

鱼类微卫星标记的研究进展

Review on microsatellite markers in fish

王伟^{1,2}, 尤 锋², 高天翔¹, 张培军²

(1. 中国海洋大学 生命科学与技术学部, 山东 青岛 266003; 2. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071)

中图分类号: Q347 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2006)10-0081-06

微卫星 DNA (microsatellite DNA), 又称短串联重复 (short tandem repeats, STRs)、简单序列重复 (simple sequence repeats, SSRs), 由 2~6 个碱基对的核心序列串联重复而成, 与其它常用的分子遗传标记 (例如同工酶、RFLP、RAPD、AFLP) 相比, 微卫星标记具有座位数目巨大并随机分布于基因组中 (内含子、外显子、基因间序列)、多态性丰富、共显性遗传方式、分析方法简单、重复性好和近缘种中引物通用性高等优点, 在动物的群体遗传分析、亲子鉴定、基因组作图和遗传育种中得到了广泛的应用^[1], 近年来已成为遗传学和分子生态学的研究热点之一。1994 年虹鳟作为第一个利用微卫星标记研究的鱼类^[2], 揭开了鱼类遗传标记领域的一个新篇章, 随着科研力度和投入的不断加大, 在水生生物中微卫星标记的发展速度非常快, 已经渗入到遗传学研究的多个领域, 并取得了瞩目的结果。作者在 ASFA (Aquatic Sciences and Fisheries Abstracts) 数据库中以“microsatellite”为检索词进行检索, 发现在 1995 年以前仅检索到 49 篇, 到 2004 年为止已有 1 423 篇文章收录。鱼类作为水生生物的一个重要的组成部分, 目前, 已经在几十余种中获得了微卫星序列并进行了应用, 表 1 概括了目前已经开发出微卫星序列的鱼类, 这为我们提供了一个很好的资源平台, 通过对同种或近缘种已开发的序列进行应用, 将会大大地减少开发微卫星序列的成本。以下是作者对微卫星遗传标记在鱼类中应用较多的群体遗传学、亲缘关系分析、遗传图谱构建和数量性状定位等领域的最新研究进展及其应用前景等进行的简要综述。

1 群体遗传分析

资源管理的一个重要的基础就是研究生物资源的群体结构, 由于水生生物生活环境的特殊性, 要弄清他们的遗传结构及遗传边界相对来说比较困难。微卫星标记具有多态性高、分析过程快、位点丰富等优点使其成为研究种群结构和分化的有利的分子标记。Yue^[41]等利用 RAPD、AFLP 和微卫星 3 种遗传标记对两个品系金龙鱼 (*Scleropages formosus*) 的 3 个地理群体进行了分析, 结果表明微卫星标记的多

态座位比例为 100%、杂合度预期值为 0.80, 而 RAPD 和 AFLP 的分别为 31.5% 和 24.7%, 0.12 和 0.09; 通过构建 UPGMA 系统树微卫星标记可以清楚地将来自于马来西亚和新加坡的两个地理群体的绿金龙鱼和一个红金龙鱼群体明显地分开, 聚为三支, 其中群体间没有交叉的现象, 而基于 RAPD 和 AFLP 所构建的 UPGMA 树则都无法清楚地将这三个群体进行区分, 相互之间较多的交叉现象。由此可见, 微卫星标记在研究群体遗传多样性和种群分化方面比 RAPD 和 AFLP 标记更有优越性, 能够更准确地分析群体的遗传结构。

近几年, 许多学者也将微卫星遗传标记应用到自然和养殖群体的遗传多态性分析及养殖群体对自然群体的影响、渔业资源管理等方面的研究中。Perez-Enriquez 等^[42]发现: 对于子一代真鲷养殖群体, 通过 4~5 个微卫星标记检测, 虽然其平均杂合度与亲本的没有显著性差异, 但是每个基因座位平均等位基因数和一些主要等位基因频率明显降低。Lundigan 等^[43]利用 6 个微卫星标记对来自于 Fraser 河、Nauyuk 湖、Tree 河和 Aleknagik 湖的红点鲑的 4 个养殖群体和野生群体进行了遗传变异的分析比较, 结果表明, Nauyuk 湖和 Tree 河的群体与野生群体相比, 在杂合度观测值上差异不显著, 但是其平均等位基因数较低, 通过绘制 N-J 树, 来源于同一群体的样本聚在一起, 该结果证明, 养殖群体和野生群体发生了明显的遗传分化; 养殖群体中, 平均等位基因数与群体所建立时的亲本数是密切相关的, 建立群体时选用的样本较少的话, 其群体的遗传变异水平就会较低。王伟等^[44]利用微卫星遗传标记对山东近海牙鲆

