

鲤的微卫星标记与体质量、体长、体高和吻长的相关分析

杨晶^{1,2}, 张晓峰¹, 储志远^{1,2}, 孙效文¹

(1. 中国水产科学研究院 黑龙江水产研究所及农业部北方鱼类生物工程育种重点开放实验室, 黑龙江 哈尔滨 150070; 2. 大连水产学院 生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116023)

摘要: 利用24个鲤(*Cyprinus carpio* L.) EST-SSRs标记和41个SSRs标记对柏氏鲤和荷包红鲤抗寒品系回交子代的84个个体基因组DNA进行检测,共得到182个等位基因,各座位等位基因数2~4个,片段长度142~329 bp,有效等位基因数1.3913~3.9353,观察杂合度0.3214~1.0000,期望杂合度0.2829~0.7535,平均位点多态信息含量0.5120。利用统计软件SPSS的GLM程序对65个微卫星标记与鲤鱼体质量、体长、体高和吻长的相关性进行了分析,其中与体质量、体长显著相关的标记是HLJE365;与体质量、体高显著相关的标记是HLJ816;与体质量显著相关的标记是HLJ726,与体长显著相关的标记是HLJ107、HLJ1098;与体高显著相关的标记是HLJ111、HLJ817;与吻长显著相关的标记是HLJE331、HLJ906、HLJ1330。对同一标记不同基因型间进行多重比较,找到与4种性状相关的基因型,并运用数学建模的思想定位等位基因对性状的影响。[中国水产科学,2010,17(4):721-730]

关键词: 鲤; 微卫星标记; 体质量; 体长; 体高; 吻长; 相关分析

中图分类号: S9

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2010)04-0721-10

近年来的鲤养殖生产中,生长缓慢、产量下降和抗病力差等生产性状衰退现象变得越来越突出,已逐渐成为制约中国鲤鱼养殖业发展的重要因素。利用分子育种技术对鲤这个传统养殖种进行深度遗传改良是解决的办法之一。经济性状的QTL研究可以提供分子育种的工具和信息。鱼类的数量性状受多基因控制,遗传机制复杂,而易受环境影响,表现为连续变异。控制数量性状的基因在基因组中的位置称为数量性状基因座(QTL)^[1]。许多研究表明,一个性状的QTL并不是很多,存在主效基因^[2]。鲤是中国淡水鱼类中分布最广,种类最多的一个物种,其养殖产量在水产养殖业中占相当大的比重^[3]。同时也是水产动物中QTL研究发展较快的物种之一。目前,鲤数量性状方面的研究已经取得了很大的进展^[4-8]。虽然数量性状基因和标记的发现比较困难,但随着

遗传连锁图谱标记密度的增加^[9-13],找到这些基因并定位逐渐成为可能。利用基因的重组交换原理筛选出与QTL有紧密相关的分子标记,从而可以通过分子标记来选择和定位数量性状基因。

微卫星作为第二代分子遗传标记,在许多自然种群的研究中具有很多其他分子研究方法所不具有的优点^[14],在鲤分子水平的研究上也有着广阔的应用前景,如微卫星分子标记的开发^[4,15-17],鲤遗传连锁图谱的建立^[8]和抗寒标记的QTL定位^[18]以及鲤群体遗传学的研究^[3,19-20]。

EST是与基因相关联的,它能够比其他分子标记提供更多功能信息,如果发现1个EST标记与1个有益性状在遗传上是连锁的,它很可能直接影响这一性状。这是EST-SSRs作为已知功能的I型微卫星标记在基因定位和克隆、分子标记辅助育种方面具

收稿日期: 2009-09-15; 修订日期: 2009-12-12.

基金项目: 国家重大基础研究计划项目(2004CB117405).

作者简介: 杨晶(1984-),硕士研究生,主要从事动物遗传育种与繁殖方面的研究. E-mail: 840223yangjing@163.com

通讯作者: 孙效文(1955-),研究员,博士生导师. Tel: 0451-84862646; E-mail: sunxw2002@163.com

有其他标记无法比拟的优势。

本实验利用荷包红鲤抗寒品系和柏氏鲤回交群体为作图群体,对群体中的84个个体进行标记与性状的连锁分析,旨在为鲤经济性状的进一步QTL定位及分子辅助育种(MAS)奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验用鱼为以荷包红鲤抗寒品系和柏氏鲤为祖父母本,交配产生 F_1 , F_1 与柏氏鲤再反向回交产生的子代。对其中产生明显性状分离的84个个体进行表型分析和基因型分析。

1.2 引物与试剂

本研究使用的65个微卫星标记其中20个来自建立鲤遗传连锁图谱和QTL定位候选标记中(其中5个EST-SSRs,15个SSRs),45个微卫星标记由本实验室自己开发。这些微卫星标记的扩增和分型效果都很好。所有引物均由上海生工生物工程技术服务有限公司合成,生化试剂均购自美国Promega公司,其他试剂为国产分析纯。

