

# 利用 17 个微卫星标记分析鳙鱼的遗传多样性

耿波<sup>1,2</sup>, 孙效文<sup>1</sup>, 梁利群<sup>1</sup>, 欧阳洪生<sup>2</sup>, 童金苟<sup>3</sup>

(1. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 哈尔滨 150070; 2. 吉林大学农学院, 长春 130062;

3. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

**摘要:** 选用实验室克隆的 17 个鳙鱼微卫星分子标记分析四川泸州和江西鄱阳湖的两个种群鳙鱼的遗传多样性及种质特性, 计算和统计了杂合度、多态信息含量 (PIC)、有效等位基因数、等位基因频率、遗传距离、遗传相似系数、Hardy-Weinberg 平衡偏离指数等方面内容。结果表明: 选择使用 17 个微卫星标记, 其中有 4 个为单态标记, 13 个为多态标记。江西和四川鳙鱼群体每个微卫星位点的平均等位基因数分别为 3.325 及 3.882, 平均有效等位基因数分别为 3.531 及 2.676, 多态位点百分率分别为 82.4 及 70.5, 17 个微卫星标记共有等位基因 71 个, 多态微卫星位点的 PIC 在 0.077~0.960 之间变动, 平均为 0.417, 两群体位点平均观测杂合度为 0.385 和 0.360, 平均期望杂合度为 0.452 和 0.422, 两个群体间的遗传相似系数为 0.897, 群体间的遗传距离为 0.109。

**关键词:** 微卫星标记; 鳙鱼; 遗传多样性; 等位基因频率

中图分类号: Q347

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2006)06-0683-06

## Microsatellite Analysis of Genetic Diversity of *Aristichthys nobilis* in China

GENG Bo<sup>1,2</sup>, SUN Xiao-Wen<sup>1</sup>, LIANG Li-Qun<sup>1</sup>, OUYANG Hong-Sheng<sup>2</sup>, TONG Jin-Gou<sup>3</sup>

(1. Heilongjiang River Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Harbin 150070 China;

2. Jilin University, Changchun 130062, China; 3. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China)

**Abstract:** Seventeen microsatellite markers of *Aristichthys nobilis* previously discovered by our lab were selected to analyze the genetic diversity and characteristics of two populations of *Aristichthys nobilis* from Jiangxi and Sichuan provinces. The following parameters were calculated: heterozygosity, polymorphism information content (PIC), valid allele number, allele frequency, genetic distance, genetic similarity coefficient, Hardy-Weinberg balance deflection index and so on. Results show that there are four monomorphic and 13 polymorphic markers among the 17 selected microsatellite markers. The average of allele number in each microsatellite locus of the Jiangxi population and Sichuan populations is 3.325 and 3.882, respectively; the average valid allele number is 3.531 and 2.676, respectively; and the number of total alleles of these 17 microsatellite loci is 71. The PIC of polymorphic loci varies between 0.077~0.960, and the average PIC is 0.417. The average observed heterozygosity ( $H_o$ ) of two populations is 0.385 and 0.360, respectively and the average expected heterozygosity ( $H_e$ ) is 0.452 and 0.422, respectively. The genetic similarity coefficient of two populations of *Aristichthys nobilis* is 0.897 and the genetic distance of these populations is 0.109.

**Key words:** microsatellite marker; *Aristichthys nobilis*; genetic diversity; allele frequency

收稿日期: 2005-06-16; 修回日期: 2005-10-08

基金项目: 国家计划(973)项目重要养殖鱼类品种改良的遗传和发育基础研究(编号: 2004CB117405) [Supported by National Project "973" item "Research on the genetic and developing base of modified varieties of importance cultivated fish" (No. 2004CB117405)]

作者简介: 耿波(1975—), 女, 助理研究员, 吉林大学博士研究生, 研究方向: 鱼类分子生物学。E-mail: ppgeng@sina.com

通讯作者: 孙效文(1955—), 男, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 鱼类基因工程。E-mail: sunxw2002@163.com

