

文章编号: 1674-5566(2011)05-0641-08

鲤遗传连锁图谱的构建

王宣朋^{1,2}, 孙效文¹, 李文升^{1,2}, 张天奇^{1,3}, 李超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. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306; 3. 大连海洋大学生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116023)

摘要: 利用 JoinMap 4.0 软件包, 以德国镜鲤选育系为祖父母所培育的自交 F₂ 群体的 68 个个体为作图群体, 首次以新型分子标记单核苷酸多态性 (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) 为主要作图标记, 以微卫星 (Simple Sequence Repeats, SSR) 和表达序列标签 (Expressed Sequence Tag, EST) 为辅助标记, 采用 CP (Cross Pollinators) 模型构建鲤的遗传连锁图谱。构建的遗传连锁图谱含有 560 个标记 (174 个 SSR 标记、41 个 EST-SSR 标记和 345 个 SNP 标记), 分布在 50 个连锁群上, 最大连锁群由 60 个标记组成, 最小连锁群仅含 2 个标记, 平均每个连锁群有 11.2 个标记。最大连锁群的图距为 198.1 厘摩 (centimorgan, cM), 最小的连锁群图距为 1.5 cM, 图谱总图距为 3 295.92 cM, 标记间平均间距为 7.21 cM, 图谱覆盖率为 76.26%。构建的图谱为中等密度的遗传连锁图谱可为进一步的鲤相关经济性状的 QTL 定位研究和分子标记辅助选择育种 (MAS) 打下基础。

研究亮点: 首次以新型分子标记 SNP 为主要作图标记并以 SSR 标记为辅助标记构建鲤遗传连锁图谱; 有来自表达基因编码区的 41 个 EST-SSR 标记分布在图谱上; 构建的图谱标记类型丰富, 数量大, 密度高, 为进一步的鲤重要经济性状的 QTL 定位和分子标记辅助育种打下基础。

关键词: 鲤; 遗传连锁图; JoinMap 4.0; 微卫星; 表达序列标签; 单核苷酸多态性

中图分类号: S 917

文献标志码: A

遗传连锁图谱是用遗传距离来反映多态性的遗传标记在染色体上相对位置的基因组图, 是系统的进行基因组学研究^[1]和数量性状定位研究的基础, 同时也是实现分子标记辅助选择育种的有效工具。生物信息学的发展和分子标记技术的成熟运用, 为遗传连锁图谱的构建提供了工具和大量的分子生物技术手段。基于 PCR 技术的微卫星 (Simple Sequence Repeat, SSR)、表达序列标签 (Expressed Sequence Tag, EST)、单核苷酸多态性 (Single Nucleotide Polymorphism, SNP)^[2]等分子标记的成熟应用使得多种鱼类遗传连锁图谱的构建得以实现, 截止到目前已有青鳉 (*Oryzias latipes*)^[3]、斑马鱼 (*Brachydanio rerio*)^[4-5]、虹鳟 (*Salmo gairdneri*)^[6]、罗非鱼 (*Oreochromis*)^[7]、鲤 (*Cyprinus carpio*)^[8-9]、大菱鲆

(*Scophthalmus maximus*)^[10]等遗传连锁图谱的报道。

鲤是重要的经济鱼类, 在我国水产养殖业中占有相当大的比重, 近年来鲤养殖的人工选择负面效应非常明显, 种质资源退化严重, 养殖个体生长缓慢, 远远达不到生产的需要, 所以迫切需要探究控制鲤生长性状的基因以求从根本上解决其生长问题^[11]。鲤重要经济性状的基因定位是解决这个问题的重要手段, 而构建出饱和度高、覆盖面广的遗传图谱则是进行数量性状位点 (QTL) 定位的前提^[12]。孙效文和梁利群^[8]及 SUN 和 LIANG^[9]选用来自黑龙江鲤 (*Cyprinus carpio haematopterus*) 和柏氏鲤 (*Cyprinus pellegrini Tchang*) 杂交子一代的 1 个雌性个体产生的 46 个单倍体胚胎作为构建遗传连锁图的家系构建

收稿日期: 2011-03-24 修回日期: 2011-05-13

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目 (2010CB126305); 黑龙江水产研究所基本科研业务费专项资金 (2009HSYZX-SJ-08)

