

文章编号: 1674-5566(2010)02-0172-06

# 舟山鲢鱼群体遗传多样性的 AFLP 研究

彭志兰<sup>1</sup>, 柳敏海<sup>1</sup>, 傅荣兵<sup>1</sup>, 罗海忠<sup>1</sup>, 夏枫峰<sup>2</sup>, 徐志进<sup>3</sup>

(1. 浙江省舟山市水产研究所, 浙江 舟山 316000;

2. 浙江省舟山市海洋勘测设计院, 浙江 舟山 316000;

3. 浙江省舟山市水产技术推广站, 浙江 舟山 316000)

**摘要:**利用 AFLP 分子标记技术对舟山近海海域野生亲代和人工繁育子一代 ( $F_1$ ) 的 2 个鲢鱼 (*M.ichthys m.ichthys*) 群体遗传多样性进行分析研究。结果表明: 8 对选择性引物在 2 个群体 60 个个体中, 共扩增出 505 条清晰条带, 其中多态片段为 369 条, 总的多态位点比例为 73.07%。亲代和  $F_1$  2 个群体的多态位点数, 多态位点比率, Nei's 遗传多样性指数和 Shannon 信息多样性指数分别为 367、349、72.51%、68.86%、0.422 2、0.413 9。两群体内遗传相似系数亲代为 0.987 6, 子代为 0.971 5。鲢鱼亲代群体的 Nei's 遗传多样性指数、遗传相似度和 Shannon 信息多样性指数比子代群体的都要高。群体间的遗传相似系数和遗传距离分别为 0.979 6、0.020 6; 基因分化系数  $G_{st}$  为 0.022 3, 群体间无显著遗传分化; 经分子方差 (AMOVA) 分析, 结果表明 97.78% 的遗传变异来源于群体内个体间, 群体间无显著遗传变异。

**关键词:** 鲢鱼; 舟山; 遗传多样性; AFLP

**中图分类号:** S 917 **文献标识码:** A

## Comparative studies on the molecular genetic diversities between the Zhoushan wild *M.ichthys m.ichthys* and their early filial generation by AFLP markers

PENG Zhi-lan<sup>1</sup>, LIU Min-hai<sup>1</sup>, FU Rong-bin<sup>1</sup>, LUO Hai-zhong<sup>1</sup>, XIA Feng-feng<sup>2</sup>, XU Zhi-jin<sup>3</sup>

(1. Fisheries Institute of Zhoushan, Zhoushan 316000, China;

2. Zhoushan Marine Survey and Design Institute, Zhoushan 316000, China;

3. Zhoushan Fishery Technical Extension Station, Zhoushan 316000, China)

**Abstract:** Genetic diversity of a wild population and an artificial breeding population of *M.ichthys m.ichthys* was investigated with amplified fragment length polymorphism (AFLP). The wild population was caught with cast net in the East China Sea near Zhoushan and the cultured population was artificial breeding offspring of the wild population which was the first filial generation ( $F_1$ ). Eight EcoR I and Mse I primers combination produced 505 clear bands of which 369 bands were polymorphic loci. The overall proportion of polymorphic loci was 73.07%. The two groups of parental and offspring generation's polymorphic loci percentage of polymorphic loci, Nei genetic diversity index and Shannon information diversity index were 367, 349,

收稿日期: 2009-10-13

基金项目: 国家星火计划 (2008GA70005); 浙江省重大农业科技攻关项目 (2008C12082)

作者简介: 彭志兰 (1980-), 女, 工程师, 硕士, 主要从事水产动物繁育与病害防治方面的研究。E-mail: zhilanpeng520@163.com

通讯作者: 罗海忠, E-mail: haizhonglu@163.com

72.51%, 68.86%, 0.422 2, 0.413 9 respectively. The coefficients of genetic similarity of the parental and the offspring generation were 0.987 6, and 0.971 5. *Microstomus minckleyi* parent's population Nei index of genetic diversity, genetic similarity and the Shannon information diversity index were higher than those of the offspring population. The genetic similarity coefficient and genetic distances between two populations were 0.979 6, and 0.020 6.  $G_{st}$  coefficient of gene differentiation was 0.022 3. There was no significant genetic differentiation between two populations. The analysis of molecular variance (AMOVA) results showed 97.78% of the genetic variation among individuals within groups. There was no significant genetic variation between two populations.

