

RAPD 和 SSR 两种标记构建的中国对虾遗传连锁图谱

孙昭宁^{1,2}, 刘萍^{1,*}, 李健¹, 孟宪红¹, 孔杰¹, 张秀梅²

(1. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071; 2. 中国海洋大学 海洋生命科学与技术学部, 山东 青岛 266003)

摘要: 利用 RAPD 和 SSR 分子标记结合拟测交策略, 对中国对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) “黄海 1 号”雌虾与野生雄虾作为亲本进行单对杂交产生的 F₁ 代, 采用 RAPD 和 SSR 两种分子标记技术初步构建了中国对虾雌、雄遗传连锁图谱。对 460 个 RAPD 引物和 44 对 SSR 引物进行筛选, 共选出 61 个 RAPD 引物和 20 对 SSR 引物, 用于对父母本和 82 个 F₁ 个体进行遗传分析。共得到母本分离标记 146 个 (RAPD 标记 128 个, 微卫星标记 18 个) 和父本分离标记 127 个 (RAPD 标记 109 个, 微卫星标记 18 个)。雌性图谱包括 8 个连锁群、9 个三联体和 14 个连锁对, 标记间平均间隔为 11.28 cM, 图谱共覆盖 1 173 cM, 覆盖率为 59.36%; 雄性图谱包括 10 个连锁群、12 个三联体和 7 个连锁对, 标记间平均间隔为 12.05 cM, 图谱共覆盖 1 144.6 cM, 覆盖率为 62.01%。中国对虾遗传图谱的构建为其分子标记辅助育种、比较基因组作图及数量性状位点的定位与克隆奠定了基础。

关键词: 中国对虾; “黄海 1 号”; RAPD; SSR; 遗传连锁图谱

中图分类号: Q75; Q959.223.63 文献标识码: A 文章编号: 0254–5853 (2006) 03–0317–08

Construction of a Genetic Linkage Map in *Fenneropenaeus chinensis* Using RAPD and SSR Markers

SUN Zhao-ning^{1,2}, LIU Ping^{1,*}, LI Jian¹, MENG Xian-hong¹, ZHANG Xiu-mei²

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

2. Division of Life Sciences and Technology, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: The primary genetic linkage maps of *Fenneropenaeus chinensis* were constructed by using a “two-way pseudo-testcross” strategy with RAPD and SSR markers. Parents and F₁ progeny were used as segregating populations. Sixty-one RAPD primers and 20 pairs of SSR primers were screened from 460 RAPD primers and 44 pairs of SSR primers. These primers were used to analyze the parents and 82 progeny of the mapping family. One hundred and forty-six marker primers (128 RAPDs, 18 microsatellites) were used in the female and 127 primers (109 RAPDs, 18 microsatellites) in the male were used as segregating markers. The female linkage map included eight linkage groups, nine triplets and 14 doublets, spanning 1 173 cM with the average marker density of 11.28 cM. The observed coverage was 59.36%. The male linkage map included 10 linkage groups, 12 triplets and seven doublets, spanning 1 144.6 cM with the average marker density of 12.05 cM. The observed coverage was 62.01%. The construction of the *F. chinensis* genetic linkage maps here open a new prospect for marker-assisted selection programs, comparative genomics and quantitative trait loci (QTL) gene location and cloning.

Key words: *Fenneropenaeus chinensis*; “Yellow Sea 1”; RAPD; SSR; Genetic linkage map

中国对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 是我国尤其是黄、渤海的重要经济渔业资源, 同时也是我国水产养殖的重要品种之一, 但其养殖用苗种基本上

都没有经过系统的人工定向选育, 其遗传基础还是野生型的, 生长速度、抗病能力乃至品质质量还未达到良种化的程度, 高效、科学的选育方法已成为

* 收稿日期: 2005–12–30; 接受日期: 2006–03–21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30271038); 山东省自然科学基金项目 (Y2002D02); “十五”攻关项目 (2004BA526B0101)

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: liuping@ysfri.ac.cn, Tel: 0532–5823291

第一作者简介: (1981–), 女, 硕士研究生, 主要从事种质资源与遗传育种研究。

制约我国对虾养殖业稳定发展的主要“瓶颈”之一。

分子标记辅助育种是根据与某一性状或基因紧密连锁的标记的出现来推断该基因或性状,从而进行选育。它可以提高选择的准确性。早期鉴定具有优良性状的个体,筛选优良亲本,从而加快育种进程,缩短育种周期。进行分子标记辅助育种,首先要找到与目标性状紧密连锁的分子标记,必须将目标基因定位于分子连锁图上,这就需要构建包含目的基因区域的相对饱和的连锁图谱。

本研究利用 RAPD 和 SSR 标记,初步构建了中国对虾的遗传连锁图谱。这将为构建高密度的中国对虾遗传连锁图谱、定位重要的经济性状基因和最终实现其标记辅助选育和遗传改良奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

