

蔡磊,李建军,余露军,等. 诸氏鲮虾虎鱼封闭群遗传质量评价方法的建立[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(1): 10-16.

Cai L, Li JJ, Yu LJ, et al. Evaluation methods to establish the genetic quality of closed colony *Mugilogobius chulae* [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(1): 10-16.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2020.01.002

诸氏鲮虾虎鱼封闭群遗传质量评价方法的建立

蔡磊,李建军,余露军,黄韧*

(广东省实验动物监测所,广东省实验动物重点实验室,广州 510663)

【摘要】 目的 分析诸氏鲮虾虎鱼封闭群和野生群的遗传差异,建立诸氏鲮虾虎鱼封闭群遗传质量评价方法。**方法** 利用20个微卫星标记对诸氏鲮虾虎鱼野生群和封闭群进行STR分型,计算群体间遗传杂合度和遗传分化状况,并分析样本量对遗传参数的影响。**结果** 诸氏鲮虾虎鱼封闭群和野生群在20个微卫星位点的平均无偏期望杂合度(H_e)分别为0.6927和0.7162。封闭群与野生群间遗传分化较小,且当样本量达到30尾以上后,平均等位基因数趋于稳定。**结论** 遗传杂合度是否在0.5~0.7之间可较好将诸氏鲮虾虎鱼封闭群与野生群区分,适于作为诸氏鲮虾虎鱼封闭群遗传质量合格与否的判定指标。

【关键词】 诸氏鲮虾虎鱼;封闭群;微卫星;遗传质量;评价方法

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2020) 01-0010-07

Evaluation methods to establish the genetic quality of closed colony

Mugilogobius chulae

CAI Lei, LI Jianjun, YU Lujun, HUANG Ren*

(Key Laboratory of Guangdong Laboratory Animals, Guangdong Laboratory Animals Monitoring Institute, Guangzhou 510663, China)

Corresponding author: HUANG Ren. E-mail: 1649405216@qq.com

【Abstract】 Objective To analyze the genetic differences between closed colony and wild population of *Mugilogobius chulae*, and to establish a genetic quality evaluation method of closed colony *M. chulae*. **Methods** Twenty microsatellite markers were selected to detect heterozygosity, genetic differentiation, and the relationship between sample size and the genetic parameters of closed colony and wild population of *M. chulae*. **Results** The unbiased expected heterozygosity (H_e) of closed colony and wild population of *M. chulae* were 0.6927 and 0.7162, respectively. Analysis of genetic differentiation showed little difference between closed colony and wild population. Analysis of the relationship between sample size and genetic parameters showed that the mean number of alleles tended to be stable at a sample size of 30. **Conclusions** Heterozygosity in the range of 0.5 - 0.7 can distinguish closed colony strains of *M. chulae* from wild population, and would be suitable for determining the genetic quality of closed colony *M. chulae*.

【Keywords】 *Mugilogobius chulae*; closed colony; microsatellite marker; genetic quality; evaluation method

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

诸氏鲮虾虎鱼 (*Mugilogobius chulae*) 是我国本土一种小型海水鱼类,在繁殖生物学^[1]、细胞生物

学^[2]、遗传学^[3]以及毒理学^[4]等领域的基础研究均表明,诸氏鲮虾虎鱼是一种比较优良的海水实验鱼

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2015BAI09B05)。
Funded by National Key Technologies R&D Program of China (2015BAI09B05).

[作者简介] 蔡磊(1986—),男,副研究员,研究方向:实验动物遗传学。Email: cailei17@163.com

[通信作者] 黄韧(1959—),男,研究员,研究方向:实验动物学。Email:1649405216@qq.com

类,如个体小、繁殖周期短、繁殖力强、便于实验室内饲养管理以及对污染物毒性敏感等。诸氏鲮虾虎鱼现已初步完成实验动物化研究,封闭群繁殖至第 19 代,近交系培育至第 13 代,且于全国 30 个省市推广应用,广泛用于石油开发污染物、船舶压载水、疏浚泥、重金属等污染物的生物毒性评价以及疾病模型研究等领域^[5]。因海水鱼类特殊的生活环境,小型海水鱼标准化质控体系的建立仍是公认难题,尤其在遗传质量评价上,国内外的研究均相对薄弱。而在实验动物研究领域,遗传背景清晰又是其最基本和最重要的条件要求,建立遗传质量评价技术是实现其标准化、规范化管理的重要手段。诸氏鲮虾虎鱼作为一种潜在的海洋模式鱼类,建立其遗传质量评价方法,对规范今后引种、保种、性状控制和饲养管理等具有重要实用价值,也有利于打造我国特色海洋模式鱼类品牌,促进我国海洋鱼类的资源优势转化为科研优势。

