

文章编号:1000 - 0615(2004)06 - 0716 - 07

综述 ·

水产养殖动物基因组研究的现状及其应用前景

孙效文, 梁利群, 闫学春

(中国水产科学研究院黑龙江水产研究所农业部北方鱼类生物工程育种重点开放实验室, 黑龙江 哈尔滨 150070)

关键词:基因组;水产养殖动物

中图分类号:Q785;S917

文献标识码:A

Current status of the studies on genome in aquatic animal and its application prospects

SUN Xiao-wen, LIANG Li-qun, YAN Xue-chun

(Heilongjiang River Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China)

Abstract: The genomic resources from human and several model organisms have been increased very fast since 1990. The techniques for developing genomic resources have already been very advanced and smart. These could make scientists see and improve organism in genomic level. For Chinese aquaculture scientists and aquatic industry, developing genomic resources and genetic tools for the native species are most important in the genomic era. The genomic resources and genetic tools for several aquatic species have been developed and some of them have been used in the marker based selection and other researches. The genome research work on aquaculture species was reviewed in this paper, especially a USDA genome project was focused. Some functional genomic research for aquatic animal was also discussed here. The importance and necessity of China aquaculture species genome project were discussed. Common carp and other cultured fishes in Cyprinidae such as grass carp, silver carp, bighead carp etc were recommended as the candidate species for genome research, because the output of all carps is almost up to 1/3 of total fisheries output in China. Common carp with another virtue for genome research is that there are much more families and strains in common carp than those in other cultured species in China, and those families and strains are the basis for genome research and mapping quantitative trait loci associated with important economic trait. Although the first linkage map of common carp made by Sun needs to be added with more markers for mapping QTL and Type markers, it has laid the groundwork for QTL mapping and marker-assisted selection in common carp. Because the model organism zebrafish and common carp, grass carp and other carps cultured in China all belong to Cyprinidae, the China carp genome research will obtain a lot of useful information from zebrafish genome research. How the China carp genome program will be conducted and what kinds of strategy involved in this program were all suggested. How the results of the genome research of aquaculture species will be used in the aquaculture industry was reviewed and analyzed here.

收稿日期:2003-05-19

资助项目:国家高技术计划资助项目“育性可控的转基因鲤”(101-05-02-01)

作者简介:孙效文(1955-),男,吉林大安人,研究员。主要从事鱼类遗传育种、分子生物学与基因组学等研究。Tel:0451-84842646, E-mail:xws1999@hotmail.com

Key words: genome; aquatic animal

人及相关模式生物基因组研究的快速进展使人们看到了基因组研究在基础和应用研究中的巨大价值^[1]。基因组研究获得的信息和新知识除了应用于医学和药理学外,农业将是另一重要领域。为保证我国未来 16 亿人口吃得饱主要靠农产品产量的提高、要吃得好主要靠农产品品质的提高,而产量和品质提高的技术保证是要不断获得性状优良的种植和养殖新品种。遗传学家和育种学家们相信,在获得控制农业生物经济性性状的大部分基因组信息后,将会培育出产量更高、品质更优、抗病能力更强的新品种。

由此,各国政府纷纷启动了本国的农业生物包括水产动物的基因组计划。近年来欧美国先后开展了多种水产养殖动物的基因组研究,虽然水产养殖动物的基因组研究晚于家畜和家禽,但进展还是较快的,基因组信息用于水产养殖动物的遗传改良时代已经到来。本文简要综述水产养殖动物基因组研究的现状,并讨论了我国开展淡水养殖鱼类基因组研究的意义和对策。

1 水产养殖动物基因组研究的状况

1.1 美国水产养殖种类基因组计划

美国农业部在上世纪 90 年代初已开始个别资助水产养殖动物的基因组研究,并在 1997 年 9 月正式启动了较为全面的水产养殖动物的基因组计划,该计划选 5 种水产养殖动物。它们是斑点叉尾鲴(*Ictalurus punctatus*)、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)、罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)、太平洋对虾(*Penaeus vannamei*)和牡蛎(*Crassostrea gigas*)等^[2]。斑点叉尾鲴是美国淡水养殖的主养种类,年产量超过 23×10^4 t,也是美国养殖鱼类中遗传基础研究做得较多的一种^[3];虹鳟是发达国家也是美国水产养殖业中主要的养殖对象^[4,5]。由于虹鳟所属的鲑科鱼类多为冷水性肉食性鱼类,肉质鲜美又无肌间刺,较适于西方人的饮食习惯,因此在西方发达国家很受欢迎。由于欧洲已开始了大西洋鲑(*Salmo salar*)的基因组研究,所以美国水产养殖动物基因组计划中选择虹鳟为实验对象。罗非鱼是世界性的养殖鱼类,美国虽然也开始养殖罗非鱼,但消费的多数产品还是从其它国家进口,美国选择罗非鱼作为基因组研究对象主要是看中它在养殖业中的发展潜力^[2]。太平洋对虾是较重要的海水养殖对象,长期以来大面积暴发的病毒性疾病是美国开展此基因组计划的理由,他们确信通过基因组研究将获得足够的遗传信息,能够推进太平洋对虾抗病毒疾病的遗传改良研究^[6,7]。牡蛎是美国最大的海水养殖动物,基因组研究旨在通过经济数量性状的定位等研究获得遗传改进所需的基本遗传信息。可见此计划基本上包括了美国的主要水产养殖动物。美国这一长远的水产养殖动物基因组计划的第一阶段花费了 5 年时间。

