

{ 综 述 }

鱼类线粒体 DNA 的遗传与进化

肖 武 汉¹ 张 亚 平²

(1. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072; 2. 中国科学院昆明动物研究所, 昆明 650223)

GENETICS AND EVOLUTION OF MITOCHONDRIAL DNA IN FISH

XIAO Wu-han and ZHANG Ya-ping¹

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072; 1 Kunming Institute of Zoology, The Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223)

关键词: 遗传; 进化; 线粒体 DNA; 鱼类

Key words: Genetics; Evolution; mtDNA; Fish

中图分类号: Q953 .3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2000)04-0384-08

鱼类是脊椎动物中最原始而在种属数量上又最占优势的类群, 其物种繁多, 分布广泛, 起源复杂, 研究其遗传分化, 阐明其进化途径, 历来是令人饶有兴趣的课题。近年来, 随着分子生物学技术向生物学各研究领域渗透, 从分子水平, 研究鱼类的遗传与进化, 已越来越引人注目。在分子水平, 研究鱼类的遗传与进化, 选择合适的分子标记至关重要。鱼类线粒体 DNA (mtDNA) 与其他许多脊椎动物的 mtDNA 一样, 是一种共价闭合、环状的双链 DNA 分子, 具有 mtDNA 的共同特征: (1) 分子结构简单; (2) 严格的母系遗传; (3) 几乎不发生重组; (4) 进化速度快; (5) 不同的区域进化速度存在差异, 允许选择不同的区域进行不同时间尺度的进化分析。由于鱼类线粒体 DNA 具有上述特点, 使其成为分子群体遗传学和分子系统学研究的重要标记。以 mtDNA 作为分子标记, 探讨鱼类的群体遗传结构与系统演化, 已成为鱼类群体遗传学和系统学研究中的热点。迄今, 获得了许多有启发性的结果。

1 鱼类 mtDNA 的分子结构

目前, 已知有七种鱼类线粒体 DNA 的全序列^[1-7]被测定。它们的分子量均为 16.5kb 左右。除海七鳃鳗外, 其余 6 种 鱼类线粒体 DNA 的结构和基因成分都与其它脊椎动物的

收稿日期: 1998-10-17; 修订日期: 1999-03-18

基金资助: 国家自然科学基金(项目编号: 39870123)、细胞与分子进化开放实验室基金、中国科学院分类区系特别支持费、云南省自然科学基金和国家杰出青年基金的支持。

作者简介: 肖武汉(1964—), 男, 湖北省安陆人。博士, 主要从事细胞生物学研究。

相同。海七鳃鳗mtDNA的组成成分基本上与其它鱼类相同,其不同主要在于结构上的差异,如:非编码区被两个tRNA基因间隔开。这种结构上的差异,显示脊椎动物线粒体DNA特异性基因结构的建立是在脊椎动物进化历程的早期阶段形成的。鱼类线粒体DNA编码区的长度与其它脊椎动物的相同。在ND4和ND4L,ATPase6和ATPase8之间都有一定的碱基重叠。

2 mtDNA 标记在鱼类分子群体遗传学上的应用

以mtDNA作为分子标记,进行鱼类群体遗传学研究,主要可总结为以下三个方面。

2.1 类群识别(Stock discrimination)

尽管同工酶分析已成功地应用于多种鱼类的种群识别,但对于许多鱼类,再全面的同工酶分析往往也难揭示出重要的遗传变异,而mtDNA的丰富变异可作为类群识别的基础。Ward等发现:与理论预测的一样,对于区分不同类群,mtDNA数据比同工酶数据更为有效。Grewe等在六个不同的湖红点鲑(*Salvelinus namaycush*)群体上也观察到类似的结果^[8]。大量的研究工作揭示出类群间mtDNA单倍型频率变化具有一定的范围。此外,mtDNA的变异范围还与生境密切相关。淡水类群,特别是生境未受到第四纪冰期影响的类群,其遗传变异度往往比海水类群的变异度大。Stabile等综合mtDNA的RFLP和D-loop序列分析,揭示出分布于路易斯安那至佛罗里达的8个流域的湾鳄,至少可区分为四个地区或河流特异性地理型^[9]。mtDNA还被用来区分分布于同一地区的溯河与非溯河鲑鱼类群(*Salmo salar*)^[10,11]。最近,Rognon等利用PCR结合的mtDNA RFLP分析,发现非洲东部和西部尼罗河罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)种群存在遗传分化^[12]。

