

SNPs 及其在水产动物遗传学与育种学中的应用

谭新^{1,2} 童金苟¹

(1. 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072;

2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

SNPS AND THEIR APPLICATIONS IN STUDIES ON GENETICS AND BREEDING OF AQUACULTURE ANIMALS

TAN Xin^{1,2} and TONG Jin-Gou¹

(1. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049)

关键词: SNPs; 水产动物; 遗传学; 育种学

Key words: Single nucleotide polymorphisms; Aquaculture animals; Genetics; Animal Breeding

中图分类号: Q343 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2011)02-0348-07

1 SNP 简介

1.1 SNP 的概念

单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP)指基因组 DNA 序列中某个特定位点的单个核苷酸发生变异而引起的序列多态性, 包括单碱基的转换、颠换、插入及缺失等形式, 其中一种等位基因在群体中的频率不小于 1%^[1]。在 SNP 的碱基突变类型中, 颠换较少, 转换较多(约占 2/3)。并且 SNP 的转换变异以 C↔T 为主, 可能是因为 CpG 二核苷酸上的胞嘧啶残基大多数是甲基化的, 可自发地脱去氨基而形成胸腺嘧啶, CpG 也因此变为突变热点^[2]。理论上 SNPs 可能是二、三、四等位基因多态的, 但三或四等位基因的 SNPs 几乎不存在, 因此 SNPs 也被称为二等位基因(或二态)遗传标记^[3]。大多数 SNPs 位于基因组的非编码区, 对蛋白质无直接影响, 它们对个体的表现型是无意义的, 但这些 SNPs 在群体遗传变异、物种进化以及相关的研究中却很有用^[4]。分布在基因编码区的 SNPs 又称为 cSNPs(coding SNPs), 根据其其对遗传性状的影响, 分为①同义突变: 编码序列的改变并不

影响所翻译的氨基酸序列, 蛋白质的功能不变; ②非同义突变: 包括错义突变和无义突变, 前者指改变编码序列导致翻译的氨基酸序列改变, 从而改变蛋白质的生物学功能; 无义突变是指突变形成终止密码子, 翻译终止^[5]。

1.2 SNP 的优点

(1)数目多且分布广: SNP 遍布整个基因组, 人类平均 1900 bp 就有一个 SNP。国际人类 SNP 计划 2001 年就已完成了一张含有 142 万个 SNPs 的人类基因组序列变异图谱。由于 SNP 标记数目多、覆盖密度大, 因此它们在基因定位及复杂性状的遗传学研究中有着其他标记无法比拟的潜力^[6]。

(2)具遗传稳定性: SNPs 基于单核苷酸突变, 突变率为 10^{-9} , 与微卫星(Microsatellites)等重复序列多态性相比, 它具有更高的遗传稳定性与精确性^[7]。

(3)具有代表性: 某些位于基因内部的 SNP 变异有可能直接影响蛋白质结构或表达水平, 因此它们可能反映疾病或性状相关遗传机制中的某些决定因素^[8]。

(4)可实现检测自动化: 由于 SNP 为二等位基因变异, 无需像微卫星标记那样需要对片段长度进行检测,

收稿日期: 2010-04-01; 修订日期: 2010-12-08

基金项目: 国家 973 项目(2010CB126305); 国家自然科学基金(30771643); 国家重点实验室项目(FEBL FZ17)资助

作者简介: 谭新(1987—), 女, 湖北仙桃人; 硕士; 主要从事鱼类遗传学与基因组学方面的研究

通讯作者: 童金苟, E-mail: jgtong@ihb.ac.cn

只需采用“+/-”或“有或无”的分析方式,有利于发展自动化筛选或检测^[9]。

2 SNP 的检测方法

迄今已经有很多种筛选检测未知或已知 SNP 多态性的技术和方法,每种方法都有它的特点和优缺点,研究者可根据自身需求和条件选择简便、高效、经济的检测方法。

2.1 基于杂交的方法

等位基因特异寡核苷酸片段分析 (Allele-specific oligonucleotide, ASO) ASO 为一种以杂交为基础的已知突变的 SNP 检测技术。它通过设计一段 20 bp 左右的寡核苷酸片段(其中包含发生突变的部位),以此为探针与固定在膜上的经 PCR 扩增的样品 DNA 杂交,同时以野生型探针为对照,如出现阳性杂交带,则表明样品中存在与该 ASO 探针相应的点突变。ASO 需严格控制杂交条件和设置标准对照避免假阳性和假阴性。目前已有商品化 ASO 试剂盒检测部分癌基因的 SNP 突变^[10]。

基因芯片技术 (Gene chips) 基因芯片是在一微小的基片(硅片、玻片、塑料片等)表面集成了大量的分子识别探针,能够在同一时间内平行分析大量的基因,进行大信息量的筛选和检测分析^[11]。Wang, *et al.*应用高密度基因芯片对 2.3 Mb 基因组进行筛查,确定了 3241 个人类 SNPs 位点,显示出大规模鉴定人类 SNP 的强大能力^[12]。当然在水产养殖动物中基因芯片仍是昂贵的 SNP 检测技术。

