

# 哲罗鱼生长速度相关性状的微卫星标记筛选

佟广香 匡友谊 张超 尹家胜

(中国水产科学院 黑龙江水产研究所 黑龙江 哈尔滨 150070)

**摘要:** 利用 22 个微卫星标记对随机交配的野生哲罗鱼  $F_1$  176 个个体的生长速度相关性状(体质量、全长、体高、体宽、头长、头宽和眼间距)进行分析。22 个微卫星标记共检测到 67 个等位基因,各座位的等位基因 2~6 个,片段大小为 109~452 bp。平均观测杂合度和期望杂合度分别为 0.583 5 和 0.564 0。22 个位点均有不同程度的偏离 Hardy-Weiberg 平衡。利用 SPSS 软件对 7 个性状正态分布检测发现,7 个性状都显示出连续变异的特点,属典型的数量性状或者多基因遗传,符合正态分布;同时用 GLM 程序对 22 个微卫星标记与生长速度相关性状进行相关性分析,并将与性状显著相关的标记进行基因型之间的多重比较。结果显示,22 个微卫星座位中,有 11 个标记与至少一种性状显著相关,其中与全长相关的标记最少为 4 个,与体高和体宽相关的标记最多的为 7 个;多重比较可知每个标记中同一性状均有部分基因型差异达到显著水平,不同标记所代表均值也有些差异。上述这些标记为进一步的分子标记辅助育种提供了基础。

**关键词:** 哲罗鱼;微卫星标记;性状;标记辅助育种

中图分类号: S91.03 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2012)增刊-0033-07

## Identification of Microsatellite Markers Associated with Growth Rate Traits in *Hucho taimen*

TONG Guang-xiang, KUANG You-yi, ZHANG Chao, YIN Jia-sheng

(Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China)

**Abstract:** 22 microsatellite markers were used to analyze the growth rate related traits of 176 individuals from  $F_1$  of random mating *Hucho taimen*, including body weight, body length, body height, body width, head length, head width and interorbital width. The results showed that of the 67 alleles detected in total, the numbers of alleles ranged from 2 to 6 per locus with the fragments of 109 to 452 bp, and the mean observed heterozygosity and the mean expected heterozygosity were 0.583 5 and 0.564 0, respectively. Deviations from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) occurred at 22 loci in different degrees. The normal distribution of 7 traits was analyzed using SPSS software and the results indicated that all the seven traits had a characteristic of continuous variation belonging to the typical quantitative traits or polygenic inheritance traits, and conformed to the normal distribution. Meanwhile, GLM linear model was constructed between the 22 microsatellite markers and the growth rate related traits, and the markers significantly correlative to the traits were performed multiple comparison based on the genotypes. The results revealed that of 22 microsatellite loci, there were 11 markers significantly correlative to one trait at least, and the minimum number of markers related to body length was 4 and the maximum number of markers related to body height and body width was 7. Through the multiple comparisons, it was found that there was significant difference of genotypes from the same trait in every locus, and there was also difference among the mean value of the different markers. The screening of these markers could provide some basis for the further study on molecular marker-assisted breeding.

**Key words:** *Hucho taimen*; Microsatellite markers; Traits; Marker assisted selection

收稿日期: 2012-07-30

基金项目: 黑龙江省科技计划(GZ11B201); 淡水鱼健康养殖技术与集成示范(2012BDA25B10); 公益性行业科研专项(201003055); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(201109); 农业部淡水水产生物技术与遗传育种重点实验室开放课题(2012NYBSJ-03)

作者简介: 佟广香(1978-),女,江苏沛县人,助理研究员,硕士,主要从事鱼类遗传育种研究。

通讯作者: 尹家胜(1960-),男,云南腾冲人,研究员,主要从事鱼类生态学研究。

微卫星是近 10 多年来发展起来的一种 DNA 分子标记,与其他标记相比微卫星标记具有突变快、多态性高、杂合度高、信息含量丰富、呈共显性以及实验操作中样品需要量少、操作简单、难度系数小、可用 PCR 扩增检测座位和等位基因条带易于识别等特点<sup>[1]</sup>。目前在鱼类遗传连锁图谱的构建、QTL 定位、群体遗传结构分析、标记辅助育种、杂种优势预测及家系鉴定方面得到了广泛的应用<sup>[2-3]</sup>。与性状相关的微卫星标记在水产方面也有许多报道,Agresti 等<sup>[4]</sup>利用 20 个 UNH 微卫星标记在 63 个罗非鱼杂交子二代中筛选到 2 个标记可能与耐低温性状有关,3 个标记可能与体质量有关;许可等<sup>[5]</sup>对生长性状发生分离的大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)群体进行了微卫星 DNA 遗传分析,得到 4 个等位基因与大菱鲂生长性状呈正相关,1 个等位基因呈负相关;樊佳佳等<sup>[6]</sup>研究了人工养殖大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)极端大个体组和极端小个体组的基因型分布差异,得到 7 个微卫星位点与体质量、体长、体高显著相关,通过不同基因型间的多重比较,结果得到与体质量、体长、体高性状相关的 5 个最有利基因型。