收稿日期: 2005-05-12; 修回日期: 2005-07-20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30271063); 山东省自然科学基金资助项目

作者简介: 王伟 (1981-), 男, 山东蓬莱人, 硕士研究生, 从事鱼类群体遗传学研究; 尤锋, 通讯作者, 副研究员, 电话: 0532-82898560; E-mail: youfeng@ms.qdio.ac.cn

的自然群体和养殖群体进行了研究,结果表明自然群体和养殖群体的平均杂合度分别为 0.812 和 0.731,两群体的遗传距离为 0.155 7;而利用同工酶标记获得的平均杂合度分别为 0.080 2 和 0.078 8,遗传距离为 0.012 4^[45];利用 RAPD 获得的两群体的平均杂合度为 0.273 9 和 0.225 5,遗传距离为 0.050 8^[46],由此也显示出微卫星标记在揭示群体异质性方面的优势。

表1 已开发出微卫星标记的鱼种节选

鱼种名称	参考文献
褐牙鲈 (<i>Paralichthys olivaceus</i>)	[3]
大菱鲈 (<i>Scophthalmus maximus</i>)	[4]
红点鲑 (<i>Salvelinus alpinus</i>)	[5]
虹鳟 (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	[6]
白齿海鲷 (<i>Pleuronectes platessa</i>)	[7]
三线矶鲈 (<i>Parapristipoma trilineatum</i>)	[8]
金头鲷 (<i>Sparus aurata</i>)	[9]
虹鳟 (<i>Poecilia reticulata</i>)	[10]
夏威夷石斑鱼 (<i>Epinephelus quernus</i>)	[11]
牙鲈 (<i>Merlangius merlangus</i>)	[12]
大西洋鳕 (<i>Gadus morrhua</i>)	[13]
鲟杜父鱼 (<i>Cottus gobio</i>)	[14]
条斑星鲷 (<i>Verasper moseri</i>)	[15]
剑尾鱼 (<i>Xiphophorus helleri</i>)	[16]
大西洋鲑 (<i>Salmo salar</i>)	[17]
斑马鱼 (<i>Danio rerio</i>)	[18]
尼罗罗非鱼 (<i>Oreochromis nilotica</i>)	[19]
金枪鱼 (<i>Thunnus thunnus</i>)	[20]
香鱼 (<i>Plecoglossus altivelis</i>)	[21]
鲤鱼 (<i>Cyprinus carpio</i>)	[22]
斑点叉尾鲷 (<i>Ictalurus punctatus</i>)	[23]
舌齿鲈 (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	[24]
鲟鳇 (<i>Clarias gariepinus</i>)	[25]
真鲷 (<i>Pagrus major</i>)	[26]
红鳍东方鲀 (<i>Fugu rubripes</i>)	[27]
高首鲟 (<i>Acipenser transmontanus</i>)	[28]
匙吻鲟 (<i>Polyodon spathula</i>)	[29]
黑线鳕 (<i>Melanogrammus aeglefinus</i>)	[30]
日本鳗鲡 (<i>Anguilla japonica</i>)	[31]
欧洲鳗鲡 (<i>Anguilla anguilla</i>)	[32]
兰氏鲫 (<i>Carassius langsdorffii</i>)	[33]
圆鰕虎鱼 (<i>Eucyclogobius newberryi</i>)	[34]
多锯鲷 (<i>Polyprion americanus</i>)	[35]
似石首鱼 (<i>Sciaenops ocellatus</i>)	[36]
泥鳅 (<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>)	[37]
太平洋鲱 (<i>Clupea pallasii</i>)	[38]
无须鲷 (<i>Macruronus magellanicus</i>)	[39]
晶鲷 (<i>Sebastodes rastrelliger</i>)	[40]

