许氏平鲉微卫星标记与体长、体质量、体高的相关性分析

韩承慧[1,2], 马海涛[1], 薛　蕊[3], 姜海滨[1], 常　城[1,2], 王　腾[1,2]

(1. 山东省海洋资源与环境研究院 山东省海洋生态修复重点实验室, 山东 烟台 264006; 2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306; 3. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 为了解许氏平鲉(*Sebastes schlegelii*)微卫星标记与生长性状的相关性, 选取 26 个微卫星标记在海捕许氏平鲉群体中进行微卫星筛选, 每个微卫星位点的等位基因数(Na)在 3~21, 有效等位基因数(Ne)为 1.1815~15.5676; 观测杂合度(Ho)范围为 0.0417~0.9999; 期望杂合度(He)范围为 0.1581~0.9456; 多态信息含量(PIC)范围为 0.1509~0.9320。利用单标记分析法分析了多态性较高(PIC>0.5)的 22 个标记与体长、体质量、体高的相关性, 结果显示 3 个标记与生长性状显著相关, 其中 HJ2-32 与体长、体质量和体高显著相关(P<0.05), 并推断等位基因 D 与 C 对于体质量、体长、体高分别具有重要的正向与负向影响; HJ7-2 与体质量显著相关; HJ7-22 与体长显著相关, 并推测等位基因 F 对体长具有正向影响, 等位基因 B 对体长有负面影响。这些标记可为许氏平鲉分子标记辅助育种提供基础。

关键词: 许氏平鲉(*Sebastes schlegelii*); 微卫星标记; 生长性状; 相关性分析
中图分类号: S965　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1000-3096(2016)12-0047-09
doi: 10.11759//hykx20151030002

许氏平鲉(*Sebastes schlegelii*), 俗称黑鲪, 属鲉形目(Scorpaeniformes)、鲉亚目(Scorpaenoidei)、鲉科(Scorpaenidae)、平鲉亚科(Sebastinae)、平鲉属(*Sebastodes*)[1], 广泛分布于中国东海、黄海和渤海, 属于卵胎生种类[2], 雌鱼的性成熟时间一般为 3 a, 雄鱼则一般为 4 a。目前养殖苗种以海捕野生苗为主要来源, 养殖成活率较低, 长期的过度捕捞也使许氏平鲉资源和遗传多样性遭到破坏, 因此进行其良种选育已成为保护中国许氏平鲉资源、促进许氏平鲉养殖业可持续发展的必要手段[3]。

鱼类的体长、体质量和体高均属于数量性状, 由于基因连锁、一效多因等的存在, 导致数量性状受多基因控制, 遗传基础复杂。随着分子遗传标记的飞速发展, 人们将控制数量性状的多个基因分开研究, 理论上任何一个表型性状的基因都存在与之连锁的 DNA 标记[4]。此种方法为优良品种的快速培育提供了可靠和有效的工具, 利用分子标记辅助选择(MAS), 可找到与数量性状位点相连锁的分子遗传标记, 实现缩短时代间隔早期选种及提高选种准确性, 并加快新品种的培育。微卫星分子标记, 作为第二代分子标记手段, 具有多态性高、方便快捷、稳定性高等特点[5], 已经被广泛应用于水产动物分子标记与数量性状的相关性分析和 QTL 定位之中[6]。国内外对于许氏平鲉微卫星标记的研究尚处于起步阶段, 日本学者 Yoshida 等[7]首先利用两重 PCR 扩增的方法获得 6 个微卫星标记; 韩国学者 An 等[8]利用磁珠富集法获得了 14 个微卫星标记; Yasuike 等[9]利用 454 测序法筛选了 17 个微卫星标记。国内方面, Bai 等[10]运用磁珠富集的方法获得了 18 个微卫星标记; 初冠囡等[11]发表了 17 个许氏平鲉微卫星标记; 贾超峰等[12]报道了 15 个具有多态性的微卫星标记, 薛蕊等[13]开发 EST-SSR 标记 18 个。由于微卫星标记的开发数量较少, 目前许氏平鲉微卫星标记主要应用于群体遗传多样性分析及家系鉴定[6, 11]。本研究以 26 个微卫星标记为基础, 分析许氏平鲉微卫星标记与其经济性状(其体长、体质量、体高)的相关性, 为许氏平鲉数量性状定位和进一步分子标记育种奠定基础。

1　材料与方法

1.1　材料

本实验所需材料为 2009 年山东胶南海捕许氏平

收稿日期: 2015-10-30; 修回日期: 2015-12-23
基金项目: 山东省良种工程项目(2014-2017)
[Foundation: Shandong Province Breeding Project No.2014-2017]
作者简介: 韩承慧(1990-), 男, 山东莱芜人, 硕士研究生, 主要从事水产养殖工作, 电话: 15564507213, E-mail: CH_Han1990@163.com; 姜海滨, 通信作者, 研究员, E-mail: haibinjiang326@163.com

