

# 哲罗鲑、细鳞鲑及杂交种(哲罗鲑♀ ×细鳞鲑♂)遗传结构的SRAP分析

许凌雪<sup>1,2</sup>, 匡友谊<sup>1</sup>, 佟广香<sup>1</sup>, 丁雷<sup>3</sup>, 刘博<sup>1,2</sup>, 尹家胜<sup>1\*</sup>

(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; 3. 东北林业大学 生命科学学院 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘要:**运用SRAP技术对哲罗鲑、细鳞鲑及杂交种(哲罗鲑♀×细鳞鲑♂)的遗传结构进行分析。结果表明:(1)哲罗鲑群体和细鳞鲑群体迁移率相同的位点分别占所扩增条带的48.29%和48.53%,表明二者在遗传结构上具有较大的相似性。杂交群体所扩增的位点中,具有哲罗鲑群体特异位点为30.30%,具有细鳞鲑群体特异位点为25.54%,具有2群体共有位点为39.39%,属两性融合生殖。(2)3个群体多样性水平从高到低排列为细鳞鲑、杂交种、哲罗鲑,并且杂交种表达出一定的杂种优势;(3)检测到种间特异位点53个,将这些特异位点部分组合,可以有效进行杂种鉴定;(4)杂交种与哲罗鲑和细鳞鲑的遗传距离分别为0.2553和0.3858,表明杂交种与两亲本群体的遗传差异是不对等的,偏向母本一方。

**关键词:**哲罗鲑; 细鳞鲑; 杂交种; 遗传分析

中图分类号:S917 文献标志码:A 文章编号:1000-2286(2011)06-1187-08

## An Analysis on Genetic Constitution of *Hucho Taimen*, *Brachymystax lenok* and Hybrids (*Hucho taimen* ♀ × *Brachymystax lenok* ♂) by SRAP Markers

XU Ling-xue<sup>1,2</sup>, KUANG You-yi<sup>1</sup>, TONG Guang-xiang<sup>1</sup>,  
DING Lei<sup>3</sup>, LIU Bo<sup>1,2</sup>, YIN Jia-sheng<sup>1\*</sup>

(1. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Harbin 150070, China; 2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

**Abstract:** The genetic structure of three populations (*Hucho taimen* and *Brachymystax lenok* and hybrids) was analyzed by SRAP molecular marker. The results are as follows: (1) *Hucho taimen* and *Brachymystax lenok* have percentages of 48.29% and 48.53% of all bands, the result showed very high genetic identity in the two populations. In the hybrids, the amplified fragments include 30.30% female parent-specific bands, 25.54% male parent-specific bands and 39.39% mutual bands, the hybridization between the parents are gamogenesis and most genetic material come from both of the parents. (2) The abundance of genetic diversity in the three populations arranged in a decent order is *Brachymystax lenok* > hybrids > *Hucho taimen*, and the hybrids have obvious heterosis. (3) 53 interspecies specific loci were screened out. Combining part of those

收稿日期:2011-07-11 修回日期:2011-10-03

基金项目:公益性行业科研专项(201003055)和黑龙江水产研究所基本科研专项资金资助(2008HSYZX-SJ-08)

作者简介:许凌雪(1986-),女,硕士生,主要从事水产动物遗传育种学研究, E-mail: xulingxue@163.com; \* 通讯作者:尹家胜,研究员, E-mail: xwsc20@tom.com。

loci can effectively identify the hybrids. (4) The hybrids have a genetic distance of 0.255 3 and 0.385 8 from *Hucho taimen* and *Brachymystax lenok*, separately, which elucidates the hybrids have an unequal heredity difference to their parents and a genetic inclination to their female parent.

