

青鱼生长QTL紧密连锁分子标记与生长性状的关联分析

杨琳 郭加民 王元浩 周思扬 李家乐 徐晓雁 沈玉帮

CORRELATION ANALYSIS OF GROWTH QTL TIGHTLY LINKAGE MOLECULAR MARKERS AND GROWTH TRAITS IN BLACK CARP (*MYLOPHARYNGODON PICEUS*)

YANG Lin, GUO Jia-Min, WANG Yuan-Hao, ZHOU Si-Yang, LI Jia-Le, XU Xiao-Yan, SHEN Yu-Bang

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7541/2024.2023.0414>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

鲢EST-SSR标记的开发及其与生长性状关联性分析

DEVELOPMENT OF EST-SSR MARKERS AND ANALYSIS OF GROWTH TRAIT IN SILVER CARP

水生生物学报. 2020, 44(3): 494–500 <https://doi.org/10.7541/2020.060>

泥鲢G2代快速生长家系遗传结构的微卫星分析及其与生长性状的关联

MICROSATELLITE ANALYSIS OF GENETIC VARIATION IN THE FAST GROWTH FAMILIES OF THE 2nd GENERATION OF *TEGILLARCA GRANOSA* AND CORRELATION WITH GROWTH TRAITS

水生生物学报. 2018, 42(4): 681–689 <https://doi.org/10.7541/2018.084>

中华鳖*GHRL*基因SNPs的筛选及生长性状的关联分析

SNPS DETECTION OF *GHRL* GENE AND ITS ASSOCIATION WITH GROWTH TRAITS OF CHINESE SOFT-SHELL TURTLE (*PELODISCUS SINENSIS*)

水生生物学报. 2018, 42(2): 307–312 <https://doi.org/10.7541/2018.039>

不同养殖密度下鱼粉水平对青鱼幼鱼生长及免疫的影响

EFFECTS OF FISH MEAL LEVELS ON GROWTH AND IMMUNITY OF BLACK CARP (*MYLOPHARYNGODON PICEUS*) IN DIFFERENT CULTURE DENSITIES

水生生物学报. 2020, 44(1): 75–84 <https://doi.org/10.7541/2020.010>

嗜水气单胞菌感染青鱼肝脏的蛋白质组学分析

QUANTITATIVE PROTEOMICS ANALYSIS OF LIVER OF BLACK CARP *MYLOPHARYNGODON PICEUS* UNDER *AEROMONAS HYDROPHILA* INFECTION

水生生物学报. 2019, 43(2): 330–339 <https://doi.org/10.7541/2019.041>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

doi: 10.7541/2024.2023.0414

青鱼生长QTL紧密连锁分子标记与生长性状的关联分析

杨琳¹ 郭加民¹ 王元浩¹ 周思扬¹ 李家乐^{1,2} 徐晓雁^{1,2} 沈玉帮^{1,2}

(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)

摘要: 研究对前期建立的青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)家系高密度遗传连锁图谱及体长QTL的定位结果进行深入分析, 在10号连锁群上识别到与体长相关的QTL区域, 存在2个与体长强烈相关的紧密连锁SNP位点。研究利用特异性标记判定青鱼遗传性别, 对SNP位点侧翼序列PCR扩增子进行sanger测序。得到准确的SNP位点基因型信息后, 研究对紧密连锁SNP位点不同基因型与邗江青鱼群体生长性状进行了细致的关联分析。结果表明, 在563尾邗江青鱼群体中, 雌鱼290尾, 雄鱼273尾, 雌雄比约为1.06:1。遗传分析显示, SNP₇₉₅₇G>C和SNP₉₈₀₂T>A有效等位基因数(N_e)分别为1.754和1.399, 观测杂合度(H_o)分别为0.384和0.266, 期望杂合度(H_e)分别为0.430和0.285, 多态信息含量分别(PIC)为0.508和0.378。相比雄鱼, 雌鱼生长速度更快, 但是变异系数更高, 说明雌鱼生长性状离散程度更大。SNP₇₉₅₇G>C和SNP₉₈₀₂T>A不同基因型在群体体长性状中存在显著差异。SNP₇₉₅₇G>C位点的GG基因型在雄鱼体长性状中具有显著优势($P<0.05$), SNP₇₉₅₇G>C和SNP₉₈₀₂T>A单标记其他基因型与生长性状之间存在差异, 但未达到统计学差异。在SNP位点不同基因型构建的二倍型中, 雌雄个体表现出一定的生长差异, D8(GGTA)在生长方面具有显著优势($P<0.05$), 具有一定育种价值。研究结果可为选育快速生长青鱼新品种提供分子标记, 为未来青鱼遗传改良和分子标记辅助育种策略提供科学依据。

