

DNA 序列分析在黏孢子虫系统学研究和病原检测中的应用

孙春燕, 赵元君

(重庆师范大学 重庆市动物生物学重点实验室, 重庆 400047)

摘要: DNA 序列分析是一种广泛用于分析生物遗传多样性的强有力的分子生物学技术。利用该技术有助于了解生物类群之间存在的种属关系并研究生物类群的系统关系。相对于传统的形态分类学, DNA 序列分析可从基因和分子水平上对物种的遗传多样性、生物多样性提供可靠而丰富的依据。本文综述了国内外 DNA 序列分析在黏孢子虫系统学研究和病原检测等方面取得的研究成果, 同时也对其应用前景及存在的一些问题进行了分析与探讨。[中国水产科学, 2006, 13(1): 159-164]

关键词: 黏孢子虫; 系统发育学; 病原检测; DNA 序列分析

中图分类号: S8941 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8737-(2006)01-0159-06

黏孢子虫的研究始于 19 世纪初, 迄今已有近 200 年的历史。黏孢子虫是一大类个体微小并几乎全部寄生于鱼类体表或体内组织及腔隙中的原生动物^[1], 其对于水生生态系统与物种多样性的研究、鱼病的防治与渔业生产等方面有着重要意义。黏孢子虫的形态相似性较大, 属于国际间公认的研究难度较大的类群。再加上其多样性极丰富, 与其他寄生虫相比, 该类生物的系统生物学研究表现出较多的混乱, 系统发育关系也一直存在着争议, 因此直接影响了其在实际应用中的积极作用。到了 20 世纪 60 年代, 分子系统发育学(molecular phylogeny)的建立开创了利用分子标记研究各种生物系统发育的途径^[2-3]。对黏孢子虫进行系统学研究, 探讨其阶元间的亲缘关系, 迄今美、德、加等国学者都有这方面的报道^[4-6], 而国内则刚开始这方面的研究^[7]。本研究主要介绍 DNA 序列分析在黏孢子虫系统学和病害学研究中的应用、现状及发展趋势, 并针对黏孢子虫分子系统学结果与传统分类间的矛盾进行初步分析与探讨, 以期对黏孢子虫的系统分类学研究及相关领域研究提供新的思路。

1 黏孢子虫经典分类学研究和病原检测的现状

在黏孢子虫的研究史上, Thelohan^[8]首先对其进行分类研究, 建立了这一类群的第一个分类系统。

之后, 许多学者都开展了有关黏孢子虫的研究工作, 主要代表人物有 Kudo, Fujita, Schulman, Kovaleva 等。近些年, 随着现代研究手段的渗透, 加之仍陆续有新阶元的发现, 人们对黏孢子虫的认识也不断得以更新, 学者们又建立了多个不同的分类系统, 重要代表有 Lom 和 Dyková^[9], 陈启璧和马成伦^[11], 赵元君^[10]等。目前黏体门(Myxozoa)包括 3 个纲, 即: 黏孢子纲(Myxosporae Bütschli, 1881); 放射孢子纲(Actinosporae Levine et al., 1980); 软孢子纲(Malacosporeae Canning et al., 2000)。

作为一类病原体, 黏孢子虫的成熟孢子外有一层几丁质壳, 具有强耐药力, 至今也未筛选出一种价格低廉、安全、效应快的药物, 以杀死成熟孢子为手段进行黏孢子虫病防治的药物研究尚无突破。目前, 学者们正在探寻黏孢子虫发育史的薄弱环节, 希望通过检测出各期病原从而找到能有效防治黏孢子虫病的方法^[11]。但是, 若病鱼正处于轻度感染期或虫体处于早期发育阶段, 传统的镜检法很难检测出病原; 若利用免疫学方法, 病原形态学的特殊性、抗原的变异性等原因又使该方法存在诸多问题^[12-14]。因此, 建立准确检测各个发育阶段虫体的手段已迫在眉睫。

