

Microsatellite Analysis of *Epinephelus moara*, *Epinephelus lanceolatus* and Hybrid F₁

Yanlu Li¹, Chao Chen^{1*}, Jianguo Chen^{1,2}, Tingting Zhao^{1,2}, Qingwen Zhang^{1,2}, Jieming Zhai³

¹Qingdao Key Laboratory of Marine Fish Breeding and Biotechnology, Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao Shandong

²College of Fisheries and Science, Shanghai Ocean University, Shanghai

³Laizhou Mingbo Fisheries Limited Company, Yantai Shandong

Email: ysfriyanlu@126.com, *ysfrichenchao@126.com

Received: Sep. 29th, 2018; accepted: Oct. 10th, 2018; published: Oct. 17th, 2018

Abstract

In this study, the genetic relationship among *E. moara*, *E. lanceolatus* and hybrid F₁ were analyzed by using 13 microsatellite loci. The allele's number, observed heterozygosity, expected heterozygosity, polymorphism information content, genetic similarity index and Nei genetic distances were calculated, and the cluster analysis graph was constructed by UPGMA method. The results showed that the average alleles number of *E. moara* was the highest (5.2900) and *E. lanceolatus* was the lowest (2.6200); the average observed heterozygosity of hybrid F₁ was the highest (0.7108) and *E. lanceolatus* was the lowest (0.4167). Average polymorphic information content by 13 microsatellite primers in the three populations of *E. moara*, *E. lanceolatus* and hybrid F₁ were 0.4661, 0.3392, 0.4818, respectively. The genetic similarity rate between *E. lanceolatus* and hybrid F₁ was the highest (0.7616), and the lowest was found in *E. moara* and *E. lanceolatus* (0.4296). The cluster analysis graph was constructed by UPGMA method according to the genetic distance. The results showed that *E. lanceolatus* and the hybrid F₁ were grouped together, and *E. moara* was located on the outermost branch. This study showed that the hybrid F₁ had a close relationship with *E. lanceolatus*.

Keywords

Epinephelus moara, *Epinephelus lanceolatus*, Hybrid F₁, Microsatellite Markers

云纹石斑鱼、鞍带石斑鱼与杂交F₁的微卫星分析

李炎璐¹, 陈超^{1*}, 陈建国^{1,2}, 赵亭亭^{1,2}, 张清雯^{1,2}, 翟介明³

*通讯作者。

文章引用: 李炎璐, 陈超, 陈建国, 赵亭亭, 张清雯, 翟介明. 云纹石斑鱼、鞍带石斑鱼与杂交 F₁ 的微卫星分析[J]. 农业科学, 2018, 8(10): 1149-1157. DOI: 10.12677/hjas.2018.810169

¹中国水产科学研究院黄海水产研究所, 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室, 青岛市海水鱼类种子工程与生物技术重点实验室, 山东 青岛

²上海海洋大学水产与生命学院, 上海

³莱州明波水产有限公司, 山东 烟台

Email: ysfriyanlu@126.com, ysfrihenchao@126.com

收稿日期: 2018年9月29日; 录用日期: 2018年10月10日; 发布日期: 2018年10月17日

摘要

本研究运用微卫星标记分析亲本云纹石斑鱼、鞍带石斑鱼与云纹石斑鱼(♀) × 鞍带石斑鱼(♂)杂交F₁的遗传关系, 使用13对微卫星引物对3种石斑鱼群体进行微卫星分析, 计算等位基因数、基因杂合度、多态信息含量、相似指数和Nei氏遗传距离, 并采用UPGMA法构建聚类分析图。结果显示, 云纹石斑鱼的平均等位基因数(A_o)最大(5.2900), 鞍带石斑鱼最小(2.6200); 杂交F₁的平均观测杂合度(H_o)最高(0.7108), 鞍带石斑鱼最低(0.4167); 13对微卫星引物在云纹石斑鱼、鞍带石斑鱼和杂交F₁ 3个群体中的平均多态信息含量(PIC)分别为0.4661、0.3392、0.4818; 鞍带石斑鱼和杂交F₁遗传相似率最高(0.7616), 云纹石斑鱼和鞍带石斑鱼相似率最低(0.4296)。根据遗传距离采用UPGMA法构建聚类分析图, 结果显示, 鞍带石斑鱼和杂交F₁先聚为一支, 云纹石斑鱼位于最外支。研究表明, 杂交F₁群体的遗传多样性水平高于2个亲本群体; 杂交F₁与鞍带石斑鱼的亲缘关系较近。

