

3 个线粒体基因在红鳍东方鲀和暗纹东方鲀中的比较分析

江驰航, 胡子文, 王智诚, 李鑫, 王秀丽* (大连海洋大学水产与生命学院基因工程实验室, 辽宁大连 116023)

摘要 由于形态学无法更精准地鉴别部分红鳍东方鲀和暗纹东方鲀, 因此需要通过分子手段鉴别此类无法直观辨别的东方鲀。该研究以 15 尾红鳍东方鲀和 30 尾暗纹东方鲀为材料, 使用 NCBI 上红鳍东方鲀和暗纹东方鲀的线粒体全基因组中 3 个基因 COI、COII、COIII 保守区域通过 Primer 5.0 进行引物设计。将 45 个样品在摸索得到的最适条件下进行扩增并测序, 对测序结果进行检验, 分析种间差异并进行碱基组成性分析, 得出 COI 上有 9 个 SNPs, COII 上有 4 个 SNPs, COIII 有 10 个 SNPs, 使用 MEGA-X 进行进化树分析得出, 该研究所设计的引物可以有效地鉴别 2 种东方鲀。

关键词 红鳍东方鲀; 暗纹东方鲀; 种质鉴定; 分子标记

中图分类号 S917 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2020)09-0125-04

doi: 10. 3969/j. issn. 0517-6611. 2020. 09. 034

开放科学(资源服务)标识码(OSID): 

Comparative Analysis of 3 Mitochondrial Genes between *Takifugu rubripes* and *Takifugu obscurus*

JIANG Chi-hang, HU Zi-wen, WANG Zhi-cheng et al (Genetic Engineering Laboratory, College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian, Liaoning 116023)

Abstract Because morphology cannot identify some *Takifugu rubripes* and *Takifugu obscurus* more accurately, molecular means must be used to identify such invisible *Takifugu*. In this study, 15 *T. rubripes* and 30 *T. obscurus* were used. Three genes COI, COII, and COIII in the entire mitochondrial genome of *T. rubripes* and *T. obscurus* on NCBI were performed by Primer5.0 designed for primer design. Forty-five samples were amplified and sequenced under the optimal conditions, and the sequencing results were checked. The differences between species were analyzed and base composition analysis was performed. It was found that there were 9 SNPs on COI, 4 SNPs on COII and 10 SNPs on COIII. Using MEGA-X to analyze the phylogenetic tree, we can conclude that the primers designed in this study can effectively identify two *Takifugu* species.

Key words *Takifugu rubripes*; *Takifugu obscurus*; Germplasm identification; Molecular marker

红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)俗称黑蜡头、虎河豚,与暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*)均属于鲀形目(Tetraodontiformes)、鲀科(Tetraodontidae)、东方鲀属(*Takifugu*),在我国分布于黄海、渤海、东海,是我国比较重要的几种经济养殖鱼类之一,其味道鲜美,肉质细腻,鱼皮富含胶原蛋白,鱼肉蛋白质含量极高,而且其中所含有的河豚毒素也具有极高的价值,已在中国、日本以及韩国等亚洲国家广泛培育^[1-2]。

通过动物形态学去鉴别物种,是物种鉴别常见也是最基础的方法,具有简单直观等优点。生物学具有悠久发展历史,自动物解剖开始,到动物形态学,再到宏观形态学研究,目前已发展成为包括解剖学、比较解剖学、细胞学和组织学、古动物学和胚胎学等的综合性学科^[3]。形态学方法可概括为可数性状、可量性状、结构特征等^[4]。但因为其判断的主观性强,需要比较专业的系统学知识,而且由于不同发育阶段的形态学和地理隔绝也存在着差异,容易导致判断的错误,因此需要更精确的鉴定方式去鉴别形态学中无法辨别的隐种。

聚合酶链式反应(PCR)是一种应用分子生物学将目的DNA片段在生物体外放大扩增的一项技术,其利用DNA在高温时破坏氢键变性成单链,降温时复性使引物(能与目的基因互补配对的寡核苷酸片段)与目的基因单链结合,再调温度至DNA聚合酶最适反应温度72℃,DNA聚合酶沿着磷酸到五碳糖(5'—3')的方向合成互补链^[5]。通过对不同物种基因的保守区段设计引物,可应用该技术获得多个物种的

