

大菱鲆引进群体与国内累代繁养群体 线粒体 D-loop 区部分序列的遗传多态性分析

刘 滨¹ 刘新富¹ 刘思涛² 孟 振¹ 张和森³ 刘 奇⁴ 王 峰¹ 雷霖霖^{1*}

(¹ 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

(² 青岛智达海洋科技有限公司, 266237)

(³ 青岛通用水产养殖有限公司, 266404)

(⁴ 中国海洋大学, 青岛 266003)

摘 要 采用 PCR 扩增和 DNA 测序技术, 测定分析了引自冰岛和法国的大菱鲆两个引进群体以及 1 个国内累代繁养群体共 60 尾个体的 mtDNA D-loop 区部分序列的遗传多样性。结果表明, 60 尾个体中, 扩增获得的 mtDNA D-Loop 区部分序列长度为 739~759bp; 共检测到 46 个变异位点, 其中单一变异位点 17 个, 简约信息位点 29 个; 共检测出 56 个单倍型, 各群体的单倍型多样性分别为冰岛 1.000、法国 0.950、累代繁养 0.850。3 个群体的核苷酸多态性分别为冰岛 0.007 97、法国 0.011 34 和累代繁养 0.006 16。各群体间的遗传分化系数分别为冰岛 vs 法国 0.534 41、冰岛 vs 累代繁养 0.277 23、法国 vs 累代繁养 0.607 25。虽然 3 个群体的遗传多样性都不高, 但是各种群之间存在一定的遗传分化, 可以分别作为单独的种群进行种质保存和利用, 特别是法国种群与其他两个种群间的遗传距离更远, 更具引种价值。

关键词 大菱鲆 mtDNA D-Loop 区 遗传多样性

中图分类号 S917.4; Q346+.5 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2013)06-0031-06

Genetic diversity of partial mtDNA D-loop region among stocks of turbot *Scophthalmus maximus* recently introduced and long-farmed in China

LIU Bin¹ LIU Xin-fu¹ LIU Si-tao² MENG Zhen¹
ZHANG He-sen³ LIU Qi⁴ WANG Feng¹ LEI Ji-lin^{1*}

(¹ Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

(² Qingdao Zhida Ocean Technology Co., Ltd, 266237)

(³ Qingdao General Aquaculture Co., Ltd, 266404)

(⁴ Ocean University of China, Qingdao 266003)

ABSTRACT The nucleotide diversity of mtDNA D-loop region in three turbot stocks in Chi-

国家鲆鲽类产业技术体系建设项目(nycytx-50)、国家自然科学基金项目(30901111)和青岛市科技计划项目(08-1-5-1-JCH)共同资助

* 通讯作者。E-mail: leijl@ysfri.ac.cn, Tel: (0532)85821347

收稿日期: 2012-11-21; 接受日期: 2013-02-02

作者简介: 刘 滨(1976-), 男, 博士, 助理研究员, 主要从事海水鱼类增殖养殖技术研究。E-mail: liubin@ysfri.ac.cn, Tel: (0532)85821347

na, two recently introduced stocks originated from wild populations in Iceland (BP) and France (FP), and one long-farmed stock without definitive origin (JNP), was analyzed. Twenty turbot were chosen in each stock and the partial sequences of mtDNA D-loop region were obtained by PCR amplifying and DNA sequencing. Among the 60 turbot analyzed, a range of sequence length of 739-759 bp of the partial mtDNA D-loop was determined, and a total of 46 polymorphic loci including 17 singleton polymorphic sites and 29 parsim-informative sites were detected. Fifty-six haplotypes were identified with the haplotypic diversity (H_d) of 1.000, 0.950 and 0.850 in BP, FP and JNP respectively. The nucleotide diversity of the three stocks was 0.007 97 (BP), 0.011 34 (FP), and 0.006 6 (JNP). The fixation index of genetic distance between stocks of BP vs FP, BP vs JNP, and FP vs JNP was 0.534 41, 0.277 23 and 0.607 25, respectively. There were certain genetic varieties among the three stocks, although the genetic diversity of these stocks was not high. Hence, these three stocks have the potential to be conserved and explored individually. The FP is more valuable for the selective breeding than the other two stocks for its further segregation from the other populations estimated by the genetic distance.

