

文章编号: 1004 - 7271(2005)04 - 0444 - 07

·综述·

主要水产养殖动物 QTL 定位的研究现状

A review of QTL analysis for important aquaculture species

鲍宝龙, 李家乐

(上海水产大学生命科学与技术学院, 上海 200090)

BAO Bao-long, LI Jia-le

(College of Aqua-life Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

关键词: 水产养殖; QTL 定位; 遗传连锁图; 分子标记

Key words: aquaculture; quantitative trait loci; linkage map; molecular marker

中图分类号: S 917 文献标识码: A

数量性状是一个多世纪以来遗传学研究的主要对象之一, 因为它是许多重要作物, 畜牧和人类的重要性状。最早的工作是在孟德尔定律重新发现之前由 Galton^[1]开展的。但长期以来, 开展数量性状研究主要借助于统计学手段。20 世纪 80 年代, 尤其是 90 年代以来, RFLP, RAPD, AFLP, 微卫星, SNP 等 DNA 标记技术的发展, 使人们可以利用多态性 DNA 标记建立的遗传连锁图来定位数量性状基因座位 (quantitative trait loci, QTL)。

QTL 定位需要两个主要步骤, 一是通过分子标记构建遗传连锁图, 二是通过把数量性状与分子标记联系起来。当前, 由于构建水产动物遗传连锁图的工作起步较陆生动物晚, QTL 定位工作存在不少困难。相对来说, 在西红柿, 大豆等农作物以及奶牛, 猪等家畜中已经有许多的报道^[2-5], 在农作物中已经有 7738 个 QTL 报道。水产经济动物的遗传连锁图构建和 QTL 定位研究相对滞后, 但由于水产养殖业的快速发展, 对高产量, 抗逆性的优质水产动物品种选育的需要, 近年来在该领域有了许多进展。本文对水产养殖动物的 QTL 研究现状和进展作一些初步的介绍。

1 各种水产经济动物 QTL 定位的研究现状

几种水生动物的遗传图已经建立起来, 其中包括斑马鱼 (*Danio rerio*)^[6,7], 青鳉 (*Oryzias latipes*)^[8,9], 虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)^[10,11], 尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)^[12-14], 斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*)^[15,16]等。本文主要介绍几种水产经济动物 QTL 定位以及相关的遗传连锁图建立的情况。

1.1 尼罗罗非鱼

1.1.1 遗传连锁图的构建

尼罗罗非鱼是重要的水产养殖品种, 2001 年全球养殖产量 2 068 179 t (FAO)。Kocher 等^[12]率先建立的尼罗罗非鱼连锁图是根据来自一个母本的单倍体 41 胚胎组成家系的 59 个微卫星标记和 103 个 AFLP 组成的 30 个连锁群, 该连锁图覆盖了罗非鱼的 22 条染色体, 平均分辨率 7 cm 左右。

收稿日期: 2005-03-08

基金项目: 上海市科委基础项目 (035C14063), 上海市重点学科项目 (Y1101)

作者简介: 鲍宝龙 (1970-), 男, 浙江临海人, 副教授, 主要从事鱼类遗传和分子生物学研究。E-mail: blbao@shfu.edu.cn

Agresti 等^[13]借鉴植物连锁图建立中常用的种间杂交系来建立遗传连锁图。种间杂交有利于 DNA 标记有更明显的分离。采用的家系是 63 个来自 1 个雌性莫桑比克罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*)和 1 个尼罗罗非鱼和奥利亚罗非鱼(*Oreochromis aureus*)的杂交雄性子一代作为父本的杂交子二代。F₁ 代的(三杂罗非鱼)父本共分离到 214 个标记(60 个微卫星, 154 个 AFLP), 组成了 24 个连锁群, 平均分辨率 7 cm 左右。

