

# 水产动物遗传连锁图谱的研究现状及应用展望

岳志芹<sup>1,2</sup>, 孔杰<sup>1</sup>, 戴继勋<sup>2</sup>

(1. 中国水产科学院黄海水产研究所, 农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室, 山东青岛 266071;

2. 中国海洋大学生命学院, 山东青岛 266003)

**摘要:**综述了近年来遗传连锁图谱在水生物中的研究现状, 包括作图群体、作图方法等, 并对连锁图谱的应用前景作了展望, 指出其在分子标记辅助育种、基因定位与克隆及比较基因组学等方面的应用潜力。

**关键词:**遗传连锁图谱; 水产动物; 分子标记辅助育种; 基因定位与克隆; 比较基因组学

中图分类号: Q78

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2004)01-0097-06

## Current Status and Future Perspective of Genetic Linkage Mapping in Aquaculture Species

YUE Zhi-Qin<sup>1,2</sup>, KONG Jie<sup>1</sup>, DAI Ji-Xun<sup>2</sup>

(1. Key Lab of Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources Certificated by the Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Qingdao 266071, China;

2. College of Marine Life Sciences, Ocean University Of China, Qingdao 266003, China)

**Abstract:** Constructing genetic linkage map is an essential tool to acknowledge genome in aquaculture species. This paper has reviewed the current status of genetic linkage map research, including mapping population, mapping method and molecular markers used to construct linkage map. Linkage map has great potential in marker assisted selection (MAS), gene locating and cloning, and comparative genome mapping. Genetic linkage map with high density and wide coverage of genome will allow cloning the genes which contribute to economically important traits. The ultimate aim of the constructing linkage map is the development of fast-growing, disease-resistant strains of the major aquaculture species.

**Key words:** genetic linkage map; aquaculture species; marker-assisted selection; gene clone; comparative genome mapping

遗传连锁图谱的构建, 是遗传学研究的一个重要领域, 它为人们进一步认识基因组组成、克隆染色体的基因及定位重要经济性状的主效基因奠定了基础。第一张遗传连锁图谱是1913年 Alfred H Sturtevant 构建的, 他在果蝇的 X 性染色体上确定了眼色、翅形、体形大小、体色等 6 个性状。经典的遗传图谱是根据形态、生理和生化标记构建的, 由于这些标记的数量有限, 所以构建的图谱分辨率低、饱和度不高, 应用价值

有限。20 世纪 80 年代 DNA 分子标记技术的飞速发展, 加速了连锁图谱的构建工作, 使得构建密度高、覆盖面广的连锁图谱成为可能。迄今为止, 农业经济作物如玉米、高粱、水稻、番茄、大豆, 以及牛、猪、鸡等畜禽已构建了比较完善的遗传连锁图, 由其指导的育种工作也取得突破性进展。与作物及陆地动物相比, 水产动物的连锁图谱研究起步较晚, 但是发展速度较快。本文从连锁图谱的作图群体、作图方法等方面综述水

收稿日期: 2002-12-19; 修回日期: 2003-03-14

资助项目: 国家重点基础研究发展规划“973”项目(G1999012007)和“863”项目“中国对虾的遗传改良及中试示范”(2001AA620105)[This research was supported by Special Funds from the National Key Basic Research Program(G1999012007) and the State's High-tech Project of China, Marine 863 project(2001AA620105)]

作者简介: 岳志芹(1975-), 女, 山东烟台人, 博士研究生, 专业: 海洋生物分子遗传学。E-mail: yuezq21cn@sohu.com

通讯作者: 孔杰(1963-), 男, 研究员, 博士生导师, 专业: 种质资源及遗传育种。E-mail: kongjie@sina.com

产生物连锁图谱的研究现状,并对其在分子标记辅助育种、基因定位与克隆、比较基因组学等方面的应用前景做一展望。

## 1 遗传连锁图谱构建的理论基础

遗传连锁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。而目前所说的遗传连锁图谱多是指分子连锁图谱,即根据某一多态性 DNA 片段在分离群体中的分离情况作为基础而得到的图谱。遗传连锁图谱构建的基础是:

### 1.1 染色体遗传理论

1903 年, W S Sutton 和 T Boveri 分别提出了遗传因子位于染色体上的理论,其基本要点如下:(1)体细胞核内的染色体成对存在(同源染色体),其中一条来自雌亲,一条来自雄亲,(2)每条染色体在个体的生命周期中均能保持结构上的恒定性和遗传上的连续性,(3)在减数分裂中,同源染色体的两个成员相互配对,随后又发生分离,走向细胞的两极,从而形成两个单倍体性细胞。