鲅, 规格为 4 cm~5 cm, 暂养于山东泰华海洋科技有限公司(国家级许氏平鲅原种场), 2011 年随机挑选 48 尾, 分别标号 1~48, 测量其体质量、体长、体高 3 组数据。剪取部分尾鳍于 70%酒精中, 带回实验室–20℃保存, 并尽快提取基因组 DNA。

1.2 数量性状测量

由于许氏平鲅个体较大, 生性凶猛, 因此先使用 MS-222 对所测量鱼类麻醉[14], 质量浓度为 30 mg/L 的 MS-222 麻醉 15 min。体长、体高分度值为 0.1 cm, 体质量分度值为 0.1 g。

1.3 基因组 DNA 的提取

取尾鳍样品约 30 mg, 采用传统酚/氯仿/异戊醇抽提法提取基因组 DNA[15]。用 1.2%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 完整性, NanoDrop2000 检测 DNA 的浓度和纯度。–20℃保存, 使用前稀释至 50 ng/μL。

1.4 微卫星引物的设计及筛选

本实验所用微卫星标记来自贾超峰等发表的高度多态的微卫星标记 14 个(HJ1-6 至 HJ4-94)[12], 通过高通量测序法开发其微卫星标记 11 个(HJ6-19 至 HJ8-65), 并从 Yoshida[7]报道中选取 1 个(SSC12)。引物由上海生工生物有限公司合成, TE 稀释。微卫星引物特征参见表 1。

1.5 微卫星 PCR 扩增及检测

采用总体积为 25 μL 的反应体系, 包括 2 μL DNA 模板(50 ng /μL), 2.5 μL 10×buffer, 引物各 1 μL (50 μmol/L), 0.5 μL dNTPs(10 mmol/L), 0.2 μLTaq DNA 聚合酶(5U/μL), 灭菌水补足。PCR 反应程序为: 94℃预变性 5 min; 94℃变性 40 s, 退火反应 40 s(退火温度见表 1), 72℃延伸 1 min, 30 个循环; 最后 72℃延伸 10 min。PCR 扩增产物通过 10%(*W/V*)非变性聚丙烯酰氨凝胶电泳及 0.1%硝酸银染色, 扫描检测其多态性。

表 1 26 对许氏平鲅微卫星引物的特征

Tab. 1 Characteristics of 26 pairs of microsatellite primers for *Sebastes schlegelii*

位点	重复单元	引物序列 (5′-3′)	退火温度(℃)	产物大小(bp)
HJ1-6	$(GT)_{23}…(TG)_6$	F: TCAGAAAGGAGGCAAACG	62	155~212
		R: CGGCTAATGTCCCACAAC		
HJ1-14	$(AC)_{15}$	F: AGGGAGATGTTCGACAAG	60	125~175
		R: AGATTGGATGTAAGCGTG		
HJ2-28	$(TG)…(GCGTGT)_3$	F: TGGAACCGAAGGAAGAGT	62	150~200
		R: CTGCCATCATGGAGGAGA		
HJ2-32	$(AC)_8$	F: CGTATTATTGGCTTTGGA	50	275~295
		R: TGTATGGGAGTGTCTTTGT		
HJ3-11	$(GGA)5(GGC)_7…(GGA)_4$	F: GAACTCTTCTGTCTACGTC	62	135~170
		R: TGTCTTCAATCTTGGGTGG		
HJ3-23	$(TG)_{13}…(GCA)_{14}$	F: GCAGCCCCTGACTTTGTT	64	260~300
		R: TCGGTGCTCAGTGAAGGA		
HJ4-6	$(GA)_{18}$	F: TATCGTTGCCCTTTGTTG	63	325~365
		R: CTGGATGAAAGCCTTGTG		
HJ4-40	$(CT)_6…(CT)_{14}$	F: CTTTACGGAGTGTACCTTG	63	195~235
		R: TGACCCTTCTGGTCTGATT		
HJ4-44	$(CA)_{25}$	F: AGACAGGGCATGTGATGA	62	165~225
		R: TTACAGCGGCAAGAAACC		
HJ4-47	$(AC)_8$	F: ATGGCGTCTTGCCCTTGT	60	140~160
		R: CGCGGCCTTTTCATCTCA		
HJ4-64	$(GT)_{10}$	F: TGGCGTGGTGTCGTGTCGT	63	175~195
		R: AACCTGGCTCTGGTTCTGG		
HJ4-68	$(TCC)_5…(TCC)_4$	F: TCGGTGTTTTCCAGGTAG	64	255~270
		R: AGAGGACGGACAGCAGAT		

