

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20200325001

http://www.yykxjz.cn/

孙雪, 李胜杰, 杜金星, 姜鹏, 周家辉, 白俊杰. 草鱼生长相关优势基因型的聚合效果分析. 渔业科学进展, 2021, 42(5): 40-46
SUN X, LI S J, DU J X, JIANG P, ZHOU J H, BAI J J. The effects of pyramiding growth-related genotypes in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Progress in Fishery Sciences, 2021, 42(5): 40-46

草鱼生长相关优势基因型的聚合效果分析*

孙雪^{1,2} 李胜杰^{1①} 杜金星¹ 姜鹏¹ 周家辉^{1,2} 白俊杰¹

(1. 中国水产科学研究院珠江水产研究所 农业农村部热带亚热带水产资源利用与养殖重点实验室 广东 广州 510380; 2. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306)

摘要 为研究草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)生长性状相关分子标记聚合效果,本研究选择利用候选基因关联分析方法获得 10 个与生长性状相关 SNP 标记,分别位于草鱼载脂蛋白 A-I-1 基因(*apoA-I-1*)、丙酮酸激酶 1 型(*PKL*)、羧肽酶 A1 (*CPA1*)、柠檬酸合酶(*CS*)、醛缩酶 B(*Aldo-B*)、生长催乳素 α (*SL α*)和肌球蛋白重链(*MYH*)基因上。先在 24 尾雌鱼和 24 尾雄鱼亲本中对各标记进行基因型检测,挑选 1 对最有利于不同优势基因型发生聚合的亲鱼构建家系。在 7 月龄时,对子代进行生长性状测量和各 SNP 标记的基因型分型,采用一般线性模型分析含不同优势基因个数的组别生长差异。结果显示,家系子代个体中含生长相关优势基因型的数量为 0、1、2、3、4、5、6、7 个,对应的个体数量依次为 44、67、83、85、44、38、15 和 6 尾,对应的平均体质量依次为 129.66、144.45、151.33、153.53、154.77、160.50、167.50 和 176.67 g,生长相关优势基因型的聚合个数与草鱼生长速度呈正相关。子代中优势基因型的平均数量为 2.58,与亲本群体的优势基因型平均数量(1.00)相比显著提高。研究表明,对草鱼生长相关优势基因进行聚合可获得生长性状优良个体,为草鱼分子标记辅助育种应用提供理论依据。

关键词 草鱼; 生长性状; 分子标记; 优势基因型; 基因聚合

中图分类号 S961.6 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2021)05-0040-07

多基因聚合育种是通过不同基因型的个体杂交将有利基因聚合到同一个基因组中,从而获得优良品种的育种方法(Servin *et al.*, 2004)。多基因聚合育种技术在农作物和畜禽中已广泛被应用。利用分子标记辅助选择与传统选育相结合的方法,将小麦的高蛋白基因 *GPC-B1* 和抗白粉病基因 *Pm21*、*1Dx5* 和 *1Dy10* 等进行聚合,获得兼具高蛋白质含量和高抗病力性状的小麦品系(胡云等, 2016)。在优质肉鸡多基因聚合研究中,将 4 个与繁殖性能相关的基因(*NPY*、*NCOA-1*、

IGF-1 和 *GDF-9*)进行聚合,获得在开产日龄、开产体重及 300 日龄合格种蛋率最优的优势基因聚合个体,其繁殖性状显著优于上一世代亲本(王钱保等, 2018)。中国美利奴羊(*Ovis arios*)(曾献存等, 2011)和苏姜猪(*Sus scrofa*)(王宵燕等, 2007)多基因聚合研究结果显示,与生长性状关联的优势基因型聚合数量越多,生长性状表型越优秀。目前,在水产动物中有关基因聚合研究的报道较少,孙效文等(2009)对德国镜鲤(*Cyprinus carpio*)群体中最大个体及最小个体所富

* 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系、中国水产科学研究院基本科研业务费专项(2020TD34; 2019ZX-001)和广州市科技计划项目(201906010004)共同资助 [This work was supported by China Agriculture Research System of MOF and MARA, Central Public-Interest Scientific Institution Basal Research Fund, CAFS (2020TD34; 2019ZX-001), and Science and Technology Program of Guangzhou(201906010004)]. 孙雪, E-mail: 1457753528@qq.com

① 通讯作者: 李胜杰, 副研究员, E-mail: ssjli@163.com

收稿日期: 2020-03-25, 收修改稿日期: 2020-04-25

集的优势基因型情况进行分析,发现最大个体中优势基因型数量为 1.7 个,最小个体中优势基因型数量为 0.7 个,反映了与生长性状相关优势基因型的聚合数量多少与镜鲤生长速度紧密相关。李胜杰等(2019)分析了大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)家系中生长性状相关优势基因聚合效果,发现优势基因聚合数量多少与生长性状显著呈正相关。

