

利用中国明对虾单对杂交亲本及其 F_2 群体构建 RAPD 遗传连锁图谱

李晓静^{1,2}, 王伟继¹, 孔杰¹, 孟宪红¹, 田焱^{1,3}, 孟鹏^{1,2}, 毛连菊²

(1. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071; 2. 大连水产学院, 辽宁 大连 116023; 3. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 由中国明对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 单对杂交亲本 ($G_{\text{♀}}$ 和 $G_{\text{♂}}$) 及其 F_2 为作图群体, 构建了中国明对虾 RAPD 分子标记的遗传连锁图谱。109 个引物共产生 284 个符合孟德尔分离规律的位点, 符合 1:1 孟德尔分离类型的位点共 234 个, 符合 3:1 孟德尔分离类型的位点 50 个。利用拟测交理论分别构建中国明对虾雌虾、雄虾的遗传连锁图谱。107 个 1:1 分离标记分布于雌虾连锁图谱中, 包括 31 个连锁群, 图谱总长度为 1 406.1 cM, 所有标记间的平均间隔为 18.5 cM; 91 个 1:1 分离标记分布于雄虾连锁图谱中, 包括 26 个连锁群, 图谱总长度为 1 187.7 cM, 所有标记间的平均间隔为 18.27 cM; 利用 F_2 自交模型构建了雌虾和雄虾共同的分子标记, 35 个 3:1 分离标记分布于雌雄共有的连锁图谱中, 包括 10 个连锁群, 图谱总长度为 432.9 cM, 所有标记间的平均间隔为 17.3 cM。[中国水产科学, 2007, 14 (5): 770–777]

关键词: 中国明对虾; RAPD 分子标记; 遗传连锁图谱

中图分类号: S96

文献标识码: A

文章编号: 1005–8737–(2007)05–0770–08

中国明对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 是中国重要的经济虾类, 在中国海水养殖业中占重要地位。由于缺乏稳定性状的优良品系, 养殖业的繁殖亲本或苗种多来自野生群体, 因其携带各种病原而无法保证养殖苗种的质量和规格。由于病毒性病害频发加之野生中国明对虾资源受到的严重破坏, 迫切需要培育出优质、高产的新品种, 以实现中国明对虾养殖业的可持续、健康发展。

分子标记辅助育种技术是目前培育改良物种的快速而有效的方法, 因为分子标记辅助育种技术能够在苗种早期鉴定优良性状, 从而缩短育种周期, 加快培育新品种的进程^[1]。进行中国明对虾的分子标记辅助育种, 首先要构建高密度的遗传连锁图谱, 才能对重要经济性状 (生长、抗病等) 进行数量性状基因 (QTL) 定位。RAPD 技术是构建遗传连锁图谱的分子标记方法之一, 因其不需预先了解研究对象的遗传背景, 在连锁分析及遗传连锁图谱的绘制方面有其独到的特点和优势^[2]。

关于中国明对虾的遗传连锁图谱已有报道, 岳志芹等^[3]利用 F_1 群体构建了第一张中国明对虾的 AFLP 遗传连锁图谱; 孙昭宁等^[4]利用 F_1 构建了 中国明对虾的 RAPD 和 SSR 的连锁图谱; 王伟继等^[5]

以 F_2 为作图群体, 构建了中国明对虾的 AFLP 的遗传连锁图谱。但目前中国明对虾的遗传连锁图谱的密度、数量和覆盖率还很低, 不能满足分子标记辅助育种的要求^[4–5]。为了进一步提高中国明对虾连锁群的数量、标记数量, 本研究拟采用以更多的 F_2 为作图群体, 并在 F_1 群体的辅助下 (验证双亲 $G_{\text{♀}}$ 和 $G_{\text{♂}}$ 的分离方式), 构建中国明对虾的 RAPD 分子标记的遗传连锁图谱, 以期从图谱密度、连锁群上的标记对基因组的覆盖率等方面提高遗传连锁图谱质量, 为下一步重要经济性状的 QTL 研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 构图群体的建立

2004 年春季于黄渤海培育群体中选取 1 尾未交配的雌性养殖中国明对虾 ($G_{\text{♀}}$), 另选取 1 尾野生雄性中国明对虾 ($G_{\text{♂}}$) (取自韩国野生群体), 采用人工精荚移植技术产生 F_1 。2004 年 10 月到 11 月从 F_1 家系中选取 40 尾对虾进行人工越冬, 2005 年春季从 F_1 (家系内) 的越冬中国明对虾中选 1 只雌虾 ($F_{1\text{♀}}$) 和 1 只雄虾 ($F_{1\text{♂}}$) 进行定向交尾, 雌虾产生 F_2 (仔虾期 600 尾左右), 把 $F_{1\text{♀}}$ 、 $F_{1\text{♂}}$ 及随机抽取的

收稿日期: 2006–12–10; 修订日期: 2007–03–12.