续表

位点	重复单元	引物序列 (5′-3′)	退火温度(℃)	产物大小(bp)
HJ4-92	$(CA)_{20}A(AC)_{19}$	F: AGTGGTGGCTGTCGTGAT	64	204~260
		R: GCTGCTGCCTGGTAGATA		
HJ4-94	$(AC)_{13}$	F: ACCCCACTTCAGAACACT	60	200~230
		R: GAGCTCCGTACTGCATAT		
HJ6-19	$(GT)_{10}$	F: TTGCAGACAGAATAAAATTCACGG	60	104~140
		R: TGGCTTTACAACCATATCACTCCC		
HJ6-23	$(TGC)_{10}$	F: GACGAGCTTCTTCCCATCAGG	60	146~172
		R: TGACCACACCATCACTAGAAGAGC		
HJ7-2	$(AC)_9$	F: ACACACGTTCTTACAGAAGGACCC	60	130~170
		R: CAATGGCATAATTTGGTGTTGAAA		
HJ7-22	$(TG)_{14}$	F: AGTTAGCTGGGAAGGAAAAGCACT	60	110~132
		R: ACCTTACTGCACCTGTTCTCTTGG		
HJ7-38	$(GGC)_4$	F: GCAATCGAATTACCGTCCATTTTA	60	130~140
		R: CAGCTCCACTGAACAGGACTAAGG		
HJ7-59	$(GT)_{10}$	F: AGCTTACCTGTACCTGAGTGTCGG	60	124~160
		R: CCGGCAGAGTAAAACAGACAAACT		
HJ7-60	$(TG)_{15}$	F: ATATGTGTGAAGCTGCTGCATGTC	60	104~160
		R: TCAGGCAAATCAACACTAGTCAGC		
HJ7-68	$(TCTA)_4$	F: ATCTGGTCGCAGATACAGGACAGT	60	160~210
		R: TTCTAGTGACACATATTTCTGCCCTT		
HJ7-93	$(CA)_{15}$	F: CGAATGCATCACAATACCAATCTC	60	116~148
		R: ACATCAGGTTTCAGCGGATGTAAT		
HJ8-25	$(GAAT)_4$	F: CTGGCAGACACTTTCAGGGTAAG	62	110~130
		R: TCACCCCATTTTAACACGCTTTAT		
HJ8-65	$(ATGG)_7$	F: GGATCCCTCAGGAAGAGCTAGAAA	60	150~160
		R: GGATCTATTGGCAGCAATGGAATA		
SSC12	$(AC)_{20}$	F: AACACGGTGAACAGAGAACAAA	59	150~230
		R: GCTCCGACTATAGCTGGTCCTA		

1.6 数据统计与分析

将电泳条带中的每个DNA片段作为一个等位基因, 统计每个微卫星标记的基因型, 根据迁移率的不同从大到小依次定义为 A、B、C……Z。Genepop 卡方检验估计群体的 Hard-Weinberg 平衡, Bonferroni 校正; Popgene 软件统计各微卫星位点的等位基因数((N_a))、有效等位基因数((N_e))、观测杂合度(H_o), 期望杂合度(H_e), PIC Calc 0.6 计算每个位点的多态信息含量(PIC); SPSS19.0 检验许氏平鲉的体长、体质量、体高 3 个性状数据的正态性并分析 3 个性状之间的相关性; 一般线性模型(GLM)进行标记与性状的相关性分析, 模型为 $y=u+g_i+e$, 其中 y 为性状观测值, u 为群体均值, g 为第 i 个个体的基因型效应, e 为随机误差, 因为测量时间为 9 月份, 性腺未发育, 不考虑性别效应; 对不同标记基因型之间的性状差异性检测并进行 LSD 多重比较。

2 结果

2.1 微卫星位点的筛选

所有微卫星引物在群体中均表现出了较高的多态性(表 2)。26 个微卫星标记在 48 个许氏平鲉个体中共得到 260 个等位基因, 每个微卫星位点的等位基因数(Na)在 3~21, 平均等位基因数为 10.0000, 有效等位基因数(Ne)为 1.1815~15.5676, 平均值为 6.1631; 观测杂合度(Ho)范围为 0.0417~0.9999, 平均值为 0.6290; 期望杂合度(He)范围为 0.1581~0.9456, 平均值为 0.7253; 多态信息含量(PIC)范围为 0.1509~0.9320, 平均值为 0.6919。其中 HJ4-47, HJ4-64, HJ7-38 和 HJ8-25 为中低度多态(PIC<0.5), 其余 22

个位点均表现为高度多态性，Weber[16]认为只有在微卫星标记表现出较高的 PIC 值，才可以进行的相应的多态性分析，因此，本研究选用高度多态的 22 个微卫星位点分析与性状的相关性。各个微卫星位点的 Hardy-Weinberg 平衡检测结果发现有 11 个微卫星位点显著偏离平衡，占总数的 42.3%。研究表明在海洋经济鱼类、贝类、棘皮类的群体中被检测位点偏离 Hardy-Weinberg 平衡的现象普遍存在[17]。

