

4 种经济鲍遗传多样性与分化的研究*

黎中宝** 刘文彪 韩 芳 李 华 陈孝德

(集美大学水产学院 厦门 361021)

摘 要 应用聚丙烯酰胺凝胶电泳技术研究盘鲍(*Haliotis discus discus*)、皱纹盘鲍(*H. discus hannai*)、九孔鲍(*H. diversicolor supertexta*)养殖群体和杂色鲍(*H. diversicolor diversicolor*)自然群体遗传多样性与分化结果表明,4 种经济鲍的遗传多样性较低,盘鲍群体平均每位点等位基因数目、多态位点百分数($P_{0.99}\%$)、观察杂合度和期望杂合度分别为 1.2、16.67、0.109 和 0.061,皱纹盘鲍群体分别为 1.10、11.11、0.093 和 0.056,杂色鲍群体分别为 1.44、33.33、0.106 和 0.118,九孔鲍群体分别为 1.50、33.33、0.135 和 0.128。盘鲍在 *Mdh-1* 位点上符合 H-W 平衡标准($P>0.05$)而在位点 *Est-3*($F = -0.753$)和 *Sod-1*($F = -1.000$)上表现出杂合子过量,皱纹盘鲍在位点 *Est-3* 符合 H-W 平衡标准($P>0.05$)而在位点 *Est-3*($F = -0.371$)和 *Sod-1*($F = -1.000$)上表现出杂合子过量,杂色鲍在位点 *Est-3*、*Mdh-1* 和 *Amy-1* 上符合 H-W 平衡标准($P>0.05$)而在位点 *Aat-1*($F = -0.486$)和 *Mdh-1*($F = -0.210$)上表现出杂合子过量,在位点 *Est-3*($F = 0.597$)、*Amy-1*($F = 0.330$)和 *Me-1*($F = 1.000$)上表现出杂合子缺失,九孔鲍在位点 *Est-3*、*Sdh-2*、*Amy-1* 和 *Mdh-1* 上符合 H-W 平衡标准($P>0.05$)而在位点 *Aat-1*($F = -0.477$)和 *Amy-1*($F = -0.149$)上表现出杂合子过量,在位点 *Est-2*($F = 0.540$)上表现出杂合子缺失。盘鲍和皱纹盘鲍的遗传距离为 0.055,九孔鲍和杂色鲍的遗传距离为 0.016。

关键词 盘鲍 皱纹盘鲍 杂色鲍 九孔鲍 等位酶 遗传多样性 遗传分化 杂合子缺失

Genetic diversity and differentiation in four kinds of economic abalone. LI Zhong-Bao ,LIU Wen-Biao ,HAN Fang ,LI Hua ,CHEN Xiao-Da (Fisheries College Jimei University ,Xiamen 361021 ,China) ,*CJEA* 2005 ,13(4) :15~19