微卫星标记作为一种新型的分子标记在水生生物领域也越来越得到重视,目前已利用微卫星标记对中国对虾<sup>[1]</sup>、鲤鱼<sup>[2,3]</sup>等进行了多态性和种群遗传多样性研究。对鱼类遗传多样性的认识和研究在我国起步不久,其中有许多薄弱环节,研究的种类少,研究的水平低。因此,尽快采用各种研究方法(形态学、细胞遗传学、生化水平、分子生物学等技术手段)来研究、评估我国鱼类的遗传多样性,并制定出合理的利用和保护措施,是我国生命科学工作者刻不容缓的责任<sup>[4]</sup>。

鳊鱼又叫花鲢,属于鲤形目,鲤科,是著名的四大家鱼之一,是我国主要淡水养殖鱼类之一,分布于我国大部分地区的淡水水域中。本实验对不同地域的鳊鱼群体的遗传多样性及种质资源的品质和特性进行研究和分析,以指导渔业生产和保种。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

PCR 仪为 PE 公司的 Gene Amp PCR System 9700;离心机为 BECKMAN CS-15R Centrifuge;凝胶成像系统购自 UVP LIFE SCIENCES;Taq DNA polymerase、dNTP 购自哈尔滨 TaKaRa 公司。

### 1.2 DNA 样品采集及处理

DNA 样品为江西鄱阳湖鳊鱼群体 24 尾个体 DNA 及四川泸州鳊鱼群体 24 尾个体 DNA。剪取新鲜的尾鳍条 5 mg 加入 0.5 mL 裂解液(0.5%的十二烷基酸钠;200 μg/mL 蛋白酶 K;0.01 mol/L EDTA)于 50℃ 的恒温培养箱中消化 1~2 h,并不时轻轻摇动至组织完全消化,加入等体积酚氯仿(苯酚:氯仿:异戊醇 = 25:24:1)抽提两次 12 000 r/min,4℃,5 min 离心,轻轻吸出上清,加入 1 mL 无水乙醇沉淀,12 000 r/min,4℃、20 min 离心。去上清,沉淀用冷 70% 乙醇洗涤两次,室温干燥之后,加入 100 μL 1/10 TE 溶解,于 -20℃ 保存备用。

### 1.3 引物设计与合成

根据由本室克隆(鲁翠云等,2005)的微卫星标记,选择含 10 个以上重复序列的微卫星克隆,利用 Primer 5 在核心序列的两端设计相应的 PCR 引物,共 24 对引物,由上海生物工程公司合成。溶解于灭菌 ddH<sub>2</sub>O 中,贮存浓度为 100 pmol,工作浓度为 10 pmol。

### 1.4 引物的筛选

运用合成的这些引物对鳊鱼的两个地理种群群体进行多态性比较。分别将两个群体的个体 DNA 等比例混合成 DNA 池。选择退火温度一致的引物一起进行筛选。反应体系如下:混合 DNA 1 μL,本室自配的 Taq 酶混合溶液(含有 Mg<sup>2+</sup> 及 dNTP) 18 μL, Taq 酶 1 个单位,上下游引物各 10 pmol,补水至 25 μL 体系。反应产物经 2.0% 琼脂糖凝胶电泳及紫外凝胶成像系统观察并记录 PCR 产物情况。筛选出 17 对引物可在两个鳊鱼群体中扩增出单态性和多态性的条带。

### 1.5 群体遗传学分析

用选择的 20 对呈现多态性的引物对上述鳊鱼的两个地理群体的共 48 个个体 DNA 进行微卫星分子标记分析。反应体系为 25 μL,其中包括 DNA 模板 1 μL(20~30 ng/μL),18 μL PCR buffer(含适量的 dNTP),引物各 1 μL(10 pmol/μL),Taq polymerase (1 U/μL),3 μL ddH<sub>2</sub>O。

反应条件:94℃ 5 min,93℃ 30 s,复性 30 s,72℃ 30 s,40 cycles,72℃ 7 min。反应产物经 2.0% 琼脂糖凝胶电泳及紫外凝胶成像系统观察并记录 PCR 产物情况。

### 1.6 数据统计与分析

#### 1.6.1 等位基因频率分析

根据每个个体产生的条带位置确定其基因型。由于微卫星标记为共显性遗传,对测得的基因型进行简单的统计计算即可获得等位基因频率。共显性的等位基因计算的基本原则为:某一基因的频率是该基因纯合体的频率加上杂合体频率的 1/2。共显性的复等位基因计算的基本原则为:某一基因的频率是该基因纯合体的频率加上含有该基因全部杂合体频率的 1/2<sup>[6]</sup>。

