

# 长江下游放流鲢群体遗传多样性的微卫星标记分析

张敏莹, 徐东坡, 刘凯, 段金荣, 施炜纲\*

(农业部 长江下游渔业资源环境科学观测实验站, 中国水产科学研究院 内陆渔业生态环境和资源重点开放实验室, 中国水产科学研究院 淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081)

**摘要:** 利用 12 个微卫星分子标记对长江下游 4 个放流鲢群体进行了遗传多样性分析。在 12 个基因座位中, 共检测到 56 个等位基因, 每个座位检测到的等位基因数为 1~7 个, 其中有 10 个基因座位具有多态性, 多态位点百分率为 83.33%。4 个群体的平均等位基因数  $A$  为 3.98, 平均有效等位基因数  $N_e$  为 2.384 0, 观测杂合度  $H_o$  平均值为 0.467 6, 期望杂合度  $H_e$  平均为 0.490 6, 多态信息含量平均值为 0.381 2。4 个鲢群体的遗传多样性较丰富, 与文献报道的下游野生群体大致相当, 但明显低于上游野生群体; 放流鲢群体的平均观测杂合度均低于各自相对应的平均期望杂合度, 表现出一定程度的近交现象。4 个放流鲢群体间遗传相似系数为 0.937 1~0.971 8, 遗传距离为 0.028 2~0.062 8, 基因分化系数  $F_{st}$  为 0.027 5~0.050 6, 表明群体间的遗传分化程度较弱。

**关键词:** 鲢; 放流群体; 微卫星; 遗传多样性

中图分类号: S965.113 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2012)01-0141-06

## Analysis of Genetic Diversity among Silver the Artificially Released Populations of Carps in the Lower Reach of Yangtze River with Microsatellite Markers

ZHANG Min-ying, XU Dong-po, LIU Kai, DUAN Jin-rong, SHI Wei-gang\*

(Scientific Observing and Experimental Station of Fishery Resources and Environment in the Lower Reaches of Yangtze River, Ministry of Agriculture, Key Laboratory of Ecological Environment and Resources of Inland Fisheries, Freshwater Fisheries Research Center, CAFS, Wuxi 214081, China)

**Abstract:** Twelve microsatellite markers were used to analyze the genetic diversity of four artificially released populations of silver carps in the lower reach of Yangtze River. A total of 56 different alleles were found and the number of alleles in each locus ranged from 1 to 7. Ten loci (83.33%) were polymorphic. In the four populations, the values of average alleles and valid alleles were 3.98 and 2.384 0. The values of average observed and expected heterozygosity were 0.467 6 and 0.490 6 respectively, while the mean PIC was 0.381 2. The genetic diversity of the four artificially released populations was about the same as the lower reach wild populations reported in past articles and significantly lower than that of the upper reach wild populations. The mean observed heterozygosity was lower than the corresponding mean expected heterozygosity, which showed inbreeding happened in some extent in the four silver carp artificially released populations. The genetic similarity coefficient of the four populations was 0.937 1 to 0.971 8, and the genetic distance was 0.028 2 to 0.062 8.  $F_{st}$  value ranged from 0.027 5 to 0.050 6, which indicated that the four populations were faintly differentiated.

收稿日期: 2011-10-17 修回日期: 2011-11-30

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(200903048-03)和农业部财政项目(20100202-05)

作者简介: 张敏莹(1974—), 女, 副研究员, 主要从事水产动物种质资源评估及增殖保护方面的研究, E-mail: zhangmy@ffrc.cn; \* 通讯作者: 施炜纲, 研究员, E-mail: shiwg@ffrc.cn。

