

闽江水系绒螯蟹的表型性状差异与分子遗传差异的比较与分析

周 陆, 王成辉*, 成起萱, 王中清

(上海海洋大学 农业部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306)

摘要: 表型性状差异(differentiation in phenotypic traits, P_{ST})和分子遗传差异(differentiation at neutral molecular markers, F_{ST})是近期进化生物学的研究热点之一。闽江水系是我国中华绒螯蟹与合浦绒螯蟹的主要混杂地域, 是研究绒螯蟹遗传与进化的理想地之一。为探讨闽江水系绒螯蟹的 P_{ST} 和 F_{ST} , 以 2009 和 2010 年度闽江水系的 133 个绒螯蟹样本为材料, 进行了 14 个表型数量性状差异分析和 6 个微卫星标记的遗传差异分析。结果发现: 除 3 个表型性状不存在显著差异外, 其他表型性状在不同年份间均存在极显著差异($P<0.01$); 2009 年绒螯蟹的平均期望杂合度极显著高于 2010 年绒螯蟹($P=0.008$), 而平均等位基因丰富度、观测杂合度和近交系数均不存在显著差异($P=0.136\sim0.675$); 年份间的平均 F_{ST} 为 0.1429; 通过对 P_{ST} 与 F_{ST} 的比较发现, 除第二步足掌节长度(F2)性状外, 其他表型数量性状的 P_{ST} 值均高于 F_{ST} 值, 表明这些性状均受到了较明显的选择压力。该文研究结果为绒螯蟹的分子进化研究积累了资料, 也为其他水产生物的 P_{ST} 和 F_{ST} 比较研究提供了参考。

关键词: 绒螯蟹; 表型数量性状; 微卫星标记; 分子遗传变异

中图分类号: Q959.223; Q347; Q31; Q16 **文献标志码:** A **文章编号:** 0254-5853-(2012)03-0314-05

Comparison and analysis between P_{ST} and F_{ST} of mitten crabs in the Minjiang River

ZHOU Lu, WANG Cheng-Hui*, CHENG Qi-Xuan, WANG Zhong-Qing

(Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Recently, differentiation in phenotypic traits (P_{ST}) and differentiation at neutral molecular markers (F_{ST}) across populations have been become an important topic in evolutionary biology. The Minjiang River is a key genetic introgression zone between the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) and the Hepu mitten crab (*Eriocheir hepuensis*), making it an excellent area to study their genetics and evolutionary mechanisms. We compared and analyzed P_{ST} in 14 phenotypic traits and F_{ST} in six microsatellite markers from 133 individuals of the mitten crab, sampled in the Minjiang River in 2009 and 2010. The results indicated that 11 phenotypic traits were significantly different ($P<0.01$) between the 2009 and 2010 populations. The mean expected heterozygosity (H_E) of the 2009 populations was significantly higher ($P=0.008$) than that of 2010 populations, but the mean allele richness (A_R), observed heterozygosity (H_O) and inbreeding coefficient (F_{IS}) were all not significant between 2009 and 2010 populations ($P=0.136\sim0.675$). F_{ST} in microsatellite markers was 0.1429 between the two years. In the 14 traits, only one trait (F2) was found with $P_{ST}<F_{ST}$, suggesting that stabilizing selection is favoring a trait of F2; the other 13 traits were $P_{ST}>F_{ST}$, suggesting that directional selection is occurring. This study provides valuable data to the further study and analysis of the molecular evolution of the mitten crab, and contributes a useful reference in comparing P_{ST} and F_{ST} in other aquatic organisms.

Key words: Mitten crab; Phenotypic quantitative traits; Microsatellite marker; Molecular genetic variation

分子遗传差异(differentiation at neutral molecular markers, F_{ST})是传统的衡量种群遗传分化、种群遗传结构的基本指标(Weir & Cockerham, 1984; Wright,

1965), 在遗传学领域有着广泛的应用。数量性状差异(differentiation in quantitative traits, Q_{ST})是指在遗传漂变、选择、基因流和环境适应性等因素作用下,

收稿日期: 2011-12-05; 接受日期: 2012-04-17

基金项目: 上海市科委重点科技攻关项目(09391911100); 上海市中华绒螯蟹产业技术体系建设项目(D8003-10-0208)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: wangch@shou.edu.cn