#### 1.6.2 遗传多样性分析

每一群体每一微卫星位点的平均杂合度观测值  $H_o$ ,平均杂合度期望值  $H_e$ ,以考察群体内的遗传变异水平。杂合度(Heterozygosity),表示群体在某座位为杂合子的比例,也就是每个位点预期多样性定义。 $H_e = 1 - \sum P_i^2$ ,  $P_i$ :第  $i$  个等位基因的频率

多态位点比例  $P =$  多态性扩增片段数/扩增片段总数。

Hardy-Weinberg 平衡偏离指数( $D$ )按以下公式计算: $D = (H_o - H_e) / H_e$

参照 Botstein 的方法计算多态性信息含量 (PIC),  $PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{i=1}^n \sum_{j=i+1}^n 2P_i^2 P_j^2$ , 同时参照统计遗传学所述计算遗传相似系数和遗传距离, 具体公式如下: 遗传相似系数  $\bar{J}_S = \frac{1}{K} \sum_i \sum_j P_{x_{ij}} \cdot P_{y_{ij}}$ ,  $\bar{J}_{NC} = \bar{J}_S, [(\sum_i \sum_j P_{x_{ij}}^2)(\sum_i \sum_j P_{y_{ij}}^2)/k^2]^{-\frac{1}{2}}$ , 遗传距离  $D = -\ln J_N^{[6,7]}$ 。

## 2 结果

### 2.1 电泳结果

两个群体的基因组 DNA 通过相应的引物进行 PCR 扩增和电泳观察后, 能清晰的显示各个等位基因的大小和状态。电泳结果见图 1 和图 2。

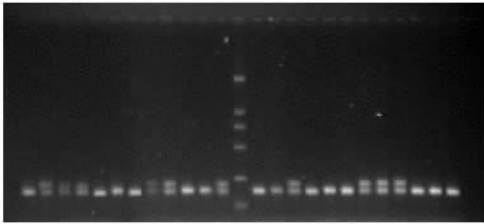


图 1 y3536 标记在江西鳊鱼群体内的 PCR 扩增结果  
Fig.1 PCR result of hljy3536 in Jiangxi population of *Aristichthys nobilis*

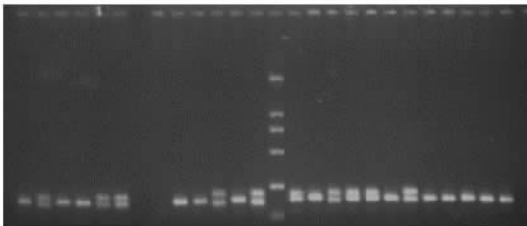


图 2 y3536 标记在四川鳊鱼群体内的 PCR 扩增结果  
Fig.1 PCR result of hljy3536 in Sichuan population of *Aristichthys nobilis*

### 2.2 微卫星标记的等位基因及基因频率

每个微卫星标记的等位基因在两个群体间存在差异, 表现出不同程度的多态性。经数据统计, 使用的 17 对微卫星引物, 每个微卫星标记的等位基因数为 1~15 个, 江西和四川鳊鱼群体每个微卫星位点的平均等位基因数分别为 3.325 及 3.882, 平均有效等位基因数分别为 3.531 及 2.676, 17 个微卫星标记共有等位基因 71 个。17 个微卫星标记共有 71 个等位基因, 等位基因数和大小相同的标记其等位

基因的频率也是不同的。各个微卫星标记的引物、PCR 扩增条件、等位基因大小和数量等参数见表 1。

### 2.3 杂合度

两个群体的各个微卫星标记的等位基因位点的观测杂合度、期望杂合度及平衡偏离指数分析结果见表 1。各个等位基因位点的杂合度变化范围为多态微卫星位点的 PIC 在 0.114~0.960 之间变动, 平均为 0.417, 多态位点百分率分别为 82.4 及 70.5, 两群体位点平均观测杂合度为 0.385 和 0.452, 平均期望杂合度为 0.360 和 0.422, 两个群体间的遗传相似系数为 0.897, 群体间的遗传距离为 0.109。