McConnell 等^[14]只报告了罗非鱼小部分的遗传连锁图, 也是采用种间杂交策略(奥利亚罗非鱼和尼罗罗非鱼), 9 个标记覆盖 4 个连锁群。

1.1.2 QTL 定位

性别决定 由于雄性罗非鱼生长明显比雌性快, 所以相对有较多的研究报道。Palti 等^[17]利用 Kocher 等^[12]公布的尼罗罗非鱼连锁图进行大规模基因组扫描, 发现三个没有连锁的微卫星标记(*UNH159*, *UNH216*, *UNH231*)与隐性有害等位基因相关。Lee 等^[18]定位了一个与性别相关的 QTL 在三个标记附近(*GM271*, *GM204* 和 *GM354*)。Shirak 等^[19]发现三个微卫星标记(*UNH159*, *UNH231* 和 *UNH216*)和性别比率失常相关。Agresti 等^[13]利用 20 个 UNH 微卫星标记在 63 个来自 1 个雌性莫桑比克罗非鱼 1 个尼罗罗非鱼和奥利亚罗非鱼的杂交雄性子一代作为父本的杂交子二代的家系中筛选到 2 个标记可能与耐低温性状有关, 3 个标记可能与体重有关。

耐低温和体长 Cnaani 等^[20]利用 Kocher 等^[12]建立的连锁图 LG23(第 23 个连锁群)中的 20 个微卫星标记先对莫桑比克罗非鱼和奥利亚罗非鱼 F₂ 代的 60 尾个体进行初步筛选, 耐低温性状采用“耐受低温的天数”表示(从 16 °C 每 2 天降低 0.5 °C, 到 8 °C 后, 维持该温度直到鱼死亡)。然后对其中的可能相关的标记进行第二轮分析, 采用同一家系的 114 尾个体进行分析, 耐低温性状同样采用“耐受低温的天数”表示(稍有不同, 从 16 °C 每 2 天降低 0.7 °C, 到 7 °C 后, 维持该温度直到鱼死亡)。利用 QTL Express software 进行 QTL 分析, 认为 *UNH130* 和体重及体长相关, *UNH879* 和耐低温相关。Moën^[21]等利用对四系杂交罗非鱼杂交系统的基因组扫描分析, 进一步证实 *UNH879* 存在于 LG23 中。

1.2 虹鳟

1.2.1 遗传连锁图

鲑鳟鱼类 2001 年全世界的养殖产量为 2 673 043 t(FAO)。虹鳟占其中的大部分。作为重要的鱼类养殖对象, 目前对虹鳟的遗传性状的研究比较多, 在美国、欧洲和加拿大都有研究组开展工作。连锁图谱自 Young 等^[10]建立以后, 也在逐渐完善, 到 Nichols 等^[11]已经建立了经济鱼类中密度最高的连锁图。

Young 等^[10]利用来自两个降海品种的纯系“OSU”和“Arlee”杂交产生的 76 个双单倍体 F₁ 建立了含 476 个标记(332 个 AFLP, 96 个 VNTR, 40 个 SINE, 5 个 RAPD 和 2 个 SSR)组成的 31 个主要连锁群和 11 个小连锁群。平均分辨率 5 cm 左右。由于该遗传连锁图采用的标记主要采用了显性标记 AFLP, 不能检验虹鳟性别差异造成的四价体遗传和重组率的差异(虹鳟雌雄均为自然 4n)。所以其定位相对并不准确。

Nichols 等^[11]同样采用降海的品系“OSU”和“Arlee”的杂交雄核发育双单倍体 F₁ 建立起来的。该遗传连锁图结合以前报道的连锁图总共含 1359 个遗传标记(799 *EcoRI* AFLPs, 174 *PstI* AFLPs, 226 微卫星, 72 VNTR, 38 SINE 标记, 29 基因, 12 小卫星, 5 个 RAPDs, 和 4 个同工酶标记), 组成了 30 个主要的连锁群。

1.2.2 QTL 定位

耐高温 QTL Jackson 等^[22]先用雌性的耐高温品系 H 和雄性耐低温品系 L 杂交产生杂交 F₁(HxL 91-1), 然后用雄性 91-1 回交雌性的耐高温品系 H, 产生 88-5 家系, 同时, 用雄性 91-1 回交耐低温品系 L 的一个雌性个体, 产生 88-1 家系。另外, 用雄性 91-1 回交耐高温品系 H 的另一个雌性个体, 产生 88-30 家系。筛选 QTL 采用了 88-5 家系, 88-1 家系和 88-30 家系共 3 个家系。

