

李大命,张彤晴,唐晟凯,等. 基于线粒体 *Cytb* 基因和 D-loop 区序列的洪泽湖湖鲢遗传多样性分析[J]. 江苏农业科学,2018,46(20):36-39.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.20.009

# 基于线粒体 *Cytb* 基因和 D-loop 区序列的洪泽湖湖鲢遗传多样性分析

李大命<sup>1</sup>, 张彤晴<sup>1</sup>, 唐晟凯<sup>1</sup>, 关浩勇<sup>2</sup>, 刘燕山<sup>1</sup>, 穆 欢<sup>3</sup>, 黄越峰<sup>3</sup>, 潘建林<sup>1</sup>

(1. 江苏省淡水水产研究所/江苏省内陆水域渔业资源重点实验室, 江苏南京 210017; 2. 南京师范大学生命科学学院, 江苏南京 210046;

3. 江苏省洪泽湖渔业管理委员会办公室, 江苏淮安 223300)

**摘要:**利用线粒体细胞色素 b (cytochrome b, 简称 *Cytb*) 基因和控制区 (D-loop) 序列作为分子标记, 调查洪泽湖湖鲢的遗传多样性。结果表明, *Cytb* 基因和 D-loop 区序列碱基 A + T 含量均高于 G + C 含量, 显示碱基组成具有偏倚性。40 条 *Cytb* 基因序列检出 14 个变异位点, 定义 13 个单倍型, 单倍型多样性和核苷酸多样性分别为  $0.762 \pm 0.067$ 、 $0.0018 \pm 0.00028$ , 平均碱基差异数为 2.073; 40 条 D-loop 区序列检出 54 个变异位点, 定义 17 个单倍型, 单倍型多样性和核苷酸多样性分别为  $0.727 \pm 0.078$ 、 $0.00610 \pm 0.00100$ , 平均碱基差异数为 7.378。13 个 *Cytb* 基因单倍型之间的遗传距离在 0.001~0.004 之间, 17 个 D-loop 区单倍型之间的遗传距离在 0.001~0.018 之间, 邻接法 (neighbour-joining method, 简称 NJ) 系统进化树显示单倍型聚为 1 支。*Cytb* 基因和 D-loop 区序列中性检测 Tajima's *D* 和 Fu's *F<sub>s</sub>* 结果产生的 *D* 和 *F<sub>s</sub>* 值为负值, 且 *Cytb* 基因的 *F<sub>s</sub>* 值统计结果有极显著差异 ( $P < 0.01$ )。同时, *Cytb* 基因序列的岐点分布图呈现单峰型, 均表明洪泽湖湖鲢近期经历了种群扩张。整体来看, 洪泽湖湖鲢资源具有较高的遗传多样性, 呈现出高单倍型多样性和低核苷酸多样性的特征。

**关键词:**湖鲢; 遗传多样性; 线粒体 DNA; *Cytb* 基因; 控制区序列

**中图分类号:**S917 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)20-0036-04

刀鲢 (*Coilia nasus*) 是一种具有重要经济价值的洄游性中小型鱼类, 隶属于鲱形鲴科 (Engraulidae) 鲴属 (*Coilia*)。近年

收稿日期: 2017-06-28

基金项目: 江苏省海洋与渔业资源环保项目 (编号: ZYHB16-3)。

作者简介: 李大命 (1981—), 男, 河南驻马店人, 博士, 副研究员, 主要从事湖泊渔业资源与环境研究。Tel: (025) 86581574; E-mail: ldm8212@126.com。

通信作者: 潘建林, 博士, 研究员, 主要从事鱼类遗传育种研究。Tel: (025) 86581574; E-mail: jianlinpan2006@126.com。

规模育苗的要求, 是打破多花黄精种子休眠的最佳方式; 最佳外植体处理方法 75% 乙醇 30 s + 0.1% 氯化汞 5 min 后并在第 2 天重复的处理; 优选的增殖培养基为 MS + 1 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA, 生根培养基为 MS + 2 mg/L NAA + 0.1% AC; 炼苗移栽基质以泥炭: 沙 = 2: 1 最佳, 成活率可达 83% 以上。本试验结果将为多花黄精规模化种子育苗、组培育苗和中下游产业开发提供一定技术基础。

