

# DNA 分子标记在水生动物遗传学上的研究进展

## Progress in the application of DNA molecular markers in aquatic animal genetics

刘云国<sup>1, 2</sup>, 陈松林<sup>1</sup>, 李八方<sup>2</sup>, 汪东风<sup>2</sup>

(1. 农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室, 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071; 2. 中国海洋大学 生命科学与技术学部, 山东 青岛 266003)

中图分类号: Q38

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2005)10-0058-07

遗传变异是生物的重要特征之一,它决定着生物的存在和发展,因而成为人类一直极力要揭开其奥秘并进行能动性改造的方面之一。随着分子生物学理论和技术的发展,以及与水生生物遗传学的相互渗透,近十几年来,分子标记、基因克隆和基因转移技术取得了惊人的进展,一些新基因目前已稳定地转入多种水生生物中。目前分子标记辅助选择育种和基因转移已成为培育新品种的有效手段。与主要的农作物相比,水生生物大多数性状均表现为数量遗传、个体基因组高度杂合、进行传统的遗传育种非常耗资、费时和费力。分子生物学技术的介入,特别是 DNA 分子标记技术的发展和运用,对水生动物遗传学研究起到了巨大的推动作用。DNA 分子标记大多是以 DNA 片段的电泳谱带形式表现的。依据其遗传特性,可分为显性和共显性标记两种。依据其在基因组中的出现频率,又可分为低拷贝序列标记和重复序列标记。依其多态性检出所用的分子生物学技术,可分为以 Southern 杂交技术为基础的分子标记,其代表性技术是限制性片段长度多态性标记 (Restriction fragment length polymorphism, RFLP)、DNA 指纹技术 (DNA Fingerprinting)、原位杂交 (In situ hybridization) 等;以 PCR 技术为基础的分子标记,其代表性技术是随机扩增多态性 DNA 标记 (Random amplification polymorphism DNA, RAPD)、扩增片段长度多态性标记 (Amplified fragment length polymorphism, AFLP)、序列标签位点 (Sequence tagged sites, STS)、序列特征扩增区 (Sequence characterized amplified region, SCAR)、简单序列重复标记 (Simple sequence repeats, SSR)、内部简单序列重复标记 (Inter simple sequence repeats, ISSR) 等。另外,还包括一些新型的分子标记,如:单核苷酸多态性 (Single nucleotide polymorphism,

SNP)、表达序列标签 (Expressed sequences tags, EST) 等。DNA 分子标记在水生动物分类、品种鉴定、系谱分析、遗传图谱构建、基因标记、分子辅助选择育种等多方面正得到广泛应用,在河豚鱼、斑马鱼、罗非鱼、鲑鳟鱼等重要水生动物上已取得了长足的进展,极大地推动了水生动物遗传学研究。本文综述了近年来 DNA 分子标记技术在水生动物遗传学及育种研究上的应用。

### 1 水生动物遗传多样性及种质资源鉴定和管理

水生动物基因组杂合度高,存在着大量的多态性。以往所采用的形态解剖、生理生化等方法很难对水生动物品种的鉴定和分类、亲缘关系、进化变异进行准确的研究和分析,因而限制了水生动物种质资源的获得、保持、保护和充分利用,延缓了水生动物育种效率。而 DNA 分子标记技术使水生动物种质资源研究中的一些难题迎刃而解。

由各种 DNA 分子标记而衍生的 DNA 指纹技术在鉴定品种真实性和纯度等方面是很有效的。DNA 指纹图谱能从遗传物质基础上,即从本质上反映生物个体差异的 DNA 电泳图谱,它具有高度个体特异性和稳定可靠性。通过对 DNA 指纹的比较以及借助相关计算机软件的聚类分析<sup>[2-4]</sup>,可以对水生动物种、亚种、变种、品种和品系的进化与演化、亲缘关系进

收稿日期: 2003-09-05; 修回日期: 2004-05-08

基金项目: (国家“863”计划资助项目(2002AA626010))

