

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2009.00508

鲤鱼(*Cyprinus carpio* L.)头长、眼径、眼间距 QTL 的定位

刘继红^{1,2}, 张研³, 常玉梅^{1,4}, 梁利群¹, 鲁翠云¹, 张晓峰¹, 徐美佳^{1,2}, 孙效文¹

1. 黑龙江水产研究所北方鱼类生物工程育种重点开放实验室, 哈尔滨 150070;
2. 大连水产学院生命科学与技术学院, 大连 116023;
3. 中国水产科学研究院水产生物应用基因组研究中心, 北京 100141;
4. 中山大学生命科学学院, 广州 510275

摘要: 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 标记对大头鲤/荷包红鲤抗寒品系的 F₂ 雌核发育群体 44 个个体进行基因型检测, 构建鲤鱼遗传连锁图谱。利用软件 WinQTLCart2.5 采用复合区间作图法对头长、眼径、眼间距 3 个性状进行了 QTL 分析。结果显示, 共检测到 5 个与头长性状相关的 QTL, 分别定位于鲤鱼连锁图谱的 LG2(*qHS-2-1*)、LG3 (*qHS-3-1*)、LG40(*qHS-40-1*)和 LG4 (*qHS-4-2* 和 *qHS-4-3*) 上。其中 *qHS-40-1* 拥有最大的 LOD 值, 为 7.94, 可解释的表型变异为 34.29%。*qHS-4-2* 的 LOD 值最小, 为 5.03, 可解释的表型变异为 11.52%。5 个与头长性状相关的 QTL 加性效应值均为负值。检测到两个与眼径性状相关的 QTL, 分别定位于鲤鱼连锁图谱的 LG39 连锁群(*qED-39-1*)和 LG40 连锁群(*qED-40-1*)上, 其中 *qED-40-1* 的 LOD 值比较大, 为 2.76, 其加性效应值为负值, 可以解释 5.62%的表型变异; *qED-39-1* 的 LOD 值为 2.72, 加性效应值为正值, 可以解释 9.77%的表型变异。检测到两个与眼间距性状相关的 QTL, 分别定位到鲤鱼连锁图谱的 LG20 连锁群(*qEC-20-1*)和 LG28 连锁群(*qEC-28-1*)上。其中 *qEC-20-1* 的 LOD 值比较大, 为 3.77, 加性效应值为正值, 可以解释 8.29%的表型变异; *qEC-28-1* 的 LOD 值为 2.79, 对应的加性效应值为负值, 可以解释 8.88%的表型变异。

关键词: 鲤鱼; 头长; 眼径; 眼间距; QTL

Mapping QTLs related to head length, eye diameter and eye cross of common carp (*Cyprinus carpio* L.)

LIU Ji-Hong^{1,2}, ZHANG Yan^{1,3}, CHANG Yu-Mei^{1,4}, LIANG Li-Qun¹, LU Cui-Yun¹, ZHANG Xiao-Feng¹, XU Mei-Jia^{1,2}, SUN Xiao-Wen¹

1. Heilongjiang Fisheries Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Harbin 150070, China;
2. College of Aqu-life Science and Technology, Dalian Fisheries University, Dalian 116023, China;
3. The Centre for Applied Aquatic Genomics, Chinese Academy of Fishery Sciences, Beijing 100141, China;
4. College of Life Sciences, Sun-Yat Sen University, Guangzhou 510275, China

收稿日期: 2008-07-26; 修回日期: 2009-01-05

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973 计划)项目(编号: 2004CB117405)和农业部“引进国际先进农业科学技术”计划(编号: 2007-G55(A))资助

作者简介: 刘继红(1983-), 女, 硕士, 专业方向: 水产动物遗传育种。Tel: 13936402254; E-mail: okjihong@163.com

通讯作者: 孙效文(1955-), 男, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 水产动物基因工程育种。Tel: 0451-84862646; E-mail: sunxw2002@163.com

Abstract: A common carp gynogenetic line including 44 individuals derived from the cross Barbless carp \times Hebao-cold tolerance red carp was used to construct a linkage map using 445 markers (265 AFLP markers, 127 SSR markers, 37 EST-SSR markers and 16 RAPD markers). Quantitative traits loci (QTLs) associated with head length, eye diameter, and eye cross were identified by composite interval mapping of the software WinQTLCart2.5. Five QTLs were identified for head length on the linkage group of LG2, LG3, LG40, and LG4, which explained 12.39% to 34.29% of the total variation of the head length. All of their additive effects were negative. Two QTLs were associated with eye diameter on the linkage groups of LG39 (*qED-39-1*) and LG40 (*qED-40-1*), which explained 9.77% and 5.62% of the total variation of the eye diameter, respectively. The additive effect of *qED-39-1* was positive and that of *qED-40-1* was negative. Two QTLs were responsible for eye cross on the linkage group of LG28 and LG20, explaining 8.88% and 8.29% of the total variation of the eye cross, respectively. The additive effect of *qEC-28-1* was negative and that of *qEC-20-1* was positive.