通过类群识别还可解释某些鱼类特殊的生活史。欧洲鳗鲡(*Anguilla anguilla*)和美洲鳗鲡(*A. rostrata*)独特的生活史,一直吸引着许多探索者。它们成熟前,均在各自大陆的淡水河流中生活;成熟后,经过长距离的洄游,都来到大西洋中部相同的热带区域产卵、繁殖。既然它们的繁殖地如此接近,那么,它们之间会不会产生杂交呢?这个问题困扰了人们近半个世纪。Avise及其同事,用14种限制性内切酶,对其mtDNA研究后发现:美洲鳗鲡在4000公里的范围内没有任何变异。而11种限制性内切酶可完全将欧洲鳗鲡和美洲鳗鲡区分开。该结果显示:由于洄游的特性,使得美洲鳗鲡的遗传多样性异常贫乏。而尽管欧洲鳗鲡和美洲鳗鲡的繁殖地接近,但仍存在着严格的生殖隔离^[13]。

类群识别对于渔业管理也很重要的作用。加拿大东海岸,有4种有重要商业价值的金枪鱼(蓝鳍金枪鱼、大眼金枪鱼、黄鳍金枪鱼和长鳍金枪鱼)。由于蓝鳍金枪鱼处于濒危状态,捕捞受到严格控制。但实施这一控制措施异常困难,这主要是由于渔民将其捕捞后,立即进行加工处理,因而从外形上很难判定它们,此外,它们的遗传关系很近,即使是利用可溶性肌蛋白等电聚焦电泳分析也不能区分它们。而Barlett等仅利用307bp的Cytb基因序列数据,就清晰地将它们分开,由此可见,mtDNA的序列分析技术可用来对蓝鳍金枪鱼的捕捞进行监测、管理^[14]。

类群识别在物种保护上,也有其独特的作用。Kornfield等从一池塘的红点鲑鱼中,发现了一个特异性的限制性类型,从遗传背景考虑,他们认为这一类群应加以重点保护^[15]。Bernatchez等发现濒危的Acidian白鱼(*Coregonus huntsmani*)与另两种大口白鲑或湖白鱼

存在显著的遗传分化。因而,它们认为: mtDNA 对于白鱼的保护,可提供一个很有用的遗传标记。Ong 等通过 D-loop 序列分析,发现大西洋鲤中大西洋和墨西哥湾种群存在亚种分化,因而建议对于它们的保护应给予同样的重视^[16]。

2.2 分子生物地理学 (Molecular Biogeography) 与种内系统地理学 (Intraspecific Phylogeography)

鱼类,特别是淡水鱼类,其分布受到水系的严格限制,地理隔离广泛存在。mtDNA 单倍型的频率变异呈现明显的地理分化,因而,利用 mtDNA 的种内遗传多样性,再结合地理分布的资料,可在分子水平进行动物地理学的深入研究。

Bermingham 和 Avise 对美国东南部的四种淡水鱼 (*Amia calva*, *Lepomis punctatus*, *L. gulosus*, *L. microlophus*) mtDNA 与地理分布关系的研究,为分子动物地理学研究提供了一个良好范例。他们发现:遗传关系很近的 mtDNA 克隆在地理分布上也是连续的。在每个种内,主要 mtDNA 系谱发育的分隔,可用来区分不同地理分布的种群,这说明:在种群的进一步分化上,扩散和基因流对突破地理障碍没多少效果。此外,在 mtDNA 系谱发育分隔区,也还存在物种间的强烈叠合。他们根据系谱发育的不连续特征,划出了这些鱼类分布的三个主要边缘带,其结果与他人通过野外调查和其他资料分析所得出的结果一致^[17]。