作者简介: 刘云国(1977-),男,山东广饶人,博士研究生,研究方向为海洋生物技术;陈松林,通讯作者, E-mail: chensl@yfri.ac.cn



行分析。各种 DNA 分子标记均可用于遗传多样性分析,在水生动物上目前研究最多的是 RAPD 指纹图谱,涉及大菱鲂 (*Scophthalmus maximus*)、牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*)、鲤鱼 (*Cyprinus carpio* L.)、鲈鱼 (*Trachidermus fasciatus*)、舌鳎 (*Cynolossus abbreviatus*)、虹鲢 (*Oncorhynchus mykiss*)、罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)、鳊鱼 (*Muraescsox cinereus*)、真鲷 (*Pagrosomus major*) 等多种水生动物<sup>[5~25]</sup>。易乐飞等<sup>[26]</sup>对湛江近海约氏笛鲷自然群体的 RAPD 分析结果显示其多态位点比例、遗传多样性指数较高,说明约氏笛鲷 (*Lutjanus johni*) 种质资源仍维持在较好水平。邹曙明等<sup>[27]</sup>对牙鲆和大菱鲂养殖群体进行了 RAPD 分析,结果显示牙鲆和大菱鲂群体内个体间的平均遗传相似度为 0.905 和 0.945,牙鲆群体内存在显著差异,而在大菱鲂群体内差异不显著,表明大菱鲂的种质较单一,存在近交衰退的危险。杨弘等<sup>[28]</sup>用 20 个随机引物成功区分了日本鳊鱼 (*Anguilla japonicus*)、欧洲鳊鱼 (*A. anguilla*)、美洲鳊鱼 (*A. rostrata*) 与形态学分析结果相一致。由于 SSR 和 AFLP 分辨率高,多态性强,重复性好,且效率高,作指纹图更为理想,近年来逐渐受到青睐<sup>[29,30]</sup>。Sekino 等<sup>[31,32]</sup>在牙鲆上开发了大量 SSR 标记,并利用 SSR 标记对其的遗传结构进行了分析,发现日本沿海牙鲆受人因素干扰,遗传多样性较低。Liu 等<sup>[33]</sup>研究了标记在斑点鲷 (*Ictalurus punctatus*)、长鳍鲷 (*I. furcatus*)、及其 F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 和回交后代中的应用,结果 AFLP 表明具有丰富的多态位点、稳定的孟德尔遗传方式和良好的可重复性。王志勇等<sup>[34]</sup>利用 AFLP 技术研究了我国沿海真鲷群体的遗传变异,结果显示北部湾群体的变异量最低,北部湾与威海群体的遗传差异显著,两者明显属于相互独立的两个亚种群。

## 2 水生动物亲子代遗传关系研究

应用各种遗传方法改造生物的遗传结构,培育优良品种已成为当前水生动物学研究的热点之一。人工雌核发育和人工诱导雄核发育可用于性别控制、快速建立家系,因而在多种水生动物中的相关工作已展开。利用杂交优势进行育种也是生物遗传改良的一个重要方面。但仅从形态学、细胞学等方面有时很难区分雄核发育及杂交种的亲子代遗传变异等关系,而 DNA 分子标记在此有广阔的应用空间。Felip 等<sup>[35]</sup>利用 AFLP 雄性特异带为标记对雌核发

育出的鲈鱼子代进行了鉴定,通过 4~11 条特异带对 3 组子代进行了分析,结果显示雌核发育率第一组为 89.5%,二、三组均为 100%。Gross 等<sup>[36]</sup>对大西洋鲑 (*Salmo salar* L.)、褐虹鳟 (*Salmo trutta* L.) 及它们的杂交种 GnRH 基因通过 Alu I 酶切之后,在杂交种中发现它包含了父母本的 2 个特异标记,可用于鉴定杂交种。

## 3 水生动物分子遗传图谱构建和 QTL 定位

遗传图谱是通过遗传重组交换结果进行连锁分析所得到的基因在染色体上相对位置的排列图。经典的遗传图谱是根据形态、生理和生化标记构建的,由于这些遗传标记的数量在作图群体的两亲本上极为有限,所以发展很缓慢,且图谱分辨率和饱和度都不高,应用价值有限。DNA 分子标记用于遗传图谱的构建是遗传学领域最激动人心的重大进展之一。分子遗传图谱的构建是根据某一多态性 DNA 片段在分离群体中的分离情况的直接观察统计而实现的,其构建的一般程序是:(1)选择合适的杂交亲本;(2)建立适宜的作图群体;(3)对亲本和群体进行分子标记分析;(4)利用计算机软件统计分析,建立标记间的连锁排序和确定遗传距离;(5)将连锁群与特定染色体挂钩。分子遗传图谱比传统遗传图谱位点多,构建速度快,效率高,且不受发育阶段及环境条件的影响,发展相当迅速。随着新的 DNA 标记技术的发展,标记种类越来越多,密度越来越高。

