中国对虾(Fenneropenaeus chinensis)"黄海1号" 部分生长相关性状的 OTL 定位分析^{*}

刘 博 1,2 王清印 2 李 健 2 刘 萍 2 何玉英 2

(1. 中国海洋大学海洋生命学院 青岛 266003; 2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071)

提要 在已构建好的中国对虾"黄海1号"F₂代遗传连锁图谱上,使用 WinQTLcart 2.5 软件进行 复合区间作图定位,通过置换实验(1000 次重复)确定连锁群显著性水平阈值。在对体重、各腹节长 和尾节长 8 个性状的 QTL 定位分析中,共检测到 29 个 QTL,其中与体重相关的 QTL (*BW1.2*)、腹节 1 长相关的 QTL (*A1L2.1、A1L9.2、A1L17.3、A1L26.4*)、腹节 3 长相关的 QTL (*A3L16.1*)、腹节 4 长 相关的 QTL (*A4L26.1*)、腹节 6 长相关的 QTL (*A6L20.3*)及尾节长相关的 QTL (*T3L17.3*)等 9 个达到连 锁群显著水平(P=0.05),对性状的贡献率为 11.14%—23.60%,其中位于第 16 连锁群(LG16)上的与腹 节 3 长相关的 QTL (*A3L16.1*)的贡献率为 23.60%,达到了极显著水平(P<0.001),但它们的加性方向并 不一样,除了与腹节 1 长相关的 QTL (*A1L2.1*)和与腹节 6 长相关的 QTL (*A6L20.3*)方向为负以外,其 余 7 个主效 QTL 均呈正方向。本研究同时发现了与 QTL 紧密连锁的分子标记,如位于第 1 连锁群 (LG1)上的分子标记 D9f446、位于第 17 连锁群(LG17)上的 M10f246、位于第 26 连锁群(LG26)上的 SX18 和位于第 30 连锁群(LG30)上的 B2f260 等,这些与 QTL 距离仅为 0.01cM(厘摩)的分子标记,将 为 QTL 精细定位提供参考。

关键词 中国对虾,遗传连锁图谱,体重,腹节长,尾节长,QTL 中图分类号 S968.22

中国对虾(Fenneropenaeus chinensis)是我国重要的水产养殖品种,主要分布于渤海、黄海、东海及南方的部分海域,在海洋捕捞和养殖生产中都占有重要的地位。自20世纪70、80年代开始人工养殖以来,已经成为我国北方沿海重要的养殖对象,创造了可观的经济效益(邓景耀等,1990)。但自从1993年对虾病毒病爆发以来,中国对虾养殖产量急剧下降,养殖业受到重挫,开始陷入低谷。其主要原因是对虾养殖业缺乏经过人工培育的具有优良性状的新品种,生产多以野生体为亲本进行苗种繁殖,无法保证苗种的规格和质量。中国水产科学院黄海水产研究所自1997年率先实施中国对虾人工选育计划,进行了中

国对虾优良性状人工选育研究(李健, 2003)。2003 年, 选育后的中国对虾快速生长新品种"黄海1号"已通 过全国水产原良种审定委员会的审定,成为我国第 一个人工选育而成的海水养殖动物新品种(李健等, 2005)。"黄海1号"表现出了更快的生长速度和更好 的抗逆性能,加速了良种产业化的发展的同时,也为 进一步的研究工作提供了材料。

目前中国对虾还是采用常规的方法进行选育。常 规的育种方法费时费力,很容易受环境条件的影响。 借助现代的分子生物技术,将控制重要经济性状的 QTL进行定位,找到与QTL紧密连锁的分子标记,就 能够在育种中对有关的QTL遗传动态进行跟踪,从而

通讯作者:王清印, 研究员, E-mail: wangqy@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2009-09-25, 收修改稿日期: 2009-12-16

^{*} 国家科技支撑计划"高产优质虾、贝、藻类新品种选育",2006BAD01A13号;公益性农业行业科研专项"对虾养殖管理 信息系统研究与建立",nyhyzx07-042号;国家虾产业技术体系,nycytx-46号;国家自然科学基金"中国对虾抗逆家系的选育及 其相关遗传标记的筛选与克隆",40706052号。刘 博,博士,E-mail:liubomusic@126.com