Abstract Genetic diversity and differentiation in 4 kinds of economic abalones were investigated using the assay of vertical slab polyacrylamide gel electrophoresis. Low level of genetic diversity in 4 kinds of economic abalones was found. Mean number of alleles per locus ,percentage of polymorphic loci ,observed heterozygosities and expected heterozygosities were 1.2 ,16.67 ,0.109 and 0.061 in *Haliotis discus discus* respectively ;1.10 ,11.11 ,0.093 and 0.056 in *H. discus hannai* respectively ;1.44 ,33.33 ,0.106 and 0.118 in *H. diversicolor diversicolor* respectively ;1.50 ,33.33 ,0.135 and 0.128 in *H. diversicolor supertexta* respectively. The genotypic distribution at *Mdh-1* was found to be agreement with that expected from the Hardy-Weinberg equilibrium($P>0.05$) ,and there were heterozygote excess in *Est-3*($F = -0.753$) and *Sod-1*($F = -1.000$) in *H. discus discus*. The genotypic distribution at *Est-3* was found to be agreement with that expected from the Hardy-Weinberg equilibrium($P>0.05$) ,there were heterozygote excess in *Est-3*($F = -0.371$) and *Sod-1*($F = -1.000$) in *H. discus hannai*. The genotypic distribution at *Est-3* ,*Mdh-1* and *Amy-1* was found to be agreement with that expected from the Hardy-Weinberg equilibrium($P>0.05$) ,there were heterozygote deficiency in *Est-2*($F = 0.597$) ,*Amy-1*($F = 0.330$) and *Me-1*($F = 1.000$) ,and heterozygote excess in *Aat-1*($F = -0.486$) and *Mdh-1*($F = -0.210$) in *H. diversicolor diversicolor*. The genotypic distribution at *Est-3* ,*Sdh-2* ,*Amy-1* and *Mdh-1* was found to be agreement with that expected from the Hardy-Weinberg equilibrium($P>0.05$) ,there were heterozygote deficiency in *Est-2*($F = 0.540$) and heterozygote excess in *Aat-1*($F = -0.477$) and *Amy-1*($F = -0.149$) in *H. diversicolor supertexta*. The results showed that genetic distance was 0.0550 between *H. discus discus* and *H. discus hannai* ,and that was 0.016 between *H. diversicolor diversicolor* and *H. diversicolor supertexta*.

Key words *Haliotis discus discus* ,*H. discus hannai* ,*H. diversicolor diversicolor* ,*H. diversicolor supertexta* ,Allozyme , Genetic diversity ,Genetic differentiation ,Heterozygote deficiency

(Received Jan. 31 ,2005)

盘鲍(*Haliotis discus discus*)广泛分布于中国、日本和韩国,皱纹盘鲍(*H. discus hannai*)广泛分布于日

* 国家自然科学基金项目(30231013)和福建省自然科学基金项目(B0110036)资助

**通讯作者

收稿日期 2005-01-31

本和朝鲜杂色鲍(*H. diversicolor diversicolor*)和九孔鲍(*H. diversicolor supertexta*)广泛分布于中国和日本^[1]。由于盘鲍和皱纹盘鲍在形态和生态上非常相似,杂色鲍和九孔鲍在形态和生态上也非常相似,它们的分类地位尚不清楚,因此研究它们的分类地位十分必要。近年来鲍增殖业已成为我国海水养殖新的经济增长点,随着养殖规模的扩大、集约化程度的不断提高及养殖环境的日趋恶化,鲍种质严重下降,已成为鲍健康养殖、持续生产的重要制约因素,并日益受到人们的关注。

等位酶电泳技术已应用于锯缘青蟹^[2]、牙鲆^[3]以及鲍属中其他物种 *H. laevigata* Donovan^[14]、*H. rubra* Leach^[14,15]、*H. fulgens*^[16]和 *H. roei* Grey^[17]的研究中,但用等位酶电泳技术研究和评估这4种经济鲍遗传多样性及其分化尚未见报道。笔者在对4种经济鲍等位酶遗传分析^[4,5]、九孔鲍的遗传结构^[18]和用RAPD技术研究4种鲍的亲缘关系基础上^[6],进一步实验研究了这4种经济鲍遗传多样性及分化,为4种经济鲍种质资源保护和开发利用提供理论依据。

