

我国新引进吉富品系尼罗罗非鱼群体的遗传多样性分析

董在杰^{①②③} 梁政远^③ 刘介奇^③ 苏胜彦^② 明俊超^③
曲疆奇^③ 徐跑^{②③} 谢庄^①

(① 南京农业大学动物科技学院 南京 210095; ② 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心 农业部淡水鱼类遗传育种和养殖生物学重点开放实验室 无锡 214081; ③ 南京农业大学无锡渔业学院 无锡 214081)

摘要: 选取罗非鱼 (*Oreochromis* spp.) 第二代遗传连锁图谱中的 26 个微卫星位点,对淡水渔业研究中心引进的、由 60 个家系组成的吉富品系尼罗罗非鱼 (*O. niloticus*) 群体进行遗传结构分析。结果显示,26 个微卫星位点在吉富罗非鱼群体中共检测到 124 个等位基因,各位点的等位基因数为 3~7 个,平均 4.8 个。片段长度 104~322 bp,平均杂合度观测值为 0.622 1,平均杂合度期望值为 0.642 3,平均多态信息含量 (PIC) 为 0.633 4。所检测的 26 个位点中,有 25 个位点属于高度多态位点 (PIC > 0.5),占所检测位点的 96.15%;1 个位点属于中度多态位点。结果表明,该吉富罗非鱼群体多态信息含量丰富,遗传多样性水平较高。因而该群体仍然具有较大的选育潜力,可以作为选育的基础群体开展进一步的选育工作。
关键词: 吉富罗非鱼;遗传多样性;选育;微卫星

中图分类号:Q953 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2010)05-129-07

Genetic Diversity Analysis in A Newly Introduced Population of GIFT Strain Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

DONG Zai-Jie^{①②③} LIANG Zheng-Yuan^③ LIU Jie-Qi^③ SU Sheng-Yan^②
MING Jun-Chao^③ QU Jiang-Qi^③ XU Pao^{②③} XIE Zhuang^①

(① College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095;

② Key Open Laboratory of Genetic Breeding and Aquaculture Biology of Freshwater Fishes, Ministry of Agriculture; Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081;

③ Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China)

Abstract: In this study, 26 microsatellite loci from the second-generation genetic linkage map of tilapia (*Oreochromis* spp.) were used to analyze the genetic structure of the GIFT strain Nile tilapia (*O. niloticus*) consisting of 60 families introduced by Freshwater Fisheries Research Center. A total of 124 alleles were detected in the population by 26 microsatellite primers, and the number of allele at each locus ranged from 3 to 7, with an average of 4.8. The average observed heterozygosity was 0.622 1 while the average expected heterozygosity was 0.642 3. The average polymorphism information content (PIC) was 0.633 4. Out of 26 detected loci, 25 loci were in a high polymorphism degree (PIC > 0.5), while the remaining 1 locus was in a medium polymorphism degree. The results indicate rich polymorphism information content and large genetic

基金项目 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, No. 2007JBFA01);

第一作者介绍 董在杰,男,研究员;研究方向:鱼类遗传育种;E-mail: dongzj@ffrc.cn.

收稿日期:2009-12-10,修回日期:2010-04-24

diversity in the population. This introduced GIFT strain Nile tilapia population has a large selection potential and may be used as a base population for further selection.

Key words: GIFT strain Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*; Genetic diversity; Selective breeding; Microsatellite DNA (SSR)

吉富品系尼罗罗非鱼 (GIFT strain Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*) (简称吉富罗非鱼) 是由国际水生生物资源管理中心 (International Center for Living Aquatic Resources Management, ICLARM), 通过 4 个非洲原产地直接引进的尼罗罗非鱼品系 (埃及、加纳、肯尼亚、塞内加尔) 和 4 个亚洲养殖比较广泛的尼罗罗非鱼品系 (以色列、新加坡、泰国、中国台湾), 经混合选育获得的优良品系^[1-2]。大量实验结果表明, 同我国现有养殖的尼罗罗非鱼各品系相比, 吉富罗非鱼生长速度比其他品系快 5% ~ 30%, 单位面积产量提高 20% ~ 30%, 生产成本降低 20% ~ 30%^[3]。

