

DOI: 10.3724/SP.J/1118.2011.00965

镜鲤微卫星标记与体形性状的关联分析

邢新梅^{1,2}, 张研¹, 徐鹏¹, 周盼^{1,2}, 刘伟^{1,2}, 孙婷^{1,3}, 张保勇^{1,2},
蒋丽¹, 孙效文¹

1. 中国水产科学研究院, 生物技术研究中心, 北京 100141;

2. 大连海洋大学, 生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116023;

3. 上海海洋大学, 水产与生命学院, 上海 201306;

摘要: 应用荧光标记的通用引物法, 利用 100 对微卫星标记对高背镜鲤(*Cyprinus carpio* L.)和低背镜鲤杂交所得 F₁190 个个体的基因组 DNA 进行分型。利用 SPSS 软件对 100 个微卫星标记与鲤的体长、体高、体厚、头长、尾柄长及尾柄高等体形性状进行相关性分析, 结果显示有 22 个微卫星座位与体长、体高、体厚等体形性状显著性相关($P < 0.05$)。其中 *CAFS110*、*CAFS159*、*CAFS624*、*CAFS907*、*CAFS2320*、*CAFS2321*、*HLJE319* 与体长, *CAFS254*、*CAFS1119*、*HLJE310* 与体高, *CAFS159*、*CAFS907*、*CAFS1119*、*CAFS1737*、*CAFS2137*、*CAFS2317* 与体厚, *CAFS100*、*CAFS679*、*CAFS907*、*CAFS1119*、*HLJE319* 与头长, *CAFS165*、*CAFS175*、*CAFS907*、*CAFS1127*、*CAFS1491*、*CAFS2322*、*HLJE284* 与尾柄长, *CAFS907*、*CAFS1119*、*CAFS2137*、*CAFS2317*、*HLJE141* 与尾柄高的相关性达到显著水平($P < 0.05$)。这些标记将有助于镜鲤分子辅助育种的研究。

关键词: 鲤; 微卫星标记; 体长; 体高; 体厚; 头长; 尾柄长; 尾柄高

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2011)05-0965-18

德国镜鲤(*Cyprinus carpio* L.)原产于德国巴伐利亚, 20 世纪 80 年代由黑龙江水产研究所引进并选育出适合中国北方养殖的优良品种—德国镜鲤选育系, 并被全国原种和良种审定委员会认定为良种。由于德国镜鲤具有生长快、易捕捞、肉质好等优点, 目前已成为最受欢迎的养殖品种之一^[1]。

体形与生长密切相关, 合理的体形具有一定的生长优势和较强的摄食能力^[2]。鲤的体形由体长、体高、体厚和头长等因素共同决定。沈俊宝等^[2]认为利用体形指标进行鲤选择育种是行之有效的一种方法。目前, 越来越多的研究通过数量性状定位(QTL)的方法, 筛选出与体形相关的分子标

记, 如小鼠(*Mus musculus*)^[3]、果蝇(*Drosophila melanogaster*)^[4]、鸡(*pullus*)^[5]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[6]、海鲈(*Lates calcarifer*)^[7]、三刺鱼(*Gasterosteus aculeatus*)^[8]和鲤^[9]等。

目前, 微卫星分子标记应用于鲤的分子辅助育种已获得显著的研究成果。黑龙江水产研究所已构建了 2 个鲤微卫星遗传连锁图谱^[9-10], 其中, 第 1 个图谱包含有 110 个微卫星标记。同时该实验室利用线性回归的方法, 鉴定出与体长、体质量、抗寒和饲料转化率等性状显著相关的微卫星分子标记。张义凤等^[11]利用 40 个微卫星标记, 对鲤体质量、体长和体高相关性状进行了分析, 鉴

收稿日期: 2011-01-26; 修订日期: 2011-04-15.

基金项目: 农业部公益性行业(农业)科研专项项目(200903045); 中国水产科学研究院院部中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(2010C016).

作者简介: 邢新梅(1984-), 女, 硕士, 专业方向为水产动物遗传育种. E-mail:xinmeixing@163.com

通信作者: 孙效文(1955-), 研究员, 博士生导师, 研究方向为水产动物基因工程育种. Tel:0451-84862646; E-mail:sunxw2002@163.com

定出 *HLJ695*、*HLJ716*、*HLJ739*、*HLJ759*、*HLJ774*、*K16* 和 *HLJ776* 共 7 个与体质量、体长和体高显著相关的标记。侯宁等^[12]利用 30 个微卫星标记,结合体质量、体长、体高等数量性状,评估了 3 个德国镜鲤群体的遗传潜力,获得 2 个与镜鲤体长相关的微卫星标记(*HLJ319*和*HLJ693*)和 1 个与体高相关的微卫星标记(*HLJ677*)。马磊等^[13]利用 41 个微卫星标记对镜鲤体质量、体高、头长和吻长的相关性进行分析,鉴定出标记 *HLJ354* 与体质量、体高、头长显著相关;标记 *HLJ855* 与体质量、体高和吻长显著相关;标记 *HLJ919*、*HLJ585* 与头长性状显著相关;标记 *HLJ895*、*HLJ704* 与吻长显著相关。

虽然对鲤数量性状方面的研究已经取得了很大的进展,但是已有的分子标记的数量仍然较少,不能满足 QTL 精细定位的要求,并且以往的研究所利用的微卫星标记数量和群体容量均较少。本研究在以往研究的基础上增加了分子标记的数量,扩大了群体容量,并采用荧光标记的通用引物法,利用 100 个微卫星标记扫描高背镜鲤和低背镜鲤杂交所得的 F_1 190 个个体的基因组,采用 ANOVA 和 t 检验法寻找与鲤体形性状显著相关的分子标记,以获得更多的与鲤体形性状相关的标记,为进一步开展 QTL 的精细定位和图位克隆打下基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

将体高性状差异明显的高背镜鲤和低背镜鲤作为父母本,利用其杂交产生的 190 个个体组建 F_1 群体。实验群体饲养于黑龙江水产研究所江北试验站。2010 年 1 月对该群体进行体形性状的测量和 DNA 的提取。

1.2 体形性状的测量

根据伍献文^[14]的测量方法进行体长、体高、体厚、头长、尾柄长、尾柄高等体形性状的测量和计算。 F_1 群体体长性状的测量值为 12.73~19.90 cm, 平均为 (16.100 ± 1.323) cm; 体高性状的测量值为 5.58~8.73 cm, 平均为 (6.833 ± 0.851) cm; 体厚性状的测量值为 2.85~4.49 cm, 平均为 $(3.522 \pm$

0.315) cm; 头长性状的测量值为 3.50~5.45 cm, 平均为 (4.372 ± 0.431) cm; 尾柄长性状的测量值为 1.98~3.63 cm, 平均为 (2.801 ± 0.300) cm; 尾柄高性状的测量值为 1.74~3.24 cm, 平均为 (2.485 ± 0.250) cm。

1.3 DNA 的提取

参照《分子克隆实验指南》^[15]应用常规的酚-氯仿法从鲤的鳍条中提取基因组 DNA。用 Nanovue 型分光光度计检测 DNA 样本的质量和浓度,同时用 1% 琼脂糖电泳检测 DNA 质量。结果显示,各样本基因组 DNA 质量良好,可用于后续的实验。

1.4 巢式 PCR

本实验采用荧光标记的 M13 通用引物法检测微卫星的基因型,该方法最早由 Steffens 等^[16]提出。Schuelke^[17]进一步提出了优化方案,并将其称为“巢式 PCR”,即在一个特定的 PCR 反应中含有 3 条引物,在 5' 末端添加 M13 通用引物的正向嵌合引物、反向引物和 5' 末端添加荧光标记的 M13 通用引物。

1.5 引物设计

引物的设计包括通用引物和特异性引物两部分。本研究采用的通用引物序列为 5'-CACGAC GTTGTAACGAC-3'。将通用引物序列分别标记 PET(红色)、VIC(绿色)、NED(黄色)和 6FAM(蓝色)四色荧光,内标为 LIZ(橙色)荧光,荧光引物由美国应用生物系统公司(ABI)合成。

特异性引物部分来源于黑龙江鲤微卫星引物库中的已有引物,其余为本实验室从 BAC 双末端序列中发掘的微卫星序列^[18],应用在线软件 (<http://www.genomics.ceh.ac.uk/cgi-bin/msatfinder/msatfinder.cgi>) 发掘 BAC 序列中的微卫星序列,应用 Primer Premier 5.0 软件^[19]设计引物。在特异性引物的正向引物的 5' 端添加通用引物序列 5'-CAC GACGTTGTAACGAC-3'。本实验所用的特异性引物均为上海生工生物工程技术服务有限公司合成。引物序列见附录 1。

1.6 PCR

每个特定 PCR 反应采用 15 μ L 的扩增反应体

系, 反应液含有 25~100 ng 的基因组 DNA 模板, 10×PCR Buffer(10 mmol/L Tris pH 8.5、50 mmol/L KCl、1.5 mmol/L MgCl₂ 和 0.1% Triton X-100), 200 nmol/L dNTP(Fermentas Life Sciences), 0.15 pmol 的正向嵌合引物, 6 pmol 的反向引物, 6 pmol 的荧光标记的通用引物及 0.5 U 的 *TaqE*(Fermentas Life Sciences)。PCR 循环反应在 GebeAmp PCR System 9700(ABI)热循环仪上进行, PCR 反应程序: 95℃预变性 5 min; 95℃变性 45 s, 56℃退火 45 s, 72℃ 45 s, 30 个循环; 95℃变性 45 s, 53℃退火 45 s, 72℃ 45 s, 8 个循环; 72℃终延伸 10 min, 4℃保存。

