



水产动物重要经济性状的分子基础及其遗传改良

桂建芳, 朱作言

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

E-mail: jfgui@ihb.ac.cn

2012-02-24 收稿, 2012-02-27 接受

国家重点基础研究发展计划(2010CB126301)、公益性农业科研专项(200903046)和淡水生态与生物技术国家重点实验室自主项目(2011FBZ17)资助

摘要 中国水产养殖的成就已被认为是中国对当今世界发展的一个重大贡献. 近 20 年来, 基因组学和其他遗传技术的进步显著推动着水产动物分子生物学和遗传育种学基础研究的发展. 进入 21 世纪后, 一些主要水产动物的全基因组测序已经完成或接近完成. 本文综述了包括基因组技术、体细胞核移植和干细胞技术在内的水产遗传改良技术的一些重要突破性进展, 概述了包括生殖、性别、生长、抗病、耐寒和耐低氧这些重要经济性状的分子基础, 列出了一系列与这些经济性状相关的候选基因. 最后, 介绍了几个特别是中国水产动物遗传改良在水产养殖中的应用事例, 强调了未来的发展方向.

关键词

水产基因组技术
体细胞核移植
干细胞技术
生殖相关基因
性别决定基因
生长相关基因
抗病相关基因
遗传改良

水产养殖已有大约 4000 年的历史, 中国是最早进行水产养殖的国家. 然而, 仅仅是在最近 50 年水产养殖才得到了快速的成功发展, 形成了产业, 这主要得益于 20 世纪 60 年代早期包括青、草、鲢、鳙“四大家鱼”人工繁殖技术的建立^[1]和 80 年代以来以遗传育种和病害控制为主的渔业生物技术的发展^[2]. 2010 年, 中国水产养殖产量已从 50 年前的每年不到 1 百万吨增加到 38.3 百万吨, 是农业和食品产业中增长率最快的产业. 养殖产量已占整个水产品总量的 71.3%, 达到全世界水产养殖产量的 70%. 水产养殖业已成为推动我国渔业持续快速稳定发展的主要力量, 在保障供给、稳定市场、保障国家粮食安全、促进贸易发展等方面都发挥了重要作用. 作为以最低的植物蛋白换取动物蛋白的最佳方法, 水产养殖已被权威的经济学家认为是世界上获取动物蛋白最有效率的技术, 是中国对世界的一个重大贡献.

进入 21 世纪后, 可持续发展渔业已成为世界共同关注的时代主题, 水产养殖对世界水产品供应的作用已在发达国家学者中达成共识^[3,4], 鱼类等水产

品作为较为安全的蛋白来源已得到社会的广泛认同^[5]. 与此同时, 中国的水产养殖正处在由传统养殖业向现代养殖业转变的关键时期, 而相应的基础性研究严重滞后已成为制约水产养殖发展的突出问题. 尤其是人工培育的良种还屈指可数, 主要养殖种类仍是依赖未经选育和改良的野生种; 水产养殖病害频发, 每年因病害造成的经济损失超过 150 亿元; 而应对病害的不合理和不规范用药又进一步导致养殖产品药物残留, 影响到水产品的质量和食品安全, 制约了水产养殖业的持续发展^[6]. 针对上述问题, 国家重点基础研究发展计划(973 计划)从 1999 年起, 陆续资助了包括“海水重要养殖生物病害发生和抗病力的基础研究(G19990120007)”、“重要养殖鱼类品种改良的遗传和发育基础研究(2004CB117400)”、“海水重要养殖生物病害发生和免疫防治的基础研究(2006-CB101800)”、“淡水池塘集约化养殖的基础科学问题研究(2009CB118700)”、“重要养殖鱼类功能基因组和分子设计育种的基础研究(2010CB126300)”、“养殖贝类重要经济性状的分子解析与设计育种基础研究

(2010CB126400)”和“海水养殖动物主要病毒性疫病爆发机理与免疫防治的基础研究(2012CB114400)”等 7 个研究项目,推动着水产动物遗传改良和病害控制基础研究的发展.特别是在养殖性状的遗传改良方面,阐明包括生殖、性别、生长、抗病、耐寒和耐低氧这些重要经济性状的分子生物学基础研究已经取得了重要突破或进展,尽管这些性状极为复杂,研究相当困难.本文将着重回顾近 10 年来该领域重要的突破性进展,特别是我国学者的主要学术成就,并展望未来发展前景.

1 水产动物的基因组学和基因组技术

1.1 已经进行全基因组测序的水产动物

21 世纪以来,随着人和主要模式动植物以及模式鱼类斑马鱼、河鲀、绿河鲀、青鳉和三棘刺鱼等全基因组的破译,沟鲶、尼罗罗非鱼、大西洋鲑、虹鳟、乌颊鲷、欧鲈和大西洋鳕等鱼类的基因组序列也相继被测定^[7,8];从 2010 年开始,我国从事水产动物研究的主要单位也相继宣布破译完成了半滑舌鳎、太平洋牡蛎、大黄鱼、橙点石斑鱼、鲤和牙鲆的全基因组序列(表 1).

2011 年,中国科学院水生生物研究所等研究机构也启动了对号称我国“四大家鱼”的草鱼、鲢和鳙的全基因组测序,分析了鳙和鲢的小 RNA 转录组的特征^[9].因此,我们相信,这些重要水产动物全基因组信息和其详细的分子解析,将为水产动物的性状改良和病害控制研究提供重要的参考和指导.

1.2 水产动物基因组技术

2007 年,美国奥本大学的刘占江教授组织全球范围内 40 多个从事水产基因组学研究的专家,编著出版了一本具有高度技术性和指导性的专著——《水

产基因组技术》^[10].依据这本书,主要的水产基因组技术包括由扩增片段长度多态性、微卫星和单核苷酸多态性组成的 DNA 标记技术,由 SOLiD 测序平台、Solexa 测序平台和 454 测序平台组成的新的 DNA 测序技术,由表达序列标签和完整转录组重测序构成的基因发现技术,由遗传连锁图谱、QTL 图谱、辐射杂种图谱和基于 BAC 的物理图谱组成的基因组图谱技术,以及由微阵列和基于序列标签的基因组表达分析技术等.

最近,中国已建立了大量的水产动物多态性 DNA 标记,并取得了重要进展.在多倍体银鲫中,包括转铁蛋白等位基因^[11]、SCAR^[12]、微卫星^[13]、AFLP^[14]和线粒体 DNA 顺序^[15,16]在内的几个重要分子标记已经被鉴定,并用这些标记揭示出银鲫单性雌核生殖和有性生殖双重生殖方式^[17,18].正如 Avise^[19]评价的那样,这一独特的双重生殖方式是在脊椎动物中第一个记录的事例,其发现解答了单性动物遗传多样性和长期存在的生殖机制,获得了对单性生殖动物演化遗传学研究的新见解^[18].在鲤中,随着多态性标记和基因组测序的发展,不同密度的连锁图被构建^[20~23],并用来定位耐寒^[20]和肌纤维相关^[22]的 QTLs;还以含有 92160 个克隆其插入子大小平均为 140 kb 的 BAC 文库构建了鲤物理图谱^[24,25].此外,草鱼的连锁图谱也已被构建^[26].作为基因位置克隆、物理图谱构建和基因组测序的必需步骤,包括银鲫^[27]、扇贝^[28]、凡纳滨对虾^[29]、草鱼^[30]和半滑舌鳎^[31]等的 BAC 文库已经建立,并进行了特征分析.

