

三个虹鳟养殖群体遗传结构的微卫星分析

于冬梅^{①②} 马海涛^{①②} 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 20 个微卫星标记对 3 个虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 养殖群体进行遗传结构分析。结果表明, (1) 3 个群体检测的平均等位基因数为 3.6~4.1, 平均观测杂合度为 0.522 4~0.632 8, 平均期望杂合度为 0.473 6~0.552 2, 平均多态信息含量为 0.435 4~0.508 4, 说明这几个群体多态性属于偏高水平, 遗传多样性高。通过 d 值, 确定了 Hardy-Weinberg 平衡的偏离情况, 发现 AY039638、AY039646 在 3 个群体中都表现为不平衡。对 3 个群体的遗传距离进行了估算, 并进行聚类分析, 本溪的两个群体先聚为一支, 再与渤海群体相聚, 显示出明显的地理特征。(2) 本溪虹鳟群体在位点 AF352770 出现部分等位基因消失的现象; AF352754 在本溪群体中表现为位点消失, 可作为区分本溪群体和渤海群体的分子标记。(3) 综合评价 3 个群体, 渤海站虹鳟群体的遗传多样性最高, 与前人研究结果一致。

关键词:虹鳟, 微卫星, 遗传多样性

中图分类号: Q953 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2007)04-08-07

Genetic Diversity in Three Rainbow Trout Populations as Revealed by Microsatellite Markers

YU Dong-Mei^{①②} MA Hai-Tao^{①②} SUN Xiao-Wen^①

(① Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Ministry of Agriculture, The People's Republic of China, Harbin 150070;

② Dalian Fisheries University, Dalian 116023, China)

Abstract: By using 20 microsatellite markers we determined polymorphism of three cultured Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) populations. The average number of alleles was 3.85; the value of average observed heterozygosity (H) was 0.522 4 - 0.632 8; the value of average expected heterozygosity (H_e) was 0.473 6 - 0.552 2; and the value of average polymorphism information content (PIC) was 0.435 4 - 0.508 4. Hardy-weinberg equilibrium (d test) analysis revealed that the locus of AY039638 and AY039646 were lopsided in three populations. The genetic distance among the three cultured populations was calculated and the cluster analysis was also carried out. The phylogenetic tree showed that the two populations of Benxi had close relationship. In Benxi populations the locus AF352754 and some alleles on AF352770 were lost. Benxi populations and Bohai population could be distinguished by locus AF352754. The Bohai population had the highest genetic diversity.

Key words: Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*); Microsatellite; Genetic diversity

虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 原产北美太平洋沿岸加利福尼亚州的山麓溪流中, 属冷水性鱼类, 隶属鲱形目鲑科。适于流水池塘高密度集约化养殖, 投喂人工配合饲料, 生长迅速, 可获高产, 且食用价值高, 是当前世界性的主要养殖品种之一^[1]。1874 年经人工移植驯化在世界各地进行养殖, 1959 年从朝鲜移入我国黑龙江

省。现有养殖群体多引自美国, 目前国内已有 20 多个省(市)开展了虹鳟养殖。在我国, 虹鳟

基金项目 国家自然科学基金项目(No.2004CB117405);

* 通讯作者, E-mail: xwsun2002@163.com;

第一作者介绍 于冬梅, 女, 硕士研究生, 从事水产动物遗传育种研究, E-mail: yudongmei50@163.com

收稿日期 2006-12-11, 修回日期 2007-05-11

养殖技术非常成熟,已进入推广普及阶段^[2~4]。国外对虹鳟分子水平的研究开展很早,Young等^[5]在1998年建立了虹鳟二倍体的遗传连锁图谱,Sakamoto等^[6]在2000年建立了微卫星相关的精细连锁图谱,但是国内对虹鳟分子水平的研究却很少。虹鳟属外来引进种,由于引入亲本数量有限和长时间的累代养殖,遗传结构发生了变化,种质也发生了退化,部分地区的群体与美国原品系相比出现了生长慢、抗病力差的现象,迫切需要利用分子生物学的技术对其遗传结构进行研究,深入了解国内虹鳟资源现状,以保护虹鳟的种质资源,防止其退化。

