

诸氏鲮虾虎鱼多态性微卫星标记的开发及评价

蔡磊, 陈小曲, 郑伟强, 李建军*

(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 开发诸氏鲮虾虎鱼 (*Mugilogobius chulae*) 多态性微卫星标记, 为诸氏鲮虾虎鱼的遗传背景评价提供基础数据。**方法** 采用磁珠富集法, 以生物素标记的 (AC)₁₅ 为探针, 构建了诸氏鲮虾虎鱼微卫星富集文库。经克隆、筛选、测序后, 设计合成微卫星引物, 利用野生群体对微卫星引物进行多态性筛选和评价。**结果** 共获得 74 个含有微卫星重复单元的序列, 根据微卫星序列共设计出 33 对微卫星引物。利用 30 个野生诸氏鲮虾虎鱼样本对 33 对引物的微卫星位点进行了评价, 其中有 12 个位点表现出多态性, 平均有效等位基因数 (N_e)、观测杂合度 (H_o)、期望杂合度 (H_e) 及多态信息含量 (PIC) 分别为 2.9167、2.2311、0.4583、0.5633 和 0.4474。**结论** 所筛选的微卫星标记将为诸氏鲮虾虎鱼遗传质量控制及监测提供实验依据。

【关键词】 诸氏鲮虾虎鱼; 多态性; 微卫星标记; 遗传多样性

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2015) 01-0057-06

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2015.01.011

Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers in *Mugilogobius chulae*

CAI Lei, CHEN Xiao-qu, ZHENG Wei-qiang, LI Jian-jun

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

【Abstract】 Objective To isolate microsatellite DNA markers from genome of *Mugilogobius chulae* for further identification of its genetic background. **Methods** A microsatellite-enriched genomic library for *Mugilogobius chulae* was constructed by magnetic-bead enrichment method using biotinylated (AC)₁₅ probe. After a series of steps, the obtained microsatellite markers were assessed and evaluated versus that of wild population of *Mugilogobius chulae*. **Results** 74 repeated sequences containing microsatellite sequences were obtained from 95 randomly picked positive clones. 33 primers were designed and synthesized. All of these loci were selected for polymorphism analysis in a wild population of *Mugilogobius chulae*, and 12 of them showed polymorphism. The mean number of alleles (N_a), the number of effective alleles (N_e), observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e), and polymorphic information content (PIC) were 2.9167, 2.2311, 0.4583, 0.5633 and 0.4474, respectively. **Conclusions** The microsatellites developed in this study represent the first nuclear markers described in *Mugilogobius chulae* and will be useful tools for genetic studies of *Mugilogobius chulae*.

【Key words】 *Mugilogobius chulae*; Polymorphism; Microsatellites; Genetic diversity

诸氏鲮虾虎鱼 (*Mugilogobius chulae*) 为鲈形目 (Perciformes)、虾虎鱼科 (Gobiidae)、鲮虾虎鱼属 (*Mugilogobius*) 的一种暖水性小型海洋鱼类^[1], 广泛分布于西太平洋沿岸日本至菲律宾浅水海域, 因其

在生长、繁殖及对污染物的敏感性等方面具有一系列的优势^[2], 使其在海洋模式实验动物方面具有较大的开发潜力。目前诸氏鲮虾虎鱼已建立了室内全人工繁育技术, 封闭群已培育至第 14 代。现有的报

【基金项目】 国家科技支撑计划项目 (2013BAK11B02); 广东省中国科学院全面战略合作项目 (2011B090300099); 广东省科技计划项目 (2012A020602008); 广东省科技计划项目 (2011B010500021)。

【作者简介】 蔡磊 (1986 年 -), 男, 实习研究员, 硕士研究生, 主要从事分子生态毒理学。E-mail: cailei17@163.com

【通讯作者】 李建军, 高级工程师。E-mail: lijianjun1125@126.com

道中较多关注的是诸氏鲮虾虎鱼生物学特性的研究^[2-4],对其遗传背景知识知之甚少,且我国现行的实验动物国家标准中又缺乏对水生实验动物质量控制的标准。因此,有必要开发诸氏鲮虾虎鱼遗传质量监测方法,以期为该封闭群的保种、引种和研发提供依据。

