

鲤回交群体4种生长性状的相关性分析

储志远^{1,2}, 张晓峰², 曹柱^{1,2}, 孙效文^{2*}

(1. 大连海洋大学生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116023;

2. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 农业部北方鱼类生物工程育种重点开放实验室,
黑龙江 哈尔滨 150070)

摘要: 利用132对SSRs(simple sequence repeat)标记和63对在EST(expressed sequence tag)上的微卫星标记对柏氏鲤和荷包红鲤抗寒品系回交子代的84个个体基因组DNA进行检测,共得到565个等位基因,各等位基因数2~4个,片段长度72~484 bp,平均等位基因数为2.897 4,平均多态信息含量为0.584 9,平均杂合度为0.592 8。利用统计软件SPSS的GLM程序对195个微卫星标记与鲤体重、体长、头长和尾柄长的相关性进行分析,其中HLJ133、HLJ346、HLJ360与体重具有极显著相关;HLJ133,HLJ368,HLJ390,HLJ673,HLJE96与体长具有显著相关;HLJ133,HLJ346,HLJ360与头长极显著相关;HLJ529,HLJE538,HLJE586与头长具有显著相关;HLJ673,HLJE282与尾柄长具有极显著相关;HLJ348,HLJ368,HLJ382,HLJ437,HLJ483,HLJ752,HLJE169,HLJE586与尾柄长具有显著相关,并对同一标记不同基因型间进行了多重比较。根据实验求出的体重与体长、头长、尾柄长之间的相关系数和通径系数,可得知体重与尾柄长的直接相关性非常小。

关键词: 鲤; 微卫星标记; 相关性分析; 相关系数; 通径系数

中图分类号: Q 945; S 917

文献标识码: A

鲤是我国淡水鱼类中分布最广,种类最多,养殖历史悠久,养殖产量在水产养殖业中占相当大的比重的一个科^[1],研究鲤的经济性状具有重要的意义。然而,鲤的许多重要经济性状多是复杂的数量性状,数量性状受多基因控制,这些基因具有相同和相关效应,往往组织在有限数目的基因簇内并占据一定染色体区域,称之为数量性状基因座(quantitative trait locus, QTL)^[2]。利用微卫星标记进行基因组扫描(genomic scanning)是目前数量性状座位(QTL)定位的重要手段之一。

微卫星DNA(microsatellite DNA)又称为简单重复序列(simple repeat sequence, SSR或SRS),是指以少数几个核苷酸(1~6个)为单位多次重复的简单序列,在真核生物基因组中分布广泛且随机分布。微卫星DNA呈共显性遗传,遵循孟德尔遗传规律,具有多态性高^[3-6]、分辨率

高^[7]、信息含量丰富^[8]、引物通用性、位点特异性、使用样本量少、分析操作简单等特点^[9]。微卫星广泛应用于遗传图谱的构建、构建系统发育关系、法医鉴定和个体识别,在很多领域中得到了广泛的应用^[10-15],是近年来飞速发展起来的新的DNA多态性分子标记之一。此外,从EST序列中也开发了微卫星,并进行了基因组的扫描。

本实验以195个微卫星座位的多态性为基础,分析其与鲤体重、体长、头长和尾柄长之间的相关性,为鲤体重、头长、体长和尾柄长的间接选择提供参考数据。由于各种性状中存在基因连锁或基因一因多效,同一遗传群体的不同数量性状之间常会存在不同程度的相互关联,其域值范围为 $-1 \leq \gamma \leq 1$,最小的相关系数-1表示绝对负相关;最大的相关系数+1表示正相关。

董世瑞^[16]等利用多元回归分析和通径分析

收稿日期:2010-09-19 修回日期:2010-11-04

资助项目:国家“九七三”重大基础研究发展规划(2004CB117405);农业部“引进国际先进农业科学技术”计划[2007-G55(A)]

通讯作者:孙效文, Tel:0451-84862646, E-mail:sunxw2002@163.com

进行了中国对虾形态性状对体重影响的通径分析;王新安^[17]等利用同样的方法进行了大菱鲆各表型性状对体重的影响;刘小林^[18]等对栉孔扇贝壳尺寸性状对活体重的影响以及栉孔扇贝形态性状对体重的影响进行研究;耿绪云^[19]等分析中华绒螯蟹一龄幼蟹外部形态性状对体重的影响效果,这些研究都采用了相关分析、通径分析和多元回归分析的方法,在用回归分析估计目标性状的同时,区分了自变量对依变量的直接作用和间接影响的大小,确定了影响目标性状的主要外部形态性状。本文对体重与体长、头长和尾柄长之间的相关系数和通径系数进行了求解,通过相关分析和通径分析找出体长、头长、尾柄长三者中影响体重的主要表型性状,为鲤选择育种提供了理论依据和理想的测度指标。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

以云南柏氏鲤(*Cyprinus pellegrini* Tchang)和荷包红鲤(*Cyprinus carpio wuyuanensis*)抗寒品系的杂交 F₁ 代发育良好的一条鱼作为父本,其亲本中的柏氏鲤作为母本进行回交。产生的 F₂ 代 BC₁ 群体,共 84 个个体,分别饲养于独立的水族箱,对这 84 个个体进行表型统计分析及其基因型分析。

1.2 DNA 的提取

剪取约 1 g 尾鳍,加入 1 mL 裂解液(0.5% 的十二肌胺酸钠、200 μg/mL 蛋白酶 K、0.5 mol/L EDTA),50 °C 温育 1~2 h。酚、氯仿抽提 3 次,乙醇沉淀后,再用 70% 乙醇洗 1 次。自然干燥,1/10TE 溶解,4 °C 保存。具体 DNA 提取步骤参考 Geng 等^[20]。

1.3 引物和试剂

实验所用引物均是本实验室开发,对其中的 476 对 SSR 和 455 对 EST-SSR 进行筛选,其中扩增和分型效果都很好的 SSR 有 132 对,EST-SSR 有 63 对。所有引物均由上海生工生物工程技术服务有限公司合成,生化试剂均购自美国 Promega 公司,其他试剂为国产分析纯。

