.
- [33] 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.
- [34] 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.
- [35] Yang J S, Lu B, Chen D F, *et al.* When did decapods invade hydrothermal vents? Clues from the Western Pacific and Indian Oceans[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, 30(2): 305 – 309.
- [36] 张楠楠, 汪凯欣, 吴文超, 等. 显著琼娜蟹 (*Jonas distinctus*) 线粒体基因组全序列测定及系统发育分析[J]. 海洋与湖沼, 2024, 55 (4): 997 – 1007.
- Zhang N N, Wang K X, Wu W C, *et al.* The complete mitochondrial genome of *Jonas distinctus* (Brachyura: Corystidae) and its phylogenetic status[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2024, 55(4): 997 – 1007.
- [37] Wang Q, Wang J, Wu Q, *et al.* Insights into the evolution of Brachyura (Crustacea: Decapoda) from mitochondrial sequences and gene order rearrangements[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 170: 717 – 727.
- [38] Xing Y H, Zhou L J, Hou Y, *et al.* Complete mitochondrial genomes from two species of Chinese freshwater crabs of the genus *Sinopotamon* recovered using next-generation sequencing reveal a novel gene order (Brachyura, Potamidae)[J]. *ZooKeys*, 2017, 705: 41 – 60.
- [39] 朱雷宇, 朱志煌, 方民杰, 等. 对虾科物种线粒体基因组特征和系统发育分析[J]. 上海海洋大学学报, 2023, 32 (2): 292 – 302.
- Zhu L Y, Zhu Z H, Fang M J, *et al.* Characteristics and phylogenetic analysis of mitochondrial genome in the Penaeidae[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2023, 32(2): 292 – 302.
- [40] 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.
- [41] 韦丽明, 陈健, 张莹, 等. 白纹方蟹线粒体基因组全序列测定及方蟹总科比较分析[J]. 水生生物学报, 2023, 47 (8): 1237 – 1247.
- Wei L M, Chen J, Zhang Y, *et al.* The complete mitochondrial genome of *Grapsus albolineatus* latreille and comparative analysis of Grapsoidea[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2023, 47(8): 1237 – 1247.
- [42] Del Amparo R, Branco C, Arenas J, *et al.* Analysis of se-

- lection in protein-coding sequences accounting for common biases[J]. [Briefings in Bioinformatics](#), 2021, 22(5): bbaa431.
- [43] Ma J L, Dong X L, Xu K D, *et al.* The characterization of the mitochondrial genome of *Fulgoraria rupestris* and phylogenetic considerations within the Neogastropoda[J]. [Genes](#), 2024, 15(8): 1076.
- [44] Zhang K, Sun J, Xu T, *et al.* Phylogenetic relationships and adaptation in deep-sea mussels: insights from mitochondrial genomes[J]. [International Journal of Molecular Sciences](#), 2021, 22(4): 1900.
- [45] Leignel V, Stillman J H, Baringou S, *et al.* Overview on the European green crab *Carcinus* spp. (Portunidae, Decapoda), one of the most famous marine invaders and ecotoxicological models[J]. [Environmental Science and Pollution Research](#), 2014, 21(15): 9129 – 9144.
- [46] Havird J C, Mitchell R T, Henry R P, *et al.* Salinity-induced changes in gene expression from anterior and posterior gills of *Callinectes sapidus* (Crustacea: Portunidae) with implications for crustacean ecological genomics[J]. [Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics](#), 2016, 19: 34 – 44.
- [47] 迟大利, 高焕, 沈颂东, 等. 两种体色三疣梭子蟹线粒体 DNA 部分片段序列的比较分析 [J]. 海洋科学, 2010, 34 (11): 27 – 34.
- Chi D L, Gao H, Shen S D, *et al.* Comparison analysis between purple and tea-green individuals of *Portunus trituberculatus* using mitochondrial partial genes[J]. *Marine Sciences*, 2010, 34(11): 27 – 34.
- [48] Lefébure T, Douady C J, Gouy M, *et al.* Relationship between morphological taxonomy and molecular divergence within Crustacea: proposal of a molecular threshold to help species delimitation[J]. [Molecular Phylogenetics and Evolution](#), 2006, 40(2): 435 – 447.
- [49] Sun S E, Sha Z L, Wang Y R. Divergence history and hydrothermal vent adaptation of decapod crustaceans: a mitogenomic perspective[J]. [PLoS One](#), 2019, 14(10): e0224373.

Mitochondrial genome characteristics and phylogenetic analysis in Portunidae

ZHANG Xixi^{1,2,3,4}, ZHU Zhihuang^{1,3,4}, WANG Jianxin², SHI Ge^{2*}, LIN Qi^{1,3,4*}

(1. Fisheries Research Institute of Fujian, Xiamen 361013, China;

2. Marine Science and Technology College, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China;

3. Key Laboratory of Cultivation and High-value Utilization of Marine Organisms in Fujian Province, Xiamen 361013, China;

4. National and Local Joint Engineering Research Center of Marine Biological Seed Industry Technology, Fujian Province, Xiamen 361013, China)

Abstract: [Objective] Mitochondrial genes have proven to be highly effective and precise tools for species identification, origin tracing, and evolutionary research. Although complete mitochondrial genomes of 23 species in Portunidae have been sequenced, comparative genomic analyses of mitochondrial genome characteristics and phylogenetic relationships within this family remain limited. This study aims to investigate the mitochondrial genome features of species in Portunidae, identify molecular markers suitable for rapid species identification, and elucidate the phylogenetic relationships within the family. [Methods] Comparative genomics approaches were applied to analyze the complete mitochondrial genomes of 23 species in Portunidae. Polymorphic site analysis was conducted to screen molecular markers for rapid species identification. Phylogenetic trees were reconstructed using maximum likelihood (ML) and Bayesian inference (BI) based on nucleotide sequences of 13 protein-coding genes (PCGs), alongside divergence time estimation. [Results] The mitochondrial genomes of species in Portunidae exhibited high structural conservation with no gene rearrangements and significant AT bias. Selection pressure analysis revealed that all 13 PCGs underwent purifying selection. Polymorphic site analysis identified *nad5*, *nad4*, and *rrnL* as ideal molecular markers for rapid species identification due to their longer sequence lengths and higher proportions of variable sites. Phylogenetic analysis demonstrated monophyly in seven genera, including *Lissocarcinus* and *Lupocycloporus*. Notably, *Thalamita sima* clustered more closely with *Charybdis* than with its nominal genus *Thalamita*, a result supported by genetic distance analysis. Divergence time estimation suggested that species in Portunidae originated no later than the Triassic period, with *Lissocarcinus* representing an ancient lineage, while most extant species diverged during the Paleogene. [Conclusions] The mitochondrial genomes of 23 species in Portunidae species are evolutionarily conserved. The *nad5*, *nad4*, and *rrnL* genes serve as effective molecular markers for rapid species identification, and the genus *Thalamita* exhibits non-monophyletic clustering in the phylogenetic tree. This study provides crucial theoretical foundations and datasets for rapid species identification, evolutionary studies, and divergence time estimation in Portunidae, advancing the understanding of their phylogenetic framework and evolutionary history.

Key words: Portunidae; mitochondrial gene; phylogeny; divergence time