

DOI: 10.1360/yc-007-1509

微卫星 DNA 标记分析德国镜鲤的遗传潜力

侯宁^{1,3}, 张研^{1,2}, 鲁翠云¹, 李勇^{1,3}, 李大宇^{1,3}, 季旭^{1,3}, 丁雷^{1,3}, 孙效文¹

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

摘要: 结合体重、体长、体高等数量性状, 用 30 个微卫星分子标记, 评估了 3 个德国镜鲤群体的遗传潜力, 共检测到 287 个等位基因, 559 种基因型, 片段长度 109~400 bp, 有效等位基因数 1.1014~6.4665, 观察杂合度 0.0968~0.9892, 期望杂合度 0.0926~0.8554, 位点多态信息含量 0.08787~0.8559, 其中中度多态($0.25 \leq PIC < 0.5$)13 个, 高度多态($PIC \geq 0.5$)13 个。统计结果显示: 3 个群体的遗传潜力处于中度水平, 双来养殖群体的遗传潜力比换新和松浦繁殖群体低。同时, 用 30 个基因座的不同等位基因和基因型与双来群体的体重、体长、体高进行了连锁分析, 得到 2 个与镜鲤体长相关的微卫星分子标记(*HLJ319*, *HLJ693*)和 1 个与体高相关的位点(*HLJ677*), 与体长相关的 1 个位点(*HLJ693*)还与体重连锁。将此遗传标记在鲤鱼重组自交系中验证, 结果显示: 主要经济性状相连锁的 3 个遗传标记中 *HLJ319* 与鲤鱼体长性状的 QTL 定位结果基本一致。

关键词: 德国镜鲤; 经济性状; 遗传标记; 遗传潜力

Genetic potential analysis of Germany mirror carp (*Cyprinus carpio* L.) using microsatellite markers

HOU Ning^{1,3}, ZHANG Yan^{1,2}, LU Cui-Yun¹, LI Yong^{1,3}, LI Da-Yu^{1,3}, JI Xu^{1,3},
DING Lei^{1,3}, SUN Xiao-Wen¹

1. Heilongjiang Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Harbin 150070, China;
2. College of Aqu-life Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 20090, China;
3. College of Aqu-life Science and Technology, DaLian Fisheries University, DaLian 1160023, China

Abstract: Using 30 microsatellite markers and combining quantity characters such as body weight, body size and body width, we evaluated the genetic potential of 3 Germany mirror carp populations. Number of effective alleles (*A_e*), observed (*H_o*) and expected (*H_e*) heterozygosity values and polymorphic information contents (*PIC*) were all calculated. 287 alleles and 559 genotypes were detected. The DNA fragment length was 109–400 bp. The Hardy-Weinberg Equilibrium was checked and phenomenon of some disequilibrium were studied according to the test of χ^2 . The result showed that the level of genetic variability was moderate, but genetic potential of Shuanglai population was much lower than that Huanxin and Songpu breeding populations. Polymorphic Information Contents (*PIC*) of the 3 populations of Germany mirror carp were between 0.08787 and 0.5377, both of highly and moderately polymorphic markers were 13. The number of effective alleles (*A_e*) were between 1.1014 and 6.4665. The observed (*H_o*) and expected (*H_e*) heterozygosity values were 0.0968–0.9892 and 0.0926–0.8554 respectively. The linkage correlation was analyzed using data of body weight, body size and body width and 30 loci. The result shown that there existed 2 loci, *HLJ319* and *HLJ693* associated with body size. The *HLJ693* locus

收稿日期: 2007-06-04; 修回日期: 2007-06-21

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(编号: 2004CB117405)资助[Supported by the Development Key Project of National Basis Research (No.2004CB117405)]

作者简介: 侯宁(1981-), 男, 四川人, 硕士研究生, 专业方向: 海洋生物技术。Tel: 13069716922; E-mail: hnaimama82@163.com

通讯作者: 孙效文(1955-), 男, 吉林人, 研究员, 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

significantly correlated with body weight character. The *HLJ677* locus linked with body width. And then the result were verified in Recombinant Inbred Lines (RIL) of common carp. It shown that the *HLJ319* locus was significantly linked with body size, the same as the result of common carp QTL location.

Keywords: Germany mirror carp; economic characters; genetic markers; genetic potential

德国镜鲤(*Cyprinus carpio* L. *mirror*)原产于德国巴伐利亚州,是欧洲各国池塘养殖的主要鱼类。自 1984 年我国由联邦德国引进此鱼后,沈俊宝等经约 10 年的时间将其培育成一个适合我国北方养殖的优良品种^[1-4]。除抗病力稍差外,德国镜鲤生长快且易捕捞,而且它与黑龙江野鲤、红鲤等杂交,其杂种后代都表现出明显的杂种优势^[5]。目前德国镜鲤已成为中国北方淡水养殖业的重要养殖品种之一。近年来养殖的镜鲤病害发生较多,人工选择强度的加大和生态环境的破坏以及近亲繁殖都可能导致种质资源的下降和病害的经常发生,但确切的原因和机制还不清楚。近亲繁殖引起的遗传衰退仅仅是理论上的推测,还没有经过精确的遗传检测加以验证。因此,有必要对镜鲤的遗传潜力进行估计。

微卫星(Microsatellite)是近年来发展迅速、应用广泛的分子标记之一,具有很多其他分子研究方法所不具有的优点^[6],国内外已有很多相关应用研究报告,如微卫星分子标记的开发^[7-10],鲤鱼遗传连锁图谱的建立^[11]和抗寒标记的QTL定位^[12]以及鲤鱼群体遗传学的研究等^[13-15]。但利用微卫星或其他分子标记研究镜鲤的报道还不多^[16-18]。

本文利用微卫星标记对 3 个德国镜鲤群体的遗传潜力进行估计,并探索经高强度人工选择后的德国镜鲤群体与主要经济性状的基因座位和基因型频率的变化,为德国镜鲤群体的遗传结构优化、避免生产性能下降和遗传衰退提供基础数据。同时,本文通过随机群体较好地验证了鲤鱼主要经济性状 QTL 定位的准确性并提供了一种将群体经济性状与遗传标记建立联系的技术途径。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验鱼群体

