

## 基于线粒体 DNA 分析青鱼养殖群体的遗传多样性

谢启明, 李卿青, 陈甜甜, 李西雷, 苏时萍\*

(安徽农业大学动物科技学院, 合肥 230036)

**摘要:** 为了解安徽省养殖青鱼群体的遗传多样性变化, 基于线粒体 *Cytb* 基因与 D-loop 区采用直接测序的方法, 分析了安徽省滁州、怀远和无为 3 个青鱼养殖群体的遗传多样性和群体分化, 并评估突变、环境选择和基因流等因素对遗传多样性的影响。结果显示: 3 个群体具有丰富的遗传多样性 ( $Hd > 0.5$ ,  $Pi > 0.05$ ); 群体间出现了高度分化 ( $Fst > 0.15$ ), 但是仍有遗传背景交叉; *Cytb* 基因与 D-loop 区分别检出 9 个和 41 个变异位点; 群体间基因交流明显 ( $Nm > 1$ ); 受到纯化选择作用 ( $Ka/Ks = 0 \sim 0.099$ )。

**关键词:** 线粒体 DNA; 青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*); 遗传多样性; *Cytb* 基因; D-loop 区

中图分类号: S965.111.2

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2020)03-0362-06

### Genetic diversity analysis based on the mitochondrial DNA of farmed *Mylopharyngodon piceus*

XIE Qiming, LI Qingqing, CHEN Tiantian, LI Xilei, SU Shipping

(School of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

**Abstract:** To research the change of genetic diversity of farmed *Mylopharyngodon piceus* population in Anhui Province, we compared nucleotide sequences of *Cytb* and D-loop genes of mitochondrial DNA (mtDNA) from three farmed populations to investigate the genetic diversity and population structure, and evaluated the effects of mutation, natural selection and gene flow to the genetic diversity. The result showed that three populations had abundant genetic diversity ( $Hd > 0.5$ ,  $Pi > 0.05$ ) and high genetic differentiation ( $Fst > 0.15$ ) with part of consistent genetic background. Nucleotide sequences of *Cytb* and D-loop genes had 9 and 41 mutation sites, respectively. The gene communication of interpopulation was obvious ( $Nm > 1$ ) and three populations suffered pure natural selection ( $Ka/Ks = 0-0.099$ ).

**Key words:** mitochondrial DNA (mtDNA); *Mylopharyngodon piceus*; genetic diversity; *Cytb*; D-loop

青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*) 是一种大型淡水鲤科鱼类, 具有较高的经济价值。青鱼主产地为长江中下游地区, 由于生活环境的破坏和大肆捕捞等原因, 产卵量从 1997 的 7.68 亿粒骤降到了 2009 年的 2.90 万粒<sup>[1]</sup>, 如今的产量主要来源于人工养殖。近年来, 水产养殖正在由高产模式向生态健康养殖模式转型, 对水产品苗种的品质要求也在逐渐增加。因此, 探明青鱼养殖群体的遗传多样性, 可以为繁育优质青鱼苗种和水产生态健康养殖的发展提供理论参考。

遗传多样性指生物遗传信息的丰富程度, 其本质是分子水平突变的累积。遗传多样性是一个群体或物种对环境适应与进化的物质基础, 遗传多样性

越高, 适应与进化的潜力越大<sup>[2]</sup>。

在养殖群体中常因为亲本数量的限制, 导致近亲繁殖, 使得遗传多样性降低、后代抗病能力和对环境适应能力的下降<sup>[3]</sup>。对遗传多样性的评估主要参考两个指标: 单倍型多样性 ( $Hd$ ) 和核酸多样性 ( $Pi$ ), 数值越大, 遗传多样性越高<sup>[4]</sup>。遗传多样性的检测包括多个水平: 个体水平的形态学检测; 细胞水平的染色体检测; 生化水平的同工酶法; 分子水平的基因型与基因检测等<sup>[5]</sup>。目前, 分子水平的检测是较为常用与精确的方法。

线粒体 DNA (mitochondrial DNA) 具有母系遗传、进化速率稳定以及含有易于设计引物的保守的核糖体 DNA 序列等特点, 是一种理想的分子水平的

