



## 大口黑鲈 (♀)×蓝鳃太阳鱼 (♂) 杂交 F<sub>1</sub> 的形态及遗传特征

李武辉<sup>1</sup>, 胡 婕<sup>1</sup>, 孙成飞<sup>1</sup>, 董浚健<sup>1</sup>,  
田园园<sup>1</sup>, 赵金良<sup>2</sup>, 叶 星<sup>1,2\*</sup>

(1. 中国水产科学研究院珠江水产研究所,  
农业农村部热带亚热带水产资源利用与养殖重点实验室, 广东 广州 510380;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

**摘要:** 为探究大口黑鲈远缘杂交育种的可能性, 本研究采用人工授精的方法, 以大口黑鲈为母本、蓝鳃太阳鱼为父本, 进行了远缘杂交实验, 成功获得了杂交 F<sub>1</sub> 群体。大口黑鲈 (♀)×蓝鳃太阳鱼 (♂) 杂交 F<sub>1</sub> 的胚胎具有正常的发育时序, 在平均水温 (22.5±0.5) °C 条件下, 胚胎发育历时约 49 h, 受精率约为 65%, 孵化率约为 21%。室内养殖 10 周, 结果显示杂交 F<sub>1</sub> 日均增重 1.55 g, 饲料利用率为 0.75, 杂交 F<sub>1</sub> 与大口黑鲈 (日均增重 1.56 g) 具有相似的生长速率, 且显著高于父本蓝鳃太阳鱼 (日均增重 1.07 g)。杂交 F<sub>1</sub> 的形态特征表现出明显的杂交属性, 可数性状 (侧线鳞数、背鳍、胸鳍和臀鳍数) 和测量性状 (可量性状和框架测量性状) 均介于双亲本之间; 测量性状比少数偏向于大口黑鲈, 多数偏向于蓝鳃太阳鱼, 且部分性状比超越了双亲本。5S rDNA 基因扩增和分析显示, 亲本大口黑鲈和蓝鳃太阳鱼各有 2 种类型的 5S rDNA, 杂交 F<sub>1</sub> 继承了双亲本 4 种类型的 5S rDNA; 4 种类型的 5S rDNA 编码区序列 (CDS, 120 bp) 高度保守; 杂交 F<sub>1</sub> 与大口黑鲈的 2 种 5S rDNA 类型的转录间隔区 (NTS) 均包含 1 个“GCT”可变区 (序列长度 186~205 bp), 而杂交 F<sub>1</sub> 与蓝鳃太阳鱼的 2 种 5S rDNA 类型的 NTS 则高度保守 (序列长度分别为 86 和 263 bp)。5S rDNA 分析结果证实了杂交 F<sub>1</sub> 融合了双亲本的基因组。本研究为大口黑鲈远缘杂交育种的开展奠定了基础。

**关键词:** 大口黑鲈; 蓝鳃太阳鱼; 远缘杂交; 形态特征; 生长; 5S rDNA

**中图分类号:** Q 321; S 965

**文献标志码:** A

大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*), 又称加州鲈, 隶属鲈形目 (Perciformes), 太阳鱼科 (Centrarchidae), 黑鲈属 (*Micropterus*), 是一种生长迅速、适温较广的优质淡水肉食性鱼类。原自然分布于北美洲, 于 1983 年从中国台湾引入广东省, 经试养与人工繁殖成功后在多个省市迅速推广养殖<sup>[1-2]</sup>。近几年大口黑鲈人工配合饲料的突破与应用, 使大口黑鲈养殖区域与规模不断扩大,

已成为我国重要的特色淡水养殖品种之一。2018 年, 我国养殖大口黑鲈年产量已达 43.2 万 t<sup>[3]</sup>。蓝鳃太阳鱼 (*Lepomis mearchirus*) 与大口黑鲈同为太阳鱼科鱼类, 于 1987 年首次从美国引种到湖北, 随后在湖北、广东与湖南等地推广养殖。蓝鳃太阳鱼属广温性鱼类, 适应性很强, 可适应高浊度和多淤泥环境, 耐低氧和肥水, 适合水池、水库与湖泊等大小水体养殖, 同时蓝鳃

收稿日期: 2019-10-29 修回日期: 2020-01-02

资助项目: 现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-46); 广东省公益研究与能力建设专项 (2017A030303002); 广州市科技计划创新环境建设计划珠江科技新星专题 (201906010025)

通信作者: 叶星, E-mail: gzyexing@163.com

太阳鱼为杂食性,可摄食人工配合饵料,但其生长速率较慢,一般池塘养殖需8个月才长成100~150 g/尾的上市规格<sup>[4-5]</sup>。

杂交是指通过不同基因型个体之间的交配而获得双亲基因重新组合个体的过程<sup>[6]</sup>。杂交是物种形成和进化的主要驱动力之一,有研究表明,自然界中约25%的植物和10%的动物经历了杂交过程<sup>[7]</sup>。不同种群和基因型的个体间进行杂交,可使其杂交子代在生活力、繁殖力、抗逆性、产量和品质等方面优于原先亲本<sup>[8-9]</sup>。杂交育种是遗传育种的主要手段之一,是改良遗传性状、培育优良品种的可靠途径,已在鱼类的遗传改良中得到广泛的应用。截至2017年底,我国通过遗传育种技术获得的83个国家级鱼类新品种中有40个(48.2%)为杂交品种,39个(46.98%)为选育种,表明杂交育种在品种改良、新品种培育等生产实践中具有重要地位<sup>[10]</sup>。近年来,以大口黑鲈为亲本的近缘杂交研究主要集中在北方亚种与佛罗里达亚种之间;而以大口黑鲈为亲本的远缘杂交研究甚少,暂未见有关大口黑鲈杂交育种及杂种优势利用的研究报道。本研究采用人工催产和人工授精的方法,获得了大口黑鲈(♀)×蓝鳃太阳鱼(♂)杂交F<sub>1</sub>,并对杂交F<sub>1</sub>的形态及遗传特征进行了比较,以期为大口黑鲈远缘杂交育种及杂种优势的应用提供基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

大口黑鲈亲鱼[30尾雌鱼,20尾雄鱼(预催产和催产期间,大口黑鲈雄雌鱼之间激素交流及追逐行为可促进雌鱼卵子成熟,同时有利于把握雌鱼产卵效应期进行人工授精),平均体质量(627.34±153.56)g]由中国水产科学研究院珠江水产研究所大口黑鲈选育种合作基地佛山新荣水产有限公司提供,蓝鳃太阳鱼雄鱼[5尾,平均体质量(158.73±25.24)g]由中国水产科学研究院珠江水产研究所养殖基地提供。

### 1.2 人工授精及胚胎发育观察

选取肥满度好、体型佳、无伤病的大口黑鲈雌鱼进行人工催产。每千克雌鱼一次性注射4 μg LRH-A2+5 mg DOM(LRH-A2和DOM均购于哈尔滨三马兽药业有限公司),蓝鳃太阳鱼雄鱼

注射剂量减半。亲鱼注射后放入长×宽×高=1.0 m×0.5 m×0.5 m的玻璃缸中,微流水刺激待产。16~26 h后取亲鱼轻压腹部,如有成熟卵子流出,立即采用干法授精进行杂交。将受精卵均匀地平铺在棕榈片上,然后转移到浅水、微流水中孵化。

取部分受精卵置于培养皿中孵化(3个培养皿,每个放置约100个受精卵,记录受精卵总数),每隔4 h换水1次,并及时挑除死卵。在体视镜(蔡司V8)下观察胚胎发育过程(2×物镜),拍照并记录发育时间,胚胎发育的时间以60%以上的胚胎明显进入该发育阶段为准<sup>[11]</sup>。

