

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2008.00359

镜鲤繁殖群体的遗传结构及微卫星标记与经济性状的相关性分析

孙新^{1,2}, 魏振邦^{1,2}, 孙效文¹, 张研³, 鲁翠云¹

1. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 哈尔滨 150070;
2. 大连水产学院生命科学与技术学院, 大连 116023;
3. 上海水产大学生命科学与技术学院, 上海 200090

摘要: 选用 35 个多态性微卫星分子标记对天津换新良种场镜鲤一个繁殖群体的有效等位基因数(A_e)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、多态信息含量(PIC) 等进行了检测, 以卡方检验估计群体 Hardy-Weinberg 平衡。结果表明: 在 35 个基因座共检测到 118 个等位基因, 平均等位基因数为 3.37 个, 每个座位检测到的等位基因数 2~7 个不等, 平均有效等位基因数为 2.16, 观测杂合度平均值 0.431, 无偏期望杂合度的平均值为 0.4736, 平均多态信息含量 0.42, 说明这个群体属于中度多态, 遗传多样性水平不高。卡方检验的 P 值显示多于半数的位点都发生了偏离。并将 35 个基因座的不同基因型与个体的体重、体长值进行了连锁分析, 得到了 4 个与体重、体长连锁的基因型, 并将所得结果与鲤鱼体长性状 QTL 定位结果进行对比, 其中 HLJ319 标记与 QTL 定位结果基本一致。分析了几个严重偏离平衡的基因型, 并讨论出现这种现象的可能原因。

关键词: 镜鲤; 遗传结构; 相关分析; 微卫星

Analysis of genetic structure of mirror carp population and correlation of microsatellite markers and economic traits

SUN Xin^{1,2}, WEI Zhen-Bang^{1,2}, SUN Xiao-Wen¹, ZHANG Yan³, LU Cui-Yun¹

1. Heilongjiang Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Harbin 150070, China;
2. College of life Science and Technology, DaLian Fisheries University, Dalian 116023, China;
3. College of Aqua-life Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China

Abstract: The genetic structure of one breeding population of mirror carp(*Cyprinus carpio* L.) was analysed using thirty-five polymorphic microsatellite markers. The effective number of alleles (A_e), observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e) and polymorphism information content(PIC) were all determined. The Hardy-Weinberg equilibrium was checked by chi-square test. For each locus, 2–7 alleles were detected, with a total of 118 alleles for 35 loci. The value of A_e , H_o , H_e and PIC showed that the genetic variation of the population was not high. The average effective num-

收稿日期: 2007-09-18; 修回日期: 2007-12-05

基金项目: 国家重大基础研究发展计划(编号: 2004CB117405) 和国家公益性计划(编号: 2005DIB4J024)资助[Supported by Key Project of Chinese National Programs for Fundamental Research and Development (No. 2004CB117405) and Project of Chinese Commonweal Programs (No. 2005DIB4J024)]

作者简介: 孙新(1982-), 女, 黑龙江人, 硕士研究生, 研究方向: 动物遗传与育种。E-mail: xinmeimei@126.com

通讯作者: 孙效文(1955-), 男, 吉林人, 博士生导师, 研究方向: 水产动物基因工程育种。Tel: 0451-84862646; E-mail: sunxw2002@163.com

ber of alleles and the mean polymorphism information content were 2.16 and 0.42, respectively, and the observed and expected heterozygosity were 0.431 and 0.4736, respectively. The probability value of chi-square test showed that more than half of the thirty-five loci have significantly ($P < 0.01$) deviated from Hardy-Weinberg equilibrium. The correlation of genotype of each locus and individual phenotype data was analysed, and 4 loci seemed associated with body weight and body size. When compared with the result of QTL mapping of common carp, HLJ319 locus was consistent with the mapping result approximately, which was significantly correlated with body size. Several significantly deviated loci were also analysed, and the possible cause of the kind of deviation was discussed.

Keywords: mirror carp; genetic structure; correlation analysis; microsatellite

德国镜鲤(*Cyprinus carpio* L.) 是散鳞镜鲤的变种经人工选育成高度驯化和生长快的养殖品种, 原产于德国巴伐利亚。80 年代引入我国, 经过黑龙江水产研究所系统选育, 培育出抗寒、抗病, 适于我国大部分地区养殖的德国镜鲤选育系^[1,2]。镜鲤生长快, 易捕捞^[3], 是近年来池塘养殖鲤的主要品种。但随着养殖面的扩大, 出现发病率增加、性成熟个体变小等种质衰退现象, 因此开展镜鲤良种和养殖群体的遗传变异研究, 将有利于抑制养殖群体的种质退化, 有利于这一优异种质资源的开发、利用与保护。