探针技术 (TaqMan) TaqMan 的原理就是合成一个能与 PCR 产物杂交的探针,该探针的 5'端与 3'端分别标记供者-受者染料对,正常情况下检测不到 5'端供者分子发出的荧光,但当溶液中有 PCR 产物模板时,该探针与模板结合激发 TaqMan DNA 聚合酶的 3'外切酶活性,将探针 5'端连接的荧光分子从探针上切割下来从而发出荧光。如果探针与目标序列中存在错配碱基,就会减少探针与目标序列结合的紧密程度及酶切割供者的活性,也就影响了其释放荧光的强度,从而可以通过检测反应液中的荧光强度确定 SNPs 分型^[13]。TaqMan 探针在检测 SNP 变异时将 PCR 污染的风险降至最低,但是该方法对反应试剂以及条件有严格要求。

动态等位基因特异杂交 (Dynamic allele-specific hybridization, DASH) DASH 的初始杂交允许有错配,在这个阶段无论待测 DNA 含有 SNP 的哪一种等位基因,寡核苷酸都能与之杂交。由于错配的杂交产物不如正常配对杂交的产物稳定,故前者在较低温度下解链,因此可以通过升高温度来区分等位基因。这样就可以从荧光信号消失的温度来判定待测 DNA 中存在哪一种等位基因^[14]。

2.2 基于酶或 PCR 的方法

限制性片段长度多态性 (Restriction fragment

length polymorphism, RFLP) 限制片段长度多态性是指 DNA 限制性酶识别序列核苷酸结构发生改变,导致酶切位点产生、消失或移位,酶切所产生的限制性片段数目及长度发生改变所呈现的 DNA 多态现象。因单碱基差异而造成限制性酶切位点的得失,经相应的酶切割扩增产物、电泳分离就可检测出 SNP 变异。RFLP 技术已成功应用于 SNP 位点的发掘和检测^[15]。

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) 法 AFLP 技术是基于 PCR 扩增基因组中的限制性酶切片段。基因组 DNA 分别用一种罕见和一种常见限制性内切酶切割,然后将双链接头连接到 DNA 片段的末端,接头序列和相邻的限制性位点序列作为引物结合位点。AFLP 具有 RFLP 技术的可靠性和 PCR 技术的高效性。AFLP 的选择性扩增可使某一个体出现特定的 DNA 谱带,而在另一个体中可能无此谱带产生,因此,这种通过引物特异性结合及扩增后得到的 DNA 多态性,可作为一种反映有 SNP 变异存在的“+/-”或“有或无”分子标记^[16]。

EMC 错配的酶裂解 (Enzyme mismatch cleavage) T4 外切酶 VII 或 T7 外切酶 I 具有识别并裂解双链 DNA 中错配碱基的能力,除了 A·A/T·T 外,其他的错配都可以被裂解。具体方法是首先扩增样品 DNA,并与末端标记的野生型序列混合,经变性、退火,形成同源和杂交双链,用 T4 外切酶 VII 或 T7 外切酶 I 切开错配双链,然后进行电泳分离从而检测 SNPs^[17]。

2.3 以核酸构象为基础的方法

温度梯度凝胶电泳 (Temperature gradient gel electrophoresis, TGGE) Riesner, *et al.*^[18]最先将这种检验点突变的温度梯度凝胶电泳技术应用到 DNA/RNA 的分子构象和序列变异分析。在正常情况下 DNA 分子呈双链结构状态,当温度升高到一定值时,双链开始解开,由完整的双链变为分叉双链;如果温度继续升高,双链完全解开,变为单链 DNA。这种分子构象的改变会影响 DNA 分子在电泳时的迁移行为,故 TGGE 可以检测 SNPs。

变性梯度凝胶电泳 (Denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE) DGGE 的原理是当双链 DNA 在变性梯度凝胶中进行到与 DNA 变性温度一致的凝胶位置时, DNA 发生部分解链,电泳适移率下降,当解链的 DNA 链中有碱基改变时,会在不同的时间发生解链,因影响电泳速度变化的程度不同而被分离。如果 SNP 突变发生在最先解链的 DNA 区域, DGGE 方法的变异检出率可达 100%,检测片段可达 1 kb,最适围为 100—500 bp。

单链构象多态性 (Single-strand conformational polymorphism, SSCP) DNA 双链变性为单链后,具有一定的折叠结构,这种折叠结构是其核苷酸序列所决定的。由于单链 DNA 的碱基组成不同导致电泳迁移率不同,故能发现突变位点。SSCP 在不同系统中的点突变检出率达 80%—90%以上,是一种高效、方便、经济的突变检测方

法。具体做法是将扩增产物与去离子甲酰胺混合,然后变性解链,再骤冷到冰中,最后通过非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离^[19]。有报道利用 SSCP 在牙鲈 P450-c19a 基因找到 3 个 SNP 位点^[20]。