草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)是我国淡水养殖鱼类中年产量最高的养殖品种。目前,在草鱼养殖产业中尚未有经过人工选育、通过国家审定的优良养殖品种。近年来,多数草鱼繁殖场对繁殖使用亲本的操作不规范,通常选择亲缘关系近、体型小、性成熟早的个体进行苗种生产,导致养殖草鱼出现一定程度的种质退化现象,制约草鱼养殖产业的健康发展(Jiang, 2009; Yu *et al*, 2014; 田园园等, 2019)。由于草鱼的性成熟年龄普遍为 4~5 龄,选育周期长,在草鱼良种选育研究中,有必要探索利用分子标记辅助育种技术来加快草鱼良种选育进度。本实验室前期利用候选基因关联分析方法在草鱼载脂蛋白 A-I-1 基因(*apoA-I-1*) (刘小献等, 2012)、丙酮酸激酶 1 型(*PKL*)(唐小红, 2015)、羧肽酶 A1 (*CPA1*)(曹婷婷等, 2012b)、柠檬酸合酶(*CS*)(樊佳佳等, 2014)、醛缩酶 B (*Aldo-B*)(曹婷婷等, 2012a)、生长催乳素 α (*SL α*)和肌球蛋白重链(*MYH*)基因上筛选到 10 个与生长性状关联 SNP 标记,本研究在此基础上通过对亲本的基因型进行分析并构建优势基因型聚合家系,进一步分析生长相关优势基因型的聚合数量与生长性状的相关性,以期草鱼分子标记辅助育种提供基础资料和实践依据。

1 材料与方法

1.1 草鱼亲本的挑选与养殖

实验鱼来自江苏省苏州市未来水产养殖场,从中挑选 48 尾亲鱼,其中,雌鱼和雄鱼各 24 尾,放于同一池塘养殖。将每尾亲鱼注射电子芯片标记,同时,剪取腹鳍样本并放入无水乙醇中保存,用于提取 DNA 和基因型分析。

1.2 生长性状相关分子标记的选择

本实验室前期所获得的 10 个与生长性状相关的 SNP 标记(G851A、T+744C、A+762G、C+36A、C-499G、A117C、C+1042A、U8014、U2903 和 U11628)分别位于 *apoA-I-1*、*PKL*、*CPA1*、*CS*、*Aldo-B*、*SL α* 、*MYH* 基因上,经关联分析表明,其与生长性状显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)相关。各个标记在进行 PCR 反应中所用的引物序列见表 1。所有引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成。

1.3 基因组 DNA 的提取

使用 TIANGEN 海洋动物组织基因组提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司)提取草鱼亲本和子代群体鳍条样品的基因组 DNA,使用 1.2%的琼脂糖凝胶电泳和酶标仪检测 DNA 质量和浓度, DNA 保存于 -20°C 备用。

1.4 生长相关标记的基因型检测

SNP 标记采用 SNaPshot 分型方法,分析其在每尾草鱼中的基因型,委托上海捷瑞生物工程有限公司完成。实验流程:首先根据 SNP 标记上下游的序

表 1 所用草鱼生长性状相关分子标记的相关信息
Tab.1 Primers of growth-associated markers of grass carp

基因 Gene	分子 标记 Molecular marker	引物 Primer		延伸引物 Extension primer (5'~3')
		正向引物 Forward primer (5'~3')	反向引物 Reverse primer (5'~3')	
<i>apoA-I-1</i>	G851A	GCGATCTGGAGAACTGAGG	CGTGTATTGTGTGCTTCGAGT	TTTCCGACACCCCGACCCGTCATCC
<i>PKL</i>	T+744C	TTGTGGAGAACGGTGGGAT	TCTGCTCTCCACTTTGCTGA	AGCAGGACGTGGACATGGTCTT
<i>PKL</i>	A+762G	TTGTGGAGAACGGTGGGAT	TCTGCTCTCCACTTTGCTGA	TTTTTTTTTTTCACAGCCTTCACGTCGTCG
<i>CPA1</i>	C+36A	GATTGAGAATGTTCAAGGTG	TTTCACCATCTCACGTTCCCTC	TTTTTTTTTTTTTAAGTTTCAITATTTTTAT
<i>CS</i>	C-499G	TCCCAGTATTTGAGAGATCT	TCAGTAGTTTTAAAGCTGTAG	CATCTAGAGGTTCCCAAATGAT
<i>Aldo-B</i>	A117C	CTGCATGTGGGCAATATTGT	CGGTAAAGAGGGACTGTTTA	TTTTTTTTTTTTTGTCAAGACTATTGATTG
<i>Aldo-B</i>	C+1042A	CTGCATGTGGGCAATATTGT	CGGTAAAGAGGGACTGTTTA	TTTTTTTTTTTAGGCGAATACAAACCCTCAG
<i>SLα</i>	U8014	CGGTTTCTCCCCATCAGATG	GAGACTGTCCGTCGTTTGG	TGAAGGGATTCTGATGTCCTCGTC
<i>SLα</i>	U2903	CAACTCTTGTTACTGTGTGT	TGTTTCCTGCCTGATTTCTTAA	CCAACAGGAGGAGATGTTTGTCCC
<i>MYH</i>	U11628	GCTGTGACCTGCTCATCAA	CGTTCATCTCCTTTCATCTTC	CTGACACTTTGGCTTCAAGCTGAATCTT

