

文章编号:1000-0615(2004)04-0360-05

## 罗氏沼虾浙江养殖群体与缅甸自然群体遗传差异的 RAPD 分析

李星云<sup>1</sup>, 张海琪<sup>2</sup>, 朱俊杰<sup>1</sup>, 邬勇<sup>1</sup>,  
黄福勇<sup>1</sup>, 何中央<sup>2</sup>, 徐晓林<sup>2</sup>, 杜建明<sup>2</sup>

(1. 宁波大学海洋与水产系, 浙江 宁波 315211;

2. 浙江省水产引种育种中心, 浙江 杭州 310012)

**摘要:**利用随机扩增多态 DNA(RAPD)技术,对浙江省罗氏沼虾养殖群体和新引进的缅甸自然群体的遗传差异进行了比较分析,以期从分子水平了解罗氏沼虾的种群遗传多样性背景及与引种的关系。采用经筛选的 22 个 10bp 的随机引物对罗氏沼虾两群体各 20 尾进行群体 RAPD 分析。22 个引物共检测到 139 个位点。养殖群体的多态位点比例为 30.22%,群体平均杂合度为 0.2646,Shannon 多样性指数为 0.0780,群体内各个体之间的遗传共享度为 0.9353,遗传距离为 0.0647;自然群体的多态位点比例为 33.81%,群体的平均杂合度和 Shannon 多样性指数分别为 0.2888 和 0.0940,群体内各个体之间的遗传共享度为 0.9201,遗传距离为 0.0799;两群体之间的遗传距离为 0.1845。自然群体的遗传多样性水平比养殖群体要高。利用随机引物 S9 和 S52,在罗氏沼虾两群体间扩增出 2 条稳定、明显的群体间特异性标记带。

**关键词:**罗氏沼虾;遗传差异;随机扩增多态 DNA;特异性标记带;引种

中图分类号:S917;Q953 文献标识码:A

## Genetic variation between cultured population from Zhejiang Province and natural population from Burma of *Macrobrachium rosenbergii* revealed by RAPD method

LI Ming-yun<sup>1</sup>, ZHANG Hai-qi<sup>2</sup>, ZHU Jun-jie<sup>1</sup>, WU Yong<sup>1</sup>,  
HUANG Fu-yong<sup>1</sup>, HE Zhong-yang<sup>2</sup>, XU Xiao-lin<sup>2</sup>, DU Jian-ming<sup>2</sup>

(1. Ocean and Fishery Department, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

2. Zhejiang Fisheries Introduction and Breeding Center, Hangzhou 310012, China)

**Abstract:** In this paper, two populations of *Macrobrachium rosenbergii* —cultured population collected from Haining County, Zhejiang Province and natural population collected from Burma and temporarily cultured in the testing pond, were gathered to investigate the genetic variation between the two populations using the method of RAPD. According to Wei Q., the DNA was abstracted from the muscle tissue and its concentration was measured by Smart Spec3000 Spectrophotometer. Through the PCR amplification, 22 decamer random primers S1, S2, S3, S4, S5, S8, S9, S10, S11, S12, S13, S19, S49, S50, S51, S52, S58, S59, S60, S404, S406 and S417 were chosen from 45 random primers for further amplification. To facilitate the efficient analysis of the RAPD result, a method of Agrose Gel Electrophoresis were applied to resolve the PCR fragments. 139 RAPD sites were

收稿日期:2003-05-22

资助项目:浙江省“十五”重大水产种苗工程项目(503050009)

作者简介:李星云(1942-),男,浙江舟山人,教授,硕士生导师,从事水产经济动物种苗繁育研究。Tel: 0574-87210833, E-mail: limingyun@nbip.net

detected in the two populations. According to Wachira F N and Nei M, the RAPD data were analysed. The proportion of polymorphic loci, mean expected heterozygosities and Shannon's index of the cultured population were 30.22%, 0.2646 and 0.0780 respectively, and those of the natural population were 33.81%, 0.2888 and 0.0940. The genetic similarities of the cultured and the natural populations were 0.9353 and 0.9201, and their genetic distances were 0.0647 and 0.0799. The genetic distance between the two populations was 0.1845. From the comprehensive investigation, the genetic diversity of natural population was higher than that of cultured population. Specific DNA fingerprints were obtained by primers of S-9 and S-52, two proper bands were so obvious that they might be used as molecular markers for distinguishing the different fries.