2006 年 8 月中国水产科学研究院淡水渔业研究中心从世界渔业中心 (WorldFish Center) 引进了 60 个家系的吉富品系尼罗罗非鱼, 这是我国自 1994 年首次引进吉富罗非鱼以来第一次引进如此多家系的吉富罗非鱼。目的是评估吉富罗非鱼群体在中国的适应性以及以此为选育的基础群体开展进一步的选育工作。对这 60 个家系的吉富罗非鱼进行的前期研究表明, 该群体存在较大的形态差异和分化^[4], 在生长上也有较大差异^[5]。运用分子生物学技术对该吉富罗非鱼群体进行遗传多样性分析, 则能从根本上反映该群体的遗传变异程度, 有助于吉富罗非鱼的选择育种和种质资源的保护。

微卫星 DNA (microsatellite DNA), 又称简单序列重复 (simple sequence repeats, SSR), 由 1 ~ 6 bp 重复序列和两侧的侧翼序列所构成, 保守的侧翼序列使微卫星特异地定位于染色体某一区域, 核心序列重复数的差异则形成微卫星的高度多态性。因其具有高度多态性、符合孟德尔遗传、在基因组中分布广等优点, 已广泛应用于水产动物种质鉴定、遗传结构分析、遗传图谱的构建及数量性状位点定位中。国内外利

用微卫星技术研究罗非鱼的报道较多, 研究内容涉及遗传多样性、耐寒、生长和雌雄鉴定等方面^[6-10]。本文选择罗非鱼遗传连锁图谱中的 26 个微卫星位点, 对这 60 个家系组成的吉富罗非鱼群体进行遗传结构分析, 了解该群体的遗传多样性, 为吉富罗非鱼家系选育提供遗传背景资料, 同时为今后的吉富罗非鱼分子标记辅助育种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验用鱼 实验所用的 58 尾吉富罗非鱼均取自淡水渔业研究中心宜兴试验基地, 来自 58 个不同的家系。

1.1.2 引物 本文所用的微卫星位点来自罗非鱼的第二代遗传连锁图谱^[11], 根据美国汉普郡大学 Hubbard 基因研究中心网站数据 (<http://hcgis.unh.edu/>) 和 Carleton 等^[12]文献, 挑选出若干适用于尼罗罗非鱼的微卫星位点, 经过预实验初步筛选, 挑选了扩增条带清晰可辨的位点 26 个, 这 26 个位点在尼罗罗非鱼所有 24 个连锁群中覆盖 20 个 (表 1)。微卫星引物由 Invitrogen 公司合成。

1.2 实验方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取 从吉富罗非鱼的尾静脉抽血, 参照分子克隆实验指南^[13], 用酚、氯仿、异戊醇常规方法抽提基因组 DNA。

1.2.2 微卫星 PCR 扩增 PCR 反应体系为 20 μ l, 包括: 10 \times PCR Buffer 2 μ l, dNTPs (10 mmol/L) 0.2 μ l, MgCl₂ (25 mmol/L) 1.5 μ l, 正反向引物 (20 μ mol/L) 各 0.5 μ l, Taq DNA 聚合酶 (5 U/ μ l) 0.15 μ l, 基因组 DNA (50 ng/ μ l) 1 μ l, 纯水补足 20 μ l。反应程序为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 然后 30 个循环, 每个循环包括 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 最后 72 $^{\circ}$ C 延

表 1 引物序列、连锁群及退火温度

Table 1 Sequence, linkage group and specific annealing temperature of microsatellite primers

