

耐盐罗非鱼育种回交效应评估

刘于信¹, 李思发¹, 蔡完其¹, 李腾云¹, 黄金华², 张艳红²

(1. 上海海洋大学 农业部水产种质资源与利用重点开放实验室, 上海 201306; 2. 河北中捷罗非鱼良种场, 河北 沧州 061108)

摘要: 对罗非鱼2种回交子代、2种正反交子代(回交鱼的母本)、2种原始种(回交鱼的祖父、母本), 共6种遗传型的生长特性、耐盐特性及遗传特征进行了研究。结果表明: (1) 在盐度15、20及25时, 2种回交子代的日均增重率皆比母本提高了30%~45%, 差异显著($P=0.023$)。 (2) SSR分析发现, 2种回交子代接受尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)的遗传特征带分别为87.5%和79.2%, 接受萨罗罗非鱼(*Sarotherodon melanotheron*)的分别为35.2%和41.2%; 而2种正反杂交子代接受尼罗罗非鱼的分别为66.7%和41.7%, 接受萨罗罗非鱼的分别为47.1%和88.2%。 (3) 回交子代与原始亲本尼罗罗非鱼的遗传距离较近, 同正反交子代相比, 回交子代生长性能有所进步, 耐盐性能基本保持, 扩增的特异性条带数目较少, 表明遗传多样性走低和基因型纯合性走强的趋势。 (4) 两种回交子代间有一定差异, 萨尼♀[萨罗罗非鱼♀×尼罗罗非鱼♂(F_2)]×尼罗罗非鱼♂生长快5%, 有效等位基因数、平均杂合度、多态信息含量等遗传指标较高, 是优选的对象。[中国水产科学, 2009, 16(3): 332-339]

关键词: 尼罗罗非鱼; 萨罗罗非鱼; 杂交子代; 回交子代; 生长; SSR

中图分类号: S9

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2009)03-0332-08

尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*, 以下简称尼罗)是目前中国主要淡水养殖鱼类之一, 生长快, 但耐盐能力一般; 萨罗罗非鱼(*Sarotherodon melanotheron*, 以下简称萨罗)耐盐能力强, 但生长慢, 难以成为养殖对象^[1]。这2种罗非鱼在分类上系2个属, 尼罗由雌鱼口孵, 萨罗由雄鱼口孵, 两者不能进行自然交配, 人工杂交也很难。上海海洋大学与河北中捷罗非鱼良种场合作, 于2004年通过人工杂交得到了少量的正反交子一代(F_1)^[2], 但出苗率很低, 不能满足生长性能实验之需; 之后发现 F_1 能自然繁殖, 2005年获得 F_2 , 但同尼罗相比, 其生长性能尚有较大差距^[3]。为获得生长性能和耐盐性能兼优的罗非鱼新品种, 以正反杂交 F_1 为基础, 于2006年培育出4种回交罗非鱼。后对4种回交罗非鱼的耐盐性能进行评估发现^[4], 尼罗♀×(尼罗♀×萨罗♂)♂、尼罗♀×(萨罗♀×尼罗♂)♂的耐盐性能较杂交 F_2 明显降低。在此基础上, 本实验选择耐盐

性能较好的2种回交鱼:(尼罗♀×萨罗♂)♀×尼罗♂[以下简称尼萨♀×尼罗♂]、(萨罗♀×尼罗♂)♀×尼罗♂[以下简称萨尼♀×尼罗♂]、两种杂交鱼的第二代: 尼萨(F_2)、萨尼(F_2), 以及2个原始亲本(尼罗、萨罗)为对照, 共6种遗传型罗非鱼作为研究对象, 旨在通过不同盐度下生长对比试验, 观察2种回交鱼和2种杂交鱼的生长速度, 并通过微卫星实验, 分析6个遗传型罗非鱼的遗传差异, 为培育既耐盐、生长速度又快、而且遗传性状稳定的罗非鱼新品种提供基础科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验鱼

生长实验选择2种回交鱼(尼萨×尼罗、萨尼×尼罗)为实验对象, 它们的2个母本[正反杂交 F_2 : 尼萨(F_2)、萨尼(F_2)]为对照, 共4种遗传型; SSR分析实验除了上述4种鱼外, 增加了2个原始亲本(尼罗、萨罗)为对照, 共6种遗传型。

收稿日期: 2008-10-14; 修订日期: 2008-12-11.

基金项目: 国家科技支撑计划专题: 罗非鱼耐盐新品种选育(2006BAD01A1203).