1.7 毛细管电泳样本制备和检测

各取 0.7 μL 的四色荧光 PCR 产物(共 2.8 μL), 5.9 μL 的 Hi-DiTM 甲酰胺和 0.1 μL LIZ-500, 制备成电泳混合样。将混合样置于 PCR 仪上于 95℃变性 5 min, 立即放在冰上冷却 5 min。所有样本于 3130XL 遗传分析仪(ABI)上进行毛细管电泳, 电泳结束后利用 GeneScan 和 GeneMapper 4.0 软件进行图像收集 and 数据分析。

1.8 微卫星位点遗传背景的分析

采用 F₁ 家系, 主要有 7 种分离模式分别为 aa×ab(1:1), ab×aa(1:1), aa×bc(1:1), ab×cc(1:1), ab×ac(1:1:1:1), ab×cd(1:1:1:1) 和 ab×ab(1:2:1)。利用卡方检验, 对每个位点基因型频率进行检验。

1.9 微卫星位点与各表型性状间的单标记回归分析

应用 SPSS13.0 软件包中广义线性模型(GLM)对镜鲤 100 个微卫星座位与鲤的体长、体高、体厚、头长、尾柄长和尾柄高等性状进行单标记回归分析, 用以检验标记与性状直接的关联程度。

对于检测到的与性状显著相关的微卫星位点, 还需对基因型之间的差异显著性进行进一步分析, 如果该位点只含有 2 个基因型, 采用 *t* 检验(without continuity correction); 如果该位点含有 3 个以上基因型, 则用 ANOVA 分析方法。

2 结果与分析

2.1 微卫星分型结果

利用筛选出的 100 对微卫星引物对 190 个个

体的基因组 DNA 进行 PCR 扩增和毛细管电泳, 各位点均获得稳定、清晰的 DNA 扩增条带, 并在个体间表现出不同程度的多态性。部分位点的 DNA 扩增结果如图 1 所示。

2.2 微卫星基因型的卡方检验

利用卡方检验对微卫星基因型的频率进行检验, 发现在 100 个微卫星位点上共有 98 个位点处于平衡状态($P>0.05$), 其余 2 个位点发生了不同程度的偏离($P<0.01$)。P 值数据见附录 1。

2.3 微卫星座位与体形性状间的相关性分析结果

利用 100 个微卫星标记分别对体长、体高、体厚、头长、尾柄长、尾柄高性状进行单标记回归分析。结果显示有 22 个标记与体长、体高、体厚等体形性状显著性相关(表 1)。标记 CAFS110、CAFS159、CAFS624、CAFS907、CAFS2320、CAFS2321、HLJE339 与体长性状显著相关($P<0.05$), 其中 CAFS907 达到极显著水平($P<0.001$); CAFS254、CAFS1119、HLJE310 与体高性状显著相关($P<0.05$); CAFS159、CAFS907、CAFS1119、CAFS1737、CAFS2137、CAFS2317 与体厚性状显著相关($P<0.05$), 其中 CAFS907、CAFS1119 达到极显著水平($P<0.001$); CAFS100、CAFS679、CAFS907、CAFS1119、HLJE339 与头长性状显著相关($P<0.05$), 其中 CAFS907 达到极显著水平($P<0.001$); CAFS165、CAFS175、CAFS907、CAFS1127、CAFS1491、CAFS2322、HLJE284 与尾柄长性状显著相关($P<0.05$), 其中 CAFS1127 达到极显著水平($P<0.001$); CAFS907、CAFS1119、CAFS2137、CAFS2317、HLJE141 与尾柄高性状显著相关($P<0.05$)。

2.4 体形性状与单标记基因型间的相关分析结果

表 2 显示基因型与各体形性状间显著性差异的检测结果。在与鲤体长性状显著相关的 7 个标记中, 标记 CAFS624 中基因型为 AA[(16.479±1.677) cm]、CAFS907 中基因型为 AB[(16.418±1.227) cm]、CAFS2320 中基因型为 AB[(16.376±1.243) cm]、CAFS2321 中基因型为 AA[(16.491±1.351) cm]的个体体长显著高于平均值(16.100±

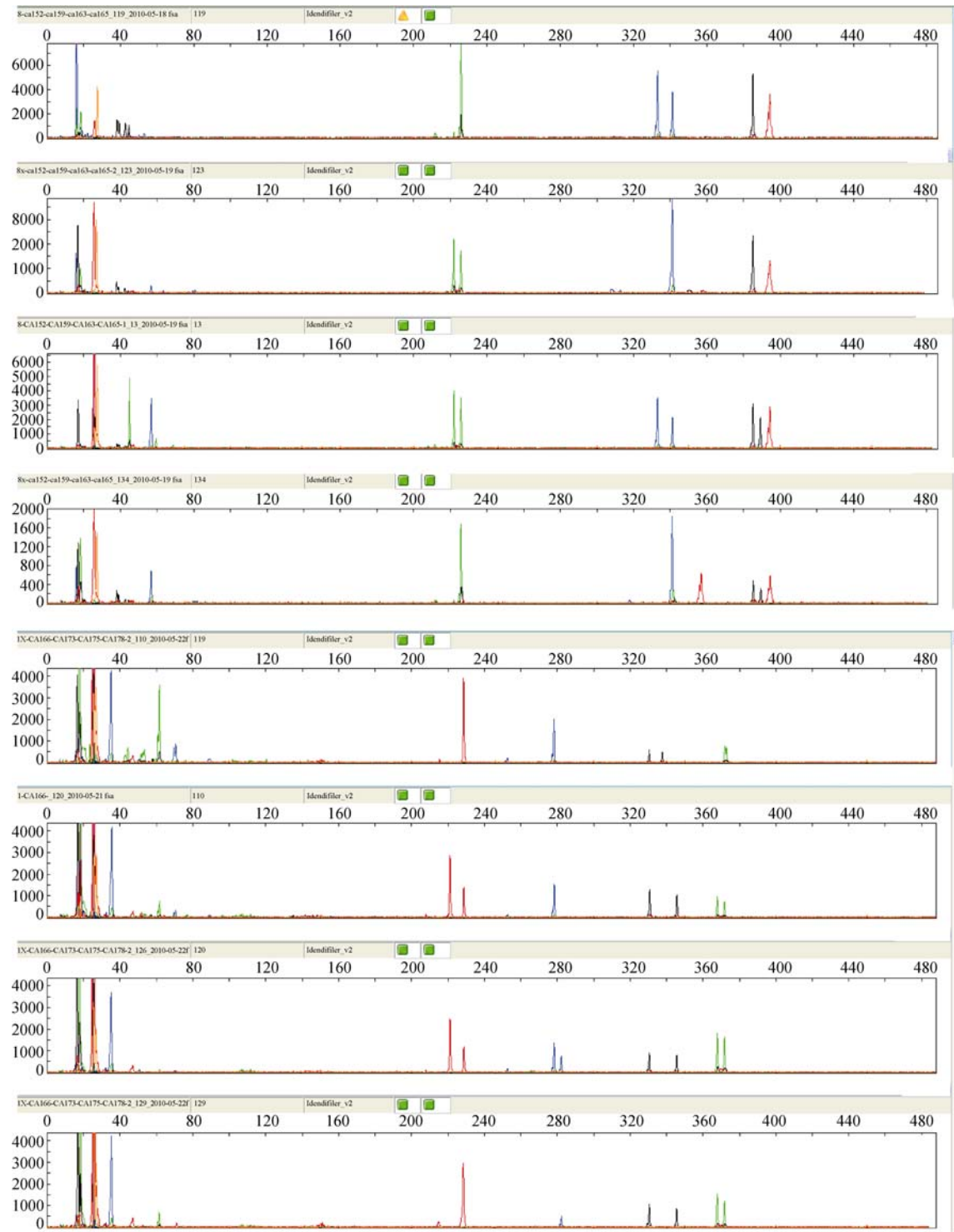


图 1 部分微卫星位点扩增结果

a、b、c、d 中 4 个引物分别为:绿色-CAFS152, 蓝色-CAFS159, 黄色-CAFS163, 红色-CAFS165; e、f、g、h 中 4 个引物分别为: 红色-CAFS166, 蓝色-CAFS175, 黄色-CAFS173, 绿色-CAFS178。图中横坐标表示 PCR 扩增的片段长度大小, 纵坐标表示扩增产物的峰值高度。

Fig. 1 Amplification results of partial microsatellite loci

Primers of figure a, b, c, d are VIC-CAFS152, 6FAM-CAFS159, NED-CAFS163, PET-CAFS165, respectively. Primers of e, f, g, h are PET-CAFS166, 6FAM-CAFS174, NED-CAFS173, VIC-CAFS178, respectively. The X-axis indicates the size of PCR amplification fragments, and Y-axis represents the peak value of PCR amplification fragments.