KEY WORDS Turbot mtDNA D-loop region Genetic diversity

大菱鲆 *Scophthalmus maximus* L. 原产于大西洋东北部的欧洲沿海, 具有生长速度快、肉味鲜美和经济价值高等优点(雷霖霖 1983)。自 1992 年引进我国后, 工厂化养殖产业发展极为迅速, 目前年产量已达 6 万多 t, 年总产值逾 40 亿元。大菱鲆作为一个外来品种, 受到引进亲鱼数量和种群来源的限制, 再加上以往种质保存和繁殖遗传管理工作没有得到足够重视, 因长期累代养殖和近亲交配造成的生长速度减慢、抗逆性降低和病害严重等性状退化现象日益凸显(申雪艳等 2004; 邹曙明等 2005; 薛淑霞等 2006; 张晓君等 2006), 因此, 对大菱鲆不同引进群体及现有养殖群体的遗传背景进行分析, 以便为相关种质保存和繁殖遗传管理工作提供依据已成为当务之急。马爱军等(2008)、于飞等(2008)对引进不同地理群体的人工繁殖后代、关健等(2012)对 3 个国外引进群体和 3 个国内累代繁养群体的群体形态特征分别进行了研究; 申雪艳等(2004)邹曙明等(2005)分别采用 RAPD 标记和微卫星标记(SSR)等对不同引进地理群体的人工繁育和养殖后代的遗传多样性进行了研究。但是, 尚未见有关直接采用核苷酸序列多态性对大菱鲆群体遗传多样性进行分析的报道。

动物线粒体 DNA (Mitochondrial DNA, mtDNA) 是一种环状、共价闭合的超螺旋分子, 其中, 位于编码脯氨酸 Pro-tRNA 和苯丙氨酸 Phe-tRNA 基因之间的 D-loop 区, 其进化速率是其他区段的 5 倍, 被认为特别适用于相近物种的种间或种内的遗传多样性分析(黄志坚等 2009; 于旭蓉等 2011; Nagata *et al.* 1999)。本研究以分别从冰岛(BP)和法国(FP)引进的两个群体以及 1 个国内累代繁养群体(JNP)合计 60 尾大菱鲆作为研究对象, 采用 DNA 测序技术测定线粒体控制区(D-loop)的部分核苷酸序列, 研究分析了 3 个群体的遗传多样性, 从而为大菱鲆种质保存、利用以及繁殖遗传管理等提供更为丰富的数据。

1 材料与方法

1.1 材料

大菱鲆引进原种群样品取自山东青岛智达海洋科技有限公司于 2009 年从法国和冰岛引进的原种成鱼(取样时间为 2009 年 7~12 月), 人工累代繁养群体样品取自山东青岛通用水产养殖有限公司保有的亲鱼群体(2009 年 11 月取样), 每个群体各取样 20 尾, 共计 60 尾。