作者简介: 刘于信(1983-), 男, 硕士研究生, 主要从事水产动物种质与种苗工程研究. E-mail: yxliu@stmail.shou.edu.cn

通讯作者: 李思发. Tel: 021-61900450; E-mail: sfli@shou.edu.cn

1.2 不同盐度下生长性能评估

2007年6月挑选体质较好、规格相近的尼萨×尼罗、萨尼×尼罗、尼萨(F₂)、萨尼(F₂)的试验鱼苗,分别剪鳍为标志[尼萨(F₂)(左腹)、萨尼(F₂)(右腹)、萨尼×尼罗(左胸)、尼萨×尼罗(右胸)],采用4(鱼)×3(池)×3(盐度)随机区组设计,做同池生长对比实验。即每池中4种鱼,每池每种鱼各30尾;每种鱼分别置盐度15、20、25条件下;每种盐度3个池子。盐度用美国海洋研究所生产的盐度计(Aquatic Eco-Systems-Salinity Meter)测定并予以调节,精确到0.1。测定各实验鱼的初始体质量和结束体质量。

实验过程中每天定时定点定量投喂,投喂量依据鱼体生长情况和总质量而定。其他日常管理包括水

质监测与调控、换排水、死鱼清理及病害控制等。每隔20天,测定实验鱼的体长、体质量等生长数据。实验结束后,计算各盐度下6种罗非鱼的初始平均体质量、最后平均体质量、日均增重率、以及体质量变异系数的平均值和方差,并对日均增重率进行离差分析^[5-6]:

日均增重率AGW=(W₂-W₁)/(t₂-t₁)

体质量变异系数CV=(SD/W)×100%

式中,W₁、W₂分别为时间t₁与t₂(d)时的体质量(g),SD为标准差,W为平均体质量(g)^[7]。

1.3 微卫星分析

1.3.1 微卫星引物 根据文献[8-11]提供的微卫星序列,在上海生工生物工程有限公司合成引物,如表1所示。

表1 11对微卫星引物序列、特异退火温度
Tab.1 Sequence of 11 microsatellite marker primers and specific annealing temperature

基因座位 Locus	上游序列 Forward primer sequence	下游序列 Reverse primer sequence	退火温度/℃ T _{ann}
U69153	CTGCTCTAACAACAACAACA	GCTTCAAAGGTGTTTCATGCC	60.9
X99800	GTGCTTTTACATTTTCTCCTC	AATGGCTTGGATCAATGTCTG	61.5
X99799	GATGCTGACTGTGACTCTAT	TCGTGTGGTTCCTTGCTAAGT	61.5
UNH828	ATGCTAGCAAACATCAAAGGTC	GATATGCTGATGATGCACAGAGTC	59.8
GM354	CGGGAGAGCAGGTCAG	CACGTTCAAGGTTACTGTGTT	60.0
UNH129	AGAAGTCGTGCATCTCTC	TGTACATCATCTGTGGG	61.5
UNH216	GGGAACTAAAGCTGAAATA	TGCAAGGAATATCAGCA	58.7
UNH907	TTGTGAAATTGCATTGCACTC	AACTCCCTTTGATCCTCTGC	61.5
GM559	GCACCATTTTTAACCACTGCT	ATTTTCCACCGAGCTCACCT	60.4
PRL1	GTTAGCCCCCTCCTCACTCT	ACCTTGCTCGTCACACCTG	60.0
PRL2	TCGTGTCTTGTGGGGAAACC	TGAATGGATGCAACAGGATG	60.5

1.3.2 PCR扩增及产物检测 PCR反应程序为:94℃预变性4 min,接着94℃30 s,49~70℃(根据引物的退火温度进行调整)30 s,72℃30 s。35个循环后,72℃延伸10 min。扩增产物在8%(w/v)的非变性聚丙烯酰胺电泳检测,银染,数码相机拍照。

1.3.3 数据统计分析 根据电泳图谱进行微卫星的多态性分析:利用POPGENE1.31软件^[12],根据Nei(1973)^[13]的方法计算有效等位基因数(N_e)。群体平均杂合度(H)按公式(2)^[14],多态信息含量(PIC)按公式(3)^[15]计算:

(1)有效等位基因数(N_e): $N_e=1/\sum_{i=1}^n p_i^2$

(2)群体平均杂合度, $H=1-\left(\sum_{i=1}^n p_i^2\right)$

(3)多态信息含量,

$PIC=1-\left(\sum_{i=1}^n p_i^2\right)-\left(\sum_{i=1}^{n-1}\sum_{j=i+1}^n 2p_i^2p_j^2\right)$

式中,p_i、p_j分别为第i和第j个等位基因在群体内的频率,n为该位点的等位基因数。

根据Nei(1972)^[16]和Nei(1978)^[17]计算校正前、后群体间遗传相似系数和群体间遗传距离。采用NJ法构建群体间的系统树^[18]。

2 结果与分析

2.1 生长状况 度梯度下4种遗传型罗非鱼的生长速度的差异以及

2.1.1 不同盐度下4种遗传型罗非鱼的生长 3种盐 均值多重比较见表2。

表2 3种盐度下4种遗传型罗非鱼的初始体质量、末体质量、增长率、体质量变异系数

Tab. 2 Initial body weight, final body weight, growth rate and coefficient of variation of body weight of 4 genotypic tilapias at 3 salinities

