

## 细鳞斜颌鲴 (*Plagiognathops microlepis*) 三个群体线粒体 Cyt *b* 基因的遗传变异\*

乔德亮<sup>1,3</sup>, 何晓梅<sup>1,3</sup>, 韦传宝<sup>1,3</sup>, 杨露<sup>1</sup>, 胡利<sup>1</sup>, 李思发<sup>2\*\*</sup>

(1: 皖西学院生物与制药工程系, 六安 237012)

(2: 上海海洋大学农业部水产种质资源与利用重点开放实验室, 上海 201306)

(3: 安徽仿生传感与检测技术省级实验室, 六安 237012)

**摘要:** 应用线粒体 Cyt *b* 基因序列分析法, 研究了细鳞斜颌鲴三个群体(梁子湖群体 19 尾、龙窝湖群体 19 尾、淮河群体 18 尾)的遗传变异关系。结果显示: 细鳞斜颌鲴线粒体 Cyt *b* 基因大小为 1149 bp。三个群体共测出 10 种单倍型, 116 个核苷酸变异位点, 多态位点百分率为 10.09%, 碱基组成中 A + T 含量(57% 左右)明显高于 G + C 含量。淮河群体含 5 种单倍型、111 个变异位点, 核苷酸多样性指数为 0.031223, 核苷酸多样性最丰富; 龙窝湖群体含 3 种单倍型、2 个变异位点, 核苷酸多样性指数为 0.000550, 核苷酸多样性最简单。梁子湖-龙窝湖、淮河-梁子湖、淮河-龙窝湖群体间的遗传距离分别是 0.001530、0.084682 和 0.084335。梁子湖-龙窝湖群体间遗传关系较近, 群体间的遗传分化仍在亚种范围内; 而淮河-梁子湖、淮河-龙窝湖群体间亲缘关系较远, 群体间的遗传分化可能已达到亚种水平的分化。

**关键词:** 细鳞斜颌鲴; 群体; 遗传变异; Cyt *b* 基因

## Genetic variation of mt DNA-Cyt *b* gene in three populations of *Plagiognathops microlepis*

QIAO Deliang<sup>1,3</sup>, HE Xiaomei<sup>1,3</sup>, WEI Chuanbao<sup>1,3</sup>, YANG Lu<sup>1</sup>, HU Li<sup>1</sup> & LI Sifa<sup>2</sup>

(1: Department of Biology and Pharmacy Engineering, West Anhui University, Lu'an 237012, P. R. China)

(2: Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Utilization (Ministry of Agriculture), Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, P. R. China)

(3: Anhui Provincial Laboratory of Biomimetic Sensor and Detecting Technology, West Anhui University, Lu'an 237012, P. R. China)

**Abstract:** Genetic variations of three populations (Liangzi Lake population of 19, Longwo Lake population of 19 and Huaihe River population of 18) of *Plagiognathops microlepis* were studied by sequence analysis of mitochondrial cytochrome *b* (Cyt *b*) gene. Gene fragments of 1149 bp were acquired by PCR and DNA sequencing techniques. There were 10 haplotypes, 116 nucleotide variable sites and 10.09% of nucleotide polymorphic loci among three populations of *Plagiognathops microlepis*. As a base composition, the content of A + T (about 57%) was obviously higher than that of C + G. Highest nucleotide diversity was observed in Huaihe River population (5 haplotypes, 111 nucleotide variable sites and 0.031223 of nucleotide diversity index), and lowest nucleotide diversity was detected in Longwo Lake population (3 haplotypes, 2 nucleotide variable sites and 0.000550 of nucleotide diversity index). Genetic distances between populations of Liangzi Lake and Longwo Lake, between populations of Huaihe River and Liangzi Lake, and between populations of Huaihe River and Longwo Lake were 0.001530, 0.084682 and 0.084335, respectively. There was a closer genetic relationship between populations of Liangzi Lake and Longwo Lake than that between populations of Huaihe River and the other two. Genetic difference between populations of Liangzi Lake and Longwo Lake has not risen to sub-species level, while genetic divergence between populations Huaihe River and Liangzi Lake and between populations Huaihe River

\* 农业部水产种质资源与利用重点开放实验室开放基金项目 (KFT2008 - 1) 和安徽省教育厅自然科学基金项目 (KJ2010B256) 联合资助。2010 - 09 - 29 收稿; 2010 - 12 - 24 收修改稿。乔德亮, 男, 1967 年生, 博士, 副教授; E-mail: qiaodl@wxc.edu.cn.