计划名称是《水产养殖种类的遗传图谱》(genetic maps of aquaculture species)。阶段目标有 3 个:建立遗传连锁图谱、数量性状位点的定位、比较基因组作图。建立遗传连锁图谱的过程被分解成 4 个步骤:第 1 步鉴定和制备二型标记(微卫星和 AFLP(amplified fragment length polymorphism));第 2 步制备参考家系 DNA,每个物种要建立 1~2 个参考系各 500 个动物的 DNA 样品;第 3 步是上述 DNA 样品的基因型分析;第 4 步是建立连锁分析的数据库。斑点叉尾鲴由奥本(Auburn)、德克萨斯(Texas)和佐治亚(Georgia)等 5 所大学完成;虹鳟由加州(California)、华盛顿(Washington State)和蒙大拿(Montana)等 4 所大学完成;罗非鱼由新罕布什尔(New Hampshire)和加州(California)等 7 所大学来完成;太平洋对虾由土夫(Tufts)和康耐克特库特(Connecticut)等 3 所大学完成;牡蛎将由迪莱沃(Delaware)和北卡(North Carolina)等 8 所学校完成。数量性状位点的定位分 3 个步骤进行。第 1 步是建立重要经济性状的表型分析技术,主要是生长速率和疾病抗性的测定,由于水产动物的生活环境是难于控制的,因此,建立测定表型特征的有效程序是研究中较为关键的一步;第 2 步是培育适于数量性状定位研究的自交后代和回交后代;第 3 步是对这些子代的基因型进行测定并对数量性状位点(quantitative trait loci, QTL)进行连锁定位。从事经济数量性状定位研究将在上述单位中的 17 所大学和研究所进行。第 3 个目标是比较基因组作图,此研究分为 4 个步骤进行。第 1 步是建立物理图谱,主要使用两种技术:RH (radiation hybrids) 定位和 FISH (fluorescent *in situ* hybridization) 定位;第 2 步是确定同线性基因尤其是经济数量性状位点的同线性;第 3 步是建立大的插入片段的基因文库如 BAC 库等,也为最终全基因组 DNA 测序做准备;第 4 步是用前面各步骤中获得的标记筛选基因文库。计划的长期目标是建立高分辨率的遗传连锁图谱和物理图谱,鉴定染色体区域,鉴定基因尤其是与经济数量性状相关的基因,最终目标是建立可以推进遗传改良的技术平台^[8]。在此计划的资助下,虹鳟和罗非鱼的遗传连锁图谱首先被制备出来。华盛顿州立大学 Thorgaard 教授课题组在 1998 和 2003 先后两次发表虹鳟的遗传连锁图谱^[9,10];后一版连锁图有 1359 个遗传标记,分辨率已达到可以进行性状定位和基因定位的水平。新罕布什尔州立大学 Kocher 教授发表了罗非鱼的遗传连锁图谱^[11],正在克隆更多的微卫星以提高连锁图的分辨率,并报道高分辨率的罗非鱼遗传连锁图谱^[12]。斑点叉尾鲴的遗传标记和遗传连锁图谱等研究都进展较快,有 293 个微卫星标记在作图样本库中测到多态性,并定位在连锁图中^[13]。这个图谱可以用来进行经济性状的定位和育种研究。牡蛎的遗传连锁图谱也已在最近发表^[14]。虾类的基因组研究相对要

慢一些,虽然有很多微卫星可用^[15,16],但没有连锁图谱的报道,这可能与虾类难于遗传操作有关。

这个计划中涉及到功能基因组的内容将在后面论述,有关水产养殖动物与模式生物的比较基因组研究和同源进化基因的同线性分析还没有见到报道,利用人工细菌染色体进行的相关研究结果也还没有报道。

