

马氏珠母贝两个与生长性状相关 QTL 的验证

韦国建^{1,2}, 刘文广¹, 林坚士¹, 何毛贤¹

(1. 中国科学院 热带海洋生物资源与生态重点实验室, 广东省应用海洋生物学重点实验室, 中国科学院 南海海洋研究所, 广东 广州 510301; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 利用 2 个马氏珠母贝群体对遗传连锁图谱已经定位的, 与马氏珠母贝生长性状相关的数量性状位点(Quantitative trait locus, QTL)中的两个进行验证。结果显示: m59 标记在 2 个群体中与壳高、壳长、壳宽和总重具有显著的相关性($P < 0.05$), 其 GT 基因型的个体壳高、壳长、壳宽和总重均显著高于 GG 基因型的个体; 154165 标记在湛江群体中与壳高具有显著相关性($P < 0.05$), 而在深圳群体中与壳宽具有显著相关性($P < 0.05$); 表明 QTL 标记 m59 在 2 个群体中是共享 QTL, 而 154165 标记在群体中是特异 QTL。基于这两个 QTL 在这 2 个群体中分别构建二倍型, 发现在湛江群体中二倍型 C₁(AAGT)和深圳群体中 D₁(AGGT)型和 D₂(AAGT)型对马氏珠母贝生长最为有利, 可作为优先的基因型组合。

关键词: 马氏珠母贝; 数量性状位点(Quantitative trait locus, QTL); 验证; 生长性状

中图分类号: Q34 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2015)11-0013-07

doi: 10.11759/hyxx20150731004

水产养殖动物的多数重要经济性性状例如生长、抗逆和肉质等都是数量性状, 不仅由多个基因控制, 且易受环境等因素的影响^[1]。挖掘数量性状位点(Quantitative trait locus, QTL)的最终目的是利用与目标性状紧密连锁的分子标记进行分子标记辅助选择育种(marker-assisted selection, MAS), 从而促进对性状的遗传改良^[2]。目前遗传连锁图谱构建和 QTL 定位在水产养殖动物中取得了较大的进展, 但是这些 QTL 一般是基于单个家系小样本量作图获得的, QTL 区间过大, 导致 QTL 的检测效率和对 QTL 效应的评估发生偏离^[3]。因此对挖掘到的 QTL 作进一步的验证和鉴定是实施 MAS 的前提。QTL 验证最简单的方法是比较 QTL 位点不同等位基因的表型差异^[3-4]。目前对 QTL 定位结果进行验证的报道还不是很多, 在尖吻鲈^[5]、虹鳟^[6-8]、鲤鱼^[9-11]、大西洋鲑鱼^[12]和牙鲆^[13-14]等少数鱼类的生长和抗病 QTL 进行了确认, 并且已有少数 QTL 结果应用于指导实践育种^[12, 14-16]。而在海洋贝类, 还极少见对 QTL 进一步验证和应用的报道。

马氏珠母贝(*Pinctada martensii*)是重要海水养殖贝类。最近, 利用遗传图谱获得了与其生长性状连锁的 QTL 标记, Shi 等^[17]应用 2b-RAD 测序技术, 利用 3117 个 SNP 标记构建了马氏珠母贝遗传图谱, 获得 6 个与总重、壳长、绞合线和珍珠层厚度相关的 QTL。Li 等^[18]利用 RAD 测序构建遗传图谱获得与马氏珠

母贝壳高、壳长、壳宽、壳重、软体部重、绞合线和总重 7 个生长性状连锁的 QTL。但目前还没有对这些 QTL 作进一步的验证和应用。本研究用 2 个不同遗传背景的马氏珠母贝群体对其中两个 QTL(154165 和 m59)进行验证, 评估 QTL 不同基因型与生长性状的相关性, 旨在获得真实稳定的 QTL 结果, 为开展基于 QTL 结果的 MAS 奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验群体

本实验所用的马氏珠母贝(*Pinctada martensii*)来自深圳养殖群体(211 只)和湛江养殖群体(111 只), 均为 2 贝龄, 来源于同期贝苗, 养殖于深圳大鹏澳海区, 以同样的管理条件及相同的养殖密度进行养殖。用游标卡尺测量并记录每只贝的壳高、壳长和壳宽, 精确到 0.01 mm; 用电子天平称量每只贝的总重, 精确到 0.01 g。分别取每只贝的鳃组织置于 95% 的乙醇中, -20℃ 保存。