遗传图谱的构建是遗传学研究的重要领域,也是遗传学研究的有力工具。完整的连锁图谱对于深入开展各种分子生物学研究是非常必要的,如标记辅助选择 (MAS)、数量性状基因位点 (QTL) 图谱定位功能基因、杂交优势预测、基因组进化等。因此遗传图谱的构建和对基因组进行系统性研究,是动植物遗传育种和人类遗传疾病诊断和治疗的依据。1996 年,美国水产经济动物基因组计划启动,首先提出中等密度遗传图谱构建国际合作构想,第一批包括 3 种类别 (罗非鱼、鲑鳟鱼类、鳃),对虾 (南美对虾、斑节对虾和日本对虾) 和牡蛎 (太平洋牡蛎、美洲牡蛎)。

水生动物分子遗传图谱的构建中的一个难题是水生动物基因组高度杂合,很难获得纯系。“双假测交”理论解决了这一难题。其原理是:两杂合亲本杂交得到的 F<sub>1</sub> 的遗传位点已经产生分离重组,一些对亲本为杂合,而对另一亲本为纯合的基因座,在 F<sub>1</sub>



中 1: 1 分离, 相当于“测交”, 这些位点可用于构建两亲本的分子连锁图; 而一些对两亲本为杂合的基因座, 在 F<sub>1</sub> 中出现 1: 2: 1 或 3: 1 分离, 这些基因座可用于构建两亲本共同的分子连锁图。由于人们对水生动物缺乏较多了解, 加之适宜作图群体较难获得, 水生动物遗传作图相对滞后。但水生动物的多年生特性允许在较长的一段时间内对同一材料进行作图研究, 更多新增标记可陆续定位于图上, 使得图谱的密度、饱和度逐渐增大。由于这些优势, 近来水生动物分子遗传图谱构建的进展很快。Moore 等<sup>[37]</sup> 利用 AFLP 构建了日本对虾 (*Penaeus japonicus*) 的初步连锁图, 129 个标记分布于 44 个连锁群, 预计覆盖整个基因组的 57% 左右。Wilson 等<sup>[38]</sup> 利用 23 个 AFLP 引物对共筛选到 673 个遵从孟德尔分离的斑节对虾 (*Penaeus monodon*) AFLP 多态标记, 116 个共有 AFLP 标记分布于 20 个连锁群, 图距为 1 412 cM。Li 等<sup>[39]</sup> 利用双假测交法构建了对虾的标记连锁图谱, 平均密度为 10 cM, 该图的构建将为定位一些经济性状基因奠定基础。鱼类是水生动物中开展基因组作图较早且进展最大的类群。其作图群体构建、图谱覆盖范围及密度均高于虾类和贝类。Koeher<sup>[40]</sup> 等发表了罗非鱼的第一个遗传连锁图, 其中包括 112 个 AFLP 标记和一些微卫星标记。Young 等<sup>[41]</sup> 利用雄核发育的双单倍体虹鳟构建了一个初步的连锁图, 其后 Nichols<sup>[42]</sup> 又在原图上加了 700 多个 AFLP 标记, 220 个微卫星标记, 27 个型标记, 4 个同工酶标记, 使之成为了较为详细的连锁图谱。Wada 等<sup>[43]</sup> 用 170 个标记座位产生了青鳉 (*Oryzias latipes*) 的第一个连锁图, 共有 28 个连锁群, 覆盖 2 480cM 基因组。由于青鳉作图群体是 F<sub>1</sub> 雄性与亲本交配得到的回交群体, 所以是雄性遗传图谱。之后 Ohtsuka 等<sup>[44]</sup> 以 RAPD 为主的 163 个标记构建了雌性青鳉的连锁图谱, 共 26 个连锁群, 图距为 1 776cM。Liu 等<sup>[45]</sup> 应用 418 个 AFLP 标记建立了斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*) 的遗传图谱, 该图谱包含 44 个连锁群, 总图距 1 593 cM。Poompuang 等<sup>[46]</sup> 首次报道了利用 134 个 AFLP 标记构建了步行鲶鱼 (*Clarias macrocephalus*) 的初级连锁图谱, 共包含 31 个连锁群, 总图距为 2 037.4 cM, 标记间平均距离为 17.07 cM。