变性高效液相色谱 (Denaturing high performance liquid chromatography, DHPLC) DHPLC 技术是一项在 SSCP 和 DGGE 基础上发展起来的可以检测 SNP 变异的技术^[21]。将未知的 DNA 片段与野生型 DNA 混和,经加热变性后再使其降温重退火;若有突变的 DNA,此时所形成的双螺旋有两种,即为同源双螺旋和异源双螺旋。由于同源双螺旋和异源双螺旋解链温度的不同,通过控制 DHPLC 的温度,将系统维持在使异源双螺旋发生变性的温度而同源双螺旋并未变性的情况下进行分离。该方法不仅增强了分析的精确性和速度,而且不需要配置凝胶^[22]。

2.4 直接测序

DNA 测序是最容易实施但目前费用仍较昂贵的 SNPs 检测方法。通过不同个体的同一基因或 DNA 片段的直接测序,然后进行简单的序列比对,SNP 变异的检出率可达 100%。采用直接测序法,还可以直观地得到突变碱基的类型及其准确位置等 SNPs 分型的参数。随着 DNA 测序自动化和测序成本的降低,直接测序法将越来越多地用于未知 SNPs 的发掘和已知 SNPs 的检测与分型。

2.5 其他方法

利用 MU 转座子检测 SNPs: MU 可以转座到 DNA 序列,在转座过程中,它极其偏爱插入到错配 DNA 的位点。在超过 300000 个非错配位点存在的情况下,利用 MU 转座可检测出单一的错配位点。多个核苷酸错配的位点也是 MU 转座优先结合的位点^[23]。这种利用 MU 转座子检测 SNPs 的方法简单、灵敏,具有较大应用前景。

利用双链 DNA 解链的动力学检测 SNP:在室温下突变型靶 DNA 会在短时间内解链出较多的单链 DNA,而野生型则比较稳定。先让靶 DNA 在室温解链,后加入盐离子、缓冲液及纳米金,即能观察到野生型靶 DNA 杂交体系呈蓝色,突变型呈红色。这主要是由于单链与双链 DNA 对纳米金表面的不同作用效果所致^[24]。

3 SNPs 在水产动物遗传学与育种学研究中的应用

3.1 高密度遗传图谱构建

构建遗传连锁图谱(简称遗传图谱)是通过多个分子标记(或基因)之间的连锁关系分析,将基因(标记)之间的相对关系定位在染色体上;遗传图谱对研究基因组结构、QTL 准确定位、基因图位克隆以及分子标记辅助育种(MAS)有重要意义^[25]。要绘制高密度、能覆盖整个基因组的图谱,需要庞大数量的 DNA 遗传标记。SNP 是继微卫星之后理想的遗传作图标记,它在基因组中分布的丰富性、双等位基因遗传以及便于检测的优点使得遗传作图

更加精细^[26]。目前已经有一些物种使用 SNP 进行了遗传作图,如人、小鼠^[27]、果蝇^[28]、苹果^[29]等。Kucuktas, *et al.*^[30]构建了鲶鱼的遗传图谱,该图谱由 29 个连锁群组成,包括 72 个 SNP 和 259 个微卫星,全长 1181 cM,平均分辨率为 6.0 cM。Stickney, *et al.*^[31]采用寡核苷酸微阵列技术,对斑马鱼基因和 EST 进行大规模扫描,构建了斑马鱼的第一幅 SNPs 遗传图谱,该图谱由 25 个连锁群组成,包括 1930 个 SNPs,全长 3000 cM,平均分辨率为 6.98 cM。高密度 SNPs 遗传图谱的出现使遗传育种工作者能够更精确地进行标记辅助选择和品系鉴定,甚至在基因组被全部测序后,此类图谱仍可以成为联系基因组序列与物理图谱以及动物表型与基因型的有用工具。

3.2 关联分析

存在于编码区及其邻近调控序列的 SNP 变异,有可能使基因的表达产物或表达水平发生改变,因而成为研究基因组多态性以及进行疾病和生长、繁殖性能等相关基因识别和定位的一种新工具。用 SNP 标记研究基因与表型(性状)相关性的关联性分析(Association study)的原理是连锁不平衡(Linkage disequilibrium, 简称 LD),这里 LD 指的是不同遗传标记间或者标记与 QTL 间存在的非随机性组合。关联分析就是利用等位基因间连锁不平衡的关系鉴定与特定性状的遗传调控有关的基因或基因组 DNA 区段,研究基因型与表型的关系^[32]。考虑到水产动物遗传育种研究的实际和现状,基因型和表型关联性分析主要介绍如下几个方面:

生长性状 生长性状(体长、体重、体高等)是养殖动物最重要的经济性状之一,对这些性状的 QTLs 或基因的遗传解析是分子育种的基础。Li, *et al.*在大口黑鲈 *IGF*-基因的 5'侧翼区发现了一个缺失和 2 个 SNP 位点,并发现其显著影响大口黑鲈的体重和体宽^[33]。栉孔扇贝 *MSTN* 基因外显子中的 2 个 SNPs 位点与体重、软组织重、贝壳长、贝壳高等生长性状密切相关^[34]。刘福平等采用 PCR 产物直接测序、PCR-RFLP 和 CRS-PCR 技术研究发现尼罗罗非鱼 *MC4R* 基因启动子和外显子中有 5 个 SNPs,并发现在体质量和体长这两个主要生长性状方面,二倍型 D4 与 D1、D3、D6 存在显著性差异($P < 0.05$),二倍型 D2 与 D3、D6 也存在显著性差异($P < 0.05$)^[35]。北极红点鲑 *GH* 基因中的 SNPs 与生长速率以及体重显著相关^[36]。Gross, *et al.*在大西洋鲑的 *GH* 基因中也发现了 SNPs,并发现它与大西洋鲑体重显著相关^[37]。牙鲈 *GH* 基因多态性与生长速率以及体重也有显著的相关性^[38]。

抗病性状 在长期的动物养殖中,密度和条件等因素的改变可能导致传染病的发生和流行。试图从遗传本质上提高养殖动物抗病能力的抗病育种已成为研究热点之一。研究发现牙鲈的对鳃弧菌(*Vibrio anguillarum*)的抗性与其组织相容性复合体 *IIa*(MHC *IIa*)基因多态性有显

著相关性^[39]。在海湾扇贝超氧化物歧化酶家族中的三个基因的启动子、外显子和部分内含子共发现有 59 个 SNPs, 其中 AiCuZnSOD 启动子区的-1739 T/C、AiECSOD 启动子区的-498 A/T 和-267 G/A 与抗细菌 *V. anguillarum* 的能力显著相关^[40]。虹鳟组织相容性复合体 (MHC) 等位基因的多态性与对 IHN 病毒的抗性相关显著^[41]。大西洋鲑的组织相容性复合体 (MHC) 位点也是高度多态的, 且含有不同 MHC 等位基因的大西洋鲑个体在对细菌 *Aeromonas salmonicida* 免疫反应上有所不同, 因此对病原体的抗病能力也有差异^[42]。鲤鱼肿瘤坏死因子 (TNF2) 基因中的 1 个 SNP 的变异导致脯氨酸变成丝氨酸, 该 SNP 位点与昏睡病显著相关^[43]。

繁殖性状 与繁殖性能相关基因的多态性位点检测, 将有助于解析养殖动物生殖内分泌的遗传调控机制。在牙鲆促卵泡激素亚基 (FSH β) 基因内含子中发现一个 SNP 位点, 并发现其与睾丸激素水平以及性腺指数等繁殖性状显著相关^[44]。有研究表明性腺型芳香化酶 (CYP19a) 基因的 SNP 多态性显著影响牙鲆的 17 β -雌二醇水平和性腺指数^[45]。在牙鲆雌激素受体 α 基因的 12 个 SNP 位点中, 位于外显子 2 的 A803G 和 C864T 变异与牙鲆雌性个体的肝体比显著相关^[46]。在牙鲆雌激素受体 β 基因的 2 个 SNP 位点中, 外显子 2 中的 A891T 变异与牙鲆生殖腺成熟指数以及 17 β -雌二醇浓度显著相关^[47]。牙鲆 FOXL2 基因中的 3 个 SNP 位点均能显著影响牙鲆的一些繁殖性状 (如肝体比、生殖腺成熟指数等)^[48]。

肉质性状 肉质性状一直受到消费者关注, 对动物养殖业的经济效益也有重大影响。肉质既受养殖环境、饲料营养等因素的影响, 也受遗传因素控制。目前有关该性状的研究几乎都集中于家畜 (牛、猪等), 水产动物中还未见报道。在牛 *CAPN1* 基因内含子 14 中发现 1 个 C/T 转换的 SNP, 研究表明基因型为 TT 的牛的肉质比基因型为 CC 牛好^[49]。在猪 *HGD* 基因第 14 外显子中发现了 SNP, 该 SNP 所产生的基因型对猪腿臀重、臀背膘厚、眼肌面积、腿臀肌肉 pH45 和腿臀肌温度等胴体和肉质性状有显著影响^[50]。

其他性状 还有其他一些性状的关联性分析中也使用了 SNP 标记。例如, 青鳉的酪氨酸酶 (TYR) 基因多态性与眼皮肤白化病 (Oculocutaneous albinism, OCA) 的发生显著相关^[51]。尼罗罗非鱼转铁蛋白 (TRF) 基因中被发现有 34 个 SNP 位点, 其中一些 SNPs 与耐盐性显著相关^[52]。

3.3 种群遗传分子及其相关研究

通过对不同群体的 SNP 单倍型或图谱进行比较, 或进行连锁不平衡分析, 可以获得有关动物群体的多样性和群体进化历程等信息 (起源、迁移、遗传、漂变等)。Claiborne, *et al.* 采用单倍型变异 (Haplotype variation) 的方法研究了人类 313 个基因中的 3899 个 SNPs, 进而利用连