**Key words:** *Microstomus minckleyi*; Zhoushan; genetic diversities; amplified fragment length polymorphism

鲉鱼 (*Microstomus minckleyi*) 属鲉形目 (Perciformes)、石首鱼科 (Sciaenidae)、鲉鱼属 (*Microstomus*), 在我国沿海均有分布, 但以东、黄海较多<sup>[1]</sup>。其肉味鲜美, 营养丰富, 深受国内外消费者的喜爱, 尤其鳔俗称“鱼肚”, 为高级滋补品, 具有较高的食用和药用价值。有关鲉鱼的研究主要集中在胚胎及仔稚鱼发育、人工育苗和养殖等方面<sup>[2-4]</sup>。迄今未见在鲉鱼群体遗传学方面的研究报道。由于其生长快、自然抗逆性强、市场潜力大等优点, 近年来其人工繁殖与养殖在我国南方沿海正蓬勃发展, 有望成为深水网箱养殖的优良品种<sup>[5]</sup>。因此必须弄清野生鲉鱼群体的遗传多样性和种质资源状况, 从而促进鲉鱼的资源保护和人工养殖的可持续发展。

AFLP作为一种新型的分子标记技术, 由于不受组织和器官种类、发育阶段、生境条件等诸多因素的影响, 在海洋生物中被广泛应用于遗传多样性分析、基因定位、种质鉴定和遗传连锁图谱的构建及仔稚鱼鉴定等方面的研究<sup>[6-22]</sup>, 迄今国内已有关于真鲷 (*Pagrosomus major*)、大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*)、褐牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*)、紫红笛鲷 (*Lutianus argentimaculatus*) 和黄姑鱼 (*Nibea albiflora* Richardson) 等几种海水鱼类遗传多样性的研究报道<sup>[6-7, 10-11, 13, 19, 23]</sup>。本研究利用 AFLP 技术对舟山黑鲉及其早繁  $F_1$  代群体的遗传多样性进行分析, 旨在为鲉鱼的苗种繁育和人工养殖提供遗传学基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

野生鲉鱼群体样品分别于 2006 年 4 月捕捞于舟山近海海域, 体重 0.55~1.50 kg 活体运输

至舟山市水产研究所的养殖基地——浙江华兴海水苗种有限公司, 作为亲本进行养殖, 经过人工早繁育苗 (早繁鲉鱼是指将鲉鱼繁殖季节提前至春、夏季进行产卵培育所得到的鲉鱼苗种) 获得  $F_1$  代。剪取 30 条野生鲉鱼亲本尾鳍固定于 95% 的酒精中, 随机取 2 月龄仔鱼 30 尾去头和内脏,  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱冻存。

### 1.2 基因组 DNA 的提取

DNA 提取参照《分子克隆手册实验指南》(第三版)<sup>[24]</sup>。分别取亲鱼尾鳍, 2 月龄仔鱼 (去头和内脏) 50~80 mg 充分剪碎后, 采用裂解液, 蛋白酶 K 和苯酚-氯仿-异戊醇法抽提。溶于 TE buffer 最后用 0.8% 琼脂糖电泳检测和 DNA/RNA 定量仪 (GeneQuant Pro 型 DNA/RNA 定量仪, Amersham Biosciences 公司) 进行 DNA 定量。无菌超纯水稀释到 100 ng/ $\mu\text{L}$ ,  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱保存。

### 1.3 AFLP 分析

AFLP 分析参照 Vos<sup>[25]</sup> 和 Li<sup>[26]</sup> 的方法进行, 并做相应的修改。

#### 1.3.1 基因组 DNA 的双酶切和接头连接

取 100 ng 基因组 DNA, 用 EcoR I 和 Mse I 进行双酶切, 酶切片段与 EcoR I 和 Mse I 接头连接。EcoR I 和 Mse I 接头序列见表 1。酶切反应体系位采用 EcoR I/Mse I 于  $37^{\circ}\text{C}$  酶切模板 3 h 酶切反应体系为 40  $\mu\text{L}$  包括: EcoR I (10 U/ $\mu\text{L}$ ) 0.4  $\mu\text{L}$ , Mse I (20 U/ $\mu\text{L}$ ) 0.2  $\mu\text{L}$ , EcoR I buffer 5  $\mu\text{L}$ , 10 $\times$ BSA 0.5  $\mu\text{L}$ , 其余用超纯水补齐。16 $^{\circ}\text{C}$  过夜连接。