### 1.2 基因重组和连锁理论

连锁图谱构建的理论基础是染色体的交换与重组。在细胞减数分裂时,非同源染色体上的基因相互独立、自由组合,同源染色体上的基因产生交换与重组,交换的频率随基因间距离的增加而增大,同一染色体上的基因在遗传过程中倾向于维系在一起,而表现为基因连锁。它们之间的重组是通过同源染色体的非姐妹染色单体之间的交换来实现的。在遗传连锁图谱中,标记之间的距离一般用 cM(centiMorgan)表示,它揭示的是不同基因座之间的重组频率(1cM 相当于 1%的重组率)。

## 2 遗传连锁图谱的构建方法

遗传图谱构建的一般程序是:(1)选择合适的作图群体;(2)利用合适的分子标记对亲本和群体进行分析;(3)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,(4)将连锁群与特定的染色体联系。

### 2.1 作图群体的选择

要建立 DNA 标记连锁图谱,必须选择适当的作图群体,这需要考虑亲本的选择,分离群体类型的选择及群体大小的确定等。

#### 2.1.1 亲本的选择

亲本的选择直接影响到构建连锁图谱的难易程度及所建图谱的适用范围。一般应从几个方面对亲本进行选择。第一要考虑亲本间的差异,要表现出足够的遗传多样性;第二,选择每个亲本应尽量选用纯度高的材料;第三,要考虑杂交后代的可育性,父母本在亲缘关系上不应相距太远。

#### 2.1.2 分离群体类型的选择

根据分离群体的特点可将其分成两大类:一类为暂时性分离群体,如单交组合产生的  $F_2$  及其衍生的  $F_3$ 、 $F_4$  家系及

回交群体(BC)等,这类群体中分离单位是个体,经自交或近交其遗传组会发生变化,无法永久使用。另一类称为永久性分离群体,如重组自交系群体(recombination inbred line, RIL)、加倍单倍体(double haploid, DH)群体等,这类群体中的分离单位是株系,不同株系之间存在基因型的差异,而株系内个体间的基因型是相同且纯合的,自交不分离,可以永久使用。这几个群体各有优缺点,应结合具体情况选用。如  $F_2$  群体易于建立,存在杂合基因型,不易长期保存;BC<sub>1</sub> 群体作图效率高,可以检验雌雄配子在重组率上有无差异,不易长期保存;RIL 群体每一分离基因座上只存在两种基因型,且比例为 1:1,构建群体时间长(自交 6~7 代);DH 群体遗传结构直接反映  $F_1$  配子的分离,作图效率高,适用于 QTL 研究,但在培养过程中不同的基因型会产生选择效应,造成严重的偏分离现象。

上述是几种比较经典的作图群体,在农作物中广泛应用,目前根据孟德尔遗传理论作图方法还有一些延伸,如“双假测交(two way pseudo-testcross)理论”<sup>[1]</sup>,则解决了对于基因组高度杂合而自交不亲和的生物中构建连锁图谱的难题。其基本原理是:两杂合亲本杂交得到的  $F_1$  的遗传基因座已发生分离重组,其中一些基因座对一亲本为杂合,而对另一亲本为纯合,若在  $F_1$  中 1:1 分离,则相当于“测交”(Aa×aa),这些基因座可以用于分别构建两亲本的分子连锁图谱;而某些基因座对两亲本均为杂合,若在  $F_1$  中出现 1:2:1 或 3:1 分离,则可用于构建两亲本共同的分子连锁图。这类作图方法在果树、林木等生长周期长的生物中应用较广。另外,在水产生物中利用雌核发育<sup>[2]</sup>、单精子分型技术<sup>[3]</sup>等构建连锁图谱也是一种新方法。

#### 2.1.3 群体大小的选择

遗传图谱的分辨率和精度,很大程度上取决于群体大小。群体越大,则作图精度越高。作图群体大小还取决于所用群体的类型。一般而言,若达到彼此相当的作图精度,所需群体大小的顺序为: $F_2 > RIL > BC$  和  $DH$ 。

### 2.2 统计分析

遗传图谱的构建需要对大量标记进行统计分析,须借助计算机进行处理。目前经常应用的软件有 LINKAGE, MAPMAKER/EXP 等。前者利用最大似然法估计两基因座或多基因座间的重组率和 LOD 值;后者可以应用于各种类型的实验群体进行遗传作图。两种软件可分别通过:<http://linkage.rockefeller.edu/software/linkage>、<http://ftp-genome.wi.mit.edu/distribution/software/mapmaker3> 获得。

## 3 应用于构建连锁图谱的遗传标记

应用于构建遗传连锁图谱的主要是同工酶标记和 DNA 分子标记。20 世纪 80 年代发展起来的 DNA 分子标记具有标记数量大、遗传稳定、大多数呈中性突变、共显性或完全显

