

3 种警犬不同肌肉中 *PPARGC1A* 基因的发育性表达研究

李 静^{1,2,3}, 万九生^{1,2}, 陈 超^{1,2*}, 邓卫东³, 岳 锐^{1,2}, 熊和丽³, 黎立光^{1,2}

(1.公安部昆明警犬基地, 云南昆明 650201; 2.公安部警犬技术重点实验室, 云南昆明 650201; 3.云南农业大学动物科技学院, 云南昆明 650201)

摘要 [目的]探究 *PPARGC1A* 基因 mRNA 在昆明犬、马里努阿犬、德国牧羊犬不同肌肉组织中的发育性表达规律, 为研究犬的肌肉和运动能力形成机理提供理论参考。[方法]采用实时荧光定量 PCR 技术检测昆明犬、马里努阿犬、德国牧羊犬 3 种警犬在 6 月龄、1 岁龄的臀腿肌肉组织中 *PPARGC1A* 基因 mRNA 表达量。[结果]随着年龄的增长, *PPARGC1A* 基因在 3 种警犬肌肉中呈现逐渐上升的表达趋势。马里努阿犬在 6 月龄和 1 岁龄时臀腿肌肉中的表达量极显著高于昆明犬和德国牧羊犬 ($P<0.01$)。[结论] *PPARGC1A* 基因在肌肉发育和肌肉脂肪沉积过程中起着很重要的作用。该研究结果可为探索肌肉发育及肌肉脂肪沉积相关研究提供理论参考和研究基础。

关键词 犬; 昆明犬; *PPARGC1A* 基因; 发育性表达; 肌肉组织

中图分类号 S829.2 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2021)04-0092-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.04.024



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Developmental Expression of *PPARGC1A* Gene in Different Muscles of Three Police Dogs

LI Jing^{1,2,3}, WAN Jiu-sheng^{1,2}, CHEN Chao^{1,2} et al (1.Kunming Police Dog Base of the Ministry of Public Security, Kunming, Yunnan 650201; 2.Key Laboratory of Police Dog Technology of the Ministry of Public Security, Kunming, Yunnan 650201; 3.School of Animal Science and Technology of Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201)

Abstract [Objective] The aim of this study was to investigate the development expression laws of *PPARGC1A* gene mRNA in different muscle tissues of Kunming Dog, Malinua Dog and German Shepherd Dog, and provide theoretical reference for studying the formation mechanism of muscle and motor ability of dogs. [Method] The expression quantity of *PPARGC1A* gene mRNA in the gluteal and leg muscles of Kunming Dog, Malinua Dog and German Shepherd Dog at 6 month-age and 1-year-age was detected by real-time fluorescence quantitative PCR. [Result] *PPARGC1A* gene was gradually increased in three kinds of muscles with the increase of age. The expression level of gluteal leg muscle in Malinua Dog was significantly higher than that in Kunming Dog and German Shepherd Dog ($P<0.01$). [Conclusion] *PPARGC1A* gene played an important role in muscle development and intramuscular fat deposition. The results of this study could provide theoretical reference and research basis for the study of muscle development and intramuscular fat deposition.

Key words Dog; Kunming Dog; *PPARGC1A* gene; Developmental expression; Muscle tissue

1998 年 Puigserver 等^[1]发现了过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子 1α , 该转录因子作为与自适应产热相关($PPAR\gamma$)和 $PPAR\gamma$ 共激活因子家族 PGC-1。作为核受体 $PPAR\gamma$ 的转录共激活因子, 它是脂肪细胞分化的主要调节剂。它还可以诱导肌纤维类型从酵解型向有氧代谢型转换, 进而改善肉质; 另外, 还能够与肌肉组织的选择性转录因子肌细胞特异性增强子结合, 控制另一肉质候选基因在肌肉组织中的表达^[2]。在具有高能量需求并富含线粒体的组织中发现了 *PPARGC1A* mRNA, 同时该 *PPARGC1A* 蛋白的通用功能使其成为肉品质性状的功能候选基因^[3]。同时, 在脂肪、肌肉、肾脏、肝脏、大脑、心脏和肾上腺组织中检测到该基因的转录, 这与 *PPARGC1A* 蛋白在适应性产热方面的功能一致。

