

缢蛏(*Sinonovacula constricta*)EST-SSR 标记与生长性状的相关性分析*

邵艳卿¹ 方军¹ 柏艳^{1,2} 张炯明¹ 肖国强¹
滕爽爽¹ 刘博¹ 柴雪良^{1①}

(1. 浙江省海洋水产养殖研究所 浙江省近岸水域生物资源开发与保护重点实验室 温州 325000;
2. 温州医科大学 温州 325000)

摘要 利用 16 个微卫星标记对缢蛏 F₁ 家系的遗传多样性和标记-性状相关性进行了研究。结果显示, 16 个 SSR 位点共检测到 39 个等位基因, 平均等位基因数(N_a)和平均有效等位基因数(N_e)分别为 2.44 和 2.09; 多态信息含量(PIC)为 0.40; 平均观测杂合度(H_o)与期望杂合度(H_e)分别为 0.58 和 0.63, 部分位点基因型分布严重偏离孟德尔定律, 暗示其可能与适应性基因相连锁, 其中 YC-8 位点附近可能存在杂合不利存活基因。位点 YC-96 和 YC-123 与体重呈显著相关($P < 0.05$), YC-96 的 BC 基因型和 YC-123 的 BB 基因型均为体重性状的优势基因型, 其对应的壳长、壳宽、壳高和体重 4 个生长性状表型值都最大, 可以作为选育快长性状的候选分子标记; YC-1 位点与壳宽呈显著相关($P < 0.05$), 其中 BB 型是壳宽的优势基因型; YC-93 位点与壳宽、壳高呈极显著相关($P < 0.01$), 其中 AB 型是壳高的优势基因型, BB 和 BC 型是壳宽的优势基因型。对 YC-1、YC-93、YC-96 和 YC-123 进行以体重性状为参照的不同基因型组合比较, 找到了最优组合(BB/BB(BC)/BC/BB), 与 4 个位点单独分析对应的最优基因型基本完全一致, 符合加性作用模型。筛选出的与生长性状相关的标记可为标记辅助选择育种(MAS)提供参考依据。

关键词 缢蛏; EST-SSR 标记; 生长性状; 相关分析

中图分类号 Q348; S917 doi: 10.11693/hyhz20141100308

缢蛏(*Sinonovacula constricta* Lamarck)俗称蛏(福建)、蜻(浙江)或跣(我国北方), 其肉味鲜美, 营养丰富, 含有丰富的蛋白质、维生素和无机盐。除供鲜食外, 还可制成蛏干、蛏油等, 是消费者喜爱的海产食品, 也是我国传统四大养殖贝类之一(王如才等, 2008)。缢蛏养殖历史悠久, 过去主要集中在福建和浙江一带, 随着缢蛏养殖业的不断扩展和人工育苗技术日渐成熟, 江苏、山东等地纷纷引进苗种, 有力地推动了缢蛏养殖业的发展。然而, 目前人工苗的亲蛏绝大多数来自人工养殖, 其种质属于未经遗传改良

的野生种, 在经过多年累代繁、养殖之后, 出现了成活率低、生长速度减慢和抗病力下降等生产性状退化现象; 加之, 无序的养殖、盲目引种和养殖环境的日益恶化, 已经严重制约了缢蛏养殖业的健康持续发展(王兴强等, 2006; 刘博等, 2013)。因此, 采用有效方法培育出高产、抗逆的缢蛏优良品种成为突破瓶颈、带动产业快速发展的当务之急。

利用分子遗传标记进行标记辅助选育, 是当今动物遗传育种研究的热点之一。微卫星也称简单重复序列(simple sequence repeat, SSR), 是由 1-6 个核苷酸

*浙江省海水养殖重点科技创新团队项目, 2012R10025_15 号; 水产种质资源平台项目, 2014DKA30470 号; 温州市科技项目, S20110006 号。邵艳卿, 助理研究员, E-mail: amshao@126.com