**Key words:** *Hucho taimen*; *Brachymystax lenok*; hybrid; Genetic analysis

哲罗鲑(*Hucho taimen*)和细鳞鲑(*Brachymystax lenok*)同属鲑形目(Salmoniformes)、鲑科(Salmonidae),分属哲罗鱼属和细鳞鱼属,濒危等级为易危,它们在生态、繁殖习性和遗传演化等方面有着很多的共同点<sup>[1-2]</sup>。目前国内外研究者已经成功进行了鲑科鱼类的许多种间杂交试验<sup>[3-4]</sup>,哲罗鲑(♀)与细鳞鲑(♂)成功进行了属间远缘杂交,子代成活率较高,并开展了胚胎和稚鱼发育方面的研究报道<sup>[5]</sup>,但未见基因组方面的研究报道,而这方面的研究对于远缘杂交机制以及子代获得较高成活率的探讨,意义重大。哲罗鲑与细鳞鲑资源量少,处于濒危状态,野生群体样本采集困难,遗传背景研究资料较小,Genbank中哲罗鲑的DNA序列319条,其可用的分子标记194个;细鳞鲑的DNA序列161条,其可用的分子标记仅为17个,因此使用已知序列来研究两群体遗传结构较为困难,而SRAP分子标记引物具有通用性,适合无序列背景的种群进行遗传基础研究。这种SRAP分子标记是由Li与Quiros<sup>[6]</sup>研究芸苔属油菜时发明的一种新型分子标记技术,即相关序列扩增多态性(sequence related amplified polymorphism, SRAP),SRAP为显性标记,图谱中每一条扩增带代表一等位基因<sup>[7]</sup>,该标记还具有多态性高,重复性好,操作简单,在基因组中分布均匀,而且正向引物可以与反向引物两两搭配组合,提高了引物的使用率<sup>[8]</sup>。本研究采用SRAP分子标记技术对哲罗鲑、细鳞鲑和杂交种(哲罗鲑♀和细鳞鲑♂)的基因组DNA进行比较,分析了它们之间的遗传关系、种群遗传多样性、群体结构,建立了种质鉴定标记,探讨了双亲遗传物质在杂交种上的传递及对杂交种遗传结构的影响,为进一步研究鲑科鱼类属间远缘杂交的遗传机理积累了基础资料,同时也丰富了远缘杂交育种分子遗传学数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品来源

2009年5月在中国水产科学研究院黑龙江水产研究所渤海冷水性鱼试验站采集实验所需样品,样品均为2龄,共采集哲罗鲑32尾、细鳞鲑29尾、杂交种30尾,其中杂交种为1尾哲罗鲑(♀)与1尾细鳞鲑(♂)人工杂交所得成活子代。剪取鳍条于 $\varphi = 75\%$ 酒精固定、备用。

### 1.2 基因组DNA提取

将保存于 $\varphi = 75\%$ 酒精中的鳍条取出在超纯水中反复清洗,使酒精完全挥发,用滤纸吸干放入离心管中,加入裂解液(200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 蛋白酶K,0.5%十二烷基肌氨酸钠,200 mmol/L EDTA, pH=8.0)进行裂解。具体提出方法参考文献[9]。用1.0% Agarose凝胶电泳检测,并用紫外分光光度计测定后,将基因组DNA稀释至50 ng/ $\mu\text{L}$ 备用。

### 1.3 SRAP实验及分析

SRAP所需引物参照Li<sup>[6]</sup>等发表的引物序列,引物由上海生工合成。从25对引物组合中筛选出14对结果稳定、条带清晰的引物组合用于本研究,其序列见表1。SRAP反应体系为15  $\mu\text{L}$ : 1  $\times$  PCR Buffer, 0.6 U *Taq* DNA聚合酶, 2.0 mmol/L  $\text{Mg}^{2+}$ , 0.2 mmol/L dNTP, 0.32  $\mu\text{mol}/\text{L}$ 上、下游引物, 50 ng/ $\mu\text{L}$ 模板DNA。扩增程序为:94  $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min;94  $^{\circ}\text{C}$ 变性1 min, 35  $^{\circ}\text{C}$ 复性1 min, 72  $^{\circ}\text{C}$ 延伸1 min, 5个循环;94  $^{\circ}\text{C}$ 变性1 min, 50  $^{\circ}\text{C}$ 复性1 min, 72  $^{\circ}\text{C}$ 延伸1 min, 38个循环;72  $^{\circ}\text{C}$ 延伸10 min, 4  $^{\circ}\text{C}$ 保存。PCR扩增产物用 $\rho = 8\%$ 非变性聚丙烯酰胺(丙烯酰胺与甲叉丙烯酰胺体积比为29:1)凝胶电泳检测,300 V恒压,电泳11 h,银染后利用扫描仪成像。运用Gelpro32软件,以DNA marker为标准,计算扩增片段的分子量大小。对14对引物的SRAP扩增图谱进行分析,每个扩增片段为1个位点,按有扩增条带(显性表型)记为1,无扩增条带(隐性表型)记为0,将SRAP扩增图谱转化为1和0构成的数字矩阵。