$n=30; \bar{x} \pm SD$

盐度 Salinity	实验鱼 Fish	初始体质量/g Initial body weight	末体质量/g Final body weight	日均增重率/(g·d ⁻¹) AGR	体质量变异系数/% Coefficient of variation of body weight
15	①尼罗×萨罗(F ₂)	4.28±1.29	58.88±15.19	0.91±0.03 ^{de}	25.78 ^c
	②萨罗×尼罗(F ₂)	4.08±0.70	53.88±16.87	0.83±0.15 ^e	31.31 ^{ab}
	③尼萨×尼罗	5.38±1.68	79.18±13.40	1.23±0.08 ^{ac}	16.933 ^f
	④萨尼×尼罗	5.04±1.08	76.44±14.98	1.190±0.11 ^{ac}	29.60 ^e
20	①尼罗×萨罗(F ₂)	4.17±1.27	70.17±18.79	1.10±0.08 ^{bcd}	26.78 ^{bc}
	②萨罗×尼罗(F ₂)	3.67±0.64	64.87±15.08	1.02±0.03 ^{ce}	23.23 ^{de}
	③尼萨×尼罗	4.73±1.30	86.33±11.47	1.36±0.08 ^a	13.23 ^g
	④萨尼×尼罗	5.02±1.03	89.02±12.95	1.40±0.06 ^a	14.55 ^f
25	①尼罗×萨罗(F ₂)	3.56±1.38	65.36±23.52	1.03±0.10 ^{ce}	35.98 ^a
	②萨罗×尼罗(F ₂)	3.77±0.79	60.17±16.48	0.94±0.31 ^{de}	27.40 ^{bc}
	③尼萨×尼罗	4.36±1.49	81.16±21.44	1.28±0.06 ^{ab}	26.41 ^{bc}
	④萨尼×尼罗	4.68±1.07	85.08±18.52	1.34±0.29 ^{ab}	21.77 ^{de}

注：同一栏内平均值后字母相同者表示差异不显著($P>0.05$)。

Note: Means in the same column followed by the same letter are not significantly different ($P>0.05$). ① *O.niloticus*×*S.melanotheron* F₂; ② *S.melanotheron*×*O.niloticus* F₂; ③ (*O.niloticus*×*S.melanotheron*)×*O.niloticus*; ④ (*S.melanotheron*×*O.niloticus*)×*O.niloticus*.

2.1.2 4种遗传型罗非鱼生长速度的比较 4种遗传型罗非鱼的日均增重的增长和盐度的离差分析结果如图1所示：各种盐度下，两回交鱼(尼萨×尼罗、萨尼×尼罗)的日均增重率的离差为正值，均比母本杂交鱼提高了30%~45%，差异显著($P=0.023$)。同

尼萨×尼罗相比，萨尼×尼罗除了在盐度15时的离差略低外，均大于前者，表明在高盐度下萨尼×尼罗在生长上比尼萨×尼罗具有优势。从盐度15到20,4种遗传型罗非鱼的日均增重率变大，盐度20到30时日均增重率逐渐变小。