1.4 实验方法

表型性状的度量 根据伍献文^[21]的测量方法进行体重、头长、体长、尾柄长等表型性状的测定和计算。

微卫星标记扩增 参考《分子克隆实验指

南》^[22]进行高分子量基因组 DNA 的纯化。PCR 反应体系为 25 μL,包括 10 × Buffer 15 μL、Mg²⁺ (25 mmol/L) 1 μL、dNTPs(各 2 mmol/L) 1 μL、上下游引物(10 μmol/L)各 1 μL、模板 DNA 1 μL、Taq DNA 聚合酶(Promega) 1 U, dd H₂O 4.8 μL。扩增反应均在 PE 9700 型 PCR 仪(PE 公司)上完成,PCR 反应程序为 94 °C 预变性 3 min;94 °C 变性 20 s,退火温度 48~65 °C 20 s,72 °C 延伸 30 s,35 个循环;72 °C 延伸 10 min。扩增产物利用 8% 非变性聚丙烯酰胺电泳进行分离,120 V 电泳 3 h,0.1% AgNO₃ 染色 10 min,2% NaOH,0.04% Na₂CO₃,1% 甲醛混合液显色直到条带清晰,EpsonPerfection V100 扫描仪扫描成像并保存。其中溴酚蓝为上样液(0.25% 溴酚蓝,40% 蔗糖水溶液),Gel-Pro Analyzer 4.5 软件分析基因型数据。

1.5 统计分析

群体等位基因频率、杂合度及多态信息含量的计算 用 PopGene(Version 3.2)软件统计各微卫星基因座的等位基因频率(allele frequency, P)、等位基因数(observed number of alleles, Na)、有效等位基因数(effective number of alleles, Ne)、群体杂合度(heterozygosity, H)、多态信息含量(polymorphism information content, PIC)。

根据 Nei 氏公式^[23]计算杂合度

$$H = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2$$

式中, n 为某一位点上等位基因数, i 为位点数, P_i 为等位基因频率。

多态信息含量 PIC 可根据 BOTSEIN 公式计算:

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

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。

微卫星标记与各表型性状间的相关分析 采用 SPSS 11.5 软件包中广义线性模型(GLM)对鲤表型性状与 195 个微卫星座位的相关性进行最小二乘法分析。

性状间的相关性分析采用 SPSS 11.5 软件包中的双变量相关分析(Bivariate)对鲤的体重、体长、头长和尾柄长求解相关系数的大小。

相关系数求解公式

$$\gamma = \frac{COV_{xy}}{S_x S_y}$$

式中, COV_{xy} 是协方差 (covariance) 即在 x 和 y 方向中的离差积数之和除以自由度。

$$COV_{xy} = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{n - 1},$$

可简化为

$$COV_{xy} = \frac{\sum x_i y_i \frac{1}{n} (\sum x_i \sum y_i)}{n - 1}$$

表 1 体重、体长、头长和尾柄长正态分布检验

Tab. 1 The test of Gaussian distribution in body weight, body length, head length, and tail handle length

	平均值 mean \pm σ	偏度 skewness	峰度 kurtosis	最小值 minimum	最大值 maximum
体重 body weight	161.575 0 \pm 41.999 45	-0.090	-0.428	68.80	246.50
体长 body length	20.695 0 \pm 1.877 82	-0.245	0.379	16.20	24.30
头长 head length	5.297 5 \pm 0.489 92	-0.051	0.005	4.10	6.60
尾柄长 tail handle length	3.324 9 \pm 0.456 76	-0.120	0.636	2.40	4.20

2.2 电泳结果

用 195 对微卫星引物对基因组 DNA 进行 PCR 扩增和电泳检测, 各微卫星均获得了稳定、清晰的 DNA 条带, 并在个体间表现出不同程度的多态性, 图 1 显示微卫星 HLJ360 对 84 个个体的扩增结果。

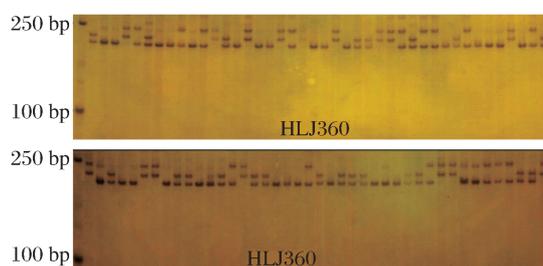


图 1 微卫星 HLJ360 在 84 个个体中扩增结果
图版左侧所标注的数字为 DNA marker 的大小。图中共出现了 A、B、C 3 种等位基因。

Fig. 1 Amplification result of HLJ360 in eighty-four samples

Numbers on the left were the size of DNA marker. There were three different alleles on this picture.

2.3 微卫星基因座等位基因数、等位基因频率、杂合度和多态信息含量 (微卫星多态性检测)

在 195 对微卫星标记中, 共检测到 565 个等位基因, 等位基因片段大小为 72 ~ 484 bp, 平均等位基因数为 2.897 4 个。其中, 有 30 个座位的等位基因数为 4 个; 有 52 个座位的等位基因数为 2 个, 其余的座位的等位基因数全部为 3 个。平均

2 结果与分析

2.1 性状分布

所有测量的性状都显示出连续变异的特点, 显示这些与生长相关的性状都是典型的数量性状多基因遗传。表型性状的频率分布是否显著偏离正态分布通过 Shapiro-Wilk 检验, 该检验在 SPSS 11.5 软件中完成, 平均值、标准差、偏度、峰度见表 1。

