

## 四个鲤鱼种群 ITS-1 序列的遗传变异分析\*

钟立强<sup>1,2,3</sup>, 张成锋<sup>1</sup>, 周凯<sup>1,4</sup>, 李冰<sup>1</sup>, 王建新<sup>1</sup>, 朱健<sup>1,3,4\*\*</sup>

(1: 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 无锡 214081)

(2: 江苏省淡水水产研究所, 南京 210017)

(3: 上海海洋大学水产与生命科学学院, 上海 201306)

(4: 南京农业大学无锡渔业学院, 无锡 214081)

**摘要:** 对我国四个鲤鱼种群的核糖体 DNA 内转录间隔区 ITS-1 进行了 PCR 扩增、测序。序列分析显示, 370bp 的 ITS-1 序列中 GC 含量明显高于 AT 含量, 共检测到 34 个变异位点, 96 个样本得到 14 个单倍型, 平均单倍型多样性为  $0.637 \pm 0.055$ , 核苷酸多样性为  $0.00857 \pm 0.00200$ , 遗传多样性表现较低。黑龙江野鲤种群与建鲤种群间遗传距离最远, 为 0.10129, 黑龙江野鲤种群与黄河鲤种群间遗传距离最近, 为 0.02305。分子方差分析 (AMOVA) 表明, 群体间遗传分化系数  $F_{st}$  为 0.05373, 几乎所有变异都来自群体内, 群体间遗传分化极小。ITS-1 序列构建系统进化树显示, 四个种群分为南北 2 支, 黑龙江野鲤和黄河鲤种群聚为北方支, 建鲤和荷包红鲤种群聚为南方一支。

**关键词:** 鲤鱼; 内转录间隔区 1 (ITS-1); 种质资源; 遗传变异

## Sequence variation of Ribosomal DNA Internal Transcribed Spacer 1 of four common carp populations

ZHONG Liqiang<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Chengfeng<sup>1</sup>, ZHOU Kai<sup>1,4</sup>, LI Bing<sup>1</sup>, WANG Jianxin<sup>1</sup> & ZHU Jian<sup>1,3,4</sup>

(1: *Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Science, Wuxi 214081, P. R. China*)

(2: *Freshwater Fisheries Research Institute of Jiangsu Province, Nanjing 210017, P. R. China*)

(3: *Fisheries and Life Science College, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, P. R. China*)

(4: *Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, P. R. China*)

**Abstract:** The internal transcribed spacer 1 (ITS-1) of four common carp populations were amplified and sequenced. The result showed that the average contents of GC were obviously higher than that of AT in the aligned sequences of 370bp. Total 34 variable sites were detected, and 14 haplotypes were recovered. The haplotype diversity and nucleotide diversity were  $0.637 \pm 0.055$  and  $0.00857 \pm 0.00200$ , respectively. The genetic distance between Heilongjiang carp and Jian carp displayed the highest, up to 0.10129, while that between Heilongjiang carp and Yellow River carp populations was the lowest to 0.02305. The fixation indices ( $F_{st}$ ) of analysis of molecular variance (AMOVA) among populations was 0.05373, which showed no significant population structure. The phylogenetic tree of ITS-1 built with MEGA 4.1 showed that four common carp populations were clustered into two major clades based on genetic distance. Populations of Heilongjiang carp and Yellow River carp were clustered in northern clade, while Jian carp and Hebao red carp were clustered in southern clade.

**Keywords:** Common carp; internal transcribed spacer 1; genetic resources; genetic diversity

核糖体内转录间隔区 1 (ITS-1) 介于核糖体 DNA (rDNA) 的 18S 和 5.8S 之间, 是非编码区序列, 承受的选择压力较小, 进化速度快, 能提供比较丰富的核苷酸变异位点和信息位点, 适合物种和种群水平上的系统

\* 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项基金项目 (2009JFBF14)、现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (NYCYTX-49) 和农业部种质资源保护项目联合资助。2010-03-05 收稿; 2010-08-16 收修改稿。钟立强, 男, 1985 年生, 硕士研究生; E-mail: stevezhong1985@163.com.

\*\* 通讯作者; E-mail: zhuj@ffrc.cn.

