

综述

鱼类线粒体 DNA 多态研究和应用进展

Advances in the study and application of fish mitochondrial DNA polymorphism

吕国庆 李思发

(农业部水产增殖生态、生理重点开放实验室, 上海水产大学 200090)

Lu Guoqing Li Sifa

(Key Laboratory of Ecology and Physiology in Aquaculture, Ministry of Agriculture, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090)

关键词 鱼类, 线粒体 DNA, 多态

Key words fish, mitochondrial DNA, polymorphism

自80年代以来, 线粒体 DNA(mtDNA)分析在动物进化遗传学、分子生态学、遗传多样性及其保护学领域得到了广泛应用。国内对鱼类 mtDNA 的研究, 主要集中于对 mtDNA 限制性内切酶酶切图谱的构建和分子大小的估算^[1-5, 8-15]。为了提高 mtDNA 在我国水产领域的研究和应用水平, 本文拟对鱼类 mtDNA 结构特征、多态研究方法及应用软件作一介绍, 同时概述 mtDNA 分析方法在鱼类种系发生、种群分化和渔业管理等方面的研究与应用进展。

1 鱼类 mtDNA 基因组结构与特征

1.1 结构

鱼类具有同其它脊椎动物一样的基因序列且较为保守(图1)^[80]。鱼类线粒体基因组包括13个蛋白质编码基因、2个 rRNA 基因、22个 tRNA 编码基因和1个非编码区。蛋白质编码基因分别为氧化辅酶 I (NADH)脱氢酶的7个亚基(ND1、ND2、ND3、ND4、ND4L、ND5、ND6)、细胞色素 b、细胞色素 c 氧化酶的3个亚基(COI、COII 和 COIII)、ATP 合成酶的2个亚基(ATPase 6 和 ATPase 8)。2个 rRNA 基因为12s 和16s rRNA 基因。22个 tRNA 基因编码的氨基酸自控制区按顺时针方向依次为: Pro、Thr、Glu、Leu、Ser、His、Arg、Gly、Lys、Asp、Ser、Tyr、Cys、Asn、Ala、Trp、Met、Ile、Glu、Leu、Val、Phe。mtDNA 的2条链分别为重链(H)和轻链(L), 其中 L 链仅编码 ND 6 和 7 个 tRNA, 其余基因皆由 H 链编码。

1.2 特征

1.2.1 分子较小 已报道了 50 多种鱼类 mtDNA 分子大小, 范围 15.2~19.8 kb^[1, 3, 4, 9-15, 41, 51, 52, 64, 70, 94]。mtDNA 分子大小有种间差异, 主要是由于重复序列的存在。如在基因 Thr-tRNA 和 Pro-tRNA 之间, 大西洋鳕(*Gadus morhua*)有 74 bp 的重复^[73], 高首鲟(*Acipenser transmontanus*)有 3 bp 的重复^[62], 大多数鱼类约有 5 bp 的重复^[81, 92]。

1.2.2 编码效率高 同核 DNA 相比, mtDNA 编码效率较高^[18, 49]。蛋白质编码基因无内含子, 基因间分隔

收稿日期: 1996-09-20

$$h = [1/(n-1)] \cdot [n(1 - \sum_{i=1}^l X_i/20)]$$

式中: X_i - i 种基因型的频率; l - mtDNA 基因型数目; n - 样本数量。

表 1 限制性内切酶片段长度多态测定(RELP)不同方法效果比较

Table 1 Comparison of effects of different methods of mtDNA - RFLP analysis

	末端标记 terminal marking	染色 staining	电泳转移和杂交 electrophoresis transfer and hybridization	毛细管转移和杂交 capillary transfer and hybridization
敏感性 sensitivity	H	M	M~H	M~H
费用 cost	H	L	H	H
效率 efficiency	M	H	M~H	M~H
检测范围(片段大小) measuring range(fragment size)	>10 bp	>100 bp	60~2 000 bp	>200 bp

注: H. 高(High); M. 中(Medial); L. 低(Low)。

(2) 核苷酸序列多样性^[84,85]

$$Jl = 2 \sum_{i < j} d_{ij} / n(n-1), \quad d_{ij} = (-\ln S_{ij}) / r, \quad S_{ij} = 2m_{ij} / (m_i + m_j)$$

式中: Jl - 种群的核苷酸多样性; d_{ij} - 序列 i 和 j 间, 每一点上核苷酸替换数; n - 基因型数。 S_{ij} - 任意两个基因型间的共享比例; r - 内切酶识别位点的碱基数; m_i 、 m_j - 第 i 和 j 基因型的内切酶切点数; m_{ij} - 第 i 和 j 基因型共有的酶切点数。

2.2.2 种间或种群间比较

(1) 核苷酸序列歧化^[84,85]

$$d_A = d_{XY} - (d_X + d_Y) / 2$$

式中: d_X 、 d_Y - 种群 X 和 Y 的 Jl 值; d_{XY} - 在 X 和 Y 群体间核苷酸替换的平均数量; d_A - 核苷酸序列歧化, 每一位点净核苷酸替换平均数。

(2) 相似指数

a. 通过 mtDNA 酶切片段的共享来估算核酸序列歧异^[95]

$$F = 2N_{xy} / (N_x + N_y), \quad P = 1 - \{0.5[-F + (F^2 + 8F)^{0.5}]\}^{1/r}$$