1 实验材料与方法

2002年2月皱纹盘鲍养殖群体取自山东省荣成,共36粒,长3~5cm;盘鲍养殖群体取自福建省东山,共36粒,长3~5cm;杂色鲍自然群体取自海南省,共32粒,长4~8cm;九孔鲍养殖群体取自福建省东山(1个群体)和漳浦(3个群体),每群体各取32粒,共128粒,长4~8cm。所有样品活体(充氧)当天带回实验室解剖,取活体肌肉组织0.5g,样品加入约2~3倍体积的Tris-HCl组织缓冲液(0.01mol/L, pH=7.0)冰浴研成匀浆,于4℃1.2万r/min离心15min,弃去沉淀取其上清液备用。本实验采用垂直板型不连续聚丙烯酰胺凝胶(PAGE)电泳,共检测16个酶系统,其中图片清晰可供分析的有超氧化物歧化酶(SOD, E.C.1.15.1.1)、山梨醇脱氢酶(SDH, E.C.1.1.1.14)、乳酸脱氢酶(LDH, E.C.1.1.1.27)、天冬氨酸转氨酶(AAT, E.C.2.6.1.1)、异柠檬酸脱氢酶(IDH, E.C.1.1.1.42)、酯酶(EST, E.C.3.1.1.-)、苹果酸酶(ME, E.C.1.1.1.40)、苹果酸脱氢酶(MDH, E.C.1.1.1.37)、乙醇脱氢酶(ADH, E.C.1.1.1.1)和淀粉酶(AMY, E.C.3.2.1.1)。

表1 4种经济鲍的等位基因频率

Tab.1 Allele frequencies in 4 kinds of abalone

位点 Loci	等位基因 Alleles	盘鲍 <i>H. discus</i> <i>discus</i>	皱纹盘鲍 <i>H. discus</i> <i>hannai</i>	杂色鲍 <i>H. diversicolor</i> <i>diversicolor</i>	九孔鲍 <i>H. diversicolor</i> <i>supertexta</i>
<i>Adh-1</i>	A	1	1	1	1
<i>Ldh-1</i>	A	1	1	1	1
<i>Sod-1</i>	A	0.500	0.500	1	1
	B	0.500	0.500	0	0
<i>Sod-2</i>	A	1	1	1	1
<i>Sod-3</i>	A	0	0	1	1
<i>Est-1</i>	A	1	1	1	1
	B	0	0	0.292	0.531
<i>Est-2</i>	A	1	1	0.708	0.469
	B	0	0	0.938	0.807
	C	0	0	0.063	0.172
<i>Est-3</i>	A	0.479	0.583	0	0.021
	B	0.521	0.417	0	0.182
<i>Mdh-1</i>	A	0.043	1	0.708	0.818
	B	0.957	0	0	0
<i>Mdh-2</i>	A	1	1	1	1
<i>Me-1</i>	A	1	1	0.167	0
	B	0	0	0.833	1
<i>Idh-1</i>	A	1	1	1	1
<i>Sdh-1</i>	A	1	1	1	1
<i>Sdh-2</i>	A	0	0	1	0.955
	B	0	0	0	0.005
<i>Aat-1</i>	A	1	1	0.083	0.068
	B	0	0	0.354	0.193
	C	0	0	0.146	0.307
	D	0	0	0.417	0.432
<i>Aat-2</i>	A	1	1	0	0
<i>Aat-3</i>	A	1	1	0	0
<i>Amy-1</i>	A	1	1	0.896	0.526
	B	0	0	0.104	0.474
<i>Amy-2</i>	A	1	1	1	1
<i>Amy-3</i>	A	1	1	1	1

电泳条件和染色方法参照 Taniguchi N. 等^[19]、曾呈奎等^[7]和王中仁^[8]方法,等位酶的命名参照 Shaklee J.B. 等方法^[20]。为评估4种鲍遗传多样性,在Hardy-Weinberg平衡下计算出平均每位点等位基因数目(A)、多态位点百分数(P%)、期望杂合度(He)和观察杂合度(Ho)。最常见的等位基因出现频率小于或等于0.99的位点被认为是多态位点(P_{0.99}%)。本实验采用BIOSYS-1软件处理数据^[21]。