**Key words:** silver carp; artificially released populations; microsatellite; genetic diversity

鲢(*Aristichthys nobilis*)作为“四大家鱼”之一,在我国淡水渔业中占有极其重要的地位。已有研究表明,长江四大家鱼的养殖性能明显优于其它水系<sup>[1]</sup>。近年来,由于水工建设、环境污染、酷鱼滥捕等诸多原因,长江渔业资源受到严重冲击,四大家鱼资源量急剧下降<sup>[2]</sup>。20世纪60年代鲢在长江水系四大家鱼捕捞量中占26.1%,80年代占3.9%<sup>[3]</sup>,而1994—1999年长江万州、巴南江段渔业资源监测结果显示鲢仅占该江段渔获重量的2.68%<sup>[4]</sup>,长江水系野生鲢群体的产量急剧下降,其生长表现、抗病抗逆性和遗传多样性等也有明显的降低<sup>[5]</sup>。为了保护、增殖包括四大家鱼在内的长江渔业资源,自2002年起长江干流实施了春季禁渔,2003年将禁渔范围扩大到通江湖泊和一级支流,并在禁渔的同时对重要经济鱼类实施了人工增殖放流。

对长江水系鲢群体的遗传多样性和种群结构已有不少报道。赵金良等<sup>[6]</sup>用同工酶方法研究了长江中下游4个江段鲢群体的生化遗传变异,结果表明四江段鲢群体间的遗传距离都小于0.001,群体间没有明显的遗传分化;张四明等<sup>[3]</sup>采用RAPD技术对长江水系4个鲢群体的遗传多样性进行了研究,发现长江水系鲢的遗传变异要高于草鱼,鲢4个地理群体的遗传分化度较弱;李思发等<sup>[7]</sup>采用mtDNA RFLP研究了长江中下游鲢群体多样性,认为鲢群体间有显著的差异。张四明等<sup>[8]</sup>选用10种限制性内切酶对扩增出的mtDNA ND5-ND6基因进行酶切,从鲢中共检出18种单倍型,在草鱼中只有一种单倍型,证实了长江鲢的遗传多样性比草鱼丰富;姬长虹等<sup>[9]</sup>采用微卫星分子标记,对长江、珠江和黑龙江的5个鲢群体的观测杂合度、期望杂合度、多态信息含量和有效等位基因数等进行了遗传检测,发现长江不同地理群体的遗传多样性有差异,但差异不显著。不论是最初的同工酶<sup>[6,10-11]</sup>、RAPD<sup>[3]</sup>、线粒体DNA(mtDNA)RFLP分析<sup>[7-8]</sup>还是最近的微卫星分子标记<sup>[9,12-14]</sup>,这些研究主要集中在野生群体,对放流鲢群体遗传多样性的研究还未见报道。

微卫星(Microsatellite)标记具有按照孟德尔方式分离、突变快、多态信息含量丰富、呈共显性遗传等特点,在DNA指纹分析、定位功能基因、种质资源鉴定和遗传多样性的评估等方面广泛应用。放流鲢群体的遗传多样性如何?各江段(湖泊)放流鲢群体遗传多样性是否有差异?为了寻求答案,2010年中科院淡水渔业研究中心资源室在参加下游鱼类标志放流活动时现场采集了4个放流鲢群体(洪泽湖、巢湖、长江无为段、蠡湖)的样本。本文利用筛选的12对微卫星引物,对这4个放流鲢群体的种质资源特征进行了分析和研究,以期对长江水系鲢的增殖放流及种质资源保护提供一定的理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 样品来源

2010年1月11日、1月31日、3月14日、6月29日,蠡湖、巢湖、洪泽湖和长江无为江段依次实施了四大家鱼人工增殖放流活动,研究中心资源室进行了放流鲢群体的现场采样。其中,蠡湖和洪泽湖放流苗种来自江苏吴江四大家鱼原种场,巢湖和长江无为的苗种来自江苏邗江长江四大家鱼原种场。每个群体随机各取30尾,剪取鳍条放入分析纯乙醇中固定,带回实验室备用。

### 1.2 基因组DNA提取

取约0.1g鳍条用双蒸水冲洗,用滤纸吸干放入1.5mL的离心管,加入450μL STE(150mmol/L NaCl,50mmol/L Tris,1mmol/L EDTA)缓冲液,12.5μL的体积分数的20% SDS,5μL蛋白酶K(30mg/mL)混匀,56℃消化过夜,用苯酚、氯仿及酚/氯仿各抽提一次,2倍体积的冰乙醇沉淀,12000r/min离心15min,沉淀用体积分数为70%的乙醇清洗2次,再用100μL灭菌双蒸水溶解,8g/L的琼脂糖凝胶(EB染色)电泳检测DNA的质量和浓度。

