



## 长丰鲢生长性状相关微卫星标记的初步筛选

吴新燕<sup>1,2</sup>, 梁宏伟<sup>1</sup>, 罗相忠<sup>1</sup>, 王丹<sup>1</sup>, 沙航<sup>1</sup>, 邹桂伟<sup>1\*</sup>

(1. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 湖北 武汉 430223;  
2. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081)

**摘要:** 为了筛选出与长丰鲢生长性状相关的分子标记, 以指导其种质鉴定和选择育种工作, 实验利用 15 个多态微卫星标记, 对 6、17 和 36 月龄长丰鲢进行了遗传多样性和生长性状关联分析。结果显示, 各月龄长丰鲢的观测杂合度 ( $H_o$ ) 和期望杂合度 ( $H_e$ ) 均高于 0.5, PIC 均值分别为 0.555、0.445 和 0.490, 表明各月龄长丰鲢群体均具有较高的遗传多样性。其中, 染色体 LG15 上的位点 BL55 在 3 个月龄组均含有 231 bp 片段的等位基因, 该位点上的基因型 225/231、231/245 分别对长丰鲢起负面影响和正面影响; 为了研究该位点在其他鲢群体中的适用性, 分别选取长江、湘江 2 个野生的鲢群体进行验证。研究表明, 231 bp 片段的等位基因在长江鲢群体和湘江鲢群体中均存在, 据此初步确定标记 BL55 为与鲢生长性状相关的候选标记, 对鲢的遗传改良和选择育种均有一定的参考价值。

**关键词:** 长丰鲢; 微卫星标记; 生长性状; 相关性分析

**中图分类号:** Q 348; S 965.113

**文献标志码:** A

长丰鲢 (*Changfeng Hypophthalmichthys molitrix*) 是中国水产科学研究院长江水产研究所综合运用人工异源雌核发育、群体选育和分子标记辅助育种等技术, 选育出的鲢新品种<sup>[1]</sup>。该新品种生长速率快、体型较高且整齐<sup>[2]</sup>, 3 龄鱼平均体质量增长较普通鲢快 20.5%<sup>[3]</sup>, 生长性状更优良。生长性状是水产养殖动物最重要的经济性状之一<sup>[4]</sup>, 至今已有数十种水产动物开展了性状连锁研究, 而生长性状是其中研究最多的经济性状<sup>[5]</sup>。长丰鲢生长性状属于受多基因控制的数量性状, 这些基因的结构变异及转基因等均容易对鱼类生长产生显著影响<sup>[6]</sup>。因此, 寻找控制这些数量性状的基因, 发掘与长丰鲢生长性状相关的分子标记是实现长丰鲢深入选育的重要基础。

分子标记辅助育种 (MAS) 是一种通过寻找与数量性状基因座连锁的分子标记, 实现对目标性

状等位基因或基因型直接选择的技术<sup>[7]</sup>, 利用该技术来筛选出与生长性状相关的分子标记, 可以提高育种的效率<sup>[5]</sup>。因此, 开展分子标记辅助育种研究, 筛选与长丰鲢生长相关的分子标记, 对阐明长丰鲢生长性状的遗传基础具有重要的理论意义。微卫星又称简单序列重复 (simple sequence repeats, SSR), 由于具有高度多态性<sup>[8]</sup>, 呈共显性遗传, 且操作简单、引物跨物种效果较好, 可极大地减少前期开发工作和成本<sup>[9]</sup>, 已被广泛应用于群体结构分析<sup>[10-11]</sup>、遗传图谱构建<sup>[12]</sup> 和 QTL 定位<sup>[13]</sup> 等方面, 在生长相关标记的筛选方面也取得了许多进展<sup>[14-17]</sup>。

目前, 国内外对鲢的研究主要集中于微卫星标记的开发<sup>[18-19]</sup>、遗传结构分析<sup>[20]</sup> 和遗传连锁图谱的构建<sup>[21-22]</sup> 等方面。Feng 等<sup>[19]</sup> 通过对鲢转录组序列的挖掘, 开发了 159 个微卫星标记, 为评估

收稿日期: 2020-12-13 修回日期: 2021-02-04

资助项目: 现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-45-01); 国家淡水水产种质资源库项目

第一作者: 吴新燕 (照片), 从事鱼类遗传育种研究, E-mail: 1466846351@qq.com

通信作者: 邹桂伟, 从事水产遗传育种研究, E-mail: zougw@yfi.ac.cn



鲢群体结构和遗传多样性提供了有力工具。叶香尘等<sup>[20]</sup>采用 32 个微卫星标记对广西本地鲢和长丰鲢进行遗传结构差异分析, 发现广西鲢的遗传多样性低于长丰鲢, 但两个鲢群体间的遗传差异不大, 为广西鲢的选育和种质资源保护提供了理论基础。Guo 等<sup>[22]</sup>利用微卫星标记构建了鲢第二代遗传连锁图谱, 提高了已有图谱的标记密度, 为数量性状位点定位和分子标记辅助选择等提供了理论指导。与鲢生长性状相关的分子标记研究较少, 仅王丹等<sup>[23]</sup>通过 EST-SSR 标记的开发和利用, 筛选到 2 个位点与鲢的生长性状相关, 但该标记对长丰鲢是否适用尚未知。本研究采用 15 个微卫星引物对长丰鲢进行遗传多样性分析, 探索这些多态性位点及其基因型组合与这一鲢新品种生长性状的相关性, 以筛选出与长丰鲢生长性状相关的分子标记; 并将所得标记分别在长江、湘江 2 个野生的鲢群体中进一步验证, 探讨该标记在鲢群体中的通用性, 从而为鲢的遗传改良和分子标记辅助育种提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样本采集

长丰鲢、长江鲢和湘江鲢的苗种均由农业农村部鲢遗传育种中心提供, 并在湖北石首老河四大家鱼原种场养殖。各月龄长丰鲢群体为 2017 年 5 月繁殖的同一批鱼, 其种质来源一致, 生长环境相同, 并分别于 2017 年 11 月、2018 年 10 月和 2020 年 5 月对实验鱼进行随机取样。其中 6 月龄长丰鲢 59 尾、17 月龄 50 尾、36 月龄 143 尾。长江鲢在 2020 年 5 月随机取样 136 尾, 湘江鲢在 2020 年 5 月随机取样 100 尾 (表 1)。采样日期多集中于 5 月、10 月和 11 月。5 月为鲢繁殖季节, 放苗时统一采样可减少鱼的损伤, 而 10 月、11 月后鲢开始越冬, 生长缓慢甚至体质量负增长, 越冬前测量可及时统计其生长速率, 减少偏差。

理想条件下采样数量应保持一致, 但由于所用样本为历年繁殖和收集, 受实际条件限制, 只能尽可能多地采集。每尾实验鱼取胸鳍鳍条样本, 于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  下保存于无水乙醇中。基因组 DNA 的提取采用高盐法。

### 1.2 表型性状测量

采用游标卡尺和直尺测量了样本的全长 (total length, TL)、体高 (body height, BH)、尾柄高 (caudal peduncle height, CPH) 和头长 (head length, HL)。体质量 (body weight, BW) 采用电子天平测定。共计 5 个测量指标。

