

# 青蛤(*Cyclina sinensis*)生长性状相关 分子标记的 AFLP 分析\*

孙长森<sup>1</sup> 王腾达<sup>2</sup> 董迎辉<sup>2</sup> 姚韩韩<sup>2</sup> 林志华<sup>2</sup>

(1. 台州学院生命科学学院 临海 317000; 2. 浙江万里学院生物与环境学院 宁波 315100)

**摘要** 采用 AFLP 技术和单因素方差分析方法, 进行了青蛤主要生长性状相关分子标记筛选研究。结果表明, 检测的 18 个与壳长相关的基因位点, 其贡献率在 6.46%—18.32% 之间, 其中 E32M51-8、E33M51-38 对壳长的贡献率较高, 分别为 18.32% 和 15.68%。检测的 23 个与壳宽相关的基因位点, 其贡献率在 6.75%—20.93% 之间, 其中 E32M51-8、E33M48-19 对壳宽的贡献率较高, 分别为 20.93% 和 17.34%。检测的 22 个与壳高相关的基因位点, 其贡献率在 6.54%—15.91% 之间, 其中 E32M51-17 对壳高的贡献率最高, 为 15.91%。检测的 8 个与活体重相关的基因位点, 其贡献率在 6.65%—17.83% 之间, 其中 E33M48-10 对活体重的贡献率最高, 为 17.83%。以上结果说明青蛤生长性状的遗传基础复杂, 通过筛选与其相关显著的分子标记, 在育种中开展分子标记选择是可行的。

**关键词** 青蛤, 生长性状, AFLP 标记, 贡献率  
**中图分类号** Q789

青蛤(*Cyclina sinensis* Gmelin)属软体动物门、瓣鳃纲、帘蛤科, 俗称石头螺、圆蛤、蛤俐、黑蛤等, 是我国沿海广泛开展人工养殖的经济贝类, 也是人们喜爱的海产品(高玮玮等, 2009)。近十几年来, 青蛤人工育苗技术日渐成熟, 人工培育苗种业已成为青蛤养殖苗种最主要的来源, 有力地推动了青蛤养殖产业的发展。然而, 由于人工育苗所用亲贝均为未经遗传改良的野生种, 青蛤养殖过程中生长慢、病害多、死亡率高的情况日益明显, 给产业持续健康发展带了严重挑战(宋欣等, 2010)。采用有效方法培育青蛤优良品种已成为支撑和引领青蛤养殖产业发展的战略考虑。

选择是动植物良种培育的重要方法, 分子标记辅助选择(MAS, marker-assisted selection), 是利用与目标性状紧密连锁的 DNA 分子标记对目标性状进行间接选择的现代育种技术, 该技术对目标基因的转

移, 不仅可在早代进行准确、稳定的选择, 而且可克服再度利用隐性基因时识别难的问题, 从而加速育种进程, 提高育种效率。

扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism, AFLP)结合了 RFLP 和 PCR 的优点, 具有分析所需 DNA 量少、可重复性好、多态性强、分辨率高、事先无需知道序列任何信息、可在全基因组产生标记、样品适用性广、稳定的遗传性等技术特点, 已广泛应用于物种遗传多样性检测、种质鉴定、遗传图谱构建、基因定位与克隆(刘静, 2010)。同时, 在性状相关分子标记筛选和分子标记辅助选择育种中也显示了较高的效率(邹林林等, 2008)。

本研究首先创建了青蛤具广泛变异的基础群体, 进而采用 AFLP 技术对其分子特征进行检测, 进一步结合其数量性状度量, 筛选与青蛤生长性状显著相关的分子标记, 为青蛤的分子标记辅助选择和新品

\* 浙江省自然科学基金项目, Y3090007 号; 浙江省科技厅公益性应用技术研究计划项目, 2009C32020 号; 台州市科技计划项目, 08KY07 号; 浙江省近岸水域生物资源开发与保护重点实验室开放课题基金, 2010F30003 号。孙长森, 博士, 副教授, E-mail: scs@tzc.edu.cn

