

五个湖泊中华刺鳅 (*Mastacembelus sinensis*) 种群线粒体细胞色素 *b* 遗传多样性分析*

赵子明, 叶建生, 刘美剑, 沈冬冬, 黄世熠

(江苏农牧科技职业学院, 泰州 225300)

摘要: 采用特异性引物对中华刺鳅基因组 DNA 进行扩增和测序, 获得了江苏省 5 个湖泊的中华刺鳅种群线粒体 *cyt b* 基因 767 bp 的序列. 分析表明, *cyt b* 基因中 A+T 含量略高于 G+C 含量, 144 个中华刺鳅共获得 *cyt b* 基因单倍型 28 个, 变异位点 38 个, 其中单倍型 Hap1 分布最为广泛, 可能为祖先型单倍型. 平均单倍型多样性和平均核苷酸多样性指数分别为 0.58751 和 0.00214, 遗传多样性较低. 群体间遗传分化系数为 0.0356, 绝大多数的遗传变异都来自群体内部, 而群体间的遗传分化极小. 构建的系统进化树未出现明显的以单个湖泊群体的聚簇, 5 个湖泊的种群间基因交流极其强烈. 研究结果表明, 当前 5 个湖泊的中华刺鳅遗传多样性水平比较低, 亟待加强保护.

关键词: 中华刺鳅; 线粒体 DNA; *cyt b*; 遗传多样性; 淡水湖

Genetic diversity of spiny eel (*Mastacembelus sinensis*) from five lakes based on Mitochondrial DNA *cyt b* gene

ZHAO Ziming, YE Jiansheng, LIU Meijian, SHEN Dongdong & HUANG Shiyi

(Jiangsu Agri-animal Husbandry Vocational College, Taizhou 225300, P.R.China)

Abstract: The mitochondrial DNA *cyt b* gene (767 bp) of spiny eel from five lakes in Jiangsu Province was amplified and sequenced. The average contents of A+T were a little higher than those of G+C when 38 variable sites were detected, and 28 haplotypes were recovered. The average haplotype diversity (0.58751) and nucleotide diversity (0.00214) demonstrated very low genetic diversity of the spiny eel populations in the five lakes. The fixation indice of analysis of molecular variance was 0.0356, which showed no significant genetic difference among populations. The UPGMA phylogenetic tree of *cyt b* gene built with MEGA6.0 showed that five populations were not clustered into clades based on genetic distance. There was an extensive general flow among spiny eel populations from the five lakes in Jiangsu Province. The result showed that spiny eel from the five lakes had low genetic diversity and genetically homogeneous population structure, indicating their weak viability to maintain population. The spiny eel need to be well protected.

Keywords: *Mastacembelus sinensis*; Mitochondrial DNA; *cyt b*; genetic diversity; freshwater lakes

中华刺鳅 (*Mastacembelus sinensis*) 属于鲈形目 (Perciformes)、刺鳅科 (Mastacembelidae)、刺鳅属 (*Mastacembelus*), 俗称石铲、刀鳅、钢鳅等, 是广泛分布我国辽河、黄河、长江、钱塘江、珠江等水系的中小型淡水鱼类^[1]. 改革开放以来, 由于人为活动和江河环境污染, 特别是农作物秸秆向水体中抛置, 导致水体污染严重, 中华刺鳅野生资源受到严重破坏. 目前, 中华刺鳅资源量不断下降.

cyt b 基因作为常用线粒体 DNA 分子标记, 具有较强的中间解析和鉴别能力, 广泛应用于动物的群体遗传结构、物种鉴别和系统进化的研究中^[2-5]. 近年来, *cyt b* 基因也越来越多地应用于鱼类遗传多样性研究. 赵凯等^[6]分析了黄河上游和柴达木盆地托素湖的裸裂尻鱼 *cyt b* 基因序列变异, 初步认为黄河和柴达木水系托素湖的裸裂尻鱼未显著分化, 两种群表现出较低水平的遗传多样性. 阎雪岚等^[7]采用 *cyt b* 序列分析了采自

* 江苏农牧科技职业学院课题 (NSFRC1304) 资助. 2015-08-29 收稿; 2015-11-13 收修改稿. 赵子明 (1962~), 男, 副教授; E-mail: zzm0282678@163.com.

