西江野生鲮与养殖群体的遗传分析

张丹丹^{1,2},郑光明¹,朱新平¹,赵 建¹,陈昆慈¹,潘德博¹ (1中国水产科学研究院珠江水产研究所,广东广州 510380;2上海海洋大学水产与生命学院,上海 201306)

摘要:利用部分鲤科鱼类中具多态位点的74 对微卫星引物对鲮基因组 DNA 进行筛选扩增,其中11 对引物可稳定 扩增且有较高的多态性,占总引物数的14.86%,并利用筛选的引物对西江段3个野生鲮群体(深色群体、浅色群体、西江群体)和1个养殖群体进行遗传多样性分析.结果显示:11个引物扩增得到等位基因数为4~23个,大小为100~374 bp,平均多态信息含量为0.7498,不同群体的观测杂合度为0.5105~0.6273,期望杂合度为0.7120~0.7656,深色群体、浅色群体、西江群体和养殖群体的Nei 氏基因多样度分别为0.7451±0.3884,0.7632±0.3968,0.7081±0.3712,0.7392±0.3852,野生群体与养殖群体相比,杂合度和遗传多样性水平基本一致.运用Genetix 软件计算得到4个群体间的基因分化系数为0.0268~0.0703.AMOVA分析表明群体间的变异占总变异的6.96%,群体内个体间的变异占93.04%,固定系数为0.06964,群体间具有一定程度的分化,但分化主要表现在野生群体和养殖群体之间,而野生群体之间的分化不明显.

关键词:鲮;野生群体;养殖群体; PCR 扩增; 微卫星标记; 遗传变异

中图分类号: Q959.468

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2009)03-0081-05

Genetic Analysis of Cultured and Wild Populations of Mud Carp, Cirrhina molitorella from Xijiang, Pearl River Using Microsatellite Markers

ZHANG Dan-dan^{1,2}, ZHENG Guang-ming¹, ZHU Xin-ping¹, ZHAO Jian¹, CHEN Kun-ci¹, PAN De-bo¹
(1 Pearl River Fisherise Research Institute, Chinese Fishery Academy of Sciences, Guangzhou 510380, China;
2 College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Seventy four pairs of microsatellite primers developed for other cyprinids were tested for amplification in mud carp, Cirrhina molitorella. Eleven primers, 14. 86%, which yielded stable and polymorphic products were used to detect the population genetic variation of C. molitorella. Four populations, namely the green-color population, the yellow-color population, the Xijiang population and the cultured population, were analyzed respectively using the 11 microsatellite primers, 4 to 23 alleles were amplified and the fragment sizes ranged from 100 bp to 374 bp, and the mean polymorphic information content (PIC) was 0.749 8. The observed heterozygosity of the four populations ranged from 0.510 5 to 0.627 3 and the expected heterozygosity were 0.712 0 - 0.765 6. The average gene diversity loci for the four populations were 0.745 1 \pm 0.388 4,0.763 2 \pm 0.396 8,0.708 1 \pm 0.371 2,0.739 2 \pm 0.385 2, respectively. All the indices above indicated marked variations in the four populations and the genetic variation level of the cultured population was consistent with the wild populations, which meant a good genetic condition of the cultured population of C. molitorella. The Cst between every two populations calculated with the Genetix software ranged from 0.026 8 to 0.070 3, which indicated some differentiation between the populations. The AMOVA analysis also showed that the differentiation was 6.96% variation among populations and 93.04% variation within populations, and the fixation index was 0.069 64. But the differentiations and 93.04% variation within populations, and the fixation index was 0.069 64.

收稿日期:2008-11-12

作者简介:张丹丹(1981—),女,硕士研究生;通讯作者:郑光明(1964—),男,研究员,硕士,E-mail:ZGMZYL@yahoo.com.cn 基金项目:国家自然科学基金(30271022);国家重点基础研究发展计划项目(2004CB117401);广东省科技计划项目 (2005B20301007,2005A20105001);国家科技基础条件平台建设项目(2006DKA30470-008)

ation mainly appeared between the wild population and the cultured population, and little differentiation appeared among wild populations.