哲罗鱼是鲑科鱼类中个体最大的鱼类,其生长速度快,肉质细嫩,味道鲜美,是人们餐桌的上品,但是野生资源已濒临灭绝<sup>[7-9]</sup>,目前,人工繁殖和驯化养殖已经获得成功<sup>[10-11]</sup>,它抗逆性强,深受养殖者的欢迎。但目前养殖的哲罗鱼都是少量野生亲本繁育的后代,养殖过程中个体生长速度差异大,因此,开展人工选育,培育出具有优良且稳定性状的养殖品种是当务之急,但是哲罗鱼繁殖周期长,4~5 年才能性成熟<sup>[12]</sup>,使常规的表型辅助育种遇到很大的困难,然而采用分子标记辅助育种会缩短育种时间,提高效率。分子标记育种首先要选择与所选性状相关的分子标记,笔者分析了 22 个微卫星标记与哲罗鱼生长速度相关性状(体质量、全长、体高、体宽、头长、头宽和眼间距)的相关性,旨在为哲罗鱼分子标记辅助育种提供科学的依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

黑龙江流域野生哲罗鱼性成熟后 2009 年春随机交配繁殖子代,同一池混养 4 个家系的 1 龄幼鱼,用电子天平(精确到 0.01 g)测量体质量,用电子游标卡尺(精确到 0.01 mm)测量全长、体高、体宽、头长、头宽和眼间距,测量后剪取鳍条,于 75% 酒精中保存。采用标准的酚、氯仿法提取 DNA,具体参见

参考文献<sup>[13]</sup>,DNA 提取后,用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测。

### 1.2 引物选择及 PCR 扩增

设计微卫星引物的序列一部分来自于 Gene-Bank,一部分由本实验室开发,采用 Oligo 7.37 软件设计引物,随机挑选 10 尾野生哲罗鱼基因组 DNA 作为模板进行引物的筛选,筛选出条带清晰、多态性好的引物。挑选了 22 个多态性较好的微卫星标记对 176 尾子代的基因组 DNA 扩增,所使用的引物序列及退火温度见表 1。

建立 15  $\mu$ L 反应体系,其中包括 20 ng/ $\mu$ L DNA 模板 1  $\mu$ L,5 U/ $\mu$ L Taq DNA 聚合酶 0.12  $\mu$ L,10  $\times$  PCR Buffer 1.5  $\mu$ L,2.5 mmol/L 的 dNTP 1.2  $\mu$ L,25 mmol/L 的 MgCl<sub>2</sub> 0.9  $\mu$ L,10  $\mu$ mol/ $\mu$ L 上下游引物各 0.5  $\mu$ L,无菌水补足 15  $\mu$ L。PCR 反应程序为:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 30 s,30 个循环;最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,PCR 产物用 PCR 产物用 8% 聚丙烯酰胺(丙烯酰胺:甲叉丙烯酰胺为 29:1)凝胶电泳检测,银染,扫描仪成像。

### 1.3 数据分析

利用 Gel-pro 软件(Version 4.5)分析所获得的微卫星指纹图谱,用 Genepop(Version 4.1)确定个体基因型,并进行各基因座间连锁不平衡分析,卡方检验估计 Hardy-Weiberg 平衡偏离;用 Popgene(Version 1.32)分析观测等位基因 N、有效等位基因 Ne、观测杂合度 Ho、期望杂合度 He;多态信息含量 PIC 使用 Bostein<sup>[14]</sup>公式计算;使用 SPSS 11.5 软件对哲罗鱼体质量、全长、体高、体宽、头长、头宽和眼间距这 7 个性状进行正态分布检验,计算两性状之间的相关系数,再利用 SPSS 软件中广义线性模型(GLM)对微卫星标记进行最小二乘方差分析,并将与性状显著相关的标记进行基因型之间的多重比较。