发生研究<sup>[14]</sup>. 鲤鱼是重要的淡水养殖鱼类之一, 长期的养殖过程中形成了诸多地理种群和人工繁育品种. 目前为止, 通过线粒体 DNA *ND5-ND6*、*D-loop*<sup>[5]</sup>、*CO II*<sup>[6]</sup>、16S rRNA 和 Cyt b<sup>[7-8]</sup> 对不同鲤鱼种群的遗传结构和系统演化关系已经进行了一些研究, 但运用 ITS-1 核苷酸序列对鲤鱼种群的研究还未见报道. 目前, 运用 ITS 序列对水生动物的遗传分析主要集中于贝类, 如喻达辉等<sup>[9]</sup> 采用 ITS-1 序列对珠母贝属 8 个种的亲缘关系做了初步分析; 王建军等<sup>[10]</sup> 则对我国五大淡水湖泊三角帆蚌种群的 ITS-1 序列进行了遗传变异分析, 并分析了五个种群间亲缘关系; Insua 等<sup>[11]</sup> 用 ITS 区对扇贝科 4 个种进行系统发生关系研究, 发现单独使用 ITS-1 与使用整个 ITS 区进行系统学分析结果相似. 而在鱼类研究中, 主要集中于鲑科, Sajdak 等<sup>[12]</sup> 则分析了白鲑种类的 ITS-1 序列, 并构建了较大范围的系统发育树; Domanico 等<sup>[13]</sup> 通过对 ITS-1 和 ITS-2 的测序分析, 认为 pink 和 chum salmon 以及 coho 和 chinook salmon 之间有最近的亲缘关系; 陈雪峰等<sup>[14]</sup> 则克隆了奥里亚罗非鱼和尼罗罗非鱼的 ITS 全序列, 发现两种鱼 ITS 区相似性高达 98.2%, 亲缘关系很近.

本研究选用我国主要流域的黑龙江野鲤、黄河鲤、建鲤和荷包红鲤四个鲤鱼种群, 首次通过 ITS-1 核苷酸序列的比较分析, 探讨我国四种主要经济鲤鱼种群的分子遗传变异和进化关系, 了解四个鲤鱼种群的种质资源现状, 为鲤鱼新品种的开发提供理论基础.

## 1 材料和方法

### 1.1 研究材料

实验用黑龙江野鲤(HLJ)、黄河鲤(HH)、建鲤(JL)和荷包红鲤(HB)四个鲤鱼种群样品分别采集于黑龙江水域、河南武陟县黄河鲤原种场、中国水产科学研究院淡水渔业研究中心太湖实验基地和江西婺源县荷包红鲤原种场, 每个种群采样 24 尾, 剪取活鱼尾鳍, 于 95% 乙醇中固定和保存.

### 1.2 DNA 提取

基因组 DNA 的提取参照 Sambrook 等<sup>[15]</sup>《分子克隆实验指南》. DNA 浓度和质量分别用分光光度仪(Unico UV-4802H)和 1% 琼脂糖凝胶电泳检验. 总 DNA 稀释至 100ng/ $\mu$ l, -20℃ 储存备用.

### 1.3 PCR 扩增及测序

参照 GenBank 中金鱼(*Carassius auratus*)、欧鳊(*Abramis ballerus*)等鲤科鱼类核糖体序列, 设计引物: ITS-1F 5'CGTAACAAGGTTTCCGTAGGTG 3'; ITS-1R 5'AGTGATCCACCGCTAAGAGTTG 3', 引物由上海生物工程技术有限公司合成.

PCR 反应体系为 50 $\mu$ l: 模板 DNA 50ng; 2 $\times$  PCR Mix 25 $\mu$ l; 上、下游引物(10 $\mu$ mol/L)各 1 $\mu$ l, 其余体积用水补足. 反应程序为: 94℃ 预变性 2min, 94℃ 变性 45s, 60℃ 退火 1min, 72℃ 延伸 1min, 经 35 个循环后再 72℃ 延伸 10min. PCR 产物经割胶纯化后, 直接送上海生物工程技术有限公司进行测序, 测序引物为 ITS-1F.