Key words: Cirrhina molitorella; wild population; cultured population; PCR amplificatioin; microsatellite marker; genetic variation

鯪 Cirrhina molitorella 俗称土鲮、鲮公,隶属鲤形 目,鲤科,野鲮亚科,分布于闽江、九龙江、珠江、元 江、澜沧江水系及海南岛各水系[1]. 是中国华南地区 重要的经济鱼类,两广地区"四大家鱼"之一.具有饲 料来源广、抗病力强、肉质鲜美等优点,深受广大消 费者青睐. 国内已有鲮遗传方面的一些研究 [24],郑 光明等[5]利用随机扩增片段长度多态性 DNA (Random amplified polymorphic DNA, RAPD)对珠江流域 不同江段鲮进行了遗传研究. 程飞等[6] 和 Yang 等[7] 开展了鲮的微卫星位点筛选和群体遗传多样性初步 分析.卫二建等[8] 对珠江干流西江肇庆段野生鲮及 养殖群体进行了形态比较,研究表明不同群体在形 态上有一定的差异. 微卫星或称简单序列重复(Simple sequence repeat, SSR)是由1~6个碱基组成的短 串联重复序列,其座位高度丰富,变异率高并且散布 于整个真核生物基因组[9]. 微卫星具有丰富的多态 性和简单的孟德尔遗传方式,成为近年来广泛应用 的 DNA 标记技术. 由于微卫星侧翼序列区为单拷 贝,在亲缘关系较近的物种间保守性较高,利用已报 道的鱼类微卫星引物可以在亲缘关系较近的物种中 获得成功扩增[10].针对上述问题,在我们多年研究的 基础上,拟利用几种鲤科鱼的微卫星引物,对珠江干 流西江段不同野生群体及养殖群体的鲮基因组进行 扩增,旨在研究不同群体鲮的遗传多样性,分析鲮群 体遗传结构,为鲮遗传资源的保护利用、连锁图谱的 构建和分子标记辅助育种奠定基础.

1 材料与方法

1.1 材料

试验用野生鲮均采自西江段,26 尾西江群体于2004年采自西江梧州段.30 尾浅色群体和29 尾深色群体由广东省鲮良种场提供,为2001年和2003年在珠江干流西江肇庆段捕获的野生鲮夏花苗种.捕获时发现存在2个不同颜色的类群,一个群体背部绿色,颜色较深,另一群体背部黄色,颜色相对较浅,同批同塘养殖至2006年,鲮体色未发生变化.养殖群体来自广东顺德一养殖场,共30尾.每尾取血液或者肝脏置于无水乙醇中,-20℃保存备用.

1.2 引物与试剂

参照文献[11-15]设计引物 74 对,由上海生工

生物工程技术服务有限公司合成. TaqDNA 聚合酶、MgCl₂、10 × Buffer、dNTPs、pUC19 DNA/Msp I (HpaII) Marker 为上海生工生物工程技术服务有限公司产品,其他均为国产分析纯试剂. PCR 扩增仪为 Eppendorf mastercycler,电泳仪为 DYY-7C 垂直电泳仪.

1.3 方法

1.3.1 基因组 DNA 提取 DNA 的提取参照《分子克隆实验指南》^[16], DNA 质量和浓度的检测参照周莉等^[17]的方法.

1.3.2 PCR 扩增与引物筛选 PCR 反应总体系为 $10 \mu L$, 含有 $10 \times Buffer 1.0 \mu L$, MgCl₂(25 mmol/L) 0.6 μL , dNTPs(10 mmol/L) 0.2 μL , 上、下游引物(10 $\mu mol/L$) 各 0.4 μL , Taq 酶 0.1 U, 模板 DNA 50 ng 左 右. PCR 反应程序为 94 ℃ 预变性 5 min, 94 ℃ 变性 30 s, 各引物退火温度 52 ~ 68 ℃, 退火时间 30 s, 72 ℃延伸 40 s, 23 ~ 26 个循环, 最后 72 ℃延伸 7 min. 通过上述 PCR 程序, 开展引物筛选,表 1 为能成功扩增且有多态性的引物序列、反应条件及扩增等位基因数和等位基因大小.