新疆克孜河 3 个群体的塔里木裂腹鱼及 1 个斑重唇鱼群体的种群遗传多样性和遗传结构,结果显示克孜河的塔里木裂腹鱼和斑重唇鱼均处于很低的遗传多样性水平,物种维持力较弱。赵峰等^[8]采用 *cyt b* 基因片段为遗传标记,对黄海南部和东海的 6 个银鲱群体遗传结构进行了分析,结果表明 6 个群体均呈现出高单倍型多样性和低核苷酸多样性的特点,群体间具有高度的基因交流,是一个随机交配群体。田辉伍等^[9]则利用 *cyt b* 基因研究了长江上游的长江干流、岷江、赤水河和嘉陵江的 8 个群体长薄鳅的遗传结构,表明长薄鳅种群内的变异大于种群间的变异,种群基因交流十分频繁。目前,有关刺鲃的研究很少,仅有的几篇报道主要集中于基础生物学^[10-15]、病害研究^[16]以及分类地位讨论^[17-22]。尤其是其分类地位一直存在争议,存在刺鲃 (*Mastacembelus aculeatus*) 和中华光盖刺鲃 (*Pararhynchobdella sinensis*) 等多种学名,倪勇与伍汉霖先生^[1]根据其形态特征比对,最终确定了其分类地位,学名为中华刺鲃 (*Mastacembelus sinensis*)。本研究对采自江苏省 5 个湖泊中华刺鲃种群 *cyt b* 片段进行了测序与比较分析,研究 5 个湖泊中华刺鲃群体间的遗传多样性和遗传结构,以深入了解和掌握 5 个湖泊中华刺鲃种群当前的种质资源现状,为其今后的保护与开发提供基础分子生物学依据。

1 材料和方法

1.1 研究材料

实验用中华刺鲃于 2015 年 5—7 月采集自江苏省苏中和苏北地区的 5 个湖泊水域,分别为江苏淮安的白马湖(B)、高邮湖(G)、洪泽湖(H)、骆马湖(L)以及江苏泰州的溱潼湖(Q),剪取尾鳍,无水乙醇固定后,−20℃ 冷冻保存备用。

1.2 DNA 提取

基因组 DNA 采用试剂盒提取(Sangon Ezup Column Animal Genomic DNA Purification Kit)。总 DNA 经检测后稀释至 100 ng/μl,−20℃ 冷冻保存备用。

1.3 PCR 扩增及测序

参照 GenBank 数据库中大刺鲃 (*Mastacembelus armatus*) 的线粒体全序列(登录号:KJ184553),设计引物扩增 *cyt b* 基因,引物序列为 F:5'-ATCCCTCCTGGGACTCTGTC-3'; R:5'-CGTGTGGAGGATTGGGACAA-3',引物由上海生工生物公司合成。PCR 反应体系为 50 μl:模板 DNA 50 ng;2×PCR Mix 25 μl(包含 Taq 酶 2.5U,dNTPs 10 μmol,MgCl₂ 0.1 mmol),上、下游引物(10 μmol/L)各 1 μl,其余体积用水补足。反应程序为:94℃ 预变性 2 min,94℃ 变性 45 s,62℃ 退火 1 min,72℃ 延伸 1 min,经 35 个循环后再 72℃ 延伸 10 min。PCR 产物经割胶纯化后,直接送上海生工生物公司利用正反引物进行双向测序。

1.4 数据分析

根据测序峰图对双向测序序列进行人工拼接,之后用 BioEdit 7.0.5^[23] 软件比对获得同源序列,MEGA 6.0 软件^[24] 分析碱基的组成,并构建系统进化树。DnaSP 软件^[25] 统计变异位点类型与数目,计算单倍型种类、平均核苷酸差异数、单倍型多样性指数和核苷酸多态性等,用 Arlequin3.01 软件^[26] 中的 Kimura 2-Parameters 方法构建 5 个种群间的遗传距离,分子生物学方差分析(AMOVA)方法计算遗传分化指数(F_{st})及遗传变异组成。

