

用 mtDNA 控制区序列鉴定长须鲸标本

朱小静^① 何鑫^② 向余劲攻^③ 宋晨薇^① 单鹃^② 刘文亮^{①③*}

① 华东师范大学生态与环境科学学院, 上海市城市化生态过程与生态恢复重点实验室, 长江口湿地生态系统野外监测研究站 上海 200241; ② 上海科技馆分馆上海自然博物馆自然史研究中心 上海 200041; ③ 崇明生态研究院 上海 200062

摘要: 测定了采自长江口和杭州湾交汇海域的一头死亡大型须鲸骨骼标本的线粒体 DNA (mtDNA) 控制区序列 (Control region) 976 bp (登录号 MF781125)、细胞色素 C 氧化酶 I 基因 (CO I) 序列 642 bp (登录号 MG010134) 和 Cyt *b* 序列 307 bp (登录号 MG010133)。通过与 GenBank 已发表的同源序列 blast 结果表明, 与美国加利福尼亚海域长须鲸 (*Balaenoptera physalus*) 的控制区序列相似度达 99%, 仅在 756 bp 处有一个碱基 T 和 C 转换的差异; 基于 HKG + G 模型, 使用 UPGMA 聚类分析法和最大似然法 (ML) 构建的系统发育树与 blast 结果一致, 故将标本鉴定为长须鲸, 推测该个体来源于北太平洋。获取的细胞色素 C 氧化酶 I 和 Cyt *b* 序列存在多个终止密码子, 无法获取同源性较高的序列, 推断可能为线粒体假基因。

关键词: mtDNA; 长须鲸; 鉴定; 线粒体假基因

中图分类号: Q959 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2018) 02-234-09

Identification of a *Balaenoptera physalus* Specimen by Using Mitochondrial DNA Sequences

ZHU Xiao-Jing^① HE Xin^② XIANGYU Jing-Gong^{①③} SONG Chen-Wei^①
SHAN Kun^② LIU Wen-Liang^{①③*}

① *Yangtze River Delta Estuary Wetland Station, Shanghai Key Lab for Urban Ecological Processes and Eco-Restoration, School of Ecological and Environmental Science, East China Normal University, Shanghai 200241;* ② *Natural History Research Center, Shanghai Natural History Museum, Branch of Shanghai Science & Technology Museum, Shanghai 200041;* ③ *Institute of Eco-Chongming (IEC), Shanghai 200062, China*

Abstract: In order to identify a decayed large body of Baleen whale, found at the converging area of Yangtze Estuary and Hangzhou Bay, three regions of mtDNA (control region, cytochrome c oxidase subunit I, CO I and cytochrome *b*, Cyt *b*) were sequenced. The sequencing results showed that the control region was 976 bp (GenBank accession: MF781125), CO I was 642 bp (MG010134) and Cyt *b* was 307 bp (MG010133). UPGMA and ML gene trees of the control region based on HKG + G model of 17 Baleen whales suggested

基金项目 河口海岸学国家重点实验室科研业务费 (No. SKLEC-2017TASK07);

* 通讯作者, E-mail: wliu@sklec.ecnu.edu.cn;

第一作者介绍 朱小静, 女, 硕士研究生; 研究方向: 生物多样性与系统演化; E-mail: 705036490@qq.com。

收稿日期: 2017-10-09, 修回日期: 2018-01-16 DOI: 10.13859/j.cjz.201802008

that the body was among individuals in branch of *Balaenoptera physalus* (Fig. 4 and Fig. 5). Only a C/T transition in the control region was found between decay body and two *B. physalus* samples (KC572816 and KC572776) from coastal zone of California, America. The CO I and Cyt *b* sequences contained several termination codons, and the blasting results in GenBank verified that sequences of high homology were not available. The results unequivocally identified the body as *B. physalus* and its geographical origin was the North Pacific. Moreover, CO I and Cyt *b* in the body could be nuclear mitochondrial pseudogenes.

