

泥蚶4个快速生长家系的遗传变异分析

姚韩韩^{1,2}, 董迎辉², 林志华^{2*}, 朱东丽³

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 浙江万里学院生物与环境学院, 浙江 宁波 315100;

3. 中国海洋大学水产学院, 山东 青岛 266003)

摘要: 利用 AFLP 分子标记技术对泥蚶4个快速生长家系(J5 ♂ × Z19 ♀、Z7 ♂ × J26 ♀、S1 ♂ × Z3 ♀、S6 ♂ × Z22 ♀)的遗传结构及遗传差异进行了分析。用筛选出的9对引物组合在4个家系共124个个体中扩增出506个位点,多态位点比例72.53%。遗传结构分析表明,4个家系的多态位点比例为51.14%~60.75%。从 Nei 基因多样性指数和 Shannon's 信息指数反映的遗传多样性来看,4个家系的遗传多样性由大到小依次为 J5 ♂ × Z19 ♀ > S6 ♂ × Z22 ♀ > S1 ♂ × Z3 ♀ > Z7 ♂ × J26 ♀。基因分化系数 G_{ST} 和 AMOVA 分子方差分析表明,遗传变异主要来源于家系内个体间。4家系间总遗传分化指数 $F_{ST} = 0.3837$,说明家系间已发生了一定程度的遗传分化。遗传距离和聚类分析表明,J5 ♂ × Z19 ♀ 与其它3个家系间的遗传距离均较大(0.1201~0.1254),单独分出一支,而 S1 ♂ × Z3 ♀ 与 S6 ♂ × Z22 ♀ 间的遗传距离最小(0.0896),首先聚在一起。另外,在4个家系的指纹图谱中找到了40个特征性标记,可作为家系鉴别的分子标记。依据家系的遗传多样性和遗传差异分析,可有效预测快速生长家系选育的最佳亲本配组,为分子标记辅助泥蚶家系选育提供科学理论依据。

关键词: 泥蚶; 家系; 遗传变异; 扩增片段长度多态性

中图分类号: S 917

文献标识码: A

泥蚶 (*Tegillarca granosa*) 俗称血蚶,不仅肉质细嫩、味道鲜美,因血质丰富而在中医中有补血之说,具有重要的经济价值。泥蚶是我国四大海水养殖贝类之一,有良好的养殖基础和产业发展前景,仅浙江省泥蚶年产量约13万t,年产值20多亿元。然而,随着泥蚶养殖业的发展,泥蚶养殖中出现了生长速度减慢、个体小型化、抗逆性差等生产性状退化现象。究其原因,在于人工繁殖中采用的泥蚶亲贝都是未经系统选育的野生种,经过累代养殖和近亲交配,出现了近交衰退。鉴于此,采用有效的育种手段对泥蚶进行遗传改良,获得高产、抗逆的新品种,已成为泥蚶养殖业可持续发展的当务之急。

家系选育是遗传改良的有效方法,可对基因型进行逐代筛选,增加具有经济价值的基因频率,

最终获得优良新品种^[1]。在大规模家系选育的过程中,为避免近交等导致遗传变异降低现象,可利用分子标记技术对育种材料的遗传结构和多样性进行分析,针对性地选择遗传差异大、性状优良的家系杂交,以期经过连续多代地选育,最终获得新品系或新品种^[2]。目前贝类分子辅助选育研究进展主要是利用各种分子标记技术构建遗传连锁图谱^[3-4],基于重要经济性状的数量性状基因位点(quantitative trait location, QTL)进行分子辅助选育(marker assisted selection, MAS)的研究报道还很少见到。目前泥蚶遗传改良和新品种培育工作刚刚起步,本课题组自2006年以来针对泥蚶生长速度、抗病力等目的性状进行了群体选育和家系选育,并用半同胞组内相关分析法分析了泥蚶各生长阶段生长性状的遗传力及性状间的遗传相

收稿日期:2010-10-04 修回日期:2010-12-31

资助项目:国家现代贝类产业技术体系(nycytx-47);浙江省科研院所优秀青年科技人才资助计划(2008R20006);温州市重大科技项目(S20080019);宁波市科技局农业择优委托项目(2010C10011)

通讯作者:林志华, E-mail: zhihua9988@126.com

关和表型相关^[5]。本研究采用扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism, AFLP)分子标记技术,从DNA水平上对泥蚶4个快速生长家系的遗传结构进行分析,预测能够繁育出生长优势子代的最佳亲本配组,有目的地减少交配时可能发生的近交机率,为分子标记辅助泥蚶良种选育提供必要的理论指导。

