

三角帆蚌五个野生群体线粒体 DNA 16S rRNA 遗传特性*

汪桂玲¹ 李家乐^{1,2**} 白志毅¹

(¹ 上海海洋大学省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306; ² 上海市高校水产养殖学 E-研究院, 上海 201306)

摘要 对中国主要淡水湖泊(鄱阳湖、洞庭湖、太湖、洪泽湖及巢湖)三角帆蚌 5 个野生群体的线粒体 DNA 16S rRNA 基因片段进行了扩增和测序,得到 473 bp 的碱基序列,没有发现插入/缺失突变的核苷酸位点。检测到了 32 个多态性核苷酸位点,共 7 种单倍型。鄱阳湖群体的 222(C→G)和 325(A→G)位点,太湖群体的 233(A→G)位点,巢湖群体的 40(A→G)、138(A→T)和 294(C→T)位点,洪泽湖群体的 241(A→C)位点的变异可以作为区分群体分子遗传标记位点。洞庭湖群体未发现特异位点。在 5 个群体间鄱阳湖群体多态性位点、核苷酸多态性、单倍型多态性和单倍型数量 4 个指标都最高,表明鄱阳湖群体具有最为丰富的遗传结构,遗传变异最大,可作为三角帆蚌选育的基础群体。

关键词 三角帆蚌; mtDNA; 16S rRNA; 遗传变异

中图分类号 S963 文献标识码 A 文章编号 1000-4890(2010)2-0377-05

Genetic characteristics of five *Hyriopsis cumingii* wild populations based on mitochondrial DNA 16S rRNA sequencing. WANG Gui-ling¹, LI Jia-le^{1,2}, BAI Zhi-yi¹(¹ Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Shanghai Ocean University, Ministry of Education, Shanghai 201306, China; ² Aquaculture Division, E-Institute of Shanghai Universities, Shanghai 201306, China). *Chinese Journal of Ecology* 2010 29(2) 377-381.

Abstract: *Hyriopsis cumingii* is a major commercially important mussel for freshwater pearl culture in China. In this study, direct sequencing of mitochondrial DNA (mtDNA) 16S rRNA gene region (473 bp) was used to investigate the genetic variability of *H. cumingii* populations from five lakes in China. For the test individuals, no nucleotide position had gaps or insertions of base pairs, and 32 positions were variable in all the sequences with 473 base pairs. Different *H. cumingii* populations were indicated by different positions of genetic sequence, which could be used as the genetic markers to identify the populations, and in specific, positions 222(C→G) and 325(A→G) for Poyang Lake population, positions 233(A→G) for Taihu Lake population, positions 40(A→G), 138(A→T), and 294(C→T) for Chaohu Lake population, and position 241(A→C) for Hongze Lake population. A total of 7 haplotypes were identified in the five populations, of which, 3 unique haplotypes (Hap1, Hap2, and Hap4) were to Poyang Lake population. The level of genetic diversity was found higher in Poyang Lake population than in the other populations. Mitochondrial DNA data showed that Poyang Lake population was richer in genetic resources and had higher potentiality in breeding.

Key words: *Hyriopsis cumingii*; mtDNA; 16S rRNA; genetic variability.

三角帆蚌(*Hyriopsis cumingii*)是我国特有的优

质淡水育珠母蚌,主要分布在鄱阳湖、洞庭湖、太湖、巢湖和洪泽湖五大淡水湖泊(刘月英等,1979)。近年来,随着国内珍珠养殖热潮的兴起,亲贝的盲目选择和苗种的无序交流时常出现,不仅无法达到预期的高产效果,还会导致三角帆蚌地域性种质结构混

* 国家重点基础研究发展计划项目(2009CB126000)、国家自然科学基金项目(30871923)、上海市科委地方院校能力建设基金项目(08390510100)和上海市水产养殖重点学科建设资助项目(Y1101)。

