

研究报告

Research Report

贵州大眼鳊 3 个群体 rDNA ITS-1 序列分析

郭健康¹ 安苗^{1*} 王金娜² 曹恒源¹ 李珊¹ 陈薛伟杰¹

1 贵州大学动物科学学院, 贵阳, 550025; 2 贵州省正安县水产技术推广站, 正安, 563400

* 通讯作者, gzuam@163.com

摘要 运用 PCR 扩增技术及 DNA 测序技术, 对贵州 3 个大眼鳊群体的 ITS-1 序列进行了分析, 结果显示 3 个大眼鳊群体存在序列长度多态性, 主要有 753 bp 和 755 bp 两种类型, GC (72.8%) 平均含量远高于 AT 含量 (27.3%); 共检测到 6 个多态位点, 产生 6 种单倍型, 3 个群体各自都表现出较低的遗传多样性水平, 从总体上看, 单倍型多样性指数为 0.622, 表明贵州大眼鳊群体的遗传多样性较丰富。在贵州大眼鳊 ITS-1 序列中发现 (GC)_n、(CT)_n、(CG)_n、(TCG)_n 4 种微卫星序列, 其中 (GC)_n 出现的频率最高。群体间的遗传分化指数 (Fst) 和基因交流值 (Nm) 均表明, 铜仁大眼鳊群体与沿河大眼鳊群体遗传分化小, 有基因交流, 而关岭大眼鳊群体与这两个群体间, 遗传分化大, 缺乏基因交流。

关键词 大眼鳊, ITS-1, 遗传多样性

Sequence Analysis of rDNA ITS-1 from three Populations of *Siniperca kneri* in Guizhou

Guo Jiankang¹ An Miao^{1*} Wang Jinna² Cao Hengyuan¹ Li Shan¹ Chen xueweijie¹

1 College of Animal Science, Guizhou University, Guiyang, 550025; 2 Zheng'an Popularization Station of Fishery Technology, Zheng'an, 563400

* Corresponding author, gzuam@163.com

DOI: 10.13417/j.gab.035.001383

Abstract The sequences of internal transcribed spacer 1 (ITS1) in the specie were analyzed using the methods of PCR and DNA sequencing according to the 151 individuals of *Siniperca kneri* in three wild populations from Tongren, Yanhe, Guanling. The length polymorphism was observed in three populations of *Siniperca kneri*, with two types of 753 bp and 755 bp in the length. The mean contents of GC were significant higher than AT. 6 polymorphism loci and 6 haplotypes were detected in ITS1. The three populations of *Siniperca kneri* had low genetic diversity respectively, the total haploidtype diversity was 0.622, suggesting the abundant genetic diversity in three populations of *Siniperca kneri*. Four kinds of microsatellites were (GC)_n, (CT)_n, (CG)_n, (TCG)_n respectively found in ITS1 sequences in the specie, the type of (GC)_n had highest frequency. Fst value and Nm value among the three populations of *Siniperca kneri* suggested that between Tongren and Yanhe Population have weak genetic differentiation, the Guanling population lacked of gene exchange to these two populations.

Keywords *Siniperca kneri*, Internal transcribed spacer 1, Genetic diversity

大眼鳊 (*Siniperca kneri*) 隶属于硬骨鱼纲, 鲈形目, 鮨科, 鳊亚科, 鳊属, 俗称桂花鱼、白桂等, 分布于中国长江及其以南水系, 为中国南方特有种, 是一种名贵的经济鱼类。近年来由于截流筑坝、过度捕捞、环境污染, 使鳊类资源锐减, 有的种类已很难被采集。

第一内转录间隔区是核糖体基因的非编码区, 具有变异快、信息量大、多态性丰富等特点 (Reed et

al., 2000), 可用于生物遗传进化、遗传多样性等方面的研究。目前为止, 通过线粒体 DNA 基因对鳊类群体的遗传结构、遗传多样性和系统演化关系已经进行了一些研究, 但运用 ITS-1 核苷酸序列对鳊类群体的研究还未见报道。本研究对 3 个大眼鳊群体 ITS-1 序列进行分析, 探讨其遗传变异和多样性, 为其遗传保护、开发及利用提供理论依据。