1 材料与方法

1.1 家系材料

泥蚶家系的构建与培育在浙江省海洋水产养殖研究所清江试验基地进行。2007年6月,选择江苏南通、浙江乐清、山东荣成3个群体同龄中个体较大的泥蚶作为亲贝,采用单个排放获取精卵、亲本巢式交配授精的方法,建立了10个父系半同胞家系和40个母系全同胞家系。经过两周年严格的生长对比试验,跟踪测量了泥蚶各家系的壳长、壳高、壳宽和湿重等性状,发现家系之间生长性状存在明显差异,从中选取4个生长速度较快的泥蚶家系,用于遗传结构差异性分析。

家系 J5 ♂ × Z19 ♀: 江苏 5 号个体作父本和浙江 19 号个体作母本杂交的后代;

家系 Z7 ♂ × J26 ♀: 浙江 7 号个体作父本和江苏 26 号个体作母本杂交的后代;

家系 S1 ♂ × Z3 ♀: 山东 1 号个体作父本和浙江 3 号个体作母本杂交的后代;

家系 S6 ♂ × Z22 ♀: 山东 6 号个体作父本和浙江 22 号个体作母本杂交的后代。

每个家系取样 31 个个体,解剖取闭壳肌,置于 -80 °C 超低温冰箱中保存。

1.2 DNA 提取

取泥蚶闭壳肌,用常规酚/氯仿法^[6]提取基因组 DNA,利用紫外分光光度计(Varian Cary 50 型)在 260 和 280 nm 波长下测定其浓度和纯度,然后用 1% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测。用无菌超纯水将 DNA 稀释至 100 ng/μL,置于 -20 °C 冰箱中保存备用。

1.3 AFLP 指纹图谱的构建

AFLP 指纹图谱的构建参照 VOS 等^[7]的方法,所用接头和引物均由上海生工合成。*EcoR* I、*Mse* I 内切酶和 T_4 DNA 连接酶均为 Fermentas 公司产品,PCR 扩增体系中的 *Taq* 酶、dNTP、Buffer、 $MgCl_2$ 购自大连宝生物工程有限公司。经过大量预实验,从 28 对引物组合中筛选出 9 对扩增条带清晰、多态性高的引物组合: E45M51、E42M62、E33M55、E32M51、E33M62、E32M62、E32M58、E33M48、E42M48(表 1)。利用这 9 对引物对 4 个快速生长家系进行选择性的扩增,扩增产物经变性后在 4.5% 聚丙烯酰胺凝胶上进行 60 W 恒功率高压电泳,电泳胶版参照文献^[6]进行银染,获得清晰的 AFLP 指纹图谱。

表 1 AFLP 扩增所用接头和引物的序列

Tab. 1 Sequence of adaptors and primers used for AFLP analysis

序列 sequences		序列 sequences	
E 接头	5'-CTCGTAGACTGCGTACC-3'	M 接头	5'-GACGATGAGTCCTGAG-3'
<i>EcoR</i> I adaptor	3'-CTGACGCATGGTTAA-5'	<i>Mse</i> I adaptor	3'-TACTCAGGACTCAT-5'
<i>EcoR</i> I 引物		<i>Mse</i> I 引物	
<i>EcoR</i> I primers		<i>Mse</i> I primers	
E01	GACTGCGTACCAATTC A	M01	GATGAGTCCTGAGTAA C
E32	GACTGCGTACCAATTC AAC	M51	GATGAGTCCTGAGTAA CCA
E33	GACTGCGTACCAATTC AAG	M62	GATGAGTCCTGAGTAA CTT
E42	GACTGCGTACCAATTC AGT	M55	GATGAGTCCTGAGTAA CGA
E45	GACTGCGTACCAATTC ATG	M58	GATGAGTCCTGAGTAA CGT
		M48	GATGAGTCCTGAGTAA CAC

1.3 AFLP 数据统计分析

根据各家系 AFLP 标记的电泳检测结果,在聚丙烯酰胺凝胶相同的迁移位置,将图谱中每个扩增条带的有无转化为 1、0 原始数据矩阵,即出现记为“1”,缺失记为“0”。各扩增位点的记录格式为“引物组合名称-该引物组合扩增位点的序

列号”,每一引物组合的扩增位点按照该引物扩增片段从大到小依次编号。根据统计结果,找出各家系的特异性扩增位点并计算其出现频率。

利用 Popgen 1.32 软件计算多态位点比例(*P*)、Nei 基因多样性指数(*H*)^[8]、Shannon's 信息指数(*I*)、群体间基因分化系数(G_{ST})、遗传距离