** 通讯作者 E-mail: jlli@shou.edu.cn

收稿日期:2009-07-06 接受日期:2009-10-31

杂,对三角帆蚌养殖业的健康发展极为不利。目前对三角帆蚌养殖(刘士力等,2009)、生态(朱生博等,2008)、生理生化(徐钢春等,2008)及遗传多样性(董志国等,2007;罗文等,2008)的研究已开展。

群体特异分子遗传标记位点对于群体的鉴定、选育及等育种工作至关重要,快速发展的分子生物学技术,为进一步辨别不同群体的分子特性和遗传差异提供可能(Sellos *et al.*, 2003; Geist & Kuehn, 2005; 陈冬等, 2008; 宋红梅等, 2008)。华丹等(2003)在国内最先运用 RAPD 技术开展了三角帆蚌野生群体和养殖群体遗传多样性的比较,发现野生群体的遗传多样性高于养殖群体。李家乐等(2006, 2008)、汪桂玲等(2007)、王建军等(2008)先后运用 RAPD、微卫星、ISSR、mtCOI、ITS-1 等分子标记开展了我国五大淡水湖泊(鄱阳湖、洞庭湖、太湖、洪泽湖及巢湖)三角帆蚌野生群体遗传多样性和亲缘关系研究,发现鄱阳湖、洞庭湖、太湖群体的遗传多样性比较高,可作为育种的基础群。但这些研究均未检测到三角帆蚌不同群体的特异性标记。16S rRNA 基因作为线粒体中相对保守的基因,可检测群体特异性变异位点(Schiaparelli *et al.*, 2005; 杨建敏等, 2008)。本试验通过线粒体 DNA 16S rRNA 的测定和序列分析,研究我国三角帆蚌不同地理群体的遗传变异和各群体的分子特性,以期从遗传学和群体动态领域对其遗传结构,尤其是分子水平上的野生资源的遗传背景进行了解,为三角帆蚌群体种质鉴定及良种选育提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

2001年11月2日—2002年2月16日,分别对我国五大湖(鄱阳湖、洞庭湖、太湖、洪泽湖及巢湖)进行资源调查与样本采集,样品进行传统分类方法鉴定和生物学测量后,用无水乙醇固定外套膜,放置4℃冰箱保存。采样地点及样本数量见表1。

表1 三角帆蚌的采集

Tab. 1 Sampling information of *Hyriopsis cumingii*

群体	代码	采样地点	数量 (个)	时间 (年.月.日)
鄱阳湖	PY	进贤县三里乡健武村	180	2001.12.20-29
太湖	TH	江苏省吴江市东山镇	120	2002.02.12-16
洞庭湖	DT	湖南华容县团洲镇	130	2002.01.12-19
巢湖	CH	安徽省巢湖县中庙镇	110	2002.01.23-28
洪泽湖	HZ	江苏省洪泽县成河镇	112	2001.11.02-06

1.2 研究方法

1.2.1 DNA 抽提 取无水乙醇固定的三角帆蚌的外套膜组织 100 mg 左右,采用传统的方法进行总 DNA 的提取,即采用 SDS/蛋白酶 K 消化,酚-氯仿抽提和乙醇沉淀法,测定浓度后于 -20℃ 冰箱中保存备用。

1.2.2 PCR 扩增和测序 引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。16S rRNA 引物为通用引物: D16SAR 5'-CGCCTGTTTAHYAAAAACAT-3', D16SBR 5'-CCGGTCTGAA CT CAGMTCAYGT-3' (Kessing *et al.*, 1989)。PCR 反应体系为 25 μL,内含 100 ng DNA 模板, 0.2 mmol · L⁻¹ dNTPs, 1.0 mol · L⁻¹ 引物, 4.0 mmol · L⁻¹ MgCl₂, 1 U Taq 酶。PCR 热循环程序: 94℃ 变性 5 min 后进入循环, 94℃、50 s, 50℃、1 min, 72℃、1 min, 共 30 个循环,最后 72℃ 延伸 5 min。PCR 扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶检测。