Key words: mtDNA; *Balaenoptera physalus*; Identification; Nuclear mitochondrial pseudogene

2017年3月20日, 长江口和杭州湾交汇海域发现一头死亡的大型雄性须鲸, 随即被拖回上海市浦东新区大治河口进行处理, 经测量, 该鲸体长 22 m。从体长来看, 有可能是长须鲸 (*Balaenoptera physalus*)、蓝鲸 (*B. musculus*)、大翅鲸 (*Megaptera novaeangliae*) 或塞鲸 (*B. borealis*) 中的一种 (Trites et al. 1998)。这 4 种大型须鲸在我国海域均有分布 (周开亚等 2001)。但由于该鲸尸体高度腐烂, 且左胸鳍已经缺失, 背鳍缺损, 上下颌和须板有不同程度的碎裂和缺损, 无法通过形态进行准确的物种鉴定 (图 1)。

基于 mtDNA 的分子技术已经广泛应用于

鲸类肉制品和不完整标本的物种鉴定。Baker 等 (1994, 1996, 2000) 通过控制区序列对日本、韩国市场上的鲸类肉制品进行物种鉴定和来源判别; Dalebout 等 (1998) 通过控制区序列鉴定南半球的喙鲸科 (Ziphiidae) 物种; 杨光等 (2002) 通过 Cyt *b* 和控制区序列鉴定出小布氏鲸 (*B. edeni*); 马牧等 (2007) 通过 Cyt *b* 序列鉴定出大村鲸 (*B. omurai*)。Cypriano-Souza 等 (2016) 通过对 mtDNA 的控制区、CO I 和 Cyt *b* 基因分别测序来鉴定搁浅鲸。本实验拟从鲸骨中提取基因组 DNA, 对 mtDNA 进行 PCR 扩增、序列测定, 然后通过与 GenBank 中的同源序列进行相似性对比, 并



图 1 死亡鲸现场照片

Fig. 1 Morphology of the dead whale

构建系统发育树进行分析, 为该标本的物种鉴定提供分子证据, 同时对其来源进行判断。参考 Cypriano-Souza 等 (2016), 选择 mtDNA 的控制区、CO I 和 Cyt *b* 基因作为分子标记。

1967 年, du Bay 和 Riley 曾提出核基因组中可能存在 mtDNA 拷贝。他们用提纯的小鼠 (*Mus musculus domesticus*) mtDNA 和核 DNA 进行杂交, 发现结合能力很强, 推断核基因组中存在 mtDNA 的同源序列。1994 年 Lopez 等在家猫 (*Felis silvestris*) 的核染色体中发现 7.9 kb 线粒体基因片段的插入, 这些片段在转入核后失去了功能, Lopez 等 (1994) 将之定义为线粒体假基因 (nuclear mitochondrial pseudogene, Nutms)。之后线粒体假基因被证实在生物中普遍存在, 目前已经证实含有线粒体假基因序列的物种超过 80 种, 涵盖了所有研究较多的生物类群 (Bensasson et al. 2001, Hazkani-Covo et al. 2010)。本次实验中所得到的 CO I 基因序列和 Cyt *b* 基因序列为编码蛋白序列, 但在序列中发现多个终止密码子, 由此判定为线粒体假基因序列。

1 材料与方法

1.1 样品

样品取自上述鲸易破碎的上颌骨, 长度为 9 cm, 宽度为 6 cm, 高度为 5 cm。

1.2 基因组 DNA 的提取

样品经紫外线照射 1 h, 后用灭菌钻头钻取深层骨粉, 用 EDTA 浸泡 12 h, 进行脱钙处理。利用海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司 DP324]进行总 DNA 提取, 消化时间延长至 12 h。

1.3 序列扩增及测序

目标序列的扩增引物分别为, 控制区 L5'-GAA TTC CCC GGT CTT GTA AAC C-3'和 H5'-TCT CGA GAT TTT CAG TGT CTT GCT TT-3' (Hoelzel et al. 1991); CO I 为 L1490 和 H2198 (Folmer et al. 1994); Cyt *b* 为 L14724 和 H15149 (Kocher et al. 1989)。

