

水产养殖动物遗传连锁图谱及 QTL 定位研究进展

常玉梅^{1,2}, 孙效文¹

(1. 中国水产科学研究院 黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070;

2. 中山大学 生命科学学院, 广东 广州 510275)

摘要: 自 1997 年美国农业部启动 5 种水产养殖动物基因组计划以来, 在不到 10 年的时间里, 世界各国都相继开展了本国主要水产养殖动物基因组研究。截至 2005 年底, 有近 17 种海淡水养殖动物公布了遗传连锁图谱: 属于高密度连锁图谱的有虹鳟和大西洋鲑 (标记数超过 1 000); 属于中密度遗传连锁图谱的有罗非鱼、沟鲶、黑虎虾、日本牙鲆和欧洲海鲈 (标记数为 400—1 000); 属于低密度遗传连锁图谱的有泰国的胡鲶, 中国的栉孔扇贝、鲤鱼, 日本的黄尾鲷, 美国的牡蛎等近 10 种养殖种类 (标记数少于 400)。水产养殖动物遗传连锁图谱的构建和发展, 促进了一些与经济性状 (如生长、抗逆、发育等) 相关的数量性状位点 (QTL) 的定位研究。然而, QTL 定位研究目前只在具有中高密度遗传连锁图谱的鲑科鱼类 (虹鳟、大西洋鲑和北极嘉鱼)、罗非鱼、沟鲶和日本牙鲆等种类中开展, 而且定位研究仍处在初级水平。遗传连锁图谱的高分辨率和 QTL 在图谱上的精确定位, 是今后能否实现对主要水产养殖动物的经济性状进行遗传操作的技术保证, 同时也是实现分子标记或基因辅助育种在水产养殖动物中成功运用的制胜法宝。

关键词: 模式水产动物; 养殖水产动物; 遗传连锁图谱; QTL 定位

中图分类号: S965; Q75; Q343.241 **文献标识码:** A **文章编号:** 0254–5853 (2006) 05–0533–08

Advancements in Genetic Linkage Maps and Quantitative Trait Locations of Aquatic Farming Animals

CHANG Yu-mei^{1,2}, SUN Xiao-wen¹

(1. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China;

2. College of Life Sciences, Sun-Yat Sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Many countries have launched genomic studies for aquatic farming animals since the Agriculture Ministry of America initiated genomic studies for five kinds of aquatic farming animals in 1997. At the end of 2005, genetic linkage maps of approximately 17 briny or limnetic farming animals have been published. Of these 17 species, the rainbow trout and the Atlantic salmon have high-density linkage maps with over 1 000 markers; the tilapia, the channel catfish, the black tiger shrimp, the Japanese flounder and the European sea bass have middle-density linkage maps with 400–1 000 markers; the remaining 10 species, including the Thailand walking catfish, the Chinese Zhikong scallop, the common carp, the Japanese yellowtail amberjack and the American oyster, have low-density linkage maps with less than 400 markers. The framework and development of genetic linkage maps of aquatic farming animals facilitated QTL mapping associated with interesting economic traits, such as growth, resistance and development. However, QTL mapping was only studied preliminarily in a few species with middle or high density linkage maps, such as salmonids (the rainbow trout, the Atlantic salmon and the Arctic char), the tilapia, the channel catfish and the Japanese flounder. Genetic linkage maps with higher resolution and fine QTLs mapping are the keys to implementing genetic technology in interesting economic traits and also have the power to successfully carry out molecular marker or gene assistant selection breeding in aquatic farming animals.

Key words: Aquatic model animals; Aquatic farming animals; Genetic linkage map; QTL mapping

收稿日期: 2006–04–10 接受日期: 2006–07–27

基金项目: 国家“973”计划 (2004CB117405)

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: sunxw2002@163.com

第一作者简介: 女, 在读博士, E-mail: ymchang2002@sohu.com

随着世界人口的逐年增加及人民生活水平的不断提高,人们对动物蛋白的需求也与日俱增。作为人类摄取动物蛋白的另一主要来源的水产动物,其食用安全且蛋白质质量高。因此,近几年的水产品消耗量呈逐年上升趋势(FAO, 2004, <http://www.fao.org/documents>)。水产品主要来源于捕捞和养殖,但过度捕捞、人为污染,使水产品捕捞作业每况愈下,根本无法满足人类的需求。因此,人类目前对水产品的需求主要依赖于人工养殖,如欧美国家的虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)、罗非鱼(*Oreochromis* spp.)、沟鲈(*Ictalurus punctatus*)等;我国的四大家鱼“青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)、草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)、鲢鱼(*Hypophthalmichthys molitrix*)和鳙鱼(*Aristichthys nobilis*)”以及鲤鱼(*Cyprinus carpio*)等,约占全世界养殖水产品总量的2/3之多;但是在加强人工养殖的同时,负面效应随之产生,如品种衰退、生长缓慢、产量下降和抗病力差等。要解决这些问题,就必须从根本上入手,通过遗传育种手段,选育新品种,改善品质,提高产量。

水产动物基因组研究是在人类及其他动植物基因组研究的推动下,率先由美国农业部于1997年9月正式启动包括虹鳟、罗非鱼、沟鲈、牡蛎(*Crassostrea gigas*)和南美白对虾(*Penaeus vannamei*)等5种主要养殖鱼类的基因组研究(Sun & Chang, 2003)。该研究的第一阶段就是构建水产养殖动物的遗传连锁图谱。这是因为对水产养殖动物来讲,制备近交系或回交系相对容易操作,而且与直接进行全基因组测序相比,花费较少。另外,遗传连锁图谱对定位克隆一些基因及对复杂性状(complex traits)进行遗传分析十分有用,同时也为最终的全基因组测序提供参考依据(Clark, 2003)。