锁不平衡分析, 其结果支持了人类群体在近代扩张的观点^[53]。Rengmark, *et al.* 用 26 个 SNPs 位点和 16 个微卫星分析了野生和养殖大西洋鲑的遗传变异, 结果发现有 95.8% 的个体能够用这些标记所区分并归属到取样群体中^[54]。Pfrender, *et al.* 分析了美国俄勒冈 5 个主要水系小点吻鲈 (*Rhinichthys osculus*) Cyt *b* 基因的 SNPs 变异, 认为水系内的遗传变异模式与该物种在历史上曾有过的种群扩张有关, 而水系间的变异则产生于中新世晚期到上新世早期^[55]。Sušnik, *et al.* 为了区分纯种的斑鳟以及斑鳟与褐鳟的杂交个体, 通过对斑鳟和褐鳟视网膜紫质 (RH)、毛色基因 (SILVA)、生长催乳素 (SL)、乳酸脱氢酶 C1 (LDH-C1) 和转铁蛋白 (TF) 基因的 SNPs 分析, 发现种内特异的 SNP 位点是鉴定斑鳟个体是否纯种的有效工具^[56]。Katsumura, *et al.* 研究了来自两个野生区和一个保护区共 373 尾青鳉的 D-loop 区 DNA 序列的 SNPs 变异, 用基于密度的随机抽样聚类方法 (Deme-based sampling) 可以将这些鱼分为 16 种不同的基因型, 用基于网格的随机抽样聚类方法 (Grid-based sampling) 可以将来自东亚的 35 尾青鳉分为 26 种不同的基因型^[57]。FishPopTrace 是欧盟资助的一个正在进行之中的国际合作项目, 目的是试图利用大量的 SNP 标记研究和鉴定大西洋鳕、无须鳕、大西洋鲱和欧洲鳎等鱼类的渔获物或鱼类加工品的原产地, 为打击非法捕捞提供确凿的证据^[58]。Robalo, *et al.* 用 Cyt *b* 和 β -actin 基因的 SNPs 研究了鲤科 *Iberochondrostoma* 属鱼类的物种形成方式, 发现该属鱼类有一个较大的中央单元, 以及在不同时间形成的两个外围分支^[59]。

4 问题与展望

SNP 标记的出现, 极大地促进了遗传学、基因组学、育种学及其相关学科向更深入和更精细的方向发展。然而, SNPs 在水产动物遗传学与育种学等相关学科的研究与应用中还存在一些问题, 具体表现在以下几个方面: 1) 资源缺乏、背景较差。由于受到基因组背景以及研究经费等因素限制, 水产动物中的 SNPs 研究与应用状况与人类及高等哺乳类差距很大, 与畜牧业中的同类研究水平也有差距。迄今只有在斑马鱼等模式鱼类中的 SNPs 研究与应用达到较高水平; 在部分经济鱼类中开始有一些报道, 在其他水产经济动物中有关 SNP 方面的研究报道还很少见。在水产养殖动物中, 以 SNPs 标记为主的高密度遗传图谱还非常缺乏, 利用 SNPs 进行 QTL 定位或关联性分析的报道还罕见, 对一些性状 (例如肉质) 的研究几乎还是空白。2) 知识产权问题。一些著名的基因组公司纷纷加入 SNP 开发的竞争之中, 其专利申请将妨碍信息交流和各国研究者对这些 SNP 数据的无偿调用。3) 基因型-性状关系的复杂性。与人类疾病等复杂性状的 SNP 关联性分析目前所遇到的挑战一样, 水产养殖动物的经济性状基本

都是数量性状, QTLs 鉴定或 SNPs 与性状的关联性分析还处于初级阶段, 有关的研究结果在真正应用到遗传育种的设计之前还有待进一步验证或证实。

尽管起步较晚, 目前也还有很多困难, SNPs 作为一种迄今最为理想的遗传标记, 对于水产养殖动物的遗传与育种研究仍是一个巨大的进步, 它拉近了分子遗传标记与育种的距离, 是基因-表型之间的最好研究载体。随着水产行业科研经费投入的不断增多, 以及 SNP 分析技术的不断成熟和检测费用的降低, 在越来越多的水产经济动物中开展 SNPs 标记有关的遗传学和育种学研究将不再遥不可及。现在我们应当集中人力和物力, 在那些最重要或最具有代表性的水产养殖动物中加强 SNPs 位点的批量发掘及其与性状的关联性验证, 尤其要关注从基因或 EST 中发掘和鉴定“功能性”的 SNPs 位点, 争取在不久的将来构建以 SNPs 为主的高密度遗传图谱并进行 QTL 精细定位, 为遗传图谱与物理图谱的链接以及基因定位和克隆打下基础。有理由相信, SNPs 具有极大的潜力协助水产遗传学者鉴定、定位直至最终克隆到决定目标性状的基因或主效基因。假以时日, SNPs 必将在水产养殖动物的遗传学和分子育种研究中得到更加广泛的应用, 为遗传改良和新品种培育作出贡献。