1.3 实验方法

1.3.1 表型性状的度量 根据伍献文^[21]的测量方法进行体质量、体长、体高等表型性状的测定和计算。

1.3.2 微卫星标记的测定 参考《分子克隆实验指南》^[22]进行高分子量基因组DNA的提取和纯化。PCR反应体系为25 μ L,包括10 \times buffer 15 μ L、 Mg^{2+} (25 mmol/L) 1 μ L、dNTPs (各2 mmol/L) 1 μ L、上下游引物(10 μ mol/L)各1 μ L、模板DNA 1 μ L、*Taq*DNA聚合酶(Promega) 1 U, dd H₂O 4.8 μ L。扩增反应均在PE 9700型PCR仪(PE公司)上完成,PCR反应程序为:94 $^{\circ}$ C预变性3 min,94 $^{\circ}$ C变性20 s,复性温度48~65 $^{\circ}$ C 20 s,72 $^{\circ}$ C延伸30 s,28个循环;72 $^{\circ}$ C延伸10 min。将反应后的PCR产物用8%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳结合银染法显色进行检测,溴酚蓝为上样(25%溴酚蓝,40%蔗糖水溶液),EpsonPerfection V100扫描仪扫描成象。记录结果,Gel-ProAnalyzer 4.5软件分析数据。

1.4 统计分析

1.4.1 群体等位基因频率、杂合度及多态信息含量的计算 用PopGene (Version 3.2)软件统计各微卫星基因座的等位基因频率(Alelle frequency, P)、等位基因数(Observed number of alleles, N_a)、有效等位基因数(Effective number of alleles, N_e)、群体杂合度(Heterozygosity, H)、多态信息含量(Polymorphism Information Content, PIC)。

1.4.2 微卫星标记与各表型性状间的相关分析 采用SPSS13.0软件包中广义线性模型(GLM)对鲤表型性状与65个微卫星座位的相关性进行最小二乘方差分析。

2 结果与分析

2.1 性状分布

该检验是在SPSS中完成。所有测量的性状都显示出连续变异的特点,显示这些与生长相关的性状都是典型的数量性状或者多基因遗传。表型性状的频率分布是否显著偏离正态分布通过Shapiro-Wilk检验, P 值越大表示越显著。本研究的4个性状均符合正态分布(表1)。

2.2 电泳结果

用65对微卫星引物对基因组DNA进行PCR扩增和电泳检测,各微卫星均获得了稳定、清晰的DNA条带,并在个体间表现出不同程度的多态性,部分聚丙烯酰胺凝胶电泳结果见图1。

2.3 微卫星等位基因

微卫星基因座等位基因数、等位基因片段、有效等位基因数、杂合度和多态信息含量及等位基因频率(表2)。其中,*HLJ659*、*HLJ726*、*HLJ740*、*HLJ909*座位的等位基因数最多,共4个;有17个座位的等位基因数最少,仅有2个。

2.4 微卫星座位与体质量、体长、体高、吻长的相关分析

利用最小二乘法对标记座位与鲤体质量、体长、体高、吻长性状进行连锁显著性检验,在65个微卫星座位中,与体质量、体长、体高和吻长显著相关的

表1 鲤的体质量、体长、体高和吻长正态分布检验
Tab. 1 Normal distribution test for body weight, length, height and upper jaw length wensize

项目 Item	$\bar{x} \pm SD$ ($n=84$)	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis	最小值 Minimum	最大值 Maximum	<i>P</i>
体质量/g Body weight	161.5750±41.99945	-0.090±0.263	-0.428±0.520	68.80	246.50	0.531
体长/cm Body length	20.6950±1.87782	-0.245±0.263	-0.379±0.520	16.20	24.30	0.323
体高/cm Body height	6.7600±0.76368	-0.582±0.263	0.339±0.520	4.50	8.30	0.056
吻长/cm Upper jaw length wensize	2.0744±0.26735	0.079±0.263	0.103±0.520	1.50	2.80	0.306

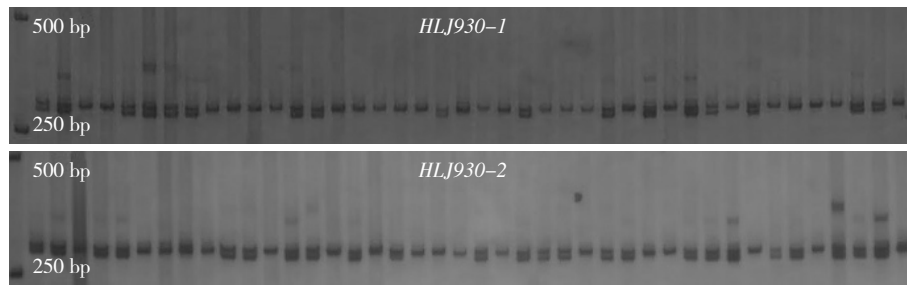


图1 微卫星位点在84个样本的扩增结果
图版左边所标注数字为DNA marker的大小,图中共出现了A、B 2种等位基因.

Fig. 1 Amplification result of HLJE930 in 84 samples
Numbers of left hand were the size of DNA marker. There were two different alleles on this picture.

微卫星位点有12个。其中与体质量、体长显著相关的标记是HLJE365；与体质量、体高显著相关的标记是HLJ816；与体质量显著相关的标记是HLJ726；与体长显著相关的标记是HLJ107、HLJ1098；与体高显著相关的标记是HLJ111、HLJ817；与吻长显著相关的标记是HLJE331、HLJ906、HLJ1330。对差异显著的标记进行不同基因型间的不同性状的多重比较(Duncan法)结果见表3。

在HLJE318中即使差异显著,但由于基因型仅有AB、BB 2种,所以不能进行多重比较。在微卫星检测过程中,HLJE331中基因型为AC个体的体质量、体长、吻长均高于其他基因型。在吻长方面AC个体均显著高于AB、BC、CC个体;在体质量、体长上基因型AC个体值最高,但各基因型之间差异不显著;在体高上CC基因型个体值高于其他基因型,但各基因型之间差异也不显著。

