

邹芝英, 杨 弘, 罗永巨, 等. 长鳍鲤 mtDNA D-loop 区序列结构和多态性分析[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(8): 27-30.

# 长鳍鲤 mtDNA D-loop 区序列结构和多态性分析

邹芝英<sup>1</sup>, 杨 弘<sup>1</sup>, 罗永巨<sup>2</sup>, 吴长敬<sup>1</sup>, 李大宇<sup>1</sup>, 祝璟琳<sup>1</sup>, 肖 炜<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心/农业部淡水渔业和种质资源利用重点实验室, 江苏无锡 214081;

2. 广西水产研究所, 广西南宁 530021)

**摘要:**采用 PCR 技术和测序的方法分离长鳍鲤线粒体 DNA 控制区 (mtDNA D-loop) 的部分序列 (600~602 bp), 结合已报道长鳍鲤序列 (387 bp), 得到长鳍鲤 D-loop 区的全长序列 (921 bp), 对照其他已报道的鱼类控制区结构, 成功识别长鳍鲤 mtDNA D-loop 区的终止序列区、中央保守区和保守序列区, 找到了终止相关的序列 TAS 和 CSB-F、CSB-E、CSB-D、CSB-1、CSB-2、CSB-3 等 6 个特征序列, 运用 DNA 分析软件对本研究获得的序列 (600~602 bp) 进行序列多态性分析。结果显示, 序列碱基 A+T 的含量 (平均为 62.7%) 高于 G+C 的含量 (平均为 37.3%), 共检测到 13 个变异位点, 转换为 8 个, 颠换为 3 个, 有 2 个缺失, 碱基的替换有明显的偏倚。8 尾个体分属 6 种单倍型, 长鳍鲤的核苷酸多样性为 0.007 32, 单倍型间平均遗传距离为 0.009。稀有长鳍鲤种群 mtDNA D-loop 区序列存在着丰富的多态性, 说明该种群具有比较丰富的遗传多样性。

**关键词:**长鳍鲤; mtDNA; D-loop 区; 遗传多样性

**中图分类号:**Q348; S917.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)08-0027-04

长鳍鲤 (*Cyprinus carpio* var. *longfin*) 属于鲤科鲤属鲤种, 是分布于我国广西壮族自治区的一种野生鲤鱼, 因其身体各鳍条的长度均比普通鲤鱼长而得名。由于受环境变化和人为

捕捞等因素的影响, 现野生分布的长鳍鲤已基本消失, 品种资源已经变得非常宝贵。为保护物种资源, 广西自治区水产研究所将野生长鳍鲤引入池塘。目前, 关于长鳍鲤的研究特别是遗传结构和遗传多样性的研究报道很少<sup>[1-2]</sup>。动物线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 是共价闭合的环状双螺旋 DNA, 是细胞核外具自主复制、转录和翻译能力的遗传因子, 具有分子量小、结构简单、进化速度快、高度多态、母性遗传等特点。mtDNA D-loop 区别称控制区, 是线粒体基因组序列和长度变异最大、进化最快的区域。它因具有较高的突变积累而形成多态性, 成为种内、种群或个体间遗传多样性研究的理想材料<sup>[3]</sup>。近年来, 许多学者对很多鱼类的线粒体控制区自身结构以及种内种群遗传结构和遗传分化进行了大量的研

收稿日期: 2013-01-14

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项 (编号: CARS-49); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (编号: 2011JBFA04)。

作者简介: 邹芝英 (1980—), 女, 江苏无锡人, 硕士, 助理研究员, 主要从事养殖与分子生物学研究。Tel: (0510) 85559009; E-mail: zouzy@ffrc.cn。

通信作者: 杨 弘, 研究员, 主要从事鱼类育种研究。Tel: (0510) 85550252; E-mail: yangh@ffrc.cn。

[4] Harrison P T, Dalziel R G, Ditchfield N A, et al. Neuronal-specific and nerve growth factor-inducible expression directed by the prepro-tachykinin - a promoter delivered by an adeno-associated virus vector[J]. Neuroscience, 1999, 94(3): 997-1003.

