

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2017.16081

偏分离条件下牙鲆生长性状 QTL 的主成分定位

李宁^{1,2}, 张丽怡^{2,3}, 李停^{1,2}, 李艳红^{1,2}, 刘海金², 杨润清²

1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306;
2. 中国水产科学研究院, 农业部水生动物基因组重点实验室, 北京 100141;
3. 南京农业大学 无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081

摘要: 本研究利用有丝分裂雌核发育建立牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)双单倍体(Doubled Haploids, DH)群体, 对牙鲆体重、全长、背鳍长、腹鳍长、体高、尾柄高、头高和躯干长共 8 组表型性状标准化处理后, 进行主成分分析, 得到可解释全部性状 90.4% 的表型主成分性状。然后, 基于 JoinMap 4、MapDisto、JoinMap 4-DistortedMap、MapDisto-DistortedMap 构建 4 个连锁图谱, 用偏分离标记矫正数量性状位点(Quantitative Trait Locus, QTL)基因型条件概率, 采用 Bayesian 模型选择方法定位牙鲆表型主成分性状的加性 QTL 和上位性 QTL。结果表明, 用不同方法构建的遗传图谱和表型主成分性状 QTL 定位结果均有所不同。在图谱构建中, 与基于 JoinMap 4 构建的图谱相比, 基于 MapDisto 构建的图谱中偏分离标记的相对位置和遗传距离都发生了变化, 甚至有 5 个偏分离标记没有被定位到相应的连锁群上; 相对于基于 JoinMap 4 和 MapDisto 构建的图谱, 经 DistortedMap 校正后的图谱中偏分离标记的相对位置没有发生变化, 但是偏分离标记间遗传距离发生了变化。另外, 在 4 个图谱中都检测到 3 个加性 QTL, 分别位于 6 号连锁群上, 可解释表型变异的 12.95%、14.85%、11.56% 和 11.76%, 9 号、22 号连锁群上, 具有负向加性效应; 9 号连锁群上, 可解释表型变异的 13.86%、13.27%、11.17% 和 11.25%, 具有负向加性效应; 22 号连锁群上, 可解释表型变异的 5.68%、4.36%、4.97% 和 3.58%, 具有正向加性效应。同时, 分别检测到 28 对、19 对、29 对和 20 对上位性 QTL, 主要分布在 6 号、7 号、9 号、17 号、20 号和 22 号连锁群上, 可解释表型主成分性状变异的 2.19%~17.62%、2.40%~22.26%、2.08%~26.0%、3.16%~22.05%。研究结果表明, 基于 MapDisto 软件构建、经 DistortedMap 软件包校正后的图谱, 定位结果更加准确, 但仍需进一步验证。

关键词: 牙鲆; Bayesian 模型选择; 偏分离; 加性 QTL; 上位性 QTL; Map Disto; DistortedMap

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2017)03-0440-09

牙鲆(*Paralichthys olivaceus*), 俗称比目鱼、偏口、牙片, 主要分布于亚洲东北部沿岸, 是这一区域重要的经济鱼类品种之一。随着养殖规模的日益扩大, 累代繁殖和近亲交配引起了种质的数量性状明显退化, 主要表现在生长速度降低、疾病抵抗力差和抗逆性退化等方面, 严重影响了养殖者的经济效益。传统的育种方法主要依赖于系谱结构和表型信息^[1], 但受环境影响很大。相比之下, 分子标记辅助选择(Marker-assisted Selection, MAS)能够加速育种进程, 缩短选育周期, 特别是

当分子标记与目标性状的基因存在很高的关联并且目标性状具有较大的遗传变异时尤其明显。

数量性状的遗传结构包括数量性状位点(Quantitative Trait Locus, QTL)的数目、位置、加性和(或)显性效应、上位效应及基因与环境互作效应。遗传连锁图谱是 QTL 定位的基本工具。很多水产动物, 如虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[2]、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)^[3-4]、亚洲尖吻鲈(*Lates calcarifer*)^[5]、大西洋鲑(*Salmo salar*)^[6]、斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)^[7]、罗非鱼(*Oreochromis*

收稿日期: 2016-03-14; 修订日期: 2016-06-06.

基金项目: 国家自然科学基金项目(31172190, 30972077); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2017A001).

作者简介: 李宁(1988-), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为水产遗传育种. E-mail: nienglee@163.com

通信作者: 杨润清, 研究员. E-mail: runqingyang@sjtu.edu.cn

spp.)^[8]、鲤 (*Cyprinus carpio* L.)^[9] 和半滑舌鳎 (*Cynoglossus semilaevis*)^[10] 等, 高分辨率的遗传连锁图谱已被相继构建。在 QTL 定位方面, 多数品种的生长^[4, 10-15]、抗病^[16-19]和压力反应^[20]等性状的 QTL 定位结果已有报道。在图谱构建和基因定位的研究中, 人们发现一些遗传标记并不符合孟德尔分离比, 这种现象被称为标记偏分离 (Segregation Distortion, SD)^[21]。据报道, 偏分离可能改变标记的顺序、标记间遗传距离甚至连锁关系, 影响遗传连锁图谱的构建^[22]。可是, 多数研究^[4, 7, 9-10, 13-15, 19]基于软件 JoinMap 构建遗传图谱, 未考虑偏分离对图谱的影响。目前国际上已有软件 MapDisto^[23]和软件包 DistortedMap^[24]可矫正偏分离对构建遗传图谱的影响。与 MapDisto 软件相比, DistortedMap 软件包在图谱构建中考虑了偏分离位点存在上位效应的影响, 用该软件包可获得偏分离标记间遗传距离的无偏估计值。值得注意的是, DistortedMap 软件包必须以软件 JoinMap 4、MapDisto 等构建的图谱为基础, 进而矫正遗传距离。近年来, 标记的偏分离分析技术得到了很大发展^[25-28], 但是关于利用偏分离标记剖析包括上位性 QTL 在内的不同类型数量性状遗传结构的研究却鲜见报道。