在标记HLJE365上检测到5种基因型,其中基因型为AA个体的体质量、体长及吻长值均高于其

他基因型。在体质量、体长方面AA个体值显著高于AB和AC个体,BC和CC个体与其他基因型个体无显著差异;而在体高和吻长上5种基因型无显著差异。在所有基因型中含有等位基因A的个体在体质量、体长和吻长中均高于其他基因型,所以说等位基因A与体高、体长和吻长成正相关。

在标记HLJ107中,有5个个体在在微卫星检测过程中未曾得到基因型,因此总体样本数为79个。在该座位上BC基因型个体在体高方面显著高于AC个体,AB与其他基因型个体均无显著差异;而在体质量、体长、吻长上3种基因型无显著差异。

在标记HLJ111中,CC基因型个体所对应的体长、体高、吻长值均高于其他基因型。在体高性状上,CC个体与其他基因型都存在差异显著,其中与AB个体差异最大,相差约8.535 cm;各基因在体质量、体长、吻长方面差异不显著。

在标记HLJ726中,AC基因型个体所对应的体质量、体长、吻长值均高于其他基因型。在体质量性

表2 鲤群体在65个微卫星标记基因位点的统计信息
 Tab. 2 Statistic information of 65 microsatellites genetic loci in the population

基因座 Locus	等位基 因数 Allele	等位基因 片段/bp Fragmet	有效等位 基因数 N_e	观察杂 合度 H_o	期望杂 合度 H_e	多态信 息含量 PIC	等位基因频率 Allele frequency			
							A	B	C	D
HLJE141	3	332-225	2.3537	0.6420	0.5787	0.5120	0.2037	0.2160	0.5802	
HLJE146*	3	237-213	2.6563	1.0000	0.6273	0.5527	0.2771	0.5000	0.2229	
HLJE159*	3	200-167	2.3169	0.5270	0.5723	0.5055	0.1824	0.5878	0.2297	
HLJE169	3	230-180	2.6586	1.0000	0.6276	0.5531	0.2262	0.5000	0.2738	
HLJE179	2	230-210	1.5694	0.4762	0.3650	0.2970	0.7619	0.2381		
HLJE182*	2	400-240	1.5232	0.4405	0.3455	0.2845	0.7798	0.2202		
HLJE190	2	170-155	1.6750	0.5595	0.4054	0.3218	0.2798	0.7202		
HLJE265	3	240-225	2.5757	0.9762	0.6154	0.4524	0.5757	0.3036	0.1845	
HLJE279	3	180-160	2.1873	0.6145	0.5461	0.4846	0.1988	0.1807	0.6205	
HLJE317	3	230-160	2.8473	0.8659	0.6528	0.5745	0.3354	0.4268	0.2378	
HLJE318	2	210-200	1.4613	0.4643	0.3586	0.2658	0.1964	0.8036		
HLJE323*	2	168-158	1.4459	0.3810	0.3102	0.2609	0.1905	0.8095		
HLJE325	3	230-180	2.8995	0.5000	0.6590	0.5806	0.3512	0.3988	0.2500	
HLJE328	3	235-221	1.7638	0.5714	0.4356	0.3748	0.0536	0.2321	0.7143	
HLJE331	3	226-217	2.5097	0.5595	0.6051	0.5344	0.2262	0.2321	0.5417	
HLJE338	3	380-240	2.8044	0.7952	0.6473	0.5710	0.2711	0.4578	0.2711	
HLJE339	3	250-200	2.6655	1.0000	0.6285	0.5545	0.2410	0.2590	0.5000	
HLJE365	3	240-180	2.8061	0.4881	0.6475	0.5680	0.4226	0.2143	0.3631	
HLJE374	2	180-175	1.5540	0.4643	0.3586	0.2929	0.7679	0.2321		
HLJE385	3	260-240	2.6348	1.0000	0.6242	0.5484	0.2976	0.5000	0.2024	
HLJE396	3	180-160	2.6169	0.7349	0.6216	0.5480	0.2651	0.5120	0.2229	
HLJE411	3	190-160	2.3837	0.4590	0.5853	0.4913	0.4918	0.0984	0.4098	
HLJE417*	3	234-220	1.3913	0.3214	0.2829	0.2610	0.0536	0.1071	0.8393	
HLJE450	2	221-210	1.5694	0.4762	0.3650	0.2970	0.7619	0.2381		
HLJ30*	2	277-249	1.7041	0.5833	0.4157	0.3278	0.7083	0.2917		
HLJ49	3	220-200	2.8698	0.7470	0.6555	0.5785	0.2831	0.4337	0.2831	
HLJ107*	3	246-219	2.6942	1.0000	0.6328	0.5558	0.3101	0.4810	0.2089	
HLJ111*	3	200-163	2.6114	0.9286	0.6208	0.5468	0.2738	0.2143	0.5119	
HLJ429	3	246-202	2.6216	0.9762	0.6223	0.5489	0.5119	0.2560	0.2321	
HLJ483*	3	173-142	2.1455	0.3659	0.5372	0.4424	0.3659	0.0610	0.5732	
HLJ546	3	240-218	2.1930	0.7262	0.5473	0.4474	0.3988	0.0595	0.5417	
HLJ551	3	232-198	2.8028	0.7738	0.6471	0.5708	0.2738	0.2679	0.4583	
HLJ562	3	249-210	2.0431	0.6905	0.5136	0.4568	0.1488	0.6548	0.1964	
HLJ568*	2	244-223	1.5232	0.4405	0.3455	0.2845	0.7798	0.2202		
HLJ575*	2	300-230	1.7055	0.5844	0.4163	0.3281	0.7078	0.2922		
HLJ576	3	238-198	2.5440	0.7037	0.6107	0.5382	0.2099	0.5309	0.2593	
HLJ585*	3	268-199	2.6114	0.6905	0.6208	0.5468	0.2143	0.5119	0.2738	
HLJ586	3	200-180	2.8723	0.5405	0.6563	0.5787	0.2905	0.2770	0.4324	