微卫星又称简单序列重复(simple sequence repeat),是指以少数几个核苷酸(1~6个)为单位多次重复的简单序列,具有多态性丰富、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^[7~11]。应更好地利用微卫星,大力开展水生动物特别是不同地理群体或品系的

遗传结构研究。本研究利用20个微卫星标记对3个虹鳟养殖群体进行遗传结构分析,以期对虹鳟种质资源保护和分子辅助育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集与DNA提取 本实验所采集的样品来自黑龙江水产研究所渤海站的美国道氏虹鳟30尾(2002年引自美国)及本溪虹鳟良种场的美国道氏虹鳟和日本金鳟各30尾(2000年引自日本)。参考《分子克隆实验指南》的方法进行高分子量基因组DNA的提取和纯化^[12]。

1.2 微卫星引物筛选及扩增 本研究从赵莹莹^[13]分离的引物中选取9对(表中带*者),从Rexroad^[14]分离的引物中选取31对,由上海生物工程技术有限公司合成。先以少量虹鳟DNA样品为模版,对微卫星引物进行PCR筛选,取20对应用于本实验的群体遗传结构分析,其引物序列情况见表1。

表1 虹鳟微卫星引物

Table 1 SSR primers and PCR amplification in Rainbow Trout

GenBank	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	片段长度(bp)	重复单元	复性温度(°C)
		Size range	Repeat unit	Annealing temperature
M24738*	F: TGCCATCTACATCACATTTGG; R: TGACTTGGAGGGATCCCTTTG	230	ta	58
M95183*	F: ACGAGTGTCTGCTTCCAGAGT; R: TTTGTCTTGTCTGGGTGCTG	194	cg	58
AF375010*	F: GGCTTCAGGATGGAGACAGA; R: GGAGGAGAGGATGAGGGGTAGA	160~339	ga	58
AF375034*	F: GCATGTGGGAGATGGAGAGT; R: ATGAAGCCGCTTGTACTGGGA	163~204	ga	60
AF352740	F: GCGCCAAAGTCTTTAGTGTG; R: GCGCCAGCTTACTCTCATTACC	240~279	ac	64
AF352746	F: ACGCAACCAGACAGTAAGAA; R: CGCCTGACAAGAAGAACAAC	244~402	tatc	60
AF352752	F: CAAGAGCACTAACGACCATGT; R: CGCAAGCAAGCTAACACA	179~329	gata	62
AF352754	F: CGAGACAAGCAGCCAGATAGAG; R: CACTGACTGTCTGTCTTGGCTATC	204~332	gata	62
AF352759	F: TGCGGTAGGAAGGCTTTAGTG; R: AAATGGAGCAGCGCTGGTAT	367~478	ag	66
AF352755	F: GTATGCTTACAAATGCACTG; R: CCTGTTCAGCTCAAACCTCAC	210~293	tatc	62
AF352763	F: CTAGCCATCCGAACACTG; R: AGAATAGGCTGCCTGTATCTC	245~383	gata	60
AF352767	F: AACAGGCCTGATGAGTTTC; R: CTCTCTGTCTCGCTCCTATTG	211~218	gata	58
AF352769	F: CACAGGTGAGAACATGCCGCTAAT; R: AGAGCGGGAGCAAATGTGACAGATAGA	175~258	teta	64
AF352770	F: GGCAACAACCACCAACCAATCTA; R: TCACAGTCCGTGCGTCCCTCG	189~263	ac	64
AF346679	F: CTCCCCAGAGATCAGACAGG; R: CCTCAACATCGGTGAATAGTG	208	ga	58
AY039638*	F: CCCATTCTCTGTCCCTCCTT; R: GTTTGACCTCTGCGTTCTCCTC	200~257	ct	64
AY039646*	F: CTCTCTCTCTGCCCCCTTCT; R: CATGGCAGACAACAGGGTAATC	218~315	ct	60
AF352742	F: GCGCCAGATGATTAACGA; R: GGGCTATTCACACGTTCA	189~233	cat	54
AF352745	F: CATATGTCAAGGTGCTGTGCTCCA; R: CTATCACTGCAGCAGGCTTTCATGAT	192~306	gtga	56
G73805*	F: TGACTGAACTAAAATGGATGATGA; R: TGGAGGATTGCTTATGAGTGA	208~246	ac	52

F是正向引物,R是反向引物。F is forward primer; R is reverse primer.