[5] Rolling F, Shen W Y, Tabarisa H, et al. Evaluation of adeno-associated virus-mediated gene transfer into the rat retina by clinical fluorescence photography[J]. Hum Gene Ther, 1999, 10(4): 641-648.

[6] Xiao X, Li J, Samulski R J. Efficient long term gene transfer into muscle tissue of immunocompetent mice by adeno-associated virus vector[J]. J Virol, 1996, 70(11): 8098-8108.

[7] Bossis I, Chiorin J A. Cloning of an avian adeno-associated virus (AAAV) and generation of recombinant AAAV particles[J]. J Virol, 2003, 77(12): 6799-6810.

[8] Estevez C, Villegas P. Sequence analysis, viral rescue from infectious clones and generation of recombinant virions of the avian adeno-associated virus[J]. Virus Research, 2004, 105(2): 195-208.

[9] Wang J Y, Zhu L Q, Zhu J, et al. Molecular characterization and phylogenetic analysis of an avian adeno-associated virus originating from a chicken in China[J]. Arch Virol, 2011, 156(1): 71-77.

[10] Wang A P, Sun H C, Wang J Y, et al. Recombinant avian adeno-associated virus-mediated oviduct-specific expression of recombinant human tissue kallikrein[J]. Poultry Science, 2008, 87(4): 777-782.

[11] Wang Y J, Sun H C, Shen P P, et al. Effective inhibition of infectious bursal disease virus replication by recombinant avian adeno-associated virus-delivered microRNAs[J]. Journal of General Virology, 2009, 90(Pt 6): 1417-1422.

[12] Hitchman R B, Possee R D, Crombie A T, et al. Genetic modification of a baculovirus vector for increased expression in insect cells[J]. Cell Biol Toxicol, 2010, 26(1): 57-68.

[13] Hitchman R B, Possee R D, King L A, et al. Baculovirus expression systems for recombinant protein production in insect cells[J]. Recent Patents on Biotechnology, 2009, 3(1): 46-54.

[14] Kost T A, Condreay J P, Jarvis D L. Baculovirus as versatile vectors for protein expression in insect and mammalian cells[J]. Nature Biotechnology, 2005, 23(5): 567-575.

[15] Smagghe G, Goodman C L, Stanley D. Insect cell culture and applications to research and pest management[J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2009, 45(3/4): 93-105.

究<sup>[4-5]</sup>。1984 年 Araya 等首次报道了鲤 mtDNA 11 种限制性内切酶的物理图谱,并对部分基因进行定位<sup>[6]</sup>。1994 年,Chang 等对鲤的 mtDNA 进行了全序列测定,揭示了鲤的 mtDNA 基因组结构,但该研究只局限于鲤鱼(*C. carpio*)一个种,未能全面反映该属鱼类 mtDNA 分子结构的全貌<sup>[7]</sup>。而后对鲤科鱼类的 mtDNA 方面展开了广泛的研究,尤其是控制区的研究覆盖了较多的鲤鱼品种<sup>[8]</sup>。本研究拟采用 PCR 结合 DNA 测序技术对长鳍鲤的线粒体 DNA 控制区序列进行分析,初探其来源以及对群体遗传多样性的现状正确评估,为该群体的资源保护与利用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验鱼取自广西壮族自治区水产研究所,体色均为橘红色,保存在中国水产科学研究院淡水渔业研究中心。2009 年 6 月对 8 尾长鳍鲤尾静脉采血,于 -70 ℃ 保存备用。

### 1.2 试验试剂与仪器

引物于上海博彩生物科技有限公司合成。PCR 反应试剂盒,Spin Column 柱式 DNA 胶回收试剂盒和小剂量抽提质粒试剂盒,pMD19-T 载体、*Eco*R I 和 *Pst* I 内切酶等购自大连宝生物工程有限公司(TaKaRa),DH5 $\alpha$  由农业部淡水渔业和种质资源利用重点实验室保存;其他试剂均为国产分析纯。扩增反应在 Eppendorf Mastecycler gradient 型 PCR 仪中进行,电泳仪为 BIO-RAD PowerPac Universal。