1 结果与分析

1.1 大眼鳊 3 个群体 ITS-1 片段扩增及序列差异

用 DYGF/DYGR 引物对 151 尾大眼鳊 DNA 样品进行 PCR 扩增,所有样品均扩增出约 864 bp 左右条带(图 1)。

经拼接、去除两侧 18S 及 5.8S rDNA 的序列、校对和比对后,获得 151 条长度在 741~758 bp 之间的序列,ITS-1 序列存在长度差异,可分为 741 bp、753 bp、755 bp、756 bp、757 bp、758 bp 6 种序列(表 1)。3 个大眼鳊群体中,铜仁大眼鳊群体和沿河大眼鳊群体的序列长度主要为 755 bp,关岭大眼鳊群体主要为 753 bp。3 个大眼鳊群体各碱基含量相差不大,碱基 C 含量最高为 39.5%,G+C 含量(72.8%)明显高于 A+T (27.3%)。

MEGA 5.0 软件分析显示:在 3 个大眼鳊群体中,铜仁大眼鳊群体存在 1 个多态位点,有 GC 片段的缺失,沿河大眼鳊群体被检测到 6 个多态位点(2 个转换位点和 4 个颠换位点),存在片段 CTCC、TCG 的插入和片段 GC、CG 的缺失;关岭大眼鳊群体存在 2 个多态位点(一个转换位点和一个颠换位点),检测

到有片段 TCTC、TCC 的插入和片段 CGCG、CCGT、CGCC 的缺失。151 尾大眼鳊共存在 6 个多态位点(表 2),包含 2 个转换位点和 4 个颠换位点。不计插入/缺失,3 个大眼鳊群体共产生 6 种单倍型,并提交至 GenBank,登录号为 KU746898-KU746903。Hap1 为 3 个群体共享,Hap2 为沿河大眼鳊群体和关岭大眼鳊群体共享,Hap5 是铜仁大眼鳊群体和关岭大眼鳊群体共享单倍型,Hap3、Hap4、Hap6 为沿河大眼鳊独有。

通过 SSRhunter1.3 查找大眼鳊 ITS-1 片段中的微卫星(SRR)位点,结果显示:在大眼鳊的 ITS-1 片段中发现 (GC)_(8,7,3,3)、(CT)_(3,3,3)、(CG)_(3,5)、(TCG)₃ 4 种重复序列,3~8 次重复的简单序列共有 10 处,它们出现的起始位点分别为 (111, 217, 339, 461)、(151, 600)、(116, 322)、(246)。

1.2 大眼鳊 3 个群体的遗传距离

三个大眼鳊群体内,沿河大眼鳊群体个体间的

表 2 大眼鳊 3 个群体 ITS-1 序列变异位点及单倍型分布

Table 2 Variable sites of ITS-1 sequence in three populations of *S. kneri* and haploid type's distribution

单倍型 Haplotypes	变异位点 Variable sites						单倍型分布 Haploid types distribution		
	1	2	3	4	5	6	JTD	WYD	BGD
Hap1	G	C	C	T	C	G	23	30	2
Hap2	C	T	-	-	-	-		1	72
Hap3	-	-	-	-	-	C		1	
Hap4	-	-	A	-	G	C		1	
Hap5	C	-	-	-	-	-	3		16
Hap6	-	-	-	C	-	-		2	

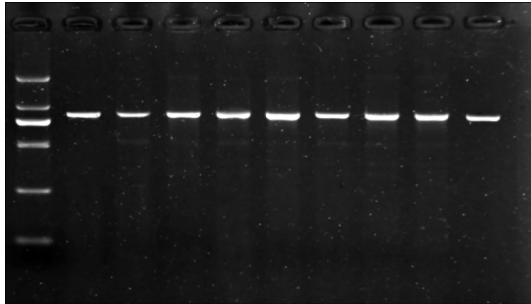


图 1 大眼鳊 3 个群体 ITS-1 序列 PCR 扩增

Figure 1 The PCR amplification products of ITS-1 in three *S. kneri* populations

表 1 大眼鳊 3 个群体 ITS-1 序列碱基含量

Table 1 Nucleotide compositions of ITS-1 sequence in three populations of *S. kneri*