笔者以 3 种国内常用的警犬品种为研究对象, 采用实时荧光定量 PCR 技术, 检测 *PPARGC1A* 基因在 6 月龄、1 岁龄警犬臀腿肌肉组织中的发育性表达规律, 从基因表达水平上探讨 *PPARGC1A* 与肌肉发育和骨骼肌对葡萄糖摄取能力, 旨在为研究 $PPAR$ 家族通过抑制葡萄糖氧化和增加葡萄糖吸收来补充肌糖原储备等机理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集 试验以昆明犬(KM)、马里努阿犬(MQ)、德国牧羊犬(DM)公犬为研究对象。样品采集于公安部昆明警犬基地。将犬只麻醉后, 分别在 6 月龄和 1 岁龄时臀大肌和股二头肌各取一小块组织块, 立即置于液氮中速冻保存, 于 -80°C 冰箱中保存备用, 用于 RNA 的提取。

1.2 主要试剂和仪器

1.2.1 主要试剂。 qPCR 试剂 TSE202(2 $\times$ T5 Fast qPCR Mix SYBR Green I, 北京擎科生物科技有限公司), 反转录试剂(TSK302S) RT6 cDNA Synthesis Kit Ver 2(北京擎科生物科技有限公司), 无水乙醇、氯仿以及异丙醇等均为分析纯国药试剂。所有枪头以及 EP 管全部使用 AXGEN 公司提供的一次性无 RNase/DNase 耗材。

1.2.2 仪器。 实时荧光定量 PCR 仪(ABI Prism 7500); 微量分光光度计(NanoDrop 2000C); 逆转录仪器(郎基 A300PCR); 凝胶成像系统(Bio-Rad GelDoc XR); 凝胶电泳系统(Bio-Rad PowerPac 300); 冷冻离心机(Thermo); 漩涡振荡仪(Labnet); 微量移液器(Eppendorf)。

1.3 引物设计与合成 参考 GenBank 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>)中 *PPARGC1A* (实时荧光定量内参基因) 基因 cDNA 引物, 使用 NCBI 网站在线设计引物, 用于实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)。引物浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$, 引物序列见表 1。

1.4 总 RNA 的提取 ①取适量液氮研磨成粉的样品置于 1.5 mL Eppendorf 管, 加入 1 mL Trizol 试剂, 混匀; ②按

基金项目 公安部科技强警基础工作专项项目(2018GABJC27, 2019GABJC29); 云南省科技厅科技计划项目基础研究计划项目(青年项目)(2019FD025)。

作者简介 李静(1989—), 女, 内蒙古乌兰察布人, 助理研究员, 博士, 从事警犬分子遗传育种研究。* 通信作者, 副研究员, 硕士, 从事警犬疾病健康研究。

收稿日期 2020-05-18; **修回日期** 2020-06-06

Trizol:氯仿5:1的比例加入氯仿,剧烈振荡 15 s,室温静置 3 min;4 ℃,12 000 r/min,离心 15 min;③吸取上清置于另一新的1.5 mL eppendorf 管,加入等体积的异丙醇,混匀后室温静置20 min;④4 ℃ 12 000 r/min 离心 10 min 后,去上清;加入 1 mL 4 ℃ 预冷的 75%乙醇,洗涤沉淀;⑤ 4 ℃ 10 000 r/min 离心 5 min,弃上清;4 ℃ 10 000 r/min 再次离心 5 min,吸去残液,室温干燥(不需完全干燥);⑥加入 20 μL RNase-free 水,直至完全溶解,取 1 μL 用于琼脂糖凝胶电泳检测。