1.3.3 电泳与染色 PCR 产物用质量分数为8%非 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,上样量为3 μL,电泳 缓冲液为0.5×TBE,电压230 V 电泳时间为2~3 h. DNA Marker 上样量为 0.5 μL. 电泳后进行银染,染 色方法参照霍金龙等[18]的方法略加改进:ddH2O漂 洗5 s;加入1 g/L AgNO₃ 溶液,静置 2.5 min,倒掉 AgNO₃ 溶液;用少许 ddH₂O 洗 2 次,每次不超过 10 s;迅速加入 50 mL 显色液(NaOH 12 g, Na₂CO₃ 0.5 g,质量分数为40%的 HCHO 3 mL,加 ddH₂O 水定容 至 500 mL),漂洗 2 次,振荡时间不超过 5 s;再加一 定量的显色液(须没过胶面),显色 3~5 min. 待带型 清晰时,立即将胶取出,用 NIKON COOLPIX4500 数 码相机拍照,然后用2片玻璃纸做成干胶,长久保存. 1.3.4 数据统计与分析 用 Alpha Ease FC 软件分 析微卫星条带大小. 根据电泳图谱上 DNA 泳动距离 判断个体的基因型,就个体而言,如果电泳条带表现 为1条,则所检测的样本在该基因座位为纯合;如果 为2条则此样本在该座位为杂合,统计每个个体的 基因型后,用 Pop-gene(Version 3.2) 计算等位基因频 率,观测杂合度和期望杂合度.参照 Botstein 等[19]的

方法计算多态信息含量 (Polymorphism information content, PIC): PIC = $1 - \sum_{i=1}^{n} p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^{n} 2p_i^2 p_j^2$,用 Genetix V. 4.03 软件计算群体间遗传分化系数和群体间的遗传距离,使用 Arlequin V. 3.11 进行分子变异分析和 Nei 氏基因多样度分析 [20].

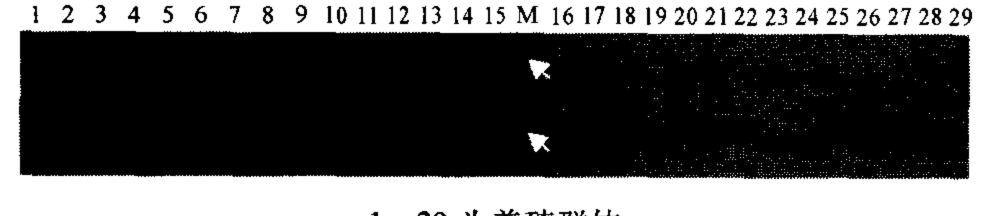
表 1 引物反应条件及扩增等位基因数和片断大小 Tab. 1 Reaction conditions of primers, allele number and size

		退火温	···		等位基因大小
位点	引物序列	度/℃	循环数	基因数	• •
MFW1	F:GTCCAGACTGTTCATCAGGAG	()	22	15	172 220
	R:GAGGTGTACACTGAGTCACGC	62	23	15	173 ~ 220
MFW15	F:CTCCTGTTTTGTTTTGTGAAA	£0	25	17	154 107
	R:GTTCACAAGGTCATTTCCAGC	58	25	17	154 ~ 197
MFW17	F: CAACTACAGAGAAATTTCATC	E.I.	24	,	100 000
	R:GAAATGGTACATGACCTCAAG	54	24	6	183 ~ 208
MFW19	F; GAATCCTCCATCATGCAAAC	5.4	23	9	197 ~ 223
	R:CAAACTCCACATTGTGCC	54			
MFW24	F:CTCCAGATTGCACATTATAG	54	24	23	169 ~ 256
	R:TACACACACGCCAGAGCCTTT				
MFW26	F: CCTGAGATAGAAACCACTG	. .	26	21	116 ~ 162
	R:CACCATGCTTGGTGCAAAAG	54			
Cc7	F:TGGCTTTTCTTGAAGCCCTA		24	22	200 ~ 374
	R:GAGTTTAAGCCCTGTTCCCC	61			
Bgon22	F:TCTTGTTGATCACACGGACG	**	••		405 445
	R: ACAGATGGGGAAAGAGAGCA	58	23	4	107 ~ 115
R-3r	F: TATTCACCCCAAATCCATTA	52	23	11	100 ~ 168
	R:GACCCTTGTGCATAAGACC				
Lr3	F: ATCTGGCTGCCTATTCACC		25	14	135 ~ 179
	R: CATCGGCGACTGCACTGGA	68			
HLJ19	F: ACTGCTGGCTCAGGAACA		23	7	ممد بجد
	R; AGAGCAAAGATGGTAGCTC	56			174 ~ 186