大多数水生动物的重要经济性状表现为数量遗传特点, 如品质、成熟期、生长快慢、抗病性等皆为数量性状。控制数量性状的基因称作数量性状基因座

(QTL)。不同的数量性状, 其 QTL 在基因组中的数量、位置和作用各不相同。数量遗传学是以统计推理为基础的, 即将控制数量性状的多基因作为一整体, 通过数理统计学的一级、二级统计来剖析、描述 QTL 遗传特征。由于常规遗传标记的局限性, 难以对单个 QTL 的遗传效应进行追踪, 而 DNA 分子标记技术及分子遗传图谱的迅猛发展, QTL 作图方法也得到了发展。目前 QTL 定位方法主要包括: (1) 区间作图法; (2) 多元回归法; (3) 精细作图法; (4) 标记回归法; (5) 完整连锁图作图法。由于 RFLP、AFLP、SSR 等对水生动物没有表型效应, 因而成为 QTL 作图的理想标记。当前水生动物 QTL 作图正处在起步阶段。Sakamoto 等<sup>[47]</sup> 找到了与虹鳟产卵时间有关的 13 个微卫星标记, 这 13 个标记分布于 7 个连锁组中, 说明虹鳟产卵时间是多基因控制的。Ozaki 等<sup>[48]</sup> 利用 51 个微卫星标记构建了虹鳟的区域连锁图谱, 并定位了 2 个与抗病相关的 QTL。

#### 4 水生动物基因的标记

基因标记就是筛选与目的基因连锁的遗传标记, 它是基因定位克隆和分子辅助选择育种的前提。用 DNA 分子标记来标记基因是最稳定可靠的, 标记方法目前有三种: (1) 连锁图谱法 (Linkage map); (2) 近等位基因系法 (Near isogenic lines, NIL); (3) 集群分离分析法 (Bulked segregant analysis, BSA)。当前大多数水生动物没有分子连锁图或是连锁图饱和度较低, 而构建水生动物近等位基因系难度较大, 所以前两种方法应用价值不大。目前 BSA 法已成为标记水生动物重要经济性状基因的主要方法, 其原理是将分离群体中的个体据所要研究的目标性状 (如抗病、感病) 分成两组, 每组中个体的 DNA 等量混合, 形成两个对应的 DNA 混合池 (抗病池、感病池)。因分组时仅对目标性状进行选择, 则两 DNA 池之间理论上应主要在目标基因区段存在差异, 这就非常类似于 NIL, 故此法又被称作近等基因池法。

频发的疾病引发的水产养殖及经济动物减产而造成巨大的损失, 使得加快主要经济动物品种遗传改良及筛选与抗病及生长相关的主效基因的分子标记已成为当务之急。目前已有一部分控制水生动物重要经济性状的质量和数量性状基因被标记。Nakamura 等<sup>[49]</sup> 结合 AFLP 技术和 BSA 在白化虹鳟中找到了 4 个与显性白化位点紧密连锁的 AFLP 标记, 其中一个共显性标记, 并将其转化为一个 GCAGT 重

复的微卫星标记,利用此标记已将显性白化座位定位于一参考虹鳟连锁图谱的 G 连锁群。Griffiths 等<sup>[50]</sup>利用 AFLP 技术找到了与三刺鱼 (*Gasterosteus aculeatus*) 性别决定相关的分子标记。随着 DNA 分子标记技术的应用和发展,会有更多的控制水生动物经济性状的基因标记被挖掘出来,对这些水生动物基因的克隆和转化必将在分子辅助选择育种上有更大的应用。

## 5 水生动物基因的定位克隆

遗传标记最主要的应用之一是克隆基因。利用高信息量的 DNA 分子标记以及 NIL、BSA 和比较基因组作图等新技术,获得与目标基因紧密连锁的分子标记,并以其为探针筛选大片段基因组文库,通过染色体步移或染色体登陆来克隆基因的方法称作定位克隆 (Map-based cloning)。这种方法可以在未知基因产物的条件下分离控制生物质量和数量性状的基因,近来受到众多发育学家和育种学家的青睐,已成为分离发育控制和重要质量和数量性状基因的常用方法之一,在农作物上已有许多成功报道<sup>[51, 52]</sup>。水生动物上这方面的研究起步较晚,但随着水生动物分子遗传图谱、基因标记研究的深入,水生动物重要基因的定位克隆在不远的将来会有所突破。而基因定位克隆的前提是构建大片段的水生动物基因组文库,这方面已经有一些研究工作<sup>[53-55]</sup>。如 Donovan 等<sup>[54]</sup>从斑马鱼 (*Danio rerio*) 中定位克隆了一个在脊椎动物中比较保守的铁离子转运蛋白基因。