性遗传的特点,从而被广泛应用。鉴于目前分子标记的综述较多,本文仅简单介绍水产生物中常用的分子标记。

### 3.1 RFLP 标记

RFLP<sup>[4]</sup>是利用限制性内切核酸酶消化目的 DNA,通过电泳分离所得的酶切片段,再根据其分子量的大小和数目变化,分析发生在酶切位点上或酶切位点之间的各种变异。两种来源的 DNA 碱基发生插入、缺失或酶切位点的改变就会产生多态。RFLP 标记的特点是:无表型效应;等位基因间共显性、非等位基因间不存在上位效应、互不干扰;但是多态性较低,信息含量不够丰富。

### 3.2 RAPD 标记

基因组 DNA 的一系列不同的随机引物的结合位点上或位点之间发生碱基插入、缺失而产生的多态<sup>[5,6]</sup>。其优点是无须了解基因组背景、呈显性遗传、操作方便。

### 3.3 AFLP 标记

AFLP<sup>[7]</sup>是建立在 RFLP 基础上的选择性 PCR,其原理是将 DNA 进行限制性酶切,再将特定的接头连接在酶切片段的末端,形成一个带接头的特异性片段,以此为模板,以接头序列和限制酶的切点序列为基础设计引物,进行 PCR 扩增。其特点是:信息量大、多态性丰富、灵敏度高、显性遗传。

### 3.4 微卫星(SSR)标记

一般认为,微卫星多态性产生的机制是 DNA 复制和修复过程中碱基的滑动、错配或减数分裂中姐妹染色单体的不均等交换。其特点是:微卫星广泛分布于真核生物基因组中,外含子和内含子均有分布;可根据两端保守序列设计引物,通过 PCR 扩增反映位点的多态性;高度多态,不同物种微卫星侧翼序列具有高保守性;共显性遗传。

另外广泛应用的分子标记还有 SSCP(单链构象多态)、ISSR(简单重复间序列)、EST(表达序列标签)等。

目前在水产生物中最广泛应用的是 SSR、AFLP。多种分子标记的工作在许多水产生物中已经开展<sup>[8,9]</sup>,这些都为遗传连锁图谱的构建奠定了基础。值得指出的是,没有任何一种标记在基因组中是完全均匀分布的,如在着丝粒区通常以重复序列为主,而 AFLP 也经常成簇存在,因此可以利用特性上互补的不同 DNA 标记进行基因作图,以提高连锁图谱的饱和度。

## 4 遗传图谱在水产动物中的研究现状

与在陆生动物及植物基因组图谱方面已取得的成果相比,水产生物的遗传连锁图谱的研究及应用还不够深入广泛,但是在经济动物中已取得了一定的成绩。美国农业部(USDA)1997 年开展 5 种水产经济动物的基因组的研究工作<sup>[10]</sup>,首要任务是构建鲈鱼(*Ictalurus punctatus*)、大西洋鲑鱼(*Salmo salar*)、鳟鱼(*Onchorhynchus mykiss*)、罗非鱼(*Oreochromis* sp.)、虾类(*Penaeus vannamei*, *P. stylirostris*),以及牡蛎(*Crassostrea gigas*, *C. virginica*)的连锁图

谱,并最终建立以 DNA 分子标记为选择手段的育种技术。目前几种重要海水养殖生物的连锁图谱已初具规模,其他生物的基因组研究工作也已开展。

早期的遗传连锁图谱的构建多以同工酶技术为基础,主要分析与着丝粒之间的连锁关系。如 Foltz 研究了牡蛎(*Crassostrea virginica*)的 11 种同工酶标记的遗传,确立了两个连锁群,分别含有 4 个和 3 个标记<sup>[11]</sup>。Hussain 等构建了罗非鱼的同工酶图谱,包含 6 种同工酶位点,两个色素位点<sup>[12]</sup>。另外利用同工酶构建图谱的还有鲈鱼目<sup>[13]</sup>、花鲈科<sup>[14,15]</sup>等鱼类和鲑鱼<sup>[16~19]</sup>、鳟鱼<sup>[20]</sup>、剑鱼<sup>[21]</sup>等。

作为脊椎动物发育模型的斑马鱼(*Danio rerio*),其遗传图谱的构建工作开始较早,采用了包括 SSCP(单链构象多态)、微卫星、STS、EST、SSLP 等分子标记,目前已构建得密度较高,比较完善。斑马鱼的连锁图谱多是以雌性减数分裂为基础构建的<sup>[22~29]</sup>,少数为自然交配材料<sup>[30~32]</sup>,反映了雌雄两性的减数分裂分离比。Singer 等研究 94 个雄核发育单倍体胚胎,并与雌核发育材料作比较,发现雄性重组率明显地被抑制,尤其在着丝粒附近<sup>[33]</sup>。