群体间数量性状的差异(Lande, 1992; Spitze, 1993; Wright, 1951)。它是度量不同群体间数量性状差异程度的一个指标(Spitze, 1993)。当 Q_{ST} 显著大于 F_{ST} 时, 表明群体受到了明显的选择压力; 当 Q_{ST} 显著小于 F_{ST} 时, 表明群体处于稳定的平衡选择之中(O'Hara & Merilä, 2005; Spitze, 1993; Whitlock, 2008)。基于上述假设, Q_{ST} 与 F_{ST} 的比较研究已成为近年来生物进化领域的研究热点之一(Edelaa & Björklund, 2011; Evanno et al, 2006; Santure & Wang, 2009; Whitlock & Guillaume, 2009)。水产生物自 2007 年报道了第一例 Q_{ST} 与 F_{ST} 的比较研究(McClelland & Naish, 2007)后, 至今未见后续报道。由于 Q_{ST} 的计算需根据群体的遗传方差, 这对野生群体较为困难。目前大量研究均以表型性状差异(differentiation in phenotypic traits, P_{ST})来代替 Q_{ST} (Brommer, 2011; Leinonen et al, 2006; Raeymaekers et al, 2007)。

绒螯蟹是东亚地区的特有蟹类, 中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)和日本绒螯蟹(*Eriocheir japonica*)是绒螯蟹属的两个最重要经济种类(Zhao et al, 1988)。此外, 分布于我国南方(如广西合浦、广东珠江等)的绒螯蟹为合浦绒螯蟹(Guo et al, 1997; Ng et al, 1999; Wang et al, 2008)。有关作者利用线粒体部分序列分析发现: 闽江是中华绒螯蟹与合浦绒螯蟹的混杂地域(Wang et al, 2008)。在生物学特性上, 绒螯蟹的生命周期为两年, 一生只繁殖一次, 繁殖后亲本即死亡, 奇年与偶年生绒螯蟹通常不发生遗传交配或基因交流(如 2009 年出生的绒螯蟹于 2011 年繁育, 2010 年出生的绒螯蟹于 2012 年繁育。2009 与 2010 年和 2011 与 2012 年绒螯蟹不存在遗传基因交流), 因而, 闽江水系绒螯蟹为研究绒螯蟹的表型性状差异与分子遗传差异提供了良好的模型和材料。本文通过对 2009 年(奇年)与 2010 年(偶年)连续两年闽江水系绒螯蟹样本的表型性状差异和微卫星分子遗传差异分析, 在国内外首次探讨水产生物的表型性状差异(P_{ST})与分子遗传差异(F_{ST})的关系, 以期为绒螯蟹的分子进化研究积累资料, 也为其它水产生物的类似研究提供参考或借鉴。

1 材料和方法

1.1 材料

本文以 2009 和 2010 年 10 月上旬采集的闽江水系二龄绒螯蟹天然群体为材料。采样地点为闽江福州江段, 2009 年样本 40 只, 2010 年样本 93 只。

1.2 形态数据测量

首先对采集的每只绒螯蟹样本进行表型性状参数测定(图 1), 包括: 体重(BW)、内额齿间距(A1)、外额齿间距(A2)、第一侧齿间距(A3)、第二侧齿间距(A4)、第三侧齿间距(A5)、第四侧齿间距(A6)、背甲后缘长度(A7)、背甲长(L)、体高(H)、第二步足长节长(F1)、第二步足掌节长(F2)、第二步足指节长(F3)、第二步足指节近掌节端宽度(F4)。体重精确到 0.1 g, 其他性状精确到 0.1 mm。测量后样本取步足肌肉于 95% 的酒精中保存, 用于 DNA 提取。

