

基于线粒体 *COI* 基因序列探讨广西 钦州湾牡蛎的遗传分化

李咏梅,陈秀荔,彭 敏,马 宁,黎 铭,杨春玲,蒋伟明,曾地刚,陈晓汉

(广西壮族自治区水产研究所 遗传育种与健康养殖重点实验室,广西 南宁 530021)

【摘 要】 【目的】初步了解我国广西钦州湾牡蛎的遗传多样性及其分类和系统进化情况。【方法】以采自广西钦州湾的 37 个白肉牡蛎和 29 个红肉牡蛎个体为材料,对其线粒体细胞色素氧化酶亚基 I(*COI*)的部分序列进行 PCR 扩增和序列比对,检测牡蛎的遗传多样性;计算牡蛎不同单倍型及 GenBank 中已登载的 4 种牡蛎间的遗传距离,采用聚类分析方法,构建其 NJ 和 UPGMA 系统进化树。【结果】66 个白肉牡蛎和红肉牡蛎线粒体 *COI* 基因片段的 PCR 产物大小约为 600 bp,扩增产物纯化并去除引物序列后获得约 535 bp 的核苷酸序列;碱基组成平均为:T 37.5%,C 18.2%,A 23.8%,G 20.5%,A+T 60.5%,C+G 39.5%,A+T 含量高于 G+C 含量。运用 DNASTar 软件对 66 个钦州湾牡蛎序列进行比对,白肉牡蛎中共检测到 4 个多态位点,包括 3 个转换位点和 1 个颠换位点,有 4 种单倍型;红肉牡蛎中共检测到 26 个多态位点,转换位点和颠换位点各 13 个,有 3 种单倍型。GenBank 中香港牡蛎 *COI* 序列与白肉牡蛎的遗传距离为 0.000,有明巨牡蛎 *COI* 序列与红肉牡蛎的遗传距离为 0.011,白肉牡蛎与红肉牡蛎的遗传距离为 0.146;NJ 和 UPGMA 系统进化树表明,白肉牡蛎与红肉牡蛎亲缘关系较远,白肉牡蛎与香港牡蛎聚为一支,红肉牡蛎与有明巨牡蛎聚为一支。【结论】序列特征、遗传距离和系统进化树分析结果表明,*COI* 基因可用于牡蛎的种鉴定和系统发育分析。

【关键词】 牡蛎;*COI* 基因;线粒体;广西

【中图分类号】 S932.6

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)03-0060-06

Genetic differentiation of oyster from Qinzhou Bay based on mitochondrial cytochrome oxidase subunit I gene

LI Yong-mei, CHEN Xiu-li, PENG Min, MA Ning, LI Ming, YANG Chun-ling,
JIANG Wei-ming, ZENG Di-gang, CHEN Xiao-han

(Guangxi Fisheries Research Institute, Key Laboratory of Aquatic Genetic Breeding and Health Cultivation
of Guangxi, Nanning, Guangxi 530021, China)

Abstract: 【Objective】 Preliminary understanding of genetic diversity, its classification and condition of systemic evolution of oyster from Qinzhou Bay of Guangxi was made. 【Method】 37 white meat oyster and 29 red meat oyster were used as experimental materials from Qinzhou Bay of Guangxi. Mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (*COI*) gene fragment were amplified using PCR technique and aligned of sequence, detecting genetic diversity of oyster, and calculating genetic distance between different haplotypes of oyster and 4 kinds of oyster in GenBank. Clustering analysis could build NJ and UPGMA phylogenetic tree. 【Result】 The mitochondrial cytochrome oxidase subunit *COI* gene fragment PCR products of 66 white meat oyster and red meat oyster were about 600 bp long, 535 bp nucleotide sequences were determined for

* [收稿日期] 2008-04-21

[基金项目] 广西壮族自治区自然科学基金项目(桂科自 0542036);广西壮族自治区科技创新能力建设(桂科能 05112001-6B)

[作者简介] 李咏梅(1962—),女,广西南宁人,高级工程师,主要从事分子生物学研究。E-mail: annia219@yahoo.com.cn; liyongmei915@163.com