多态信息含量为 0.584 9, 平均杂合度为 0.592 8。

2.4 微卫星座位与体重、体长、头长、尾柄长的相关分析

利用最小二乘法对标记座位与鲤体重、体长、头长和尾柄长性状进行连锁显著性检验 (表 3), 在 195 个微卫星座位中, HLJ133、HLJ346、HLJ360 与体重具有极显著相关; HLJ133, HLJ368, HLJ390, HLJ673, HLJE96 与体长具有显著相关; HLJ133, HLJ346, HLJ360 与头长极显著相关; HLJ529, HLJE538, HLJE586 与头长具有显著相关; HLJ673, HLJE282 与尾柄长具有极显著相关; HLJ348, HLJ368, HLJ382, HLJ437, HLJ483, HLJ752, HLJE169, HLJE586 与尾柄长具有显著相关。

在标记 HLJ368, HLJ382, HLJ437, HLJ529, HLJ673, HLJE169, HLJE282, HLJE586 中即使存在显著差异, 但由于基因型只有两种, 所以不能进行多重比较。

通过微卫星检测结果可以看出, 在标记 HLJ133 中共检测到 4 种基因型, AB 和 BC 两种基因型在体重、体长、头长和尾柄长数值上都高于 AC 和 BB 两种基因型。在体重、头长方面, AB 和 BC 个体均值显著高于 AC 和 BB 个体, 在体重、体长、头长方面, AB、AC 和 BC 个体的均值显著高于 BB 个体, 在尾柄长方面这四种基因型虽然不显著但是均值也均高于 BB 个体。因此可以看出, 等位基因 B 纯合时对体重、体长、头长和尾柄长方面起负面影响。

表 2 群体在 50 个微卫星标记基因位点的统计信息
 Tab.2 Statistics information of 50 microsatellites genetic loci in population

基因座 loci	等位基因 alleles	等位基因片段 fragment	有效等位 基因数 <i>N</i>	杂合度 <i>H</i>	多态信息 含量 <i>PIC</i>	等位基因频率 allele frequency			
						A	B	C	D
HLJ133	3	246 ~ 272	2.824 7	0.646 0	0.572 2	0.321 4	0.440 5	0.238 1	
HLJ311	3	158 ~ 204	2.754 5	0.637 0	0.559 7	0.192 8	0.397 6	0.409 6	
HLJ322	3	200 ~ 238	2.660 4	0.624 1	0.553 5	0.228 9	0.271 1	0.500 0	
HLJ357	2	228 ~ 281	1.523 2	0.343 5	0.284 5	0.220 2	0.779 8		
HLJ360	3	212 ~ 239	2.411 9	0.585 4	0.520 3	0.202 4	0.232 1	0.565 5	
HLJ371	3	140 ~ 157	2.826 4	0.636 2	0.572 0	0.333 3	0.232 1	0.434 5	
HLJ405	2	239 ~ 266	1.958 1	0.489 3	0.369 6	0.573 2	0.426 8		
HLJ441	2	118 ~ 153	1.623 0	0.383 9	0.310 2	0.741 0	0.259 0		
HLJ474	4	170 ~ 193	3.979 7	0.748 7	0.701 7	0.267 9	0.232 1	0.232 1	0.267 9
HLJ489	4	253 ~ 337	3.953 5	0.747 1	0.699 8	0.222 9	0.277 1	0.222 9	0.277 1
HLJ519	3	238 ~ 260	2.654 1	0.623 2	0.552 2	0.279 8	0.500 0	0.220 2	
HLJ526	3	164 ~ 180	2.656 3	0.623 5	0.552 7	0.500 0	0.222 9	0.277 1	
HLJ802	3	260 ~ 308	2.867 4	0.651 3	0.578 0	0.433 7	0.295 2	0.271 1	
HLJ804	3	136 ~ 161	2.650 4	0.622 7	0.551 5	0.284 0	0.216 0	0.500 0	
HLJ870	3	278 ~ 392	2.763 3	0.638 1	0.566 1	0.250 0	0.279 8	0.470 2	
HLJ922	3	349 ~ 395	2.459 8	0.593 5	0.527 2	0.238 1	0.208 3	0.553 6	
HLJ925	3	238 ~ 273	2.614 5	0.617 5	0.547 9	0.513 3	0.260 0	0.226 7	
HLJ1134	3	220 ~ 260	2.892 7	0.654 3	0.580 7	0.268 3	0.420 7	0.311 0	
HLJ1135	2	249 ~ 323	1.833 6	0.454 6	0.351 3	0.650 6	0.349 4		
HLJ1284	2	199 ~ 215	1.928 3	0.481 4	0.365 5	0.403 6	0.596 4		
HLJ1285	3	165 ~ 179	2.927 2	0.658 4	0.584 4	0.279 8	0.315 5	0.404 8	
HLJ1290	2	209 ~ 218	1.569 4	0.362 8	0.297 0	0.761 9	0.238 1		
HLJ1301	4	173 ~ 227	3.935 3	0.745 9	0.698 5	0.232 1	0.208 3	0.267 9	0.291 7
HLJ1306	3	188 ~ 200	2.686 5	0.627 8	0.557 1	0.261 9	0.244 0	0.494 0	
HLJ1307	4	154 ~ 168	3.880 1	0.742 3	0.694 1	0.256 0	0.297 6	0.267 9	0.178 6
HLJ1316	3	167 ~ 206	2.402 0	0.583 7	0.517 7	0.565 5	0.184 5	0.250 0	
HLJ1351	3	196 ~ 202	2.927 1	0.658 4	0.583 8	0.259 0	0.373 5	0.367 5	
HLJ1394	3	122 ~ 161	2.574 7	0.611 6	0.542 7	0.220 2	0.256 0	0.523 8	
HLJ1419	3	229 ~ 236	2.172 4	0.539 7	0.478 3	0.619 0	0.142 9	0.238 1	
HLJ1420	2	207 ~ 286	1.997 9	0.499 5	0.374 7	0.483 9	0.516 1		
HLJE57	2	219 ~ 228	1.986 2	0.496 5	0.373 3	0.458 3	0.541 7		
HLJE80	3	177 ~ 187	2.768 8	0.638 8	0.566 9	0.469 5	0.268 3	0.262 2	
HLJE90	2	207 ~ 219	1.445 9	0.308 4	0.260 9	0.809 5	0.190 5		
HLJE93	3	209 ~ 224	2.645 2	0.622 0	0.552 0	0.244 0	0.250 0	0.506 0	
HLJE104	3	235 ~ 287	2.935 1	0.659 3	0.585 5	0.281 2	0.400 0	0.318 7	
HLJE169	3	198 ~ 223	2.666 2	0.624 9	0.554 6	0.244 0	0.500 0	0.256 0	
HLJE217	3	348 ~ 361	2.815 1	0.644 8	0.571 9	0.256 0	0.452 4	0.291 7	
HLJE219	2	283 ~ 312	1.900 4	0.473 8	0.361 5	0.385 5	0.614 5		
HLJE225	2	414 ~ 430	1.645 3	0.392 2	0.315 3	0.732 1	0.267 9		
HLJE241	3	204 ~ 217	2.856 1	0.649 9	0.575 0	0.232 1	0.410 7	0.357 1	
HLJE282	2	164 ~ 172	1.415 2	0.293 4	0.250 4	0.821 4	0.178 6		
HLJE284	3	223 ~ 235	2.957 9	0.661 9	0.587 9	0.291 7	0.386 9	0.321 4	
HLJE285	3	223 ~ 230	2.998 1	0.666 5	0.592 4	0.321 4	0.339 3	0.339 3	
HLJE287	3	219 ~ 223	2.912 9	0.656 7	0.582 2	0.361 4	0.385 5	0.253 0	
HLJE299	3	239 ~ 249	2.909 1	0.656 2	0.582 6	0.291 7	0.416 7	0.291 7	
HLJE300	4	248 ~ 274	3.577 2	0.720 5	0.669 5	0.357 1	0.184 5	0.148 8	0.309 5
HLJE521	3	372 ~ 388	2.952 2	0.661 3	0.587 1	0.343 4	0.277 1	0.379 5	
HLJE538	3	200 ~ 219	2.919 0	0.657 4	0.582 9	0.359 8	0.384 1	0.256 1	
HLJE616	3	178 ~ 186	2.860 7	0.650 4	0.577 1	0.261 9	0.434 5	0.303 6	
HLJE619	3	358 ~ 392	2.976 6	0.664 0	0.589 9	0.357 1	0.291 7	0.351 2	

