

利用 OneMap 软件构建鲤遗传连锁图谱

高国强^{1,2}, 常玉梅¹, 匡友谊¹, 梁利群^{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)

摘要:首次使用 R 环境中的 OneMap 软件包,以荷包红鲤抗寒品系(♂)和云南大头鲤(♀)为祖父母本所培育的 110 个 F₂ 个体为作图群体,以荧光扩增片段长度多态性 (fluorescent amplification fragment length polymorphism, fAFLP) 为主要分子标记,采用远交全同胞家系模型构建鲤的遗传连锁图谱。结果显示,110 个 F₂ 个体中共产生 1 513 个清晰的 fAFLP 标记,其中多态性标记 911 个;另开发多态性的 EST 标记 12 个,最后总计 923 个标记用于构建遗传连锁图谱;采用 OneMap 软件包构建的遗传图谱含有 238 个 fAFLP 标记和 8 个 EST 标记分布在 50 个连锁群上,总图距为 2 876.64 cM,标记间平均间距为 14.68 cM,图谱覆盖率为 66.56%。

关键词:鲤;遗传连锁图谱;荧光扩增片段长度多态性;OneMap

中图分类号:Q 755;S 917

文献标识码:A

构建遗传连锁图谱是基因组研究中的重要环节,而构建遗传连锁图谱的生物信息软件亦是推进基因组研究不可缺少的工具。如今,生物信息软件日新月异,根据软件的理论模型、群体类型和特点,每种作图软件所针对的重点也有所不同,并且各有优缺点。对于大多数水生生物而言,很难获得近交系,因为一个纯合的近交系要具备以下特征:各条染色体上的基因趋于纯合、品系内个体差异趋于零、近交系数大于 98.6% 等等,所以往往要经过 20 代以上的全同胞兄妹单线连续繁殖。由于大多数鱼类的性成熟周期长,使得家系选育耗时长,难度大,甚至有杂交不亲和、近交衰退等现象,因此用纯合的近交系构建遗传连锁图谱是不现实的。

生物信息学的快速发展为构建遗传连锁图谱提供了可靠的工具和大量的理论方法。如使用 MAPMAKER/EXP 3.0 以“拟测交”原理构建遗传连锁策略的提出,使许多难以构建连锁图谱的物种有了可靠的解决途径,同样也在很大程度上推动了水产动物遗传连锁图谱构建的进

程^[1-5]。OneMap 的理论模型最初是针对多年生异交植物(林木)而提出的,主要针对远交全同胞家系构建遗传连锁图谱,OneMap 软件包直接通过 R 语言来实现,R 语言要比 C 语言更具人性化,简明易懂,方便操作;其核心部分是通过最大似然法同时估算标记的连锁群分配和标记的间距,而且其理论囊括所有标记分离类型(1:1:1:1、1:2:1、3:1、1:1 共 18 种分离类型)同时分析^[6],是到目前为止报道过包含标记类型最全面的软件。Garcia 等^[7]首次使用 OneMap 软件包以最大似然法成功构建了甘蔗 (*Saccharum* spp.) 的遗传连锁图谱。随后,Oliveira 等^[8]又使用 OneMap 软件成功构建了黄果西番莲 (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg) 遗传连锁图谱,其标记平均间距为 6.9 cM。本研究首次使用 OneMap 软件以远交全同胞模型构建了鲤 (*Cyprinus carpio*) 遗传连锁图谱,旨在将其理论体系应用到构建水产养殖动物遗传连锁图谱,以进一步推进和完善水产养殖动物遗传连锁图谱的构建和后续的数量性状定位研究。

收稿日期:2009-12-15

修回日期:2010-03-06

资助项目:国家“九七三”计划资助项目(2004CB117400);农业部水产生物技术重点开放实验室(2009NYBZS-05);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2009HSYZX-SJ-05)

通讯作者:梁利群,Tel:0451-84861314, E-mail:lqiang@fishbreeding.org

1 材料与方法

1.1 材料来源

实验鱼均采自于黑龙江水产研究所松浦试验站。作图群体为 F_2 家系,其祖父母分别为荷包红鲤抗寒品系(*Cyprinus carpio* var. *wuyuanensis*)(δ)和云南大头鲤(*Cyprinus pellegrini* Tchang)(η),杂交得到 F_1 ,1对 F_1 自交获得 F_2 家系。1000尾1龄 F_2 个体进行物理标记后,放入松浦试验站越冬池进行6个月的室外越冬试验。翌年春出池发现只有73尾成活个体。本研究 F_2 试验样本由51尾死亡个体和59尾成活个体,共计110个个体组成。