微卫星是近年来发展迅速的分子标记, 由于其具有共显性遗传、检测方便快捷、多态信息含量高优点, 已经被广泛应用于群体遗传结构分析、遗传图谱构建、QTL定位等方面^[4-6]。微卫星应用于鲤鱼群体上的研究很多^[7-11], 但用遗传标记分析镜鲤群体遗传变异的研究较少。全迎春等^[12]利用微卫星标记探讨 5 个镜鲤群体的遗传结构, 认为这些群体属于高度多态。孙效文等^[13]对 2 个镜鲤繁殖群体进行遗传分析, 并探索经高强度选择后镜鲤群体与繁殖、生

长、易感病害等性状相关的基因座位和基因型。本研究所用镜鲤群体为孙效文等^[13]所研究群体的 F_1 代, 是经过进一步的人工选择繁育的, 通过分析群体遗传结构以及分子标记与经济性状的相关性, 并且与其亲本数据进行比较和验证, 以期对镜鲤群体的遗传结构优化, 避免遗传衰退等提供更准确的数据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验鱼群体

镜鲤繁殖群体采自天津换新国家级良种场, 这个群体经过强度较大的人工选择。从这个群体中随机取样 48 尾, 测量体重、体长等表型数据。

1.1.2 引物和试剂

本研究共使用 35 个鲤鱼微卫星标记, 均来自本实验室通过磁珠富集法获得的鲤鱼微卫星序列。这些标记经鉴定具较高多态性且分型效果好。引物信息见表 1。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,

表 1 35 个鲤鱼微卫星标记

Table 1 Characterization of common carp microsatellite markers

位点 Locus	重复序列 Repeat sequence	引物序列 Primer sequence	复性温度 Annealing temperature()
HLJ041	(CA) ₂₄	F:AGACCACCGCAGTAACAA R:GACTACTCAGCACCAGA	53
HLJ044	(CA) ₂₈	F:GTACAGCGTGACAGCATT R:AAGTTCATCGGTGTCCTC	53
HLJ046	(GT) ₁₄	F:AACCCTGAACTCACAAAC R:CACGAAACTGAGAAGAC	53
HLJ055	(CT) ₁₁ (CA) ₂₉	F:GGTACAACGGAACACACA R:TGATTGACAGGCAGTGGG	54
HLJ057	(GT) ₂₃	F:GAATGTCATGCGGTTTCAT R:TATTGCTGGGTGTCCTC	51
HLJ129	(CT) ₆ (GT) ₃₅	F:TAAGATACCACCTAGCAACC R:GCACCTCCTGAACACTGAC	52

