

文章编号:1000-0615(2009)04-0624-08

## 利用 EST-SSR 分子标记研究鲤的饲料转化率性状

李 鸥<sup>1,2</sup>, 曹顶臣<sup>1</sup>, 张 研<sup>1,3</sup>, 顾 颖<sup>1,2</sup>,  
张晓峰<sup>1</sup>, 鲁翠云<sup>1</sup>, 孙效文<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所及农业部  
北方鱼类生物工程育种重点开放实验室, 黑龙江 哈尔滨 150070;  
2. 大连水产学院生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116023;  
3. 中国水产科学研究院水产应用基因组研究中心, 北京 100144)

**摘要:**饲料转化率是重要的经济性状,通过 QTL 定位获得的紧密连锁标记以及相关基因,是遗传育种的重要工具。本文利用 70 个鲤的 EST-SSR,对鲤全同胞家系 92 个体的基因组 DNA 进行扫描,得到符合 1:1 孟德尔分离类型的位点 48 个,3:1 孟德尔分离类型的位点 22 个。采用拟回交策略对符合 1:1 分离的标记与鲤饲料转化率性状进行单标记回归分析。结果表明:HLJE335、HLJE253、HLE547、HLJE92、HLJE203、HLJE231 等 6 个标记与饲料转化率性状相关 ( $P < 0.05$ )。其中,HLJE547 和 HLJE203 两个标记与饲料转化率相关性达极显著水平 ( $P < 0.001$ ),分别解释了表型变异的 11.00%、11.00%。应用 NCBI 数据库,分别对与性状极显著相关的 2 个 EST-SSR 标记进行同源性比对,发现标记 HLJE547 与斑马鱼基因组中编码 ATPase, H<sup>+</sup> transporting, lysosomal 的核酸序列同源(同源性为 74%),与斑马鱼编码的 ATPase, H<sup>+</sup> transporting, lysosomal 的蛋白序列同源(同源性为 92%)。推测 ATPase 可能通过影响鲤消化与吸收等生物学机制,从而影响鲤的饲料转化效率。

**关键词:**鲤;EST-SSR;饲料转化率;标记回归分析

**中图分类号:**S 963

**文献标识码:**A

饲料转化率是水产养殖鱼类的重要经济性状。饲料转化率的提高能够节省饲料的用量,降低生产成本,从而提高经济效益。饲料转化率性状的 QTL 定位研究在畜牧中已有较多报道<sup>[1-4]</sup>。Sherman 等<sup>[1]</sup>找到影响肉牛食物摄取量的 6 个 SNP 标记 ( $P < 0.05$ ),它们分布于 5 个染色体上,对表型效应的综合贡献率达到 6.9%。Dragos-Wendrich 等<sup>[2]</sup>利用 18 号染色体上的 5 个分子标记对饲料转化率等数量性状进行精细定位并找到与其紧密连锁的分子标记。但目前关于鱼类饲料转化率的 QTL 定位研究开展较少,Bergot 等<sup>[5]</sup>在研究中发现幽门盲囊数的增加,会显著提高虹鳟的饲料转化效率,加快虹鳟的生长。Zimmerinan 等<sup>[6]</sup>在后续的研究中找到影响虹鳟

鱼幽门囊数的 3 个 QTL 位点。

水产养殖鱼类基因组学以及相关分子生物学的研究起步较晚。目前,鲤基因组信息极为有限,仅有 1 553 个核酸序列,2 064 个蛋白质序列和 3 2125 个 EST 序列 GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)。

表达序列标签 (expressed sequence tags, EST) 是通过大规模 cDNA 随机测序产生的,它是开发遗传标记 SSR (simple sequence repeat) 潜在的资源。SSR 标记在动植物基因组中随机分布,具有共显性遗传、多态性高、稳定性好和操作简单等优点<sup>[7]</sup>,在遗传和物理图谱的构建<sup>[8-10]</sup>、基因定位<sup>[11-12]</sup>、遗传多样性和物种进化分析<sup>[13]</sup>、亲缘关系鉴定<sup>[14]</sup>、DNA 指纹图谱构建<sup>[15]</sup>、比较基因