1.2 DNA提取

基因组DNA的提取主要按照梁利群等^[9]报道的方法略加修改。将0.2 mg 鳍条放入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,100 mmol/L EDTA(pH 8.0)),于55 $^{\circ}$ C水浴锅中消化5~6 h,期间缓慢晃动3~4次直至组织完全消化。采用等体积的酚/氯仿/异戊醇混合液(25:24:1)抽提2次,加入无DNAase的RNAase A(20 μ g/mL)(MBI)于37 $^{\circ}$ C保温30 min;再用等体积的氯仿抽提1次,预冷的无水乙醇沉淀,75%乙醇洗涤2次,室温干燥,加入100 μ L 0.1 \times TE溶解。1%琼脂糖凝胶电泳检测其完整性,并用紫外分光光度计测定样品浓度。

1.3 分子标记的开发

AFLP分子标记的开发 AFLP分析参照Vos等^[10]和PE公司“植物AFLP指纹图谱操作步骤”,略加修改。

(1)双酶切与连接:双酶切采用Mse I和EcoR I(NEB)组合。酶切体系包括基因组DNA 250 ng, EcoR I 20U, Mse I 2 U, T₄ DNA Ligase(NEB)1 韦氏单位,BSA(1 mg/mL)2 μ L, Mse I接头(50 pmol/L) 1 μ L, EcoR I接头(5 pmol/L) 1 μ L, T₄连接缓冲液2 μ L,加灭菌水至20 μ L,于9700 PCR循环仪上37 $^{\circ}$ C温浴3 h。

(2)预扩增体系:双酶切与连接反应产物经稀释10倍取4 μ L, EcoR I预扩增引物(10 μ mol/L)取1 μ L, Mse I预扩增引物(10 μ mol/L)取1 μ L, Taq酶0.2 μ L(MBI),自制Buffer 12.4 μ L,加灭菌水至20 μ L。PCR反应条件为72 $^{\circ}$ C 2

min, 25个循环包括94 $^{\circ}$ C 30 s, 56 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 2 min,最后60 $^{\circ}$ C保温30 min。预扩增产物经1.5%琼脂糖凝胶检测。当DNA片段大小均匀分布在100~1500 bp内时,可以进行下一步分析。

(3)选择性扩增体系:预扩增反应产物稀释20倍取2 μ L, 荧光标记的EcoR I选扩引物(10 μ mol/L)取1 μ L, Mse I选扩引物(10 μ mol/L)取1 μ L, Taq酶0.2 μ L(MBI),自制Buffer 12.4 μ L,加灭菌水至20 μ L。采用Touch-down PCR策略,94 $^{\circ}$ C变性2 min,首先进行11个循环(94 $^{\circ}$ C 30 s, 66 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 2 min),其退火温度依次降低1 $^{\circ}$ C;之后再行25个循环(94 $^{\circ}$ C 30 s, 56 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 2 min),最后60 $^{\circ}$ C延伸30 min。

(4)选择性扩增产物的检测:选择性扩增产物在ABI Prism 377半自动测序仪上进行检测。取1 μ L PCR选择性扩增产物,2.0 μ L Loading Mix包括0.2 μ L ROX-500(ABI),1.5 μ L的去离子甲酰胺,0.3 μ L的载样缓冲液(25 mmol/L EDTA和50 mg/mL葡聚糖蓝),95 $^{\circ}$ C变性10 min后,立即置于冰-水浴中冷却至少10 min,上样1 μ L变性产物;产物在浓度为5%,长度为36 cm含6 mol/L尿素的变性聚丙烯酰胺凝胶上进行电泳分离,以内标ROX-500为参照,以ABI Prism 377 Data Collection Software进行图像扫描,并记录数据。

EST分子标记开发 选取鲤脑组织低温诱导表达的EST序列64个^[11],根据引物设计原则采用Primer 3.0共设计EST引物35对,其中22对获得清晰的扩增条带,多态性引物12对,其引物信息见表1。扩增产物在8%的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳上分离、电泳结束后,参考许绍斌等^[12]的方法进行银染、显色,扫描后保存图像。