续表

位点 Locus	重复序列 Repeat sequence	引物序列 Primer sequence	复性温度 Annealing temperature()
HLJ133	(GT) ₂₅	F:AAGGGCGGGTTATCTCAC R:CACAGGCATCCCATCAGT	52
HLJ302	(CA) ₂₃	F:ACCTCATTTGAATCCCTG R:AAATAGAGTTTGTGTGCTGA	50
HLJ307	(CA) ₁₈	F:ATCATTTGTATTTCGTGCTTG R:GATCCACTGGGTCCTTTT	53
HLJ319	(CA) ₁₄	F:CAGTGGGATTGTGGGAGT R:CAGGGAGGGTCAAAGGTC	53
HLJ328	(CA) ₃₀	F:CCTGACACCTGCCGTTCT R:TCCTCTGTTCTGCCTCCC	51
HLJ330	(TG) ₁₇	F:TGAGGTGAGCGTGAGGCA R:CACTGAGCGACAGGGTTC	51
HLJ338	(AC) ₅₈	F:GAAGAATGGGTGAGTAAGA R:ACTAGGATTTGGAAGAGC	51
HLJ343	(TG) ₃₂	F:TCCTCACAACCCTCCGTAT R:CAAAGGCATCCCATCAGT	51
HLJ352	(AC) ₃₁	F:TGACGGACAGAATCAGACG R:CAGCCTCATCAACAAGTGC	54
HLJ372	(GT) ₁₈ AT(GT) ₅	F:TCTACTTCTACCGCCACT R:GACTATTCACCTGCATCTT	54
HLJ376	(CA) ₁₃	F:AAGAAGGACTACGAGGAGA R:TTCGGTTGCTTACTATGA	54
HLJ379	(CT) ₁₃ CG(CT) ₅	F:GGGGAGACGAGAAGTGCA R:AGCAGGTCTGTGGGCAAG	54
HLJ380	(CA) ₃₄	F:AGGCAGACGAAAGGTAAA R:CTCGCTTCTGTAGGCATT	54
HLJ383	(CA) ₁₄	F:GGCTCCTCCTCATCCTCT R:GCACTTCTGCACCTTTCA	51
HLJ392	(CA) ₂₂	F:GGCTACAAGGCAACACTG R:TGCGGTTAATGAGGTCTG	54
HLJ400	(CA) ₂₂	F:AAGAAGCCTCGGTCCTCC R:AAAGCCCAAAGCACATCA	51
HLJ518	(CA) ₄₄	F:CGACCGAACTCAGAACAC R:GAGCACCAGCATTAAACAGA	52
HLJ519	(CA) ₃₁	F:CTGCTGGCTTCTATTTATT R:GTGTTACTATGGCGGTGT	52
HLJ526	(CA) ₂₅	F:CTTCTGCTCATACGGGTTTC R:ACGGCGTTTCGTTGTGGAT	50
HLJ546	(TG) ₂₅	F:GTCAGCGGTCAGAGGTAA R:CACGTCATCAGACCCTTC	53
HLJ549	(CA) ₁₃	F:GCTAACTGCCATTCTTCTG R:CTGGGTTTCCACATCCTT	53
HLJ555	(GT) ₁₅	F:TGACGGTGATACTTGTGC R:AACCACCTGTCGCTTCTA	53
HLJ617	(GT) ₅ (GT) ₁₁	F:AGGTGACTAATGCTTGCGATAC R:AACCCTGTGAACCATCCATC	52
HLJ713	(GT) ₄₀	F:ACCAGCAGACAGGATACGA R:ATCGCCAGCCCTAACAC	52
HLJ718	(CA) ₁₈	F:CCAGCTTGGGAAACTTCT R:TTCTGTCACTCGGGAGCA	50
HLJ725	(GA) ₁₂	F:GGGTCAGTTAATAAGAGTG R:GAGGAAAATTGATAAACAC	50
HLJ732	(TG) ₂₅	F:GCCCCACTATGACCAGTAA R:AACAGAAAGAACGGGAGA	52
HLJ752	(TG) ₅ (GT) ₇	F:CAGAAATGTGCTGTGAA R:CTGGGAAAGTGCAGAGTG	52
HLJ855	(AC) ₄₄	F:CGACCGAACTCAGAACAC R:GAGCACCAGCATTAAACAGA	50

分子量标准为宝生物工程(大连)有限公司的 DL2000, 其他试剂为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取和纯化

剪取新鲜尾鳍, 酚氯仿法抽提基因组 DNA 并纯化, 具体步骤参考《分子克隆实验指南》^[14]。

1.2.2 PCR 反应程序

PCR 扩增反应总体积为 25 μ L, 其中 PCR 反应缓冲液 18 μ L (0.25 mmol/L, pH 8.3 的 Tris-Cl, 1.25 mmol/L KCl, 0.0375 mmol/L MgCl₂, 2.5×10^{-6} Gelatin, 2.5×10^{-5} Tween, 2.5×10^{-5} NP-40, 0.005 mmol/L dNTP); 基因组 DNA 约 50 ng, 微卫星引物 1 μ L (上游、下游引物浓度均为 10 μ mol/L), Taq 聚合酶 1 U, 无菌超纯水补足总体积至 25 μ L。PCR 反应程序: 预变性 94 $^{\circ}$ C, 3 min; PCR 循环程序为变性 94 $^{\circ}$ C, 30 s; 复性 50~56 $^{\circ}$ C, 30 s; 延伸 72 $^{\circ}$ C, 30 s; 总计 40 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。

1.2.3 扩增产物检测

PCR 扩增反应产物采用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 220 V 电泳 2 h 左右, Gold View 染色, 紫外检测记录电泳结果, Gel-Pro Analyzer 4.5 软件分析每个扩增条带的分子量与产物量的差异性。

1.2.4 数据分析

从琼脂糖电泳图上直接判断个体的基因型。使用 PopGene (Version 3.2) 软件统计微卫星基因座的等位基因频率 (Allele frequency, P)、等位基因数 (Observed number of alleles, A)、有效等位基因数 (Effective number of alleles, A_e)、观测杂合度 (Observed heterozygosity, H_o)、期望杂合度 (Expected heterozygosity, H_e)、多态信息含量 (Polymorphism information content, PIC), 根据 Botstein 等^[15]公式计算: $PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i^2 P_j^2$; 其中 n 为某一位点上等位基因数, P_i 、 P_j 分别为第 i 和第 j 个等位基因在群体中的频率, $j=i+1$ 。

基因座间连锁不平衡分析, χ^2 检验估计群体 Hardy-Weinberg 平衡偏离也由 PopGene (Version 3.2) 软件给出。

2 结果

2.1 PCR 扩增结果

35 个微卫星标记在换新群体中经 PCR 扩增和

琼脂糖凝胶电泳检测后均表现出清晰的片段大小和一定的多态性。在 35 个微卫星座位共检测到 118 个等位基因, 平均等位基因数为 3.37 个, 每个座位检测到的等位基因数 2~7 个不等。部分琼脂糖凝胶电泳结果见图 1、图 2。



图 1 引物 HLJ133 的 PCR 扩增结果

Fig. 1 PCR amplification profile of HLJ133

M: DNA marker DL2000.