\*\* 通讯作者; E-mail: sfli@shou.edu.cn.

and Longwo Lake may have arrived at subspecies level.

**Keywords:** *Plagiognathops microlepis*; population; genetic variation; Cyt *b* gene

细鳞斜颌鲴(*Plagiognathops microlepis*)分类上隶属于鲤形目(Cypriniformes)、鲤科(Cyprinidae)、鲴亚科(Xenocyprinae)、斜颌鲴属(*Plagiognathops*),为人们喜爱的经济鱼类之一<sup>[1]</sup>.对于细鳞斜颌鲴的研究,1970s报道了其生物学特性、人工繁殖、养殖等<sup>[2-3]</sup>.近年来,由于其具有肉味鲜美、体型中等、生长速度快、养殖病害少等特点,我国许多地区开展了细鳞斜颌鲴的人工繁殖、养殖和资源保护利用工作<sup>[4-7]</sup>.

鱼类种质资源研究使用的方法有形态、养殖性能、核型、同工酶以及基因序列差异分析等<sup>[8]</sup>,其中基因序列的差异分析是目前研究的热点之一.除了核DNA基因外,线粒体DNA基因也被认为是研究鱼类群体遗传变异的良好材料<sup>[9-10]</sup>.线粒体DNA已被广泛应用于水产生物的群体遗传学研究,其中使用较多的标记基因有D-loop基因<sup>[11-12]</sup>、12S rRNA基因<sup>[13-14]</sup>、16S rRNA基因<sup>[15-16]</sup>、Cyt *b*基因<sup>[17-19]</sup>以及CO II基因<sup>[20-22]</sup>等.

关于鲴亚科鱼类线粒体DNA基因的研究,已有一些报道.肖武汉等<sup>[23]</sup>运用限制性内切酶的酶切方法对银鲴(*Xenocypris argentea*)自然群体线粒体DNA的限制性片断长度多态性进行研究.Xiao等<sup>[17]</sup>运用线粒体Cyt *b*基因序列研究鲴亚科鱼类的分子系统进化关系.何舜平等<sup>[24]</sup>运用线粒体Cyt *b*基因序列研究鲤科鱼类系统发育,其中包含了一部分鲴亚科鱼类.凌去非等<sup>[25]</sup>研究分析了鲤科25种鱼类线粒体CO II基因序列差异及其系统进化关系,其中也包含了一部分鲴亚科鱼类.这些报道研究了鲤科不同亚科之间、鲴亚科不同属之间的分子系统关系,而细鳞斜颌鲴不同群体之间的基因序列差异研究未见报道.

细鳞斜颌鲴在我国许多地区已作为养殖对象,但其种质资源研究少见报道,不同群体间的遗传关系研究未见报道.虽然细鳞斜颌鲴在我国多个水系有分布,但其主要还是分布于长江水系.长江是我国第一大河流,同时长江水系也是我国鱼类资源最丰富的水系.所以,本文选择细鳞斜颌鲴长江水系两个群体和淮河水系一个群体,应用线粒体Cyt *b*基因序列分析方法,对这三个群体的遗传差异进行研究,旨在为其种质资源和遗传关系的研究积累一些资料.

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

细鳞斜颌鲴三个群体分别是:长江水系湖北境内的梁子湖(梁子湖群体, LZL)19尾,长江水系安徽境内的龙窝湖(龙窝湖群体, LWL)19尾,淮河水系安徽境内的淮河一支流淠河(淮河群体, HHR)18尾.所有实验材料均为野生群体、随机取样,每尾鱼剪取鳍条少许,95%乙醇常温保存备用.

