

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2020.19290

## 鲢鲮杂交及回交 F<sub>2</sub> 群体的微卫星遗传结构及其生长性能分析

崔文涛<sup>1, 2, 3</sup>, 郑国栋<sup>1, 2, 3</sup>, 苏晓磊<sup>1, 2, 3</sup>, 李宝玉<sup>1, 2, 3</sup>, 陈杰<sup>1, 2, 3</sup>, 邹曙明<sup>1, 2, 3</sup>

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

**摘要:** 为了指导团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)、翘嘴鲮(*Culter alburnus*)及其杂交 F<sub>2</sub>、回交 F<sub>2</sub> 的育种工作, 对两种回交 F<sub>2</sub>、一种杂交 F<sub>2</sub> 及两种原始亲本共 5 个群体的遗传结构及生长性能进行研究。结果表明, 团头鲂(MA)、翘嘴鲮(CA)、团头鲂♀×翘嘴鲮♂杂交 F<sub>2</sub>(MC-F<sub>2</sub>)、团头鲂♀×MC♂回交 F<sub>2</sub>(BC1-F<sub>2</sub>)、翘嘴鲮♀×MC♂回交 F<sub>2</sub>(BC2-F<sub>2</sub>) 的平均等位基因数( $N_a$ )分别为 4.50、4.40、4.75、4.85、5.10, 平均观测杂合度( $H_o$ )分别为 0.7683、0.5550、0.7967、0.8317、0.6200, 平均期望杂合度( $H_e$ )分别为 0.6671、0.6308、0.6995、0.7240、0.6949, 平均多态信息含量(PIC)分别为 0.6046、0.5717、0.6406、0.6676、0.6339, BC1-F<sub>2</sub> 群体的遗传多样性最高( $P < 0.05$ )。MA、MC-F<sub>2</sub> 和 BC1-F<sub>2</sub> 群体大多数位点的 Hardy-Weinberg 平衡遗传偏离指数显示杂合子过量( $D > 0$ ), CA、BC2-F<sub>2</sub> 群体出现了杂合子缺失现象( $D < 0$ )。聚类分析显示 CA 与 BC2-F<sub>2</sub> 首先聚类, MA 与 BC1-F<sub>2</sub> 首先聚类再与 MC-F<sub>2</sub> 聚类, 最后这 2 大类聚为一支。结合 Nei's 遗传距离和遗传相似度分析, 其杂交与回交后代均具有母本效应。引物 Me.Am\_15、Me.Am\_1、TTF01、Mam25 在 5 个群体中均产生特异性条带, 可作为 5 个群体的鉴定标记。通过对 5 个群体的生长性能的测量, BC1-F<sub>2</sub> 群体表现出显著的生长优势。该结果对鲢鲮杂交及回交后代的种质资源保护、种群鉴定及良种的选育具有重要意义。

**关键词:** 团头鲂; 翘嘴鲮; 杂交; 回交; 微卫星; 遗传结构; 生长性能

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2020)06-0613-11

远缘杂交是水生动物种、属、科甚至亚科之间进行育种的重要方法之一<sup>[1]</sup>。为了获得在生长率、存活率、抗逆性和肉质等方面优于其双亲的杂交后代, 大多数育种者运用远缘杂交的方法, 希望获得具有特定理想性能的水生动物。在之前的研究中发现, 通过种间杂交, 不仅获得了更好的生长优势, 如罗非鱼<sup>[2]</sup>、鲮<sup>[3]</sup>和鲑科鱼类<sup>[4]</sup>等, 某些种类杂交后代的抗逆性也得到了显著提高<sup>[5]</sup>。然而, 大多数的鱼类远缘杂交很难获得杂交子代, 甚至一些杂交后代与其亲本相比生长性能减弱或产生不育后代等<sup>[6-7]</sup>。

团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)和翘嘴鲮(*Culter alburnus*)分属鲮亚科的鲮属和鲮属, 两

者在中国的鱼类混养系统中具有重要地位。目前, 关于鲢鲮远缘杂交的研究均表明其杂交后代具有显著的杂种优势。Xiao等<sup>[8]</sup>、郑国栋等<sup>[9-11]</sup>和蒋文彬等<sup>[12]</sup>研究发现团头鲂(♀)×翘嘴鲮(♂)杂交品系具有生长快、饲料利用率高、肌肉品质好和肌间骨显著减少等明显的杂种优势。鲢鲮杂交种的遗传多样性相比其亲本显著提高<sup>[13-14]</sup>。此外, Li等<sup>[15]</sup>研究发现, 等位基因在鲢鲮正反杂交家系中不对称表达。然而, 关于鲢鲮回交子代遗传多样性的研究还未见报道。

由于连续的杂交会增加杂种后代的性状分离, 鲢鲮杂交、回交后代的形态非常相似不易区分, 且鲢鲮鱼类极易发生杂交, 可能会造成中国鲢鲮

收稿日期: 2019-11-11; 修订日期: 2020-01-07。

基金项目: 国家自然科学基金项目(31572220); 国家科技支撑计划项目(2012BAD26B00); 上海地方高校能力建设项目(18050501900)

作者简介: 崔文涛(1991-), 男, 硕士研究生, 主要从事水产动物遗传育种研究. E-mail: 2351402518@qq.com

通信作者: 邹曙明, 教授. E-mail: smzou@shou.edu.cn

鱼类种质资源的混杂和退化。本研究以鲢鮈杂交、回交子二代及其原始亲本为研究对象,对其进行生长性能比较,并通过微卫星实验,分析 5 个群体的遗传结构及筛选出能区分各群体的特异性分子标记,以期对鲢鮈群体的鉴定、种质资源保护和培育出生长快且遗传性状稳定的鲢鮈杂交新品系提供基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验使用的母本为团头鲂(MA),父本为淀山湖翘嘴鲈(CA),父母本均为 3 龄,性成熟且发育良好。2014 年 6 月首先利用团头鲂(♀)×翘嘴鲈(♂)杂交获得杂种 MC-F<sub>1</sub>;至 2016 年 6 月,杂种 MC-F<sub>1</sub> 发育成熟,再利用团头鲂(♀)与杂种 MC-F<sub>1</sub>(♂)进行回交获得回交鲢鮈(BC1-F<sub>1</sub>),用翘嘴鲈(♀)与杂

种 MC-F<sub>1</sub>(♂)进行回交获得回交鲢鮈(BC2-F<sub>1</sub>)。2018 年 6 月,实验组 MC-F<sub>2</sub>、BC1-F<sub>2</sub>、BC2-F<sub>2</sub> 群体同时在上海海洋大学农业部团头鲂遗传育种中心利用杂种 MC-F<sub>1</sub>(♀×♂)群体、回交鲢鮈 BC1-F<sub>1</sub>(♀×♂)群体、回交鲢鮈 BC2-F<sub>1</sub>(♀×♂)群体自交获得,同时繁殖一批同龄的团头鲂自交群体 MA(♀×♂)和翘嘴鲈自交群体 CA(♀×♂)用作对照组(图 1)。

### 1.2 养殖实验和生长性能

2018 年 6 月,准备 3 个同样大小的水泥池(6 m×4 m×1.2 m),每个水泥池放入 5 种相同年龄、规格的鱼苗(MA、CA、MC-F<sub>2</sub>、BC1-F<sub>2</sub>、BC2-F<sub>2</sub>)各 50 尾进行生长对比实验。整个养殖周期每天定时定量投喂天邦牌配合饲料(蛋白含量 33%),为保证水质清新,水泥池每周换 1 次水,90 d 养殖对比。养殖期间每 30 d 进行 1 次测量,测量指标包括:绝对增重率(AGR<sub>w</sub>, g/d)=(FW-IW)/养殖天数,特定

