

POTPOMOGNUTA SELEKCIJA U AKVAKULTURI

D. Matulić, A. Ivanković, I. Aničić

Sažetak

Akvakultura je industrija u razvoju s ukupnom globalnom vrijednošću od 56 milijardi dolara. Proizvodnja se temelji na oko 210 vrsta, od kojih šarani i kamenice imaju najveću proizvodnju. Neke od vrsta u akvakulturi nastoje se proizvodno unaprijediti ciljanim selekcijskim radom, koji se primarno temelji na metodama populacijske genetike. Glavni cilj uzgojnih programa u akvakulturi jest povećanje profitabilnosti i održivosti, uz očuvanje genetske varijabilnosti uzgajanih vrsta. Aktualnim uzgojno–selekcijskim programima nastoje se unaprijediti salmonidi, škampi i tilapije, uz napomenu da su pozitivni učinci kod salmonida najizraženiji. Tijekom zadnjih desetljeća razvoj molekularne genetike omogućio je pojačavanje selekcijskoga pritiska putem uporabe genetskih markera koji imaju izravne ili posredne učinke na proizvodne odlike. Cilj je ovog rada prikazati nova dostignuća, mogućnosti, ali i probleme pri integraciji markerima potpomognute selekcije u akvakulturi.

Ključne riječi: akvakultura, uzgojni program, markerima potpomognuta selekcija

UVOD

Molekularna je genetika tijekom dvaju prošlih desetljeća metodološki i aplikativno ušla u niz ljudskih djelatnosti, a osobito nalazi primjenu u proizvodnji hrane, odnosno u animalnoj proizvodnji. Otkrićem i usavršavanjem lančane reakcije polimerazom (PCR; engl. *Polymerase Chain Reaction*) molekularna je genetika ušla na velika vrata u svijet animalnih znanosti i animalne proizvodnje (Ivanković, 2005). Ključan trenutak bili su otkriće i izolacija termostabilnog enzima *polimeraze*, koji je ostajao aktivan i nakon izlaganja višim temperaturama, nužnima za razdvajanje dvostruke uzvojnice DNA na jednostruke

Dipl. ing. Daniel Matulić, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Svetošimunska 25, 10 000 Zagreb. dmatulic@agr.hr; Prof. dr. sc. Ante Ivanković, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Svetošimunska 25, 10 000 Zagreb. aivankovic@agr.hr; Prof. dr. sc. Ivica Aničić, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Svetošimunska 25, 10 000 Zagreb. ianicic@agr.hr

lanca. Nakon razdvajanja uzvojnica DNA moglo je uslijediti kopiranje lanca DNA na istovjetne kopije, što je omogućilo umnožavanje jednog DNA lanca u više milijuna kopija nakon nekoliko desetaka sljednih ciklusa. Time je stvorena predispozicija za izravnu detekciju i analizu učinaka četiriju temeljnih evolucijskih čimbenika (genetskog *drifta*, migracije, selekcije, mutacije) na razini gena (DNA).

Lančana reakcija polimerazom (PCR metoda) uvelike se primjenjuje u akvakulturi te, iako još nije uvedena kao standardna metoda, vrlo je učinkovita i u dijagnosticiranju bolesti organizama koji žive u vodi (Strunjak Perović i Topić Popović, 1999). Molekulu DNA nalazimo u jezgri i u mitohondrijama. U riba se veličina nuklearnog genoma kreće od 0,3 do 4 bilijuna parova baza (bp) (Ohno, 1974), mitohondrijalnog genoma od 16 000 do 18 000 parova baza (Park i Morgan, 1994). Kao rezultat točkastih mutacija i pogrešaka pri replikaciji molekule DNA, nastaje pojava polimorfizma na razini same molekule (Ođak i sur., 2002).

Molekularnogenetičke metode omogućile su identificiranje genetskih markera izravno ili posredno odgovornih za iskazivanje proizvodno zanimljivih učinaka, kvalitativne ili kvantitativne prirode. Dio genetskih markera izravno je vezan za zapažene proizvodne učinke, jer je njihov polimorfizam funkcionalna mutacija. Za znatan dio genetskih markera uočena je posredna funkcionalna veza preko genskih regija koje iskazuju kvantitativne učinke na proizvodne odlike. Molekularna nam genetika omogućuje izravnu ili posrednu detekciju željenih alelnih varijanti roditelja i potomaka, na temelju čega postaje moguće izravno odabrati jedinku za rasplod i uporabu, bez utjecaja spola, dobi, zdravlja, reproduktivnog statusa i okolišnih čimbenika na konačnu odluku.

Akvakultura je industrija u razvoju s ukupnom globalnom vrijednošću od 56 milijardi dolara i s oko 210 vrsta koje se uzgajaju u akvakulturi (FAO, 2003), a prepoznata je kao najbrže rastući sektor proizvodnje hrane (NACA/FAO, 2000). Proizvodnja hrane jedan je od strateških nacionalnih, ali i globalnih prioriteta. Nova su biotehnička dostignuća iskoristiva u unapređenju proizvodnih potencijala, te u pripremi na moguće promjene proizvodnog okruženja zbog određenih klimatskih promjena. Molekularna genetika otvara mogućnost izravne analize kumulirane adaptabilnosti lokalnih populacija u akvakulturi, te integracije specifičnih genskih zapisa u produktivnije populacije. Navedeno je u suglasju s ciljem selekcijskog uzgoja u akvakulturi koji možemo postaviti kao poboljšanje postojećih i razvoj novih pasmina i hibrida te njihovih proizvodnih odlika.