2 结果

2.1 序列分析

5 个湖泊中华刺鲃种群 144 个个体的 *cyt b* 基因,经拼接比对后,获得长度为 767 bp 的同源序列。MEGA 6 软件分析表明,T、C、A、G 碱基组成平均为 29.2%、30.1%、26.1% 和 14.6%,A+T 含量为 55.3%,略高于 G+C 含量。序列共发现多态性位点 38 个,占核苷酸总数的 4.95%,其中包含 18 个单态突变位点和 20 个简约信息位点,未检测到碱基缺失。144 个个体中共检出 28 个单倍型序列,所有单倍型序列已提交至 GeneBank(登录号:KT448786~KT448813),种群间共享单倍型共 8 个,其中单倍型 Hap1 5 个群体间都有分布且数量也大,可能是原始单倍型(表 1)。5 个种群的单倍型平均多样性指数为 0.58751,平均核苷酸差异数为 1.63947,平均核苷酸多样性指数为 0.00214(表 2)。5 个湖泊的中华刺鲃群体中,高邮湖群体的单倍型多样性指数最高,溱潼湖群体的核苷酸多样性指数最高,而骆马湖群体的单倍型多样性指数和核苷酸多样性指数均为最低。

表 2 5 个湖泊的中华刺鲃种群的单倍型及遗传多样性参数

Tab.2 Haplotypes and genetic diversity of spiny eel populations from five lakes

湖泊	样本数	单倍型数	多态位点数	单倍型多样性	平均核苷酸差异数	核苷酸多态性
白马湖	30	8	9	0.46667	0.90115	0.00117
高邮湖	28	11	21	0.71429	2.35979	0.00308
洪泽湖	28	10	11	0.67196	1.12963	0.00147
骆马湖	29	8	6	0.64286	0.81773	0.00107
溱潼湖	29	5	16	0.42118	2.78818	0.00364
合计	144	28	38	0.58751	1.63947	0.00214

2.2 群体变异和遗传结构

将测序获得的 144 个个体的 *cyt b* 基因序列输入 Arlequin 软件,使用 Kimura 2-Parameters 方法构建 5 个湖泊种群间的相对遗传距离和 F_{st} (表 3). 5 个种群的平均遗传距离为 0.00216,高邮湖种群与溱潼湖种群间的遗传距离最远为 0.00338,遗传距离最近的是白马湖和骆马湖种群之间为 0.00116. 而 5 个湖泊刺鲃种群内部遗传距离从大到小依次为:溱潼湖(0.00368)>高邮湖(0.00311)>洪泽湖(0.00148)>白马湖(0.00118)>骆马湖(0.00107). 5 个种群的平均 F_{st} 为 0.03556,5 个湖泊的中华刺鲃种群间存在一定的遗传分化,但是种群间的 F_{st} 值均较低,种群间 F_{st} 显著性检验有近一半($P>0.05$),表明 5 个湖泊中华刺鲃种群间存在较大的基因流,遗传分化差异较低(表 4).

表 3 5 个湖泊的中华刺鲃种群间 K 2-P 遗传距离和遗传分化系数

Tab.3 Average K 2-P distance and fixation indice between spiny eel populations from five lakes

湖泊	白马湖	高邮湖	洪泽湖	骆马湖	溱潼湖
白马湖	—	0.02028	0.03773 **	0.03388	0.05698 *
高邮湖	0.00219	—	0.01876	0.02791 *	-0.00494
洪泽湖	0.00138	0.00234	—	-0.01216	0.07155 **
骆马湖	0.00116	0.00215	0.00126	—	0.08271 **
溱潼湖	0.00257	0.00338	0.00278	0.00259	—

* 表示差异显著($P<0.05$); ** 表示差异极显著($P<0.01$); 对角线上方数值表示种内分化系数; 对角线下方数值表示种群间遗传距离.

表 4 5 个湖泊中华刺鲃种群间遗传差异的 AMOVA 分析

Tab.4 Analysis of AMOVA of spiny eel populations from five lakes

变异来源	自由度	平方和	变异组成	百分比%
种群间	4	6.566	0.02936	3.56
种群内	139	110.657	0.79609	96.44
合计	143	117.222	0.35778	

AMOVA 法估算 5 个群体间遗传变异结构和来源的结果表明,种群间的变异占总变异的 3.56%,而种群内的变异对总变异的贡献率达到 96.44%(表 4),种群内未出现遗传分化. 另外,用 DnaSP 软件分析单倍型数据所得遗传分化系数(G_{st})为 0.01092,基因流(Nm)为 22.65;而 144 个个体的 G_{st} 为 0.05601, Nm 为 4.21,也表明种群间的基因交流很频繁.

2.3 系统进化分析

将 144 个中华刺鲃个体的 *cyt b* 基因序列输入 MEGA6 软件,对 5 个湖泊群体进行系统进化分析,得到 UPGMA 系统进化树(图 1A). 5 个中华刺鲃群体没有明显聚类,形成了单系类群,京杭大运河水系连接的白马湖、骆马湖、洪泽湖和高邮湖群体首先聚类,最后与溱潼湖聚合. 而 144 个个体的构建的 UPGMA 系统进化树则表明,5 个群体的个体都没有独立聚类,相互散布在不同的地理群体中(图 1B).