PCR 反应体系为 25 μ l, 包括 10 \times buffer 15 μ l, Mg^{2+} (25 mmol/L) 1 μ l, dNTPs (各 2 mmol/L) 1 μ l, 上下游引物 (10 μ mol/L) 各 1 μ l, 模板 DNA 1 μ l, *Taq* DNA 聚合酶 (Promega) 1 U, ddH₂O。PCR 反应程序如下: 94 $^{\circ}$ C 3 min, 94 $^{\circ}$ C 30 s, 复性 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s, 共 40 个循环, 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。

1.3 遗传结构统计指标 根据电泳结果判断个体的基因型, 计算出各个体各个位点的等位基因频率, 参照顾万春^[15]计算平均观测杂合度 (H_o)、平均期望杂合度 (H_e)、Hardy-Weinberg 遗传偏离指数 (d)。

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

$$\text{期望杂合度: } h_i = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 ;$$

$$\text{平均期望杂合度: } H_e = \sum_{i=1}^r h_i / r ;$$

$$\text{遗传偏离指数: } d = (H_o - H_e) / H_e ;$$

参照 Botstein 的方法计算多态信息含量 (PIC):

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i P_j$$

其中, n 为某一位点的等位基因数, P_i 为群体中第 i 个位点的基因频率; h_i 为第 i 个位点的期望杂合度, r 为位点个数, H_e 为群体内平均期望杂合度; P_i 、 P_j 分别为第 i 和第 j 个等位基因在群体中的频率, $j = i + 1$ 。

参照 Nei^[16]计算群体间遗传相似系数 (I)、遗传距离 (D_s)。

遗传相似系数:

$$I = J_{xy} / \sqrt{J_x J_y}$$

$$J_x = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^k X_{ij}^2 / n, J_y = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^k Y_{ij}^2 / n,$$

$$J_{xy} = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^k X_{ij} Y_{ij} / n$$

群体间遗传距离: $D_s = -\ln I$

其中, I 为两个群体间的相似系数, X_{ij} 、 Y_{ij} 分别为 X 、 Y 群体中第 r 个基因位点上第 k 个基因的频率, n 为检测的基因位点数。

2 结果

2.1 PCR 扩增结果 部分个体基因组 DNA 电泳情况见图 1。20 个微卫星分子标记, 均能在 3 个群体中较好地扩增出特异条带, 其中 M24738、M95183 和 AF346679 为单态, 其余 17 个具有多态性, 但本溪群体在 AF375054 上无任何特异条带, 部分琼脂糖凝胶电泳结果见图 2。

