

文章编号: 1000-0615(2007)03-0385-06

吉富品系尼罗罗非鱼选育过程中遗传变异的微卫星分析

颀晓勇^{1,2}, 李思发¹, 蔡完其¹

(1. 上海水产大学农业部水产种质资源与养殖生态重点开放实验室, 上海 200090;

2. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东 广州 510300)

摘要:采用微卫星标记技术对选育新品种新吉富罗非鱼(F_{8-9})群体、基础群体(F_0)、以及选育中群体(F_{6-7})在选育过程中出现的遗传变异进行观察与分析。19 个微卫星位点扩增后的等位基因数为 3~11 个, 随引物不同而异, 合计得到 115 个等位基因, 大小在 70~270 bp 之间。五群体平均基因多样性指数分别为, F_0 : (0.3083 ± 0.1834) 、 F_6 : (0.2982 ± 0.1889) 、 F_7 : (0.2923 ± 0.1898) 、 F_8 : (0.2572 ± 0.1923) 、 F_9 : (0.2743 ± 0.1597) , 表明随着选育的进展, 群体呈现出纯化趋势。AMOVA 分析表明, 在总遗传变异中, 93.24% 来自选育群体内, 仅 6.67% 来自选育群体间。群体间的校正偏差后相似性系数在 F_0 与 F_6 、 F_7 之间分别为 0.943 5 和 0.942 2, 相对较高; 而在 F_0 与 F_8 、 F_9 之间分别为 0.933 2 和 0.930 3, 相对较低。遗传距离在 F_0 与 F_6 、 F_7 之间分别为 0.058 1 和 0.059 5, 相对较小; 而在 F_0 与 F_8 、 F_9 之间分别为 0.069 1 和 0.072 2, 相对较大。配对比较 F_{st} 值在 F_0 与 F_6 、 F_7 之间分别为 0.037 68 和 0.064 37, 平均值为 0.051 03; 而在 F_0 与 F_8 、 F_9 之间分别为 0.060 93 和 0.075 87, 平均值为 0.068 40, 有所提高。这些指标的分析结果表明, 经 9 年 9 代选育, 已在罗非鱼世代间造成程度虽小但却可监测到的遗传分化; 同选育群体 F_{6-7} 相比, “新吉富罗非鱼”(F_{8-9}) 在遗传上更为稳定。

关键词: 新吉富罗非鱼; 选育; 遗传变异; 微卫星

中图分类号: S 917 **文献标识码:** A

Analysis of genetic diversity of GIFT strain Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) during selection processing by microsatellites

XIE Xiao-yong^{1,2}, LI Si-fa¹, CAI Wan-qi¹

(1. The Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquacultural Ecology Certificated by the Ministry of Agriculture, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China;

2. South China Sea Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China)

Abstract: 19 microsatellites were used to observe and analyse the genetic variation of selected generations of GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*). During selection processing, 19 polymorphic microsatellite loci were used. Total of 115 alleles were found among the five generations of 100 individuals. The number of alleles per locus ranged from 3 to 11, with allele size ranging from 70 to 270 bp. The average gene diversity indices of the base

收稿日期: 2006-07-24

资助项目: 国家“十五”攻关项目——尼罗罗非鱼选育技术(2001BA505B0513)

作者简介: 颀晓勇(1976-), 男, 甘肃天水人, 博士研究生, 主要从事水产动物种质资源与种苗工程研究。Tel: 021-65710062, E-mail: xyxie@stmail.shfu.edu.cn

通讯作者: 李思发, Tel: 021-65710333, E-mail: lsf038@mail.online.sh.cn

population F_0 , and selected generations, F_6 , F_7 , F_8 , F_9 were (0.3083 ± 0.1834) , (0.2982 ± 0.1889) , (0.2923 ± 0.1898) , (0.2572 ± 0.1923) , (0.2743 ± 0.1597) , respectively, which suggested that the selected populations were getting pure generation by generation. AMOVA analysis showed that there were 93.24% of total genetic variation derived from genetic diversities within population, 6.67% from among populations. Nei's (1978) genetic identity between F_0 and F_6 , F_7 was 0.943 5 and 0.942 2, between F_0 and F_8 , F_9 was 0.933 2 and 0.930 3, respectively, which was relatively lower. Nei's (1978) genetic distance between F_0 and F_6 , F_7 was 0.058 1 and 0.059 5, between F_0 and F_8 , F_9 was 0.069 1 and 0.072 2, which was relatively larger. Pairwise F_{st} values were 0.037 68, 0.064 370 between F_0 and F_6 , F_7 , respectively, averaged 0.051 03; and 0.060 93, 0.075 87 between F_0 and F_8 , F_9 , respectively, averaged 0.068 40. These results showed that there were a minimal, but could be monitored genetic differentiation caused by nine generation of selection in Nile tilapia, the genetic structure of the "New GIFT tilapia" F_{8-9} was more stabler than F_{6-7} .