1.3 鱼类的体细胞核移植和干细胞技术

半个世纪以来,中国学者开创了鱼类细胞核移植研究并用于鱼类遗传育种^[32],对移植核的发育潜能和重编程也进行了详细的观察,获得了培养细胞

表 1 中国已宣布完成全基因组测序的水产动物

种名	基因组大小	预计基因数	主要发布机构	发布时间
半滑舌鳎 (<i>Cynoglossus semilaevis</i>)	520 Mb	2 万多个	中国水产科学研究院黄海水产研究所	2010 年 8 月
太平洋牡蛎 (<i>Crassostrea gigas</i>)	8 Gb	2 万多个	中国科学院海洋研究所	2010 年 8 月
大黄鱼 (<i>Pseudosciaena crocea</i>)	750 Mb	未提供数据	浙江海洋学院	2011 年 1 月
橙点石斑鱼 (<i>Epinephelus coioides</i>)	1.1 Gb	2 万多个	中山大学	2011 年 3 月
鲤 (<i>Cyprinus carpio</i>)	1.7 Gb	未提供数据	中国水产科学研究院水产生物应用基因组研究中心	2011 年 5 月
牙鲆 (<i>Paralichthys olivaceus</i>)	620 Mb	约 23000 个	中国水产科学研究院黄海水产研究所	2011 年 12 月

核移植的成体鲫鱼^[33,34]。近几年来,用长期培养细胞经核移植获得了斑马鱼^[35],且用鲤与鲫的属间克隆鱼分析了细胞质对移植核在发育过程中的影响^[36]。进而,鉴定了克隆的斑马鱼早期胚胎发育的一批差异表达基因^[37],明确了体细胞核移植斑马鱼发育的关键阶段^[38,39]。

干细胞培养和应用也在模式鱼青鳉和斑马鱼中获得了快速发展^[40,41]。由于鱼类生殖干细胞和胚胎干细胞的特异潜能,一些包括基因打靶、生殖细胞移植和通过核移植的半克隆在内的干细胞技术已经形成^[42,43]。特别值得一提的是, Yi 等人^[44]用半克隆技术创造出可育的半克隆雌性青鳉。这一新技术途径代表了利用培养生殖系细胞传代的显著进步,它将是克服包括人类在内的脊椎动物不育的一个潜在生殖技术。此外,原始生殖细胞(PGCs)和精原干细胞也能在不同种类的鲑鱼间移植,并获得了由供体形成的后代^[45~47]。与具有特异生殖方式的天然和人工多倍体相结合^[18,48],这种代孕技术途径将可用于产生多倍体的养殖品种,也可在拯救濒危野生动物物种中发挥重要作用。

2 水产动物经济性状的分子基础

2.1 生殖性状与候选的生殖相关基因

与哺乳动物相比,鱼类的生殖方式和生殖策略存在丰富的多样性和特殊性^[49,50]。由于这些多样性和特殊性,一些具有特殊生殖方式的鱼类已开始备受关注。银鲫已成为筛选鉴定与原始生殖细胞形成、卵母细胞成熟和卵子受精等生殖相关基因有潜在价值的鱼类。采用抑制性消减杂交和蛋白纯化途径^[51,52],一些重要基因,如生殖质标记 *vasa*^[53], *Dazl*^[54], 卵母细胞成熟相关因子 *cyclin A2*^[55], *C-type lectin*^[52], *Clq-like*^[56~58], 卵母细胞特异的 H2A 变体 *h2aflo*^[59] 和母源效应因子 *spindlin*^[60], 已被鉴定和功能分析。例如, Sun 等人^[61]通过研究纺锤素(Spindlin)在卵母细胞成熟过程中的动态分布,证实了 Spindlin 与 β -tubulin 以及纺锤体之间的相互作用,进而通过功能分析证实 Spindlin 这一母源效应因子是卵-胚转换中重要的调控分子之一。

众所周知,鱼类生殖受下丘脑-垂体-性腺轴中一连串激素的调节和控制。在这串激素中,下丘脑产生的促性腺激素释放激素(GnRHs)是主要的神经肽,由

垂体合成和分泌的促性腺激素(GtHs)将导致卵巢或精巢产生成熟的卵子或精子,而由垂体产生的多巴胺(DA)对 GnRHs 的功能有抑制作用^[62~64]。中国已在石斑鱼^[65]和中华鲟^[66]中报道了多个 GtHs。在鲤中已分离出 2 个 GnRH 变体^[67]。有意思的是,当鲤的 *sGnRH* 表达被反义转基因技术阻遏时,其血清中的 GtH-II 水平严重下降,且其性腺发育也随之受阻^[68]。进而 Xu 等人^[69]用性腺发育受阻败育的转基因鲤作为解析 HPG 轴全体基因表达变化的模型,在转反义 *sGnRH* 基因鲤下丘脑、垂体和性腺中分别揭示出 9, 28 和 212 个与生殖发育相关的差异表达基因,其中 87 个为新基因。这一研究不仅表明了反义 *sGnRH* 对于生殖发育的调控有通过 HPG 轴级联放大作用,而且为鉴定生殖相关基因和解析鱼类生殖发育的调控网络及其作用路径提供了新的见解。最近,周莉等人(未报道的结果)还采用 Roche 454 测序进行了成熟银鲫垂体和下丘脑转录组的高通量测序和功能评注,由此获得 878430 个高质量顺序(其平均长度为 480 ± 50 bp),这些顺序集合成了 51111 个 contigs 和 113046 个 singletons,揭示出 23012 个 unigenes;进而还采用 RNA-测序策略分析了这 23012 个 unigenes 在成熟的雌性和雄性下丘脑和垂体中的表达差异(详细结果即将发表)。

2.2 性别决定与候选的性别决定基因

鱼类因其特殊的进化地位和多样性已成为研究性别分化和决定的一类极具吸引力的动物资源,它囊括了从雌雄同体到雌雄异体、从环境控制到遗传调控等各种性别表现形式,为研究性别决定基因的结构、表达以及评价这些基因在性别级联调控通路中的功能和在进化中的保守性提供了各种可能^[70,71]。2002 年, Matsuda 等人^[72]在日本青鳉中鉴定出非哺乳动物的第一个性别决定基因 *DMY*,但很快证实该基因并不是鱼类中遍在的主要性别决定基因^[73]。重要的是, *DMRT1* 这一在脊椎动物中鉴定的第一个含有锌指 DNA 结合结构域的基因,也已在几乎所有研究过的两性和雌雄同体鱼类中显示出与雄性性腺发育及其随后的性腺分化紧密相连^[74]。作为一组雌性先熟雌雄同体的石斑鱼,其性腺发育发生了由卵巢到间性再到精巢的转换变化,且能同时观察到卵子发生和精子发生过程中不同阶段的细胞,因而是用来挖掘性别决定和性别分化相关基因的良好模型。Xia 等