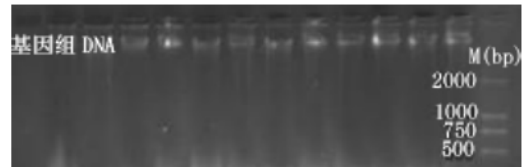


图 1 部分个体基因组 DNA 的电泳图谱

Fig. 1 Electrophoresis patterns of the genomic DNA of several individuals

M. DNA 分子量标准 DL2000. M. DL2000 DNA maker.

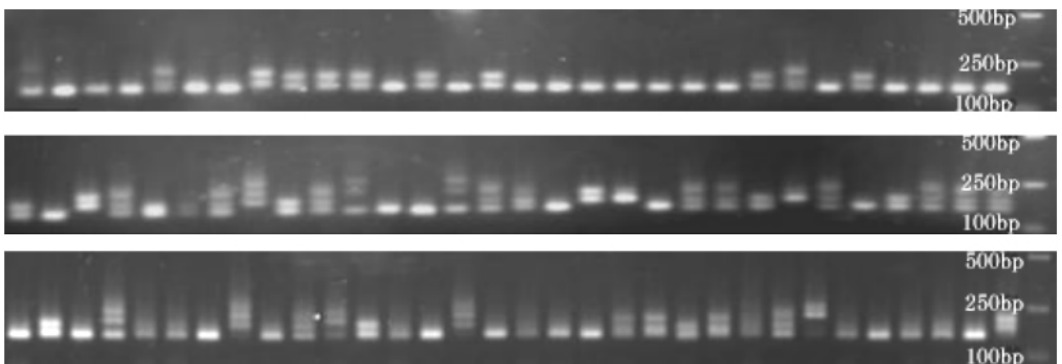


图 2 3 个虹鳟群体在 AF352769 上的电泳图谱

Fig. 2 Electrophoresis patterns of microsatellite locus amplified by primer AF352769 in 3 cultured populations

DNA 分子量标准 DL2000. DNA maker DL2000.

2.2 群体遗传结构 在 20 个基因位点上,共检出 75~82 个等位基因,平均等位基因数为 3.6~4.1。平均观测杂合度为 0.522 4~0.632 8,平均期望杂合度为 0.473 6~0.552 2,平均多态信息含量为 0.435 4~0.508 4,各指标

值均为渤海站群体最高。各位点在 3 个群体中的等位基因数及观测杂合度见表 2。各群体的平均等位基因、平均观测杂合度、平均期望杂合度,平均多态信息含量见表 3。

表 2 3 个虹鳟群体在 20 个遗传标记基因位点的等位基因数和观测杂合度

Table 2 The number of alleles (A) and the value of average observed heterozygosity (H) on 20 loci in 3 populations of Rainbow Trout

GenBank	本溪道氏虹鳟 Donaldsons from Benxi		本溪金鳟 Golden trout from Benxi		渤海站道氏虹鳟 Donaldsons from Bohai	
	等位基因数(A)	观测杂合度(H)	等位基因数(A)	观测杂合度(H)	等位基因数(A)	观测杂合度(H)
	The numbers of allele	Observing value of heterozygosity	The numbers of allele	Observing value of heterozygosity	The numbers of allele	Observing value of heterozygosity
M24738 *	1	0	1	0	1	0
M95183 *	1	0	1	0	1	0
AF375010 *	5	0.862 1	5	0.827 6	5	0.689 7
AF375034 *	2	0.310 3	2	0.379 3	2	0.448 3
AF352740	2	0.551 7	2	0.275 9	2	0.586 2
AF352746	4	0.896 6	4	0.689 6	4	0.862 1
AF352752	4	1	4	0.689 6	4	0.862 1
AF352754	0	0	0	0	7	0.896 6
AF352759	4	0.689 7	4	0.862 1	4	0.896 6
AF352755	4	0.827 6	4	0.793 1	4	0.689 7
AF352763	6	0.896 6	6	0.551 7	6	0.965 5
AF352767	10	0.965 5	10	0.915 4	10	0.896 6
AF352769	5	0.379 3	5	0.724 1	5	0.862 1
AF352770	3	0.206 9	3	0.482 8	7	0.793 1
AF346679	1	0	1	0	1	0
AY039638 *	4	0.896 6	4	0.724 1	4	0.758 6
AY039646 *	2	0.724 1	2	0.517 2	2	0.620 7
AF352742	4	0.379 3	4	0.379 3	4	0.413 8
AF352745	6	0.724 1	6	0.862 1	5	0.758 6
G73805 *	4	0.689 7	4	0.655 2	4	0.586 2

表 3 虹鳟养殖群体的遗传多样性

Table 3 Genetic diversity of cultured Rainbow Trout populations

	等位基因数 The numbers of allele (N_o)	平均观测杂合度 Observing value of mean heterozygosity (H_o)	平均期望杂合度 Expected value of mean heterozygosity (H_e)	平均多态信息含量 Average polymorphism information conten(PIC)
本溪美国道氏虹鳟 Donaldsons from Benxi	75	5.550 1	0.476 5	0.435 4
本溪日本金鳟 Golden Trout from Benxi	76	0.522 4	0.473 6	0.445 7
渤海站美国道氏虹鳟 Donaldsons from Bohai	82	0.632 8	0.552 2	0.508 4