[通信作者] 陈晓汉(1962—),男,湖北武汉人,研究员,主要从事水生动物分子遗传育种研究。E-mail: chenxhan@yahoo.com.cn

oysters after being purified and excluded the primer sequence; The average base compositions were T 37.5%, C 18.2%, A 23.8%, G 20.5%, A+T 60.5%, C+G 39.5% respectively, A+T content were higher than G+C content. By using DNASTar to align and compare the sequences of the 66 individuals with each other, 4 polypeptide sites were detected in white meat oyster, including 3 transition sites and 1 transversion sites. There were 4 haplotypes. 26 polypeptide sites were detected in red meat oyster, including 13 transition sites and transversion sites each, and there were 3 haplotypes. Genetic distances between COI sequence of *C. hongkongsis* and white meat oysters were 0.000; Genetic distances between COI sequence of *C. ariakensis* and red meat oysters were 0.011; Genetic distances between white meat oysters and red meat oysters were 0.146. NJ and UPGMA phylogenetic trees showed that the genetic relationship between white meat oysters and red meat oysters were far, white meat oysters and *C. hongkongsis* assembled a branch, the same to red meat oysters and *C. ariakensis*. 【Conclusion】 The sequence character, genetic distance and phylogenetic trees indicated that COI gene is useful in species identification and phylogenetic analysis of oyster.

Key words: oyster; COI gene; mitochondrial; Guangxi

线粒体 DNA (Mitochondrial DNA, mtDNA) 是分子生物学研究中的一个热门领域, 已成为贝类生物学和群体遗传学研究的重要分子标记。目前, 随着 DNA 测序技术和分子信息学的快速发展, mtDNA 在贝类系统学、种间杂交渐渗、分子群体遗传学等方面得到广泛应用^[1-3]。测定线粒体 DNA 全序列或者部分序列, 可以直接反映碱基的置换、插入、缺失等情况, 并比较不同物种或个体碱基序列的差异, 从而探讨其进化关系, 该方法较其他分析方法简便、快捷。牡蛎由于肉味鲜美、营养丰富等特点, 从远古时代就被人类食用, 其养殖前景十分看好。“白牡蛎”和“红牡蛎”是中国近海的一种重要养殖贝类, 具有重要的经济价值, 但目前有关白肉牡蛎和红肉牡蛎的线粒体环氧化酶细胞色素氧化酶 I 亚基 (COI) 基因的研究尚未见报道。为此, 本研究测定了“白牡蛎”和“红牡蛎”的 COI 基因片段序列, 并结合 GenBank 中牡蛎的相应序列进行了比较, 以期为钦州湾牡蛎的种质资源研究、人工养殖和品种选育提供遗传背景资料, 并为贝类分类和系统进化提供分子水平上的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

37 个白肉牡蛎 (俗称白蚝) 和 29 个红肉牡蛎 (俗称赤蚝) 样品, 随机采自广西钦州湾菜苗场, 运回实验室后立即取其闭壳肌, 做好标记, 保存于超低温冰箱 (-80 °C) 备用。选取形体上具有代表性的个体, 从外观上看, “白肉牡蛎”个体大, 呈三角形, 肉质白而致密; “红肉牡蛎”个体较小, 呈椭圆形, 肉质较红而松软。

1.2 供试牡蛎基因组 DNA 的提取

用酚-氯仿抽提法, 从牡蛎组织样中提取基因组 DNA。在 1.5 mL 离心管中加入 250 μ L 组织抽提液 (10 mmol/L Tris-HCl, pH 8.0; 0.1 mol/L EDTA; 0.5% SDS); 取小块组织放入离心管中, 剪碎, 再加 250 μ L 组织提取液; 加蛋白酶 K (20 mg/mL) 至终浓度为 100 μ g/mL, 充分混匀; 在 55 °C 条件下水浴消化 6~8 h, 至其澄清; 加入等体积的酚/氯仿混合液抽提, 颠倒混匀 10 min, 12 000 r/min 离心 10 min 取上清, 再加等体积的氯仿抽提, 颠倒混匀 10 min, 12 000 r/min 离心 10 min; 加 2 倍体积的无水乙醇沉淀; 再加体积分数 70% 乙醇洗 2 次, 自然风干, 溶于 50 μ L 的 TE 中。用 8 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测基因组 DNA 的纯度, 用紫外分光光度计法估计含量后, 稀释 DNA 样品至 50 ng/ μ L, -20 °C 保存备用。

