



## 草鱼生长相关的微卫星标记在选育群体中的验证

余成晨<sup>1,2,3</sup>, 沈玉帮<sup>1,2,3\*</sup>, 徐晓雁<sup>1,2,3</sup>, 王荣泉<sup>4</sup>, 李家乐<sup>1,2,3</sup>

- (1. 上海海洋大学, 农业农村部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306;  
2. 上海海洋大学, 上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306;  
3. 上海海洋大学, 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306;  
4. 苏州市申航生态科技发展股份有限公司, 农业农村部大宗淡水鱼类繁育与健康养殖技术重点实验室, 江苏 苏州 215221)

**摘要:** 生长性状是水产动物遗传育种中的重要经济性性状, 利用与性状相关的分子标记与育种相结合的手段, 可以大大加速育种进程。在对草鱼生长性状的前期研究中, 采用数量性状位点 (QTL) 定位的方法, 在 1 号连锁群中发现了 2 个与生长相关的 QTL。在此基础上, 实验利用这 2 个 QTL 侧翼的 2 对微卫星标记 (CID391\_2、CID1512、CID973\_1 和 CID254\_1), 对长江草鱼选育群体的 480 个个体进行分析, 以期基于草鱼 QTL 定位结果, 对草鱼生长相关的微卫星标记在选育群体中进行验证。结果显示: ① 4 个微卫星标记在该群体中均具有高度多态性, 其中各位点观测等位基因数 ( $N_a$ ) 为 12~23 个, 有效等位基因数 ( $N_e$ ) 为 4~12 个, 观测杂合度 ( $H_o$ ) 为 0.607~0.904, 期望杂合度 ( $H_e$ ) 为 0.751~0.902; ② 利用方差分析及多重比较对 4 个多态性的微卫星标记与选育草鱼群体的生长性状 (体质量和体长) 进行关联分析, 发现 CID391\_2 在雌性个体中, 各基因型与体质量和体长之间均无显著差异; 而在雄性个体中, 各基因型与体质量和体长之间差异显著。CID1512、CID973\_1 和 CID254\_1 在雌性或雄性个体中, 各基因型与体质量和体长之间均具有显著差异。研究表明, 对草鱼生长相关的微卫星标记在选育群体中的验证结果, 为进一步开展草鱼生长性状 QTL 定位研究和基于 QTL 结果的分子标记辅助育种 (MAS) 实践奠定理论基础。

**关键词:** 草鱼; 生长性状; 多态性; 关联分析; 微卫星

**中图分类号:** Q 347; S 965.112

**文献标志码:** A

草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 属于鲤形目 (Cypriniformes) 鲤科 (Cyprinidae) 草鱼属 (*Ctenopharyngodon*)<sup>[1]</sup>, 为当前全球淡水养殖中产量最高的鱼类, 中国是草鱼最主要的生产国<sup>[2]</sup>。草鱼的性成熟时间为 4~5 a, 传统的人工选育方法育种周期漫长, 而分子标记辅助育种 (molecular marker assisted selection, MAS) 是缩短育种周期的理

想选择。在分子标记辅助育种进程中, 挖掘与经济性性状相关的多态性位点, 并结合多态性位点与表型变异的相关性分析, 以确定有利的基因型是其重要的一部分。微卫星分子标记 (simple sequence repeat, SSR) 属共显性标记, 在基因组上分布广泛, 等位基因多态性高, 相对于 SNP 标记 (single nucleotide polymorphism) 仍具有不可替代

收稿日期: 2020-02-22 修回日期: 2020-05-11

资助项目: 现代农业产业技术体系专项 (CARS-45-03); 上海市工程中心提升项目 (19DZ2284300)

第一作者: 余成晨 (照片), 从事水产动物种质资源与种苗工程研究, E-mail: ccyu549@163.com

通信作者: 沈玉帮, E-mail: ybshen@shou.edu.cn



的作用<sup>[3]</sup>。微卫星标记在水产动物的遗传结构分析<sup>[4]</sup>、亲子鉴定<sup>[5]</sup>，以及在基于序列的比较基因组分析<sup>[6]</sup>、基因定位<sup>[7]</sup>等研究中均具有广泛运用。

有关草鱼遗传多样性与表型变异的关联分析中，以往的多态性位点研究往往集中在具有潜在功能的候选基因上进行<sup>[8-10]</sup>。而育种研究重点关注的是与提高产量有关的生长性状，是由微效多基因和环境控制的数量性状，对数量性状的系统研究可通过基于多态性分子标记的QTL定位进行<sup>[11]</sup>。与此同时，对QTL的结果在特定群体中进行检验是必不可少的。近期，本课题组利用微卫星标记，进行了草鱼体质量和体长等生长性状的QTL定位，并在草鱼的1号连锁群上发现了2个与生长相关的QTL (qBWH1和qBWH1\_B)。其中qBWH1定位于标记CID391\_2和CID1512之间；qBWH1\_B定位于标记CID973\_1和CID254\_1之间。基于前期该草鱼生长性状QTL定位的结果，将在1号连锁群上发现的4个侧翼微卫星标记，利用STR分型技术应用于长江草鱼F<sub>2</sub>群体 ( $n = 480$ 尾)，通过方差分析及多重比较分析不同基因型之间表型性状的差别，以期基于草鱼QTL定位结果，对草鱼生长相关的微卫星标记在选育群体中进行验证，确定出各多态性位点的优势基因型。该研究结果将为进一步开展草鱼生长性状QTL定位研究和基于QTL结果的分子标记辅助育种的实践提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验用鱼

实验用鱼为长江草鱼选育群体F<sub>2</sub>。2016年5月在江苏苏州申航生态科技发展股份有限公司，以长江草鱼选育系20尾雌鱼和24尾雄鱼为选育亲本F<sub>1</sub>，经人工催产后在约50 m<sup>3</sup>的产卵池进行

群体自繁。受精卵在孵化桶经早期培育后，将其转至同一池塘饲养，早期泼洒豆浆，后期每日早晚各投喂饵料1次。2018年5月随机选取480尾草鱼用于实验，利用电子台秤(精度为1 g)和刻度尺(精度为1 mm)分别测量记录每条草鱼的生长数据，包括体质量和体长。并剪取鳍条组织于无水乙醇中保存备用。

### 1.2 DNA提取

利用鳍条组织，参照传统苯酚-氯仿抽提法<sup>[12]</sup>对480尾草鱼个体的基因组DNA进行提取。基因组DNA溶解在TE缓冲液中，通过琼脂糖凝胶电泳检测，将质量合格的基因组DNA利用NanoDrop 2000 (Thermo scientific, US)进行浓度测量，并稀释调整浓度为50 ng/μL于96孔板中，-20 °C保存备用。

### 1.3 微卫星分型与性别的鉴定

实验使用的4个微卫星标记见表1，其中标记CID1512来自于草鱼遗传图谱<sup>[13]</sup>，另外3个标记(CID391-2、CID973\_1和CID254\_1)为前期基于草鱼基因组特定scaffold的参考序列<sup>[14]</sup>开发。微卫星标记的引物由上海迈浦生物科技有限公司合成，在上游引物的5'端增加Fam或Hex荧光修饰合成荧光引物。利用合成的荧光引物及480尾草鱼的基因组DNA进行PCR扩增。扩增反应总体积为25 μL，包括12.5 μL Taq PCR Master Mix (2 ×)，2 μL模板DNA，上下游引物各1 μL (10 μmol/L)，8.5 μL ddH<sub>2</sub>O。反应程序：94 °C预变性2 min；94 °C变性30 s，退火30 s，72 °C延伸30 s，38个循环；最后72 °C延伸10 min。PCR产物利用ABI3730XL (Applied Biosystems, USA)遗传分析系统进行基因型分型，片段大小内标为LIZ500。用于性别鉴定的引物来自Wang等<sup>[14]</sup>开发的草鱼雌雄特异性引物，将480尾草鱼的基