### 1.3 基因组 DNA 的提取与 mtDNA D-loop 区的 PCR 扩增

尾静脉采血(ACD 抗凝),取 50  $\mu$ L 血样,加入 500  $\mu$ L 的组织裂解液(0.5% 十二烷基肌氨酸钠、20 mg/mL 蛋白酶 K、10 mmol/L EDTA),50 ℃ 约消化 2 h,用等体积苯酚-氯仿法抽提,在得到的基因组 DNA 中加入适量的 0.1  $\times$  TE 缓冲液溶解,4 ℃ 保存。

以提取的基因组 DNA 为模板,使用引物 344F:5' - CTATTACTGGCATCTGTTCC - 3'; PHE1R:5' - ACATCT-TCAGTGTACGCTT - 3'进行 PCR 扩增<sup>[9]</sup>。PCR 反应总体积为 50  $\mu$ L,其中 10  $\times$  PCR buffer(含 Mg<sup>2+</sup>)5  $\mu$ L,2.5 mmol/L dNTP 4  $\mu$ L,r-Taq 2 U,5  $\mu$ mol/L 344F/PHE1R 均为 4  $\mu$ L,模板 1  $\mu$ L(约 10 ng),最后补充灭菌去离子水至 50  $\mu$ L。PCR 反应条件:95 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 45 s,退火温度 50 ℃ 45 s,72 ℃ 延伸 1 min,40 个循环;72 ℃ 延伸 10 min,4 ℃ 保存。

### 1.4 PCR 产物纯化与目的片段的克隆及测序

扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳分离(120 V,25 min),GoldView 染色,G:Box(Gene Company Limited)记录电泳图谱。切胶回收目的片段,连接到 pMD19-T 载体上,并转化到 DH5 $\alpha$  菌株中进行扩大培养。提取质粒 DNA,限制性内切酶 *Eco*R I 和 *Pst* I 双酶切反应鉴定阳性克隆。将确定为阳性克隆的菌液送往上海基康生物技术有限公司进行双向测序。序列递交 GenBank,序列号为 GU980740 至 GU980745。

### 1.5 序列分析

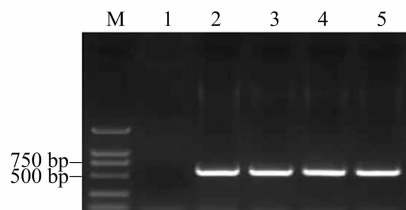
将测定的序列通过 Biowire 软件包去除引物及载体序列,并进行人工校正。在 GenBank 进行 BLAST 分析,确定得到的为长鳍鲤线粒体控制区序列。用 BioEdit 软件编辑序列,利用 Clustal X(1.81)程序默认的设置参数对测得的序列进行同源

序列比对分析,确定序列的位置并对其结构进行分析。利用 MEGA3.1 软件包分析序列特征、统计碱基组成和转换与颠换值、计算遗传差异和遗传距离等,并构建系统树,系统树各分支的置信度由 1 000 次 Bootstrap 自举法检验。通过 DnaSP 3.14 软件统计种群的遗传多样性参数。

## 2 结果与分析

### 2.1 PCR 扩增结果

对长鳍鲤 mtDNA D-loop 扩增结果显示,扩增片段的长度约 600 bp,形成的电泳条带单一,均未检测到差异性条带;空白对照组未出现扩增产物(图 1)。在进行群体扩增时,试验结果重复性好。



M—DNA 分子量标准(DL2000); 1—阴性对照; 2~5—不同样品

图 1 长鳍鲤 mtDNA 控制区序列 PCR 电泳图示

### 2.2 长鳍鲤 D-loop 区序列多态性

利用 ClustalX 软件将本试验得到的序列与锦鲤的同源序列(GenBank 登陆号:AY347298)进行对比分析,确定本试验中的序列为靠近 rRNApe 端的一部分序列,长度为 600 ~ 602 bp。其中 8 个样品中共检测到 6 种单倍型,1 号样品出现碱基插入/缺失现象,导致序列出现长度的多态性。序列碱基含量分别为 A:29.8% (29.7% ~ 30.1%)、T:32.9% (32.7% ~ 33.1%)、C:22.6% (22.4% ~ 22.8%)、G:14.7% (14.5% ~ 15.0%),其中碱基 T 的含量最高,碱基 G 的含量最低,A + T 的含量(平均为 62.7%)明显高于 C + G(平均为 37.3%)。

