

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2012.00070

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

蔡磊^{1,2}, 白俊杰^{1,2}, 李胜杰¹, 陈昆慈¹, 樊佳佳¹, 马冬梅¹

1. 中国水产科学研究院 珠江水产研究所, 农业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: 用 18 对微卫星引物对大口黑鲈北方亚种(*Micropterus salmoides salmoides*, N)、佛罗里达亚种(*M. salmoides floridanus*, F)及其正反交子代($N♀ \times F♂$)和反交子代($F♀ \times N♂$)进行遗传多样性和遗传结构分析。结果表明, 18 对引物扩增出的等位基因数为 2~8 个, 平均等位基因数为 5.0。检测到 6 对(Jzl48、Jzl68、Jzl84、MiSaTPW76、Msal21、Mdo6 和 Mdo7)亚种间特异性引物, 其中有 2 对引物(Jzl48 和 Mdo7)可以用来鉴别大口黑鲈北方亚种、佛罗里达亚种和其杂交子代。平均有效等位基因数、平均期望杂合度和平均多态信息含量均为杂交组合 $F♀ \times N♂$ 最高, 分别为 3.199 7, 0.638 9 和 0.570 6, 平均观测杂合度为杂交组合 $N♀ \times F♂$ 最高(0.848 8)。对亲代与杂交子代间的遗传分化分析表明, 正反交子代均与北方亚种的遗传分化最小(0.092 和 0.119 6)。基于 Nei's 遗传距离构建的 UPGMA 系统进化树显示正反交子代 $N♀ \times F♂$ 与母本 N 聚为一支, 反交子代 $F♀ \times N♂$ 与父本 N 聚为一支。

关键词: 大口黑鲈北方亚种; 佛罗里达亚种; 杂交; 微卫星标记; 遗传关系

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2012)01-0070-07

大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)原产于北美洲, 是一种世界性的游钓鱼类, 20 世纪 70 年代末中国台湾从国外引进大口黑鲈, 并于 1983 年人工繁殖获得成功, 同年大口黑鲈引入广东省, 现已推广到全国各地, 成为国内重要的淡水养殖品种之一^[1]。根据原产地的地理分布和形态学方面的不同, 大口黑鲈被分为 2 个亚种: 一种是分布在美国中东部、墨西哥东北部和加拿大东南部的大口黑鲈北方亚种(*M. salmoides salmoides*)^[2], 另一种是分布在佛罗里达州南部的大口黑鲈佛罗里达亚种(*M. salmoides floridanus*)^[3]。樊佳佳等^[4]利用形态学和特异性的微卫星标记对国内养殖大口黑鲈的亚种分类地位进行鉴定, 认为其属于北方亚种。大口黑鲈两亚种的自然种群易发生杂交, 对杂交子代与亲本佛罗里达亚种和北方亚种在生长性能方

面的研究结论却存在分歧: Williamson 等^[5]在美国南部德克萨斯州对大口黑鲈进行亚种间杂交和生长性能测定, 结果显示杂交种的生长性能不如大口黑鲈北方亚种, 而 Kleinsasser 等^[6]在美国南部德克萨斯州进行类似的杂交性能测定, 结果认为佛罗里达亚种 $♀ \times$ 北方亚种 $♂$ 的杂交子代最具生长优势。目前国内还未见大口黑鲈亚种之间杂交研究的报道。

本研究选用微卫星标记对大口黑鲈北方亚种、佛罗里达亚种及其正反交子代的遗传结构进行分析, 以期为大口黑鲈的杂交育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用大口黑鲈北方亚种和佛罗里达亚种亲鱼均取自中国水产科学研究院珠江水产研究所良

收稿日期: 2011-04-06; 修订日期: 2011-07-08.

基金项目: 农业部 948 项目(2010Z9); 农业部公益性行业科研专项(200903045); 国家科技支撑计划项目(2006BAD01A1209); 广东省科技计划项目(2007B020708008).