2.4 群体历史动态

用 Fu' F_s 检验方法检验 5 个湖泊中华刺鲃群体的中性突变,结果表明种群的整体 $F_s = -23.887$ ($P<0.05$),显著偏离中性突变,表明 5 个中华刺鲃群体整体上有一定的扩张趋势,但白马湖、骆马湖、高邮湖和洪

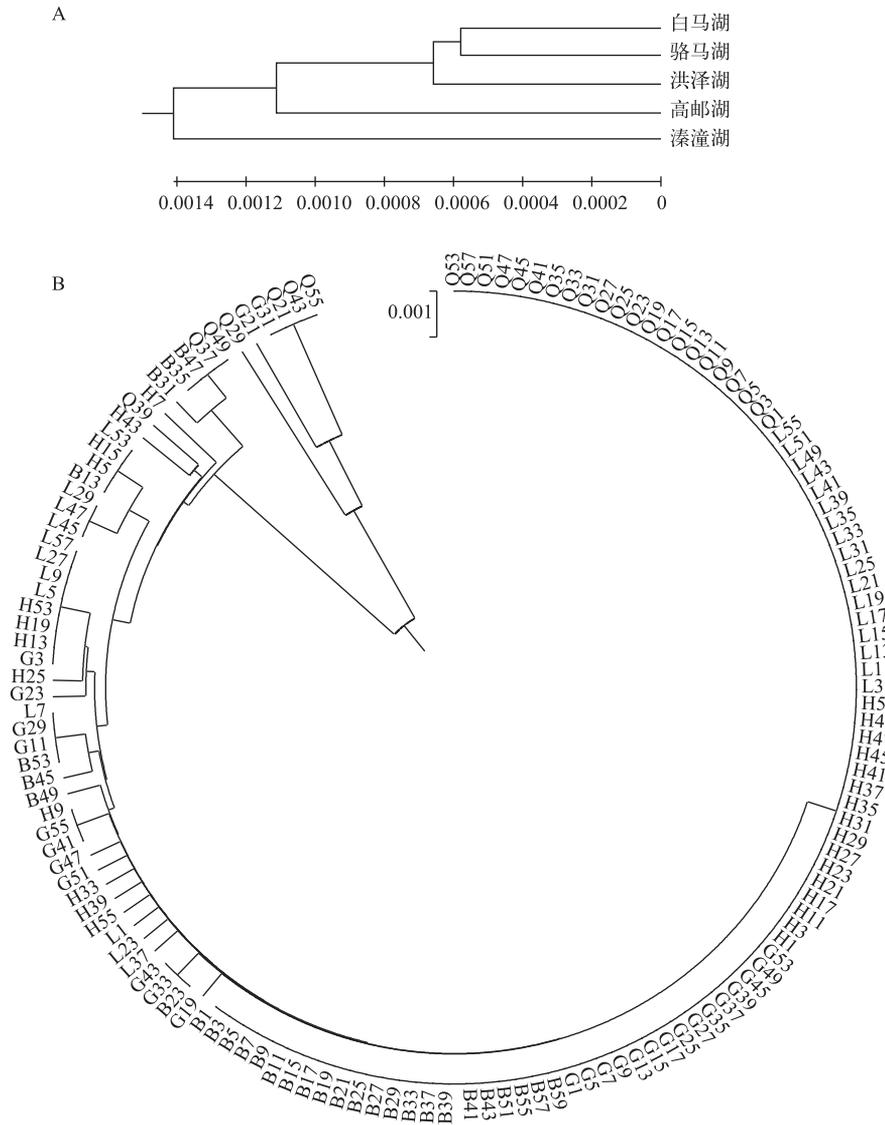


图 1 5 个湖泊中华刺鳅群体间(A)及个体间(B)的 UPGMA 系统进化树
 Fig.1 Dendrogram of spiny eel populations (A) and 144 individuals (B) from five lakes by UPGMA method based genetic distance

泽湖群体的 F_s 值都小于 0, 而溱潼湖群体的 F_s 值大于 0. 所有个体的线粒体 *cyt b* 基因序列进行碱基歧点分布分析, 个体间碱基歧点分布的观测曲线与期望曲线大体一致, 中间只有一个较低的凸起(图 2), 表明 5 个湖泊的中华刺鳅历史上种群相对比较稳定, 经历过一个比较小的种群扩张事件.