收稿日期: 2019-07-19

基金项目: 安徽省水产产业体系项目 ([2016]84) 资助。

作者简介: 谢启明, 硕士。E-mail: 18720153@ahau.edu.cn

\* 通信作者: 苏时萍, 副教授。E-mail: sushiping@ahau.edu.cn

遗传多样性分子标记<sup>[6]</sup>。研究不同分类层级的遗传多样性对序列保守度有着不同的要求,如高度保守的12S rDNA 被应用于门一级的多样性分析,保守度适中的 *Cytb* 适用于属和种一级,非蛋白编码区的 D-loop 则可以大致地反映种群内部的遗传多样性<sup>[4]</sup>。

目前,对青鱼遗传多样性的研究方法主要有同工酶法、RAPD、微卫星和 mtDNA 等,研究对象多为野生群体<sup>[1,7]</sup>,但有关青鱼养殖群体的遗传多样性研究鲜有报道<sup>[8]</sup>。本研究基于线粒体 *Cytb* 基因和 D-loop 区,采用直接测序的方法分析安徽省青鱼养殖群体的遗传多样性,以期为青鱼种质保护和水产生态健康养殖的发展提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

青鱼样品采自安徽怀远荆山湖渔场、安徽滁州隆财渔业有限公司和安徽无为县国营水产养殖场,每个养殖场各 25 个幼鱼样品,取背部肌肉组织用无水乙醇 4℃ 保存,少量补充亲本来源于长江流域捕捞的野生青鱼。

### 1.2 方法

**1.2.1 青鱼线粒体 DNA 的提取** 青鱼肌肉组织使用上海诺伦生物医药技术有限公司 (LG-0107) 新鲜动物组织和细胞线粒体 DNA 抽提试剂盒抽提线粒体 DNA, -20℃ 保存。

**1.2.2 青鱼线粒体 *Cytb* 基因和 D-loop 区扩增、测序** 青鱼 *Cytb* 基因和 D-loop 区引物设计以 NCBI: NC\_011141.1 为模板,使用 Primer5.0 设计引物。*Cytb* 基因引物, F: 5' -AACCGAGACCAGTGACTT-3'; R: 5' -GGATTACAAGACCGATGCT-3'。D-loop 区引物, F: 5' -ACTTCGCACTATTCCTCATT-3'; R: 5' -GCCGTGGTGTATCAACT-3', 委托上海生物科技有限公司合成。

PCR 扩增使用 50 μL 体系: PremixTaq (TaKaRa Taq Version2.0 plus dye) (25 μL), 20 μmol·μL<sup>-1</sup> 的上游引物 (1 μL), 20 μmol·μL<sup>-1</sup> 的下游引物 (1 μL), DNA 模板 (2 μL), ddH<sub>2</sub>O 补充至 50 μL。

扩增程序为: 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 30 s, 52℃ (*Cytb*), 54℃ (D-loop) 退火 30 s, 72℃ 延伸 1.5 min, 共 35 个循环; 最后一个循环结束后, 72℃ 延伸 10 min。

PCR 扩增产物经凝胶电泳初步确定片段长度后,由上海桑尼测序公司进行产物纯化、Sanger 双向测序。

**1.2.3 遗传多样性评估** 序列经 MEGAX<sup>[9]</sup> 中 MUSCLE 比对后,使用 DNAsp5.0<sup>[10]</sup> 分析单倍型多样性 (Haplotype diversity, Hd)、核苷酸多样性 (Nucleotide diversity, Pi) 和核苷酸替换速率 (Nucleotide substitution rate,  $\theta$ )。遗传多样性程度参考文献<sup>[11]</sup>。

**1.2.4 群体分化评估** 使用 DNAsp5.0<sup>[10]</sup> 算群体间 Fst (Fixation index) 值,并进行卡方检验。群体分化标准参考文献<sup>[12]</sup>。使用 NETWORK5.0 (<http://www.fluxus-engineering.com>), 基于 MJ (Median-Joining) 法<sup>[13]</sup> 绘制单倍型网络图。

**1.2.5 遗传多样性来源评估** 使用 MEGAX<sup>[9]</sup> 分析碱基组成与变异位点。使用 DNAsp5.0<sup>[10]</sup> 计算 *Ka/Ks* (Nonsynonymous/synonymous) 值,分析选择压力,并计算基因流 (*Nm*)。使用 Arlequin3.5<sup>[14]</sup> 进行分子变异分析 (AMVOA)。