式中: F - 酶切片段的共享度(相似指数); N_x - 序列 X 的酶切片段数; N_y 、 N_{xy} - 序列 Y 及序列 X 和 Y 所共有的酶切片段数; P - 每个核苷酸替换的百分比, 由识别序列分别为 4、5、6 的酶求出后, 再平均; r - 内切酶识别位点的碱基数。

b. 通过酶切位点数来估算核苷酸的替换比例^[86]

$$S = 2N_{xy} / (N_x + N_y), \quad P = -\ln S / r$$

式中: N_x - 序列 X 的酶切位点数; N_y - 序列 Y 的酶切位点数; N_{xy} - 序列 X 和 Y 共有的酶切位点数; S - 酶切位点的相似指数; P - 每一位点的核苷酸的置换数量; r - 内切酶识别位点的碱基数

2.3 几个相关软件

2.3.1 内切酶分析软件包(REAP) REAP version 4.0 包含有 Generate、Reduce、Group、D、Dse、Dsize、DA、Monte、K 模块^[79]。其中, Generate 负责将基因型文件和内切酶文件归并成 1 个文件并统一格式; Reduce 负责去掉缺少多态的片段或切点数据, 以利分析; Group 负责基因型文件处理, 服务于 Generate; D 可形成核苷酸替换矩阵; Dse 是 D 的修饰, 产生更具描述性结果文件, 以估算进化距离; Dsize 也是 D 的修饰, 在一个具体的酶组合内估算进化距离; DA 可估算基因型、核苷酸多样性, 种群内及种群间的核苷酸歧异; Monte 可进行种群频率分布上地理杂合程度的 X^2 检验; K 可利用核苷酸序列资料来估算核苷酸替换矩阵。

2.3.2 分子方差分析(AMOVA)^[58] 主要用来估算种群间和种群内的方差组成, 同时进行方差的显著性检验, 还可在不同分化水平上估算基因型多样性相关程度(Φ_{st} 指数)。该软件需要建立 Group 文件和 Popula-

tion 文件,在 Windows 下运行。

2.3.3 系统发生演绎软件包(PHYLIP) 该软件所含程序包多,功能强。PHYLP version 3.4 的主菜单见张英培^[8]。应用该软件来构建鱼类基因型系统进化树时,需先在 REAP 下估算基因型间的进化距离。

3 应用

3.1 鱼类种和亚种间的系统发生关系

3.1.1 种间核苷酸序列歧异 已报道的鱼类种间核苷酸歧异值举例如下:大麻哈鱼 *Oncorhynchus* spp. 2.0~3.5^[89], 1.7~6.7^[63], 2.5~6.9^[93];红点鲑 *Salvelinus* spp. 0.4~4.3, 3.1~3.6^[66];白鲑 *Coregonus* spp. 1.4~5.9^[35];花鲈 *Poeciliopsis* spp. 11.5^[21];梭鲈 *Stizostedion* spp. 8.1~15.7^[40];鲮 *Notropis* spp. 14.0^[58];太阳鱼 *Lepomis* spp. 7.0~100^[22];鳊 *Gadopsis* spp. 6.6^[89];鳗鲡 *Anguilla* spp. 3.7^[20];豹鲈鱼 *Opsanus* spp. 10.1^[21];无须鳕 *Merluccius* spp. 11.6^[24]。

3.1.2 种间系统发生关系 宋平等^[3]对鲢亚科的鲢、鳊进行了 11 种内切酶分析,构建了酶切图谱。张四明等^[6]对 3 种鲫(方正鲫、白鲫、鲫)的 mtDNA 进行了 13 种内切酶分析。上述研究仅限于图谱的定性比较,未能进行遗传差异的定量分析。

国外有关研究大多集中在鲑鳟鱼类。Berg 等^[27]检测了虹鳟 *Oncorhynchus mykiss*、大麻哈鱼 *O. tshawytscha*、鳟 *Salmo trutta*、溪红点鲑 *S. fontinalis* 之间的分类关系;Gyllentsen 等^[66]研究确认虹鳟、褐色鳟 *Salmo clarkii* 同大麻哈鱼属鱼类的关系比鳟属的关系更近。Bernatchez 等、Ginatulina 等^[63]和 Grewe 等^[67]检测了鲑鳟鱼类属间的关系。Thomas 等^[93]检测了太平洋鲑科鱼类的进化。Bernatchez 等^[38]、Bernatchez 和 Dodson^[33,34]检测了鲑科、鲑科鱼类中的白鲑属鱼类的系统发生关系。Grewe^[67]检测了红点鲑属几种鱼的关系。最近 Bartlett 等^[23]通过 PCR 和直接测序法分析 mtDNA 的细胞色素 b 基因来确定金枪鱼属 4 种鱼类的关系。Billington 等^[39~42]检测了鲈形目中梭鲈属的 3 种梭鲈的 mtDNA 的变化,发现北美的大眼梭鲈(*S. vitreum vitreum*)和加拿大梭鲈(*S. canadense*)更接近,欧洲的暗斑梭鲈(*S. lucioperca*)与北美的大眼梭鲈相距较远。

在应用 mtDNA 分析方法研究种间关系时,应注意 RFLP 法主要适用于研究进化关系较近种之间的系统发生关系,用于相距较远种(歧化值大于 10%~15%)时需特别小心,其原因是较远种间的酶切片段同源性差,不能清晰地推演种间进化关系。相距甚远种之间的进化关系可以考虑用 PCR 扩增 mtDNA 的保守区域,并结合测序方法,通过比较序列的差异,来推测种间的系统发生关系^[53]。