群体 Population	T (%)	C (%)	A (%)	G (%)	G+C (%)	A+T (%)	序列长度及分布(尾) Sequence length and distribution (tail)						
							741 bp	753 bp	755 bp	756 bp	757 bp	758 bp	
JTD	17.9	39.5	9.3	33.3	72.8	27.2		9	17				
WYD	17.9	39.5	9.3	33.4	72.9	27.2		6	26		1		2
BGD	18.0	39.5	9.3	33.2	72.7	27.3	1	87		1	1		
合计 Total	18.0	39.5	9.3	33.3	72.8	27.3	1	102	43	1	2		2

注: JTD: 锦江铜仁段大眼鳊群体; WYD: 乌江沿河段大眼鳊群体; BGD: 北盘江关岭段大眼鳊群体; 下同

Note: JTD: *S. kneri* in Tongren section of Jingjiang River; WYH: *S. kneri* in Yanhe section of Wujiang River; BGD: *S. kneri* in Guanling section of Bei panjiang river; The same as follows

遗传距离为 0.000~0.007, 平均遗传距离为 0.001, 铜仁大眼鳊群体和关岭大眼鳊群体内的遗传距离都为 0.000; 三个群体间, 铜仁大眼鳊群体与沿河大眼鳊群体间的遗传距离为 0.000, 铜仁大眼鳊群体与关岭大眼鳊群体间的遗传距离为 0.002, 沿河大眼鳊群体与关岭大眼鳊群体间的遗传距离为 0.003, 6 种单倍型间的遗传距离, 在 0.000~0.004 之间。以看结果看来, 这 3 个大眼鳊群体内和群体间的遗传变异小。

1.3 大眼鳊 3 个群体的遗传多样性和遗传分化

通过 DNA SP5.0 计算得到喀斯特山区 3 个群体的遗传多样性参数(表 3), 结果显示: 沿河大眼鳊群体的多态位点数、单倍型数最多; 三个群体单倍型多样性指数相差不大, 关岭大眼鳊群体的略高, 铜仁大眼鳊群体略低; 沿河大眼鳊群体的核苷酸多样性指数最高, 铜仁大眼鳊群体最低。

大眼鳊 3 个群体的 F_{st} 和 N_m (表 4), 结果显示: 铜仁大眼鳊群体与沿河大眼鳊群体的遗传分化指数最小, 基因流最大; 沿河大眼鳊群体与关岭大眼鳊群体的遗传分化指数最大, 而基因流最小。

2 讨论

2.1 大眼鳊 3 个群体 ITS-1 序列分析

研究发现, ITS 序列长度在鱼类中存在多态性, 这一特点在不同种群间最为明显, 甚至同一种群内

表 3 大眼鳊 3 个群体的遗传多样性参数

Table 3 Genetic diversity of three *S. kneri* populations

群体 Population	多态位 点数 S	单倍 型数 H	单倍型多 样性指数 Hd	核苷酸多 样性指数 Pi	平均核苷 酸差异数 K
JTD	1	2	0.212	0.000 28	0.212 31
WYD	6	5	0.267	0.000 62	0.450 42
BGD	2	3	0.332	0.000 50	0.367 54
合计 Total	6	6	0.622	0.001 44	1.061 19

表 4 大眼 3 个鳊群体的遗传分化

Table 4 Genetic differentiation of three *S. kneri* populations

种群 1 Population 1	种群 2 Population 2	群体间遗传距离 D	遗传分化指数 F_{st}	基因分化系数 Gst	基因流 Nm
JTD	WYD	0.000	0.017 78	0.004 34	27.621 48
JTD	BGD	0.002	0.826 13	0.440 89	0.105 23
WYD	BGD	0.003	0.785 29	0.459 14	0.136 70

