

镜鲤 (*Cyprinus carpio*) 肌间刺数量微卫星标记筛选与相关性分析

马吉敏^{1,2}, 匡友谊², 郑先虎², 曹顶臣², 吕伟华², 常瑜², 周丹^{1,2}, 杜科^{1,2}, 孙效文^{2,*}

1. 大连海洋大学 水产与生命学院, 辽宁 大连 116023

2. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070

摘要: 该文从 200 个微卫星标记中筛选出 149 个多态性标记, 并对镜鲤 (*Cyprinus carpio*) 子代个体数最多的家系进行了肌间刺数量的相关性分析。结果表明有 8 个微卫星标记与肌间刺数量显著相关 ($P<0.05$)。其中, HLJ3086、HLJ2642 及 HLJ3515 与肌间刺数量极显著相关 ($P<0.01$)。多重比较同一标记不同基因型, 得到与肌间刺数量相关的基因型。将得到的与肌间刺数量显著相关微卫星标记在 NCBI 上进行 BLAST 比对, 结果显示 HLJ2891 与斑马鱼编码蜘蛛毒素亲和蛋白-2 (latrophilin-2-like) 基因相似, 一致度达 92%, HLJ3515 与斑马鱼编码丝氨酸/苏氨酸激酶 32B (serine/threonine-protein kinase 32B-like) 基因相似, 一致度达 81%。该结果为镜鲤肌间刺数量的分子标记辅助育种 (molecular marker assisted breeding) 提供了有效依据。

关键词: 镜鲤; 肌间刺数量; 微卫星标记; 相关分析

中图分类号: Q959.46⁺⁸ 文献标志码: A 文章编号: 0254-5853-(2013)04-0406-05

Screening and body correlation analysis of microsatellite markers related to intermuscular bone number in common carp (*Cyprinus carpio*)

Ji-Min MA^{1,2}, You-Yi KUANG², Xian-Hu ZHENG², Ding-Chen CAO², Wei-Hua LYU², Yu CHANG², Dan ZHOU^{1,2}, Ke DU^{1,2}, Xiao-Wen SUN^{2,*}

1. College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China

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

Abstract: In this study, 149 polymorphic markers were screened from 200 microsatellite markers. From a family of mirror carp, which included 107 individuals. All samples were analyzed for body correlation, and intermuscular bone number was tested using the General Linear Model (GLM) single marker regression. Determination of the threshold values by 10,000 permutation tests showed that eight markers had significant correlation ($P<0.05$), in which HLJ3086, HLJ3642 and HLJ3515 had very significant correlation with intermuscular bone number ($P<0.01$). In addition, the genotypes of the captured correlative loci were determined by Duncan's test using SPSS17.0 software. Markers were used to screen the protein and nucleotide database in the National Center for Biotechnology Information (NCBI). Blasting results showed that HLJ2891 was highly correlated (92%) with latrophilin-2-like and HLJ3515 was highly correlated (81%) with serine/threonine-protein kinase 32B-like of zebrafish. These functional markers and genotypes may provide an efficient basis for marker-assisted selection of intermuscular bone number in mirror carp.

Keywords: Mirror carp; Intermuscular bone number; Microsatellite marker; Body correlation analysis

鲤是重要的经济鱼类。长期的自然选择和人工选择育种, 使得鲤体型、体色及鳞片等表型性状多

收稿日期: 2012-12-31; 接受日期: 2013-04-12

基金项目: “863”项目(2011AA100402-2); 黑龙江水产研究所基本科研业务费专项(201010)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: sunxw2002@163.com

第一作者简介: 马吉敏(1984-), 女, 硕士研究生, 专业方向为动物遗传育种与繁殖。E-mail:majimin1985@163.com

样化(Quan et al, 2005),为遗传育种、生物表型及器官进化研究提供了丰富的原始材料(Cheng et al, 2001; Wang, 2005)。镜鲤(*Cyprinus carpio*)与常规养殖的鲤鱼品种相比,具有体型完好、含肉率高、生长速度快、成活率高、适应性强和抗病力强、易垂钓或捕起、人工驯化程度高及养殖经济效益高等诸多优点。但是鲤鱼具有肌间刺、肉质等品质方面的不足,因此,利用生物科学的研究手段和技术来改良这些性状具有重大的科学意义和经济价值。目前鱼类育种研究主要集中在鲤的生长性状方面,并获得了多个快速生长的品种。但是,关于鱼类肌肉品质性状方面的工作则较为缺乏。肌间刺数量作为肌肉品质改良的重要性状,尚未有遗传和育种方面的报道,因此,有必要开展鲤肌间刺数量的遗传机制研究,为其性状遗传改良奠定基础。

