

大黄鱼(♀)与鲩状黄姑鱼(♂)杂交及其子代的遗传分析

简林江¹, 杨育凯¹, 刘贤德¹, 陈庆凯², 王志勇^{1*}

(1. 集美大学水产学院, 农业部东海海水健康养殖重点实验室, 福建 厦门 361021;

2. 宁德水产技术推广站, 福建 宁德 352100)

摘要: 为了探讨大黄鱼(♀)与鲩状黄姑鱼(♂)远缘杂交的可行性, 构建了 2 个杂交家系(LN1 和 LN2), 检测了杂交 F₁ 的倍性, 并利用 10 个微卫星标记对杂交亲本及 F₁ 进行遗传分析。结果表明, 大黄鱼(♀)与鲩状黄姑鱼(♂)可以成功杂交产生形态正常后代, 45 日龄成活率达到 30%, 但杂交受精率(29.0%、32.6%)与孵化率(75.0%、76.7%)要显著低于大黄鱼自繁($P < 0.05$)。杂交幼鱼体型修长, 头为尖钝型, 体侧布满黑褐色斑点; DNA 相对含量测定和微卫星标记分析结果显示, 90% 以上杂交后代是杂交二倍体, 另外有少量的杂交三倍体和雌核发育二倍体; 杂交幼鱼形态兼具有双亲的特征, 与大黄鱼明显不同; 至 45 日龄为止, 杂交二倍体和三倍体生长速度均慢于大黄鱼。研究结果为大黄鱼(♀)和鲩状黄姑鱼(♂)杂交 F₁ 的开发利用及管理提供了参考依据。

关键词: 大黄鱼; 鲩状黄姑鱼; 远缘杂交; DNA 相对含量; 微卫星标记; 遗传关系

中图分类号: Q 321⁺.3; S 917.4

文献标志码: A

远缘杂交(distant hybridization)是指种间、属间乃至亲缘关系更远的生物类型之间的杂交^[1]。鱼类物种之间的生殖隔离往往不明显, 许多经济鱼类在同属不同种、甚至不同属、不同科的鱼类之间也可以进行杂交并获得具有开发利用价值的杂种后代, 因此远缘杂交已成为鱼类育种中重要的手段, 迄今已有许多种鱼类通过远缘杂交培育出了具有较高经济价值的新品种在生产上养殖利用。我国通过远缘杂交培育出的鱼类养殖新品种就有福寿鱼、奥尼鱼、尼奥鱼、吉鲷罗非鱼、湘云鲫、湘云鲤、镜鲤、鳊鲮、芦台鲂等。

大黄鱼(*Larimichthys crocea*)在分类上属鲈形目(Perciformes)、石首鱼科(Sciaenidae)、黄鱼属(*Larimichthys*), 是我国养殖量最大的海水经济鱼类之一, 其肉质细腻, 味道鲜美, 受到广大消费者的喜爱, 2010 年大黄鱼养殖年产量超过 8.5 万 t^[2]。但经过连续多代全人工繁殖, 养殖

群体普遍出现生长减慢、抗病力下降等现象, 主要经济性状出现明显退化。为了改良养殖大黄鱼的种质, 国内已有多家单位开展了大黄鱼选择育种、染色体组操作等研究, 并取得了可喜的成果^[3-4]; 也有一些研究者在远缘杂交方面开展了一些研究工作, 包括大黄鱼与鲩鱼(*Müichthys miiuy* Basilewsky)^[5]、浅色黄姑鱼(*Nibea coibor*)^[6]、黄姑鱼(*Nibea albiflora*)^[7]的杂交实验, 但都没有获得真正可存活和正常生长发育的杂种后代。王德祥等^[6]进行了大黄鱼与浅色黄姑鱼的杂交实验, 结果证明浅色黄姑鱼的精子仅激活了大黄鱼的卵子发育而没有完成参与卵子的遗传调控, 杂交卵实际上是异精雌核发育单倍体。王晓清等^[5]在大黄鱼(♀)与黑鲩(♂)的杂交中发现, 子代的遗传物质大部分来自母本, 属于异质雌核发育的后代。刘颖等^[7]和隋班良等^[8]在大黄鱼(♀)与黄姑鱼(♂)以及黄姑鱼(♀)与大黄鱼(♂)的杂交实验中发现,

收稿日期:2012-11-17 修回日期:2013-03-16

资助项目:国家“八六三”高技术研究发展计划(2012AA10A403);公益性行业(农业)科研专项(200903046-05);集美大学创新团队科研基金 2010A002)