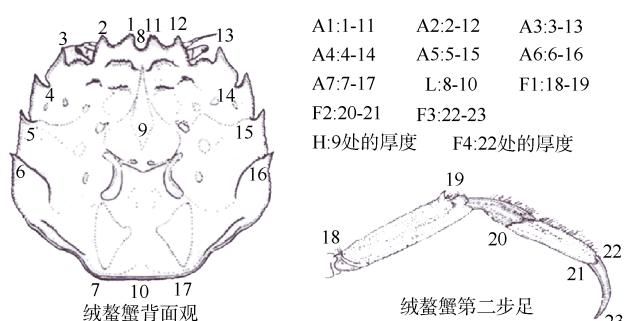


图 1 绒螯蟹表型性状测量示意图

Fig. 1 Measurement landmark for phenotypic traits of mitten crab

1.3 DNA 提取

总 DNA 提取采用饱和氯化钠法: 取绒螯蟹肌肉约 0.1 g, 用镊子小心放入 1.5 mL 离心管中, 37 °C 烘箱中烘干酒精, 加入 STE 裂解缓冲液(30 mmol/L Tris-HCl, 200 mmol/L EDTA, 50 mmol/L NaCl, pH 8.0) 420 μL, 10% SDS 80 μL, 蛋白酶 K(20 mg/mL) 20 μL, 混匀后放入 56 °C 恒温箱中消化过夜; 待消化完毕, 加饱和 NaCl 溶液 340 μL, 轻摇 5 min, 然后加入氯仿 340 μL, 轻轻混匀。室温条件下, 13 000 r/min 离心 20 min, 取上清液转入另一干净的离心管中, 加预冷(-20 °C)的异丙醇 400 μL 混匀, 4 °C, 12 000 r/min 离心 20 min, 小心倒尽上清液, 加入预冷(-20 °C)的 75% 乙醇 800 μL 洗涤 DNA, 混匀, 4 °C 下 12 000 r/min 离心 20 min, 倒掉乙醇, 烘干。加入 TE100 μL 溶解 DNA, 然后保存备用。

1.4 微卫星标记的 PCR 扩增与检测

应用已报道的六对绒螯蟹微卫星引物(Cheng et al, 2009)对样本进行 PCR 扩增。PCR 反应总体积为 10 μL, 包括 1 μL 基因组 DNA(20 ng/μL)、5 μL 缓冲液(0.2 μmol/L dNTPs, 1.5 μmol/L MgCl₂, 0.5 μmol/L Taq DNA 聚合酶)、1 μL 引物、3 μL 蒸馏水。PCR 扩增程序: 94 °C 预变性 5 min, 随后进行 35 个

循环, 每循环为 94 °C 变性 30 s、48~61 °C 退火 30 s、72 °C 延伸 30 s, 最后 72 °C 延伸 10 min。

PCR 产物利用德国 Qiagen 公司生产的遗传分析系统(QIAxcel)进行检测和片段分析。

1.5 数据处理

1.5.1 表型性状差异(P_{ST})计算 首先将表型性状参数分别除以背甲长(L), 转换为比例性状参数, 以消除规格大小对数据分析的影响, 体重性状进行自然对数转换。然后, 对转换后的数据进行正态性检验和均质性检验。应用 Statistica 8.0 软件对校正后的数据进行单因素方差分析(ANOVA), 以及计算各表型性状的群体内方差(σ_{GW}^2)和群体间方差(σ_{GB}^2), 根据 Raeymaekers et al(2007)的公式计算表型性状差异 (P_{ST}), 公式具体如下:

$$P_{ST} = \sigma_{GB}^2 / (\sigma_{GB}^2 + 2\sigma_{GW}^2)$$

1.5.2 分子遗传差异(F_{ST})计算 根据微卫星标记的等位基因频率, 利用 FSTAT2.9.4 软件(Goudet et al, 1995)计算群体观测杂合度(H_O)和期望杂合度(H_E)、等位基因丰富度(A_R)和近交系数(F_{IS}), 并进行哈迪-温伯格平衡检验(HWE)。应用 Arlequin 软件(Excoffier & Lischer, 2010)计算群体间的分子遗传差异(F_{ST})。

2 结 果

2.1 表型性状差异

对 2009 和 2010 年绒螯蟹样本的表型性状数据作正态性检验和均质性检验发现, 所有表型性状参数均满足正态性分布($P=0.073\sim0.824$)。2009 年绒螯蟹的体重变异程度大于 2010 年绒螯蟹, 而形态性状(F4 除外)的变异程度略低于 2010 年绒螯蟹, 具体如图 2 所示。单因素方差分析(ANOVA)表明: 除

A1($P=0.149$)、F1($P=0.096$)和 F2($P=0.897$)三个性状差异不显著外, 其他各表型性状在不同年份间均存在极显著差异($P<0.149$)(表 1)。

