

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2011.00547

哲罗鲑(♂)与细鳞鲑(♀)属间杂交不相容现象的 SSR 分析

王俊^{1,2}, 匡友谊¹, 佟广香¹, 尹家胜¹

1. 中国水产科学研究院 黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070;

2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306

摘要: 利用哲罗鲑(*Hucho taimen*, ♂)与细鳞鲑(*Brachymystax lenok*, ♀)进行属间杂交, 出现了仔鱼上浮率低和畸形率高等杂交不相容现象, 为探究哲罗鲑与细鳞鲑属间杂交不相容现象产生的原因, 本研究采用 30 对微卫星引物对杂交亲本及 F₁ 进行遗传分析。结果表明: (1) 30 对微卫星引物中, 2 对在细鳞鲑中未出现扩增带, 3 对在哲罗鲑中未出现扩增带, 其余 25 对在双亲中均扩增出差异条带; (2) 在双亲中具有差异的 25 个微卫星位点中, 除 *Omi84TUF* 位点在 1 个 F₁ 出现非亲条带外, 其余位点所有条带均来自于双亲, 其中 21 个位点完全符合孟德尔遗传规律, 表明哲罗鲑与细鳞鲑属间杂交属两性融合生殖, 大部分遗传物质来源于父母本双方; (3) 4 个位点 *Omi105TUF*、*Omi156TUF*、*Omi165TUF* 及 *Omy16DIAS* 在部分子代中出现 2 条母本条带或父本条带缺失现象, 可能是部分亲本染色体在配对或分离过程中产生了异常, 出现染色体丢失或异源加倍现象, 非整倍体的较早出现可能是导致杂交不相容的直接原因; (4) F₁ 与哲罗鲑和细鳞鲑的遗传相似系数分别为 0.673 5 和 0.729 8, 遗传距离分别为 0.395 3 和 0.315 0, 表明 F₁ 与细鳞鲑亲缘关系更近, UPGMA 聚类分析也支持这一观点。

关键词: 哲罗鲑; 细鳞鲑; 杂交不相容; SSR

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2011)03-0547-09

远缘杂交(distant hybridization)是指种间、属间乃至亲缘关系更远的生物类型之间的杂交^[1]。远缘杂交是动植物育种的基本方法之一, 在水产养殖上得到了广泛的应用, 如杂种优势利用、性别控制以及诱导多倍体、雌核发育和雄核发育等^[2]。许多水产动物通过远缘杂交培育出了性状优良的杂交品种^[3-13]。尽管取得了令人瞩目的成就, 但在进行杂交试验, 尤其是属间以上杂交的试验中, 许多组合都出现了杂交不相容现象^[14-17], 主要表现为不可交配或不可育。哲罗鲑(*Hucho taimen*)属鲑形目(Samoniiformes)、鲑科(Salmonidea)、哲罗鱼属, 具有生长快速, 抗病力强的特点。细鳞鲑(*Brachymystax lenok*)属鲑形目、鲑科、细鳞鱼属,

肉质鲜美且经济价值较高, 但抗病能力较差。笔者在进行哲罗鲑(♂)与细鳞鲑(♀)属间杂交试验时, 发现了杂交不相容现象。

国内外学者对于远缘杂交不相容的现象进行了广泛而深入的研究, 主要从双亲染色体数目及核型差别^[13,18-20]、酶表达的时空顺序差异^[21]及核质不相容^[22-25]3 个方面进行了解释。但未见关于杂交不相容的分子遗传学研究, 为从分子水平加强对远缘杂交相容性的理解及为今后杂交育种工作的开展提供必要的参考, 本研究采用 30 对具有多态性的微卫星引物对哲罗鲑(♂)和细鳞鲑(♀)亲本及其 F₁ 进行遗传分析, 了解亲本遗传物质在 F₁ 中的分离组合情况, 探讨可能造成杂交不相容现

收稿日期: 2010-07-29; 修订日期: 2010-10-18.

基金项目: 农业部公益性行业科研专项(201003055); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(2008HSYZX-SJ-08).

作者简介: 王俊(1985-), 男, 硕士研究生, 从事水产动物遗传育种学研究. Email: wangjun2008v@yahoo.com.cn

通信作者: 尹家胜(1960-), 男, 研究员, 从事水产动物遗传育种研究. Tel: 0451-84861310; E-mail: xwsc20@tom.com

象产生的原因。

1 材料与方法

1.1 人工杂交与样品采集

哲罗鲑(♂)野生亲本于 2002 年采捕于黑龙江乌苏里江虎头江段,保存于黑龙江水产研究所渤海冷水性鱼试验站,10⁺龄以上。细鳞鲑(♀)亲本来源于人工养殖群体,4⁺龄以上。2009 年 3 月,将 1 尾哲罗鲑(♂)分别与 1 尾细鳞鲑(♀)进行杂交,建立 F₁ 杂交家系。剪取亲本鳍条并保存于 75%酒精中。F₁ 杂交子代破膜后,随机采取仔鱼 40 尾,剪去卵黄囊后于 75%酒精中保存待用。