关键词: SNP; 生长性状; 关联分析; 青鱼

中图分类号: S961.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2024)08-1358-07



青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)属鲤形目、鲤科、青鱼属。青鱼主要分布于我国长江流域, 2019年起青鱼养殖产量逐年上升, 2022年青鱼养殖产量达74.8万吨^[1]。青鱼易饲养, 个体大, 是重要的蛋白质来源, 经济价值高。近几十年来, 人类活动使天然水域中青鱼资源衰退, 以及繁殖生产中管理不当使青鱼种质退化, 制约我国原良种开发和管理工作的推进^[2, 3]。传统选育方法主要是杂交、家系或群体选育, 耗时长, 成本高^[4]。虽然我国青鱼养殖历史悠久, 产量也颇丰, 但是还未有青鱼新品种。青鱼的遗传分子机制方面的研究较少。分子标记辅助选择育种(MAS)是一种有效选育新品种的现代生物技术, 利用遗传分子标记, 寻找与优异生长表型性状相关联的基因型, 从而精准繁育含有优势基因

型的青鱼子代, 改良青鱼种质资源。研究人员曾通过磁珠富集法构建青鱼微卫星文库, 开发多态性较好的微卫星标记^[5], 利用微卫星分子标记分析长江水系野生群体和养殖群体的遗传多样性和遗传结构^[6, 7]。

通常生长是由多个基因座控制的数量性状(Quantitative trait loci, QTL), 效应较大的称为主效QTL, 效应较小的称为微效QTL^[8]。QTL分析能够定位与数量性状相关的基因组区间, 筛选紧密连锁的遗传分子标记^[9]。通过分析紧密连锁分子标记的准确性和可靠性, 筛选分子标记的优势基因型, 通过分子标记辅助育种技术在生产实践中改良水产养殖动物的生长性能。遗传分子标记在水产动物优良品种的研究和创制实践中发挥着至关重要的

收稿日期: 2023-12-17; 修订日期: 2024-03-05

基金项目: 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-45)资助 [Supported by the China Agriculture Research System (CARS-45)]

作者简介: 杨琳(1998—), 女, 硕士研究生; 研究方向为青鱼遗传育种与苗种工程。E-mail: yanglin11y@126.com

通信作者: 沈玉帮(1981—), 副教授; E-mail: ybshen@shou.edu.cn

作用。随着二代标记微卫星的发展,又开发了第三代分子标记单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP),具有双等位共显性,在基因组中丰度高、分布广,遗传稳定,广泛应用于分子标记辅助育种中^[10,11]。目前有学者利用连锁的二代标记微卫星(Simple sequence repeat, SSR)与草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)生长性状进行关联分析^[12],还有许多学者研究了连锁SNP与刺参(*Apostichopus japonicus*)^[13]、大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)^[14]、脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)、马氏珠母贝(*Pinctada martensii*)^[15]等水产动物生长性状的关联分析。Guo等^[16,17]基于简化基因组测序技术(Genotyping by sequencing, GBS)开发大量SNP,在LG10、LG17和LG20这3个连锁群(Linkage Group, LG)上定位到17个与体重、体长、体高和体宽生长相关的QTL,并且将体重QTL上紧密连锁的SNP与不同地理青鱼群体的生长性状进行了关联分析。

基于前期研究,从LG10筛选到2个与体长QTL紧密连锁的SNP位点(位点间遗传距离为0.192 cM)^[16],以563尾邗江青鱼群体为实验材料,开展SNP不同基因型与体重和体长性状的关联分析,为创制高生长性能的青鱼新品种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验材料的亲本为2021年从江苏广陵长江水系家鱼原种场邗江水域收集的青鱼原种,严格挑选健康、肥满和成熟度较好的38尾雌鱼和13尾雄鱼(7龄)。同年5月于苏州市申航生态科技发展股份有限公司开展人工繁育,卵子和精子分别混合后受精。在受精卵孵化后,待鱼苗正常平游,转移至上海海洋大学滨海养殖实验基地1.5 m深的土塘中,养殖密度为1000尾/667 m²。2022年11月,在池塘中从1500尾青鱼中随机选取563尾青鱼,使用毫米刻度尺(精度为0.1 mm)和电子秤(精度为0.01 g)测量每尾青鱼的体重和体长,剪取鳍条组织放置于无水乙醇中,-20℃保存备用。

1.2 实验方法

DNA提取 参照Yue等^[18]的方法用96孔过滤板批量抽提青鱼鳍条中的DNA。使用1%琼脂糖凝胶电泳评估DNA的完整性,利用分光光度计NanoDrop 2000检测浓度。将达到实验要求的DNA样本,密封并储藏于-20℃冰箱,便于后续实验开展。

性别鉴定 由于青鱼在性成熟之前,难以从外表分辨雌雄,于是本研究采用实验室开发的青鱼

雌雄特异性引物(F: 5'-FAM-TTACGAGCGCATCTGAAAAA-3'; R: 5'-AGAGCATCTGAAAGGGCAA G-3'),正向引物5'端处添加FAM荧光基团。扩增产物的雄鱼信号峰为152/168 bp,雌鱼信号峰为168 bp(在后续分型结果中,若152和168 bp两处同时有峰信号,则为雄性;若仅168 bp处出现峰信号时,则为雌性)^[19]。以563尾青鱼的DNA为模板进行PCR扩增,扩增体系:12.5 μL Taq PCR反应预混试剂(2×),2 μL模板DNA,上下游引物(浓度10 μmol/L)各1 μL,加ddH₂O至25 μL。反应程序:94℃ 2min; 94℃ 30s,退火温度30s,72℃ 30s,35次循环;72℃ 10min。扩增产物使用ABI3730XL全自动DNA测序仪检测,选用LIZ500作为内标。