参考文献:

- [1] Vignal A, Milan D, SanCristobal M, *et al.* A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics [J]. *Genetics Selection Evolution*, 2002, **34**: 275—305
- [2] Brookes A J. The essence of SNPs [J]. *Gene*, 1999, **234**: 177—186
- [3] Kruglyak L. The use of a genetic map of biallelic markers in linkage studies [J]. *Nature Genetics*, 1997, **17**: 21—24
- [4] Syvänen A C. Accessing genetics variation: genotyping single nucleotide polymorphisms [J]. *Nature Review Genetics*, 2001, **2**: 930—942
- [5] Cargill M, Altshuler D, Ireland J, *et al.* Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes [J]. *Nature Genetics*, 1999, **22**: 231—238
- [6] Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt S C, *et al.* A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms [J]. *Nature*, 2001, **409**: 928—933
- [7] Xiong M, Jin L. Comparison of the power and accuracy of biallelic and microsatellite markers in population-based gene-mapping methods [J]. *The American Journal of Human Genetics*, 1999, **64**: 629—640
- [8] Collins F S, Guyer M S, Chakravarti A. Variations on a theme: cataloging human DNA sequence variation [J]. *Science*, 1997, **278**: 1580—1581
- [9] Anthony B. SNP attack on complex traits [J]. *Nature Genetics*, 1998, **20**(3): 217—218
- [10] Saiki R K, Bugawan T L, Horn G T, *et al.* Analysis of enzymatically amplified β -globin and HLA-DQA DNA with allele-specific oligonucleotide probes [J]. *Nature*, 1986, **324**: 163—166
- [11] Marshall A, Hodgson J. DNA chips: An array of possibilities [J]. *Nature Biotechnology*, 1998, **16**: 27—31
- [12] Wang D, Fan J, Siao C, *et al.* Large-scale identification, mapping and genotyping of Single nucleotide polymorphism in human genome [J]. *Science*, 1998, **280**: 1077—1082
- [13] Martinsohn J, Ogden R. FishPopTrace-Developing SNP-based population genetic assignment methods to investigate illegal fishing [J]. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 2009, **2**: 294—296
- [14] Prince J A, Feuk L, Howell W M, *et al.* Robust and accurate single-nucleotide polymorphism genotyping by dynamic allele-specific hybridization (DASH): design criteria and assay validation [J]. *Genome Research*, 2001, **11**: 152—162
- [15] Hua G H, Chen S L, Yu J N, *et al.* Polymorphism of the growth hormone gene and its association with growth traits in Boer goat bucks [J]. *Meat Science*, 2008, **81**: 391—395
- [16] Bensch S, Akesson S, Irwin D E. The use of AFLP to find an informative SNP: genetic differences across a migratory divide in willow warblers [J]. *Molecular Ecology*, 2002, **11**: 2359—2366
- [17] Youil R, Kemper B W, Cotton R G. Screening for mutations by enzyme mismatch cleavage with T4 endonuclease VII [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1995, **92**: 87—91
- [18] Riesner D, Steger G, Zimmat R, *et al.* Temperature-gradient gel electrophoresis of nucleic acids: analysis of conformational transitions, sequence variations, and protein-nucleic acid interactions [J]. *Electrophoresis*, 1989, **10**: 377—389
- [19] Tian H, Jaquins-Gerstl H, Munro N, *et al.* Single-strand conformation polymorphism analysis by capillary and microchip electrophoresis: a fast, simple method for detection of common mutations in BRCA1 and BRCA2 [J]. *Genomics*, 2002, **63**: 25—34
- [20] He F, Wen S H, Dong S, *et al.* Identification of single nucleotide polymorphism cytochrome P450-c19a and its relation to reproductive traits in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *Aquaculture*, 2008, **279**: 177—181
- [21] Oefner P, Underhill P A. Comparative DNA sequencing by denaturing high-performance liquid chromatography [J]. *The American Journal of Human Genetics*, 1995, **57**: 755—761
- [22] Bagattin A, Veronese C, Bauce B, *et al.* Denaturing HPLC-based approach for detecting RYR2 mutations involved in malignant arrhythmias [J]. *Clinical Chemistry*, 2004, **50**: 1148—1155
- [23] Diao X M, Damon L. *Mutator* Transposon in Maize and *MULEs* in the Plant Genome [J]. *Acta Genetica Sinica*, 2006, **33**: 477—487 [刁现民, Damon L. 转座子及 MuLE 在植物基