**Key words:** *Macrobrachium rosenbergii*; genetic variation; RAPD; specific-marker band; introduction

罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*), 又名马来西亚大虾, 原产于印度洋——太平洋热带地区, 生活于淡水或咸淡水水域中, 是淡水中主要的养殖对象之一, 具有重要的经济价值<sup>[1]</sup>。目前我国养殖的罗氏沼虾为 20 世纪 70 年代末、80 年代初从马来西亚引进种的繁殖后代, 由于亲本长期得不到更新, 种质退化现象严重, 主要表现为生长速度缓慢, 个体小型化, 抗病抗逆能力下降和病害增多等<sup>[2, 3]</sup>。由于引种的初始群体经过几代的繁殖后极易导致种质衰退<sup>[4]</sup>, 引进品种的种质变化已是当前一个备受关注的问题。有关罗氏沼虾种质资源的研究, 目前仅见甘西等<sup>[5]</sup>对罗氏沼虾养殖群体遗传多样性的 RAPD 研究, 尚未见国外罗氏沼虾自然群体与我国养殖群体之间遗传变异的研究报道。因此有必要对罗氏沼虾浙江省养殖群体和新引进的缅甸自然群体的遗传差异进行研究, 为今后罗氏沼虾的遗传改良及合理有效地开发利用奠定基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 试验用虾 试验用罗氏沼虾养殖群体于 2002 年 9 月从浙江海宁市双喜特种水产苗种场采集。自然群体为浙江省水产引种育种中心于 2002 年 5 月从缅甸自然水域引进的罗氏沼虾, 隔离暂养于试验区。两群体各随机采样 50 尾, 所有个体皆为成虾。活体放入大塑料袋内充氧后, 扎紧袋口快速运回实验室。

1.1.2 仪器与试剂 PCR 扩增仪为 Bio-RAD 公司生产的 iCycler 型热循环扩增仪, 随机引物、Taq DNA 聚合酶、dNTPs 等试剂购自上海 Sangon 公司。

### 1.2 方 法

1.2.1 基因组 DNA 的提取 两组虾进行常规的生物测量后, 随机各取 20 尾用于 DNA 分析。每尾活体解剖, 取肌肉 100mg, 用灭菌蒸馏水清洗, 直接用于基因组 DNA 的提取, 参考魏群<sup>[6]</sup>介绍的方法。剪刀剪碎肌肉并用 500  $\mu$ L 裂解液 (10 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> Tris-HCl, pH 8.0; 100 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> EDTA, pH 8.0; 1% SDS, 100mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 蛋白酶 K) 进行裂解, 常规的饱和酚、酚/氯仿 (酚: 氯仿: 异戊醇 = 25:24:1) 及氯仿 (氯仿: 异戊醇 = 24:1) 抽提, 无水乙醇沉淀。用 100  $\mu$ L TE (10 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> Tris-HCl, pH 8.0; 1mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> EDTA, pH 8.0) 溶解沉淀, -20 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.2.2 DNA 定量 使用 Bio-RAD 公司生产的 SmartSpec3000 型紫外分光光度计, 将提取的模板 DNA 8  $\mu$ L 稀释 10 倍至 80  $\mu$ L 进行测定。用 OD260 值计算样品中核酸的浓度, 同时读取 OD260/OD280 的比值, 以估计所提 DNA 的纯度。同时辅以 1.2% 琼脂糖凝胶电泳肉眼观察所提 DNA 的完整性。将 DNA 原液稀释至 25ng  $\cdot$   $\mu$ L<sup>-1</sup> 于 -20 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.2.3 RAPD 条件 RAPD 反应条件参考李明月等<sup>[7]</sup>的方法进行优化。反应总体积为 25  $\mu$ L, 其中包括 10  $\times$  PCR 反应缓冲液 2.5  $\mu$ L (100mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> Tris-HCl, 500 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> KCl, 1.0% Triton X-100), 基因组 DNA 25ng, MgCl<sub>2</sub> 2.5mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>, dNTPs 0.1mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>, 引物 1  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>, Taq DNA 聚合酶 1U, 用灭菌双蒸馏 H<sub>2</sub>O 补足体积。扩增程序为 94 $^{\circ}$ C 预变性 4min, 94 $^{\circ}$ C 变性 60s, 36 $^{\circ}$ C 复性 60s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 120s, 40 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 8min, 4 $^{\circ}$ C 保存。