随着遗传连锁图谱标记密度的增加,结构基因组研究逐步向功能基因组研究过渡。数量性状定位研究(quantitative trait location, QTL),可以说是结构基因组研究向功能基因组研究转换的切入点。针对目前水产养殖动物在产量及主要生产性能方面出现的问题,如生长速度、肉质、饲料转化效率、抗逆性(如抗病、抗寒、耐盐碱)等经济性状,养殖学家和遗传学家普遍认为是数量性状,是由多个基因控制的。当然,解决这些问题最直接的办法就是找到控制这些性状的基因。但是与人类及模式生物基因组研究不同,主要水产养殖动物基因组研究的

资金不足、基因组相对复杂等因素,极大地限制了主要水产养殖动物基因组的开发,使得可利用的基因组资源十分有限。不过, Mackay (2001)通过对果蝇的QTL定位研究发现,数量性状位点通常与非编码区的DNA(non-coding DNA)序列的变异相关联,即控制数量性状的基因通常与中性的分子标记相连锁,两者在子代中共分离。该研究成果的发现,无疑使QTL定位研究相对简单化,使得对大多数养殖动物的经济性状进行遗传操作成为可能。

遗传连锁图谱的成功构建和数量性状的精确定位,都离不开分子标记的应用。分子标记由于其多态性高、分布广、种类多、易操作等特性,为人类及其他物种的基因组研究做出了重大贡献。随着基因组研究的深入,分子标记研究也日趋成熟。目前主要水产养殖动物遗传连锁图谱的构建,大部分都选用呈共显性分离的微卫星标记(microsatellites)和易获得的呈显性分离的扩增片段长度多态性标记(amplified fragment length polymorphism, AFLP)。但是,在QTL定位研究中,孟德尔方式遗传,共显性分离的微卫星标记占有绝对的优势,几乎90%以上的数量性状定位研究都是采用这种标记,而且该标记的分离和制备也越来越简单、成熟(Chang et al, 2005)。AFLP标记容易获得,操作简单,是很多物种构建遗传连锁图谱的首选标记。

1 模式水产动物基因组

1.1 比较基因组模型

最初确定的6种模式生物基因组计划包括大肠杆菌(*Escherichia coli*)、酵母(yeast)、线虫(*Caenorhabditis elegans*)、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、果蝇(*Drosophila melanogaster*)和小鼠(*Mus musculus*)。但是,继人类基因组测序完成后的第二个完成全基因组测序的脊椎动物不是小鼠,而是名不见经传的河豚鱼(Fugu)。河豚鱼是原产于日本的一种海水鱼,其基因组大小只有人类基因组的1/8,但是与人类具有相似的基因组成成分(Clark, 2003)。与海水河豚相比,淡水绿河豚(*Tetraodon*)更容易操作,已于2004年完成基因组的全序列工作草图(Kai et al, 2005);但是这两种鱼类虽然完成了全基因组的测序,由于很难进行人工杂交繁育实验,起初认为并不适合制备遗传连锁图谱,只作为基因组模型,与人类基因组进行比较研究,并辅助预测基因(Clark, 2003)。Kai et al

(2005) 采用微卫星标记成功地构建了河豚鱼的遗传连锁图谱, 进一步推动了脊椎动物和哺乳动物以及人类之间的进化和比较遗传学研究。

1.2 分子遗传与发育模型

与河豚鱼和绿河豚不同, 斑马鱼 (*Danio rerio*) 易繁殖, 生活周期短, 基因组大小只有人类基因组的 1/3, 而且胚胎期通体透明: 所以, 斑马鱼是很好的分子遗传学和发育遗传学的研究模型。斑马鱼测序工作尚未完成, 但其拥有高密度的遗传连锁图谱。大量的表达序列标签 (expression sequence tags, ESTs) 和突变体等数据 (<http://zfin.org>),

是鱼类模式生物中遗传数据最详实的鱼类。另外, 日本青鳉鱼 (Medaka) 具有与斑马鱼相似的生物学特性, 也被看作是一种很好的遗传学研究模型。Naruse et al (2004) 进一步完善了青鳉鱼的遗传连锁图谱, 但由于其选用的标记大都是双等位基因标记 (bi-allelic), 多态性低。Kimura et al (2005) 认为, 该图谱很难实现对青鳉鱼全基因组的快速分析, 对复杂性状的定位研究将更困难, 所以构建了另一张由 231 个微卫星标记组成的遗传连锁图谱 (表 1)。

表 1 5 种水产模式动物遗传连锁图谱的最新标记

Tab. 1 Latest advancements in genetic linkage maps of five kinds of aquatic model animals

水产模式动物 Aquatic model animals	标记种类 Mapping markers	标记总数 Total number of markers	出处 References
斑马鱼 Zebrafish (<i>Danio rerio</i>)	Microsatellite	4 303	http://zfin.org/cgi-bin/webdriver? Mival=aa-ZDB_home.apg
青鳉鱼 Medaka (<i>Oryzias latipes</i>)	EST, Structure gene, RAPD, RFLP, STS	1 373	Naruse et al, 2004
河豚鱼 Tiger pufferfish (<i>Takifugu rubripes</i>)	Microsatellite	231	Kimura et al, 2005
剑尾鱼 <i>Xiphophorus</i>	Microsatellite	200	Kai et al, 2005
三棘刺鱼 Threespine stickleback (<i>Gasterosteus aculeatus</i>)	RAPD, Allozyme, Microsatellite	320	Morizot et al, 1998
	Microsatellite, Allozyme, Structure gene	290	Walter et al, 2004
	Microsatellite	227	Peichel et al, 2001

