

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2018.17202

齐口裂腹鱼 SNP 标记与生长性状的关联分析

杨月静, 向梦斌, 叶祥益, 张争世, 罗辉, 叶华

西南大学 鱼类繁育与健康养殖研究中心, 重庆 402460

摘要: 齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)是中国特有的冷水性经济鱼类, 具有较高的营养和经济价值。为了研究齐口裂腹鱼生长性状关联的分子标记, 本研究以 114 尾同批次繁殖、相同养殖条件的齐口裂腹鱼为研究材料, 运用 26 个齐口裂腹鱼 SNPs 位点进行生长性状(体重、体高、全长、体长)关联分析。对齐口裂腹鱼生长性状的主成分分析表明, 体重占解释方差的 93.42%, 且特征根大于 1, 累积方差大于 85%, 是齐口裂腹鱼生长性状的第一主成分。SNPs 位点与生长性状相关分析结果显示: *ug17711-0-2201* 与全长呈显著相关($P<0.05$), *ug24013-0-3669* 对全长、体长有显著影响($P<0.05$), *ug25050-0-1678* 对体重、体高、全长和体长都有显著影响($P<0.05$), *ug22712-0-2452* 对体重、体高、全长和体长都有极显著影响($P<0.01$)。对与生长性状显著相关的 4 个 SNPs 位点进行多态性检测, 平均观测杂合度和期望杂合度分别为 0.2369 和 0.2110, 平均多态信息含量为 0.18, 其中 *ug25050-0-1678* 具有中度多态性($0.25\leq PIC<0.5$)。综上所述, *ug25050-0-1678* 和 *ug22712-0-2452* 与生长性状具有显著相关性, 可作为候选位点用于齐口裂腹鱼的分子标记辅助育种。本研究旨在为齐口裂腹鱼的遗传改良和选择育种提供基础资料。

关键词: 齐口裂腹鱼; SNP 标记; 生长性状; 关联分析

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2018)02-0278-08

齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*), 又名雅鱼, 是中国特有的名贵冷水经济鱼类, 主要分布于中国长江上游的金沙江、岷江、大渡河、青衣江及乌江等水域^[1-2]。齐口裂腹鱼肉嫩味鲜, 具有较高的营养和经济价值, 深受消费者和养殖户的青睐, 目前已在四川、重庆等地实现了规模化养殖^[3]。随着多代人工繁殖和养殖集约化程度的提高, 齐口裂腹鱼种质资源出现退化, 具体表现为个体小型化、生长缓慢和抗病力下降等, 因此, 开展生长性状关联分子标记筛选, 运用分子标记辅助育种极有必要。目前关于齐口裂腹鱼的研究主要集中于营养与生长、疾病防治以及种群遗传结构等方面^[3-6], 而筛选与齐口裂腹鱼生长性状关联的分子标记的研究未见报道。

SNPs(Single Nucleotide Polymorphisms)是自 1996 年发展起来的第三代分子遗传标记, 具有数量大、遗传稳定性高、可靠性强的特点, 广泛应用于群体遗传学、遗传图谱构建及分子标记辅助育种研究中^[7]。目前, 筛选与生长性状关联的 SNP 标记不仅在畜禽中广泛研究^[8-10], 而且在水产动物中也陆续开展, 如多位研究者先后进行了 SNP 标记与罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)^[11]、长牡蛎(*Crassostrea gigas*)^[12]、黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)^[13]、大口黑鲈(*Micrpterus salmoides*)^[14]、刺参(*Apostichopus japonicus*)^[15]等水产动物生长性状的相关性分析。本研究随机挑选同批繁殖的齐口裂腹鱼作为研究对象, 分析了 26 个齐口裂腹鱼 SNPs 位点与生长性状的相关性, 以期齐口

收稿日期: 2017-05-27; 修订日期: 2017-10-19.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31402302); 中央高校基本科研业务费资助项目(XDJK2017B008); 西南大学荣昌校区青年基金资助项目(20700938).

作者简介: 杨月静(1993–), 女, 硕士研究生, 主要从事水产动物遗传育种与生物技术研究. E-mail: yangyuejing666@163.com

通信作者: 叶华, 女, 副教授, 硕士生导师, 主要从事水产动物遗传育种与生物技术研究. E-mail: yhlh2000@126.com

裂腹鱼分子辅助育种和遗传改良提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究所用材料购自四川省峨眉山市冷水鱼养殖场, 随机挑选 114 尾同一批次人工繁殖的、饲养条件一致的 13 月龄的齐口裂腹鱼, 测定其体重、体高、全长和体长, 并剪取部分背鳍保存于无水乙醇中。