收稿日期:2008-07-01

修回日期:2008-12-27

资助项目:国家重点基础研究发展计划(2004CB117405)

通讯作者:孙效文, Tel: 0451-84862646, E-mail: sunxw2002@163.com

组学<sup>[16]</sup>等方面广泛应用。EST-SSR 标记不仅省去了 SSR 引物开发过程中的克隆和测序步骤,充分利用现有测序数据,降低开发成本<sup>[17]</sup>,而且又因其来自于基因的编码序列,更容易获得基因表达的信息,为功能基因的直接鉴定提供了可能性。目前 EST-SSR 已成为重要的经济性状定位<sup>[18]</sup>、遗传作图<sup>[19-20]</sup>、遗传多样性<sup>[21]</sup>、比较基因组学研究<sup>[22]</sup>的新型工具。

本研究以 70 个 EST-SSR 对鲤 (*Cyprinus carpio*) 基因组进行扫描,采用标记回归方法确定与饲料转化率性状连锁的标记,并从 NCBI 数据库中检索到与其功能相关的基因,为鲤饲料转化率相关性状的深入研究和最终应用于育种实践奠定了基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

试验群体为以荷包红鲤 (*Cyprinus carpio* var. *wuyuanensis*) 抗寒品系和柏氏鲤 (*Cyprinus pellegrini*) 为祖父母本,交配产生 F<sub>1</sub> 代,F<sub>1</sub> 代 1-1 交配产生 F<sub>2</sub> 代,对性状发生明显分离的 92 个 F<sub>2</sub> 代个体进行表型分析和基因型分析。

### 1.2 研究方法

**饲料转化率的测定和计算** 将 92 个个体分别饲养在 92 个水族箱中,每天投饵四次,以饱食为准,每次投饵量为鱼体重的 2%~3%。每月对体重进行测定(饲料来源于山东升索饲料研究中心)。

饲料转化率(FCR) =  $(W - W_0) \times 100 / I_d$   
式中,W<sub>0</sub> 为初始体重(g),W 为终末体重(g),I<sub>d</sub> 为摄入饲料的干物质总量(g)。

**鲤基因组 DNA 的提取与 EST-SSR 标记分析**  
试验群体 DNA 的提取利用酚-氯仿抽提法进行高分子量基因组 DNA 的提取和纯化。

引物来源于 NCBI 数据库中的 690 对 EST-SSR,所有引物均由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

引物的筛选利用父母本和 10 个 F<sub>2</sub> 代个体对微卫星标记的多态性进行扫描,将多态性在 10% 以上的标记采用 PCR 扩增方法对全同胞家系进行基因型检测。PCR 反应体系为 25 μL,包括 10 × Buffer 15 μL、Mg<sup>2+</sup> (25 mmol/L) 1 μL、dNTPs (各 2 mmol/L) 1 μL、上下游引物 (10

μmol/L) 各 1 μL、模板 DNA 1 μL、Taq DNA 聚合酶 (Promega) 1 U, ddH<sub>2</sub>O。PCR 反应程序为 94 °C 预变性 3 min; 94 °C 变性 20 s, 退火温度 48~65 °C 20 s, 72 °C 延伸 30 s, 35 个循环; 72 °C 延伸 10 min。扩增产物用 8% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳检测个体的基因型。

**统计分析与序列比对** 利用卡方检验,鉴定在子代的分离比符合孟德尔分离规律 1:1 的多态标记,利用软件 Windows Map Manager 2.0 进行标记回归分析。

标记回归的数学统计模型:

$$y = x\beta + e$$

式中,y 为表型性状,β 为参数向量,x 为基因型矩阵。

采用 SPSS11.5 软件包中一维方差分析 (ANOVA) 对鲤与单标记回归所得到的极显著标记的基因型间的饲料转化效率差异进行显著性检验。

序列比对利用 NCBI (美国国家生物技术信息中心, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 提供的 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) 比对程序,对与饲料转化率性状相关性显著的 EST-SSR 标记的核酸序列与 GenBank 数据库中的核酸以及蛋白序列进行同源性比对。