体长连锁SNP标记序列调取、引物设计及PCR扩增 Guo等^[16]前期发现标记SNP₇₉₅₇和SNP₉₈₀₂与青鱼体长性状紧密连锁。首先获取这2个SNP位点在基因组(尚未发表)中的位置,然后用BEDTools软件^[20]截取SNP位点前后500 bp,使用Primer Premier 5软件设计引物(表1),扩增产物片段包含SNP位点。对563尾青鱼DNA进行这2个特异SNP位点的PCR扩增,扩增反应体系和反应程序同前。使用1%琼脂糖凝胶电泳检查扩增产物大小,进行Sanger测序。

表1 SNP分子标记的引物信息

Tab. 1 Primer sequences of SNP molecular markers

标记名称 Marker name	引物序列 Primer sequence (5'—3')	退火 温度 T_m (°C)	产物 大小 Size (bp)
SNP ₇₉₅₇	TCATAGCCTTCCCTGC	56	221
	CTCTGTCGTTCTTATTTACTC		
SNP ₉₈₀₂	ACTGGTTTGATTTGGGAC	54	409
	GGCAACAGACAAGTGACC		

数据分析 利用Excel汇总表型性状(体长、体重和性别)。利用GeneMapper 4.0进行处理性别特异性标记PCR扩增产物测序序列,鉴定性别。利用Sequencher 5.4.5对Sanger测序结果进行多序列比对,根据峰图判断位点基因型。利用SPSS 25软件计算性状相关系数(Pearson相关系数)、平均值、标准差、变异系数,进行SNP不同基因型与体重和体长的相关性分析,差异显著性水平设置为0.05。利用GenAlEx 6.5软件^[21]计算邗江青鱼群体遗传多样性参数,包括观测杂合度(Observed heterozygosity, H_o)、期望杂合度(Expected heterozygosity, H_e)、有效等位基因数(Effective number of alleles, N_e),并对SNP位点进行哈迪-温伯格平衡(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE)检验。利用PIC_CALC软件计算

SNP位点的多态信息含量(Polymorphic information content, PIC)。

2 结果

2.1 SNP位点遗传多样性分析

青鱼生长QTL紧密连锁SNP标记的遗传多样性参数见表2。有效等位基因数(N_e)为1.754和1.399, 观测杂合度(H_o)为0.384和0.266, 期望杂合度(H_e)为0.430和0.285, 多态信息含量(PIC)为0.508和0.378, SNP₇₉₅₇G>C偏离哈迪-温伯格平衡($P<0.05$), SNP₉₈₀₂T>A处于哈迪-温伯格平衡。

2.2 性别鉴定及生长数据

通过遗传性别标记片段扩增序列的基因分型, 信号峰出现向左滑动的现象, 对所有数据进行判读, 结果表明雌鱼290尾, 雄鱼273尾, 雌雄比例为1.06:1(图1)。邗江青鱼群体的体长与体重极显著相关($P<0.01$), Pearson相关系数为0.888, 表明性状之间紧密相关。群体的体重平均值为(646.79±322.35) g,

体长平均值为(32.71±4.36) cm。雌雄体重平均值分别为(677.26±372.71)和(614.41±255.83) g; 雌雄体长平均值为(33.26±4.54) 和(32.12±4.09) cm。雌雄体重变异系数分别为55.03%和41.64%, 雌雄体长变异系数分别为13.65%和12.73%(表3)。

2.3 体长连锁SNPs的基因型分析

SNP₇₉₅₇和SNP₉₈₀₂的突变方式均为颠换(图2)。其中SNP₇₉₅₇位点GG 279个, GC 216个和CC 68个, 等位基因G的检出频率为0.69, C为0.31; 同样地, SNP₉₈₀₂位点也检测出3种基因型, 分别为TT 391个, TA 150个和AA 22个, 等位基因T的检出频率为0.83, A为0.17(表4)。

2.4 不同基因型与生长性状的关联分析

SNP₇₉₅₇G>C和SNP₉₈₀₂T>A与邗江青鱼群体体重和体长进行关联分析见表5。SNP₇₉₅₇G>C位点的GG基因型个体的体重大于GC和CC基因型个体, 但无显著差异; GG基因型个体的体长显著大于CC基因型个体($P<0.05$)。SNP₉₈₀₂T>A位点的TA基因型个体的体重大于TT和TA基因型个体, 但无显著差异; TA基因型个体的体长显著大于TT和AA基因型个体($P<0.05$)。