### 1.3 微卫星引物

以等位基因数 ( $N_a$ )、期望杂合度 ( $H_e$ )、观测杂合度 ( $H_o$ )、多态性信息含量 (PIC) 等遗传参数为参考依据, 从本团队开发的微卫星标记中筛选出 15 个多态性高的标记用于本研究<sup>[23-24]</sup>; 其中, 标记 BL82、BL106-2 位于染色体 LG1 上, SCE65 位于 LG2 上, BL101、BL116 位于 LG4 上, BL52 位于 LG5 上, H129、SCE78 位于 LG8 上, BL5 位于 LG9 上, H111 位于 LG12 上, BL109 位于 LG14 上, BL55、BL62 位于 LG15 上, SCE92、BL56 位于 LG24 上。引物由武汉天一辉远生物公司合成, 引物序列及退火温度见表 2 (下标数字代表重复次数)。

### 1.4 PCR 扩增

PCR 反应条件:  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  预变性 3 min;  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  变性 30 s; 退火温度 30 s;  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  延伸 30 s, 循环 35 次; 最后  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  终延伸 5 min。PCR 反应体系: 总体积  $20\text{ }\mu\text{L}$ , 其中总 DNA  $1\text{ }\mu\text{L}$  ( $50\text{ ng}/\mu\text{L}$ ), 上、下游引物各  $0.5\text{ }\mu\text{L}$  ( $10\text{ }\mu\text{mol}/\text{L}$ ), mix buffer  $18\text{ }\mu\text{L}$ 。使用东胜龙 ETC811 型 PCR 仪进行扩增, 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测后, 送至武汉天一辉远生物公司测序, 并根据测序结果进行基因分型。

表 1 长丰鲢、长江鲢和湘江鲢样本采集信息

Tab. 1 Sample information of Changfeng, Yangtze River and Xiangjiang River *H. molitrix*

鲢群体 <i>H. molitrix</i> population	长丰鲢 Changfeng <i>H. molitrix</i>			长江鲢 Yangtze River <i>H. molitrix</i>	湘江鲢 Xiangjiang River <i>H. molitrix</i>
	6月龄 6 months	17月龄 17 months	36月龄 36 months		
放苗日期 stocking date	2017-05	2017-05	2017-05	2018-05	2019-05
采样日期 sampling date	2017-11	2018-10	2020-05	2020-05	2020-05
个体数/尾 no.	59	50	143	136	100

表 2 长丰鲢 15 个微卫星引物序列信息

Tab. 2 Primer sequences and characteristics of 15 microsatellite loci in Changfeng *H. molitrix*

位点 locus	重复序列 motif	引物序列 (5'-3') primer (5'-3')	退火温度/°C $T_m$	片段长度/bp size
H111	(TG) <sub>11</sub>	AATTCGGTGTGATTTGAAATTAT GAAAGGTAGTTTAAACGCGTCA	44	123~130
H129	(TA) <sub>7</sub> (TG) <sub>14</sub>	TGGGGTGTCTAACTTTTCA GGGGTTAATTGTGCATTTG	48	93~150
SCE65	(TG) <sub>10</sub>	TGAACTGGATCAGAAGACTCA GCAAACGCAAAAATGATTCTG	50	100~200
SCE78	(TGC) <sub>6</sub>	ATCTACGCGTCTGCCAGTATC ACTTCACGTGATCTTACGAACG	60	300~400
SCE92	(CA) <sub>8</sub>	AACACAACGATCCAACAGAGAAT GGGTCTATGGATTCTTCCTTGTC	50	100~200
BL5	(TG) <sub>27</sub>	CCTGTGCCTTTGAACTCTGA CCCTCCACCATACTGACAAG	52	300~500
BL52	(TG) <sub>12</sub>	CAGAATCCAGAGCCGTCAG CACCGAACAGGGAACCAA	54	150~300
BL55	(GT) <sub>14</sub>	AAGGAAAGTTGGCTGCTC GGCTCTGAGGGAGATACCAC	52	100~200
BL56	(GT) <sub>16</sub>	TTAGGTGAACCCAGCAGC AAGAAGCATTAGTGCAGATGAGTAC	54	200~400
BL62	(TG) <sub>11</sub>	ATATTAACATCTGCCGAAGC ACAACCAGCAGTCTGAAGC	52	150~300
BL82	(GA) <sub>12</sub> ...(TG) <sub>4</sub> TT(TG) <sub>4</sub>	GTTGCTGCTTTATCTTTGGA AACCACCTCACATAGGCTTG	51	150~300
BL101	(AC) <sub>10</sub> A <sub>7</sub>	CCATCAGACAGCCAAAGACAA TGAAGGCAAGGTCAAGGTTTT	54	300~400
BL106-2	(AC) <sub>14</sub>	TTTAATTCTTCTAGCTGGACACG CACTCCTTTCCTCGTAAAT	54	200~300
BL109	(TG) <sub>21</sub>	GTGTCCTGGATTCTAGCCG CATGAGAGAAACACCTGAACA	54	200~300
BL116	(CT) <sub>15</sub>	GCGGGATGAGTTTGAAGAA TATGGACTGGACTGCTGGAT	53	150~300

## 1.5 数据分析

利用 SPSS 20.0 软件分别对长丰鲢、长江鲢和湘江鲢的表型性状进行统计整理和正态性检验。对各月龄长丰鲢进行 Pearson 相关分析, 剖析 5 个生长性状间的相关系数; 再采用 Popgene 1.3.1 和 Cervus 3.0 软件统计各月龄不同位点的  $N_a$ 、 $H_e$  和  $H_o$ , 并计算  $PIC$ 。

使用 SPSS 20.0 软件的一般线性模型 (GLM) 对各群体不同 SSR 位点和生长性状进行相关性分析, 通过表型值的比较分析各位点不同基因型间是否存在显著差异, 以获得对生长性状影响显著的位点。实际分析中, 每种基因型至少有 4 次观察值才被考虑。

## 2 结果

### 2.1 各月龄长丰鲢生长性状的描述统计

6 月龄长丰鲢体质量的变异系数最大, 为 23.28%; 17 月龄鱼体质量和头长的变异系数均远大于其他生长性状, 分别为 7.21% 和 10.49%; 36

月龄鱼体质量的变异系数最大, 为 7.15%。由此可见, 各月龄组长丰鲢中体质量的变异系数均较大 (表 3), 相对于其他生长性状, 体质量具有更大的选择潜力。

各表型性状的标准差和偏度均较小, 说明均数的代表性好, 各变量取值分布较对称。另外, 经 SPSS 软件单个样本 K-S 检验, 各月龄长丰鲢的体质量性状均服从正态分布, 所测量的性状均表现出连续变异的特点, 可进行后续的关联分析。