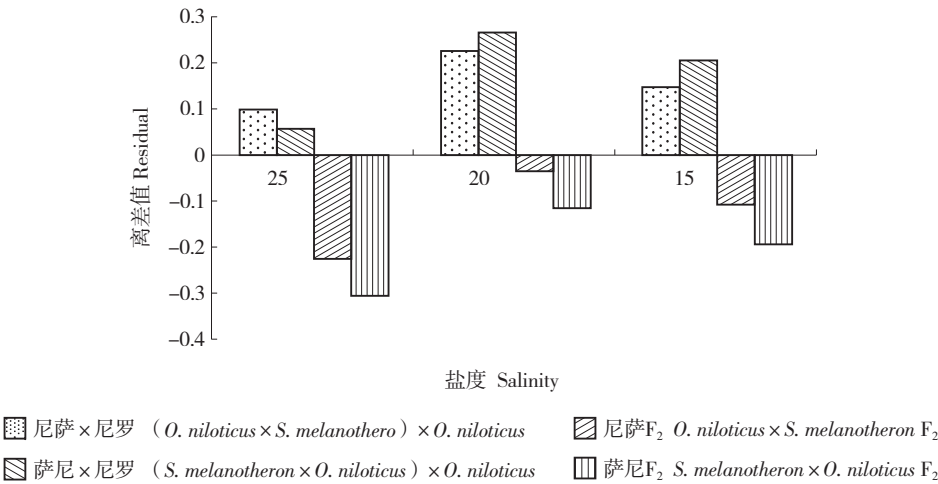


图1 4种遗传型罗非鱼在3个盐度下的日均增重率离差图

Fig. 1 Residuals of body daily gain of 4 genotypic tilapias at 3 salinities

2.1.3 体质量变异系数 各处理组体质量变异系数的差异及均值多重比较见表3。双因子方差分析表明,鱼的种类和盐度对体质量变异系数都有极显著影响($P<0.01$),而盐度-鱼类交互作用对体质量变异系数没有显著影响。体质量变异系数最大的是盐度25时的尼萨(F_2),最小的是盐度20时的尼萨×尼罗。除在盐度15之外,2种回交鱼的体质量变异系数均小于2种杂交鱼。与尼萨×尼罗相比,萨尼×尼罗在盐度25时的体质量变异系数较低。

2.2 微卫星PCR结果
2.2.1 选育群体遗传多样性 采用11对微卫星引物对6种遗传型罗非鱼(每种鱼30尾),共180尾个体进行比较分析。经梯度PCR摸索最适退火温度,所有引物均稳定地扩增出相应的同源序列,且扩增序列呈现为多态性。因引物的不同,各引物扩增的等位基因数分别为3到10不等,11对引物共78个等位基因,大小在76~270 bp之间(图2)。

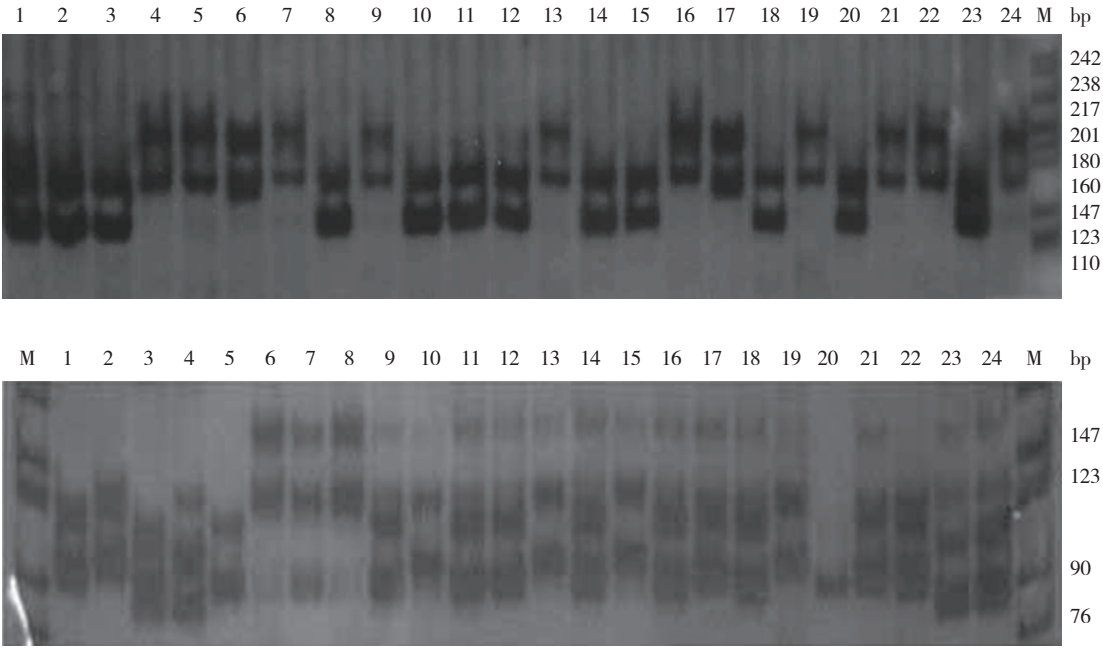


图2 引物U69153(上)和UNH907(下)对6种遗传型罗非鱼的电泳结果
1-4: 尼罗; 5-8: 萨罗; 9-12: 尼罗×萨罗(F_2); 13-16: 萨罗×尼罗(F_2); 17-20: 尼萨×尼罗;
21-24: 萨尼×尼罗; M: 分子标记(PBR322/MSP I)

Fig. 2 Electrophoresis profiles for some individuals of 6 genotypic tilapias by primers U69153 (up) and UNH907 (down)
1-4: *O. niloticus*; 5-8: *S. melanotheron*; 9-12: *O. niloticus* ♀ × *S. melanotheron* ♂ (F_2);
13-16: *S. melanotheron* ♀ × *O. niloticus* ♂ (F_2); 17-20: (*O. niloticus* ♀ × *S. melanotheron* ♂) ♀ × *O. niloticus* ♂;
21-24: (*S. melanotheron* ♀ × *O. niloticus* ♂) ♀ × *O. niloticus* ♂; M: Marker (PBR322/ MSP I)