### 1.3 SSR引物序列

引物设计参照文献<sup>[12]</sup>,上海申能博彩生物工程公司合成。最后筛选12对鲢微卫星引物,引物编号及序列见表1。

### 1.4 PCR反应及电泳

PCR仪为ABI 2720型PCR扩增仪。反应的程序为:首先进行94℃变性3min;然后94℃变性30s,

表 1 微卫星座位及其引物  
Tab.1 SSR locus and primers used in the article

微卫星标记 Locus	引物序列(5' - 3') Primers sequence(5' - 3')	大小/bp Size	重复序列 Repeat sequence	退火温度/°C Annealing temperature
SCM04	F: ATTACGCCAGCTATTTAGG R: CTCCTCTGCGGAGTGTTC	242	(GT) 11	52.6
SCM05	F: GCAGAAGAGGAGCAGAAA R: GACTCATTATAGGGCGAATT	220	(GT) 11	53.2
SCM07	F: TTACGCCAGCTATTTAGG R: TGCGGAGTATTTCCAGAC	285	(GT) 16	51.7
SCM08	F: AGACATGATTACGCCAGCTA R: CACGCACATAGACCGACA	243	(GT) 9( GA) 5 (GT) 13	52.7
SCM09	F: CTGGAGACGCAGTCAAAGC R: GTACCGCAGACGCAACAT	274	(CA) 12	52.1
SCM10	F: AGACATGATTACGCCAGCTA R: ACCGCCTTAAACGAGACA	307	(GT) 47	54.2
SCM11	F: TCTGCCACCGAATCCTCC R: CGACGGCCACTCACTTGTA	262	(CA) 13	57.1
SCM14	F: GCTGCACAGCTCGCTTGT R: GCGTCCATTCGCCATTCA	313	(GT) 17	56.9
SCM15	F: ATTACGCCAGCTATTTAGG R: ATCAGAGGTTACCCACA	244	(GT) 22	51.6
SCM18	F: ATGATTACGCCAGCTATT R: GATGAGGTGGGAAAGAAC	297	(CA) 29	51.2
SCM19	F: TTACGCCAGCTATTTAGG R: TAGTGAAGGTTGGGAAC	258	(GT) 13	52.0
SCM20	F: ACATGATTACGCCAGCTATT R: CCTCCACCAAACACGACA	292	(CA) 22	54.2

$T_m$  复性 40 s, 72 °C 延伸 50 s, 反应进行 35 个循环; 最后 72 °C 延伸 10 min。产物经 20 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测后, 再以 pBR 322 DNA/*Msp*I 为分子量标记, 用体积分数 9.0% 非变性聚丙烯酰胺凝胶, 1 × TBE 缓冲液 5 V/cm 低电压电泳分离。PAGE 电泳采用 DYCZ - 24B 型双垂直电泳槽(北京六一仪器厂)。电泳结束后银染拍照, 记录。

### 1.5 数据统计与分析

将电泳谱带中的每一条 DNA 片段作为该座位的一个等位基因来处理, 分析各位点的等位基因数, 依据等位基因片段长度从小到大依次标为 A、B、C 等。微卫星位点的等位基因数( $A$ )、有效等位基因数( $N_e$ )、基因观测杂合度( $H_o$ )、基因期望杂合度( $H_e$ )、遗传距离( $D$ )、遗传相似系数( $1 - D$ )和基因分化系数( $F_{st}$ )等参数使用 Popgene 32 软件进行统计分析。