### 1.4 数据分析

1.4.1 群体内遗传关系分析 假设群体处于Hardy-Weinberg平衡,用PopGene(Version 1.32)<sup>[10]</sup>计算各群体的多态位点数(AP)、显性基因型频率( $P_d$ )、等位基因数(观测等位基因数 $N_a$ 、有效等位基因数

$N_e$ )、 $Nei's$  基因多样性指数 ( $H$ )、 $Shannon's$  信息指数 ( $I$ )、群体内遗传相似系数 ( $S$ )、群体内遗传距离 ( $D$ )。应用 Phylip3.69 软件<sup>[11]</sup>和 Treeview 进行个体聚类分析, bootstrap 抽样 5 000 次, 绘制个体聚类图。

表 1 SRAP 引物序列

Tab. 1 SRAP primers sequence

引物 Primer	正向引物 Forward primer(5'→3')	引物 Primer	反向引物 Reverse primer(5'→3')
me3	TGAGTCCAAACCGGAAT	em5	GACTGCGTACGAATTAAC
me5	TGAGTCCAAACCGGAAG	em6	GACTGCGTACGAATTGCA
me8	TGAGTCCAAACCGGTGT	em8	GACTGCGTACGAATTAGC
me9	TGAGTCCAAACCGGTCA	em9	GACTGCGTACGAATTACG
me11	TGAGTCCAAACCGGATG	em10	GACTGCGTACGAATTTAG

1.4.2 群体间遗传关系的分析 将 PopGene(Version 1.32) 软件计算所得群体间的遗传距离  $D$  输入 MEGA 4.1 软件中, UPGMA 法进行聚类分析, 构建群体聚类图。用 Structure2.33<sup>[12]</sup> 分析群体的遗传组成及杂种遗传组分。假定类群  $K$  从 1 到 5, 每个类群运行 10 次, 运行参数为 50000 burnin - in iterations, 100000 MCMC chain length<sup>[13]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 SRAP 扩增结果及杂交群体的图谱鉴定

14 对引物共扩增出 319 个位点, 其中哲罗鲑群体扩增出 205 个位点, 细鳞鲑群体扩增出 204 个位点, 杂交群体扩增出 231 个位点; 哲罗鲑群体和细鳞鲑群体迁移率相同的位点共 99 个, 分别占所扩增条带的 48.29% 和 48.53%; 只在哲罗鲑群体出现的位点共 104 个, 只在细鳞鲑群体出现的位点共 101 个。

根据图谱分析结果可将杂交群体分为 4 类<sup>[14]</sup>(如图 1 箭头所示): (a) 哲罗鲑与细鳞鲑群体均未出现的位点, 共 11 个, 占 4.76%; (b) 细鳞鲑群体特异位点, 共 59 个, 占 25.54%; (c) 2 群体共有位点, 共 91 个, 占 39.39%; (d) 哲罗鲑群体特异位点, 共 70 个, 占 30.30%。统计各类情况所占比例, 杂交种中出现