图 2 引物 HLJ549 的 PCR 扩增结果

Fig. 2 PCR amplification profile of HLJ549

M: DNA marker DL2000.

2.2 群体遗传多样性分析

35 个微卫星标记在换新群体中检测到的有效等位基因数在 1.01~6.36 之间, 平均值为 2.16; 观测杂合度在 0.08~0.75 之间, 平均值为 0.431; 无偏期望杂合度在 0.08~0.85 之间, 平均值为 0.4736; 多态信息含量 (PIC) 在 0.08~0.84 之间, 平均值为 0.42。说明这个群体属于中度多态, 遗传多样性水平不高。通过计算基因型的 P 值检验发现在 35 个位点上共有 15 个处于平衡状态, 其余 20 个位点均发生了不同程度的偏离。部分统计数据见表 2。

2.3 基因座间的连锁分析

经 Fisher 模型作卡方检验和马尔科夫链模型计算两位点间的基因型不平衡值 (genotypic disequilibrium value), 除基因座 HLJ133 与 HLJ379, HLJ380 与 HLJ041, HLJ518 与 HLJ855 存在一定程度的连锁 ($P < 0.05$), 其余基因座连锁关系不显著。

2.4 经济性状与基因座位和基因型的相关分析

经计算, 换新群体 48 尾鱼的平均体重、体长分别是 12.97 cm, 87.83 g。将所有个体的体重、体长数据与所有基因型对比进行统计分析, 得到如下结果: 与体重显著相关的基因座位是 HLJ328、HLJ343、HLJ352, 其中 HLJ328、HLJ343 还与体长显著相关, HLJ319 也与体长显著连锁。统计结果见表 3。

2.5 相关性分析结果与 QTL 定位结果的比较

将上述与主要经济性状相连锁的分子标记统计

结果与张研等^[16] 利用鲤鱼重组自交系群体对体长性状的QTL定位结果进行对比, 发现: 与体长性状

连锁的 4 个标记中, HLJ319 与鲤鱼体长 QTL 定位结果基本一致, 遗传图谱将其定位在第二连锁群

表 2 镜鲤 35 个微卫星座位的遗传多样性统计数据

Table 2 Data of genetic diversity of 35 microsatellite loci for mirror carp

位点 Locus	<i>A_e</i>	<i>H_o</i>	<i>H_e</i>	<i>PIC</i>	<i>P</i>
HLJ041	2.22	0.27	0.56	0.45	0.002617 * *
HLJ044	2.39	0.46	0.59	0.52	0.000000
HLJ046	1.55	0.46	0.36	0.29	0.044974
HLJ055	6.36	0.29	0.85	0.82	0.000000 * *
HLJ057	1.62	0.40	0.39	0.35	0.000000 * *
HLJ129	1.57	0.40	0.37	0.30	0.596331
HLJ133	1.94	0.35	0.49	0.46	0.000000 * *
HLJ302	2.79	0.42	0.65	0.61	0.000000 * *
HLJ307	1.64	0.42	0.39	0.35	0.915980
HLJ319	2.84	0.71	0.66	0.60	0.000158 * *
HLJ328	3.92	0.56	0.75	0.70	0.000000 * *
HLJ330	1.52	0.44	0.35	0.28	0.059304
HLJ338	2.20	0.35	0.55	0.49	0.000000 * *
HLJ343	2.86	0.13	0.66	0.84	0.000000 * *
HLJ352	1.31	0.27	0.24	0.21	0.299306
HLJ372	1.20	0.19	0.17	0.16	0.501252
HLJ376	1.31	0.27	0.24	0.21	0.299306
HLJ379	1.72	0.50	0.42	0.35	0.000000 * *
HLJ380	2.39	0.42	0.59	0.54	0.000003 * *
HLJ383	1.68	0.48	0.41	0.32	0.223853
HLJ392	1.47	0.40	0.32	0.27	0.097452
HLJ400	4.04	0.48	0.76	0.71	0.000000 * *
HLJ518	2.04	0.58	0.51	0.44	0.023521
HLJ519	1.78	0.60	0.44	0.34	0.009902 * *
HLJ526	2.44	0.63	0.60	0.52	0.000034 * *
HLJ546	1.44	0.29	0.31	0.26	0.708240
HLJ549	1.09	0.08	0.08	0.08	0.795209
HLJ555	1.49	0.42	0.33	0.28	0.076707
HLJ617	2.37	0.56	0.58	0.51	0.000003 * *
HLJ713	1.35	0.29	0.26	0.24	0.732017
HLJ718	1.96	0.35	0.49	0.45	0.000000 * *
HLJ725	1.94	0.75	0.49	0.39	0.000804 * *
HLJ732	2.35	0.75	0.58	0.49	0.000000 * *
HLJ752	2.88	0.48	0.66	0.58	0.000000 * *
HLJ855	1.92	0.65	0.49	0.42	0.014712
均值 Average	2.16	0.43	0.47	0.42	

