

doi: 10.7541/2019.033

## 三角鲂×翘嘴鲌、团头鲂×翘嘴鲌两种杂交后代微卫星遗传结构分析

苏晓磊 郑国栋 蒋霞云 邹曙明

(上海海洋大学, 农业部团头鲂遗传育种中心, 农业部淡水水产种质资源重点实验室,  
水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306)

**摘要:** 为了指导三角鲂(*Megalobrama terminalis*)、团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)与翘嘴鲌(*Erythroculter ilishaeformis*)的杂交育种工作, 利用筛选出的16对微卫星引物, 比较分析了团头鲂、三角鲂、翘嘴鲌、团头鲂♀×翘嘴鲌♂、三角鲂♀×翘嘴鲌♂后代群体的遗传结构; 结果显示, 平均等位基因数( $N_a$ )分别为3.56、3.63、3.44、4.00和4.31, 平均观测杂合度( $H_o$ )分别为0.3510、0.3757、0.3175、0.3818和0.4079, 平均期望杂合度( $H_e$ )分别为0.6182、0.6290、0.5921、0.6490和0.6825, 平均多态信息含量( $PIC$ )分别为0.5354、0.5367、0.5258、0.5785和0.6067。杂交群体的平均多态信息含量均大于他们的亲本团头鲂、三角鲂和翘嘴鲌, 表明杂交亲群体的遗传多样性较高。聚类分析显示团头鲂与三角鲂首先聚类, 团头鲂♀×翘嘴鲌♂与三角鲂♀×翘嘴鲌♂首先聚类, 然后这2大类聚为一支, 最后与翘嘴鲌聚类。其中团头鲂与翘嘴鲌遗传距离最远, 为0.5204, 团头鲂和三角鲂遗传距离最近, 为0.0853, 结合遗传相似度分析表明2种杂交子代均具有母本效应。基因型分析表明, 2种杂交后代的等位基因均来自于父母本。引物TTF3、TTF4、TTF10以及Mam25在5个群体中均可产生特异性条带, 可区分5个群体。研究结果对三角鲂×翘嘴鲌和团头鲂×翘嘴鲌的良种选育、种质资源保存以及种群鉴定具有重要意义。

**关键词:** 团头鲂; 三角鲂; 翘嘴鲌; 遗传结构; 微卫星

中图分类号: Q173 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2019)02-0264-08

鱼类的远缘杂交是一种育种的重要手段, 可以将亲本的优良性状结合, 增加遗传多样性, 从而获得的优良的杂交新品种<sup>[1, 2]</sup>。远缘杂交已广泛应用于鱼类遗传育种, 自20世纪50年代末, 中国已做了100多个杂交组合, 包括3个目, 7个科, 共40多种鱼类<sup>[3]</sup>。有些组合具有杂种优势。目前对于团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)和翘嘴鲌(*Erythroculter ilishaeformis*)、三角鲂(*Megalobrama terminalis*)和翘嘴鲌杂交研究还比较少。葛玲瑞等<sup>[4]</sup>通过翘嘴红鲌(♂)和团头鲂(♀)的杂交, 得到了二倍体与三倍体鲂鲌。在翘嘴红鲌(♂)×团头鲂(♀)杂交子代的含肉率方面, 金万昆等<sup>[5]</sup>也做过一些检测, 其氨基酸含量中很多指标都高于其他鱼类。鳊鲂杂交方面山西大学生物系<sup>[6]</sup>进行了简单的研究, 其杂种肉质鲜

美, 生长较快。团头鲂(♂)×翘嘴红鲌(♀)杂种F1鳞片较大且不易脱落, 耐操作, 顾志敏等<sup>[7]</sup>在杂种F1形态特征及遗传分析方面的研究证实了这一点。郑国栋等<sup>[8]</sup>利用团头鲂(♀)和翘嘴鲌(♂)进行杂交, 杂交种有良好的生长优势, 且耐低氧和耐运输能力也比亲本有所提高。通过在营养价值方面对三角鲂(♀)×翘嘴红鲌(♂)F1的必需氨基酸和亲本的肌肉组成进行研究, 马恒甲<sup>[9]</sup>得出翘嘴红鲌(♂)×三角鲂(♀)的杂种F1为较优质鱼类, 但其并没有在遗传结构上进行分析。从这些研究可以看出, 杂交后代确实有明显的杂交优势。团头鲂和三角鲂属鲂属, 而翘嘴鲌属鲌属, 它们在我国淡水养殖鱼类, 都占有很重要的地位, 但在形态结构上有着很大差异, 因此遗传结构也比较复杂。通过对团头

收稿日期: 2018-01-08; 修订日期: 2018-09-07

基金项目: 国家自然科学基金(31272633、31201760、31572220); 上海高校知识服务平台(ZF1206)资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31272633, 31201760, 31572220); the Shanghai University Knowledge Service Platform (ZF1206)]

作者简介: 苏晓磊(1994—), 男, 山东聊城人; 硕士; 主要从事动物遗传育种与繁殖研究。E-mail: 644649486@qq.com

通信作者: 邹曙明(1972—), 男, 江西人; 教授, 博士生导师; 主要从事鱼类遗传育种工程。E-mail: smzou@shou.edu.cn

鲂<sup>[10]</sup>♀×翘嘴鲌♂和三角鲂×翘嘴鲌♂的杂交后代的微卫星分析, 了解其遗传结构以及杂交优势, 为今后团头鲂×翘嘴鲌和三角鲂×翘嘴鲌的杂交育种提供了理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

杂交试验所用亲本为“浦江1号”团头鲂, 东江三角鲂和淀山湖翘嘴鲌。杂交试验利用团头鲂雌性亲本30尾与翘嘴鲌雄性亲本30尾进行杂交获得“团头鲂♀×翘嘴鲌♂”杂交种群体, 利用三角鲂雌性亲本30尾与翘嘴鲌雄性亲本30尾进行杂交获得“三角鲂♀×翘嘴鲌♂”杂交种群体。2个杂交种群体及其亲本均保存于上海海洋大学水产动物遗传育种中心。3个亲本群体及2个杂交群体各随机剪取30尾鱼鳍, 共150尾, 放入95%的酒精中, 保存于-20℃备用。

