

文章编号: 1004-7271(2009)01-0001-07

尼罗罗非鱼 8 个养殖群体遗传 差异的微卫星分析

李先仁, 李思发, 唐首杰, 蔡完其

(上海海洋大学农业部水产种质资源与养殖生态重点开放实验室, 上海 201306)

摘要: 利用 18 对微卫星引物对尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 国内外 8 个养殖群体进行遗传差异分析。结果表明: (1) 8 个群体的平均等位基因数 (N_a) 为 3.61~5.11, 平均有效等位基因数 (N_e) 为 2.81~3.76, 平均观察杂合度 (H_o) 为 0.861 1~0.925 0, 平均期望杂合度 (H_e) 为 0.603 9~0.697 7, 平均多态信息含量 (PIC) 为 0.522 9~0.637 3。表明这 8 个养殖群体具有丰富的遗传变异。(2) 在对 8 个群体的遗传距离和遗传相似度进行估算基础上所作聚类分析表明, 8 个群体分为两大支, 3 个“吉富”群体明显聚为一支, 其他 5 个群体聚为一支, 反映了这 8 个群体的亲缘关系。(3) 微卫星引物 UNH187 可以初步作为区分“新吉富”尼罗罗非鱼和其他尼罗罗非鱼群体的特异性标记。

关键词: 尼罗罗非鱼; 微卫星; 遗传差异

中图分类号: S 917 **文献标识码:** A

Genetic diversity in eight farmed Nile tilapia populations (*Oreochromis niloticus*) by microsatellite markers

LIXian-ren, LISi-fa, TANG Shou-jie, CAI Wan-qi

(The Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquacultural Ecology Certificated
by the Ministry of Agriculture Shanghai Ocean University Shanghai 201306, China)

Abstract: To access Nile tilapia's genetic diversity, 158 samples of eight farmed Nile tilapia populations were amplified by eighteen pairs of microsatellite primers. The result shows that: (1) In all eight populations the value of average allele number (N_a) was 3.61-5.11, the value of average of effective number of alleles (N_e) was 2.81-3.76; the value of average observed heterozygosity (H_o) was 0.861 1-0.925 0, the value of average expected heterozygosity (H_e) was 0.603 9-0.697 7 and the value of average polymorphism information content (PIC) was 0.522 9-0.637 3. (2) The Nei's genetic distance and genetic identity were calculated, the phylogenetic tree shows that eight Nile tilapia populations were clustered into two groups. The first group belongs to the three "GIFT" populations while the second group consisted of the other Nile tilapia populations. (3) Primer UNH187 could primarily be used as molecular genetic markers to identify "NEW GIFT" Nile tilapia from the other Nile tilapia populations.

Key words: *Oreochromis niloticus*; microsatellites; genetic diversity

收稿日期: 2008-04-26

基金项目: 国家“十五”攻关项目 (2001BA505B0513)

作者简介: 李先仁 (1983-), 男, 山东章丘人, 硕士研究生, 专业方向为种质资源与种苗工程。

通讯作者: 李思发, E-mail: sff@shou.edu.cn

罗非鱼类为世界性主要养殖鱼类之一^[1],我国罗非鱼产量已连续多年居世界首位,2006年的总产量已达 114.14 万吨,占世界总产量的一半以上。尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)是我国罗非鱼养殖的主要种类之一。

自 1978 年以来,我国多次引进尼罗罗非鱼^[2-4],大体上可归纳为三个系列:第一系列为原种系列,如“78”、“85”、“88”、“95”、“98”、“99”系,为我国从埃及等非洲国家直接引种,其中“78”、“88”品系曾是我国罗非鱼养殖的主导品种。“92”、“93”、“94”系,为我国从第三国间接引种。第二系列为台湾系列,如吴郭鱼,福寿鱼等,都是不同引进与培育背景的尼罗罗非鱼或其杂交鱼的俗称。第三系列为“吉富”系列,1994 年上海水产大学(现上海海洋大学)引进了由国际水生生物资源管理中心(ICLARM)选育的“GIFT”品系尼罗罗非鱼,后命名为“吉富”品系尼罗罗非鱼。上海水产大学以其为基础群体,从 1996 年起进行了连续 9 年 9 代的系统选育,2006 年 1 月经全国水产原种、良种审定委员会确定为新品种,名为“新吉富”罗非鱼,已在全国推广。2001 年以来,挪资北极品公司和吉诺玛公司把留养在菲律宾的“GIFT”品系引进我国,以“吉富”罗非鱼为名营销。目前,“新吉富”、“吉富”罗非鱼已成为我国尼罗罗非鱼养殖的主导品种,也是高雄性奥尼或吉奥杂交鱼的主要母本。