Lie 首次提出应用雌核发育构建鱼类的遗传连锁图谱<sup>[2]</sup>。Kocher 利用来自一雌性鱼的 41 个单倍体胚胎,构建了罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)的遗传连锁图谱<sup>[34]</sup>,其中包含 62 个微卫星标记,112 个 AFLP 标记,包含 30 个连锁群,覆盖了全部 22 条染色体 704 cM 的遗传距离。他同时指出应用这类群体进行遗传做图的优点是材料容易获得,但是它反映的只是雌性个体的减数分裂的重组频率,由于材料的表型特征未知,因而无法与特定性状相关联,而且有害的等位基因常常会导致偏分离。

加利福尼亚大学的 Agresti 采用三向(3-way cross)杂交莫桑比克罗非鱼×(蓝帚齿罗非鱼×尼罗罗非鱼){(*Oreochromis mossambicus*)×(*O. aureus*×*O. niloticus*)}的方法,构建了亲本的连锁图谱,其中莫桑比克罗非鱼的图谱包括 14 个连锁群,长 514 cM,含有 13 个微卫星及 49 个 AFLP 标记,而 *O. aureus*×*O. niloticus* 的杂交一代的雄性亲本含有 24 个连锁群,60 个微卫星及 154 个 AFLP 标记共 1632 cM 的遗传距离<sup>[35]</sup>。

在经济鱼类中,我国黑龙江水产研究所的孙效文利用黑龙江鲤(*Cyprinus carpio haematopterus*)和柏氏鲤(*Cyprinus pellegrini*)的杂交 F<sub>2</sub> 单倍体构建连锁图谱<sup>[36]</sup>,包含 RAPD 分子标记 56 个,鲤鱼的 SSLP 标记 26 个,鲫鱼的 SSLP 标记 19 个,斑马鱼的 SSLP 标记 70 个,鲤鱼基因标记 91 个,共有标记 262 个,图谱有 50 个连锁群,估计鲤鱼的基因组大小在 5789 cM 左右。这是我国首次报道的水产生物的遗传图谱。

Waldbieser 利用鲈鱼(*Ictalurus punctatus*)的两个全同胞家系构建以微卫星标记为基础的连锁图谱,32 个连锁群共覆盖了 1958 cM 的遗传距离<sup>[37]</sup>。

Young 构建了虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 的连锁图谱, 利用的作图群体是 76 个加倍单倍体 (DH), 476 个分子标记 (包括 AFLP、VNTR、SINE (sequences from interspersed nuclear elements)) 将基因组分成 31 个主连锁群和 11 个小连锁群, 估计基因组大小为 2627.5 cM, 他在其中一连锁群上发现性别决定基因座, 并指出 AFLP 多分布于连锁群的中心位置, 而 VNTR 多分布于端部<sup>[38]</sup>。

Sakamoto 利用 3 个回交家系, 构建了四倍体虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 的连锁图谱<sup>[39]</sup>。包含 191 个微卫星, 3 个 RAPD 标记, 7 个 ESMP (expressed sequence marker polymorphisms) 及 7 个同工酶标记。研究发现, 端粒区雌性的重组率比雄性的低 (0.14 : 1), 着丝粒附近的重组率比雄性的高很多 (F : M = 10 : 1)。

Linder 以细鳞大麻哈鱼 (*Oncorhynchus gorbuscha*) 的四分孢子体为材料, 采用着丝粒连锁分析, 研究了 312 个基因座的重组率, 发现 AFLP 分子标记靠近着丝粒附近, 成簇存在<sup>[40]</sup>。

在青鳉中, 最早的连锁图谱由 Aida 于 1921 年构建, 他发现雄性决定因子与控制黄色素细胞中类胡萝卜素沉积的基因相互连锁<sup>[41]</sup>。Wada 于 1995 年将包括 RAPD 及同工酶共 170 个标记定位于 28 个连锁群上<sup>[42]</sup>, 2000 年 Naruse 将连锁图谱进一步完善, 使其连锁群数目与单倍体染色体数目 (24) 相吻合<sup>[43]</sup>。

在虾类中, Moore<sup>[44]</sup> 等利用全同胞家系 246 个多态性的 AFLP 标记, 构建了具有 44 个连锁群的日本对虾 (*Penaeus japonicus*) AFLP 图谱, 这是甲壳动物首次报道的连锁图谱。目前斑节对虾 (*Penaeus monodon*) 连锁图谱构建完成, 该图谱包括了 116 个 AFLP 标记, 包含了 20 个连锁群, 覆盖了 1412cM 的遗传距离<sup>[45]</sup>。