作者简介: 蔡磊(1986-), 男, 硕士研究生, 主要从事水生生物遗传育种研究. E-mail: cailei17@163.com

通信作者: 白俊杰, 研究员. Tel: 020-81616129; E-mail: jjbai@163.net

种基地, 其中北方亚种为 1983 年引进的养殖种; 佛罗里达亚种为本实验室于 2009 年从美国原产地引进。2010 年 3 月挑选性腺发育好的 1 龄大口黑鲈北方亚种和佛罗里达亚种亲鱼, 体质量在 0.5~0.6 kg 之间, 注射 LHR-A₂ 和 DOM 进行人工催产。然后取北方亚种雌与佛罗里达亚种雄各 5 尾、北方亚种雄 6 尾与佛罗里达亚种雌 5 尾进行杂交配组, 于 2 个水泥池中进行群体自然繁殖。繁殖完毕后, 分别剪取 11 尾北方亚种(N)亲鱼和 10 尾佛罗里达亚种(F)亲鱼的部分尾鳍固定于 95%的乙醇中。杂交子代在 3 月龄时, 各取 36 尾杂交子代的部分尾鳍固定于 95%的乙醇中。为简便起见, 将北方亚种♀×佛罗里达亚种♂杂交后代定为正交子代(记为 NF), 佛罗里达亚种♀×北方亚种♂定为反交子代(记为 FN)。

1.2 亲本及子代基因组 DNA 的提取

参照北京天根动物基因组 DNA 抽提试剂盒说明书的方法, 提取样品基因组 DNA。并用 8 mg/mL(0.8%)的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量, 用紫外分光光度计测定 OD₂₆₀ 和 OD₂₈₀, 取出部分 DNA 样品将浓度调至 50 ng/μL, 保存于-20℃备用。

1.3 微卫星引物

18 对大口黑鲈微卫星引物(表 1)中有 9 对为本实验室通过磁珠富集法^[7]获得, 9 对来自文献[8]。

所有引物均由上海生工生物工程技术有限公司合成。

1.4 PCR 扩增及产物检测

PCR 反应总体系为 20 μL: 50 ng 的基因组 DNA, 10×buffer 2 μL, MgCL₂(25 mmol/L) 0.8 μL, 4× dNTP (10 μmol/L) 0.3 μL, 上、下游引物(20 pmol/L)各 0.5 μL, Taq 酶 1 U。PCR 反应程序为: 94℃预变性 4 min; 94℃ 30 s, 退火(退火温度依引物而定)30 s, 72℃ 30 s, 30 个循环; 72℃延伸 7 min。PCR 产物在 10%的非变性聚丙烯酰胺凝胶中分离, 硝酸银染色。

1.5 数据统计分析

利用 Popgene32(Version 1.31)软件统计分析微卫星基因座的等位基因数(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)、 χ^2 检验 Hardy-Weinberg 平衡、遗传分化指数 F -统计量(F -statistics, F_{ST})及 Nei's 标准遗传距离(D_s)^[9]。根据 Botstein 等^[10]的方法计算每个微卫星位点的多态信息含量(PIC)。应用软件 MEGA 4.0 采用 UPGMA 法进行聚类分析, 以分析亲缘关系。

2 结果与分析

2.1 微卫星扩增结果

试验所用 18 对微卫星引物均能在所有 DNA 样品中稳定地扩增出相应条带(图 1)。各微卫星引物在

表 1 18 对引物序列及扩增温度
Tab.1 Primer sequences and PCR amplification parameters of microsatellite loci in *Micropterus salmoides*