11个微卫星位点在6种遗传型罗非鱼的遗传多样性指标列于表4。有效等位基因数是基因纯合度的倒数,反映了等位基因间的相互影响,可作为群体遗传变异的一个指标。6种遗传性罗非鱼中萨罗×尼罗的有效等位基因数最大(4.72)、萨罗的有效等位基因数最小(3.36)。平均遗传杂合度期望值由大到

小依次为萨尼(F_2)、尼萨(F_2)、萨尼×尼罗、尼萨×尼罗、尼罗、萨罗。除萨罗外,本实验11个微卫星位点在其他5种遗传性罗非鱼均表现为高度多态($PIC>0.5$),其中2种杂交子代的PIC值均大于2种回交子代;萨尼×尼罗的PIC值(0.632)大于尼萨×尼罗(0.630)。

表3 6种遗传型罗非鱼的有效等位基因数、多态信息含量和群体平均杂合度

Tab.3 Effective allele numbers, polymorphism information content and average heterozygosity in 6 genotypic tilapias

组别 Group	引物数 Number of primers	平均等位基因数 Mean allele numbers	有效等位基因数 Effective allele numbers	多态信息含量 PIC	群体平均杂合度 <i>H</i>
尼罗 <i>O.niloticus</i>	11	4.00	3.06	0.563	0.618
萨罗 <i>S. melanotheron</i>	11	3.36	2.36	0.469	0.494
①尼罗 × 萨罗 (<i>F</i> ₂)	11	4.36	3.28	0.602	0.651
②萨罗 × 尼罗 (<i>F</i> ₂)	11	4.72	3.55	0.606	0.662
③尼萨 × 尼罗	11	4.55	3.12	0.578	0.630
④萨尼 × 尼罗	11	4.35	3.18	0.581	0.632

注 (Note): ① *O.niloticus* × *S.melanotheron* *F*₂; ② *S.melanotheron* × *O.niloticus* *F*₂; ③ (*O.niloticus* × *S.melanotheron*) × *O.niloticus*; ④ (*S.melanotheron* × *O.niloticus*) × *O.niloticus*.

2.2.2 遗传距离和遗传相似指数 6种遗传型罗非鱼的遗传距离(D)和遗传相似指数(I)的矩阵见表4, 据其所做的聚类分析如图3所示。萨罗和萨尼 (*F*₂) 聚为一支; 尼罗、尼萨 (*F*₂)、尼萨 × 尼罗、萨尼 × 尼罗聚为另一支。回交种尼萨 × 尼罗、萨尼 × 尼罗与杂交种尼萨 (*F*₂)、萨尼 (*F*₂) 关系较近, 且回交种与尼罗的相似系数较大。

表4 6种遗传型罗非鱼的遗传距离和遗传相似系数

Tab.4 Genetic distances and genetic similarities among 6 genotypic tilapias

	尼罗 <i>O.niloticus</i>	萨罗 <i>S. melanotheron</i>	①尼罗 × 萨罗 (<i>F</i> ₂)	②萨罗 × 尼罗 (<i>F</i> ₂)	③尼萨 × 尼罗	④萨尼 × 尼罗
尼罗 <i>O.niloticus</i>	--	0.485	0.806	0.706	0.807	0.757
萨罗 <i>S. melanotheron</i>	0.721	--	0.794	0.741	0.624	0.568
①尼罗 × 萨罗 (<i>F</i> ₂)	0.277	0.298	--	0.870	0.909	0.759
②萨罗 × 尼罗 (<i>F</i> ₂)	0.347	0.214	0.138	--	0.819	0.809
③尼萨 × 尼罗	0.213	0.564	0.095	0.870	--	0.904
④萨尼 × 尼罗	0.230	0.470	0.210	0.275	0.101	--

注: 对角线以上的数字表示遗传距离, 对角线以下的数字表示遗传相似性指数。
Note: Data above diagonal mean genetic distances and below mean genetic similarity. ① *O.niloticus* × *S.melanotheron* *F*₂; ② *S.melanotheron* × *O.niloticus* *F*₂; ③ (*O.niloticus* × *S.melanotheron*) × *O.niloticus*; ④ (*S.melanotheron* × *O.niloticus*) × *O.niloticus*.