1.2 其它国家水产养殖动物的基因组研究

挪威、法国、丹麦和苏格兰等几个欧洲国家与加拿大合作开展了鲑鳟鱼类的基因组计划,早在1997年就发表了连锁图谱^[17],在建立了物理图谱之后,又进行荧光原位杂交的方法鉴定微卫星在染色体上的定位,并试图用该微卫星物理定位技术将大西洋鲑的物理图谱和遗传图谱进行整合^[18]。日本也开展了虹鳟的基因组计划,克隆了大量的微卫星并建立了遗传连锁图谱^[19],同时开展了利用遗传连锁定位技术将虹鳟有关传染性胰脏坏死病毒(IPNV)性疾病的抗性基因位点定位在连锁图上^[20]。英国和法国早在上世纪90年代初就开展了河鲢(*Fugu rubripes*)的基因组研究,虽然河鲢的基因组信息是养殖鱼类中最丰富的,但河鲢是由于基因组中重复序列少而被作为人基因组研究的模式生物的^[21]。日本对虾(*Penaeus japonicus*)的一个 AFLP 图谱已报道,有246个分子标记,44个连锁群^[22]。另外,对虾基因组研究的国际合作网已经形成^[23]。我国至今还没有设立国家级的水产养殖动物基因组研究计划,中国水产科学研究院在1999年启动了一个鲤(*Cyprinus carpio*)、鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)和珠母贝(*Pinctada martensii*)3种水产养殖动物的遗传连锁图谱计划,黑龙江水产研究所制备了世界上第一个鲤的遗传连锁图谱^[24],并正在进行生长、抗寒等数量性状的定位研究^[25]。虽然各国在水产养殖动物基因组研究计划中投入的资金都不是很多,使得水产养殖动物的基因组计划进展相对模式生物和畜禽的基因组研究慢一些^[26,27],但是世界性的主要养殖品种除了鲤科鱼类外,其它主养种类如大西洋鲑鱼、虹鳟、太平洋对虾、牡蛎、罗非鱼、斑点叉尾鲶等都已获得足够的资金,研究进展顺利,预计分辨率足以进行经济数量性状定位的遗传连锁图谱、重要功能基因的克隆和多态性、经济性状的分子遗传机制等研究结果将会很快发表,从而推进水产养殖动物的遗传基础研究和育种研究进入基因组时代。

2 水产动物的功能基因与基因组研究

2.1 水产动物基因的克隆、测序与功能研究

水产动物的基因克隆等研究始于上世纪80年代,一是基础研究的需要克隆了如鲈鱼类的抗冻基因^[28]、虹鳟和鲑等养殖鱼类的生长激素等功能基因^[29,30],二是转基因研究的需要克隆了如虹鳟的金属硫蛋白基因的启动子和鲤肌动蛋白启动子等^[31-33]。目前养殖鱼类克隆的功能基因已积累很多,如在美国国家生物技术信息中心的网站

(National Center of Biotechnology, NCBI)上,至2003年7月18日,公布的虹鳟核酸序列有100 000多条,大西洋鲑的核酸序列有60 000多条,斑点叉尾鲶有16 000多条,鲤有8000多条,这些信息每天都在增加。总之,水产养殖动物所积累的核酸序列和功能基因信息已十分丰富,如何加工这些信息并使之成为基因组资源和遗传学工具,推进水产养殖动物的遗传与育种研究的深入发展是科学家们面临的

任务。

水产养殖动物一些基因的功能研究即是生物学基础研究的需要,其结果也可以在生产中运用。与模式生物功能基因研究的方式不完全一致的是,水产养殖动物克隆到的基因多数不直接研究功能,而是先与模式生物已克隆的序列进行比较(basic local alignment search tool, BLAST),确定基因或序列与那些已确定功能的基因在结构上相似^[34],然后或者通过表达载体在细胞中检测其功能,或由转基因实验鱼等技术来验证其功能^[35,36]。水产动物基因功能研究中有很多连续多年研究同一基因功能的例子,比如肌动蛋白基因(beta-actin)就是很好的例子,Liu等^[37]在1990年开始研究鲤肌动蛋白基因的结构及其启动子的调控功能,Zhu^[38]将其用于转基因研究;Hwang等^[39,40]在十几年后的2002年进一步地研究这个启动子与罗非鱼同一启动子的比较研究及银鲫的同一基因的结构与功能等。虹鳟生长激素基因(growth hormone gene of rainbow trout)也是经过较长时间的研究,对其功能的认识逐步加深。Agellon等^[41]在1986年克隆了虹鳟生长激素基因的cDNA并在大肠杆菌中表达,1988年又发现虹鳟生长激素基因有两种结构类型^[42],并研究了该基因的进化意义^[43],至2003年这个课题组又报道了新的生长激素蛋白家族的基因新成员^[44]。虹鳟生长激素基因的内涵子与调节区的相互作用与激素的调节、在垂体的表达等也由其他学者做了仔细的研究^[45,46]。水产养殖动物特有基因的发现与克隆也是很有意思的,比如美人鱼基因(mermaid gene)和美男人基因(merman gene)^[47,48]的发现,还有与银鲫雌核发育有关的DNA片段等^[49]。可以说,自开始克隆水产养殖动物的基因至今,已有许多重要生命过程的基因和与经济性状相关的基因被克隆和仔细研究过,一些已达到在产业中应用的程度,并积累了功能基因研究的知识和技术,为开展功能基因组研究及应用奠定了基础。