在贝类中, 还没有较完善的连锁图谱的报道, 但是多种分子标记的工作已经开展, 相信它们的遗传图谱也将不久问世。

## 5 遗传连锁图谱的应用前景

综上所述, 遗传图谱在水产生物中的研究已开展得比较广泛, 在经济生物鱼、虾、贝中及模式生物如斑马鱼中都有研究, 并已取得可喜进展, 展现了广阔的应用前景。但是由于水产生物遗传背景等方面的原因, 这些研究还集中在理论方面, 真正用于遗传改良的还不多见。随着一系列研究的深入, 遗传图谱在遗传学中的应用必将广泛而深入, 在以下几方面将发挥巨大作用。

### 5.1 分子标记辅助育种

遗传学家很早就提出利用分子标记和遗传图谱进行辅助选择, 以加速遗传改良进程的理论。分子标记辅助育种 (MAS) 是根据与某一性状或基因紧密连锁的标记的出现来推断该基因或性状从而进行选育, 它是在 DNA 水平上而不是根据表型进行选择, 因此可以提高选择的准确性, 早期鉴

定具有优良性状的个体, 筛选优良亲本, 从而加快育种进程, 缩短育种周期。进行分子标记辅助育种, 首先要找到与目标性状紧密连锁的分子标记。对于质量性状, 利用近等基因系 (near-isogenic line, NIL) 和分群分离混合分析法 (bulked segregation analysis, BSA) 可以快速有效的寻找与其紧密连锁的分子标记。对于数量性状, QTL 的定位方法主要有基于标记的分析法和基于性状的分析法。对目的基因进行分子标记后, 还不能确定目的基因与分子标记的连锁程度及其在遗传连锁图谱上的位置, 因此必须将目的基因定位于分子连锁图上, 这就需要构建包含目的基因区域的相对饱和的连锁图谱。MAS 效率受诸多因素影响, 如所选性状的遗传特性、遗传标记与 QTL 的连锁程度、QTL 参数估计的准确性等, 其中 QTL 定位的精度和 QTL 参数估计的可靠性是 MAS 应用的限制因素。目前 MAS 在水产生物上还未有真正的实施, 随着高密度遗传连锁图谱的构建及标记辅助育种理论的成熟, MAS 必将在实践中发挥重要作用。

### 5.2 基因定位与克隆

遗传图谱的最主要的应用之一是克隆基因。传统的克隆基因方法是根据已知基因的产物推算其相应的核苷酸序列, 再根据此序列合成探针, 从 cDNA 文库或基因组文库中钓取目的基因。而图位克隆技术<sup>[46]</sup> (map-based gene cloning 或 positional cloning) 则可利用遗传图谱和物理图谱在未知基因产物的条件下分离基因。首先是利用分子标记及 NIL、BSA 和比较基因组作图等新技术, 对目的基因进行精细定位, 获得与目的基因紧密连锁的分子标记后, 再以它为探针筛选大片段基因组文库, 并构建目的基因区域的物理图谱, 通过染色体步查 (chromosome walking) 逐步逼近目的基因或通过染色体登陆 (chromosome landing) 的方法找到包含该目的基因的克隆, 再通过遗传转化证实目的基因的功能。随着水产生物分子标记的发展, 遗传图谱和物理图谱研究的深入, 重要基因的定位克隆将有所突破。

### 5.3 比较基因组作图

比较基因组作图 (comparative genome mapping), 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, 从而对基因组结构和起源进化进行分析<sup>[23]</sup>。比较作图的分子基础是物种间 DNA 序列尤其是编码序列的保守性。目前这类研究在斑马鱼<sup>[47]</sup>、青鳉<sup>[43]</sup> 及剑鱼<sup>[48,49]</sup> 中已经开展。如在斑马鱼、虹鳟和青鳉的连锁图谱中, 均发现 MHC 基因家族和人类有共线性<sup>[43,49~51]</sup>。Ohtsuka 发现在斑马鱼、青鳉及人类中存在 4 个共线区<sup>[52]</sup>。另外对 hox 基因家族的研究发现, 其基因在青鳉和斑马鱼中位于染色体的同一区域, 但是排列顺序不同, 分别为 Fgfr4-Bf/C2-Msx4 和 Bf/C2-Fgfr4-Msx4, 揭示了两类基因在硬骨鱼类中发生了重排<sup>[43,53]</sup>, 进一步研究这些基因有助于了解脊椎动物的基因组进化。比较