1.2 SNP 标记

本研究所用 26 个 SNPs 位点由本实验室开发^[16], 引物(表 1)由上海生工合成。

1.3 实验方法

1.3.1 基因组 DNA 提取 剪取 25 mg 左右的鳍条, 采用上海生工“Ezup 柱式动物基因组 DNA 抽提试剂盒”提取基因组 DNA, 操作参照试剂盒说明进行。采用琼脂凝胶电泳和紫外分光光度计检测 DNA 质量和浓度, 并稀释成 40 ng/μL, 4℃保存备用。

1.3.2 SNPs 位点基因分型 提取的基因组 DNA 送至上海生工生物工程股份有限公司, 用 MassARRAY® MALDI-TOF System 对 26 个 SNP 位点进行基因分型。PCR 扩增反应体系为 10 μL, 包括 1.25 μL 10×PCR buffer(含 15 mmol/L MgCl₂), 0.65 μL 25mmol/L MgCl₂, 2 μL 25 mmol/L dNTP, 2 μL 正反引物 0.5 μmol/L, 0.2 μL 5U/μL TaqDNA 聚合酶(TaKaRa), 1.9 μL H₂O 和 2 μL DNA 模板。PCR 反应程序为 94℃预变性 15 min; 94℃变性 20 s, 退火温度 56℃ 30 s, 72℃延伸 60 s, 共 45 个循环; 72℃延伸 3 min。在经 PCR 扩增后的产物中加入 SNP 序列特异性延伸引物, 在 SNP 位点上延伸一个碱基。延伸产物经纯化后与表面覆盖基质的 MassARRAY SpectroCHIP 芯片共结晶, 将该晶体放入质谱仪的真空管中即可自动分析 SNPs 的位点信息。

1.4 数据分析

1.4.1 遗传特性分析 采用 POPGENE 3.1^[17]计算观测杂合度、期望杂合度和代表 Hardy-Weinberg equilibrium (HWE)偏差的 *P* 值。多态信息含量(PIC)由 Botstein 等^[18]提出的公式计算:

表 1 26 个齐口裂腹鱼 SNPs 位点引物信息
Tab. 1 The primer infomation of 26 SNPs in *Schizothorax prenanti*

编号 number	突变碱基 mutation base	序列 (5' to 3') sequence (5' to 3')
ug11117-0-1039	C-T	F: AGGATGCTGCCATTAACCTCC R: TTTAAGCGCTAGCTGAGAGG
ug13311-0-1087	G-A	F: CATGAGGACAGAAGCCATAC R: AAGAATACACCAGCTGCACC
ug13311-1-1471	T-C	F: TATAGCCTTGGTCAGGACAG R: TGATGGGAAGATGTGGTGTG
ug13629-0-1052	T-C	F: CATCAATACCCAATCCCAGC R: CTCTGGTTTCTCATTGGACG
ug14167-0-2044	G-A	F: GGTGAAGTACAAGCTGGATG R: GCTTCTTGAGCTTCTCACAC
ug14648-0-1768	G-A	F: GGGAGTTTACCAACTTTGCG R: CAGTGTCGCTTTCAGAAAC
ug16430-0-2046	C-G	F: GGTCAGCAGATCTACCAAAC R: TACTGCTTTGTTTCAGTTTG
ug17234-0-1348	G-T	F: TCCTTGCCGTTGAAGTAGTC R: GATATTGTCTCGTTGGTGG
ug17508-0-2488	G-T	F: TCCCTTTCCTTCTCTCGCTC R: AACAGATCGGCTGCTAATGG
ug17711-0-2201	T-A	F: TACAGAGCAGCTCTGTTTAC R: ATGTAACCGCACCTTAAGAC
ug24013-0-3669	C-T	F: CGAAAACCTGGGAATTATAG R: CTTTCAGTACATCAGACAGAC
ug25050-0-1678	A-C	F: GCAGAGGCTTTTCTCAACAG R: ACAAACTCTTACGCAGTGGC
ug12568-0-1057	C-T	F: ACACAGATGTGGTTCTGGAC R: ACCCAGTGATGACTGCATAG
ug14167-1-1089	C-A	F: ACAAGCCAAGAAGGCCAAAG R: TGTCATTGGCTAACTGCCAC
ug14504-0-283	A-G	F: CGGCTCATGATCTGAGTAAC R: GCTGATGTCGAAGTATCGAG
ug17206-0-2329	C-A	F: CAGAACCTGACCTTCTCTTC R: AGTACCACATTTTCATCCAG
ug17234-1-4749	T-C	F: GGCAGTTTAAACTGTTTTAG R: CGAGCGACCTCTCAATAAAG
ug17234-2-6273	A-G	F: CCCTTTCTGAAGAGAAGAGC R: AGTAATCTGATCTGGGCCTG
ug17513-0-2844	T-C	F: CATTTTCGGTGAGATGTCGC R: TTGGCCAAAAGCAATGACGG
ug17554-0-2512	A-T	F: GACCTCTTCCATTGACATGC R: CAGAGATGCTTCTGCAAAC
ug18281-0-1105	C-T	F: GTCTGCAGCTGGTCTATAAC R: CTCAAGGTCCTTGATCTCAG
ug19077-0-1539	C-T	F: CAGCTTCCAAATCGATGGAC R: CAGCTTCCAAATCGATGGAC
ug22150-0-1025	C-T	F: GGTCCTGTACAAGAACACAC R: AGCAGCTTGCTGGATTGTG
ug22712-0-2452	C-A	F: ACAGTGTTGGGTGTAGATGG R: GATGCTAGTGACGGCATTTC
ug23056-0-1733	A-G	F: CAATCCTTTCAGCAAGCCAG R: TAGATATGGAACCATCTCCG
ug24013-1-3973	T-G	F: ACATGCTGTGTGAATACGCC R: GCATTTCGGTTTTCTGCAA

