

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2016.15265

翘嘴鲌选育群体的生长和遗传特征分析

孙际佳¹, 何建国², 刘丽¹, 王海芳², 卢薛², 胥鹏^{2,3}, 李桂峰^{2,3}

1. 华南农业大学 动物科学学院, 广东 广州 510642;

2. 中山大学 生命科学学院, 水生经济动物研究所, 南海生物资源开发与利用协同创新中心, 广东 广州 510275;

3. 佛山市南海百容水产良种有限公司, 广东省工程技术研究中心, 广东 佛山 528216

摘要: 以湖南和江苏的野生翘嘴鲌(*Siniperca chuatsi*)为基础群体选育了 6 个群体, 包括 4 个家系选育群体和 F_1 、 F_2 两个群体选育群体。对 4 个家系选育群体的生长特性进行了分析, 并利用微卫星标记技术对 6 个翘嘴鲌选育群体的遗传多样性进行了检测。分析结果表明, 翘嘴鲌纯种家系的生长速度显著快于不同地理种群的杂交系, 杂交系未表现出生长的杂种优势, 家系群体的杂合性与生长性能不对应。4 个家系选育群体的特有等位基因数量比两个群体选育群体高出约 29.33%, 表明不同地理种群翘嘴鲌家系的建立可以丰富翘嘴鲌选育群体的遗传多样性水平。翘嘴鲌选育群体间遗传分化显著($F_{st}=0.4388$), 两个群体选育群体与 4 个家系选育群体间的遗传距离较远, 表明将群体选育的个体与家系选育的个体进行杂交育种有可能获得杂种优势。筛选到 G14₄₃₇ 特有等位基因可作为江苏翘嘴鲌家系(JCJC)的群体特异性分子标记; G5₅₃₀ 等位基因可作为湖南和江苏翘嘴鲌杂交系与翘嘴鲌基础群体和其他选育群体区分的特异性分子标记。

关键词: 翘嘴鲌; 选育群体; 生长特征; 遗传特征

中图分类号: S96

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2016)02-0425-11

翘嘴鲌(*Siniperca chuatsi*)因生长速度快、体型较大、肉质营养丰富而具有很高的经济价值, 是中国最主要的养殖鲌类。近 20 年来, 翘嘴鲌人工养殖规模的不断扩大, 养殖翘嘴鲌的种质也产生了明显退化, 集中表现在生长速度降低、抗病虫害能力下降^[1-3], 已经严重制约了翘嘴鲌养殖业的健康可持续发展, 通过选择育种工作来改善翘嘴鲌的种质质量已经成为当务之急。

早期的动物育种主要根据表型性状进行选择, 在复杂的环境条件、基因间互作、基因型与环境互作等多方面因素的影响下, 这种选择方法的选择效率通常较低, 尤其是对一些遗传力低的性状。自 20 世纪 80 年代以来, 随着基于 DNA 多态

性的分子标记技术的迅速发展和广泛应用, 分子标记辅助选择(Marker Assisted Selection, MAS)技术给传统育种提供了一个崭新的途径^[4]。研究者可以同时利用表型信息、系谱信息和分子标记信息来进行准确的遗传评定, 选择性状优良的群体和个体进行育种, 从而提升了育种的效率和成功率。

在鱼类分子标记辅助选择育种的体系中, 基础群体(base population)的构建和选育群体的遗传多样性维系是关系到选育能否可持续性发展的关键问题。如果选育群体的遗传多样性不断降低, 最终可能导致选育群体的选择响应变差, 甚至产生近交衰退的现象^[5-7]。已有研究表明, 人工选育可能会造成选育群体遗传多样性的降低, 如 English

收稿日期: 2015-07-03; 修订日期: 2015-09-20.

基金项目: 广东省战略性新兴产业核心技术攻关项目(2012A020800001); 广东省教育厅项目(cxzd1104); 佛山市引进科技创新团队资助计划(2014IT100122).

作者简介: 孙际佳(1976-), 女, 博士, 主要从事水产动物遗传育种研究. E-mail: jjsun@scau.edu.cn

通信作者: 李桂峰, 教授. E-mail: liguif@mail.sysu.edu.cn

等^[8]发现太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)的人工育苗群体的多态性位点比例(70.6%)比自然群体的(73.5%)低; Wang 等^[9]利用 11 个微卫星标记比较了美国东海岸海湾扇贝(*Argopecten irradians*)的野生群体和我国现有的养殖群体间的遗传差异,发现养殖群体较野生群体丢失了 20%(9/45)的等位基因,表明中国海湾扇贝群体发生了瓶颈效应,应重新引种、减少近亲交配和进行遗传监测。通常,选育群体的遗传多样性水平越高,对抗人工选育可能导致的遗传多样性降低的能力越强,对人工选育就越有利。目前,在翘嘴鲌选育群体的遗传多样性分析方面已有少量的研究报道。郑荷子等^[10]利用采自江西鄱阳湖、湖南洞庭湖、湖北陆水水库的野生翘嘴鲌群体,以及广东佛山和清远的养殖翘嘴鲌群体构建了 4 代选育群体,对选育群体遗传多样性及遗传结构进行了分析。结果表明,随着选育的进行 4 个世代群体遗传多样性参数逐代下降,部分位点的基因型逐渐趋向纯合,在多数位点上 4 代群体仍表现出较高遗传多样性;张进等^[11]利用微卫星分子标记技术对鲌鱼人工选育群体遗传结构进行分析,发现人工选育鲌鱼群体的遗传多样性比野生鲌鱼群体的遗传多样性要低,但经过多年选育仍然保留较高的遗传多样性。然而,目前尚未见有关翘嘴鲌地理杂交选育群体的研究报道。

本研究以湖南和江苏的野生翘嘴鲌为基础群体选育了 6 个群体,包括 4 个家系选育群体和 F₁、F₂ 两个群体选育群体。对 4 个家系选育群体的生长特性进行了分析,并利用微卫星标记技术对 6 个翘

嘴鲌选育群体的遗传多样性进行了检测,旨在为翘嘴鲌分子标记辅助育种提供基础参考数据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

翘嘴鲌基础群体来自于湖南和江苏的野生翘嘴鲌,经过人工筛选、繁育和养殖产生 6 个选育群体。由湖南翘嘴鲌群体(简称为 C)选育的翘嘴鲌 F₁ 简称为 C-F₁ 群体,其 F₂ 简称为 C-F₂ 群体,湖南翘嘴鲌与江苏翘嘴鲌建立的家系群体分别简称为 JCJC、HCHC、HCJC 和 JCHC。翘嘴鲌基础群体和 6 个选育群体的基本信息在表 1 中给出。在实验操作中,对湖南野生翘嘴鲌群体的年龄、体重等基础数据进行了测量分析,最终选取了 12 尾生长优良的个体作为 F₁ 群体选育的亲本进行繁殖。在获得的 F₁ 群体中,经过养殖实验将生长速度快的个体进行选择(选择强度 10%)后,随机选取 6 尾翘嘴鲌作为群体选育 F₂ 的亲本。