续表 Continued

HLJ659	4	274-248	3.9353	1.0000	0.7504	0.6985	0.2321	0.2917	0.2083	0.2679
HLJ669	3	250-225	2.8607	0.8214	0.6543	0.5771	0.2619	0.3036	0.4345	
HLJ673	3	219-204	2.9943	0.9881	0.6700	0.5920	0.3333	0.3155	0.3512	
HLJ677*	3	250-232	2.8240	0.8052	0.6481	0.6901	0.3333	0.2987	0.2532	
HLJ693*	2	274-252	1.6353	0.5000	0.3912	0.3130	0.7361	0.2639		
HLJ703	2	312-261	1.9360	0.8182	0.4866	0.3667	0.4091	0.5909		
HLJ726	4	233-207	3.9775	1.0000	0.7531	0.7015	0.2619	0.2262	0.2738	0.2381
HLJ740*	4	192-159	3.9832	1.0000	0.7535	0.7019	0.2410	0.2289	0.2711	0.2590
HLJ752*	2	195-183	1.6750	0.3452	0.4054	0.3218	0.7202	0.2798		
HLJ806	3	243-213	2.6013	0.7619	0.6193	0.5465	0.5179	0.2381	0.2440	
HLJ816	3	293-275	2.6486	0.9167	0.6262	0.5512	0.2143	0.5000	0.2857	
HLJ817*	3	209-190	2.4615	0.9167	0.5973	0.5227	0.5417	0.2917	0.1667	
HLJ840	3	287-256	2.6662	1.0000	0.6287	0.5546	0.2440	0.5000	0.2560	
HLJ852	3	246-196	2.7060	0.7619	0.6342	0.5593	0.2440	0.2679	0.4881	
HLJ905	3	337-294	2.4702	0.6585	0.5988	0.5191	0.5244	0.1463	0.3293	
HLJ906	3	180-166	2.5313	0.7381	0.6086	0.5372	0.2202	0.5357	0.2440	
HLJ909	4	265-225	3.9626	1.0000	0.7522	0.7005	0.2771	0.2289	0.2229	0.2711
HLJ919	3	388-329	2.8613	0.9643	0.6544	0.5759	0.2381	0.3452	0.4167	
HLJ930	2	311-308	1.5540	0.4643	0.3586	0.2929	0.7679	0.2321		
HLJ1098	2	248-193	1.9929	0.5357	0.5012	0.3741	0.5298	0.4702		
HLJ1113	3	186-148	2.9175	0.9048	0.6612	0.5830	0.2619	0.3988	0.3393	
HLJ1147	3	198-160	2.8503	0.7024	0.6531	0.5743	0.3512	0.4167	0.2321	
HLJ1211*	3	187-164	2.6712	0.7857	0.6294	0.5518	0.3214	0.1964	0.4821	
HLJ1224	2	204-212	1.8000	0.1905	0.4471	0.3457	0.3333	0.6667		
HLJ1330	3	174-159	2.4858	0.9048	0.6013	0.5312	0.2202	0.5476	0.2321	
HLJ1341*	3	173-155	2.6643	0.7564	0.6287	0.5542	0.2372	0.5000	0.2628	
HLJ1343*	3	190-152	2.5672	0.7403	0.6145	0.5418	0.2208	0.2532	0.5260	
平均 Mean	2.8154		2.4326	0.7084	0.5636	0.5120				
St.Dev	0.5271		0.6202	0.2180	0.1208					

注: *,代表被鲤遗传连锁图谱和QTL定位的标记.

Note: *, The asterisk indicates markers for linkage map and QTL of common carp.

表3 12个微卫星位点不同基因型体质量、体长、体高和吻长平均值及多重比较
Tab. 3 Means and multiple comparisons of body weight, length, height and upper jaw length wensize in 12 microsatellite loci

$n=84; \bar{x} \pm SD$

基因座 Locus	基因型 Genotype	个体数 No.	体质量/g Body weight	体长/cm Body length	体高/cm Body height	吻长/cm Upper jaw length wensize
HLJE38	AB	39	156.867±6.729	20.474±0.301	6.673±0.868	2.005±0.042
	BB	45	165.656±6.264	20.887±0.280	7.955±0.808	2.134±0.039
HLJE31	AB	30	156.513±7.446	20.482±0.339	6.630±0.999	1.987±0.046 ^a
	AC	8	195.950±14.419	21.869±0.657	7.413±1.936	2.325±0.090 ^b
	BC	9	143.067±13.594	20.027±0.619	6.567±1.825	2.111±0.085 ^a
	CC	37	162.749±6.704	20.776±0.305	8.134±0.900	2.082±0.042 ^a