2.2 生长性状之间的相关性

K-S 检验许氏平鲉体长、体高、体质量 3 个性状数据，3 个性状的双侧渐进显著性取值均大于 0.10，说明此 3 个性状均服从正态分布。Pearson 检验两性状之间的相关性，结果见表 3。研究表明 3 个表型值在群体中表现出较高的相关性，体长与体高的相关系数>体长与体质量的相关系数>体高与体质量的相关系数。以体质量做因变量，体长和体高作自变量的通径分析结果：体高对体质量的通径系数为 0.620，体长对体质量的通径系数为 0.358，说明体高对体质量的直接作用大于体长对体质量的直接作用。

表 2 48 尾许氏平鲉个体中 26 个微卫星标记的遗传参数

Tab. 2 Genetic diversity parameters of 26 microsatellite primers for *Sebastes schlegelii* individuals

微卫星位点	等位基因数(Na)	有效等位基因数(Ne)	观测杂合度(Ha)	期望杂合度(He)	多态信息含量(PIC)	遗传偏离指数(P)
HJ1-6	21	15.5676	0.9583	0.9456	0.9320	0.0047
HJ1-14	13	10.5931	0.9167	0.9151	0.8978	0.0228
HJ2-28	15	9.6604	0.8333	0.9059	0.8880	0.2652
HJ2-32	4	3.5693	0.8125	0.7274	0.6713	0.0016
HJ3-11	7	2.7380	0.5208	0.6414	0.6095	0.0884
HJ3-23	15	9.9525	0.9167	0.9090	0.8912	0.0915
HJ4-6	5	2.5416	0.4167	0.6129	0.5687	0.0000*
HJ4-40	11	5.5318	0.5625	0.8279	0.7973	0.0000*
HJ4-44	15	10.4018	0.9583	0.9134	0.8961	0.4986
HJ4-47	3	1.7428	0.3750	0.4307	0.3809	0.0027
HJ4-64	4	1.1864	0.1667	0.1588	0.1527	1.0000
HJ4-68	7	4.0492	0.7083	0.7610	0.7211	0.0708
HJ4-92	14	9.3279	0.7708	0.9022	0.8832	0.0211
HJ4-94	7	3.7801	0.9792	0.7432	0.6967	0.0000*
HJ6-19	10	6.3823	0.4167	0.8522	0.8246	0.0000*
HJ6-23	19	11.2117	0.8750	0.9204	0.9040	0.0064
HJ7-2	15	8.0842	0.4167	0.8855	0.8644	0.0000*
HJ7-22	6	3.7770	0.4167	0.7430	0.6894	0.0000*
HJ7-38	4	1.1855	0.0417	0.1581	0.1509	0.0001*
HJ7-59	8	3.7372	0.5208	0.7401	0.6965	0.0000*
HJ7-60	8	3.0864	0.3333	0.6831	0.6406	0.0000*
HJ7-68	19	13.0538	0.8958	0.9331	0.9182	0.1162
HJ7-93	8	2.5902	0.9999	0.6204	0.5381	0.0000*
HJ8-25	3	1.5294	0.3125	0.3498	0.2931	0.5349
HJ8-65	3	2.8029	0.3542	0.6500	0.5708	0.0000*
SSC12	16	12.1583	0.8750	0.9274	0.9117	0.0769
平均值	10	6.1631	0.6290	0.7253	0.6919	

*. 显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡

2.3 微卫星标记与生长性状之间的相关性分析

利用 SPSS 中的一般线性模型对 22 个中高度多态性(P>0.5)微卫星标记和 48 个许氏平鲉个体的体长、体质量、体高进行相关性分析。由于一些位点中基因型的出现频率较少，缺少分析价值，因此统计时相同基

因型个体至少出现 4 次才做分析[4]。HJ1-6, HJ2-28, HJ3-23, HJ4-92, HJ7-68, HJ7-93, SSC12 的等位基因数较多, 均未出现个体数不少于 4 个的基因型, 不进行相关性分析。其余 15 个微卫星标记的不同基因型个体的生长性状平均值如表 4 所示。其中 HJ2-32 与体长、体质量和体高具有显著相关(P<0.05), HJ7-2 与体质量显著相关, HJ7-22 与体长显著相关。

表 3　两性状之间的相关性系数

Tab. 3　Correlation coefficients between two traits

性状	体长	体质量	体高
体长	—		
体质量	0.907**	—	
体高	0.937**	0.885**	—

**. 在 0.01 水平上显著相关

表 4　15 个微卫星位点不同基因型个体体长、体质量和体高平均值和多重比较

Tab. 4　Mean values and multiple comparisons of body length, weight, and height in 15 microsatellite loci