通讯作者: 林志华, 博士, 研究员, E-mail: zhihua9988@126.com

收稿日期: 2010-10-12, 收修改稿日期: 2010-12-17

种培育提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

所用实验材料为 2008 年青蛤(*Cyclina sinensis*)江苏群体与浙江群体混合繁育后裔, 养成于浙江省温岭市殿嘴头塘养殖示范区, 2010 年 8 月随机取该青蛤群体 60 个个体, 利用数显游标卡尺测定其壳长、壳宽、壳高等体尺性状(精确到 0.01mm), 用电子分析天平称量其活体重(精确到 0.01g)。用解剖刀刮取闭壳肌, 70%酒精固定备用。

### 1.2 DNA 提取

青蛤 DNA 的提取参照《分子克隆实验指南》(第 3 版)(Sambrook *et al.*, 2002)的方法。获得的 DNA 样品用 1% 的琼脂糖电泳和紫外分光光度计(Varian Cary 50 型)进行定量, 无菌超纯水稀释至 100ng/μl。

### 1.3 AFLP 分析

AFLP 分析参照 Vos 等(1995)的方法进行。根据预实验结果, 从 15 对选择性引物组合中选取了

E32M48、E32M51、E32M61、E33M48、E33M51 共 5 对扩增带数目适中、条带清晰、多态性高的引物(引物序列见表 1)对实验青蛤群体进行分析。

### 1.4 数据处理

采用以标记为基础的 Marker-base 法, 即根据标记基因型的种类将分离群体划分成两个亚群体: 有带位点记为 1, 无带记为 0, 对每一个位点按 0、1 将其分成两个组, 对两组亚群体的性状差异单因素方差分析, 筛查与不同数量性状相关的标记位点(即与数量性状紧密连锁的标记座位)。

单因子方差分析的统计模型为:

$$Y_{ij} = \mu + M_i + e_{ij}$$

式中,  $Y_{ij}$  为第  $i$  类标记类型第  $j$  个样本的性状值,  $\mu$  为群体性状均值,  $M_i$  为第  $i$  类标记位点效应,  $e_{ij}$  为随机误差(何祯祥等, 2000)。 $P < 0.05$  表示差异显著,  $P < 0.01$  表示差异极显著。用组间平方和与总平方和的比值求得某 AFLP 标记产生的性状变异占性状总变异的百分率, 即标记对该性状变异的贡献率 =  $SS_i / SS_T \times 100\%$ 。式中,  $SS_i$  为 0、1 标记组间性状平方和,  $SS_T$  为总平方和。

表 1 AFLP 扩增所用引物的序列

Tab.1 The primer sequences used for AFLP amplification

<i>EcoR</i> I 引物	序列	<i>Mse</i> I 引物	序列
E01	GACTGCGTACCAATTC A	M01	GATGAGTCCTGAGTAA C
E32	GACTGCGTACCAATTC AAC	M48	GATGAGTCCTGAGTAA CAC
E33	GACTGCGTACCAATTC AAG	M51	GATGAGTCCTGAGTAA CCA
		M61	GATGAGTCCTGAGTAA CTG

## 2 结果与分析

### 2.1 实验青蛤群体的数量性状特征

青蛤群体的数量性状特征如表 2 所示, 在随机选取的 60 只青蛤活体中, 壳长、壳宽、壳高、活体重的平均值分别是 52.99mm、32.85mm、53.32mm、55.46g, 从变异系数来看, 壳长、壳宽、壳高的变异系数相差不大, 分别为 16.20%、15.57%和 15.78%, 活体重的变异系数最大, 达 51.06%, 可以预期活体重

表 2 各性状的表型参数统计量( $n=60$ )

Tab.2 The phenotypic statistics of each measured trait ( $n=60$ )

性状	壳长(mm)	壳宽(mm)	壳高(mm)	活体重(g)
最大值	52.99	32.85	53.32	55.46
最小值	27.13	14.68	28.19	7.93
平均数	37.13	22.87	37.59	19.22
标准差	6.02	3.56	5.93	9.81
变异系数 CV	16.20	15.57	15.78	51.06