为某些动物行为生态学理论提供实际依据^[47]。遗传标记在亲权关系鉴定时的应用价值可用多态信息含量、个体识别力和非父排除率来衡量。由于拥有较高的多态信息含量,微卫星标记在亲缘关系分析和个体识别中也得到了广泛的应用。在某些物种中,用其它的标记技术很难识别相互之间甚至于父子或母子之间的亲缘关系时,利用微卫星标记便可以准确地得以鉴定和区分。Innocentiis 等^[48]利用了 4 个高多态性的微卫星标记对意大利金头鲷 (*Sparus auratus*) 的两个养殖群体 BR1 的 39 尾个体和 BR2 的 59 尾个体进行了遗传分析,结果表明 BR2 群体,分别来自于 5 个野生群体,而且其所占的百分比相差不大 (10.3%~27.6%);BR1 群体中的大部分 (43.6%) 个体来自于大西洋种群,剩下的来自于伊特鲁里亚海 (20.5%) 和撒丁运河 (20.5%)。

由于自然生态环境质量的下降及人类对水产品需求的增长,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人们研究的热点。人工诱导雌核发育和雄核发育的研究由于其可用于性别控制、快速建立家系,从而在多种经济水生动物中广泛开展起来。利用杂交优势进行育种也是物种遗传改良的一个重要方面,但仅从形态学、细胞学等角度有时很难区分雌核发育亲代遗传变异关系。分子遗传标记为雌核发育群体的鉴定提供了新的方法,但是同工酶由于多态性低, RAPD、AFLP 属于显性标记无法区分杂合子和隐性纯合子,从而大大限制了其应用。徐成^[49]等应用在野生群体中有多样态现象的 8 种同工酶 10 个基因座位对牙鲈异质雌核发育群体进行了遗传变异分析,仅有两个座位表现为多态;王伟等^[50]利用 9 个微卫星标记对牙鲈的异质雌核发育群体进行了分析,7 个座位表现为多态,在这 7 个具多态的座位上雌核发育后代的遗传物质全部来自于母本,准确地进行雌核发育后代的亲缘关系鉴定;Castro 等^[51]应用 11 个微卫星标记对人工诱导的雌核发育大菱鲈进行了鉴定,这 11 个标记的累积非父排除率为 0.999 9,实验结果证明了后代的遗产物质完全来自于母本而无父本基因的参与。此外在舌齿鲈^[52]、非洲鲶鱼^[53]等物种中都有过相关的报道。因此,微卫星标记可以揭示更多的遗传信息,提供更准确地进行亲缘关系的分析和鉴定,利用微卫星标记进行雌核发育群体的分析检验更有效。