多态信息含量(PIC)按 BOTSTEIN 等<sup>[15]</sup>计算。

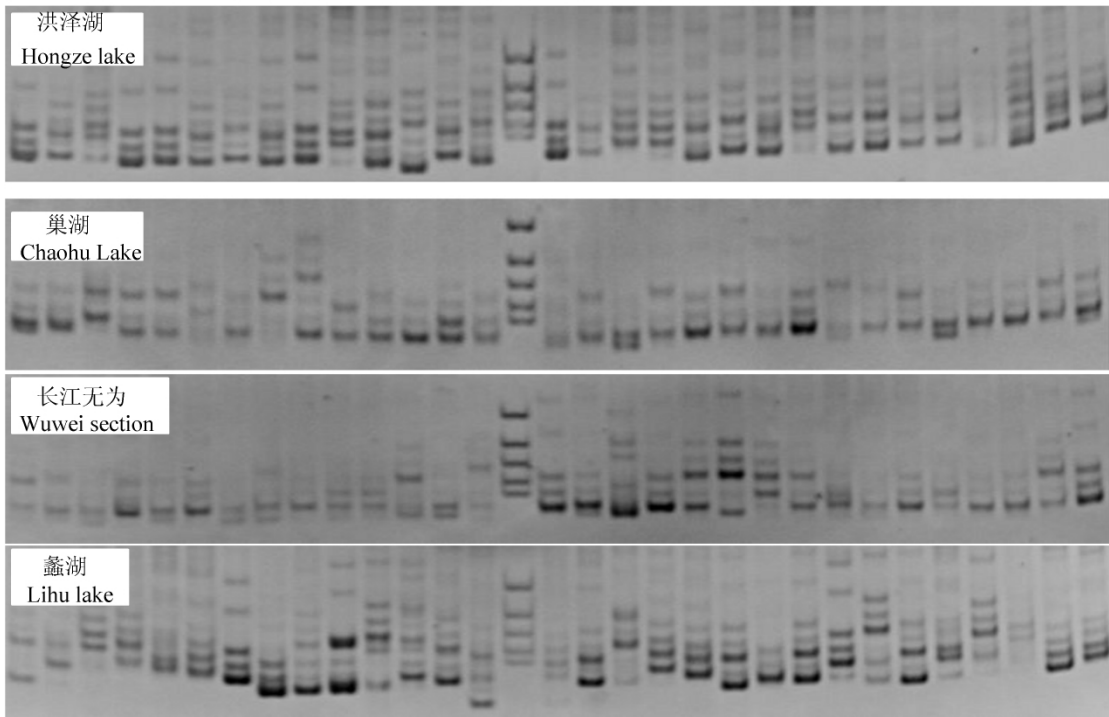
$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^m p_i^2 - \sum_{i=1}^{m-1} \sum_{j=i+1}^m 2p_i^2 p_j^2 \quad (1)$$

(1) 式中:  $P_i$  和  $P_j$  分别为第  $i$  和第  $j$  个等位基因在群体中的频率;  $m$  为等位基因数。

## 2 结果与分析

### 2.1 电泳结果

筛选的 12 对引物在 4 个放流鲢群体 120 个个体中经特异性扩增、非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳后均



M: pBR322 DNA/MspI 分子量标准。

图1 微卫星基因座 SCM10 在 4 个放流鲢群体的扩增结果

Fig.1 PCR result of SCM10 locus in four artificial releasing populations of silver carp

可以表现出清晰的条带及一定的多态性。部分引物扩增电泳结果见图 1。

### 2.2 微卫星标记的遗传多样性

4 个放流鲢群体各位点的等位基因数 ( $A$ )、有效等位基因数 ( $N_e$ )、观测杂合度 ( $H_o$ )、期望杂合度 ( $H_e$ )、多态信息含量 ( $PIC$ ) 统计结果见表 2。12 个微卫星位点上共检测到 56 个等位基因。其中蠡湖群

表 2 4 个放流鲢群体的遗传多样性参数

Tab.2 Genetic diversity parameters of four artificial releasing populations of silver carp