## 2 结果与分析

### 2.1 遗传多样性评估

对测序返回的数据,首先在 NCBI 中确定为目标基因序列,然后使用 MEGAX<sup>[8]</sup> 中的 MUSCLE 比对,去除两端低质量序列之后得到长度分别为 1 107 和 923 bp 的 *Cytb* 基因和 D-loop 区序列。

表 1 青鱼养殖群体遗传多样性信息

Table 1 Genetic diversity of farmed *M. piceus* populations

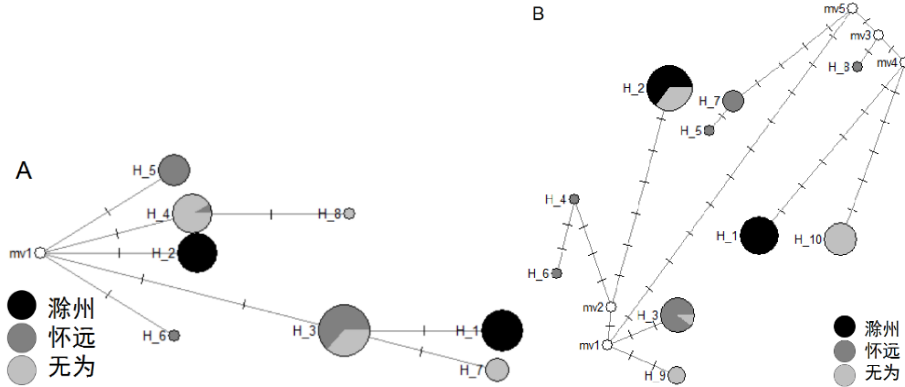
基因	群体	变异位点	单倍型	单倍型多样性	核苷酸多样性	核苷酸替换速率
Gene	Population	Variable site	<i>H</i>	<i>Hd</i>	<i>Pi</i>	$\theta$
<i>Cytb</i>	滁州	4	2	0.521 7	0.001 89	0.000 98
	怀远	5	4	0.585 7	0.001 53	0.001 26
	无为	5	4	0.688 3	0.001 79	0.001 24
	总体	9	8	0.825 6	0.002 05	0.001 71
D-loop	滁州	22	2	0.521 7	0.012 44	0.006 46
	怀远	25	6	0.691 2	0.010 24	0.008 01
	无为	26	4	0.684 2	0.012 51	0.008 06
	总体	41	10	0.829 3	0.014 24	0.009 56

表 2 青鱼养殖群体间 *Cytb* (对角线下) 和 D-loop 区 (对角线上) *Fst* 指数

Table 2 Pairwise *Fst* of *Cytb* (below diagonal) and D-loop (above diagonal) between farmed *M. piceus* populations

群体 Population	滁州 Chuzhou	怀远 Huaiyuan	无为 Wuwei
滁州 Chuzhou		0.307 74**	0.169 50**
怀远 Huaiyuan	0.221 28**		0.222 68**
无为 Wuwei	0.255 49**	0.132 03**	

注: \*\* 表示差异极显著 ( $P < 0.01$ ) Note: \*\* shows specific significant ( $P < 0.01$ )



圆圈面积大小代表单倍型频数, 不同的颜色代表不同的群体, 空心圆代表推测出的中间单倍型, 竖线代表突变位点  
Area of circle represents haplotype frequency; colors represent populations; blank circles represent the hypothesized intermediate haplotypes; strings represent the mutation sites

图 1 基于 *Cytb* (A) 与 D-loop 区 (B) 构建青鱼养殖群体 MJ 单倍型网络图

Figure 1 Median joining haplotype network of farmed *M. piceus* populations based on *Cytb* (A) and D-loop (B)

表 3 青鱼养殖群体 *Cytb* 基因碱基组成

Table 3 Base composition of *Cytb* of farmed *M. piceus* populations

密码子 Codon	T	C	A	G	A+T	C+G	%
第 1 位 First	23.7	26.4	24.4	25.5	48.1	51.9	
第 2 位 Second	41.5	25.8	19.7	13.0	61.2	38.8	
第 3 位 Third	15.7	34.8	46.8	2.7	62.5	37.5	
平均 Average	27.0	29.0	30.3	13.7	57.3	42.7	