作者简介: 王宣朋 (1983—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产养殖。E-mail: pengwx2008@126.com

通讯作者: 孙效文, E-mail: sunxw2002@163.com

了鲤的第一代遗传连锁图谱,图谱含有 RAPD 标记 56 个、SSLP 标记 115 个、鲤的基因标记 91 个,由 50 个连锁组构成,平均每个标记间距 15.3 cM,该图谱最有特色的是一批与鲤经济性状的基因得以定位,为进一步的数量性状定位和单基因克隆打下基础。张研等^[13]采用大头鲤与荷包红鲤抗寒品系杂交产生的 F₂ 双单倍体群体,利用 183 个微卫星标记构建了鲤遗传连锁图谱。刘继红等^[14]对大头鲤/荷包红鲤抗寒品系的 F₂ 双单倍体群体,用 265 个 AFLP 标记、127 个微卫星分子标记、37 个 EST-SSR 标记和 16 个 RAPD 标记构建了鲤遗传连锁图谱。但是由于鲤性成熟周期长,而构建一个纯合的近交系需要连续 20 代到 40 代近交,使得家系选育难度大、耗时长,甚至还有近交衰退、杂交不亲和现象,因此很难用纯合的近交系构建鲤遗传连锁图谱^[11]。在这些已构建遗传连锁图谱的鱼类中标记大多使用 SSR、AFLP,标记数也不尽相同,尚未有用 SNP 标记来构建遗传连锁图谱的报道。

SSR、EST、SNP 3 种标记呈孟德尔遗传、共显性分离、重复性高、在基因组中覆盖广,是构建遗传连锁图谱的理想标记^[15-16]。本文利用 SSR、EST-SSR、SNP 3 种标记以德国镜鲤自交 F₂ 为作图群体构建鲤遗传连锁图谱,图谱总图距为 3 295.9 cM,标记间平均间距为 7.21 cM,图谱覆盖率为 76.26%。该图谱可为进一步的鲤重要经济性状的 QTL 定位研究和分子标记辅助育种(MAS)打下基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验所用德国镜鲤均采于黑龙江水产研究所松浦试验站。构建的作图群体为德国镜鲤自交 F₂ 群体。其祖父母为被国家原种和良种审定委员会鉴定为良种的德国镜鲤选育系的后代,父母为经两个冬季强化培育的 2 龄成熟个体, F₂ 共 68 个个体,单个个体水族箱饲养 1 年,测量体重、体长等生长性状的表型值。

1.2 DNA 提取

基因组 DNA 的提取主要按照梁利群和孙效文^[17]的方法。具体操作为:每尾鱼剪取鳍条 0.2 mg,放入 1.5 mL 的 Eppendorf 管中,加入 200 μ L 裂解液(200 μ g/mL 蛋白酶 K,0.5% 十二烷基肌

氨酸钠,500 mmol/L EDTA, pH 8.0),将 Eppendorf 管放入 55 $^{\circ}$ C 的培养箱中,每隔 30 min 轻轻地摇动 Eppendorf 管,待鳍条消化完全后取出并加入等体积的酚/氯仿/异戊醇混合液(25:24:1)抽提 2 次,抽提后加入 RNAase(确保无 DNAase),最终浓度为 20 μ g/mL,37 $^{\circ}$ C 保温箱中保温 30 min。再用等体积的氯仿抽提 1 次,用无水乙醇沉淀出 DNA,最后用 75% 的乙醇洗涤 1 次,室温干燥,加入 100 μ L 0.1 \times TE 溶解,然后用 1% 的 Agarose 凝胶与分光光度计检测样品质量,选择纯度高、无降解的 DNA 样品用于标记分析。