增强人们对数量性状的遗传操纵能力,提高育种中对 数量性状优良基因型选择的准确性和预见性,从而加 速育种进程。但受遗传图谱构建的制约,目前有关水 生生物 QTL 的研究也主要局限于几种常见的水生生 物。在虹鳟中,已定位了几个有关耐热上限、产卵时 间及胚胎发育速率的 QTL(Jackson et al, 1998; Sakamoto et al, 2000; Robison et al, 2001); Ozaki 等(2001)在 虹鳟上找到两个与抗/感传染性胰腺坏疽病毒有关的 QTL; Yu等(2006)在对美洲牡蛎抗 Dermo/ summer 病毒 的研究中, 在雄性和雌性图谱上共找到了 12 个与此病 毒抗性相关 QTL; Wang 等(2006)定位了与舌齿鲈体 重、全长及标准长相关的 QTL。Andrey 等(2008)把罗 非鱼性别相关的标记定位在了在 LG2、LG3 和 LG23 上。但有关对虾的 QTL 定位分析至今很少见到, 本文 首次对中国对虾"黄海1号"体重、各腹节长和尾节 长等性状的 QTL 定位进行了详细的报道。

1 材料与方法

1.1 家系构建

3 期

实验所用的中国对虾(Fenneropenaeus chinensis) "黄海1号"F₂家系,以中国对虾"黄海1号"为父 本和朝鲜半岛海域野生海捕的中国对虾为母本构建 家系杂交得到的F₁,2007年3月F₁自交产生的全同 胞F₂,家系材料养殖于潍坊市海丰水产养殖有限责 任公司水产养殖基地,70日龄时随机抽取100尾子代 为样本,并测量体重(g),各腹节长(mm)和尾节长 (mm)(详见表 1)。将新鲜样品速冻,运回实验室后 -70 保存。

1.2 基因提取

基因组 DNA 的提取参照文献 Strauss(1989)的方 法略作修改。采用常规的蛋白酶 K 消化, 苯酚、氯仿/ 异戊醇抽提, 无水乙醇沉淀的方法, 提取对虾肌肉组 织的基因组 DNA, 用 TE 缓冲液稀释至终浓度 100ng/µl 用于以下分析。

1.3 RAPD、AFLP 和 SSR 分析

RAPD 反应体系 DNA 扩增在 Gene PCR system9600 上进行。PCR 反应混合物中含 10×PCR 反 应缓冲液 2.5μl (成分:100mmol/L Tris-Cl, 500mmol/L KCl, 2.0mmol/L Mg²⁺, 1.3mg/ml BSA, 0.01% Gelatin, pH 8.4), 0.2mmol/L 的各种 dNTP, 0.25μ mol/L 的引物, 约 20ng 基因组 DNA, 1U *Taq* 酶(5U/μl),反应总体积 为 25µl。20 个 RAPD 引物为上海生工生物公司合成。 循环程序参照 Williams 等(1990), PCR 产物用 1.5%的 琼脂糖凝胶于 120V 电压下电泳, Genefinder 染色, 紫 外灯下拍照。

AFLP 反应体系参照 Vos 等(1995)的实验方法进行。相应的 EcoRI 和 MseI 选择性引物,由上海生工生物公司合成,DNA 聚合酶为 MBI公司产品,其余试剂购自上海生工(SANGON)公司。AFLP 选择性 PCR扩增产物采用变性聚丙烯酰胺(凝胶浓度:6%,7.5mol/L 尿素)高压电泳分离,银染方法检测电泳产物(Li et al, 2006)。

55 对微卫星引物均参考刘晓敏(2008)¹⁾, 每个微 卫星 PCR 反应总体积为 25μl, 包括 100ng 中国对虾 基因组 DNA、10×PCR 缓冲液 2.5μl、Mg²⁺(2.0 mmol/L)、 1U *Taq* 酶、dNTP 各 0.1mmol/L, 引物各 0.2mmol/L。 循环程序参照 Weber(1990)PCR 产物在 8%变性聚丙 烯酰胺凝胶中分离, 硝酸银染色。