作图研究使得传统的遗传学研究突破了物种的框架限制,对于遗传研究较为滞后的物种有着深远的意义。

利用高信息量的 DNA 分子标记,构建水产生物的高密度的连锁图谱,标记控制重要经济性状的基因,再利用定位克隆技术克隆这些基因,通过分子标记辅助育种,结合常规育种方法对水产生物进行遗传改良,最终生产出优质高产抗逆的优良品种,是水产生物基因组研究的最终目标。分子生物技术的快速发展,为水产生物遗传学研究和遗传育种展示了美好的前景。

## 参 考 文 献 (References):

- [1] Grattapaglia D, Sederoff R. Genetic linkage maps of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* using a pseudo-testcross: mapping strategy and RAPD markers. *Genetics*, 1994, 137: 1121~1137.
- [2] Lie O, Slettan A, Lingaas F. Haploid gynogenesis; a powerful strategy for linkage analysis in fish. *Anim Biotech*, 1994, 5: 33~45.
- [3] Li H, Gyllensten U B, Cui X, Saiki R K, Erlich H A, Arnheim N. Amplification and analysis of DNA sequences in single human sperm and diploid cells. *Nature*, 1988, 335: 414~417.
- [4] Avise J C. Polymorphism of mtDNA in populations of higher animals. In: Nei, M. & Koehn, R. K. (eds). *Evolution of Genes and Proteins*. Sinauer, Sunderland, 1983, 147~164.
- [5] Welsh J, McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18: 7213~7218.
- [6] Williams J G K, Kubelik A R, Licalic K J, Livak J A, Rafalshi, Tingey S V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18: 6531~6535.
- [7] Vos P, Hodgson R, Bleeker M, Reijnders M, van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res*, 1995, 23: 4407~4414.
- [8] Lee W J, Kocher T D. Microsatellite DNA markers for genetic mapping in the tilapia, *Oreochromis niloticus*. *J Fish Biol*, 1996, 49: 169~171.
- [9] Liu Z J, Karsi A, Dunham R A. Development of polymorphic EST markers suitable for genetic linkage mapping of catfish. *Mar Biotech*, 1999, 5: 437~447.
- [10] USDA (U. S. Department of Agriculture). Five years of project of genetic maps of aquaculture species. In: USDA Regional Project Number: NE-186, Duration: October 1, 1997-September 30, 2002, USA, 1997.
- [11] Foltz D W. Segregation and linkage studies of allozyme loci in pair crosses of the oyster *Crassostrea virginica*. *Biochem. Genetics*, 1986, 24: 941~956.
- [12] Hussain M G, McAndrew B J, Penman D J, et al. Estimating gene centromere recombination frequencies in gynogenetic diploids of *Oreochromis niloticus* L. using allozymes, skin color and a putative sex-determination locus (SDL-2). In: *Genetics and Evolution of Aquatic Organisms*. A R Beaumont (ed), Chapman and Hall, 1994, 502~509.
- [13] Pasdar M, Phillip D P, Whitt G S. Linked relationships of nine enzyme loci in sunfishes (Lepomis; Centrarchidae). *Genetics*, 1984, 107: 435~446.
- [14] Leslie J F. Linkage analysis of seventeen loci in poeciliid fish (genus *Poeciliopsis*). *J Hered*, 1982, 73: 19~23.
- [15] Narine K M, Kallman K D, Walter R B, Morizot D C. Linkage of two enzyme loci in the fish genus *Poecilia* (Teleostei; Poeciliidae). *Cyto Cell Genetics*, 1992, 61: 75~77.
- [16] Liu Q, Goudie C A, Simco B A, Davis K B, Morizot D C. Centromere mapping of six enzyme loci in gynogenetic channel catfish. *J Hered*, 1992, 83: 245~248.
- [17] Liu Q, Goudie C A, Simco B A, Davis K B. Sex-linkage of glucose-phosphate isomerase-B and mapping of the sex-determining gene in channel catfish. *Cyto Cell Genetics*, 1996, 73: 282~285.
- [18] Liu Q, Goudie C A, Simco B A, Davis K B, Morizot D C. Isozyme expression and gene-centromere distances in diploid and triploid hybrid catfish. *Trans Amer Fish Soc*, 1996, 125: 56~65.
- [19] Morizot D C. Reconstructing the gene map of the vertebrate ancestor. *Animal Biotechnology*, 1994, 5: 113~122.
- [20] Allendorf F W, Seeb J E, Kundsén K L, Thorgaard G H, Leary R F. Gene-centromere mapping of 25 loci in rainbow trout. *J Hered*, 1986, 77: 307~312.
- [21] Morizot D C, Slaugenhaupt S A, Kallman K D, Chakravarti A. Genetic linkage map of fishes of genus *Xiphophorus* (Teleostei; Poeciliidae). *Genetics*, 1991, 127: 399~410.
- [22] Postlethwait J H, Hohnson, S L, Midson C N, Talbot W S, Gates M, Ballinger. A genetic linkage map for the zebrafish. *Science*, 1994, 264: 699~703.
- [23] Postlethwait J H, Yan Y L, Gates M A, Horne S, Amores A, Brownlie A, Donovan A, Egan E S, Force A, Gong Z, Goutel C, Fritz A, Kelsh R, Knapiak E, Liao E, Paw B, Ransom D, Singer A, Thomson M, Abduljabbar T S, Yelick P, Beier D, Joly J S, Larhammar D, Rosa F. Vertebrate genome evolution and the zebrafish gene map. *Nat Genet*, 1998, 18: 345~349.
- [24] Postlethwait J H, Woods I G, Ngo-Hazelett P, Yan Y L, Kelly P D, Chu F, Huang H, Hill-Force A, Talbot W S. Zebrafish comparative genomics and the origins of vertebrate chromosomes. *Genome Res*, 2000, 10: 1890~1902.
- [25] Johnson S L, Gates M A, Johnson M, Talbot W S, Horne S, Baik K, Rude S, Wong J R, Postlethwait J H. Centromere-linkage analysis and consolidation of the zebrafish genetic map. *Genetics*, 1996, 142: 1277~1288.
- [26] Gates M A, Kim L, Egan E S, Cardozo T, Sirotkin H I, Dougan S T, Lashkari D, Abagyan R, Schier A F, Talbot W S. A genetic linkage map for zebrafish; Comparative analysis and localization of genes and expressed sequences. *Genome Res*, 1999, 9: 334~347.
- [27] Barbazuk W B, Korf I, Kadavi C, Heyen J, Tate S, Wun E, Bedell J A, McPherson J D, Johnson S L. The syntenic relationship of the zebrafish and human genomes. *Genome Res*, 2000,