肌间刺是指位于椎骨两侧肌间隔中的硬骨小刺,由肌隔结缔组织骨化而成,为硬骨鱼类分类的形态特征之一(Meng et al, 1987; Patterson & Johnson, 1995)。目前的研究(Dong et al, 2006; Ma et al, 2012; Meng et al, 1987; Patterson & Johnson, 1995)表明肌间刺形态和数量受遗传控制,在种间、品种间或品系间均存在显著变异,为遗传改良提供了进化生物学和遗传学依据。

微卫星标记具有高多态性和共显性,可作为构建遗传图谱和性状遗传机制研究的重要工具(Yi et al, 2006)。近年来,采用微卫星标记和SNP标记对鲤的生长、形态性状及食物转化率等数量性状进行了QTL分析,并在镜鲤的分子育种上取得了显著进展(Jin et al, 2011; Sun et al, 2008; Wang et al, 2010, 2011)。

本研究利用149个微卫星标记对镜鲤肌间刺数量进行性状相关性分析,鉴定与其相关的分子标记及相关基因,获得了8个与其数量连锁的标记,旨在为下一步的QTL精确定位和鲤肌间刺的分子标记辅助育种(molecular marker assisted breeding)提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用鱼由黑龙江水产研究所松浦实验站培育。于2009年选取成熟的镜鲤雌性个体40尾,雄性个体20尾,用30对SSR标记对其进行遗传背景分析。根据个体亲缘关系进行配组,最终由29个

母本和11个父本构建30家系,同池养殖1 a以消除环境、饲料等影响。

1.2 家系区分

30个家系随机挑选991尾,选用20个多态性较高的微卫星标记,对40个亲本及子代进行基因型分析,利用Cervus3.0软件的NE-PP模型进行亲子鉴定,置信区间设置为95%,经过亲子鉴定家系区分后选用个体较多的8个家系,本研究选取子代个体数最多(107尾)且肌间刺数量性状明显分离的一个家系进行肌间刺数量和基因型分析。

1.3 肌间刺计数

根据解剖学方法计数肌间刺。

1.4 标记选择

本研究采用149个微卫星标记进行基因型分析。引物来自:(1)本实验室利用鲤基因组测序结果开发的微卫星标记;(2)NCBI数据库中的EST标记;(3)Yue & Orban(2002)和Guo & Gui(2007)等发表文献中的微卫星标记。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。

1.5 微卫星标记测定

参考《分子克隆实验指南》(Sambrook & Russell, 2002)进行高分子量基因组DNA的提取和纯化。PCR反应体系为11 μL,其中包括20 ng/μL DNA的模板1 μL、5 U/μL Taq聚合酶(Sanger)0.1 μL、1×PCR buffer(10 mmol/L Tris-HCl、50 mmol/L KCl、2.0 mmol/L MgCl₂、0.01% gelatin及2 mmol/L dNTPs, pH 8.3,)7.7 μL及10 mmol/L上下游引物各0.25 μL。PCR反应程序为94 °C预变性3 min;94 °C变性30 s,退火温度54~64 °C30 s,72 °C延伸30 s,共25个循环;72 °C延伸5 min。扩增产物用6%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行分离,银染后,数码相机拍照保存电泳图谱。

1.6 数据分析

选用在群体中具有多态性且符合孟德尔分离比的149个分子标记,利用Gel-Pro Analyzer4.5(Han et al, 2005)软件分析基因型数据。利用SPSS17.0进行性状的正态分布检验,利用GLM模型进行标记和性状相关性分析,模型如下:y=u+g+e,其中,y为性状,u为群体均值,g为基因型效应,e为残差,运用Permutation检验确定基因型效应的显著性水平(10 000次),用Duncan's多重比较分析基因型均值之间的差异。

2 结 果

2.1 性状分布

鲤的肌间刺数量性状呈现连续变异的特点，采

用 SPSS17.0 软件中的单样本 K-S 检验方法，检验肌间刺数量的频率是否符合正态分布，其平均值、标准差、偏度、峰度和正态分布的 P 值见表 1。经检验肌间刺数量的 $P>0.05$ ，符合正态分布。

表 1 107 尾镜鲤肌间刺数量的正态分布检验

Table 1 Gaussian distribution of intermuscular bone number

性状 Trait	平均值 Mean	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis	最小值 Minimum	最大值 Maximum	P 值 P value
肌间刺数量 Intermuscular bone number	80.600±6.014	-0.602	0.530	60.00	93.00	0.269