#### 1.3.2 限制性片段的扩增

酶切-连接产物用超纯水经 1:5 比例稀释后, 采用 3' 末端带 1 个选择性碱基的引物扩增限制性片段 (引物序列见表 1)。PCR 反应体系为

25  $\mu\text{L}$  包括: 5  $\mu\text{mol/L}$  EcoR I 预扩增引物 2.0  $\mu\text{L}$ ; 50  $\mu\text{mol/L}$  Mse I 预扩增引物 2.0  $\mu\text{L}$ ; 10  $\times$  PCR 缓冲液 2.5  $\mu\text{L}$ ; 2 mmol/L dNTPs 2.5  $\mu\text{L}$ ; Taq

DNA 聚合酶 (promego) 1.0 U; 酶切-连接产物 5.0  $\mu\text{L}$ ; 25 mmol/L  $\text{Mg}^{2+}$  1.5  $\mu\text{L}$  其余用超纯水补齐。

表 1 EcoR I 和 Mse I 接头、预扩增与选择性扩增引物序列

Tab 1 The EcoR I and Mse I sequence of adapter, preamplification primer and selective primer

EcoR I 引物	序列	Mse I 引物	序列
EcoR I 接头	F 5'CTCGTAGACTGCGTACC'3 R 5'AATTGGTACGCAGTCTAC'3	Mse I 接头	F 5'GACGATGAGTCCTGAG'3 R 5'TACTCAGGACTCAT'3
E-A	5-GACTGCGTACC AATTC A-3	M-C	5-GATGAGTCCTGAGTAA C-3
E-AAG	5-GACTGCGTACCAATTC AAG-3	M-CAT	5-GATGAGTCCTGAGTAA CAT-3
E-AGG	5-GACTGCGTACCAATTC AAG-3	M-CTT	5-GATGAGTCCTGAG TAA CTT-3
E-AGC	5-GACTGCGTACCAATTC AAG-3	M-CCA	5-GATGAGTCCTGAG TAA CCA-3
E-AAC	5-GACTGCGTACCAATTC AAC-3	M-ACG	5-GATGAGTCCTGAG TAA CAG-3

PCR 预扩增反应程序为: 94  $^{\circ}\text{C}$  30 s 56  $^{\circ}\text{C}$  60 s 72  $^{\circ}\text{C}$  60 s 共 30 个循环; 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 8 min, 预扩增产物 1:10 稀释后, 用于选择性扩增。选择性扩增引物 3' 端带有 3 个选择性碱基, 引物序列见表 1, 选取 16 种引物组合进行引物筛, PCR 反应体系为 25  $\mu\text{L}$  包括: 10 pmol/L EcoR I 和 Mse I 引物各 2.0  $\mu\text{L}$ ; 10  $\times$  PCR 缓冲液 2.5  $\mu\text{L}$ ; 2 mmol/L dNTPs 2.5  $\mu\text{L}$ ; Taq DNA 聚合酶 (promego) 1.0 U; 预扩增产物 1.0  $\mu\text{L}$ ; 25 mmol/L  $\text{Mg}^{2+}$  1.5  $\mu\text{L}$  其余用超纯水补齐。

PCR 选择性扩增程序为: 94  $^{\circ}\text{C}$  30 s 65  $^{\circ}\text{C}$  30 s 72  $^{\circ}\text{C}$  60 s 然后每个循环复性温度降低 0.7  $^{\circ}\text{C}$ , 经 13 个循环后, 退火温度降至 56  $^{\circ}\text{C}$ , 再进行 30 个循环的扩增, 条件为: 94  $^{\circ}\text{C}$  30 s 56  $^{\circ}\text{C}$  60 s 72  $^{\circ}\text{C}$  60 s。

### 1.3.3 凝胶电泳

选择性扩增产物通过 6% 的聚丙烯酰胺变性胶 (含 7.5 mol/L 尿素) 在 0.5  $\times$  TBE 缓冲液中电泳分离, 75 W, 预电泳 0.5 h 上样后电泳 2 h, 电泳结束后进行银染, 然后拍照和分析。