收稿日期: 2004-10-14; 修订日期: 2005-01-16。

基金项目: 重庆市自然科学基金(8618); 重庆市动物生物学重点实验室开放课题基金联合资助。

作者简介: 孙春燕(1981-), 女, 硕士研究生, 主要从事鱼类寄生虫学研究。

通讯作者: 赵元君。E-mail: myxozo@csu.cn

2 DNA序列分析的产生和研究方法

1994年, Smothers等^[4]首次根据 rDNA 序列研究黏体门的系统发育关系。之后, 以基因序列为基础的分子鉴定和分类在黏孢子虫的研究中得到应用, 建立了灵敏度高、特异性强的诊断手段, 解决了一些形态学无法解决或尚存争议的问题。核糖体碱基的组成和排列顺序, 决定了个体相应结构的功能。测得特定片段的碱基序列, 可以突破因虫体小、形态相似而无法准确区分的局限, 从根本意义上了解生物在生理特征、结构功能、进化地位、种间/内差异等方面的信息。

2.1 DNA序列分析

DNA序列分析是目前进行分子进化和系统发育研究最有效、最可靠的方法。而对黏孢子虫特定结构的测序工作目前主要是针对核糖体小亚单位基因(SSU rDNA)序列, 包括 16S rDNA。虽然, 16S rDNA 及其基因用于种以上水平鉴别是一个很好的指标, 但用于种间或种内不同株系, 其结构过于保守

而不适用。研究表明, rDNA 16S 至 23S 的间隔区序列在种间具有较高的突变率而在种内个体间又非常保守^[15]。

作者在进行黏孢子虫的 DNA 序列分析时, 将基本步骤分为: 孢子裂解、DNA 抽提、PCR 扩增、琼脂糖凝胶电泳、目的片段回收与纯化、载体连接、蓝/白筛选、穿刺培养、测定目标片段的序列、构建系统树等。结果表明, 在此流程中 DNA 提取、纯化尤为关键, 而这一步也是比较困难的。

2.2 构建分子系统发育树的分析方法

新测序列需与相近种序列进行综合比较分析, 以获得遗传距离和系统发生的实验数据, 绘得聚类图, 提取进化信息。比前, 可使用 BioEdit 和 Clustal W 进行前期处理。

在实际分析过程中往往采用多种方法建树, 若所获得的多个系统树一致, 将大大提高结果的可靠性。作者借助于 Phylip V3.57C 软件包, 由 NEIGHBOR 获得系统树, 由 DNAPARS 绘得最大简约树(图1)。

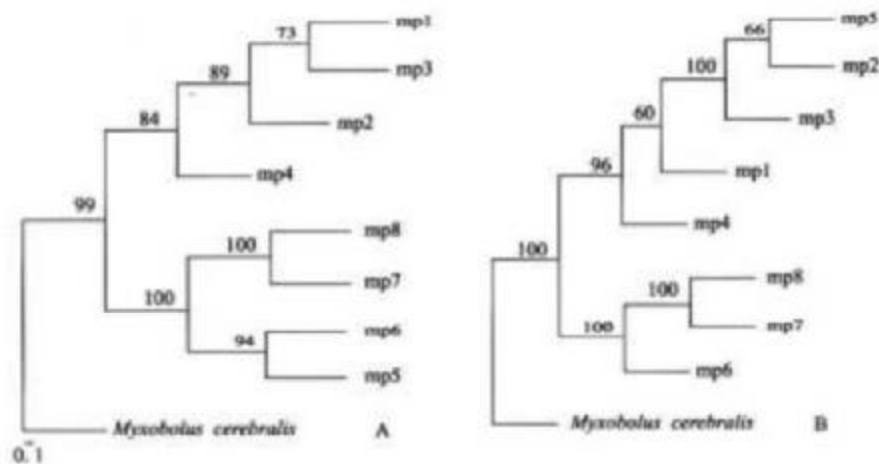


图1 伪异型碘泡虫 SSU rDNA 序列的 NJ(A) 和 MP(B) 分子系统树

注: 各分支上的数值为 1000 次 bootstrap 后的置信度值, 标尺示每 100 个核苷酸中有 10 个替代。mp1: 伪异型碘泡虫(寄主: 欧鳊); mp2: 伪异型碘泡虫(寄主: 欧鳊); mp3: 伪异型碘泡虫(寄主: 欧鳊); mp4: 伪异型碘泡虫(寄主: 粗鳞鲷); mp5: 伪异型碘泡虫(寄主: 拟鲤); mp6: 伪异型碘泡虫(寄主: 拟鲤); mp7: 伪异型碘泡虫(寄主: 红眼鱼); mp8: 伪异型碘泡虫(寄主: 红眼鱼)。