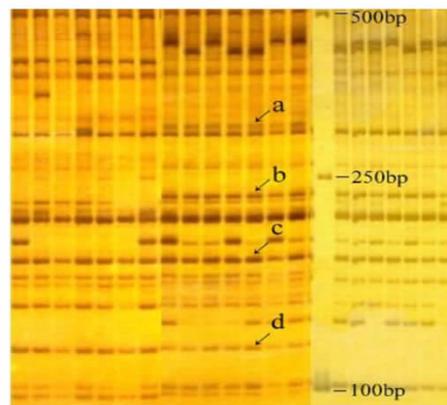
部分双亲特异条带, 表明属间杂交种整合了哲罗鲑(♀)和细鳞鲑(♂)的遗传信息。

利用群体的特异性条带对 3 个群体可以加以辨别<sup>[15]</sup>, 如图 1 中条带 b 和 d 组合可以鉴定出杂交种。表 2 列出了可用来鉴定杂交种的种间特异位点 53 个<sup>[16]</sup>, 杂交种拥有哲罗鲑特异性单态型条带 32 个, 拥有细鳞鲑特异性单态型条带 21 个, 通过部分组合可得到鉴定结果。另外在 11 个杂交群体特异位点中, 有 3 个特异位点是单态型, 亦可作为鉴定条带, 分别为 m9e10-150、m9e10-316、m8e10-200。

### 2.2 种群遗传多样性比较

哲罗鲑、杂交种、细鳞鲑群体多态位点比例分别为 47.80%、55.79% 和 65.20%。根据 SRAP 图谱计算出各群体的遗传多样性参数<sup>[17]</sup>见表 3, 综合这些遗传多样性参数(除有效等位基因数)比较分析, 说明 3 个群体多样性水平从高到低排列为细鳞鲑、杂交种、哲罗鲑。

3 个群体的显性基因型频率分布情况见图 2, 参照张全启等<sup>[18]</sup>的方法, 将 319 个扩增位点的显性基因型频率划分为 10 个区间和显性基因型频率为 0.1 的两个关键点。结果显示 3 个群体扩增位点显性



1-7: 哲罗鲑; 8-14: 杂交种; 15-21: 细鳞鲑群体; M: DL 2000。

1-7: *H. taimen*; 8-14: hybrid; 15-21: *B. lenok*; M: DL 2000。

图 1 引物 me9-em10 对 3 群体的 SRAP 图谱

Fig. 1 SRAP patterns amplified by primer me9-em10 for the 91 individuals of 3 species

基因型频率在不同区间分布呈现一定的规律性,反映了 3 个群体遗传结构的特点。从图 2 中可以看出,3 群体在 0 ~ 79% 内变化规律基本相同;显性基因型频率为 0 时,杂交群体的位点数显著减少,为 88 个,而哲罗鲑群体和细鳞鲑群体分别为 116 个和 115 个,表明杂交群体的隐性纯合基因位点显著减少;显性基因频率为 100% 时,细鳞鲑群体的位点数显著减少,为 71 个,而哲罗鲑群体和杂交种群体分别为 106 个和 103 个,表明细鳞鲑群体的多态性更为丰富;在 20% ~ 29% 和 80% ~ 89% 杂交种群体的显性基因型频率出现峰值,表明杂交种的多态性相对丰富;哲罗鲑群体的显性基因型频率分布同杂交种和细鳞鲑群体相比较稳定,综上所述亦可证明 3 个群体多样性水平从高到低排列为细鳞鲑、杂交种、哲罗鲑。