受精率(%)=原肠中期受精卵数/受精卵总数×100%

孵化率(%)=出膜鱼苗数/受精卵总数×100%

### 1.3 室内养殖

分别选取25尾初始体质量相近的大口黑鲈、蓝鳃太阳鱼及其杂交F<sub>1</sub>,在3个大小相同的室内水池(长×宽×高=3.6 m×3.5 m×0.8 m)中饲养。常规喂养10周后,拍照观察,记录体质量和饲料使用量,计算相关生长参数:

成活率(SR, %)=成活的数量/总数量×100%

变异系数(CV, %)=标准差/平均值×100%

日均增重率(AGR, g/d)=(W<sub>2</sub>-W<sub>1</sub>)/t

饲料利用率(FUR)=(W<sub>2</sub>-W<sub>1</sub>)/M<sub>1</sub>

肥满度(FT, g/cm<sup>3</sup>)=体质量/体长<sup>3</sup>×100。

式中, W<sub>1</sub>、W<sub>2</sub>分别为初始体质量(g)和终末体质量(g), t为饲养时间(d), M<sub>1</sub>为饲养过程的饲料使用量(g)。

### 1.4 外形数据测量

室内养殖实验结束后,对大口黑鲈、蓝鳃太阳鱼及其杂交F<sub>1</sub>进行拍照观察,并测量相关形态数据。可数性状:背鳍鳍条数、胸鳍鳍条数、腹鳍鳍条数、臀鳍不分支鳍条和分支鳍条数、侧线鳞数、侧线上鳞数、侧线下鳞数(腹鳍基部斜向前上方直至侧线的鳞片数,不包括侧线鳞),共计7项;测量性状:头长(HL)、体长(BL)、体高(BH)、全长(WL)以及D1-2(吻前端—头背部末端)、D1-3(吻前端—背鳍起点)、D2-6(头背部末端—头腹部末端)、D3-6(背鳍起点—头腹部末端)、D3-7(背鳍起点—腹鳍起点)、D3-8(背鳍起点—臀鳍起点)、D3-10(背鳍起点—尾鳍下起点)、D4-7(背鳍末端—胸鳍起点)、D4-9(背鳍末端—臀鳍末端)、D5-10(尾鳍上起点—尾鳍

下起点)、D9-10(臀鳍末端—尾鳍下起点), 共计14项(框架结构数据示意图参照文献[12])。用两脚规配合千分尺测量可量性状(精确到0.1 mm)及框架结构数据。杂种优势的计算<sup>[13]</sup>:

$$H_M(\%) = (F_i - MP) / MP \times 100\%$$

式中,  $H_M$ 为平均杂种优势,  $F_i$ 为杂交子代某性状的平均值,  $MP$ 为双亲某性状的平均值。性状偏向判断: 母本性状>父本性状且 $H_M>0$ , 以及母本性状<父本性状且 $H_M<0$ , 表示偏母本性状, 用“+”表示; 母本性状>父本性状且 $H_M<0$ , 以及母本性状<父本性状且 $H_M>0$ , 表示偏父本性状, 用“-”表示。

### 1.5 5S rDNA 基因序列的扩增及测序

采用试剂盒法提取大口黑鲈、蓝鳃太阳鱼及杂交F<sub>1</sub>血液基因组DNA, 并作为PCR扩增的模板, 使用一对5S rDNA 简并引物<sup>[14]</sup>(正向: 5'-GCTATGCCCGATCTCGTCTGA-3', 反向: 5'-GCTTA(G/C/A)TAATATGCTTAAATTC-3')进行PCR扩增反应。扩增5S rDNA基因的一个重复单元, 包括一个编码区(coding region, CDS)与一个转录间隔区(nontranscribed spacer, NTS)。反应体系为25 μL, 反应条件: 94℃预变性5 min, 94℃变性30 s, 58℃退火30 s, 72℃延伸2 min, 30个循环。PCR产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳分离, 纯化后连接到pMD19-T载体, 最后挑取单克隆菌落进行Sanger测序。分别使用MEGA 7.0、Bioedit和Clustalw(<https://www.genome.jp/tools-bin/clustalw>)软件对序列进行相关分析。

### 1.6 数据分析

数据使用SPSS 19.0软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)和显著性检验(LSD多重比较),  $P<0.05$ 表示具有统计差异, 分析结果以平均值±标准差(mean±SD)表示。外形框架测量数据处理时, 将每尾鱼的各项实测框架数据除以体长, 以消除不同鱼个体的规格差异对形态分析产生的影响<sup>[15]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 大口黑鲈(♀)×蓝鳃太阳鱼(♂)杂交F<sub>1</sub>的胚胎发育观察

大口黑鲈成熟的卵子为卵圆形, 淡黄色, 内有油球, 属沉性、黏性卵, 成熟卵子的卵径

0.95~1.20 mm, 遇水受精后卵径1.21~1.40 mm。在平均水温为(22.5±0.5)℃条件下, 杂交F<sub>1</sub>胚胎发育历时约49 h, 受精率约65%, 孵化率约为21%, 发育总积温为1 080 h·℃。胚胎发育的部分时序: 受精后约45 min, 原生质形成丘状隆起, 形成胚盘(图1-a); 受精后1 h 10 min, 胚盘被分成两个大小相等的细胞, 即2细胞期(图1-b); 受精后1 h 50 min, 开始第3次分裂, 进入8细胞期(图1-c); 随着分裂进行, 细胞越来越小, 距受精4 h 30 min, 细胞团隆起形成桑葚胚(图1-d); 受精后15 h 30 min, 胚层下包约1/2, 进入原肠中期(图1-e); 受精后24 h 30 min, 胚层下包约9/10, 神经板形成, 进入神经胚期(图1-f); 受精后29 h, 胚体前端隆起, 中部出现8肌节, 随后出现16肌节, 进入肌节期(图1-g); 受精后35 h 20 min, 胚体尾部不断延伸, 眼睛开始变圆, 进入尾芽期(图1-h); 受精后40 h 30 min, 头下方出现围心腔, 为心跳出现期, 1 h 20 min后心脏开始轻微搏动, 进入心跳期(图1-i); 受精后约45 h, 鱼体可见, 并不停摆动, 陆续有仔鱼出膜, 进入出膜期; 受精后49 h, 全部胚胎出膜完毕。出膜仔鱼活力较好, 全长约为(4.53±0.03) mm(图1-j)。仔鱼出膜后第4天开始在水面平游, 第7天开始摄食丰年虫。

### 2.2 大口黑鲈、蓝鳃太阳鱼及其杂交F<sub>1</sub>的生长性能比较

室内养殖10周, 大口黑鲈平均体质量由(19.63±2.67) g增长到(128.53±19.86) g, 平均日增重1.56 g, 肥满度为(2.15±0.16) g/cm<sup>3</sup>, 饲料利用率为0.76; 蓝鳃太阳鱼平均体质量由(23.14±4.03) g增长到(87.37±21.72) g, 其平均日增重1.07 g, 肥满度为(4.18±0.59) g/cm<sup>3</sup>, 饲料利用率为0.68; 杂交F<sub>1</sub>平均体质量由(20.16±3.14) g增长到(128.27±20.82) g, 平均日增重1.54 g, 肥满度为(2.76±0.28) g/cm<sup>3</sup>, 饲料利用率为0.75(表1)。养殖结果表明, 在室内养殖条件下, 杂交F<sub>1</sub>在生长速率和饲料利用率上与母本大口黑鲈相比无统计差异, 但显著高于父本蓝鳃太阳鱼(One-Way ANOVA,  $P<0.05$ ), 体现出杂交F<sub>1</sub>具有与母本大口黑鲈相似的生长速率特征。