列设计引物,长度为200~500 bp,用于含有SNP目的片段的扩增,采用多重PCR方法对模板进行扩增,反应程序采用Touch-down方法,95℃预变性3 min;94℃变性15 s,60℃退火15 s,72℃延伸30 s,11个循环,每个循环的退火温度降0.5℃;然后,进入下一个循环程序,94℃变性15 s,54℃退火15 s,72℃延伸30 s,24个循环;最后,72℃延伸3 min。将扩增到的目的片段用Exo I和FastAP进行纯化,去除反应产物中的剩余引物和dNTP。使用SNaPshot试剂盒(ABI公司,美国)中的SNaPshot Mix试剂与纯化后的PCR产物混合,对PCR产物进行延伸反应,延伸引物的设计是在SNP标记的上游或是反向的下游位置,延伸产物温度变性后在ABI3730全自动测序仪上进行测序。

1.5 家系的构建及子代培育

分析各个与生长性状相关的标记在24尾雌鱼和24尾雄鱼亲本中的基因型分布情况,依据家系两亲本中至少有一个杂合子且子代中存在优势基因型的原则,选择可聚合出优势基因型最多的1对亲本进行繁殖并构建全同胞家系。在繁殖过程中,采用人工注射催产剂的方法促进产卵,收取的受精卵置于环道孵化池内孵化。将孵出的家系鱼苗放入面积为3333 m²的池塘养殖。7月龄时,从家系子代中采集382尾实验鱼进行体质量、全长、体高、头长、尾柄高和尾柄长的测量,同时,剪取腹鳍样本并放入无水乙醇中保存,用于提取DNA和基因型分析。

1.6 数据统计分析

先对家系子代个体中的10个生长标记进行基因分型,再进行优势基因型的统计分析。根据所含优势基因型数量不同进行分组,采用SPSS 19.0软件的一般线性模型(general linear model, GLM),对不同优势基因数量的组别与生长性状之间相关性进行最小二乘分析。统计分析模型采用如下公式:

$$Y_{ij}=u+B_i+e_{ij},$$

式中, Y_{ij} 为某个性状第*i*个标记第*j*个个体观测值; u 为实验观测所有个体的平均值(总体平均值); B_i 为第*i*个标记的效应值; e_{ij} 为对应于观察值的随机残差效应(徐磊等,2014)。

2 结果与分析

2.1 草鱼亲本基因型分析

分析48尾草鱼亲本的基因型,从中筛选出能够在子代中聚合出优势基因型数量最多(7个)的1对父

母本个体配对繁殖及构建家系,亲本基因型结果见表2。在家系子代中,G851A标记的基因型均为纯合子,C+36A和U11628标记都不存在优势基因型,在下面的优势基因型数量统计中不分析这个3个标记,仅统计其余7个标记。部分标记的基因型检测结果见图1。

表2 10个生长标记在草鱼家系亲本中的基因型
Tab.2 Genotype of 14 growth related markers in grass carp parents

分子标记 Molecular marker	优势基因型 Dominant genotype	家系亲本 Parents of family	
		雄 Male	雌 Female
G851A	GG	GG	GG
T+744C	TT	CT	CT
A+762G	AA	AG	AG
C+36A	AA	CC	AC
C-499G	GG	CG	CG
A117C	CC	AC	CC
C+1042A	CC	AC	CC
U8014	CC	CT	CT
U2903	AA	AG	AG
U11628	TT	CC	CC

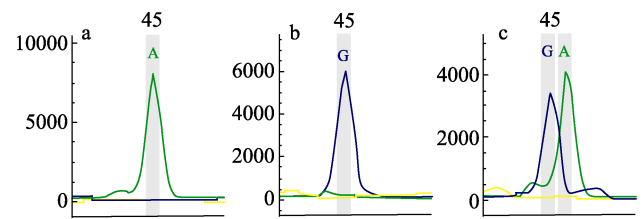


图1 A+762G标记基因型检测图

Fig.1 A+762G marker genotype detection map

a: AA 基因型; b: GG 基因型; c: AG 基因型
a: AA genotype; b: GG genotype; c: AG genotype

2.2 草鱼子代基因型分析

对T+744C、A+762G、C-499G、A117C、C+1042A、U8014和U2903标记在草鱼家系子代中的优势基因型进行统计分析,每个标记的优势基因型分布频率见表3。结果显示,C+1042A标记的优势基因型分布频率最高,在子代中所占比例为51.31%;U8014标记在子代中的优势基因型频率最低,所占比例为24.35%。不同子代个体中含有的优势基因型数量范围为0~7个,其中,具有聚合优势基因型数量7个的个体数量是6尾,而不含优势基因型数量的个体数量为44尾。所占比例最多的为具有3个优势基因型的个体,占子代总数的21.99%。全部子代个体中平均优势基因型的数量为2.58,相比亲本群体的优势基因型平均数量(1.00)得到显著提高($P<0.05$)。