Keywords: common carp; head length; eye diameter; eye cross; quantitative trait location

头长、眼径、眼间距是鱼类重要的外部形态特征,也是研究鱼类分类学的重要指标。研究这些性状,对了解鱼类的生物学特性和选择优良品种都具有重要意义^[1]。

鲤鱼是重要的经济鱼类,在我国水产养殖业中占有相当大的比重^[2],同时也是水产动物中QTL研究发展较快的物种之一。目前,鲤鱼数量性状方面的研究已经取得了很大的进展^[3-7]。但是,对头长、眼径、眼间距这3种性状的QTL研究尚未见报道。

雌核发育家系主要应用于淡水鱼类和海洋鱼类的连锁图谱构建和QTL定位分析。雌核发育家系和单倍体家系能够克服杂合子现象和二倍体现象,为调查研究位点的分离情况和连锁分析提供了强有力的工具。但是在单倍体家系中,存活率低,个体不能完全发育,不能够进行数量性状的测定。因而,雌核发育家系在连锁分析和QTL分析中,凸显重要地位。Guyomard等^[8]采用虹鳟雌核发育群体,共利用1321个微卫星和EST标记,构建了虹鳟的遗传图谱;Kelly等^[9]采用斑马鱼雌核发育群体,利用593个微卫星标记构建了斑马鱼遗传图谱。Maria等^[10]采用牙鲆雌核发育群体,利用111个微卫星和352个AFLP标记构建了牙鲆遗传连锁图谱;张研等^[4]采用大头鲤与荷包红鲤抗寒品系杂交产生的F₂雌核发育群体,利用183个微卫星标记构建鲤鱼遗传连锁图谱,并对鲤鱼体长性状进行了QTL定位和遗传效应分析。现已证明利用雌核发育群体构建遗传连锁图谱已是一个成熟的技术,且能充分提高所构建图谱的饱和度,从而为QTL的分析及分子标记辅助选择提供基础。

本研究采用鲤鱼雌核发育家系^[4],综合应用RAPD、AFLP、SSR和EST-SSR多种分子标记,通过鉴定分离适宜的遗传标记来构建鲤鱼的遗传连锁图谱,并对鲤鱼头长、眼径、眼间距3个性状进行QTL定位分析,目的是对这3个性状进行比较精细的QTL定位,为下一步基因克隆及辅助选择(Molecular marker assisted selection, MAS)育种提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

以在生长性状上具有明显差异的大头鲤和荷包红鲤抗寒品系为父母本,2000年交配产生F₁,2005年6月将F₁的6尾雌鱼,利用抑制第一次卵裂(用灭活的鲫鱼精子受精,受精卵在~22℃水温孵化,在比较先前记录同一水温将发生孵化的受精卵放在41.5℃热休克1min45s后放回~22℃水温继续孵化,大部分死亡,约万分之几存活)的雌核发育方法得到F₂^[11]。成活存留的70个F₂个体,逐个进行观察和表型测量。由于是鲫鱼灭活精子受精,鲤鲫杂交型的为远缘杂交个体,鲤鱼型的为雌核发育个体,选鲤鱼型的个体测量表型,提取DNA样本,用于基因型分析的有44个个体。

1.2 方法

1.2.1 表型性状的度量

根据伍献文^[12]的测量方法进行眼径、眼间距、头长性状的测定和计算。具体数值见表1。

表 1 测量鲤鱼头长、眼径、眼间距性状范围(均值±标准差)

性状	最大值(cm)	最小值(cm)	平均值±标准差
头长	4.75	1.4	2.96±0.67
眼径	1.06	0.1	0.78±0.24
眼间距	1.75	0.6	1.14±0.29

1.2.2 基因型分析

1.2.2.1 微卫星分析

采用PCR扩增方法对雌核发育群体进行基因型检测。引物来源有: (1)本实验室开发的 500 个微卫星座位, 其中有 100 个是EST-SSR; (2)Crooijmans等^[13]发表的 35 个MFW系列微卫星座位; (3)David等^[14]发表的 32 个Koi系列微卫星座位^[4]。PCR反应程序为: 94 预变性 3 min; 然后 94 变性 20 s, 复性温度 48~65 20 s, 72 延伸 30 s, 共 35 个循环; 最后 72 延伸 10 min。用 2.0%琼脂糖凝胶电泳和 8%的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测每个个体的基因型。