(*D*)^[9]。用 Arlequin 3.0 软件对 4 个家系进行 AMOVA (analysis of molecular variance) 分析, 计算家系间遗传分化系数 (F_{ST}), 估算家系间遗传分化程度。根据群体间遗传距离数据, 利用 MEGA 4.0 软件对各个家系进行聚类分析, 构建 NJ 和 UPGMA 系统树, 确定各个家系的亲缘关系远近。

2 结果与分析

2.1 AFLP 选择性扩增结果

利用筛选出的 9 对选择性引物组合, 在 4 个家系 124 个个体中共得到 506 个清晰的扩增位点, 其中多态性位点为 367 个, 多态位点比例为 72.53%。不同引物扩增的位点数存在一定的差异, 平均每对引物扩增出 56.2 个位点, 40.8 个多态性位点。其中引物组合 E32M58 扩增出的多态性位点数最多为 49 个, 多态位点比例为 83.05%; 引物组合

E33M55 扩增出的多态性位点最少为 26 个, 多态性位点比例为 61.90% (表 2)。从 AFLP 选择性扩增结果来看, 4 个家系遗传多样性水平相对较高。

指纹图谱分析发现, 在 4 个家系 506 个扩增位点中有 40 个特征性标记, 占检测总位点数的 7.91%, 这些特征性位点在各家系中的出现频率为 0.200~0.900, 其中 15 个为 J5 ♂ × Z19 ♀ 家系所特有, 3 个为 Z7 ♂ × J26 ♀ 家系特有, 14 个为 S1 ♂ × Z3 ♀ 家系特有, 8 个为 S6 ♂ × Z22 ♀ 家系特有 (表 3)。图 1 显示, 引物组合 E33M48 在泥蚶 4 家系中部分个体的扩增图谱, 其中 2 个特征性标记为家系 J5 ♂ × Z19 ♀ 的所特有, 另外有 8 个 AFLP 标记为 2 个或 3 个家系的共享位点, 可见家系 J5 ♂ × Z19 ♀ 的扩增图谱和其他 3 个家系差异较大, 出现的特征性标记较多。这些特征性位点可作为泥蚶不同家系间的识别标记。

表 2 9 对 AFLP 选择性扩增引物的扩增效果

Tab. 2 Amplification results of 9 AFLP selective primer pairs

序号 numbers	引物组合 primer pairs	样本数 sample numbers	总扩增条带数 total bands	多态性条带 polymorphic bands	多态性比例 (%) percent of polymorphism
1	E45M51	124	58	40	68.97
2	E42M62	124	69	48	69.57
3	E33M55	124	42	26	61.90
4	E32M51	124	60	46	76.67
5	E33M62	124	57	47	82.46
6	E32M62	124	74	46	62.16
7	E32M58	124	59	49	83.05
8	E33M48	124	50	38	76.00
9	E42M48	124	37	27	72.97
合计 total			506	367	
平均 average			56.22	40.78	72.53

表 3 4 个泥蚶家系的特异性 AFLP 位点及出现频率

Tab. 3 The unique loci and frequency in 4 families of *T. granosa*

家系 families	标记数 bands	特异性标记及出现频率 unique loci and frequency in 4 families
J5 ♂ × Z19 ♀	15	E32M58-7 (0.581), E32M58-8 (0.548), E32M58-13 (0.290), E32M58-14 (0.290), E32M58-15 (0.290), E32M58-16 (0.290), E32M58-24 (0.516), E33M48-5 (0.677), E33M48-27 (0.710), E42M62-33 (0.645), E42M62-58 (0.516), E42M62-59 (0.516), E32M51-7 (0.806), E32M51-24 (0.839), E32M51-27 (0.645), E32M51-28 (0.548), E32M51-35 (0.516)
Z7 ♂ × J26 ♀	3	E42M48-15 (0.742), E45M51-51 (0.452), E33M55-6 (0.484)
S1 ♂ × Z3 ♀	14	E42M48-8 (0.355), E42M48-9 (0.452), E42M48-33 (0.387) E42M48-34 (0.452), E42M48-35 (0.387), E45M51-20 (0.581) E42M62-12 (0.258), E42M62-13 (0.226), E42M62-45 (0.516) E32M51-31 (0.419), E32M51-45 (0.419), E32M62-50 (0.484) E32M62-59 (0.484), E32M62-60 (0.484)
S6 ♂ × Z22 ♀	8	E45M51-23 (0.581), E45M51-24 (0.581), E42M62-19 (0.323) E42M62-20 (0.323), E32M51-13 (0.419), E32M51-32 (0.355) E32M51-57 (0.548), E33M62-22 (0.484)