2.3 草鱼生长性状相关的优势基因聚合效果分析

对草鱼子代中含有的优势基因数量及其生长性状进行分析。结果显示, 具有 7 个优势基因型组的生长性状最佳, 体质量平均值为 176.67 g, 比不含优势基因型组的平均体质量高 36.26%。不含优势基因型的个体的体质量、体长、体高、头长、尾柄长和尾柄高等 5 个生长性状平均值均低于其他具有多个优势

基因型的个体, 且 7 个、6 个、5 个、4 个、3 个和 2 个优势基因型组均分别与 1 个和 0 个优势基因型组的平均体质量差异显著($P<0.05$)。7 个优势基因型组与 5 个、4 个、3 个和 2 个优势基因型组的平均体质量差异显著($P<0.05$), 6 个优势基因型组与 3 个和 2 个优势基因型组的平均体质量差异显著($P<0.05$)。

表 3 不同标记中优势基因型的分布频率
Tab.3 The frequency of dominant genotypes of different markers

项目 Items	分子标记 Molecular marker						
	T+744C	A+762G	C-499G	A117C	C+1042A	U8014	U2903
优势基因型分布频率 Frequency of dominant genotypes/%	25.92	25.92	27.74	51.00	51.31	24.35	23.04

表 4 家系子代中所含不同优势基因型数量的个体的生长数据比较(平均值±标准差)
Tab.4 Analysis of growth traits of grass carp with different number of pyramiding dominant genotypes (Mean±SD)

优势基因型数量(样本数) Number of dominant genotype (Sample number)	体质量 Body weight /g	体长 Body length /cm	体高 Body height /cm	头长 Head length /cm	尾柄长 Caudal peduncle length/cm	尾柄高 Caudal peduncle height/cm
0 (44)	129.66±16.96 ^c	17.53±1.57 ^d	4.62±0.55 ^b	4.63±0.42 ^c	2.96±0.39 ^b	2.41±0.16 ^b
1 (67)	144.45±18.39 ^d	18.56±1.24 ^c	4.79±0.04 ^a	4.77±0.41 ^{bc}	3.13±0.33 ^{ab}	2.53±0.23 ^{ab}
2 (83)	151.33±30.95 ^{cd}	19.85±1.62 ^b	4.82±0.04 ^a	4.80±0.52 ^{abc}	3.18±0.43 ^a	2.55±0.33 ^a
3 (85)	153.53±26.66 ^{bc}	19.94±1.42 ^b	4.84±0.03 ^a	4.85±0.38 ^{ab}	3.21±0.41 ^a	2.60±0.46 ^a
4 (44)	154.77±33.03 ^{bc}	19.95±1.68 ^b	4.85±0.05 ^a	4.87±0.47 ^{ab}	3.22±0.39 ^a	2.62±0.34 ^a
5 (38)	160.50±19.17 ^{ac}	20.16±1.06 ^b	4.89±0.06 ^a	4.93±0.45 ^{ab}	3.24±0.39 ^a	2.67±0.37 ^a
6 (15)	167.50±19.98 ^{ab}	20.50±1.93 ^{ab}	4.90±0.09 ^a	5.05±0.71 ^a	3.25±0.39 ^a	2.79±0.83 ^a
7 (6)	176.67±6.06 ^a	21.51±0.63 ^a	4.93±0.15	5.18±0.10 ^a	3.28±0.06 ^a	2.80±0.27 ^a

注: 同列中上标字母不同表示差异显著($P<0.05$)

Notes: Different letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$)

3 讨论

传统选育方法主要通过表型性状选择来进行选育改良, 选择效果易受环境等因素影响。分子标记选择可克服传统育种技术的一些不足, 提高育种效率和选择强度(刘福平等, 2008)。分子标记分为连锁标记和功能标记, 应用连锁标记经常达不到育种目的, 且连锁标记可能受遗传背景的限制, 无法应用于非多态群体(孙立亭等, 2019; Fujii *et al*, 2000)。功能标记是指从影响性状变异基因的功能域开发出来的多态性标记, 利用功能性标记开展分子标记辅助选择, 对基因本身进行选择, 从而保证了选择的准确性和高效性(李扬等, 2016; 陈华增等, 2010; 顾冰宁等, 2018)。本研究基于实验室前期利用候选功能基因关联分析研究获得的与草鱼生长性状相关 10 个 SNP 标记作为研究对象, 选择可聚合出优势基因型最多的 1 对亲本构建家系。结果显示, 子代个体的优势基因型的平均