表1 草鱼与生长相关的QTL的4个侧翼微卫星标记特征

Tab. 1 Characteristics of the 4 flanking markers affecting growth-related traits of *C. idella*

位点 loci	引物序列 primer sequences (5'-3')	重复单元 repeat motif	退火温度/°C $T_a$	序列号 accession no.
CID391-2	F: CTCTTACTTTGGCGTTCA R: TCTTGGCTTCAGTTTCCT	(GT)22	51	MT318036
CID1512	F: GCGCGTTGTTGGTGTGC R: GCAGGACTAGGATCGTGGTCATT	(TA)13	55	FJ883438.1
CID973-1	F: CCTTTATTCTTGATTGTTTC R: CACCGACTGACAGATACT	(TG)17	48	MT318035
CID254-1	F: AGTAAAGTATTCTGGTGGTG R: AGCATATCATGGTTCGTGT	(TA)13	52	MT318033

基因组 DNA 经过上述的 PCR 反应程序进行扩增, 扩增产物通过浓度为 1% 的琼脂糖凝胶进行电泳检测以确定性别。

### 1.4 数据分析

利用 GeneMapper v 4.0 软件 (Applied Biosystems, USA) 进行读取和处理微卫星片段大小数据。利用软件 Cervus v3.0<sup>[15]</sup> 进行选育群体的观测杂合度 ( $H_o$ )、期望杂合度 ( $H_e$ ) 和多态性信息含量 (PIC) 分析。利用 Popgene v 1.32 软件<sup>[16]</sup> 进行选育群体的观测等位基因数 ( $N_a$ )、有效等位基因数 ( $N_e$ ) 以及哈迪-温伯格 (Hardy-Weinberg) 平衡检验。表型性状 (体长、体质量和性别) 均利用软件 Excel 软件统计汇总。利用 JMP v 10.0 软件<sup>[17]</sup>

的单因素方差分析模块 (One-Way ANOVA) 分析不同基因型之间表型性状的差别, 多重比较的显著性分析基于 LSD 法。

## 2 结果

### 2.1 生长数据及性别鉴定

对于生长性状, 对该群体的 480 尾草鱼分别进行了体质量和体长测量, 平均体质量为 (0.38±0.16) kg; 平均体长为 (32.31±3.79) cm (表 2, P4 和 P5 分别代表第 4 板和第 5 板样本, 每板 96 个样本)。对于性别, 该群体的 480 尾草鱼中, 雌鱼 224 尾, 雄鱼 256 尾, 雌雄比约为 1 : 1.14 (图 1)。

表 2 草鱼选育群体生长相关的表型数据

Tab. 2 Phenotypic data of the growth-related traits in selected population of *C. idella*

性状 trait	极小值 minimum	极大值 maximum	均值 mean	标准差 SD
体质量/kg body weight	0.15	1.27	0.38	0.16
体长/cm body length	23.50	47.00	32.31	3.79

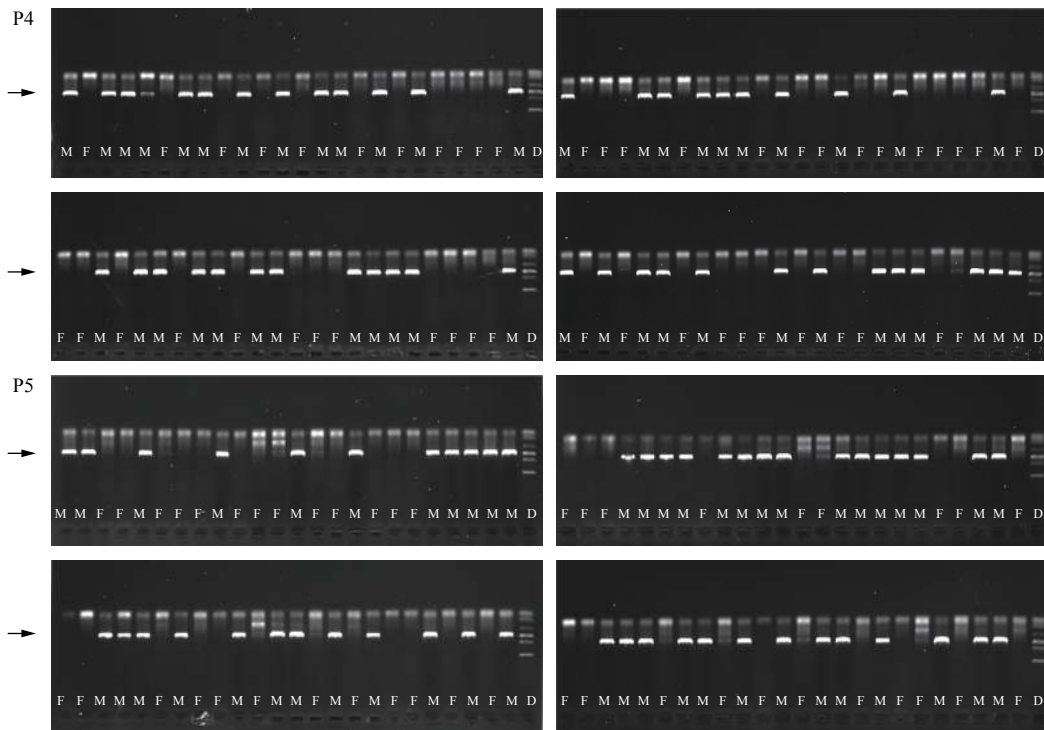


图 1 草鱼选育群体部分性别鉴定电泳图

F. 雌性, M. 雄性, D. 标准物质 D2000, 扩增产物大小约 700 bp, 即在箭头所指行

Fig. 1 Partial electrophoretogram of PCR products for identification of sex in selected population of *C. idella*

F means female individual and M means male individual. The DNA Marker is loaded in the right lane (D), PCR products of the 480 individuals are nearly 700 bp, that is marked with an arrow

## 2.2 遗传多样性分析

利用 4 个微卫星标记位点, 在长江草鱼  $F_2$  群体的 480 尾草鱼中进行遗传多样性分析。其

中,  $N_a$  为 12~23 个,  $N_e$  为 4~12 个,  $H_o$  为 0.607~0.904,  $H_e$  为 0.751~0.902,  $PIC$  为 0.713~0.914 (表 3)。

表 3 4 个生长相关的位点在草鱼群体中的遗传多样性分析

Tab. 3 Genetic diversity analysis of 4 loci in the population of *C. idella*

位点 locus	片段大小/bp length	观测等位基因数 $N_a$	有效等位基因数 $N_e$	观测杂合度 $H_o$	期望杂合度 $H_e$	多态性信息含量 $PIC$	Hardy-Weinberg平衡 $P_{HW}$
CID391_2	387-433	12	4.011	0.607	0.751	0.713	0.000*
CID1512	114-182	23	12.359	0.862	0.920	0.914	0.000*
CID973_1	300-380	23	9.344	0.862	0.894	0.884	0.000*
CID254_1	413-470	19	12.303	0.904	0.920	0.913	0.000*

注: \*表示显著偏离Hardy-Weinberg平衡( $P<0.05$ )

Notes: \* means significantly deviated from Hardy-Weinberg equilibrium ( $P<0.05$ )