不同性别个体中2个SNP位点与生长性状的关联分析见表6。雌鱼SNP₇₉₅₇位点的GC基因型个体的生长速率快于CC和GG基因型个体, 但三者无显著差异; 雄鱼同位点3种基因型在体重和体长性状中具有相同的趋势, CC<CG<GG, CC基因型个体体

表2 邗江青鱼群体中2个SNP位点的遗传参数

Tab. 2 Genetic parameters of 2 SNP loci in Hanjiang population of black carp

SNP 位点 SNP locus	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 信息量 PIC	Hardy- Weinberg 平衡 P_{HW}
SNP ₇₉₅₇ G>C	1.754	0.384	0.430	0.508	0.011
SNP ₉₈₀₂ T>A	1.399	0.266	0.285	0.378	0.118

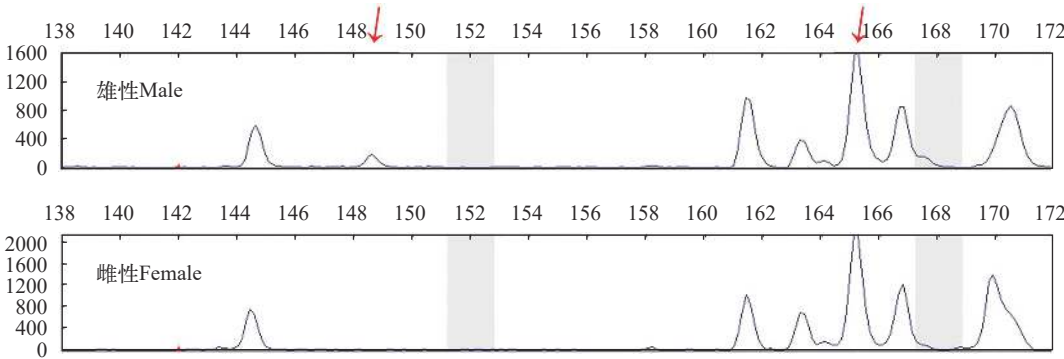


图1 遗传性别分子标记基因分型结果
Fig. 1 The genotyping results of genetic sex markers

表3 邗江青鱼群体生长表型数据

Tab. 3 Phenotypic data in Hanjiang population of black carp

性状 Trait	极小值 Minimum		极大值 Maximum		均值 Mean±SD			变异系数 Coefficient of variation		
	雌	雄	雌	雄	群体 Population	雌	雄	群体 Population	雌	雄
	Female	Male	Female	Male		Female	Male		Female	Male
体重 Body weight (g)	73.20	101.60	4250.00	3015.00	646.79±322.35	677.26±372.71	614.41±255.83	49.84%	55.03%	41.64%
体长 Body length (cm)	23.40	21.10	61.20	56.30	32.71±4.36	33.26±4.54	32.12±4.09	13.31%	13.65%	12.73%

长显著小于GG基因型个体($P<0.05$)。雌鱼SNP₉₈₀₂T>A位点的TA基因型个体生长速率最快,但三者无显著差异。雄鱼3种基因型在体重和体长性状中具有相同的趋势,TT<AA<TA,但未达到统计学差异。

将SNP₇₉₅₇G>C和SNP₉₈₀₂T>A位点不同基因型组合分析显示,D1—D9的基因型与生长性状进行关联性分析见表7。

二倍型D8 (GGTA) 个体生长速率显著快于其他二倍型个体,D8 (GGTA)个体体重显著大于D1 (CCTT)、D5 (GCTA)、D6 (GCAA)、D7 (GGTT) 个体;D8 (GGTA)个体的体长显著长于D1 (CCTT)、D7 (GGTT)个体 ($P<0.05$)。

在雌鱼中,D8 (GGTA)生长速度较大,但未达到统计学差异($P>0.05$)。在雄鱼中,D8 (GGTA)和D1 (CCTT)之间体重差异显著($P<0.05$);D8 (GGTA)和

D1 (CCTT)、D4 (GCTT)、D6 (CGAA)之间体长差异显著($P<0.05$)。

3 讨论

遗传多样性和种群内进化、环境因素紧密相连,可以衡量种群遗传变异的程度。SNP₇₉₅₇G>C和SNP₉₈₀₂T>A有效等位基因数(N_e)分别为1.754和1.399,观测杂合度(H_o)分别为0.384和0.266,期望杂合度(H_e)分别为0.430和0.285。SNP₇₉₅₇G>C和SNP₉₈₀₂T>A位点观测杂合度低于期望杂合度,在郭加民等^[17]的研究中,邗江青鱼群体也是观测杂合度低于期望杂合度,说明邗江群体的杂合性较低,遗传信息较为一致。SNP₇₉₅₇G>C多态信息含量分别(PIC)为0.508,属于高度多态(PIC>0.50);529SNP₉₈₀₂T>A多态信息含量分别(PIC)为0.378,属于中度多态。2个SNP位点中,SNP₉₈₀₂T>A符合哈迪-温伯格平衡,说明SNP₉₈₀₂T>A位点在遗传过程中更稳定。而SNP₇₉₅₇G>C显著偏离哈迪-温伯格平衡($P<0.05$),可能与小群体中个体数量变化频繁和人工选择育种等因素有关。