## 6 水生动物分子标记辅助选择育种

遗传学家们很早就曾提出利用遗传标记和遗传图谱进行辅助选择以加速生物遗传改良进程的理论。标记辅助选择 (MAS) 就是通过遗传标记对目标性状实施间接选择。从理论上讲,当标记所示的加和性变异的分数超过狭义遗传力时,标记辅助选择则优于传统的遗传选育法。标记辅助选择有效的前提是标记与目标性状紧密连锁。常规遗传标记很难实现这点,而 DNA 分子标记信息量大、扫描遗传位点多、且用之选择不受其它基因效应、内外环境因素以及基因表达与否等因素的影响,分析结果准确可靠,可在早期进行选择,从而大大缩短育种周期,必将成为水生动物育种工作中的有效工具。一般认为应用传统选育技术,每代的遗传获得率通常在 10% ~ 15%,但分子标记选择育种技术可明显提高选育进

度,特别是那些靠传统的表型工具难以度量的性状。MAS 在水生动物育种中可以应用于杂交亲本的选择、杂种后代的早期鉴定选择、染色体片段去向追踪、遗传转化中目的基因的检测、多种抗病性状的同时筛选等方面。

## 7 水生动物比较基因组学

DNA 分子标记技术的发展及其在遗传学研究的广泛应用推动了一门遗传学的分支学科——比较基因组学的产生和发展。比较基因组研究主要是利用相同的 DNA 分子标记在相关物种之间进行遗传或物理作图,比较这些标记在不同物种基因组中的分布特点,揭示染色体或其片段上的基因及其排列顺序的相同或相似性,并据此对相关物种的基因组结构和起源进化进行分析。比较基因组研究使得传统遗传学突破了物种的框架,发展成为新的系统遗传学。除了其对物种进化研究上的重大意义外,它也推动了整个生物遗传学的研究,使得人们对模式物种基因组研究的结果能很快推广到相关物种上去。在农作物研究上,Moore<sup>[56]</sup>同时对水稻、小麦、玉米、谷子、甘蔗以及高粱等 6 种主要禾本科物种比较基因组的研究表明,基因组最小的水稻居于中枢地位,将禾本科植物基因组的保守性归结到了水稻基因组的 19 个连锁区段上,由这 19 个区段可实现对所研究的全部禾谷类作物染色体的重建,并构成一个禾谷类作物祖先种的染色体骨架。目前在水生动物中,已经开展了斑马鱼与人类和其它动物基因组的比较研究<sup>[57]</sup>。红鳍东方鲀 (*Fugu rubripes*) 的基因组由于小而且致密,本身又是脊椎动物,对其进行比较基因组学的研究较多<sup>[58-62]</sup>,必将为克隆人类致病基因、抗衰老和药物开发等领域做出贡献。比较基因组学研究还可以清晰地提供水生动物各自类群以及相互之间基因组水平上的进化关系,克隆、鉴定质量和数量性状座位,达到高产、抗逆、环保、健康的目的。

综上所述,DNA 分子标记技术在水生动物遗传研究上具有重要应用价值,并已取得了一定的进展,展现了广阔的应用前景。DNA 分子标记技术在水生动物种质资源研究和管理上的应用,使得人们从自然界中获得、鉴定、保存了更多的水生动物资源,并能对这些资源进行合理的评估、保护和利用。第一手材料的丰富性和准确性是深入的遗传学研究和高效的遗传育种工作的基础。由于水生动物所处环境和对其遗传背景了解甚少等方面的原因,使得常规遗传育种

的效率不高, 水生动物的遗传改良进程缓慢。利用高信息量的 DNA 分子标记, 构建高密度的水生动物分子连锁图, 标记控制水生动物重要经济性状的基因; 通过定位克隆技术克隆这些基因; 通过遗传转化和 MAS 对水生动物进行遗传改良。这一系列分子生物学技术的快速发展和应用, 为水生动物遗传学研究和遗传育种展示了美好的前景。

参考文献:

[1] 张德水, 陈受宜. DNA 分子标记、基因组作图及其在植物遗传育种上的应用 [J]. 生物技术通报, 1998, 5: 916-922.