1.3 供试牡蛎 COI 基因的 PCR 扩增

根据 PubMed 报道的^[4] 近江牡蛎部分线粒体基因序列 (登录号 AY632561) 设计 1 对引物。上游引物 (COI3): 5'-GGTTCAGATCTCTTATTCG-3'; 下游引物 (COI4): 5'-GCTGAAATAAAACAGGATC-3'; 引物由北京三博远志生物技术有限公司合成。PCR 扩增反应在 Biometra 扩增仪上进行, 反应体系为 50 μ L, 其中含 10 $\times$ buffer (含 20 mmol/L Mg^{2+}) 5 μ L, 10 μ mol/L dNTPs 4 μ L, 20 μ mol/L 上、下游引物各 1 μ L, 模板 DNA 50 ng, TaqDNA 聚合酶 0.25 μ L, 加超纯水至 50 μ L。PCR 反应条件为: 95 °C 预变性 3 min; 94 °C 变性 30 s, 58 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 40 s, 35 个循环; 最后 72 °C 延伸 5 min。取 3 μ L PCR 产物于 15 g/L 琼脂糖凝胶上电泳检

测,花青素染色,对凝胶成像进行观察和拍照。

1.4 牡蛎 COI 基因的测序与数据分析

回收纯化 PCR 产物,送往北京三博远志公司测序。对本研究测到的红肉牡蛎和白肉牡蛎单倍型基因序列及 GenBank 中已登载的序列(*C. ariakensis* (AF300617. 1)、*C. gigas* (AF177226. 1)、*C. hongkongensis*(AY63255)、*C. nippona*(AF300616. 1))进行同源序列比对分析。用 MEGA4 软件计算其变异位点、碱基组成、遗传距离。分别用 NJ (neighbor-joining) 和 UPGMA (unweighted pair-group method of arithmetic means)方法进行聚类

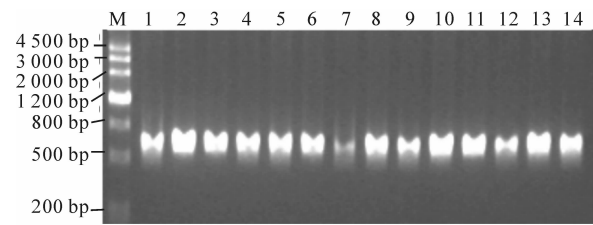


图 1 PCR 扩增白肉牡蛎线粒体 COI 基因片段 1~14。白肉牡蛎线粒体 COI 基因片段;M. Marker III

Fig.1 PCR result of Mitochondrial COI gene fragment of white meat oysters
1—14. Mitochondrial COI gene fragmen of white meat oysters;M. Marker III

2.1.2 序列比对分析 经单向测序,去除引物序列后得到 535 bp 的序列。通过 BLAST 分析证实,所得序列确实为 COI 基因片段。同源比对结果(表 1)显示,白肉牡蛎和红肉牡蛎 2 个个体序列存在不同

分析,并采用 Bootstrap 1 000 次重复检验分子系统树的置信度。

2 结果与分析

2.1 牡蛎 COI 基因的扩增及序列比对分析

2.1.1 COI 基因的扩增 以来自钦州湾的 66 个白肉牡蛎和红肉牡蛎个体的基因组 DNA 为模板,进行 PCR 扩增,均获得了特异性很好的 PCR 产物,通过 15 g/L 琼脂糖凝胶电泳,可以清楚地看到 1 条大小为 600 bp 左右的片段(图 1,2)。