### 1.2 实验方法

1.2.1 DNA提取和PCR扩增 基因组DNA的提取采用常规的“酚-氯仿-异戊醇”法<sup>[26]</sup>,提取物经1.0%琼脂糖凝胶电泳检测,冰箱保存备用.线粒体Cyt *b*基因的PCR扩增反应,采用鲤科鱼类的通用引物L14724(5'-GAC TTG AAA AAC CAC CGT TG -3')和H15915(5'-CTC CGA TCT CCG GAT TAC AAG AC -3'),委托上海生工生物工程技术有限公司合成.PCR反应混合物中含28 μl 无菌水、5 μl KCl(10 × PCR缓冲液)、3 μl MgCl<sub>2</sub>(40 mmol/L)、4 μl dNTP(2.5 mmol/L)、2 μl 正向引物(5 μmol/L)、2 μl 反向引物(5 μmol/L)、4 μl 基因组DNA(约50 ng)、2 μl Taq 酶(1 IU/μl),反应总体积约为50 μl,稍离心后于PCR扩增仪上反应.PCR反应条件为:94 °C 预变性5 min,之后35个循环,每个循环反应包括94 °C 下45 s、55 °C 下45 s和72 °C 下60 s,最后72 °C 再延伸10 min,降温至10 °C 约10 min.反应产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳检测,冰箱保存备用.

1.2.2 基因序列测定及数据分析 PCR扩增产物委托上海生工生物工程技术有限公司进行双向测序,测序所用引物同扩增引物.测定的序列使用序列拼接软件Contig Express进行拼接,并进行人工校正.使用序列分析软件DNASar Lasergene 7.1对序列进行重排和同源比较.使用MEGA 4.0软件<sup>[27]</sup>,计算基因序列的碱基组成、变异位点、碱基转换数和颠换数,Tamura-Nei法计算遗传距离和核苷酸多样性指数,最大简约(Maximum Parsimony, MP)法构建个体间分子系统树,邻接(Neighbor-Joining, NJ)法构建单倍型间分子系统树(Kimura 2-Parameter模型),置信度由Bootstrap 1000次循环检验.

## 2 结果

### 2.1 PCR 扩增结果

细鳞斜颌鲷三个群体部分个体线粒体 Cyt *b* 基因 PCR 扩增产物的电泳图谱如图 1 所示,这些个体均出现一条清晰的明亮条带,大小约为 1200 bp,即细鳞斜颌鲷线粒体 Cyt *b* 基因的碱基数约为 1200.

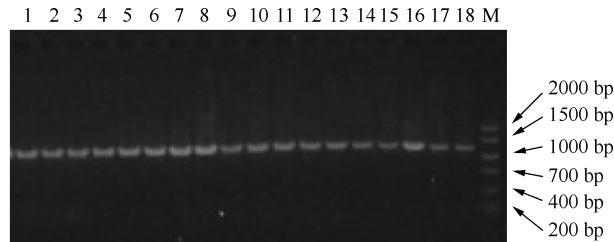


图 1 细鳞斜颌鲷三个群体线粒体 Cyt *b* 基因的扩增图谱  
(1-6:梁子湖群体;7-12:龙窝湖群体;13-18:淮河群体;M:标准分子量 DNA)

Fig. 1 Amplified patterns of mitochondrial Cyt *b* gene from 3 populations of *Plagiognathops microlepis*

### 2.2 基因序列差异

PCR 扩增结果显示细鳞斜颌鲷线粒体 Cyt *b* 基因大小约为 1200 bp,双向测序经软件拼接和人工核对后,除去两端不稳定碱基,实际选用 1149 bp 用于基因序列分析.

三个群体 56 个个体共测出 10 种单倍型.三个群体及十种单倍型的碱基组成相似,其中 A 含量最高(29.0%),G 含量最低(14.9%),A + T 含量(57%左右)明显高于 G + C 含量.符合其它鱼类以及脊椎动物线粒体 DNA 基因片段碱基组成的特点<sup>[15, 28]</sup>.

三群体共有 116 个核苷酸变异位点,多态位点百分率为 10.09%.淮河群体含 5 种单倍型、111 个变异位点,核苷酸多样性指数为 0.031223,核苷酸多样性最丰富.龙窝湖群体含 3 种单倍型、2 个变异位点,核苷酸多样性指数为 0.000550,核苷酸多样性最简单.龙窝湖-梁子湖群体存在 1 种共享单倍型(单倍型 1),龙窝湖-淮河群体存在 1 种共享单倍型(单倍型 5),而梁子湖-淮河群体间无共享单倍型.单倍型 2、3、4 为梁子湖群体的特征单倍型,单倍型 6 为龙窝湖群体的特征单倍型,单倍型 7、8、9、10 为淮河群体的特征单倍型(表 1).

