

## 微卫星 DNA 标记用于三疣梭子蟹 家系亲子关系的鉴定

刘 磊<sup>1,2</sup> 李 健<sup>1\*</sup> 刘 萍<sup>1</sup> 高保全<sup>1</sup>

陈 萍<sup>1</sup> 戴芳钰<sup>1</sup> 王学忠<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

(<sup>2</sup>中国海洋大学水产学院, 青岛 266003)

(<sup>3</sup>昌邑市水产养殖有限责任公司, 潍坊 261312)

**摘 要** 以定向交尾技术构建的 4 个谱系清晰的家系为材料, 检测两对微卫星标记 Pot17 和 Pot42 在三疣梭子蟹家系鉴别中的应用效果。结果表明, 两个位点在 4 个家系的 5 个已知父母本和 98 个后代中共检测出 11 个等位基因, 其中 Pot17 位点 6 个, Pot42 位点 5 个。分析显示, 上述检出的等位基因频率在 0.029 1 和 0.359 2 之间, Pot17 和 Pot42 位点的期望杂合度分别为 0.774 0 和 0.757 7, 观测杂合度分别为 0.621 4 和 0.679 6, 多态信息含量分别为 0.737 3 和 0.712 9。根据已知亲本和子代基因型, 推断出了 4 个家系全部亲本的基因型。Pot17 和 Pot42 微卫星标记具有达 0.995 的较高累积个体识别率, 可以用于三疣梭子蟹的亲子关系鉴定。

**关键词** 三疣梭子蟹 微卫星标记 家系 亲缘鉴定

**中图分类号** Q959.223<sup>+</sup>.63; Q173 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2010)05-0076-07

## Applicability of microsatellite DNA markers in parentage determination of *Portunus trituberculatus*

LIU Lei<sup>1,2</sup> LI Jian<sup>1\*</sup> LIU Ping<sup>1</sup> GAO Bao-quan<sup>1</sup>

CHEN Ping<sup>1</sup> DAI Fang-yu<sup>1</sup> WANG Xue-zhong<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

(<sup>2</sup>College of Fisheries, Ocean University of China, Qingdao 266003)

(<sup>3</sup>Changyi Aquaculture Ltd., Weifang 261312)

**ABSTRACT** Based on four families obtained by directional mating techniques, the application of two pairs of microsatellite markers, Pot17 and Pot42, in *Portunus trituberculatus* parentage determination was explored. Eleven alleles were found at two microsatellite DNA loci (six at locus Pot17 and five at locus Pot42 respectively) by investigating 5 parents and 98 offsprings in the four families. The analysis results showed that the gene frequencies detected by locus Pot17 and Pot42 were between 0.029 1 and 0.359 2, expected heterozygosity was 0.774 0

国家“863”高技术研究发展计划(2006AA10A406)、国家自然科学基金(30871933、40806067)和青岛市科技计划项目(07-2-3-5-jch)共同资助  
\* 通讯作者。E-mail:lijian@ysfri.ac.cn, Tel:(0532)85830183

收稿日期:2009-10-23;接受日期:2009-12-25

作者简介:刘 磊(1984-),男,硕士研究生,主要从事甲壳动物遗传育种研究。E-mail:liulei198477@163.com, Tel:(0532)85836690

at locus Pot17 and 0.757 7 at locus Pot42, observed heterozygosity was 0.621 4 at locus Pot17 and 0.679 6 at locus Pot42, and the polymorphism information content (PIC) was 0.737 3 at locus Pot17 and 0.712 9 at locus Pot42, respectively. The results showed that the cumulate power of discrimination ( $C_{DP}$ ) of Pot17 and Pot42 reached up to 0.995. They are applicable in the *Portunus trituberculatus* parentage determination.

