

文章编号: 1004 - 7271(2008)02 - 0145 - 07

用 RAPD 及 mtDNA D-loop 区序列揭示 长江下游长春鳊遗传多样性

李建林, 唐永凯, 俞菊华

(中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 农业部水生动物遗传育种和
养殖生物学重点开放实验室, 江苏 无锡 214081)

摘要:应用 RAPD 和 mtDNA D-loop 区序列对长江下游长春鳊群体的遗传多样性进行分析。从 40 个随机引物中筛选出扩增条带清晰的 28 个引物,对 24 尾采自长江下游常熟江段长春鳊的基因组 DNA 进行扩增,共检测到 178 个位点,扩增片段大小在 0.2 ~ 2 kb 之间,其中多态位点有 83 个,占 46.63%;个体间最大的遗传距离为 0.132 6,最小的遗传距离为 0.047 6,平均遗传距离为 0.088 5;群体的 Shannon 多样性指值为 0.098 6。RAPD 结果表明该长春鳊群体的遗传多样性处于中等水平。对其中 8 尾长春鳊 mtDNA D-loop 区序列(938 bp)进行了分析,发现了 8 种单倍型,检测出 17 个多态性核苷酸变异位点,多态位点比例为 1.81%,变异位点为 15 个转换,2 个颠换;单倍型多态性(h)为 1.000,核苷酸多态性(p_i)为 0.006 2,平均核苷酸差异数(K)为 5.821,单倍型间平均遗传距离为 0.006 3。结果说明长春鳊 mtDNA D-loop 区在个体间的遗传差异较小。

关键词:长春鳊; RAPD; 线粒体 DNA 控制区; 遗传多样性

中图分类号: S 917 文献标识码: A

Genetic diversity in *Parabramis pekinensis* from the lower reaches of the Yangtze River from RAPD analysis and mitochondrial D-loop sequences

LI Jian-lin, TANG Yong-kai, YU Ju-hua

(Key Open Laboratory for Genetic Breeding of Aquatic Animals and Aquaculture Biology, Ministry of Agriculture, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China)

Abstract: Genetic diversity in *Parabramis pekinensis* from the lower reaches of the Yangtze River was analyzed using RAPD and mtDNA D-loop sequence. Twenty-eight primers were chosen from total 40 random primers for amplification in 24 individuals genomic DNA, total 178 RAPD sites were detected in these individuals, 83 of 178 loci were polymorphic, which accounted for 46.63%. The sizes of DNA fragments were from 0.2 kb to 2 kb. The genetic distances between individuals were from 0.047 6 to 0.132 6, and average genetic distance was 0.088 5. The Shannon's index was 0.098 6. The RAPD results showed the genetic diversity of the *Parabramis pekinensis* population in lower reaches of the Yangtze River was in medium state. Sequences

收稿日期: 2007-06-27

基金项目: 国家科技基础条件平台(2005DKA30470-003)

作者简介: 李建林(1974-), 男, 江西临川人, 助研, 主要从事鱼类遗传育种方面的研究。E-mail: lij@ffrc.cn

通讯作者: 俞菊华, E-mail: yujh@ffrc.cn

comparison of 938 bp mtDNA D-loop region from 8 individuals of *Parabramis pekinensis* revealed they were 8 haplotypes and the haplotypic diversity is 1.000. There were total 17 variation loci, which came from 15 transition sites, and 2 transversion sites in 938 bp D-loop region. The mutation rate was 1.81%, the nucleotide diversity is 0.0062, and the average number of nucleotide differences is 5.821. The average genetic distance of haplotypes is 0.0063. Sequences comparison of mtDNA D-loop displayed little genetic diversity of the *Parabramis pekinensis* population.