根据人工选择强度的不同,实验样本 1、2、3 分别取自黑龙江呼兰双来养殖场(SL),天津换新国家级良种场(HX)和黑龙江水产研究所松浦实验站

(SP)。实验样本 1(93 尾)是 1 龄鱼,测量其体长、体重和体高等表型数据,其父母本的人工选择强度在 300 : 2 左右;实验样本 2(208 尾)是经过强度非常大的人工选择所得到的繁殖群体,选择强度 100 : 2 左右;实验样本 3(131 尾)是早期被审定的国家级原种的后代,选择强度较低(约 30 : 1)。

1.1.2 引物与试剂

本研究使用的 30 个微卫星 DNA 标记是从建立鲤鱼遗传连锁图谱和 QTL 定位的 187 对候选标记中筛选出来的,它们的扩增和分型效果都很好。这些标记是磁珠富集法克隆和网站上搜索所获得的鲤鱼微卫星序列。所有引物均由上海生工生物工程技术服务有限公司合成(表 1),生化试剂均购自美国 Promega 公司,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

剪取活体部分尾鳍,70%酒精固定,带回实验室,经去离子水浸泡去酒精处理后酚氯仿抽提法获得基因组DNA,具体DNA提取步骤参考Geng等^[19]。

1.2.2 PCR 反应程序

PCR 扩增反应总体积为 25 μ L,成分参见 Geng 等^[19]。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 48 $^{\circ}$ C~54 $^{\circ}$ C, 30 s;延伸 72 $^{\circ}$ C, 30 s; 40 个循环,最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。

1.2.3 扩增产物检测

PCR 扩增反应产物用 2%琼脂糖凝胶电泳检测,5 V/cm 电泳 2 h 左右,Gold View 染色, Gene Genius Bio imaging system 记录电泳结果, Gel works 软件包(3.0 版本)分析每个扩增条带的分子量与产物量的差异。

1.2.4 数据分析

微卫星是共显性遗传,可从琼脂糖凝胶电泳图谱上直接判断出个体的基因型,用 PopGene(Version 3.2)软件统计各微卫星基因座的等位基因频率(Alele Frequency, *P*)、等位基因数(Observed number of alleles, *Na*)、有效等位基因数(Effective number of

表 1 30 对微卫星引物序列情况

Table 1 30 pairs of microsatellite maker sequence

基因座 Locus	引物序列 Primer sequence (5 3)	重复序列 Repetitive sequence	复性温度 Renatura- tion tempera- ture (°C)	基因座 Locus	引物序列 Primer sequence (5 3)	重复序列 Repetitive sequence	复性温度 Renatura- tion temperature (°C)
HLJ041	F: AGACCACCGCAGTAACAA R: GACTCACTCAGCACCAGA	(CA) ₂₄	53	HLJ392	F: GGCTACAAGGCAACACTG R: TGC GGTTAATGAGGTCTG	(CA) ₂₂	54
HLJ044	F: GTACAGCGTGACAGCATT R: AAGTTCATCGGTGTCCTC	(CA) ₂₈	53	HLJ393	F: TGC GGTCATTACTCATTCG R: CCCAGCACCTGTTCCAC	(CA) ₁₀	54
HLJ046	F: AACCCCTGAACTCACAAAC R: CACGGAACCTGAGAAGAC	(GT) ₁₄	53	HLJ400	F: AAGAAGCCTCGGTCTCC R: AAAGCCCAAAGCACATCA	(CA) ₂₂	51
HLJ049	F: GATTTGTGCTCCTCAACC R: CTGTCACTTCTCCTCCA	(GT) ₂₈	54	HLJ643	F: CCGACTCAGTGTTC AATT R: GAAACCTAAGTCCCAAC	(CA) ₇	50
HLJ057	F: GAATGTCATGCGGTTTCAT R: TATTTGCTGGGTGTCCTC	(GT) ₂₃	51	HLJ677	F: ATACGGTATGTCTGGAAA R: CTGACTAGAGGAAAAGCA	(GT) ₂₈	50
HLJ058	F: CAGATGGCAGACAGGTAA R: GAGCAAGTGAGGGAACAG	(CA) ₂₁	53	HLJ693	F: GAGACCGCATGACTTCAA R: TAGCCATCTGTCCTAAACGA	(GT) ₁₆	50
HLJ133	F: TGGGTTGGTTCACAGACA R: TTCAGCGGATTTACAGAGC	(GT) ₃₄	51	HLJ695	F: AAGATGGAGGTCTGGTGT R: ATCACGGTCTTTAGTGC	(TG) ₁₅	50
HLJ302	F: ACCTCATTTGAATCCCTG R: AATAGAGTTTGTGTTGCTGA	(CA) ₂₃	50	HLJ697	F: AAGAATGGGTGAGTAAGA R: ACTAGGATTTGGAAGAGC	(AC) ₅₇	50
HLJ319	F: CAGTGGGATTGTGGGAGT R: CAGGGAGGGTCAAAGGTC	(CA) ₁₄	53	HLJ699	F: ACGTCATCAGACCCTTCT R: CTGGTGGTTTGTATTGT	(AC) ₂₄	50
HLJ328	F: CCTGACACCTGCCGTTCT R: TCCTCTGTTCTGCCTCCC	(CA) ₃₀	51	HLJ806	F: GGTGTCAGGCTTTAGTCC R: CATCTGAGTTTTCTCCAAGT	(CA) ₄₈	48
HLJ338	F: GAAGAATGGGTGAGTAAGA R: ACTAGGATTTGGAAGAGC	(AC) ₅₈	51	HLJ809	F: ATCATCACAGCCAAAGAAGT R: TACGGACATAGTGCAGACAA	(CA) ₁₂	48
HLJ343	F: TCCTCACAAACCCTCCGTAT R: CAAAGGCATCCCATCAGT	(TG) ₃₂	51	HLJ821	F: TGTTTAGAAGAGCCTGTTTG R: GCAGTTTATTTATTCTGGGAG	(GT) ₁₆ (GA) ₅	52
HLJ376	F: AAGAAGGACTACGAGGAGA R: TTCGGTTGCTTACTATGA	(CA) ₁₃	54	HLJ845	F: TCAGGTCAGGTGAGTCTT R: CTGCTGTTGTCTGTTCT	(CA) ₁₈	51
HLJ379	F: GGGGAGACGAGAAGTGCA R: AGCAGGTCTGTGGGCAAG	(CT) ₁₃ CG(CT) ₅	54	HLJ855	F: CGACCGAACTCAGAACAC R: GAGCACCGCATTAAACAGA	(AC) ₄₄	48
HLJ383	F: GGCTCCTCCTCATCCTCT R: GCACTTCTGCACCTTCA	(CA) ₁₄	51	HLJ856	F: GACTGATGCAGCCCAGAG R: GCACAGACATTTATAGCG	(CA) ₃₂	50