2.2 微卫星座位与肌间刺数量的相关性分析

采用 Permutation (10 000 次) 进行 GLM 模型的显著性检验(表 2)。HLJ3356、HLJ1093、HLJ3086、HLJ3513、HLJ2642、HLJ2891、HLJ3515 及 HLJ1362 与肌间刺数量显著相关 ($P<0.05$)，其中，HLJ3086、HLJ2642 及 HLJ3515 与肌间刺数量极显著相关 ($P<0.01$)。

对性状显著相关的标记进行基因型间均值的 Duncan's 多重比较 (表 2)。HLJ3086、HLJ2642 两个分子标记中只有两种基因型，不能进行多重比较；在分子标记 HLJ3356 中基因型 217/224 个体的肌间刺数量与基因型为 217/217、217/231、224/231 个体的肌间刺数量差异极显著 ($P<0.01$)；在分子标记 HLJ1093 中基因型 194/202 个体的肌间刺数量与其他 3 种基因型个体的肌间刺数量差异极显著 ($P<0.01$)；在分子标记 HLJ1362 中基因型为 201/227 个体的肌间刺数量与其他 3 种基因型个体的肌间刺数量差异极显著 ($P<0.01$)；分子标记 HLJ2891 中基因型为 285/301 个体的出现频率比较低，缺少分析价值，故在实际统计分析中不考虑。

3 讨 论

3.1 微卫星标记与肌间刺数量的相关分析

微卫星标记是共显性标记且检测方便，是目前遗传育种中经常使用的遗传标记之一 (Song et al, 2005)。本研究筛选出 200 对分型较好、多态性较高的引物对镜鲤肌间刺数量进行关联性分析，利用 GLM 模型确定了基因型效应的显著性水平，获得 8 个与肌间刺数量显著相关的微卫星标记，丰富了镜鲤微卫星标记数量，为其遗传连锁图谱的构建及肌间刺数量的 QTL 精确定位奠定了基础。

表 2 8 个微卫星位点不同基因型肌间刺数量

平均值和多重比较

Table 2 Means and multiple comparisons of intermuscular bone number at eight microsatellite loci

微卫星座位 Locus	P 值 P Value	基因型 Genotype	个体数 Number	肌间刺数量 Intermuscular bone number
HLJ3356	0.015*	217/217	25	81.160 ^b ±5.864
		217/231	26	82.923 ^b ±4.270
		217/224	19	76.790 ^a ±7.223
		224/231	27	80.407 ^b ±5.806
HLJ1093	0.047*	202/202	20	79.550 ^{ab} ±5.155
		196/202	29	81.690 ^b ±4.706
		194/202	26	78.539 ^a ±6.592
		194/196	24	81.917 ^b ±6.580
HLJ3086	0.007**	240/240	40	82.550±5.382
		232/240	59	79.458±5.981
		232/232	21	83.952 ^b ±4.653
		226/232	46	79.500 ^a ±6.782
HLJ3513	0.034*	226/226	28	80.036 ^{ab} ±5.124
		231/250	52	81.462±5.147
		220/250	45	80.356±6.050
		272/272	43	81.721 ^b ±4.458
HLJ2891	0.048*	272/285	29	78.483 ^{ab} ±6.743
		272/301	17	81.941 ^b ±6.026
		285/301	5	76.200 ^a ±7.396
		160/160	26	78.539 ^a ±5.880
HLJ3515	0.004**	160/170	32	81.719 ^{ab} ±6.166
		147/160	20	78.250 ^a ±5.149
		147/170	22	83.546 ^b ±5.106
		227/227	22	82.091 ^b ±6.248
HLJ1362	0.049*	227/235	19	82.053 ^b ±5.739
		201/227	27	78.519 ^a ±6.387
		201/235	27	81.333 ^{ab} ±4.641

* $P<0.05$; ** $P<0.01$ 。

同一栏中上标不同字母的平均值表示两个值之间差异显著 ($P<0.05$)。

Values with different subscripts in the same column mean significant differences ($P<0.05$) .

标记—性状连锁分析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 (Wang et al, 2011)。本研究对与肌间刺数量显著相关的标记进行基因型间均值的 Duncan's 多重比较, 在标记 HLJ3356 中, 肌间刺数量平均值为 80.600, 而基因型 217/224 肌间刺数量为 76.7895, 相比其他基因型具有显著优势。在育种实践中要培育出肌间刺数量偏少的品种, 可以选出一批基因型为 217/224 的个体, 在下一代培育过程中控制近亲繁殖, 以保留该基因型。在标记 HLJ3513 中基因型为 226/232 的肌间刺数量在 3 种基因型中具有显著优势, 故可选取基因型为 232/232 和 226/226 的纯合个体为亲本进行杂交; 而在标记 HLJ3515 中基因型为 160/160 和基因型为 147/160 的肌间刺