也存在长度的差异。鳊亚目鱼类长度变化范围为 375~562 bp, 且方氏云鳊种内的长度也不一, 为 532~562 bp (张源真等, 2012); 亚口鱼科鱼类中, 最短的序列仅为 52 bp, 最长有达 289 bp (孙玉华等, 2006); 龚理等(2015)对褐牙鲈(♀)、夏鲈(♂)及其杂交子一代的 ITS-1 序列特征进行了分析, 结果显示: ITS1 序列长度在种间及个体内变异比较大, 褐牙鲈为 743~768 bp, 夏鲈和杂交子一代序列长度分别为 737~747 bp 和 713~758 bp。本研究所测得的 3 个大眼鳊群体 ITS-1 序列长度变异不大, 主要有 753 bp 和 755 bp 两种, 最短的为 741 bp, 最长的为 758 bp; 但结合脂科中的一些种类来看, 差异较大, 翘嘴鳊(登录号为: AY452494)为 745 bp, 花鲈(Lateolabrax) (登录号: AB375634) 738 bp, 石斑鱼(Epinephelus)为 532~537 bp。Huysse 等(2004)认为 ITS-1 片段具有序列长度多态性, 主要是由微卫星拷贝数不同而造成。在本研究中, 并不是所有的插入或缺失都位于重复区域, 所以大眼鳊 ITS-1 序列长度差异不能完全用重复序列来解释。徐晖等(2008)在对舌鳎亚科鱼类 ITS-1 序列的研究中及马朋等(2012)对脊尾白虾 ITS-1 序列研究中都得出了相同的结论。ITS 片段是不加入成熟核糖体的非编码区, 受到的选择压力较小、进化速率快, 这也是导致 ITS-1 序列存在长度差异的因素之一。

本研究中 3 个大眼鳊群体 ITS-1 的 GC 含量较高, 达 72.8%, 而高 GC 含量被认为是一个比较原始的特征(Rodríguez-Trelles et al., 2000), 所以可以推测大眼鳊是一个比较原始的种类。微卫星是以 1~6 bp 的短核苷酸为基本单元, 首尾顺次相接组成的串联重复序列, 能对生物种质进行鉴定(柳莹等, 2014)。本研究所测的 ITS-1 中, 发现多种重复序列, 共有 $(GC)_n$ 、 $(CT)_n$ 、 $(CG)_n$ 、 $(TCG)_n$ 4 种, 其中 $(GC)_n$ 出现的频率最高。目前为止, 对鳊亚科鱼类 ITS 序列的研究缺乏, 本研究结果可以为鳊类种质资源的鉴定与保护累积提供可靠的理论依据。

2.2 大眼鳊 3 个群体的遗传多样性及遗传分化

遗传多样性与自然选择产生的适应性及物种的

进化潜力密切相关,遗传多样越丰富,物种对环境变化的适应能力越强(陈金平等, 2004)。本研究测定了 3 个大眼鳊群体的 ITS-1 序列,检测到 6 个多态位点,发现一些片段的插入或缺失。研究表明 3 个群体中沿河大眼群体核苷酸多样性指数略高(0.000 62),而铜仁群体较低(0.000 28),这 3 个群体的核苷酸多样性指数远远低于 4 个鲤鱼群体(0.008 57)(钟立强等, 2011)及贵州地方鲫鱼群体(0.012 22)(郭健康等, 2015),贵州 3 个大眼鳊群体表现出偏低的遗传多样性。从单倍型多样性水平来看,沿河大眼鳊群体拥有 5 个单倍型,但大多数单倍型只为少数个体独有,表现为较低水平的单倍型多样性(0.267),3 个群体的单倍型多样相差不大,均低,但从总体上看,这 3 个群体的单倍型多样性为 0.622,高于贵州鲫鱼群体(0.552)而略低于 4 个鲤鱼群体(0.637),说明贵州大眼鳊群体遗传多样性较丰富。