位点 locus	引物序列(5'-3') primer sequence(5'-3')	退火温度/℃ anneal. temp.
Jzl31	F:TGGACTGAGGCTACAGCAGA; R: CCAAGAGAGTCCCAAATGGA	60
Jzl48	F:TCGACGATCAATGGACTGAA; R: TCTGGACAACACAGGTGAGG	55
Jzl60	F:AGTTAACCCGCTTGTGCTG; R: GAAGGCGAAGAAGGGAGAGT	60
Jzl68	F:AGGCACCGTCTTCTCTTCA; R: CATTGTGGGTGCATTCTCC	58
Jzl72	F:AGGGTTCATGTTTCATGGTAG; R: ACACAGTGGCAAATGGAGGT	58
Jzl83	F:TGTGGCAAAGACTGAGTGGA; R: ATTTCTCAACGTGCCAGGTC	55
Jzl84	F:GAAAACAGCCTCGGGTGTA; R: CACTTGTGCTGCGTCTGTT	55
Jzl85	F:GGGGCTCACTCACTGTGTTT; R: GTGCGCAGACAGCTAGACAG	56
Jzl131	F:CAAATGCCCGGTCCACAATAAC; R:GTATTTGAGCCGGATGATAAGTG	55
Lar7	F: GTGCTAATAAAGGCTACTGTC; R: TGTTCCTTAATTGTTTTGA	47
Lma120	F:TGTCCACCCAAACTTAAGCC; R: TAAGCCCATTCCCAATTCTCC	54
Mdo6	F:TGAAATGTACGCCAGAGCAG; R: TGTGTGGGTGTTTATGTGGG	55
Mdo7	F:GTCACTCCCATCATGCTCCT; R: TCAAACGCACCTTCACTGAC	53
Msal21	F:CACTGTAAATGGCACCTGTGG; R: GTTGTCAGTCGATAGTCCGC	58
MiSaTPW76	F:ACACAGTGTCAAGTTCGCA; R: GTGAATACCTCAGCAAGCAT	48
MiSaTPW117	F:TGTGAAAGGCACAACACAGCCTGC; R: ATCGACCTGCAGACCAGCAACACT	55
MiSaTPW165	F:GTTTCGATCTGAATGCATGTGGTG; R: TGAAGGTATTAGCCTCAGCCTACA	55
MiSaTPW184	F:TTGTATACCAAGTGACCTGTGG; R: GGGAGTGCATCTTCTGAAGTGCC	47

亲本及杂交子代 93 个个体中的等位基因数为 2~8 个, 平均等位基因数为 5.0, 平均有效等位基因数为 3.55, 扩增片段大小在 131~268 bp 之间。

大口黑鲈北方亚种亲本、佛罗里达亚种亲本及杂交子代在各位点的等位基因数及有效等位基因数见表 2。18 个位点在亲代大口黑鲈中共扩增出 87 个等位基因, 在杂交子代中共扩增出 81 个等位基因。位点 *Jzl48*、*Jzl68*、*Jzl84*、*MiSaTPW76*、*Msal21*、*Mdo6*、*Mdo7* 在本实验所用大口黑鲈北方亚种和佛罗里达亚种样本间扩增出亚种间特异性条带。其中引物 *Jzl48* 在北方亚种中扩增出 2 种基因型(215 bp/219 bp, 219 bp/219 bp), 在佛罗里达亚种中为单态(203 bp), 在杂交子代中扩增出 2 种基因型(203 bp/215 bp, 203 bp/219 bp); 引物 *Mdo7* 在北方亚种和佛罗里达亚种中均表现为单态, 分别扩增出大小为 165 bp 和 174 bp 的条带, 在杂交子代中却扩增出 2 种基因型 (165 bp/174 bp, 174 bp/182 bp), 其中有 1 条 182 bp 的非亲条带。结果表明, *Jzl48* 和 *Mdo7* 可有效鉴别大口黑鲈北方亚种、佛罗里达亚种及其杂交子代。

2.2 遗传多样性分析

18 个位点中仅 *Msal21*、*MiSaTPW184*、*Jzl131* 和 *Mdo6* 位点的多态信息含量(PIC)小于 0.5, 为中度或者低度多态, 其余位点均为高度多态, 说明所选微卫星引物多态性较好, 可以用于遗传多样性分析(表 2)。根据每个位点的等位基因频率, 计算反映群体遗传多样性的有效等位基因数、观测杂合度、期望杂合度以及多态信息含量, 其平均数值范围分别为 2.498 1~3.199 7、0.555 6~0.848 8、0.524 8~0.638 9、

0.450 6~0.570 6。平均有效等位基因数、平均期望杂合度、平均多态信息含量均为反交子代($F♀ \times N♂$)最高, 分别为 3.199 7、0.638 9、0.570 6, 但平均观测杂合度为正交子代($N♀ \times F♂$)最高, 为 0.848 8。这些指标的分析结果表明, 反交子代的遗传多样性最高, 正交子代和佛罗里达亚种次之, 北方亚种遗传多样性最低。