然而,多批次多渠道的引种,造成我国尼罗罗非鱼遗传背景纷繁复杂,加之生产单位一般缺乏对不同种或群体的严格隔离措施,往往造成罗非鱼的种间或群体间的杂交,遗传渐渗和混杂现象严重^[4]。

本研究采集了尼罗罗非鱼在国内的 6 个代表性群体,2 个国外代表性群体,通过微卫星标记分析,了解它们的遗传差异,分析他们的遗传关系,为我国罗非鱼种质资源的保护和合理利用提供相关基础。

1 材料与方法

1.1 材料

本实验共采集国内外 8 个养殖群体的尼罗罗非鱼样本 158 尾。每个样本剪取鳍条组织,保存于 95% 的酒精中备用。采样情况如表 1。

表 1 尼罗罗非鱼 8 个养殖群体采样情况表

Tab 1 Sampling information of eight farmed populations of Nile tilapia

群体名	中文简称	采集地点	尾数	代号
“新吉富”尼罗罗非鱼	新吉富	上海水产大学种质实验站	20	J
吉诺玛吉富尼罗罗非鱼	吉诺玛吉富	海南 海口	20	H
北极品吉富尼罗罗非鱼	北极品吉富	广东 珠海	18	G
伟业尼罗罗非鱼	伟业尼罗	广东 茂名	20	W
鹭业尼罗罗非鱼	鹭业尼罗	福建 厦门	20	L
广西水产研究所尼罗罗非鱼	广西所尼罗	广西 南宁	20	E
埃及尼罗罗非鱼	埃及尼罗	匈牙利	20	A
泰国尼罗罗非鱼	泰国尼罗	匈牙利	20	T

1.2 基因组 DNA 的提取

基因组 DNA 提取采用常规的“酚-氯仿”方法进行^[5]。

1.3 微卫星引物筛选及 PCR 扩增

从已报道的微卫星引物^[6-10]中选取 35 对引物,由上海生工生物工程技术有限公司合成。在 35 对引物中筛选出特异性强、重复性好的 18 对微卫星引物,其序列见表 2。

表 2 18对微卫星引物的序列、退火温度及扩增基因片段大小
Tab. 2 The sequences of eighteen microsatellite marks annealing temperature of PCR amplification and size of detected alleles

位点	引物序列 (5'-3')	重复单元	片段长度 (bp)	退火温度 (°C)
GM012	F: CCATTGGGTGTTCAAATAAA	ca	198~290	54.0
	R: GGCTAACAGGGCACTTCTTA			
GM155	F: CCCACTCATATAAACACAGCA	lg	215~283	51.7
	R: CGACTGACATTTCCACACTC			
GM420	F: TTAATTCTGGGTCTGGTGG	gt	125~141	60.0
	R: GGATAAGCGAATGGATGATAG			
GM532	F: CACAGATGCATAGTCTCACC	ca	202~304	53.2
	R: TCCCAAGAAGAAGGCGAGTA			
GM672	F: GCCTGACCTTCAGTTTCTC	lg	174~222	56.7
	R: GAACAGCTAGCCACCCAAAG			
UNH138	F: TTCAGCTTCATCTCTTG	ac	142~234	50.7
	R: CCATTTTAAACCTCTCCATCT			
UNH147	F: ATAACTGACATTGGC	ca	182~278	50.4
	R: ACTTTACATATGCATATTTCTG			
UNH187	F: CGGTGATCTATCGGTTA	(ct) (ca)	174~244	50.2
	R: TCCGATCAGCTGATACA			
UNH212	F: ACTGTATTCTATAAATGCATTTT	ca	172~214	51.8
	R: GGAATGTGACATTTTGA			
UNH214	F: TTCCATAATTTGCTTTCTG	lg	156~228	50.4
	R: GCACGTTTTCCATCACTTCAA			
UNH216	F: GGGAAACTAAAGCTGAAATA	ac	116~172	55.4
	R: TGCAAGGAATATCAGCA			
UNH879	F: GCATAAGGTGACTGGCTGGT	ac	178~234	60.2
	R: ACAAAGGGTCTCTGCAATTT			
UNH907	F: CAGGACCGACTCTGCAAGAT	gt	116~152	59.2
	R: GAGCTCTTTTGTGTTCAAAATC			
GH	F: CCAGCCATGAACTCAGGTAAGACA	lgte	147~159	61.8
	R: TGCTGAGAGGAGACGCCAAACA			
ISP	F: TGAGCTGAGCAGATGGAGCAGAAG	ca	216~292	59.1
	R: ATGAACAGCCCTGTGAAGAGATGG			
PRL-1	F: GTTAGCCCCCTCCTCACTCT	lg	228~296	60.1
	R: ACCTTGCTCGTCAACCTG			
PRL-2	F: TCGTGTCTTGTGGGAAACC	ca	180~250	58.8
	R: TGAATGGATGCAACAGGATG			
PRL-3	F: CTTAACATTTTCCACCTTCAGG	ca	202~278	56.7
	R: CTTGCCTCCATTTTATAGTTCTT			

