

吉富罗非鱼微卫星标记与体质量、体形性状相关性分析

李建林¹, 唐永凯¹, 陈文华², 俞菊华¹, 董在杰¹, 徐跑¹

(1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 农业部淡水鱼类遗传育种和养殖生物学重点开放实验室, 江苏 无锡 214081;
2. 上海海洋大学, 上海 200090)

摘要: 根据罗非鱼微卫星遗传图谱, 在不同的连锁群上随机选择 30 个微卫星位点, 研究它们在 192 尾不同家系吉富罗非鱼 (Genetically Improved Farmed Tilapia, GIFT) 中的遗传多样性及这些位点与体质量、体形性状的相关性。结果表明, 30 个位点共检测出 126 个等位基因, 片段长度 124 ~ 310 bp。各位点等位基因数为 1 ~ 7 个, 平均等位基因数 4.2 个; 多态信息含量 (PIC) 为 0.259 4 ~ 0.716 7, 平均 0.580 8; 杂合度 (H) 为 0.306 4 ~ 0.753 1, 平均 0.632 2, 表明该吉富罗非鱼群体遗传多样性比较丰富。最小二乘方差分析结果显示, 位点 *GM041*、*GM542* 和 *GM304* 与吉富罗非鱼雌鱼体质量相关; 位点 *GM041*、*UNH860*、*GM519* 和 *GM304* 与雄鱼体质量相关, 位点 *UNH952* 与雄鱼体形相关。位点 *GM041*、*UNH860*、*GM304* 的 AA 基因型和位点 *GM519* 的 DE 基因型都有可能作为以体质量为选育目标的辅助标记, 其中 *UNH860* 和 *GM304* 的 AA 基因型有望成为作为以体质量为选育目标的首选辅助标记。实验结果说明, 吉富罗非鱼具有与体质量相关的标记越多, 体质量也越大。[中国水产科学, 2009, 16 (6): 824-832]

关键词: 吉富罗非鱼; 微卫星; 遗传多样性; 体质量; 体形; 相关性分析

中图分类号: S917

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2009)06-0824-09

中国是世界上最大的罗非鱼生产国和出口国^[1]。吉富罗非鱼 (Genetically Improved Farmed Tilapia, GIFT) 是中国主要养殖的罗非鱼品种, 该鱼由国际水生生物资源管理中心 (ICLARM) 通过对 4 个非洲原产地直接引进的尼罗罗非鱼品系和 4 个在亚洲养殖比较广泛的尼罗罗非鱼品系经混合选育获得的优良品系^[2], 1994 年由上海水产大学从菲律宾引入中国。吉富罗非鱼生长优势明显, 是现有罗非鱼养殖品种中生长最快的一个品种^[3-4]。上海水产大学在 1994 引进的吉富罗非鱼基础上, 用传统选育和生物技术相结合的方法, 经十多年的选育, 获得了“新吉富”罗非鱼^[5]。为了促进中国罗非鱼养殖持续稳定的发展, 2006 年 8 月, 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心从马来西亚世界渔业中心 (World Fish Center) 引进了 60 个

家系共 1 831 尾吉富罗非鱼, 这是中国第一次引进多家系吉富罗非鱼。在该批鱼养殖过程中, 发现不同家系间或同一家系中不同个体的一些经济性状如生长速度、体形等差别较大^[6], 遗传性状还不是很稳定, 因此, 该批鱼仍需进一步选育和遗传改良, 使得遗传性能趋于稳定。

标记辅助选择 (Marker-assisted selection, MAS) 是伴随着分子遗传学、数量遗传学和分子生物学技术的发展而出现的, 近年来已成为一个非常活跃的研究领域。标记辅助选择的核心是把传统育种中的表型选择转化为基因型选择。如果目标基因与某个分子标记紧密连锁, 那么通过对分子标记基因型的检测, 就能获知目标基因的基因型^[7], 因此, 标记辅助选择不受环境的影响, 且没有性别、年龄的限制, 因

收稿日期: 2009-03-20; 修订日期: 2009-06-19.