Stopa je rasta najvažnija značajka za većinu, selekcijom obuhvaćenih, akvakulturnih vrsta uzgajanih u monokulturi ili polikulturi. Relativno je malo istraživanja rađeno na ostalim, vrlo bitnim ekonomskim odlikama. Otpornost na bolesti i kvaliteta fileta (polovica) teško su mjerljive značajke na kandidatima za selekciju, ali imaju golem utjecaj na učinkovitost proizvodnje i rentabilnost mnogih vrsta u akvakulturi (Martinez, 2007).

Tablica 1. Poznate markerske QTL poveznice kod akvakulturnih vrsta
(Sonesson, 2007)
Table 1. Known marker–QTL linkages in aquaculture species
(Sonesson, 2007)

Odlika	Referenca
Salmonidne vrste — Salmonids	
Vrijeme mrijesta — eng. <i>Spawning time</i>	Leder i sur. (2006)
Rano sazrijevanje — eng. <i>Early development</i>	Martinez i sur. (2005)
Broj slijepih crijeva — eng. <i>Pyloric caeca number</i>	Zimmerman i sur. (2005)
Limfociti koji imaju urođenu sposobnost citotoksičnog ubijanja ciljnih stanica — eng. <i>Natural killer cell-like activity</i>	Zimmerman i sur. (2004)
Otpornost na hematopoeznu nekrozu — eng. <i>Hematopoietic necrosis resistance</i>	Rodriguez i sur. (2005)
Stopa razvoja — eng. <i>Development rate</i>	Sundin i sur. (2005)
Otpornost na zaraznu anemiju lososa — eng. <i>Infectious salmon anemia resistance</i>	Moen i sur. (2004.b, 2006)
Otpornost na mikso parazita <i>Ceratomyxa shasta</i> — eng. <i>Ceratomyxa shasta resistance</i>	Nichols i sur. (2003.b)
Otpornost na zaraznu nekrozu gušterače — eng. <i>Infectious pancreatic necrosis resistance</i>	Ozaki i sur. (2001)
Otpornost na zaraznu hematopoeznu nekrozu — eng. <i>Infectious hematopoietic necrosis resistance</i>	Khoo i sur. (2004)
Odnos mase i kondicijskog faktora — eng. <i>Body weight and condition factor</i>	Reid i sur. (2005)
Odnos mase i mrijesta — eng. <i>Spawning date and body weight</i>	O'Malley i sur. (2003)
Odnos rasta i sazrijevanja — eng. <i>Growth and maturation</i>	Martyniuk i sur. (2003)
Tolerancija na temperaturu — eng. <i>Temperature tolerance</i>	Somorjai i sur. (2003)
Merističke značajke — eng. <i>Meristic traits</i>	Nichols i sur. (2004)
Razvoj embrija — eng. <i>Embryonic development</i>	Robison i sur. (2001)
Albinizam — eng. <i>Albinism</i>	Nakamura i sur. (2001)
Stopa razvoja — eng. <i>Development rate</i>	Nichols i sur. (2000)s
Vrijeme mrijesta — eng. <i>Spawning time</i>	Sakamoto i sur. (1999)
Gornja temperaturna tolerancija i veličina — eng. <i>Upper temperature tolerance, size</i>	Perry i sur. (2001, 2003)
Gornja temperaturna tolerancija — eng. <i>Upper temperature tolerance</i>	Danzmann i sur. (1999)
Gornja temperaturna tolerancija — eng. <i>Upper temperature tolerance</i>	Jackson i sur. (1998)
Tilapije — Tilapia	
Tolerancija na hladnoću — eng. <i>Cold tolerance</i>	Moen i sur. (2004.b)
Odnos tolerancije na hladnoću i veličine ribe — eng. <i>Cold tolerance and fish size</i>	Cnaani i sur. (2003)
Stres i imunološki odgovor — eng. <i>Stress and immune response</i>	Cnaani i sur. (2004)
Boja — eng. <i>Colour pattern</i>	Streelman i sur. (2003)
Rano preživljavanje — eng. <i>Early survival</i>	Palti i sur. (2002)
Određivanje spola — eng. <i>Sex determination</i>	Lee i sur. (2003); Lee i sur. (2004)

QTL — Quantitative Trait Loci

Istraživanjem vezanosti molekularnogenetičkih markera s poligenkim proizvodnim značajkama u nekim slučajevima uočene su signifikantne veze alelnih varijanti s kvantitativnim odlikama svojstava, zbog čega se takvi lokusi nazivaju QTL lokusima (engl. *Quantitative Trait Loci*). U takvim slučajevima ostaje nepoznato pojašnjenje izravnog učinka prijepisa DNA koda (mutacije) na proizvodne odlike, no za primjenu markera bitno je korektno pozicioniranje genetskih lokusa (markera) u kromosomu (Ivanović, 2005). QTL su lokusi čija varijabilnost podliježe varijacijama u ekspresiji kvantitativnih karaktera (Gelderman, 1975). Otkrivanje QTL-a pomaže razumijevanju genetske građe neke odlike, npr. broj i relativni učinak gena koji određuju ekspresiju neke odlike.