位点	基因型	个体数(尾)	体长(cm)	体质量(g)	体高(cm)
HJ1-14	BF	5	34.5±6.5	660.1±121.9	9.3±0.6
	DG	5	33.2±2.4	525.3±104.8	9.0±0.8
HJ2-32	AC	12	35.3^{ab}±1.3	598.2^{ab}±69.1	9.2^{a}±0.4
	AD	4	34.5^{ab}±1.8	593.5^{ab}±79.4	9.5^{a}±0.7
	BC	8	34.4^{ab}±5.0	623.9^{ab}±122.2	9.4^{a}±0.7
	BD	11	36.8^{a}±4.4	708.2^{a}±244.3	9.5^{a}±1.2
	CC	7	32.1^{b}±2.4	478.5^{b}±107.8	8.4^{b}±0.5
	CD	4	38.1^{a}±1.8	741.2^{a}±90.0	9.8^{a}±0.3
HJ3-11	BE	4	31.1±5.5	550.8±98.8	8.9±0.5
	CE	7	37.4±6.0	730.6±367.7	9.6±1.3
	DE	5	38.0±2.8	766.5±205.7	9.9±0.8
	EE	16	35.6±3.4	636.0±163.9	9.4±0.9
HJ4-6	BB	20	35.3±5.4	648.7±268.0	9.3±1.1
	BD	6	37.1±3.4	709.8±178.9	9.8±0.9
	BE	10	35.2±3.0	588.7±123.2	9.1±0.7
HJ4-40	AE	4	38.4±8.4	817.4±499	10.1±1.8
	CC	7	35.0±4.3	596.1±212.2	8.9±0.3
	CE	6	36.6±2.4	708.7±141.6	9.8±0.5
	EE	4	35.6±1.8	616.9±62.7	9.1±0.3
HJ4-44	EL	4	37.4±3.1	721.3±192.8	9.9±0.8
	IL	4	35.1±2.1	596.7±109.5	9.3±0.6
HJ4-68	BD	7	36.4±1.8	643.5±63.9	9.4±0.4
	CD	8	35.2±4.1	593.9±197.8	9.1±1.1
	DD	9	35.8±6.1	658.9±355.0	9.3±1.3
	DF	5	35.6±4.1	623.4±185.2	9.2±1.0
HJ4-94	BE	4	35.3±1.2	615.9±81.5	9.5±0.7
	BF	23	34.3±4.5	603.3±191.4	9.1±0.9
	DF	8	34.9±2.1	543.3±75.5	8.9±0.4
HJ6-19	DD	8	34.8±5.9	652.2±184.1	9.3±1.0
	DE	4	37.9±3.1	737.8±193.1	9.6±0.6
	EE	4	34.9±2.6	566.7±111.1	9.1±0.5
	FH	5	33.9±1.6	531.5±31.4	8.8±0.3
	HH	6	35.6±3.1	629.8±197.0	9.3±0.8
	II	4	32.8±3.2	529.5±148.7	9.1±1.4
HJ6-23	GL	4	38.5±3.2	751.8±179.0	9.9±0.9
	IO	4	35.4±3.1	617.3±163.9	9.4±0.9

续表

位点	基因型	个体数(尾)	体长(cm)	体质量(g)	体高(cm)
HJ7-2	GG	4	33.5±3.0	521.1[a]±113.0	8.9±0.8
	KK	6	35.2±7.2	701.5[b]±248.0	9.5±1.0
	LL	4	35.9±1.3	630.5[ab]±87.3	9.4±0.5
	NN	6	32.2±2.5	477.2[a]±88.0	8.5±0.6
HJ7-22	BB	7	31.5[a]±4.4	511.8±99.6	8.7±0.8
	BF	8	37.2[b]±3.8	688.9±210.1	9.5±0.8
	CC	13	35.5[b]±2.5	627.8±135.8	9.3±0.7
	CF	5	37.9[b]±7.3	747.3±45.6	9.5±1.7
HJ7-59	EE	5	35.8±3.6	634.4±163.7	9.4±0.9
	EF	13	36.9±4.9	712.5±296.4	9.6±1.2
	FF	10	33.9±3.0	551.2±132.4	8.9±0.6
HJ7-60	BD	9	35.2±4.5	601.4±211.7	9.2±0.4
	DD	19	36.9±4.2	696.7±245.8	9.6±1.0
	FF	7	32.1±4.2	557.9±101.3	8.9±0.6
HJ8-65	AA	10	36.8±2.8	663.9±148.9	9.6±0.7
	AC	5	34.1±2.9	555.1±126.5	9.1±1.0
	BB	16	35.3±2.3	625.6±142.1	9.3±0.7
	BC	11	34.5±5.1	622.0±142.1	9.2±0.8
	CC	5	37.1±9.0	765.3±504.0	9.5±2.0

注: 同一栏中不同上标字母者表示两个值之间差异显著(P<0.05)

在微卫星位点 HJ2-32 中共检测到 7 个基因型, 基因型 DD 的观测值少于 4 个不作分析, 其中基因型 CD 个体的体质量、体长、体高均高于其他基因型的个体, 且显著高于基因型 CC 个体, 因此可以推断等位基因 D 对于体质量、体长、体高具有重要的正向影响; 基因型 CC 个体的体质量、体长、体高均低于其他基因型个体, 且显著低于基因型 BD、CD 的个体(P<0.05), 因此推断等位基因 C 对体质量、体长和体高有负面影响。