1.4 连锁图谱构建

本试验利用连锁分析软件 JoinMap3.0 (Van Ooijen *et al*, 2001),采用 CP 分离群体构建连锁图谱。利 用卡方(*P*>0.05)检验,鉴定多态标记在子代的分离比,符合 1:1 和 3:1 孟德尔分离规律的多态性标记 (*P*>0.05)用于构建连锁图谱,所有偏分离标记(*P*<0.05) 均被剔除不用于中国对虾遗传连锁图谱的构建。本研 究采用 LOD = 4.0,对所有标记进行分组,Calculate Map 命令分析各组中不能参与连锁的标记,将其去 掉后重新运行该命令,即可完成连锁图谱的绘制。最 后利用 Mapchart2.2 (Voorrips, 2002)版本绘制该连锁 图谱。

1.5 QTL 分析

QTL 分析是在 Windows QTL Cartographer 2.5 (Zeng, 1993)进行的,用于 QTL 分析的模型设为 6,窗 口为 10。用于背景控制的标记设置为 5。区间内出现 一个 QTL 的 LOD 值表示为 lg(L1/L0), L1 表示模型存 在一个 QTL 的最大或然性,L0 表示区间内不存在 QTL 的最大或然性。本研究设定 LOD 的临界值为 2.5,采用复合区间作图的方法对 QTL 进行定位分析。

2 结果

2.1 性状分布及相关分析
 通过 SPSS11.5 软件,选择单样本的 Kolmogorov-

1) 刘晓敏, 2008. 中国对虾遗传连锁图谱整合构建及生长相关 QTL 检测. 大连水产学院硕士学位论文, 28—29

对中国对虾主要数量性状的相关分析结果表明, 各性状的表型相关均呈极显著水平(*P*<0.01), Pearson 相关系数达 0.44—0.70(表 2), 尤其 BW 与 A1L、A2L、 A6L 相关系数分别达到了 0.67、0.69、0.70, 表明所 选指标进行相关分析具有重要的实际意义。

2.2 AFLP、RAPD 和 SSR 标记信息

经筛选过的 20 条 RAPD 引物在双亲中均呈多态 性,扩增共产生 94 条带,多态性片断有 27 条,经 χ^2 检验有 20 条带符合 1:1 孟德尔分离规律(=0.05)。 采用 90 对 AFLP 引物组合共检测到 4530 条清晰的扩 增带,其中 635(14%)条呈现多态性,平均每对引物产 生 7.1条多态性条带;符合孟德尔 1:1 分离标记的有 467条,3:1 分离标记的有 31条,偏分离标记共 137条 (α = 0.05)。本试验所采用的 55 对微卫星引物有 53 对 为多态性引物,经 ²检验,仅有 7 对引物偏离了 1:1 孟德尔分离(P = 0.05)(详见 Liu *et al*, 2010)¹⁾。

2.3 遗传连锁图谱分析

通过软件 JoinMap3.0, 设置 LOD>4.0 对符合孟德 尔分离规律的566个标记(498AFLP、20RAPD和48SSR) 进行了连锁分析, 共354个标记(300AFLP, 12RAPD和 42SSR)被定位在47个连锁群上, 其中41个连锁群的标 记数在3个以上。图谱的总长度为4580.4cM, 覆盖率为 75.8%, 连锁群的长度从6.6cM到180.1cM, 平均距离 为11.3cM。最大的连锁群为第9连锁群,由26个标记 组成,图距为166.0cM;最小的连锁群是由3个标记组 成,图距为6.5cM(详见Liu et al, 2010)¹⁾。

表1 体重、腹节1长、腹节2长、腹节3长、腹节4长、腹节5长、腹节6长和尾节长的正态分布检验 Tab.1 Normal distribution tests for BW, A1L, A2L, A3L, A4L, A5L, A6L and TL, receptively

性状	平均	峰度	偏度	最小值	最大值	P 值
体重 BW	0.92±0.02	1.68	0.96	0.52	1.76	0.05
腹节1长 A1L	3.97±0.07	- 0.42	0.71	2.65	5.4	0.44
腹节 2 长 A2L	3.55±0.07	0.67	0.97	2.37	5.36	0.43
腹节 3 长 A3L	4.30±0.07	0.12	0.52	2.69	6.53	0.55
腹节 4 长 A4L	3.53±0.09	0.46	1.11	2.18	5.89	0.73
腹节 5 长 A5L	3.55±0.07	5.26	1.66	1.76	7.56	0.77
腹节 6 长 A6L	4.30±0.07	- 0.13	0.03	5.41	9.54	0.77
尾节长 TL	3.53±0.09	1.45	0.66	4.80	8.75	0.44