3.1.3 种间杂交渐渗 鱼类种间杂交机会较多^[78]。Verspoor 等^[97]列举了在自然界观察到的和用生化方法(同工酶和 mtDNA 法)检测到的 66 个鱼类种间杂交渐渗事例。由于物种之间存在着遗传屏障,过去认为,杂交这一种间遗传基因转移方式在进化上的意义不大,甚至没有。但最近鱼类分子和生态的研究发现种间杂交在一些鱼类中占优势,并认为这类种间杂交渐渗即使稀少,也可能比简单的基因突变来得重要,可作为种内新遗传变异的来源^[17]。Avisé 等^[19]较早利用 mtDNA 多态性研究了太阳鱼属 *Lepomis* 鱼的杂交和渐渗。Billington 等^[42]通过 mtDNA 分析,认为由于任意放养加拿大梭鲈或加拿大梭鲈×大眼梭鲈单性种,已使加拿大梭鲈的 mtDNA 渐渗到大眼梭鲈中。

渐渗包括 1 种鱼类的基因渐渗到另 1 种鱼类的基因中(单向)及 2 种鱼类之间基因的相互渐渗(双向)^[56,98,100](表 2)。可能因淡水鱼类生殖隔离机制不如海洋鱼类完善,因而前者杂交种类较多。

3.1.4 亚种 Avisé 等^[20]发现了 2 种不同的 mtDNA 基因,可用来区分蓝鳃太阳鱼的 2 个亚种。Gonzalez-Villasenor^[65]研究底鳉 *Fundulus heteroclitus* 4 个群体的 mtDNA,从 48 个个体中检出 17 种限制性类型,将之分为 4 组,对应于 4 个群体。这 4 组可归并为 2 支,正好同形态分类上的 2 个亚种相对应。

亚种间的分化时间常难确定,mtDNA 法可通过检测亚种间的歧化距离,依据 mtDNA 基因序列每百万年发生 2% 歧化,推算亚种的分化时间。

3.2 种群水平上的差异

表 2 鱼类 mtDNA 渐渗杂交

Table 2 Cases of mtDNA introgressive hybridization in fish

单向 one-way			双向 two-way	
供体鱼类 supplier	受体鱼类 receiver	文献 literature	供体鱼类·受体鱼类 supplier-receiver	文献 literature
<i>Lepomis cyanellus</i>	<i>L. macrochirus</i>	[22]	<i>Oncorhynchus clarki lewisi</i>	[74]
<i>L. gulosus</i>	<i>L. macrochirus</i>	[22]	<i>O. c. clarki</i>	
<i>L. microlophus</i>	<i>L. macrochirus</i>	[22]	<i>Alosa fallax</i> , <i>A. alosa</i>	[26]
<i>L. macrochirus</i>	<i>L. microlophus</i>	[22]	<i>Notropis cornutus</i>	[56]
<i>L. auritus</i>	<i>L. cyanellus</i>	[22]	<i>N. chryscephalus</i> , <i>N. rubellus</i>	
<i>L. macrochirus purpureus</i>	<i>L. m. macrochirus</i>	[19]	<i>Notropis cornutus</i>	[57]
			<i>N. chryscephalus</i> , <i>N. rubellus</i> , <i>N. photogenis</i>	
<i>Stizostedion canadense</i>	<i>S. vitreum</i>	[42]	<i>Salvelinus alpinus</i>	[92]
<i>S. vitreum</i>	<i>S. canadense</i>	[40]	<i>S. namaycush</i>	

3.2.1 歧化距离 鱼类的 mtDNA 存在很大差异^[21,27,29,54],甚至可达种间水平。Lee 等^[74]检测得纵纹鲃 *Zacco temminckii* 的歧化值高达 19.8%,可能为 2 种鱼类。Avisé 等^[19]检测得蓝鳃太阳鱼 mtDNA 核苷酸序列的歧异为 8.5%。用 mtDNA 方法研究鱼类不同种群遗传歧异的报道很多。一般认为,种群之间的遗传变异程度与其生态习性及相关生活史密切相关。就已报道鱼类的歧化值来看,淡水鱼类遗传变异要比海水鱼类大,这同淡水鱼类栖息水体的分隔程度较大有关。

3.2.2 地理分布 用 mtDNA 方法检测地理隔离在鱼类群体间产生的遗传差异,是近年来鱼类分子遗传学研究热点之一^[28]。Ward 等^[99]研究加拿大大眼梭鲈 mtDNA 基因型分布,结果发现 3 个基因型组合中,1 组分布在大湖东部流域,另 1 组分布在大湖中间区域,最后 1 组分布在大湖的西部。Billington 和 Hebert^[41]对大湖区大眼梭鲈 mtDNA 基因型分布的研究也得到类似结果。Hazawa^[71]用 mtDNA 法分析日本 3 个地理分布上相距甚远的褐三齿雅罗鱼 *Tribolodon hakonensis* 群体之间的关系,共检测出 12 种 mtDNA (I~XII) 基因型,不同基因型呈显著的地域性分布。Mulligan^[83]分析了东白令海的 3 个地区和阿拉斯加湾 Shelikof 海峡狭鳕 (*Theragra chalcogramma*) 的 mtDNA 歧异,发现有几个狭鳕群体存在。Birt 等^[43]等分析了洄游性和半洄游性大西洋鲑不同地域性种群的 mtDNA 多态。Gold^[64]研究红似石首鱼 (*Sciaenops ocellatus*) 的群体结构,发现 397 条样本的 mtDNA 歧异代表了 13 个地理群。