微卫星标记因其共显性和多态性较为丰富等优点,已在物种遗传多样性和遗传结构分析中被广泛应用^[5-6],利用微卫星技术对实验动物进行遗传质量监测也见大量报道^[7-8],微卫星标记已成为实验动物遗传质量控制一个十分有效的工具。目前在微卫星标记的获得方面主要有克隆和在线数据库检索两种途径,现有的数据库中关于诸氏鲮虾虎鱼的序列非常有限,根本无法利用开展相关遗传背景研究。本研究采用磁珠富集快速分离技术(fast isolation by AFLP sequences containing repeats, FIASCO)^[9]开发了诸氏鲮虾虎鱼多态性的微卫星位点,初步建立诸氏鲮虾虎鱼遗传检测方法,以期对诸氏鲮虾虎鱼遗传质量监测标准化提供基础资料。

1 材料和方法

1.1 实验材料

微卫星富集文库构建所用的诸氏鲮虾虎鱼样品采集于广东深圳大鹏湾浅水区,共 34 尾,雌雄各半,全长范围在 2.3 ~ 3.9 cm 之间,平均体重(0.4 ± 0.13)g。实验所需生物素标记的探针(AC)₁₅、接头寡核苷酸链均由上海生工生物工程公司合成;限制性内切酶 Sau3AI、T₄ DNA 连接酶、pBR322 DNA/BsuRI marker 均购自 MBI 公司,pMD 19-T 载体、Taq DNA 聚合酶均购自大连宝生物工程有限公司;链霉亲和素包被的磁珠、磁力分离架均购自 Promega 公司。

1.2 诸氏鲮虾虎鱼微卫星文库的构建

1.2.1 基因组 DNA 提取与酶切

按照常规方法提取样品基因组 DNA 并检测纯度和浓度。选取 4 个样本的 DNA 等量混合,取 1 μ g 混合基因组 DNA 用 Sau3AI 37℃ 酶切 3 h,1.5% 琼脂糖凝胶电泳,凝胶 DNA 回收试剂盒(购美基生物公司)回收 300 ~ 1000 bp 的 DNA 片段。

1.2.2 接头的连接和 PCR I 扩增

参照张晓菊等^[10]的方法将寡核苷酸链 A(5'-pGATCGTCGACGGTACCGAATTCT-3')和 B(5'-GTCAAGAATTCGGTACCGTCGAC-3')制备为双链接头。用 T₄ DNA 连接酶链接接头与酶切回收片段,

16℃ 连接过夜。连接片段用 PCR 产物纯化试剂盒纯化。以连有接头的 DNA 片段为模板,寡核苷酸链 B 为引物进行 PCR 扩增。25 μ L 的反应体系包括 PCR 预混缓冲液 12.5 μ L,寡核苷酸链 B(25 μ mol/L)1 μ L,DNA 模板(100 ng/ μ L)5 μ L,无菌去离子水补齐至 25 μ L。PCR 反应程序为:94℃ 1 min,58℃ 1 min,72℃ 2 min,20 个循环,72℃ 延伸 10 min。PCR 产物用纯化试剂盒进行纯化。

1.2.3 DNA 片段与探针杂交

配制 100 μ L 杂交体系,包括 20 $\times$ SSC 21 μ L,10% SDS 0.7 μ L,bio-(AC)₁₅探针(100 μ mol/L)0.8 μ L,PCR 回收产物 3 μ L,无菌去离子水补齐至 100 μ L。混匀后 95℃ 变性 10 min,迅速降温至 58℃ 杂交 1 h。

1.2.4 磁珠的富集

磁珠的平衡及片段的富集参照张立楠^[11]的方法。

1.2.5 PCR II 扩增

以上述洗脱产物为模板,寡核苷酸 B 链为引物进行 PCR 扩增,PCR 体系与程序同 PCR I。PCR 产物用纯化试剂盒纯化。

1.2.6 连接转化、阳性克隆筛选

建立 10 μ L 连接体系,包括 pMD19-T 1 μ L,solution I 5 μ L,插入 DNA 4 μ L,16℃ 连接 2 h。将连接产物转化入感受态大肠杆菌(*Escherichia coli*)DH5 α ,将已转化的感受态细胞涂布于含有 IPTG、X-Gal 和氨苄青霉素(100 μ g/mL)LB 平板上。

