

doi: 10.12131/20180261

文章编号: 2095-0780-(2019)04-0127-06

• 研究简报 •

基于微卫星标记的黄唇鱼遗传多样性研究

赵彦花^{1,2}, 区又君¹, 温久福¹, 李加儿¹, 周 慧^{1,2}

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 农业农村部南海渔业资源开发利用重点实验室, 广东广州 510300; 2. 上海海洋大学水产与生命学院, 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306)

摘要: 文章利用微卫星标记对珠江口海域 19 个黄唇鱼 (*Bahaba flavolabiata*) DNA 样品进行了遗传多样性研究, 以期为黄唇鱼的种质鉴定和保育等研究奠定基础。结果显示, 29 个微卫星位点的等位基因数 (N_a) 分别为 2~7 个, 等位基因总数为 121 个, 平均等位基因数为 4.17 个。有效等位基因数 (N_e) 介于 1.060 6~6.056 1, 总和为 85.205 0。平均观测杂合度 (H_o) 和平均期望杂合度 (H_e) 分别为 0.659 3 和 0.597 3。多态性信息含量 (PIC) 介于 0.055 5~0.813 7, 平均值为 0.542 3, 其中 19 个位点表现出高度多态性。5 个位点显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡 (校正 $P \leq 0.036$)。基因丰富度 (R_s) 介于 2~6.976, 总和为 119.638。基因多样性 (GD) 介于 0.059~0.856。这些数据显示黄唇鱼群体遗传多样性处于较高水平。

关键词: 黄唇鱼; 微卫星标记; 遗传多样性

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



Analysis of genetic diversity of *Bahaba flavolabiata* based on microsatellite markers

ZHAO Yanhua^{1,2}, OU Youjun¹, WEN Jiufu¹, LI Jia'er¹, ZHOU Hui^{1,2}

(1. Key Laboratory of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China;
2. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: We examined the genetic diversity of 19 *Bahaba flavolabiata* samples collected from the Pearl River estuary based on microsatellite markers, so as to provide references for the identification of its germplasm resources and future breeding. The results show that the number of alleles (N_a) in each of the 29 microsatellite loci was 2~7, with a total number of 121 alleles. The average number of alleles in each locus was 4.17. The effective number of alleles (N_e) was 1.060 6~6.056 1, with a sum of 85.205 0. The average values of the observed heterozygosity (H_o) and the expected heterozygosity (H_e) were 0.659 3 and 0.597 3, respectively. The value of polymorphism information content (PIC) was 0.055 5~0.813 7, with an average of 0.542 3, and 19 loci showed high polymorphism. Five loci deviated significantly from the Hardy-Weinberg equilibrium (corrected $P \leq 0.036$). The allelic richness (R_s) was 2~6.976, with a sum of 119.638. The genetic diversity (GD) was 0.059~0.856. It is suggested that most of the SSR loci developed in this study are highly polymorphic, and the genetic diversity of *B. flavolabiata* population is at a higher level.

Key words: *Bahaba flavolabiata*; microsatellite makers; genetic diversity

收稿日期: 2018-11-26; 修回日期: 2019-03-27

资助项目: 广州市科技计划项目 (201604020088); 广东省省级科技计划项目 (2017B020204002)

作者简介: 赵彦花 (1990—), 女, 硕士研究生, 从事鱼类种质资源鉴定及基础生物学研究。E-mail: zyhrenata@163.com

通信作者: 区又君 (1964—), 女, 研究员, 从事鱼类生物学、发育生物学与水产养殖技术研究。E-mail: ouyoujun@126.com

黄唇鱼 (*Bahaba flavolabiata*) 是中国特有种, 俗称金钱鲢、金钱蟹、大鸥、白花等, 属硬骨鱼纲、鲈形目、石首鱼科、黄唇鱼属, 仅分布于南海北部和东海南部沿海^[1]。长期以来, 黄唇鱼一直被视为上等补品, 尤其是鳔 (俗称“鱼胶”) 甚为珍贵, 素有“贵如黄金”之说。鱼胶具有滋补肝肾功能, 赛如高丽参, 止血甚佳^[2]。由于生态环境恶化和过度捕捞等原因, 导致黄唇鱼自然资源急剧下降, 1988 年被列为国家二级重点保护野生动物, 2006 年被世界自然保护联盟 (IUCN) 红色名录列为极度濒危物种 (CR)。目前国内外缺乏对黄唇鱼生物学的系统研究, 需要尽快开展黄唇鱼的基础生物学、生殖、苗种培育技术、疾病防控、生长发育规律及遗传多样性分析等方面的研究, 以促进黄唇鱼资源的保护。