alleles, N_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)由下列(引用文献)公式计算:

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

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, $j=i+1$ 。

用 GenePop(Version 3.4) 软件进行各基因座间连锁不平衡分析, χ^2 检验估计 Hardy-Weinberg 平衡偏离。偏离指数(d)能够从直观上表明群体杂合子的缺失或过剩, 由下列公式计算:

$$d = (H_o - H_e) / H_e$$

体重等数量性状由 Excel2003 处理。

2 结果

2.1 PCR 扩增结果

30 个微卫星位点在 3 个镜鲤群体共 432 个个体中均获得了稳定、清晰的 DNA 条带, 并在个体间表现出不同程度的多态性, 标记 *HLJ041* 在双来(SL)群体中表现的多态性较微弱(PIC 为 0.08787)。位点等位基因数 2~10 个, 平均等位基因数 5.5141 个, 片段长度 109~400 bp。部分琼脂糖凝胶电泳结果见图 1。

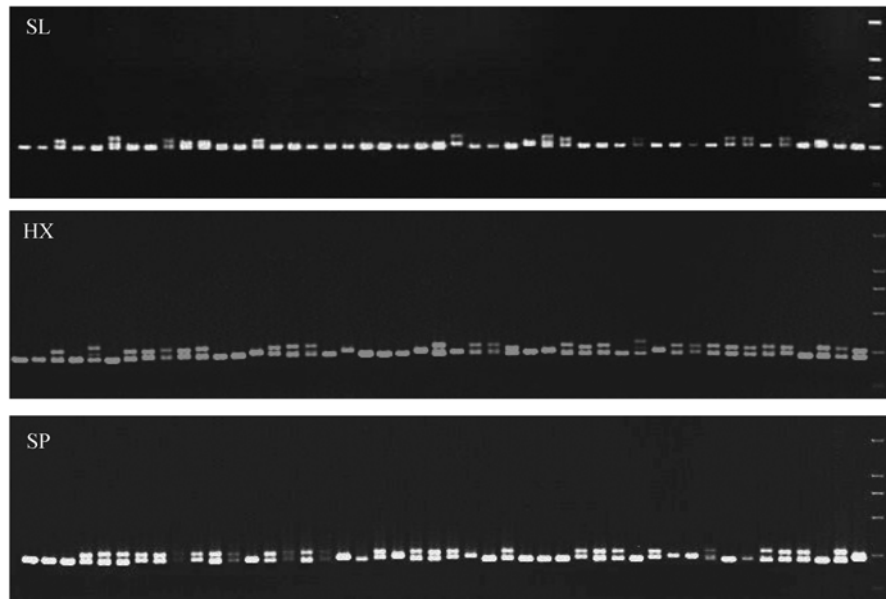


图 1 3 个德国镜鲤群体的部分样本在 *HLJ643* 基因座的遗传差异

SL 表示双来德国镜鲤群体; HX 表示换新德国镜鲤群体; SP 表示松浦德国镜鲤群体。

Fig. 1 The genetic diversity at locus *HLJ643* of partial samples of 3 Germany mirror carp populations

SL indicates the population sampled from Shuanglai of Heilongjiang; HX indicates the population sampled from Huanxin of Tianjin; SP indicates the population sampled from Songpu of Heilongjiang.

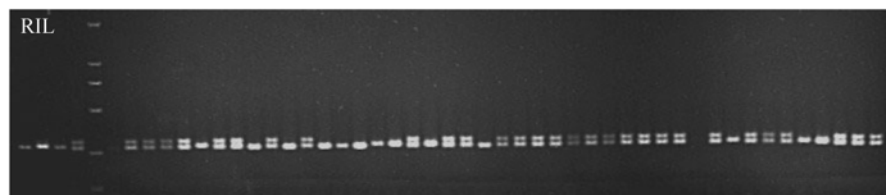


图 2 微卫星位点 *HLJ693* 在 RIL 部分样本的扩增结果

RIL 表示重组自交系样本。

Fig. 2 Amplified result of *HLJ693* in partial samples of RIL

RIL indicates sample been of Recombinant Inbred Lines.

2.2 群体遗传潜力分析

30 个微卫星位点在 3 个德国镜鲤群体中共检测到 287 个等位基因, 559 种基因型, 有效等位基因数 1.1014~6.4665, 观察杂合度 0.0968~0.9892, 期望杂合度 0.0926~0.8554, 位点多态信息含量 0.08787~0.8559, 其中中度多态($0.25 < PIC < 0.5$)13 个, 高度多态($PIC > 0.5$)13 个。双来(SL)群体这 4 项遗传潜力统计指标的均值分别为 2.0961、0.4731、0.4815、0.4084, 低于换新(HX)群体的 2.7063、0.5031、0.5478、0.5133 和松浦(SP)群体的 2.9213、0.5898、0.5910、0.5377, (通过方差分析确定差异不