用引物 M13-47、RV-M 和 SSRm(CACACACACACACACAdn)对白色单菌落进行 PCR 鉴定,PCR 产物在 1% 琼脂糖凝胶中电泳检测,选取扩增产物为两条或两条以上带的克隆送上海生工生物工程公司测序。

1.3 微卫星引物设计及筛选

去除载体和接头序列后,用 Tandem Repeats Finder 4.7.0.0 查找微卫星位点,用 Primer Premier 5.0 在微卫星 DNA 序列上下游 20 bp 以外的保守区域设计引物。利用 30 尾野生样本对所设计微卫星引物进行多态性评价。PCR 产物用浓度为 8% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳检测。

1.4 数据处理

利用 Popgene 32 (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)、期望杂合度(H_e)、 χ^2 检验

Hardy-Weinberg 平衡。根据 Botstein 等^[12]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:

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

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 为某一基因座上等位基因数。

2 结果

2.1 微卫星克隆测序结果及序列分析

利用 PCR 方法对平板中的白色单菌落进行鉴定, 随机挑选 95 个阳性克隆进行测序, 共获得含有微卫星重复单元的克隆 74 个, 阳性克隆率为 77.89%。根据 Weber 等^[13]提出的微卫星 DNA 序列分类标准, 对上述获得的 74 含有微卫星重复单元的序列进行分类统计, 序列类型主要是完美型和非完美型, 分别为 59 个(占 79.7%)和 14 个(占 18.9%), 复合型仅 1 个(占 1.4%)。74 个微卫星 DNA 重复序列中仅发现 3 个非两碱基重复序列, 重

复类型均为 ATTT, 其余均为两碱基 AC/GT 重复, 其他类型重复单元均未发现。

对 74 个微卫星 DNA 的重复单元进行拷贝数统计, 两碱基 AC/GT 拷贝数分布范围在 6~99 之间, 其中拷贝数主要分布在 10~19 之间, 数量达到 41 个, 占所有序列的 55.4%。拷贝数在 6~9、20~29、30~39、40 及大于 40 的分别为 11、14、4、4 个。4 碱基 ATTT 的拷贝数分布范围为 5~22, 3 条序列的微卫星 DNA 重复次数分别为 5、9、22 次。

2.2 引物设计及多态性检测

利用 Premier 5.0 软件对所得的 74 个微卫星序列进行引物设计, 除去一些侧翼序列和较短不能设计引物外共有 56 个微卫星序列可设计引物, 挑选其中双碱基重复次数大于 15 次, 四碱基重复次数大于 6 次的序列共设计 33 对引物。利用 33 对引物对 30 尾野生诸氏鲮虾虎鱼进行了扩增, 结果发现 12 对具有多态性(见表 1), 相关序列已上传至美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)。

表 1 诸氏鲮虾虎鱼 12 个微卫星位点及引物序列
Tab.1 Twelve microsatellite markers of *Mugilogobius chulae* and sequences of their primers

位点 Loci	引物序列(5'-3') Primer sequence	重复单元 Repeat motifs	等位基因 大小范围/bp Allele size range	退火温度/℃ Annealing temperature	登录号 Access no.
Much1	CTACAACCAACCTGCCCCAC TAATGAAGCGACAGCACCGAG	(TG)15	140~179	59	KJ624136
Much2	CACTCACACTGCTGCTGC GGAGAAAAGGTAAGACAGTTGG	(AC)15	304~360	54	KJ624137
Much3	GCGGTGGTTTTTGACTGTTT TTCTGTCACCTCCACCGCACT	(GT)16	180~198	52	KJ624138
Much4	CTGTCACTCCCCGGATTTCG TGCCTGGGCTCACACCTGCT	(GT)7CA(GT) 4ATTGTAT(GT)7	170~190	54	KJ624139
Much5	CTAAAGTCTGTGTGAGTGTTC CTGAGTTTGTGAAGAGAAGG	(GTTT)9	76~108	59	KJ624140
Much6	AGCTTTAGACGCTGATGTGG CGTAGATTGAGTTAGTGTCACTGT	(GT)16	170~213	57	KJ624141
Much7	GTACAGATGGGACATGGAAC ACAGAACTAATGTGTTGCCC	(TG)13G(TG)3	180~191	59	KJ624142
Much8	CGTGTTCGTGTTGTGCTCTGG TACTGCTGCTCCTGTTTTG	(GT)16	200~249	50	KJ624143
Much9	GTTTCTCTCATGCAGCCACT CCTCTCCTTACTCCTCCAG	(AC)21	192~220	50	KJ624144
Much10	TGTTTGAGCTTTCTGCTTCC GTAGAGCGGTTCTTATTTCC	(GT)24	165~173	50	KJ624145
Much11	GGGACGAGTCTGACTGTAGAC CTCCAGTGAAGATGTCCCA	(GT)30	240~307	52	KJ624146
Much12	TGTCCACACCACAGTAAAGC GCGCCTATGTTCAATTATGAGATC	(GT)21	430~436	50	KJ624147