1.4 数据处理

AFLP-PCR扩增指纹图以显性等位基因的形式进行分析,显性的AFLP标记的每条多态条带都作为一个座位来处理,当某一扩增带出现(显性)时记为1,缺失则记为0,标记的命名采用“引物组合简称+多态性片段分子量”,例如,“A104”中的A是引物E-ACG与M-CAG组合的简称,104表示片段大小。不同引物组简称见表2。根据父母本的杂交类型,把标记按照Wu等^[13]所报道的分离类型进行归类,其中,AFLP

标记可分为 $ao \times ao$, $ao \times oo$, $oo \times ao$ 3 种分离类型(后代基因型分离比分别是 3:1、1:1 和 1:1); EST 标记按照共显性等位基因进行分析,数据也按上述方法进行处理。

表 1 12 对多态性鲤 EST 标记的信息
Tab.1 The information of 12 polymorphic EST markers in common carp

EST 标记 EST makers	引物序列 5' -3' primer sequence 5' -3'	产物大小(bp) product size	退火温度(℃) annealing temperature
CC007	F: TCTGGTAATGGCACAGTGGGA R: TGTTCCTCTCGCTTACAGCA	275	60
CC009	F: ACATCAGCGGGATACACACA R: GTGTCAGACGCTGAAGGACA	111	60
CC030	F:ACCGAGGAACATCAACTGCT R:GGCCGACGTTTTGCTTTTA	158	60
CC094	F: CACCGAGATCGATGACACAG R: TGAGGGAATGTGGATGTCTG	284	60
CC095	F: CCTGCTGCCATAACAAAAT R:CGTTGCATTCCAAAATCAAA	457	60
CC062	F: GCCGCCAACATTTTTCTAA R: GTGGCCAGATTGTTGGACIT	194	60
CC064	F: AACTTCCCAAACACTGTGCC R: TTCCAGCGGTGATGACTA	261	60
CC112	F:GGTGCCTGTTCCCTAAACAA R:ATGCTGTGTGTGCCAGGTAG	632	60
CC113	F:GCAATGCAGAAACCAAAGGT R:TCATTTGTTGGTGCTGGTGT	293	60
CC115	F:ACAAAATGGAGGTGGCAAAG R:ATCGGCTCATTGAAAGTGCT	237	60
CC143	F: GTGTGTATGCCACCATGAGC R: CCAGACACACAGCTTCCAGA	165	59
CC147	F: TCCAGCTCCACCAGAAGAGT R: TTCAGCTTTGGTTGCTGTTG	483	58

表 2 110 个个体中使用的不同引物组合简称
Tab.2 The abbreviations of AFLP primer combinations

组合简称 abbreviation	M-CAG	M-CAC	M-CAA	M-CTA	M-CAT	M-CTC	M-CTG	M-CTT
E-ACG	A	B	C	D	E	F	-	G
E-AAG	H	I	J	K	L	-	-	-
E-ACT	M	N	O	P	Q	R	-	AB
E-AAC	-	S	-	T	U	V	-	-
E-ACA	W	-	X	Y	-	-	-	-
E-ACC	-	-	Z	-	AA	-	AC	AD

注:表中“-”表示此引物组合没有使用。
Notes:“-” means this AFLP primer combinations is not used in this experiment.

1.5 OneMap 软件作图方法以及图谱相关参数的计算

OneMap 软件包作图方法

(1)首先,将所有标记按照 Wu 等^[13]所报道的分离类型进行归类,创建 OneMap 输入格式的文本文件,使用 read. outcross 命令导入数据。

(2)然后使用 rf. 2pts 命令,使用 EM 算法进行两点检测,设置 LOD 值 ≥ 4 , 最大重组率

(max. rf) = 0.35 建立共分离组,同时在后验概率基础上,估算标记在连锁相上的分配。

(3)使用 group 命令将所有连锁的标记进行连锁群分配,然后使用 rcd (Rapid Chain Delineation)命令对每个连锁群上的标记进行排序。

(4)对于用以上命令未能定位的标记,采用 try 命令进行定位。此外,还可以用 add. marker

和 drop. marker 命令来添加和剔除标记,最后用 ripple 命令检验排序的可靠性。

(5)利用 map 命令根据 Kosambi 函数计算图距,单位为“厘摩”(centiMorgan, cM)。最后用 MapChart 2.2 软件绘制遗传连锁图谱^[14]。