然后对来自三个家系的子代进行耐高温测试, 到达高温(25.7 °C)后的时间作为耐高温的数量特征。分别有 88 个子代(88-30), 56 个子代(88-5)和 56 个子代(88-1)来自 3 个不同的家系进行 QTL

分析。在 QTL 筛选过程中,采用了 10 个 RAPD 标记,19 个微卫星标记和 36 个同工酶标记。通过连锁分析,7 对标记相互连锁($LOD > 3.0$)。利用 two-way ANOVA/ANCOVAs 对耐高温性状分析,发现有 8 个标记与耐高温相关($P < 0.05$),经过 sequential Bonferroni correction 纠正以后,只有 2 个标记(Omy325UoG, Ssa14DU)和耐高温显著相关($P < 0.05$)。利用 three-way ANCOVA 判断此 2 个标记没有明显的相互作用,表明此两个标记只有加性效应,没有上位效应。

来自同一个实验室的 Danzmann 等^[23]采用同样的家系,发现另外 4 个标记(Ssa20、19NUIG、Ssa85DU 和 Omy77DU)与耐高温性状相关。

产卵季节 产卵季节与虹鳟的产量紧密相关,因为虹鳟是季节性产卵。秋季产卵和春季产卵的虹鳟 mtDNA 有明显差别,表明产卵时间可能受遗传影响。Sakamoto 等^[24]利用春季产卵(S)雄性和秋季产卵(F)雌性的杂交 F_1 的雄性个体,回交秋季产卵的雌体产生的 45 个雌性个体组成的家系。产卵时间(大量产卵的时间点)采用了 2 年的数据。利用 54 个微卫星标记筛选 QTL。利用 one-way AMOVA 发现有 13 个微卫星标记与产卵时间有关。其中 8 个标记呈显著相关。8 个标记分布在 4 个连锁群中(J 组 3 个标记,G 组 1 个标记,I 组和 C 组分别有 2 个标记)。4 个连锁群与产卵时间相关的标记覆盖的遗传距离分别为 4.6,0,21 和 13 cm(J,G,I 和 C)。

利用同样的家系,O'Malley 等^[25]对达到初次性成熟的 45 雌性个体进行基因型分析,在 201 个微卫星标记组成的 26 个连锁群中,与初次性成熟时间相关的 QTL 定位在 5 个连锁群中(Oii, A, I, J, 和 G)。和体重相关的 QTL 定位在 3 个连锁群中(G, C 和 15)。

胚胎发育速率 胚胎发育速率与被捕食的机率、开口摄食时间、幼苗洄游、生长和性成熟等相关。同源克隆系 SW 比另一同源克隆系(OSU)有更快的胚胎发育时间。Robison 等^[26]利用全雄(YY)SW 和全雌(XX)杂交产生全雄的 F_1 (XY)。选 F_1 中个体较大的个体(不足 1 龄)催产产生的精子与其它品系杂交产生 2 个家系,家系 1 共有 58 个个体,家系 2 共有 112 个个体。利用 222 个标记(219 个 AFLP,2 个微卫星标记和 1 个 Alu I 酶切多态标记)进行筛选。222 个标记利用 MapMake EXP version 3.1 建立了新的连锁图谱。(由于采用的杂交策略不同于 Young 等^[10])。利用 Composite interval mapping(CIM)扫描基因组进行影响胚胎发育速率、胚胎长度和重量的 QTL 定位,主要通过软件 QTL cartographer 完成的。每个性状(胚胎发育速率,胚胎长度和重量)的显著差异的域值通过 permutation tests(5%)确定。因为 2 个家系的性状的显著差异的或值均大于 2.5(胚胎发育速率 2.72,胚胎长度 2.66,重量 2.51g),取任何 $LOD > 2.5$ 的标记可能与 QTL 连锁。发现共有 2 个标记(tthR13, tthR6)与胚胎发育时间连锁,2 个标记(lenR13, lenR6)与胚胎长度相关,2 个标记与胚胎重量相关(wtR11, wtR6)。