关键词

云纹石斑鱼, 鞍带石斑鱼, 杂交F₁, 微卫星标记

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

云纹石斑鱼(*Epinephelus moara*)和鞍带石斑鱼(*E. lanceolatus*)同属于鲈形目(Perciformes)、鲷科(Serranidae)、石斑鱼亚科(Epinephelinae)、石斑鱼属(*Epinephelus*), 均为暖温性礁栖鱼类, 均属于经济价值较高的鱼类。云纹石斑鱼主要分布于日本、韩国以及我国的东海和南海, 具有个体大、生长快、肉质鲜美的特性[1] [2]; 鞍带石斑鱼主要分布于东南亚、大洋洲海域, 在我国主要分布于南海诸岛, 数量较少, 是石斑鱼类中体型最大的种类, 具有生长速度快, 抗病性强, 营养价值高等诸多优点[3] [4]。为利用两者的优良性状, 对其进行杂交, 成功获得了云纹石斑鱼(♀) × 鞍带石斑鱼(♂)杂交 F₁ 幼鱼[5], 其杂交 F₁ 在生长方面呈现出杂种优势, 是值得开发的优良新品种。微卫星标记因具有多态性高、呈共显性、杂合度高、信息含量丰富以及样品需要量少、操作简单、等位基因条带易于识别等特点[6], 广泛应用于亲缘关系分析[7]、群体遗传、生物遗传多样性[8]、连锁图谱构建[9]等研究领域。有关对云纹石斑鱼(♀) × 鞍带石斑鱼(♂)杂交 F₁ 的遗传物质基础的研究, 成美玲等[10]对杂交后代进行染色体核型分析, 唐江等[11]对杂交后代进行遗传性状了分析。本研究使用 13 对微卫星引物对 3 种石斑鱼进行微卫星分析, 计算有效等位基因数、基因杂合度、多态信息含量、相似指数和 Nei 氏遗传距离, 并采用 UPGMA 法构建聚类分析

图,以分析杂交 F_1 与亲本的遗传关系,从分子水平上分析杂交 F_1 代的遗传学特性,为其杂种优势的研究提供理论依据。

2. 材料与方法

2.1. 材料

云纹石斑鱼、鞍带石斑鱼和云纹石斑鱼(♀) × 鞍带石斑鱼(♂)杂交 F_1 均取自莱州明波水产有限公司。选择体色和形态正常、性腺发育成熟的健康亲鱼用于种间远缘杂交,将亲鱼用 MS-222 麻醉,轻压亲鱼腹部,采集成熟卵子和精液进行人工授精。将受精卵放入孵化槽中进行孵化,孵化水温为 24℃~25℃、盐度为 30,微充气,流水孵化;再将其转入水温为 25℃~27℃、盐度为 29~31、溶解氧 ≥ 5 mg/L 的方形水泥池中培育。每种样本取 17 个个体,杂交 F_1 为 6 月龄幼鱼,分别剪取鳍条保存于 95% 的乙醇中。

2.2. 方法

2.2.1. 总 DNA 的提取

将乙醇保存的鳍条样品采用酚-氯仿法提取 DNA,以 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 完整性与纯度,用紫外分光光度计检测质量浓度。

2.2.2. 微卫星引物

从云纹石斑鱼及石斑鱼属的其它种开发的引物中选取 13 对引物,引物由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成。