PCR 扩增体系为 20 μ l: 10 \times EX *Taq* Buffer (Mg²⁺ plus) 10 μ l, dNTP Mixture (2.5 mmol/L) 8 μ l, 正反引物 (0.5 μ mol/L) 各 4 μ l, EX *Taq* DNA 聚合酶 (5 U/ μ l) 0.5 μ l, DNA 模板小于 1 000 ng, ddH₂O 69.5 μ l, 分为 5 等分, 另设置阴性对照 1 份。阴性对照所用试剂与实验组完全相同, 不同之处是实验组加入 DNA 模板, 阴性对照加入等量的超纯水。PCR 循环参数为: 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s; 退火温度和时间, 控制区为 47~55 $^{\circ}$ C 70 s, CO I 为 47~55 $^{\circ}$ C 40 s, Cyt *b* 为 47~55 $^{\circ}$ C 60 s; 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min; 共循环 38 次; 4 $^{\circ}$ C 保存。PCR 产物利用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测。PCR 产物交由北京六合华大基因科技有限公司上海分公司测序, 测序仪器为 ABI3730XL, 测序试剂为 BDT v3.1, 测序引物为本实验所用扩增引物。

1.4 序列对比及系统发育分析

将测序后的结果使用 DNASTart 软件包中的 SeqMan 进行拼接、核对; 运用 Bioedit 整合序列, 并用 MAFFT 软件进行序列比对, 后返回 Bioedit 进行人工矫正; 后提交至 GenBank 中进行比对, 获取相似的同源序列。对样本和相似物种的同源序列使用 jModeltest 2.1.7 (Darriba et al. 2012) 确定最优模型, 基于 UPGMA 算法通过 BEAST1.8 (Drummond et al. 2012) 构建系统发育树, 基于最大似然法 (maximum likelihood, ML) 使用 MEGA7.0 构建系统发育树。

2 结果

2.1 基因组 DNA 的提取

提取的基因组 DNA 经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 有拖尾的条带 (图 2)。

2.2 PCR 结果

PCR 的扩增产物经 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 阴性对照中无条带, 说明扩增过程中无外源 DNA 污染 (图 3)。

2.3 序列分析结果

样本 mtDNA 控制区基因的双向测序, 得

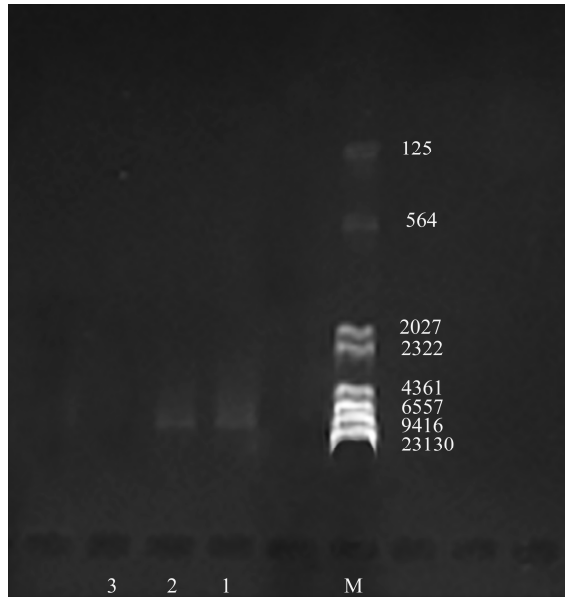


图 2 上颌骨全基因组 DNA 琼脂糖电泳检测图

Fig. 2 Agarose gel electrophoresis of genomic DNA of maxilla

1、2.基因组 DNA; 3. 阴性对照; M. λ -Hind III DNA 分子量标准 (TIANGEN 公司, 北京)。

1, 2. DNA extraction; 3. Negative control; M. λ -Hind III digest marker (TIANKEN Company, Beijing).

到有效长度为 976 bp 的一段序列 (登录号 MF781125)。序列的碱基组成为 G 15.88%、C 22.44%、A 30.53%、T 31.15%。通过与 GenBank

中下载的鲸类不同物种的同源序列进行对比, 发现与长须鲸的相似度最高, 达 98%~99%, 尤其与采自美国加利福尼亚海域的样本 (登录号 KC572816 和 KC572776) 最为相似, 仅在 756 bp 处有一个碱基 T 和 C 转换的差异; 与鳃鲸 (*B. edeni*)、灰鲸 (*Eschrichtiu srobustus*)、小鳃鲸 (*B. acutorostra*) 和塞鲸的相似度为 93%, 碱基差异数分别为 66、67、69 和 69; 与布氏鲸 (*B. brydei*)、大翅鲸和大村鲸的相似度为 92%, 碱基差异数分别为 71、73 和 77; 与蓝鲸和南极小须鲸 (*B. bonaerensis*) 的相似度为 91%, 碱基差异数分别为 45 和 80; 与弓头鲸 (*Balaena mysticetus*) 的相似度为 87%, 碱基差异数为 125; 与小露脊鲸 (*Caperea marginata*) 和南露脊鲸 (*Eubalaena australis*) 的相似度为 85%, 碱基差异数分别为 135 和 137; 与澳洲宽吻海豚 (*Tursiop saustralis*)、长吻原海豚 (*Stenella longirostris*) 和北太平洋露脊鲸 (*E. japonica*) 的相似度为 85%, 碱基差异数分别为 116、117 和 80 (表 1)。