在微卫星位点 HJ7-2 中, 基因型 KK 的个体体质量观测值显著大于其他个体, 基因型 NN 的观测值均小于其他基因型的观测值, 除基因型 KK 的个体无显著差异。

在微卫星位点 HJ7-22 中, 基因型 BB 个体体长的观测值显著小于其他基因型的观测值, 含有等位基因 F 的基因型 BF、CF 的个体体长观测值大于其他基因型的个体, 推测等位基因 F 对体长具有正向影响, 等位基因 B 对体长有负面影响。

3 讨论

许氏平鲉肉质鲜美, 营养丰富, 经济价值高, 是中国北方海水网箱养殖的主要对象之一, 但其生长速度较为缓慢, 达到市场规格(500 g)需要 2~3 a, 因此开展许氏平鲉生长性状相关的微卫星标记筛选研究, 对选育优质快速生长新品系, 减少成鱼养殖成本, 提高资源利用率有重要意义。

单标记相关性分析利用一个遗传标记与一个假定的 QTL 进行连锁分析, 根据分离群体中标记基因型间的数量性状平均值的差异来分析确定该标记所在区域是否存在 QTL[18], 通常使用的分析方法是方差分析、回归分析或似然比检验, 如不同基因型数量性状均值存在显著差异, 则说明控制该数量性状的 QTL 与标记有连锁。微卫星标记是水产动物遗传研究应用中最广泛的标记, 目前国内外对于许氏平鲉微卫星标记的开发还处于起步阶段, 未发表高密度的遗传连锁图谱。单标记分析法是在缺乏高密度遗传连锁图谱物种中进行数量性状分析的简单有效方法, 是目前水产动物遗传标记应用于分子标记辅助育种的有效途径, 已得到广泛应用, 如大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)生长性状相关的微卫星标记筛选[19], 尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)微卫星标记与主要生长性状的相关性分析[20], 鲫(*Carassius auratus*)微卫星标记与几个生长性状的相关性分析[21]。但是此种方法存在不能确定 QTL 的可靠位置, 不能

计算 QTL 效应和重组率等弊端。

本研究中所用样本为野生海捕的 48 个许氏平鲉个体，有 6 个微卫星标记中出现相同基因型个体均少于 4 个的现象，这可能与微卫星标记的多态性较高，等位基因数多，但群体个体数不足有关。闵霞等[22]在微卫星分子标记与松浦镜鲤(*Cyprinus carpio Songpu carp*)3 个表型性状的相关分析中选取了 194 个松浦镜鲤个体；崔晓亮等[23]在鲫(*Carassius auratus*)体长和体高相关的 EST-SSR 标记的筛选研究中选用了不同家系的 181 个个体；张义凤等[24]在鲤鱼(*Cyprinus carpio*)微卫星标记与体质量、体长和体高性状的相关性分析中选用了 92 个个体。因此获得更加精确性的性状相关的微卫星标记需要增加的分析样本数量。

水产动物的选育过程中，确定并合理利用物种性状间的相关性至关重要，可以有效地提高选育效果。只有在相关系数 R 大于或等于 0.85 时，才能作为通径分析的自变量[25]。本研究中，体长、体高与体质量的相关系数分别为 0.907、0.937，因此可作为对体质量通径分析的自变量，结果发现体高对体质量的直接作用大于体长对体质量的直接作用，可作为选育工作的指导。

本研究筛选得出与体长、体质量、体高均相关的微卫星标记 HJ2-32，群体的平均体长、平均体质量、平均体高分别为 35.5 cm、639.2 g、9.3 cm，基因型 CD 对 3 种表型性状均表现出正向相关，其个体的平均值分别为：38.1 cm、741.2 g 和 9.8 cm，比群体平均值分别高出 7.3%、16.0%、5.4%；标记 HJ7-2 基因型 KK 的个体体质量平均值为 756.8 g，高出群体平均值 18.4%，基因型 NN 的个体平均值为 477.2 g，低于平均值 25.4%；标记 HJ7-22 中基因型为 BB 个体的体长平均值比群体平均值低 11.2%，含有等位基因 F 的个体平均值比群体平均值高 5.9%。因此 HJ2-32, HJ7-2, HJ7-22 3 个标记可以应用于增进优势性状，避免劣势性状的分子育种中，使传统育种与分子育种相结合，加快育种的进程。随着分子标记的快速发展，许氏平鲉微卫星标记数量的增加，更多与经济性状相关的分子标记的获得，以及高密度遗传连锁图谱的构建，可以加快遗传育种的进程，从而培育出抗逆速生的许氏平鲉新品系。

参考文献：

[1] 成庆泰，郑葆珊. 中国鱼类系统检索[M]. 北京：科学出版社, 1987: 462-463.
Cheng Qingtai, Zheng Baoshan. Systematic synopsis of Chinese fishes[M]. Beijing: Science Press, 1987: 462-463.