1.3 基因型分析

利用 PCR(polymerase chain reaction)扩增方法对本实验研究群体进行基因型检测。引物来自:(1)本实验室开发的 174 个微卫星标记和 41 个 EST 标记^[13-14,18-19];(2)本实验室从 cDNA 序列库中开发的 345 个 SNP 标记;引物由上海生工生物工程有限公司合成。PCR 反应体系为 15 μ L,其中包括 1 U *Taq* DNA 聚合酶(Sangon)、1 \times PCR buffer(10 mmol/L Tris-HCl,50 mmol/L KCl,2.0 mmol/L MgCl₂,0.01% Gelatin, pH 8.3)、dNTPs 各 200 mmol/L、上下游引物各 0.1 mmol/L、100 ng 的模板 DNA。PCR 反应程序为 94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min;94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,退火温度 48~64 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s,共 25 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。扩增产物经 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳和银染后进行个体基因型检测。根据第 2 代测序技术(454 测序法)测得的鲤全基因组序列开发 SNP 标记,采用美国 Fluidigm 公司 Bio-MarkTM 基因分析系统进行每个个体 SNP 标记的检测和分型。再利用 GEL-PRO 软件分析电泳图并转换成 JoinMap 4.0 的数据格式。

1.4 JoinMap 4.0 软件包作图以及图谱相关参数的计算

1.4.1 JoinMap 4.0 软件包作图

首先用 JoinMap 4.0 对位点分离类型进行判别^[20],删除严重偏离分离比例的位点。以 LOD 值为参数进行分群,设定 LOD 的起始值为 2.0,终止值为 10.0,步进值为 1.0,均为 JoinMap 4.0 软件包的默认状态。在 Calculation Options 下的 Group 命令中选中 Regression Mapping,在 Regression Mapping function 命令中选中 Kosambi's 作为作图函数,设重组率的值是 0.400,LOD 为

1.00 来构建连锁群,分完群后切换到树状图分群窗口,选中要分析的群进行标记间的两点检验。可以通过调整 LOD 值和重组率的值来改变连锁的标准^[21]。在默认值下分析后通过调整临界值将更多的标记加到图谱上面去,LOD 值最低为 0.01,最高重组率为 0.499。用 JoinMap 4.0 内置的 Mapchart 绘制遗传连锁图谱。

1.4.2 图谱相关参数的计算

图谱参数的相关计算参考高国强等^[11]的方法,具体为:连锁群上标记间总间隔数为图谱上标记总数减去连锁群数;每个连锁群上标记的平均间隔为连锁群长度除以间隔数;连锁群的间隔数为 $n-1$ (n 为连锁群标记数);整个连锁图谱标记的平均间隔是图谱长度和总间隔数的比值。参照 VOORRIPS^[22]的方法估算遗传连锁图谱的预期长度(L),具体为每个连锁群的长度加上连锁图谱平均间隔的 2 倍。同时再以

POSTLETHWAIT 等^[23]的方法计算遗传连锁图谱的预期长度 L :

$$L = S \times (m + 1) / (m - 1) \quad (1)$$

式中: m 为每个连锁群的遗传标记数; S 为图谱的实际长度,是所有连锁群的长度之和。

本实验中取两种方法所获结果的平均值作为整个连锁图谱的预期长度。计算连锁图谱的覆盖率(V)用公式:

$$V = S/L \quad (2)$$

2 结果

2.1 标记的多态性分析结果

选用在德国镜鲤 F_2 68 个个体中能扩增出清晰条带的 SSR、EST-SSR 标记和用 Bio-MarkTM 基因分析系统检测到的多态性 SNP 标记用于构建连锁图谱(图 1),共出现 4 种等位基因。