作图家系的雌虾亲本为“黄海一号”选育的第 7 代个体,雄虾亲本采集于黄海沿海野生个体,2004 年杂交产生 F₁ 代,饲养于青岛卓越海洋科技股份有限公司。于 5 月龄时随机采集 81 尾 F₁ 代样本,平均体长为 (8.137 ± 0.746) cm,平均体重为 (5.872 ± 1.885) g。亲本及子代样本保存于 -80 °C 待用。

随机引物、dNTPs、*Taq* DNA 聚合酶均购自上海生工生物工程有限公司。

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取 中国对虾基因组 DNA 的提取参照 Liu et al (2000) 的方法,用 1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定,GENEQUANTpro (Pharmacia Biotech Ltd) RNA/DNA 定量。

1.2.2 RAPD 分析 DNA 扩增在 Gene PCR System 9600 上进行。RAPD 反应体系为:PCR 反应混合物中含 10 × PCR 反应缓冲液 2.5 μL (成分:100 mmol/L Tris-Cl, 500 mmol/L KCl, 2.0 mmol/L Mg²⁺, 1.3 mg/mL BSA, 0.01% Gelatin, pH 8.4), 0.2 mmol/L 的各种 dNTP, 0.25 μmol/L 的引物,约 20 ng 基因组 DNA, 1U *Taq* 酶 (5 U/μL), 反应总体积为 25 μL。460 个 RAPD 引物为上海生工生物公司合成的 S161-S500, S1001-S1100, S1161-1180 系列。

循环程序为:94 °C, 5 min 预变性;45 个 3 步循环是:94 °C 变性 1 min, 37 °C 退火 1 min, 72 °C

延伸 2 min;最后 72 °C 延伸 10 min。PCR 产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶于 120 V 电压下电泳,EB 染色,紫外灯下拍照。

引物的筛选:(1) 首先用一个模板扩增一组引物 (20 个);(2) 选择有两条以上清晰条带的引物进行预实验,预实验中用 2 个亲本和 5 个子代个体来筛选能够在双亲中扩增出多态带,而在子代中呈分离的谱带的引物;(3) 利用 (2) 筛选的引物扩增双亲和 15 个子代,选择重复性好,信号强,至少有一条片段在 15 个子代中符合 1:1 分离规律的引物。经过三步筛选后,完成剩余子代个体的扩增。

1.2.3 SSR 分析 每个微卫星 PCR 反应总体积为 25 μL,包括 100 ng 中国明对虾基因组 DNA、10 × PCR 缓冲液 2.5 μL、Mg²⁺ (2.0 mmol/L)、1 U *Taq* 酶、dNTP 各 0.1 mmol/L,引物各 0.2 μmol/L。PCR 条件为:94 °C 变性 2 min;94 °C 变性 40 s,退火 1 min (各引物的退火温度见表 1),72 °C 延伸 1 min,25 个循环;72 °C 延伸 5 min。PCR 产物在 8% 变性聚丙烯酰胺凝胶中分离,硝酸银染色。44 对微卫星引物来自本实验室构建的中国对虾部分基因组文库中。

引物的筛选:选择条带清晰,杂带少的且在一个以上亲本中为杂合基因型的引物,即可用于全部个体的分析。

1.2.4 统计和分析 RAPD 标记的表现有扩增片段的有 (AA/Aa) 和无 (aa),统计只在一个亲本中出现,而在另一个亲本中缺失的片段。不同于 RAPD,SSR 是共显性标记,而且一个反应只有一个基因座位,微卫星标记的筛选,是在同一位点对父母本分别统计,把一个等位基因作为一个位点来进行筛选的。利用卡方检验,鉴定多态标记在子代的分离比是否符合 1:1 孟德尔分离规律,符合规律的分离标记用来构建中国对虾的遗传连锁图谱。

RAPD 标记的命名为引物名加 f (fragment) 加扩增片段大小,微卫星标记则直接用引物名来命名。

用 Gel-pro Analyzer 4.5 软件确定片段的分子量大小,将数据分别转化为 Mapmaker/exe (3.0) (Lander et al, 1987) 的数据格式,利用 GROUP 命令 (LOD ≥ 3.0, 两标记之间的最大距离为 50 cM, 对所有标记进行分组。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

