

文章编号: 1674-5566(2010)04-0433-07

草鱼长江和珠江群体及长江 ♀ × 珠江 ♂ 杂交 组合遗传差异的微卫星分析

傅建军¹, 王荣泉², 刘峰¹, 宣云峰², 郭诗照¹, 李家乐¹

(1. 上海海洋大学省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306

2. 吴江市水产养殖有限公司四大家鱼工程技术中心, 江苏 吴江 215221)

摘要: 用 8 对微卫星对草鱼长江群体和珠江群体的 2 个自繁组合: 长江 ♀ × 长江 ♂ (YY)、珠江 ♀ × 珠江 ♂ (ZZ), 1 个杂交组合: 长江 ♀ × 珠江 ♂ (YZ), 进行遗传多样性和遗传结构分析。8 个微卫星位点的等位基因数为 2~6 个, 并具有较好的多态性, 可以用于遗传变异分析。有效等位基因数、观测杂和度、期望杂合度、多态性信息含量均以 YZ 组合最高, 分别为 2.811 1.0984 3.0639 9.0559 8. ZZ 组合最低, 分别为 2.675 1.0865 0.0612 9.0528 3. YY 组合介于两者之间。基于 Nei S 遗传距离构建的 UPGMA 和 N 系统树揭示 YZ 组合与 YY 组合亲缘关系更近。组合间遗传分化分析 (F_{st}) 及 AMOVA 分析表明, YY 组合与 ZZ 组合间达到中等遗传分化水平 ($F_{st}=0.086 0 P<0.01$)。结果表明: 杂交后代遗传变异水平显著提高, 具有较高的选育潜力; 长江与珠江水系草鱼存在一定程度的遗传分化。

关键词: 草鱼; 杂交; 微卫星; 遗传变异

中图分类号: S917 **文献标识码:** A

Microsatellite analysis of genetic variation in Yangtze River, Zhujiang River, and Yangtze River ♀ × Zhujiang River ♂ groups of *Ctenopharyngodon idella*

FU Jian-jun¹, WANG Rong-quan², LIU Feng¹, XUAN Yun-feng², GUO Shi-zhao¹, LI Jia-le¹

(1. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources

Shanghai Ocean University, Ministry of Education, Shanghai 201306, China

2. Engineering Technology Center of Chinese Carps, Wujiang Aquatic Breeding Co., Ltd. Wujiang 215221, China)

Abstract: The microsatellite primers of 8 pairs were used to study genetic variation of the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) in three progeny groups: YZ (Yangtze River ♀ × Zhujiang River ♂), YY (Yangtze River ♀ × Yangtze River ♂) and ZZ (Zhujiang River ♀ × Zhujiang River ♂) from the populations of Yangtze River and Zhujiang River. The result suggested the number of alleles generated from each locus ranged from two to six at the eight assessed loci which showed rich polymorphism. These microsatellite primers could be used as good molecular markers for the genetic variation study of the grass

收稿日期: 2009-08-03

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金 (NYCYTX-49); 上海市重点学科建设项目 (Y1101); 上海市科委基础重大项目 (06DJ14003); 草鱼快速生长新品系选育与规模化健康养殖技术 (BE2008321)

作者简介: 傅建军 (1986-), 男, 硕士研究生, 专业方向为水产动物种质资源与遗传育种。E-mail: fjj_d0@163.com

通讯作者: 李家乐, E-mail: jll2009@126.com

carps. The number of effective alleles (N_e), observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e) and polymorphic information content were all the highest in YZ group as 2.811 1, 0.984 3, 0.639 9, 0.559 8 respectively. Meanwhile ZZ group had the lowest values 2.675 1, 0.865 0, 0.612 9 and 0.528 3 respectively. The UPGMA and NJ trees based on genetic distance demonstrated that YZ group was genetically near to YY group. F_{st} and AMOVA analysis of all groups and loci indicated that there was moderate divergence between YY group and ZZ group. The highest genetic diversity that existed in YZ indicated this hybrid had the high potential for further breeding. There was obvious divergence between Yangtze River and Zhujiang River populations of grass carp.