收稿日期: 2015-07-31; 修回日期: 2015-09-02

基金项目: 国家 863 计划项目(2012AA10A410); 广东省科技计划项目(2013B020308005); 广东省海洋渔业科技推广专项(A201301A03)
作者简介: 韦国建(1988-), 男, 广西来宾人, 硕士研究生, 研究方向为马氏珠母贝分子育种, 电话: 020-89023144, E-mail: weiguojian2014@163.com; 何毛贤, 通信作者, 研究员, E-mail: hmx@scsio.ac.cn

1.2 基因组 DNA 的提取

使用 DNA 提取试剂盒(Hipure Universal DNA Kit)提取鳃组织的基因组 DNA, 相关操作参照试剂盒说明书。提取 DNA 后, 于 1.0%的琼脂糖凝胶电泳检测其完整性; 并用分光光度计检测其纯度及浓度。提取的 DNA 于-20℃保存。

1.3 引物设计

已获得的 QTL 连锁标记所在的序列为短序列,

其长度无法用来设计引物。因此以连锁标记的序列为源序列, 在已公布的马氏珠母贝基因组草图(<http://marinegenomics.oist.jp/>)和本实验室已有的马氏珠母贝转录组数据库中进行 Blast 比对, 找出与之匹配的序列。根据匹配的序列和 QTL 标记 SNP 位置, 利用 Primer Primer5.0 软件和 Tetra-primer ARMS 在线引物设计程序 (<http://primer1.soton.ac.uk/primer1.html>)设计每个 QTL 标记 SNP 基因分型的特异引物(表 1)。

表 1 QTL 位点 SNP 分型引物

Tab.1 Primer used for analysis of QTL in pear oyster *Pinctada martensii*

QTL	引物名称	序列(5'-3')	Tm(℃)	等位基因	对应产物(bp)
m59	m59FI	AGCACTTGGATCAAAGCTTACATGG	64	G	166
	m59RI	GAGAGATCAGATTGTAGCCGGAACA	64	T	216
	m59FO	CCAAAAATGTACGAAAGACGTAACA	64		
	m59RO	ACCGTACATGTACATAGAATCGGACG	64		
154165	154165FI	GAAAATTCTAAGGAATCTTATGCTTTCAG	62	G	200
	154165RI	TTGACTTACATTTAAATCTGTCCTTTGGT	62	A	270
	154165FO	GTGACGTTTGCATAATTTTAAATGTTTTT	62		
	154165RO	GAATTGTTTATTTTCACAGGGATATGGTT	62		

注: m59 标记来源于 Shi^[17], 154165 标记来源于 Li^[18]

1.4 PCR 扩增

采用等位基因特异 PCR(AS-PCR)法对样品的 QTL 标记 SNP 进行基因分型。15 μL 的 PCR 反应体系为: 1.5 μL 10×PCR buffer, 1.5 μL dNTP Mixture(各 2.5 mmol/L), 0.15 μL Taq DNA 聚合酶(5 U/μL), 1 μL 内引物(10 μmol/L), 0.5 μL 外引物(10 μmol/L), 0.5 μL DNA, 8.35 μL ddH₂O。反应程序为: 94℃预变性 4 min; 94℃变性 30 s, 56℃退火 30 s, 72℃延伸 30 s, 30 个循环; 最后 72℃延伸 5 min。PCR 反应产物用 2%的琼脂糖凝胶电泳检测。

1.5 统计分析

用 SPSS19.0 软件中一般线性模型(GLM)进行 QTL 连锁标记 SNP 及其二倍型与马氏珠母贝生长性状的关联性。采用 Duncan's 多重比较分析各基因型、二倍型差异的显著性, 差异显著为 $P < 0.05$ 。方差分析的数学模型为: $Y_{ij} = \mu + G_i$ or $D_i + e_{ij}$, 其中 Y_{ij} 表示基因型为 i 的第 j 个个体的指标, μ 表示总体均值, G_i 表示第 i 种基因型的效应, D_i 表示第 i 种二倍型的效应, e_{ij} 表示随机误差变量。