$$PIC = 1 - \left\{ \sum_{i=1}^n P_i^2 \right\} - \left\{ \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i^2 P_j^2 \right\}$$

式中, n 为某一位点上的等位基因数, P_i 、 P_j 分别为第 i 和第 j 个等位基因在群体中的频率, $j=i+1$ 。

1.4.2 SNPs 与性状的关联分析 采用 SPSS19.0 进行检验体重、体高、全长、体长的正态分布, 并用 correlate 菜单检测各性状的相关性。然后进行该群体的生长性状的主成分分析, 按累计贡献率达 85% 的原则提取主成分。

采用一般线性模型(general linear model, GLM) 中的多元方差分析和独立样本 T 检验分析各 SNP 位点以及不同基因型和等位基因与数量性状的相关性, 并采用 Duncan 法进行多重比较分析。

2 结果分析

2.1 生长性状分布

对 114 尾齐口裂腹鱼测量其体重、全长、体

长、体高几个生长性状, 运用 SPSS19.0 对其进行正态分布检验, 结果显示各性状的 P 值都大于 0.05, 符合正态分布, 均具有连续遗传变异的特点(表 2)。

2.2 各性状相关性和主成分分析

对体重、全长、体长、体高进行相关性检验(表 3)。体长与全长的相关系数最高, 为 0.974; 体重与全长的相关系数为 0.943; 体高与体长的相关系数最低, 为 0.846; 各性状间有极显著的相关性($P<0.01$)。

对 114 尾齐口裂腹鱼的生长性状进行降维处理, 结果显示体重占方差的 93.42%, 全长占方差的 4.66%, 体长和体高则低于 2%。根据主成分提取原则, 选择特征根大于 1 的因子作为主成分, 体重的初始特征值为 3.74, 而全长、体长和体高均小于 1, 因此体重是齐口裂腹鱼的生长性状的第一主成分, 并且累积方差达 93.42%, 累积贡献率超过 85%(表 4)。

表 2 齐口裂腹鱼体重、全长、体长、体高的正态分布检验
Tab. 2 Normal distribution of body weight, total length, body length, body height of *Schizothorax prenanti*

性状 character	平均值±标准差 $\bar{x} \pm SD$	偏度 skewness	峰度 kurtosis	最小值 minimum value	最大值 maximum value	P
体重/g body mass	90.99±31.64	0.58	0.34	33.8	199.5	0.75
全长/cm total length	21.76±2.46	-0.11	-0.29	16.2	28.3	0.88
体长/cm body length	17.82±2.13	-0.04	-0.19	13.1	23.8	0.88
体高/cm body height	3.85±0.56	0.31	0.20	2.5	5.5	0.49

表 3 齐口裂腹鱼体重、全长、体长、体高的相关性检验
Tab. 3 Correlation test on body weight, total length, body length, body height of *Schizothorax prenanti*

性状 character	体重 body weight	全长 total length	体长 body length	体高 body height
体重 body mass	1	0.943**	0.934**	0.913**
全长 total length		1	0.974**	0.861**
体长 body length			1	0.846**
体高 body height				1

注: **表示两两性状间相关性极显著($P<0.01$).
Note: ** indicates significant correlation between two traits at 0.01 level.