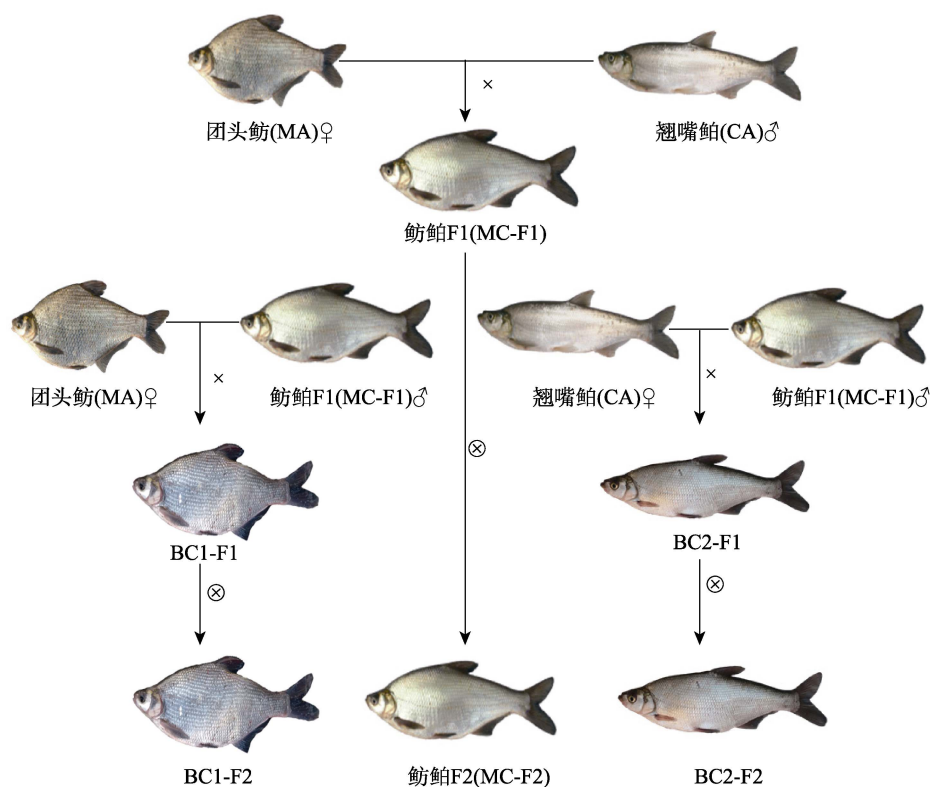


图 1 实验鱼的获得流程

MA: 团头鲂; CA: 翘嘴鲈; BC1-F<sub>2</sub>: 团头鲂♀×(团头鲂♀×翘嘴鲈♂)♂;

BC2-F<sub>2</sub>: 翘嘴鲈♀×(团头鲂♀×翘嘴鲈♂)♂; MC-F<sub>2</sub>: 团头鲂♀×翘嘴鲈♂。

Fig.1 Reproductive process of experimental fishes

MA: *Megalobrama amblycephala*; CA: *Culter alburnus*; BC1-F<sub>2</sub>: *M. amblycephala* ♀×(*M. amblycephala* ♀×*C. alburnus* ♂) ♂;

BC2-F<sub>2</sub>: *C. alburnus* ♀×(*M. amblycephala* ♀×*C. alburnus* ♂) ♂; MC-F<sub>2</sub>: *M. amblycephala* ♀×*C. alburnus* ♂

生长率(SGR, %/d)=(lnFW-lnIW)×100%/养殖天数; 结束时的体重值用离差分析进行比较<sup>[16]</sup>。IW 为初始体重, FW 为末体重。

1.3 微卫星分析

1.3.1 基因组 DNA 的提取 每个群体随机挑选 30 尾鱼苗剪取鳍条于 95%酒精中-20 ℃ 保存。样品 DNA 的提取参考天根生物科技有限公司生产的海洋动物组织基因组试剂盒(离心柱型)说明

书, 提取完成后进行检测, 并保存于-20 ℃ 备用。

1.3.2 微卫星引物筛选与来源 本研究筛选出 20 对团头鲂微卫星引物用于 5 个群体的遗传结构分析, 且均能扩增出稳定且清晰的条带, 其中有 2 对来自本实验室自行开发的团头鲂微卫星引物, 其他 18 对引物来源于文献[17-19]。本研究所用引物全部由生工生物工程(上海)有限公司合成。SSR 位点及引物信息见表 1。

表 1 团头鲂微卫星引物特征  
Tab. 1 Characteristics of microsatellite primers of *Megalobrama amblycephala*

| 序号<br>no. | 位点<br>locus      | 重复序列<br>repeat motif                 | 等位基因大小范围/bp<br>number of alleles | 退火温度/℃<br><i>T<sub>m</sub></i> | 引物序列 (5'-3')<br>primer sequence (5'-3')                |
|-----------|------------------|--------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------------------------|
| 1         | <i>TTF1</i>      | (CA) <sub>21</sub>                   | 243-335                          | 55.9                           | F: GGAGATGAAAGCTGAAGGAA<br>R: ATGCACGAACTGCCACATAA     |
| 2         | <i>TTF2</i>      | (CA) <sub>5</sub> (CT) <sub>21</sub> | 196-228                          | 55.9                           | F: AAACAGCTGCTACCCCTTGGA<br>R: TTTGCCAGAAGAGCAAATCA    |
| 3         | <i>TTF3</i>      | (TC) <sub>27</sub>                   | 224-279                          | 56.4                           | F: AAGACGCCACGGAACCTTTA<br>R: CTGACCGGATAGCAAAGTGA     |
| 4         | <i>TTF4</i>      | (CA) <sub>14</sub>                   | 157-282                          | 60.5                           | F: GACTGGAGTCGTCAGGCTTC<br>R: TGCCCCACATTGTTAGACTG     |
| 5         | <i>TTF5</i>      | (CA) <sub>15</sub>                   | 150-222                          | 60.5                           | F: CTAGTGGGTAGGTGGCAGGT<br>R: GACTGGGAGAGACAGAGGAG     |
| 6         | <i>TTF6</i>      | (GA) <sub>13</sub>                   | 182-218                          | 60.5                           | F: GGCAGGTCAGGCACATTTAT<br>R: TCTCTACCTCACATCTCTCATTCT |
| 7         | <i>TTF7</i>      | (GT) <sub>13</sub>                   | 279-335                          | 60.5                           | F: ATGGGTAAGCCGATGGATTC<br>R: GTGTCAGCATTCAGCTCCCT     |
| 8         | <i>TTF8</i>      | (GT) <sub>18</sub>                   | 162-224                          | 60.5                           | F: GGGGAAATAAAGGGAGAAAGTG<br>R: TTTCTCCTGATCCGTTGACC   |
| 9         | <i>TTF9</i>      | (TC) <sub>19</sub>                   | 269-319                          | 56.9                           | F: AAGACGCCACGGAACCTTTA<br>R: GAGGTGGGACTGTGTGGAAT     |
| 10        | <i>TTF10</i>     | (TC) <sub>6</sub> (TG) <sub>5</sub>  | 255-308                          | 55.9                           | F: AAACAGGCTCGCCAATTTTC<br>R: TCACCCACACACTCTTATTCTCTC |
| 11        | <i>Mam02</i>     | (TG) <sub>13</sub>                   | 198-246                          | 65.0                           | F: TTCGGTTCTGCCTTCACTCT<br>R: AAGACGCATGCTCAACAACA     |
| 12        | <i>Mam03</i>     | (CA) <sub>18</sub>                   | 231-324                          | 60.0                           | F: TTGCAGGTACTGTGGGAAAA<br>R: AGCAACATGCAAAACATCAAA    |
| 13        | <i>Mam25</i>     | (AC) <sub>5</sub> (AC) <sub>14</sub> | 166-252                          | 62.0                           | F: TCACACCAACAACACCGAAT<br>R: CCTTGTTTTCTCCAGGCATC     |
| 14        | <i>EST13</i>     | (AC) <sub>14</sub>                   | 209-266                          | 55.5                           | F: TCTTTCACAAACAAACCTT<br>R: GGATTATCAAACGCGGACT       |
| 15        | <i>EST23</i>     | (AC) <sub>12</sub>                   | 265-352                          | 57.5                           | F: GCGATCATCAAGGCAACG<br>R: AGATTATCAGCTCCTGTAGTGT     |
| 16        | <i>EST37</i>     | (TG) <sub>8</sub>                    | 147-216                          | 54.0                           | F: CACAAACCATAAACACAG<br>R: AATGCCCATAAAACACAC         |
| 17        | <i>EST43</i>     | (CA) <sub>14</sub>                   | 323-437                          | 58.0                           | F: CGTAACCCAACGTATCCG<br>R: GTTCACTCGTGCCCATCC         |
| 18        | <i>EST66</i>     | (CA) <sub>12</sub>                   | 290-349                          | 50.0                           | F: TCAATCAGGCATAAACAT<br>R: AACTAAGTAGCACGCAAA         |
| 19        | <i>Me.Am._1</i>  | (AGAAG) <sub>5</sub>                 | 210-275                          | 52                             | F: AGCGTGAGGATTCCAATT<br>R: AGAGGCAGAAACAACAGA         |
| 20        | <i>Me.Am._15</i> | (CATT) <sub>5</sub>                  | 175-200                          | 56                             | F: TGTGGATGCCCTGAGTGAA<br>R: AATGTGTTTCGTGTGGAGAG      |

注: F 为正向引物序列, R 为反向引物序列; TTF1-TTF10, Mam02-Mam25, EST13-EST66 分别来源于文献[11-13]。  
Note: F is the forward primer sequence and R is the reverse primer sequence; TTF1-TTF10, Mam02-Mam25, and EST13-EST66 are respectively from literatures[11-13].