相关标记筛选的精度更高。

### 2.2 实验青蛤群体的 AFLP 分析

5 组多态性引物组合的 PCR 扩增反应产生出 258 个扩增位点, 大小为 100—1500bp, 其中多态性位点 227 个, 多态率为 86.97%。图 1 是 E33M51 引物组合对青蛤 60 个个体的 AFLP 扩增谱带。

### 2.3 青蛤生长性状相关分子标记的筛查

**2.3.1 青蛤壳长相关的分子标记** 青蛤壳长相关的分子标记如表 3 所示, 共检测了 18 个与壳长相关的基因位点, 其贡献率在 6.46%—18.32%之间, 贡献率较大的有 E32M51-8 为 18.32%和 E33M51-38 为 15.68%, 贡献率较小的有 E32M51-49 为 6.46%、E32M48-10 为 6.86%和 E33M48-26 为 6.76%。可见, E32M51-8 与 E33M51-38 位点与该性状的相关性较大, E32M51-49、E32M48-10 和 E33M48-26 位点与该性状的相关性较小。

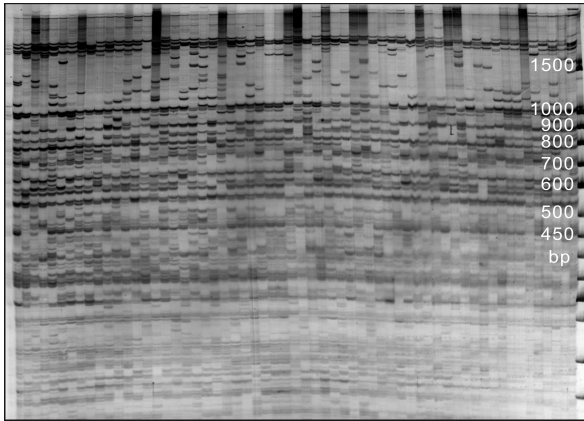


图1 引物 E33M51 对青蛤 60 个个体的 AFLP 带谱  
Fig.1 AFLP bands of 60 individuals in *C. sinensis* by primer pair E33M51

**2.3.2 青蛤壳宽相关的分子标记** 青蛤壳宽相关的分子标记如表 4 所示, 共检测了 23 个与壳宽相关的基因位点, 其贡献率在 6.75%—20.93% 之间, 贡献率较大的有 E32M51-8 的 20.93% 和 E33M48-19 的 17.34%, 贡献率较小的有 E32M51-42 的 6.75% 和 E33M51-45 的 6.84%。可见, E32M51-8 和 E33M48-19 位点与该性状的相关性较大, E32M51-42 和 E33M51-45 位点与该性状的相关性较小。

**2.3.3 青蛤壳高相关的分子标记** 青蛤壳高相关的分子标记如表 5 所示, 共检测了 22 个壳高相关的基因位点, 其贡献率在 6.54%—15.91% 之间, 平均贡献率约为 10.064%, 贡献率较大的有 E32M51-17 的 15.91% 和 E33M48-1 的 13.89%, 贡献率较小的有 E33M51-51 的 6.54%、E32M48-16 的 6.82% 和 E33M48-26 的 6.85%。可见, E32M51-17 和 E33M48-1 位点与该性状的相关性较大, E33M51-51、E32M48-165 和 E33M48-26 位点与该性状的相关性较小。

**2.3.4 青蛤活体重相关的分子标记** 青蛤活体重相关的分子标记如表 6 所示, 共检测了 8 个活体重相关的基因位点, 其贡献率在 6.65%—17.83% 之间, 平均贡献率约为 9.078%, 其中 E33M48-10 的贡献率明显最大, 达 17.83%。可见, E33M48-10 位点与该性状的相关性最大。