注:BW 表示体重, AL 表示腹节长, TL 表示尾节长, 与各形态性状相对应的代码全文通用

表 2 中国对虾各表型性状间相关关系分析

Tab.2 Correlation between the phenotypic traits of F. chinensis

性状	BW	A1L	A2L	A3L	A4L	A5L	A6L	TL	
BW	1	0.67**	0.69**	0.44**	0.47**	0.49**	0.70**	0.60**	
A1L		1	0.65**	0.47**	0.55**	0.59**	0.59**	0.47**	
A2L			1	0.47**	0.58**	0.52**	0.59**	0.52**	
A3L				1	0.37**	0.55**	0.30**	0.27**	
A4L					1	0.48**	0.46**	0.36**	
A5L						1	0.40**	0.32**	
A6L							1	0.59**	
TL								1	

*表示相关性显著(P<0.05), **表示相关性极显著(P<0.01)

¹⁾ Liu B, Wang Q Y, Li J et al, 2010. An integrative genetic linkage map of the marine shrimp *Penaeus* (*Fenneropenaeus*) chinensis based on AFLP, SSR and RAPD markers. Chinese Journal of Oceanology and Limnology (accepted)

表 3 体重、腹节 1 长、腹节 2 长、腹节 3 长、腹节 4 长、腹节 5 长、腹节 6 长和尾节长等性状在 F₂ 中的 QTL 定位 Tab.3 QTLs locations of BW, A1L, A2L, A3L, A4L, A5L, A6L and TL in the F₂ population

性状	QTL ^a	连锁群	可义]标记	置信区间 (cM) ^e	位置 (cM) ^b	加性效应值	LOD 值 °	贡献率(%) ^d
BW	BW1.1	LG1	D9f446	F3f600	2.3	0.01	0.06	4.53	3.54
	BW1.2	LG1	D9f446	C2f740	9.2	16.11	0.16	2.57	11.75*
	BW17.3	LG17	H8f440	I6f400	22.4	81.51	0.10	3.59	5.77
	BW19.4	LG19	D2f1190	J3f586	25.7	24.01	0.07	3.89	2.93
	BW26.5	LG26	SX18	J11f300	13.6	0.01	- 0.12	2.5	8.21
A1L	A1L2.1	LG2	D10f1260	Hrd4299-2	27.7	69.91	- 0.42	2.76	11.82*
	A1L9.2	LG9	J4f870	H12f84	4.7	107.61	0.38	2.81	12.38*
	A1L17.3	LG17	M10f246	B14f490	4.7	0.01	0.48	3.94	12.48*
	A1L26.4	LG26	J11f300	E7f410	26.2	59.41	0.55	4.81	15.02*
A2L	A2L17.1	LG17	M10f246	M4f285	19.6	0.01	0.43	2.58	9.50
A3L	A3L16.1	LG16	M10f400	K7f760	6.9	79.31	0.73	4.56	23.60**
	A3L17.2	LG17	H8f440	I6f400	21.7	79.51	0.26	3.15	3.53
	A3L18.3	LG18	J9f275	N10f147	5.6	63.01	- 0.35	3.72	5.89
A4L	A4L26.1	LG26	J11f300	J2f410	39.2	44.51	0.56	3.32	13.58*
A5L	A5L1.1	LG1	F3f600	C2f740	7.7	16.11	- 0.55	4.22	8.68
	A5L5.2	LG5	K11F674	J9f536	19.9	18.01	0.33	3.72	3.97
	A5L5.3	LG5	B7f69	B7f174	12.7	75.81	0.37	4.35	4.80
	A5L5.4	LG5	J3f970	C2f600	16.2	151.01	0.46	5.47	7.82
	A5L7.5	LG7	D8f98	H9f404	5.1	29.21	0.42	4.53	6.73
	A5L13.6	LG13	D10f241	G3f500	21.8	37.61	0.25	5.38	2.18
	A5L18.7	LG18	B11f147	M11f1125	5.3	13.21	0.34	4.69	2.89
	A5L19.8	LG19	D2f1190	J3f586	23.1	14.01	0.35	5.86	4.86
A6L	A6L1.1	LG1	D9f446	F3f600	4.8	0.01	0.29	4.07	5.36
	A6L18.2	LG18	D4f67	M11f1125	11.2	9.21	0.59	2.76	8.93
	A6L20.3	LG20	IOPC04	N8f537	10.6	28.01	- 0.61	3.07	12.70*
TL	TL3.1	LG3	K8f470	B11f123	13.9	57.11	0.38	3.1	9.07
	TL16.2	LG16	D4f147	F5f900	5.0	73.71	- 0.17	3.59	1.79
	TL17.3	LG17	M10f246	M4f285	26.3	4.01	0.47	3.63	11.14*
	TL30.4	LG30	B2f260	B2f160	10.0	0.01	- 0.39	2.86	8.34