2 亲缘关系分析和个体识别

对野生及人工饲养动物进行亲子鉴定和个体识别,不仅有助于对这些动物进行保护管理,并且可以

3 遗传图谱的构建及数量性状定位

遗传图谱 (genetic map) 又称连锁图谱 (linkage map) 或遗传连锁图谱 (genetic linkage map) 是指基因

或 DNA 标记在染色体上的相对位置与遗传距离,即以基因间的交换值为依据,确定基因在染色体上的相对位置。它是伴随着遗传标记的发展而发展的,经历了从经典的基因连锁图谱到现代的 DNA 标记连锁图谱的过程。表型标记和生化标记由于多态性低,可分析的位点数有限等缺点已经较少应用,RAPD 标记的可重复性差、AFLP 属显性标记且分析流程复杂现在一般用于构建框架图。微卫星标记是基因组中属于特异性标记,从而可以在不同的作图群体间进行标记的转换,有利于基因图谱向物理图谱的过渡;而且微卫星标记为共显性,在基因组中数量巨大,逐渐取代了其他的标记成为精细遗传图谱构建中的首选标记。利用 AFLP 构建框架图,微卫星标记进行精细定位这一作图策略已被越来越多的学者应用。与在陆生动物和植物遗传图谱方面已经取得的成果相比,鱼类的相关研究起步较晚。斑马鱼作为遗传学和发育学研究中的模式生物直到 1994 年,Postlethwait 等^[54]才利用 RAPD 标记构建了斑马鱼的第一个连锁图谱,总图距 2 317 cM,平均间隔 5.8 cM。1996 年,Knapik 等^[55]利用 5 个品系绘制了一个共有 705 个微卫星标记的斑马鱼遗传连锁图,总图距为 2 350 cM,平均精度达 3.3 cM。到 1999 年 Shimoda 等^[56]用 2 000 个(CA)重复的微卫星标记构建了高密度的斑马鱼遗传连锁图谱,其平均精度达到 1.2 cM,每 cM 代表 0.74 Mb 的实际距离。而对经济价值较高的水产养殖对象的基因组遗传图谱的研究工作都是 20 世纪末期才开始的。2003 年 Coimbra 等^[57]报道了 111 个微卫星标记和 352 个 AFLP 标记构成的牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)雌雄性两个遗传连锁图谱,其中雄性 25 个连锁群,雌性 27 个连锁群,平均精度为 8 cM 和 6.6 cM,覆盖的基因组长度在 1 000~1 200 cM 之间,其中雄雌牙鲆的重组率为 7.4 : 1。Ohara 等^[58]对 90 尾两种鳊鱼(*Seriola quinqueradiata* 和 *S. lalandi*)的杂交后代利用 217 个微卫星遗传标记构建了雌雄连锁图谱,雌性连锁图谱总图距 901.7 cM,为 25 个连锁群,平均精度为 2.7 cM;雄性连锁图谱,总图距 1 715.3 cM,为 21 个连锁群,平均精度为 4.8 cM。

国内鱼类遗传图谱的构建工作进展较为缓慢,孙效文等^[59]报道了鲤鱼(*Cyprinus carpio* L.)的初步遗传图谱,包括 56 个 RAPD 标记、115 个微卫星标记、91 个基因标记,图谱为 50 个连锁群,与鲤鱼的单倍体染色体数一致,覆盖基因组总长度为 5 789 cM。2004 年他们又利用 105 个基因标记、110 个微卫星标记和 57 个 RAPD 标记完成了鲤鱼的又一遗传图谱,

该图谱覆盖 4 111 cM,并把与冷应激相关的基因定位到第 5 连锁群上,为鲤鱼数量性状的定位奠定了基础^[60]。

数量性状的定位随着遗传图谱的发展而获得了长足的进步。动植物中许多重要的经济性状都表现为数量性状的特点。数量性状呈连续变异,对环境极其敏感,受许多数量性状基因位点和环境因子的共同作用。目前在经济鱼类中已有一些与生长、抗病等相关的数量性状位点与特定的分子标记进行了连锁分析。Cnaani 等^[61]利用微卫星标记技术对莫桑比克罗非鱼和奥利亚罗非鱼(*Oreochromis mossambicus* × *O. aureus*)的杂交子二代进行了耐寒和大小(体质量和体长)的连锁分析,获得了两个座位 UNH879 和 UNH130 分别和耐寒和个体大小相连锁。这两个标记之间的图距为 22 cM,其中 UNH879 还与性别决定有关。2004 年 Rodriguez 等^[62]在成功地利用两种虹鳟(rainbow trout 和 steelhead trout)回交后代构建了遗传图谱的基础上,通过连锁分析发现在雌性连锁图谱中定位于第 3,14,16,30,31 和 39 连锁群上的 6 个 AFLP 标记和 6 个微卫星标记与抗传染性出血坏死病毒性状相连锁;雄性图谱上 11,20,25 连锁群中的 16 个 AFLP 标记和 6 个微卫星标记与抗传染性出血坏死病毒性状相连锁。