表 4 齐口裂腹生长性状的主成分分析
Tab. 4 Principle component analysis on growth traits of *Schizothorax prenanti*

成分 component	初始特征值 initial component			提取平方和载入 sum of squares of extracted component		
	合计 total	方差占比/% variance ratio	累积/% accumulation variance ratio	合计 total	方差占比/% variance ratio	累积/% accumulation variance ratio
体重 body weight	3.74	93.42	93.42	3.74	93.42	93.42
全长 total length	0.19	4.66	98.08			
体长 body length	0.05	1.27	99.35			
体高 body height	0.03	0.65	100.00			

2.3 SNPs 位点与生长性状的相关性

运用 SPSS 软件进行 26 个 SNPs 位点与体重、体高、全长、体长的连锁显著性分析(表 5), 一般线性模型中的多元方差分析结果显示, *ug24013-0-3669* 对全长、体长有显著影响($P<0.05$), *ug24013-0-3669* 的 TT 基因型在体长和全长的均值都显著高于 CC 基因型($P<0.05$), CT 基因型也高于 CC 基因型, 但差异并不显著。*ug25050-0-1678* 的 CC 基因型在体重、体高、全长、体长的均值都显著高于 AA、AC 基因型($P<0.05$), 说明 *ug25050-0-1678* 对体重、体高、全长和体长有显著影响($P<0.05$)。T 检验分析结果表明: *ug17711-0-2201* 对全长有显著影响($P<0.05$), *ug22712-0-2452* 在体重、体高、全长和体长差异极显著($P<0.01$), *ug22712-0-2452* 的 CC 基因型在 4 个性状上都极显著高于 AC 基因型($P<0.01$)。通过等位基因的效应值发现, 等位

基因 C 在全长和体长显著高于等位基因 A($P<0.05$), 在体重和体高极显著高于等位基因 A($P<0.01$), 说明 CC 基因型为优势基因型(表 6)。

2.4 SNPs 位点多态性分析

SNPs 位点的多态性检测结果见表 7。4 个 SNPs 位点的观测杂合度为 0.0877~0.4649, 期望杂合度为 0.0842~0.3767, 平均值分别为 0.2369 和 0.2110。除了 *ug25050-0-1678* 显著偏离了哈代温伯格平衡($P<0.05$), 其他位点都符合哈代-温伯格平衡定律($P>0.05$)。4 个位点多态性水平都较低, 其中仅 *ug25050-0-1678* 具有中度多态性($0.25 \leq \text{PIC}<0.5$)^[18]。

3 讨论

3.1 齐口裂腹鱼生长性状的主成分分析

主成分分析是利用降维的思想, 将原来的指

表 5 齐口裂腹鱼 SNPs 位点基因型与生长性状的关联分析
Tab. 5 Correlation analysis between genotypes of SNPs and growth traits of *Schizothorax prenanti*

$n=114; \bar{x} \pm \text{SD}$

编号 number	分型(数) genotype(no.)	数目 number	体重/g mean of body weight	体高/cm mean of body height	全长/cm mean of total length	体长/cm mean of body length
ug24013-0-3669	CC(88)	88	88.48±30.34 ^a	3.83±0.54 ^a	21.54±2.40 ^a	17.61±2.07 ^a
	CT(22)	22	96.56±37.21 ^a	3.92±0.68 ^a	22.19±2.67 ^{ab}	18.29±2.34 ^{ab}
	TT(4)	4	115.75±9.09 ^a	4.13±0.17 ^a	24.18±0.68 ^b	19.85±0.69 ^b
ug25050-0-1678	AA(59)	59	90.24±30.84 ^a	3.84±0.49 ^a	21.66±2.40 ^a	17.64±2.07 ^a
	AC(53)	53	90.27±32.37 ^a	3.84±0.63 ^a	21.75±2.51 ^a	17.90±2.16 ^a
	CC(2)	2	132.25±0.64 ^b	4.60±0.28 ^b	24.95±0.50 ^b	20.95±0.78 ^b
ug22712-0-2452	CC(104)	104	93.63±31.37 ^{Aa}	3.90±0.56 ^{Aa}	21.98±2.39 ^{Aa}	17.99±2.10 ^{Aa}
	AC(10)	10	63.61±19.83 ^{Bb}	3.39±0.39 ^{Bb}	19.42±1.97 ^{Bb}	16.03±1.68 ^{Bb}
ug17711-0-2201	TT(95)	95	92.54±29.07 ^a	3.88±0.51 ^a	21.96±2.33 ^a	17.96±2.05 ^a
	AT(19)	19	83.25±42.35 ^a	3.73±0.78 ^a	20.74±2.88 ^b	17.10±2.44 ^a

注: 同列中不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 不同的大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。
Note: The different superscript lowercase letters within the same column mean significantly difference at 0.05 level, and the different capital letters mean significantly difference at 0.01 level.