注:由于数据过大,本文只摘取了其中的 50 个座位做表。其平均多态信息含量和平均杂合度均是 195 个座位所得出的结果。

Notes: Because the data was too huge, this report selected 50 loci to make the table. The average *PIC* and the average *H* were the results of 195 loci.

表 3 17 个微卫星位点不同基因型体重、体长、头长、尾柄长的平均值及多重比较

Tab. 3 Means and multiple comparisons of body weight, body length, head length, tail handle length in 17 microsatellites loci

座位 loci	基因型 genotype	个体数 no.	体重(g) body weight	体长(cm) body length	头长(cm) head length	尾柄长(cm) tail handle length
HLJ133	AB	36	166.133 3 ^{ab} ± 35.679 52	20.931 9 ^a ± 1.579 71	5.399 4 ^a ± 0.465 48	3.370 8 ^a ± 0.454 42
	AC	23	150.660 9 ^b ± 44.107 78	20.317 0 ^a ± 2.091 98	5.124 3 ^b ± 0.514 38	3.271 7 ^a ± 0.490 55
	BB	3	92.700 0 ^c ± 31.806 13	17.800 0 ^b ± 0.655 74	4.466 7 ^c ± 0.208 17	2.866 7 ^a ± 0.450 92
	BC	22	174.918 2 ^a ± 41.052 88	21.097 3 ^a ± 1.877 82	5.425 0 ^a ± 0.374 09	3.367 7 ^a ± 0.456 76
HLJ346	AB	14	155.207 1 ^b ± 45.331 25	20.442 1 ^b ± 2.195 72	5.311 4 ^b ± 0.582 02	3.420 7 ^a ± 0.538 45
	AD	21	142.457 1 ^b ± 37.692 73	20.147 6 ^b ± 1.619 60	5.092 9 ^b ± 0.431 65	3.170 0 ^a ± 0.351 43
	BC	16	196.715 4 ^a ± 30.495 87	22.001 5 ^a ± 1.427 01	5.676 9 ^a ± 0.344 37	3.454 6 ^a ± 0.546 76
	CD	33	160.224 2 ^b ± 40.373 36	20.567 3 ^b ± 1.899 26	5.240 3 ^b ± 0.465 67	3.327 9 ^a ± 0.433 98
HLJ348	AB	19	160.242 1 ^{ab} ± 40.179 49	20.811 6 ^{ab} ± 1.813 37	5.312 1 ^a ± 0.547 93	3.345 3 ^a ± 0.401 16
	AC	21	178.178 9 ^a ± 42.988 89	21.640 5 ^a ± 1.695 72	5.405 8 ^a ± 0.540 60	3.565 3 ^a ± 0.496 58
	BB	14	158.685 7 ^{ab} ± 30.705 65	20.417 9 ^{ab} ± 1.540 10	5.246 4 ^a ± 0.419 92	3.344 3 ^a ± 0.466 57
	BC	30	152.100 0 ^b ± 46.563 69	20.081 3 ^b ± 2.025 73	5.226 7 ^a ± 0.468 99	3.139 0 ^a ± 0.411 99
HLJ360	AB	13	170.753 8 ^a ± 43.828 39	20.981 5 ^{ab} ± 2.366 30	5.430 8 ^a ± 0.576 46	3.300 0 ^a ± 0.622 16
	AC	21	135.047 6 ^b ± 31.514 97	19.766 7 ^b ± 1.396 36	5.003 8 ^b ± 0.456 73	3.204 8 ^a ± 0.441 28
	BC	26	164.076 9 ^a ± 46.378 80	20.881 5 ^a ± 1.977 51	5.305 8 ^a ± 0.434 13	3.388 8 ^a ± 0.411 60
	CC	24	177.104 2 ^a ± 34.825 58	21.150 0 ^a ± 1.877 82	5.473 3 ^a ± 0.489 92	3.374 2 ^a ± 0.420 45
HLJ368	AA	42	169.007 1 ± 42.312 49	21.101 0 ± 1.842 03	5.370 2 ± 0.508 83	3.430 5 ± 0.441 53
	AB	42	154.142 9 ± 40.834 02	20.289 0 ± 1.846 00	5.224 8 ± 0.464 92	3.219 3 ± 0.452 28
HLJ382	AB	38	162.226 3 ± 37.485 49	20.815 0 ± 1.624 11	5.341 8 ± 0.461 37	3.434 7 ± 0.441 97
	BB	46	161.037 0 ± 45.798 54	20.595 9 ± 2.076 75	5.260 9 ± 0.514 45	3.234 1 ± 0.453 42
HLJ390	AA	44	157.479 5 ^b ± 40.941 94	20.418 4 ^b ± 1.818 53	5.267 7 ^a ± 0.426 28	3.239 3 ^a ± 0.440 76
	AB	22	176.854 5 ^a ± 41.520 78	21.618 2 ^a ± 1.757 47	5.377 7 ^a ± 0.576 33	3.499 5 ^a ± 0.460 18
	BB	17	149.770 6 ^b ± 41.745 45	20.092 4 ^b ± 1.818 12	5.247 1 ^a ± 0.544 71	3.280 6 ^a ± 0.435 42