为评估 3 个青鱼养殖群体的遗传多样性, 我们计算了 *Cytb* 基因与 D-loop 区的单倍型多样性 ( $Hd$ ) 和核苷酸多样性 ( $Pi$ ) 两个主要参数。结果 (表 1) 表明, *Cytb* 基因与 D-loop 区均具有丰富的单倍型多样性 ( $Hd > 0.5$ ), 其中无为群体  $Hd$  最高, 滁州群体最低。但是在怀远群体内两者数值差异明显, *Cytb* 基因低于 D-loop 区。虽然核苷酸多样性 *Cytb* 基因与 D-loop 区间存在数量级的差异, 但是核苷酸多样性 ( $Pi$ ) 与核苷酸替换速率 ( $\theta$ ) 的比值是一致的。如果以 D-loop 区为标准, 3 个青鱼养殖群体也具有丰富的核苷酸多样性 ( $Pi > 0.05$ )。并且, *Cytb* 基因与 D-loop 的核苷酸多样性趋势一致, 表现为滁州与无为群体数值相近, 怀远群体较低。然而怀远与无为群体有着相近的核苷酸替换速率, 但是核苷酸多样性出现了差异。同样地, 滁州与无为群体核苷酸

多样性相似, 单倍型多样性和核苷酸替换速率却有所不同。

表 4 青鱼养殖群体 *Cytb* 基因选择压力分析

Table 4 Analysis of selection pressure *Cytb* of farmed *M. piceus* populations

基因 Gene	群体 Population	$Ka/Ks$
<i>Cytb</i>	滁州	0.000
	怀远	0.000
	无为	0.099

表 5 青鱼养殖群体间 *Cytb* 基因 (对角线下) 与 D-loop 区 (对角线上) 基因流分析

Table 5 Pairwise  $Nm$  of *Cytb* (below diagonal) and D-loop (above diagonal) between farmed *M. piceus* populations

基因流 ( $Nm$ )	滁州 Chuzhou	怀远 Kuaiyuan	无为 Wuwei
滁州 Chuzhou		1.12	2.45
怀远 Kuaiyuan	1.76		1.75
无为 Wuwei	1.46	3.29	

## 2.2 群体分化评估

分别计算了 *Cytb* 基因与 D-loop 区的群体间 *Fst* 指数 (表 2), 并绘制了单倍型网络图 (图 1), 用以评估群体分化程度与群体结构推断。*Fst* 指数显示出

3 个群体间出现了高度的群体分化 ( $F_{st} > 0.15$ ), 并具有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。D-loop 区  $F_{st}$  数值比 *Cytb* 基因更高, 但是滁州与无为群体却是相反的。这在单倍型网络图中得到了解释: *Cytb* 基因中滁州与无为群体没有共享单倍型, 但在 D-loop 区中共享单倍型 H\_2。此外,  $F_{st}$  指数越高的群体间共享单倍型越少, 中间突变位点与推测单倍型越多。比如, D-loop 区滁州与怀远群体间没有共享单倍型; 怀远与无为群体间共享单倍型 H\_3; 滁州与无为群体间

虽然也只有一个共享单倍型 H\_2, 但是突变距离更短, 这都与  $F_{st}$  指数相对应。同样地,  $F_{st}$  指数低的群体间往往具有共享单倍型, 并且突变距离更近。比如,  $F_{st}$  指数最低的怀远与无为群体间共享 *Cytb* 基因的 2 个单倍型 H\_3 和 H\_4。尽管  $F_{st}$  指数将 3 个群体间定义为高度分化, 但是在单倍型网络图中并没有依据地理位置发生聚集, 并且通过数次的突变仍然可以联系在一起。

表 6 青鱼养殖群体间 *Cytb* 与 D-loop 区 AMOVA 分析

Table 6 Analysis of molecular variance (AMOVA) of *Cytb* and D-loop among farmed *M. piceus* populations

基因 Gene	变异来源 Source of variation	自由度 DF	平方和 SS	变异百分比/% Percentage of variation
<i>Cytb</i>	群体间 (Intra-populations)	2	13.126	20.96
	群体内 (Inter-populations)	63	60.541	79.04
	总体 (Total)	65	73.667	100
D-loop	群体间 (Intra-populations)	2	75.485	23.26
	群体内 (Inter-populations)	56	305.803	76.74
	总体 (Total)	58	381.288	100

### 2.3 遗传多样性来源分析

为了解 3 个青鱼养殖群体的遗传多样性来源, 分别分析了 *Cytb* 基因与 D-loop 区的序列多态性、选择压力和基因流, 并采用 AMOVA 方法分析群体内与群体间变异组成。