样本 mtDNA 细胞色素 C 氧化酶 I 和 Cyt b 序列的双向测序, 分别得到有效长度为 642 bp (登录号 MG010134) 和 307 bp (登录号 MG010133) 序列。CO I 碱基组成分别为 G 24.30%、C 16.20%、A 31.62%、T 27.73, Cyt b

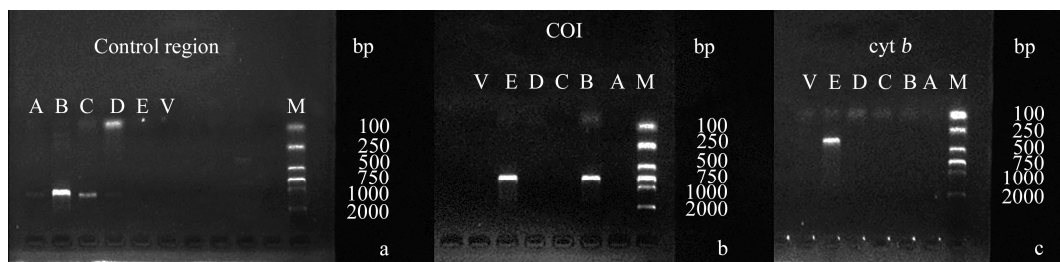


图 3 上颌骨 DNA PCR 产物的琼脂糖凝胶电泳图

Fig. 3 Agarose gel electrophoresis of PCR products of maxilla genomic DNA

a. 以上颌骨基因组 DNA 为模版扩增的控制区序列; b. 以上颌骨基因组 DNA 为模版扩增的 CO I 序列; c. 以上颌骨基因组 DNA 为模版扩增的 Cyt b 序列; A~E. PCR 退火温度 47~55 °C; V. 阴性对照; M. D2000 DNA 分子量标准 (TIANGEN 公司, 北京)。

a. Control region gene from the maxilla; b. CO I gene from the maxilla; c. Cyt b from the maxilla; A - E. PCR annealing temperature 47 - 55 °C; V. Negative control; M. D2000 DNA marker (TIANKEN Company, Beijing).

表 1 样本的控制区基因序列与近似物种同源序列的比对结果

Table 1 Comparison between Control region sequence of the sample and homologous sequence of the approximate species

物种 (GenBank 登陆号) Species (GenBank No.)	采集地 Collection site	凭证标本 Vouchers	Blast 结果 Result of Blast (%)	转换/颠换 Transition/ Transversion	插入/缺失 Insertion/Gap	差异总数 Sum of divergence
长须鲸 <i>Balaenoptera physalus</i> (KC572816)	北太平洋 North Pacific	76795	99	1	0	1
长须鲸 <i>B. physalus</i> (KC572776)	北太平洋 North Pacific	43936	99	1	0	1
长须鲸 <i>B. physalus</i> (KC572788)	北太平洋 North Pacific	67243	99	7	0	7
长须鲸 <i>B. physalus</i> (KC572734)	北太平洋 North Pacific	35292	99	8	2	10
长须鲸 <i>B. physalus</i> (KC572721)	北太平洋 North Pacific	25404	99	8	2	10
长须鲸 <i>B. physalus</i> (KC572708)	北大西洋 North Atlantic	761	99	10	0	10
长须鲸 <i>B. physalus</i> (KC572837)	南半球 Southern hemisphere	91300	99	9	2	11
长须鲸 <i>B. physalus</i> (KC572834)	南半球 Southern hemisphere	91296	99	11	0	11
长须鲸 <i>B. physalus</i> (KC572860)	北大西洋 North Atlantic	94608	98	15	0	15
长须鲸 <i>B. physalus</i> (KC572732)	北太平洋 North Pacific	30477	98	6	10	16
髯鲸 <i>B. edeni</i> (AB201258)	—	NSMT-M 33622	93	54	12	66
灰鲸 <i>Eschrichtiu srobustus</i> (AP006471)	北太平洋 North Pacific	—	93	56	11	67
小须鲸 <i>B. acutorostra</i> (AP006468)	北大西洋 North Atlantic	—	93	58	11	69
塞鲸 <i>B. borealis</i> (AP006470)	南极 South Pole	—	93	56	13	69
布氏鲸 <i>B. brydei</i> (AB201259)	—	NSMT-M 33072	92	40	13	71
大翅鲸 <i>Megaptera novaeangliae</i> (AP006467)	北大西洋 North Atlantic	—	92	51	22	73
大村鲸 <i>B. omurai</i> (AB201256)	—	NSMT-M 32505	92	59	18	77
蓝鲸 <i>B. musculus</i> (X72204)	北大西洋 North Atlantic	—	91	35	10	45
南极小须鲸 <i>B. bonaerensis</i> (AP006466)	南极 South Pole	—	91	64	16	80
弓头鲸 <i>Balaena mysticetus</i> (KY026771)	北大西洋 North Atlantic	—	87	102	23	125
小露脊鲸 <i>Caperea marginata</i> (AP006475)	南半球 Southern hemisphere	—	86	105	21	126