### 1.2 微卫星引物

本研究从60对SSR引物中筛选出16对效果较好的引物。其中10对SSR引物是由Tang等<sup>[11]</sup>通过5'锚定PCR技术获得, 2对是Li等<sup>[12]</sup>通过磁珠富集的技术开发设计的SSR引物, 另外4对EST-SSR引物是Gao等<sup>[13]</sup>通过转录组测序分析而获得。SSR位点及引物信息见表1。

### 1.3 基因组DNA的制备

使用北京天根生物科技有限公司生产的海洋动物组织基因组DNA提取试剂盒(离心柱型), 参照其说明书介绍的方法提取基因组DNA, 基因组DNA提取完成后, 用0.8%的琼脂糖凝胶电泳和分光光度计检测DNA质量和浓度, -20℃保存备用。

### 1.4 PCR反应体系与扩增程序

参照张倩倩等<sup>[14]</sup>反应体系10 μL, 包含5 μL含染料的2×*Taq* PCR MasterMix (*Taq* DNA Polymerase: 0.1 U/μL; MgCl<sub>2</sub>: 4 mmol/L; dNTPs each:

表1 微卫星引物特征

Tab. 1 Characteristics of microsatellite primers

位点 Locus	重复序列 Repeat motif	引物序列 Primer sequence (5'-3')	退火温度 <i>T<sub>m</sub></i> (°C)	等位基因大小范围 Size range (bp)
TTF01	(CA) <sub>21</sub>	TGGAGATGAAAGCTGAAGGAA ATGCACGAACTGCCACATAA	55.9	252—328
TTF02	(CA) <sub>5</sub> (CT) <sub>21</sub>	AAACAGCTGCTACCCTTGG TTTGCCAGAAGAGCAAATCA	55.9	196—228
TTF03	(TC) <sub>27</sub>	AAGACGCCACGGAAACTTTA CTGACCGGATAGCAAAGTGA	56.4	214—266
TTF04	(CA) <sub>14</sub>	GACTGGAGTCGTCAGGCTC TGCCCCACATTGTTAGACTG	60.5	182—222
TTF05	(CA) <sub>15</sub>	CTAGTGGGTAGGTGGCAGGT TGACTGGGAGAGACAGAGGAG	60.5	164—188
TTF06	(GA) <sub>13</sub>	GGCAGGTCAGGCACATTTAT TCTCTACCTCACATTCATCTCT	60.5	186—218
TTF07	(GT) <sub>13</sub>	ATGGGTAAGCCGATGGATTC GTGTCAGCATTCCAGCTCCT	60.5	285—331
TTF08	(GT) <sub>18</sub>	GGGGAATAAAGGGAGAAAGTG TTTCTCTGATCCGTTGACC	60.5	178—224
TTF09	(TC) <sub>19</sub>	AAGACGCCACGGAAACTTTA GAGGTGGGACTGTGTGGAAT	56.9	269—319
TTF10	(TC) <sub>6</sub> (TG) <sub>5</sub>	FAAACAGGCTCGCCAATTTC TCACCCACACACTCTTATTCTCTC	55.9	255—291
EST13	(AC) <sub>14</sub>	TCTTTCACAAACAAACCCCTT GGATTATCAAACGCGGACT	57	209—266
EST23	(AC) <sub>12</sub>	GCGATCATCAAGGCAACG AGATTTCATCAGCTCCTGTAGTGT	55	265—352
EST37	(TG) <sub>8</sub>	CACAAACCATAAAACACAG AATGCCATAAAACACAC	62	147—216
EST66	(GT) <sub>20</sub>	TCAATCAGGCATAAACAT AACTAACTAGCACGCAAA	60	290—349
Mam03	(CA) <sub>18</sub>	TTGCAGGTAAGTGGGAAAA AGCAACATGCAAACATCAAA	60	231—324
Mam25	(AC) <sub>5</sub> (AC) <sub>14</sub>	TCACACCAACAACACCGAAT CCTTGTTTTCTCCAGGCATC	62	166—252

注: TTF1—TTF10、Mam03—Mam25和EST13—66分别来源于文献[11]、[12]、[13]

Note: TTF1—TTF10, Mam03—Mam25 and EST13—EST66 are microsatellite primers and are respectively from reference [11], [12] and [13]

0.4 mmol/L), 上下游引物各0.5  $\mu$ L (10  $\mu$ mol/L), 0.5  $\mu$ L模板DNA (30—50 ng), 3.5  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O。PCR反应Eppendorf Master cycler ep gradients型PCR仪上进行, 反应程序为94 $^{\circ}$ C预变性5min, 94 $^{\circ}$ C 30s, 50—65 $^{\circ}$ C(退火温度参照表1中的引物信息进行调整) 30s, 72 $^{\circ}$ C 30s, 30个循环, 最后72 $^{\circ}$ C延伸10min。

### 1.5 PCR产物凝胶电泳检测

PCR产物电泳在8%的非变性聚丙烯酰胺凝胶上进行, 胶片规格为195 mm(长) $\times$ 120 mm(宽) $\times$ 1 mm(厚)。电泳条件: 电泳缓冲液为1 $\times$ TBE, 电压200 V, 电泳1.5—2h。产物上样量均为1  $\mu$ L, DNA Marker (50 bp DNA Ladder)上样量为0.5  $\mu$ L。电泳完成后使用硝酸银染色, 参照高东等<sup>[15]</sup>的染色方法并稍加修改。最后将胶片置于灯箱, 进行拍照和保存。