Fig.1 Small subunit ribosomal DNA trees of *Myxobolus pseudodispar* derived from evolutionary distances
Note: The consensus tree of 1000 bootstrap resamplings of the data set was constructed using NJ/MP method. Evolutionary distance is represented by the horizontal component separating species. The scale bar corresponds to 10 substitutions per 100 nucleotide positions. mp1: *Myxobolus pseudodispar* (from *Abramis brama*); mp2: *Myxobolus pseudodispar* (from *Abramis brama*); mp3: *Myxobolus pseudodispar* (from *Abramis brama*); mp4: *Myxobolus pseudodispar* (from *Blicca hyerkina*); mp5: *Myxobolus pseudodispar* (from *Rutilus rutilus*); mp6: *Myxobolus pseudodispar* (from *Rutilus rutilus*); mp7: *Myxobolus pseudodispar* (from *Scardinius erythrophthalmus*); mp8: *Myxobolus pseudodispar* (from *Scardinius erythrophthalmus*)

上述建树方法所产生的都是无根树,因此在获取系统树时需确定外群。另外,还需用靴带法(Bootstrap)作统计学检验,评估可靠性。各系统树分支处的数值就表示进行若干次 Bootstrap 后的置信值。作者一般选择自检 1 000 次,但运算比较费时。

3 DNA序列分析在黏孢子虫系统学、病原检测中的应用及其发展前景

3.1 在种群遗传多样性与进化研究中的应用

来自不同寄主的同一物种其 16S rDNA 序列可能存在差异,其实同一寄主的同一物种其不同种群的 16S rDNA 序列也可能不尽相同。原因可能是:(1)形态上可能无法区别,但隐藏着遗传上的差异^[5];(2)这样的不同种群可能因地理隔离等原因形成了基因交流的障碍,于是在 16S rDNA 上累积了点突变。

另外,不同物种的序列有可能遗传差异极小,这类情况也有两种解释^[16]:(1)物种超分异(over-split);(2)种群近期在迅速适应辐射情况下的快速进化。

作者以 *Myxobolus pseudodispar* 为例进行分析(图 1)(选取 *Myxobolus cerebralis* 为外群,所有序列均来自 GenBank)。从图 1 可以看出:来自同一寄主的不同种群往往聚在一起,且支持率均较高;相同物种但来自不同的寄主,它们之间存有遗传距离,这可能反映了寄主之间的系统发育关系^[17]。事实上,mp1、mp2、mp3 的同种寄主来自不同的时间,mp5、mp6 的寄主则来自不同地点,mp7、mp8 也是来自不同时间采得的鱼样^[17],时间与地点可能是导致各种群的序列不尽相同的因素之一。在分析过程中,外群的选取极其重要,选用不同的外群其结果也不尽相同,此时必须结合形态学的知识选择合适的树型。

Dykova 等^[18]对双侧凸碘泡虫(*Myxobolus lentisuturalis*)进行经典分类描述的同时辅以分子生物学手段。从形态上看,与寄生鲤鱼的碘泡虫属其他种类相比,双侧凸碘泡虫孢子形态的均一性显著;而 SSU rDNA 序列分析也得出该种在进化树上具有单独分支的结论,故认为该种是碘泡虫属的一个独立物种,这是经典分类手段与分子手段两者结果相统一之实例一。Eszterbauer 等^[19]运用 RFLP-PCR 技术,获得了鲤碘泡虫(*Myxobolus cyprini*)与肌肉碘泡虫(*Myxobolus muscoli*)相似性较大的结