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30500378); 农业部 948 引进项目 (2006-G55 (B)).

作者简介: 李晓静 (1980–), 女, 硕士, 主要从事种质资源与遗传育种研究. Tel: 13964204765; E-mail: dawnlee2004@163.com

通讯作者: 孔杰. E-mail: kongjie@ysfri.ac.cn

其同一家系内的10个姊妹个体置于-70℃超低温冰柜内保存待用。2005年8月初F₂个体体长为2~5 cm时,随机抽取150个个体,采集样品相关数据,排除实验过程中损失和丢失的个体,选取F₂的110尾中国明对虾作为构图群体,置于-70℃超低温冰柜内备用。

1.2 基因组DNA制备

参照孟宪红等^[6]的方法制备DNA模板。

1.3 RAPD反应体系

RAPD反应体系为:10×PCR反应缓冲液2.5 μL (100 mmol/L Tris-HCl, 500 mmol/L KCl, 2.5 mg/mL BSA, pH 9.0), 2.0 mmol/L Mg²⁺, 0.1 mmol/L dNTPs, 0.2 μmol/L 引物, 20 ng 基因组DNA模版, 1 U TaqDNA聚合酶(5 U/μL), 总反应体系为25 μL。循环程序为:94℃预变性5 min后进入45个循环,每个循环包括94℃1 min、37℃1 min、72℃2 min,最后在72℃充分延伸10 min。反应在PTC-200型PCR仪上进行,产物用2%的琼脂糖凝胶电泳分离,EB染色,后用Gel Doc 1000凝胶成像仪进行图像处理(反应产物在电泳前存放于4℃,电泳和制胶缓冲液为1×TAE)。

随机引物、dNTPs、TaqDNA聚合酶均购自上海生工生物工程有限公司。

1.4 引物的筛选

为增加实验结果的可信度,对引物进行多重选择并优化RAPD反应体系:(1)用一个模板筛970个引物,选出能扩增出2条以上清晰条带的引物;(2)利用步骤(1)选出的引物扩增G_♀、G_♂、F_{1♀}、F_{1♂}及其F₁的10个姊妹(F_{1♀}和F_{1♂})个体,筛选出符合表1中亲本多态性的引物;(3)利用步骤(2)选出的引物扩增F₂的110个个体。

1.5 遗传连锁图谱构建

1.5.1 分离位点的统计 RAPD标记主要为显性标记,分离后代中主要表现为有或无PCR条带两种类型。有带的记为“1”,无带的记为“0”,缺失记为“-”,统计多态性PCR带在每个个体中的表现。根据亲本、F₁及F₂的扩增结果来确定标记的来源及标记类型,具有某条谱带的个体在该位点的基因型为AA或Aa,而无该谱带的个体为aa,由此推断该谱带在子代中的理论分离。利用卡方检验鉴定这些分离条带是否符合孟德尔分离规律,差异显著度为0.05。

表1 RAPD标记在中国明对虾F₂个体中的分离方式

Tab.1 Segregation types of RAPD markers in F₂ of *F. chinensis*

类型序号 Type	两代亲本表现型 Phenotype of two parents				F ₂ 的分离比例 F ₂ Segregation ratio	构图策略/模式 Mapping strategy /model
	G _♀	G _♂	F _{1♀}	F _{1♂}		
I	+	-	+	+	3:1	F ₂ 自交策略/自交 F ₂ self-breeding strategy /intercross
II	-	+	+	+	3:1	
III	\	\	+	-	1:1	拟测交策略/回交 Pseudo-testcross mapping strategy /backcross
IV	\	\	-	+	1:1	
V	\	\	+	+	1:1	\

注:“+”代表有扩增谱带,“-”代表无扩增谱带,“\”代表不计。

Note: “+” shows “band”, “-” shows “non-band”, “\” showed disregard.

1.5.2 遗传标记命名 引物名加多态性RAPD带的分子量表示RAPD标记名称。分子量大小用Gel-pro Analyzer 4.5软件确定。引物名称与其扩增的特异性条带的分子量大小用“-”分隔,如S80-0403表示该片段由S80引物扩增产生,其分子量约为403 bp。

1.5.3 连锁分析 表1中I型和II型为3:1分离类型位点,按照F₂自交策略(F₂ self-breeding strategy)构建中国明对虾雌虾和雄虾共有的遗传连锁图

谱^[7];表1中III型和IV型为1:1分离类型的位点,按照拟测交策略(Pseudo-testcross strategy)分别构建中国明对虾雄虾和雌虾的遗传连锁图谱^[8]。

采用MAPMAKER/EXP(3.0)软件分析,把A代替0,H代替1,将分离标记分别转化成软件要求的数据格式,在LOD≥3.0,标记之间的两两最大距离为50 cM(CentiMorgan,厘摩)条件下,利用GROUP命令对现有标记进行分组。大于9个标记的连锁群,用THREE POINT命令将连锁群分为几