## 参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (十五卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1978: 52-80.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2015: 306-307.
- [3] 庞玉新, 赵 致, 袁 媛, 等. 黄精的化学成分及药理作用 [J]. 山地农业生物学报, 2003, 22(6): 547-550.
- [4] 周瑶系. 长白山黄精属植物的种植资源及其开发利用 [J]. 中国

来, 由于过度捕捞、环境污染及水利工程建设等因素, 刀鲢天然资源趋于枯竭, 保护刀鲢资源刻不容缓<sup>[1-4]</sup>。湖鲢是刀鲢的一种, 为湖泊定居型, 没有洄游习性, 它已成为我国淡水湖泊渔业资源的重要组成部分。研究表明, 湖鲢和刀鲢在遗传上没有显著差异, 属于同一种类<sup>[5-6]</sup>。遗传多样性是生物多样性的一个重要方面, 决定了物种的进化潜能和对环境变化的适应能力。掌握物种的遗传多样性水平是物种保护须要了解的重要内容, 可以为制定针对性的保护和管理策略提供科学依据。

- 野生植物资源, 2002, 21(2): 34-35.
- [5] 孔 谨, 许克勇, 刘凤琴, 等. 黄精滋补食品的开发与研究 [J]. 食品研究与开发, 1998, 20(4): 34-36.
- [6] 孙隆儒, 李 铄. 黄精化学成分的研究 [J]. 中草药, 2001, 32(7): 586-588.
- [7] 石 林, 蒙义文, 李 伟. 黄精及黄精多糖的药理研究 [J]. 天然产物研究与开发, 1998, 11(3): 67-71.
- [8] 周建金, 罗晓锋, 叶 炜, 等. 多花黄精组织培养技术 [J]. 三农农业科技, 2012(3): 27-30.
- [9] 赵 致, 庞玉新, 袁 媛, 等. 药用作物黄精种子繁殖技术研究 [J]. 种子, 2005, 4(3): 11-13.
- [10] 邓颖连. 黄精引种驯化栽培研究 [J]. 中国野生植物资源, 2011, 30(2): 57-59.
- [11] 徐忠传, 何俊蓉, 郁 达, 等. 多花黄精的组织培养与快速繁殖 [J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(1): 78-79.
- [12] 尹 宏, 韩 娇, 袁新普, 等. 黄精无性系研究 [J]. 西南农业学报, 2009, 22(4): 1065-1068.

鱼类线粒体 DNA 是一种闭合、环状的双链 DNA 分子,具有结构简单、母系遗传、不发生重组及进化速度快等特征,使其成为分子群体遗传学和分子系统学研究的重要分子标记<sup>[7]</sup>。细胞色素 b (cytochrome b, 简称 *Cytb*) 基因的结构和功能在 mtDNA 的 13 个蛋白质编码基因中是被了解得最为清楚的,且其进化速度适中<sup>[8-9]</sup>。线粒体 DNA 控制区 (D-loop) 为非编码区,因缺乏编码的选择压力而比其他线粒体基因的进化速率更快,富含系统发育信息<sup>[10]</sup>。因此, *Cytb* 基因和 D-loop 区序已成为鱼类种群遗传结构与遗传多样性研究中常用的 2 个分子标记。

洪泽湖面积为 1 597 km<sup>2</sup>, 是江苏省第二大淡水湖泊,也是我国第四大淡水湖泊,具有渔业生产、工农业及生活用水、航运、旅游、泄洪行洪等多种功能<sup>[11]</sup>。洪泽湖渔业资源丰富,对湖区经济、社会的发展有重要作用<sup>[12]</sup>。最近调查发现,洪泽湖有 63 种鱼类,刀鲚在洪泽湖渔业产量的占比超过 50%<sup>[13]</sup>。受江湖阻隔、过度捕捞和生境破坏等多种因素的影响,洪泽湖渔业的可持续发展受到严重威胁<sup>[13]</sup>。到目前为止,尚无有关洪泽湖湖鲚遗传多样性水平的研究报道。本研究采用 *Cytb* 基因和 D-loop 区序列作为分子标记,对洪泽湖湖鲚遗传多样性开展研究,这不仅有利于丰富洪泽湖鱼类的分子生物学数据,而且可以为湖鲚种质资源保护及合理利用提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样本收集和處理