表 1 细鳞斜颌鲷三个群体线粒体 Cyt *b* 基因单倍型分布、核苷酸多样性指数和变异位点

Tab. 1 Haplotype distribution, index of nucleotide diversity and variable site of mitochondrial Cyt *b* gene in 3 populations of *Plagiognathops microlepis*

群 体	单倍型										核苷酸多样性指数	变异位点	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			合计
梁子湖	10	4	3	2	0	0	0	0	0	0	19	0.002124	7
龙窝湖	12	0	0	0	4	3	0	0	0	0	19	0.000550	2
淮 河	0	0	0	0	3	0	3	3	7	2	18	0.031223	111
全 部	22	4	3	2	7	3	3	3	7	2	56	0.041293	116

### 2.3 分子系统遗传关系

细鳞斜颌鲷线粒体 Cyt *b* 基因的 10 种单倍型可分为两类:一类为单倍型 1、2、3、4、5、6,另一类为单倍型 7、8、9、10.两类单倍型间的遗传距离(10.03% - 10.45%)明显远于类内单倍型间的遗传距离(0.09% - 0.61%),两类单倍型间的碱基转换数(85 - 89)、颠换数(18 - 21)也明显多于类内单倍型间的碱基转换数

(0-5)、颠换数(0-3)。这些说明,单倍型 1、2、3、4、5、6 之间遗传差异较少,单倍型 7、8、9、10 之间遗传差异也较少,而单倍型 1、2、3、4、5、6 与 7、8、9、10 之间相差很多(表 2)。

表 2 细鳞斜颌鲴线粒体 Cyt *b* 基因十种单倍型间的遗传距离(左下角)和碱基转换数/颠换数(右上角)

Tab. 2 Genetic distance (left-lower triangle) and numbers of base transition / base transversion (right-upper triangle) of mitochondrial Cyt *b* gene among 10 haplotypes of *Plagiognathops microlepis*

单倍型	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1		1/2	3/1	1/1	0/1	0/1	86/19	87/18	87/18	88/18
2	0.0026		4/3	2/3	1/1	1/3	87/21	88/20	88/20	89/20
3	0.0035	0.0061		2/0	3/2	3/2	85/20	86/19	86/19	87/19
4	0.0017	0.0044	0.0017		1/2	1/2	85/20	86/19	86/19	87/19
5	0.0009	0.0017	0.0044	0.0026		0/2	86/20	87/19	87/19	88/19
6	0.0009	0.0035	0.0044	0.0026	0.0017		86/20	87/19	87/19	88/19
7	0.1004	0.1034	0.1003	0.1003	0.1014	0.1014		1/1	1/1	4/1
8	0.1006	0.1035	0.1004	0.1004	0.1016	0.1015	0.0017		2/0	2/0
9	0.1006	0.1035	0.1004	0.1004	0.1016	0.1015	0.0017	0.0017		5/0
10	0.1016	0.1045	0.1014	0.1014	0.1025	0.1025	0.0044	0.0044	0.0044	

三个群体间线粒体 Cyt *b* 基因的遗传距离计算结果显示,淮河-梁子湖(0.084682)、淮河-龙窝湖(0.084335)群体间的遗传距离明显远于梁子湖-龙窝湖(0.001530)群体间的遗传距离。这些说明,梁子湖群体与龙窝湖群体遗传分化较少,而淮河群体与其它两群体遗传分化历史较远。

应用 NJ 法构建的细鳞斜颌鲴线粒体 Cyt *b* 基因十种单倍型间分子系统树如图 2 所示,结合 10 种单倍型在三个群体中的分布情况进行分析,可以得知:龙窝湖群体单倍型与梁子湖群体单倍型首先聚在一起,然后再与淮河群体单倍型相聚。从图 3 可以看出,龙窝湖群体与梁子湖群体交织在一起,但淮河群体与其它两个群体已基本分开(3 个个体除外)。