微卫星序列 (Microsatellite DNA) 是广泛分布于真核生物基因组中的、由 1~6 个核苷酸单位组成的简单串联重复序列, 又被称为短串联重复序列 (short tandem repeats, STRs) 和简单序列重复 (simple sequence repeats, SSRs)^[3-4]。具有高度多态性、中性、共显性遗传等特点, 同时微卫星检测操作简单、快速、自动化, 对模板 DNA 要求低, 因此, 越来越多地应用于缺乏遗传信息的濒危动物的保护遗传研究中。利用 SSR 标记研究种群遗传多样性已经广泛应用于水产动物的遗传学研究中, 如罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*)^[5]、二棘鲷 (*Parargyrops edita*)^[6]、施氏鲟 (*Acipenser schrenckii*)^[7]、翘嘴鲈 (*Siniperca chuatsi*)^[8] 和黄姑鱼 (*Nibea albiflora*)^[9] 等。本研究对采自珠江口海域的 19 个黄唇鱼鳍条 DNA, 利用筛选的微卫星 DNA 多态性位点进行黄唇鱼自然种群遗传多样性评估, 旨在为黄唇鱼的遗传学研究提供科学基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料来源

用于黄唇鱼遗传多样性分析的样品共 19 尾, 其中 7 尾来自 2017 年 1 月珠江口海域渔民误捕受伤的黄唇鱼样本, 有 12 尾来自于中国水产科学研究院南海水产研究所区又君等在 2006 年收集的同一海域渔民误捕受伤的黄唇鱼鳍条样本, 乙醇保存备用。

1.2 实验方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取与检测 12 尾黄唇鱼样本由于乙醇保存时间较长, 为了减少乙醇对提取 DNA 质量的影响, 提取之前需要经过前处理步骤: 把剪好的鳍条放入离心管, 再倒入 1 mL 灭菌水, 涡旋振荡 30 s, 再放入离心机 12 000 r·min⁻¹ 离心 30 s, 将灭菌水倒掉, 滤纸吸除水分, 再使用海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒 [天根生

化科技 (北京) 有限公司 DP324] 提取基因组 DNA。

所有样品 DNA 提取结束后, 取 3 μL 左右的样品进行电泳检测 DNA 质量, 并用 NanoDropND-1000 紫外分光光度仪检测 DNA 浓度和质量; 将得到的 DNA 用双蒸水稀释成 100 ng·μL⁻¹ 的工作液, -20 °C 保存备用。

1.2.2 多态性微卫星位点 PCR 扩增和基因型分型 微卫星标记引物荧光修饰: 本研究从课题组前期通过高通量测序开发的黄唇鱼微卫星标记中精选出 29 对多态性较高的微卫星引物 (各标记引物信息见表 1), 根据扩增片段大小的差异, 分别在每对引物的正向引物 5'端用 FAM、HEX 两种不同的荧光基团进行修饰 (由广州擎科生物技术有限公司合成引物), 以上述提取的 19 个黄唇鱼基因组 DNA 作为模板进行 PCR 扩增。

双重荧光 PCR 反应: 扩增体系为 50 μL, 包括 100 ng·μL⁻¹ 基因组 DNA 1 μL, 2×PCR Mix 25 μL, 超纯水 20 μL, 用 FAM 修饰的正向引物和其对应的反向引物各 1 μL, 以及另一种用 HEX 修饰的正向引物和其对应的反向引物各 1 μL。PCR 反应程序为: 94 °C 预变性 3 min; 94 °C 变性 30 s, 58 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 35 个循环; 72 °C 延伸 10 min, 反应产物 4 °C 避光保存。经过 3% 的琼脂糖凝胶电泳检测后, 送由广州擎科生物技术有限公司完成测序和多态性检测。

