

虹鳟 6 个养殖群体遗传多样性的微卫星分析

赵莹莹^{1,2}, 朱晓琛², 孙效文¹

(1. 中国水产科学院黑龙江水产研究所, 哈尔滨 150070; 2. 大连水产学院, 大连 116023)

摘要: 利用 14 对微卫星分子标记对虹鳟的 6 个养殖群体进行遗传多样性分析。结果表明: 6 个群体的平均等位基因数 A 为 2.89~4.22, 平均有效等位基因数 N_e 为 2.15~2.78, 平均观察杂合度 H_o 为 0.4801~0.6786, 平均期望杂合度 H_e 为 0.5052~0.6211, 平均多态信息含量 PIC 为 0.4298~0.5762; 其中渤海站群体的等位基因数最多、多态信息含量最高, 有效种群最大, 通过基因型的 P 值发现 6 个群体只在位点 AF375034 符合 Hardy-Weinberg 平衡, 在其他位点都不同程度的偏离平衡, 同时对 6 个群体的遗传距离进行了估算, 聚类分析发现挪威群体与其他群体遗传距离最远。

关键词: 虹鳟; 养殖群体; 遗传多样性; 微卫星

中图分类号: S965.122

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2006)08-0956-07

Genetic Diversity of the Cultured Populations of Six Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* by Microsatellite

ZHAO Ying-Ying^{1,2}, ZHU Xiao-Chen², SUN Xiao-Wen¹

(1. Heilongjiang River Fisheries Research Institute of Chinese Academy of Fishery science, Harbin 150070, China; 2. Dalian Fisheries University, Dalian 116023, China)

Abstract: Rainbow trout are cultured widely throughout the world for supplementation in natural ecosystems and for commercial aquaculture. In 1959 it was firstly introduced to China from Korea. After introduction from America and other countries such as Norway, Denmark, and so on, rainbow trout were now cultured in about 20 provinces in China. In this study, microsatellite DNA was employed to assess the genetic variations between 6 cultured populations of rainbow trout (American golden trout, American Donaldsons, Norway, Denmark, Finland, and Bohaizhan). The results showed that in these 6 cultured populations the average number of allele (A) was 2.89 to 4.22; average number of effective allele (N_e) was 2.15 to 2.78; the value of average observed heterozygosity (H_o) in six populations was 0.4802 to 0.6786; the value of average expected heterozygosity (H_e) was 0.5052 to 0.6211; and the value of average polymorphism information content (PIC) was 0.4298 to 0.5762. Hardy-Weinberg equilibrium analysis revealed that all of these 6 populations showed a remarkable genetic disequilibrium at loci AY039634, AY039638, AY0396466. Only at locus AF375034 all of 6 populations showed equilibrium. The genetic distance of six cultured populations was calculated and cluster analysis was also carried out.

Key words: *Oncorhynchus mykiss*; cultured population; genetic diversity; microsatellite

收稿日期: 2005-09-28; 修回日期: 2005-12-15

基金项目: 国家重大基础研究资助项目(编号: 2004CB117405) [Supported by Key Project of Chinese National Programs for Fundamental Research and Development(No. 2004CB117405)]

作者简介: 赵莹莹(1980—), 硕士在读, 专业方向: 水产动物遗传育种

通讯作者: 孙效文(1955—), 研究员, 博士生导师, 研究方向: 水产动物遗传育种。E-mail: sunxw2002@163.com

遗传多样性的研究是遗传资源保护的前提条件,有效的保护策略应该结合各层次的遗传变异研究。遗传变异的研究经历了从形态学、细胞学生理生化逐步发展到分子水平。微卫星又称简单序列重复(Simple Sequence Repeat),是近年来发展起来的分子标记,被广泛应用于遗传图谱构建、QTL 定位、亲子鉴定、群体遗传结构分析等方面^[1~3]。由于微卫星标记多为共显性标记,且具有丰富的多态性、PCR 扩增结果重复性好等特点,集中了其他分子标记的优点,被认为是研究群体遗传变异最好的标记方法之一^[4]。

虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)属鲱形目、鲑科,冷水性鱼。原产美国加利福尼亚,1874 年经人工移植驯化已在世界各地进行养殖,1959 年从朝鲜移入我国黑龙江省,目前国内已有 20 多个省(市)开展了虹鳟养殖。国外对虹鳟分子水平的研究开展的很早,在 1998 年 Young W P 等^[5]就建立了虹鳟二倍体的遗传连锁图谱,Sakamoto T 等^[6]在 2000 年建立了微卫星相关的精细连锁图谱;而国内对虹鳟的研究目前多在海水驯养^[7]、三倍体育种^[8,9]以及生理和营养^[10]等方面,而对虹鳟分子水平的研究还未见报道,更没有应用于群体遗传学的分析。国内的虹鳟大多引种自美国及其他国家,由于多数群体离开原产地多年,又经过不同形式的选择育种,有限的亲本数目,这些因素势必造成一定程度的遗传漂变,引起养殖群体的遗传结构发生改变,总体遗传多样性下降。而多年的累代养殖将造成不同程度的近交繁殖,引起种质退化。随着养殖规模的不断扩大,如何最大限度地保持养殖群体的遗传多样性等,已成为人们关注的问题。本文采用微卫星分子标记的方法,对虹鳟的 6 个养殖群体进行遗传多样性的分析,以期对种质资源进行有目的保护,为遗传育种等提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 样品采集与 DNA 提取

本实验所采集的样品均来自黑龙江水产研究所渤海虹鳟养殖站,分别为该站引进的挪威虹鳟(28 尾)、美国道氏虹鳟(27 尾)、丹麦虹鳟(30 尾)、芬兰虹鳟(29 尾)、美国金鳟(30 尾)以及该站的养殖群体(30 尾)。

采新鲜的虹鳟鱼鳍条每 0.1 g 加 0.2 mL 裂解

液(0.5% 十二烷基肌胺酸钠,200 μg/mL 蛋白酶 K,0.2 mol/L EDTA(pH 8.0))50℃ 温育 3~4 h,然后用酚、氯仿、异戊醇混合液(25:24:1)抽提 2 遍,无水乙醇沉淀,70% 乙醇洗 1 次,自然干燥后加 100 μL 0.1×TE 溶解。4℃ 保存备用。

1.2 微卫星引物筛选及扩增

作者从 Rexroad^[11]分离的 38 对引物中选取 2 对,其余为 GenBank 库中所查序列,Primer Premier 3.0 自行设计。本研究先以少数虹鳟 DNA 样品为模板,对微卫星引物进行 PCR 筛选(至少重复两次),从中选择扩增稳定且条带清晰的 14 对微卫星引物,用于本研究中群体样品的微卫星 DNA 多态性分析(表 1)。PCR 反应体系为 25 μL,包括 10×buffer 15 μL、Mg²⁺ (25 mmol/L)1 μL、dNTPs(各 2 mmol/L)1 μL、上下游引物(10 μmol/L)各 1 μL、模板 DNA 1 μL、Taq DNA 聚合酶(Promega)1 U,加适量 dd H₂O。扩增反应均在 PE 9700 型 PCR 仪(PE 公司)上完成,按以下程序进行:94℃ 3 min;94℃ 30 s,复性 30 s,72℃ 30 s,共 35 个循环;72℃ 延伸 10 min,各组反应的复性温度见表 1。2.0% 琼脂糖凝胶电泳观察,并用 Gel-Pro Analyzer 4.5 软件分析数据。

1.3 数据分析

统计虹鳟养殖群体在 14 个微卫星位点上的等位基因组成、基因频率及其分布,对多态位点进行分析,计算各群体的平均等位基因数(A)、平均有效等位基因数(N_e)、平均观察杂合度(H_o)、平均期望杂合度(H_e)、Hardy-Weinberg 遗传偏离指数(d)以及每个微卫星位点的多态信息含量(PIC)公式如下:

$$A = (1/n) \sum \chi_i; N_e = 1 / \sum f_i^2;$$

$$H_o = \text{杂合子观测数} / \text{观察个体总数};$$

$$H_e = 1 - \sum f_i^2; d = (H_o - H_e) / H_e;$$

$$PIC = 1 - \sum f_i^2 - \sum \sum 2f_i^2 f_j^2$$

式中 χ_i 表示第 i 个位点的等位基因数, f_i 表示某一位点第 i 个等位基因的频率, $j = i + 1$ 。

根据无偏期望杂合度(unbiased expected heterozygosity),分别用无限等位基因模型(infinite-alleles model, IAM)与渐突变模型(stepwise mutation model, SMM),计算各群体的有效种群大小^[12],公式如下:

表 1 虹鳟微卫星引物极其扩增结果

Table 1 SSR primers and PCR amplification in rainbow trout

GenBank	引物序列(5'→3') Primer sequence(5'→3')	等位基因数 No. of alleles	片段长度(bp) Size range(bp)	重复单元 Repeat unit	复性温度(℃) Annealing temperature(℃)
M24738	F: TGCCATCTACATCACATTTGG R: TGACTTGGAGGGATCCTTTG	1	203	ta	58
M95183	F: ACGAGTGTCTGCTTCCAGAGT R: TTTGTCTTGTCTGGGTGCTG	1	200	cg	58
X95907	F: TTTTCCGACAGCTTTTGTCC R: TTCCTTTTCGTCCCCCTTAT	1	218	tga	51
AF375010	F: GGCTTCAGGATGGAGACAGA R: GGAGGAGAGGATGAGGGGTAGA	7	196~276	ga	58
AF375011	F: TCACCCTGACCAAGTGGTTT R: TTTTACCTGACGCAACAGAGGA	8	216~420	ag	57
AF375018	F: TACGCCAACCTTTCTCATC R: GGCCTCTTCAGACAGGGAGTTATC	5	199~250	tact	54
AF375034	F: GCATGTGGGAGATGGAGAGT R: ATGAAGCCGCTTGTAGTGGGA	2	172~181	ga	58
AF346692	F: CTCACGGAGGVTGTTCTTTC R: GGTGGTCCGATCTTAACACAATCT	8	158~315	tcta	58
AY039634	F: CTGAGACCACAGCACAATGC R: GTTGCCACATGAAATGGTTGA	4	184~220	ga	58
AY039638	F: CCCATTCTCTGTCCCTCCTT R: GTTTGACCTCTGCGTTTCTCCTC	3	202~250	ct	58
AY039646	F: CTTCTCTCCTTGCCCTTCT R: CATGGCAGACAACAGGGTAATC	2	213~223	ct	58
G73805	F: TGAGTGAACATAAATGGATGATGA R: TGGAGGGATTGCTTATGAGTGGA	4	200~221	ac	58
AF352739*	F: AGGCCTTATCTATCTGAC R: ACACATCAGCTACCGTG	16	197~370	tatc	58
AF352746*	F: ACGCAACCAGACAGTAAGAA R: GCGCTGACAAGAAGAACAAC	8	214~326	tatc	58

* :Rexroad 分离。

$$SMM: N_{ep} = \{ [1 / (1 - H)]^2 - 1 \} / (8\mu)$$

$$IAM: N_{ep} = H / [4\mu(1 - H)]$$

式中 N_{ep} 表示有效种群大小, H 表示无偏期望杂合度, μ 表示突变率, 对虹鳟种群遗传结构及特征进行分析。依据各位点的基因型频率对 6 个虹鳟养殖种群进行 Hardy-Weinberg 平衡分析。

2 结果

2.1 遗传多样性

用 14 对微卫星引物检测了虹鳟 6 个群体共

174 个个体的微卫星遗传多样性, 其中位点 AF375011、AF375018 只能在挪威群体中扩增出来, 而在其他群体中表现为位点缺失; M24738、M95183、X95907 共 3 个位点在全个体中均表现为单态; 其余 9 对引物的扩增产物均多态性。在 9 个多态位点中每个位点出现 2~16 个等位基因, 平均等位基因数为 3.16, 平均有效等位基因数为 2.47。其中渤海站的虹鳟种群的等位基因数最多、多态信息含量最高, 而 d 值偏离 0 最小。图 1 为引物 AF352739 从虹鳟 6 个养殖群体中扩增的微卫星电泳图。

反映虹鳟养殖群体遗传多样性的 A 、 N_e 、 H_o 、 H_e 、 PIC 和 d 值得计算结果见表 2, 根据 9 个多态位点数据, 参考人类的微卫星 DNA 突变率 $\mu = 10^{-2} \sim$