同一基因的类似片段,比较这些基因片段的差异程度可判断这些物种的亲缘关系及区别鉴定这些物种。线粒体DNA(mtDNA)是一种在进化过程中替换率比DNA的高5~10倍并广泛存在于生物体内的遗传物质,已经被广泛利用于动植物的种群遗传学研究^[6-7],其中COI基因是细胞色素氧化酶3个亚基基因中的一个相当保守的蛋白质编码基因,基因组中很少存在插入和缺失,其普遍替代速率为0.016 8~0.023 0每个位点/每百万年^[8-9],长为658 bp左右的十分适合解析亲缘关系相近的分类类群^[10]。国内外已经有研究者通过此段序列对未知物种进行系统的分类,并且打破传统形态学的物种分类^[11-12],COII与COIII同样存在于mtDNA中,其组成也是十分保守。

SNP是单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism),属于第三代分子标记技术,是在基因组水平上的单个核苷酸变异引起的DNA序列多态性,具有可以稳定遗传的优点,故此通过查找在不同物种间存在的SNP能有效地将这些物种加以区分,同样当某一物种的不同性状出现SNP时,则可以利用对SNP的筛选进行育种。该方法已有应用的先例,Lin等^[13]利用SNP成功建立了大黄鱼有效的鉴定遗传性别的方法。

该研究使用多条红鳍东方鲀与暗纹东方鲀,通过查找在两种群间有差异而在群体中无差异的SNP作为鉴定两种群差异的分子标记。通过设计引物在PCR反应中将这些存在于遗传信息中的差异放大,借助测序技术及生物分析筛选出这些可作为分子标记的SNP。检测这些SNP可鉴别这两群体间难以通过形态学鉴定个体,可应用于养殖育种、食品检疫、生态环保等领域。

基金项目 国家海水鱼产业技术体系(CARS-47)。
作者简介 江驰航(1995—),男,广东肇庆人,硕士研究生,研究方向:水产养殖与分子生物学。*通信作者,教授,硕士生导师,从事分子生物学研究。
收稿日期 2020-01-08

1 材料与方法

1.1 材料 试验用 15 尾红鳍东方鲀,采自大连天正实业有限公司咀东养殖场;30 尾暗纹东方鲀,采自中洋集团股份有限公司。麻醉后,采集新鲜的红鳍东方鲀与暗纹东方鲀的肌肉和尾鳍组织,立即储存至-20℃的冰箱中保存备用。

1.2 方法

1.2.1 总 DNA 的提取。海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒,购自天根生化科技(北京)有限公司,参照 DNA 提取试剂盒提供的方法提取 2 种东方鲀共计 45 尾鱼的基因组 DNA,操作如下:①取肌肉组织 30 mg 放入 DNA 提取液中破碎,加入 30 μL 蛋白酶 K 溶液在 56℃ 中水浴加热后充分消化,振荡离心;②在水浴后的离心管中加入 200 μL 的缓冲液 GB 并在 70℃ 的电热恒温水槽中继续加热,使溶液变清亮后加入 200 μL 的无水乙醇,轻缓地将其充分颠倒混匀;③将所得液体倒入 CB3 吸附柱中通过缓冲液分离核酸中的杂质;④使用 TE 洗脱液将所需的 DNA 从吸附柱上洗脱出来。

1.2.2 引物的设计及评估。从 NCBI 下载红鳍东方鲀线粒体基因组序列(GenBank 号为 AP_006045.1),暗纹东方鲀线粒体基因组序列(GenBank 号为 AP_009527.1),查找 2 个基因组中 COI、COII、COIII 基因的相应位置并进行比对,找出其中共有的保守区域并利用 Primer5.0 设计引物,交由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

将设计合成好的引物与提取好的 DNA 进行 PCR,PCR 反应体系为 25 μL 体系:50 ng 基因组 DNA 1.0 μL,上下游引物各 1.0 μL,10×PCR buffer 2.5 μL, dNTPs 2.0 μL, Taq DNA polymerase 0.5 μL, ddH₂O 17.0 μL。