果。事实上,二者除孢子大小、形状有稍许差异外,形态上确实高度相似。这是实例二,该例也说明了 RFLP-PCR 技术对种的鉴定和区别具有一定的可行性。

当然,分子手段有时也会与经典分类的结论存在矛盾,且其自身也可能互相对立。Andree 等^[20]对 10 种碘泡虫的相互关系进行 rDNA 序列分析发现,孢子大小、形态相似的,其遗传距离可能较大;而孢子大小、形态相差较大的,则可能在系统树上相距较近;另外,依据组织向性的分类结果与基于 rDNA 序列的聚类结果颇为一致。他们推测,孢子形态作为物种鉴定的指征没有组织向性权重高。但 Salim 和 Desser 的分析结果却证明孢子形态比组织向性权重高^[21]。

3.2 在种上阶元系统发育研究中的应用

以 DNA 序列研究物种的进化关系,必须选择适当的基因或其他 DNA 区域,对于近缘种可选用进化速度较快的区域;对于远缘种可选用相对保守的区域^[22]。截至 2004 年 2 月 1 日 GenBank 中已登录有黏体门动物的 DNA 序列 200 余个,其中软孢子虫的序列有 23 个,放射孢子虫 34 个,黏孢子虫 163 个(表 1)。种类的统计主要依据赵元群^[10]的分类系统进行。

3.2.1 研究黏孢子虫类群间的系统发育关系 研究表明,库道虫是单系起源的,两极虫和碘泡虫是并系起源,尾孢虫和球孢虫则是多系起源^[16]。Palenzuela 等^[23]从大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)上获得一种新的黏孢子虫,结合形态学数据与分子数据,建立了肠黏虫属(*Enteromyxum*)这一新属,并将所获新种与李氏黏体虫(*Myxidium lee*)同时置于该属,解决了李氏黏体虫的系统归属问题。从分子水平看,在 *Enteromyxum*、*Zschokkella* 和 *Myxidium* 3 个属之间,*Enteromyxum* 与 *Zschokkella* 的亲缘关系更近,因此,独立为一属较为妥当。此例说明了 DNA 序列分析可为黏孢子虫类群间的系统发育关系研究提供帮助。

3.2.2 探索黏体门的起源及其在进化树上的系统位置 黏孢子虫的研究始于 19 世纪初,直至 20 世纪 90 年代早期,人们都一直将之列入“原动物”中。其实,早在 1899 年,Štolc 依据孢子的多细胞性就已经提出黏孢子虫不是原动物^[24]。目前,人们正对该类问题作深入探讨。国外有学者认为黏体门虽然在适应寄生的进化过程中极可能经历了大的逆

表1 GenBank 中黏孢子虫的测序统计结果(括号内表示黏孢子虫的种类数)

Tab.1 Statistic data of myxosporeans sequenced in GenBank (The data in brackets are the number of species)

黏孢子虫 Myxosporea	各物种及种群的序列数 The number of sequences of myxosporeans sequenced				
	SSU rDNA	ITS-1	β -actin	Cysteine protease	Serine protease
碘泡虫属 <i>Myxobolus</i> (49种)	86 (49种)	7 (3种)	7 (7种)	1 (1种)	1 (1种)
单极虫属 <i>Thelohanellus</i> (3种)	2 (2种)	1 (1种)			
四极虫属 <i>Chloromyxum</i> (2种)	2 (2种)				
尾孢虫属 <i>Henneguya</i> (8种)	9 (8种)				
球孢虫属 <i>Sphaerospora</i> (5种)	8 (5种)				
霍氏虫属 <i>Hoferellus</i> (1种)	1 (1种)				
拟尾孢虫属 <i>Mycobolatus</i> (1种)	2 (1种)				
弯缝虫属 <i>Sinnoelina</i> (1种)	1 (1种)				
两极科 Myxodidae (8种)	10 (8种)				
角形虫属 <i>Ceratomyxa</i> (3种)	3 (3种)		1 (1种)		
小囊虫属 <i>Parvicapsula</i> (1种)	1 (1种)				
库道虫属 <i>Kudoa</i> (13种)	17 (13种)	1 (1种)	1 (1种)		
五囊虫属 <i>Pentacapsula</i> (1种)	1 (1种)				
合计 Total	143 (95种)	9 (5种)	9 (9种)	1 (1种)	1 (1种)