1.2 方法

抽取试验鱼尾部静脉血冷冻保存(-20℃), 采用天根公司的 TIANamp Marine Animals DNA 试剂盒和方

法,经优化后提取基因组总 DNA。参考 GenBank 中大菱鲆线粒体 DNA 全基因组(ID: EU419747.1)中 D-Loop 区的保守区域序列,设计合成 1 对特异引物(D-Loop forward primer: 5'-CACACGATTCTCTCATATTAGTAATTTAATAC-3';D-Loop reverse primer: 5'-TTCCGGGGGGTTTTCAGG-3')扩增线粒体 DNA D-loop 区部分序列。PCR 反应总体积为 25 μ l,其中 10 \times Buffer 缓冲液 2.5 μ l,dNTP (10 mmol/ μ l)、上游引物(10 pmol/ μ l)、下游引物(10 pmol/ μ l)、模板 DNA(100 ng/ μ l)和 Taq DNA 聚合酶(2.5 U/ μ l)各 1 μ l,去离子灭菌水 17.5 μ l。PCR 反应条件:94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min;94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,50 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,35 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,4 $^{\circ}$ C 保存。PCR 扩增产物用 1%的琼脂糖凝胶进行电泳检测,PCR 扩增产物纯化后,委托山东济南博尚公司进行双向序列测定。测得的序列用 ClustalX 1.81 程序(Thompson *et al.* 1997)进行序列重排和同源性比较,并辅以人工校对。利用 DnaSP 5.10 (Librado *et al.* 2009)软件计算各群体的单倍型多样性(H_d)、平均核苷酸差异数(K)、核苷酸多态性(P_i);统计群体间的基因多样性 H_s 、平均核苷酸差异数 K_{xy} 、基因分化系数 G_{st} 、地理单元遗传分化系数 GammaST、遗传分化指数 F_{st} 和群体间的基因流 N_m 值。应用 MEGA 4.0 (Tamura *et al.* 2007)软件包分析序列特征、统计碱基组成和转换与颠换值。应用 Kimura2-parameter 模型计算遗传距离。

2 结果与分析

2.1 大菱鲆 3 个群体的 mtDNA D-loop 部分序列长度及碱基组成

测序得到的大菱鲆 mtDNA D-loop 部分序列长度为 739~759bp,由于存在碱基插入/缺失现象,导致序列出现长度的多态性。序列碱基组成见表 1。3 个群体的碱基组成基本一致,T、C、A、G 4 种碱基的平均组成分别为 27.7%、25.2%、29.6%和 17.5%,无显著变化。其中碱基 G 的含量显著低于其他碱基的含量,符合脊椎动物线粒体 DNA 的共同特点(Wolstenholme 1992)。A+T 的含量(平均为 57.3%)明显高于 C+G(平均为 42.7%),表现出明显的碱基组成偏向性,与其他已报道的鲆科和笛鲷科鱼类和鳕鱼的线粒体 DNA D-loop 序列的碱基含量相似(谭 围等 2010;朱世华等 2007;Zhao *et al.* 2006)。A、T 含量较为接近,符合脊椎动物线粒体 DNA 基因片段碱基组成的特点(Wolstenholme 1992)。60 个样本中共检测到 46 个变异位点,其中 17 个是单一变异位点,29 个为简约信息位点。

表 1 大菱鲆 D-loop 部分序列碱基组成

Table 1 Nucleotide compositions of partial mtDNA D-loop region in the three populations of turbot

群体	Population	T (%)	C (%)	A (%)	G (%)
冰岛群体	BP	27.6	25.3	29.3	17.8
法国群体	FP	27.8	25.2	29.9	17.1
国内繁育群体	JNP	27.8	25.2	29.5	17.6
平均	Average	27.7	25.2	29.6	17.5

2.2 大菱鲆 3 个群体的遗传多样性参数

3 个群体中共检测出 56 个单倍型,其中 BP 为 20 个,FP 为 19 个,JNP 为 17 个。各群体的单倍型多样性(H_d)、平均核苷酸差异数(K)、核苷酸多态性(P_i)见表 2。大菱鲆 3 个群体的平均单倍型多样性为 0.933 33,其中 BP 最高,JNP 最低;3 个群体的平均核苷酸差异数为 8.757,BP 和 FP 较为接近,远高于 JNP;3 个群体的平均核苷酸多态性为 0.008 49,其中 BP 和 JNP 较为接近,显著低于 FP。

2.3 大菱鲆 3 个群体间的基因流和遗传分化

3 个群体间基因流和遗传分化系数的 DnaSP 5.10 软件统计结果见表 3。法国群体与冰岛和人工繁育群体间的基因流远小于冰岛群体与人工繁育群体间的基因流,并且法国群体与冰岛和人工繁育群体间的遗传分化指数也要高于冰岛群体与人工繁育群体间的遗传分化指数。结果表明,法国群体与冰岛和人工繁育群体之间的遗传分化要高于冰岛和人工繁育群体。