2 结果与分析

2.1 QTL 连锁标记与生长性状的验证

m59 和 154165 QTL 标记在湛江养殖群体和深圳

养殖群体中都可检测出 3 种基因型。经 SPSS19.0 软件的一般线性模型(GLM)分析, m59 标记在湛江群体中与壳高、壳长、壳宽和总重关联显著($P < 0.05$)(表 2), 其中 GT 基因型的壳高、壳长、壳宽和总重显著高于 GG 基因型的个体, 分别高出 8.9%、5.63%、8.09%和 21.38%(表 3); 在湛江群体中进行验证也得到类似的结果, 该位点与壳高、壳长、壳宽和总重 4 个生长指标关联显著($P < 0.05$)(表 2), 其 GT 基因型的个体的壳高、壳长、壳宽和总重比 GG 基因型个体分别高出 10.95%、11.41%、11.90%和 26.67%(表 3)。

154165 位点在湛江群体中与壳高关联显著($P < 0.05$)(表 2), GG、AG 基因型的个体壳高均值显著高于基因型为 AA 的个体, 分别高出 9.24%和 5.87%(表 3); 而在深圳群体中与壳高关联不显著($P > 0.05$), 却与壳宽关联显著($P < 0.05$)(表 2), GG 基因型的个体壳宽均值显著高于 AG 和 AA 基因型的个体, 分别比 AG 和 AA 基因型个体高 17.14%和 18.06%(表 3)。

2.2 QTL 连锁标记 SNP 二倍型构建及生长性状的关联分析

为了进一步研究这两个 QTL 连锁标记 SNP 与生长性状的整体作用, 基于这两个 QTL 在这 2 个群体分别构建二倍型。统计分析发现, 在湛江群体中, 虽

表 2 马氏珠母贝 QTL 连锁标记与生长性状的 GLM 分析

Tab.2 Association analysis of QTL and growth traits in *Pinctada martensii* using GLM

QTL	因变量	III 平方和	df	均方	F	显著性水平
湛江群体(111 只)						
m59	壳高	285.23	2	142.61	4.22	0.017
	壳长	88.59	2	44.29	1.23	0.048
	壳宽	28.29	2	14.14	5.64	0.005
	总重	799.38	2	399.69	5.04	0.008
154165	壳高	552.67	2	276.34	8.82	0.000
	壳长	153.28	2	76.64	2.16	0.121
	壳宽	3.05	2	1.53	0.56	0.575
	总重	396.61	2	198.31	2.39	0.097
深圳群体(211 只)						
m59	壳高	1432.27	2	716.14	19.77	0.000
	壳长	1618.37	2	809.18	19.24	0.000
	壳宽	218.73	2	109.37	5.73	0.004
	总重	2568.56	2	1284.28	15.76	0.000
154165	壳高	119.63	2	59.82	1.41	0.247
	壳长	72.62	2	36.31	0.73	0.481
	壳宽	259.53	2	129.76	6.87	0.001
	总重	138.13	2	69.06	0.74	0.478

表 3 马氏珠母贝 2 个 QTL 位点不同基因型多重比较

Tab.3 Multiple comparison of growth traits in *Pinctada martensii* at two QTL loci