1.2.2.2 AFLP 分析

酶切: 酶切体系包括 5 μ L 模板 DNA(大约 300 ng)、3 μ L 10 \times NEB *EcoR* buffer、0.3 μ L BSA、9.7 μ L 去离子水和 *EcoR* (20 U/ μ L)、*Mse* (10 U/ μ L)各 1 μ L。将混合液轻轻混匀, 然后置于循环水浴 37 温浴 5 h。

连接: 每个反应加入酶切产物 15 μ L, 连接混合液 5 μ L(10 \times T4 ligase buffer 2 μ L、*EcoR* adapter(5 μ mol/L)1 μ L、*Mse* adapter(50 μ mol/L)1 μ L、ddH₂O 1 μ L、T4 ligase(400 U/ μ L)2 U), 轻轻混匀, 然后置于循环水浴 20 连接过夜。

预扩增: 预扩增反应的模板为稀释的酶切、连接产物。预扩反应条件: 72 2 min, 接着是 25 个循环, 每个循环包括 94 30 s, 56 30 s, 72 2 min, 最后 60 30 min。

选择性扩增: 选择性扩增反应是以稀释的预扩增产物为模板, 选择性扩增引物是在预扩增引物的基础上随机增加 3 个选择性碱基, *EcoR* 引物 5'-末端为 FAM 荧光标记。

引物组合及命名: 本实验共用 20 对 AFLP 选择性引物对作图群体进行了扩增, 引物组合及其命名见表 2。

表 2 AFLP 引物组合及命名

引物		命名
<i>EcoR</i>	+ <i>Mse</i>	
ACC(A)	CAC (2)	A2f
ACC(A)	CTC (6)	A6f
AAG(B)	CAC (2)	B2f
AAG(B)	CAT (4)	B4f
AAG(B)	CAA (1)	B1f
AAG(B)	CAG (3)	B3f
AAG(B)	CTC (6)	B6f
AAG(B)	CTT (8)	B8f
AAG(B)	CTA (5)	B5f
AAG(B)	CTG (7)	B7f
ACG(E)	CAC (2)	E2f
ACT(F)	CAG (3)	F3f
ACT(F)	CTG (7)	F7f
ACT(F)	CTA (5)	F5f
ACT(F)	CTC (6)	F6f
AGC(G)	CAT (4)	G4f
AGC(G)	CAA (1)	G1f
AGC(G)	CAG (3)	G3f
AGC(G)	CTC (6)	G6f
AGC(G)	CTG (7)	G7f

选扩产物检测: 选择性扩增产物利用 ABI 3130 测序仪的片段分析(Fragment analysis)功能进行检测。

1.2.2.3 RAPD 分析

随机引物购自上海生工生物工程技术服务有限公司合成的 S 系列随机引物, 反应条件参照 Williams等^[15]的方法。

1.2.3 遗传连锁图谱和 QTL 分析

选用在 F₂ 个体中具有多态性并且符合孟德尔分离比 1:2:1($P=0.05$)的分子标记, 利用 Map Manager 2.0 软件构建遗传图谱($P=0.0001$, 模型为 intercrossover 模型)。应用 WinQTL Cart2.5 软件的复合区间作图法(Composite interval mapping, CIM)对头长、眼径、眼间距 3 个性状进行 QTL 定位分析。取 LOD 值 2.5 为 QTL 存在的阈值, Walk speed=2 cM, 采用模型 6 进行分析。

2 结果与分析

2.1 遗传连锁图谱的构建

从电泳检测结果中选择具有多态性并且符合孟德尔分离比($P=0.05$)的标记。其中多态性至少在 10% 以上的座位可以用做连锁图谱构建和 QTL 分析的候

选标记。共筛选出具有多态性的 450 个 AFLP 标记, 287 个微卫星标记, 60 个 EST-SSR 标记和 23 个 RAPD 标记。删除 363 个出现严重偏分离的标记, 共 457 个标记用于图谱构建。应用 Map Manager 2.0 软件构建分子遗传连锁图谱, 采用 Kosambi 函数将重组率转换成图距单位(cM)。共 445 个标记, 包括 265 个 AFLP 标记, 127 个微卫星标记, 37 个 EST-SSR 标记, 16 个 RAPD 标记, 组建成 50 个连锁群, 图距为 3 732.53 cM, 平均距离为 8.39 cM, 其中包括 19 个主要连锁群(13 标记/连锁群), 图谱框架覆盖率为 77.71%。偏分离的标记有 46 个, 分别为 35 个微卫星标记和 11 个 AFLP 标记。