毛细管电泳检测: 先对荧光 PCR 产物进行电泳鉴定其浓度, 再稀释至毛细管检测的浓度, 取稀释好的样品, 加入 ABI GS500LIZ 内标混合, 96 °C 变性 10 min, 立即冰浴 5 min。将处理好的样品加到 ABI 3730XL 仪器进行毛细管电泳检测, 结果再使用 Genemapper 软件分析检测数据, 进行基因分型。

1.3 遗传多样性分析

根据每个微卫星扩增产物的等位基因大小确定基因型, 之后使用 Arlequin 3.5^[10] 软件统计各标记在各群体的等位基因数; 用 Genepop 4.0^[11] 软件计算表观杂合度 (H_o) 与期望杂合度 (H_e), 并进行哈迪·温伯格平衡 (HWE) 检验; 使用 Sequential Bonferroni 法^[12] 对多元统计的 P 值进行校正; 使用 Fstat 2.93 计算各标记在各样本的等位基因丰富度 (R_s); 使用 Cervus 3.0.7 计算各样本的多态信息含量 (PIC), 以此来描述黄唇鱼相关微卫星多态性的特征。

期望杂合度 (H_e) 和多态性信息含量 (PIC) 计算公式如下:

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^n F_i^2$$

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n F_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+2}^n 2F_i F_j^2$$

表1 29对黄唇鱼微卫星引物的信息

Tab.1 Information of 29 pairs of microsatellite primers of *B. flavolabiata*

位点 locus	正向引物 (F) forward primer	反向引物 (R) reverse primer	条带大小/bp size range	退火温度/℃ annealing temperature
SLN01	tgcgtgctctgtttcttgatt	accaacgtttcatttcacaac	155	58
SLN03	aaaaatcagctctggggttcttc	aggcagctccagagtgaattta	135	58
SLN05	ttctgttatcggacacaagatt	tcgcccgttattatacacaac	100	58
SLN07	gaaaacccaacagacagacaag	gaacacagaactctgaggagac	106	58
SLN09	cctcgattcatcagccaat	atgacgagtttgagctaaaatg	148	58
SLN11	agcttattaggctgagcattgtg	gaatggtttcatttctctgcac	143	58
SLN12	gcagagcactgaattgaaatagg	aggaaaaatgcaaacgagctta	160	58
SLN14	tttgccataactgtctgtgttg	ctatggagcatctcccagcc	159	58
SLN16	cagcaataaagaaggcacagac	ctctcctttcttctctcacc	151	58
SLN17	ccatgcacacatacagttgtct	gggtctggtaggtagtaatgga	146	58
SLN18	caaaticattacaaaagcagfatcca	taaaaaccagagtcgagttacc	159	58
SLN19	gcgaaaagagcagaaaagacg	cgacatctcgaacaaaactac	153	58
SLN20	gctgtgactttgagtcattttct	tggcagaaattatgttttcatt	160	58
SLN21	gttgtctcaaatgctgtgtttg	catgttcagacacatcccaga	130	58
SLN22	acaactagctgcatgtgctctc	ttttgtttgcaacctcactct	141	58
SLN24	ttctaccacccaggtaaacac	ccgaataactatggggagaaagt	89	58
SLN25	cacaacactccaaatccttttc	aggctctcctcacactgaagag	157	58
SLN26	ccagtggctggatgtagtag	atctctccacagcaataaggtca	135	58
SLN29	agcctcgacacactctgaagac	ccaaagactcgaagacagagtga	120	58
SLN31	cattggcaacctttgacttagac	gaggagtagcataggagaagg	145	58
SLN32	ttaatctgtgaaaaactgagcc	gggaccagctctgtaaaatgagtt	146	58
SLN33	acatgatcgacacatgacacaac	gtcacgtctctgtgaggagagat	104	58
SLN34	agctcaagacaacaaaaagctg	ggataaaattgtgtccagtcagg	156	58
SLN35	tagggatgtaaggggaaactgt	acatttgataagcaactgccatt	156	58
SLN38	gacgaagagagacgaagagtcaa	gttacatttgagccaaccaacat	150	58
SLN42	aagccattaagtgggaaataagc	cgactctgcctcattatcaagt	156	58
SLN44	ctttgtcactggcgacatctagt	accctgtctcagtagcacacatt	151	58
SLN45	actgaagtgaccaatcacagagg	taaaccgatcgtctgaaggaat	130	58
SLN46	cagagtcagaacattttgatcc	tactctgcagaccatactgtcca	160	58