**KEY WORDS** *Portunus trituberculatus* Microsatellite marker Family Parentage determination

三疣梭子蟹 *Portunus trituberculatus* 是一种重要的海洋经济动物,隶属甲壳纲 Crustacea、十足目 Decapoda、梭子蟹科 Portunidae,主要分布于黄海、渤海、东海、南海、日本海等海域。由于其生长快、个体大、肉味鲜美,已成为我国重要的海水养殖对象(薛俊增等 1997;戴爱云等 1986)。近年来出现三疣梭子蟹养殖苗种品质下降、病害多发、养殖生态失衡等现象,迫切需要培育出抗逆能力强、品质质量高的优良品种。选育过程中需要精确的家系信息,便于对家系混养条件下三疣梭子蟹生长、抗性性状进行遗传力估计,及根据亲属信息准确选留亲本,避免近交带来的近交衰退和多样性下降。

家系信息通常采用合适的标记追踪,但三疣梭子蟹具有蜕皮特性,故常规的物理标记不适用。同工酶电泳、RFLP 和 RAPD 等标记技术,多态信息含量较低,重复性、稳定性和可比性较差,也不适于其标记追踪。近年来,微卫星标记已应用于多种水产动物的亲缘关系分析(Jerry *et al.* 2004; Norris *et al.* 2000; Perez-Enriquez *et al.* 1999; Jackson *et al.* 2003; Rodzen *et al.* 2004; Sekino *et al.* 2003、2004; Hara *et al.* 2003; 孙昭宁等 2005、2007;王鸿霞等 2008;Castro *et al.* 2004; McDonald *et al.* 2004; Selvamani *et al.* 2001; Jerry *et al.* 2004、2006a、2006b; Dong *et al.* 2006),显示出多态性丰富、稳定性好和高识别力等优点。采用微卫星标记研究三疣梭子蟹基因组中 DNA 的分布和结构已有报道(宋来鹏等 2008a、b;刘萍等 2008),但将其应用于三疣梭子蟹亲缘关系的鉴定尚未见报道。本文用两对微卫星标记对三疣梭子蟹家系进行家系鉴别的初步研究,为选育中的亲缘关系研究提供理论基础和技术支撑,为进一步的家系特异性标记开发与应用奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

取自昌邑市水产养殖有限责任公司 2007 年定向交配的 4 个三疣梭子蟹家系,父母本及子代个数统计见表 1,2<sup>#</sup> 和 3<sup>#</sup> 家系仅含母本样本,4<sup>#</sup> 家系仅含父本样本。样品收集后保存于 -80 °C 超低温冰箱中。

表 1 家系编号及个体数目统计  
Table 1 The number of family and individual *Portunus trituberculatus*

家系名 Family name	T1-1-1	R1-1-4	R1-1-1	A1-1-1	总计 Total
编号 No.	1 <sup>#</sup>	2 <sup>#</sup>	3 <sup>#</sup>	4 <sup>#</sup>	4
子代个体数 Number of offspring	28	21	20	29	98
父母本个体数 Number of parent	2	1	1	1	5

### 1.2 方法

#### 1.2.1 基因组 DNA 的提取

微卫星 DNA 的提取参照 Liu 等(2000)的方法,用 1%琼脂糖凝胶电泳鉴定,GENEQUANTpro (Pharmacia Biotech Ltd)RNA/DNA 分析定量仪定量。

### 1.2.2 PCR 反应条件

微卫星引物序列见表 2, 微卫星引物为本实验室开发。25  $\mu\text{l}$  总反应体积, 包括 100 ng 三疣梭子蟹基因组 DNA 模板 (50 ng/ $\mu\text{l}$ ), 10 mmol/L 10 $\times$  buffer ( $\text{Mg}^{2+}$  free), 2.0 mmol/L  $\text{MgCl}_2$  (25 mmol/L), 0.2 mmol/L dNTP (10 mmol/L each), 引物各 0.8  $\mu\text{mol/L}$ , 1.0 U TaqDNA 酶 (5 U/ $\mu\text{l}$ )。反应条件为: 94  $^\circ\text{C}$  预变性 5 min; 然后 94  $^\circ\text{C}$  变性 40 s, 退火 (退火温度见表 2) 1 min, 72  $^\circ\text{C}$  延伸 1 min, 25 个循环; 72  $^\circ\text{C}$  延伸 5 min, 4  $^\circ\text{C}$  保存。

表 2 微卫星引物序列

Table 2 Sequences of microsatellite primers

位点 Locus	引物序列 (5 $\rightarrow$ 3') Primer sequence (5 $\rightarrow$ 3')	GenBank 登录号 GenBank accession No.	退火温度 ( $^\circ\text{C}$ ) Annealing temperature
Pot17	F: TTTGCTCTTACCTTCTCACC R: ATGCAATCATGTTTTTCGTCT	GQ463636	55
Pot42	F: TCATCACACAGGCTCACTCA R: CATCTTCCACCTTCTCCAA	GQ463661	60