## 2 结果

### 2.1 饲料转化率的测定

92 个个体饲料转化率的测定结果介于 7.23%~62.9% 之间,平均值为 34.84% ± 11.59%。

### 2.2 微卫星标记扫描

利用父母本和 10 个个体进行多态性扫描。从 690 个 EST-SSR 标记中筛选出 70 个多态性标记。对于在父母具有差异,并且在子代中发生分离的座位用作对饲料转化率性状进行单标记回归分析的候选标记。

### 2.3 电泳结果

利用 70 对多态性的引物对实验群体进行 PCR 扩增及电泳检测,均获得了稳定、清晰的 DNA 条带,并在个体间表现出不同程度的多态性,图 1 显示微卫星 HLJE547 对 92 个样本的扩增结果。

## 2.4 标记回归分析

应用 Windows Map Manager 2.0 软件对 70 对 EST-SSR 与饲料转化率性状进行标记回归分析, 结果(表 1)表明: HLJE335、HLJE253、HLJE547、HLJE92、HLJE203、HLJE231 等 6 个座位与该性状连锁现象显著( $P < 0.05$ ), 解释了表型变异型的 5.00% ~ 11.00%, 其中 HLJE547(序

列号为 EX881365) 和 HLJE203(序列号为 EX823829) 等座位与该性状相关极显著( $P < 0.001$ ), 分别解释了表型变异型的 11.00%、11.00%。说明这两个座位可能与影响鲤饲料转化率性状的主效基因连锁, 可作为分子标记辅助育种应用的选择对象。

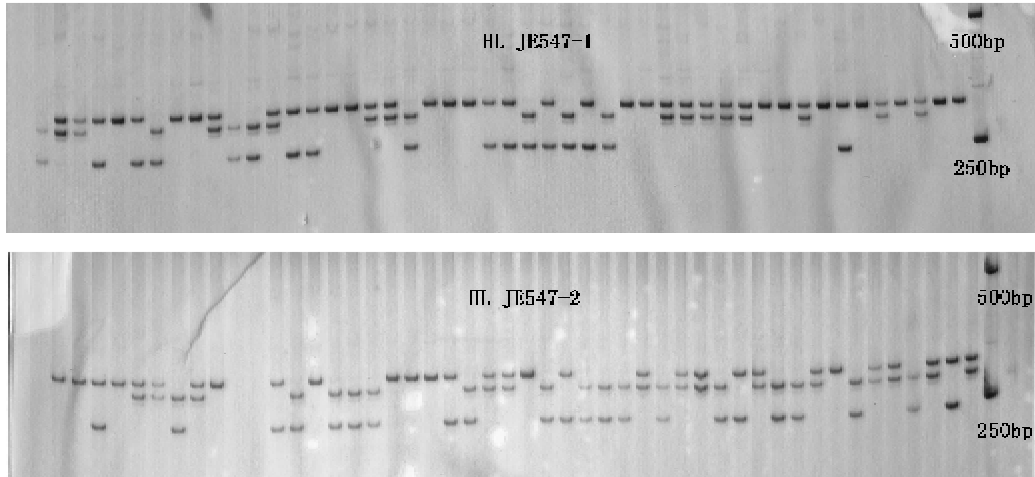


图 1 微卫星位点 HLJE547 在 92 个样本的扩增结果

图片右边所标注数字为 DNA Marker 的大小

Fig. 1 Segregation patterns of HLJE547 loci in ninety-two samples

Numbers of right show were the bps of the DNA Marker

表 1 标记回归的分析结果及遗传效应估计

Tab. 1 Analysis of marker regression and estimation of genetic effects

微卫星座位 locus	似然比例 likely ratio	显著水平 $P$	加性效应 add.	解释表型变异 variation
HLJE335	4.7	0.029 31	0.05	5
HLJE253	4.5	0.034 20	0.05	5
HLJE547*	10.7	0.000 98	0.07	11
HLJE92	4.7	0.030 37	0.05	5
HLJE203*	10.9	0.000 96	0.08	11
HLJE231	4.7	0.030 95	0.06	5