续表 1

物种 (GenBank 登陆号) Species (GenBank No.)	采集地 Collection site	凭证标本 Vouchers	Blast 结果 Result of Blast (%)	转换/颠换 Transition/ Transversion	插入/缺失 Insertion/Gap	差异总数 Sum of divergence
南露脊鲸 <i>Eubalaena australis</i> (AP006473)	南极 South Pole	—	86	109	26	135
澳洲宽吻海豚 <i>Tursiops australis</i> (KF570363)	南半球 Southern hemisphere	SABD7	85	91	25	116
长吻原海豚 <i>Stenella longirostris</i> (KX857353)	北太平洋 North Pacific	z0000669	85	94	23	117
北太平洋露脊鲸 <i>E. japonica</i> (AP006474)	北太平洋 North Pacific	—	85	105	26	137

“—”表示未获得相关信息。“—” No relevant information.

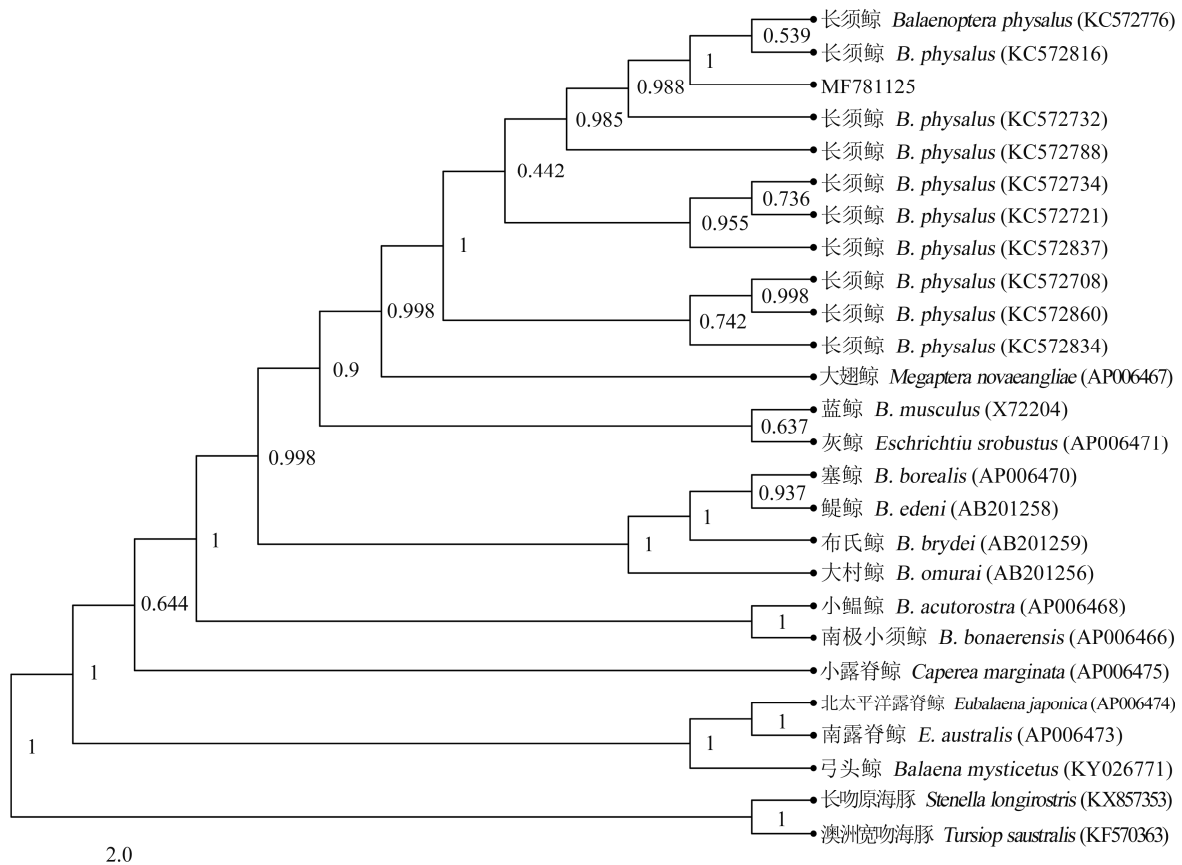


图 4 基于 UPGMA 法构建的样本控制区基因须鲸科及外群各物种同源序列间的系统发育树

Fig. 4 Phylogram showing relationships among selected species of Balaenopteridae and outgroup, inferred from UPGMA analysis of control region sequences

图中数字为自举置信水平值; 标尺为遗传距离。

The nodes indicated above the branch is the values of bootstrap confidence level, and the ruler represents the genetic distance.

序列碱基组成分别为 G 20.20%、C 22.80%、A 27.36%、T 29.64。CO I 和 Cyt b 序列分别存在

9 和 2 个终止密码子。通过与 GenBank 中下载的须鲸科物种的同源序列进行对比, 无法获取

同源性较高的序列。此二序列与长须鲸的同源序列对比，相似度仅分别为 37%和 38%。

2.4 系统发育分析

样本与鲸类 17 个物种的 26 个样本 (表 1) 控制区序列基于 HKG + G 模型, 使用 UPGMA 算法构建系统发育树 (图 4), 样本包括在长须鲸分支中, 与登录号为 KC572816 和 KC572776 分支聚为一支, 支持率为 100%, 该分支与

KC572732 和 KC572788 共同形成北太平洋 A 分支。使用 ML 法构建系统发育树 (图 5) 表明, 样本包括在长须鲸分支中, 与登录号为 KC572816 和 KC572776 分支聚为一支, 支持率为 98%, 该分支与 KC572732 和 KC572788 共同形成北太平洋 A 分支。两种方法构建的系统发育树得到相同结果。