## 2 结果

### 2.1 五个群体的SSR扩增结果

本研究筛选出多态性良好的16对微卫星引物, 均能扩增出条带清晰、稳定的PCR产物, 且均表现为多态。并筛选出了引物TTF3、TTF4、TTF10以及Mam25, 4对可以区分5个群体的特异性引物。图1为引物TTF3在5个群体中的扩增电泳图谱, 图2为引物Mam25在5个群体中的扩增电泳图谱。通常利用多态信息含量、等位基因数和杂合度来衡量遗传标记的多态性<sup>[16]</sup>。衡量群体遗传变异通常用杂合度作为最合适参数<sup>[17]</sup>。利用这16对引物对这5个群体共150个样进行扩增分析, 团头鲂、三角鲂、翘嘴鲃、团头鲂 $\times$ 翘嘴鲃 $\delta$ 、三角鲂 $\times$ 翘嘴鲃 $\delta$  5个群体分别扩增出57、58、55、64、69个等位基因, 每个位点检测到1—5个不等的等位基因数, 平均等位基因数( $N_a$ )分别为3.56、3.63、3.44、4.00和4.31, 平均观测杂合度( $H_o$ )分别为0.3510、0.3757、0.3175、0.3818和0.4079, 平均期望杂合度( $H_e$ )分别为0.6182、0.6290、0.5921、0.6490和0.6825, 平均多态信息含量(PIC)分别为0.5354、0.5367、0.5258、0.5785和0.6067。具有较高的多态性(PIC>0.5000), 能够在分子层面上反应出各个群体间的遗传关系(表2、表3)。从这些遗传参数中可得出, 遗传多样性高低依次为三角鲂 $\times$ 翘嘴鲃 $\delta$ >团头鲂 $\times$ 翘嘴鲃 $\delta$ >三角鲂>团头鲂>翘嘴鲃, 即三角鲂 $\times$ 翘嘴鲃 $\delta$ 的最高, 翘嘴鲃的最低。

### 2.2 遗传多样性分析

5个群体间的遗传距离和Nei's遗传相似性(表4)利用Popgene (Version1.32)软件计算, 5个群体间

的Nei's遗传相似系数为0.4207—0.9183, 遗传距离为0.0853—0.5204。其中团头鲂和三角鲂相似性系数最高, 为0.9183; 团头鲂和翘嘴鲃相似性系数最低, 为0.4207。图3为5个群体间的UPGMA聚类关系, 利用MEGA5.1根据5个群体间Nei's遗传距离所构建, 结果显示团头鲂与三角鲂首先聚类; 团头鲂 $\times$ 翘嘴鲃 $\delta$ 与三角鲂 $\times$ 翘嘴鲃 $\delta$ 首先聚类, 然后两大类聚为一支, 最后与翘嘴鲃聚为一支。其中, 团头鲂和三角鲂遗传距离最近, 为0.0853; 团头鲂与翘嘴鲃遗传距离最远, 为0.5204。

## 3 讨论

通过部分不同鱼类属间或种间的亲本杂交, 可得到具有亲本优良性状的杂种子代<sup>[1]</sup>。据目前统计, 有关团头鲂、三角鲂以及翘嘴鲃的杂交组合主要有团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)( $\text{♀}$ ) $\times$ 鳊(*Siniperca chuatsi*)( $\text{♂}$ )<sup>[18]</sup>、鳊(*Aristichthy nobilis*)( $\text{♀}$ ) $\times$ 团头鲂( $\text{♂}$ )及其反交<sup>[19]</sup>、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)( $\text{♀}$ ) $\times$ 团头鲂( $\text{♂}$ )<sup>[20, 21]</sup>、草鱼( $\text{♀}$ ) $\times$ 三角鲂(*M. terminalis*)( $\text{♂}$ )<sup>[22, 23]</sup>、鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)( $\text{♀}$ ) $\times$ 团头鲂( $\text{♂}$ )及其反交<sup>[24, 25]</sup>、鲤(*Cyprinus carpio*)( $\text{♀}$ ) $\times$ 团头鲂( $\text{♂}$ )<sup>[26—28]</sup>、长春鳊(*Parabramis pekinensis*)( $\text{♀}$ ) $\times$ 三角鲂( $\text{♂}$ )<sup>[6]</sup>、团头鲂( $\text{♀}$ ) $\times$ 长春鳊( $\text{♂}$ )<sup>[29]</sup>、红鳍鲃(*Culter erythropterus*)( $\text{♀}$ ) $\times$ 团头鲂( $\text{♂}$ )<sup>[30]</sup>、广东鲂(*Megalobrama hoffmanni*)( $\text{♀}$ ) $\times$ 团头鲂( $\text{♂}$ )<sup>[31, 32]</sup>、三角鲂( $\text{♀}$ ) $\times$ 团头鲂( $\text{♂}$ )及其反交<sup>[33]</sup>、海南红鲃(*E. pseudobrevicauda*)( $\text{♂}$ ) $\times$ 翘嘴红鲃( $\text{♀}$ )<sup>[34]</sup>、翘嘴鲃( $\text{♀}$ ) $\times$ 团头鲂( $\text{♂}$ )<sup>[7]</sup>、团头鲂( $\text{♀}$ ) $\times$ 黄尾密鲃(*Xenocypris daviodi*)( $\text{♂}$ )<sup>[35]</sup>、团头鲂( $\text{♀}$ ) $\times$ 丁鲃

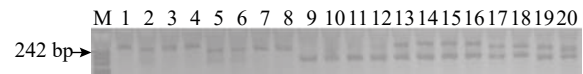


图1 TTF3在5个群体中的PAGE图谱

Fig. 1 PAGE analysis by primers TTF3 in 5 groups

M. PBR322 DNA/MspI; 1—4. 团头鲂; 5—8. 三角鲂; 9—12. 翘嘴鲃; 13—16. 团头鲂 $\times$ 翘嘴鲃 $\delta$ ; 17—20. 三角鲂 $\times$ 翘嘴鲃 $\delta$ ; 下同