A_e: 有效等位基因数; *H_o*: 观测杂合度; *H_e*: 期望杂合度; *PIC*: 多态信息含量; *P*: Hardy-Weinberg 平衡的卡方检验, * *: $P < 0.01$ 。

A_e: Effective number of alleles; *H_o*: Observed heterozygosity; *H_e*: Expected heterozygosity; *PIC*: Polymorphism information content; *P*: Probability value of chi-square test for Hardy-Weinberg equilibrium, * *: Means $P < 0.01$.

表 3 各个基因座位的基因型与经济性状的相关性分析

Table 3 The correlation analysis between genotype of each locus and economic traits

性状 Traits	座位 Locus	基因型 Genotype	平均值 Average values	均值百分比 Percentage of mean values	P 值 Probability value
体重 Body weight(g)	HLJ328	320/320	53.25	0.61	0.029379*
	HLJ343	165/130	31.33	0.36	0.027866*
	HLJ352	286/250	62.69	0.72	0.043076*
体长 Body size(cm)	HLJ319	326/264	15.23	1.17	0.049138*
	HLJ328	320/320	11.07	0.85	0.024056*
	HLJ343	165/130	9.23	0.71	0.005423**

* : $P < 0.05$, 差异显著; ** : $P < 0.01$, 差异极显著; 均值百分比: 同一基因型个体的体重或体长均值与总体体重或体长均值的百分比。

* : Means $P < 0.05$; ** : Means $P < 0.01$; Percentage of mean values means the percentage of mean body weight (body size) to total mean body weight (body size) for the individuals have the same genotype.

HLJ190-HLJ497 区间, 而 HLJ328、HLJ343 是否与体长相关, 还需要以后进行验证。由于没有进行鲤鱼体重性状的 QTL 定位, 所以 HLJ328、HLJ343、HLJ352 是否与体重连锁也需要进一步验证。

2.6 与亲本群体遗传多样性的比较分析

选择与其亲本群体研究^[13]所用一致的微卫星标记共 18 个重新计算群体的遗传结构, 再计算其亲本群体的各项遗传参数值, 得到如下结果(表 4)。

表 4 与亲本群体遗传多样性的比较

Table 4 The comparison of genetic diversity of parental population and F₁ population

群体 Population	有效等位 基因数 <i>A_e</i>	期望杂合度 <i>H_e</i>	多态信息含量 <i>PIC</i>
本研究用群体 F ₁ population	2.43	0.5116	0.4731
亲本群体 Parental population	2.80	0.5524	0.5223

3 讨论

3.1 镜鲤群体的遗传多样性水平分析

A_e、*H_o*和 *H_e*等都是反映群体遗传多样性的度量, 其数值越大, 说明基因丰富度越高。换新群体的 *A_e*=2.16, *H_o*=0.43, *H_e*=0.47, *PIC*=0.42, 从结果上看镜鲤的遗传多样性水平不高, 处于中等水平, 明显低于 Lehoczky 等^[17]报道的 6 个鲤鱼群体 *H_o*: 0.557~0.764, *H_e*: 0.642~0.737。与全迎春等报道的镜鲤群体 *A_e*=7.94, *H_e*=0.63 相比, 本群体的遗传多样性水平较低, 也低于孙效文等得出的镜鲤群体 *A_e*=2.87, *H_e*=0.57, *PIC*=0.53。本研究用标记与孙效文等^[13]研究所用标记有部分重合但并不完全一致,

为了能够与其亲本群体遗传结构进行较准确的比较, 我们选择了 18 个与其亲本群体研究所用一致的分子标记重新计算两群体的遗传参数, 得到子代群体 *A_e*=2.43, *H_e*=0.51, *PIC*=0.47; 亲本群体 *A_e*=2.80, *H_e*=0.55, *PIC*=0.52。可以看出子代群体的遗传多样性水平仍低于其亲本群体, 只是标记和标记数量一致时杂合度和 *PIC* 值等参数接近程度高一些。我们推测造成这种结果的原因主要是人工选择的作用, 由于本研究用群体与其亲本群体相比经过进一步的选择, 因此在选择压力下, 一些稀有等位基因丢失, 某些等位基因和基因型出现频率较高, 造成了群体的遗传多样性水平降低。