### 1.2.3 扩增产物的处理

PCR 产物在变性聚丙烯酰胺凝胶中分离, 银染法显色、定影。凝胶干燥后扫描仪扫描记录凝胶图像。条带模糊个体重复进行 PCR 反应, 保证统计条带清晰和结果的准确性。

### 1.2.4 家系遗传多样性、亲缘关系和家系鉴别的统计分析

统计各基因座的等位基因数目, 前两位数字表示微卫星位点, 第 3 位数字表示等位基因, 如 171 表示位点 Pot17 位点分子量最大的等位基因 1。根据子代中等位基因的分离, 对缺失亲本的基因型进行推断。根据不同家系亲本间的基因型差异, 对各个家系进行鉴别。

用 POPGENE 软件进行数据处理、聚类分析, 计算群体间遗传距离、相似性指数、Hardy-Weinberg 平衡检验 ( $P$  值) 及杂合度。用 Arlequin 软件的 AMOVA 计算群体遗传分化指数 ( $F_s$  值)、分析遗传变异组分。

多态性信息含量 (PIC, Polymorphism Information Content) 计算公式参照 Botstein (1980) 等:

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

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

个体识别率和累积个体识别率计算公式参照 Fisher (1951):

$$\text{个体识别率 (Power of discrimination, DP)}: DP = 1 - \sum_{i=1}^m P_i^2$$

累积个体识别率 (Cumulative DP):  $C_{DP} = 1 - (1 - DP_1)(1 - DP_2) \cdots (1 - DP_n)$

$P_i$  为某一位点第  $i$  个基因型的频率,  $m$  为某一位点的基因型数,  $n$  为位点数。

## 2 结果

### 2.1 遗传多样性分析

运用 POPGENE 软件和 Arlequin 软件的 AMOVA 进行家系遗传多样性分析, 结果见表 4。由表 4 可见, 两对微卫星引物 Pot17 和 Pot42 在 4 个家系的 5 个已知父母本和 98 个后代中检测出 11 个等位基因, 其中 Pot17 位点 6 个, Pot42 位点 5 个。共检测出 23 种基因型, 其中 Pot17 位点 12 种, Pot42 位点 11 种。Pot17 基因座检测纯和基因型 4 种, 占 34 个被检测个体的 32%, 杂合基因型 8 种, 占 72 个被检测个体的 68%。Pot42 基因座检测纯和基因型 3 种, 占 32 个被检测个体的 30%, 杂合基因型 8 种, 占 74 个被检测个体的 70%; 部分变性聚丙烯酰胺凝胶电泳如图 2 所示。

表 3 三疣梭子蟹 4 个家系的遗传距离和相似性指数  
Table 3 Genetic identity and distance in six *P. trituberculatus* families

家系 Family	1#	2#	3#	4#
1#	****	0.311 7	0.248 8	0.544 8
2#	1.165 7	****	0.385 9	0.252 9
3#	1.391 0	0.952 2	****	0.301 8
4#	0.607 3	1.374 7	1.198 0	****

注: 对角线以上为相似性指数, 对角线以下为遗传距离

Note: genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal)

表 4 微卫星位点多态信息检测值  
Table 4 Detection of polymorphism information by two microsatellite loci

基因座位 Loci	N	A	S	G	Homs	Hets	$H_e$	$H_o$	PIC	$F_{st}$	HWE
Pot17	106	6	0.359 2	12	34	72	0.774 0	0.621 4	0.737 3	0.380 5	**
Pot42	106	5	0.344 7	11	32	74	0.757 7	0.679 6	0.712 9	0.203 9	**

注: N: 样本数; A: 等位基因数; S: 频率最高等位基因的频率; G: 基因型数; Homs: 纯合子; Hets: 杂合子;  $H_e$ : 期望杂合度;  $H_o$ : 观测杂合度; PIC: 多态信息含量;  $F_{st}$ : 群体遗传分化指数; HWE: 哈迪温伯格平衡检验. NS 表示符合; \*\* 表示偏离极显著