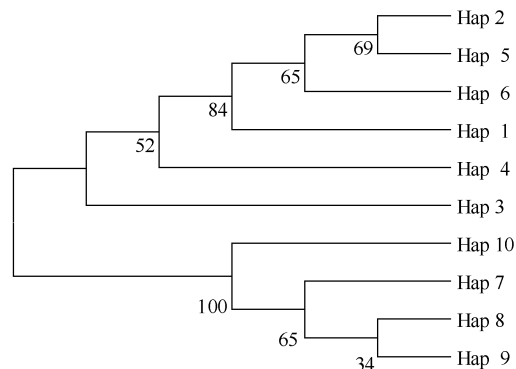


图 2 应用 NJ 法构建的细鳞斜颌鲴线粒体 Cyt *b* 基因十种单倍型间分子系统树  
Fig. 2 Molecular phylogenetic tree of mitochondrial Cyt*b* gene among 10 haplotypes of *Plagiognathops microlepis* constructed by the method of NJ

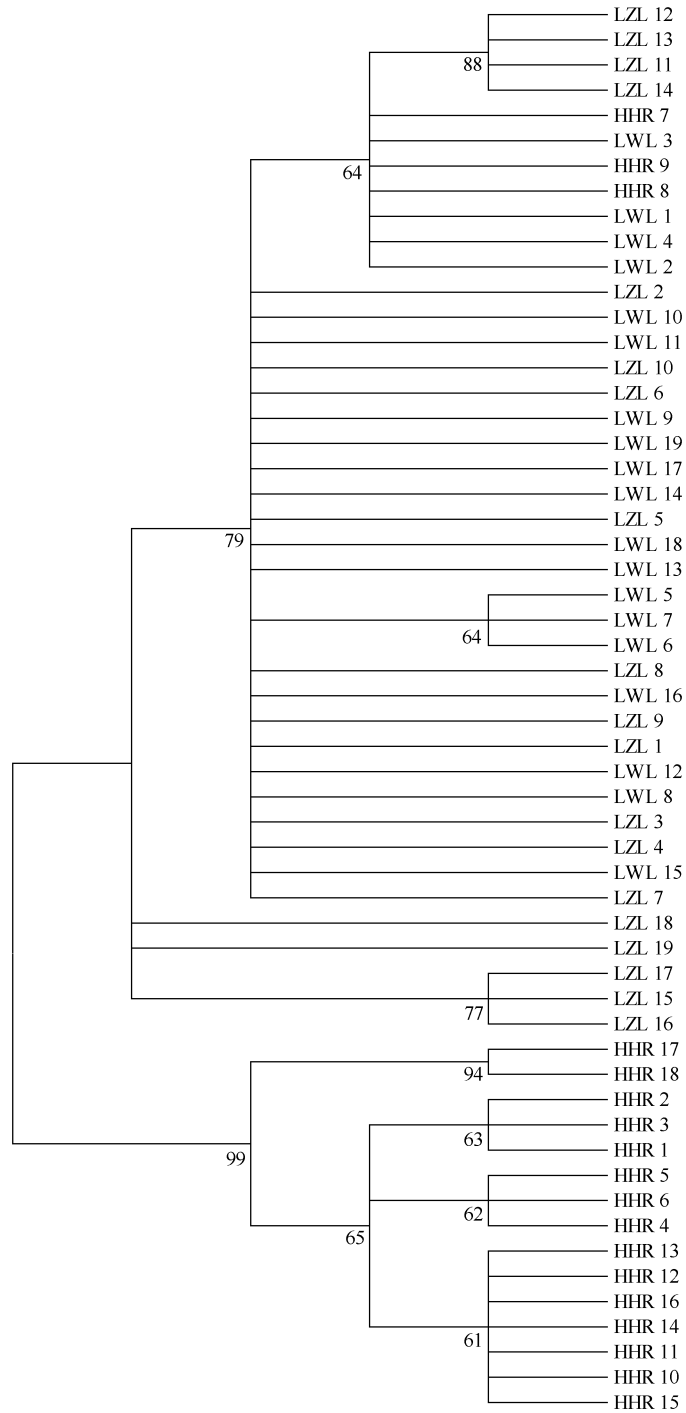


图3 应用 MP 法构建的细鳞斜颌鲷线粒体 Cyt *b* 基因三个群体 56 个个体间分子系统树  
Fig.3 Molecular phylogenetic tree of mitochondrial Cyt *b* gene among 56 individuals from 3 populations of *Plagiognathops microlepis* constructed by the method of MP