注: \* 代表显著水平为  $P < 0.001$

Notes: The asterisk indicates significance at 0.001 level

## 2.5 EST-SSR 不同基因型与饲料转化率性状的比较分析

由标记回归法获得与 HLJE547(序列号为 EX881365) 和 HLJE203(序列号为 EX823829) 座位与该性状相关极显著( $P < 0.001$ )。对以上差异极显著的标记进行不同基因型间比较分析(表 2)。

在标记 HLJE547 上仅检测到 4 种基因型, 基

因型为 321/246 bp 个体的饲料转化率高高于其他基因型, 其中与基因型 321/310 bp 差异最为显著( $P < 0.001$ ), 相差约为 5.79%。与另外两种基因型 321 bp 和 310/246 bp 相差分别为 2.92% 和 3.67%。在这 4 种基因型中含有等位基因 246 bp 的个体高于其他基因型, 含有等位基因 310 bp 的个体低于其他基因型, 说明等位基因 246 bp 对饲料转化率性状起正面影响而等位基因 310 bp 有可能对该性状起负面影响。

表 2 标记 HLJE339、HLJE547、HLJE203 不同基因型饲料转化率的平均值比较

Tab. 2 Means of feed conversion ratio among HLJE339, HLJE547, HLJE203 genotypes

EST-SSR 座位	基因型 (bp) genotype	个体数 number	饲料转化率 (%) FCR
HLJE339	321	22	35.028 6 ± 13.082 12
	321/310	24	32.154 5 ± 11.270 28
HLJE547	321/246	23	37.952 1 ± 12.433 29
	310/246	23	34.284 9 ± 9.737 4
HLJE203	143/161	53	37.638 3 ± 12.000 2
	161	39	31.055 38 ± 9.944 56

HLJE203 座位存在两种基因型对饲料转化效率的影响极显著 ( $P < 0.001$ )。143/161 bp 基因型个体饲料转化效率显著高于基因型为 161 bp 个体,相差达到 6.58%。

### 2.6 EST-SSR 标记与功能基因的比对分析

应用 NCBI 数据库,分别对与性状显著相关

的 3 个 EST-SSR 标记进行同源检索,未找到标记 HLJE203 的同源序列(图 2)。但发现标记 HLJE547 与斑马鱼基因组中编码 ATPase, H<sup>+</sup> transporting, lysosomal 的核酸序列同源,与编码斑马鱼的 ATPase, H<sup>+</sup> transporting, lysosomal 的蛋白序列同源(表 3)。

表 3 HLJE547 标记核酸序列与 NCBI 核酸库和蛋白库中同源性序列的比对结果  
 Tab.3 The result of comparison between nucleotide sequence of HLJE547 marker and identical sequences in databases of nucleotide and protein

数据库 database	比对结果 the result of comparison	同源序列 homolog	物种 species	序列号 accession
核酸 BLASTN	Score = 521 bits (282), Expect = 2e <sup>-144</sup> Identities = 816/1051 (77%), Gaps = 128/1051 (12%) Strand = Plus/Plus	ATPase, H <sup>+</sup> transporting, lysosomal	zebra fish	BC152275
蛋白 BLASTX	Score = 109 bits (274), Expect = 3e <sup>-22</sup> Identities = 79/85 (94%), Positives = 83/85 (96%), Gaps = 0/85 (0%) Frame = +2	ATPase, H <sup>+</sup> transporting, lysosomal	zebra fish	NP_001098606