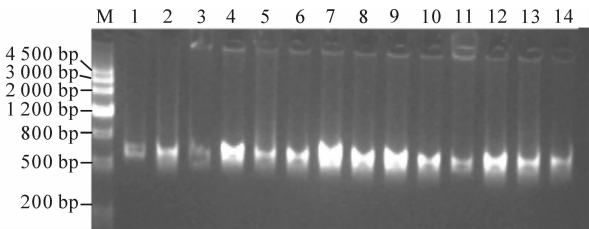


图 2 PCR 扩增红肉牡蛎线粒体 COI 基因片段 1~14。红肉牡蛎线粒体 COI 基因片段;M. Marker III

Fig.2 PCR result of Mitochondrial COI gene fragment of red meat oysters
1—14. Mitochondrial COI gene fragmen of red meat oysters;M. Marker III

的碱基组成。对 COI 序列片段的碱基组成进行统计分析发现,群体的碱基组成中,A+T 含量比 G+C 含量丰富。

表 1 钦州湾牡蛎 COI 基因片段的碱基组成

Table 1 Base composition of COI gene fragments of oyster from Qinzhou Bay						%
种类 Species	A	G	T	C	A+T	C+G
白肉牡蛎 White meat oyster	23.7	20.4	38.4	17.5	60.4	39.6
红肉牡蛎 Red meat oyster	23.9	20.6	36.6	18.9	60.6	39.4
平均 Average	23.8	20.5	37.5	18.2	60.5	39.5

经 DNASTar 软件排序后检测到在 COI 片段中,2 个牡蛎种的种内个体间变异较大,白肉牡蛎中共检测到 4 个多态位点,4 种单倍型,其中 3 个位点发生转换突变,1 个位点发生颠换突变;红肉牡蛎中共检测到 26 个多态位点,3 种单倍型,其中发生转换突变和颠换突变的核苷酸位点数均为 13 个。

2.2 牡蛎 7 种单倍型与 GenBank 中 4 种牡蛎的遗传距离和系统进化树分析

对白肉牡蛎 4 种单倍型、红肉牡蛎 3 种单倍型及 GenBank 中 4 种牡蛎的 COI 基因片段核苷酸序列进行比对,根据 Kimura 双参数模型得出其遗传距离(表 2),由 COI 基因片段得到的遗传距离中,白

肉牡蛎与香港牡蛎(*C. HG*)的遗传距离为 0.000,红肉牡蛎与有明剧牡蛎(*C. ariakensis*)的遗传距离为 0.011,白肉牡蛎与红肉牡蛎之间的遗传距离为 0.146,白肉牡蛎与红肉牡蛎中各单倍型之间的遗传距离较近,与其他牡蛎之间的遗传距离在 0.002~0.214。

对试验所有个体和 GenBank 中牡蛎进行聚类分析,得到 NJ 和 UPMGA 树,用 2 种方法构建的系统发生树拓扑结构总体趋势相似(图 3,4)。由图 3 和图 4 可以看出,白肉牡蛎和红肉牡蛎形成 2 个分支,其中白肉牡蛎的 4 种单倍型与香港牡蛎(*C. hongkongensis*)聚为一支,红肉牡蛎的 3 种单倍型

与有明巨牡蛎(*C. ariakensis*)聚为一支。

表 2 2 种牡蛎 7 种单倍型及 GenBank 中 4 种牡蛎 *COI* 基因片段间的遗传距离

Table 2 Genetic distance of *COI* gene fragments among the two oyster of seven haplotypes and the four oyster in GenBank