个亚群,对每个亚群分别进行排序后,再确定亚群之间的顺序。小于或等于9个遗传标记的连锁群,采用 COMPARE 命令进行排序。当连锁群中的标记排好序之后,利用 MAP 命令计算标记间距离。对于应用以上命令还未能加入的标记,采用 TRY 命令进行定位。将连锁标记名称及对应标记间的距离输入到 Mapdraw 软件进行连锁图谱的绘制。

1.5.4 遗传图谱的平均间隔、实际长度、预期长度和覆盖率的计算 遗传图谱的标记平均间隔为图谱长度除以总间隔数,而总间隔数为图谱上标记总数减去连锁群数;每个连锁群的标记平均间隔为连锁群长度除以连锁群上的间隔数,连锁群上的间隔数为连锁群上的标记数减去1^[9]。遗传图谱实际长度分为两个方面:一为框架图长度(G_{of}),二为包括三联体和连锁对在内的所有连锁标记的长度(G_{α})。参照 Chakravarti^[10]等的方法计算遗传图谱的估计长度(G_e),每个连锁群的估计长度为: $G_{\alpha} \times (m + 1) / (m - 1)$, m 为每个连锁群的遗传标记数。而相应的框架图谱覆盖率 $C_{of} = G_{of} / G_e$, 总的图谱覆盖率 $C_{\alpha} = G_{\alpha} / G_e$ 。

2 结果与分析

2.1 引物筛选结果

筛选了 920 个 RAPD 引物在两亲本 ($G_{\text{♀}}$ 和

$G_{\text{♂}}$) 与 F_1 间进行筛选,发现 883 个引物可扩增出清晰可辨带型,其中 471 个引物在两代亲本或其中一对亲本中检测出多态性,此种多态性引物占全部引物的 51.2%。而最终用于所有 F_2 个体的有 109 个引物,扩增产生 743 条片段,平均每个引物产生 6.82 个片段,有 365 条片段在两代亲本上呈现多态,其中有 331 条片段在子代中产生了分离。在子代中发生分离的标记中,检测出 86.1% 的标记符合孟德尔分离规律,9.37% 的标记偏离了 1:1 分离,3.63% 的标记偏离了 3:1 分离。

2.2 中国明对虾遗传连锁图谱的构建

表 1 中 I 型和 II 型标记 (3:1) 有 50 个,利用其构建的中国明对虾 RAPD 分子标记雌雄虾共有遗传连锁图谱 ($\text{LOD} > 3.0$, 最大距离为 50 cM) 如图 1 所示,共 35 个标记分布于 10 个连锁群,其中遗传标记数大于 3 个的连锁群有 3 个,这些连锁群的长度在 72.9~135.4 cM 之间,每个连锁群的标记数为 6.7 个,框架图总长度 (G_{of}) 为 292.6 cM,所有标记平均间隔为 17.2 cM,另外有 1 个三联体,6 个连锁对。15 个标记和其他标记没有连锁关系。连锁图谱的实际总长度 (G_{α}) 为 432.9 cM,图谱估计长度 (G_e) 为 789.39 cM,相应的框架图谱的覆盖率 37.07%,图谱总长度的覆盖率为 54.84%。

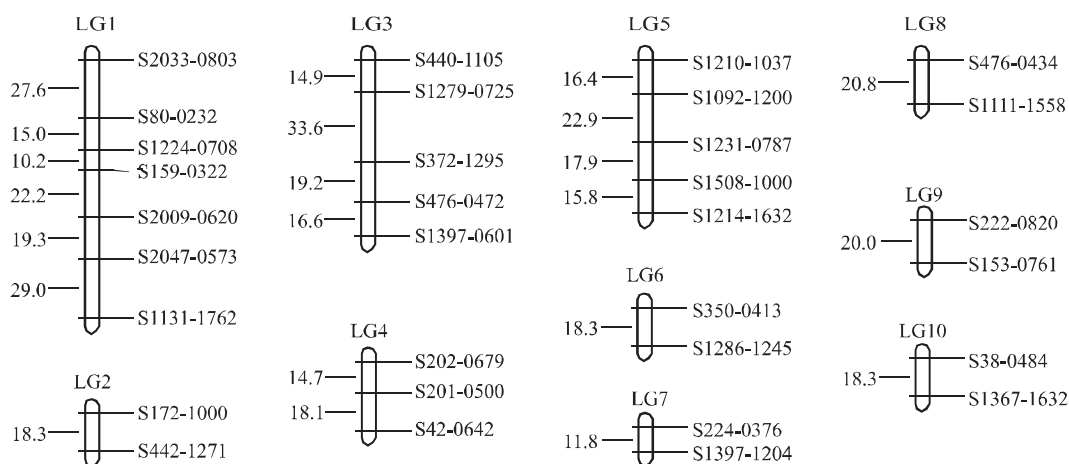


图 1 中国明对虾雌、雄虾的共有遗传连锁图谱

Fig.1 Average linkage map of male and female *F. chinensis*

表 1 中 III 型分离标记 (1:1) 有 126 个,利用其构建的中国明对虾雌雄的 RAPD 分子标记遗传连锁图谱 ($\text{LOD} = 3.0$ 最大遗传距离为 40 cM) 如图 2 所