生长性状是衡量鱼类群体生产性能的一个重要指标。本研究结果表明,青鱼体长和体重性状高

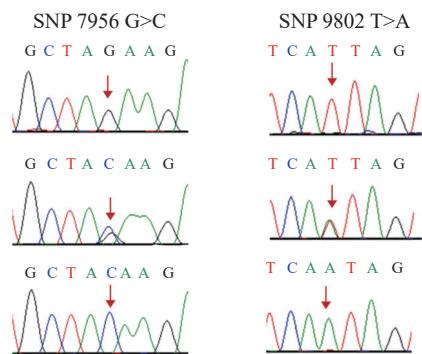


图2 SNP位点测序峰图

Fig. 2 The sequencing peak chart of SNPs site

表4 邗江青鱼群体的基因型及等位基因频率统计

Tab. 4 Genotype and allele frequency of SNP site in Hanjiang population of black carp

SNP位点 SNP site	基因型频率 Genotype frequency			等位基因频率 Allele frequency	
SNP ₇₉₅₇ G>C	GG	GC	CC	G	C
	0.50(279)	0.38(216)	0.12(68)	0.69	0.31
SNP ₉₈₀₂ T>A	TT	TA	AA	T	A
	0.69(391)	0.27(150)	0.04(22)	0.83	0.17

表5 SNP位点与体重和体长性状的关联分析(平均值±标准差)

Tab. 5 Association of SNPs with growth trait of Hanjiang population of black carps (mean±SD)

位点 Locus	基因型 Genotype	个体数/尾 Number	体重 Body weight (g)	体长 Body length (cm)
SNP ₇₉₅₇ G>C	GG	279	664.34±272.53	33.04±4.03 ^a
	GC	216	640.72±398.71	32.58±4.69 ^{ab}
	CC	68	594.01±225.02	31.75±4.45 ^b
SNP ₉₈₀₂ T>A	TT	391	633.43±348.52	32.45±4.43 ^b
	TA	150	685.57±248.36	33.37±3.96 ^a
	AA	22	619.78±278.45	32.87±5.27 ^{ab}

注: 同位点同列数据字母不同表示差异显著($P<0.05$); 下同
Note: Different letters in the same site and column show significant difference ($P<0.05$); the same applies below

表6 不同性别个体中2个SNP位点与生长性状的关联分析(平均值±标准差)

Tab. 6 Association of 2 SNP with growth trait in individuals of different sexes (mean±SD)

位点 Locus	基因型 Genotype	雌鱼Female			雄鱼Male		
		个体数/尾 Number	体重 Body weight (g)	体长 Body length (cm)	个体数/尾 Number	体重 Body weight (g)	体长 Body length (cm)
SNP ₇₉₅₇ G>C	GG	146	678.71±242.30	33.31±3.88	133	648.57±302.41	32.75±4.18 ^a
	GC	109	689.30±520.94	33.36±5.25	107	591.24±202.59	31.78±3.92 ^{ab}
	CC	35	633.72±256.73	32.72±4.77	33	551.88±180.09	30.73±3.89 ^b
SNP ₉₈₀₂ T>A	TT	197	666.67±411.08	33.06±4.57	194	596.60±270.26	31.83±4.21
	TA	81	714.33±286.07	33.74±4.48	69	651.81±191.68	32.94±3.22
	AA	12	600.98±157.98	33.38±4.39	10	642.34±386.49	32.26±6.35

表 7 SNP₇₉₅₇G>C和SNP₉₈₀₂T>A位点组成的二倍型和生长性状的关联分析(平均值±标准差)

Tab. 7 Analysis of Diplotypes of SNP₇₉₅₇G>C and SNP₉₈₀₂T>A with growth traits (mean±SD)

二倍型 Diplotypes	SNP 位点 SNP locus		体重 Body weight (g)			体长 Body length (cm)		
	SNP ₇₉₅₇	SNP ₉₈₀₂	群体	雌	雄	群体	雌	雄
			Population	Female	Male	Population	Female	Male
D1	CC	TT	583.56±	619.60±	551.88±	31.62±	32.63±	30.73±
			221.66 ^b (62)	259.70(29)	180.09 ^b (33)	4.38 ^b (62)	4.74(29)	3.89 ^b (33)
D2	CC	TA	677.58±	677.58±		32.66±	32.66±	
			274.28 ^{ab} (5)	274.27(5)	*(0)	5.86 ^{ab} (5)	5.86(5)	*(0)
D3	CC	AA	*(1)	*(1)	*(0)	*(1)	*(1)	*(0)
D4	GC	TT	659.98±	718.89±	594.82±	32.59±	33.37±	31.73±
			478.66 ^{ab} (139)	619.20(73)	231.37 ^{ab} (66)	5.24 ^b (139)	5.81(73)	4.41 ^b (66)
D5	GC	TA	622.74±	646.56±	602.65±	32.72±	33.29±	32.24±
			188.29 ^b (59)	223.24(27)	153.70 ^{ab} (32)	3.28 ^{ab} (59)	3.66(27)	2.89 ^{ab} (32)
D6	GC	AA	550.99±	577.54±	524.43±	32.01±	33.52±	30.49±
			130.34 ^b (18)	151.22(9)	107.93 ^{ab} (9)	4.29 ^{ab} (18)	4.88(9)	3.18 ^b (9)
D7	GG	TT	630.28±	640.91±	619.64±	32.61±	32.94±	32.27±
			257.20 ^b (190)	187.39(95)	312.51 ^{ab} (95)	3.74 ^b (190)	3.30(95)	4.14 ^{ab} (95)
D8	GG	TA	729.14±	755.42±	694.33±	33.86±	34.10±	33.55±
			275.20 ^a (86)	314.14(49)	212.24 ^a (37)	4.24 ^a (86)	4.80(49)	3.41 ^a (37)
D9	GG	AA	*(3)	*(2)	*(1)	*(3)	*(2)	*(1)