## 2.3 微卫星多态性位点基因型与生长性状的关联分析

利用方差分析及多重比较对 4 个多态性的微卫星标记与选育草鱼群体的生长性状进行关联分析。其中由于部分基因型的位点过少, 只对基因型频数不低于 3 的位点进行分析。结果显示, CID391\_2 在雌性个体中, 各基因型与体质量和体长之间均无显著差异 ( $P>0.05$ ), 而在雄性个体中, 各基因型与体质量和体长之间差异显著 ( $P<0.05$ ); CID1512、CID973\_1 和 CID254\_1 在雌性或雄性个体中, 各基因型与体质量和体长之间均具有显著差异 ( $P<0.05$ )。

在位点 CID391\_2 中 (表 4), 对于雄鱼的体质量, EH (395/401) 和 DE (393/395) 为该位点的优势基因型。对于雄鱼的体长, DE 为该位点的优势基因型。对于雌鱼, 该位点基因型 EH 在体质量和体长的均值高于其他各基因型, 但各基因型之间无显著差异。

在位点 CID1512 中 (表 5), 对于雄鱼的体质量, 该位点的优势基因型为 CL (124/142)、IL (136/142) 和 BK (122/140)。对于雄鱼的体长, 该位点的优势基因型为 CL、IL、BK 和 DQ (126/152)。对于雌鱼的体质量, 该位点的优势基因型为 FK (130/140)、FF (130/130)、EG (128/132)、NN (146/146)、MO (144/148)、FL (130/142)、MM (144/144) 和 KK (140/140)。对于雌鱼的体长, 该位点的优势基因型为 FK、FF、EG、NN 和 IN (136/146)。

在位点 CID973\_1 中 (表 6), 对于雄鱼的体质量, CK (312/328)、KK (328/328)、MP (332/340)、

CL (312/330)、PT (340/350) 和 CH (312/322) 为该位点优势基因型。对于雄鱼的体长, CK、KK、MP、CL、PT、CH、GK (320/328)、DH (314/322) 和 CD (312/314) 为该位点优势基因型。对于雌鱼的体质量, CP (312/340)、HP (322/340)、CN (312/334)、GK (320/328)、DN (314/334) 和 HK (322/328) 为该位点优势基因型。对于雌鱼的体长, CP、HP、CN 和 GK 为该位点优势基因型。

在位点 254\_1 中 (表 7), 对于雄鱼的体质量, 该位点优势基因型为 DF (419/423)、FF (423/423) 和 FR (423/455)。对于雄鱼的体长, 该位点优势基因型为 DF、FF、FR、BK (415/433) 和 DN (419/439)。对于雌鱼的体质量和体长, 在该位点两性均具有优势基因型 DL (419/435)。

## 3 讨论

在对复杂的多基因控制的性状系统研究中, 基于家系遗传重组率的 QTL 定位 (连锁分析), 以及基于连锁不平衡 (LD) 的全基因组关联分析 (GWAS), 在部分水产动物育种中分别已有相关报道<sup>[18-19]</sup>。而连锁分析由于需要构建特定的家系定位, 遗传信息受到亲本的限制, 其定位的精度往往由于特定家系原因而受到影响。全基因组关联分析由于易受群体结构的影响, 易形成关联的伪阳性<sup>[20]</sup>。因此对 QTL 的结果在特定群体中进行检验是必不可少的。其中连锁分析和全基因组关联分析相互补充的方法逐渐开始应用, 但主要应用于部分农作物的功能性状研究中<sup>[21]</sup>。微卫星标记虽然具有诸多优点, 而且相对



表 4 4 个微卫星位点不同基因型生长相关性状之间的多重比较 (CID391\_2)

Tab. 4 Multiple comparisons of growth-related traits in 4 loci (CID391\_2)

基因型 genotype	雄性 male			雌性 female		
	个体数/尾 no.	体质量/kg body weight	体长/cm body length	个体数/尾 no.	体质量/kg body weight	体长/cm body length
DE	35	0.423±0.027 <sup>a</sup>	33.65±0.63 <sup>a</sup>	34	0.367±0.027	32.53±0.66
EH	17	0.439±0.039 <sup>a</sup>	33.63±0.91 <sup>ab</sup>	13	0.427±0.044	33.84±1.06
HH	10	0.411±0.050 <sup>ab</sup>	33.42±1.18 <sup>ab</sup>	9	0.426±0.053	33.82±1.27
DD	17	0.410±0.039 <sup>ab</sup>	32.98±0.91 <sup>ab</sup>	14	0.348±0.043	31.81±1.02
BE	3	0.392±0.092 <sup>ab</sup>	32.27±2.16 <sup>abc</sup>	3	0.355±0.092	31.73±2.21
CC	24	0.386±0.033 <sup>ab</sup>	32.33±0.76 <sup>abc</sup>	8	0.409±0.057	33.18±1.35
CH	12	0.381±0.046 <sup>ab</sup>	32.47±1.08 <sup>abc</sup>	7	0.364±0.061	31.76±1.44
BD	8	0.363±0.056 <sup>ab</sup>	31.49±1.32 <sup>abc</sup>	13	0.362±0.044	32.04±1.06
EE	54	0.363±0.022 <sup>ab</sup>	31.84±0.51 <sup>bc</sup>	39	0.361±0.026	31.93±0.61
CE	29	0.354±0.030 <sup>ab</sup>	32.29±0.70 <sup>abc</sup>	34	0.378±0.027	32.24±0.66
DH	6	0.343±0.065 <sup>ab</sup>	31.35±1.53 <sup>abc</sup>	8	0.406±0.057	33.46±1.35
CD	22	0.334±0.034 <sup>b</sup>	31.54±0.80 <sup>bc</sup>	15	0.380±0.041	32.45±0.99
BB	5	0.302±0.071 <sup>ab</sup>	30.88±1.67 <sup>abc</sup>	5	0.400±0.072	32.24±1.71
BC	4	0.245±0.080 <sup>b</sup>	28.70±1.87 <sup>c</sup>	*		
BE	*			3	0.355±0.092	31.73±2.21
CF	*			6	0.406±0.065	32.67±1.56
EF	*			5	0.292±0.072	30.16±1.71

注: 同一位点中同列数据的不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ); \*表示个体数少于或等于3, 下同

Notes: different letters in a column of each locus mean significant difference ( $P < 0.05$ ). \* means the number of individual is less than or equal to 3, the same below

于 SNP 标记具有不可替代的作用<sup>[3]</sup>, 但由于高昂的微卫星分型 (STR 分型) 成本的限制, 微卫星技术难以应用于全基因组水平上的关联分析。然而首先利用 QTL 定位获得与目的性状紧密连锁的位点, 再在更大的群体中对这些位点进行关联分析, 这种通过连锁分析和关联分析相互补充的研究方式已经在不少的研究中被采用。田涛等<sup>[22]</sup>针对从大菱鲂 (*Scophthalmus maximus*) QTL 定位中筛选的生长性状相关的候选 SNP 位点, 利用关联分析在多个家系组成的群体中进行了验证。韦国建等<sup>[23]</sup>利用马氏珠母贝 (*Pinctada martensii*) QTL 定位中的 2 个与生长性状相关的 SNP 位点, 对 2 个不同养殖群体进行了关联分析。在对草鱼生长性状 QTL 定位的前期研究中, 基于来源于草鱼遗传连锁图谱<sup>[13]</sup>上的 99 个微卫星标记和 14 个新开发的微卫星标记, 利用长江草鱼 F<sub>2</sub> 一家系在草鱼的 1 号连锁群上发现了 2 个

与生长相关的 QTL, 其中 qBWH1 定位于标记 CID391\_2 和 CID1512 之间, 侧翼标记区间大小为 7.5 cM; qBWH1\_B 定位于标记 CID973\_1 和 CID254\_1 之间, 侧翼标记区间大小为 1.8 cM。