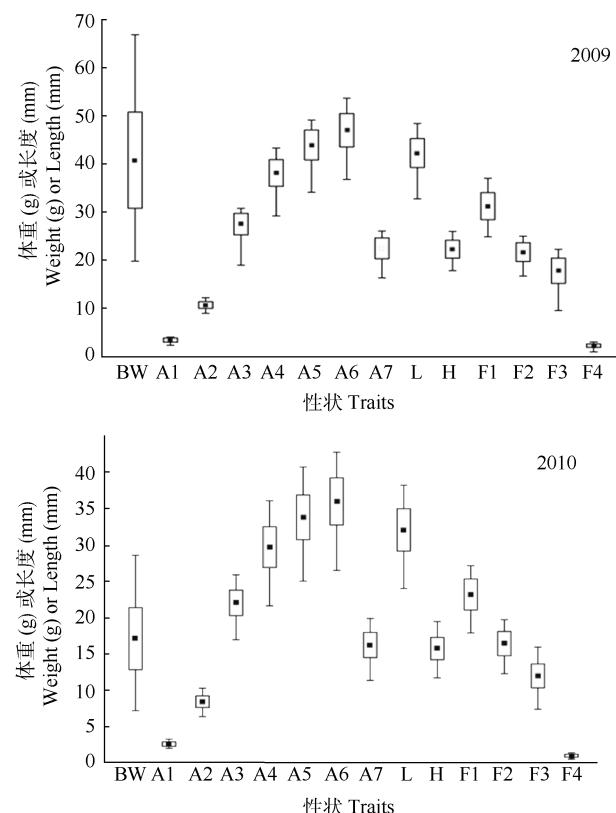


图 2 2009 与 2010 年绒螯蟹的表型性状变异

Fig. 2 Phenotypic trait variation in the 2009 and 2010 populations of the mitten crab

实心黑框为性状平均值; 空心黑框为性状标准差; 实线两端为性状的最大值与最小值。

Mean values are presented by black dots, standard variation are presented by black block, maximum and minimum values are presented by black lines.

表 1 2009 与 2010 年绒螯蟹表型性状的单因素方差分析

Tab. 1 One-way variance analysis (ANOVA) for the 2009 and 2010 populations of the mitten crab

性状 Traits	BW	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	H	F1	F2	F3	F4
<i>F</i> 值 <i>F</i> -value	307.07	2.10	31.00	57.17	34.13	21.46	10.51	18.20	43.73	2.82	0.02	30.26	280.41
<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	0.001	0.149	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	0.001	0.001	0.096	0.897	0.001	0.001

2.2 微卫星遗传变异

2009 和 2010 年度闽江水系绒螯蟹的微卫星遗传变异情况如表 2 所示。2009 年绒螯蟹的平均等位基因数低于 2010 年绒螯蟹, 而其观测杂合度、期望杂合度和近交系数均高于 2010 年。哈迪-温伯格平

衡检验表明, 除 2010 年群体中 HPX-69 位点符合哈迪-温伯格平衡外, 2009 年 6 个位点和 2010 年 5 个位点均偏离哈迪-温伯格平衡。经检验, 年度间的期望杂合度存在极显著差异($P=0.008$), 而其他 3 个遗传变异指标均不存在显著差异($P=0.136\sim$

表 2 2009 与 2010 年绒螯蟹的微卫星分子遗传变异参数

Tab. 2 Genetic variation parameters for the 2009 and 2010 populations of the mitten crab based on microsatellite data

位点 Locus	2009					2010					F_{ST}		
	n	A_R	H_O	H_E	F_{IS}	P_{HWE}	n	A_R	H_O	H_E	F_{IS}	P_{HWE}	
HPX-2	40	11.00	0.5750	0.8889	0.356	0.0000	93	12.36	0.3441	0.8696	0.606	0.0000	0.0361
HPX-6	40	14.33	0.9250	0.8392	-0.104	0.0046	93	13.44	0.8280	0.8929	0.073	0.0000	0.0180
HPX-9	40	9.53	0.4750	0.8851	0.467	0.0000	93	16.50	0.1398	0.2778	0.498	0.0000	0.4695
HPX-22	40	12.94	0.8000	0.9089	0.121	0.0002	93	13.33	0.8280	0.8990	0.079	0.0000	0.0165
HPX-54	40	5.90	0.5000	0.7133	0.302	0.0000	93	9.00	0.0538	0.3149	0.830	0.0000	0.3705
HPX-69	40	11.62	0.7250	0.9142	0.209	0.0067	93	13.48	0.8495	0.8838	0.039	0.1974	0.0280
平均值 mean		10.89	0.6667	0.8583	0.2252	0.0019		13.02	0.5072	0.6896	0.3542	0.0329	0.1429