Berningham^[30]用限制性内切酶方法对欧洲与北美大西洋鲑的 11 个繁殖群体进行 mtDNA 分析,发现北美起源的大西洋鲑同欧洲起源的大西洋鲑相比至少存在 7 个限制位点的差异。在西格林兰渔场,他们用 2 种有效的内切酶,从 68 尾鲑中判别出 67 尾的来源。Bermatchez 等对欧白鲑种群、鳟和彩虹胡瓜鱼 (*Osmorus mordax*) 种群的地理分布作了较详细的研究^[32,33,35~37]。对 75 个种群的 1 075 尾欧白鲑样本进行的 13 种内切酶的分析,结果共发现 110 种基因型,5 个基因型组^[31]。

3.2.3 遗传瓶颈 遗传瓶颈对 mtDNA 的影响要比对 nDNA 的大。mtDNA 呈母系遗传,只有雌鱼才得以遗传,因此,遗传瓶颈一旦发生,鱼类有效种群的大小就迅速减少一半^[16]。

3.2.4 遗传标志 传统的标志方法或因鱼太小不能标志,或因价格昂贵而不愿使用,因而许多学者注重于 mtDNA 遗传标志的开发和应用^[61,91,97]。对于湖鳟,天然繁殖群体 mtDNA 的遗传变异程度被用来作为人工繁殖群体移植到大湖区放养是否成功的数量遗传标志^[67]。Wirgin 等^[101,102]用 1 种 4 碱基识别序列的内切酶所切的片段谱型作为固定遗传标志以区分 Chesapeake 湾和 Roanoke 河的条纹石鲈。

3.2.5 养殖群体对天然群体的影响 Hindar 等^[72]概述了养殖群体对天然群体的影响。有直接影响,如杂交与渐渗;也有间接的,如竞争、病害和种群大小;还有遗传上的,如选择性和漂变。传统的遗传学方法通常不能区分引进的养殖群体和野生群体,因而不能评估放养鱼类能否成活、种内种间是否会发生渐渗,放养种是否会替代野生种等问题。mtDNA 遗传标志在养殖与野生鱼类的区分上的应用,效果令人鼓舞^[60]。Verspoor^[97]采用 mtDNA 的 RFLP 方法,成功区分挪威养殖的和野生大西洋鲑种群。Nielsen^[87]等对西太平洋沿岸 21 条支流和 9 个繁殖场的鲑鳟鱼类进行 mtDNA 分析,发现虹鳟、银大麻哈鱼 (*O. kisutch*) 和大鳞大

麻哈鱼分别有 9 种、5 种和 6 种基因型,虹鳟人工繁殖群体和野生群体间有显著差异。

3.2.6 渔业管理 持续的渔业产量依赖于对遗传上有差异的所有个体的充分保护^[91]。也就是说要维持鱼类最大的遗传多样性和遗传上的整体性,就要采取措施保护地方性适应的种群。作者对长江中下游“四大家鱼”种群遗传结构的 mtDNA 分析,发现鲢、鳙、青鱼存在遗传分化,可能有不同的遗传群体存在^[75]。Wigin 等^[101]在用 mtDNA 方法对条纹石鲈进行混合鱼群分析的基础上提出了种群管理的有益建议。

鱼类的人工养殖导致内交,产生有别于天然群体而适应于人工养殖环境的适应性特征。通过检测繁殖群体的遗传多样性,调整繁殖群体的结构(交配亲鱼的数量,遗传多样性等),可望阻止遗传漂变^[54,69]。

4 问题与展望

mtDNA 法的主要缺点是,mtDNA 分子无重组,为单元型,只相当于有许多等位基因的 1 个同工酶位点,所估计的基因多态比例常具有较大的方差。另外,某些 mtDNA 基因的快速进化会导致这些分化了的基因趋同,这在系统发育的重建与种群分析时常会引出误差^[58,80]。

鱼类 mtDNA 多态是普遍存在的。mtDNA 多态分析方法为研究鱼类系统发生、种群结构和渔业管理开拓了广阔的前景。例如,通过对鱼类 mtDNA 多态性的检测,可发现大量稀有基因型鱼类,对其进行人工繁殖,通过雌鱼将稀有基因型作为遗传标志传递给后代。又如,放养这些遗传标志鱼,可以了解养殖鱼类逃逸到天然水体对野生鱼类的影响,调控渔业捕捞量以及监测环境变化对鱼类资源的影响。