### 2.4 遗传相似系数和遗传距离

对两个鳊鱼群体间各个微卫星标记的等位基因位点的遗传相似系数和遗传距离进行了分析, 同时计算了两个群体的相似系数和遗传距离, 具体结果见表 2 和表 3。由表中可以看出由 Nei 氏遗传相似系数公式得出的两个群体的遗传相似系数为 0.897, 远远大于 Sneath 遗传相似系数 0.505, Nei 氏遗传距离为 0.109。说明这两个鳊鱼的地理种群属于鳊鱼种群内变异。

## 3 分析与讨论

微卫星由两或三核苷酸重复序列所构成的核心部分和两端的侧翼序列组成。侧翼序列使微卫星特异地定位于基因组某一位置, 核心部分碱基重复数目的不同则是形成微卫星多态性的基础。不同品种在同一微卫星座位上等位基因数目和频率的差异体现出其遗传上的差异, 并可借此区分品种的类型。共有的等位基因在该物种基因组中可能最为古老、保守, 其余等位基因则是在进化过程中由于插入、缺失等突变机制所造成<sup>[8,9]</sup>。

本实验采用琼脂糖凝胶电泳分析微卫星产物, 不同浓度的琼脂糖凝胶电泳的分离情况是不一样的, 一般大小相差在几十个碱基以上的等位基因可通过 1.0%~1.5% 的琼脂糖凝胶电泳得到很好的分离, 大小相差在几个至十几个碱基的等位基因在 2.0%~3.0% 的琼脂糖凝胶电泳中即能分离开。同时电泳时的电压大小对等位基因的分离有很大的影响。在能够清晰的分离等位基因的情况下, 无需使用聚丙烯酰胺凝胶电泳来分离。这样既减少了工作量又能同时分析多个样本, 并且还减少了毒性和经费, 便于此项种质鉴定技术的推广和应用。

表 1 微卫星标记引物序列、等位基因频率、大小及杂合度、Hardy-Weinberg 平衡偏离指数统计

Table 1 Information on the microsatellite markers: primer sequences, allele frequency, size, heterozygosity and Hardy-Weinberg parameters

微卫星标记 Microsatellite markers	引物序列(5'→3') Primer sequence from (5' → 3')	退火 温度 /°C $T_m$	扩增产物 范围/ 大小 Range/size	等位基 因数 Number	四川泸州鲮鱼 <i>Aristichthys nobilis</i> coming from Sichuan			江西鄱阳湖鲮鱼 <i>Aristichthys nobilis</i> coming from Jiangxi				
					观测杂 期望杂 平衡偏			观测杂 期望杂 平衡偏				
					PIC	合度 ( $H_o$ )	合度 ( $H_e$ )	离指数 ( $D$ )	PIC	合度 ( $H_o$ )	合度 ( $H_e$ )	离指数 ( $D$ )
hljy0102	F:CTTGCGAGTTGTTCTTTG R:CCAGGCTTTACACTTTAT	50	612	1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
hljy0506	F:GTGGGCAACAGAATAGAA R:TACCGAACAGTACCGAAA	50	219.336	2	0.375	1.000	0.500	1.000	0.375	1.000	0.500	1.000
hljy0708	F:CCTTCAACTAATACCCAATA R:AACCCATGTTTAACCACT	48	158	1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
hljy0910	F:CAGAAGTTTAACCCAAGCC R:TCCTGCCACTGTACTGATGT	46	160~200	8	0.786	0.000	0.795	-1.000	0.810	0.000	0.823	-1.000
hljy1516	F:AGGAGGAAGCGTGCTAAA R:TCAGTGAGGGCAGTGGTC	54	265~281	3	0.567	0.583	0.580	0.006	0.592	0.583	0.621	-0.024
hljy1718	F:CTGAGACGCAGTCAAAGC R:GTACCGCAGACGCAACAT	52	184~259	4	0.960	0.583	0.961	-0.393	0.602	0.583	0.625	-0.026
hljy1920	F:GGGGATCTATGTTTACGG R:AGAACCATTGAGCAGGA	50	282~360	15	0.731	0.083	0.731	-0.886	0.881	0.333	0.884	-0.487
hljy2324	F:GATTCATTCAAGCCTGTC R:TACTGCACGTATAACTCG	52	190~230	4	0.504	0.417	0.534	-0.219	0.574	0.458	0.621	-0.101
hljy2526	F:AACAGCCACATAACCAAT R:AGATAGCCGTTGTCATTC	52	238~350	6	0.631	0.542	0.647	-0.162	0.578	0.333	0.592	-0.153
hljy2728	F:ACATGGGATTAACCTGGT R:CACAATAAGGTGCTCCAT	50	171~223	4	0.622	0.500	0.666	-0.250	0.114	0.042	0.118	-0.009
hljy2930	F:CATGCTTTTGTGTTTGTCT R:GCTTTGGTGAGACTTGAT	52	322.365	2	0.077	0.083	0.080	0.031	0.000	0.000	0.000	0.000
hljy3132	F:AAATTATTGCACAGCAGGTA R:ACAAGCCCTTCTCAACC	52	220.288	2	0.375	1.000	0.500	1.000	0.375	1.000	0.500	0.250
hljy3334	F:GCTATCGGGTGAAAATGA R:CAATGGGGAAGTTTAGGG	52	202	1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
hljy3536	F:GCATTCCTTTGTGGGGATA R:GTGCCGCATTAAGGTTAT	50	141~210	6	0.568	0.417	0.602	-0.307	0.767	0.417	0.777	-0.280
hljy3940	F:GAACGCTCTACGGAATGG R:TCCTGTACACTATCTGGGT	52	244~299	3	0.215	0.208	0.226	-0.079	0.000	0.000	0.000	0.000
hljy4344	F:GAGGTATGTTTCTTTTCGGTC R:TGGAATGGAAGGACTG	46	200~232	7	0.364	0.792	0.478	0.657	0.779	0.875	0.790	0.067
hljy4546	F:AACAGGAGGCGATAACCGAG R:GCCAGGACACTGCAAAGAG	50	291~328	2	0.311	0.333	0.386	-0.137	0.621	0.500	0.326	0.057