表2 大菱鲂3个群体的统计参数

Table 2 Statistical parameters estimated for the three populations of turbot

群体	Population	多态性位点 Number of variable sites	单倍体数量 Number of haplotypes	单倍型多样性 H_d	平均核苷酸差异数 K	核苷酸多态性 P_i
冰岛群体	BP	31	20	1.000 00	10.274	0.007 97
法国群体	FP	43	19	0.950 00	11.177	0.011 34
国内繁养群体	JNP	22	17	0.850 00	4.821	0.006 16
平均	Average	32	15.333	0.933 33	8.757	0.008 49

表3 大菱鲂3个群体间的遗传分化系数和基因流

Table 3 Genetic differentiation and N_m values among the three populations of turbot

群体对 Population pair	平均核苷酸差异数 K_{xy}	基因分化系数 G_{st}	地理单元件遗传分化系数 GammaST	遗传分化指数 F_{st}	基因流 N_m
冰岛群体与法国群体 BP vs FP	16.812 00	0.001 10	0.318 53	0.534 41	0.435 61
冰岛群体与国内繁养群体 BP vs JNP	8.646 15	0.013 73	0.170 50	0.277 23	1.303 56
法国群体与国内繁养群体 FP vs JNP	16.603 08	0.015 22	0.375 06	0.607 25	0.323 38

2.4 大菱鲂3个群体的遗传距离

群体间序列差异的大小反映了群体间亲缘关系的远近。表4是使用MAGA 4.0软件中Tamura-Nei模型计算的群体内及群体间的遗传距离。结果表明,冰岛群体与人工繁育群体间的亲缘关系较近,而法国群体与其余两个群体间的亲缘关系较远,其中法国群体与人工繁育群体间的亲缘关系最远。

表4 大菱鲂3个群体的遗传距离

Table 4 Genetic distances of the three populations of turbot

群体	Population	冰岛群体 BP	法国群体 FP	国内繁养群体 JNP
冰岛群体	BP		0.535	0.28
法国群体	FP	0.535		0.61
国内繁养群体	JNP	0.28	0.61	

3 讨论

生物群体遗传多样性是物种适应多变的环境、维持长期生存和进化的遗传基础,是评价生物资源状况的重要依据和良种选育的基础(杨宇晖等 2010)。从本研究的结果来看,代表大菱鲂3个群体FP、BP和JNP核苷酸多样性 P_i 的平均值分别为0.011 34、0.007 97和0.006 16,略低于刀鲚(0.026 2)(杨金权等 2008)、棘头梅童鱼(0.017 5)(郑德锋等 2011)和尼罗罗非鱼(0.024 9)(吴长敬等 2010),与已被证实遗传多样性较低的长江铜鱼(0.002 18)(严莉 2005)和鳊白鱼(0.004 34)(杨博等 2008)基本处于同一水平,这一结果与以往多个大菱鲂野生种群和养殖群体遗传多样性的同工酶、微卫星和RAPD的评估结果一致(Blanquer *et al.* 1992; Coughlan *et al.* 1998; Bouza *et al.* 2002; 申雪艳等 2004)。所研究的3个大菱鲂群体中,两个引进原种群体的 P_i 均高于人工累代繁养群体,其中FP的 P_i 值显著高于JNP的 P_i 值,BP和FP平均核苷酸差异数 K ,也显著高于JNP,说明本研究中的国内累代繁养群体的遗传多样性水平低于两个引进原种群体,这一结果与多数人工驯养鱼类的检测结果相一致(孟宪红等 2000; 张德春 2002; 张德春等 2004)。累代繁养后种群的遗传变异度及遗传多样性水平会降低的原因,可能是人工驯养过程中建群亲本数量少、遗传漂变和近亲杂交等因素不可避免地引起群体内某些特定等位基因的丧失(韩晓磊等 2009; 杨博等 2008)。