参 考 文 献

- 1 申宗侯,等.武昌鱼线粒体 DNA 限制性内切酶酶解图谱与 12S rRNA 基因的初步定位.水生生物学报,1993,17(2):174~180
- 2 吴乃虎,等.草鱼和鲤鱼线粒体 DNA 的分离纯化及其 COI 基因的分子克隆.动物学报,1991,37(4):375~381
- 3 宋平,等.鲢鳙线粒体 DNA 的九种限制性内切酶酶切图谱的比较.水产学报,1994,18(3):221~230
- 4 宋平,等.团头鲂线粒体 DNA 的限制性内切酶图谱.水生生物学报,1996,20(2):119~126
- 5 陈关君,等.鲤鱼、鲫鱼肌细胞线粒体 DNA 的限制性内切酶酶切图谱的比较.遗传学报,1984,11(2):141~146
- 6 张四明,等.方正银鲫、白鲫与鲫线粒体 DNA 限制性内切酶酶切比较.水产学报,1992,16(2):120~129
- 7 张亚平,等.动物线粒体 DNA 多态研究概况.动物学研究,1992,13(2):280~298
- 8 张英培.分子分类的若干问题.动物学研究,1994,15(4):1~10
- 9 晏勇,等.草鱼线粒体 DNA 限制性内切酶分析.淡水渔业,1994,24(3):30~31
- 10 崔建勋,等.三种鱼的 mtDNA 限制性内切酶酶切分析.动物学研究,1992,13(3):256,262
- 11 樊连春,等.鳊鱼 mtDNA 限制性内切酶图谱.武汉大学学报(自然科学版),1994,1:121~125
- 12 戴建华,等.鲢鱼线粒体 DNA 的酶切图谱.水产学报,1994a,18(4):312~320
- 13 戴建华,等.鳊鱼线粒体 DNA 的研究.遗传,1994b,16(5):6~9
- 14 戴建华,等.黄颡鱼线粒体 DNA 的分离纯化及多态性的检测.湖北师范学院学报(自),1994c,14(3):77~82
- 15 戴建华,等.胡子鲇 mtDNA 多态性及限制性酶切图谱.水生生物学报,1996,20(2):144~149
- 16 Allendorf F W, et al. Genetic and fishery management, past, present and future. In: N Ryman, F Utter eds. Population genetic and fishery management. WA: University of Washington Press, Seattle, 1987. 1~19
- 17 Arnold M L. Natural hybridization as an evolutionary process. Annu Rev Ecol Syst, 1992, 23: 237~261
- 18 Antardi G. Animal mitochondrial DNA: an extreme example of genetic economy. Int Rev Cyt, 1985, 93: 93~145
- 19 Avise J C, et al. Characterization of mitochondrial DNA variability in a hybrid swarm between subspecies of bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). Evolution, 1984, 38: 931~941
- 20 Avise J C, et al. Mitochondrial DNA differentiation in North Atlantic eels: population genetic consequences of an unusual life history pattern. Proc Natl Acad Sci USA, 1986, 83: 4 350~4 354
- 21 Avise J C, R C Vrijenhoek. Mode of inheritance and variation of mitochondrial DNA in hybridogenetic fishes of the genus *Poeciliopsis*. Mol Biol Evol, 1987, 4: 514~525

- 22 Avise J C, N C Saunders. Hybridization and introgression among species of sunfish (*Lepomis*): analysis by mitochondrial and allozyme markers. *Genetics*, 1984, 108: 237~255
- 23 Bartlett S E, W S Davidson. Identification of *Thunnus* tuna species by the polymerase chain reaction and direct sequence analysis of their mitochondrial cytochrome b genes. *Can J Fish Aquat Sci*, 1991, 48: 309~317
- 24 Becker I I, et al. Evolutionary divergence between sympatric species of southern African Hakes, *Merluccius capensis* and *M. paradoxus*. II. Restriction enzyme analysis of mitochondrial DNA. *Heredity*, 1988, 61: 21~30
- 25 Bentzen P, et al. Mitochondrial DNA polymorphism, population structure, and life history variation in the American shad. *Can J Fish Aquat Sci*, 1989, 46: 1 446~1 454
- 26 Bentzen P et al. Length and restriction site heteroplasmy in the mitochondrial DNA of American shad (*Alosa sapidissima*). *Genetics*, 1988, 118: 509~518
- 27 Berg W J, S D Ferris. Restriction endonuclease analysis of salmonid mitochondrial DNA. *Can J Fish Aquat Sci*, 1984, 46: 1 446~1 454
- 28 Bermingham E, J C Avise. Molecular zoogeography of freshwater fishes in the southeastern United States. *Genetics*, 1986, 113: 939~965
- 29 Bermingham E, et al. Size polymorphism and heteroplasmy in the mitochondrial DNA of lower vertebrates. *J Hered*, 1986, 77: 249~252
- 30 Bermingham E, et al. Discrimination between Atlantic salmon (*Salmo salar*) of North America and European origin using restriction analysis of mitochondrial DNA. *Can J Fish Aquat Sci*, 1991, 48: 664~803
- 31 Bernatchez L. A role for molecular systematics in defining evolutionary significant units in fishes. *Amer Fish Symp*, 1995, 17
- 32 Bernatchez L, A Osinov. Genetic diversity of trout (*Salmo* genus) from its most eastern native range based on mitochondrial DNA and nuclear gene variation. *Mol Ecol*, 1995, 4: 285~297
- 33 Bernatchez L, J Dodson. Mitochondrial DNA variation among anadromous populations of cisco (*Coregonus artedii*) as revealed by restriction analysis. *Can J Fish Aquat Sci*, 1990, 47: 533~543
- 34 Bernatchez L, J Dodson. Allopatric origin of sympatric populations of lake white fish (*Coregonus clupeaformis*) in the Allagash Basin, North Maine *Evolutin*, 1990b, 44: 1 263~1 271
- 35 Bernatchez L, et al. Population bottlenecks: inference on mitochondrial DNA diversity and its effect in coregonine stock discrimination. *J Fish Biol*, 1989, 35(Suppl. A): 233~244
- 36 Bernatchez L, et al. DNA sequence variation of the mitochondrial control region among geographically and morphologically remote European brown trout *Salmo trutta* populations. *Mol Ecol*, 1992, 1: 161~173
- 37 Bernatchez L, S Martin. Mitochondrial DNA diversity in anadromous rainbow smelt, *Osmerus mordax* Mitchell; a genetic assessment of the member - vagrant hypothesis. *Can J Fish Aquat Sci*, 1996, 53: 424~433
- 38 Bernatchez L, et al. Mitochondrial DNA sequence divergence heterogeneity among James - Hudson Bay anadromous coregonines. *Finn Fish Res*, 1988, 9: 17~26
- 39 Billington N P, D N Hebert. Allozyme and mitochondrial DNA variation among three species of Stizostedion (*Percidae*): phylogenetic and zoogeographical implications. *Can J Fish Aquat Sci*, 1990, 47: 1 093~1 102
- 40 Billington N, et al. Phylogenetic relationships among four members of stizostedion (*Percidae*) determined by mitochondrial DNA and allozyme analysis. *J Fish Biol*, 1991, 39: 251~258
- 41 Billington N, P D N Hebert. Mitochondrial DNA variation in Great Lakes walleye (*Stizostedion vitreum*) populations. *Can J Fish Aquat Sci*, 1988, 45: 643~654
- 42 Billington N, et al. Evidence of introgressive hybridization in the genus *Stizostedion*: interspecific transfer of mitochondrial DNA between sauger and walleye. *Can J Fish Aquat Sci*, 1988, 45: 2 035~2 041
- 43 Birt T P, et al. Analysis of mitochondrial DNA in allopatric anadromous and nonanadromous Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Can J Zool*, 1986, 64: 119~120
- 44 Brown W M, J Vinograd. Restriction endonuclease cleavage maps of animal mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1974, 71: 4 617~4 621
- 45 Brown W M. Evolution of animal mitochondrial DNAs. In: M Nei, R K Koehned. *Evolution of genes and proteins*. Sunderland

