

李福贵,但唐兴,林绍南,等. 亚东鲑人工繁殖与野生群体的形态和微卫星多态性分析[J]. 江苏农业科学,2015,43(5):226-229.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.05.075

亚东鲑人工繁殖与野生群体的形态和微卫星多态性分析

李福贵¹,但唐兴²,林绍南³,邹曙明¹

(1. 上海海洋大学农业部淡水水产种质资源重点实验室,上海 201306; 2. 西藏自治区亚东县农牧局,西藏亚东 857600;
3. 西藏自治区亚东县亚东鲑渔种场,西藏亚东 857600)

摘要:开展亚东鲑野生群体与人工繁殖后代的形态特征和微卫星遗传多态性分析。首先采用方差、判别、主成分分析方法研究了 2 个群体,包括 7 个可数、11 个可量与 20 个框架数据,结果表明亚东鲑人工繁殖后代与野生群体在鳍式、鳞式、可量和框架结构性状等方面均无显著差异。进一步采用 9 对微卫星引物评估了亚东鲑人工繁殖与野生群体间的遗传变异,在 10 个座位中,共检测到 55 个等位基因,平均有效等位基因分别为 4.8、4.0 个,平均每个座位的等位基因数为 5.5 个;平均座位观测杂合度分别为 0.626 7、0.641 7,平均基因多样性均为 0.571 9,群体遗传分化较小,2 个群体的微卫星 DNA 多态性均呈现低水平。结果表明,亚东鲑人工繁殖与野生群体在遗传上差异不大,人工繁殖群体可用于开展进一步的保种繁育和保护性放流工作。

关键词:亚东鲑;野生群体;人工繁殖群体;形态特征;微卫星多态性

中图分类号:S932.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)05-0226-04

亚东鲑(*Salmo trutta fraio* Linne)属鲑形目鲑科鲑属,别称河鲑(俗称花点鲑),是冷水性珍稀鱼类,具有较高的营养价值和经济价值。关于亚东鲑的研究较少,张春霖等先后对亚东鲑的来源和资源情况进行过分析^[1-6];蒲德永等对亚东鲑消化系统的形态学和组织学进行过观察研究^[7];豪富华等对亚东鲑的性腺发育生长年龄与繁殖进行过研究^[8-9]。在群体遗传学方面,豪富华利用线粒体和微卫星标记对亚东鲑种群和丹麦引进棕鲑种群进行过群体遗传多样性研究^[10],孟玮等基于线粒体 *COI* 基因序列对亚东鲑进行了 DNA 条形码研究^[11]。然而目前关于亚东鲑人工繁殖后代和野生群体的群体遗传学比较研究尚未开展。

亚东鲑自 19 世纪由英国人从欧洲引种后,仅栖息于我国西藏自治区日喀则地区亚东县海拔约 3 000 m 的亚东河,1992 年已被列入西藏自治区二级保护水生动物^[1-6],尤其是近些年来,野生亚东鲑资源量有加快衰退的趋势。开展亚东鲑的人工繁殖和放流有利于资源的恢复,须要选择具有与原种相似遗传多样性的亲本,鉴于当前野生亚东鲑资源量萎缩,从人工繁殖后代中培育亲鱼是解决亲本来源的有效途径。有关于野生和人工繁殖亚东鲑群体间形态差异及微卫星多态性的研究未见报道,本研究通过分析人工繁殖与野生西藏亚东鲑 2 个群体间的形态差异和微卫星 DNA 多态性,旨在了解 2 个群体的遗传分化特征,为亚东鲑保种繁育和保护性放流工作提供理论资料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