基金项目: 国家科技基础条件平台资助项目 (2007DKA30470_003); 中国水产科学研究院基本科研业务费专项资金 (2009JBFC02, 2009JBFB05)。

作者简介: 李建林 (1974-), 男, 助研, 从事鱼类遗传育种研究. E-mail: lij@ffrc.cn

通讯作者: 俞菊华 (1966-), 女, 研究员, 硕士生导师, 从事鱼类生物技术研究. E-mail: yujh@ffrc.cn

而允许进行早期选种,可缩短世代间隔,提高选择强度,从而提高选种的效率和准确性,尤其是对于隐性性状、低遗传力性状及难以测量的性状,其优越性就更为明显^[8-9]。微卫星标记因具有分布广、多态性丰富、符合孟德尔遗传、共显性遗传等优点^[10],自从被发现以来就受到了动物遗传育种家们的高度重视。借助微卫星进行性状连锁分析或 QTL 定位,在禽畜育种中已有广泛的研究^[11-13],在鱼类育种也有较多报道。如 Cnaani 等^[14]对莫桑比克罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*)和奥利亚罗非鱼(*O. aureus*)的杂交子二代进行了耐寒和个体大小的连锁分析,获得了 2 个微卫星位点分别和耐寒和个体大小相连锁;Rodriguez 等^[15]利用虹鳟遗传图谱,通过连锁分析发现了 6 个微卫星标记与抗传染性出血坏死病毒性性状相连锁。O' Malley 等^[16]运用微卫星标记在 3~4 龄的虹鳟雌鱼中发现 2 个与产卵期相关的 QTL,在 2 龄的虹鳟雌鱼中发现 3 个与体质量相关的 QTL。为辅助 2006 年引进的吉富罗非鱼选育,加快育种进程,本研究侧重探讨微卫星标记与吉富罗非鱼体质量、体形(体高/体长)的相关性,旨在寻找与吉富罗非鱼体质量、体形相关的微卫星标记,最终为将分子标记辅助育种应用于吉富罗非鱼的选育提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验鱼取自淡水渔业研究中心宜兴养殖基地。2006 年 8 月从马来西亚世界渔业中心引进的吉富罗非鱼 60 个家系共 1 831 尾鱼苗,分池养至体质量 100 g 左右,再用 PIT (Passive Integrated Transponder) 标记后于同一池塘继续养殖。2007 年 5 月 29 日测量鱼体长、体质量、体高等生长参数,并随机从 41 个家系中取 192 尾(雌 102 尾,雄 90 尾)用于实验分析。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取 从鱼尾静脉抽血 0.2~0.5 mL,4℃冰箱静置 2 h,取 30 μ L 血细胞,用蛋白酶 K 消化,酚-仿抽提总 DNA^[17],用紫外分光光度计和琼脂糖凝胶电泳测定 DNA 样品的浓度和纯度,稀释

DNA 至 50 ng/ μ L,4℃保存备用。

1.2.2 PCR 反应及电泳 根据罗非鱼微卫星遗传图谱^[18],在 20 个连锁群上随机选取 30 个微卫星位点,并从 GenBank 中下载这些微卫星位点和引物的序列。引物由上海捷瑞生物工程技术服务有限公司合成,PCR 反应条件参照 GenBank 中推荐的稍作优化,PCR 仪为 Eppendorf PCR 扩增仪,产物经 2.0%琼脂糖凝胶电泳检验后,再用 8.0%非变性聚丙烯酰胺凝胶,1 \times TBE 缓冲液,5V/cm 低电压电泳分离。PAGE 电泳采用(北京六一仪器厂)DYCZ-24B 型双垂直电泳槽。电泳结束后,用 GelRedTM 染色,紫外灯下拍照,记录。以 25 bp DNA Step Ladder (Promega) 为分子量标记,分析各位点的等位基因,依据等位基因片段长度从小到大标为 A、B、C 等。当扩增结果出现影子带(纯合子为 2 条带,杂合子为 3 带或 4 条带)时,根据文献[19]判定“主带”和“影子带”,并进行分型。

1.2.3 数据统计与分析 多态信息含量(Polymorphism Information Content, PIC)根据 Botstein^[20]公式计算。杂合度(Heterozygosity, H)根据 Nei 氏公式^[21]计算。

用 SPSS15.0 软件包中的一元方差(One-Way ANOVA)分析吉富罗非鱼雌、雄鱼体质量、体形(体高/体长)差异;用广义线性模型(GLM)对吉富罗非鱼体质量、体形与微卫星基因型进行最小二乘方差分析。观察值少于 3 次的基因型,因缺少分析价值,在此不作统计分析。分析结果以平均值 \pm 标准偏差($\bar{x}\pm SD$)表示。

2 结果与分析

2.1 30 个微卫星位点的多态性

本实验所用 30 对微卫星引物均能扩增出清晰的条带,并且重复性好,PCR 产物电泳可以清楚地分辨等位基因和基因型。图 1 为位点 UNH948 (a)、GM294 (b)、GM025 (c)、GM504 (d) 和 GM519 (e) 部分电泳结果。结果表明,这 30 个微卫星位点中,有 2 个微卫星位点 GM599 和 GM109 为单态,其他 28 个位点都为多态,其中位点 GM283 群体内遗传多样性最为丰富,检测到了 7 个等位基因、15 种基因