M. PBR322 DNA/MspI; 1—4. *Megalobrama amblycephala*; 5—8. *Megalobrama terminalis*; 9—12. *Erythroculter ilishaeformis*; 13—16. *Megalobrama amblycephala*  $\text{♀}$  $\times$ *Erythroculter ilishaeformis*  $\text{♂}$ ; 17—20. *Megalobrama terminalis*  $\text{♀}$  $\times$ *Erythroculter ilishaeformis*  $\text{♂}$ ; the same applies below

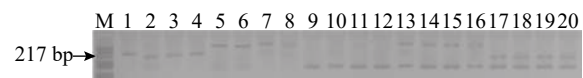


图2 Mam25在5个群体中的PAGE图谱

Fig. 2 PAGE analysis by primers Mam25 in 5 groups

表 2 五个群体的微卫星位点的等位基因数、多态信息含量

Tab. 2 Number of alleles ( $N_a$ ) and the polymorphism information content (PIC) of microsatellite loci

位点 Locus	等位基因 $N_a$					多态信息含量 PIC				
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
TTF01	4.00	3.00	3.00	5.00	5.00	0.5717	0.5269	0.5269	0.7056	0.7101
TTF02	3.00	4.00	4.00	4.00	5.00	0.4822	0.6075	0.5973	0.6594	0.5714
TTF03	4.00	5.00	3.00	3.00	4.00	0.6387	0.5544	0.5424	0.5713	0.5786
TTF04	4.00	5.00	5.00	5.00	5.00	0.4848	0.7185	0.7220	0.7154	0.6357
TTF05	3.00	4.00	4.00	5.00	4.00	0.4918	0.5637	0.5739	0.6345	0.6799
TTF06	3.00	4.00	3.00	4.00	4.00	0.5599	0.4213	0.4414	0.4848	0.6528
TTF07	3.00	5.00	4.00	4.00	5.00	0.4781	0.6216	0.5039	0.5048	0.5954
TTF08	3.00	1.00	1.00	4.00	5.00	0.4414	0.3750	0.4211	0.4021	0.6765
TTF09	4.00	3.00	3.00	4.00	4.00	0.6038	0.4918	0.4600	0.5882	0.6569
TTF10	3.00	3.00	5.00	4.00	5.00	0.4918	0.4778	0.6254	0.5958	0.6816
EST13	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	0.5747	0.6819	0.6707	0.5945	0.5809
EST23	3.00	5.00	4.00	4.00	3.00	0.5150	0.7185	0.5418	0.5424	0.6207
EST37	5.00	3.00	3.00	4.00	4.00	0.5580	0.5478	0.4414	0.5973	0.5718
EST66	5.00	3.00	3.00	5.00	5.00	0.7427	0.3976	0.4202	0.6454	0.6989
Mam03	3.00	3.00	3.00	3.00	4.00	0.4211	0.4415	0.4414	0.5052	0.4211
Mam25	3.00	3.00	4.00	2.00	3.00	0.5111	0.4414	0.4842	0.5098	0.3750
平均	3.56	3.63	3.44	4.00	4.31	0.5354	0.5367	0.5258	0.5785	0.6067

表 3 五个群体的微卫星位点的观测杂合度、期望杂合度

Tab. 3 Observed heterozygosity ( $H_o$ ) and expected heterozygosity ( $H_e$ ) of microsatellite loci

位点 Locus	观测杂合度 $H_o$					期望杂合度 $H_e$				
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
TTF01	0.2384	0.3503	0.2328	0.3847	0.3847	0.6153	0.6497	0.6153	0.7616	0.7672
TTF02	0.2740	0.4164	0.3463	0.3294	0.3153	0.6706	0.5836	0.6847	0.7260	0.6537
TTF03	0.3463	0.2989	0.3362	0.3734	0.3638	0.6266	0.7011	0.6362	0.6537	0.6638
TTF04	0.2294	0.4141	0.2972	0.2249	0.2266	0.7751	0.5859	0.7734	0.7706	0.7028
TTF05	0.2972	0.4102	0.2655	0.3486	0.3734	0.6514	0.5898	0.6266	0.7028	0.7345
TTF06	0.4141	0.3576	0.2842	0.4458	0.4610	0.5542	0.6424	0.5390	0.5859	0.7158
TTF07	0.4435	0.4186	0.3294	0.4000	0.3090	0.6000	0.5814	0.6910	0.5565	0.6706
TTF08	0.5175	0.4458	0.2616	0.4599	1.0000	0.5401	0.5542	0.0000	0.4825	0.7384
TTF09	0.3441	0.3181	0.2780	0.4328	0.4102	0.5672	0.6819	0.5898	0.6559	0.7220
TTF10	0.3429	0.4102	0.2565	0.4328	0.4328	0.6944	0.5898	0.5672	0.6571	0.7435
EST13	0.3435	0.3469	0.3407	0.2661	0.2559	0.7339	0.6531	0.7441	0.6565	0.6593
EST23	0.3734	0.3949	0.3023	0.3695	0.2277	0.6305	0.6051	0.7723	0.6266	0.6977
EST33	0.3379	0.3633	0.3503	0.4458	0.3695	0.5542	0.6367	0.6305	0.6621	0.6497
EST66	0.2949	0.2090	0.2480	0.4616	0.5045	0.5384	0.7910	0.4955	0.7051	0.7520
Mam03	0.4006	0.4599	0.4599	0.4458	0.4458	0.5542	0.5401	0.5542	0.5994	0.5401
Mam25	0.4175	0.3972	0.4915	0.4153	0.4458	0.5847	0.6028	0.5542	0.5825	0.5085
平均	0.3510	0.3757	0.3175	0.3818	0.4079	0.6182	0.6290	0.5921	0.6490	0.6825