数量为 2.58, 显著高于亲本群体的平均优势基因型数量(1.00), 说明通过目的性挑选亲鱼进行基因聚合育种研究, 能够提高选择群体中优势基因型的数量, 为后续利用分子标记辅助育种技术开展草鱼良种选育提供了科学依据。

生长是决定鱼类经济价值最重要的性状之一, 受众多功能基因调控(李胜杰等, 2018)。如果仅仅从单基因入手进行分子辅助育种, 往往不能达到全面提高生长性状的目的。多基因聚合技术可实现多个优势基因的有利整合, 达到培育出生长性状优良的草鱼品系(傅建军等, 2016)。宋易等(2016)在翘嘴鲌(*Siniperca chuatsi*)“华康 1 号”5 代选育中发现, F_1 ~ F_5 所含优势基因型平均数量依次增加, 且生长速率也随之增加。徐磊等(2014)分析大口黑鲈优势基因型聚合效果发现, 子代个体中含优势基因型数量与生长性状显著相关, 且含 6 个优势基因型的个体平均体质量比含 1 个优势基因型的个体提高 34.14%。李红霞等(2014)在建

鲤(*Cyprinus carpio* var. Jian)优势基因聚合中发现,子代含4个优势基因型的个体平均增重比不含优势基因型的个体快14%。本研究子代个体所含优势基因型数量与生长性状的相关性分析结果显示,优势基因型聚合数量与草鱼生长性状呈正相关,与鳊鱼(宋易等,2016)、大口黑鲈(李胜杰等,2019)、鲤(孙效文等,2009)的研究结果一致。含7个优势基因型个体的平均体质量比不含优势基因型的个体提高36.26%。可见,利用多基因聚合技术将草鱼生长相关的基因聚合,可实现生长表型性状的大幅度改良。这也表明,在今后的草鱼良种选育过程中,利用分子标记技术直接选择可聚合草鱼生长优势基因数量多的个体作为亲本进行繁育,可取得良好的遗传改良效果。

多基因聚合过程中,每增加一个基因的筛选,将会有一部分材料遭到淘汰,可供挑选的目标个体数也将大大降低(徐磊等,2014)。本研究也反映出这种现象,从子代个体所含的优势基因型的数量分布结果来看,含2个和3个优势基因型个体数最多,所占比例分别为21.73%和22.25%;含7个优势基因型的个体数最少,所占比例为1.57%,可供选择的数量相对较少。孙立亭等(2019)对水稻稻瘟病抗性进行多基因聚合效果分析时发现,随着含抗病基因数的增加,对应的材料数量明显降低。这可能是由于个体在含2~3个优势基因型时,其基因型的组成方式存在多样化,随着子代含有优势基因型数目的增加,基因型之间的组合方式随之减少。后续可通过扩大研究群体或者增加聚合基因的数量来解决这一问题,从而获得较多数量的目标群体。由于受客观条件因素的影响,本研究未能探讨多基因聚合育种技术应用于选育中的效果,尚需进一步研究。

多基因聚合效果分析所用的7个与体质量显著的标记均为本实验前期通过候选基因关联分析方法筛选而获得的,前期研究结果显示,这7个标记的优势基因型个体的平均体质量比其他基因型个体的平均体质量高6.86%~11.00%(曹婷婷等,2012a、b;樊佳佳等,2014;唐小红,2015),其中,A+762G标记对体质量影响作用最大,其优势基因型个体的平均体质量比非优势基因型个体高11.00%(唐小红,2015)。在本研究的家系子代中,这7个标记的优势基因型个体的平均体质量比非优势基因型个体提高了4.27%~12.11%,其中,A+762G标记的优势基因型个体与非优势基因型个体的平均体质量差异最大,优势基因型个体的平均体质量为162.41g,比其余个体的平均体质量提高了12.11%,本研究结果与前期的研究结果基本一致,均反映出A+762G标记对体质量的影响作用最大。A+762G标记位于丙酮酸激酶1型

(PKL)基因上,PKL是糖酵解过程中最关键的催化酶,可催化PEP转化为丙酮酸,将高能磷酸键转移给ADP生成ATP,从而参与机体生命活动及生长发育过程(戴超等,2014)。在草鱼基因聚合育种实践中可考虑将PKL基因上A+762G标记作为首选目标标记。