注: F是正向引物; R是反向引物

PCR反应体系为 10 μ L, 2 \times Taq PCR Master Mix溶液 5 μ L(天根公司生产), 正反引物各 0.4 μ L, 模板 DNA 1 μ L, 用去离子灭菌水补足 10 μ L。PCR反应条件为: 94 $^{\circ}$ C, 5 min; 之后进行 35个循环 (94 $^{\circ}$ C, 30 s复性 30 s 72 $^{\circ}$ C, 1 min); 反应结束后在 72 $^{\circ}$ C下再延伸 10 min。

1.4 PCR产物的电泳分析

PCR产物采用 10%非变性聚丙烯酰胺凝胶, 1 \times TBE缓冲液, 10 V/cm低电压电泳。分子量标准为 pBR322DNA λ spI

电泳结束后, 取下凝胶用双蒸水漂洗 (5 min), 后转移至 250 mL 0.1%硝酸银染色 (10 min), 再用双蒸去离子水快速漂洗 2次后, 加入 500 mL 2% 氢氧化钠显色 (临用配制, 含 0.2 g碳酸钠, 2 mL 37%甲醛), 待条带充分显现后, 加入双蒸水终止显色。

用数码相机进行拍照、记录。并用 Gene Tools 软件对每对微卫星引物扩增的等位基因的分子量大小进行估算。

1.5 数据统计与分析

(1) 用 POPGEN 32 软件计算有效等位基因数 (N_e), 观测杂合度 (H_o), 期望杂合度 (H_e), Nei's 遗传距离 (D) 和遗传相似系数 (I)。

$$(2) \text{多态信息含量 (PIC), } PIC = 1 - \left(\sum_{i=1}^n P_i^2 \right) - \left(\sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i P_j \right)$$

式中 P_i 、 P_j 分别为第 i 和第 j 个等位基因的频率, n 为等位基因数目。

(3) 用 MEGA 4 软件根据群体间遗传距离, 采用非加权配对算术平均法 (unweighted pair group method using arithmetic average, UPGMA) 构建 8 个尼罗罗非鱼养殖群体的系统树, 以分析群体间的亲缘关系。