2.2 头长、眼径、眼间距的 QTL 定位

利用该遗传连锁图谱及 WinQTLCart2.5 软件对与鲤鱼头长、眼径、眼间距 3 个性状相关的 QTL 进行定位分析。结果表明, 共检测到 5 个与头长性状相关的 QTL, 分别定位到鲤鱼连锁图谱的 LG2 (*qHS-2-1*)、LG3 (*qHS-3-1*)、LG40 (*qHS-40-1*)以及 LG4 上(*qHS-4-2* 和 *qHS-4-3*)。其中 *qHS-40-1* 有最大的 LOD 值, 可解释的表型变异为 34.29%。*qHS-4-2* 的 LOD 值最小, 可解释的表型变异为 11.52%。5 个与头长性状相关的 QTL 加性效应值均为负值。检测到两个与眼径性状相关的 QTL, 分别为定位于 LG39 连锁群上的 *qED-39-1* 和 LG40 连锁群上的 *qED-40-1*, 其中 *qED-40-1* 的 LOD 值比较大, 其加性效应为负值, 可以解释 5.62%的表型变异; *qED-39-1* 的 LOD 值为 2.72, 加性效应为正值, 可以解释 9.77%的表型变异。检测到两个与眼间距性状相关的 QTL, 分别是定位到鲤鱼遗传连锁图谱的 LG20 连锁群上的 *qEC-20-1* 和 LG28 连锁群上的 *qEC-28-1*。其中 *qEC-20-1* 的 LOD 值比较大, 加性效应为正值,

可以解释 8.29%的表型变异; *qEC-28-1* 的 LOD 值为 2.79, 对应的加性效应为负值, 可以解释 8.88%的表型变异。相关参数值见表 3 及图 1~图 4。

3 讨论

鲤鱼基因组内存在广泛的基因组复制现象^[16], 因此鲤鱼的等位基因分离模式较为特殊。鲤鱼基因组复制现象的存在, 导致鲤鱼基因组部分染色体加倍。加倍的结果是在抑制第一次有丝分裂的雌核发育群体中, 部分二倍体分离模式(AA, BB)的位点转变为同源四倍体分离模式(AABB)的位点。本研究是将符合同源四倍体分离模式的位点收集起来, 构建鲤鱼遗传连锁图谱。

目前, 在鲤鱼数量性状定位的研究上, 只有体长性状的QTL定位有报道^[4-6], 在鲤鱼的头长、眼径、眼间距的QTL定位研究方面, 本研究是首次报道。

在已有的鲤鱼数量性状QTL研究方面, 构建图谱所选用的分子标记为单一的微卫星标记^[3]。但任何一种分子标记在基因组内分布都是不均匀的^[17]。因此, 本研究综合选用了AFLP、RAPD、SSR、EST-SSR多种分子标记, 使分子标记尽量多地覆盖鲤鱼的染色体, 从而提高该图谱的覆盖率。同时, 本研究采用抑制第一次卵裂来进行人工雌核发育, 大大提高了该群体的减数分裂信息含量。由抑制第一次有丝分裂所构建的群体有效个体 $2n$ (n 为其他群体的有效个体数目)。因此, 尽管本研究可以利用的群体样本数目偏少, 但有效的群体样本数已经能够满足构建图谱及其QTL分析的准确度。并且鲤鱼的染色体数目为 $2n=100\sim104$ ^[18], 本研究所构建的图谱由 50 个连锁群组成, 图距为 3 732.53 cM, 平均间距为 8.39 cM, 覆盖率达到 77.71%。可见, 本研究所构

表 3 与头长、眼径、眼间距性状相关的 QTLs 相关参数

性状	数量性状基因座位	连锁群	最大 LOD 值	加性效应	可解释的表型变异	置信区间(cM)
头长	<i>qHS-2-1</i>	2	3.60	-0.36	13.00%	10
	<i>qHS-3-1</i>	3	3.47	-1.20	21.03%	26.9
	<i>qHS-4-2</i>	4	3.36	-0.05	11.52%	4.89
	<i>qHS-4-3</i>	4	3.30	-0.91	12.39%	2.39
	<i>qHS-40-1</i>	40	3.21	-0.77	34.29%	4
眼径	<i>qED-39-1</i>	39	2.72	0.17	9.77%	18
	<i>qED-40-1</i>	40	2.76	-0.10	5.62%	2
眼间距	<i>qEC-20-1</i>	20	3.77	0.04	8.29%	11.9
	<i>qEC-28-1</i>	28	2.79	-0.33	8.88%	10