表 1 与鲤体形性状相关的 22 对微卫星引物
Tab.1 Twenty-two pairs of microsatellite primers associated with body-shape traits of common carp

引物名称 primer	引物序列(5'-3') primer sequence(5'-3')	大小/bp size	重复序列 repeat sequence
CAFS100F	CACGACGTTGTAAAACGACACTATTGGCCTTGTCTTTGAGG	200	(AAAT) ₅
CAFS100R	CTTGACCTGCACAGTCTCATC		
CAFS101F	CACGACGTTGTAAAACGACCCAAATTATGAGGTAAAAGACC	200	(AAAT) ₅
CAFS101R	AACAAGCATGTAGGCACTA		
CAFS159F	CACGACGTTGTAAAACGACTCTGTACATCATTTCATGCAG	321	(AAAT) ₅
CAFS159R	GGATTCATTGCTATAGCATTGCT		
CAFS165F	CACGACGTTGTAAAACGACTTTGTCTGCTCAATGGGACG	378	(AAAT) ₆
CAFS165R	CTGCAAGGAATCGCAAGAA		
CAFS175F	CACGACGTTGTAAAACGACGCCTCAGCCATATTCAT	209	(AAAT) ₅
CAFS175R	GAGCACCATTATACTGCA		
CAFS254F	CACGACGTTGTAAAACGACTCATGTGAGACATTTAATGCT	160	(AAG) ₆
CAFS254R	GAATCAGAGCAACACCTTTTC		
CAFS624F	CACGACGTTGTAAAACGACATCCTGCGATTACTGTTAGACA	360	(ATTT) ₆
CAFS624R	GTGTAAGAGCAGTTATGATTCTG		
CAFS679F	CACGACGTTGTAAAACGACCAAATATGGATATGGGCGACATCG	164	(AG) ₃₀
CAFS679R	GCAGACTTAAACTATCCGGTTTGG		
CAFS907F	CACGACGTTGTAAAACGACACTGTGATTTGCCTTCCA	253	(AAAT) ₅
CAFS907R	GTAGGTGATCCTTCAGT		
CAFS1119F	CACGACGTTGTAAAACGACTTCCCAGTGTGAGATCACAG	236	(TG) ₁₁
CAFS1119R	CTCTCACCATTTCAGACC		
CAFS1127F	CACGACGTTGTAAAACGACACAAGTACTGGAAGGTGCC	338	(TG) ₆ (TA) ₅
CAFS1127R	TCCAGTCCAGATCCAGTTTCTAC		
CAFS1491F	CACGACGTTGTAAAACGACGCCAGTGGTTATACAGTATGT	375	(GTT) ₅
CAFS1491R	AAGGTTACAAGCCTACACACT		
CAFS1737F	CACGACGTTGTAAAACGACCTGCCACAATCTCCCTGAC	284	(TC) ₁₄
CAFS1737R	TCCACGCTTGTCACCTTCC		
CAFS2137F	CACGACGTTGTAAAACGACCTATCGCCCTACACCAACAC	319	(CA) ₁₀
CAFS2137R	GGCTATGCTCCGCTAACCAG		
CAFS2317F	CACGACGTTGTAAAACGACCTACCAGCAGGCACCTTACG	300	(AC) ₉
CAFS2317R	TGAGGACTGAGTCCAGATGC		
CAFS2320F	CACGACGTTGTAAAACGACACTCCCGCTGCCCAAACACG	376	(AG) ₈
CAFS2320R	GCCGAAATGAAGACTCGAACAC		
CAFS2321F	CACGACGTTGTAAAACGACTGTTCATTACTGCCACAAGGTG	391	(TG) ₁₁
CAFS2321R	ACCAGCAGACCAGCTTCAGC		
CAFS2322F	CACGACGTTGTAAAACGACTGTCTCTAGAGCTGTGTC	187	(AC) ₉
CAFS2322R	ACTCCATTGAGGCCCACTGG		
HLJE141F	CACGACGTTGTAAAACGACTCACCAGTGTCCACTCAGAACT	168	(GT) ₈
HLJE141R	AACAAGAGCCCTACATCAGCA		
HLJE284F	CACGACGTTGTAAAACGACTTGTACGTGTTGCAGGAAGC	210	(GT) ₉
HLJE284R	ATTGGTGCAGAGCATCAGTG		
HLJE310F	CACGACGTTGTAAAACGACGGGGATATCAGACCTGGACA	197	(AC) ₉
HLJE310R	CGGCGACTTGATCCTCTTTA		
HLJE339F	CACGACGTTGTAAAACGACGGGTGACAACATCTGGCTCT	135	(TG) ₈
HLJE339R	CTACAGCCAGGAAGGAGCTG		

注: 正向引物 5'端已添加 M13 通用引物序列 5'-CACGACGTTGTAAAACGAC-3'.

Note: The M13 universal primer 5'-CACGACGTTGTAAAACGAC-3' was added to the 5' end of forward primers.

1.323) cm ($P<0.05$), 其中 CAFS624 中 AA 基因型 [(16.479±1.677) cm] 和 CAFS2321 中 AA 基因型 [(16.491±1.351) cm] 的体长极显著高于平均值 (16.100±1.323) cm ($P<0.01$)。以上结果说明这几种基因型与鲤体长性状呈正相关。而标记 CAFS110 中基因型为 AB [(15.841±1.194) cm]、CAFS159 中基因型为 BB [(15.624±1.165) cm]、CAFS907 中基因型为 AA [(15.842±1.347) cm] 以及 HLJE339 中基因型为 BB [(15.618±1.232) cm] 的个体体长显著低于平均值 (16.100±1.323) cm ($P<0.05$), 其中 CAFS159 中 BB [(15.624±1.165) cm] 基因型和 HLJE339 中 BB [(15.618±1.232) cm] 基因型的体长极显著低于平均值 (16.100±1.323) cm ($P<0.01$)。说明这几种基因型与鲤体长性状呈负相关。其他基因型个体在体长性状方面差异不显著 ($P>0.01$)。

在与鲤体高性状显著相关的 3 个标记中, 标记 CAFS254 中基因型为 AB [(6.966±0.640) cm], CAFS1119 中基因型为 AA [(6.999±0.669) cm] 以及 HLJE310 中基因型为 AB [(6.975±0.631) cm] 的个体的体高显著高于平均值 (6.833±0.851) cm ($P<0.05$), 其中 CAFS1119 中 AA [(6.999±0.669) cm] 基因型的体高极显著高于平均值 (6.833±0.851) cm ($P<0.01$)。说明这 3 种基因型与鲤体高性状呈正相关。而标记 CAFS254 中基因型为 BB [(6.629±1.268) cm] 的个体体高显著低于平均值 (6.833±0.851) cm ($P<0.05$), 说明此基因型与鲤体高性状呈负相关。其他基因型个体在体高性状方面差异不显著。

在与鲤体厚性状显著相关的 6 个标记中, 标记 CAFS907 中基因型为 AB [(3.602±0.318) cm] 的个体的体厚极显著高于平均值 (3.522±0.315) cm ($P<0.01$)。说明这种基因型与鲤体厚性状呈正相关。而标记 CAFS159 中基因型为 BB [(3.439±0.289) cm]、CAFS907 中基因型为 AA [(3.456±0.301) cm]、CAFS2137 中基因型为 AC [(3.403±0.317) cm] 以及 CAFS2317 中基因型为 AC [(3.339±0.315) cm] 的个体体厚显著低于平均值 (3.522±0.315) cm ($P<0.05$), 其中 CAFS2137 中 AC [(3.403±0.317) cm] 基因型以

及 CAFS2317 中 AC [(3.339±0.315) cm] 基因型的个体体厚极显著低于平均值 (3.522±0.315) cm ($P<0.01$)。说明这 4 种基因型与鲤体厚性状呈负相关。其他基因型个体在体厚性状方面差异不显著。

在与鲤头长性状显著相关的 5 个标记中, 标记 CAFS907 中基因型为 AB [(4.478±0.423) cm] 以及 HLJE339 中基因型为 AB [(4.461±0.419) cm] 的个体的头长极显著高于平均值 (4.372±0.431) cm ($P<0.01$)。说明这 2 种基因型与鲤头长性状呈正相关。而标记 CAFS679 中基因型为 BB [(4.248±0.401) cm]、CAFS907 中基因型为 AA [(4.284±0.416) cm]、HLJE339 中基因型为 BB [(4.238±0.411) cm] 的个体的头长显著低于平均值 (4.372±0.431) cm ($P<0.05$), 其中 CAFS679 中 BB 基因型 [(4.248±0.401) cm] 和 HLJE339 中 BB 基因型 [(4.238±0.411) cm] 个体的头长极显著低于平均值 (4.372±0.431) cm ($P<0.01$)。说明这 3 种基因型与鲤的头长性状呈负相关。其他基因型个体在头长性状方面差异不显著。

在与鲤尾柄长性状显著相关的 7 个标记中, 标记 CAFS165 中基因型为 AB [(2.919±0.264) cm]、CAFS907 中基因型为 AB [(2.863±0.265) cm]、CAFS1127 中基因型为 AB [(2.860±0.305) cm]、HLJE284 中基因型为 AB [(2.868±0.274) cm] 的个体的尾柄长显著高于平均值 (2.801±0.300) cm ($P<0.05$), 其中 CAFS165 中 AB 基因型 [(2.919±0.264) cm] 个体的尾柄长极显著高于平均值 (2.801±0.300) cm ($P<0.01$)。说明这 4 种基因型与鲤尾柄长性状呈正相关。而标记 HLJE284 中基因型为 AC [(2.732±0.297) cm] 和 CC [(2.718±0.303) cm] 的个体尾柄长显著低于平均值 (2.801±0.300) cm ($P<0.05$)。说明这 2 种基因型与鲤尾柄长性状呈负相关。其他基因型个体在尾柄长性状方面差异不显著。

在与鲤尾柄高性状显著相关的 5 个标记中, 标记 CAFS907 中基因型为 AB [(2.538±0.262) cm]、HLJE141 中基因型为 BC [(2.565±0.242) cm] 的个体的尾柄高显著高于平均值 (2.485±0.250) cm ($P<0.05$)。说明这 2 种基因型与鲤尾柄高性状呈正相

关。而标记 CAFS2137 中基因型为 AC $[(2.399\pm 0.229)\text{ cm}]$ 和 CAFS2317 中基因型为 AC $[(2.389\pm 0.227)\text{ cm}]$ 的个体尾柄高显著低于平均值 $(2.485\pm 0.250)\text{ cm}$ ($P<0.05$)。说明这 2 种基因型与鲤尾柄高性状呈负相关。其他基因型个体在尾柄高性状方面差异不显著。