### 1.4 数据分析

首先将电泳图谱中扩增条带的有无转化为 0, 1 原始数据矩阵, 依据原始数据矩阵统计总位点数、多态位点数, 计算显性基因型频率、Shannon 多样性指数。

多态片段比例 (%) = (多态片段数量 / 检出片段总数)  $\times$  100。

个体间的遗传差异度或群体间的遗传距离 = 1 - 相似系数。相似系数按 Lynch 的公式<sup>[26]</sup>计算:

$$S_{ij} = 2N_{ij} / (N_i + N_j) \quad (1)$$

式中:  $S_{ij}$  为相似系数,  $N_{ij}$  为个体  $i$  与  $j$  共有片段的数量,  $N_i$ ,  $N_j$  分别为个体  $i$  与  $j$  各自具有片段的数量。

Nei's 遗传多样性指数  $h = 1 - \sum P_i^2$ ,  $P_i$  为单个位点上的等位基因频率。

利用 Popgen 1.32 计算 Nei's 遗传多样性指数, Shannon 多样性指数, 基因分化系数  $G_{st}$  用 Mega 3.0 软件构建 UPGMA 系统树。

## 2 结果

### 2.1 基因组 DNA 的酶切、预扩增和选择性扩增结果

基因组 DNA 酶切后经预扩增引物初次扩增, 扩增产物的小片段较少, 大片段较多。预扩增产物再经选择性扩增, 其产物是 100~800 bp 之间的弥散带 (图 1)。

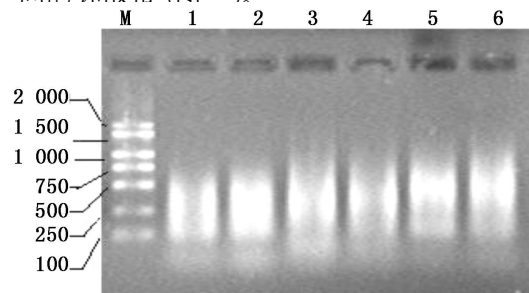


图 1 引物  $E_1M_1$ ,  $E_1M_2$ ,  $E_2M_1$  选择性扩增产物  
Fig 1 The PCR product of primer  $E_1M_1$ ,  $E_1M_2$ ,  $E_2M_1$   
1-2, 3-4, 5-6 分别为引物  $E_2M_1$ ,  $E_1M_2$ ,  $E_1M_1$  选择性扩增产物。

实验所用选择性扩增引物系从 16对引物组合中筛选出了 8对结果稳定、多态性丰富的引物,编号及选择性碱基为  $E_1M_1$  ( $E + AAG, M + CAT$ ),  $E_1M_2$  ( $E + AAG, M + CTT$ ),  $E_2M_1$  ( $E + AGG, M + CAT$ ),  $E_2M_2$  ( $E + AGG, M + CTT$ ),  $E_3M_1$  ( $E + AGC, M + CAT$ ),  $E_3M_2$  ( $E + AGC, M + CTT$ ),  $E_4M_1$  ( $E + AAC, M + CAT$ ),  $E_4M_2$  ( $E + AAC, M + CTT$ )。图 1为引物  $E_1M_1$ ,  $E_1M_2$ ,  $E_2M_1$  选择性扩增产物。所有引物的选择范围都在 100~800 bp 之间。

## 2.2 AFLP多态标记检测结果

利用筛选出的 8对选择性引物,在两个群体共 60个个体中共产生 505条清晰条带,不清晰的 不计。其中多态片段为 369条,总的多态位点比例为 73.07% (表 2)。在亲代和子代两群体中分别扩增出 367个和 349个多态位点,平均多态位

点比例分别为 72.51%和 68.86%。不同引物的扩增结果间存在差异,产生的扩增条带从 48到 86不等,扩增出的多态条带范围为 34~76条,多态检出率范围为 61.18%~88.37%。

## 2.3 亲代与子代鲢鱼群体的遗传多样性比较

鲢鱼亲代群体的 Nei's遗传多样性指数和 Shannon信息多样性指数比子代群体的都要高 (表 3),两群体内遗传相似系数亲代为 0.987 6,子代为 0.971 5,亲代遗传相似度要比子代群体的稍高。群体间的遗传相似系数和遗传距离分别为 0.979 6、0.020 6;基因分化系数  $G_{st}$  为 0.022 3,群体间无显著遗传分化;经分子方差分析 (AMOVA) 结果表明 97.78%的遗传变异来源于群体内个体间 (表 4),表明群体间无显著遗传变异。