通讯作者: 柴雪良, 研究员, E-mail: cxl-5888@163.com

收稿日期: 2014-11-08, 收修改稿日期: 2015-03-24

组成的简单串联重复 DNA 序列(Tautz D, 1989), 按照其来源可分为基因组 SSR(G-SSR)和表达序列标签 SSR(EST-SSR)。微卫星标记具有数量多、多态性丰富、共显性遗传、重复性好等优点(Zane *et al*, 2002; 刘芳等, 2006), 在筛选水产动物形态、抗病、抗逆、性别等经济性状相关标记方面已被广泛使用, 如在虹鳉(*Oncorhynchus mykiss*)(Rodriguez *et al*, 2004)、鲤鱼(*Cyprinus carpio*)(张义凤等, 2008; 顾颖等, 2009)、南美白对虾(*Litopenaeus vannamei*)(Zhang *et al*, 2007)、马氏珠母贝(*Pinctada martensii*)(邓岳文等, 2013)、文蛤(*Meretrix meretrix*)(Lu *et al*, 2013; Nie *et al*, 2013)等都已有关报道, 而缢蛏在性状相关标记筛选方面则还未见报道。本研究首先构建缢蛏全同胞家系, 进而采用 SSR 技术对其分子特征进行检测, 并结合其数量性状度量, 筛选与缢蛏生长性状显著相关的分子标记, 以期对缢蛏生长性状的 QTLs 定位、分子标记辅助育种和新品种培育提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

所用缢蛏样品为 2011 年 10 月在浙江省海洋水产养殖研究所清江基地培育的全同胞(F_1)家系(包含父母本样品), 养殖一龄后随机取 120 颗, 测量壳长、壳高、体重等指标, 解剖取肌肉组织, 固定于 90%乙醇中备用。

1.2 DNA 提取、PCR 扩增及检测

基因组 DNA 采用常规的苯酚/氯仿/异戊醇法抽提, 用紫外分光光度计测定浓度, 再用无菌水统一调至 100ng/ μ L, -20°C 保存备用。PCR 反应体系总体积为 25 μ L, 包括 10 \times PCR buffer 2.5 μ L, 25mmol/L MgCl₂ 2.5 μ L, 2.5mmol/L dNTPs 2 μ L, 上下游引物(10 μ mol/L)各 1.0 μ L, 5U/ μ L Taq DNA 聚合酶(TaKaRa)0.13 μ L, DNA 模板 1.0 μ L, 加灭菌双蒸水至 25 μ L。PCR 扩增程序为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5min, 进入 30 个 PCR 循环[94 $^{\circ}\text{C}$ 30s, 退火温度(表 1) 30s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30s], 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 下延伸 7min。扩增产物经 6%的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测, 硝酸银染色。

本实验所用引物来自刘博等(2012)已发表的和后续自主设计开发。所有引物均由上海生工生物工程有限公司合成, 根据亲本筛选出 16 对多态性引物用于后续研究(表 1)。

1.3 数据分析与统计

根据电泳图谱, 并参照引物设计时预期片段的

大小判读、统计条带。用 PopGene (Verion3.2)软件计算各位点在子代中的等位基因频率(allele frequency)、等位基因数(observed number of alleles, N_a)、有效等位基因数(effective number of alleles, N_e)和观测杂合度(observed heterozygosity, H_o); 根据亲本的基因型推算各位点在子代的期望杂合度(expected heterozygosity, H_e); 根据 Botstein 等(1980)的公式计算出多态性信息含量(PIC)。

用 SPSS19.0 软件中的卡方检验分析各位点在子代中的分离比是否符合孟德尔遗传; 用一般线性模型(general linear model, GLM)对 SSR 位点基因型与主要生长性状(壳长、壳宽、壳高和体重)进行相关性分析, 经方差分析检验呈显著性差异的位点, 使用 Duncan 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 缢蛏的生长指标分析