Genetske markere kojima se koristimo u selekcijskom radu dijelimo na izravne QTL markere (D-markere) i na posredne QTL LD (engl. *linked markers in population-wide disequilibrium with the QTL*) i QTL LE (engl. *linked markers in population-wide equilibrium with the QTL*) markere. Dekkers (2004) pokazuje da se selekcija temeljena na trima navedenim tipovima genetskih markera može dijeliti na: GAS (engl. *Gene-Assisted Selection*), LD-MAS (engl. *LD Markers-Assisted Selection*) i LE-MAS (engl. *LE Marker-Assisted Selection*). Time je stečena osnova za uključivanje genetskih markera u programe genetskog unapređenja, odnosno selekcijske programe izgradnje populacija, posebice za obilježja kod kojih su standardne metode populacijske genetike nedostatne ili spore (niska razina hereditarnosti, otežano kvantificiranje fenotipskih/proizvodnih učinaka i drugo). Za važnije odlike akvakulturnih vrsta identificiran je mali, ali rastući broj QTL.

Hayes i suradnici (2007) detektirali su QTL za odliku rasta kod austral-ske vrste petrova uha *Haliotis rubra* (Leach), a u budućim se genskim istraživanjima nadaju, zbog velike važnosti akvakulturalnih uzgojnih programa, otkriti QTL za odliku otpornosti na bolesti (Fjalestad i sur., 1993; Nell i Hand, 2003; Argue i sur., 2002; Henryon i sur., 2005). U salmonidnih vrsta identificiran je QTL vezan za odnos mase i veličine (Martyniuk i sur., 2003; O'Malley i sur., 2003; Reid i sur., 2005), za uzorak boje (Streelman i sur., 2003) te za jednu formu albinizma (Nakamura i sur., 2001). Identificiran je QTL i za različite zarazne bolesti, npr. za zaraznu hematopoeznu nekrozu (Rodriguez i sur., 2005) i zaraznu salmonidnu anemiju (Moen i sur., 2004b, 2006), (Tablica 1).

MAS — Marker Assisted Selection

Markerima potpomognuta selekcija (MAS; engl. *Marker Assisted Selection*) primjenjuje se u biljnom i životinjskom uzgoju. To je proces u kojemu je marker (morfološki, biokemijski ili onaj temeljen na varijacijama u DNA/RNA)

*Tablica 2. Akvakulturne vrste za koje postoje genske mape
(Sonesson, 2007)*
*Table 2. Aquaculture species for which there are genetic marker maps
(Sonesson, 2007)*

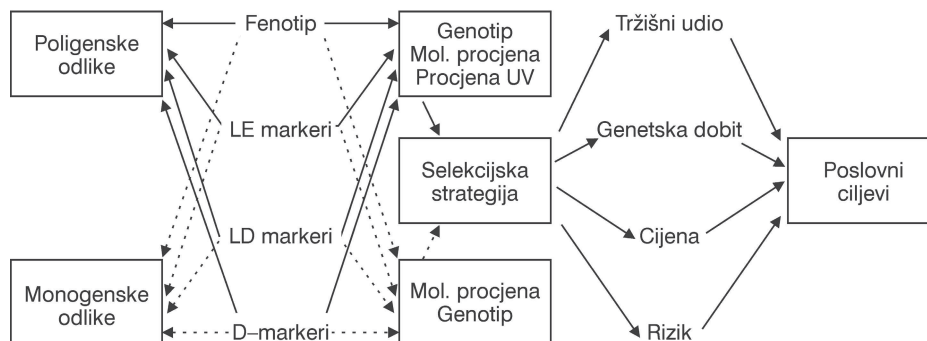
Vrsta — Species	Referenca
Kapica	
eng. <i>Scallop</i>	Li i sur. (2005)
lat. <i>Familliae: Pectinidae</i>	Wang i sur. (2004)
Atlantska kamenica	
eng. <i>Pacific oyster</i>	Hubert i Hedgcock (2004)
lat. <i>Crassostrea gigas</i>	
Američka kamenica	
eng. <i>Eastern oyster</i>	Yu i Guo (2003)
lat. <i>Crassostrea virginica</i>	
Atlantska bijela kozica	
eng. <i>White shrimp</i>	Pérez i sur. (2004)
lat. <i>Penaeus (Litopenaeus) vannamei</i>	
Kuruma kozica	
eng. <i>Kuruma prawn</i>	Moore i sur. (1999)
lat. <i>Penaeus japonicus</i>	Li i sur. (2003)
Velika tigrasta kozica	
eng. <i>Giant tiger prawn</i>	Wilson i sur. (2002)
lat. <i>Penaeus monodon</i>	
Atlantski losos	
eng. <i>Atlantic salmon</i>	Moen i sur. (2004a)
lat. <i>Salmo salar</i>	Gilbey i sur. (2004)
Jezerska zlatovčica	
eng. <i>Arctic char</i>	Woram i sur. (2004)
lat. <i>Salvelinus alpinus</i>	
Kalifornijska pastrva	Nichols i sur. (2003a)
eng. <i>Rainbow trout</i>	Sakamoto i sur. (2000)
lat. <i>Oncorhynchus mykiss</i>	Young i sur. (1998)
Salmonidi (salmonidne vrste)	
eng. <i>Salmonids</i>	May i Johnson (1990)
lat. <i>Familliae: Salmonidae</i>	

Šaran	eng. <i>Common carp</i> lat. <i>Cyprinus carpio</i>	Sun i Liang (2004)
Brancin	eng. <i>European seabass</i> lat. <i>Dicentrarchus labrax</i>	Chistiakov i sur. (2005)
Kanalni som	eng. <i>Channel catfish</i> lat. <i>Ictalurus punctatus</i>	Waldbieser i sur. (2001) Liu i sur. (2003)
Tilapija	eng. <i>Tilapia</i> lat. <i>Oreochromis spp</i>	Lee i sur. (2005) McConnell i sur. (2000) Agresti i sur. (2000) Kocher i sur. (1998)
Japanski halibut	eng. <i>Bastard halibut</i> lat. <i>Paralichthys olivaceus</i>	Coimbra i sur. (2003)

upotrebljavan za posrednu selekciju genetske odrednice ili čimbenika od značajnog genetskog interesa, npr. produktivnost, otpornost na bolesti, tolerancija na stres itd. Korisna je za teško mjerljive značajke ili one koje su izražene tek kasnije u razvoju ili pri klanju — heritabilnost, otpornost na bolesti, kvaliteta fileta, konverzija hrane, tolerancija na salinitet i niske temperature (S o n e s s o n, 2007).