Key words: *Ctenopharyngodon idella*; hybrid; microsatellite; genetic variation

草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*), 广泛分布于我国北起黑龙江、南至珠江的江河湖泊中, 主要集中在长江、珠江、黑龙江水系^[1], 因其草食性、生长快、肉质鲜美等特点, 在淡水水体中得到了广泛养殖, 是目前世界上养殖产量最高的鱼类。培育草鱼新品种是我国水产工作者一直在探索的工作。

杂交作为遗传育种的重要手段, 能有效提高生长率、转移优良性状及提高耐受力, 进而培育新品种^[2]。国内外开展了大量的鱼类杂交育种研究^[3-5], 证实杂交对于选择育种方向、分析育种效果、提高育种值等具有积极作用^[6-8]。水产工作者对草鱼开展过一些杂交实践^[9], 主要是利用远缘杂交, 由于存在胚胎发育困难、杂种不育及基因污染等问题^[10-11], 在生产推广上受到一定的限制。而种内杂交不存在以上问题, 可操作性强, 容易推广^[12-13], 对产业的发展贡献更大, 因此种内杂交是目前杂种优势利用和遗传改良的重要途径之一。

各种遗传标记中, 微卫星 (microsatellite) 标记因符合孟德尔遗传规律, 呈共显性遗传、多态性高、易操作、重复性好等特点受到研究者的青睐, 被广泛应用于鱼类种质资源和遗传育种研究^[14-15], 在草鱼遗传多样性研究方面也有报道^[16-17]。本研究利用不同水系的草鱼获得 1 组杂交后代及 2 组自繁后代, 采用微卫星标记进行遗传结构分析, 探索其遗传多样性及遗传结构特点, 以期对草鱼的杂交利用和育种研究提供分子遗传学基础资料。

1 材料与方法

1.1 试验材料及试验设计

试验于 2008 年 5 月至 11 月开展。试验用亲

本均为长江、珠江原种, 长江群体于 2006 年 12 月收集于国家级邗江四大家鱼原种场, 珠江群体于 2008 年 3 月从珠江水产研究所获得。亲本培育于吴江市水产养殖有限公司四大家鱼良种场。

为尽量保证实验条件的一致性, 控制各组的亲本数相同, 挑选个体大小相近、年龄相同的亲本, 同步进行催产。考虑草鱼亲本个体大、人工操作困难等因素, 试验中各选择长江和珠江草鱼 2 尾雌鱼、2 尾雄鱼, 人工挤出精、卵, 各自混合, 分成 2 份, 分别进行配组授精, 倒入孵化桶孵化。因孵化过程管理不当, 珠江 ♀ × 长江 ♂ 杂交组合 (ZY) 全部死亡。最终获得长江 ♀ × 珠江 ♂ 杂交组合 (YZ)、长江 ♀ × 长江 ♂ 自繁组合 (YY) 及珠江 ♀ × 珠江 ♂ 自繁组合 (ZZ)。鱼苗点腰平游后进行网箱培育至夏花, 分别采样。样品用无水乙醇固定, 保存于 4 °C, 经常更换酒精以保证样品质量。

1.2 基因组 DNA 提取

各组合取 48 个样用于提取基因组 DNA, 剪取 30 ~ 50 mg 鱼苗尾部组织, 参照《现代分子生物学实验手册》的组织培养细胞中 DNA 的小量提取方法^[18]。抽提过程略有改动, 最终溶解于 100 μL 无菌水中, 通过紫外分光光度计对 DNA 浓度进行定量, 取出部分溶液稀释成 50 ng/μL 的使用液, 保存于 -20 °C 备用。

1.3 微卫星引物

研究所用草鱼微卫星引物由本实验室自行开发^[19]。挑选文中报道等位基因较多的 11 对微卫星, 用 12 个野生草鱼 DNA 样品检验多态性及退火温度, 筛选了 8 对扩增效果较好的引物用于 3 个组合的遗传分析。引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成, 详细信息见表 1。