通信作者:王志勇, E-mail:zywang@jmu.edu.cn

杂交 F_1 初孵仔鱼均含有来自父母双方的遗传物质,为真正杂种后代,但存活时间很短,1~2周内杂种后代基本死亡殆尽,继续存活下来的极少数后代也都是异质雌核发育的产物。马梁等^[9]以鲩状黄姑鱼(*Nibea miichthioides*)为母本,大黄鱼为父本的杂交实验中得到的受精率、孵化率都要明显低于对照组,且仔鱼仅存活18 d。

鲩状黄姑鱼在分类上与大黄鱼同属于鲈形目、石首鱼科,是黄姑鱼属(*Nibea*)^[10-11]的重要经济种类之一,它具有生长速度快,抗病力强等特点,与大黄鱼存在性状互补,而关于大黄鱼与鲩状黄姑鱼的杂交尚未见报道。因此,本实验进行了大黄鱼(♀)与鲩状黄姑鱼(♂)的远缘杂交,获得了正常存活的杂交后代,经DNA相对含量和微卫星标记分析表明,杂交后代中绝大多数是正常的杂交二倍体,此外也含有少量杂交三倍体和异精雌核发育体。研究初步表明,大黄鱼(♀)与鲩状黄姑鱼(♂)杂交可能是进行育种新种质创建的一个有效途径。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

杂交实验于2012年5月在福建省宁德市横屿岛水产有限公司育苗场进行。从宁德官井洋海区挑选候选亲本,大黄鱼来自“闽优1号”群体,鲩状黄姑鱼为网箱养殖群体。选择体形正常、体质健壮、性腺发育良好的大黄鱼雌、雄亲本各2尾,鲩状黄姑鱼雄性亲本2尾。雌性大黄鱼体长分别为28.7和31.5 cm,雄性大黄鱼体长分别为26.3和26.7 cm,鲩状黄姑鱼体长分别为82.1和81.6 cm。注射LRH- A_3 进行催产,雌鱼催产剂量为3 $\mu\text{g}/\text{kg}$,雄鱼减半,催产水温25 $^{\circ}\text{C}$,达到效应时间(34 h)后人工挤取精卵进行干法授精,每尾亲鱼的卵分为两份,大部分用于杂交,小部分用于种内自交对照。构建了两个杂交家系,分别简称LN1和LN2,两个大黄鱼自繁家系,分别简称LC1和LC2。剪取亲本鳍条于95%酒精中保存,仔鱼孵化后45 d从家系LN1和LN2中分别取20

尾和30尾杂交鱼苗用于倍性检测和SSR分析。

1.2 DNA相对含量的测定和生长数据测量

取大黄鱼对照组鱼苗20尾、杂交家系LN1和LN2的45日龄鱼苗20尾与30尾进行生长数据测量和倍性检测。冲洗鱼苗,剪断尾柄,在DAPI染色液^[12](10 mmol/L Tris, pH 7.4; 2 mmol/L CaCl_2 ; 146 mmol/L NaCl; 2 mmol/L MgCl_2 ; 5 mg/L DAPI; 0.1% Triton X-100; 0.005%小牛血清)中摆洗2~3次,轻轻震荡,过网筛,用倍性分析仪PA-II进行检测。每尾鱼苗取肌肉于95%酒精保存用于DNA提取。

1.3 基因组DNA的提取

用上海捷瑞生物公司基因组DNA提取试剂盒提取亲本及幼鱼的DNA。1.5%琼脂糖凝胶电泳检测DNA样品的质量,紫外分光光度计测定 OD_{260} 值确定DNA浓度,稀释DNA浓度至50 ng/ μL 备用。

1.4 微卫星标记扩增及检测

从本实验室开发的大黄鱼SSR引物中筛选出10对杂交双亲都能良好扩增、等位基因存在明显差异的引物进行幼鱼的遗传分析,引物的序列及退火温度见表1。PCR反应体系10 μL ,其中模板DNA 0.3 μL ,10 \times Buffer 1.0 μL ,10 mmol/L dNTPs 0.2 μL ,10 mmol/L引物对各0.2 μL ,5 U/ μL Taq酶0.1 μL ,灭菌纯水8.0 μL 。PCR反应程序为94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min,94 $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s,进行26~28个循环;最后72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸8 min。扩增产物用6%的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳结合银染显色法进行检测^[13]。用10 bp DNA Ladder(Invitrogen, USA)作为扩增条带的分子量参照标准进行等位基因的判读。

1.5 数据处理

利用POPGENE 1.32软件计算各位点在两个杂交家系中的等位基因数(a)、有效等位基因(N_e)、观测杂合度(H_o)、遗传相似系数(I)、遗传距离(D_s)。根据孟德尔定律推算各位点的期望杂合度(H_e),用 χ^2 检验检测各位点是否偏离孟德尔定律,其他数据用EXCEL进行统计计算。