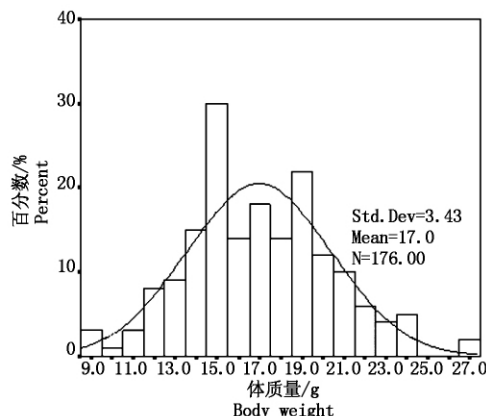


图 1 体质量的正态分布图

Fig. 1 Normal distribution map of body weight

## 2 结果与分析

### 2.1 性状分布

所有测量的性状都显示出连续变异的特点,显示这些与生长相关的性状都是典型的数量性状或者多基因遗传。生长速度相关性状的频率分布是否显

著偏离正态分布通过 Shapiro-Willk 检验,该检验是在 SPSS 程序 descriptive statistics 中完成。平均值、标准差、偏度、峰度、 $P$  值见表 1。从表中可以看出,体高、体宽不符合正态分布,其他性状都符合正态分布(图 1)。将体高和体宽数据经 BOX-COX 转换后,也符合正态分布(表 2)。

表 1 哲罗鱼 7 个性状的正态分布检验

Tab. 1 Normal distribution test of 7 traits

性状 Traits	平均值 $\pm$ 方差 Mean $\pm \sigma$	偏度 Skewness	峰值 Kurtosis	最小值 Minimum	最大值 Maximum	$P$ 值 $P$ value
体质量/g Body weight	16.97 $\pm$ 3.43	0.26	0.16	8.55	27.28	0.240
全长/mm Total length	131.66 $\pm$ 8.38	-0.22	0.12	106.88	153.01	0.640
体高/mm Body height	18.00 $\pm$ 1.91	-0.95	5.77	7.03	23.39	0.000
体宽/mm Body width	12.58 $\pm$ 1.21	0.16	2.55	8.48	18.23	0.001
头高/mm Head height	15.54 $\pm$ 1.18	0.14	0.39	12.55	18.95	0.367
头宽/mm Head width	12.83 $\pm$ 0.93	-0.11	0.39	9.90	15.65	0.637
眼间距/mm Interorbital width	13.59 $\pm$ 0.94	0.46	1.62	10.93	17.79	0.025

表 2 体高、体宽转换后正态分布检验

Tab. 2 Normal distribution test after regulated of body height, body width

性状 Traits	平均值 $\pm$ 方差 Mean $\pm \sigma$	偏度 Skewness	峰值 Kurtosis	最小值 Minimum	最大值 Maximum	$P$ 值 $P$ value
体高/mm Body height	18.06 $\pm$ 1.73	0.08	0.59	13.14	23.39	0.184
体宽/mm Body width	12.59 $\pm$ 1.06	-0.12	-0.48	9.82	14.91	0.277

用 Pearson 非参数检验两性状之间的相关性,研究表明,与生长速度有关的 7 个性状表型值在作图群体中表现出不同程度的相关性( $P < 0.001$ )。相

关系数在 0.67 ~ 0.91 之间,体质量、全长的相关系数最高(表 3)。

表 3 两性状之间的相关系数

Tab. 3 Related coefficient between traits

性状 Traits	体质量 Body weight	全长 Total length	体高 Body height	体宽 Body width	头高 Head height	头宽 Head width	眼间距 Interorbital width
体质量 Body weight	1.00						
全长 Total length	0.91	1.00					
体高 Body height	0.69	0.67	1.00				
体宽 Body width	0.80	0.80	0.67	1.00			
头高 Head height	0.81	0.80	0.73	0.75	1.00		
头宽 Head width	0.82	0.81	0.71	0.77	0.83	1.00	
眼间距 Interorbital width	0.81	0.85	0.63	0.72	0.73	0.75	1.00

### 2.2 遗传多样性分析

本试验所用 22 个微卫星引物均能扩增出清晰的条带,且重复性好,PCR 产物经电泳检测可以清楚地分辨等位基因和基因型,在 176 个个体中共检测到 67 个等位基因,等位基因片段大小为 109 ~ 452 bp(表 4),其中 105TUF 座位的等位基因数最多,为 6 个,平均观测等位基因数为 3.045 5,有效等位基因数为 2.652 2,平均观测杂合度和期望杂合度分别为 0.583 5 和 0.564 0。22 个微卫星位点中,有 10 个属于高度多态位点( $PIC > 0.5$ ),11 个属于中度多态位点( $0.25 < PIC < 0.5$ ),1 个属于低度多态