- MA: Sinauer, 1983. 62~88
- 46 Brown J R, et al. Mitochondrial DNA length variation and heteroplasmy in populations of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Genetics*, 1992, 132: 211~228
- 47 Brown J R, et al. Nucleotide sequence of the apocytochrome B gene in white sturgeon mitochondrial DNA. *Nucl Acids Res*, 1989, 4: 389
- 48 Buroker N E, et al. Length heteroplasmy of sturgeon mitochondrial DNA: anillegitimate elongation model. *Genetics*, 1990, 124: 157~163
- 49 Cantatore P, C Saccone. Organization, structure, and evolution of mammalian mitochondrial genes. *Int Rev Cytol*, 1987, 108: 149~208
- 50 Carr S M, Marshall H D. Detection of intraspecific DNA sequence variation in the mitochondrial cytochrome b gene of Atlantic cod (*Gadus morhua*) by the polymorase chain reaction. *Can J Fish Aqua Sci*, 1991, 48: 48~52
- 51 Chang Y S, et al. The complete nucleotide sequence and gene organization of carp (*Cyprinus carpio*) mitochondrial genome. *J Mol Evol*, 1994, 138~155
- 52 Chapman R W, et al. Comparisons of mitochondrial DNA variation in four alosid species as revealed by the total genome, the NADH dehydrogenase I and cytochrome b regions. In: A R Beaumonted. *Genetics and Evolution of Aquatic Organism*. [S.L.]: Chapman & Hall, 1994, 249~262
- 53 Chow S, et al. PCR - RFLP analysis on 13 western Atlantic snapper (*Subfamily Lutjaninae*): a single method for species and stock identification. *US Natl Mar Fish Serv Fish Bull*, 1993, 91: 619~627
- 54 Danznan R G, et al. Genetic discrimination of wild and hatchery populations of brook charr (*Salvelinus fontinalis*) (Mitchill) in the Ontario using mitochondrial DNA analysis. *J Fish Biol*, 1991, 39(suppl. A.): 69~77
- 55 Dowling T E, et al. Nucleic Acids II: Restriction site analysis. In: D M Hillis, C. Moritz eds. *Molecular systematics*. USA: Sinauer Associates Inc, 1990. 250~317
- 56 Dowling T E, et al. Reproductive isolation and introgression between *Notropis cornutus* and *Notropis chrysocephalus* (Family Cyprinidae): comparison of morphology, allozymes and mitochondrial DNA. *Evolution*, 1989, 43: 620~634
- 57 Dowling T E, W M Brown. Allozymes, mitochondrial DNA, and levels of phylogenetic resolution among four minnow species (*Notropis*: Cyprinidae). *Syst Zool*, 1989, 38: 126~143
- 58 Excoffier L, et al. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 1992, 131: 479~491
- 59 Ferris S D, W J Berg. The utility of mitochondrial DNA in fish genetics and fishery mangement. In: N Ryman, F Uiter eds. *Population genetics and fishery management*. Seattle WA: University of Washington Press, 1987. 277~299
- 60 Ferguson M. The role of molecular genetic markers in the management of cultured fishes. *Rev Fish Biol Fish*, 1994, 4: 351~373
- 61 Geller J B, et al. Interspecific and intrapopulation variation in mitochondrial ribosomal DNA sequences of *Mytilus* spp. (Bivalvia: Mollusca). *Mol Mar Biol Biotech*, 1993, 2: 44~55
- 62 Gilbert T L, et al. Sequence of tRNA - Thr and tRNA - Pro from white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) mitochondrial. *Nucleic Acids Res*, 1988, 16: 11 825
- 63 Ginatulina L K, et al. Divergence of sequences of mitochondrial DNA in Pacific salmon. *J Evol Biochem Physiol*, 1989, 24: 365~370
- 64 Gold J R, L R Richardson. Genetic studies in marine fishes IV: An analysis of population structure in the red drum (*Sciaenops ocellatus*) using mitochondrial DNA. *Fish Res*, 1991, 12: 213~241
- 65 Gonzalez - Villaseñor L I, et al. Characterization of cloned mitochondrial DNA from the teleost *Fundulus heteroclitus* and its usefulness as an interspecies hybridization probe. *Can J Fish Aquat Sci*, 1986, 43: 1 866~1 872
- 66 Grewe P M, P D M Hebert. Mitochondrial DNA variation in broodstocks of the lake trout. In: 39th Conference of the International Association for Great Lakes Research, Scarborough, Ont, Can, NY: LAGLR, Buffalo. 1986. 35
- 67 Grewe P M, et al. Phylogenetic relationships among members of *salvelinus* inferred from mitochondrial DNA divergence. *Can J Fish Aquat Sci*, 1990, 45: 2 114~2 122
- 68 Gyllensten U, A C Wilson. Mitochondrial DNA of salmonids: inter - and intraspecific variability detected with restriction enzymes.