2.3 群体遗传多样性分析

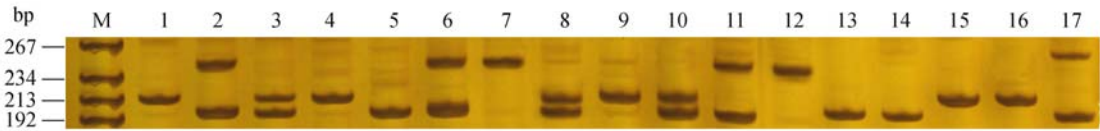
12 个多态性位点共检测到 35 个等位基因,平均等位基因数(N_a)、平均有效等位基因数(N_e)、平均观测杂合度(H_o)、平均期望杂合度(H_e)以及平均多态信息含量(PIC)分别为 2.9167、2.2311、0.4583、0.5633 和 0.4474。12 个位点中有 5 个位点表现出高度多态($PIC > 0.5$),5 个位点表现出中度多态($0.25 < PIC < 0.5$),2 个位点表现出低度多态

($PIC < 0.25$)。相关数据见表 2。利用 SPSS17.0 对 12 个微卫星位点核心重复序列重复次数和 PIC 值进行相关性分析,结果显示所用位点核心重复次数与 PIC 值不存在相关性($P > 0.05$)。部分扩增结果(见图 1)。

对 12 个微卫星位点进行 Hardy-Weinberg 平衡的 χ^2 检验,结果表明 Much4 和 Much5 偏离平衡($P < 0.05$)(见表 2)。

表 2 诸氏鲮虾虎鱼基因组中 12 个微卫星位点的遗传参数
Tab. 2 Characteristics of 12 microsatellite loci in the genome of *Mugilogobius chulae*

位点 loci	等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	多态信息含量 PIC	固定指数 F_{is}	P 值 P value
Much1	4.0000	2.7692	0.3333	0.6970	0.5688	0.4783	0.3027
Much2	2.0000	1.3846	0.3333	0.3030	0.2392	-0.2000	0.7388
Much3	3.0000	2.3226	1.0000	0.6212	0.4767	-0.7561	0.1717
Much4	3.0000	2.5714	0.0000	0.6667	0.5355	1.0000	0.0003
Much5	3.0000	2.3226	0.1667	0.6212	0.5046	0.7073	0.0030
Much6	3.0000	2.3226	0.6667	0.6212	0.5046	-0.1707	0.8471
Much7	2.0000	1.1803	0.1667	0.1667	0.1411	-0.0909	1.0000
Much8	3.0000	2.1818	0.1667	0.5909	0.4597	0.6923	0.0546
Much9	4.0000	3.2727	0.6667	0.7576	0.6391	0.0400	0.5282
Much10	2.0000	1.8000	0.6667	0.4848	0.3457	-0.500	0.3006
Much11	3.0000	2.3226	0.6667	0.6212	0.4767	-0.1707	0.8093
Much12	3.0000	2.3226	0.6667	0.6212	0.4767	-0.1707	0.8093
mean	2.9167	2.2311	0.4583	0.5644	0.4474	0.0716	0.4638



注: M: marker; 1-17: 17 个诸氏鲮虾虎鱼个体。
图 1 引物 Much8 在诸氏鲮虾虎鱼野生群体部分个体中的扩增结果
Note. M: marker; 1-17: 17 *Mugilogobius chulae* individuals.