表 1 荧光定量 PCR 引物序列信息

Table 1 The sequence information of primer for fluorescence quantitative PCR

目的基因 Target gene	引物序列 Primer sequence	产物大小 Product size//bp
<i>PPARGC1A</i>	F 为 5'-TACCACTACGAGTCGAGCCA-3', R 为 5'-GCCTCTCGTCTGATACTCC-3'	133
β -actin	F 为 5'-GCCTTCCTTCCTGGGTATGG-3', R 为 5'-TGATCTTCATCCTGCTGGGG-3'	194

1.5 反转录获得 cDNA 产物 进行反转录扩增,按照试剂盒说明书进行加样:混匀后 42 ℃ 孵育 2 min,60 ℃ 孵育 5 min,迅速置于冰上冷却,短暂离心后按照试剂盒说明书组分进行加样。混匀后,25 ℃ 孵育 10 min,50 ℃ 孵育 30 min,85 ℃ 孵育 5 min,将反转录产物置于冰上或冷藏备用。

1.6 实时 RT-PCR 将 10 μL ddH₂O 稀释至 30 μL,作为 qPCR 模板,按照试剂盒说明书扩增体系加样。扩增体系按以下扩增程序扩增、熔解:95 ℃ 预变性 1 min;95 ℃ 10 s,65 ℃ 5 s,74 ℃ 10 s,40 个循环;95 ℃ 15 s;60 ℃ 1 min,95 ℃ 15 s,0.3 ℃/20 s。以上扩增循环阶段在 72 ℃ 下采集荧光信号。

1.7 PCR 产物鉴定 使用 1.0% 琼脂糖凝胶进行电泳,利用凝胶成像系统检测 PCR 电泳结果并拍照。

1.8 数据统计和分析 将 RT-PCR 结果导出,计算内参、外参以及目的基因的平均 Ct 值,采用 2^{-ΔΔCt} 方法计算各组织样品中目的基因的相对表达量。对不同品种、不同阶段 *PPARGC1A* 基因的表达量进行比较。使用 SPSS 18.0 统计软件对同一品种、同一组织中 3 个时间点的表达量进行单因素方差分析,采用邓肯法进行多重比较,对 2 个品种间的差异分析采用独立样本 *t* 检验。*P*<0.05 表示差异显著,*P*<0.01 表示差异极显著。利用 GraphPadPrism5 软件进行图表的绘制。

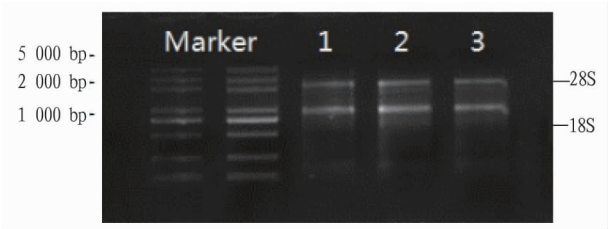
2 结果与分析

2.1 总 RNA 与反转录检测 由图1可知,从马里努阿犬、昆明犬、德国牧羊犬提取的 RNA 在电泳中显示 28S 和 18S 两条带。

2.2 目的基因标准品的制备 利用琼脂糖凝胶电泳检测到 *PPARGC1A* 基因 133 bp 的目的片段。最后,对 PCR 产物进行测序,通过琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 扩增产物,如图 2 所示。

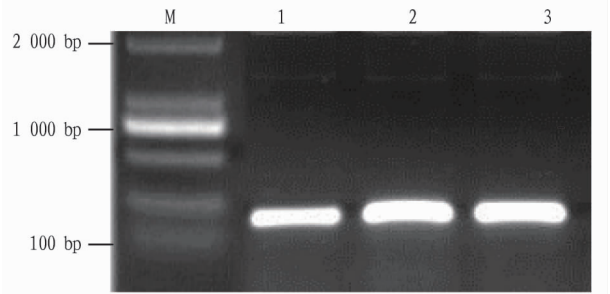
2.3 扩增动力学曲线 该试验采用 3 个样本重复,对 *PPARGC1A* 进行定量分析,扩增动力曲线见图 3。