*Cytb* 基因序列中共发现 9 个变异位点: 7 个简约信息位点, 2 个单碱基突变位点。转换位点 2 个, 分别位于密码子的第 1 位点和第 3 位点, 颠换位点 1 个, 位于密码子第 3 位点。将 *Cytb* 基因序列翻译成氨基酸序列后, 仅发现一个变异位点。在 D-loop 区序列中共发现 41 个变异位点: 简约信息位点 38 个, 单碱基突变位点 3 个。转换位点 12 个, 颠换位点 1 个, 转换位点显著多于颠换位点。*Cytb* 基因 (表 3) 和 D-loop 区序列碱基组成分别为 A+T (57.3%) 和 (66.9%), 呈现明显的 AT 碱基偏倚。由于 D-loop 区不编码蛋白, 因此只计算 *Cytb* 基因的  $Ka/Ks$  值, 分析选择压力。结果 (表 4) 表明 3 个青鱼养殖群体的  $Ka/Ks$  值远小于 1 (0~0.099), 说明 3 个群体都受到了纯化选择作用。基因流分析显示 3 个群体间有着明显的基因交流 ( $Nm > 1$ ), 并且基因流的数值大小与  $F_{st}$  指数成反比, 与遗传多样性成正比。AMOVA 分析得到群体间变异占比分别为 20.96% (*Cytb*) 和 23.26% (D-loop), 群体内变异占比为 76.74% (D-loop) 和 79.04% (*Cytb*)。这

意味着 3 个群体内的遗传多样性主要来自于自身序列多样性, 部分来自群体间基因交流, 并受到纯化选择作用降低遗传多样性。

### 3 讨论与结论

遗传多样性是生物适应与进化的基础, 遗传多样性越高的群体, 对环境的适应能力与进化的潜力越高, 主要受到突变、基因流、基因重组、遗传漂变和自然选择的影响<sup>[2]</sup>。本文采用线粒体基因组 *Cytb* 基因和 D-loop 区作为分子标记, 评估了安徽省 3 个青鱼养殖群体的遗传多样性与群体分化, 并分析其遗传多样性的主要来源。

遗传多样性评估主要计算单倍型多样性 ( $Hd$ ) 和核苷酸多样性 ( $Pi$ ) 两个参数, 其数值与遗传多样性成正比。本研究分析得出 3 个群体遗传多样性较为丰富 ( $Hd > 0.5$ ,  $Pi > 0.05$ ), 其中无为群体的遗传多样性最高。然而, 它与野生青鱼群体相比仍有差距。比如, 杨宗英等<sup>[7]</sup>基于 D-loop 区测得长江中游原种场和鄱阳湖野生青鱼的  $Hd = 0.950$ ,  $Pi = 0.01242$ ; 李思发等<sup>[15]</sup>基于 *NDS/6* 基因、*Cytb* 基因和 D-loop 区测得长江中下游野生青鱼的  $Hd = 0.890$ ,  $Pi = 0.011$ ; 付晓艳<sup>[16]</sup>基于 *Cytb* 基因测得长江与珠江水系野生青鱼的  $Hd = 0.79804$ ,  $Pi = 0.00159$ 。与前人研究相比, 遗传多样性差异主要体现在单倍型多样性, 而核苷

酸多样性却没有太大的差异,这可能是由于线粒体DNA有着稳定的进化速率。同样地,在银鲳(*Pampus argenteus*)<sup>[17]</sup>、刀鲚(*Coilia nasus*)<sup>[18]</sup>和斜带髯鲷(*Haplozenys nitens*)<sup>[19]</sup>的研究中也得到了核苷酸多样性相近的结果。然而,在大黄鱼(*Larimichthys crocea*)<sup>[20]</sup>和中国达氏鳊(*Huso dauricus*)<sup>[21]</sup>的研究中,养殖群体的核苷酸多样性显著低于野生群体,这与本文中怀远与无为群体间,滁州与无为群体间相反的核苷酸替换速率与核苷酸多样性差异相一致,可能是因为亲本数量的差异导致了这一现象。亲本数量多的群体,即使核苷酸替换速率低,仍能拥有较高的遗传多样性;反之,亲本数量少的群体,遗传多样性则有所降低。另一方面几乎所有的养殖群体的单倍型多样性均低于野生群体,可能是因为人工选育或者是亲本数量不足、更新不及时造成的近亲繁殖,使得部分单倍型被随机漂变去除。在对银鲳<sup>[17]</sup>、鳊鱼(*Siniperca chuatsi*)<sup>[22]</sup>、大黄鱼<sup>[20]</sup>和中国达氏鳊<sup>[21]</sup>养殖群体与野生群体的遗传多样性研究中,也得到了养殖群体单倍型多样性低于野生群体的结果。