主成分分析 (Principal Component Analysis, PCA) 是通过降维技术将多个变量转化为少数主成分的方法, 这些主成分保留原始变量的绝大部分信息^[29], 该方法已被用于定位多个相关性状的 QTL^[30]。Bayesian 模型选择方法是一种强大且简单的多 QTL 定位方法, 不仅可以用来分析加性 QTL, 还可以用来剖析上位性 QTL^[31]。本研究将牙鲆体重和 7 个形态性状标准化处理后, 进行主成分分析; 然后, 基于 JoinMap4、MapDisto、JoinMap4-DistortedMap、MapDisto-DistortedMap 构建 4 个连锁图谱, 用偏分离标记矫正 QTL 基因型的条件概率, 采用 Bayesian 模型选择方法定位牙鲆表型主成分性状 (Phenotypic Principal Component Traits, PPCT) 的加性 QTL 和上位效应 QTL, 以期为牙鲆重要经济性状的 QTL 定位研究提供借鉴, 并为今后的 MAS 育种和性状改良提供参考。

1 材料与方法

1.1 建立群体

本实验用鱼取自中国水产科学研究院北戴河中心试验站。选取性状差异较大的两尾牙鲆组配获得的 F₁ 为基础材料, 在其中选取 1 尾性状优良的雌鱼作为母本。用紫外线照射真鲷精子, 灭活后激活卵子; 以静水压抑制第一次卵裂, 诱导有丝分裂雌核发育 (Doubled Haploid, DH), 具体方法见 Liu 等^[11]。共获得 160 个双单倍体作为分离群体。

1.2 表型测量

实验鱼 2 龄时, 测量体重, 测量精度为 0.1 g。以刻度尺作为参考, 并对形态性状进行拍照, 运用图像处理软件 Image J 测量全长、背鳍基长、腹鳍基长、体高、尾柄高、头高、躯干长共计 7 个形态性状, 具体方法见 Liu 等^[11]和 Cui 等^[14]。

1.3 构建图谱

分别用 JoinMap 4 软件、MapDisto 软件构建牙鲆分子标记遗传连锁图谱, 连锁群编号参考 Castaño-Sánchez 等^[3]和 Liu 等^[11]的遗传图谱。在此基础上, 应用 DistortedMap 软件包对偏分离图谱进行矫正。LOD 取值大于等于 4.0。

1.4 偏分离条件下 QTL 基因型条件概率

在 DH 群体中, 每个位点只有两种纯合基因型。假设 QTL 用 Q 表示, 其侧翼标记分为 M 和 N。根据侧翼偏分离标记基因型概率预测 QTL 基因型概率 (π_1 和 π_2)^[31]:

$$\pi_1 = \frac{\omega_1^T H_{MQ} D H_{QN} \omega_2}{\omega_1^T H_{MQ} H_{QN} \omega_2}; \pi_2 = 1 - \pi_1$$

式中, $H_{MQ} = H_{QM} = \begin{bmatrix} (1-r)^2 & r^2 \\ r^2 & (1-r)^2 \end{bmatrix}$; r 是 Q 和侧

翼标记 M 或者 N 的重组率; $D = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 0 \end{bmatrix}$; $\omega_M =$

$[\omega_{M1} \ \omega_{M2}]^T$ 是侧翼标记基因型概率。

经上述方法估算 QTL 基因型概率, 进而矫正 QTL 基因型条件概率, 即

$$p_1 = \frac{L_1^T H_{MQ} D(\pi_1) H_{QN} L_2}{L_1^T H_{MQ} D(\pi) H_{QN} L_2}; p_2 = 1 - p_1$$

式中, $L_1 = [1 \ 0]^T$; $L_2 = [0 \ 1]^T$; $D(\pi_1) = \begin{bmatrix} \pi_1 & 0 \\ 0 & 0 \end{bmatrix}$; $D(\pi) =$

$$\begin{bmatrix} \pi_1 & 0 \\ 0 & \pi_2 \end{bmatrix}。$$

1.5 性状的主成分分析

当多个生长性状之间存在着很高的表型相关时,逐个性状的 QTL 定位效率会显著下降,而且不利于发现同时影响多个生长性状的一因多效基因。为此,将多个生长性状通过主成分分析转化为相同数量的“超级性状”,这些超级性状是多个生长性状的线性组合,对其分别进行 QTL 定位分析考虑了多个生长性状间的相关性。基于多个生长性状的表型相关矩阵,可以采用 R 语言的 prcomp 函数提取各级主成分,如第一、第二等主成分,从而把多个生长性状转化为几个主要的“超级性状”。

1.6 主成分 QTL 定位

假设性状由 q 个 QTL 控制,考虑 DH 群体仅有加性效应和加性×加性上位效应,基于 Cockerham 遗传模型^[32],建立个体 I “超级性状” y_i 的 QTL 定位模型:

$$y_i = \mu + \sum_{j=1}^q z_{ij}a_j + \sum_{j=1}^{q-1} \sum_{k=j+1}^q x_{ijk}(aa)_{jk} + e_i$$