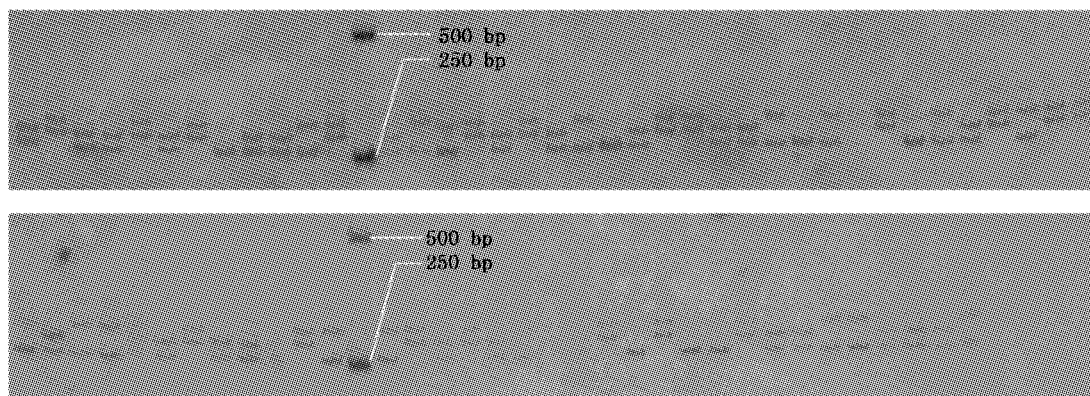


图 1 微卫星位点 HLJ334 在 68 个样本的扩增结果

Fig.1 Amplification result of HLJ334 in 68 samples

结果显示:从 272 个微卫星标记、80 个 EST 标记及 363 个 SNP 标记中共筛选出 612 个具有多态性的标记,多态性比例为 85.6%,其中符合

孟德尔遗传规律的有 560 个标记(包括 1:2:1、3:1 和 1:1)^[20],偏分离有 52 个,偏分离比例为 0.08%(表 1)。

表 1 560 个多态性标记分离类型及其表型信息

Tab.1 The types and phenotypes of 560 polymorphic markers

标记类型	标记数	父母本		子代			
		杂交类型	观测基因型	子代基因型	性状分离比	表型数量	
A	1	39	abxcd	abxcd	ac, ad, bc, bd	1:1:1:1	4
	2	85	abxac	abxac	a, ac, ab, bc	1:1:1:1	4
B3	7	136	abxab	abxab	a, 2ab, b	1:2:1	3
D1	10	158	abxaa	abxa	a, ab	1:1	2
D2	15	194	aaxab	axab	a, ab	1:1	2

2.2 遗传连锁图谱分析结果

采用 JoinMap 4.0 软件包构建的鲤遗传连锁图谱含 560 个标记,分别由 174 个 SSR 标记、41 个 EST 标记和 345 个 SNP 标记组成,分布在 50 个连锁群上(图 2)。最大连锁群包含 60 个标记,平均每个连锁群有 11.2 个标记,图谱总长度为 3 295.92 cM。最长连锁群的图距为 198.1 cM,最小的图距为 1.5 cM,标记间平均间距为 7.21 cM,41 个 EST 标记分布在 25 个连锁群上(表 2)。

表 2 鲤遗传图谱信息总汇

Tab.2 Information summary of genetic linkage maps of the common carp

图谱的各参数名称	参数值
图谱标记总数/个	560
连锁群的数量/个	50
图谱实际长度/cM	3 295.92
图谱预期长度/cM	4 321.81
标记平均间距/cM	7.21
连锁群平均标记数/个	11.2
最大连锁群标记数/个	60
最长连锁群图距/cM	198.1
最短连锁群图距/cM	1.5

3 讨论

3.1 作图标记的选用

目前鲤遗传连锁图谱的构建,大部分选用呈共显性分离的微卫星标记和呈显性分离的 AFLP、RAPD 标记,如高国强等^[11]、孙效文和梁利群^[8]等构建的鲤遗传连锁图谱。遗传图谱不仅要在同一物种不同家系和群体间进行比较,还要在不同物种间进行比较基因组作图^[15-16],但是 AFLP、RAPD 标记等显性标记很难在不同群体、不同品种及不同实验室间进行转移^[15]进而不利于比较作图。SSR、EST-SSR、SNP 3 种标记在种群内不同群体间具有很好的兼容性^[1-2,12],能在同一群体雌、雄图谱之间及种内不同群体间的比较整合中起到桥梁作用。

单核苷酸多态性标记被称为“第三代 DNA 遗传标记”^[24],在水产生物中是二等位基因性的,容易估算出 SNP 等位基因的频率^[25]。SNP 数量多、分布广、稳定性高,部分 SNP 位于基因内部可能会直接影响产物蛋白质的结构或基因表达水平。由于其二态性易于基因分型,能大规模的自

动化筛选,避免了凝胶电泳对标记筛选速度的束缚^[24]。相比于 AFLP、SSR 等标记,SNP 标记是双等位的,杂和期望较低,容易定位于基因组的大多数单拷贝区域,不同基因型间的比较更直接,更适合于复杂性状的遗传分析。SNP 标记技术对水产生物高密度遗传图谱的绘制、新基因的克隆及标记辅助育种有十分重要的作用。有以 SNP 标记为主构建鸡、犬、鼠、牛等动物的遗传图谱的报道^[26],但在鲤的图谱构建中尚未有用 SNP 标记的报道。本文利用 345 个 SNP 标记参与构建鲤遗传连锁图谱,SNP 标记的使用明显增加了图谱的密度,更有利于种内图谱间的比较。