Premda je većina ekonomski bitnih proizvodnih svojstava poligeneske prirode, određeni broj svojstava vezan je za djelovanje jednog ili manjeg broja gena, tako da je učinak mutacija na tim genima u izravnoj vezi s proizvodnim svojstvom. Na takva monogenska proizvodna obilježja može se ugradnjom odgovarajućih genskih markera (izravnih biljega) u uzgojne programe vrlo učinkovito djelovati (MAS), (I v a n k o v i ć, 2005). Upoznavanje načina djelovanja mutacije na proizvodno obilježje pomaže u konstrukciji genskih testova.

Molekularnogenetičke markerske mape napravljene su za mnogo akvakulturnih vrsta npr. tilapiju, soma, veliku tigrastu kozicu i *kuruma* kozicu, japanskog iverka te atlantskog lososa, iako je njihova gustoća općenito niska (R u a n e i S o n i n o, 2007). Gustoća je markerskih mapa visoka za kalifornijsku pastrvu (N i c h o l a s i s u r., 2003a), a ima više od 1 300 markera koji se protežu kroz cijeli genom. Velika većina njih su AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) markeri (V o s i s u r., 1996), ali također uključuju i više od 200 mikrosatelitnih markera (N i c h o l s i s u r., 2003a), (Tablica 2).



Graf 1. Unos fenotipskih i molekularnih podataka poligenijskih i monogenijskih odlika, uključujući direktne (D) i indirektno markere (LD, LE), u selekcijski program koji je usklađen s poslovnim ciljem koristeći se analizama za procjenu uzgojne vrijednosti (PUV), molekularnu procjenu i genotipove (ili genotipske mogućnosti). Pune i isprekidane strelice naznačuju protok informacija za poligenijska, odnosno monogenijska svojstva (Deekers, 2004).

Figure 1. Integration of phenotypic and molecular data on polygenic and monogenic traits, including data on direct (D), linkage disequilibrium (LD), and linkage equilibrium (LE) markers, in a selection program that will meet business goals, using analysis tools to estimate breeding values (EBV), molecular scores, and genotypes (or genotype probabilities). Solid and broken arrows indicate the flow of information for polygenic and monogenic traits, respectively (Deekers, 2004).

MAS — generacijski interval i introgresija

Selekcijom potpomognutom markerima možemo smanjiti generacijski interval, ali, dakako, ne možemo smanjiti razdoblja u kojem riba spolno sazrijeva (osim ako selekcijska shema ne uključuje *in vitro* korake i sl.), (S on e s s o n, 2003). Za najčešće uzgajane vrste razdoblje spolne zrelosti u razmaku je od dvije do tri godine, s iznimkom vrsta tilapija, koja spolno sazrijeva u samo jednoj godini. Kod riba, generacijski je interval biološki minimum i nemoguće ga je dodatno umanjiti, ali markerima asistiranom selekcijom možemo djelovati na druge genetske i ekonomske čimbenike. Možemo izvršiti predselekciju roditelja na bazi markerskih informacija za značajke koje su mjerene kasnije u životu, dakle štedimo vrijeme i novac zadržavajući u uzgoju manji broj riba. Suprotno tomu, intenzitet selekcije može biti povećan za druge odlike za koje nije upotrebljavana markerska informacija (S on e s s o n, 2003).

Budući da sve uzgajane akvatične vrste još uvijek imaju svoje divlje pretke, moguća je ugradnja gena (ili QTL) od tih divljih predaka u uzgajane vrste. Kod vrste bijelog škampa u divljim je populacijama pronađena veća otpornost na bolesti, ali niža stopa rasta nego kod uzgajanih vrsta. U ovom primjeru,

samo bi se geni za otpornost na bolesti trebali ugraditi u uzgajane vrste, naravno, pazeći na poligenu prirodu genoma te mogući učinak utjecaja ugradbenog gena na svojstvo stope rasta (Sonensson, 2007). Problem primjene markerima potpomognute introgresije, tj. trajne ugradnje gena iz jednog seta diferencirane populacije u drugu, jest u traženju značajki od genetskog interesa kod divljih populacija u okviru, što je dosta važno, razumljivog te opravdanog troška, te onda identificirati gene ili markirane QTL za tu značajku koju mislimo ugraditi (Visscher i sur., 1992; Koudande i sur., 2000). Ovo je skup i vremenski dugotrajan proces, pogotovo za vrste s dugim generacijskim intervalom, a prema Dekkersu i Hospitalu (2002), ekonomičnost je odlučujući čimbenik za primjenu molekularne genetike u genetski unaprijeđene programe. Isplativost primjene markerima potpomognute selekcije treba usporediti ne samo s konvencionalnim uzgojnim metodama nego i s uporabom ostalih novih tehnologija koje potencijalno mogu unaprijediti populacijsku genetiku u akvakulturi poput triploidizacije te metode izmjene spolova.