牡蛎 Oyster	W	W1	W2	W3	W4	R	R1	R2	R3	有明巨 牡蛎 <i>C. ariakensis</i>	太平洋 牡蛎 <i>C. gigas</i>	日本 巨牡蛎 <i>C. nippona</i>	香港 牡蛎 <i>C. HG</i>
W	0												
W1	0.002	0											
W2	0.002	0.004	0										
W	0.002	0.004	0.004	0									
W4	0.002	0.004	0.004	0.004	0								
R	0.146	0.148	0.146	0.146	0.148	0							
R1	0.150	0.153	0.150	0.150	0.153	0.006	0						
R2	0.143	0.146	0.143	0.143	0.145	0.002	0.008	0					
R3	0.189	0.192	0.189	0.189	0.192	0.054	0.060	0.056	0				
有明巨牡蛎 <i>C. ariakensis</i>	0.158	0.161	0.158	0.158	0.160	0.011	0.015	0.013	0.062	0			
太平洋牡蛎 <i>C. gigas</i>	0.137	0.139	0.137	0.139	0.137	0.152	0.154	0.154	0.199	0.164	0		
日本巨牡蛎 <i>C. nippona</i>	0.125	0.127	0.127	0.127	0.122	0.151	0.151	0.148	0.214	0.164	0.169	0	
香港牡蛎 <i>C. HG</i>	0.000	0.002	0.002	0.002	0.002	0.146	0.150	0.143	0.189	0.158	0.137	0.125	0

注:W. 白肉牡蛎;W1~W4. 分别为白肉牡蛎单倍型 1~4;R. 红肉牡蛎;R1~R3. 分别为红肉牡蛎单倍型 1~3。
Note:W. White meat oyster;W1—W4. White meat oyster haplotype 1—4;R. Red meat oyster;R1—R3. Red meat oyster haplotype 1—3.

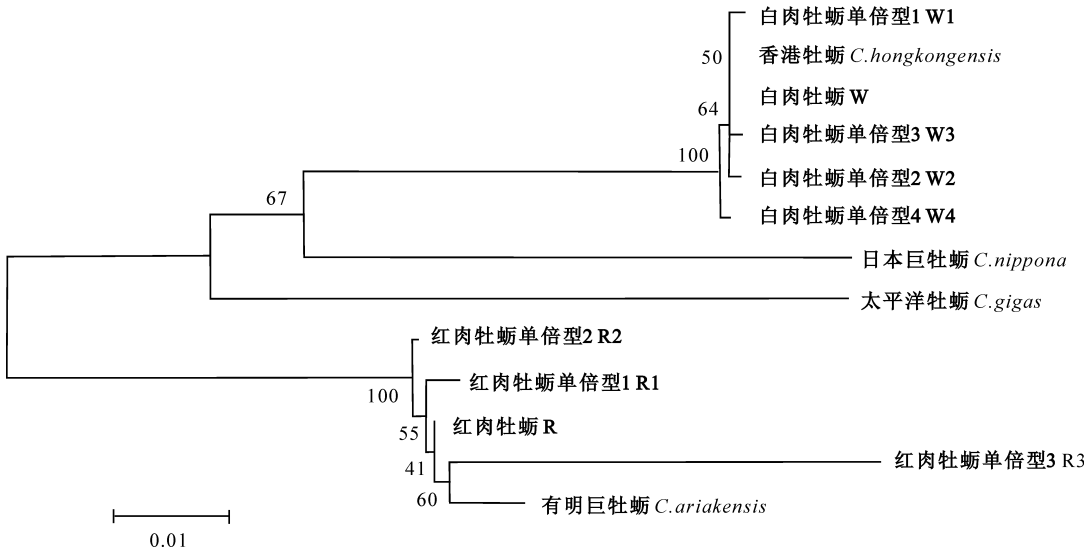


图 3 白肉牡蛎 4 种单倍型、红肉牡蛎 3 种单倍型及 GenBank 中 4 种牡蛎 *COI* 基因的 NJ 系统树
Fig. 3 NJ phylogenetic trees based on *COI* gene sequences of white meat oyster four haplotypes, red meat oyster three haplotypes and the four oyster in GenBank

3 讨 论

动物线粒体 DNA 是一种共价闭合、环状的双链 DNA 分子,其结构简单、呈母系遗传、进化速度快。mtDNA 基因组内不同区域的进化速度存在差异,适合不同水平的进化研究。孔晓瑜等^[5]研究了太平洋牡蛎核糖体 DNA 转录间隔子和线粒体基因片段序列,讨论了线粒体序列在我国几种牡蛎的种类鉴别及相关研究中的应用潜力。王青^[6]利用简化