人^[75]发现, 石斑鱼 *DMRT1* 特异表达于由雌向雄性反转性腺的生精细胞中; 而且, 在雌性先熟的细棘海猪鱼(*Halichoeres tenuispinis*)^[76]和黄鳍(*Monopterus albus*)^[77]以及雄性先熟的黑鲷(*Acanthopagrus schlegelii*)^[78,79]和金头鲷(*Sparus aurata*)^[80]等雌雄同体鱼类中, 也先后揭示出类似的生精细胞特异的动态表达图式。

虽然普遍认为 *SOX3* 在脊椎动物性别决定和分化中起重要作用, 但证据尚不充分甚至相互矛盾^[81]。在石斑鱼性腺中, 生殖上皮的一些特殊包囊同时含有原始生殖细胞、卵原细胞和精原细胞, 在很早期的原始生殖细胞中可检测出 *Sox3* 的表达。免疫荧光定位观察和分析表明, 在雌性性腺中, *SOX3* 蛋白存在于分化中的原始生殖细胞、卵原细胞和不同发育阶段的卵母细胞核中, 而在雄性性腺中则存在于分化中的原始生殖细胞和支持细胞中。*Sox3* 持续表达时, 原始生殖细胞朝卵原细胞和卵母细胞方向发育; 而 *Sox3* 表达停止时, 原始生殖细胞则进入精子发生过程。因而这一发现确信 *SOX3* 参与了卵原细胞分化和卵母细胞发育^[82]。

在雌雄同体赤点石斑鱼和黄鳍中^[83,84], 性腺特异的芳香化酶(*cyp19a1a*)也已被证实是围绕卵母细胞的滤泡层细胞表达的。启动子活性分析显示出大量的转录因子, 如 *SOX5*, *GATA* 基因家族, *CREB*, *AP1*, *FOXL1*, *C/EBP*, *ARE* 和 *SF-1* 等, 具有潜在结合的结构域, 且它们多数在已研究的鱼类中是保守的。最近提出的一个假说认为, 性腺芳香化酶上调不仅对诱发而且对保持卵巢分化都是必需的, 且下调是诱导巢巢分化途径的唯一必需步骤^[85]。

实际上, 几个重要的基因, 如 *FTZ-F1*, *SOX9*, *WT1*, *AMH*, *DMRT1* 和锌指转录因子 *GATA4* 已被假定为性别决定的候选基因, 并在雌雄同体的石斑鱼中提出了一个假定的性别决定和分化的级联调节网络^[86]。在哺乳动物中, 初始的性别决定基因被分为 4 类: I 类由精子发生必需的有雄性特异作用的 Y 基因组成; II 类是在雌性和雄性中以 2:1 比例表达的 X 基因; III 类是接收到一个亲本印迹的 X 基因; IV 类是能对基因组某些表观遗传状态发挥作用的特异于性别的异染色质区域^[87]。当然, 鱼类的性别决定机制也是复杂的, 因为鱼类与两栖类和爬行类的水生动物一样, 也包括雄性或雌性异形配子的遗传性别决定, 其性染色体或已有强烈的分化或完全没有分

化^[88,89]。最近报道表明, 欧洲树蛙性染色体的同形性不是来自于最近的倒转, 而是由偶尔的 X-Y 重组通过进化的时间尺度保持的, 意味着更为年轻的性染色体似乎也携带有早已建立的古老性别决定基因^[90]。进而, 除了标准染色体以外的 B 染色体在维多利亚湖的丽鱼(*Lithochromis rubripinnis*)中也发现有性别决定的功能作用^[91], 暗示一部分性染色体可能来源于 B 染色体。随着主要水产动物的全基因组序列被陆续解析和新一代测序技术的快速发展, 如同以前在人类和灵长类进行的一样^[92], 将鉴定出更多的性别决定基因, 其作用机制也将得以澄清。

2.3 生长性状与候选的生长相关基因

生长是养殖动物遗传改良最有价值的经济性性状之一, 因为生长速率增加可直接减少养殖成本和劳务投入, 因而提高经济效益。自生长激素基因被鉴定以来, 许多重要生长相关基因已被证实在脊椎动物的生长调节中起了决定性作用。通过综述家畜和鱼类的研究文献, 与生长相联系的大量候选基因受到高度关注, 这些基因包括在体细胞生长轴内主导生长的相关基因, 如生长激素(GH)、生长激素受体(GHR)、胰岛素样生长因子(IGF-I 和-II)、生长激素释放激素(GHRH)、瘦素和生长激素抑制激素(GHIH)等基因, 在肌肉组织中表达的重要转化生长因子基因, 如肌抑素(MSTN)和肌原性的调节因子(MRFs)以及其他可能的候选基因^[93]。通过引入包括补偿生长、遗传操作和体外组织培养等不同的生长研究模型, 探讨了肌肉生长的调节机制^[94]。

最近, 中国鱼类内分泌学学者也研究分析了几个重要的生长相关基因。例如, 在中华鲟^[95]和石斑鱼^[96-99]中已鉴定和分析了多个生长激素抑制激素和生长激素抑制激素受体基因。橙点石斑鱼的食欲素被发现与摄食有关, 且食欲素-A 在活体和离体都被证明为神经肽 Y(NPY)mRNA 表达的刺激因子^[100]。斑马鱼的脑肠肽(ghrelin)被证实在腺垂体发育生长激素表达中起了重要作用^[101]; 在转基因斑马鱼中还揭示卵泡抑素 1(*Fst1*)的过表达可促进肌肉生长^[102]。

2.4 抗病性状与候选的抗病相关基因

随着过去 30 年水产养殖的快速发展和高度的集约化, 许多养殖种类已受到由病毒、细菌、真菌、寄生虫或其他未确诊的新病原体引起的严重疾病威胁。

特别是在传染性的病毒病中,已从淡水和海水养殖动物中鉴定出大量的致病病毒^[103];草鱼出血病病毒(GCHV)^[104]、虾白点综合征病毒(WSSV)^[105]、鲺传染性脾肾坏死虹彩病毒(ISKNV)^[106]和牙鲆淋巴囊肿病毒中国株(LCDV-C)^[107]等病毒的全基因组已由中国学者测序。进而,研究了它们的结构蛋白特征^[108-111],还揭示了一些蛋白的功能^[112,113]。

为了鉴定保护鱼类免受病毒感染的相关基因,利用抑制性消减杂交技术,分离了从紫外线灭活GCHV病毒感染并诱导的CAB细胞差异表达基因^[114]。通过这一模型系统,已筛选克隆出一批干扰素(IFN)诱导的基因,在涉及干扰素抗病毒应答的抗病基因鉴定方面取得了突破性进展^[115-120]。重要的是,在鱼类中发现了一些新的干扰素诱导基因^[121],并解析了它们的功能及其信号通路^[122-124]。此外,已证明几个候选基因,如PKR^[125],PKR-like(或称为PKZ)^[126], β -Defensin^[127],TRBP^[128],C-型凝聚素^[129],酶E2^[130],MDA5和LGP2^[131]等,在鱼和虾的抗病毒防御反应中起了至关重要的作用。