1.2 微卫星引物

参考匡刚桥^[12]分离的翘嘴鲌微卫星序列(GenBank 序列号: DQ789247~DQ789306),用 Primer Premier 5.0 设计 20 对微卫星引物,引物由 Invitrogen 生物技术公司进行合成,筛选出 7 对扩增稳定、条带清晰、多态性较高的微卫星引物(表 2)进行群体遗传分析。

1.3 实验方法

1.3.1 家系生长实验 将同期孵化的 JCJC、HCHC、HCJC 和 JCHC 共 4 组家系鱼苗(体长约 1 cm)分别养殖在同一池塘中的 4 个围隔内,

表 1 试验鱼群体的样本信息
Tab. 1 Samples information of seven population

群体 population	来源 origin
C	湖南野生翘嘴鲌 wild <i>S. chuatsi</i> (Hunan)
C-F ₁	湖南翘嘴鲌 <i>S. chuatsi</i> ♀ × 湖南翘嘴鲌 <i>S. chuatsi</i> ♂(6♀: 6♂)(Hunan)
C-F ₂	C-F ₁ ♀ × C-F ₁ ♂(3♀: 3♂)
JCJC	江苏翘嘴鲌 <i>S. chuatsi</i> ♀ × 江苏翘嘴鲌 <i>S. chuatsi</i> ♂(1♀: 1♂)(Jiangsu)
HCHC	湖南翘嘴鲌 <i>S. chuatsi</i> ♀ × 湖南翘嘴鲌 <i>S. chuatsi</i> ♂(1♀: 1♂)(Hunan)
HCJC	湖南翘嘴鲌 <i>S. chuatsi</i> ♀ × 江苏翘嘴鲌 <i>S. chuatsi</i> ♂(1♀: 1♂)(Hunan×Jiangsu)
JCHC	江苏翘嘴鲌 <i>S. chuatsi</i> ♀ × 湖南翘嘴鲌 <i>S. chuatsi</i> ♂(1♀: 1♂)(Jiangsu×Hunan)

注: 各群体样本量均为 30 尾。
Note: The sample numbers in each population are 30 individuals.

表 2 7 对筛选的微卫星引物的核心序列、退火温度及其引物序列
Tab. 2 Core repeats, primer sequences and annealing temperatures of the 7 microsatellite DNA loci

标记 locus	核心序列 core repeat	引物序列(5'-3') primer sequence(5'-3')	退火温度/℃ annealing temperature	GenBank 序列号 accession No.
G4	(TCTG) ₆	F: GAGATAAGGGGTGTATGTGTGT R: CCAAATGTGGCAGAGTGAC	53	DQ789274
G5	(AATC) ₁₀	F: CCGTCCTTCTTCCTCTGTGT R: TGGTTCAGTTTCGGTTGTG	56	DQ789277
G7	(ATCA) ₆	F: AGCGAAACCGCAAGCAAG R: GGACTATGGGTCTGGAAATACGAT	61	DQ789295
G10	(GATT) ₈	F: ATGAAGTTTATTGGAACATTTGG R: TCTGGAAGTCACACGGTCG	55	DQ789303
G12	(GATA) ₁₇	F: AAATCCCCTCGTTTCAGC R: CACTCACGTTGTCAGTTTATCAC	55	DQ789279
G13	(ATCT) ₁₈	F: CACTCACGTTGTCAGTTTATCAC R: TCCCCTCGTTTCAGCTTC	56	DQ789291
G14	(AATC) ₆	F: ACCGCCGTCCTTCTTCCT R: CAGCACTTGGTTCAGTTTCG	60	DQ789300

每个围隔面积约 667 m², 放养密度为 4000 尾/667 m²。保证饵料鱼充足的条件下, 饲养 282 d 后, 每个家系随机抽样 100 尾测量体重、体长和体高。测量数据采用 SPSS 17.0 进行统计分析。

1.3.2 选育群体遗传分析 每个群体各采集 30 尾个体的肌肉样本用于群体遗传分析。鱼类基因组 DNA 抽提方法参照传统的苯酚-氯仿法基本原理, 并根据实际情况对部分操作流程稍作更改。经 PCR 反应后, 6%变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 硝酸银染色, 扫描仪记录电泳图谱, Gel-Pro analyzer 32 软件进行微卫星片段大小的手动分析。

每个群体每个微卫星位点的等位基因数(N)、有效等位基因数(N_e)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、Shannon 指数(I)由软件 POPGENE 1.32 计算; 哈德-温伯格平衡检验(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE)及杂合子缺失衡量指标(F_{is})^[13]由软件 GENEPOP 4.2 计算, 并根据马尔科夫链(Markov Chain)算法对每个群体的 HWE 平衡进行精确 P 值的无偏估计。以上运算进行 1000 次重复抽样, 以保证结果的准确性。多态信息含量(PIC)由软件 PIC-CALC 计算。群体间每个位点的平均等位基因数、平均杂合度、Shannon 指数 I 和多态信息含量 PIC 的非参数检验采用 Kruskal-Wallis 检验方法^[14]并由统计软件 SPSS 17.0 计算。使用

软件 GENEPOP 4.2 软件, 进行每个群体每个位点的连锁不平衡检验并计算总群体以及每个群体两两位点间的遗传分化指数 F_{st} 。使用软件 POPGENE 1.32 计算群体间的遗传距离^[15], 以计算所得遗传距离为基础, 采用非加权组算术平均法(Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Mean, UPGMA)方法构建群体系统进化树, 使用 MEGA5.2.2 软件^[16]绘制聚类图。

2 结果与分析

2.1 选育家系的生长差异比较

选育家系间体重、体长和体高的生长比较见表 3。由表 3 可知: (1)JCJC 家系的体重显著大于其他 3 组家系($P<0.05$), 其体长和体高与 HCHC 的差异不显著($P>0.05$), 但显著大于 HCJC 和 JCHC 家系($P<0.05$); (2) HCHC 家系的体重、体长和体高均显著大于 HCJC 和 JCHC 家系($P<0.05$), 而 HCJC 和 JCHC 家系体重、体长和体高差异不显著($P>0.05$); (3) 各家系间的体重、体长和体高的变异系数均为 HCHC<JCJC<HCJC<JCHC, 说明同一地理种群翘嘴鳊家系的生长均一性较好, 而不同地理种群杂交系生长分化较大。