2 结果与分析

2.1 4种经济鲍群体等位基因频率及 Hardy-Weinberg 平衡 χ^2 检验

4种经济鲍等位基因频率见表1,其18个位点的电泳图谱在所有样品中均清晰可见^[4,5]。盘鲍和皱纹盘鲍在所有位点分享大多数常见等位基因,除*Mdh-1*位点外等位基因频率非常相似,盘鲍中检测出*Mdh-1B*基因,但在皱纹盘鲍中未检测出。杂色鲍和九孔鲍在所有位点分享大多数常见等位基因,且等位基因频率非常相似。在九孔鲍中检测出*Est-3C*和*Sdh-2B*2个基因,但在杂色鲍中未检测出,却检测出*Me-1A*基因。*Sod-1*、*Sdh-2*、*Aat-2*和*Aat-3*4个位点可作为区别盘鲍、皱纹盘鲍与杂色鲍、九孔鲍的稳定遗传标记。

根据 Hardy-Weinberg 平衡标准进行 χ^2 检验和杂合子缺乏或过量系数研究(见表 2)结果表明,盘鲍养殖群体多态位点中 *Mdh-1* 位点符合 H-W 平衡标准($P > 0.05$),而 *Sod-1* 和 *Est-3* 位点均非常显著偏离 H-W 平衡($P < 0.01$);*Est-3* 位点表现出杂合子过量($F < 0, F = -0.753$),*Sod-1* 位点表现为全部杂合($F = -1.000, F < 0$)。皱纹盘鲍养殖群体多态位点中 *Est-3* 位点符合 H-W 平衡标准($P > 0.05$),*Sod-1* 位点非常显著偏离 H-W 平衡($P < 0.01$);*Est-3* 位点表现出杂合子过量($F < 0, F = -0.371$),*Sod-1* 位点表现为全部杂合($F = -1.000, F < 0$)。杂色鲍自然群体多态位点中 *Est-3*、*Mdh-1* 和 *Amy-1* 位点符合 H-W 平衡标准($P > 0.05$),*Est-2*、*Aat-1* 和 *Me-1* 位点均非常显著偏离 H-W 平衡($P < 0.01$);*Aat-1* 和 *Mdh-1* 位点表现出杂合子过量($F < 0, F = -0.486$ 和 $F = -0.210$),*Est-2* 和 *Amy-1* 位点表现出杂合子缺失($F > 0, F = 0.597$ 和 $F = 0.330$),*Me-1* 位点表现为杂合体完全缺失($F > 0, F = 1.000$)。九孔鲍养殖群体多态位点中 *Est-3*、*Sdh-2*、*Amy-1* 和 *Mdh-1* 位点符合 H-W 平衡标准($P > 0.05$),*Est-2* 和 *Aat-1* 位点均非常显著偏离 H-W 平衡($P < 0.01$);*Aat-1* 和 *Amy-1* 位点表现出杂合子过量($F < 0, F = -0.477$ 和 $F = -0.149$),*Est-2* 位点表现出杂合子缺失($F > 0, F = 0.540$)。多态位点的固定指数是测量遗传动态重要指标,也是测量近交衰退和远交衰退的重要参数^[22]。在盘鲍和皱纹盘鲍养殖群体中未发现杂合子缺失现象,但纯合位点(盘鲍有 15 个,皱纹盘鲍有 16 个)多于杂色鲍自然群体(12 个)和九孔鲍养殖群体(12 个)^[4,5]。杂合体缺失对鲍养殖业的可持续发展极为不利,尤其是杂合体完全缺失将导致有些基因从基因库中消失,造成种群遗传多样性的降低,从而降低鲍适应环境的能力。虹鲍(*H. iris*)养殖群体的位点 *Pgm* 杂合度下降,位点 *Sod* 遗传多样性丧失^[23]。疣鲍(*H. tuberculata*)的驯化种子 3 代 *Gpi*、*Pgm* 和 *Mdh3* 个位点较野生种有某些稀有基因缺失现象^[24]。关于杂合体缺失的原因争论很大,可能与自然选择、种群内交、Wahlund 效应、沉寂等位基因和性连锁座位等原因有关^[25]。杂合子在生长、繁殖能力及抗逆性等方面均强于纯合子,故研究杂合子具有重要现实意义。美洲牡蛎的杂合度与生长呈正相关关系^[9]。海湾扇贝杂合子和纯合子对环境的适应能力不同^[10]。因此鲍养殖可运用遗传改良(杂交育种等)提高其杂合度个体在群体中的比例方法来提高其生产力。