Key words: *Parabramis pekinensis*; RAPD; mitochondrial D-loop; genetic diversity

近几十年来,由于兴建水利工程、围湖造田、过度捕捞以及缺乏科学管理等原因,使我国许多淡水鱼类天然资源处于严重的衰退之中,其基因库也受到了严重威胁。长江是我国重要的淡水鱼类天然种质库,长江渔业资源的盛衰变化对我国淡水渔业有着重要的影响,目前长江渔业资源量呈不断下降趋势^[1]。对长江鱼类的遗传结构进行研究,探讨群体中的遗传变异和遗传多样性,对保护长江种质资源库以及合理开发和利用长江天然资源具有重要指导作用。目前,众多学者已用同工酶、RAPD、mtDNA的RFLP等方法对长江水系的青、草、鲢、鳙、中华鲟、刀鲚^[2-7]等的遗传多样性进行了研究,为科学评价它们的遗传多样性、种质资源保护和遗传育种提供了可靠的科学依据。长春鳊(*Parabramis pekinensis*)又称鳊鱼,广泛分布于我国江河、湖泊中,在我国淡水养殖业及淡水捕捞业中占有重要的经济地位,也是长江中、下游主要渔获物之一。本文利用随机扩增多态性DNA(RAPD)技术和线粒体DNA控制区核苷酸序列分析,对长江下游长春鳊的遗传多样性进行了研究,为保护和合理利用该鱼类种质资源提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

长春鳊于2006年6月27日在长江常熟铁黄沙江段捕获,活鱼用氧气袋运回实验室,随机取24尾鱼用于实验,其中19尾为1龄幼鱼,体长为15.2~20.6 cm,体重为120.3~187.2 g;4尾为2龄鱼,体长为20.1~22.2 cm,体重为177.1~233.2 g;1尾为3龄鱼,体长为28.3 cm,体重为502.7 g。

1.2 方法

1.2.1 总DNA的提取

从鱼尾静脉抽血0.2~0.5 mL,加入1/6体积的ACD抗凝剂,置于4℃冰箱中沉淀2 h。吸取30 μL血细胞,加入装有470 μL SET缓冲液中混匀,再依次加入SDS和蛋白酶K分别至终浓度0.5%和200 μg/μL,55℃水浴中消化过夜,再分别用饱和酚、酚氯仿、氯仿/异戊醇抽提除蛋白,最后用预冷无水乙醇沉淀DNA^[8],烘干后TE溶解。所得基因组DNA样品用紫外分光光度计测量DNA样品的浓度和纯度,同时辅于琼脂糖凝胶电泳检测基因组DNA的完整性并估测分子量。将DNA原样稀释至10 ng/μL,4℃保存备用。

1.2.2 RAPD反应

PCR反应总体积为25 μL,其中含10×反应缓冲液2.5 μL,2 μmol/L MgCl₂,200 μmol/L dNTP,0.4 μmol/L引物,2.5 U Taq酶,25 ng DNA,用灭菌双蒸馏水补足体积。PCR反应条件为:94℃ 3 min;94℃ 45 s,36℃ 45 s,72℃ 60 s,35个循环;72℃延伸10 min;4℃保存。

1.2.3 mtDNA的D-loop区段的扩增

用上游引物DL1:5'-accctggctcccaaga-3'和下游引物DL2:5'-atcttagcatcttcagt-3'^[9]扩增线粒体D-loop区全序列,引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。PCR反应总体积为50 μL,其中含1×反应缓冲液5 μL,2 μmol/L MgCl₂,200 μmol/L dNTP,引物各0.4 μmol/L,5 U Taq酶,50 ng DNA。PCR反应条件为:94℃ 3 min;94℃ 45 s,56℃ 45 s,72℃ 60 s,34个循环;72℃延伸10 min;4℃保存。

1.2.4 琼脂糖凝胶电泳及 D-loop 区 PCR 产物纯化

PCR 扩增产物在 1.2% 的琼脂糖凝胶(含 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ EB)上电泳,120 V 稳压电泳 45 min。电泳结果在 ImageMasterVDS 影像仪中拍照、保存。D-loop 区段 PCR 产物拍照后切下目的条带,用 DNA 回收试剂盒(TaKaRa)纯化后,送上海基康生物工程有限公司测序,测序引物用上述 PCR 扩增引物。