示。共 107 个标记分布于 31 个连锁群,其中遗传标记数大于 3 个的连锁群有 11 个,这些连锁群长度为 46.9~149.0 cM,框架图总长度 (G_{of}) 为 908.9 cM,

每个连锁群的平均标记数为 5.4 个, 另外有 8 个三联体、12 个连锁对。19 个标记和其他标记没有连锁关系。所有标记平均间隔为 18.5 cM, 连锁图谱的

总长度(G_{tot})为 1 406.1 cM, 图谱的估计长度(G_e)为 2 530.1 cM, 相应的框架图谱的覆盖率 35.92%, 图谱总长度的覆盖率为 55.4%。

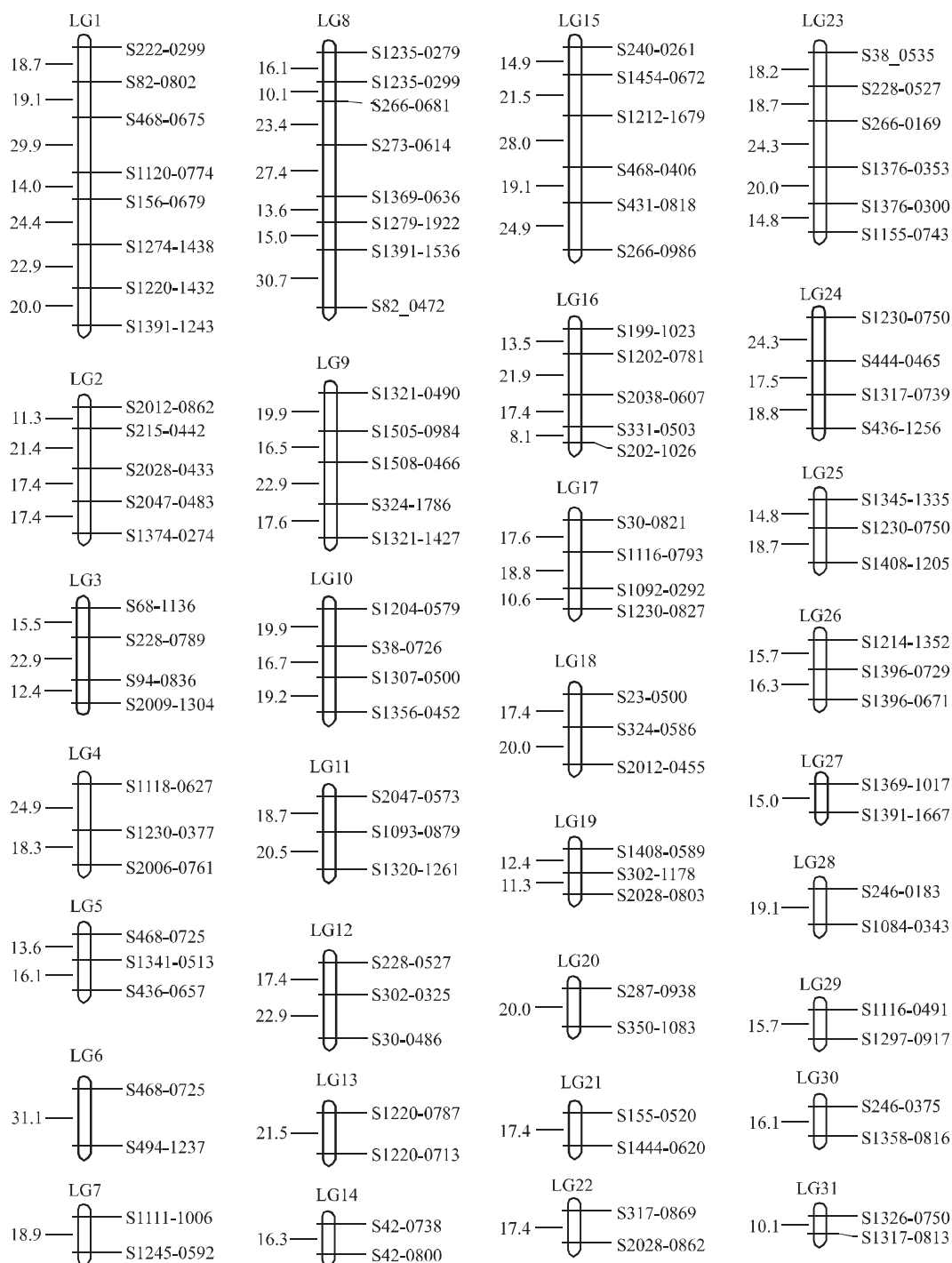


图2 中国明对虾雌虾的遗传连锁图

Fig.2 Linkage map of female *F. chinensis*

表1中Ⅳ型分离标记(1:1)109个,用于构建中国明对虾雄虾的RAPD分子标记遗传连锁图谱($LOD=3.0$ 最大遗传距离为40 cM)如图3所示。