

翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁ 的形态特征及遗传分析

顾志敏¹, 贾永义¹, 叶金云¹, 陈立侨², 朱俊杰¹, 黄鲜明¹, 杨元杰¹

(1. 浙江省淡水水产研究所, 浙江 湖州 313001;

2. 华东师范大学生命科学学院, 上海 200062)

摘要: 2006-2007 年, 在浙江湖州, 通过翘嘴红鲌(♀)和团头鲂(♂)间的属间杂交, 成功获得了杂种 F₁, 并通过对杂种 F₁ 及其父母本的形态、核型和基因组分析比较, 探讨了杂种 F₁ 的性状变异和遗传组成情况。结果表明: (1) 翘嘴红鲌(♀)和团头鲂(♂)间具有良好的亲和力, 其杂交受精率、孵化率均达到 90% 以上; (2) 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁ 的多数可数可量性状表现为中间型。在 10 个可数性状中, 鳃耙数、侧线鳞等 3 个性状介于父母本之间, 其平均杂种指数为 54.56, 显示杂种 F₁ 的可数性状接近于中间值, 略偏向于父本团头鲂; 在 17 个常规可量性状中, 有 9 个性状与父母本差异显著, 其中有 4 个性状偏向于父本, 有 3 个偏向于母本, 有 2 个超父母本偏离, 其平均杂种指数为 49.59, 也显示杂种 F₁ 的可量性状处于中间值; 进一步对框架参数的聚类 and 判别分析显示, 杂种 F₁ 的框架体型与父母本差异较大, 接近于中间型, 但受母本影响较多; (3) 杂种 F₁ 的染色体数(2n)为 48, 核型公式为 18m + 26sm + 4st (NF=92), 说明杂种 F₁ 为二倍体, 并可预测杂种 F₁ 可育; (4) 杂种 F₁ 大部分 RAPD 扩增条带能在亲本中找到, 有的仅来自于父本, 有的仅来自于母本, 说明杂种 F₁ 为二倍体杂种; 杂种 F₁ 与母本的相对遗传距离为 0.4327, 而与父本的遗传距离 0.2312, 前者大于后者, 表明杂种 F₁ 与两亲本的遗传差异不是对等的, 而是偏向父本一方, UPGMA 系统树也同样证明了这一点。

关键词: 翘嘴红鲌; 团头鲂; 属间杂交; 杂种子一代; 形态特征; 核型; 随机扩增多态性 DNA

中图分类号: Q 954; S 917

文献标识码: A

远缘杂交是鱼类育种基本手段之一^[1]。通过杂交可以把不同种、属的特征、特性结合起来, 突破种属界限, 扩大遗传变异, 从而创造出更符合人类经济效益的新类型或新物种。自 20 世纪 50 年代末开始, 我国进行了大量的鱼类杂交试验, 据不完全统计, 迄今共做了至少 112 个杂交组合, 主要涉及 3 个目、7 个科, 共 40 多种鱼类, 其中大多数是鲤科不同亚科之间以及同一种亚科不同属之间的杂交, 不少杂交组合具有杂种优势^[2]。迄今已获得了 2 个鲌亚科鱼类属间杂交组合^[3-6], 但有

关翘嘴红鲌(*Erythroculter ilishaeformis*)和团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)之间的杂交未见报道。翘嘴红鲌和团头鲂分属鲌亚科鲌属和鲂属, 为两种重要经济鱼类, 但两者在生理和生态上有较大差异。翘嘴红鲌为强肉食性鱼类, 具有生长快、体形佳、肉质细嫩等优点, 不过也存在着鳞片细小而易脱落受伤、饲料成本高等不足; 而团头鲂为草食性鱼类, 具有饲料成本低、鳞片大而不脱落, 抗逆性强等优点。鉴于此, 我们开展了这两种鱼类间的属间远缘杂交, 期望通过基因重组

收稿日期: 2008-02-14

资助项目: 浙江省重大科技专项重点项目(2006C12005-1); 浙江省重点科研农业项目(2005C22031); 湖州市重点科技攻关农业项目(2005GN06)

作者简介: 顾志敏(1963-), 男, 浙江安吉人, 高级工程师, 主要从事水产种质资源与选育种研究。E-mail: guzhimin2006@163.com

通讯作者: 叶金云, Tel: 0572-2043909, E-mail: ziff2006@163.com

获得更具养殖性能优势的杂交新品种或新类型。本文对翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁ 的形态特征及其遗传组成进行了较为系统而深入的研究,以期鱼类杂交优势的利用及进一步的优良品种培育提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 人工杂交

亲本来源 翘嘴红鲌雌鱼取自太湖水域,3~4龄,体质量2.5 kg以上;团头鲂雄鱼取自浙江省德清县某养殖场经人工培育而成,2~3龄,体质量500 g以上。冬季完成亲本采集后,在池塘中进行强化培育。

人工催产、授精及孵化 分别于2006年和2007年的5月下旬至6月中旬,在浙江省淡水水产研究所试验基地进行人工催产。挑选性腺发育良好的翘嘴红鲌和团头鲂亲鱼,雌雄比为2~3:1,采用一次注射,雌鱼剂量为(HCG 800~1 000 IU+LRH-A₂)5~10 μg·kg⁻¹,雄鱼剂量减半。因效应时间不同,翘嘴红鲌要早于团头鲂3~5 h注射催产药物。注射过催产药物的亲鱼暂养在圆形水泥产卵池中,微流水刺激。待亲鱼在水面翻腾、急速追逐时,即捕起亲鱼,进行人工干法授精。获得的受精卵用泥浆水脱粘后,放入冲水式孵化缸中孵化。孵化水流以受精卵不沉积为度,孵化密度为60×10⁴~100×10⁴ ind·m⁻³水体。期间,取部分受精卵,统计受精率和孵化率。

苗种培育和成鱼养殖 待杂种 F₁ 鱼苗的卵黄囊消失,鳔充气,能水平游动时,即移入池塘,并按常规方法^[8-9]进行苗种培育和成鱼养殖。

1.2 形态分析

实验材料 于2007年11月,选取2006年繁育的翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁、翘嘴红鲌和团头鲂,进行形态分析。其中,翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁ 35尾,平均体长(31.59±5.40) cm,平均体质量(649.53±271.84) g;翘嘴红鲌 33尾,平均体长(27.47±4.38) cm,平均体质量(302.39±119.72) g;团头鲂 32尾,平均体长(31.59±5.40) cm,平均体质量(594.14±75.85) g。

测量指标和数据处理 形态度量指标包括10个可数性状、17个常规可量性状和20个框架参

数。可数性状直观计数,可量性状用 Olympus 数码相机采集,并用 Fishruler 1.0 软件进行测量,测量参数精确到0.01 cm。框架测量定位点的选择主要参考文献^[11]的方法。为消除鱼体规格大小不同对可量性状参数的影响,将可量性状参数转化为比例性状参数进行校正。20个常规可量性状主要与体长或头长相比,而框架参数均与体长相比。按 Smith^[12]的方法计算各性状的杂种指数(hybrid index, HI)。全部形态度量指标用 Microsoft Excel 和 SPSS 11.5 进行统计分析, LSD 显著性检验(P<0.05)。校正后的框架参数用 SPSS 11.5 软件进行聚类分析和判别分析。