显著)。统计结果显示 3 个群体的遗传潜力处于中度水平, 双来群体的遗传潜力比换新和松浦群体低。部分统计数据见表 2。

2.3 基因座的连锁分析

30 个基因座在 3 个德国镜鲤群体中, 检测到的多态基因座数均为 30 个; 经 GenePop (Version 3.4) 软件计算各个多态基因座在相应群体中两两配对的基因型不平衡值(genotypic disequilibrium value), 分析得到 *HLJ133* 和 *HLJ338* 及 *HLJ343*, *HLJ338* 和 *HLJ697* 基因座紧密连锁, 其中没有与主要经济性状相连锁的基因座位。

表 2 3 个德国镜鲤群体在 30 个微卫星基因座的多样性指数

Table 2 The polymorphic information at 30 microsatellite loci of 3 Germany mirror carp populations

座位 Locus	SL				HX				SP			
	<i>Ae</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>PIC</i>	<i>Ae</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>PIC</i>	<i>Ae</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>PIC</i>
<i>HLJ041</i>	1.10	0.1	0.09	0.09	1.64	0.35	0.39	0.37	1.18	0.17	0.16	0.15
<i>HLJ044</i>	3.22	0.75	0.69	0.63	5.06	0.50	0.80	0.78	3.94	0.76	0.75	0.70
<i>HLJ046</i>	1.36	0.31	0.26	0.23	1.36	0.31	0.26	0.23	1.53	0.40	0.35	0.31
<i>HLJ049</i>	2.46	0.51	0.6	0.51	3.34	0.30	0.70	0.65	4.21	0.60	0.76	0.72
<i>HLJ057</i>	1.75	0.33	0.43	0.39	1.68	0.36	0.40	0.39	1.73	0.23	0.42	0.40
<i>HLJ058</i>	2.65	0.99	0.63	0.55	1.26	0.22	0.20	0.20	1.34	0.27	0.26	0.24
<i>HLJ133</i>	2.20	0.6	0.55	0.49	2.17	0.38	0.54	0.51	4.06	0.72	0.75	0.71
<i>HLJ302</i>	2.67	0.71	0.63	0.55	1.50	0.34	0.34	0.32	1.60	0.35	0.37	0.36
<i>HLJ319</i>	2.32	0.7	0.57	0.51	4.43	0.77	0.77	0.75	4.04	0.73	0.75	0.72
<i>HLJ328</i>	2.86	0.63	0.65	0.58	4.49	0.95	0.78	0.75	5.01	0.73	0.80	0.77
<i>HLJ338</i>	2.68	0.12	0.63	0.56	3.89	0.49	0.74	0.70	3.82	0.69	0.74	0.70
<i>HLJ343</i>	2.95	0.14	0.66	0.6	2.33	0.37	0.57	0.54	3.43	0.49	0.71	0.68
<i>HLJ376</i>	1.25	0.23	0.2	0.18	1.31	0.20	0.24	0.23	1.27	0.24	0.22	0.20
<i>HLJ379</i>	1.72	0.6	0.42	0.33	2.35	0.98	0.57	0.48	2.60	1.00	0.62	0.54
<i>HLJ383</i>	1.83	0.26	0.46	0.39	1.85	0.38	0.46	0.43	2.44	0.36	0.59	0.56
<i>HLJ392</i>	1.41	0.35	0.29	0.25	1.87	0.42	0.46	0.43	2.13	0.56	0.53	0.48
<i>HLJ393</i>	2.0	0.97	0.5	0.37	1.97	0.56	0.49	0.45	1.60	0.41	0.38	0.33
<i>HLJ400</i>	3.29	0.6	0.7	0.64	2.64	0.46	0.62	0.60	4.38	0.70	0.77	0.74
<i>HLJ643</i>	3.06	0.59	0.68	0.62	5.84	0.82	0.83	0.81	6.33	0.96	0.84	0.82
<i>HLJ677</i>	2.61	0.33	0.2	0.54	6.47	0.58	0.85	0.83	3.11	0.81	0.68	0.64
<i>HLJ693</i>	1.81	0.33	0.45	0.35	2.86	0.22	0.65	0.60	1.71	0.15	0.42	0.38
<i>HLJ695</i>	1.97	0.54	0.5	0.37	1.44	0.25	0.31	0.29	3.45	0.34	0.71	0.66
<i>HLJ697</i>	2.03	0.38	0.51	0.39	2.11	0.53	0.54	0.47	2.25	0.80	0.56	0.49
<i>HLJ699</i>	1.9	0.54	0.47	0.36	1.91	0.53	0.49	0.45	2.27	0.93	0.57	0.46
<i>HLJ806</i>	1.97	0.46	0.49	0.37	3.08	0.60	0.69	0.61	3.44	0.77	0.72	0.66
<i>HLJ809</i>	1.32	0.28	0.24	0.21	1.43	0.37	0.30	0.25	1.90	0.77	0.48	0.36
<i>HLJ821</i>	1.33	0.29	0.25	0.22	3.28	0.90	0.71	0.64	3.67	0.70	0.74	0.68
<i>HLJ845</i>	1.88	0.48	0.47	0.36	1.64	0.33	0.40	0.31	2.88	0.40	0.66	0.59
<i>HLJ855</i>	1.71	0.59	0.42	0.33	3.51	0.63	0.73	0.66	3.73	0.93	0.74	0.68
<i>HLJ856</i>	1.56	0.47	0.36	0.3	2.44	0.90	0.60	0.52	2.53	0.83	0.62	0.53
平均值 Mean	2.10	0.47	0.48	0.41	2.71	0.50	0.55	0.51	2.92	0.59	0.59	0.54

2.4 群体 Hardy-Weinberg 平衡检验

用基于马可夫链模型(Markov chain method)的 Hardy-Weinberg 精确 P 值的无偏估测对各群体的基因座检测(multi-locus test)发现, 3 个德国镜鲤群体都处于遗传平衡状态; 但在 *HLJ379*、*HLJ856* 位点 3 个群体均极显著地偏离了遗传平衡($P < 0.01$), 表现

为杂合子严重过剩。另外, 双来群体在 *HLJ338*、*HLJ393*、*HLJ643*, 换新群体在 *HLJ046*、*HLJ328*、*HLJ821*, 松浦群体在 *HLJ046*、*HLJ643* 也极显著地偏离了遗传平衡($P < 0.01$)。Hardy-Weinberg 遗传偏离指数从直观上表明了杂合子的缺失或过剩。统计结果显示, 虽然在大多数位点群体处于遗传平衡状态, 但是在换新群体中有 73.33% 的位点表现为杂合子缺失。