随机取缢蛏 F_1 家系 120 个个体, 分别测量其壳长、壳宽、壳高、体重的生长指标, 测量结果见表 2, 4 个生长性状都呈现连续变异的特点, 符合典型的数量性状或多基因遗传特点。通过 K-S 单样本正态分布检验, 结果显示其壳长、壳宽、壳高与体重的 P 值分别为 0.56、0.30、0.25 和 0.57, 均符合正态分布(表 2), 适合作为标记与性状相关分析的材料。

2.2 缢蛏 SSR 遗传多样性分析及其基因型分布情况

用 16 个 SSR 位点对缢蛏亲本及其子代 120 个个体进行了 PCR 扩增, 其中有 1 个子代个体 PCR 产物电泳条带不够理想, 因此舍弃了该个体。遗传参数统计结果表明(表 3): 16 个位点共检测到 39 个等位基因, 各位点的等位基因数 2—4 个, 平均 2.44, 平均有效等位基因数为 2.09; 观测杂合度在 0.36—1.00 之间, 平均为 0.58; 期望杂合度在 0.50—1.00 之间, 平均为 0.63; 多态信息含量(PIC)在 0.25—0.70 之间, 平均值 0.40。

根据亲本和子代的基因型判读统计。16 个位点中有 4 个位点子代具有 4 种基因型, 为 1:1:1:1 (BC \times AD/AB \times BC/AC \times BD)的分离类型; 10 个位点属 1:1 分离类型, 其中 4 个为雄亲杂合雌亲纯合, 6 个为雌亲杂合雄亲纯合; 2 个位点属 1:2:1 (AB \times AB)分离类型。根据卡方检验, 有 10 个位点(62.5%)的子代基因型分布处于平衡状态($P>0.05$), 其它位点(37.5%)都不同程度地偏离了平衡($P<0.05$ 或 $P<0.01$)(表 3)。

2.3 缢蛏生长性状相关 SSR 位点分析与多重比较

对每个 SSR 位点的不同基因型进行分类, 结合

表 1 本研究选用的微卫星位点、核心序列、引物序列和退火温度
Tab.1 Microsatellite loci, repeat motif sequence, prime sequence and annealing temperature used in this study

位点	核心序列	引物序列(5'→3')	扩增片段大小(bp)	退火温度(°C)
YC-1	(ATCT) ₅	F: CGTTTGAACGTTACATTGTT R: TAACTTCTCTGCAGCTTGAC	130—133	54
YC-3	(ACAT) ₃	F: TCAAATTGTGATCCGTACTCT R: CACCATTACAAAACATCACCT	148—158	54
YC-8	(AAAGT) ₃	F: CTCATAAGTACCCCTGTGCTA R: AATACCCACGTAACATTTCTG	138—142	56
YC-35	(AC) ₈	F: GAGCCTGATCTATTGCCTTAT R: TGAGAATGTTTCTTCTACAGG	142—158	55
YC-49	(GA) ₆	F: CCACAAACTTTTCCCTCC R: CGGAATTAGCCAATCAGA	198—205	50
YC-58	(TCA) ₇	F: GAGTCTTCGAAATCTTCATCA R: AAAAACTCCATCTACCAAGGA	150—158	50
YC-87	(CT) ₈	F: CCAGACAGCATAATAAGAGG R: ACGCTGACATAAATGAAAAAC	165—175	47
YC-93	(GGC) ₄	F: GTCCTCTGTTTCTGTTTCTCC R: CAGAAGGTTCTGAAGAAGTACC	138—148	47
YC-94	(GGT) ₅	F: GTGGCTCTTCTAACAGAGGTT R: CATTTAGGCTTTCTCAGTGTG	147—150	47
YC-96	(TACA) ₅	F: TAAGGGTTTGGAAATTGTGTG R: GCTCATTAGAGCTTATGGTG	128—140	50
YC-98	(TG) ₈	F: CCTGAATATCAGCATCAAGAA R: GTTCATTCTTCAATCAACTG	135—150	53
YC-106	(AC) ₆	F: GAAAACCTAGGAAAGAACTGC R: TTATTCCTCTAAAAGGCTTCC	150—160	55
YC-115	(TC) ₆	F: ACATCTGTATGCATTTTCATCT R: CTAATATGCAAAGGTGGTCTG	145—158	47
YC-116	(AAT) ₅	F: CGATTGCTGCAAGATAATATAC R: ACTAGCATGTATGATCGGAAA	143—150	53
YC-123	(AT) ₆	F: ACAACAATAGTTTTGGTTTGC R: CCATGTTTGTA AAAACCAACT	168—170	47
YC-125	(TAA) ₅	F: AGAACATGCCATAAGCATAAC R: CACCTAGGCACATTGTAGTTC	140—153	53