微卫星以其共显性的孟德尔式遗传、能够鉴别杂合体、不受环境条件和其它因素的影响等优点,广泛用于分析水产动物群体、家系和个体间的遗传差异,标记辅助育种和遗传连锁图谱的构建^[27]。EST 是直接来源于基因组编码区的 I 型标记,信息量丰富、可靠性强,能在不同物种间进行比较基因组作图^[28],同时有利于生长性状的 QTL 定位^[29]。SSR、EST-SSR、SNP 3 种标记可以在不同群体、不同品种及不同实验室进行转移,利用比较基因组作图,使本图谱能够与其他实验室的同物种图谱甚至不同物种图谱之间进行信息交流及图谱整合。通过比较这些标记在不同物种基因组中的分布特点,揭示染色体或染色体片断上的基因及其排列顺序的相同性或相似性,由此对相关物种的基因组结构和起源进行分析^[12]。

3.2 遗传连锁图谱的构建

利用分子标记构建的连锁图是染色体在分子水平上的反映,理论上,一个完整的遗传图谱的连锁群数目应与其单倍体染色体数目相等^[15,27],本研究构建的图谱的连锁群数与鲤单倍染色体数($2n = 100$)^[30]一致。本研究以新型的分子标记 SNP^[24]为主要标记类型,共显性的 SSR 标记和 EST-SSR^[28-29]标记为辅助所构建的鲤遗传连锁图谱相比于孙效文和梁利群^[8]及 SUN 和 LIANG^[9]以 RAPD、SSLP 等标记构建的第一代遗传图谱在实验材料的数量、作图群体类型、标记的种类、标记的数量、图谱的间隔和图谱覆盖率等方面均有所改善。本研究作图群体采用信息量较丰富的 F_2 群体,避免了由于样本数量较少造成的连锁互换无法观察到的现象。