1.3 癌症遗传模型

Xiphophorus 属有 24 个不同的种类。其中新月鱼 (*Platypoecilus maculatus* Günther) 和剑尾鱼 (*Xiphophorus helleri* Heckel) 的杂种极易形成黑色素瘤。在形态上该黑色素瘤和人类的黑色素瘤十分相似, 被认为是最古老的癌症的遗传模型 (Morizot et al, 1998)。Xiphophorus 鱼成为人类研究癌症发病基因及肿瘤抑制基因的良好素材, 目前通过遗传连锁分析, 已找到一个与性别相连锁的癌症致病基因 *Xmrk* (LG24) 和一个黑色素瘤抑制候选基因 *CD-KN2X* (LG5) (Walter et al, 2004)。

1.4 进化遗传模型

美国斯坦福大学 Peichel 教授领导的科研小组发现, 同一个湖泊里生活的同种三棘刺鱼 (*Gasterosteus aculeatus*) 占有不同的生境 (niches), 其摄食结构和防御侧板也相应发生了变化。Peichel et al (2001) 认为, 三棘刺鱼是脊椎动物快速适应环境变化的一个典范, 是研究脊椎动物形态进化的遗传

模型。目前, 通过遗传连锁分析, 已对包括骨刺、侧板数、鳃耙等形态学指标进行了 QTL 定位研究 (Peichel et al, 2001; Colosimo et al, 2004)。

模式水产动物不仅仅局限于这几个领域的应用, 而是在很多领域都发挥着独特的作用。除了医学方面的应用, 水环境监测方面也具有无可比拟的优越性, 如青鳉、三棘刺鱼、太阳鲈等 (Clark, 2003)。由此可见, 很多水产动物都可被认为是模式动物, 只是受限于人类对它们的认识不同而已。

2 主要水产养殖动物的遗传连锁图谱

自美国农业部 1997 年率先启动 5 种水产养殖动物基因组计划以来, 其他国家也陆续开展了水产养殖动物基因组研究。遗传连锁图谱的构建是开展养殖动物基因组研究的第一步。截至 2005 年底, 共有 17 种海淡水养殖种类公布了遗传连锁图谱 (上述水产模式动物除外)。以图谱上的标记数为依据, 笔者将这 17 种遗传连锁图谱分为 3 类, 即高

密度遗传连锁图谱, 标记数 > 1 000; 中密度遗传连锁图谱, 标记数介于 400—1 000; 低密度遗传连锁图谱, 标记数 < 400。

2.1 高密度遗传连锁图谱

虹鳟是欧美等国人民比较喜爱的一种鲑科鱼类, 也是最早开展基因组研究的水产养殖种类之一。近年先后公布了两张分子遗传连锁图谱 (Young et al, 1998; Sakamoto et al, 2000) 和一张同工酶连锁图谱 (Nicols et al, 2003)。Nicols et al (2003) 在这 3 张连锁图谱的基础上, 通过增加 AFLP 标记和微卫星标记, 最终将 3 种图谱整合成一张标记数为 1 359, 分辨率达 7.4 cM 的高密度遗

传连锁图谱。当然, 因研究目的的不同, 用来构建遗传连锁图谱的一对实验鱼体系不可能体现所有感兴趣的目标性状。所以, 一种鱼类可能拥有好几个不同的连锁图谱 (表 2)。除红鳟以外, 鲑科鱼类中的另一主要养殖种类大西洋鲑 (*Salmo salar*) 的基因组研究与红鳟并驾齐驱。Moen et al (2004a) 报道的大西洋鲑图谱上的标记数是 527 个, 但在美国 NRSP8 (National Research Support Project) 水产年度报告公布的结果中, 该物种图谱上的标记数已超过 1 000 个 (<http://www.animalgenome.org/aquaculture>), 已被列入高密度遗传连锁图谱的范畴。

表 2 17 种水产养殖动物遗传连锁图谱的最新进展

Tab. 2 Latest advancements in genetic linkage maps of 17 kinds of aquatic farming animals