[2] 冯昭信. 鱼类学[M]. 北京：中国农业出版社，2003: 191.
Feng Zhaoxin. Ichthyology[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2003: 191.

[3] 刘利明，杜荣斌，姜海滨，等. 黑鲪苗种培育关键技术的研究[J]. 海洋科学, 2010, 34(3): 1-5.
Liu Liming, Du Rongbin, Jiang Haibin, et al. Key techniques of fry rearing for *Sebastodes fuscescens*[J]. Marine Sciences, 2010, 34(3): 1-5.

[4] 孙国华，孙孝德，杨建敏，等. 刺参微卫星标记与生长性状体重、体长的相关性分析[J]. 水产学报, 2011, 35(4): 501- 508.
Sun Guohua, Sun Xiaode, Yang Jianmin, et al. Correlation analysis of microsatellite DNA markers with growth traits of body weight and length in *Apostichopus japonious*[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(4): 501-508.

[5] 徐莉，赵桂仿. 微卫星 DNA 标记技术及其在遗传多样性研究中的应用[J]. 西北植物学报，2002，22(3): 64-72.
Xu Li, Zhao Guifang. Microsatellite DNA marker and its application in genetic diversity research[J]. Acta Bot Boreal Occident Sin, 2002, 22(3): 64-72.

[6] 王文琪，张毅，刘梦侠，等. 许氏平鲉 4 个野生群体遗传多样性微卫星分析[J]. 海洋科学，2012，36(1): 10-16.
Wang Wenqi, Zhang Yi, Liu Mengxia, et al. Microsatellite analysis of genetic diversity in four wild stocks of black rockfish *Sebastes schlegelii*[J]. Marine Sciences, 2012, 36(1): 10-16.

[7] Yoshida K, Nakagawa M, Wada A S, et al. Multiplex PCR system applied for analyzing microsatellite loci of Schlegel's black rockfish, *Sebastes schlegelii*[J]. Molecular Ecology Resources, 2005, 5(2): 416-418.

[8] An H S, Park J Y, Kim M J, et al. Isolation and characterization of microsatellite markers for the heavily exploited rockfish *Sebastes schlegelii*, and cross-species amplification in four related *Sebastes* spp.[J]. Conservation Genetics, 2009, 10(6): 1969-1972.

[9] Yasuike M, Noda T, Fujinami Y, et al. Tri-, tetr and pentanucleotide-repeat microsatellite markers for the Schlegel's black rockfish *Sebastes schlegelii*: the potential for reconstructing parentages[J]. Conservation Genetics Resources, 2013, 5(2): 577-581.

[10] Bai C C, Liu S F, Zhuang Z M, et al. Isolation and characterization of microsatellite markers for the Korean rockfish, *Sebastes schlegelii*[J]. Genetics and Molecular Research, 2011, 10(3): 2065-2068.

[11] 初冠囡，姜黎明，于海洋，等. 胎生鱼许氏平鲉

(*Sebastes schlegelii*)雌亲家系的微卫星鉴定[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(3): 670-676.
Chu Guannan, Jiang Liming, Yu Haiyang, et al. Family assessment with microsatellite markers in the ovoviviparous black rock fish *Sebastes schlegelii*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013, 44(3): 670-676.

[12] 贾超峰, 马海涛, 姜海滨, 等. 许氏平鲉微卫星标记的开发及评价[J]. 上海海洋大学学报, 2013, 23(3): 345-350.
Jia Chaofeng, Ma Haitao, Jiang Haibin, et al. Isolation and characterization of microsatellite markers foa black rockfish *Sebastes schlegelii*[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2013, 23(3): 345-350.

[13] 薛蕊, 马海涛, 韩承慧, 等. 许氏平鲉(*Sebastes schlegelii*)EST-SSR 标记开发及通用性检测[J]. 海洋与湖沼, 2015, 16(5): 1096-1102.
Xue Rui, Ma Haitao, Han Chenghui, et al. Development of EST-SSR markers for rockfish *Sebastes schlegelii* and cross-species amplification[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2015, 16(5): 1096-1102.

[14] 柳旭东, 王际英, 张利民, 等. 麻醉剂 MS-222 及其麻醉效果的影响因素[J]. 水产科技情报, 2009, 36(2): 56-59.
Liu Xudong, Wang Jiying, Zhang Limin, et al. Anesthesia and anesthesia effect factors of MS-222[J]. Fisheries Science et Technology Information, 2009, 36(2): 56-59.

[15] 黄培堂. 分子克隆实验指南第三版(上册)[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 483.
Huang Peitang. Molecular cloning: A laboratory manual Ⅲ[M]. Beijing: Science Press, 2002: 483.

[16] Weber J L. Informativeness of human $(dC\text{-}dA)_n\cdot(dGdT)_n$ polymorphisms[J].Genomics, 1990, 7(4): 524-530.