1.3.3 PCR 反应体系、扩增程序、产物检测与数据统计

反应总体系为 10 μL: 5 μL 的 2×Taq PCR MasterMix (Taq DNA Polymerase: 0.1 U/μL; MgCl<sub>2</sub>: 4 mmol/L; dNTPs: 各 0.4 mmol/L), 上下游引物(10 μmol/L)及模板 DNA(30~50 ng)各 0.5 μL, 3.5 μL ddH<sub>2</sub>O。反应程序: 94 ℃ 预变性 5 min, 94 ℃ 30 s, 50~65 ℃ (由表 1 进行调整) 30 s, 72 ℃ 1 min, 30 个循环, 72 ℃ 延伸 10 min。取 1 μL 的产物在 8% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶 (PAGE) 上进行电泳, 银染后拍照。

微卫星数据采用 PopGene (Version3.2) 软件统计, 根据 Botstein 公式计算 Hardy-Weinberg 遗传偏离指数(*D*), 并根据群体间遗传距离构建 UPGMA 树。

2 结果与分析

2.1 生长性能分析

经过 90 d 的养殖, 5 个群体的生长性能被检测出来, 其生长速度的差异和均值多重比较如表 2 所示, 5 个群体平均体重、绝对增重率和特定生长率由高到低依次为 BC1-F<sub>2</sub>、MC-F<sub>2</sub>、MA、BC2-F<sub>2</sub>、CA。图 2 是 5 个群体的末体重的离差分析图。由图可以看出, BC1-F<sub>2</sub> 和 MC-F<sub>2</sub> 均为正值, 其他 3 个群均为负值, 此结果与平均体重、绝对增重率和特定生长率的离差分析结果基本一致, 说明 5 个群体间均存在显著的生长差异, 相比于其他群体 BC1-F<sub>2</sub> 的生长速度最快。

表 2 实验鱼 5 个群体的生长性能  
Tab. 2 The growth performance comparison among 5 fish groups

| 群体 group           | 体重/g body weight |                         |                         |                         | 绝对增重率/(g/d) AGR <sub>w</sub> | 特定生长率/(%/d) SGR        |
|--------------------|------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------------|------------------------|
|                    | 2018-08-13       | 2018-09-13              | 2018-10-13              | 2018-11-13              |                              |                        |
| MA                 | 5.52±0.02        | 16.93±3.91 <sup>b</sup> | 26.83±3.73 <sup>b</sup> | 28.20±3.53 <sup>b</sup> | 0.25±0.01 <sup>b</sup>       | 1.80±0.03 <sup>c</sup> |
| CA                 | 5.50±0.01        | 9.16±1.32 <sup>a</sup>  | 13.81±1.14 <sup>a</sup> | 15.07±0.85 <sup>a</sup> | 0.10±0.01 <sup>a</sup>       | 1.12±0.02 <sup>a</sup> |
| MC-F <sub>2</sub>  | 5.50±0.03        | 23.15±3.25 <sup>c</sup> | 34.99±3.49 <sup>c</sup> | 38.67±5.33 <sup>c</sup> | 0.37±0.02 <sup>c</sup>       | 2.16±0.03 <sup>d</sup> |
| BC1-F <sub>2</sub> | 5.48±0.01        | 29.70±1.91 <sup>d</sup> | 43.17±2.33 <sup>d</sup> | 45.70±3.42 <sup>d</sup> | 0.45±0.02 <sup>d</sup>       | 2.35±0.03 <sup>d</sup> |
| BC2-F <sub>2</sub> | 5.52±0.01        | 10.92±0.94 <sup>a</sup> | 18.44±2.05 <sup>a</sup> | 20.01±2.04 <sup>a</sup> | 0.16±0.01 <sup>a</sup>       | 1.43±0.01 <sup>b</sup> |

注: 同列不同上标字母表示各群体间差异显著( $P<0.05$ ); MA 为团头鲂; CA 为翘嘴鲌; MC-F<sub>2</sub> 为团头鲂♀×翘嘴鲌♂; BC1-F<sub>2</sub> 为团头鲂♀×(团头鲂♀×翘嘴鲌♂)♂; BC2-F<sub>2</sub> 为翘嘴鲌♀×(团头鲂♀×翘嘴鲌♂)♂。

Note: In the same column, different superscript letters show significant difference ( $P<0.05$ ); MA represents *Megalobrama amblycephala*; CA represents *Culter alburnus*; MC-F<sub>2</sub> represents *M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂; BC1-F<sub>2</sub> represents *M. amblephala*♀×(*M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂)♂; BC2-F<sub>2</sub> represents *C. alburnus*♀×(*M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂)♂。

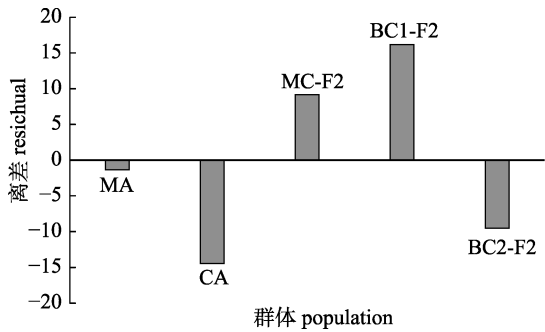


图 2 5 个实验鱼群体的末体重离差分析图

MA: 团头鲂; CA: 翘嘴鲌; MC-F<sub>2</sub>: 团头鲂♀×翘嘴鲌♂;  
BC1-F<sub>2</sub>: 团头鲂♀×(团头鲂♀×翘嘴鲌♂)♂;  
BC2-F<sub>2</sub>: 翘嘴鲌♀×(团头鲂♀×翘嘴鲌♂)♂。

Fig. 2 Analysis chart of end mass dispersion of 5 fish groups  
MA: *Megalobrama amblycephala*; CA: *Culter alburnus*; MC-F<sub>2</sub>: *M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂; BC1-F<sub>2</sub>: *M. amblephala*♀×(*M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂)♂; BC2-F<sub>2</sub>: *C. alburnus*♀×(*M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂)♂。

2.2 微卫星 PCR 扩增结果

本研究筛选出条带清晰、稳定及多态性良好的 20 对微卫星引物。并筛选出了可区分 5 个群体的 4 个特异性引物 Me.Am.\_15、Me.Am.\_1、TTF01 和 Mam25 如图 3 所示。

本研究中 20 对引物在 5 个群体中共检测了 487 个等位基因, 其中 MA、CA、MC-F<sub>2</sub>、BC1-F<sub>2</sub>、BC2-F<sub>2</sub> 分别扩增出 105、88、95、97 和 102 个等位基因, 每个位点检测到 2~8 个等位基因数, 平均等位基因数( $N_a$ )由高到低依次为: BC2-F<sub>2</sub>(5.10)、BC1-F<sub>2</sub>(4.85)、MC-F<sub>2</sub>(4.75)、MA(4.50)、CA(4.40); 平均观测杂合度( $H_o$ )、平均期望杂合度( $H_e$ )、平均多态信息含量(PIC)3 个参数的变化范围分别为 0.5550~0.8317, 0.6308~0.7240, 0.5717~0.6676, 5

个群体均具有较高的多态性(PIC>0.5000)。从这些遗传参数中可以得出 BC1-F<sub>2</sub> 的遗传多样性最高, CA 的遗传多样性最低。遗传多样性由高到低依次为 BC1-F<sub>2</sub>、MC-F<sub>2</sub>、BC2-F<sub>2</sub>、MA、CA(表 3, 表 4)。

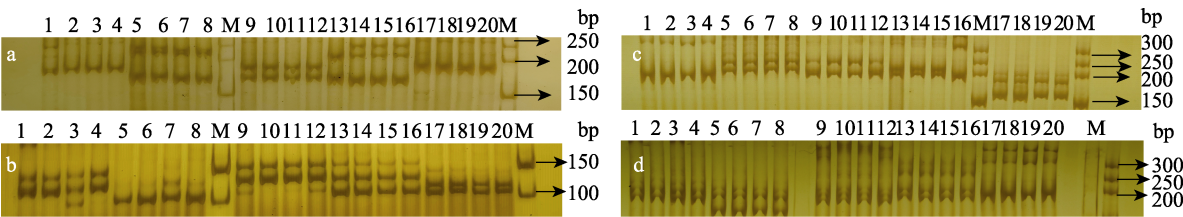


图 3 5 个实验于群体在 4 个特异性引物 Me.Am-15(a)、Mam25(b)、Me.Am.\_1(c)和 TTF01(d)中的 PAGE 图  
M: 50 bp DNA marker, 1-4: 团头鲂; 5-8: 翘嘴鲈; 9-12: 团头鲂♀×翘嘴鲈♂; 13-16: 团头鲂♀×(团头鲂♀×翘嘴鲈♂)♂;  
17-20: 翘嘴鲈♀×(团头鲂♀×翘嘴鲈♂)♂。