微卫星标记具有分布广、共显性、多态性丰富等优点,在遗传学研究上已经获得广泛应用^[6-8],国际实验动物学会(International Council for Laboratory Animal Science, ICLAS)^[9]和 Charles River 等^[10]均推荐微卫星标记作为实验动物遗传质量监测的工具。近年来利用微卫星标记对实验动物封闭群进行遗传质量检测已有较多报道,如大小鼠^[11]、小型猪^[12]、树鼩^[13]、稀有鮡鲫(*Gobiocypris rarus*)^[14]等封闭群动物相继建立了基于微卫星标记技术的遗传质量评价方法。本研究利用微卫星标记分别对诸氏鲮虾虎鱼封闭群和野生群进行了遗传质量评价,以期建立诸氏鲮虾虎鱼封闭群遗传质量评价方法。

1 材料与方法

1.1 实验材料

诸氏鲮虾虎鱼样本分别为实验室繁殖的第 14 代封闭群,平均体重为(0.65 ± 0.16)g;和广东省深圳大鹏湾海域采集的野生群体,平均体重为(0.85 ± 0.36)g。其中,封闭群和野生群样本数量各为 50 尾(雌雄各半)。

1.2 方法

1.2.1 样本基因组 DNA 提取

参照北京天根动物基因组 DNA 抽提试剂盒说明书的方法提取样品基因组 DNA 并检测浓度和纯度,取出部分 DNA 样本将浓度调至 50 ng/μL,保存于-20℃备用。

1.2.2 微卫星引物

参考文献^[15]和 Genbank 数据库选取 20 个多态性较好的微卫星位点用于实验鱼遗传检测,所有引物均由上海捷瑞生物工程有限公司合成,引物 5' 端用 FAM 或 HEX 荧光素标记,引物信息见表 1。

1.2.3 PCR 扩增及 STR 分型

PCR 总反应体积为 25 μL,其中含 10 × PCR Buffer 2.5 μL (Mg²⁺ Plus), dNTP (2.5 mmol/L) 2 μL, FAM 和 HEX 标记的上下游引物(20 μmol/L)各 0.5 μL,基因组 DNA 50 ng, Taq 酶(5 μmol/L) 0.2 μL,双蒸水补齐至 25 μL。PCR 反应程序为 94℃,预变性 4 min;94℃变性 30 s,退火 40 s(退火温度因引物而异),72℃延伸 40 s,30 个循环,最后于 72℃下延伸 10 min。

PCR 产物用 ABI 3730xl 遗传分析仪(Applied Biosystems, 美国)进行分型,原始峰图用 GeneMapper 4.0 基因分型软件(Applied Biosystems, 美国)读取分型结果。

1.3 统计学分析

利用 Popgene32 (Version 1.31) 软件统计分析微卫星基因座的等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、观测杂合度(H_o)和无偏期望杂合度(H_e)。根据 Botstein 等^[16]的方法计算每个微卫星位点的多态信息含量(PIC),计算公式如下:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i p_j^2$$

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 为某一基因座上等位基因数。

2 结果

2.1 微卫星分型结果

统计各位点的 STR 分型结果,转换成基因型。20 个微卫星标记均能获得清晰稳定的峰图。20 个位点在 100 尾封闭群和野生群样本中共检测到 201 个等位基因,平均每个位点检测到 10.05 个等位基因,最多的为 18 个(位点 171252),最少的为 3 个(位点 2347-2)。部分分型结果见图 1。计算各微卫星位点在各群体中的多态信息含量(PIC),封闭群除位点 1135-1 为中度多态外,其余位点均为高度多态;野生群除位点 2347-2 为中度多态外,其余位点均为高度多态。

