

# DNA 分子标记技术在紫菜属中的应用现状及展望

## The application status and prospect of DNA molecular markers in *Porphyra*

乔利仙<sup>1,2</sup>, 戴继勋<sup>2</sup>, 王晶珊<sup>1</sup>, 朱新产<sup>1</sup>, 刘文平<sup>1</sup>, 郭宝太<sup>1</sup>

(1. 青岛农业大学 生命科学学院, 山东 青岛 266109; 2. 中国海洋大学 生命科学与技术学部, 山东 青岛 266003)

中图分类号: Q789

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2008)09-0082-06

伴随着遗传学的发展, 遗传标记经历了形态学标记、细胞学标记、生化标记和 DNA 分子标记 4 个阶段。DNA 分子标记诞生于 20 世纪 80 年代中期, 与其他遗传标记相比, 它具有如下优点: (1) 直接以 DNA 的形式表现, 在生物各个组织、各个发育阶段都可以检测到, 不受季节、环境限制; (2) 数量极多, 遍及整个基因组; (3) 多态性高, 自然存在许多等位变异; (4) 表现“中性”, 既不影响目标性状的表达, 与不良性状也没有必然的连锁; (5) 许多分子标记表现共显性, 能够鉴别纯合基因型与杂合基因型, 提供完整遗传信息。由于 DNA 分子标记所表现出的极大优越性, 现已被广泛应用于植物分子生物学研究和作物遗传育种研究, 如遗传图谱构建、遗传多样性分析、系统进化及分类学、遗传育种和种质鉴定以及基因定位等各个方面<sup>[1-3]</sup>。分子标记在海藻研究中的应用还刚刚开始, 迄今海藻的分子标记研究主要集中在紫菜中, 而且主要还是用 RAPD<sup>[4-10]</sup>和 AFLP 标记<sup>[11-15]</sup>, 近年来陆续有对紫菜进行 SSR<sup>[16, 17]</sup>和 ISSR<sup>[18, 19]</sup>分析的报道。作者对分子标记在紫菜属遗传多样性分析、系统分类研究、指纹图谱绘制和种质鉴定等各个方面的应用进行综述, 提出分子标记技术在紫菜遗传学研究, 种质资源分析和优良品种选育等方面广阔的应用前景。

### 1 DNA 分子标记研究概述

DNA 分子标记是以生物 DNA 的多态性为基础的遗传标记, 它能够稳定遗传、且遗传方式简单、

可以反映生物的个体和群体特征。自从 1974 年 Gmdzicker 等创立限制性片段长度多态性技术以来, 已有几十种名称各异的分子标记技术相继问世。它们分别是基于 DNA 分子杂交技术、PCR 扩增技术和 DNA 序列信息技术的分子标记技术。

#### 1.1 基于 DNA 分子杂交技术的分子标记

限制性片段长度多态性 (Restriction fragment length polymorphism, RFLP) 是应用最早的第一代分子标记技术。1980 年 Botstein 等<sup>[20]</sup>首先提出利用 RFLP 作为标记构建遗传图谱, 用限制性内切酶处理样品 DNA 时, 会产生大量的大小不同的酶切片段, 这些长度不同的片段通过凝胶电泳形成不同的条带, 当片段数量较多时, 电泳条带难以分开, 会连成一片。故需通过与克隆的 DNA 探针进行 Southern 杂交和放射自显影, 从而判断 DNA 序列的多态性。RFLP 标记是 DNA 分子水平上变异的反映, 既可以是内切酶识别序列的改变, 也可能涉及部分片段的缺失、插入、易位、倒位等。其缺点为: 克隆能表现基因组 DNA 多态性的探针较为困难、实验操作较繁琐、检测周期长、费用高等。

收稿日期: 2007-05-20; 修回日期: 2007-10-12

基金项目: 国家 863 计划项目(2002AA603023); 国家十五科技攻关计划项目(2004BA526B08); 科技部农业转化资金项目(02EFN21300216)

作者简介: 乔利仙 (1973-), 女, 山西太谷人, 博士, 讲师, 研究方向: 海藻分子生物学, 电话: 13969866621, E-mail: lxqiao73@163.com; 戴继勋, 通讯作者, 电话: 0532-82031553, E-mail: daijx@ouc.edu.cn