### 2.2 微卫星标记多态性分析

15 个微卫星标记均能在长丰鲢中稳定扩增, 3 个月龄组长丰鲢群体的遗传多样性信息见表 4。其中, 6 月龄群体共检测到 51 个等位基因, 平均等位基因数为 3.40 个,  $H_o$  范围为 0.305~1.000 (均值 0.850),  $H_e$  范围为 0.261~0.755 (均值 0.622),  $PIC$  范围为 0.225~0.702 (均值 0.555)。17 月龄共检测到 42 个等位基因, 平均等位基因数为 2.80 个,  $H_o$  为 0.000~1.000 (均值 0.689),  $H_e$  为 0.000~0.756 (均值 0.503),  $PIC$  为 0.000~0.701 (均值 0.445)。36 月龄共检测到 46 个等位基因, 平均等位基因

表 3 长丰鲢、长江鲢和湘江鲢各生长性状统计

**Tab. 3 Descriptive statistics for the growth traits of Changfeng, Yangtze River and Xiangjiang River *H. molitrix***

鲢群体 <i>H. molitrix</i> population		项目 item	体质量/g BW	全长/cm TL	体高/cm BH	尾柄高/cm CPH	头长/cm HL
长丰鲢 Changfeng <i>H. molitrix</i>	6月龄 6 months (n=59)	均值 mean	22.353	12.622	3.388	1.075	3.107
		标准差 SD	5.203	1.051	0.330	0.096	0.266
		偏度 skewness	-0.230	-0.465	-0.902	-0.744	-0.292
		变异系数/% CV	23.28	8.32	9.73	8.97	8.56
	17月龄 17 months (n=50)	均值 mean	778.600	42.856	10.254	3.837	10.025
		标准差 SD	56.160	1.878	0.585	0.158	1.052
		偏度 skewness	-1.032	-0.065	0.513	0.308	0.527
		变异系数/% CV	7.21	4.38	5.70	4.11	10.49
	36月龄 36 months (n=143)	均值 mean	1042.951	47.285	11.420	4.051	12.577
		标准差 SD	74.544	1.613	0.506	0.173	0.578
		偏度 skewness	-0.801	0.552	-1.181	0.166	0.779
		变异系数/% CV	7.15	3.41	4.43	4.27	4.60
长江鲢 Yangtze River <i>H. molitrix</i> (n=136)	均值 mean	860.125	44.506	11.188	3.759	11.299	
	标准差 SD	101.361	1.803	0.613	0.189	0.496	
	偏度 skewness	-1.034	-0.828	-0.477	-0.742	-0.803	
	变异系数/% CV	11.78	4.05	5.48	5.02	4.39	
湘江鲢 Xiangjiang River <i>H. molitrix</i> (n=100)	均值 mean	48.978	17.286	4.384	1.407	4.495	
	标准差 SD	10.535	1.250	0.386	0.131	0.297	
	偏度 skewness	-0.449	-1.090	-0.962	-1.071	-0.898	
	变异系数/% CV	21.51	7.23	8.81	9.32	6.62	

表 4 长丰鲢生长性状有关的 SSR 多态位点信息

**Tab. 4 Effects of SSR polymorphisms on growth traits of Changfeng *H. molitrix***

位点 locus	6月龄 (n=59) 6 months				17月龄 (n=50) 17 months				36月龄 (n=143) 36 months			
	$N_a$	$H_o$	$H_e$	PIC	$N_a$	$H_o$	$H_e$	PIC	$N_a$	$H_o$	$H_e$	PIC
H111	4	1.000	0.755	0.702	3	0.980	0.649	0.570	3	0.486	0.517	0.399
BL106-2	5	0.712	0.616	0.547	4	0.760	0.754	0.699	3	1.000	0.625	0.552
H129	2	0.305	0.261	0.225	1	0.000	0.000	0.000	2	0.745	0.469	0.358
BL109	4	0.847	0.734	0.676	4	0.900	0.750	0.694	4	0.806	0.731	0.678
SCE65	3	1.000	0.629	0.553	4	1.000	0.744	0.688	3	0.639	0.469	0.402
SCE78	3	0.746	0.630	0.554	3	0.620	0.549	0.485	4	1.000	0.751	0.701
SCE92	4	0.949	0.644	0.587	2	1.000	0.505	0.375	2	0.972	0.501	0.375
BL101	3	0.492	0.567	0.498	2	0.560	0.407	0.322	3	0.979	0.622	0.550
BL5	4	1.000	0.746	0.691	4	1.000	0.756	0.701	4	1.000	0.750	0.700
BL55	4	1.000	0.752	0.698	3	1.000	0.626	0.548	2	0.514	0.383	0.309
BL52	3	1.000	0.627	0.551	2	0.040	0.040	0.038	2	0.986	0.502	0.375
BL56	4	1.000	0.750	0.696	3	1.000	0.618	0.537	6	1.000	0.775	0.741
BL62	3	1.000	0.614	0.533	4	0.960	0.756	0.701	3	0.583	0.417	0.332
BL82	2	1.000	0.504	0.375	1	0.000	0.000	0.000	2	0.521	0.393	0.315
BL116	3	0.695	0.505	0.437	2	0.520	0.389	0.311	3	0.993	0.629	0.556
Mean	3.40	0.850	0.622	0.555	2.80	0.689	0.503	0.445	3.07	0.815	0.569	0.490
St.Dev	0.83	0.219	0.131	0.135	1.08	0.388	0.281	0.261	1.10	0.211	0.138	0.157



数为 3.07 个,  $H_0$  为 0.486~1.000 (均值 0.815),  $H_e$  为 0.383~0.775 (均值 0.569),  $PIC$  为 0.309~0.741 (均值 0.490)。

### 2.3 微卫星标记与长丰鲢生长性状的相关分析

利用 SPSS 20.0 软件的一般线性模型 (GLM) 过程, 分析筛选出的标记与 3 个月龄组长丰鲢体质量、全长、体高、尾柄高、头长这 5 个生长性

状的相关性。15 个微卫星位点上, 各月龄共筛选出 6 个与生长性状显著相关的微卫星位点 ( $P<0.05$ ) (表 5), 这些位点上基因型的差异情况对生长性状影响显著 ( $P<0.05$ )。其中, 6 月龄长丰鲢筛选出 2 个与生长性状显著相关的位点 ( $P<0.05$ ), 17 月龄筛选出 1 个显著相关位点 ( $P<0.05$ ), 36 月龄筛选出 3 个显著相关位点 ( $P<0.05$ )。

表 5 对不同月龄长丰鲢 6 个微卫星位点上各生长性状的均值或多重比较

Tab. 5 Mean or multiple comparisons of growth traits in 6 microsatellite loci at different ages