### 2.3 大口黑鲈(♀)×蓝鳃太阳鱼(♂)杂交F<sub>1</sub>的形态特征

对大口黑鲈、蓝鳃太阳鱼及杂交F<sub>1</sub>进行拍

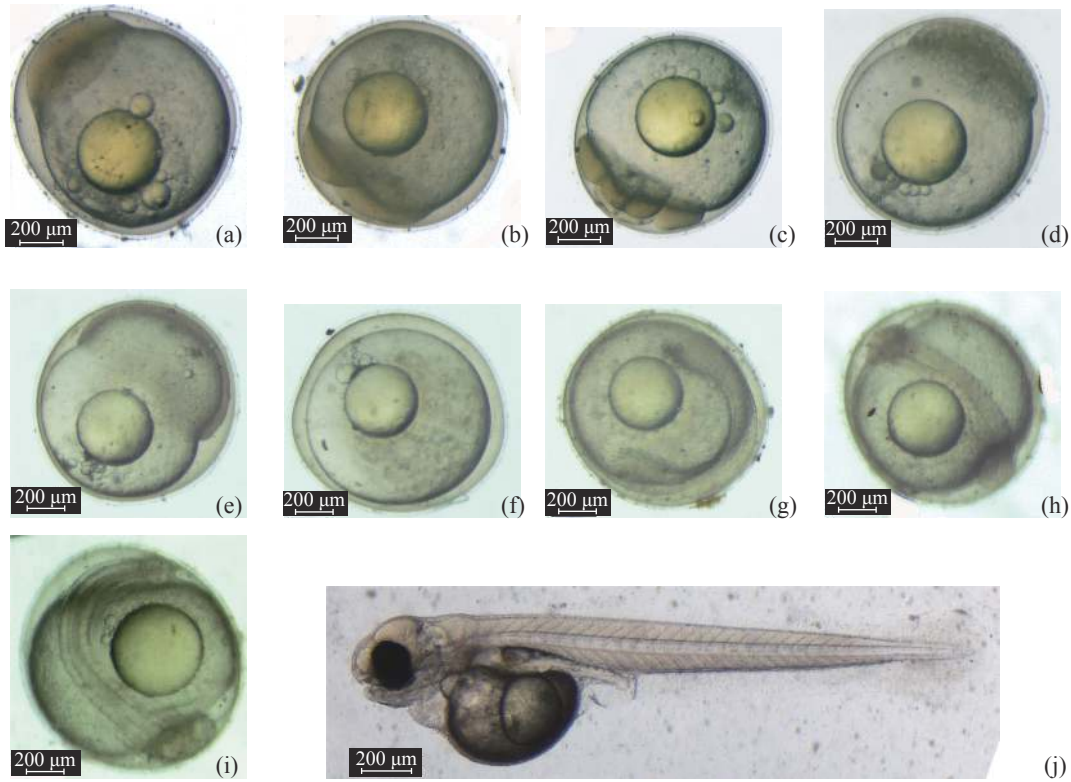


图 1 大口黑鲈(♀)×蓝鳃太阳鱼(♂)杂交 F<sub>1</sub> 胚胎发育时序

(a) 胚盘期; (b) 2 细胞期; (c) 8 细胞期; (d) 桑葚胚期; (e) 原肠中期; (f) 神经胚期; (g) 肌节出现期; (h) 尾芽期; (i) 心跳期; (j) 出膜 2 d

**Fig. 1 Embryo development of hybrid F<sub>1</sub> derived from *M. salmoides* (♀)×*L. mearchirus*(♂)**

(a) blastoderm stage; (b) 2-cell stage; (c) 8-cell stage; (d) morula stage; (e) mid gastrula stage; (f) neurula stage; (g) myotome formation stage; (h) tail bud stage;(i) heart beat stage; (j) 2-days post hatching

表 1 大口黑鲈、蓝鳃太阳鱼及其杂交 F<sub>1</sub> 的生长性能比较

Tab. 1 Growth traits of *M. salmoides*, *L. mearchirus* and their hybrid F<sub>1</sub>

组别 group	初始体质量/g initial body weight	终末体质量/g final body weight	变异系数/% CV of body weight	日均增重率/(g/d) AGR	肥满度/(g/cm <sup>3</sup> ) FT	饲料利用率 FUR	成活率/% SR
大口黑鲈 <i>M. salmoides</i>	19.63±2.69	128.53±19.86 <sup>a</sup>	15.45	1.56 <sup>a</sup>	2.15±0.16 <sup>a</sup>	0.76 <sup>a</sup>	96
蓝鳃太阳鱼 <i>L. mearchirus</i>	23.14±4.03	87.37±21.72 <sup>ab</sup>	24.86	1.07 <sup>ab</sup>	4.18±0.59 <sup>ab</sup>	0.68 <sup>ab</sup>	96
杂交 F <sub>1</sub> hybrid F <sub>1</sub>	20.17±3.14	128.27±20.82 <sup>a</sup>	16.23	1.54 <sup>a</sup>	2.76±0.28 <sup>c</sup>	0.75 <sup>a</sup>	100

注：不同组间不同小写字母表示差异显著(P<0.05)

Notes: values with different small letter superscripts denote significant differences (P<0.05) in different groups

照观察(图 2), 分别统计父母本及杂交 F<sub>1</sub> 的侧线鳞数、侧线上鳞数与侧线下鳞数等 7 项可数性状, 结果见表 2。大口黑鲈和蓝鳃太阳鱼的侧线鳞数目具有显著差异(t 检验, P<0.05), 侧线上鳞数、侧线下鳞数、背鳍鳍条数、胸鳍鳍条数和臀鳍鳍条数差异不显著(t 检验, P>0.05), 而腹鳍数目一致。杂交 F<sub>1</sub> 表现出明显的杂交属性, 在侧线鳞、侧线上鳞、侧线下鳞、背鳍鳍条数、胸鳍鳍条数和臀鳍鳍条数都介于双亲本之间, 腹

鳍鳍条数与亲本一致。

对大口黑鲈、蓝鳃太阳鱼及其杂交 F<sub>1</sub> 的 14 个测量性状进行比较, 杂交 F<sub>1</sub> 的测量性状比 D1-3/BL、D5-10/BL 及性状比 D3-6/D3-8、D3-6/D3-10 和 BL/HL 超越了双亲本, 其余测量性状均介于父本和母本之间(表 3)。对杂交 F<sub>1</sub> 测量性状比进行杂合度及性状偏向分析显示, 杂交 F<sub>1</sub> 的少数测量性状比偏向于母本大口黑鲈, 而多数测量性状比具有偏向父本蓝鳃太阳鱼的特征。形

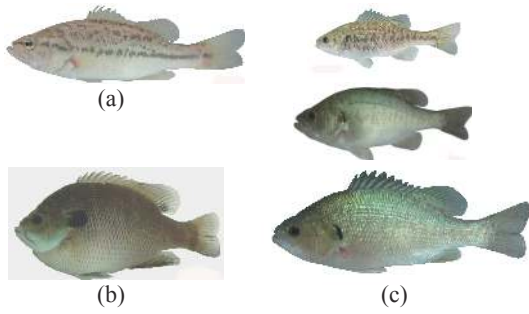


图 2 大口黑鲈、蓝鳃太阳鱼及其杂交 F<sub>1</sub> 的外形

(a) 母本大口黑鲈(体质量 216.35 g, 体长 20.03 cm), (b) 父本蓝鳃太阳鱼(体质量 203.71 g, 体长 16.19 cm), (c) 杂交 F<sub>1</sub>(体质量分别为 22.98、107.05 和 141.63 g, 体长分别为 9.68、14.54 和 19.73 cm)

Fig. 2 Shape characteristics of *M. salmoides*, *L. mearchirus* and their hybrid F<sub>1</sub>

(a) *M. salmoides* (body weight is 216.35 g and body length is 20.03 cm), (b) *L. mearchirus* (body weight is 203.71 g and body length is 16.19 cm), (c) hybrid F<sub>1</sub> (body weight is 22.98, 107.05 and 141.63 g, body length is 9.68, 14.54 and 19.73 cm, respectively)