Fig. 1 Electrophoresis results of primer Much8 in some individuals of *Mugilogobius chulae*

3 讨论

3.1 诸氏鲮虾虎鱼微卫星位点的开发及特征分析

本研究选取 95 个阳性克隆进行测序,共获得 74 条含有微卫星序列的序列,阳性率为 77.89%,与虾虎鱼科其他属鱼类相比,黑虾虎鱼(*Gobius niger*)^[14]微卫星文库阳性率为 78.1%,与本研究相当,微体玻璃鰕虎鱼(*Aphia minuta*)^[15]和白带高鳍虾虎鱼(*Pterogobius zonoleucus*)^[16]分别为 47.5% 和 57.3%,比本研究稍低。但均与磁珠富集法构建微卫星文库阳性克隆率的理论值还有较大差距^[17],推测可能与实验过程中条件、试剂以及人员操作熟练程度等因素等有关^[18]。

一般认为在真核生物基因组中微卫星完美型的

比例显著高于非完美型^[19],本研究中微卫星完美型比例占 79.7%,与大多真核生物比例类似,这种比例在不同物种间差异较大,如文蛤(*Meretrix meretrix*)微卫星序列中高达 93% 的序列为完美型^[20],草鱼(*Ctenopharyngodon idellu*)为 66.87%^[21],大弹涂鱼(*Boleophthalmus pectinirostris*)为 31.25%^[10]。在重复单元类型方面,本研究获得的微卫星序列主要为两碱基重复,占序列总数目的 95.9%,主要重复单元为 AC/TG,其他重复类型仅有四碱基重复,这与本研究中使用(AC)₁₅探针有关。同时本研究获得微卫星位点重复次数主要集中在 10~19 之间,占全部序列的 55.4%,与其他鱼类基本一致^[11,22]。Squirrell 等^[23]统计 1997-2003 年开发微卫星开发的情况时发现,平均有 24.10% 的引物具有多态性,

本试验共设计 33 对引物,得到 12 个多态性微卫星位点,占引物总数的 36.36%,略高于 Squirrell 等的数据,推测可能与本实验所挑选的微卫星重复单元重复次数较高有关,本研究挑选的序列中双碱基重复次数均大于 15 次,四碱基重复次数均大于 6 次。一般认为标记多态信息含量随着重复次数的增加而增加^[13],基于本研究中数据对 12 个微卫星位点核心重复序列重复次数和 *PIC* 值进行相关性分析,结果显示所用位点核心重复次数与 *PIC* 值不存在相关性,这一现象在三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)和中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)等中也见报道^[24-25]。推测可能与所选取的微卫星标记数量较少以及所选用标记重复次数没有涵盖更高或更低的重复次数有关,选取位点不能对所有位点的特性进行全面的概括。

3.2 诸氏鲮虾虎鱼野生群体遗传多样性分析

遗传杂合度(*H*)是反映群体遗传多样性的主要参数,群体的杂合度越高,群体的遗传多样性就越高^[26]。本研究利用获得的 12 个多态性微卫星标记对诸氏鲮虾虎鱼野生群体进行遗传多样性分析,群体的平均观测杂合度(*H_o*)和期望杂合度(*H_e*)分别为 0.4583 和 0.5644,群体遗传杂合度偏低,推测可能与杂合子缺失有关。固定指数(*F_{is}*)的平均值是反应群体杂合子状态的一个重要参数,当 *F_{is}* = 0 时,群体基因型的分布处于平衡状态,*F_{is}* > 0 时,为杂合子缺失,*F_{is}* < 0 时为杂合子过剩^[27],本研究群体中 12 个位点有将近一半出现杂合子缺失现象,平均固定指数为 0.0716,表现出杂合子缺失现象。Suci 等^[28]认为杂合子缺失与多种因素有关,如无效等位基因、样本量大小、近亲繁殖及人为因素等。同时对各个位点的多态信息含量(*PIC*)进行计算,根据 Botstein 等^[12]的标准,实验群体的 12 个位点中有具有高度多态性的位点有 5 个(*PIC* > 0.5),中度以及中度以下多态性的位点有 7 个(*PIC* < 0.5),平均多态信息含量(*PIC*)为 0.4474,群体平均多态信息含量为中度多态。一般认为微卫星位点等位基因数目较少的位点 *PIC* 值也偏低^[29],本研究中 12 个位点共检测到等位基因 35 个,平均等位基因(*N_a*)数仅为 2.9167,推测实验群体 *PIC* 含量偏低可能与选用微卫星位点检测到等位基因数偏少有关。各项遗传参数均表明本实验所选用群体的遗传多样性偏低,推测可能是由标记检测到等位基因数偏低或采样群体是由一个有限的亲本所产生的群体,使得采

