

文章编号: 1000-0615(2003)05-0431-05

奥利亚罗非鱼(♀) × 鳊(♂) 杂交后代的形态

俞菊华^{1,2}, 夏德全¹, 杨弘¹, 贺艳辉¹, 吴婷婷¹

(1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081;

2. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081)

摘要: 通过测定美国奥利亚罗非鱼(Ao)、Ao(♀) × 鳊(♂)的子代(As1)、埃及奥利亚罗非鱼(Eo)、Eo(♀) × 鳊(♂)的子代(Es1)、As1(♀) × Ao(♂)的所谓“回交”子代(As2)、Es1的兄妹交子代(Es2)的形态和框架数据,用卡方分析、聚类分析、判别分析,比较了它们之间的形态异同。可数性状卡方分析表明,这几组实验鱼可数性状无显著差异;形态和框架数据的聚类分析结果表明,除了As2与Ao之间无显著差异外,其它都有显著差异,其中As1和Es1与其它鱼的差异最大,Es2与其它鱼的差异其次;判别分析结果表明,判别效果极显著,判别准确率都在90%以上,判别准确率依次为Es1、As1、As2都为100%,Es2为96.2%,Ao为95%,Eo为90%。综合以上分析,根据亚种75%规则,表明雌性奥利亚罗非鱼与雄性鳊间远缘杂交后代与亲本奥利亚罗非鱼不同;为此通过本课题的远缘杂交也许能产生新的养殖品种。

关键词: 奥利亚罗非鱼; 鳊; 远缘杂交; 形态差异; 框架分析; 多元分析

中图分类号: Q321+.3; S917 文献标识码: A

Morphology of the progenies of *Oreochromis aurea*(♀) × *Siniperca chuatai*(♂)

YU Jir hua^{1,2}, XIA De quan¹, YANG Hong¹, HE Yarr hui¹, WU Ting-ting¹

(1. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China

2. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agriculture University, Wuxi 214081, China;)

Abstract: Through several years' research, we successfully obtained the progenies of the distant hybridization between *Oreochromis aurea*(♀) and *Siniperca chuatai*(♂). Traditional morphological data and truss network data were combined to conduct multivariation analyses to study the morphological variations among *O. aurea* from American(Ao), progenies of Ao(♀) × *S. chuatai*(♂)(As1), *O. aurea* from Egypt (Eo), progenies of Eo(♀) × *S. chuatai*(♂)(Es1), as well as so-called back-crossing of the As1 (As2), and sister brother crossing of Es1(Es2). Chi square analysis of meristic characters indicated that there were no significant differences among these six experimental fishes. But the results of cluster analysis of metric characters plus truss network data showed that there were some differences between these six experimental fishes and especially, As1 and Es1 were quite different from the other fishes, though no difference was detected between As2 and Eo. Discriminant analysis indicated that there were significant differences among these six fishes. The identification accuracy was

收稿日期: 2002-11-19

资助项目: 国家十五攻关 2001BA505B0502, “863”课题 2001AA 243061 及水利院科技基金项目(罗非鱼繁殖生物学和品种改良研究)

作者简介: 俞菊华(1966-), 女, 江苏苏州人, 南京农业大学在读博士生, 专业方向为鱼类遗传育种。

通讯作者: 吴婷婷(1944-), 女, 江苏宜兴人, 教授, 博士生导师, 主要从事生化生理与生物技术研究。Tel: 0510-5554552, E-mail:

wutt@ffrc.ac.cn

ranked as As1, Es1 and As2 [100%] > Es2 [96. 2%] > *O. aurea* A [95%] > *O. aurea* E [90%]. According to the results of multivariate analyses and subspecies 75% rule, the progenies of *O. aurea* × *S. chuatai* are different from *O. aurea*. So it is reasonable to improve aquaculture strains using distant hybridization.