表 1 中国对虾微卫星引物序列及退火温度

Tab. 1 Primer sequences and annealing temperature in *Fenneropenaeus chinensis*

克隆编号 (位点) No. clone	引物序列 (5'→3') Primer sequences (5'→3')	退火温度 Annealing temperature (°C)	克隆编号 (位点) No. clone	引物序列 (5'→3') Primer sequences (5'→3')	退火温度 Annealing temperature (°C)
FC001	F: AAAACAAGACACGCATAA R: ACAGCCTTGAATGAAACT	40	FC023	F: GATCATCGCGGCAGTACG R: CCGTTTGGCGCTGCTTAG	50
FC002	F: AGGGCAGCATATTGAC R: AAACCACAAGCCACATCA	45	FC024	F: AATGCGAAAACGATAAAG R: ATATCCAGTCATGGAAGT	40
FC003	F: ACATCTCACCTTATTGCCATTT R: ACGACCTTCAGGCTTTGC	50	FC025	F: TGCCTTTCTTTGGTTGAT R: CTGTTTCATCTCAGCAAGG	45
FC004	F: ATGCTCAGATGCTTTGGA R: GGGAGGACACGAAAACACG	40	FC026	F: TTTGAATGAGAAGCGTGAC R: TTTGCGAAGGGGATAGAC	45
FC005	F: TCCTATCAACTGCATCGC R: ACCGTCACCCTACCCTCT	50	FC027	F: GCGTGAATGCTTGTCTGT R: TTTAGGACCTGCGGAGAA	45
FC006	F: GGCAAATAAGCGTGAGTG R: GGAGCAAATGAAAGGTGA	45	FC028	F: TTAGGGTTTGAAGGATCG R: TATGGGCTCGGTTTGTA	45
FC007	F: TGTGAAGATTGGTTGGAG R: CAAAGAACAAGCCTAAAG	40	FC029	F: AGCCAATTAGACAGGTAG R: GACCATGAGTGACGGAGT	40
FC008	F: GAGAAATTCGATTATCAG R: CGCTAAGTTATGCTTTTA	36	FC030	F: CGTCGGCCTTGTTATTCC R: GGAAGGCTCTAAAGGCTA	50
FC009	F: AGATACCTTAACTCCAAT R: TCATAACCAGTACCACTA	36	FC031	F: TGATTGCTTCTTAGGTATG R: AGAAAGATAACCGCAGAA	40
FC010	F: TCCCGTATTGAAACAACT R: CATCCCATCGTCCATCTT	40	FC032	F: AACAGGTGTATGGCTTAG R: TTTTCATTTACAGTTGGAC	40
FC011	F: GAACCTTTCTCTTCATC R: AACCCAAATTTGCTCTCA	40	FC033	F: TGTTCGATTATTTTATGATG R: AGATATTATTCCTGGCTG	40
FC012	F: TATGGCGAGGAAGAATGT R: AGTTGTAATCGTTGGTGC	45	EN0033	专利号: 02135714.5	64
FC013	F: GATACGATAGGCAAACCA R: CTGTATGAAGCGGAGGAG	45	RS0683	专利号: 02135713.7	64
FC014	F: ATGCTCAGATGCTTTGGA R: GGTGCTTCGTTGTAAGT	45	RS0859	F: ATCAGTAGCAGTACTAGTTG R: TGTTAGGAATGCTTATGA	52
FC015	F: CCAGATTTTCCCTTCCTT R: TTCGAACTACTTCATCTGTTT	45	RS062	F: TGCTGAAGCTACACTACCTTCG R: TGATGAAACGCAAGCAAAGGC	66
FC016	F: GCACGCTGCTCCTCCAT R: CCACTTGCCCTTACC	50	RS0622	F: TCAGTCCGTAGTTCATACTTGG R: CACATGCCTTTGTGTGAAAACG	66
FC017	F: CAACCCTCTTTGTTTGAC R: ATGATATGCACGCTCTGG	40	EN0018	F: ACAGACACTATGTCACACC R: CCGAGATACAGAAAAGATGGGC	66
FC018	F: CTGGTTGATGGTGTGAT R: TGTGCTATTGTCGGTTT	45	RS1101	F: CGAGTGGCAGCGACTCCT R: TATTCCCACGCTCTTGT	52
FC019	F: GTTATGCCAGCAGTTAT R: TTCCAAGGGTCAGAGGTG	45	IOPC04	F: TCTGGAAAGAAATGAAAGT R: AATACAACAATCCTTTAGTC	55
FC020	F: AAGTAGATTGATAGATGGTG R: TTCCAGATTTTCTGTTAT	36	IOPC05	F: TTGCTTTAATGGTTGCTG R: TCTACCAAGAAATGGAGTG	55
FC021	F: ATAACCTCCGTGATAAAA R: TACTGAAACAACAGCAAC	36	IOPC06	F: TGACAACATAGCCAAGGAC R: GCTATTCCTGTTGCTATTTG	55
FC022	F: GGTATTCGGTTAATAGGA R: CTGCGAAACTGTTGTTCT	40	IOPC08	F: TTCTTCGCCAGGAAACAG R: CGCGTCCACACAAGCATA	50

个亚群分别排序,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,用 COMPARE 命令进行排序,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,用 TRY 命令进行定位,

并根据 Kosambi 函数 (Kosambi, 1944),将重组率转换成图距单位 (centimorgan, cM),用 MapDraw 2.1 (Liu & Meng, 2003) 绘制图谱。