于 2016 年 12 月在洪泽湖用刺网捕获湖鲚,随机取 40 尾湖鲚样本。用无水乙醇固定,带回实验室并且置于 -20 ℃ 冰箱中保存。

### 1.2 DNA 提取、PCR 扩增及测序

取湖鲚肌肉组织用于基因组 DNA 的提取。采用 Takara 公司的 DNA 提取试剂盒提取总 DNA,将 DNA 溶于灭菌超纯水,保存于 -20 ℃ 冰箱中备用。

扩增 *Cytb* 基因序列的上游引物为 L14724 (5' - GACTTGAAAAACCACCGTTG - 3'),下游引物为 H15634 (5' - CTCCGATCTCCGGATTACAAGAC - 3')<sup>[14]</sup>;扩增 D-loop 区序列的上游引物为 DF1 (5' - CTAACCTCCCAAAGCTAGAATTCT - 3'),下游引物为 DR2 (5' - ATCTTAGCA - TCCTCAGTG - 3')<sup>[2]</sup>。引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

PCR 体系均为 50 μL,包括 2 × *Taq* 酶混合液 (1.25 U *Taq* 酶,0.2 mmol/L dNTP,1.5 mmol/L Mg<sup>2+</sup>) 25 μL,各 1 μL (10 μmol/L) 上、下游引物,1 μL DNA 模板,22 μL 灭菌超纯水。PCR 反应条件为 94 ℃ 预变性 4 min;94 ℃ 变性 40 s,53 ℃ 退火 (*Cytb*) 或 55 ℃ 退火 (D-loop) 50 s,72 ℃ 延伸 1 min,共 35 个循环;72 ℃ 延伸 10 min,4 ℃ 条件下保存。

PCR 产物纯化后送生工生物工程(上海)股份有限公司进行双向测序,测序引物与扩增引物相同。

### 1.3 数据分析

采用 ClustalX1.83 软件<sup>[15]</sup>对获得的 *Cytb* 基因和 D-loop 区序列进行多重比较,并人工校对。采用 Mega 5.1 软件<sup>[16]</sup>分析序列碱基组成和变异位点,利用 Kimura 双参数 (Kimura - 2 - parameter) 模型计算单倍型之间的遗传距离,采用邻接法

(neighbour - joining method, 简称 NJ) 构建系统进化树。利用 DnaSP 5.0 软件<sup>[17]</sup>获得群体序列遗传多样性参数,包括单倍型数 (*N*)、单倍型多样性 (*h*)、核苷酸多样性 ( $\pi$ )、平均核苷酸差异数 (*K*)。采用 Tajima's *D* 和 Fu's *F<sub>s</sub>* 中性检验,同时结合核苷酸不配对分布分析检验湖鲚种群历史动态。

## 2 结果与分析

### 2.1 *Cytb* 基因和 D-loop 区序列碱基组成

本研究获得 40 条 1 141 bp 的 *Cytb* 基因序列,共检出 14 个变异位点,其中有 9 个简约信息位点,5 个单一信息位点,没有插入和缺失位点。4 种碱基的平均含量分别为 A (27.8%)、T (30.6%)、G (14.5%)、C (27.1%), A + T 的含量 (58.4%) 明显高于 G + C 的含量 (41.6%) (表 1)。在第 2、第 3 位点,碱基 G 的含量最低,表现出明显的碱基组成偏向性。

表 1 *Cytb* 基因序列碱基组成

位点	碱基含量 (%)			
	A	T	G	C
第 1 位点	23.4	26.2	26.8	23.6
第 2 位点	20.3	41.0	13.7	25.3
第 3 位点	39.9	25.0	3.0	32.3
合计	27.8	30.6	14.5	27.1

本研究获得 40 条 D-loop 区序列,其长度为 1 214 ~ 1 290 bp,其中 26 条长度为 1 252 bp,占比 65.0%;12 条长度为 1 290 bp,占比 30.0%;1 条长度为 1 328 bp,占比 2.5%;1 条长度为 1 214 bp,占比 2.5%。经比对发现,D-loop 区序列有 4 处长度为 38 bp 的插入或缺失序列。4 种碱基的平均含量分别为 A (33.3%)、T (33.5%)、G (14.2%)、C (19.0%), A + T 含量 (66.8%) 明显高于 G + C 含量 (33.2%),表现出明显的碱基组成偏倚性。D-loop 区序列共检出 54 个变异位点,其中 27 个简约信息位点,27 个单一信息位点。