续表 Continued

HLJE35	AA	23	185.248±8.230 ^b	21.677±0.371 ^b	7.120±1.128	2.152±0.054
	AB	20	143.000±8.826 ^a	19.896±0.398 ^a	6.483±1.210	1.970±0.058
	AC	5	135.280±17.652 ^a	19.710±0.796 ^a	6.170±2.419	1.880±0.116
	BC	16	161.431±9.868 ^{ab}	20.953±0.445 ^{ab}	9.859±1.352	2.091±0.065
	CC	20	159.615±8.826 ^{ab}	20.405±0.398 ^{ab}	6.811±1.210	2.125±0.058
HLJ107	..	5	161.440±18.291	21.030±0.813 ^b	6.840±2.459	2.180±0.118
	AB	46	155.030±6.030	20.430±0.268 ^{ab}	7.788±0.811	2.085±0.039
	AC	3	121.933±23.614	18.500±1.050 ^a	5.850±3.175	1.750±0.152
	BC	30	175.597±7.467	21.266±0.332 ^b	6.942±1.004	2.073±0.048
HLJ111	AB	4	140.475±21.138	18.860±0.931	6.575±2.527 ^a	2.050±0.134
	AC	42	158.469±6.523	20.690±0.287	6.665±0.780 ^a	2.040±0.042
	BC	32	167.609±7.473	20.875±0.329	6.900±0.893 ^a	2.102±0.048
	CC	6	165.200±17.259	20.992±0.761	15.200±2.063 ^b	2.183±0.110
HLJ726	AB	20	156.155±9.096 ^{ab}	20.281±0.409	6.0807±1.222	2.052±0.060
	AC	24	176.487±8.304 ^b	21.394±0.374	7.002±1.115	2.125±0.055
	BD	18	169.472±9.588 ^{ab}	20.964±0.432	6.839±1.288	2.053±0.064
	CD	22	143.773±8.673 ^a	20.089±0.390	8.680±1.165	2.057±0.058
HLJ816	AB	29	149.593±7.544 ^a	20.087±0.339	6.541±0.939 ^a	1.984±0.049
	AC	7	190.371±15.355 ^b	21.800±0.691	14.521±1.912 ^b	2.114±0.100
	BB	7	186.614±15.355 ^b	21.623±0.691	7.231±1.912 ^a	2.100±0.100
	BC	41	160.859±6.345 ^{ab}	20.778±0.285	6.738±0.790 ^a	2.127±0.041
HLJ817	AA	7	155.329±15.603	20.617±0.700	13.943±1.928 ^b	2.200±0.100
	AB	49	154.402±5.897	20.370±0.265	6.644±0.729 ^a	2.029±0.038
	AC	28	175.689±7.801	21.284±0.350	6.967±0.964 ^a	2.123±0.050
HLJ852	AB	22	146.473±8.385 ^a	20.008±0.369 ^a	8.802±1.162	1.991±0.055 ^a
	AC	19	181.647±9.023 ^b	21.718±0.397 ^b	6.921±1.251	2.218±0.059 ^b
	BC	23	146.265±8.201 ^a	19.925±0.361 ^a	6.610±1.137	2.020±0.054 ^a
	CC	20	176.725±8.795 ^b	21.364±0.387 ^b	7.053±1.219	2.092±0.058 ^{ab}
HLJ906	AB	21	148.100±8.946	20.025±0.401	6.534±1.190	1.924±0.056 ^a
	AC	16	172.931±10.249	21.149±0.459	6.978±1.363	2.103±0.064 ^b
	BB	22	175.625±8.741	21.301±0.392	6.945±1.163	2.143±0.055 ^b
	BC	25	153.260±8.199	20.434±0.368	8.663±1.091	2.122±0.051 ^b
HLJ1098	AA	22	146.632±8.854	19.761±0.387 ^a	8.895±1.154	2.064±0.058
	AB	45	167.427±6.191	20.990±0.270 ^b	6.833±0.807	2.091±0.040
	BB	17	165.424±10.072	21.124±0.440 ^b	6.768±1.312	2.044±0.065
HLJ1330	AB	37	150.997±6.808	20.340±0.308	7.937±0.898	2.001±0.043 ^a
	BB	8	173.388±14.640	20.746±0.662	7.077±1.932	2.238±0.092 ^b
	BC	39	169.187±6.631	21.021±0.300	6.871±0.875	2.110±0.042 ^{ab}

注: 同一栏中不同上标字母数值间差异显著($P<0.05$).Note: Values with different superscripts in the same collume mean significant difference ($P<0.05$).

状上, AC个体与CD基因型存在显著差异, AB和BD与各基因型个体无显著差异; 各基因型个体在体长、体高、吻长方面差异不显著。

在标记HLJ816中, 基因型为AC、BB的个体与基因型为AB的个体在体质量方面存在差异显著, AC与BB之间差异不显著, BC个体与其他基因型个体无显著差异; 基因型为AC的个体在体高方面与其他基因型个体均存在显著差异, 其中与AB的差异最大, 相差7.980 cm; 各基因型个体在体长、吻长方面差异不显著。

在标记HLJ817中, 各基因型在体质量、体长、吻长方面差异不显著; 在体高方面, 基因型为AA个体与基因型为AB、AC个体存在显著差异, 与AC个体差异最大, 体高相差约7.299 cm。

在标记HLJ852中, 基因型为AC、CC的个体与基因型为AB、BC的个体在体质量和体长方面均存在显著差异; 在吻长方面, AC个体与AB、BC基因型个体存在显著差异。CC与其他基因型个体无显著差异; 各基因型个体在体高方面差异不显著。