2.5 与体形性状相关标记之间的重组率分析结果

体形性状为数量性状, 单个位点的检出效率相对于区间的检出效率较弱, 且不能找到与体形性状紧密相关的基因。因此笔者应用 MapQTL5.0 软件, 采用最大似然比法, 对与性状相关的 22 个标记进行了重组率的分析, 以期进一步寻找到与性状显著相关的 QTL 以及 QTL 区域内所包含的基因。在 22 个与性状相关的标记中, 仅有 CAFS2137 和 CAFS110 2 个标记的重组率为 $0.35(<0.5)$, 说明这 2 个标记具有连锁关系(表 3)。对这 2 个标记进行区间分析, CAFS110、CAFS2137 分别对体长和体厚性状的贡献率高达 13.00%和 15.26%, 说明这 2 个标记可能与控制鲤生长性状的主效基因相连锁(表 4)。同时, 将剩余的 78 个微卫星标记与 CAFS2137 和 CAFS110 进行重组率的分析, 结果发现 CAFS670, CAFS110, KOI107, CAFS786 和 CAFS2137 也具有连锁关系(图 2)。应用 MapQTL5.0 软件的复合区间作图法对该 5 个标记进行区间分析, 相关参数见图 3。

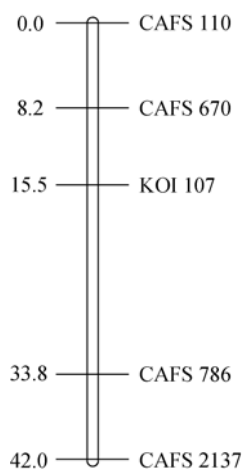


图 2 根据重组率构建的连锁群
Fig.2 Linkage map based on combination frequency

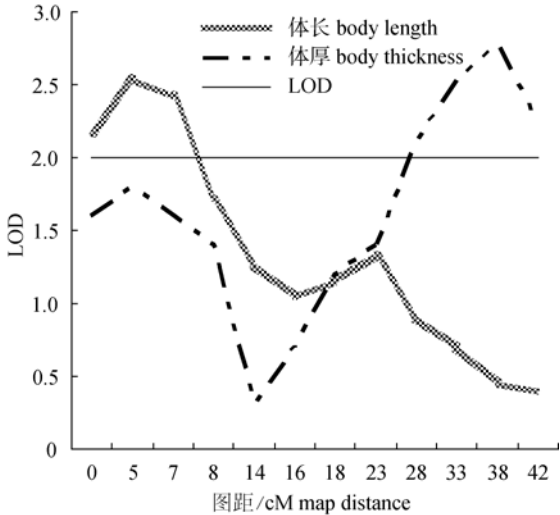


图 3 鲤体长和体厚性状在连锁群上的 LOD 值分布
Fig.3 Distribution of LOD value in linkage map of body length, thickness traits of common carp

3 讨论

3.1 应用荧光标记的 M13 通用引物法的优点

本研究采用荧光标记的 M13 通用引物法进行微卫星基因型分析, 与传统的 PAGE 法相比具有以下优点: (1)精确计算微卫星等位基因片段的大小, 实现了大样本、多批次样本数据采集与分析的统一, 其基因型分形准确, 数据格式一致, 避免了数据整合存在的障碍; (2)检测结果更为精确、灵敏、高效; (3)效率更高, 分析通量更大; (4)由于毛细管电泳荧光检测系统自动化程度高, 避免了操作中的人为误差, 从而增强了实验结果的稳定性和可重复性, 并且毛细管电泳荧光检测系统可校正各毛细管间差异, 更大程度上减少了实验的系统误差。基于荧光标记的通用引法所具有的多种优点, 此法已广泛应用于水产动物遗传连锁图谱的构建, 如 Liu 等^[20]构建的沟鲈(*Ictalurus punctatus*)遗传连锁图谱, 将 129 个来源于 BAC 序列的微卫星定位到 24 个连锁群上; Wang 等^[21]构建的海鲈的遗传连锁图谱, 将 240 个微卫星标记定位到 24 个连锁群上; Lee 等^[22]利用 525 个微卫星标记构建的罗非鱼(*Oreochromis* spp.)遗传连锁图谱, 共有 24 个连锁群, 总图距为 1 131 cM; Coimbra 等^[23]构建了第 1 个牙鲆(*Paralichthys olivaceu*)遗传连锁图谱, 其中包括 111 个微卫星

表 2 22 个微卫星标记不同基因型体形性状平均值及总体差异显著性比较
 Tab.2 Means comparisons of body-shape traits with different genotypes for 22 microsatellite markers

座位 locus	基因型/bp genotype	个体数 no.	体长/cm body length	体高/cm body height	体厚/cm body thickness	头长/cm head length	尾柄长/cm caudal peduncle length	尾柄高/cm caudal peduncle height
CAFS100	AA	91				4.444±0.435		
	AB	90				4.317±0.428		
CAFS110	AA	73	16.213±1.413					
	AB	73	15.841±1.194 ^a					
CAFS159	AA	89	16.209±1.387		3.526±0.281			
	AB	54	16.336±1.283		3.580±0.376			
	BB	44	15.624±1.165 ^b		3.439±0.289 ^a			
CAFS165	AB	37					2.919±0.264 ^b	
	AC	61					2.751±0.306	
	BC	46					2.777±0.322	
	CC	40					2.792±0.281	
CAFS175	AB	89					2.855±0.305	
	BB	91					2.752±0.278	
CAFS254	AA	41		6.792±0.615				
	AB	91		6.966±0.640 ^a				
	BB	49		6.629±1.268 ^a				
CAFS624	AA	44	16.479±1.677 ^b					
	AB	51	16.147±1.254					
	AC	33	15.896±1.405					
	BC	60	15.854±1.378					
CAFS679	AA	53				4.296±0.417		
	AB	79				4.454±0.420		
	BB	37				4.248±0.401 ^b		
CAFS907	AA	102	15.842±1.347 ^a		3.456±0.301 ^a	4.284±0.416 ^a	2.750±0.323	2.441±0.234
	AB	83	16.418±1.227 ^a		3.602±0.318 ^b	4.478±0.423 ^b	2.863±0.265 ^a	2.538±0.262 ^a
CAFS1119	AA	96		6.999±0.669 ^b	3.582±0.320	4.438±0.454		2.521±0.271
	AB	91		6.667±0.991	3.463±0.295	4.314±0.399		2.447±0.224
CAFS1127	AA	90					2.744±0.290	
	AB	95					2.860±0.305 ^a	
CAFS1491	AA	89					2.759±0.313	
	AB	94					2.849±0.290	
CAFS1737	AA	90			3.473±0.301			
	AB	95			3.579±0.321			
CAFS2137	AB	39			3.564±0.325			2.535±0.248
	AC	39			3.403±0.317 ^b			2.399±0.229 ^a
	BC	44			3.568±0.314			2.528±0.209
	CC	59			3.526±0.285			2.471±0.265
CAFS2317	AA	59			3.526±0.258			2.469±0.264
	AB	44			3.569±0.314			2.528±0.209
	AC	39			3.339±0.315 ^b			2.389±0.227 ^a
	BC	39			3.554±0.305			2.525±0.248
CAFS2320	AA	32	16.345±1.413					

续表 2

Tab.2 continued

座位 locus	基因型/bp genotype	个体数 no.	体长/cm body length	体高/cm body height	体厚/cm body thickness	头长/cm head length	尾柄长/cm caudal peduncle length	尾柄高/cm caudal peduncle height
CAFS2321	AB	57	16.376±1.243 ^a					
	AC	44	15.976±1.151					
	BC	57	15.782±1.420 ^a					
	AA	42	16.491±1.351 ^b					
	AB	57	16.080±1.113					
CAFS2322	BB	83	15.938±1.445					
	AA	92					2.853±0.304	
HLJE141	AB	97					2.754±0.292	
	AA	45						2.434±0.238
	AB	46						2.454±0.259
	AC	53						2.515±0.252
HLJE284	BC	39						2.565±0.242 ^a
	AB	55					2.868±0.274 ^a	
	AC	41					2.732±0.297 ^a	
	BC	49					2.854±0.311	
HLJE310	CC	40					2.718±0.303 ^a	
	AB	97		6.975±0.631 ^a				
HLJE339	BB	86		6.671±1.043				
	AB	54	16.205±1.456			4.461±0.419 ^b		
	AC	57	16.277±1.203			4.386±0.431		
	BB	44	15.618±1.232 ^b			4.238±0.411 ^b		
	BC	26	16.194±1.368			4.324±0.477		
总体平均值 mean of the collectivity			16.100±1.323	6.833±0.851	3.522±0.315	4.372±0.431	2.801±0.300	2.485±0.250

注：“a”代表该基因型个体体形性状平均值与总体平均值差异显著($P<0.05$)；“b”代表该基因型个体体形性状平均值与总体平均值差异极显著($P<0.01$)。

Note：“a” indicates body traits of the genotype differ significantly from the collectivity($P<0.05$)；“b” indicates body traits of the genotype differ extremely significant from the collectivity($P<0.01$)。

标记；Zhang 等^[24]构建的南美白对虾(*Litopenaeus vannamei*)的遗传连锁图谱，其中包括 30 个微卫星标记。

通过应用荧光标记的 M13 通用引物法，可以识别多态性片段差异达到 2 个碱基的差别，增加了本实验的精确度，同时避免了因实验因素导致聚丙烯凝胶电泳条带模糊而造成的实验误差。由于数据采集格式的统一保证了微卫星分型结果数据的一致性，使实验结果可以在各个实验室间共享。