的 AFLP 技术,从基因水平上对太平洋牡蛎、大连湾牡蛎、褶牡蛎和近江牡蛎进行了初步分类鉴定和遗传多样性分析,探讨了 AFLP 技术在牡蛎系统分类学上的应用。王海艳^[7]用分子生物学方法,对各个典型海区牡蛎的核基因(28S rRNA)和线粒体基因(16S rRNA, *COI*)部分序列进行了测定,并与 GenBank 中发布的牡蛎序列进行比较和聚类分析,从而判断其分类地位。张娜等^[8]采用多重种特异性 PCR 技术,研究了巨蛎属牡蛎在辽宁沿海的分布,

以线粒体基因组中 *COI* 基因的长度多态性为鉴别依据,初步明确了辽宁沿海巨蛎属牡蛎的种类及其分布。Zhang 等^[9]采用 PCR-RFLP 方法,研究了亚洲野生和美国孵化站的近江牡蛎的遗传多样性及其线粒体 *COI* 基因和 ITS 基因,结果认为 2 个地区的牡蛎为 2 个不同的种。Klinbunqa 等^[10]研究了泰国

地区 3 种养殖品种牡蛎的线粒体 *COI* 基因和 18S rRNA 基因的遗传多态性,共发现了 30 个单倍型。Matsumoto^[11]利用 *COI* 基因研究了二叠股蛤(双壳类)的遗传多样性,同样也支持 *COI* 基因可用于种类进化分析的研究。

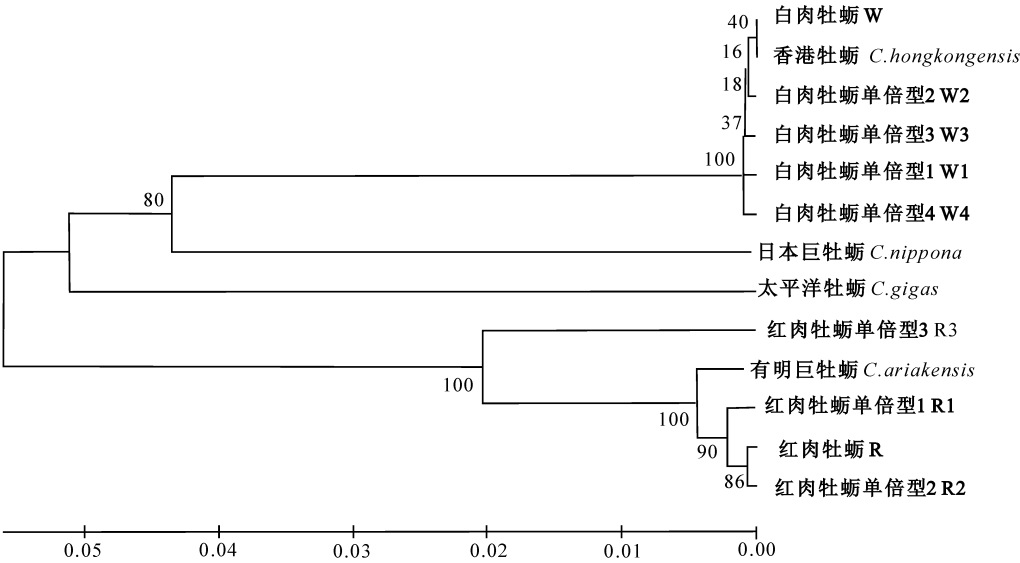


图 4 白肉牡蛎 4 种单倍型、红肉牡蛎 3 种单倍型及 GenBank 中 4 种牡蛎 *COI* 基因的 UPGMA 系统树
Fig. 4 UPGMA phylogenetic trees based on *COI* gene sequences of white meat oyster four haplotypes, red meat oyster three haplotypes and the four oyster in GenBank