对各组合每个位点进行 Hardy-Weinberg 平衡的 χ^2 检验, 结果表明 N 中有 5 个位点偏离平衡, F 中有 7 个位点偏离平衡, 正交子代中除 *Msal21*(0.226 7)和 *M184*(0.129 0)位点外, 其余位点均偏离平衡, 反交子代中位点全部偏离平衡($P>0.05$)。

2.3 群体间遗传结构分析

通过对大口黑鲈北方亚种、佛罗里达亚种及其正反交子代进行 *F* 检验(表 3), 结果显示北方亚种与佛罗里达亚种间的遗传分化指数最大($F_{ST}=0.240 9$), 达到高度分化; 两个杂交组合 NF 和 FN 间的遗传分化指数最小(0.067 8), 为中度分化。对亲代与子代间的遗传分化指数对比发现, 正反交子代均与北方亚种的遗传分化指数最小(0.092 0, 0.119 6), 组合间遗传分化差异极显著($P<0.01$)。

对正反交子代与其亲本的遗传相似率和遗传距离分别进行分析(表 4), 发现正反交子代均与北方亚种的遗传相似率较高。根据亲本与子代间的遗传距离, 采用 UPGMA 法构建正反交子代与亲本的系统进化树(图 2), 由图可知, 正、反交子代首先聚为一支, 然后再与北方亚种聚为一支, 最后与佛罗里达亚种聚合。

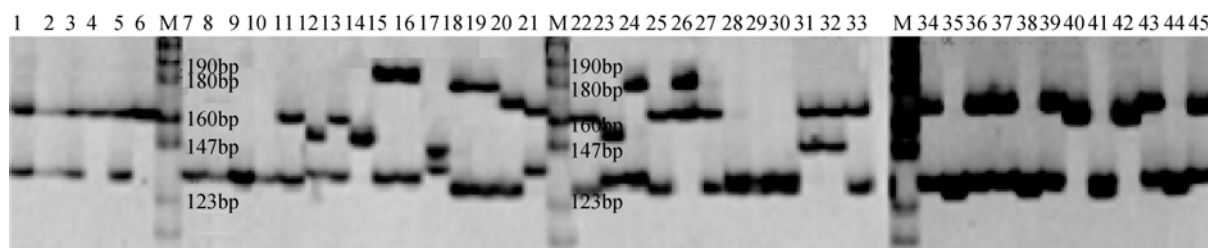


图 1 引物 Lar7 在北方亚种、佛罗里达亚种及部分杂交子代个体中的扩增结果

1~11: 北方亚种; 12~21: 佛罗里达亚种; 22~33: 反交子代($F♀ \times N♂$); 33~45: 正交子代($N♀ \times F♂$); M: marker.

Fig.1 Electrophoresis results of primer Lar7 in part individuals of four *Micropterus salmoides* groups

1~11: *M.s.salmoides*; 12~21: *M.s.floridanus*; 22~33: *M.s.floridanus*♀ × *M.s.salmoides*♂; 33~45: *M.s.salmoides*♀ × *M.s.floridanus*♂; M: marker.

表 2 大口黑鲈北方亚种、佛罗里达亚种及其杂交子代在 18 个微卫星位点的等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)及多态信息含量(PIC)