表 2 8对不同引物的扩增结果

Tab. 2 The results detected by the eight pairs of primers combination

引物组合	总扩增位点数	总的多态位点数	总的多态位点比例	多态位点数		多态位点比例	
				$P_1$	$F_1$	$P_1$	$F_1$
$E_1M_1$	86	76	88.37%	75	68	87.21%	79.07%
$E_1M_2$	85	52	61.18%	52	50	61.18%	58.82%
$E_2M_1$	65	46	70.77%	46	45	70.77%	69.23%
$E_2M_2$	60	42	70.00%	41	40	68.33%	66.67%
$E_3M_1$	57	41	71.93%	41	39	71.93%	68.42%
$E_3M_2$	53	42	79.25%	42	40	79.25%	75.47%
$E_4M_1$	51	36	70.59%	36	35	70.59%	68.63%
$E_4M_2$	48	34	70.83%	34	32	70.83%	64.59%
合计	505	369	73.07%	367	349	72.51%	68.86%

表 3 鲢鱼群体的遗传学参数

Tab. 3 Parameters of genetic diversity for two populations of *M. ichthys m. iuy*

遗传多样性参数	群体内		群体间
	亲代群体	子代群体	
Nei's遗传多样性指数	0.290 9	0.286 2	
Shannon信息指数	0.422 2	0.413 9	
群体遗传相似系数	0.987 6	0.971 5	0.979 6
群体遗传距离	0.012 4	0.028 5	0.020 6
基因分化系数 ( $G_{st}$ )			0.022 3

表 4 鲢鱼群体的 AMOVA 分析数据

Tab. 4 Data derived from AMOVA of *M. ichthys m. iuy*

变异来源	自由度 df	变异组分	所占比例
群体间	1	0.732	2.22
群体内	58	32.308	97.78
总计	59	33.040	100.00

## 2.4 亲代与子代鮠鱼群体的聚类分析

利用 MEGA3.0 软件构建了鮠鱼 60 个个体的 UPGMA 系统树, 1~30 个体为野生亲本, 31~60 个体为  $F_1$  代 (图 2), 2 个群体没有出现明显的遗传分化。

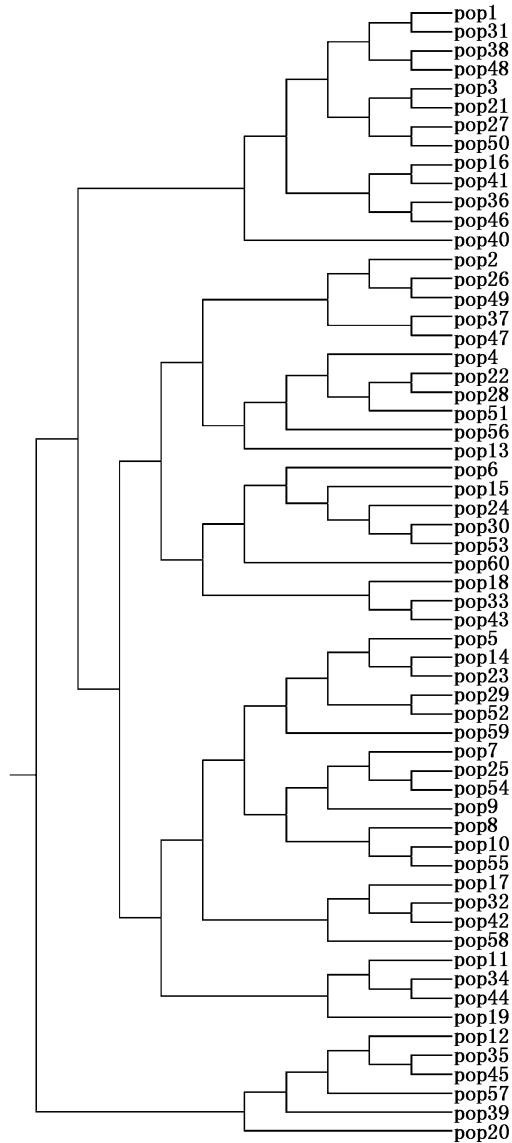


图 2 鮠鱼 60 个个体的 UPGMA 系统树  
Fig 2 UPGMA dendrogram of 60 individuals  
of *M. ichthys miry*  
1~30 个体为野生亲本, 31~60 个体为  $F_1$  代