位点( $PIC < 0.25$ )。22 个位点均有不同程度的偏离 Hardy-Weiberg 平衡,其中 HtaCa101 偏离最大,120TUF 偏离最小。

### 2.3 微卫星标记与性状相关性分析

利用最小二乘法对标记座位与哲罗鱼生长速度相关性状进行连锁显著性检验,22 个微卫星座位中,有 11 个标记与至少一种性状显著相关,其中与体质量和眼间距相关的标记有 5 个,与全长相关的标记有 4 个;与体高和体宽相关的标记有 7 个;与头长相关的标记有 4 个;与头宽相关的标记有 6 个。对差异显著的标记进行不同基因型间的不同性状的

多重比较( Duncan 法),结果见表 5,对与体质量相关的 7 个标记中显著较高组和显著较低组的基因型分别进行比较,显著较高组中 106INRA 标记的 AA 基因型所代表的体质量均值最大为 20.54 g, 1002UW 标记的 CC 基因型所代表的体质量均值最

大为 18.65 g;显著较低组中 1002UW 标记的 AD 基因型所代表的体质量均值最大为 16.94,111TUF 标记的 AA 基因型所代表的体重均值最小为 13.95,可见虽然每个标记中同一性状均有部分基因型差异达到显著水平,但不同标记所代表的均值是存在差异的。

表 4 22 个微卫星标记在 176 尾哲罗鱼个体中的遗传多样性参数

Tab. 4 Genetic diversity parameters of 22 microsatellite loci in 176 taimen individuals

位点 Locus	引物序列(5'-3') Sequences of primers	观测等 位基因 Na	有效等 位基因 Ne	观测杂 合度 Ho	期望杂 合度 He	多态信 息含量 PIC	平衡偏 离指数 d
1INRA	CAACGGACATTTTCATTGGG GGTGTATTATTGGGCTAAAGAG	4	3.662 2	0.939 9	0.728 9	0.676	-0.302 3
106INRA	CCTGATTCTGCTAATGGAGA AGAGATGAAGAGAATACAAAGA	5	4.190 1	0.939 9	0.763 4	0.721	-0.234 5
108INRA	TGTGAAAGACAATGCCATTC CCTCCAAATCACTAAGTCCA	2	1.986 7	0.579 2	0.498 0	0.373	-0.166 3
120INRA	GTCACCCCTTCGGCATAACC AAACTGAAAACAGGCATCTTG	2	1.757 4	0.628 4	0.432 1	0.338	-0.458 2
16DIAS	CACGAGGAGTGTTCTCAATG AGTACTCTAACCCTAGGCTAC	2	1.672 4	0.371 6	0.403 1	0.321	0.075 8
24TUF	CCACTTTGTAACACCACATGTG CTGACCAGGAGCAGCTCTG	3	2.982 3	0.600 0	0.666 6	0.591	0.031 4
66TUF	AGTTCATCGTCTCAGCTCTGC CTGCCAAGTCTCATATCACACC	2	1.164 6	0.153 0	0.141 7	0.131	-0.082 8
75TUF	GCATGATACTGACACAAGGGG GATCTTGTTAACCTCTCCGGG	2	1.834 3	0.284 2	0.456 1	0.351	0.375 3
87TUF	CCAACTCCCCTATCCTCAGA TGCCTTTCAGAAGGTGGC	2	1.497 6	0.420 8	0.333 2	0.277	-0.266 4
105TUF	ATATCACAGGCTCACCTGG CCGGACCTGTTAATGTTTG	6	4.950 7	0.551 9	0.800 2	0.770	0.308 4
111TUF	ATTCCCAAGTCCTTCAAGTCTG TGCTTACAAAGGAGCAAATGG	2	1.984 1	0.165 5	0.497 7	0.373	0.724 7
120TUF	AGACGGCTTTAACAACCCCT TGCTCTGCATATGTCAGCTTGC	2	1.930 8	0.266 3	0.483 5	0.366	-0.004 2
134TUF	ATACCACATTAATGCATTCCCC GAGCAGGACGGAGAGAGATG	5	3.021 8	0.929 0	0.670 9	0.616	-0.424 5
165TUF	TTCCATCTGCTGAGACATGC GTGCTTCTTCAGGAACAGCC	2	1.951 0	0.776 0	0.488 8	0.369	-0.591 9
166TUF	AAGTCCTTCAAGTCTGTCTCCG TGCTTACAAAGGAGCAAATGG	4	3.401 8	0.803 3	0.708 0	0.652	-0.137 7
173TUF	TTGCCGGCCTAATCTCAG GCACAGGAAGGTAGGGTTGA	2	1.837 3	0.547 6	0.457 1	0.352	-0.419 3
210TUF	ACATTAACCACCCACCTGGA AAAAGCAAGGCACCACACTC	4	3.820 5	0.568 3	0.740 3	0.690	0.230 2
1002UW	CAGTGTGCTTTGTGGTGAC GAGACGGCTGAGAACTAGG	4	3.640 3	0.486 3	0.727 3	0.675	0.329 5
1004UW	TGAGTAAAAAGGGGAAACAAGC ACATGCACACGCAAGTTA	4	3.405 1	0.426 2	0.708 3	0.653	0.396 6
1009UW	GTCGTTTGCCTCACCTCATA GCCAAAACACTCTGGCAAAT	2	1.899 9	0.639 3	0.475 0	0.361	-0.349 8
HtaCa101	AACCGTCCCCTAACCCAAT CGTTACAGCCACATTCCTACAA	2	1.951 0	0.841 5	0.488 8	0.369	-0.726 4
HtaCa172	CAACGGACATTTTCATTGGG TGCTTACCTCTCCCAAAGT	4	3.805 8	0.918 0	0.739 3	0.689	-0.255 5
均值 Mean		3.045 5	2.652 2	0.583 5	0.564 0	0.487 0	