### 3 讨论

#### 3.1 细鳞斜颌鲴三个群体的亲缘关系和遗传分化

DNA 序列的变化是反映种群间亲缘关系最有力的依据之一. 一般亲缘关系相近的种群其群体间 DNA 序列相似性大于亲缘关系疏远的种群, 群体间遗传距离小于亲缘关系疏远的种群. 种群作为独立的生物学单元, 不同地理群体具有一定的适应和进化的潜在能力, 虽然群体间个体交流会降低这种潜在能力, 但是足够程度的隔离, 就有可能导致种内种群间明显的表型差异和遗传差异. 所以, 由于长期的隔离和适应于它们各自的环境, 鱼类不同群体之间出现遗传差异是有可能的, 且这种差异和群体所处的地理位置有关<sup>[29]</sup>. 本研究结果表明, 细鳞斜颌鲴三个群体中, 梁子湖群体与龙窝湖群体的亲缘关系较近, 淮河群体与它们遗传关系较远. 从地理分布上来看, 梁子湖位于长江中游, 龙窝湖位于长江下游, 同属于长江水系, 而淮河属于淮河水系, 与长江水系完全隔离. 所以, 细鳞斜颌鲴这三个群体的遗传关系可能与它们特定的栖息环境差异以及一定的地理隔离有关.

Avice<sup>[30]</sup>认为同一种的个体间基因序列一般有 0.1%–5% 的趋异. 也有研究者认为, 种内基因序列差异超过 6% 的个体间已有明显的亚种或种的分化<sup>[19, 31–32]</sup>. 本研究结果显示: 细鳞斜颌鲴三个群体中, 梁子湖-龙窝湖群体间线粒体 Cyt *b* 基因的遗传距离为 0.15%, 而淮河-梁子湖、淮河-龙窝湖群体间的遗传距离分别为 8.47% 和 8.43%. 由此推断, 细鳞斜颌鲴梁子湖-龙窝湖群体间的遗传分化仍在亚种范围内, 而淮河-梁子湖、淮河-龙窝湖群体间的遗传分化可能已达到亚种水平的分化. 当然, 还应该使用更多的分子标记来验证这一推断.

#### 3.2 细鳞斜颌鲴三个群体的遗传多态性和遗传标记

核苷酸多样性表示群体内各种单倍型两两配对差异的平均值, 是一个群体遗传多样性的指标<sup>[33]</sup>. 在淡水鱼类, 线粒体 DNA 多态性存在地理差异这一现象已被大量观察到. 一种最普遍的解释就是: 由于经过更新世冰期, 使种群受到“瓶颈效应”(Bottleneck effect) 的打击, 而后, 又受到“奠基者效应”(Founder effect) 的作用, 导致某些物种或种群遗传多样性贫乏<sup>[23–34]</sup>. 本研究结果表明, 淮河里细鳞斜颌鲴群体线粒体 Cyt *b* 基因保持丰富的遗传多态性, 一方面说明该河细鳞斜颌鲴的栖息环境没被破坏, 细鳞斜颌鲴能够在该河里很好地生存并繁衍; 另一方面说明细鳞斜颌鲴线粒体 Cyt *b* 基因含有良好的系统发育信息, 线粒体 Cyt *b* 基因是适合作为细鳞斜颌鲴遗传多态性分析的. 梁子湖、龙窝湖之前都与长江相通, 两个湖泊里的鱼群同属长江群体, 遗传多样性都较丰富. 新中国成立后, 人工设施使这两个湖泊分别与长江隔离, 两个湖泊里的鱼群开始独立适应各自的生态环境, 但由于隔离时间不长, 如渔业资源保护工作做得好, 其鱼群遗传多样性应该仍比较丰富. 但与淮河群体相比, 细鳞斜颌鲴梁子湖群体、龙窝湖群体的线粒体 Cyt *b* 基因的遗传多态性贫乏许多. 分析可能原因为: 有效群体的大小对后代种群的遗传多样性有很大影响, 即原始有效群体越大, 则后代种群的遗传多样性越丰富<sup>[15, 35]</sup>. 两个湖泊与长江隔离后, 人为活动可能破坏湖里细鳞斜颌鲴产卵场的生态环境, 过度捕捞等, 这就有可能导致在某个时期细鳞斜颌鲴的有效繁殖群体突然变小, 使得后代种群的遗传多样性减少(“瓶颈效应”和“奠基者效应”作用). 龙窝湖群体的遗传多样性比梁子湖群体更贫乏, 说明梁子湖细鳞斜颌鲴渔业资源保护工作做得比龙窝湖要好些, 梁子湖里细鳞斜颌鲴所受的影响小.