2.2 遗传多样性检测

20 个位点在封闭群和野生群中检测到平均等位基因数(N_a)分别为 7.40 和 9.05;平均观测杂合

度(H_o)分别为 0.5790 和 0.5710、平均无偏期望杂合度(H_e)分为 0.6927 和 0.7162。诸氏鲮虾虎鱼封闭群和野生群遗传多样性均较为丰富,封闭群遗传多样性稍低于野生群。具体遗传参数见表 2。

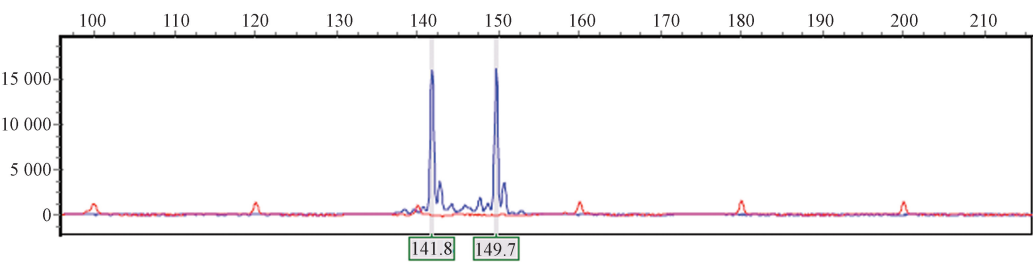
2.3 封闭群与野生群遗传结构分析

诸氏鲮虾虎鱼封闭群和野生群 F 统计量和基因流分析表明(表 3),仅 F_{is} 值中有 2 个位点为负值, F_{it} 和 F_{st} 值均为正值, F_{is} 正值范围为 0.0069 ~ 0.6338, F_{it} 和 F_{st} 值范围分别 0.0194 ~ 0.6349 和

0.0032 ~ 0.1357,三者均值分别为 0.1757,0.2142 和 0.0467。 F_{st} 和 F_{it} 均值显示群体内个体间的近交程度较低; F_{st} 均值结果表明封闭群与野生群间遗传分化较小,封闭群保持较好的遗传杂合度。对群体基因流 Nm 值进行分析,Nm 均值为 5.0993(大于 1),表明基因结构相对稳定。诸氏鲮虾虎鱼野生群和封闭群遗传相似率和遗传距离分析结果显示,封闭群与野生群保持较高的遗传相似率(0.7835)和遗传距离(0.2439)。

表 1 诸氏鲮虾虎鱼 20 个微卫星 DNA 位点信息

Table 1 Information of 20 microsatellite DNA loci in <i>Mugilogobius chulae</i>				
位点 Locus	引物序列(5'-3') Primer sequence	等位基因范围(bp) Allele size range(bp)	退火温度(℃) Flucent dye(℃)	登录号 Access No.
518-4	ACCTCTTTTCGTGTTTCTTCTCC GTTTAAATGGGCAACTTCACAG	112 ~ 132	52	KP058571.1
1135-1	AGCCTACATTTTGTGTCGTGT TCTGTTGCTAAACTGTCCTACACTG	140 ~ 168	59	KP216677.1
1513-1	GTACCTCTGTGGTCCCAATGAT AAGAGAAATGCACACAAACCAAC	87 ~ 99	58	KP058552.1
1997-5	TGCCTATAGTTTGAAGACGGAC TTATTTTCTTGGGACAAAATCCA	104 ~ 116	59	KP058567.1
1891-1	GAGTGATGTCTAGTGCAGGGAAC TTGATACTGTCCTGTTCCAAACC	99 ~ 126	50	KP216678.1
2073-5	CACTAAACCCGTTCTGTTCTCTC CAAAGGCCAGATTCTTAATGTTG	142 ~ 170	50	KP058549.1
2152-4	GGAGATCGATGCACAGGTTATT TTCAGAAAACAGAACAACTTCCC	136 ~ 156	50	KP058550.1
2157-5	TGGCTTAATGTAATCTCCCATTC GACGCACGCACACTGAAC	102 ~ 130	59	KP216681.1
2317-1	ACTATCTAGTGTGTTGGACGCAGC TGACACGAAACATGAGGTGTAAC	110 ~ 130	57	KP216683.1
2347-2	ACGAGTCCAATCTCCTTCTTGAG GTAGTTTGAACCGAAAGCCATGT	107 ~ 134	59	KP058558.1
2368-4	CGCACTCAAAAATGTACAGACCT GATCTTAATGCCCATCTCTCCAG	122 ~ 131	58	KP058559.1
2436-1	CACAAGCATGAAGACAGAAGATG GTGCAATACATCAGAGTCCTGGT	121 ~ 145	58	KP216687.1
2489-2	TCCCTAAGCTTTTTCTCACACTG TGCCATTAAAAATGGTCACTATCG	100 ~ 113	57	KP058560.1
59803	GGCCGTGTCCGAATACTTT ACTTCCAGAGTTTGTCCCGT	97 ~ 114	57	KU059486.1
82926	ATTCTCCAGCAGCACCAGAG TCTTAGTGCCAGAGTCGTGC	86 ~ 110	59	KU059487.1
87819	CAAGTGTCTGGGACTGCTC TCCCCTCCTTTTCTGTCTCT	104 ~ 128	58	KU059488.1
171252	CGGCTCTGCTTATATTCATGC TTGTAGAGGGTTGATCTATCTTTCC	93 ~ 135	58	KU059489.1
183111	CTGTGCACCTGGGTCCTG TTTGTGCTGTGAGTTGCTCC	89 ~ 124	58	KU059490.1
364439	CTCACCTCCTCCGCATC CCTGCTGTGCTGTTGTTGT	81 ~ 106	57	KU059492.1
421625	GTGTTGAGAGCGACGCAT CCCTCTCGTCTGAAGTGTCTC	89 ~ 126	59	KU059493.1