[2] Page R D M. Treeview: An application to display phylogenetic trees on personal computers [J]. **Comp Appl Biosci**, 1996, 12: 357-358.

[3] Schneider S, Kueffer J M, Roessli D, *et al.* A software for population genetic data analysis [M]. Switzerland: Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, 1997.

[4] Rice R W. Analyzing tables of statistical tests [J]. **Evolution**, 1989, 43: 223-225.

[5] 邹曙明, 楼允东, 孙效文, 等. 用 RAPD 方法研究草鱼、柏氏鲤和 3 个地理群体中群鲤的亲缘关系 [J]. 中国水产科学, 2000, 7(1): 6-11.

[6] 孙效文, 梁利群. 鲤鱼的遗传连锁图谱初报 [J]. 中国水产科学, 2000, 7(1): 1-5.

[7] 何舜平, 王亚平, 陈宜瑜, 等. 五种鲤科鱼类的 RAPD 分析兼论稀有区鮡鲫的系统位置 [J]. 水生生物学报, 1997, 21(3): 262-267.

[8] 张四明, 邓怀, 晏勇, 等. 中华鲟随机扩增多态性 DNA 及遗传多样性研究 [J]. 海洋与湖沼, 2000, 31(1): 1-7.

[9] 权洁霞, 戴继勋, 沈颂东, 等. 梭鱼人工养殖群体与自然群体的随机扩增多态性 DNA (RAPD) 分析. 海洋学报, 2000, 22(5): 82-87.

[10] Bielawski J P, Pumo D E. Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis of Atlantic coast striped bass [J]. **Heredity**, 1997, 78: 32-40.

[11] Coughlan J, McCarthy E, McGregor D. Four polymorphic microsatellites in turbot *Scophthalmus maximus* [J]. **Animal Genetics**, 1996, 27(6): 441-447.

[12] Harald H, Svein L, Mona M, *et al.* A Blnr-related DNA sequence gives individual DNA fingerprints in turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 1994, 107B(1): 69-73.

[13] Estoup A, Gharbi K, SanCristobal M. Parentage assignment using microsatellites in turbot (*Scophthalmus maximus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hatchery populations [J]. **Can J Fish Aquat Sci**, 1998, 55(3): 715-725.

[14] Coughlan J P, Imsland A K, Galvin P T. Microsatellite DNA variation in wild populations and farmed strains of turbot from Ireland and Norway: a preliminary study [J]. **J Fish Biol**, 1998, 52(5): 916-922.

[15] Iyengar A, Piyapattanakorn S, Stone D M. *et al.* Identification of microsatellite repeats in turbot and Dover sole (*Solea solea*) using a RAPD-based technique: Characterization of microsatellite markers in Dover sole [J]. **Mar Biotechnol**, 2000, 2(1): 49-56.

[16] Blouin M S, Parsons M, Lacaille V, *et al.* Use of microsatellite loci to classify individuals by relatedness [J]. **Molecular Ecology**, 1996, 3: 393-401.

[17] O, Reilly P T, Herbinger C, Wright J M. Analysis of parentage determination in Atlantic salmon (*Salmo salar*) using microsatellites [J]. **Animal Genetics**, 1998, 29: 363-370.

[18] Sekino M, Takagi, N, Hara M, *et al.* Analysis of microsatellite DNA polymorphisms in rockfish *Sebastes thompsoni* and application to population genetic studies [J]. **Mar biotechnol**, 2001, 3: 45-52.

[19] Sekino M, Hara M. Inheritance characteristics of microsatellite DNA loci in experimental families of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* [J]. **Mar Biotechnol**, 2002, 3: 310-315.

[20] Ruzzante D E, Wrablewski J S, Taggart C T, *et al.* Bay-scale population structure in coastal Atlantic cod in Labrador and Newfoundland [J], **Canada J Fish Biol**, 2000, 56: 431-447.

[21] O, Connell M, Dillon M C, Wright J M, *et al.* Genetic structuring among Alaskan Pacific herring populations identified using microsatellite variation [J]. **J Fish Biol**, 1998, 53: 150-163.

[22] O, Connell M, Wright J M. Microsatellite DNA in fishes [J]. **Rev Fish Bio Fisheries**, 1997, 7: 331-363.