Key words: New GIFT tilapia; selective breeding; genetic diversity; microsatellite

“新吉富罗非鱼”是上海水产大学选育的尼罗罗非鱼新品种。吉富品系尼罗罗非鱼是由国际水生生物资源管理中心(ICLARM)通过非洲4个原产地直接引进尼罗罗非鱼品系(埃及、加纳、肯尼亚、塞内加尔)和亚洲4个养殖比较广泛的尼罗罗非鱼品系(以色列、新加坡、泰国、中国台湾)经混合杂交选育而成^[1],1994年引入我国时为其第3代,遗传性能尚不够稳定,并有继续改良的潜力。上海水产大学以其为基础群体(F_0),从1996年起逐年系统选育,2004年产生获得 F_8 ,2005年获 F_9 。2006年1月,经全国水产原种和良种审定委员会确定为新品种(登记号GS01-001-2005,农业部公告第631号)。在选育过程中,本实验室对选育各世代一直进行跟踪研究^[2-4],结果一致表明选育群体的生长速度逐代提高、尾鳍条纹逐代趋于整齐。最近,我们运用RAPD技术研究了吉富品系尼罗罗非鱼选育系 $F_6 \sim F_9$ 4个世代内及世代间的遗传变异情况。多态座位比例、群体间的遗传相似系数和Shannon多样性指数3项指标值均表明, $F_6 \sim F_9$ 的遗传差异有逐代降低的明显趋势^[5]。为更全面深入地理解新吉富罗非鱼在选育过程中的遗传差异,我们采用微卫星技术对新吉富罗非鱼(F_{8-9})群体、基础群体(F_0)、以及选育中群体(F_{6-7})的遗传变异进行了进一步测定和分析。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

新吉富罗非鱼的基础群体(F_0)系1994年从菲律宾引进的5000尾尼罗罗非鱼。从1996年起

开展选育,每年产生一代。本实验的材料是从 F_0 、 $F_6 \sim F_9$ 共5代的选育群体中随机采样各20尾,剪取尾鳍,分别编号后以95%乙醇保存备用。

1.2 基因组 DNA 提取

基因组DNA提取参照常规的酚-氯仿抽提程序进行,并通过琼脂糖凝胶电泳检测DNA。

1.3 PCR 反应

参考已发表的尼罗罗非鱼遗传连锁图谱^[6-7],按互不连锁的原则,从不同连锁群中选择了19个微卫星,分别为UNH118、UNH123、UNH129、UNH138、UNH147、UNH168、UNH172、UNH176、UNH187、UNH209、UNH212、UNH214、UNH216、UNH222、UNH231、UNH233、UNH879、UNH904、UNH907。PCR扩增反应总体积为25 μL ,内含约50 ng基因组DNA,3 μL buffer (10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl, pH 9.0, 50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl, 3.0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2 , 0.001%的明胶), 0.1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ dNTP, 引物浓度0.2 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 1.0 U *Taq* 酶(Biostar International)。在Eppendorf Mastercycler Gradient PCR仪上摸索每对引物的最适退火温度。PCR反应循环程序为:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性4 min,接着94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,退火30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s。35个循环后,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸10 min。

1.4 扩增产物的电泳分析

PCR产物经3%琼脂糖凝胶电泳检测出扩增条带后,采用8%非变性聚丙烯酰胺凝胶,1 \times TBE缓冲液,5 $\text{V} \cdot \text{cm}^{-1}$ 低电压电泳。分子量标准为pBR322DNA/*Msp*I。电泳结束后,取下凝胶用1.0 L 10%乙酸固定30 min,用双蒸去离子水漂洗两次后转移至1.0 L 0.1%硝酸银(临用配制,含1.5

mL 37% 甲醛)染色 30 min,再用双蒸去离子水快速漂洗(5 s 内)后,加入 1.0 L 3% 碳酸钠(临用配制,含 200 μ L 硫代硫酸钠,1.5 mL 37% 甲醛,冰浴 0.5 h),待条带充分显现后,加入 10% 乙酸终止显色。用 Syngene 凝胶成像分析系统进行拍照、记录、分析。