## 2.4 青蛤各性状相关标记的比较

对 E32M48、E32M51、E32M61、E33M48、E33M51 等 5 对引物组组合中与壳长、壳宽、壳高、活体重显著相关位点的综合比较分析(表 7)可知, 引物组合 E32M48 中位点 E32M48-44 与壳长、壳高、壳宽 3 个性状均显著相关, E32M48-9、E32M48-43 分别与体尺性状中的 2 个指标显著相关, 体尺性状与体重性状无

表 3 青蛤壳长显著相关分子标记及其贡献率  
Tab.3 Molecular markers significantly related to shell length and their contribution rates in *C. sinensis*

相关标记	不显带标记型		显带标记型		SS <sub>i</sub>	SS <sub>T</sub>	F 值	P 值	贡献率(%)
	个数	均值	个数	均值					
E32M48-9	32	39.01	28	34.98	247.933	1990.801	8.25**	0.0057	12.45
E32M48-10	24	38.94	36	35.92	136.618		4.27*	0.0432	6.86
E32M48-44	52	36.51	8	41.16	155.490		4.91*	0.0306	7.81
E32M51-8	40	38.86	20	33.67	364.722		13.01**	0.0006	18.32
E32M51-14	13	34.13	47	37.96	154.936		4.89*	0.0309	7.78
E32M51-47	52	36.38	8	42.01	224.949		7.39**	0.0086	11.30
E32M51-49	38	36.04	22	39.01	128.704		4.01*	0.0499	6.46
E32M61-4	53	36.52	7	41.75	174.614		5.58*	0.0216	8.77
E32M61-14	5	30.67	55	37.72	233.201		7.70**	0.0074	11.71
E32M61-31	34	38.55	26	35.27	163.784		5.20*	0.0263	8.23
E32M61-45	44	38.15	16	34.33	177.240		5.67*	0.0206	8.90
E33M48-14	21	39.88	39	35.65	249.901		8.33**	0.0055	12.55
E33M48-16	48	36.22	12	40.77	204.318		6.63*	0.0126	10.26
E33M48-22	16	40.15	44	36.03	204.565		6.64*	0.0125	10.28
E33M48-26	9	40.62	51	36.51	134.540		4.20*	0.0449	6.76
E33M48-28	22	35.01	38	38.36	161.695		5.13*	0.0273	8.12
E33M48-40	36	38.57	24	34.97	192.198		6.20*	0.0157	9.65
E33M51-38	42	38.61	18	33.68	312.230		10.79**	0.0017	15.68

注: \*表示差异显著( $P < 0.05$ ), \*\*表示差异极显著( $P < 0.01$ )。下同

表 4 青蛤壳宽显著相关分子标记及其贡献率  
Tab.4 Molecular markers significantly related to shell width and their contribution rates in *C. sinensis*

相关标记	不显带标记型		显带标记型		$SS_r$	$SS_T$	F 值	P 值	贡献率(%)
	个数	均值	个数	均值					
E32M48-9	33	22.05	27	23.87	55.193	696.97	4.99*	0.0294	7.92
E32M48-43	41	22.16	19	24.40	71.152		6.59*	0.0128	10.21
E32M48-44	53	22.41	7	26.35	102.011		9.94**	0.0026	14.64
E32M51-8	42	21.87	18	25.20	145.884		15.35**	0.0002	20.93
E32M51-13	24	24.43	36	21.83	103.228		10.08**	0.0024	14.81
E32M51-42	25	23.85	35	22.17	47.044		4.20*	0.0450	6.75
E32M51-47	52	22.46	8	25.54	71.443		6.62*	0.0126	10.25
E32M61-31	39	23.66	21	21.40	75.427		7.04*	0.0103	10.82
E32M61-37	19	24.41	41	22.16	71.826		6.66*	0.0124	10.31
E32M61-42	9	24.89	51	22.51	49.088		4.39*	0.0404	7.04
E32M61-45	45	22.2	15	24.88	86.686		8.24**	0.0057	12.44
E32M61-48	50	22.47	10	24.87	53.884		4.86*	0.0315	7.73
E33M48-16	48	23.52	12	20.27	107.284		10.55**	0.0019	15.39
E33M48-19	28	24.35	32	21.58	120.880		12.17**	0.0009	17.34
E33M48-26	8	25.7	52	22.43	79.812		7.50**	0.0082	11.45
E33M48-27	43	22.25	17	24.44	64.222		5.89*	0.0184	9.21
E33M48-28	21	24.24	39	22.13	66.522		6.12*	0.0163	9.54
E33M48-30	42	22.17	18	24.50	74.484		6.94*	0.0108	10.69
E33M48-44	26	24.13	34	21.91	78.727		7.39**	0.0087	11.30
E33M48-46	30	24.11	30	21.63	98.140		9.51**	0.0031	14.08
E33M48-48	35	23.76	25	21.62	72.420		6.73*	0.0120	10.39
E33M51-17	34	22.08	26	23.90	54.852		4.95*	0.0299	7.87
E33M51-45	40	22.28	20	24.05	47.656		4.26*	0.0436	6.84