注: A. 团头鲂; B. 三角鲂; C. 翘嘴鲌; D. 团头鲂♀×翘嘴鲌♂; E. 三角鲂♀×翘嘴鲌♂

Note: A. *Megalobrama amblycephala*; B. *Megalobrama terminalis*; C. *Erythroculter ilishaeformis*; D. *Megalobrama amblycephala* ♀×*Erythroculter ilishaeformis* ♂; E. *Megalobrama terminalis* ♀×*Erythroculter ilishaeformis* ♂

(*Tinca tinca*)(♂)<sup>[36]</sup>及其反交等。这些杂交组合均可受精并获得鱼苗,但子代的可育性以及成活率有所差异。总之,鱼类有着相对复杂遗传结构,很难

全部了解,因此,鱼类的远缘杂交具有良好的发展前景,可以利用更多的鱼类进行远缘杂交,获得更多具有杂种优势的良种。

表4 不同群体的Nei's遗传相似性(对角线上方)和遗传距离(对角线下方)

Tab. 4 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal)

群体 Population	A	B	C	D	E
A	****	0.9183	0.4207	0.7653	0.6661
B	0.0853	****	0.5984	0.7117	0.7224
C	0.5204	0.5135	****	0.6566	0.6213
D	0.3252	0.3401	0.4063	****	0.8784
E	0.3266	0.2676	0.4207	0.1296	****

注: A. 团头鲂; B. 三角鲂; C. 翘嘴鲌; D. 团头鲂♀×翘嘴鲌♂; E. 三角鲂♀×翘嘴鲌♂

Note: A. *Megalobrama amblycephala*; B. *Megalobrama terminalis*; C. *Erythroculter ilishaeformis*; D. *Megalobrama amblycephala*♀×*Erythroculter ilishaeformis*♂; E. *Megalobrama terminalis*♀×*Erythroculter ilishaeformis*♂

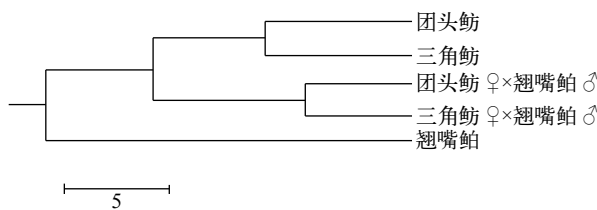


图3 不同群体的UPGMA聚类图

Fig. 3 Dendrogram of among various populations using UPGMA clustering method

本研究表明,遗传多样性和遗传潜力可通过期望杂合度( $H_e$ )、观测杂合度( $H_o$ )、等位基因的数目( $N_a$ )和多态性信息含量( $PIC$ )等遗传参数反映出来<sup>[37]</sup>。李思发等<sup>[38]</sup>研究表明杂交种表现性状会产生杂交优势,杂交鱼具有比双亲更为丰富的多态性。不同标记数和样本数量对遗传参数的影响很大<sup>[39]</sup>,本研究5个群体在同样样本数量的条件下,平均等位基因数( $N_a$ )分别为3.56、3.63、3.44、4.00和4.31,平均观测杂合度( $H_o$ )分别为0.3510、0.3757、0.3175、0.3818和0.4079,平均期望杂合度( $H_e$ )分别为0.6182、0.6290、0.5921、0.6490和0.6825,平均多态信息含量( $PIC$ )分别为0.5354、0.5367、0.5258、0.5785和0.6067。杂交群体的平均多态信息含量均大于它们的亲本群体,这可能是由于杂交子代整合了亲本的基因组。杂交群体平均多态信息含量( $PIC$ )>0.5000。在通常情况下, $PIC$ >0.5000为高度多态,0.2500< $PIC$ <0.5000为中度多态, $PIC$ <0.2500为低度多态<sup>[40]</sup>。综合各个遗传参数可以得出,杂交群体具有较高的遗传多样性。

利用UPGMA法对5个群体进行聚类分析,结果显示团头鲂与三角鲂首先聚类,团头鲂♀×翘嘴鲌♂与三角鲂♀×翘嘴鲌♂首先聚为一支,这2大支聚

类后又与翘嘴鲌聚类。通过聚类分析可以看出团头鲂与三角鲂遗传距离最近,2种杂交子代遗传距离最近,而翘嘴鲌与其他群体遗传距离较远。团头鲂和三角鲂属鲂属,而翘嘴鲌属鲌属,属内遗传距离要近于属间,这一点与结果相符。2种杂交子代聚类后先与母本聚类后的一支聚类,这是因为远缘杂交获得的子代都会有一定的形态差异<sup>[33, 34, 41]</sup>,双亲提供的遗传物质不相等。团头鲂♀×翘嘴鲌♂与母本团头鲂的遗传相似系数为0.7653,与父本翘嘴鲌的遗传相似系数为0.6566;三角鲂♀×翘嘴鲌♂与母本三角鲂的遗传相似系数为0.7224,与父本翘嘴鲌的遗传相似系数为0.6213。2种杂交鱼的在遗传上都有些偏向母本,但亲本偏向性都不算很大,整合了亲本的优良基因<sup>[42]</sup>,但继承母本的遗传物质较多一些,具有母本效应<sup>[38]</sup>,这为定向育种提供了一定帮助。

孟德尔分离定律指出在生物的体细胞中,控制同一性状的遗传因子成对存在,不相融合;在形成配子时,成对的遗传因子发生分离,分离后的遗传因子分别进入不同的配子中,随配子遗传给后代。通过引物TTF3在5个群体中的扩增电泳图谱以及引物Mam25在5个群体中的扩增电泳图谱可以看出,杂交子代均可扩增出清晰条带。通过对杂交子代和亲本的基因型分析,杂交子代的等位基因均来自于亲本,杂交子代通过杂交组合产生了新的基因型,符合孟德尔分离定律。