月龄 months	位点 locus	基因型 genotype	个体数/尾 no.	体质量/g BW	全长/cm TL	体高/cm BH	尾柄高/cm CPH	头长/cm HL
6 ( $n=59$ )	BL55	225/231	16	19.68±6.21 <sup>a</sup>	12.01±1.28 <sup>a</sup>	3.20±0.39 <sup>a</sup>	1.02±0.11 <sup>a</sup>	3.00±0.30
		225/237	18	23.40±5.88 <sup>b</sup>	12.85±1.07 <sup>b</sup>	3.42±0.37 <sup>b</sup>	1.09±0.11 <sup>b</sup>	3.16±0.28
		231/245	17	24.41±3.04 <sup>b</sup>	13.05±0.68 <sup>b</sup>	3.54±0.18 <sup>b</sup>	1.11±0.06 <sup>b</sup>	3.16±0.22
		237/245	8	20.98±2.24 <sup>ab</sup>	12.43±0.60 <sup>ab</sup>	3.38±0.16 <sup>ab</sup>	1.07±0.05 <sup>ab</sup>	3.09±0.22
	BL109	230/230	9	23.43±8.04	12.76±1.70 <sup>ab</sup>	3.36±0.49 <sup>ab</sup>	1.08±0.15	3.07±0.41 <sup>ab</sup>
		230/237	12	19.57±5.07	11.99±0.91 <sup>a</sup>	3.22±0.38 <sup>a</sup>	1.03±0.11	3.02±0.24 <sup>a</sup>
		232/241	15	21.59±4.58	12.61±1.00 <sup>ab</sup>	3.35±0.29 <sup>ab</sup>	1.07±0.08	3.05±0.21 <sup>ab</sup>
		237/241	23	23.88±3.76	12.91±0.71 <sup>b</sup>	3.51±0.20 <sup>b</sup>	1.10±0.07	3.21±0.22 <sup>b</sup>
17 ( $n=50$ )	SCE65	152/154	16	775.81±63.23	42.94±2.03	10.47±0.53 <sup>a</sup>	3.89±0.12	10.28±1.04
		160/170	16	782.44±53.24	43.66±2.02	10.40±0.70 <sup>ab</sup>	3.87±0.20	10.35±1.19
		152/160	13	773.69±58.25	42.07±1.47	9.98±0.41 <sup>bc</sup>	3.77±0.14	9.55±0.85
		154/170	5	788.00±50.55	42.06±0.84	9.82±0.24 <sup>c</sup>	3.74±0.11	9.40±0.19
36 ( $n=143$ )	BL55	225/231	74	1038.11±77.93	47.02±1.47 <sup>a</sup>	11.39±0.54	4.03±0.17	12.59±0.61
		233/233	69	1048.15±70.94	47.57±1.72 <sup>b</sup>	11.45±0.47	4.07±0.18	12.57±0.55
	BL106-2	231/235	64	1021.91±76.84 <sup>a</sup>	46.86±1.46	11.39±0.53	4.01±0.17	12.53±0.50
		235/239	79	1060.00±68.48 <sup>b</sup>	47.63±1.66	11.45±0.49	4.09±0.17	12.62±0.63
	BL116	206/212	74	1029.93±71.44 <sup>a</sup>	47.00±1.39	11.38±0.50	4.02±0.15	12.57±0.63
		208/212	69	1056.91±75.78 <sup>b</sup>	47.59±1.78	11.47±0.51	4.08±0.19	12.59±0.52

注: 同列同一标记中不同字母表示不同基因型数值间差异显著 ( $P<0.05$ ), 下同

Notes: significant differences between different letter values in the same column and the same marker ( $P<0.05$ ), the same below

微卫星位点与 6 月龄组长丰鲢生长性状的相关性分析 6 月龄长丰鲢群体中, 位点 BL55 和 BL109 均与体高显著相关 ( $P<0.05$ )。对其不同基因型不同性状进行多重比较, 发现在位点 BL55 上, 225/231 基因型个体各生长性状均值均低于其他基因型, 除了头长外, 在其他生长性状上均显著低于 225/237、231/245 基因型个体 ( $P<0.05$ ), 与 237/245 基因型个体差异不显著 ( $P>0.05$ )。且 231/245 基因型个体各生长性状均优于其他基因型, 与 225/231 基因型个体差异显著 ( $P<0.05$ )。推测 225/231 基因型可能是劣势基因型, 而 231/245 基因型是优势基因型。位点 BL109 上, 230/237 基因型个体各生长性状均值均低于其他基

因型, 且在全长、体高、头长上均显著低于 237/241 基因型个体 ( $P<0.05$ ), 与其他基因型之间差异不显著 ( $P>0.05$ )。237/241 基因型个体各生长性状均优于其他基因型, 推测该基因型可能与体质量、全长、体高、尾柄高和头长均呈正相关。

微卫星位点与 17 月龄组长丰鲢生长性状的相关性分析 17 月龄 SCE65 位点与体高显著相关 ( $P<0.05$ ), 且该位点上共检测到 4 种基因型, 因此将 SCE65 进行不同基因型间不同性状的多重比较。其中 154/170 基因型个体的体高显著低于 152/154 和 160/170 基因型个体 ( $P<0.05$ ), 且除体质量外的所有生长性状均值都低于其他基因型个体, 但基因型间差异不显著 ( $P>0.05$ )。推测 154/

170 基因型与全长、体高、尾柄高和头长这 4 个生长性状负相关。

**微卫星位点与 36 月龄组长丰鲢生长性状的相关性分析** 36 月龄位点 BL55 与全长显著相关 ( $P<0.05$ ), BL106-2 和 BL116 均与体质量显著相关 ( $P<0.05$ ), 由于各位点均仅检测出 2 种基因型, 所以进行独立样本  $t$  检验。在位点 BL55 上, 225/231 基因型个体的全长显著低于 233/233 基因型个体 ( $P<0.05$ )。且除头长外, 其他生长性状均值均低于 233/233 基因型个体, 但基因型之间差异不显著 ( $P>0.05$ ), 推测 225/231 基因型可能与生长性状负相关。位点 BL106-2 上, 231/235 基因型个体的体质量显著低于 235/239 基因型个体 ( $P<0.05$ )。且其他生长性状均值均低于 235/239 基因型个体, 但基因型之间差异不显著 ( $P>0.05$ )。位点 BL116 上, 206/212 基因型个体的体质量显著低于 208/212 基因型个体 ( $P<0.05$ ), 且其他生长性状均值均低于 208/212 基因型个体, 但基因型之间差异不显著 ( $P>0.05$ )。

**微卫星标记 BL55 与 3 个月龄组长丰鲢生长性状的相关性分析** 3 个月龄组的长丰鲢中, 6 和 36 月龄均有生长性状与 BL55 位点存在相关性, 推测 17 月龄可能因个体数相对较少, 导致性状与 BL55 位点相关性不显著 ( $P>0.05$ )。故将 3 个月龄组 BL55 位点上不同基因型各生长性状放在

一起进行比较验证 (表 6)。结果可知, 3 个月龄组在位点 BL55 上均存在相同的 231 bp 片段的等位基因。其中, 该位点 6 月龄 225/231 基因型个体各生长性状均低于其他基因型, 而 231/245 基因型个体各生长性状均值均高于其他基因型。初步推测 225/231 基因型在长丰鲢群体中可能与生长性状存在一定的负相关, 起负面影响, 而 231/245 基因型可能是优势基因型, 起正面影响。在 36 月龄, 225/231 基因型个体除头长外, 其他生长性状均值均低于 233/233 基因型个体, 即 225/231 基因型个体各生长性状比 233/233 基因型个体普遍偏低, 这与上文 225/231 基因型个体在长丰鲢群体中可能起负面影响的推论相符合。在 17 月龄, 231/245 基因型个体除体质量外, 其他生长性状普遍优于 229/231 基因型个体, 基因型之间差异不显著 ( $P>0.05$ ), 这同样证实了 231/245 基因型可能起正面影响的推测。因此, 初步确定标记 BL55 在长丰鲢群体中均适用, 且 225/231 基因型在该群体中可能与生长性状呈负相关, 而 231/245 基因型呈正相关。