### 1.4 数据分析

DNA 序列用 BioEdit 7.0<sup>[16]</sup> 软件比对剪切序列, MEGA 4.1 软件<sup>[17]</sup> 计算碱基含量, 构建系统进化树. DNAsp 软件<sup>[18]</sup> 计算变异位点、单倍型数目、单倍型多样性指数等, 用 Arlequin 3.01 软件<sup>[19]</sup> 中的分子方差分析(AMOVA)方法计算遗传分化指数( $F_{st}$ )并分析遗传变异来源与组成.

## 2 结果

### 2.1 序列特征

四个鲤鱼种群 96 个个体的 ITS-1 序列, 经 BioEdit 软件比对剪切后, 获得长度为 370bp 的同源序列, MEGA 4.1 软件分析其碱基组成平均为 T(12.4%)、C(32.1%)、A(21.7%)、G(33.8%), GC 含量为 65.9%, 明显高于 AT 含量(34.1%).

DNAsp4.01 软件分析显示, ITS-1 序列共有 34 个多态性位点, 其中 4 个为缺失位点, 单一变异位点 23 个, 3 个碱基变异的多态信息位点 1 个, 而不计插入/缺失部分, 96 个个体中共检出 14 种单倍型序列, 种群共享的单倍型有 8 个(表 1). 四个种群的单倍型平均多样性指数为  $0.637 \pm 0.055$ , 平均核苷酸多样性指数为  $0.00857 \pm 0.00200$ (表 2). 四个鲤鱼种群中, 建鲤种群的单倍型多样性指数和核苷酸多样性指数最高, 而荷包红鲤种群的单倍型多样性指数最低, 黄河鲤种群的核苷酸多样性指数最低.

表 1 鲤鱼 ITS-1 序列 14 种单倍型变异位点及其在四个种群中的分布

Tab.1 Variation sites of ITS-1 of 14 haplotypes of common carp and their distribution in four populations

单倍型	变异位点																								个体分布																
	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3												
单倍型	0	1	2	3	3	5	5	5	5	6	6	8	9	0	1	2	2	2	3	4	4	6	7	7	0	1	2	4	6	6	HLJ	JL	HB	HH							
	8	3	4	5	7	0	6	2	8	1	2	0	5	3	1	0	3	8	5	1	9	6	1	7	2	2	6	7	5	8											
hap-1	C	A	C	G	C	G	G	G	G	G	T	G	G	G	G	T	T	C	G	G	C	A	G	A	C	G	G	T	15	11	18	13									
hap-2	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2		4				
hap-3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	3	1					
hap-4	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1		1				
hap-5	.	T	.	A	A	A	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	3		2				
hap-6	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1		1			
hap-7	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	4		1			
hap-8	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	1	1		
hap-9	A	.	.	.	.	.	.	T	C	C	C	C	C	C	A	C	A	G	T	C	C	.	G	C	.	A	A	.	.	.	.	.	.	.	.	3		2			
hap-10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2				
hap-11	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1			
hap-12	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1			
hap-13	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1		
hap-14	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1		

表 2 四个鲤鱼种群的遗传多样性参数

Tab.2 Parameter summary of genetic diversity of 4 populations of common carp

种群	样本数	单倍型数	单倍型多样性	多态位点数	核苷酸多样性
HLJ	24	5	0.594 ± 0.105	15	0.00663 ± 0.00195
JL	24	7	0.761 ± 0.075	21	0.01368 ± 0.00469
HB	24	6	0.442 ± 0.124	19	0.00895 ± 0.00447
HH	24	8	0.692 ± 0.095	12	0.00454 ± 0.00135
合计	96	14	0.637 ± 0.055	34	0.00857 ± 0.00200

2.2 群体变异和遗传结构

将测序获得的 96 个鲤鱼的 ITS-1 序列输入 Arlequin 软件,使用 Kimura 2-Parameters 方法构建四个种群间的相对遗传距离和遗传分化系数  $F_{st}$  (表 3). 从遗传距离来看,黑龙江野鲤种群与建鲤种群间的遗传距离最远为 0.10129,建鲤和黄河鲤种群间的遗传距离次之,遗传距离最近的是黑龙江野鲤和黄河鲤种群之间为 0.02305. 四个种群的平均遗传分化系数  $F_{st}$  为 0.05373. 四个种群间,黑龙江野鲤、黄河鲤种群分别与建鲤和荷包红鲤种群存在显著性遗传分化 ( $P < 0.05$ ).