1.3 核型分析

实验材料 于2006年11-12月,挑选翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁ 5尾,平均体重140.06 g,进行核型分析。实验鱼暂养于室内水族箱中。

染色体制备及分析 按常规活体肾细胞染色体空气干燥法^[13]制备染色体标本。杂种 F₁ 活鱼经注射植物血球凝集素(PHA)10 μg·g⁻¹, 24 h后再注射秋水仙素4 μg·g⁻¹。秋水仙素注射1.5~2 h后取鱼的头肾,然后以常规方法制成染色体滴片, Giemsa 氏液染色,空气干燥。最后用 Nikon 显微镜观察并摄像,每尾鱼滴片取3个分散良好、长度适中、形态清晰的中期分裂相的染色体拍照。照片放大后,按 Levan 等^[14]的命名和分类标准编制出它们的染色体组型,并用 Photoshop 8.0 图像处理软件绘制染色体组型图。

1.4 RAPD 分析

实验材料 取翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁ 及其父母本各5尾, RAPD 随机引物20个,购自上海生物工程有限公司。Taq DNA 聚合酶、Buffer、Mg²⁺、dNTP 购自上海申能博彩生物技术有限公司。PCR 扩增仪为 Eppendorf 公司生产的 Mastercycler gradient 5331。

PCR 扩增及数据处理 从肌肉中,按常规的酚-氯仿法提取 DNA。PCR 扩增主要参照董在杰等^[15]的方法。扩增体积为25 μL,包括10×PCR Buffer 2.5 μL, MgCl₂ 2 mmol, 基因组 DNA 25 ng, Taq 酶 2 U, dNTP 0.1 mmol, 引物 0.1 mmol, ddH₂O 补足体积。扩增反应条件为94℃下预变性5 min后进行40个循环,每个循环包括94℃变性1 min、36℃退火1 min、72℃延伸

2 min,最后于 72 ℃ 延伸 10 min。扩增产物经 1.5%琼脂糖凝胶电泳分离,经 EB 染色后在 UV-200 紫外透射分析仪上观察和拍照。每个样品的扩增带按有或无记录,有带计为 1,无带记为 0。列出 0,1 矩阵用于统计分析。每条扩增片段计作一个位点。使用 PopGen32 软件计算多态位点比例、遗传距离及遗传相似性,并构建 UPGMA 系统树。

2 结果

2.1 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁ 的获得

二次人工杂交繁殖的主要数据见表 1,由表可知,翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂交,能获得较高的受精率和孵化率,而畸形鱼苗较少。当水温 27~30 ℃ 时,杂种胚胎约经 22~23 h 孵化出膜,其胚胎发育时序与翘嘴红鲌相似。

表 1 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂交繁殖情况

Tab. 1 The data of hybridization between *E. ilishaeformis*(♀) and *M. amblycephala*(♂)

时间 time	催产亲鱼 broodstock	受精率(%) fertilization rate	孵化率(%) hatchability	畸形率(%) malformation rate	出苗量(×10 ⁴ ind) number of seedling
2006-05	翘嘴红鲌 5 尾,团头鲂 2 尾	94.7	89.5	4.1	20
2007-06	翘嘴红鲌 23 尾,团头鲂 8 尾	95.1	90.1	5.7	215
平均 mean		94.9	89.8	4.9	—

2.2 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁ 的形态特征

翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁ 及其父母本的主要形态特征比较见图 1~4。杂种 F₁ 体较长,侧扁,与母本相似,但体高、体厚明显增加;头较母本小,钝尖,头后背部明显隆起,头长/体长比例明显减小;口次上位,口斜裂,下额略长于上额;眼中等大;侧线鳞较平直,纵贯于鱼体

中部,与母本相似;腹棱自腹鳍基部至肛门;体背部和上侧部为灰褐色,腹部为银白色,与母本相似;体侧鳞片较大,与父本类似,但鳞片较薄软,体侧鳞片分布有少量浅黑色素点;各鳍灰色,末端和边缘灰黑色(图 1)。腹膜银白色,有少量黑色素点(图 3,黑色箭头所示);肠管具两个弯曲,约为体长的 1.6 倍,与母本相似(翘嘴红鲌约为 1.2 倍,

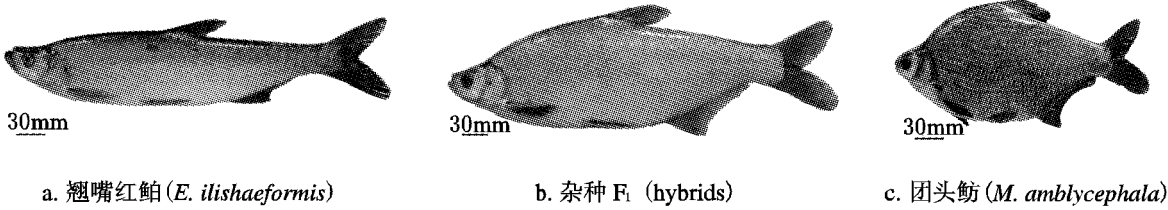


图 1 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁ 及其父母本
Fig. 1 The hybrid between *E. ilishaeformis* and *M. amblycephala*

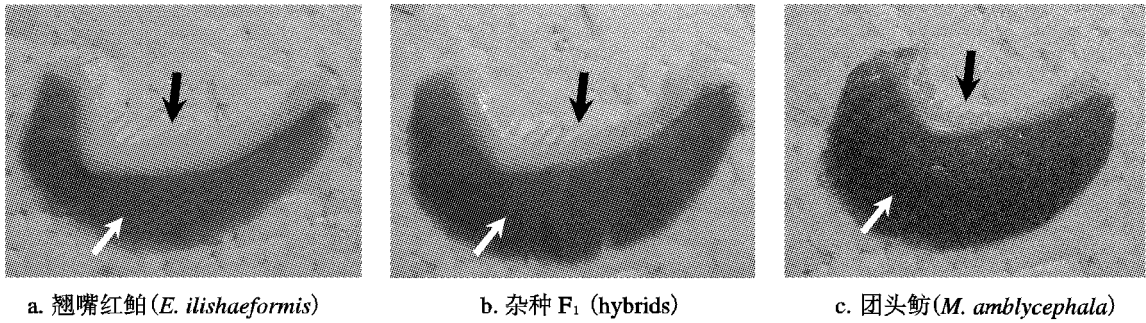


图 2 杂种 F₁、翘嘴红鲌和团头鲂的外侧第一鳃弓比较
Fig. 2 First gill arches of the hybrid, *E. ilishaeformis* and *M. amblycephala*
Basic differences are shown by the arrows