注:蓝色为样品;红色为 Marker,从左到右分别为 100, 120, 140, 160, 180 bp 和 200 bp。

图 1 位点 2073-5 在封闭群第 5 号样本的分型结果

Note. Blue represents sample. Red represents marker, 100, 120, 140, 160, 180 bp and 200 bp from left to right, respectively.

Figure 1 Typing results of locus 2073-5 in sample of closed colony No. 5

表 2 诸氏鲮虾虎鱼封闭群和野生群在 20 个微卫星位点上的遗传参数

Table 2 Genetic parameters of *Mugilogobius chulae* from closed colony and wild population at 20 microsatellite loci

位点 Locus	封闭群 Closed colony				野生群 Wild population			
	N_a	H_o	H_e	PIC	N_a	H_o	H_e	PIC
518-4	7	0.4400	0.6414	0.5903	9	0.7000	0.8242	0.7916
1135-1	7	0.3400	0.3929	0.3674	10	0.6400	0.8061	0.7716
1513-1	12	0.6600	0.8576	0.8342	10	0.6400	0.6865	0.6392
1891-1	11	0.6000	0.8636	0.8440	11	0.5000	0.8323	0.8043
1997-5	4	0.6200	0.5784	0.4805	6	0.1800	0.5972	0.5098
2073-5	5	0.4800	0.5970	0.5541	7	0.5600	0.6489	0.5966
2152-4	10	0.7800	0.8527	0.8255	13	0.8800	0.8358	0.8079
2157-5	7	0.6200	0.5519	0.5195	7	0.6400	0.7335	0.6817
2317-1	6	0.5600	0.6479	0.5854	8	0.4800	0.5846	0.5338
2347-2	3	0.6600	0.6305	0.5457	5	0.5400	0.5271	0.4490
2368-4	4	0.6000	0.6244	0.5520	5	0.3600	0.6073	0.5330
2436-1	8	0.7000	0.7869	0.7471	11	0.8400	0.7812	0.7513
2489-2	9	0.7000	0.7976	0.7617	7	0.5800	0.5523	0.5105
59803	6	0.3400	0.7685	0.7261	11	0.2400	0.8315	0.8013
82926	8	0.4800	0.6812	0.6237	7	0.4000	0.6630	0.5935
87819	5	0.5000	0.6733	0.6076	5	0.6000	0.6034	0.5392
171252	15	0.6800	0.8634	0.8425	18	0.6200	0.9008	0.8822
183111	9	0.4200	0.7244	0.6953	9	0.5200	0.6129	0.5508
364439	6	0.6400	0.5996	0.5440	10	0.6800	0.8404	0.8113
421265	6	0.7600	0.7206	0.6704	12	0.8200	0.8554	0.8303
Mean	7.4	0.5790	0.6927	0.6459	9.05	0.5710	0.7162	0.6694