2 结果

2.1 PCR 扩增结果

18 个微卫星分子标记, 均能在 8 个群体中扩增出清晰的条带, 并且全部具有多态性。部分样本的聚丙烯酰胺凝胶电泳结果见图 1。

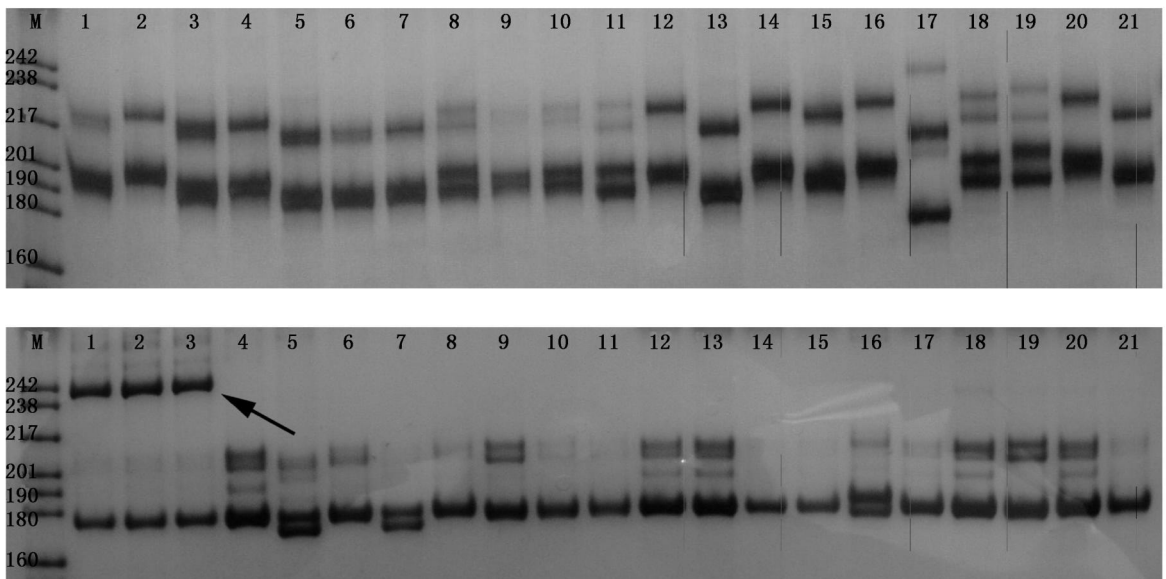


图 1 微卫星聚丙烯酰胺凝胶电泳图 (a: 引物 UNH879; b: 引物 UNH187)

Fig 1 PAGE pattern of microsatellite DNA

1~3. 新吉富 (J); 4~5. 吉诺玛吉富 (H); 6~8. 北极品吉富 (G); 9~11. 伟业尼罗 (W);
12~13. 鹭业尼罗 (L); 14~15. 广西所尼罗 (E); 16~18. 埃及尼罗 (A); 19~21. 泰国尼罗 (T);
M. PBR322DNA / MspI

在实测的 20 尾“新吉富”罗非鱼中, 发现引物 UNH187 在 16 尾中扩增出一个特异性条带 (约 244 bp), 具有较高的出现频率 (80%); 但在其他七个尼罗罗非鱼群体中均未出现此带。如图 1-b 中箭头所示。

2.2 群体内遗传结构

各个微卫星位点的遗传多样性指标值见表 3。18 个微卫星位点在尼罗罗非鱼 8 个群体中, 共检测出 65~92 个等位基因, 平均等位基因数 (N_a) 为 3.61~5.11, 平均有效等位基因数 (N_e) 为 2.81~3.76,

平均观测杂合度为 (H_o) 为 0.861 1~0.925 0, 平均期望杂合度 (H_e) 为 0.603 9~0.697 7, 平均多态信息含量 (PIC) 为 0.522 9~0.637 3。除 H_o 外, 其它 4 项遗传多样性指标值均为吉诺玛吉富最高, 泰国尼罗最低, 具体结果见表 4。

表 3 18 个微卫星位点的遗传多态性
Tab. 3 Genetic variability of eighteen microsatellite loci

座位	平均等位基因数 N_a	平均有效等位基因 N_e	平均观测杂合度 H_o	平均期望杂合度 H_e	平均多态信息含量 PIC
GM012	12	7.03	0.974 7	0.860 5	0.842 4
GM155	11	5.00	1.000 0	0.802 8	0.775 7
GM420	6	2.60	0.987 3	0.617 2	0.542 2
GM532	14	8.40	0.911 4	0.883 7	0.870 3
GM672	9	5.35	1.000 0	0.815 6	0.788 6
UNH138	17	9.16	0.936 7	0.893 7	0.881 0
UNH147	10	7.27	0.993 7	0.865 1	0.847 0
UNH187	4	1.14	0.132 9	0.126 2	0.121 1
UNH212	10	6.05	1.000 0	0.837 4	0.814 7
UNH214	15	10.09	0.930 4	0.903 7	0.892 6
UNH216	8	3.71	0.968 4	0.732 5	0.684 5
UNH879	9	5.79	0.905 1	0.830 0	0.805 3
UNH907	9	5.46	0.987 3	0.819 3	0.793 4
GH	4	2.05	0.392 4	0.515 0	0.443 9
ISP	7	2.53	1.000 0	0.606 3	0.524 7
PRL-1	8	3.36	0.962 0	0.704 8	0.659 6
PRL-2	12	9.03	0.930 4	0.892 1	0.879 1
PRL-3	10	8.06	0.962 0	0.878 7	0.863 4
平均	9.72	5.67	0.887 5	0.754 7	0.723 9