态特征表明, 杂交 F<sub>1</sub> 的形态介于双亲本之间, 多数外形特征更偏向于父本蓝鳃太阳鱼, 且少数外形特征超越了双亲本, 表现出明显的杂交属性。

### 2.4 大口黑鲈(♀)×蓝鳃太阳鱼(♂)杂交 F<sub>1</sub> 的 5S rDNA 遗传特征

对大口黑鲈、蓝鳃太阳鱼及杂交 F<sub>1</sub> 的 5S rDNA 基因进行扩增和测序分析, 亲本大口黑鲈和蓝鳃太阳鱼各有 2 条明显亮带, 大口黑鲈的 2 条亮带分别命名为 Class I (710 bp) 和 Class III(具有多态性, 310~316 bp), 蓝鳃太阳鱼的 2 条亮带分别命名为 Class II (383 bp) 和 Class IV(206 bp); 杂交 F<sub>1</sub> 有 4 条亮带, 包含了双亲本 Class I (713 bp)、Class II (383 bp)、Class III(具有多态性, 307~325 bp)、Class IV(206 bp)4 种类型的 5S rDNA(图 3-a, 图 4)。序列比对分析显示, 杂交 F<sub>1</sub> 的 4 种类型

的 5S rDNA 与亲本来源的 5S rDNA 高度保守, 序列相似度高于 97.5%(表 4)。序列聚类分析显示, 大口黑鲈的 Class I 和 Class III 类型聚为一支, 蓝鳃太阳鱼的 Class II 和 Class IV 类型聚为另一支; 而杂交 F<sub>1</sub> 的 4 种类型分别与上述 4 种类型聚类(图 3-b)。

对 4 种类型 5S rDNA 的结构进行分析, 大口黑鲈 Class I 类型包含了 1 个完整 CDS(115 bp) 和 1 个非完整 CDS(31 bp), 并跨越了 2 个 NTS(分别为 373 和 191 bp), 杂交子代 Class I 类型的结构与大口黑鲈一致, 其 NTS 分别为 373 和 191 bp(多出重复碱基“GTC”)(图 3-c, 图 4-a)。5S rDNA Class II、Class III 及 Class IV 类型为一个完整的重复单元, 包含 1 个保守的 CDS 和 1 个高度可变 NTS(图 3-c)。大口黑鲈 Class III 类型的 NTS 长度为 190~196 bp, 而杂交子代 Class III 类型的 NTS 包含多个重复碱基 GTC(长度为 186~205 bp), 显示出杂交子代具有更高的可变性(图 3-c, 图 4-a)。蓝鳃太阳鱼的 2 种 5S rDNA Class II 和 Class IV 类型的 CDS 和 NTS 序列高度保守(图 4-b)。杂交 F<sub>1</sub> 中遗传父本蓝鳃太阳鱼的 2 种 5S rDNA Class II 和 Class IV 类型 CDS(120 bp) 和 NTS(分别为 263 和 86 bp) 高度保守(图 3-c, 图 4-b)。此外, 杂交 F<sub>1</sub> 中遗传双亲本的 4 种类型 5S rDNA 的 CDS 序列高度保守(>97.5%)。

## 3 讨论

### 3.1 以大口黑鲈为亲本的杂交研究状况

杂交是水产养殖中最常用的技术手段之一, 是获取具有优良性状和较高生产性能新品种的重要途径。近几十年来, 以大口黑鲈为亲本的近缘杂交的研究主要集中在北方亚种与佛罗里达亚种之间, 关于北方亚种、佛罗里达亚种及其正反杂交子代 F<sub>1</sub> 在生长性能方面的研究有较

表 2 大口黑鲈、蓝鳃太阳鱼及杂交 F<sub>1</sub> 的数量性状特征比较

Tab. 2 Quantitative of the countable traits among the parents *M. salmoides*, *L. mearchirus* and hybrid F<sub>1</sub>

组别 group	侧线鳞 lateral scales	侧线上鳞 upperlateral scales	侧线下鳞 lowerlateral scales	背鳍 dorsal fin	胸鳍 pectoral fin	腹鳍 ventral fins	臀鳍 anal fin
大口黑鲈 <i>M. salmoides</i>	62~65	7~8	17~19	9~10+13~14	13~14	1+5	3+10~11
蓝鳃太阳鱼 <i>L. mearchirus</i>	42~46	6~7	13~15	9~10+11~12	11~13	1+5	3+9~11
杂交 F <sub>1</sub> hybrid F <sub>1</sub>	52~58	7~8	15~16	10~11+11~13	11~12	1+5	3+10

注: +前的数字表示硬棘数目, +后的数字表示除硬棘之外的鳍条数

Notes: the number before “+” represents the number of hard spines, the number after “+” represents fin rays

表 3 大口黑鲈、蓝鳃太阳鱼及杂交 F<sub>1</sub> 测量性状特征比较Tab. 3 Comparison of the metric traits among the parents *M. salmoides*, *L. mearchirus* and hybrid F<sub>1</sub>

组别 group	大口黑鲈 <i>M. salmoides</i>	蓝鳃太阳鱼 <i>L. mearchirus</i>	杂交F <sub>1</sub> hybrid F <sub>1</sub>	平均杂种优势 <i>H<sub>M</sub></i>	性状偏向 bias
D1-2/BL	0.176±0.01	0.158±0.01	0.158±0.03	-0.89	-
D1-3/BL	0.450±0.01	0.462±0.01	0.411±0.02	-4.53	+
D2-6/BL	0.198±0.01	0.251±0.02	0.231±0.02a	0.63	-
D3-6/BL	0.364±0.01	0.475±0.02	0.441±0.03	2.03	-
D3-7/BL	0.317±0.01	0.518±0.02	0.431±0.03	1.26	-
D3-8/BL	0.401±0.02	0.563±0.02	0.481±0.03	-0.36	+
D3-10/BL	0.611±0.02	0.687±0.02	0.631±0.02	-1.79	+
D4-7/BL	0.502±0.01	0.581±0.01	0.558±0.05	1.72	-
D4-9/BL	0.161±0.01	0.217±0.01	0.186±0.01	-0.37	+
D5-10/BL	0.185±0.02	0.193±0.01	0.199±0.02	1.04	-
D9-10/BL	0.115±0.01	0.141±0.01	0.125±0.02	-0.29	+
D2-6/D3-6	0.543±0.02	0.531±0.02	0.523±0.03	-1.30	-
D2-6/D3-7	0.624±0.02	0.484±0.02	0.536±0.03	-1.76	-
D3-6/D3-8	0.911±0.04	0.839±0.02	0.922±0.05	4.66	+
D3-6/D3-10	0.597±0.02	0.691±0.03	0.699±0.06	5.51	-
D3-7/D3-8	0.793±0.03	0.920±0.01	0.899±0.04	4.32	-
D3-7/D3-10	0.521±0.02	0.757±0.03	0.683±0.06	4.41	-
D3-7/D4-9	1.968±0.06	2.398±0.08	2.318±0.07	13.52	-
D9-10/D5-10	1.612±0.13	1.367±0.11	1.607±0.21	11.81	+
HL/D2-6	1.646±0.06	1.208±0.05	1.361±0.100	-6.64	-
BL/D3-7	3.149±0.08	1.916±0.07	2.393±0.21	-13.95	-
BL/HL	3.073±0.12	3.286±0.14	3.295±0.303	11.55	-
WL/BL	1.164±0.01	1.191±0.01	1.148±0.06	-2.90	+

注: +表示偏母本性状, -表示偏父本性状

Notes: "+" represents the measurable traits bias to maternal *M. salmoides*, "-" represents the measurable traits bias to paternal *L. mearchirus*