2.5 耐寒性状与候选的耐寒相关基因

耐寒,即对寒冷环境的适应,是某些鱼类一个特别有趣的性状。一个最近的实验证据建议,一些鱼类可能携带有足够的遗传变异来适应温度的变化,耐寒性状可能受到强烈的选择^[132]。为了鉴定候选的耐寒相关基因和寒冷变化相关基因,已在南极鱼(*Dissostichus mawsoni*)中进行了包括脑、肝、肾和卵巢多组织的大规模EST测序,通过与非耐寒鱼类的比较转录组分析,已鉴定出一批适应于寒冷表达的重要基因^[133,134]。进而,发现鱼类的Ⅲ型抗冻蛋白起源于唾液酸合成酶的重复拷贝,首次揭示出避免适应冲突是新基因和新功能起源的一种演化机制^[135]。

2.6 耐低氧性状与候选的耐低氧相关基因

在包括爬行类、两栖类和鱼类在内的水生动物中,虽都观察到不同的低氧耐受性^[136,137],但其分子机制仍然不清楚。已知鲫在低温无氧的状态下可存活几天甚至几个月,因而用鲫囊胚细胞研究在低氧胁迫下基因表达的变化。通过抑制性消减杂交,共鉴定出211个差异表达基因,且绝大多数为低氧处理鱼类细胞的首次报道^[138]。

进而,几个潜在的耐低氧相关基因的分子特征及其功能作用已经被解析。例如,证实了血红素加氧酶-1(HO1)在低氧胁迫下对鱼体的保护功能^[139];草鱼胰岛素样生长因子结合蛋白-1(IGFBP1)在协调低氧诱发的胚胎生长阻滞和发育延迟中起着关键作用^[140];在模式鱼斑马鱼中发现了p53的一个新功能,即p53可直接通过抑制BNIP3的表达对低氧诱发细胞死亡有重要的保护作用^[141];同样是在人工构建的一个转透明颤菌血红蛋白基因(VHb)的稳定转基因斑马鱼中,通过比较该转基因鱼的表达谱,发现VHb基因的表达能部分缓和低氧胁迫,从而提高其存活率^[142]。

3 遗传改良在水产养殖中的应用

就整个世界来说,上述基因组技术,特别是分子标记,已被设计用于包括虹鳟、大西洋鲑、罗非鱼、沟鲈和观赏鱼等主要水产动物的育种计划和遗传改良,其在水产养殖中潜在的应用价值已得到水产遗传学家们的高度评价^[49,143-145]。

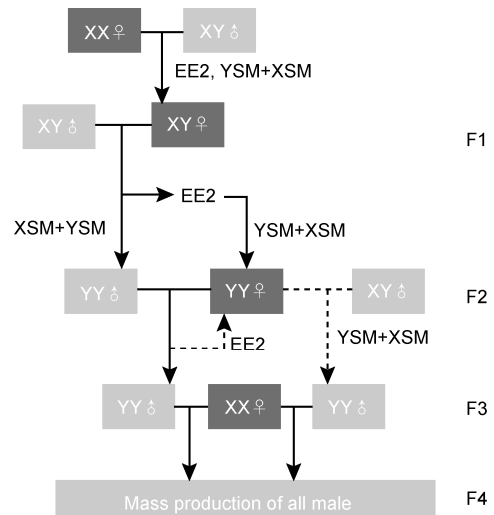
在中国,几个核基因组标记,如微卫星图谱、AFLP图谱、转铁蛋白等位基因和线粒体DNA全序列这一细胞质标记,已被用来分析鉴定由克隆D系雌性银鲫与克隆A系雄性银鲫有性交配所创造的一个新克隆系A⁺的遗传组成^[18]。研究结果表明,这个新克隆系A⁺的核基因组与A系银鲫的核基因组相同,而线粒体DNA全序列与D系银鲫的线粒体DNA相同。由此揭示克隆系A⁺是一个新的核质杂种克隆,其形成的机制是A系银鲫的精子在D系银鲫的卵质中经雄核发育产生^[146]。重要的是,A⁺克隆系仍保持有单性雌核生殖的能力,产生遗传性状与其克隆繁殖用的核质杂种母本完全一致的后代,遗传性状稳定,因而被国家水产原良种委员会审定水产养殖新品种,定名为异育银鲫“中科3号”。由于其重要的生长优势,已在全国建有10多个育苗场以雌核生殖方式扩繁这一新品种,并在全国进行了推广养殖^[146]。这一新的发现对开拓银鲫的遗传育种途径^[18]具有重要意义,因为由此产生的核质杂种克隆避免了在人工诱导雄核发育和核移植中使用的辐射和物理休克所造成的遗传和发育损伤^[146]。

此外,性别特异的分子标记也在中国被发展和应用。基于两性繁殖得到的黄颡鱼家系和人工雌核发育获得的XX雌鱼、XY雄鱼和YY超雄鱼^[147],经

AFLP 呈现, 已从黄颡鱼中分离出两对 X 染色体和 Y 染色体连锁的等位基因标记, 由此开拓出一条 X 和 Y 染色体连锁标记辅助的全雄黄颡鱼培育技术路线^[148]. 采用这一技术路线培育的全雄黄颡鱼, 已被国家水产原良种委员会审定为国家水产养殖新品种“黄颡鱼全雄 1 号”. 由于黄颡鱼雄性比雌性生长快, 并最终导致有 2~3 倍的大小差异, 因而全雄黄颡鱼已被大规模用于商品化生产. 最近, 由中国水产科学研究院北戴河中心实验站培育的“全雌牙鲈”也通过了国家水产新品种审定. 依据这些发展, 我们提出了一条大规模生产全雄鱼的集成性控技术路线^[148]. 如图 1 所示, 首先使用 Y 染色体特异标记(YSM)和 X 染色体特异标记(XSM), 从雌二醇(EE2)诱导的两性繁殖鱼苗的性反转后代中鉴定出 XY 生理雌鱼, 再通过 YSM 和 XSM 遗传鉴定, 从 XY 生理雌鱼与 XY 雄鱼交配后代中得到 25% 的 YY 超雄鱼. 然后, YY 生理雌鱼能从雌二醇(EE2)处理的 YY 小鱼中诱导出来; 接着, 通过 YY 生理雌鱼与 YY 超雄鱼交配, 即可持续生产 YY 超雄鱼. 随后, 将 YY 超雄鱼与 XX 雌鱼交配可用来大规模生产商品化的全 XY 雄鱼.