2.4 部分样品的扩增溶解曲线 图 4 为部分样品扩增溶解曲线,扩增产物 *T_m* 值都是单一的峰,没有杂峰,无二聚体或者多聚体产生。



注:M.DNA Marker;1~3.Total RNA

图 1 总 RNA PCR 产物
Fig.1 PCR products of total RNA



注:M.Marker;1~3 为 *PPARGC1A* 基因的 PCR 产物
Note:M.Marker;1~3.PCR products of *PPARGC1A* gene

图 2 *PPARGC1A* 基因的 PCR 扩增结果
Fig.2 PCR amplification of *PPARGC1A* gene

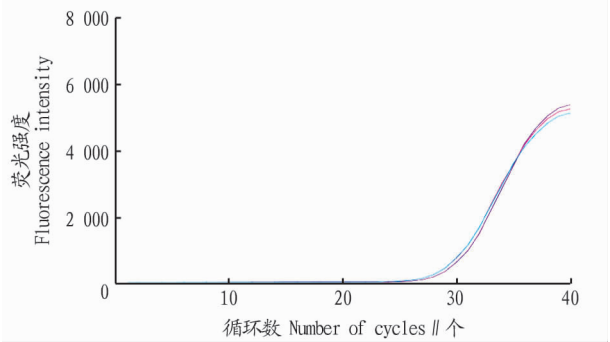


图 3 部分样品 *PPARGC1A* 基因的扩增动力学曲线
Fig.3 Amplification kinetic curve of *PPARGC1A* gene in some samples

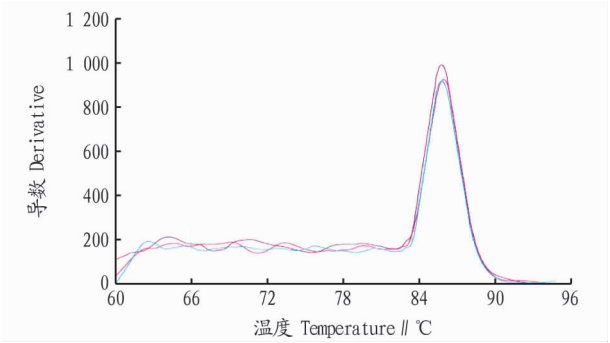


图 4 部分样品 *PPARGC1A* 基因的扩增溶解曲线
Fig.4 Amplification and dissolution curve of *PPARGC1A* gene in some samples

2.5 不同阶段 3 种警犬体重和臀肌重的比较 随着日龄的增长,3 种警犬的体重、臀肌重均逐渐增加。其中,3 种警犬的体重在 0~6 月龄增长速度最快。随日龄的增长,3 种警犬

的臀肌重与体重的增长趋势一致(图 5A、B)。3 种警犬的体重和臀肌重差异不显著($P>0.05$)。

2.6 *PPARGC1A* 基因在不同年龄 3 种警犬臀腿肌中的相对表达量 不同年龄 3 种警犬臀腿肌中 *PPARGC1A* 基因的表达规律如图 6 所示。从图 6 可以看出,1 岁龄时 3 种警犬臀腿肌中 *PPARGC1A* 基因的表达量与 6 月龄间差异不显著