HLJ437	AC	45	163.015 6 ± 36.863 35	20.768 0 ± 1.622 83	5.332 2 ± 0.460 50	3.3938 ± 0.399 80
	BC	39	157.532 4 ± 47.709 57	20.478 9 ± 2.127 99	5.255 1 ± 0.538 79	3.2114 ± 0.499 35
HLJ483	AB	10	159.740 ^a ± 13.407	20.763 0 ^a ± 1.089 40	5.360 0 ^a ± 0.365 00	3.603 6 ^a ± 0.283 98
	AC	29	168.603 ^a ± 7.873	20.844 8 ^a ± 2.235 12	5.369 0 ^a ± 0.570 31	3.145 5 ^b ± 0.446 43
	BC	13	158.820 ^a ± 13.407	20.880 0 ^a ± 1.698 56	5.190 0 ^a ± 0.406 07	3.366 7 ^{ab} ± 0.503 32
	CC	32	159.462 ^a ± 7.495	20.595 3 ^a ± 1.731 83	5.287 2 ^a ± 0.463 59	3.351 0 ^{ab} ± 0.448 27
HLJ529	AB	48	170.462 5 ± 37.539 19	21.079 0 ± 1.694 43	5.425 2 ± 0.468 26	3.407 5 ± 0.444 91
	BB	36	149.625 7 ± 45.799 18	20.202 6 ± 2.034 58	5.122 3 ± 0.477 71	3.218 0 ± 0.461 30
HLJ673	AB	40	152.910 0 ± 43.903 94	20.245 3 ± 1.963 26	5.194 5 ± 0.473 10	3.190 8 ± 0.443 27
	AC	44	169.452 3 ± 39.028 90	21.103 9 ± 1.717 96	5.391 1 ± 0.491 38	3.446 8 ± 0.438 80
HLJ752	AA	38	148.328 9 ^a ± 38.488 83	20.172 6 ^a ± 1.772 97	5.190 8 ^a ± 0.488 22	3.261 3 ^{ab} ± 0.441 70
	AB	6	168.750 0 ^a ± 20.094 97	20.240 0 ^a ± 0.933 38	5.465 0 ^a ± 0.049 50	2.660 0 ^b ± 0.056 57
	AC	21	168.604 8 ^a ± 33.185 91	21.111 4 ^a ± 1.480 69	5.404 8 ^a ± 0.389 20	3.328 1 ^a ± 0.431 66
	BC	19	171.042 1 ^a ± 53.786 53	20.900 0 ^a ± 2.353 37	5.321 6 ^a ± 0.613 92	3.410 5 ^a ± 0.470 40
HLJE96	AB	19	155.400 0 ^b ± 44.738 57	20.290 6 ^b ± 2.158 42	5.296 9 ^{ab} ± 0.439 12	3.328 8 ^a ± 0.496 30
	AC	22	157.054 5 ^b ± 38.508 67	20.504 1 ^b ± 1.771 81	5.212 7 ^b ± 0.395 32	3.275 9 ^a ± 0.474 45
	BB	26	157.423 1 ^b ± 41.213 52	20.528 8 ^b ± 1.757 68	5.206 2 ^b ± 0.539 32	3.317 3 ^a ± 0.434 96
	BC	17	184.158 8 ^a ± 40.744 37	21.860 0 ^a ± 1.632 83	5.558 8 ^a ± 0.523 58	3.465 3 ^a ± 0.453 36

· 续表 3 ·

座位 loci	基因型 genotype	个体数 no.	体重(g) body weight	体长(cm) body length	头长(cm) head length	尾柄长(cm) tail handle length
HLJE169	AB	41	162.790 2 ± 45.027 58	20.926 8 ± 1.987 86	5.268 0 ± 0.548 31	3.452 0 ± 0.446 48
	BC	43	160.416 3 ± 39.397 42	20.474 0 ± 1.761 41	5.325 6 ± 0.431 69	3.203 7 ± 0.437 78
HLJE282	AA	54	163.129 6 ± 40.423 40	20.840 0 ± 1.736 24	5.319 6 ± 0.468 84	3.436 1 ± 0.409 63
	AB	30	158.776 7 ± 45.272 37	20.434 0 ± 2.115 03	5.257 7 ± 0.531 69	3.124 7 ± 0.475 34
HLJE538	AB	22	162.513 6 ^{ab} ± 45.125 91	20.510 9 ^{ab} ± 1.943 33	5.318 2 ^{ab} ± 0.559 03	3.182 7 ^a ± 0.470 81
	AC	36	168.752 8 ^a ± 38.254 33	21.165 8 ^a ± 1.680 37	5.359 4 ^a ± 0.429 21	3.413 9 ^a ± 0.419 67
	BB	19	141.742 1 ^b ± 44.492 31	19.903 7 ^b ± 2.103 85	5.039 5 ^b ± 0.480 04	3.232 6 ^a ± 0.509 97
	BC	7	161.620 0 ^{ab} ± 19.566 86	20.310 0 ^{ab} ± 1.130 49	5.500 0 ^{ab} ± 0.316 23	3.480 0 ^a ± 0.303 32
HLJE586	AB	46	169.658 7 ± 39.078 33	21.0313 ± 1.749 87	5.426 3 ± 0.495 97	3.418 7 ± 0.442 84
	BB	38	150.845 5 ± 42.348 13	20.183 0 ± 1.931 70	5.125 2 ± 0.436 18	3.173 6 ± 0.443 83