表 1 8对微卫星引物序列及退火温度

Tab 1 Sequence and annealing temperature of 8 pairs of microsatellite primers

位点	引物序列 (5'-3')	退火温度 (°C)
c03	F: CATACTGTTCACAGCCTCTC	60
	R: CATTCCTTCA CCGTTGATCAT	
c04	F: ATAGGCATGGAATGGACTG	60
	R: GCTCCTGCTTATTTTATTTACC	
c05	F: TATGGCCTIGATTTTACATGCAAATA	60
	R: TCATTCTGTGAGACCCACACCTCT	
c08	F: AATGCGTCGGTTTGGTTGAGT	58
	R: AGCGCTTACCTGCGCTGTTC	
c09	F: TGGCCTTACTACCA TCACTT	60
	R: AATGTCCCAACAATTCATAAAA	
c10	F: AATGCTTCCCATCTCACTGC	58
	R: TCAGAGCCACACCAACAATG	
c12	F: AACCCCTCCATCTCTGTCT	60
	R: AGCCCATTCATTTCTCTCTATTTC	
c15	F: TGTCCGCTCTACTGGGGTATG	60
	R: AAGGGGGATCCGCATCTGAC	

1.4 PCR扩增及产物检测

15 μL反应体系: 2× Taq PCR Master Mix (天根生化科技有限公司) 7.5 μL上下游引物 (20 μmol/L)各 0.5 μL, 50 ng/μL DNA模板 1 μL, 无菌水 5.5 μL

PCR反应程序: 94 °C预变性 3 min; 94 °C变性 30 s; 复性 30 s (各引物反应复性温度见表 1), 72 °C延伸 30 s, 共 25个循环; 最后 72 °C延伸 10 min。在 Eppendorf 5345 PCR仪上进行扩增。

产物的检测: 8%非变性聚丙烯酰胺 (丙烯酰胺与甲叉双丙烯酰胺体积比为 29:1) 凝胶电泳分离 PCR反应产物, 电泳液为 1× TBE缓冲体系, 电压 100 V, 电泳 5~6 h (北京六一仪器厂 DYY-6C型电泳仪, DYCZ-24A型电泳槽), 0.1% 硝酸银染色, 利用扫描仪 (HP scanjet 2400) 成像。

1.5 数据统计分析

利用 GelPro Analyzer 4.5 软件分析凝胶照片, 用 PopGene 32 (Version 1.31) 软件统计分析微卫星基因座的等位基因数 (N_a)、有效等位基因数 (N_e)、观测杂合度 (H_o)、期望杂合度 (H_e)、 χ^2 检验 Hardy-Weinberg 平衡及 Nei 标准遗传距离 (D_s)^[20]。利用 Arlequin 3.11^[21] 计算遗传分化指数 F 统计量 (F -statistics, F_{st}) 及分子方差分析 (AMOVA)。根据 Botstein 等^[22] 计算每个微卫星位点的多态信息含量 (C_{pi}), 计算公式如下:

$$C_{pi} = 1 - \sum_{i=1}^n \left(\frac{P_i}{N} \right)^2 = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 \quad (1)$$

式中: P_i 分别为第 i 和第 j 个等位基因的频率, n 为等位基因数目。根据 PopGene 32 (Version 1.31) 计算出各位点的等位基因频率, 基于 Nei 标准遗传距离 (D_s), 利用 Dispan²³ 构建组合间的 UPGMA 及 N 系统树, 以分析亲缘关系。

2 结果

2.1 微卫星 PCR 结果

8对微卫星引物在 3个组合共 144个个体中扩增出 34个等位基因, 等位基因大小范围在 109 bp 到 249 bp 之间; 各个微卫星位点出现 2~6个等位基因, 平均等位基因数为 4.25, 有效等位基因数为 2.992 4。各位点表现较高的观测杂合度 (0.750 0~0.993 1) 和期望杂合度 (0.499 3~0.780 1), 各微卫星位点多态性信息含量较丰富, c03、c04、c05、c08、c09、c10 及 c12 位点的 $C_{pi} > 0.5$ 属高度多态, c15 位点, $0.25 < C_{pi} < 0.5$ 属中度多态。