水产养殖动物 Aquatic farming animals	标记种类 Mapping markers	标记总数 Total number of markers	出处 References
虹鳟 Rainbowtrout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Microsatellite, AFLP, Structure gene, Allozyme, VNTR, SINE, Minisatellite, RAPD	1 359	Nichols et al, 2003
大西洋鲑 Atlantic salmon (<i>Salmo salar</i>)	Microsatellite, AFLP	523	Zimmerman et al, 2004
北极嘉鱼 Arctic char (<i>Salvelinus alpinus</i>)	Microsatellite, AFLP	527	Moen et al, 2004a
罗非鱼 Tilapia (<i>Oreochromis spp.</i>)	Microsatellite, Allozyme	53	Gilbey et al, 2004
沟鲈 Channel catfish (<i>Ictalurus punctatus</i>)	Microsatellite, AFLP, Structure gene, Phenotype	327	Woram et al, 2004
胡鲈 Walking catfish (<i>Clarial macrocephalus</i>)	Microsatellite, AFLP	276	Agresti et al, 2000
南美白对虾 White shrimp (<i>Penaeus vannamei</i>)	Microsatellite, Structure gene, AFLP	658	Lee et al, 2005
斑节对虾 Kuruma prawn (<i>Penaeus japonicus</i>)	Microsatellite, Structure gene, EST	293	Waldbieser et al, 2001
黑虎虾 Black tiger shrimp (<i>Penaeus monodon</i>)	AFLP	418	Liu et al, 2003
栉孔扇贝 Zhikong scallop (<i>Chlamys farreri</i>)	AFLP	134	Poompuang & Nakorn, 2004
鲤鱼 Common carp (<i>Cyprinus carpio</i>)	AFLP	394	Pe'rez et al, 2004
黄尾鲈 Yellowtail amberjack (<i>Seriola quinqueradiata</i>)	AFLP	342	Li et al, 2003
太平洋牡蛎 Pacific oyster (<i>Crassostrea gigas</i>)	AFLP	673	Wilson et al, 2002
美国牡蛎 Eastern oyster (<i>Crassostrea virginica</i>)	AFLP	363	Li et al, 2005
日本牙鲆 Japanese flounder (<i>Paralichthys olivaceus</i>)	Microsatellite, Structure gene, RAPD	268	Sun & Liang, 2004
红鲷 Red sea bream (<i>Pagrus major</i>)	Microsatellite	200	Ohara et al, 2005
欧洲海鲈 European sea bass (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	Microsatellite	215	Li & Guo, 2004
	Microsatellite, AFLP, Structure gene	100	Hubert & Hedgcock, 2004
	Microsatellite, AFLP	198	Yu & Guo, 2003
	Microsatellite, AFLP	463	Coimbra et al, 2003
	Microsatellite	136	Inami et al, 2005
	Microsatellite	162	Chistiakov et al, 2005
	Microsatellite, AFLP, EST	400	Volckaert et al, 2005

部分数据引自 Okmoto, 2005 (Partially cited from Okmoto, 2005)。

2.2 中密度遗传连锁图谱

目前进入中密度遗传连锁图谱的养殖种类有 5 种, 它们分别是罗非鱼、沟鲈、黑虎虾 (*Penaeus*

monodon)、日本牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 和欧洲海鲈 (*Dicentrarchus labrax*)。图谱上的标记数在 400—1 000 不等, 采用的分子标记主要是微卫星标

记和 AFLP 标记(表 2)。

2.3 低密度遗传连锁图谱或遗传连锁图谱框架

泰国的胡鲶 (*Clarial macrocephalus*), 我国的栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*)、鲤鱼, 日本的黄尾鲷 (*Seriola quinqueradiata*), 美国的牡蛎等近 10 种养殖种类已初步完成遗传连锁图谱框架。图谱上的标记数少于 400 个, 选用的标记仍以微卫星标记和 AFLP 标记为主(表 2)。

上述归类只是暂时以一些公开发表的资料进行搜集和整理。随着各国对主要水产养殖动物遗传研究的重视和大量资金的投入, 越来越多的分子标记将被定位到遗传连锁图谱上, 图谱分辨率也会逐渐增加。另外, 除这 17 种公布遗传连锁图谱的水产养殖动物以外, 还有很多有经济价值的养殖种类也正在开展相关的遗传研究, 如条纹狼鲈 (*Morone saxatilis*) 已正式成为美国国家研究资助项目(美国 NRSP8 水产年度报告), 我国草鱼、中华绒鳌蟹 (*Eriocheir sinensis*) 的基因组研究计划也正在酝酿中。

3 主要水产养殖动物的数量性状定位 (QTL)

QTL 定位是以一定饱和度的遗传连锁图谱为基础, 通过连锁分析, 确定动物一些与经济性状相关的数量性状位点, 即 QTL 在图谱上的位置与特定标记之间的遗传距离 (Ruan et al, 2003)。对于水产养殖动物来说, 标记数超过 400 的中高密度的遗传连锁图谱, 可达到对一些数量性状进行初步定位。主要水产养殖动物品种改良的目标性状包括生长快、抗寒、抗病、耐盐碱、肉质好、高饲料转化率、发育速率快/发育时间短等。一般来说, 适应性性状(如体长、体重)和抗逆性性状(如抗寒、抗病), 可通过测定一些表型数据解释 QTL 等位基因上存在的差异; 但还有一些性状, 如肉质的好坏(包括肉色、肉味和松紧度)、饲料转化率的高低, 由于很难对其表现性进行监测, 所以进行 QTL 定位研究非常困难, 主要水产养殖动物复杂性状的定位研究主要以前者为重。

3.1 鲑科鱼类

目前遗传连锁图谱上的标记数为 1 359, 分辨率达 7.4 cM 的虹鳟, 已对抗 IPN (infection pancreatic necrosis)、抗 IHN (infection hematopoietic necrosis)、抗 myxosporea、耐高温、产卵时间、胚胎早期