4 结语

微卫星作为一种新型的、操作方便的遗传标记技术,由于具有多种优于其它标记的特点,在以上各个领域得到了广泛的应用,获得了丰硕的成果。随着分子生物技术的发展,微卫星标记的应用领域将进一步的扩大。过去微卫星 DNA 曾经被视为真核生物基因组进化中产生的垃圾 DNA,但目前越来越多的证据表明这些重复序列在基因组中有着重要的作用,有的直接编码具有功能的蛋白质,有的则位于基因的启动子区域或者调控区,对基因的表达起着重要的作用。目前已有多种人类的遗传病都与微卫星序列有关,如亨廷顿病、肯尼迪综合征、脆性 X 综合征等。亨廷顿舞蹈症基因是由(CAG)*n*串联重复组成,编码谷氨酰胺,正常人一般重复次数在 30 次以内,如果超过 35 次,到了中年以后就会发病,而且重复次数越多发病的年龄越早。鱼类中,Yue 等^[63]对莫桑比克罗非鱼和尼罗罗非鱼的 IGF- II、GH-2、泌乳刺激素和胰岛素基因的启动子区域或 5'非翻译区进行检索时发现了 6 个微卫星座位,这 6 个微卫星座位在两个物种中都表现出多态性,平均杂合度在两物种中分别为 0.79 和 0.73,由于 IGF- II、GH-2、泌乳刺激素和胰岛

素基因与生长和繁殖有关,因此研究这些微卫星序列对其相邻基因的表达调控及其功能的影响,对鱼类育种实验有着十分重要的意义。

此外,微卫星侧翼序列的保守性也使得在近缘种中的应用成为可能,相关的研究在鲟属^[64]和平鲈属^[40]中都有报道。当然,由于有的序列的同源性较差,使得基因座位在近缘种中得不到扩增结果或者出现大量的非特性扩增,因此在选用近缘种的微卫星标记进行应用时还需进行一番细致的筛选。

另外一个具有诱人前景的领域是以微卫星标记为基础的标记辅助选育,标记辅助选育将会改变目前群体水平上从表型值推断基因型值的选种过程,转而先用分子生物学技术测定个体的基因型,并结合表型选择,再来估计个体育种值。计算机模拟也表明,标记辅助选择育种相对于传统的选择方法而言,可以获得更大的遗传进展,能增大选择强度,缩短世代间隔,提高选种的准确性。同时,还可以有目的地导入有益基因、剔除不利基因,以此提高群体的生产性能和生活力,减短育种年限。然而在水生生物中包括鱼类,利用微卫星标记进行辅助选育方面的研究还未见到具有实际价值的报道。随着微卫星研究手段的不断完善和研究的深入,微卫星分子标记技术在鱼类的研究中会发挥极大的作用,促进鱼类遗传学和育种学研究的进程。

参考文献:

[1] O'Connell M, Wright J M. Microsatellite DNA in fishes [J]. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, 1997, 7: 331-363.

[2] Nielsen J L, Gan C A, Wright J M, et al. Biogeographic distributions of mitochondrial and nuclear markers for southern steelhead [J]. **Molecular Marine Biology and Biotechnology**, 1994, 3: 281-293.

[3] Sekino M, Hrara M. Isolation and characterization microsatellite DNA loci in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* [J]. **Molecular Ecology**, 2000, 9 (12): 2201-2203.

[4] Pardo GB, Casas L, Fortes G G, et al. New microsatellite markers in turbot (*Scophthalmus maximus*) derived from an enriched genomic library and sequence databases [J]. **Molecular Ecology Notes**, 2005, 5 (1): 62-64.

[5] McGowan C R, Davidson E A, Woram R A, et al. Ten polymorphic microsatellite markers from Arctic charr (*Salvelinus alpinus*): linkage analysis and amplification in other salmonids [J]. **Animal Genetics**, 2004, 35 (6): 479-481.

[6] Rodriguez F, Rexroad C E, Palti Y. Characterization of twenty-four microsatellite markers for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. **Molecular Ecology Notes**, 2003, 3 (4): 619-622.

[7] Hoarau G, Cook D, Stam W T, et al. New microsatellite primers for plaice *Pleuronectes platessa* L. (Teleostei: Pleuronectidae) [J]. **Molecular Ecology Notes**, 2002, 2 (1): 60-61.

[8] Barinova A A, Kumagai K, Nakajima M, et al. Identification and characterization of microsatellite DNA markers developed in threeline grunt *Parapristipoma trilineatum* [J]. **Fish Genetics and Breeding Science**, 2002, 32: 27-32.

[9] Launey S, Krieg F, Haffray P, et al. Twelve new microsatellite markers for gilted seabream (*Sparus aurata* L.): characterization, polymorphism and linkage [J]. **Molecular Ecology Notes**, 2003, 3 (3): 457-459.