遗传距离多用来分析种群的遗传分化及遗传多样性,其值的大小,反映了种群分化程度的大小(董新培等, 2014)。3 个大眼鳊群体内,沿河大眼鳊群体个体间的遗传距离为 0.000~0.007,平均遗传距离为 0.001,其余两群体都为 0.000,群体间的遗传距离为 0.000~0.003,表明沿河大眼鳊群体遗传分化略大。遗传学认为,若遗传距离大于 0.01,就认为该种群遗传变异大(Lan and Shi, 1993),而 3 个大眼鳊群体内和群体间的遗传距离都小于 0.01,遗传变异小。这与朱树人等(2015)对 3 种鳊属鱼类的 ITS 序列的研究结果和凌去非等(2006)对丁鲷不同群体 ITS-1 序列的研究结果一致,表明 ITS-1 序列在种群内变异较小。

遗传分化指数(F_{st})常用来判断群体间的遗传差异。3 个大眼鳊群体间,沿河大眼鳊群体与铜仁大眼鳊群体体间分化较小($0 \leq F_{st} \leq 0.05$),而关岭大眼鳊群体与这两个群体间就表现出较高的分化($F_{st} \geq 0.25$)。基因流(N_m)是指基因在不同群体间的转移、交流,它会把一个群体中的基因带给另一个群体,基因流越大,群体间的相似性就越大(曲若竹等, 2004)。铜仁大眼鳊群体与沿河大眼鳊群体的基因流为 27.62,大于 1 说明这是两个群体存在基因交流,关岭大眼鳊与其他两个群体基因流均小于 1,说明关岭大眼鳊群体与其他两个群体间基因交流匮乏。贵州 3 个大眼鳊群体间的这种关系,可能是因为铜仁大眼群体与沿河大眼鳊群体同属长江流域中的鳊类,且两者地理位置较近,生存环境类似,使两者有着这样的联系;而关岭大眼鳊群体是珠江流域北盘江中的鳊类,并且与其他两个群体相距较远,生存环境不同,使得关岭大眼鳊与其他两个群体产生这样的差异。

3 材料与方法

3.1 试验材料

野生大眼鳊采自 3 个水产种质资源保护区,共计 151 尾。其中乌江黄颡鱼国家级水产种质资源保护区沿河县城河段 35 尾、锦江河特有鱼类国家级水产种质资源保护区铜仁段 26 尾和北盘江九盘段特有鱼类省级水产种质资源保护区关岭段 90 尾。取活鱼样本背部肌肉浸泡于无水乙醇中,并保存于 -20°C 的冰箱中备用。利用 DNA 提取试剂盒(北京天根)提取基因组 DNA,用 1.5%琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计(Thermo NanoDrop 2000C)检测其完整性与吸光值。

3.2 引物设计与 PCR 扩增

参照翘嘴鳊(*S. chuatsi*)(登录号:AY452494) ITS-1 序列设计引物, DYGF 5'-CGTAACAAGGTTTCCG TAGG-3', DYGR 5'-GCAATTCACATTAGTTCTCG C-3',引物送往北京诺赛基因进行合成。

PCR 反应体系为 20 μL : 其中 DNA 模板 2 μL , 2 \times GC Rich PCR Master Mix (北京天根) 10 μL , 上、下游引物各 1 μL , 利用灭菌水补齐至 20 μL 。PCR 扩增条件: 95°C 预变性 5 min, 95°C 变性 45 s, 61.4°C 退火 30 s, 72°C 延伸 50 s, 34 个循环;最后再 2072°C 延伸 5 min, 4°C 保存。