多的报道, 然而不同学者之间存在较大分歧<sup>[16-20]</sup>, 没有统一结论。此外, 在天然水域中大口黑鲈与小口黑鲈 (*M. dolomieu*) 间即可发生杂交。Wheat 等<sup>[21]</sup> 对大口黑鲈和小口黑鲈进行了杂交与回交试验, 发现杂种优势与卵细胞中的遗传物密切相关。大口黑鲈远缘杂交研究较少, 亲缘关系最远的为属间杂交。Parker 等<sup>[22]</sup> 用大口黑鲈佛罗里达亚种作为母本, 和 10 种同科不同属的鱼进行杂交试验, 探索了亲本间遗传距离与杂交子代胚胎正常发育的相关性, 其中大口黑鲈 (♀) × 蓝鳃太阳鱼 (♂) 远缘杂交获得的杂交胚胎孵化率约为 55%, 但未见后续发育与生长的报道。

Whitt 等<sup>[23]</sup> 开展了大口黑鲈和绿太阳鱼 (*Lepomis cyanellus*) 的杂交试验, 发现绿太阳鱼 (♀) × 大口黑鲈 (♂) 的杂交子代胚胎不能正常发育, 在孵化的时候几乎全部死亡, 大口黑鲈 (♀) × 绿太阳鱼 (♂) 的杂交子代胚胎能正常发育, 但也无后续发育与生长的报道。上述以大口黑鲈为亲本的远缘杂交研究主要探究亲本的遗传距离和胚胎发育的关系, 目前还未见其他以大口黑鲈为亲本的远缘杂交及成鱼养殖的报道。

本研究采用人工授精的方法, 成功获得了以大口黑鲈为母本的远缘杂交 (属间) 后代, 并对其胚胎发育过程进行了观察, 且成鱼养殖成

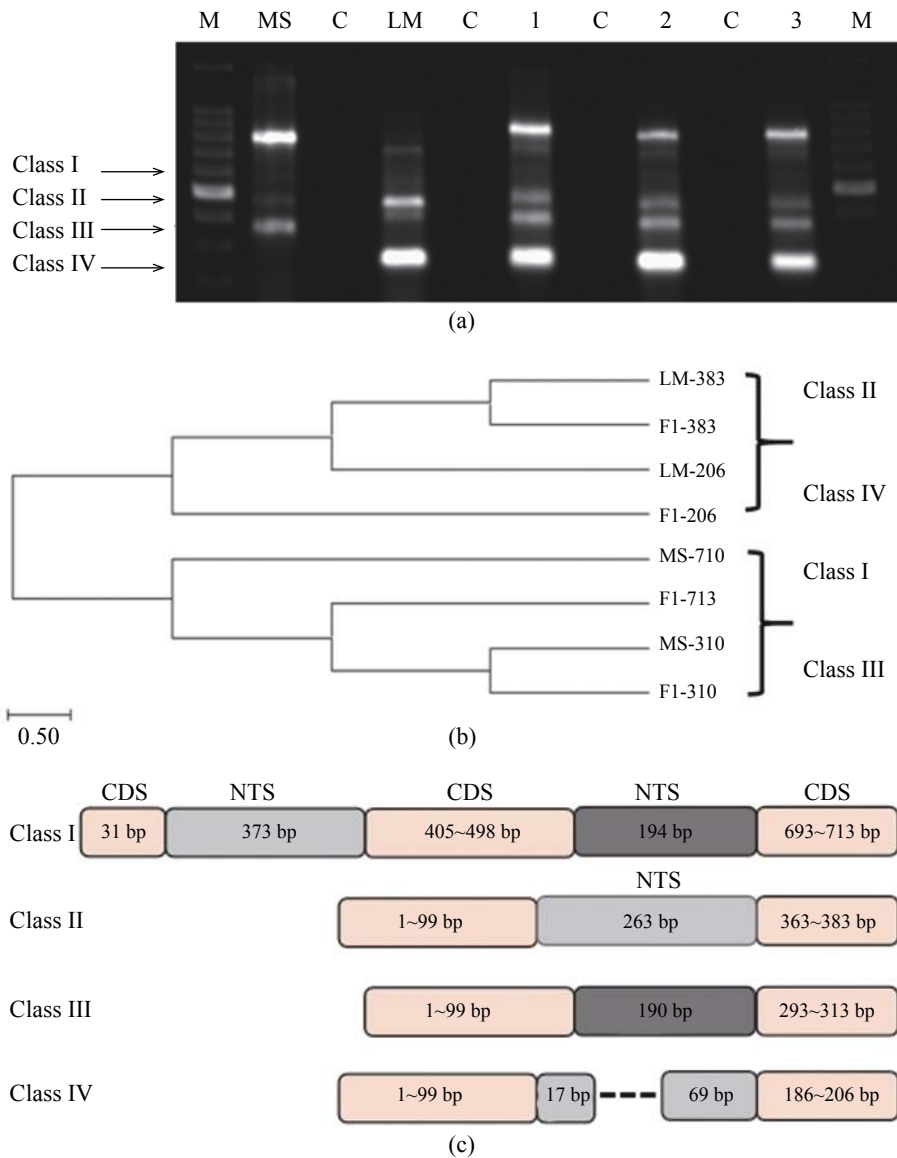


图 3 大口黑鲈、蓝鳃太阳鱼及杂交 F<sub>1</sub> 5S rDNA 基因扩增、聚类及结构分析

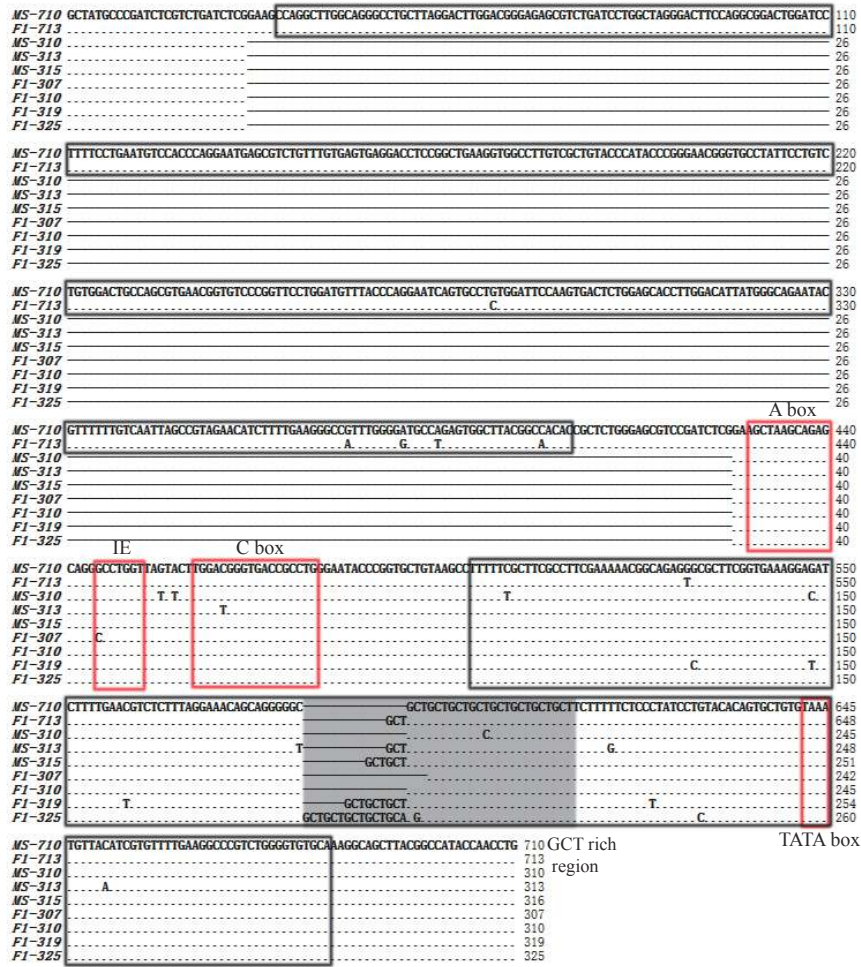
(a) 5S rDNA PCR 扩增结果, M. 100 bp DNA 标准样品, MS. 大口黑鲈, LM. 蓝鳃太阳鱼, C. PCR 阴性对照, 1~3. 杂交 F<sub>1</sub> 的 3 个重复个体; (b) 5S rDNA 聚类分析结果; (c) 4 种类型 5S rDNA 结构, CDS. 5S rDNA 编码区, NTS. 5S rDNA 非编码区; Class I、Class II、Class III、Class IV 分别表示 5S rDNA 4 种类型条带。下同