4 结论与展望

随着主要水产养殖动物全基因组的解析、基因组技术、体细胞核移植和干细胞技术的不断完善以及生殖、性别、生长、抗病、耐寒和耐低氧这些重要经济性状相关基因的鉴定和功能分析, 水产动物的遗传改良研究已开始步入分子设计育种研究的新时代. 未来几年的主要目标将是通过开展重要水产动物生殖、生长和抗性主要经济性状的功能基因组研究, 解



- 10 Liu Z J. Aquaculture Genome Technologies. Oxford, UK: Blackwell Publishing, Ames, IA, 2007
- 11 Yang L, Gui J F. Positive selection on multiple antique allelic lineages of transferrin in the polyploid *Carassius auratus*. *Mol Biol Evol*, 2004, 21: 1264–1277
- 12 Zhou L, Wang Y, Gui J F. Molecular analysis of silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch) clones by SCAR markers. *Aquaculture*, 2001, 201: 219–228
- 13 Guo W, Gui J F. Microsatellite marker isolation and cultured strain identification in *Carassius auratus gibelio*. *Aquaculture Int*, 2008, 16: 497–510
- 14 Wang D, Mao H L, Peng J X, et al. Discovery of a male-biased mutant family and identification of a male-specific SCAR marker in gynogenetic gibel carp *Carassius auratus gibelio*. *Prog Nat Sci*, 2009, 19: 1537–1544
- 15 Li F B, Gui J F. Clonal diversity and genealogical relationships of gibel carp in four hatcheries. *Anim Genet*, 2008, 39: 28–33
- 16 Jakovic I, Gui J F. Recent invasion and low level of divergence between diploid and triploid forms of *Carassius auratus* complex in Croatia. *Genetica*, 2011, 139: 789–804
- 17 Zhou L, Wang Y, Gui J F. Genetic evidence for gonochoristic reproduction in gynogenetic silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch) as revealed by RAPD assays. *J Mol Evol*, 2000, 51: 498–506
- 18 桂建芳, 周莉. 多倍体银鲫克隆多样性和双重生殖方式的遗传基础和育种应用. *中国科学: 生命科学*, 2010, 40: 97–103
- 19 Avise J C. Clonality: The Genetics, Ecology, and Evolution of Sexual Abstinence in Vertebrates. New York: Oxford University Press, 2008
- 20 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. *Aquaculture*, 2004, 238: 165–172
- 21 Cheng L, Liu L, Yu X, et al. A linkage map of common carp (*Cyprinus carpio*) based on AFLP and microsatellite markers. *Anim Genet*, 2009, 41: 191–198
- 22 Zhang Y, Xu P, Lu C, et al. Genetic linkage mapping and analysis of muscle fiber-related QTLs in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Mar Biotechnol*, 2010, 13: 376–392
- 23 Zheng X, Kuang Y, Zhang X, et al. A genetic linkage map and comparative genome analysis of common carp (*Cyprinus carpio* L.) using microsatellites and SNPs. *Mol Genet Genomics*, 2011, 286: 261–277
- 24 Li Y, Xu P, Zhao Z X, et al. Construction and characterization of the BAC library for common carp *Cyprinus Carpio* L. and establishment of microsynteny with Zebrafish *Danio Rerio*. *Mar Biotechnol*, 2010, 13: 706–712
- 25 Xu P, Li J, Li Y, et al. Genomic insight into the common carp (*Cyprinus carpio*) genome by sequencing analysis of BAC-end sequences. *BMC Genomics*, 2011, 12: 188
- 26 Xia J H, Liu F, Zhu Z Y, et al. A consensus linkage map of the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) based on microsatellites and SNPs. *BMC Genomics*, 2010, 11: 135
- 27 Geng F S, Zhou L, Gui J F. Construction and characterization of a BAC library for *Carassius auratus gibelio*, a gynogenetic polyploid fish. *Anim Genet*, 2005, 36: 535–536
- 28 Zhang Y, Zhang X, Scheuring C F, et al. Construction and characterization of two bacterial artificial chromosome libraries of Zhikong scallop, *Chlamys farreri* Jones et Preston, and identification of BAC clones containing the genes involved in its innate immune system. *Mar Biotechnol*, 2008, 10: 358–365
- 29 Zhang X, Zhang Y, Scheuring C, et al. Construction and characterization of a bacterial artificial chromosome (BAC) library of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Mar Biotechnol*, 2010, 12: 141–149
- 30 Jang S H, Liu H, Su J G, et al. Construction and characterization of two bacterial artificial chromosome libraries of grass carp. *Mar Biotechnol*, 2010, 12: 261–266
- 31 Shao C W, Chen S L, Scheuring C F, et al. Construction of two BAC libraries from half-smooth tongue sole *Cynoglossus semilaevis* and identification of clones containing candidate sex-determination genes. *Mar Biotechnol*, 2010, 12: 558–568
- 32 Yan S Y, Lu D Y, Du M, et al. Nuclear transplantation in teleosts: Hybrid fish from the nucleus of crucian and the cytoplasm of carp. *Sci Sin B*, 1984, 27: 1029–1034
- 33 Chen H, Yi Y, Chen M, et al. Studies on the developmental potentiality of cultured cell nuclei of fish. *Int J Biol Sci*, 2010, 6: 192–198
- 34 Deng C, Liu H. An unknown piece of early work of nuclear reprogramming in fish eggs. *Int J Biol Sci*, 2010, 6: 190–191
- 35 Lee K Y, Huang H, Ju B, et al. Cloned zebrafish by nuclear transfer from long-term-cultured cells. *Nat Biotechnol*, 2002, 20: 795–799
- 36 Sun Y H, Chen S P, Wang Y P, et al. Cytoplasmic impact on cross-genus cloned fish derived from transgenic common carp (*Cyprinus carpio*) nuclei and goldfish (*Carassius auratus*) enucleated eggs. *Biol Reprod*, 2005, 72: 510–515
- 37 Luo D, Hu W, Chen S, et al. Identification of differentially expressed genes between cloned and zygote-developing zebrafish (*Danio rerio*) embryos at the dome stage using suppression subtractive hybridization. *Biol Reprod*, 2009, 80: 674–684