3.3 PCR 产物的测定

运用 1.2%琼脂糖凝胶电泳将 PCR 产物切胶回收纯化,PCR 产物的测定由北京诺赛基因完成。

3.4 数据的处理

利用 Seqman 做正反向链的拼接,手动校正并去掉两端引物及部分序列;碱基组成和变异位点的统计及遗传距离的计算由 Mega 5.0 完成,运用 DNASP 5.0 计算单倍型多样性、核苷酸多样性、以及群体间遗传分化指数(F_{st}),基因流由 $N_m \approx (1 - F_{st}) / (2F_{st})$ 计算,利用 SSRHunter1.3 查找简单重复序列。

作者贡献

郭健康是本研究的执行者,负责样品采集、实验设计、数据处理与分析、论文撰写等;安苗是本研究指导教师、通讯作者,负责试验指导及论文修改;曹恒源负责采样和论文的纠错;李珊、陈薛伟杰负责 PCR 扩增及送样测序,汪金娜主要协助样品采集。

致谢

本研究由安苗副教授资助。

参考文献

- Chen J.P., Dong C.Z., Sun D.J., Wang Z., and Zhang S.Y., 2004, Genetic variation analysis of chum salmon populations in Heilongjiang river based on microsatellite makers, *Shuisheng Shengwu Xuebao (Acta Hydrobiologica Sinica)*, 28(6): 607-612 (陈金平, 董崇智, 孙大江, 王喆, 张树义, 2004, 微卫星标记对黑龙江流域大麻哈鱼遗传多样性的研究, *水生生物学报*, 28(6): 607-612)
- Dong X.P., Mu S.M., Zhou N., Kang X.J., Luo Q., and Bai J.J., 2014, Structure analysis of mtDNA D-Loop region and the genetic diversity of *Channa argu* in different populations, *Shuichan Xuebao (Journal of Fishery Sciences of China)*, 38(9): 1277-1285 (董新培, 穆淑梅, 周楠, 康现江, 罗青, 白俊杰, 2014, 不同地理群体乌鳢线粒体 DNA 控制区结构分析及遗传多样性, *水产学报*, 38(9): 1277-1285)
- Gong L., Xu H., Li J., and Kong X.Y., 2015, Characterization of the first internal transcribed spacer of ribosomal DNA in *Paralichthys olivaceus* (♀) and *P. dentatus* (♂) hybrids, *Journal of Fishery Sciences of China*, 22(1): 17-23 (龚理, 徐晖, 李军, 孔晓瑜, 2015, 褐牙鲈(♀), 夏鲈(♂)及其杂交子一代的 ITS1 序列特征分析, *中国水产科学*, 22(1): 17-23)
- Guo J.K., An M., Zhou Q.C., and Cao H.Y., 2015, Sequence analysis of rDNA ITS-1 from two local populations of *Carassius auratus* in Guizhou, *Guizhou Nongye Kexue (Guizhou Agricultural Sciences)*, 43(11): 28-31 (郭健康, 安苗, 周其椿, 曹恒源, 2015, 贵州 2 种地方鲫鱼群体 rDNA ITS-1 序列分析, *贵州农业科学*, 43(11): 28-31)
- Huysse T., Van Houdt J., and Volckaert F.A.M., 2004, Paleoclimatic history and vicariant speciation in the "sand goby" group (*Gobiidae, Teleostei*), *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 32(1): 324-336
- Lan H., and Shi L., 1993, The origin and genetic differentiation of native breeds of pigs in southwest China: an approach from mitochondrial DNA polymorphism, *Biochem. Genet.*, 31(1-2): 51-60
- Ling F.F., Li S.F., Zhang H.J., and Cai X.Q., 2006, Sequence analysis on ITS-1 sequence in different populations of *Tinca tinca*, *Reservoir Fisheries*, 26(6): 24-25 (凌去非, 李思发, 张海军, 蔡晓琴, 2006, 丁鱥不同群体 ITS1 区序列分析, *水利渔业*, 26(6): 24-25)
- Liu Y., Tang Y.Z., and Gao L., 2014, The research progress on evolution of microsatellites, *Jiyinzuxue Yu Yingyong Shengwuxue (Genomics and Applied Biology)*, 33(6): 1391-1400 (柳莹, 唐永政, 高丽, 2014, 微卫星 DNA 进化特征研究进展, *基因组学与应用生物学*, 33(6): 1391-1400)