注: 括号内为个体数, 小于或等于3用*号表示

Note: Number of individuals is in parentheses, * indicates the number is less than or equal to 3

度正相关。苏玉红等^[22]对湘江、石首、邗江地理群体青鱼生长差异研究中发现, 3个地理群体青鱼体重和体长相关性较强($P<0.01$), 与本研究结果一致, 控制体长和体重的基因很可能紧密连锁。本研究中青鱼雌鱼生长速度快于雄鱼, 且雌鱼生长性状离散程度更大, 并且同一标记不同基因型中雌雄生长异速。在水产动物中普遍存在雌雄个体生长差异的现象, 如翘嘴鲌(*C. alburnus*)^[23]、南美白对虾(*Litopenaeus vannamei*)^[24]和半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)^[25]雌性个体比雄性生长速度快。Kocour等^[26]发现鲤(*Cyprinus carpio* L.)雌鱼生长速度比雄鱼快10%以上。樊佳佳等^[27]在池塘养殖草鱼雌雄生长研究中发现, 16月龄后的草鱼雌雄体重差异显著, 雌性个体生长更快, 与本研究结果相一致, 在未来的工作中可以探究青鱼雌雄个体生长速度的变化规律。

本研究中体长QTL上紧密连锁的SNP₇₉₅₇G>C和SNP₉₈₀₂T>A标记不同单倍型与群体的生长性状存在一定的差异, 尤其与群体的体长性状存在统计学差异($P<0.05$), 也验证了前期青鱼家系QTL分析得到SNP位点的准确性和可靠性。本研究中单标记在雌雄个体的体重和体长性状中发挥的作用不完全显著, 可能因为基于青鱼家系的QTL分析结果在其他养殖群体中存在差异。等位基因G为SNP₇₉₅₇G>C位点中的优势等位基因, 具有优势基因的基因型个体体重和体长平均值均高于其他基因型。SNP₇₉₅₇G>C的GG基因型为雄鱼体长性状的优势基因型, 纯合子在子代中稳定遗传, 具有重要

的应用价值。SNP₉₈₀₂T>A标记中杂合子为优势基因型。通常多个基因共同控制表型数量性状, 所以本研究还将SNP₇₉₅₇G>C和SNP₉₈₀₂T>A不同基因型两两组合成得到的二倍型与生长性状进行分析, 不同二倍型个体数明显不同且放大了生长性状的差异, 二倍型D8(GGTA)个体生长性状显著优于其他二倍型($P<0.05$), 为体重和体长的优势基因型组合。李胜杰等^[28]在大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)筛选的(CC—CCTT)二倍型个体生长性状最优异, 还有马氏珠母贝(*Pinctada ucata*)^[15]等水产动物中通过构建二倍型挑选优势基因型组合。在后续的人工选育中, 优势基因型组合具有很高的实际应用价值。

综上所述, 基于前期青鱼家系高密度遗传连锁图谱和QTL分析, 利用获得的紧密连锁候选SNP位点结合邗江青鱼群体生长性状进行关联分析, 验证与体长体重表型相关的SNP位点, 确定二倍型D8(GGTA)为生长性状优势基因型组合, 对青鱼分子标记辅助育种工作的开展提供理论和技术上的支持。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Fishery administration of Ministry of Agriculture and Rural Affairs. China Fishery Statistical Yearbook [R]. Beijing: China Agriculture Press, 2023: 21-25. [农业农村部渔业渔政管理局. 2023中国渔业统计年鉴 [R]. 北京: 中国农业出版社, 2023: 21-25.]
- [2] Liu S P, Duan X B, Chen D Q, *et al.* Studies on status of fishery resources in the middle reach of the Yangtze River