群体	QTL	基因型	个数	壳高(mm)	壳长(mm)	壳宽(mm)	总重(g)
湛江养殖群体(111 只)							
m59	GT	8	70.69±4.82 ^a	66.66±5.67 ^a	24.95±1.51 ^a	49.62±7.99 ^a	
		TT	53	67.11±4.83 ^{ab}	63.85±5.28 ^b	24.41±1.49 ^a	45.23±7.92 ^b
		GG	50	64.91±6.82 ^b	63.11±6.74 ^b	23.50±1.69 ^b	40.88±9.95 ^c
	154165	GG	12	70.57±5.89 ^a	65.18±5.98 ^a	23.83±1.27 ^a	46.57±7.17 ^a
		AG	33	68.39±5.08 ^a	65.13±5.68 ^a	24.29±1.64 ^a	45.59±8.96 ^a
		AA	66	64.60±5.87 ^b	62.75±6.09 ^a	23.95±1.72 ^a	42.04±9.47 ^a
深圳养殖群体(211 只)							
m59	GT	95	70.37±5.88 ^a	70.19±6.63 ^a	25.67±5.85 ^a	43.51±9.01 ^a	
		TT	76	66.77±5.62 ^b	66.23±6.09 ^b	24.43±2.42 ^{ab}	38.75±8.23 ^b
		GG	40	63.54±7.01 ^c	63.00±6.85 ^c	22.94±2.84 ^b	34.35±10.43 ^c
	154165	GG	15	70.46±7.96 ^a	68.34±8.40 ^a	28.70±14.11 ^a	42.86±11.47 ^a
		AG	90	67.73±6.28 ^a	67.92±6.55 ^a	24.50±2.36 ^b	40.11±9.12 ^a
		AA	106	67.45±6.51 ^a	66.82±7.23 ^a	24.31±2.49 ^b	39.62±9.83 ^a

注: 同一列上标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

然二倍型 C₁ 型(AAGT)和 C₂ 型(GGTT)在壳高、壳长和总重显著高于 C₅ 型(AAGG), 但由于二倍型 C₂ 在壳宽与二倍型 C₅ 没有显著性差异, 因此二倍型 C₁ 对马氏珠母贝的生长最为有利(表 4); 在深圳群体中, 统计分析发现这 5 种二倍型与马氏珠母贝的壳高、壳长、壳宽、

总重关联显著 ($P<0.05$), 二倍型为 D₁(AGGT) 和 D₂(AAGT)型的马氏珠母贝在 4 个生长性状指标显著高于 D₄(AAGG)和 D₅(GGTT)型($P<0.05$), 二倍型 D₁(AGGT)和 D₂(AAGT)的 4 个生长性状没有显著差异($P>0.05$), 且个体最大, 可作为优选的基因型组合(表 4)。

表 4 QTL 连锁标记 SNP 二倍型与马氏珠母贝生长性状的关联分析

Tab.4 Associations between diplotypes of QTL and growth traits in *Pinctada martensii*

二倍型	154165	m59	个数	壳高(mm)	壳长(mm)	壳宽(mm)	总重(g)
湛江群体(111 只)							
C ₁	AA	GT	8	68.64±4.36 ^a	66.99±3.95 ^a	25.09±1.45 ^a	49.14±5.21 ^a
C ₂	GG	TT	12	70.57±5.39 ^a	65.18±5.98 ^a	23.83 ± 1.27 ^{ab}	46.57±7.17 ^a
C ₃	AG	TT	33	68.39±5.08 ^a	65.13±5.68 ^a	24.29±1.64 ^{ab}	45.59±8.96 ^a
C ₄	AA	TT	8	66.43±4.43 ^{ab}	62.41±5.82 ^{ab}	24.85±1.65 ^a	44.23±7.71 ^{ab}
C ₅	AA	GG	50	63.66±6.01 ^b	62.12±6.23 ^b	23.63±1.67 ^b	40.56±9.77 ^b
深圳群体(211 只)							
D ₁	AG	GT	29	70.95 ± 5.74 ^a	69.15 ± 6.35 ^{ab}	25.94 ± 10.31 ^a	41.05 ± 7.91 ^{ab}
D ₂	AA	GT	66	70.11 ± 5.97 ^a	70.64 ± 6.75 ^a	25.56 ± 1.93 ^a	44.60 ± 9.30 ^a
D ₃	AG	TT	61	67.75 ± 5.47 ^b	67.31 ± 5.88 ^b	24.73 ± 2.31 ^a	40.06 ± 7.88 ^b
D ₄	AA	GG	40	63.54 ± 7.01 ^c	63.00 ± 6.85 ^c	22.94 ± 2.84 ^b	34.35 ± 10.43 ^c
D ₅	GG	TT	15	62.81 ± 4.44 ^c	61.82 ± 4.97 ^c	23.31 ± 2.57 ^{ab}	33.40±7.65 ^c