与核基因组相比, 线粒体 DNA 能够更快地固定所产生的不同基因型, 另外, 线粒体 DNA 具进化速度快、母系遗传等特点, 因而, 它能提供更有效和更灵敏的遗传标记. 这在鱼类已有大量研究报道<sup>[23, 34]</sup>. 线粒体 DNA 的丰富变异可以作为类群识别的基础, 它比形态学、同工酶和多位点探针等能提供更多的有效标记, 利用线粒体 DNA 标记进行类群识别, 已有不少成功的报道<sup>[23, 36]</sup>. 分析细鳞斜颌鲴三个群体线粒体 Cyt *b* 基因的单倍型, 发现三个群体都有各自的特征单倍型, 单倍型 2、3、4 为梁子湖群体特有, 单倍型 6 为龙窝湖群体特有, 单倍型 7、8、9、10 为淮河群体特有. 这些特征单倍型可作为细鳞斜颌鲴线粒体 Cyt *b* 基因的分子标记, 以此可进行这三个群体的类群识别.

用一段较短的 DNA 序列的变化代表整个生物基因组 DNA 序列的变化是一种抽样方法, 可能会带来偏差. 因此, 在无背景资料的情况下, 为了获得较为客观的结果, 往往需要更多的 DNA 位点来提供更多的信息以减少偏差. 在进行群体与进化分子遗传学研究时, 都要求较长的 DNA 序列或多个不同的片段序列, 以期

研究结果能更真实地反映生物类群的遗传结构和进化历史<sup>[15]</sup>。虽然本文选用的线粒体 Cyt b 基因是常用的研究群体分子遗传学的标记基因之一,但从一个基因序列的差异来评估细鳞斜颌鲟不同群体间遗传多样性和亲缘关系还远远不够。下一步笔者计划是选择其它一些基因进行研究分析,以得到更多的序列信息,从而得出更全面、更客观的结论。