2.2 翘嘴鳊选育群体的遗传多样性

除 G4 位点在 JCJC 群体中表现为单态外, 其

表 3 翘嘴鲌选育家系体重、体长和体高的生长比较

Tab. 3 Comparative analysis of body weight, body length and body height among the four *S. chuatsi* families at the age of 282 days

家系 family	体重/g body weight		体长/cm body length		体高/cm body height	
	$\bar{x} \pm SD$	CV/%	$\bar{x} \pm SD$	CV/%	$\bar{x} \pm SD$	CV/%
JCJC	475.1±208.0 ^a	43.79	25.01±3.67 ^a	14.66	9.26±1.44 ^a	15.55
HCHC	420.8±109.9 ^b	26.11	24.87±1.79 ^a	7.20	8.93±0.95 ^a	10.61
HCJC	337.6±187.9 ^c	55.65	22.65±3.36 ^b	14.85	8.12±1.49 ^b	18.30
JCHC	313.2±245.5 ^c	78.36	22.10±4.06 ^b	18.35	7.92±1.99 ^b	25.10

注：同列数据右上角字母不同表示差异显著($P<0.05$, $n=100$)。
Note: Different superscripts in a column indicate significant difference ($P<0.05$, $n=100$).

他的位点在翘嘴鲌选育群体中均具有多态性。图 1 给出了 G5 标记在翘嘴鲌选育群体中的聚丙烯酰胺凝胶电泳图。

7 个微卫星位点在 7 个群体中共获得 130 个等位基因。各群体中每个微卫星位点的等位基因数、有效等位基因数、期望和观察杂合度、HWE 检测及杂合子缺失衡量指标(F_{is})、Shannon 指数 I 和 PIC 值见表 4。

各群体的等位基因数量范围依次为 3~23(C)、2~8(C-F₁)、2~6(C-F₂)、1~4(JCJC)、2~3(HCHC)、2~4(HCJC)和 2~4(JCHC); 平均等位基因数依次为 C(10)>C-F₁(3.71)>HCJC(3.14)>C-F₂(3)=JCHC(3)>

HCHC(2.86)>JCJC(2.29), 且群体间差异显著($P<0.05$)。群体间的平均有效等位基因数差异不显著($P>0.05$), 其中约 89.8%(44/49)的位点—群体的观察等位基因数(N)高于其有效等位基因数(N_e), 表明等位基因频率在这些位点—群体中的分布不均匀。

7 个群体的平均观察杂合度排序为: C-F₂(0.8112)>HCHC(0.6841)>JCHC(0.6238)>C(0.6220)>HCJC(0.5082)>JCJC(0.4433)>C-F₁(0.4429), 群体间差异不显著($P>0.05$)。7 个群体的平均期望杂合度依次为 C(0.7214)>HCHC(0.5792)>C-F₁(0.5307)>C-F₂(0.5288)>JCHC(0.4755)>JCJC(0.4212)>HCJC(0.3930), 但群体间差异不显著($P>0.05$)。

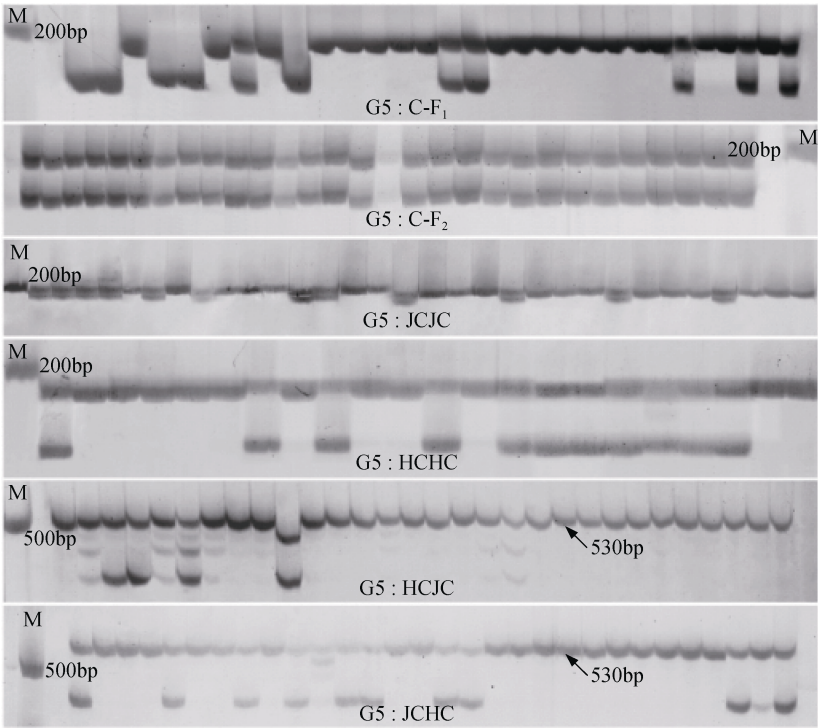


图 1 G5 标记在翘嘴鲌选育群体中的聚丙烯酰胺凝胶电泳图

Fig. 1 Electrophoresis patterns of G5 locus in the selective breeding populations of *S. chuatsi*

表 4 7 个翘嘴鳊群体的遗传多样性
Tab. 4 Genetic diversities in selective breeding populations of *S. chuatsi*