10^{-4} ^[12~14], 基于 SMM 和 IAM 估测的养殖群体平均有效种群大小, 其中渤海站群体的最大, 美国道氏群体最小(表 3)。

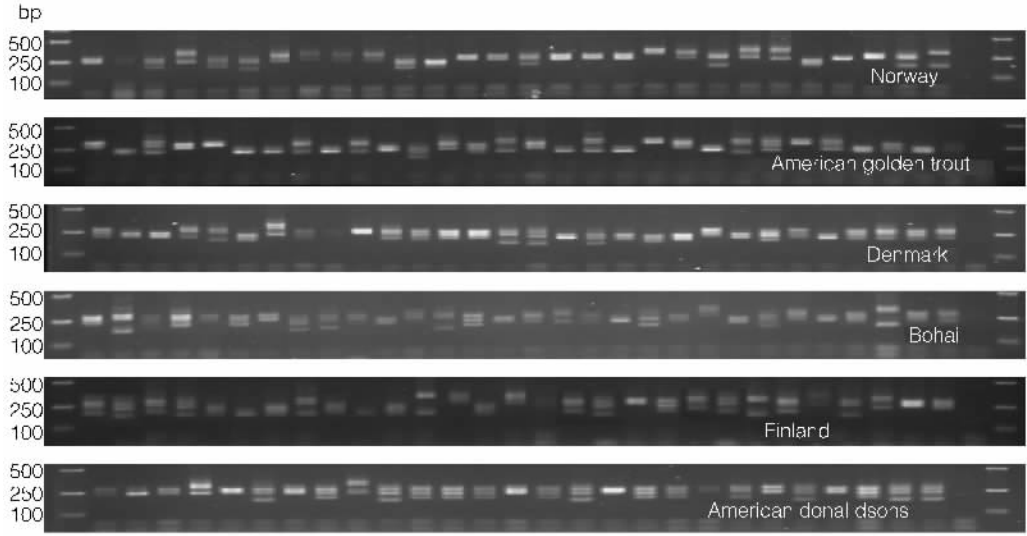


图 1 引物 AF352739 从虹鳟 6 个养殖群体中扩增的微卫星电泳图
Fig.1 Electrophoresis patterns of microsatellite locus amplified by primer AF352739 in six cultured populations

表 2 虹鳟养殖群体的遗传多样性

Table 2 Genetic diversity of the cultured populations of rainbow trout

基因座或群体 Locus or Group	A	N_e	H_o	H_e	PIC	d
AF375010	7	4.55	0.4368	0.8198	0.7630	-0.4402
AF375034	2	1.38	0.3103	0.2778	0.2392	0.1172
AF346692	8	4.18	0.7874	0.7607	0.7377	0.0350
AY039634	4	3.37	0.8276	0.7354	0.7125	0.1254
AY039638	3	2.94	0.9253	0.6604	0.6212	0.4012
AY039646	2	1.73	0.6034	0.4214	0.3326	0.4321
G73805	4	3.94	0.4425	0.7405	0.7117	-0.4024
AF352739	16	10.87	0.9885	0.9055	0.9041	0.0917
AF352746	8	3.70	0.7011	0.7299	0.7100	-0.0393
挪威 Norway	3.44	2.64	0.6786	0.5052	0.4595	0.3431
美国道氏 Donaldsons	3.56	2.78	0.6132	0.4801	0.4298	0.2771
丹麦 Denmark	3.78	2.29	0.7481	0.5830	0.5383	0.2833
渤海站 Bohai	4.22	2.15	0.5704	0.6211	0.5762	-0.0817
芬兰 Finland	3.78	2.36	0.7356	0.5625	0.4678	0.3078
美国金鳟 Golden trout	2.89	2.63	0.6333	0.5067	0.4593	0.2499
平均 * Average*	3.61	2.47	0.6632	0.5431	0.4885	0.2211

* : 各参数 6 个群体的平均值。

* : The average of each parameter for 6 groups.

表 3 虹鳟有效种群大小

Table 3 The effective population size of rainbow trout

	挪威 Norway	美国道氏 Donaldsons	丹麦 Denmark	渤海站 Bohai	芬兰 Finland	美国金鳟 Golden trout
SMM	84~8 435	52~5 241	105~10 521	186~18 567	143~14 268	67~6 721
IAM	39~3 904	28~2 946	48~4 593	57~5 751	44~4 560	32~3 358

2.2 Hardy-weinberg 平衡的 χ^2 检验

微卫星 DNA 本身是选择中性的,不受选择的压力,在一个理想群体中,各等位基因在群体中的分布频率应该是稳定的。用 Hardy-weinberg 平衡 P 值的无偏估测对各群体进行的多位点检测 (multi-locus test) 发现,虹鳟 6 个养殖群体没有处于遗传平衡状态;对各位点进行多群体检测 (multi-group test) 发现,在 9 个多态位点中,6 个群体只在位点 AF375034 处于平衡状态,在其他位点都不同程度的偏离 Hardy-weinberg 平衡;进一步对 6 个群体中各