图谱相关参数的计算 连锁群总间隔数 = 图谱上标记总数 - 连锁群数(n);每个连锁群的平均间隔 = 连锁群长度/间隔数;连锁群的间隔数 = 连锁群上的标记数 - 1;标记的平均间隔(s) = 图谱长度/总间隔数;图谱的实际长度:包括三联体和连锁对在内的所有连锁标记的长度(Goa)。遗传图谱的预期长度(Ge),估算方法有以下两种:

(1) Ge_1 。参照 Postlethwait 等^[15]的方法,预期长度为每个连锁群的长度加上连锁图谱平均间隔的 2 倍,来补偿末端标记与端粒之间的距离。

(2) Ge_2 。参照 Chakravarti 等^[16]的方法,每个连锁群的预期长度为实际长度乘以系数

$(m+1)/(m-1)$,其中 m 为每个连锁群的遗传标记数。本实验中,采用 Ge_1 和 Ge_2 的平均值作为图谱的预期长度。图谱的覆盖率 $Coa = Goa/Ge$ 。

2 结果

2.1 作图标记的多态性分析结果

在 48 对 fAFLP 选择性引物组合中筛选出 30 对多态性高的引物组合用于做图样本库(110 个样本)的分析(表 2)。通过对 110 个个体进行 PCR 扩增,共产生清晰的荧光标记 1 513 个,其中多态性标记 911 个,多态性比例为 60.2%;平均每对组合产生 50.4 个标记,多态性标记 30.4 个。在多态性 fAFLP 标记中,符合孟德尔遗传规律的有 627 个(包括 3:1 和 1:1),偏分离标记 284 个。另外,12 对多态的 EST 标记中,有 9 个符合 1:2:1 分离,3 个符合 1:1 分离(表 3)。用于遗传连锁图谱构建的多态性标记总计 923 个。

表 3 923 个多态性标记分离类型及其表型信息

Tab. 3 The types and phenotypes of 923 polymorphic markers

标记类型 cross type	标记数 no. marker	父母本 parent		子代 offspring		
		杂交类型 cross	观测基因型 observed band	子代基因型 observed bands	性状分离比 segregation	基因型数量 no. phenotypes
B1.5	1 (EST)	ab × ao	ab × a	ab, 2a, b	1:2:1	3
B3.7	8 (EST)	ab × ab	ab × ab	a, 2ab, b	1:2:1	3
C.8	331 (AFLP)	ao × ao	a × a	3a, a	3:1	2
D1.10	3 (EST)	ab × aa	ab × a	a, ab	1:1	2
D1.13	378 (AFLP)	ao × oo	a × o	a, o	1:1	2
D2.18	202 (AFLP)	oo × ao	o × a	a, o	1:1	2

2.2 遗传连锁图谱分析结果

在 923 个多态性标记中共有 246 个标记发生连锁,包括 238 个 fAFLP 标记和 8 个 EST 标记,分布在 50 个连锁群上(图 1);50 个连锁群中有 26 个连锁群只有 1 对分子标记,而最大连锁群包含 48 个标记,平均每个连锁群 4.92 个标记;该图谱总长度为 2 876.64 cM,最长连锁群的图距为 437.46 cM,最小的图距为 2.01 cM,标记间平均间距为 14.68 cM(表 4)。综合 Postlethwait 和 Chakravarti 的方法所得出的鲤遗传连锁图谱的预期长度为 4 321.81 cM,本实验所获得的鲤遗传连锁图谱框架覆盖率为 66.56%(图 2)。

3 讨论

本研究建立的使用 ABI 377 半自动测序仪检测鲤作图群体遗传差异的 fAFLP 技术,获得了良好的效果。经过比较所检测到的标记数是普通银染的 1.5~2 倍,与赵种等^[17]所做的 AFLP 荧光标记和银染技术的比较分析结果相一致。构建的 50 个连锁群数与 Ohno^[18]发现的鲤染色体数是一致的($2n = 100$)。但是,此 F_2 家系的 AFLP 标记在家系遗传中偏离孟德尔分离规律的比例略高,不能连锁的标记还较多,说明在连锁群上仍有一些空缺需要填补。在总的 923 个多态