将 PCR 产物纯化后送往上海生工生物工程技术有限公司,直接进行测序反应。

1.3 数据分析

用 BLAST 软件将测序结果与 GenBank 中的相关序列进行同源性比较,用 Clustal W 软件对所测得的序列进行比对(Thompson *et al.*, 1994),并经人工核查。利用 DNASP 4.0 软件统计单倍型及单倍型多态性(h)和核苷酸多样性指数(P_i)。利用 MEGA 3.1 软件(Kumar *et al.*, 2004)进行所测序列的编辑、排序、系统发育和遗传学分析,采用 Kimura 双参数模型计算各单倍型的遗传距离(Nei, 1978),以绢丝丽蚌(*Lamprotula fibrosa*)为外群(采用与三角帆蚌同样的引物和扩增条件而得到的序列),用 NJ 法构建系统树。利用 Arlequin 3.0 计算遗传分化指数(F_{st})、AMOVA 分析(Schneider *et al.*, 2000)。

2 结果与分析

2.1 16S rRNA 基因片段碱基组成

对三角帆蚌 5 个群体的总 DNA 进行扩增,测序得到大约 500 bp 左右长度的碱基序列,通过 BLAST 分析比较确认所得片段为 16S rRNA 基因片段。经 Clustal W 同源排序,得到了 473 bp 的同源核苷酸序列。用 MEG 3.1 软件对 5 个群体 16S rRNA 序列的碱基组成进行计算(表 2),发现 5 个群体的碱基组成差异不大,平均碱基组成为 A = 33.70%, T = 22.62%, C = 20.97%, G = 20.97%, A + T 含量在

表 2 三角帆蚌 16S rRNA 基因的 16S rRNA 碱基组成(%)
Tab. 2 Compositions of 16S rRNA gene fragments of *Hyriopsis cumingii*

群体	数量	T	C	A	G	A+T
PY	11	22.61	22.75	33.55	21.09	56.16
TH	10	22.52	22.83	33.87	20.78	56.39
DT	8	22.53	22.59	33.65	21.23	56.18
CH	9	22.61	22.68	33.56	21.15	56.17
HZ	8	22.85	22.72	33.85	20.58	56.70
平均	9.2	22.62	22.71	33.70	20.97	56.32

56.16%~56.78% 明显高于 GC 含量,这一结果与其他学者在淡水贝类的 16S rRNA、12S rRNA、COI 基因等线粒体 DNA 中观察到的结果类似(Nguyen *et al.* 2006)。

2.2 5 个群体三角帆蚌 16S rRNA 基因序列变异及分子特征

通过 MEG 3.1 软件对所得的序列进行比较,在 46 个个体中共发现 7 个单倍型,提交 GenBank,获得序列号分别是 EF187752-EF187758。各单倍型的序列及变异位点见表 3。在 7 个单倍型中,Hap5 的分布丰富,在除巢湖以外的鄱阳湖、洞庭湖、太湖和洪泽湖群体中均有,基因表达为 Hap5 的个体占到分析个体总数 41.30%,说明各群体间有较高的同源性。其次是 Hap6,在洞庭湖、巢湖和洪泽湖群体中均有分布,而 Hap3 是鄱阳湖和太湖群体所特有。鄱阳湖群体特有单倍型有 3 个:Hap1、Hap2 和 Hap4,分别占到单倍型的 9.1%。而太湖、巢湖、洞庭湖和洪泽湖群体没有特有单倍型。

同时在 46 个个体中检测到 32 个多态性核苷酸位点,所检测到的核苷酸突变位点多数在 2 个或 2 个以上个体上出现。鄱阳湖群体的 222(C→G)和 325(A→G)位点,太湖群体的 233(A→G)位点,巢湖群体的 40(A→G)、138(A→T)和 294(C→T)位点,洪泽湖群体的 241(A→C)位点的变异可以作为群体分子遗传标记位点。洞庭湖群体未发现特异位点。