n: 样本数; A_R : 等位基因丰富度; H_O : 观测杂合度; H_E : 期望杂合度; F_{IS} : 近交系数; F_{ST} : 分子遗传差异; P-value: 哈迪-温伯格平衡检验 P 值。

n: specimen size; A_R : allelic richness; H_O : observed heterozygosity; H_E : expected heterozygosity; F_{IS} : inbreeding coefficient; F_{ST} : genetic differentiation at microsatellite markers; P_{HWE} : P-value for Hardy-Weinberg equilibrium test.

0.675)。两群体间的分子遗传差异(F_{ST})为 0.0165~0.4695, 平均为 0.1429。AMOVA 分析(表 3)也表明, 两群体间的遗传变异, 占总变异的 14.29%, 群体内个体间的遗传差异为 21.54%。

表 3 绒螯蟹分子遗传变异的分子方差分析

Tab. 3 Analysis of molecular variance (AMOVA) between the 2009 and 2010 populations of the mitten crab

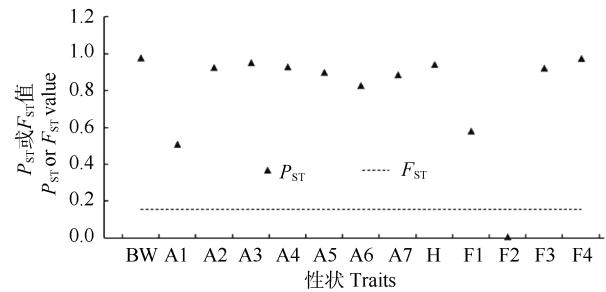
变异来源 Source of variation	自由度 df	占总变异的百分比(%) Percentage of variation	遗传差异指数 Fixation indices	P 值 P value
群体间 Between populations	1	14.29	$F_{ST}=0.1429$	<0.001
群体内个体间 Among individuals within populations	131	21.54	$F_{IS}=0.2514$	<0.001
个体内 Within individuals	133	64.17	$F_{IT}=0.3583$	<0.001

2.3 P_{ST} 与 F_{ST} 比较

计算得出各性状的 P_{ST} 值(BW:0.9788; A1:0.5105; A2:0.9266; A3:0.9525; A4:0.9317; A5:0.9028; A6:0.8306; A7:0.8895; H:0.9429; F1:0.5815; F2:0.0084; F3:0.9253; F4:0.9783)后, 通过与 F_{ST} 的比较作图(图 3)可以看出, 除第二步足掌节长度(F2)这一性状外, 其他性状的 P_{ST} 值均高于 F_{ST} 平均值。

3 讨论

生物表型性状的数值比较宏观, 相对容易获得, 因此, 通过研究生物的表型性状来发现生物个体以及群体间的差异是比较常用的方法(Leean, 2008; Myers et al, 2001; Traka-Mavrona, 1996)。本研

图 3 闽江水系绒螯蟹的 P_{ST} 与 F_{ST} 比较Fig. 3 Diplot of P_{ST} and F_{ST} for mitten crab distributed in Minjiang River

究发现, 在奇年(2009)与偶年(2010)闽江水系绒螯蟹的 13 个所测表型性状中, 除三个性状(A1、F1 和 F2)不存在显著差异外, 其他各性状均存在极显著差异, 因为河蟹是一种生命周期为两年、一生只繁殖一次的生物(即 2009 年样本与 2010 年样本不存在交叉繁殖和基因交流), 不同遗传背景和年份间生活环境会对表型性状造成较大影响, 应用不同年份间的绒螯蟹样本探讨表型性状差异是可行的。微卫星标记常用于水产动物的研究中(Ma et al, 2005; Zhang et al, 2010)。本研究通过微卫星标记分析发现, 2009 与 2010 年样本间, 只在期望杂合度存在显著差异, 而在等位基因丰富度、观察杂合度和近交系数这三个遗传参数均不存在显著差异, 表明年份间样本的分子遗传变异与表型变异存在变异的非一致性, 这为研究 P_{ST} 与 F_{ST} 提供了有利条件。以上也说明, 闽江水系绒螯蟹可较好地应用于绒螯蟹的 P_{ST} 与 F_{ST} 研究。