F 表示正向引物; R 表示反向引物

表 2 壳长、壳宽、壳高、体重的表型数据及正态分布检验
Tab.2 The phenotypic data of shell length, width, height, and weight, and normal distribution test

性状	最小值	最大值	平均值±SD	偏度	峰度	K-S 值	P 值
壳长	38.45mm	57.58mm	49.16±4.15mm	-0.23	-0.53	0.79	0.56
壳宽	10.41mm	19.90mm	14.83±2.08mm	-0.11	-0.73	0.97	0.30
壳高	9.04mm	18.79mm	14.48±2.51mm	0.02	-1.15	1.02	0.25
体重	2.63g	11.48g	6.78±1.95g	0.39	-0.34	0.79	0.57

表 3 16 个微卫星位点在缙蛭 F₁ 家系的统计信息
Tab.3 Statistic information for 16 microsatellite loci in an F₁ family of *S. constricta*

位点	亲本基因型	N _a	N _e	H _o	H _e	PIC	F ₁ 的基因型分布	P 值
YC-1	AB×AB	2	1.98	0.37	0.50	0.37	AA: AB: BB=31: 44: 44	0.242
YC-3	AB×BB	2	1.42	0.36	0.50	0.25	AB: BB=43: 76	0.002
YC-8	AB×AB	2	1.92	0.27	0.50	0.36	AA: AB: BB=56: 32: 31	0.006
YC-35	BC×AD	4	3.71	1.00	1.00	0.68	AB: AC: BD: DC=19: 31: 17: 48	0.000
YC-49	AA×AB	2	1.55	0.46	0.50	0.29	AA: AB=64: 55	0.409
YC-58	AB×BC	3	2.62	0.73	0.75	0.55	AB: BB: AC: BC=24: 32: 29: 32	0.691
YC-87	AA×AB	2	1.64	0.53	0.50	0.31	AA: AB=55: 63	0.461
YC-93	AB×BC	3	2.56	0.71	0.75	0.54	AB: BB: AC: BC=16: 32: 27: 37	0.034
YC-94	AB×AA	2	1.73	0.61	0.50	0.33	AA: AB=47: 72	0.022
YC-96	BB×AC	3	2.67	1.00	1.00	0.55	AB: BC=59: 58	0.926
YC-98	AC×BD	4	4.00	1.00	1.00	0.70	AB: BC: AD: DC=22: 35: 38: 21	0.047
YC-106	BB×AB	2	1.51	0.43	0.50	0.28	AB: BB=50: 66	0.137
YC-115	BB×AB	2	1.58	0.49	0.50	0.30	AB: BB=57: 60	0.782
YC-116	BB×AB	2	1.53	0.45	0.50	0.29	AB: BB=53: 66	0.233
YC-123	AB×BB	2	1.52	0.44	0.50	0.28	AB: BB=52: 67	0.169
YC-125	AB×AA	2	1.52	0.44	0.50	0.28	AA: AB=66: 52	0.197
平均值		2.44	2.09	0.58	0.63	0.40		

表型数据进行关联分析, 结果在 16 个 SSR 位点中, 发现共有 4 个位点与缙蛭生长性状表现出一定的相关性, 其中 YC-1 与壳宽显著相关($P<0.05$); YC-93 与壳宽、壳高均极显著相关($P<0.01$); YC-96 与体重显著相关($P<0.05$); YC-123 位点与壳高、体重均显著相关($P<0.05$)。