注: 同一列上标有不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

3 讨论

目前, 虽然开展了遗传连锁图谱构建及 QTL 定位的水产养殖动物多达几十种, 但是将 QTL 结果应用于遗传改良中的研究还是较少^[19], 比较典型的成功例子是牙鲆抗病淋巴囊肿病(LD)、大西洋鲑鱼抗传染病胰腺坏死病(IPN)的辅助选育中^[12, 14]。相对于抗病相关的 QTL 结果, 生长性状更容易受到环境因素的影响, 具有数量性状的遗传特征, 在一个群体或者家系中定位到的 QTL 可能不适用于另一个家系或者群体。因此如何验证这些 QTL, 进而利用与性状紧密连锁的 QTL 标记进行性状的遗传改良将是下一个阶段的研究重点。

研究表明, 用不同遗传背景、不同发育阶段以及不同养殖环境的群体或者家系获得的 QTL 间存在共享 QTL 和特异 QTL。Rexroad 等^[20]在虹鳟 Omy16 连锁群上定位到 1 个皮质醇浓度连锁的极显著 QTL 区间, 同时发现与 3 个虹鳟家系的皮质醇浓度具有相关性, 而与另外 4 个家系的皮质醇浓度不相关; Laghari 等^[21]定位到与鲤鱼 3 个不同阶段体重相关的 QTL, 在第 6 连锁群上的 1 个 QTL 与 3 个阶段的体重都相关的 QTL, 而不同阶段也有特异的 QTL 存在。Wang 等^[5]在 2 个不同遗传背景的群体中对生长性状 QTL 进行验证, 发现连锁群 LG2 上的 QTL 标记 Lca371 在 2 个群体中与体重具有显著的相关性, 而其他 QTL 仅在一个家系表现出与性状的相关性。本文使用 2 个不同遗传背景的马氏珠母贝群体对 154165 和 m59 标记进行验证, 发现 m59 标记在这 2

个群体中为共享 QTL, 且该位点的 GT 基因型个体的生长性状(壳高、壳长、壳宽和总重)显著高于 GG 基因型的个体, 为马氏珠母贝生长优势基因型, 而 154165 标记为特异 QTL, 即在湛江群体中与壳高相关性显著, 在深圳群体中与壳宽相关性显著。这一结果与 Wang 等^[5]验证尖吻鲈的 QTL 结果类似。这 2 个 QTL 的效应大小在 2 个群体中不一样的原因可能是不同遗传背景下 QTL 的等位基因频率不相同。出现这些特异的 QTL 的原因可能是生长性状受到 QTL 间的上位性效应的影响^[22]以及 QTL 和环境互作的影响。在鸡的下颌骨研究中也发现 QTL 间的上位性互作效应对生长性状的表型值具有重要的作用^[23]。

Shi 等^[17]在 6 个生长性状中定位到的 m59 只与珍珠层厚度相关, Li 等^[18]定位到的 QTL154165 与总重和壳重相关, 虽然有一些性状指标在本研究中没有检测, 但在本研究中显著关联的性状仍与这两篇文献的报道存在一定的差异。造成这种差异的原因可能是: 定位到的这些 QTL 一般是通过特定家系作图获得, 获得的 QTL 结果可能不适合用于另一个家系或者群体; QTL 作图时在 LOD 临界值下错误的判断有 QTL 存在而出现假阳性; 表型分型不够准确也会增加实验误差。孙效文等建议将 QTL 结果应用育种之前最好在大样本量的随机群体中进行验证, 以增加 QTL 在育种群体中的利用价值^[24, 25]。本文利用 2 个不同遗传背景的群体对通过遗传图谱获得的马氏珠母贝生长性状 QTL 进行验证, 对实施 MAS 有着重要的意义。