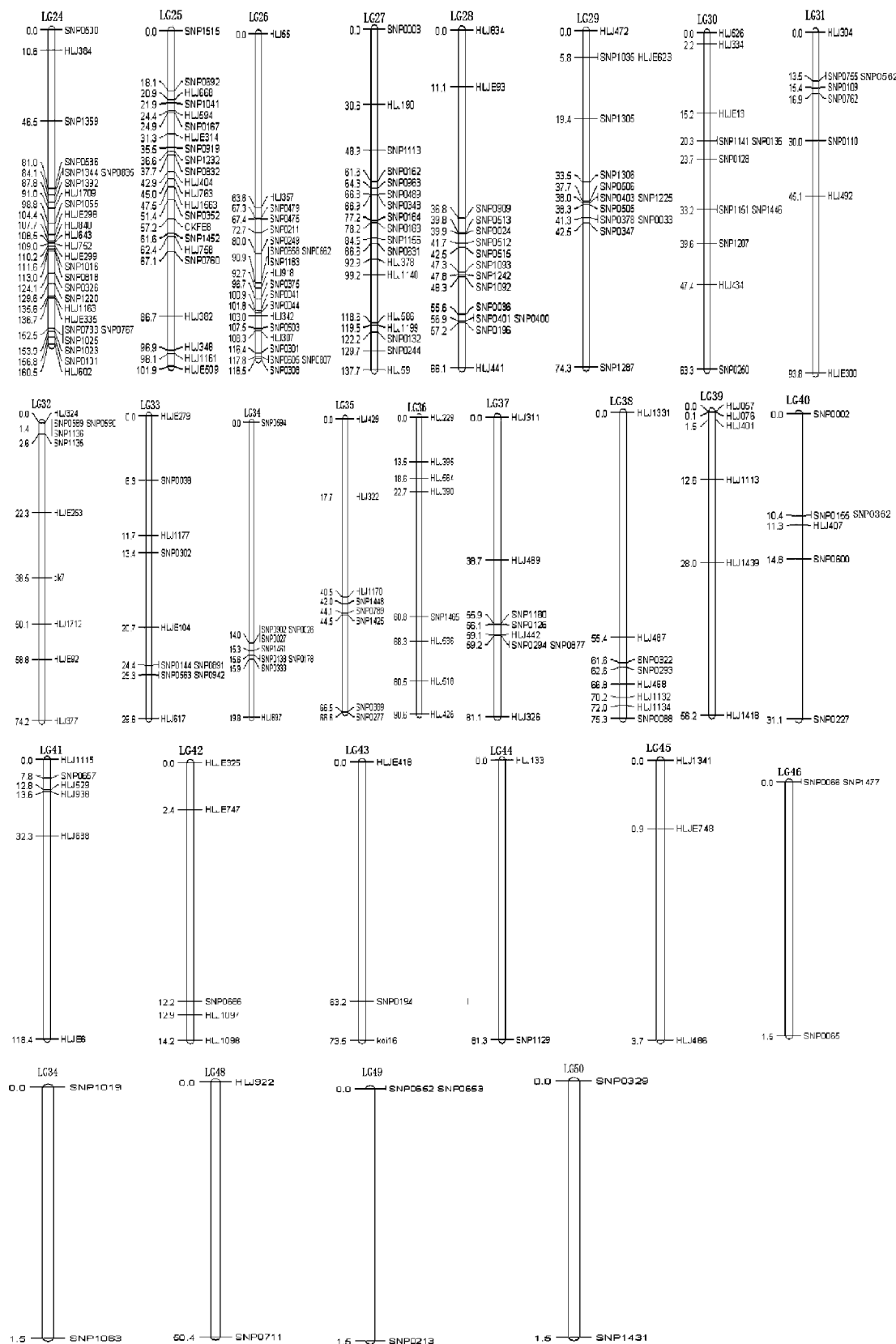


图2 鲤遗传连锁图谱

Fig.2 Genetic linkage map of common carp

连锁群右侧为遗传标记名称;左侧为相邻两个标记间的距离,单位为 cM。

在连锁图谱构建过程中,遇到一些 SSR 标记偏离孟德尔分离比例的偏分离现象^[31]。在 LAUNEY 和 HEDGECOCK^[32] 利用微卫星标记构建太平洋牡蛎图谱, KOCHER 和 LEE^[6] 利用 AFLP 和微卫星两个标记构建鲶鱼图谱, YOUNG 等^[33] 利用 AFLP、RAPD、SSR 和 VNTR 等几种标记构建虹鳟图谱时均检测到偏分离现象。发生严重偏分离的标记一般不应用于连锁作图^[27], 因为偏分离会使连锁分析受到影响, 一些本来不存在连锁的标记由于各自的偏分离, 可能误导出连锁的结论, 而另一些本来相连锁的标记也有可能由于偏分离作图群体中有一部分多态性标记不能够连锁上。标记出现偏分离可能是因为: (1) 亲本遗传差异较大, 导致标记在遗传中子代很难按照孟德尔遗传规律分离^[34]; (2) 由于分离群体偏小, 不能很好反映一个大群体基因的实际分离情况^[35]。本实验所采用的作图群体只有 68 个个体, 属于小群体, 可能是导致标记偏分离的主要原因; (3) 亲本杂交过程中存在染色体的重排、缺失、插入和突变, 本文所选作图群体是镜鲤种内杂交所得, 遗传过程中出现染色体的重排、缺失、插入和突变的可能性较大; (4) 致死基因的存在会直接导致某些性状表现不出来, 遗传中造成标记分离严重偏离孟德尔分离规律。一些隐性有害基因的突变会影响生物的存活和适应性, 可以通过分析偏分离标记的分布情况来推测这些基因在染色体上的位置, 为生物抗逆性及存活率等性状的遗传研究打下基础^[34-35]。

一副好的遗传连锁图谱应当分辨率很高、标记多、标记间图距小、饱和度, 并且标记在基因组上应均匀分布^[12]。对于水产养殖动物来说, 标记数超过 400 个的中高密度的遗传连锁图谱可以用于对一些数量性状进行初步定位。本文利用 174 个 SSR 标记、345 个 SNP 标记、41 个 EST 标记, 以德国镜鲤自交 F₂ 为作图群体构建的鲤遗传连锁图谱为中等密度的图谱^[36], 标记覆盖率为 76.26%, 标记间平均间距为 7.21 cM。比孙效文和梁利群^[9] 的 15.3 cM 和高国强等^[11] 的 14.68 cM 要小, 可以作为鲤生长性状 QTL 初步定位的基础^[37]。同时还可以同斑马鱼的基因组进行比较, 找到相关基因, 为遗传育种提供理论基础。但是本研究构建的连锁图谱, 在每个连锁群上的分子标记分布是不均匀的, 其中最大的 LG11 连