表 1 实验选用的微卫星位点、核心序列、引物序列和退火温度

微卫星位点 microsatellite locus	核心序列 repeat motif sequence	引物序列(5'-3') primer sequence	退火温度/℃ annealing temperature
LYC0002	(TG) ₂ (AC) ₂ ·(AC) ₁₀ ·(AC) ₅	F:ACCTCCAGTGGGATGTGA R:GGCTGTTTGTATAATTTGTG	50
LYC0003	(CA) ₉ T(AC) ₂	F:TATTCAGGCTGCTGTTGTGC R:ATGACCAGGCTTGCATTGAG	55
LYC0004	(TG) ₉	F:CTCTTAGCCGTCATTTCATCC R:CATTAGCCAAGTTCACCTCC	55
LYC0007	(CA) ₈ CCCCA	F:GACTCCTTTGCTCGGTCTGA R:ACATGGTTATCCTTCCGTTTCG	56
LYC0013	(GT) ₂₈	F:GCTGCGAGCTACTTTACTCAT R:AACTCACAAACATGCAC	50
LYC0014	(AC) ₂ CT(CA) ₁₀ …(AC) ₅ …(AC) ₂ AG	F:TGAGTGTCATTGTCTTGTG R:GTGGATCTATTCTGTGTCT	55
LYC0022	(TG)(GT) ₂ …(GT) ₂ CT(GT) ₃ …(GT) ₁₁	F:AGAGATAACGTAGACATGATTG R:CAGCAAAAGTTCAAATGGAG	55
LYC0035	(GA) ₇	F:TCAAAGGCAACATACAACAG R:ACCCAAAGGAGTTTTTTTTC	55
LYC0036	(TA) ₂ CT(CA) ₉	F:GCATTCATGGATTAGACTGC R:GGGTGAGTGTGCGGAAGTTC	53
LYC0066	(AG) ₁₀ (GT) ₁₀ T(TG) ₅	F:TTACATGGGCAGCCTGAG R:ATGACGCAGCAGAATGG	53

2 结果与分析

2.1 受精率、孵化率和幼鱼成活率

在相同条件下测得的杂交家系(LN1和LN2)和对照家系(LC1和LC2)的受精率、孵化率和45日龄鱼苗成活率见表2。2个杂交家系的受精率、孵化率和45日龄鱼苗成活率都要显著低于对照组($P < 0.05$)。

表 2 杂交家系和对照组家系的受精率、孵化率和45日龄鱼苗成活率

Tab.2 Fertilization rate, hatching rate and survival rate of *L. crocea* ♀ and *N. mitchthioides* ♂ hybrids and control group

家系 family	受精率/% fertilization rate	孵化率/% hatching rate	成活率/% survival rate
LN1	29.0 ± 2.1 ^a	75.0 ± 3.6 ^a	30.5 ^a
LC1	42.4 ± 6.8 ^b	83.3 ± 2.1 ^b	47.8 ^b
LN2	32.6 ± 5.5 ^a	76.7 ± 1.5 ^a	28.5 ^a
LC2	49.1 ± 3.3 ^b	89.0 ± 2.6 ^b	53.4 ^b

注:大黄鱼自繁家系LC1和LC2分别为杂交家系LN1和LN2的对照家系。同一列数据右肩字母相同者表示差异不显著($P > 0.05$),不相同者表示差异显著($P < 0.05$)。

Notes: LC1 and LC2 were the control of LN1 and LN2, respectively. Within the same column, values with the same superscripts are not significantly different ($P > 0.05$), and values with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

2.2 DNA相对含量的测定

对杂交和大黄鱼自繁子代DNA相对含量检测结果如表3所示。大黄鱼自繁家系鱼苗的DNA相对含量都处在47~50之间, LN1家系鱼苗中有18尾的DNA相对含量在47~51之间,有2尾的含量分别为71.36、71.68,约为其它鱼苗的1.5倍; LN2家系鱼苗的含量都在47~51之间。根据DNA相对含量检测结果,杂交家系LN1中有2尾鱼苗(占10%)是杂交三倍体。

表 3 对照家系、杂交家系DNA相对含量

Tab.3 DNA relative content for hybrids and control family

家系 family	样本数 sample size	DNA相对含量 DNA relative content
LN1	18	49.52 ± 1.32
	2	71.68 ± 71.36
LC1	20	48.92 ± 0.83
LN2	30	49.7 ± 1.18
LC2	20	48.92 ± 0.83