鱼类种质资源的研究对生物多样性的保护具有重要意义,实验筛选出具有特异性的TTF3、TTF4、TTF10以及Mam25四对引物,对于群体的鉴定、种质资源保护和有效的开发利用提供了一定的参考。目前,有研究表明鳊鲂杂种较双亲有明显生长优势<sup>[6]</sup>,本实验数据显示三角鲂×翘嘴鲌和团头鲂×翘嘴鲌的杂交群体具有较高的遗传多样性,可以使鱼类遗传育种的基因库得到一定的拓展,使原种的有利基因得到充分利用,对于原种来说具有明显杂交优势。本实验对三角鲂×翘嘴鲌和团头鲂×翘嘴鲌的杂交育种实践应用提供了理论依据。

#### 参考文献:

- [1] 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 [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. *中国水产科学*, 2006, 13(1): 151—158]
- [2] Zheng G D, Wang C L, Guo D D, et al. Ploidy level and performance in meiotic gynogenetic offsprings of grass

- carp using UV-irradiated blunt snout bream sperm [J]. *Aquaculture and Fisheries*, 2017, 2: 213—219
- [3] Lin Y H. A comparative of the karyotypes in Chinese bream, Herbivorous bream and their hybrid [J]. *Zoological Research*, 1984, 5(3): 65—67 [林义浩. 长春鳊、团头鲂及其杂种染色体组型的比较. 动物学研究, 1984, 5(3): 65—67]
- [4] Ge L R. The Biological characteristics and genetic analysis of the F1 hybrid of *Megalobrama amblycephala* (♀)×*Erythroculter ilishaeformis* (♂) [D]. Changsha: Hunan Normal University. 2011 [葛瑞玲. 团头鲂(♀)×翘嘴红鲌(♂)杂交 F1 的生物学特征及遗传分析. 长沙: 湖南师范大学. 2011]
- [5] Jin W K, Yang J X, Gao Y P, et al. The rate of flesh content, nutrient composition and the amino acid content of *Megalobrama amblycephala* (♀)×*Erythroculter ilishaeformis* (♂) [J]. *Freshwater Fisheries*, 2006, 36(1): 50—52 [金万昆, 杨建新, 高永平, 等. 团头鲂(♀)×翘嘴红鲌(♂)杂种 F1 的含肉率、肌肉营养成分及氨基酸含量. 淡水渔业, 2006, 36(1): 50—52]
- [6] Biology, Shanxi University, Taiyuan Agriculture and Forestry Water Service Station. Preliminary study on artificial hybridization of bream [J]. *Freshwater Fisheries*, 1973, (5): 6—9 [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. 淡水渔业科技动态, 1973, (5): 6—9]
- [7] Gu Z M, Jia Y Y, Ye J Y, et al. Studies on morphological characteristics and genetic analysis of the hybrid F1 *Erythroculter ilishaeformis* (♂)×*Megalobrama amblycephala* (♀) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2008, 32(4): 533—543 [顾志敏, 贾永义, 叶金云, 等. 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F1 的形态特征及遗传分析. 水产学报, 2008, 32(4): 533—543]
- [8] Zheng G D, Zhang Q Q, Li F G, et al. Genetic characteristics and growth performance of different *Megalobrama amblycephala* (♀)×*Erythroculter ilishaeformis* (♂) hybrids [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2015, 22(3): 402—409 [郑国栋, 张倩倩, 李福贵, 等. 团头鲂(♀)×翘嘴鲌(♂)杂交后代的遗传特征及生长差异. 中国水产科学, 2015, 22(3): 402—409]
- [9] Ma H J, Liu X T, Huang H, et al. Comparative analysis on the composition and composition pattern of essential amino acids in muscle of crossbreed F1 [*Megalobrama terminalis* (♀)×*Erythroculter ilishaeformis* (♂)] and its parents [J]. *Journal of Fisheries Research*, 2016, 38(4): 281—287 [马恒甲, 刘新轶, 黄辉, 等. 三角鲂(♀)×翘嘴红鲌(♂) F1 及其亲本肌肉成分与必需氨基酸组成模式的比较分析. 渔业研究, 2016, 38(4): 281—287]
- [10] Li S F. Introduction of improved varieties of fish No. 1 Pujiang *Megalobrama amblycephala* [J]. *China Fisheries*, 2001, (11): 52 [李思发. 鱼类良种介绍团头鲂浦江 1 号. 中国水产, 2001, (11): 52]
- [11] Tang S J, Li S F, Cai W Q. Development of microsatellite markers for blunt snout bream *Megalobrama amblycephala* using 5'-anchored PCR [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2009, 9(3): 971—974
- [12] Li W T, Liao X L, Yu X M, et al. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala*) [J]. *Molecular Ecology Notes*, 2007, 7(5): 771—773
- [13] Gao Z X, Luo W, Liu H, et al. Transcriptome analysis and SSR/SNP markers information of the blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e42637
- [14] Zhang Q Q, Chen J, Jiang X Y, et al. Establishment of DNA fingerprinting and analysis on genetic structure of different *Parabramis* and *Megalobrama* populations with microsatellite [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, 38(1): 15—22 [张倩倩, 陈杰, 蒋霞云, 等. 不同鳊鲂鱼类群体微卫星DNA指纹图谱的构建和遗传结构分. 水产学报, 2014, 38(1): 15—22]
- [15] Gao D, Du F, Zhu Y Y. Low-background and high-resolution contracted silver-stained method in polyacrylamide gels electrophoresis [J]. *Hereditas (Beijing)*, 2009, 31(6): 668—673
- [16] Wu X D, Lian Z Q, Hou Y X, et al. Application analysis of microsatellite makers from *Silurus meriaionals* on three species of siluriformes [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2011, 35(4): 638—645 [吴旭东, 连总强, 侯玉霞, 等. 大口鲶微卫星标记在三个鲶形目鱼类种群间适用性研究. 水生生物学报, 2011, 35(4): 638—645]
- [17] Yu D M, Ma H T, Sun X W. Genetic diversity in three rainbow trout populations as revealed by microsatellite markers [J]. *Journal of Zoology*, 2007, 42(4): 8—14 [于冬梅, 马海涛, 孙效文. 三个虹鳟养殖群体遗传结构的微卫星分析. 动物学杂志, 2007, 42(4): 8—14]
- [18] Lou Y D. Fish Breeding [M]. Beijing: China Agriculture Press. 2001 [楼允东. 鱼类育种学. 北京: 中国农业出版社. 2001]
- [19] Beijing Fisheries Station. Preliminary summary of introduction and hybridization of fish [J]. *Freshwater Fisheries*, 1973, (3): 15—18 [北京市水产实验站. 鱼类引种和杂交实验的初步总结. 淡水渔业, 1973, (3): 15—18]
- [20] Yangtze River Fisheries Research Institute. The hybrids of grass carp and Wuchang fish [J]. *Today Sciences and Technology*, 1972, (20): 42—43 [长江水产研究所. 草鱼和武昌鱼杂交种. 今日科技, 1972, (20): 42—43]
- [21] Yangtze River Fisheries Research Institute. Preliminary