3 讨论

3.1 群体遗传多样性

本研究获得了 5 个湖泊中华刺鳅群体的线粒体 *cyt b* 基因片段, 序列碱基组分析表明, 中华刺鳅线粒体 *cyt b* 基因的 A+T 含量为 55.3%, 略高于 G+C 平均含量, 而 G 含量显著低于其他碱基, 表现出反 G 偏倚, 与其他动物线粒体 DNA 的研究结果一致^[27].

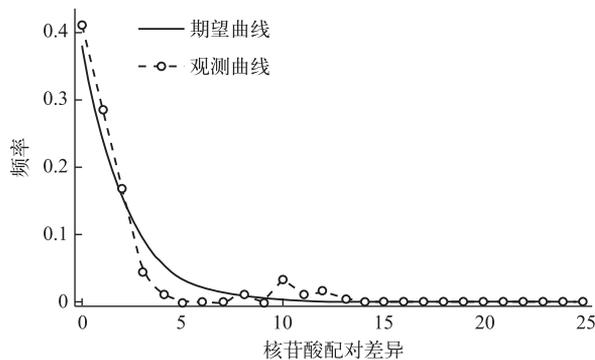


图2 5个湖泊的中华刺鳊群体线粒体 *cyt b* 基因错配碱基分布

Fig.2 The mismatch distribution of the Mitochondrial DNA *cyt b* of spiny eel populations from five lakes

遗传多样性是一个物种长期生存和进化的前提,物种的遗传多样性越高,该物种的进化潜力也就越大,对环境变化的适应能力也就越强^[5]. 本研究获得5个湖泊144尾中华刺鳊 *cyt b* 基因767 bp的序列,共获得基因单倍型28个,变异位点38个,单倍型多样性和核苷酸多样性分别为0.58751和0.00214,说明江苏省5个湖泊的中华刺鳊单倍型多样性和核苷酸多样性都很低,远低于黄颡鱼^[4](0.945、0.00419)和福建近海竹荚鱼^[28](0.937、0.336)等经济鱼类的 *cyt b* 基因单倍型多样性和核苷酸多样性,甚至低于野生濒危物种鳊浪白鱼^[5](0.996、0.00434) *cyt b* 基因的单倍型多样性和核苷酸多样性,仅与濒危物种青海湖裸鲤^[29](0.783、0.00205)、黄河裸体裂尻^[6](0.700、0.0026)和长薄鳊^[9](0.60852、0.00089) *cyt b* 基因的单倍型多样性和核苷酸多样性相当,高于怒江角鱼^[30](0.579、0.00070) *cyt b* 基因单倍型多样性和核苷酸多样性. 如此低的遗传多样性,可能意味着中华刺鳊种群曾经经历过“瓶颈效应”的打击^[31],说明当前该物种的进化潜力比较低,对环境变化的适应能力很弱,存在着较大的灭绝风险.

3.2 种群遗传结构

AMOVA分析表明,种群内的遗传变异显著超过各种群间的遗传变异,占全部遗传变异的96.44%,这表明中华刺鳊群体间差异不显著,群体间未出现遗传分化.

F_{st} 值可以反映群体之间的遗传分化程度,当 F_{st} 值介于0~0.05时表示分化较弱. 本文中5个湖泊中华刺鳊群体的 F_{st} 值为0.0356,说明5个中华刺鳊种群间存遗传分化较弱,不存在显著的系统地理分化. Shaklee等^[32]根据已发表的文献认为鱼类在种群、种和属三级水平上的遗传距离 D 值分别为0.05、0.30和0.9. 中华刺鳊5个湖泊群体间遗传距离为0.00216,说明中华刺鳊群体间的遗传分化极低,远没有达到种群的分化水平. 另外,与其他鱼类群体间的遗传距离相比较(0.035~0.019)^[33],中华刺鳊群体间遗传距离(0.00116~0.00338)可以看出,中华刺鳊种群无论是群体间还是群体内部序列差异都极小,说明其遗传多样性水平极低. Wright提出种群 $Nm > 4$ 时,群体就是一个随机的单位^[34]. 而本研究中单倍型间的 Nm 高达22.65,个体间的 Nm 为4.21,表明5个群体间基因流动的相当强烈,也进一步说明中华刺鳊种群间未出现分化,应作为一个整体进行资源保护. 系统进化分析表明5个湖泊的中华刺鳊群体没有明显聚类,形成了单系类群. 以上结果都表明中华刺鳊5个湖泊群体在 *cyt b* 水平上未出现群体遗传分化. Grant等依据单倍型多样性 h 和核苷酸多样性 π 推测了鱼类群体的4种进化情景^[35],本研究中5个湖泊的中华刺鳊种群遗传多样性低,遗传没有分化,接近于低 h 、低 π 情形,可能因为湖泊间地理距离近,水系连通,使得基因交流的可能性很大;同时,也可能存在建立者效应,即5个湖泊的中华刺鳊群体都源于单一建立者;此外,江河等水体环境污染和人为活动导致栖息地减少,致使中华刺鳊群体数量急剧下降,而群体变小后,瓶颈效应和遗传漂变可能在某种程度上导致其遗传多样性的降低,损失的遗传变异也会增多.