Key words: *Oreochromis aurea*; *Siniperca chuatai*; distant hybridization; morphological variation; truss network, multivariate analysis

罗非鱼具有适应性强、食性杂、病害少、繁殖迅速、生长快、产量高、肉质细嫩和无肌间刺等优点,是联合国粮农组织(FAO)重点推广品种。但罗非鱼不耐低温,在我国大部分地区需越冬,这增加了养殖成本,阻碍了在我国大部分地区的推广养殖。因此,改良罗非鱼的习性即成为育种的目标之一。鳊具有肉质好,生长快且耐低温的特性,但鳊开口饵料为活的小鱼苗,这一特性阻碍了鳊养殖的进一步发展。有鉴于此,我们开展了两者的远缘杂交试验,期望通过基因重组能得到具有优良性状的杂交鱼。经过多年研究,于2001年成功获得了奥利亚罗非鱼与鳊杂交一代,并于2002年获得了杂交一代与奥利亚罗非鱼的回交后代及杂交一代间兄妹交配后代。本文对这些鱼的形态学进行了研究。

表1 实验鱼取样情况

Tab.1 Samples of experimental fishes

实验鱼 experimental fish	样本数(ind) samples	体长(cm) body length
Ao	20	9.63±0.6
Eo	20	7.72±0.49
As1	6	13.83±1.04
Es1	2	11.56±1.10
As2	14	8.69±0.92
Es2	26	10.63±0.54

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验鱼均取自本单位试验场。1983年从美国奥本大学引进并经选育保存的奥利亚罗非鱼简称Ao,1999年从埃及引进的奥利亚罗非鱼简称Eo,Ao(♀)×鳊(♂)的后代称As1;Eo(♀)×鳊(♂)的后代称Es1;As1(♀)与Ao(♂)的回交子代称As2;Es1中兄妹交子代称Es2。所测定的实验鱼为当年鱼,规格基本一致,具体见表1。

1.2 测量参数

测量参数包括可数性状和可量性状。可数性状涉及背鳍、胸鳍、臀鳍、侧线鳞I(罗非鱼的前段侧线鳞)、侧线鳞II(罗非鱼的后段侧线鳞)、侧线上鳞、侧线下鳞,可数性状直观计数;可量性状包括全长、体长、体高、体厚、头长、吻长、眼径、眼间距、尾柄长及罗非鱼的框架参数共24项,框架测量定位点的选择主要参考文献[1,2]方法,并根据文献[3]的方法增加了吻部的定位点2,具体见图1,可量性状用两脚规测量直线距离,如D2-4为吻前端至额部有鳞最前端之间的距离,测量参数精确到mm。

1.3 分析方法

对Ao、As1、As2、Eo、Es1和Es2的可数性状进行卡方分析。可量性状先分别计算与体长或头长的比值,形态参数比值有全长/体长、体长/体高、体长/体厚、体长/头长、头长/吻长、头长/眼径、头长/眼间

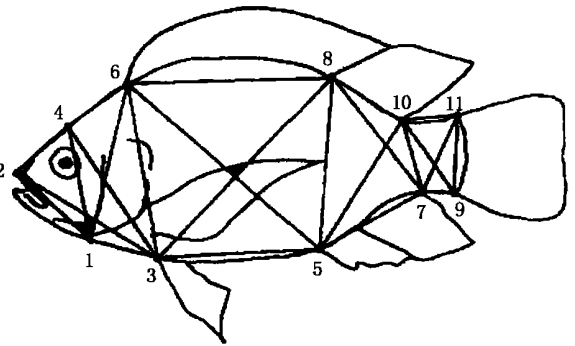


图1 罗非鱼框架测量图

Fig.1 Drawing for measuring truss network of tilapias

1. most posterior point of maxilla; 2. tip of snout; 3. origin of pelvic fin;
4. most anterior of scales on skull; 5. origin of anal fin; 6. origin of dorsal fin; 7. terminus of anal fin; 8. point between spinous and soft parts of dorsal fin; 9. ventral origin of caudal fin; 10. terminus of dorsal fin; 11. dorsal origin of caudal fin

距; 框架参数以头部数据与头长相比, 躯干部数据与体长相比, 尾部数据与尾柄长相比, 这些比值再进行聚类分析、判别分析, 以消除鱼体规格大小对参数值的影响。所有参数经 Excel, Spss10.0^[4] 软件处理。