1.2.4 电泳及成像 扩增产物在 1.5% 琼脂糖凝胶上进行电泳分离, 电压为 3~4V  $\cdot$  cm<sup>-1</sup>, 时间

约 3h。电泳结束后用复日科技公司生产的 FR 生物凝胶成像仪进行凝胶观察,照像。

1.2.5 数据分析 按琼脂糖凝胶同一迁移位置上 DNA 带的有无进行统计,有带的记为 1,无带的记为 0。根据 RAPD 扩增结果所统计的数据,计算各群体遗传变异参数。

(1)多态位点比例  $P = \text{多态位点数} / \text{总位点数}$ ;

(2)各群体的平均杂合度  $H = \sum (1 - \sum x_i^2) / n^{[8]}$ ; Shannon 遗传多样性指数  $H_o = - \sum x_i \ln x_i / n^{[9]}$ ,  $x_i$  为位点在某种群中出现的频率,  $n$  为检测到的位点总数。

(3)群体内遗传距离。随机扩增多态 DNA 片段的共享度根据下列公式计算<sup>[10]</sup>:  $F = \{ \sum [2X_{ab} / (X_a + X_b)] \} / n$ , 遗传距离  $D = 1 - F$ , 其中  $X_{ab}$  为群体内各个体的共享位点,  $X_a$  和  $X_b$  分别为个体  $a$  和个体  $b$  的位点总数<sup>[9]</sup>。

(4)群体间的遗传距离。根据 Lynch 的计算方法<sup>[11,12]</sup>计算。  $d = - \ln I$ , 这里  $I = J_{xy} / (J_x \times J_y)^{1/2}$ , 其中  $J_x$ ,  $J_y$  和  $J_{xy}$  分别是所有位点上  $j_x$ ,  $j_y$

和  $j_{xy}$  的算术平均值, 其中  $j_x = \sum x_i$ ,  $j_y = \sum y_i$ ,  $j_{xy} = \sum x_i y_i$ ,  $x_i$ ,  $y_i$  分别是  $X$  和  $Y$  群体中第  $i$  个等位基因的频率。

## 2 结果

### 2.1 RAPD 扩增结果

用 45 个引物进行筛选, 其中 42 个引物可以扩增出条带, S1、S2、S3、S4、S5、S8、S9、S10、S11、S12、S13、S19、S49、S50、S51、S52、S58、S59、S60、S404、S406、S417 共 22 个引物可产生清晰、可重复的扩增带。用这些引物对 2 个种群进行 RAPD 扩增, 共获得 139 条扩增带。在养殖群体中检测到 42 个多态位点数, 多态位点比例为 30.22%; 在新引进的自然群体中共检测到 47 个多态位点数, 多态位点比例为 33.81%。各多态位点的基因频率列于表 1 中。表中可见, 各多态位点出现频率在两群体间存在一定的差异, 说明多态位点在种群内的分布不同, 除 S1-6、S11-6、S49-4、S52-1、S59-3、S404-1、S406-1、S406-2、S417-4 和 S417-5 外, 自然群体的多态位点出现频率明显高于养殖群体。

表 1 罗氏沼虾 RAPD 多态位点频率

Tab.1 Frequencies of the polymorphic RAPD loci in *M. rosenbergii*

多态位点 polymorphic loci	多态位点频率 frequency		多态位点 polymorphic loci	多态位点频率 frequency	
	养殖群体 cultured population	自然群体 natural population		养殖群体 cultured population	自然群体 natural population
S1-2	0.10	0.25	S13-6	0.00	0.05
S1-3	0.05	0.05	S13-7	0.25	0.35
S1-6	0.05	0.00	S19-2	0.20	0.35
S1-8	0.45	0.50	S19-3	0.50	0.75
S1-9	0.80	0.85	S19-4	0.20	0.30
S1-10	0.35	0.40	S19-5	0.15	0.15
S3-1	0.00	0.30	S49-4	0.40	0.10
S3-3	0.00	0.05	S49-6	0.05	0.20
S3-7	0.10	0.10	S50-1	0.00	0.05
S4-3	0.00	0.15	S52-1	0.10	0.05
S5-5	0.10	0.20	S52-5	0.30	0.30
S5-7	0.35	0.45	S59-1	0.15	0.15
S8-2	0.05	0.10	S59-2	0.60	0.90
S8-3	0.45	0.50	S59-3	0.90	0.45
S8-5	0.25	0.25	S59-4	0.15	0.70
S8-6	0.05	0.10	S60-2	0.00	0.05
S9-2	0.00	0.30	S60-4	0.05	0.05
S9-5	0.20	0.25	S404-1	0.95	0.80
S9-8	0.05	0.15	S404-4	0.10	0.50
S11-1	0.30	0.45	S406-1	0.10	0.10
S11-3	0.50	0.50	S406-2	0.05	0.00
S11-6	0.15	0.00	S417-3	0.15	0.25
S11-8	0.05	0.50	S417-4	0.60	0.50
S13-2	0.25	0.45	S417-5	0.40	0.20
S13-4	0.05	0.05	S417-7	0.00	0.10
S13-5	0.00	0.15			