1.2.5 图谱相关参数的计算 遗传图谱实际长度

分为两个方面:(1) 框架图长度 (G_{of}) 等于连锁群 (>3 个标记) 长度之和;(2) 所有连锁标记的长度 (G_{oa}) 包括三联体和连锁对在内的所有连锁组长度的总和。

用三种方法来计算遗传图谱的估计长度 (G_e):

(1) G_{e1} , 参照 Postlethwait et al (1994) 的方法, 每个连锁群的长度加上整个连锁图谱的平均间隔的 2 倍来补偿连锁群最末端的标记和端粒距离。

(2) G_{e2} , 参照 Chakravarti et al (1991) 的方法, 各个连锁群的估计长度之和。每个连锁群的估计长度为实际长度乘以系数 $(m+1)/(m-1)$, m 为每个连锁群的遗传标记数。

(3) G_{e3} , 参照 Cervera et al (2001) 的方法, 这个估算方法是根据 Chakravarti et al (1991) 和 Hulbert et al (1988) 的方法加以改进, 计算公式为:

$$G_{e3} = N(N-1)X/K.$$

N 为框架图谱总标记数, X 为框架图谱上两个相邻的遗传标记之间的最大距离, K 为 $LOD \geq 3.0$ 时的所有的连锁对数。

本实验取三种算法的平均值作为图谱的估计长度 (G_e), 框架图覆盖率 (C_{of}) = G_{of}/G_e , 总的图谱覆盖率 (C_{oa}) = G_{oa}/G_e 。

2 结果与分析

2.1 RAPD 和 SSR 分析

筛选了 460 个 RAPD 引物, 其中 100 个用于分析亲本和 5 个子代。而最终用于所有子代个体的有 62 个引物, 占全部引物的 13.48%。扩增产生 376 条片段。有 250 条 (66.48%) 片段在两亲本间呈现多态, 平均每个引物扩增出 6.06 个片段, 其中有 4.03 个为多态标记, 在子代中产生了分离。母本分离标记有 128 个, 其中 11 个偏分离 ($P < 0.05$), 占母本分离标记的 8.59%。父本分离标记有 109 个, 其中 5 个偏分离, 占父本分离标记的 4.59%。其他引物扩增产物为单态, 或者产生的多态片段的重复性和清晰度较差, 未做统计。

筛选了 44 对微卫星引物, 其中 20 对为多态引物, 用于对全部个体进行 PCR 扩增和数据分析, 经卡方检验, 20 对引物全部符合孟德尔遗传规律 ($P > 0.05$)。在一个微卫星位点, 若一亲本为纯合基因型, 另一亲本为杂合基因型, 则这一位点仅可用于杂合亲本的作图, 而不可用于纯合亲本的作

图。因此, 20 对引物中有 16 对分别用于父本和母本作图; 剩余 4 对中, 2 对用于母本作图, 2 对用于父本作图。

2.2 遗传连锁图谱

分别对 146 个母本分离标记和 127 个父本分离标记进行连锁分析, 得到中国对虾的雌、雄性连锁图谱。雄性图谱 (图 1A) 由 46 个标记构成了 10 个连锁群, 连锁群长度在 37.4—113.4 cM, 框架图总长度为 646.1 cM。各连锁群的标记平均间隔在 9.35—17.7 cM, 所有标记平均间隔为 12.05 cM。另外有 12 个三联体, 7 个连锁对。31 个标记和其他标记没有连锁关系。连锁图谱总长度为 1 144.6 cM。雄性图谱的估计长度为 1 845.78 cM, 相应的框架图谱的覆盖率为 35.00%, 图谱总长度覆盖率为 62.01%。