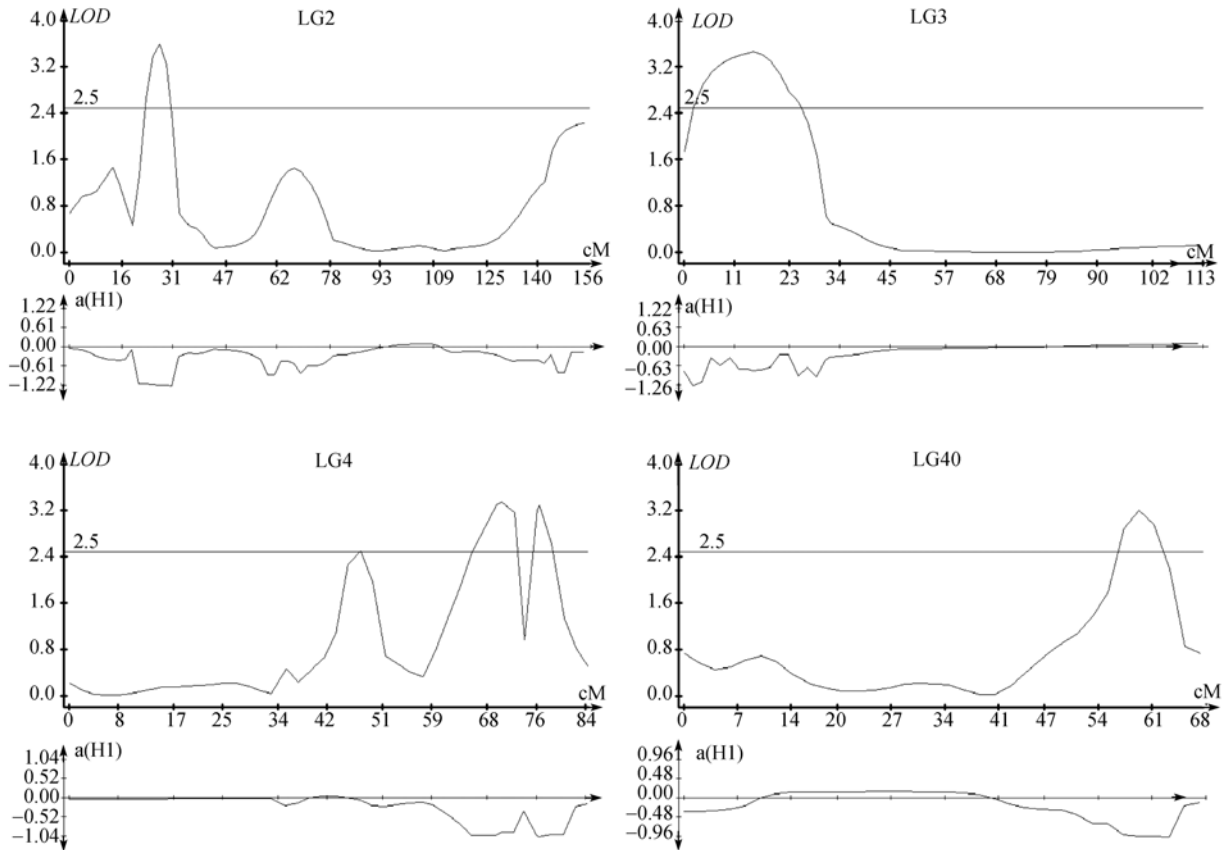


图 1 鲤鱼头长性状在各连锁群上的 LOD 值分布

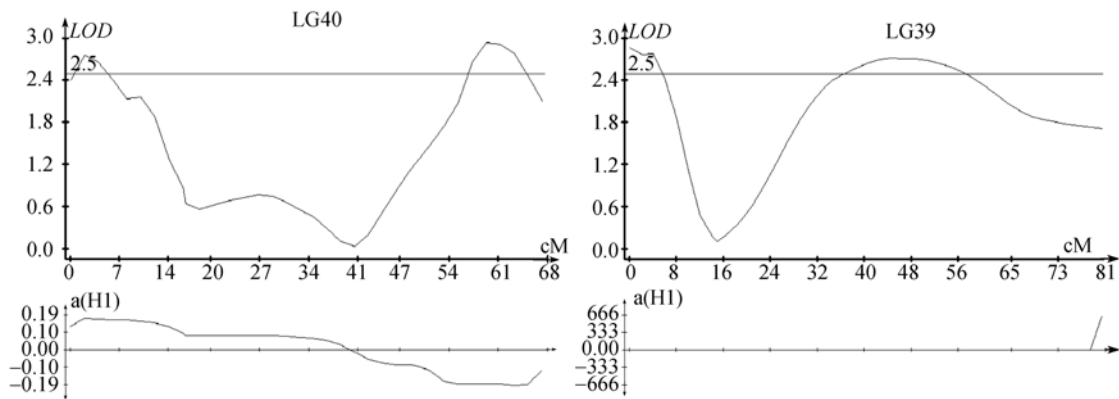


图 2 鲤鱼眼径性状在各连锁群上的 LOD 值分布

建的鲤鱼遗传连锁图谱是一个相对比较饱和的图谱, 能够为 QTL 的精细定位提供一个可靠的依据。在鲤鱼遗传图谱中, 共用了 445 个标记, 偏分离标记比例为 26.77%。其中, 应用于图谱构建的 AFLP 标记 (剔除严重偏分离的标记) 有 265 个, 偏分离标记比例为 22%; 微卫星标记 164 个, 偏分离的标记的比例为 37%。本研究中, 首先采用所有的非偏分离标记进行连锁分析, 之后再逐个加入偏分离标记, 我们

发现偏分离标记基本不影响正常标记的连锁关系和排列顺序, 可见单个或少数几个偏分离标记的加入不会严重干扰连锁作图。

在本研究中, 与头长性状紧密连锁的 $qHS-3-1$ 、 $qHS-40-1$ 区间可解释的表型变异分别为 21.03% 和 34.29%。在水稻经济性状 QTL 定位研究过程中, 发现所能解释的表型变异超过 20% 的 QTL 区间为该性状的主效 QTL 区间^[19, 20]。因此, $qHS-3-1$ 和 $qHS-40-1$