表 3 3 个德国镜鲤种群遗传平衡分析

Table 3 Genotypic equilibrium analysis of 3 Germany mirror carp populations

座位 Locus	SL		HX		SP	
	<i>P</i>	<i>d</i>	<i>P</i>	<i>d</i>	<i>P</i>	<i>d</i>
HLJ041	0.6447	0.0454	0.1374	-0.1002	0.3822	0.0797
HLJ044	0.1853	0.0860	1	-0.3769	0.2942	0.0126
HLJ046	0.0807	0.1784	0.0026**	0.1850	0.0070**	0.1650
HLJ049	0.9018	-0.1529	1	-0.5743	0.9985	-0.2193
HLJ057	0.6702	-0.2251	0.1758	-0.1202	0.9962	-0.4566
HLJ058	0.7043	0.5812	0.1900	0.0567	0.8375	0.0676
HLJ133	0.7834	0.0993	0.9742	-0.2871	0.6280	-0.04812
HLJ302	0.9043	0.1285	0.3475	0.0033	0.8305	-0.0627
HLJ319	0.4054	0.2196	0.6912	-0.0063	0.9610	-0.0262
HLJ328	0.2938	0.0292	0.0001**	0.2245	0.8397	-0.0940
HLJ338	0.0000**	0.8124	1	-0.3464	0.6469	-0.0695
HLJ343	0.6789	-0.7897	0.8951	-0.3512	1	-0.3101
HLJ376	0.2321	0.1212	0.9988	-0.1445	0.1334	0.0989
HLJ379	0.0000**	0.4233	0.0000**	0.6986	0.0000**	0.6260
HLJ383	1	-0.4354	0.9990	-0.1731	1	-0.3922
HLJ392	0.1410	0.2089	0.4524	-0.0878	0.5127	0.0511
HLJ393	0.000**	0.9254	0.6896	0.1312	0.9999	0.0986
HLJ400	0.4457	-0.1392	0.6127	-0.2574	0.3966	-0.0899
HLJ643	0.0000**	-0.1270	0.9544	-0.0138	0.0000**	0.1423
HLJ677	1	-0.4622	1	-0.3176	0.9936	0.1933
HLJ693	0.5616	-0.2600	1	-0.6672	1	-0.6325
HLJ695	0.4116	0.0845	0.3477	-0.2013	1	-0.5271
HLJ697	0.0326*	-0.2629	0.4978	-0.0185	0.5003	0.2500
HLJ699	0.2181	0.1286	0.5233	0.0816	0.5309	0.6667
HLJ806	0.5306	-0.0645	0.8817	-0.1304	0.2593	0.0694
HLJ809	0.1252	0.1563	0.3265	0.2333	0.4527	0.6042
HLJ821	0.1089	0.1635	0.0056**	0.2676	0.8516	-0.0540
HLJ845	0.7120	0.0313	0.9153	-0.1750	0.9898	-0.3940
HLJ855	0.7060	0.4121	0.8354	-0.1370	0.6052	0.2568
HLJ856	0.0030**	0.3026	0.0000**	0.5000	0.0022**	0.3387

* 表示差异显著; ** 表示差异极显著。

* represents significant difference; ** represents high significant difference.

2.5 主要经济性状与基因座位和基因型的相关分析

将实验样本 1 的体重, 体长, 体高数据与所有基因座位及其基因型进行统计分析。得到如下结果: 双来群体的 93 尾实验鱼平均体重, 体长, 体高分别是 239.84 g, 18.97 cm, 8.29 cm。与体长显著连锁的基因位点是 *HLJ319*、*HLJ693*, 其中, *HLJ693* 还与体重显著相关; 与体高显著相关的基因座是 *HLJ677*。

其中, *HLJ693* 遗传座位的 310/285 基因型与体长和体重都连锁, *HLJ319* 遗传座位的 2 个基因型 280/220、220/220 与体长相关, *HLJ677* 遗传座位的 290/290 基因型与体高相关(结果详见表 4)。

2.6 分析结果在 QTL 图谱上的验证

将与主要经济性状相连锁的遗传标记在鲤鱼重组自交系中验证, 结果显示: 主要经济性状相连锁的 3 个遗传标记中, *HLJ319* 与鲤鱼体长性状的 QTL

表 4 双来群体遗传座位相关基因型与主要经济性状的相关性分析

Table 4 Relational analysis between genotype of genetic loci and dominating economic character

主要经济性状 Major economic characters	遗传座位 Genetic loci	基因型 Genotypes	平均值 Average values	均值百分比(%) Percentage of mean values	F 值 F values	Fa 值(a=0.05) Fa values
体重 Body weight (g)	<i>HLJ693</i>	310/285	275.98	1.15	4.01*	3.10
体长 Body size (cm)	<i>HJL693</i>	310/285	19.91	1.05	3.51*	3.10
	<i>HLJ319</i>	220/220 280/220	18.35	0.97	2.55*	2.31
体高 Body width (cm)	<i>HLJ677</i>	290/290	7.79	0.94	2.37*	2.32

* 表示差异性显著。

* represents significant difference.