位点 locus	北方亚种 <i>M.s.salmoides</i>			佛罗里达亚种 <i>M. s. floridanus</i>			正交子代 <i>M.s.salmoides</i> ♀× <i>M.s.floridanus</i> ♂			反交子代 <i>M.s.floridanus</i> ♀× <i>M.s.salmoides</i> ♂		
	N_a	N_e	PIC	N_a	N_e	PIC	N_a	N_e	PIC	N_a	N_e	PIC
<i>Jzl31</i>	3	2.1416	0.4315	2	2.0000	0.3750	4	3.3402	0.6457	2	2.0000	0.3750
<i>Jzl48</i>	2	1.7664	0.3397	1	1.0000	0.0000	3	2.6557	0.5525	3	2.3330	0.4850
<i>Jzl60</i>	6	4.6538	0.7534	6	5.5556	0.7947	5	4.0627	0.7115	6	5.0625	0.7750
<i>Jzl68</i>	3	2.5474	0.5244	3	2.4691	0.5279	4	3.2645	0.6377	5	4.0819	0.7152
<i>Jzl72</i>	5	4.1724	0.7236	5	4.1667	0.7224	6	4.3056	0.7323	5	4.5000	0.7425
<i>Jzl83</i>	5	4.1017	0.7184	6	5.1282	0.7757	4	3.2279	0.6360	5	3.9938	0.7043
<i>Jzl84</i>	4	3.2267	0.6408	3	2.4096	0.5434	4	3.2852	0.6406	5	3.8629	0.6970
<i>Jzl85</i>	2	1.1980	0.1516	3	1.9417	0.4063	4	2.6288	0.5458	3	2.6557	0.5525
<i>Jzl131</i>	2	1.9836	0.3729	1	1.0000	0.0000	3	2.5019	0.5204	1	1.0000	0.0000
<i>Lar7</i>	4	3.2703	0.6368	7	6.0606	0.8132	6	4.4082	0.7435	6	5.2153	0.7809
<i>Lma120</i>	3	2.6593	0.5532	2	1.7241	0.3318	3	2.3226	0.4767	4	3.0387	0.6100
<i>Mdo6</i>	3	1.3224	0.2284	2	1.3423	0.2224	2	2.0000	0.3750	2	2.0000	0.3750
<i>Mdo7</i>	1	1.0000	0.0000	1	1.0000	0.0000	3	2.3715	0.4893	2	2.0000	0.3750
<i>Msal21</i>	1	1.0000	0.0000	3	2.5316	0.5269	3	1.7109	0.3688	3	2.4804	0.5274
<i>MiSaTPW76</i>	3	2.5474	0.5244	5	3.8462	0.6965	4	2.9026	0.5957	6	4.0691	0.7222
<i>MiSaTPW117</i>	4	3.4085	0.6555	5	3.1250	0.6420	3	1.9817	0.3972	5	3.3019	0.6453
<i>MiSaTPW165</i>	4	2.9877	0.6041	4	2.4390	0.5039	4	3.2645	0.6377	4	3.8457	0.6917
<i>MiSaTPW184</i>	2	1.4235	0.2532	3	2.3810	0.4918	2	1.4922	0.2754	3	2.2717	0.4971
平均 mean	3.1667	2.4981	0.4506	3.4444	2.7845	0.4652	3.7222	2.8737	0.5545	3.8889	3.1997	0.5706

表 3 大口黑鲈北方亚种、佛罗里达亚种及其子代的 F -统计量(F_{ST})

	北方亚种 <i>M.s.salmoides</i>	佛罗里达亚种 <i>M. s. floridanus</i>	正交子代 <i>M.s.salmoides</i> ♀× <i>M.s.floridanus</i> ♂	反交子代 <i>M.s.floridanus</i> ♀× <i>M.s.salmoides</i> ♂
北方亚种 <i>M.s.salmoides</i>	****	****	****	****
佛罗里达亚种 <i>M. s. floridanus</i>	0.2409	****	****	****
正交子代 <i>M.s.salmoides</i> ♀× <i>M. s. floridanus</i> ♂	0.1026	0.1318	****	****
反交子代 <i>M.s.floridanus</i> ♀× <i>M. s. salmoides</i> ♂	0.0920	0.0932	0.0680	****

表 4 大口黑鲈北方亚种、佛罗里达亚种及其正反交子代的遗传相似率和遗传距离

	北方亚种 <i>M.s.salmoides</i>	佛罗里达亚种 <i>M.s.floridanus</i>	正交子代 <i>M.s.salmoides</i> ♀× <i>M.s.floridanus</i> ♂	反交子代 <i>M.s.floridanus</i> ♀× <i>M.s.salmoides</i> ♂
北方亚种 <i>M.s.salmoides</i>	****	0.3467	0.7488	0.6283
佛罗里达亚种 <i>M. s. floridanus</i>	1.0594	****	0.7479	0.7285
正交子代 <i>M.s.salmoides</i> ♀× <i>M. s. floridanus</i> ♂	0.2893	0.2904	****	0.7570
反交子代 <i>M.s.floridanus</i> ♀× <i>M. s. salmoides</i> ♂	0.4647	0.3168	0.2784	****

注:对角线以上的数字表示群体间的相似性指数, 对角线以下的数字表示群体间的相对遗传距离。

Note: The dates above diagonal mean genetic similarity and below mean genetic distance.