Avise 等人主要综合多年来鱼类分子群体遗传学的成果和动物地理学的知识,提出了种内系统地理学的概念,首次将系统学和群体遗传学联系起来。在考察了大量物种 mtDNA 系谱发育和地理分布的关系后,Avise 总结了物种分布的五种模式:① mtDNA 系谱发育不连续,空间隔离;② mtDNA 系谱发育不连续,无空间隔离;③ mtDNA 发育连续,空间隔离;④ mtDNA 发育连续,无空间隔离;⑤ mtDNA 发育连续,在分布区内呈部分隔离。其中,以①型最为常见。通过对上述模式的分析,Avise 还提出了以下假设:1)大多数物种是由在种内系统树上占有不同分支的地理群体所构成,这种系统发育的分支和地理分隔称为系统地理学的群体结构;2)那些缺乏系统发育地理学群体结构的物种,拥有易于扩散的生活史,而且其分布区之间不存在基因流动的障碍;3)具有较大系统发育间隔的单系群,在其起源历程中,通常存在长期的和外在的基因流动障碍。Avise 还认为:研究物种形成和宏观进化,必须重视种下水平的系统地理分化^[18]。

2.3 起源、分化和扩散

许多鱼类现今的分布,可反映它们曾经所受到的更新世冰期的影响。种下 mtDNA 单倍型的地理分化,可以反映地理分隔的历史。通过不同种群 mtDNA 多态性的比较,并结合地质变迁的资料,不仅可阐明现今种群相互间的亲缘关系,而且还可推测它们的起源、分化和扩散途径,以及探讨地理隔离等因素在物种形成中的作用。在这方面,大西洋鲑 (*Salmo salar*) 的研究是一个很好的范例^[19]。大西洋鲑有两个种群,一个为洄游入河产卵群体,另一个为非入河产卵群体。Birt 等比较了这两个种群的 mtDNA 内切酶图谱,发现它们的亲缘关系较近,经推测,它们的分歧时间大约在 1 万年左右,表明这两种生活习惯差别很大的大西洋鲑只是晚近才分化为两个群体。而对溯河与非溯河型太平洋鲑 (*Oncorhynchus nerka*) 研究,则揭示出这种鱼的两种不同生态类型的群体是并系或复系起源的,非溯河群体是溯河群体经过北太平洋平行进化而来^[20]。单性鱼 *Menidia clarkhubbsi*

复合群起源的研究,也是一个比较成功的例子。单性复合群和相近两性种类 mtDNA 的限制性内切酶分析,表明单性复合群起源于与 *M. peninsulae* 雌性发生的多次非交互杂交事件。*M. peninsulae* 为 *Menidia clarkhubbsi* 母本的这一结论,与他人通过同功酶分析得出的结论相矛盾。其原因可能是由于单系复合群还来自与 *M. beryllina* 及现今已灭绝的 *M. peninsulae* 其他类群发生的杂交。单系复合群的遗传变异度比母本类群的低,可能暗示单系复合群在起源过程中,存在着一种强烈的约束机制^[21]。最近, Pigeon 等探讨了形态相同的湖白鱼平行进化过程中物种形成的模式。mtDNA 的变异度表明个体小的和个体正常的群体是通过独立的平行进化而来^[22]。