- 38 Hu W, Zhu Z Y. Integration mechanisms of transgenes and population fitness of GH transgenic fish. *Sci China Life Sci*, 2010, 53: 401–408
- 39 Luo D J, Hu W, Chen S P, et al. Critical developmental stages for the efficiency of somatic cell nuclear transfer in zebrafish. *Int J Biol Sci*, 2011, 7: 476–486
- 40 Hong Y, Liu T, Zhao H, et al. Establishment of a normal medakafish spermatogonial cell line capable of sperm production *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 8011–8016
- 41 Hong N, Li Z, Hong Y. Fish stem cell cultures. *Int J Biol Sci*, 2011, 7: 392–402
- 42 徐红艳, 李名友, 桂建芳, 等. 鱼类生殖细胞. *中国科学: 生命科学*, 2010, 40: 124–138
- 43 易梅生, 洪旒, 李振东, 等. 青鳉干细胞及其应用. *中国科学: 生命科学*, 2010, 40: 115–123
- 44 Yi M, Hong N, Hong Y. Generation of medaka fish haploid embryonic stem cells. *Science*, 2009, 326: 430–433
- 45 Takeuchi Y, Yoshizaki G, Takeuchi T. Biotechnology: Surrogate broodstock produces salmonids. *Nature*, 2004, 430: 629–630
- 46 Okutsu T, Suzuki K, Takeuchi Y, et al. Testicular germ cells can colonize sexually undifferentiated embryonic gonad and produce functional eggs in fish. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 2725–2729
- 47 Okutsu T, Shikina S, Kanno M, et al. Production of trout offspring from triploid salmon parents. *Science*, 2007, 317: 1517
- 48 刘少军. 远缘杂交导致不同倍性鱼的形成. *中国科学: 生命科学*, 2010, 40: 104–114
- 49 桂建芳. 鱼类性别和生殖的遗传基础及其人工控制. 北京: 科学出版社, 2007
- 50 Jalabert B. Particularities of reproduction and oogenesis in teleost fish compared to mammals. *Reprod Nutr Dev*, 2005, 45: 261–279
- 51 Xie J, Wen J J, Chen B, et al. Differential gene expression in fully grown oocytes between gynogenetic and gonochoristic crucian carps. *Gene*, 2001, 271: 109–116
- 52 Dong C H, Yang S T, Yang Z A, et al. A C-type lectin associated and translocated with cortical granules during oocyte maturation and egg fertilization in fish. *Dev Biol*, 2004, 265: 341–354
- 53 Xu H Y, Gui J F, Hong Y H. Differential expression of *vasa* RNA and protein during spermatogenesis and oogenesis in the gibel carp (*Carassius auratus gibelio*), a bisexually and gynogenetically reproducing vertebrate. *Dev Dyn*, 2005, 233: 872–882
- 54 Peng J X, Xie J L, Zhou L, et al. Evolutionary conservation of *Dazl* genomic organization and its continuous and dynamic distribution throughout germline development in gynogenetic gibel carp. *J Exp Zool Part B*, 2009, 312B: 855–871
- 55 Xie J, Wen J J, Yang Z A, et al. Cyclin A2 is differentially expressed during oocyte maturation between gynogenetic silver crucian carp and gonochoristic color crucian carp. *J Exp Zool*, 2003, 295: 1–16
- 56 Chen B, Gui J F. Identification of a novel C1q family member in color crucian carp (*Carassius auratus*) ovary. *Comp Biochem Phys B*, 2004, 138: 285–293
- 57 Mei J, Chen B, Yue H M, et al. Identification of a C1q family member associated with cortical granules and follicular cell apoptosis in *Carassius auratus gibelio*. *Mol Cell Endocrinol*, 2008, 289: 67–76
- 58 Mei J, Zhang Q Y, Li Z, et al. *C1q-like* inhibits *p53*-mediated apoptosis and controls normal hematopoiesis during zebrafish embryogenesis. *Dev Biol*, 2008, 319: 273–284
- 59 Wu N, Yue H M, Chen B, et al. Histone H2A has a novel variant in fish oocytes. *Biol Reprod*, 2009, 81: 275–283
- 60 Wang X L, Sun M, Mei J, et al. Identification of a Spindlin homolog in gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 2005, 141: 159–167
- 61 Sun M, Li Z, Gui J F. Dynamic distribution of spindlin in nucleoli, nucleoplasm and spindle from primary oocytes to mature eggs and its critical function for oocyte-to-embryo transition in gibel carp. *J Exp Zool*, 2010, 313A: 461–473
- 62 Mylonas C C, Fostier A, Zanuy S. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *Gen Comp Endo*, 2010, 165: 516–534
- 63 Zohar Y, Muñoz-Cueto J A, Elizur A, et al. Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. *Gen Comp Endocrinol*, 2010, 165: 438–455
- 64 李文笙, 林浩然. 鱼类生长激素合成与分泌的内分泌调控网络: 垂体生长激素分泌细胞中的信号整合. *中国科学: 生命科学*, 2010, 40: 149–158
- 65 Li C J, Zhou L, Wang Y, et al. Molecular and expression characterization of three gonadotropin subunits common α , FSH β and LH β in groupers. *Mol Cell Endocrinol*, 2005, 233: 33–46
- 66 Cao H, Zhou L, Zhang Y Z, et al. Molecular characterization of Chinese sturgeon gonadotropins and cellular distribution in pituitaries of mature and immature individuals. *Mol Cell Endocrinol*, 2009, 303: 34–42
- 67 Li S, Hu W, Wang Y, et al. Cloning and expression analysis in mature individuals of two chicken type-II GnRH (cGnRH-II) genes in common carp (*Cyprinus carpio*). *Sci China Ser C Life Sci*, 2004, 47: 349–358
- 68 Hu W, Li S, Tang B, et al. Antisense for gonadotropin-releasing hormone reduces gonadotropin synthesis and gonadal development in transgenic common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 2007, 271: 498–506