型。30个微卫星位点在这192尾实验鱼中,共检测出126个等位基因,平均等位基因数为4.2个,等位基因片段大小在124~310 bp之间;各位点检测出基因型为1~15个,平均8.17个。根据28个多态微卫星位点的基因频率,检测到该群体的多态信息

含量为0.259 4~0.797 8,平均为0.580 8;杂合度为0.306 4~0.822 8,平均为0.632 2。表1列出了30个微卫星位点的等位基因数、等位基因片段大小、杂合度、基因型数和多态信息含量。

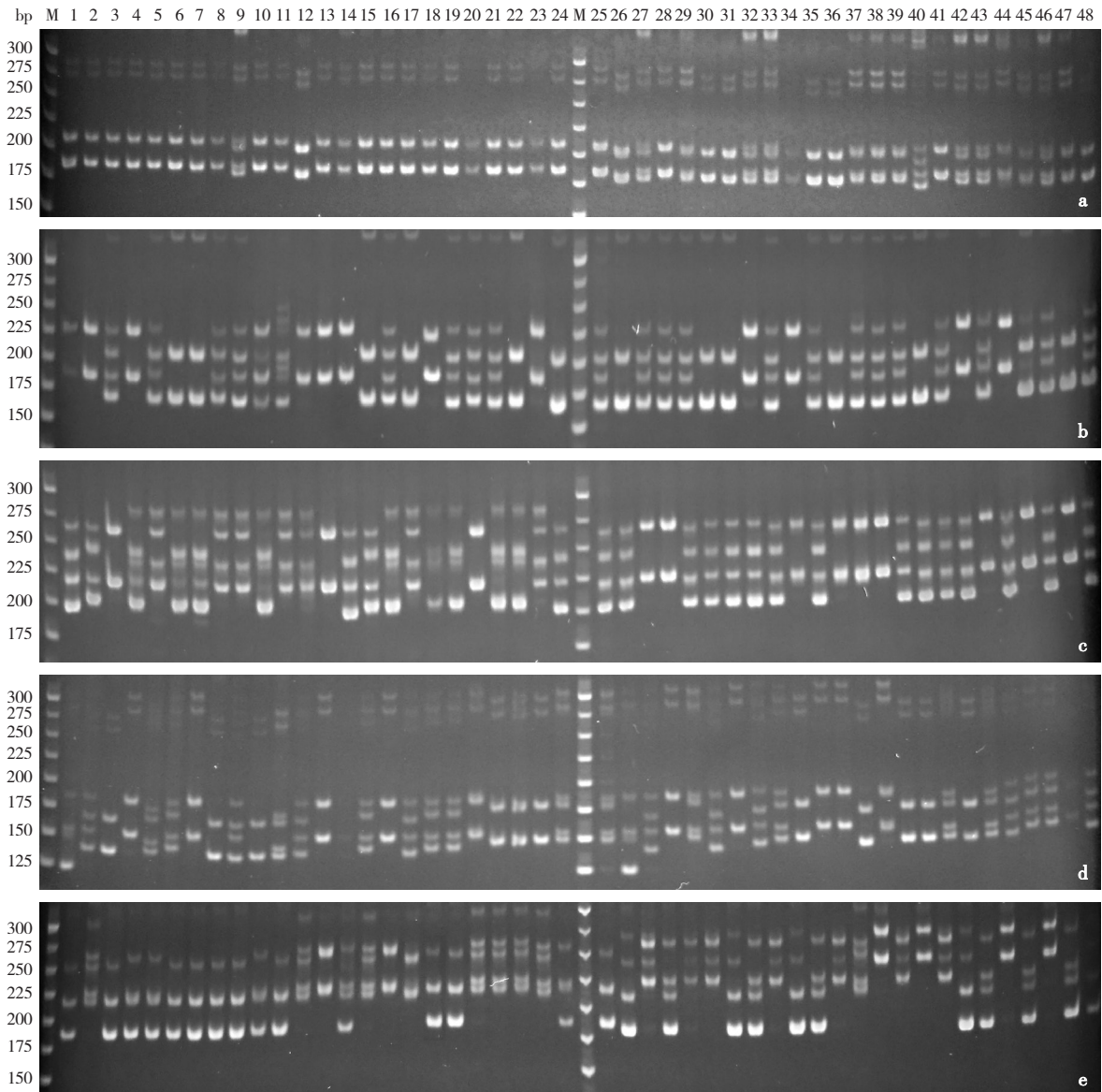


图1 位点 *UNH948* (a)、*GM294* (b)、*GM025* (c)、*GM504* (d)和 *GM519* (e)部分扩增的结果

M: 25 bp DNA Step Ladder; 1-48: 吉富罗非鱼样本

Fig. 1 Partial results amplified by *UNH948* (a), *GM294* (b), *GM025* (c), *GM504* (d) and *GM519* (e)