2.4 样本量对封闭群遗传多样性参数的影响

利用 Excel 自嵌随机抽样方法,分别随机抽取封闭群中 10 尾、20 尾、30 尾、40 尾样本,分别计算 10、20、30、40 和 50 尾样本条件下遗传参数(图 2),平均有效等位基因数(N_e)、 H_o 和 H_e 在 10 ~ 50 尾样本中变化不明显, N_a 在 30 尾样本后趋于稳定。

3 讨论

实验动物的一个重要特征是遗传背景清晰,我国现行实验动物遗传质量控制标准主要推荐生化标记方法^[17],由于生化位点携带的信息量不多,实

验动物群体需要多态性更为丰富的标记来反应其遗传多样性^[18]。微卫星标记作为基因组中广泛分布的一种短串联重复序列,其高度的多态性和共显性特征既可完成实验动物表型检测,还可对遗传杂合度进行评估。目前利用微卫星标记对实验动物遗传质量进行评价已有较多报道^[19-20]。本研究利用 20 个微卫星标记对诸氏鲮虾虎鱼封闭群和野生群进行了遗传检测,根据 Botstein 等^[16]提出的基因变异程度高低的 多态信息含量指标:当 $PIC > 0.5$ 时,该位点为高度多态性位点;当 $0.25 < PIC < 0.5$ 时,该位点为中度多态性位点;当 $PIC < 0.25$ 时,该

表 3 诸氏鲮虾虎鱼 20 个微卫星位点的 F 统计量和基因流

Table 3 F statistics and gene flow of 20 microsatellite loci in *Mugilogobius chulae*

位点 Locus	Fis	Fit	Fst	Nm
518-4	0. 2143	0. 2684	0. 0688	3. 3839
1135-1	0. 1744	0. 2651	0. 1099	2. 0242
1513-1	0. 1495	0. 1970	0. 0558	4. 2273
1891-1	0. 3466	0. 3556	0. 0137	17. 9872
1997-5	0. 3126	0. 4059	0. 1357	1. 5916
2073-5	0. 1568	0. 1780	0. 0251	9. 6965
2152-4	0. 0069	0. 0201	0. 0132	18. 6563
2157-5	0. 0099	0. 0653	0. 0559	4. 2195
2317-1	0. 1477	0. 1639	0. 0191	12. 8713
2347-2	-0. 0471	0. 0838	0. 1251	1. 7491
2368-4	0. 2127	0. 2152	0. 0032	78. 1667
2436-1	0. 0080	0. 0541	0. 0464	5. 1336
2489-2	0. 0422	0. 1076	0. 0683	3. 4092
59803	0. 6338	0. 6439	0. 0275	8. 8393
82926	0. 3387	0. 3433	0. 0069	35. 7742
87819	0. 1297	0. 1438	0. 0162	15. 1923
171252	0. 2557	0. 2688	0. 0176	13. 9505
183111	0. 2900	0. 3111	0. 0296	8. 1931
364439	0. 0741	0. 1488	0. 0807	2. 8466
421265	-0. 0127	0. 0194	0. 0317	7. 6331
Mean	0. 1757	0. 2142	0. 0467	5. 0993

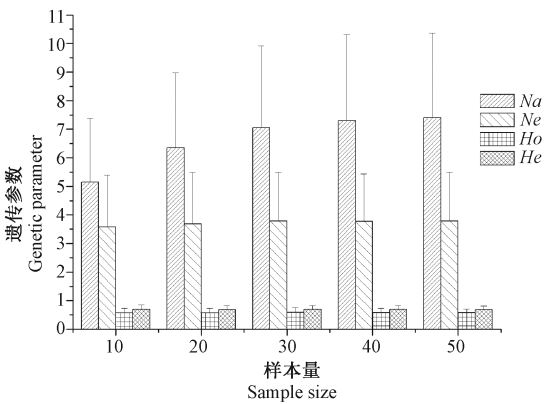


图 2 样本量对封闭群遗传参数的影响
Figure 2 Effect of sample size on genetic parameters of closed colony of *Mugilogobius chulae*

位点为低度多态性位点,本研究所用的 20 个微卫星标记中有 19 个为高度多态($PIC > 0.5$)。一般情况下,多态性高的标记能提供更多的遗传信息,本研究所选用的标记可较好的反应实验鱼的遗传信息,可满足实验鱼遗传质量检测要求。