将这 4 个有显著相关的位点进行不同基因型间的不同性状的多重比较(Duncan 法), 结果如下(表 4):

在标记 YC-1 中, 基因型 BB 个体的壳长、体重、壳宽值均高于 AA 和 AB 个体, 但仅在壳宽性状上呈显著差异($P<0.05$), 推测 BB 基因型是壳宽的优势基因型, 等位基因 A 可能起负面影响。

在标记 YC-93 中, 基因型 BC 和 BB 个体的壳宽值极显著高于 AB 和 AC 个体($P<0.01$), 说明等位基因 A 对壳宽起负面影响; 在壳高性状上则是基因型 AB 和 AC 个体极显著或显著高于 BC 和 BB 个体($P<0.01$)

表 4 4 个微卫星位点不同基因型壳长、宽、高与体重的多重比较
Tab.4 Multiple comparisons of major growth traits with different genotypes at 4 microsatellite loci

位点	基因型	个体数	壳长(mm)	壳宽(mm)	壳高(mm)	体重(g)
YC-1	BB	44	49.16±4.15	15.45 ^a ±2.06	14.12±2.44	7.05±2.24
	AA	31	49.09±4.22	14.46 ^b ±2.06	14.98±2.63	7.03±2.04
	AB	44	48.78±3.36	14.46 ^b ±2.01	14.50±2.49	6.33±1.47
YC-93	AB	16	49.99±3.42	13.94 ^B ±1.63	15.80 ^A ±2.59	7.25±1.55
	AC	27	48.26±4.32	14.05 ^B ±2.11	14.81 ^{AB} ±2.63	6.24±1.72
	BC	37	49.04±5.02	15.34 ^A ±2.14	13.94 ^B ±2.54	6.85±2.40
YC-96	BB	32	49.23±3.37	15.29 ^A ±2.06	14.00 ^B ±2.11	6.78±1.76
	BC	58	49.56±4.13	14.89±2.00	14.84±2.55	7.15 ^a ±1.99
YC-123	AB	59	48.70±4.21	14.68±2.15	14.20±2.46	6.40 ^b ±1.88
	BB	67	49.79±4.14	14.77±2.18	14.88 ^a ±2.45	7.12 ^a ±2.03
	AB	52	48.35±4.06	14.90±1.96	13.97 ^b ±2.51	6.35 ^b ±1.76

数值右肩不同小写字母表示在一个位点中不同基因型之间差异显著($P<0.05$), 大写字母表示差异极显著($P<0.01$), 未标注的表示基因型之间差异不显著($P>0.05$)

或 $P < 0.05$), 说明等位基因 A 对壳高起正面影响; 4 种基因型在体重上 AB 型个体最大, 但与其它 3 种基因型个体均未达到显著差异水平。

在标记 YC-96 中, 基因型 BC 个体的平均壳长、壳宽、壳高、体重值均高于 AB 个体, 在平均体重性状上差异显著 ($P < 0.05$), 可说明 BC 基因型是体重性状的优势基因型, 而等位基因 A 起负面影响。

在标记 YC-123 中, 基因型 BB 个体的平均壳高、体重值均显著高于 AB 个体 ($P < 0.05$), 说明基因型 BB 对壳高、体重起正面影响, 等位基因 A 起负面影响。

2.4 最优基因型组合筛选

因为体重一般是水产动物最终收获的主要经济性状, 因此, 本研究以体重为参照指标对这 4 个位点不同基因型组合进行比较。由于 4 个位点中某些基因型组合出现频率太少, 缺少分析价值, 因此在实际统计分析中, 每种基因型组合至少有 3 次观察值才被考虑。YC-1、YC-93、YC-96 和 YC-123 四个位点的基因型分别有 3、4、2 和 2 种基因型, 可形成 48 种组合, 因在标记 YC-93 和 YC-96 中分别有 7 个和 2 个个体未检测到基因型, 因此样本数为 110。在检测的 110 个个体中实际出现了 32 种基因型组合, 16 种基因型组合的个体没出现。对 32 种不同基因型组合的体重表型值进行比较, 获得的最优基因型组合为 BB/BB(BC)/BC/BB, 与 4 个位点单独分析对应的最优基因型基本完全一致, 符合加性作用模型(表 5)。