单独的 SNP 标记进行性状关联分析提供的信息

往往是有限的,通过构建二倍型可以提供更丰富的遗传信息来弥补单独 SNP 的缺陷^[26-28]。García - Magariños 等^[29]发现人类一些复杂疾病可能与 SNP-SNP 相互作用有关;在鲤鱼 IGF-I 基因中的单个 SNP 位点 g.7722T>C 与生长性状关联不显著($P>0.05$),但是当 SNP g.7627T>A 和 g.7722T>C 结合时,发现二倍型(TTTT)个体的体重、体长和 K 值均显著小于其他二倍型($P<0.01$)^[30]; Cong 等^[31]研究长牡蛎 IRR 基因上的 2 个 SNP 标记构建的 5 个二倍型中,发现二倍型 D₃(GGTT)是对长牡蛎的生长最为有利。在本研究中,基于 2 个 QTL 连锁标记 SNP 分别在湛江和深圳群体中构建二倍型,发现二倍型(AAGT)在湛江和深圳群体中对马氏珠母贝的生长最为有利的基因型组合。这一结果表明 m59 位点的 GT 基因及与其他位点基因型结合可能有利于马氏珠母贝的生长。此外,在深圳群体中二倍型 D₁(AGGT)也是对马氏珠母贝生长最为有利的二倍型之一,而在湛江群体中没有出现此二倍型类型的个体,出现这种现象的原因可能有用验证的两个群体的数量大小有差异,从而引起等位基因频率在不同的群体中不一样,基因型组合的类型也不一样;群体间存在特异 QTL 也是原因之一。

参考文献:

- [1] Dekkers J C M, Hospital F. The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2002, 3(1): 22-32.
- [2] Naish K A, Hard J J. Bridging the gap between the genotype and the phenotype: linking genetic variation, selection and adaptation in fishes[J]. *Fish and Fisheries*, 2008, 9(4): 396-422.
- [3] Yue G H. Recent advances of genome mapping and marker-assisted selection in aquaculture[J]. *Fish and Fisheries*, 2014, 15(3): 376-396.
- [4] Romagosa I, Han F, Ullrich S E, et al. Verification of yield QTL through realized molecular marker-assisted selection responses in a barley cross[J]. *Molecular Breeding*, 1999, 5(2): 143-152.
- [5] Wang C M, Lo L C, Feng F, et al. Identification and verification of QTL associated with growth traits in two genetic backgrounds of Barramundi (*Lates calcarifer*) [J]. *Animal Genetics*, 2008, 39(1): 34-39.
- [6] Wringe B F, Devlin R H, Ferguson M M, et al. Growth-related quantitative trait loci in domestic and wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *BMC Genetics*, 2010, 11(1): 63.
- [7] Baerwald M R, Petersen J L, Hedrick R P, et al. A major effect quantitative trait locus for whirling disease resistance identified in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Heredity*, 2011, 106(6): 920-926.
- [8] Vallejo R L, Palti Y, Liu S, et al. Validation of linked QTL for bacterial cold water disease resistance and spleen size on rainbow trout chromosome Omy19[J]. *Aquaculture*, 2014, 432: 139-143.
- [9] 鲁翠云, 曹顶臣, 李超, 等. 生长相关的微卫星标记在镜鲤繁殖群体中的验证[J]. *天津农学院学报*, 2012, 03: 13-18.
- [10] 侯宁, 张研, 鲁翠云, 等. 微卫星 DNA 标记分析德国镜鲤的遗传潜力[J]. *遗传*, 2007, 12: 1509-1518.
- [11] 孙新, 魏振邦, 孙效文, 等. 镜鲤繁殖群体的遗传结构及微卫星标记与经济性状的相关性分析[J]. *遗传*, 2008, 03: 359-366.
- [12] Moen T, Baranski M, Sonesson A K, et al. Confirmation and fine-mapping of a major QTL for resistance to infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon (*Salmo salar*): population-level associations between markers and trait[J]. *BMC Genomics*, 2009, 10(1): 368.
- [13] Wang L, Fan C, Liu Y, et al. A genome scan for quantitative trait loci associated with *Vibrio anguillarum* infection resistance in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) by bulked segregant analysis[J]. *Marine Biotechnology*, 2014, 16(5): 513-521.
- [14] Fuji K, Hasegawa O, Honda K, et al. Marker-assisted breeding of a lymphocystis disease-resistant Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. *Aquaculture*, 2007, 272(1): 291-295.
- [15] Chen S L, Deng S P, Ma H Y, et al. Molecular marker-assisted sex control in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*)[J]. *Aquaculture*, 2008, 283(1): 7-12.