## 2.4 微卫星标记 BL55 与长江鲢和湘江鲢生长性状的相关分析

为了进一步研究标记 BL55 在鲢群体中的适用性, 选取长江群体和湘江群体进行分析。经检

表 6 对长丰鲢、长江鲢和湘江鲢在 BL55 位点上各生长性状的均值或多重比较

Tab. 6 Mean or multiple comparisons of growth traits in BL55 locus of Changfeng, Yangtze River and Xiangjiang River *H. molitrix*

鲢群体 <i>H. molitrix</i> population	基因型 genotype	个体数/尾 no.	体质量/g BW	全长/cm TL	体高/cm BH	尾柄高/cm CPH	头长/cm HL	
长丰鲢 Changfeng <i>H. molitrix</i> (n=59)	6月龄 6 months	225/231	16	19.68±6.21 <sup>a</sup>	12.01±1.28 <sup>a</sup>	3.20±0.39 <sup>a</sup>	1.02±0.11 <sup>a</sup>	3.00±0.30
	225/237	18	23.40±5.88 <sup>b</sup>	12.85±1.07 <sup>b</sup>	3.42±0.37 <sup>b</sup>	1.09±0.11 <sup>b</sup>	3.16±0.28	
		231/245	17	24.41±3.04 <sup>b</sup>	13.05±0.68 <sup>b</sup>	3.54±0.18 <sup>b</sup>	1.11±0.06 <sup>b</sup>	3.16±0.22
		237/245	8	20.98±2.24 <sup>ab</sup>	12.43±0.60 <sup>ab</sup>	3.38±0.16 <sup>ab</sup>	1.07±0.05 <sup>ab</sup>	3.09±0.22
		229/231	20	782.30±14.08	42.81±0.40	10.14±0.13	3.81±0.04	9.86±0.20
	17月龄 17 months (n=50)	231/245	30	776.13±9.52	42.89±0.36	10.33±0.11	3.86±0.03	10.14±0.21
	36月龄 36 months (n=143)	225/231	74	1038.11±9.06	47.02±0.17 <sup>a</sup>	11.39±0.06	4.03±0.02	12.59±0.07
		233/233	69	1048.15±8.54	47.57±0.21 <sup>b</sup>	11.45±0.06	4.07±0.02	12.57±0.07
长江鲢 Yangtze River <i>H. molitrix</i> (n=136)	220/221	29	843.00±77.99	44.39±1.62	11.12±0.53	3.74±0.16	11.27±0.45	
	220/225	35	850.49±108.98	44.35±1.50	11.13±0.48	3.77±0.18	11.21±0.46	
	221/231	35	863.23±119.58	44.52±2.38	11.12±0.78	3.73±0.23	11.29±0.65	
	225/231	34	883.68±92.69	44.86±1.50	11.38±0.60	3.79±0.18	11.41±0.39	
湘江鲢 Xiangjiang River <i>H. molitrix</i> (n=100)	225/231	55	50.76±10.29	17.50±1.17	4.43±0.37	1.42±0.12	4.56±0.27 <sup>a</sup>	
	231/231	43	47.22±9.89	17.09±1.23	4.34±0.37	1.40±0.13	4.44±0.29 <sup>b</sup>	

验, 2个鲢群体各生长性状均接近正态分布, 实际分析中, 每种基因型至少有4次观察值才被考虑。长江群体中同样存在225/231基因型(表6), 且该基因型个体各生长性状均值均高于其他基因型, 基因型之间差异不显著( $P>0.05$ ), 即在长丰鲢群体中较劣势的225/231基因型, 在长江野生鲢群体中相较于其他基因型是优势基因型。湘江群体中仍存在225/231基因型, 且该基因型个体各生长性状均值均大于231/231基因型个体, 推测含有225 bp片段的等位基因个体各生长性状更优于含有231 bp片段的等位基因个体; 该位点与头长显著相关, 在头长的基因型之间差异显著( $P<0.05$ )。

### 3 讨论

#### 3.1 选育群体的遗传多样性

杂合度可以显示群体内所有等位基因的分布和丰富程度, 利用杂合度可以很好地衡量一个群体的遗传结构和遗传变异程度, 从而反映群体的生存、适应能力<sup>[25]</sup>。当杂合度高于0.5时, 证明该群体仍具备较高的遗传多样性。本实验中, 各月龄长丰鲢的观测杂合度和期望杂合度均高于0.5, 表明在连续选育的过程中, 长丰鲢群体仍保持较高的遗传多样性, 具有选育潜力; 其中, 3个月龄组长丰鲢的观测杂合度和期望杂合度都略高于叶香尘等<sup>[20]</sup>采用本团队开发标记对长丰鲢群体的研究结果, 原因可能是本研究所选用的微卫星标记是经过筛选的, 去掉了多态性不高的引物。

另外,  $PIC$  低于0.25为低度多态, 高于0.5为高度多态<sup>[25]</sup>。 $PIC$ 与位点的有效性和效率有关,  $PIC$ 越高则意味着群体含有更多的遗传信息。本研究中长丰鲢群体  $PIC$  均值分别为0.555、0.445和0.490, 表明各月龄长丰鲢群体遗传多样性水平仍较高, 具备进一步种质改良的潜力, 这与上文遗传杂合度的分析结果一致。

#### 3.2 微卫星标记与性状的关联分析

至今, 分子标记已运用到许多鱼类的遗传连锁图谱构建、种质鉴定及良种选育等研究中<sup>[26-27]</sup>, 如大菱鲂 (*Scophthalmus maximus*)<sup>[28]</sup>、黄鳍棘鲷 (*Acanthopagrus latus*)<sup>[29]</sup>、黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*)<sup>[30]</sup>、大黄鱼 (*Larimichthys crocea*)<sup>[31-32]</sup> 和鲤 (*Cyprinus carpio*)<sup>[33-34]</sup> 等, 并取得了一些进展。

分子标记辅助育种 (molecular marker-assisted breeding, MAS) 是一种借助与性状紧密相关的分子标记, 对优势等位基因或基因型进行直接选择的技术<sup>[7]</sup>, 可提高选择的准确性。通过对不同微卫星位点和生长性状进行相关性分析, 可获得与生长性状密切相关的分子标记。相关性分析即通过标记基因型和对应的表型值对个体进行显著性检验, 存在显著差异则该位点与生长性状紧密相关<sup>[32]</sup>。本研究结果中存在不少达显著水平的关联, 说明这些标记与特定性状间存在关联。在这些关联中, 出现了几个标记同个性状相关的现象, 如6月龄长丰鲢中标记 BL55 和 BL109 与体高显著相关, 36月龄 BL106-2 和 BL116 标记与体质量显著相关等, 说明这些位点存在多因一效的现象, 这与其他水产动物的相关研究结果类似<sup>[35-37]</sup>, 这些显著相关的位点控制着不同基因型个体的生长性能, 在选育过程中发挥着重要作用。