本研究不同基因的组合效应分析发现,生长相关的优势基因型聚合数量越多,其生长性状表型值越高,但具有4个和3个优势基因型的个体平均体质量相差很小(1.24g),具有3个和2个优势基因型的个体平均体质量相差也很小(2.2g)。优质肉鸡繁殖性能相关标记的聚合基因型的效应分析研究中也存在类似结果(张增荣等,2013)。推测可能多基因聚合并不是单基因的基因型效应的简单相加,而是不同基因之间存在一定的相互作用,从而影响整个性状的形成(李国辉等,2010)。李红霞等(2014)分析建鲤*ODCI*基因与增重相关性发现,其主效SNP标记之间也存在拮抗或协同作用。李胜杰等(2019)研究大口黑鲈生长相关标记的聚合效果也发现,基因之间存在互作效应,进而影响其生长性状。赵秀华(2012)对京海黄鸡*GFBP-1*、*IGFBP-2*和*STAT5*基因进行三基因互作效应分析,结果显示,三基因聚合效应>二基因聚合效应>单个基因效应,但组合基因效应并非是单个基因型效应的简单累加。上述研究提示,今后的多基因聚合育种要将单基因效应分析及不同基因的组合效应分析相结合,选择最优秀和合理的多基因聚合式应用于生产实践中。

参 考 文 献

- CAO T T, BAI J J, YU L Y, *et al.* Polymorphisms of SNPs in *ALDO B* gene and association analysis with growth traits in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Journal of Fisheries of China*, 2012a, 36(4): 482–488 [曹婷婷, 白俊杰, 于凌云, 等. 草鱼醛缩酶B基因部分序列的SNP多态性及其与生长性状的关联分析. *水产学报*, 2012a, 36(4): 482–488]
- CAO T T, BAI J J, YU L Y, *et al.* Single nucleotide polymorphisms (SNPs) of carboxypeptidase A1 gene (*CPA1*) segments and their association with the growth traits of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Chinese Journal of Agricultural Biotechnology*, 2012b, 20(3): 301–307 [曹婷婷, 白俊杰, 于凌云, 等. 草鱼羧肽酶A1基因(*CPA1*)部分片段的单核苷酸多态性(SNP)多态性及其与生长性状的关联分析. *农业生物技术学报*, 2012b, 20(3): 301–307]
- CHEN H Z, LI J, HE Y Y, *et al.* Optimization of SRAP-PCR system using orthogonal design and its application to genetic analysis in *Fenneropenaeus chinensis*. *Progress in Fishery Sciences*, 2010, 31(6): 43–53 [陈华增, 李健, 何玉英, 等. 中国对虾SRAP分子标记体系正交优化及在遗传多样性分析中的应用. *渔业科学进展*, 2010, 31(6): 43–53]
- DAI C, WANG F, FANG Z H, *et al.* Effects of temperature on