位点 Locus	引物序列 (5' - 3') Sequence	复性温度 (°C) Annealing temperature	连锁群 Linkage group
GM041	F: CCAGGACCGATGTGAACTTTG R: TGGTGTGCAGCTACACGAGA	56	1
GM420	F: TTAATTCTGGGTCTGGTGG R: GGATAAGCGAATGGATGATAG	60	2
GM139	F: GTGGGATCTACCAAGAAGAG R: TTTGAGTAACCACCCTAACAC	51	3
UNH840	F: TTCTCTGTTCACCCAGTTTT R: GGGCTGAGCAGTCTGGTATT	50	3
UNH952	F: CAGACTGATGGCACAGAGGA R: TCTGCAATAGTGCCATGAA	53	4
GM532	F: CACAGATGCATAGTCCTCAG R: TCCCAAGAAGAAGGGCGACTA	53	4
GM012	F: CCATTGGGTGTCAAATAAA R: GGCTAACAGGGCACTTCTTA	50	5
GM672	F: GCCTGACCTTCAGTTTTCTC R: GAAACAGCTACCCACCCAAAG	57	7
GM387	F: CCCCTTGTGTTGTGTTTTGA R: CCAGATGAACCTTGCCTAAT	51	7
UNH719	F: AAACCATTTCATCCTTCACTCG R: GAATGCTTAGTGCCCATCAAT	50	8
GM102	F: CATTATCCTGACGGCACTCT R: TTTCCGATCTCTGCTCTCCT	53	9
UNH147	F: ATAACCTGCACATTGGC R: ACTTTACATATGCATATTTCTG	51	9
GM274	F: GTAAAAATACACTGTGGCTTCT R: AGCACCTGTAAAATAGCAA	52	10
GM155	F: CCCACTCATATAAACACAGCA R: CGACTGACATTTCCCACTC	52	11
GM504	F: TCTCAGCTTTGACGTGCATC R: GCTGCCCTCAAGCATATTT	53	12
GM373	F: GGCACCATCTCTAAGGAAA R: TAAAGGGGACAAATGTGAAAT	50	13
GM273	F: TGAGCTGAGCAGATGGAGCAGAAG R: ATGAACAGCCCTGTGAAGAGATGG	60	14
GM578	F: GGGGCTTGGACACACT R: CTGCTGGCAGACATGTTGTT	54	15
UNH138	F: TTCAGCTTCATCTCTTG R: CCATTTAACCTCTCCATCT	51	16
GM241	F: ACTGTATTCTATAAATGCATTTT R: GGAATGTGACATTTTGA	52	17
GM083	F: CCACAACACCATCTCCTC R: CCATTATCACTACCCCTCTTT	50	18
GM552	F: TTCCATAATTGCTTTCTG R: GCACGTTTTCCATCACTTCAA	51	20
GM221	F: GGGAACTAAAGCTGAAATA R: TGCAAGGAATATCAGCA	56	21
GM283	F: ATTGTGACAAGGAGCCAGAAC R: AAGTCGCAAGGTGACAGACTG	55	23
UNH879	F: GCATAAGGTGACTGGCTGCT R: ACAAAGGGTCTCTGCAATTT	60	23

伸 10 min。实验中所用的 Easy Taq DNA 聚合酶、dNTPs、PCR buffer (10 ×) ,MgCl₂ 等均购自大连宝生物工程有限公司。

1.2.3 扩增产物检测 PCR 扩增产物经 10% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳 (nPAGE) 检测, 200 V 电泳 3 h 左右,电泳结束后,用 GoldView™ 核酸染料(购自上海赛百盛基因技术有限公司)染色 15 min。UVP (GelDoc-IT™ Imaging System) 凝胶成像仪上观察并拍照。

1.3 数据分析 用凝胶成像仪系统中的软件 UVP Vision Works™ LS Image Acquisition and Analysis 从电泳图上判断个体的基因型,电泳图谱中的每一条带记为 1 个位点,离加样孔最近的等位基因编码为 A,其余依次为 B、C……。

使用 PopGene (Version 3.2) 软件、MEGA

4.0 软件统计微卫星基因座的等位基因数

(A)、等位基因片段长度、观测杂合度 (observed heterozygosity, H_o)、期望杂合度 (expected heterozygosity, H_e)、群体内固定系数 (fixation index, FIS)、多态信息含量 (polymorphic information content, PIC) 等。多态信息含量根据 Botstein^[14]公式计算:

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

式中 P_i 、 P_j 分别为群体中第 i 、 j 个等位基因频率 n 为等位基因数。

2 结果与分析

2.1 电泳结果 用 26 对微卫星引物对基因组 DNA 进行 PCR 扩增和电泳检测,均获得了稳定、清晰的 DNA 条带,并在个体间表现出不同程度的多态性(图 1、2)。

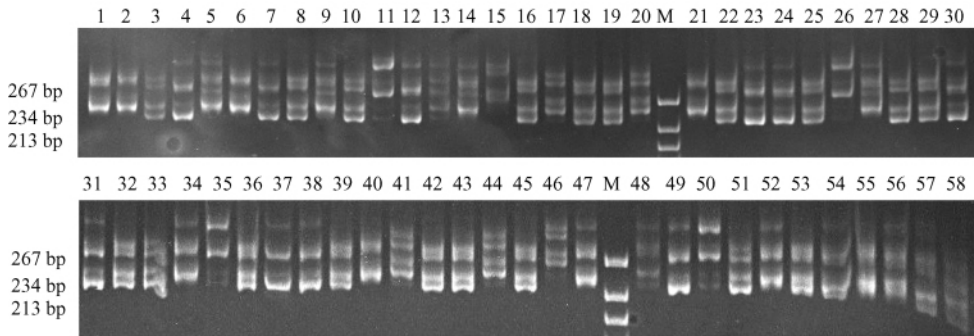


图 1 引物 GM041 的扩增电泳图谱

Fig.1 The electrophoresis pattern amplified by primer GM041

M: PBR322 DNA 分子量标准; 1 ~ 58: 58 个吉富罗非鱼个体。
M: PBR322 DNA Marker; 1 - 58: 58 individuals of GIFT strain Nile tilapia.