- 因与基因组进化中的作用. 遗传学报, 2006, **33**: 477—487]
- [24] Li H, Rothberg L. Colorimetric detection of DNA sequences based on electrostatic interactions with unmodified gold nanoparticles [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2004, **101**: 14036—14039
- [25] Ohara E, Nishimura T, Nagakura Y, *et al.* Genetic linkage maps of two yellowtails (*Seriola quinqueradiata* and *Seriola lalandi*) [J]. *Aquaculture*, 2005, **244**: 41—48
- [26] Troggio M, Malacarne G, Coppola G, *et al.* A dense single-nucleotide polymorphism-based genetic linkage map of grapevine (*Vitis vinifera* L.) anchoring pinot noir bacterial artificial chromosome contigs [J]. *Genetics*, 2007, **176**: 2637—2650
- [27] Petkov P M, Cassell M A, Sargent E E, *et al.* Development of a SNP genotyping panel for genetic monitoring of the laboratory mouse [J]. *Genomics*, 2004, **83**: 902—911
- [28] Berger J, Suzuki T, Senti K A, *et al.* Genetic mapping with SNP markers in *Drosophila* [J]. *Nature Genetics*, 2001, **29**: 475—481
- [29] Han Y, Chagne D, Gasic K, *et al.* BAC-end sequence-based SNPs and Bin mapping for rapid integration of physical and genetic maps in apple [J]. *Genomics*, 2009, **93**: 282—288
- [30] Kucuktas H, Wang S L, Li P, *et al.* Construction of genetic linkage maps and comparative genome analysis of catfish using gene-associated markers [J]. *Genetics*, 2009, **181**: 1649—1660
- [31] Stickney H L, Schmutz J, Woods L G, *et al.* Rapid mapping of zebrafish mutations with SNPs and oligonucleotide microarrays [J]. *Genome Research*, 2002, **12**: 1929—1934
- [32] Pritchard J K, Przeworski M. Linkage disequilibrium in humans: models and data [J]. *The American Journal of Human Genetics*, 2001, **69**: 1—14
- [33] Li H X, Bai J J, Ye X, *et al.* Polymorphisms in the 5' flanking region of the insulin-like growth factor I gene are associated with growth traits in largemouth bass *Micropterus salmoides* [J]. *Fisheries Science*, 2009, **75**: 351—358
- [34] Wang X L, Meng X Y, Song B, *et al.* SNPs in the myostatin gene of the mollusk *Chlamys farreri*: Association with growth traits [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 2010, **155**: 327—330
- [35] Liu F P, Bai J J, Ye X, *et al.* Cloning of MC4R gene and study on the association between SNPs of MC4R and growth trait in tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2009, **16**: 816—823 [刘福平, 白俊杰, 叶星, 等. 罗非鱼 MC4R 基因克隆及其与生长相关的 SNPs 位点. 中国水产科学, 2009, **16**: 816—823]
- [36] Tao W J, Boulding E G. Associations between single nucleotide polymorphisms in candidate genes and growth rate in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) [J]. *Heredity*, 2003, **91**: 60—69
- [37] Gross R, Nilsson J. Restriction fragment length polymorphism at the growth hormone gene in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and its association with weight among the offspring of a hatchery stock [J]. *Aquaculture*, 1999, **173**: 73—80
- [38] Kang J H, Lee S J, Park S R. DNA polymorphism in the growth hormone gene and its association with weight in olive flounder *Paralichthys olivaceus* [J]. *Fisheries Science*, 2002, **68**: 494—498
- [39] Xu T J, Chen S L, Zhang Y X. MHC class IIa gene polymorphism and its association with resistance/susceptibility to *Vibrio anguillarum* in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2010, **34**: 1042—1050
- [40] Bao Y B, Li L, Zhang G F. Polymorphism of the superoxide dismutase gene family in the bay scallop (*Argopecten irradians*) and its association with resistance/susceptibility to *Vibrio anguillarum* [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2010, **34**: 553—561
- [41] Palti Y, Nichols K, Waller J E, *et al.* Association between DNA polymorphisms tightly linked to MHC class II genes and IHNV resistance in backcrosses of rainbow and cutthroat trout [J]. *Aquaculture*, 2001, **194**: 283—289
- [42] Lohm J, Grahn M, Langefors A, *et al.* Experimental evidence for major histocompatibility complex-allele-specific resistance to a bacterial infection [J]. *Proceedings Royal Society*, 2002, **269**: 2029—2033
- [43] Jeroen P J, Rene J M, Beja J. Molecular and functional characterization of carp TNF: a link between TNF polymorphism and trypanotolerance [J]? *Developmental and Comparative Immunology*, 2003, **27**: 29—41
- [44] He F, Wen H S, Yu D H, *et al.* Single Nucleotide Polymorphism of FSH β Gene Associated with Reproductive Traits in Japanese Flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *Journal of Ocean University of China*, 2010, **9**: 395—398
- [45] He F, Wen H S, Dong S L, *et al.* Identification of single nucleotide polymorphism cytochrome P450-c19a and its relation to reproductive traits in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *Aquaculture*, 2008, **279**: 177—181
- [46] He F, Wen H S, Dong S L, *et al.* Identification of estrogen receptor α gene polymorphisms by SSCP and its effect on reproductive traits in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology: Part B*, 2008, **150**: 278—283
- [47] Shi B, Wen H, He F, *et al.* Single nucleotide polymorphisms within the estrogen receptor beta gene are linked with reproductive indices in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 2009, **154**: 62—67
- [48] Shi B, Wen H, He F, *et al.* Association of reproductive performance with SNPs of FOXL2 gene by SSCP in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 2009, **153**: 1—7
- [49] Juszcuk-Kubiak E, Sakowski T, Flisikowski K, *et al.* Bo-