Fig. 3 Sequence amplification, cluster and structure analysis of 5S rDNA gene in *M. salmoides*, *L. mearchirus* and their hybrid F<sub>1</sub>

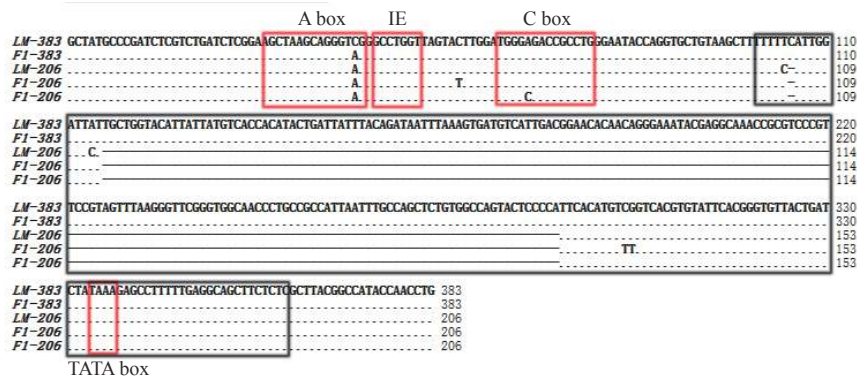
(a) PCR results of 5S rDNA, M. 100bp DNA standard sample, MS. *M. salmoides*, LM. *L. mearchirus*, C. PCR negative control, 1-3. three biology repeats of hybrid F<sub>1</sub>; (b) cluster analysis of 5S rDNA; (c) structure of four types of 5S rDNA, CDS. coding region of 5S rDNA, NTS. nontranscribed spacer of 5S rDNA; Class I, Class II, Class III, Class IV represent four types of 5S rDNA, respectively. The same below

功, 证明了大口黑鲈可进行远缘杂交育种的可能性, 为下一步以大口黑鲈作为亲本通过杂交手段来获得具有生长速率快、抗病抗逆性强、可育的杂交后代奠定了基础。本研究与 Whitt 等<sup>[23]</sup>报道的大口黑鲈与绿太阳鱼的杂交 F<sub>1</sub> 胚胎在 24~25 °C 条件下发育至出膜需要约 40 h 的结果

相似, 大口黑鲈(♀)×蓝鳃太阳鱼(♂)杂交 F<sub>1</sub> 胚胎在 21.5~22.5 °C 条件下发育至出膜需要约 49 h, 然而杂交 F<sub>1</sub> 的孵化率 (21%) 低于 Parker 等<sup>[22]</sup>的报道 (孵化率为 55%), 这可能与人工挤卵授精时未能准确把握效应期而导致卵子的质量下降 (卵子早熟和过熟) 以及人工授精操作有关。此外,



(a)



(b)

图 4 大口黑鲈、蓝鳃太阳鱼及杂交 F<sub>1</sub> 5S rDNA 基因的 CDS 及 NTS 比对分析

(a) 5S 类型 I 和类型 III 序列比对, (b) 5S 类型 II 和类型 III 序列比对。红色方框分别表示 5S rDNA A box 区、IE 区、C box 区以及 TATA box 区; 黑色阴影框为 GCT 富集区; 黑色方框表示 5S rDNA NTS 区; 未标记的区域为 5S rDNA CDS 区

Fig. 4 Comparison of CDS and NTS sequences of 5S rDNA gene among *M. salmoides*, *L. mearchirus* and their hybrid F<sub>1</sub>

(a) 5S type I and type III sequence alignment, (b) 5S type II and type III sequence alignment. Red boxes represent the A box, IE, C box, and TATA box region of 5S rDNA, respectively; black shaded boxes represent GCT rich region; black boxes represent 5S rDNA NTS region, the rest represents 5S rDNA CDS region



表 4 大口黑鲈(♀)×蓝鳃太阳鱼(♂)杂交 F<sub>1</sub> 及其亲本 5S rDNA 序列相似度比较Tab. 4 Sequences similarity of 5S rDNA among the two parents *M. salmoides*, *L. mearchirus* and their hybrid F<sub>1</sub>

组别 group	类型 I (713 bp) class I		类型 II (383 bp) class II		类型 III (313 bp) class III		类型 IV (206 bp) class IV	
	CDS	NTS	CDS	NTS	CDS	NTS	CDS	NTS
F <sub>1</sub> /大口黑鲈								
F <sub>1</sub> / <i>M. salmoides</i>	1	0.984			0.975	1		
F <sub>1</sub> /蓝鳃太阳鱼								
F <sub>1</sub> / <i>L. mearchirus</i>			0.991	0.907			0.991	0.953

本杂交实验父母本的染色体数目不同(大口黑鲈染色体数目 2n=46, 染色体核型 2m+2st+42t; 蓝鳃太阳鱼的染色体数目 2n=48, 染色体核型为 48 A), 来源于大口黑鲈和蓝鳃太阳鱼的核—质遗传物质可能存在相容性协调问题, 使得等位基因可能会发生基因沉默、基因表达延迟、基因不对称表达等现象<sup>[22-25]</sup>, 从而导致杂交 F<sub>1</sub> 胚胎孵化率低。

生长速率是鱼类重要的种质特性, 是评价养殖生产效率和利用价值的主要标志。由于杂交鱼基因型的改变(基因重组、碱基突变、基因片段缺失和插入等), 会带来其表现型的改变, 使得杂交子代在生长速率、外形特征等方面表现出杂交优势<sup>[9]</sup>。通过杂交获得的杂交子代与双亲本相比表现出生长优势并已推广养殖的鱼类品种较多, 如湘云鲫 (Triploid *Carassius auratus*)<sup>[26]</sup>, 乌斑杂交鳊 [*Channa argus*(♀)×*C. maculata*(♂)]<sup>[27]</sup>, 莫荷罗非鱼“广福 1 号” [*Oreochromis mossambicus*(♀)×*O. hornorum*(♂)]<sup>[28]</sup>、青龙斑 [*Epinephelus coioides*(♀)×*E. lanceolatus*(♂)] 和虎龙斑 [*E. fuscoguttatus*(♀)×*E. lanceolatus*(♂)]<sup>[29]</sup> 等。本研究对大口黑鲈(♀)×蓝鳃太阳鱼(♂)杂交 F<sub>1</sub> 群体后续生长发育进行了跟踪观察, 经过 10 周的室内养殖, 发现杂交 F<sub>1</sub> 在生长速率和饲料利用率上与母本大口黑鲈相比无显著差异 ( $P>0.05$ ), 但显著高于父本蓝鳃太阳鱼 ( $P<0.05$ ), 表明杂交子代继承了母本大口黑鲈的生长特性, 具有较快的生长速率。然而, 本实验结果局限于室内养殖, 对杂交 F<sub>1</sub> 室外养殖及不同发育阶段的养殖评估则有待进一步探究。此外, 对杂交 F<sub>1</sub> 在肉质、抗病性、繁殖力等性状方面需进一步挖掘, 以评估其生产和应用价值。