M: 25 bp DNA Step Ladder; 1-48: Individuals of GIFT

2.2 微卫星位点与吉富罗非鱼体质量、体形相关分析 本实验中吉富罗非鱼雌鱼(102尾)体质量为(357.1±86.76)g,雄鱼(90尾)平均体质量为(510.2±126.66)g,雌雄体质量差异极显著($P<0.01$);雌鱼、雄鱼体高/体长平均值分别为0.3681±0.0372、0.3899±0.0357,差异极显著($P<0.01$)。30个微卫星位点中,与吉富罗非鱼雌鱼体质量相关的微卫星

标记有3个,分别为GM041、GM542和GM304;与雄鱼体质量相关的微卫星位点有4个,分别为GM041、UNH860、GM519和GM304。与吉富罗非鱼雄鱼体形相关的微卫星位点只有UNH952。这30个标记中没有找到与雌鱼体形相关的微卫星位点。与体质量、体形相关的微卫星位点不同基因型间的多重比较(Duncan法)结果见表2。

表1 30个微卫星位点在吉富罗非鱼群体中的多态性
Tab.1 Polymorphism of 30 microsatellite loci in GIFT populations

标记位点 Locus	连锁群 Linkage group	等位基因数 Number of allele	等位基因范围 /bp Mange of alleles	基因型数 Number of genotype	杂合度 Heterozygosity	多态信息含量 PIC
GM041	1	4	250 ~ 280	9	0.7219	0.6689
UNH860	2	3	200 ~ 230	5	0.4864	0.4372
GM542	2	4	265 ~ 284	9	0.6772	0.6214
GM139	3	4	240 ~ 290	8	0.6177	0.5540
UNH845	4	4	150 ~ 183	8	0.5943	0.5096
UNH952	4	5	197 ~ 235	10	0.6719	0.6284
GM017	5	2	148, 155	2	0.3064	0.2594
GM012	5	5	210 ~ 260	13	0.7531	0.7167
UNH948	6	3	175 ~ 180	4	0.5048	0.3877
GM387	7	5	242 ~ 275	9	0.6849	0.6437
GM559	8	1	160	1	—	—
GM109	9	1	246	1	—	—
GM102	9	5	221 ~ 244	10	0.4930	0.4596
GM294	10	5	170 ~ 204	10	0.6408	0.5735
GM131	11	4	237 ~ 245	7	0.4239	0.3849
GM377	12	6	248 ~ 280	8	0.6157	0.5790
UNH874	12	5	185 ~ 206	12	0.7026	0.6610
GM025	12	4	201 ~ 235	6	0.5894	0.5359
GM504	12	4	140 ~ 154	10	0.7282	0.6782
GM373	13	4	290 ~ 312	10	0.7402	0.6920
GM578	15	5	178 ~ 220	10	0.6684	0.6347
GM323	17	5	165 ~ 187	11	0.7352	0.6876
GM083	18	4	165 ~ 215	8	0.6367	0.5652
GM519	18	6	185 ~ 248	11	0.7145	0.6765
GM175	19	3	298 ~ 310	4	0.4329	0.3872
GM603	20	3	195 ~ 225	6	0.6341	0.5624
GM304	21	4	124 ~ 152	7	0.7060	0.6485
GM358	22	6	154 ~ 210	14	0.8228	0.7978
GM047	23	5	192 ~ 230	7	0.6635	0.6162
GM283	23	7	170 ~ 250	15	0.7344	0.6960
平均 Average		4.2		8.17	0.6322	0.5808

2.3 标记数与体质量关系

将与吉富罗非鱼体质量、体形相关微卫星位点的各基因型对本实验 192 尾吉富罗非鱼进行分析。3 个与雌鱼体质量相关的微卫星位点中,只有位点 *GM542* 的 CD 基因型和位点 *GM304* 的 AA 基因型与体质量大相关,雌鱼中没有找到同时具有这 2 个标记的个体。与雄鱼体质量相关性较强的有 4 个标记,即位点 *GM041*、*UNH860*、*GM304* 的 AA 基因型和位点 *GM519* 的 DE 基因型。用这 4 个标记对 192 个体进行分析,结果如表 3 所示:群体中雄鱼个体最多具有其中 3 个标记,具有 4 个标记中任意 1、2、3 个的平均体质量分别为 531.4 g、590.8 g 和 689.0 g,当具有其中 2 个以上标记时,体质量显著大于群体中雄鱼的平均体质量($P<0.05$)。具有这 4 个标记中任意 1、2、3 个的雌鱼平均体质量分别为 353.8 g、382.9 g 和 444.0 g,都大于群体中的雌鱼平均体质量,表明以体质量为选育目标时,用与雄鱼体质量相关性强的 4 个标记进行选育时,雌、雄鱼的体质量都随着标记数的增加而增大。因此位点 *GM041*、*UNH860*、*GM304* 的 AA 基因型和位点 *GM519* 的 DE 基因型都有可能作为以体质量为选育目标的辅助标记。