锁群有 60 个标记, 最小的只有 2 个标记。50 个连锁群中只含两个标记的连锁群有 8 个, 占 16%, 且有些连锁群标记间距离偏大, 这证明还需要更多的标记添加到图谱中。

参考文献:

- [1] 张德水, 陈受宜. DNA 分子标记、基因作图及其在植物遗传育种上的应用[J]. 生物技术通报, 1998, 5(5): 15-22.
- [2] 岳志芹, 孔杰, 戴继勋. 水产动物遗传连锁图谱的研究现状及应用展望[J]. 遗传, 2004, 26(1): 97-102.
- [3] NARUSE K, FUKAMACHI S, MITAN H, et al. A detailed linkage map of medaka, *Oryzias latipes* comparative genomics and genome evolution[J]. Genetics, 2000, 154(4): 1773-1784.
- [4] GATES M A, KIM L, EGAN E S. A genetic linkage map for zebrafish; comparative analysis and localization of genes and expressed sequences [J]. Genome Research, 1999, 9(4): 334-347.
- [5] KELLY P D, CHU F, WOODS L G. Genetic linkage mapping of zebrafish genes and ESTs [J]. Genome Research, 2000, 10(4): 538-567.
- [6] SAKAMOTO T, DANZMANN R G, GHARBI K. A microsatellite linkage map of rainbow trout (*Oreorhynchus mykiss*) characterized by large sex specific differences in recombination rates [J]. Genetics, 2000, 155(1): 1331-1345.
- [7] KOCHER T D, LEE W. A genetic linkage map of a cichlid fish, the tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Genetics, 1998, 148(3): 1225-1232.
- [8] 孙效文, 梁利群. 鲤鱼的遗传连锁图谱(初报) [J]. 中国水产科学, 2000, 7(1): 1-5.
- [9] 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 [J]. Aquaculture, 2004, 238(4): 165-172.
- [10] CARMEN B, MIGUEL H. A Microsatellite Genetic Map of the Turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. Genetics, 2007, 177(4): 2457-2467.
- [11] 高国强, 常玉梅, 匡友谊, 等. 利用 onemap 构建鲤遗传连锁图谱[J]. 水产学报, 2010, 34(5): 649-655.
- [12] 林红, 夏德全, 杨弘. 遗传连锁图谱及其在鱼类遗传育种中的应用[J]. 中国水产科学, 2000, 7(1): 95-98.
- [13] 张研, 梁利群, 常玉梅, 等. 鲤鱼体长性状的 QTL 定位及其遗传效应分析[J]. 遗传, 2007, 29(10): 1243-1248.
- [14] 刘继红, 张研, 梁利群, 等. 鲤鱼体重和体长的 QTL 定位[J]. 广东海洋大学学报, 2007, 29(4): 19-24.
- [15] 刘云国, 刘贤德, 高焕. 水产动物 DNA 分子标记技术[M]. 北京: 科学出版社, 2009.
- [16] 刘云国, 孙修勤. 水产动物遗传连锁图谱的构建策略[J]. 海洋科学进展, 2008, 26(3): 381-385.