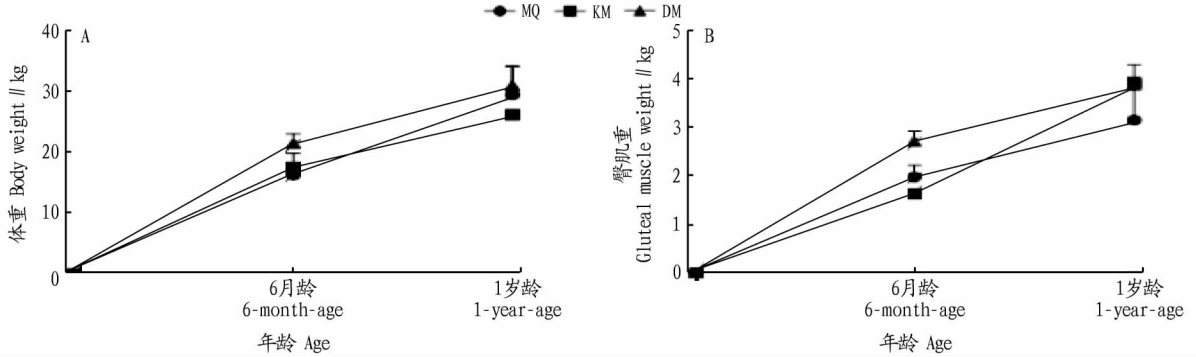


图 5 不同阶段 3 种警犬体重和臀肌重的比较

Fig.5 Comparison of body weight and gluteal muscle weight of three species of police dogs at different stages

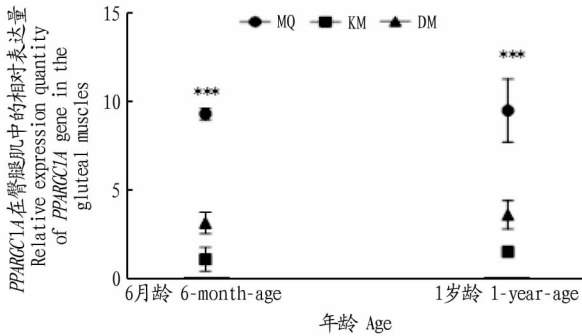


图 6 *PPARGC1A* 基因在不同年龄 3 种警犬臀腿肌中的相对表达量

Fig.6 The relative expression quantity of *PPARGC1A* gene in the gluteal muscles of three species of police dogs at different ages

3 讨论

RT-PCR 是一种灵敏且准确的检测技术,常用于检测基因的表达程度,通过样本进行相对定量 RT-PCR,可以比较不同时期样本 mRNA 表达的差异^[4]。过氧化物酶体增殖物激活受体 1 α (*PPARGC1A*)是一种转录共激活因子,可以参与机体代谢的多种生物学反应,主要包括线粒体启动、通过调节脂质运输和葡萄糖氧化^[5-6]。*PPARGC1A* 和 *PPAR α* 在分解脂肪酸的组织中,特别是肝脏、骨骼肌中表达水平较高。在人类中 *PPARGC1A* 和 *PPAR α* 基因作为调节基因,主要通过表达编码参与脂肪酸氧化的几种关键酶和控制氧化磷酸化。研究也表明,耐力训练会增加 *PPARGC1A* 的 mRNA 水平,因此通过 *PPAR α* 调节基因表达量可以增强骨骼肌的氧化能力^[7-8]。目前,对 *PPARGC1A* 基因的研究主要集中于肌纤维类型对肌肉品质的影响研究^[9-10]。然而,*PPARGC1A* 在大肌肉中的表达量及不同发育阶段不同品种犬骨骼肌中的表达规律研究较少。该试验利用 RT-PCR 对 *PPARGC1A* 基因在不同发育阶段马里努阿犬、昆明犬、德国牧羊犬肌肉中

($P>0.05$);6 月龄时马里努阿犬(MQ)臀腿肌中 *PPARGC1A* 基因的表达量极显著高于昆明犬(KM)和德国牧羊犬(DM)($P<0.01$)。1 岁龄马里努阿犬臀腿肌中 *PPARGC1A* 基因的表达量极显著高于昆明犬和德国牧羊犬($P<0.01$),其中 *PPARGC1A* 基因在昆明犬肌肉中的表达量最低,德国牧羊犬次之。