PCR 反应程序:94℃ 预变性 5 min;94℃ 变性 30 s, X℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 35 个循环;最后 72℃ 延伸 7 min, 得到的 PCR 产物在 1.0% 琼脂糖凝胶下电泳检测。

摸索退火温度和 PCR 批量扩增:根据引物合成单的说明,摸索退火温度并得出 53℃ 为设计引物的最佳反应条件。

2 结果与分析

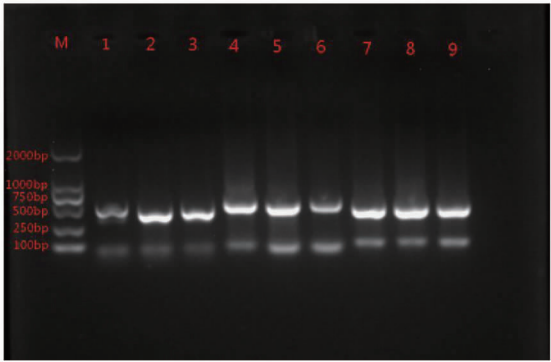
2.1 PCR 引物设计及验证 将红鳍东方鲀和暗纹东方鲀肌肉组织提取的 DNA 作为模板,对表 1 中的 3 对引物进行 PCR 扩增。由图 1 可知,引物 COI、COII、COIII 所扩增的条带均约为 500 bp。

表 1 试验所用引物
Table 1 Primers used in the test

基因名称 Gene name	引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5'—3')	扩增产物大小 (理论值) Amplification product size (theoretical value)/bp	Tm ℃
COI	COIF	GTCTGAGCCATAATGCCAT	503	55.0
	COIR	GAGTATCGTCGAGGTATTCC		51.7
COII	COIIF	CAAGATGCAGCTTCACCACT	577	55.5
	COIIR	CTCCGCAGATTTCAGAGCAT		55.0
COIII	COIIIF	GAGATATCGTACGAGAAGGC	516	52.0
	COIIIR	GTTCCGAGGTGAAGTGAAT		54.7

2.2 2 种东方鲀基因分析及比对 将试验所得的 PCR 产物送到华大基因科技有限公司进行单向测序,并将测序结果在

NCBI 进行 BLAST 分析比对,用于结果分析的序列对比匹配度必须大于 97%,从而保证形态鉴定的可靠性和测序序列的准确性。将测序所得的 15 条红鳍东方鲀序整合成 1 条序列(序列间差异部分见图注),30 条暗纹东方鲀序列进行相同处理(序列间差异部分见图注)。COI 引物所得长度约为 438 bp, COII 引物所得长度约为 494 bp, COIII 引物所得长度约为 406 bp。将整合所得的红鳍东方鲀和暗纹东方鲀序列进行 GenBank BLAST 在线比对分析(图 2~4)。



注:M 为 2 000 bp Maker;1~3. COI 引物扩增的 PCR 产物;4~6. COII 引物扩增的 PCR 产物;7~9. COIII 引物扩增的 PCR 产物
Note: M is 2 000 bp Maker;1~3. PCR product amplified by COI primer;4~6. PCR product amplified by COII primer;7~9. PCR product amplified by COIII primer

图 1 PCR 扩增产物的电泳结果

Fig. 1 Electrophoresis results of PCR products

COI 基因排列位点中,修剪后长度均为 438 bp,其中红鳍东方鲀有 435 个不变位点(C),3 个变异位点(V),其中有 2 个发生转换,1 个发生颠换;暗纹东方鲀有 437 个不变位点(C),1 个变异位点(V)且为自裔位点(S)发生转换。红鳍东方鲀与暗纹东方鲀种间差异的 SNP 有 9 个,分别为 C921T、C996T、C999T、G1074A、C1080T、T1098A、T1137C、T1242C、C1281T(图 2)。

COII 基因排列位点中,修剪后长度均为 494 bp,其中红鳍东方鲀有 491 个不变位点(C),3 个变异位点(V),其中有 3 个发生转换;暗纹东方鲀有 491 个不变位点(C),3 个变异位点(V),其中有 2 个自裔位点(S),3 个位点均是转换。红鳍东方鲀与暗纹东方鲀种间差异的 SNP 有 4 个,分别为 T277C、C301T、A371G、T583C(图 3)。