- 10:1351~1358.
- [28] Kelly P D, Chu F, Woods I G, Ngo-Hazelett P, Cardozo T, Huang H, Kimm F, Liao L, Yan Y-L, Zhou Y, Johnson S L, Abagyan R, Schier A F, Postlethwait J H, Talbot W S. Genetic linkage map of zebrafish genes and ESTs. *Genome Res*, 2000, 10:558~567.
- [29] Wooda I G, Kelly P D, Chu F. A comparative map of the zebrafish genome. *Genome Res*, 2000, 10:1903~1914.
- [30] Knapik E W, Goodman A, Atkinson O. S. A reference cross DNA panel for zebrafish (*Danio rerio*) anchored with simple sequence length polymorphisms. *Development*, 1996, 123:451~460.
- [31] Knapik E W, Goodman A, Ekker M, Chevrette M, Delgado J, Neuhaus S, Shimoda N, Driever W, Fishman MC, Jacob H J. A microsatellite genetic linkage map for zebrafish (*Danio rerio*). *Nat Genet*, 1998, 18:338~343.
- [32] Shimoda N, Knapik E W, Ziniti J, Sim C, Yamada E, Kaplan S, Jackson D, de Sauvage F, Jacob H, Fishman M C. Zebrafish genetic map with 2000 microsatellite markers. *Genomics*, 1999, 58:219~232.
- [33] Singer A, Perlman H, Yan Y, Walker C, Corley-Smith G, Brandhorst B, Postlethwait J. Sex-specific recombination rates in zebrafish (*Danio rerio*). *Genetics*, 2002, 160:649~657.
- [34] Kocher T D, W-J Lee, Sobolewska H, Penman D, McAndrew B. A genetic linkage map of a cichlid fish, the Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Genetics*, 1998, 148:1225~1232.
- [35] Agresti J J, Seki S, Cnaani A, Poopuang S, Hallerman E M, Umil N, Hulata G, Gall G A E, May B. Breeding new strains of tilapia: development of an artificial center of origin and linkage map based on AFLP and microsatellite loci. *Aquac*, 2000, 185:43~56.
- [36] Sun X W, Liang L Q. A genetic linkage map of common carp. *J Fish Sci China*, 2000, 7:1~5.  
孙效文, 梁利群. 鲤鱼的遗传连锁图谱(初报). 中国水产科学, 2000, 7:1~5.
- [37] Waldbieser G C, Bosworth B G, Nonneman D J, Wolters W R. A microsatellite-based genetic linkage map for channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Genetics*, 2001, 158:727~734.
- [38] Young W P, Wheeler P A, Coryell V H, Keim P, Thorgaard G H. A detailed linkage map of rainbow trout produced using doubled haploids. *Genetics*, 1998, 148:839~850.
- [39] Sakamoto T, Danzmann R G, Gharbi K, Howard P, Ozaki A, Khoo S K, Woram R A, Okamoto N, Ferguson, M M, Holm L E, Guyomard R, Hoyheim B. A microsatellite linkage map of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) characterized by large sex-specific differences in recombination rates. *Genetics*, 2000, 155:1331~1345.
- [40] Linder K R, Seeb J E, Habicht C, Knudsen K L, Kretschmer E, Reedy D J, Spruell P, Allendorf F W. Gene-centromere mapping of 312 loci in pink salmon by half-tetrad analysis. *Genome*, 2000, 43:538~549.
- [41] Aida T. On the inheritance of color in a fresh-water fish *Aplodcheilus latipes* Temminck and Schlegel, with special references to sex-linked inheritance. *Genetics*, 1921, 6:554~573.