表 2 4 种经济鲍的观察杂合度、期望杂合度、固定指数和 H-W 平稳结果比较
Tab.2 Observed heterozygosities, expected heterozygosities, coefficients for heterozygote deficiency or excess (F) and test results of Hardy-Weinberg equilibrium (P) in 4 kinds of abalone

物种 Species	位点 Loci	观察杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	固定指数 F	卡方 χ^2	自由度 Freedom degree	P
盘 鲍	<i>Sod-1</i>	1.000	0.511	-1.000	23.000		0.000**
	<i>Est-3</i>	0.875	0.510	-0.753	12.859	1	0.000**
	<i>Mdh-1</i>	0.087	0.085	-0.045	0.023	1	0.879
皱纹盘鲍	<i>Sod-1</i>	1.000	0.511	-1.000	23.00	1	0.000**
	<i>Est-3</i>	0.667	0.496	-0.371	2.951	1	0.086
杂 色 鲍	<i>Est-2</i>	0.167	0.422	0.597	9.342	1	0.002**
	<i>Est-3</i>	0.125	0.120	-0.067	0.070	1	0.792
	<i>Aat-1</i>	1.000	0.687	-0.486	26.871	1	0.000**
	<i>Amy-1</i>	0.125	0.191	0.330	3.487	1	0.062
	<i>Me-1</i>	0.000	0.284	1.000	26.960	1	0.000**
	<i>Mdh-1</i>	0.500	0.422	-0.210	0.872	1	0.350
	<i>Est-2</i>	0.229	0.501	0.540	28.529	1	0.000**
九 孔 鲍	<i>Est-3</i>	0.302	0.320	0.051	1.572	3	0.666
	<i>Sdh-2</i>	0.010	0.010	-0.005	0.000	1	1.000
	<i>Aat-1</i>	1.000	0.681	-0.477	142.703	6	0.000**
	<i>Amy-1</i>	0.573	0.501	-0.149	1.983	1	0.159
	<i>Mdh-1</i>	0.323	0.300	-0.083	0.592	1	0.442

** $P < 0.01$ 为极显著性水平。

表 3 4 种经济鲍的遗传多样性*

Tab.3 Indices of genetic diversity in 4 kinds of abalone

遗传多样性参数 Indices of genetic diversity	盘 鲍 <i>H. discus discus</i>	皱纹盘鲍 <i>H. discus hannai</i>	杂色鲍 <i>H. diversicolor diversicolor</i>	九孔鲍 <i>H. diversicolor supertexta</i>
平均每位点等位基因数目(A)	1.20(0.100)	1.10(0.100)	1.44(0.180)	1.50(0.200)
平均多态位点百分数($P_{0.99}$ %)	16.67	11.11	33.33	33.33
观察杂合度(H_o)	0.10(0.071)	0.09(0.065)	0.10(0.060)	0.13(0.064)
期望杂合度(H_e)	0.06(0.039)	0.05(0.038)	0.11(0.048)	0.12(0.053)

* 括号内为标准差。

2.2 4 种经济鲍群体遗传多样性与遗传分化的度量

4 种经济鲍的遗传多样性见表 3,表 3 表明 4 种经济鲍平均每位点等位基因数目变化范围为 1.10(皱纹盘鲍)到 1.50(九孔鲍),多态位点百分数变化范围为 11.11(皱纹盘鲍)至 33.33(杂色鲍及九孔鲍),这比其他贝类的多态位点百分数低,合浦珠母贝(*Pinctada martensii* Dunker)的多态位点百分数为 46.1%^[11],褶牡蛎(*Crassostrea*