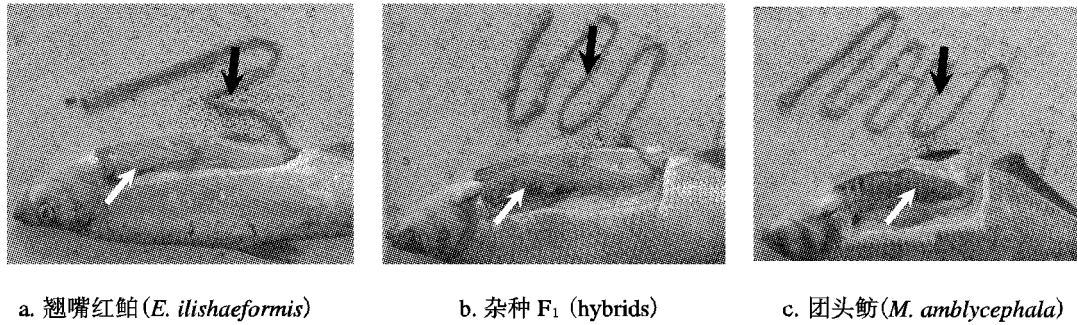


图3 杂种 F_1 、翘嘴红鲌和团头鲂的肠道比较
Fig.3 Intestinal tract of the hybrid, *E. ilishaeformis* and *M. amblycephala*
Basic differences are shown by the arrows

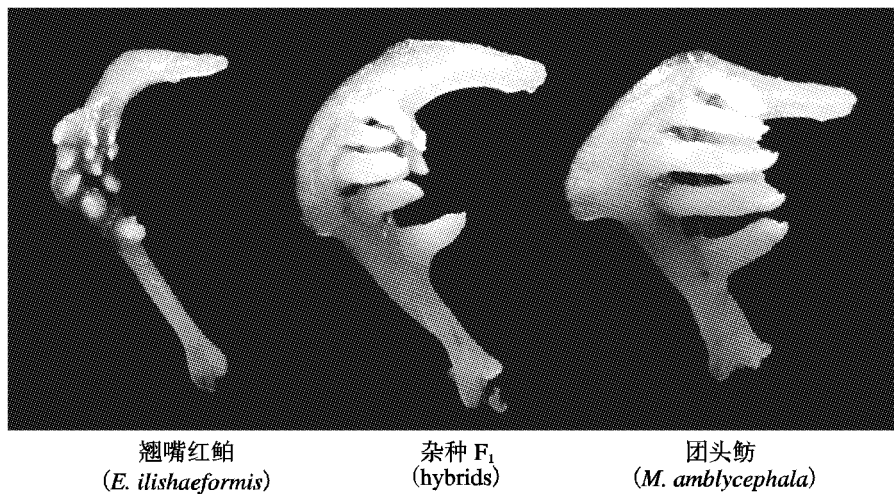


图4 杂种 F_1 、翘嘴红鲌和团头鲂的咽齿形态比较
Fig.4 Pharyngeal teeth of the hybrids F_1 , *E. ilishaeformis* and *M. amblycephala*

团头鲂约为3倍)(图3,白色箭头所示)。第一鳃弓外列鳃耙疏而硬,与父本相似,(图2,黑色箭头所示)但鳃丝较稠密,与母本相似(图2,白色箭头所示)。下咽齿3行(2.4.4~5-5~4.4.2),其尖端钩状,形态和规格与父本相似(图4)。鳃3室,中室最大,后室最小。脊椎骨与父母本相似,为4+38~40。肌间刺较母本翘嘴红鲌少。

2.3 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F_1 的可数性状和常规可量性状

可数形状 杂种 F_1 及父母本的10个可数性状的平均值、杂种指数和各性状的差异显著性见表2。由表可知,在可数性状中,杂种 F_1 的背鳍条(3,7)、腹鳍条(1,8)和胸鳍条(1,13~15)均与父母本一样;杂种 F_1 的臀鳍条(3,20~23)与母本翘嘴红鲌的鳍条(3,20~23)相似,而与父本团头鲂的臀鳍条(3,24~

31)有较大差异($P<0.05$);杂种 F_1 的侧线鳞(61~69)、侧线上鳞(13~15)均介于母本翘嘴红鲌(80~91,16~20)和父本团头鲂(54~58,11~12)之间,均与父母本差异显著($P<0.05$),且其杂种指数均大于50,偏向于父本团头鲂。杂种 F_1 的鳃耙数为19~21,介于母本(25~28)和父本(14~15)之间,与父母本差异显著($P<0.05$),其杂种指数为49.74,趋于中间值。可数性状的平均杂种指数为54.56,显示杂种 F_1 的可数性状接近理想的中间值,略偏向于父本。

常规可量性状 杂种 F_1 及父母本的17个常规可量性状的平均值、杂种指数和各性状的差异显著性列于表3。由表可知,在17个传统比例性状中,杂种 F_1 与父母本在体长/体高、体长/体厚、体长/头长、体长/尾柄长、头长/眼间距、背鳍

长/头长、体长/肠长、尾柄长/尾柄高、体长/腹鳍长等 9 个性状差异显著 ($P<0.05$)。其中, 杂种 F_1 的体长/体高 ($HI=58.78$)、体长/体厚 ($HI=71.85$)、头长/眼间距 ($HI=55.39$)、尾柄长/尾柄高 ($HI=53.29$) 均偏向父本, 而杂种 F_1 的背鳍长/头长 ($HI=30.10$)、体长/尾柄长 ($HI=36.21$)、体长/肠长 ($HI=37.83$) 均偏向于母本; 杂种 F_1 的体

长/头长 ($HI=492.36$) 超父本偏离, 而体长/腹鳍长 ($HI=-217.9$) 则超母本偏离。此外, 杂种 F_1 的头长/口高与母本差异显著 ($P<0.05$), 而与父本差异不显著; 而其头长/鳃弓长与母本差异不显著, 而与父本差异显著 ($P<0.05$)。综合这 17 个常规可量性状, 其平均杂种指数 HI 为 49.59, 显示杂种 F_1 的常规可量性状接近于理想的中间值。

表 2 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F_1 及父母本的可数性状
Tab. 2 Meristic characters of *E. ilishaeformis*(♀)×*M. amblycephala*(♂) hybrids and their parents