封闭群动物与野生动物一个重要区别为封闭群在一定范围内保持相对稳定的遗传杂合度^[21],而野生群保持了较高杂合度。杂合度为群体遗传结构的重要指标,也是评价群体遗传变异的最直接和有效的方法。一般认为,当一个群体的平均有效杂

合度小于 0.5 时,表明该群体遗传多样性偏低,有近交倾向,当平均有效杂合度高于 0.7 时,遗传杂合度偏高,群体间个体差异较大,群体的平均有效杂合度在 0.5 ~ 0.7 之间时才为合格的封闭群动物。目前在基于微卫星标记技术的实验动物封闭群遗传质量检测中,多采用遗传杂合度是否在 0.5 ~ 0.7 范围之间作为判定指标^[19-20],如王洪等^[11]推荐将平均杂合度在 0.5 ~ 0.7 之间作为合格封闭群大小鼠的评价指标;李薇等^[22]利用微卫星标记对 5 个长爪沙鼠封闭群遗传检测发现,平均有效杂合度 0.5 ~ 0.7 区间范围可作为长爪沙鼠封闭群遗传合格与否的量化指标;孙瑞萍等^[12]利用微卫星标记对封闭群五指山猪遗传质量进行分析,发现封闭群遗传杂合度为 0.69,符合封闭群动物特征,可用于五指山小型猪遗传多样性评估。

由于国内外在鱼类封闭群培育上起步较晚,目前关于实验鱼封闭群微卫星遗传质量检测的报道相对较少,国内仅见顾党恩等^[14]和李慧慧等^[23]分别利用微卫星标记对稀有鮡鲫连续代系封闭群(P0, F1 ~ F8)的遗传质量进行评价,发现遗传杂合度均在 0.5 ~ 0.7 之间。本研究中诸氏鲮虾虎封闭群和野生群平均无偏期望杂合度分别为 0.6927 和 0.7162,封闭群平均无偏期望杂合度在 0.5 ~ 0.7 范围之内,而野生群平均期望杂合度在 0.7 以上。

如无发生近交,鱼类野生群体遗传杂合度通常高于 0.7,如鳊(*Aristichthys nobilis*)为 0.882^[24]、黄鳍棘鲷(*Acanthopagrus latus*)为 0.741^[25]、拟鲤(*Rutilus rutilus*)为 0.9168^[26]、鳊(*Siniperca chuatsi*)为 0.71^[27]等。可见平均无偏期望遗传杂合度值在 0.5~0.7 区间范围可作为一种判定诸氏鲮虎鱼封闭群遗传质量是否合格的候选指标,同时也发现封闭群与野生群平均遗传杂合度差异较小,封闭群仍保持较高的杂合度,推测可能与以下因素有关:①该封闭群原始建群的 P0 代亲本来自此野生群采样地区,二者存在相似的遗传基础;②该封闭群始终保持较大的群体规模(大于 6000 尾),且自建群起严格按照实验动物要求繁殖和管理,有效保持了群体遗传杂合度。同时对诸氏鲮虎鱼封闭群和野生群体进行遗传结构分析发现,封闭群与野生群间遗传分化较小,说明诸氏鲮虎鱼封闭群在遗传背景上与此野生群存在关联性,也侧面证明该封闭群在培育过程中未发生近交。

本研究同时发现,当群体数量达到 30 尾以上,平均等位基因数趋于稳定,与稀有鮎鲫封闭群的研究结果类似^[23],而对于平均有效等位基因数、平均观测杂合度和平均期望杂合度等指标,各个抽样数量间差异不明显,可能与本研究选用标记多态性较高有关(仅有 1 个标记为中度多态,其余均为高度多态)。

参 考 文 献(References)