1.2 基因组 DNA 的提取

将保存于 75%酒精中的鳍条在蒸馏水和超纯水中反复清洗 3~5 次,用干净滤纸吸干样品表面水分后,放入裂解液(200 μg/ mL 蛋白酶 K, 0.5 % 十二烷基肌氨酸钠, 200 mmol/ L EDTA pH 8.0)中

进行裂解。具体提取方法参考文献[26]。用 1% 的琼脂糖电泳检测,紫外分光光度计定量测定后,将基因组 DNA 稀释至 100 ng/μL 待用。

1.3 微卫星位点的扩增及检测

本研究共采用具有多态的 30 对微卫星引物进行遗传分析,其中 25 对为虹鳟引物,5 对为本实验室开发的哲罗鲑引物,引物序列及其扩增参数见表 1。PCR 反应体系总体积为 15 μL: DNA 模板 1 μL(约 100 ng), 10×buffer 2 μL, 2 mmol/L dNTP 1.6 μL, 20mmol MgCl₂ 1.6 μL, *Taq* 酶(MBI) 1.5 U, 上下游引物各 1 μL, ddH₂O 补足 15 μL。PCR 反应程序如下: 94℃预变性 5 min, 94℃变性 30 s, 退火温度下 30 s, 72℃延伸 30 s, 72℃最后延伸 7 min, 26~28 个循环。PCR 反应产物用 10%聚丙烯酰胺(丙烯酰胺:甲叉丙烯酰胺为 29:1)凝胶电泳检测,银染显色后利用扫描仪成像。根据 DNA ladder 计算扩增片段大小。

表 1 微卫星引物序列及其扩增参数
Tab. 1 Primer sequences and amplification parameters of microsatellite markers

位点 locus	引物序列 (5'-3') primer sequence (5'-3')	退火温度/℃ anneal temperature	GenBank 登录号 GenBank assess. no.
<i>Omi105TUF</i>	ATATCACAGGCTCACCTGG	54	AB213236.1
	CCGGACCTGGTTAATGTTTG		
<i>Omi111TUF</i>	ATCCCAAGTCCTTCAAGTCTG	54	AB105846.1
	TGCTTACAAAGGAGCAAATGG		
<i>Omi134TUF</i>	ATACCACATTAATGCATTCCCC	58	AB105851.1
	GAGCAGGACGGAGAGAGATG		
<i>Omi156TUF</i>	ATATCACAGGCTCACCTGG	60	AB213241.1
	CCGGACCTGGTTAATGTTTG		
<i>Omi165TUF</i>	TTCCATCTGCTGAGACATGC	55	AB213245.1
	GTGCTTCTCAGGAACAGCC		
<i>Omi166TUF</i>	AAGTCCTTCAAGTCTGTCTCCG	60	AB213246.1
	TGCTTACAAAGGAGCAAATGG		
<i>Omi34TUF</i>	ATTGTGCTTCCGTCATCCAG	53	AB105831.1
	GGATGATGAAACAACCGCTC		
<i>Omy11NRA</i>	CAACGGACATTTCATTGGG	55	—
	GGTGTTTATTGGGCTAAAGAG		
<i>Omi120TUF</i>	AGACGGCTTTAACAACCCCT	55	AB213238.1
	TGTCTGCATATGTCAGCTTGC		
<i>Omy108INRA</i>	TGTGAAAGACAATGCCATTC	54	—
	CCTCCAAATCACTAAGTCCA		