P_{ST} 是度量不同群体间表型性状分化的程度, F_{ST} 是度量不同群体间分子标记的遗传差异程度

(Volis et al, 2005; Yang et al, 2008)。通过对 P_{ST} 和 F_{ST} 的比较, 可了解不同进化机制对群体间差异的影响程度和作用大小。在迁移、突变或遗传漂变的作用下, 群体间的表型性状差异近似于中性分子遗传差异, 但多样性的选择会导致群体间的表型性状差异显著大于分子遗传差异(Lande, 1992; McKay &

Latta, 2002; Merilä & Crnokrak, 2001)。本研究通过对各性状的 P_{ST} 值计算, 并与 F_{ST} 值进行比较, 结果表明: 除第二步足掌节长度(F2)外, 其他各性状 P_{ST} 值都远大于 F_{ST} 值, 这说明闽江绒螯蟹群体除 F2 外, 其它性状均受到外界的选择压力, 受到自然选择的作用, 以及群体的地方适应性。

参考文献:

- Brommer JE. 2011. Whither P_{ST} ? The approximation of Q_{ST} by P_{ST} in evolutionary and conservation biology [J]. *J Evol Biol*, **24**(6): 1160-1168.
- Cheng QX, Wang CH, Xu JW, Wang J, Yang QL. 2009. Novel microsatellite markers for endangered Hepu mitten crab, *Eriocheir hepuensis* [J]. *Conserv Genet Resour*, **1**(1): 357-360.
- Edelaar P, Björklund M. 2011. If F_{ST} does not measure neutral genetic differentiation, then comparing it with Q_{ST} is misleading. Or is it? [J]. *Mol Ecol*, **20**(9): 1805-1812.
- Evanno G, Castello E, Goudet J. 2006. Evolutionary aspects of population structure for molecular and quantitative traits in the freshwater snail *Radix balthica* [J]. *J Evol Biol*, **19**(4): 1071-1082.
- Excoffier L, Lischer HEL. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows [J]. *Mol Ecol Resour*, **10**(3): 564-567.
- Goudet J. 1995. FSTAT (version 1.2): A computer program to calculate F-statistics [J]. *Heredity*, **86**(6): 485-486.
- Guo JY, Ng NK, Dai A, Ng PKL. 1997. The taxonomy of three commercially important species of mitten crabs of the genus *Eriocheir* de Hann, 1835 (Crustacea: Decapod: Brachyura: Grapsidae) [J]. *Raffles Bull Zool*, **45**(2): 445-476.
- Lande R. 1992. Neutral theory of quantitative genetic variance in an island model with local extinction and colonization [J]. *Evolution*, **46**(2): 381-389.
- Leeann TR. 2008. Female preference for male phenotypic traits in a fiddler crab: do females use absolute or comparative evaluation? [J]. *Anim Behav*, **77**(1): 139-143.
- Leinonen T, Cano JM, Mäkinen H, Merilä J. 2006. Contrasting patterns of body shape and neutral genetic divergence in marine and lake populations of threespine sticklebacks [J]. *Evol Biol*, **19**(6): 1803-1812.
- Ma HT, Chang YM, Yu DM, Sun XW. 2007. Microsatellite variations among four populations of *Eriocheir sinensis* [J]. *Zool Res*, **28** (2): 126-133. [马海涛, 常玉梅, 于冬梅, 孙效文. 2007. 利用微卫星分子标记分析四个中华绒螯蟹群体的遗传多样性. 动物学研究, **28** (2): 126-133.]
- McClelland EK, Naish KA. 2007. Comparisons of F_{ST} and Q_{ST} of growth-related traits in two populations of Coho Salmon [J]. *Trans Am Fish Soc*, **136**(5): 1276-1284.
- Merilä J, Crnokrak P. 2001. Comparison of genetic differentiation at marker loci and quantitative traits [J]. *J Evol Biol*, **14**(6): 892-903.
- McKay JK, Latta RG. 2002. Adaptive population divergence: markers, QTL and traits [J]. *Trend Ecol Evol*, **17**(6): 285-291.
- Myers JM, Hershberger WK, Saxton AM, Iwamoto RN. 2001. Estimates of genetic and phenotypic parameters for length and weight of marine net-pen reared coho salmon (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum)[J]. *Aquac Res*, **32**(4): 277-285.