在此公式中, F_i 和 F_j 分别表示群体中第 i 个和第 j 个等位基因在群体中的频率, $j=i+1$, n 为某个位点上的等位基因数。

2 结果

2.1 PCR 扩增和 SSR 基因分型结果

图 1 为利用上述 29 对荧光引物对 19 个 DNA 模板进行双重荧光 PCR 反应的 PCR 产物电泳图(部分), 由于目的片段长度差异较小, 均在 150 bp 左右, 所以在单个电泳跑道中只显示出单条带。

黄唇鱼在 29 个微卫星位点的 PCR 产物经毛细管电泳检测后, 根据荧光标记的颜色, 用软件 Genemapper 做基

因型分析, 读取单个黄唇鱼样本在各个微卫星位点的基因型片段大小, 图 2 为部分位点在个体中的等位基因峰图。本研究中, 微卫星位点 SLN09 和 SLN16 在单个黄唇鱼样本中扩增的有效等位基因数较多, 均为 6 个(图 2-A, B), 而大部分位点在单个黄唇鱼样本中扩增的有效等位基因数为 2 个, 如 SLN03(图 2-C), 说明本研究的 29 对微卫星引物具有多态性。

2.2 遗传多样性分析

29 个 SSR 标记在 19 个黄唇鱼样本中的遗传多样性分析结果见表 2。29 个微卫星位点的等位基因数 (N_a) 的分布范围为 2~7, 等位基因总数为 121 个, 平均等位基因数为 4.17。有效等位基因 (N_e) 介于 1.060 6~6.056 1, 总和为

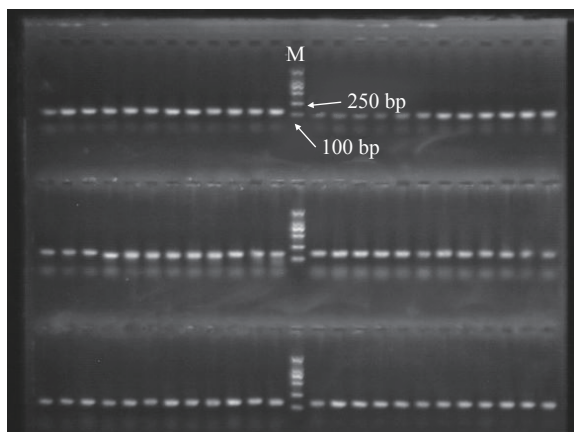


图1 黄唇鱼双重荧光PCR的产物电泳图

M 为 DNA Maker 2 000, 条带大小从下到上依次为 100 bp、250 bp、500 bp、750 bp、1 000 bp、2 000 bp

Fig.1 Electrophoretogram of fluorescent double-plex PCR of *B. flavolabiata*

M. DNA Maker 2 000; the fragment sizes from bottom to top are 100 bp, 250 bp, 500 bp, 750 bp, 1 000 bp and 2 000 bp, respectively.