续表 1

位点 locus	引物序列 (5'-3') primer sequence (5'-3')	退火温度/% anneal temperature	GenBank 登录号 GenBank assess. no.
<i>Omy16DIAS</i>	CACGAGGAGTGTCTCAATG AGTACTCTAACCCTAGGCTAC	54	AF239033
<i>HtaCA327</i>	TTGCTATCCAGCCAAACAGTA CTCCACAGACACAGGTAACA	62	—
<i>HtaCA314</i>	GCCGAGCAGTGTGTGAGTTA GTGTCGTGTCTGAGCGTTTG	60	—
<i>HtaCA306A</i>	GTGTTCAGCCCTGTAACGTG GAGCATAACCCCAACCACAC	60	—
<i>HtaCA302</i>	GTTCACACATCCCAGCACAG CCCCTTTAGTCACACAGAGATAA	60	—
<i>HtaCA303</i>	CACGCACCAATCTACAAAGG TTGTGAAGCGTGTGATAGCC	59	—
<i>Omi173TUF</i>	TTGCCGGCCTAATCTCAG GCACAGGAAGGTAGGGTTGA	54	AB213249.1
<i>Omi174TUF</i>	TAGCTAGCGTTCCCGTGG AGGTCGCACTGAGACGCTAT	53	AB105854.1
<i>Omi205TUF</i>	CGGATGGAGAACCTGGTG CGGTCCAAATACTTTCCGAA	54	AB213256.1
<i>Omi51TUF</i>	AGAGGGAATCCACAGGGACT ATCAGAGAAAATCGCTTTGTCC	53	AB213225.1
<i>Omi65TUF</i>	CCACTAGGGAGCCCACTGT CTGACAGCTCCATACTAGTGCG	53	AB105837.1
<i>Omi66TUF</i>	AGTTCATCGTCTCAGCTCTGC CTGCCAAGTCTCATATCACACC	53	AB105838.1
<i>Omi84TUF</i>	AGAAGGATGGGACAGGCC AGAGCAGCCCCCTAGCTC	56.5	AB105842.1
<i>Omi98TUF</i>	CGCAGGCAAGTTTAAAGACC GCTTTTGTAGAGGCCCGAG	53	AB213233.1
<i>Omy104INRA</i>	GAGCAAAGACAGAATAAAAGAA TCACAAATAAATGAGAGAATT	50	—
<i>Omy10DIAS</i>	TCAGGCTGTAATCGCTTCCA CCCACAAAGCCAGTGTCAGT	53	—
<i>Omy1102UW</i>	CCAGAGGATCTTATTCCCACCTACACAC TCATCGGTTTTGCCATACGGG	52	—
<i>Omy120INRA</i>	GTCACCCCTTCGGCATACC AAACTGAAAACAGGCATCTTG	52	—
<i>Omy1UOG</i>	ATATTTCCCTTGGCACATCG AGAAGACCAGTCCTGCCTTG	55	—
<i>Omi210TUF</i>	ACATTAACCCACCTGGA TGACACAAGGCTGCTATTGTG	56	AB213258.1

1.4 数据统计分析

统计分析 30 对引物的属间通用性。对于在双亲中具有差异等位基因位点的微卫星引物, 进行以下分析: 1) 统计各微卫星位点在亲本与 F_1 间的分离情况; 2) 根据各微卫星引物等位基因数及基因频率, 利用 TFPGA 软件, 计算亲本间及亲本与 F_1 的 Nei 氏遗传相似系数(I)和遗传距离(D_s), 并用 UPGMA 法对亲本及其 F_1 进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 F_1 受精率、发眼率、孵化率及仔鱼上浮率

F_1 与双亲对照组的受精率、发眼率、孵化率及仔鱼上浮率如表 2 所示。 F_1 的受精率、发眼率、孵化率均较高, 但在破膜后畸形率也较高, 数小时内大量死亡, 最后仅有少量个体上浮, 上浮个体在后期生长中也因各种原因全部死亡, 最大个体生长至 4.6 cm 左右。到达发眼期所需积温: F_1 为 190~205 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{d}$, 哲罗鲑为 150~160 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{d}$; 细鳞鲑为 140~150 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{d}$ 。

2.2 标记的通用性及在 F_1 中的分离方式

30 对微卫星引物的扩增结果统计如表 3 所示, 其中 2 对引物 HCA306A、HCA303 在细鳞鲑中未扩增出条带, 3 对引物 Omi173TUF、Omy1UOG、Omi210TUF 在哲罗鲑中未扩增出条带。其余 25 对引物在双亲之间产生了差异扩增条带, 分离方式分 4 种类型, 其中按 aa×bc 方式分离的标记有 14 个, 按 aa×bb 方式分离的标记有 5 个, 按 ab×cd 方式分离的标记有 4 个, 按 ab×bc 方式分离的标

记有 2 个。在这 25 个微卫星位点中: 1) 21 个位点在 F_1 子代中完全符合分离和自由组合定律; 2) 4 个位点 *Omi105TUF*、*Omi156TUF*、*Omi165TUF*、*Omy16DIAS* 在 F_1 子代中出现异常。其中 *Omi105TUF* 引物在 15 个子代中未出现父本特异带, 5 个子代出现 2 条母本特异带; *Omi156TUF* 引物在 14 个子代中未出现父本特异带, 4 个子代中出现 2 条母本特异带; *Omi165TUF* 引物在 5 个子代出现 2 条母本特异带; *Omy16DIAS* 引物在所有子代均出现 2 条母本特异带; 3) 仅 1 个位点 *Omi84TUF* 在 1 个子代中出现了非亲条带。部分引物的电泳结果如图 1 所示。

2.3 亲本间及亲本与 F_1 间遗传相似性和聚类分析

亲本间及亲本与 F_1 间 Nei 氏遗传相似系数(I)和遗传距离(D_s)如表 3 所示。细鳞鲑与 F_1 的遗传相似系数略大于哲罗鲑与 F_1 的遗传相似系数, 细鳞鲑与哲罗鲑的遗传相似系数最小, 遗传距离最大(表 4)。利用 UPGMA 法进行聚类分析的结果如图 2 所示, 细鳞鲑与 F_1 先聚为一支, 哲罗鲑位于最外支。表明 F_1 与母本细鳞鲑的亲缘关系更近。