与体质量相关的位点 *UNH860* 和 *GM304* 上的 AA 基因型在雌、雄鱼中体质量都为最大,具有其中一个标记的雌、雄鱼平均体质量分别为 364.5 g($n=38$) 和 550.9 g($n=32$),都大于群体中的雌、雄鱼的平均体质量;同时具有这 2 个标记的雌、雄鱼平均体质量分别为 495.0 g($n=3$) 和 660.0 g($n=5$),雌鱼极显著大于群体中的雌平均体质量($P<0.01$),雄鱼显著大于群体中的雄鱼平均体质量($P<0.05$),因此这 2 个位点的 AA 基因型有望作为以体质量为选育目标的首选辅助标记。如果体质量、体形同时考虑,以与体质量大相关的位点 *UNH860*、*GM304* 和与体形宽相关的位点 *UNH952* 上的 AA 基因型(该位点 AA 基因型雄鱼个体的平均体质量在所有基因型中为第二)为标记,具有位点 *UNH860* 和 *GM304* 上 AA 基因型中任意一个标记,又具有位点 *UNH952* 上 AA 基因型的雌鱼($n=11$)平均体质量、体高/体长比值分别为 371.3 g、

0.371 9,雄鱼($n=8$)平均体质量、体高/体长比值分别为 586.3 g、0.404 7,都大于群体中的雌、雄鱼的平均体质量、体高/体长比值。同时具有 3 个标记的个体只在雄鱼中出现($n=3$),平均体质量和体高/体长值分别为 708.3 g、0.413 6,平均体质量极显著大于群体中雄鱼的平均体质量($P<0.01$)。因此位点 *UNH860*、*GM304* 和 *UNH952* 上的 AA 基因型有可能作为吉富罗非鱼体质量、体形的辅助选育标记。

3 讨论

3.1 等位基因与遗传多样性

根据微卫星选择标准,等位基因数大于 4 个,才能较好地用于群体遗传多样性的评估^[22]。本实验中有 7 个位点等位基因少于 3 个,其他有 23 个位点都可较好地评估吉富罗非群体遗传多样性。多态性信息含量(PIC)是衡量一个遗传标记所包含的或能提供的遗传信息容量的较好指标,根据 Botstein 等^[20]提出的衡量多态性信息含量变异高低程度指标,本实验 28 个多态位点中,有 6 个位点为中度多态位点($0.25<PIC<0.5$),其他 22 个位点都为高度多态位点($PIC>0.5$),28 个多态位点平均多态性信息含量大于 0.5,表明这些位点反应的多态信息含量大。群体杂合度(H)是度量群体遗传变异的参数之一^[23],本实验的 28 个多态位点杂合度在 0.306 4~0.753 1,平均杂合度为 0.632 2,显示出较高的多态性。本研究中吉富罗非群体多态性信息含量大、杂合度高,说明基因型一致性差,遗传多样性丰富,选择潜力大。何杰等^[24]对这 60 个家系吉富罗非鱼群体内的形态差异与分化研究也表明该群体具有较大的遗传变异。因此,本批吉富罗非群体既有选育的必要,也有较好的选育基础。现代育种中需要保持选育群体具有一定的遗传多样性,并运用系谱信息,使近亲繁殖控制在可接受的范围内^[25]。本实验结果表明,应用家系选育路线可以较好的做到这一点。

3.2 选育标记的确定

生长速度是大多数水产品种选育中最重要的性状^[26],本研究的吉富罗非群体为 1 冬龄的成鱼,体质

表 2 6 个微卫星位点不同基因型体质量、体形的多重比较
 Tab. 2 Multicomparison on body weight and body shape of different genotypes in 6 microsatellite loci