注:a) QTL 命名:性状名缩写加连锁群数,b) QTL LOD 峰值所处的位置,c) QTL 的最大或然率,d) 单个 QTL 可解释的表型变异,e) 厘摩(cM):表示度量重组概率的单位,如果同源染色体两个标记之间发生交叉的概率为1%,则它们之间的距离就定义为1cM。*表示显 著(*P*<0.05),**表示极显著(*P*<0.01)

2.4 QTL 定位结果及分布

通过软件 Windows QTL Cartographer 2.5 设定 LOD 2.5,在对体重性状(BW)、6个腹节性状(AL)和 1个尾节性状(TL)共8个性状进行区间定位分析,共检 测到 29个相关的 QTL(表 3);与 BW 相关 QTL 共检测 到 5个,单个 QTL 贡献率从 2.91%到 11.75%,其中 BW2 达到了连锁群显著水平(*P* = 0.05);与 6个腹节长 (A1L、A2L、A3L、A4L、A5L 和 A6L)相关 QTL 分析 中,共定位了 20个相关的 QTL,其中与 A2L 和 A4L 相关的 QTL 分别检测到 1个外,其余均呈现多个 QTL, 单个 QTL 贡献率从 2.18% (*A5L13.6*)至 23.60% (*A3L16.1*),有7个QTL达到连锁群显著水平(*P*=0.05),其中位于 LG16 的 79.31cM 处的 *A3L16.1* 达到连锁群 极显著水平(*P*=0.01,表3);与尾节长(*TL*)相关的QTL 测到4个,分别位于 LG3、LG16、LG17和 LG30上,单个 QTL 贡献率从 1.79%至 11.14%,其中 *TL17.3* (11.14%)达到了连锁群显著水平(*P*=0.05)。

本试验结果表明, 与体重、各腹节长及尾节长相 关的 29 个 QTL 在连锁图上存在成簇分布的特点, 主 要集中在 14 个连锁群上, 尤其在 LG1、LG5、LG17、 LG18 和 LG26 上共分布了 18 个相关 QTL(表 3)。与 体重性状相关的 5 个 QTL 的加性效应方向并不一致, 4 个 QTL (*BW1.1、BW1.2、BW17.3、BW19.4*)区间具 有正向加性效应, 1 个 QTL (*BW26.5*)区间具有负向加 性效应;其它各性状的部分 QTL 的加性效应也有呈 现负值的现象,如*A1L2.1、A3L18.3、A5L1.1、A6L20.3、 TL16.2* 和 *TL30.4*。

3 讨论

本试验采用 AFLP、RAPD 和 SSR 三种分子标记, 首次构建了中国对虾"黄海1号"F₂代的合并图谱,该 图谱的总长度为 4580.4cM,连锁群的长度从 6.6cM 到 180.1cM,平均距离为 11.3cM,并在此基础上第一次 对中国对虾"黄海1号"的体重、各腹节长和尾节长 8 个相关性状的 QTL 进行了详细的定位分析,共检测 到 29 个与体重、各腹节长和尾节长相关的 QTL (LOD>2.5),单个 QTL 贡献率从 1.79%到 23.6%。体重、 各腹节长和尾节长是中国对虾"黄海1号"产量的重 要组成部分,也是中国对虾育种中广泛应用的指标。