位点 locus		群体 population						
		C	C-F ₁	C-F ₂	JCJC	HCHC	HCJC	JCHC
G4	N/N_e	3/1.57	2/1.68	2/1.72	1/1.00	3/2.13	2/1.42	2/1.03
	H_o	0.1667	0.3667	0.6000	0.0000	1.0000	0.3571	0.0333
	H_e	0.3689	0.4130	0.4271	0.0000	0.5401	0.2987	0.0333
	P	0.0006**	0.4180	1.0000	—	1.0000	1.0000	—
	F_{is}	0.5525	0.1139	-0.4146	—	-0.8790	-0.2000	—
	I	0.6722	0.5961	0.6109	0.0000	0.8156	0.4692	0.0848
	PIC	0.3339	0.3235	0.3318	单态 monomorphism	0.4208	0.2507	0.0329
G5	N/N_e	4/1.75	2/1.64	2/2.00	2/1.39	3/2.53	3/1.18	3/1.44
	H_o	0.4000	0.2000	1.0000	0.3333	0.7000	0.1333	0.3667
	H_e	0.4367	0.3977	0.5085	0.2825	0.6147	0.1576	0.3102
	P	0.2375	0.0115*	1.0000	1.0000	0.9606	0.1650	1.0000
	F_{is}	0.0854	0.5014	-1.0000	-0.1837	-0.1415	0.1564	-0.1859
	I	0.8256	0.5799	0.6931	0.4506	1.0096	0.3285	0.5323
	PIC	0.3942	0.3148	0.3750	0.2395	0.5357	0.1482	0.2684
G7	N/N_e	13/11.32	5/2.40	2/1.81	2/1.90	3/2.73	3/1.55	3/2.77
	H_o	0.7333	0.1667	0.6786	0.1364	1.0000	0.4333	0.9333
	H_e	0.9271	0.5927	0.4565	0.4852	0.6465	0.3621	0.6503
	P	0.0002**	0.0000**	1.0000	0.0009**	0.0000**	1.0000	0.9994
	F_{is}	0.2119	0.7222	-0.5000	0.7237	0.2119	-0.2006	-0.4461
	I	2.4954	1.0489	0.6406	0.6671	1.1082	0.6397	1.0596
	PIC	0.9050	0.5004	0.3477	0.3617	0.5544	0.3191	0.5671
G10	N/N_e	7/3.64	4/2.34	2/1.47	2/1.98	2/1.98	3/1.64	2/1.99
	H_o	0.5517	0.6333	0.4000	0.4333	0.5000	0.5000	0.6667
	H_e	0.7381	0.5814	0.3254	0.5034	0.5034	0.3960	0.5062
	P	0.0000**	0.7249	1.0000	0.3410	0.6301	1.0000	0.9852
	F_{is}	0.2558	-0.0911	-0.2340	0.1412	0.0068	-0.2682	-0.3242
	I	1.4976	0.9601	0.5004	0.6881	0.6881	0.6605	0.6909
	PIC	0.6807	0.4816	0.2688	0.3725	0.3725	0.3350	0.3739
G12	N/N_e	23/15.13	8/4.55	6/4.55	3/2.83	3/2.13	4/4.00	4/3.93
	H_o	0.9667	1.0000	1.0000	0.8333	0.4000	1.0000	1.0000
	H_e	0.9497	0.7932	0.7932	0.6571	0.5401	0.7647	0.7582
	P	0.4570	1.0000	1.0000	0.9943	0.0044**	0.0000**	1.0000
	F_{is}	-0.0182	-0.2664	-0.2664	-0.2742	0.2627	-0.3158	-0.3262
	I	2.8982	1.7319	1.5850	1.0691	0.8156	1.3863	1.3774
	PIC	0.9299	0.7498	0.7431	0.5734	0.4208	0.7031	0.6982
G13	N/N_e	16/8.71	2/2.00	5/3.04	4/3.38	3/2.22	4/2.51	4/3.96
	H_o	1.0000	0.3667	1.0000	1.0000	0.6552	1.0000	1.0000
	H_e	0.9013	0.5079	0.6825	0.7158	0.5590	0.6139	0.7604
	P	1.0000	0.1162	1.0000	1.0000	0.0121*	0.0000**	1.0000
	F_{is}	-0.1118	0.2815	-0.4771	-0.4066	-0.1757	-0.6497	-0.3225
	I	2.4083	0.6926	1.2615	1.2796	0.9109	1.0508	1.3809
	PIC	0.8751	0.3747	0.6158	0.6479	0.4208	0.5209	0.7001
G14	N/N_e	4/3.51	3/1.73	2/2.00	2/1.43	3/2.78	3/1.18	3/1.44
	H_o	0.5357	0.3667	1.0000	0.3667	0.5333	0.1333	0.3667
	H_e	0.7279	0.4288	0.5085	0.3045	0.6508	0.1576	0.3102
	P	0.0524	0.7250	1.0000	1.0000	0.1215	0.1650	1.0000
	F_{is}	0.2676	0.1471	-1.0000	-0.2083	0.1831	0.1564	-0.1859
	I	1.3080	0.7455	0.6931	0.4764	1.0606	0.3285	0.5323
	PIC	0.6614	0.3769	0.3750	0.2543	0.5682	0.1482	0.2684
平均 mean	N/N_e	10/6.52	3.71/2.33	3/2.37	2.29/1.99	2.86/2.36	3.14/1.93	3/2.37
	H_o	0.6220	0.4429	0.8112	0.4433	0.6841	0.5082	0.6238
	H_e	0.7214	0.5307	0.5288	0.4212	0.5792	0.3930	0.4755
	I	1.7293	0.9079	0.8550	0.6616	0.9155	0.6948	0.8083
	PIC	0.6829	0.4460	0.4367	0.4082	0.4705	0.3465	0.4156

注: *表示差异显著($P<0.05$); **表示差异极显著($P<0.01$).

Note: * indicates significant difference ($P<0.05$) and ** indicates extremely significant difference ($P<0.01$).

各群体的平均 Shannon 指数依次为 $C(1.7293) > HCHC(0.9155) > C-F_1(0.9079) > C-F_2(0.8550) > JCHC(0.8083) > HCJC(0.6948) > JCJC(0.6616)$, 群体间差异不显著($P > 0.05$)。

除 G4 位点在 JCJC 群体中表现为单态、在 JCHC 群体中表现为低度多态($PIC < 0.25$)、G5 位点在 JCJC 群体和 G14 位点在 HCJC 群体表现为低度多态外, 7 个位点在所有群体中均表现为高度多态($PIC > 0.5$)和中度多态($0.25 < PIC < 0.5$)。7 个群体中高度多态位点数最多的是 C 群体(5), 其他群体均有 2~3 个高度多态位点。所有群体的平均多态信息含量排序为: $C(0.6829) > HCHC(0.4705) > C-F_1(0.4460) > C-F_2(0.4367) > JCHC(0.4156) > JCJC(0.4082) > HCJC(0.3465)$, 但群体间差异不显著($P > 0.05$)。

2.3 翘嘴鲃选育群体的 HWE 检测和遗传连锁不平衡检验

在哈德-温伯格平衡(HWE)检测中发现, 群体选育的 C-F₁ 仅在 G5 和 G7 位点显著偏离 HWE

($P < 0.05$), 而 C-F₂ 群体在所有检测位点中呈哈德-温伯格平衡。在家系群体中, JCJC 在 G7 位点, HCHC 群体在 G7、G12 和 G13 位点, HCJC 在 G12 和 G13 位点显著偏离 HWE($P < 0.05$), 而 JCHC 群体无偏离 HWE 的位点。在 7 个位点的 F_{is} 值中, 群体选育的 C-F₁ 有 5 个为正值, 表明约有 71.43% (5/7) 的群体-位点检测中存在杂合子缺失; 4 个家系群体中共有 8 个 F_{is} 值为正值, 表明约有 28.57% (8/28) 的群体-位点检测中存在杂合子缺失。