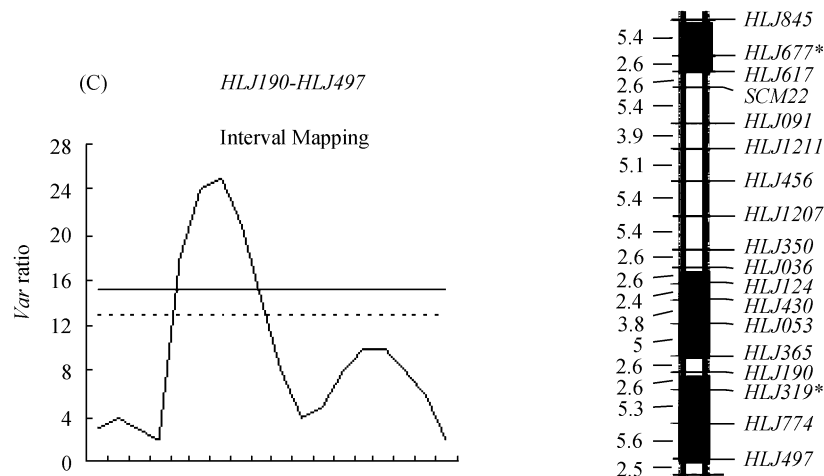


图 3 鲤鱼体长性状的 QTL 定位和 QTL 定位的 R 值曲线

X 轴表示连锁图谱的相对位置, Y 值表示 R 值; (.....) 代表连锁群 5% 显著性阈值, (——) 代表连锁群 1% 显著性阈值, (C) 表示第 2 连锁群上影响体长 QTL 的一条 R 值曲线。* 表示验证的 QTL 位点。

Fig. 3 Mapping QTLs of body size trait in common carp and R ratio curves for evidence of QTL

The X-axis indicates the relative position on the linkage map, the Y-axis represents. The R-ratio. (.....) and (——) represent 5% and 1% chromosome-wise significance, respectively, (C) represents a QTL graph for body size on the 2nd linkage group.* represents QTL loci of verification.

定位结果^[21]基本一致, QTL图谱将其定位在第 2 连锁群的*HLJ190-HLJ497* 区间; *HLJ677* 方差分析所定位的结果是与体高连锁, 但 QTL图谱将其定位在控制体长的连锁群上^[21]; 由于没有进行鲤鱼体重的 QTL定位, 遗传标记*HLJ693* 到底是和体长连锁还是体重相关还需要进一步验证。*HLJ693* 基因座在重组自交系的 PCR 扩增结果见图 2。鲤鱼体长性状的 QTL 定位和 R 值曲线见图 3^[21]。

3 讨论

3.1 3 个德国镜鲤群体遗传潜力分析

最大限度地维持种内遗传多样性水平, 是评价其遗传潜力和持续利用种质资源的前提。*Ae*、*Ho*、*He* 和 *PIC* 等都是反映群体遗传多样性和遗传潜力的

度量参数, 其数值越大, 说明基因丰富度越高, 遗传潜力越大。从本次研究结果来看, 这 3 个德国镜鲤群体的遗传潜力处于中等水平 ($Ae=2.10-2.92$, $Ho=0.43-0.59$, $He=0.48-0.59$, $PIC=0.41-0.54$), 但呈现下降趋势。松浦群体的有效等位基因数、期望平均杂合度和平均多态信息含量都高于双来和换新群体。一个原因可能是双来和换新群体筛选强度要高于松浦群体; 另一个原因是松浦镜鲤是较早培育的群体, 还带有起始品种的一些杂合基因型来源, 而双来和换新群体是在松浦群体的进一步选择中得到的, 因此一些与选择压力相关的基因型在换新群体中会更富集, 即相关基因型频率和相关基因频率会升高, 而其它一些稀有等位基因在更大的选择压力下丢失。

与普通鲤鱼的遗传多样性研究结果^[22,23]相比, 这 3 个德国镜鲤群体的杂合度和多态信息含量相差

不大,只是有效等位基因数较少,可能是由于鲤鱼的特殊遗传背景所致。David等^[24]通过微卫星基因座对鲤鱼基因组的研究发现,其在漫长的进化过程中有基因组加倍的过程。基因组的加倍会导致鲤鱼的杂合度也随之提高,而这正是现代鲤鱼保持着较高的多态性指标和遗传潜力的重要原因。但与全迎春等^[16]对 5 个镜鲤群体的多样性研究结果($A_e=4.75-5.78$, $H_e=0.70-0.78$, $PIC=0.69-0.75$)相比,这 3 个德国镜鲤群体的遗传潜力明显的降低。遗传潜力的降低可能是由于生态环境的日益恶化,高强度的人工选育和近亲繁殖等原因所导致的有效种群缩小和有效等位基因的丢失造成的。

为了更好地维持德国镜鲤群体的遗传潜力,我们应该保证德国镜鲤种群大小在最小有效群体数目之上。Taniguchi^[26]指出对于大多数所研究的鱼类来说, $N_e=50$ 是最小的群体大小。 N_e 与 H_e 或者 A_e 有关: $N_e=(H_e/(1-H_e))/4u$ ^[27],其中 u 为微卫星的突变率,在这里取近似的参考值 $u=4 \times 10^{-4}$ ^[28]。据此可推算出,3 个德国镜鲤群体有效群体大小的均值为 734。通常镜鲤的养殖群体并未达到我们研究得出的有效群体大小,小种群极易受遗传漂变而造成基因的丧失和固定。因此,在进行德国镜鲤种群种质资源保护和遗传育种研究时,良种场应该考虑维持其遗传多样性水平和遗传潜力所需要的有效群体数目。

3.2 与性状连锁的基因座与相应 QTL 图谱的比较分析及其应用价值

易受环境影响是数量性状的一个重要特点^[29],因此本实验所得到的 3 个与主要经济性状相连锁的遗传标记需要跟鲤鱼的 QTL 定位图谱验证比较。比较分析可以看出:主要经济性状相连锁的 3 个遗传标记中 $HLJ319$ 与体长相关,均值比为 0.97,加性效应方向为负向,而鲤鱼体长 QTL 图谱将其定位第 2 连锁群,似然比率为 16.4,加性效应为-0.32,解释变异系数 31%,对体长性状的贡献率超过 20.00%,且 $P<0.001$,同时,在鲤鱼体长性状的 QTLs 区间定位研究中,达到连锁群极显著水平的 $HLJ190$ - $HLJ497$ 区间包含了影响体长性状的主效基因 $HLJ319$ 座位^[21]。因此,本实验结果与鲤鱼体长性状的 QTL 定位结果基本一致,这说明此基因座与控制体长性状的主效基因相连锁,可作为分子标记辅助育种应用的首选标记。这种验证结果一方面肯定了本实验结果的准确性,另一方面也通过随机群体较好的验证了鲤鱼的 QTL 定位结果。由于还没有鲤鱼