2 结果

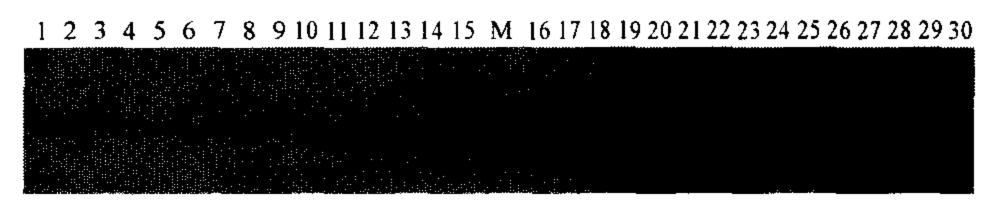
2.1 PCR 扩增结果

74 对引物中能稳定扩增且有多态性的引物共11 对,占总引物数的 14.86%. 引物 MFW1、MFW19、MFW24 的扩增图谱见图 1~3.



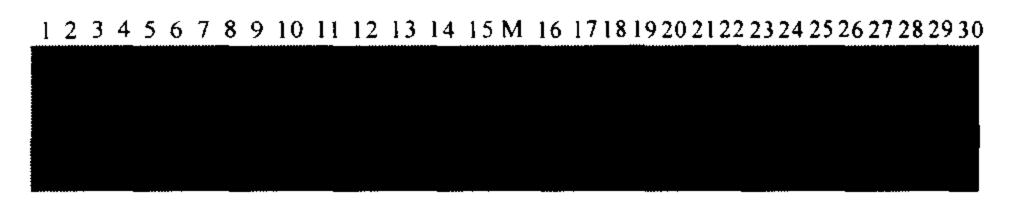
1~29 为养殖群体

图 1 引物 MFW1 在养殖群体中扩增的电泳图谱 Fig. 1 Electrophoregram of microsatellite primer MFW1 amplified in cultured population of Cirrhina molitorella



1~30 为养殖群体

图 2 引物 MFW19 在养殖群体中扩增的电泳图谱 Fig. 2 Electrophoregram of microsatellite primer MFW19 amplified in cultured population of *Cirrhina molitorella*



1~15 为浅色群体,16~30 为西江群体

图 3 引物 MFW24 在部分个体中扩增的电泳图谱 Fig. 3 Electrophoregram of microsatellite primer MFW24 amplified in Cirrhina molitorella

2.2 西江野生鲮及人工繁殖群体的遗传多样性

西江野生鲮及人工繁殖群体的平均 PIC 为 0.749 8, Botstein 等^[19]认为,当 PIC > 0.5 时,该位点为高度多态位点,当 0.25 < PIC < 0.5 时,该位点为中度多态位点;当 PIC < 0.25 时,该位点为低度多态位点.据此划分,11 个位点中 MFW1、MFW15、MFW17、MFW19、MFW24、MFW26、R-3r、Cc7、Lr3、HLJ19 为高度多态位点,占 90.9%; Bgon22 为中度多态位点,占 9.1%.说明鲮群体 PIC 整体水平较高,遗传多样性丰富.

平均观测杂合度为 0. 510 5 ~ 0. 627 3,期望杂合度为 0. 712 0 ~ 0. 765 6(表 2), Nei 氏基因多样度分析计算得深色群体为 0. 745 1 ± 0. 388 4,养殖群体为 0. 739 2 ± 0. 385 2,浅色群体为 0. 763 2 ± 0. 396 8,西江群体为 0. 708 1 ± 0. 371 2,表明不同群体遗传多样性基本一致,杂合度水平相差不大.