2.2.3. PCR 扩增

PCR 扩增反应体积为 15 μ l,反应体系包括 DNA 模板 1 μ l, 10 × PCR Buffer 1.5 μ l, 2.5 μ M dNTP 混合液 1.2 μ l, 25 μ M MgCl₂ 0.9 μ l, Taq DNA 聚合酶 0.3 μ l, 10 μ M 上下游引物各 0.5 μ l, 双蒸水 9.1 μ l。PCR 循环为 94℃ 预变性 5 min 后进入循环体系,94℃ 变性 30 s,退火 30 s,72℃ 延伸 30 s,35 个循环,最后 72℃ 终延伸 5 min,4℃ 保存。在 ABI 3730 XL sequencer 测序仪上进行毛细管电泳。使用 Data Collection 和 Genemapper 软件进行数据收集和分析,输出电泳图谱,计算各等位基因大小。

2.2.4. 数据统计分析

使用 GENPOP Version 3.4 软件计算等位基因数(alleles number, A_o)、等位基因频率(allele frequency)、观测杂合度(observed heterozygosity, H_o)、期望杂合度(expected heterozygosity, H_e),并依据 Botstein 等[12]提出的公式计算多态信息含量(polymorphism information content, PIC)。

使用 DISPAN 软件计算 Nei 氏遗传距离(genetic distances)和遗传相似度(genetic similarity)。采用算术平均数的非加权成组配对法(unweighted pair group with arithmetic average, UPGMA),使用 Mega 4.0 软件[13]根据 Nei 氏遗传距离[14]构建系统进化树。

3. 结果

3.1. 微卫星标记的筛选

从 25 对微卫星引物中筛选出 13 对,在 3 种石斑鱼群体中均可得到稳定清晰的产物。13 对引物信息见表 1。

3.2. 微卫星引物扩增结果

使用 13 对微卫星引物对云纹石斑鱼、鞍带石斑鱼和杂交 F_1 的基因组 DNA 进行检测。结果显示,引

物 Ese26 扩增的片段大小在云纹石斑鱼群体中为 190 bp, 在鞍带石斑鱼群体中为 200~202 bp; 引物 RH_CA_001 扩增的片段大小范围在云纹石斑鱼群体中为 386~422 bp, 在鞍带石斑鱼群体中为 372~384 bp; 引物 RH_CA_004 扩增的片段大小范围在云纹石斑鱼群体中为 199~213 bp, 在鞍带石斑鱼群体中为 183~197 bp; 引物 RH_CA_007 扩增的片段大小在云纹石斑鱼群体中为 306 bp, 在鞍带石斑鱼群体中为 318~320 bp; 引物 RH_CA_008 扩增的片段大小范围在云纹石斑鱼群体中为 198~200 bp, 在鞍带石斑鱼群体中为 206~214 bp。结果表明, 引物 Ese26、RH_CA_001、RH_CA_004、RH_CA_007 和 RH_CA_008 均能区分云纹石斑鱼和鞍带石斑鱼两个群体。

引物 Ese26 中, 母本云纹石斑鱼群体均为纯合型, 只有一条带 190 bp, 父本鞍带石斑鱼群体有杂合型, 而杂交 F_1 均为杂合型, 均有一条 190 bp 的条带, 父、母本条带同时出现(图 1), 是鉴别杂交 F_1 的最佳分子标记。引物 RH_CA_007 中, 母本云纹石斑鱼群体均为纯合型, 只有一条带 306 bp, 父本鞍带石斑鱼群体有杂合型, 而杂交 F_1 均为杂合型, 均有一条 306 bp 的条带, 父、母本条带同时出现(图 2), 也是鉴别杂交 F_1 的最佳分子标记。

3.3. 遗传变异参数

3 种石斑鱼 13 对微卫星位点的平均等位基因数、平均观测杂合度、平均期望杂合度、平均多态信息含量见表 2。结果显示, 云纹石斑鱼的平均等位基因数(A_o)最大(5.2900), 其次为杂交 F_1 (4.2100), 鞍带石斑鱼最小(2.6200); 在平均观测杂合度(H_o)中, 杂交 F_1 最高(0.7108), 其次为云纹石斑鱼(0.4510), 鞍带石斑鱼最低(0.4167); 平均期望杂合度(H_e)中, 杂交 F_1 最高(0.5461), 其次为云纹石斑鱼(0.5105), 鞍带石斑鱼最低(0.4012)。从位点来看, 多态信息含量(PIC)最高的为云纹石斑鱼的 RH_CA_001 位点(0.8975); 从