### 2.2 种群遗传多样性参数

40 条 *Cytb* 基因序列共定义 13 个单倍型 (Hb1 ~ Hb13),单倍型 Hb6 的数量最多 (19 个),占比 47.5%;单倍型 Hb4 和 Hb8 各有 4 个,均占比 10.0%;单倍型 Hb1、Hb3、Hb10 各有 2 个,均占比 5.0%;单倍型 Hb2、Hb5、Hb7、Hb9、Hb11、Hb12、Hb13 的数量均为 1 个,占比 2.5%。单倍型多样性为 0.762 ± 0.067,核苷酸多样性为 0.002 70 ± 0.000 28,平均核苷酸差异数为 2.073。40 条 D-loop 区序列共定义 17 个单倍型 (Hd1 ~ Hd17),单倍型 Hd11 数量最多 (21 个),占比 52.5%;单倍型 Hd3、Hd8、Hd16 的数量均为 2 个,均占比 5.0%;单倍型 Hd2、Hd4 ~ Hd7、Hd9 ~ Hd15、Hd17 的数量均为 1 个,均占比 2.5%;单倍型多样性为 0.727 ± 0.078,核苷酸多样性为 0.006 10 ± 0.001 00,平均核苷酸差异数为 7.378。整体来看,洪泽湖湖鲚种群遗传多样性呈现出高单倍型多样性和低核苷酸多样性的特征。

### 2.3 单倍型系统树

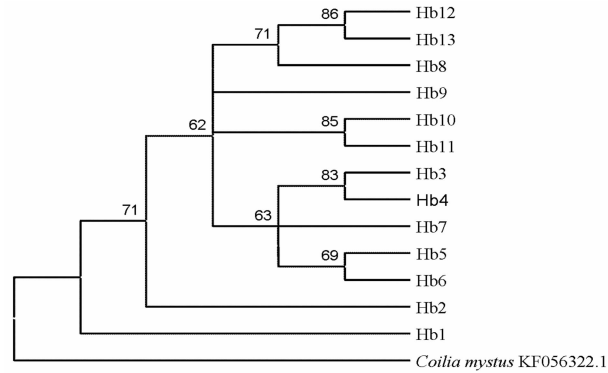
基于 Kimura 双参数模型估算湖鲚单倍型之间的遗传距离,结果表明, *Cytb* 基因单倍型之间的遗传距离在 0.001 ~ 0.004 之间,D-loop 区序列单倍型之间的遗传距离在 0.001 ~ 0.018 之间。

以凤鲚 (*Coilia mystus*, GenBank 登录号为 KF056322.1)

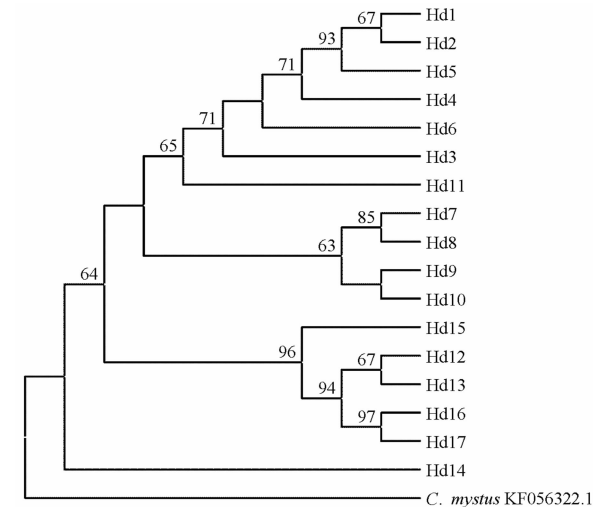
表 2 洪泽湖湖鲢种群的遗传多样性参数

种群	数量(条)	DNA 序列	变异位点数(个)	单倍型数(个)	单倍型多样性	核苷酸多样性	平均碱基差异数
湖鲢	40	<i>Cytb</i>	14	13	0.762 ± 0.067	0.001 82 ± 0.000 28	2.073
		D-loop	54	17	0.727 ± 0.078	0.006 10 ± 0.001 00	7.378