3.2 从 BAC 克隆中挖掘微卫星的意义

本实验所用的大部分微卫星位点是从 BAC 克隆中挖掘的微卫星序列。从 BAC 克隆中开发的微卫星称为基因组 SSR，具有更高的多态性而且

在区分关系相近的基因型时更为有效^[25]。由于来源于 BAC 的每条微卫星序列就代表 1 个 BAC 克隆，而物理图谱通常是由 BAC 克隆的重叠群组成，这样就可以通过将来源于 BAC 末端的微卫星标记进行遗传作图，从而实现物理图谱与遗传连锁图谱的整合^[19]，为基因组的进一步分析以及图位克隆奠定研究基础。

应用来源于 BAC 克隆的微卫星标记与性状进行关联分析，一旦这些标记与某些重要的经济性状 QTL 位点相关联，也就是说该 QTL 位点可能包含在对应的 BAC 中或与其紧密联系，便可根据包含该位点的 BAC 克隆提供的信息获得该 QTL 位点的序列信息。

表 3 22 个位点之间的重组率分析结果
Tab.3 Results of combination frequency analysis of 22 microsatellite loci

位点 locus	E339	E310	E284	E141	C907	C679	C624	C254	C2322	C2321	C2320	C2317	C2137	C175	C1737	C165	C159	C1491	C1127	C1119	C110	C100
E339																						
E310	0.93																					
E284	0.87	0.96																				
E141	0.94	0.89	0.94																			
C907	0.83	0.83	0.88	0.95																		
C679	0.88	0.87	0.97	0.88	0.77																	
C624	0.92	0.95	0.83	0.79	0.69	0.78																
C254	0.88	0.94	0.87	0.88	0.87	0.83	0.79															
C2322	0.95	0.83	0.83	0.96	0.85	0.85	0.68	0.88														
C2321	0.86	0.79	0.94	0.83	0.79	0.95	0.92	0.91	0.82													
C2320	0.88	0.95	0.89	0.88	0.88	0.94	0.87	0.88	0.87	0.95												
C2317	0.95	0.92	0.93	0.95	0.95	0.83	0.83	0.96	0.79	0.86	0.95											
C2137	0.87	0.91	0.86	0.87	0.86	0.79	0.87	0.83	0.95	0.83	0.83	0.96										
C175	0.94	0.82	0.95	0.94	0.88	0.95	0.89	0.88	0.86	0.79	0.87	0.83	0.78									
C1737	0.82	0.86	0.95	0.82	0.69	0.92	0.78	0.95	0.88	0.95	0.89	0.88	0.84	0.76								
C165	0.89	0.88	0.93	0.74	0.87	0.91	0.86	0.87	0.69	0.92	0.78	0.95	0.97	0.75	0.87							
C159	0.93	0.82	0.88	0.83	0.94	0.74	0.95	0.94	0.87	0.91	0.86	0.87	0.79	0.87	0.83	0.95						
C1491	0.86	0.88	0.92	0.94	0.82	0.86	0.95	0.82	0.94	0.74	0.95	0.94	0.95	0.89	0.88	0.86	0.93					
C1127	0.95	0.97	0.88	0.76	0.89	0.88	0.93	0.74	0.82	0.86	0.95	0.82	0.92	0.78	0.95	0.88	0.76	0.87				
C1119	0.95	0.81	0.95	0.93	0.94	0.87	0.88	0.87	0.83	0.88	0.93	0.74	0.91	0.86	0.87	0.69	0.88	0.94	0.93			
C110	0.93	0.84	0.93	0.86	0.83	0.83	0.96	0.85	0.85	0.78	0.76	0.97	0.35	0.86	0.87	0.69	0.92	0.78	0.95	0.88		
C100	0.81	0.88	0.88	0.79	0.87	0.91	0.86	0.87	0.86	0.79	0.87	0.83	0.95	0.83	0.83	0.93	0.79	0.65	0.85	0.87	0.95	

表 4 与体长和体厚性状相关的 QTLs 相关参数
Tab. 4 Parameters of QTLs associated with traits of body length and body thickness

性状 traits	数量性状基因座位 quantitative trait loci(QTL)	最大 LOD 值 max LOD value	加性效应 additive effect	可解释的表型变异/% explanation of variation
体长 body length	qSL	2.53	3.23	13.00
体厚 body thickness	qBH	2.48	2.79	15.26

3.3 标记间连锁关系分析和标记-性状的连锁分析

在关联分析研究中，发现了一因多效或多因一效的现象，即一个标记同几个性状相关联或者几个标记同个性状相关联。标记 CAFS159 分别与体长和体厚性状相关，标记 CAFS907 分别与体长、体厚、头长、尾柄长和尾柄高性状相关；标记 CAFS1119 分别与体高、体厚、头长、尾柄长和尾柄高性状相关；标记 CAFS2137、CAFS2317 分别与体厚和尾柄高性状显著相关。以上分析结果均符合经典的数量遗传学所认为的数量性状之间存在明显的相关性的结论。

标记-性状的连锁分析是基于对具有不同基因型的性状之间的差异性分析，差异显著说明标记与数量性状间存在关联，可直接用于分子辅助育种中。目前，一般采用 ANOVA, Two-Tailed *t* 检验法进行差异显著性检验，如 Wang 等^[7]对海鲈 32 个与生长性状相关联的位点进行了显著性检验分析，发现在这 32 个位点上，具有不同基因型的性状间差异显著，其中在 5 个位点差异极显著，该 5 个位点可直接用于海鲈的分子辅助育种分析；Colosimo 等^[26]对三刺鱼 20 个位点与骨板数目性状进行关联分析，发现在 8 个位点，不同基因型的骨板性状间差异显著，其中 4 个位点差异极显著，该 4 个位点可直接作为判断三刺鱼骨板数目的分子标记。本研究检测到 22 个标记与体形性状差异显著，其中 5 个位点与性状间差异极显著，这 5 个标记可直接用于鲤分子辅助育种的研究。

3.4 不同遗传背景对 QTL 分析结果的影响

不同遗传背景对标记-性状关联分析和 QTL 分析结果影响较大。本研究以镜鲤为父母本构建了 F₁ 群体，发现 HLJE339 与体长和头长性状显著相关。顾颖等^[27]以“拟测交”策略，以柏氏鲤(*Cyprinus carpio pellegrini*)和荷包红鲤(*C. carpio*

wuyuanensis)抗寒品系(父本)杂交产生的 F₁ 中遗传差距较大的雌雄个体作为父母本，对 F₂ 中的 92 个个体进行标记与性状间的连锁分析，发现 HLJE339 与体厚性状显著相关。由此推测群体遗传背景的不同，导致了 HLJE339 与不同性状显著相关。同样的结果在张义凤等^[11]对 F₂ 群体和侯宁等^[12]对 3 个镜鲤群体的研究中也得到验证。张义凤等^[11]利用微卫星标记对柏氏鲤和荷包红鲤抗寒品系自交 F₂ 的检测中发现，HLJ695 与体质量、体长、体高显著相关，而侯宁等^[12]对 3 个德国镜鲤的检测中则发现 HLJ695 与性状不相关。不同遗传背景导致的关联分析结果的不同，不仅发生在水生动物中，在植物中也存在。陈翠霞等^[28]对南方玉米锈病抗病基因的定位及不同遗传背景对基因标记的比较分析中发现，不同组合分离群体的标记结果差异显著。廖春燕等^[29]对不同遗传背景及环境中水稻(*Oryza sativa* L.)穗长的 QTLs 和上位性分析中发现，在不同遗传群体中检测到的穗长 QTLs 结果差异较大，而且易受环境影响。由此可以看出，在进行 QTL 检测时，应用多种遗传背景的杂交群体以及多环境下不同群体的性状鉴定试验开展 QTLs 定位，分析各 QTL 在不同遗传背景以及环境下不同群体中的效应，及其基因型、环境、群体的互作关系，将有助于提高数量性状 QTL 检测结果的准确性。选择不同遗传背景的群体在相同环境或不同环境下进行验证，如果某一分子标记均得到验证，则该标记可以应用于鲤的分子辅助育种生产实践中。

参考文献：

[1] 赵海燕, 李池陶, 石连玉, 等. 德国镜鲤选育系 F4 天津群体中不同体形的遗传结构分析[J]. 水产学杂志, 2009, 22 (1): 19–23.
[2] 沈俊宝, 严云勤. 柏氏鲤、镜鲤和红鲤及其杂种 F₁ 主要形