- vine mu-calpain (CAPN1) gene: new SNP within intron 14 [J]. *Journal of Applied Genetics*, 2004, **45**: 457—460
- [50] Ponsuksili S, Chomdej S, Murani E, *et al.* SNP detection and genetic mapping of porcine genes encoding enzymes in hepatic metabolic pathways and evaluation of linkage with carcass traits [J]. *Animal Genetics*, 2005, **36**: 477—483
- [51] Koga A, Wakamatsu Y, Kurosawa J, *et al.* Oculocutaneous Albinism in the i^6 mutant of the medaka fish is associated with a deletion in the tyrosinase gene [J]. *Pigment Cell Research*, 1999, **12**: 252—258
- [52] Rengmark A, Lingaas F. Genomic structure of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) transferrin gene and a haplotype associated with saltwater tolerance [J]. *Aquaculture*, 2007, **272**: 146—155
- [53] Stephens J C, Schneider J A, Tanguay D A, *et al.* Haplotype variation and linkage disequilibrium in 313 human genes [J]. *Science*, 2001, **293**: 489—493
- [54] Rengmark A H, Slettan A, Skaala O, *et al.* Genetic variability in wild and farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) strains estimated by SNP and microsatellites [J]. *Aquaculture*, 2006, **253**: 229—237
- [55] Pfrender M E, Hicks J, Lynch M. Biogeographic patterns and current distribution of molecular-genetic variation among populations of speckled dace, *Rhinichthys osculus* (Girard) [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2004, **30**: 490—502
- [56] Sušnik S, Sivka U, Snoj A. A set of nuclear DNA markers diagnostic for marble trout, *Salmo marmoratus* [J]. *Aquaculture*, 2008, **285**: 260—263
- [57] Katsumura T, Oda S, Mano S, *et al.* Genetic differentiation among local populations of medaka fish (*Oryzias latipes*) evaluated through grid- and deme-based sampling [J]. *Gene*, 2009, **443**: 170—177
- [58] Martinsohn J T, Ogden R. FishPopTrace-Developing SNP-based population genetic assignment methods to investigate illegal fishing [J]. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 2009, **2**: 294—296
- [59] Robalo J, Doadrio I, Valente A, *et al.* Almada VC. Insights on speciation patterns in the genus *Iberochondrostoma* (Cyprinidae): Evidence from mitochondrial and nuclear data [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2008, **46**: 155—166

《水生生物学报》编辑委员会

EDITORIAL BOARD OF ACTA HYDROBIOLOGICA SINICA

主 编 Chief Editor 桂建芳 GUI Jian-Fang

副主编 Associate Editor 解绶启 XIE Shou-Qi

委 员 Members (以姓氏拼音为序)

蔡庆华 CAI Qing-Hua	曹文宣 CAO Wen-Xuan	常剑波 CHANG Jian-Bo
陈家宽 CHEN Jia-Kuan	陈宜瑜 CHEN Yi-Yu	陈毅峰 CHEN Yi-Feng
高坤山 GAO Kun-Shan	何舜平 HE Shun-Ping	洪云汉 HONG Yun-Han
胡征宇 HU Zheng-Yu	李文鑫 LI Wen-Xin	李钟杰 LI Zhong-Jie
林浩然 LIN Hao-Ran	刘建康 LIU Jian-Kang	刘永定 LIU Yong-Ding
麦康森 MAI Kang-Sen	聂 品 NIE Pin	曲久辉 QU Jiu-Hui
沈韞芬 SHEN Yun-Fen	宋立荣 SONG Li-Rong	唐启升 TANG Qi-Sheng
王 丁 WANG Ding	吴灶和 WU Zao-He	吴振斌 WU Zhen-Bin
相建海 XIANG Jian-Hai	肖 伟 XIAO Wei	谢 平 XIE Ping
谢小军 XIE Xiao-Jun	熊邦喜 XIONG Bang-Xi	熊思岳 XIONG Si-Yue
徐旭东 XU Xu-Dong	杨先乐 YANG Xian-Le	于 丹 YU Dan
余其兴 YU Qi-Xing	游 力 YOU Li	张奇亚 ZHANG Qi-Ya
朱作言 ZHU Zuo-Yan	Harald Rosenthal (德国)	

编辑部 Editorial office 杜新征 DU Xin-Zheng 王 芹 WANG Qin 余 茜 YU Xi