表 5 不同基因型间的多重比较结果

Tab.5 Multiple comparisons of genotypes in 22 microsatellite loci

位点 Locus	基因型 Genotype	体质量/g Body weight	全长/mm Total length	体高/mm Body height	体宽/mm Body width	头高/mm Head height	头宽/mm Head width	眼间距/mm Interorbital width
106INRA	AA	20.54a	140.66a	19.66ab	13.83a	17.04a	13.72a	14.50a
	BE	19.44a	135.63abc	20.39a	13.53ab	16.33ab	13.43ab	14.55a
	BC	17.30ab	132.82abc	17.82abc	12.35abc	15.83abc	12.92ab	13.68ab
	BD	17.89ab	137.14ab	18.59abc	12.77abc	16.09abc	12.96ab	13.87ab
	AD	17.53ab	131.35abc	17.68abc	12.59abc	15.41bcd	12.67ab	13.55ab
	CE	16.72ab	131.07abc	17.71bc	12.42abc	15.43bcd	12.79ab	13.51ab
	AC	16.00ab	129.60abc	17.90abc	12.29bc	15.18bcd	12.57ab	13.38ab
	CC	14.51b	125.42c	16.66c	12.08bc	14.35d	12.40b	13.19ab
166TUF	AE	14.48b	126.18bc	15.89c	11.40c	14.69cd	12.35b	12.98b
	BC	18.81a	136.52a	18.57ab	13.31a	15.79ab	13.36a	14.07ab
	ab	19.51a	135.94a	19.79a	13.39a	16.35a	13.39a	14.19a
	AD	17.76ab	134.37ab	18.26ab	12.85ab	15.73ab	13.04ab	13.86abc
	AA	17.10ab	132.55ab	18.68ab	12.57ab	15.57ab	13.20ab	13.77abc
	CD	16.17ab	130.38ab	17.79ab	12.42ab	15.53ab	12.68ab	13.29abc
	DD	17.06ab	131.55ab	18.68ab	12.51ab	15.38ab	12.62ab	13.66abc
	BD	16.53ab	130.30ab	17.16b	12.33ab	15.13ab	12.51ab	13.72abc
210TUF	AC	15.05b	126.54b	17.54b	12.10b	15.00b	12.40b	13.13bc
	CC	14.83b	125.79b	14.94c	11.68b	15.19ab	12.70ab	12.98c
	AB	19.69a	140.38a	19.04a	13.64a	—	—	14.16a
	AA	18.52ab	134.72ab	19.22a	12.93ab	—	—	13.71ab
	CD	17.28abc	131.92bc	18.08ab	12.69ab	—	—	13.59ab
	CC	15.99bc	130.16bc	17.03b	12.27bc	—	—	13.45ab
	AC	16.18bc	128.96bc	17.44ab	12.22bc	—	—	13.23b
	BC	15.04c	126.81c	17.51ab	11.81c	—	—	13.12b
111TUF	BB	17.24a	132.33a	18.10a	12.58a	—	—	13.72a
	AB	16.77a	132.69a	17.66ab	12.51a	—	—	13.72a
	AA	13.95b	123.95b	16.43b	11.32b	—	—	12.85b
134TUF	CD	18.41a	—	—	—	—	—	14.10a
	DE	17.46ab	—	—	—	—	—	13.60ab
	BD	16.71ab	—	—	—	—	—	13.42ab
	AC	16.16ab	—	—	—	—	—	13.51ab
	BC	14.72b	—	—	—	—	—	12.79b
HtaCa172	AC	18.67a	—	—	12.91a	—	13.13a	—
	CD	18.76a	—	—	13.03a	—	13.22a	—
	AB	18.49ab	—	—	12.87ab	—	12.80ab	—
	BD	17.55ab	—	—	12.27ab	—	12.73ab	—
	CC	17.77ab	—	—	12.60ab	—	12.83ab	—
	BB	16.79ab	—	—	12.86ab	—	12.45ab	—
1002UW	BC	16.14b	—	—	11.65b	—	11.86b	—
	CC	18.65a	—	—	13.11a	—	13.16a	—
	BD	18.51ab	—	—	12.93a	—	13.13ab	—
	BB	17.99ab	—	—	12.63ab	—	12.71ab	—
	DD	18.07ab	—	—	12.52ab	—	12.83ab	—
	AC	18.06ab	—	—	12.65ab	—	12.96ab	—
1004UW	AB	17.48ab	—	—	12.65ab	—	12.86ab	—
	AD	16.94b	—	—	11.49b	—	12.08b	—
	BC	—	—	—	—	—	13.52a	—
	AC	—	—	—	—	—	12.31b	—