COIII 基因排列位点中,修剪后长度均为 406 bp,红鳍东方鲀有 403 个不变位点(C),5 个变异位点(V),其中有 4 个发生转换,1 个发生颠换;暗纹东方鲀有 405 个不变位点(C),3 个变异位点(V),其中有 2 个自裔位点(S)均为转换。红鳍东方鲀与暗纹东方鲀种间差异的 SNP 有 10 个,分别为 T310G、C354T、C370T、A390C、G411A、G456A、G462T、G483A、T543C、A657G(图 4)。

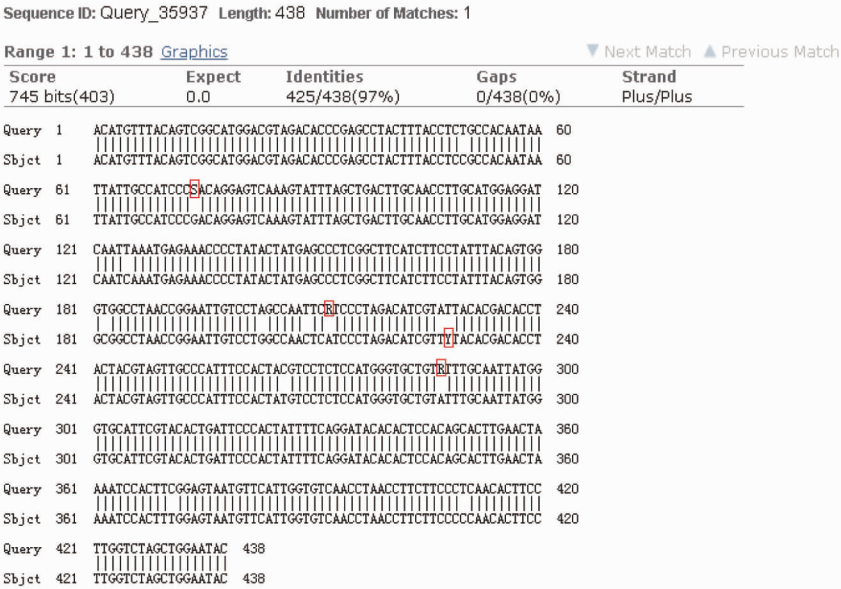
2.3 2 种东方鲀基因碱基组成差异分析 红鳍东方鲀线粒体 COI 基因片段平均碱基组成为 A, 25.4%; T, 29.2%; C, 28.0%; G, 17.4%; A+T (54.6%) 明显高于 C+G (45.4%),表明红鳍东方鲀 COI 基因碱基组成比例存在较为明显的偏倚

性。暗纹东方鲀线粒体 COI 基因片段平均碱基组成为 A, 25.2%; T, 28.3%; C, 28.7%; G, 17.8%; A+T (53.5%) 明显高于 C+G (46.5%), 表明暗纹东方鲀 COI 基因碱基组成比例存在较为明显的偏倚性。

红鳍东方鲀线粒体 COII 基因片段平均碱基组成为 A, 27.2%; T, 28.1%; C, 29.7%; G, 15.0%; A+T (55.3%) 明显高于 C+G (44.7%), 表明红鳍东方鲀 COII 基因碱基组成比例存在较为明显的偏倚性。暗纹东方鲀线粒体 COII 基因片段平均碱基组成为: A, 27.9%; T, 27.9%; C, 29.9%; G, 14.3%; A+

T (55.8%) 明显高于 C+G (44.2%), 表明暗纹东方鲀 COII 基因碱基组成比例存在较为明显的偏倚性。

红鳍东方鲀线粒体 COIII 基因片段平均碱基组成为 A, 25.2%; T, 26.6%; C, 32.5%; G, 15.8%; A+T (51.8%) 相近于 C+G (48.3%), 表明红鳍东方鲀 COIII 基因碱基组成比例 A+T 与 C+G 相近。暗纹东方鲀线粒体 COIII 基因片段平均碱基组成为 A, 24.9%; T, 25.9%; C, 33.1%; G, 16.1%; A+T (50.8%) 相近于 C+G (49.2%), 表明暗纹东方鲀 COIII 基因碱基组成比例 A+T 与 C+G 相近。