2 结果

2.1 外部形态

As1、Es1、Es2 和 As2, 外观形态与奥利亚罗非鱼相似, 具有两条侧线鳞, 鳞片似奥利亚罗非鱼, 体表呈现许多斑点, 尾鳍上无黑色条纹; Es2 和 As2 脊椎骨数 29~30, 肋骨 13 对, 与奥利亚相似; 颌齿细, 似奥利亚罗非鱼。

2.2 可数性状

As1、Es1、Es2、As2、Ao、Eo 可数性状的平均值见表 2。经卡方检验背鳍棘数、背鳍条数、臀鳍条数、侧线鳞 I、侧线鳞 II 的 *P* 值为 1.00, 侧线上鳞的 *P* 值 0.223, 侧线下鳞的 *P* 值 0.572, 均大于 0.05, 故它们之间没显著差异。但分析 6 尾 As1 可数性状(表 3) 发现臀鳍数目明显与鳊一致, 而与 Ao 有差异。

表 2 实验鱼的可数性状均值和标准差

Tab. 2 Overall means and standard deviation of meristic characters of experimental fishes

特征 meristic characters	Ao	As1	As2	Eo	Es1	Es2
背鳍棘数 no. of spine of dorsal fin	15.50±0.51	15.17±0.75	15.9±0.27	15.75±0.44	16.00±0	14.96±0.20
背鳍条数 no. of fin-rays of dorsal fin	12.20±0.41	13.00±0.63	12.7±0.47	12.45±0.51	14.50±2.12	13.31±0.55
臀鳍棘数 no. of spine of anal fin	3.00±0	3.00±0	3.00±0	3.00±0	3.00±0	3.00±0
臀鳍条数 no. of fin-rays of anal fin	10.25±0.64	11.00±0	10.43±0.51	9.50±0.76	10.50±0.71	10.04±0.53
侧线鳞 I no. of lateral line scale I	19.70±1.45	21.33±1.03	20.07±0.83	20.8±0.89	20.00±1.41	21.38±1.10
侧线鳞 II no. of lateral line scale II	14.25±1.07	12.83±0.97	15.21±1.12	15.00±1.08	15.50±0.71	15.77±0.82
侧线上鳞 no. of scale upon lateral line	5.90±0.31	4.67±0.52	5.00±0	5.00±0	5.00±0	5.00±0
侧线下鳞 no. of scale below lateral line	8.90±0.31	8.00±0	8.00±0	8.00±0	7.50±0.71	7.96±0.20

表 3 As1 与亲本可数性状

Tab. 3 Meristic characters of As1 and its parents

实验鱼 experimental fish	背鳍 dorsal fin	胸鳍 pectoral fin	臀鳍 anal fin	实验鱼 experimental fish	背鳍 dorsal fin	胸鳍 pectoral fin	臀鳍 anal fin
Ao 雌(众数) <i>O. aurea</i> (♀) (mode)	16, 12	13	3, 10	鳊雄(众数) <i>S. chuatai</i> (♂) (mode)	11, 14	14	3, 11
As1(众数) As1(mode)	16, 13	14	3, 11	As1 1	14, 13	13	3, 11
As1 2	16, 13	14	3, 11	As1 3	16, 14	14	3, 11
As1 4	15, 13	13	3, 11	As1 5	16, 13	14	3, 11
As1 6	16, 13	14	3, 11				

2.3 可量性状和框架参数

2.3.1 聚类分析

图 2 是杂交鱼后代与亲本聚类分析结果, 从图上可以看出 As2 和其亲本 Ao 间差异不显著, 这表明“回交”子代的性状受到亲本 Ao 的强烈影响; 其它几组实验鱼间均有差异, 其中 Es1、As1 与亲本 Eo、Ao

差异最大,也许鳊的某些遗传物质对它们起着作用; Es2 与其亲本 Eo, Es1 都有一定差异,这表明 Es1 兄妹交后,性状多样化,有望通过选育获得优良的新品系。

2.3.2 判别分析

按判别分析程序对 6 组实验鱼的可量性状和框架参数进行分析,结果见表 4,从表中可见判别效果极显著,判别准确率都在 90% 以上,判别准确率依次为 Es1、As1、As2 都为 100%, Es2 为 96.2%, Ao 为 95%, Eo 为 90%。根据划分亚种的 75% 规则,即推断与样本一致的拟合概率以 0.9 作为临界值^[5],可认为分析的 6 组实验鱼为不同的种群。图 3 为判别分析散点图,从图上可直观看 6 种实验鱼占据不同的区域, Es2 位于亲本 Es1、Eo 之间, As2 在位置上靠近 Ao,说明回交后鳊的遗传物质的表达受到了一定程度的抑制。这结果与聚类分析结果相同。