- [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, **29**(6): 708-711. [刘绍平, 段辛斌, 陈大庆, 等. 长江中游渔业资源现状研究 [J]. *水生生物学报*, 2005, **29**(6): 708-711.]
- [3] Liu Y J, Liu Y X, Fang H, *et al.* Advances and prospect in research on aquaculture germplasm resources in China [J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2015, **28**(5): 48-55. [刘英杰, 刘永新, 方辉, 等. 我国水产种质资源的研究现状与展望 [J]. *水产学杂志*, 2015, **28**(5): 48-55.]
- [4] Hu H L, Han F, Gui J F. Current situation and prospect of technological innovation in China's aquatic seed industry [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2023, **47**(1): 3-12. [胡红浪, 韩枫, 桂建芳. 中国水产种业技术创新现状与展望 [J]. *水产学报*, 2023, **47**(1): 3-12.]
- [5] Wang F, Zhang M, Shen Y B, *et al.* Development and characterization of microsatellite markers in black carp (*Mylopharyngodon piceus*) [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2019, **54**(1): 57-65. [王丰, 张猛, 沈玉帮, 等. 青鱼微卫星标记的开发与特性分析 [J]. *动物学杂志*, 2019, **54**(1): 57-65.]
- [6] Wang F, Zhang J H, Shen Y B, *et al.* Microsatellite analysis of genetic variation of wild and cultural populations in black carp *Mylopharyngodon piceus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, **43**(5): 939-944. [王丰, 张家华, 沈玉帮, 等. 青鱼野生与养殖群体遗传变异的微卫星分析 [J]. *水生生物学报*, 2019, **43**(5): 939-944.]
- [7] Zhou Y, Tong J, Wang J, *et al.* Development of microsatellite markers and genetic diversity in wild and cultured populations of black carp (*Mylopharyngodon piceus*) along the Yangtze River [J]. *Aquaculture International*, 2020, **28**(5): 1867-1882.
- [8] MacKay T F C, Stone E A, Ayroles J F. The genetics of quantitative traits: challenges and prospects [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2009, **10**(8): 565-577.
- [9] Zhu C, Liu H, Pan Z, *et al.* Construction of a high-density genetic linkage map and QTL mapping for growth traits in *Pseudobagrus ussuriensis* [J]. *Aquaculture*, 2019(511): 734213.
- [10] Yu Q, Li Y, Xing Q, *et al.* Identification of SNPs with different allele frequencies in China and Japan population of Pacific abalone (*Haliotis discus Hannai*) [J]. *Conservation Genetics Resources*, 2015, **7**(4): 837-840.
- [11] Vignal A, Milan D, SanCristobal M, *et al.* A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics [J]. *Genetics, Selection, Evolution*, 2002, **34**(3): 275-305.
- [12] Yu C C, Shen Y B, Xu X Y, *et al.* Verification of microsatellite markers associated with growth traits in selected populations of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, **45**(3): 321-332. [余成晨, 沈玉帮, 徐晓雁, 等. 草鱼生长相关的微卫星标记在选育群体中的验证 [J]. *水产学报*, 2021, **45**(3): 321-332.]
- [13] Liu A R, Liao M J, Li B, *et al.* Validation of SNPs associated with important economic traits of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2019, **40**(1): 101-109. [刘安然, 廖梅杰, 李彬, 等. 刺参(*Apostichopus japonicus*)重要经济性状相关SNP标记的验证分析 [J]. *渔业科学进展*, 2019, **40**(1): 101-109.]
- [14] Sciara A A, Rodríguez-Ramilo S T, Hermida M, *et al.* Validation of growth-related quantitative trait loci markers in turbot (*Scophthalmus maximus*) families as a step toward marker assisted selection [J]. *Aquaculture*, 2018(495): 602-610.
- [15] Wei G J, Guan Y Y, Liu W G, *et al.* Verification of QTL associated with growth traits in two populations of Pearl oyster *Pinctada fucata* [J]. *Marine Science Bulletin*, 2017, **36**(5): 547-553. [韦国建, 管云雁, 刘文广, 等. 马氏珠母贝生长性状相关QTL在两个群体中的验证 [J]. *海洋通报*, 2017, **36**(5): 547-553.]
- [16] Guo J, Wang A, Mao S, *et al.* Construction of high-density genetic linkage map and QTL mapping for growth performance in black carp (*Mylopharyngodon piceus*) [J]. *Aquaculture*, 2022(549): 737799.
- [17] Guo J M, Xu X Y, Li J L, *et al.* Verification of black carp growth-related SNP marker in different geographical populations [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2022, **31**(5): 1089-1096. [郭加民, 徐晓雁, 李家乐, 等. 青鱼生长相关SNP标记在不同地理群体中的验证 [J]. *上海海洋大学学报*, 2022, **31**(5): 1089-1096.]
- [18] Yue G H, Orban L. A simple and affordable method for high-throughput DNA extraction from animal tissues for polymerase chain reaction [J]. *Electrophoresis*, 2005, **26**(16): 3081-3083.
- [19] Shen Y, Guo J, Li J, *et al.* Molecular marker for identifying genetic sex of black carp and application of molecular marker: CN116356006A [P]. 2023-06-30. [沈玉帮, 郭加民, 李家乐, 等. 一种鉴定青鱼遗传性别的分子标记及其应用: CN116356006A [P]. 2023-06-30.]
- [20] Quinlan A R, Hall I M. BEDTools: a flexible suite of utilities for comparing genomic features [J]. *Bioinformatics*, 2010, **26**(6): 841-842.
- [21] Peakall R, Smouse P E. Genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research [J]. *Molecular Ecology Notes*, 2006, **6**(1): 288-295.
- [22] Su Y H, Shen Y B, Bao S C, *et al.* Comparative analysis on the growth difference of different geographic populations of *Mylopharyngodon piceus* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2021, **51**(3): 20-26. [苏玉红, 沈玉帮, 鲍生成, 等. 青鱼不同地理群体生长差异比较分析 [J]. *淡水渔业*, 2021, **51**(3): 20-26.]
- [23] Jia Y Y. Topmouth culter (*Culter alburnus*) all-female breeding system establishment and evaluation [D]. Shanghai: East China Normal University, 2019: 92-124. [贾永义. 翘嘴鲇(*Culter alburnus*)全雌育种体系建立与评价