续表 5

位点 Locus	基因型 Genotype	体质量/g Body weight	全长/mm Total length	体高/mm Body height	体宽/mm Body width	头高/mm Head height	头宽/mm Head width	眼间距/mm Interorbital width
75TUF	AB	—	—	—	—	—	12.52b	—
	AA	—	—	—	—	—	12.50b	—
	BD	—	—	—	—	—	12.70b	—
	BB	—	—	—	12.84a	15.88a	—	—
	AA	—	—	—	12.60ab	15.47ab	—	—
24TUF	AB	—	—	—	12.09b	15.18b	—	—
	BB	—	—	—	13.36a	16.23a	—	—
	BC	—	—	—	12.61ab	15.57ab	—	—
	AC	—	—	—	12.48ab	15.27b	—	—
	AB	—	—	—	12.43ab	15.12b	—	—
108INRA	AA	—	—	—	12.31b	15.61ab	—	—
	BB	—	—	18.28a	—	—	—	—
	AB	—	—	18.09ab	—	—	—	—
	AA	—	—	17.48b	—	—	—	—

注: 表内数值为平均值, 两组之间字母相同, 无差异显著; 两组之间字母不同, 差异显著; —, 表示该标记与本性状不存在相关性。

Note: Value showed as mean, same letters, no significant difference; different letters, significant difference.

### 3 讨论

#### 3.1 性状选择

分子标记辅助选择与常规选择方法相比, 不受年龄、环境等因素的影响, 具有快速、准确等优点, 可在个体生命的早期, 通过检测与数量性状连锁的遗传标记, 对某些性状进行选择, 而不必等到个体的生产性能完全表现出来<sup>[15]</sup>, 要利用分子遗传标记辅助选择育种, 必须先找出与性状相关的标记, 一般体质量、体长是鱼类遗传育种与苗种繁育衡量生长速度的主要依据, 其中体质量是最直接的育种目标性状之一。有文献报道, 全长、体高、体宽、头长、头宽和眼间距对哲罗鱼体质量影响显著, 其中最主要的是全长, 其次是头宽<sup>[16]</sup>, 这为哲罗鱼选择育种提供方向, 但是没有相关的标记的研究, 本研究对体质量及影响体质量的 6 个性状进行微卫星分析, 经分析各性状均符合正态分布, 属典型的数量性状, 两性状之间的相关性检测同样是全长与体质量的相关性最高, 其次是头宽, 与之前报道的相符, 而与鲤(*Cyprinus carpio*)<sup>[17]</sup>、尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)、大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)<sup>[18]</sup>和大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)<sup>[19]</sup>的结论有些差异, 这 4 种鱼影响体质量的首先是体长(全长和体长具有共线性关系, 因此两者所代表意义相同), 其次是体高, 将哲罗鱼和上面 4 种鱼对比可知, 不同体型的鱼性状与体质量的相关性存在差异, 因此, 在以体质量为目标选择育种时, 应根据鱼类自身的特点, 合理的选择性状。