有效等位基因数是反映群体遗传变异大小的一个指标, 等位基因在群体中分布越均匀, 其数值越接近所检测到的等位基因的绝对数^[18]。在本研究中某些座位如 HLJ057, *A*=5, *A_e*=1.6, *A_e* 明显小于 *A*。在群体中 35 个位点共检测到 118 个等位基因, 统计有效等位基因数为 75.6, 远低于实际等位基因数, 这些结果表明所检测的基因座位的等位基因在群体中分布不均匀。推测在换新镜鲤长期选育过程中, 某些位点受到了较大的选择压力, 从而造成了某些基因座位等位基因分布的不均匀。卡方检验 Hardy-Weinberg 平衡结果表明所检测的 35 个位点中, 20 个位点的基因型分布极显著偏离了 Hardy-Weinberg 平衡, 说明群体内的基因型频率发生了较大改变, 这种改变与突变、杂交、选择等因素有着密切的关系^[19], 但主要还是与高强度的人工选择有关。

3.2 偏离的基因型

位点 HLJ752 的 215/191 基因型个体数为零, 但按基因型频率计算 215/191 基因型个体数理论上应该有 14 个, 这种基因型完全丢失的情况是不符合基

因型分布规律的。HLJ752 座位上共有 3 个基因型, 没有一个与体重连锁, 说明体重选择压力与 215/191 基因型出现的多少无关。我们推测 215/191 基因型为疾病易感型, 具有这种基因型的个体在养殖过程中由于易感疾病而死亡或者在选择时被淘汰。这种推测是否正确还有待进一步验证。在孙效文等的研究中, 其亲本群体也出现了一个这样的基因型, 座位 HLJ400 的 358/319, 这个基因型的个体数为零, 理论上应该出现 15 个。但在本研究的群体中 HLJ400 座位的各基因型并未表现出严重的偏离。由于其亲本群体没有检测标记 HLJ752, 所以不能与其亲本进行对比分析。

基因座 HLJ343 的 165/150 基因型个体数理论上应该有 15 个, 但是只出现了 1 个, 而 165/165 和 150/150 基因型的个体数理论上应分别出现 9 和 5 个, 实际上却分别有 20 和 15 个。出现这种情况的原因可能与选择有关, HLJ343 座位上共有 7 种基因型, 其中 165/130 基因型与体重显著连锁。165/150 个体的体重值小于整体平均值, 而 165/165 和 150/150 个体的体重均值均大于整体均值, 可能在选择的过程中, 体重偏小的杂合子个体在选择压力作用下逐渐被淘汰, 而体重偏大的纯合基因型个体被富集。由于本研究用群体只是一个群体且样本量不是很多, 所以得出的实验结果会有一定偏差, 应在以后研究中加大样本量。

3.3 与性状相关的标记及基因型的应用价值

标记-性状连锁分析是根据标记位点的基因型以及数量性状的表型对个体进行显著性检验, 差异显著则说明标记与数量性状存在关联。因此, 如果一个群体的性状差异显著, 或两个群体的差异很大, 就可以通过标记与性状的相关分析, 找出性状与一个或多个标记的遗传相关, 一旦发现显著相关, 即可认为存在一个数量性状位点, 从而实现从表型到基因型选择育种的转变^[20]。本研究共获得 4 个与体重/体长相关的分子标记及基因型, 其中 HLJ319 为体长性状相关, 这与张研等^[16]的鲤鱼体长 QTL 定位结果基本一致。说明该基因座与控制体长性状的主效基因相连锁, 可用于今后的镜鲤分子标记辅助育种工作。其他与体重/体长相关的分子标记及基因型, 如经在其他群体进一步验证后, 可作为体重/体长选择标记用于镜鲤新品系选育。而一些极偏离平衡的标记可能与易患疾病有关, 有可能作为筛选抗病品系的标记。