- 态学性状遗传的比较研究[J]. 遗传学报, 1997, 14 (1): 49-55.
- [3] Kenney-Hunt J P, Vaughn T T, Pletscher L S, et al. Quantitative trait loci for body size components in mice [J]. Mamm Genome, 2006, 17(6): 526-537.
- [4] Gockel J, Robinson S J, Kennington W J, et al. Quantitative genetic analysis of natural variation in body size in *Drosophila melanogaster* [J]. Heredity, 2002, 89 (2): 145-153.
- [5] Prashar A, Hocking P M, Erichsen J T, et al. Common determinants of body size and eye size in chickens from an advanced intercross line [J]. Exp Eye Res, 2009, 89(1): 42-48.
- [6] Reid D P, Szanto A, Glebe B, et al. QTL for body weight and condition factor in Atlantic salmon (*Salmo salar*): comparative analysis with rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) [J]. Heredity, 2004, 94(2): 166-172.
- [7] Wang C M, Lo L C, Zhu Z Y, et al. A genome scan for quantitative trait loci affecting growth-related traits in an F1 family of Asian seabass (*Lates calcarifer*) [J]. BMC Genom, 2006, 7(1): 274
- [8] Fehr L. QTL Mapping in an Outcross in Sticklebacks[D]. 2008.
- [9] 张研, 梁立群, 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.
- [10] Sun X W, Liang L Q. A genetic linkage map of common carp (*Cyprinus carpio* L.) and mapping of a locus associated with cold tolerance [J]. Aquaculture, 2004, 238(4): 165-172.
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] 马磊, 张晓峰, 张天奇, 等. 微卫星标记与镜鲤部分生长性状的相关分析[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版, 2010, 36(4): 453-458.
- [14] 伍献文. 中国鲤科鱼类志[M]. 上海: 科学技术出版社, 1964.
- [15] 萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 D W, 分子克隆实验指南(第 3 版)[M]. 黄培堂等译 北京: 科学出版社, 2002(8): 96-99.
- [16] Steffens D L, Sutter S L, Roemer S C. An alternate universal forward primer for improved automated DNA sequencing of M13 [J]. BioTechniques, 1993, 15(4): 580-582.
- [17] Schuelke M. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments [J]. Nat Biotechnol, 2000, 18: 233-234.
- [18] Li Y, Xu P, Zhao Z X, et al. Construction and characterization of the BAC library for common carp *Cyprinus Carpio* L. and establishment of microsynteny with zebrafish *Danio rerio* [J]. Mar Biotechnol, DOI 10.1007/s10126-010-9332-9.
- [19] 任亮, 朱宝芹, 张轶博, 等. 利用软件 Primer Premier 5.0 进行 PCR 引物设计的研究[J]. 锦州医学院学报, 2004, 25(006): 43-46.
- [20] Liu H, Jiang Y L, Wang S L, et al. Comparative analysis of catfish BAC end sequences with the zebrafish genome [J]. BMC Genom, 2002, 10 (1): 592
- [21] Wang C M, Lo L C, Zhu Z Y, et al. A Microsatellite linkage map of barramundi, *Lates calcarifer* [J]. Genetics, 2007, 175(2): 907-915.
- [22] Lee B Y, Lee W J, Streelman J T, et al. A second-generation Genetic linkage map of tilapia (*Oreochromis* spp.) [J]. Genetic, 2005, 170: 234-244.
- [23] Coimbra R M, Kobayashi K, Koretsugu S, et al. A genetic linkage map of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. Genetic, 2003, 220: 203-218.
- [24] Zhang L S, Yang C J, Zhang Y, et al. A genetic linkage map of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*): sex-linked microsatellite markers and high recombination rates[J]. Genetica, 2006, 132(1): 37-49.
- [25] 张征锋, 肖本泽. 基于生物信息学与生物技术开发植物分子标记的研究进展[J]. 分子植物育种, 2009, 7(1): 130-136.
- [26] Colosimo P F, Peichel C L, Nereng K, et al. The genetic architecture of parallel armor plate reduction in threespine sticklebacks pamela [J]. PLOS Biol, 2004, 2(5): 635-641.
- [27] 顾颖, 曹顶臣, 张研, 等. 鲤与生长性状相关的 EST-SSRs 标记筛选[J]. 中国水产科学, 2009, 16(1): 15-22.
- [28] 陈翠霞, 邢全华, 梁春阳, 等. 南方玉米锈病抗病基因的定位及不同遗传背景对基因标记的比较分析[J]. 遗传学报, 2003, 30(4): 341-344.
- [29] 廖春燕, 吴平, 易可可, 等. 不同遗传背景及环境中水稻 (*Oryza sativa* L.) 穗长的 QTLs 和上位性分析[J]. 遗传学报, 2000, 27(7): 599-607.

Correlation analysis between microsatellite markers and body-shape traits in *Cyprinus carpio* L.

XING Xinmei^{1,2}, ZHANG Yan¹, XU Peng¹, ZHOU Pan^{1,2}, LIU Wei^{1,2}, SUN Ting^{1,3}, ZHANG Baoyong^{1,2}, JIANG Li¹, SUN Xiaowen¹

1. Chinese Academy of Fisheries Sciences, Beijing 100141, China

2. College of Aqualife Science and Technology, Dalian Ocean University, Dalian 1160023, China

3. College of Fisheries and Life Science, Shanghai, Shanghai Ocean University, 201306, China

Abstract: Common carp (*Cyprinus carpio* L.) are highly valued, both commercially and socially, throughout the world. The traits associated with economic value are primarily quantitatively controlled by polygenes. Thus, screening of the genes and markers that control quantitative traits has a significant practical value. We evaluated the association between microsatellite markers and body-shape traits such as body length, height, thickness, head length, caudal peduncle length, and caudal peduncle height. We used a total of one hundred polymorphic microsatellite markers to evaluate the genomic DNA of 192 individuals derived from the F₁ generation of a cross of high back common carp × low back common carp using fluorescent dye-labeled universal M13 primers. This method has the advantage of being simple, reliable, and allowing high-throughput microsatellite genotyping. This is particularly useful for research groups that perform high-throughput genetic linkage analysis with a high number of microsatellite markers. We observed a significant correlation between *CAFS110*, *CAFS159*, *CAFS624*, *CAFS907*, *CAFS2320*, *CAFS2321*, and *HLJE319* and body length. *CAFS254*, *CAFS1119*, and *HLJE310* were associated with body height. *CAFS159*, *CAFS907*, *CAFS1119*, *CAFS1737*, *CAFS2137*, and *CAFS2317* were significantly linked to body thickness. *CAFS100*, *CAFS679*, *CAFS907*, *CAFS1119*, and *HLJE319* had a significant association with head length. *CAFS165*, *CAFS175*, *CAFS907*, *CAFS1127*, *CAFS1491*, *CAFS2322*, and *HLJE284* had a significant correlation to caudal peduncle length. *CAFS907*, *CAFS1119*, *CAFS2137*, *CAFS2317*, and *HLJE141* were significantly correlated to caudal peduncle height. Our results also suggest that some of the genotypes at each locus are positively correlated with body-shape traits. Genotype AA at locus *CAFS624* and genotype AA at locus *CAFS2321* were both positively correlated with body length traits, genotype AB at locus *CAFS254* and genotype AB at locus *HLJE310* were positively correlated with body height traits. Conversely, genotype AB at locus *CAFS110*, genotype BB at locus *CAFS159*, and genotype AA at locus *CAFS907* were negatively correlated with body length traits. The positively correlated genotypes at each locus represent molecular markers that can be used to assist breeding selection whereas negatively correlated genotypes should be eliminated through selection. Our results provide valuable insight into carp molecular marker assistant breeding selection.

Key words: common carp; microsatellite markers; body length; body height; body thickness; head length; caudal peduncle length; caudal peduncle height

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

附录 1 鲤 100 对微卫星引物及卡方检验的 P 值Appendix 1 One hundred pairs of microsatellite primers of common carp and probability P value of chi-square test

引物名称 primer	引物序列(5'-3') primer sequence(5'-3')	大小/bp size	重复序列 repeat sequence	P
CAFS2F	CACGACGTTGTAAAACGACGATTCATCACCCATGTGCGCAAG	150	(AAG) ₈	0.2387
CAFS2R	ACCTCTCGACGCGATACGGCA			
CAFS32F	CACGACGTTGTAAAACGACCACCTTGAACCTATTGCCGTTACTG	286	(GTT) ₈	0.1465
CAFS32R	TTCCTCCAGTCTGTGCTGTG			
CAFS33F	CACGACGTTGTAAAACGACAGATAAACTCTCTGGTGCTGGAC	257	(GTT) ₆	0.0986
CAFS33R	GACCCGCTGAAAACACAC			
CAFS34F	CACGACGTTGTAAAACGACACAGATTGCTGTGGCAACTC	237	(GTT) ₁₀	0.3322
CAFS34R	TGCCTAGTTTGGACCCAGTG			
CAFS100F	CACGACGTTGTAAAACGACACTATTGGCCTTGTCTTTGAGG	200	(AAAT) ₅	0.4874
CAFS100R	CTTGACCTGCACAGTCTCATC			
CAFS101F	CACGACGTTGTAAAACGACCCAAATTATGAGGTAAAAGACC	200	(AAAT) ₅	0.2736
CAFS101R	AACAAGCATGTAGGCACTA			
CAFS104F	CACGACGTTGTAAAACGACAAAGTGGTTGGAGGTGAA	200	(AAAT) ₅	0.5273
CAFS104R	TCTTGGGACAGTAGTATG			
CAFS107F	CACGACGTTGTAAAACGACAGTGTCAAGCAAAATCAGTG	200	(AAAT) ₅	0.0836
CAFS107R	ATGGTGCTTTCCTTCAATAC			
CAFS110F	CACGACGTTGTAAAACGACGAAAAGGTCACTCTTAAAGAG	200	(AAAT) ₅	0.0025**
CAFS110R	AGGAAAATGAAGCCTAAACA			
CAFS126F	CACGACGTTGTAAAACGACTCCTGTGAATTTCCAGTA	192	(AAG) ₈	0.3847
CAFS126R	ATGGTTTCTCTGATTGGTTG			
CAFS152F	CACGACGTTGTAAAACGACTCCTTCTACGGTCAGGCATA	219	(AAAT) ₈	0.3256
CAFS152R	GAGACTTCAGACTGGTTG			
CAFS159F	CACGACGTTGTAAAACGACTCTGTACATCATTCATGCAG	321	(AAAT) ₅	0.0082**
CAFS159R	GGATTCAATGCTATAGCATTGCT			
CAFS163F	CACGACGTTGTAAAACGACGTTGGTTTGGTTTGTGGTC	373	(AAAT) ₆	0.0988
CAFS163R	AGTGGCTGACAGTGGCATAA			
CAFS165F	CACGACGTTGTAAAACGACTTTGTCTGCTCAATGGGACG	378	(AAAT) ₆	0.7262
CAFS165R	CTGCAAGGAATCGCAAGAA			
CAFS166F	CACGACGTTGTAAAACGACGAGTAAAATTGCTTGGTAGC	266	(AAAT) ₉	0.3772
CAFS166R	TTCTGCCTTACACTGGTTGT			
CAFS173F	CACGACGTTGTAAAACGACCGGGGAAATACTACAAC	319	(AAAT) ₇	0.2672
CAFS173R	CACTGATTCCCTTACATAACC			
CAFS174F	CACGACGTTGTAAAACGACTTTATTCCAATGACGGCA	268	(AAAT) ₇	0.0926
CAFS174R	GCAAGAAAATTCAAGTGAC			
CAFS175F	CACGACGTTGTAAAACGACGCCTCAGCCATATTCAT	209	(AAAT) ₅	0.7362
CAFS175R	GAGCACCATTATACTGCA			
CAFS178F	CACGACGTTGTAAAACGACTAAGTTTCCCTGTTCCCTC	355	(AAAT) ₅	0.1263
CAFS178R	GTAATGTGTGCTTTAGATCGC			
CAFS184F	CACGACGTTGTAAAACGACTCGTCTGACTGCAACTGA	383	(AAAT) ₆	0.3672
CAFS184R	GGTTTGGTGAAGGTAGGT			
CAFS249F	CACGACGTTGTAAAACGACTGGTAGTGTAAGCAAGTTTG	150	(AAG) ₇	0.2626
CAFS249R	AGGGAATGACTGAGCAAATG			
CAFS254F	CACGACGTTGTAAAACGACTCATGTGAGACATTTAATGCT	160	(AAG) ₆	0.3262