另外, 标记 BL55 在3个月龄组中均存在231 bp片段的等位基因, 且该位点在6月龄、36月龄中分别与体高、全长显著相关, 同一标记不同月龄关联的生长性状不同, 推测是由于长丰鲢各阶段的生长发育趋势不同导致<sup>[38-41]</sup>。在 BL55 位点对各月龄组长丰鲢不同基因型进行多重比较或均值比较, 结果显示225/231基因型个体各生长性状均值相较于其他基因型普遍偏低, 初步推测该基因型在长丰鲢群体中可能与生长性状呈负相关, 可在选育的时候用于长丰鲢劣势个体的鉴定<sup>[35]</sup>。为了研究该分子标记能否在鲢群体中普遍应用, 选取了长江、湘江2个野生鲢群体进一步验证。结果表明, BL55 位点上225/231基因型在长江和湘江群体中仍存在。且在长江群体中, 该基因型个体各生长性状均值均大于其他基因型个体, 推测其在长江群体中与各生长性状呈正相关, 即在长丰鲢群体中生长性状普遍劣势的225/231基因型个体, 在长江鲢中相对于其他基因型较优势。有研究表明, 长丰鲢具有生长速率快、产量高等特点, 均由生长性状优良的亲本多代选育而来<sup>[1]</sup>。相较于野生鲢, 长丰鲢具有更好的生长性能<sup>[20]</sup>, 这一现象符合其生物学特性。而本研究中对湘江群体的研究结果显示, 含有225 bp片段的等位基因个体各生长性状可能更优于231 bp片段的等位基因<sup>[36]</sup>, 建议在鲢选育过程中加以重视。总之, 该标记与各生长性状密切相关, 且初步证明在鲢群体中适用性广, 据此确定其为与生长性状相关

的候选标记。目前, 关于鲢生长等分子标记的报道较少<sup>[23]</sup>, 若 BL55 标记所在染色体上的区间范围内存在与鲢生长性状相关的基因, 可为后续研究提供参考, 极大地推进标记辅助育种的进程。为了确定此标记所在的区间范围内存在何种功能基因, 将其完整序列与本课题组所测得的鲢基因组进行 Blast 比对, 发现该标记正好位于染色体 LG15 上 *CTPS1* 基因与 *CITED2* 基因之间的未知区间, 其功能尚未知, 有待进一步研究。为了提高选择的准确性, 后续研究应对该标记进一步检验, 才能将其应用到鲢的选育实践中。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

### 参考文献 (References):

- [1] 梁宏伟, 李忠, 罗相忠, 等. 长丰鲢与长江鲢形态差异与判别分析[J]. *水生生物学报*, 2015, 39(5): 1059-1064. Liang H W, Li Z, Luo X Z, *et al.* Morphological differences and discriminant analysis between Changfeng and Yangtze River silver carp[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2015, 39(5): 1059-1064 (in Chinese).
- [2] Li Z, Liang H W, Luo X Z, *et al.* A consecutive self-proliferate silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) variety created through artificial meiotic gynogenesis[J]. *Aquaculture*, 2015, 437: 21-29.
- [3] 薛凌展, 许震, 樊海平, 等. 长丰鲢胚胎发育的初步观察[J]. *福建水产*, 2015, 37(6): 441-446. Xue L Z, Xu Z, Fan H P, *et al.* Observation on the embryonic development of Changfeng silver carp[J]. *Journal of Fujian Fisheries*, 2015, 37(6): 441-446 (in Chinese).
- [4] 孙雪, 李胜杰, 姜鹏, 等. 利用RNA-Seq技术分析草鱼生长性状相关基因和SNP标记[J]. *水产学报*, 2021, 45(3): 333-344. Sun X, Li S J, Jiang P, *et al.* RNA sequencing to identify genes and SNP markers associated with growth traits in *Ctenopharyngodon idella*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, 45(3): 333-344 (in Chinese).
- [5] 张晓娟, 周莉, 桂建芳. 遗传育种生物技术创新与水产养殖绿色发展[J]. *中国科学: 生命科学*, 2019, 49(11): 1409-1429. Zhang X J, Zhou L, Gui J F. Biotechnological innovation in genetic breeding and sustainable green development in Chinese aquaculture[J]. *Scientia Sinica Vitae*, 2019, 49(11): 1409-1429 (in Chinese).
- [6] 董世瑞, 栾生, 孔杰. 中国明对虾单个家系中与生长性状相关微卫星标记的初步筛选[J]. *中国水产科学*, 2014, 21(5): 936-943. Dong S R, Luan S, Kong J. Screening of microsatellite DNA markers associated with growth traits in a single *Fenneropenaeus chinensis* family[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2014, 21(5): 936-943 (in Chinese).
- [7] 鲁翠云, 匡友谊, 郑先虎, 等. 水产动物分子标记辅助育种研究进展[J]. *水产学报*, 2019, 43(1): 36-53. Lu C Y, Kuang Y Y, Zheng X H, *et al.* Advances of molecular marker-assisted breeding for aquatic species[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(1): 36-53 (in Chinese).
- [8] McCouch S R, Chen X L, Panaud O, *et al.* Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding[J]. *Plant Molecular Biology*, 1997, 35(1-2): 89-99.
- [9] D' Amato M E, Lunt D H, Carvalho G R. Microsatellite markers for the hake *Macruronus magellanicus* amplify other gadoid fish[J]. *Molecular Ecology*, 1999, 8(6): 1086-1088.
- [10] 杨习文, 刘熠, 薛向平, 等. 基于微卫星标记的长江江苏段鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)增殖放流资源贡献率的评估[J]. *湖泊科学*, 2020, 32(4): 1154-1164. Yang X W, Liu Y, Xue X P, *et al.* Resource contribution rate assessment of stock enhancement of silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix* in Jiangsu section of the Yangtze River based on microsatellite markers[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2020, 32(4): 1154-1164 (in Chinese).
- [11] 于悦, 庞美霞, 俞小牧, 等. 利用微卫星分子标记分析长江、赣江和鄱阳湖鲢群体遗传结构[J]. *华中农业大学学报*, 2016, 35(6): 104-110. Yu Y, Pang M X, Yu X M, *et al.* Population genetic structure of silver carp from Yangtze River, Ganjiang River and Poyang Lake based on microsatellite markers[J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2016, 35(6): 104-110 (in Chinese).
- [12] 张国庆. 卵形鲳鲹生长性状及其遗传背景的研究 [D]. 海口: 海南大学, 2016. Zhang G Q. Research on growth traits and corresponding genetic background in golden pompano *Trachinotus blochii*[D]. Haikou: Hainan University, 2016 (in Chinese).
- [13] Bai J J, Lutz-Carrillo D J, Quan Y C, *et al.* Taxonomic status and genetic diversity of cultured largemouth bass *Micropterus salmoides* in China[J]. *Aquaculture*, 2008, 278(1-4): 27-30.
- [14] 刘士力, 贾永义, 刘加林, 等. 翘嘴鲌两种生长激素受体基因结构及微卫星多态性与生长性状的相关性[J]. *水产学报*, 2020, 44(6): 894-906. Liu S L, Jia Y Y, Liu J L, *et al.* Molecular characterization of two growth hormone receptor genes, and associ-