Za praktičnu primjenu naprednih molekularnih tehnologija poput markerima potpomognute selekcije u akvakulturi preduvjet je postojanje snažnoga uzgojnog programa. U situacijama kada kapacitet i infrastruktura nisu zadovoljene za podržavanje konvencionalnog uzgojnog programa, selekcija markerima neće pružiti prečac nikakvom genetskom unapređenju. Ruane i Sonino (2007) upozoravaju na problem uporabe markerima potpomognute selekcije i prava na intelektualno vlasništvo. Informacije o dijelu genetskih markera za koje su otkriveni učinci na proizvodno zanimljive odlike zaštićene su pravom na intelektualno vlasništvo. Uskraćivanje pristupa moguće korisnim informacijama može usporiti, odnosno dovesti u neravnopravan položaj manje razvijene zemlje u pogledu razvoja i primjene markerima potpomognute selekcije u akvakulturi.

Prema Dekkersu (2004), uspješna implementacija markerima potpomognute selekcije zahtijeva opsežan integrirani pristup koji je blisko usklađen s poslovnim ciljem i tržištem. Potreban je razvoj logistike za prikupljanje te pohranu uzoraka DNA i genotipiziranje. U praksi su sva tri tipa prije opisanih markera dostupna za kategorizaciju uz sveobuhvatan pristup istraživanju i analiziranju podataka vezanih uz fenotip za višestruke odlike, za izravne odlike (D-markere), LD/LE markere i razvoj selekcijske strategije koja udovoljava poslovnim ciljevima (Graf 1). Praksa će se kasnije većinom voditi genetskom dobiti koja je određena svojom tržišnom isplativošću.

ZAKLJUČAK

Selekcija potpomognuta markerima trenutačno je ograničena manjkom visoko rezolutnih genetskih mapa za većinu akvakulturnih vrsta. Međutim, u skoroj budućnosti markerima potpomognuta selekcija izrazito će povećati točnost selekcije za većinu odlika. Aktualni uzgojni programi, odnosno selekcijski zahva-

ti u akvakulturi zasnivaju se na linijskim informacijama genetski vrlo bliskih jedinki samo za dio gospodarski važnijih značajki. Sve dok ne budu poznate i dostupne genetske karte visoke rezolucije, primjena markerima potpomognute selekcije bit će ograničena na genetske markere srednje visokog učinka. Do tada će fenotip, odnosno proizvodni učinak ostati važna komponenta programa genetskog unapređenja u akvakulturi, jer uzima u obzir ukupni učinak svih gena populacije, odnosno vrste.

Summary

GENETIC MARKERS ASSISTED SELECTION IN AQUACULTURE

D. Matulić, A. Ivanković, I. Aničić

Aquaculture is an increasing industry, with a total value of 56 billion US\$. Production is based on about 210 species of which the carps and oysters have the largest world-wide production. Aquaculture industry strives to improve production of some species with selection targeted work, which is primarily based on methods of population genetics. The main goal of breeding programs in aquaculture is to increase the profitability and sustainability, while maintaining genetic variability in the cultured stock. Current breeding selection programs strive to improve salmonids, shrimps and tilapia with the proviso that the positive effects at salmonids are most stated. During the last decade development of molecular genetics provides the ability of increasing selection pressure through the use of genetic markers that have direct or indirect effects on the production value. The aim of this work is giving the display of new achievements, capabilities, but also having problems in the integration of marker assisted selection in aquaculture.

Key words: Aquaculture, Breeding program, Marker assisted selection

LITERATURA

Agresti, J.J., Seki, S., Cnaani, A., Poompuang, S., Hallerman, E.M., Umiel, N., Hulata, G., Gall, G.A.E., May, B. (2000): Breeding new strains of tilapia: development of an artificial center of origin and linkage map based on AFLP and microsatellite loci. *Aquaculture*, 185, 43–56.

Msc. Daniel Matulić, Faculty of Agriculture, University of Zagreb, Svetošimunska 25, 10 000 Zagreb. dmatulic@agr.hr; prof. dr. sc. Ante Ivanković, Faculty of Agriculture, University of Zagreb, Svetošimunska 25, 10 000 Zagreb. aivankovic@agr.hr; prof. dr. sc. Ivica Aničić, Faculty of Agriculture, University of Zagreb, Svetošimunska 25, 10 000 Zagreb. ianicic@agr.hr