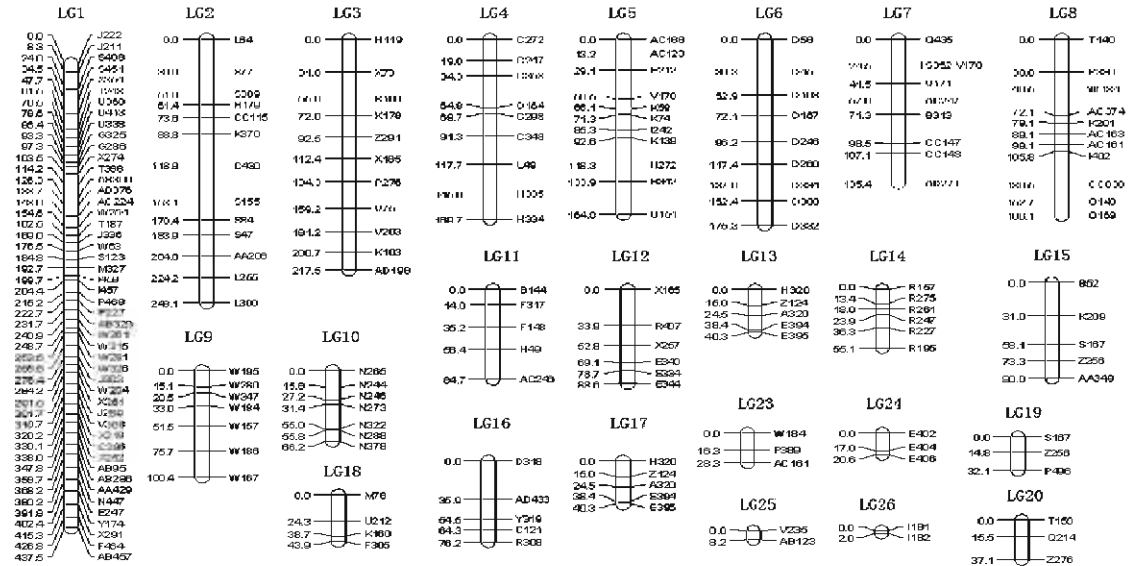


图 1 鲤遗传连锁图谱

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,标记是按照引物组合简称和片段大小来命名。

Fig.1 Genetic linkage maps of the common carp

Detailed genetic linkage maps of the common carp with markers indicated on the right and genetic distances (in Kosambi cM) on the left. AFLP Markers was named based on the abbreviation of primer sets and allele size.

表 4 鲤遗传图谱信息总汇

Tab.4 Information summary of genetic linkage maps of the common carp

参数名称 matrix name	参数值 value	参数名称 matrix name	参数值 value
图谱标记总数(个) number of mapped markers	246	连锁群平均标记数(个) average marker number of LG	4.92
连锁群的数量(个) number of LG	50	最大连锁群标记数(个) number of largest LG	48
实际长度 Go _a (cM) length of Linkage map	2786.64	一对标记连锁群数量(个) number of LG with two markers	26
预期长度 Ge (cM) estimated length of map	4821.81	最长连锁群的图距(cM) length of longest LG	437.46
标记平均间距(cM) average interval	14.68	最小连锁群的图距(cM) length of smallest LG	2.01

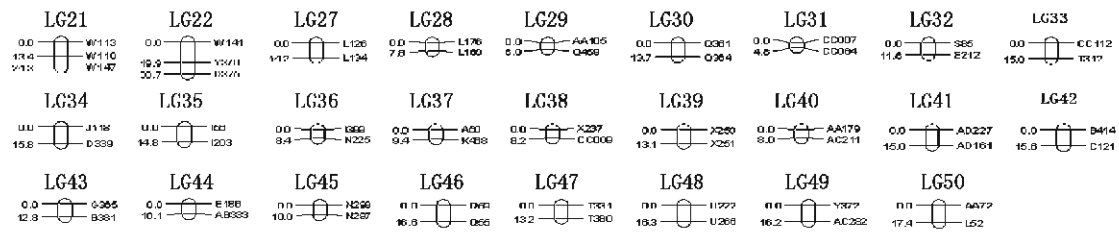


图 2 鲤遗传连锁图谱

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,标记是按照引物组合简称和片段大小来命名。

Fig.2 Genetic linkage maps of the common carp

Detailed genetic linkage maps of the common carp with markers indicated on the right and genetic distances (in Kosambi cM) on the left. AFLP Markers was named based on the abbreviation of primer sets and allele size.