行演化事件,但其与两侧对称动物的亲缘关系很近,应属于后生动物,只是目前还无法确定其究竟是两侧对称动物的成员还是其姊妹群^[4-5]。然而,Siddal等^[25]认为黏孢子虫是寄生性刺胞动物的一个分支,与水螅型多足虫(*Polypodium hydriforme*)构成姊妹群。到1996年,又有证据显示黏体门是三胚层动物而不是腔肠动物的姊妹群^[26]。时至今日,对黏孢子虫的起源问题,学术界仍存在分歧,由此引发了一系列有意义的研究热点。

随着研究的不断深入,学者们认为现行黏体门的系统有待完善,其在系统树上可能不应作为一个独立的门存在^[25]。现代分子生物学技术的逐渐渗透将使此类研究取得更大的突破。

3.3 在病原体检测和病状诊断中的应用

在黏孢子虫的整个生活史中,虽然其抗原极具多样性,但遗传组成却变化不大。Bartholomew^[27]是较早运用DNA探针作为诊断手段的学者之一。他结合AP-PCR和DNA探针原位杂交技术,检测出了病鱼体中感染的沙斯塔角形虫(*Ceratomyxa shasta*),并证实该方法极有助于检测和了解沙斯塔角形虫的生活史。

中国也曾有学者通过制备基因探针,检测吉陶单极虫,但引物的特异性使其局限在一些特定种上^[28]。

为能更准确地区分各个发育阶段的虫体,人们

又开始寻找新的分子方法。巢式PCR为黏孢子虫病的病原检测及病状诊断开辟了一条新的途径^[29]。运用这一方法找到了奄美库道虫(*Kudoa amamiensis*)在五条鲷(*Seriola quinqueradiata*)肌纤维中的细胞内前孢子期^[30]。

Palenzuela等^[31]对沙斯塔角形虫(*C. shasta*)的rRNA序列进行专一性扩增,迅速诊断出处于各个发育阶段的寄生虫。这一技术快速、简便、可靠,是检测早期或临床症状不明显的寄生虫的一个重要方法,这有助于更深刻地认识寄生虫的生物学及流行病学特征。另外,PCR-RFLP分析^[19]用于常规诊断也是非常合适的。

DNA序列分析是流行病学研究和病原体检测的良好工具,其对黏孢子虫病的防治和病原鉴定具有重要意义,也为黏孢子虫病的诊断和防治打开了新的思路。

3.4 DNA序列分析在黏孢子虫系统学研究和病原检测中的研究前景

某些情形中,经典形态学的研究方法难于准确标定黏孢子虫在系统演变过程中的进化地位,同时,该类生物系统分类上的许多混乱,尤其是在亚目级和属级阶元,亟需进行全面地验证。借助分子系统学方法,可为解决分类学的悬疑开辟一条新的路径。分子系统学方法从分子和基因水平上检测物种的多态性和亲缘关系,可以较大程度地摒弃主观因素,给

现有的分类系统提供了佐证或起修订作用,使之更符合自然分类的要求;但另一方面,点突变的累积也许无法区分由趋同或趋异而掩盖了的系统进化关系,因此在利用该方法进行分子系统学研究时应该注意到与经典形态学系统相结合。

目前,分子生物学方法已取得一些成绩,但同时也应注意到分子系统发育学的研究结果有时会与经典方法的结论不相符,甚至对立,如何认识和解决这一问题已成为该方法在黏孢子虫研究领域的当务之急。目前,DNA序列分析的临床可操作性不强,易污染导致假阳性,再加上昂贵的费用,使极具说服力的DNA序列分析只是局限在一些代表种上。

致谢:美国犹太大学爱因斯坦医学院陈子桂博士、中国海洋大学商慧敏博士和李丽芳博士给予了技术上的启蒙和指导,同时本研究工作的开展还得到了中国海洋大学宋微波教授的倾力支持,在此一并致谢!