3.4 利用非近交群体进行性状连锁分析的优势与缺点

经济性状的 QTL 定位研究多数是利用近交 (inbred) 群体能够获得较为满意的结果^[21]。而本研究应用的是非近交群体, 一个随机交配的外交群体, 由于每个基因座位上的等位基因较多, 同一基因型的个体数偏少而使与经济性状连锁的结果产生偏差或错误^[13]。因此本研所得到的与经济性状连锁的标记还有待进一步验证。现在也有一些利用随机群体进行分子标记与经济性状连锁分析的报道^[19,22]。经济性状与遗传标记的连锁分析是种质研究中很有意义的部分, 但如果想进行经济性状的 QTL 定位还存在很多问题和难度。本研究利用较多的微卫星标记分析镜鲤群体, 为群体经济性状与遗传标记之间建立连锁关系提供了一种技术途径。由于我们所用群体是经过长期选择的, 遗传多样性水平有所下降, 每个基因座的等位基因数也相对减少, 同一基因型的个体数趋于增多, 因此在一定程度上可以减小利用外交群体进行连锁分析所带来的偏差。在以后进行这样的研究时可以通过增加群体的样本数以减小错误, 降低偏差。

参考文献(References):

- [1] LIU Ming-Hua, BAI Qing-Li, SHEN Jun-Bao. Choose breeding and application research of Germany mirror carp. *Journal of Fisheries of Heilongjiang*, 1995, 61(3): 4-10.
刘明华, 白庆利, 沈俊宝. 德国镜鲤选育及生产应用研究. *黑龙江水产*, 1995, 61(3): 4-10.
- [2] SHEN Jun-Bao, YAN Yun-Qin. Comparative studies on the inheritance of the major morphological traits of *Cyprinus pellegrini* C. carpio (scattered), *C. carpio* (red carp) and their hybrid F₁. *Acta Genetica Sinica*, 1987, 4(1): 49-55.
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. *遗传学报*, 1987, 4(1): 49-55.
- [3] YIN Hong-Bin, LIU Ming-Hua, SHEN Jun-Bao, SUN Zhong-Wu. Nucleontype research of Germany mirror carp. *Biology Technology*, 1995, 5(3): 16-18.
尹洪滨, 刘明华, 沈俊宝, 孙中武. 德国镜鲤的核型研究. *生物技术*, 1995, 5(3): 16-18.
- [4] TANG Qing-Ping, CHEN Kuan-Wei, LI Hui-Fang, ZHANG Shuang-Jie, ZHAO Dong-Wei. Analysis of the genetic diversity of 12 Chinese indigenous black-bone chicken breeds using microsatellite marker. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2005, 36(8): 755-760.
汤青萍, 陈宽维, 李慧芳, 章双杰, 赵东伟. 应用微卫星标记对 12 个地方乌骨鸡品种遗传多样性的研究. *畜*