抗病性状 感染性胰坏死病毒(Infectious pancreatic necrosis virus, IPNV)是影响鲑鳟鱼养殖业产量的主要病毒,属于双链 RNA 病毒。它主要在鲑鳟鱼苗种阶段感染。在不同的鲑鳟鱼品种(包括虹鳟养殖品系)已经表现出不同的抗病毒性状,成功地分离出 2 株 IPNV 易感的品系(YK-RT101)和高抗性的品系(YN-RT201)。Ozaki 等^[27]利用雄性 YN-RT201(抗性)和雌性 YK-RT101(易感)杂交,产生 F_1 杂交系 94-N515-K560。然后利用 1 个雄性 F_1 杂交系回交 1 个雌性 YK-RT101,产生回交系 97-K2-2。然后用 IPNV 进行病毒感染实验,30 d 后记录感染情况。表型性状采用 1(感染后死亡)和 0(感染后存活)。首先利用 121 个微卫星标记分别对 26 个病毒感染后的存活的个体,26 个死亡的个体以及它们的母本(雄性 F_1 和雌性 YK-RT101)进行基因组扫描,通过卡方分布检验每个微卫星标记的基因型和表型的关系,初步确定候选的 QTL 标记($P < 0.2$; $df = 1$, $X^2 > 1.64$)。然后利用候选的 QTL 标记对整个回交系重新进行基因型分析(100 个体,其中 54 尾病毒感染后的存活个体和 46 尾死亡个体)。利用 Map Manager QT28b 把其中 51 个多态性标记聚合成 27 个连锁群,QTL 分析发现有 2 个标记与 IPN 抗性显著相关(IPN R/S-1 和 IPN R/S-2),另外,对于 IPN R/S-1,来自 YN-RT201 座位在存活后代和致死后代分别有 77% 和 35% 的遗传;而对于 IPN R/S-2,来自 YN-RT101 座位在存活后代和致死后代分别有 65% 和 23% 的遗传,表明来自 YN-RT201 座位是显性效应,而来自 YN-RT101 座位是加性效应。

感染性造血细胞坏死(Infectious Hematopoietic Necrosis, IHN)也是由病毒感染造成不同大小虹鳟大面

积死亡的疾病,硬头鳊(*Oncorhynchus mykiss*)和虹鳟杂交品系对 IHN 有较强的抗性。

Rodriguez 等^[28]利用雄性硬头鳊和雌性虹鳟杂交产生的雄性 F₁ 回交雌性虹鳟产生 70 个家系(BC1)。从每个 F₁ 和 BC1 家系中取近 100 个体进行 IHN 病毒感染。利用 257 个分子标记(185 个 AFLP, 72 个微卫星标记)产生了 28 个遗传连锁群,组成了硬头鳊的遗传连锁图,虹鳟的遗传连锁图则由 236 个标记(164 个 AFLP, 72 个微卫星标记)产生的 45 个连锁群组成(利用 MapMaker/Exp.3.0 软件包分析)。16 个 AFLP 和 6 个微卫星标记和 IHN 抗性有关。

1.3 斑点叉尾鲷

1.3.1 遗传连锁图

Waldbieser 等^[15]采用来自 Norris 品系和 USDA103 品系的杂交产生的 2 个家系,分别对每一个家系的父母本和 72 个 F₁ 进行了基因型分析,共采用 293 个多态性微卫星标记,利用 CRI-MAP2.4 软件进行 2 点连锁分析(LOD > 3.0),共组成 32 个连锁群,平均每个标记的间隔距离为 8.7 cm。

Liu 等^[16]采用雌性斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)和雄性蓝叉尾鲷(*Ictalurus furcatus*)产生的雄性 F₁ 代回交雌性的蓝叉尾鲷产生的家系进行基因型分析,利用 65 个组合的引物(*EcoR* I 和 *Mse* I)扩增父母本和 71 个回交子代。利用 Mapmaker/Exp3.0b 把 418 个 AFLP 标记分配到 44 个连锁群,共覆盖 1593 cm,平均标记间距约 3.8 cm,大大提高了精度。为了今后能更精确的定位,Liu 等最近正在建立包含 1 000 多个 type I 微卫星标记,700 个 RAPD, 1200 个 AFLP 的连锁图。