表4 4种经济鲍的遗传距离

Tab.4 Genetic distance between 4 kinds of abalone

物种 Species	遗传距离 Genetic distance			
	盘鲍 <i>H. discus</i> <i>discus</i>	皱纹盘鲍 <i>H. discus</i> <i>hamai</i>	九孔鲍 <i>H. diversicolor</i> <i>supertexta</i>	杂色鲍 <i>H. diversicolor</i> <i>diversicolor</i>
盘 鲍	—			
皱纹盘鲍	0.0550	—		
九孔鲍	0.2144	0.2638	—	
杂色鲍	0.1716	0.2006	0.0160	—

plicatula Gmelin)和太平洋牡蛎(*C. gigas* Thurberg)分别为55%~60%和55%^[12],海湾扇贝(*Argopecten irradians* Lamarck)为27.27%~36.36%^[13],但杂色鲍和九孔鲍和海湾扇贝基本一致。也低于48种贝类的平均值($P = 0.471 \pm 0.159$)^[26]。在没有形态和其他数量特征情况下,等位酶电泳能对种群内变异水平作出独立的评估^[27]。4种经济鲍群体的观察杂合度也较低,盘鲍、皱纹盘鲍、杂色鲍和九孔鲍分别为0.109、0.093、0.106和0.135(见表3),这与合浦珠母贝的观察杂合度基本一致($H_o = 0.1122$)^[11],

但低于褶牡蛎($H_o = 0.139 \sim 0.216$)和太平洋牡蛎($H_o = 0.195$)^[12],而高于海湾扇贝($H_o = 0.064 \sim 0.075$)的观察杂合度^[13],也低于48种贝类的平均值($H_o = 0.147$)^[26]。与鲍属其他物种相比,与*H. rubra*^[15]($H_o = 0.136$)及*H. fulgens*^[16]($H_o = 0.119$)的观察杂合度基本一致,但低于*H. laevigata*^[14]($H_o = 0.195$)的观察杂合度。然而这样的评估显著依靠所分析位点的数目和类型^[28]。等位酶所检测的变异性反应基因组其他位点遗传变异的相对量^[29]。期望杂合度的变化范围为0.05(皱纹盘鲍)至0.12(九孔鲍)。

研究表明盘鲍和皱纹盘鲍在形态上非常相似,杂色鲍和九孔鲍在形态上也非常相似。盘鲍群体和皱纹盘鲍群体间的遗传距离为0.0550,杂色鲍群体和九孔鲍群体间的遗传距离为0.0160(见表4)。

3 小结与讨论

实验结果表明盘鲍的*Mdh-1*位点,皱纹盘鲍的*Est-3*位点,杂色鲍的*Est-3*、*Mdh-1*和*Amy-1*位点以及九孔鲍的*Est-3*、*Sdh-2*、*Amy-1*和*Mdh-1*位点均符合H-W平衡标准($P > 0.05$),但在1个非随机交配的种群里观察杂合度(H_o)不等于期望杂合度(H_e),实际的等位基因频率就会偏离H-W平衡。盘鲍的*Sod-1*和*Est-3*位点,皱纹盘鲍的*Sod-1*位点,杂色鲍的*Amy-1*、*Est-2*、*Aat-1*和*Me-1*位点以及九孔鲍的*Est-2*和*Aat-1*位点均非常显著偏离H-W平衡($P < 0.01$),说明这些位点的繁殖方式不是随机交配的或是基因成分发生变化,主要是杂合体缺失或纯合体过量、或最常见基因纯合体、常见/稀有杂合体、稀有纯合体和其他杂合体的比例失调所致。另一方面影响偏离H-W平衡的因素是多方面的,不仅受遗传学规律的控制,且受外界环境的影响。目前鲍养殖均采用半封闭型或封闭型养殖,人为作用等能对遗传结构产生严重影响。为避免稀有等位基因在养殖种群中丢失,人工育苗时应注意种群的有效大小,可通过提高不同来源的亲鲍数量及雄雌比例提高养殖群体的杂合度,若有效种群小,杂合性丧失率则高,不利变异加大,加速群体退化。