发育、dominant albino 等性状进行了定位研究(表 3)。Zimmerman et al (2005) 认为, 鱼类的幽门盲囊是鱼类营养吸收和消化的主要组织, 而且已有报道表明, 幽门盲囊数增加, 会显著提高虹鳟的饲料转化效率, 加快虹鳟的生长。通过 330 个 AFLP 标记和 39 个微卫星标记对 54 个杂交后代进行基因分型, 结果发现 3 个 QTL 位点 (pcOH-3、pcOH-8、pcOH-23) 与幽门盲囊数目的多少相关。另外, Nichols et al (2004) 对鱼类鉴定和分类为依据的分生组织作为表型差异, 对虹鳟的分生组织, 如脊椎数、侧线鳞数、鳃耙等, 进行了 QTL 定位研究。鲑科鱼类除虹鳟外, 其他 3 种包括红点鲑 (*Oncorhynchus masou ishikawae*)、大西洋鲑和北极嘉鱼 (*Salvelinus alpinus*) 分别对 Osmotic regulation、Cryptobiosis resistance 和 Upper temperature tolerance 数量性状进行了 QTL 定位研究(表 3)。

3.2 罗非鱼

罗非鱼是世界上重要的养殖鱼类之一。目前其遗传连锁图谱上有 550 多个微卫星标记, 分辨率小于 3 cM, 这就为一些重要的经济性状的定位研究奠定了基础 (Lee et al, 2005)。研究较多的性状包括抗寒、耐盐碱以及抗病等, 其中已成功将一个与抗寒性状相关的 QTL 位点定位到第 23 号连锁群上(表 3)。

3.3 沟鲈

沟鲈, 亦称斑点叉尾鲷, 是美国主要的淡水养殖品种, 繁殖力强, 种类和品系较多。目前有两种遗传连锁图谱, 沟鲈和蓝鲈 (*Ictalurus furcatus*) 的种间杂交系的遗传连锁图谱和沟鲈种内自交系的遗传连锁图谱 (He et al, 2005)。种间杂交系连锁图上含 418 个 AFLP 标记; 种内自交系连锁图上含 270 个微卫星标记, 以及少量的 EST 标记和 I 型标记(表 2)。利用这两种遗传连锁图谱, 发现了 3 个标记与饲料转化率, 数个标记与抗 ESC 病性状相连锁 (He et al, 2005)。

另外, 我国学者孙效文和梁利群 (2004) 构建了鲤鱼的遗传连锁图谱, 并将一个与抗寒性状相连锁的随机扩增长度多态性标记 (random amplified polymorphism DNAs, RAPD) 定位到第 5 号连锁群上(表 2)。日本牙鲆是一种重要的海水养殖种类, 这种鱼类肉质细嫩, 深受大众的喜爱。Coimbra et al (2003) 公布的牙鲆遗传连锁图上共有 463 个微卫星标记和 AFLP 标记。Fuji et al (2005) 将一个

表 3 7 种水产养殖动物重要性状的 QTL 定位
Tab. 3 QTL mapping of important traits in 7 kinds of aquatic farming animals

水产养殖动物 Aquatic farming animals	表型 Phenotype	致因基因定位 Location of causative genes	出处 References	
虹鳟 Rainbowtrout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Infection pancreatic necrosis (IPN) resistance	RT-3 (A), RT-22 (C)	Ozaki et al, 2001	
	Infection hematopoietic necrosis (IHN) resistance	RT-29 (2)	Khoo et al, 2004	
	Myxospoea (<i>Ceratomyxa shasta</i>) resistance	RT-17 (L), RT-21 (B), RT-22 (C), RT-25 (K)	Nichols et al, 2003	
	Upper temperature tolerance	RT-21 (B), RT-14 (D) RT-16 (Fii), RT-10 (H), RT-9 (Oi), RT-24 (G)	Jackson et al, 1998 Danzmann et al, 1999	
	Spawning time	Early development of embryos	RT-6 (S) RT-1 (18), RT-15 (8), RT-2 (Oii), RT-3 (A), RT-8 (J), RT-12 (Fi), RT-20 (T), RT-31 (5)	Perry et al, 2001 Somorjai et al, 2003
			RT-3 (A), RT-19 (I), RT-8 (J), RT-22 (C), RT-24 (G)	Sakamoto et al, 1999
	Dominant albino	RT-9 (Oi). <Other 3 loci are unknown in a map >	Robison et al, 2001	
Pyloric caeca number	RT-24 (G) pcOH-3, pcOH-8, pcOH-23	Nakamura et al, 2001 Zimmerman et al, 2004, 2005		
石川氏鲑 Amago salmon (<i>Oncorhynchus masu ishikawai</i>)	Osmotic regulation	AM-3, AM-21.	Hara et al, 2004	
大西洋鲑 Atlantic salmon (<i>Salmo salar</i>)	Cryptobiosis resistance	AS-4, AS-6, AS-8, AS-10, AS-11, AS- 12, AS-14, AS-20, AS-25, AS-28	Ozaki et al, 2003	
北极嘉鱼 Arctic char (<i>Salvelinus alpinus</i>)	Upper temperature tolerance	AC-3, AC-4, AC-8, AC-9, AC-12, AC-13, AC-14, AC-15, AC-19, AC-20, AC-25	Somorjai et al, 2003	
罗非鱼 Tilapia (<i>Oreochromis spp.</i>)	Lower temperature tolerance	LG-23	Cnaani et al, 2003	
鲤鱼 Common carp (<i>Cyprinus carpio</i>)	Cold tolerance	LG5	Moen et al, 2004b Sun & Liang, 2004	
日本牙鲆 Japanese flounder (<i>Paralichthys olivaceus</i>)	Lymphocystis disease (LCD) resistance	LG-15	Fuji et al, 2005	