基因座或群体 Locus/population	$A$	$N_e$	$H_o$	$H_e$	$PIC$
SCM04	4	3.401 2	0.412 6	0.437 8	0.176 4
SCM05	4	2.131 2	0.551 7	0.613 2	0.310 7
SCM07	4	1.384 9	0.571 3	0.684 1	0.3418
SCM08	5	4.107 8	0.481 7	0.523 3	0.367 8
SCM09	1	1.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0
SCM10	7	4.102 5	0.788 1	0.813 6	0.614 2
SCM11	5	3.190 7	0.590 0	0.611 2	0.423 1
SCM14	6	3.614 7	0.416 2	0.454 3	0.441 3
SCM15	6	3.241 2	0.761 7	0.803 0	0.592 4
SCM18	7	4.072 7	0.561 7	0.688 4	0.642 1
SCM19	1	1.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0
SCM20	6	3.667 7	0.476 1	0.484 3	0.510 7
蠡湖 Lihu lake	4	2.243 1	0.478 6	0.501 3	0.384 3
巢湖 Chaohu lake	3.92	2.576 8	0.464 9	0.473 2	0.376 3
洪泽湖 Hongze lake	4.08	2.301 7	0.472 1	0.521 7	0.392 1
长江无为 Wuwei section	3.92	2.414 3	0.454 7	0.466 1	0.371 9
平均 Mean	3.98	2.384 0	0.467 6	0.490 6	0.381 2

体、巢湖群体、洪泽湖群体、长江无为群体分别具有 48、47、49、47 个等位基因, 45 个等位基因为 4 个群体所共有。每个座位检测到的等位基因数 1~7 个不等, 其中引物 SCM09、SCM19 为单态座位, 其余 10 对引物在 4 个放流鲢群体中均表现为多态。洪泽湖群体的期望杂合度(0.521 7) 和多态信息含量(0.392 1) 最高, 而观测杂合度最高的是蠡湖群体(0.478 6)。4 个群体的多态位点百分率均为 83.33%。

### 2.3 群体间的基因分化系数( $F_{st}$ )、遗传相似系数( $1-D$ )与遗传距离( $D$ )

群体间的  $F_{st}$  值(表 3) 表明 4 个群体间遗传分化程度较弱, 蠡湖与洪泽湖群体间遗传分化最弱, 洪泽湖与长江无为群体间遗传分化最强。

表 3 4 个放流鲢群体间的  $F_{st}$  值

Tab.3  $F_{st}$  value of four artificial releasing populations of silver carp

群体 Populations	蠡湖 Lihu lake	巢湖 Chaohu lake	洪泽湖 Hongze lake	长江无为 Wuwei section
蠡湖 Lihu lake	—	0.043 1	0.027 5	0.048 2
巢湖 Chaohu lake		—	0.046 3	0.036 5
洪泽湖 Hongze lake			—	0.050 6
长江无为 Wuwei section				—

利用 Popgene 32 软件计算了 4 个群体间的 Nei's 遗传距离与相似系数(表 4)。由表 4 可以看出, 巢湖与洪泽湖群体之间的遗传距离最大, 蠡湖和洪泽湖群体间的遗传距离最小。

表 4 4 个放流鲢群体的 Nei's 遗传距离和遗传相似系数

Tab.4 Genetic similarity coefficient and genetic distance of four artificial releasing populations of silver carp

群体 Populations	蠡湖 Lihu lake	巢湖 Chaohu lake	洪泽湖 Hongze lake	长江无为 Wuwei section
蠡湖 Lihu lake	—	0.037 3	0.028 2	0.035 7
巢湖 Chaohu lake	0.962 7	—	0.062 8	0.057 9
洪泽湖 Hongze lake	0.971 8	0.964 3	—	0.059 2
长江无为 Wuwei section	0.937 1	0.942 1	0.940 8	—

对角线以上为遗传距离; 对角线以下为遗传相似系数。

Values above the diagonal are genetic distance, values under the diagonal are genetic similarity.