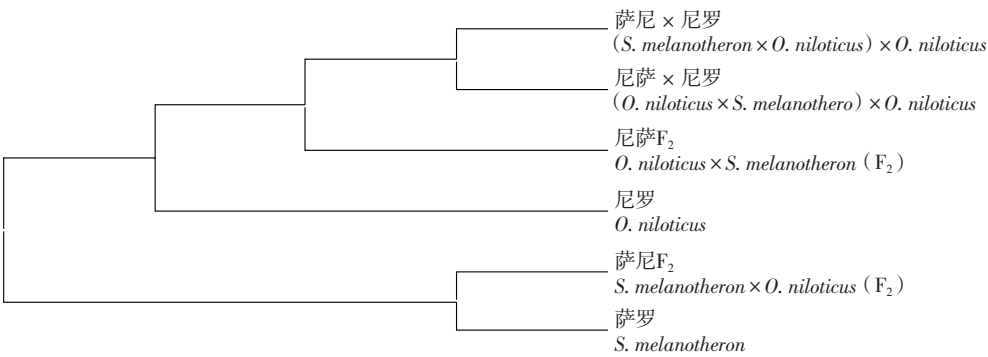


图3 6个遗传型罗非鱼群体间的NJ聚类图

Fig.3 NJ tree of 6 genotypic tilapias

3 讨论

3.1 回交对后代生长性能和耐盐性能的影响

回交是杂交育种的重要手段之一,旨在通过杂交种与双亲之一再次杂交,使后代加强轮回亲本的某些优良性状,减少杂种后代的分离,并保留非轮回亲本的少数优良性状^[19]。李思发等^[20]发现尼罗的快速生长和萨罗的高耐盐性对杂交后代不同性状的贡献力在不同盐度中是不同的;对杂交后代在盐度15~25下的增长率,尼罗的杂种优势贡献力比萨罗的大3~4倍。在此杂种优势的基础上,为强化杂种的生长性能,并考虑到父母本选择在杂交育种中的影响^[21],在杂交种F₂获得耐盐这一目标性状后,以杂交种F₂为母本、尼罗为父本进行回交。生长评估实验证明回交子代的适宜生长盐度为20~25,这与李思发等^[20]对杂交F₂的适宜生长盐度研究结果相似,表明回交后,后代的耐盐性能并没有表现为明显的弱化,这可能与萨罗的高耐盐性对杂种后代有较强的遗传力有关^[3];而尼萨×尼罗、萨尼×尼罗在盐度15、20、25条件下的生长速度均显著高于母本尼罗×萨罗(F₂)和萨罗×尼罗(F₂),表明回交子代的生长性能有所进步,显示了经过回交后,尼罗的快速生长这一优良性状在后代中得到加强。

3.2 回交子代遗传背景的改良

在外部环境影响相同的条件下,遗传物质是决定物种生长快慢的决定性因素。利用SSR标记来辅助遗传背景改良在回交育种中表现出了广泛的应用价值^[22-25]。通过微卫星分析的结果所作遗传距离和聚类分析显示,与原始亲本的尼罗和萨罗相比,回交子代尼萨×尼罗和萨尼×尼罗均比杂交子代尼罗×萨罗(F₂)和萨罗×尼罗(F₂)更接近于尼罗。本实验还发现,尼罗在11个微卫星的位点扩增出44条片段,萨罗扩增出37条片段。其中尼罗所扩增的特异片段为24条,萨罗所扩增的特异片段为17条。从尼罗中所扩增的特异片段分别有21条、19条、16条和10条在尼萨×尼罗、萨尼×尼罗、尼萨F₂、萨尼F₂中得到了继承,特征带遗传率分别为87.5%、79.2%、66.7%、41.7%;萨罗所扩增的特异片段分别有6条、

7条、8条、15条得到了继承,特征带遗传率分别为35.2%、41.2%、47.1%、88.2%。以上表明通过回交可引导性状的进一步改良,回交子代与轮回亲本尼罗的遗传背景相似性有了明显提高。

3.3 回交子代遗传多态性降低的初步认识

本研究发现,回交子代同杂交子代相比,遗传多样性降低。同原始亲本相比,回交子代和杂交子代都扩增出一定数目的特异条带:尼萨×尼罗(3条)、萨尼×尼罗(2条)、尼萨F₂(4条)、萨尼F₂(7条)。尼罗和萨罗分别属于2个不同的属,亲缘关系较远,二者不能进行自然交配。本实验的微卫星分析亦表明二者之间的遗传距离较远。当两者进行杂交或在杂交的基础上进行回交时,基因要重新组合,而这些特异条带可能就是基因重新组合的结果。通过对比发现,回交子代的基因杂合性比2种原始亲本高,使回交子代保留了一定的杂种优势^[26];与杂交子代相比,回交子代的基因型更趋向于纯合,杂种后代分离有所减弱,遗传性状相对稳定,生长优势明显。本实验研究还发现,萨尼×尼罗在盐度20和25时日均增重率均比尼萨×尼罗在同等盐度下快5%左右,表现为在咸海水中具有较好的生长性能;且萨尼×尼罗有效等位基因数、平均杂合度、多态信息含量等遗传指标均比尼萨×尼罗高,表明其群体内遗传变异水平较高,还有一定的回交选育潜力。