数据引自 Okmoto, 2005, 稍作改动 (Modified from Okmoto, 2005)。

与抗 LCD 病相连锁的分子标记定位到第 15 号连锁群上。

4 水产养殖动物遗传连锁图谱与 QTL 定位的发展前景及在养殖业中的地位

由于水产养殖动物遗传连锁图谱分辨率较低 (每个连锁群上定位的分子标记较少), 复杂性状或数量性状的定位研究仍停留在初级水平, 还不能够实现 QTL 精确定位。解决办法就是不断增加图谱上的标记数, 提高分辨率, 进一步缩小 QTL 在连锁群

上的分布区域, 实现 QTL 精确定位, 通过分子标记辅助选择 (marker-assisted selection, MAS) 技术, 对目标性状进行跟踪, 加快优良品种的选育, 提高产量。另外, 通过构建 BAC 库, 创建 BAC 重叠群, 获得目标性状全序列, 筛选候选基因, 从而实现真正意义上的基因辅助选择育种 (gene-assisted selection, GAS)。

致谢: 感谢日本东京海洋大学科技学院 Nobuaki Okamoto 先生提供部分数据和文献资料。

参考文献:

Agresti JJ, Seki S, Cnaani A, Poompuang S, Hallerman EM, Umiel N, Hulata G, Gall GAE, May B. 2000. Breeding new strains of tilapi-

a: Development of an artificial center of origin and linkage map based on AFLP and microsatellite loci [J]. *Aquaculture*, **185**: 43 -

56.