遗传多样性是生命进化的基础,遗传多样性的缺失会威胁到种群的生存. 本研究以 *cyt b* 基因为工具,研究了5个湖泊中华刺鳊群体间的遗传多样性和遗传结构,以深入了解和掌握当前中华刺鳊种质资源现状,为其今后的保护与开发提供基础分子生物学依据. 5个湖泊的中华刺鳊种群处于较低的遗传多样性水平,且

未形成遗传分化,物种维持力较弱. 本研究结果表明当前5个湖泊的中华刺鲃资源现状不容乐观,亟待加强保护. 种群一旦遭受破坏,就很难以复,这个宝贵物种也将面临灭绝的危险. 同时,应尽快对其他水域中华刺鲃遗传多样性现状进行研究,全面了解该物种种质资源现状.

4 参考文献

- [1] Ni Yong, Wu Hanlin eds. Fishes of Jiangsu Province. Beijing: China Agriculture Press, 2006: 740-742(in Chinese). [倪勇, 伍汉霖. 江苏鱼类志. 北京: 中国农业出版社, 2006: 740-742.]
- [2] Brown WM. Evolution of animal mitochondrial DNA. In: Nei M, Koehn RK eds. Evolution of genes and proteins. Sunderland MA: Sinauer, 1983: 62-88.
- [3] Saccone C, Pesole G, Sbisà E. The main regulatory region of mammalian mitochondrial DNA: structure-function model and evolutionary pattern. *J Mol Evol*, 1991, **33**(1): 83-91.
- [4] Zhong Liqiang, Liu Pengpeng, Pan Jianlin *et al.* Genetic variation analysis of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) from five lakes in the middle and lower reaches of the Yangtze River based on Mitochondrial DNA *cyt b*. *J Lake Sci*, 2013, **25**(2): 302-308(in Chinese with English abstract). DOI: 10.18307/2013.0219. [钟立强, 刘朋朋, 潘建林等. 长江中下游5个湖泊黄颡鱼种群线粒体细胞色素**b**基因的遗传变异分析. 湖泊科学, 2013, **25**(2): 302-308.]
- [5] Liu Hongyan, Xiong Fei, Yang Dong *et al.* Mitochondrial cytochrome *b* gene sequence diversity in wild and cultured populations of *Anabarilius grahmi*. *J Huazhong Agric Univ*, 2011, **30**(1): 94-98(in Chinese with English abstract). [刘红艳, 熊飞, 杨东等. 基于细胞色素**b**基因的鳊白鱼野生群体和养殖群体遗传多样性分析. 华中农业大学学报, 2011, **30**(1): 94-98.]
- [6] Zhao Kai, Yang Gongshe, Li Junbing *et al.* Phylogenetic structure of *Schizopygopsis pylzovi* populations from Mitochondrial cytochrome *b* gene sequence variations. *Acta Hydrob Sinica*, 2006, **30**(2): 129-133(in Chinese with English abstract). [赵凯, 杨公社, 李俊兵等. 黄河裸裂尻鱼群体遗传结构和 *cyt b* 序列变异. 水生生物学报, 2006, **30**(2): 129-133.]
- [7] Yan Xuelan, Yang Jinqian, Tang Wenqiao *et al.* Genetic diversity of two Cyprinid fishes: *Schizothorax biddulphi* and *Diptychus maculatus* in Kezilesu River, Xinjiang Uygur Autonomous Region based on *Cyt b* gene sequences variation. *Chinese J Zool*, 2009, **44**(5): 8-13(in Chinese with English abstract). [阎雪岚, 杨金权, 唐文乔等. 基于线粒体 *Cyt b* 基因序列变异的克孜河塔里木裂腹鱼和斑重唇鱼遗传多样性. 动物学杂志, 2009, **44**(5): 8-13.]