2.2 组合间遗传多样性分析

微卫星扩增产物表现较高多态性, 并在 3个组合中表现特异性扩增, c03 位点在 YZ 组合出现 YY 组合和 ZZ 组合没有的特异条带 (表 2), c04、c08、c09 及位点在 YZ 组合和 ZZ 组合间出现特异性条带差异 (图 1)。YZ 组合、YY 组合及 ZZ 组合的有效等位基因数、期望杂合度、观测杂合度、平均多态信息含量表明 3个组合的遗传多

样性水平表现一定差异, YZ组合的遗传多样性最高, YY组合次之, ZZ组合遗传多样性最低。具体结果见表 2。

衡的 χ^2 检验, 除 YY组合中的 \varnothing_3 位点外, 3个组合其他位点的检验结果均表现出明显的平衡偏离; 对各位点进行多群体检测 (Multi-group test) 发现, 各位点都表现明显的平衡偏离 (表 2)。

对各组合每个位点进行 Hardy-Weinberg平

表 2 3个组合的遗传多样性及 Hardy-Weinberg平衡检验
Tab 2 Genetic diversity and Chi-square values of three groups

组合	参数	位点								平均
		\varnothing_3	\varnothing_4	\varnothing_5	\varnothing_8	\varnothing_9	\varnothing_{10}	\varnothing_{12}	\varnothing_{15}	
杂交 YZ	N_a	6	3	3	3	4	4	5	2	3.750
	N_e	3.5556	2.3594	2.3594	2.7609	2.8046	2.2489	4.4011	1.9991	2.8111
	H_e	0.7263	0.5822	0.5822	0.6445	0.6502	0.6481	0.7809	0.5050	0.6399
	H_o	0.9583	1.0000	1.0000	0.9792	1.0000	0.9787	0.9792	0.9792	0.9843
	C_{PI}	0.6709	0.4864	0.4864	0.5639	0.5747	0.5851	0.7361	0.3749	0.5598
	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	N_a	5	3	3	4	4	4	5	2	3.7500
长江 YY	N_e	3.3611	2.0841	2.3367	3.2292	3.0845	2.7874	3.5804	1.9991	2.8078
	H_e	0.7099	0.5257	0.5781	0.6976	0.6834	0.5612	0.7283	0.5050	0.6237
	H_o	0.6458	0.9792	0.9583	1.0000	0.9556	0.9167	1.0000	0.9792	0.9294
	C_{PI}	0.6486	0.4048	0.4783	0.6291	0.6125	0.4657	0.6749	0.3749	0.5361
	P	0.3336	0	0	0	0	0	0	0	0.0417
	N_a	4	4	3	3	3	3	5	2	3.3750
	N_e	2.5844	2.6392	2.5543	2.2058	2.4572	2.5464	4.4671	1.9459	2.6751
珠江 ZZ	H_e	0.6195	0.6276	0.6149	0.5524	0.5994	0.6138	0.7845	0.4912	0.6129
	H_o	0.9792	0.9792	0.9583	1.0000	0.2979	0.9362	0.9362	0.8333	0.8650
	C_{PI}	0.5362	0.5531	0.5281	0.4439	0.5183	0.5392	0.7392	0.3680	0.5283
	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	N_a	6	5	3	4	5	4	5	2	4.2500
	N_e	3.7141	2.4186	2.6387	2.9081	3.1764	2.6006	4.4923	1.9904	2.9924
	H_e	0.7333	0.58886	0.6232	0.6584	0.6876	0.6177	0.7801	0.4993	0.6485
所有 个体	H_o	0.8611	0.9861	0.9722	0.9931	0.7500	0.9437	0.9720	0.9306	0.9261
	C_{PI}	0.6862	0.5018	0.5462	0.5865	0.6370	0.5522	0.7421	0.3738	0.5782
	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0