于 2012 年从西藏自治区日喀则地区亚东县亚东河采集野生亚东鲑,先后捕获 30 尾,体长、体质量分别为 (20.42 ± 2.70) cm、 (155.01 ± 72.72) g,未进行年龄鉴别;亚东鲑人工繁殖后代 1~2 龄鱼取自西藏亚东鲑渔场,样本数量也为 30 尾,体长、体质量均值分别为 (16.34 ± 4.26) cm、 (92.79 ± 87.98) g,其亲本系由亚东河采集的野生个体培育而成。剪鱼鳍保存于无水乙醇中,用于抽提基因组 DNA,于 -20°C 冰箱保存。

1.2 形态特征分析

1.2.1 数据采集 测量的数据分为 2 类:一类是传统形态学数据,包括可数、可量性状共 18 项,其中可数性状包括背鳍、胸鳍、腹鳍、臀鳍鳍条、侧线鳞、侧线上鳞、侧线下鳞;可量性状有头长、吻长、眼径、眼间距、尾柄长、尾柄高、体长、全长、体高、背棘长、体质量。另一类为框架数据,共 20 项,20 个框架数据是 10 个定位点之间的距离,例如 D_{1-2} 表示定位点 1 与 2 之间的距离。框架测量定位点的选择参照图 1。

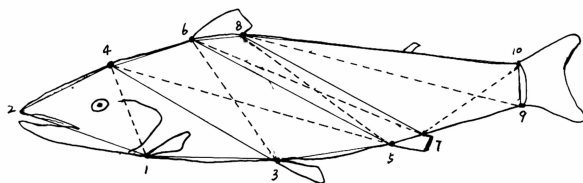


图1 亚东鲑框架结构示意图

1.2.2 数据处理和多元统计分析 为消除鱼体规格大小对形态分析的影响,每尾鱼的所有实测可量性状(除体质量外)

收稿日期:2014-06-19

基金项目:公益性行业(农业)科研专项(编号 201203086);上海高校知识服务平台(编号:ZF1206)。

作者简介:李福贵(1987—),男,江西赣州人,博士研究生,研究方向为水产养殖。E-mail:18817565025@139.com。

通信作者:邹曙明,博士,教授,主要研究方向为鱼类种质资源与遗传育种。E-mail:smzou@shou.edu.cn。

均用体长进行校正。再分别求出各组样本每个参数的平均比值,用于多元统计分析。分析数据包括 7 个可数性状、11 个可量性状及 20 个框架性状,分别用方差分析进行差异性检验,如果方差分析检验为差异显著 ($P < 0.05$) 或极显著 ($P < 0.01$),则用 Duncan's 多重比较进行分析。

采用逐步判别法对所有的形态数据进行筛选,去除判别效果不显著的参数,计算判别准确率和互相证实准确率,建立判别方程。判别准确率 P_1 = 判别正确的尾数/实际尾数 $\times 100\%$ 。互相证实准确率 P_2 : 在共有 N 个样品中,每次留下一个样品作为新样品,由 $N-1$ 个样品建立判别函数,然后将留下的这个样品代入判别函数,判别其归属,其计算方法同 P_1 。

综合判别率 = $\sum_{i=1}^k A_i \sum_{i=1}^k B_i (i = 1, 2, 3, \dots)$ 。

表 1 微卫星引物序列、等位基因大小范围

引物名称	序列	等位基因范围 (bp)	核心重复 序列	退火温度 (℃)
Str543INRA	F:5'-ATTCTTCGGCTTCTCTTGC-3'; R:5'-ATCTGGTCAGTTCTTTATG-3'	123~147	CT	55
SsoSLA17	F:5'-TTGTTCAGTGTATATGTGTCCCAT-3'; R:5'-GATCTTCACTGCCACCTTATGACC-3'	176~217	GT	52
Ssa85	F:5'-AGGTGGTCTCTCAAGCTAC-3'; R:5'-ACCCGCTCCTCACTTAATC-3'	116~136	GT	60
Strutta12	F:5'-AATCTCAAATCGATCAGAAG-3'; R:5'-AGCTATTTCAGACATCACC-3'	124~210	GT	54
Strutta58	F:5'-ACAATGACTTTCTCTGAC-3'; R:5'-AAGGACTTGAAGGACGAC-3'	102~166	GT	54
BS131	F:5'-CACATCATGTTACTGCTCC-3'; R:5'-CAGCCTAATTCTGAATGAG-3'	146~180	GT	50
T3-13	F:5'-CCAGTTAGGGTTCATTGTCC-3'; R:5'-CGTTACACCTCTCAACAGATG-3'	190~242	GT	54
Str43INRA	F:5'-GTTGTGGGCTGACTAATTGG-3'; R:5'-CTCCACATGCATCTTACTAACC-3'	147~190	GT	56
Ssa197	F:5'-GGGTTGAGTAGGGAGGCTTG-3'; R:5'-TGGCAGGGATTTGACATAAC-3'	125~180	GTGA(+ GT)	60