表 2 SRAP 引物对杂交种的鉴定

Tab. 2 The identification of hybrid species by primers

引物组合			群体 Population			引物组合			群体 Population			引物组合			群体 Population		
Primer combination			哲罗鲑 <i>H. taimen</i>	杂交种 hybrid	细鳞鲑 <i>B. lenok</i>	Primer combination			哲罗鲑 <i>H. taimen</i>	杂交种 hybrid	细鳞鲑 <i>B. lenok</i>	Primer combination			哲罗鲑 <i>H. taimen</i>	杂交种 hybrid	细鳞鲑 <i>B. lenok</i>
m5e5 - 102	+	+	-	m8e6 - 286	-	+	+	m9e8 - 85	-	+	+						
m5e5 - 363	+	+	-	m8e6 - 550	+	+	-	m9e9 - 258	+	+	-						
m5e5 - 420	+	+	-	m8e9 - 234	-	+	+	m9e9 - 278	+	+	-						
m5e6 - 105	-	+	+	m8e9 - 330	-	+	+	m9e9 - 342	+	+	-						
m5e6 - 361	-	+	+	m8e9 - 344	+	+	-	m9e9 - 649	+	+	-						
m5e6 - 453	+	+	-	m8e10 - 97	+	+	-	m9e10 - 98	+	+	-						
m5e6 - 505	-	+	+	m8e10 - 341	+	+	-	m9e10 - 235	-	+	+						
m5e6 - 552	-	+	+	m8e10 - 377	-	+	+	m9e10 - 564	+	+	-						
m5e8 - 93	+	+	-	m8e10 - 486	+	+	-	m11e5 - 224	-	+	+						
m5e8 - 121	-	+	+	m9e5 - 187	+	+	-	m11e5 - 235	+	+	-						
m5e8 - 205	+	+	-	m9e5 - 361	+	+	-	m11e5 - 376	-	+	+						
m5e8 - 260	-	+	+	m9e5 - 399	+	+	-	m11e5 - 390	+	+	-						
m5e8 - 295	-	+	+	m9e5 - 506	+	+	-	m11e5 - 443	+	+	-						
m5e10 - 103	-	+	+	m9e6 - 98	+	+	-	m11e5 - 468	+	+	-						
m5e10 - 244	+	+	-	m9e6 - 104	+	+	-	m11e10 - 94	-	+	+						
m5e10 - 281	-	+	+	m9e6 - 112	-	+	+	m11e10 - 97	+	+	-						
m5e10 - 330	+	+	-	m9e6 - 439	+	+	-	m11e10 - 119	-	+	+						
m5e10 - 362	-	+	+					m11e10 - 273	+	+	-						

m5e5 指引物,后面的数字指相应片段的分子量;群体享有某一特征带则计为“+”,无此带则计为“-”。

It is molecular weight following the m5e5 as primer, the symbol “+” represent specific band in the population. otherwise, it is marked the symbol “-”.

表 3 哲罗鲑、杂交种和细鳞鲑群体的遗传多样性

Tab. 3 Genetic diversity intrapopulation from *H. taimen* hybrid *B. lenok* populations

种群 Population	多态位点数 Polymorphic loci	多态位点百分率/% Proportion of polymorphic loci	观测等位基因数 Observed number of alleles	有效等位基因数 Effective number of alleles	基因多样性指数 Nei's gene diversity Nei's diversity	信息指数 Shannon's index	群体内遗传相似系数 Genetic similarity among population	群体内遗传距离 Genetic distance among population
哲罗鲑 <i>H. taimen</i>	98	47.80	1.478 0 (0.500 7)	1.336 1 (0.412 0)	0.185 8 (0.215 9)	0.270 8 (0.305 2)	0.841 6 (0.051 5)	0.174 3 (0.181 1)
杂交种 hybrid	130	55.79	1.557 9 (0.497 7)	1.361 3 (0.361 2)	0.213 4 (0.199 7)	0.316 6 (0.290 2)	0.838 7 (0.053 2)	0.178 0 (0.064 4)
细鳞鲑 <i>B. lenok</i>	133	65.20	1.652 0 (0.477 5)	1.361 0 (0.356 9)	0.215 7 (0.192 7)	0.326 1 (0.275 3)	0.836 1 (0.050 9)	0.180 9 (0.062 3)

括号内为标准差。Standard deviation in parentheses.