3 讨论

3.1 杂交机制

鱼类远缘杂交主要有 3 种遗传方式: 1) 精子入卵后与卵核发生融合, 双亲的遗传物质都能传递给 F_1 , 产生真正杂交种, 如广东鲂(*Megalobrama hoffmanni*, ♀)×团头鲂(*Megalobrama amblycephala*, ♂)^[13]、海南沼虾(*Macrobrachium hainna-*

表 2 F_1 杂交子代及双亲的受精率、发眼率、孵化率及仔鱼上浮率
Tab. 2 Fertilization rate, eyed-egg rate, hatching rate and larva floating rate of *Hucho taimen*, *Brachymystax lenok* and F_1 hybrids %

组别 group	受精率 fertilization rate	发眼率 eyed-egg rate	孵化率 hatching rate	仔鱼上浮率 larva floating rate
哲罗鲑 <i>H.taimen</i>	92.6±2.4	91.2±1.5	94.7±1.3	95.8±0.7
细鳞鲑 <i>B. lenok</i>	90.3±1.7	90.9±2.1	93.1±1.6	92.1±2.4
杂交子代 F_1 hybrid	94.1	91.8	89.4	<0.3

注: 受精率(%)=受精卵数/孵化卵数×100%; 发眼率(%)=发眼卵数/受精卵数×100%; 孵化率(%)=出苗数/发眼卵数×100%; 上浮率(%)=上浮仔鱼数/出苗鱼数×100%。
Notes: Fertilization rate(%)= fertilized eggs / total eggs×100%; Eyed-egg rate (%)= eyed egg number / fertilized egg number×100%; hatching rate (%)=sac-fry number / eyed egg number×100%; larva floating rate (%)= floating-up fry number / sac-fry number×100%.

表 3 微卫星引物扩增结果统计
Tab. 3 Amplification result of microsatellite markers

位点 locus	孟德尔规律 Mendelian rule	异常情况 abnormal situation
<i>Omi105TUF</i>	N	部分子代母本位点异源加倍或父本位点缺失、 doubled maternal bands or no paternal bands on some F ₁ hybrids
<i>Omi111TUF</i>	Y	—
<i>Omi134TUF</i>	Y	—
<i>Omi156TUF</i>	N	部分子代母本位点异源加倍或父本位点缺失 doubled maternal bands or no paternal bands on some F ₁ hybrids
<i>Omi165TUF</i>	N	部分子代母本位点异源加倍 doubled maternal bands on some F ₁ hybrids
<i>Omi166TUF</i>	Y	—
<i>Omi34TUF</i>	Y	—
<i>Omy11NRA</i>	Y	—
<i>Omi120TUF</i>	Y	—
<i>Omy108INRA</i>	Y	—
<i>Omy16DIAS</i>	N	所有子代母本位点异源加倍 doubled maternal bands on all F ₁ hybrids
<i>HCA327</i>	Y	—
<i>HCA314</i>	Y	—
<i>HCA306A</i>	—	—
<i>HCA302</i>	Y	—
<i>HCA303</i>	—	—
<i>Omi173TUF</i>	—	—
<i>Omi174TUF</i>	Y	—
<i>Omi205TUF</i>	Y	—
<i>Omi51TUF</i>	Y	—
<i>Omi65TUF</i>	Y	—
<i>Omi66TUF</i>	Y	—
<i>Omi84TUF</i>	Y	非亲条带 some specific bands only occurred on F ₁ hybrids
<i>Omi98TUF</i>	Y	—
<i>Omy104INRA</i>	Y	—
<i>Omy10DIAS</i>	Y	—
<i>Omy1102UW</i>	Y	—
<i>Omy120INRA</i>	Y	—
<i>Omy1UOG</i>	—	—
<i>Omi210TUF</i>	—	—

注: Y/N 表示完全符合/不符合孟德尔遗传规律。
Note: Y/N means completely following/violating Mendelian rule.

nense, ♀)×日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*, ♂)^[27]等; 2) 精卵未发生真正融合, F₁ 只有母本或父本遗传物质, 即雌核发育或雄核发育, 如鲈(*Lateolabrax japonicus*)(♂) ×大菱鲂(*Scophthalmus aximus*)(♀)^[28], 但周莉等^[29]发现雌核发育也有父本遗传物质渗入现象; 3) 染色体数目加倍, F₁ 出现多倍体现象, 如兴国红鲤(♀) ×草鱼(♂)的

F₁ 均为异源四倍体^[30]。根据本研究 25 个具有差异条带的微卫星位点分析结果发现, 除 *Omi84TUF* 位点在 1 个 F₁ 中出现了非亲条带外, 其余位点条带均来自父母本; 其中 21 个位点完全符合孟德尔遗传机制, 表明哲罗鲑与细鳞鲑属间杂交属两性融合生殖, 其大部分遗传物质来源于父母双方。遗传相似系数和聚类分析结果也显示 F₁ 与双亲亲