- [1] 李建军,陈小曲,林忠婷,等. 诸氏鲮虎鱼的形态与生长特性分析[J]. 实验动物与比较医学, 2012, 32(4): 334-340.
Li JJ, Chen XQ, Lin ZT, et al. Analysis on morphology and growth characteristics of *Mugilogobius chulae* [J]. Lab Anim Comp Med, 2012, 32(4): 334-340.
- [2] 陈小曲,黄韧,李建军. 诸氏鲮虎鱼染色体组型分析[J]. 热带海洋学报, 2013, 32(6): 88-95.
Chen XQ, Huang R, Li JJ. Study on the karyotype of *Mugilogobius chulae*[J]. J Trop Oceanograph, 2013, 32(6): 334-340.
- [3] 蔡磊,陈小曲,郑伟强,等. 诸氏鲮虎鱼多态性微卫星标记的开发及评价[J]. 中国实验动物学报, 2015, 23(1): 57-62.
Cai L, Chen XQ, Zheng WQ, et al. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers in *Mugilogobius chulae* [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2015, 23(1): 57-62.
- [4] 李建军,林忠婷,陈小曲,等. 四种重金属离子对诸氏鲮虎鱼的单一和联合毒性[J]. 海洋环境科学, 2014, 2: 236-241.
Li JJ, Lin ZT, Chen XQ, et al. Single and joint toxicity of four heavy metal ions on *Mugilogobius chulae* [J]. Mar Environ Sci, 2014, 2: 236-241.
- [5] 李建军,余露军,蔡磊,等. 诸氏鲮虎鱼实验动物化研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2018, 26(4): 493-498.
Li JJ, Yu LJ, Cai L, et al. Advances in research on *Mugilogobius chulae*, a laboratory marine fish resource [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2018, 26(4): 493-498.
- [6] Senanan W, Pechsiri J, Sonkaew S, et al. Genetic relatedness and differentiation of hatchery populations of Asian seabass (*Lates calcarifer*) (Bloch, 1790) broodstock in Thailand inferred from microsatellite genetic markers[J]. Aquacult Res, 2015, 46(12): 2897-2912.
- [7] Thanh HN, Liu Q, Zhao LJ, et al. Genetic diversity of the cultured giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in China based on microsatellite [J]. Biochem Syst Ecol, 2015, 59: 144-154.
- [8] Liu F, Xia JH, Bai ZY, et al. High genetic diversity and substantial population differentiation in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) revealed by microsatellite analysis [J]. Aquaculture, 2009, 297(1-4): 51-56.
- [9] Fahey JR, Katoh H, Malcolm R, et al. The case for genetic monitoring of mice and rats used in biomedical research [J]. Mamm Genome, 2013, 24(3-4): 89-94.
- [10] Background strain characterization. [EB/OL]. [2017].
<https://www.criver.com/sites/default/files/resources/BackgroundStrainCharacterizationTechnicalSheet.pdf>.
- [11] 王洪,魏杰,冯育芳,等. 实验小鼠、大鼠微卫星 DNA 检测法标准的编制[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(9): 97-102.
Wang H, Wei J, Feng YF, et al. Establishment of a standard method for detecting microsatellite markers of laboratory mice and rats [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(9): 97-102.
- [12] 孙瑞萍,魏立民,晁哲,等. 封闭群五指山小型猪 33 个微卫星位点的遗传分析[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(21): 172-177.
Sun RP, Wei LM, Chao Z, et al. Genetic analysis of closed colony of Wuzhishan Miniature pig by 33 microsatellites [J]. Jiangsu Agric Sci, 2018, 46(21): 172-177.
- [13] 刘城秀,李娜,全品芬,等. 封闭群树鼩的微卫星遗传特性分析[J]. 实验动物与比较医学, 2018, 38(1): 1-9.
Liu CX, Li N, Tong PF, et al. Analysis of microsatellite genetic characteristics in of closed colony of tree shrews [J]. Lab Anim Comp Med, 2018, 38(1): 1-9.
- [14] 顾克恩,王剑伟. 应用微卫星标记对稀有鮎鲫封闭群建群过程中的遗传监测[J]. 水生生物学报, 2012, 36(2): 197-204.
Gu DE, Wang JW. Application of microsatellite marker in genetic monitoring on the foundation of a closed colony of *Gobiocypris rarus*[J]. Acta Hydrobiol Sin, 2012, 36(2): 197-204.
- [15] 蔡磊,余露军,陈小曲,等. 诸氏鲮虎鱼转录组序列中微卫星标记的初步筛选及特征分析[J]. 生物技术通报, 2015, 31(9): 146-151.