Fig. 3 PAGE diagrams of 5 fish groups amplified by primer Me.Am-15 (a), primer Mam25 (b), primer Me.Am.\_1 (c) and primer TTF01 (d)  
M: 50 bp DNA marker; 1-4: *Megalobrama amblycephala*; 5-8: *Culter alburnus*; 9-12: *M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂; 13-16: *M. amblephala*♀×(*M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂)♂; 17-20: *C. alburnus*♀×(*M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂)♂。

表 3 5 个群体在 20 个微卫星位点中的等位基因数和多态信息含量  
Tab. 3 Number of alleles (N<sub>a</sub>) and the polymorphism information content (PIC) of 20 microsatellite loci

| 位点 locus  | 等位基因数 N <sub>a</sub> |      |                   |                    |                    | 多态信息含量 PIC |        |                   |                    |                    |
|-----------|----------------------|------|-------------------|--------------------|--------------------|------------|--------|-------------------|--------------------|--------------------|
|           | MA                   | CA   | MC-F <sub>2</sub> | BC1-F <sub>2</sub> | BC2-F <sub>2</sub> | MA         | CA     | MC-F <sub>2</sub> | BC1-F <sub>2</sub> | BC2-F <sub>2</sub> |
| Me.Am._1  | 3                    | 5    | 4                 | 3                  | 4                  | 0.2141     | 0.6818 | 0.4746            | 0.5094             | 0.5217             |
| Me.Am._15 | 5                    | 3    | 4                 | 2                  | 6                  | 0.5073     | 0.4064 | 0.4019            | 0.2044             | 0.4708             |
| Mam25     | 4                    | 3    | 3                 | 4                  | 4                  | 0.6829     | 0.4604 | 0.5478            | 0.6981             | 0.5861             |
| Mam03     | 4                    | 5    | 5                 | 2                  | 7                  | 0.4767     | 0.7220 | 0.6238            | 0.3750             | 0.7668             |
| Mam02     | 4                    | 6    | 4                 | 4                  | 6                  | 0.7031     | 0.7663 | 0.6931            | 0.6713             | 0.7917             |
| TTF01     | 7                    | 6    | 4                 | 6                  | 6                  | 0.4193     | 0.7369 | 0.5569            | 0.7654             | 0.7581             |
| EST43     | 4                    | 5    | 4                 | 5                  | 4                  | 0.6746     | 0.4868 | 0.6950            | 0.6582             | 0.4996             |
| EST23     | 6                    | 4    | 6                 | 5                  | 7                  | 0.6244     | 0.6840 | 0.7331            | 0.7413             | 0.7749             |
| TTF03     | 6                    | 5    | 7                 | 6                  | 5                  | 0.6604     | 0.7039 | 0.7783            | 0.7282             | 0.7356             |
| EST66     | 6                    | 5    | 5                 | 6                  | 5                  | 0.7578     | 0.4534 | 0.7446            | 0.7680             | 0.6841             |
| TTF04     | 6                    | 7    | 7                 | 6                  | 7                  | 0.7467     | 0.7621 | 0.8231            | 0.8031             | 0.7405             |
| TTF06     | 6                    | 5    | 6                 | 6                  | 6                  | 0.5823     | 0.5106 | 0.6255            | 0.7333             | 0.7271             |
| TTF09     | 6                    | 4    | 5                 | 6                  | 4                  | 0.7419     | 0.5975 | 0.6691            | 0.7754             | 0.6563             |
| EST13     | 6                    | 5    | 4                 | 6                  | 8                  | 0.7202     | 0.5477 | 0.7031            | 0.7643             | 0.7455             |
| TTF05     | 5                    | 4    | 5                 | 5                  | 5                  | 0.6071     | 0.5545 | 0.7455            | 0.7364             | 0.6204             |
| TTF02     | 5                    | 5    | 3                 | 5                  | 6                  | 0.6802     | 0.6753 | 0.5526            | 0.6946             | 0.6998             |
| TTF07     | 5                    | 3    | 6                 | 4                  | 3                  | 0.5314     | 0.4956 | 0.5672            | 0.6502             | 0.4894             |
| TTF08     | 7                    | 2    | 4                 | 7                  | 3                  | 0.6076     | 0.3610 | 0.5803            | 0.8055             | 0.4612             |
| TTF10     | 7                    | 4    | 4                 | 6                  | 4                  | 0.7867     | 0.5586 | 0.5775            | 0.7529             | 0.6545             |
| EST37     | 3                    | 2    | 5                 | 3                  | 2                  | 0.3680     | 0.2688 | 0.7182            | 0.5169             | 0.2938             |
| 平均 mean   | 4.50                 | 4.40 | 4.75              | 4.85               | 5.10               | 0.6046     | 0.5717 | 0.6406            | 0.6676             | 0.6339             |

注: MA 为团头鲂; CA 为翘嘴鲈; MC-F<sub>2</sub> 为团头鲂♀×翘嘴鲈♂; BC1-F<sub>2</sub> 为团头鲂♀×(团头鲂♀×翘嘴鲈♂)♂; BC2-F<sub>2</sub> 为翘嘴鲈♀×(团头鲂♀×翘嘴鲈♂)♂。  
Note: MA represents *Megalobrama amblycephala*; CA represents *Culter alburnus*; MC-F<sub>2</sub> represents *M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂; BC1-F<sub>2</sub> represents *M. amblephala*♀×(*M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂)♂; BC2-F<sub>2</sub> represents *C. alburnus*♀×(*M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂)♂。

表 4 5 个群体在 20 个微卫星位点中的观测杂合度和期望杂合度  
Tab. 4 Observed heterozygosity ( $H_o$ ) and expected heterozygosity ( $H_e$ ) of 20 microsatellite loci in 5 fish groups

| 位点 locus         | 观测杂合度 $H_o$ |        |                   |                    |                    | 期望杂合度 $H_e$ |        |                   |                    |                    |
|------------------|-------------|--------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------|--------|-------------------|--------------------|--------------------|
|                  | MA          | CA     | MC-F <sub>2</sub> | BC1-F <sub>2</sub> | BC2-F <sub>2</sub> | MA          | CA     | MC-F <sub>2</sub> | BC1-F <sub>2</sub> | BC2-F <sub>2</sub> |
| <i>Me.Am.1</i>   | 0.0333      | 0.7000 | 0.5333            | 0.2667             | 0.1000             | 0.2390      | 0.7362 | 0.5537            | 0.5966             | 0.5746             |
| <i>Me.Am._15</i> | 0.3000      | 0.0333 | 0.4000            | 0.0000             | 0.6333             | 0.6028      | 0.4932 | 0.4407            | 0.2350             | 0.5096             |
| <i>Mam25</i>     | 1.0000      | 0.7000 | 1.0000            | 1.0000             | 0.9000             | 0.7446      | 0.5237 | 0.6305            | 0.7582             | 0.6638             |
| <i>Mam03</i>     | 1.0000      | 0.7333 | 0.4667            | 1.0000             | 1.0000             | 0.5791      | 0.7740 | 0.6876            | 0.5085             | 0.8062             |
| <i>Mam02</i>     | 1.0000      | 1.0000 | 0.8667            | 1.0000             | 1.0000             | 0.7627      | 0.8102 | 0.7537            | 0.7345             | 0.8316             |
| <i>TTF01</i>     | 0.5333      | 1.0000 | 1.0000            | 1.0000             | 0.9333             | 0.4723      | 0.7802 | 0.6395            | 0.8096             | 0.8028             |
| <i>EST43</i>     | 1.0000      | 0.4000 | 1.0000            | 1.0000             | 0.4000             | 0.7373      | 0.5379 | 0.7554            | 0.7164             | 0.5537             |
| <i>EST23</i>     | 0.9333      | 0.7667 | 1.0000            | 0.9333             | 0.8000             | 0.6910      | 0.7452 | 0.7819            | 0.7898             | 0.8175             |
| <i>TTF03</i>     | 0.9333      | 0.5667 | 1.0000            | 1.0000             | 0.5000             | 0.7232      | 0.7599 | 0.8203            | 0.7751             | 0.7859             |
| <i>EST66</i>     | 1.0000      | 0.2000 | 1.0000            | 1.0000             | 0.4667             | 0.7960      | 0.4898 | 0.7932            | 0.8113             | 0.7350             |
| <i>TTF04</i>     | 1.0000      | 1.0000 | 1.0000            | 1.0000             | 1.0000             | 0.7921      | 0.8068 | 0.8576            | 0.8412             | 0.7881             |
| <i>TTF06</i>     | 0.4333      | 0.1000 | 0.6000            | 0.4333             | 0.4333             | 0.6249      | 0.5915 | 0.6757            | 0.7808             | 0.7768             |
| <i>TTF09</i>     | 0.7333      | 0.4333 | 1.0000            | 1.0000             | 0.4333             | 0.7859      | 0.6684 | 0.7299            | 0.8181             | 0.7164             |
| <i>EST13</i>     | 1.0000      | 0.5000 | 1.0000            | 1.0000             | 0.6333             | 0.7734      | 0.5893 | 0.7627            | 0.8090             | 0.7893             |
| <i>TTF05</i>     | 1.0000      | 0.7667 | 1.0000            | 1.0000             | 0.7333             | 0.6791      | 0.6260 | 0.7938            | 0.7870             | 0.6881             |
| <i>TTF02</i>     | 0.9000      | 0.4000 | 0.6333            | 1.0000             | 0.6667             | 0.7384      | 0.7350 | 0.6367            | 0.7475             | 0.7537             |
| <i>TTF07</i>     | 0.4000      | 0.6667 | 0.3667            | 0.4667             | 0.4333             | 0.6119      | 0.5672 | 0.6085            | 0.7119             | 0.5859             |
| <i>TTF08</i>     | 0.8300      | 0.6333 | 0.6333            | 0.9333             | 0.6000             | 0.6689      | 0.4808 | 0.6503            | 0.8418             | 0.5695             |
| <i>TTF10</i>     | 0.5000      | 0.5000 | 0.7333            | 0.6000             | 0.7333             | 0.8254      | 0.6175 | 0.6486            | 0.8000             | 0.7169             |
| <i>EST37</i>     | 0.8300      | 0.0000 | 0.7000            | 1.0000             | 0.0000             | 0.4944      | 0.3254 | 0.7701            | 0.6079             | 0.4316             |
| 平均 mean          | 0.7683      | 0.5550 | 0.7967            | 0.8317             | 0.6200             | 0.6671      | 0.6308 | 0.6995            | 0.7240             | 0.6949             |