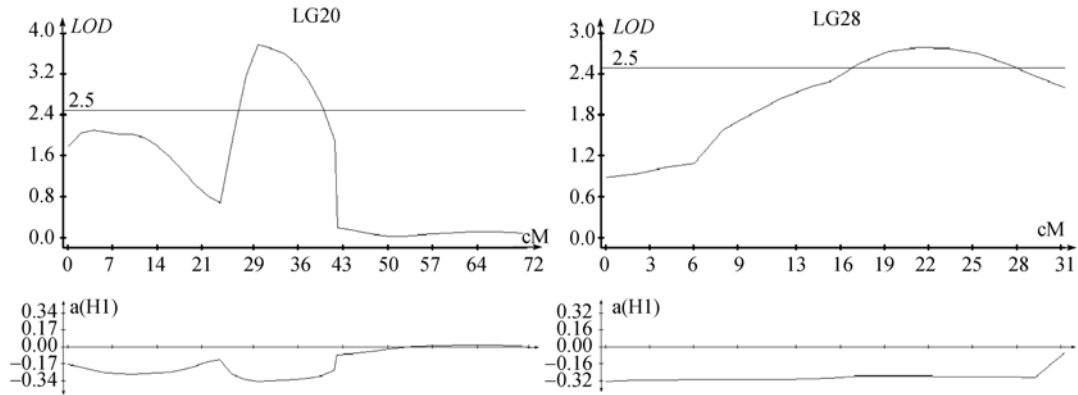


图 3 鲤鱼眼间距性状在各连锁群上的 LOD 值分布

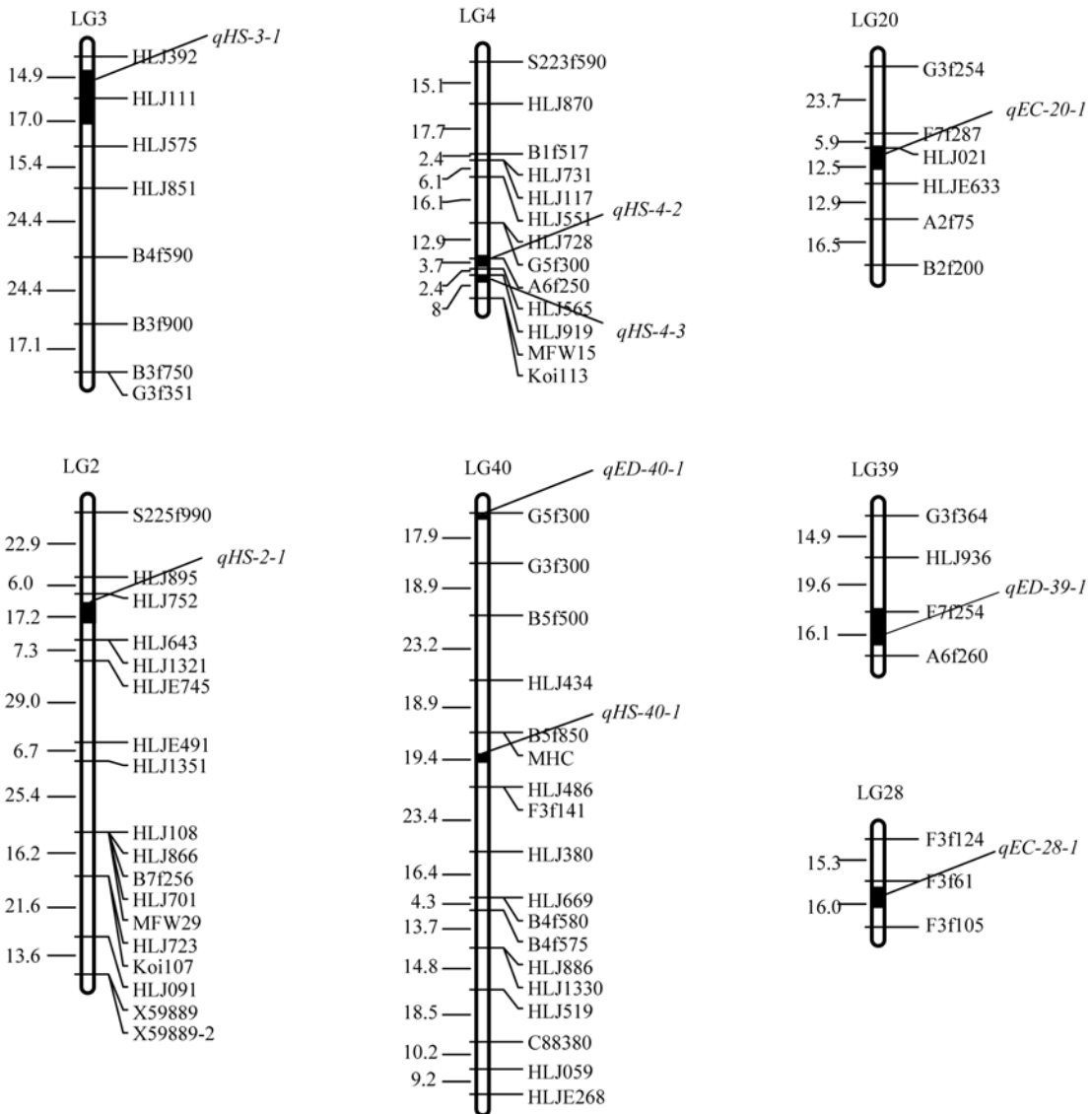


图 4 鲤鱼各性状的 QTL 在其对应连锁群上的定位

两个区间为与头长性状紧密相关的主效QTL区间。本研究将 5 个与鲤鱼的头长性状相关的QTL定位在

LG2、LG3、LG40、LG4 4 个连锁群上, 其覆盖的置信区间分别为 10 cM、26.9 cM、4 cM、4.89 cM和 2.39 cM;

与眼径性状相关的QTL置信区间分别为 2 cM和 18 cM; 与眼间距性状相关的QTL置信区间分别为 10 cM和 11.9 cM。在西红柿经济数量性状研究中发现^[21], 与西红柿高含糖量性状紧密相连锁的QTL区间所覆盖的距离为 9.2 cM, 并且将该区间成功克隆用以分子辅助育种的研究。因此置信区间接近或小于 10 cM的QTL *qEC-20-1*、*qEC-28-1*、*qED-40-1*、*qHS-2-1*、*qHS-4-2*、*qHS-4-3*、*qHS-40-1* 7个区间可以直接用于图位克隆的研究, 其中*qHS-40-1* 同时也是与头长性状紧密相关的主效QTL区间。

分子标记辅助育种(Molecular Marker-assisted Selection, MAS)是在分子标记技术得到全面发展的基础上迅速发展起来的一种有效的辅助育种手段, 可在早期对目标性状进行筛选, 受环境影响小, 因此快速而准确。一个置信区间准确的 QTL 可以提高标记辅助选择的效率和可靠性。本研究所获得的 9 个 QTL 中有 7 个可以直接用于图位克隆, 特别是与头长性状相关的 5 个 QTL, 其中 4 个的置信区间小于 10 cM, 同时 *qHS-3-1* 和 *qHS-40-1* 又是与头长性状紧密连锁的主效 QTL 区间。而且它们所对应的加性效应值在同一方向上, 均为负值, 这为进一步选择育种提供了重要的依据。