1.5 数据统计与分析

采用 19 个微卫星位点进行扩增均获得了清晰的 DNA 条带。用 1 或 0 分别表示 DNA 带的有无。利用 POPGENE1.31 软件^[8],根据 Nei (1973)^[9]的方法计算平均基因多样性;根据 Nei (1972)^[10]和 Nei (1978)^[11]计算校正偏差前、后群体间遗传相似性系数和群体间遗传距离。利用 ARLEQUIN 2.000 软件^[12],根据 Weir 的方法计算群体遗传分化指数 F_{st} 值以及进行分子方差分析 (AMOVA),用排列测验法 (permutation test) 检验 F_{st} 的显著性(重复次数为 1 000)。

2 结果

2.1 选育群体遗传多样性的变化

采用 19 对微卫星引物对尼罗罗非鱼 5 个选育群体、共 100 尾个体进行了比较分析。经梯度 PCR 摸索最适退火温度,所有引物均稳定地扩增出相应的同源序列,重复性好。采用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶低电压电泳,DNA 条带分离效果好。因引物的不同,各引物扩增得的等位基因数分别为 3~11 个,共 115 个等位基因,大小在 70~270 bp。图 1-a, b 所示分别为引物 UNH212 和 UNH172 在 5 个选育群体中的部分扩增图谱。

对这些引物的实验结果的分析结果如表 1。多态位点百分数、群体内遗传分化指数 F_{st} 和平均基因多样性 3 个指标在基础群体和选育群体之间都呈现出随选育世代数的累进而降低的趋势。

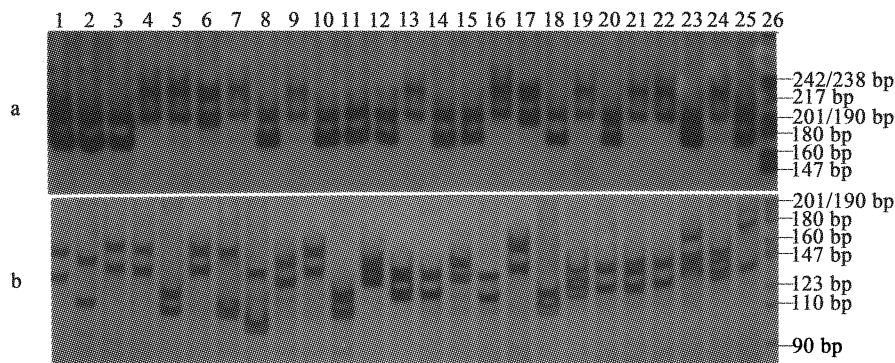


图 1 微卫星聚丙烯酰胺凝胶电泳图

Fig.1 PAGE pattern of microsatellite DNA

a: 引物 UNH212; b: 引物 UNH172 a: primer pairs UNH212; b: UNH172

1-5: F_0 ; 6-10: F_6 ; 11-15: F_7 ; 16-20: F_8 ; 21-25: F_9 ; 26: Marker (pBR322DNA/ $M_{sp}I$)

表 1 新吉富罗非鱼选育过程中 5 个世代的遗传多样性

Tab.1 Genetic diversity of five generations of New GIFT tilapia during selective processing

世代 generation	引物数 number of primers	多态位点百分数 (%) percentage of polymorphic sites	群体内 F_{st} 指数 F_{st} indices	population specific population specific	平均基因多样性 (mean \pm SE) average gene diversity over loci
F_0	19	83.87	0.079	10	0.3083 \pm 0.1834
F_6	19	81.74	0.064	82	0.2982 \pm 0.1889
F_7	19	77.39	0.071	85	0.2923 \pm 0.1898
F_8	19	73.91	0.074	94	0.2572 \pm 0.1923
F_9	19	81.30	0.057	52	0.2743 \pm 0.1597

2.2 选育群体间遗传差异

选育群体间相似系数和遗传距离如表 2 所示。不同群体间的相似性系数为 0.904 7 ~ 0.921 9, 偏差矫正后的相似性系数为 0.925 4 ~ 0.943 5。两种计算方法所得到的群体间相似系数及遗传距离略有不同, 但都表明 5 个群体间有一定的遗传分化。其中, 群体间的校正偏差后相似性系数 F_0 与 F_6 、 F_7 之间分别为 0.943 5 和 0.942 2, 相对较高; 而 F_0 与 F_8 、 F_9 之间分别为