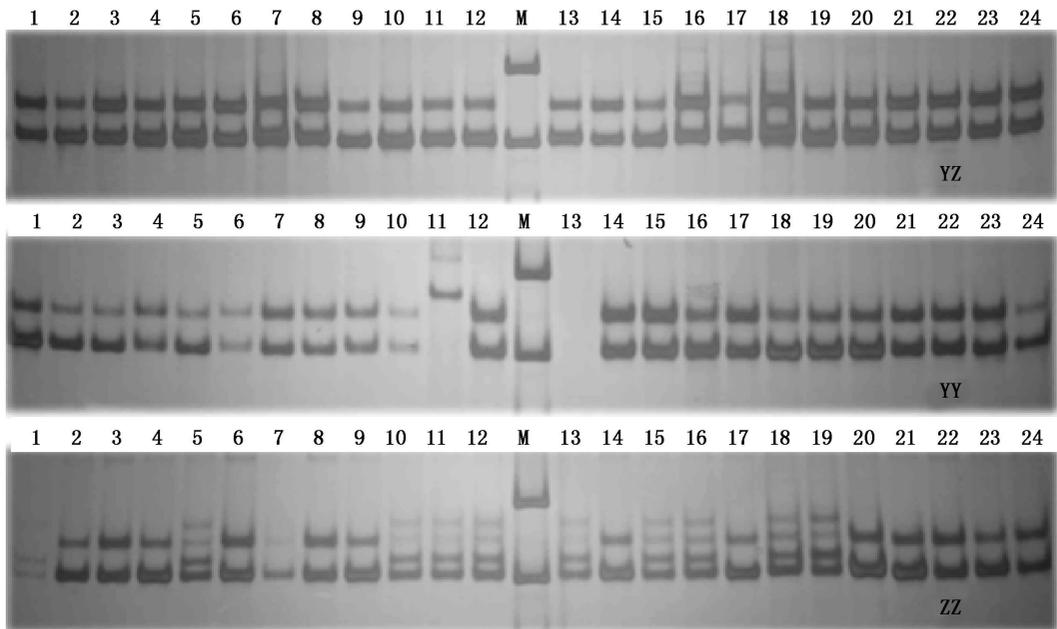


图 1 3个组合 \varnothing_4 引物的电泳图谱

Fig 1 Electrophoretogram of \varnothing_4 locus of 3 groups

2.3 遗传距离和聚类分析

基于等位基因频率,对3个组合进行 Nei's 遗传距离分析、遗传分化指数 (F_{st}) 分析及遗传变异的 AMOVA 分析。如表 3 所示, YY 组合与 ZZ 组合间遗传距离最远 ($D_s=0.1634$), YZ 组合与 YY 组合间的遗传距离最近 ($D_s=0.0508$), YZ 组合与 ZZ 组合间的遗传距离居中 ($D_s=0.1044$); YY 组合与 ZZ 组合间的遗传分化指数最大 ($F_{st}=0.0860$), 而 YZ 组合与 YY 组合间的遗传分化指数最小 ($F_{st}=0.0232$), YZ 组合与 ZZ

组合间的遗传分化指数居中 ($F_{st}=0.0471$), 组合间的遗传分化差异极显著 ($P<0.01$)。3个组合间的遗传变异 AMOVA 分析结果如表 4 所示, 组合间遗传变异占总变异的 5.25%, 且达到极显著水平 ($P<0.01$)。

根据各位点的等位基因频率,基于 Nei' 标准遗传距离 (D_s) 构建组合间的 UPGMA 及 NJ 系统树。聚类结果显示, YZ 组合先与 YY 组合先聚到一支再与 ZZ 组合聚合 (图 2), 由此可见, 杂交组合与长江自繁组合亲缘关系更近。

表 3 3个组合 F_{st} 统计量 (F_{st} , 对角线上) 及 Nei' 遗传距离 (D_s , 对角线下)