91个分子标记分布于26个连锁群上,其中遗传标记数大于3个的连锁群有9个,这些连锁群的长度为65.8~151.5 cM,框架图总长度(G_{of})为707.1 cM,平均每个连锁群的标记数为5.1个,另

外有11个三联体、6个连锁对。18个标记与其他标记没有连锁关系。所有标记平均间隔为18.27 cM,连锁图谱的总长度(G_{ca})为1187.7 cM,图谱的估计长度(G_e)为2121.93 cM,相应的框架图谱的覆盖率为33.32%,图谱总长度的覆盖率为55.97%。中国对虾RAPD分子标记遗传连锁图谱的相关数据如表2所示。

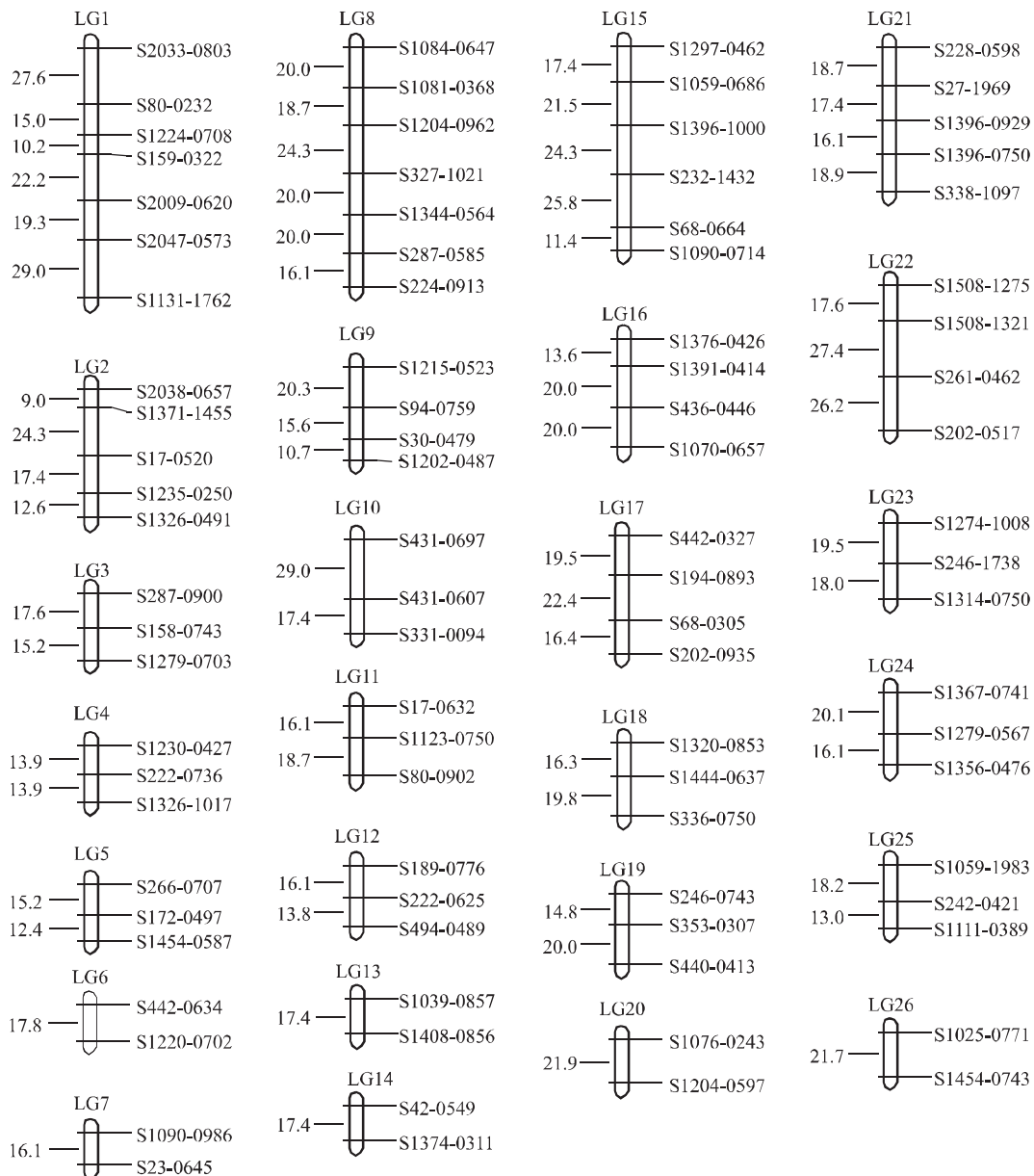


图3 中国明对虾雄虾的遗传连锁图谱

Fig.3 Linkage map of male *F. chinensis*

表 2 中国明对虾 RAPD 分子标记遗传连锁图谱相关数据
Tab.2 Summary of linkage map of *F. chinensis* based on RAPD markers