表 3 三角帆蚌 16S rRNA 基因片断单倍型序列及变异位点
Tab. 3 Variable nucleotide positions in part of the 16S rRNA region of 7 haplotypes

单倍型	各位点单倍型所占比例																																					
	PY					TH					DT					CH					HZ																	
hap1	0	0	0	1	8	2	4	5	7	3	0	2	5	0	1	2	4	9	2	3	8	0	1	0	1	0	5	4	7	1	8	5	0.091					
hap2	3	4	3	3	3	4	4	4	5	6	7	7	7	9	9	9	9	1	2	3	3	4	4	5	6	7	8	9	9	1	1	2	0.091					
hap3	0	0	0	1	8	2	4	5	7	3	0	2	5	0	1	2	4	9	2	3	8	0	1	0	1	0	5	4	7	1	8	5	0.273	0.500				
hap4	0	0	0	1	8	2	4	5	7	3	0	2	5	0	1	2	4	9	2	3	8	0	1	0	1	0	5	4	7	1	8	5	0.091					
hap5	3	4	3	3	3	4	4	4	5	6	7	7	7	9	9	9	9	1	2	3	3	4	4	5	6	7	8	9	9	1	1	2	0.454	0.500	0.500		0.625	
hap6	0	0	0	1	8	2	4	5	7	3	0	2	5	0	1	2	4	9	2	3	8	0	1	0	1	0	5	4	7	1	8	5					0.444	0.375
hap7	0	0	0	1	8	2	4	5	7	3	0	2	5	0	1	2	4	9	2	3	8	0	1	0	1	0	5	4	7	1	8	5			0.500	0.556		

2.3 三角帆蚌各群体间遗传结构

使用 DNASP 4.0 软件对 5 个地理群体三角帆蚌的遗传多样性参数进行计算,结果见表 4。三角帆蚌群体核酸多态性指数的绝对值水平不高,但变化范围较大(0.001~0.021),而单倍型多态性指数较高,在 0.536~0.764,其中最低的是洪泽湖群体(0.536),最高的是鄱阳湖群体(0.764)。数据显示,在 5 个群体中,鄱阳湖群体核苷酸多态性、单倍型数目和单倍型多态性均最高,表明该群体的遗传多样性最高,遗传背景最为丰富,可能有着与群体内外频繁的基因交流。而洪泽湖群体的遗传多样性最低。

利用 Arlequin 3.0 计算出三角帆蚌 5 个群体间总的遗传分化指数 F_{st} (表 5)。AMOVA 分析表明,三角帆蚌鄱阳湖群体与洞庭湖群体、巢湖的遗传分化显著,巢湖和其他 4 个群体遗传分化显著,洪泽湖群体与除巢湖群体外的其他群体分化均不显著。

2.4 三角帆蚌 16S rRNA 基因单倍型间的遗传距离和聚类分析

以绢丝丽蚌为外群(单倍型 8)利用 MEGA 3.1 软件中的 Kimura 双参数模型(转换加颠换,转换比颠换)计算 8 个单倍型的相对遗传距离(表 6),构建系统树,NJ 树和 MP 树基本相似(图 1)。从遗传距离来看,代表外群绢丝丽蚌的单倍型 8 与三角帆蚌的 7 个单倍型遗传距离明显比三角帆蚌群体内部的遗传距离大,与外群绢丝丽蚌的种间遗传距离在 0.133~0.152,平均为 0.141,这与聚类树的结果一致,外群绢丝丽蚌与其他 5 个群体距离较远,单独一支。而三角帆蚌 5 个群体的 7 个单倍型之间的遗传距离在 0.007~0.053,平均为 0.031。聚类结果显示分为 2 个分支,单倍型 1、2、3 和 4 聚在一起,包括 2 个群体鄱阳湖和太湖群体,第二分支包含其他 4 个群体的单倍型。