Table 1. The characteristics of 13 microsatellite primers

表 1. 13 对微卫星引物的特征

位点 Loci	引物序列(5'-3') Primer sequence	退火温度(°C) Annealing temperature	登录号 Accession no.
Ese06	CATGTAAGCTCCACCACGACTG TTGATGAAAGGGAACAATAGCTG	57	EU374,814.1
Ese26	CACTCATTCTCTTCGTCGTTTTC CCAGTTCTGTCCGCTTGTTCA	57	EU374,834.1
ELMS013	TCATGTCAGGAGGGAGAAGAG CATACTGTTAGCTGGGGGTGA	56	EF607,134.1
ELMS015	AAGCTGAGCCGAATTTTCA GCTCCTCGTGTTCCGATTA	56	EF607,136.1
RH_GATA_003	GGGCAATTTGGTTCTTCACA TGTC AATGCCACAGGATACA	57	DQ223,790.1
RH_CA_001	CGAGATAAGCCCTGGTGA AGTCCCAGATGTGGTAACGAG	60	DQ223,785.1
RH_CA_002	CTCGTTACCACATCGGGACT AACACTGGCTGGTTTGCCT	60	DQ223,785
RH_CA_004	GAGAACGACATTCCAGCACA TGTGTGACCAGAAACCAGGA	57	DQ223,784
RH_CA_007	CAGAAACATCTCCCCAAAA CTGGCAGAGCAATTAGAGGC	60	DQ223,786
RH_CA_008	AGTTGCCAGGTTACACGAG TTGGTCTTGGCATTAGAG	57	DQ223,787
D161	TAGTTCAGAAAAGCAA CCAGGGGATAATGTCA	51	DQ914,895
D493	TAATTGGGGATATGTGAC CATTCTTCTTGCTTCG	48	DQ914,901
D548	ACCAGATAACAAGATGCC GTAAAATGAAATACAGCTCA	53	DQ914,910

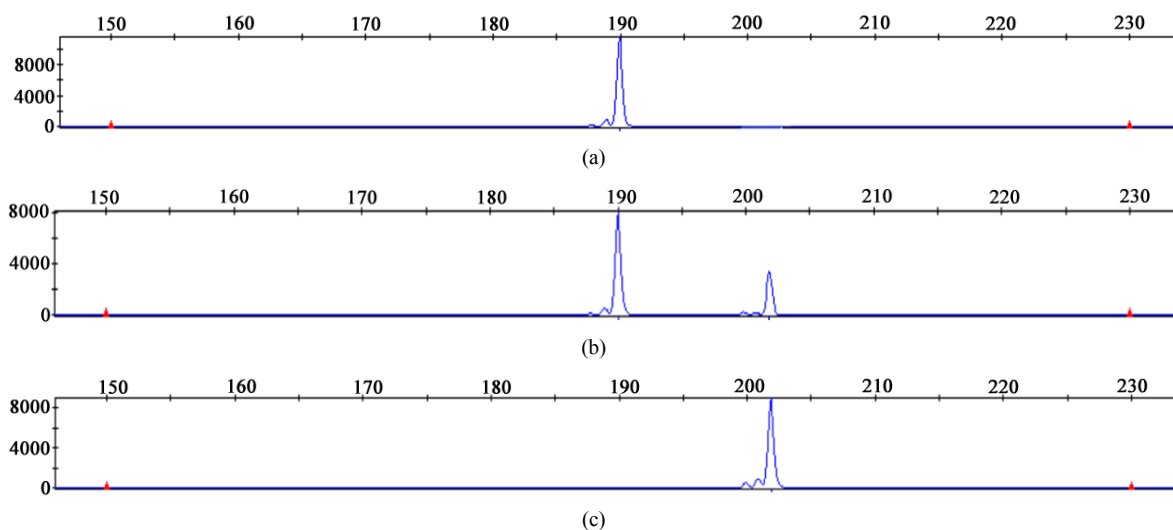


Figure 1. Representative chromatogram microsatellites obtained using primer Ese26; (a) Referred as *E. moara* (allele size = 190 bp); (b) Referred as hybrid F_1 (190, 202 bp); (c) Referred as *E. lanceolatus* (202 bp)