遗传多样性主要受到突变、基因流、基因重组、遗传漂变和自然选择的影响,前三者可以提高遗传多样性,而后两者则是降低<sup>[24]</sup>。线粒体属于母系遗传,没有基因重组。因此,本文主要通过突变、基因流和自然选择分析3个群体的遗传多样性来源,以及对群体分化的影响。*Cytb*基因和D-loop区分别检测到9个和41个变异位点,并且*Cytb*基因DNA序列翻译成氨基酸序列后仅检出1个变异位点。这是由于D-loop区属于非编码区,不受环境选择的影响,有着较高的核苷酸替换速率,是线粒体DNA中遗传多样性最为丰富的区域<sup>[4]</sup>。3个群体的*Ka/Ks*比值远小于1(0~0.099),表明3个群体受到了纯化选择。这解释了为什么怀远群体内D-loop区与*Cytb*基因的单倍型多样性有着较大的差异。同时,也解释了无为群体有着最高的单倍型多样性(*Ka/Ks*=0.099)。同样地,在对鳊鱼(*Hypophthalmichthys nobilis*)养殖群体<sup>[23]</sup>的选择压力分析中,测得所有群体*Ka/Ks*为0,除了5号群体为0.17,拥有最高的遗传多样性。虽然*Fst*指数给出了3个群体间属于高度分化的结果,但是单倍型网络图的结果却暗示着3个群体间有着遗传背景交叉。青鱼属于洄游性鱼类,每年都会洄游至产卵场产卵。野生群体之间因为洄游产卵产生一定的基因交流,减弱了环境对群体分化的影响,使得野生群体之间分化不明显。李思发等<sup>[15]</sup>对长江中下游

野生青鱼的研究中发现野生青鱼群体间的*Fst*=0.045,属于轻微分化。本研究中的基因流分析显示,3个群体间具有明显的基因交流(*Nm*>1),并且*Nm*的数值与*Fst*指数成反比,与遗传多样性成正比。因此,3个养殖场的野生补充亲本可能来自同一个群体或者在洄游产卵的过程中发生了基因交流,使得3个群体间具有部分相同的遗传背景。然后经过养殖场迭代的繁育,部分单倍型被遗传漂变固定下来或者漂去,产生了3个群体间虽然高度分化但拥有共享单倍型或者独有单倍型间可由数次突变联系起来的现象。这说明基因交流可以减弱群体因环境适应造成的群体分化。与之相同,在对大黄鱼<sup>[20]</sup>和鳊鱼<sup>[23]</sup>养殖群体的单倍型研究中,养殖群体间的*Fst*数值显示出了群体分化,但是单倍型网络图并没有出现明显的地理分化,仍有一定的遗传背景交叉。通过AMOVA分析得出群体内变异比重为75%左右,群体间变异比重为25%左右。换句话说,3个群体的遗传多样性主要来自于自身序列多态性,部分来自于基因交流,并受到环境的纯化选择作用而降低了遗传多样性。

本研究基于线粒体*Cytb*基因与D-loop区采用直接测序的方法评估了3个青鱼养殖群体的遗传多样、群体分化和遗传多样性来源。3个群体的遗传多样性主要来自于突变与基因交流,并受到环境选择。虽然3个群体由于环境适应和人为选择等原因发生了群体分化,但是由于基因交流使得3个群体仍有部分共同的遗传背景。基因交流不仅可以减弱群体分化,还可以丰富遗传多样性。在以后的工作中可以尝试通过基因交流提高遗传多样性,但是需要避免选取具有相同遗传背景的个体。*Cytb*基因与D-loop区虽然可以大致地反应种群遗传多样性,但这只是生物遗传多样性中很小的一部分。如果要更为准确的评估遗传多样性和群体结构等,应当采用更为充分的分子标记。