关联显著位点; 引物组合 E32M51 中, 位点 E32M51-47、E32M51-49 均与 3 个性状显著相关, 且后者涉及体尺和体重性状; 引物组合 E32M61 中, 未筛选到与体重性状相关的位点, 但与 3 个体尺性状均显著相关位点包括 E32M61-37、E32M61-45; 引物组合 E33M48 中, 位点 E33M48-26 与 3 个体尺性状均显著相关, 与其中两个性状显著相关的位点包括 E33M48-28、E33M48-44、E33M48-46; 引物 E33M51 中与各性状显著相关的位点均较为独立。

### 3 讨论

#### 3.1 分子标记辅助选择的效率及在动植物遗传改良中的应用

分子标记辅助选择是将分子标记应用到改良动植物品种而进行选择的一种辅助手段, 它的基本原理是利用与目的基因紧密连锁或表现共分离的分子标记对选择个体进行目标区域以及全基因组筛选,

从而减少连锁累赘, 以更高的效率获得期望的个体 (Ribaut *et al*, 1998)。与传统的依据表现型性状和同工酶标记进行个体选择相比, 分子标记辅助选择具有以下特点: (1) 直接反映 DNA 的序列差异, 不受基因表达的影响, 结果的可靠性强; (2) 标记位点丰富, 可以覆盖整个染色体组; (3) 不受动植物的生长发育阶段和环境条件的影响, 可大大加快育种进程 (Dudley, 1993; Lee, 1995)。目前, 分子标记辅助选择育种在大宗作物、养殖畜禽的数量性状选择、抗性基因的聚合育种工作中已有了较广泛的应用 (瞿华香等, 2008; 苟潇等, 2001)。

#### 3.2 性状关联标记分析的方法及选择

将遗传标记与数量性状变异进行关联分析, 去检验特定标记不同标记类型个体间的性状差异显著性, 最早由 Soller 等 (1976) 提出。理论上讲, 检测标记与数量性状变异关联或连锁所采用的统计方法都涉及使用标记基因型均值, 由于数量性状易受环境影

表 5 青蛤壳高显著相关分子标记及其贡献率

Tab.5 Molecular markers significantly related to shell height and their contribution rates in *C. sinensis*