1.2.5 数据分析

根据 RAPD 产物电泳结果,在相同的迁移率上出现的带记为 1,未出现的带记为 0,构建原始数据矩阵,计算和分析种群的遗传多样性数值。

多态位点比例 $P = \text{多态位点数}/\text{位点总数}$ 。

种群内相似性指数 $F = 2N_{xy}/(N_x + N_y)$ 计算个体间遗传相似性指数, N_{xy} 是个体 N_x 和 N_y 的共有带数, N_x 和 N_y 分别是个体 x 和 Y 的扩增带数,遗传距离 $d = 1 - F^{[10]}$ 。

Shannon 多样性指数 $H_0 = -\sum p_i \ln p_i^{[11]}$, p_i 为第 i 个位点在种群中出现的频率,ln 为自然对数;为使群体间的 Shannon 多样性指数便于比较分析,把所有引物扩增的总位点数 N (包括多态和单态位点)考虑进去,算出 Shannon 多样性值 H , $H = H_0/N$ 。

D-loop 区段序列测序后进行人工核对、校正后,序列用 Clustal W(1.83) 软件分析比对。利用 DNASP(version 4.0) 软件统计单倍型及变异位点(S)、计算单倍型多样性(h)、核苷酸多样性(P_i)及平均核苷酸差异数(K)。用 MEGA(version 3.0) 中的 Kimura 双参数法计算各单倍型间的遗传距离。

2 结果

2.1 RAPD 结果遗传多样性分析

2.1.1 RAPD 扩增结果

用 40 个随机引物对 24 尾长春鳊进行 RAPD 分析,结果有 28 个引物能扩增出 2~11 条清晰、大小在 0.2~2.0 kb 的 DNA 片段(引物的序列及扩增情况见表 1)。28 个引物中,除引物 C19 和 F20 未扩增出多态性 DNA 片段外(图 1-a),其他 26 个引物(占引物总数的 65%)均能扩增出多态性 DNA 片段,图 1-b,c 显示了 C06 和 F12 两个多态引物扩增电泳图谱。这 28 个引物共检测到 178 个位点,其中 83 个位点为多态位点,占 46.63%。由此可见,每尾长春鳊 RAPD 带谱在显示出该物种所共有带型的同时,也反映了个体间的差异。

2.1.2 种群内的 RAPD 遗传多样性

对全部扩增条带进行统计,根据公式计算出任意两个个体间的遗传相似度在 0.867 4~0.952 4 之间,平均为 0.911 5;遗传距离为 0.047 6~0.132 6,平均为 0.088 5,这说明该长春鳊种群内存在着一定的遗传变异。根据 RAPD 结果构建的原始数据矩阵,算得长江长春鳊 Shannon 多样性指数 H_0 为 17.554 6,Shannon 多样性值(H)为 0.098 6。表 2 列出了多态位点 Shannon 多样性指数的分布。

与其它鱼类用 RAPD 方法得到的遗传多样性数据(表 3)相比较,本研究所得的长春鳊 RAPD 各遗传多样性参数($P = 46.63$, $H = 0.098 6$, $d = 0.088 5$)比遗传多样性丰富的梭鱼($P = 85.71$, $H = 0.227 1$)、刀鲚($P = 85.71$, $H = 0.227 1$, $d = 0.140$)低,而比遗传多样性较低或不够丰富的鳊($H = 0.053 2$, $d = 0.033 9$)、大弹涂鱼($P = 21.71$, $H = 0.059 2$, $d = 0.035 5$)高,说明该长春鳊群体的遗传多样性处于中等水平。