表 5 缙蛭 F_1 家系的不同基因型组合对应体重排序统计表
Tab.5 The statistics to body weight value with different genotype combinations in an F_1 family of *S. constricta*

排序	基因型组合 YC-1/YC-93/YC-96/YC-123	平均体重(g)	个体数
1	BB/BB/BC/BB	8.08±1.40	3
2	BB/BC/BC/BB	7.91±2.56	11
3	AA/AB/BC/BB	7.85±1.29	5
4	AB/AC/BC/BB	7.39±0.54	5
5	BB/BC/AB/AB	7.38±2.44	5
6	AB/BB/BC/AB	6.67±1.11	6
7	AA/AB/BC/AB	6.62±1.77	5
8	AA/AB/AB/BB	6.36±1.81	3
9	BB/BC/BC/AB	6.31±2.14	8
10	AB/AC/AB/BB	6.28±1.65	5
11	AB/AC/AB/AB	6.16±1.14	6
12	BB/BC/AB/BB	6.13±2.76	8
13	AB/BB/AB/BB	6.05±1.78	13
14	AA/AC/AB/AB	4.92±1.80	4

3 讨论

3.1 缙蛭家系遗传结构分析

N_e 、 H_o 、 H_e 和 PIC 是反映群体遗传多样性的重要参数, 数值越大, 表明群体遗传结构越复杂, 进而说明基因丰富度越高(李春艳, 2009)。本文中, 缙蛭家系群体的 $N_e=2.09$, $H_o=0.58$, $H_e=0.63$ 和 $PIC=0.40$, 可以看出该缙蛭家系的遗传多样性水平处于中等水平, 普遍低于已报道的缙蛭不同地理养殖群体和野生群体的遗传多样性水平(牛东红等, 2011; 刘达博等, 2011; 刘博等, 2013), 出现这种现象的原因可能与本文研究的对象是全同胞家系群体有关。

另外, 本研究的 16 个位点的期望杂合度多数与观测杂合度基本一致, 说明实验中测量缙蛭家系群体的这些位点的基因频率和基因型频率稳定性较好, 除了位点 YC-8 的期望杂合度 ($H_e=0.50$) 明显大于观测杂合度 ($H_o=0.27$), 表现出 F_1 代个体的分离方式严重偏离孟德尔分离规律 ($P < 0.01$)。分析该位点在 F_1 群体中的基因型分布, 发现杂合子 AB 个体很少, 仅占全部观测个体的 26.9%(理论上应 50%); 而纯合子 AA 个体很多, 占全部观测个体的 47.1%(理论上只占 25%)。这提示该位点附近可能存在着不利于杂合子 AB 个体而利于纯合子 AA 个体存活的基因。位点 YC-35 严重偏离孟德尔分离定律 ($P=0.000$), 其原因是由于基因型 AB 和 BD 个体 ($AB:AC:BD:DC=19:31:17:48$, 理论上应 1:1:1:1) 出现频率显著偏低, 暗示该位点可能存在与 B 连锁的基因不利于缙蛭存活, 有待于进一步深入研究。

多态信息含量(PIC)是衡量基因变异程度高低的重要指标, 可以反应出基因座位在群体中的多态性高低。研究利用的 16 个 SSR 位点, 据 Botstein 等(1980)的界定标准, 有 5 个位点表现为高度多态位点 ($PIC > 0.50$), 11 个表现为中度多态位点 ($0.25 < PIC < 0.50$), 16 个位点的平均 PIC 为 0.40, 说明本实验筛选出的 EST-SSR 标记在该缙蛭家系中具有中等偏上的多态性, 具备进一步辅助选育优良种质的价值。