相关标记	不显带标记型		显带标记型		$SS_i$	$SS_T$	F 值	P 值	贡献率(%)
	个数	均值	个数	均值					
E32M48-16	24	35.65	36	38.88	132.020	1936.016	4.24*	0.0439	6.82
E32M48-18	49	36.77	11	41.24	161.190		5.27*	0.0254	8.33
E32M48-43	41	36.49	19	39.96	138.139		4.46*	0.0391	7.14
E32M48-44	52	38.27	8	33.17	161.812		5.29*	0.0251	8.36
E32M51-8	38	38.88	22	35.36	153.937		5.01*	0.0291	7.95
E32M51-17	34	35.55	26	40.26	308.002		10.97**	0.0016	15.91
E32M51-38	16	34.68	44	38.65	166.235		5.45*	0.0231	8.59
E32M51-42	27	35.75	33	39.10	147.678		4.79*	0.0327	7.63
E32M51-47	54	36.97	6	43.17	189.052		6.28*	0.0151	9.77
E32M51-49	39	35.98	21	40.58	270.310		9.41**	0.0033	13.96
E32M61-31	38	36.06	22	40.23	224.078		7.59**	0.0078	11.57
E32M61-37	20	34.96	40	38.91	188.983		6.27*	0.0151	9.76
E32M61-45	44	36.41	16	40.84	211.222		7.10**	0.0100	10.91
E33M48-1	41	36.1	19	40.81	268.921		9.36**	0.0034	13.89
E33M48-2	12	33.27	48	38.67	261.412		9.05**	0.0039	13.50
E33M48-26	10	34.04	50	38.30	132.706		4.27*	0.0433	6.85
E33M48-44	27	35.8	33	39.05	138.768		4.48*	0.0386	7.17
E33M48-46	30	35.72	30	39.46	191.290		6.36*	0.0144	9.88
E33M51-27	40	36.07	20	40.63	258.724		8.95**	0.0041	13.36
E33M51-28	26	35.41	34	39.26	199.527		6.66*	0.0124	10.31
E33M51-40	25	35.06	35	39.40	255.800		8.83**	0.0043	13.21
E33M51-51	12	40.7	48	36.81	126.558		4.06*	0.0486	6.54

表 6 青蛤活体重显著相关分子标记及其贡献率

Tab.6 Molecular markers significantly related to body weight and their contribution rates in *C. sinensis*

相关标记	不显带标记型		显带标记型		$SS_i$	$SS_T$	F 值	P 值	贡献率(%)
	个数	均值	个数	均值					
E32M48-14	40	17.41	20	22.84	400.546	5295.708	4.75*	0.0334	7.56
E32M51-49	36	17.22	24	22.22	367.414		4.32*	0.0420	6.94
E32M51-51	24	16.28	36	21.18	353.158		4.14*	0.0464	6.67
E33M48-10	51	20.88	9	9.81	944.318		12.59**	0.0008	17.83
E33M48-11	11	14.16	49	20.36	352.279		4.13*	0.0466	6.65
E33M48-15	38	17.23	22	22.66	417.824		4.97*	0.0297	7.89
E33M48-54	45	20.85	15	14.33	485.656		5.86*	0.0187	9.17
E33M51-49	22	15.36	38	21.45	524.979		6.38*	0.0143	9.91

响,且 QTL(quantitative trait locus, 数量性状基因座)数量通常较多,故此单个 QTL 效应往往较小,不易完全从环境效应中分解出来。此外,当对某一 QTL 效应进行分析时,往往由于其它 QTL 的分离产生剩余遗传方差,因此表型方差增大,造成 QTL 鉴别的难度。因此,许多学者致力于发展标记与关联 QTL 的检测方法。目前, QTL 检测的常用方法有方差分析

法(Soller *et al*, 1976)、区间作图法(Lander *et al*, 1989)、复合区间作图法(Zeng, 1993)、多区间作图法(Kao *et al*, 1999)、Bayesian 压缩估计方法(Xu, 2003)和惩罚最大似然方法(Zhang *et al*, 2005)。其中,方差分析法不需要完整的分子标记连锁图,是在尚缺乏遗传图谱而切实可行的方法。本研究采用以标记为基础,用方差分析法筛选与青蛤生长的相关联分子标记,检测

表 7 各引物组合显著相关标记在不同性状中的一致性比较  
Tab.7 Comparisons of consistency for significant markers from each primer pair in different traits