2.3 Hardy-Weinberg 平衡检验 进行种群生化遗传结构研究时,一般要检验多态位点的基因型分布是否符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡。遗传偏离指数(d)可检查杂合体缺乏或过量系数,一般 d 值越接近于零,说明基因型分布越接近于平衡状态; d 值越偏离零,基因型分布越偏离平衡状态,但目前还没有一个公认的标准。 d 值为正说明杂合子过剩, d 值为负说明杂合子缺失。本实验各位点在各群体中的 d 值检验结果见表 4。

表 4 虹鳟种群遗传平衡分析

Table 4 Genotypic equilibrium analysis of cultured Rainbow Trout populations

位点 Locus	本溪美国 道氏虹鳟 Donaldsons from Benxi	本溪日本金鳟 Golden Trout from Benxi	渤海站美国 道氏虹鳟 Donaldsons from Bohai
M24738*	#	#	#
M95183*	#	#	#
AF375010*	0.105 5	0.107 8	-0.016 26
AF375034*	0.182 5	0.233 9	0.288 9
AF352740	0.380 9	0.160 2	0.414 5
AF352746	0.460 5	0.122 4	0.206 9
AF352752	0.358 1	0.036 48	0.249 4
AF352754	-	-	0.060 1
AF352755	0.115 5	0.154 9	0.030 32
AF352759	-0.011 7	0.182 2	0.253 4
AF352763	0.228 1	-0.203 3	0.187 1
AF352769	0.048 66	0.013 29	0.232 4
AF352770	-0.590 1	0.182 2	0.008 392
AF352779	#	#	#
AY039638*	0.644 5	0.254 2	0.381 03
AY039646*	0.567 7	0.348 9	0.330 8
AF352742	-0.163 8	-0.024 7	-0.001 45
AF352745	0.063 13	0.278 1	0.241 1
AF352767	0.118 1	0.091 7	0.064 34
G73805	-0.010 9	-0.054 4	-0.171 4

表示此位点仅有一个等位基因; - 表示此位点缺失。

There is only one allele at the locus; - This locus is lost.

2.4 群体间的遗传分化 3 个群体的遗传距离(D_s)和遗传相似系数(I)结果见表 5。采用 MEGA 3.0 的 UPGMA 聚类法聚类,系统发生树如图 3 所示。

表 5 虹鳟 3 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 3 populations of Rainbow Trout

	美国道氏 虹鳟(本溪) Donaldsons from Benxi	日本金鳟 (本溪) Golden Trout from Benxi	美国道氏 虹鳟(渤海) Donaldsons from Bohai
美国道氏虹鳟(本溪) Donaldsons from Benxi		0.929 6	0.844 3
日本金鳟(本溪) Golden Trout from Benxi	0.073 1		0.919 8
美国道氏虹鳟(渤海) Donaldsons from Bohai	0.169 2	0.083 6	

对角线以上为相似性指数,对角线以下为遗传距离。

Number above the diagonal indicate genetic identity and numbers below indicate genetic distance.

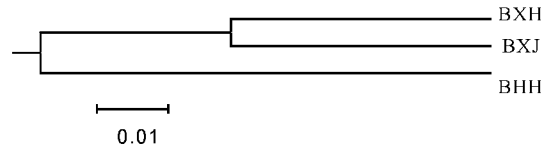


图 3 虹鳟 3 个养殖群体亲缘关系 UPGMA 聚类图

Fig. 3 The constructed phylogenetic dendrogram of 3 cultured Rainbow Trout population drawn by using microsatellite results from UPGMA cluster analysis

BXH 为本溪道氏虹鳟; BXJ 为本溪日本金鳟;

BHH 为渤海站道氏虹鳟。

BXH is Donaldsons of Benxi; BXJ is Golden Trout of Benxi;

BHH is Donaldsons of Bohai.