注: MA 为团头鲂; CA 为翘嘴鲌; MC-F<sub>2</sub> 为团头鲂♀×翘嘴鲌♂; BC1-F<sub>2</sub> 为团头鲂♀×(团头鲂♀×翘嘴鲌♂)♂; BC2-F<sub>2</sub> 为翘嘴鲌♀×(团头鲂♀×翘嘴鲌♂)♂。

Note: MA represents *Megalobrama amblycephala*; CA represents *Culter alburnus*; MC-F<sub>2</sub> represents *M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂; BC1-F<sub>2</sub> represents *M. amblephala*♀×(*M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂)♂; BC2-F<sub>2</sub> represents *C. alburnus*♀×(*M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂)♂。

2.3 Hardy-Weinberg 平衡遗传偏离指数

5 个群体各位点的  $D$  值在-1.0000~0.9666, 各位点平均遗传偏离指数为-0.1639~0.1269, 经邦弗朗尼校正, 哈迪-温伯格平衡检验结果显示 5 个群体各位点均出现了偏离。MA、MC-F<sub>2</sub> 和 BC1-F<sub>2</sub> 3 个群体的多数位点均出现了杂合子过剩现象 ( $D>0$ ), 而 CA 和 BC2-F<sub>2</sub> 两个群体的多数位点出现了杂合子缺失现象 ( $D<0$ ) (表 5)。

2.4 5 个群体间的遗传关系和聚类分析

5 个群体间的遗传相似性系数在 0.5770~0.8841 之间, 遗传距离在 0.1232~0.5499 之间, 5 个群体间存在一定的遗传变异。CA 和回交种 BC2-F<sub>2</sub> 的亲缘关系最近, 它们之间的遗传距离最小 (0.1232), 遗传相似性系数最大 (0.8841); CA 和杂

种 MC-F<sub>2</sub> 之间的遗传距离最大 (0.5499), 遗传相似性系数最小 (0.5770), 说明它们的亲缘关系最远, 遗传变异的程度也最高 (表 6)。

根据 5 个群体间遗传距离构建 UPGMA 聚类关系, 从聚类图中可以看出 CA 和 BC2-F<sub>2</sub> 先聚为一支, MA 和 BC1-F<sub>2</sub> 聚为一支再与 MC-F<sub>2</sub> 聚类, 最后这两大支再聚类 (图 4)。

3 讨论

3.1 回交后代的生长优势分析

杂交被广泛用于提高动物和植物的生长率或其他经济性状<sup>[20-21]</sup>, 在鱼类良种选育中生长性能占据着重要的研究地位。理想的杂种遗传性会随着世代的传递而丧失, 回交作为一种巩固优良性

表 5 5 个群体的哈迪-温伯格平衡遗传偏离指数(D)  
Tab. 5 Hardy-Weinberg equilibrium genetic deriation index (D) of 5 fish groups

| 位点 locus  | 遗传偏离指数 D |         |                   |                    |                    | 偏离哈迪-温伯格平衡的显著性 P |         |                   |                    |                    |
|-----------|----------|---------|-------------------|--------------------|--------------------|------------------|---------|-------------------|--------------------|--------------------|
|           | MA       | CA      | MC-F <sub>2</sub> | BC1-F <sub>2</sub> | BC2-F <sub>2</sub> | MA               | CA      | MC-F <sub>2</sub> | BC1-F <sub>2</sub> | BC2-F <sub>2</sub> |
| Me.Am.1   | -0.8607  | -0.0492 | -0.0368           | -0.5530            | -0.8260            | 0.0000*          | 0.0032* | 0.0025*           | 0.0000*            | 0.0000*            |
| Me.Am._15 | -0.5023  | -0.9325 | -0.0924           | -1.0000            | 0.2427             | 0.0003*          | 0.0000* | 0.0405            | 0.0050*            | 0.9789             |
| Mam25     | 0.3430   | 0.3366  | 0.5860            | 0.3189             | 0.3558             | 0.0000*          | 0.0417  | 0.0007*           | 0.0001*            | 0.0084*            |
| Mam03     | 0.7268   | -0.0526 | -0.3213           | 0.9666             | 0.2404             | 0.0130           | 0.0000* | 0.0000*           | 0.0000*            | 0.0000             |
| Mam02     | 0.3111   | 0.2343  | 0.1499            | 0.3615             | 0.2025             | 0.0062*          | 0.0002* | 0.0007*           | 0.0017*            | 0.0016*            |
| TTF01     | 0.1292   | 0.2817  | 0.5637            | 0.2352             | 0.1626             | 0.0136           | 0.0029* | 0.0031*           | 0.0000*            | 0.0000*            |
| EST43     | 0.3563   | -0.2564 | 0.3238            | 0.3959             | -0.2776            | 0.0000*          | 0.0009* | 0.0003*           | 0.0004*            | 0.0011*            |
| EST23     | 0.3507   | 0.0289  | 0.2789            | 0.1817             | -0.0214            | 0.0000*          | 0.0004* | 0.0000*           | 0.0013*            | 0.0009*            |
| TTF03     | 0.2905   | -0.2542 | 0.2191            | 0.2902             | -0.3638            | 0.0174           | 0.0000* | 0.0001*           | 0.0000*            | 0.0000*            |
| EST66     | 0.2563   | -0.5917 | 0.2607            | 0.2326             | -0.3650            | 0.0000*          | 0.0006* | 0.0000*           | 0.0031*            | 0.0000*            |
| TTF04     | 0.2625   | 0.2395  | 0.1660            | 0.1888             | 0.2689             | 0.0001*          | 0.0005* | 0.0005*           | 0.0021*            | 0.0003*            |
| TTF06     | -0.3066  | -0.8309 | -0.1120           | -0.4451            | -0.4422            | 0.0003*          | 0.0000* | 0.0754            | 0.0000*            | 0.0000*            |
| TTF09     | -0.0669  | -0.3517 | 0.3701            | 0.2223             | -0.3952            | 0.0271           | 0.0000* | 0.0000*           | 0.0000*            | 0.0004*            |
| EST13     | 0.2930   | -0.1515 | 0.3111            | 0.2361             | -0.1976            | 0.0049*          | 0.0012* | 0.0048*           | 0.0009*            | 0.0013*            |
| TTF05     | 0.4725   | 0.2248  | 0.2598            | 0.2706             | 0.0657             | 0.0000*          | 0.0127  | 0.0000*           | 0.0000*            | 0.2926             |
| TTF02     | 0.2189   | -0.4558 | -0.0053           | 0.3378             | -0.1154            | 0.0005*          | 0.0000* | 0.0063*           | 0.0001*            | 0.0005*            |
| TTF07     | -0.3463  | 0.1754  | -0.3974           | -0.3444            | -0.2605            | 0.0077*          | 0.0827  | 0.0071*           | 0.0000*            | 0.0036*            |
| TTF08     | 0.2408   | 0.3172  | -0.0261           | 0.1087             | 0.0536             | 0.0000*          | 0.0765  | 0.0003*           | 0.0027*            | 0.0587*            |
| TTF10     | -0.3942  | -0.1903 | 0.1306            | -0.2500            | 0.0229             | 0.0301           | 0.0743  | 0.0000*           | 0.0000*            | 0.0000*            |
| EST37     | 0.6788   | -1.0000 | -0.0910           | 0.6450             | -1.0000            | 0.0001*          | 0.0000* | 0.0000*           | 0.0000*            | 0.0006*            |
| 平均 mean   | 0.1227   | -0.1639 | 0.1269            | 0.1120             | -0.1325            |                  |         |                   |                    |                    |