Note: N: Number of samples; A: Number of the alleles; S: allele frequencies of the highest one; G: Number of the Genotype; Homs: Number of the Homozygous; Hets: Number of the Heterozygote;  $H_e$ : Expected heterozygosity;  $H_o$ : Observed heterozygosity; PIC: Polymorphism Information Content;  $F_{st}$ : Population genetic differentiation index; HWE: Hardy-Weinberg equilibrium test. NS represents conformance; \*\* represents significant deviation

根据 Nei 等(1972)的方法, 计算 4 个家系间的遗传距离和相似性指数(表 3)、构建 UPGMA(图 1)。结果表明, 1# 和 4# 家系间的遗传距离最小, 相似性最高, 在图上聚合在一起。2# 和 3# 家系间的遗传距离次之, 先聚合在一起, 最后与家系 1# 和 4# 聚合。

Pot17 和 Pot42 位点的多态信息含量(PIC)分别为 0.737 3 和 0.712 9; 两个位点在 4 个家系中的观测杂合度分别为 0.621 4 和 0.679 6。在两个位点上, 4 个家系均极显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡。两个位点在所有家系中的群体遗传分化指数( $F_{st}$ )均大于 0。

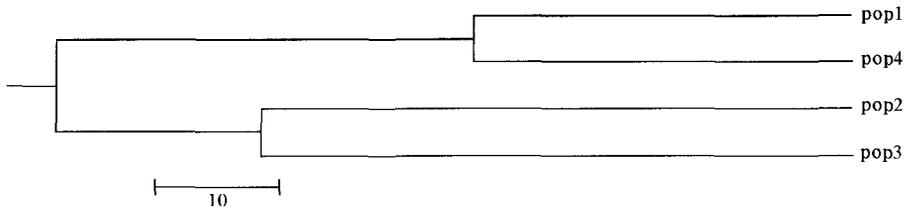
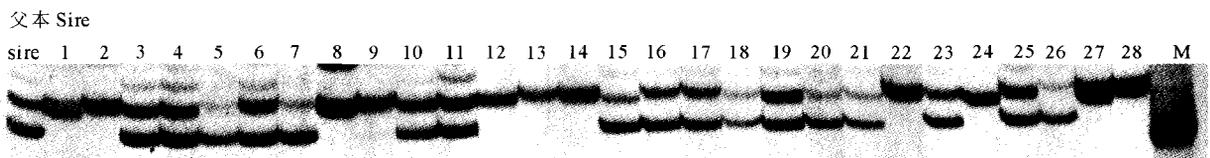


图 1 三疣梭子蟹 4 个家系的 UPGMA

Fig. 1 UPGMA dendrogram among four *P. trituberculatus* families



M: Marker; 1~28: 4# 家系个体

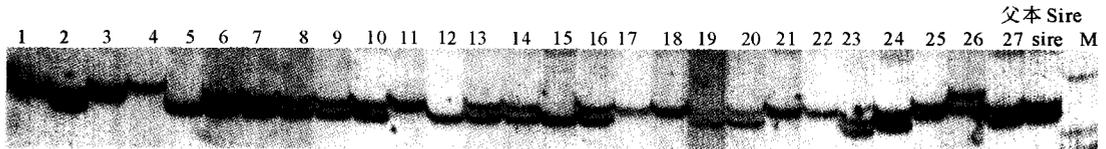
M: Marker; 1~28: Individuals of family 4#

图 2 Pot42 位点对 4# 家系的扩增图谱

Fig. 2 Microsatellite loci amplified by Pot42 primer pairs in family 4#

## 2.2 亲缘关系的确定

2<sup>#</sup>和3<sup>#</sup>家系仅含母本样本,可推断家系父本;4<sup>#</sup>家系仅含父本样本,可推断家系母本。由表5可见,在Pot17位点:2<sup>#</sup>家系缺失父本。母本基因型检测为172/174,子代有4种基因型,分别为:172/172(1),172/174(11),172/176(3)和174/176(6)。由纯和基因型172/172可推知其父本含有等位基因172,又因为子代中出现等位基因176,所以推断其父本基因型为172/176。同法可推断出2<sup>#</sup>家系在Pot42位点缺失母本的基因型,3<sup>#</sup>家系在两个位点缺失的母本基因型和4<sup>#</sup>家系在两个位点上缺失的父本基因型(孙昭宁等 2007)。