## 1.2 基于 PCR 技术的分子标记

### 1.2.1 以非重复顺序为基础的标记

#### 1.2.1.1 随机扩增多态性 DNA (Randomly amplified polymorphic DNA, RAPD)

RAPD 由 Williams<sup>[21]</sup>和 Welsh<sup>[22]</sup>两个研究小组创立,以 PCR 为基础,无需知道目标 DNA 序列,利用人工合成的短核苷酸(10 bp)作为引物,对所研究的基因组 DNA 进行单引物双向扩增,扩增产物用琼脂糖凝胶电泳分离,经溴化乙锭(EB)染色来检测扩增产物 DNA 片段的多态性。由于不同品种 DNA 序列之间、引物结合点以及两结合点之间都存在差异而产生 DNA 片段多态性。RAPD 标记以其简单、快速、不涉及同位素的使用等优点而被广泛使用。但 RAPD 标记同时又具有稳定性差、重复和可靠性不高而影响其应用。

#### 1.2.1.2 扩增性片段长度多态性(Amplified fragment length polymorphisms, AFLP)

AFLP 是 1993 年由 Zabeau<sup>[23]</sup>发明继而由 Vos 等<sup>[24]</sup>发展起来的一种检测 DNA 多态性的技术,基本原理是用两种限制性内切酶对基因组 DNA 进行酶切,然后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,以接头序列和限制性内切酶的切点序列为基础设计引物,进行 PCR 扩增,扩增产物通过变性聚丙烯酰胺凝胶电泳(denatured polyacrylamide gels electrophoresis, PAGE)分离检测<sup>[25, 26]</sup>。AFLP 结合了 RFLP 和 RAPD 的优点,具有多态性丰富、结果稳定可靠、重复性好、所需 DNA 量少、不需要 Southern 杂交、且可以在不需预先知道基因序列的情况下进行研究等特点,非常适合于品种指纹图谱的绘制、遗传连锁图谱的构建、遗传多样性分析、系统进化及分类学研究。

#### 1.2.1.3 序列特异扩增区域(Sequence characterized amplified region, SCAR)

SCAR 标记是在 RAPD 技术的基础上发展起来的,为了提高 RAPD 分析的稳定性,在对基因组 DNA 作 RAPD 分析后,对目标 RAPD 片段进行克隆并对其末端测序,根据片段两端序列设计特定引物。对基因组 DNA 片段再进行 PCR 特异扩增,这样就与原来 RAPD 片段相对应的单一位点鉴别出来<sup>[27]</sup>。SCAR 标记为共显性遗传,具有高度重现性,应用

于基因定位和作图等。

### 1.2.2 以重复顺序为基础的标记

微卫星 (Microsatellite) DNA 也称为简单重复序列 (simple sequence repeat, SSR),是指基因组中由几个核苷酸(2~5 个)为重复单位组成的长达几十个核苷酸的重复序列,分布于整个基因组的不同位置上,由于重复次数的不同和重复程度的不完全造成了每个位点的多态性。可以利用某个微卫星 DNA 两端的保守序列设计一对特异引物,扩增这个位点的微卫星 DNA 序列,经聚丙烯酰胺凝胶电泳即可显示不同基因型个体在这个 SSR 位点上的多态性,这种由保守序列确定的 SSR 可以检测出复等位基因的差异,常表现为共显性。与 RAPD 和 AFLP 相比,SSR 标记具有数量多,覆盖范围广,多态性高,重复性好,以孟德尔式遗传,呈共显性,对 DNA 质量要求不高,用量少等诸多优点,深受青睐。SSR 标记的缺点在于 SSR 引物具有种属特异性,在对一个物种第一次进行 SSR 分析时,必须首先要进行 SSR 引物的开发,较费时耗力<sup>[16]</sup>。虽然现在认为 SSR 引物可在近缘物种间进行转移应用,但能否转移以及转移的成功率在不同的物种间表现较大的差异<sup>[28, 29]</sup>。

基于 PCR 技术的分子标记技术由于具有操作简单、方便的特点而得到了广泛应用。并由此衍生出一系列的分子标记技术<sup>[3]</sup>。如:测序的标记位点 (Sequence tagged site, STS),扩增产物指纹分析 (DNA amplification fingerprinting, DAF),简单重复间序列 (Inter-simple sequence repeat, ISSR)。还有近年来发展起来的相关序列扩增多态性 (Sequence-related amplified polymorphism, SRAP),靶位区域扩增多态性 (Target region amplified polymorphism, TRAP)以及限制性位点扩增多态性 (Restriction site amplification polymorphism, RSAP) 等等。