2.3 微卫星标记分析

微卫星标记检测的结果显示,大黄鱼(♀)×鲩状黄姑鱼(♂)杂交后代,绝大多数(在LN1家系中18尾, LN1家系中29尾)拥有双亲的基因,

是属于真正的杂种;杂交家系 LN1 中第 7 号个体在 LYC0002、LYC0013、LYC0014、LYC0066 位点具有 2 条母本特异条带和 1 条父本特异条带;第 20 号个体在 LYC0002、LYC0004、LYC0013、LYC0014 位点出现 2 条母本特异条带和 1 条父

本条带,这 2 个个体的 DNA 含量约为其它个体的 1.5 倍,证明这两尾鱼苗为杂交三倍体(表 4)。在 LN2 家系中,第 10 号个体在 LYC0013 位点出现 1 条非亲条带,在其余 9 个位点只含有母本特异条带,显示此个体为雌核发育个体(图 1)。

表 4 两个杂交家系 10 个微卫星位点的遗传信息
Tab. 4 Statistic genetic information for 10 microsatellite loci in two hybrid families

家系 family	位点 locus	亲本基因型 parents genotype	等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	F_1 的基因型分布 F_1 genotype distribution	特殊子代基因型 special progeny genotype	P 值 P value
LN1	LYC0002	AB × CD	4	3.38	1.00	1.00	AC: AD: BC: BD = 8: 5: 4: 1	ABC ABC	0.106 8
	LYC0003	AA × BB	2	2.00	1.00	1.00	AB = 20	AB AB	0.751 8
	LYC0004	AB × CD	4	3.86	1.00	1.00	AC: AD: BC: BD = 3: 3: 7: 6	BD ABC	0.400 0
	LYC0007	AA × BB	2	1.98	0.90	1.00	AB = 18	AB AB	0.527 1
	LYC0013	AB × CC	3	2.50	1.00	1.00	AC: BC = 5: 13	ABC ABC	0.110 8
	LYC0014	AB × CD	4	3.62	1.00	1.00	AC: AD: BC: BD = 8: 5: 2: 3	ABD ABC	0.308 0
	LYC0022	AB × CC	3	2.53	1.00	1.00	AC: BC = 14: 6	AC AC	0.201 9
	LYC0035	AA × BC	3	2.65	1.00	1.00	AB: AC = 10: 10	AC AB	1.000 0
	LYC0036	AB × CC	3	2.58	1.00	1.00	AC: BC = 7: 13	BC BC	0.406 6
	LYC0066	AB × CC	3	2.66	1.00	1.00	AC: BC = 9: 10	ABC AC	0.951 2
LN2	LYC0002	AB × CD	4	3.83	1.00	1.00	AC: AD: BC: BD = 8: 7: 10: 4	BB	0.737 1
	LYC0003	AA × BB	2	2.00	0.97	1.00	AB = 29	AA	0.796 2
	LYC0004	AB × CC	3	2.69	0.97	1.00	AC: BC = 16: 13	AA	0.637 6
	LYC0007	AA × BB	2	2.00	0.97	1.00	AB = 29	AA	0.796 3
	LYC0013	AB × AA	2	1.44	0.38	0.25	AA: AB = 18: 11	AC	0.406 5
	LYC0014	AB × CD	4	3.97	1.00	1.00	AC: AD: BC: BD = 7: 7: 6: 9	BB	0.869 8
	LYC0022	AB × CC	3	2.72	0.97	1.00	AC: BC = 13: 16	AA	0.951 2
	LYC0035	AA × BC	3	2.60	0.97	1.00	AB: AC = 16: 13	AA	0.637 6
	LYC0036	AA × BB	2	2.00	0.97	1.00	AB = 29	AA	0.796 3
	LYC0066	AB × CC	3	2.72	0.97	1.00	AC: BC = 16: 13	BB	0.951 2