[10] Olendorf R, Ruedi B, Hughes K A. Primers for 12 polymorphic microsatellite DNA loci from the guppy (*Poecilia reticulata*) [J]. **Molecular Ecology Notes**, 2004, 4 (4): 668-671.

[11] Rivera M A J, Graham G C, Roderick G K. Isolation and characterization of nine microsatellite loci from the Hawaiian grouper *Epinephelus quernus* (Serranidae) for population genetic analyses [J]. **Marine Biotechnology**, 2003, 5 (2): 126-129.

[12] Rico C, Ibrahim K M, Rico I, et al. Stock composition in North Atlantic populations of whiting using microsatellite markers [J]. **Journal of Fish Biology**, 1997, 51 (3): 462-475.

[13] Miller K M, Le K D, Beacham T D. Development of tri- and tetranucleotide repeat microsatellite loci in Atlantic cod (*Gadus morhua*) [J]. **Molecular Ecology**, 2000, 9 (2): 238-239.

[14] Englbrecht C C, Largiadier C R, Hanfling B, et al. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in the European bullhead *Cottus gobio* L. (Osteichthyes) and their applicability to related taxa [J]. **Molecular Ecology**, 1999, 8 (11): 1966-1969.

[15] Ortega-Villaizan Romo M, Nakajima M, Taniguchi N. Isolation and characterization of microsatellite DNA markers in the rare species barfin flounder (*Verasper moseri*) and its closely related species spotted halibut (*V. variegatus*) [J]. **Molecular Ecology Notes**, 2003, 3 (4): 624-631.

[16] 李霞,白俊杰,吴淑勤,等. 剑尾鱼微卫星 DNA 的筛选 [J]. **中国水产科学**, 2004, 11 (3): 196-201.

[17] King T L, Eackles M S, Letcher B H. Microsatellite DNA markers for the study of Atlantic salmon (*Sal-*