#### 3.2 标记与性状相关性分析

标记连锁分析在概念上是对标记的不同基因型

间数量性状的表型差异进行显著性检验, 差异显著就说明标记与数量性状存在关联, 因此, 如果一个群体的数量性状的表型差异显著, 或 2 个群体的表型差异很大, 就可以通过标记与数量性状的相关分析, 得到数量性状与一个或多个标记的遗传相关。一旦发现显著相关, 即可认为存在一个数量性状基因座, 从而实现从表型选择到基因型选择的转变<sup>[20]</sup>。本试验中 106INRA、166TUF 这 2 个标记与所测量的 7 个性状均有显著相关, 111TUF 和 210TUF 标记与除头宽外其他 6 个性状均显著相关, 这 4 个标记可能存在控制大多数生长性状的主效基因或与其连锁; 134TUF 与体质量、体长、口裂长、眼径、眼间距显著相关, 1002UW 与体高、体宽、头宽显著相关, 1004UW 与头宽显著相关, HtaCa172 与体高、体宽、头宽、显著相关, 这 4 个标记均与至少 2 种性状呈显著相关, 这就是一因多效现象, 这些现象符合 QTL 的定义, 也说明这些性状可能是由一个以上的 QTL 所控制的, 但可以确定的是上述几个标记与哲罗鱼生长速度相关, 为进一步的分子标记辅助育种提供了基础。

有关哲罗鱼的 QTL 分析国内外尚未见报道, 本研究中初步筛选出与性状正相关和负相关的标记, 且不同标记的基因型所代表的性状均值也有差异, 后续的工作将对所得的微卫星标记结果进行其他群体验证和多代验证, 进一步确认其适应范围, 合理地应用标记指导育种, 加快改良重要生长性状, 提高育种速度, 达到事半功倍的效果。

#### 3.3 遗传多样性

一般认为群体杂合度是度量群体遗传变异的一个最适的参数<sup>[21]</sup>, 杂合度的高低反映了群体遗传一

致性的程度 杂合度越低群体的遗传一致性越高,也就是说群体的遗传变异越少,群体的遗传多样性越差<sup>[22]</sup>。用微卫星标记计算出的群体杂合度值一般 0.3~0.8 之间<sup>[23]</sup>,本研究中平均观测杂合度和期望杂合度分别为 0.583 5 和 0.564 0,说明具有中等水平的遗传多样性,与匡友谊<sup>[24]</sup>报道的黑龙江流域野生群体一致,可见未经过选育的  $F_1$  遗传多样性变化不大,还可以进一步选育,以提高群体的整齐度和生产性能。由于微卫星 DNA 本身是选择中性的,不受选择的压力,一个理想群体中,各等位基因在群体中的分布频率应该是稳定的<sup>[25]</sup>,符合 Hardy-Weiberg 平衡定律,在人工选育时必然会偏离 Hardy-Weiberg 平衡定律,然而本试验是未经选育的群体,22 个微卫星位点却有不同程度的偏离,偏离指数  $d$  在 -0.726 4~0.724 7 之间,文献报道  $d$  值越接近 0,基因型的分布越接近于平衡状态, $d$  值为正时反映杂合子过剩, $d$  值为负时则处于杂合子缺失状态<sup>[23]</sup>。本研究的 22 个位点中既有杂合子过剩,也有杂合子缺失,二者差异不大,笔者认为原因如下:①目前哲罗鱼已经处于濒危状态,野生资源的过度捕捞及人为干扰使其种群结构受到影响,有效群体数目日益减少,致使部分基因丢失,同时加大了近交压,近交造成稀有等位基因丢失,基因发生偏离;②哲罗鱼具有一对一的产卵习性,在有效群体数目日益减少时增加了近交的可能性<sup>[24-26]</sup>。本研究亲本是黑龙江流域的野生鱼,因此也发生了偏离,从长远角度看基因的偏离必然会影响生存性能,应尽快开展选育工作,使有益的基因型保留下来,以提高生产性能。