式中, μ 为群体期望值; a_j 为第 j 个 QTL 的加性效应($j=1, 2, \cdots, q$); z_{ij} 为第个体 i 的第 j 个位点的基因型指示变量; aa 为第 j 个 QTL 和第 k 个 QTL 的加性×加性互作效应值,即上位效应值; $x_{ijk}=z_{ij} \times z_{ik}$; e_i 为剩余误差。

在该模型的基础上,采用 Bayesian 模型选择方法,利用 R/qltlim (www.qltlim.org)安装包^[33]进行 QTL 定位。此法是以观测数据和未知变量的先验分布为条件,获得每个未知参数的边际后验分布进行统计推断。用 Bayesian 因子(Bayesian Factor, BF)推断 QTL 加性效应或者上位效应,显著水平 $P=0.05$,即 $2\ln(BF) \geq 2.1$ 时加性 QTL 或上位性 QTL 有效。

2 结果与分析

2.1 表型数据分析

对体重和 7 个形态性状进行表型相关分析,结果显示各性状之间均呈极显著正相关($P<0.01$)

(表 1)。为避免多性状相互关联而使问题复杂化,以上性状经标准化处理后进行主成分分析(表 2)。由表 2 可知,第 1 个主成分的特征值为 7.23,贡献率为 90.4%,代表了全部性状信息的 90.4%,是最重要的主成分,基本反映了牙鲆主要特征性状的信息。因此,提取第 1 个主成分作为表型主成分性状(PPCT),则表型主成分性状的函数表达式为:

$$\begin{aligned} \text{PPCT} = & 0.35 \times \text{BW} + 0.37 \times \text{FL} + 0.36 \times \text{DFL} + \\ & 0.35 \times \text{PFL} + 0.36 \times \text{BH} + 0.35 \times \text{CPW} + \\ & 0.34 \times \text{HW} + 0.36 \times \text{TL} \end{aligned}$$

表 1 表型相关系数
Tab. 1 Results of correlation analysis among phenotypes

表型 phenotype	表型 phenotype							
	BW	FL	DFL	PFL	BH	CPW	HW	TL
BW	1							
FL	0.9	1						
DFL	0.88	0.95	1					
PFL	0.85	0.93	0.9	1				
BH	0.92	0.91	0.9	0.87	1			
CPW	0.92	0.91	0.87	0.85	0.93	1		
HW	0.83	0.88	0.85	0.8	0.85	0.82	1	
TL	0.89	0.99	0.94	0.92	0.88	0.89	0.86	1

注: BW 为体重; FL 为全长; DFL 为背鳍基长; PFL 为腹鳍基长; BH 为体高; CPW 为尾柄高; HW 为头高; TL 为躯干长。
Note: BW, body weight; FL, full length; DFL, dorsal fin length; PFL, pelvic fin length; BH, body height; CPW, caudal peduncle width; HW, head width; TL, trunk length.

表 2 主成分分析
Tab. 2 Results of principal component analysis

成分 component	方差 variance	贡献率/% contribution rate	累计贡献率/% accumulated contribution rate
1	7.23	90.40	90.40
2	0.24	2.90	93.30
3	0.21	2.60	96.00
4	0.10	1.30	97.20
5	0.09	1.10	98.40
6	0.08	1.00	99.40
7	0.04	0.50	99.90
8	0.01	0.10	100.00

2.2 连锁图谱信息

由 574 个有效的多态性 SSR 标记,分别构建 4 个遗传连锁图谱,分布于 24 个连锁群上。根据

χ^2 检验, 约 50% 的标记不符合 1 : 1 孟德尔分离比 ($P<0.05$)。其中, JM、MD 是分别使用 JoinMap4 软件、MapDisto 软件构建的图谱; JDM、MDD 是使用 DistortedMap 软件包对 JM、MD 图谱进行矫正后的图谱。标记位点数、偏分离标记位点数和连锁群长度信息见表 3。

由表 3 可知, 偏分离标记主要分布在除 LG2、LG4、LG8、LG14、LG19、LG22 和 LG23 外的所有连锁群, 且成簇聚集。与 JM 图谱相比, MD 图谱中部分偏分离标记的相对位置发生了变化,

尤其是遗传距离, 甚至 5 个偏分离标记没有被定位到连锁群上; 相对于 JM 和 MD 图谱, JDM、MDD 图谱上的偏分离标记的相对位置并未发生变化, 只是偏分离标记间遗传距离发生了变化。在未出现偏分离标记的连锁群中, JM 和 JDM 图谱、MD 和 MDD 图谱之间对应的标记位置和标记间距离均未发生变化。