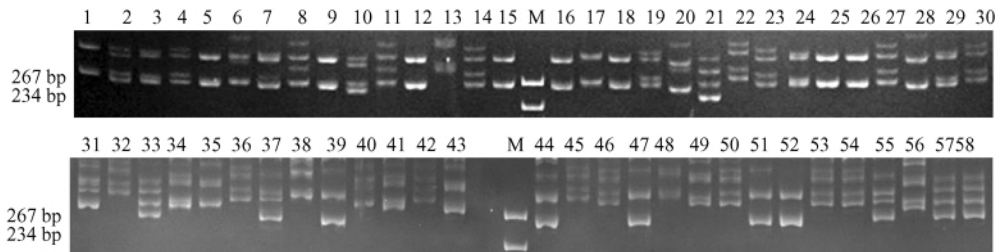


图 2 引物 GM377 的扩增电泳图谱

Fig.2 The electrophoresis pattern amplified by primer GM377

M: PBR322 DNA 分子量标准; 1 ~ 58: 58 个吉富罗非鱼个体。
M: PBR322 DNA Marker; 1 - 58: 58 individuals of GIFT strain Nile tilapia.

2.2 群体的遗传多样性分析 分析结果显示,所有 26 对引物在各个体的 Hardy-Weinberg 平衡卡方检验中差异不显著 ($P > 0.05$),说明样本均符合 Hardy-Weinberg 平衡。26 个微卫星位点在吉富罗非鱼群体中共检测到 124 个等位基因,各位点的等位基因数为 3~7 个,平均 4.8 个,其中,GM283 位点的等位基因数最多,共 7 个。片段长度 104~322 bp,杂合度观测值在 0.328 1~0.864 6 之间,平均杂合度观测值

为 0.622 1;杂合度期望值在 0.503 7~0.793 7 之间,平均杂合度期望值 0.642 3。多态性信息 (PIC) 在 0.467 8~0.788 6 之间,其中有 25 个位点属于高度多态位点 ($PIC > 0.5$),占所检测位点的 96.15%,只有 GM041 位点属于中度多态位点 ($0.5 > PIC > 0.25$)。平均多态信息含量为 0.633 4,说明该育种群体遗传多样性在较高的水平上。群体内固定系数为 0.033 5,说明该群体内有杂合子缺失现象(表 2)。

表 2 吉富罗非鱼群体微卫星分析统计结果

Table 2 Summary of statistics for GIFT tilapia population with microsatellite analysis

基因座 Locus	等位基因数 No. of allele	等位基因 片段长度 Fragment size of allele (bp)	杂合度观测值 Observed heterozygosity H_o	杂合度期望值 Expected heterozygosity H_e	多态信息含量 Polymorphic information Content PIC	群体内 固定系数 Fixation index FIS
GM041	4	230~280	0.503 1	0.522 7	0.467 8	0.037 5
GM420	3	125~141	0.687 3	0.617 2	0.542 2	-0.113 6
GM139	4	240~300	0.599 0	0.605 9	0.551 1	0.011 4
UNH840	3	231~240	0.776 1	0.596 2	0.505 2	-0.301 7
UNH952	5	197~234	0.687 5	0.687 3	0.641 6	-0.000 3
GM532	6	202~304	0.711 4	0.783 7	0.670 3	0.092 3
GM012	5	210~260	0.817 7	0.756 3	0.717 9	-0.081 2
GM672	5	174~222	0.687 6	0.715 6	0.788 6	0.039 1
GM387	5	230~272	0.432 3	0.685 0	0.642 5	0.368 9
UNH719	4	180~224	0.786 5	0.689 3	0.644 5	-0.141 0
GM102	5	221~244	0.442 7	0.512 4	0.573 7	0.136 0
UNH147	6	182~278	0.693 7	0.665 1	0.747 0	-0.043 0
GM274	5	163~204	0.557 3	0.645 7	0.577 6	0.136 9
GM155	5	215~290	0.697 6	0.665 1	0.747 0	-0.048 9
GM377	6	240~310	0.522 9	0.543 2	0.580 7	0.037 4
GM504	4	104~124	0.687 5	0.731 5	0.679 8	0.060 2
GM373	4	290~322	0.583 3	0.618 3	0.693 3	0.056 6
GM273	3	216~292	0.498 0	0.606 3	0.524 7	0.178 6
GM578	6	198~230	0.513 5	0.576 7	0.641 1	0.109 6
UNH138	5	132~164	0.836 7	0.793 7	0.781 0	-0.054 0
GM241	5	185~214	0.557 4	0.537 4	0.604 7	-0.037 2
GM083	4	165~215	0.328 1	0.640 5	0.567 1	0.487 7
GM552	5	156~228	0.430 4	0.503 7	0.592 6	0.145 5
GM221	4	124~180	0.568 4	0.532 5	0.584 5	-0.067 4
GM283	7	175~250	0.864 6	0.737 1	0.697 2	-0.173 0
UNH879	6	178~234	0.705 1	0.730 7	0.705 3	0.035 0
平均 Average	4.8	104~322	0.622 1	0.642 3	0.633 4	0.033 5