本试验的 29个QTL, 主要集中在 14个连锁群上, 其余 33个连锁群没检测到相关的QTL, 尤其在 LG1、 LG5、LG17、LG18和 LG26上共检测到 18个QTL,这种QTL 成簇分布的现象在植物(Xue et al, 2008; Gang et al, 2008)、畜禽(Tuiskula-Haavisto et al, 2002)和海 洋生物大西洋鲑(Reid et al, 2005)中普遍存在。造成 QTL 成簇分布的原因可能有以下两方面:(1)可能是 图谱本身的覆盖率(75.8%)和密度(标记间平均间隔为 11.3cM)还不够;(2)本试验的试验材料是 70 日龄中 国对虾,还没发育完全,一些生长性状的遗传变异表 现的不够显著,可能导致了很多连锁群没有检测到 相关性状的QTL。

研究发现,影响体重、各腹节长和尾节长的 29 个QTL中,有20个性状的基因贡献率低于10%,9个 显著性主效QTL,其中A3L16.1为极显著主效QTL, 基因贡献率为23.6%。一般认为,对于效应较大的 QTL 定位的准确性及稳定性都是可靠的(方宣钧等, 2001)。这些贡献率较大并且重复性较好的QTL,为 将来进行QTL 精细定位提供了参考,同时为进一步 研究该性状的分子遗传机理等工作奠定了研究基础。 但同一性状不同的QTL间存在加性效应方向不一致 的现象,29个QTL中22个QTL呈正向效应,7个QTL 为负向效应,其它研究中(Luet al, 2008; Reid et al, 2005)也发现了类似现象。对正向效应 QTL 的选择有 助于该性状值的提高,而负向效应的 QTL 则不利于 该性状的改良,由于同一家系中正向效应 QTL 与负 向效应的 QTL 同时存在,因此在育种选择时,要选 择正向的 QTL 避开负向 QTL 的选择。

利用与分子标记紧密连锁的 QTL 来提高单性状 性能尤其是对一些复合性状的改良, 是一种有效的 育种方法(Fan *et al*, 2006; Sun *et al*, 2006)。在本研究 中同样发现了与 QTL 紧密连锁的分子标记, 如分子 标记 D9f446 与 *BW1.1、A6L1.1*; 分子标记 SX18 与 *BW26.5*; 分子标记 M10f246 与 *A1L17.3、A2L17.1*; 分 子标记 B2f260 与 *TL30.4* 等, 这些与 QTL 距离仅为 0.01cM 的分子标记, 将为下一步开展分子标记辅助 育种提供准确的锚定位点。

对于性状间相关, 经典的遗传学认为这是由于 基因连锁或者一因多效所引起的。有研究表明、一些 与生长相关的 QTL 常常会集中到连锁群相同或者相 邻的区间上(Grattapaglia et al, 1994; Verhaegen et al, 1997)。本试验的研究结果也证明了这一点,由表 3 可知, 位于 LG1 的分子标记 D9f466 与 C2f740 间共分 别定位了 BW1.1、BW1.2、A5L1.1 和 A6L1.1 四个 QTL; 在 LG17 的分子标记 M10f246 与 M4f285 之间分别检 测到了 A2L17.1、A1L17.3 和 TL17.3 三个 QTL; 在 LG18 的分子标记 D4f67 与 M11f1125 间分别检测到 了 A5L18.7 和 A6L18.2; 在 LG19 的分子标记 D2f1190 与 J3f586 间检测到了 A5L19.8 及 BW19.4。这可能与 各性状间的高度相关有关, 与本研究中各性状间相 关分析的结果一致(表 2)。相似的 QTL 定位聚集分布 的现象在植物芜菁(Lu et al, 2008)、黄瓜(将苏等, 2008) 及大西洋鲑(Reid et al, 2005)的研究中均有出现, 这 表明聚集在同一个区间里的不同性状的 QTL 既有可 能是几个紧密连锁的 QTL, 也有可能是一个一因多 效的 QTL(Paterson et al, 1991)。要进一步确定是几个 紧密连锁的 QTL 还是一个一因多效的 QTL, 还需要 更多样本量的作图群体和更高密度的连锁图谱 (Shibaike, 1998)。这些 QTL 聚集分布的现象显示中国 对虾"黄海1号"体重、各腹节长及尾节长等性状间 可能存在着共同的遗传基础。因此笔者认为在做选择 育种的时候对于紧密连锁的性状可以只需测量其中 的一个,用来对体重进行间接选择,同时,借助与生 长相关 QTL 紧密连锁的标记对体重进行分子标记辅 助选择,这样可以起到事半功倍的效果。