M: Marker; 1~27: 4<sup>#</sup>家系个体

M: Marker; 1~27: Individuals of family 4<sup>#</sup>

图3 Pot17位点对4<sup>#</sup>家系的扩增图谱

Fig. 3 Microsatellite loci amplified by Pot17 primer pairs in family 4<sup>#</sup>

## 2.3 家系鉴别

表4为两个微卫星位点的多态信息检测值,在Pot17位点,1<sup>#</sup>家系有171/175、173/175和175/175三种基因型;2<sup>#</sup>家系有172/172、172/174、172/176和174/176四种基因型。因基因型完全不同,首先可将1<sup>#</sup>家系和2<sup>#</sup>家系相区别。3<sup>#</sup>家系有172/173、173/173和173/174三种基因型;4<sup>#</sup>家系有175/176、175/175和176/176三种基因型,因基因型完全不同,同样可以将3<sup>#</sup>家系和4<sup>#</sup>家系相区别。依此类推可将1<sup>#</sup>家系和3<sup>#</sup>家系、1<sup>#</sup>家系和4<sup>#</sup>家系、2<sup>#</sup>家系和3<sup>#</sup>家系、2<sup>#</sup>家系和4<sup>#</sup>家系两两区分开来。

表5 两位点在4家系检测和推断出的基因型

Table 5 Observed and conferred genotypes of four families by two microsatellite loci

家系 Family	位点 Locus	母本 Dam	父本 Sire	基因型(观察到的个数)Genotype(observed number)				推测亲本 Expected parent
				1	2	3	4	
1 <sup>#</sup>	Pot17	173/175	171/175	171/175(6)	173/175(12)	175/175(10)		
	Pot42	421/422	421/425	421/421(6)	421/422(5)	421/425(8)	422/425(2)	
2 <sup>#</sup>	Pot17	172/174		172/172(1)	172/174(11)	172/176(3)	174/176(6)	172/176
	Pot42	421/423		421/421(6)	421/422(3)	421/423(3)	422/423(9)	421/422
3 <sup>#</sup>	Pot17	172/173		172/173(6)	173/173(11)	173/174(3)		173/174
	Pot42	422/423		422/423(6)	422/424(4)	423/423(5)	423/424(5)	423/424
4 <sup>#</sup>	Pot17		175/176	175/175(8)	175/176(17)	176/176(4)		175/176
	Pot42		423/425	423/423(10)	423/425(14)	425/425(5)		423/425

## 3 讨论

如果已知父母的基因型,应用微卫星标记可在没有外部物理标记及不需分开养殖的情况下区分出混养群体所属的家系。微卫星标记作为遗传多样性分析和进行系谱追踪的有效工具(Herbingner *et al.* 1995; Blouin *et al.* 1996; O'Reilly *et al.* 1998),已显示了强大的家系确证能力(Perez-Enriquez *et al.* 1999)。本研究应用两对微卫星标记鉴别了4个家系的98个子代个体和5个亲本,结果通过子代个体基因型成功推断

出了2<sup>#</sup>、3<sup>#</sup>和4<sup>#</sup>家系缺失亲本的基因型;在已知父母本基因型的1<sup>#</sup>家系中,各微卫星位点通过子代基因型所推断的亲本基因型与电泳检测的亲本基因型一致。Sugaya等(2002)用5个微卫星位点确定了7个日本对虾家系的亲缘关系,董世瑞等(2007)、孙昭宁等(2005)分别研究证明,用两对微卫星引物可准确鉴定至少5个中国对虾家系。作者用两对微卫星标记、且只用标记Pot17,即区分了4个三疣梭子蟹家系。其中,标记Pot17在1<sup>#</sup>家系中产生了等位基因171, Pot42标记在3<sup>#</sup>家系中产生了等位基因424,该两家系在Pot17位点和Pot42位点均可直接与其他家系相区别。本实验中, Pot17和Pot42可以分别作为1<sup>#</sup>家系和3<sup>#</sup>家系的特异性标记,但因不同家系或群体的遗传多样性不同,所以选择的标记能否作为家系特异性标记使用尚有待进一步研究。