项目 Item	雌虾图谱 Female linkage map	雄虾图谱 Male linkage map	雌、雄虾共有图谱 Average linkage map of male and female
连锁群数 No. of linkage groups	31	28	10
>3 个标记的连锁群数 No. of linkage groups with more than three markers	11	9	3
三联体数 No. of triplets	8	11	1
连锁对数 No. of doublets	12	6	6
平均每个连锁群的标记数 Average markers number per linkage group	3.45	3.5	3.5
最大连锁群的标记数 Maximum marker no. per group	8	8	10
所有标记间平均间隔 /cM Average marker spacing	18.5	18.27	17.3
相邻标记间最大间隔 /cM Maximum marker spacing	31.1	29.9	33.6
相邻标记间最小间隔 /cM Minimum marker spacing	8.1	9.0	7.9
最小连锁群长度 /cM Minimum length of linkage group	10.1	16.1	11.8
最大连锁群长度 /cM Maximum length of linkage group	149.0	123.3	135.4
观测到的基因组长度 /cM Observed genome length			
G_{of}	908.9	707.1	292.6
G_{α}	1 406.1	1 187.7	432.9
估计的基因组长度 /cM Estimated genome length			
G_e	2 530.1	2 121.93	789.39
基因组覆盖率 /% Genome coverage			
C_{of}	35.92	33.32	37.07
C_{α}	55.57	55.97	54.84

3 讨论

3.1 中国明对虾的相关构图策略及作图群体的建立

拟测交策略为构建不能建立近交系的水生生物的遗传连锁图谱提供了一条快速而有效的途径。这是目前构建遗传连锁图谱应用较广泛的理论依据,在对虾类的遗传图谱中,除了中国明对虾,已有的对虾类如日本对虾 (*Penaeus japonicus*)^[11]、凡纳对虾 (*Penaeus vannamei*)^[12] 和斑节对虾 (*Penaeus monodon*)^[13] 都采用拟测交理论构建了遗传连锁图谱。由于中国明对虾属于基因组高度杂合而自交不亲和的生物,目前也缺乏人工培养选育的品种,尚没有建立某些经济性状稳定遗传的品系,这些因素都为中国明对虾遗传连锁图谱的构建带来了困难^[5]。利用拟测交理论,仅需两代材料就可以在较短时间内建立作图群体;同时 RAPD 分子标记技术具有快速方便且不需预先知道对虾基因组信息的优点,因为这种理论可以避免共显性标记无法区分纯合个体和杂合个体的问题。

鉴于对虾类为一年生生物,建立 F_2 作图群体简单易行,而且从中国明对虾的变异程度比较低和构图效率高上来考虑^[14],建立中国明对虾 F_2 的作图群体更为适合,因为利用 RAPD 标记构建遗传连锁图谱通常的作图群体中, F_2 作图群体的信息量最大,含有亲本所有可能的等位基因组合。本研究采用中国明对虾单对亲本杂交产生 F_1 ,通过 F_1 家系内姊妹交产生 F_2 群体。构图策略包括 F_2 自交和拟测交理论,因此这个遗传连锁图谱既包括中国明对虾养殖个体和野生个体杂交 F_1 的遗传连锁图谱,也包括此代雌虾和雄虾的遗传连锁图谱。

3.2 中国明对虾的遗传连锁图谱

理论上一种生物完整的遗传连锁图谱的连锁群数目应该与其单倍体染色单体数目相等,中国明对虾单倍体染色体数目为 $2n=88$,所以完整的连锁图谱应包含 44 个连锁群,而本研究中的雌性连锁图谱仅有 31 个连锁群(包括三联体和连锁对),雄性连锁图谱仅有 26 个连锁群,雌雄中国明对虾共有的遗传连锁群只有 10 个,这 3 张图谱都没有覆盖中国明对

虾的整个基因组,且存在大量未连锁的三联体和连锁对,反映了图谱的不完整性。

对虾类基因组大小约为人类的70%^[15],即 2×10^9 bp。估算中国明对虾的基因组长度为2000 cM^[3],然而本研究的雌虾图谱和雄虾图谱的估算距离都大于这一理论值。这种遗传连锁图谱的估算距离大于理论值的现象在对虾^[5,16]、太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)^[9]等研究中均有报道。产生这种现象的原因可能是,遗传图谱的总长度和平均间隔长度会因为图谱密度过低而加大。以番茄为例,1030个RFLP标记产生的图谱长度为1276 cM^[17],而142个RFLP标记产生的遗传连锁图谱长度为1469 cM^[18]。在本研究中,中国明对虾连锁群上的标记太少,尤其连锁图谱包含太多的连锁对和三联体,造成了连锁图谱的密度过低,最终导致中国明对虾遗传连锁图谱的估计值高于理论值。显然,还需要增加标记的数量来提高中国明对虾遗传连锁图的标记密度和图谱覆盖率。