参考文献

- 邓景耀,叶昌臣,刘永昌,1990. 黄渤海的中国对虾及其资源 管理. 北京:海洋出版社,36—39
- 方宣钧, 吴为人, 唐纪良, 2001. 作物 DNA 标记辅助育种. 北 京:科学出版社, 231—232
- 李 健, 王清印, 2003. 中国对虾高健康养殖品种选育的初步 研究. 中山大学学报, 39(增刊): 86—90
- 李 健,刘 萍,何玉英等,2005.中国对虾快速生长新品种
 "黄海1号"的人工选育.水产学报,29(1):1-5
- 何玉英,刘 萍,李 健等,2005. 中国明对虾快速生长选育 群体的 RAPD 分析. 海洋水产研究,4:8—13
- 将 苏,袁晓君,潘俊松等,2008.利用重组自交系群体对黄 瓜侧枝相关性状进行 QTL 定位分析.中国科学 C 辑:生 命科学,38(10):982—990
- Andrey S, Eyal S, Avner C et al, 2008. Amh and Dmrta genes map to Tilapia (Oreochromis spp.) linkage group 23 within quantitative trait locus regions for sex determination. Genetics, 174: 1573—1581
- Fan Z, Robbins M D, Stub J, 2006. Population development by phenotypic selection with subsequent marker assisted selection for line extraction in cucumber (*Cucumis sativus*). Theor Appl Genet, 112: 834—855
- Gang L, Cao J S, Yu X L, Xiang X *et al*, 2008. Mapping QTLs for root morphological traits in *Brassica rapal* based on AFLP and RAPD makers. J Appl Genet, 1: 23–31
- Grattapaglia D, Sederoff R R, 1994. Genetic linkage maps of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* using a pseudo-testcross: mapping strategy and RAPD marker. Genetics, 137: 1121–1137
- Jackson T R, Ferguson M M, Danzmann R G et al, 1998. Identification of two QTL influencing upper temperature tolerance in three rainbow trout (Oncorhynnchus mykiss) half-sib families. Heredity, 80: 143—151
- Li Z X, Li J, Wang Q Y *et al*, 2006. AFLP-based genetic linkage map of marine shrimp *Penaeus* (*Fenneropenaeus*) chinensis. Aquaclture, 261: 463–472
- Lu G, Cao J S, Yu X *et al*, 2008. Mapping QTLs for root morphological traits in *Brassica rapa* L. based on AFLP and RAPD markers. J Appl Genet, 49(1): 23-31
- Ozaki A, Sakamoto T, Khoo S *et al*, 2001. Quantitative trait loci (QTL) associated with resistance/susceptibility to infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Mol Genet Genomics, 265: 23–31
- Paterson A H, Lander E S, Had J D *et al*, 1991. Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. Nature, 335: 721-726
- Reid D P, Santo A, Glebe B et al, 2005. QTL for body weight and condition factor in Atlantic salmon (Salmo salar): comparative analysis with rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) and Arctic charr (Salvelinus alpinus). Heredity, 94: 166–172
- Robison B D, Wheeler P A, Sundin K et al, 2001. Composite

interval mapping reveals a major locus influencing embryonic development rate in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Heredity, 92: 16–22