	翘嘴红鲌(n=35)			团头鲂(n=32)			杂种 F ₁ (n=35)			
	<i>E. illshaeformis</i>			<i>M. amblycephala</i>			hybrids			
	平均数 mean±S. E.	范 围 range	CV	平均值 mean±S. E.	范 围 range	CV	平均值 mean±S. E.	范 围 range	CV	HI
背鳍棘数 dorsal-fins spine number	3.00±0.00	3	0.00	3.00±0.00	3	0.00	3.00±0.00	3	0.00	-
背鳍条数 dorsal-fins ray number	7.00±0.00	7	0.00	7.00±0.00	7	0.00	7.00±0.00	7	0.00	-
胸鳍棘数 pectoral-fins spine number	1.00±0.00	1	0.00	1.00±0.00	1	0.00	1.00±0.00	1	0.00	-
胸鳍条数 pectoral-fins ray number	13.60±0.35	12~16	0.10	14.10±0.10	14~15	0.02	14.00±0.00	13~15	0.05	80
腹鳍棘数 pelvic-fins spine number	1.00±0.00	1	0.00	1.00±0.00	1	0.00	1.00±0.00	1	0.00	-
腹鳍条数 pelvic-fins ray number	8.00±0.00	8	0.00	8.00±0.00	8	0.00	8.00±0.00	8	0	-
臀鳍棘数 anal-fin spine number	3.00±0.00	3	0.00	3.00±0.00	3	0.00	3.00±0.00	3	0	-
臀鳍条数 anal-fin ray number	21.27±0.28	20~23	0.05	27.30±0.67	24~31	0.08	22.54±0.19	20~23	0.04	24.59
侧线鳞数 scales number on lateral line	85.93±0.76 ^a	80~91	0.03	55.50±0.43 ^b	54~58	0.02	65.63±0.47 ^c	61~69	0.04	66.73
侧上鳞数 transversal scales(upper) number	18.00±0.30 ^a	16~20	0.06	11.70±0.15 ^b	11~12	0.04	13.92±0.12 ^c	13~15	0.04	64.81
侧下鳞数 transversal scales(lower) number	6.87±0.09 ^a	6~7	0.05	9.80±0.42 ^b	8~12	0.13	8.08±0.10 ^c	7~9	0.06	41.48
第一鳃耙数 first gill raker number	26.60±0.24 ^a	25~28	0.03	14.25±0.12 ^b	14~15	0.01	20.33±0.16 ^c	19~21	0.03	49.74
平均值 mean			0.03			0.02			0.02	54.56

注: CV 为变异系数; HI 为杂种指数。同一列数据后的字母不同表示有显著性差异 ($P<0.05$)
Notes: CV, coefficient of variation; HI, hybrid index. Means in the same column followed by different letters are significantly different ($P<0.05$). The same as follows

表 3 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁ 及父母本的常规可量性状 Tab. 3 Proportional values of traditional metric characters of <i>E. ilishaeformis</i>(♀)×<i>M. amblycephala</i>(♂) hybrids and their parents										
	翘嘴红鲌(n=35) <i>E. ilishaeformis</i>			团头鲂(n=32) <i>M. amblycephala</i>			杂种 F ₁ (n=35) hybrids			
	平均值 mean±S. E.	范 围 range	CV	平均值 mean±S. E.	范 围 range	CV	平均值 mean±S. E.	范 围 range	CV	HI
TL/SL	1.19±0.02	1.17~1.24	1.36	1.20±0.02	1.16~1.24	1.45	1.20±0.02	1.16~1.23	1.62	81.38
SL /BD	4.00±0.13 ^a	3.74~4.2	33.30	2.09±0.11 ^b	1.88~2.34	5.42	2.88±0.16 ^c	2.56~3.22	5.49	58.78
SL/BW	10.04±0.62 ^a	8.69~11.53	6.13	7.58±0.65 ^b	6.48~9.26	8.58	8.27±0.59 ^c	7.40~9.44	7.14	71.85
SL/HL	5.06±0.22 ^a	4.55~5.47	4.38	5.13±0.22 ^b	4.68~5.74	4.34	5.37±0.32 ^c	4.62~6.00	5.97	492.36
HL/SnL	5.68±0.52	4.69~7.60	9.19	5.63±0.47	4.54~6.63	8.37	5.75±0.40	4.99~6.67	6.89	-128.70
HL/ED	4.21±0.40 ^a	3.56~5.06	9.57	4.54±0.47 ^b	3.51~5.77	10.43	4.36±0.43 ^{ab}	3.51~5.57	9.92	46.48
HL/IW	2.25±0.26 ^a	1.74~2.68	11.55	1.65±0.14 ^b	1.37~1.90	8.51	1.92±0.17 ^c	1.40~2.21	8.68	55.39
SL/CL	9.41±0.83 ^a	7.60~11.64	8.77	13.19±2.36 ^b	3.30~15.98	17.86	10.78±1.60 ^c	8.73~16.68	14.87	36.21
CL/CD	1.17±0.11 ^a	0.92~1.42	9.64	0.56±0.08 ^b	0.44~0.75	14.34	0.84±0.13 ^c	0.50~1.15	15.06	53.29
DL /HL	0.82±0.04 ^a	0.75~0.93	5.01	1.13±0.22 ^b	0.11~1.34	19.24	0.92±0.15 ^c	0.28~1.10	15.96	30.10
HL/JW	2.17±0.29 ^a	1.89~2.90	13.25	2.72±0.50 ^b	2.03~3.56	18.58	2.57±0.53 ^{ab}	1.92~3.52	20.55	73.08
HL/JD	2.04±0.20 ^a	1.83~2.57	9.95	2.77±0.61 ^b	2.16~3.78	21.90	2.53±0.40 ^b	1.94~3.08	15.69	67.15
SL/PtL	5.37±0.27 ^a	4.88~5.93	4.94	4.79±0.40 ^b	3.88~5.22	8.37	5.15±0.50 ^{ab}	4.49~6.63	9.66	37.90
SL/PvL	6.36±0.29 ^a	5.90~6.93	4.62	6.57±0.73 ^b	5.19~7.62	11.05	5.90±0.64 ^c	4.37~7.02	10.93	-217.97
SL/AL	7.39±0.42 ^a	6.96~8.40	5.73	8.11±0.75 ^b	6.44~9.16	9.27	7.62±0.80 ^{ab}	5.69~8.95	10.44	32.65
HL/GaL	1.38±0.18 ^a	1.19~1.90	12.98	1.89±0.64 ^b	1.28~3.13	34.11	1.46±0.46 ^a	1.01~2.36	31.47	15.25
SL/ IL	0.81±0.07 ^a	0.70~0.90	8.61	0.33±0.05 ^b	0.26~0.41	15.58	0.63±0.06 ^c	0.55~0.72	9.25	37.83
平均值 mean			7.59			12.63			11.74	49.59

注：1－全长(Total length,TL);2－体长(Standard length, SL); 3－体高(Body depth, BD);4－头长(Head length, HL);5－头高(Head depth, HD);6－吻长(Snout length, SnL);7－眼径(Eye diameter, ED);8－尾柄长(Caudal peduncle length, CL);9－尾柄高(Caudal peduncle depth, CD);10－背鳍长(Dorsalfin length, DL);11－胸鳍长(Pectoral-fin length, PtL);12－腹鳍长(Pelvic-fin length, PvL);13－臀鳍长(Anal-fin length, AL);14－眼间距(Interorbital width, IW);15－口宽(Jaw width,JW);16－口高(Jaw depth,JD);17－体厚(Body width,BW);18－第一鳃弓长(First gill-arche length,GaL); 19－肠道长(Intestine length,IL)