为外群,采用 NJ 法构建单倍型系统进化树,结果表明,*Cytb* 基因 D-loop 区序列单倍型聚为一支(图 1、图 2)。



节点处的数字为 1 000 次 bootstrap 检验的支持率  
图1 湖鲢*Cytb* 基因单倍型 NJ 系统进化树



节点处的数字为 1 000 次 bootstrap 检验的支持率  
图2 湖鲢D-loop 区序列单倍型 NJ 系统进化树

2.4 种群历史动态

基于 *Cytb* 基因和 D-loop 区序列的中性检验结果(表 3)表明,Tajima's *D* 和 Fu's *F<sub>s</sub>* 中性检验产生的 *D* 和 *F<sub>s</sub>* 均为负值,其中仅 *Cytb* 基因中性检验产生的 *F<sub>s</sub>* 值统计有极显著差异( $P<0.01$ ),说明 *Cytb* 基因序列进化显著偏离中性进化。*Cytb* 基因序列核苷酸不配对分布呈单峰类型(图 3),而 D-loop 区序列核苷酸不配对分布成多峰型(图 4)。因此综合来看,洪泽湖湖鲢可能经历了近期种群扩张事件。

3 结论与讨论

遗传多样性即基因多样性,是指种内不同群体间或一个群体内不同个体的遗传变异的总和。它不仅是生物多样性的的重要组成部分,也是物种多样性和生态系统多样性的基础,更是生命进化和物种进化的基础。一个物种的遗传多样性与其适应能力、生存能力、进化潜力等密切相关<sup>[18-19]</sup>。物种的遗

表 3 湖鲢种群的中性检测结果

种群	基因	Tajima's <i>D</i>		Fu's <i>F<sub>s</sub></i>	
		<i>D</i>	<i>P</i>	<i>F<sub>s</sub></i>	<i>P</i>
湖鲢	<i>Cytb</i>	-1.168 07	0.111 00	-5.318 70	0.007 00
	D-loop	-1.537 00	0.115 70	-2.296 17	0.084 20