数量差异不显著, 故可选取 160/160 纯合个体为亲本或基因型为 160/160 和 147/170 的个体为亲本进行杂交; 标记 HLJ2891 中基因型为 272/272 和 272/301 的肌间刺数量无明显差异, 由于实际测得基因型为 285/301 的个体的表型值偏低, 故在育种工作中应选取基因型为 272/272 纯合个体为亲本。

本研究经 Permutation (10000 次) 检验确定显著性阈值, 获得 8 个与肌间刺数量显著相关的标记, 通过基因型间均值的 Duncan's 多重比较, 确定了与肌间刺数量相关的基因型; 此外, 还发现了两个与肌间刺数量相关的标记与斑马鱼已知功能的蛋白质相似, 为镜鲤肌间刺数量的分子标记辅助育种 (molecular marker assisted breeding) 提供了有效依据。

参考文献:

- Cheng HL, Pan QS, Ma GW, Ren DB, Yang CW. 2001. Advance on common carp breeding. *Journal of Inner Mongolia University for Nationalities (Natural Sciences, Quarterly)*, **16**(2): 46-50. [程汉良, 潘黔生, 马国文, 任大宾, 杨长文. 2001. 鲤鱼育种研究. 内蒙古民族大学学报(自然科学版), **16**(2): 46-50.]
- Dong ZJ, Hang DZ, Li LJ, Yuan XH, Miu WM, Chen QQ, Chen ZB, Zhang BL. 2006. Preliminary study on intermuscular bones of several cultured cyprinids. *Journal of Shanghai Fisheries University*, **16**(4): 425-429. [董在杰, 黄代中, 李丽娟, 袁新华, 谢为民, 陈奇渠, 陈志兵, 张炳良. 2006. 几种常见鲤科养殖鱼类肌间刺的初步研究. 上海水产大学学报, **16**(4): 425-429.]
- Guo W, Gui JF. 2007. Microsatellite marker isolation and cultured strain identification in *Carassius auratus gibelio*. *Aquaculture International*, **16**(6): 497-510.
- Han ZG, Wang CB, Song XL, Guo W, Gou J, Li C, Chen X, Zhang T. 2005. Characteristics, development and mapping of *Gossypium hirsutum* derived EST-SSRs in allotetraploid cotton. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, **112**(3): 430-439.
- Jin SB, Zhang XF, Jia ZY, Zheng XH, Sun XW. 2011. Linkage analysis of genetic diversity with economic traits in a mirror carp (*Cyprinus carpio* L.) family. *Chinese Journal of Fisheries*, **24**(1): 14-18. [金舒博, 张晓峰, 贾智英, 郑先虎, 孙效文. 2011. 一个镜鲤家系的遗传多样性及经济性状的遗传连锁分析. 水产学杂志, **24**(1): 14-18.]
- Liu YG. 2008. DNA Molecular Markers of Aquatic Biological. Beijing: Science Press. [刘云国. 2008. 水生生物DNA分子标记技术. 北京: 科学出版社.]
- Ma LX, Dong ZJ, Su SY, Zhang JQ, Liu W, Li LL, Yuan XH. 2012. Advance on intermuscular bone of fish. *Agricultural Science of Jiangsu*, **40**(4): 234-240. [马良骁, 董在杰, 苏胜彦, 张建桥, 刘伟, 李灵玲, 袁新华. 鱼类肌间刺的研究进展. 江苏农业科学, 2012, **40**(4): 234-240.]
- Meng QW, Su JX, Li WR. 1987. Fish Comparative Anatomy. Beijing: Science Press, 102-103. [孟庆闻, 苏锦祥, 李婉瑞. 1987. 鱼类比较解剖学. 北京: 科学出版社, 102-103.]
- Patterson C, Johnson GD. 1995. The intermuscular bones and ligaments of teleostean fishes. *Smithsonian Contributions to Zoology*, **559**(559): 1-85.
- Quan YC, Sun XW, Liang LQ. 2005. Microsatellite variation among four breeding populations of common carps. *Zoological Research*, **26**(6): 595-602. [全迎春, 孙效文, 梁利群. 2005. 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, **26**(6): 595-602.]
- Sambrook J, Russell DW. 2002. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 3rd ed. Beijing: Science Press, 8. [萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 DW. 2002. 分子克隆实验指南. 3 版. 北京: 科学出版社, 8.]
- Sherman EL, Nkrumah JD, Murdoch BM, Moore SS. 2007. Identification of polymorphisms influencing feed intake and efficiency in bee cattle. *Animal Genetics*, **39**(3): 225-231.
- Song XL, Wang K, Guo WZ. 2005. A comparison of genetic maps Romero-Severson J constructed from haploid and BC1 mapping population from the same crossing between *Gossypium hirsutum* L*G *barbadense* L. *Genome*, **48**(3): 378-390.
- Sun X, Wei ZB, Sun XW, Zhang Y, Lu CY. 2008. Analysis of genetic structure of mirror carp population and correlation of microsatellite markers and economic traits. *Hereditas*, **30**(3): 359-366. [孙新, 魏振邦, 孙效文, 张研, 鲁翠云. 2008. 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. 遗传, **30**(3): 359-366.]
- Wang XP, Zhang XF, Li WS, Zhang TQ, Sun XW. 2010. Mapping and genetic effect analysis of quantitative trait loci related to head length, body height, body thickness of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Journal of Fisheries of China*, **34**(11): 1645-1655. [王宣朋, 张晓峰, 李文升, 张天奇, 孙效文. 2010. 鲤头长、体厚、体高性状的 QTL 定位及遗传效应分析. 水产学报, **34**(11): 1645-1655.]
- Wang XP, Zhang XF, Li WS, Zhang TQ, Sun XW. 2011. Analysis of feed conversion ratio, bodyweight, body thickness traits of common carp (*Cyprinus carpio* L.) using SSR, EST-SSR, SNP markers. *Journal of Fishery Sciences of China*, **18**(3): 565-573. [王宣朋, 张晓峰, 李文升, 张