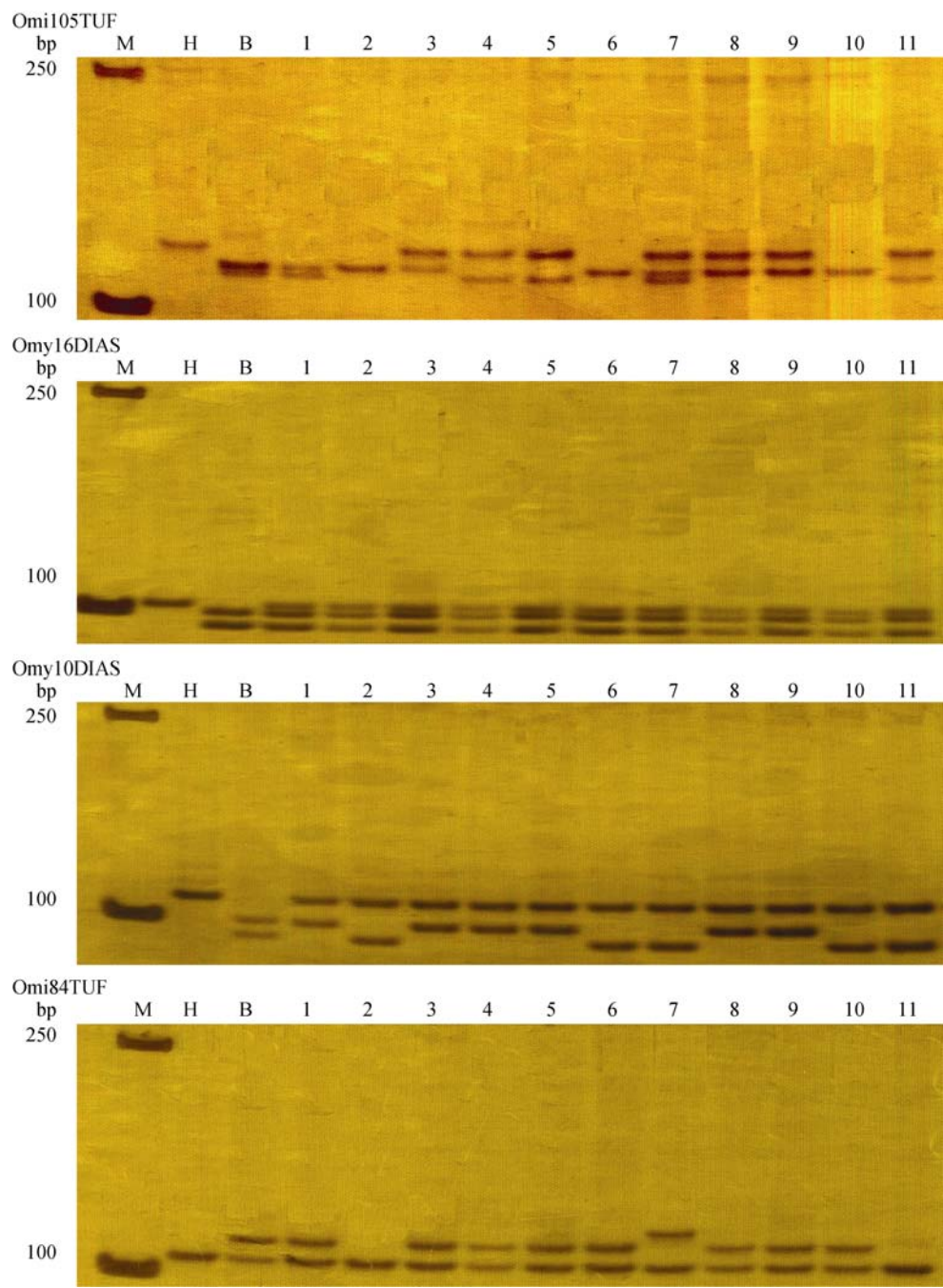


图 1 哲罗鲑(♂)与细鳞鲑(♀)亲本及其 F₁ 部分微卫星引物电泳结果
H 表示哲罗鲑(♂); B 表示细鳞鲑(♀); 1-11 表示 F₁ 部分杂交子代; M 表示 Marker (DL2000).
Fig. 1 Electrophoresis results of partial microsatellite primers in *Hucho taimen*(♂), *Brachymystax lenok*(♀) and F₁ hybrids
H means *H. taimen*(♂); B means *B. lenok* (♀); 1-11 means F₁ hybrid; M means marker (DL2000).