E32M48 引物组合与分析性状相关位点				E32M51 引物组合与分析性状相关位点			
壳长	壳宽	壳高	活体重	壳长	壳宽	壳高	活体重
E32M48-9	E32M48-9	E32M48-16	E32M48-14	E32M51-8	E32M51-8	E32M51-8	E32M51-49
E32M48-10	E32M48-43	E32M48-18		E32M51-14	E32M51-13	E32M51-17	E32M51-51
E32M48-44	E32M48-44	E32M48-43		E32M51-47	E32M51-42	E32M51-38	
		E32M48-44		E32M51-49	E32M51-47	E32M51-42	
						E32M51-47	
						E32M51-49	
E32M61 引物组合与分析性状相关位点				E33M48 引物组合与分析性状相关位点			
壳长	壳宽	壳高	活体重	壳长	壳宽	壳高	活体重
E32M61-4	E32M61-31	E32M61-31		E33M48-14	E33M48-16	E33M48-1	E33M48-10
E32M61-14	E32M61-37	E32M61-37		E33M48-16	E33M48-19	E33M48-2	E33M48-11
E32M61-31	E32M61-42	E32M61-45		E33M48-22	E33M48-26	E33M48-26	E33M48-15
E32M61-45	E32M61-45			E33M48-26	E33M48-27	E33M48-44	E33M48-54
	E32M61-48			E33M48-28	E33M48-28	E33M48-46	
				E33M48-40	E33M48-30		
					E33M48-44		
					E33M48-46		
					E33M48-48		
E33M51 引物组合与分析性状相关位点							
壳长	壳宽	壳高	活体重				
E33M51-38	E33M51-17	E33M51-27	E33M51-49				
	E33M51-45	E33M51-28					
		E33M51-40					
		E33M51-51					

到多个与壳长、壳宽、壳高及活体重显著相关的标记, 体现出较高的效率。

### 3.3 青蛤的遗传改良和新品种培育

青蛤在我国南北沿海广泛分布, 养殖生产已具有相当规模, 但目前养殖的青蛤基本都是未经人工选育或改良的野生品种。近年来在广大养殖区出现了死亡率高、生长缓慢等诸多问题, 给产业发展造成了较为严重的影响, 因此, 开展青蛤的遗传改良, 选育生长快速、抗逆性强的优良品种是支撑产业发展迫在眉睫的重要工作。许多研究表明, 贝类大多经济性状为数量性状, 且遗传力属中低水平, 依据表型选择效率偏低(孙长森等, 2010)。挖掘与经济贝类重要目标性状紧密连锁的分子标记, 定位 QTLs, 进行分子标记辅助选择是加快推进贝类育种工作的重要方法。本研究采用单因素方差分析法检测与青蛤生长性状相关的 AFLP 标记, 获得了一批与壳长、壳宽、壳高以及活体重 4 个性状显著相关的分子标记, 为青蛤遗传

改良工作的分子辅助选择提供了一些参考依据。但是作者也发现, 青蛤生长性状的遗传基础复杂, 与壳长、壳宽、壳高和活体重显著相关的标记分别达 18、23、22、8 个, 可能均受到多个基因的联合控制。同时, 这些显著相关标记对各性状贡献率变异明显, 如对壳长标记贡献率最大 20.93%, 最小的仅为 6.75%, 说明青蛤中这些标记或基因对性状决定有主效、次效或微效之分, 主效基因的鉴别及功能解析在遗传改良和新品种培育中具有更大的利用价值。要实现更有效的分子标记辅助选择育种, 还需要进一步构建青蛤分子标记遗传连锁图谱, 精细定位与目标性状相关的 QTLs。

### 参 考 文 献

- 刘 静, 2010. AFLP 分子标记的发展及应用. 山东农业科学, 5: 10—14  
孙长森, 林志华, 董迎辉等, 2010. 泥蚶(*Tegillarca granosa*)主要经济性状遗传参数的估算. 海洋与湖沼, 41(6): 907—913