参考文献:

- [1] 陈启藩, 马成伦. 中国动物志, 粘体动物门, 黏孢子纲 [M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [2] Zuckerkandl E, Pauling L. Evolutionary divergence and convergence in proteins [A]. *Evolving Genes and Proteins* [M]. New York: Academic Press, 1965. 97-166.
- [3] Fitch WM, Margolish E. Construction of phylogenetic trees: a method based on mutation distances as estimated from cytochrome c sequences is of general applicability [J]. *Science*, 1967, 155 (2): 279-284.
- [4] Smothers J F, von Dohlen C D, Smith Jr L H, et al. Molecular evidence that the myxozoan protists are metazoans [J]. *Science*, 1994, 265: 1719-1721.
- [5] Schlegel M, Lam J, Sechmann A, et al. Phylogenetic analysis of complete small subunit ribosomal RNA coding region of *Myxidium lieberkuhni*: evidence that Myxozoa are Metazoa and related to the Bilateria [J]. *Arch Protist*, 1996, 147: 1-9.
- [6] Hervio D M L, Kent M L, Khattri J, et al. Taxonomy of *Kudoa* species (Myxosporidia): using a small-subunit ribosomal DNA sequence [J]. *Can J Zool*, 1997, 75: 2112-2119.
- [7] 鲁义善, 盛品. 淡水鱼类黏孢子虫 18S rDNA 分子系统学研究 [J]. *水生生物学*, 2004, 28 (6): 587-591.
- [8] Thélohan P. Recherches sur les Myxosporidies [J]. *Bull Sci Fr Belg*, 1892, 26: 100-394.
- [9] Lam J, Dylková I. *Protozoan Parasites of Fishes* [M]. New York: Elsevier, 1992.
- [10] 赵元辉. 黄渤海山东沿岸海洋鱼类寄生黏孢子虫 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2000.
- [11] Bartholomew J L, Whipple M J, Stevens D G, et al. The life cycle of *Ceratomyxa shasta*, a myxosporidian parasite of salmonids, requires a freshwater polychaete as an alternate host [J]. *J Parasitol*, 1997, 83 (5): 859-868.
- [12] Bartholomew J L, Rohovec J S, Fryer J L. Development, characterization and use of monoclonal and polyclonal antibodies against the myxosporidian, *Ceratomyxa shasta* [J]. *J Parasitol*, 1989, 36: 397-401.
- [13] Markiw M E, Wolf K. *Myxosoma cerebralis*: fluorescent antibody techniques for antigen recognition [J]. *J Fish Res Board Can*, 1978, 35: 828-832.
- [14] Proley G B. Fish sporozoan: extraction of antigens from *Myxosoma cerebralis* spores which mimic tissue antigens of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. *J Fish Res Board Can*, 1974, 31: 1481-1484.
- [15] Andree K B, El-Machoudi M, Hoffmann R W, et al. Comparison of 18S and ITS-1 rDNA sequences of selected geographic isolates of *Myxobolus cerebralis* [J]. *Int J Parasitol*, 1999, 29: 771-775.
- [16] Kent M L, Andree K B, Bartholomew J L, et al. Recent advances in our knowledge of the Myxozoa [J]. *J Eukaryot Microbiol*, 2001, 48 (4): 395-413.
- [17] Molnar K, Easterbauer E, Székely C, et al. Morphological and molecular biological studies on intramuscular *Myxobolus* sp. of cyprinid fish [J]. *J Fish Dis*, 2002, 25: 643-652.
- [18] Dylková I, Fiala I, Nie P. *Myxobolus lentiginosus* sp. n. (Myxozoa: Myxobolidae), a new muscle-infecting species from the Prussian carp, *Carrasius gibelio* from China [J]. *Folia Parasitologica*, 2002, 49: 253-258.
- [19] Easterbauer E, Benkő M, Dán A, et al. Identification of fish parasitic *Myxobolus* (Myxosporidia) species using a combined PCR-RFLP method [J]. *Dis Aqu Org*, 2001, 44: 35-39.
- [20] Andree K B, Székely C, Molnar K, et al. Relationships among members of the genus *Myxobolus* (Myxozoa: Eulimnidae) based on small subunit ribosomal DNA sequences [J]. *J Parasitol*, 1999, 85 (1): 68-74.
- [21] Salim K Y, Desser S S. Descriptions and phylogenetic systematics of *Myxobolus* spp. from cyprinids in Algonquin Park, Ontario [J]. *J Eukaryot Microbiol*, 2000, 47 (3): 309-318.
- [22] 张亚平. 从 DNA 序列到物种树 [J]. *动物学研究*, 1996, 17 (3): 247-252.
- [23] Palenzuela O, Redondo M J, Álvarez-Pellitero P. Description of *Euteromyxum scophthalmi* gen. nov. sp. nov. (Myxozoa), an intestinal parasite of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) using morphological and ribosomal RNA sequence data [J]. *Parasitology*, 2002, 124: 369-379.
- [24] Štolc A. Actinomysidies, nouveau groupe de Monozois parmi des Myxosporidies [J]. *Bull Int Acad Sci Bohème*, 1899, 22: 1-12.
- [25] Siddall M E, Martin D S, Bridge D, et al. The demise of a phylum of protists: phylogeny of Myxozoa and other parasitic cnidaria [J]. *J Parasitol*, 1995, 81 (6): 961-967.
- [26] Hensch B, Van Schyns D, Adema C M, et al. The phylog-