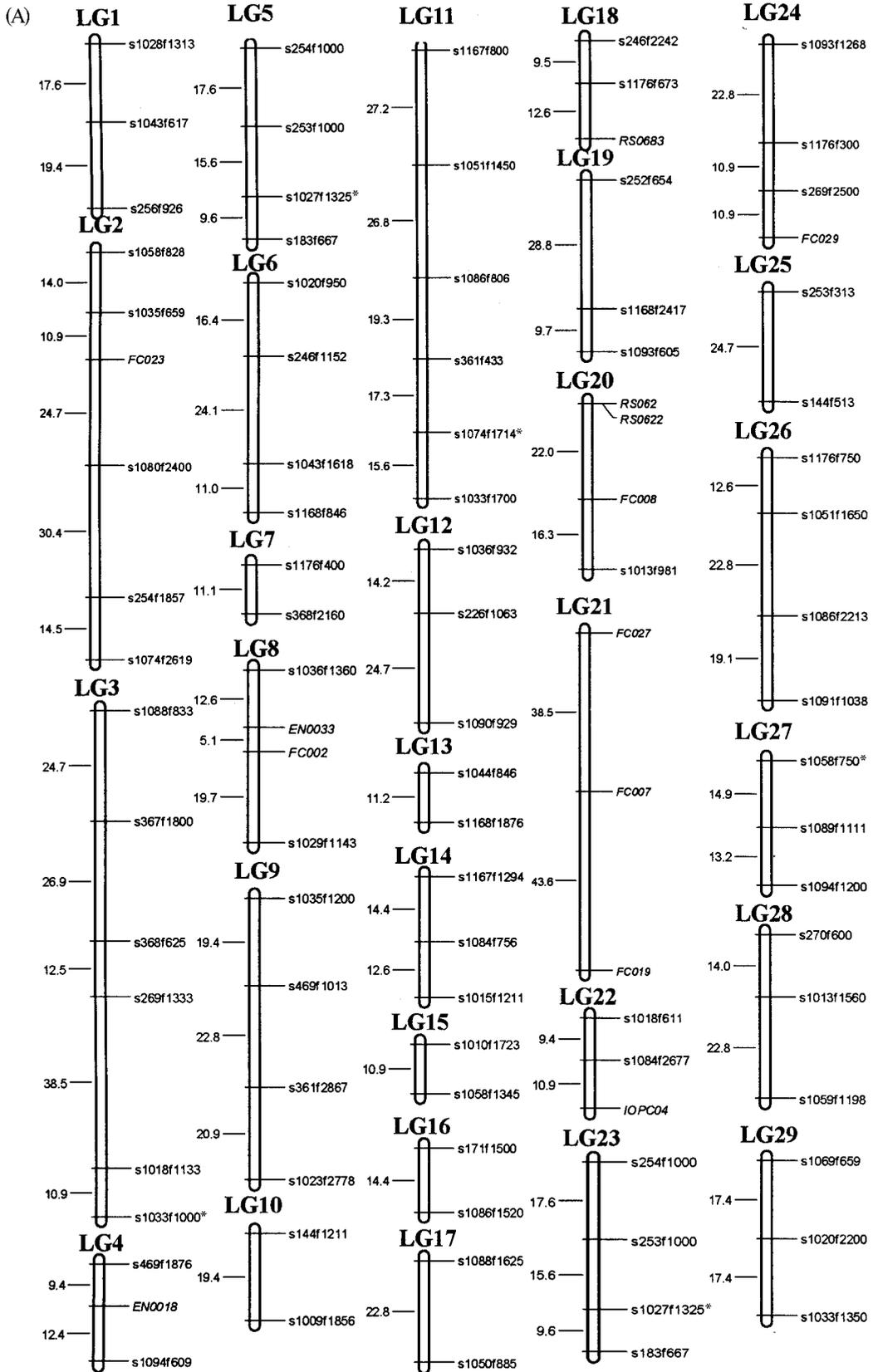
雌性图谱 (图 1B) 由 49 个标记构成了 8 个连锁群, 连锁群长度在 42.1—158.5 cM, 框架图总长度为 656.6 cM。各连锁群的标记平均间隔在 10.20—16.20 cM, 所有标记平均间隔为 11.28 cM。另外有 9 个三联体, 14 个连锁对。42 个标记和其他标记没有连锁关系。连锁图谱总长度为 1 173 cM。雌性图谱的估计长度为 1 976.20 cM, 相应的框架图谱的覆盖率为 33.23%, 图谱总长度覆盖率为 59.36%。中国对虾雌、雄遗传连锁图谱的总结列于表 2。

3 讨论

3.1 遗传连锁图谱

理论上, 一个完整的遗传连锁图谱的连锁群数目应该与其单倍体染色体数目相等。中国对虾的染色体数目为 $2n = 88$, 所以完整的连锁图谱应为 44 个连锁群。而本研究中的雌性连锁图谱仅有 8 个连锁群, 雄性连锁图谱中仅有 10 个连锁群, 雌性和雄性图谱中都存在着大量未连锁的三联体和连锁对, 反映了图谱的不完整性, 还需要更多的标记来增加中国对虾图谱的覆盖率和密度。

Yue et al (2004) 仅用 28 个中国对虾 F1 个体构建了其 AFLP 图谱, 雌性图谱和雄性图谱分别包括 66 和 74 个标记, 分布于 22 个雌性连锁群 (包括三联体和连锁对) 和 25 个雄性连锁群, 雌性图谱和雄性图谱的基因组覆盖率分别为 35.6% 和 47.5%。与之相比, 本研究中用了更多的 F1 子代, 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, 得到了 31 个雌性连锁群 (包括三联体和连锁对) 和 29 个雄性连锁群。此外, 本研究定位