2.2 水产动物的功能基因组研究

以模式生物功能基因组研究的标准,水产养殖动物还没有真正开展功能基因组研究,没有建立像斑马鱼(*Danio rerio*)那样的大规模突变库^[50],也没有小鼠那种全基因组敲出,包括全基因组表达谱的基因芯片以及全部基因的全长cDNA研究^[51-53]。但还是运用基因组研究中开发出的大规模克隆cDNA技术,克隆了几种水产养殖动物的cDNA,设计了EST标记和特异性基因等。Cao等^[54]克隆了大量的斑点叉尾鲶的cDNA并进行了不同功能类型筛

选。目前已克隆了大量的虹鳟的 cDNA, 公布了很多表达序列标签 (expressed sequence tags, ESTs), 美国国家生物技术信息网站至 2003 年 7 月底已存有虹鳟特异性基因 (unigene) 10 000 多条, 虹鳟序列标签位点 (sequence tagged site, STS) 116 个, 也说明虹鳟的功能基因组研究已接近模式生物的水平^[55]。Fan 等^[56]和相建海等^[57]在最近几年也做了功能基因组方面的研究, 分别克隆了大量的银鲫和中国对虾的 cDNA。总之, 水产养殖动物功能基因组研究刚刚起步, 还没有积累到足够的基因组信息, 用以进行养殖品种的遗传改进和抗病研究。但由于斑马鱼、青鳉、河鲀等模式生物的功能基因组已大规模开发, 有丰富的基因组资源信息。通过与这几种作为模式生物的鱼类的比较基因组研究可迅速增加养殖鱼类的功能基因组信息。

3 基因组研究在水产养殖业上的应用

基因在水产养殖业的应用已有多年的历史, 最有影响的就是转基因鱼研究, 基因工程疫苗也在研究之中, 虽然这些也属于基因组研究的应用范围, 但本文对这些不加论述。就水产动物基因组研究而言, 目前主要是积累信息阶段。但利用遗传图谱等基因组知识进行性状定位也已开展了一些工作, 如定位与体重、性别、体色等相关的连锁区间的研究, 标记指导下的鳆的家系选育研究等^[12]已经开展。一个有直接应用意义的研究是 Streelman 和 Kocher^[58]发现罗非鱼在不同咸水中表达催乳激素 (prolactin) 的量与生长相关, 同时还与催乳激素基因的前导序列中的微卫星长度有关, 这为选择抗咸水养殖品种提供了基因结构上的信息, 也为如何开发和利用基因组资源提供了很好的实例。鉴于已有多种水产养殖动物的功能基因及其连锁图已制备出来, 水产动物育种研究像农业生物那样进行分子育种时代也已经不远了。在水产养殖动物的遗传育种、种质资源、养殖品种筛选等工作中利用基因组资源, 共显性遗传标记是主要的研究工具。遗传作图、数量性状定位、家系选育、种质鉴定等等最直接的工具有共显性的、多态性标记。我国重要养殖动物基本上还没有遗传图谱, 比较现实的是将微卫星标记用于种质资源及品种鉴定等研究中。目前, 我国重要水产动物如鲤有较多的微卫星标记, 其它种类微卫星标记还有待开发。

4 中国水产养殖动物基因组研究的设想

4.1 中国水产养殖动物基因组研究的意义

我国是世界水产养殖大国, 不仅产量占第一位, 而且养殖种类也是最多的, 我国水产养殖种类中年产量超过 5×10^5 t 的淡水鱼和超过 1×10^5 t 的海水养殖动物有十几种之多^[59]。这些重要水产养殖动物的基因组研究结果在如下领域的应用价值将会是非常大的。