3 讨 论

本实验中 26 个微卫星位点在吉富罗非鱼

群体中共检测到 124 个等位基因,所有的基因位点都呈现出多态性。各位点的等位基因数为 3~7 个,平均 4.8 个,片段长度 104~322 bp,

片段大小范围差异较大,显示了不同微卫星座位的多态性差异。

多态信息含量是基因丰富度的一个指标,能很好的反映物种的遗传变异程度。当 $PIC > 0.5$ 时,该位点为高度多态性位点; $0.25 < PIC < 0.5$ 时,为中度多态性位点; $PIC < 0.25$ 时,为低度多态性位点。本实验所检测的 26 个位点中,有 25 个位点属于高度多态位点,占所检测位点的 96.15%,只有 1 个位点属于中度多态位点。26 个位点的平均 PIC 为 0.633 4,表明引进的吉富罗非鱼群体多态信息含量丰富,遗传多样性水平较高,因而该基础群体依然具有较大的选育空间。

Nei 指出基因杂合度是度量群体遗传变异的一个最合适参数,位点平均杂合度近似反映遗传结构变异程度高低,杂合度越大变异越大,对环境适应能力越强^[15]。Dewoody 等曾对海水、淡水鱼类等进行微卫星分析,统计得出 13 种淡水鱼类的平均杂合度为 0.460 0^[16]。本研究中,吉富罗非鱼群体的观测杂合度为 0.622 1,期望杂合度为 0.642 3,多态信息含量 PCI 为 0.633 4,普遍高于李莉好等^[8]对海南、青岛和广州 3 个吉富罗非鱼育种群体的分析结果。说明本实验所用吉富罗非鱼群体的遗传变异水平较高,遗传多样性丰富,遗传结构合理,有较大的选育潜力。

Rutten 等^[17]用 14 对微卫星分子标记对第 5 代吉富罗非鱼(泰国 NAGRI 提供)的遗传变异分析显示,吉富罗非鱼群体的平均等位基因数目及平均观测杂合度分别为 7.5 和 0.696。Romana-Eguia 等^[18]用 5 对微卫星标记对亚洲吉富罗非鱼养殖种群遗传多样性分析表明,吉富罗非鱼群体的平均等位基因数目及平均观测杂合度分别为 10 和 0.683。本实验中吉富罗非鱼群体的遗传多样性略低于上述国外种群,原因可能与所用的引物不同,研究的位点不同有关,也可能与繁殖群体、选育代数不同等因素有关。

群体内固定系数(FIS)是用来衡量群体遗传动态的重要指标,也是度量近交衰退和远交

衰退的重要参数。群体内固定系数反映了 H_o 和 H_e 之间的平衡关系, FIS 值越接近 0,基因型的分布越接近平衡状态。当 FIS 为正时,表明杂合子缺失; FIS 为负值时,表明杂合子过度^[19]。本实验中平均固定系数为 0.033 5,说明有杂合子缺失现象,这一方面可能是样本的原因,说明群体中有个别个体出现近交现象;另一方面可能是由检测方法引起。因为在检测微卫星位点时,存在于检测样本中的微卫星位点的部分等位基因可能检不出,而造成“哑等位基因”的出现^[20-21],从而导致该位点的纯合子过多的现象。