- Chang YM, Li SW, Liang LQ, Sun XW. 2005. Strategies for microsatellites isolation [J]. *Chn Biotechnol*, **25** (suppl.): 210–214. [常玉梅, 李绍戈, 梁利群, 孙效文. 2004. 微卫星标记的制备策略. 中国生物工程进展杂志, **25** (suppl.): 210–214.]
- Chistiakov DA, Hellemans B, Haley CS, Law AS, Tsiengenopoulos CS, Kotoulas G, Bertotto D, Libertini A, Volckaert FAM. 2005. A Microsatellite linkage map of the European sea bass *Dicentrarchus labrax* L [J]. *Genetics*, **170**: 1821–1826.
- Clark MS. 2003. Genomics and mapping of teleostei (bony fish) [J]. *Comp Fun Genom*, **4**: 182–193.
- Cnaani A, Hallerman EM, Ron M, Weller JI, Indelman M, Kashi Y, Gall GAE, Hulata G. 2003. Detection of a chromosomal region with two quantitative trait loci, affecting cold tolerance and fish size, in an F2 tilapia hybrid [J]. *Aquaculture*, **223**: 117–128.
- Coimbra MRM, Kobayashi K, Koretsugu S, Hasegawa O, Ohara E, Ozaki A, Sakamoto T, Naruse K, Okamoto N. 2003. A genetic linkage map of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. *Aquaculture*, **220**: 203–218.
- Colosimo PF, Peichel CL, Nereng K, Blackman BK, Shapiro MD, Schluter D, Kingsley DM. 2004. The genetic architecture of parallel armor plate reduction in threespine stickleback [J]. *PLoS Biology*, **2** (5): 0635–0641.
- Danzmann RG, Jackson TR, Ferguson MM. 1999. Epistasis in allelic expression at upper temperature tolerance QTL in rainbow trout [J]. *Aquaculture*, **173**: 45–5.
- Fuji K, Kobayashi K, Hasegawa O, Coimbra MRM, Sakamoto T, Okamoto N. 2005. Identification of a single major genetic locus controlling the resistance to lymphocystis disease in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *Aquaculture*, **254**: 203–210.
- Gilbey J, Verspoor E, McLay A, Houlihan D. 2004. A microsatellite linkage map for Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *Anim Genet*, **35**: 98–105.
- Hara T, Nagase T, Kuwada T, Tokuhara T, Ozaki A, Sakamoto T, Okamoto N. 2004. A genetic linkage map of amago salmon (*Oncorhynchus masou ishikawae*) and mapping of loci associated with smoltification [A]. 29th International Conference on Animal Genetics, Tokyo, Japan [C].
- He CB, Zhou ZC, Liu WD. 2005. Channel catfish (*Ictalurus punctatus*) genome research [J]. *Fisheries Science*, **24** (1): 38–40. [赫崇波, 周遵春, 刘卫东. 2005. 斑点叉尾鲟的基因组研究. 水产科学, **24** (1): 38–40.]
- Hubert S, Hedgecock D. 2004. Linkage maps of microsatellite DNA markers for the Pacific oyster *Crassostrea gigas* [J]. *Genetics*, **168** (1): 351–362.
- Inami M, Hatanaka A, Mitsuboshi T, Yamada S, Tateishi A, Fukuda H, Sakamoto T. 2005. A microsatellite linkage map of red sea bream (*Pagrus major*) and mapping of QTL markers associated with resistance to Red Sea Bream Iridovirus (RSIV) [A]. Plant & Animal Genomes XIII Conference [C].
- Jackson TR, Danzmann RG, Ferguson MM, Fishback AG, Ihssen PE, O'Connell M, Crease TJ. 1998. Identification of two QTL influencing upper temperature tolerance in three rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) half-sib families [J]. *Heredity*, **80**: 143–151.
- Kai W, Kikuchi K, Fujita M, Suetake H, Fujiwara A, Yoshiura Y, Ootake M, Venkatesh B, Miyaki K, Suzuki Y. 2005. A genetic linkage map for the tiger pufferfish, *Takifugu rubripes* [J]. *Genetics*, **171**: 227–238.
- Khoo SK, Ozaki A, Nakamura F, Arakawa T, Ichimoto S, Nickolov R, Sakamoto T, Akutsu T, Mochizuki M, Denda I, Okamoto N. 2004. Identification of a novel chromosomal region associated with infectious hematopoietic necrosis (IHN) resistance in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Fish Pathol*, **39**: 95–101.
- Kimura T, Yoshida K, Shimada A, Jindo T, Sakaizumi M, Mitani H, Naruse K, Takeda H, Inoko H, Tamiya G, Shinya M. 2005. Genetic linkage map of medaka with polymerase chain reaction length polymorphisms [J]. *Gene*, **363**: 24–31.
- Lee BY, Lee WJ, Streebman JT, Carleton KL, Howe AE, Hulata G, Slettan A, Stern JE, Terai Y, Kocher TD. 2005. A second-generation genetic linkage map of tilapia (*Oreochromis* spp.) [J]. *Genetics*, **170**: 237–244.
- Li L, Guo XM. 2004. AFLP-based genetic linkage maps of the pacific oyster *Crassostrea gigas* Thunberg [J]. *Mar Biotechnol*, **6**: 26–36.
- Li L, Xiang JH, Liu X, Zhang Y, Dong B, Zhang XJ. 2005. Construction of AFLP-based genetic linkage map for Zhikong scallop, *Chlamys farreri* Jones et Preston and mapping of sex-linked markers [J]. *Aquaculture*, **245**: 63–73.
- Li Y, Byrne K, Miggiano E, Whan V, Moore S, Keys S, Crocos P, Preston N, Lehnert S. 2003. Genetic mapping of the kuruma prawn *Penaeus japonicus* using AFLP markers [J]. *Aquaculture*, **219**: 143–156.
- Liu Z, Karsi A, Li P, Cao D, Dunham R. 2003. An AFLP-based genetic linkage map of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) constructed by using an interspecific hybrid resource family [J]. *Genetics*, **165**: 687–694.
- Mackay TFC. 2001. Quantitative trait loci in *Drosophila* [J]. *Nat Rev Genet*, **2**: 11–21.
- Moen T, Agresti JJ, Cnaani A, Moses H, Famula TR, Hulata G, Gall GA E, May B. 2004b. A genome scan of a four-way tilapia cross supports the existence of a quantitative trait locus for cold tolerance on linkage group 23 [J]. *Aquac Res*, **35**: 893–904.
- Moen T, Hoyheim G, Munck H, Gomes-Raya L. 2004a. A linkage map of Atlantic salmon (*Salmo salar*) reveals an uncommonly large difference in recombination rate between the sexes [J]. *Animal Genetics*, **35**: 81–89.
- Morizot DC, Nairn RS, Walter RB, Kazianis S. 1998. The linkage map of *Xiphophorus fishes* [J]. *J Comp Gene Map*, **39** (2/3).
- Nakamura K, Ozaki A, Akutsu T, Iwai K, Sakamoto T, Yoshizaki G, Okamoto N. 2001. Genetic mapping of the dominant albino locus in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Mol Genet Genom*, **265**: 687–693.
- Naruse K, Tanaka M, Mita K, Shima A, Postlethwait J, Mitani H. 2004. A medaka gene map: The trace of ancestral vertebrate protochromosomes revealed by comparative gene mapping [J]. *Genome Res*, **14**: 820–828.
- Nichols KM, Bartholomew J, Thorgaard GH. 2003. Mapping multiple genetic loci associated with *Ceratomyxa shasta* resistance in *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Dis Aquat Org*, **56**: 145–154.
- Nichols KM, Wheeler PA, Thorgaard GH. 2004. Quantitative trait loci analyses for meristic traits in *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Environmental Biology of Fishes*, **69**: 317–331.
- Ohara E, Nishimura T, Nagakura Y, Sakamoto T, Mushiaki K, Okamoto N. 2005. Genetic linkage maps of two yellowtails (*Seriola quinqueradiata* and *Seriola lalandi*) [J]. *Aquaculture*, **244**: 41–48.
- Okamoto N. 2005. Recent progress in genetic linkage maps and marker-assisted breeding for aquaculture [A]. 13th International congress on genes, gene families and isozymes 2005' forum on fishery sciences and technology, Shanghai, China [C]. [Okamoto N. 2005. Recent progress in genetic linkage maps and marker-assisted breeding for aquaculture. 水产科技论坛暨第13届基因、基因族、同工酶国际研讨会, 中国上海.]
- Ozaki A, De Leon FG, Glebe B, Ferguson MM, T. Woo PTK, Danzmann RG. 2003. Identification of QTL for resistance to (*Cryptobia salmositica*) infection in Atlantic salmon (*Salmo salar*): A model for pathogen resistance QTL. 8th International Symposium Genetics in Aquaculture, Puerto Varas, Chile.
- Ozaki A, Sakamoto T, Khoo S, Nakamura K, Coimbra MRM, Akutsu