85.205 0, N_e 估算值为 8.7, 95% 置信区间为 7.1~10.8。 H_o 介于 0.058 8~1.000 0, 平均值为 0.659 3。 H_e 介于 0.057 1~0.834 9, 平均值为 0.597 3。PIC 介于 0.055 5~0.813 7, 平均值为 0.542 3。“哈迪·温伯格平衡”显著性检测 P 值后还有 5 个位点与“哈迪·温伯格定律”显著性背离(校正 $P \leq 0.036$)。 R_s 介于 2~6.976, 总和为 119.638。基因多样性(GD) 介于 0.059~0.856。

3 讨论

多重 PCR 具有省时高效、经济节约的技术优势, 在鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*)^[13]、半滑舌鳎 (*Cynlossus semilaervis*)^[14]、大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*)^[15]、草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)^[16]、长牡蛎 (*Crassostrea gigas*)^[17] 和鮫 (*Cirrhinus molitorella*)^[18] 等物种的亲缘鉴定和遗传多样性分析中得到广泛应用。本研究通过双重荧光 PCR 进行黄唇鱼微卫星位点的扩增, 经毛细管电泳检测, 综合分析 29 对引物的荧光 PCR 反应产物。经 Bonferroni 校正后, 发现 5 个位点显著偏离“哈迪·温伯格平衡”(校正 $P \leq 0.036$), 分别是 SLN07、SLN11、SLN12、SLN24、SLN26。偏离“哈迪·温伯格平衡”的原因有很多, 一般认为由无效等位基因、随机突变、种群间基因流、有限种群大小和迁移等因素造成^[18-21]。

遗传多样性反映了一个物种的适应能力和进化程度, 研究认为 N_e 、 H_o 、 H_e 和 PIC 这些遗传多样性参数越大, 其遗传多样性水平越高, 相反, 物种则适应能力差, 进而种群数量减少甚至灭绝^[22]。29 个微卫星位点的 N_a 分别为 2~7 个, 平均等位基因数为 4.17。 N_e 介于 1.060 6~6.056 1, 平均为 2.94, 有效等位基因数比实际等位基因数小, 通常由基因分布不均匀造成。本研究显示黄唇鱼群体具有一定的适应能力。