表 4 哲罗鲑(♂)与细鳞鲑(♀)亲本及与 F₁ 的遗传相似系数和遗传距离
Tab. 4 Genetic similarity and genetic distance between *Hucho taimen*(♂), *Brachymystax lenok*(♀) and F₁ hybrids

	哲罗鲑 <i>H. taimen</i> (♂)	细鳞鲑 <i>B. lenok</i> (♀)	杂交子代 F ₁ hybrids
哲罗鲑 <i>H. taimen</i> (♂)	—	2.5376	0.3953
细鳞鲑 <i>B. lenok</i> (♀)	0.0791	—	0.3150
杂交子代 F ₁ hybrids	0.6735	0.7298	—

注: 对角线上方为遗传距离,对角线下方为遗传相似系数.
Note: The data above diagonal are genetic distance and those below diagonal are genetic similarity.

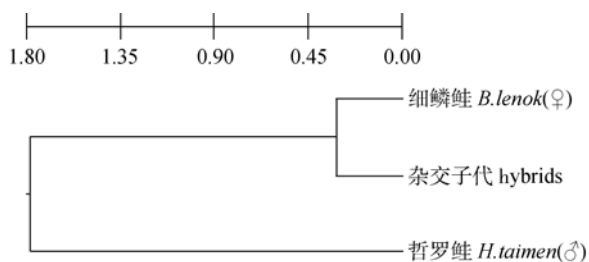


图 2 哲罗鲑(♂)与细鳞鲑(♀)亲本及与杂交子代的
UPGMA 聚类分析图

图中线段长度表示遗传距离大小。

Fig. 2 Dendrogram of *H. taimen*(♂), *B. lenok*(♀) and F_1 hybrids using UPGMA clustering method
Length of the line indicates genetic distance.

缘关系相当。然而, 3 个位点 *Omi105TUF*、*Omi156TUF*、*Omi165TUF* 发生了父本位点丢失, 类似于雌核发育的现象; 4 个位点 *Omi105TUF*、*Omi156TUF*、*Omi165TUF*、*Omy16DIAS* 出现了 2 个母本位点, 又类似于染色体异源加倍现象, 这些异常现象的出现又表明哲罗鲑与细鳞鲑属间杂交不同于通常意义上的两性融合生殖。

3.2 杂交不相容的原因

在水产动物中, 属间以上的远缘杂交能够完成胚胎发育并达到鱼种阶段的并不多。即使杂种胚胎能够发育, 发育也不正常, 大部分胚胎在孵化期前后大量死亡, 孵化率极低^[1]。其原因主要包括双亲核型相近程度、基因组大小、核质相容性与核质分裂节奏以及酶的基因座位或表达时空顺序的不同等^[31]。

哲罗鲑染色体数目和核型($2n=84$, $2n=18m+16sm+50st.t$)^[32]与细鳞鲑染色体数目和核型($2n=90$, $2n=16m+14sm+60st.t$)^[33]相近, 且哲罗鲑(♀)与细鳞鲑(♂)的 F_1 发育正常^[34], 因此可以基本排除双亲染色体数目和核型差异造成杂交不相容的可能。根据 30 个微卫星位点分析结果发现, 尽管绝大部分位点符合孟德尔遗传机制, 但有 4 个位点出现了父本位点缺失或母本位点异源加倍的现象, 其中 *Omy16DIAS* 更是在所有子代中都出现了母本位点异源加倍现象, 这表明部分亲本染色体在配对或分离过程中产生了异常, 可能的原因包括 2 方面: 1) 在受精过程中, 异源精子的进入引起处于第 2 次减数分裂中期的卵母细胞部分染色体

分离发生异常, 导致部分姐妹染色体未发生分离, 产生母本位点异源加倍现象; 2) 在受精卵进行卵裂(有丝分裂)过程中, 由于双亲染色体配对不完全, 造成有丝分裂过程中部分父本染色体丢失, 叶玉珍等^[22]对草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)(♀)×鲤(*Cyprinus carpio*)(♂)杂交子代进行核型分析时也发现了部分父本染色体丢失现象。因此, 分析哲罗鲑(♂)与细鳞鲑(♀)属间杂交不相容的原因可能是核质分裂过程中部分父本染色体的丢失或母本染色体的异源加倍, 导致非整倍体较早出现, 影响了胚胎发育后期某些关键基因的表达, 使胚胎发育阻滞或异常, F_1 发眼期较高的积温也证明了胚胎发育过程确实存在阻滞现象。所以, 在本研究中, 非整倍体较早的出现可能是导致哲罗鲑(♂)与细鳞鲑(♀)属间杂交不相容的直接原因。

3.3 引物的通用性

国内关于微卫星引物通用性的研究较多^[35-37], 其通用性对于节省微卫星开发的时间和成本及近缘种比较基因组学的研究都具有重要意义。根据本研究所用 30 对微卫星引物的扩增结果分析, 仅 2 对引物在细鳞鲑中未扩增出条带, 3 对引物在哲罗鲑中未扩增出条带, 表明微卫星引物在这 2 个属间具有较好的通用性。共 25 对引物在双亲间产生了差异条带, 其中 21 对引物扩增位点在 F_1 得到了稳定遗传, 证明通过哲罗鲑与细鳞鲑的正反远缘杂交组合构建遗传图谱也是切实可行的。