注:同列中不同字母数值间差异显著($P < 0.05$)。

Notes: Different letters within the same column differ significantly ($P < 0.05$).

在标记 HLJ346 中共检测到 4 种基因型,其中在体重、体长、头长方面,BC 个体均值显著高于其他 3 种基因型,且 BC 个体在体重、体长、头长、尾柄长方面均值都高于 AD 个体,有可能等位基因 B 和 C 与体重、体长、头长、尾柄长正相关。

在标记 HLJ348 中,基因型为 AC 的个体在体重和体长方面均显著高于其他 3 种基因型的个体,此外在头长和尾柄长方面均值与其他 3 种基因型不显著,但是均值仍高于其他 3 种基因型。可以看出当等位基因 A 和 C 杂合时,与体重和体长方面显著正相关,而且与头长和尾柄长或许也有一定的正面影响。

在标记 HLJ360 中,基因型为 AC 的个体在体重、体长、头长方面的均值显著低于其他 3 种基因型,其中在体重方面与 CC 基因型的个体均值差值高达 32.056 6 g,在其他 3 种基因型的个体 4 个性状的均值都无显著差异。由此看出,等位基因 A 和 C 杂合时对体重、体长和头长有一定的负面影响。

在标记 HLJ390 中,基因型 AB 的个体均值在体重、体长方面显著高于其他两个基因型的个体均值,这 3 个基因型在头长、尾柄长方面无显著差异,但是基因型 AB 的个体均值在头长、尾柄长方面均高于其他基因型的个体均值,可能等位基因 A 和 B 杂合时与体重、体长正相关,对体重、头长、尾柄长或许也有一定的正面影响。

在标记 HLJ483 中,基因型 AC 的个体均值在尾柄长方面显著低于 AB 个体的均值,在体重、体长、头长方面均值都无显著差异,可以说明基因型

AC 除了对尾柄长方面有负面影响外,与体重、体长、头长没有影响。

在标记 HLJ752 中,体重、体长、头长在 4 种基因型间均值无显著差异,在尾柄长方面 AB 个体均值显著低于 AC 和 BC 个体均值,即使与 AA 个体均值无显著差异,但是仍小于 AA 个体均值,说明该标记的 4 种基因型与体重、体长、头长没有相关性,基因型 AB 对尾柄长有一定的负面影响。

在标记 HLJE96 中,基因型 BC 个体的均值在体重、体长方面显著高于其他 3 种基因型的个体,在头长方面显著高于 AC 和 BB 基因型的个体均值,在尾柄长方面 4 种基因型的个体均值都无显著差异,BC 个体均值在体重、体长、头长和尾柄长方面都高于其他 3 种基因型,可以推测当等位基因 B 和 C 杂合时与体重、体长正相关。

在标记 HLJE538 中,可以检测到 4 种基因型,其中基因型为 BB 的个体在体重、体长、头长都显著低于 AC 个体均值。在尾柄长方面 4 种基因型的个体均值都无显著差异,除了 BB 基因型外,其他 3 种基因型在体重、体长、头长方面的均值都无显著差异,可以得出当等位基因 B 纯合时与等位基因 A 和 C 杂合时相比对体重、体长、头长方面产生的影响较小。

2.5 体重与体长、头长、尾柄长间相关系数和通径系数的求解

设体重 y 、体长 x_1 、头长 x_2 、尾柄长 x_3 ,采用 SPSS 11.5 软件包中的双变量相关分析(Bivariate)对鲤的体重、体长、头长和尾柄长求解相关系数的大小。

体重与体长的相关系数 $\gamma_{yx_1} = 0.9241$; 体重与头长的相关系数 $\gamma_{yx_2} = 0.8742$; 体重与尾柄长的相关系数 $\gamma_{yx_3} = 0.6013$; 体长与头长的相关系数 $\gamma_{x_1x_2} = 0.7677$; 体长与尾柄长的相关系数 $\gamma_{x_1x_3} = 0.7018$; 头长与尾柄长的相关系数 $\gamma_{x_2x_3} = 0.5222$ 。

表4 性状间的相关系数
Tab.4 The correlation coefficient among traits

变量 variable	平均数 mean	标准差 standard deviation	体长 x_1 body length x_1	头长 x_2 head length x_2	尾柄长 x_3 tail handle length x_3	体重 y body weight y
x_1	20.695	1.87782	1	0.7677**	0.7018**	0.9241**
x_2	5.2975	0.48992	0.7677**	1	0.5222**	0.8742**
x_3	3.324881	0.45676	0.7018**	0.5222**	1	0.6013**
y	161.575	41.99945				