2.3 表型主成分性状 QTL 定位

本研究利用偏分离标记矫正 QTL 基因型的条件概率后, 采用 Bayesian 法在不同图谱中检测

表 3 图谱信息
Tab. 3 Data of the linkage maps

连锁群 LG	JM		JDM		MD		MDD	
	位点(偏分离) locus (SDL)	长度/cm length	位点(偏分离) locus (SDL)	长度/cm length	位点(偏分离) locus (SDL)	长度/cm length	位点(偏分离) locus (SDL)	长度/cm length
LG1	32(32)	55.5	32(32)	253.8	32(32)	167.6	32(32)	248.8
LG2	2(0)	1.2	2(0)	1.2	2(0)	1.3	2(0)	1.3
LG3	14(14)	31.5	14(14)	159.9	14(14)	84.8	14(14)	136.7
LG4	34(0)	79.5	34(0)	79.5	34(0)	170.6	34(0)	169.4
LG5	26(2)	76.3	25(2)	82.8	25(2)	144	25(2)	141.4
LG6	14(11)	61	14(11)	105.7	14(11)	98.6	14(11)	102.9
LG7	29(28)	53.9	28(27)	175.5	28(27)	127.5	28(27)	160.9
LG8	19(0)	45.8	19(0)	45.8	19(0)	112.7	19(0)	111.9
LG9	22(19)	93.3	21(18)	186.4	21(18)	139.6	21(18)	168
LG10	30(1)	94.3	30(1)	212.6	28(0)	114.8	28(0)	114
LG11	26(21)	68.2	26(21)	176.6	26(21)	135.1	26(21)	165.2
LG12	32(2)	86.2	32(2)	202.1	31(1)	184.5	31(1)	183.4
LG13	10(9)	21.1	10(9)	62.8	10(9)	33.3	10(9)	49.5
LG14	16(0)	38.7	16(0)	38.7	16(0)	55.4	16(0)	55.1
LG15	5(5)	7.2	5(5)	44	5(5)	10.2	5(5)	38
LG16	20(20)	21.2	20(20)	153.6	20(20)	86.9	20(20)	129.5
LG17	27(27)	51	27(27)	259	27(27)	178.3	27(27)	234.2
LG18	9(9)	29.8	9(9)	87.7	9(9)	42	9(9)	87.7
LG19	5(0)	43.6	5(0)	43.6	5(0)	45.3	5(0)	45
LG20	19(19)	66.7	19(19)	213.6	18(18)	81.8	18(18)	113.7
LG21	19(14)	68.1	19(14)	188	19(14)	168.5	19(14)	177.3
LG22	28(0)	54.8	28(0)	54.8	26(0)	108.4	26(0)	107.7
LG23	12(0)	14.7	12(0)	14.7	12(0)	31.7	12(0)	30.4
LG24	8(8)	41.4	8(8)	51.9	8(8)	52.5	8(8)	51.9
合计 total	458(241)	1205	455(238)	2894.3	449(236)	2375.4	449(236)	2823.9

注: JM、MD 分别为用 JoinMap 4.0 软件、MapDisto 软件构建的图谱; JDM、MDD 分别为以 JM、MD 图谱为基础, 经 DistortedMap 软件包矫正后的图谱. LG 为连锁群; SDL 为偏分离标记位点.
Note: JM and MD are linkage maps with JoinMap 4.0 and MapDisto, respectively; JDM and MDD are linkage maps with DistortedMap based on JM and MD, respectively. LG, linkage group; SDL, segregation distortion locus.

QTL, 结果发现, 在 JM、JDM、MD、MDD 图谱中, 表型主成分性状中均检测到了 3 个加性 QTL, 分别位于 6 号、9 号和 22 号连锁群上(表 4)。其中, 位于 6 号、9 号连锁群上的 QTL 对表型主成分性状具有负向加性效应, 它们可以分别解释表型变异的 11.56%~14.85%、11.17%~13.86%; 位于 22 号连锁群上的 QTL 对表型主成分性状具有正向加性效应, 可解释表型变异的 3.58%~5.68%。与 MD、MDD 图谱相比, JM、JDM 图谱表型主成分性状的加性 QTL 遗传率、加性效应的估计值都明显偏大; MD 图谱和 MDD 图谱表型主成分性状的加性 QTL 遗传率、加性效应的估计值几乎一致。在不同图谱中, 6 号、9 号连锁群上加性 QTL 的位置都不相同, JDM、MD 中加性 QTL 位置更接近 MDD 图谱位置; 而 22 号连锁群上加性 QTL 都在相同位置。

另外, 加性×加性互作上位性 QTL 数分别为 28、19、29、20, 遗传率分别为 2.19%~17.62%、2.40%~22.26%、2.08%~26.0%、3.16%~22.05%, 其中最大遗传率的位置分别为 6[49.3]×20[64.7]、20[189.5]×22[25.7]、22[26.3]×24[41.8]和 22[4.5]×24[36.4], 且对应的互作连锁群在不同图谱中也几乎一致, 主要分布在 6 号、7 号、9 号、17 号、20 号和 22 号连锁群上(表 5)。另外, 与用 JoinMap4 软件、MapDisto 软件构建的偏分离遗传图谱相比, 经 DistortedMap 软件包矫正后的图谱上位性 QTL 检测效率较低。

3 讨论

遗传设计群体是构建遗传连锁图谱和 QTL 定位的前提。由于来自 F₁ 杂种配子随机样本的 DH 群体不存在显性效应, 有利于研究控制数量性状的加性效应 QTL 和上位性效应 QTL, 非常适合 QTL 定位的研究。有丝分裂雌核发育所生产的牙鲆双单倍体具有极高的遗传纯合度, 是杂交育种理想的亲本材料。本研究发现, 牙鲆 DH 群体具有高达 50%左右的标记偏分离比, 可能是由于等位基因高度纯合化导致隐性致死基因大量表达造成的。一般认为, 偏分离是由受精前偏分离位点使一些配子的生存力发生改变所致, 或由受精后不同偏分离位点基因型成活率的差异所致^[1]。

目前, 牙鲆的 QTL 定位研究主要集中在抗病和生长性状上。但是, 无论是牙鲆抗淋巴囊肿病^[17]、抗链球菌感染^[18]、抗鳃弧菌感染^[19]等抗病性状 QTL 定位, 还是生长性状 QTL 定位^[4, 11, 13], 都采用复合区间作图法(Composite Interval Mapping, CIM), 因此只统计检测了加性 QTL, 并未检测上位性 QTL。然而, 上位性是复杂性状的重要遗传基础。若忽略了上位性, 将导致 QTL 位置和效应估计值出现偏差, 降低 QTL 检测的精度和功效。Cui 等^[14]矫正偏分离条件概率后采用 Bayesian 模型选择方法, 检测了牙鲆生长性状的加性 QTL 和上位性 QTL, 但是和上述研究一样, 没有考虑偏分离对连锁图谱构建和 QTL 定位的影响。如果标记间重组率估计错误, 甚至标记顺序错误, 理论