- 69 Xu J, Huang W, Zhong C, et al. Defining global gene expression changes of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in female sgnrh-antisense transgenic common carp (*Cyprinus carpio*). PLoS ONE, 2011, 6: e21057
- 70 Brunner B, Hornung U, Shan Z, et al. Genomic organization and expression of the double-sex related gene cluster in vertebrates and detection of putative regulatory regions for DMRT1. Genomics, 2001, 77: 8–17
- 71 Delvin R H, Nagahama Y. Sex determination and sex differentiation in fish. Aquaculture, 2002, 208: 191–364
- 72 Matsuda M, Nagahama Y, Shinomiya A, et al. DMY is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish. Nature, 2002, 417: 559–663
- 73 Volff J N, Kondo M, Scharl M. Medaka dmY/dmrt1Y is not the universal primary sex-determining gene in fish. Trends Genet, 2003, 19: 196–199
- 74 Herpin A, Scharl M. *Dmrt1* genes at the crossroads: A widespread and central class of sexual development factors in fish. FEBS J, 2011, 278: 1010–1019
- 75 Xia W, Zhou L, Yao B, et al. Differential and spermatogenic cell-specific expression of DMRT1 during sex reversal in protogynous hermaphroditic groupers. Mol Cell Endocrinol, 2007, 263: 156–172
- 76 Jeong H B, Park J G, Park Y J, et al. Isolation and characterization of DMRT1 and its putative regulatory region in the protogynous wrasse, *Halichoeres tenuispinis*. Gene, 2009, 438: 8–16
- 77 Huang X, Guo Y, Shui Y, et al. Multiple alternative splicing and differential expression of dmrt1 during gonad transformation of the rice field eel. Biol Reprod, 2005, 73, 1017–1024
- 78 He C L, Du J L, Wu G C, et al. Differential Dmrt1 transcripts in gonads of the protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegelii*. Cytogenet Genome Res, 2003, 101: 309–313
- 79 Wu G C, Chiu P C, Lin C J, et al. Testicular dmrt1 is involved in the sexual fate of the ovotestis in the protandrous black porgy. Biol Reprod, 2012, 86: 41
- 80 Liarte S, Chaves-Pozo E, Garcia-Alcazar A, et al. Testicular involution prior to sex change in gilthead seabream is characterized by a decrease in DMRT1 gene expression and by massive leukocyte infiltration. Reprod Biol Endocrinol, 2007, 5: 20
- 81 Graves J A M. Weird animal genomes and the evolution of vertebrate sex and sex chromosomes. Annu Rev Genet, 2008, 42: 565–586
- 82 Yao B, Zhou L, Wang Y, et al. Differential expression and dynamic changes of SOX3 during gametogenesis and sex inversion in protogynous hermaphroditic fish. J Exp Zool, 2007, 307A: 207–219
- 83 Huang W, Zhou L, Li Z, et al. Expression pattern, cellular localization and promoter activity analysis of ovarian aromatase (Cyp19a1a) in protogynous hermaphrodite red-spotted grouper. Mol Cell Endocrinol, 2009, 307: 224–236
- 84 Zhang Y, Zhang W, Yang H, et al. Two cytochrome P450 aromatase genes in the hermaphrodite rice field eel *Monopterus albus*: mRNA expression during ovarian development and sex change. J Endocrinol, 2010, 199: 317–331
- 85 Guiguen Y, Fostier A, Piferrer F, et al. Ovarian aromatase and estrogens: A pivotal role for gonadal sex differentiation and sex change in fish. Gen Comp Endocrinol, 2010, 165: 352–366
- 86 Zhou L, Gui J F. Molecular mechanisms underlying sex change in hermaphroditic groupers. Fish Physiol Biochem, 2010, 36: 181–193
- 87 Arnold A P. The end of gonad-centric sex determination in mammals. Trends Genet, 2012, 28: 55–61
- 88 Quinn A E, Sarre S D, Ezaz T, et al. Evolutionary transitions between mechanisms of sex determination in vertebrates. Biol Lett, 2011, 7: 443–448
- 89 Mank J E. Small but mighty: The evolutionary dynamics of W and Y sex chromosomes. Chromosome Res, 2012, 20: 21–33
- 90 Stöck M, Horn A, Grossen C, et al. Ever-young sex chromosomes in European tree frogs. PLoS Biol, 2011, 9: e1001062
- 91 Yoshida K, Terai Y, Mizoiri S, et al. B chromosomes have a functional effect on female sex determination in lake victoria cichlid fishes. PLoS Genet, 2011, 7: e1002203
- 92 Hughes J F, Skaletsky H, Pyntikova T, et al. Chimpanzee and human Y chromosomes are remarkably divergent in structure and gene content. Nature, 2010, 463: 536–539
- 93 De-santis C, Jerry D R. Candidate growth genes in finfish—Where should we be looking? Aquaculture, 2007, 272: 22–38
- 94 Johnston I A, Bower N I, Macqueen D J. Growth and the regulation of myotomal muscle mass in teleost fish. J Exp Biol, 2011, 214: 1617–1628
- 95 Li C J, Wei Q W, Zhou L, et al. Molecular and expression characterization of two somatostatin genes in the Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 2009, 154: 127–134
- 96 Ye X, Li W S, Lin H R. Polygenic expression of somatostatin in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*): Molecular cloning and distribution of the mRNAs encoding three somatostatin. Mol Cell Endocrinol, 2005, 241: 62–72
- 97 Zhang L, Li W S, Hong X, et al. Regulation of preprosomatostatin I (PSSI) gene expression by 17 β -estradiol and identification of the PSSI promoter region in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). Mol Cell Endocrinol, 2009, 311: 87–93

- 98 Liu Y, Lu D, Zhang Y, et al. The evolution of somatostatin in vertebrates. *Gene*, 2010, 463: 21–28
- 99 Dong H, Li W, Lin H. Comparative analyses of sequence structure, evolution, and expression of four somatostatin receptors in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). *Mol Cell Endocrinol*, 2010, 323: 125–136
- 100 Yan A F, Zhang L J, Tang Z G, et al. Orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) orexin: Molecular cloning, tissue expression, ontogeny, daily rhythm and regulation of NPY gene expression. *Peptides*, 2011, 32: 1363–1370
- 101 Li X, He J, Hu W, et al. The essential role of endogenous ghrelin in growth hormone expression during zebrafish adenohypophysis development. *Endocrinol*, 2009, 150: 2767–2774
- 102 李西, 聂芬, 殷战, 等. 转基因高表达卵泡抑素 1 对斑马鱼肌肉生长促进作用研究. *中国科学: 生命科学*, 2011, 41: 53–60
- 103 张奇亚. 我国水生动物病毒病研究概况. *水生生物学报*, 2002, 26: 89–101
- 104 Qiu T, Lu R H, Zhang J, et al. Complete nucleotide sequence of the S10 genome segment of grass carp reovirus (GCRV). *Dis Aqua Org*, 2001, 44: 69–74
- 105 Yang F, He J, Lin X H, et al. Complete genome sequence of the shrimp white spot bacilliform virus. *J Virol*, 2001, 75: 11811–11820
- 106 He J G, Deng M, Weng S P, et al. Complete genome analysis of the mandarin fish infectious spleen and kidney necrosis iridovirus. *Virology*, 2001, 291: 126–139
- 107 Zhang Q Y, Xiao F, Xie J, et al. Complete genome sequence of lymphocystis disease virus (LCDV-C) isolated from China. *J Virol*, 2004, 78: 6982–6994
- 108 Xie X X, Xu L M, Yang F. Proteomic analysis of the major envelope and nucleocapsid proteins of white spot syndrome virus. *J Virol*, 2006, 80: 10615–10623
- 109 Zhou Q, Xu L, Li H, et al. Four major envelope proteins of white spot syndrome virus bind to form a complex. *J Virol*, 2009, 83: 4709–4712
- 110 Zhao Z, Ke F, Huang Y H, et al. Identification and characterization of a novel envelope protein in *Rana grylio* virus. *J Gen Virol*, 2008, 89: 1866–1872
- 111 Dong C F, Xiong X P, Shuang F, et al. Global landscape of structural proteins of infectious spleen and kidney necrosis virus. *J Virol*, 2011, 85: 2869–2877
- 112 Zhao Z, Shi Y, Ke F, et al. Constitutive expression of thymidylate synthase from LCDV-C induces a transformed phenotype in fish cells. *Virology*, 2008, 372: 118–126
- 113 Wang Z L, Xu X P, He B L, et al. Infectious spleen and kidney necrosis virus ORF48R functions as a new viral vascular endothelial growth factor. *J Virol*, 2008, 82: 4371–4383
- 114 张义兵, 张奇亚, 徐德全, 等. 从灭活病毒诱导的培养细胞中鉴定鱼类抗病毒相关基因. *科学通报*, 2003, 48: 457–463
- 115 Zhang Y B, Gui J F. Molecular characterization and IFN signal pathway analysis of *Carassius auratus* *CaSTAT1* identified from the cultured cells in response to virus infection. *Dev Comp Immunol*, 2004, 28: 211–227
- 116 Zhang Y B, Gui J F. Identification and expression analysis of two IFN-inducible genes in crucian carp (*Carassius auratus* L.). *Gene*, 2004, 325: 43–51
- 117 Hu C Y, Zhang Y B, Huang G P, et al. Molecular cloning and characterization of a fish PKR-like gene from the cultured CAB cells induced by UV-inactivated virus. *Fish Shellfish Immunol*, 2004, 17: 353–366
- 118 Zhang Y B, Jiang J, Chen Y D, et al. The innate immune response to grass carp Haemorrhagic Virus (GCHV) in cultured *Carassius auratus* Blastulae (CAB) cells. *Dev Comp Immunol*, 2007, 31: 232–243
- 119 Zhang Y B, Wang Y L, Gui J F. Identification and characterisation of two homologs of interferon stimulated gene ISG15 in crucian carp. *Fish Shellfish Immunol*, 2007, 23: 52–61
- 120 Shi Y, Zhang Y B, Zhao Z, et al. Molecular characterization and subcellular localization of *Carassius auratus* interferon regulatory factor-1. *Dev Comp Immunol*, 2008, 32: 134–146
- 121 Jiang J, Zhang Y B, Li S, et al. Expression regulation and functional characterization of a novel interferon-inducible gene *Gig2* and its promoter. *Mol Immunol*, 2009, 46: 3131–3140
- 122 Yu F F, Zhang Y B, Liu T K, et al. Fish virus-induced interferon exerts antiviral function through Stat1 pathway. *Mol Immunol*, 2010, 47: 2330–2341
- 123 Sun F, Zhang Y B, Liu T K, et al. Characterization of fish IRF3 as an IFN-inducible protein reveals evolving regulation of IFN response in vertebrates. *J Immunol*, 2010, 185: 7573–7582
- 124 Sun F, Zhang Y B, Liu T K, et al. Fish MITA activation serves as a mediator for distinct fish IFN gene activation dependent on IRF3 or IRF7. *J Immunol*, 2011, 187: 2531–2539
- 125 Zhu R, Zhang Y B, Zhang Q Y, et al. Functional domains and the antiviral effect of the double-stranded RNA-dependent protein kinase PKR from *Paralichthys olivaceus*. *J Virol*, 2008, 82: 6889–6901