1.3.2 QTL 定位

Liu 实验室的 Karsi^[29]通过对照试验,对 20 尾食物转换效率最高的个体和 20 尾食物转换效率最差的个体进行基因型分析,利用 100 个微卫星标记筛选出 2 个标记与食物转换率显著相关(IPM5, IP266),同样,对 20 尾生长最快的个体和 20 尾生长最慢的个体进行基因型分析,发现 IPM5 与生长也显著相关。另外,Liu 等对雌性斑点叉尾鲷和雄性蓝叉尾鲷产生的雄性 F₁ 代回交雌性的蓝叉尾鲷产生的回交系,进行 ESC 感染,选择了 32 尾对 ESC 敏感的个体和 32 尾对 ESC 最具抗性的个体,利用 300 多个 I 型微卫星标记筛选,目前已经筛选到多个标记,更多的标记目前仍在筛选中(共有 1 000 多个 I 型微卫星标记)。

1.4 牙鲆

1.4.1 遗传连锁图

牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)主要分布在中国和日本沿海,是当前两国主要的海水养殖品种之一。日本学者 Coimbra 等^[30]公布了牙鲆的遗传连锁图。由于雌性牙鲆生长比雄性牙鲆快,在人工养殖中常采用雌核发育产生雌性牙鲆,以提高养殖产量。但雌核发育的牙鲆偶尔会出现表型为雄性的牙鲆(能产生精子)。该连锁图采用的家系正是利用表型为雄性的牙鲆(A 品系)和雌性牙鲆(B 品系)杂交子一代。共采用了 111 个微卫星标记和 352 个 AFLP 标记。雄性连锁图共有 25 个连锁群(由 223 个标记组成),平均精度 8 cm,雌性连锁图共有 27 个连锁图(由 294 个标记组成),平均精度 6.6 cm。

1.4.2 淋巴囊肿病抗性(Lymphocystis disease, LCD)

Fuji 等利用 B 株抗性的雌性牙鲆和 A 株敏感的雄性牙鲆产生的 F₁ 回交 A 株敏感的雄性牙鲆产生回交系。筛选到一个位于连锁群 15 的标记 Poli.9-8TUF^[31]。

1.5 鲤鱼

1.5.1 遗传连锁图

Sun 和 Liang^[32]选来自鲤(*Cyprinus carpio*)和柏氏鲤(*C. pellegrini pellegrini* Tchang)杂交子一代的其中 1 个雌性,其产生的 46 个单倍体胚胎作为构建遗传连锁图的家系。利用 MAP Manager 软件把 272 个标记(105 个 EST, 110 个微卫星, 57 个 RAPD)分配到 50 个遗传连锁群,平均每个标记间距 15.3 cm。

1.5.2 QTL 定位

柏氏鲤不能耐低温,黑龙江本地鲤能耐低温,利用两者杂交产生的子一代,能使耐低温抗性基因座位分离。Sun 和 Liang^[32]利用此杂交家系筛选到 4 个与耐低温性状相关的 RAPD 标记(5N1451c,

10C900c, 10C1300c 和 19C1200c)。

另外,关于其他重要经济水生动物也正逐渐开展这方面的工作,如美国的 Guo 等正在开展牡蛎遗传连锁图的建立工作,泰国的 Wuthisuthimethavee,美国的 ALCIVAR - WARREN 和中国的 Xiang 等正在开展草虾(*Penaeus monodon*)、中国对虾(*Penaeus (Fenneropenaeus) orientalis Kishinouye*)的遗传连锁图的研制工作。但目前仍没有有关经济性状的 QTL 定位的报道^[33]。