[23] Garcia de Leon F J, Chikhi L, Bonhomme F. Microsatellite polymorphism and population subdivision in natural population of European sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) [J]. **Mol Ecol**, 1997, 6: 51-62.

[24] Norris A T, Bradler D G, Cunningham E P. Micro-

- satellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations [J]. **Aquaculture**, 1997, 180: 247– 264.
- [25] Sekino M, Hara M, Taniguchi N. Loss of microsatellite and mitochondrial DNA variation in hatchery strains of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* [J]. **Aquaculture**, 2002, 213: 101– 122.
- [26] 易乐飞, 刘楚吾, 吕立强. 约氏笛鲷自然群体遗传多样性的 RAPD 分析 [J]. **中国水产科学**, 2002, 9(4): 379– 381.
- [27] 邹曙明, 李思发, 蔡完其. 牙鲆和大菱鲆养殖群体的分子标记和遗传变异 [J]. **中国水产科学**, 2001, 7(4): 6– 9.
- [28] 杨弘, 王希道, 吴婷婷, 等. 用 RAPD 技术研究 3 种鳗鱼的种质鉴定 [J]. **中国水产科学**, 2002, 9(3): 269– 272.
- [29] Ziekiewicz E, Rafalski A, Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification [J]. **Genomics**, 1994, 20: 176– 183.
- [30] Vos P, Hogers R, Bleeker M, *et al.* AFLP: A new technique for DNA fingerprinting [J]. **Nucleic Acids Research**, 1995, 23(21): 4407– 4414.
- [31] Sekino M, Hara M. Isolation and characterization of microsatellite DNA loci in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* (Pleuronectiformes, Pleuronectoidae, Paralichthyidae) [J]. **Mol Ecol**, 2000, 9: 2200– 2202.
- [32] Sekino M, Hara M. Application of microsatellite markers to population genetics studies of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* [J]. **Marine Biotechnology**, 2001, 3: 572– 589.
- [33] Liu Z, Nichols A, Li P, *et al.* Inheritance and usefulness of AFLP markers in channel catfish (*Ictalurus punctatus*), blue catfish (*I. furcatus*), and their F1, F2, and backcross hybrids [J]. **Molecular General Genetics**, 1998, 258: 260– 268.
- [34] 王志勇, 邱淑贞. 利用 AFLP 指纹技术研究中国沿海真鲷群体的遗传变异和趋异 [J]. **水产学报**, 2001, 25(4): 289– 293.
- [35] Felip A, Martínez-Rodríguez G, Piferrer F, *et al.* AFLP analysis confirm sex exclusive maternal genomic contribution of Meigynogenetic Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.) [J]. **Marine Biotechnology**, 2000, 2: 301– 306.
- [36] Goss R, Nilsson J, Schmitz M. A new species-specific nuclear DNA marker for identification of hybrids between Atlantic salmon and brown Trout [J]. **Journal of Fish Biology**, 1996, 49: 537– 540.
- [37] Moore S S, Whan V. The development and application of genetic markers for the Kuruma prawn *Penaeus japonicus* [J]. **Aquaculture**, 1999, 173: 19– 32.
- [38] Wilson K, Li Y, Whan V, *et al.* Genetic mapping of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* with amplified fragment length polymorphism [J]. **Aquaculture**, 2002, 204(3– 4): 297– 309.
- [39] Li Y, Byrne K. Genetic mapping of the kuruma prawn *Penaeus japonicus* using AFLP markers [J]. **Aquaculture**, 2003, 219: 143– 156.
- [40] Kocher T D, Lee W J, Sobolewska H, *et al.* A genetic linkage map of a cichlid fish, the tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. **Genetics**, 1998, 148: 1225– 1232.
- [41] Young W P, Wheeler P A, Coryell V H, *et al.* The development and application of genetic markers for the Kuruma prawn *Penaeus japonicus* [J]. **Aquaculture**, 1999, 173: 19– 32.
- [42] Nichols K. Plant, animal and microbe genome X [M]. USA: Proceeding of San Diego, 2002. 234– 251.
- [43] Wada H, Naruse K, Shimada A, *et al.* Genetic linkage map of a fish, the Japanese medaka *Oryzias latipes* [J]. **Mol Mar Biol Biotechnol**, 1999, 4: 269– 274.
- [44] Ohtsuka M, Makino S, Yoda K, *et al.* Construction of a linkage map of the medaka (*Oryzias latipes*) and mapping of the Da mutant locus defective in dorsoventral patterning [J]. **Genome Res**, 1999, 9: 1277– 1287.
- [45] Liu Z, Karsi A, Li P, *et al.* An AFLP-based genetic linkage map of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) constructed by using an interspecific hybrid resource family [J]. **Genetics**, 2003, 165: 687– 694.
- [46] Poopuang S, NāNakorn U. A preliminary genetic map of walking catfish (*Clarias macrocephalus*) [J]. **Aquaculture**, 2004, 232: 195– 203.
- [47] Sakamoto T, Danzmann R G, Okamoto N, *et al.* Linkage analysis of quantitative trait loci associated with spawning time in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. **Aquaculture**, 1999, 173: 33– 43.
- [48] Ozaki A, Sakamoto T, Khoo S, *et al.* Quantitative trait loci (QTL) associated with resistance/susceptibility to infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. **Mol Genet Genomics**, 2001, 265: 23– 31.
- [49] Nakamura K, Ozaki A, Akutsu T, *et al.* Genetic