- 126 Liu T K, Zhang Y B, Liu Y, et al. Cooperative roles of fish PKZ and PKR in IFN-mediated antiviral response. *J Virol*, 2011, 85: 12769–12780
- 127 Jin J Y, Zhou L, Wang Y, et al. Antibacterial and antiviral roles of a fish β -defensin expressed both in pituitary and testis. *PLoS ONE*, 2010, 5: e12883
- 128 Wang S, Liu N, Chen A J, et al. TRBP homolog interacts with eukaryotic initiation factor 6 (eIF6) in *Fenneropenaeus chinensis*. *J Immunol*, 2009, 182: 5250–5258
- 129 Zhao Z Y, Yin Z X, Xu X P, et al. A novel C-type lectin from the shrimp *Litopenaeus vannamei* possesses anti-white spot syndrome virus activity. *J Virol*, 2009, 83: 347–356
- 130 Chen A J, Wang S, Zhao X F, et al. Enzyme E2 from Chinese white shrimp inhibits replication of white spot syndrome virus and ubiquitinates its RING domain proteins. *J Virol*, 2011, 85: 8069–8079
- 131 Chang M, Collet B, Nie P, et al. Expression and functional characterization of the RIG-I-like receptors MDA5 and LGP2 in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J Virol*, 2011, 85: 8403–8412
- 132 Barrett R D, Paccard A, Healy T M, et al. Rapid evolution of cold tolerance in stickleback. *Proc Biol Sci*, 2011, 278: 233–238
- 133 Chen Z, Cheng C H, Zhang J, et al. Transcriptomic and genomic evolution under constant cold in Antarctic notothenioid fish. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 12944–12949
- 134 Xu Q, Cheng C H, Hu P, et al. Adaptive evolution of hepcidin genes in antarctic notothenioid fishes. *Mol Biol Evol*, 2008, 25: 1099–1112
- 135 Deng C, Cheng C H, Ye H, et al. Evolution of an antifreeze protein by neofunctionalization under escape from adaptive conflict. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 21593–21598
- 136 Bickler E, Buck T. Hypoxia tolerance in reptiles, amphibians, and fishes: Life with variable oxygen availability. *Annu Rev Physiol*, 2007, 69: 145–170
- 137 Lushchak V I. Adaptive response to oxidative stress: Bacteria, fungi, plants and animals. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2011, 153: 175–190
- 138 Zhong X P, Wang D, Zhang Y B, et al. Identification and characterization of hypoxia-induced genes in *Carassius auratus* blastulae embryonic cells using suppression subtractive hybridization. *Comp Biochem Physiol B*, 2009, 152: 161–170
- 139 Wang D, Zhong X P, Qiao Z X, et al. Inductive transcription and protective role of fish heme oxygenase-1 under hypoxic stress. *J Exp Biol*, 2008, 211: 2700–2706
- 140 Sun C F, Tao Y, Jiang X Y, et al. IGF binding protein 1 is correlated with hypoxia-induced growth reduce and developmental defects in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) embryos. *Gen Comp Endocrinol*, 2011, 172: 409–415
- 141 Feng X, Liu X, Zhang W, et al. p53 directly suppresses BNIP3 expression to protect against hypoxia-induced cell death. *EMBO J*, 2011, 30: 3397–3415
- 142 Guan B, Ma H, Wang Y, et al. Vitreoscilla hemoglobin (VHb) overexpression increases hypoxia tolerance in zebrafish (*Danio rerio*). *Mar Biotechnol (NY)*, 2011, 13: 336–344
- 143 Liu Z J. Fish genomics and analytical genetic technologies, with examples of their potential applications in management of fish genetic resources. In: Bartley D M, Harvey B J, Pullin R S V, eds. *Workshop on Status and Trends in Aquatic Genetic Resources: A Basis for International Policy*. Rome: Food and Agriculture organization of the United nations, 2007. 145–178
- 144 McAndrew B, Napier J. Application of genetics and genomics to aquaculture development: current and future directions. *J Agric Sci*, 2010, 149: 143–151
- 145 Abernathy J W, Peatman E, Liu Z J. Basic aquaculture genetics. SRAC Publication No. 5001. 2010, 1–16
- 146 Wang Z W, Zhu H P, Wang D, et al. A novel nucleo-cytoplasmic hybrid clone formed via androgenesis in polyploid gibel carp. *BMC Res Notes*, 2011, 4: 82
- 147 刘汉勤, 崔书勤, 侯昌春, 等. 从XY雌鱼雌核发育产生YY超雄黄颡鱼. *水生生物学报*, 2007, 31: 718–725
- 148 Wang D, Mao H L, Chen H X, et al. Isolation of Y- and X-linked SCAR markers in yellow catfish and application in the production of all-male populations. *Anim Genet*, 2009, 40: 978–981