样群体部分等位基因的发生缺失。

本研究为诸氏鲮虾虎鱼微卫星标记的首次开发,富集文库的成功构建为今后利用磁珠富集法开发诸氏鲮虾虎鱼全基因组微卫星标记提供了可行性的参考方案,其中获得的多态性标记以及建立的遗传评价方法,也将为诸氏鲮虾虎鱼封闭群建群过程中亲鱼的遗传背景评价以及建群后遗传质量控制奠定了基础。

参 考 文 献

- [1] 伍汉霖,钟俊生. 中国动物志硬骨鱼纲鲈形目(五) 虾虎鱼亚目[M]. 北京: 科学出版社, 2008, 497-498.
- [2] 李建军,陈小曲,林忠婷,等. 诸氏鲮虾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.
- [3] 李建军,吴美慧,叶惠欣,等. 不同发育期诸氏鲮虾虎鱼对钻井液的敏感性比较[J]. 中国比较医学杂志, 2013, 23(4): 48-51.
- [4] 王颖,林忠婷,李建军,等. 卤虫无节幼体和配合饵料饲喂诸氏鲮虾虎鱼效果比较[J]. 河北渔业, 2012, 1: 28-30.
- [5] 蔡磊,白俊杰,李胜杰,等. 大口黑鲈北方亚种和佛罗里达亚种及其杂交子代的遗传分析[J]. 中国水产科学, 2012, 19(1): 70-76.
- [6] Djuikwo-Teukeng FF, Da Silva A, Njiokou F, et al. Significant population genetic structure of the Cameroonian fresh water snail, *Bulinus globosus*, (Gastropoda: Planorbidae) revealed by nuclear microsatellite loci analysis [J]. Acta Tropica, 2014, 137: 111-117.
- [7] 顾党恩,王剑伟. 应用微卫星标记对稀有鲫封闭群建群过程的遗传监测[J]. 水生生物学报, 2013, 36(2): 197-204.
- [8] 郑龙,李建辉,王俊霞,等. 微卫星 DNA 标记在近交系大鼠 HFJ 和 MIJ 遗传监测中的应用[J]. 中国实验动物学报, 2012, 20(2): 32-36.
- [9] Zane L, Bargelloni L, Patarnello T. Strategies for microsatellite isolation: a review [J]. Molecular Ecol, 2002, 11(1): 1-16.
- [10] 张晓菊,薛良义,林天势,等. 磁珠富集法筛选大弹涂鱼 CA 微卫星序列[J]. 生物技术通报, 2011, 11: 193-198.
- [11] 张立楠. 鲢遗传连锁图谱的构建及精子竞争对性别间重组率差异的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010, 24-36.
- [12] Botstein D, White RL, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. Am J Human Genet, 1980, 32: 314-331.
- [13] Weber JL. Informativeness of human (dC-dA)n. (dG-dT)n polymorphisms [J]. Genomics, 1990, 7: 524-530.
- [14] Ruggeri P, Splendiani A, Giovannotti M, et al. Isolation of novel microsatellite loci in the black goby *Gobius niger* and cross-amplification in other gobiid species (Perciformes, Gobiidae) [J]. J Fish Biol, 2012, 81(6): 2044-2052.
- [15] Ruggeri P, Splendiani A, Giovannotti M, et al. Isolation and characterisation of novel microsatellite loci in the transparent goby