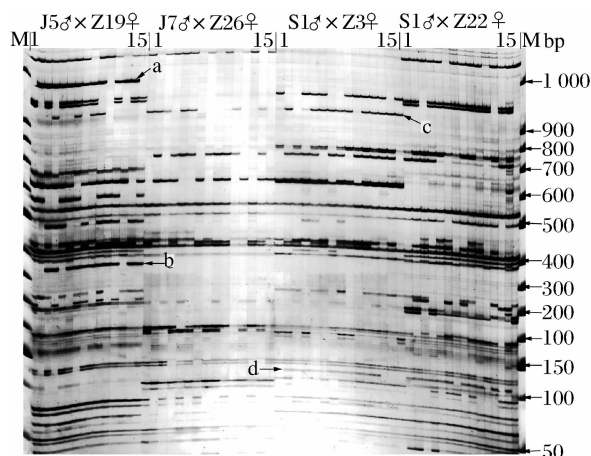


图 1 引物组合 E33M48 对 4 个泥蚶家系部分个体的扩增图谱

a, b 为家系 J5 ♂ × Z19 ♀ 特异性位点; c 为家系 J5 ♂ × Z19 ♀、Z7 ♂ × J26 ♀ 和 S1 ♂ × Z3 ♀ 共享位点; d 为家系 S1 ♂ × Z3 ♀ 和 S6 ♂ × Z22 ♀ 共享位点。

Fig. 1 Electrophoretogram of AFLP from some individuals of 4 families in *T. granosa* using primer E33M48

a, b, unique locus of J5 ♂ × Z19 ♀ family; c, common locus of J5 ♂ × Z19 ♀, Z7 ♂ × J26 ♀ and S1 ♂ × Z3 ♀ families; d, common locus of S1 ♂ × Z3 ♀ and S6 ♂ × Z22 ♀.

2.2 4 个家系的遗传多样性

从表 4 可以看出,不同家系的扩增位点数差

表 4 泥蚶 4 个家系的多态位点比例、Nei's 基因多样性和 Shannon's 信息指数
Tab. 4 Percentage of polymorphic loci, Nei's gene diversity and Shannon's information index of 4 families in *T. granosa*

家系 families	多态位点数 number of polymorphic loci	多态位点比例(%) (P) percentage of polymorphic loci	Nei's 基因多样性指数(H) Nei's gene diversity	Shannon's 信息指数(I) Shannon's information index
J5 ♂ × Z19 ♀	246	56.68	0.228 7 ± 0.218 0	0.331 7 ± 0.308 9
Z7 ♂ × J26 ♀	202	51.14	0.201 7 ± 0.210 0	0.295 4 ± 0.301 7
S1 ♂ × Z3 ♀	260	60.75	0.203 0 ± 0.201 3	0.303 6 ± 0.287 1
S6 ♂ × Z22 ♀	232	56.59	0.206 2 ± 0.208 9	0.303 7 ± 0.298 1

表 5 泥蚶 4 个家系的 AMOVA 分析
Tab. 5 Analysis of molecular variance (AMOVA) of 4 families in *T. granosa*

变异来源 source of variation	自由度 degrees of freedom	方差总和 sum of squares	方差分量 variance components	变异比例(%) percentage of variation
家系间 among families	3	2 784.19	28.46Va	38.37
家系内 within families	120	5 486.58	45.72Vb	61.63
总计 total	123	8 270.77	74.18	100.00

$G_{ST}: 0.282 0; N_m = 1.273 0; F_{ST}: 0.383 7$

2.4 遗传距离及聚类分析

用 Popgen 1.31 软件计算 4 个家系间的遗传

别不大, J5 ♂ × Z19 ♀、Z7 ♂ × J26 ♀、S1 ♂ × Z3 ♀、S6 ♂ × Z22 ♀ 分别为 434、395、428、410, 其对应的多态性比例依次为 56.68%、51.14%、60.75%、56.59%。家系 S1 ♂ × Z3 ♀ 扩增位点最多, 多态位点比例最高, 而家系 Z7 ♂ × J26 ♀ 扩增位点数最少, 多态性比例最低。从遗传多样性指数来看, 家系内的 Nei 基因多样性指数和 Shannon's 信息指数变化趋势相同, 均为 J5 ♂ × Z19 ♀ > S6 ♂ × Z22 ♀ > S1 ♂ × Z3 ♀ > Z7 ♂ × J26 ♀。家系 S1 ♂ × Z3 ♀ 与 S6 ♂ × Z22 ♀ 遗传多样性基本处于同一水平。与其它 3 个家系相比, 家系 J5 ♂ × Z19 ♀ 遗传多样性最高, 且特征性标记最多。