本研究以采自广西钦州湾的 66 个牡蛎为研究对象,进行了 *COI* 基因的序列分析,发现该群体的碱基组成中,A+T 含量较 G+C 含量丰富,该结果与前人在头足类、甲壳类、双壳类等的 16S rRNA 基因和 *COI* 基因中观察到的结果相符^[12-13];系统进化树分析结果发现,白肉牡蛎的 4 种单倍型与香港牡蛎聚在一起,红肉牡蛎的 3 种单倍型与有明巨牡蛎聚在一起,而白肉牡蛎与红肉牡蛎的距离较远,这一结果支持以往的研究报道^[14-16],说明白肉牡蛎和红肉牡蛎分别为 2 个不同的种。白肉牡蛎拥有 4 个单倍型和 4 个突变位点,而红肉牡蛎共检测到 26 个多态位点,有 3 种单倍型,远高于其他群体^[12-13],说明钦州湾牡蛎的遗传多样性丰富。本研究结果为进一步研究广西地区牡蛎的遗传变异、种群遗传结构和系统进化奠定了基础,同时为广西牡蛎和其他地区牡蛎的进化研究积累了资料。但是要想进一步了解其遗传背景,还需线粒体其他基因、核基因组 DNA 等分子生物学方面的资料。

[参考文献]

[1] Bruford M W, Bradley D G, Luikart G. DNA markers reveal

the complexity of livestock domestication [J]. Nat Rev Genet, 2003, 4(11): 900-910.
[2] Pollock D D, Eisen J A, Doggett N A, et al. A case for evolutionary genomics and the comprehensive examination of sequence biodiversity [J]. Mol Biol Evol, 2000, 17(12): 1776-1788.
[3] Ross H A, Lento G M, Dalebout M L, et al. DNA surveillance: web-based molecular identification of whales, dolphins, and porpoises [J]. J Hered, 2003, 94(2): 111-114.
[4] Wang H, Guo X, Zhang G, et al. Classification of jinjiang oysters *Crassostrea rivularis* from China, based on morphology and phylogenetic analysis [J]. Aquaculture, 2004, 242(1-4): 137-155.
[5] 孔晓瑜, 张留所, 喻子牛, 等. 太平洋牡蛎核糖体 DNA 转录间隔子和线粒体基因片段序列测定 [J]. 中国水产科学, 2002, 4(9): 304-308.
Kong X Y, Zhang L S, Yu Z N, et al. Sequencing of ribosomal internal transcribed spacer regions and mitochondrial gene fragments in *Crassostrea gigas* [J]. J Fishery Sciences of China, 2002, 4(9): 304-308. (in Chinese)
[6] 王青. AFLP 技术和线粒体序列分析在我国巨蛎属牡蛎系统分类中的应用 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2004.
Wang Q. AFLP technique and mitochondrial DNA sequence analyzed to clarify taxonomic status of *Crassostrea oyster* spe-

cies in China [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2004. (in Chinese)

[7] 王海艳. 中国近海常见牡蛎分子系统演化和分类的研究 [D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2004.

Wang H Y. Studies on the molecular phylogeny and taxonomy of common oysters in China seas [D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2004. (in Chinese)

[8] 张 娜, 刘 晓, 许 飞, 等. 辽宁沿海巨蛎属牡蛎的分布 [J]. 海洋科学, 2007, 31(9): 91-95.

Zhang N, Liu X, Xu F, et al. Distribution of *Crassostrea* oysters in Liaoning coast [J]. Marine Sciences, 2007, 31(9): 91-95. (in Chinese)

[9] Zhang Q, Allen S K Jr, Reece K S. Genetic variation in wild and hatchery stocks of Suminoe Oyster (*Crassostrea ariakensis*) assessed by PCR-RFLP and microsatellite markers [J]. Mar Biotechnol(NY), 2005, 7(6): 588-599.

[10] Klinbunqa S, Khamnamtong N, Tassanakaion A, et al. Molecular genetic identification tools for three commercially cultured oysters (*Crassostrea belcheri*, *Crassostrea iredalei*, and *Saccostrea cucullata*) in Thailand [J]. Mar Biotechnol(NY), 2003, 5(1): 27-36.