3 讨论

3.1 群体内的遗传结构分析 本文 3 个虹鳟养殖群体的杂合度和 PIC 含量均处于偏高水平,本溪两个群体的 PIC 为 0.435 4 和 0.445 7,属中度多态,渤海群体的 PIC 为 0.508 4,属高度多态,这说明这 3 个虹鳟养殖群体种群内遗传变异大,信息含量较高,且在现有的养殖情况下基本处于稳定状态。本溪虹鳟、本溪金鳟、渤海虹鳟群体的平均观测杂合度分别为 0.550 1、0.522 4、0.632 8,与哈代-温伯尔定理中的随机交配群体杂合度不超过 0.5 的标准相比,此 3

个群体的杂合度都偏高,这可能是由于虹鳟为四倍体,也可能是人工选择的结果,其具体原因有待于进一步研究。

由 Hardy-Weinberg 平衡检验的 d 值可知,本溪虹鳟群体在位点 AF352759、G73805 的偏离指数为 -0.0117 和 -0.0109 ;本溪金鳟群体在位点 AF352769 的偏离指数为 0.01329 ;渤海站虹鳟群体在 AF375010、AF352770、AF352742 的偏离指数为 -0.01626 、 0.008392 和 -0.00145 。这些位点可视为平衡。本溪虹鳟群体在位点 AF352746、AF352770、AY039638、AY039646 的偏离指数分别为 0.4605 、 -0.591 、 0.6445 、 0.5677 ;渤海虹鳟在位点 AF352740 的偏离指数为 0.4145 。这些位点可视为极度不平衡。其中 AY039638、AY039646 在 3 个群体中的偏离指数最低为 0.2542 ,最高为 0.6445 ,都表现为不平衡。这与赵莹莹^[13]对国内 6 个虹鳟养殖群体的研究结果一致。虹鳟养殖群体所表现出的不平衡现象可能由多年的累代养殖造成,这提醒我们在今后的养殖过程中应注重对质资源的保护,增加引进数量,尽力避免近亲繁殖。

3.2 群体间的遗传分化 Thorp^[17]通过分析研究认为:同种群体间 $I = 0.80 \sim 0.97$ ($D_s = 0.03 \sim 0.20$)。本实验中 3 个群体的遗传一致度在 $0.8443 \sim 0.9296$ 之间,应属于同种群体。其中本溪虹鳟良种场的虹鳟与渤海站虹鳟的遗传距离为 0.1692 ,两个群体发生了同一水平内的遗传变异,由表 4 知这两个群体的遗传相似性仅为 0.8443 ,因此可认为是两个独立的种群。

聚类分析显示,本溪虹鳟良种场的虹鳟与日本金鳟先聚,而渤海站虹鳟独成一支。但道氏虹鳟是长期培育的品种,本溪与渤海的道氏虹鳟群体,与日本金鳟比较更应聚类在一起。发生本实验聚类结果的原因可能有两点:(1)本溪虹鳟良种场的虹鳟与日本金鳟是同一时间引自日本,而渤海站虹鳟属近期引自美国。日本虹鳟由于在相似的人工饲养环境下,选择压力相近,在长期的养殖过程中可能与原美国品系发生了遗传变异;(2)在养殖过程中本溪良种场的虹鳟与金鳟之间可能发生了杂交现象,

以致现有的本溪日本金鳟遗传结构与虹鳟更为接近。此聚类结果确切的分子标记证据将在进一步的研究中通过特征性分子标记来验证或通过遗传组成的精细分析来检验。

在本研究中 AF54 仅能在渤海站群体中扩增,而在本溪群体中表现为缺失,可以作为区分本溪群体与渤海群体的分子标记,此标记是否可以区分日本群体和美国群体还需进一步验证。

3.3 种质退化 遗传多样性是每种生物所固有的特性,它是长期进化和适应的产物,遗传多样性越高则蕴含越高的育种和遗传改良能力,生存能力越强^[18]。外来引进种由于引进亲本有限,易发生建立者效应;养殖群体由于近交及各种选择压力,易发生瓶颈效应。而遗传瓶颈的发生首先表现为等位基因,尤其是稀有等位基因的消失和平均杂合度的降低^[19],遗传多样性降低。