- ation analysis between microsatellite polymorphism and growth traits in the topmouth culter (*Culter alburnus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2020, 44(6): 894-906 (in Chinese).
- [15] Sánchez-Molano E, Cerna A, Toro M A, *et al.* Detection of growth-related QTL in turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. BMC Genomics, 2011, 12: 473.
- [16] 李燕, 董晓丽, 郑先虎. 杂交鳊(*Siniperca chuatsi*×*Siniperca scherzeri*)微卫星标记与主要生长性状的相关性分析[J]. 云南农业大学学报(自然科学版), 2020, 35(2): 302-308.
- Li Y, Dong X L, Zheng X H. Analysis of microsatellite DNA markers emphasis on correlation with some economically important traits in mandarin fish hybrid *Siniperca chuatsi*×*Siniperca scherzeri*[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science Edition), 2020, 35(2): 302-308 (in Chinese).
- [17] 李婷, 李伟, 赵建, 等. 中华鳖(*Trionyx sinensis*)微卫星标记与生长性状的相关分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2016, 35(1): 63-71.
- Li T, Li W, Zhao J, *et al.* Correlation analysis of the microsatellite DNA markers and growth traits of Chinese soft shell turtle (*Trionyx sinensis*)[J]. Genomics and Applied Biology, 2016, 35(1): 63-71 (in Chinese).
- [18] Stepien C A, Snyder M R, Elz A E. Invasion genetics of the silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* across North America: differentiation of fronts, introgression, and eDNA metabarcode detection[J]. PLoS One, 2019, 14(3): e0203012.
- [19] Feng X, Yu X M, Fu B D, *et al.* Development of 159 transcript-associated microsatellite markers in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*)[J]. Conservation Genetics Resources, 2014, 6(1): 111-113.
- [20] 叶香尘, 韦玲静, 梁克, 等. 广西本地鲢和长丰鲢群体遗传多样性分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38(1): 100-108.
- Ye X C, Wei L J, Liang K, *et al.* Genetic diversity analysis in Changfeng silver carp and Guangxi local silver carp[J]. Genomics and Applied Biology, 2019, 38(1): 100-108 (in Chinese).
- [21] 王军. 鲢鳙相关形态性状数量性状定位分析 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
- Wang J. Quantitative trait loci for morphometric body measurements of the hybrids of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and bighead carp (*H. nobilis*)[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013 (in Chinese).
- [22] Guo W J, Tong J G, Yu X M, *et al.* A second generation genetic linkage map for silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) using microsatellite markers[J]. Aquaculture, 2013, 412-413: 97-106.
- [23] 王丹, 邹桂伟, 罗相忠. 鲢EST-SSR标记的开发及其与生长性状关联性分析[J]. 水生生物学报, 2020, 44(3): 494-500.
- Wang D, Zou G W, Luo X Z. Development of EST-SSR markers and analysis of growth trait in silver carp[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2020, 44(3): 494-500 (in Chinese).
- [24] 郑蓓蓓. 人工雌核发育鲢近交 F<sub>1</sub> 的同工酶和微卫星标记研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2006.
- Zheng B B. Studies on isozymes and microsatellites markers of inbreeding F<sub>1</sub> progeny of artificial gynogenetic silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*)[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2006 (in Chinese).
- [25] 袁文成, 叶金明, 黄鹤忠, 等. 翘嘴鳊(*Siniperca chuatsi*)EST-SSR标记与生长性状相关性及其4个选育群体遗传结构研究[J]. 海洋与湖沼, 2018, 49(1): 224-231.
- Yuan W C, Ye J M, Huang H Z, *et al.* Study on correlation of EST-SSR markers with growth traits and genetic structure of 4 breeding populations in mandarin fish *Siniperca chuatsi*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2018, 49(1): 224-231 (in Chinese).
- [26] 张晓峰, 李超, 鲁翠云, 等. 鲤生长速率性状的QTL定位分析[J]. 水产学杂志, 2019, 32(4): 15-22.
- Zhang X F, Li C, Lu C Y, *et al.* Mapping QTL for growth rate traits in common carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2019, 32(4): 15-22 (in Chinese).
- [27] 冯晓婷, 张桂宁, 薛向平, 等. 基于SSR标记的长江下游原良种场鲢亲本和后备亲本种质资源现状分析[J]. 中国水产科学, 2020, 27(5): 589-597.
- Feng X T, Zhang G N, Xue X P, *et al.* Current germplasm situation of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) candidate parent and parent from hatchery in the lower reaches of Changjiang River based on SSR markers[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2020, 27(5): 589-597 (in Chinese).
- [28] 邹曙明, 李思发, 蔡完其. 牙鲆和大菱鲆养殖群体的分子标记和遗传变异[J]. 中国水产科学, 2001, 7(4): 6-9.
- Zou S M, Li S F, Cai W Q. Molecular genetic markers and variations of cultured *Paralichthys olivaceus* and *Scophthalmus maximus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2001, 7(4): 6-9 (in Chinese).
- [29] 吴仁协, 翟云, 肖瑶, 等. 黄鳍棘鲷微卫星标记开发及其在鲷科鱼类中的跨物种扩增[J]. 应用海洋学学报, 2019, 38(3): 356-364.
- Wu R X, Zhai Y, Xiao Y, *et al.* Microsatellite marker development for *Acanthopagrus latus* and cross-species amplification in the family Sparidae[J]. Journal of Applied Oceanography, 2019, 38(3): 356-364 (in Chinese).