- Aphia minuta (Perciformes, Gobiidae) [J]. Conserv Genet Resources, 2013, 5(3): 775–777.
- [16] Nohara K, Kokita T, Tominaga O, et al. Isolation and characterization of 11 polymorphic microsatellite loci in the whitegirdled goby (*Pterogobius zonoleucus*) and cross-species amplification in the serpentine goby (*P. elapoides*) [J]. Mol Ecol Resources, 2009, 9(2): 610–612.
- [17] Reddy OUK, Pepper AE, Abdurakhmonov L, et al. New dinucleotide and trinucleotide microsatellite marker resources for cotton genome research [J]. Mol Biol Physiol, 2001, 5(2): 103–113.
- [18] 刘瑞成, 张富铁, 但胜国, 等. 宽口光唇鱼微卫星位点的筛选与特征分析 [J]. 四川动物, 2013, 32(2): 161–166.
- [19] Winter AK, Fredholm M, Thomsen PD. Variable (dG-dT)n. (dC-dA)n sequences in the porcine genome [J]. Genomics, 1992, 12(2): 281–288.
- [20] 齐晓艳, 董迎辉, 姚韩韩, 等. 文蛤 30 个微卫星标记的开发及在斧文蛤和帘文蛤中的通用性检测 [J]. 水产学报, 2013, 37(8): 1147–1154.
- [21] 连灏, 石米娟, 杜富宽, 等. 草鱼 (AG) 微卫星标记克隆及特性分析 [J]. 水生生物学报, 2013, 36(1): 29–34.
- [22] 段友健, 张富铁, 曹善茂, 等. 中华金沙鳅多态性微卫星位点的筛选与特征分析 [J]. 水生生物学报, 2012, 36(1): 148–151.
- [23] Squirrell J, Hollingsworth PM, Woodhead M, et al. How much effort is required to isolate nuclear microsatellites from plants? [J]. Mol Ecol, 2003, 12: 1339–1348.
- [24] 吕建建, 王渝, 高保全, 等. 三疣梭子蟹 I 型微卫星标记的发掘及多态性分析 [J]. 水产学报, 2013, 37(6): 816–822.
- [25] 高焕, 于飞, 李生, 等. 中国明对虾基因组微卫星重复单元类型与其多态性关系 [J]. 水生生物学报, 2009, 33(1): 94–102.
- [26] 郭昱嵩, 王庆恒, 黎幸连, 等. 北部湾光裸星虫 3 个地理群体遗传多样性 [J]. 中国水产科学, 2012, 19(1): 62–69.
- [27] Weir BS, Cocker HC. Estimating F-statistics for the analysis of population structure [J]. Evolution, 1984, 38: 1358–1370.
- [28] Suci A, Uthairat NN, Worawut K. Study of genetic diversity of orange spotted grouper, *Epinephelus coioides* from Thailand and Indonesia using microsatellite markers [J]. Mar Biotechnol, 2005, 8: 17–26.
- [29] 徐鹏, 周岭华, 相建海. 中国对虾微卫星 DNA 的筛选 [J]. 海洋与湖沼, 2013, 2(3): 255–259.

[收稿日期] 2014-07-30

《中国实验动物学报》征订启事

《中国实验动物学报》是由中国科学技术协会主管,中国实验动物学会、中国医学科学院医学实验动物研究所主办的国家级学术刊物。是我国实验动物科学领域唯一的学报级期刊。本刊创刊于 1993 年,创刊以来,及时地反映了我国实验动物科学领域的重要研究成果,为本学科发展发挥了积极的作用。

刊载内容:刊载有关实验动物和动物实验的理论专著、科研成果论文、科学实验新方法、新材料、实验动物新资源开发、新的动物品系的培育和应用以及与实验动物有关的其他学科的科学论述。

栏目设置:研究论著和研究快报、综述、进展、平台建设等。

读者对象:适用于医学、药学、生物、环保、体育、国防等单位的科技工作者、教育工作者、管理人员以及相关的生产者、大专院校学生等。

数据库收录:被“中国科技核心期刊”、“中国学术期刊综合评价统计源期刊”、“中国科技论文统计源数据库”,“中文生物医学期刊文献数据库 CMCC”“世界卫生组织 (WHO) 西太平洋地区医学索引 (The Western Pacific Region Index Medicus, WPRIM)”“中国生物医学期刊数据库”“中国科学引文数据库收录”“美国化学文摘”等网站收录。

创刊年代:1993 年 6 月

邮发代号:2–748

出版周期:双月刊

出版日期:双月末

版 面:大 16 开

每册页码:110 页

定 价:每期 20.00 元 全年 120.00 元

网 址:<http://zgswdw.alljournal.ac.cn/sydwbyjx/ch/index.aspx>

邮 箱:a67761337@126.com

编辑部地址:北京朝阳区潘家园南里 5 号 100021

电话:010–67779337 传真:010–67770690