位点的基因型频率分别做平衡分析,基于杂合子过度 (heterozygote excess) 的全数调查 (complete enumeration)^[15] 分析表明,挪威和丹麦群体在位点 AF375010、AF375034、G73805、AF352746,美国道氏群体在位点 AF375010、AF375034、AF346692,芬兰群体在位点 AF375034、AF352746,美国金鳟群体在位点 AF375034、AF346692、AF352739,渤海站群体在位点 AF375034、AF346692 表现为平衡;而在其他位点为不平衡,其中在位点 AY039634、AY039638、AY0396466 各群体都表现为不平衡(表 4)。

表 4 虹鳟养殖群体遗传平衡分析

Table 4 Genotypic equilibrium analysis of the cultured populations of rainbow trout

位点 Loci	挪威 Norway	美国道氏 Donaldsons	丹麦 Denmark	渤海站 Bohai	芬兰 Finland	美国金鳟 Golden trout	多群体 Multi-group
AF375010	0.9987	0.6611	0.0145	0.0007	0.0002	0.0000	0.0000
AF375034	0.4414	0.8752	0.3463	0.2845	0.5967	0.0188	0.3024
AF346692	0.0000	0.0295	0.0018	0.0177	0.0001	0.5964	0.0000
AY039634	0.0021	0.0020	0.0000	0.0000	*	*	0.0000
AY039638	*	0.0000	*	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
AY039646	0.0000	0.0069	0.0000	0.0034	0.0028	0.0000	0.0000
G73805	0.0102	0.0000	0.1310	0.0000	0.0072	0.0000	0.0000
AF352739	0.0003	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0542	0.0000
AF352746	0.6370	0.0003	0.1175	0.0005	0.0220	0.0006	0.0000
多位点 Multi-locus	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

* :该位点只有 1 个等位基因。

* : There is only one allele at the locus.

2.3 群体间遗传分化的度量

根据 Nei^[16] 计算了 6 个群体的遗传距离和遗传一致度,结果见表 5。采用软件 MEGA3.0 的 UPG-MA 对遗传距离聚类分析,丹麦群体和芬兰群体遗

传距离最近,并与美国道氏虹鳟群体聚为一类;美国金鳟与渤海站群体聚为一类,挪威群体与其他群体的遗传距离最远(图 2)。

表 5 虹鳟 6 个群体的 Nei 遗传距离及相似性指数

Table 5 Nei's genetic distance and genetic identity in six populations of Rainbow trout

	挪威 Norway	美国道氏 Donaldsons	丹麦 Denmark	渤海站 Bohai	芬兰 Finland	美国金鳟 Golden trout
挪威 Norway	—	0.6666	0.7321	0.7196	0.8034	0.7358
美国道氏 Donaldsons	0.4537	—	0.7955	0.7703	0.6508	0.6331
丹麦 Denmark	0.3223	0.2377	—	0.8282	0.8683	0.7686
渤海站 Bohai	0.3173	0.2567	0.1892	—	0.7691	0.7118
芬兰 Finland	0.2510	0.3659	0.0893	0.2608	—	0.7974
美国金鳟 Golden trout	0.3384	0.3938	0.2085	0.3508	0.2347	—

注:对角线以上为相似性指数,对角线以下为遗传距离。

Notes: Numbers above the diagonal are genetic identity and numbers below are genetic distance.