- the respiratory metabolism and activities of related enzymes of swimming crab *Portunus trituberculatus*. *Progress in Fishery Sciences*, 2014, 35(2): 90–96 [戴超, 王芳, 房子恒, 等. 温度对三疣梭子蟹呼吸代谢及其相关酶活力的影响. *渔业科学进展*, 2014, 35(2): 90–96]
- FAN J J, LIU X X, BAI J J, *et al.* Detection of SNP in citrate synthase gene and association analysis with growth traits in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2014, 33(3): 84–89 [樊佳佳, 刘小献, 白俊杰, 等. 草鱼柠檬酸合酶基因 SNP 筛选及与生长性状的关联分析. *华中农业大学学报*, 2014, 33(3): 84–89]
- FU J J, ZHANG M, SHEN Y B, *et al.* Polymorphisms of the *PRL* gene and their associations with growth traits and flesh components in juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2016, 23(3): 491–499 [傅建军, 张猛, 沈玉帮, 等. 草鱼 *Prl* 基因多态性与幼鱼生长性状和肌肉成分的关联分析. *中国水产科学*, 2016, 23(3): 491–499]
- FUJII K, HAYANO-SAITO Y, SAITO K, *et al.* Identification of a RFLP marker tightly linked to the panicle blast resistance gene *Pb1* in rice. *Breeding science*, 2000, 3(50): 183–188
- GU B N, LIU X, SHEN H D, *et al.* Molecular cloning and analysis of the *MyHC* gene in *Onchidium struma*. *Progress in Fishery Sciences*, 2018, 39(4): 126–138 [顾冰宁, 刘欣, 沈和定, 等. 瘤背石磺肌球蛋白重链(*MyHC*)基因的克隆与表达分析. *渔业科学进展*, 2018, 39(4): 126–138]
- HU Y, XU R H, CHENG J P. Study on the aggregation of high protein content genes and some high quality genes in wheat. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2016, 44(6): 50–53 [胡云, 徐如宏, 程剑平. 小麦高蛋白含量基因与部分优质基因的聚合研究. *江苏农业科学*, 2016, 44(6): 50–53]
- JIANG Y L. Hemorrhagic disease of grass carp: Status of outbreaks, diagnosis, surveillance, and research. *Israeli Journal of Aquaculture, Bamidgah*, 2009, 61(3): 188–197
- LI G H, ZHANG X Y, SU Y J, *et al.* Effect of single and pyramiding genotypes of three genes on egg production of Baier chicken. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2010, 32(4): 661–667 [李国辉, 张学余, 苏一军, 等. 3个基因 SNPs 及基因聚合对白耳鸡产蛋数的遗传效应. *江西农业大学学报*, 2010, 32(4): 661–667]
- LI H X, LI J L, TANG Y K, *et al.* Correlation analysis between body weight gain and *ODC1* genotypes in *Cyprinus carpio* var. Jian. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, 38(3): 414–421 [李红霞, 李建林, 唐永凯, 等. 建鲤 *ODC1* 基因型与增重的相关性分析. *水生生物学报*, 2014, 38(3): 414–421]
- LI S J, JIANG P, BAI J J, *et al.* Analysis of the pyramiding effect of growth-related molecular markers in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, 43(5): 962–968 [李胜杰, 姜鹏, 白俊杰, 等. 大口黑鲈生长相关标记的聚合及其效果分析. *水生生物学报*, 2019, 43(5): 962–968]
- LI S J, JIANG P, FAN J J, *et al.* SNPs detection of *MYH* gene and its association with growth traits in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Journal of Fisheries of China*, 2018, 42(3): 305–313 [李胜杰, 姜鹏, 樊佳佳, 等. 大口黑鲈肌球蛋白重链基因 SNPs 的筛选及与生长性状的关联. *水产学报*, 2018, 42(3): 305–313]
- LI Y, XU X Y, YAN M, *et al.* Improvement of rice grain shape by functional molecular marker of *GS3* gene. *Acta Agriculturae Shanghai*, 2016, 32(1): 1–5 [李扬, 徐小艳, 严明, 等. 利用 *GS3* 基因功能性分子标记改良水稻粒型的研究. *上海农业学报*, 2016, 32(1): 1–5]
- LIU F P, BAI J J. Single nucleotide polymorphisms and its application in genetic breeding of aquatic animals. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2008, 15(4): 704–712 [刘福平, 白俊杰. 单核苷酸多态性及其在水产动物遗传育种中的应用. *中国水产科学*, 2008, 15(4): 704–712]
- LIU X X, BAI J J, YU L Y, *et al.* SNPs screening of 3'UTR in apoprotein A-I-1 gene and its association with growth traits in grass carp. *Journal of Dalian Ocean University*, 2012, 27(1): 12–17 [刘小献, 白俊杰, 于凌云, 等. 草鱼载脂蛋白 A-I-1 基因 3'非编码区 SNPs 筛选及其与生长性状的关联分析. *大连海洋大学学报*, 2012, 27(1): 12–17]
- SERVIN B, MARTIN O C, MÉZARD M, *et al.* Toward a theory of marker-assisted gene pyramiding. *Genetics*, 2004, 168(1): 513–523
- SONG Y, LIANG X F, TIAN C X, *et al.* Pyramiding of growth-related markers in five breeding generations of *Siniperca chuatsi* Basilewsky. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2016, 40(5): 951–957 [宋易, 梁旭方, 田昌绪, 等. 生长相关分子标记在翘嘴鲌五代中的富集. *水生生物学报*, 2016, 40(5): 951–957]
- SUN L T, LIN T Z, JING D D, *et al.* Effects of multiple genes polymerization on rice blast resistance in Jiangsu Province and the development of functional markers of *Pb1* gene. *Journal of Southern Agriculture*, 2019, 50(5): 913–923 [孙立亭, 林添资, 景德道, 等. 江苏省多基因聚合对水稻稻瘟病抗性的效应分析及 *Pb1* 基因功能标记开发. *南方农业学报*, 2019, 50(5): 913–923]
- SUN X W, LU C Y, CAO D C, *et al.* Molecular markers associated with body weight of mirror carp and selection and raising of progenies. *Journal of Fisheries of China*, 2009, 33(2): 177–181 [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. *水产学报*, 2009, 33(2): 177–181]
- TANG X H. Structure and expression analysis of three types of pyruvate kinase and α -*AMY* gene of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) and screening of SNPs markers related to growth traits. Master's Thesis of Shanghai Ocean University, 2015 [唐小红. 草鱼 3 种丙酮酸激酶和 α -淀粉酶基因的结构、表达分析和生长相关标记筛选. 上海海洋大学硕士研究生学位论文, 2015]
- TIAN Y Y, JIAO Z Z, SUN C F, *et al.* Expression analysis of *jam-as* in GCRV-infected grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) PSF cells and during the embryo and juvenile stages. *Progress in Fishery Sciences*, 2019, 40(5): 126–133 [田园园, 焦真真, 孙成飞, 等. 草鱼 *jam-a* 分子在胚胎幼鱼期及受 GCRV 感染 PSF 细胞的表达分析. *渔业科学进展*, 2019, 40(5): 126–133]
- WANG Q B, ZHAO Z H, LI S F, *et al.* Reproductive performance related multiple gene pyramiding effect in high quality broiler. *Journal of Anhui Agricultural University*,