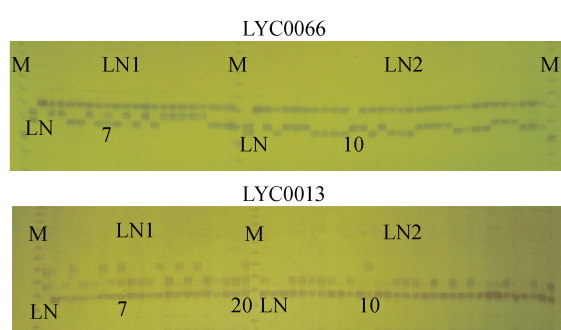


图 1 微卫星位点 LYC0066、LYC0013 在两个杂交家系中扩增结果

M. DNA mark, L. 母本大黄鱼, N. 父本鲢状黄姑鱼, 数字代表在该家系中的个体编号。

Fig. 1 The amplification results of LYC0013 and LYC0066 in two hybrid families

M. mark, L. female parent *L. crocea*, N. male *N. miichthioide*, Number represents an individual of the family.

2.4 杂交子代与亲本间遗传相似性

大黄鱼、鲢状黄姑鱼、杂交二倍体、雌核发育二倍体和杂交三倍体相互间的遗传相似度和遗传距离见表 5。大黄鱼与鲢状黄姑鱼的遗传相似度最小,遗传距离最大。杂交二倍体与母本大黄鱼的遗传相似度略高于与父本鲢状黄姑鱼的遗传相似度,与母本的遗传距离略小于与父本的遗传距离;杂交三倍体与母本的遗传距离小于杂交二倍体与母本的遗传距离;雌核发育体与母本大黄鱼的遗传距离很小,而与鲢状黄姑鱼的距离则接近于母本大黄鱼与鲢状黄姑鱼的遗传距离。杂交二倍体与杂交三倍体之间遗传相似度也很大,接近于雌核发育体与母本的相似度。这与在形态上雌核发育体与母本一致,杂交三倍体与杂交二倍体一致相吻合。

表 5 大黄鱼(♀)与鲩状黄姑鱼(♂)亲本及其子代的遗传相似度和遗传距离
Tab. 5 Genetic similarity and genetic distance between *L. crocea*(♀), *N. miichthioide*(♂) and hybrids

	大黄鱼 <i>L. crocea</i>	鲩状黄姑鱼 <i>N. miichthioide</i>	杂交二倍体 hybrid diploid	雌核发育二倍体 gynogenesis diploid	杂交三倍体 hybrid triploid
大黄鱼 <i>L. crocea</i>	—	0.121	0.599	0.733	0.714
鲩状黄姑鱼 <i>N. miichthioide</i>	2.110	—	0.596	0.418	0.564
杂交二倍体 hybrid diploid	0.512	0.518	—	0.522	0.732
雌核发育二倍体 gynogenesis diploid	0.310	1.910	0.649	—	0.528
杂交三倍体 hybrid triploid	0.336	0.573	0.312	0.639	—

注:对角线上方为遗传相似度,对角线下方为遗传距离。

Notes: The data above diagonal are genetic similarity and those below diagonal are genetic distance.

2.5 杂交后代与大黄鱼自繁子代鱼苗的形态和生长比较

大黄鱼幼鱼头型圆钝,躯干部背缘和腹缘广弧形,尾柄修长,体背侧金黄色,腹部银白色带有黄色;杂交二倍体和三倍体鱼体型修长,头为尖钝型,背部稍高自然向后延伸,体背黄色带有很多黑褐色的色斑,体侧多为黑褐色的斑点,腹部银白色,用肉眼很容易把杂交后代与大黄鱼区分开来。

而雌核发育个体形态则与大黄鱼完全一样。

表 6 列出了对 2 个杂交家系和 2 个大黄鱼自繁家系 45 日龄子代生长性状的测量结果,2 个杂交家系幼鱼的全长、体长、体质量都显著低于大黄鱼自繁家系($P < 0.05$),杂交家系中的杂交三倍体生长略小于杂交二倍体,杂交家系中异精雌核发育个体的生长速度明显快于杂交二倍体和三倍体,也略快于对照组家系鱼苗。

表 6 杂交子代与大黄鱼子代 45 日龄的生长数据
Tab. 6 Growth charts of hybrids and large yellow croaker fries at 45 days of age

家系 family	样本(数量) sample(number)	全长/cm overall length	体长/cm body length	体质量/g weight
LN1	杂交二倍体(18)	3.52 ± 0.76 ^a	2.64 ± 0.56 ^a	0.41 ± 0.22 ^a
	杂交三倍体(2)	3.21 ± 3.84 ^a	2.43 ± 2.86 ^a	0.25 ± 0.43 ^b
LC1	大黄鱼(30)	4.22 ± 0.54 ^b	3.10 ± 0.55 ^b	0.60 ± 0.22 ^c
LN2	杂交二倍体(29)	2.91 ± 0.71 ^a	2.14 ± 0.55 ^a	0.22 ± 0.16 ^a
	雌核发育体(1)	4.75 ^c	3.26 ^c	0.78 ^c
LC2	大黄鱼(30)	4.07 ± 0.46 ^b	2.92 ± 0.36 ^b	0.54 ± 0.20 ^b

注:同一列数据上字母相同者表示差异不显著($P > 0.05$),不相同者表示差异显著($P < 0.05$)。

Notes: Within the same column, values with the same superscripts are not significantly different($P > 0.05$), and values with different superscripts are significantly different($P < 0.05$).