- Argue, B.J., Arce, S.M., Lotz, J.M., Moss, S.M. (2002): Selective breeding of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) for growth and resistance to Taura Syndrome Virus. *Aquaculture*, 204, 447–460.
- Chistiakov, D.A., Hellemans, B., Haley, C., Law, A.S., Tsigenopoulos, C.S., Kotulas, G., Bertotto, D., Libertini, A., Volckaert, F.A.M. (2005): A microsatellite linkage map of the European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. *Genetics*, 170, 1821–1826.
- Cnaani, A., Hallerman, E.M., Ron, M., Weller, J.I., Indelman, M., Kashi, Y., Gall, G.A.E., Hulata, G. (2003): Detection of a chromosomal region with two quantitative trait loci, affecting cold tolerance and fish size, in an F2 tilapia hybrid. *Aquaculture*, 223, 117–128.
- Cnaani, A., Zilberman, N., Tinman, S., Hulata, G. (2004): Genome-scan analysis for quantitative traits in an F2 tilapia hybrid. *Mol. Gen. Genomics*, 272, 162–172.
- Coimbra, M.R.M., Kabayashi, K., Koretsugu, S., Hasegawa, O., Ohara, E., Ozaki, S., Sakamoto, T., Naruse, K., Okamoto, N. (2003): A genetic map of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 220, 203–218.
- Danzmann, R.G., Jackson, T.R., Ferguson, M.M. (1999): Epistasis in allelic expression at upper temperature tolerance QTL in rainbow trout. *Aquaculture*, 173, 45–58.
- Dekkers, J.C.M. (2004): Commercial application of marker— and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons. *J. Anim. Sci.*, 82, E313–328.
- Dekkers, J.C.M., Hospital, F. (2002): The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Nature Revs. Genet.*, 3, 22–32.
- FAO (2003): FAOSTAT statistical database. (dostupno na <http://faostat.fao.org>).
- Fjalestad, K.T., Gjedrem, T., Gjerde, B. (1993): Genetic improvement of disease resistance in fish: an overview. *Aquaculture*, 111, 65–74.
- Geldermann, H. (1975): Investigations on inheritance of quantitative characters in animals by gene markers. I. Methods. *Theor. Appl. Genet.*, 46, 319–330.
- Gilbey, A., Verspoor, E., McLay, A., Houlihan, D. (2004): A microsatellite linkage map for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Anim. Genet.*, 35, 98–105.
- Hayes, B., Baranski, M., Goddard, M. E., Robinson, N. (2007): Optimisation of marker assisted selection for abalone breeding programs. *Aquaculture*, 265, 61–69.
- Henryon, M., Berg, P., Olesen, N.J., Kjær, T.E., Slierendrecht, W.J., Jokumsen, A., Lund, I. (2005): Selective breeding provides an approach to increase resistance of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) to the diseases, enteric redmouth disease, rainbow trout fry syndrome, and viral haemorrhagic septicaemia. *Aquaculture*, 250, 621–636.
- Hubert, S., Hedgecock, D. (2004): Linkage maps of microsatellite DNA markers for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Genetics*, 168, 351–362.

- Ivanković, A. (2005): Uporaba molekularne genetike u animalnoj proizvodnji. *Stočarstvo*, 59, (2), 121–144.
- Jackson, T.R., Ferguson, M.M., Danzmann, R.G., Fishback, A.G., Ihssen, P.E., O'Connell, M., Crease, T.J. (1998): Identification of two QTL influencing upper temperature tolerance in three rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) half-sib families. *Heredity*, 80, 143–151.
- Khoo, S.K., Ozaki, A., Nakamura, F., Arakawa, T., Ishimoto, S., Nikolov, R., Sakamoto, T., Akatsu, T., Mochuzuki, M., Denda, I., Okamoto, N. (2004): Identification of a novel chromosomal region associated with infectious hematopoietic necrosis (IHN) resistance in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Path.*, 39, 95–101.
- Kocher, T.D., Lee, W.J., Sobolewska, H., Penman, D., McAndrew, B. (1998): A genetic linkage map of a cichlid fish, the tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Genetics*, 148, 1225–1232.
- Koudandé, O.D., Iraqi, F., Thomson, P.C., Teale, A.J., van Arendonk, J.A.M. (2000): Strategies to optimize marker-assisted introgression of multiple linked QTL. *Mamm. Genome*, 11, 145–150.
- Leder, E.H., Danzmann, R.G., Ferguson, M.M. (2006): The candidate gene, Clock, localizes to a strong spawning time quantitative trait locus region in rainbow trout. *J. Heredity*, 97, 74–80.
- Lee, B.-Y., Hulata, G., Kocher, T.D. (2004): Two unlinked loci control the sex of blue tilapia (*Oreochromis aureus*). *Heredity*, 92, 543–549.
- Lee, B.-Y., Lee, W.J., Streelman, T., Carleton, K.L., Howe, A.E., Hulata, G., Slettan, A., Stern, J.E., Terai, Y., Kocher, T.D. (2005): A second-generation genetic linkage map of tilapia (*Oreochromis spp.*). *Genetics*, 170, 237–244.
- Lee, B.Y., Penman, D.J., Kocher, T.D. (2003): Identification of the sex-determining region in tilapia (*Oreochromis niloticus*) using bulked segregant analysis. *Anim. Genet.*, 34, 379–383.
- Li, L., Xiang, J., Liu, X., Zhang, Y., Dong, B., Zhang, X. (2005): Construction of AFLP-based genetic linkage map for Zhikong scallop, *Chlamys farreri* Jones et Preston and mapping of sexlinked markers. *Aquaculture*, 245, 63–73.
- Li, Y., Byrne, K., Miggiano, E., Whan, V., Moore, S., Keys, S., Crocos, P., Preston, N., Lehnert, S. (2003): Genetic mapping of the kuruma prawn (*Penaeus japonicus*) using AFLP markers. *Aquaculture*, 219, 143–156.
- Liu, Z., Karsi, A., Li, P., Cao, D., Dunham, R. (2003): An AFLP-based genetic linkage map of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) constructed by using an interspecific hybrid resource family. *Genetics*, 165, 687–694.
- Martinez, V. (2007): Marker-assisted selection in fish and shellfish breeding schemes. *Chapter in book: Marker-assisted selection — Current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish*. FAO, 329 — 362.
- Martinez, V., Thorgaard, G., Robison, B., Sillanpää, M.J. (2005): An application of Bayesian QTL mapping to early development in double haploid