表4 三角帆蚌5大湖群体16S rRNA基因的遗传多样性指数

Tab.4 Genetic diversity of different populations *Hyriopsis cumingii*

群体	个体数	核酸多态性指数	单倍型数	单倍型多态性指数
PY	11	0.021	5	0.764
TH	10	0.019	2	0.556
DT	8	0.001	2	0.571
CH	9	0.004	2	0.556
HZ	8	0.001	2	0.536

表5 三角帆蚌群体间遗传分化指数

Tab.5 Population divergence between samples based on 16S rRNA sequence data for *Hyriopsis cumingii*

群体	PY	TH	DT	CH
TH	-0.036			
DT	0.135 *	0.243 *		
CH	0.317 *	0.417 *	0.270 *	
HZ	0.077	0.205	-0.107	0.333 *

* $P < 0.05$.

表6 三角帆蚌16S rRNA基因单倍型间的遗传距离

Tab.6 Genetic distance among different haplotypes of 16S rRNA gene sequence

单倍型	1	2	3	4	5	6	7
2	0.013						
3	0.016	0.013					
4	0.020	0.016	0.007				
5	0.053	0.048	0.041	0.043			
6	0.053	0.048	0.041	0.041	0.007		
7	0.045	0.043	0.032	0.034	0.016	0.013	
8	0.152	0.149	0.136	0.139	0.141	0.141	0.133

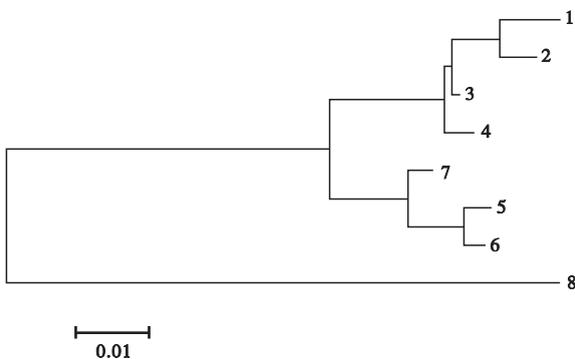


图1 单倍型聚类图

Fig.1 Neighbor-joining phylogram showing the relationship between 16S rRNA haplotypes

3 讨论

群体特异分子遗传标记位点对于群体的鉴定、选育及等育种工作至关重要。16S rRNA 基因作为

线粒体中相对保守的基因,可检测群体特异性变异位点。本研究测定了三角帆蚌5个自然群体线粒体DNA 16S rRNA 基因序列的变异,没有发现插入/缺失突变的核苷酸位点,但检测了32个多态性核苷酸位点和群体特征突变位点。其中,鄱阳湖群体的222(C→G)和325(A→G)位点,太湖群体的233(A→G)位点,巢湖群体的40(A→G)、138(A→T)和294(C→T)位点,洪泽湖群体的241(A→C)位点的变异可以作为区分群体分子遗传标记位点,洞庭湖群体未发现特异位点。突变位点的形成与不同群体所处的生态和地理环境相关。

本文利用 Kimura 双参数法计算三角帆蚌的7种单倍型之间的遗传距离在0.007~0.053,平均为0.031,比许多无脊椎动物 mtDNA 16S rRNA 序列种内遗传距离大。例如,Lan 和 Morton(2001)对采自香港、英国、澳大利亚等不同海域的6种牡蛎的16S rRNA序列的遗传距离进行了分析,除了香港的 *Saccostrea cucullata* 的种内遗传距离较高外(0.036),其他5种牡蛎的种内遗传距离都比较小(0.005以内);而中国沿海脉红螺7个居群间的16S rRNA 序列的遗传距离在0.0016~0.0049(杨建敏等2008)。本课题组 COI 和 ITS-1 的研究结果也表明,我国五大湖三角帆蚌野生群体单倍型之间的遗传分化较大,部分单倍型之间的遗传差异达到种间的遗传差异水平(李家乐等,2008;王建军等,2008)。这可能与该物种生活习性有关,三角帆蚌是一种运动非常缓慢的淡水贝类,除钩介幼虫期附着在鱼体上有较远的迁徙外,其活动范围非常有限。由于不同的地理与生态条件,使三角帆蚌在不同水域形成了遗传性能上互有差别的地理隔离群体,遗传距离相对较大。