天奇, 孙效文. 2011. 利用 SSR、EST-SSR、SNP 标记对鲤食物转化率、体厚、体质量 3 种性状的分析. 中国水产科学, **18**(3): 565-573.]

Wang XZ. 2005. Molecular Phylogeny of the East Asian Cyprinids (Pisces: Cyprinidae). Ph. D. thesis, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences. [王绪祯. 2005. 东亚鲤科鱼类的分子系统发育研究. 博士毕业论文, 北京中国科学院研究生院.]

Yi G, Lee JM, Lee S, Choi D, Kim B D. 2006. Exploitation of pepper EST-SSRs and an SSR-based linkage map. *Theoretical and Applied Genetics*, **114**(1): 113-130.

Yue GH, Orban L. 2002. Polymorphic microsatellites from silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch) and cross-amplification in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Molecular Ecology Notes*, **2**(4): 534-536.

附表:

23 对微卫星引物序列情况

Sequences of 23 pairs microsatellite maker

微卫星座位 locus	引物序列 (5' -3') primer sequence	退火温度 (°C) annealing temperature	片段大小 (bp) fragment size
HLJ3356	F:ttgaaatgggtcacgagga R:catcatataatcaaacaaggc	60	217-231
HLJ1093	F:tccagctgcatcaacttcttt R:tagtgtggattccgtccat	54	194-202
HLJ3086	F:aggcatgcatatgagcacag R:caaacttttaacagtagtgtgtt	60	232-240
HLJ2642	F:aaagtacaaaaaagcggtta R:gaacatccataagagggcaat	60	220-250
HLJ2891	F:cttccctatgaacaatacacagc R:gctctccagggtcttatgg	60	272-301
HLJ1362	F:gcttgagggggtcataggat R:gtccgtccgtctgtctcg	60	201-235
CAFS00975	F:aagcttagattgcgaaacagg R:aaagcgacttacaaatgagg	60	416-428
HLJE511	F:ggaatcaatgcctcgctgt R:ccatcaagtgcaggccatttt	62	197-205
HLJ2225	F:acggagggacggtaatccta R:ccccattgttaagccagcat	60	125-134
HLJ2300	F:cgttcacagacgcaacaaat R:acacaccgcaaccacaatc	60	242-244
HLJ3508	F:tcattacaaaatcgccattca R:cacgaacgggaccaaagg	60	431-490
HLJ3507	F:ggcttatttcctgttctattaca R:atgtgggtgggtcactg	60	209-212
HLJ2688	F:atgtgggtggaaagacaaa R:gcagttagagcagcaaggtc	60	230-238
HLJ3515	F:tctgatttggatgtgagca R:aagaatgaaggcaagagagaagaa	60	147-170
HLJ2170	F:ccgttggtggtttccac R:cccggtgttttagaggagagtc	60	175-179
HLJ2194	F:aactcttcccgctgtctct R:gaccctcacaatcagtctcc	60	175-205
HLJ2593	F:catttctccacgccactgt R:ccggtttcttctttcc	60	212-216
HLJ3506	F:tgtgttatggatgttgct R:gagaggaggtggtaaggtg	60	219-242
HLJ3999	F:tcccgccatctgaaatag	60	303-315