- mapping of the dominant albino locus in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. **Molecular Genetics and Genomics**, 2001, **265**(4): 687– 693.
- [ 50] Griffiths R, Orr K J, Adam A, *et al.* DNA sex identification in the three– spined stickleback [J]. **Journal of Fish Biology**, 2000, **57**(56): 1 331– 1 342
- [ 51] Yoshimura S. Identification of a YAC clone carrying the Xa-1 allele, a bacterial blight resistance gene in rice [J]. **Theor Appl Genet**, 1996, 93: 117– 122.
- [ 52] Vinatzer B A. Construction and characterization of a bacterial artificial chromosome library of apple [J]. **Theor Appl Genet**, 1998, 97: 1 183– 1 190.
- [ 53] Morizot D C, Mcentire B B, Dellacolella L, *et al.* Mapping of tyrosine kinase gene family members in a *Xiphophorus* melanoma model [J]. **Mol Carcinog**, 1998, 22: 150– 157.
- [ 54] Donovan A, Brownlie A, Zhou Y, *et al.* Positional cloning of zebrafish ferroportin 1 identifies a conserved vertebrate iron exporter [J]. **Nature**, 2000, 402: 776– 781.
- [ 55] Nechiporuk A, Poss, K D, Johnson, S L, *et al.* Positional cloning of a temperature– sensitive mutant emmental reveals a role for sly 1 during cell proliferation in zebrafish fin regeneration [J]. **Developmental Biology**, 2003, **258**(2): 291– 306.
- [ 56] Moore G. Grasses line up and form a circle. Aligning male and female linkage map of apple (*Malus pumila* Mill) [J]. **Current Biology**, 1995, 5: 737– 739.
- [ 57] Postlethwait J H, Yan Y L, Gate M A, *et al.* Vertebrate genome evolution and the zebrafish gene map [J]. **Nature Genet**, 1998, 18: 345– 349.
- [ 58] Brenner S, Elgar G, Sandford R, *et al.* Characterization of the pufferfish (*Fugu*) genome as a compact model vertebrate genome [J]. **Nature**, 1993, 366: 265– 268.
- [ 59] Gilley J, Fried M. Extensive gene order differences within regions of conserved synteny between the *Fugu* and human genomes: implication from chromosomal evolution and the cloning of disease genes [J]. **Hum Mol Genet**, 1999, 8: 1 313– 1 320.
- [ 60] Yamaguchi F, Yamaguchi K, Tokuda H, *et al.* Molecular cloning EDG-3 and N-Shc genes from the puffer fish, *Fugu rubripes*, and conservation of synteny with the human genome [J]. **FEBS Letter**, 1999, 459: 105– 110.
- [ 61] Elgar G, Sandford R, Aparicio S, *et al.* Small is beautiful: comparative genomics with the puffer fish (*Fugu rubripes*) [J]. **Trends Genet**, 1996, 12: 145 – 150.
- [ 62] Brunner B, Todt T, Lenzner S, *et al.* Genomic structure and comparative analysis of nine *Fugu* genes: conservation of synteny with human chromosome Xp22. 2–p22. 1 [J]. **Genome Res**, 1999, 9: 437 – 448.

( 本文编辑:张培新)