## 1.3 基于 DNA 序列信息的分子标记

单核苷酸多态性 (Single nucleotide polymorphism, SNP) 标记是指基因组水平上单个核苷酸变异(转换或颠换)引起的 DNA 序列多态性。SNP 一般只有 2 个等位基因和 3 种基因型,又称为双等位基因标记,包括存在于基因编码区的功能性突变 cSNPs (coding regions SNP) 及随机分布于基因组的大量单碱基变异。众所周知, cSNP 可分为同义

cSNP(synonymous cSNP) 和非同义 cSNP(non synonymous cSNP), 前者是碱基改变导致的基因编码序列改变, 并不影响所翻译蛋白质的氨基酸序列; 后者是碱基序列的改变使蛋白质氨基酸序列发生改变, 从而影响蛋白质的功能, 这种变异常是导致生物性状改变的直接原因。

表达序列标签 (Expressed sequence tag, EST) 标记技术是一种相对简便和快速鉴定大批基因表达的技术。一个基因表达次数越多, 能够检测到的相应 EST 越多, 因此近年来有学者提出 EST 作为分子标记, 可以了解基因表达情况和丰度。

每种分子标记各有其优缺点, 没有一种分子标记能够取得全面的、理想的效果。因此, 针对需要解决的问题选择合适的分子标记技术意义十分重要, 对研究结果的产生、分析和应用有着决定性的影响。以下就分子标记技术在紫菜属系统分类、遗传多样性分析、指纹图谱绘制以及种质鉴定等各个方面的应用进行综述, 同时对分子标记在紫菜遗传学研究和优良品种选育方面的应用进行展望。

## 2 DNA 分子标记在紫菜属中的应用现状

### 2.1 遗传多样性分析

分子标记既能检测种间的遗传多样性, 也可以对种内的遗传多样性进行比较。研究表明: 在自然界中紫菜存在丰富的遗传多样性, 这种多样性不一定表现为形态上的多样性<sup>[30]</sup>。因此利用分子标记来研究紫菜属的遗传多样性得到了广泛的应用。

Dutcher<sup>[4]</sup>用 RAPD 标记研究了北大西洋西部海区和临近墨西哥湾海区的 3 种紫菜的遗传多样性。Iitsuka<sup>[11]</sup>对条斑紫菜的 3 个品系进行了 AFLP 分析, 表明这些品系的遗传背景的多样性程度很高。这说明利用分子标记可以检测紫菜种间乃至种内的遗传变异。梅俊学等<sup>[7]</sup>用 RAPD 标记对 4 个条斑紫菜栽培品系的分析表明: 这 4 个栽培品系间存在较大的遗传差异, 而且在单孢子形成能力上差异较大者, 其遗传距离也较远。这表明某些标记片段与一定的表型相关, 通过进一步的分子杂交或许能够找到与该性状直接相关的标记。杨锐等<sup>[14,15]</sup>利用 AFLP 技术对不同条斑紫菜和坛紫菜品系进行了研究, 多态位点的比例高达 97% 以上, 而且各品系间的

遗传距离与其地理间距呈正相关关系。目前, 多数研究报道地理环境对紫菜的遗传变异影响较大<sup>[10, 13]</sup>。崔灵英等<sup>[18]</sup>、袁昭岚等<sup>[19]</sup>对不同紫菜品系的 ISSR 分析也得到了较高的多态性位点。这些研究结果表明利用分子标记技术可以有效地检测紫菜本身存在的丰富的遗传变异, 同时还可以追溯表型变异与遗传变异之间的关系。表型变异反映的是表现型的变异性, 而分子标记直接反映 DNA 水平的变异, 两者不一定完全一致, 任何一种标记都不可能很全面地反映生物所包含的全部变异, 在实际应用中应该两个方面结合使用。

### 2.2 亲缘关系和系统分类研究

亲缘关系和系统分类研究是紫菜种质资源研究的重要内容之一。传统的分类法依据物种的外部形态和形态解剖特征进行分类。紫菜在自然界中的变异程度较高, 有的物种外部形态特征比较明显易于鉴别, 而很多紫菜则难以从外形或形态解剖上将其分类。这时利用分子标记进行亲缘关系分析和系统分类研究就成为十分迫切的问题。