## 3 讨论

AFLP 技术在水产动物遗传多样性分析中已有广泛应用, 生物群体的遗传多样性是评价生物资源状况的一个重要依据, 它是物种适应多变的

环境, 维持长期生存和进化的遗传基础。平均多态位点比率和平均杂合度是衡量生物群体遗传多样性高低的参数<sup>[27]</sup>。本文利用 AFLP 技术, 8 对选择性引物在鮠鱼 60 个个体中共扩增出 505 条清晰条带, 其中多态片段为 369 条, 总的多态位点比例为 73.07%, 通过比较鮠鱼群体的扩增多态位点数、平均多态位点比率、遗传相似系数、香农信息等指标发现, 野生亲本群体要高于  $F_1$  群体。此结果很好地说明: 在世代繁殖过程中, 其遗传多样性呈逐渐降低的趋势。从统计结果来看差异不显著, 处于同一水平。

和已知鱼类 AFLP 数据比较发现, 鮠鱼群体的多态位点比例仅低于呼玛河哲罗鱼 (84.43%)<sup>[27]</sup>, 高于岱衢族大黄鱼 (55.8%)<sup>[13]</sup> 以及青岛和厦门黄姑鱼 (分别为 51.7%, 51.99%)<sup>[19]</sup>。说明鮠鱼的遗传多样性比较丰富。 $F_1$  群体一些位点的丢失和减少, 说明  $F_1$  群体的遗传多样性会略低于亲本群体。 $F_1$  群体的遗传基础来自于亲本群体, 因而 2 个群体遗传多样性没有明显的差异, 处于同一水平上。 $F_1$  群体在人工繁殖过程中由于亲本数量的限制, 遗传漂变的结果会导致一些稀有位点和多态位点的丢失, 隐性纯合位点数的增加, 使其遗传多样性有所降低, 因此在以后的养殖过程中有必要加大选育亲本的数量并对选育群体的遗传多样性情况予以适当检测, 以减少或避免人工选育和累代人工繁殖造成的近交和隐性基因的纯合。但对于鱼类这种高繁殖力和死亡率的生物类群来说, 随着世代繁衍, 难免会出现近交衰退的现象。

从群体间的遗传相似系数 (0.979 6)、遗传距离 (0.020 6); 基因分化系数  $G_{st}$  (0.022 3) 来看, 群体间无显著遗传分化; 分子方差分析 (97.78%) 表明 2 群体的遗传变异主要来源于群体内个体间, 群体间无显著遗传变异。但  $F_1$  群体内个体间的遗传距离比野生亲本群体大, 说明  $F_1$  群体在遗传结构上有所变化, 随着世代间隔将会出现遗传分化的趋势。

## 参考文献:

- [1] 朱元鼎, 张春霖, 成庆泰, 等. 东海鱼类志 [M]. 北京: 科学出版社, 1963: 308.
- [2] 罗海忠, 傅荣兵, 陈波, 等. 舟山近海鮠鱼胚胎和早期仔鱼的发生及与盐度的关系 [J]. 浙江海洋学院学报: 自然科学版, 2006, 25(1): 15-22.