## 3 讨 论

### 3.1 放流鲢群体的遗传多样性

遗传多样性是生物适应环境的基础和物种进化动力。对一个物种来说, 其遗传多样性越高, 则其对生存环境变化所产生的适应能力越强, 进化的潜力也越大。因此, 长江水系鲢鱼的遗传多样性研究对于鲢物种的保护和整个长江生态系统的稳定都有着重要的意义。

多态信息含量(PIC) 是衡量位点遗传多样性的一种较好的指标。依据 BOTSTEIN<sup>[15]</sup> 的划分标准, 当  $PIC > 0.5$  时该位点表现为高度多态; 当  $0.25 < PIC < 0.5$  时该位点表现为中度多态; 当  $PIC < 0.25$  时该位点表现为低度多态。王长忠等<sup>[14]</sup> 对长江监利、万州 2 个鲢群体的研究表明, 多态微卫星位点的 PIC 为 0.077~0.865, 平均为 0.617, 所选位点 PIC 较高。本研究中 4 个放流鲢群体多态微卫星位点的 PIC 为 0.176 4~0.642 1, 平均为 0.381 2, 低于上游野生鲢群体; 但在 4 个放流鲢群体的 10 个多态位点中, 4 个位点表现为高度多态性; 5 个位点表现为中度多态性; 1 个位点表现为低度多态性, 说明所选微卫星座位较适合放流鲢群体遗传多样性研究。

基因杂合度表示群体在某座位杂合子的比例, 普遍认为它是度量群体遗传变异的又一个适宜参数。姬长虹等<sup>[9]</sup> 的研究表明, 长江、珠江、黑龙江水系 5 个野生鲢群体平均等位基因为 4.67, 平均有效等位基因 2.948 9。5 群体平均观测杂合度为 0.329~0.461 9, 平均期望杂合度为 0.500 2~0.552 9。本研究发现: 4 个鲢放流群体的平均等位基因为 3.98, 平均有效等位基因为 2.384 0, 观测杂合度平均值为 0.454 7~0.478 6, 平均期望杂合度为 0.490 6, 有效等位基因数和期望杂合度平均值低于三江水系野生鲢群体, 这和对鮑<sup>[16]</sup>、大西洋鲑<sup>[17-18]</sup> 的研究结果是类似的。这些研究认为养殖群体遗传多样性下降

的原因在于养殖群体繁殖亲本数太少从而导致遗传漂变加剧,养殖群体等位基因丢失的主要原因在于建群者效应。在4个放流鲢群体中,平均观测杂合度最高的为蠡湖群体,而平均期望杂合度最高的为洪泽湖群体,但平均观测杂合度均低于各自相对应的平均期望杂合度,表明4个群体中纯合子个体所占的比例较大,存在着一定程度的近交现象。

从多态信息含量(PIC)、杂合度及有效等位基因数来看,放流鲢群体的遗传多样性较丰富,与长江下游的安庆、九江等野生鲢群体的遗传多样性<sup>[13]</sup>相当,但明显低于长江上游的万州鲢群体。

### 3.2 群体内及群体间的遗传分化

基因分化系数是表征群体间遗传分化程度的重要参数,当 $F_{st}$ 为0~0.05时,群体间遗传分化较弱;为0.05~0.15时,遗传分化中等;为0.15~0.25时,遗传分化较大;大于0.25时,表示群体间分化极大。关于长江中下游野生鲢群体的遗传分化有2种不同的结论:赵金良等<sup>[6]</sup>利用同工酶分析长江中下游鲢种群分化认为,长江中下游地区的鲢为一个遗传分化不显著的群体。李思发等<sup>[7]</sup>采用mtDNA RFLP分析了长江中下游鲢群体的多样性,认为鲢群体间有显著的差异。而基于遗传距离的群体间聚类关系推断长江中下游鲢可能存在2个祖先群体<sup>[13]</sup>。本研究中4个放流鲢群体间基因分化系数为0.0275~0.0506,表明绝大部分的遗传变异来自于群体内,群体间的遗传分化程度较弱,笔者推测可能这4个放流群体来源于同一个原(良)种厂,或者它们的野生亲本来源于同一个江段,本身遗传差异就不大。