- study on several kinds of economic fish and their hybrid chromosomes [J]. *Freshwater Fisheries*, 1975, (2): 11—13 [长江水产研究所. 几种经济鱼类及其杂种染色体的初步研究. 淡水渔业, 1975, (2): 11—13]
- [22] Liu S Y. Studies on cytogenetics of *Ctenopharyngodon idellus*, *Megalobrama terminalis* and their triploid F1 hybrid [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1987, **11**(1): 52—58 [刘思阳. 三倍体草鲂杂种及其双亲的细胞遗传学研究. 水生生物学报, 1987, **11**(1): 52—58]
- [23] Liu S Y, Li S W. On the Erythrocyte nucleus size and DNA contents of *Ctenopharyngodon idellus*, *Megalobrama terminalis* and their triploid F1 hybrid [J]. *Journal of Genetics*, 1987, (2): 62—68 [刘思阳, 李素文. 三倍体草鲂杂种及其双亲的红细胞(核)大小和DNA含量. 遗传学报, 1987, (2): 62—68]
- [24] Pan G B. Preliminary study on hybrid of silver carp and bream [J]. *Freshwater Fisheries*, 1987, **1**(1): 17—19 [潘光碧. 鲢鲂杂交鱼的初步研究. 淡水渔业, 1987, **1**(1): 17—19]
- [25] Zhu L F, Gui J F, Liang S C, *et al.* Isozyme expression of distant hybridization offspring and artificial triploid in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1993, **17**(4): 293—297 [朱蓝菲, 桂建芳, 梁绍昌, 等. 鲢的远缘杂交子代和人工三倍体的同工酶表达. 水生生物学报, 1993, **17**(4): 293—297]
- [26] Jin W K, Yang J X, Zhao Y S, *et al.* Compare the gonadal tissue of hybrid F1 of *Cyprinus carpio* var. *specularis* (♀) and *Megalobrama amblycephala* (♂) with parent [J]. *China Fisheries*, 2005, (7): 63—65 [金万昆, 杨建新, 赵宜双, 等. 框鳞镜鲤♀×团头鲂♂杂种F1与亲本性腺组织学比较研究. 中国水产, 2005, (7): 63—65]
- [27] Jin W K, Zhu Z X, Wang C Y, *et al.* The characteristics of hybrid F1 of *Cyprinus carpio* var. *specularis* (♀) and *Megalobrama amblycephala* (♂) [J]. *Freshwater Fisheries*, 2003, **33**(5): 16—18 [金万昆, 朱振秀, 王春英, 等. 框鳞镜鲤(♀)×团头鲂(♂)杂交及其杂种F1的形态学特征. 淡水渔业, 2003, **33**(5): 16—18]
- [28] Jin W K, Zhu Z X, Wang C Y, *et al.* A high survival rate of hybrid F1 was got from *Cyprinus carpio* L. Mirror (♀)×*Megalobrama amblycephala* (♂) [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2003, **10**(2): 159—159 [金万昆, 朱振秀, 王春英, 等. 散鳞镜鲤(♀)与团头鲂(♂)亚种间杂交获高成活率杂交后代. 中国水产科学, 2003, **10**(2): 159—159]
- [29] Foshan Guangdong Fisheries Bureau. The hybrid of *Megalobrama amblycephala* and *Parabramis pekinensis* [J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 1975, (4): 18—19 [广东省佛山地区水产局. 团头鲂长春鳊杂种. 水产科技情报, 1975, (4): 18—19]
- [30] Yangtze River Fisheries Research Institute. A brief introduction to breeding and basic theory of freshwater fish in two years [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 1975, (1): 45—47 [中国水产科学研究院长江水产研究所. 两年来淡水养殖鱼类优良品种选育和基础理论研究简况. 动物学杂志, 1975, (1): 45—47]
- [31] Ye X, Xie G, Qi B L, *et al.* Comparison of karyotypes of the F1 hybrid (*Megalobrama hoffmanni* ♀×*M. amblycephala* ♂) with its parents [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2002, **17**(2): 102—107 [叶星, 谢刚, 祁宝伦, 等. 广东鲂(♀)×团头鲂(♂)杂交子一代及其双亲染色体组型的分析. 大连海洋大学学报, 2002, **17**(2): 102—107]
- [32] Ye X, Xie G, Xu S Y, *et al.* Comparison on isozymes of F1 hybrid *Megalobrama hoffmanni* (♀)×*Megalobrama amblycephala* (♂) and its parents [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2001, **10**(2): 118—122 [叶星, 谢刚, 许淑英, 等. 广东鲂(♀)×团头鲂(♂)杂交子一代及其双亲同工酶的比较. 上海海洋大学学报, 2001, **10**(2): 118—122]
- [33] Yang H Y, Li S F, Zou S M. A primary study on inheritance of morphological traits from *Megalobrama amblycephala*, *Megalobrama terminalis* to their reciprocal hybrids (F1) [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2002, **11**(4): 305—309 [杨怀宇, 李思发, 邹曙明. 三角鲂与团头鲂正反交 F1 的遗传性状. 上海海洋大学学报, 2002, **11**(4): 305—309]
- [34] Zhu H P, Huang Z H, Lu M X. A comparative study on isozymes of *Erythroculter ilishaeformis* Bleeker and *Erythroculter recurviceps* Richardson [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2003, **18**(3): 175—179 [朱华平, 黄樟翰, 卢迈新. 翘嘴红鲌和海南红鲌同工酶的比较研究. 大连水产学院学报, 2003, **18**(3): 175—179]
- [35] Hu J, Liu S, Xiao J, *et al.* Characteristics of diploid and triploid hybrids derived from female *Megalobrama amblycephala* (♀)×*Xenocypris davidi* Bleeker (♂) [J]. *Aquaculture*, 2012, (364—365): 157—164
- [36] Zou S, Li S, Cai W, *et al.* Ploidy polymorphism and morphological variation among reciprocal hybrids by *Megalobrama amblycephala*×*Tinca tinca* [J]. *Aquaculture*, 2007, **270**(1—4): 574—579
- [37] Yang H, Li D Y, Cao X, *et al.* Genetic potential analysis of six *Tilapia* populations by microsatellite DNA markers [J]. *Hereditas*, 2011, **33**(7): 768—775
- [38] Li S F, Chen L, Cai W Q. Genetic variations among a new tilapia hybrid [NEW GIFT *Tilapia* (*Oreochromis niloticus*)♀×blue tilapia (*O. aureas*)♂] and four closed genotypes of tilapia by RAPD and SSR analysis [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2008, **32**(5): 657—664 [李