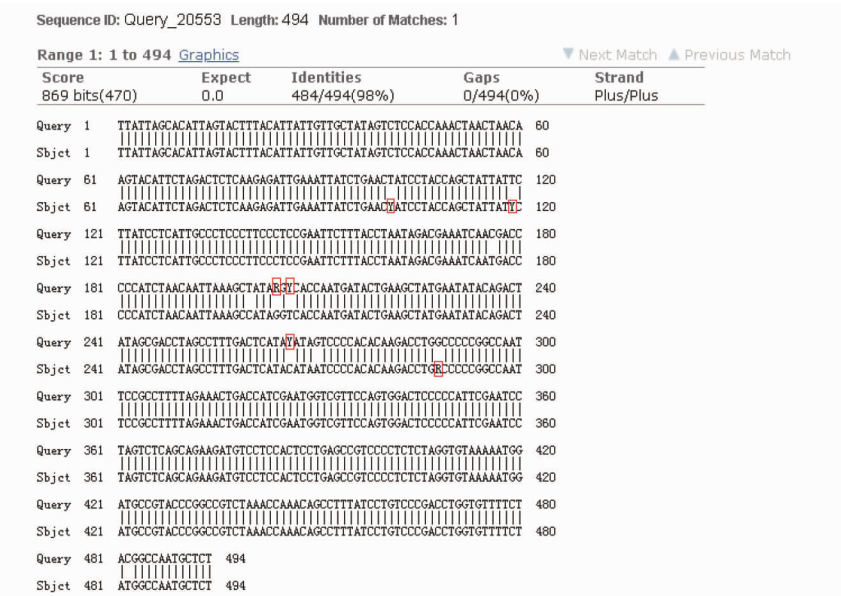


注:该片段为距起始密码子 872~1 309 bp,红色方框为种内 SNP 差异

Note:This fragment is 872~1 309 bp from the start codon,and the red box is the intraspecific SNP difference

图 2 COI 片段在红鳍东方鲀和暗纹东方鲀中的 BLAST 对比结果

Fig.2 Comparison of the results of the BLAST of COI fragments between *Takifugu rubripes* and *Takifugu obscurus*



注:该片段为距起始密码子 98~591 bp,红色方框为种内 SNP 差异

Note:This fragment is 98~591 bp from the start codon,and the red box is the intraspecific SNP difference

图 3 COII 片段在红鳍东方鲀和暗纹东方鲀中的 BLAST 对比结果

Fig.3 Comparison of the results of the BLAST of COII fragments between *Takifugu rubripes* and *Takifugu obscurus*

Sequence ID: Query_14707 Length: 406 Number of Matches: 1

Range 1: 1 to 406 [Graphics](#)

▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
669 bits(362)	0.0	389/406(96%)	0/406(0%)	Plus/Plus
Query 1	GTATTCCTTCTCCTTGGCTTCTCTGAGCATTCTACCAAGCCTAGCCCCACTCCT	60		
Sbjct 1	GTATTCCTTCTCCTTGGCTTCTCTGAGCATTCTACCAAGCCTAGCCCCACTCCT	60		
Query 61	GAATTAGGAGGCTGCTGACCCCTACAGCATTATCCCTTAAATCCCTTCGAAGTCCC	120		
Sbjct 61	GAATTAGGAGGCTGCTGACCCCTACAGCATTATCCCTTAAATCCCTTCGAAGTCCA	120		
Query 121	CTCCTAAACACAGCAGTCTACTGGCATCAGGATTACCGTAACCTGAGCTCACCACAGC	180		
Sbjct 121	CTCCTAAACACAGCAGTCTACTGGCATCAGGATTACCGTAACCTGAGCTCACCACAGC	180		
Query 181	ATTATAGAAGGTGACGAAAACAAGCAATCCAATCTTCACCTTACAAATCCTTCTAGGT	240		
Sbjct 181	ATTATAGAAGGTGACGAAAACAAGCAATCCAATCTTCACCTTACAAATCCTTCTAGGT	240		
Query 241	TTCTACTTTACATTCTGCAAGCAATAGAGTACTATGAAGCCCCCTTACAATCGCAGAT	300		
Sbjct 241	TTCTACTTTACATTCTGCAAGCAATAGAGTACTATGAAGCCCCCTTACAATCGCAGAT	300		
Query 301	GGTGTTCACGGCTCAACCTTCTTCGTCGCTACCGGCTTCCACGGCTTACGTCATCATC	360		
Sbjct 301	GGTGTTCACGGCTCAACCTTCTTCGTCGCTACCGGCTTCCACGGCTTACGTCATCATC	360		
Query 361	GGATCAACCTTCTTAGCCGTATGTCTACTACGACAAATCCGATTCC	406		
Sbjct 361	GGATCAACCTTCTTAGCCGTATGTCTACTACGACAAATCCGATTCC	406		