FRITZNER等<sup>[19]</sup>研究表明,为避免人工增殖鱼群与野生鱼群的基因库混杂,在实施人工增殖时,应对人工放流鱼群的遗传背景进行评估,以确保野生鱼群遗传结构的稳定。本研究采用微卫星标记研究不同放流鲢群体的遗传多样性及遗传差异,为下一步探讨人工增殖放流群体和野生群体遗传结构的差异及人工增殖群体对野生群体遗传结构的影响打下基础。

### 3.3 客观评价鲢增殖放流效果需要解决的问题

鲢属于江湖半洄游性鱼类,在长江干流繁殖,在湖泊育肥。对于封闭的湖泊来说,因为鲢群体不能在水体中自然繁殖,所以封闭湖泊中的鲢全部为放流鲢。但是对通江湖泊和长江干流来说,水体存在一定的野生自然群体。因此,要有效评估鲢人工放流增殖效果,前提条件是能够准确区分水体中的野生自然鲢和人工放流鲢。在中华鲟的保护放流中,通过微型编码金属标(coded wire tag, CWT)对人工放流鲟进行标志、跟踪<sup>[20]</sup>。但由于每年鲢的放流量很大,标志率(标志鱼所占比例)较低,因而标志法也不能准确判断回捕鲢是野生自然个体还是人工放流个体。由于具有较高的变异率和高度的遗传多态性,微卫星在法医鉴定和个体识别中找到了其价值所在;对野生及人工饲养动物进行个体识别和亲缘关系鉴定,不仅可以有助于对这些动物进行保护管理,并且可以为某些动物行为生态学理论提供实际依据<sup>[21]</sup>。目前这方面的研究仅限于人类的个体识别、亲子鉴定以及大熊猫、黑猩猩等动物的保护管理,在鱼类上还不多见。因此,找到能准确识别野生个体和人工放流个体的微卫星位点,是客观评价鲢增殖放流效果的关键,也是我们下一步工作努力的方向。

### 参考文献:

- [1]李思发. 长江、珠江、黑龙江鲢、鳙、草鱼种质资源研究[M]. 上海: 上海科学出版社, 1990: 25-50.
- [2]刘绍平, 邱顺林, 陈大庆, 等. 长江水系四大家鱼种质资源的保护和合理利用[J]. 长江流域资源与环境, 1997, 6(2): 127-131.
- [3]张四明, 邓怀, 汪登强, 等. 长江水系鲢和草鱼遗传结构及变异性的RAPD研究[J]. 水生生物学报, 2001, 25(4): 324-330.
- [4]刘绍平, 陈大庆, 段辛斌, 等. 长江中上游四大家鱼资源监测与渔业管理[J]. 长江流域资源与环境, 2004, 13(2): 183-186.
- [5]廖亚明, 刘金炉, 汤学林. 浅析“四大家鱼”性状退化的原因及重视种质保护的提议[J]. 水产科技情报, 1994, 21(2): 62-63.
- [6]赵金良, 李思发. 长江中下游鲢、鳙、草鱼、青鱼种群分化的同工酶分析[J]. 水产学报, 1996, 20(2): 104-110.
- [7]李思发, 吕国庆, L. 贝纳切兹. 长江中下游鲢鳙草青四大家鱼线粒体DNA多样性分析[J]. 动物学报, 1998, 44(1): 82-93.
- [8]张四明, 汪登强, 邓怀, 等. 长江中游水系鲢和草鱼群体mtDNA遗传变异的研究[J]. 水生生物学报, 2002, 26(2): 142-146.
- [9]姬长虹, 谷晶晶, 毛瑞鑫, 等. 长江、珠江、黑龙江水系野生鲢遗传多样性的微卫星分析[J]. 水产学报, 2009, 33(3): 354-371.
- [10]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构与变异[J]. 水产学报, 1986, 10(4): 350-372.