在标记HLJ906上, 其中基因型为AC、BB、BC个体在吻长方面与AB基因型的个体差异显著; 而在

体质量、体长和体高上, 4种基因型无显著差异。

在标记HLJ1098中, 在体长性状上, AB、BB个体与AA基因型存在显著差异, AB和BB之间无显著差异; 各基因型个体在体质量, 体高, 吻长方面差异不显著。

在标记HLJ1330中, BB基因型个体所对应的体质量、体长、吻长值均高于其他基因型。基因型为BB的个体与基因型为AB的个体在吻长方面存在差异显著, BC基因型个体与其他基因型个体无显著差异; 各基因型个体在体质量, 体长, 体高方面差异不显著。

2.5 一元线性模型构建

在SPSS中, 构建一元线性模型, 定位微卫星标记各等位基因对体质量、体长、体高、吻长性状的影响。

分别对4种形状进行模型的建立, 在体长性状的模型构建过程中由于 R^2 小于0.6, 所以体长性状对微卫星标记等位基因的影响不予考虑。

将各个微卫星标记的等位基因与体质量、体高、吻长等性状的模型构建后, 再进行Test检验, 结果 R^2 相差不大, 证明模型构建成功(图2)。

各个微卫星标记的等位基因对体质量, 体高, 吻长等性状的影响效应见表4。

表4 微卫星标记各等位基因对性状的效应
Tab. 4 Effects of microsatellite loci contribute to traits

编号 Code	体质量/g Body weight	贡献力系数 Contribute coefficient	P	体高/cm Body height	贡献力系数 Contribute coefficients	P	吻长/cm Upper jaw length wensize	贡献力系数 Contribute coefficient	P
1	HLJE338C	-32.403±7.999	0.000	HLJE338C	-0.966±0.149	0.000	HLJE338C	-0.273±0.048	0.000
2	HLJ669B	-39.877±9.325	0.000	HLJ669B	-0.807±0.153	0.000	HLJ669 B	-0.168±0.049	0.001
3	HLJE385A	31.690±6.893	0.000	HLJE385A	0.391±0.121	0.002	HLJE141B	-0.182±0.041	0.000
4	HLJ546A	25.457±7.489	0.001	VHLJ546A	0.550±0.140	0.000	HLJ546 A	0.187±0.047	0.000
5	HLJ852B	-32.585±6.669	0.000	HLJ852B	-0.352±0.118	0.004	HLJE318A	-0.135±0.041	0.002
6	HLJ669C	-21.379±8.672	0.016	HLJ726A	0.419±0.121	0.001	HLJ669 A	0.156=0.040	0.000
7	HLJ919B	-19.892±7.141	0.007	HLJ726B	0.258±0.120	0.035	HLJ673C	-0.170±0.044	0.000
8	HLJ817C	25.293±7.156	0.001	HLJ429 B	-0.241±0.120	0.048	HLJ1330A	-0.153±0.041	0.000
9	HLJ816B	-36.935±11.731	0.002	HLJ49 C	-0.353±0.119	0.004	HLJE331C	0.104±0.042	0.015
10	HLJ906C	-20.183±6.669	0.003	HLJ806B	0.417±0.119	0.001	HLJ906A	-0.103±0.040	0.013
11				HLJ816B	-0.495±0.214	0.024			
常量 Constant		246.115			7.524			2.402	