3 mtDNA 标记在鱼类系统学研究中的应用

近年来,随着 DNA 序列数据爆炸式的增加和各种数据分析技术的日益成熟,分子系统学也日臻完善。mtDNA 由于其独特的优点,在鱼类分子系统学研究中得到广泛应用。由于受技术的制约,较早期的工作主要集中于 mtDNA 的限制性片段长度多态性分析 (RFLP), 依据酶切数据来进行系统发育研究。Wilson 等^[23] 和 Thomas 等^[24] 较早利用 mtDNA 的 RFLP 来探讨几种鲑科鱼类种间和种内的系统进化关系。他们的大部分结果与经典的形态分析结果一致。Ovenden 等利用 7 种限制性内切酶分析了分布于澳大利亚内陆水体的 *Gadopsis marmoratus* 和 *G. bispinosus* 两个种约 50 个个体的限制性位点多态性。尽管他们揭示出种间的遗传距离大于种内遗传距离,但两个种间及 *G. bispinosus* 北方和南方群体相互间的关系还难以确定,特别是 *G. bispinosus* 北方和南方群体间遗传距离相对较大 (5.98%), 几乎接近种间水平 (6.6%), 因此它们分类地位的确定,需要更深入的研究^[25]。与核基因组相比,mtDNA 具有较高的进化速率,它提供的进化速率应更为有效。但 Dowling 等对 4 种鲤科鱼类的研究,发现它比同工酶数据提供的信息低。可能的原因有:基因和谱系间存在进化速率的异质性;存在杂交渐渗;mtDNA 的不同区域和不同物种 mtDNA 的相对进化速率存在很大的变异等。因而,当利用 mtDNA 数据来探讨系统发育关系时,必须仔细考察 mtDNA 进化速率的一致性和是否严格的垂直遗传^[26]。可能是受鱼类地理分布的限制,国外学者在 mtDNA RFLP 分析上的大部分工作集中在对鲑科鱼类的研究上,他们综合地理分布的资料,不仅探讨了鲑科各亚科间、属间和种间的进化关系,还推测了它们的起源和扩散途径。

尽管 mtDNA 的 RFLP 分析与 DNA 序列分析相比,不仅简单、快速、耗费低,而且从理论上讲,只要选择的酶足够多,就可检测到足够的变异,但它毕竟是一种间接检测 DNA 序列变异的方法,因而,与 DNA 序列数据相比,提供的信息很有限。近年来,随着 PCR 技术的广泛应用,特别是全自动序列分析技术在分子系统学领域的推广,鱼类分子系统学工作,开始主要集中于 DNA 序列分析。mtDNA 不同区域进化速率相差很大。对于近缘物种的研究,应选用进化速度比较快的区域;对于远缘物种,应选用相对保守的区域。由于细胞色素 b 基因不仅容易用一些通用引物扩增和测序,而且它还是线粒体 DNA 上唯一的结构和功能被了解的较为清楚的蛋白编码基因^[27],所以,与其它许多脊椎动物一样,在鱼类 Cytb 基因也是分子系统学研究中应用得较多的分子标记。Mcveigh 等利用部分 Cytb 基因序列分析了鲑类 4 属 8 个种的系统发育,所得到的系统树与传统的观点相符,并

支持将虹鳟归入大麻哈鱼属 *Oncorhynchus* 的观点^[28]。Lockwood 等通过测定白鲑亚科 Coregoninae 亚科 8 个种 241bp 的序列, 分析了它们的系统关系, 所得出的结果与他人通过其他遗传学和形态学方法得出的结果一致^[29]。Cantatore 等测定了鲈形目鱼类 5 科 7 个种的全 Cytb 基因, 分析了它们之间以及与其他鱼类相互间的关系^[30]。Lydeard 等通过测定 Cytb402bp 的序列, 研究了食蚊鱼科 *Gambusia* 鱼类的系统进化^[31]。最近, Mojica 等又利用部分 Cytb 基因序列探讨了 *Brachyrhaphis* 属鱼类的系统发育^[32]。