本实验得到的平均杂合度与平均期望杂合度相差甚微(0.020 2),表明该群体受近交等因素的影响很小^[22]。这与吉富罗非鱼选育过程中采用家系选育的方法密不可分。吉富罗非鱼主要运用家系内和家系间的选择育种方法,每代建立 120~200 个家系,从中选出生长迅速的 2 万尾鱼作为下一代选育的群体^[1]。在进行亲本配对时,充分考虑亲本的家系背景,严格控制,避免近亲交配的发生。

本实验的结果表明,新引进的由 60 个家系构成的吉富罗非鱼群体具有较丰富的遗传多样性,仍有较大的选育潜力,可以作为今后进一步选育的基础群体。

参 考 文 献

- [1] WorldFish Center. GIFT Technology Manual: An Aid to Tilapia Selective Breeding. Penang, Malaysia: WorldFish Center, 2004, 1.
- [2] 李思发. 吉富品系尼罗罗非鱼引进史. 中国水产, 2001, 10: 52-53.
- [3] 李思发, 李晨虹, 李家乐. 尼罗罗非鱼五品系生长性能评估. 水产学报, 1998, 22(4): 314-321.
- [4] 何杰, 徐跑, 董在杰, 等. 吉富品系尼罗罗非鱼(GIFT)群体内的形态差异与分化. 中国水产科学, 2009, 16(1): 54-59.
- [5] 董在杰, 何杰, 朱健, 等. 60 个家系吉富品系罗非鱼初期阶段的生长比较. 淡水渔业, 2008, 38(3): 32-34.
- [6] Cnaani A, Hallerman E M, Ron M, et al. Detection of a chromosomal region with two quantitative trait loci, affecting cold tolerance and fish size, in an F2 tilapia

- hybrid. *Aquaculture*, 2003, 223: 117 - 128.
- [7] Shirak A, Seroussi E, Cnaani A, et al. Amh and Dmrt a2 genes map to tilapia (*Oreochromis* spp.) linkage group 23 within quantitative trait locus regions for sex determination. *Genetics*, 2006, 174: 1573 - 1581.
- [8] 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. *南方水产*, 2007, 3(5): 40 - 48.
- [9] 蒋家金, 李瑞伟, 叶富良. 罗非鱼 4 个选育群体遗传结构 SSR 分析. *广东海洋大学学报*, 2008, 28(4): 10 - 14.
- [10] 李先仁, 李思发, 唐首杰, 等. 尼罗罗非鱼 8 个养殖群体遗传差异的微卫星分析. *上海海洋大学学报*, 2009, 18(1): 1 - 7.
- [11] Lee B Y, Lee W J, Streehman J T, et al. A second - generation genetic linkage map of tilapia (*Oreochromis* spp.). *Genetics*, 2005, 170: 237 - 244.
- [12] Carleton K L, Streehman J T, Lee B Y, et al. Rapid isolation of CA microsatellites from the tilapia genome. *Anim Genet*, 2002, 33: 140 - 144.
- [13] 萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 D W: 黄培堂, 王嘉玺, 朱厚础, 等, 译. 分子克隆实验指南(3 版). 北京: 科学出版社, 2002, 463 - 471.
- [14] Botstein D, White R L, Skolnick M. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet*, 1980, 32: 314 - 331.
- [15] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 1978, 89: 583 - 590.
- [16] Dewoody J A, Avise J C. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *J Fish Biol*, 2000, 56: 461 - 473.
- [17] Rutten M J M, Komen H, Deerenbergr M, et al. Genetic characterization of four strains of Nile tilapia using microsatellite markers. *Animal Genetics*, 2004, 35(2): 93 - 97.
- [18] Romrdna-Eguia M R R, Ikeda M, Basiao Z U, et al. Genetic diversity in farmed Asian Nile and red hybrid tilapia stocks evaluated on microsatellite and mitochondrial DNA analysis. *Aquaculture*, 2004, 236: 131 - 150.
- [19] Weir B S, Cockerham C C. Estimation F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 1984, 38: 1358 - 1370.
- [20] Callen D F, Thompson A D, Shen Y, et al. Incidence and origin of "null" alleles in the (AC)_n microsatellite markers. *Am J Hum Genet*, 1993, 53: 922 - 927.
- [21] Pemberton J M, Slate J, Bancroft D R, et al. Nonamplifying alleles at microsatellite loci: a caution for parentage and population studies. *Molec Ecol*, 1995, 4: 249 - 252.
- [22] 刘海金, 朱晓琛, 孙效文, 等. 牙鲆 5 个养殖群体的遗传多样性分析. *中国水产科学*, 2008, 15(1): 30 - 37.