的表达量差异进行研究。在该研究中 1 岁龄时 3 种警犬臀腿肌中 *PPARGC1A* 基因的表达量与 6 月龄间差异不显著($P>0.05$);6 月龄时马里努阿犬(MQ)臀腿肌中 *PPARGC1A* 基因的表达量极显著高于昆明犬(KM)和德国牧羊犬(DM)($P<0.01$)。1 岁龄马里努阿犬臀腿肌中 *PPARGC1A* 基因的表达量极显著高于昆明犬和德国牧羊犬($P<0.01$)。其中, *PPARGC1A* 基因在昆明犬肌肉中的表达量最低,德国牧羊犬次之。

昆明犬是我国唯一一个自主选育的工作犬品种,体型方正,体尺较高,适应能力广泛,具有狼青、黑背、草黄 3 种毛色,被广泛用于军警用多种工作犬使用领域。马里努阿犬又称比利时马里努阿犬、马犬,无论因其被毛极短,肌肉发达,爆发力强,工作能力优秀,服从性好,目前在美国、德国、澳大利亚、中国等国家作为通用的军警犬、保镖犬、护卫犬。德国牧羊犬,别名德牧,也就是人们常说的德国狼犬,原产德国一战、二战时期犬已经在德国各地固定下来作为军警犬使用,行动敏捷,且适用于多种工作环境。德国牧羊犬肌肉组织匀称,臀部长,略微向下倾斜,与水平的夹角为 23°。从外型来看,马里努阿犬较昆明犬、德国牧羊犬肌肉结构更加紧凑。马里努阿犬皮下脂肪含量较昆明犬、德国牧羊犬更低。该研究也表明随着日龄的增长,3 种警犬体重、臀腿肌重呈线性增长,其中体重在 0~6 月龄增长速度最快。随日龄的增长,3 种警犬臀腿肌的增长与体重增长趋势一致,3 种警犬体重和臀肌重差异不显著($P>0.05$)。但马里努阿犬臀腿肌肉比例略高于其他 2 个警犬品种,1 岁龄时德国牧羊犬和昆明犬的体重略大于马里努阿犬。

Li 等^[9]研究了过氧化物酶体增殖激活受体 γ -辅活化子 1- α (*PPARGC1A*)基因在猪肌肉纤维中表达的 mRNA 和蛋白质水平,结果表明 *PPARGC1A* 基因在背最长肌中的表达量最高,肝脏次之,背部脂肪最低。在背最长肌组织中,大白猪与滇南小耳猪、藏猪相比具有较高的 mRNA 和蛋白表达,基因

表达量与肌内脂肪含量呈负相关($P<0.05$)。*PPARGC1A* 在大白猪肝脏和背部组织中的表达量比滇南小耳猪和藏猪更高,蛋白质水平差异显著($P<0.05$),肝脏、背部中脂肪含量差异极显著($P<0.01$)。滇南小耳猪为本土品种,产自云南省南部,具有肌内脂肪(IMF)含量高、肉质嫩等特点。藏猪是青藏高原特有的猪种,主要分布于林芝、昌都(西藏)、甘肃、迪庆(云南)、阿坝和甘孜(四川)。除了能很好地适应严酷的环境外,藏猪也具有很高的 IMF 含量。大白猪是一种引进的猪品种,在生长率、瘦肉率等方面具有较好的性状,但 IMF 含量较低。该研究表明猪脂肪性状的表型不同,背膘厚度和 IMF 含量与不同水平的 *PPARGC1A* 表达(mRNA 或蛋白)相关。*PPARGC1A* 的表达是影响肌纤维类型的重要因素^[11-16]。3 种警犬中 *PPARGC1A* 的表达量不同,结合肌纤维类型及运动能力进行综合分析,进一步揭示该基因在调节骨骼肌线粒体、糖、脂和能量代谢方面的生物重要性,寻找有意义的分子标记,为进一步加快警犬的分子辅助育种工作提供理论依据。