注:该片段为距起始密码子 271~671 bp,红色方框为种内 SNP 差异
Note:This fragment is 271~671 bp from the start codon,and the red box is the intraspecific SNP difference

图 4 COIII片段在红鳍东方鲀和暗纹东方鲀中的 BLAST 对比结果

Fig. 4 Comparison of the results of the BLAST of COIII fragments between *Takifugu rubripes* and *Takifugu obscurus*

2.4 2 种东方鲀基因进化树分析 使用 MEGA-X 中的邻接法(NJ)模型,使用其测序修剪长度的 DNA 片段构建所有个体的系统发育树(图 5~7),检验方法使用 Bootstrap method 重复 1 000 次。在 3 个基因的进化树中红鳍东方鲀 15 个个体(图中编号为 31~45)和暗纹东方鲀 30 个个体(图中编号为 1~30)分别聚为一支,说明所设计的这 3 对基因引物的扩增产物能有效地区分红鳍东方鲀和暗纹东方鲀。

越广泛。SNP 具有普遍性、稳定性且检测十分简便,而且部分特殊 SNP 可以直接影响生物本身的性状,SNPs 也会根据地理环境的不同具有不同的性状特点^[14]。

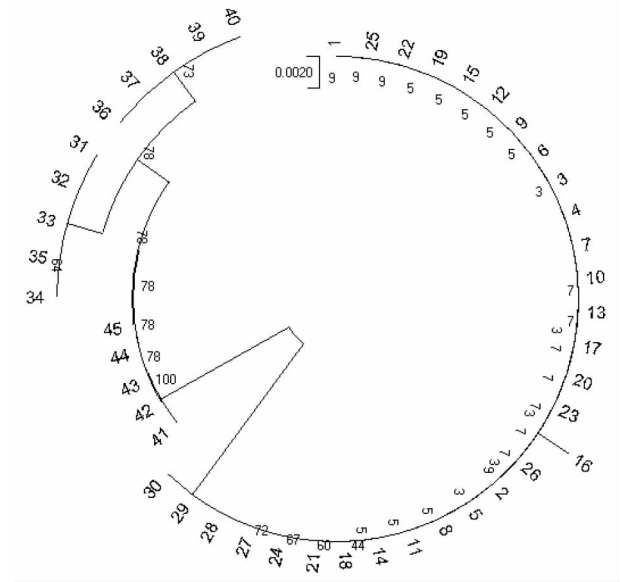


图 5 COI 基因进化树
Fig.5 COI gene evolution tree

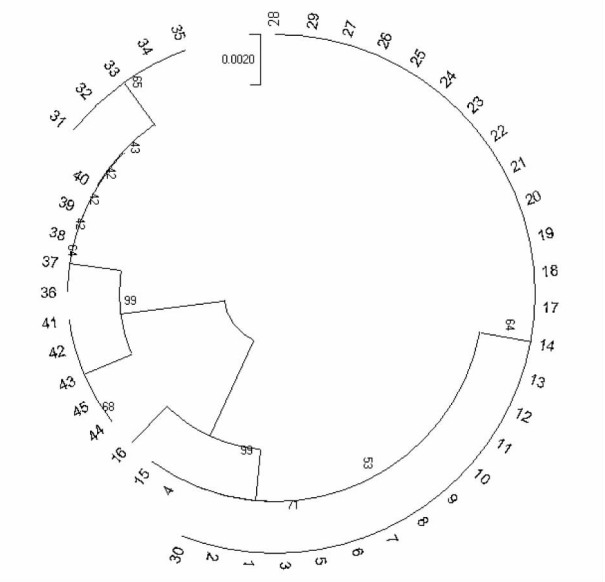


图 6 COII 基因进化树
Fig.6 COII gene evolution tree

该研究以 45 个红鳍东方鲀和暗纹东方鲀肌肉组织为材料,在 COI 中筛选出了 9 个种间特异性 SNPs,均为同义突变;在 COII 中筛选出了 4 个种间特异性 SNPs,其中 A371G 发生了错义突变,红鳍东方鲀密码子为 GTC 即缬氨酸,暗纹东方鲀为 ATC 即异亮氨酸,均位于线粒体内膜外。在暗纹东方