2 QTL 分析的技术方法

2.1 参考家系的选择

通过对纯系间杂交后代的分析,可以观察到较多的性状分离。但是由于水产动物繁殖周期长,建立稳定的纯系需要长期的积累。目前除了虹鳟有相对较纯的纯系外,其它养殖鱼类还没有纯系。所以如何选择参考家系是进行 QTL 分析研究要考虑的第一步。目前多数的家系采用同种之间不同品系进行杂交后回交,但相对于不同种鱼之间的杂交后回交的策略,性状分离相对要少一些,要建立一定密度的遗传连锁图,需要筛选更多的分子标记。目前斑点叉尾鲷,虹鳟抗病性状的 QTL 分析采用种间杂交的策略^[34]。

2.2 标记的选择

目前可用作分子标记有很多种,如同功酶, RFLP, RAPD, AFLP, 微卫星, EST, SNP 等^[35]。在初期缺少大量基因组信息前提下,可以采用 RAPD 和 AFLP 产生大量的多态性标记,尤其是 AFLP 可以克服 RAPD 重复性低的不足。微卫星标记制备相对昂贵,但微卫星标记具有丰富的多态性、共显性遗传、在基因组中平均分布、小片段座位有利于 PCR 分析等优点,故经常被采用来作图。同 RAPD 和 AFLP 一样,目前采用的微卫星标记大多数是 II 型标记。II 型标记不利于不同物种间信息的交换,不能通过比较基因组学手段,利用斑马鱼,河鲀等基因组信息来进行比较作图,这样不利于实验室间的交流。现在主要有三种手段获得 I 型标记,可以在大量的 EST 中寻找微卫星标记。例如,在 GenBank 公布的斑点叉尾鲷 EST 序列中有 9% 含微卫星重复序列。第二种手段可以从公布的 EST 和 cDNA 序列中发掘 SNP (single nucleotide polymorphisms),利用种间杂交家系有利于获得大量的 SNP,如利用斑点叉尾鲷和蓝叉尾鲷杂交家系,已经获得 86 603 个碱基的 SNP^[36,37]。另外,可以从基因的内含子中发掘微卫星标记。

2.3 遗传连锁图的构建

所公布的水生动物第一代的标记往往以 RFLP, RAPD 等为主,第二代遗传连锁图主要由 AFLP 和微卫星标记组成, AFLP 虽然是显性标记,但它能产生大量的多态性标记。微卫星标记是共显性标记,检测的多态性信息含量较高,检测简单。

除了虹鳟有相对较高密度的遗传连锁图外,总体上已经公布的几种鱼类的遗传连锁图仍然没有达到足够的密度以满足标记选育的要求。目前正在构建的第三代遗传连锁图将主要结合 I 型的微卫星标记,使遗传连锁图和即将开始构建的物理图整合起来。

2.4 统计分析的选择

早期报道的 QTL 定位大多采用方差分析来确定数量性状特征与标记的相关性。某一标记所代表的基因型在家系中是否有显著性差异,这里涉及到一个问题,由于在显著性差异分析过程中,主要依赖数量性状的表型特征值,而且数量性状遗传力往往比较低,容易受环境因子影响,如果不对表型进行评估,可能表型在很大程度上不能反应基因型。另外,这种方法只能表明某一标记与数量性状座位连锁,并不能揭示两者的距离。这样不利于今后的选育。另外一类方法是间距作图 (Multiple interval mapping),通过扫描排列在一个染色体上(或连锁群)所有的相邻标记的间距, QTL 位于所有相邻间距中的可能性通过计算可以确定下来^[38]。目前报道的 QTL 定位的结果通常采用 $LOD > 3$ 。遗传连锁图密度越高, QTL 定位将越准确。目前大多数 QTL 分析采用这种方法,主要是因为很多免费软件包如

MAPMAKER/QTL 提供这种方法。

3 当今世界水产动物 QTL 定位和辅助育种的新动向

人类基因组计划的完成大大促进了其他动物基因组研究的计划,两种河鲢鱼的基因组序列已经公布,斑马鱼基因组序列正在进行中。美国农业部早在 1997 年就已启动包括斑点叉尾鲴在内的水产养殖动物的基因组计划。今后水产养殖动物诸如抗病、生长、性别等重要数量性状,将不仅仅依赖分子标记辅助育种(MAS),而且将直接通过克隆重要数量性状的基因来进行育种(GAS)。在继续提高遗传连锁图密度的基础上,将开展物理图构建的工作,同时充分利用比较基因组学的手段,把分子标记进一步定位到物理图上,最终定位克隆数量性状的基因。目前的工作,主要是丰富 I 型的分子标记,如美国 Auburn 大学的 Liu 实验室已经发掘了 1 000 多个 I 型的微卫星标记,并且把 300 多个微卫星标记整合到斑点叉尾鲴第二代遗传连锁图上。同时,也在开展物理图构建和比较基因组学的工作。所以,QTL 定位在不远的将来,将会得到不同程度的精确定位,可以为不同的选育策略提供多种选育路线。