2.2 mtDNA D-loop 区序列分析

2.2.1 群体内的序列变异

本研究共测定了长春鳊 8 个个体的 mtDNA D-loop 序列,除去部分端部序列后,得到 938 bp 序列。经 Clustal W(1.83) 与 GenBank 中已有的长春鳊的 mtDNA D-loop 区序列(登录号为 AF 374412) 比对分析,结果表明同源性都高达 99% 以上,确定所得序列为 mtDNA D-loop 区序列。通过序列比对,任意两个的核苷酸序列不完全相同,表明这 8 个个体为 8 种不同的单倍型,单倍型多态性(h)为 1.000。这 8 种单倍型中,多态性核苷酸位点 17 个,占所测序列的 1.81%,变异位点分布如表 4 所示。17 个变异位

点中 15 个为转换 (A-G、C-T) 位点, 2 个为颠换 (A-T、A-C) 位点 (位点 912、926)。

表 1 用于 RAPD 分析用的随机引物序列及扩增情况

Tab. 1 RAPD primers and their sequence used in the analysis and the amplified results

引物	序列 (5'-3')	总位点数	扩增片段长度	多态位点数	多态位点百分比 (%)
C01	TTCGAGCCAG	3	350 ~ 850	2	66.7
C02	GTGAGGCGTC	7	350 ~ 1100	4	57.1
C05	GATGACCGCC	8	200 ~ 1100	2	25.0
C06	GAACGGACTC	9	250 ~ 1500	7	77.8
C07	GTCCCGACGA	7	200 ~ 1550	3	42.9
C08	TGGACCGGTG	6	200 ~ 1100	3	50.0
C09	CTCACCGTCC	7	200 ~ 1050	3	42.9
C11	AAAGCTGCGG	8	220 ~ 1400	3	37.5
C13	AAGCCTCGTC	3	480 ~ 900	2	66.7
C14	TGCGTGCTTG	2	550 ~ 700	1	50.0
C15	GACGGTACAG	4	350 ~ 600	2	50.0
C16	CACACTCCAG	4	350 ~ 600	1	25.0
C19	GTGCCAGCC	4	350 ~ 700	0	-
C20	ACTTCGCCAC	9	380 ~ 1100	2	22.2
F01	ACGGATCCTG	11	250 ~ 1300	2	18.2
F02	GAGGATCCCT	10	300 ~ 2000	7	70.0
F04	GGTGATCAGG	6	350 ~ 1050	2	33.3
F05	CCGAATTCCC	10	350 ~ 1500	5	50.0
F06	GGAATTCCG	4	600 ~ 1000	2	50.0
F09	CCAAGCTTCC	8	450 ~ 1500	6	75.0
F11	TTGGTACCCC	8	350 ~ 1600	7	87.5
F12	ACGGTACCAG	8	300 ~ 1250	4	50.0
F14	TGCTGCAGGT	7	350 ~ 1500	4	57.1
F15	CCAGTACTCC	6	550 ~ 1400	1	16.7
F16	GGAGTACTGG	7	450 ~ 1100	4	57.1
F18	TTCCCGGCTT	3	850 ~ 1500	2	66.7
F19	CCTCTAGACC	3	630 ~ 1000	2	66.7
F20	GGTCTAGAGG	6	400 ~ 1050	0	-

表 2 多态位点 Shannon 多样性指数分布

Tab. 2 Shannon's genetic diversity among polymorphic loci

引物	H_0	引物	H_0
C01	0.3239	F01	0.1577
C02	0.7770	F02	1.8650
C05	0.6065	F04	0.3677
C06	1.4383	F05	1.0959
C07	0.2725	F06	0.5920
C08	0.2374	F09	1.1587
C09	0.7646	F11	1.8269
C11	0.5133	F12	0.6328
C13	0.3784	F14	0.8905
C14	0.2070	F15	0.3576
C15	0.6983	F16	0.7785
C16	0.3648	F18	0.3395
C20	0.5732	F19	0.3369
Shannon 多样性 (H_0) 总值		17.5546	
Shannon 多样性值 (H) N = 178		0.0986	