由表 1 可知,8 个个体共检测到 13 个变异位点,占全序列的 2.16%。其中有 3 个是单一多态位点,8 个为简约信息位点。13 个变异位点中转换为 9 个,颠换为 2 个,转换与颠换比为 4.5。有 2 个位点缺失,即 482、483,碱基替换与插入或缺失比为 5.5。

### 2.3 长鳍鲤 D-loop 区序列结构特征

本研究所得序列与孙莉分离的 387 bp 序列<sup>[10]</sup>进行拼接,得到全长 921 bp 的序列。通过对照其他学者对鲤鱼控制区结构的研究结果<sup>[11]</sup>,推测出长鳍鲤控制区的结构。通过比对分析共识别了 6 个比较保守的特征序列,分别为中央保守区的 CSB-F、CSB-E、CSB-D 和保守序列区的 CSB1、CSB2、CSB3,终止序列区存在 TACAT-ATGTA 这一个稳定的发夹结构。图 2 以其中的一个单倍型为例列出了各个特征序列的情况。

### 2.4 长鳍鲤遗传多样性分析

利用 Kimura 2-parameter 模型计算群体内的遗传距离,并运用 DnaSP3.14 软件对长鳍鲤群体的遗传多样性参数进行分析,统计结果见表 2。

## 3 结论与讨论

### 3.1 长鳍鲤 D-loop 区序列结构特征

mtDNA 控制区序列结构在许多脊椎动物中都是类似的,

表 1 长鳍鲤 mtDNA D-loop 区部分序列变异情况

单倍型	不同位点的碱基变异情况												
	33	37	97	122	139	145	147	176	430	482	483	490	556
CQ1				A→G			T→C			-	-		
CQ2				A→G			T→C						
CQ3				-									
CQ4				-				A→G					
CQ5	A→C	A→T	T→C	-	G→A	T			G→A			G→C	A→G
CQ6			T→C	-	G→A	T			G→A			G→C	A→G

注：“-”表示插入或缺失；空白表示未变异。

TAGTACATATTATGCATAATATTACATTAATGTATTAGTACATATATGTATTATCACCAACTCACTATTTTAACCATAAA	80
ETAS	
GCAGGTACATAATATTAAGGTGGGCATAAAGCATATCATTAAAGACTCACAAATCTATTATTGAACTTGAGTAATATAT	160
TAATCCCCAAAAATTTGTCCTCAAATTTTCTTGAAATAATCAACTATAATTTTCATTCAAACATATTAATGTAGTAAGA	240
GACCACCAACCAGTTTATATAAAGGCATATCATGAATGATAGAATCAAGGACAATAATTGTGGGGGTACACAATATGAA	320
CSB-F	
CTATTACTGGCATCTGGTTCCTATTTTCAGGGACATAACTGTAATATTCCACCCTCGGATAATTATACTGGCATCTGATTA	400
CSB-D	
ATGGTGTAGTACATATGTTTCATTACCCCCCATGCCGAGCGTTCCTTTTATATGCATAGGGGTATCTCTTATTGGTTTCCTT	480
TCATCTGGCATTTTCAGAGTGCAGGCTCAAATGTTAAATTAAGGTTGAACATTTTCCTTGTATGTGATAATATATATTAAT	560
TATCGTAAGACATAATTTAAGAATTACATACTTTTATCTCAAGTGCATAATATATCTGTCTCTAGTTCAACTTATCCCTTA	640
CSB1	
CATAGTGCCCCCTTTGGTTTTTCGCGACAAAACCCCTTACCCCTACGCTCAGCGAATCCTGTTATCCTTGTCAAAACCC	720
CSB2	
CGAAACCAAGGAGGACCCAAGAACGTGTGAACCAACGAGTTGAGGTATAAATTGGCATCCCATTATATATATATATATAT	800
ATGCATCGGTTTTTTTAACCGCAACTTACCACTTACCTAAAAAGTCCCTACCAAAAAATCCCCAAAAAGAGGCTCGACACTA	880
AATACTCTAATATAATTAATCAGCTAGCGTAGCTTAACACA	921