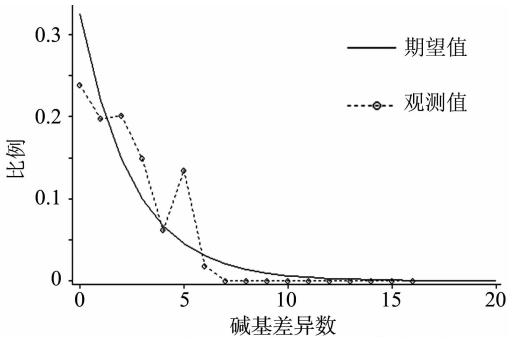


图3 洪泽湖湖鲢*Cytb* 基因序列核苷酸岐点分布

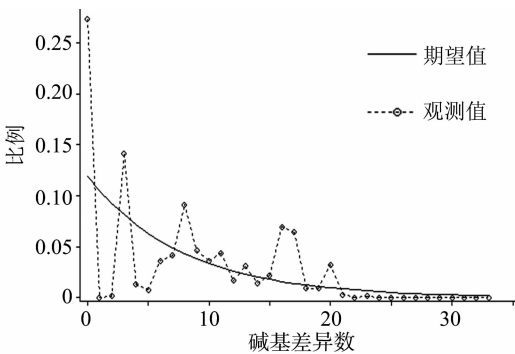


图4 洪泽湖湖鲢 D-loop 区序列核苷酸岐点分布

传变异越丰富,对环境变化的适应能力越强,反之,更容易受到环境变化的影响<sup>[9]</sup>。单倍型多样性和核苷酸多样性是衡量物种遗传多样性的 2 个常用参数。本研究采用线粒体 *Cytb* 基因和 D-loop 区序列作为分子标记,分析洪泽湖湖鲢的遗传多样性。结果表明,基于 *Cytb* 基因的湖鲢单倍型遗传多样性和核苷酸多样性分别为 0.762 ± 0.067、0.001 82 ± 0.000 28,平均碱基差异数为 2.073;基于 D-loop 区的湖鲢单倍型遗传多样性和核苷酸多样性分别为 0.727 ± 0.078、0.006 10 ± 0.001 00,平均碱基差异数为 7.378,显示出较高的遗传多样性。与基于 *Cytb* 基因序列相比,基于 D-loop 区序列湖鲢种群的遗传多样性相对较高,这是因为鱼类线粒体 D-loop 区序列受到的选择压力较小,进化速率快,而 *Cytb* 基因作为线粒体编码基因,其进化速度相对较慢<sup>[7]</sup>。已有文献报道,基于 *Cytb* 基因的洞庭湖( $h:0.643\ 3, \pi:0.002\ 6$ )、鄱阳湖( $h:0.950\ 0, \pi:0.003\ 4$ )、太湖( $h:0.857\ 0, \pi:0.002\ 1$ )和巢湖( $h:0.901\ 5, \pi:0.002$ )湖鲢的遗传多样性水平<sup>[20]</sup>。可以得出,洪泽湖湖鲢种群的遗传多样性水平高于洞庭湖湖鲢种群,低于鄱阳湖、太湖、巢湖湖鲢种群。因此,洪泽湖湖鲢种群的遗传多样性水平有待进一步提高。与湖鲢相比,基于 *Cytb* 基因的刀鲢遗传多样性高于湖鲢<sup>[8]</sup>。同样,基于 D-loop 区

序列的刀鲚遗传多样性也高于湖鲚<sup>[2-4]</sup>。这是因为湖鲚是刀鲚的陆封型群体,由于奠基者效应等因素的影响,其遗传多样性水平应低于刀鲚<sup>[8]</sup>。

整体来看,基于 *Cytb* 基因和 D-loop 区序列的洪泽湖湖鲚遗传多样性呈现出高单倍型多样性和低核苷酸多样性的特征。有研究者根据单倍型多样性和核苷酸多样性标准,将鱼类进化情景分为 4 种类型(低  $h$  和低  $\pi$ 、高  $h$  和低  $\pi$ 、低  $h$  和高  $\pi$ 、低  $h$  和低  $\pi$ )<sup>[21]</sup>。可以看出,洪泽湖湖鲚遗传多样性属于第 2 种类型。湖鲚种群的遗传多样性现状被认为可能是小的有效种群经过一段时间的稳定后发生了扩张,种群快速增长有利于提高对新突变的保持力从而导致核苷酸多样性降低。已有文献报道,湖鲚多个地理种群的遗传多样性水平平均具备这一特征<sup>[20]</sup>。从种群历史动态来看,Tajima's  $D$  和 Fu's  $F_s$  中性检验产生的  $D$  和  $F_s$  均为负值,且 *Cytb* 基因的  $F_s$  值统计结果具有显著性差异,表明 DNA 进化偏离了中性选择<sup>[22-23]</sup>。同时,*Cytb* 基因序列歧点分布图呈现为单峰型,表明洪泽湖湖鲚近期经历了种群扩张<sup>[24]</sup>。

基于 Kimura 双参数模型 *Cytb* 基因单倍型之间的遗传距离在 0.001~0.004 之间,D-loop 区单倍型之间的遗传距离在 0.001~0.018 之间。整体来看,单倍型之间的遗传距离较小,说明洪泽湖湖鲚个体之间的基因交流不受限制。这是因为湖鲚运动能力较强,个体间基因交流不存在地理隔离限制。从单倍型组成来看,13 个 *Cytb* 基因单倍型中有 19 个优势单倍型 Hb6,占比 47.5%,17 个 D-loop 区单倍型中有 21 个优势单倍型 Hd11,占比 52.5%,大多数仅有 1 个单倍型。由此可以看出,洪泽湖湖鲚单倍型组成具有不均匀性。一方面优势单倍型的个体适应能力强,拥有更大的繁殖群体,而低频率的单倍型则因环境适应能力差,拥有的繁殖群体较小,更容易对整个种群的遗传多样性造成不利影响。因此,须要持续加强对湖鲚种质资源的保护力度,通过控制捕捞强度、改善水体生态环境以及加强资源动态变化监测等措施增加湖鲚资源量,提高其遗传多样性水平,改善种群遗传结构,从而有利于湖鲚资源的可持续发展。