本实验基于该 QTL 定位的结果, 将在 1 号连锁群上发现的 4 个侧翼微卫星标记应用于长江草鱼 F<sub>2</sub> 群体的 480 尾草鱼中, 利用关联分析对草鱼 QTL 定位结果进行验证。结果发现, CID391\_2 在雌性个体中的各基因型与体质量和体长之间均无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 而在雄性个体中, 各基因型与体质量和体长之间差异显著 ( $P < 0.05$ ); CID1512、CID973\_1 和 CID254\_1 在雌性或雄性个体中, 各基因型与体质量和体长之间均具有显著差异 ( $P < 0.05$ )。在对雌鱼和雄鱼进行各多态性位点基因型与有关体质量和体长的生长性状多重比较中发现, 在位点 CID391\_2 中, 雄鱼的该两性状中均具有优势基因型 DE, 而在雌鱼的

表 5 4 个微卫星位点不同基因型生长相关性状之间的多重比较 (CID1512)

Tab. 5 Multiple comparisons of growth-related traits in 4 loci (CID1512)

基因型 genotype	雄性 male			雌性 female		
	个体数/尾 no.	体质量/kg body weight	体长/cm body length	个体数/尾 no.	体质量/kg body weight	体长/cm body length
CL	4	0.698±0.079 <sup>a</sup>	39.50±1.78 <sup>a</sup>	3	0.372±0.092 <sup>bc</sup>	32.53±2.13 <sup>abcde</sup>
IL	10	0.620±0.050 <sup>ab</sup>	37.72±1.13 <sup>ab</sup>	5	0.395±0.071 <sup>bc</sup>	32.90±1.65 <sup>abcde</sup>
BK	3	0.503±0.091 <sup>abc</sup>	36.10±2.06 <sup>abc</sup>	*		
DQ	3	0.457±0.091 <sup>bcd</sup>	34.83±2.06 <sup>abcdef</sup>	*		
GL	6	0.452±0.065 <sup>cd</sup>	34.83±1.46 <sup>bce</sup>	*		
HN	6	0.443±0.065 <sup>cd</sup>	34.08±1.46 <sup>bcddef</sup>	7	0.422±0.060 <sup>bc</sup>	33.90±1.39 <sup>abcd</sup>
FK	9	0.433±0.053 <sup>cd</sup>	33.02±1.19 <sup>cdefg</sup>	6	0.600±0.065 <sup>a</sup>	36.67±1.51 <sup>a</sup>
CG	3	0.428±0.091 <sup>bcd</sup>	33.10±2.06 <sup>bcddefg</sup>	3	0.268±0.092 <sup>bc</sup>	29.73±2.13 <sup>cde</sup>
OO	6	0.420±0.065 <sup>cd</sup>	33.12±1.46 <sup>cdefg</sup>	*		
NO	9	0.418±0.053 <sup>cd</sup>	33.53±1.19 <sup>cdefg</sup>	7	0.316±0.060 <sup>bc</sup>	31.37±1.39 <sup>bcde</sup>
NN	10	0.417±0.050 <sup>cd</sup>	32.72±1.13 <sup>cdefg</sup>	5	0.473±0.071 <sup>ab</sup>	34.70±1.65 <sup>abc</sup>
JN	6	0.405±0.065 <sup>cd</sup>	34.35±1.46 <sup>bcdce</sup>	3	0.315±0.092 <sup>bc</sup>	31.10±2.13 <sup>bcde</sup>
CI	4	0.386±0.079 <sup>cd</sup>	33.15±1.78 <sup>cdefg</sup>	3	0.292±0.092 <sup>bc</sup>	30.40±2.13 <sup>bcde</sup>
LN	3	0.380±0.091 <sup>cd</sup>	32.60±2.06 <sup>cdefg</sup>	3	0.377±0.092 <sup>bc</sup>	33.03±2.13 <sup>abcde</sup>
IN	8	0.366±0.056 <sup>cd</sup>	31.78±1.26 <sup>cdefg</sup>	11	0.384±0.048 <sup>bc</sup>	33.73±1.11 <sup>abc</sup>
EN	6	0.362±0.065 <sup>cd</sup>	32.65±1.46 <sup>cdefg</sup>	6	0.400±0.065 <sup>bc</sup>	33.87±1.51 <sup>abcd</sup>
FI	3	0.357±0.091 <sup>cd</sup>	32.17±2.06 <sup>cdefg</sup>	*		
FN	3	0.353±0.091 <sup>cd</sup>	32.17±2.06 <sup>cdefg</sup>	*		
KR	3	0.343±0.091 <sup>cd</sup>	31.93±2.06 <sup>cdefg</sup>	*		
KL	4	0.336±0.079 <sup>cd</sup>	30.25±1.78 <sup>dfig</sup>	*		
CN	12	0.334±0.046 <sup>cd</sup>	31.13±1.03 <sup>dfig</sup>	7	0.346±0.060 <sup>bc</sup>	31.59±1.39 <sup>bcde</sup>
GJ	3	0.333±0.091 <sup>cd</sup>	31.60±2.06 <sup>cdefg</sup>	*		
DI	5	0.332±0.071 <sup>cd</sup>	31.20±1.60 <sup>cdefg</sup>	*		
GN	3	0.325±0.091 <sup>cd</sup>	31.13±2.06 <sup>cdefg</sup>	3	0.328±0.092 <sup>bc</sup>	31.33±2.13 <sup>bcde</sup>
MN	3	0.322±0.091 <sup>cd</sup>	30.90±2.06 <sup>cdefg</sup>	8	0.348±0.056 <sup>bc</sup>	31.80±1.30 <sup>bcde</sup>
IK	4	0.310±0.079 <sup>cd</sup>	30.58±1.78 <sup>ddefg</sup>	4	0.289±0.080 <sup>bc</sup>	29.40±1.84 <sup>de</sup>
CC	3	0.310±0.091 <sup>cd</sup>	30.17±2.06 <sup>ddefg</sup>	*		
EI	4	0.309±0.079 <sup>cd</sup>	30.58±1.78 <sup>ddefg</sup>	5	0.240±0.071 <sup>c</sup>	28.74±1.65 <sup>c</sup>
GK	7	0.309±0.060 <sup>cd</sup>	30.60±1.35 <sup>dfig</sup>	6	0.374±0.065 <sup>bc</sup>	32.50±1.51 <sup>abcde</sup>
AI	4	0.308±0.079 <sup>cd</sup>	30.33±1.78 <sup>ddefg</sup>	*		
FL	6	0.304±0.065 <sup>cd</sup>	30.75±1.46 <sup>dfig</sup>	3	0.400±0.092 <sup>abc</sup>	32.23±2.13 <sup>abcde</sup>
FF	4	0.299±0.079 <sup>cd</sup>	30.18±1.78 <sup>dfig</sup>	4	0.481±0.080 <sup>ab</sup>	34.75±1.84 <sup>abc</sup>
KN	3	0.298±0.091 <sup>cd</sup>	30.13±2.06 <sup>ddefg</sup>	*		
AC	5	0.295±0.071 <sup>cd</sup>	30.22±1.60 <sup>dfig</sup>	5	0.334±0.071 <sup>bc</sup>	31.36±1.65 <sup>bcde</sup>
KK	7	0.293±0.060 <sup>cd</sup>	30.36±1.35 <sup>fig</sup>	3	0.387±0.092 <sup>abc</sup>	33.00±2.13 <sup>abcde</sup>
MO	6	0.281±0.065 <sup>d</sup>	30.08±1.46 <sup>fig</sup>	6	0.444±0.065 <sup>ab</sup>	33.50±1.51 <sup>abcd</sup>
EK	3	0.275±0.091 <sup>cd</sup>	30.33±2.06 <sup>ddefg</sup>	4	0.356±0.080 <sup>bc</sup>	31.58±1.84 <sup>bcde</sup>
BF	3	0.262±0.091 <sup>cd</sup>	28.87±2.06 <sup>e</sup>	*		
BG	*			3	0.370±0.092 <sup>bc</sup>	31.83±2.13 <sup>abcde</sup>
BL	*			5	0.408±0.071 <sup>bc</sup>	32.90±1.65 <sup>abcde</sup>
CK	*			5	0.373±0.071 <sup>bc</sup>	33.20±1.65 <sup>abcde</sup>
DK	*			5	0.369±0.071 <sup>bc</sup>	32.06±1.65 <sup>bcde</sup>
DL	*			3	0.335±0.092 <sup>bc</sup>	30.77±2.13 <sup>bcde</sup>
EG	*			3	0.473±0.092 <sup>ab</sup>	36.20±2.13 <sup>ab</sup>
GI	*			3	0.312±0.092 <sup>bc</sup>	30.80±2.13 <sup>bcde</sup>
JJ	*			3	0.372±0.092 <sup>bc</sup>	31.60±2.13 <sup>bcde</sup>
LL	*			3	0.358±0.092 <sup>bc</sup>	30.50±2.13 <sup>bcde</sup>
MM	*			3	0.392±0.092 <sup>bc</sup>	32.43±2.13 <sup>abcde</sup>