3.3 与前期工作的比较

自岳志芹等^[3]对中国明对虾的遗传连锁图谱做了初步研究之后。孙昭宁等^[4]利用中国明对虾的F₁作图群体构建了中国明对虾RAPD和SSR分子标记的雌虾图谱和雄虾图谱,102个母本分离标记和96个父本分离标记分别分布在31个和28个连锁群上,其基因组实际长度分别为1173 cM和1144.6 cM。王伟继等^[5]用42个中国明对虾的F₂个体构建了AFLP分子标记的雌虾图谱、雄虾图谱和中国明对虾总的遗传连锁图谱,分别使用了94.81和129个标记,分布于31.25和44个连锁群上,其基因组实际长度分别为641.3 cM、768.7 cM和945.6 cM。与前期工作相比,本研究使用了更多的F₂个体,以避免由于样本数量较少造成的连锁互换无法观察到的现象。此外,本研究定位到雌虾图谱和雄虾图谱上的分子标记密度较前人的研究有所提高,基因组覆盖率也分别提高到55.57%和55.97%。但本研究得到的3:1的标记占到总标记的18.27%,只构建了10个连锁群。据已有报道^[19]推测,这种3:1标记的比例偏低现象可能是因为两亲本的遗传距离较大,或者与分子标记的特性有关。

3.4 RAPD标记的分离位点

适合构建遗传连锁图谱的前4种标记中,检出了12.99%偏分离标记。李莉等^[9]构建太平洋牡蛎

的连锁图时检出21.2%的RAPD偏分离标记,孙昭宁等^[4]构建中国明对虾连锁图谱时检出6.75%的RAPD偏分离标记。显然,本研究中得到的偏分离比例较低。徐碧云等^[20]认为偏分离程度会随着杂交组合中亲缘关系的疏远有增强的趋势,由此推测构建中国明对虾的两亲本的遗传变异程度不高是造成偏分离比例低的原因之一;另一原因可能是因为筛选RAPD引物时,有目的的除掉了发生偏分离的引物。

本研究中,前4种分离标记构建的3张遗传连锁图谱的密度较低,需要把这3张图整合在一起,以提高整张图谱的密度和覆盖率。关于图谱的整合均有很多报道。张新叶等^[21]以双亲中都出现、子代中发生1:1分离的显性标记为桥梁,借助马尔可夫链完成了雌、雄两张图谱的整合。Li等^[11]利用双亲中都出现,后代中符合3:1分离的位点进行了连锁群的确认;Wu等^[22]利用共显性标记研究雌、雄两种图谱的整合。本研究中也出现了能够进行图谱整合的标记,即第V种RAPD标记分离方式(在双亲F₁雌虾和F₁雄虾都有带,在F₂呈现1:1分离)和3:1的标记,因为这两种标记太少,本研究没有进行尝试。

中国明对虾染色体数目较大(2n=88),目前得到的图谱密度和覆盖率较低,需要继续构建高密度的连锁图谱。进一步的工作是,在已研究的基础上,提高中国明对虾的连锁群数量、标记数量和标记种类(尤其是SSR标记),尝试对各种标记构建的图谱进行整合,以期得到高密度的中国明对虾的遗传连锁图谱,并对中国明对虾重要经济性状进行QTL定位,为中国明对虾分子标记辅助育种奠定基础。

参考文献:

- [1] 张沅. 家畜育种学北京(M). 北京: 中国农业出版社, 1993.
- [2] 柳淑芳, 杜立新. 基因图谱的构建及其在动物遗传育种中的应用[J]. 黄牛杂志, 2000, (1): 44-47.
- [3] 岳志芹, 王伟继, 孔杰, 等. AFLP分子标记构建中国明对虾遗传连锁图谱的初步研究[J]. 高技术通讯, 2004, 14(5): 88-93.
- [4] 孙昭宁, 刘萍, 李健, 等. 用RAPD和SSR两种标记技术构建中国明对虾的遗传连锁图谱[J]. 动物学研究, 2006, 27(3): 317-324.
- [5] 王伟继, 孔杰, 董世瑞, 等. 中国明对虾AFLP分子标记遗传连锁图谱的构建[J]. 动物学报, 2000, 52(3): 575-584.
- [6] 孟宪红, 孔杰, 刘萍, 等. 中国明对虾抗白斑综合症病毒分子标记的筛选[J]. 中国水产科学, 2005, 12(1): 14-19.
- [7] 张鲁刚, 王鸣. 中国白菜RAPD分子图谱的构建[J]. 植物学