微卫星位点 Locus	基因型 Genotype	♀			♂		
		<i>n</i>	体质量 /g Body weight	体高 / 体长 Height/Length	<i>n</i>	体质量 /g Body weight	体高 / 体长 Height/Length
GM041	AA	7	402.3 ^b	0.3703	14	614.2 ^b	0.3995
	AB	6	244.3 ^a	0.3670	5	511.8 ^{ab}	0.3939
	AD	26	344.8 ^b	0.3668	20	450.4 ^a	0.4012
	BB	8	372.4 ^b	0.3641	9	530.6 ^{ab}	0.3689
	BC	19	363.3 ^b	0.3713	15	542.9 ^{ab}	0.3975
	BD	24	357.1 ^b	0.3671	19	466.7 ^{ab}	0.3717
	DD	10	361.8 ^b	0.3670	5	562.6 ^{ab}	0.3898
UNH860	AA	35	372.3	0.3723	37	567.5 ^b	0.3921
	AB	26	364.2	0.3730	28	474.3 ^a	0.3763
	AC	40	339.6	0.3611	23	475.9 ^a	0.4018
GM542	AA	21	373.5 ^{ab}	0.3708	19	494.8	0.3822
	AB	11	371.5 ^{ab}	0.3411	6	523.5	0.3976
	AC	27	358.6 ^{ab}	0.3686	20	528.5	0.3882
	AD	13	315.7 ^a	0.3733	14	496.7	0.3919
	BD	11	285.8 ^a	0.3715	8	461.5	0.4021
	CC	10	389.2 ^{ab}	0.3709	20	539.1	0.3820
	CD	5	432.8 ^b	0.3758	3	439.7	0.4016
UNH952	AA	23	361.3	0.3722	21	547.8	0.4033b
	AB	12	330.0	0.3598	17	567.8	0.3936ab
	AC	4	345.8	0.3792	7	429.1	0.3716ab
	AD	20	369.2	0.3709	14	514.0	0.3904ab
	AE	17	379.9	0.3717	12	491.0	0.3562a
	BB	6	368.7	0.3754	—	—	—
	BD	9	313.8	0.3659	10	476.6	0.3955b
	CD	6	312.5	0.3720	3	410.7	0.3765ab
	DD	5	368.2	0.3229	6	467.5	0.4098b
GM519	AA	3	282.7	0.3601	1	—	—
	AC	5	382.2	0.3792	9	578.5 ^{ab}	0.4115
	AE	15	392.8	0.3482	26	479.8 ^a	0.3880
	AF	2	244.5	0.3892	7	469.4 ^a	0.3838
	CC	8	363.1	0.3649	8	586.1 ^{ab}	0.3649
	CE	15	350.3	0.3808	4	583.3 ^{ab}	0.4068
	DD	5	368.4	0.3776	2	439.0	0.4038
	DE	27	345.3	0.3700	4	685.0 ^b	0.3942
	EE	21	371.8	0.3668	19	485.8 ^a	0.3890
FF	1	—	—	8	441.6 ^a	0.3915	
GM304	AA	9	422.0 ^b	0.3721	7	626.0 ^b	0.4051
	AB	27	375.9 ^{ab}	0.3716	26	495.7 ^{ab}	0.3808
	AD	15	349.4 ^{ab}	0.3676	22	514.8 ^{ab}	0.3836
	BB	10	357.6 ^{ab}	0.3725	13	466.6 ^a	0.3990
	BC	21	343.9 ^{ab}	0.3573	8	438.5 ^a	0.3843
	DD	18	306.8 ^a	0.3679	12	545.3 ^{ab}	0.4001

注: 同列数据上标不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$); “—” 表示样本数少于 3 的基因型, 未进行分析。

Note: Data in the same column with different superscripts means significant difference ($P < 0.05$). “—” means genotype with sample number less than 3 was not analyzed.

表3 标记数与体质量
Tab. 3 Number of marker and body weight

标记富集数 Number of markers	♀		♂	
	<i>n</i>	体质量 /g Body weight	<i>n</i>	体质量 /g Body weight
1	37	353.8 ± 82.1286	27	531.4 ± 111.1804
2	19	382.9 ± 99.1354	12	590.8 ± 128.2532
3	1	444.0	4	689.0 ± 107.8394

量大也反映了生长速度快。Marc 等^[27]研究还发现,体质量与罗非鱼的出肉率及鱼肉片质量最相关,其次是体宽,而且出肉率及鱼肉片质量是影响罗非鱼加工产量的重要因素,因此体质量大、体形宽(体高/体长比值大)是罗非鱼选育 2 个最重要的指标。由于雌、雄吉富罗非鱼体质量、体形差异极显著,并且有些基因型在雌鱼、雄鱼中分布不平衡,有些只在雌鱼或雄鱼中出现,因此本实验将雌、雄鱼分别进行分析有助于增加标记筛选的准确性。本研究在雌、雄鱼中分别找到 3 个和 4 个与体质量相关的微卫星标记,只在雄鱼中找到 1 个与体形相关的微卫星标记。雄鱼中的与体质量、体形相关的标记多于雌鱼,这种在雌、雄鱼中不平衡现象在孙效文等研究镜鲤 2 个繁殖群体几种性状的基因型中也出现,认为这可能与选育方式有关^[28]。由于吉富罗非鱼雄鱼比雌鱼生长速度快,生产中也多以单性化(雄性)方式养殖罗非鱼,选育时主要以雄鱼体质量、体形来进行选择。可能由于雄鱼选择压力相对较大,因而在雄性群体中富集了比雌鱼更多的与体质量、体形连锁的基因型。