微卫星位点多态性的高低,直接影响微卫星标记对家系鉴定的准确性。本文研究结果表明,两位点在各家系中的群体遗传分化指数( $F_s$ )均大于0。Pot17基因座检测纯和基因型4种,占34个被检测个体的32%,杂合基因型8种,占72个被检测个体的68%。Pot42基因座检测纯和基因型3种,占32个被检测个体的30%,杂合基因型8种,占74个被检测个体的70%,可见两位点在各家系检测出的纯和个体在所有个体中所占比例较高;两个微卫星位点的观测杂合度(Pot17:0.6214; Pot42:0.6796)都低于期望杂合度(Pot17:0.7740; Pot42:0.7577),且平均杂合度均较低(表4)。作者认为是家系近交导致了纯和个体的增加,说明三疣梭子蟹近交家系的选育已经初见成效。Pot17和Pot42两个位点的多态信息含量(PIC)分别为0.7373和0.7129。两位点在4个家系的观测杂合度分别为0.6214和0.6796。表明所用标记均具有较高的识别能力,可以保证鉴别的准确性。4个家系在两位点均极显著偏离Hardy-Weinberg平衡( $P < 0.01$ ),该现象可能是因为:(1)无效等位基因的存在。已有研究(Brohede *et al.* 2002; Sekino *et al.* 2003; McGoldrick *et al.* 2000)表明,无效等位基因的存在会影响亲子鉴定结果。(2)取样造成的误差。(3)实验数据统计误差。

当个体识别率(DP)大于0.8时,表明所用的遗传标记在个体识别和亲权鉴定中具有较高的应用价值(陈腾等2002)。本研究中两对微卫星标记Pot17和Pot42的个体识别率分别为0.911和0.947,累积个体识别率达到0.995,属于高识别力的遗传标记系统,充分证明可以用于三疣梭子蟹的亲缘关系研究。因三疣梭子蟹建系较为困难,微卫星标记开发也处于初级阶段,作者认为今后应使用更高多态性引物和更多家系进行深入的家系鉴别研究。

## 参 考 文 献

- 王鸿霞, 张晓军, 李富花, 相建海. 2008. 应用微卫星标记分析野生中国明对虾的亲权关系. 水生生物学报, 32(1): 42~46
- 刘萍, 宋来鹏, 李健, 刘振辉. 2008. 蟹类微卫星DNA标记的筛选及其在遗传学研究中的应用. 中国海洋大学学报, 38(5): 712~718
- 孙昭宁, 刘萍, 李健, 何玉英, 张秀梅. 2007. 微卫星DNA标记用于中国对虾亲子关系的鉴定. 海洋水产研究, 28(3): 8~14
- 孙昭宁, 刘萍, 李健, 何玉英, 张秀梅. 2005. 微卫星DNA技术用于中国对虾家系构建中的系谱认证. 中国水产科学, 12(6): 694~700
- 宋来鹏, 刘萍, 李健, 刘振辉. 2008a. 三疣梭子蟹基因组微卫星特征分析. 中国水产科学, 15(5): 738~744
- 宋来鹏, 刘萍, 李健, 刘振辉. 2008b. 三疣梭子蟹基因组小卫星特征分析. 水产学报, 32(6): 838~846
- 陈腾, 王占海. 2002. 中国东乡族9个STR基因座遗传多态性研究. 遗传, 24(3): 247~250
- 薛俊增, 堵南山, 赖伟. 1997. 中国三疣梭子蟹 *Portunus trituberculatus* Miers的研究. 东南海洋, 15(1): 60~65
- 戴爱云, 杨思凉, 宋玉枝. 1986. 中国海洋蟹类. 北京: 海洋出版社, 213~214
- Blouin, M. S., Parsons, M., and Lacaille, V. L. S. 1996. Use of microsatellite loci to classify individuals by relatedness. Mol. Ecol. 3: 393~401
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., and Davis, R. W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am. J. Hum. Gen. 32: 314~331
- Brohede, J., Primmer, C. R., Møller, A., and Ellegren, H. 2002. Heterogeneity in the rate and pattern of germline mutation at individual microsatellite loci. Nucleic Acids Res. 30(9): 1997~2003
- Castro, J., Bouza, C., Presa, P., Pino-Querido, A., Riaza, A., Ferreira, I., Sánchez, L., and Martínez, P. 2004. Potential sources of error in parentage assessment of turbot *Scophthalmus maximus* using microsatellite loci. Aquaculture, 242: 119~135
- Dong, S. R., Kong, J., and Zhang, Q. W. 2006. Pedigree tracing of *Fenneropenaeus chinensis* by microsatellite DNA markers genotyping. Acta Oceanologica Sinica, 5: 151~157