性位点中,有 69.3% 的分离位点符合孟德尔分离规律,与美洲牡蛎 (*Crassostrea virginica*) 中的 90% (81 个子代)^[19]、栉孔扇贝中的 (*Chlamys farreri*) 90% (60 个子代)^[20]、中国对虾 (*Penaeus chinensis*) 中的 84.6% (110 个子代)^[11] 相比略低,总图谱连锁的 246 个标记中,有 122 是个偏分离标记,而且主要分布于 LG1、LG2、LG3、LG5、LG14 和几个连锁对当中。分析家系出现偏分离可能的原因:在人工受精过程中配子间的竞争和选择^[21];不同位点的片段分子量大小相同使得一条 AFLP 电泳条带可能是多个位点扩增产物的重叠表现^[22];高的遗传负荷和对隐性致死基因的选择是实验取样误差所引起^[23]。此外,在标记连锁分析过程中,我们可以通过偏分离标记的分布情况推测影响生物存活和适应性的隐性有害基因在连锁图中的位置,从而推进生物抗逆性及存活率等性状相关遗传基础的研究工作^[24]。

本研究中发现,LOD 值在一定的范围内变动时标记的连锁情况是没有变化的,LOD 值为 4 的时候就可以很好的“group”,与 LOD 值较高时“group”的情况基本相同,此结果与巩鹏涛等^[25]对大豆图谱整合的研究结果相一致;本实验研究结果显示,每个连锁群的 LOD 值各不相同,在 50 个连锁群中,其中 LG1 连锁群的 LOD 值最大 (LOD = 28);最小为 LOD 值为 4;平均 LOD 值为 5.44;理论上同一条染色体上两个基因的间距与其重组率近似成正比^[26],那么在一定范围内 LOD 值越大,标记连锁越紧密。因此,在标记分群不应强求同一 LOD 值,对特殊的连锁群可试用不同 LOD 值,以建立最佳的标记间连锁关系。

参考文献:

- [1] 田毅,孔杰,王为继. 中国对虾遗传连锁图谱的构建[J]. 科学通报,2008,53(5):544-555.
- [2] 李莉,郭希明. 利用 RAPD 和 AFLP 标记初步构建太平洋牡蛎的遗传连锁图谱[J]. 海洋与湖沼,2003,34(5):541-551.
- [3] 岳志芹,王伟继,孔杰. AFLP 分子标记构建中国对虾遗传连锁图谱的初步研究[J]. 高技术通讯,2004,5:88-93.
- [4] Li L, Xiang J H, Liu X, et al. Construction of AFLP-based genetic linkage map for Zhikong scallop, *Chlamys farreri* Jones et Preston and mapping of sex-linked markers[J]. Aquaculture, 2005, 245: 63-73.
- [5] Liu X D, Liu X, Guo X M, et al. A preliminary genetic linkage map of the Pacific abalone *Haliotis discus hannai* Ino [J]. Marine Biotechnology, 2006, 8(4): 386-397.
- [6] Margarido G R A, Souza A P, Garcia A A F. OneMap: software for genetic mapping in outcrossing species [J]. Hereditas, 2007, 144: 78-79.
- [7] Garcia A A F, Kido E A, Meza A N, et al. Development of an integrated genetic map of a sugarcane (*Saccharum* spp) commercial cross, based on a maximum-likelihood approach for estimation of linkage and linkage phases [J]. Theor Appl Genet, 2007, 112(2): 298-314.
- [8] Oliveira E J, Vieira M L C, Garcia A A F, et al. An integrated molecular map of yellow passion fruit based on simultaneous maximum-likelihood estimation of linkage and linkage phases [J]. J Amer Soc Hort Sci, 2008, 133(1): 35-41.
- [9] 梁利群,孙孝文,王鹏,等. 利用鳍条提取样品总 DNA 初探[J]. 生物技术,1994,4(1):45-46.
- [10] Vos P, Hogers R, Bleeker M, et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting [J]. Nucl Acids Res, 1995, 23(22): 4407-4414.
- [11] 梁利群,李绍戊,常玉梅,等. 抑制消减杂交技术在鲤鱼抗寒研究中的应用[J]. 中国水产科学,2006,13(2):193-199.
- [12] 许绍斌,陶玉芬,杨昭庆,等. 简单快速的 DNA 银染和胶保存方法[J]. 遗传,2002,24(3):335-336.
- [13] Wu R, Ma C X, Painter I, et al. Simultaneous maximum likelihood estimation of linkage and linkage phases in outcrossing species [J]. Theoretical Population Biology, 2002, 61(3): 349-363.
- [14] Voorrips R E. MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs [J]. Journal of Heredity, 2002, 93(1): 77-78.
- [15] Postlethwait J H, Johnson S L, Midson C N. A genetic linkage map for the zebrafish [J]. Science, 1994, 264(5159): 699-703.
- [16] Chakravarti A, Lasher L K, Reefer J E. A maximum likelihood method for estimating genome length using genetic linkage data [J]. Genetics, 1991, 128: 175-182.
- [17] 赵翀,刘法央,郭玉霞,等. AFLP 荧光标记和银染技术的比较分析[J]. 甘肃农业大学学报,2007,42