与水产业持续稳定发展相关的如下几个领域迫切需

要基因组信息: 1. 品质改进和抗病育种。病害严重是我国主要水产养殖品种的一大特征, 防治病害的技术之一是提高养殖种类的抗病力。获得物种与抗病力相关的遗传差异是开展抗病育种研究的首要条件, 通过基因组研究是可以获得丰富的养殖动物与抗病相关的多态性分子标记的; 品质低是我国淡水养殖鱼类面临的重大问题, 而与品质相关的遗传信息用常规方法是难以获得的, 因为多数品质性状是没有生化产物或生化产物很少, 用常规技术难于将品质这一性状与标记建立连锁关系。遗传连锁图谱恰恰是定位那些没有生化产物的性状的最强有力的工具^[60,61]; 2. 种质资源研究。种质资源研究的目的是在育种中应用其研究结果, 以往鱼类种质资源研究由于缺少足够的中性遗传标记, 难于将种内不同种群间的遗传差异与经济性状建立连锁关系, 使育种研究难以应用种质资源的研究结果。基因组研究为种质资源研究提供可以深入到种群间遗传差异及连锁分析的技术平台: 高分辨率的遗传连锁图谱和大量的多态性分子标记; 水产养殖动物遗传基础研究。我国在上世纪末养殖产量超过了捕捞产量, 这意味着水产品的获得以养殖为主的时期到来了, 这使水产业的持续发展更依赖于技术进步尤其是育种、病害防治等方面的进步, 这些技术的进步与更新是以物种的遗传和生理等基础学科的进步为条件的, 目前获得信息量最多的遗传基础研究是基因组研究^[62]。因此, 基因组研究或可使我国水产遗传基础研究提高到与我国水产品产量相适应的水平。

4.2 中国水产养殖动物基因组研究的近期目标

由于经费少而主养品种多, 限制了我国水产养殖动物基因组计划不能像发达国家的水产养殖动物的基因组计划那样进行全方位的研究。由此决定了中国水产养殖动物的基因组计划难于像美国、加拿大等国那样, 将人、财、物等集中于少数几个水产养殖种类就可以将大部分主养品种包括进来。因此, 将结构基因组的部分研究内容和功能基因组的部分研究内容结合起来, 以获得养殖种类主要经济性状的基因组信息为主要目标将是我国水产养殖动物基因组近期研究的可行方式。此外, 我国水产养殖的主养种类与发达国家是完全不同的, 我国特有的养殖对象如鲤、草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*)、鲢和鳙 (*Aristichthys nobilis*) 等的基因组迟早要由中国自己来完成。也就是说, 我国水产养殖动物的基因组研究对象多数将是我国特有的养殖种类, 几乎不能直接从发达国家的同类研究中获得可借鉴的资源。

具体目标将是: 经济数量性状尤其是与生长、抗病、抗逆、品质等相关的数量性状定位结果; 与经济性状相关的质量性状的功能基因的克隆及功能研究; 与上述经济性状相关的多态性 DNA 分子标记的鉴定等, 当然建立几个重要养殖动物的遗传连锁图谱也是必须的。

4.3 中国优先进行水产养殖动物基因组研究的种类与技术路线

结构基因组研究的第一步多是进行遗传连锁图谱的制备^[8,63],而遗传连锁分析一般需要性状有明显差异而遗传背景又相对较近的一对不同家系,而对那些没有品系、没有家系的野生种来讲,先建立物理图谱而不是先建立遗传连锁图谱是更为可行的技术路线,尤其是繁殖周期较长的养殖鱼类。从相关研究工作的积累和可以利用的模式生物基因组已有信息以及养殖产量等几方面来分析,我国淡水养殖鱼类鲤应是我国水产养殖动物基因组研究的首选对象。理由是:(1)鲤科鱼类是我国水产养殖动物的主养品种,鲤、鲫、草鱼、鲢、鳙等鲤科鱼类的养殖总产量超过 1200×10^4 t,占水产养殖总量的60%以上^[59],经遗传改进后市场潜力巨大;(2)鲤在我国经过几十年的遗传育种研究,已有多个品系和纯系,适于基因组研究和遗传连锁分析;(3)鲤与模式生物斑马鱼(斑马鱼属鲤科丹亚科)的遗传关系较近,可方便地利用斑马鱼已获得的基因组信息,如功能基因、标记、基因的多态性等结果。

功能基因组研究多是从EST和全长cDNA开始^[63,64]。克隆发育、生长、抗病等重要生命过程和主要经济性状相关的功能基因,研究其多态性与上述性状的连锁关系是应用这些基因知识于养殖业的必须的技术途径。这些功能基因组资源的开发也将为开展我国重要水产养殖动物如对虾、扇贝等病害的遗传基础研究奠定基础。