体重和体高的 QTL 定位结果,所以本实验所得到的遗传标记 $HLJ693$, $HLJ677$ 还有待于进一步的分析和验证。

分子标记在鱼类育种中潜在的应用方向之一是利用基因与经济性状的连锁关系,将此遗传标记及其基因型作为选择经济性状优势品种强有力的遗传工具。本研究所获得的与经济性状相关的分子标记及其基因型,可用于镜鲤新品系的培育。

3.3 利用非近交群体进行性状连锁分析的局限及其解决措施

经济性状的相关分析和 QTL 定位研究多数是利用近交群体(inbred)能够获得较为满意的结果^[30],利用外交群体效果不如近交群体好,但也有成功的例子^[31,32]。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。虽然本研究利用的就是这种群体,但本研究的群体样本量较大,而且本实验室已经在进行鲤鱼高密度遗传连锁图谱的构建和主要经济性状的 QTL 定位,这种平台为本研究提供了验证的途径。

野生群体和养殖群体的经济性状与遗传标记的连锁分析是长期没有解决的课题,但连锁结果在经济鱼类种质研究和育种研究中很有实用价值。本研究利用众多的共显性标记分析几个较大群体,建立了遗传标记与主要经济性状的连锁关系,提供了一种将群体经济性状与遗传标记建立联系的技术途径。由于外交群体在同一基因座位上的基因型较多,在进行这样的研究时应有足够大的样本量,以克服偏差,减少错误。

参考文献(References):

- [1] LIU Ming-Hua, BAI Qing-Li, SHEN Jun-Bao. Choose breeding and application research of *Germany mirror carp* (*Cyprinus carpio* L. *mirror*). *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 F_1 . *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 F_1 主要

- 形态学性状遗传的比较研究. 遗传学报, 1987, 4(1): 49-55.
- [3] SHEN Jun-Bao, LIU Ming-Hua. Breeding Research of Common carp. Harbin: Heilongjiang Sciences Technology Press, 2000, 132-162.
沈俊宝, 刘明华. 鲤鱼育种研究. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 2000, 132-162.
- [4] LI Si-Fa. Application of genetic theory and technique to the propagation of cyprinide. *Journal of Fisheries of China*, 1983, 7(2): 175-184.
李思发. 遗传育种的理论和技术在鲤科鱼类养殖业中的应用. 水产学报, 1983, 7(2): 175-184.
- [5] YIN Hong-Bin, LIU Ming-Hua, SHEN Jun-Bao, SUN Zhong-Wu. Nucleontype research of Germany mirror carp (*Cyprinus carpio L. mirror*). *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.
- [6] Crooijmans RPMA, Poel JJ, Groenen MAM, Bierbooms VAF, Komen J. Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio L.*). *Animal Genetics*, 1997, 28: 129-134. [\[DOI\]](#)
- [7] Aliah RS, Takagi M, Dong S, Teoh CT, Taniguchi N. Isolation and inheritance of microsatellite markers in the common carp (*Cyprinus carpio L.*). *Fisheries Science*, 1999, 65(2): 235-239.
- [8] WEI Dong-Wang, LOU Yun-Dong, SUN Xiao-Wen, SHEN Jun-Bao. Isolation of microsatellite markers in the common carp (*Cyprinus carpio L.*). *Zoological Research*, 2001, 22(3): 238-241.
魏东旺, 楼允东, 孙效文, 沈俊宝. 鲤鱼微卫星分子标记的筛选. 动物学研究, 2001, 22(3): 238-241
- [9] Yue GH, Ho MY, Orban L, Komen J. Microsatellites within genes and ESTs of common carp and their applicability in silver crucian carp. *Aquaculture*, 2004, 234: 85-98. [\[DOI\]](#)
- [10] Sun XW, Liang LQ. A genetic linkage map of common carp (*Cyprinus carpio L.*) and mapping of a locus associated with cold tolerance. *Aquaculture*, 2004, 238: 165-172. [\[DOI\]](#)
- [11] LIANG Li-Qun, SUN Xiao-Wen. Mapping cold tolerance strain on genetic linkage map of common carp (*Cyprinus carpio L.*). *Journal of Dalian Fisheries University*, 2003, 18(4): 278-281.
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. 大连水产学院学报, 2003, 18(4): 278-281
- [12] 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). *Journal of Applied Ichthyology*, 2004, 20(2): 87-91. [\[DOI\]](#)
- [13] Kohlmann K, Gross R, Murakaeva A, Kersten P. Genetic variability and structure of common carp (*Cyprinus carpio L.*) populations throughout the distribution range inferred from allozyme, microsatellite and mitochondrial DNA markers. *Aquatic Living resources*, 2003, 16: 421-431. [\[DOI\]](#)
- [14] Liao XL, Yu XM, Tong J. Genetic diversity of common carp from two largest Chinese lakes and the Yangtze River revealed by microsatellite markers. *Hydrobiologia*, 2006, 568: 445-453. [\[DOI\]](#)
- [15] QUAN Ying-Chun, SUN Xiao-Wen, LIANG Li-Qun. Microsatellite variation among four breeding populations of Common Carps (*Cyprinus carpio L.*). *Zoological Research*, 2005, 28(6): 595-602.
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. 动物学研究, 2005, 28(6): 595-602.
- [16] 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. mirror*) using microsatellites. *Hereditas(Beijing)*, 2006, 28(12): 1541-1548.
全迎春, 李大宇, 曹鼎辰, 孙效文, 梁利群. 微卫星 DNA 标记探讨镜鲤的种群结构与遗传变异. 遗传, 2006, 28(12): 1541-1548.
- [17] HU Xue-Song, LI Chi-Tao, MA Bo, SHI Lian-Yu. Preliminary studies on genetic variability of red mirror carp (*Cyprinus carpio L. mirror*) at six microsatellite loci. *Journal of Fisheries*, 2006, 19(2): 37-41.
胡雪松, 李池陶, 马波, 石连玉. 红镜鲤 6 个微卫星座位的遗传多样性初探. 水产学杂志, 2006, 19(2): 37-41.
- [18] WANG Qiang, LIU Ming-Hua. Comparative analysis of isenzyme tries about Germany carp Scatted carp and Songpu carp using electrophoresis. *Journal of Fisheries*, 1994, 7(2): 68-72.
王强, 刘明华. 德国镜鲤和选育镜鲤及其杂交后代的同工酶电泳比较研究. 水产学杂志, 1994, 7(2): 68-72.
- [19] GENG Bo, SUN Xiao-Wen, LIANG Li-Qun, OUYANG Hong-Sheng, TONG Jin-Gou. Analysis the genetic diversity of *Aristichthys nobilis* in China with 17 microsatellite markers. *Hereditas(Beijing)*, 2006, 28(6): 683-688.
耿波, 孙效文, 梁利群, 欧阳洪生, 童金苟. 利用 17 个微卫星标记分析鱮鱼的遗传多样性. 遗传, 2006, 28(6): 683-688.
- [20] Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 1980, 32: 314-331.
- [21] 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.
- 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.
- [22] DU Chang-Bin, SUN Xiao-Wen, LOU Yun-Dong, SHEN Jun-Bao. The genetic heterozygosity analysis to wild carp and two cultivated strains of common carp (*Cyprinus carpio* L.) using microsatellite technique. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2000, 9(4): 285–289.
- 杜长滨, 孙效文, 楼允东, 沈俊宝. 利用微卫星分析野鲤和两个养殖鲤鱼群体的遗传杂合性. *上海水产大学学报*, 2000, 9(4): 285–289.
- [23] De Woody JA, Avise JC. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of Fish Biology*, 2000, 56: 461–473. [\[DOI\]](#)
- [24] 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. *Molecular Genetic Genomics*, 2001, 266(3): 353–362. [\[DOI\]](#)
- [25] David L, Blum S, Feldman MW, Lavi U, Hillel J. Recent duplication of the Common carp (*Cyprinus carpio* L.) genome as revealed by analyses of microsatellite loci. *Mol Biol Evol*, 2003, 20(9): 1425–1434. [\[DOI\]](#)
- [26] Taniguchi N. Genetic factors in bloodstock management for seed production. *Fish Biology and Fisheries*, 2003, 13: 177–185. [\[DOI\]](#)
- [27] Kimura M, Crow JF. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 1964, 49: 725–738.
- [28] Garcia FJ, Chikhi L, Bonhomme E. Microsatellite polymorphism and population subdivision in natural populations of European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Molecular Biology*, 1997, 6: 51–62.
- [29] Reid DP, Szanto A, Glebe B. QTL for body weight and condition factor in Atlantic salmon (*Salmo salar*): comparative analysis with rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Hereditas*, 2005, 94: 166–172. [\[DOI\]](#)
- [30] Majumder P, Ghosh S. Mapping quantitative trait loci in humans: achievements and limitations. *J Clin Invest*, 2005, 115(6): 1419–1424. [\[DOI\]](#)
- [31] Yalcin B, Flint J, Mott R. Using progenitor strain information to identify quantitative trait nucleotides in outbred mice. *Genetics*, 2005, 171(2): 673–681. [\[DOI\]](#)
- [32] Knott SA, Marklund L, Haley CS. Multiple marker mapping of quantitative trait loci in a cross between outbred wild boar and large white pigs. *Genetics*, 1998, 149(2): 1069–1080.