在本实验中,与雌、雄鱼体质量、体形相关的位点或基因型往往不一致。如在位点 *GM542*,雌鱼 *CD* 基因型的体质量最大,但雄鱼中的 *CD* 基因型的体质量却最小,这对体质量性状的标记辅助选育很不利,增加了微卫星标记选留的难度。在所找到的标记中,只有位点 *UNH860* 和 *GM304* 的 *AA* 基因型在雌、雄鱼中体质量都为最大,这种雌、雄鱼中位点、基因型和性状都一致的标记,可认为是比较理想的辅助选育标记。体质量性状为多个基因控制的性状^[29],本实验中也发现多个与体质量可能存在连锁关系的微卫星位点,在微卫星标记辅助选择或选育时,应同

时考虑多个位点的关联效应。从本实验得到的与体质量相关标记数和体质量的分析结果表明,随着与体质量相关度高的标记数越多,体质量就越大,生长优势越明显。标记辅助选择有增加遗传获得量的潜力,运用标记辅助选择,遗传获得量在选育的第一代比传统选育高出 15%,在第二代高出 68%^[30]。因此,在筛选亲本时,应选留那些具有尽量多的与体质量或体形相关标记的个体作为亲本,繁殖后代,并建立家系,使后代遗传获得量最大化,富集更多有与体质量、生长速度相关的有利基因,最终达到快速选育出体质量大、生长快、体形好的新品系。目前,国内外已有很多有关鱼类重要经济性状基因连锁分析或 QTL 定位的报道,但标记辅助选择运用于水产育种中尚未见报道^[26],本研究所获得的与体质量、体形相关标记能否在标记辅助选择实践中得到应用,也仍需进一步研究和验证。

参考文献:

- [1] 吴湘生. 2006 年中国罗非鱼市场形势分析[J]. 北京水产, 2006(2): 20-22.
- [2] Eknath A E, Tayamen M M, Palada-de Vera M S, et al. Genetic improvement of farmed tilapias: the growth performance of eight strains of *Oreochromis niloticus* tested in different farm environments [J]. Aquaculture, 1993, 111: 171-188.
- [3] 李思发, 李晨虹, 李家乐, 等. 尼罗罗非鱼五品系生长性能评估[J]. 水产学报, 1998, 22(4): 314-321.
- [4] 李思发, 李晨虹, 李家乐, 等. 尼罗罗非鱼选育三代效果评价[J]. 上海水产大学学报, 2001, 10(4): 289-292.
- [5] 李思发, 蔡完其. “新吉富”罗非鱼品种特点和养成技术要点[J]. 科学养鱼, 2008(5): 21-22.
- [6] 董在杰, 何杰, 朱健, 等. 60 个家系吉富品系罗非鱼初期阶段的生