对于一些表型相似不易区分的品种(系), 利用分子标记丰富的遗传变异可以将其很容易地区分开。如 Stiller 等<sup>[31]</sup>对 *Porphyra rediviva* 的 rDNA 进行 RFLP 研究, 揭示了东北太平洋沼泽地带这一新种可能源于北大西洋的紫菜 *P. purpurea*。Teasdale<sup>[32]</sup>对大西洋西北部的紫菜样本进行 RFLP 分析, 将亲缘关系非常接近的 2 种紫菜 *P. leucosticta* 和 *P. yezoensis* 加以区分。Sun 等<sup>[16]</sup>根据条斑紫菜 *Porphyra yezoensis* 的 EST 序列设计引物, 对 22 个紫菜材料进行了 SSR 分析, 将这些紫菜系分成为 3 大类, 结果与传统分类结果基本一致。有时根据分子标记聚类所产生的进化树与传统分类法不一定完全一致。如 Niwa 等<sup>[33]</sup>同时运用形态分类方法和 RFLP 技术对 1 种可能属于甘紫菜 *P. tenera* 但尚未确定的野生个体进行鉴定分类, 两种结果表明该野生个体属于甘紫菜。但基于 rDNA 序列的 PCR-RFLP 分析结果则表明该个体与条斑紫菜具有更近的遗传距离。这表明紫菜系统分类仅依靠外部形态特征或者仅靠分子标记都是不全面的, 将形态与 DNA 分析两种手段相结合则可以较好地解决以上问题。

### 2.3 种质鉴定

随着紫菜栽培规模的逐年扩大,中国紫菜面临栽培品种退化和病害频发的局面。因此在紫菜品系选育以及栽培过程中,优良品系的遗传分析和鉴定尤为重要。传统的分类方法不能满足生产的需要,利用分子标记构建 DNA 指纹图谱,进行种质鉴定在近年得到较为广泛的应用。

#### 2.3.1 指纹图谱的绘制

Jia 等<sup>[6]</sup>利用 RAPD 标记对紫菜 4 个种的 15 个无性系进行了遗传多样性检测,建立了这些紫菜系的 DNA 指纹图谱。Sun 等<sup>[13]</sup>用 AFLP 分析构建了 5 个种 27 个紫菜品系的指纹图谱。刘必谦等<sup>[17]</sup>用从条斑紫菜 EST 数据库中筛选合成的微卫星引物对 8 个坛紫菜 *Phaitanensis* 丝状体品系进行 SSR 分析,构建了这些紫菜品系的 DNA 指纹图谱。在这些够建的 DNA 指纹图谱中,每个品系都有其独一无二的指纹模式,彼此很容易与其他品系区分开来。指纹图谱的绘制有助于紫菜品系的鉴定,划分以及种质保存,弥补了根据形态进行鉴定的诸多不足,使种质鉴定变得更加准确可靠。

#### 2.3.2 SCAR 标记的开发

利用 DNA 分子标记中某一个品系的特异性标记可以对该品系进行鉴定。如石金锋等<sup>[34]</sup>用 RAPD 标记找到了 15 个紫菜无性系中的 8 个特异的 RAPD 分子标记,这些标记分别来自 8 个不同的无性系,利用这些标记可以有效地对这 8 个无性系进行特异性鉴定。这 8 个特异标记中的两个被转化为两个品种的特异 SCAR 标记<sup>[35]</sup>。利用这些 SCAR 标记,通过一个简单的 PCR 反应即可实现对某一物种的准确鉴定。Weng 等<sup>[10]</sup>,柳波等<sup>[36]</sup>也用类似的方法对不同的紫菜系进行了 RAPD 分析,并获得了某些特异品系的 SCAR 标记。这些特异的 SCAR 标记可以作为这些紫菜品系种质鉴定、优良品系选育和产权保护的分子标记。SCAR 标记的开发,为特异品种(系)的准确快速鉴定提供了更为便捷的途径。