续附表 1
App.1 continued

引物名称 primer	引物序列(5'-3') primer sequence(5'-3')	大小Vbp size	重复序列 repeat sequence	P
CAFS254F	CACGACGTTGTAAAACGACTCATGTGAGACATTTAATGCT	160	(AAG) ₆	0.3262
CAFS254R	GAATCAGAGCAACACCTTTTC			
CAFS624F	CACGACGTTGTAAAACGACATCCTGCGATTACTGTTAGACA	360	(ATT) ₆	0.7375
CAFS624R	GTGTAAGAGCAGTTATGATTCTG			
CAFS636F	CACGACGTTGTAAAACGACCTGTCATTACATCAAGATC	262	(AAAT) ₁₁	0.2315
CAFS636R	GAAAGAAGTTCATACAGGTCA			
CAFS660F	CACGACGTTGTAAAACGACACAGGGGCTTCACACTCCAG	189	(TG) ₄	0.3142
CAFS660R	GGATTTCGTGACGGTTCCAG			
CAFS663F	CACGACGTTGTAAAACGACTCTCAACTGCTGGCAGGCAG	177	(TTA) ₇	0.1253
CAFS663R	ATGTTCAAGGGCATAGCAGC			
CAFS664F	CACGACGTTGTAAAACGACGAGTGTGCTAAGGTCCCATG	306	(AC) ₄₅	0.0942
CAFS664R	ATGACAGAAGCGTCCAGTGC			
CAFS670F	CACGACGTTGTAAAACGACGCTGTTTGTGTATCTGGCTCTC	154	(CT) ₁₆	0.2415
CAFS670R	TCACCATGACGACACGGAGG			
CAFS671F	CACGACGTTGTAAAACGACGAATGGAGCCTCCCTGTAGC	283	(ATCT) ₆	0.8795
CAFS671R	TGTCCTCCAAGCCTCTGCTC			
CAFS675F	CACGACGTTGTAAAACGACGGTCTCAGTCTGGAGCCCTG	135	(GT) ₆	0.4221
CAFS675R	TGACAGCACCGTGTGGCAG			
CAFS676F	CACGACGTTGTAAAACGACTGACTTCGGGACTGGCCTGC	240	(GT) ₁₂	0.2562
CAFS676R	ACCTATACTCGGAATTGGTGCTC			
CAFS679F	CACGACGTTGTAAAACGACCAAATATGGATATGGGCGACATCG	164	(AG) ₃₀	0.1354
CAFS679R	GCAGACTTAACTATCCGGTTTGG			
CAFS771F	CACGACGTTGTAAAACGACTGGAGTTCGATACTGGGCAG	207	(AC) ₁₂	0.3512
CAFS771R	GTAAGCCTTGTAATGACCTTCTGG			
CAFS772F	CACGACGTTGTAAAACGACGGTGAAGACAGGCTCATACG	290	(AC) ₂₂	0.3241
CAFS772R	TTGTACCATCTTCAATGGGCAG			
CAFS773F	CACGACGTTGTAAAACGACAGTTCAAGCTGCACAGAACC	254	(TTG) ₇	0.1564
CAFS773R	ACAGCAAAC TACCCACCTG			
CAFS780F	CACGACGTTGTAAAACGACTCATCCCTGCTGGTGTGTTC	330	(GT) ₁₇	0.4136
CAFS780R	TGAAGCGTGCCCGTTGTGAG			
CAFS781F	CACGACGTTGTAAAACGACCCATGCATCACCAACTTACC	197	(GT) ₁₇	0.1367
CAFS781R	GGTCAGAGCATCAGCTTCAG			
CAFS784F	CACGACGTTGTAAAACGACATCAGAGAACCAAACAAGAGC	285	(TAA) ₇	0.0945
CAFS784R	TTCTGACAGTAGGTGATGTCC			
CAFS786F	CACGACGTTGTAAAACGACAGCATGGAGTGCAACACCTC	343	(ATAG) ₆	0.3146
CAFS786R	AGCACATCCCTGGAACACAC			
CAFS787F	CACGACGTTGTAAAACGACACATCGCAGTCATCAGTCAGGC	335	(AAAT) ₅	0.5832
CAFS787R	AACTTCCCGGAGTTTAGTGGC			
CAFS788F	CACGACGTTGTAAAACGACTGCAACCTTGTAAGCATAAGAC	261	(GT) ₃₉	0.1365
CAFS788R	CATGCAATCTGACAAGCTGC			
CAFS797F	CACGACGTTGTAAAACGACAACAATGCGCCTGAACACA	277	(ATT) ₆	0.1523
CAFS797R	TTCCCTCTTAATTCTGGGT			
CAFS803F	CACGACGTTGTAAAACGACCTCTATAGATCACACCGT	237	(AAAT) ₆	0.3214
CAFS803R	TCACATCGAGACTGTATGA			

续附表 1
App.1 continued

引物名称 primer	引物序列(5'-3') primer sequence(5'-3')	大小/bp size	重复序列 repeat sequence	P
CAFS809F	CACGACGTTGTAAAACGACTTACTAGCGACTATCCTGAG	140	(ATTT) ₅	0.5214
CAFS809R	CTGGTAGATGTCAATTACACC			
CAFS813F	CACGACGTTGTAAAACGACGGCATAATTACTATGTGCAG	170	(ATTT) ₅	0.3256
CAFS813R	CAAACACCTCGATCAGTA			
CAFS815F	CACGACGTTGTAAAACGACATCTCTGGCTGATAGATGGTCCT	266	(AAAT) ₈	0.1328
CAFS815R	CTCTCCTCAATTCATCATGCTTC			
CAFS906F	CACGACGTTGTAAAACGACCAGCTCCTCTAAACTCAAC	182	(AAAT) ₅	0.3219
CAFS906R	CTCGGTATCAGAACGAACA			
CAFS907F	CACGACGTTGTAAAACGACACTGTGATTTGCCTTCCA	253	(AAAT) ₅	0.6571
CAFS907R	GTTAGGTGATCCTTCAGT			
CAFS908F	CACGACGTTGTAAAACGACATCATCATCCAGGACTG	200	(AAAT) ₅	0.1132
CAFS908R	TCTGAGCCAGATACCATG			
CAFS909F	CACGACGTTGTAAAACGACATAGATCCCCATCCTGCAT	176	(AAAT) ₇	0.0934
CAFS909R	TCAAGCTAGCCATAGACAG			
CAFS913F	CACGACGTTGTAAAACGACTGAGATGTCGCTTCTGGT	157	(AAAT) ₅	0.6946
CAFS913R	TTGCTGATCCTCCACTCT			
CAFS918F	CACGACGTTGTAAAACGACGATCATCGAAGGTCAGTAG	148	(ATTT) ₅	0.0936
CAFS918R	TAACAGTTTGTGACGAGTG			
CAFS925F	CACGACGTTGTAAAACGACATGGATGAATGGATGTTGTG	216	(ATTT) ₆	0.1659
CAFS925R	ATGCACTGAAATGTCATGGA			
CAFS926F	CACGACGTTGTAAAACGACTATTTCACTGAGCGATGTGCT	248	(AAAT) ₅	0.3164
CAFS926R	CTGTTTGCTAACAGGTGTTCT			
CAFS1112F	CACGACGTTGTAAAACGACCACAGTTCTCTTTGCTGTGCC	317	(ATAG) ₁₇	0.1453
CAFS1112R	CACACGGTCTGACCTGAAGAC			
CAFS1115F	CACGACGTTGTAAAACGACATTACTGCAGTGCATCAGGGT	256	(TCTA) ₁₀	0.1983
CAFS1115R	CGACATAACATTTCCCACTAC			
CAFS1117F	CACGACGTTGTAAAACGACTGCAGCATCACAGTTTCGCATC	239	(AT) ₂₀	0.2344
CAFS1117R	AGCTTGCAATGGCAGCAAAG			
CAFS1119F	CACGACGTTGTAAAACGACTTCCCAGTGTGAGATCACAG	236	(TG) ₁₁	0.3541
CAFS1119R	CTCTACCATTTTCCAGACC			
CAFS1124F	CACGACGTTGTAAAACGACGAGCGAGTCAGTGACCGTAC	187	(CA) ₁₉	0.3249
CAFS1124R	GACTCCTTTGAAGCACCTGG			
CAFS1127F	CACGACGTTGTAAAACGACACAACCTGATACTGGAAGGTGCC	338	(TG) ₆ (TA) ₅	0.1332
CAFS1127R	TCCAGTCCAGATCCAGTTTCTAC			
CAFS1491F	CACGACGTTGTAAAACGACGCCAGTGGTTATACAGTATGT	375	(GTT) ₅	0.0698
CAFS1491R	AAGGTTACAAGCCTACACACT			
CAFS1496F	CACGACGTTGTAAAACGACGCTGCCTGTGCACTTCAGCT	223	(GTT) ₁₃	0.2145
CAFS1496R	TCACGGGAGATCGTCAGAGC			
CAFS1500F	CACGACGTTGTAAAACGACGCAATGTTATGGATAGAGGA	208	(GTT) ₇	0.0897
CAFS1500R	TTAGCGTTACATTACGTGCT			
CAFS1511F	CACGACGTTGTAAAACGACGAGGTGTCTTACTGGTTGTAGA	199	(GTT) ₅	0.1568
CAFS1511R	ACACAAGCATCTCAACTGCTCA			
CAFS1513F	CACGACGTTGTAAAACGACAGGCTTGCAGTGGTTCTGGT	252	(GTT) ₆	0.4578
CAFS1513R	CTGAAGACCTATGACCCAT			