全基因组 DNA,用 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳检测抽提的 DNA 的质量、浓度。

1.3.3 SSR PCR 反应体系与程序、PCR 产物检测 PCR 反应体系为 25 μ L:2.5 μ L 10 \times buffer,1 μ L dNTP,0.5 μ L *Taq* - E,1 μ L 模板 DNA。反应程序:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;95 $^{\circ}$ C 变性 30 s,54 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s,35 个循环;72 $^{\circ}$ C 再延伸 10 min;4 $^{\circ}$ C 保存。以上反应均设置阴性对照以排除 DNA 污染。PCR 产物经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳、EB 染色检测扩增产物的有无与量,酌量取 PCR 产物 4~5 μ L 以 8% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,0.5 \times TBE 电泳缓冲液,恒压 120 V(约 2 h) 进行电泳、银染、显色、拍照。

1.3.4 SSR 数据统计和分析 结合软件 Adobe Photoshop CS5 和 AlphaView 凝胶图像分析软件分析微卫星条带大小,根据每个个体产生的条件位置确定基因型。用 Popgene 1.32

式中: A_i 为第 i 个群体判别正确的尾数,尾; B_i 为第 i 群体的实际尾数,尾; k 为群体数。

主成分分析采用降维计算,是将多个指标转化为少数几个综合指标的统计方法。

上述所有数据均用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。

1.3 亚东鲑微卫星 DNA 多态性分析

1.3.1 简单重复序列 (simple sequence repeat,SSR) 引物序列

参考已报道的相关文献^[12-16],共设计 9 对 SSR 引物,由生物工程(上海)股份有限公司合成,引物序列与 PCR 反应条件见表 1。

1.3.2 全基因组 DNA 提取 试验前将鱼鳍从乙醇中取出,用蒸馏水洗净、吸水纸吸干、剪碎,按照海洋动物组织 DNA 抽提法[由天根生化科技(北京)有限公司提供的试剂盒]抽提

软件进行分析,计算微卫星座位分别在 2 个群体中的等位基因数、期望杂合度、观测杂合度、平均基因多样性指数,并检验各个座位、各个群体的哈代-温伯格平衡。

2 结果与分析

2.1 亚东鲑形态特征数据多元分析

如表 2 所示,对亚东鲑人工繁殖后代与野生群体的 7 项可数性状求平均值及标准差,经卡方检验,亚东鲑 2 个群体间的卡方值是 $\chi^2 = 0.004$;其侧线鳞数、侧线上鳞、侧线下鳞、背鳍条数、胸鳍条数、腹鳍条数、臀鳍条数相互差异均不显著;全长/体长、体长/体高、体长/头长、头长/吻长、头长/眼径、头长/眼间距、体长/尾柄长、尾柄长/尾柄高、背棘长/体长等 9 个比例性状的测量结果也不存在显著差异。