如表 5 所示, 基于 Nei's 基因多样性的家系间基因分化系数 G_{ST} 结果表明, 家系内的遗传变异占总变异的 71.88%, $N_m = 1.273 0$, 可见泥蚶 4 家系间存在着一定的基因流动, 遗传分化主要来源于家系内个体间。应用 AMOVA 对泥蚶 4 个家系的遗传变异来源进行分析, 同样得出, 总的遗传分化系数 F_{ST} 为 0.383 7, 38.37% 的变异来自家系间, 而 61.63% 的变异来自家系内个体间, 这与上述 G_{ST} 变化趋势基本一致, 说明泥蚶家系之间已发生了一定程度的遗传分化。

相似性系数和无偏遗传距离, 结果见表 6。各群体间的遗传相似性系数为 0.882 1 ~ 0.914 3, 遗

传距离在 0.089 6 ~ 0.125 4 之间。其中家系 S1 ♂ × Z3 ♀ 与 S6 ♂ × Z22 ♀ 间的遗传距离最近 (0.089 6), 其次与家系 Z7 ♂ × J26 ♀ 较近

(0.102 0)。家系 J5 ♂ × Z19 ♀ 与其他 3 个家系间的遗传距离均较远 (0.120 1 ~ 0.125 4), 与家系 Z7 ♂ × J26 ♀ 的遗传距离最远 (0.125 4)。

表 6 4 个泥蚶家系群体间的遗传相似性系数和相对遗传距离
Tab. 6 Nei's genetic similarity and genetic distances among 4 families of *T. granosa*

群体 families	J5 ♂ × Z19 ♀	Z7 ♂ × J26 ♀	S1 ♂ × Z3 ♀	S6 ♂ × Z22 ♀
J5 ♂ × Z19 ♀	-	0.882 1	0.886 9	0.883 8
Z7 ♂ × J26 ♀	0.125 4	-	0.903 0	0.890 7
S1 ♂ × Z3 ♀	0.120 1	0.102 0	-	0.914 3
S6 ♂ × Z22 ♀	0.123 6	0.115 8	0.089 6	-

注: 对角线上方为群体间遗传相似性系数, 下方为相对遗传距离。

Notes: Nei's genetic similarity (above diagonal) and genetic distances (below diagonal).

根据家系间 Nei's 遗传距离, 用 MEGA 4.0 软件构建了 NJ 和 UPGMA 系统树 (图 2)。结果显示, S1 ♂ × Z3 ♀ 和 S6 ♂ × Z22 ♀ 家系首先聚在

一起, 说明二者的亲缘关系最近, 然后再与 Z7 ♂ × J26 ♀ 家系聚在一起, J5 ♂ × Z19 ♀ 家系与其他 3 个家系间的遗传距离最远, 单独分出一支。

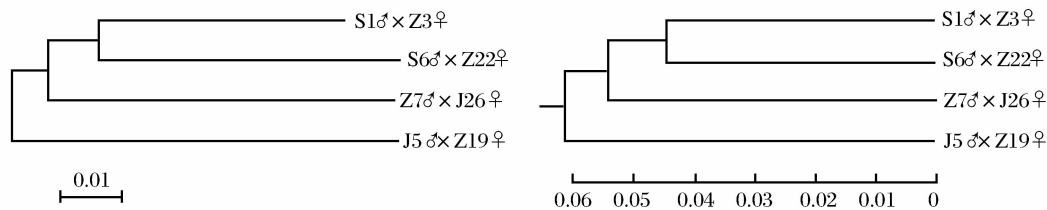


图 2 泥蚶 4 个家系的遗传聚类图 (NJ 法和 UPGMA 法)

Fig. 2 Phylogenetic tree of 4 families of *T. granosa* by using NJ method and UPGMA method

3 讨论

3.1 泥蚶不同家系的遗传差异及其利用

从基因组水平上对泥蚶遗传背景进行深入研究, 精确评估其遗传多样性和遗传变异, 对泥蚶的种质资源保护、遗传育种等具有重要的现实意义。迄今为止, 已见李太武等^[10]利用 RAPD 分析了泥蚶不同地理群体的遗传多样性, 曾庆国等^[11]和顾晓英等^[12]筛选了泥蚶微卫星位点并进行了微卫星引物的分离和鉴定, 但利用遗传背景研究辅助泥蚶育种工作的报道还很少见。本课题组已采用巢式设计、控制授精法构建了 10 个全同胞家系、40 个半同胞家系, 通过半同胞组内相关分析法, 对泥蚶几个生长发育阶段 (4 月龄、8 月龄、11 月龄和 14 月龄) 的壳长、壳宽、壳高及湿重的遗传力及性状间的相关进行估计^[5]。