图2 长鳍鲤 mtDNA D-loop 区部分序列结构

表 2 稀有长鳍鲤 mtDNA 遗传多样性参数	
遗传多样性参数	数值
多态性位点数	13
单倍型数	6
平均遗传距离	0.009
单倍型多样性	0.857
平均核苷酸差异数	4.393
核苷酸多样性	0.007 32

包括终止序列区 (extend termination associated sequences, ETAS), 中央保守区 (central conserved sequence block, CSB) 和保守序列区 (conserved sequence block, CSB), 其中两端为高变区, 中间较保守。

终止序列区 ETAS 是 D-loop 区变异最大的部分, 存在不同程度的串联重复序列。一般认为每个重复序列中都含有一个保守的终止相关序列 (termination associated sequences, TAS), 它可能是与 H 链复制终止有关的信号。在沙鳅亚科 (Botiinae)<sup>[12]</sup>、鲃属 (*Siniperca*)<sup>[13]</sup> 和鲮白鱼 (*Anabarilius grahami*)<sup>[14]</sup> 等大部分鱼类中仅存在一个终止相关序列 TAS1; 而朱世华等在大部分鲮科 (Carangidae) 鱼类中识别到了 TAS1 和 TAS2 等 2 个终止相关序列<sup>[15]</sup>。对于这种多终止相关序列, 刘焕章认为只有 1 个 TAS 行使功能, 其他的都是复制的结果, 不行使功能<sup>[16]</sup>。具体该区含有几个终止相关序列及其功能问题有待进一步研究。由于 TAS 序列均存在着 TACAT-ATGTA 这一个稳定的发夹结构, 本研究成功识别了长鳍鲤的 TAS 序列 (TACATATATGTATTATCACCAA), 此外还发现了一些含有 TACAT 的短片段重复序列, 可能与长鳍鲤的 TAS 有关。这一现象与 Guo 等在鲤鱼研究中发现的 TAS 及一些重

复 TAS 片段相似<sup>[11]</sup>。

中央保守区 CSB 是整个控制区最为保守的区域, 它几乎在所有的种类中都十分保守。Lee 等对众多鱼类的序列进行比较时, 仅识别了 CSB-D 的存在<sup>[17]</sup>。另外, 曾青兰等也仅识别了大口胭脂鱼 (*Ictiobus cyprinellus*) 的 CSB-D 序列<sup>[18]</sup>。而在大部分鱼类的研究中都已识别出 CSB-F、CSB-E、CSB-D, 并确定了其关键序列, 其中 CSB-F 和 CSB-D 序列较稳定, 很容易识别, CSB-E 含有 GTGGG-box 特殊结构<sup>[12-16]</sup>。本试验对照其他鱼类的中央保守区序列, 成功识别了长鳍鲤的 CSB-F (ATGTAGTAAGAGACCACC)、CSB-E (AGGACAATAATTGTGGGGT)、CSB-D (TATTACTG-CATCTGGTTCCTA) 序列, 但未找到 CSB-C 和 CSB-B。

保守序列区可能是整个控制区最关键的部分, 因为它包含有重链的复制起点 (H-strand replication origin, OH)、重链启动子 (promoters for the transcription of H-strand, HSP) 和轻链启动子 (promoters for the transcription of L-strand, LSP) 以及 CSB1、CSB2 和 CSB3 等 3 个保守区<sup>[19]</sup>。有学者认为, CSB1 位于新 H 链上游, 一般与将近完成 H 链替代合成的终止信号有关; 而 CSB2 和 CSB3 可能与 H 链的复制起始有关<sup>[20]</sup>。CSB 的 3 个保守序列区在鱼类中一般都存在, 且其排列和序列都很保守。也有研究者认为 CSB1 的存在不具有普遍性, 序列变化较大, 其特征基因序列尚未有定论<sup>[17,21]</sup>。现在普遍认为大部分鱼类中 CSB1 序列存在 GACATA 结构<sup>[11,19,22]</sup>, 但曾青兰等认为大口胭脂鱼的 CSB1 特征基因序列为 GACATT<sup>[18]</sup>, 朱世华等在鲮科鱼类中发现 CSB1 特征序列为 GAGCATT<sup>[15]</sup>。本试验通过比对分析, 在长鳍鲤中成功识别了 CSB1 序列 (ATTAATTATCGTAAGACATA), 其特征序列与大部分鱼类的