存在极显著差异,M3 处理与 M7 处理间存在显著差异,其他处理间差异不显著;L2 处理与 L3 处理间存在显著差异;HXK 处理与 Hck 处理差异达到显著水平,其他处理间差异不显著。

3 小结

改善现有马尾松纯林培育大径材,兼营药食两用植物,构建复合林分是林业发展的方向。在马尾松林内释放空间套种黄花倒水莲可以形成良好的复合林分。试验结果表明,在 18 年生马尾松林中保留 450~750 株/hm²,林下种植黄花倒水莲保存率在 90%以上,5 年生平均高 1.10~1.13 m,平均基径 1.84~2.07 cm,单株根重可达 231.3~282.5 g,总根重 815.56~983.10 kg/hm²。其主要经营技术是保留上层林 450~750 株/hm²,初始郁闭度控制在 0.27~0.38。选择较好立地等级,采取块状整地,适当施用基肥,加强抚育管理可以提高黄花倒水莲生长量,而且马尾松单株增长量明显提高,生长环境适宜培育大径材。

(上接第 128 页)

鲃 COIII 中的第 385 位发生了错义突变,密码子由 ACC 突变为 GCC,氨基酸由苏氨酸突变为丙氨酸,均位于线粒体内膜外。

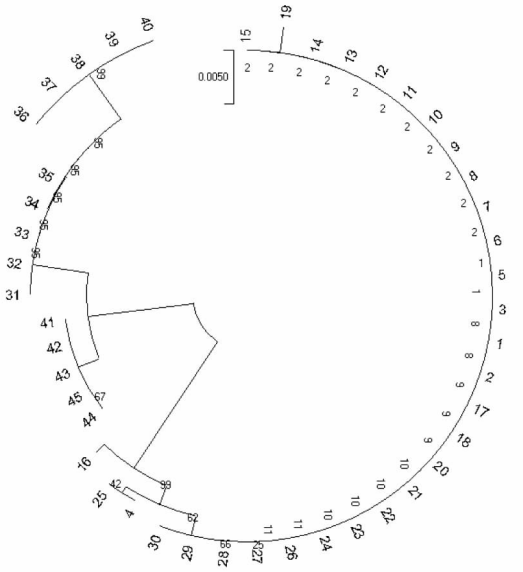


图 7 COIII 基因进化树

Fig. 7 COIII gene evolution tree

在 COIII 中筛选出了 10 个种间特异性 SNPs,其中 T310G 发生了错义突变,红鳍东方鲀密码子为 GCA 即丙氨酸,暗纹东方鲀为 TCA 即丝氨酸,位置在非跨膜区。

这些筛选出的 23 个 SNPs 可作为鉴别 2 种东方鲀的分子标记,并且等位基因数是反映某一位点在进化过程中所积累遗传变异程度的重要指标。等位基因数越高表明此位点在进化历史上的突变越活跃,该物种有多种方式适应自然选择,对复杂生存环境的适应力也越强^[15-16]。红鳍东方鲀群体数少但是