- Cai L, Yu LJ, Chen XQ, et al. A Preliminary Screening and Characteristic Analysis of Microsatellite Markers from Transcriptome Sequences in *Mugilogobius chulae* [J]. Biotechnol Bull, 2015, 31(9): 146–151.
- [16] Botstein D, White RL, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. Am J Hum Genet, 1980, 32(3): 314–331.
- [17] 全国实验动物标准化技术委员会. 实验动物 哺乳类实验动物的遗传质量控制: GB14923–2010 [S]. 2010.
- National Technical Committee 281 on Laboratory Animal of Standardization Administration of China. Laboratory animal-Genetic quality control of mammalian laboratory animals; GB 14923–2010 [S]. 2010.
- [18] 朱亮, 蔡月琴, 屠珏, 等. 应用微卫星标记研究 Dunkin Harley 豚鼠封闭群的遗传背景 [J]. 中国实验动物学报, 2011, 19(1): 51–55.
- Zhu L, Cai YQ, Tu J, et al. Assessment of the genetic background in Dunkin Hartley guinea pig outbred stock using microsatellite DNA markers [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2011, 19(1): 51–55.
- [19] 北京市科学技术委员会. 实验用小型猪 第 3 部分: 遗传质量控制: DB/T 823.3–201 [S]. 2011.
- Beijing Municipal Science & Technology Commission. Experimental minipig Part 3: Genetic quality control; DB/T 823.3–2011 [S]. 2011.
- [20] 北京市科学技术委员会. 实验用鱼 第 3 部分: 遗传质量控制: DB/T 1053.3–2013 [S]. 2013.
- Beijing Municipal Science & Technology Commission. Laboratory fish Part 3: Genetic quality control; DB/T 1053.3 – 2013 [S]. 2013.
- [21] International Committee on Standardized Genetic Nomenclature for Mice, Rat Genome and Nomenclature Committee. Guidelines for Nomenclature of Mouse and Rat Strains [EB/OL]. [2016–01]. <http://informatics.jax.org/nomen/strains.shtml>.
- [22] 李薇, 江其辉, 杜小燕, 等. 封闭群长爪沙鼠遗传标准的建立 [J]. 实验动物科学, 2011, 28(2): 31–36.
- Li W, Jiang QH, Du XY, et al. Establishment of genetic standards of closed colony gerbil [J]. Lab Anim Sci, 2011, 28(2): 31–36.
- [23] 李慧慧, 王春伶, 王剑伟. IHB 系稀有鮡鲫遗传结构研究 [J]. 水生态学杂志, 2018, 39(1): 83–90.
- Li HH, Wang CL, Wang JW. Genetic structure of IHB rare minnow (*Gobiocypris rarus*) [J]. J Hydroecol, 2018, 39(1): 83–90.
- [24] 冯晓婷, 杨习文, 杨雪军, 等. 基于微卫星标记对长江江苏段鳊增殖放流效果评估 [J]. 中国水产科学, 2019, 26(6): 1185–1193.
- Feng XT, Yang XW, Yang XJ, et al. Microsatellite method assessment of the effects of restocking enhancement of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) in Jiangsu reaches of the Yangtse River [J]. J Fish Sci China, 2019, 26(6): 1185–1193.
- [25] 吴仁协, 翟云, 肖瑶, 等. 黄鳍棘鲷微卫星标记开发及其在鲷科鱼类中的跨物种扩增 [J]. 应用海洋学报, 2019, 38(3): 356–364.
- Wu XR, Zhai Y, Xiao Y, et al. Microsatellite marker development for *Acanthopagrus latus* and cross-species amplification in the family Sparidae [J]. J App Oceangra, 2019, 38(3): 356–364.
- [26] 李可, 马徐发, 谢鹏, 等. 基于微卫星标记的拟鲤遗传多样性及群体遗传结构分析 [J]. 华中农业大学学报, 2018, 37(4): 112–120.
- Li K, Ma XF, Xie P, et al. Genetic diversity and population genetic structure of *Rutilus rutilus* based on microsatellite genetic markers [J]. J Huazhong Agric Univ, 2018, 37(4): 112–120.
- [27] 曾可为, 宋文, 王青云, 等. 基于微卫星标记的鳊种质遗传多样性与群体遗传结构分析 [J]. 华中农业大学学报, 2019, 38(6): 104–115.
- Zeng KW, Song W, Wang QY, et al. Genetic diversity and population genetic structure of mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) based on microsatellite marker [J]. J Huazhong Agric Univ, 2019, 38(6): 104–115.

[收稿日期] 2019–11–28