Query	73	GGTGGTGGCTGTACTTATTGCCAACACAT-GTCTGCCGATATCTCGCTCTTCAAGACTT	131
Sbjct	327	GGTGGTGGCTGTACTCATTGCCAACATATCG-GTGATAAAATCTCGCTCTACAAGACTT	385
Query	132	TCTTGCACCTTGGTGGGGGT-TGAGCGTGGTCTGAGTGGTCTTGCAGCTGGCTTCCCC	190
Sbjct	386	TCTTGCATCTGGGAGC-GGGTCTGAGTGTGGTCTGAGCGGTCTCGCTGCCGGCTTCCCC	444
Query	191	ATCGGTATCGTGGGTGATGCCAGGAGTGGGGCACAGCCAGCAGCTCGCCCTGTCTGTG	250
Sbjct	445	ATCGGGATCGTGGGAGAGCCAGGTGTGAGAGGAACGGCCAGCAGCCGGCTCTGTCTGTG	504
Query	251	GGGATGATCCAAATCCTCATTTTCGCTGAGTTCTGGGGCTCTACGGGCTACTGTCTCT	310
Sbjct	505	GGCATGATCCCTCATCTTGATCTTCCGAGAGGTGCTGGGGCTCTACGGGCTTACGGCTAGCC	564
Query	311	CTCATCTGTCCACCAGGGTTAATC---GCTCTTATCATCTCTTacaacatgaacaacca	367
Sbjct	565	CTCATCTGTCCACTAAGGGTTAATCGTTGCTCCTATCCTCTCTTACACATGAACAA--A	622
Query	368	teaaccacacacacacacaagcaaccaacacaaacaTCCTCCAAATGATACACATTGAAT-	426
Sbjct	623	-C-A-CACACAGACACAC-A-CACCAACAC-AA-A---T---GAT-ATACA-A-CGACTA	686
Query	427	AACTTCACCACCCG-A-AACGATGAGAGGGGATTTTTGGGTGCCATGCCGTGTATCGTCAG	484
Sbjct	667	AACTTCACCGCTGAAATAAGAGAGAGA-GGAATTTTTGGGTGCCATGCCGTGTATCGTCAG	725
Query	485	TGTGCTGTTTGC-A-G-GTGAATGTGTGATTGAACTTCCCTCTCTGTGTATAGCAGCCCTGA	541
Sbjct	726	TGTGCTGTTTGGGATGAGTGGGTGAGATTGATCTTCCCTCTCTGTGTAAAGTAGCCCGA	785
Query	542	TGTGCGT-I-----C---CCC---TGTAATGCCCTGTGTAGCTATTGCTCCGTCC--	586



座位出现了 3 个以上的等位基因;在 Zhang 等<sup>[25]</sup> 研究中发现,远缘杂交的  $F_1$  代个体中,47.83% 座位出现了 3 个以上的等位基因。因此,远缘杂交的  $F_1$  代鲤群体难以成为理想的实验群体。同时,鲤的远缘杂交使得  $F_1$  代个体间表现出高度杂合性,部分个体之间的基因组信息差异较大,在每个位点上一般都可以产生来自于双亲的 4 个不同的等位基因<sup>[26]</sup>。从而,利用 EST-SSR 对  $F_1$  代个体的基因组进行扫描,筛选出在每个位点上具有 2 个等位基因的并且遗传差距较大的雌雄个体作为构建家系的父母本。这样不仅避免了由于基因复制的发生而产生的复杂的分离模式,同时又得到了具有较高杂合度的实验群体。

### 3.2 标记与性状连锁分析

标记—性状连锁分析是根据标记位点的基因型以及数量性状的表型对个体进行显著性检验,差异显著则说明标记与数量性状存在相关性。其遗传基础是该标记与控制性状的 QTL 或主效基因连锁。对一个群体进行标记与性状的相关分析,找出与性状相关的标记,不仅可以作为标记辅助选择育种的工具。同时还可以通过这一相关分析找到控制某一性状的多个标记,即存在着多因一效的现象,由一个以上的 QTL 控制,从而使标记与性状的相关分析为进一步 QTL 定位研究奠定基础。