表 4 尼罗罗非鱼 8 个养殖群体的遗传多样性
Tab. 4 Genetic diversity in eight farmed populations of Nile tilapia

群体	平均等位基因数 N_a	平均有效等位基因 N_e	平均观测杂合度 H_o	平均期望杂合度 H_e	平均多态信息含量 PIC
新吉富 (J)	3.89	2.81	0.925 0	0.619 3	0.533 4
吉诺玛吉富 (H)	5.11	3.76	0.861 1	0.697 7	0.637 3
北极品吉富 (G)	4.94	3.61	0.907 4	0.690 9	0.623 5
伟业尼罗 (W)	4.78	3.56	0.861 1	0.660 7	0.586 9
鹭业尼罗 (L)	4.72	3.40	0.880 6	0.677 0	0.608 1
广西所尼罗 (E)	4.50	3.15	0.877 8	0.642 6	0.556 8
埃及尼罗 (A)	5.00	3.50	0.911 1	0.672 6	0.601 7
泰国尼罗 (T)	3.61	2.82	0.877 8	0.603 9	0.522 9

表 5 尼罗罗非鱼 8 个养殖群体的 Nei's 遗传距离及相似性指数
Tab. 5 Nei's genetic distance and genetic identity in eight farmed populations of Nile tilapia

	新吉富 (J)	吉诺玛吉富 (H)	北极品吉富 (G)	伟业尼罗 (W)	鹭业尼罗 (L)	广西所尼罗 (E)	埃及尼罗 (A)	泰国尼罗 (T)
新吉富 (J)	—	0.742 7	0.651 7	0.619 2	0.458 2	0.587 3	0.522 3	0.547 5
吉诺玛吉富 (H)	0.297 4	—	0.785 4	0.704 2	0.606 5	0.649 1	0.607 8	0.612 9
北极品吉富 (G)	0.428 1	0.241 6	—	0.724 0	0.627 6	0.716 5	0.648 5	0.570 2
伟业尼罗 (W)	0.479 3	0.350 6	0.322 9	—	0.665 4	0.775 4	0.709 1	0.578 2
鹭业尼罗 (L)	0.780 4	0.500 1	0.465 9	0.407 4	—	0.689 8	0.694 1	0.604 1
广西所尼罗 (E)	0.532 3	0.432 1	0.333 3	0.254 4	0.371 4	—	0.749 3	0.661 0
埃及尼罗 (A)	0.649 6	0.497 8	0.433 1	0.343 7	0.365 2	0.288 6	—	0.673 5
泰国尼罗 (T)	0.602 4	0.489 6	0.561 8	0.547 8	0.504 1	0.414 0	0.395 2	—

注: 对角线以上为相似性指数, 对角线以下为遗传距离

2.3 群体间遗传差异

8个群体间两两比较的遗传距离(D)和遗传相似系数(I)结果见表5。“新吉富”和鹭业尼罗之间的遗传距离最大为0.7804,吉诺玛吉富和北极品吉富之间的遗传距离最小为0.2416。UPGMA聚类发现,8个群体明显分为两大支,吉诺玛吉富、北极品吉富和“新吉富”尼罗罗非鱼聚为一支,其他群体聚为一支,系统发生树如图2所示。

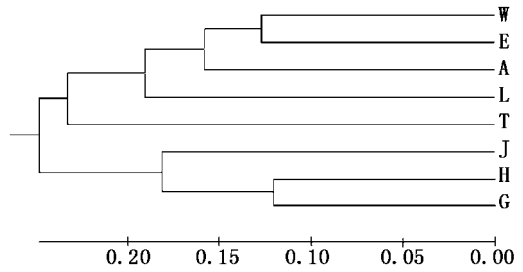


图2 尼罗罗非鱼8个养殖群体亲缘关系UPGMA聚类图

Fig 2 The phylogenetic dendrogram of eight famed populations of Nile tilapia based on UPGMA method
J:新吉富; H:吉诺玛吉富; G:北极品吉富; W:伟业尼罗;
L:鹭业尼罗; E:广西所尼罗; A:埃及尼罗; T:泰国尼罗