- Ng NK, Guo JY, Ng PKL. 1999. Generic affinities of *Eriocheir leptognathus* and *E. formosa* with description of a new genus (Brachyura: Grapsidae: Varuninae) [J]. *J Crustacean Biol*, **19**(1): 154-170.
- O'Hara RB, Merilä J. 2005. Bias and precision in Q_{ST} estimates: problems and some solutions [J]. *Genetics*, **171**(3): 1331-1339.
- Raeymaekers JAM, Van Houdt JKJ, Larmuseau MHD, Geldof S, Volckaert FAM. 2007. Divergent selection as revealed by P_{ST} and QTL-based F_{ST} in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) populations along a coastal-inland gradient [J]. *Mol Ecol*, **16**(4): 891-905.
- Santure AW, Wang JL. 2009. The joint effects of selection and dominance on the Q_{ST} - F_{ST} contrast [J]. *Genetics*, **181**(1): 259-276.
- Spitze K. 1993. Population structure in *Daphnia obtusa*: quantitative genetic and allozymic variation [J]. *Genetics*, **135**(2): 367-374.
- Traka-Mavrona E. 1996. Effects of competition on phenotypic expression and differentiation of five quality traits of carrot (*Daucus carota* L.) and their implications in breeding [J]. *Sci Hortic: Amsterdam*, **65**(4): 335-340.
- Volis S, Yakubov B, Shulgina I, Ward D, Mendlinger S. 2005. Distinguishing adaptive from nonadaptive genetic differentiation: comparison of Q_{ST} and F_{ST} at two spatial scales [J]. *Heredity*, **95**(6): 466-475.
- Wang CH, Li CH, Li SF. 2008. Mitochondrial DNA-inferred population structure and demographic history of the mitten crab (*Eriocheir sensu stricto*) found along the coast of mainland China [J]. *Mol Ecol*, **17**(15): 3515-3527.
- Weir BS, Cockerham CC. 1984. Estimating F-statistic for the analysis of population-structure[J]. *Evolution*, **38**(6): 1358-1370.
- Whitlock MC, Guillaume F. 2009. Testing for spatially divergent selection: comparing Q_{ST} to F_{ST} [J]. *Genetics*, **183**(3): 1055-1063.
- Whitlock ME. 2008. Evolutionary inference from Q_{ST} [J]. *Mol Ecol*, **17**(8): 1885-1896.
- Wright S. 1951. The genetical structure of populations [J]. *Ann Eugen*, **15**(1): 323-354.
- Wright S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating [J]. *Evolution*, **19**(3): 395-420.
- Yang W, Ye QG, Li ZZ, Huang HW. 2008. Genetic differentiation of quantitative traits and local adaptability of remnant populations of *Isoetes sinensis* and implications for conservation and genetic reinforcement[J]. *J Plant Ecol*, **32**(1): 143-151. [杨伟, 叶其刚, 李作洲, 黄宏文. 2008. 中华水韭残存居群的数量性状分化和地方适应性及其对保育遗传复壮策略的提示. 植物生态学报, **32**(1): 143-151.]
- Zhang Y, Lu CY, Cao DC, Xu P, Wang S, Li HD, Zhao ZX, Sun XW. 2010. Rates and patterns of microsatellite mutations in common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Zool Res*, **31**(5): 561-564. [张研, 鲁翠云, 曹顶臣, 徐鹏, 王书, 李恒德, 赵紫霞, 孙效文. 2010. 鲤鱼微卫星突变速率和模式. 动物学研究, **31**(5): 561-564.]
- Zhao NG, Du NS, Bao XS. 1988. The artificial propagation and aquaculture of *Eriocheir sinensis* [M]. Hefei: Anhui Science & Technology Publishing House, 75-77. [赵乃刚, 堵南山, 包祥生. 1988. 中华绒螯蟹的人工繁殖与增养殖. 合肥: 安徽科学技术出版社, 75-77.]