对于不同的分类群, 即使是相同的区域, 进化速率也有一定的差异。在无背景资料的情况下, 选用什么基因? 测定多长的片段? 来解决所研究类群的系统进化关系, 在某种意义上, 带有一定的盲目性。同是 Cytb 基因, 259bp 和 241bp 的片段, 就能分别对鲑科 4 属 8 种^[28]和白鲑亚科 8 种^[29]的系统关系有一个较为清晰的认识; 而 402bp 和 350bp 片段提供的信息, 仍不能对食蚊鱼科 *Gambusia* 属 25 个种^[31]及 *Brachyrhaphis* 属的系统关系有一明确的认识。Cantatore 等认为: 对于鱼类, Cytb 基因不适合作为高分类阶元(如: 科间和目间)的系统发育标记^[50], 这可能与 Cytb 基因的空间结构有关。Cytb 基因不同功能区域空间结构不同, 受到的选择压力也不一样, 导致 Cytb 基因的变异存在不均一性。Zardoya 和 Meyer 考察了脊椎动物 mtDNA 上 13 个蛋白编码基因包含系统发育信息的情况。不考虑数据处理和加权的方法, 可将 13 个基因分为好、中、差三组。好的一组基因含有良好的系统发育信息。它们是: ND4, ND5, ND2, Cytb 和 COI; 中等的一组基因含有一定的系统发育信息, 它们是: COII, COIII, ND1 和 ND6; 差的一组基因不能很好地提供系统发育信息, 它们是: ATPase6, ND3, ATPase8 和 ND4L^[33]。

在线粒体 DNA 上, D-loop 区的进化速度最快, 一般用它来进行种内种群间的系统进化分析。Lee 等专门探讨了硬骨鱼类 D-loop 的结构和进化方式。他们发现: 即使在亲缘关系很近的物种间, 也存在高度的长度变异。因此建议在选择适当的区域来进行种内变异的研究时, 必须特别小心^[34]。对于探讨一些快速形成的物种, D-loop 提供的信息, 可能更有价值。在剑尾鱼属 *Xiphophores* 系统关系的研究上, Lockhart 等就认为 D-loop 序列提供的信息比 Cytb 序列提供的更为可靠^[35]。

在无背景资料的情况下, 为了获得较为客观的物种树, 一般主张选用不同基因区域的多组序列数据, 再采用“联合”或“一致”途径。Thomas 等利用部分 ATPase6, COIII, ND3, ND4L, tRNA^{Gly} 和 tRNA^{Arg} 序列, 探讨了太平洋 6 种鲑鳟鱼类的系统进化^[36]。Meyer 等利用部分 Cytb, tRNA^{Thr} 和 tRNA^{Pro} 序列阐明了 Victoria 湖中丽科鱼类的单系起源^[37]。Normark 等通过测定部分 Cytb, COI 和 COII 基因, 研究了新鳍亚纲 (Neopterygian) 三个主要类群: 弓鳍类 (Amiidae), 雀鳝类 (Lepisosteidae) 和真骨鱼类 (Teleostei) 的相互关系。结果显示: 弓鳍类与雀鳝类为一单系。而形态上认为为单系的新鳍类和真骨类得不到分子数据的支持^[38]。Grachev 等通过测定贝格尔湖三种土著杜父鱼的部分 Cytb, ATPase6 和 ATPase8 基因, 发现 *C. grewingkii* 和 *C. inermis* 不是一对姊妹群, 这与常规的看法相悖。Slobodyanyuk 等又进一步分析了贝格尔湖杜父鱼亚科 7 个种的部分 Cytb, ATPase6 和 ATPase8 基因, 推测了它们的分化时间, 也与传统的观点不符。Meyer 等通过对剑尾鱼属剑尾鱼的部分 Cytb, D-loop 区以及核基因的分析, 证实了它们性选择特性的重复起源。在大多数情况下, 不同的基因数据得到的分子系统树是一致的, 这时一般采用“联合”途