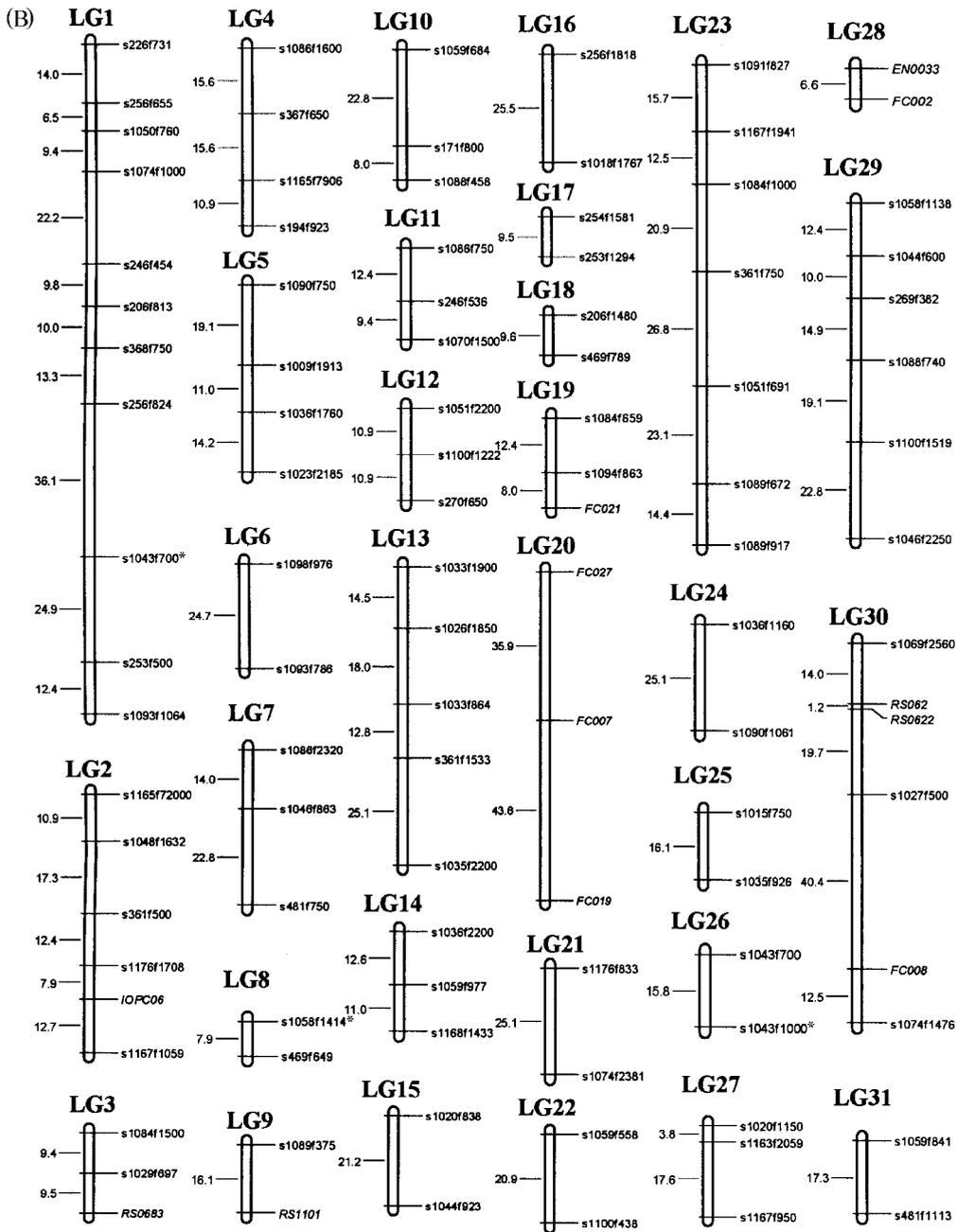


图 1 中国对虾雄性 (A) 和雌性 (B) 遗传连锁图谱

Fig. 1 Male (A) and female (B) genetic linkage maps of *Fenneropenaeus chinensis*. Linkage groups on the right are genetic marker names; on the left are the adjacent marker spacing in cM Kosambi; microsatellite markers are italicized; * indicates distorted markers.

Markers are shown on the right of each group; The adjacent marker spacing is displayed on the left in cM Kosambi; The SSR markers are bold; The distorted markers were marked by the suffix symbol " * ".

了更多的标记, 雌性图谱和性雄图谱的基因组覆盖率分别提高到 59.36% 和 62.01%。

与其他对虾类的图谱相比, Wilson et al (2002) 用 AFLP 和 SSR 共 116 个标记构建了斑节对虾 (*Penaeus monodon*) 3 个家系的共同连锁图谱, 图谱的长度为 1 412 cM, 斑节对虾的基因组估

计值为 2 000 cM 左右, 日本对虾 (*P. japonicus*) 的基因组估计值为 2 300 cM 左右 (Moore et al, 1999)。Yue et al (2004) 对中国对虾的基因组估计值为 2 000 cM。本文的雌性图谱和雄性图谱的估计值分别为 1 976 和 1 845 cM, 接近 2 000 cM, 与上述研究相近。