图 1. 引物 Ese26 的毛细管电泳峰值图; (a) 云纹石斑鱼个体, 条带大小为 190 bp; (b) 杂交 F_1 个体, 条带大小为 190 和 202 bp; (c) 鞍带石斑鱼个体, 条带大小为 202 bp

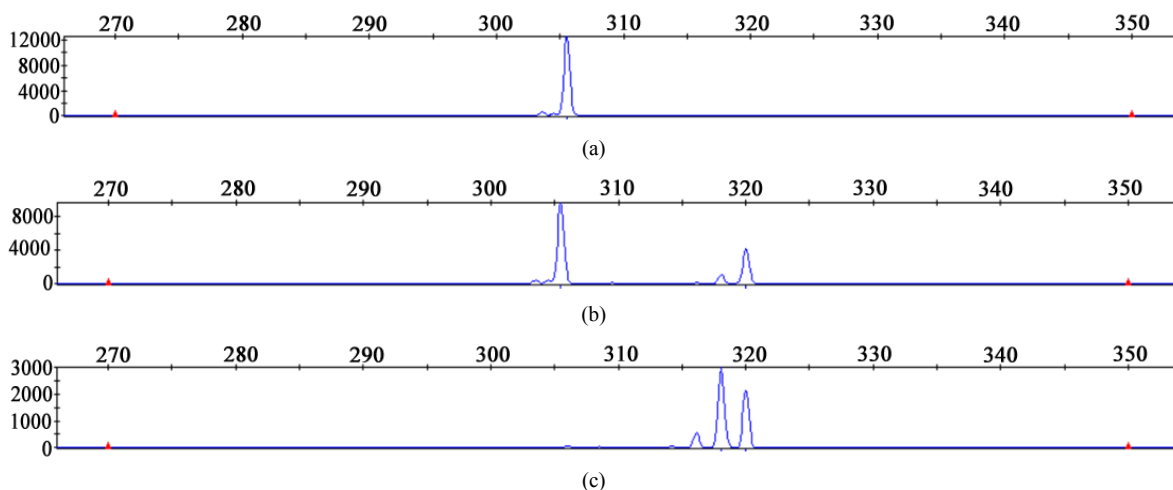


Figure 2. Representative chromatogram microsatellites obtained using primer RH_CA_007; (a) Referred as *E. moara* (allele size = 306 bp); (b) Referred as hybrid F_1 (306, 320 bp); (c) Referred as *E. lanceolatus* (320 bp)

图 2. 引物 RH_CA_007 的毛细管电泳峰值图; (a) 云纹石斑鱼个体, 条带大小为 306 bp; (b) 杂交 F_1 个体, 条带大小为 306 和 320 bp; (c) 鞍带石斑鱼个体, 条带大小为 320 bp

群体来看, 3 个群体的平均 PIC 为 0.4290, 杂交 F_1 的平均 PIC 最高为 0.4818, 云纹石斑鱼为 0.4661, 鞍带石斑鱼最低为 0.3392。

3.4. 遗传相似指数、遗传距离及聚类分析

3 种石斑鱼群体的遗传相似指数和遗传距离结果显示(表 3), 鞍带石斑鱼与杂交 F_1 遗传相似率最高(0.7616), 其次为云纹石斑鱼和杂交 F_1 (0.7247), 云纹石斑鱼和鞍带石斑鱼相似率最低(0.4296); 云纹石斑鱼和鞍带石斑鱼遗传距离最大(0.8449), 其次为云纹石斑鱼和杂交 F_1 (0.3220), 鞍带石斑鱼与杂交 F_1 遗传距离最小(0.2724)。结果表明, 杂交 F_1 偏向父本鞍带石斑鱼。