表 2 群体间各基因位点的遗传相似系数和遗传距离

Table 2 Genetic similarity coefficients and genetic distance among various loci in the two populations

位点 Site	y0102	Y0506	Y0708	Y0910	Y1516	Y1718	Y1920	Y2324	Y2526	Y2728	Y2930	Y3132	Y3334	Y3536	Y3940	Y4344	Y4546
Js	1.000	0.500	1.000	0.149	0.394	0.070	0.129	0.214	0.372	0.369	0.958	0.500	1.000	0.165	0.875	0.241	0.641
Jn	1.000	1.000	1.000	0.783	0.988	0.583	0.730	0.490	0.979	0.680	0.999	1.000	1.000	0.554	0.994	0.729	0.996
D	0.000	0.000	0.000	0.225	0.112	0.540	0.315	0.713	0.021	0.386	0.001	1.000	1.000	0.589	0.006	0.316	0.004

表 3 两个群体的遗传多样性参数

Table 3 Genetic diversity parameters of the two populations of *Aristichthys nobilis*

群体 Population	样本大小 <i>n</i>	等位基因平均数 <i>A</i>	有效等位基因数 <i>A<sub>e</sub></i>	多态位点百分率 <i>P</i>	观测杂合度 <i>H<sub>o</sub></i>	期望杂合度 <i>H<sub>e</sub></i>	遗传相似系数		遗传 距离 $\frac{D}{D}$
							$\overline{J_s}$	$\overline{J_N}$	
江西鳊鱼 <i>Aristichthys nobilis</i> coming from Jiangxi	24	3.235	3.531	82.4	0.385	0.452			
							0.505	0.897	0.109
四川鳊鱼 <i>Aristichthys nobilis</i> coming from Sichuan	24	3.882	2.676	70.5	0.360	0.422			