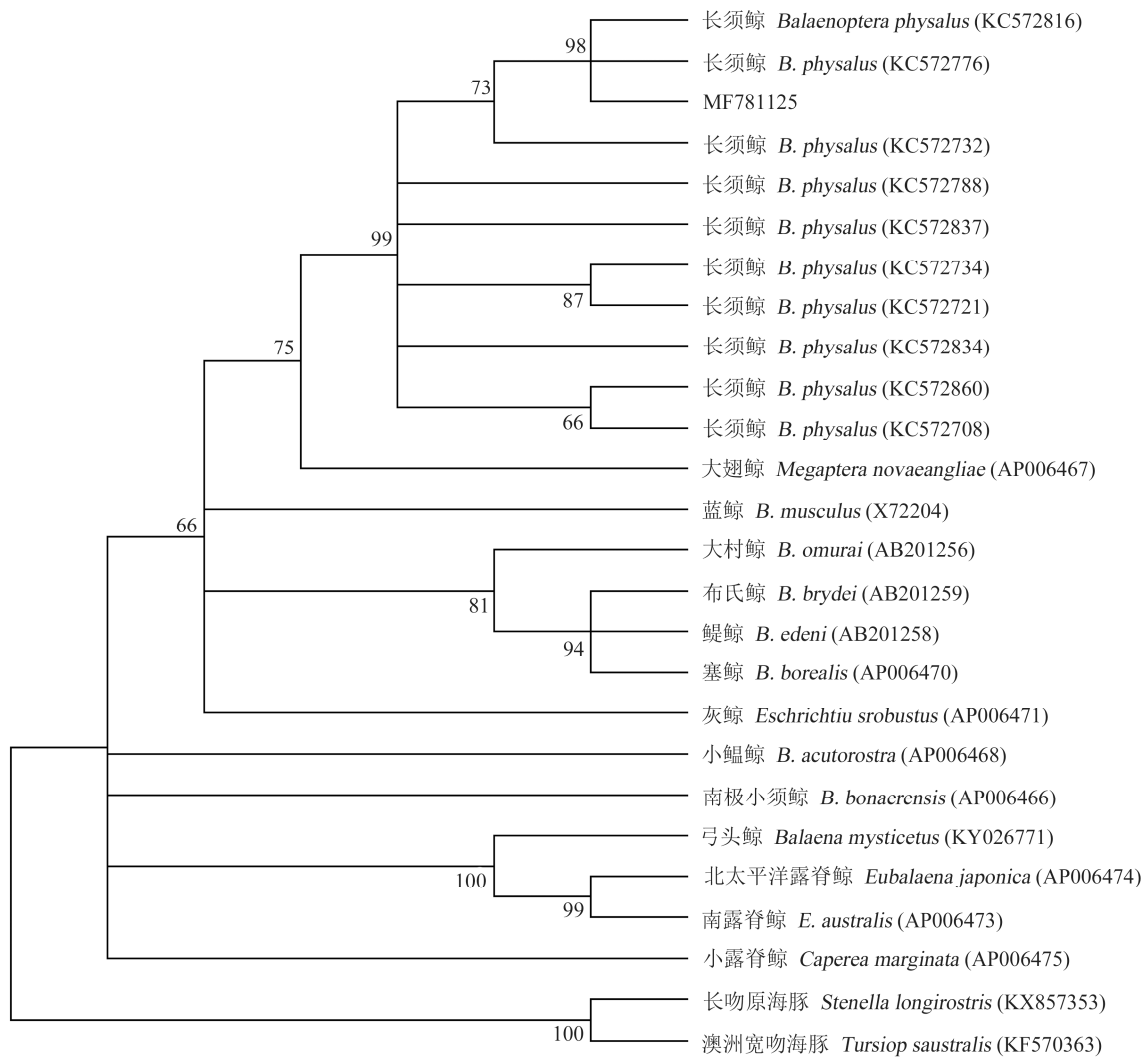


图 5 基于最大似然法构建的样本控制区基因序列与须鲸科及外群各物种同源序列间的系统发育树

Fig. 5 Phylogram showing relationships among selected species of Balaenopteridae and outgroup, inferred from maximum likelihood analysis of control region sequences

图中数字为自举置信水平值。

Values of bootstrap confidence level of the nodes indicated above the branch.

3 讨论

3.1 长须鲸的地理分布

长须鲸分布于全世界各大洋, 在我国沿海均有分布记录(周开亚等 2001), 周满章(1966)报道 1965 年于上海横沙岛因搁浅捕获一头长须鲸的雌性幼体。长须鲸包括 3 个亚种, 分布于北半球的 *B. p. physalus*、分布于南半球的 *B. p. quoyi* 和体型较小的 *B. p. patachonica* (Committee on Taxonomy 2017)。