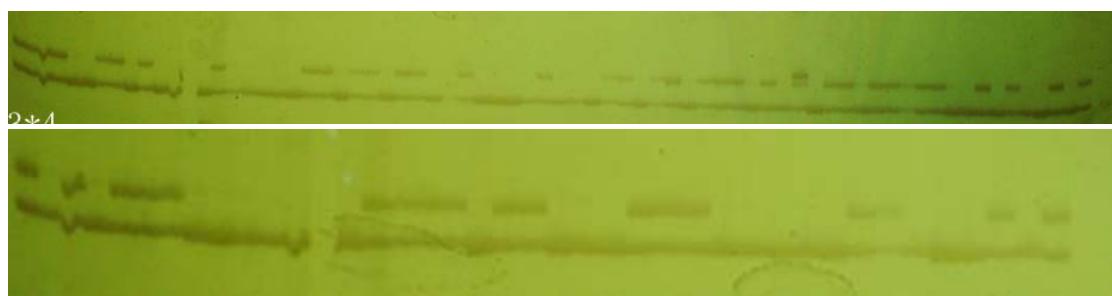
	R:ccatagaagaaagaaagccaaa		
HLJ3727	F:ttgattacagaacactcccctatc R:tcacaaccagcccaacttt	60	164-190
HLJ2662	F:aaaatactgaatgaaggctctgc R:ttctatgaggcacaagcaatc	60	230-241
HLJ3993	F:gcttctcttaaacctcaagtcc R:ccccacaacggtaaaaat	60	195-232
HLJ3942	F:ttgatttcttatcggttcatttg R:tgttttgccttggatt	60	314-327

附图1 部分微卫星标记的电泳图片

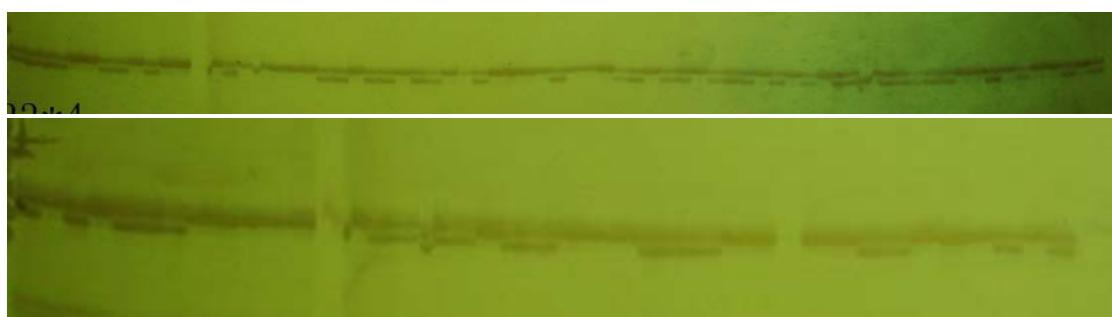
Supplemental Figure 1 SDS-PAGE images of partial microsatellite markers