0.933 2和0.930 3, 相对较低。遗传距离 F_0 与 F_6 、 F_7 之间分别为 0.058 1和 0.059 5, 相对较小; 而 F_0 与 F_8 、 F_9 之间分别为 0.069 1和 0.072 2, 相对较大。

分子方差分析(AMOVA)结果表明, 群体间方差占总方差的 6.67%, 而群体内方差占总方差的 93.24%, 如表 3, 说明选育群体的遗传变异绝大部分来源于各世代内个体间的遗传差异。

表 2 新吉富罗非鱼选育过程中 5 个世代的 Nei 相似性系数及遗传距离

Tab.2 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) of five generations of New GIFT tilapia during selective processing

世代 generation	Nei(1972)					Nei(1978)				
	F_0	F_6	F_7	F_8	F_9	F_0	F_6	F_7	F_8	F_9
F_0	-	0.9219	0.9209	0.9138	0.9071	-	0.9435	0.9422	0.9332	0.9303
F_6	0.0813	-	0.9191	0.9175	0.9169	0.0581	-	0.9398	0.9365	0.9398
F_7	0.0824	0.0843	-	0.9165	0.9174	0.0595	0.0620	-	0.9351	0.9400
F_8	0.0902	0.0861	0.0872	-	0.9047	0.0691	0.0656	0.0671	-	0.9254
F_9	0.0975	0.0867	0.0862	0.1001	-	0.0722	0.0620	0.0618	0.0775	-

注: 对角线以下为遗传距离, 对角线以上为遗传相似系数

Notes: The figures below the diagonal represent genetic distance, above the diagonal represent genetic identity

表 3 新吉富罗非鱼选育过程中 5 个世代的 AMOVA 分析

Tab.3 AMOVA of five generations of New GIFT tilapia during selective processing

变异来源 source of variation	自由度 degree of freedom	方差总和 sum of squares	变异组分 estimated variance of components	所占比例(%) percent of variation
群体间 among generations	4	264.760	1.38967(Va)	6.76%
群体内 within generation	95	1819.566	19.15333(Vb)	93.24%
总和 total	99	2084.326	20.54300	

配对比较 F_{st} 值见表 4。Wright^[13]认为, F_{st} 在 0 ~ 0.05 之间表示群体间遗传分化微弱; 0.05 ~ 0.15 之间表示群体遗传分化中等; 0.15 ~ 0.25 之间表示群体遗传分化较大; 当 F_{st} 大于 0.25 时, 表示遗传分化极大。本研究 F_0 与 F_6 、 F_7 之间 F_{st} 值分

别为 0.037 68 和 0.064 37, 平均值为 0.051 03, 接近中等分化的临界状态。而 F_0 与 F_8 、 F_9 之间 F_{st} 值分别为 0.060 93 和 0.075 87, 平均值为 0.068 40, 表明新吉富罗非鱼与基础群体间已存在中等程度的遗传分化。

表 4 新吉富罗非鱼选育过程中 5 个世代间配对比较的 F_{st} 值及相应 P 值

Tab.4 Pairwise comparison of F_{st} values and their corresponding P values of five generations of New GIFT tilapia during selective processing

世代 generation	F_0	F_6	F_7	F_8	F_9
F_0	-	0.018 02 ± 0.0121	0.000 00 ± 0.0000	0.018 02 ± 0.0121	0.009 01 ± 0.0091
F_6	0.037 68	-	0.000 00 ± 0.0000	0.018 02 ± 0.0121	0.036 04 ± 0.0201
F_7	0.064 37	0.084 68	-	0.000 00 ± 0.0000	0.000 00 ± 0.0000
F_8	0.060 93	0.057 26	0.116 41	-	0.027 03 ± 0.0194
F_9	0.075 87	0.047 29	0.065 67	0.065 62	-

注: 对角线以下为 F_{st} 值, 对角线以上为相应的 P 值

Notes: The figures below the diagonal represent F_{st} values, above the diagonal represent their corresponding P values