- [8] Zhao Feng, Zhuang Ping, Zhang Longzhen *et al.* Population genetic structure of *Pampus argenteus* in the south Yellow Sea and East China Sea based on the mitochondrial *Cyt b* sequence. *Acta Hydrob Sinica*, 2011, **35**(5): 745-752(in Chinese with English abstract). [赵峰, 庄平, 章龙珍等. 基于线粒体 *Cytb* 基因的黄海南部和东海银鲳群体遗传结构分析. 水生生物学报, 2011, **35**(5): 745-752.]
- [9] Tian Huiwu, Duan Xinbin, Wang Dengqiang *et al.* Sequence variability of Cytochrome *b* and genetic structure of *Leptobotia elongata* in the upper Yangtze River. *Freshw Fish*, 2013, **43**(6): 13-18(in Chinese with English abstract). [田辉伍, 段辛斌, 汪登强等. 长江上游长薄鳅 *Cytb* 基因的序列变异与遗传结构分析. 淡水渔业, 2013, **43**(6): 13-18.]
- [10] Wu Lv. Cellular composition of the islets in *Mastacembelus*. *Science*, 1950, **32**(3): 91(in Chinese). [伍律. 刺鲃胰岛之细胞组成. 科学, 1950, **32**(3): 91.]
- [11] Wu Lv. The pancreas and the pancreatic islets of a teleost, *Mastacembelus aculeatus*. *Acta Hydrob Sinica*, 1956, **2**(2): 272-278(in Chinese with English abstract). [伍律. 刺鲃的胰脏和胰岛. 水生生物学集刊, 1956, **2**(2): 272-278.]
- [12] Zhou Rongjia, Yu Qixing, Cheng Hanhua *et al.* PCR amplification of SRY box gene in *Monopterus albus* and *Mastacembelus aculeatus*. *Chinese Sci Bull*, 1996, **41**(7): 640-642(in Chinese with English abstract). [周荣家, 余其兴, 程汉华等. PCR 扩增黄鲢和刺鲃 SRY 盒基因. 科学通报, 1996, **41**(7): 640-642.]
- [13] Liu Jiangdong, Huang Xiao, Yu Qixing *et al.* The cytogenetic evidences for confirming the existence of sex chromosomes in *Mastacembelus aculeatus* (Osteichthyes, Perciformes). *J Wuhan Univ (Nat Sci Ed)*, 1999, **45**(2): 185-190(in Chinese with English abstract). [刘江东, 黄晓, 余其兴等. 刺鲃性染色体的细胞遗传学确定证据. 武汉大学学报: 自然科学版, 1999, **45**(2): 185-190.]
- [14] Chen Ji, Zhao Gang, Zang Yating *et al.* The construction of X chromosome library of spiny eel (*Mastacembelus aculeatus*). *Acta Hydrob Sinica*, 2009, **33**(4): 571-576(in Chinese with English abstract). [陈戟, 赵刚, 臧亚婷等. 刺鲃 X 染色体 DNA 文库的构建. 水生生物学报, 2009, **33**(4): 571-576.]
- [15] Wu Yuanan, Liang Zhiqiang, Li Chuanwu *et al.* Analysis and evaluation of nutritional components in the muscle of two