Tab 3 Pairwise F_{st} estimates (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) among three groups

组合	杂交组合 (YZ)	长江组合 (YY)	珠江组合 (ZZ)
杂交组合 (YZ)		0.0232	0.0471
长江组合 (YY)	0.0508		0.0860
珠江组合 (ZZ)	0.1044	0.1634	

表 4 3个组合分子方差分析

Tab 4 AMOVA analysis among three groups

变异来源	自由度	平方和	方差组分	方差比例 (%)
群体间	2	31.080	0.13628	5.25
群体内个体间	285	700.365	2.45742	94.75
总变异	287	731.444	2.59370	

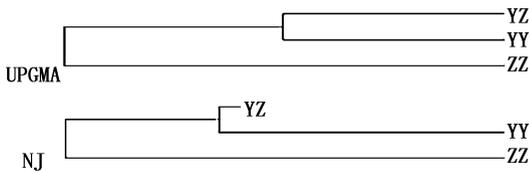


图 2 3个组合的 UPGMA 及 NJ 聚类图

Fig 2 UPGMA and NJ cluster graphs of three groups

3 讨论

目前,微卫星技术已被广泛应用于水产动物的杂交研究^[24-27]。本研究采用 8 对微卫星引物对长江与珠江草鱼群体的 1 个杂交组合及 2 个自繁组合进行遗传多样性及遗传结构分析。

有效等位基因数作为度量遗传变异的一个重要指标,能反映基因座等位基因间的相互作用。本研究中,每个微卫星位点出现 2~6 个等位基因,平均等位基因数为 4.25,平均有效等位基因数为 2.9924 等位基因数与张志伟等^[16]及廖小林等^[17]研究结果相似。杂交组合的平均等

位基因数和有效等位基因数都高于自繁组合,而且 03 位点在杂交组合中出现自繁组合中没有的特异性条带,这种现象在罗非鱼的杂交研究也有报道^[28-29],可能是由于基因重组所致。研究表明杂交能有效提高等位基因数和增加遗传变异。

杂合度是度量遗传变异的另一个重要参数,反映群体遗传结构变异程度的高低。本研究中,各微卫星位点表现较高的平均期望杂合度 (H_e),在 0.4993 到 0.7801 之间,与张志伟等^[16]应用微卫星对野生与养殖草鱼群体遗传变异分析时得到的平均期望杂合度 (0.5000~0.8027) 基本一致,高于廖小林等^[17]对草鱼长江水系不同群体的微卫星分析时获得的平均期望杂合度 (0.3868~0.6815)。杂合度高说明所选微卫星能提供较丰富的多态性信息,是研究遗传多样性的理想工具^[30]。本研究中,杂交组合的平均观测杂合度和平均期望杂合度均高于两个自繁组合,说明杂交能有效地增加遗传结构变异,提高遗传多样性。

多态信息含量是衡量等位基因多态性的理想指标,多态性信息含量越大,表明杂合子比例越大,能提供更多的遗传信息。根据 Botstein等^[22]提出的衡量标准,本研究中各微卫星位点具有较高的多态信息含量,其中7个位点属高度多态($0.5018 \sim 0.7421$),1个位点属中度多态(0.3738),说明这些位点能提供较丰富遗传信息,可以作为有效的分子标记适用于草鱼遗传多样性分析。对3个试验组合的平均多态信息含量比较发现,杂交组合的平均多态信息含量(0.5598)高于2个自繁组合($0.5361, 0.5283$),进一步说明杂交组合在遗传多样性和遗传信息方面的有效提高。

通过以上对等位基因数、杂合度及多态性信息含量3个方面的分析,发现杂交组合的遗传多样性明显高于2个自繁组合。根据杂种优势的显性学说,杂交能改变后代的基因组合,增加基因的杂合性,当基因型和环境之间获得一种相互平衡时,就能提高杂种的生活力、生长速度等重要遗传性状^[16]。笔者^[31]在研究这3个组合生长性能时发现,1龄阶段杂交组合的生长性能最佳,本研究恰好为杂交组合1龄阶段表现出较强杂种优势提供了遗传学解释。因此这个杂交组合具有进一步扩大生产利用和研究的价值。