表 6 4 个微卫星位点不同基因型生长相关性状之间的多重比较 (CID973\_1)

Tab. 6 Multiple comparisons of growth-related traits in 4 loci (CID973\_1)

基因型 genotype	雄性 male			雌性 female		
	个体数/尾 no.	体质量/kg body weight	体长/cm body length	个体数/尾 no.	体质量/kg body weight	体长/cm body length
BC	3	0.362±0.085 <sup>cdef</sup>	32.57±2.00 <sup>bcdefgh</sup>	*		
CC	6	0.328±0.060 <sup>def</sup>	31.30±1.42 <sup>defgh</sup>	13	0.402±0.044 <sup>bcde</sup>	32.93±1.06 <sup>abcdef</sup>
CD	4	0.424±0.074 <sup>bcdef</sup>	33.25±1.73 <sup>abcdefgh</sup>	6	0.348±0.065 <sup>de</sup>	31.18±1.57 <sup>cdef</sup>
CF	4	0.363±0.074 <sup>cdef</sup>	31.75±1.73 <sup>cdefgh</sup>	*		
CG	17	0.389±0.036 <sup>cdf</sup>	32.90±0.84 <sup>cdeh</sup>	17	0.389±0.039 <sup>cde</sup>	32.54±0.93 <sup>bcdef</sup>
CH	4	0.506±0.074 <sup>abcd</sup>	35.50±1.73 <sup>abcd</sup>	3	0.362±0.092 <sup>bcde</sup>	32.03±2.21 <sup>abcde</sup>
CI	3	0.328±0.085 <sup>cdef</sup>	31.30±2.00 <sup>cdefgh</sup>	*		
CJ	3	0.262±0.085 <sup>ef</sup>	28.70±2.00 <sup>fgh</sup>	*		
CK	3	0.690±0.085 <sup>a</sup>	38.33±2.00 <sup>a</sup>	7	0.303±0.060 <sup>de</sup>	30.44±1.45 <sup>def</sup>
CL	5	0.589±0.066 <sup>ab</sup>	37.40±1.55 <sup>ab</sup>	5	0.384±0.071 <sup>bcde</sup>	32.88±1.72 <sup>abcde</sup>
CM	7	0.286±0.056 <sup>ef</sup>	30.09±1.31 <sup>fgh</sup>	3	0.395±0.092 <sup>bcde</sup>	32.97±2.21 <sup>abcde</sup>
CN	13	0.379±0.041 <sup>def</sup>	33.00±0.96 <sup>cdeh</sup>	7	0.537±0.060 <sup>ab</sup>	35.61±1.45 <sup>ab</sup>
CP	4	0.358±0.074 <sup>cdef</sup>	31.63±1.73 <sup>cdefgh</sup>	6	0.619±0.065 <sup>a</sup>	36.40±1.57 <sup>a</sup>
CQ	5	0.388±0.066 <sup>cdef</sup>	33.22±1.55 <sup>bcdefh</sup>	3	0.375±0.092 <sup>bcde</sup>	33.30±2.21 <sup>abcde</sup>
DG	6	0.278±0.060 <sup>ef</sup>	29.92±1.42 <sup>fgh</sup>	6	0.323±0.065 <sup>de</sup>	30.98±1.57 <sup>def</sup>
DH	3	0.417±0.085 <sup>bcdef</sup>	33.37±2.00 <sup>abcdefgh</sup>	*		
FL	3	0.307±0.085 <sup>def</sup>	30.57±2.00 <sup>defgh</sup>	*		
FN	8	0.374±0.052 <sup>cdef</sup>	32.06±1.23 <sup>cdefgh</sup>	7	0.311±0.060 <sup>de</sup>	30.69±1.45 <sup>def</sup>
GG	11	0.341±0.045 <sup>def</sup>	31.62±1.05 <sup>defgh</sup>	6	0.427±0.065 <sup>bcde</sup>	34.02±1.57 <sup>abcde</sup>
GH	18	0.288±0.035 <sup>c</sup>	30.11±0.82 <sup>g</sup>	9	0.294±0.053 <sup>e</sup>	29.98±1.28 <sup>f</sup>
GJ	5	0.256±0.066 <sup>ef</sup>	28.76±1.55 <sup>a</sup>	6	0.403±0.065 <sup>bcde</sup>	33.08±1.57 <sup>abcde</sup>
GK	5	0.429±0.066 <sup>bcdef</sup>	34.66±1.55 <sup>abcde</sup>	6	0.463±0.065 <sup>abcd</sup>	35.58±1.57 <sup>ab</sup>
GL	6	0.403±0.060 <sup>cdef</sup>	33.00±1.42 <sup>cdeh</sup>	3	0.382±0.092 <sup>bcde</sup>	33.33±2.21 <sup>abcde</sup>
GN	8	0.344±0.052 <sup>def</sup>	30.98±1.23 <sup>cdefgh</sup>	9	0.352±0.053 <sup>de</sup>	31.52±1.28 <sup>cdef</sup>
GP	6	0.330±0.060 <sup>def</sup>	31.63±1.42 <sup>cdefgh</sup>	4	0.334±0.080 <sup>de</sup>	31.33±1.92 <sup>bcdef</sup>
JN	3	0.338±0.085 <sup>cdef</sup>	32.63±2.00 <sup>bcdefgh</sup>	6	0.297±0.065 <sup>de</sup>	32.58±1.57 <sup>bcdef</sup>
KK	3	0.682±0.085 <sup>a</sup>	38.37±2.00 <sup>a</sup>	5	0.408±0.071 <sup>bcde</sup>	33.20±1.72 <sup>abcde</sup>
KN	7	0.335±0.056 <sup>def</sup>	32.63±1.31 <sup>cdefgh</sup>	*		
LL	3	0.390±0.085 <sup>bcdef</sup>	32.70±2.00 <sup>bcdefgh</sup>	*		
MM	4	0.258±0.074 <sup>ef</sup>	28.83±1.73 <sup>g</sup>	3	0.353±0.092 <sup>bcde</sup>	31.80±2.21 <sup>abcde</sup>
MP	3	0.617±0.085 <sup>ab</sup>	36.40±2.00 <sup>abc</sup>	*		
PT	7	0.519±0.056 <sup>abc</sup>	34.89±1.31 <sup>abcd</sup>	8	0.379±0.056 <sup>bcde</sup>	32.91±1.36 <sup>bcdef</sup>
BL	*			3	0.357±0.092 <sup>bcde</sup>	32.27±2.21 <sup>abcde</sup>
DN	*			3	0.487±0.092 <sup>abcde</sup>	35.50±2.21 <sup>abcd</sup>
FH	*			3	0.310±0.092 <sup>de</sup>	31.33±2.21 <sup>abcde</sup>
GM	*			6	0.380±0.065 <sup>bcde</sup>	31.93±1.57 <sup>bcdef</sup>
HK	*			3	0.470±0.092 <sup>abcde</sup>	34.83±2.21 <sup>abcde</sup>
HM	*			6	0.342±0.065 <sup>de</sup>	31.78±1.57 <sup>bcdef</sup>
HP	*			3	0.581±0.092 <sup>abc</sup>	36.47±2.21 <sup>abc</sup>
KM	*			5	0.261±0.071 <sup>e</sup>	29.54±1.72 <sup>ef</sup>