3 讨论

根据 Barker^[14]微卫星选择标准,每个微卫星标记至少应有 4 个等位基因方能较好地用于遗传多样性评估。在对不同地理群体的遗传结构进行分析时,廖小林等^[15]对草鱼、鲁双庆等^[16]对鲫分别使用了 9 对、8 对微卫星引物,张天时等^[17]对中国对虾选育系使用了 8 对微卫星引物。本研究考虑到研究材料间亲缘关系接近,以及微卫星位点在遗传连锁图谱中的位置、引物序列组成特点、微卫星多态性及产物大小等,确定了互不连锁的 19 个微卫星标记。经检测确认,扩增产物条带稳定性好,不同批次重复扩增出所检测的条带可以稳定扩增,19 对引物扩增的等位基因数在 3~11 个之间,平均 6.2 个,故认为可以较好地用于本研究的群体遗传变异分析。

在本研究中,为了考察累代选育过程中所可能造成的最新选育世代群体与基础群体间的遗传差异,引入了基础群体 F_0 。结果是,发现多态位点百分数、群体内 F_{st} 指数、平均基因多样性等遗传参数在整体上都呈现出随选育世代数的累进而降低的趋势。群体内 F_{st} 值在 F_7 、 F_8 出现略微的上升,可能是由于实验中取样误差导致实验结果发生波动,但 t 检验差异不显著 ($P > 0.05$)。上列 3 个遗传参数从不同的角度观测群体的遗传变异,可使观测结果更为准确。

本研究采用 Nei(1972)^[10]与 Nei(1978)^[11]两种计算方法所得到的 5 群体遗传相似系数与遗传距离结果都表明,随着选育世代数的累进,群体遗传相似性呈现出逐渐升高的趋势。张传涛等^[5]采用 RAPD 方法,但没有包含 F_0 的研究(采用 17 条 10 bp 随机引物对 F_6 - F_9 每代各 22 个样本进行遗传多样性分析)的结果是,选育群体间 Nei(1972)遗传距离为 0.018 3~0.053 6,群体间遗传相似系数为 0.948 7~0.981 9。本研究对 F_0 、 F_6 - F_9 进行研究,结果是选育群体间 Nei(1972)遗传距离为 0.081 3~0.100 1,群体间遗传相似系数为 0.904 7~0.921 9。为与 RAPD 结果相比较,在除去 F_0 的情况下,本研究所得群体间 Nei(1972)遗传距离为 0.084 3~0.1001,比采用 RAPD 方法所得遗传距离大了几乎一倍;本研究所得遗传相似系数为 0.904 7~0.919 1,比 RAPD 所得结果小了大约 5 个百分点。两次研究结果之间有较大不同,这既

与本研究增加了 F_0 这一基础群体有关,也与微卫星方法灵敏度较高有关。Rajora 等^[18]、Cagigas 等^[19]的研究均报道了微卫星标记在揭示近缘群体间遗传关系上的独到之处。群体间遗传分化系数(F_{st})被认为度量群体间基因分化相对大小的一个较好指标^[20]。本研究群体间 F_{st} 的范围是 0.037 68~0.116 41,而且群体两两间差异均达显著水平 ($P < 0.05$,表 4),表明新吉富罗非鱼在选育过程中出现了虽然程度较小但却有效的遗传分化。通过分子方差分析对变异来源的剖分表明,群体间变异仅占总变异的 6.76%,表明选育过程中近交及瓶颈效应发生的可能性不大,群体遗传结构的改变主要是由人工选择压力造成的。梁俊等^[21]对鳗鲡进行研究发现欧洲鳗与日本鳗间的分化系数(F_{st})为 0.310,推算其分化世代数为 224 320,约为 200 多万年。该研究表明,在自然条件下,长期的地理隔离会造成不同群体间产生显著的遗传分化。Lehoczký 等^[20]采用 13 个微卫星位点对养殖鲤与野生鲤各 3 个群体研究发现,养殖群体间 F_{st} 值为 0.013~0.035,养殖群体与野生群体间 F_{st} 值为 0.047~0.161,野生群体间 F_{st} 值为 0.094~0.144,表明野生群体与养殖群体在各自经历了自然选择与人工选择两种过程后,群体间也出现了明显的遗传分化。不过,Lehoczký 等未能交代其研究的养殖群体经历了多久的驯养。该研究启示,在人工控制条件下,通过选择、人工诱变、杂交等手段可改变群体内的遗传平衡,也可能促使群体内的遗传结构发生改变,在较短时间内造成与长期地理隔离效应相当的群体遗传分化。简言之,人为的干预有可能加速鱼类的进化历程,至少可以丰富人们对鱼类起源、进化过程的认识。