参考文献(References):

- [1] 闫学春, 梁利群, 孙效文, 曹顶臣. 鲤鲫杂交两种回交子代鱼的形态特征比较. 东北农业大学学报, 2007, 38(6): 797–800.
- [2] 全迎春, 孙效文, 梁利群. 应用微卫星多态分析四个鲤鱼群体的遗传多样性. 动物学研究, 2005, 28(6): 595–602.
- [3] Sun X, Liang L. A genetic linkage map of common carp (*Cyprinus carpio* L.) and mapping of a locus associated with cold tolerance. *Aquaculture*, 2004, 238(1): 165–172. [\[DOI\]](#)
- [4] 张研, 梁利群, 常玉梅, 侯宁, 鲁翠云, 孙效文. 鲤鱼体长性状的 QTL 定位及其遗传效应分析. 遗传, 2007, 29(10): 1243–1248.
- [5] 侯宁, 张研, 鲁翠云, 李勇, 李大宇, 季旭, 丁雷, 孙效文. 微卫星 DNA 标记分析德国镜鲤的遗传潜力. 遗传, 2007, 29(12): 1509–1518.
- [6] 张义凤, 张研, 鲁翠云, 曹顶臣, 孙效文. 鲤鱼微卫星标记与体重、体长和体高性状的相关分析. 遗传, 2008, 30(5): 613–619.
- [7] 梁利群, 孙效文. 鲤耐寒性状分子标记在遗传连锁图上的定位. 大连水产学院学报, 2003, 18(4): 278–281.
- [8] René G, Stéphane M, Kamila TC, Sylvain M, Carine G, Francine, Edwige Q. A Type I and Type II microsatellite linkage map of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with presumptive coverage of all chromosome arms. *Genomics*, 2006, 7: 302–315. [\[DOI\]](#)
- [9] Kelly PD, Chu F, Woods G, Ngo-Hazelett P, Cardozo T, Huang H, Kimm F, Liao L, Yan YL, Zhou Y, Johnson SL, Abagyan R, Schier AF, Postlethwait JH, Talbot WS. Genetic linkage mapping of zebrafish genes and ESTs. *Genome Res*, 2000 (10): 557–568.
- [10] Coimbraa MRM, Kobayashia K, Koretsugua S. A genetic linkage map of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 2003, 220: 203–218. [\[DOI\]](#)
- [11] Gomelsky B. Chromosome set manipulation and sex control in common carp: a review. *Aquatic Living Resources*, 2003, 16(5): 408–415. [\[DOI\]](#)
- [12] 伍献文. 中国鲤科鱼类志. 上海: 科学技术出版社, 1964.
- [13] Crooijmans RPMA, Bierbooms VAF, Komen J, van der Poel JJ, Groenen MAM. Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Anim Genet*, 1997, 28(2): 129–134. [\[DOI\]](#)
- [14] David L, Jinggui F, Palanisamy R, Hillel J, Lavi U. Polymorphism in ornamental and common carp strains (*Cyprinus carpio* L.) as revealed by AFLP analysis and a new set of microsatellite markers. *Mol Genet Genomics*, 2001, 266(3): 353–362. [\[DOI\]](#)
- [15] Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18(22): 6531–6535.
- [16] David L, Shula B, Marcus WF, Uri L, Jossi H. Recent duplication of the common carp (*Cyprinus carpio* L.) genome as revealed by analyses of microsatellite loci. *Mol Biol Evol*, 2003, 20(9): 1425–1434. [\[DOI\]](#)
- [17] 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. 遗传, 2004, 26(1): 97–102.
- [18] Ohno S. The enormous diversity in genome sizes of fish as a reflection of nature's extensive experiments with gene duplication. *Trans Amer Fish Soc*, 1970, 99: 120–130. [\[DOI\]](#)
- [19] Tan YF, Xing YZ, Li JX, Yu SB, Xu CG, Zhang Q. Genetic bases of appearance quality of rice grains in Shanyou 63, an elite rice hybrid. *Theor Appl Genet*, 2000, 101: 823–829. [\[DOI\]](#)
- [20] Xing YZ, Tan YF, Xu CG, Hua JP, Sun XL. Mapping quantitative trait loci for grain appearance traits of rice using a recombinant inbred line population. *Acta Bot Sin*, 2001, 43: 721–726.
- [21] Fridman E, Pleban T, Zamir D. A recombination hotspot delimits a wild species quantitative trait locus for tomato sugar content to 484 bp within an invertase gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(9): 4718–4723. [\[DOI\]](#)