## 2.2 群体的平均杂合度和 Shannon 多样性指数

根据上述公式,得出养殖群体的平均杂合度为 0.2646, Shannon 多样性指数为 0.0780; 而新引进的自然群体的平均杂合度和 Shannon 多样性指数则更高,分别为 0.2888 和 0.0940。

## 2.3 群体的遗传距离

养殖群体内各个体之间的遗传共享度为 0.8980 ~ 0.9785, 平均值为 0.9353, 遗传距离为 0.0647; 而自然群体内各个体之间的遗传共享度为 0.8780 ~ 0.9648, 平均值为 0.9201, 遗

传距离为 0.0799。养殖群体和自然群体之间的遗传距离为 0.1845。经  $t$  检验,  $t = 21.07$ 。

## 2.4 特异性标记的筛选

在所有扩增到的 RAPD 标记中,发现一些种群特异性的 RAPD 标记。从图 1 中可以看到,不同的引物在自然群体和养殖群体中扩增到的结果是不一样的,如引物 S9 在自然群体中扩增到大小为 274bp 的亮带,而在养殖群体中未发现有亮带。引物 S52 只在养殖群体中扩增到大小为 350bp 的亮带,在自然群体中未发现有亮带。

表 2 两群体遗传多样性参数比较

Tab.2 Estimates of genetic diversity in the two populations of *M. rosenbergii*

群体 population	$P$	$H$	$H_0$	$F$	$d$	$D$
养殖群体 cultured population	30.22%	0.2646	0.0780	0.9353	0.0647	0.1845
自然群体 natural population	33.81%	0.2888	0.0940	0.9201	0.0799	

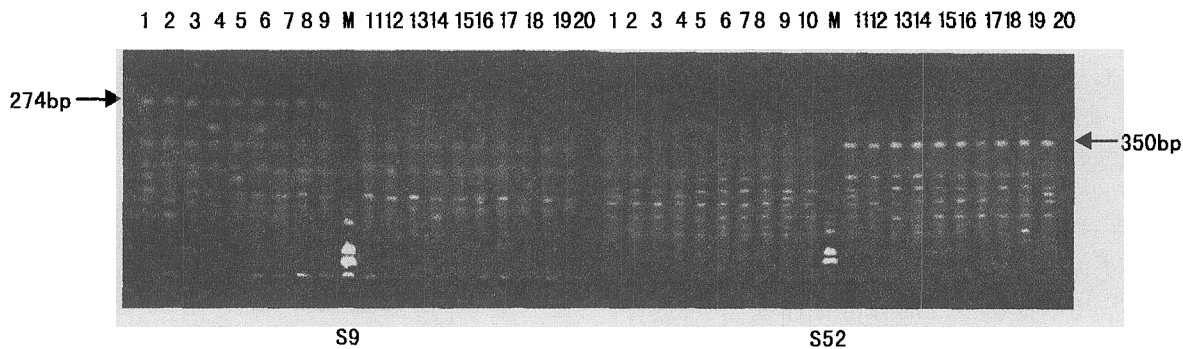


图 1 不同引物对罗氏沼虾自然群体和养殖群体的 RAPD 扩增电泳图谱

Fig.1 RAPD electrophoregrams of wild and cultured stocks of *M. rosenbergii* amplified by different primers

1 ~ 10: 自然群体的不同个体; 11 ~ 21: 养殖群体的不同个体; 箭头示特异带和多态位点; M:  $\lambda$ DNA (EcoR I + Hind III)

Land 1 ~ 10 are different individuals of natural stocks; Land 11 ~ 21 are different individuals of cultured stocks; Arrows show population-specific bands and polymorphic loci; M:  $\lambda$ DNA (EcoR I + Hind III)