本研究所采用的 F_0 代吉富尼罗罗非鱼是由 4 个养殖品系和 4 个野生群体经混合杂交之后所得的第 3 代选育群体,因而其具有较高的遗传异质性,是开展品种选育的优良材料,故此在选育过程中群体生长速度逐代得以稳步提高^[4]。选育后代在生长性状这一表型得以改良的同时,在不到 10 年的时间里,遗传型也出现了一定的变异。这一观察结果可作为选育过程中罗非鱼获得遗传进展的佐证,也可为鱼类进化提供一些理论基础。

参考文献:

- [1] Eknath A E, Tayamen M M, Palada-de Vera M S, *et al.* Genetic improvement of farmed tilapias: the growth performance of eight strains of *Oreochromis niloticus* tested in different farm environments[J]. *Aquaculture*, 1993, 111: 171 - 188.
- [2] 胡国成,李思发,何学军.吉富品系尼罗非鱼选育 $F_6 \sim F_8$ 生长改良评价.上海水产大学学报,2005,14(3):327 - 331.
- [3] 赵金良,李思发,何学军,等.吉富品系尼罗非鱼选育 F_6 评估[J].上海水产大学学报,2003,12(3):201 - 204.
- [4] Li S F, He X J, Cai W Q, *et al.* Improving growth performance and caudal fin stripe pattern in selected $F_6 - F_8$ generations of GIFT Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) using mass selection [J]. *Aquaculture Research*, 2006.37:1165 - 1171.
- [5] 张传涛,李思发,顾晓勇.吉富品系尼罗非鱼选育系 $F_6 - F_9$ 遗传变异的 RAPD 分析[J].上海水产大学学报,2007,16(1):7 - 10.
- [6] Agresti J J, Seki S, Cnaani A, *et al.* Breeding new strains of tilapia: development of an artificial center of origin and linkage map based on AFLP and microsatellite loci[J]. *Aquaculture*, 2000, 185: 43 - 56.
- [7] Kocher T D, Lee W J, Sobolewska H, *et al.* A genetic linkage map of a cichlid fish, the tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Genetics*, 1998, 148: 1225 - 1232.
- [8] Yeh J C, Yang R, Boyle T. POPGENE, version 1.31, microsoft window-based freeware for population genetic analysis[M]. 1999.
- [9] Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1973, 70: 3321 - 3323.
- [10] Nei M. Genetic distance between populations[J]. *Am Nat*, 1972, 106: 283 - 292.
- [11] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals[J]. *Genetics*, 1978, 89: 583 - 590.
- [12] Schneider S, Roessli D, Excoffier L. ARLEQUIN Version 2.000: a software for population genetics data analysis [M]. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland, 2000.
- [13] Wright S. Evolution and the genetics of populations [M]. Chicago, The Univ of Chicago Press, 1978.
- [14] Barker J S F. A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breed [C]// Proceedings of the 5th world congress on genetics applied to livestock production. Guelph, Ontario, Canada. 1994, 21: 501 - 508.
- [15] 廖小林,俞小牧,谭德清,等.长江水系草鱼遗传多样性的微卫星 DNA 分析[J].水生生物学报,2005,29(2):113 - 119.
- [16] 鲁双庆,刘 臻,刘红玉,等.鲫鱼 4 群体基因组 DNA 遗传多样性及亲缘关系的微卫星分析[J].中国水产科学,2005,12(4):371 - 376.
- [17] 张天时,刘 萍,李 健,等.用微卫星技术对中国对虾人工选育群体遗传多样性的研究[J].水产学报,2005,29(1):6 - 12.
- [18] Rajora O P, Rahman M H. Microsatellite DNA and RAPD fingerprinting, identification and genetic relationships of hybrid poplar (*Populus xcanadensis*) cultivars[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2003, 106 (3): 470 - 477.
- [19] Cagigas M E, Vazquez E, Blanco G, *et al.* Combined assessment of genetic variability in populations of brown trout (*Salmo trutta* L.) based on allozymes, microsatellites, and RAPD markers [J]. *Mar Biotechnol*, 1999, 1: 286 - 296.
- [20] Lehoczy I, Magyary I, Hancz C, *et al.* Preliminary studies on the genetic variability of six Hungarian common carp strains using microsatellite DNA markers [J]. *Hydrobiologia*, 2005, 533: 223 - 228.
- [21] 梁 俊,李道季,卢莉琼.日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*) 和欧洲鳗鲡 (*A. anguilla*) 的微卫星差异 [J].海洋与湖沼,2003,34(4):414 - 451.