#### 4 参考文献

- [1] 孟庆闻, 缪学组, 俞泰济等. 鱼类学(形态、分类). 上海: 上海科学技术出版社, 1989; 229-230.
- [2] 安徽省繁昌县龙窝渔业管理委员会, 安徽省芜湖地区水产管理站, 湖北省水生生物研究所第二室引种驯化组. 龙窝湖斜颌鲟生态调查报告. 水生生物学集刊, 1977, **6**(2): 122-127.
- [3] 湖北省黄冈地区水产技术推广站. 斜颌鲟养殖技术的研究. 水生生物学集刊, 1977, **6**(2): 127-131.
- [4] 鲁 斌, 凌曙光, 晓 斌等. 浅谈龙窝湖细鳞斜颌鲟原种资源保护. 安徽农学通报, 2003, (6): 118-120.
- [5] 李艳和, 江 河, 管远亮等. 细鳞斜颌鲟湖泊套养试验. 安徽农业科学, 2005, **33**(11): 2085-2086.
- [6] 江 河. 细鳞鲟规模化人工繁育技术. 水生态学杂志, 2009, **2**(5): 149-152.
- [7] 郭伟利, 曹 静, 刘芳芳等. 细鳞斜颌鲟成鱼养殖技术研究. 齐鲁渔业, 2010, **27**(2): 24-25.
- [8] 李思发. 中国淡水主要养殖鱼类种质研究. 上海: 上海科学技术出版社, 1998.
- [9] 吕国庆, 李思发. 鱼类线粒体 DNA 多态性研究和应用进展. 中国水产科学, 1998, **5**(3): 94-103.
- [10] 郭新红, 刘少军, 刘 巧等. 鱼类线粒体 DNA 研究新进展. 遗传学报, 2004, **31**(9): 983-1000.
- [11] Grunwald C, Stabile J, Waldman J R *et al.* Population genetics of shortnose sturgeon *Acipenser brevirostrum* based on mitochondrial DNA control region sequences. *Molecular Ecology*, 2002, **11**(10): 1885-1898.
- [12] 赵金良, 李思发, 蔡完其等. 长江水系不同水体鳊 mtDNA 控制区序列的遗传分析. 湖泊科学, 2007, **19**(1): 92-97.
- [13] 高天翔, 王玉江, 刘进贤等. 3 种青蟹线粒体 12S rRNA 基因序列分析. 水产学报, 2005, **29**(3): 313-317.
- [14] 任 岗, 章 群. 中国沙塘鳢属鱼类线粒体 12S rRNA 基因序列分析. 水生生物学报, 2007, **31**(4): 473-478.
- [15] 唐首杰, 李思发, 蔡完其. 不同倍性团头鲂群体的线粒体 DNA 分析. 中国水产科学, 2008, **15**(2): 222-229.
- [16] 刘楚吾, 徐田军, 刘 丽等. 笛鲷属(*Lutjanus*) 鱼类线粒体 16S rRNA 基因序列比较及系统学分析. 海洋与湖沼, 2009, **40**(5): 563-571.
- [17] Xiao WH, Zhang YP, Liu HZ. Molecular systematics of Xenocyprinae (teleostei: Cyprinidae): taxonomy, biogeography, and coevolution of a special group restricted in east Asia. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2001, **18**(2): 163-173.
- [18] 程起群, 温俊娥, 王云龙等. 刀鲚与湖鲚线粒体细胞色素 b 基因片段多态性及遗传关系. 湖泊科学, 2006, **18**(4): 425-430.
- [19] 程起群, 马春艳, 庄 平等. 基于线粒体 cyt b 基因标记探讨凤鲚 3 群体遗传结构和进化特征. 水产学报, 2008, **32**(1): 1-7.
- [20] Wang CH, Li SF. Phylogenetic relationship of ornamental(koi) carp. Oujiang color carp and long-fin carp revealed by mitochondrial DNA CO II gene sequences and RAPD analysis. *Aquaculture*, 2004, **131**: 83-91.
- [21] 王成辉, 李思发, 刘至治等. 3 种中华绒螯蟹群体线粒体 CO II 基因序列测定与进化分析. 水产学报, 2008, **32**(1): 8-12.
- [22] 林巧惠, 曾柳根, 刘芳兰等. 池蝶蚌(*Hyriopsis Schlegelii*) 线粒体 DNA CO II 基因的序列分析. 南昌大学学报(理科版), 2010, **34**(2): 185-188.
- [23] 肖武汉, 张亚平. 银鲟自然群体线粒体 DNA 的遗传分化. 水生生物学报, 2000, **24**(1): 1-10.
- [24] 何舜平, 刘焕章, 陈宜瑜等. 基于细胞色素 b 基因序列的鲤科鱼类系统发育研究(鱼纲: 鲤形目). 中国科学(C 辑: 生命科学), 2004, **34**(1): 96-104.
- [25] 凌去非, 李思发. 鲤科 25 种鱼类线粒体 CO II 基因序列差异及其系统进化关系. 水产学报, 2006, **30**(6): 747-752.
- [26] Sambrook J, Russell DW. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3rd ed). New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
- [27] Tamura K, Dudley J, Nei M *et al.* MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 2007, **24**: 1596-1599.

- [28] Meyer A. Evolution of mitochondrial DNA in fishes. In: Hochachka PW, Mommsen TP, eds. Biochemistry and molecular biology of fishes. Elsevier Science Publishers, 1993, 2: 1-38.
- [29] Turan C. Stock identification of Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) using morphometric and meristic characters. *ICES Journal of Marine Science*, 2004, 61: 774-781.
- [30] Avise JC. Molecular Markers, Natural History and Evolution. New York: Chapman and Hall, 1994.
- [31] 曹祥荣, 束峰钰, 张锡然等. 毛冠鹿与3种麋属动物的线粒体细胞色素 b 的系统进化分析. *动物学报*, 2002, 48(1): 44-49.
- [32] Yang XG, Wang YQ, Zhou KY *et al.* The authentication of *Oviductus Ranae* and their original animals by using molecular marker. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2002, 25(8): 1035-1039.
- [33] Nei M, Tajima F. DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases. *Genetics*, 1981, 97: 145-163.
- [34] Billington N, Hebert PDN. Mitochondrial DNA diversity in fishes and its implications for introductions. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1991, 48(supple): 80-94.
- [35] Ward RD, Grewe P. Appraisal of molecular genetic technique in fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 1994, 4: 300-325.
- [36] Birt TP. Mitochondrial DNA variation reveals genetically distinct sympatric populations of anadromous and nonanadromous Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1991, 48: 577-582.