《遗传》杂志征稿简则

《遗传》杂志是中国遗传学会和中国科学院遗传与发育生物学研究所主办、科学出版社出版的学术刊物, 中文核心期刊, 已被美国生物学文摘、化学文摘、医学索引、俄罗斯文摘杂志和《中国学术期刊文摘》、《中国生物学文摘》等 20 余种国内外重要检索系统与数据库收录。据中国科学技术信息研究所统计, 2006 年, 《遗传》总被引频次 1212 次, 在生物学类核心期刊中排名第 11 位; 影响因子 0.717, 在生物学类核心期刊中排名第 16 位。在您向本刊投稿之前, 请了解下列事项:

1. 征稿范围: 遗传学、发育生物学、基因组学等领域有创新性的研究论文; 遗传学研究的新技术与新方法; 学术争鸣与讨论; 遗传学热点问题的综述; 遗传学教学经验; 国内外著名遗传学家介绍(封面人物)以及遗传学热点问题的科普文章等。

2. 稿件要求: 只接收中文稿件, 请附详细的中英文摘要。题目应简洁明快; 名词术语使用规范; 使用法定的计量单位; 基因符号为斜体; 插图清晰, 表格为三线表, 图表随文排版; 按顺序编码制正确引用参考文献, 保留全部引文作者姓名, 中文文献之前列出英文对照。

3. 投稿方式: 实行网上投稿和网上审稿。请登录我刊网站 <http://www.chinagene.cn/yc/index.asp>, 在《遗传》的“作者区”注册后, 按提示步骤完成投稿流程。如 3 日后未收到投稿回执的, 请及时发邮件查询(E-mail: yczz@genetics.ac.cn), 以免遗漏。请勿一稿两投, 学生投稿须经导师同意。如有署名争议及保密问题, 请勿投稿。

4. 审稿流程: 收到稿件后由编辑部严格初审。对于学术水平和写作格式未达到我刊要求的及时退稿。经责任编辑、外审专家、主编终审录用的稿件, 需编辑加工和英文编辑润色后再退给作者修改定稿。开辟绿色通道, 重大成果的研究论文予以优先发表, 或推荐到《遗传学报》发表。修订稿排版打印后给作者看清样, 请全部作者在《版权转让协议》上签名。

5. 稿件费用: 本刊投稿时不收取审稿费。录用的稿件寄清样时通知交纳版面费, 每印刷页码 200 元, 彩版费每页 800 元。发表后寄给作者样刊 5 本, 精美抽印本 30 份, 稿酬每面 70 元。

以上措施自 2008 年 1 月 1 日起实行, 未尽事宜将在我刊网站另行通知。