Archer 等 (2013) 通过对全球长须鲸样品的线粒体 DNA 系统学分析, 发现 *B. p. physalus* 不形成单系, 即分布于北大西洋的群体聚为一支, 分布于北太平洋的群体分为 3 支, 认为分布于北半球的长须鲸包括多个亚种。本研究中的系统发育树显示, 北太平洋的长须鲸分为 3 支, 与 Archer 等 (2013) 的结论相同, 标本检测出的控制区序列与采自美国加利福尼亚海域的样本 (登录号 KC572816 和 KC572776) 形成北太平洋 A 分支, 推断该个体来源于北太平洋, 不来自北大西洋和南半球。

3.2 长须鲸的线粒体假基因

本研究测得的 CO I 基因和 Cyt *b* 基因序列存在多个终止密码子。本实验 PCR 扩增过程中无外源 DNA 污染, 基因组提取及 PCR 实验过程所有仪器都进行了严格灭菌处理且 PCR 实验过程中使用了阴性对照, 阴性对照的胶图显示无条带, 证明没有外源 DNA 污染。因此推断可能为线粒体假基因, 历史研究尚无报道。若线粒体假基因被错误当作线粒体基因序列将影响物种系统发生关系研究 (Bensasson et al. 2001), 本研究提示在通过 mtDNA 的分子技术进行须鲸类鉴定时, 可能会存在线粒体假基因, 应选用多个分子标记进行同源序列比对, 以保障物种鉴定的准确性。