注: MA 为团头鲂; CA 为翘嘴鲌; MC-F<sub>2</sub> 为团头鲂♀×翘嘴鲌♂; BC1-F<sub>2</sub> 为团头鲂♀×(团头鲂♀×翘嘴鲌♂)♂; BC2-F<sub>2</sub> 为翘嘴鲌♀×(团头鲂♀×翘嘴鲌♂)♂; \* 表示经邦弗朗尼校正后偏离哈迪-温伯格平衡(P<0.01).  
Note: MA represents *Megalobrama amblycephala*; CA represents *Culter alburnus*; MC-F<sub>2</sub> represents *M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂; BC1-F<sub>2</sub> represents *M. amblephala*♀×(*M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂)♂; BC2-F<sub>2</sub> represents *C. alburnus*♀×(*M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂)♂; \* indicates significant departure from Hardy-Weinberg equilibrium after Bonferroni correction (P<0.01).

表 6 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. 6 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal)

| 群体 group           | MA     | CA     | MC-F <sub>2</sub> | BC1-F <sub>2</sub> | BC2-F <sub>2</sub> |
|--------------------|--------|--------|-------------------|--------------------|--------------------|
| MA                 | ****   | 0.6347 | 0.7126            | 0.7928             | 0.6705             |
| CA                 | 0.4547 | ****   | 0.5770            | 0.6814             | 0.8841             |
| MC-F <sub>2</sub>  | 0.3388 | 0.5499 | ****              | 0.6637             | 0.6122             |
| BC1-F <sub>2</sub> | 0.2321 | 0.3836 | 0.4099            | ****               | 0.7460             |
| BC2-F <sub>2</sub> | 0.3998 | 0.1232 | 0.4907            | 0.2930             | ****               |

注: MA 为团头鲂; CA 为翘嘴鲌; MC-F<sub>2</sub> 为团头鲂♀×翘嘴鲌♂; BC1-F<sub>2</sub> 为团头鲂♀×(团头鲂♀×翘嘴鲌♂)♂; BC2-F<sub>2</sub> 为翘嘴鲌♀×(团头鲂♀×翘嘴鲌♂)♂.  
Note: MA represents *Megalobrama amblycephala*; CA represents *Culter alburnus*; MC-F<sub>2</sub> represents *M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂; BC1-F<sub>2</sub> represents *M. amblephala*♀×(*M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂)♂; BC2-F<sub>2</sub> represents *C. alburnus*♀×(*M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂)♂.

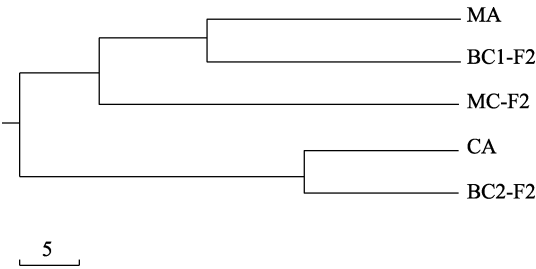


图 4 5 个实验鱼群体的 UPGMA 聚类图

MA: 团头鲂; CA: 翘嘴鲌; MC-F<sub>2</sub>: 团头鲂♀×翘嘴鲌♂;  
BC1-F<sub>2</sub>: 团头鲂♀×(团头鲂♀×翘嘴鲌♂)♂; BC2-F<sub>2</sub>: 翘嘴鲌♀×(团头鲂♀×翘嘴鲌♂)♂.

Fig. 4 UPGMA cluster diagram of 5 groups of experimental fishes

MA: *Megalobrama amblycephala*; CA: *Culter alburnus*; MC-F<sub>2</sub>: *M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂; BC1-F<sub>2</sub>: *M. amblephala*♀×(*M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂)♂; BC2-F<sub>2</sub>: *C. alburnus*♀×(*M. amblycephala*♀×*C. alburnus*♂)♂.

状、稳定遗传特性的育种方法已大量地应用于水产育种中<sup>[22-24]</sup>。郑国栋等<sup>[9-10]</sup>发现,团头鲂(♀)和翘嘴鲌(♂)的杂交后代生长优势显著高于其亲本,杂交种不仅具有高成活率,而且获得其双亲各一套遗传物质,为鲂鲌杂交二倍体。在此杂种优势的基础上,为了稳定其遗传特性,增强杂交后代的生长性能,分别以团头鲂和翘嘴鲌为母本进行回交。生长对比实验证明杂交种 MC-F<sub>2</sub> 的生长速度均显著高于其亲本团头鲂和翘嘴鲌,说明杂交 F<sub>2</sub> 仍具有优良的生长优势。以团头鲂为母本进行回交,BC1-F<sub>2</sub> 的生长速度均显著高于其轮回亲本及杂交种 MC-F<sub>2</sub>,这与刘于信等<sup>[25]</sup>对耐盐杂种 F<sub>2</sub> 进行回交,回交子代的生长性能有所提高的研究结果相似。表明与团头鲂回交后,杂交种 MC-F<sub>2</sub> 的生长优势得到了加强,BC1-F<sub>2</sub> 更具选育潜力。而以翘嘴鲌为母本进行回交的 BC2-F<sub>2</sub> 生长速度高于其轮回亲本翘嘴鲌,但低于其原始亲本团头鲂及其回交父本 MC-F<sub>2</sub>。表明与翘嘴鲌回交后,BC2-F<sub>2</sub> 并没有表现出显著的生长优势,反而有所减弱,这可能主要是受翘嘴鲌特异性遗传的影响所致<sup>[26]</sup>。

### 3.2 杂交、回交群体的遗传多样性分析

微卫星或简单重复序列作为共显性标记之一,近年来已广泛应用于水产动物的遗传连锁图谱构建、数量性状基因座(QTL)作图、群体遗传分析、亲子鉴定和分子标记辅助选择(MAS)等<sup>[27-28]</sup>。本研究所筛选的 20 个团头鲂 SSR 在 5 个群体中检测出各位点的平均多态信息含量为 0.5717~0.6676,具有较高的遗传多样性(PIC>0.5),均能用于各群体的遗传多样性分析。

$N_a$ 、 $H_o$ 、 $H_e$ 、PIC 等作为衡量群体遗传潜力和遗传多样性的重要参考指数,在一定范围内其数值大小与群体的遗传资源和遗传潜力呈正相关<sup>[29]</sup>。朱晓平等<sup>[30]</sup>对线纹尖塘鳢(♀)×云斑尖塘鳢(♂)杂交及回交子代的研究发现,杂交能有效地增加遗传结构变异,提高遗传多样性,而回交能有效巩固已有遗传变异和遗传多样性。本研究结果表明,MC-F<sub>2</sub> 的各遗传参数均高于其亲本,这与苏晓磊等<sup>[14]</sup>利用团头鲂(♀)和翘嘴鲌(♂)杂交,杂交后代的遗传多样性高于其亲本的研究结果一致。BC2-F<sub>2</sub>

的遗传多样性比杂交种 MC-F<sub>2</sub> 有所降低,这与刘于信等<sup>[25]</sup>的耐盐罗非鱼回交子代和杂交子代的对比结果相同。据报道大多数水产动物的回交家系遗传多样性均有所降低<sup>[24-25, 30-31]</sup>,而本研究发现 BC1-F<sub>2</sub> 的遗传多样性均高于其原始亲本及杂交子代,说明 BC1-F<sub>2</sub> 群体内的遗传结构变异水平有所增加,具有较高的遗传多样性,有进一步选育的潜力。郭丹丹<sup>[32]</sup>对鲂鲌杂交群体的染色体核型分析发现鲂鲌回交子代的染色体核型出现多态性,因此本文推断,BC1-F<sub>2</sub> 具有较高的遗传多样性可能因为与 MA 回交时不同亲本的异源染色质发生了相互作用,发生大量基因重组,等位基因的不对称表达提高了回交种的适应性<sup>[15]</sup>。