表 2 亚东鲑野生与人工繁殖后代可数和传统比例性状

群体类型	侧线鳞数 (片)	侧线上鳞 (片)	侧线下鳞 (片)	背鳍数 (条)	胸鳍数 (条)	腹鳍数 (条)	臀鳍数 (条)	全长/体长
野生群体	112.27 \pm 0.46	20.20 \pm 0.41	25.33 \pm 0.49	11.29 \pm 0.46	12.04 \pm 0.42	9.02 \pm 0.50	10.24 \pm 0.43	1.16 \pm 0.02
人工繁殖后代	112.20 \pm 0.41	20.13 \pm 0.35	25.40 \pm 0.51	11.15 \pm 0.72	12.05 \pm 0.22	9.05 \pm 0.22	10.00 \pm 0.78	1.15 \pm 0.03
群体类型	体长/体高	体长/头长	头长/吻长	头长/眼径	头长/眼间距	体长/尾柄长	尾柄长/尾柄高	背棘长/体长
野生群体	4.78 \pm 0.25	4.25 \pm 0.18	1.85 \pm 0.09	3.36 \pm 0.39	2.04 \pm 0.12	7.99 \pm 0.95	0.79 \pm 0.09	0.13 \pm 0.01
人工繁殖后代	4.11 \pm 0.32	4.18 \pm 0.27	1.96 \pm 0.10	4.03 \pm 0.48	2.18 \pm 0.11	8.61 \pm 1.04	1.17 \pm 0.13	0.16 \pm 0.02

采用方差、判别和主成分等方法分析了 2 个群体包括 7 个可数、11 个可量、20 个框架数据的形态特征。结果表明,9 个比例性状在野生和人工繁殖 2 个群体间差异均不显著,相似性状比例为 100%;29 个可量和框架数据在野生和人工繁殖两群体间差异均不显著,相似性状比例为 100%。主成分

分析得到因子 1-11 的方差累积贡献率在 85% 以上,但各自特征根极小,且对群体间总方差的贡献率小,无法用相互独立的因子来概括这 2 个群体鱼的形态差异。用逐步判别程序对经过校正的 29 个形态参数进行筛选,淘汰掉 26 个形态参数,得到 D_{4-1} /体长、眼径/体长、背棘长/体长等 3 个判别效果稍

微显著的形态参数。计算得到 2 个群体判别准确率及互相证实准确率较低,分别为 84.99%、85.04% (表 3),即亚东鲑野生和人工繁殖后代 2 个群体易发生错判,也进一步证实了它们间不存在显著的形态差异。

表 3 亚东鲑 2 个群体可量性状和框架性状判别结果

项目	判入尾数(尾)		判别准确率 P_1 (%)	互相证实判入尾数(尾)		互相证实 P_2 (%)
	人工繁殖后代	野生		人工繁殖后代	野生	
人工繁殖后代	25	5	83.30	25	4	86.21
野生群体	4	26	86.67	5	26	83.87
综合判别准确率			84.99			85.04

2.2 亚东鲑野生和人工繁殖群体的微卫星 DNA 多态性分析
采用 9 对微卫星引物扩增出 10 个多态性座位,获得 55 个等位基因,平均每个座位扩增出 5.5 个等位基因。不同的微卫星扩增出的等位基因数量不同,其中最多的是引物 Strutta58,共扩增出 10 个等位基因,最少的是引物 Str43INRA,共扩增出 2 个座位及 5 个等位基因(表 4)。另外,不同微卫星引物在 2 个群体中可扩增出不同的基因数,如引物 Strutta58 在亚东鲑人工繁殖群体中扩增出 8 个等位基因,而在野生群体中扩增出 5 个等位基因,且有的个体中出现了无效等位基因。