群体间遗传关系一般表现为以等位基因频率计算的群体间遗传距离,因微卫星的诸多优点,被用来测定遗传距离能得到较准确的结果。本研究利用组合间各微卫星位点的等位基因频率计算出 N_{ei} 遗传距离 (D_s),并依此构建聚类UPMGA和N系统树。聚类结果显示,杂交组合先与长江自繁组合聚于一支,再与珠江自繁组合聚类。遗传分化分析也显示,杂交组合与长江自繁组合间的遗传分化较弱。这说明长江水系草鱼作为母本来源表现出更强的遗传影响。

有关学者采用同工酶^[32]、RAPD^[33]等方法研究过三江水系草鱼的遗传多样性,本研究获得相似结果,发现长江与珠江水系草鱼存在一定程度遗传变异。研究发现,2个自繁组合在等位基因特异性、等位基因数量、杂合度及多态信息含量方面均表现出不同程度差异;2个自繁组合间的 N_{ei} 遗传距离 ($D_s=0.1634$),比廖小林等^[17]报道的长江水系不同群体间的 N_{ei} 遗传距离大;遗传分化指数 ($F_{st}=0.0860$)达到中等分化水

平^[34], AMOVA分析也表明,组合间的遗传变异达到极显著水平 ($P < 0.01$),可见长江与珠江水系草鱼存在一定的遗传分化。长江与珠江水系草鱼受长期地理隔离和近交繁殖影响,在遗传过程中稀有等位基因出现缺失,基因频率产生差异,最终导致种群间分子遗传差异。通过杂交可以综合不同来源的遗传信息,使不同等位基因重组,增加遗传变异,这正是杂交组合表现出遗传多样性特点及杂种优势的生物学基础。

参考文献:

- [1] 李思忠, 方芳. 鲢、鳙、青、草鱼地理分布的研究 [J]. 动物学报, 1990, 36(3): 244-250
- [2] Mallet J. Hybrid speciation [J]. Nature, 2007, 446(15): 279-283
- [3] Chevassus B. Hybridization in fish [J]. Aquaculture, 1983, 33: 245-262
- [4] 楼允东, 李小勤. 中国鱼类远缘杂交及其在水产养殖上的应用 [J]. 中国水产科学, 2006, 13(1): 151-158
- [5] 楼允东. 我国鱼类近缘杂交研究及其在水产养殖上的应用 [J]. 水产学报, 2007, 31(4): 532-538
- [6] Scribner K T, Page K S, Barron M L. Hybridization in freshwater fishes: a review of case studies and cytogenetic methods of biological inference [J]. Review in Fish Biology and Fisheries, 2001, 10: 293-323
- [7] Hulata G. Genetic manipulations in aquaculture: a review of stock improvement by classical and modern technologies [J]. Genetica, 2001, 111: 155-173.
- [8] Mallet J. Hybridization as an invasion of the genome [J]. Trends in Ecology and Evolution, 2005, 20(5): 229-237.
- [9] 赵金良, 李家乐, 曹阳. 草鱼杂交育种及杂交后代生物学研究进展 [J]. 安徽农学通报, 2008, 14(11): 162-164.
- [10] Allendorf FW, Leary RF, Sproull P et al. The problems with hybrids: setting conservation guidelines [J]. Trends in Ecology and Evolution, 2001, 16(11): 613-622
- [11] Senanan W, Kapuscinski A R, Nananom U et al. Genetic impacts of hybrid catfish farming (*Clarias macrocephalus* × *C. gariepinus*) on native catfish populations in central Thailand [J]. Aquaculture, 2004, 235: 167-184.
- [12] Bakos J, Gorda S. Genetic improvement of common carp strains using intraspecific hybridization [J]. Aquaculture, 1995, 129: 183-186
- [13] Hulata G. A review of genetic improvement of the common carp (*Cyprinus carpio* L.) and other cyprinids by crossbreeding, hybridization and selection [J]. Aquaculture, 1995, 129: 143-155
- [14] Liu Z J, Cordes J F. DNA marker technologies and their