根据遗传距离采用 UPGMA 法构建聚类分析图(图 3), 结果显示, 鞍带石斑鱼和杂交 F_1 先聚为一支,

Table 2. Parameters of genetic variation of *E. moara*, *E. lanceolatus* and hybrid F₁
表 2. 3 种石斑鱼群体的遗传变异参数

位点 Loci	参数 Parameter	云纹石斑鱼 <i>E. moara</i>	鞍带石斑鱼 <i>E. lanceolatus</i>	杂交 F ₁ hybrid F ₁
Ese06	A_o	5.0000	1.0000	3.0000
	H_o	0.4706	0.0000	0.6471
	H_e	0.5098	0.0000	0.6078
	PIC	0.4508	0.0000	0.5242
Ese26	A_o	1.0000	2.0000	2.0000
	H_o	0.0000	0.0000	1.0000
	H_e	0.0000	0.1141	0.5152
	PIC	0.0000	0.1046	0.3750
ELMS013	A_o	6.0000	2.0000	7.0000
	H_o	0.5294	0.2941	0.7059
	H_e	0.7469	0.4866	0.7326
	PIC	0.6829	0.3608	0.6787
ELMS015	A_o	12.0000	4.0000	7.0000
	H_o	0.7059	0.2353	0.5882
	H_e	0.9127	0.4421	0.8271
	PIC	0.8755	0.3959	0.7749
RH_GATA_003	A_o	12.0000	4.0000	10.0000
	H_o	0.7647	0.8824	0.8824
	H_e	0.8770	0.7576	0.8431
	PIC	0.8361	0.6874	0.7980
RH_CA_001	A_o	16.0000	2.0000	4.0000
	H_o	0.6471	0.5294	0.2941
	H_e	0.9323	0.5152	0.2727
	PIC	0.8975	0.3750	0.2533
RH_CA_002	A_o	5.0000	5.0000	5.0000
	H_o	0.7647	0.9412	0.6471
	H_e	0.7005	0.7772	0.7469
	PIC	0.6265	0.7116	0.6754
RH_CA_004	A_o	6.0000	3.0000	9.0000
	H_o	0.5294	0.6471	0.9412
	H_e	0.7861	0.6132	0.7932
	PIC	0.7305	0.5092	0.7469
RH_CA_007	A_o	1.0000	2.0000	3.0000
	H_o	0.0000	0.4118	1.0000
	H_e	0.0000	0.451	0.5900
	PIC	0.0000	0.3419	0.4814
RH_CA_008	A_o	2.0000	4.0000	4.0000
	H_o	0.5882	1.0000	1.0000
	H_e	0.5134	0.7005	0.6720
	PIC	0.3741	0.6190	0.5883

Continued

D161	A_o	2.0000	2.0000	2.0000
	H_o	0.1176	0.0588	0.8235
	H_e	0.1141	0.0588	0.4991
	PIC	0.1046	0.0555	0.3671
D493	A_o	4.0000	1.0000	1.0000
	H_o	0.2941	0.0000	0.0000
	H_e	0.5437	0.0000	0.0000
	PIC	0.4813	0.0000	0.0000
D548	A_o	1.0000	2.0000	1.0000
	H_o	0.0000	0.0000	0.0000
	H_e	0.0000	0.2995	0.0000
	PIC	0.0000	0.2484	0.0000
平均值 Mean value	A_o	5.2900	2.6200	4.2100
	H_o	0.4510	0.4167	0.7108
	H_e	0.5105	0.4012	0.5461
	PIC	0.4661	0.3392	0.4818

Table 3. Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) among *E. moara*, *E. lanceolatus* and hybrid F₁

表 3. 云纹石斑鱼、鞍带石斑鱼和杂交 F₁ 间的遗传相似指数(上三角)和 Nei 氏遗传距离(下三角)

	云纹石斑鱼 <i>E. moara</i>	鞍带石斑鱼 <i>E. lanceolatus</i>	杂交 F ₁ Hybrid F ₁
云纹石斑鱼		0.4296	0.7247
鞍带石斑鱼	0.8449		0.7616
杂交 F ₁	0.3220	0.2724	