续附表 1
App.1 continued

引物名称 primer	引物序列(5'-3') primer sequence(5'-3')	大小Vbp size	重复序列 repeat sequence	P
CAFS1522F	CACGACGTTGTAAAACGACAGTTCACCTCAAAGCAGGTGAC	285	(GTT) ₉	0.3546
CAFS1522R	GCATTGTGAACCTCTACTCTCA			
CAFS1718F	CACGACGTTGTAAAACGACGTTTTACCTAATGCGGCTGG	179	(TATTC) ₁₀	0.1897
CAFS1718R	AGCTTCACTGTGTTTTGCCTGAG			
CAFS1719F	CACGACGTTGTAAAACGACGAATACGCCACCAATTCACC	257	(GAA) ₁₃	0.2146
CAFS1719R	GCAGCATGTGCTAAAGCTC			
CAFS1726F	CACGACGTTGTAAAACGACGGTTGTGAGAGGGTTGTTGC	168	(GAA) ₂₀	0.0977
CAFS1726R	GCTGCTCTGAATGCCAATC			
CAFS1737F	CACGACGTTGTAAAACGACCTGCCACAATCTCCCTGAC	284	(TC) ₁₄	0.6584
CAFS1737R	TCCACGCTTGTCACCTTCC			
CAFS1750F	CACGACGTTGTAAAACGACGGTTCGTGTTAATGGAGTCC	380	(TC) ₁₅	0.1254
CAFS1750R	ACGTCATGAAGGTGTGATGG			
CAFS1751F	CACGACGTTGTAAAACGACTCAATGCACCTGTGAGTCTG	143	(TG) ₁₅	0.3546
CAFS1751R	GGAAACAGTTACAGGATGCC			
CAFS2131F	CACGACGTTGTAAAACGACCGTGTGAAAGATGGAGCAAG	133	(GT) ₁₇	0.2451
CAFS2131R	TCAAGGGTTGCACTCTGAAG			
CAFS2134F	CACGACGTTGTAAAACGACGATGTCTCCTGTAGGAGAGC	164	(TG) ₁₀	0.2169
CAFS2134R	AGCAGCATGTATAGCGACAC			
CAFS2137F	CACGACGTTGTAAAACGACCTATCGCCCTACACCAACAC	319	(CA) ₁₀	0.4169
CAFS2137R	GGCTATGCTCCGCTAACCAG			
CAFS2146F	CACGACGTTGTAAAACGACTCAGGACCCTGAAGCTCTGG	294	(CA) ₂₄	0.3125
CAFS2146R	TGCTAAACGAATGAGCGATGTTCT			
CAFS2311F	CACGACGTTGTAAAACGACAGATATCAGTGAGCCCTGTG	353	(ATTC) ₁₁	0.1233
CAFS2311R	TTAAGTGCACGGCAGAGAC			
CAFS2317F	CACGACGTTGTAAAACGACCTACCAGCAGGCACCTTACG	300	(AC) ₉	0.4211
CAFS2317R	TGAGGACTGAGTCCAGATGC			
CAFS2320F	CACGACGTTGTAAAACGACACTCCCCTGCCCCAAACACG	376	(AG) ₈	0.0699
CAFS2320R	GCCGAAATGAAGACTCGAACAC			
CAFS2321F	CACGACGTTGTAAAACGACTGTTCATTACTGCCACAAGGTG	391	(TG) ₁₁	0.1590
CAFS2321R	ACCAGCAGACCAGCTTCAGC			
CAFS2322F	CACGACGTTGTAAAACGACTGTCCTCCTAGAGCTGTGTC	187	(AC) ₉	0.1491
CAFS2322R	ACTCCATTGAGGCCCACTGG			
CAFS2324F	CACGACGTTGTAAAACGACTCACCACCAGAGCGTCACTG	157	(TG) ₁₃	0.3214
CAFS2324R	CTGCGTAACCCTGCGGACAG			
CAFS2327F	CACGACGTTGTAAAACGACTCCACGCCCTTGTGTGTGAC	325	(TC) ₁₁	0.5412
CAFS2327R	TGAAACCAGGGTTCTCGGAC			
CAFS2328F	CACGACGTTGTAAAACGACCGGTTTCATCTGCATCCACG	334	(GA) ₁₁	0.1254
CAFS2328R	AATAACGCATAGCCTACGCAC			
KOI107F	CACGACGTTGTAAAACGACCAAACTCCCATCCAACCTAC	120	(AC) ₅	0.2543
KOI107R	CTGATGCTTCTGGATAAA			
HLJ693F	CACGACGTTGTAAAACGACGAGACCGCATGACTTCAA	282	(GT) ₁₆	0.1144
HLJ693R	TAGCCATCTGTCCTAAACGA			
HLJ699F	CACGACGTTGTAAAACGACACGTCATCAGACCCTTCT	208	(AC) ₂₄	0.1294
HLJ699R	CTGGTGGTTTGTTATTGT			

续附表 1
App.1 continued

引物名称 primer	引物序列(5'-3') primer sequence(5'-3')	大小/bp size	重复序列 repeat sequence	P
HLJ907F	CACGACGTTGTAAAACGACGGGCTGGTCCATTAGAG	333	(GT) ₁₉	0.6598
HLJ907R	TTGGCTGTGGGAGATGTT			
HLJ1127F	CACGACGTTGTAAAACGACGTTACGTCTTTGCCCTGAGC	250	(CA) ₃₃	0.1236
HLJ1127R	TGCCCTTCAATAAACGCTTC			
HLJ1153F	CACGACGTTGTAAAACGACGCTAACGAAAGGCTCAGACG	243	(ATCT) ₁₆	0.2549
HLJ1153R	TCAAGAGTCCCACCCATAGC			
HLJ1333F	CACGACGTTGTAAAACGACGAAAACCGAAGCGAAACAAG	156	(AGAT) ₉	0.3816
HLJ1333R	CGGAACGAACGAGAAACAAT			
HLJ1717F	CACGACGTTGTAAAACGACGAGAGGGGGTGAAAGAAAGG	203	(GA) ₁₈	0.3544
HLJ1717R	GCAGCTCTCAAAGCTCCATT			
HLJE40F	CACGACGTTGTAAAACGACGGGGCAGAGTTGGAAATG	197	(CA) ₅ (CA) ₅	0.5123
HLJE40R	CTCCTGAATTGGCGATGT			
HLJE141F	CACGACGTTGTAAAACGACTCACCCTGTCCACTCAGAACT	168	(GT) ₈	0.5621
HLJE141R	AACAAGAGCCCTACATCAGCA			
HLJE284F	CACGACGTTGTAAAACGACTTGTACGTGTTGCAGGAAGC	210	(GT) ₉	0.1489
HLJE284R	ATTGGTGCAGAGCATCAGTG			
HLJE310F	CACGACGTTGTAAAACGACGGGGATATCAGACCTGGACA	197	(AC) ₉	0.5483
HLJE310R	CGGCGACTTGATCCTCTTTA			
HLJE328F	CACGACGTTGTAAAACGACGGACAGAACTGCCCTTCAGA	125	(TG) ₈	0.6924
HLJE328R	CAGAGCTGACATTTTGACTTGC			
HLJE339F	CACGACGTTGTAAAACGACGGGTGACAACATCTGGCTCT	135	(TG) ₈	0.3425
HLJE339R	CTACAGCCAGGAAGGAGCTG			
HLJE417F	CACGACGTTGTAAAACGACGGACAGAACTGCCCTTCAGA	192	(TG) ₈	0.5624
HLJE417R	CAGAGCTGACATTTTGACTTGC			
HLJE450F	CACGACGTTGTAAAACGACCCAATGAGACGGAACCATT	160	(GT) ₈	0.1449
HLJE450R	CAGAAGCTGCGCACTAATCA			
HLJE518F	CACGACGTTGTAAAACGACGCAGATGTGTCGAATGGAGA	184	(GT) ₈	0.2317
HLJE518R	TTCCCTACCTGGCTGTTGAG			

注:正向引物 5'端已添加 M13 通用引物序列 5'-CACGACGTTGTAAAACGAC-3'; ** 代表偏分离标记(P<0.01).
Note: The M13 universal primer 5'-CACGACGTTGTAAAACGAC-3' was added to the 5' end of forward primers; ** means distorted markers (P<0.01).