- Ma P., Liu P., and Li J., 2012, The genetic diversity and phylogenetic analysis of ITS1 in mitochondrial DNA of three populations of *Exopalaemon carinicauda*, *Shuichan Xuebao (Journal of Fishery Sciences of China)*, 36(8): 1185-1192 (马朋, 刘萍, 李健, 2012, 脊尾白虾 3 个野生群体 ITS1 序列分析及其亲缘关系分析, *水产学报*, 36(8): 1185-1192)
- Qu R.Z., Hou L., Lv L.H., and Li H.Y., 2004, The gene flow of population genetic structure, *Yichuan (Hereditas)*, 26(3): 377-382 (曲若竹, 侯林, 吕红丽, 李海燕, 2004, 群体遗传结构中的基因流, *遗传*, 26(3): 377-382)
- Reed K.M., Hackett J.D., and Phillips R.B., 2000, Comparative analysis of intra-individual and inter-species DNA sequence variation in salmonid ribosomal DNA cistrons, *Gene*, 249(1): 115-125
- Rodríguez-Trelles F., Tarrío R., and Ayala F.J., 2000, Evidence for a high ancestral GC content in *Drosophila*, *Mol. Biol. Evol.*, 17(11): 1710-1717
- Sun Y.H., Xie C.X., and Liu S.Y., 2006, The gene variation of 18S-ITS1-5.8S sequences of 7 Catostomids, *Shuisheng Shengwu Xuebao (Acta Hydrobiologica Sinica)*, 30(3): 367-370 (孙玉华, 谢从新, 刘思阳, 亚口鱼科鱼类核 DNA 18S-ITS1-5.8 S 序列比较分析, *水生生物学报*, 30(3): 367-370)
- Xu H., Li J., Kong X.Y., Xiao Z.Z., Li Y.L., Zhang Y.C., Shi W., Wei Z.P., and Yu Z.N., 2006, Phylogenetic relationship and length variation in the first ribosomal internal transcribed spacer of Cynoglossinae species, *Haiyang Yu Huzhao (Oceanologia Et Limnologia Sinica)*, 39(1): 35-41 (徐晖, 李军, 孔晓瑜, 肖志忠, 李玉龙, 张艳春, 时伟, 位正鹏, 喻子牛, 2006, 6 种舌鳎亚科鱼类 ITS1 序列长度多态性及系统分析, *海洋与湖沼*, 39(1): 35-41)
- Zhang Y.Z., Wang W., and Jiang Z.Q., 2012, Research on molecular phylogenetic relationship of partial Blennioidei based on ITS-1 sequences, *Xiandai Nongye Keji (Mod. Agric. Sci. Technol.)*, (8): 318-320 (张源真, 王伟, 姜志强, 基于 ITS-1 序列的部分鳎亚目鱼类的分子系统进化关系研究, *现代农业科技*, (8): 318-320)
- Zhong L.Q., Zhang C.F., Zhou K., Li B., Wang J.X., and Zhu J., 2011, Sequence variation of ribosomal DNA Internal transcribed spacer 1 of four common carp populations, *Hupo Kexue (Journal of Lake Sciences)*, 23(2): 271-276 (钟立强, 张成锋, 周凯, 李冰, 王建新, 朱健, 2011, 四个鲤鱼种群 ITS-1 序列的遗传变异分析, *湖泊科学*, 23(2): 271-276)
- Zhu S.R., Meng Q.L., Zhu Y.A., and Wang X.R., 2015, Analysis on ITS sequences and phylogenetic relationship of three kinds of *Channa*, *Anhui Nongye Kexue (Anhui Agricultural Sciences)*, 43(31): 47-49 (朱树人, 孟庆磊, 朱永安, 王锡荣, 2015, 3 种鳢属鱼类 ITS 序列及系统进化分析, *安徽农业科学*, 43(31): 47-49)