PIC 作为衡量 SSR 位点的多态性重要参数, PIC >

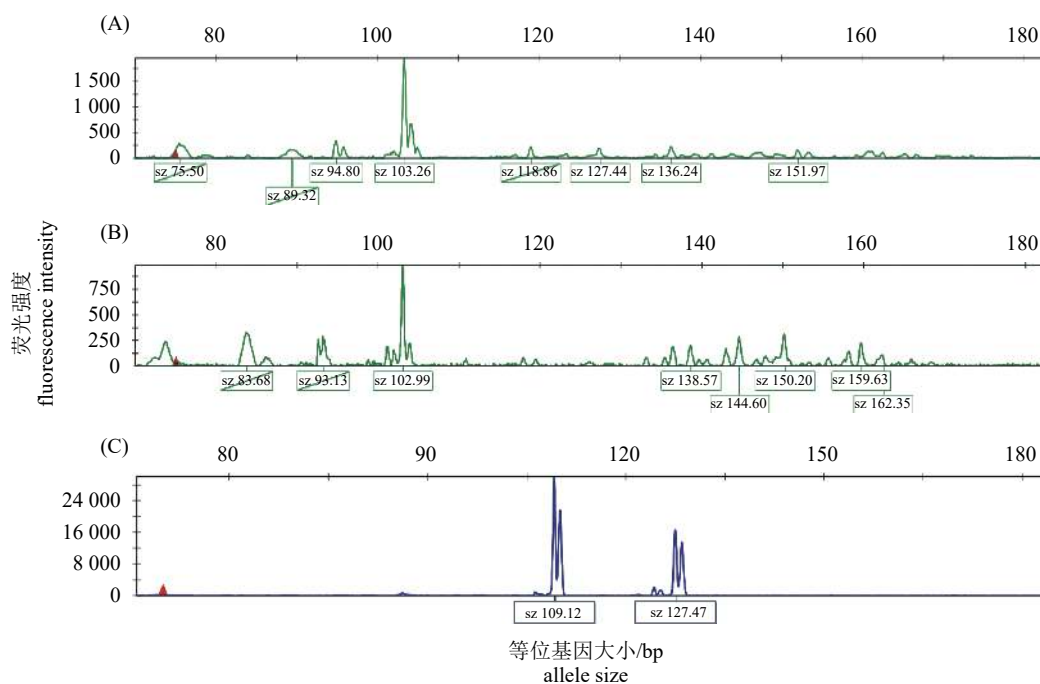


图2 黄唇鱼微卫星引物在个体中的等位基因峰图

Fig.2 Electropherogram peaks of microsatellite primers in *B. flavolabiata*

表 2 黄唇鱼 29 个微卫星位点的遗传多样性

Tab.2 Genetic diversity statistics in 29 microsatellite loci of *B. flavolabiata*

位点 locus	<i>N</i>	<i>N_a</i>	<i>N_e</i>	<i>H_o</i>	<i>H_e</i>	<i>P_{HWE}</i>	PIC	<i>R_s</i>	GD
SLN24	15	4	2.432 4	0.200 0	0.588 9	0.033	0.502 6	4	0.624
SLN32	19	2	1.870 5	0.526 3	0.465 4	0.568	0.357 1	2	0.477
SLN09	16	7	4.531 0	0.562 5	0.779 3	0.112	0.747 1	6.875	0.813
SLN05	18	7	6.056 1	0.944 4	0.834 9	0.469	0.813 7	6.976	0.856
SLN16	17	7	3.753 2	1.000 0	0.733 6	0.174	0.702 5	6.86	0.748
SLN07	19	3	2.714 3	0.894 7	0.631 6	0.015	0.558 1	3	0.642
SLN44	19	4	2.787 6	0.736 8	0.641 3	0.117	0.576 8	3.992	0.656
SLN29	18	7	4.263 2	0.944 4	0.765 4	0.405	0.735 6	6.804	0.783
SLN45	16	3	2.497 6	0.937 5	0.599 6	0.061	0.515 1	3	0.599
SLN19	18	5	3.192 1	0.944 4	0.686 7	0.212	0.641 7	4.833	0.699
SLN01	19	6	3.902 7	0.894 7	0.743 8	0.626	0.707 5	5.952	0.76
SLN03	18	2	1.456 2	0.388 9	0.313 3	0.306	0.264 2	2	0.32
SLN34	17	2	1.972 7	0.647 1	0.493 1	0.198	0.371 5	2	0.504
SLN26	19	4	2.569 4	0.684 2	0.610 8	0.000	0.556 4	3.96	0.626
SLN42	17	2	1.060 6	0.058 8	0.057 1	0.901	0.055 5	1.882	0.059
SLN22	19	4	3.721 6	0.947 4	0.731 3	0.135	0.681 6	4	0.746
SLN25	19	5	4.247 1	0.894 7	0.764 5	0.061	0.727 5	4.999	0.782
SLN12	18	4	2.242 2	0.333 3	0.554 0	0.036	0.498 5	3.973	0.577
SLN11	18	4	2.347 8	0.444 4	0.574 1	0.000	0.500 3	3.952	0.595
SLN20	16	4	2.048 0	0.437 5	0.511 7	0.585	0.461 1	3.938	0.531
SLN31	19	3	2.181 3	0.473 7	0.541 6	0.849	0.457 5	2.993	0.558
SLN46	19	6	5.084 5	1.000 0	0.803 3	0.117	0.776 8	5.999	0.82
SLN14	19	3	2.766 3	0.684 2	0.638 5	0.654	0.563 5	3	0.655
SLN17	19	3	1.464 5	0.368 4	0.317 2	0.809	0.294 0	2.992	0.325
SLN18	16	6	3.122 0	0.750 0	0.679 7	0.736	0.641 5	5.875	0.7
SLN21	19	3	2.533 3	0.684 2	0.605 3	0.336	0.521 2	3	0.62
SLN35	19	4	2.329 0	0.631 6	0.570 6	0.627	0.493 3	3.783	0.585
SLN33	19	2	1.429 7	0.368 4	0.300 6	0.325	0.255 4	2	0.307
SLN38	19	5	4.628 2	0.736 8	0.783 9	0.055	0.748 9	5	0.807
平均 average				0.659 3	0.597 3		0.542 3		