致谢 感谢上海科技馆分馆上海自然博物馆张云飞博士、张汤铭先生、阮敏杰先生在取样过程中给予的大力帮助与支持。

参 考 文 献

- Archer F I, Morin P A, Hancock-Hanser B L, et al. 2013. Mitogenomic phylogenetics of fin whales (*Balaenoptera physalus* spp.): genetic evidence for revision of subspecies. *PLoS One*, 8(5): e63396.
- Baker C S, Cipriano F, Palumbi S R. 1996. Molecular genetic identification of whale and dolphin products from commercial markets in Korea and Japan. *Molecular Ecology*, 5(5): 671–685.
- Baker C S, Lento G M, Cipriano F, et al. 2000. Scientific whaling: source of illegal products for market? *Science*, 290(5497): 1695–1696.
- Baker C S, Palumbi S R. 1994. Which whales are hunted? A molecular genetic approach to monitoring whaling. *Science*, 265(5178): 1538–1539.
- Bensasson D, Zhang D X, Hartl D L, et al. 2001. Mitochondrial pseudogenes: evolution's misplaced witnesses. *Trends in Ecology & Evolution*, 16(6): 314–321.
- Committee on Taxonomy. 2017. List of marine mammal species and subspecies. Society for Marine Mammalogy. [DB/OL]. [2017-10-05]. <https://www.marinemammalscience.org/species-information/list-marine-mammal-species-subspecies/>.
- Cypriano-Souza A L, Meirelles A C O, Carvalho V L, et al. 2016. Rare or cryptic? The first report of an Omura's whale (*Balaenoptera omurai*) in the South Atlantic Ocean. *Marine Mammal Science*, 33(1): 80–95.
- Dalebout M L, van Helden A, van Waerebeek K, et al. 1998. Molecular genetic identification of southern hemisphere beaked whales (Cetacea: Ziphiidae). *Molecular Ecology*, 7(6): 687–694.
- Darriba D, Taboada G, Doallo R, et al. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9(8): 772–772.
- Drummond A J, Suchard M A, Xie D, et al. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology & Evolution*, 29(8): 1969–1973.
- du Bay G H, Riley F L. 1967. Hybridization between the nuclear and kinetoplast DNA's of leishmania enriettii and between nuclear and mitochondrial DNA's of mouse liver. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 57(3): 790–797.
- Folmer O, Black M, Hoeh W, et al. 1994. DNA primers for

- amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5): 294–299.
- Hazkani-Covo E, Zeller R M, Martin W. 2010. Molecular poltergeists: mitochondrial DNA copies (numts) in sequenced nuclear genomes. *Plos Genetics*, 6(2): e1000834.
- Hoelzel A R, Hancock J M, Dover G A. 1991. Evolution of the cetacean mitochondrial D-loop region. *Molecular Biology & Evolution*, 8(4): 475–493.
- Kocher T D, Thomas W K, Meyer A, et al. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86(16): 6196–6200.
- Lopez J V, Yuhki N, Masuda R, et al. 1994. Numt, a recent transfer and tandem amplification of mitochondrial DNA to the nuclear genome of the domestic cat. *Journal of Molecular Evolution*, 39(2): 174–190.
- Trites A W, Pauly D. 1998. Estimating mean body masses of marine mammals from maximum body lengths. *Canadian Journal of Zoology*, 76(76): 886–896.
- 马牧, 祝茜, 李响, 等. 2007. 利用 Cyt *b* 基因由未知鲸骨鉴定出大村鲸. *兽类学报*, 27(3): 288–292.
- 杨光, 刘海, 周开亚, 等. 2002. 用 mtDNA 序列鉴定一头小布氏鲸标本. *动物学杂志*, 37(4): 35–38.
- 周开亚, 解斐生, 黎德伟, 等. 2001. 中国的海兽. 罗马: 联合国粮食及农业组织, 43.
- 周满章. 1966. 在长江口发现的长须鲸. *动物学杂志*, (4): 12.