- [42] Wada H, Naruse K, Shimada A, Shima A. Genetic linkage map of a fish, the Japanese medaka *Oryzias latipes*. *Mol Mar Biol Biotech*, 1995, 4:269~274.
- [43] Naruse K, Fukamachi S, Mitani H, Knodo M, Matsuoka T, Kondo S, Hanamura N, Morita Y, Hasegawa K, Nishigaki R, Shimada A, Wada H, Kusakabe T, Suzuki N, Kinoshita M, Kanamori a, Terado T, Kimura H, Nonaka M, Shima A. A detailed linkage map of Medaka, *Oryzias latipes*; comparative genomics and genome evolution. *Genetics*, 2000, 154:1773~1784.
- [44] Moore S S, Whan V, Davis G P, Byrne K, Hetzel D J S, Preston N. The development and application of genetic markers for the Kuruma prawn *Penaeus japonicus*. *Aquac*, 1999, 173:19~32.
- [45] Wilson K, Li Y, Whan V, Lehnert S, Byrne K, Moore S, Pongsomboon S, Tassanakajon A, Rosenberg G, Ballment E, Fayazi Z, Swan J, Kenway M, Benzie J. Genetic mapping of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* with amplified fragment length polymorphism. *Aquac*, 2002, 204:297~309.
- [46] Dietrich W F, Miller J, Steen R, Merchant M A, Damron-Boles D, Husain Z, Dredge R, Daly M J, Ingalls K A, O'Connor T J. A comprehensive genetic map of the mouse genome. *Nature*, 1996, 380:149~152.
- [47] Davidson A J, Postlethwait J H, Yan Y-L, Beier D R, van Dorren C, Foerzler D, Celeste A J, Crosier K E, Crosier P S. Isolation of zebrafish *gdf7* and comparative genetic mapping of genes belonging to the growth/differentiation factor 5, 6, 7 subgroup of the TGF-beta superfamily. *Genome Research*, 1999, 9:121~129.
- [48] Morizot D C. Reconstructing the genome of the vertebrate ancestor. In: *Genomes*. Gustafson, P. (ed.). New York: kluwer academic/Plenum Publishers, 2000, 43~60.
- [49] Morizot D C, Nairn R S, Simhambhatla P, Coletta L D, Trono D, Chorane L, Walter R B, Kazianis S. *Xiphophorus* genetic linkage map: Beginnings of comparative gene mapping in Fishes. *Mar Biotech*, 2001, 3:153~161.
- [50] Bingulac-Popovic J, Figueroa F, Sato A, Talbot W S, Johnson S L, Gates M, Postlethwait J H, Klein J. Mapping of the mhc class I and II regions to different linkage groups in the zebrafish, *Danio rerio*. *Immunogenetics*, 1997, 46:129~134.
- [51] Hansen J D, Strassburger P, Thorgaard G H, Young W P, Pasquier L D. Expression, linkage and polymorphism of MHC-related genes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J Immune*, 1999, 163:774~786.
- [52] Ohtsuka M, Makino S, Yoda K, Wada H, Naruse K, Mitani H, Shima A, Ozato K, Kimura M, Inoko H. Construction of a linkage map of the medaka (*Oryzias latipes*) and mapping of the Da mutant locus defective in dorsoventral patterning. *Genome Research*, 1999, 9:1277~1287.
- [53] Amores A, Force A, Yan Y L, Holy L, Amemiya C, Frita A, Hor K, Langeland J, Prince V, Wang Y L, Westerfield M, Postlethwait J H. Zebrafish *hox* clusters and vertebrate genome evolution. *Science*, 1998, 282:1711~1714.