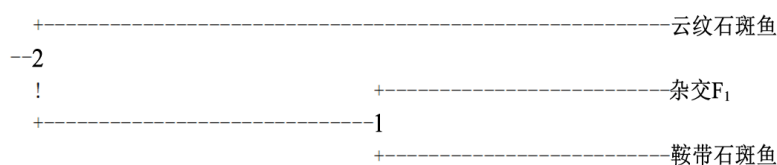


Figure 3. UPGMA molecular trees of *E. moara*, *E. lanceolatus* and hybrid F₁ based on genetic distance

图 3. 云纹石斑鱼、鞍带石斑鱼和杂交 F₁ 的 UPGMA 聚类分析图

云纹石斑鱼位于最外支。结果表明，杂交 F₁ 与父本鞍带石斑鱼的亲缘关系较近。

4. 讨论

微卫星标记遵循孟德尔的分离规律，是一种共显性的分子标记，亲本微卫星位点的等位基因在繁殖时发生分离，真正的杂交 F₁ 的遗传物质一方来自父本而另一方来自母本，因而在鱼类远缘杂交育种上，微卫星标记适用于亲本与杂交 F₁ 亲缘关系的鉴定。在本研究中，杂交 F₁ 的等位基因基本来自父母本群体，总体上符合孟德尔的分离规律，属两性融合生殖，是真正意义上的杂交种。本研究使用的 13 对微卫星位点可以作为云纹石斑鱼和鞍带石斑鱼两个群体的有效分子标记，分析两种石斑鱼群体的遗传多样性，其中，引物 E_{se}26、RH_CA_001、RH_CA_004、RH_CA_007 和 RH_CA_008 可将云纹石斑鱼和鞍带石斑鱼两个群体进行区分，引物 E_{se}26 和 RH_CA_007 是鉴别杂交 F₁ 的最佳分子标记。

多态信息含量(*PIC*)是指后代所获得的某个等位基因标记来源于其亲本同一个等位基因标记的可能性大小,是衡量等位基因多态性的理想指标,值越大,群体杂合个体的比例越高,显示的遗传信息越多。据 Botstein 等[12]提出的衡量标准,当 *PIC* 大于 0.5 时,该位点为高度多态性位点;*PIC* 介于 0.25 和 0.5 之间时,为中度多态性位点;*PIC* 小于 0.25 时,为低度多态性位点。本研究中各位点均为中度多态性位点,杂交 F_1 的平均 *PIC* 均高于父母本,表明杂交 F_1 在遗传信息和遗传多样性等方面有所提高。

基因杂合度能够表明群体中个体遗传变异的程度,是评估群体遗传变异的理想指标之一[15],通过其数值大小可以判断遗传多样性的丰富程度,数值越大,表明变异程度越高,遗传多样性越丰富。在本研究中,杂交 F_1 的平均观测杂合度(0.7108)高于母本云纹石斑鱼(0.4510)和父本鞍带石斑鱼(0.4167),进一步表明通过远缘杂交,可以有效提升杂交后代的遗传多样性,增加遗传结构的变异。

遗传距离是研究群体遗传多样性的基础,是反映遗传多样性高低的主要指标之一,遗传距离越小,表明群体分化时间越短、亲缘关系越近、遗传多样性越低,反之,遗传距离越大则遗传多样性越高。杂种优势是指不同基因型的亲本杂交产生的杂交子代在生长、成活、抗逆性和品质等方面均优于双亲的现象。现代杂种优势理论认为,亲本之间的遗传距离越大,杂合位点数目越多,杂交子代的杂种优势就越强[16]。Crawford 等[17]指出通过微卫星标记分析得到的遗传距离更能准确反映分化时间的长短,能够客观的反映种间遗传变异和分化,可用来预测杂交组合的优劣性,避免实际杂交试验的盲目性[18]。在本研究中,云纹石斑鱼和鞍带石斑鱼的遗传距离为 0.8449,通过开展前期实验,杂交 F_1 在生长、抗逆性[19]、营养成分[20]等方面均具有明显的杂种优势,可以利用其杂种优势进行人工繁殖和培育以开展遗传育种工作。