(下转第157页)

- toocytes: role of estrogen receptor [J]. *Chemico - Biological Interactions*, 2001, 138(3): 285--298.
- [107] Nawaz M, Manz C, Krumschnabel G. In vitro toxicity of copper, cadmium, and chromium to isolated hepatocytes from carp, *Cyprinus carpio* L. [J]. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 2005, 75(4): 652-661.
- [108] Baksi S M. Fish hepatocyte model for investigation of the effects of trihalomethanes( Chapter 27) [J]. *Water Chlorination*, 1990, 16: 341-246.
- [109] Olsson P E, Hyllner S J, Zafarullah M, et al. Differences in metallothionein gene expression in primary cultures of rainbow trout hepatocytes and the rth - 149 cell line [J]. *Biochimica et Biophysica Acta ( BBA) - Gene Structure and Expression*, 1990, 1049(1): 78-82.
- [110] Grösvik B E, Goksöyr A. Biomarker protein expression in primary cultures of salmon (*Salmo salar* L.) hepatocytes exposed to environmental pollutants [J]. *Biomarkers*, 1996, 1(1): 45-53.
- [111] Bickley L K, Lange A, Winter M J, et al. Evaluation of a carp primary hepatocyte culture system for screening chemicals for oestrogenic activity [J]. *Aquatic Toxicology*, 2009, 94(3): 195-203.
- [112] 曹丽萍, 丁炜东, 殷国俊. 玫瑰茄水提物对 t - BHP 诱导原代培养异育银鲫肝细胞损伤生化指标的影响 [J]. *浙江农业学报*, 2011, 23(2): 273-277.
- [113] Collodi P, Miranda C L, Zhao X, et al. Induction of zebrafish (*Brachydanio rerio*) P450 in vivo and in cell culture [J]. *Xenobiotica*, 1994, 24: 487-493.
- [114] Nelson J. *Fishes of the world* [M]. New York: Wiley & Sons, 1994.
- [115] Scown T M, Goodhead R M, Johnston B D, et al. Assessment of cultured fish hepatocytes for studying cellular uptake and (Eco) toxicity of nanoparticles [J]. *Environmental Chemistry*, 2010, 7(1): 36-49.

( 上接第 146 页)

- [11] 夏德全, 杨弘, 吴婷婷, 等. 天鹄洲通江型长江故道“四大家鱼”种群遗传结构研究 [J]. *中国水产科学*, 1996, 3(4): 11-18.
- [12] 鲁翠云, 孙效文, 曹洁, 等. 磁珠富集法筛选白鲢的微卫星分子标记 [J]. *农业生物技术学报*, 2005, 13(6): 772-776.
- [13] 朱晓东, 耿波, 李娇, 等. 利用 30 个微卫星标记分析长江中下游鲢群体的遗传多样性 [J]. *遗传*, 2007, 29(6): 705-713.
- [14] 王长忠, 梁宏伟, 邹桂伟, 等. 长江中上游两个鲢群体遗传变异的微卫星分析 [J]. *遗传*, 2008, 30(10): 1341-1348.
- [15] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in mall using restriction fragment length polymorphism [J]. *Am J Human Genetic*, 1980, 32(3): 314-331.
- [16] Li Q, Park C, Endo T, et al. Loss of genetic variation at microsatellite loci in hatchery strains of the Pacific abalone (*Haliotis discus hannai*) [J]. *Aquaculture*, 2004, 235(1/4): 207-222.
- [17] Skaala O, Høyheim B, Glover K, et al. Microsatellite analysis in domesticated and wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): Allelic diversity and identification of individuals [J]. *Aquaculture*, 2004, 240(1/4): 131-143.
- [18] Norris A T, Bradley D G, Cunningham E P. Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations [J]. *Aquaculture*, 1999, 180(3/4): 247-264.
- [19] Fritzner N G, Hansen M M, Madsen S S, et al. Use of microsatellite markers for identification of indigenous brown trout in a geographical region heavily influenced by stocked domesticated trout [J]. *Journal of Fish Biology*, 2001, 58(5): 1197-1210.
- [20] 杨德国, 危起伟, 王凯, 等. 人工标志放流中华鲟幼鱼的降河洄游 [J]. *水生生物学报*, 2005, 29(1): 26-30.
- [21] Chemnick L, Robbins M, Garner K, et al. Paternity determination in captive lowland gorillas and orangutans and wild mountain gorillas by microsatellite analysis [J]. *Primates*, 1998, 39(2): 199-209.