注: *N*. 数量; *N_a*. 等位基因数; *N_e*. 有效等位基因数; *H_o*. 观测杂合度; *H_e*. 期望杂合度; *P_{HWE}*. “哈迪·温伯格平衡”显著性检验 *P* 值; PIC. 多态信息含量; *R_s*. 基因丰富度; GD. 基因多样性

Note: *N*. numbers; *N_a*. number of alleles; *N_e*. effective number of alleles; *H_o*. observed heterozygosity; *H_e*. expected heterozygosity; *P_{HWE}*. Hardy-Weinberg probability test; PIC. polymorphism information content; *R_s*. allelic richness; GD. genetic diversity

0.5 时位点呈高度多态性; 0.25<PIC<0.5 时位点呈中度多态性; PIC<0.25 时位点呈低度多态性点^[23]。本研究 29 个 SSR 位点 PIC 介于 0.055 5~0.813 7, 平均值为 0.542 3; PIC 大于 0.5 的 SSR 位点有 19 个, 高度多态性位点占比为 65.5%; 只有 1 个位点小于 0.25, 说明开发的黄唇鱼 SSR 位点大部分具有高度多态性。

杂合度是反应群体遗传变异大小的重要参数, 杂合度越大, 变异越大, 遗传多样性水平越高^[24]。本研究中黄唇

鱼群体 *H_o* 平均值为 0.659 3, *H_e* 平均值为 0.597 3, 说明黄唇鱼群体内的遗传变异程度在总体上处于较高水准, 具有丰富的遗传多样性与较高的选择潜力。黄唇鱼的杂合度水平低于大黄鱼的研究结果^[15], 不同鱼类遗传变异水平的差异可能与其受到的人工干扰程度有关。黄唇鱼 *H_o* 和 *H_e* 值接近, 表明该种群处于遗传平衡状态。

综合等位基因数、杂合度和多态信息含量等遗传多样性指标分析结果, 显示黄唇鱼群体遗传多样性仍然较丰

富。虽然在过去几十年,珠江口野生黄唇鱼群体种群数量急剧下降,但其遗传多样性水平并没有发生显著下降,本研究显示黄唇鱼种群遗传多样性水平与种群数量并不是同步下降的。与陆生野生保护动物可以从粪便中提取 DNA,而不损伤研究动物种群不同,海洋保护鱼类难以捕捞,也不可能自然海区中采集粪便,样品数量只能靠多年积累。由于本文采集的黄唇鱼样品数量偏少,尚不足以做进一步的种群分析,但所得数据可以为今后黄唇鱼的遗传学研究提供初步的参考资料。

目前整个珠江口海域黄唇鱼资源急剧衰退,保护和恢复黄唇鱼资源已经到了刻不容缓的地步。笔者建议从以下几个方面开展保护工作:1)改善黄唇鱼栖息地的水域环境,加强对现存种群栖息地的环境监测;2)尽快开展现存群体的保护遗传学研究,科学评估有效群体大小以及瓶颈效应分析为黄唇鱼保护策略制定提供参考;3)开展人工繁育技术研究,为通过人工建群恢复黄唇鱼资源奠定基础;4)加强跨区域黄唇鱼专项保护联合执法,做好黄唇鱼科普宣传工作,切实遏制黄唇鱼非法捕捞、经营和交易等行为。

参考文献:

- [1] 朱元鼎,罗云林,伍汉霖.中国鱼类专著集[M].上海:上海科学技术出版社,1991:40-41.
- [2] 区又君,廖锐,李加儿,等.野生黄唇鱼 *Bahaba flavolabiata* 肌肉和鳃营养成分的分析与评价[J].海洋学报(中文版),2010,32(3):113-120.
- [3] BABAEI H, ZEINALIAN M, EMAMI M H, et al. Simplified microsatellite instability detection protocol provides equivalent sensitivity to robust detection strategies in Lynch syndrome patients[J]. Cancer Biol Med, 2017, 14(2): 142-150.
- [4] YAMAMOTO H, ADACHI Y, TANIGUCHI H, et al. Interrelationship between microsatellite instability and microRNA in gastrointestinal cancer[J]. World J Gastroenterol, 2012(22): 2745-2755.
- [5] 孙成飞,叶星,董浚键,等.罗氏沼虾6个养殖群体遗传多样性的微卫星分析[J].南方水产科学,2015,11(2):20-26.
- [6] 杨兵,林琳,李纯厚,等.基于高通量测序的二长棘鲷微卫星标记开发与评价[J].南方水产科学,2015,11(4):116-120.
- [7] 孔杰,石婧,向燕,等.基于微卫星标记的养殖施氏鲟亲鱼群体遗传多样性[J].贵州农业科学,2015,43(12):119-122.
- [8] 袁文成.基于转录组测序的翘嘴鲮微卫星标记的开发及 MHC class I 基因的克隆表达[D].苏州:苏州大学,2015:12-28.
- [9] 龚诗琦,王志勇,肖世俊,等.黄姑鱼转录组 SSR 的开发与验证[J].集美大学学报(自然科学版),2016,21(4):241-246.
- [10] EXCOFFIER L, LISCHER H E. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows[J]. Mol Ecol Resour, 2010, 10(3): 564-567.
- [11] ROUSSET F. GENEPOP'007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux[J]. Mol Ecol Resour, 2008, 8(1): 103-106.
- [12] RICE W E. Analyzing tables of statistical tests[J]. Evolution, 1989, 43(1): 223-225.
- [13] 李小芳,程晓凤,王生,等.鲢微卫星标记的荧光多重 PCR 体系建立及其应用[J].农业生物技术学报,2012,20(7):822-830.
- [14] 苗贵东.半滑舌鳎微卫星标记开发、应用及遗传连锁图谱的构建[D].青岛:中国海洋大学,2010:51-62.
- [15] 李佳凯,王志勇,韦信键,等.大黄鱼微卫星多重 PCR 体系的建立及其应用[J].水产学报,2014,38(4):470-475.
- [16] FU J J, SHEN Y B, XU X Y, et al. Multiplex microsatellite PCR sets for parentage assignment of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. Aquacult Int, 2013, 21(6): 1195-1207.
- [17] LIU T, LI Q, SONG J L, et al. Development of genomic microsatellite multiplex PCR using dye-labeled universal primer and its validation in pedigree analysis of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)[J]. J Ocean Univ China, 2017, 16(1): 151-160.
- [18] WANG Y K, ZHAO J, LI W, et al. Development of a multiplex microsatellite PCR assay based on microsatellite markers for the mud carp, *Cirrhinus molitorella*[J]. J World Aquacult Soc, 2016, 47(2): 277-286.
- [19] YOON M Y, MOE K T, KIM D Y, et al. Genetic diversity and population structure analysis of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) using SSR markers[J]. Electron J Biotechnol, 2012, 15(2): 1-16.
- [20] BANERJEE S, DAS M, MIR R R, et al. Assessment of genetic diversity and population structure in a selected germplasm collection of 292 jute genotypes by microsatellite (SSR) markers[J]. Mol Plant Breed, 2012, 3(2): 11-25.
- [21] SOUZA I, SOUZA V, LIMA P. Molecular characterization of *Platonia insignis* Mart. ("*Bacurizeiro*") using inter simple sequence repeat (ISSR) markers[J]. Mol Biol Rep, 2013, 40(5): 3835-3845.
- [22] 徐艳.橄榄蛭蚌微卫星标记开发及群体遗传多样性分析[D].武汉:华中农业大学,2014:19-37.
- [23] NICAL K M, YOUNG W P, DANZMANN R G. A consolidated linkage map for rainbow trout[J]. Anim Genet, 2003, 34(2): 102-115.
- [24] 梁利群,常玉梅,董崇智,等.微卫星 DNA 标记对乌苏里江哲罗鱼遗传多样性的分析[J].水产学报,2004,28(3):241-244.