3 讨论

关于大黄鱼的远缘杂交,本实验室此前进行过大黄鱼(♀) × 鲩鱼(♂)^[5]和大黄鱼 × 黄姑鱼(正交与反交)^[14]的实验,3 组杂交实验中都仅有少量个体能够存活,经用 DNA 分子标记检测存活的个体都是雌核发育后代。本实验在大黄鱼(♀)与鲩状黄姑鱼(♂)杂交中成功获得了两个杂种 F₁ 家系,45 日龄幼鱼的成活率达到 30%,养殖 5 个月后仍有相当数量的杂种后代存活且正常生长[平均体长达(12.30 ± 0.51) cm],显示出通过这 2 个物种杂交创制新种质的可行性。大黄鱼与鲩状黄姑鱼同属于石首鱼科,王德祥等^[15]报道

鲩状黄姑鱼的染色体核型为 $2n = 48t(NF = 48)$,官井洋养殖大黄鱼核型为 $2n = 42t + 6st(NF = 48)$,与鲩状黄姑鱼差别不大,而邹曙明等^[16]和吴建绍等^[17]报道的官井洋大黄鱼核型则都是 $2n = 48t(NF = 48)$,与鲩状黄姑鱼的核型完全一致;实验对大黄鱼与鲩状黄姑鱼 DNA 相对含量检测显示,两者的基因组大小接近,因此可能两者的基因组结构也比较接近。实验中大黄鱼与鲩状黄姑鱼杂交成功获得了能正常存活和生长的杂种后代,可能与此有关。

目前报道的鱼类远缘杂交主要存在 3 种遗传方式:(1)精子与卵子发生融合,子代的遗传物质来自父母双方,这种杂交方式属真正的两性融合

生殖,如虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 与山女鳟 (*Oncorhynchus masou masou*) 的杂交子代的遗传完全符合孟德尔定律,属两性融合生殖^[18]。(2) 精子与卵子未发生真正的融合,杂交子代为雌核发育或雄核发育的个体,如大黄鱼(♀)与鳊(♂)杂交子代为异质雌核发育个体^[5]。(3) 在杂交子代中染色体加倍,出现杂交多倍体后代,吴维新等^[19]发现兴国红鲤(♀)与草鱼(♂)的杂交 F_1 中均为异源四倍体。有些鱼类远缘杂交后代可同时出现两种或多种不同的个体,例如在红鲫(♀)与团头鲂(♂)的杂交后代中即出现了两性可育的天然雌核发育二倍体红鲫、不育的三倍体鲫鲂和两性可育的四倍体鲫鲂^[20-21]。在红鲫(♀)与鲤(♂)的远缘杂交中,产生的 F_1 和 F_2 都为杂交二倍体,而在 F_2 中能产生不减数分裂的二倍体配子,自交形成稳定的四倍体 F_3 ^[22-23]。

实验的结果显示,大黄鱼(♀)与鳊状黄姑鱼(♂) 2 个杂交家系绝大多数子代个体都是杂交二倍体,杂交子代基因型分布,完全符合孟德尔的分离定律。但在 LN1 家系中发现了 2 尾幼鱼有 4 对 SSR 引物扩增产物中出现了 3 条特异条带,其中 2 条来自母本,1 条来自父本,结合 DNA 相对含量检测结果,可以推断这 2 个个体为杂交三倍体。显然,多出的 1 套染色体来自于受精卵没有排出的第二极体^[24-25]。另外,在 LN2 家系中,有 1 个个体 9 对 SSR 引物的扩增产物中只含有母本条带,另 1 对引物的扩增产物中含有 1 条母本条带和 1 条非亲条带,也不含有父本特异条带,其 DNA 相对含量检测结果等同于大黄鱼的 DNA 含量(48.92),因此可推断此个体为大黄鱼的异精雌核发育二倍体。远缘杂交诱发异精雌核发育的现象已有许多研究报道,一般认为其过程是进入卵子的异源精子一直呈凝集状态,并未出现雌雄核的融合,卵子的第二极体被抑制导致染色体加倍形成了天然的雌核发育二倍体^[21]。远缘杂交后代中出现非亲条带的现象也较常见,在大口黑鲈北方亚种与佛罗里达亚种的正交子代中有 7 个个体扩增出了 1 条非亲条带^[26];有研究者认为出现非亲条带可能是由于合子在细胞分裂过程中染色体不对等交换产生的新序列^[27]或者染色体结构重排、断裂和丢失^[28]。在远缘杂交中,精核整体 DNA 分子因受精卵雌核发育而被排斥的情况下也可能发生 DNA 片段的杂交^[29],其结果也可