表 4 牙鲆表型主成分性状的加性效应 QTL 及其遗传参数
Tab. 4 Additive QTL and genetical parameters of phenotypic principal component traits in *Paralichthys olivaceus*

图谱 map	位置 position (LG[Dis])	遗传率/% heritability	加性效应 additive effect	2lnBF	图谱 map	位置 position (LG[Dis])	遗传率/% heritability	加性效应 additive effect	2lnBF
JM	6[45.4]	12.95	-2.93	3.98	JDM	6[61.4]	14.85	-3.28	4.11
	9[87.2]	13.86	-3.27	3		9[166.0]	13.27	-3.02	2.99
	22[11.3]	5.68	1.68	2.18		22[11.3]	4.36	1.44	2.4
MD	6[56.0]	11.56	-2.67	3.6	MDD	6[58.7]	11.76	-2.86	3.74
	9[129.0]	11.17	-2.62	4.53		9[155.5]	11.25	-2.62	4.66
	22[11.4]	4.97	1.41	2.21		22[11.4]	3.58	1.04	2.45

注: JM、MD 分别为用 JoinMap 软件、MapDisto 软件构建的图谱; JDM、MDD 分别为以 JM、MD 图谱为基础, 经 DistortedMap 软件包矫正后的图谱。LG 为连锁群; SDL 为偏分离标记位点; Dis 为遗传距离。
Note: JM and MD are linkage maps with Joinmap 4.0 and MapDisto, respectively; JDM and MDD are linkage maps with DistortedMap based on JM and MD, respectively. LG, linkage group; SDL, segregation distortion locus; Dis, genetic distance.

表 5 牙鲆表型主成分性状的上位效应 QTL 及其遗传参数
Tab. 5 Epistasis QTL and genetical parameters of PPCT in *Paralichthys olivaceus*

图谱 Map	位置 position (LG[Dis])	贡献率/% heritability	上位效应 epistatic effect	2lnBF	图谱 map	位置 position (LG[Dis])	贡献率/% heritability	上位效应 epistatic effect	2lnBF
JM	5[55.5]×5[69.9]	15.88	6.84	7.28	JDM	6[28.4]×6[87.0]	3.65	2.45	8.1
	5[25.4]×6[16.3]	5.86	2.41	4.61		6[0.0]×7[109.1]	11.08	3.46	8.1
	5[57.1]×7[49.5]	6.93	1.72	4.61		6[87.0]×9[174.2]	19.69	1.15	12.12
	5[20.8]×9[40.6]	13.62	3.83	5.42		6[99.4]×17[185.3]	14.89	2.87	9.26
	5[69.9]×17[41.7]	14.35	4.09	4.61		6[28.4]×20[187.5]	17.38	4.17	8.1
	5[2.4]×20[18.9]	3.48	1.6	4.61		6[44.0]×22[34.3]	9.55	3.36	8.68
	5[47.4]×22[11.3]	6.23	2.39	4.61		7[8.9]×9[155.8]	10.51	3.33	8.47
	5[55.5]×24[16.3]	5.25	1.5	4.61		7[146.9]×17[217.5]	2.4	1.67	7.28
	6[18.4]×6[35.9]	2.19	1.1	5.42		7[159.2]×20[24.5]	7.13	2.74	7.28
	6[16.3]×7[41.4]	12.6	3.44	5.42		7[84.4]×22[43.4]	8.9	2.91	7.28
	6[45.4]×9[85.2]	16.19	1.99	11.71		9[157.9]×9[180.3]	20.72	4.85	8.1
	6[31.1]×17[27.3]	12.46	3.08	7.83		9[180.3]×17[242.4]	4.67	2.3	7.28
	6[49.3]×20[64.7]	17.62	4.45	5.33		9[110.3]×20[6.4]	18.6	4.06	9.21
	6[14.2]×22[51.5]	15.55	3.25	5.88		9[186.4]×22[9.0]	12.36	3.45	8.1
	6[0.0]×24[32.4]	8.31	3.03	4.61		17[85.7]×17[191.6]	13.07	6.28	7.9
	7[51.7]×9[67.6]	8.47	3.21	6.36		17[2.0]×20[17.4]	14.28	2.55	7.28
	7[40.3]×20[12.6]	2.74	1.61	4.61		17[219.6]×22[2.3]	9.42	2.96	7.28
	7[40.0]×22[47.5]	7.65	1.24	5.42		20[125.4]×20[165.5]	14.09	7.05	8.1
	9[9.1]×9[63.9]	3.44	2.91	4.61		20[189.5]×22[25.7]	22.26	4.95	7.28
	9[4.6]×17[46.4]	2.3	1.45	4.61					
	9[65.2]×20[16.8]	11.33	3.43	7.7					
	9[72.0]×22[46.7]	10.43	2.64	6.03					
	9[40.6]×24[27.5]	8.51	2.13	5.42					
	17[1.2]×20[16.8]	4.33	1.34	4.61					
	17[16.9]×22[50.7]	7.57	3.22	5.42					
	20[6.3]×22[46.7]	9.99	3.54	5.79					
	22[32.2]×22[43.7]	3.42	3.03	5.42					
	22[19.3]×24[25.2]	13.33	3.61	7.76					
MD	5[89.2]×5[126.7]	20.01	6.93	8.32	MDD	6[45.4]×6[92.5]	4.69	2.35	6.92
	5[12.1]×6[0.0]	5.38	1.07	6.37		6[11.9]×7[140.5]	10.08	3.37	6.92
	5[118.2]×7[123.1]	4.34	0.86	6.37		6[26.4]×9[149.3]	22.05	1.46	12
	5[135.4]×9[133.2]	13.5	3	6.37		6[31.1]×17[27.7]	17.78	2.19	8.75
	5[16.1]×17[77.6]	6.92	2.86	6.37		6[53.4]×20[11.8]	4.61	2.17	6.92
	5[12.1]×20[57.4]	5.58	0.81	6.37		6[69.7]×22[50.2]	11.41	3.32	7.32
	5[8.1]×22[32.7]	4.09	2.05	7.18		6[16.0]×24[50.6]	15.34	4.23	7.73
	6[32.6]×6[81.3]	9.03	1.1	7.1		7[62.1]×9[90.7]	10.11	3.07	8.03
	6[12.6]×7[62.8]	10.73	3.12	7.18		7[34.2]×17[215.6]	3.16	1.92	7.73
	6[56.0]×9[131.1]	14.34	2.25	12.15		7[158.9]×22[78.5]	4.08	1.18	6.92
	6[90.0]×17[102.5]	14.96	2.27	8.36		9[131.6]×9[151.3]	7.62	2.06	6.92
	6[21.3]×20[24.3]	4.91	2.43	6.37		9[0.0]×17[158.8]	9.38	3.17	6.92
	6[25.6]×22[65.3]	13.01	3.88	7.18		9[84.6]×20[50.6]	12.75	4.03	8.52