- 何祯祥, 施季森, 尹增芳等, 2000. 杉木生长性状相关联遗传标记的检测. 浙江林学院学报, 17(4): 350—354
- 邹林林, 周遵春, 董颖等, 2008. 利用cDNA-AFLP技术筛选与海胆数量性状相关显著的分子标记. 水产科学, 27(11): 561—565
- 宋欣, 张丽岩, 高玮玮等, 2010. 鳃弧菌(*Vibrio anguillarum*)侵染对青蛤(*Cyclina sinensis*)磷酸酶活性的影响. 海洋与湖沼, 41(2): 254—258
- 苟潇, 连林, 2001. 动物数量育种中的分子标记辅助选择. 动物科学与动物医学, 19(5): 14—16
- 高玮玮, 袁媛, 潘宝平等, 2009. 青蛤(*Cyclina sinensis*)贝壳形态性状对软体部重的影响分析. 海洋与湖沼, 40(2): 166—169
- 瞿华香, 张玉烛, 张岳平等, 2008. 分子标记辅助选择育种研究进展. 作物研究, 22(5): 355—258
- Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T, 2002. 黄培堂译, 2002. 分子克隆实验指南(第3版)(上、下册). 北京: 科学出版社, 463—471
- Dudley J W, 1993. Molecular markers in plant improvement: manipulation of genes affecting quantitative traits. Crop Sci, 33: 660—668
- Kao C H, Zeng Z B, Teasdale R D, 1999. Multiple interval mapping for quantitative trait loci. Genetics, 152: 1203—1216
- Lander E S, Botstein D, 1989. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. Genetics, 121: 185—199
- Lee M, 1995. DNA makers in plant Breeding programs. Adv Agron, 55: 265—344
- Ribaut J M, Hoisington D, 1998. Maker-assisted selection: new tools and strategies. Trends in Plant Sci, 3: 236—239
- Soller M, Brody T, Genizi A, 1976. On the power of experimental design for the detection of linkage between marker loci and quantitative trait loci in crosses between inbred lines. Theor Appl Genet, 47: 35—39
- Vandeputte M, Dupont-Nivet M, Haffray P *et al*, 2009. Response to domestication and selection for growth in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in separate and mixed tanks. Aquaculture, 286(1—2): 20—27
- Vos P, Hogers R, Bleeker M *et al*, 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research, 23(21): 4490—4414
- Xu S, 2003. Estimating polygenic effects using markers of the entire genome. Genetics, 163: 789—801
- You W W, Ke C H, Luo X *et al*, 2010. Heritability of growth traits for small abalone estimated from sib matings. Journal of Shellfish Research, 29(3): 705—708
- Zeng Z B, 1993. Theoretical basis for separation of multiple linked gene effects in mapping of quantitative trait loci. Proc Natl Acad Sci USA, 90: 10972—10976
- Zhang Y M, Xu S, 2005. A penalized maximum likelihood method for estimating epistatic effects of QTL. Heredity, 95(1): 96—104

## AFLP ANALYSIS OF MOLECULAR MARKERS RELATED TO GROWTH TRAITS IN *CYCLINA SINENSIS*

SUN Chang-Sen<sup>1</sup>, WANG Teng-Da<sup>2</sup>, DONG Ying-Hui<sup>2</sup>, YAO Han-Han<sup>2</sup>, LIN Zhi-Hua<sup>2</sup>  
(1. School of Life Science, Taizhou University, Linhai, 317000; 2. College of Biological and Environmental Sciences, Zhejiang Wanli University, Ningbo, 315100)

**Abstract** In this paper, 60 mixed breeding offsprings from two natural populations of *Cyclina sinensis* were used to screen molecular markers related to shell length, shell width, shell height and body weight under the method of AFLP and one-factor analysis of variance. The results showed: of detected 18 gene loci related to shell length, the contribution rates were between 6.46% and 18.32%, and the contribution rates of E32M51-8, E33M51-38 were higher, respectively 18.32% and 15.68%. The contribution rates of detected 23 gene loci associated with shell width were between 6.75% and 20.93%, and those of E32M51-8, E33M48-19 were higher, respectively 20.93% and 17.34%. For shell height, 22 associated gene loci were detected, their contribution rates were between 6.54% and 15.91%, and the E32M51-17 locus had the highest contribution rate. Eight gene loci related to body weight were analyzed, the highest contribution rate (locus E33M48-10) was 17.83%, and lowest value was 6.65%.

**Key words** *Cyclina sinensis*, Growth traits, AFLP marker, Contribution rate