- [17] 梁利群,孙效文. 利用鳍条提取样品总 DNA 初探[J]. 生物技术,1994,4(1):45-46.
- [18] 侯宁,张研,鲁翠云,等. 微卫星 DNA 标记分析德国镜鲤的遗传潜力[J]. 遗传,2007,29(12):1509-1518.
- [19] 张义凤,张研,鲁翠云,等. 鲤鱼微卫星标记与体重、体长和体高性状的相关分析[J]. 遗传,2008,30(5):613-619.
- [20] STAM. Construction of integrated genetic linkage maps by means of a new computer package: JoinMap[J]. Plant Journal, 1993, 3(5): 739-744.
- [21] 周森平,张旭. 用 JoinMap 3.0 初步构建小麦遗传连锁图[J]. 江苏农业学报,2003,19(3):133-138.
- [22] VOORRIPS R E. MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs [J]. The Journal of Heredity, 2002,93(1):77-78.
- [23] POSTLETHWAIT J H, JOHNSON S L, MIDSON C N. A genetic linkage map for the zebrafish [J]. Science, 1994, 264(29): 699-703.
- [24] 邹喻苹,葛颂. 新一代分子标记-SNPs 及其应用[J]. 生物多样性,2003,11(5):370-382.
- [25] 周延清. 遗传标记的发展[J]. 生物学通报,2000,35(5):17-18.
- [26] 张洪伟,傅洪拓,夏德全. 农业经济动物的 SNPs 研究进展[J]. 浙江海洋学院学报:自然科学版,2007,26(2):192-196.
- [27] 孙昭宁,刘萍. RAPD 和 SSR 两种标记构建的中国对虾遗传连锁图谱[J]. 动物学研究, 2006, 27(3):317-324.
- [28] 骆蒙,贾继增. 国际麦类基因组 EST 计划研究进展[J]. 中国农业科学,2000,33(6):110-112.
- [29] 李虹,卢孟柱,蒋湘宁. 表达序列标签(EST)分析及其在林木研究中的应用[J]. 林业科学研究,2004,17(6):804-809.
- [30] 董崇智,李怀名,牟振波. 中国淡水冷水性鱼类[M]. 黑龙江:黑龙江科学技术出版社,2001.
- [31] CAUSSE M A, FULTON T M, CHO Y G. Saturated Molecular Map of the Rice Genome Based on an Interspecific Backcross Population[J]. Genetics, 1994, 138(4):1251-1274.
- [32] LAUNEY S, HEDGECOCK D. High genetic load in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* [J]. Genetics, 2001, 159(1): 255-265.
- [33] YOUNG W P, WHEELER P A, CORYELL V H. A detailed linkage map of rainbow trout produced using doubled haploids [J]. Genetics, 1998, 148(2): 1-13.
- [34] 施季森,童春发. 林木遗传图谱构建和 QTL 定位统计分析[M]. 北京:科学出版社,2006.
- [35] 何祯祥,施季森,邱进清,等. 林木遗传图谱构建的技术与策略[J]. 浙江林学院学报,1998,15(2):151-157.
- [36] 常玉梅,孙效文. 水产养殖动物遗传连锁图谱及 QTL 定位研究进展[J]. 动物学研究,2006,27(5):533-540.
- [37] 阮成江,何祯祥,钦佩. 我国农作物 QTL 定位研究的现状和进展[J]. 植物学通报,2003,20(1):10-22.

The construction of genetic linkage map of common carp (*Cyprinus carpio* L.)

WANG Xuan-peng^{1,2}, SUN Xiao-wen¹, LI Wen-sheng^{1,2}, ZHANG Tian-qi^{1,3}, LI Chao¹

(1. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, Heilongjiang, China; 2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. College of Life Science and Technology, Dalian Ocean University, Dalian 116023, Liaoning, China)

Abstract: The common carp (*Cyprinus carpio* L.) is the most extensively cultured fish in the world, as well as in China. Construction of genetic linkage map of common carp is necessary to increase the efficiency of selective breeding, especially complicated traits. In this study, a genetic linkage map has been constructed for the common carp (*Cyprinus carpio* L.) using the mode of cross Pollinators in JoinMap 4.0 software. The results showed that the framework of genetic linkage map consisted of 560 markers (174 SSR markers, 41 EST markers and 345 SNP markers) in 50 linkage groups ranged in size from 1.5 cM (The unit is centimorgan) to 198.1 cM and consisted of 2 to 60 markers. The average markers of 50 linkage groups is 11.2. The total linkage distance spanned by these markers was 3 295.9 cM with an average of 7.21 cM for the whole framework map, and the map coverage is 76.26%. This medium-density genetic linkage map is an improvement of further QTL, fine mapping, marker assisted selection (MAS) linked to important traits and comparative genome mapping in common carp.

Key words: common carp (*Cyprinus carpio* L.); genetic linkage map; JoinMap 4.0; SSR; EST; SNP