7 个群体在 7 个位点间的两两位点连锁不平衡检测发现(图 2), 总群体中共有 8 次连锁不平衡现象($P < 0.05$), 涉及的位点包括 G5-G7、G5-G12、G10-G12、G5-G13、G12-G13、G5-G14、G7-G14 和 G12-G14。单个群体中连锁不平衡位点最多的是 C-F₁ 共 7 个, 其次为 JCJC、HCHC、HCJC 和 JCHC 各 4 个, 最后是 C 和 C-F₂ 各 2 个。G12-G13 和 G5-G14 位点分别在 5 个群体出现连锁不平衡现象, 且差异极显著($P < 0.01$)。

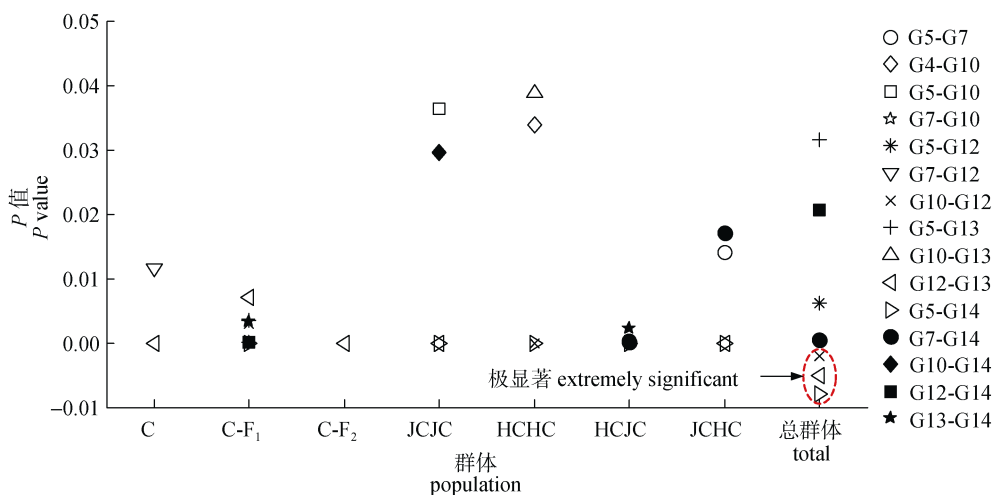


图 2 翘嘴鲃选育群体中的连锁不平衡位点

Fig. 2 Linkage disequilibrium of each pair loci in selective breeding populations of *S. chuatsi*

2.4 翘嘴鲃选育群体的特有等位基因

翘嘴鲃基础群体和 6 个选育群体中共检测到 75 个特有等位基因, 其频率范围为 0.017~0.917, 其分布如图 3。在翘嘴鲃基础群体 C 中共检测到 37 个特有等位基因, 占特有等位基因总数的 49.33%; 2 个群体选育群体 C-F₁ 和 C-F₂ 中共检测到 8 个特有等位基因, 占特有等位基因总数的

10.67%; 4 个家系选育群体中共检测到 30 个特有等位基因, 占特有等位基因总数的 40%。

在特有等位基因中, 仅 G14 位点的 437 bp 条带能在 JCJC 群体的所有个体中扩增出来。因此 JCJC 群体的 G14₄₃₇ 特有等位基因可作为该家系与翘嘴鲃基础群体和其他选育群体区分的特异分子标记。

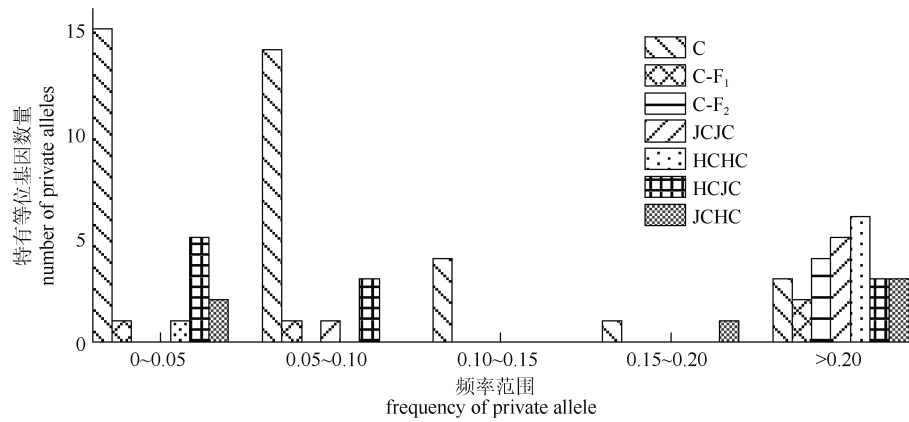


图 3 翘嘴鳊选育群体的特有等位基因分布图

Fig. 3 Private alleles distribution at all 7 SSR loci in each population

此外, 虽然在不同地理种群杂交系 HCJC 和 JCHC 群体中未能筛选到群体特异分子标记, 但两个杂交系群体在 G5 位点中, 除 1 个个体没有扩增出片段大小为 530 bp 的等位基因外, 其余 98.3%(59/60)的个体在该位点均能扩增出该等位基因, 因而 G5₅₃₀ 特有等位基因(图 1)可作为杂交系与翘嘴鳊基础群体和其他选育群体区分的特异分子标记。

2.5 翘嘴鳊选育群体的遗传分化和亲缘关系

翘嘴鳊选育群体的总遗传分化指数 F_{st} 为 0.4388, 表明这 7 个群体间的遗传分化极大 ($F_{st}>0.25$), 且群体间变异占总遗传变异的 43.88%, 而群体内个体间变异占 56.12%。

群体间多重位点的遗传分化指数 F_{st} 和遗传距离见表 5。

由表 5 可知, 群体 C-F₁ 与家系群体 HCJC 间的遗传分化最大($F_{st}=0.5327$), 而群体选育的 C-F₁ 和 C-F₂ 群体间的遗传分化最小($F_{st}=0.3221$)。