2.4 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁ 的框架参数

聚类分析 对杂种 F₁ 及父母本的 20 个校正框架参数进行聚类分析(图 5)。从聚类分析的结果来看,杂种 F₁ 个体、翘嘴红鲌个体、团头鲂个体

首先分别聚类形成杂交群体、翘嘴红鲌群体和团头鲂群体,然后杂交群体与翘嘴红鲌群体聚类,最后再与团头鲂群体相聚。表明杂种 F₁ 的框架体型与父母本有较大差异,且受母本翘嘴红鲌影响较大。

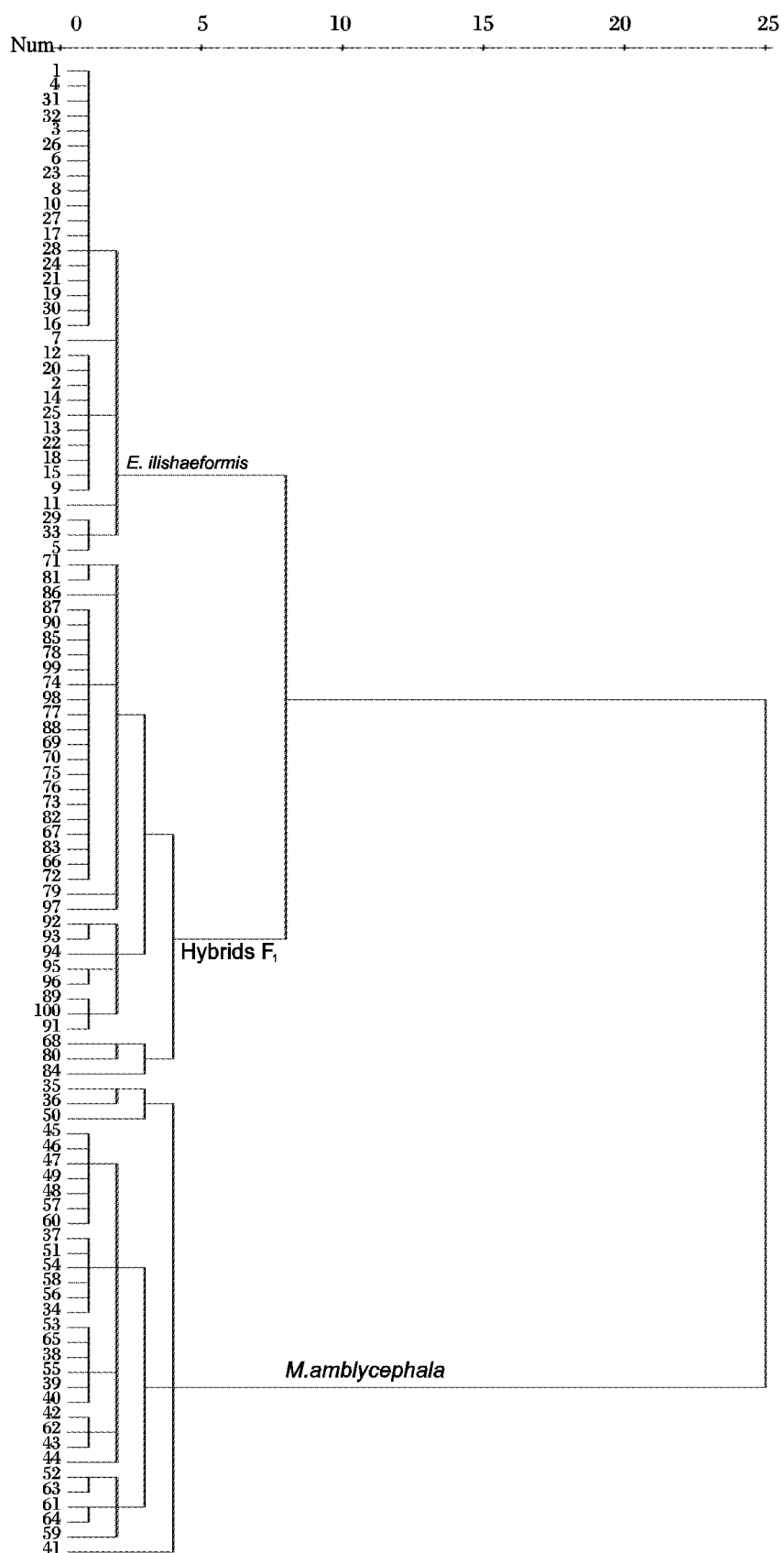


图 5 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F_1 及父母本框架参数的聚类分析图

Fig. 5 Cluster analysis of truss network parameters of *E. ilishaeformis*(♀)×*M. amblycephala*(♂) hybrids and their parents
 1~33:翘嘴红鲌(*E. ilishaeformis*);34~65:团头鲂(*M. amblycephala*);66~100:杂种 F_1 (hybrids F_1)

判别分析 对杂种 F_1 及父母本的 20 个校正框架参数进行判别分析,3 个群体的判别准确率都达 100%,无一误判。清楚地显示各群体间的形态框架差异。102 个样本的分布如图 6 所

示。从图中也可以直观地看出,3 群体分别占据不同区域,且杂种 F_1 的分布中心位于父母本之间,略靠近于母本翘嘴红鲌。这与聚类分析的结果基本一致。

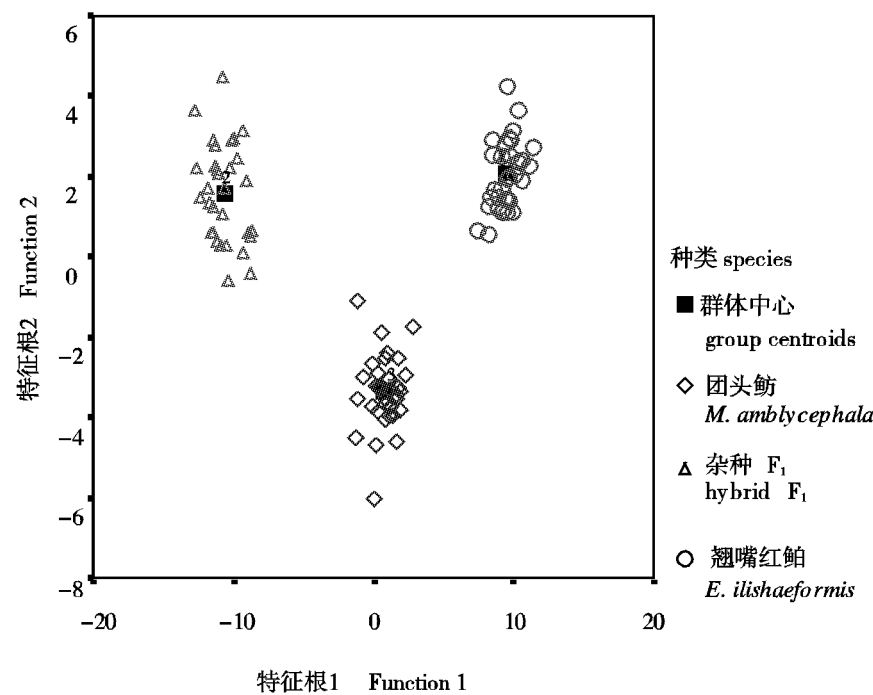


图 6 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F_1 及父母本框架参数的判别分析图
Fig. 6 Discriminant analysis of truss network parameters of *E. ilishaeformis*(♀)×*M. amblycephala*(♂) hybrids and their parents