单倍型多样性 H_d 和核苷酸多样性 P_i 通常情况下这二者具有一致性, H_d 和 P_i 值越大,群体的多态程度

越高,其遗传多样性越丰富,反之亦然(吴长敬等 2010)。然而,尽管本研究中大菱鲂两个原种引进群体 BP 和 FP 的 H_d 分别高达 1.000 00 和 0.950 00,但是它们的 P_i 却非常低,分别为 0.007 97 和 0.011 34,与褐菖鲈 ($H_d=0.978, P_i=0.019 2$) (苏天凤等 2012) 和鳊鱼 ($H_d=0.996, P_i=0.004 34$) (杨 博等 2008) 的结果相似。造成这种高 H_d 值、低 P_i 值的原因,可能是在演化过程中有较小有效种群快速扩张的阶段,虽然通过变异积累了单倍型的多态性,但核苷酸序列的多样化却还未能积累到较高的程度(Avise 2000; Grant *et al.* 1998)。

基因流(N_m)是两个独立种群间基因交流的量度。当 N_m 值小于 1 时,表示种群间几乎没有基因交流,各种群内的遗传漂变可以引起种群间的遗传分化;当 N_m 值处于 1~4 之间时,种群间存在一定程度的基因交流,可以导致群体遗传分化程度的降低(Allendorf 1983; Nei *et al.* 2002)。本研究中,BP 与 FP 之间以及 FP 与 JNP 之间的 N_m 均小于 1,说明两个群体之间几乎不存在基因交流,存在着由遗传漂变引起群体间遗传分化的可能,同时 BP 与 JNP 间的 N_m 略大于 1,说明 BP 与 JNP 间存在着一定的基因交流,这为今后将线粒体 D-loop 基因应用于大菱鲂种质资源的跟踪与保护提供了新的依据。实际上,从所得出的 3 个种群遗传分化指数(F_{st})和群体间的遗传距离可以看出,FP 与 JNP、FP 与 BP 之间的遗传分化指数和遗传距离要远高于 BP 与 JNP,说明两个原种引进群体间已经出现了明显的遗传分化,与基因流(N_m)的分析结果相一致,同时法国引进群体与冰岛及国内累代繁养群体的亲缘关系更远,更具有引种价值。

Blanquer 等(1992)采用 13 种同工酶的 17 个位点对大菱鲂野生和养殖群体进行了研究。结果显示,野生大菱鲂不同地理种群的生化遗传变异水平非常低,野生种群及养殖群体之间的遗传距离都很小;Coughlan 等(1998)采用 4 个微卫星标记对爱尔兰和挪威沿岸野生大菱鲂群体间遗传差异进行了分析,发现两个种群几乎没有地理分化;申雪艳等(2004)采用 RAPD 和 SSR 标记分析发现,我国从法国、英国和西班牙引进的大菱鲂群体间遗传分化很弱,因此认为我国大菱鲂种质较为单一。DNA 序列分析技术的发展使得直接从基因组特异区域的核苷酸组成上检测鱼类种群的遗传变异成为常规手段(向文殿等 2011)。与核 DNA 相比,mtDNA 属小分子 DNA,结构简单,属同源单拷贝 DNA,并且 mtDNA 进化速率常比单拷贝核基因快,因此可用来分析亲缘关系较近种群间的遗传变异。与以往采用微卫星等其他分子标记所获结论不同的是,本研究的分析结果说明,大菱鲂不同野生地理群体及人工养殖群体之间存在一定的遗传分化,这一结果与不同产地的引进群体之间及其与国内养殖群体间形态特征存在分化的结论相符合(于 飞等 2008;马爱军等 2008;关 健等 2012),同时证明 D-loop 序列分析适用于大菱鲂不同独立种群间遗传水平差异的检测分析。杨慧荣等(2012)在对赤眼鳟以及其他鱼类线粒体 D-loop 和 Cyt b 基因序列进行对比分析的基础上,得出 D-loop 区序列适合同种、不同地理居群鱼类的多样性分析的假设,本研究结果给予该假设一定的支持。近年来,大菱鲂遗传多样性的研究,已经从形态学(表型)水平、生理生化(蛋白质)水平逐步发展到目前的分子水平。今后应当根据实践应用的需要,将各种遗传分析方法综合、灵活运用,将结果相互印证,以便为大菱鲂繁育种群管理、外来种群引进、良种选育等提供充分而全面的遗传信息。