- 2018, 45(2): 233–237 [王钱保, 赵振华, 黎寿丰, 等. 优质肉鸡繁殖性能相关基因聚合效应的研究. 安徽农业大学学报, 2018, 45(2): 233–237]
- WANG X Y, JING R B, SONG C Y. Study on polymorphism of *ESR* and *FSH β* genes in the generations of Sujiang swine. *Journal of Genetics and Genomics*, 2007(4): 30–31 [王宵燕, 经荣斌, 宋成义. *ESR* 和 *FSH β* 基因在苏姜猪世代选育中遗传变异的研究. 遗传学报, 2007(4): 30–31]
- XU L, BAI J J, LI S J. The effect of pyramiding growth-related genotypes in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Journal of Fishery Sciences of China*, 2014, 21(1): 53–58 [徐磊, 白俊杰, 李胜杰. 大口黑鲈生长性状相关标记的聚合效果分析. 中国水产科学, 2014, 21(1): 53–58]
- YU L Y, BAI J J, CAO T T, *et al.* Genetic variability and relationships among six grass carp *Ctenopharyngodon idella* populations in China estimated using EST-SNP markers. *Fisheries Science*, 2014, 80(3): 475–481
- ZENG X C, CHEN H Y, JIA B, *et al.* Effects of single and combined genotypes of *MC4R* and *PROP1* genes on growth traits in Chinese Merino sheep. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2011, 42(9): 1227–1232 [曾献存, 陈韩英, 贾斌, 等. *MC4R* 和 *PROP1* 基因多态性及合并基因型与中国美利奴羊生长性状的关联分析. 畜牧兽医学报, 2011, 42(9): 1227–1232]
- ZHANG Z R, DU H R, JIN H, *et al.* Study on inosine monophosphate and intramuscular fat related multiple gene pyramiding effect in meat quality broiler. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2013, 31(3): 340–344 [张增荣, 杜华锐, 金红, 等. 优质肉鸡肌苷酸与肌内脂肪含量相关基因聚合效应研究. 四川农业大学学报, 2013, 31(3): 340–344]
- ZHAO X H. Genetic effect and expression of *IGFBP-1*, *IGFBP-2* and *STAT5* genes in Jinghai chicken. Master's Thesis of Yangzhou University, 2012 [赵秀华. 京海黄鸡 *IGFBP-1*、*IGFBP-2* 和 *STAT5* 基因遗传效应及表达规律的研究. 扬州大学硕士研究生学位论文, 2012]

(编辑 马瑾艳)

The Effects of Pyramiding Growth-Related Genotypes in Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*)

SUN Xue^{1,2}, LI Shengjie¹①, DU Jinxing¹, JIANG Peng¹, ZHOU Jiahui^{1,2}, BAI Junjie¹

(1. Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Key Laboratory of Tropical and Subtropical Fishery Resource Application and Cultivation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangzhou, Guangdong 510380, China; 2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract To better understand the effects of pyramiding advantageous genotypes of the growth-related molecular markers in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), ten molecular markers related to growth traits were selected from our previous studies, located in *apoA-I-1* (apoprotein A-I-1), *PKL* (pyruvate kinase L), *CPAI* (carboxypeptidase A1), *CS* (citrate synthase), *Aldo-B* (aldolase-B), *SL α* (somatomammotropin- α), and *MYH* (myosin heavy chain). The genotype of each marker in forty-eight grass carp was analyzed, and two parents with the most advantageous pyramiding genotypes were selected to create a family. Seven-month-old individuals ($n=382$) were randomly sampled from the second filial generation. The results showed that the number of advantageous genotypes varied (0~7), and the corresponding number of individuals was 44, 67, 83, 85, 44, 38, 15, and 6. The average weight of the advantageous genotypes was 129.66, 144.45, 151.33, 153.53, 154.77, 160.50, 167.50, and 176.67 g. Correlation analysis showed that the pyramiding number was positively correlated with the growth traits. Further analysis showed that the average number of advantageous genotypes was 2.58, which was improved compared to the average number in the parent group (1.00). These results indicate that the growth traits of grass carp can be improved by aggregating the advantageous genotypes. This study also provides a theoretical basis for gene pyramid breeding in grass carp.

Key words Grass carp; Growth traits; Molecular marker; Advantage genotype; Pyramiding

① Corresponding author: LI Shengjie, E-mail: ssjli@163.com