2.3 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F_1 的核型
实验共获得杂种 F_1 的染色体中期分裂相 78 个,其中染色体数为 48 的分裂相占总分裂相的 63.2%。每种生物的染色体数都是相对稳定的^[16],对于具有非众数染色体细胞,很可能是由于低渗过度或制片操作导致少数染色体丢失的结果,故翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F_1

的染色体数为 $2n = 48$ 。对 3 个中期分裂相的染色体各种数据的测量和分析,表明杂种 F_1 的染色体以中部着丝点染色体(m)、亚中部着丝点染色体(sm)和亚端部着丝点染色体(st)为主,最大的染色体出现在 sm 组,未见随体和次缢痕。染色体组型为 $18\ m + 26\ sm + 4\ st$, $NF = 92$ (图 7)。

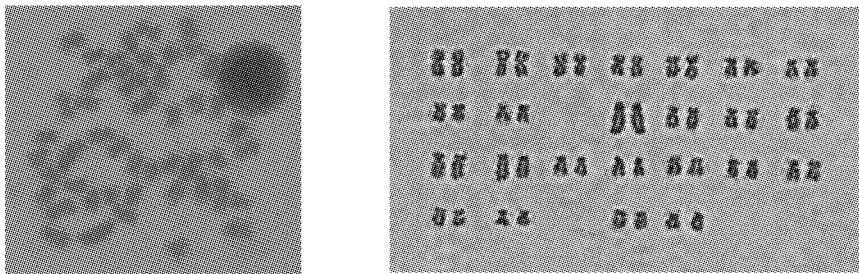


图 7 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F_1 的染色体中期分裂相和核型图
Fig. 7 Metaphase chromosomes and karyotype of *E. ilishaeformis*(♀)×*M. amblycephala*(♂) hybrids

2.4 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁ 的 RAPD 分析

从 20 个 RAPD 随机引物中筛选出 17 个扩增丰富的引物用于杂种 F₁ 及双亲的遗传关系分析, 共得到 178 条清晰稳定的扩增带, 扩增片段大小在 200~1 500 bp, 其中有 133 个扩增位点具有多态性, 多态性位点比率为 74.72%。杂种 F₁ 大部分扩增条带均能在亲本

中找到, 有的仅来自于父本(图 8-A, 白色箭头所示), 有的仅来自于母本(图 8-B, 白色箭头所示)。

从表 3 可知, 杂交子代与母本的相对遗传距离为 0.4327, 而与父本的遗传距离为 0.2312, 前者大于后者, 表明杂种 F₁ 与两亲本的遗传差异不是对等的, 而是偏向父本团头鲂一方。UPGMA 系统树也同样证明了这一点(图 9)。

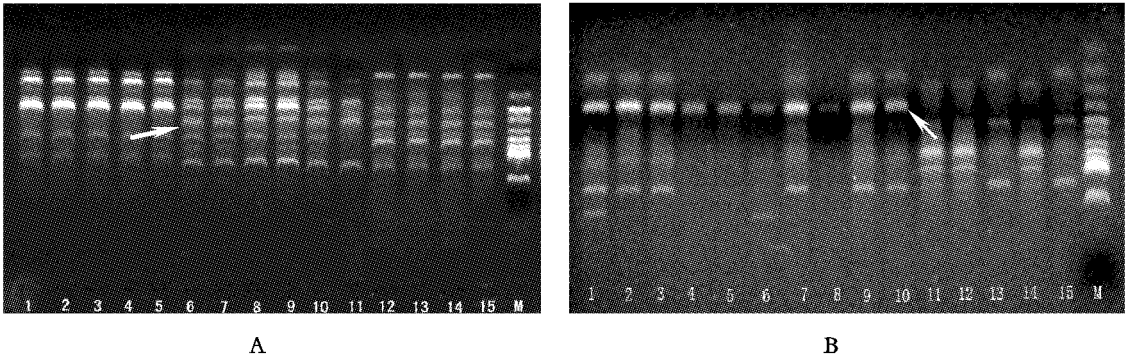


图 8 引物 F02 和 F11 对翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)F₁及其父母本的扩增图谱
Fig.8 RAPD patterns of *E. ilishaeformis*(♀)×*M. amblycephala*(♂) hybrids and their parents generated with primers F02 (A) and F11 (B)
1~5. 团头鲂(*M. amblycephala*); 6~10. 杂种 F₁ (hybrids F₁); 11~15. 翘嘴红鲌(*E. ilishaeformis*); M, marker

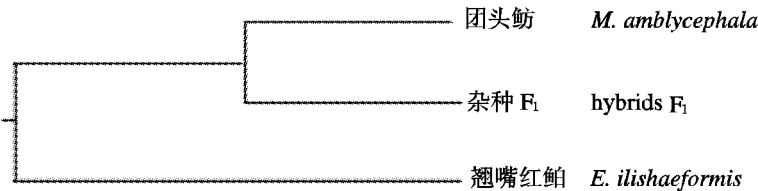


图 9 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁与父母本的 UPGMA 系统树
Fig.9 UPGMA of *E. ilishaeformis*(♀)×*M. amblycephala*(♂) hybrids and their parents

表 4 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁ 与父母本的遗传距离和遗传相似度

Tab.4 Nei's genetic identity and genetic distance of *E. ilishaeformis*(♀)×*M. amblycephala*(♂) hybrids and their parents

	团头鲂 <i>M. amblycephala</i>	杂种 F ₁ hybrids	翘嘴红鲌 <i>E. ilishaeformis</i>
团头鲂 <i>M. amblycephala</i>	—	0.7936	0.5711
杂种 F ₁ hybrids	0.2312	—	0.6488
翘嘴红鲌 <i>E. ilishaeformis</i>	0.5602	0.4327	—

注: 表左下侧为遗传距离, 表右上侧为遗传相似度
Notes: Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal)