本研究以 Windows Map Manager 2.0 软件中提供的单标记回归分析方法,得到 6 个 EST-SSR 座位 (HLJE335、HLJE253、HLE547、HLJE92、HLJE203、HLJE231) 与鲤的饲料转化率性状相关 ( $P < 0.05$ )。将与饲料转化率性状连锁的遗传标记同鲤雌核发育家系(本实验室构建的鲤的作图群体)所构建的连锁群进行比较,结果显示:HLJE335、HLJE253、HLJE92 分别位于 LG30, LG1, LG16 号连锁群上。说明几个标记同时与一个性状相关,这些位点存在多因一效的现象。进一步证明饲料转化率性状是由多基因控制的数量性状。但目前有关对鲤的饲料转化率性状的定位研究未见报道,由于还没有其他鲤 QTL 定位结果可以比较,本试验所得的遗传标记结果还有待进一步的分析和验证。

### 3.3 序列比对分析

将 HLJE574 标记的核酸序列在美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 的核酸库和蛋白库中分

别检索发现,HLJE574 标记与编码斑马鱼 ATPase,  $H^+$  transporting, lysosomal 的核酸序列同源,与斑马鱼编码 ATPase,  $H^+$  transporting, lysosomal 的蛋白序列同源,相似性程度分别达到 77%, 94%。根据两个基因所具有的较大的序列相似性,认为这些序列具有一段共同的进化历程,从而判断他们的生物学功能相似。

ATP 酶是重要的功能蛋白,通过自身水解为物质的主动运输提供能量的。目前研究发现共有三种类型的 ATPase,分别为 P 型 ATPase, V 型 ATPase, F 型 ATPase<sup>[26]</sup>。本研究通过序列比对得到的是 V 型 ATPase。

V 型 ATPase,与其他类型的 ATPase 相比,不同之处在于其在 ATP 水解释放能量的过程中不需要磷酸化。目前在网格蛋白小泡,血小板致密颗粒,溶酶体,嗜铬颗粒等多种细胞内膜结构中都发现这种质子泵—ATPase 的存在。相对于其他类型的 ATPase, V 型 ATPase 相关功能研究却较为滞后<sup>[26]</sup>。

存在于溶酶体膜上的 V 型 ATPase,是维持细胞器-溶酶体内环境的质子转运工具。Gupta 等<sup>[27]</sup> 在了绿头苍蝇的直肠上皮细胞和毛虫中肠杯状细胞中的等离子膜均发现 V 型 ATPase。在对东方鲟消化道上皮的超微结构观察中发现,从食道到直肠上皮细胞中都有溶酶体存在,尤其在具有吸收、分泌和消化等功能的幽门和前后肠中溶酶体数量大且种类多<sup>[28]</sup>,说明溶酶体与东方鲟的消化功能相关,进而推断 V 型 ATPase 与其消化功能相关。

房慧伶等<sup>[29]</sup> 称鱼类作为最早的脊椎动物,胃的功能还未发育完全,说明其消化系统的发育尚处于过渡时期,从而推测它的消化吸收系统与无脊椎动物可能具有一定程度的相似性,即在鱼类的肠上皮细胞中溶酶体也有可能与消化功能相关。V-type  $H^+$  ATPase 作为维持溶酶体内环境的质子转运工具,是否能够通过影响溶酶体内环境而间接的对鱼类的消化系统的功能产生影响还需要进一步的研究证实。

### 参考文献:

- [1] Sherman E L, Nkrumah J D, Murdoch B M. Identification of polymorphisms influencing feed intake and efficiency in beef cattle [J]. *Animal*