表 6 齐口裂腹鱼 SNPs 位点的等位基因与生长性状的关联分析
Tab. 6 Correlation analysis between allelic genes of SNPs and growth traits of *Schizothorax prenanti*

$\bar{x} \pm \text{SD}$

编号 number	等位基因 allele	数目 number	体重/g body weight	体高/cm body height	全长/cm total length	体长/cm body length
ug22712-0-2452	C	114	90.99±31.64 ^{Aa}	3.85±0.56 ^{Aa}	24.76±2.46 ^a	17.82±2.13 ^a
	A	10	63.61±19.83 ^{Bb}	3.39±0.39 ^{Bb}	19.42±1.97 ^b	16.03±1.68 ^b

注: 同列中不同的小写字母表示差异显著($P<0.05$), 不同的大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。
Note: The different superscript lowercase letters within the same column mean significantly difference at 0.05 level, and the different capital letters mean significantly difference at 0.01 level.

表 7 齐口裂腹鱼 4 个 SNPs 位点的特征
Tab. 7 The features of four SNPs in *Schizothorax prenanti*

编号 number	突变碱基 mutation base	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	H-W 平衡 P_{HWE}	多态信息含量 PIC
ug24013-0-3669	C-T	0.4649	0.2295	0.0843	0.20
ug25050-0-1678	A-C	0.0877	0.3767	0.0117	0.30
ug22712-0-2452	C-A	0.2281	0.0842	0.6429	0.07
ug17711-0-2201	T-A	0.1667	0.1535	0.3458	0.14
均值 mean		0.2369	0.2110		0.18

标重新组合成一组彼此无关、信息互不重叠的新的综合指标，同时，根据一定原则和实际需要，从中抽取较少的几个综合指标，来反映原来指标所携带的较高比例的信息量^[19]。根据 Meyer^[20]的研究，当原来的指标高度相关时，前几个主成分可以解释大部分变化，从而可以消除冗余信息。目前该方法在水产动物中主要用于研究群体系统分类^[21-23]以及形态学分析^[24-26]等。对齐口裂腹鱼生长性状的主成分分析表明，体重是齐口裂腹鱼生长性状的第一主成分，占解释方差的 93.42%，高于全迎春等^[14]对大口黑鲈生长性状的体重作为主成分分析的结果，也高于王兰梅等^[27]对福瑞鲤(*Cyprinus carpio*)生长性状的体重作为主成分分析的结果。因此，在齐口裂腹鱼生长性状选择育种中，体重能够准确反映齐口裂腹鱼的生长情况，是主要的评估指标。体高、全长、体长与体重的相关性极显著($P<0.01$)，这 3 个性状可作为间接指标反馈齐口裂腹鱼的生长情况。

3.2 SNP 位点的多态性及偏分离分析

遗传杂合度和多态信息含量是测量和评价遗传标记效用的参数，一般认为遗传杂合度(H)是度量群体遗传变异的参数之一，而多态性信息含量(PIC)是衡量基因变异程度高低的较好指标^[28-29]。遗传多样性分析表明，4 个位点的平均观测杂合度和期望杂合度分别为 0.2369 和 0.2110，远低于 Wu 等^[30-31]采用微卫星标记对齐口裂腹鱼野生群体的分析结果。这主要是因为本研究所用养殖群体遗传多样性本身就很低，另外是 SNP 标记仅有两个等位基因，而 Wu 等^[31]获得的微卫星标记的等位基因数为 2~23 个，其多态信息含量低于微卫星标记。本研究中除 ug25050-0-1678 具有中度多态性，其余都为低多态性位点。

偏分离是指某一群体中观察到的基因型比例明显偏离孟德尔频率的一种现象，不同的种群有不同的孟德尔频率，但在子二代中典型的孟德尔频率为 1 : 2 : 1^[32]。本研究中与生长性状相关的 4 个 SNPs 位点都出现了偏分离现象，其中的优势基因型的频率明显低于理论值。导致偏分离的主要原因可能是：(1)该养殖群体种群规模萎缩导致近交，而近交则会导致杂合子缺乏；(2)测试群体的样本数量较少；(3)无效等位基因的出现。关于 SNP 标记偏分离现象的报道较多，如俞菊华等^[33]在做建鲤(*Cyprinus carpio* var. *jian*)的 SNPs 基因型检测时也发现了偏分离现象。

3.3 齐口裂腹鱼 SNP 与生长性状的关联

单核苷酸多态性(SNP)是位于生物体中最丰富的多态性，适用于高通量检测，并且可以揭示未被其他标记和方法检测到的隐性多态性^[34]。当 SNP 导致经济性状产生差异或与产生差异的突变相关联时，这些 SNP 就显得尤其重要^[35]。通过筛选候选基因的方法，已经揭示一些 SNP 与各种水产动物的经济性状相关，特别是体重。Ren 等^[36]的研究结果表明，鲫(*Cyprinus carpio*)的 *Δ6Fad-a*、*Δ6Fad-b* 和 *Elovl5-a* 与鱼体体重存在显著性关联。吉富罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)的 *GHR1* 内含子 3-*A612G*、3-*A989T*、7-*A599C* 和 *GHR2* 内含子 3-*G687T*，以及 *IGF-1* 内含子 3-*C6T* 与增重具有相关性^[37]。在甲壳动物中，马氏珠母贝(*Pinctada fucata martensii*)的 *prismalin-14* 基因的 *A376C* SNP 位点与壳宽、壳高、铰合部长、总重显著相关^[38]。在本研究中，ug25050-0-1678 和 ug22712-0-2452 对体重、体高、全长和体长都有显著影响，体重是齐口裂腹鱼生长性状的第一主成分，因此这两个位点可作为候选位点用于齐口裂腹鱼的分