参考文献

- [1] 周政贤. 中国马尾松[M]. 北京:中国林业出版社,2001.
- [2] 中国树木志编委会. 中国主要树种造林技术(上册)[M]. 北京:农业出版社,1976.
- [3] 陈国金. 培育马尾松大径材林适宜松荷混交模式的研究[J]. 河北林果研究,2001,16(3):226-231.
- [4] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,2006.
- [5] 孔运甫,李胜福. 观赏药用花卉——黄花远志[J]. 中国花卉盆景,1997(11):8.
- [6] 杨春华,陈新宇,郑少,等. 黄花倒水莲治疗高脂血症不同证型的疗效观察[J]. 湖南中医药导报,1999,5(12):19-20.
- [7] 李萍,钟鸣,邱翠娥. 黄花参抗衰老作用的初步探讨[J]. 云南中医中药杂志,1995,16(4):13-15.
- [8] 徐宏江,徐增莱,朱丹妮. 广西黄花倒水莲资源调查及总皂苷含量比较[J]. 植物资源与环境学报,2003,12(1):47-49.
- [9] 林黎琳,黄锋,陈四保,等. 黄花倒水莲的化学成分及抗氧化活性研究[J]. 中国中药杂志,2005,30(11):827-830.
- [10] 张海龙. 木本药用植物黄花倒水莲生长季节裸根苗移栽试验[J]. 江西林业科技,2012(6):10-12.
- [11] 彭明良. 毛竹林下套种黄花倒水莲技术[J]. 河北林业科技,2013(4):106-107.
- [12] 俞新妥. 混交林营造原理及技术[M]. 北京:中国林业出版社,1989.

变异位点数更多,说明红鳍东方鲀所处环境更复杂。

参考文献

- [1] APARICIO S, CHAPMAN J, STUPKA E, et al. Whole-genome shotgun assembly and analysis of the genome of *Fugu rubripes* [J]. Science, 2002, 297:1301-1310.
- [2] YAMANOUE Y, MIYA M, MATSUURA K, et al. Explosive speciation of *Takifugu*: Another use of *Fugu* as a model system for evolutionary biology [J]. Molecular biology & evolution, 2009, 26(3):623-629.
- [3] RUSSELL E S. Form and function: A contribution to the history of animal morphology [M]. London: John Murray, 1916.
- [4] 董志国,常玉梅. 鱼类种质鉴定的主要技术与方法[J]. 水产学杂志, 2002, 15(2):74-77.
- [5] 刘红. 聚合酶链式反应和基因芯片技术的研究及在主要水生动物病毒检测和监测中的应用[D]. 武汉:华中农业大学,2004.
- [6] 肖武汉,张亚平. 鱼类线粒体 DNA 的遗传与进化[J]. 水生生物学报, 2000, 24(4):384-391.
- [7] 郭新红,刘少军,刘巧,等. 鱼类线粒体 DNA 研究新进展[J]. 遗传学报, 2004, 31(9):983-1000.
- [8] ALLEGROUCCI G, TRUCCHI E, SBORDONI V. Tempo and mode of species diversification in *Dolichopoda* cave crickets (Orthoptera, Rhaphidophoridae) [J]. Molecular phylogenetics and evolution, 2011, 60(1):108-121.
- [9] PAPADOPOULOU A, ANASTASIOU I, VOGLER P. Revisiting the insect mitochondrial molecular clock: The mid-Aegean trench calibration [J]. Molecular biology and evolution, 2010, 27(7):1659-1672.
- [10] HEBERT P D N, RATNASINGHAM S, DE WAARD J R. Barcoding animal life: Cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species [J]. Proc Biol Sci, 2003, 270(1):96-99.
- [11] 肖金花,肖晖,黄大卫. 生物分类学的新动向——DNA 条形码[J]. 动物学报, 2004, 50(5):852-855.
- [12] 徐革锋,韩英. 线粒体基因组 DNA 条形码的应用与分析[J]. 水产学杂志, 2013, 26(6):63-67.
- [13] LIN A Q, XIAO S J, XU S B, et al. Identification of amale-specific DNA marker in the large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [J]. Aquaculture, 2017, 480:116-122.
- [14] 马海鑫. 基于 SLAF-seq 技术的弧唇裂腹鱼 SNP 位点开发及群体遗传学分析[D]. 武汉:华中农业大学,2019.
- [15] 蒋鹏,尹洪滨,张研,等. 雄性普通黄颡鱼与所保护受精卵间的亲缘关系分析[J]. 动物学报, 2008, 54(5):798-804.
- [16] 刘永新,周勤,张红涛,等. 红鳍东方鲀亲本群体遗传多样性的微卫星分析[J]. 水产学杂志, 2014, 27(5):12-18.