[17] 耿慧君, 周遵春, 董颖, 等. 中间球海胆野生和养殖群体遗传结构的微卫星分析[J]. 水产学报, 2009, 33(4): 549-556.
Geng Huijun, Zhou Zunchun, Dong Ying, et al. Genetic structure analysis of wild and cultured populations of the Japanese sea urchin (*Strongylocentrotus intermdius*) using microsatellites[J]. Journal of Fisher of China, 2009, 33(4): 549-556.

[18] 周明亮, 纳巴他, 张显泽, 等. QTL 定位方法的研究进展[J]. 草业与畜牧, 2012, 5: 18-23.
Zhou Mingliang, Na Bata, Zhang Xianze, et al. The research progress of QTL mapping method[J]. Pratauculture et Animal Husbandry, 2012, 5: 18-23.

[19] 许可, 马爱军, 王新安, 等. 大菱鲆生长性状相关的微卫星标记筛选[J]. 海洋与湖沼, 2009, 40(5): 577-583.
Xu Ke, Ma Aijun, Wang Xinan, et al. Microsatellites molecular markers and the correlation to growth trait of *Scophthalmus maximus*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2009, 40(5): 577-583.

[20] 刘福平, 白俊杰, 宋红梅, 等. 尼罗罗非鱼微卫星标记与主要生长性状的相关性分析[J]. 水产学报, 2010, 34(2): 169-177.
Liu Fuping, Bai Junjie, Song Hongmei, et al. Correlation analysis of microsatellite DNA markers with major growth traits of tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Journal of Fisher of China, 2010, 34(2): 169-177.

[21] 贾志武, 郑先虎, 匡友谊, 等. 鲫微卫星标记与几个生长性状的相关性分析[J]. 水产学杂志, 2012, 25(2): 1-6.
Jia Zhiwu, Zheng Xianhu, Kuang Youyi, et al. Correlation analysis on four growth traits in crucian carp *Carassius auratus* by SSR and EST-SSR markers[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2012, 25(2): 1-6.

[22] 闵霞, 贾智英, 李池陶, 等. 微卫星分子标记与松浦镜鲤 3 个表型性状的相关分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2011, 30(2): 197-203.
Min Xia, Jia Zhiying, Li Chitao, et al. Correlation analysis of microsatellite DNA markers with three phenotypic characters of *Songpu mirror* carp[J]. Genomics and Applied Biology, 2011, 30(2): 197-203.

[23] 崔晓亮, 郑先虎, 匡友谊, 等. 鲫体长和体高相关的 EST-SSR 标记的筛选[J]. 水产学杂志, 2013, 26(3): 6-12.
Cui Xiaoliang, Zheng Xianhu, Kuang Youyi, et al. Screening of EST-SSRs markers related to growth traits in crucian carp[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2013, 26(3): 6-12.

[24] 张义凤, 张研, 孙效文, 等. 鲤鱼微卫星标记与体重、体长和体高性状的相关分析[J]. 遗传, 2008, 30(5): 613-619.
Zhang Yifeng, Zhang Yan, Sun Xiaowen, et al. Correlation analysis of microsatellite DNA markers with body weight, length and height of common carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. Herediates, 2008, 30(5): 613-619.

[25] 袁志发, 周静芋. 多元统计分析[M]. 北京: 科学出版社, 2003: 145-180.
Yuan Zhifa, Zhou Jingyu. Multivariate statistical analysis[M]. Beijing: Science Press, 2003: 145-180.

Correlation analysis of microsatellite markers with body length, weight, and height in *Sebastes schlegelii*

HAN Cheng-hui[1, 2], MA Hai-tao[1], XUE Rui[3], JIANG Hai-bin[1], CHANG Cheng[1, 2], WANG Teng[1, 2]

(1. Shandong Provincial Key Laboratory of Restoration for Marine Ecology, Shandong Marine Resource and Environment Research Institute, Yantai 264006, China; 2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Received: Oct. 30, 2015
Key words: *Sebastes schlegelii*; microsatellite; growth traits; correlation analysis

Abstract: Twenty-six polymorphic microsatellite markers were selected to estimate a wild population of *Sebastes schlegelii* for studying the correlation between microsatellite markers and growth traits, which revealed that the number of alleles was 260 and the allele numbers ranged from 3 to 21 per locus. The observed and expected heterozygosity varied from 0.0417 to 0.9999 and from 0.1581 to 0.9456, respectively. The values of polymorphic information content ranged from 0.1509 to 0.9320. Twenty-two microsatellite loci with high polymorphism were used to analyze the correlation with body length, weight, and height by single marker-based analysis. The results showed that these markers significantly correlated with growth traits; loci HJ2-32 significantly correlated with three growth traits, and alleles D and C had positive and negative effects on growth traits, respectively. HJ7-2 showed a significant correlation with body weight; alleles F and B of HJ7-22 had positive and negative effects on length traits, respectively. These aforementioned markers would be of benefit for a further study on molecular marker-assisted breeding of *S. schlegelii*.

(本文编辑: 谭雪静)