- 报, 2000, 42 (5): 485 - 489.
- [8] Grattapaglia D, Sederoff R. Genetic linkage maps of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* using a pseudo-testcross: mapping strategy and RAPD markers [J]. Genetics, 1994, 137: 1 121 - 1 137.
- [9] 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 - 55.
- [10] Chakravarti A, Lasher L K, Reefer J E. A maximum likelihood for estimating genome length using genetic linkage data [J]. Genetics, 1991, 128: 175 - 182.
- [11] Li Y, Keren B, Emanuela M. Genetic mapping of the Kuruma prawn *Penaeus japonicus* using AFLP markers [J]. Aquaculture, 2003, 219: 143 - 156.
- [12] Perez F, Erazo C, Zhinaula M. A sex-specific linkage map of the white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* based on AFLP markers [J]. Aquaculture, 2004, 242: 105 - 118.
- [13] Wilson J, Li Y, Whan V. Genetic mapping of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* with amplified fragment length polymorphisms [J]. Aquaculture, 2002, 204: 297 - 309.
- [14] 尹冬明, 黄敏仁, 朱立煌. 利用显性分子标记和 F_1 群体进行林木遗传连锁图谱的构建 [J]. 生物工程进展, 1996, 16 (4): 12 - 16.
- [15] Moore S S, Whan V, Davis G P, et al. The development and application of genetic markers for the Kuruma prawn *Penaeus japonicus* [J]. Aquaculture, 1999, 173: 19 - 32.
- [16] Chow S, Dougherty W J, Sandifer P A. Meiotic chromosome complements and nuclear DNA contents of four species of shrimps of the genus *Penaeus* [J]. Crustac, 1990, 10: 29 - 36.
- [17] Tanksley S D, Ganal M W, Prince J P, et al. High density molecular linkage maps of the tomato and potato [J]. Genomes, 1992, 132: 1 141 - 1 160.
- [18] Zhang L P, Khan A, Ninoliu D, et al. A molecular linkage map of tomato displaying chromosomal locations resistance gene analogs based on a *Lycopersicon esculentum* $\times$ *Lycopersicon hirsutum* cross [J]. Genomes, 2002, 45 (1): 133 - 146.
- [19] Byrne M, Murrill J C, Allen H. An integrated genetic linkage map for eucalypts using RFLP, RAPD and isozyme markers [J]. Theor Appl Genet, 1995, 91 (6~7): 859 - 875.
- [20] 徐云碧, 申宗坦, 陈英, 等. 水稻籼粳杂种 F_2 群体中 RFLP 标记的异常分离及其染色体分布 [J]. 植物学报, 1995, 37 (2): 91 - 96.
- [21] 张新叶, 尹冬明, 诸葛强, 等. 利用 RAPD 标记构建美洲黑杨 $\times$ 欧美杨分子标记图谱 [J]. 遗传学报, 2000, 22 (4): 209 - 213.
- [22] Wu RL, Liu HX, Han Y F. Statistical methods for mapping quantitative trait loci in forest trees [J]. Scient Silvae Sini, 1999, 35 (2): 101 - 117.

RAPD linkage map of Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*) constructed using one pair of parents and the F_2 progeny as segregating population

LI Xiao-jing^{1,2}, WANG Wei-ji¹, MENG Xian-hong¹, KONG Jie¹, TIAN Yi^{2,3}, MENG Peng^{1,2}, MAO Lian-ju¹

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Faculty of Life Science and Technology, Dalian Fisheries University, Dalian 116023, China; 3. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: RAPD linkage maps of *Fenneropenaeus chinensis* were constructed using one pair of parent and the F_2 progeny (full sib family) as segregating population. 109 primers produced 284 bands yielding Mendelian segregation, in which 234 bands segregated in 1:1 model and 50 in 3:1 model. The 1:1 ratio markers from female and male were used to construct their linkage maps respectively based on the pseudo-testcross strategy. The female linkage maps of *F. chinensis* containing 107 segregating markers consisted of 31 linkage groups (including linkage couples) covering 1 406.1 cM with the average interval of 18.5 cM, and the male linkage maps containing 91 segregating markers linked in 25 linkage groups covering 1 187.7 cM with the average interval of 18.27 cM. The 36 markers in 3:1 model were used to construct the common linkage maps of *F. chinensis* based on F_2 intercross model strategy. The common linkage maps consist of 10 linkage groups with 36 markers, covering 432.9 cM of *F. chinensis* genome with the average interval of 17.3 cM. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14 (5): 770 - 777]

Key words: *Fenneropenaeus chinensis*; RAPD molecular marker; genetic linkage mapping

Corresponding author: KONG Jie. E-mail: kongjie@ysfri.ac.cn