由以上数据可以看出,体长、头长、尾柄长都与体重极显著正相关,但是由于体长、头长和尾柄长之间有相关性不能明确的看出与体重之间的真实的直接的相关系数大小,直接相关系数用通径系数 P 表示。 P_1 、 P_2 、 P_3 分别是体长、头长和尾柄长与体重的直接相关系数,可得以下的方程式:

$$0.9241 = P_1 + 0.7677P_2 + 0.7018P_3$$

$$0.8742 = 0.7677P_1 + P_2 + 0.5222P_3$$

$$0.6013 = 0.7018P_1 + 0.5222P_2 + P_3$$

求解方程式可得通径系数 $P_1 = 0.6747$, $P_2 = 0.3980$, $P_3 = -0.08008$

从结果可以得知,体长和头长与体重的直接相关性是正相关,而尾柄长与体重的直接相关性不大。在微卫星座位与体重、体长、头长、尾柄长的相关分析中,利用最小二乘法得到的结果是标记 HLJ133 与体重、头长具有极显著相关,与体长具有显著相关;标记 HLJ346 与体重、头长具有显著相关;而与尾长具有显著相关的标记都与体重无相关性。

尾柄长与体重的直接相关系数是 -0.08008 ,而相关系数是 0.6013 ,可见由于基因存在一因多效现象,尾柄长与体长或头长具有相关性,所以导致了尾柄长与体重也具有相关性。比如标记 HLJ368 与体长、尾柄长具有显著相关性,标记 HLJ673 与体长、尾柄长具有显著相关,HLJE586 与头长、尾柄长具有显著相关。

由于本文只研究了体长、头长、尾柄长与体重的相关性大小,因此就要探讨相关的密切程度,相关的密切程度用决定系数表示。决定系数 $d_{yx_1} = P_1^2 = 0.4552$; $d_{yx_2} = P_2^2 = 0.1584$; $d_{yx_3} = P_3^2 = 0.006413$; $d_{yx_1x_2} = 2P_1P_2\gamma_{x_1x_2} = 0.4123$; $d_{yx_1x_3} = 2P_1P_3\gamma_{x_1x_3} = -0.07584$; $d_{yx_2x_3} = 2P_2P_3\gamma_{x_2x_3} =$

-0.03329 ; 决定系数的总和为 0.9232 。由结果看出,体长的决定系数最大,其次是体长与头长相互关联时的决定系数,而尾柄长与体重相关性不大,因此研究体长和头长对体重的影响具有一定的价值,而研究尾柄长对体重的影响价值可能不大。

3 讨论

回交群体作为育种群体,是基础研究与应用中的纽带^[24],可以广泛地用于动植物遗传连锁图谱的构建,具有一定的优越性。本研究利用的是柏氏鲤和荷包红鲤的第一代回交群体 (BC_1F_1),该群所测量的表型性状由于养殖时间长遗传分化非常明显,提高了性状与标记间相关性检测的精确性。本实验采用的标记是新使用的,因此所得的结果丰富了鲤的体重、体长、头长和尾柄长相关标记的数量。

在分型过程中,由于某种基因型出现的频率太少,缺少分析价值,因此在实际统计分析中,这些基因型不被考虑。在统计中出现基因型偏离的现象,主要是由于群体个体数目有限,无法完全达到孟德尔分离规律的效果。本实验在 SPSS 11.5 软件中利用最小二乘法分析,结果表明很多位点存在一因多效和多因一效的现象,但未进行比较和验证。

标记 HLJ133 的基因型中,基因型 AB 和 BC 比基因型 AC 和 BB 在体重、体长、头长和尾柄长方面显示正效应,在育种时可选择在标记 HLJ133 上基因型为 AC 和 BB 的亲本进行杂交,便可得到基因型为 AB 和 BC 的子代,进而得到优良的性状群体。

在标记 HLJ346 中基因型为 BB 和 CC 的亲

本进行杂交,在标记 HLJ390 中选择基因型为 AA 和 BB 的亲本进行杂交,在标记 HLJE96 中选择基因型 BB 和 CC 的亲本进行杂交,都可以得到对体重和体长正效应的基因型的个体所组成的群体。而在标记 HLJ360 中,等位基因 C 纯合时体重和体长最大,可选择 CC 纯合的个体进行繁殖。

体重与体长的相关系数 $\gamma_{yx_1} = 0.9241$; 体重与头长的相关系数 $\gamma_{yx_2} = 0.8742$; 体重与尾柄长的相关系数 $\gamma_{yx_3} = 0.6013$; 体长与头长的相关系数 $\gamma_{x_1x_2} = 0.7677$; 体长与尾柄长的相关系数 $\gamma_{x_1x_3} = 0.7018$; 头长与尾柄长的相关系数 $\gamma_{x_2x_3} = 0.5222$ 。体重与体长的直接相关系数是 0.6747, 体重与头长的直接相关系数是 0.3980, 体重与尾柄长的直接相关系数是 -0.08008。在标记 HLJ133 的 4 种基因型中除基因型 BB 以外的个体的体重、体长、头长、尾柄长的均值都大于基因型 BB 个体的均值,说明了体重、体长、头长、尾柄长之间的相关系数都具极显著的合理性;但是利用最小二乘法得到了结果是标记 HLJ133 与体重、头长具有极显著相关,与体长具有显著相关,与尾柄长没有相关性,说明了体重与体长、头长的直接相关系数是显著而与尾柄长的直接相关系数非常小的合理性。

由于可用于比较的其他鲤的体重、体长、头长、尾柄长的 QTL 定位结果还很少^[25-26],所以实验所得的遗传标记结果还有待于进一步的分析和验证。本文只对体重与体长、头长、尾柄长的相关分析和通径分析,没有涉及鲤的其他性状,有一定的片面性,所以体重与体长、头长、尾柄长的相关性还需进一步的分析。体重与尾柄长的相关性非常小这一结论在鲤其他群体中还有待于分析和证实。此外,本研究所得与性状相关的分子标记是否能作为鲤辅助育种的选择标记还有待于在具体育种群体中加以验证。

参考文献:

- [1] 全迎春,孙效文,梁利群.应用微卫星多态分析四个鲤群体的遗传多样性[J].动物学研究,2005,28(6):595-602.
- [2] 徐云碧,朱立煌.分子数量遗传学[M].北京:中国农业出版社,1994.
- [3] 何平.真核生物中的微卫星及其应用[J].遗传,1998,20(4):4247.
- [4] WEBER J L, MAYR P E. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using polymerase chain reaction[J]. Am J Hum Gen, 1989, 44:388-396.
- [5] GOLDSTEIN D B, POLLOCK D D. Launching microsatellites: a review of mutational processes and methods of phylogenetic inference [J]. J Hered, 1997, 88:335-342.
- [6] FERGUSON A. Molecular genetics in fisheries: current and future perspective [J]. Rev Fish Biol Fish, 1994, 4:379-383.
- [7] TAUTZ D, RENZ M. Simple sequence are ubiquitous repetitive components of eukaryote genome [J]. Nucleic Acid Res, 1984, 12:263-270.
- [8] TAUTZ D. Hypervariability of simple sequence as a general source for polymorphic DNA markers [J]. Nucleic Acid Res, 1989, 17:6463-6471.
- [9] 杜长斌,孙效文,楼允东,等.微卫星在水产动物种质资源研究方面的应用[J].水产学杂志,2000,13(1):68-73.
- [10] RÊDER M S, KORZUN V, WENDEHAKKE K, et al. A microsatellite map of wheat [J]. Genetics, 1998, 149:2007-2023.
- [11] KANTETY R V, ROTA M L, MATTHEWS D E, et al. Data mining for simple sequence repeats in expressed sequence tags from barley, maize, rice, sorghum and wheat [J]. Plant Mol Biol, 2002, 48:501-510.
- [12] CORDEIRO G M, CASU R, MCINTYRE C L, et al. Microsatellite markers from sugarcane (*Saccharum* spp.) ESTs cross transferable to rice and sorghum [J]. Plant Science, 2001, 160(6):1115-1123.
- [13] EUJAYL I, SORRELLS M, BAUM M, et al. Assessment of genotypic variation among cultivated durum wheat based on EST-SSRs and genomic SSRs [J]. Euphytica, 2001, 119:39-43.
- [14] SASAKI T, BILLET E, PETRONIS A, et al. Psychosis and genes with trinucleotide repeat nucleotide repeat polymorphism. Human [J]. Genet, 1996, 97:244-246.
- [15] DAVID L, REMINGTON, JEFFRY M, et al. Structure of linkage disequilibrium and phenotypic associations in the maize genome [J]. PNAS, 2001, 98(20):11479-11484.
- [16] 董世瑞,孔杰,万初坤,等.中国对虾形态性状对体重影响的通径分析[J].海洋水产研究,2007,28(3):15-22.
- [17] 王新安,马爱军,许可,等.大菱鲆幼鱼表型形态性

- 状与体重之间的关系[J]. 动物学报, 2008, 54(3): 540-545.
- [18] 刘小林, 常亚青, 相建海, 等. 栉孔扇贝壳尺寸性状对活体重影响效果分析[J]. 海洋与湖沼, 2002, 33(6): 673-678.
- [19] 耿绪云, 王雪惠, 孙金生, 等. 中华绒螯蟹一龄幼蟹外部形态性状对体重的影响效果分析[J]. 海洋与湖沼, 2007, 38(1): 49-54.
- [20] GENG B, SUN X W, LIANG L Q, *et al.* Analysis the genetic diversity of *Aristichthys nobilis* in China with 17 microsatellite markers[J]. *Heredita*, 2006, 28(6): 683-688.
- [20] 耿波, 孙效文, 梁利群, 等. 利用 17 个微卫星标记分析鳊鱼的遗传多样性[J]. 遗传, 2006, 28(6): 683-688.
- [21] 伍献文. 中国鲤科鱼类志[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1964.
- [22] 萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 D W. 分子克隆实验指南[M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2002, 8.
- [23] NEI M, ROYCHOUDHURY A K. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance[J]. *Genetics*, 1974, 76: 379-390.
- [24] 方宣钧, 吴为人, 唐记良. 作物 DNA 标记辅助育种[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 37-42.
- [25] 孙效文, 鲁翠云, 曹顶臣, 等. 镜鲤体重相关分子标记与优良子代的筛选和培育[J]. 水产学报, 2009, 33(2): 177-181.
- [26] 王宣朋, 李文升, 孙效文, 等. 鲤头长、体厚、体高性状的 QTL 定位及遗传效应分析[J]. 水产学报, 2010, 34(11): 1645-1655.

Correlation analysis of the 4 growth traits in the common carp backcross population

CHU Zhi-yuan^{1,2}, ZHANG Xiao-feng², CAO Zhu^{1,2}, SUN Xiao-wen^{2*}

(1. College of Life Science and Technology, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China;

2. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China)

Abstract: 132 SSR and 63 EST markers were used to analyze the genotype of eighty-four individuals which crossed from barbless carp (*Cyprinus pellegrini*) and Hebao cold tolerance red carp (*Cyprinus carpio* var. wuyuanensis). The results showed that a total of 565 different alleles were found, and the number of alleles in each locus was 2 to 4. The DNA fragment length was 72 bp to 784 bp, and the average number of alleles per locus was 2.897 4. The mean polymorphism information content (PIC) was 0.584 9, and the average heterozygosity was 0.592 8. The GLM procedure was used to analyze the effects of these 195 microsatellites on body weight, length, head length and caudal peduncle length. Results revealed that HLJ133, HLJ346, HLJ360 were discovered very significantly related to carp's body weight, HLJ133, HLJ368, HLJ390, HLJ673, HLJE96 had a significant impact on carp's body length. Markers HLJ133, HLJ346, HLJ360 were discovered very significantly related to carp's head length, and HLJ529, HLJE538, HLJE586 had a significant impact on carp's head length. HLJ673, HLJE282 were discovered very significantly related to carp's caudal peduncle length, and HLJ348, HLJ368, HLJ382, HLJ437, HLJ483, HLJ752, HLJE169, HLJE586 had a significant impact on carp's caudal peduncle length. In addition, the correlation coefficient and the path coefficient were obtained between length, head length, caudal peduncle length and body weight. And the correlation between caudal peduncle length and body weight was insignificant.

Key words: common carp; simple sequence repeat (SSR); correlation analysis; correlation coefficient; path coefficient

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