HCHC 群体与 HCJC 和 JCHC 间具有最小的遗传距离(0.0001); 而群体 C-F₁ 与杂交群体 HCJC 间的遗传距离最大(3.2857)。

基于 Nei 的遗传距离, 采用 UPMGA 算法构建的群体聚类图如图 4 所示。

由图 4 可见, 7 个群体分别聚为 2 支, 其中翘嘴鳊野生群体 C 与群体选育群体 C-F₁ 和 C-F₂ 聚为一支, 而 4 个家系选育群体聚为另一支。

3 讨论

3.1 翘嘴鳊家系的生长与杂合性分析

杂种优势是杂交子一代在生长力、繁殖力、产量和品质等性状上优于双亲的一种复杂的生物学现象。杂种优势的大小通常取决于双亲性状间的相对差异和互补程度。在一定的范围内, 双亲差异越大, 往往杂种优势越强, 反之则越弱。杂交育种中双亲间的差异除了不同种间的差异外, 还包括同种的不同生态类型或地理之间的差异, 也

表 5 群体间遗传分化指数 F_{st} (右上角)和遗传距离(左下角)

Tab. 5 Pairwise F_{st} (above the diagonal) and Nei's unbiased genetic distances (under the diagonal)

群体 population	C	C-F ₁	C-F ₂	JCJC	HCHC	HCJC	JCHC
C	—	0.3474	0.3329	0.4145	0.3353	0.4246	0.3738
C-F ₁	2.2269	—	0.3221	0.4767	0.4208	0.5327	0.4714
C-F ₂	1.6946	0.7700	—	0.4921	0.4394	0.5295	0.4784
JCJC	2.6917	1.7272	2.0405	—	0.4659	0.5285	0.4538
HCHC	2.6482	2.3351	3.1624	1.9875	—	0.5207	0.4776
HCJC	2.3543	3.2857	2.6494	1.3774	0.0001	—	0.3341
JCHC	2.0958	2.3058	2.3989	1.1126	0.0001	0.4666	—

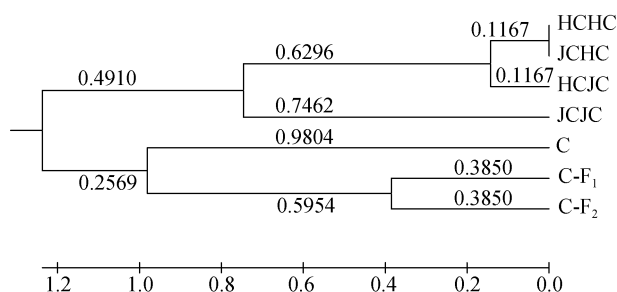


图 4 翘嘴鲈选育群体的 UPGMA 聚类图

1000 次重复, 线上数字表示 Nei's 遗传距离。

Fig. 4 UPGMA dendrogram of the seven populations based on Nei's unbiased genetic distances

1000 times bootstrap, numbers on the branch donate Nei's genetic distance.

就是说不同地理种群间的杂交同样有可能获得杂种优势。如 Kleinsasser 等^[17]对 2 龄的大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 北方亚种、佛罗里达亚种及正反交子代进行生长试验, 发现杂交组合佛罗里达亚种♀×北方亚种♂的生长速度最快, 佛罗里达亚种的生长速度最慢。Zheng 等^[18]将美国康涅狄格州高度近交的海湾扇贝与来自弗吉尼亚州和马萨诸塞州具有较高杂合性的海湾扇贝进行正反交试验和杂交优势研究, 发现正反交杂交种在孵化率、幼虫的存活和生长、稚贝和成贝的生长上均获得了较高的杂种优势率, 上述性状的中亲杂种优势率分别为 7.9%、10.8%、3.0%、8.4%和 10.9%。You 等^[19]对来自日本(A)、台湾(B)和越南(C)的杂色鲍(*Haliotis diversicolor*)进行 3×3 的完全双列杂交, 并对正反交杂种在稚贝早期、稚贝后期及养成阶段的存活率及生长进行了研究, 发现日本与台湾杂色鲍杂交的 AB 组合在这 3 个时期的存活率和生长速度的杂种优势均显著高于 AC 和 BC 组合, AB 和 BA 组合高存活率的杂种优势也表明不同地理群体间的杂交将是养殖杂色鲍遗传改良的有效途径。然而, 不同地理群体间的杂交也可能产生杂交衰退现象, 如 Bentsen 等^[20]发现在尼罗罗非鱼 4 个野生地理群体与 4 个选育群体的杂交系中, 并不是所有的杂交系都能表现出超过纯系的生长优势, 22 个杂交系中仅有 7 个杂交系有显著的杂种优势。Granier 等^[21]对比了溪红点鲑(*Salvelinus fontinalis*)养殖群体与 2 个野生

群体的全同胞家系和杂交系的生长性能, 发现在杂交系中, 杂种优势和杂交衰退同时存在。本研究中纯种家系(JCJC 和 HCHC)体重、体长和体高的生长速度均显著大于杂交系(HCJC 和 JCHC), 杂交系并未表现出生长方面的杂种优势。

已有研究表明, 大多数情况下群体的杂合性与适合度呈正相关, 即基因的杂合性能够提高机体的生活力、繁殖力和生长速度等^[22-25]。但是, 关于杂合性与适合度的相关性仍存在争论, 如 Lieutenant-Gosselin 等^[26]用微卫星标记分析了三刺鱼(*Gasterosteus aculeatus*)杂合性与适合度的关系, 发现单个微卫星位点的杂合性与适合度既有正相关关系, 也有负相关关系。本实验中生长性能最好的江苏翘嘴鲈家系(JCJC)的平均观察杂合度在 4 个家系中最低, 也就是说纯种的江苏翘嘴鲈家系的杂合性与其生长性能不对应。种群特殊的遗传结构可能是造成这差异的主要原因。Bougas 等^[27]分析了不同地理种群溪红点鲑杂交系产生杂种优势和杂交衰退的原因, 认为杂种优势与转录调节方式相关, 转录调节的显性效应与生长的杂交优势相关, 而转录调节的超亲效应可能与杂交衰退相关, 杂交对转录水平和显型的影响是与杂交群体特殊的遗传结构相关, 因而杂交效果是难以预测的。

3.2 翘嘴鲈选育群体的遗传多样性

基础选育群体的遗传多样性的高低及其维系是关系到选育体系能否可持续性发展的关键问题。长期选育计划的一个重要目标是维持连续的选育遗传改良与高遗传多样性水平之间的平衡^[28]。Takezaki 等^[29]认为, 利用微卫星计算出的杂合度在 0.3~0.8 之间则表示群体有遗传多样性。本研究通过群体选育和家系选育两种育种方法构建了翘嘴鲈育种的选育群体, 实验结果表明群体选育和家系选育的群体平均期望杂合度均大于 0.3, 范围为 0.3930~0.5792。尤其需要指出的是, 通过群体选育的方法, C-F₁ 群体($H_e=0.5307$)即使在经历较高强度(选择强度 10%)的生长选择后, 在较少亲本进行繁育的条件下, 仍能在 C-F₂ 群体中维持遗传多样性水平($H_e=0.5288$)。此外, 本研究中不