另外, 微卫星位点在不同物种中的片段大小差异可作为不同物种的特异性标记^[38]。本研究中, *Omi98TUF* 引物在细鳞鲑和哲罗鲑中扩增片段大小在 105~206 bp 之间, 但细鳞鲑扩增片段与哲罗鲑扩增片段相差 63 bp 以上, 因此, *Omi98TUF* 引物可能成为鉴别哲罗鲑和细鳞鲑的特异性标记, 但还需扩大样本量后进行进一步鉴定。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 王金龙, 杨弘, 吴婷婷, 等. 奥利亚罗非鱼(♂)×鳊(♀)远缘杂交子代的遗传结构[J]. 中国水产科学, 2007, 14(1):

- 32-38.
- [3] Schwartz F J. World literature to fish hybrids with an analysis by family, species, and hybrid [M]. Mississippi : Pub Gulf Coast Res lab Mus, 1972.
- [4] Schwartz F J. World literature to fish hybrids with an analysis by family, species, and hybrid: supplement I [M]. NOAA Technical Repod NMFS SSRF2750, 1981.
- [5] 陈敏容, 阎康, 刘汉勤, 等. 人工诱导白鲫(♀)×红鲤(♂)异源四倍体鱼的初步研究[J]. 水生生物学报, 1987, 11(1): 96-98.
- [6] 张克俭, 高健, 张景龙, 等. 兴淮鲫(白鲫♀×散鳞镜鲤♂)及其双亲同工酶的研究[J]. 上海水产大学学报, 1993, 2(4): 181-187.
- [7] 杨葆生. 鲫鲤杂交一代(F₁)自交的受精细胞学观察[J]. 湛江水产学院学报, 1996, 16(2): 24-28.
- [8] 冯浩, 刘少军, 张轩杰, 等. 红鲫(♀)与湘江野鲤(♂)F₂和F₃的染色体研究[J]. 中国水产科学, 2001, 8(2): 1-4.
- [9] 长江水产研究所. 鲮♀×(鲢♀×鳙♂)♂回交育种试验报告[J]. 遗传学报, 1975, 2(2): 144-152.
- [10] 殷源洪, 韩苟, 韩如斋. 鳊鲂人工杂交的初步研究[J]. 遗传学通讯, 1974(3): 36-38.
- [11] 江世贵, 李加儿, 区又君, 等. 平鲷♀与真鲷♂的杂交研究[J]. 海洋科学, 1997(5): 33-38.
- [12] 魏刚. 瓦氏黄颡鱼与长吻鲃杂交的初步研究[J]. 淡水渔业, 1987(6): 14-17.
- [13] 张锦霞, 刘肖芳, 王祖熊, 等. 湘华鲮(♂)×鲮(♀)杂交一代与其双亲染色体组型的比较研究[J]. 水生生物学集刊, 1984, 8(3): 313-322.
- [14] Suzuki R, Fukuda Y. Sexual maturity of F₁ hybrids among salmonid fishes[J]. Bull Fresh Fish Res Lab, 1974, 23: 57-74.
- [15] 肖鱼. 鲤鱼杂交的初步试验[J]. 水产科技情报, 1977(5-6): 39-41.
- [16] 刘思阳, 李素文. 三倍体草鲂杂种及其双亲的红细胞(核)大小和 DNA 含量[J]. 遗传学报, 1987, 14(2): 142-148.
- [17] 刘思阳. 三倍体草鲂杂种与双亲性腺发育的比较观察[J]. 淡水渔业, 1988(4): 27-28.
- [18] 叶星, 谢刚, 祁宝伦, 等. 广东鲂(♀)×团头鲂(♂)杂交子一代及其双亲染色体组型的分析[J]. 大连水产学院学报, 2002, 17(2): 102-107.
- [19] 张克俭, 高健. 杂交鲫(白鲫♀×散鳞镜鲤♂)及其双亲染色体组型的研究[J]. 水产学报, 1995, 19(4): 305-309.
- [20] 赵洋, 包振民, 毕克, 等. 雌性虾夷扇贝与雄性栉孔扇贝杂交子代及其亲本的核型研究[J]. 海洋学报, 2006, 28(1): 100-105.
- [21] 吴清江, 傅洪拓, 叶玉珍. 酶的基因剂量效应及其对鱼类远缘杂交的影响[J]. 水生生物学报, 1997, 21(2): 143-151.
- [22] 叶玉珍, 吴清江, 陈荣德. 草鱼和鲤杂交的细胞学研究——鱼类远缘杂交核质不同步现象[J]. 水生生物学报, 1989, 13(3): 234-239.
- [23] 闵乃喆. 鲫鲤杂交种的培育[J]. 生物学通报, 1959 (9): 395-399.
- [24] 刘思阳. 草鱼卵子和三角鲂精子杂交的受精细胞学研究[J]. 水产学报, 1987, 11(3): 225-232.
- [25] 刘国安, 吴维新, 林临安, 等. 兴国红鲤同草鱼杂交的受精细胞学研究[J]. 水产学报, 1987, 11(1): 17-21.
- [26] 佟广香, 鲁翠云, 匡友谊, 等. 哲罗鱼基因组微卫星富集文库的构建与分析[J]. 中国水产科学, 2006, 13(2): 181-186.
- [27] 蒋速飞, 傅洪拓, 龚永生, 等. 海南沼虾(♀)×日本沼虾(♂)的人工种间杂交及其 RAPD 分析[J]. 上海水产大学学报, 2006, 15(4): 409-413.
- [28] 苏鹏志, 陈松林, 杨景峰, 等. 异源冷冻精子诱导大菱鲆的雌核发育[J]. 中国水产科学, 2008, 15(5): 715-721.
- [29] 周莉, 樊连春, 桂建芳, 等. 银鲫复合种外源遗传物质整入得 RAPD 分析[J]. 水生生物学报, 1998, 22(4): 301-306.
- [30] 吴维新, 李传武, 刘国安, 等. 鲤和草鱼杂交四倍体及其回交三倍体草鱼杂种的研究[J]. 水生生物学报, 1988, 12(4): 355-363.
- [31] 范兆廷. 水产动物育种学[M]. 中国农业出版社, 2005: 112-113.
- [32] 张荣华, 孙中武, 尹家胜, 等. 哲罗鱼的染色体核型分析[J]. 水产学杂志, 2008, 21(1): 64-67.
- [33] 徐革峰, 牟振波, 薛淑群, 等. 不同流域细鳞鱼染色体遗传多样性分析[J]. 水生生物学报, 2009, 33(5): 975-979.
- [34] 徐革峰, 尹家胜, 刘洋, 等. 哲罗鲑与细鳞鲑属间远缘杂交的初步研究[J]. 中国水产科学, 2009, 16(6): 959-966.
- [35] 彭涛, 王念明, 佟广香, 等. 湖鲟微卫星引物在三种鲟鱼及杂交子代的通用性研究[J]. 水产学杂志, 2009, 22(2): 12-16.
- [36] 林能锋, 苏永全, 丁少雄, 等. 大黄鱼微卫星标记引物在石首鱼科几个近缘种中的通用性研究[J]. 中国水产科学, 2008, 15(2): 237-243.
- [37] 海萨, 李家乐, 刘峰, 等. 伊犁鲈微卫星位点的筛选及近缘物种的通用性[J]. 动物学杂志, 2009, 44(1): 17-23.
- [38] 张玉勇, 白庆利, 贾志英, 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.