- applications in aquaculture genetics [J]. *Aquaculture*, 2004, 238: 1—37.
- [15] Dimitrov A Ç, Barth J, Volckaert F A M. Microsatellites and their genomic distribution: evolution, function and applications. A review with special reference to fish genetics [J]. *Aquaculture*, 2006, 255: 1—29.
- [16] 张志伟, 曹哲明, 杨弘, 等. 草鱼野生和养殖群体间遗传变异的微卫星分析 [J]. *动物学研究*, 2006, 27(2): 189—196.
- [17] 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.
- [18] 张维铭. 现代分子生物学实验手册 [M]. 2版. 北京: 科学出版社, 2007: 74—75.
- [19] Li J L, Zhu Z Y, Wang G L, et al. Isolation and characterization of 17 polymorphic microsatellites in grass carp [J]. *Molecular Ecology Notes*, 2007, 7: 1114—1116.
- [20] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. *Genetics*, 1978, 89: 583—590.
- [21] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin ver 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis [J]. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 2005, 1: 47—50.
- [22] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. *The American Journal of Human Genetics*, 1980, 32: 314—331.
- [23] Nei M, Tajima F, Tateno Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data [J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1983, 19: 153—170.
- [24] Poteaux C, Guyonard R, Berrebi P. Single and joint gene segregation in intraspecific hybrids of brown trout (*Salmo trutta* L.) lineages [J]. *Aquaculture*, 2000, 186: 1—12.
- [25] Huve t A, Balabaud K, Bieme N, et al. Microsatellite analysis of 6-hour-old embryos reveals no preferential intraspecific fertilization between cupped oysters *Crassostrea gigas* and *Crassostrea angulata* [J]. *Marine Biotechnology*, 2001, 3: 448—453.
- [26] Yan J P, Liu S J, Sun Y D, et al. RAPD and microsatellite analysis of diploid gynogens from allotetraploid hybrids of red crucian carp (*Carassius auratus* × common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Aquaculture*, 2005, 243: 49—60.
- [27] 颜标, 李思发, 蔡完其. 尼罗罗非鱼与萨罗罗非鱼及其正反杂交后代的微卫星分析 [J]. *水产学报*, 2007, 31(3): 411—415.
- [28] 李莉好, 喻达辉, 黄桂菊, 等. 尼罗罗非鱼、奥利亚罗非鱼及其正、杂交群体的遗传多样性 [J]. *中国水产科学*, 2008, 15(4): 585—592.
- [29] 李学军, 李爱景, 王阅文, 等. 萨罗罗非鱼与尼罗罗非鱼正反杂交后代之间的分子遗传学差异 [J]. *四川动物*, 2008, 26(5): 777—780.
- [30] 孟宪红, 孔杰, 王清印, 等. 微卫星技术对黄、渤海海域 7 个不同地理群体中国对虾的遗传结构和遗传分化研究 [J]. *海洋水产研究*, 2008, 29(5): 1—10.
- [31] 傅建军, 王荣泉, 刘峰, 等. 长江草鱼♀×珠江草鱼♂杂交子一代与其亲本一龄阶段生长性能和体型分析 [J]. *安徽农业科学*, 2009, 37(23): 11037—11039.
- [32] 李思发, 王强, 陈永乐. 长江、珠江、黑龙江三水系的鲢、鳙、草鱼原种种群的生化遗传结果与变异 [J]. *水产学报*, 1986, 10(4): 351—372.
- [33] 薛国雄, 刘棘, 刘洁. 三江水系草鱼种群 RAPD 分析 [J]. *中国水产科学*, 1998, 5(1): 1—5.
- [34] Balloux F, Lugon-Moulin N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers [J]. *Molecular Ecology*, 2002, 11: 155—165.