2.3 鲮群体遗传分化

运用 Genetix 软件计算得到 4 个群体间的基因分化系数和群体间遗传距离, AMOVA 分析显示群体间的变异占总变异的 6.96%, 而群体内个体间的变异占93.04%, 固定系数为 0.069 6, 说明鲮群体间有一定程度的分化. 养殖群体与深色群体、浅色群体、西江群体的分化系数分别为 0.062 5, 0.049 8, 0.070 3, 这也表明鲮野生群体与鲮养殖群体之间有一定的遗传分化, 深色群体与浅色群体, 西江群体的分化系数分别为 0.029 3 和 0.027 1, 浅色群体与西江群体的分化系数为 0.026 8 均小于 0.05, 表明 3 个野生群体只存在轻微分化, 分化主要表现在野生群体和养殖群体之间.

养殖群体与深色群体、浅色群体、西江群体的遗传距离分别为 0.446、0.351、0.463, 而 3 个野生群体

间的遗传距离分别为 0. 190、0. 147、0. 149,表明养殖群体与野生群体间的遗传距离大于野生群体间的遗传距离,遗传变异主要表现在养殖群体和野生群体间,这与计算遗传分化系数的结果一致.

表 2 4 个群体在 11 个座位的遗传多样性

Tab. 2 Genetic diversity of 4 populations of Cirrhina molitorella at 11 loci

座位	群体1)	等位基多态信息		观测及期望	平均杂	
		因数(A)	含量(PIC)	杂合度 (Ho/He)	合度
MFW1	G	11	0.8918	0.8884	0.793 1/0.876 0	0.872 15
	C	10	0.844 1		0.800 0/0.873 5	
	Y	11	0.8718		0.700 0/0.898 3	
	W	10	0.8029		0.576 9/0.840 9	
MFW15	G	11	0.8509	0.8764	0.586 2/0.880 8	0.86484
	C	13	0.826 1		0.733 3/0.862 2	
	Y	12	0.845 2		0.833 3/0.871 8	
	W	10	0.807 2		0.461 5/0.844 7	
MFW17	G	3	0.247 6	0.5147	0.344 8/0.275 3	0. 297 67
	C	4	0.230 1		0.133 3/0.245 8	
	Y	4	0.4637		0. 133 3/0. 524 9	
	W	2	0.132 0		0. 153 9/0. 144 8	
MFW19	G	8	0.793 4	0.796 5	0.482 8/0.831 8	0.786 80
	C	8	0.7628		0.566 7/0.804 0	
	Y	7	0.6827		0.633 3/0.727 1	
	W	6	0.732 1		0.730 8/0.784 3	
MFW24	G	20	0.9104	0.8816	0.724 1/0.932 2	0.868 20
	C	13	0.8287		0.600 0/0.858 8	
	Y	12	0.7698		0.733 3/0.806 2	
	W	11	0.8433		0.269 2/0.875 6	
MFW26	G	10	0.8323	0.8999	0.827 6/0.863 9	0.895 42
	C	13	0.8724		0.833 3/0.898 3	
	Y	16	0.8906		0.700 0/0.919 8	
	W	13	0.8714		0.730 8/0.899 7	
R-3r	G	8	0.5829	0.717 5	0.655 2/0.656 4	0. 748 82
	C	8	0.6963		0.766 7/0.749 7	
	Y	9	0.7795		0.800 0/0.817 0	
	W	10	0.732 6		0.615 4/0.772 3	
Bgon22	G	4	0.4584	0.3902	0.448 3/0.558 4	0.501 88
	C	2	0.3739		0.466 7/0.506 2	
	Y	2	0.345 6		0.533 3/0.452 0	
	W	2	0.365 6		0.500 0/0.491 0	
Cc7	G	13	0.8509	0.8804	0.827 6/0.879 0	0.88746
	С	12	0.872 2		0.866 7/0.898 3	
	Y	18	0.8874		0.766 7/0.911 3	
	W	12	0.8265		0.807 7/0.861 2	
ĿЗ	G	12	0.6108	0.6919	0.379 3/0.647 9	0.709 51
	C	9	0.5928		0.466 7/0.630 5	
	Y	10	0.757 7		0.666 7/0.790 4	
*** ** *	W	11	0.728 6	A 744 4	0.423 1/0.769 2	0 (0= 5)
HLJ019	G	6	0.747 5	0.710 1	0. 275 9/0. 794 9	0.695 25
	C	6	0.7604		0.566 7/0.804 0	
	Y	5	0.6088		0.400 0/0.676 8	
	<u>W</u>	4	0.4480		0.346 2/0.505 3	