2.2.2 群体内遗传多样性

通过 DNASP 软件计算出长春鳊 8 个个体 D-loop 序列的多态位点 (S) 为 17, 核苷酸多样性 (P_i) 为 0.006 2, 平均核苷酸差异数 (K) 为 5.821; 应用 MEGA2 软件算出个体间的 Kumar 遗传距离在 0.002 1~0.010 7 之间(表 5), 平均遗传距离为 0.006 3。这些多样性参数 (S, P_i, K) 比蓝点马鲛 ($S=54, P_i=0.027 1, K=11.047$)^[14], 中华鲟 ($S=38, P_i=0.012 5, K=5.206 1$)^[15] 和青海湖裸鲤 ($S=62, P_i=0.008 2, K=8.242$)^[16] 的都要低。核苷酸多样性 (P_i) 和单倍型间的平均遗传距离是衡量一个种群 mtDNA 的遗传变异的两个重要指标, 它们的值较高则说明群体的遗传多样性较高, 反之则低。本研究的长春鳊群体这两个指标都处于较低的水平, 由此说明该长春鳊群体的 mtDNA D-loop 基因个体变异程度较小, 遗传多样性水平较低。

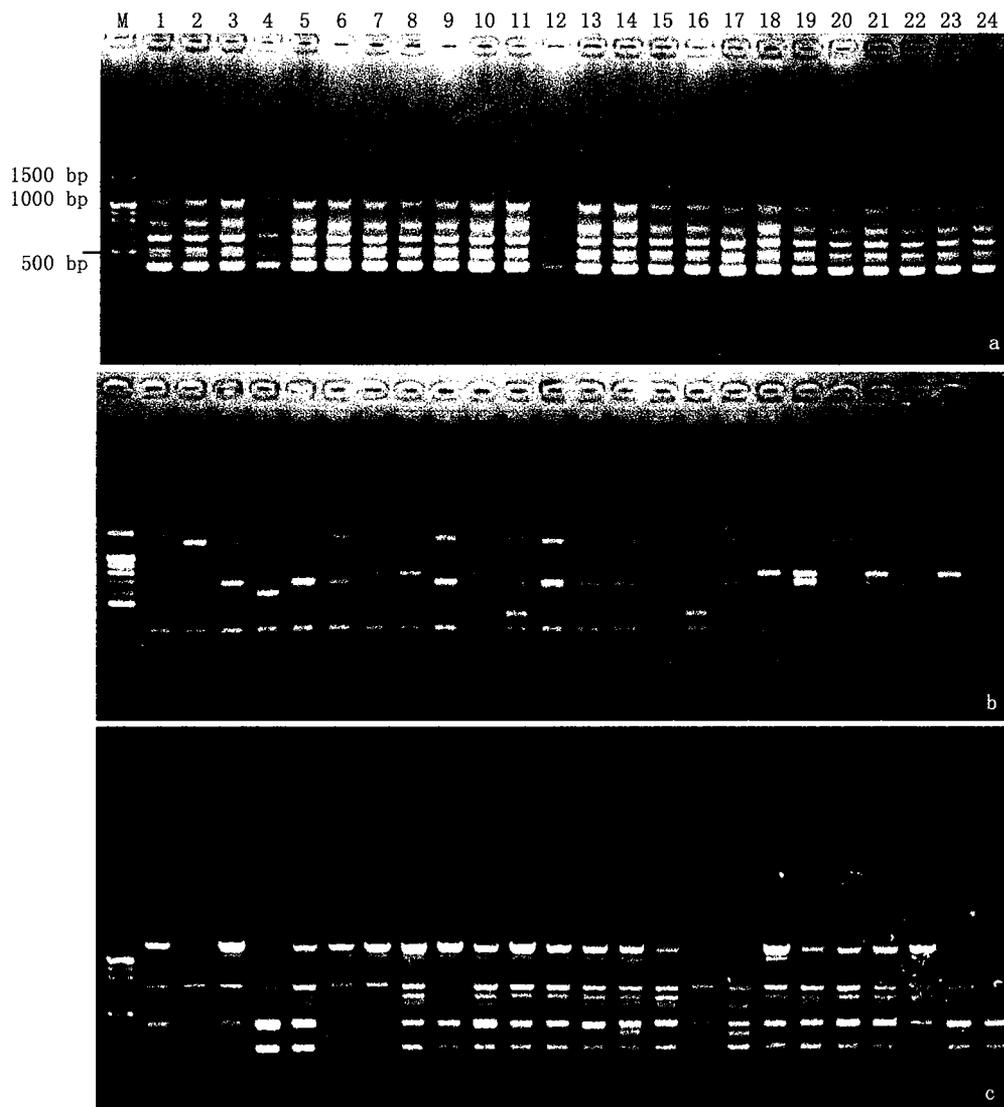


图 1 引物 F20(a), C06(b) 和 F12(c) 对长春鳊 24 个个体扩增产物电泳图谱
Fig.1 Electrophoresis diagrams of amplified products with primers F20(a), C06(b) and F12(c) in 24 individuals of *P. pekinensis*

M:100bp + 1.5kb DNA ladder

表3 不同鱼类 RAPD 研究结果比较
Tab.3 Comparison of the RAPD results in different species of fishes

种类	<i>P</i>	<i>H</i>	<i>F</i>	<i>d</i>	遗传多样性评价	文献来源
鲮 (<i>Aristichthys nobilis</i>)	-	0.053 2	0.966 1	0.033 9	不够丰富	[2]