- 长比较[J]. 淡水渔业, 2008, 38 (3): 32-34.
- [7] 方宣钧, 吴为人, 唐纪良, 等. 作物 DNA 标记辅助育种 [M]. 北京: 科学出版社, 2000: 63-92.
- [8] Lande R, Thompson R. Efficacy of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits [J]. *Genetics*, 1990, 124: 743-756.
- [9] Meuwissen T H E, Van Arendonk J A M. Potential improvements in rate of genetic gain from marker-assisted selection in dairy cattle breeding schemes [J]. *J Dairy Sci*, 1992, 75: 1 651-1 659
- [10] 张天时, 刘萍, 李健, 等. 用微卫星 DNA 技术对中国对虾人工选育群体遗传多样性的研究 [J]. *水产学报*, 2005, 29 (1): 6-12.
- [11] Ovilo C, Perez-Enciso M, Barragan C, et al. A QTL for intramuscular fat and backfat thickness is located on porcine chromosome 6 [J]. *Mamm Genome*, 2000, 11: 344-346.
- [12] 孙桂荣, 田亚东, 康相涛, 等. 微卫星标记与商品代固始鸡体型参数和屠体性状的关联性分析 [J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2007, 35 (8): 49-54.
- [13] 邵根宝, 贾超, 赵茹茜, 等. 猪 13 号染色体部分微卫星标记与肉质性状关系的研究 [J]. *遗传学报*, 2005, 32 (5): 476-480.
- [14] Cnaani A, Hallerman E M, Ron M, et al. Detection of a chromosomal region with two quantitative trait loci, affecting cold tolerance and fish size, in an F₂ tilapia hybrid [J]. *Aquaculture*, 2003, 223: 117-128.
- [15] Rodriguez M F, LaPatra S, Williams S, et al. Genetic markers associated with resistance to infectious hematopoietic necrosis in rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) backcrosses [J]. *Aquaculture*, 2004, 241: 93-115.
- [16] O'malley K G, Sakamoto T, Danzmann R G. Quantitative trait loci for spawning date and body weight in rainbow trout: testing for conserved effects across ancestrally duplicated chromosomes [J]. *J Hered*, 2003, 94: 273-284.
- [17] 萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 D W. 黄培堂, 王嘉玺, 朱厚础, 等译. 分子克隆试验指南: 第 3 版 [M]. 北京: 科学出版社, 2002: 463-471.
- [18] Kocher T D, Lee W J, Sobolewska H, et al. A genetic Linkage Map of Cichid Fish, the Tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Genetics*, 1998, 148: 1 225-1 232.
- [19] 王吉振, 王爱国, 储明星, 等. 二核酸微卫星 PCR 扩增的影子带及来源 [J]. *畜牧兽医学报*, 2007, 38 (3): 241-246.
- [20] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism [J]. *Amer J Human Gen*, 1980, 32: 314-331.
- [21] Nei M, Roychoudhury A K. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance [J]. *Genetics*, 1974, 76: 379-390.
- [22] Barker J S F. A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds [A]. In: *Proceeding of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. Canada: Guelph, Ontario, 1994, 21: 501-508.
- [23] Nei M, Maruyama T, Chakraborty R. The bottleneck effect and genetic variability in populations [J]. *Evolution*, 1975, 29: 1-10.
- [24] 何杰, 徐跑, 董在杰, 等. 吉富品系尼罗罗非鱼 (GIFT) 群体内的形态差异与分化 [J]. *中国水产科学*, 2009, 16 (1): 54-60.
- [25] Meuwissen T H E. Maximizing the response of selection with predefined rate of inbreeding [J]. *J Anim Sci*, 1997, 75: 934-940.
- [26] Guimarães E P, Ruane J, Scherf B D et al. Marker-assisted selection, current status, and future perspectives in crops, livestock, forestry, and fish [M]. *FAO Rome*, 2007: 307-362.
- [27] Marc J M Rutten, Henk Bovenhuis, Hans Komen. Genetic parameters for fillet traits and body measurements in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) [J]. *Aquaculture*, 2005, 246: 125-132.
- [28] 孙效文, 鲁翠云, 匡友谊, 等. 镜鲤两个繁殖群体的遗传结构和几种性状的基因型分析 [J]. *水产学报*, 2007, 31 (3): 273-279.
- [29] Reed DR, Lawler MP, Tordoff MG. Reduced body weight is a common effect of gene knockout in mice [J]. *BMC Genet*, 2008, 9: 4.
- [30] Sonesson A K. Within-family marker-assisted selection for aquaculture species [J]. *Genet Sel Evol*, 2007, 39: 301-317.

Association analysis of microsatellite DNA markers with body weight and body shape in GIFT

LI Jian-lin¹, TANG Yong-kai¹, CHEN Wen-hua², YU Ju-hua¹, DONG Zai-jie¹, XU Pao¹

(1.Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences; Key Laboratory of Genetic Breeding and Aquaculture Biology of Freshwater Fishes, Ministry of Agriculture, Wuxi 214081, China; 2.Shanghai Ocean University, Shanghai 200090, China)

Abstract: In this study, 30 microsatellite loci were chosen randomly from different linkage groups according to the microsatellite genetic map of tilapia, and its polymorphisms and association of the DNA markers with body weight and body shape were researched in 192 GIFT (genetically improved farmed Tilapia) distributed in different families. The results showed that a total of 126 alleles were found through 30 loci, and the DNA fragment length of these alleles ranged from 124–310 bp. The number of alleles per locus was 1–7, with an average of 4.2, the polymorphism information content (PIC) was 0.259 4–0.716 7, with an average of 0.580 8, while the heterozygosity (H) was 0.306 4–0.753 1, with an average of 0.632 2. The data above indicated that the genetic diversity of the GIFT population was in high level. The least-square method was used to analyse the microsatellite markers associated with the traits of body weight and body shape. The results suggested that *GM041*, *GM542* and *GM304* in female, *GM041*, *UNH860*, *GM519* and *GM304* in male were associated with body weight, and *UNH952* in male was associated with body shape. Genotype AA of *GM041*, *UNH860*, *GM304* and genotype DE of *UNH519* might be regarded as the candidate-marker for body weight trait, among which genotype AA of *UNH860* and *GM304* were expected to be the preferred marker. The results also showed that the more body associated markers, the larger body weight in GIFT. [Journal of Fishery Sciences of China, 2009, 16 (6): 824–832]

Key words: GIFT; microsatellite; genetic diversity; body weight; body shape; association analysis

Corresponding author: YU Ju-hua. E-mail: yujh@ffrc.cn