从遗传多样性指数来看,五大湖群体的三角帆蚌中,鄱阳湖群体遗传变异最大,反映在核苷酸多态性、单倍型数目和单倍型多态性均最高。而洪泽湖核苷酸多态性、单倍型数目和单倍型多态性最低。该结果与微卫星、ISSR 等的研究结果一致(汪桂玲等2007;Li et al. 2009a, 2009b)。这可能与各湖的形成、地质演变和管理有关。从五大湖的形成和地质演变历史来看,鄱阳湖、洞庭湖、太湖、洪泽湖和巢湖的形成都有上千年的历史。鄱阳湖是一个古老的断陷湖盆,约1.35亿年前沉陷成巨大的盆地,距今六七千年前积水成为湖泊,汇集了赣、抚、饶、信、修五河之水,再外泄入长江干流,是中国第一大淡水

湖,水文状况复杂,生物多样性丰富,具有最大的淡水水产养殖的水域,而其管理措施也比较完善,故鄱阳湖三角帆蚌群体的遗传多样性相比其他湖高,而洪泽湖历史以来就是一个浅水湖,水深一般在 4 m 以内,最大水深 5.5 m,湖泊水也主要来源于一些河道,而且历史上也曾出现过干涸,自然资源易受到外界环境的干扰,其三角帆蚌群体的遗传多态性较低可能与此有关。

三角帆蚌是我国现有最主要的淡水育珠蚌,是我国特有种。遗传变异是种质改良的基础,而养殖业可影响物种的遗传多样性。从养殖前景来看,具有高遗传变异的群体可作为选择育种的基础群。生长性能比较研究显示(李家乐等 2006),鄱阳湖三角帆蚌群体生长性能和成活率最高,育珠性能也较好。结合本次研究鄱阳湖群体三角帆蚌遗传多样性丰富的结果,认为,可以将鄱阳湖群体三角帆蚌在生产上直接加以利用,还可以将鄱阳湖群体三角帆蚌用做选择育种的基础群体,进一步进行良种选育。同时,建议加强对野生三角帆蚌种质资源的保护,以维持我国特有的具有重要经济价值的三角帆蚌优良种质的遗传多样性。

参考文献

陈冬,柏凡,周明亮,等. 2008. 基于线粒体 12S rRNA 基因鉴别混合牛肉及制品的牛种来源. *遗传*, **30**(8): 1008-1014.

董志国,李晓英,李家乐. 2007. 外来种池蝶蚌与本地种三角帆蚌及其杂交种对三种生态因子的耐受力. *生态学杂志*, **26**(7): 1080-1084.

华丹,顾若波,白云飞,等. 2003. RAPD 分析野生和养殖三角帆蚌的遗传多样性. *水产学报*, **27**(6): 540-544.

李家乐,白志毅,钱荣华. 2006. 中国五大湖三角帆蚌群体与诸暨养殖群体生长性能的比较研究. *水产科技情报*, **33**(6): 243-246.

李家乐,王建军,汪桂玲,等. 2008. 我国五大淡水湖三角帆蚌群体 mtDNA CO1 基因片段变异分析. *水生生物学学报*, **32**(5): 200-203.

刘士力,李家乐,张根芳,等. 2009. 三角帆蚌稚蚌形态发育与生长特性. *水产学报*, **33**(4): 604-609.

刘月英,张文珍,王跃先,等. 1979. 中国经济动物志(淡水软体动物). 北京:科学出版社.