利用 20 个微卫星标记检测 5 个群体的 Hardy-Weinberg 平衡时,20 个位点均出现了 Hardy-Weinberg 平衡偏离现象。大多数研究均表明 Hardy-Weinberg 平衡偏离现象与杂合子缺失、无非随机交配群体、无效等位基因及人工选择等有关<sup>[29, 33-34]</sup>。本研究中 MA、BC1-F<sub>2</sub> 和 MC-F<sub>2</sub> 群体的杂合子严重过剩,而 CA、BC2-F<sub>2</sub> 群体出现偏离与杂合子缺失相关。本研究的杂交及回交子代均由养殖亲本杂交产生的,影响遗传偏离平衡的因素可能与奠基者效应(founder effect)和瓶颈效应(bottle effect)有关。由于实验中所使用的亲本有限及杂交过程中很可能选择单一的亲本,从而会造成等位基因频率发生改变,也会引起遗传平衡发生偏离。还可能由于 MA 为本实验室定向选育的耐低氧新品系,CA 引自于淀山湖原种,两亲本在连续的人工选择中势必会发生平衡偏离状态,其杂交及回交子代也会向着获得遗传物质最多的一方偏离。

### 3.3 回交子代的遗传效应

在本研究中,基于微卫星分析结果的遗传距离和聚类分析,能够更加直观地反映出各群体间的变异水平,据报道群体间的亲缘关系与遗传距离和遗传相似度具有一定的规律<sup>[35]</sup>。吴俊伟等<sup>[31]</sup>研究发现,尼罗罗非鱼和萨罗罗非鱼回交子代的大部分遗传组成与其轮回亲本相同。刘九美<sup>[24]</sup>对脊尾白虾回交家系的遗传特性研究发现,回交相较于近交可更快地获得基因纯合的个体。本研究通过所作遗传距离和聚类分析显示,两个回交子



代均与其轮回亲本首先聚类, 单独分为一支, 说明两群体间已发生了遗传分化, 回交子代的遗传背景更偏向于其轮回亲本, 具有明显的母本效应。CA 和 BC2-F<sub>2</sub> 群体间的遗传距离最小, 为 0.1232, 遗传相似度最大, 为 0.8841, 说明两者的亲缘关系最近。与原始亲本团头鲂相比, BC1-F<sub>2</sub> 比 MC-F<sub>2</sub> 更先接近于亲本团头鲂, 说明 BC1-F<sub>2</sub> 比 MC-F<sub>2</sub> 继承了更多团头鲂的遗传物质, 这与刘于信等<sup>[25]</sup>通过回交发现回交子代的遗传背景与轮回亲本有了明显提高的研究结果相类似。本研究结果显示回交能够显著加快基因纯化速率, 使目标基因纯合和目标性状稳定遗传得到快速实现, 对快速选育出兼具优良性状、遗传稳定的类似雌核发育型新品系具有理论指导意义。

本研究还发现与团头鲂回交后, 不仅使 BC1-F<sub>2</sub> 的生长优势得到了加强, 群体的遗传多样性也有所提高。在相同的外部条件下, 遗传物质决定了物种的生长快慢<sup>[25]</sup>。本研究中团头鲂和翘嘴鲌两者亲缘关系较远, 当两者在杂交的基础上进行回交时, 大量的基因发生重新组合, 而 BC1-F<sub>2</sub> 遗传多样性的提高可能与基因的重组相关。BC1-F<sub>2</sub> 遗传物质的改变势必会对其生长性能产生一定的影响, 本实验通过微卫星分析发现 BC1-F<sub>2</sub> 的基因杂合性高于其亲本, 使得其保留一定的杂种优势<sup>[36]</sup>, BC1-F<sub>2</sub> 群体产生明显生长优势可能是等位基因重组和群体内遗传多样性表达的联合效应<sup>[10,15]</sup>。

综上所述, 关于鲢鮠回交子代的微卫星遗传结构分析未见报道, 本研究属首次报道。聚类分析中发现两回交子代出现了遗传分化, 经过回交均提高了与其轮回亲本的遗传相似性, 具有明显的母本效应。BC1-F<sub>2</sub> 的生长优势明显, 群体内遗传变异水平较高, 具有一定的养殖潜力, 因此本研究认为 BC1-F<sub>2</sub> 具有较好的选育前景。本研究还筛选了 4 个特异性引物 Me.Am.\_15、Me.Am.\_1、TTF01、Mam25, 每对均可区分 5 个群体, 这对于鲢鮠群体种质资源的保护、利用以及对种群的区分、鉴定都具有一定的参考价值。

## 参考文献:

[1] Wang S, Tang C C, Tao M, et al. Establishment and application of distant hybridization technology in fish[J]. Scientia

- Sinica (Vitae), 2018, 48(12): 1310-1329. [王石, 汤陈宸, 陶敏, 等. 鱼类远缘杂交育种技术的建立及应用[J]. 中国科学: 生命科学, 2018, 48(12): 1310-1329.]
- [2] Al-Harbi A H. Phenotypic and genotypic characterization of *Streptococcus agalactiae* isolated from hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)[J]. Aquaculture, 2016, 464: 515-520.
- [3] Botwright N A. Karyotype comparison between *Halilobius rubra*, *H. laevigata* and the interspecific hybrid[J]. Aquaculture Research, 2015, 46(1): 236-241.
- [4] Refstie T. Hybrids between salmonid species. Growth rate and survival in seawater[J]. Aquaculture, 1983, 33(1-4): 281-285.
- [5] Lim C, Leamaster B, Brock J A. Riboflavin requirement of fingerling red hybrid tilapia grown in seawater[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 1993, 24(4): 451-458.
- [6] Cao D Z, Zhang X Z, Chen S Q, et al. Analysis and evaluation of nutritive composition in muscles of *Platichthys stellatus*, *Kareius bicoloratus* and their reciprocal hybrids[J]. Progress in Fishery Sciences, 2016, 37(3): 34-41. [曹栋正, 张小忠, 陈四清, 等. 星突江鲮(*Platichthys stellatus*)、石鲮(*Kareius bicoloratus*)及其正反杂交种肌肉的营养成分分析及评价[J]. 渔业科学进展, 2016, 37(3): 34-41.]
- [7] Galbreath P F, Thorgaard G H. Sexual maturation and fertility of diploid and triploid Atlantic salmon × brown trout hybrids[J]. Aquaculture, 1995, 137(1-4): 299-311.
- [8] 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.
- [9] 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[J]. 中国水产科学, 2015, 22(3): 402-409.]
- [10] Zheng G D, Wu C B, Liu J, et al. Transcriptome analysis provides new insights into the growth superiority of a novel backcross variety, *Megalobrama amblycephala* ♀ × (*M. amblycephala* ♀ × *Culter alburnus* ♂) ♂[J]. Aquaculture, 2019, 512: 734317.
- [11] Zheng G D, Guo D D, Wu C B, et al. The obvious heterosis and genetic characters of intergeneric cross and backcross juveniles between blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) and topmouth culter (*Culter alburnus*)[J]. Aquaculture Research, 2019, 50: 1634-1643.
- [12] Jiang W P, Jia Y Y, Liu S L, et al. Comparative analysis of intermuscular bones in hybrid F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> of (*C. alburnus*) (♀) × (*M. amblycephala*) (♂) and its parents[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2016, 40(2): 277-286. [蒋文桦, 贾永义, 刘士力, 等. 鲢鮠 F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 及其亲本肌间骨的比较分析[J]. 水生生物学报, 2016, 40(2): 277-286.]
- [13] Gu Z M, Jia Y Y, Ye J Y, et al. Studies on morphological