参 考 文 献

- 于 飞,张庆文,孔 杰,栾 生. 2008. 大菱鲂 4 个进口群体的形态差异分析. 海洋水产研究, 29(5): 27-32
- 马爱军,王新安,雷霖霖,杨 志,曲江波,许 可. 2008. 大菱鲂四个不同地理群体数量形态特征比较. 海洋与湖沼, 39(1): 24-29
- 申雪艳,官庆礼,雷霖霖,孔 杰,翟介明,李 波. 2004. 进口大菱鲂 *Scophthalmus maximus* L. 苗种的遗传结构分析. 海洋与湖沼, 35(4): 332-341
- 朱世华,郑文娟,邹记兴,杨迎春,沈锡权. 2007. 鲆科鱼类线粒体 DNA 控制区结构及系统发育关系. 动物学研究, 28(6): 606-614
- Nei M and Kumar S(美). 2002. 分子进化与系统发育. 吕宝忠,钟 扬,高莉萍等译. 北京: 高等教育出版社
- 刘志亮,齐兴柱,骆 剑,朱晓平,彭艳辉,尹绍武. 2011. 波纹裸胸鲱线粒体 DNA D-loop 多态性分析. 安徽农学通报, 17(7): 23-26
- 关 健,刘洪军,官曙光,雷霖霖,陈志信,高 翔,郑永允. 2012. 大菱鲂引进亲鱼与国内累代繁养亲鱼群体的形态特征比较. 渔业科学进展, 33(3): 48-53
- 严 莉. 2005. 长江铜鱼种群生物学及遗传多样性分析. 见: 华中农业大学硕士研究生学位论文
- 苏天凤,江世贵,张殿昌,周发林,黄建华,朱彩艳,杨丽诗. 2012. 粤东海域褐菖鲈种群线粒体 DNA 控制区序列变异及其在平鲷亚科中的分类