综上所述,对于我国多数水产养殖动物建立图谱等投资强度大的基因组研究还要积累技术和建立纯系等基本资料。较为现实的是开发出足够种质资源研究和遗传学工具:多态性分子标记包括微卫星和AFLP等、与基因表达相关的EST标记、与功能基因相关的专一性基因。这样的基因组资源建立起来简便、实用,也可以推动我国水产遗传育种等研究尽快进入基因组时代。

参考文献:

- [1] Zhao S Y. Genomics and life sciences industry [J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 1999, 11(1): 1 - 5. [赵寿元, 基因组研究与生命科学工业的崛起[J]. 生命科学, 1999, 11(1): 1 - 5.]
- [2] Alcivar-Warren A. Proceeding of the aquaculture species genome mapping workshop [C]. USDA Northeast Regional Aquaculture Center, Dartmouth, MA, 1997.
- [3] Liu Z J, Li P, Argue B J, et al. Random amplified polymorphic DNA markers: usefulness for gene mapping and analysis of genetic variation of catfish [J]. Aquaculture, 1999, 174: 59 - 68.
- [4] Gjedrem T. Breeding plans for rainbow trout [J]. Aquaculture, 1992, 100: 73 - 83.
- [5] Wolf K, Rumsey G. The representative research animal: why rainbow trout? [M]. Sounderdruck aus Zeitschrift fur angewandte Ichthyologie, 1986, 3: 131 - 138.
- [6] Brock J. Taura syndrome of farmed penaeid shrimp. Foreign Animal Diseases Report [R]. USDA Animal and Plant Health Inspection Service, 1995, 22 - 25.
- [7] Lightner D V, Redman R M, Hasson K W, et al. Taura syndrome in *Penaeus vannamei*: gross signs, histopathology and ultrastructure [J]. Diseases of Aquatic Organisms, 1995, 21: 53 - 59.
- [8] Kocher T D. Genetic map of aquaculture species [M]. USDA regional project number: NE-186. 1 - 11. 1999.
- [9] Young W P, Wheeler P A, Coryell V H, et al. A detailed linkage map of rainbow trout produced using doubled haploids. [J]. Genetics, 1998, 148: 839 - 850.
- [10] Nichols K M, Young W P, Danzmann R G, et al. A consolidated linkage map for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Anim Genet, 2003, 34(2): 102 - 15.
- [11] 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: 851 - 858.
- [12] Kocher T D. Tilapia genomics and applications [A]. The symposium on the genomic research for aquaculture species [C]. Harbin, China, 2003, 1 - 5.
- [13] Waldbieser G C, Bosworth B G, Nonneman D J, et al. A microsatellite-based genetic linkage map for channel catfish, *Ictalurus punctatus* [J]. Genetics, 2001, 158(2): 727 - 734.
- [14] Yu Z, Guo X. Genetic linkage map of the eastern oyster *Crassostrea virginica* Gmelin [J]. Biol Bull, 2003, 204(3): 327 - 738.
- [15] Xu Z, Dhar A K, Wyrzykowski J, et al. Identification of abundant and informative microsatellites from shrimp (*Penaeus monodon*) genome [J]. Anim Genet, 1999, 30(2): 150 - 156.
- [16] Vonau V, Ohresser M, Bierne N, et al. Three polymorphic microsatellites in the shrimp *Penaeus stylirostris* [J]. Anim Genet, 1999, 30(3): 234 - 235.
- [17] Slettan A, Olsaker I, Lie O. Segregation studies and linkage analysis of Atlantic salmon microsatellites using haploid genetics [J]. Heredity, 1997, 78(6): 620 - 627.
- [18] Martinez J L, Moran P, Garcia-Vazquez E. A cryptic RRY(i) microsatellite from Atlantic salmon (*Salmo salar*): characterization and chromosomal location [J]. J Hered, 2001, 92(3): 287 - 290.
- [19] Sakamoto T, Danzmann R G, Gharbi K. A microsatellite linkage map of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) characterized by large sex-specific differences in recombination rates [J]. Genetics, 2000, 155(3): 1331 - 1345.
- [20] Ozaki A, Sakamoto T, Khoo S, et al. Quantitative trait loci (QTLs) associated with resistance/susceptibility to infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in rainbow trout [J]. Mol Genet Genomics, 2000, 265: 23 - 31.
- [21] Brenner S, Elgar G, Sandford R, et al. Characterization of the puffer fish (*Fugu*) genome as a compact model vertebrate genome [J]. Nature, 1993, 366: 265 - 268.