目前养殖尚无人工选择育种的鲍鱼,瓶颈效应和自然选择可能是遗传多样性丧失的主要原因。封闭和半封闭养殖而导致的鲍内交可能是其遗传多样性丧失的另外原因之一。从遗传观点看盘鲍的*Sod-1*、*Est-3*和*Mdh-1*,皱纹盘鲍的*Sod-1*和*Est-3*,杂色鲍的*Est-2*、*Est-3*、*Mdh-1*、*Me-1*、*Aat-1*和*Amy-1*及九孔鲍的*Est-2*、*Est-3*、*Mdh-1*、*Aat-1*和*Amy-1*可视作进行其群体遗传多样性评估和选择育种的有用生化遗传标记。

遗传分析表明盘鲍和皱纹盘鲍亲缘关系较近,杂色鲍和九孔鲍亲缘关系较近,*Sod-1*、*Sdh-2*、*Aat-2*和*Aat-3*4个位点是区分盘鲍和皱纹盘鲍与杂色鲍和九孔鲍的稳定遗传标记。Nei认为遗传距离D在0~0.01间属种群水平,0.01~0.1间属亚种水平,0.10~1间属种的水平^[30]。据此盘鲍和皱纹盘鲍可能为同1种2个亚种,九孔鲍和杂色鲍也可能为同1种2个亚种。Naganuma T.等^[31]用18S rDNA的方法将盘鲍和皱纹盘鲍区分开,并认为盘鲍和皱纹盘鲍是同1种2个亚种。Lopata A.L.等^[32]用单克隆抗体的方法将九孔鲍和杂色鲍2个亚种区分开。笔者将对同一批样本展开进一步遗传研究,如微卫星和mt DNA分析等,这对严格界定4者的分类地位很有必要。

参 考 文 献

- 1 聂宗庆,王素平. 鲍养殖实用技术. 北京:中国农业出版社,2000.4~23
- 2 黎中宝,李少菁,王桂忠等. 锯缘青蟹等位酶的生化遗传研究. 中国生态农业学报,2004,12(2):61~64
- 3 黎中宝,邹志华,常建波. 牙鲆群体生化遗传学研究—II. 等位酶的生化遗传分析. 中国生态农业学报,2003,11(3):9~12
- 4 黎中宝,田柱,朱冬蕊等. 九孔鲍和杂色鲍等位酶的生化遗传分析. 海洋科学,2004,28(2):27~31
- 5 黎中宝,邓书林,许秀芹等. 盘鲍和皱纹盘鲍等位酶的生化遗传分析. 海洋科学,2004,28(4):43~49
- 6 黎中宝. 用RAPD技术研究几种鲍亲缘关系. 中国生态农业学报,2004,12(4):60~63