罗文,郑大恒,钱伟平,等. 2008. 2 种育珠蚌遗传多样性分析. *水生态学杂志*, **1**(5): 88-92.

宋红梅,白俊杰,全迎春,等. 2008. 三种罗非鱼的微卫星分子鉴定和遗传结构分析. *农业生物技术学报*, **16**(6): 952-958.

汪桂玲,袁一鸣,李家乐. 2007. 中国五大湖三角帆蚌群体遗传多样性及亲缘关系的 SSR 分析. *水产学报*, **31**(2): 152-158.

王建军,李家乐,汪桂玲,等. 2008. 我国五大湖三角帆蚌群体 ITS-1 序列变异分析. *湖泊科学*, **20**(2): 208-214.

徐钢春,华丹,顾若波,等. 2008. 三角帆蚌消化酶的分布特性和晶杆的形态结构. *水产学报*, **32**(2): 296-302.

杨建敏,李琪,郑小东,等. 2008. 中国沿海脉红螺(*Rapana venosa*)自然群体线粒体 DNA 16S rRNA 遗传特性研究. *海洋与湖沼*, **39**(3): 257-262.

朱生博,王岩,王小冬,等. 2008. 不同放养和管理模式下三角帆蚌养殖水体中的浮游生物和初级生产力. *生态学杂志*, **27**(3): 401-407.

Geist J, Kuehn R. 2005. Genetic diversity and differentiation of central European freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*) populations: Implications for conservation and management. *Molecular Ecology*, **14**: 425-439.

Kessing B, Croom H, Martin A, et al. 1989. *The Simple Fool's Guide to PCR*. Honolulu, Hawaii: University of Hawaii.

Kumar S, Tamura K, Nei M. 2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics*, **5**: 150-163.

Lan K, Morton B. 2001. Morphological, ecological and mitochondrial DNA 16S sequence distinctions between and within *Saccostrea* (*Bivalvia*: *Ostreidae*) populations in Hong Kong and Australia. *Abstracts of World Congress of Malacology*, **70**: 184-187.

Li JL, Wang GL, Bai ZY. 2009a. Genetic diversity of freshwater pearl mussel (*Hyriopsis cumigii*) in populations from five largest lakes in China revealed by inter-simple sequences repeat (ISSR). *Aquaculture International*, **17**: 323-330.

Li JL, Wang GL, Bai ZY. 2009b. Genetic variability in four wild and two farmed freshwater pearl mussel *Hyriopsis cumigii* from Poyang Lake in China estimated by microsatellites. *Aquaculture*, **287**: 286-291.

Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, **89**: 583-590.

Nguyen TT, Ingram B, Sungan S, et al. 2006. Mitochondrial DNA diversity of broodstock of two indigenous mahseer species, *T. tambroides* and *T. douronensis* (Cyprinidae) cultured in Sarawak, Malaysia. *Aquaculture*, **253**: 259-269.

Schiaparelli S, Barucca M, Olmo E. 2005. Phylogenetic relationships within *Ovulidae* (Gastropoda: Cypraeoidea) based on molecular data from the 16S rRNA gene. *Marine Biology*, **147**: 411-420.

Schneider S, Roessli D, Excoffier L. 2000. ARLEQUIN: A Software for Population Genetics Data Analysis. Genetics and Biometry Laboratory. Geneva, Switzerland: University of Geneva.

Sellos D, Moal J, Degremont L, et al. 2003. Structure of amylase genes in populations of Pacific Cupped oyster (*Crassostrea gigas*): Tissue expression and allelic polymorphism. *Marine Biotechnology*, **5**: 360-372.

Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. 1994. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through weighting positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, **22**: 673-680.

作者简介 汪桂玲,女,1974 生,博士,副教授。主要从事水产动物生物技术与遗传育种方面的研究,发表论文 20 篇。E-mail: glwang@shou.edu.cn
责任编辑 魏中青