- Sakamoto T, Danzmann R G, Gharbi K et al, 2000. A microsatellite linkage map of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) characterized by large sex-specific differences in recombination rates. Genetics, 155: 1331–1345
- Shibaike H, 1998. Molecular genetic mapping and plant evolutionary biology. J Plant Res, 111: 383-388
- Strauss W M, 1989. Preparation of genomic DNA from mammalian tissues. In: Ausubel F M, Brent R, Kingston R E ed. Current protocol in molecular biology. New York, John Wiley and Sons, 221—222
- Sun Z, Staub J E, Chung S M et al, 2006. Identification and comparative analysis of quantitative trait loci associated with parthenocarpy in processing cucumber. Plant Breed, 125: 281–287
- Tuiskula-Haavisto M, Honkatukia M, Vilkki J *et al*, 2002. Mapping of Quantitative Trait Loci affecting quality and production traits in egg layers. Poultry Science, 81: 919–927
- Van Ooijen J W, Voorrips R E, 2001. Production. In: JoinMap3.0, Software for the Calculation of Genetic Linkage Maps, Plant Research International, Wageningen, the Netherlands, Van Ooijen J W, Voorrips R E, 1—49
- Verhaegen D, Plomion C, Gion J M et al, 1997. Quantitative trait dissection analysis in *Eucalyptus* using RAPD markers. Detection of QTL in interspecific hybrid progeny, stability of QTL expression across different ages. Theor Appl Genet, 95: 597—608
- Voorrips R E, 2002. MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. J Hered, 93: 77-78
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M et al, 1995. AFLP, a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Res, 23: 4407—4414
- Wang C M, Lo L C, Zhu Z Y et al, 2006. A genome scan for quantitative trait loci affecting growth-related traits in an F₁ family of Asian seabass (*Lates calarifer*). BMC Genomics, 7: 273–286
- Weber J L, 1990. In formativeness of human (dC-dA)_n(dG-dT)_n polymorphisms. Genomics, 7: 524–530
- Williams J G, Kubelik A R, Livak K J et al, 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res, 18(22): 6531–6535
- Xue D W, Chen M C, Zhou M X et al, 2008. QTL analysis of flag leaf in barley (*Hordeum vulgare* L.) for morphological traits and chlorophyll content. J Zhejiang University Sci B, 9: 938— 943
- Yu Z N, Guo X M, 2006. Identification and mapping of disease-resistance QTLs in the eastern oyster, Crassostrea virginica Gmelin. Aquaculture, 254:160–170
- Zeng Z B, 1993. Theoretical basis of separation of multiple linked gene effects on mapping quantitative trait loci. Proc Natl Acad Sci USA, 90: 10972–10976

THE ANALYSIS OF MAPPING QTLS ASSOCIATED WITH SEVERAL GROWTH-RELATED TRAITS IN CHINESE SHRIMP FENNERO PENAEUS CHINENSIS

LIU Bo^{1, 2}, WANG Qing-Yin², LI Jian², LIU Ping², HE Yu-Ying²

(1. College of Life Science, Ocean University of China, Qingdao, 266003; 2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao, 266071)

Abstract The Chinese shrimp Penaeus (Fenneropaeneus) chinensis is an important species in marine fishery and aquaculture in China. A female Chinese shrimp F. chinensis was captured from the west coast of the Korean peninsula and mated with a "Yellow Sea No.1" male to produce the F_1 . F_2 families with a sum of 100 individuals from the brother-sister cross among the F_1 families. In the present study, a genetic linkage map of the Chinese shrimp was constructed, based on 354 markers including 300 amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers, 42 microsatellite (SSR) markers and 12 randomly amplified polymorphic (RAPD) markers. Forty-seven linkage groups (LGs) were found. The total map length was 4580.5cM, with an average spacing of 11.3cM, covering 75.8% of the estimated genome size. Based on the constructed linkage map using the Chinese shrimp F₂ population, marker regression and complexity interval mapping were analyzed with the WinQTLcart 2.5 software. A linkage group-wide permutation test (1000 replicates) determined the significance of the maximum LOD value over the various intervals analyzed for each linkage group. On the study of QTL mapping among body weight (BW), abdominal segment length (AL) and telson length (TL), a total of 29 QTLs were located, nine significant QTLs (BW1.2, A1L2.1, A1L9.2, A1L17.3, A1L26.4, A3L16.1, A4L26.1 and T3L17.3) were at the 5% linkage group-wide level for these linkage groups, and A3L16.1 for abdominal segment length was at 1% level. The variances explained by these QTLs ranged from 11.14% to 23.60%; and their additive effects were not identical. Except A1L2.1 and A6L20.3, the other seven major QTLs were positive. In addition, some molecular markers (D9f446, SX18, M10f24 and B2f260) were tightly linked to their corresponding traits, which could be used for fine mapping of these QTLs.

Key words *Penaeus (Fenneropenaeus) chinensis,* Genetic linkage map, Body weight, Abdominal segment length, Telson length, QTL