子标记辅助育种, 研究结果为齐口裂腹鱼的遗传改良和选择育种提供了基础资料。但由于生长性状受多种因子影响, 如鱼类的摄食效率、饲料利用率等, 因此筛选的标记仍需通过不断检验运用到生产中。

参考文献:

- [1] Chen Y F, Cao W X. Schizothoracinae[M]//Yue P Q. Chinese Animal: Osteichthyes Carp Shape Mesh Volume. Beijing: Science Press, 2000: 273-390. [陈毅峰, 曹文宣. 裂腹鱼亚科[M]//乐佩琦. 中国动物志·硬骨鱼纲·鲤形目(下). 北京: 科学出版社, 2000: 273-390.]
- [2] Wu Y F, Wu C Z. The Qinghai-Tibet Plateau Fish[M]. Chengdu: Sichuan Science and Technology Press, 1992: 361-365. [武云飞, 吴翠珍. 青藏高原鱼类[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1992: 361-365.]
- [3] Ye H, He L J, Cheng H H, et al. Changes of cell immunity indexes in peripheral blood of schizothorax prenanti injected with formalin-killed *Aeromonas hydrophila*[J]. Journal of Southwest University: Natural Science Edition, 2014, 36(5): 28-35. [叶华, 何丽君, 程辉辉, 等. 注射嗜水气单胞菌灭活菌的齐口裂腹鱼外周血免疫指标的变化[J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2014, 36(5): 28-35.]
- [4] Xiang X, Chen J, Zhou X H, et al. Effects of five lipid sources on growth performance and serum biochemical indices of *Schizothorax prenanti*[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2010, 22(2): 498-504. [向泉, 陈建, 周兴华, 等. 5种脂肪源对齐口裂腹鱼生长性能及血清生化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2010, 22(2): 498-504.]
- [5] Du X, Li Y, Li D, et al. Transcriptome profiling of spleen provides insights into the antiviral mechanism in *Schizothorax prenanti* after poly (I:C) challenge[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 62: 13-23.
- [6] Zhang Z S, Hu B J, Ye X Y, et al. Genetic diversity of the *prenanti's Schizothoracin (Schizothorax prenanti)* based on partial mtDNA Cyt *b* sequences[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2017, 41(3): 609-616. [张争世, 胡冰洁, 叶祥益, 等. 基于 mtDNA Cyt *b* 序列分析齐口裂腹鱼群体遗传多样性[J]. 水生生物学报, 2017, 41(3): 609-616.]
- [7] Vignal A, Milan D, SanCristobal M, et al. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics[J]. Genetics Selection Evolution, 2002, 34(3): 275-305.
- [8] Jin C F, Chen Y J, Yang Z Q, et al. A genome-wide association study of growth trait-related single nucleotide polymorphisms in Chinese Yangcheng chickens[J]. Genetics and Molecular Research, 2015, 14(4): 15783-15792.
- [9] Tian Y G, Yue M, Gu Y, et al. Single-nucleotide polymorphism analysis of GH, GHR, and IGF-I genes in minipigs[J]. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 2014, 47(9): 753-758.
- [10] Martínez-Montes A M, Muiños-Bühl A, Fernández A, et al. Deciphering the regulation of porcine genes influencing growth, fatness and yield-related traits through genetical genomics[J]. Mammalian Genome, 2017, 28(3-4): 130-142.
- [11] Thanh N M, Barnes A C, Mather P B, et al. Single nucleotide polymorphisms in the actin and crustacean hyperglycemic hormone genes and their correlation with individual growth performance in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*[J]. Aquaculture, 2010, 301(1-4): 7-15.
- [12] Liu S W, Li Q, Yu H, et al. Single nucleotide polymorphisms in glycogen phosphorylase gene and their association with growth performance and glycogen content in Pacific oyster *Crassostrea gigas*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(3): 481-489. [刘思伟, 李琪, 于红, 等. 长牡蛎糖原磷酸化酶基因 SNPs 与生长性状和糖原含量的相关性分析[J]. 中国水产科学, 2013, 20(3): 481-489.]
- [13] Chen X H, Liu P P, Wang M H, et al. SNP sites of MSTN gene and its association with body weight in Yellow catfish (*Pelteobagrus Fulvidraco*)[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013, 44(6): 1566-1569. [陈校辉, 刘朋朋, 王明华, 等. 黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*) MSTN 基因 SNP 位点与体重的相关性分析[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(6): 1566-1569.]
- [14] Quan Y C, Ma D M, Bai J J, et al. SNPs identification in RNA-sequence data of largemouth bass (*Micropterus Salmoides*) fed on formulated feed and association analysis with growth trait[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2016, 40(6): 294-300. [全迎春, 马冬梅, 白俊杰, 等. 大口黑鲈转录组 SNPs 筛选及其与生长的相关性分析[J]. 水生生物学报, 2016, 40(6): 294-300.]
- [15] Dong Y, Li Q. Correlation analysis between SNPs and growth traits of *Apostichopus japonicas*[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2016(2): 49-58. [董玉, 李琪. 刺参 SNP 标记与生长的相关性分析[J]. 海洋湖沼通报, 2016(2): 49-58.]
- [16] Luo H, Ye H, Xiao S J, et al. Development of SNP markers associated with immune-related genes of *Schizothorax prenanti*[J]. Conservation Genetics Resources, 2016, 8(3): 223-226.
- [17] Yeh F, Yang R, Boyle T, et al. POPGENE 32, Microsoft Windows-Based Freeware for Population Genetic Analysis[M]. Edmonton: Molecular Biology and Biotechnology Center. University of Alberta, 2000.
- [18] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a

- genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. American Journal of Human Genetics, 1980, 32(3): 314-331.
- [19] Yu J L. The Statistics of Multivariate Experiment in Agriculture[M]. Beijing: China Agricultural University Press, 1993. [余家林. 农业多元试验统计[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1993.]
- [20] Meyer K. Multivariate analyses of carcass traits for Angus cattle fitting reduced rank and factor analytic models[J]. Journal of Animal Breeding and Genetics, 2007, 124(2): 50-64.
- [21] Yoon S J, Choi J K, Lee H G. Comparison of fish distribution characteristics by substrate structure in the 4 Streams[J]. Korean Journal of Environment and Ecology, 2014, 28(3): 302-313.
- [22] Ma Y Q, Wang C H, Wang J, et al. Genetic differentiation of wild and hatchery Ojiang color common carp: potential application to the identification of escapees[J]. Fisheries Science, 2011, 77(4): 591-597.
- [23] Liu X H, Song N, Liu H Y, et al. Preliminary analysis on morphological characteristics of 5 collichthys lucidus geographical populations[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2015(2): 59-67. [刘晓慧, 宋娜, 刘鸿雁, 等. 棘头梅童鱼 5 个地理群体的形态学初步分析[J]. 海洋湖沼通报, 2015(2): 59-67.]
- [24] Li Z, Liang H W, Luo X Z, et al. A consecutive self-proliferate silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) variety created through artificial meiotic gynogenesis[J]. Aquaculture, 2015, 437: 21-29.
- [25] Aranis A, Muñoz G, Quiroz J C, et al. Identification of morphologic traits for a rapid differentiation of Patagonian sprat (*Sprattus fuegensis*) and Chilean herring (*Strangomera bentincki*)[J]. Latin American Journal of Aquatic Research, 2014, 42(5): 1063-1071.
- [26] Li D, Liu C L, Li A. Principal component analysis of the morphometric traits of the cuttlebone of *sepia esculenta* at early developmental stages[J]. Progress in Fishery Sciences, 2017, 38(5): 41-49. [李达, 刘长琳, 李昂, 等. 金乌贼(*Sepia esculenta*)早期发育阶段内壳形态学指标的主成分分析[J]. 渔业科学进展, 2017, 38(5): 41-49.]
- [27] Wang L M, Zhu W B, Dong Z J, et al. Differential analysis on growth of FFRC strain common carp (*Cyprinus carpio*) selection families at various culture stages[J]. South China Fisheries Science, 2017, 13(1): 43-49. [王兰梅, 朱文彬, 董在杰, 等. 福瑞鲤选育家系不同养殖阶段的生长差异分析[J]. 南方水产科学, 2017, 13(1): 43-49.]
- [28] Beacham T D, Lapointe M, Candy J R, et al. DNA in action: rapid application of DNA variation to sockeye salmon fisheries management[J]. Conservation Genetics, 2004, 5(3): 411-416.
- [29] Kalinowski S T. How many alleles per locus should be used to estimate genetic distances[J]. Heredity, 2002, 88(1): 62-65.
- [30] Wu J, Hou F, Liang J, et al. Development of ten microsatellite DNA markers in a hexaploid fish, *Schizothorax prenanti* (Tchang)[J]. Conservation Genetics Resources, 2013, 5(2): 545-547.
- [31] Wu J Y, Hou F X, Wang Y, et al. Isolation and characterization of twenty tetranucleotide microsatellite DNA makers in a schizothoracin fish, *Schizothorax prenanti* (Tchang)[J]. Conservation Genetics Resources, 2013, 5(4): 891-894.
- [32] Zhan H M, Xu S Z. Generalized linear mixed model for segregation distortion analysis[J]. BMC Genetics, 2011, 12: 97.
- [33] Yu J H, Li H X, Li J L, et al. Characterization of growth hormone secretagogue receptor 1 (GHS-R1) genes and weight gain associated SNP loci in *Cyprinus carpio* var. *jian*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2012, 19(3): 390-398. [俞菊华, 李红霞, 李建林, 等. 建鲤生长激素分泌素受体 1 基因的特性及其与增重相关 SNP 位点的筛选[J]. 中国水产科学, 2012, 19(3): 390-398.]
- [34] Liu Z J, Cordes J F, Zhou X. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics[J]. Aquaculture, 2004, 238(1-4): 1-37.
- [35] He F, Wen H S, Dong S L, et al. Identification of single nucleotide polymorphism cytochrome P450-c19a and its relation to reproductive traits in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. Aquaculture, 2008, 279(1-4): 177-181.
- [36] Ren H, Yu J, Xu P, et al. Single nucleotide polymorphisms of $\Delta 6$ -desaturase and Elov15 segments and their associations with common carp (*Cyprinus carpio*) growth traits[J]. Genetics and Molecular Research, 2015, 14(4): 12848-12854.
- [37] Ruan R X, Yu J H, Li H X, et al. Isolation of two growth hormone receptor genes and SNPs associated with body weight in GIFT strain tilapia *Oreochromis niloticus*[J]. Chinese Journal of Zoology, 2011, 46(3): 37-46. [阮瑞霞, 俞菊华, 李红霞, 等. 吉富罗非鱼两种生长激素受体基因的分选及与增重相关的 SNPs 位点[J]. 动物学杂志, 2011, 46(3): 37-46.]
- [38] Zhan X, Wen H Y, Shi Y H, et al. Association between novel EST-SNPs and commercial traits in *Pinctada fucata marten-sii*[J]. Aquaculture Reports, 2016, 3: 209-213.