4 结论

该研究分析了 3 个警犬品种中 *PPARGC1A* 的表达规律,结果表明,随着年龄的增长,*PPARGC1A* 基因在 3 种警犬肌肉中的表达量呈现逐渐上升的趋势。马里努阿犬在 6 月龄和 1 岁龄时臀腿肌中的基因表达量极显著高于昆明犬和德国牧羊犬($P<0.01$)。这揭示 *PPARGC1A* 基因在肌肉发育和肌内脂肪沉积过程中起着重要的作用,结合警犬的警用耐力性能和有氧运动能力进行关联分析,为加快警犬分子辅助育种提供了理论依据。

参考文献

- [1] PUIGSERVER P, WU Z D, PARK C W, et al. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis [J]. *Cell*, 1998, 92 (6): 829-839.
- [2] 韩雪蕾, 刘榜, 彭勇波, 等. 猪 *PPARGC1A* 基因的遗传变异检测及与胴体性状的关联分析[J]. *华中农业大学学报*, 2009, 28 (5): 587-590.
- [11] 李晨虹, 李思发. 中国大陆沿海六水系统螯蟹(中华绒螯蟹和日本绒螯蟹)群体亲缘关系: 形态判别分析[J]. *水产学报*, 1999, 23 (4): 337-342.
- [12] 李思发, 李晨虹, 李家乐. 尼罗罗非鱼品系间形态差异分析[J]. *动物学报*, 1998, 44 (4): 450-457.
- [13] 李家乐, 李思发, 李勇, 等. 尼奥鱼[尼罗罗非鱼(♀)×奥利亚罗非鱼(♂)同其亲本的形态和性别][J]. *水产学报*, 1999, 23 (3): 261-265.
- [14] 陈建明, 叶金云, 沈斌乾, 等. 野生和池塘养殖花(鲈)肌肉营养成分的比较分析[J]. *上海水产大学学报*, 2007, 16 (1): 87-91.
- [15] 宋超, 庄平, 章龙珍, 等. 野生及人工养殖中华鲟幼鱼肌肉营养成分的比较[J]. *动物学报*, 2007, 53 (3): 502-510.
- [16] 王伟, 陈立侨, 顾志敏, 等. 六个群体翘嘴红鲌肌肉生化组成的比较[J]. *水产学报*, 2007, 31 (S1): 92-99.

- [3] BRAISSANT O, FOUFFELLE F, SCOTTO C, et al. Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): Tissue distribution of PPAR- α , - β , and - γ in the adult rat [J]. *Endocrinology*, 1996, 137 (1): 354-366.
- [4] BUSTIN S A. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays [J]. *Journal of molecular endocrinology*, 2000, 25 (2): 169-193.
- [5] 尚进, 靳焯. *PPARGC1 α* 基因与肉质品质相关性研究进展[J]. *肉类研究*, 2012, 26 (3): 42-44.
- [6] 尚进, 苏尼特羊, 巴美肉羊, 小尾寒羊 *PPARGC1 α* 基因突变与肉质的相关性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2012.
- [7] 李碧侠, 王学敏, 任守文, 等. 猪 PGC1 基因与胴体性状的相关性分析[J]. *江苏农业科学*, 2007, 35 (4): 141-142, 210.
- [8] 李碧侠, 王学敏, 任守文, 等. 5 个不同猪种 PGC1 基因 PCR-RFLP 多态性研究[J]. *猪业科学*, 2006, 23 (10): 52-54.
- [9] LI Q G, WANG Z X, ZHANG B, et al. Single nucleotide polymorphism scanning and expression of the pig *PPARGC1A* gene in different breeds [J]. *Lipids*, 2014, 49 (10): 1047-1055.
- [10] YANG Y, MO X B, CHEN S F, et al. Association of peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 alpha (*PPARGC1A*) gene polymorphisms and type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis [J]. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 2011, 27 (2): 177-184.
- [11] HAMMARSTEDT A, JANSSEN P A, WESSLAU C, et al. Reduced expression of PGC-1 and insulin-signaling molecules in adipose tissue is associated with insulin resistance [J]. *Biochemical biophysical research communications*, 2003, 301 (2): 578-582.
- [12] SORIA L A, CORVA P M, BRANDA SICA A, et al. Association of a novel polymorphism in the bovine *PPARGC1A* gene with growth, slaughter and meat quality traits in Brangus steers [J]. *Molecular and cellular probes*, 2009, 23 (6): 304-308.
- [13] KIM J M, LIM K S, LEE E A, et al. Polymorphisms of the 5' regulatory region of the porcine *PPARGC1A* gene and the effects on muscle fiber characteristics and meat quality [J]. *Molecular biology reports*, 2012, 39 (4): 3933-3942.
- [14] LEE J S, KIM J M, HONG J S, et al. Effects of polymorphisms in the 3' untranslated region of the porcine *PPARGC1A* gene on muscle fiber characteristics and meat quality traits [J]. *Molecular biology reports*, 2012, 39 (4): 3943-3950.
- [15] ZHAO R Q, YANG X J, XU Q F, et al. Expression of GHR and PGC-1 α in association with changes of MyHC isoform types in longissimus muscle of Erhualian and Large White pigs (*Sus scrofa*) during postnatal growth [J]. *Animal science*, 2004, 79 (2): 203-211.
- [16] 杨飞云, 陈代文, 黄金秀, 等. 猪背最长肌肌纤维类型的发育性变化及品种与营养影响特点[J]. *畜牧兽医学报*, 2008, 39 (12): 1701-1708.