本研究利用 AFLP 分子标记技术分析了泥蚶 4 个快速生长家系的遗传多样性和遗传结构。在 AFLP 指纹图谱上, 共筛选到 40 个特征性标记, 这些特征性标记可用于家系之间的标识和鉴别。

基于 Nei's 遗传距离分析和 AMOVA 的 F_{ST} 分析都表明, 虽然家系间存在一定的基因流动 ($N_m = 1.273 0 > 1$)^[13], 但已出现了一定程度的遗传分化 ($F_{ST} = 0.383 7$), 符合 Wright 群体间遗传分化较大的标准 ($F_{ST} > 0.25$)^[14], 可见泥蚶 F_1 代家系经过较多世代的家系选育有可能形成趋于稳定的独立的遗传结构。综上所述, 泥蚶 4 个家系的遗传多样性都处于较高水平, 种质资源状况良好, 具备进一步生产及选育优良种质的潜力, 这主要归功于家系构建所选用的材料。不同地理群体间的“远距离杂交”能获得一定的杂种优势^[15], 这在贝类杂交育种中已有不少成功先例, 如栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*) 中国种群与日本种群的杂交子代在生长速度、抗逆性等方面都表现出明显的杂种优势^[16]; 皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai*) 中国群体与日本群体的杂交后代明显提高了生长性能, 获得了较好的杂种优势^[17]。鉴于这一原理, 泥蚶家系构建所选用的实验材料为江苏、山东和浙江 3 个不同地理群体作为雌雄亲本, 这样可保证基础群体变异有一定的多样性, 通过杂交获得

具有杂种优势的 F_1 代家系,然后经过多代家系选育,可望最终培育出高产的泥蚶新品种。

3.2 分子标记指导的家系选育

关于贝类家系选育的研究,国内外已有不少研究报道,如食用牡蛎(*Ostrea edulis*)^[18-19]、硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*)^[20]、海湾扇贝(*Argopecten irradiansirradians*)^[21-22]、菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)^[23-24]、中国蛤蜊(*Macra chinensis*)^[25]等。家系选育的成功很大程度上取决于配组亲本的选择,以避免近亲交配为原则,仅根据亲本表型性状进行选配,一般达不到优良家系选育的效果^[26]。分子标记指导的家系选育过程中,在表型选择亲本的同时,利用分子标记技术对各家系进行遗传结构分析并计算家系之间的遗传距离,预测子代杂交优势,选择亲本配组、繁殖子代,最终建立一个没有近亲交配且性状优良的新品种^[2]。利用分子标记技术辅助家系选育,揭示遗传差异辅助亲本选配在玉米^[27]、水稻^[28]等作物和羊^[29]、牛^[30]等畜类已有广泛应用。国内很多从事水产动物遗传育种的研究者已经利用分子标记作为工具进行亲本的选择,开展分子育种研究,如鲁翠云等^[26]利用 SSR 技术分析家系的遗传结构、计算遗传距离,设计了镜鲤(*Cyprinus carpio*)繁殖配组方案,得到了很好的育种效果;GRIMHOLT 等^[31]利用家系建立和分子标记手段进行了大西洋鲑(*Salmo salar*)抗病分子标记育种的研究,分别建立了抗病家系和疾病敏感家系。

本研究利用 AFLP 分子标记技术对已建立起来的泥蚶 4 个快速生长家系进行遗传评估,根据遗传距离、亲缘关系确定亲本的科学配组。在一定范围内,亲本间的遗传距离越大、亲缘关系越远,杂种优势就越明显^[4]。Nei's 遗传距离和聚类分析表明,家系 S1 δ \times Z3 η 和 S6 δ \times Z22 η 的亲缘关系最近,而家系 J5 δ \times Z19 η 与其他 3 个家系间的遗传距离均较远。因此在下一步的家系选育中,家系 J5 δ \times Z19 η 可与其余 3 个家系杂交,应避免家系 S1 δ \times Z3 η 和 S6 δ \times Z22 η 的组配。利用分子标记进行亲本选择,开展家系选育,这只是分子标记辅助育种的初级阶段。通过泥蚶快速生长家系的选育,对快速生长性状进行不断的纯化,寻找与之相连锁的分子标记,最终实现利用快速生长性状与分子标记连锁关系进行

QTL 育种。

目前,贝类分子标记辅助育种工作还主要限于进行遗传图谱的构建和完善^[3,32-35],由于遗传图谱标记密度普遍较低,真正利用经济性状与分子标记的连锁关系进行 QTL 育种还处在基础研究阶段^[4,35-36]。随着新型分子标记技术的开发应用、高密度遗传图谱的构建及分子标记辅助育种理论的完善,分子标记辅助育种必将在贝类育种实践中日益发挥重要作用。