#### 参考文献:

- [1] O'Connell M, Wright J M. Microsatellite DNA in fishes [J]. Rev Fish Biol Fish, 1997(7): 331-363.
- [2] 孙效文,梁利群. 鲤鱼的遗传连锁图谱(初报) [J]. 中国水产科学, 2000, 7(1): 1-5.
- [3] Naish K A, Skibinski O. Tetranucleotide microsatellites loci for Indian major carp (Catlacatla) [J]. J Fish Biol, 1998(53): 886-889.
- [4] Agresti J J, Seki S, Cnaani A *et al.* Breeding new strains of tilapia: development of an artificial center of origin and linkage map based on AFLP and microsatellite loci [J]. Aquaculture, 2000(185): 43-56.
- [5] 许可,马爱军,王新安,等. 大菱鲆生长性状相关的微卫星标记筛选 [J]. 海洋与湖沼, 2009, 40(5): 577-583.
- [6] 樊佳佳,白俊杰,李小慧,等. 大口黑鲈生长性状的微卫星 DNA 标记筛选 [J]. 遗传, 2009, 31(5): 515-522.
- [7] 乐佩琦,陈宜瑜. 中国濒危动物红皮书-鱼类 [M]. 北京: 科学出版社, 1998: 29-31.
- [8] 董崇智,李怀明,赵春刚. 哲罗鱼分布区域及其变化 [J]. 水产学杂志, 1998, 11(1): 65-70.
- [9] 任慕莲,郭焱,张秀善. 中国额尔齐斯河鱼类资源及渔业 [M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 2002: 58-63.
- [10] 姜作发,尹家胜,徐伟. 人工养殖条件下哲罗鱼生长的初步研究 [J]. 水产学报, 2003, 27(6): 590-595.
- [11] 徐伟,孙惠武,关海红. 哲罗鱼全人工繁殖的初步研究 [J]. 中国水产科学, 2007, 14(6): 896-902.
- [12] Holcik J, Hensel K, Nieslanik J. The eurasian huchen hucho hucho: Largest salmon of the world [M]. Hingham (USA): Kluwer Academic Publishers, 1988: 1-131.
- [13] 佟广香,鲁翠云,匡友谊,等. 哲罗鱼基因组微卫星富集文库的构建与分析 [J]. 中国水产科学, 2006, 13(2): 181-186.
- [14] Bostein D, White R L, Skolnick M *et al.* Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. Am J Hum Genet, 1980, 32: 317-331.
- [15] Butterwerth A, Reeves N, Halb0ur D *et al.* Molecular typing of strains of staphylococcus aureus isolated from bone and joint lesions in lame burlier by random amplification of polymorphic DNA [J]. Poult Sci, 2001, 80: 1339-1343.
- [16] 佟广香,匡友谊,许凌雪,等. 哲罗鲑形态性状与体重的相关性分析 [J]. 水产学杂志, 2011, 24(2): 31-36.
- [17] 佟雪红,董在杰,缪为民,等. 建鲤与黄河鲤的杂交优势研究及主要生长性状的通径分析 [J]. 大连水产学院学报, 2007, 22(3): 159-164.
- [18] 于飞,张庆文,孔杰,等. 大菱鲆测量性状对体重的影响效果分析 [J]. 海洋水产研究, 2008, 29(6): 33-40.
- [19] 刘贤德,蔡明夷,王志勇,等. 闽-粤东族大黄鱼生长性状的相关与通径分析 [J]. 中国海洋大学学报, 2008, 38(6): 916-920.
- [20] 孙效文,鲁翠云,匡友谊,等. 分子标记指导的镜鲤育成品种的遗传结构估化 [J]. 发明专利公报, 2008, 24(7): 15-21.
- [21] 储明星,王吉振,王爱国,等. 小尾寒羊五个微卫星基因座遗传多态性研究 [J]. 遗传学报, 2002, 29(6): 502-506.
- [22] 王得前,陈国宏,吴信生,等. 运用微卫星技术分析中国地方鸡品种的亲缘关系 [J]. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 2003, 24(2): 1-6.
- [23] 董秋芬,刘楚吾,郭昱嵩,等. 9 种石斑鱼遗传多样性和系统发生关系的微卫星分析 [J]. 遗传, 2007, 29(7): 837-843.
- [24] 匡友谊,佟广香,徐伟,等. 黑龙江流域哲罗鲑的遗传结构分析 [J]. 中国水产科学, 2010, 17(6): 1208-1217.
- [25] 黄磊,王义权. 扬子鳄种群的微卫星 DNA 多态及其遗传多样性保护对策分析 [J]. 遗传学报, 2004, 31(2): 143-150.
- [26] 佟广香,匡友谊,尹家胜. 野生哲罗鱼种质资源遗传多样性的 AFLP 分析 [J]. 中国水产科学, 2009, 16(6): 833-841.