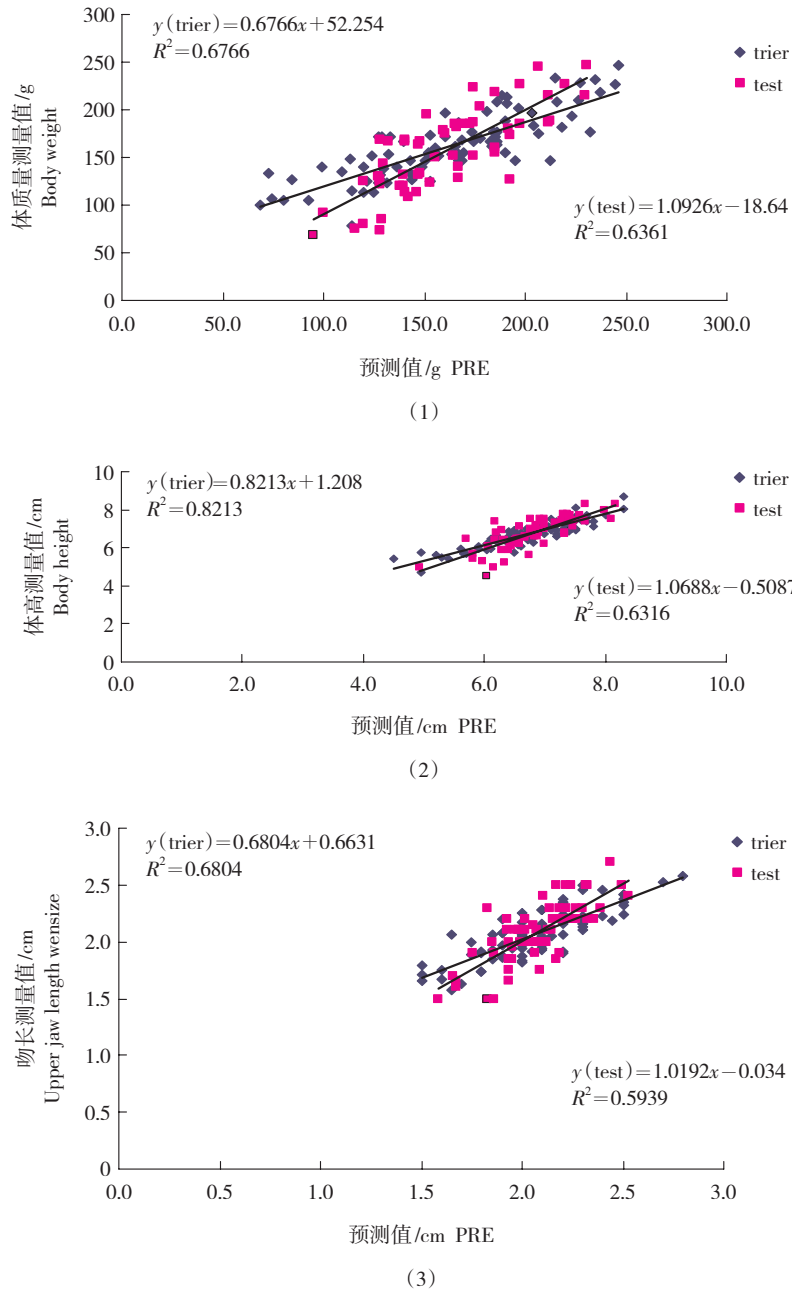


图2 鲤的性状回归曲线
Fig. 2 Regression curve of traits

3 讨论

在实际的分型过程中,由于某种基因型出现频率太少,仅有几次,缺少分析价值,因此在实际统计分析中,每种基因型至少有3次观察值才被考虑。

本实验结果表明,与体质质量、体长显著相关的标记是HLJE365;与体质质量、体高显著相关的标

记是HLJ816;与体质质量显著相关的标记是HLJ726;与体长显著相关的标记是HLJ107、HLJ1098;与体高显著相关的标记是HLJ111、HLJ817;与吻长显著相关的标记是HLJE331、HLJ906、HLJ1330。

张研等^[5]利用大头鲤/荷包红鲤抗寒品系重组自交系群体构建的遗传连锁图谱比较、验证,结果显示:主要经济性状相连锁的11个标记中HLJ107

与体长显著相关,而QTL定位结果为与尾柄高显著相关,此标记在QTL图谱中定位在第28连锁群的HLJ855-HLJ229之间。HLJ111与体高显著相关,而QTL定位结果为头长显著相关,此标记在QTL图谱中定位在第34连锁群的HLJ392-HLJ575之间。HLJ817与体高显著相关,而QTL定位结果为体厚显著相关,此标记在QTL图谱中定位在第10连锁群的HLJ895-HLJE27之间。该结果中达显著水平的关联在一定程度上可以说明这些标记与特定性状间可能存在关联。最主要的原因可能是与家系间的遗传背景不同有关,张研等是利用的是F₁自交后代,本研究用的是F₁的加辜负后代,这样的差异是需要更精细的QTL分析才能够阐明。

在这些关联中,出现了一个标记同几个性状相关,如HLJE365与体质量和体长相关,HLJ816同体质量和体高相关,HLJ852同体质量、体长和吻长相关。或几个标记同一个性状相关,如HLJE365、HLJ726、HLJ816和HLJ852都与体质量相关,HLJE365、HLJ107、HLJ1098都与体长相关,HLJ111、HLJ816、HLJ817都与体高相关,HLJE331、HLJ852、HLJ906、HLJ1330都与吻长相关。说明这些位点存在一因多效或多因一效的现象。

本实验在SPSS13.0软件中构建的一元线性模型中,其中贡献力系数绝对值大的对性状的贡献大,正符号代表该标记的此等位基因对该性状的影响起到正向的作用。负号代表该标记的此等位基因对该性状起到负影响的作用。其中对体质量的影响中,标记HLJ669中的B等位基因对体质量的影响最大,贡献系数为-39.877,起到负影响作用。标记HLJ817中的C等位基因对体质量的正影响最大,贡献系数为25.293。其中对体高的影响中,标记HLJE338中的C等位基因对体高的影响最大,贡献系数为-0.966,起到负影响作用。标记HLJ546中的A等位基因对体高的正影响最大,贡献系数为0.550。其中对吻长的影响中,标记HLJE338中的C等位基因对吻长的影响最大,贡献系数为-0.273,起到负影响作用。标记HLJ546中的A等位基因对吻长的正影

响最大,贡献系数为0.187。

由于可用于比较的其他鲤体质量、体长、体高、吻长的QTL定位结果还很少,所以试验所得的遗传标记结果还有待进一步的分析 and 验证,尤其是大量SNP标记的QTL分析。本研究所得与性状盯着的分子标记是否能作为鲤辅助育种的选择标记还有待在具体育种群体中加以验证,本实验提供了进行这种验证的候选标记。

参考文献:

- [1] XU Yun-Bi, ZHU Li-Huang. Molecular Quantitative Genetics. Beijing: Agricultural Publisher in China, 1994. 徐云碧,朱立煌. 分子数量遗传学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994.
- [2] 李宁. 动物基因组研究计划及其对动物育种的影响[J]. 遗传, 1997, 19(增刊): 7-10.
- [3] 全迎春,孙效文,梁利群. 应用微卫星多态分析四个鲤鱼群体的遗传多样性[J]. 动物学研究, 2005, 28(6): 595-602.
- [4] Sun XW, Liang LQ. A genetic linkage map of common carp (*Cyprinus carpio* L.) and mapping of a locus associated with cold tolerance [J]. Aquaculture, 2004, 238: 165-172.
- [5] 张研,梁利群,常玉梅,等. 鲤鱼体长性状的QTL定位及其遗传效应分析[J]. 遗传, 2007, 29(10): 1243-1248.
- [6] 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, 29(12): 1509-1518.
- [7] 张义凤,张研,鲁翠云,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.
- [8] 梁利群,孙效文. 鲤耐寒性状分子标记在遗传连锁图上的定位[J]. 大连水产学院学报, 2003, 18(4): 278-281.
- [9] Agresti JJ, Seki S, Cnaani A, et al. Breeding new strains of tilapia: development of an artificial center of origin and linkage map based on AFLP and microsatellite loci [J]. Aquaculture, 2000, 185: 43-56.
- [10] Colosimo PF, Peichel CL, Nereng K, et al. The genetic architecture of parallel armor plate reduction in three spinestickleback [J]. PLoS Biol, 2004, 2(5): 0635-0641.
- [11] Fuji K, Kobayashi K, Hasegawa O, et al. Identification of a single major genetic locus controlling the resistance to lymphocystis disease in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. Aquaculture, 2005, 254: 203-210.
- [12] Gilbey J, Verspoor E, McLay A, et al. A microsatellite linkage map for Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. Anim Genet, 2004, 5: 98-105.
- [13] Hara T, Nagase T, Kuwada T, et al. A genetic linkage map of amago salmon (*Oncorhynchus masou ishikawae*) and mapping of loci

- associated with smoltification. 29th International Conference on Animal Genetics [R]. Tokyo, Japan. 2004.
- [14] Crooijmans RPMA, Poel JJ, Groenen MAM, et al. Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. Animal Genetics, 1997, 28: 129–134.
- [15] Aliah RS, Takagi M, Dong S, et al. Isolation and inheritance of microsatellite markers in the common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. Fish Sci, 1999, 65 (2): 235–239.
- [16] 魏东旺, 楼允东, 孙效文, 等. 鲤鱼微卫星分子标记的筛选 [J]. 动物学研究, 2001, 22 (3): 238–241.
- [17] Yue GH, Ho MY, Orban L, et al. Microsatellites with genes and ESTs of common carp and their applicability in silver crucian carp [J]. Aquaculture, 2004, 234: 85–98.
- [18] Lal KK, Chauhan T, Mandal A, et al. Identification of microsatellite DNA markers for population structure analysis in Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton-Buchanan, 1882) [J]. J Appl Ichthyol, 2004, 20 (2): 87–91.
- [19] Kohlmann K, Gross R, Murakaeva A, et al. Genetic variability and structure of common carp (*Cyprinus carpio*) populations throughout the distribution range inferred from allozyme, microsatellite and mitochondrial DNA markers [J]. Aquatic Living Resources, 2003, 16: 421–431.
- [20] Liao XL, Yu XM, Tong J. Genetic diversity of common carp from two largest Chinese lakes and the Yangtze River revealed by microsatellite markers [J]. Hydrobiologia, 2006, 568: 445–453.
- [21] 伍献文. 中国鲤科鱼类志 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1964.
- [22] 萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 D W. 分子克隆实验指南. 第3版 [M]. 北京: 科学出版社, 2002: 8.
- [23] ZHANG Yan, LIANG Li-Qun, CHANG Yu-Mei, et al. Mapping and genetic effect analysis of common carp (*Cyprinus carpio* L.) quantitative trait loci related to body size [J]. Hereditas, 2007, 29 (10): 1243–1248.

Correlation analysis of microsatellite markers with body weight, length, height and Upper jaw length wensize of common carp (*Cyprinus carpio* L.)

YANG Jing^{1,2}, ZHANG Xiaofeng¹, CHU Zhiyuan^{1,2}, SUN Xiaowen¹

(1. Heilongjiang Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Harbin 150070, China; 2. College of Aqua-life Science and Technology, Dalian Fisheries University, Dalian 1160023, China;)

Abstract: Sixty-five microsatellite markers (24 EST-SSRs markers and 41 SSR markers) were selected to analyze the genomic DNA of 84 progenies derived from the recombinant backcross lines (BC) of common carp, which came from the backcross between Barbless carp and Hebao-cold tolerance red carp. The results showed that a total of 182 different alleles were found, and the number of alleles in each locus was 2 to 4. The DNA fragment length was 142 bp to 329 bp, and the number of valid alleles was 1.391 3 to 3.935 31. The value of observed heterozygosity was 0.321 4 to 1.000 0, expected heterozygosity was 0.282 9 to 0.753 5 and the mean polymorphism information content (PIC) was 0.512 0. A GLM procedure was used to analyze the correlation between the 65 microsatellites and body weight, length height and upper jaw length wensize. Results uncovered that HLJ852 had a significant impact on body weight, length and Upper jaw length wensize, and HLJ365 had a significant impact on body weight and height. HLJ816 had a significant impact on body weight and body height. HLJ726 had a significant impact body weight. HLJ107 and HLJ1098 had a significant impact on body length. HLJ111 and HLJ817 had a significant impact on body height. HLJE331, HLJ906 and HLJ330 had a significant impact on upper jaw length wensize. In addition, the genotypes of these correlative loci were investigated with the aid of mathematical modeling idea. [Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17 (4): 721–730]

Key words: common carp; microsatellite markers; body weight; body length; body height; upper jaw length wensize; body correlation analysis

Corresponding author: SUN Xiaowen. E-mail: sunxw2002@163.com