(待续 to be continued)

(续表 5 Tab. 5 continued)

图谱 Map	位置 position (LG[Dis])	贡献率/% heritability	上位效应 epistatic effect	2lnBF	图谱 map	位置 position (LG[Dis])	贡献率/% heritability	上位效应 epistatic effect	2lnBF
	6[8.2]×24[33.9]	9.11	3.03	6.37		9[122.1]×22[2.3]	11.8	3.76	7.94
	7[8.4]×9[108.7]	15.05	4.16	8.02		9[64.2]×24[0.0]	14.98	3.45	6.92
	7[34.3]×17[47.6]	3.7	1.37	6.37		17[12.8]×17[125.1]	17.72	6.99	8.1
	7[58.8]×20[65.2]	8.93	3.14	7.18		17[184.6]×20[14.0]	6.29	1.74	6.92
	7[80.9]×22[34.8]	5.24	2.43	6.37		17[140.5]×22[50.2]	14.54	4.44	6.92
	9[120.6]×9[137.5]	6.01	2.07	6.37		20[55.1]×22[47.9]	5.49	2.31	7.65
	9[8.7]×17[157.8]	7.71	2.76	6.37		22[4.5]×24[36.4]	21.09	5.25	8.85
	9[108.7]×20[51.0]	26	5.45	8.12					
	9[139.6]×22[9.1]	13.18	3.43	7.86					
	9[36.5]×24[14.9]	11.4	3.49	6.37					
	17[112.7]×17[170.1]	20.76	7.14	7.76					
	17[159.8]×20[58.6]	4.91	2.34	7.18					
	17[34.9]×22[30.5]	12.51	3.66	6.37					
	20[47.8]×22[88.0]	13.76	3.58	6.37					
	22[17.8]×22[95.3]	2.08	2	6.37					
	22[26.3]×24[41.8]	14.27	4.14	8.64					

注: JM、MD 分别为用 JoinMap 软件、MapDisto 软件构建的图谱; JDM、MDD 分别为以 JM、MD 图谱为基础, 经 DistortedMap 软件包矫正后的图谱. LG 为连锁群; SDL 为偏分离标记位点; Dis 为遗传距离.
Note: JM and MD are linkage maps with Joinmap 4.0 and MapDisto, respectively; JDM and MDD are linkage maps with DistortedMap based on JM and MD, respectively. LG, linkage group; SDL, segregation distortion locus; Dis, genetic distance.

上会导致 QTL 基因型条件概率计算错误, 进而影响 QTL 基因型后验概率、QTL 效应与位置、误差方差和似然比检验统计估计, 最终影响 QTL 定位结果。所以, 本研究用 MapDisto 软件初步矫正偏分离标记位置和遗传距离, 构建牙鲆分子标记遗传图谱, 经 DistortedMap 软件包再次矫正偏分离标记及互作偏分离标记后, 获得偏分离标记距离无偏估计值图谱。与基于 JoinMap 4、JoinMap 4-DistortedMap、MapDisto 构建图谱相比, 该方法构建的图谱更精确, 基于此图谱的 QTL 定位结果也更加精确。

Xu^[21]通过推导偏分离标记对 QTL 基因型条件概率的影响, 证明了标记偏分离对加性 QTL 的检测效率影响很小; Cui 等^[14]矫正条件概率后, 显示了更高的上位效应 QTL 检测效率, 所以本研究利用矫正条件概率进行研究。本研究中, 牙鲆表型主成分性状的加性 QTL 均被定位在 6 号、9 号和 22 号连锁群上, 同时上位性 QTL 则主要分布在 6 号、7 号、9 号、17 号、20 号和 22 号连锁群

上, 与 Cui 等^[14] QTL 定位结果几乎一致, 只是在连锁群上的位置有所不同。可见, 这些加性 QTL 和上位性效应 QTL 具有较高的遗传效应, 易被检测到。同时, 本研究发现上位性 QTL 比加性 QTL 具有更多的遗传贡献率, 说明牙鲆生长性状的遗传结构比较复杂, 进行上位性 QTL 互作分析十分必要。另外, 不同图谱中, 偏分离标记较多的 6 号、9 号连锁群上的加性 QTL 位置不同, 而没有偏分离标记的 22 号连锁群上的加性 QTL 位置相同, 说明了偏分离标记对 QTL 定位确实有影响, 因此构建图谱时矫正偏分离是有必要的。