该两性状中, 由于各基因型均无显著差异, 未发现优势基因型; 在位点 CID1512 中, 雄鱼的该两性状中均具有优势基因型 CL、IL 和 BK, 在雌鱼的该两性状中均具有优势基因型 FK、FF、

EG 和 NN。在位点 CID973\_1 中, 雄鱼的该两性状中均具有优势基因型 CK、KK、MP、CL 和 PT, 雌鱼的该两性状中均具有优势基因型 CP、HP、CN 和 GK; 在位点 CID254\_1 中, 雄鱼的该

表 7 4 个微卫星位点不同基因型生长相关性状之间的多重比较 (CID254\_1)

Tab. 7 Multiple comparisons of growth-related traits in 4 loci (CID254\_1)

基因型 genotype	雄性 male			雌性 Female		
	个体数/尾 no.	体质量/kg body weight	体长/cm body length	个体数/尾 no.	体质量/kg body weight	体长/cm body length
AL	3	0.277±0.094 <sup>cde</sup>	30.17±2.17 <sup>cdef</sup>	*		
BD	4	0.343±0.081 <sup>bcd</sup>	32.00±1.88 <sup>bcd</sup>	*		
BF	8	0.304±0.057 <sup>de</sup>	30.33±1.33 <sup>ef</sup>	10	0.407±0.050 <sup>b</sup>	32.65±1.21 <sup>ab</sup>
BI	5	0.333±0.073 <sup>cde</sup>	31.62±1.68 <sup>cdef</sup>	*		
BJ	4	0.475±0.081 <sup>bcd</sup>	34.65±1.88 <sup>bcd</sup>	*		
BK	3	0.452±0.094 <sup>bcd</sup>	34.77±2.17 <sup>abcde</sup>	*		
BL	8	0.394±0.057 <sup>bcd</sup>	31.68±1.33 <sup>cdef</sup>	4	0.409±0.078 <sup>ab</sup>	33.25±1.91 <sup>ab</sup>
BM	4	0.309±0.081 <sup>cde</sup>	30.15±1.88 <sup>cdef</sup>	*		
BP	3	0.257±0.094 <sup>de</sup>	28.40±2.17 <sup>f</sup>	*		
CK	5	0.376±0.073 <sup>bcd</sup>	32.30±1.68 <sup>bcd</sup>	3	0.353±0.091 <sup>ab</sup>	32.33±2.20 <sup>ab</sup>
DD	8	0.324±0.057 <sup>cde</sup>	30.93±1.33 <sup>cdef</sup>	*		
DF	7	0.709±0.061 <sup>a</sup>	39.59±1.42 <sup>a</sup>	10	0.413±0.050 <sup>ab</sup>	33.04±1.21 <sup>ab</sup>
DG	11	0.341±0.049 <sup>cde</sup>	30.86±1.13 <sup>def</sup>	10	0.347±0.050 <sup>b</sup>	31.18±1.21 <sup>ab</sup>
DI	16	0.392±0.041 <sup>bcd</sup>	32.82±0.94 <sup>bcd</sup>	7	0.345±0.059 <sup>b</sup>	31.49±1.44 <sup>b</sup>
DJ	7	0.425±0.061 <sup>bcd</sup>	34.21±1.42 <sup>bcd</sup>	3	0.272±0.091 <sup>b</sup>	29.43±2.20 <sup>b</sup>
DK	8	0.450±0.057 <sup>bcd</sup>	34.10±1.33 <sup>bcd</sup>	9	0.356±0.052 <sup>b</sup>	31.60±1.27 <sup>b</sup>
DL	6	0.426±0.066 <sup>bcd</sup>	33.50±1.53 <sup>bcd</sup>	11	0.548±0.047 <sup>a</sup>	35.35±1.15 <sup>a</sup>
DN	3	0.445±0.094 <sup>bcd</sup>	34.67±2.17 <sup>abcde</sup>	*		
EK	5	0.414±0.073 <sup>bcd</sup>	33.10±1.68 <sup>bcd</sup>	*		
EN	8	0.341±0.057 <sup>cde</sup>	32.71±1.33 <sup>bcd</sup>	4	0.436±0.078 <sup>ab</sup>	34.78±1.91 <sup>ab</sup>
EP	4	0.433±0.081 <sup>bcd</sup>	34.63±1.88 <sup>bcd</sup>	6	0.370±0.064 <sup>b</sup>	33.58±1.56 <sup>ab</sup>
FF	3	0.587±0.094 <sup>ab</sup>	37.47±2.17 <sup>ab</sup>	*		
FM	6	0.384±0.066 <sup>bcd</sup>	32.98±1.53 <sup>bcd</sup>	3	0.283±0.091 <sup>b</sup>	30.03±2.20 <sup>b</sup>
FR	3	0.530±0.094 <sup>abc</sup>	35.80±2.17 <sup>abc</sup>	*		
HJ	3	0.327±0.094 <sup>bcd</sup>	30.70±2.17 <sup>cdef</sup>	3	0.360±0.091 <sup>ab</sup>	31.83±2.20 <sup>ab</sup>
HK	5	0.256±0.073 <sup>c</sup>	29.22±1.68 <sup>f</sup>	4	0.455±0.078 <sup>ab</sup>	35.03±1.91 <sup>ab</sup>
II	3	0.412±0.094 <sup>bcd</sup>	32.70±2.17 <sup>bcd</sup>	*		
IK	4	0.316±0.081 <sup>cde</sup>	30.33±1.88 <sup>cdef</sup>	*		
IM	4	0.393±0.081 <sup>bcd</sup>	32.75±1.88 <sup>bcd</sup>	*		
JM	3	0.313±0.094 <sup>cde</sup>	30.47±2.17 <sup>cdef</sup>	*		
KK	3	0.260±0.094 <sup>de</sup>	28.90±2.17 <sup>f</sup>	*		
KL	6	0.397±0.066 <sup>bcd</sup>	32.77±1.53 <sup>bcd</sup>	3	0.302±0.091 <sup>b</sup>	30.43±2.20 <sup>ab</sup>
KM	3	0.335±0.094 <sup>bcd</sup>	31.43±2.17 <sup>bcd</sup>	6	0.391±0.064 <sup>ab</sup>	32.50±1.56 <sup>ab</sup>
LN	9	0.324±0.054 <sup>cde</sup>	31.60±1.25 <sup>cdef</sup>	4	0.406±0.078 <sup>ab</sup>	34.20±1.91 <sup>ab</sup>
BB	*			3	0.337±0.091 <sup>b</sup>	30.87±2.20 <sup>ab</sup>
BE	*			3	0.263±0.091 <sup>b</sup>	29.73±2.20 <sup>b</sup>
BN	*			5	0.325±0.070 <sup>b</sup>	31.40±1.71 <sup>ab</sup>
CF	*			3	0.332±0.091 <sup>b</sup>	31.00±2.20 <sup>ab</sup>
EF	*			4	0.318±0.078 <sup>b</sup>	31.33±1.91 <sup>ab</sup>
FI	*			9	0.377±0.052 <sup>b</sup>	32.58±1.27 <sup>ab</sup>
IL	*			5	0.363±0.070 <sup>b</sup>	31.72±1.71 <sup>ab</sup>
JJ	*			4	0.318±0.078 <sup>b</sup>	30.40±1.91 <sup>b</sup>
LP	*			3	0.355±0.091 <sup>ab</sup>	32.37±2.20 <sup>ab</sup>
MM	*			3	0.285±0.091 <sup>b</sup>	30.10±2.20 <sup>b</sup>
NQ	*			4	0.430±0.078 <sup>ab</sup>	34.30±1.91 <sup>ab</sup>