- Chinese).
- [30] 葛学亮, 尹洪滨, 毕冰, 等. 黄颡鱼遗传图谱构建及生长相关性状的QTL定位[J]. *水产学报*, 2010, 34(2): 185-193.
- Ge X L, Yin H B, Bi B, *et al.* A preliminary research of genetic linkage map construction and QTL analysis for growth-related traits in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2010, 34(2): 185-193 (in Chinese).
- [31] 贾超峰, 刘海林, 许津, 等. 大黄鱼种质遗传多样性研究进展[J]. *海洋通报*, 2017, 36(1): 12-18.
- Jia C F, Liu H L, Xu J, *et al.* A review on the germplasm genetic diversity of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. *Marine Science Bulletin*, 2017, 36(1): 12-18 (in Chinese).
- [32] 刘贤德, 韦信键, 蔡明夷, 等. 大黄鱼22个微卫星标记在F<sub>1</sub>家系中的分离方式及与生长性状的相关分析[J]. *水产学报*, 2012, 36(9): 1322-1330.
- Liu X D, Wei X J, Cai M Y, *et al.* The segregation patterns of 22 microsatellite markers in an F<sub>1</sub> family of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) and correlation analysis with growth-related traits[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(9): 1322-1330 (in Chinese).
- [33] 单云晶, 鲁翠云, 张晓峰, 等. 镜鲤头长及头长体长比性状的主效QTL挖掘[J]. *水产学报*, 2014, 38(5): 625-631.
- Shan Y J, Lu C Y, Zhang X F, *et al.* Excavating the main effect of quantitative trait loci related to head length, head length and body length ratio in mirror carp (*Cyprinus carpio*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, 38(5): 625-631 (in Chinese).
- [34] 吴明林, 侯冠军, 李海洋, 等. 长江野鲤(*Cyprinus carpio*)及两种养殖群体遗传多样性评估[J]. *基因组学与应用生物学*, 2020, 39(1): 70-78.
- Wu M L, Hou G J, Li H Y, *et al.* Genetic diversity assessment between Changjiang wild and two cultured populations of *Cyprinus carpio*[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2020, 39(1): 70-78 (in Chinese).
- [35] 邵艳卿, 方军, 田野, 等. 泥蚶生长性状与SSR标记的相关性[J]. *水产学报*, 2020, 44(5): 827-835.
- Shao Y Q, Fang J, Tian Y, *et al.* Correlation analysis of SSR markers with growth-related traits of mud clam (*Tegillarca granosa*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2020, 44(5): 827-835 (in Chinese).
- [36] 孙际佳, 李桂峰, 刘丽, 等. 翘嘴鲌微卫星标记及其与主要经济性状的相关分析[J]. *水产学杂志*, 2017, 30(1): 11-18.
- Sun J J, Li G F, Liu L, *et al.* Analysis of microsatellite DNA markers emphasis on correlation with some economically important traits in mandarin fish *Siniperca chuatsi*[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2017, 30(1): 11-18 (in Chinese).
- [37] 杨晶, 张晓峰, 储志远, 等. 鲤的微卫星标记与体质量、体长、体高和吻长的相关分析[J]. *中国水产科学*, 2010, 17(4): 721-730.
- Yang J, Zhang X F, Chu Z Y, *et al.* Correlation analysis of microsatellite markers with body weight, length, height and Upper jaw length wensize of common carp (*Cyprinus carpio* L. )[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2010, 17(4): 721-730 (in Chinese).
- [38] 李莉, 王雪, 菅玉霞, 等. 不同月龄大泷六线鱼形态性状与体质量的相关性及通径分析[J]. *上海海洋大学学报*, 2019, 28(1): 58-66.
- Li L, Wang X, Jian Y X, *et al.* Correlation and path analysis between morphological traits and body mass of *Hexagrammos otakii* at different months of age[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2019, 28(1): 58-66 (in Chinese).
- [39] 区又君, 吉磊, 李加儿, 等. 卵形鲳鲹不同月龄选育群体主要形态性状与体质量的相关性分析[J]. *水产学报*, 2013, 37(7): 961-969.
- Ou Y J, Ji L, Li J E, *et al.* Correlation analysis of major morphometric traits and body weight of selective group at different month ages of *Trachinotus ovatus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, 37(7): 961-969 (in Chinese).
- [40] 孙俊龙, 沈玉帮, 傅建军, 等. 草鱼一龄前不同月龄主要形态性状对体重影响效果的分析[J]. *上海海洋大学学报*, 2015, 24(3): 341-349.
- Sun J L, Shen Y B, Fu J J, *et al.* The effects of the morphometric traits at different month ages on body weight of *Ctenopharyngodon idellus*[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2015, 24(3): 341-349 (in Chinese).
- [41] 吴水清, 罗辉玉, 张哲, 等. 不同月龄云龙石斑鱼表型性状的主成分与通径分析[J]. *大连海洋大学学报*, 2019, 34(5): 680-687.
- Wu S Q, Luo H Y, Zhang Z, *et al.* Principal component and path analysis of phenotypic traits of Yunlong grouper with different month ages[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2019, 34(5): 680-687 (in Chinese).

## Preliminary screening of microsatellite DNA markers associated with growth traits in Changfeng silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*)

WU Xinyan<sup>1,2</sup>, LIANG Hongwei<sup>1</sup>, LUO Xiangzhong<sup>1</sup>, WANG Dan<sup>1</sup>, SHA Hang<sup>1</sup>, ZOU Guiwei<sup>1\*</sup>

(1. Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China;

2. Wuxi Fishery college, Nanjing Agriculture University, Wuxi 214081, China)

**Abstract:** Changfeng silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) is a new variety of silver carp bred by the Yangtze River Fisheries Research Institute of the Chinese Academy of Fishery Sciences. It has many advantages, such as a quick growth rate, a high body size, and a neat appearance, which are associated with more excellent growth characteristics than those of common *H. molitrix*. And growth traits are important economic traits of aquaculture species. However, the study on *H. molitrix* at home and abroad mainly focuses on developing microsatellite markers, analyzing genetic structure, and establishing the genetic linkage map. Few molecular markers associated with *H. molitrix* growth traits have been considered, and it is not known whether these markers can be used in the selection and breeding of Changfeng *H. molitrix*. This study aimed to screen out the molecular markers related to the growth traits of Changfeng *H. molitrix* to guide the germplasm identification and selective breeding. In this study, 15 polymorphic microsatellite markers were used to analyze the genetic diversity and growth trait association of Changfeng *H. molitrix* at 6, 17 and 36 months. The results show that a total of 51 alleles were detected at 6 months, and the average number of alleles was 3.40; a total of 42 alleles were detected at 17 months, and the average number of alleles was 2.80; A total of 46 alleles were detected at 36 months, and the average number of alleles was 3.07. The observed heterozygosity ( $H_o$ ) and expected heterozygosity ( $H_e$ ) of each month-old group Changfeng *H. molitrix* were higher than 0.5. The average *PIC* values were 0.555, 0.445, and 0.490 respectively at each age; indicating that the population was highly genetically diverse. The results of associations between microsatellite markers and growth traits revealed that locus BL55 and BL109 were significantly associated with body height at 6-month-old ( $P < 0.05$ ); S65 was found significantly associated with body height at 17-month-old ( $P < 0.05$ ); locus BL55 was significantly associated with total length ( $P < 0.05$ ), and BL106-2 and BL116 were significantly associated with body weight at 36-month-old ( $P < 0.05$ ). The different growth traits associated with different months of age of the same marker may be due to the different growth trends of Changfeng *H. molitrix*. Locus BL55 on chromosome 15 has the same allele containing DNA fragment length of 231 bp at different month ages, and it is preliminarily speculated that the genotypes 225/231, and 231/245, will have negative and positive effects, respectively. To further examine whether this locus can be used for molecular marker-assisted breeding in *H. molitrix* populations, two wild populations of *H. molitrix* from Yangtze River and Xiangjiang were selected for analysis. The results showed that the allele of the 231 bp fragment existed in both the Yangtze River and Xiangjiang populations. This result preliminarily confirmed that the marker BL55 was determined as a candidate marker related to growth traits, which has reference value for genetic improvement and selective breeding of *H. molitrix*.

**Key words:** Changfeng *Hypophthalmichthys molitrix*; microsatellite marker; growth trait; correlation analysis

**Corresponding author:** ZOU Guiwei. E-mail: zougw@yfi.ac.cn

**Funding projects:** China Agriculture Research System (CARS-45-01); National Freshwater Aquatic Germplasm Resource Center