- Genetics, 2007, 39: 225–231.
- [2] Dragos-Wendrich B M, Stratil A, Hojny J. Linkage and QTL mapping for *Sus scrofa* chromosome 18 [J]. Anim Breed Genet, 2003, 120: 138–143.
- [3] Ross D H, Chris S H Alan L A, et al. A QTL affecting daily feed intake maps to Chromosome 2 in pigs [J]. Mammalian Genome, 2005, 16: 464–470.
- [4] Monika S, Maciej S, Jakub C. SNPs in the porcine PPARGC1a gene: Interbreed differences and their phenotypic effects [J]. Cellular & Molecular Biology Letters, 2006, 12: 231–239.
- [5] Bergot P, Blanc J, Escaffre A. Relationship between number of pyloric caeca and growth in rainbow trout [J]. Aquaculture, 1981, 22: 81–96.
- [6] Zimmerman A M, Wheeler P A, Ristow S S. Composite interval mapping reveals three QTL associated with pyloric caeca number in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. Aquaculture, 2005, 247: 85–95.
- [7] Powell W, Machray G C, Provan J. Polymorphism revealed by simple sequence repeats [J]. Trends in Plant Science, 1996, 1: 215–222.
- [8] Chistiakov D A, Hellemans B, Haley C S, et al. A microsatellite linkage map of European sea bass *Dicentrarchus labrax* L [J]. Genetics, 2005, 170: 1821–1826.
- [9] Coimbra MRM, Kobayashi K, Koretsugu S, et al. A genetic linkage map of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. Aquaculture, 2003, 220: 203–218.
- [10] Gilbey J, Verspoor E, Mclay A, et al. A microsatellite linkage map for Atlantic salmon (*Salmon salar*) [J]. Anim Genet, 2004, 35: 98–105.
- [11] Inami M, Hatanaka A, Mitsuboshi T, et al. A microsatellite linkage map of red sea bream (*Pagrus major*) and mapping of QTL markers associated with resistance to Red Sea Bream Iridovirus (RSIV) [C]. Plant & Animal Genomes XII Conference, 2005.
- [12] Nichols K M, Wheeler P A, Thorgaard G H. Quantitative trait loci analyses for meristic traits in *Oncorhynchus mykiss* [J]. Environmental Biology of Fishes, 2004, 69: 317–331.
- [13] 汪桂玲, 袁一鸣, 李家乐. 中国五大湖三角帆蚌群体遗传多样性及亲缘关系的 SSR 分析 [J]. 水产学报, 2007, 31(2): 152–158.
- [14] 孙昭宁, 刘萍, 李健, 等. 微卫星 DNA 标记用于中国对虾亲子关系的鉴定 [J]. 海洋水产研究, 2007, 8(3): 28–34.
- [15] 闫晗, 侯林, 毕相东, 等. 扩增仿刺参 SSR 和 ISSR 指纹技术的初步研究 [J]. 海洋湖沼通报, 2006, (1): 68–74.
- [16] Naruse K, Tanaka M, Mita K, et al. A medaka gene map: The trace of ancestral vertebrate protochromosomes revealed by comparative gene mapping [J]. Genome Res, 2004, 14: 820–828.
- [17] Varshney R K, Craner A, Sorrells M E. Genie microsatellite markers in plants: features and applications [J]. Trends in Biotechnology, 2005, 23(1): 48–55.
- [18] Li S S, Jia J Z, Wei X Y, et al. A intervarietal genetic map and QTL analysis for yield traits in wheat [J]. Molecular Breeding, 2007, 20(2): 167–178.
- [19] Mary S, Ma I R, Rouf M. EST–SSRs for genetic mapping in Alfalfa [J]. Molecular Breeding of Forage and Turf, 2006, 11: 239–243.
- [20] Han Z G, Wang C B, Song X L, et al. Characteristics, development and mapping of *Gossypium hirsutum* derived EST–SSRs in allotetraploid cotton [J]. TAG Theoretical and Applied Genetics, 2005, 112(3): 430–439.
- [21] Gupta P K, Rustgil S, Sharmal S, et al. Transferable EST–SSR markers for the study of polymorphism and genetic diversity in bread wheat [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2004, 270(4): 315–323.
- [22] Yu J K, La Rota M, Kantety R V, et al. EST derived SSR markers for comparative mapping in wheat and rice [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2004, 271(6): 742–751.
- [23] Maliepaard C, Jansen J, van Ooijen J W. Linkage analysis in a full-sib family of an outbreeding plant species: overview and consequences for applications [J]. Genetical Research, 1997, 70: 237–250.
- [24] David L, Jinggui F, Palanisamy R, et al. Polymorphism in ornamental and common carp strains (*Cyprinus carpio* L.) as revealed by AFLP analysis and a new set of microsatellite markers [J]. Mol Gen Genomics, 2001, 266(3): 353–362.
- [25] Zhang Y, Liang L Q, Jiang P, et al. Genome