表 4 6 组实验鱼可量性状和框架数据判别分析结果

Tab.4 Results of discriminant analysis conducting on metric and truss network characters of six kinds of experimental fishes

判别样本 discriminant sample	判入尾数(ind) samples						准确率(%) correct rate	平均拟合概率 (%)
	Es1	As1	As2	Es2	Eo	Ao		
Es1	2	0	0	0	0	0	100	95.5
As1	0	6	0	0	0	0	100	
As2	0	0	14	0	0	0	100	
Es2	0	0	1	25	0	0	96.2	
Eo	0	0	1	0	18	1	90	
Ao	0	0	0	0	1	19	95	
合计 total	2	6	16	25	19	20		

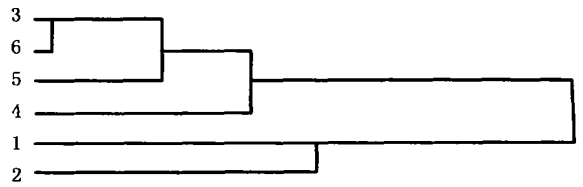


图 2 6 组实验鱼的聚类分析图

Fig.2 Cluster dendrogram of six kinds of experimental fishes
1. Es1; 2. As1; 3. As2; 4. Es2; 5. Eo; 6. Ao

3 讨论

3.1 远缘杂交与异精雌核发育

本研究所进行的杂交实验,亲本奥利亚罗非鱼、鳊分别属于鲈形目的丽鱼科、脂科,它们之间的杂交属于科间杂交,通常条件下,杂交成活率较低,杂交很难获得成功。此次试验的成活率平均在 0.3%~0.5%,2001 年共获 As1 17 尾,养成 13 尾,全为雌性, Es1 3 共 5 尾,2 雌 1 雄,养成 3 尾;2002 年再获 Es1 12 尾,其中 7 尾雌性 5 尾雄性,成活 12 尾, As2 300 尾, Es2 300 尾左右,成活率在 80% 左右。研究表明奥利亚罗非鱼染色体为 22 对,鳊染色体为 24 对,同时,它们的组型也有较大差异,鳊染色体端粒有部分中位,而奥利亚罗非鱼则大部分为端位,因此,它们之间的杂交成活率较低;经过多年的研究我们获得杂交成功。但对后代染色体的分析揭示其数目和组型与奥利亚罗非鱼基本相同,结合杂交鱼外部主要特征,同时杂交成活率也与吴清江等^[6]提到的自然雌核发育的一致,因此我们认为雌性奥利亚与雄性鳊的杂交可能是异精雌核发育。然而, As2, Es2 的雌雄比分别为 3:2 和 1:1 并不象理论上推断的都为雌性,因此,是否为雌核发育

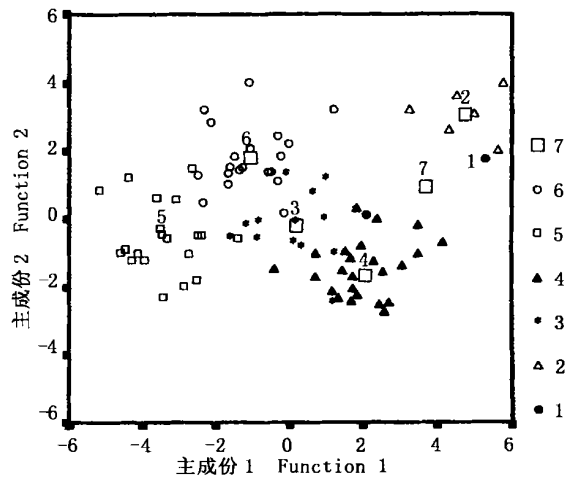


图 3 实验鱼判别分析图

Fig.3 Map of discriminant analysis of six kinds of experimental fishes

1. Es1; 2. As1; 3. As2; 4. Es2; 5. Eo; 6. Ao; 7. group centroids

还有待进一步证实, 或者用传统的后代性比来判定是否为雌核发育有必要进行补充。通过对杂交后代形态学研究表明, 杂交后代与母本有明显差异, 也就是说鳊的遗传物质进入并影响着子代的性状, 这一点在我室有关杂交鱼分子遗传研究中得到进一步证实, 该研究用 RAPD 技术筛选到两个引物, 杂交一代具有与父本鳊相同的条带, 而在母本中不存在, 这也可作为杂交鱼的分子标记。