- 牧兽医学报, 2005, 36(8): 755–760.
- [5] QU Yan-Chun, DENG Chang-Yan, XIONG Yuan-Zhu, SU Yu-Hong, ZHENG Rong, LIU Gui-Lan. The microsatellite polymorphism research on porcine chromosome 1 and the construction of its genetic map. *Hereditas (Beijing)*, 2002, 24(5): 539–542.
屈彦纯, 邓昌彦, 熊远著, 苏玉虹, 郑嵘, 刘桂兰. 猪 1 号染色体微卫星多态性研究及遗传连锁图谱的构建. 遗传, 2002, 24(5): 539–542.
- [6] XU Ning-Ying, Thomsen H, Reinsch N, Looft C, Kalm E. Study of mapping QTLs for milk traits on the German dairy cattle. *Acta Genetica Sinica*, 2000, 27(9): 772–776.
徐宁迎, Thomsen H, Reinsch N, Looft C, Kalm E. 利用微卫星进行奶牛数量性状基因位点定位的研究. 遗传学报, 2000, 27(9): 772–776.
- [7] David L, Rajasekaran P, Fang J, Hillel J, Lavi U. Polymorphism in ornamental and common carp strains (*Cyprinus carpio* L.) as revealed by AFLP analysis and a new set of microsatellite markers. *Mol Genet Genomics*, 2001, 266 (3): 353–362. [\[DOI\]](#)
- [8] ZHOU J, WU Q, WANG Z, Ye Y. Genetic variation analysis within and among six varieties of common carp (*Cyprinus carpio* L.) in China using microsatellite markers. *Russ J of Genet*, 2004, 40: 1144–1148. [\[DOI\]](#)
- [9] Mohindra V, Anshumala, Punia P, Narain L, Kapoor D, Lal KK. Microsatellite loci to determine population structure of *Labeo dero* (Cyprinidae). *Aquat Living Resour*, 2005, 18: 83–85. [\[DOI\]](#)
- [10] Lal KK, Chauhan T, Mandal A, Singh RK, Khulbe L, Ponniah AG, Mohindra V. Identification of microsatellite DNA markers for population structure analysis in Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton-Buchanan, 1882). *J of Appl Ichthyol*, 2004, 20(2): 87–91. [\[DOI\]](#)
- [11] Kohlmann K, Gross R, Murakaeva A, Kersten P. Genetic variability and structure of common carp (*Cyprinus carpio*) populations throughout the distribution range inferred from allozyme, microsatellite and mitochondrial DNA markers. *Aquat Living Resour*, 2003, 16: 421–431. [\[DOI\]](#)
- [12] QUAN Ying-Chun, LI Da-Yu, CAO Ding-Chen, SUN Xiao-Wen, LIANG Li-Qun. Population genetic variation and structure analysis on five populations of mirror carp *Cyprinus carpio* L. using microsatellites. *Hereditas (Beijing)*, 2006, 28(12): 1541–1548. [\[DOI\]](#)
全迎春, 李大宇, 曹鼎臣, 孙效文, 梁利群. 微卫星标记探讨镜鲤的种群结构与遗传变异. 遗传, 2006, 28(12): 1541–1548.
- [13] SUN Xiao-Wen, LU Cui-Yun, KUANG You-Yi, JIN Wan-Kun, SHEN Jun-Bao, ZHU Xiao-Dong, LI Da-Yu, MA Hai-Tao, YU Dong-Mei. Analysis of the genetic structure of two mirror common carp population and genotypes for some traits. *Journal of Fisheries of China*, 2007, 31(3): 273–279.
孙效文, 鲁翠云, 匡友谊, 金万昆, 沈俊宝, 朱晓东, 李大宇, 马海涛, 于东梅. 镜鲤两个繁殖群体的遗传结构和几种性状的基因型分析. 水产学报, 2007, 31(3): 273–279.
- [14] Sambrook J, Russell DW (Huang PT, Wang JX, Zhu HC, translation). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 3rd Edition. Beijing: Science Press, 2002.
萨姆布鲁克, 拉塞尔著(黄培堂, 王嘉玺, 朱厚础译). 分子克隆实验指南(第三版). 科学出版社, 2002.
- [15] Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet*, 1980, 32: 314–331.
- [16] ZHANG Yan, LIANG Li-Qun, CHANG Yu-Mei, HOU Ning, LU Cui-Yun, SUN Xiao-Wen. Mapping and genetic effect analysis of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) quantitative trait loci related to body size. *Hereditas(Beijing)*, 2007, 29(10): 1243–1248. [\[DOI\]](#)
张研, 梁利群, 常玉梅, 侯宁, 鲁翠云, 孙效文. 鲤鱼体长性状的 QTL 定位及其遗传效应分析. 遗传, 2007, 29(10): 1243–1248.
- [17] Lehoczy I, Magyary I, Hancz C, Weiss S. Preliminary studies on the genetic variability of six Hungarian common carp strains using microsatellite DNA markers. *Hydrobiologia*, 2005, 533: 223–228. [\[DOI\]](#)
- [18] Hines HC, ZiKakis JP, Haenlein GF, Kiddy CG, Trowbridge CL. Linkage relationships among loci of polymorphism in blood and milk of cattle. *Dairy Sci*, 1981, 64 (14): 71–76.
- [19] ZHU Xiao-Dong, GENG Bo, LI Jiao, SUN Xiao-Wen. Analysis of genetic diversity among silver carp populations in the middle and lower Yangtze River using thirty microsatellite markers. *Hereditas (Beijing)*, 2007, 29(6): 705–713. [\[DOI\]](#)
朱晓东, 耿波, 李娇, 孙效文. 利用 30 个微卫星标记分析长江中下游鲢群体的遗传多样性. 遗传, 2007, 29(6): 705–713.
- [20] WANG Gao-Fu, WU Deng-Jun. Correlation analysis of microsatellite DNA markers with wool traits in Liangshan semi-fine wool sheep. *Hereditas (Beijing)*, 2006, 28(12): 1505–1512. [\[DOI\]](#)
王高富, 吴登俊. 凉山半细毛羊微卫星标记与羊毛性状的相关分析. 遗传, 2006, 28(12): 1505–1512.
- [21] Majumder P, Ghosh S. Mapping quantitative trait loci in humans: achievements and limitations. *J Clin Invest*, 2005, 115(6): 1419–1424. [\[DOI\]](#)
- [22] JIN Mei, CUI Yi-Hou, FU Zhong-Yang, GAO Wen-Bo, WANG Wei. The correlation analysis of blood protein polymorphism with economic traits in Liaoning new-breeding Cashmere goat. *Hereditas(Beijing)*, 2006, 28(5): 529–532.
金梅, 崔义厚, 傅忠扬, 高文波, 王薇. 辽宁新品系绒山羊血液蛋白多态性及其与经济性状的关系. 遗传, 2006, 28(5): 529–532.