径。但也有不一致的情况,这时就应采用“一致”的途径。在很多情况下,分子数据得出的系统树与形态数据得出的系统树不一致,但对于结果如何取舍?如何解释?不同的作者有不同的观点。目前,对不一致情况最多的解释就是认为物种间存在杂交渐渗。Normak 等建议:当形态和分子数据得出的结果不一致时,基于形态学数据的暂时约束,对于分析分子数据,可提供一个可操作的方法^[38]。正因为线粒体 DNA 在分子系统学研究中具有一定的局限,因而,一些学者主张:除了测定线粒体 DNA 序列外,还应测定一些核基因序列,以尽可能避免线粒体 DNA 数据带来的局限。尽管,目前还没有一个标准来评价分子系统树和形态系统树,但从更多的方面去寻找更多证据来探讨物种的起源和进化途径,已得到形态系统学家和分子系统学家的共识^[43]。物种进化过程已成为历史,不可能重建出绝对完整的历史,也就是不可能获得绝对的物种树,综合分子、形态、生态行为和化石等多方面的证据,可望较为客观地阐明物种的进化历程。

4 鱼类线粒体 DNA 序列变异与分子种 (Molecular clock)

最早将 mtDNA 作为分子钟来推测物种分歧时间的,是 Brown 等在灵长类上的工作,他们推测:在灵长类,mtDNA 序列的进化速率为 1—2%/ 百万年,随后,许多学者在其他哺乳类和鸟类都观察到这一进化速率。在鱼类,2%/ 百万年这一进化速率首先被用来推测鲑鳟鱼^[23,36]的分歧年代,随后,也被用来推测棘臀鱼^[17],鲈科鱼类和其他鱼类的分歧年代。随着 DNA 序列数据的增加,一些更为精确的进化速率得以被估测。在偶蹄目的 rRNA 基因中,颠换的积累与时间呈线性关系,其进化速率为 0.2%/ 百万年。在哺乳动物,Cytb 基因中的第三密码子颠换积累也与时间呈线性关系,而其进化速率为 rRNA 基因的 2.5 倍。在 2 千 5 百万年范围内,若只利用第三密码子的无义颠换,在转换:颠换为 10:1 的前提下,无义突变速率接近 10%/ 百万年。第一、第二密码子的颠换和转换也都与时间呈线性关系,它们发生氨基酸取代的替代率为 0.4%/ 百万年^[27]。

Bentzen 较早在西鲱属 *Alose* 鱼类发现,其 mtDNA 的进化速率仅仅相当于高等动物的 1/10。在鲑鳟鱼类,他又进一步通过 mtDNA 数据和化石数据证实:鲑鳟鱼类 mtDNA 的进化速率只接近于高等脊椎动物的 1/3 至 1/2。Thomas 等通过分析 6 种鳟鱼的 ND3、ND4L、tRNA^{Gly} 和 tRNA^{Arg} 基因序列,较精确地推算了鳟鱼的核苷酸替代速率,发现它比哺乳类的低,进而认为冷血动物的核苷酸替换率比恒温动物低^[36]。Martin 等依据详细的化石记录,进一步精确地标定了在较软骨鱼类—鲨鱼的 Cytb 和 COI 基因中核苷酸的替代率。结果发现,在鲨鱼中,核苷酸的替代率比灵长类或有角类慢 7—8 倍。这种替代率的不同,无法用核苷酸组成偏差、密码子选用的偏差、选择或所选基因的机会不同等来解释。由于不同类群,线粒体 DNA 替代率存在差异,因而 Martin 等认为:不能用一个类群的速率尺度去估测另一类群的分化时间。他们主张:要想了解分类元间精确的分化时间,必需标定所研究分类元特异性的进化尺度。随后,Cantatore 等在鲈形目鱼类,也发现硬骨鱼核苷酸的替代率比哺乳类慢 3—5 倍^[30]。

参考文献:

- [1] Chang Y-S, F.-L. Huang, T.-B. Lo, The complete nucleotide sequences and gene organization of carp