- [3] 李凌云, 郑忠明, 竺俊全, 等. 鲉鱼亲鱼培育及其人工繁殖的研究 [J]. 水产科学, 2005, 24(1): 32-34.
- [4] 孙庆海, 陈诗凯. 鲉鱼规模化繁育技术研究 [J]. 浙江海洋学院学报:自然科学版, 2003, 22(3): 273-276.
- [5] 楼宝. 鲉鱼渔业生物学和人工繁养技术 [J]. 渔业现代化, 2004, (6): 11-13.
- [6] 王志勇, 王艺磊, 林利民, 等. 利用 AFLP 指纹技术研究中国沿海真鲷群体的遗传变异和趋异 [J]. 水产学报, 2001, 25(4): 289-293.
- [7] 王志勇, 王艺磊, 林利民, 等. 福建官井洋大黄鱼 AFLP 指纹多态性的研究 [J]. 中国水产科学, 2002, 9(3): 1913-202.
- [8] 潘洁, 包振民, 赵洋, 等. 栉孔扇贝不同地理群体的遗传多样性分析 [J]. 高技术通讯, 2002, 12(12): 78-82.
- [9] Coimbra M R M, Kobayashi K, Koretsugu S et al A genetic map of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* [J]. *Aquaculture*, 2003, 220, 203-218.
- [10] 张俊彬, 黄良民. 紫红笛鲷遗传多样性的 AFLP 分析 [J]. 热带海洋学报, 2004, 23(5): 50-55.
- [11] 张全启, 徐晓斐, 齐洁, 等. 牙鲆野生群体与养殖群体的遗传多样性分析 [J]. 中国海洋大学学报, 2004, 34(5): 816-820.
- [12] 张雯, 刘晓, 张国范. 利用 AFLP 技术研究海湾扇贝不同养殖群体的遗传结构及其分化 [J]. 高技术通讯, 2005, 15(4): 84-88.
- [13] 刘必谦, 董闻琦, 王亚军, 等. 岱衢族大黄鱼种质的 AFLP 分析 [J]. 水生生物学学报, 2005, 29(4): 413-416.
- [14] 王志勇, 柯才焕, 王艺磊, 等. 从 AFLP 指纹和标记基因序列看我国养殖的四种鲍的亲缘关系 [J]. 高技术通讯, 2005, 15(12): 93-98.
- [15] 陈省平, 包振民, 潘洁, 等. 4 种养殖扇贝的群体遗传多样性及特异性 AFLP 标记研究 [J]. 海洋学报, 2005, 27(2): 160-164.
- [16] 王伟继, 高焕, 孔杰, 等. 利用 AFLP 技术分析中国明对虾的韩国南海种群和养殖群体的遗传差异 [J]. 高技术通讯, 2005, 15(9): 81-86.
- [17] 岳志芹, 王伟继, 孔杰, 等. 用 AFLP 方法分析中国对虾抗病选育群体的遗传变异 [J]. 水产学报, 2005, 29(1): 13-19.
- [18] Liu Y, Chen S, Li B et al Analysis of genetic variation in selected stocks of hatchery flounder *Paralichthys olivaceus* using AFLP markers [J]. *Biochemical systematics and ecology*, 2005, 33, 993-1005.
- [19] 韩志强, 高天翔, 王志勇, 等. 黄姑鱼群体遗传多样性的 AFLP 分析 [J]. 水产学报, 2006, 30(5): 641-646.
- [20] Wan J F, Bao Z M, Zhang Q Q et al Comparative Studies on the Molecular Genetic Diversities among *Haliotis discus hannai* H. *discus discus* and Their Hybrid [J]. *High Technology Letters* 2004, 10(3): 93-96.
- [21] 王伟继, 孔杰, 董世瑞, 等. 中国明对虾 AFLP 分子标记遗传连锁图谱的构建 [J]. 动物学报, 2006, 52(3): 575-584.
- [22] Voran R A, McGowan C, Stout J A et al A genetic linkage map for Arctic char (*Salvelinus alpinus*): evidence for higher recombination rates and segregation distortion in hybrid versus pure strain mapping parents [J]. *Genome* 2004, 47(4): 304-315.
- [23] 张俊彬, 黄良民, 陈真然. AFLP 技术在笛鲷的仔鱼鉴定及其分类学上的研究 [J]. 海洋学报, 2005, 27(2): 165-171.
- [24] 萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 D W. 分子克隆实验指南 [M]. 3 版, 黄培堂等, 译. 北京: 科学出版社, 2002: 45.
- [25] Vos P, Hogers R, Bleeker M et al AFLP: a new technique for DNA fingerprinting [J]. *Nucleic Acids Res* 1995, 23, 4407-4414.
- [26] Li Y T, Byrne K, Miggiano E et al Genetic mapping of kuruma prawn *Penaeus japonicus* using AFLP markers [J]. *Aquaculture* 2003, 219, 143.
- [27] 匡友谊, 佟广香, 尹家胜, 等. 呼玛河哲罗鱼遗传多样性的 AFLP 分析 [J]. 中国水产科学, 2007, 14(4): 615-621.