### 2.3 群体间遗传距离和聚类分析

群体间遗传相似系数和遗传距离见表 4。哲罗鲑和细鳞鲑的遗传距离为 0.669 6,杂交种与哲罗鲑和细鳞鲑的遗传距离分别为 0.255 3 和 0.385 8。用 MEGA 4.1 软件,按 UPGMA 法进行群体聚类作图,结果见图 3,杂交种先与哲罗鲑群体聚在一起;用 Phylip3.69 软件绘制的个体间聚类图,结果见图 4,哲罗鲑、细鳞鲑和杂交群体能够分别聚为一枝,无混杂情况。

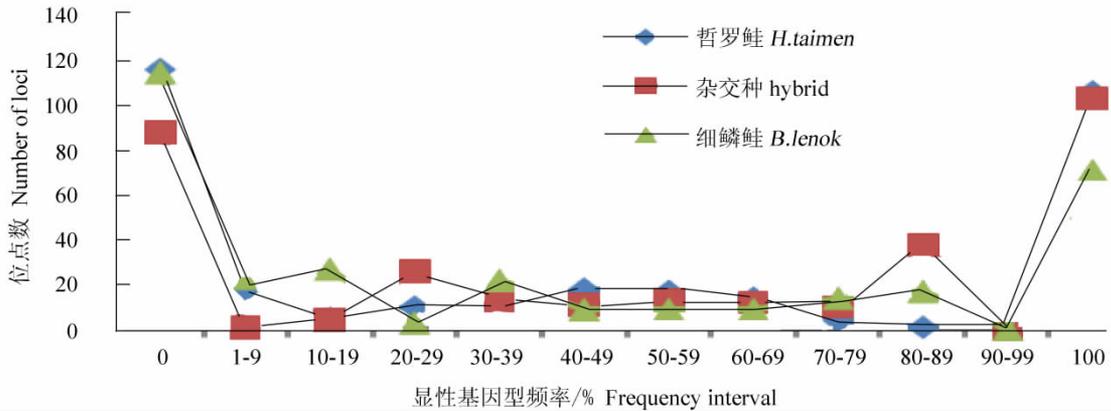


图 2 扩增位点数在不同显性基因频率区间内的分布

Fig. 2 Distributions of amplified loci in different frequency intervals

表 4 哲罗鲑、杂交种和细鳞鲑遗传相似系数和遗传距离

Tab. 4 Genetic similarity and genetic distance of three populations

群体 Population	哲罗鲑 <i>H. taimen</i>	杂交种 hybrid	细鳞鲑 <i>B. lenok</i>
哲罗鲑 <i>H. taimen</i>	****	0.774 7	0.511 9
杂交种 hybrid	0.255 3	****	0.679 9
细鳞鲑 <i>B. lenok</i>	0.669 6	0.385 8	****

右上为遗传相似系数 左下为遗传距离。

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

### 2.4 基于贝叶斯方法对群体聚类

为选择一个适当的  $K$  值构建模型数据, 分别取类群  $K$  从 1 至 5 运行 Structure 2.33 软件。成分系数(  $Q$  ) 的组分分析图表明了  $K=1$  时是完全不足以构建模型数据的; 当  $K=2$  时( 图 5) 杂交种群体遗传组中 63.5% 来自于哲罗鲑群体, 因此与哲罗鲑群体聚为一类, 这进一步说明了杂交群体与两亲本群体的遗传差异是不对等的, 稍偏向其亲本中的母本; 当  $K=3$  时( 图 6) 群体明显分为 3 类, 与个体聚类结果相同; 当  $K$  大于 3 时, 群体均聚为 3 类与  $K=3$  图形一样。Structure 遗传组分分析结果与 MEGA 4.1 软件和 Phylip 3.69 软件依据 Nei's 遗传距离聚类结果相一致, 均说明 3 群体遗传距离较远, 哲罗鲑群体与细鳞鲑群体间遗传渗透效果不显著, 杂交群体与哲罗鲑群体亲缘关系较近。