感谢 Auburn 大学刘占江教授对本文的指导和修改! 本文部分得益于上海水产大学与美国 Auburn 大学的人才交流计划!

参考文献:

- [1] Galton F. Natural inheritance[M]. London: Macmillan, 1889.
- [2] Weller J I. Mapping and analysis of quantitative trait loci in *Lycopersicon* (tomato) with the aid of genetic markers using approximate maximum likelihood methods [J]. Heredity, 1987, 59:413 - 421.
- [3] Caetano-Anolles G, Bassam B J, Gresshoff P M, et al. Enhanced detection of polymorphic DNA by multiple arbitrary amplicon profiling of endonuclease-digested DNA: identification of markers tightly linked to the supernodulation locus in soybean[J]. Mol Gen Genet, 1993, 241:57 - 64.
- [4] Bishop M D, Kappes S M, Keele J W, et al. A genetic linkage map for cattle[J]. Genetics, 1994, 136(2): 619 - 639.
- [5] Rohrer G A, Alexander L J, Kelle J W, et al. A microsatellite linkage map of the porcine genome [J]. Genetics, 1994, 136(1): 231 - 245.
- [6] Postlethwait J H, Johnson S, Midson C N, et al. A genetic linkage map for the zebrafish[J]. Science, 1994, 264:699 - 703.
- [7] Johnson S L, Gates M A, Johnson M, et al. Centromere-linkage analysis and consolidation of the zebrafish genetic map[J]. Genetics, 1996, 142: 1277 - 88.
- [8] Wada H, Naruse K, Shimada A. et al. Genetic linkage map of a fish, the Japanese medaka *Oryzias latipes*[J]. Mol Mar Biol Biotechnol, 1995, 4:269 - 74.
- [9] Naruse K, Fukamachi S, Mitani H, et al. A detailed linkage map of medaka, *Oryzias latipes*: comparative genomics and genome evolution[J]. Genetics, 2000, 154:1773 - 1784.
- [10] Young W P, Wheeler P A, Coryell V H, et al. A detailed linkage map of rainbow trout produced using doubled haploids[J]. Genetics, 1998, 148:839 - 850.
- [11] Nichols K M, Young W P, Danzmann R G, et al. A consolidated linkage map for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Anim Genet, 2003, 34:102 - 115.
- [12] Kocher T D, Lee W J, Sobolewska H, et al. A genetic linkage map of a cichlid fish, the tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Genetics, 1998, 148, 1225 - 1232.
- [13] Agresti J J, Seki S, Cnaani A, et al. Breeding new strains of tilapia: development of an artificial center of origin and linkage map based on AFLP and microsatellite loci[J]. Aquaculture, 2000, 185:43 - 56.
- [14] McConnell S K, Beynon C, Leamon J, et al. Microsatellite marker based genetic linkage maps of *Oreochromis aureus* and *O. niloticus* (Cichlidae): extensive linkage group segment homologies revealed [J]. Anim Genet, 2000, 31:214 - 218.
- [15] Waldbieser G C, Bosworth B G, Nonneman D J, et al. A microsatellite-based genetic linkage map for channel catfish, *Ictalurus punctatus*[J]. Genetics, 2001, 158:727 - 734.
- [16] Liu Z, Karsi A, Li P, et al. An AFLP-based genetic linkage map of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) constructed by using an interspecific hybrid resource family [J]. Genetics, 2003, 165:687 - 694.
- [17] Palti Y, Shirak A, Hulata G, et al. Detection of genes with deleterious alleles in an inbred line of tilapia (*Oreochromis aureus*)[J]. Aquaculture, 2002, 206:151 - 164.