- T, Okamoto N. 2001. Quantitative trait loci (QTLs) associated with resistance/susceptibility to infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Mol Genet Genom*, **265**: 23 – 31.
- Peichel CL, Nereng KS, Ohgi KA, Cole BLE, Colosimo PF, Buerkle CA, Schluter D, Kingsley DM. 2001. The genetic architecture of divergence between threespine stickleback species [J]. *Nature*, **414**: 901 – 905.
- Nichols KM, Young WP, Danzmann RG, Robison BD, Rexroad C, Noakes MR, Phillips B, Bentzen P, Spies I, Knudsen K, Allendorf FW, Cunningham BM, Brunelli J, Zhang H, Ristow S, Drew R, Brown KH, Wheeler PA, Thorgaard GH. 2003. A consolidated linkage map for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Anim Genet*, **34**: 102 – 115.
- Pe'rez F, Erazo C, Zhinaula M, Volekaert F, Caldero'n J. 2004. A sex-specific linkage map of the white shrimp *Penaeus* (*Litopenaeus*) vannamei based on AFLP markers [J]. *Aquaculture*, **242**: 105 – 118.
- Perry GM, Danzmann RG, Ferguson MM, Gibson JP. 2001. Quantitative trait loci for upper thermal tolerance in outbred strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Heredity*, **86**: 333 – 341.
- Poompuang S, Nakorn UN. 2004. A preliminary genetic map of walking catfish (*Clarias macrocephalus*) [J]. *Aquaculture*, **232**: 195 – 203.
- Robison BD, Wheeler PA, Sundin K, Sikka P, Thorgaard GH. 2001. Composite interval mapping reveals a major locus influencing embryonic development rate in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *J Heredity*, **92**: 16 – 22.
- Ruan CJ, He ZX, Qin P. 2003. Research advancements on crop QTL mapping in China [J]. *Chinese Bulletin Botany*, **20** (1): 10 – 22. [阮成江, 何祯祥, 钦佩. 2003. 我国农作物 QTL 定位研究的现状和展望. 植物学通报, **20** (1): 10 – 22.]
- Sakamoto T, Danzmann RG, Gharbi K, Howard P, Ozaki A, Khoo SK, Woram RA, Okamoto N, Ferguson MM, Holm LE, Guyomard R, Hoyheim B. 2000. A microsatellite linkage map of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) characterized by large sex-specific differences in recombination rates [J]. *Genetics*, **155**: 1331 – 1345.
- Sakamoto T, Danzmann RG, Okamoto N, Ferguson MM, Ihssen PB. 1999. Linkage analysis of quantitative trait loci associated with spawning time in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture*, **173**: 33 – 43.
- Somorjai IML, Danzmann RG, Ferguson MM. 2003. Distribution of temperature tolerance quantitative trait loci in arctic charr (*Salvelinus alpinus*) and inferred homologies in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Genetics*, **165**: 1443 – 1456.
- Sun XW, Chang YM. 2003. Current status of studies on genome in aquaculture species and application prospect in aquatic industry [J]. *J Fish Sci Chn*, **10** (suppl.): 106 – 113.
- Sun XW, Liang LQ. 2004. A genetic linkage map of common carp (*Cyprinus carpio* L.) and mapping of a locus associated with cold tolerance [J]. *Aquaculture*, **238**: 165 – 172.
- Volekaert FAMJ, Chistiakov D, Hellemans B, Tsigenopoulos C, Koutoulas G, McAndrew BJ, Whitaker HA, Haley CS, Law A, Batar-gias C, Georgoudis A, Chatziplis D, Libertini A. 2005. First generation linkage map of European sea bass [A]. Plant & Animal Genomes XIII Conference [C].
- Waldbieser GC, Bosworth BG, Nonneman DJ, Wolters WR. 2001. A microsatellite-based genetic linkage map for channel catfish, *Ictalurus punctatus* [J]. *Genetics*, **158**: 727 – 734.
- Walter RB, Rains JD, Russell JE, Guerra TM, Daniels C, Johnston DA, Kumar J, Wheeler A, Kelnar K, Khanolkar VA, Williams EL, Hornecker JL, Hollek L, Mamerow MM, Pedroza A, Kazianis S. 2004. A microsatellite genetic linkage map for *Xiphophorus* [J]. *Genetics*, **168** (1): 363 – 72.
- Woram RA, McGowan C, Stout JA, Ferguson MM, Hoyheim B, Davidson EA, Davidson WS, Rexroad C, Danzmann RG. 2004. A genetic linkage map for Arctic char (*Salvelinus alpinus*): Evidence for higher recombination rates and segregation distortion in hybrid versus pure strain mapping parents [J]. *Genome*, **47**: 304 – 315.
- Wilson K, Li Y, Whan V, Lehnert S, Byrne K, Moore S, Pongsomboon S, Tassanakajon A, Rosenberg G, Ballment E, Fayazi Z, Swan J, Kenway M, Benzie J. 2002. Genetic mapping of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* with amplified fragment length polymorphism [J]. *Aquaculture*, **204**: 297 – 309.
- Young WP, Wheeler PA, Coryell VH, Keim P, Thorgaard GH. 1998. A detailed linkage map of rainbow trout produced using doubled haploids [J]. *Genetics*, **148**: 839 – 850.
- Yu ZN, Guo XM. 2003. Genetic linkage map of the eastern oyster *Crassostrea virginica* Gmelin [J]. *Biol Bull*, **204**: 327 – 338.
- Zimmerman AM, Evenhuis JP, Thorgaard GH, Ristow SS. 2004. A single major chromosomal region controls natural killer cell-like activity in rainbow trout [J]. *Immunogenetics*, **55**: 825 – 835.
- Zimmerman AM, Wheeler PA, Ristow SS, Thorgaard GH. 2005. Composite interval mapping reveals three QTL associated with pyloric caeca number in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Aquaculture*, **247**: 85 – 95.