3.4 盐度、遗传因素的交互作用对回交子代生长速度的影响

体内遗传物质的改变无疑会对鱼类的耐盐性能和生长性能产生影响。此外,不同盐度下,鱼类产生的与渗透压调节有关激素的能力也会发生变化^[27]。所以说,造成鱼类在不同盐度下的生长差异的原因是很复杂的。同萨尼×尼罗相比,尼萨×尼罗继承了较多尼罗的遗传物质,在盐度15时,尼萨×尼罗的日均增重率较大,但随着盐度的升高,日均增重率的增长幅度减缓,在盐度20、25时,日均增重率均低于萨尼×尼罗。不过可以肯定的是,这个增长幅度的不一致性不是由于环境不同引起的,鱼在养殖过程中主要受到水环境因子(如水温、光照、pH、溶解

氧和氨氮等)和养殖密度的影响,在本研究的实验设计中,通过同池饲养,已将这些因素排除。因此这种差异只能归结于盐度、遗传因素的交互作用。根据谢尔福德的生态耐受定律(Shelford's Law of Tolerance),动物在等渗条件下,由于不需要调节渗透压,能量可以得到一定程度的节省,省下的能量被用于生长。而体内遗传特性的不同,无疑会造成不同鱼类的等渗点的不同。本实验表明,尼萨×尼罗的生长速度在盐度20下表现最佳,随着盐度升高,生长速度明显下降,故盐度20为其适宜生长盐度;萨尼×尼罗尽管在20盐度时表现最佳,但与在盐度25时相比,生长速度相差不大,故萨尼×尼罗的适宜生长盐度为20~25。

通过杂交子代与原始亲本尼罗罗非鱼的回交,既克服了杂交子代中性状分离的现象,又解决了耐盐罗非鱼选育中,品种生长速度缓慢的一大难题。且罗非鱼养殖在海水中后,可以去除体内的泥腥味,使其肌肉纤维富有弹性,从而提高商品价值^[28];另外,中国的咸、海水资源丰富,使得回交子代的养殖颇具潜力。因此可以认为,萨尼×尼罗罗非鱼可能有较好的应用前景。

参考文献:

- [1] 李学军,李思发,么宗利,等. 不同盐度下尼罗罗非鱼、萨罗罗非鱼和以色列红罗非鱼幼苗生长、成活率及肥满系数的差异[J]. 中国水产科学,2005,12(3): 245-251.
- [2] 颜标,李思发,蔡完其. 尼罗罗非鱼与萨罗罗非鱼及其正反杂交后代的微卫星分析[J]. 水产学报,2007,31(3): 411-415.
- [3] 李思发,颜标,蔡完其. 尼罗罗非鱼与萨罗罗非鱼正反杂交后代耐盐性能的杂种优势及其与遗传的相关性的SSR分析[J]. 中国水产科学,2008,15(2): 189-197.
- [4] 李腾云. 尼罗罗非鱼与萨罗罗非鱼杂交种以及回交种的养殖性能和遗传差异比较[D]. 上海: 上海海洋大学,2008: 19-26.
- [5] Neter J, Wasserman W. Applied linear statistical models [M]. Recharad D. Irwin, Inc. Homewood, Illinois, 1974.501-506.
- [6] 李家乐,李晨虹,李思发. 不同组合尼罗罗非鱼(♀)×奥利亚罗非鱼(♂)养殖性能差异研究[J]. 上海水产大学学报,1997,6(2): 96-101.
- [7] 李思发. 淡水鱼类种群生态学[M]. 北京: 中国农业出版社,1990: 25-30.
- [8] Agresti J, Seki S, Cnaani A. Breeding new strains of tilapia: development of an artificial center of origin and linkage map based on AFLP and microsatellite loci [J]. Aquaculture, 2000, 185(1-2): 43-56.
- [9] Kocher T D, Lee W J, Sobolewska H. A genetic linkage map of a cichlid fish, the tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Genetics, 1998, 148: 225-232.
- [10] Young Lee, Woo-Jai lee J, et al. A second-generation genetic linkage map of tilapia (*Oreochromis* spp) [J]. Genetics, 2005, 170: 237-244.
- [11] Streelman J T, Kocher T D. Microsatellite variation associated with prolactin expression and growth of salt-challenged tilapia [J]. Physiol Genomics, 2002, 9: 1-4.
- [12] Yeh J C, Yang R, Boyle T. POPGENE, Version 1. 31, Microsoft Windows-based Freeware for Population Genetic Analysis [M]. Edmonton: University of Alberta, 1999.
- [13] Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1973, 70: 321-323.
- [14] Nei M, Roychoudury A K. Sampling variances of heterozygosity and genetic instance [J]. Genetics, 1997, 76(2): 379-390.
- [15] Botstein D, White R L, Skolnick M. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism [J]. Am J Hum Genet, 1980, 32: 314-331.
- [16] Nei M. Genetic distance between populations [J]. Amnat, 1972, 106: 283-292.
- [17] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. Genetics, 1978, 89: 583-590.
- [18] Ambali A J D, Doyle R W, Cook D I. Development of polymorphic microsatellite DNA loci for characterizing *Oreochromis shiranus* subspecies in Malawi [J]. J Appl Ichthyol, 2000, 16(3): 121-125.
- [19] 楼允东. 鱼类育种学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 53-55.
- [20] 李思发,颜标,蔡完其,等. 尼罗罗非鱼与萨罗罗非鱼正反交鱼自繁后代F₂耐盐性、生长性能及亲本对杂种优势贡献力的评估[J]. 水产学报,2008,32(3): 335-341.
- [21] 伏军. 水稻杂交育种中父母本选择的研究[J]. 湖南农学院学报, 1986, 3(1): 5-11.
- [22] 崔金腾,陈冰嫻,石英尧. 供试品种的遗传多样性与籼型水稻优良恢复系回交导入改良[J]. 分子植物育种,2008,6(1): 25-31.
- [23] 段红梅,王文秀,常汝镇. 大豆SSR标记辅助遗传背景选择的效果分析[J]. 植物遗传资源学报,2003,4(1): 36-42.
- [24] 侯红伟,窦秉德,李生. 利用回交群体对小麦雌性不育基因的SSR标记[J]. 淮阴师范学院学报,2005,4(4): 318-323.
- [25] 夏军红,郑用琰. 玉米Rf3近等基因系的分子标记辅助回交选育