- [18] Lee B Y, Penman D J, Kocher T D, *et al.* Identification of a sex-determining region in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using bulked segregant analysis[J]. *Anim Genet*, 2003, 34(5):379 – 83.
- [19] Shirak A, Palti Y, Cnaani A, *et al.* Association between loci with deleterious alleles and distorted sex ratios in an inbred line of tilapia (*Oreochromis aureus*)[J]. *J Hered*, 2002, 93(4):270 – 6.
- [20] Cnaani A, Hallerman M, Ron E M, *et al.* Detection of a chromosomal region with two quantitative trait loci, affecting cold tolerance and fish size, in an F₂ tilapia hybrid[J]. *Aquaculture*, 2003, 223:117 – 128.
- [21] Moen T, Agresti J J, Cnaani A, *et al.* 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]. *Aquaculture Research*, 2004, 35(9): 893 – 904.
- [22] Jackson T R, Ferguson M M, Danzmann R G, *et al.* Identification of two QTL influencing upper temperature tolerance in three rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) half – sib families[J]. *Heredity*, 1998, 80:143 – 151.
- [23] Danzmann R G, Jackson T R, Ferguson M M, *et al.* Epistasis in allelic expression at upper temperature tolerance QTL in rainbow trout[J]. *Aquaculture*, 1999, 173:45 – 58.
- [24] Sakamoto T, Danzmann R G, Okamoto N, *et al.* Linkage analysis of quantitative trait loci associated with spawning time in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture*, 1999, 173:33 – 43.
- [25] O'Malley K G, Sakamoto T, Danzmann R G, *et al.* Quantitative trait loci for spawning date and body weight in rainbow trout: testing for conserved effects across ancestrally duplicated chromosomes[J]. *J Heredity*, 2003, 94(4):273 – 284.
- [26] Robison B D, Wheeler P A, Sundian K, *et al.* Composite interval mapping reveals a major locus influencing embryonic development rate in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *J Hered*, 2001, 92:6 – 22.
- [27] Ozaki A, Sakamoto T, Khoo S, *et al.* Quantitative trait loci (QTLs) associated with resistance/susceptibility to infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Mol Genet Genomics*, 2001, 265(1):23 – 31.
- [28] Rodriguez M F, LaPatra S, Williams S, *et al.* Genetic markers associated with resistance to infectious hematopoietic necrosis in rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) backcrosses[J]. *Aquaculture*, 2004, 241:93 – 115.
- [29] <http://www.intl-pag.org/pag/8/abstracts/pag8723.html>[Z].
- [30] Coimbra M R M, Kobayashi K, Koretsugu S, *et al.* A genetic linkage map of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. *Aquaculture*, 2003, 220:203 – 218.
- [31] http://www.soi.wide.ad.jp/class/20030032/materials_for_student/03/soi-okamoto-20031029-6.pdf[Z].
- [32] Sun X, Liang L. A genetic linkage map of common carp (*Cyprinus carpio* L.) and mapping of a locus associated with cold tolerance[J]. *Aquaculture*, 2004, 238:165 – 172.
- [33] <http://www.intl-pag.org>[Z].
- [34] Liu Z J. A review of catfish genomics: progress and perspectives[J]. *Comp Funct Genom*, 2003, 4: 259 – 265.
- [35] Liu Z J, Corde J F. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics[J]. *Aquaculture*, 2004, 238: 1 – 37.
- [36] He C, Chen L, Simmons M, *et al.* Putative SNP discovery in interspecific hybrids of catfish by comparative EST analysis[J]. *Anim Genet*, 2003, 34(6):445 – 8.
- [37] Serapion J, Kucuktas H, Feng J, *et al.* Bioinformatic mining of type I microsatellites from expressed sequence tags of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. *Mar Biotechnol*, 2004,6(4):364 – 77.
- [38] Kao C, Zeng Z, Teasdale R D, *et al.* Multiple Interval Mapping for Quantitative Trait Loci[J]. *Genetics*, 1999, 152: 1203 – 1216.