- lines of rainbow trout including environmental effects. *Genet. Res. Camb.*, 86, 209–221.
- Martyniuk, C.J., Perry, G.M.L., Mogahadam, H.K., Ferguson, M.M., Danzmann, R.G. (2003): The genetic architecture of correlations among growth-related traits and male age at maturation in rainbow trout. *J. Fish Biol.*, 63, 746–764.
- May, B., Johnson, J.E. (1990): Composite linkage map of salmonid fishes. In S.J. O'Brien, ed. *Genetic maps*, 5th edition, pp. 4.151–4.159. Cold Spring Harbor, NY, USA, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- McConnell, S.K.J., Beynon, C., Leamon, J., Skibinski, D.O.F. (2000): Microsatellite marker-based genetic linkage maps of *Oreochromis aureus* and *O. niloticus* (Cichlidae): extensive linkage group segment homologies revealed. *Anim. Genet.*, 31, 214–216.
- Moen, T., Hayes, B., Sonesson, A.K., Lien, S., Høyheim, B., Munck, H., Meuwissen, T.H.E. (2006): Mapping of a quantitative trait loci for resistance against infectious salmon anemia in Atlantic salmon (*Salmo salar*): comparing survival models with binary models. *Genetics*. Submitted.
- Moen, T., Høyheim, B., Munck, H., Gomez-Raya, L. (2004a): A linkage map of Atlantic salmon (*Salmo salar*) reveals an uncommonly large difference in recombination rate between the sexes. *Anim. Genet.*, 35, 81–92.
- Moen, T., Kjersti, K.T., Fjalestad, H., Gomez-Raya, L. (2004b): A multistage testing strategy for detection of quantitative trait loci affecting disease resistance in Atlantic salmon. *Genetics*, 167, 851–858.
- Moore, S.S., Whan, V., Davis, G.P., Byrne, K., Hetzel, D.J.S., Preston, N. (1999): The development and application of genetic markers for the kuruma prawn (*Penaeus japonicus*). *Aquaculture*, 173, 19–32.
- NACA/FAO (2000): *Aquaculture Development Beyond (2000): The Bangkok Declaration and Strategy*. Conference on Aquaculture in the Third Millennium, 20–25 February 2000, Bangkok, Thailand. NACA, Bangkok and FAO, Rome. 27 pp.
- Nakamura, K., Ozaki, A., Akutsu, T., Iwai, K., Sakamoto, T., Toshizaki, G., Okamoto, N. (2001): Genetic mapping of the dominant albino locus in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Mol. Genet. Genom.*, 265, 687–93.
- Nell, J.A., Hand, R.E. (2003): Evaluation of the progeny of second generation Sydney rock oyster *Saccostrea glomerata* (Gould, 1850) breeding lines for resistance to QX disease *Marteilia sydneyi*. *Aquaculture*, 228, 27–35.
- Nichols, K.M., Bartholomew, J., Thorgaard, G.H. (2003b): Mapping multiple genetic loci associated with *Ceratomyxa shasta* resistance in *Oncorhynchus mykiss*. *Dis. Aquat. Org.*, 56, 145–154.
- Nichols, K.M., Robison, B.D., Wheeler, P.A., Thorgaard, G.H. (2000): Quantitative trait loci (QTL) associated with developmental rate in clonal *Oncorhynchus mykiss* strains. *Aquaculture*, 209, 233.
- Nichols, K.M., Wheeler, P.A., Thorgaard, G.H. (2004): Quantitative trait loci analyses for meristic traits in *Oncorhynchus mykiss*. *Env. Biol. Fish.*, 69, 317–331.

- Nichols, K.M., Young, W.P., Danzmann, R.G., Robison, B.D., Rexroad, C., Nokes, M., Phillips, B., Bentzen, P., Spies, I., Knudsen, K., Allendorf, F.W., Cunningham, B.M., Brunelli, J., Zhang, H., Ristow, S., Drew, R., Brown, K.H., Wheeler, P.A., Thorgaard, G.H. (2003a): A consolidated linkage map for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Anim. Genet.*, 34, 102–115.
- O'Malley, K.G., Sakamoto, T., Danzmann, R.G., Ferguson, M.M. (2003): Quantitative trait loci for spawning date and body weight in rainbow trout: testing for conserved effects across ancestrally duplicated chromosomes. *J. Hered.*, 94, 273–84.
- Odak, T., Treer, T., Aničić, I., Safner, R., Piria, M. (2002): Primjena molekularnih metoda u ribarstvu. *Ribarstvo*, 60, (3), 116–126.
- Ohno, S. (1974): Chordata 1: Protochordata, Cyclostomata, and Pisces. *Animal Cytogenetics*, 4, 1–92. Gebruder — Borntrage, Berlin.
- Ozaki, A., Sakamoto, T., Khoo, S., Nakamura, K., Coimbra, M.R.M., Akutsu, T., Okamoto, N. (2001): Quantitative trait loci (QTLs) associated with resistance/susceptibility to infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Mol. Genet. Genom.*, 265, 23–31.
- Palti, Y., Shirak, A., Cnaani, A., Hulata, G., Avtalion, R.R., Ron, M. (2002): Detection of genes with deleterious alleles in an inbred line of tilapia (*Oreochromis aureus*). *Aquaculture*, 206, 151–164.
- Park, L. K., Morgan, P. (1994): Developments in molecular genetic techniques in fisheries. *Review of Fish Biology and Fisheries*, 4, 272–279.
- Pérez, F., Erazo, C., Zhinaula, M., Volckaert, F., Calderon, J. (2004): A sex-specific linkage map of the white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* based on AFLP markers. *Aquaculture*, 242, 105–118.
- Perry, G.M., Danzmann, R.G., Ferguson, M.M., Gibson, J.P. (2001): Quantitative trait loci for upper thermal tolerance in outbred strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Heredity*, 86, 333–341.
- Perry, G.M., Ferguson, M.M., Danzmann, R.G. (2003): Effects of genetic sex and genomic background on epistasis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Genetics*, 119, 35–50.
- Reid, D.P., Szanto, A., Glebe, B., Danzmann, R.G., Ferguson, M.M. (2005): QTL for body weight and condition factor in Atlantic salmon (*Salmo salar*): comparative analysis with rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Heredity*, 94, 166–172.
- Robison, B.D., Wheeler, P.A., Sundin, K., Sikka, P., Thorgaard, G.H. (2001): Composite interval mapping reveals a major locus influencing embryonic development rate in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Hered.*, 92, 16–22.
- Rodriguez, M.F., LaPatra, S., Williams, S., Famula, T., May, B. (2005): Genetic markers associated with resistance to infectious hematopoietic necrosis in rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) backcrosses. *Aquaculture*, 241, 93–115.