#### 2.3.3 紫菜种质鉴定 (*Porphyra* germplasm identification, PGI) 计算机应用软件的开发

贾建航等<sup>[37]</sup>率先根据 RAPD 分析结果开发了 RAPD-PGI (*Porphyra* germplasm identification by RAPD), 辅助进行紫菜无性系的鉴定。Sun 等<sup>[13]</sup>根据紫菜 AFLP 的分析结果开发了 AFLP-PGI 应用

软件。具体是指将已构建好的指纹图谱中的条带按出现与否用“1”和“0”记录,转化为双元数字表示的计算机语言形式,输入计算机。在实际应用时,通常先对一批待鉴定材料进行相应分子标记分析获得其 DNA 指纹,然后将每个样品的双元数字模式的 DNA 指纹输入计算机,计算机将显示这个样品属于已构建图谱中已知品系中的某一个,如果这一样品不属于这些品系,计算机则显示这是一个新材料,并给出该样品与每个已知品系的相似系数。将该品系的指纹模式添加到该软件中就增加了该品系的计算机指纹。如果在以后的鉴定中继续发现其他的新品系,可以继续添加,使该软件所能检测的紫菜品系数目逐渐增加。如果新的品系用原构建指纹图谱的条带不能再将其区分,则需要增加条带数;如果这些引物没有可以增加的特异性条带,则需要增加其他引物所扩增的条带,重新构建能涵盖更多紫菜系的 DNA 指纹图谱。利用该软件还可以对紫菜品系进行纯度鉴定。如:取某一品系的 100 个单株进行指纹分析,然后将其输入计算机,如果 100 个单株指纹与标准指纹一致,则纯度为 100%;如果有一株不一致,则纯度为 99%。PGI 软件的开发应用,使紫菜品种鉴定变得更加简单化和自动化。

## 3 DNA 分子标记在紫菜属遗传学研究中的应用前景

DNA 分子标记技术由于其独特的优点,已被应用于紫菜及大型海藻研究的各个方面,但是目前多集中于遗传多样性分析、亲缘关系分析、系统分类研究、指纹图谱绘制和品种鉴定等方面。关于紫菜连锁图谱的构建以及重要经济性状相关分子标记至今尚未见报道。这是由于紫菜的细胞遗传学基础比较薄弱,染色体较小,不同品种的染色体数目存在差异且染色体数目还不确定,生殖方式多样,减数分裂的具体问题还未得到澄清,加之紫菜生活史的复杂性<sup>[38, 39]</sup>,所有这些都阻碍了 DNA 分子标记乃至分子生物学在紫菜以及大型海藻方面的发展和应用。因此,充分利用分子标记及其他分子生物学技术来动态检测紫菜细胞的生长、分裂、分化直至衰老死亡的过程,从而不断完善人们对紫菜细胞周期的认识,完善其生活史,为人们研究、利用

紫菜资源奠定细胞学基础。比如,目前紫菜生活史存在的一个争论是壳孢子减数分裂发生的时期,其结果为子代叶状体是否为嵌合体。应用 SSR 标记的特异性单一位点特征,追踪杂合丝状体的同源位点在子代叶状体中的分布,从而可间接确定壳孢子减数分裂发生时期<sup>[17]</sup>。同时利用 SSR 的共显性特点,可以确定叶状体是纯合体还是嵌合体,确定二倍体丝状体是否为纯合体,为纯系紫菜品系的鉴定提供分子生物学鉴定方法。相信随着这些新技术和新方法的应用,关于紫菜减数分裂的细胞形态学观察、色素突变体和性别决定的遗传分析所存在的不同认识,将会在个体、细胞、超微结构和分子水平研究的基础上统一起来。

紫菜及大型经济海藻的遗传育种还处于初级阶段,目前在大规模栽培中主要依赖于自然种群,中国的紫菜栽培业也面临种质资源匮乏,遗传多样性丧失等诸多挑战<sup>[40,41]</sup>。因此,从基因水平上认识紫菜的遗传结构,构建紫菜完备的遗传图谱,发掘遗传资源,对于丰富紫菜遗传育种理论,实现高新技术在紫菜育种实践中的应用具有重要的价值。如在中国特有的重要栽培海藻类如坛紫菜等,绘制出与重要经济性状如生长速度、高蛋白、抗病性等相连锁的遗传图谱,对于品种选育具有重要的意义。利用高信息量的 DNA 分子标记,构建高密度的紫菜分子连锁图,标记控制紫菜重要经济性状的基因;通过定位克隆技术克隆这些基因;通过遗传转化和分子标记辅助选择(Marker-assisted selection, MAS)对紫菜进行遗传改良。这一系列分子生物学技术的快速发展和应用,为紫菜遗传学研究和遗传育种展示了美好的前景。