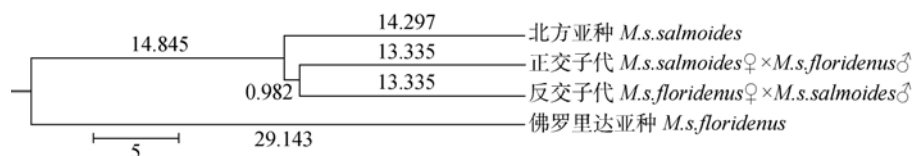


图 2 大口黑鲈北方亚种、佛罗里达亚种及其杂交子代的 UPGMA 聚类分析图

Fig.2 UPGMA molecular tree based on genetic distance of *M. salmoides salmoides*, *M. salmoides floridanus* and their hybrids

3 讨论

3.1 非孟德尔遗传位点的出现

微卫星标记是符合孟德尔分离定律的共显性遗传标记,理论上微卫星扩增产物在亲代与子代之间应以孟德尔方式传递,表现为子代的条带均来自亲代。本实验在读取大口黑鲈北方亚种、佛罗里达亚种及其正反交子代的微卫星标记谱带时发现,引物 Mdo7 在 7 个正交子代个体中扩增出 1 条大小为 182 bp 的非亲条带,分析其可能源自于杂交细胞分裂过程中染色体的结构重排、断裂以及丢失^[11]。这种非亲位点在鱼类杂交实验中也有报道^[12-13],但出现的比例通常较低。

3.2 杂交子代与亲本间遗传关系的偏向

本研究中正反交子代在遗传相似性和遗传距离上,均表现出杂交子代与大口黑鲈北方亚种的亲缘关系相近。杂交子代与两亲本的遗传距离不对等的现象在其他鱼类的杂交实验中也常有出现,如虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)♀×山女鳟(*Oncorhynchus masou masou*)♂的杂交子代在遗传上偏向父本山女鳟^[14],大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)♀×黄姑鱼(*Nibea albiflora*)♂的杂交子代与母本大黄鱼亲缘关系较近^[15]。荷包红鲤(*Cyprinus carpio* var. *wuyuanensi*)与德国镜鲤(*Cyprinus carpio* mirror)正反交子代均与荷包红鲤的亲缘关系较近^[16]。遗传物质对子代的贡献不对等的现象,推测是由于两亲本基因的纯合度不同,导致基因纯度较高亲本的基因型在后代中被检测到的几率增加造成的。本研究中检测到北方亚种基因的纯合度要比佛罗里达亚种高,这样北方亚种的基因型在后代中被检测到的几率也相应要比佛罗里达亚种高。但也有学者认为杂交遗传过程中的重组和突变、着丝粒和异染色质附近区域微卫星标记

的偏分离聚集^[17],以及发育过程中染色体的选择性丢失^[18]等原因也会导致这种双亲遗传给子代的比例失衡。

3.3 大口黑鲈北方亚种和佛罗里达亚种杂交机制

目前鱼类杂交已涉及 3 个目、7 个科,共 40 多种鱼类^[19],由于亲本遗传背景的差异,杂交遗传的方式也不尽相同,如双亲精卵未发生结合的雌核、雄核发育^[20],双亲部分遗传物质发生合并或交换^[19]以及真正的精卵结合^[21]。本研究在对 18 对微卫星标记谱带研究时发现,杂交子代的等位基因除 1 条非亲条带外,全部来自父母本,符合孟德尔遗传机制,表明大口黑鲈亚种间杂交后代是精卵结合发育的产物,这一结论与杂交子代的表型是介于两亲本之间的结果相吻合。Wheat 等^[22]在进行同属的大口黑鲈与小口黑鲈(*Micropterus dolomieu*)的种间杂交试验时,也获得了精卵结合的杂交子代,产生精卵结合的结果与两个亲本物种的亲缘关系较近有关。