- [22] Moor S S, Whan V, Davis G, *et al.* The development and application of genetic markers for the Kuruma prawn *Penaeus japonicus* [J]. *Aquac*, 1999, 173: 19 - 32.
- [23] Tong J G, Chu K H, Wu Q J. Current status and prospect of studies on genome mapping in fish and aquatic animal [J]. *J Fish China*, 2001, 25(3): 270 - 278. [童金苟, 朱嘉濠, 吴清江. 鱼类和水生动物基因组作图研究的现状及前景 [J]. *水产学报*, 2001, 25(3): 270 - 278.]
- [24] Sun X W, Liang L Q. A genetic linkage map of common carp [J]. *J Fish Sci China*, 2000, 7(1): 1 - 5. [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.]
- [25] Sun X W, Liang L Q. A genetic linkage map of common carp (*Cyprinus carpio* L.) and mapping of a locus associated with cold tolerance [J]. *Aquac*, 2004, 238(1-4): 165 - 172.
- [26] Gomez-Raya L, Olsen H G, Lingaas F. The use of genetic markers to measure genomic response to selection in livestock [J]. *Genetics*, 2002, 162(3): 1381 - 1388.
- [27] Niemann H, Rath D, Wrenzycki C. Advances in biotechnology: new tools in future pig production for agriculture and biomedicine [J]. *Reprod Domest Anim*, 2003, 38(2): 82 - 89.
- [28] Davies P L, Hew C L. Isolation and characterization of the antifreeze protein messenger RNA from the winter flounder [J]. *J Biol Chem*, 1980, 255(18): 8729 - 8734.
- [29] Agellon L B, Davies S L, Chen T T, *et al.* Structure of a fish (rainbow trout) growth hormone gene and its evolutionary implications [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, 85(14): 5136 - 5140.
- [30] Johansen B, Johnsen O C, Valla S. The complete nucleotide sequence of the growth-hormone gene from Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *Gene*, 1989, 77(2): 317 - 324.
- [31] Chen T T, Powers D A. Transgenic fish [J]. *Trends Biotechnol*, 1990, 8(8): 209 - 215.
- [32] Zafarullah M, Bonham K, Gedamu L. Structure of the rainbow trout metallothionein B gene and characterization of its metal-responsive region [J]. *Mol Cell Biol*, 1988, 8(10): 4469 - 4476.
- [33] Liu Z J, Zhu Z Y, Roberg K, *et al.* Isolation and characterization of beta-actin gene of carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *DNA Seq*, 1990, 1(2): 125 - 136.
- [34] Kim S, Karsi A, Dunham R A, *et al.* The skeletal muscle alpha-actin gene of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and its association with piscine specific SINE elements [J]. *Gene*, 2000, 252(1-2): 173 - 181.
- [35] Caldwell L, Hackett P B. Development of position-independent expression vectors and their transfer into transgenic fish [J]. *Mol Mar Biol Biotechnol*, 1995, 4(1): 51 - 61.
- [36] Powers D A. Fish as model systems [J]. *Science*, 1989, 246: 352 - 358.
- [37] Liu Z J, Zhu Z Y, Roberg K, *et al.* Isolation and characterization of beta-actin gene of carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *DNA Seq*, 1990, 1(2): 125 - 136.
- [38] Zhu Z Y. Growth hormone gene and the transgenic fish [A]. *Agricultural Biotechnology* [M]. Beijing: China Science and Technology Press, 1992. 106 - 116.
- [39] Hwang G L, Azizur Rahman M, Abdul Razak S. Isolation and characterisation of tilapia beta-actin promoter and comparison of its activity with carp beta-actin promoter [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2003, 1625(1): 11 - 18.
- [40] Hwang U W, Han M S, Kim I C, *et al.* Cloning and sequences of beta-actin genes from *Rhodeus notatus* and the silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* (Cyprinidae) and the phylogeny of cyprinid fishes inferred from beta-actin genes [J]. *DNA Seq*, 2002, 13(3): 153 - 159.
- [41] Agellon L B, Chen T T. Rainbow trout growth hormone: molecular cloning of cDNA and expression in *Escherichia coli* [J]. *DNA*, 1986, 5(6): 463 - 471.
- [42] Agellon L B, Davies S L, Lin C M, *et al.* Rainbow trout has two genes for growth hormone [J]. *Mol Reprod Dev*, 1988, 1(1): 11 - 17.
- [43] Agellon L B, Davies S L, Chen T T, *et al.* Structure of a fish (rainbow trout) growth hormone gene and its evolutionary implications [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, 85(14): 5136 - 5140.
- [44] Yang B Y, Chen T T. Identification of a new growth hormone family protein, somatolactin-like protein, in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) pituitary gland [J]. *Endocrinology*, 2003, 144(3): 850 - 857.
- [45] Mori T, Deguchi F, Ueno K. Differential expression of Gh1 and Gh2 genes by competitive RT-PCR in rainbow trout pituitary [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2001, 123(2): 137 - 143.
- [46] Bernardini S, Argenton F, Vianello S, *et al.* Regulatory regions in the promoter and third intron of the growth hormone gene in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* Walbaum [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 1999, 116(2): 261 - 271.
- [47] Shimoda N, Chevrette M, Ekker M, *et al.* Mermaid, a family of short interspersed repetitive elements, is useful for zebrafish genome mapping [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 220: 233 - 237.
- [48] Kim S, Karsi A, Dunham R A, *et al.* The skeletal muscle - actin gene of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and its association with piscine specific SINE elements [J]. *Gene*, 2000, 252: 173 - 181.
- [49] Murakami M, Fujitani H. Polyploid-specific repetitive DNA sequences from triploid gibel carp (Japanese silver crucian carp, *Carassius auratus langsdorfi*) [J]. *Genes Genet Syst*, 1997, 72: 107 - 113.
- [50] Concordet J, Ingham P. Catch of the decade [J]. *Nature*, 1994, 369: 19 - 20.
- [51] Babinet C, Cohen-Tannoudji M. Genome engineering via homologous recombination in mouse embryonic stem (ES) cells: an amazingly versatile tool for the study of mammalian biology