- kinds of *Mastacembelus*. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2010, **32**(5): 499-502 (in Chinese with English abstract). [伍远安, 梁志强, 李传武等. 两种刺鲃肌肉营养成分分析及评价. 营养学报, 2010, **32**(5): 499-502.]
- [16] Han Jiugao. Infection and control of *Ichthyophthiriasis* spp. on *Mastacembelus aculeatus*. *J Anhui Agri Sci*, 2007, **35**(16): 4826-4834 (in Chinese with English abstract). [韩九皋. 刺鲃感染小瓜虫病及防治研究. 安徽农业科学, 2007, **35**(16): 4826-4834.]
- [17] Travers RA. A review of the Mastacembeloidei, a suborder of synbranchiform teleost fishes. Part II: hylogenetic analysis. *Bull Br Mus Nat Hist Zool*, 1984, **47**(2): 83-150.
- [18] Kottelat M. Notes on the taxonomy and distribution of some western Indonesian freshwater fishes, with diagnoses of a new genus and six new species (Pisces: Cyprinidae, Belontiidae, and Chaudhuriidae). *Ichthyol Explor Fres*, 1991, **2**(3): 273-287.
- [19] Johnson GD, Patterson C. Percomorph phylogeny: A survey of Acanthomorphs and a new proposal. *Bull Mar Sci*, 1993, **52**(1): 554-626.
- [20] Kottelat M, Lim KP. Diagnosis of two new genera and three new species of earthworm eels from the Malay Peninsula Borneo (Teleostei: Chaudhuriidae). *Ichthyol Explor Fres*, 1994, **5**(2): 181-190.
- [21] Britz R. Ontogeny of ethmoidal region and hyopalatine arch in *Macrogathus pancalus* (Percomorpha, Mastacembeloidei), with critical remarks on mastacembeloid inter- and intrarelationships. *Am Mus Novit*, 1996, **3181**: 1-18.
- [22] Vreven EJ. Mastacembelidae (Teleostei; Synbranchiformes) subfamily division and African generic division: An evaluation. *J Nat Hist*, 2005, **39**(4): 351-370.
- [23] Hall TA. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl Acids Symp Ser*, 1999, **41**: 95-98.
- [24] Tamura K, Stecher G, Peterson D *et al.* MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Biol Evol*, 2013, **30**(4): 2725-2729.
- [25] Rozas J, Anchez-DelBarrio JC, Essequer XM *et al.* DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 2003, **19**(18): 2496-2497.
- [26] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin ver 3.01: An integrated software package for population genetics data analysis. Berne: Computational and Molecular Population Genetics Laboratory (CMPG), Switzerland; University of Berne, 2006.
- [27] Wolstenholme DR. Animal mitochondrial DNA: Structure and evolution in: Mitochondrial genomes. San Diego: Academic Press, 1992: 173-372.
- [28] Niu Sufang, Su Yongquan, Wang Jun *et al.* Genetic polymorphism of mitochondrial control region and *cyt b* in *Trachurus japonicus* from Fujian coastal waters. *J Fish Sci China*, 2011, **18**(1): 66-74 (in Chinese with English abstract). [牛素芳, 苏永全, 王军等. 福建近海竹荚鱼线粒体 DNA 控制区和细胞色素 b 遗传多态性. 中国水产科学, 2011, **18**(1): 66-74.]
- [29] Zhao Kai, He Shunping, Peng Zuogang *et al.* Mitochondrial diversity and population structure of *Gymnocypris przewalskii przewalskii* (Teleostei: Cyprinidae). *J Qinghai Univ (Nat Sci)*, 2006, **24**(4): 1-4 (in Chinese with English abstract). [赵凯, 何舜平, 彭作刚等. 青海湖裸鲤的种群结构和线粒体 DNA 变异. 青海大学学报, 2006, **24**(4): 1-4.]
- [30] Zhang Dongya, Chen Yong, Liu Shaoping *et al.* Population genetic structure of the endangered species *Epalzeorhynchus bicornis* in the Nujiang River. *Freshw Fish*, 2009, **39**(2): 3-7 (in Chinese with English abstract). [张东亚, 陈勇, 刘绍平等. 怒江濒危鱼类角鱼种群遗传结构研究. 淡水渔业, 2009, **39**(2): 3-7.]
- [31] Billington N, Hebert PD. Mitochondrial DNA diversity in fishes and its implications for introductions. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1991, **48**(suppl.1): 8-94.
- [32] Shaklee JB, Tamaru CS, Waples RS. Speciation and evolution of marine fishes studied by the electrophoretic analysis of proteins. *Pac Sci*, 1982, **36**(2): 141-157.
- [33] Chen Di. Analysis of genetic structure in mitochondrial cytochrome *b* of *Coilia ectenes* in Yangtze River [Dissertation]. Guangzhou: Jinan University, 2006 (in Chinese with English abstract). [陈迪. 长江刀鲚遗传多样性的细胞色素 b 基因序列分析 [学位论文]. 广州: 暨南大学, 2006.]
- [34] Lü Baozhong, Zhong Yang, Gao Liping *et al.* Molecular evolution and phylogenetics. Beijing: High Education Press, 2002. [吕宝忠, 钟扬, 高莉萍等译. 分子进化与系统发育. 北京: 高等教育出版社, 2002.]
- [35] Grant WS, Bowen BW. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*, 1998, **89**: 415-426.