- evolution of common carp (*Cyprinus carpio*) as revealed by the analysis of microsatellite loci in a gynogentic family [J]. *Genet Genomics*, 2008, 35: 97-103.
- [26] Beyenbach K W, Wiczorek H. The V-type H<sup>+</sup> ATPase: molecular structure and function, physiological roles and regulation [J]. *Journal of Experimental*, 2006, 209: 577-589.
- [27] Gupta B L, Berridge M J. A coat of repeating subunits on the cytoplasmic surface of the plasma membrane in the rectal papillae of the blowfly, *Calliphora erythrocephala* (Meig.), studied *in situ* by electron microscopy [J]. *Cell Biol*, 1996, 29: 376-382.
- [28] 吴翊钦, 钟秀容, 陈文列, 等. 东方鲀消化道上皮的超微结构观察[J]. *动物学杂志*, 1993, 28(3): 39-40.
- [29] 房慧伶, 曾文宗. 尼罗罗非鱼肠道的细微结构及组织化学的研究[J]. *广西农业大学学报*, 1992, 11(3): 121-126.

## Studies on feed conversion ratio trait of common carp (*Cyprinus carpio* L.) using EST-SSR marker

LI Ou<sup>1,2</sup>, CAO Ding-chen<sup>1</sup>, ZHANG Yan<sup>1,3</sup>, GU Ying<sup>1,2</sup>,  
ZHANG Xiao-feng<sup>1</sup>, LU Cui-yun<sup>1</sup>, SUN Xiao-wen<sup>1</sup>

(1. Heilongjiang Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China;

2. College of 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)

**Abstract:** Feed conversion ratio is very important economic traits. The improvement of it can not only save the feed, reduce the cost, but can also improve the economic efficiency. There were a great deal of studies relating to feed conversion ratio of QTL in the field of farming. But few were reported on fish, especially on common carp. The linked markers and genes from the analysis of QTL are very important tools for fish breeding. Seventy EST-SSR markers were selected to analyze the genomic DNA of ninety-two progenies derived from the common carp (*Cyprinus carpio* L.) full-sib family, which come from the cross between progenies of Barbless carp and Hebao-cold tolerance red carp. 70 makers segregate according to Mendel's Law, of which 48 segregate in 1:1 model and other 22 in 3:1 model. Markers of "1:1" segregation model were used to make marker regression analysis based on pseudo-testcross strategy using Windows Map Manager 2.0. Six loci were discovered that had impact on feed conversion efficiency (HLJE335, HLJE25, HLE547, HLJE92, HLJE203, HLJE231) and two of them had a significant impact on this trait. EST-SSR markers were used to screen the nucleotide and protein database in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) in order to find the homologies. High sequence homologies of HLJE547 marker were observed with the nucleotide sequence of ATPase, H<sup>+</sup> transporting, lysosomal gene of zebra fish and protein sequence of zebra fish ATPase, H<sup>+</sup> transporting, lysosomal protein. Homologous were 74%, 94% respectively. ATPase, H<sup>+</sup> transporting, lysosomal protein is a component of vacuolar ATPase (V-ATPase), which were detected in iontransporting epithelium of the a blowfly rectum. In addition, there were a great deal of lysosome in epithelium of the *Tachypleus tridentatus* Leach rectum. Fish as the first key link of craniota may have some similar function with invertebrate. This indicates that V-ATPase may affect the function of digestive system through affecting the H<sup>+</sup> transporting on lysosomal, which needs to be proved for further study.

**Key words:** common carp; EST-SSR; feed conversion efficiency; marker regression