CSB1 特征序列一致。相对而言,CSB2 和 CSB3 的序列较稳定,且其序列中富含 A、C 碱基,很容易被识别<sup>[19,22]</sup>。本试验在长鳍鲤序列中成功识别了 CSB2(CAAACCCCTTACCC)和 CSB3(TGTCAAACCCCGAAACCA),另外还发现在 CSB3 之后含有 1 串 8~9 个重复的 AT 序列比较保守。

### 3.2 稀有长鳍鲤的遗传多样性与资源保护

生物群体的遗传多样性是评价物种资源状况的一个重要依据,而核苷酸多态性( $P_i$ )是衡量一个种群 mtDNA 遗传多样性的重要指标。长鳍鲤群体的  $P_i$  值(0.007 32)高于长江铜鱼(*Coreius heterodon*, 0.002 18)<sup>[23]</sup>、青海湖裸鲤(*Gymnocypris przewalskii*, 0.004 3)<sup>[24]</sup>、长江中下游的草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*, 0.002)<sup>[25]</sup>种群内的  $P_i$  值,与鳊白鱼(*Anabarilius grahami*, 0.006)<sup>[14]</sup>、长江中下游的鳊(0.008)<sup>[25]</sup>处于同一水平,这说明本研究中长鳍鲤的遗传多样性中等,具有一定的遗传开发潜力,与 Wang 等的研究结果<sup>[1-2]</sup>一致。

长鳍鲤来源于广西的偏远地区,与其他鲤鱼品种存在严重的地理隔离现象,说明长鳍鲤有可能是由于它们的母系祖先在体色或形态相关基因上经过了突变而产生的,具体情况须进一步研究<sup>[1]</sup>。笔者认为应该从广西本地的鲤鱼品种进行分析,了解它的起源,从根本上了解长鳍鲤的遗传多样性特点,对该品种的遗传多样性的保护具有十分重要的意义。

一个物种的遗传多样性程度与其适应能力、生存能力和进化潜力密切相关。物种的遗传多样性越丰富,其对环境变化的适应能力、生存能力就越强,其进化和选育的潜力也就越大,越有利于物种的稳定和延续。反之,遗传多样性的降低可导致其适应能力、生存能力降低,物种退化甚至威胁物种生存。长鳍鲤种群具有较丰富的遗传多样性,从遗传多样性角度揭示了资源保护具有较好的前景。但由于其群体较小,资源较少,因此大力开展长鳍鲤资源的保护和恢复显得刻不容缓;同时,可利用其进行鲤鱼的杂交选育,培育新的品种。比如龙凤鲤就是长鳍鲤和锦鲤的杂交后代,它不仅具有锦鲤体色鲜艳多彩的特点,而且具有长鳍鲤鳍长的优势,具有较高的观赏价值<sup>[10]</sup>。

### 参考文献:

- [1] Wang C H, Li S F. Phylogenetic relationships of ornamental (koi) carp, Oujiang color carp and Long-fin carp revealed by mitochondrial DNA COII gene sequences and RAPD analysis [J]. Aquaculture, 2004, 231(1/2/3/4): 83-91.
- [2] 孙 莉, 杨国梁, 王军毅, 等. 利用微卫星标记分析长鳍鲤、锦鲤和龙凤鲤的遗传多样性[J]. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 2009, 30(3): 35-40.
- [3] Brown W M, George M Jr, Wilson A C. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1979, 76(4): 1967-1971.
- [4] Brown K H, Thorgaard G H. Mitochondrial and nuclear inheritance in an androgenetic line of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. Aquaculture, 2002, 204(3/4): 323-335.
- [5] Song Z H, Song J, Yue B S. Population genetic diversity of prenat's schizothoracin, *Schizothorax prenanti*, inferred from the mitochondrial DNA control region [J]. Environ Biol Fish, 2008, 81(3): 247-252.
- [6] Araya A, Amthauer R, Leon G, et al. Cloning, physical mapping and

genome organization of mitochondrial DNA from *Cyprinus carpio* oocytes [J]. Mol Gen Genet, 1984, 196(1): 43-52.