表 3 鲤鱼四个种群间的相对遗传距离(斜线下)和遗传分化系数(斜线上)

Tab.3 Pairwise distance matrix of ITS-1 sequences (below diagonal) and  $F_{st}$  values (above diagonal) among four populations of common carp

种群	HLJ	JL	HB	HH
HLJ	-	0.00749 *	0.00901 *	0.07387
JL	0.10129	-	0.03343	0.00923 *
HB	0.06407	0.03459	-	0.00892 *
HH	0.02305	0.10033	0.06514	-

\* 表示显著性差异 ( $P < 0.05$ ).

为了进一步分析种群间的相互遗传差别,运用 Arlequin 软件中 AMOVA 分子方差分析法估算四个种群间的遗传变异结构和来源. 分子方差结果显示,四个鲤鱼种群内具有很高的遗传变异. 种群间的变异占总变异的 5.37%,而种群内的变异对总变异的贡献率达到 94.63% (表 4),群体内未出现遗传分化.

表 4 鲤鱼四个种群间遗传差异的分子方差分析 (AMOVA)

Tab. 4 Analysis of molecular variance (AMOVA) of 4 populations of common carp

变异来源	自由度	平方和	变异组成	占总变异百分比 (%)
种群间	3	11.396	0.09128	5.37
种群内	92	147.917	1.60779	94.63
合计	95	158.312	1.69907	

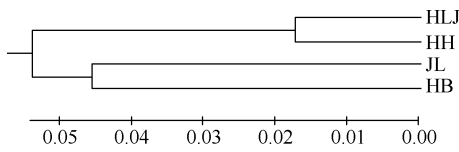


图 1 四个鲤鱼种群的 NJ 聚类树

Fig. 1 Dendrogram of four common carp populations by NJ method based genetic distance

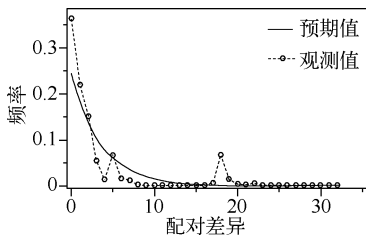


图 2 四个鲤鱼种群 ITS-1 序列错配碱基分布

Fig. 2 The mismatch distribution of the ITS-1 sequences of four common carp populations

### 2.3 聚类分析

将 96 个 ITS-1 序列输入 MEGA 4.1 软件,对四个鲤鱼种群进行聚类分析,得到 NJ 进化树 (图 1). 四个鲤鱼种群明显的分为南北两大类群,黑龙江野鲤首先与黄河鲤聚为北方一支,而建鲤则与荷包红鲤聚为南方一支,这与种群间的遗传分化系数的显著性检验结果一致.

### 2.4 种群扩张

用  $F_u/F_s$  中性检验四个鲤鱼种群的显著偏离中性突变,  $F_u$  [20] 认为:  $F_s > 0$ , 表明种群趋于稳定,  $F_s < 0$ , 表明种群趋于扩张. 检验结果显示,种群的整体  $F_s = -1.338 (P < 0.05)$ , 这表明四个鲤鱼种群整体上有扩张趋势. 但黑龙江野鲤、黄河鲤和荷包红鲤种群的  $F_s$  值都小于 0, 而建鲤种群  $F_s$  值大于 0, 可见自然鲤鱼种群都有扩张趋势, 而人工繁育品种建鲤种群则比较稳定, 其种质资源保存良好. 用 96 个个体的 ITS-1 序列构建两两间的矩阵, 进行碱基歧点分布分析 (图 2), 曲线呈现出两个峰形, 表明我国鲤鱼在历史上可能发生过 2 次较大的种群扩张.

## 3 讨论

### 3.1 遗传多样性

核糖体内转录间隔区 1 (ITS-1) 位于核基因组中的 18S 与 5.8S 基因之间, 属于非编码区域, 所承受的选择压力较小, 进化速度较快, 鉴于其丰富的变异性而常被用作种群研究的目的片段. 本研究四个鲤鱼种群 ITS-1 序列的 GC 含量为 65.9%, 与其他鲤科鱼类 GC 含量相近, 没有明显差异, 但是低于胡子鲶科的 GC 含量 (67% - 73%) [16]. 这可能是由于 GC 含量与鱼类生活的气候环境有关, Jansen [21] 和 Bernardi 等 [22] 认为 GC 含量越高越容易适应热带气候.