- Ruane, J., Sonnino, A. (2007): Marker-assisted selection as a tool for genetic improvement of crops, livestock, forestry and fish in a developing countries. An overview of the issues. *FAO Biotechnology Forum*, 5–13.
- Sakamoto, T., Danzmann, R.G., Gharbi, K., Howard, P., Ozaki, A., Khoo, S.K., Woram, R.A., Okamoto, N., Ferguson, M.M., Holm, L.-E., Guyomard, R., Hoyheim, B. (2000): A microsatellite linkage map of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) characterized by large sex-specific differences in recombination rates. *Genetics*, 155, 1331–1345.
- Sakamoto, T., Danzmann, R.G., Okamoto, N., Ferguson, M.M., Ihssen, P.E. (1999): Linkage analysis of quantitative trait loci associated with spawning time in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 173, 33–43.
- Somorjai, I.M., Danzmann, R.G., Ferguson, M.M. (2003): Distribution of temperature tolerance quantitative trait loci in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) and inferred homologies in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Genetics*, 165, 1443–1456.
- Sonesson, A.K. (2003): Possibilities for marker-assisted selection in fish breeding schemes. In *Proc. Int. Workshop on Marker-Assisted Selection: A Fast Track to Increase Genetic Gain in Plant and Animal Breeding?* (dostupno na www.fao.org/biotech/docs/Sonesson.pdf).
- Sonesson, A.K. (2007): Possibilities for marker-assisted selection in aquaculture breeding schemes. *Chapter in book: Marker-assisted selection — Current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish*. FAO, 309 — 328
- Streelman, J.T., Albertson, R.C., Kocher, T.D. (2003): Genome mapping of the orange blotch colour pattern in cichlid fishes. *Molec. Ecol.*, 12, 2465–2471.
- Strunjak Perović, I., Topić Popović, N. (1999): PCR kao dijagnostička metoda u akvakulturi. *Ribarstvo*, 57, (4), 181–188.
- Sun, X., Liang, L. (2004): A genetic linkage map of common carp (*Cyprinus carpio* L.) and mapping of a locus associated with cold tolerance. *Aquaculture*, 238, 165–172.
- Sundin, K., Brown, K.H., Drew, R.E., Nichols, K.M., Wheeler, P.A., Thorgaard, G.H. (2005): Genetic analysis of development rate QTL in backcrosses of clonal rainbow trout. *Aquaculture*, 247, 75–83.
- Visscher, P.M., Haley, C.S., Thomson, R. (1992): Marker-assisted introgression in backcross breeding programs. *Genetics*, 144, 1923–1932.
- Vos, P., Rogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., Zebau, M. (1996): ALFP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acid Research*, 23, 4407–4414.
- Waldbieser, G.C., Bosworth, B.G., Nonneman, D.J., Wolters, W.R. (2001): A microsatellite-based genetic linkage map for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Genetics*, 158, 727–734.

- Wang, S., Bao, Z., Pan, J., Zhang, L., Yao, B., Zhan, A., Bi, K., Zhang, Q. (2004): AFLP linkage map of an intraspecific cross in *Chlamys farreri*. *J. Shellfish Res.*, 23, 491–499.
- Wilson, K., Li, Y., Whan, V., Lehnert, S., Byrne, K., Moore, S., Pongsomboon, S., Tassanakajon, A., Rosenberg, G., Ballment, E., Fayazi, A., Swan, J., Kenway, M., Benzie, J. (2002): Genetic mapping of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) with amplified fragment length polymorphism. *Aquaculture*, 204, 297–309.
- Woram, R.A., McGowan, C., Stout, J.A., Gharbi, K., Ferguson, M.M., Hoyheim, B., Sakamoto, J., Davidson, W., Rexroad, C., Danzmann, R.G. (2004): A genetic linkage map for Arctic char (*Salvelinus alpinus*): evidence for higher recombination rates and segregation distortion in hybrid versus pure strain mapping parents. *Genome*, 47, 304–315.
- Young, W.P., Wheeler, P.A., Coryell, V.H., Keim, P., Thorgaard, G.H. (1998): A detailed map of rainbow trout produced using double haploids. *Genetics*, 148, 839–850.
- Yu, Z.N., Guo, X.M. (2003): Genetic linkage map of the eastern oyster (*Crassostrea virginica* Gmelin). *Biol. Bull.*, 204, 327–338.
- Zimmerman, A.M., Evenhuis, J.P., Thorgaard, G.H., Ristow, S.S. (2004): A single major chromosomal region controls natural killer cell-like activity in rainbow trout. *Immunogen.*, 55, 825–35.
- Zimmerman, A.M., Wheeler, P.A., Ristow, S.S., Thorgaard, G.H. (2005): Composite interval mapping reveals three QTL associated with pyloric caeca number in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 247, 85–95.

Priljeno: 14. 7. 2008.
Prihvaćeno: 25. 3. 2009.