两性状均具有优势基因型 DF、FF 和 FR,雌鱼的该两性状中均具有优势基因型 DL。该结果表现出同一位点与多个性状相关,以及同一性状与多个位点相关,此现象在不同水产物种中均有类似发现<sup>[24-25]</sup>。

本研究的结果表现出部分多态性位点的相关性在不同性别的个体中存在差异的现象,一方面,这可能是由于水产动物雌雄个体之间的生长往往存在着明显的性别差异<sup>[26]</sup>,也说明了在不同位点的基因型与性状的关联分析中,性别因素不应该被忽视。本研究利用草鱼性别鉴定的雌雄特异性引物<sup>[14]</sup>,将经 PCR 扩增的产物进行电泳检测确定性别。对雌鱼和雄鱼分别进行各多态性位点基因型与生长的关联分析,以此减少性别因素造成的干扰。另一方面,由于该微卫星标记在群体中表现出高度的多态性,存在一部分不具有代表性的或频数过低的基因型未进行分析,有望通过进一步扩大群体样本数量来解决。本研究中多态性位点基因型与生长表型性状的关联分析的结果,符合对草鱼生长性状 QTL 定位的前期研究结果。

本研究对 4 个微卫星标记在群体中进行遗传多样性分析,发现它们均具有高度多态性 ( $PI_C > 0.50$ ),其中各位点的  $N_a$  为 12 ~ 23 个,  $N_e$  为 4 ~ 12 个,  $H_o$  为 0.607 ~ 0.904,  $H_e$  为 0.751 ~ 0.902。遗传多样性对物种的进化和应对环境改变起着重要的作用<sup>[27]</sup>,与环境适应能力也有着显著的相关关系<sup>[28]</sup>。等位基因数、杂合度、多态性信息含量均为衡量遗传变异程度大小的指标<sup>[29]</sup>。本研究以 4 个微卫星标记对草鱼  $F_2$  选育群体进行遗传多样性分析,长江草鱼  $F_2$  群体经历 2 代选育后仍然保留了较高的遗传变异水平,为进一步实施逐代选育提供了基础。在对各个位点的哈迪-温伯格平衡的卡方检验中,发现 4 个微卫星标记位点均偏离哈迪-温伯格平衡。此结果可能是由于遗传漂变对小群体基因频率造成的随机波动的影响<sup>[30]</sup>,其次可能是由于育种初期的人工选择作用造成了基因频率的改变<sup>[31]</sup>。在对其他一些生物群体遗传多样性研究中也发现了类似现象<sup>[32-33]</sup>。

综上所述,在前期草鱼 QTL 定位研究的基础上,实验利用 1 号连锁群与生长相关的 QTL 的 4 个侧翼微卫星标记,通过 STR 分型技术应

用于草鱼一选育群体进行分析,4 个位点在群体中均表现出高度的多态性,经过方差分析及多重比较,对该 4 个微卫星标记与选育草鱼群体的生长性状进行关联分析,从而对草鱼生长相关的微卫星标记在选育群体中进行了验证,并初步确定了各位点的优势基因型。实验结果为进一步开展草鱼生长性状 QTL 定位研究和基于 QTL 结果分子标记辅助育种实践奠定理论基础。

#### 参考文献 (References):

- [1] Chilton E W, Muoneke M I. Biology and management of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*, Cyprinidae) for vegetation control: a North American perspective[J]. *Reviews in Fish Biology & Fisheries*, 1992, 2(4): 283-320.
- [2] Wang Q D, Cheng L, Liu J S, et al. Freshwater aquaculture in PR China: trends and prospects[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2015, 7(4): 283-302.
- [3] Guichoux E, Lagache L, Wanger S, et al. Current trends in microsatellite genotyping[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2011, 11(4): 591-611.
- [4] 缪一恒,沈玉帮,徐晓雁,等.长江、珠江和黑龙江草鱼双列杂交组合遗传变异的微卫星分析[J]. *上海海洋大学学报*, 2019, 28(6): 865-872.  
Miao Y H, Shen Y B, Xu X Y, et al. Microsatellite analysis of genetic variation of diallel hybrid populations of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) in three waters[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2019, 28(6): 865-872(in Chinese).
- [5] Fu J J, Shen Y B, Xu X Y, et al. Multiplex microsatellite PCR sets for parentage assignment of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Aquaculture International*, 2013, 21(6): 1195-1207.
- [6] 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 Genomics*, 2011, 12(1): 174.
- [7] Feng X, Yu X M, Fu B D, et al. A high-resolution genetic linkage map and QTL fine mapping for growth-related traits and sex in the Yangtze River common carp (*Cyprinus carpio haematopterus*)[J]. *BMC Genomics*, 2018, 19(1): 230.
- [8] 曹婷婷,白俊杰,于凌云,等.草鱼醛缩酶B基因部分序