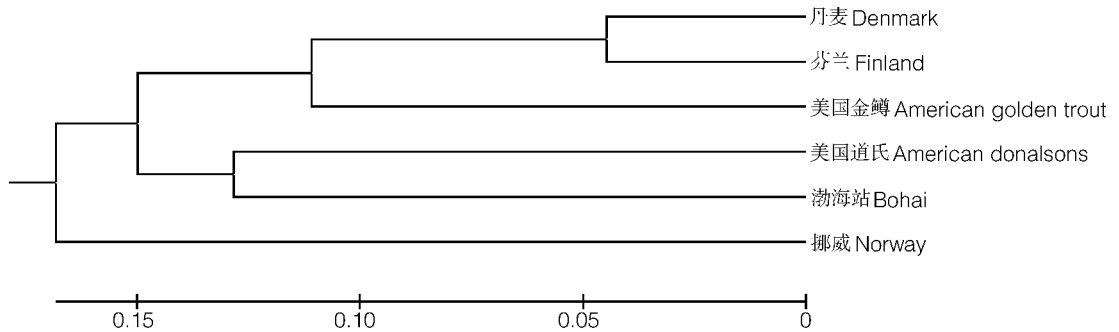


图 2 虹鳟 6 个养殖群体亲缘关系 UPGMA 聚类图

Fig.2 The constructed phylogenetic dendrogram of six cultured populations of rainbow trout according to the microsatellite results by UPGMA cluster analysis

3 讨论

一般情况下,1 对微卫星引物从杂合的二倍体的 DNA 中只能扩增出 2 条带^[17],在本实验中部分位点在一些个体中可以扩增 3~4 个条带(图 1),其原因可能是虹鳟为二倍化的四倍体^[4,5]。在所检测的 14 个位点中,M24738、M95183、X95907 共 3 个位点分别根据虹鳟的功能基因类胰岛生长因子(insulin-like growth factor)和催乳素(prolactin promoter)中含有微卫星的片段设计的引物,由于基因外显子部分相似性高,变异小,所以这 3 个位点均呈单态。位点 AF375011、AF375018 只能在挪威群体中扩增,在其他 5 个群体中表现为全部或部分位点缺失,可能因为是长期养殖群体,位点在传代过程中有所丢失,但可以作为区分种群的特异性标记,这也与遗传距离聚类分析时挪威虹鳟群体与其他群体距离

最远相吻合。

在已报道的用微卫星 DNA 作为分子标记进行的种群遗传学研究中,多选择那些扩增产物多态性较高的微卫星引物,这无疑增加了所用微卫星位点对所研究对象的区分能力,但微卫星位点多态性高低与所研究对象本身的遗传多样性水平有很大联系^[15]。多态信息含量是衡量位点多样性的较好指标。一般认为,在某一群体中,当 $PIC > 0.5$ 时该位点表现为高度多态;当 $0.25 < PIC < 0.5$ 时该位点表现为中度多态;当 $PIC < 0.25$ 时该位点表现为低度多态^[18]。由表 2 可知,在虹鳟的 6 个养殖群体的 9 个多态位点中,AF375010、AF346692、AY039634、AY039638、G73805、AF352739、AF352746 表现为高度多态;位点 AY039646 表现为中度多态;位点 AF375034 表现为低度多态;丹麦、渤海站虹鳟群体的平均多态信息含量为高度多态,其他群体为中度

多态(渤海站>丹麦>0.5>芬兰>挪威>美国金鳟>美国道氏>0.25),这充分证明这6个虹鳟养殖群体种群内遗传变异大,信息含量较高。

有效种群大小与一个种群的遗传多样性水平密切相关^[18,19]。由此确定种群在特定条件下的有效种群大小,对于防止近亲繁殖和保持种群遗传多样性有一定意义。亲鱼的群体有效大小应不小于50尾,雌雄比例相当。从表3可知,虹鳟的有效种群大小较为理想,但在人工育苗时仍应注意保护,以避免稀有等位基因的丢失,保护种质资源。

参考文献(References):