多态性是对遗传变异的一种计算,是指群体每多态性基因座的比率。遗传多态性是指一个群体中两种或两种以上非连续变异类型并存的现象,可以分为平衡型(或稳定)多态现象。自然选择是造成多态性的原因之一。对多态位点的判断<sup>[7]</sup>,一般认为群体中某位点有 0.01 以上频率的复等位基因存在时,该位点为多态位点,否则为单态。并且只有当 1 个基因座上最普通等位基因频率不大于 0.95 时,才能定位多态性基因座,而且用于研究的试材必须有足够大的样本量。本研究中多态性和等位基因频率分析结果表明,2 个鳊鱼的地理种群的 17 个微卫星座位中共检测到 71 个等位基因,多态性基因频率分布在 0.021~0.899 之间,其中有 49 个等位基因为 2 个鳊鱼的地理种群所共有,在被检测的 17 个微卫星座位中,有 13 个为多态。其中基因座 *hljy0910* 的多态性最丰富,有 15 个等位基因;而 4 个单态基因座中,*hljy0102*、*hljy0708* 和 *hljy3334* 在两个群体中均扩增出单一的等位基因条带,可以认为是鳊鱼种群特异的标记,而 *hljy2930* 在江西鳊鱼群体中有两个个体存在两个等位基因,群体等位基因频率存在大于 0.95 的等位基因频率,因此此基因座为单态。

在一个相对大而稳定的群体中,基因型在所有位点上符合哈特-温伯格平衡定律,可以利用 Nei's<sup>[10]</sup>的期望杂合度公式来估算杂合度。等位基因的结构对群体的平均杂合度有一定的影响。在一个基因位点上杂合基因型所占的比例取决于等位基因的结构。群体内遗传分析群体平均基因杂合度表示在被检测位点上群体中杂合子的频率,它是群体杂合程度的度量单位。群体平均基因杂合度的高低反映了群体遗传一致性的程度。群体平均基因杂合

度越低,反映该群体的遗传一致性越高,也就是说群体的遗传变异越少,群体的遗传多样性越差。本研究结果表明 2 个地方鸡品种鳊鱼的地理种群 13 个多态微卫星标记的基因杂合度在 0.042~1.000 之间变动。两个群体的观测杂合度和预测杂合度分析结果较为一致。其中,江西鳊鱼的平均基因杂合度最高,为 0.385,说明江西鳊鱼群体有丰富的遗传多态性,同时还说明,该群体还可进一步纯繁选育,以提高群体的整齐度和生产性能;四川鳊鱼群体的平均基因杂合度稍低为 0.360,说明四川鳊鱼群体遗传多样性水平较低。平均多态信息含量(*PIC*)是衡量等位基因片段多态性的理想指标,当  $PIC > 0.5$  时,该座位为高度多态性座位;当  $0.25 < PIC < 0.5$  时,该座位为中度多态性座位;当  $PIC < 0.25$  时,该座位为低度多态性座位<sup>[11]</sup>。在本研究中,江西鳊鱼群体中有 8 个微卫星位点的平均多态信息含量大于 0.5,为高度多态;四川鳊鱼群体有 9 个微卫星位点的平均多态信息含量大于 0.5,亦为高度多态。Hardy-Weinberg 平衡偏离指数(*D*)检验发现,这两个群体的不同几个基因位点存在杂合子缺失的情况,其中江西鳊鱼群体有 9 个基因位点出现缺失,四川鳊鱼群体有 8 个基因位点出现缺失。这可能与人工养殖和封闭饲养有关。由于人为干预的程度较大,使得稀有碱基发生丢失所致。

群体间遗传关系一般表现为以等位基因频率计算的两两群体间的遗传距离,用微卫星标记测定群体间的遗传距离,可得到比较真实的结果。本试验采用 Nei's 遗传距离计算公式来分析两个鳊鱼地理种群的群体间平均遗传距离为 0.109,认为这两个地理种群遗传距离较近,属于同一个种水平内遗传

变异。由表 2 中可看出,群体内的一些基因位点的遗传距离较大,而且这两个群体的遗传相似系数只有 0.505 和 0.897,因此可以认为是两个独立的种群。

虽然鳊鱼只有一种,但是由于长期的封闭群继代选育和地理特性,在中国形成了以地理划分的多个不同种群。通过本试验说明分子生物学技术可以准确的鉴定各个地理种群的构成和遗传特性,另外遗传距离也能够很好的说明不同群体的遗传关系。

物种的划分主要是根据形态差异、生殖隔离和地理分布为标准,传统的分类方法是根据形态、生殖等标准确定物种的界定。随着现代分子生物学技术的发展,开始用分子的手段来探索、描述并解释生物多样性及其分类和演化,生物大分子数据能为一些特定类群(如对应于传统分类中的某一科、某一属或某一种以及种下的不同亚种或居群等)的物种鉴定提供参考标准。目前分子生物学技术尤其是分子标记技术在不同群体的遗传鉴定、混合渔业分析、遗传多样性大小的维护和濒危物种的保护及遗传间渗透等方面已得到了应用<sup>[12]</sup>。将传统的形态差异、生殖隔离和地理分布与现代的分子技术相结合来研究物种的分类和演化及我国鱼类的种质资源状况,这将具有广阔的研究前景。