- netic position of *Rhopileura ophiocoma* (Orthonectida) based on 18S ribosomal DNA sequence analysis [J]. *Mol Biol Evo*, 1996, 13: 1187-1191.
- [27] Bartholomew J L, Rodriguez R J, Anikwa C K. Development of a DNA probe for the myxosporean parasite *Ceratomyxa shasta*, using the polymerase chain reaction with arbitrary primers [J]. *Dis Aquat Org*, 1995, 21: 215-220.
- [28] 陶增恩, 黎诚耀, 尹强, 等. 基因探针和PCR对鮭鱼单殖虫的检测 [J]. *中国兽医学报*, 1996, 16 (6): 580-584.
- [29] Andreu K B, MacConnell E, Hedrick R P. A nested polymerase chain reaction for the detection of genomic DNA of *Myxobolus cerebralis* in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Dis Aquat Org*, 1998, 34: 145-154.
- [30] Yokoyama H, Inoue D, Sugiyama A, et al. Polymerase chain reaction and indirect fluorescent antibody technique for the detection of *Kudoa astamienensis* (Multivalvulida: Myxozoa) in Yellowtail *Seriola quinqueradiata* [J]. *Fish Pathology*, 2000, 35 (3): 157-162.
- [31] Palamuela O, Trobridge G, Bartholomew J L. Development of a polymerase chain reaction diagnostic assay for *Ceratomyxa shasta*, a myxosporean parasite of salmonid fish [J]. *Dis Aquat Org*, 1999, 36: 45-51.

Progress of DNA sequence analysis on systematics and detections of myxosporeans

SUN Chun-yan, ZHAO Yuan-jun

(Key Laboratory of Animal Biology of Chongqing, Chongqing Normal University, Chongqing 400047, China)

Abstract: The application of DNA sequencing to systematically investigate and detect myxosporeans was outlined. DNA sequence analysis represents a very informative and cost-effective approach of accessing genetic diversity for a wide range of organisms. Molecular phylogeny of myxosporeans started in the middle 1990s. In comparison with morphological studies, DNA sequence analysis exhibits more stable and credible characters at molecular and genetic levels. In this review, the current research progress on sequence analysis is summarized and the paper also suggests that the progress is significantly important for the research of systematic taxonomy of myxosporeans. [Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(1): 159-164]

Key words: Myxosporeans; molecular phylogeny; pathogen; detection; DNA sequence analysis

Corresponding author: ZHAO Yuan-jun. E-mail: mokes@cta.cq.cn

期刊动态

根据2005年12月6日中国科学技术信息研究所颁布的《中国科技期刊引证报告》(2005年版),《中国水产科学》影响因子为0.620,总被引频次为500次。

另据中国科学引文数据库(CSCD)提供的最新统计结果显示,《中国水产科学》的CSCD影响因子为0.3958,在该库669种核心期刊中排序为第195名。

《中国水产科学》编辑部
2005年12月7日