## 参考文献:

- [1] 沈浩,刘登义.遗传多样性概述[J].生物学杂志,2001,18(3):5-7.
- [2] QI P Z, QIN J H, XIE C X. Determination of genetic diversity of wild and cultured topmouth Culter (*Culter alburnus*) inhabiting China using mitochondrial DNA and microsatellites[J]. Biochem Syst Ecol, 2015, 61: 232-239.
- [3] ARDURA A, PLANES S, GARCIA-VAZQUEZ E. Applications of DNA barcoding to fish landings: authentication and diversity assessment[J]. Zoo Keys, 2013, 365: 49-65.
- [4] 邱芳,伏健民,金德敏,等.遗传多样性的分子检测[J].

- 生物多样性, 1998, 6(2): 143-150.
- [5] GALTIER N, NABHOLZ B, GLÉMIN S, et al. Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal[J]. *Mol Ecol*, 2009, 18(22): 4541-4550.
- [6] 毛瑞鑫, 张雅斌, 郑伟, 等. 四大家鱼种质资源的研究进展[J]. *水产学杂志*, 2010, 23(3): 52-9.
- [7] 杨宗英, 汪登强, 陈大庆, 等. 基于 mtDNA 序列分析青鱼群体遗传结构[J]. *淡水渔业*, 2015, 45(2): 3-7.
- [8] 王丰, 张家华, 沈玉帮, 等. 青鱼野生与养殖群体遗传变异的微卫星分析[J]. *水生生物学报*, 2019, 43(5): 939-944
- [9] LIBRADO P, ROZAS J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data[J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [10] GRANT W S, BOWEN B W. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation[J]. *J Hered*, 1998, 89(5): 415-426.
- [11] WRIGHT S. Evolution in Mendelian populations[J]. *Bltm Mathcal Biol*, 1990, 52(1/2): 241-295.
- [12] BANDELT H J, FORSTER P, ROHL A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies[J]. *Mol Biol Evol*, 1999, 16(1): 37-48.
- [13] KUMAR S, STECHER G, LI M, et al. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms[J]. *Mol Biol Evol*, 2018, 35(6): 1547-1549.
- [14] EXCOFFIER L, LISCHER H E L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows[J]. *Mol Ecol Resour*, 2010, 10(3): 564-567.
- [15] 李思发, 吕国庆, L. 贝纳切兹. 长江中下游鲢鳙草青四大家鱼线粒体 DNA 多样性分析[J]. *动物学报*, 1998, 44(1): 82-93.
- [16] 付晓艳. 长江和珠江水系青鱼线粒体细胞色素 b 基因遗传多样性分析[D]. 广州: 暨南大学, 2011.
- [17] 彭士明, 施兆鸿, 侯俊利. 基于线粒体 D-loop 区与 CO I 基因序列比较分析养殖与野生银鲳群体遗传多样性[J]. *水产学报*, 2010, 34(1): 19-25.
- [18] 魏广莲, 徐钢春, 顾若波, 等. 基于 mtDNA Cytb 序列分析养殖与野生刀鲚群体的遗传多样性[J]. *江西农业大学学报*, 2012, 34(6): 1216-1221, 1244.
- [19] 陈竹, 钟山, 罗大极, 等. 基于线粒体 D-loop 区比较分析野生与养殖斜带髯鲷种群的遗传多样性[J]. *水生生物学报*, 2011, 35(5): 761-767.
- [20] 湛微, 张凤英, 王景, 等. 基于 CO I 基因序列的东、黄海区野生与养殖大黄鱼遗传多样性分析[J]. *中国水产科学*, 2016, 23(6): 1255-1267.
- [21] 户国, 程磊, 马波, 等. 中国达氏鳇野生群体和两个养殖群体的线粒体遗传多样性分析[J]. *中国水产科学*, 2018, 25(4): 803-810.
- [22] 余锐, 梁旭方, 易提林, 等. 鳊鱼 3 个养殖群体经济性状及遗传多样性分析[J]. *水产科学*, 2012, 31(9): 511-515.
- [23] 刘慧芬, 王静, 黄建美, 等. 河南省鳊养殖群体的遗传多样性与选择压力分析[J]. *淡水渔业*, 2018, 48(5): 22-29.
- [24] 祝雯, 詹家绥. 植物病原物的群体遗传学[J]. *遗传*, 2012, 34(2): 157-166.