同地理种群翘嘴鲌家系的建立可以丰富选育群体的遗传多样性, 家系的特有等位基因比群体选育的 C-F₁ 和 C-F₂ 高出约 29.33%。

本研究检测了选育群体是否显著偏离哈德-温伯格平衡, 结果在 6 个翘嘴鲌选育群体中共检测出 8 个(约 19.05%)位点显著偏离 HWE。Chang 等^[30]指出, 杂合子缺失一般是造成群体偏离 HWE 的主要原因之一。此外, 非随机交配群体、不同独立交配群体的混合、无效等位基因及人工选择也会引起 HWE 的偏离^[31-33]。从本研究的 6 个翘嘴鲌选育群体总的 42 个位点中, 有 13 个位点(约占 30.95%)的 F_{is} 值为正值, 表明杂合子缺失是造成翘嘴鲌选育群体偏离 HWE 的一个可能的主要原因。另一方面, 对样本来源以及培育环境的分析表明, 多个独立交配群体的混合和非随机交配群体可能是造成偏离 HWE 的另一个主要原因。此外, 实验中还发现 G12-G13 和 G5-G14 连锁位点在 5 个群体和总群体中均出现显著的连锁不平衡现象, 因而推测这两个连锁位点可能位于翘嘴鲌的同一染色体上。

3.3 翘嘴鲌选育群体间的遗传分化

衡量群体间遗传差异的主要指标包括群体间遗传分化指数 F_{st} 和遗传距离。通常, 遗传分化程度越高的群体, 就越容易筛选出用于群体区分的特异性分子标记^[34]。Wright^[35]认为, 当 F_{st} 大于 0.25 时表示遗传分化极大。本研究中翘嘴鲌选育群体间的遗传分化指数 F_{st} 范围为 0.3221~0.5327, 表明选育群体间遗传分化显著。对特有等位基因的分析发现, G14₄₃₇ 可作为江苏翘嘴鲌家系的群体特异性分子标记, 而 G5₅₃₀ 可作为杂交系与野生翘嘴鲌和其他选育群体区分的特异标记。

研究选育群体间的亲缘关系, 对于有效防止选育群体间因近交而产生的衰退, 以及通过遗传距离设计不同选育群体间的杂交育种具有重要的指导意义。理论上, 遗传差异越大的两个群体进行杂交, 杂交子代产生的杂种优势也就越大。因此, 在进行同种的不同群体间(如不同地理群体或不同品系间)的人工杂交时, 必须评估两个群体间的遗传差异是否显著^[36]。目前, 杂种优势主要是

通过双亲地理差异、群体遗传学配合力分析、遗传距离分析、分子遗传学以及计算机模拟等方法来进行预测^[37]。在上述的这些方法中, 根据遗传距离来进行杂种优势预测是最基本的方法^[27]。本研究中群体间的遗传距离结果表明, 湖南翘嘴鲌家系与选育的 C-F₁ 和 C-F₂ 群体间遗传距离较远, 且 C-F₁ 与杂交群体 HCJC 间的遗传距离最大(3.2857), 预测将群体选育中的个体与家系选育的个体进行杂交育种, 如 C-F₁ 与 HCJC 群体中生长优良的个体进行杂交, 后代可能获得杂种优势。

参考文献:

- [1] Fang Z Q, Chen J, Zheng W B, et al. RAPD analysis of wild population and cultivated population in *Siniperca chuatsi* Basilewsky[J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2005, 20(1): 16-19.[方展强, 陈军, 郑文彪, 等. 鲌野生群体与养殖群体的 RAPD 分析[J]. 大连水产学院学报, 2005, 20(1): 16-19.]
- [2] He J G, Zeng K, Weng S P, et al. Systemic disease caused by an iridovirus-like agent in cultured mandarin fish *Siniperca chuatsi* (Basilewsky), in China[J]. J Fish Dis, 2000, 23(3): 219-222.
- [3] Fu X Z, Li N Q, Liu L H, et al. Genotype and host range analysis of infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV)[J]. Virus Genes, 2011, 42(1): 97-109.
- [4] Ribaut J M, Hoisington D. Marker-assisted selection: new tools and strategies[J]. Trends Plant Sci, 1998, 3(6): 236-239.
- [5] Kinghorn B P. A review of quantitative genetics in fish breeding[J]. Aquaculture, 1983, 31(2-4): 283-304.
- [6] Gjerde B, Refstie T. Complete diallel cross between five strains of Atlantic salmon[J]. Livest Prod Sci, 1984, 11(2): 207-226.
- [7] Su G S, Liljedahl L E, Gall G A E. Effects of inbreeding on growth and reproductive traits in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Aquaculture, 1996, 142(3-4): 139-148.
- [8] English L J, Maguire G B, Ward R D. Genetic variation of wild and hatchery populations of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), in Australia[J]. Aquaculture, 2000, 187(3-4): 283-298.
- [9] Wang L L, Zhang H, Song L S, et al. Loss of allele diversity in introduced populations of the hermaphroditic bay scallop *Argopecten irradians*[J]. Aquaculture, 2007, 271(1-4): 252-259.
- [10] Zheng H Z, Yi T L, Liang X F, et al. Genetic structure and