3 讨论

3.1 群体内遗传结构

多态信息含量(PIC)反映了位点在群体中的多样性状况,一般认为 $PIC > 0.5$ 时为高度多态性位点, $0.25 < PIC < 0.5$ 时为中度多态性位点, $PIC < 0.25$ 时为低度多态性位点^[11]。按照这个标准,在我们所测18个微卫星位点中,有16个位点呈现高度多态性,1个呈现中度多态性,1个处于低度多态性。尼罗罗非鱼8个群体的平均多态信息含量(PIC)范围为0.5229~0.6373,都在0.5以上,表明它们的多态信息含量(PIC)都较高,即具有丰富的遗传变异。这与李莉好等^[12]研究“吉富”尼罗罗非鱼3个选育群体的遗传多样性时得出的结果(0.549~0.605)基本相近。

一般来说,引入种容易发生奠基者效应。尼罗罗非鱼作为引进的养殖品种,之所以在8个养殖群体中都呈现较高的遗传多样性,可能有以下几个原因:一是可能与我国多次、多渠道引种有关;二是不同罗非鱼群体的基因流,罗非鱼在国内养殖范围非常广泛,种苗流动极其频繁,增加了不同罗非鱼群体之间基因交流的机会;三是有些引进群体本身就具有较为宽广的遗传背景,如“吉富”罗非鱼本身就是经8个不同品系混合选育而成,具有较为丰富的遗传变异,又如从埃及等地引进的原种,也有较为丰富的遗传多样性;四是罗非鱼很容易进行种间杂交甚至属间杂交,发生遗传渐渗^[13],一定程度上造成尼罗罗非鱼群体的遗传变异增加。罗非鱼种(属)间杂交已经证明了杂交后代遗传多样性较亲本增大,陈林^[14]用微卫星标记讨论新吉富、吉奥、尼罗、尼奥、奥利亚五种罗非鱼的遗传差异时,发现杂交种吉奥和奥尼的杂和度(H)和多态信息含量(PIC)都高于双亲。颜标等^[15]也证明了萨罗和尼罗罗非鱼的正反回交 F_2 代的遗传多样性高于杂交 F_1 代更高于双亲尼罗和萨罗。

3.2 群体间遗传差异

1992年国际水生生物资源管理中心(ICLARM)以4个非洲原产地品系(埃及、加纳、肯尼亚、塞内加尔)和4个亚洲养殖品系(以色列、新加坡、泰国、中国台湾)经混合杂交选育出“GIFT”品系尼罗罗非鱼,在此之后不同的研究机构以“GIFT”为基础群体又分别进行了继续选育,产生了不同的“吉富”群体^[16]。本实验中3个“吉富”群体之间遗传距离较小,明显聚为一支,这与它们拥有共同的遗传背景和“祖先”有关。埃及尼罗与其他罗非鱼群体聚为一支,说明这一支的5个群体可能是来自于埃及等罗非鱼的原产地。

据此可知,我国养殖的尼罗罗非鱼群体主要有两个来源:一个是国际水生生物资源管理中心(ICLARM)“GIFT”品系罗非鱼的不同选育后代,另外一个可能是从埃及等原产地引种的后代。

3.3 选育对群体的遗传多样性的影响

“新吉富”尼罗罗非鱼是“GIFT” F_3 代为基础群体经过连续9年9代的系统选育获得的良种,其遗传背景和选育路线清楚。张传涛等^[17]用RAPD标记分析了“吉富” F_6 — F_9 四个选育世代的遗传多样性指数后,发现每代的 $Nei's$ 相似性指数和Shannon多样性指数逐代降低,颜晓勇等^[18]用微卫星标记分析

“吉富”品系尼罗罗非鱼选育过程中 (F_0 , F_6 — F_9)遗传变异时也发现平均基因多样性指数等遗传参数值逐代递减,趋于纯化。

杜诚等^[19]用 RAPD 标记研究了“吉富”群体和其他 3 个美国尼罗罗非鱼群体,发现“吉富”的遗传多样性低于 3 个美国群体,遗传多样性由低到高依次为:“吉富”(0.745 8)、美国 III (0.785 3)、美国 II (0.781 3)、美国 I (0.815 8)。本实验发现“新吉富”尼罗罗非鱼的观测杂和度 (H_o)、期望杂和度 (H_e)、多态信息含量 (PIC)等遗传参数值均小于其他 6 个群体 (除泰国群体外),说明经过选育的“新吉富”群体较其他尼罗罗非鱼群体遗传纯度更高。