### 3.2 大口黑鲈(♀)×蓝鳃太阳鱼(♂)杂交 F<sub>1</sub> 的形态及遗传特征

鱼类表型及形态比例性状是鱼类选择育种的一个重要参考指标。鲤科 (Cyprinidae) 鱼类之

间的远缘杂交, 如团头鲂 [*Megalobrama amblycephala*(♀)×黄尾密鲮 [*Xenocypris davidi*(♂)]<sup>[30]</sup>、团头鲂(♀)×翘嘴红鲌 [*Culter alburnus*(♂)]<sup>[31]</sup>、鲤 [*Cyprinus carpio*(♀)×团头鲂(♂)]<sup>[14]</sup>、草鱼 [*Ctenopharyngodon idella*(♀)×团头鲂(♂)]<sup>[32]</sup>, 常伴随着二倍体和三倍体子代的产生, 且杂交子代的形态特征(可数性状和测量性状)均介于父本和母本之间, 常表现出明显的杂交属性。与鲤科鱼类之间的远缘杂交结果相似, 大口黑鲈(♀)×蓝鳃太阳鱼(♂)杂交 F<sub>1</sub> 在外形特征上表现出杂交属性, 结合了双亲本的形态特征; 其中, 主要的可数性状(如侧线鳞数、鳍条数)均介于双亲本之间, 而腹鳍条数与双亲本一致。此外, 杂交 F<sub>1</sub> 大部分测量性状比更偏向于父本蓝鳃太阳鱼, 而少部分测量性状比则偏向于母本大口黑鲈, 这可能与测量的鱼个体的大小及双亲本亚基因组显性作用相关。

5S rDNA 是真核生物中一类高度保守的串联重复序列, 每个重复单元由长约 120 bp 的 CDS 和 100~700 bp 的 NTS 组成, 物种间 CDS 序列比较保守, 而 NTS 在进化过程中属于高度可变区(主要包括碱基的插入、缺失、重复、替换等), 并广泛用于物种的进化研究及作为物种特异性或种群特异性分子标记<sup>[33]</sup>。鲤科鱼类间的远缘杂交研究表明, 杂交子代 5S rDNA 的序列不仅继承了双亲本的遗传特征, 而且常伴随着碱基突变、插入、缺失及同源重组的发生; 并且 5S rDNA 重复单元可作为分子标记鉴定不同倍性杂交后代的遗传组成<sup>[14,34-36]</sup>。本研究对大口黑鲈、蓝鳃太阳鱼及其杂交 F<sub>1</sub> 5S rDNA 基因进行了扩增及序列比较。结果显示杂交 F<sub>1</sub> 继承了双亲本的所有 4 种类型的 5S rDNA, 并且 4 种类型 5S rDNA 的 CDS 高度保守, 而来源于大口黑鲈的 2 种 5S rDNA 类型的 NTS 包含一个“GCT”可变区。5S rDNA 分析结果显示了杂交 F<sub>1</sub> 融合了双亲本基因组, 其序列不仅表现出可遗传性, 同时存

在一定的多态性。

综上所述,本研究采用人工催产和人工授精的方式,成功获得了以大口黑鲈为母本、蓝鳃太阳鱼为父本的杂交 $F_1$ 群体,为大口黑鲈远缘杂交育种的开展奠定了基础。

感谢姜鹏助理研究员为本研究提供亲本蓝鳃太阳鱼,感谢闫宁宁对实验鱼的悉心养殖。

### 参考文献 (References):

- [1] Bai J J, Lutz-Carrillo D J, Quan Y C, *et al.* Taxonomic status and genetic diversity of cultured largemouth bass *Micropterus salmoides* in China[J]. *Aquaculture*, 2008, 278(1-4): 27-30.
- [2] Li R, Wen Z Y, Zou Y C, *et al.* Largemouth bass pond culture in china: A review[J]. *International Journal of Veterinary Science and Research*, 2017, 3(1): 14-17.
- [3] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 中国渔业统计年鉴 2019[M]. 北京: 中国农业出版社, 2020.
- Fisheries and Fisheries Administration Bureau of the Ministry of Agriculture and Rural Areas, National Aquatic Technology Promotion Station, China Society of Fisheries. China Fishery statistical yearbook-2019[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2020 (in Chinese).
- [4] 阮瑞霞, 宣云峰, 滕利荣, 等. 蓝鳃太阳鱼 $F_1$ - $F_3$ 三个子代遗传多样性的RAPD分析[J]. *水产养殖*, 2013, 34(4): 21-24.
- Ruixia R, Yunfeng X, Lirong T, *et al.* RAPD analysis of the genetic diversity in three consecutive breeding generations of *Lepomis macrochirus* Rafinesque[J]. *Journal of Aquaculture*, 2013, 34(4): 21-24(in Chinese).
- [5] Yang M, Wang J, Han T, *et al.* Dietary protein requirement of juvenile bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*)[J]. *Aquaculture*, 2016, 459: 191-197.
- [6] 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.
- Lou Y D, Li X Q Distant hybridization of fish and its application in aquaculture in China[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2006, 13(1): 151-158(in Chinese).
- [7] Mallet J. Hybridization as an invasion of the genome[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2005, 20(5): 229-237.
- [8] 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, 53(4): 416-425.
- Liu S J. Distant hybridization leads to different ploidy fishes[J]. *Science China Life Sciences*, 2010, 53(4): 416-425(in Chinese).
- [9] Piferrer F, Beaumont A, Falguière J C, *et al.* Polyploid fish and shellfish: production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment[J]. *Aquaculture*, 2009, 293(3-4): 125-156.
- [10] Wang S, Tang C C, Tao M, *et al.* Establishment and application of distant hybridization technology in fish[J]. *Science China Life Sciences*, 2019, 62(1): 22-45.
- [11] 宓国强, 练青平, 王雨辰, 等. 杂交鳊胚胎发育观察[J]. *浙江海洋学院学报(自然科学版)*, 2009, 28(3): 264-269.
- Mi G Q, Lian Q P, Wang Y C, *et al.* Observation on embryonic development of crossbreed  $F_1$  by *Siniperca scherzeri* (♀)×*Siniperca chuatsi* (♂)[J]. *Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science Edition)*, 2009, 28(3): 264-269(in Chinese).
- [12] 关文志, 郑国栋, 吴成宾, 等. 团头鲂与三角鲂或长春鳊杂交后代的生长及形态对比分析[J]. *中国水产科学*, 2017, 24(1): 31-39.
- Guan W Z, Zheng G D, Wu C B, *et al.* Comparative analysis of growth and morphological variations among *Megalobrama amblycephala*, *M. terminalis*, *Parabramis pekinensis* and their hybrids[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2017, 24(1): 31-39(in Chinese).
- [13] 李思发, 王成辉, 刘志国, 等. 三种红鲤生长性状的杂种优势与遗传相关分析[J]. *水产学报*, 2006, 30(2): 175-180.
- Li S F, Wang C H, Liu Z G, *et al.* Analysis of heterosis and genetic correlation of growth traits in three variants of red common carp[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2006, 30(2): 175-180(in Chinese).
- [14] Wang S, Ye X L, Wang Y D, *et al.* A new type of homodiploid fish derived from the interspecific hybridization of female common carp×male blunt snout bream[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 4189.
- [15] 练青平, 宓国强, 胡延尖, 等. 唇鲮、花鲮及其杂交 $F_1$ 的形态差异分析[J]. *大连海洋大学学报*, 2011, 26(6): 493-499.
- Lian Q P, Mi G Q, Hu T J, *et al.* Morphological variations in skin carp *Hemibarbus labeo*, *H. maculatus* and their hybrid  $F_1$ (*H. labeo* ♀×*H. maculatus* ♂)[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2011, 26(6): 493-499(in Chinese).