能导致非亲条带的产生。杂交二倍体、异源三倍体和异精雌核发育二倍体的形成说明鱼类远缘杂交能够产生较为丰富的遗传变异,在大黄鱼与鳊状黄姑鱼的杂交后代中同时出现了上述 3 种类型后代,既为育种工作提供了丰富的种质材料,也为开展相关的遗传学研究提供了良好的条件,通过对同一对亲本的配子杂交产生不同类型后代的现象进行深入地研究,查明产生这些结果的原因,揭示其分子机制,将可在丰富鱼类受精生物学和发生遗传学知识的同时,为育种工作提供新的控制手段。

许多鱼类远缘杂交后代可表现出明显的杂种优势,包括生长、品质或抗病力等。由于鳊状黄姑鱼产卵季节与大黄鱼不同,本研究未能设置鳊状黄姑鱼的自繁对照组,且受到实验时间限制,仅对大黄鱼(♀)与鳊状黄姑鱼(♂)的杂交家系与大黄鱼自繁家系 45 d 幼鱼进行了生长比较。结果显示到 45 d 为止,大黄鱼(♀)与鳊状黄姑鱼(♂)杂交后代不论是杂交二倍体还是杂交三倍体,与大黄鱼自繁后代相比都不具有生长优势。但已有研究报道表明,有些鱼类杂种优势要到生长后期才能得到体现,例如傅建军等^[30]报道长江草鱼(♀)与珠江草鱼(♂)杂种 F_1 在 50 d 时体质量、体长有一定的杂交优势,但与双亲比较未达到显著差异,而到 170 d 时体质量、体长与双亲相比都达到了显著差异,后期生长优势明显大于前期。三倍体的生长优势也往往要到性腺发育乃至接近成熟之时才得到显著体现。因此,大黄鱼(♀)与鳊状黄姑鱼(♂)杂交子代是否具有生产性能优势,值得进一步观察、研究。

综上所述,大黄鱼(♀)与鳊状黄姑鱼(♂)杂交具有较高的受精率,杂交子代中含有杂交二倍体、异源三倍体和雌核发育体 3 种不同类型的个体,并且都能够正常生长和存活,是大黄鱼育种中进行新种质创制的一条有效途径,同时也为进行相关的遗传学研究提供了有用的模型和研究材料。

参考文献:

- [1] 楼允东,李小勤. 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, 13(1): 151-158.
- [2] 农业部渔业局编制. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京:中国农业出版社, 2011.