- characteristics and genetic analysis of the hybrid  $F_1$ , *Erythroculter ilishaeformis* ♂ × *Megalobrama amblycephala* ♀ [J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(4): 533-544. [顾志敏, 贾永义, 叶金云, 等. 翘嘴红鲌(♀) × 团头鲂(♂)杂种  $F_1$  的形态特征及遗传分析[J]. 水产学报, 2008, 32(4): 533-544.]
- [14] Su X L, Zheng G D, Jiang X Y, et al. Microsatellite markers analysis of two hybrids of *Megalobrama terminalis* × *Erythroculter ilishaeformis*, *Megalobrama amblycephala* × *Erythroculter ilishaeformis* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2019, 43(2): 264-271. [苏晓磊, 郑国栋, 蒋霞云, 等. 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[J]. 水生生物学报, 2019, 43(2): 264-271.]
- [15] Li R, Li W H, Qin Q B, et al. The subgenomes show asymmetric expression of alleles in hybrid lineages of *Megalobrama amblycephala* × *Culter alburnus* [J]. Genome Research, 2019, 29(11): 1805-1815.
- [16] Yang H. Analysis of genetic diversity and evaluation of growth performance of three red tilapia populations [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2016. [杨慧. 3 个红罗非鱼群体的遗传多样性分析及生长性能评价[D]. 南京: 南京农业大学, 2016.]
- [17] 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.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] 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(5): 213-219.
- [21] Chen J, Luo M, Li S N, et al. A comparative study of distant hybridization in plants and animals [J]. Science China Life Sciences, 2018, 61(3): 285-309.
- [22] Sui J. Early developmental and cytogenetic analysis of the first generation hybrids and backcrosses of *Paralichthys olivaceus* and *Paralichthys dentatus* [D]. Qingdao: Graduate School of Chinese Academy of Sciences (Institute of Oceanography, Chinese Academy of Sciences), 2011. [隋娟. 褐牙鲆与夏鲆杂交及回交子代的早期发育及细胞遗传学研究[D]. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所), 2011.]
- [23] Yan X C, Liang L Q, Sun X W, et al. Comparison of the morphological characteristics between two types of backcross progenies from the common and crucian carp [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2007, 38(6): 797-800. [闫学春, 梁利群, 孙效文, 等. 鲤鲫杂交两种回交子代鱼的形态特征比较[J]. 东北农业大学学报, 2007, 38(6): 797-800.]
- [24] Liu J M. Studies on genetic characteristics and immunologic function of backcross populations from the ridgetail white prawn *Exopalaemon carinicauda* [D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2017. [刘九美. 脊尾白虾回交家系的遗传特性及免疫功能研究[D]. 大连: 大连海洋大学, 2017.]
- [25] Liu Y X, Li S F, Cai W Q, et al. Evaluation of backcrossing breeding effect in selection of salt-tolerant tilapia [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2009, 16(3): 332-339. [刘于信, 李思发, 蔡完其, 等. 耐盐罗非鱼育种回交效应评估[J]. 中国水产科学, 2009, 16(3): 332-339.]
- [26] Emerson J J, Hsieh L C, Sung H M, et al. Natural selection on *cis* and *trans* regulation in yeasts [J]. Genome Research, 2010, 20(6): 826-836.
- [27] Chistiakov D A, Hellemans B, Volckaert F A M. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics [J]. Aquaculture, 2006, 255(1-4): 1-29.
- [28] Tong J G, Sun X W. Genetic and genomic analyses for economically important traits and their applications in molecular breeding of cultured fish [J]. Science China Life Sciences, 2015, 58(2): 178-186.
- [29] 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): 108-115. [杨弘, 李大宇, 曹祥, 等. 微卫星标记分析罗非鱼群体的遗传潜力[J]. 遗传, 2011, 33(7): 108-115.]
- [30] Zhu X P, Luo J, Yin S W, et al. Microsatellite marker analysis of genetic variation in hybrid progenies and backcross progenies from *Oxyeleotris lineolatus* (♀) and *Oxyeleotris marmoratus* (♂) [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(17): 147-153. [朱晓平, 骆剑, 尹绍武, 等. 线纹尖塘鳢(♀)、云斑尖塘鳢(♂)及其杂交、回交子代遗传变异的微卫星分析[J]. 中国农学通报, 2012, 28(17): 147-153.]
- [31] Wu J W, Jia J H, Zhang Y H, et al. Genetic characteristics of the first and the second backcross generations of *Oreochromis niloticus* and *Sarotherodon melanotheron* by microsatellite marker analysis [J]. Freshwater Fisheries, 2015, 45(4): 10-14. [吴俊伟, 策金华, 张艳红, 等. 尼罗罗非鱼与萨罗罗非鱼回交一代与回交二代群体遗传特征的微卫星分析[J]. 淡水渔业, 2015, 45(4): 10-14.]
- [32] Guo D D. Karyotype analysis of FB hybrid population, molecular cloning of duplicated *fgf1* genes in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) and the research of *HOX* gene clusters in crucian carp (*Carassius auratus*) [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2017. [郭丹丹. 鲂鮈杂交群体的染色体核型分析、草鱼重复基因 *fgf1* 克隆及鲫鱼 *HOX* 基因初步研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017.]
- [33] Rousset F, Raymond M. Testing heterozygote excess and deficiency [J]. Genetics, 1995, 140(4): 1413-1419.
- [34] Xu Z N, Li F G, Zheng G D, et al. Analysis of genetic structure of gynogenetic population in new strain of hypoxia-tolerant *Megalobrama amblycephala* using microsatellite markers [J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(3): 330-338. [徐湛宁, 李福贵, 郑国栋, 等. 团头鲂耐低氧新品

- 系雌核发育群体遗传结构的微卫星分析[J]. 水产学报, 2017, 41(3): 330-338.]
- [35] Shao C W, Liao X L, Tian Y S, et al. Microsatellite marker analysis of genetic structures of three populations of cultured Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2009, 30(1): 41-46. [邵长伟, 廖小林, 田永胜, 等. 牙鲆 3 个养殖群体遗传结构的微卫星分析[J]. 渔业科学进展, 2009, 30(1): 41-46.]
- [36] Shi Q S, Cheng T S, Liu X C. Relationship of parental genetic distance with crossing offspring gene heterozygosities and heterosis in pigs[J]. Journal of Hunan Agricultural University, 2000, 26(4): 299-301. [施启顺, 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.]

## Analysis of microsatellite markers and growth performance of hybrid F<sub>2</sub> and two backcross F<sub>2</sub> populations of *Megalobrama amblycephala* ♀ and *Culter alburnus* ♂

CUI Wentao<sup>1,2,3</sup>, ZHENG Guodong<sup>1,2,3</sup>, SU Xiaolei<sup>1,2,3</sup>, LI Baoyu<sup>1,2,3</sup>, CHEN Jie<sup>1,2,3</sup>, ZOU Shuming<sup>1,2,3</sup>

1. Genetics and Breeding Center for Blunt Snout Bream, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai 201306, China;
3. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education (Shanghai Ocean University), Shanghai 201306, China

**Abstract:** To guide the breeding of *Megalobrama amblycephala* (MA) and *Culter alburnus* (CA), one hybrid F<sub>2</sub> [*M. amblycephala* ♀ × *C. alburnus* ♂ (MC-F<sub>2</sub>)], two backcross F<sub>2</sub> [*M. amblycephala* ♀ × (*M. amblycephala* ♀ × *C. alburnus* ♂) ♂ (BC1-F<sub>2</sub>) and *C. alburnus* ♀ × (*M. amblycephala* ♀ × *C. alburnus* ♂) ♂ (BC2-F<sub>2</sub>)] and their parents were analyzed using twenty microsatellite markers. The mean number of alleles (*N<sub>a</sub>*) for MA, CA, MC-F<sub>2</sub>, BC1-F<sub>2</sub>, and BC2-F<sub>2</sub> were 4.50, 4.40, 4.75, 4.85, and 5.10, respectively. The mean values of observed heterozygosity (*H<sub>o</sub>*) were 0.7683, 0.5550, 0.7967, 0.8317, and 0.6200, respectively. The mean values of expected heterozygosity (*H<sub>e</sub>*) were 0.6671, 0.6308, 0.6995, 0.7240, and 0.6949, respectively, and the average polymorphism information contents (PIC) were 0.6046, 0.5717, 0.6406, 0.6676, and 0.6339, respectively. The mean Hardy-Weinberg indices of MA, MC-F<sub>2</sub>, BC1-F<sub>2</sub> displayed a heterozygote excess, whereas the gynogenetic populations (CA and BC2-F<sub>2</sub>) showed a heterozygote deficit. The unweighted pair-group method with arithmetic means (UPGMA) showed that the CA and BC2-F<sub>2</sub> populations first grouped together, and then MA and BC2-F<sub>2</sub> grouped together, and then they clustered with MC-F<sub>2</sub>. According to the genetic identity analysis, F<sub>2</sub> hybrids and backcross F<sub>2</sub> groups showed maternal effects. Particularly, the microsatellite primers Me.Am.\_15, Me.Am.\_1, TTF01, and Mam25 identified five groups. Growth performances of the five groups were analyzed further, and BC1-F<sub>2</sub> groups were found to have the most significant growth advantage. Our results provide important information for the breeding, germplasm resources preservation, and germplasm identification of hybrid F<sub>2</sub> [*M. amblycephala* ♀ × *C. alburnus* ♂], two backcross F<sub>2</sub> [*M. amblycephala* ♀ × (*M. amblycephala* ♀ × *C. alburnus* ♂) ♂, and *C. alburnus* ♀ × (*M. amblycephala* ♀ × *C. alburnus* ♂) ♂]. To cultivate hybrid strains with fast growth characteristics without adversely affecting the genetic background of the same or similar fish species in natural waters, backcrossing is a feasible method. This paper found that backcrossing could not only improve the superiority of varieties and facilitate correct selection, but also accelerate the stability of the heritability of hybrid offspring, reduce the separation of offspring, and make the heritability of hybrid offspring similar to that of the parent. Therefore, the backcross method lays a genetic foundation for artificial gynogenetic transgenic fish.

**Key words:** *Megalobrama amblycephala*; *Culter alburnus*; hybridization; backcross; microsatellite; genetic structure; growth performance

**Corresponding author:** ZOU Shuming. E-mail: smzou@shou.edu.cn