大弹涂鱼 (<i>Boleophthalmus pectinirostris</i> L.)	21%	0.0592	0.964 5	0.035 5	较低	[12]
梭鱼 (<i>Liza haematocheila</i>)	85.71%	0.227 1	-	-	丰富	[13]
草鱼 (<i>Ctenopharyngodon idellus</i>)	-	0.046 6	0.9649	0.035 1	不够丰富	[5]
中华鲟 (<i>Acipenser sinensis</i>)	11.10%	0.033 4	0.974 3	0.026 7	较低	[6]
刀鲚 (<i>Coilia ectenes</i>)	58.11%	0.228	0.860	0.140	丰富	[7]
鳊鱼 (<i>Parabramis pekinensis</i>)	46.63%	0.0986	0.911 5	0.088 5	中等	本文

注:*P*代表多态位点比例,*H*代表 Shannon 多样性值,*F*代表群体内相似性指数,*d*代表群体内遗传距离

表4 长春鳊 8 种单倍型线粒体 D-loop 区变异位点
Tab.4 Variable sites among 10 mitochondrial DNA haplotypes in *Parabramis pekinensis*

个体编号	变异位点																	
	56	61	63	104	164	197	241	272	492	496	501	509	619	622	883	900	912	926
AF	G	T	T	G	G	C	C	A	T	T	A	C	T	C	T	A	A	A
1	A	.	.	A	.	.	T	G	.	.	G	T	.	T	.	.	T	C
2	C	.	.	G	.	C
3	.	.	.	A	.	.	.	G	.	.	G	.	C	T
4	.	.	C	.	.	T	G	C
5	A	T	G	G	.	.
6	.	.	.	A	.	.	T	G	.	C	C	.	.	.
7	.	.	.	A	.	.	.	G	.	C
8	.	C	.	A	.	T	T	G	C

注:AF代表 AF374412,为对照序列,与对照序列位点相同的碱基标为“.”