- [16] 孙效文, 鲁翠云, 曹顶臣, 等. 镜鲤体重相关分子标记与优良子代的筛选和培育[J]. 水产学报, 2009, 02: 177-181.
- [17] Shi Y, Wang S, Gu Z, et al. High-density single nucleotide polymorphisms linkage and quantitative trait locus mapping of the pearl oyster, *Pinctada fucata martensii* Dunker[J]. Aquaculture, 2014, 434: 376-384.
- [18] Li Y, He M. Genetic Mapping and QTL Analysis of growth-related traits in *Pinctada fucata* using restriction-site associated DNA sequencing[J]. PLoS One, 2014, 9(11): e111707.
- [19] Sonesson A. Within-family marker-assisted selection for aquaculture species[J]. Genetics Selection Evolution, 2007, 39(3): 301-318.
- [20] Rexroad C E, Vallejo R L, Liu S, et al. QTL affecting stress response to crowding in a rainbow trout broodstock population[J]. BMC Genetics, 2012, 13(1): 97.
- [21] Laghari M Y, Zhang Y, Lashari P, et al. Quantitative trait loci (QTL) associated with growth rate trait in common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. Aquaculture International, 2013, 21(6): 1373-1379.
- [22] Frankel W N, Schork N J. Who's afraid of epistasis?[J]. Nature Genetics, 1996, 14(4): 371-373.
- [23] Cheverud J M, Ehrich T H, Vaughn T T, et al. Pleiotropic effects on mandibular morphology II: differential epistasis and genetic variation in morphological integration[J]. Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution, 2004, 302(5): 424-435.
- [24] 孙效文. 鱼类分子育种学[M]. 北京: 海洋出版社, 2010.
- [25] 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, 06: 981-990.
- [26] Daly M J, Rioux J D, Schaffner S F, et al. High-resolution haplotype structure in the human genome[J]. Nature Genetics, 2001, 29(2): 229-232.
- [27] Tabor H K, Risch N J, Myers R M. Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations[J]. Nature Reviews Genetics, 2002, 3(5): 391-397.
- [28] de Bakker P I W, Yelensky R, Pe'er I, et al. Efficiency and power in genetic association studies[J]. Nature Genetics, 2005, 37(11): 1217-1223.
- [29] García - Magariños M, López - de - Ullibarri I, Cao R, et al. Evaluating the ability of tree - based methods and logistic regression for the detection of SNP - SNP interaction[J]. Annals of Human Genetics, 2009, 73(3): 360-369.
- [30] Feng X, Yu X, Tong J. Novel Single nucleotide polymorphisms of the insulin-like growth factor-I gene and their associations with growth traits in Common Carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2014, 15(12): 22471-22482.
- [31] Cong R, Kong L, Yu H, et al. Association between polymorphism in the insulin receptor-related receptor gene and growth traits in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2014, 54: 144-149.

Verification of two QTL associated with growth traits of Pear oyster *Pinctada martensii* Dunker

WEI Guo-jian^{1, 2}, LIU Wen-guang¹, LIN Jian-shi¹, HE Mao-xian¹

(1. CAS Key Laboratory of Tropical Marine Bio-resources and Ecology, Guangdong Provincial Key Laboratory of Applied Marine Biology, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Received: Jul., 31, 2015

Key words: *Pinctada martensii*; Quantitative trait locus (QTL); Verification; Growth trait

Abstract: Quantitative trait loci (QTL) affecting growth traits have been mapped in genetic map of *P. martensii*. In this study, two of these QTL were verified in two oysters different genetic backgrounds. The results showed that the locus m59 was significantly associated with shell height, shell length, shell width and total weight in these two populations ($P<0.05$), and oysters with genotypes GT grew faster than those with the genotype GG in shell height, shell length, shell width and total weight. QTL154165 was significantly associated with shell height in Zhanjiang population ($P<0.05$), but it was significantly associated with shell width in Shenzhen population ($P<0.05$). Diplo-types were constructed based on the two QTLs in Zhanjiang population and Shenzhen population, and association analyses revealed that C₁ (AAGT) in Zhanjiang population and D₁ (AGGT) and D₂ (AAGT) in shenzhen population might be the most advantageous diplotypes for growth traits.

(本文编辑: 康亦兼)