(上接第 91 页)

- [11] 李晨虹, 李思发. 中国大陆沿海六水系统螯蟹(中华绒螯蟹和日本绒螯蟹)群体亲缘关系: 形态判别分析[J]. *水产学报*, 1999, 23 (4): 337-342.
- [12] 李思发, 李晨虹, 李家乐. 尼罗罗非鱼品系间形态差异分析[J]. *动物学报*, 1998, 44 (4): 450-457.
- [13] 李家乐, 李思发, 李勇, 等. 尼奥鱼[尼罗罗非鱼(♀)×奥利亚罗非鱼(♂)同其亲本的形态和性别][J]. *水产学报*, 1999, 23 (3): 261-265.
- [14] 陈建明, 叶金云, 沈斌乾, 等. 野生和池塘养殖花(鲈)肌肉营养成分的比较分析[J]. *上海水产大学学报*, 2007, 16 (1): 87-91.
- [15] 宋超, 庄平, 章龙珍, 等. 野生及人工养殖中华鲟幼鱼肌肉营养成分的比较[J]. *动物学报*, 2007, 53 (3): 502-510.
- [16] 王伟, 陈立侨, 顾志敏, 等. 六个群体翘嘴红鲌肌肉生化组成的比较[J]. *水产学报*, 2007, 31 (S1): 92-99.

- [17] 孟宪红, 孔杰, 庄志猛, 等. 真鲷自然群体和人工繁殖群体的遗传多样性[J]. *生物多样性*, 2000, 8 (3): 248-252.
- [18] 王军, 全成干, 苏永全, 等. 官井洋大黄鱼遗传多样性的 RAPD 分析[J]. *海洋学报*, 2001, 23 (3): 87-91.
- [19] 舒晓, 蒙子宁, 易祖盛, 等. 唐鱼野生与养殖群体遗传多样性的随机扩增多态 DNA (RAPD) 分析[J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2006, 45 (1): 77-81.
- [20] 陈雪峰, 杨国梁, 孔杰, 等. 人工养殖与选育对罗氏沼虾遗传多样性的影响[J]. *水生生物学报*, 2012, 36 (5): 866-873.
- [21] 常玉梅, 王文文, 徐万土, 等. 人工繁育大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*) 群体 F₂ 及 F₃ 遗传差异分析[J]. *海洋与湖泊*, 2009, 40 (4): 414-422.
- [22] 林茂, 黄景, 李正, 等. 大鲈野生亲代与人工繁育子二代的随机扩增多态 DNA 分析(英文)[J]. *上海水产大学学报*, 2003, 12 (S1): 20-23.