- 地位. 渔业科学进展, 33(2): 1-8
- 杨宇晖, 梁旭方, 林群, 李锦光, 王琳, 谢骏. 2010. 广东与江西翘嘴鳊养殖与天然种群的遗传多态性分析. 水产学报, 34(4): 515-520
- 杨金权, 胡雪莲, 唐文乔, 林弘都. 2008. 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. 动物学杂志, 43(1): 8-15
- 杨星, 杨军峰, 汤明亮, 彭智, 赵兴高, 曾可为, 蔡焰直, 邵雪玲, 刘思阳. 2007. 斑鳊种内遗传多态性以及翘嘴鳊的分子鉴别. 水生生物学报, 31(6): 891-895
- 杨博, 陈小勇, 杨君兴. 2008. 鳊鱼白鱼线粒体 DNA 控制区结构和种群遗传多样性分析. 动物学研究, 29(4): 379-385
- 杨慧荣, 赵会宏, 蒙子宁, 刘丽, 林权卓. 2012. 赤眼鳟线粒体 D-loop 和 Cyt b 基因序列的对比分析. 中山大学学报(自然科学版), 51(5): 100-106
- 吴长敬, 邹芝英, 杨弘, 李大宇, 祝璩琳, 肖炜. 2010. 罗非鱼 mtDNA D-loop 区部分序列结构和种群遗传多样性分析. 动物学杂志, 45(5): 121-128
- 邹曙明, 李思发, 蔡完其, 杨怀宇. 2005. 团头鲂人工同源四倍体、自繁后代、倍间交配后代的染色体组型及形态遗传特征. 动物学报, 51(3): 455-461
- 张晓君, 陈翠珍, 房海, 战文斌, 靳晓敏, 王秀云. 2006. 大菱鲂 (*Scophthalmus maximus*) 病原鳃利斯顿氏菌的鉴定. 海洋与湖沼, 37(5): 417-423
- 张德春. 2002. 鳊鱼人工繁殖群体遗传多样性的研究. 三峡大学学报(自然科学版), 24(4): 379-381
- 张德春, 余来宁, 方耀林. 2004. 草鱼自然群体和人工繁殖群体遗传多样性的研究. 淡水渔业, 34(4): 5-7
- 郑文娟, 来育洪, 尤昕煜, 秦茜晗, 朱世华. 2012. 舟山小黄鱼线粒体 DNA D-loop 区序列变异的遗传多样性分析. 动物学研究, 33(3): 329-336
- 郑德锋, 赵金良, 周文玉. 2011. 棘头梅童鱼线粒体控制区的序列变异与群体遗传结构. 渔业科学进展, 32(2): 34-40
- 孟宪红, 孔杰, 庄志猛, 王伟继, 刘萍. 2000. 真鲷自然群体和人工繁殖群体的遗传多样性. 生物多样性, 8(3): 248-252
- 黄志坚, 徐晓鹏, 唐晶晶, 张颀, 郑锦卿, 李桂峰, 何建国. 2009. 淡水鱼类线粒体 DNA D-loop 基因的引物设计 and 应用. 中山大学学报(自然科学版), 48(4): 84-88
- 韩晓磊, 徐建荣, 李小蕊, 伊纪峰, 杨家新, 许璞. 2009. 鳊鱼群体遗传多样性的 AFLP 分析. 南京师大学报(自然科学版), 32(1): 110-114
- 雷霖霖. 1983. 英国养殖大菱鲂简况. 水产科技情报, (2): 26-27
- 雷霖霖, 马爱军, 陈超, 庄志猛. 2005. 大菱鲂 (*Scophthalmus maximus* L.) 养殖现状与可持续发展. 中国工程科学, 7(5): 30-34
- 谭围, 郭昱嵩, 王中锋, 刘楚吾, 刘丽. 2010. 笛鲷鱼类的线粒体 DNA 控制区结构及其系统发育分析. 海洋学报, 32(1): 139-145
- 薛淑霞, 冯守明, 孙金生. 2006. 海水工厂化养殖大菱鲂 (*Scophthalmus maximus*) 和褐牙鲈 (*Paralichthys olivaceus*) 腹水病原菌的分离与鉴定. 海洋与湖沼, 37(6): 548-554
- Allendorf FW. 1983. Isolation, gene flow, and genetic differentiation among populations. *Genetics and Conservation* 18 (3) :51-65
- Avice JC. 2000. *Phylogeography: The history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts
- Blanquer A, Alayse JP, Berrada-Rkhami O, Berrebi P. 1992. Allozyme variation in turbot (*Psetta maxima*) and brill (*Scophthalmus rhombus*) (*Osteichthyes pleuonectonformes*, *Scophthalmidae*) throughout their range in Europe. *J Fish Biol* 41(5): 725-736
- Bouza C, Presa J, Sanchez L and 1 other. 2002. Allozyme and microsatellite diversity in natural and domestic populations of turbot (*Scophthalmus maximus*) in comparison with other Pleuronectidormes. *Can J Fish Aquat Sci* 59(9): 1460-1473
- Coughlan G. 1998. Microsatellites DNA variation in wild populations and farmed strains of turbot from Ireland and Norway: A preliminary study. *Fish Biol* 52(5): 916-922
- Grant WS, Bowen BW. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes; Insights from the sardines and anchovies and lessons for conservation. *J Heredity* 89(5):415-426
- Librado P, Rozas J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25(11): 1451-1452
- Nagata J, Masuda R, Tamate HB and 7 others. 1999. Two genetically distinct lineages of the sika deer, *Cervus nippon*, in Japanese islands: Comparison of mitochondrial D-loop region sequences. *Mol Phylogenet Evol* 13(3): 511-519
- Tamura K, Dudley J, Nei M and 1 other. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4. 0. *Mol Biol Evol* 24(8): 1596-1599
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F and 2 others. 1997. The Clustal X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res* 25(24): 4876-4882
- Wolstenholme DR. 1992. Animal mitochondrial DNA: Structure and evolution. *Int Rev Cytol* 141: 173-216
- Zhao JL, Wang WW, Li SF and 1 other. 2006. Structure of the mitochondrial DNA control region of the siniperca fish and their phylogenetic relationship. *Acta Genetica Sinica* 33(9): 793-799