表 4 亚东鲑人工繁殖和野生群体 10 个位点的不同等位基因大小和频率

等位基因	人繁群体	野生群体	等位基因	人繁群体	野生群体	等位基因	人繁群体	野生群体
Str543INRA			BS131			Strutta58		
123	0.100 0	0.100 0	146	0	0.300 0	103	0.166 7	0.583 3
127	0.333 3	0.300 0	150	0	0.066 7	115	0.100 0	0.250 0
133	0.133 3	0.133 3	155	0.066 7	0	123	0	0.083 3
147	0.433 3	0.466 7	160	0.1	0	127	0.066 7	0
SsoSL417			165	0.3	0.1333	130	0.033 3	0
176	0	0.466 7	170	0.133 3	0	135	0.066 7	0
180	0.066 7	0.533 3	175	0.066 7	0	145	0.033 3	0
210	0.600 0	0	180	0.333 3	0.133 3	150	0	0.041 7
217	0.333 3	0	T3-13			160	0.066 7	0
Ssa85			190	0.033 3	0.133 3	166	0.466 7	0.041 7
116	0.066 7	0.466 7	195	0.300 0	0.133 3	Ssa197		
123	0.200 0	0.533 3	200	0.100 0	0.266 7	133	0.033 3	0.433 3
136	0.733 3	0	210	0.066 7	0.100 0	135	0.233 3	0.133 3
Strutta12			217	0.033 3	0.133 3	138	0.700 0	0.266 7
123	0	0.133 3	225	0.300 0	0	142	0.033 3	0.100 0
135	0.200 0	0.200 0	229	0.066 7	0.066 7	180	0	0.066 7
143	0.166 7	0.266 7	238	0.033 3	0	Str43INRA-1		
155	0.300 0	0.100 0	242	0.066 7	0	147	0.066 7	1.000 0
160	0.100 0	0.133 3	Str43INRA-2			161	0.733 3	0
170	0.200 0	0.166 7	180	0.066 7	0.833 3	170	0.200 0	0
185	0.033 3	0	190	0.933 3	0.166 7			

从表 5 中可以看出,座位 Str43INRA-1 和 Str43INRA-2 在亚东鲑 2 个群体中均严重偏离哈代-温伯格平衡,其余 8 个座位在 2 个群体中均符合哈代-温伯格平衡。计算得亚东鲑人工繁殖群体和野生群体的平均等位基因数分别是 4.8、4.0,平均观测杂合度分别是 0.626 7、0.641 7,平均基因多样性指数均为 0.571 9。人工繁殖群体平均等位基因数多于野生群体,而人工繁殖群体平均观测杂合度略小于野生群体,但差异都不显著。

3 讨论与结论

3.1 亚东鲑人工繁殖后代与野生群体的形态特征

亚东鲑人工繁殖后代与野生群体在形态学上差异不显著。在 7 个可数性状中,鳍式和鳞式都相似,没有差异;9 个比例性状在两群体间差异均不显著;29 个可量和框架数据在 2 个群体间的差异也不显著,相似性状比例为 100%;主成分分析和判别分析也进一步证实了它们之间不存在显著性形态差异。亚东鲑渔场建于亚东河边并直接把河水引入池中进行流水养殖和繁育,养殖环境如水质、水温、光照、溶氧、饵料等

与亚东河自然条件基本一致,2 个群体在形态学上差异不显著,表明人工繁殖后代没有因人工繁殖和养殖操作产生形态遗传特征的改变。

3.2 亚东鲑 2 个群体的微卫星 DNA 的多态性

微卫星无效等位基因普遍存在于微生物、动物、植物等众多物种中。微卫星侧翼序列变异、大片段等位基因丢失、不同微卫星位点对 DNA 质量要求差异等都是造成无效等位基因的原因^[17]。本研究所用微卫星引物都通过筛选所得,且不存在大片段等位基因丢失现象,因此主要原因可能是由于样品采集路途遥远、保存条件有限而导致 DNA 样品质量不太符合微卫星位点的要求。另外,微卫星无效等位基因具有隐性性,且在杂合子个体中表现更为常见^[17],这与本研究中人工繁殖群体杂合度比野生群体低相符,野生群体无效等位基因出现更多。因此,10 个微卫星位点中 8 个位点都出现无效等位基因,导致各位点基因频率在两群体中具有一定的差异,但结合各位点杂合度等分析两群体遗传差异不明显。