对牙鲆多个相关性状进行 QTL 定位时, 大多采用单性状分析^[4, 11, 14], 并未考虑多个性状之间的相关关系, 也未去除其他性状对分析性状的影响。本研究采用主成分分析, 把原来多个表型性状转换为一个综合指标, 即表型主成分性状, 考虑了多个性状之间的相关关系, 并找到与生长性状相关的 QTL。另外, QTL 定位结果与分析性状的对应关系, 可以参考 Cui 等^[14]矫正条件概率后

的单性状分析结果。实际上, 牙鲆某些 QTL 可以同时影响多个生长性状, 即表现出多效性^[14], 而且当前牙鲆育种的首要目标就是为了获得快速生长个体。所以, 本研究利用可解释全部性状 90.4% 的表型主成分性状进行 QTL 定位不失为一种好的方法。如果继续对第二、三等主成分性状进行 QTL 定位, 甚至会挖掘出更多的生长性状相关的潜在的 QTL, 或许这些新发现的 QTL 正是分析性状的真正 QTL, 但还有待进一步研究。

总之, 与多数水产动物一样, 有关牙鲆经济性状基因定位的研究还处于初步阶段, 特别是在重要生长和形态性状基因挖掘的理论方法和实践应用方面有待进一步系统深入地研究。

参考文献:

- [1] Falconer D S, Mackay T F C. Introduction to Quantitative Genetics[M]. 4th ed. London: Longman, 1996.
- [2] Rexroad C E, Y. Palti Y, Gahr S A, et al. A second generation genetic map for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. BMC Genet, 2008, 9(1): 74–87.
- [3] Castaño-Sánchez C, Fuji K, Ozaki A, et al. A second generation genetic linkage map of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. BMC Genom, 2010, 11(1): 554–664.
- [4] Song W T, Pang R Y, Niu Y Z, et al. Construction of high-density genetic linkage maps and mapping of growth-related quantitative trait loci in the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. PLoS ONE, 2012, 7(11): e50404.
- [5] Wang C M, Bai Z Y, He X P, et al. A high-resolution linkage map for comparative genome analysis and QTL fine mapping in Asian seabass, *Lates calcarifer*[J]. BMC Genom, 2011, 12(1): 1–18.
- [6] Lien S, Gidskehaug L, Moen T, et al. A dense SNP-based linkage map for Atlantic salmon (*Salmo salar*) reveals extended chromosome homeologies and striking differences in sex-specific recombination patterns[J]. BMC Genom, 2011, 12(1): 615–624.
- [7] Ninwichian P, Peatman E, Hong L, et al. Second-generation genetic linkage map of catfish and its integration with the BAC-based physical map[J]. G3-Genes Genom Genet, 2012, 2(10): 1233–1241.
- [8] Guyon R, Rakotomanga M, Azzouzi N, et al. A high-resolution map of the Nile tilapia genome: a resource for studying cichlids and other percomorphs[J]. BMC Genom, 2012, 13(1): 1–17.
- [9] Sun X W, Liu D Y, Zhang X F, et al. SLAF-seq: an efficient method of large-scale de novo SNP discovery and genotyping using high-throughput sequencing[J]. PLoS ONE, 2013, 8(3): e58700.
- [10] Song W T, Li Y Z, Zhao Y W, et al. Construction of a high-density microsatellite genetic linkage map and mapping of sexual and growth-related traits in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*)[J]. PLoS ONE, 2013, 8(5): e52097.
- [11] Liu Y, Liu Y X, Liu Y L, et al. Constructing a genetic linkage map and mapping quantitative trait loci for skeletal traits in Japanese flounder[J]. Biologia, 2013, 68(6): 1221–1228.
- [12] Massault C, Hellemans B, Louro B, et al. QTL for body weight, morphometric traits and stress response in European sea bass *Dicentrarchus labrax*[J]. Anim Genet, 2010, 41(4): 337–345.
- [13] Niu Y Z, Liao X L, Song W T, et al. Genetic mapping and QTLs analysis of growth traits in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(11): 1640–1649. [牛余泽, 廖小林, 宋文涛, 等. 牙鲆遗传作图及生长性状 QTL 定位[J]. 水产学报, 2012, 36(11): 1640–1649.]
- [14] Cui Y, Wang H W, Qiu X M, et al. Bayesian analysis for genetic architectures of body weights and morphological traits using distorted markers in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*[J]. Mar Biotechnol, 2015, 17(6): 693–702.
- [15] Guo X, Li Q, Wang Q Z, et al. Genetic mapping and QTL analysis of growth-related traits in the Pacific oyster[J]. Mar Biotechnol, 2012, 14(2): 218–226.
- [16] 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 Genom, 2001, 265(1): 23–31.
- [17] Fuji K, Kobayashi K, Hasegawa O, et al. Identification of a single major genetic locus controlling the resistance to lymphocystis disease in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. Aquaculture, 2006, 254(1–4): 203–210.
- [18] Akiyuki O, Hiroyuki O, Toshiyuki Y, et al. Linkage analysis of resistance to *Streptococcus iniae* infection in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. Aquaculture, 2010, 308 (S1): S62–S67.
- [19] Wang L, Fan C X, Liu Y, et al. A genome scan for quantitative trait loci associated with *Vibrio anguillarum* infection resistance in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) by Bulk Segregant Analysis[J]. Mar Biotechnol, 2014, 16(5): 513–521.
- [20] Cnaani A, Hallerman E M, Ron 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(1–4): 117–128.
- [21] Xu S. Quantitative trait locus mapping can benefit from segregation distortion[J]. Genetics, 2008, 180(4): 2201–2208.
- [22] Hackett C, Broadfoot L. Effects of genotyping errors, missing values and segregation distortion in molecular marker data on the construction of linkage maps[J]. Heredity, 2003, 90(1): 33–38.
- [23] Lorieux M. MapDisto: fast and efficient computation of genetic linkage maps[J]. Mol Breed, 2012, 30(2): 1231–1235.
- [24] Xie S Q, Geng Q C, Zhang Y M. DistortedMap: A software package for linkage group correction and quantitative trait locus mapping in distorted segregation populations[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2014, 37(5): 13–18. [谢尚潜, 耿青春, 章元明. 偏分离群体连锁图矫正和 QTL 定位软件包 DistortedMap 的研制[J]. 南京农业大学学报, 2014, 37(5): 13–18.]
- [25] Xie S Q, Wen J, Zhang Y M. Multi-QTL mapping for quantitative traits using epistatic distorted markers[J]. PLoS ONE, 2013, 8(7): e68510.
- [26] Zhu C S, Wang C M, Zhang Y M. Modeling segregation