本研究所涉及的 4 个鲤鱼种群 96 个个体间的单倍型序列显示, ITS-1 单倍型序列种类丰富, 总数达到 14 种, 占全部序列的 14.58%, 平均单倍型多样性和核苷酸多样性分别为  $0.637 \pm 0.055$  和  $0.00857 \pm 0.00200$ , 高于怒江角鱼 [23] ( $0.579 \pm 0.069, 0.00070 \pm 0.00012$ ), 与黄河裸体裂尻 [24] ( $0.700 \pm 0.218, 0.0026 \pm 0.0019$ ) 和青海湖裸鲤 [25] ( $0.783 \pm 0.053, 0.00205 \pm 0.00126$ ) 的相比, 遗传多样性略低. AMOVA 对遗传变异的分析表明, 全部遗传变异的 94.63% 来自种群内部, 远远大于各种群间的遗传变异, 说明鲤鱼各种群内个体间的遗传多样性较高. 另外, 群体间还有 9 种共享的单倍型序列, 其中的 hap-1 出现频率最高, 是所有种群的共享单倍型, 说明其是古老单倍型, 有可能是祖先单倍型.

### 3.2 种群遗传结构

群体遗传学认为,  $F_{st}$  值可以表示群体间的分化程度, 一般在 0 - 0.05 之间表示分化较弱, 0.05 - 0.15 之间表示遗传分化中等, 如达到 0.15 - 0.25 之间表示遗传分化较大, 而超过 0.25 时表示遗传分化极大. 本实验结果显示, 四个鲤鱼群体间的遗传分化系数  $F_{st}$  为 0.05373, 说明四个鲤鱼种群间存在中等偏低的遗传分化. 另外, 群体间相对遗传距离能反映群体间的亲缘关系, 本研究中种群间遗传距离在 0.02305 - 0.10129 之间, 小于笔者用 AFLP 分子标记获得的四个种群间的遗传距离 (0.106 - 0.146)<sup>[26]</sup>, 这可能是由于不同实验方法造成的, 建鲤和荷包红鲤种群间的遗传距离并非最近, 这可能表明经历连续多代的人工选育后<sup>[27]</sup>, 建鲤与亲本荷包红鲤间已经逐渐分化, 亲缘关系也逐渐变远, 逐步形成自己稳定的遗传结构.

鲤鱼是我国最重要的淡水养殖鱼类之一, 广泛分布于我国湖泊和河流等水域, 种群历史演化检测结果表明, 黑龙江野鲤、黄河鲤和荷包红鲤三个自然种群存在扩张趋势. 20 世纪后半叶以来, 黄河鲤就因为天然水域生态平衡的人为破坏和杂交鲤的混入, 导致了种质资源的严重破坏<sup>[28]</sup>, 因此今后在鲤鱼种质资源开发和利用的同时, 应该加强对原、良种的保护工作, 有必要像保护建鲤一样建立规范的良好保种和选育基地, 在保证种群自然扩张、提高遗传多样性的同时, 保护良种的种质资源, 维护良种的纯度和遗传稳定性.