Genetics analysis on incompatibility of intergeneric hybridizations between *Hucho taimen*(♂) and *Brachymystax lenok*(♀) by using 30 polymorphic SSR markers

WANG Jun^{1,2}, KUANG Youyi¹, TONG Guangxiang¹, YIN Jiasheng¹

1. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: Intergeneric hybridizations of *Hucho taimen*(♂) and *Brachymystax lenok*(♀) were produced in this study. The results showed phenomenon of hybrid incompatibility such as low larval floating rate and high deformity rate. Thirty microsatellite primers were used for genetic analysis on relationship between F₁ hybrids and their parents. The results are as follows: 1) Among the 30 microsatellite primers, twenty-five pairs showed specific bands on both parents, and two pairs showed specific bands only on *H. taimen*, while three pairs only on *B. lenok*. 2) Among the 25 microsatellite primers showing specific bands on both parents, 24 bands of microsatellite locus came from parents and only one locus *Omi84TUF* appeared in F₁ hybrids. The inherited character of 21 locus completely follows the Mendelian rule indicating that the hybridization between the parents are gamogenesis and most genetic material come from both of the parents. 3) Four loci *Omi105TUF*, *Omi156TUF*, *Omi165TUF* and *Omy16DIAS* showed doubled maternal bands or no paternal specific bands on some F₁ hybrids. This may be caused by abnormality in process of pairing or separation for some chromosomes, which may result in hybrid incompatibility. 4) The genetic similarity and genetic distance between F₁ hybrids and *H. taimen* were 0.673 5 and 0.395 3 respectively, and the genetic similarity and genetic distance between F₁ hybrids and *B. lenok* was 0.729 8 and 0.315 0 respectively. The results showed F₁ hybrids had closer relationship with *B. lenok*. It was also supported by UPGMA clustering.

Key words: *Hucho taimen*; *Brachymystax lenok*; incompatibility; SSR

Corresponding author: YIN Jiasheng. Tel: 0451-84861310; Email: xwsc20@tom.com