表5 长春鳊 8 个不同个体间 D-loop 序列的 Kumar 遗传距离
Tab.5 Kumar genetic distance of 8 *Parabramis pekinensis* as revealed by D-loop sequences

个体编号	AF	1	2	3	4	5	6	7
1	0.009 7							
2	0.003 2	0.010 7						
3	0.005 4	0.006 4	0.006 4					
4	0.004 3	0.009 7	0.005 4	0.007 5				
5	0.004 3	0.007 5	0.005 4	0.007 5	0.004 3			
6	0.005 4	0.008 6	0.004 3	0.006 4	0.005 4	0.005 4		
7	0.003 2	0.008 6	0.002 1	0.004 3	0.005 4	0.005 4	0.002 1	
8	0.006 4	0.009 7	0.007 5	0.007 5	0.004 3	0.006 4	0.005 4	0.005 4

3 讨论

生物多样性是物种资源适应多变的生存环境而得以维系生存、发展和进化的基础^[17],遗传多样性又是生物多样性的核心,一个物种的遗传多样性高低与其适应能力、生存能力和进化潜力密切相关。一般情况下,物种的遗传多样性丰富,对环境的适应性就越强,其生存与进化潜力愈强,反之,遗传多样性降低可导致其适应能力、生存能力降低最终导致物种退化^[18],甚至威胁物种生存^[19]。鱼类种群的遗传多样性分析对于探讨鱼类种群内及种群间的遗传差异、种群间的基因流动以及人类活动对鱼类基因库的影响等问题均具有重要的参考价值。目前,我国鱼类遗传资源保护的研究渐受重视,并已成为一个非

常活跃的研究领域。RAPD 技术具有快速、简便和实用性强等优点,在鱼类种群遗传结构分析上得到广泛的应用;线粒体为母系方式遗传,一个个体就能代表一个母系集团,通过少量随机的动物个体便可了解一个群体的遗传结构。线粒体 DNA(mtDNA)控制区是线粒体中碱基序列和长度变异最大的区域,具有进化速度最快,序列变异丰富等特点,特别适合于检测种群内及种群间的遗传多样性^[20]。

由于环境破坏、水体污染及过度捕捞等原因,长江渔业资源量不断下降,渔获物种类减少,且趋于小型化和低龄化,这点从我们长春鳊采样情况也可看出,24 尾中有 19 尾(79.2%)为幼鱼。长江渔业资源的衰退,势必导致鱼类遗传多样性降低从而导致鱼类适应性、生长性能及繁殖性能的降低。在我们采集的长春鳊群体内,RAPD 结果显示群体遗传多样性处于中等水平,而 D-loop 区序列分析结果则提示群体遗传多样性为较低水平,说明长江下游长春鳊群体的遗传多样性水平不容乐观,需要采取一定的保护措施,如控制对未成熟鱼的捕获,以减缓繁殖群体减少的趋势等。另外,本研究显示该长春鳊群体的核基因遗传多样性与线粒体遗传多样性水平不太一致,说明 mtDNA 多态性水平与核基因多样性水平并不一定呈正相关,Baker 等^[22]和 Marshall 等^[23]也发现 mtDNA 多态性有时会比核基因多样性低,有时也会出现 mtDNA 多态性比核基因多态性高的情况。RAPD 所检测的结果为核基因遗传多样性数据,而 mtDNA D-loop 区序列分析结果为核外遗传物质的多样性。把线粒体 DNA 序列数据与核基因组多样性数据结合起来,相互印证和补充,则能更真实、全面地反映遗传多样性^[14,21]。在本文中两种方法显示的遗传多样性水平不太一致,本人认为 RAPD 结果显示的遗传多样性应更具参考意义,因为核基因更能全面反应一种生物的特性,其他常用分子遗传标记技术如 AFLP、SSR 等用于遗传多样性分析也都是基于核基因基础上。

参考文献:

- [1] 徐东坡,张敏莹,刘凯,等. 长江安庆江段春禁前后渔业生物多样性变化[J]. 安徽农业大学学报, 2006, 33(1): 76-80.
- [2] 张德春,张锡元,杨代淑,等. 长江鳊遗传多样性的研究[J]. 武汉大学学报(自然科学版), 1999, 45(6): 857-860.
- [3] 方耀林,余来宁,许映芳,等. 长江水系青鱼遗传多样性的研究[J]. 湖北农学院学报, 2004, 24(1): 26-29.
- [4] 张四明,邓怀,汪登强,等. 长江水系鲢鱼和草鱼遗传结构及变异性的 RAPD 研究[J]. 水生生物学报, 2001, 25(4): 324-330.
- [5] 张德春,余来宁,方耀林. 草鱼自然群体和人工繁殖群体遗传多样性的研究[J]. 淡水渔业, 2004, 34(4): 5-7.
- [6] 张四明,邓怀,晏勇,等. 中华鲟随机扩增多态 DNA 及遗传多样性研究[J]. 海洋与湖沼, 2000, 31(1): 1-7.
- [7] 马春艳,刘敏,马凌波,等. 长江口刀鲚遗传多样性的随机扩增多态 DNA(RAPD)分析[J]. 海洋水产研究, 2004, 25(5): 1-7.
- [8] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular Cloning[M]. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- [9] Liu H. Mitochondrial DNA Sequence variations and systematics of the genus *Distoechodon* (Teleostei: Cyprinidae) [J]. Journal of Applied Ichthyology, 2002, 18: 181-184.
- [10] Lynch M. The similarity index and DNA fingerprinting[J]. Mol Biol Evol, 1990, 7: 478-484.
- [11] Wachira F N, Waugh R, Hackett C A, et al. Detection of genetic diversity in tea (*Camellia sinensis*) using RAPD markers[J]. Genome, 1995, 38: 201-210.
- [12] 金春华,钟爱华,黄福勇,等. 大弹涂鱼自然种群遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 海洋科学, 2004, 28(12): 26-31.
- [13] 权洁霞,戴继勋,沈颂东,等. 梭鱼人工养殖群体与自然群体的随机扩增多态 DNA(RAPD)分析[J]. 海洋学报, 2000, 22(5): 82-87.
- [14] 姜艳艳,孔晓瑜,喻子牛,等. 黄海蓝点马鲛 mtDNA D-loop 序列变异分析[J]. 中国水产科学, 2003, 10(3): 177-183.
- [15] 张四明. 中华鲟分子群体遗传学以及鲟形目若干种类的细胞和分子进化研究[D]. 武汉:中国科学院水生生物研究所, 1998.
- [16] 陈大庆,张春霖,鲁成,等. 青海湖裸鲤繁殖群体线粒体基因组 D-loop 区序列多态性[J]. 中国水产科学, 2006, 13(5): 800-806.
- [17] 郑向忠,徐宏发,陆厚基. 动物种群遗传异质性研究进展[J]. 生物多样性, 1997, 5(3): 210-216.
- [18] 蒙子宁,庄志猛,金显仕,等. 黄海和东海小黄鱼遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 生物多样性, 2003, 11(3): 197-203.
- [19] 季维智,宿兵. 遗传多样性研究的原理与方法[M]. 杭州:浙江科学技术出版社, 1999.
- [20] Rosel P E, Haygood M G, Perrin W F. Phylogenetic relationships among the true porpoises (Cetacea: Phocoenidae) [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 1995, 4(4): 463-474.
- [21] Feulner P G, Bielfeldt W, Zachos F E, et al. Mitochondrial DNA and microsatellite analyses of the genetic status of the presumed subspecies *Cervus elaphus montanus* (Carpathian red deer) [J]. Heredity, 2004, 93(3): 299-306.
- [22] Baker C S, Perry A, Bannister J L. Abundant mitochondrial DNA variation and world-wide population structure in humpback whales[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1993, 90(17): 8239-8243.
- [23] Marshall H D, Ritland K. Genetic diversity and differentiation of Kermode bear populations[J]. Molecular Ecology, 2002, 11(4): 685-697.