- genetic diversity analysis of four consecutive breeding generations of *Siniperca chuatsi*[J]. Freshwater Fisheries, 2013, 43(6): 8–12.[郑荷子, 易提林, 梁旭方, 等. 翘嘴鲌连续 4 代选育群体遗传多样性及遗传结构分析[J]. 淡水渔业, 2013, 43(6): 8–12.]
- [11] Zhang J, Liang X F, Yang M, et al. Genetic structure and genetic diversity analysis of artificial selection populations of mandarin fish *Siniperca chuatsi*[J]. Fisheries Science, 2014, 33(7): 447–450.[张进, 梁旭方, 杨敏, 等. 2 个鲈鱼选育群体遗传多样性分析[J]. 水产科学, 2014, 33(7): 447–450.]
- [12] Kuang G Q. Microsatellite markers development and genetic diversity research in *Siniperca*[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2007: 47.[匡刚桥. 鲈鱼微卫星标记的开发及遗传多样性研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2007: 47.]
- [13] Weir B S, Cockerham C C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure[J]. Evolution, 1984, 38(6): 1358–1370.
- [14] Sokal R R, Rohlf F J. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research, 3rd edition[M]. New York: W H Freeman, 1995.
- [15] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals[J]. Genetics, 1978, 89(3): 583–590.
- [16] Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods[J]. Molecu Biol Evolut, 2011, 28(10): 2731–2739.
- [17] Kleinsasser L J, Williamson J H, Whiteside B G. Growth and catchability of Northern Florida, and F, hybrid largemouth bass in Texas ponds[J]. North Am J Fish Manage, 1990, 10(4): 462–468.
- [18] Zheng H P, Zhang G F, Guo X M, et al. Heterosis between two stocks of the bay scallop, *Argopecten irradians irradians* Lamarck (1819)[J]. J Shellfish Res, 2006, 25(3): 807–812.
- [19] You W W, Ke C H, Luo X, et al. Growth and survival of three small abalone *Haliotis diversicolor* populations and their reciprocal crosses[J]. Aquac Res, 2009, 40(3): 1474–1480.
- [20] Bentsen H B, Eknath A E, Palada-de Vera M S, et al. Genetic improvement of farmed tilapias: growth performance in a complete diallel cross experiment with eight strains of *Oreochromis niloticus*[J]. Aquaculture, 1998, 160(1–2): 145–173.
- [21] Granier S, Audet C, Bernatchez L. Heterosis and outbreeding depression between strains of young-of-the-year brook trout (*Salvelinus fontinalis*)[J]. Can J Zool, 2011, 89(3): 190–198.
- [22] Xu Z, Primavera J H, de la Penal L D. Genetic diversity of wild and cultured black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using microsatellites[J]. Aquaculture, 2001, 199(1–2): 13–40.
- [23] Reed D H, Frankham R. Correlation between fitness and genetic diversity[J]. Conserv Biol, 2003, 17(1): 230–237.
- [24] Olano-Marin J, Mueller J C, Kempnaers B. Correlations between heterozygosity and reproductive success in the blue tit (*Cyanistes caeruleus*): an analysis of inbreeding and single locus effects[J]. Evolution, 2011, 65(11): 3175–3194.
- [25] Forstmeier W, Schielzeth H, Mueller J C, et al. Heterozygosity-fitness correlations in zebra finches: microsatellite markers can be better than their reputation[J]. Mol Ecol, 2012, 21(13): 3237–3249.
- [26] Lieutenant-Gosselin M, Bernatchez L. Local heterozygosity-fitness correlations with global positive effects on fitness in threespine stickleback[J]. Evolution, 2006, 60(8): 1658–1668.
- [27] Bougas B, Granier S, Audet C, et al. The transcriptional landscape of cross-specific hybrids and its possible link with growth in brook charr (*Salvelinus fontinalis* Mitchell)[J]. Genetics, 2010, 186(1): 97–107.
- [28] Gaiotto F A, Bramucci M, Grattapaglia D. Estimation of outcrossing rate in a breeding population of Eucalyptus urophylla with dominant RAPD and AFLP markers[J]. Theor Appl Genet, 1997, 95(5–6): 842–849.
- [29] Takezaki N, Nei M. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA[J]. Genetics, 1996, 144(1): 389–399.
- [30] Chang Y M, Ding L, Wang W W, et al. Isolation and characterization of 11 microsatellite markers for the large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*[J]. Conserv Genet, 2009, 10(5): 1405–1408.
- [31] Callen D F, Thompson A D, Shen Y, et al. Incidence and origin of “null” alleles in the (AC)_n microsatellite markers [J]. Am J Hum Genet, 1993, 52: 922–927.
- [32] Rousset F, Raymond M. Testing heterozygote excess and deficiency[J]. Genetics, 1995, 140(4): 1413–1419.
- [33] Li G, Hubert S, Bucklin K, et al. Characterization of 79 microsatellite DNA markers in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*[J]. Mol Ecol Notes, 2003, 3(2): 228–232.
- [34] Chang Y M, Wang W W, Xu W T, et al. Genetic Differentiation between F2 and F3 cultured populations in large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*[J]. Oceanologia Sinica, 2009, 40(4): 414–422.[常玉梅, 王文文, 徐

- 万士, 等. 人工繁育大黄花(*Pseudosciaena crocea*)群体 F_2 及 F_3 遗传差异分析[J]. 海洋与湖沼, 2009, 40(4): 414–422.]
- [35] Wright S. Evolution and the genetics of population, variability within and among natural populations[M]. Chicago: The University of Chicago Press, 1978.
- [36] Newkirk G F, Haley L E. Progress in selection for growth rate in the European oyster *Ostrea edulis*[J]. Mar Ecol Prog Ser, 1982, 10: 77–79.
- [37] Zhang G F, Liu X, Que H Y, et al. The theory and application of hybridization and heterosis in marine mollusks[J]. Marine Science, 2004, 28(7): 54–60.[张国范, 刘晓, 阙华勇, 等. 贝类杂交及杂种优势理论和技术研究进展[J]. 海洋科学, 2004, 28(7): 54–60.]

Analysis of growth and genetic characteristics of the breeding populations of *Siniperca chuatsi*

SUN Jijia¹, HE Jianguo², LIU Li¹, WANG Haifang², LU Xue², XU Peng^{2,3}, LI Guifeng^{2,3}

1. College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;
2. South China Sea Bio-Resource Exploitation and Utilization Collaborative Innovation Center; Institute of Aquatic Economic Animals, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;
3. Guangdong Engineering Technology Research Center; Foshan Nanhai Bairong Aquatic Breeding Co. Ltd., Foshan 528216, China

Abstract: Based on the wild base-populations sampled from Hunan and Jiangsu provinces, six breeding populations of *Siniperca chuatsi*, including four pedigree-bred and two population-bred populations, were cultured. The growth properties of four pedigree-bred populations were studied and the genetic characteristics of all six breeding populations were analyzed with seven microsatellite DNA markers. The growth speed of the pure-bred families were significantly higher than geographic hybrid families, but there was no direct relationship between the growth rates and heterozygosities. The number of private alleles of the pedigree-bred populations was about 29.33% more than that of the two population-bred populations. This means that the establishment of *S. chuatsi* family with different geographic populations might raise the level of genetic diversity. The genetic differentiation within breeding populations was significant ($F_{st}=0.4388$). The relative farther genetic distance between the pure-bred populations and the pedigree-bred populations revealed that the hybridization between them might obtain some offsprings which exhibited heterosis. Private allele G14₄₃₇ could be used as the specific molecular markers for JCJC population, while G5₅₃₀ used to distinguish the geographic hybrid populations (HCJC and JCHC) from other breeding populations.

Key words: *Siniperca chuatsi*; breeding population; growth characteristics; genetics characteristics

Corresponding author: LI Guifeng. E-mail: liguif@mail.sysu.edu.cn