## 参考文献:

- [1] 张敏莹,徐东坡,刘凯,等. 长江下游刀鲚生物学及最大持续产量研究[J]. 长江流域资源与环境,2005,14(6):694-698.
- [2] 唐文乔,胡雪莲,杨金权. 从线粒体控制区全序列变异看短颌鲚和湖鲚的物种有效性[J]. 生物多样性,2007,15(3):224-231.
- [3] 杨金权,胡雪莲,唐文乔,等. 长江口邻近水域刀鲚的线粒体控制区序列变异与遗传多样性[J]. 动物学杂志,2008,43(1):8-15.
- [4] 杨金权,胡雪莲,唐文乔. 长江及其南部邻近水域刀鲚的种群遗传结构及种群历史[J]. 上海水产大学学报,2008,17(5):513-519.
- [5] 刘文斌. 中国躄鱼四种鱼的生化和形态比较及其系统发育的研究[J]. 海洋与湖沼,1995,26(5):558-564.
- [6] 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[J]. 湖泊科学,2006,18(4):425-430.
- [7] 肖武汉,张亚平. 鱼类线粒体 DNA 的遗传与进化[J]. 水生生物学报,2000,24(4):384-391.
- [8] 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种群的遗传多样性[J]. 江西农业大学学报,2012,34(6):1216-1221,1244.
- [9] 胡静,侯新远,尹绍武,等. 基于 mtDNA *CO I* 和 *Cytb* 基因序列对南中国海不同海域波纹唇鱼群体遗传多样性的研究[J]. 水生生物学报,2014,38(6):1008-1016.
- [10] Sbisà E, Tanzariello F, Reyes A, et al. Mammalian mitochondrial D-loop region structure analysis: identification of new conserved sequences and their functional and evolutionary implications[J]. Gene,1997,205(1/2):125-140.
- [11] 朱松泉,窦鸿身. 洪泽湖-水资源和水生生物资源[M]. 安徽:中国科技大学出版社,1993:174-181.
- [12] 王欣,张胜宇. 洪泽湖渔业发展与生态保护的基本途径[J]. 渔业信息与战略,2008,23(3):19-21.
- [13] 林明利,张堂林,叶少文,等. 洪泽湖鱼类资源现状,历史变动和渔业管理策略[J]. 水生生物学报,2013,37(6):1118-1127.
- [14] Xiao W H, Zhang Y P, Liu H Z. Molecular systematics of Xenocyprinae (Teleostei: Cyprinidae): taxonomy, biogeography, and coevolution of a special group restricted in East Asia[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution,2001,18(2):163-173.
- [15] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. The CLUSTAL\_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools[J]. Nucleic Acids Research,1997,25(24):4876-4882.
- [16] Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. Molecular Biology and Evolution,2011,28(10):2731-2739.
- [17] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data[J]. Bioinformatics, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [18] 孙鹏,彭士明,尹飞,等. 南海海区鲮鱼 (*Mugil cephalus*) *CO I* 基因序列的遗传多样性分析[J]. 海洋与湖沼,2011,42(1):131-136.
- [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鲴种群的遗传多样性[J]. 水生生物学报,2011,35(5):761-767.
- [20] Ma C Y, Cheng Q Q, Zhang Q Y, et al. Genetic variation of *Coilia ectenes* (Clupeiformes: Engraulidae) revealed by the complete cytochrome b sequences of mitochondrial DNA [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology,2010,385(1/2):14-19.
- [21] Grant S, Bowen B W. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of Marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation [J]. Journal of Heredity, 1998,89(5):415-426.
- [22] Hickerson M J, Meyer C P. Testing comparative phylogeographic models of Marine vicariance and dispersal using a hierarchical Bayesian approach [J]. BMC Evolutionary Biology, 2008, 8(3):322.
- [23] Fu Y X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection [J]. Genetics,1997,147(2):915-925.
- [24] Marcia Barbosa A, Real R, Munoz A R, et al. New measures for assessing model equilibrium and prediction mismatch in species distribution models[J]. Diversity and Distributions,2013,19(10):1333-1338.