3.2 远缘杂交与品种改良

聚类分析结果表明, 杂交一代与亲本奥利亚罗非鱼差异较大; 杂交子代的回交后代其形态特征与奥利亚罗非鱼无显著差异, 这说明杂交鱼中鳊遗传物质的表达受到了影响; 而杂交子代兄妹交后代与奥利亚罗非鱼仍有较大差异, 因此, 可以通过对远缘杂交子代的不断选育以及与雄性鳊的反复杂交强化鳊遗传物质的表达, 筛选具有生产潜力的优良品系, 改良罗非鱼的性状, 提高罗非鱼的养殖效益。

3.3 多元分析与种群划分

罗非鱼属间、亚属间杂交产生的形态差异有较多报道^[3,7,8]。许多鱼类形态研究证明, 聚类分析、判别分析能够较好地说明种群间的差异程度, 准确鉴定鱼类种群。多元分析适用于鱼类杂交后代与亲本的关系研究, 并为鱼类选育提供可靠的依据, 结合分子遗传学, 还可研究基因表达与性状的关系。

淡水渔业研究中心袁永明, 张红燕在数据处理上给我们很大帮助, 表示感谢。

参考文献:

- [1] Brzeski V J, Doyle R W. A morphometric criterion for sex discrimination in tilapia[A]. The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conference Proceeding 15[C]. Department of Fisheries, Bangkok, Thailand, and International Center of Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines, 1988. 439- 444.
- [2] Nancy L S, Doyle R W. The coordination of growth in juvenile tilapia (*Oreochromis mossambicus* × *O. hornorum*)[A]. Proceedings of Second Asian Fisheries Forum[C]. 1989, 138- 143.
- [3] Li S F, Li C H, Li J L. Analysis of morphological variations among strains of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Acta Zool Sin, 1998, 44(4): 450- 457. [李思发, 李晨虹, 李家乐. 尼罗罗非鱼品系间形态差异分析[J]. 动物学报, 1998, 44(4): 450 - 457.]
- [4] Huang H, Luo Y F, Cheng Z Y, et al. Spss 10.0 for windows statistic analysis[M]. Beijing: People's Post Telecom Publishers. 2001, 247- 311. [黄 海, 罗友丰, 陈志英, 等. Spss 10.0 for windows 统计分析[M]. 北京: 人民邮电出版社, 2001. 247 - 311.]
- [5] Ren M R. An application of stepwise discrimination in morphological identification of fishes[J]. J Shanghai Fish Univ, 1998, 7(3): 258 - 264. [任明荣. 逐步判别在鱼类形态判别上的应用[J]. 上海水产大学学报, 1998, 7(3): 258 - 264.]
- [6] Wu C J, Gui J F. Fish genetics and breeding engineering[M]. Shanghai: Shanghai Science & Technology Press, 1999. 73- 94. [吴清江, 桂建芳. 鱼类遗传育种工程[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999. 73- 94.]
- [7] Chen S Z, Ye W. Primary study of Tilapia fishes introduced from foreign country[J]. Chinese J Zool, 1994, 29(3): 18- 23. [陈素芝, 叶卫. 我国引进的罗非鱼类的初步研究[J]. 动物学杂志, 1994, 29(3): 18 - 23.]
- [8] Li J L, Li C H, Li S F. Morphological variation of various body color among progeny of Taiwanese tilapia[J]. J Shanghai Fish Univ, 1999, 8(2): 179- 184. [李家乐, 李晨虹, 李思发. 台湾红罗非鱼后代不同体色的形态差异[J]. 上海水产大学学报, 1999, 8(2): 179- 184.]