- mosalar*) kinship, population structure, and mixed-fishery analyses [J]. **Molecular Ecology Notes**, 2005, 5 (1) : 130-132.
- [18] Shimoda N, Knapik E W, John Z, *et al.* Zebrafish genetic map with 2 000 microsatellite markers [J]. **Genomics**, 1999, 58 : 219-232.
- [19] Carleton K L, Streelman J T, Lee B Y, *et al.* Rapid isolation of CA microsatellites from the tilapia genome [J]. **Animal Genetics**, 2002, 33 (2) : 140-144.
- [20] Clark T B, Ma L, Saillant E, *et al.* Microsatellite DNA markers for population-genetic studies of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus*) and other species of genus *Thunnus* [J]. **Molecular Ecology Notes**, 2004, 4 (1) : 70-73.
- [21] Takagi M, Shoji E, Taniguchi N. Microsatellite DNA polymorphism to reveal genetic divergence in ayu, *Plecoglossus altivelis* [J]. **Fisheries science**, 1999, 65 : 507-512.
- [22] Crooijmans R, Bierbooms V, Komen J. Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. **Animal Genetics**, 1997, 28 : 129-134.
- [23] Tan G, Karsi A, Li P, *et al.* Polymorphic microsatellite markers in *Ictalurus punctatus* and related catfish species [J]. **Molecular Ecology**, 1999; 8 (10) , 1758-1760.
- [24] Garcia de Leon F J, Dallas J F, Chatain B, *et al.* Development and use of microsatellite markers in sea bass *Dicentrarchus labras* (Linnaeus, 1758) [J]. **Molecular Marine Biology and Biotechnology**, 1995, 4(1) : 62-68.
- [25] Galbusera P, Volckaert F A, Hellemans B, *et al.* Isolation and characterization of microsatellite markers in the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) [J]. **Molecular Ecology**, 1996, 5 (5) : 703-705.
- [26] Takagi M, Taniguchi N, Cook D, *et al.* Isolation and characterization of microsatellite loci from red sea bream *Pagrus major* and detection in closely related species [J]. **Fisheries Science**, 1997, 63 : 199-204.
- [27] Furukawa S, Takeshima H, Otaka T, *et al.* Isolation of microsatellite markers by in silico screening implicated for genetic linkage mapping in Japanese pufferfish *Takifugu rubripes* [J]. **Fisheries Science**, 2004, 70 : 620-628.
- [28] Rodzen J A, May B. Inheritance of microsatellite loci in the white sturgeon *Acipenser transmontanus* [J]. **Genome**, 2002, 45 : 1064-1076.
- [29] Heist E J, Nicholson E H, Sipiorski J T, *et al.* Microsatellite markers for the Paddlefish (*Polyodon spathula*) [J]. **Conservation Genetics**, 2002, 3 : 205-207.
- [30] Lage C R, Kormfield I. Isolation and characterization of microsatellite loci in Atlantic haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) [J]. **Molecular Ecology**, 1999, 8 (8) : 1355-1357.
- [31] Tseng M C, Chen C A, Kao H W, *et al.* Isolation and characterization of polymorphic microsatellite in the Japanese eel *Anguilla japonica* [J]. **Marine Biotechnology**, 2001, 3 : 275-280.
- [32] Wirth T, Bernatchez L. Genetic evidence against panmixia in the European eel [J]. **Nature**, 2001, 409 (6823) : 1037-1040.
- [33] Ohara K, Dong S, Taniguchi N. High proportion of heterozygotes in microsatellite DNA loci of wild clonal silver crucian carp, *Carassius langsdorfii* [J]. **Zoological Science**, 1999, 16 : 909-913.
- [34] Mendonca H, Smith J, Brinegar C. Isolation and characterization of four microsatellite loci in the tide-water goby (*Eucyclogobius newberryi*) [J]. **Marine Biotechnology**, 2001, 3 : 91-95.
- [35] Ball A O, Sedberry G R, Zatzoff M S, *et al.* Population structure of the wreckfish *Polyprion americanus* determined with microsatellite genetic markers [J]. **Marine Biology**, 2000, 137 : 1077-1090.
- [36] O'Malley K G, Abbey C A, Ross K, *et al.* Microsatellite DNA markers for kinship analysis and genetic mapping in red drum, *Sciaenops ocellatus* (Sciaenidae, Teleostei) [J]. **Molecular Ecology Notes**, 2003, 3(1) : 155-158.
- [37] Morishima K, Nakayama I, Arai K. Microsatellite-centromere mapping in the loach *Misgurnus anguillicaudatus* [J]. **Genetica**, 2001, 111 : 59-69.
- [38] Olsen J B, Lewis C J, Kretschmer E J, *et al.* Characterization of 14 tetranucleotide microsatellite loci derived from Pacific herring [J]. **Molecular Ecology Notes**, 2002, 2(2) : 101-103.
- [39] D'Amato M E, Lunt D H, Carvalho G R. Microsatellite markers for the hake *Macruronus magellanicus* amplify other gadoid fish [J]. **Molecular Ecology**, 1999, 8 (6) : 1086-1088.
- [40] Westerman M E, Buonaccorsi V P, Stannard J A, *et al.* Cloning and characterization of novel microsatellite DNA markers for the grass rockfish, *Sebastes rastrelliger*, and cross-species amplification in 10 related *Sebastes* spp. [J]. **Molecular Ecology Notes**, 2005, 5(1) : 74-76.
- [41] Yue G H, Li Y, Chen F, *et al.* Comparison of three DNA marker systems for assessing genetic diversity in Asian arowana (*Scleropages formosus*) [J].