- [3] 赵广泰,刘贤德,王志勇,等. 大黄鱼连续4代选育群体遗传多样性与遗传结构的微卫星分析[J]. 水产学报,2010,34(4):500-507.
- [4] 许建和,尤锋,吴雄飞,等. 冷休克法和静水压法人工诱导大黄鱼三倍体[J]. 中国水产科学,2006,13(2):206-210.
- [5] 王晓清,王志勇,谢中国,等. 大黄鱼(♀)与鲩(♂)杂交的遗传分析[J]. 水产学报,2008,32(1):51-57.
- [6] 王德祥,苏永全,王世锋,等. 异源精子诱导大黄鱼雌核发育的研究[J]. 高技术通讯,2006,16(11):1206-1210.
- [7] 刘颖. 大黄鱼与黄姑鱼远缘杂交的初步研究[D]. 厦门:集美大学,2010.
- [8] 隋班良,蔡明夷,刘颖,等. 黄姑鱼♀与大黄鱼♂杂交实验与 AFLP 分析[J]. 集美大学学报:自然科学版,2012,17(4):241-246.
- [9] 马梁,王军,陈武各,等. 鲩状黄姑鱼与大黄鱼人工杂交子代的胚胎发育[J]. 厦门大学学报:自然科学版,2002,41(3):378-382.
- [10] 苏永全,张彩兰,王军,等. 大黄鱼养殖[M]. 北京:海洋出版社,2004:1-10.
- [11] 胡则辉,徐君卓,史会来. 鲩状黄姑鱼的研究现状及开发利用前景[J]. 水产科技情报,2007,34(1):16-19.
- [12] 蔡明夷,刘贤德,武祥伟,等. 大黄鱼与黄姑鱼异源三倍体的诱导和微卫星分析[J]. 水产学报,2010,34(11):1629-1635.
- [13] Wang Z Y, Tsoi K H, Chu K H. Applications of AFLP technology in genetic and phylogenetic analysis of penaeid shrimp [J]. Biochemical Systematics and Ecology,2004,32(4):399-407.
- [14] 刘颖,蔡明夷,刘贤德,等. 大黄鱼♀与黄姑鱼♂杂交 F₁家系初孵仔鱼的全 AFLP 分析[J]. 水产学报,2010,34(6):852-858.
- [15] 王德祥,苏永全,王世锋,等. 不同地理种群大黄鱼染色体核型的比较研究[J]. 海洋学报,2006,28(6):176-178.
- [16] 邹曙明,李思发,赵金良,等. 福建官井洋海区大黄鱼的染色体核型分析[J]. 上海水产大学学报,2003,12(2):179-181.
- [17] 吴建绍,林琪,曾志南. 大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*) 的染色体研究[J]. 福建水产,2001,12(4):60-63.
- [18] 张玉勇,白庆利,贾智英,等. 虹鳟,山女鳟及其杂交子代(虹鳟♀×山女鳟♂)的微卫星分析[J]. 水产学报,2009,33(2):188-195.
- [19] 吴维新,李传武,刘国安,等. 鲤和草鱼杂交四倍体及其回交三倍体草鱼杂种的研究[J]. 水生生物学报,1988,12(4):355-363.
- [20] Liu S J, Qin Q B, Xiao J, et al. The formation of the polyploid hybrids from different subfamily fish crossings and its evolutionary significance [J]. Genetics,2007,176(2):1023-1034.
- [21] Liu S, Qin Q, Wang Y, et al. Evidence for the formation of the male gynogenetic fish [J]. Marine Biotechnology,2010,12(2):160-172.
- [22] Liu S J, Liu Y, Zhou G J, et al. The formation of tetraploid stocks of red crucian carp × common carp hybrids as an effect of interspecific hybridization [J]. Aquaculture,2001,192(2):171-186.
- [23] 孙远东,刘少军,张纯,等. 异源四倍体鲫鲤 F₀ ~ F₁₁ 染色体和性腺观察[J]. 遗传学报,2003,30(5):414-418.
- [24] 刘少军. 远缘杂交导致不同倍性鱼的形成[J]. 中国科学:生命科学,2010,40(2):104-114.
- [25] Chevassus B. Hybridization in fish [J]. Aquaculture, 1983,33(1):245-262.
- [26] 蔡磊,白俊杰,李胜杰,等. 大口黑鲈北方亚种和佛罗里达亚种及其杂交子代的遗传分析[J]. 中国水产科学,2012,19(1):70-76.
- [27] 房经贵,章镇,马正强. AFLP 标记在两个芒果品种间杂交 F₁ 代的多态性及分离方式[J]. 中国农业科学,2000,33(3):19-24.
- [28] Faure S, Noyer J L, Horry J P, et al. A molecular marker-based linkage map of diploid bananas (*Musa acuminata*) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1993,87(4):517-526.
- [29] 谢中国. 大黄鱼(♀)与鲩(♂)杂交及其子代的遗传分析[D]. 长沙:湖南农业大学,2006.
- [30] 傅建军,王荣泉,刘峰,等. 长江草鱼♀×珠江草鱼♂杂交子一代与其亲本一龄阶段生长性能和体型分析[J]. 安徽农业科学,2009,37(23):11037-11039.

The cross breeding and genetic analysis of hybrids of *Larimichthys crocea* (♀) and *Nibea miichthioides* (♂)

JIAN Linjiang¹, YANG Yukai¹, LIU Xiande¹, CHEN Qingkai², WANG Zhiyong^{1*}

(1. Key Laboratory of Mariculture in the East China Sea, Ministry of Agriculture of China, Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. Ningde Fishery Techniacal Extension Center, Ningde 352100, China)

Abstract: To understand the feasibility of cross breeding between *Larimichthys crocea* ♀ and *Nibea miichthioides* ♂, two hybrid families were built (LN1 and LN2). Ploidy of F₁ hybrids was identified. Moreover, ten microsatellite loci were used for genetic relationship analysis between F₁ hybrids and their parents. The result showed that *L. crocea* (♀) and *N. miichthioides* (♂) can be successfully crossed and hybrid offspring of normal survival were produced. Survival rate of hybrid offspring at the age of 45 days post hatch reached about 30%. However, fertilization rate (29.0%, 32.6%) and hatching rate (75.0%, 76.7%) of two hybrid families were significantly lower than those in large yellow croaker families ($P < 0.05$). Appearance of juvenile hybrid fish is visibly different from those of large yellow croaker, which has characteristics of both parents: slender body, sharp blunt head and their body sides are covered with black-brown spots. The results of DNA relative content investigation and genetic relationship analysis demonstrated that more than 90% of the hybrid offspring were hybrid diploid, in addition, a small number of those were hybrid triploid and gynogenesis diploid. Till the age of 45 days, growth rate of both hybrid diploid and hybrid triploid was slower than that of large yellow croaker. These findings will provide reference for exploitation and management of F₁ hybrids of *L. crocea* (♀) and *N. miichthioides* (♂).

Key words: *Larimichthys crocea*; *Nibea miichthioides*; distant hybridization; DNA relative content; SSR

Corresponding author: WANG Zhiyong. E-mail: zywang@jmu.edu.cn