- (2): 125–129.
- [18] Ohno S. The enormous diversity in genome sizes of fish as a reflection of nature's extensive experiments with gene duplication[J]. *Tran Amer Fish*, 1970, 99(1): 120–130.
- [19] Yu Z N, Guo X M. Genetic linkage map of the eastern oyster, *Crassostrea virginica* Gmelin [J]. *Biol Bull*, 2003, 204(3): 327–338.
- [20] Wang L, Song L, Chang Y, *et al.* A preliminary genetic map of Zhikong scallop (*Chamys farreri* Jones et Preston 1904) [J]. *Aqu Res*, 2005, 36(7): 643–653.
- [21] Lyttle T W. Segregation distorters[J]. *Annu Rev Genet*, 1991, 25: 511–557.
- [22] Faris J D, Laddomada B, Gill B S. Molecular mapping of segregation distortion loci in *Aegilops tauschii* [J]. *Genetics*, 1998, 149: 319–327.
- [23] Causse M A, Fulton T M, Cho Y G, *et al.* Saturated molecular map of the rice genome based on an interspecific backcross population [J]. *Genetics*, 1994, 138: 1251–1274.
- [24] 张研. 鲤鱼遗传图谱构建及其生长相关性状的 QTL 定位[D]. 上海: 上海海洋大学, 2008: 53–56.
- [25] 巩鹏涛, 木金贵, 赵金荣, 等. 一张含有 315 个 SSR 和 40 个 AFLP 标记的大豆分子遗传图的整合 [J]. *分子植物育种*, 2006, 4(3): 309–316.
- [26] 刘欣华, 蔡选青, 许由恩. 用于基因定位连锁分析 LODS 法的一种应用程序 [J]. *遗传学报*, 1985, 12(3): 232–237.

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

GAO Guo-qiang^{1,2}, CHANG Yu-mei¹, KUANG You-yi, LIANG Li-qun^{1*}

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

2. College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, 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. So, it is the basis of keeping on the genetic study of a species with construction of full genetic map and location of quantitative trait. In this study, a genetic linkage map has been constructed for the common carp (*C. carpio* L.) using the mode of outbreeding full-sib family in OneMap software firstly. The segregation of 923 polymorphic markers, including 911 fAFLP (fluorescent amplification fragment length polymorphism, fAFLP) markers and 12 gene markers were studied in a panel with 110 F₂ individuals derived from a single hybrid F₁, which was produced by crossing of red-purse carp (*C. carpio* var. *wuyuanensis*) and big-head carp (*C. pellegrini* Tchong). The results showed that the framework of genetic linkage map consisted of 238 fAFLP markers and 8 EST markers in 50 linkage groups that ranged in size from 2.01 cM to 437.46 cM and consisted of between 2 and 48 markers. The total linkage distance spanned by these markers was 2 876.64 cM with an average of 14.68 cM for the whole framework map, and the map coverage is 66.56%. This genetic linkage map is an improvement of further quantitative traits loci (QTL), fine mapping, marker assisted selection (MAS) linked to important economic traits and comparative genome mapping in common carp.

Key words: common carp (*Cyprinus carpio*); genetic linkage map; fluorescent amplification fragment length polymorphism (fAFLP); OneMap

Corresponding author: LIANG Li-qun. E-mail: lqliang@fishbreeding.org