3.4 杂种优势预测

杂交能够产生杂种优势的原因之一在于杂交过程增加了基因的杂合性,改变了不同位点上的基因互作^[23]。王爱民等^[24]对马氏珠母贝(*Pinctada martensii*)三亚野生群体♀与印度养殖群体♂的杂交试验证明,杂交子代的杂种优势与其杂合度和遗传多样性的增加直接相关。Shikano 等^[25]对模式动物青鳉(*Poecilia reticulata*)不同品系间杂交后代抗盐能力与平均杂合度之间的关系进行研究发现,其耐盐能力与平均杂合度存在显著的正相关($r^2=0.650$)。本研究在对大口黑鲈北方亚种、佛罗里达亚种及其杂交子代的遗传结构进行分析时发现,杂交子代的平均有效等位基因数(N_e)和杂合度(H_o , H_e)均明显高于两亲本,基因杂合性有所增加,杂种优势显性学说认为,当基因型和环

境之间达到一种相互协调的平衡时, 基因的杂合性能提高机体的生活力、繁殖力和生长速度等, 推测大口黑鲈亚种间杂种子代可能具有杂种优势。在水产动物中亚种间杂交的后代显示出杂种优势的现象也很常见, 如分别属于两个亚种的邹纹盘鲍(*Haliotis discus hannai* Ino)和日本盘鲍(*Haliotis discus discus* Ino)的杂交子代在生长率和成活率方面均具有较强的杂种优势^[26]。黑莓鲈(*Pomoxis nigromaculatus*)和白莓鲈(*P. annularis*)的亚种间杂交后代的生长速率明显高于两亲本^[27]。对正反交子代的遗传多样性指标分析发现, 反交子代无论在有效等位基因数、杂合度还是多态信息含量上均比正交子代高, 预测反交组合更具有育种潜力。

参考文献:

- [1] Bailey R M, Hubbs C L. The black basses (*Micropterus*) of Florida, with description of a new species [J]. Univ Mich Mus Zool Occasion Papers, 1949, 516: 1–40.
- [2] Maceina M J, Murphy B R. Stocking Florida largemouth bass outside its native range [J]. Trans Am Fish Soc, 1992, 121: 686–691.
- [3] Bai J J, Lutz-Carrillo D J, Quan Y, et al. Taxonomic status and genetic diversity of cultured largemouth bass *Micropterus salmoides* in China[J]. Aquaculture, 2008, 278(1–4): 27–30.
- [4] 樊佳佳, 白俊杰, 叶星, 等. 中国养殖大口黑鲈的亚种分类地位探讨[J]. 大连水产学院学报, 2009, 24(1): 83–86.
- [5] Williamson J H, Carmichael G J. An aquacultural evaluation of Florida, northern, and hybrid largemouth bass, *Micropterus salmoides* [J]. Aquaculture, 1990, 85(1–4): 247–257.
- [6] Kleinsasser L J, Williamson J H, Whiteside B G. Growth and catchability of northern, Florida, and F₁ hybrid largemouth bass in Texas ponds[J]. N Am J Fish Manag, 1990, 10: 462–468.
- [7] 梁素娴, 孙效文, 白俊杰, 等. 微卫星标记对中国引进加州鲈养殖群体遗传多样性的分析[J]. 水生生物学报, 2008, 32(5): 80–86.
- [8] Carrillo D J L, Nice C C, Bonner T H, et al. Admixture analysis of Florida largemouth bass and northern largemouth bass using microsatellite Loci[J]. Trans Am Fish Soc, 2006, 135: 779–791.
- [9] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals[J]. Genetics, 1978, 89: 583–590.
- [10] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. Am J Human Genet, 1980, 32: 314–331.
- [11] Faure S, Noyer J L, Horry J P A. A molecular marker-based linkage map of diploid bananas(*Mum accuminata*)[J]. Theoret Appl Genet, 1993, 87: 517–526 .
- [12] 李莉好, 喻达辉, 黄桂菊, 等. 尼罗罗非鱼、奥利亚罗非鱼及其正、杂交群体的遗传多样性[J]. 中国水产科学, 2008, 15(4): 585–592.
- [13] 傅建军, 王荣泉, 刘峰, 等. 草鱼长江和珠江群体及长江♀×珠江♂杂交组合遗传差异的微卫星分析[J]. 上海海洋大学学报, 2010, 19(4): 433–439.
- [14] 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.
- [15] 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 AFLP 分析[J]. 水产学报, 2010, 31(6): 672–678.
- [16] 池喜峰, 贾智英, 李池陶, 等. 荷包红鲤与德国镜鲤正反杂交组遗传结构的微卫星分析[J]. 大连海洋大学学报, 2010, 25(5): 450–455.
- [17] 张玉山, 陈庆全, 吴薇, 等. 水稻 SSR 标记遗传连锁图谱着丝粒的整合及其偏分离分析[J]. 华中农业大学学报, 2008, 7(2): 167–171.
- [18] Estoup A, Jarne P, Cornuet J. Homoplasmy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetics analysis[J]. Mol Ecol, 2002, 1(9): 1591–1604.
- [19] 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.
- [20] 王晓清, 王志勇, 谢中国, 等. 大黄鱼(♀)与鲢鱼(♂)杂交的遗传分析[J]. 水产学报, 2008, 32(1): 51–57.
- [21] 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[J]. 上海海洋大学学报, 2010, 19(2): 145–150.
- [22] Wheat T E, Childers W F, Whitt G S. Biochemical genetics of hybrid sunfish: differential survival of heterozygotes[J]. Biochem Genet, 1974, 11(3): 205–219.
- [23] Lippman Z B, Zamir D. Heterosis: revisiting the magic[J]. Trends Genet, 2007, 23(2): 60–66.
- [24] 王爱民, 王嫣, 顾志峰, 等. 马氏珠母贝(*Pinctada martensii*)2 个地理群体杂交子代的杂种优势和遗传变异[J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(1): 140–147.
- [25] Shikano T, Taniguchi N. Relationships between genetic variation measured by microsatellite DNA markers and a fitness-related trait in the guppy *Poecilia reticulata* [J]. Aquaculture, 2002, 209: 77–90.
- [26] 万俊芬. 鲍与扇贝遗传育种中的分子标记研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2003.
- [27] Travnichek V H, Maceina M J, Dunham R A. Hatching time and early growth of age-0 black crappies, white crappies, and their naturally produced F₁ hybrids in Weiss Lake, Alabama[J]. Trans Am Fish Soc, 1996, 125(2): 334–337.