3 讨论

3.1 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂交亲本的亲和力和 迄今我国共进行了 16 个属间杂交实验^[2], 其中涉及鲌亚科的分别为长春鲌(*Parabramis pekinensis*) (♀) × 三角鲂(*Megalobrama terminalis*) (♂)^[3-4]、团头鲂(♀) × 长春鲌(♂)^[5-6], 其杂交均能够受精和获得鱼苗, 且杂交子代可育, 杂种亲本表现出良好的亲和力。本文进行的翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂交获得的杂种 F₁, 其受精率、孵化率均达到 90% 以上, 也表现出良好的亲和力, 两者杂交繁育效率和同种鱼类繁育相近, 可适用于苗种的大规

模生产。通常认为,鱼类杂交不亲和性产生的原因是双亲基因组间的矛盾,即双亲的核型愈相近,杂交愈能成功,双亲间核型差异越大,杂交不亲和性越强,胚胎越难正常进行^[17]。李渝成等^[18]对鲃亚科 10 种鱼的染色体组型研究表明,鲃亚科鱼类染色体核型大致相似,基本上可概括为 $14 \sim 20 m + 24 \sim 28 sm + 4 \sim 8 st$,都有 1 对最大的可资区别的染色体,反映了该亚科鱼类有较高的同源性,并预测在这些鱼的种间乃至属间进行人工杂交获得成活的可能性较大。本文的实验结果也进一步印证了这一观点。黄丽英等^[19]利用 Cyt *b* 基因序列对翘嘴红鲌与其他鲃亚科鱼类的亲缘关系进行了研究,结果显示翘嘴红鲌与团头鲂之间的序列同源性为 91.30%。本文对亲本基因组的 RAPD 分析表明,翘嘴红鲌与团头鲂的相似系数为 0.57,也从分子水平上说明了翘嘴红鲌与团头鲂的亲缘关系较近,基因组成有较大的相似性,进一步解释了两亲杂交亲和性高的原因。

3.2 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁ 的形态变异 关于鲤科鱼类种内、种间、属间、亚科间的杂交杂种 F₁ 的性状变异,已有较多报道^[20-25]。多数研究认为,杂种后代的性状一般偏向于母本,如荷包红鲤(♀)×沅江鲤(♂)、团头鲂(♀)×三角鲂(♂)、鲢(♀)×鳙(♂)等。然而,杂种形态数量性状的变化又具有复杂性。松岛昌大等^[26]对鲤×河内鲫的杂种形态分析,发现杂种可分为鲤型、鲫型和中间型等 3 种形态类型。金燮理等^[27]对草鱼(♀)×赤眼鲮(♂)杂交后代的形态分析,发现杂种 F₁ 的性状表现了明显的趋父性遗传。鱼类形态特征与栖息的环境有密切联系,但在很大程度上取决于遗传特性。本研究结果表明,在养殖环境相似条件下,翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁ 的多数性状表现为中间型。在 10 个可数性状中,鳃耙数、臀鳍条数、侧线鳞等 3 个性状均介于父母本之间,与父母本无重叠,其平均杂交指数为 54.56,显示杂种 F₁ 的可数性状接近于中间值,略偏向于父本团头鲂。在 17 个常规可量性状中,有 9 个性状与父母本差异显著,其中有 4 个性状偏向于父本,有 3 个偏向于母本,有 2 个超父母本偏离,其平均杂交指数为 49.59,也显示杂种 F₁ 的可量性状处于中间值。进一步对杂种 F₁ 及父母本框架参数的聚类分析,显示杂交

F₁ 的体型与父母本差异较大,接近于中间型。从形态上杂种 F₁ 很容易与双亲相区别,十分有利于杂种 F₁ 的养殖与种质资源保存。多数学者认为杂种 F₁ 形态性状的复杂性主要是由于不同亲本的基因在后代基因库中所占的比例不同,以致于双亲对后代群体的遗传贡献不均等的缘故^[28]。从对翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁ 及其父母本的 RAPD 分析可知,翘嘴红鲌和团头鲂在杂种后代基因组中所占的比例是不均等,而是偏向父本团头鲂一方。因此,杂种 F₁ 应具有更多来自父本团头鲂的遗传特性。

3.3 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种的杂合性和可育性

鱼类远缘杂交可能产生单倍体、二倍体、多倍体及雌核发育、雄核发育等多种情况^[2]。本文对杂种 F₁ 的遗传组成分析可知,杂种 F₁ 大部分遗传物质均能在亲本中找到,有的仅来自于父本,有的仅来自于母本,说明了杂种 F₁ 一代为杂种。进一步对杂种 F₁ 的染色体核型分析可知,其染色体数为 48,具有 1 对较大的染色体,染色体核型为 $18 m + 26 sm + 4 st$,与已报道的父母本染色体组型类似^[18,29-30]。因此,排除了两者杂交获得多倍体的可能,并可推测杂种 F₁ 一代可育。这提示我们,在今后的养殖试验或推广中必须防止杂种逃逸对自然种群基因污染的风险。

3.4 属间杂交与品种改良

据报道,在中国淡水鱼类属间以上的远缘杂交后代中有较高的成活率,且有一定的生长优势,并可在生产上应用的只有 4 个杂交组合,即鳊鲂杂种、鲢鳙杂种、鲤鲫杂种和鲮与湘华鲮杂种^[31-32]。鳊鲂杂种不仅具有一定的生长优势,而且比双亲有较明显的耐低氧和耐运输的能力。20 世纪 70 年代开始,该鱼在珠江三角洲养殖已较普遍^[3]。初步的观察表明,本文培育的翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁ 不仅组合了某些有利的形态性状,而且提高了杂种的经济性能。如杂种 F₁ 的鳃耙形态和数目变化(中间型),使其摄食范围扩大,苗种易驯化,既可以摄食沉性料也可以摄食膨化料;杂种鳞片较大且不易脱落,耐操作能力增强,夏季运输成活率高;杂种体型更趋纺锤形,体型更加美观,游泳能力增强,杂种生长优势明显。经 1 年半养殖($1\,000\text{ ind}\cdot 667\text{ m}^{-2}$,翘嘴红鲌养殖模式),杂种 F₁ 平均规格可达 1 000 g 左

右,最大的可达到1 500 g。因此,在此基础上,通过进一步选育,有望育成一个经济价值较高的新的养殖品种。

参考文献:

- [1] 楼允东. 鱼类育种学[M]. 北京:中国农业出版社, 1993:83-93.
- [2] 楼允东,李晓勤. 中国鱼类远缘杂交研究及其在水产养殖上的应用[J]. 中国水产科学, 2006, 151-158.
- [3] 广东省佛山地区水产局. 团头鲂长春鳊杂交种[J]. 水产科技情报, 1975, (4):18-19.
- [4] 林义浩. 长春鳊、团头鲂及其杂种染色体组型的比较[J]. 动物学研究, 1984, 5(3):65-66.
- [5] 山西大学生物系, 太原市农林水利服务站. 鳊鲂人工杂交的初步研究[J]. 淡水渔业科技动态, 1973, (5):6-9.
- [6] 殷源洪, 韩 荀, 韩如斋. 鳊鲂人工杂交的初步研究[J]. 遗传学通讯, 1974, (3):36-38.
- [7] 杨怀宇, 李思发, 邹曙明. 三角鲂与团头鲂正反交 F_1 的遗传性状[J]. 上海海洋大学学报, 2002, 11(4): 305-309.
- [8] 宋长太. 翘嘴红鲌的生物学特性及人工养殖技术[J]. 北京水产, 2004, 5:51-52.
- [9] 杨长根, 朱宏元. 翘嘴红鲌全人工繁殖与夏花培育技术[J]. 内陆水产, 2004, 10:15.
- [11] 李思发. 中国淡水主要养殖鱼类种质研究[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1998.
- [12] Smith G R. Analysis of several hybrid cyprinid fishes from western North America [J]. Copeia 1973, 395 - 410.
- [13] 张克俭, 高 健, 张景龙, 等. 杂交鲫(白鲫♀×散鳞镜鲤♂)及其双亲染色体组型的研究[J]. 水产学报, 1995, 19(4): 305-309.
- [14] Levan A, Fredga K, Sandberg A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes [J]. Heredita, 1964, 52: 201-220.
- [15] 董在杰, 夏德全, 吴婷婷, 等. 兴国红鲤和散鳞镜鲤杂种优势的 RAPD 分析[J]. 上海海洋大学学报, 1999, 8(1):31-36.
- [16] 曹丽萍, 丁炜东, 贾永义, 等. 奥利亚罗非鱼(♀)×鳊(♂)杂交后代及其双亲的染色体核型分析[J]. 农业生物技术学报, 2006, 14 (2): 187-190.
- [17] 王祖熊, 张锦霞, 靳光琴. 鱼类杂交不亲和性研究[J]. 水生生物学报, 1986, 10(2):171-179.
- [18] 李喻成, 李 康. 中国鲤科鱼类染色体组型的研究: I 鳊亚科 10 种鱼的染色体组型[J]. 遗传学报, 1983 10(3):216-222.
- [19] 黄丽英, 丁诗华, 张海琪, 等. 利用 Cyt b 基因序列研究翘嘴红鲌的系统发生[J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2005, 27(6):909-913.
- [20] 楼允东, 张克俭, 徐庆登, 等. 高邮杂交鲫及其亲本遗传性状的比较研究[J]. 遗传, 1992, 14 (4): 18-20.
- [21] 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[J]. 遗传学报, 1997, 14 (1):49-55.
- [22] 俞菊华, 夏德全. 奥利亚罗非鱼(♀)×鳊(♂)杂交后代的形态[J]. 水产学报, 2003, 27(5):431-435.
- [23] 金燮理, 金 宏. 草鱼×赤眼鳟 F_1 与其亲本遗传性状的比较研究[J]. 生命科学研究, 1999, (4)3: 316-320.
- [24] 吴维新, 刘国安, 郑远刚, 等. 兴国红鲤♀×草鱼♂杂交后代遗传性状的比较研究[J]. 湖南水产科技, 1983, 2:28-32.
- [25] 楼允东. 高邮杂交鲫及其亲本消化道形态与组织学观察[J]. 水产学报, 1992, 16(1):80-85.
- [26] 松岛昌大. エ化メフチフナの杂交种の研究-Ⅲ交杂种 F_4 の形質解析[J]. 淡水研報, 1972, 22 (2): 109-126.
- [27] 金燮理, 金 宏. 草鱼×赤眼鳟 F_1 与其亲本遗传性状的比较研究[J]. 生命科学研究, 1999, (4)3: 316-320.
- [28] 杨 宁, 吴常信. 亲本对后代群体的不均等遗传贡献及其优化控制[J]. 遗传学报, 1993, 20 (1): 294-299.
- [29] 余先觉, 周 瞰, 李渝成, 等. 中国淡水鱼类染色体[M]. 北京:科学出版社, 1989, 140-143.
- [30] 宗琴仙, 柯鸿文, 郝思平, 等. 五种水体团头鲂的染色体数、组型以及电泳分析[J]. 水产科技情报, 1987, 4:1-4.
- [31] 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.
- [32] 张锦霞, 刘肖芳, 王 熊, 等. 湘华鲮(♀)×鲮(♂)杂交一代与其亲本染色体组型的比较研究[J]. 水生生物学集刊, 1984, 8(3):313-320.

Studies on morphological characteristics and genetic analysis of the hybrid F_1 , *Erythroculter ilishaeformis* ♂ × *Megalobrama amblycephala* ♀

GU Zhi-min¹, JIA Yong-yi¹, YE Jin-yun¹, CHEN Li-qiao², ZHU Jun-jie¹,
HUANG Xian-ming¹, YANG Yuan-jie¹

(1. Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, Huzhou 313001, China;

2. School of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

Abstract: As a result of a successful work on intergeneric crossing in fish during the years of 2006 and 2007 at Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, a hybrid F_1 of *Erythroculter ilishaeformis* ♀ × *Megalobrama amblycephala* ♂ were obtained. Further comparative analysis of morphological characteristics, karyotypes and gene groups were carried out to clarify the differences of morphological and genetic traits between the hybrid and its parents. The results are as follows, (1) both fertilizing rates and hatching rates by crossing of *E. ilishaeformis* ♀ × *M. amblycephala* ♂ were above 90%, which indicates a good kin ability between female *E. ilishaeformis* and male *M. amblycephala*; (2) most numeric traits of the hybrid F_1 appeared to be medium. Among ten countable traits, the numbers of gill rake and lateral scale are within the range of its parents', the average hybrid index is calculated to be 54.56, which interprets that the countable traits approach to the middle values and slightly incline to its male brood's. Of seventeen measurable traits, nine traits are significantly different from its parents', including four traits incline to paternity, three to maternity and two deviating from its parents'. The average hybrid index is calculated to be 49.59, which indicates the measurable traits are also close to the middle values. Cluster analysis and discriminant analysis of body frame indexes denote that the body shape of hybrid F_1 has obvious differences from its parents, appears to be of mid-type and be affected more by its maternity; (3) Chromosome numbers ($2n$) of the hybrid F_1 are counted to be 48 and karyotype formula is described as $18m + 26sm + 4st$ ($NF = 92$), which is similar to those of its parents. The observations specify that the hybrid F_1 is a diploid with fertility; (4) Most RAPD enlargement stripes of the hybrid F_1 could be found in both parents and some are solely from either paternity or maternity, which shows a hybrid in nature. The hybrid F_1 has a relative heredity distance of 0.4327 from the maternity and 0.2312 from its paternity. The former is farther than the later, which elucidates that the hybrid F_1 has an unequal heredity difference from its parents and a genetic inclination to its paternity. This is also supported by UPGMA.

Key words: *Erythroculter ilishaeformis*; *Megalobrama amblycephala*; intergenus crossing; hybrid F_1 ; morphological characteristics; karyotype; rapid amplified polymorphic DNA (RAPD)