3.2 缙蛭生长性状相关分子标记的筛选

微卫星标记具有保守性好、呈共显性遗传的特点, 是近年来发展迅速、应用广泛的分子标记, 也是分析与重要经济性状的遗传连锁关系最理想的标记之一, 目前已经被广泛应用于水产动物生长、抗病、性别等性状相关分子标记筛选。例如 Lu 等(2013)利用双向选择性分型筛选出 3 个与文蛤 (*Meretrix meretrix*) 生长

QTL 紧密连锁的 EST-SSR 标记, 并用单向选择性分型对其进行了验证; Song 等(2012)利用半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*) F_1 家系构建高密度遗传连锁图谱, 并进行性状-标记之间的回归分析, 得到 2 个与生长性状相关($P < 0.01$)的 SSR 标记; Guo 等(2012)基于全同胞家系构建长牡蛎(*Crassostrea gigas*)的性别平均连锁图, 检测到 3 个生长相关的 QTLs 和一个性别相关的 QTL; Rodriguez 等(2004)利用雄性硬头鲷和雌性虹鲷(*Oncorhynchus mykiss*)杂交产生的雄性 F_1 回交雌性虹鲷产生 70 个家系(BC1), 从每个 F_1 和 BC1 家系中取近 100 个体进行 IHN 病毒感染, 表型性状采用 1(感染后死亡)和 0(感染后存活), 筛选到 6 个微卫星标记和 IHNV 抗性有关, 为进一步将与抗性有关的基因进行定位、克隆奠定基础。在本实验中, 共找到了 4 个与生长性状显著相关的 EST-SSR 标记, 其中 YC-93 与缢蛏的壳宽、壳高性状极显著相关, YC-123 与壳高、体重性状显著相关, 而位点 YC-1 和 YC-96 仅与壳宽或体重一个性状显著相关, 可初步确定这些位点为与生长相关的候选标记; 尤其是位点 YC-96 的 BC 基因型和 YC-123 的 BB 基因型的个体体重性状均显著高于同一标记的其它基因型的个体, 推测这两个基因型为体重优势基因型, 可用于对缢蛏体重性状进行辅助选育。