- [7] Chang Y S, Huang F L, Lo T B. The complete nucleotide sequence and gene organization of carp (*Cyprinus carpio*) mitochondrial genome [J]. J Mol Evol, 1994, 38(2): 138-155.
- [8] Zhou J, Wu Q, Wang Z, et al. Molecular phylogeny of three subspecies of common carp *Cyprinus carpio*, based on sequence analysis of cytochrome b and control region of mtDNA [J]. Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research, 2004, 42(4): 266-269.
- [9] Gilles A, Lecomte G, Miquelis A, et al. Partial combination applied to phylogeny of European cyprinids using mitochondrial control region [J]. Mol Phylogenet Evol, 2001, 19(1): 22-33.
- [10] 孙 莉. 长鳍鲤、锦鲤和龙凤鲤的遗传多样性研究 [D]. 扬州: 扬州大学, 2009.
- [11] Guo X H, Xiu S J, Liu Y. Comparative analysis of the mitochondrial DNA control region in cyprinids with different ploidy level [J]. Aquaculture, 2003, 224(1): 25-38.
- [12] 唐琼英, 刘焕章, 杨秀平, 等. 沙鳅亚科鱼类线粒体 DNA 控制区结构分析及系统发育关系的研究 [J]. 水生生物学报, 2005, 29(6): 645-653.
- [13] Zhao J L, Wang W W, Li S F, et al. Structure of the mitochondrial DNA control region of the *siniperca* fishes and their phylogenetic relationship [J]. Acta Genetica Sinica, 2006, 33(9): 793-799.
- [14] 杨 博, 陈小勇, 杨君兴. 鳊白鱼线粒体 DNA 控制区结构和种群遗传多样性分析 [J]. 动物学研究, 2008, 29(4): 379-385.
- [15] 朱世华, 郑文娟, 邹记兴, 等. 鳊科鱼类线粒体 DNA 控制区结构及系统发育关系 [J]. 动物学研究, 2007, 28(6): 606-614.
- [16] 刘焕章. 鱼类线粒体 DNA 控制区的结构和进化: 以鳊鳊鱼类为例 [J]. 自然科学进展, 2002, 12(3): 266-270.
- [17] Lee W, Conroy J, Howell W H, et al. Structure and evolution of teleost mitochondrial control regions [J]. J Mol Evol, 1995, 41(1): 54-66.
- [18] 曾青兰, 刘焕章. 大口胭脂鱼线粒体 DNA 控制区序列的研究 [J]. 湖北大学学报: 自然科学版, 2001, 23(3): 261-264.
- [19] Sbisà E, Tanzariello F, Reyes A, et al. Mammalian mitochondrial D-loop region structural analysis: identification of new conserved sequences and the functional and evolutionary implications [J]. Gene, 1997, 205(1/2): 125-140.
- [20] Walberg M W, Clayton D A. Sequence and properties of the human KB cell and mouse L cell D-loop regions of mitochondrial DNA [J]. Nucleic Acids Res, 1981, 9(20): 5411-5421.
- [21] Chen I S, Hsu C H, Hui C F, et al. Sequence length and variation in the mitochondrial DNA control region of two freshwater fishes belong to *Rhinogobius* (Teleostei: Gobiidae) [J]. J Fish Biol, 1998, 53(1): 179-191.
- [22] Broughton R E, Dowling T E. Length variation in mitochondrial DNA of the minnow *Cyprinella spiloptera* [J]. Genetics, 1994, 138(1): 179-190.
- [23] 严 莉. 长江铜鱼种群生物学及遗传多样性分析 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2005.
- [24] 赵 凯, 李军祥, 张亚平, 等. 青海湖裸鲤 mtDNA 遗传多样性的初步研究 [J]. 遗传, 2001, 23(5): 445-448.
- [25] 李思发, 吕国庆, 贝纳切兹 L. 长江中下游鲢鳊草青四大家鱼线粒体 DNA 多样性分析 [J]. 动物学报, 1998, 44(1): 82-93.