- 思发, 陈林, 蔡完其. 吉奥罗非鱼(新吉富罗非鱼♀×奥利亚罗非鱼♂)和4个近缘遗传型罗非鱼的遗传差异的RAPD、SSR比较分析. 水产学报, 2008, 32(5): 657—664]
- [39] Li O, Zhao Y Y, Guo N, *et al.* Effects of sample size and loci number on genetic diversity in wild population of grass carp revealed by SSR [J]. *Zoological Research*, 2009, 30(2): 121—130
- [40] Botstein D, White R L, Skolnick M, *et al.* Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. *American Journal of Human Genetics*, 1980, (32): 314—331
- [41] Mi G Q, Zhao J L, Jia Y Y, *et al.* Morphological and microsatellite analysis of *Siniperca chautsi* ♀×*Siniperca scherzeri* ♂ hybrid with their parents [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2010, 19(2): 145—150 [宓国强, 赵金良, 贾永义, 等. 鳊(♀)×斑鳊(♂)杂种F1的形态特征与微卫星分析. 上海海洋大学学报, 2010, 19(2): 145—150]
- [42] Jia Y Y, Gu Z M, Ye J Y, *et al.* Analysis on genetic variations of *Erythroculter ilishaeformis* (♀)×*Megalobrama amblycephala* (♂) Hybrids F1 by SRAP markers [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2011, 20(2): 198—203 [贾永义, 顾志敏, 叶金云, 等. 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种F1的SRAP标记分析. 上海海洋大学学报, 2011, 20(2): 198—203]

## MICROSATELLITE MARKERS ANALYSIS OF TWO HYBRIDS OF *MEGALOBrama TERMINALIS* × *ERYTHROculTER ILISHAE- FORMIS*, *MEGALOBrama AMBLYCEPHALA* × *ERYTHROculTER ILISHAEFORMIS*

SU Xiao-Lei, ZHENG Guo-Dong, JIANG Xia-Yun and ZOU Shu-Ming

(Genetics and Breeding Center for Blunt Snout Bream, Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** To guide breeding of *Megalobrama terminalis*, *Megalobrama amblycephala* and *Erythroculter ilishaeformis*, two hybrids *Megalobrama amblycephala*×*Erythroculter ilishaeformis*, *Megalobrama terminalis*×*Erythroculter ilishaeformis* and their parents were analyzed using sixteen microsatellite markers. The mean value of number of alleles ( $N_a$ ) were 3.56, 3.63, 3.44, 4.00 and 4.31, respectively. The mean value of observed heterozygosity ( $H_o$ ) were 0.3510, 0.3757, 0.3175, 0.3818, and 0.4079, respectively. The mean value of expected heterozygosity ( $H_e$ ) were 0.6182, 0.6290, 0.5921, 0.6490 and 0.6825, respectively. And the average value of polymorphism information content (PIC) were 0.5354, 0.5367, 0.5258, 0.5785, and 0.6067, respectively. The average value of polymorphism information content (PIC) of two hybrid population were higher than their parent *Megalobrama amblycephala*, *Megalobrama terminalis* and *Erythroculter ilishaeformis*, indicating a high genetic diversity. The unweighted pair-group method with arithmetic means (UPGMA) showed that populations of the *Megalobrama amblycephala* and *Megalobrama terminalis* first grouped together, and that *Megalobrama amblycephala*♀×*Erythroculter ilishaeformis*♂ and *Megalobrama terminalis*♀×*Erythroculter ilishaeformis*♂ first grouped together, and then they clustered with the *Erythroculter ilishaeformis*. In addition, the farthest genetic distance (0.5204) was between *Megalobrama amblycephala* and *Erythroculter ilishaeformis*, and the nearest genetic distance (0.0853) was between *Megalobrama amblycephala* and *Megalobrama terminalis*. According to the genetic identity analysis, two hybrids groups showed the maternal effect. The alleles of two hybrids were from their parents based on genetic analysis. Particularly, microsatellite primers TTF3, TTF4, TTF10, and Mam25 identified 5 groups. Our results provide important value in breeding, germplasm resources preservation, and germplasm identification of *Megalobrama terminalis*×*Erythroculter ilishaeformis* and *Megalobrama amblycephala*×*Erythroculter ilishaeformis*.

**Key words:** *Megalobrama amblycephala*; *Megalobrama terminalis*; *Erythroculter ilishaeformis*; Genetic structure; Microsatellite