#### 参考文献:

- [1] 石运庆,牟秋换,李鹏,等. DNA 分子标记及其在作物育种中的应用[J]. 山东科学, 2005, **18** (2): 22-29.
- [2] 闫华超,高岚,李桂兰. 分子标记技术的发展及应用[J]. 生物学通报, 2006, **41** (2): 17-19.
- [3] 王斌. 分子标记及其应用[A]. 陆维忠,郑企成. 植物细胞工程与分子育种技术研究[C]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2003. 167-181.
- [4] Dutcher J A, Kapraun D F. Random amplification polymorphic DNA(RAPD)identification of genetic variation in three species of *Porphyra*(Bangiales, Rhodophyta)[J]. **J Appl Phycol**, 1994, **6**: 267-273.
- [5] Mizukami Y, Okauchi M, Kito H, *et al.* Discrimination of laver cultivars with RAPD markers[J]. **Fish Sci**, 1996, **62** (4): 547-551.
- [6] Jia J H, Wang P, Jin D M, *et al.* The application of RAPD markers in diversity detection and variety identification of *Porphyra*[J]. **Acta Bot Sin**, 2000, **42** (4): 403-407.
- [7] 梅俊学,金德敏,贾建航,等. 条斑紫菜不同栽培品系的 RAPD 研究[J]. 山东大学学报(自然科学版), 2000, **35** (2): 230-234.
- [8] Wang B, Jia J H, Shi J F, *et al.* Identification of *Porphyra* lines using computerized DNA fingerprinting[J]. **Acta Ocean Sin**, 2001, **20** (3): 401-407.
- [9] 徐涂,宋林生,秦松,等. 五个紫菜品系间遗传差异的 RAPD 分析[J]. 高技术通讯, 2001, **12**: 1-3.
- [10] Weng M L, Liu B, Jin D M, *et al.* Identification of 27 *Porphyra* lines (Rhodophyta) by DNA fingerprinting and molecular markers[J]. **J Appl Phycol**, 2005, **17** (1): 91-97.
- [11] Iitsuka O, Nakamura K, Ozaki A, *et al.* Genetic information of three pure lines of *Porphyra yezoensis*(Bangiales, Rhodophyta)obtained by AFLP analysis[J]. **Fish Sci**, 2002, **68**: 1113-1117.
- [12] Niwa K, Kikuchi N, Iwabuchi M, *et al.* Morphological and AFLP variation of *Porphyra yezoensis* Ueda form narawaensis miura (Bangiales, Rhodophyta) [J]. **Phycol Res**, 2004, **52** (2): 180-186.
- [13] Sun J W, Jin D M, Zhou C J, *et al.* Identification of *Porphyra* lines (Rhodophyta) by AFLP-DNA fingerprinting and molecular markers[J]. **Plant Mol Biol Rep**, 2005, **23** (3):1-12.
- [14] 杨锐,刘必谦,骆其君,等. 利用 AFLP 技术研究条斑紫菜的遗传变异[J]. 海洋学报, 2005, **27** (3): 159-162.
- [15] 杨锐,刘必谦,骆其君,等. 利用扩增片段长度多态性(AFLP)研究坛紫菜的遗传变异[J].高技术通讯, 2002, **12** (1): 83-86.
- [16] Sun J W, Jin D M, Weng M L, *et al.* Development of SSR primers from EST sequences and their application in germplasm identification of *Porphyra* lines[J]. **Eur J Phycol**, 2006, **41**: 329-336.
- [17] 刘必谦,曾国庆,骆其军,等. 微卫星标记在坛紫菜丝