- [D]. 上海: 华东师范大学, 2019: 92-124.]
- [24] Moss D R, Moss S M. Effects of gender and size on feed acquisition in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2006, **37**(2): 161-167.
- [25] Ji X S, Liu H W, Chen S L, *et al.* Growth differences and dimorphic expression of growth hormone (GH) in female and male *Cynoglossus semilaevis* after male sexual maturation [J]. *Marine Genomics*, 2011, **4**(1): 9-16.
- [26] Kocour M, Linhart O, Gela D, *et al.* Growth performance of all-female and mixed-sex common carp *Cyprinus carpio* L. populations in the central Europe climatic conditions [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2007, **36**(1): 103-113.
- [27] Fan J J, Bai J J, Han L Q, *et al.* Differences in body weight growth between female and male grass carp cultured in a pond [J]. *Fisheries Science*, 2019, **38**(2): 231-235. [樊佳佳, 白俊杰, 韩林强, 等. 池塘养殖草鱼两性体质量生长差异研究 [J]. 水产科学, 2019, **38**(2): 231-235.]
- [28] Li S J, Fan J J, Jiang P, *et al.* Association analysis of SNPs and diplotype of *HSC70-1* gene with growth traits in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *South China Fisheries Science*, 2018, **14**(6): 74-80. [李胜杰, 樊佳佳, 姜鹏, 等. 大口黑鲈HSC70-1基因多态性及其双倍型与生长性状的关联分析 [J]. 南方水产科学, 2018, **14**(6): 74-80.]

CORRELATION ANALYSIS OF GROWTH QTL TIGHTLY LINKAGE MOLECULAR MARKERS AND GROWTH TRAITS IN BLACK CARP (*MYLOPHARYNGODON PICEUS*)

YANG Lin¹, GUO Jia-Min¹, WANG Yuan-Hao¹, ZHOU Si-Yang¹, LI Jia-Le^{1,2},
XU Xiao-Yan^{1,2} and SHEN Yu-Bang^{1,2}

(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)

Abstract: In this study, leveraging the high-density genetic linkage map and growth QTL mapping outcomes established in the prior phase for black carp (*Mylopharyngodon piceus*), two SNPs loci were identified as correlated with growth traits within the Hanjiang population of black carp. These loci were situated on LG10 (linkage group) and closely associated with a specific growth QTL. Sex-specific markers were devised for sex determination. Subsequently, SNP polymorphisms were assessed through direct sequencing, and the association degree of different genotypes with male and female growth traits was scrutinized. The results showed that among the 563 individuals in the Hanjiang black carp population, there were 290 females and 273 males, with a female-to-male ratio of approximately 1.06:1. Genetic diversity analyses showed that the effective number of alleles (N_e) was 1.754 and 1.399, observed heterozygosity (H_o) was 0.384 and 0.266, expected heterozygosity (H_e) was 0.430 and 0.285, and polymorphic information content (PIC) was 0.508 and 0.378 for SNP₇₉₅₇G>C and SNP₉₈₀₂T>A, respectively. Compared to males, females exhibited faster growth rates, albeit with higher coefficients of variation, indicating greater variability in females growth traits. Genotypes of SNP₇₉₅₇G>C and SNP₉₈₀₂T>A displayed significant disparities in body length traits within the black carp population. The SNP₇₉₅₇G>C GG genotype notably dominated ($P<0.05$) in male body length traits, while variations in haplotypes between SNP₇₉₅₇G>C and SNP₉₈₀₂T>A showed distinctions in growth traits, albeit not reaching statistical difference. Among diplotypes constructed from the two SNP loci, males and females showed dissimilarities in growth, with D8 (GGTA) notably superior in growth traits ($P<0.05$). The results of this study provide potential molecular markers for selective breeding of new fast-growing black carp varieties and establish a theoretical foundation for the in-depth exploration of growth traits fine mapping in black carp, along with QTL tightly linked marker assisted selected breeding.

Key words: SNP; Growth traits; Correlation analysis; *Mylopharyngodon piceus*