引物 Str43INRA 扩增出 2 个位点为 Str43IRNA-1、Str43IRNA-2。根据鲤鱼^[18]和草鱼^[19]相关报道可以推测,出

表 5 亚东鲑野生和人工繁殖群体在 10 个微卫星位点的等位基因数量(N)、观测纯合度($1-H_o$)、期望纯合度($1-H_e$)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)和平均杂合度(H_a)

位点	人工繁殖亚东鲑						野生亚东鲑					
	N	$1-H_o$	H_o	$1-H_e$	H_e	H_a	N	$1-H_o$	H_o	$1-H_e$	H_e	H_a
Str543INR	30	0.133 3	0.866 7	0.303 4	0.696 6	0.668 9	30	0.000 0	1.000 0	0.312 6	0.687 4	0.668 9
SsoSL417	30	0.333 3	0.666 7	0.457 5	0.542 5	0.511 1	30	0.066 7	0.933 3	0.485 1	0.514 9	0.511 1
Ssa85	30	0.466 7	0.533 3	0.567 8	0.432 2	0.524 4	30	0.000 0	1.000 0	0.347 1	0.652 9	0.524 4
Strutta12	30	0.000 0	1.000 0	0.181 6	0.818 4	0.803 3	30	0.000 0	1.000 0	0.156 3	0.843 7	0.803 3
Strutta58	30	0.200 0	0.800 0	0.246 0	0.754 0	0.657 8	24	0.583 3	0.416 7	0.387 7	0.612 3	0.657 8
BS131	30	0.333 3	0.666 7	0.211 5	0.788 5	0.748 9	30	0.000 0	1.000 0	0.239 1	0.760 9	0.748 9
T3-13	30	0.133 3	0.866 7	0.179 3	0.820 7	0.813 3	30	0.200 0	0.800 0	0.137 9	0.862 1	0.813 3
Str43INRA-1	30	0.466 7	0.533 3	0.567 8	0.432 2	0.208 9	30	1.000 0	0.000 0	1.000 0	0.000 0	0.208 9
Str43INRA-2	30	0.866 7	0.133 3	0.871 3	0.128 7	0.201 1	30	0.800 0	0.200 0	0.712 6	0.287 4	0.201 1
Ssa197	30	0.800 0	0.200 0	0.531 0	0.469 0	0.581 1	30	0.933 3	0.066 7	0.266 7	0.733 3	0.581 1
平均	30	0.373 3	0.626 7	0.411 7	0.588 3		24.4	0.358 3	0.641 7	0.404 5	0.595 5	
标准差		0.284 9	0.284 9	0.226 7	0.219 9			0.423 2	0.423 2	0.268 1	0.268 1	

现这种情况是因为亚东鲑曾经经历过特有的全基因组重复^[20]。杂合度、等位基因多样性和多态性位点的比例等是评估遗传多样性最常用的指标^[21]。本研究发现,亚东鲑野生群体和人工繁殖后代中的微卫星杂合子均严重缺乏,位点 Ssa85 在 2 个群体均严重偏离哈代-温伯格平衡,人工选择、迁移、突变、近交等都有可能产生该现象。亚东鲑最早引入亚东河并栖息下来时的个体数量少,导致遗传瓶颈和漂变的发生可能是杂合子急剧减少和检测到偏离哈代-温伯格平衡的主要原因。本研究表明,亚东鲑人工繁殖群体的平均等位基因数大于野生群体,也从不同角度证明亚东鲑野生资源正在经历一个急剧衰退的过程,需要加强亚东鲑的保护性繁育和增殖。

豪富华等报道亚东鲑野生群体的平均观测杂合度分别是 0.708 3,而本研究的亚东鲑野生群体、人工繁殖后代的观测杂合度为 0.641 7、0.626 7,均显著低于 2006 年所取的亚东鲑野生群体的杂合度,这说明亚东鲑种群的遗传多样性处于下降趋势^[10]。同时,亚东鲑人工繁殖群体的遗传杂合度略小于野生群体,但 2 个群体遗传杂合度差异不显著,说明亚东鲑渔场多年来陆续收集和培育的野生亲本群体基本保留了目前野生群体的遗传多样性,应可用于野生资源的恢复和增殖工作。

参考文献:

[1]张春霖,王文滨. 西藏鱼类初篇[J]. 动物学报,1962,14(4): 529-536.