参考文献:

- [1] 盛志廉,陈瑶生. 数量遗传学[M]. 北京:科学出版社,2001.
- [2] 孙效文,鲁翠云,贾智英,等. 水产动物分子育种研究进展[J]. 中国水产科学,2009,15(6):981-990.
- [3] LI L, GUO X. AFLP-based genetic linkage maps of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* Thunberg [J]. Mar Biotechnol,2004,6(1):26-36.
- [4] YU Z, GUO X. Genetic linkage of the Eastern Oyster, *Crassostrea virginica* Gmelin [J]. Biol Bull, 2003,204(3):327-338.
- [5] 孙长森,林志华,董迎辉,等. 泥蚶主要经济性状参数的估算[A]//中国动物学会、中国海洋湖沼学会贝类分会第十四次学会研讨会摘要汇编,2009.
- [6] SAMBROOK J, FRITSCH E F, MANIATIC T. 分子克隆实验指南[M]. 3 版. 北京:科学出版社,2002.
- [7] VOS P, HOGERS R, BLEEKER M, et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting [J]. Nucleic Acids Res,1995,23:4407-4414.
- [8] NEI M. The theory of genetic distance and evolution of human races [J]. Journal of Human Genetics, 1978,23(4):341-369.
- [9] NEI M, LI W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA,1979,76:5273-5296.
- [10] 李太武,李成华,宋林生,等. 5 个泥蚶群体遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 生物多样性,2003,11(2):118-124.
- [11] 曾庆国,林志华,尤仲杰. 泥蚶(*Tegillarca granosa*) GT 微卫星位点的筛选和性质鉴定[J]. 海洋与湖沼,2008,39(2):174-177.
- [12] 顾晓英,曾庆国,尤仲杰,等. 泥蚶(*Tegillarca granosa*)6 个微卫星引物的分离和鉴定[J]. 海洋与湖沼,2008,39(6):661-664.
- [13] NEI M, KUMAR S. Molecular evolution and

- phylogenetics [M]. 北京:高等教育出版社,2002.
- [14] WRIGHT S. Evolution and the genetics of populations [M]. Vol. 4. Variability within and among Natural Population. Chicago: University of Chicago Press,1978.
- [15] 董迎辉,林志华,柴雪良,等. 文蛤山东种群与江苏种群杂交及自繁子代的遗传差异分析[J]. 水产学报,2009,33(4):557-564.
- [16] 刘晓林,常亚青,相建海,等. 栉孔扇贝中国种群和日本种群杂交一代的早期生长发育[J]. 水产学报,2002,26(5):385-390.
- [17] 张国范,王继红,赵洪恩,等. 皱纹盘鲍中国群体和日本群体的自交与杂交 F₁ 的 RAPD 标记[J]. 海洋与湖沼,2002,33(5):484-491.
- [18] TORO J E, NEWKIRK G F. Divergent selection for growth rate in the European oyster *Ostrea edulis*: Response to selection and estimation of genetic parameters [J]. Marine Ecology Progress Series, 1990,62(3):219-227.
- [19] DAVIS C V. Estimation of narrow-sense heritability for larval and juvenile growth traits in selected and unselected sub-lines of eastern oysters, *Crassostrea virginica* [J]. Journal of Shellfish Research,2000,19(1):613.
- [20] RAWSON P D, HILBISH T J. Heritability of juvenile growth for the hard clam *Mercenaria mercenaria* [J]. Marine Biology, 1990, 105 (3): 429-439.
- [21] ZHENG H P, ZHANG G F, LIU X, *et al.* Different responses to selection in two stocks of the bay scallop, *Argopecten irradians irradians* Lamarck (1819) [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology,2004,31(3):213-223.
- [22] 郑怀平,张国范,刘晓,等. 不同贝壳颜色海湾扇贝家系的建立及生长发育的研究[J]. 海洋与湖沼,2003,36(6):632-639.
- [23] 闫喜武,张跃环,霍忠明,等. 不同壳色菲律宾蛤仔品系间双列杂交[J]. 水产学报,2008,32(6):861-875.
- [24] 闫喜武,张跃环,金晶宇,等. 大连群体两种壳型菲律宾蛤仔的双列杂交[J]. 水产学报,2009,33(3):389-395.
- [25] 闫喜武,王琦,张跃环,等. 中国蛤蜊的家系建立及早期生长发育[J]. 水产学报,2010,34(4):521-530.
- [26] 鲁翠云,曹顶臣,孙效文,等. 微卫星分子标记辅助镜鲤家系构建[J]. 中国水产科学,2008,15(6):893-901.
- [27] 袁力行,傅骏骅,刘新芝,等. 利用分子标记预测玉米杂种优势的研究[J]. 中国农业科学,2000,33(6):6-12.
- [28] ZHANG Q, GAO Y J, SAGHAI M M A, *et al.* Molecular divergence and hybrid performance in rice [J]. Molecular Breed,1995(1):133-142.
- [29] 张英杰,赵有璋,刘月琴,等. 3 个山羊群体中 4 个微卫星 DNA 多态性及其与杂种优势的关系[J]. 遗传,2004,26(5):631-636.
- [30] 孙少华,桑润滋,师守堃,等. 肉牛杂交优势预测、评估及其应用研究[J]. 遗传学报,2000,27(7):580-589.
- [31] GRIMHOLT U, LARSEN S, NORDMO R, *et al.* MHC polymorphism and disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*); facing pathogens with single expressed major histocompatibility class I and class II loci [J]. Immunogenetics, 2003, 55: 210-219.
- [32] HUBERT S, HEDGECOCK D. Linkage maps of microsatellite DNA markers for the Pacific oyster *Crassostrea gigas* [J]. Genetics, 2004, 168 (10): 351-362.
- [33] NACIRI Y, VIGOUROUX Y, DALLAS J, *et al.* Identification and inheritance of (GA/TC)_n and (AC/GT)_n repeats in the European flat oyster *Ostrea edulis* (L.) [J]. Mol Mar Biol Biotechnol, 1995,4(1):83-89.
- [34] WANG S, BAO Z M, PAN J, *et al.* AFLP Linkage map of an intraspecific cross in *Chalamys farreri* [J]. Journal of Shellfish Research, 2004, 23 (2): 491-499.
- [35] LIU X D, LIU X, GAO Q K, *et al.* A preliminary genetic linkage map of the Pacific abalone *Haliotis discus hannai* Ino [J]. Marine Biotechnology,2006,8(4):386-397.
- [36] HEDGECOCK D, HUBERT S, LI G, *et al.* A genetic linkage map of 100 microsatellite markers for the Pacific oyster *Crassostrea gigas* [J]. Journal of Shellfish Research,2002,21(1):381.