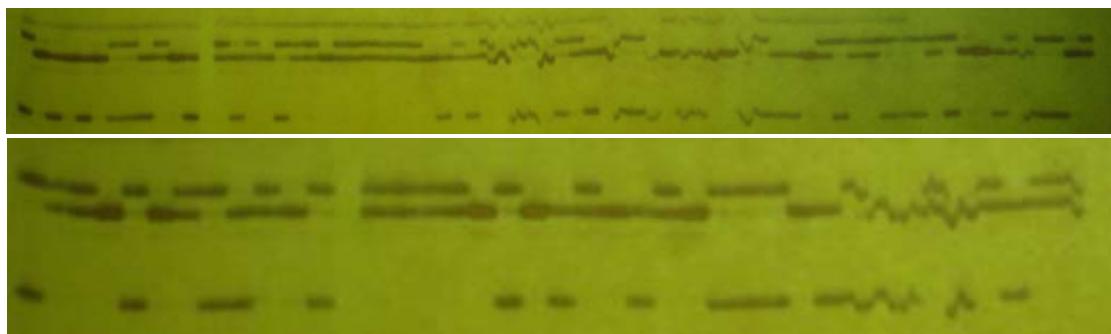
HLJ1362



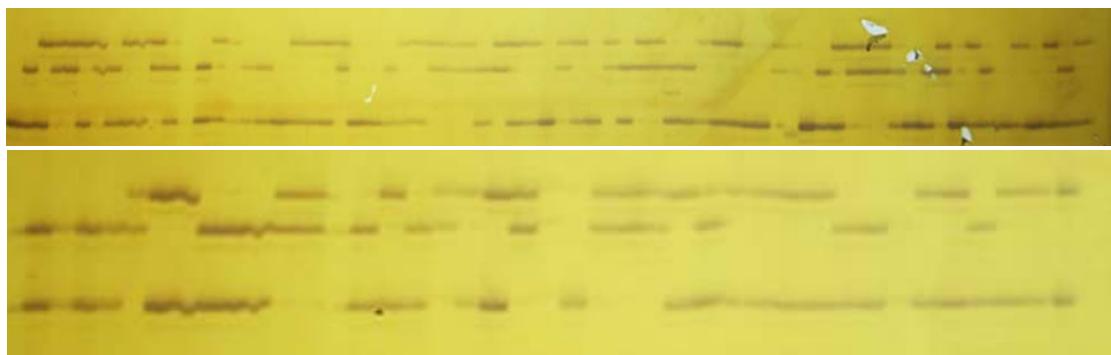
HLJ2300



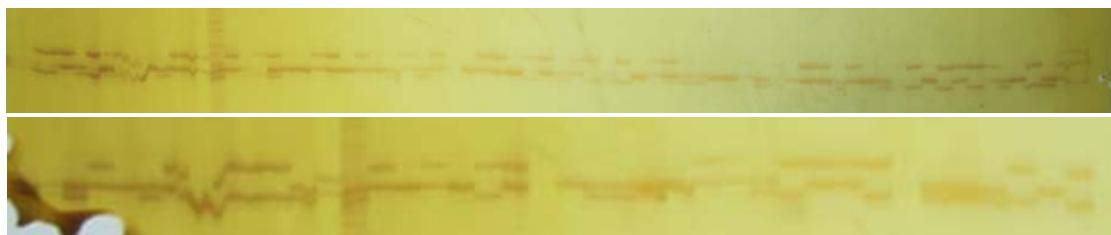
HLJ3507



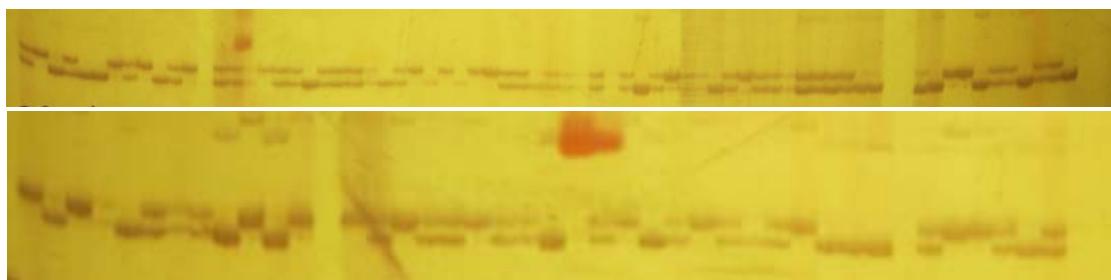
HLJ3515



HLJ3727

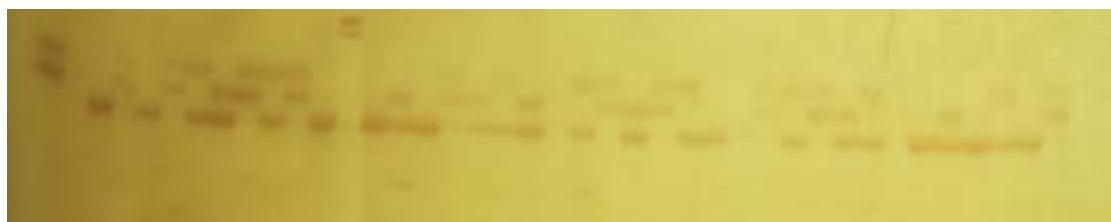


HLJ2994

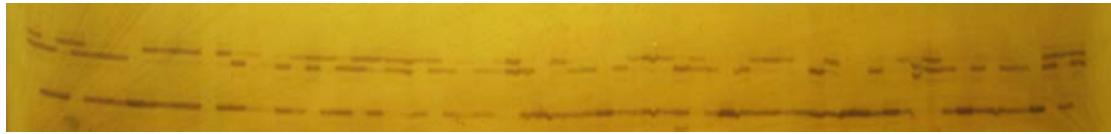


HLJ2593





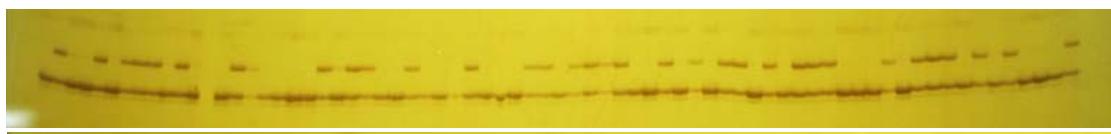
HLJ2662



HLJ3359



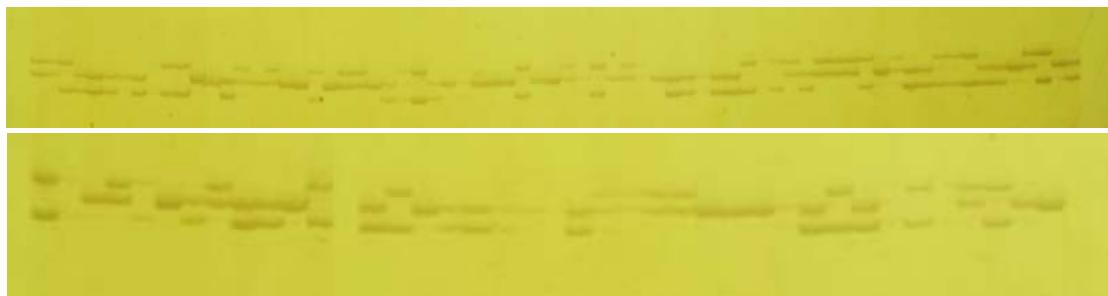
HLJ2194



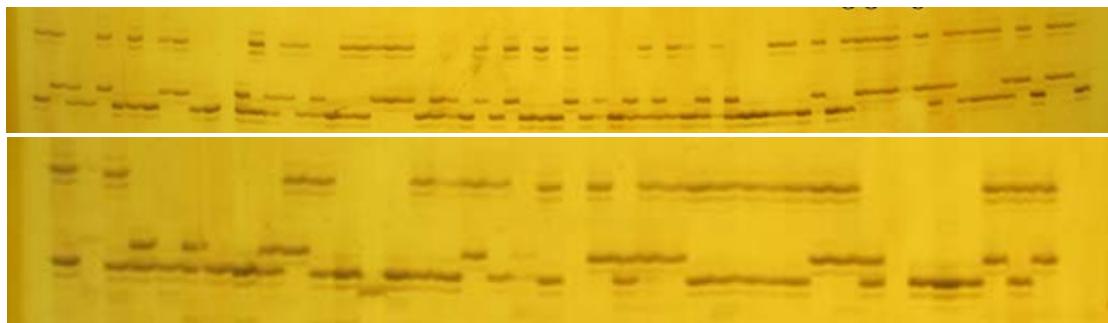
HLJ2688



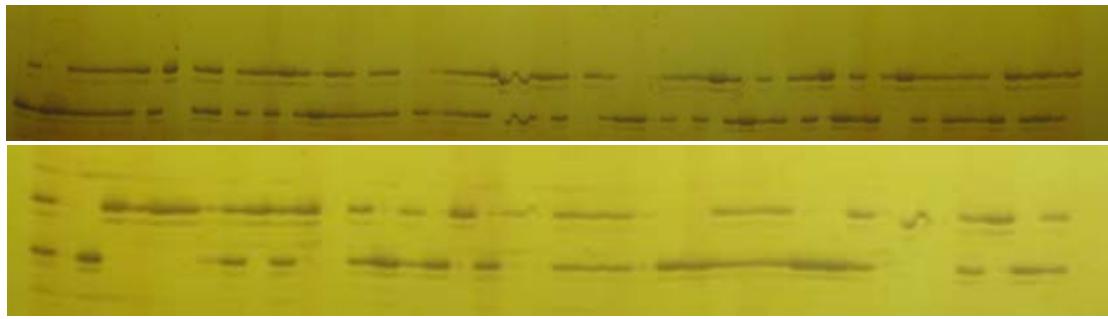
HLJ688



HLJ1664



CAFS1317



CAFS1398

本实验采用一个家系, 107个个体为研究对象, 用来进行基因分型的是149个微卫星标记; 实验采用6%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行基因型分离, 使用72孔鲨齿梳, 故采取两遍点样法(第一遍: Mark+1、2、3……12个体+Mark+F+M+13、14、15……68个体; 第二遍: 空一格+69、70、71……80个体+空一格+81、82、83……107个体); Mark: 分子量标准; F: 母本; M: 父本。

In this study, one mirror carp family (107 individuals) was analyzed for body correlation, and 149 polymorphic markers were used for genotyping; 6% SDS-PAGE and shark tooth comb of 72 holes were used for genotype separation, and pointing samples were duplicated(the first sample: Mark+1、2、3……12 individuals+Mark+F+M+13、14、15……68 individuals; the second sample: one empty+69、70、71……80 individuals + one empty+81、82、83……107 individuals); Mark: DNA marker ladder; F: female parent; M: male parent.