- In: N Ryman, F Utter eds. Population genetics and fishery management. Seattle, WA: University of Washington Press, 1987. 301~317
- 69 Harris A S, et al. DNA fingerprinting of tilapia (*Oreochromis niloticus*) and its application to aquaculture genetics. *Aquaculture*, 1991, 92: 157~163
- 70 Hartley S E, et al. Mitochondrial DNA analysis of Scottish population of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). *J Fish Biol*, 1992, 219~224
- 71 Hazawa N, et al. Variability of mitochondrial DNA in Japanese dace *Tribolodon hakonensis* (Cyprinidae). *Jpn J Genet*, 1987, 62: 27~38
- 72 Hindar K N, et al. Genetic effects of cultured fish on natural fish population. *Can J Fish Aquat Sci*, 1991, 48: 945~957
- 73 Johansen S, et al. Organization of the mitochondrial genome of Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18: 217~411
- 74 Lee H Y, et al. A study on the speciation of a freshwater fish *Zacco temminckii* VII. Variation of mitochondrial DNA between two types of *Zacco temminckii*. *Korean J Zool*, 1988, 31: 236~242
- 75 Lu G, et al. Mitochondrial DNA diversity, population structure, and conservation genetics of four native cars species within the Yangtze R, China. *Can J Fish Aquat Sci*, 1996, 54: 47~58
- 76 Mangini M A, et al. A readily accessible method for cloning fish mitochondrial DNA to genetic homologous molecular probes. *Proc Congr Europ Ichthyol*, 1985. 233~237
- 77 Martin A P, et al. Population genetic structure of armorhead, *Pseudopentaceros wheeleri*, in the North Pacific Ocean; application of the polymerase chain reaction to fisheries problems. *Can J Fish Aquat Sci*, 1992, 48: 2 173~2 179
- 78 Mayr E. Animal species and evolution. Belknap Press Harvard, 1963. 797p
- 79 McElroy D, et al. REAP: An integrated environment for the manipulation and phylogenetic analysis of restriction data. *J Hered*, 1992, 83: 157~158
- 80 Meyer A. DNA technology and phylogeny of fish. In: A R Beaumont. Genetics and Evolution of Aquatic Organisms. Chapman and Hall. 1994. 219~249
- 81 Meyer A, A C Wilson. Origin of tetrapods inferred from their mitochondrial DNA affiliation to lungfish. *J Mol Evol*, 1990, 31: 359~364
- 82 Milinkovitch M C, et al. Revised phylogeny of whales suggested by mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Nature*, 1993, 361: 346~348
- 83 Mulligan T J, et al. Mitochondrial DNA analysis of walleye pollock, *Theragra chalcogramma*, from the Eastern Bering Sea and Shelik of Strait, Gulf of Alaska. *Can J Fish Aquat Sci*, 1992, 49: 319~326
- 84 Nei M, W H Li. Mathematic model for studying genetic variation in terms of restriction endonuclease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, 76: 5 296~5 273
- 85 Nei M, F Tajima. DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases. *Genetics*, 1981, 97: 145~163
- 86 Nei M, F Tajima. Maximum likelihood estimation of the number of nucleotide substitutions from restriction sites data. *Genetics*, 1983, 105: 207~217
- 87 Nielsen J L, et al. Difference in genetic diversity for mitochondrial DNA between hatchery and wild population of *Oncorhynchus*. *Can J Fish Aquat Sci*, 1994, 51(Suppl.1): 290~297
- 88 Nielsen J L, et al. Intrapopulation difference found in California steelhead using direct sequence of mtDNA. In: Park I K, Moran P, Waples R S eds. Applications of DNA technology to the management of Pacific salmon. USA: Dept Commer, NOAA tech Memo, 1994
- 89 Park K L, et al. Low levels of intraspecific variation in the mitochondrial DNA of chum salmo (*Onchorhynchus keta*). *Mol mar Biol Biotech*, 1993, 2(6): 262~370
- 90 Ovenden J R, R W G White. Mitochondrial DNA restriction site map for *Gadopsis marmoratus*. *Biochem Syst Ecol*, 1988, 16: 355~357
- 91 Ryman N, et al. Protection of intraspecific biodiversity of exploited fishes. *Rev Fish Biol Fisheries*, 1995, 5: 417~446
- 92 Stumbauer C, A Meyer. Genetic divergence, speciation and morphological studies in a lineage of African cichlid fish. *Nature*,