- (*Cyprinus carpio*) mitochondrial genome. [J]. *J. Mol. Evol.*, 1994. 38:138—155
- [2] Tzeng G-S, C.-F. Hui, S.-C. Shen and P. C. Huang, The complete nucleotide sequence of the *Crossopteryx lacustris* mitochondrial genome: conservation and variations among vertebrates [J]. *Nucleic Acids Res.* 1992. 20:4853—4858
- [3] Zardoya R, A. Garrido-Pertierra, Bautista, J. M. The complete nucleotide sequence of the mitochondrial DNA genome of the Rainbow trout. *Oncorhynchus mykiss*. 1995. *J. Mol. Evol.* 41:942—951
- [4] Zardoya R, Meyer. A. The complete nucleotide sequence of the mitochondrial genome of the lungfish (*Protopterus dolloi*) supports its phylogenetic position as a close relative of land vertebrates. *Genetics* 1996. 142:1249—1263
- [5] Noack K, Zardoya, R. Meyer. Axel The complete mitochondrial DNA sequence of the Bichir (*Polypterus ornatipinnis*), a basal ray-finned fish: ancient establishment of the consensus vertebrate gene order. *Genetics* 1996. 144:1165—1180
- [6] Lee W J, Kocher. T D. Complete sequence of a sea Lamprey (*Petromyzon marinus*) mitochondrial genome: Early establishment of the vertebrate genome organization. *Genetics* 1995. 139:873—887
- [7] Zardoya R, Meyer. A. The complete DNA sequence of the mitochondrial genome of a "living fossil", the Coelacanth (*Latimeria chalumnae*). *Genetics*, 1997. 146:995—1010
- [8] Grewe P M, Krueger, C. C. Aquadro, C. F. et al. Mitochondrial DNA variation among Lake trout (*Salvelinus namaycush*) strains stocked into Lake Ontario. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 1993. 50:2397—2403
- [9] Stabile J, Waldman, J. R. Parauka, F. et al Stock structure and homing fidelity in Gulf of Mexico sturgeon (*Acipenser oxyrinchus desotoi*) based on restriction fragment length polymorphism and sequence analysis of mitochondrial DNA. *Genetics*, 1995. 144:767—775
- [10] Palva T, Heikkilävaara, Palva. E. T. Identification of Anadromous and non-anadromous Salmon stocks in Finland by mitochondrial DNA analysis. *Aquaculture* 1989. 81:237—244
- [11] Birt T P, Green, J. M. Davison. W. S. Mitochondrial DNA variation reveals genetically distinct sympatric populations of anadromous and nonanadromous Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 1991. 48:577—582
- [12] Rognon X, Guyomard. R. Mitochondrial DNA differentiation among East and West tilapia populations. *J. Fish. Biol.*, 1997. 51:204—207
- [13] Avise, J. C., Helfman, G. S. Saunders, N C. et al. Mitochondrial DNA differentiation in North Atlantic eels: population genetic consequences of an unusual life history pattern. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1986. 83:4350—4354
- [14] Bartlett S E, Davidson. W S. Identification of *Thunnus* Tuna species by the polymerase chain reaction and direct sequences analysis of their mitochondrial Cytochrome b genes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 1991. 48: 309—317
- [15] Kornfield I, Kircheis. F W Mitoondrial DNA and conservation of an aboriginal Arctic char (*Salvelinus alpinus aquassus*) from floods pond, Maine. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 1994. 51:62—67
- [16] Ong T Stabile, L, J. Virgin, I. et al Genetic divergence between *Acipenser oxyrinchus oxyrinchus* and *A. O. desotoi* as assessed by mitochondrial DNA sequencing analysis. *Copeia* 1996. (2):464—469
- [17] Bermingham E, Avise. J. C. Molecular zoogeography of freshwater fishes in the Southeastern United States. *Genetics*, 1986. 113:939—965
- [18] Avise J C, Arnold, J. Ball, R, M. et al. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 1987. 18:489—522
- [19] Birt T P., Green, J. M. Davidson. W. S. Analysis of mitochondrial DNA in allopatric anadromous and nonanadromous Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Can. J. Zool.*, 1986. 64:118—120
- [20] Taylor E B, Foote, C J. Wood. C, C. Molecular genetic evidence for parallel life-history evolution within