- 与效益分析[J]. 作物学报, 2002, 28(3): 339–344.
- [26] 世启顺, 成廷水, 柳小春. 猪亲本间遗传距离与杂交后代基因杂合度及杂优率的关系[J]. 湖南农业大学学报, 2000, 26(4): 299–301.
- [27] Hideya T, Patrick P, Takashi K. Prolactin receptor and proliferating/apoptotic cells in esophagus of Mozambique tilapia (*Oreochromis niloticus*) in fresh water and in seawater [J]. General and Comparative Endocrinology, 2007, 28(1): 1–6.
- [28] 李思发. 中国大陆罗非鱼养殖业发展对策[J]. 中国渔业经济研究, 1999, (1): 13–15.

Evaluation of backcrossing breeding effect in selection of salt-tolerant tilapia

LIU Yu-xin¹, LI Si-fa¹, CAI Wan-qi¹, LI Teng-yun¹, JIA Jin-hua², ZHANG Yan-hong²

(1. Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Utilization, Ministry of Agriculture; Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Zhongjie National Tilapia Seed Farm, Cangzhou 061108, China)

Abstract: In order to understand the effects of backcrossing on economic trait improvement in selection of salt-tolerant tilapia, studies on the growth performance, salt-resistant performance and hereditary characters were carried out by using 6 genotypic tilapias including two types of backcross, two types of reciprocal crosses (maternal sides for backcrosses), and two types of original species (grandparents of backcrosses). The results showed that: (1) Under the salinities of 15, 20 and 25, the average daily weight gain of two backcrosses were 30%–45% higher than the maternal fish ($P=0.023$). (2) The SSR analysis indicated that two kinds of backcross received 87.5% and 79.2% of *Oreochromis niloticus* characteristic bands and 35.2% and 41.2% of *Sarotherodon melanotheron* characteristic bands respectively; two kinds of hybrids received 66.7% and 41.7% of *Oreochromis niloticus* characteristic bands and 47.1% and 88.2% of *Sarotherodon melanotheron* characteristic bands respectively. (3) The genetic distance between backcross and their grandmother (*O. niloticus*) was closer. Compared with the reciprocal cross, the backcross hybrids showed an increase in growth, a matinate in salinity tolerance, and a decrease in number of amplification specific bands, all indicating that there exists trend of decrease in genetic diversity but an increase in genotypic purification. (4) There are certain differences between two types of backcross, in which (*S. melanotheron*♀ × *O. niloticus*♂)♀ × *O. niloticus*♂ is faster in growth than (*O. niloticus*♀ × *S. melanotheron*♂)♀ × *O. niloticus*♂ by 5%, also is higher in number of effective alleles, heterozygosity (H) and polymorphism information contents (PIC), which indicated that it is a super candidate for further selection. [Journal of Fishery Sciences of China, 2009, 16(3): 332–339]

Key words: *Oreochromis niloticus*; *Sarotherodon melanotheron*; hybrid; backcross; growth; SSR

Corresponding author: LI Si-fa. E-mail: sfli@shou.edu.cn