### 4 参考文献

- [ 1 ] 魏晓华. 栉孔扇贝和海湾扇贝的遗传多样性研究及扇贝科几种贝类的分子系统学研究[学位论文]. 青岛: 中国海洋大学, 2004.
- [ 2 ] 程新峰, 席貽龙, 李化炳. 核 rDNA-ITS 区在无脊椎动物分子系统学研究中的应用. 动物学报, 2008, **54**(2): 244-245.
- [ 3 ] Cheng HL, Xia DQ, Wu TT *et al.* Study on sequences of Ribosomal DNA Internal Transcribed Spacers of clams belonging to the Veneridae family (Mollusca: Bivalvia). *Acta Genetica Sinica*, 2006, **33**: 702-710.
- [ 4 ] 牟希东, 白俊杰, 汪学杰等. 金鱼核糖体内转录间隔区 (ITS-1) 的克隆和序列分析. 淡水渔业, 2008, **38**(1): 74-76.
- [ 5 ] Zhou JF, Wu QJ, Ye YZ *et al.* Genetic divergence between *Cyprinus carpio carpio* and *Cyprinus carpio haematopterus* as assessed by mitochondrial DNA analysis, with emphasis on origin of European domestic carp. *Genetica*, 2003, **119**: 93-97.
- [ 6 ] Wang CH, Li SF. Genetic variability and relationships in mitochondrial DNA CO II gene sequence of red common carps in China. *Acta Genetica Sinica*, 2004, **31**(11): 1226-1231.
- [ 7 ] 童金荷, 吴清江. 三个鲤鱼品种线粒体基因片段序列保守性. 水生生物学报, 2001, **25**(1): 54-60.
- [ 8 ] 赵莹莹, 曹顶臣, 匡友谊等. 鲤鱼品系的部分线粒体序列的遗传变异. 农业生物技术学报, 2009, **17**(1): 59-66.
- [ 9 ] 喻达辉, 朱嘉濠, 贾晓平. 我国珠母贝属主要种类亲缘关系的初步分析. 海洋与湖沼, 2006, **37**(3): 211-217.
- [ 10 ] 王建军, 李家乐, 汪桂玲等. 我国五大湖三角帆蚌群体 ITS-1 序列变异分析. 湖泊科学, 2008, **20**(2): 208-214.
- [ 11 ] Insua A, Lopez MJ, Freire R *et al.* Sequence analysis of the ribosomal DNA internal transcribed spacer region in some scallop species (Mollusca: Bivalvia: Pectinidae). *Genome*, 2003, **46**(4): 595-604.
- [ 12 ] Sajdak SL, Phillips RB. Phylogenetic relationships among *Coregonus* species inferred from the DNA sequence of the first internal transcribed spacer (ITS1) of ribosomal DNA. *Can J Fish Aquat Sci*, 2003, **54**(7): 1494-1503.
- [ 13 ] Domanico MJ, Phillips RB, Oakley TH. Phylogenetic analysis of Pacific salmon (*genus Oncorhynchus*) using nuclear and mitochondrial DNA sequences. *Can J Fish Aquat Sci*, 1997, **54**(8): 1865-1872.
- [ 14 ] 陈雪峰, 李红霞, 俞菊华等. 奥利亚罗非鱼与尼罗罗非鱼 rDNA 内转录间隔区序列特征. 动物学杂志, 2009, **44**(2): 92-96.
- [ 15 ] Sambrook J, Russell DW. Molecular cloning: A laboratory manual. 3rd edition. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2002: 463-469.
- [ 16 ] 张颖, 聂刘旺, 宋娇莲. 缅甸陆龟线粒体全基因组的测序及分析. 动物学报, 2007, **53**(1): 151-158.
- [ 17 ] 童晓梅, 梁羽, 王威等. 藏鸡线粒体全基因组序列的测定和分析. 遗传, 2006, **28**(7): 769-777.
- [ 18 ] 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.
- [ 19 ] 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.

- [20] Fu YX. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 1997, **147**(2):915-925.
- [21] Jansen G, Devaere S, Weekers PH *et al.* Phylogenetic relationships and divergence time estimate of African anguilliform catfish( Siluriformes: Clariidae) inferred from ribosomal gene and spacer sequences molecular. *Mol Phylogen Evol*, 2006, **38**(1):65-78.
- [22] Bernardi G, Olofsson B, Filipski J *et al.* The mosaic genome of warm-blooded vertebrates. *Science*, 1985, **228**(4702):953-958.
- [23] 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.
- [24] 赵 凯,杨公社,李俊兵等. 黄河裸裂尻群体遗传结构和 cytb 变异分析. 水生生物学报, 2006, **30**(2):129-133.
- [25] 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.
- [26] 钟立强,张成锋,周 凯等. 四个鲤鱼种群遗传多样性的 AFLP 分析. 基因组学与应用生物学, 2010, **29**(2):259-265.
- [27] 张建森,孙小异. 建鲤综合育种新技术. 北京:科学出版社,1994:22-26.
- [28] 罗毅志,王 俊. 黄河鲤安全高效健康养殖技术. 河南水产, 2009, **2**:11-13.