- 状体品系 DNA 指纹构建中的应用[J]. 水产学报, 2005, 3: 323-326.
- [18] 崔灵英, 许璞, 朱建一, 等. 4 种紫菜叶状体的 ISSR 分子标记分析[J]. 中国水产科学, 2006, 13 (3): 371-377.
- [19] 袁昭岚, 黄鹤忠, 沈颂东, 等. 条斑紫菜 5 个栽培品系的 ISSR 分析[J]. 海洋科学, 2006, 30 (7): 9-14.
- [20] Botstein D, White R L, Skolnick M, *et al.* Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. **Am J Hum Genet**, 1980, 32 (3): 314-331.
- [21] Williams J G K, Kubelik A R, Livak K J, *et al.* DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers[J]. **Nucl Acids Res**, 1990, 18 (24): 6 531-6 535.
- [22] Welsh J, McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers[J]. **Nucl Acids Res**, 1990, 18 (24): 7 213-7 218.
- [23] Zabeau M, Vos P. Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting [P]. European Patent Office Publication, 1993, 0535-858A1.
- [24] Vos P, Hogers R, Bleeker M, *et al.* AFLP: a new technique for DNA fingerprinting[J]. **Nucl Acids Res**, 1995, 23 (21): 4 407-4 414.
- [25] 翁曼丽, 谢纬武, 伏健民, 等. 新一代的分子标记技术——AFLP[J]. 应用与环境生物学报, 1996, 2 (4): 424-429.
- [26] 王斌, 翁曼丽. AFLP 的原理及其应用[J]. 杂交水稻, 1996, 5: 27-30.
- [27] 许丽, 李明莹, 林凤. DNA 分子标记及其在作物遗传育种中的应用[J]. 沈阳师范大学学报, 2006, 24 (4): 466-469.
- [28] Peakall R, Gilmore S, Keys W, *et al.* Cross-species amplification of soybean (*Glycine max*) simple sequence repeats (SSRs) within the genus and other legume genera: Implications for the transferability of SSRs in plants[J]. **Mol Biol Evol**, 1998, 15 (10): 1 275-1 287.
- [29] Varshneya R K, Sigmunda R, Börnera A, *et al.* Interspecific transferability and comparative mapping of barley EST-SSR markers in wheat, rye and rice[J]. **Plant Sci**, 2005, 168: 195-202.
- [30] 汤晓荣, 潘光华, 许东海. 紫菜分子遗传学研究进展[J]. 中国海洋大学学报, 2006, 36 (5): 687-692.
- [31] Stiller J W, Waaland J R. Molecular analysis reveals cryptic diversity in *Porphyra* (Rhodophyta)[J]. **Fish Sci**, 1993, 62: 173-177.
- [32] Teasdale B, West A, Taylor H, *et al.* A simple restriction fragment length polymorphism (RFLP) assay to discriminate common *Porphyra* (Bangioophyceae, Rhodophyta) taxa from the Northwest Atlantic[J]. **J Appl Phycol**, 2002, 14: 293-298.
- [33] Niwa K, Kikuchi N, Aruga Y. Morphological and molecular analysis of the endangered species *Porphyra tenera* (Bangiales, Rhodophyta)[J]. **J Phycol**, 2005, 41: 294-304.
- [34] 石金锋, 贾建航, 王萍, 等. 紫菜无性系特异分子标记的获得[J]. 高技术通讯, 2000, 10: 1-3.
- [35] 石金锋, 贾建航, 金德敏, 等. 紫菜无性系特异 SCAR 标记的获得[J]. 海洋学报, 2003, 25 (1): 128-131.
- [36] 柳波, 孙彬, 金德敏, 等. 紫菜自由丝状体 SCAR 标记的获得[J]. 高技术通讯, 2004, 12: 88-92.
- [37] 贾建航, 陈一华, 石金锋, 等. 用于紫菜无性系种质鉴定的计算机化 DNA 指纹的建立[J]. 海洋学报, 2001, 23 (1): 79-84.
- [38] 王娟, 戴继勋, 张义听, 等. 紫菜的生殖与生活史研究进展[J]. 中国水产科学, 2006, 13 (2): 322-327.
- [39] 王娟, 戴继勋, 张义听, 等. 紫菜减数分裂的研究现状及展望[J]. 中国海洋大学学报, 2006, 36 (3): 377-380.
- [40] 戴继勋. 用细胞工程技术发展我国的紫菜养殖业[J]. 生物工程进展, 2000, 20 (6): 3-4, 8.
- [41] 戴继勋. 大型海藻细胞工程研究与应用[A]. 盖钧镒. 中国科学技术前沿 (第 5 卷) [C]. 北京: 高等教育出版社, 2002. 695-722.

(本文编辑: 张培新)