基金项目

山东省自然科学基金(ZR2015PC015)。

参考文献

- [1] 郭明兰, 苏永全, 陈晓峰, 等. 云纹石斑鱼与褐石斑鱼形态比较研究[J]. 海洋学报: 中文版, 2008, 30(6): 106-114.
- [2] 宋振鑫, 陈超, 翟介明, 等. 云纹石斑鱼胚胎发育及仔、稚、幼鱼形态观察[J]. 渔业科学进展, 2012, 33(3): 26-34.
- [3] Heemstra, P.C. and Randall, J.E. (1993) Groupers of the World. *FAO Fisheries Synopsis*, **16**, 130-132.
- [4] Sadovy, Y. and Cornish, A.S. (2000) Reef Fishes of Hong Kong. Hong Kong University Press, Hong Kong.
- [5] 张梦淇, 陈超, 李炎璐, 等. 盐度对云纹石斑鱼(*Epinehelus moara* ♀)×鞍带石斑鱼(*Epinehelus lanceolatus* ♂)受精卵孵化的影响及杂交仔稚幼鱼形态发育观察[J]. 渔业科学进展, 2016, 37(4): 82-89.
- [6] O'Connell, M. and Wright, J.M. (1997) Microsatellite DNA in Fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, **7**, 331-363. <https://doi.org/10.1023/A:1018443912945>
- [7] 周翰林, 张勇, 齐鑫, 等. 两种杂交石斑鱼子一代杂种优势的微卫星标记分析[J]. 水产学报, 2012, 36(2): 161-169.
- [8] 董秋芬, 刘楚吾, 郭显嵩, 等. 9 种石斑鱼遗传多样性和系统发生关系的微卫星分析[J]. 遗传, 2007, 29(7): 837-843.
- [9] Qi, L., Takashi, S., Satoshi, K., et al. (2013) A Genetic linkage Map of Kelp Grouper (*Epinephelus bruneus*) Based on Microsatellite Markers. *Aquaculture*, **414-415**, 63-81. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.07.041>
- [10] 成美玲, 田永胜, 吴玉萍, 等. 云纹石斑鱼(♀)×鞍带石斑鱼(♂)杂交后代染色体核型分析[J]. 渔业科学进展, 2018, 39(2): 67-75.
- [11] 唐江, 田永胜, 李振通, 等. 云纹石斑鱼和鞍带石斑鱼及其杂交后代遗传性状分析[J]. 农业生物技术学报, 2018, 26(5): 819-829.
- [12] Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., et al. (1980) Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, **32**, 314-331.
- [13] Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., et al. (2007) MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software

Version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, **24**, 1596. <https://doi.org/10.1093/molbev/msm092>

- [14] Nei, M. (1973) Analysis of Gene Diversity in Subdivided Populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **70**, 3321.
- [15] Ott, J. (1999) Analysis of Human Genetic Linkage. Johns Hopkins University Press.
- [16] Dong, Z. and Zhou, E. (1998) Application of the Random Amplified Polymorphic DNA Technique in a Study of Heterosis in Common Carp, *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture Research*, **29**, 595-600. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.1998.tb01173.x>
- [17] Crawford, A.M. and Littlepohn, R.P. (1998) The Use of DNA Marker Indeciding Conservation Priorities in Sheep and Other Live-Stock. *Animal Genetic Resources Information*, **23**, 21-26. <https://doi.org/10.1017/S1014233900004909>
- [18] 孙少华, 桑润滋, 师守堇, 等. 肉牛杂交优势预测、评估及其应用研究[J]. 遗传学报, 2000, 27(7): 580-589.
- [19] 邵彦翔, 陈超, 李炎璐, 等. 低温胁迫对云纹石斑鱼(♀)×鞍带石斑鱼(♂)杂交后代血清生化指标的影响[J]. 渔业科学进展, 2017, 38(2): 70-76.
- [20] 王林娜, 田永胜, 唐江, 等. 云纹石斑鱼、鞍带石斑鱼及杂交“云龙斑”肌肉营养成分分析及品质评价[J]. 水产学报, 2018, 42(7): 1085-1093.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2164-5507, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: hjas@hanspub.org