- [1] SUN Xiao-Wen, LIANG Li-Qun. A genetic linkage map of common carp. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2000, 7(1): 1~5.
孙效文, 梁利群. 鲤鱼的遗传连锁图谱(初报). 中国水产科学, 2000, 7(1): 1~5.
- [2] ZHOU Li, LIU Jing-Xia, GUI Jian-Fang. Preliminary investigation on genetic diversity of gynogenetic silver Crucian Carp (*Carassius auratus gibelio Bloch*) detected by microsatellite DNA. *Zoological Research*, 2001, 22(4): 257~264.
周莉, 刘静霞, 桂建芳. 应用微卫星标记对雌核发育银鲫的遗传多样性初探. 动物学研究, 2001, 22(4): 257~264.
- [3] Naish K A, Skibinski O. Tetranucleotide microsatellites loci for Indian major carp (Catlacatla). *Journal of Fish Biology*, 1998, 53: 886~889.
- [4] Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Voegele J, Rafalski A. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP, and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding*, 1996, 12: 225~238.
- [5] Young W P, Wheeler P A, Coryell V H, Keim P, Thorgaard G H. A detailed linkage map of rainbow trout produced using doubled haploids. *Genetics*, 1998, 148: 839~850.
- [6] Sakamoto T, Danzmann R G, Gharbi K. A microsatellite linkage map of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) characterized by large sex-specific differences in recombination rates. *Genetics*, 2000, 155: 1331~1345.
- [7] ZHAO Hou-Jun, LIN Yan-Qing, LIU Wei, PAN Xiu-Lian. The introduction of seawater domestication technology of Rainbow trout. *Shandong Fisheries*, 2002, 19(7): 16~17.
赵厚钧, 林艳清, 刘伟, 潘秀莲. 虹鳟的海水驯养技术简介. 齐鲁渔业, 2002, 19(7): 16~17.
- [8] DENG Ya-Guang, CHEN Li-Qiao, WANG Xue-Ming, Oshiro T, Takashima F. Sex reversal and gonadal development of triploid Rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*). *Acta Zoologica Sinica*, 2001, 47(1): 55~56.
邓亚光, 陈立侨, 王学明, 尾城隆, 隆岛史夫. 三倍体虹鳟性转
- [9] JIANG Zuo-Fa, LIU Yong, LU Tong-Yan, LI Yong-Fa, JIA Zhong-He. Amino acid and fatty acid levels in rainbow trout eggs with different colors. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2004, 4(2): 56~58.
姜作发, 刘永, 卢彤岩, 李永发, 贾锺贺. 两种颜色虹鳟卵氨基酸、脂肪酸含量的比较. 大连水产学报, 2004, 4(2): 56~58.
- [10] SHI Lian-Yu, YIN Hong-Bin, MAO Chong-Lin, SHEN Jun-Bao. Studies on *in vitro* maturatin and fertilization of Rainbow trout oocytes. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2004, 37(1): 33~34.
石连玉, 尹洪滨, 毛崇林, 沈俊宝. 虹鳟卵母细胞体外成熟与受精的研究. 水生生物学报, 2004, 37(1): 33~34.
- [11] Rexroad C E, Coleman R L, Hershberger W K, Killefer J. Rapid communication: thirty-eight polymorphic microsatellite markers for mapping in rainbow trout. *Journal of Animal Science*, 2002, 80: 541~542.
- [12] Lehmann T, Hawley W A, Grebert H, Collins F H. The effective population size of *A. Nophele gambiae* in Kenya: implications for population structure. *Molecular Biology and Evolution*, 1998, 15(3): 163~176.
- [13] Weber J L, Wong C. Mutation of human short tandem repeats. *Human Molecular Genetics*, 1993, 2: 1123~1128.
- [14] Primmer C R, Ellegren H, Saino N, Møller A P. Directional evolution in germline microsatellite mutations. *Nature Genetics*, 1996, 13: 391~393.
- [15] HUANG Lei, WANG Yi-Quan. SSR polymorphism of alligator sinensis and conservation strategy of genetic diversity. *Acta Genetica Sinica*, 2004, 31(2): 143~150.
黄磊, 王义权. 扬子鳄种群的微卫星 DNA 多态及其遗传多样性保护对策分析. 遗传学报, 2004, 31(2): 143~150.
- [16] Nei M. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 1972, 106: 283~292.
- [17] LIU Jing-Xia, ZHOU Li, ZHAO Zhen-Shan, GUI Jian-Fang. Studies on microsatellite markers of four artificially gynogenetic families in Ornamental Carp. *Zoological Research*, 2002, 23(2): 97~105.
刘静霞, 周莉, 赵振山, 桂建芳. 鲤鲫4个人工雌核发育家系的微卫星标记研究. 动物学研究, 2002, 23(2): 97~105.
- [18] WANG Wei, YOU Feng, GAO Tian-Xiang, ZHANG Pei-Jun. Genetic variations at ten microsatellite loci in natural and cultured stocks of left-eyed Floueder paralichthys oliveceus in Shandong coastal waters. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2004, 35(6): 530~537.
王伟, 尤锋, 高天翔, 张培军. 山东近海牙鲆自然和养殖群体10个微卫星基因座位的遗传多样性分析. 海洋与湖沼, 2004, 35(6): 530~537.
- [19] Wright S. Evolution in population bottlenecks on genetic diversity as measured by allozyme electrophoresis. *Evolution*, 1992, 46: 477~494.