- [J]. *An Acad Bras Cienc*, 2001,73(3):365 - 383.
- [52] Roman-Roman S, Garcia T, Jackson A. Identification of genes regulated during osteoblastic differentiation by genome-wide expression analysis of mouse calvaria primary osteoblasts in vitro [J]. *Bone*, 2003,32(5):474 - 482.
- [53] Numata K, Kanai A, Saito R, *et al.* Identification of putative noncoding RNAs among the RIKEN mouse full-length cDNA collection [J]. *Genome Res*, 2003, 13(6B):1301 - 1306.
- [54] Cao D, Kocabas A, Ju Z, *et al.* Transcriptome of channel catfish (*Ictalurus punctatus*): initial analysis of genes and expression profile of the head kidney [J]. *Animal Genetics*, 2001,32,169 - 188.
- [55] Thorgaard G H, Bailey G S, Williams D. Status and opportunities for genomics research with rainbow trout [J]. *Comp Biochem Physiol Biochem Mol Biol*, 2002,133(4):609 - 646.
- [56] Fan L C, Yang S T, Gui J F. Differential screening and characterization analysis of the egg envelope glycoprotein ZP3 cDNAs between gynogenetic and gonochroistic crucian carp [J]. *Cell Research*,2001,11(1):17 - 27.
- [57] Xiang J H, Wang B, Liu B, *et al.* Over 10000 expressed sequence tags from *Penaeus chinensis* [C]. *Plant, Animal and Microbe Genomes Conference*,2002. 16.
- [58] Strelman J T, Kocher T D. Microsatellite variation associated with prolactin 1 expression and growth of salt-challenged tilapia [J]. *Physiol Genomics*, 2002,9(1):1 - 4.
- [59] The Editing Committee of Chinese Agricultural Yearbook. Chinese Agricultural Yearbook [Z]. Beijing: China Agricultural Press,1999. 322 - 327. [中国农业年鉴编辑委员会. 中国农业年鉴[Z]. 北京:中国农业出版社,1999. 322 - 327.]
- [60] Annibale A P, Mark J D, Stephanie J, *et al.* A genome-wide scan for linkage to human exceptional longevity identifies a locus on chromosome 4 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(18):10505 - 10508.
- [61] Human Genome Project Information. mapping and sequencing the human genome: genetic linkagemaps[R]. 1997.
- [62] Theologis A. Goodbye to 'one by one' genetics [J]. *Genome Biol*, 2001, 2(4):comment 2004.1-comment 2004.9.
- [63] Collins F, Galas D. A new five-year plan for the U. S. human genome program [J]. *Science*, 1993,262:43 - 46.
- [64] Ausubel F M. Summaries of national science foundation-sponsored arabidopsis 2010 projects and national science foundation-sponsored plant genome projects that are generating arabidopsis resources for the community [J]. *Plant Physiol*, 2002,129(2):394 - 437.