- a Pacific salmon (Sockeye salmon and kokanee), *Oncorhynchus nerka*. *Evolution*, 1996. 50(1):401—416
- [21] Echelle A A, Dowling, T E. Moritz, C. C. Mitochondrial DNA diversity and the origin of the *Menidia clarkhubbsi* complex of unisexual fishes (Atherinidae). *Evolution*, 1989. 43(4):984—993
- [22] Pigeon D, Chouinard, A. Bernatchez. L. Multiple modes of speciation involved in the parallel evolution of sympatric morphotypes of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*, Salmonidae). *Evolution*, 1997. 51(1):196—205
- [23] Wilson G M, Thomas, W. K. Beckenbach. A. T. Intra-and inter-specific mitochondrial DNA sequences divergence in salmo: rainbow, steelhead, and cutthroat trouts. *Can J. Zool.*, 1985. 63:2088—2094
- [24] Thomas W K, et al. Mitochondrial DNA analysis of Pacific salmonid evolution. *Can J. Zool.*, 1986. 64: 1058—1064
- [25] Ovenden J R, White, R W G. Sanger. A. C Evolutionary relationships of *Gadopsis spp.* inferred from restriction enzyme analysis of their mitochondrial DNA. *J. Fish. Biol.*, 1988. 32:137—148
- [26] Dowling T E, Brown. W M Allozymes, mitochondrial DNA, and levels of phylogenetic resolution among four minnow species (*Notropis*: Cyprinidae). *Sys. Zool.*, 1989. 38(2):126—143
- [27] Iwin D W., Kocher, T. D. Wilson. A C Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *J. Mol. Evol.* 1991. 32:128—144
- [28] Mcveigh H P, Davidson. W S. A salmonid phylogeny inferred from mitochondrial cytochrome b gene sequences. *J. Fish. Biol.*, 1991. 39(supplement A):277—282
- [29] Lockwood S, Dillinger Jr, F., R. E. Birt, T. P. et al. Phylogenetic relationships among members of the Coregoninae inferred from direct sequencing of PCR-amplified mitochondrial DNA. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 1993. 50:2112—2118
- [30] Cantatore P, Roberti, M. Pesole, G. et al. Evolutionary analysis of cytochrome b seqnace in some Perciformes: Evidence for a slower rate of evolution than in mammals. *J. Mol. Evol.* 1994. 39:589—597
- [31] Lydeard C., Wooten, M. C. Meyer. A. Cytochrome b sequence variation and a molecular phylogeny of the live-bearing fish genus *Gambusia* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Can. J. Zool.*, 1994. 73:213—227
- [32] Mojica C L, Meyer, A. Barlow G. W. Phylogenetic relationships of species of the genus *Brachyrhaphis* (Poeciliidae) inferred from partial mitochondrial DNA sequences. *Copeia*, 1997. (2):298—305
- [33] Zardoya R. Meyer. A. Phylogenetic Performance of mitochondrial protein-coding genes in resolving relationships among vertebrates. *Mol. Biol. Evol.*, 1996. 13(7):933—942
- [34] Lee W J. Conroy, J. Howell, W H et al. Structure and evolution of teleost mitochondrial control regions. *J. Mol. Evol.*, 1995. 41:54—66
- [35] Lockhart P J, Penny, D. Meyer. A. Testing the phylogeny of swordtail fishes using decomposition and spectral analysis. *J. Mol. Evol.*, 1995. 41:666—674
- [36] Thomas W K, Beckenbach. A. T. Variation in salmonid mitochondrial DNA: evolutionary constrains and mechanisms of substitution. *J. Mol. Evol.*, 1989. 29:233—245
- [37] Meyer A., Kocher, T. D. basasibwaki P. et al. Monophyletic origin of Lake Victoria cichlid fishes suggested by mitochondrial DNA sequence. *Nature* 1990. 347:550—553
- [38] Normark B B., Mccune, A. R. Harrison. R. G. Phylogenetic relationships of Neopterygian fishes, inferred from mitochondrial DNA sequences. *Mol. Biol. Evol.*, 1991. 8(6):819—834