- 7 曾呈奎, 相建海. 海洋生物技术. 济南: 山东科学技术出版社, 1998. 269~282
- 8 王中仁. 植物等位酶分析. 北京: 科学出版社, 1996. 77~119
- 9 张国范, 张福绥. 贝类遗传多样性及其永续利用(II). 海洋科学, 1993, 9(9): 18~21
- 10 薛钦昭, Sheila, 张福绥等. 海湾扇贝不同种群在磷酸葡萄糖变位酶基因位点的遗传结构与性状. 海洋与湖沼, 1999, 30(4): 381~389
- 11 李广丽, 杜晓东, 叶富良. 合浦珠母贝同工酶的电泳分析. 中国水产科学, 2001, 8(2): 17~22
- 12 杨锐, 喻子牛, 陈再忠等. 山东沿海褶牡蛎与太平洋牡蛎等位基因酶的遗传变异. 水产学报, 2000, 24(2): 130~133
- 13 张喜昌, 梁玉波, 刘仁沿等. 海湾扇贝各养殖群体遗传多样性的研究. 海洋学报, 2002, 24(2): 107~113
- 14 Brown L. D., Murray N. D. Population genetics, gene flow and stock structure in *Haliotis rubra* and *Haliotis laevis*. Abalone of the world: biology, fisheries and culture. Oxford: Blackwell Scientific, 1992. 24~33
- 15 Brown L. D. Genetic variation and population structure in the blacklip abalone, *Haliotis rubra*. Aust. J. Mar. Freshwater Res., 1991, 42: 77~90
- 16 Zúñiga G., Guzmán S. A., Del Próo., et al. Population genetic analysis of the abalone *Haliotis fulgens* (mollusca Gastropoda) in Baja California, Mexico. J. Shellfish Res., 2000, 19: 853~859
- 17 Hancock B. Genetic subdivision of Roe's abalone, *Haliotis roei* Grey (mollusca Gastropoda) in south-western Australia. Mar. Freshwater Res., 2000, 51: 679~687
- 18 Li Z. B., Chen C. S. Genetic structure of cultured *H. diversicolor supertexta* (Reeve) populations. Journal of Shellfish Research, 2004, 23(4): 1135~1138
- 19 Taniguchi N., Sugama K. Genetic variation and population structure of red sea bream in the coastal waters of Japan and the East China Sea. Nippon Suisan Gakkaishi, 1990, 56(7): 1069~1077
- 20 Shaklee J. B., Allendorf F. W., Morizot D. C., et al. Genetic nomenclature for protein-coding loci in fish. Trans. Amer. Fish. Soc., 1990, 119: 2~15
- 21 Swofford D. L., Selander P. K. A computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. J. Hered., 1989, 72: 281~283
- 22 Barrett S. C. H., Kohn J. K. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: implications for conservation. Genetics and Conservation of Rare Plants. New York: Oxford Univ. Press, 1991. 3~30
- 23 Smith P. J., Conroy A. M. Loss of genetic variation in hatchery-produced abalone, *Haliotis iris*. N. Z. J. Mar. Freshwater Res., 1992, 26(1): 81
- 24 Mgaya L. D. Genetic variation at three polymorphic loci in wild and hatchery stocks of the abalone, *Haliotis tuberculata* Linnaeus. Aquaculture, 1995, 136(1): 71~80
- 25 Zouros E., Foltz D. W. Possible explanations of heterozygote deficiency in bivalve mollusks. Malacologia, 1984, 25(2): 583~591
- 26 Singh S. M., Green R. H. Excess of allozyme homozygosity in marine mollusks and its possible biological significance. Malacologia, 1984, 25(2): 569~581
- 27 Ketut S., Jhon H. H. Genetic characterisation in the mud crab *Scylla* (Brachyura: Portunidae). Mud Crab Aquaculture and Biology, 1999, 78: 43~47
- 28 Allendorf F. W., Utter F. M. Population genetics. Fish Physiology. New York: Academic Press, 1979. 407~454
- 29 McAndrew B. J., Majumder K. C. Tilapia stock identification using electrophoretic markers. Aquaculture, 1983, 30: 249~261
- 30 Nei M. Molecular evolutionary genetics. New York: Columbia University Press, 1987. 512
- 31 Naganuma T., Hisadome K., Shiraishi K., et al. Molecular distinction of two resembling abalone, *Haliotis discus discus* and *Haliotis discus hannai* by 18S rDNA sequences. J. Mar. Biotechnol., 1998, 6: 59~61
- 32 Lopata A. L., Luijckx T., Fenimore B., et al. Development of a monoclonal antibody detection assay for species-specific identification of abalone. Mar. Biotechnol., 2002, 4: 454~462