- [16] Zolczynski Jr S J, Davies W D. Growth characteristics of the northern and Florida subspecies of largemouth bass and their hybrid, and a comparison of catchability between the subspecies[J]. *Transactions of the American Fisheries Society*, 1976, 105(2): 240-243.
- [17] Kleinsasser L J, Williamson J H, Whiteside B G. Growth and catchability of northern, Florida, and F<sub>1</sub> hybrid largemouth bass in Texas ponds[J]. *North American Journal of Fisheries Management*, 1990, 10(4): 462-468.
- [18] Neal J W, Noble R L. Growth, survival, and site fidelity of Florida and intergrade largemouth bass stocked in a tropical reservoir[J]. *North American Journal of Fisheries Management*, 2002, 22(2): 528-536.
- [19] Inman C R, Dewey R C, Durocher P P. Growth comparisons and catchability of three largemouth bass strains[J]. *Fisheries*, 1977, 2(5): 20-25.
- [20] Philipp D P, Whitt G S. Survival and growth of northern, Florida, and reciprocal F<sub>1</sub> hybrid largemouth bass in central Illinois[J]. *Transactions of the American Fisheries Society*, 1991, 120(1): 58-64.
- [21] Wheat T E, Childers W F, Whitt G S. Biochemical genetics of hybrid sunfish: differential survival of heterozygotes[J]. *Biochemical Genetics*, 1974, 11(3): 205-219.
- [22] Parker H R, Philipp D P, Whitt G S. Gene regulatory divergence among species estimated by altered developmental patterns in interspecific hybrids[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 1985, 2(3): 217-250.
- [23] Whitt G S, Philipp D P, Childers W F. Aberrant gene expression during the development of hybrid sunfishes (Perciformes, Teleostei)[J]. *Differentiation*, 1977, 9(1-3): 97-109.
- [24] Ren L, Li W, Tao M, *et al.* Homoeologue expression insights into the basis of growth heterosis at the intersection of ploidy and hybridity in Cyprinidae[J]. *Scientific reports*, 2016, 6(1): 1-12.
- [25] 刘少军, 罗静, 柴静, 等. 二倍体和四倍体鲫鲤鱼杂交品系中基因组不兼容特性研究[J]. *遗传*, 2016, 38(3): 271-272.
- Liu S J, Luo J, Chai J, *et al.* Study on genomic incompatibility in the lineage of a diploid and tetraploid hybrid[J]. *Hereditas*, 2016, 38(3): 271-272(in Chinese).
- [26] Liu S J, Sun Y D, Zhang C, *et al.* Triploid crucian carp-allotetraploid hybrids (male) × goldfish (hermaphrodite)[J]. *Acta genetica Sinica*, 2004, 31(1): 31-38.
- [27] Ou M, Zhao J, Luo Q, *et al.* Characteristics of hybrids derived from *Channa argus*♀×*Channa maculata*♂[J]. *Aquaculture*, 2018, 492: 349-356.
- [28] Shang H W, Liu Z G, Zhu H P, *et al.* Analysis of DNA methylation difference between “Mohe” hybrid tilapia and its parents[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, 41(11): 1699-1709.
- [29] Wang Y, Zhang Y, Zhang H F, *et al.* Comparison of morphology between two kinds of hybrid groupers and their parents[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, 38(6): 778-785.
- [30] Hu J, Liu S J, Xiao J, *et al.* Characteristics of diploid and triploid hybrids derived from female *Megalobrama amblycephala* Yih × male *Xenocypris davidi* Bleeker[J]. *Aquaculture*, 2012, 364-365: 157-164.
- [31] Xiao J, Kang X W, Xie L H, *et al.* The fertility of the hybrid lineage derived from female *Megalobrama amblycephala* × male *Culter alburnus*[J]. *Animal Reproduction Science*, 2014, 151(1-2): 61-70.
- [32] He W G, Xie L H, Li T L, *et al.* The formation of diploid and triploid hybrids of female grass carp × male blunt snout bream and their 5S rDNA analysis[J]. *BMC Genetics*, 2013, 14(1): 110.
- [33] Campo D, Machado-Schiaffino G, Horreo J L, *et al.* Molecular organization and evolution of 5S rDNA in the genus *Merluccius* and their phylogenetic implications[J]. *Journal of Molecular Evolution*, 2009, 68(3): 208-216.
- [34] Martins C, Wasko A P. Organization and evolution of 5S ribosomal DNA in the fish genome[M]//Williams C R. Focus on genome research. Hauppauge: Nova Science Publishers, 2004: 289-318.
- [35] Wu C, Huang X, Hu F Z, *et al.* Production of diploid gynogenetic grass carp and triploid hybrids derived from the distant hybridization of female grass carp and male topmouth culter[J]. *Aquaculture*, 2019, 504: 462-470.
- [36] Hu F Z, Wu C, Zhou Y F, *et al.* Production of androgenetic, triploid and tetraploid hybrids from the interspecific hybridization of female Japanese crucian carp and male blunt snout bream[J]. *Aquaculture*, 2018, 491: 50-58.

## Morphological and genetic characteristics of hybrid F<sub>1</sub> derived from largemouth bass (*Micropterus salmoides*) (♀)×bluegill (*Lepomis mearchirus*) (♂)

LI Wuhui<sup>1</sup>, HU Jie<sup>1</sup>, SUN Chengfei<sup>1</sup>, DONG Junjian<sup>1</sup>,  
TIAN Yuanyuan<sup>1</sup>, ZHAO Jinliang<sup>2</sup>, YE Xing<sup>1,2\*</sup>

(1. Key Laboratory of Tropical & Subtropical Fisheries Resource Application and Cultivation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Pearl River Fisheries Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** In the present study, in order to explore the possibility of distant hybridization of *Micropterus salmoides*, artificial insemination was used and hybrid F<sub>1</sub> was successfully obtained from distant hybridization between female largemouth bass and male *Lepomis mearchirus*. The hybrid F<sub>1</sub> embryos underwent apparently normal morphological development. The hatching time of hybrid F<sub>1</sub> was about 49 h when the water temperature was (22.5±0.5) °C. The fertilization rate was 65% and the hatching rate was 21%. In hybrid F<sub>1</sub>, the average weight gain was 1.55 g/d, and the fodder utilization rate was 1.24 after a ten-week in-door cultivation. The hybrid F<sub>1</sub> showed a similar growth rate with maternal parent *M. salmoides* but statistically significantly higher than paternal *L. mearchirus*. The morphological characteristics of hybrid F<sub>1</sub> showed obvious hybridization properties. The number traits (numbers of lateral line scales, dorsal fins, pectoral fins and anal fins) and metric traits (measurable traits and frame metric traits) in hybrid F<sub>1</sub> showed an intermediate level between the two parents. A number of metric traits biased towards paternal *L. mearchirus* more than maternal *M. salmoides* was observed in hybrid F<sub>1</sub>. In addition, several morphology traits of hybrid F<sub>1</sub> exceeded both of the two parents. 5S rDNA gene amplification and analysis showed that the two parents possess two different types of 5S rDNA, respectively, while the hybrid F<sub>1</sub> inherits four types of 5S rDNA from parents. The four types of 5S rDNA coding region sequences (CDS, 120 bp) are highly conserved. Two types of 5S rDNA transcribed spacer (NTS) from hybrid F<sub>1</sub> and maternal parent *M. salmoides* had a base "GTC" variable region (sequence length ranged from 186 to 205 bp), while two types of 5S rDNA NTS from hybrid F<sub>1</sub> and paternal parent *L. mearchirus* are highly conserved (sequence length was 86 and 263 bp, respectively). These 5S rDNA types confirmed that the hybrid F<sub>1</sub> fused genomes of the two parents. Our study provides a new perspective in exploring distant hybridization of *M. salmoides*.

**Key words:** *Micropterus salmoides*; *Lepomis mearchirus*; distant hybridization; morphological characteristics; growth; 5S rDNA

**Corresponding author:** YE Xing. E-mail: gzyexing@163.com

**Funding projects:** China Agriculture Research System (CARS-46); Special Fund for Scientific Research in Public-interest and Capacity Building of Guangdong Province (2017A030303002); Pearl River S & T Nova Program, Science and Technology Project of Guangzhou (201906010025)