## 参 考 文 献 (References):

- [1] LIU Ping, MENG Xian-Hong, KONG Jie, ZHUANG Zhi-Meng, MA Chun-Yan, WANG Qing-Yin. The microsatellite polymorphism analysis of China Shrimps. *Nature Science Developing*, 2004, 14(3):333 ~ 338.  
刘萍,孟宪红,孔杰,庄志猛,马春燕,王清印. 中国对虾卫星 DNA 多态性分析. 自然科学进展, 2004, 14(3):333 ~ 338.
- [2] DU Chang-Bin, SUN Xiao-Wen, LOU Yun-Dong, SHEN Jun-Bao, TENG Chun-Bo. The application of microsatellite on the research of fisheries stock resource. *Chinese Journal of Fisheries*, 2000, 13(1):68 ~ 73.  
杜长斌,孙效文,楼允东,沈俊宝,滕春波. 微卫星在水产动物种质资源研究方面的应用. 水产学杂志, 2000, 13(1):68 ~ 73.
- [3] DU Chang-Bin, SUN Xiao-Wen, LOU Yun-Dong, SHEN Jun-Bao. The genetic heterozygosity analysis to wild carp and two cultivated strains of common carp using microsatellite technique. *Journal of Fisheries University*, 2000, 9(4):285 ~ 289.  
杜长斌,孙效文,楼允东,沈俊宝. 应用微卫星技术对野鲤和两种鲤选育品系的遗传多样性分析. 上海水产大学学报, 2000, 9(4):285 ~ 289.
- [4] LI Guo-Qing, WU Yu-Yuan, QIN Zhi-Feng, LIU Yun-Lian. Studies on the genetic diversity of fishes. *Fisheries Science*, 2004, 23(8):42 ~ 44.  
李国庆,伍育源,秦志峰,刘运莲. 鱼类遗传多样性研究. 水产科学, 2004, 23(8):42 ~ 44.
- [5] LU Cui-Yun, SUN Xiao-Wen, LIANG Li-Qun. Isolation of microsatellite markers in bighead carp *Aristichthys nobilis*. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2005, 12(2):192 ~ 196.  
鲁翠云,孙效文,梁利群. 鳊鱼微卫星分子标记的筛选. 中国水产科学, 2005, 12(2):192 ~ 196.
- [6] LI Xian-Yao, QU Lu-Jiang, YANG Ning. Analysis of genetic relationship of egg-type chickens using microsatellite markers. *Acta Genetica Sinica*, 2004, 31(12):1351 ~ 1355.  
李显耀,曲鲁江,杨宁. 利用微卫星标记分析蛋鸡配套系的遗传关系. 遗传学报, 2004, 31(12):1351 ~ 1355.
- [7] GU Wan-Chun. *Statistical Genetics*. Beijing: Science Press, 2004, 175 ~ 196.  
顾万春. 统计遗传学. 北京:科学出版社, 2004, 175 ~ 196.
- [8] Arranz J J, Bayon R, San Primitivo F. Genetic variation of five microsatellites loci in four breeds of cattle. *J Agri Sci*, 1996, 27:533 ~ 538.
- [9] Buchanan F C, Adamas L J, Littlejohn R P, Maddox J F, Crawford A M. Determination of evolutionary relationships among sheep breeds using microsatellites. *Genomics*, 1994, 22:397 ~ 403.
- [10] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation terms of restriction endonucleases. *Proc Nati Acad Sci USA*, 1979, 75:213 ~ 219.
- [11] Nei M. Genetic distance between populations. *Animal Nature*, 1972, 106:283 ~ 229.
- [12] ZHANG Si-Ming. Apply molecular biological techniques on fisheries science. *Journal of Fishery*, 1997, 21(Suppl.):67 ~ 76.  
张四明. 分子生物学技术及其在渔业科学中的应用. 水产学报, 1997, 21(增刊):67 ~ 76.