虹鳟属引进种,由于从自然群体中选用亲本数目有限,造成一定程度的遗传漂变,加上多年不同地理环境养殖,基因之间不能发生交流,更易出现上述情况。在本实验中,AF352770 在本溪两个群体里仅有 3 个等位基因,平均观测杂合度分别为 0.2069 和 0.4828 ;此位点在渤海群体里有 7 个等位基因,平均观测杂合度为 0.7586 。AF352754 在本溪两个群体缺失,而在渤海站群体有 7 个等位基因,且杂合度为 0.8966 。三个群体相比较可见,本溪群体发生等位基因消失,杂合度降低的现象。我们在养殖的过程中应注意尽量增加引进亲本数量,避免养殖场自繁后代留作亲本回交或后代兄妹近交,保持好的水域生态环境,做好虹鳟的保种工作,防止种质退化。

3.4 所用引物扩增的稳定性 本实验所用 Rexroad^[14]分离的 13 对引物均已在虹鳟的遗传连锁图谱上进行了精确的定位,赵莹莹^[13]筛选的 7 对引物的原序列来源于 GenBank,可信性极高。其中 M24738、M95183 两个位点在全部个体中表现为单态,这两个位点分别根据虹鳟的泌乳刺激素功能基因(prolactin promoter)和类

胰岛素功能基因(insulin-like growth factor)中含有微卫星的片段设计的引物。

参 考 文 献

- [1] 张昌吉,刘哲,王世银.虹鳟含肉率计肌肉营养成分分析.水利渔业,2006,26(4):83~85.
- [2] 赵厚钧,林艳清,刘伟等.虹鳟的海水驯养技术简介.齐鲁渔业,2002,19(7):16~17.
- [3] 邓亚光,陈立侨.三倍体虹鳟性转换及性腺发育的研究.动物学报,2001,47(1):55~56.
- [4] 石连玉,尹洪滨,毛崇林等.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.
- [5] Young W P, Wheeler P A, Coryell V H, *et al.* A detailed linkage map of rainbow trout produced using doubled haploids. *Genetics*, 1993, **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. the genetics society of america. *Genetics*, 2000, **155**: 1331~1345.
- [7] Powell W, Morgante M, Andre C, *et al.* The comparison of RFLP, RAPD, AFLP, and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol Breed*, 1996, **12**: 255~238.
- [8] 杜长斌,孙孝文,楼允东等.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.
- [9] 李雪梅,谷忠新,李奎等.应用微卫星标记对中国10个品种猪遗传变异的研究.山东农业大学学报(自然科学版),2000,31(3):261~264.
- [10] 张小谷,童金苟,熊邦喜.微卫星标记在鱼类遗传及育种研究中的应用.农业生物技术学报,2006,14(1):117~121.
- [11] 魏东旺,楼允东,孙效文.鲤鱼微卫星分子标记的筛选.动物学研究,2001,22(3):238~241.
- [12] 萨姆布鲁克 J,拉塞尔 D W 著(黄培堂,王嘉玺,朱厚础译).分子克隆实验指南(第三版).北京:科学出版社,2002.
- [13] 赵莹莹,朱晓琛,孙效文.虹鳟6个养殖群体遗传多样性的微卫星分析.遗传,2006,28(8):956~962.
- [14] Rexroad C E, Coleman R L, Hershberger W K, *et al.* Rapid communication: thirty-eight polymorphic microsatellite markers for mapping in rainbow trout. *Journal of Animal Science*, 2002, **80**: 541~542.
- [15] 顾万春.统计遗传学.北京:科学出版社,2004,175~196.
- [16] Nei M. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Columbia University Press, 1987, 512.
- [17] Thorp J P. The molecular clock hypothesis: Biochemical evolution, genetic differentiation, and systematics. *Annual Review of Ecology Systematics*, 1982, **13**(1):139~168.
- [18] 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.中国水产科学,2005,12(4):371~376.
- [19] Allendorf F W, Phelps S R. Loss of genetic variation in a hatchery stock of cutthroat trout. *Trans Am Fish Soc*, 1980, **109**: 537~543.