¹⁾G:深色群体,C:养殖群体,Y:浅色群体,W:西江群体

3 讨论

由于微卫星座位两侧的序列在亲缘关系相近物种之间具有很高的保守性,因此,微卫星的一个潜在价值是从一个物种产生的引物可应用于相关的物种^[21].全迎春等^[22]用6072对斑马鱼引物在鲤鱼中扩增,其中多态性位点为563个,占9.27%.梁利群等^[23]证明鳟的微卫星标记可用于乌苏里江哲罗鱼基因组 DNA 遗传多样性分析,说明借用同科、同属鱼的微卫星标记开展基因组遗传多样性检测分析可行.本文利用部分鲤科鱼类中74对多态性的微卫星引物对鲮基因组进行扩增,其中11对能够获得稳定的多态性条带,占总筛选引物的14.86%.本研究所获得的11个微卫星引物均可用于鲮遗传多样性和种群分化等研究.

遗传多样性最普通的评价标准是杂合度、等位 基因多样性和多态座位比例[24]. 样本大小与所检测 出的微卫星 DNA 位点的等位基因数及整体基因丰 富度均呈正相关,而与表观杂合度无显著相关,与期 望杂合度不相关^[25]. Nei ^[24]也指出,期望杂合度是 度量种群基因多样性程度的优良指标,在小种群中 使用观测杂合度不太适宜. Nei 氏基因多样度即群 体的期望杂合度,4个群体中最低的西江群体为 0.712 0,最高的浅色群体为 0.765 6,平均观测杂合 度为 0.510 5~0.627 3,均高于 DeWoody 和 Avise [26] 基于 13 种淡水鱼类统计而得出的平均杂合度 0.46, 表明珠江流域西江段鲮遗传多样性较为丰富. 这与 郑光明等[5]利用 RAPD 方法所做的研究结果有一定 的差异,RAPD 研究的结果是鲮的遗传多样性偏低. 野生群体中,深色群体和浅色群体为 2001 年和 2003 年采集的样品,西江群体则为 2004 年采集的样品, 研究表明西江群体的 Nei 氏基因多样度比深色群体 和浅色群体有所降低,这可能是由于鲮捕捞过度导 致种群数量减少,从而遗传多样性降低.

遗传分化系数是表征群体间遗传分化程度的重要参数,当该参数在0~0.05 时,群体间遗传分化较弱;在0.05~0.15 时,遗传分化中等;0.15~0.25 时,遗传分化较大;当大于0.25 时,表示群体间分化极大.本研究结果表明鲮野生群体与鲮养殖群体之间有一定的遗传分化,野生群体中的深色群体、浅色群体、西江群体之间只存在轻微分化,也可以认为群体间无遗传分化,养殖群体和野生群体遗传多样性基本一致,说明本试验中所采集鲮养殖群体繁殖基数较大,具有一定的群体稳定性.

参考文献:

- [1] 中国水产科学研究院珠江水产研究所,上海水产大学,中国水产科学研究院东海水产研究所,等.海南岛淡水及河口鱼类志[M].广州:广东科技出版社,1986:127-129.
- [2] 郑光明,朱新平,张跃,等. RAPD 技术鉴定 3 种鲮的研究[J]. 华中农业大学学报,1999,18(4): 371-374.
- [3] 郑光明,张跃,朱新平,等. 鲮、麦鲮和野鲮之 RAPD 的遗传标记[J]. 上海水产大学学报,1999,8(3): 215-220.
- [4] 杨成,朱新平,郝君,等. 鲮鱼微卫星标记的分离与鉴定[J]. 上海水产大学学报,2008,17(2):158-163.
- [5] 郑光明,朱新平,张跃,等. 珠江流域不同江段鲮鱼遗传差异研究[J]. 农业生物技术学报,2001,9(2):178-182.
- [6] 程飞,叶卫,叶富良. 鲮鱼的微卫星位点筛选和群体遗传多样性初步分析[J]. 动物学研究,2007,28(2): 119-125.
- [7] YANG Cheng, ZHU Xing-ping, SUN Xiao-wen. Development of microsatellite markers and their utilization in genetic diversity analysis of cultivated and wild population of the mud carp [J]. Journal of Genetics and Genomics, 2008,35(4): 201-206.
- [8] 卫二建,朱新平,郑光明,等. 珠江野生鲮鱼的形态变异及与养殖群体的比较[J]. 大连水产学院学报, 2007,22(5): 357-360.
- [9] TAUTZ D, RENZ M. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes [J]. Nucleic Acids Research, 1984, 12(10): 4127-4138.
- [10] TONG J, WANG Z, YU X, et al. Cross-species amplification in silver carp and bighead carp with microsatellite primers of common carp [J]. Molecular Ecology Notes, 2002,2(3): 245-247.
- [11] CROOLJMANS R P M A, VANDERPOEL J J, GROENEN M A M, et al. Microsatellite markers in common carp (Cyprinus carpio L.) [J]. Animal Genetics, 1997, 28 (2): 129-134.
- [12] 孙效文,贾智英,魏东旺,等. 磁珠富集法与小片段克隆 法筛选鲤微卫星的比较研究[J]. 中国水产科学,2005, 12(2): 126-132.
- [13] LAL K K, CHAUHAN T, MANDAL A, et al. Identification of microsatellite DNA markers for population structure analysis in Indian major carp, Cirrhinus mrigala (Hamilton-

- Buchanan, 1882) [J]. J Appl Ichthyol, 2004, 20(2): 87-91.
- [14] DAS P, BARAT A, MEHER P K, et al. Isolation and characterization of polymorphic microsatellites in *Labeo rohita* and their cross-species amplification in related species [J]. Molecular Ecology Notes, 2005, 5 (2): 231-233.
- [15] MOHINDRA V, NARAIN L, PUNIA P, et al. Microsatellite DNA markers for population-genetic studies of *Labeo dyocheilus* (McClelland, 1939) [J]. Journal of Applied Ichthyology, 2005, 21(6): 478-482.
- [16] 萨姆布鲁克,拉塞尔. 分子克隆实验指南[M].3 版. 黄培堂,王嘉玺,朱厚础,等译. 北京: 科学出版社,2002: 463-470.
- [17] 周莉,樊连春,桂建芳. 银鲫复合种外源遗传物质整入的 RAPD 分析[J]. 水生生物学报,1998,22(4): 301-306.
- [18] 霍金龙,曾嵘,潘伟荣,等,微卫星 PCR 聚丙烯酰胺凝胶 银染法影响因素的分析研究[J]. 云南农业大学学报, 2005,20(1):67-71.
- [19] BOTSTEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. American Journal of Human Genetics, 1980, 32(3): 314-331.
- [20] NEI M. Molecular evolutionary genetics [M]. New York: Columbia University Press, 1987.
- [21] SCHLOTTERRER C, AMOS W, TAUTZ D. Conservation of polymorphic simple sequence loci in cetacean species [J]. Nature, 1991, 35(4): 63-65.
- [22] 全迎春,梁利群,孙效文,等. 斑马鱼微卫星分子标记检测鲤鱼种间多态性[J]. 中国水产科学,2006,13(2): 300-304.
- [23] 梁利群,常玉梅,董崇智,等. 微卫星 DNA 标记对乌苏里江哲罗鱼遗传多样性的分析[J]. 水产学报,2004,28 (3): 241-244.
- [24] NEI M. Molecular population genetics and evolution[M].

 Amsterdam: North-Holland Publishing Company. 1975.
- [25] 闫路娜,张德兴. 种群微卫星 DNA 分析中样本量对各种遗传多样性度量指标的影响[J]. 动物学报,2004,50 (2): 279-290.
- [26] DEWOODY J A, AVISE J C. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals [J]. J Fish Biol, 2000, 56(3): 461-473.

【责任编辑 柴 焰】