[11] Matsumoto M. Phylogenetic analysis of the subclass *Pteriomorphia* (Bivalvia) from mtDNA COI [J]. Mol Phylogenetic Evol, 2003, 27(3): 429-440.

[12] Zheng X D, Wang R C, Wang X F, et al. Genetic variation in population of the common Chinese cuttlefish *Sepiella maindroni* (Mollusca: Cephalopoda) using allozymes and mitochondrial DNA sequence analysis [J]. Shellfish Res, 2001, 20(3): 1159-1165.

[13] Howland D E, Hewitt G M. Phylogeny of *Coleoptera* based on mitochondrial cytochrome oxidase I sequence data [J]. Insect Mol Biol, 1995, 4(3): 203-215.

[14] 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, 2(15): 100-103.

Su T F, Jiang S G, Zhou F L, et al. Mitochondrial 16S rRNA gene fragment sequence analysis in populations of *Crassostrea rivularis* [J]. High Technology letters, 2005, 2(15): 100-103. (in Chinese)

[15] 罗 巍, 邹丽珍, 郑天凌, 等. 近江牡蛎核糖体 DNA 片段基因序列及其分子分类研究 [J]. 台湾海峡, 2005, 3(24): 322-330.

Luo W, Zou L Z, Zheng T L, et al. Phylogenetic analysis of *Crassostrea rivularis* based sequences of DNA segments [J]. J Oceanography in Taiwan Strait, 2005, 3(24): 322-330. (in Chinese)

[16] 苏天凤, 江世贵, 朱彩艳, 等. 广西钦州湾养殖牡蛎线粒体 16S rRNA 基因片段序列变异分析 [J]. 中国水产科学, 2005, 1(12): 1-4.

Su T F, Jiang S G, Zhu C Y, et al. Genetic diversity of *Crassostrea* from Qinzhou Bay in Guangxi using mtDNA 16S rRNA gene fragment sequence analysis [J]. J Fishery Sciences of China, 2005, 1(12): 1-4. (in Chinese)

(上接第 59 页)

[11] 张学义, 李家乐, 汪桂玲, 等. 八个品种金鱼及野生鲫线粒体控制区遗传差异和亲缘关系的研究 [J]. 上海水产大学学报, 2007, 16(6): 513-517.

Zhang X Y, Li J L, Wang G L, et al. The genetic diversity and phylogenetic relationships of mitochondrial D-Loop partial sequences in eight representative varieties of goldfishes (*Carrasius auratus* var) and wild crucian carp (*Carssous auratus*) [J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2007, 16(6): 513-517. (in Chinese)

[12] 郑冰蓉, 张亚平, 肖 蓐, 等. 鲤属鱼类 mtDNA 控制区 (D-环区) 序列的变异性分析 [J]. 水产学报, 2002, 26(4): 289-294.

Zheng B R, Zhang Y P, Xiao H, et al. The sequence variation feature of mtDNA D-loop region of *cyprinus* [J]. Journal of Fisheries of China, 2002, 26(4): 289-294. (in Chinese)

[13] 楼允东, 孙景春. 江西三种红鲤起源与遗传多样性研究的进展 [J]. 水产学报, 2001, 25(6): 570-575.

Lou Y D, Sun J C. Progress on studies of origin and genetic diversity of three breeds of red carp in Jiangxi province [J]. Journal of Fisheries of China, 2001, 25(6): 570-575. (in Chinese)

[14] 王成辉, 李思发, 邹曙明. 中国红鲤四群体线粒体 DNA 遗传多样性、起源及分化 [J]. 水产学报, 2004, 28(6): 641-644.

Wang C H, Li S F, Zou S M. Mitochondrial DNA genetic diversity, origin and evolution of four populations of red common carps in China [J]. Journal of Fisheries of China, 2004, 28(6): 641-644. (in Chinese)

[15] Wang C H, Li S F. Genetic variability and relationships in mitochondrial DNA COII gene sequence of red common carps in China [J]. Journal of Genetics and Genomics, 2004, 31(11): 1226-1231.