- distortion for viability selection I. Reconstruction of linkage maps with distorted markers[J]. *Theor Appl Genet*, 2007, 114(2): 295–305.
- [27] Zhu C S, Wang F H, Wang J F, et al. Reconstruction of linkage maps in the distorted segregation populations of backcross, doubled haploid and recombinant inbred lines[J]. *Chin Sci Bull*, 2007, 52(12): 1648–1653.
- [28] Wen J, Can V T, Zhang Y M. Multi-QTL mapping for quantitative traits using distorted markers[J]. *Mol Breeding*, 2013, 31(2): 395–404.
- [29] Wang B H. *Multivariate Statistical Analysis and Modeling for R Language*[M]. Guangzhou: Ji'nan University Press, 2011. [王斌会. 多元统计分析及R语言建模[M]. 广州: 暨南大学出版社, 2011.]
- [30] Hélène G, Pascale L R. Power of three multitrait methods for QTL detection in crossbred populations[J]. *Genet Sel Evol*, 2004, 36(3): 347–361.
- [31] Yi N J, Yandell B S, Churchill G A, et al. Bayesian model selection for genome-wide epistatic quantitative trait loci analysis[J]. *Genetics*, 2005, 170(3): 1333–1344.
- [32] Kao C H, Zeng Z B. Modeling epistasis of quantitative trait loci using Cockerham's model[J]. *Genetics*, 2002, 160: 1243–1261.
- [33] Yandell B S, Mehta T, Banerjee S, et al. R/qtlbim: QTL with Bayesian interval mapping in experimental crosses[J]. *Bioinformatics*, 2007, 23(5): 641–643.

Mapping QTLs for principle components of growth traits using distorted markers in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*

LI Ning^{1,2}, ZHANG Liyi^{2,3}, LI Ting^{1,2}, LI Yanhong^{1,2}, LIU Haijin², YANG Runqing²

1. College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. Key Laboratory of Aquatic Genomics, Ministry of Agriculture; Chinese Academy of Fishery Science, Beijing 100141, China;
3. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China

Abstract: For this study, a double haploid population of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* was produced using mitotic gynogenetics. Body weight and 7 morphological traits (i.e., total length, dorsal-fin length, pelvic-fin length, body height, caudal peduncle width, head width and trunk length) were measured. After normalizing the measures, we acquired a data set that could explain 90.4% of these principal-component analysis traits (PPCTs), and accordingly we denoted these PPCTs. Next, by modifying conditional probabilities of quantitative trait loci (QTL) genotypes on the distorted flanking markers, Bayesian model selection was used to dissect the genetic architecture of the PPCTs with four genetic linkage maps, created with the software JoinMap4, MapDisto, JoinMap-DistortedMap and MapDisto-DistortedMap. The different methods used to construct the genetic maps and QTL mapping of the PPCTs produced variable results. Comparing the map produced with JoinMap4, the relative positions and the genetic map distances of the partial separation markers differed from the map produced with MapDisto. Furthermore, five separation markers were not located at the corresponding linkage groups. Comparing the maps based on JoinMap 4 and MapDisto and after correction by DistortedMap, the positions were not changed, but the genetic map distances of the partial separation markers were changed. In the overall maps, three additive-effect QTL were detected in linkage groups 6, 9 and 22, of which a negative effect could account for 12.95%, 14.85%, 11.56% and 11.76% in linkage group 6; a negative effect could account for 13.86%, 13.27%, 11.17% and 11.25% in linkage group 9; and a positive effect could account for 5.68%, 4.36%, 4.97% and 3.58% in linkage group 22. At the same time, 28, 19, 29 and 20 pairs of additive-additive interactions were identified, mainly distributed in linkage groups 6, 7, 9, 17, 20 and 22, and these interactions could account for approximately 2.19%–17.62%, 2.40%–22.26%, 2.08%–26.0%, and 3.16%–22.05% of the variance in the PPCTs, respectively. We believe that the results of QTL mapping were more accurate in the linkage map using DistortedMap based on JoinMap4.

Key words: *Paralichthys olivaceus*; Bayesian model selection; distorted segregation; additive QTL; epistasis QTL; MapDisto; DistortedMap

Corresponding author: YANG Runqing. E-mail: runqingyang@sjtu.edu.cn