表 2 中国对虾雌性和雄性连锁图谱

Tab. 2 Summary of the female and male linkage map of *Fenneropenaeus chinensis*

项目 Item	雌性图谱	雄性图谱
	Female	Male
连锁群数 No. of linkage groups	31	28
> 3 个标记的连锁群数 No. of linkage groups > three markers	8	10
平均每个连锁群的标记数 Average number of markers per linkage group	3.35	3.42
最小连锁群的标记数 Minimum marker No. per group	4	4
最大连锁群的标记数 Maximum marker No. per group	11	6
标记间平均间隔 Average marker spacing (cM)	11.28	12.05
最大标记间隔 Maximum marker spacing (cM)	43.6	43.6
最小标记间隔 Minimum marker spacing (cM)	1.2	9.4
最小连锁群长度 Minimum length of linkage group	42.1	37.4
最大连锁群长度 Maximum length of linkage group	158.5	113.4
观测到的基因组长度 Observed genome length (cM)		
G_{of}	656.6	646.1
G_{oa}	1 173	1 144.6
估计的基因组长度 Estimated genome length (cM)		
G_{e1}	679.16	670.66
G_{e2}	2 184.25	2 118.57
G_{e3}	3 065.19	2 748.10
G_e	1 976.20	1 845.78
基因组覆盖率 Genome coverage (%)		
C_{of}	33.23	35.00
C_{oa}	59.36	62.01

3.2 雌雄图谱比较

从表 2 中国对虾雌性和雄性连锁图谱的数据中可以看出, 雌性图谱的平均标记距离要略小于雄性图谱, 且定位于雌性图谱的标记数目要多于雄性图谱。由于标记间的连锁距离与重组率具有线性相关, 表明对于本研究中的中国对虾家系, 母本的重组率要略低于父本。

本研究中, 首次将微卫星标记定位于中国对虾遗传连锁图谱。雌性和雄性图谱共有的微卫星标记有 9 个, 并且发现在雌性图谱中有相连锁的微卫星标记; 在雄性图谱中, 也相互连锁, 雌性和雄性图谱的 4 个连锁组具有共同的微卫星标记。这些标记可用于连接中国对虾的雌性和雄性图谱。随着可用于构建中国对虾连锁图谱的微卫星标记的增多, 将会用于构建中国对虾的性别平均图谱。

3.3 作图分子标记

RAPD 在进行连锁分析时, 在许多方面都优于其他方法, 只需要少量的 DNA, 不需特殊的仪器、昂贵的试剂或复杂的过程。因此, RAPD 适用于以低成本进行大范围的分析, 其主要缺陷在于: 对于反应条件比较敏感, 稳定性较差。在本实验中, 我们主要是通过保持稳定的反应条件, 并通过多次筛选和分组重复, 选择稳定存在的分离带进行统计来

保证其准确性。研究表明, 可以通过高质量的引物获得很好的重复率, RAPD 因其快速、方便、经济, 仍然是构建遗传连锁图谱不可缺少的遗传标记。

RAPD 分离标记中, 母本有 8.59% 的标记偏分离 ($P < 0.05$), 父本的偏分离标记占父本分离标记的 4.59%。Li & Guo (2003) 构建太平洋牡蛎中 RAPD 标记的偏分离为 21.2%。本研究中的 RAPD 偏分离比例很低, 尽管在筛选引物时, 已经去除掉只扩增出偏分离标记的引物, 但构建作图群体的两亲本的亲缘关系较远是其主要原因。

SSR 标记因其共显性分离、稳定、作图信息量大, 可以进行不同家系间图谱的比较, 被认为是当前最好的作图标记, 但是要发展足够构建中国对虾遗传图谱的 SSR 标记, 需要建立相应的文库, 进行大量的测序, 因此使其应用受到了很大的限制。

在本实验中发现, 少数 RAPD 引物扩增的多态带中, 如雌性图谱中的 s1043f1000 和 s1043f1735 位点, 是由同一个引物扩增产生的两个相邻的位点, 它们相互连锁构成一个连锁对。Agresti et al (2000) 和 Roupe et al (1997) 在 AFLP 标记中也发现过类似的情况。

参考文献:

- Agresti JJ, Seki S, Cnaani A, Poompuang S, Hallerman EM, Umiel N, Hulata G, Gall GAE, May B. 2000. Breeding new strains of tilapia: Development of an artificial center of origin and linkage map based on AFLP and microsatellite loci [J]. *Aquaculture*, **185**: 43 – 56.
- Cervera MT, Storme V, Ivens B, Gusmao J, Liu BH. 2001. Dense genetic linkage map of three populus species *Populus deltoides*, (*P. nigra* and *P. trichocarpa*) based on AFLP and microsatellite markers [J]. *Genetics*, **158**: 787 – 809.
- Chakravarti A, Lasher LK, Reefer JE. 1991. A maximum likelihood for estimating genome length using genetic linkage data [J]. *Genetics*, **128**: 175 – 182.
- Hulbert SH, Hott TW, Legg EJ, Lincoln SE, Lander ES, Michelmore RW. 1988. Genetic analysis of the fungus (*Bremia lacrucae*) using restriction fragment length polymorphism [J]. *Genetics*, **120**: 947 – 958.
- Kosambi DD. 1944. The estimation of map distance from recombination values [J]. *Ann Eugen*, **12**: 172 – 175.
- Lander ES, Green E, Abrahamson J, Barlow A, Daly MJ, Lincoln SJ, Newburg L. 1987. Mapmaker, an interactive computer package for constructing primary genetic linkage map of experimental and natural populations [J]. *Genomics*, **1**: 174 – 180.
- Li L, Guo XM. 2003. The construction of a preliminary genetic linkage map in the Pacific oyster using RAPD and AFLP markers [J]. *Oceanol Limnol Sin*, **34**(5): 541 – 551. [李莉, 郭希明. 2003. 利用 RAPD 和 AFLP 标记初步构建太平洋牡蛎的遗传连锁图谱. 海洋与湖沼, **34**(5): 541 – 551.]
- Liu RH, Meng JL. 2003. MapDraw: A Microsoft Excel macro for drawing genetic linkage maps based on given genetic linkage data [J]. *Hereditas*, **25**(3): 317 – 321. [刘仁虎, 孟金陵. 2003. MapDraw: 在 Excel 中绘制遗传连锁图的宏. 遗传, **25**(3): 317 – 321.]
- Liu P, Kong J, Shi T, Zhuang ZM, Deng JY. 2000. RAPD analysis of wild stock of Penaeid shrimp (*Penaeus chinensis*) in Chinese coastal waters of the Huanghai Sea and coastal waters of the Bohai Sea [J]. *Acta Oceanol Sin*, **19**(1): 119 – 126.
- Moore SS, Whan V, Davis GP, Byrne K, Hetzel DJS, Preston N. 1999. The development and application of genetic markers for the Kuruma prawn *Penaeus japonicus* [J]. *Aquaculture*, **173**: 19 – 32.
- Postlethwait JH, Johnson SL, Midson CN, Talbot WS, Gates M. 1994. A genetic linkage map for the zebrafish [J]. *Science*, **264**: 699 – 703.
- Roupe van der Voort JNAM, Zandvoort PM, van Eck HJ, Folkertsma RT, Hutten RCB, Draaistra J, Gommers FJ, Jacobsen E, Helder J, Bakker J. 1997. Use of allele specificity of comigrating AFLP markers to align genetic maps from different potato genotypes [J]. *Mol Gen Genet*, **255**: 437 – 447.
- Wilson K, Li YT, Whan V, Lehnert S, Byrne K, Moore S, Pongsomboon S, Tassanakajon A, Rosenber G, Ballment E, Fayazi Z, Swan J, Kenway M, Benzie J. 2002. Genetic mapping of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* with amplified fragment length polymorphism [J]. *Aquaculture*, **204**: 297 – 309.
- Yue ZQ, Wang WJ, Kong J, Dai JX, Wang QY. 2004. Construction of genetic linkage maps of *Fenneropenaeus chinensis* based on “Double Pseudo-testcross” strategy and AFLP markers [J]. *High Technol Lett*, **14**(5): 88 – 93. [岳志芹, 王伟继, 孔杰, 戴继勋, 王清印. 2004. AFLP 分子标记构建中国对虾遗传连锁图谱的初步研究. 高技术通讯, **14**(5): 88 – 93.]

第四届海内外华人神经科学研讨会 (2006)

4th International Neuroscience Symposium in China

时间: 2006.7.3—2006.7.8 地点: 中国云南省昆明和丽江

主办单位: 中国神经科学学会 中国生理学会 中国生物物理学会

承办单位: 中国科学院昆明动物研究所 中国科学院心理所行为遗传中心 昆明市科学技术协会

“海内外华人神经科学研讨会”在中国合肥(2000年)、成都(2002年)、广州(2004年)成功地举办了三届,促进了国内外神经科学的合作与交流,促进了中国神经科学的发展。第四届“海内外华人神经科学研讨会”,将于2006年7月3—8日在中国云南省昆明和丽江举行。

本次会议立足于神经科学的最新进展,以脑健康与脑疾病为主题,突出基础与临床的结合,展望中国神经科学的发展未来。主要设以下10个神经科学的前沿领域进行交流:1)发育与神经退行性疾病;2)神经和精神疾病;3)慢性疼痛和药物成瘾;4)神经损伤与修复;5)学习记忆、认知和决策;6)神经影像学;7)感觉信息处理与加工;8)单位放电、突触传递及其可塑性;9)离子通道、受体和信号转导;10)神经计算与神经信息理论。

会议将采取美国 Gordon 会议的模式,会议报告人必须是独立的实验室负责人或 Principal investigator (PI),大部分会议报告人将由组委会邀请,少部分则从自由申请者中择优选出。目前拟参会人员已超过200余人。其中海外华人有72人,外宾有12人将出席这次会议。这次会议依然得到中国科学院、国家自然科学基金委、国家科技部、高等教育出版社等的大力支持。