另外,本实验选取的微卫星位点中, GH 位点存在于生长激素基因 (growth hormone)的内含子中,在“新吉富”罗非鱼中表现出高度纯合性,其观测杂和度 (H_o)仅为 0.100 0,其他 7 个群体的观测杂和度 (H_o)在 0.250 0~0.555 6 之间,低于其他 7 个群体,这可能与“新吉富”的选育过程中一直将生长性能作为重要的选育指标有关。

3.4 特异性扩增片段

引物 UNH187 在“新吉富”罗非鱼中扩增出的特异性条带 (约 244 bp),出现概率为 80%,可初步作为区分“新吉富”和其它尼罗罗非鱼群体的特异性标记,出现这一特异性标记的遗传基础还有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] 李思发. 中国大陆罗非鱼养殖业发展对策 [J]. 中国渔业经济研究, 1999, 7: 13—15.
- [2] 李家乐, 李思发. 中国大陆尼罗罗非鱼引进及其研究进展 [J]. 水产学报, 2001, 25(1): 90—95.
- [3] 杜 诚. 中国大陆罗非鱼种质资源现状及其保护 [J]. 渔业科技产业, 2003, 1: 9—12.
- [4] 李思发. 吉富品系尼罗罗非鱼引进史 [J]. 中国水产, 2001, 10: 52—53.
- [5] Sambrook J, Russell D W. Molecular cloning: A laboratory manual 3rd edition [M]. Cold Spring Harbor Laboratory Press: 2001.
- [6] Lee B Y, Lee W J, Streehman T, et al. A second generation genetic linkage map of tilapia (*Oreochromis spp.*) [J]. Genetics 2005, 170: 237—244.
- [7] Agresti J J, Seki S, Cnaani A, et al. Breeding new strains of tilapia: development of an artificial center of origin and linkage map based on AFLP and microsatellite loci [J]. Aquaculture 2000, 185: 43—56.
- [8] Kocher T D, Lee W J, Sobolewska H, et al. A genetic linkage map of a cichlid fish—the tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Genetics 1998, 148: 1225—1232.
- [9] Lee W J, Kocher T D. Microsatellite DNA markers for genetic mapping in *Oreochromis niloticus* [J]. Journal of Fish Biology 1996, 49: 169—171.
- [10] Yue G H, O ban L. Microsatellites from genes show polymorphism in two related *Oreochromis* species [J]. Molecular Ecology Notes 2002, (2): 1—2.
- [11] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. Am J Hum Genet 1980, 32: 314—331.
- [12] 李莉好, 喻达辉, 黄桂菊, 等. 吉富罗非鱼不同选育群体的遗传多样性 [J]. 南方水产, 2007, 3(5): 40—48.
- [13] 李思发, 蔡完其. 我国尼罗罗非鱼和奥利亚罗非鱼养殖群体的遗传渐渗 [J]. 水产学报, 1995, 19(2): 105—111.
- [14] 陈 林. 吉奥罗非鱼 (NEW GIFT strain *Oreochromis niloticus*♀ × *O. aureus*♂) 和其它 4 种罗非鱼的生长、形态、分子遗传差异的比较研究 [D]. 上海海洋大学; 上海水产大学生命科学与技术学院, 2007.
- [15] 刘 峰, 谢新民, 郑艳红. 罗非鱼优良品系——吉富罗非鱼的育成始末 [J]. 水产科技情报, 2006, 33(1): 8—12.
- [16] 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.
- [17] 张传涛, 李思发, 颀晓勇. 吉富品系尼罗罗非鱼选育系 F_6 — F_9 遗传变异的 RAPD 分析 [J]. 上海水产大学学报, 2007, 16(1): 7—10.
- [18] 颀晓勇, 李思发, 蔡完其. 吉富品系尼罗罗非鱼选育过程中遗传变异的微卫星分析 [J]. 水产学报, 2007, 31(3): 385—390.
- [19] 杜 诚, 卢迈新, 叶 星, 等. 5 个罗非鱼群体的遗传分析与分子标记 [J]. 大连水产学院学报, 2005, 20(1): 25—28.