Analysis of genetic variation in the fast growth families of *Tegillarca granosa*

YAO Han-han^{1,2}, DONG Ying-hui², LIN Zhi-hua^{2*}, ZHU Dong-li³

(1. College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. College of Biological and Environmental Sciences, Zhejiang Wanli University, Ningbo 315100, China;

3. College of Fisheries, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Amplified fragment length polymorphism (AFLP) technique was applied to assess the genetic variation among 4 fast growth families of *Tegillarca granosa* (J5 ♂ × Z19 ♀, Z7 ♂ × J26 ♀, S1 ♂ × Z3 ♀, S6 ♂ × Z22 ♀) so as to establish and select superior families. A total of 506 AFLP loci amplified with 9 pairs of primers were obtained from 124 individuals, and the polymorphic loci percentage reached 72.53%. The percentage of polymorphic loci of 4 families ranged from 51.14% to 60.75%. Nei's genetic diversity index and Shannon's genetic information index of 4 families indicated that the level of genetic diversity from high to low was J5 ♂ × Z19 ♀ > S6 ♂ × Z22 ♀ > S1 ♂ × Z3 ♀ > Z7 ♂ × J26 ♀. The gene differentiation coefficient G_{ST} value and AMOVA analysis indicated that the genetic variation mainly came from individuals within families. Genetic division coefficient F_{ST} (0.3837) indicated that there was certain genetic differentiation that existed among the four families. Cluster analysis by NJ and UPGMA methods based on genetic distance revealed the relationship between 4 families. S1 ♂ × Z3 ♀ and S6 ♂ × Z22 ♀ were clustered together firstly because of the nearest genetic relationship (0.0896), and then clustered with Z7 ♂ × J26 ♀. J5 ♂ × Z19 ♀ was not clustered into any clade because the phylogenetic relationship between J5 ♂ × Z19 ♀ and other families were more distant (0.1201–0.1254). Additionally, of all 506 detected bands, 40 family-specific bands were found to distinguish the four families from each other. Therefore, superior family could be selected from optimum breeding pairs of high level of genetic diversity which would be good for genetic improvement of *T. granosa*, by analyzing genetic structure of reproductive families.

Key words: *Tegillarca granosa*; family; genetic variation; AFLP

Corresponding author: LIN Zhi-hua. E-mail: zhihua9988@126.com