Association analysis between SNP markers and growth-related traits in *Schizothorax prenanti*

YANG Yuejing, XIANG Mengbin, YE Xiangyi, ZHANG Zhengshi, LUO Hui, YE Hua

Fisheries Breeding and Health Cultivation Research Center, Southwest University, Chongqing 402460, China

Abstract: *Schizothorax prenanti*, an economically important, cold-water fish species, has rich nutritional value and high economic value. With the increase in artificial breeding and breeding intensification, the germplasm resources of *S. prenanti* have been degraded, which is revealed in individual miniaturization, slow growth, and decreased disease resistance. Therefore, it is necessary to screen the molecular markers of growth traits and use molecular-marker-assisted breeding. In order to acquire some reliable molecular genetic markers for growth-related traits, the correlation analysis of 26 SNP markers and growth-related traits in *S. prenanti* were analyzed using 114 samples with the same growth conditions. A principal component analysis showed that body weight accounted for 93.42% of the variance, the eigenvalue was greater than 1 and the accumulative variance ratio was more than 85%, and it was the first principal component of the growth traits of *S. prenanti*. Correlation analysis between genotypes of SNPs and growth traits indicated that *ug17711-0-2201* was significantly correlated with total length ($P<0.05$), and *ug24013-0-3669* showed a significant influence on total length and body length ($P<0.05$). There was a significant association between *ug25050-0-1678* and body weight, body height, total length, and body length ($P<0.05$); *ug22712-0-2452* and the body weight, body height, and body length were significantly associated ($P<0.01$). We also estimated that the genetic diversity parameters for 4 loci were significantly correlated with the growth traits. The mean observed heterozygosity, expected heterozygosity, and polymorphism information content (PIC) were 0.2369, 0.2110 and 0.17 respectively. The polymorphism of *ug25050-0-1678* was moderate ($0.25 \leq \text{PIC} < 0.5$). In conclusion, *ug25050-0-1678* and *ug22712-0-2452* were significantly associated with growth traits, and could be used as important candidate molecular markers for breeding selection of *S. prenanti*. Our results could provide an effective basis for the study of genetic improvement and selective breeding in *S. prenanti*.

Key words: *Schizothorax prenanti*; SNP markers; growth traits; correlation analysis

Corresponding author: YE Hua. E-mail: yhlh2000@126.com