## 3 讨论

### 3.1 与其他虾类遗传多样性比较

遗传多样性是生物适应环境与进化的基础。就一个物种而言,种内遗传多样性愈丰富,该物种对环境变化的适应能力愈大,其进化的潜力也就愈大,也就愈有利于保持物种和整个生态系统的多样性。可见对于虾类遗传多样性及其变化情况的研究是评估虾类资源质量、建立虾类人工繁殖科学管理规范的重要基础工作。Garcia 和 Benzie<sup>[13]</sup> 以及 Alcivar-Warren 等<sup>[14]</sup> 在高健康 (HHS) 和无特异病原 (SPF) 凡纳对虾的培育中,用

RAPD 技术对凡纳对虾的野生种群以及不同家系进行检测和分析,发现其多态位点比例约为 50%, 其中一个家系的多态位点比例高达 77%; 宋林生等<sup>[15]</sup> 研究了日本对虾野生和养殖种群的遗传结构,得出野生种群的多态位点比例和平均杂合度为 54.14% 和 0.2517, 明显比养殖种群的 37.91% 和 0.1343 要高; 中国对虾黄渤海沿岸群的遗传距离为 0.0941<sup>[16]</sup>。与它们相比,罗氏沼虾缅甸自然群体和浙江省养殖群体的多态位点比例都比日本对虾低,而平均杂合度都要比日本对虾高。综合评价罗氏沼虾的遗传多样性水平,发现缅甸自然群体遗传多样性水平也不算太高,由此

必须要重视罗氏沼虾自然群体的遗传多样性保护。

### 3.2 罗氏沼虾的遗传多样性与引种的关系

引种导致种质变化已引起了国内外专家们的注意,如 Sbordoni 等<sup>[17]</sup>报道日本对虾被引入意大利后,经过连续几代的人工繁育,与原产地的野生种群相比遗传杂合度出现了显著的下降。相建海等<sup>[4]</sup>发现我国 20 世纪 80 年代从美国引进的海湾扇贝经过几年大规模的繁殖和养殖以后,生产性状等出现了一定程度的退化,生化遗传学的研究表明我国的海湾扇贝养殖群体的遗传变异水平与美国原产地的野生种群相比有明显的下降。罗氏沼虾也不例外,近几年来亲虾长期得不到更新,种质退化现象比较严重,导致抗病能力和生长速度等生产性状的衰退。因此浙江省水产引种育种中心于 2002 年 5 月从缅甸引进了罗氏沼虾自然种群,以用于现有养殖罗氏沼虾的种质改良。