[2]MacCrimmon H R, Marshall T L, Gots B L, et al. World distribution of brown trout, *Salmo trutta*: further observations[J]. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 1970, 27(4): 811-818.

[3]武云飞,吴翠珍. 青藏高原鱼类[M]. 成都:四川科学技术出版社,1982.

[4]Nelson J S. Fishes of the world[M]. 3rd ed. New York: John Wiley and Sons, 1994: 91-105.

[5]西藏自治区水产局. 西藏鱼类及其资源[M]. 北京:中国农业出版社,1995.

[6]彭仕盛. 西藏鱼类及其资源[M]. 北京:中国农业出版社,1995: 32-33.

[7]蒲德永,王志坚,赵海鹏,等. 亚东鲑消化系统的形态学和组织学观察[J]. 四川动物,2006,25(4): 825-828.

[8]豪富华,陈毅峰,唐卫星,等. 亚东鲑的年龄与生长的研究[J]. 水生生物学报,2007,31(5): 731-737.

[9]豪富华,陈毅峰,蔡 斌. 西藏亚东鲑的胚胎发育[J]. 水产学报,2006,30(3): 289-296.

[10]豪富华. 亚东鲑的生物学和遗传多样性研究[D]. 武汉:中国科学院研究生院水生生物研究所,2006: 15-102.

[11]孟 玮,杨天燕,海 萨,等. 基于线粒体 *CO I* 基因序列的亚东鲑 DNA 条形码研究[J]. 水产学杂志,2010,23(1): 6-10.

[12]Estoup A, Largiadèr C R, Cornuet J M. Juxtaposed microsatellite systems as diagnostic markers for admixture: an empirical evaluation with brown trout (*Salmo trutta*) as model organism[J]. Molecular Ecology, 2000, 9(11): 1873-1886.

[13]Slettan A, Olsaker I. Atlantic salmon, *Salmo salar*, Microsatellites at the SSOSL25, SSOSL85, SSOSL311, SSOSL417 loci [J]. Animal Genetics, 1995, 26(4): 281-282.

[14]O'Reilly P T, Hamilton L C, McConnell S K, et al. Rapid analysis of genetic variation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) by PCR multiplexing of dinucleotide and tetranucleotide microsatellites[J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1996, 53(10): 2292-2298.

[15]Poteaux C, Bonhomme F, Berrebi P, et al. Microsatellite polymorphism and genetic impact of restocking in Mediterranean brown trout (*Salmo trutta* L.) [J]. Heredity, 1999, 82: 645-653.

[16]Estoup A, Presa P, Krieg F, et al. (CT)_n and (GT)_n microsatellites: a new class of genetic markers for *Salmo trutta* L. (brown trout) [J]. Heredity, 1993, 71(5): 488-496.

[17]文亚峰, Uchiyama K, 韩文军, 等. 微卫星标记中的无效等位基因[J]. 生物多样性, 2013, 21(1): 117-126.

[18]Poel J J V D, Komen J, Crooijmans R P M A, et al. Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. Animal Genetics, 1997, 28(2): 129-134.

[19]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.

[20]van de Peer Y, Taylor J S, Meyer A. Are all fishes ancient polyploids? [J]. J Struct Funct Genomics, 2003, 3(1/2/3/4): 65-73.

[21]Nei M, Maruyama T, Chakraborty R. Bottleneck effect and genetic variability in populations[J]. Evolution, 1975, 29: 1-10.