- Electrophoresis**, 2002, 23: 1 025-1 032.
- [42] Perez-Enriquez, Takagi RM, Taniguchi N. Genetic variability and pedigree tracing of a hatchery-reared stock of red sea bream (*Pagrus major*) used for stock enhancement, based on microsatellite DNA markers [J]. **Aquaculture**, 1999, 173: 413-423.
- [43] Lundigan T A, Reist J D, Ferguson M M. Microsatellite genetic variation within and among Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) from aquaculture and natural populations in North America [J]. **Aquaculture**, 2005, 244: 63-75.
- [44] 王伟, 尤锋, 高天翔, 等. 山东近海牙鲆 *Paralichthys olivaceus* 自然和养殖群体 10 个微卫星基因座位的遗传多态性分析 [J]. **海洋与湖沼**, 2004, 35(6): 530-537.
- [45] 尤锋, 王可玲, 张建海, 等. 山东近海褐牙鲆自然与养殖群体生化遗传结构及其遗传变异的比较分析 [J]. **海洋与湖沼**, 2001, 32(5): 512-518.
- [46] You F, Xiang J H, Song L S, *et al.* Genetic variations in natural and cultured stocks of Shandong *Paralichthys olivaceus* (T. & S.) as revealed by RAPD [J]. **Studia Marina Sinica**, 2002, 44: 228-234.
- [47] Field D L, Chemnick M, Robbins K, *et al.* Paternity determination in captive lowland gorillas and orangutans and wild mountain gorillas by microsatellite [J]. **Primates**, 1998, 39: 199-209.
- [48] Innocenti S D, Miggiano E, Ungaro A, *et al.* Geographical origin of individual breeders from gilthead sea bream (*Sparus auratus*) hatchery broodstocks inferred by microsatellite profiles [J]. **Aquaculture**, 2005, 247: 227-232.
- [49] 徐成, 王可玲, 徐永立, 等. 雌核发育牙鲆同工酶基因的重组及父方基因的表达 [J]. **海洋与湖沼**, 2002, 33(1): 62-67.
- [50] 王伟, 尤锋, 高天翔, 等. 人工诱导牙鲆异质雌核发育群体的微卫星标记分析 [J]. **高技术通讯**, 2005, 15(7): 85-88
- [51] Castro J, Bouza C, Sanchez L, *et al.* Gynogenesis assessment using microsatellite genetic markers in turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. **Marine Biotechnology**, 2003, 5: 584-592.
- [52] Peruzzi S, Chatain B. Pressure and cold shock induction of meiotic gynogenesis and triploidy in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L.: relative efficiency of methods and parental variability [J]. **Aquaculture**, 2000, 189: 23-37.
- [53] Galbusera P, Volckaert F A M, Ollevier F. Gynogenesis in the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) III Induction of endomitosis and the presence of residual genetic variation [J]. **Aquaculture**, 2000, 185: 25-42.
- [54] Postlethwai J, Johnson S L, Midson C N, *et al.* A genetic map for the zebrafish [J]. **Science**, 1994, 264: 699-703.
- [55] Knapik E W, Goodman A, Atkinson O S, *et al.* A reference cross DNA panel for zebrafish (*Danio rerio*) anchored with simple sequence length polymorphisms [J]. **Development**, 1996, 123: 451-460.
- [56] Shimoda N, Knapik E W, John Z, *et al.* Zebrafish genetic map with 2000 microsatellite markers [J]. **Genomics**, 1999, 58: 219-232.
- [57] Coimbra M R M, Kobayashi K, Koretsugu S, *et al.* A genetic linkage map of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. **Aquaculture**, 2003, 220: 203-218.
- [58] Ohara E, Nishimura T, Nagakura Y, *et al.* Genetic linkage maps of two yellowtails (*Seriola quinqueradiata* and *Seriola lalandi*) [J]. **Aquaculture**, 2005, 244: 63-75.
- [59] 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.
- [60] Sun X, Liang L. a genetic linkage map of common carp (*Cyprinus carpio* L.) and mapping of a locus associated with cold tolerance [J]. **Aquaculture**, 2004, 238: 165-172.
- [61] Cnaani A, Hallerman EM, Ron M, *et al.* Detection of a chromosomal region with two quantitative trait loci, affecting cold tolerance and fish size, in an F2 tilapia hybrid [J]. **Aquaculture**, 2003, 223: 117-128.
- [62] Rodriguez M F, LaPatra S, Williams S, *et al.* Genetic markers associated with resistances to infectious hematopoietic necrosis in rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) backcrosses [J]. **Aquaculture**, 2004, 241: 93-115.
- [63] Yue G H, Orban L. Microsatellite from genes show polymorphism in two related *Oreochromis* species [J]. **Molecular Ecology Note**, 2002, 2: 99-100.
- [64] May B. Genetic variation at microsatellite loci in sturgeon: primer sequence homology in *Acipenser* and *Scaphirhynchus* [J]. **Canadian Journal of Fishery and Aquatic Science**, 1997, 54: 1 542-1 547.