Genetic analysis of northern largemouth bass, Florida largemouth bass, and their reciprocal hybrids

CAI Lei^{1,2}, BAI Junjie^{1,2}, LI Shengjie¹, CHEN Kunci¹, FAN Jiajia¹, MA Dongmei¹

1. Key Laboratory of Tropical & Subtropical Fishery Resource Application & Cultivation, Ministry of Agriculture; Pearl River Fisheries Research Institute of Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China;
2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: We evaluated the genetic variation and genetic structure of northern largemouth bass, *Micropterus salmoides salmoides* (N), Florida largemouth bass, *M.S. floridanus* (F), and their obverse ($N♀ \times F♂$) and inverse ($F♀ \times N♂$) crosses, using 18 pairs of microsatellite primers. We generated between 2–8 alleles at each locus, with a mean allele number of 5.0. Six subspecies specific loci (*Jzl48*, *Jzl68*, *Jzl84*, *MiSaTPW76*, *Msal21*, *Mdo6* and *Mdo7*) could be used to identify the two subspecies. Moreover, 2 loci (*Jzl48*, *Mdo7*) could be used to distinguish parents and their reciprocal hybrids. The number of effect alleles (N_e), expected heterozygosity (H_e), and polymorphic information content were all highest in $F♀ \times N♂$ (3.199 7, 0.638 9, 0.570 6, respectively). The observed heterozygosity (H_o) was highest in $N♀ \times F♂$ (0.848 8). F_{ST} analysis of all groups and loci revealed that both reciprocal hybrids had lower genetic differentiation with N species. The UPGMA clustering analysis suggested that the offspring was nearest to the female brood stock for the obverse cross and nearest to the male brood stock for the inverse cross, suggesting that northern largemouth bass pass more genetic material than Florida largemouth bass.

Key words: northern largemouth bass; Florida largemouth bass; hybridization; microsatellite mark; hereditary relationship

Corresponding author: BAI Junjie. Tel: +86-20-81616129; E-mail: jjbai@163.net