- Fisher, R. A. 1951. Standard calculations for evaluating a blood group system. *Heredity*, 5: 95~102
- Hara, M., and Sekino, M. 2003. Efficient detection of parentage in a cultured Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* using microsatellite DNA marker. *Aquaculture*, 217: 107~114
- Herbinger, C. M., Doyle, R. W., and Pitman, E. R. 1995. DNA fingerprint based analysis of parental and maternal effects on offspring growth and survival in communally reared rainbow trout. *Aquaculture*, 137: 245~256
- Jackson, T. R., Martin-Robichaud, D. J., and Reith, M. E. 2003. Application of DNA markers to the management of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* broodstock. *Aquaculture*, 220: 245~259
- Jerry, D. R., Evans, B. S., Kenway, M., and Wilson, K. 2006a. Development of a microsatellite DNA parentage marker suite for black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 255: 542~547
- Jerry, D. R., Preston, N. P., and Crocos, P. J. 2004. Parentage determination of Kuruma shrimp *Penaeus Marsupenaeus japonicus* using microsatellite markers (Bate). *Aquaculture*, 235: 237~247
- Jerry, D. R., Preston, N. P., Crocos, P. J., Keys, S., Meadows, J. R. S., and Li, Y. 2006b. Application of DNA parentage analyses for determining relative growth rates of *Penaeus japonicus* families reared in commercial ponds. *Aquaculture*, 254: 171~181
- Liu, P., Kong, J., and Shi, T. 2000. Analysis of wild stock of Penaeid shrimp *Penaeus chinensis* in Chinese coastal waters of the Yellow Sea and coastal waters of the Bohai Sea. *Acta Oceanologica Sinica*, 19: 119~126
- McDonald, G. J., Danzmann, R. G., and Ferguson, M. M. 2004. Relatedness determination in the absence of pedigree information in three cultured strains of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 233: 65~78
- McGoldrick, D. J., Hedgecock, D., English, L. J., Baoprasertkul, P., and Ward, R. D. 2000. The transmission of microsatellite alleles in Australian and North American stocks of the Pacific oyster *Crassostea gigas*: selection and null alleles. *J. Shellfish Res.* 19: 779~788
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Am. Nat.* 106: 283~292
- Norris, A. T., Bradley, D. G., and Cunningham, E. P. 2000. Parentage and relatedness determination in farmed Atlantic salmon *Salmo salar* using microsatellite markers. *Aquaculture*, 182: 73~83
- O'Reilly, P. T., Herbinger, C., and Wright, J. M. 1998. Analysis of parentage determination in Atlantic salmon *Salmo salar* using microsatellites. *Anim. Genet.* 29: 363~370
- Perez-Enriquez, R., Takagi, M., and Taniguchi, N. 1999. Genetic variability and pedigree tracing of a hatchery-reared stock of red sea bream (*Pagrus major*) used for stock enhancement, based on microsatellite DNA markers. *Aquaculture*, 173: 413~423
- Rodzen, J. A., Famula, T. R., and May, B. 2004. Estimation of parentage and relatedness in the polyploid white sturgeon *Acipenser transmontanus* using a dominant marker approach for duplicated microsatellite loci. *Aquaculture*, 232: 165~182
- Sekino, M., Saitoh, K., Yamada, T., Kumagai, A., Hara, M., and Yamashita, Y. 2003. Microsatellite-based pedigree tracing in a Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* hatchery strain; implications for hatchery management related to stock enhancement program. *Aquaculture*, 221: 255~263
- Sekino, M., Sugaya, T., and Hara, M. 2004. Relatedness inferred from microsatellite genotypes as a tool for broodstock management of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 233: 163~172
- Selvamani, M. J. P., Degnan, S. M., and Degnan, B. M. 2001. Microsatellite genotyping of individual abalone larvae; parentage assignment in aquaculture. *Mar. Biotechnol.* 3: 478~485
- Sugaya, T., Ikeda, M., Mori, H., and Taniguchi, N. 2002. Inheritance mode of microsatellite DNA markers and their use for kinship estimation in Kuruma prawn *Penaeus japonicus*. *Fish. Sci.* 68: 299~305