后续的研究工作中, 将对筛选到的这些候选标记进行进一步的分析与验证, 探讨其能否作为缢蛏标记辅助育种的有效分子标记。

参 考 文 献

- 王兴强, 曹梅, 阎斌伦, 2006. 缢蛏 *Sinonovacula constricta* (Lamarck) 养殖期间发病原因及防治对策. 现代渔业信息, 21(5): 13—16
- 王如才, 王昭萍, 2008. 海水贝类养殖学. 青岛: 中国海洋大学出版社, 231
- 牛东红, 冯冰冰, 刘达博等, 2011. 浙闽沿海缢蛏群体遗传结构的微卫星和线粒体 *CO I* 序列分析. 水产学报, 35(12): 1805—1813
- 邓岳文, 高远镇, 王学颖等, 2013. 马氏珠母贝生长性状与 EST-SSR 标记的关联分析. 农业生物技术学报, 21(1): 77—88
- 刘芳, 李卫东, 王强等, 2006. 微卫星标记及其在贝类遗传选育研究中的应用. 水产科学, 25(5): 268—270
- 刘博, 邵艳卿, 王侃等, 2013. 4 个缢蛏群体遗传多样性和系统发生关系的微卫星分析. 海洋科学, 37(8): 96—102
- 刘博, 邵艳卿, 滕爽爽等, 2012. 缢蛏 (*Sinonovacula constricta*) EST-SSR 分布特征及引物开发利用. 海洋与湖沼, 43(1): 132—137
- 刘达博, 牛东红, 冯冰冰等, 2011. 乐清湾和三沙湾缢蛏群体遗传多样性的微卫星分析. 上海海洋大学学报, 20(3): 350—357
- 李春艳, 丁君, 常亚青等, 2009. 虾夷扇贝微卫星标记的分离及其养殖群体的遗传结构分析. 中国水产科学, 16(1): 39—46
- 张义凤, 张研, 鲁翠云等, 2008. 鲤鱼微卫星标记与体重、体长和体高性状的相关分析. 遗传, 30(5): 613—619
- 顾颖, 曹顶臣, 张研等, 2009. 鲤与生长性状相关的 EST-SSRs 标记筛选. 中国水产科学, 16(1): 15—22
- Botstein D, White R L, Skolnick M *et al*, 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. The American Journal of Human Genetics, 32(3): 314—331
- Guo X, Li Q, Wang Q Z *et al*, 2012. Genetic mapping and QTL analysis of growth-related traits in the Pacific oyster. Marine Biotechnology, 14(2): 218—226
- Lu X, Wang H X, Liu B Z *et al*, 2013. Three EST—SSR markers associated with QTL for the growth of the clam *Meretrix meretrix* revealed by selective genotyping. Marine Biotechnology, 15(1): 16—25
- Nie Q, Yue X, Chai X L *et al*, 2013. Three vibrio-resistance related EST-SSR markers revealed by selective genotyping in the clam *Meretrix meretrix*. Fish & Shellfish Immunology, 35(2): 421—428
- Rodriguez M F, LaPatra S, Williams S *et al*, 2004. Genetic markers associated with resistance to infectious hematopoietic necrosis in rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) backcrosses. Aquaculture, 241: 93—115
- Song W T, Li Y Z, Zhao Y W *et al*, 2012. Construction of a high-density microsatellite genetic linkage map and mapping of sexual and growth-related traits in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). PLoS One, 7(12): e52097
- Tautz D, 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. Nucleic Acids Research, 17(16): 6463—6471
- Zane L, Bargelloni L, Patarnello T, 2002. Strategies for microsatellites isolation: a review. Mol Ecol, 11: 1—16
- Zhang L S, Yang C J, Zhang Y *et al*, 2007. A genetic linkage map of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*): sex-linked microsatellite markers and high recombination rates. Genetica, 131(1): 37—49

CORRELATION OF EST-SSR MARKERS WITH GROWTH TRAITS IN RAZOR CLAM (*SINONOVACULA CONSTRICTA*)

SHAO Yan-Qing¹, FANG Jun¹, BAI Yan^{1,2}, ZHANG Jiong-Ming¹, XIAO Guo-Qiang¹,
TENG Shuang-Shuang¹, LIU Bo¹, CHAI Xue-Liang¹

(1. Zhejiang Mariculture Research Institute, Zhejiang Key Laboratory of Exploitation and Reservation of Coastal Bio-resource, Wenzhou 325000, China; 2. Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China)

Abstract We analyzed the genetic diversity and screened the markers associated with growth traits using 16 polymorphic microsatellite markers in an F₁ family of razor clam *Sinonovacula constricta*. Thirty-nine alleles were detected, and the average number of alleles and effective number of alleles were 2.44 and 2.09, respectively. The mean polymorphism information content (PIC) was 0.40. The average observed heterozygosity (H_o) and expected heterozygosity (H_e) were 0.58 and 0.63, respectively. The genotype distribution of partly loci deviated severely from Mendel's Laws, suggesting that these loci might link with the adaptive gene, and locus YC-8 may link with heterozygous lethal genes. Loci YC-96 and YC-123 showed significant impact on shell weight ($P<0.05$). Genotypes BC at YC-96 and BB at YC-123 were favorable for shell weight, featuring highest phenotype value in shell weight, length, width, and height, respectively; and therefore can be used as molecular markers in selection breeding. Locus YC-1 showed a significant impact on shell width ($P<0.05$), in which BB was a dominant genotype of shell width. Locus YC-93 showed an extremely significant effect on shell width and shell height ($P<0.01$), in which AB was the dominant genotype of shell height, and BB and BC were the dominant genotypes of shell width. The best genotype combinations (BB/BB(BC)/BC/BB) for YC-1, YC-93, YC-96 and YC-123 were selected for body weight, which conforms to the additive model.

Key words razor clam *Sinonovacula constricta*; EST-SSR marker; growth trait; correlation analysis