- 1992, 358: 578~581
- 93 Thomas W K, et al. Mitochondrial DNA analysis of pacific salmonid evolution. *Can J Zool*, 1986, 64: 1 058~1 064
- 94 Tzeng C S, et al. The complete nucleotide sequence of the *Crassostoma lacustre* mitochondrial genome: conservation and variation among vertebrates. *Nucleic Acids Res*, 1992, 18: 4 853~4 854
- 95 Upholt W B. Estimation of DNA sequence divergence from restriction endonuclease digests. *Nucleic Acids Res*, 1977, 4: 1 257~1 265
- 96 Vaughn K C, et al. Organelle alteration as a mechanism for maternal inheritance. *Science*, 1980, 208: 196~197
- 97 Verspoor E, J Hammar. Introgressive hybridization in fishes: the biochemical evidence. *J Fish Biol*, 1991, 39(Suppl. A): 309~334
- 98 Waldman J R, I I Wigin. What DNA can do for you. *Fisheries*, 1994, 19(7): 16~26
- 99 Ward R D, et al. Allozyme and mitochondrial DNA variation in populations of walleye, *Stizostedion vitreum*. *Can J Fish Aquat Sci*, 1989, 47: 2 074~2 084
- 100 Ward R D, P Grewe. Appraisal of molecular genetic techniques in fisheries. *Rev Fish Biol Fish*, 1994, 18: 7 313~7 318
- 101 Wigin I I, L Maceda. Development and use of striped bass - specific probes. *J Fish Biol*, 1992, 39(suppl. A): 159~167
- 102 Wigin I I, et al. Restriction endonuclease analysis of striped bass mitochondrial DNA: the Atlantic coastal migratory stock. *Ammer Fish Soci Symp*, 1990, 7: 475~491

1996 年~1998 年 3 届世界水产养殖年会概况

The review of 3 Annual Meetings of the World Aquaculture Society from 1996~1998

世界水产养殖学会年会每年举行一次,规模浩大,内容丰富,涉及水产养殖的所有领域,是水产养殖世界最高规格学术会议,已举办了 29 届。1996 年于泰国曼谷,1997 年在美国西雅图,1998 年在美国拉斯维加斯召开。大会 3 年来共收到论文 1 824 篇,其中涉及虾蟹类的论文 444 篇,品种主要为斑节对虾、白对虾、墨吉对虾、中国对虾,还有龙虾、淡水虾和蟹类。涉及鱼类的论文 887 篇,海水鱼和淡水鱼各约占一半,品种主要有鲤、鲶、鲟、鳊、鳙、鲈、鳊、杂交条纹鲈等等。涉及贝类的论文 170 篇,品种主要有牡蛎、珍珠贝、蛤、鲍、扇贝等等。研究藻类的论文较少,共 30 篇,大藻和微藻各占一半。涉及其他养殖品种的论文 28 篇,包括海胆、棘皮动物(海参)、腹足类、蛙类、甲鱼等。此外,养殖业可持续发展、市场信息、经济分析、法规、药物安全、质量卫生管理、水产养殖教育、计算机应用及地理信息系统等方面的论文 265 篇。中心论文中对养殖品种的研究领域主要包括养殖技术、育苗技术、环境优化及水处理、生理、营养、饵料、病害、病理、药理、遗传学、育种技术等方面。

从论文所涉及的研究领域可以分析目前的研究热点并预测今后的发展趋势。目前海水鱼养殖发展迅速,一些新的养殖品种在各国均有发展,有关鱼类生理学、营养、饵料的研究相当活跃。同时,随着养殖历史的延长,养殖环境变劣,病害开始出现,故环境和病害问题变得相当热门,鱼类养殖特别是网箱养鱼引发的环境污染问题已引起高度重视。鱼类新品种开发、遗传育种、基因工程技术等的研究投入不断加大。对虾养殖技术和苗种生产方面的研究方兴未艾,针对全球性对虾暴发病的发生,虾病特别是病毒病防治的研究及对虾养殖的环境问题受到极大关注。贝类方面以养殖及苗种生产技术为主,遗传育种和基因工程育种研究非常活跃,世界范围内贝类养殖环境与病害问题目前尚不突出。另外,水产养殖业的可持续发展日益引起各国的极大关注,包括海岸带的合理开发、生态环境保护、环境生物修复、多元立体养殖等方面。

每次会议的论文均来自约 60 个国家和地区,3 年中论文数量超过 20 篇的共有 14 个国家和地区。美国的论文数量为 865 篇,约占论文总数的一半(47.4%),居世界第一位,以下依次为:泰国(137 篇)、澳大利亚(68 篇)、巴西(60 篇)、加拿大(50 篇)、菲律宾(44 篇)、墨西哥(43 篇)、印度(43 篇)、中国台湾(41 篇)、日本(35 篇)、英国(35 篇)、中国(27 篇)、挪威(25 篇)、委内瑞拉(20 篇)。3 年中我国递交论文 27 篇,名列第 12 位,到会人数仅 5 人,递交论文数量和到会人数与其他国家相差甚大,也与水产养殖大国的地位极不相称。我国的水产养殖,历史悠久,产量第一,某些技术也处于领先地位,但在一些新技术的应用和养殖品种上与先进水平仍有较大差距。加强交流,引进国外先进技术和管理经验是赶超国际先进水平,促进我国水产养殖业可持续发展的有效途径。希望政府和有关部门给予足够重视,在政策和经费等方面大力支持。

供 稿 袁有宪(中国水产科学研究院黄海水产研究所)