一般而言,引种后的人工繁殖会造成种群遗传多样性的降低,主要原因在于奠基者效应(founder effect)或遗传漂变以及人工繁殖中一些人为的不合理因素(如人工繁殖亲本数量太少、近亲繁殖、缺乏科学管理等)。因此在引种的同时,一定要考虑引进罗氏沼虾亲本的数量及其遗传多样性大小;需要对引进的罗氏沼虾原种进行遗传保护,进行隔离养殖保种;在人工繁殖过程中,一定要避免近亲繁殖,推行科学的良种选育,并将生物技术应用罗氏沼虾的育苗育种过程中,进行标记辅助育种,从而有力保证罗氏沼虾养殖业的健康持续发展。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Liu E S, Wan Q. Present status and development of *Macrobrachium rosenbergii* [J]. J Anhui Agri Univ, 1997, 24(2): 189-192. [刘恩生, 万全. 罗氏沼虾的养殖现状与发展前景[J]. 安徽农业大学学报, 1997, 24(2): 189-192.]
- [ 2 ] Lu M K. Present status and prospect of *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Science Fish Farming, 2000, (8): 10-12. [陆马康. 罗氏沼虾养殖的现状和前景[J]. 科学养鱼, 2000, (8): 10-12.]
- [ 3 ] Shi J H, Xiao Y, Xu Q Y. Studies on the introductioal rejuvenated technique of *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Fisheries Science & Technical Information, 2001, 28(2): 64-67. [史建华, 肖雨, 徐琴英. 罗氏沼虾引种复壮技术的研究[J]. 水产科技情报, 2001, 28(2): 64-67.]
- [ 4 ] Xiang J H. Biogenetics of marine animal cell and population [M]. Shandong: Shandong Science Technique Press, 1999. 6-7. [相建海. 海洋动物细胞和种群生化遗传学[M]. 山东: 山东科学技术出版社, 1999. 6-7.]
- [ 5 ] Gan X, Deng F J, Chen X H, et al. Study of RAPD on diversity of *Macrobrachium rosenbergii* [J]. J Wuhan Univ (Nat Sci Ed.), 2000, 46(2): 215-218. [甘西, 邓凤姣, 陈晓汉, 等. 罗氏沼虾遗传多样性的 RAPD 研究[J]. 武汉大学学报(自然科学版), 2000, 46(2): 215-218.]
- [ 6 ] Wei Q. The experimental guide for molecular biology [M]. Beijing: China Higher Education Press, 1999. 66-68. [魏群. 分子生物学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1999, 66-68.]
- [ 7 ] Li M Y, Zhang H Q, Zhong A H. Extraction of genomic DNA from large yellow croakers and optimization of reaction conditions for RAPD analysis [J]. Bulletin of Science and Technology, 2002, 18(5): 368-373. [李明云, 张海琪, 钟爱华. 大黄鱼基因组 DNA 的提取及 RAPD 反应条件的摸索[J]. 科技通报, 2002, 18(5): 368-373.]
- [ 8 ] Li H L, Song L S, Liu B Z, et al. Studies on the genetic structure of different population of *Chlamys farreri* and their hybrids heterosis [J]. Oceanol et Limnol Sin, 2002, 33(2): 188-195. [李红蕾, 宋林生, 刘保忠, 等. 栉孔扇贝不同种群的遗传结构及其杂种优势[J]. 海洋与湖沼, 2002, 33(2): 188-195.]
- [ 9 ] Wachira F N, Waugh R, Hackett C A, et al. Detection of genetic diversity in tea (*Camellia sinensis*) using RAPD markers [J]. Genome, 1995, 38: 201-210.
- [ 10 ] Nei M, Li W H. Mathematical models for studying genetic distance in terms of restriction endonucleases [J]. Proceeding National Acad Sci, 1979, 76: 5269-5273.
- [ 11 ] Jason H B, Timothy J L, Zeilinger D, et al. Identification, mapping and linkage analysis of randomly amplified DNA polymorphism in *Tetrahymena thermophila* [J]. Genetics, 1996, 143: 811-821.
- [ 12 ] Zhang G F, Wang J H, Zhao H E, et al. The RAPD marker of self-bred and hybrid progeny between Chinese and Japanese populations of *Haliotis discus hannai* INO [J]. Oceanol et Limnol Sin, 2002, 33(5): 484-491. [张国范, 王继红, 赵洪恩, 等. 皱纹盘鲍中国群体和日本群体自交与杂交 F1 的 RAPD 标记[J]. 海洋与湖沼, 2002, 33(5): 484-491.]
- [ 13 ] Garcia D K, Benzie J A H. The use of RAPD markers on *Penaeus* prawn breeding program [J]. Aquac, 130: 137-144.
- [ 14 ] Alcivar-Warren A, Overstreet R M, Dhar A K, et al. Genetic susceptibility of cultured shrimp (*Penaeus vannamei*) to infection hypodermal and hematopoietic necrosis virus and *Baculovirus penaei*: possible relationship with growth and metabolic gene expression [J]. J Invertebr Pathol, 1997, 70(3): 190-197.
- [ 15 ] Song L S, Xiang J H, Li C X, et al. Study of population genetic structure in *Penaeus japonicus* with RAPD markers [J]. Oceanol et Limnol Sin, 1999, 30(3): 261-266. [宋林生, 相建海, 李晨曦, 等. 日本对虾野生种群和养殖种群遗传结构的 RAPD 标记研究[J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(3): 261-266.]
- [ 16 ] Liu P, Kong J, Shi T, et al. RAPD analysis of the wild stock of penaeid shrimp (*Penaeus chinensis*) in the Chinese coastal waters of Yellow Sea and the coastal waters of Bohai Seas [J]. Oceanol et Limnol Sin, 2000, 7(2): 86-89. [刘萍, 孔杰, 石拓, 等. 中国对虾黄渤海沿岸野生种群的 RAPD 分析[J]. 海洋与湖沼, 2000, 7(2): 86-89.]
- [ 17 ] Sbordoni V, Matthaes E D E, Cobollishordoni M, et al. Bottleneck effects and the depression of genetic variability in hatchery stocks of *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda) [J]. Aquac, 1986, 57: 239-251.