- 列的SNP多态性及其与生长性状的关联分析[J]. *水产学报*, 2012, 36(4): 481-488.
- Cao T T, Bai J J, Yu L Y, *et al.* Polymorphisms of SNPs in ALDO B gene and association analysis with growth traits in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(4): 481-488(in Chinese).
- [9] Shen Y B, Zhang J B, Fu J J, *et al.* A 425 T> C polymorphism in complement C7 association with resistance to *Aeromonas hydrophila* in grass carp[J]. *Genetics & Molecular Research*, 2016, 15(1): gmr4526.
- [10] 樊佳佳, 刘小献, 白俊杰, 等. 草鱼柠檬酸合酶基因SNP筛选及与生长性状的关联分析[J]. *华中农业大学学报*, 2014, 33(3): 84-89.
- Fan J J, Liu X X, Bai J J, *et al.* Detection of SNP in citrate synthase gene and association analysis with growth traits in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)[J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2014, 33(3): 84-89(in Chinese).
- [11] Frankham R. Introduction to quantitative genetics (4th edn)[J]. *Trends in Genetics*, 1996, 12(7): 280.
- [12] Sambrook J, Russell D W. Molecular cloning: a laboratory manual[M]. New York: Cold Spring Harbor, 2001.
- [13] Xia J, Liu F, Zhu Z Y, *et al.* A consensus linkage map of the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) based on microsatellites and SNPs[J]. *BMC Genomics*, 2010, 11(1): 135.
- [14] Wang Y P, Lu Y, Zhang Y, *et al.* The draft genome of the grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) provides insights into its evolution and vegetarian adaptation[J]. *Nature Genetics*, 2015, 47(6): 625-631.
- [15] Kalinowski S T, Taper M L, Marshall T C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment[J]. *Molecular Ecology*, 2007, 16(5): 1099-1106.
- [16] Raymond M, Rousset F. GENEPOP (Version 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism[J]. *Journal of Heredity*, 1995, 86(3): 248-249.
- [17] Proust M. JMP® 10: basic analysis and graphing[M]. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2012.
- [18] 张研, 梁利群, 常玉梅, 等. 鲤鱼体长性状的QTL定位及其遗传效应分析[J]. *遗传*, 2007, 29(10): 1243-1248.
- Zhang Y, Liang L Q, Chang Y M, *et al.* Mapping and genetic effect analysis of quantitative trait loci related to body size in common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Hereditas*, 2007, 29(10): 1243-1248(in Chinese).
- [19] Tsai H Y, Hamilton A, Tinch A E, *et al.* Genome wide association and genomic prediction for growth traits in juvenile farmed Atlantic salmon using a high density SNP array[J]. *BMC Genomics*, 2015, 16(1): 969.
- [20] Cui Y H, Li G X, Li S Y, *et al.* Designs for linkage analysis and association studies of complex diseases[M]// *Statistical methods in molecular biology*. Totowa, NJ: Humana Press, 2010, 620: 219-242.
- [21] 刘凯, 邓志英, 张莹, 等. 小麦茎秆断裂强度相关性状QTL的连锁和关联分析[J]. *作物学报*, 2017, 43(4): 483-495.
- Liu K, Deng Z Y, Zhang Y, *et al.* Linkage analysis and genome-wide association study of QTLs controlling stem-breaking-strength-related traits in wheat[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2017, 43(4): 483-495(in Chinese).
- [22] 田涛, 王伟继, 陈再忠, 等. 大菱鲆生长性状相关单核苷酸多态位点的多家系验证[J]. *中国海洋大学学报*, 2016, 46(12): 32-40.
- Tian T, Wang W J, Chen Z Z, *et al.* Validation of Single Nucleotide Polymorphism (SNP) loci related to growth traits in turbot (*Scophthalmus maximus*) L. families[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2016, 46(12): 32-40(in Chinese).
- [23] 韦国建, 刘文广, 林坚士, 等. 马氏珠母贝两个与生长性状相关QTL的验证[J]. *海洋科学*, 2015, 39(11): 13-19.
- Wei G J, Liu W G, Lin J S, *et al.* Verification of two QTL associated with growth traits of pearl oyster *Pinctada martensii* Dunker[J]. *Marine Sciences*, 2015, 39(11): 13-19(in Chinese).
- [24] 王桂兴, 刘永新, 孙效文, 等. 牙鲆微卫星分子标记与生长性状的相关性分析[J]. *东北农业大学学报*, 2009, 40(7): 77-84.
- Wang X G, Liu Y X, Sun X W, *et al.* Correlation analysis of microsatellite DNA marks with growth trait of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2009, 40(7): 77-84(in Chinese).
- [25] 刘福平, 白俊杰, 宋红梅, 等. 尼罗罗非鱼微卫星标记与主要生长性状的相关性分析[J]. *水产学报*, 2010, 34(4): 481-488.

- 34(2): 169-177.
- Liu F P, Bai J J, Song H M, *et al.* Correlation analysis of microsatellite DNA markers with major growth traits of tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2010, 34(2): 169-177(in Chinese).
- [26] 罗志嘉, 王佩, 彭娜, 等. 水产动物生长性别差异研究进展[J]. *水产学杂志*, 2017, 30(6): 56-60.
- Luo Z J, Wang P, Peng N, *et al.* Progress in growth sexual dimorphism of animals in aquaculture[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2017, 30(6): 56-60(in Chinese).
- [27] Ellegren H, Galtier N. Determinants of genetic diversity[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2016, 17(7): 422-433.
- [28] Reed D H, Frankham R. Correlation between fitness and genetic diversity[J]. *Conservation Biology*, 2003, 17(1): 230-237.
- [29] 乔利英, 袁亚男. 微卫星标记遗传多样性的度量指标及影响因素[J]. *中国畜牧兽医*, 2010, 37(1): 107-111.
- Qiao L Y, Yuan Y N. The measurement indices and influencing factors of microsatellite polymorphisms[J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2010, 37(1): 107-111(in Chinese).
- [30] Allendorf F W. Genetic drift and the loss of alleles versus heterozygosity[J]. *Zoo Biology*, 1986, 5(2): 181-190.
- [31] 王沈同, 沈玉帮, 孟新展, 等. 草鱼野生与选育群体遗传变异微卫星分析[J]. *水产学报*, 2018, 42(8): 1273-1284.
- Wang S T, Shen Y B, Meng X Z, *et al.* Genetic variability in wild and selected populations of *Ctenopharyngodon idella* using microsatellite markers[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2018, 42(8): 1273-1284(in Chinese).
- [32] 刘颖, 张鹏, 王铁杆, 等. 基于转录组数据的铜藻微卫星标记开发与验证[J]. *上海海洋大学学报*, 2019, 28(4): 542-549.
- Liu Y, Zhang P, Wang T, *et al.* Development and verification of SSR based on transcriptome of *Sargassum horneri*[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2019, 28(4): 542-549(in Chinese).
- [33] 张猛, 沈玉帮, 徐晓雁, 等. 草鱼7个插入/缺失型突变多态性及与幼鱼生长性状关联分析[J]. *水产学报*, 2019, 43(8): 1706-1713.
- Zhang M, Shen Y B, Xu X Y, *et al.* Polymorphism of seven insert/deletion mutations and their connection with growth traits of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(8): 1706-1713(in Chinese).

## Verification of microsatellite markers associated with growth traits in selected populations of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)

YU Chengchen<sup>1,2,3</sup>, SHEN Yubang<sup>1,2,3\*</sup>, XU Xiaoyan<sup>1,2,3</sup>, WANG Rongquan<sup>4</sup>, LI Jiale<sup>1,2,3</sup>

(1. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

4. Key Laboratory of Conventional Freshwater Fish Breeding and Health Culture Technology Germplasm Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Suzhou Shenheng Eco-technology Development Limited Company, Suzhou 215221, China)

**Abstract:** Growth traits are important economic traits in genetic breeding of aquaculture species. The combination of trait-related molecular markers and breeding can greatly accelerate the breeding process. In our previous research on the growth traits of *Ctenopharyngodon idella*, using the method of QTL mapping, we found two growth-related QTLs in the linkage group 1. Based on this, two pairs of the two QTL flanking markers (CID391\_2, CID1512, CID973\_1, and CID254\_1) were used to analyze the 480 individuals of *C. idella* in the Yangtze River system in order to verify these microsatellite markers associated with growth traits in selected populations of grass carp. The results showed that: ① the four microsatellite markers were highly polymorphic in this population ( $PIC > 0.50$ ), among which the number of observed alleles ( $N_o$ ) at each locus was 12 to 23, and the number of effective alleles ( $N_e$ ) was 4 to 12, the observed heterozygosity ( $H_o$ ) was 0.607-0.904, and the expected heterozygosity ( $H_e$ ) was 0.751-0.902; ② by means of One-Way Analysis and multiple comparisons of the genotypes and the growth traits (body weight and body length) in the selected populations of *C. idella*, CID391\_2 showed no significant difference between genotypes and the two growth traits in female individuals, while there was significant difference between genotypes and the two growth traits in male individuals; CID1512, CID973\_1 and CID254\_1 showed significant differences between each genotype and the two growth traits in female or male individuals. This study has verified microsatellite markers associated with growth traits in selected populations of *C. idella*. It will provide a basis for further research on QTL mapping in *C. idella* and the practice of molecular marker assisted selection (MAS) based on QTL mapping.

**Key words:** *Ctenopharyngodon idella*; growth trait; polymorphism; association analysis; microsatellites

**Corresponding author:** SHEN Yubang. E-mail: ybshen@shou.edu.cn

**Funding projects:** China Agriculture Research System (CARS-45-03); Shanghai Engineering and Technology Center for Promoting Ability (19DZ2284300)