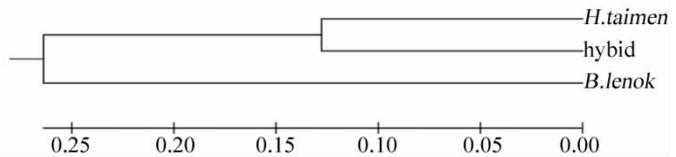
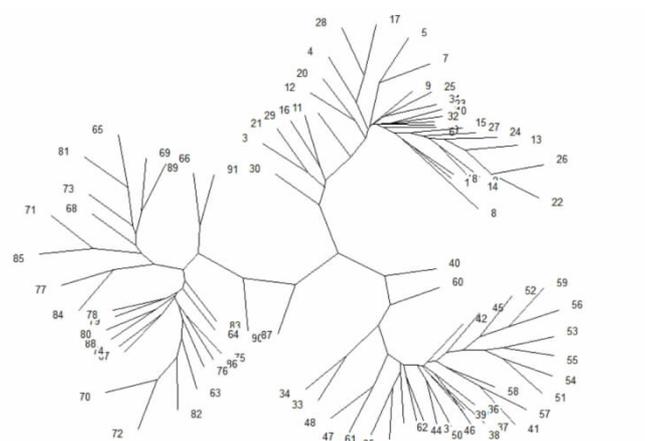


图 3 哲罗鲑群体、细鳞鲑群体及杂交群体之间的聚类关系

Fig. 3 The phylogeny tree of the populations using UPGMA clustering method



1 - 32: 哲罗鲑; 33 - 62: 杂交种; 63 - 91: 细鳞鲑。

1 - 32: *H. taimen*; 33 - 62: hybrid; 63 - 91: *B. lenok*.

图 4 个体 UPGMA 聚类

Fig. 4 Individuals' UPGMA dendrogram

## 3 讨论

### 3.1 遗传结构分析

鱼类遗传多样性的大小直接反映鱼类对环境适应性能力的大小, 种内遗传多样性或变异越丰富, 物

种对环境变化的适应能力也就越大,因此遗传多样性在鱼类育种中是至关重要的,它是优良性状选育的物质基础,也是优良品种或品系的评价标准之一<sup>[17,19]</sup>。本文采用目前评价遗传多样性水平的常用参数多态位点数(AP)、显性基因型频率( $P_d$ )、等位基因数(观测等位基因数 $N_a$ 、有效等位基因数 $N_e$ )、 $Nei's$  基因多样性指数( $H$ )、 $Shannon's$  信息指数( $I$ )、群体内遗传相似系数( $S$ )、群体内遗传距离( $D$ )对3群体遗传多样性进行了评估。

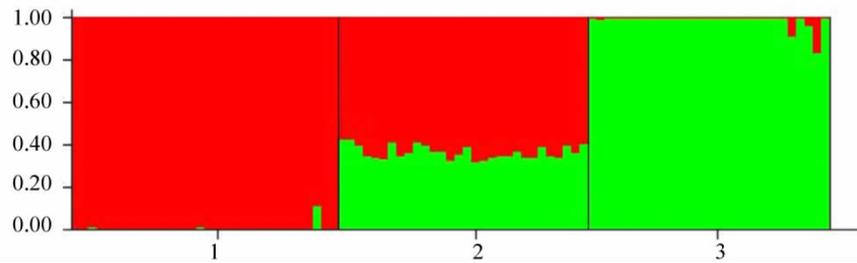
通过SRAP技术对哲罗鲑、细鳞鲑和杂交种3个种群进行遗传结构的研究,了解他们遗传结构差异,为种质改良、杂交育种提供理论数据支持。有效等位基因数相当于群体中纯合基因型频率的倒数<sup>[17]</sup>,可作为群体遗传变异的一个指标。哲罗鲑群

体有效等位基因数为1.3361,细鳞鲑群体有效等位基因数为1.3610,杂交群体有效等位基因数为1.3613。杂交群体的有效等位基因数明显大于其母本哲罗鲑群体,且接近其父本群体,说明杂交后代的基因杂合性明显增强,这是杂种优势得以形成的重要遗传物质基础之一<sup>[20]</sup>。另外对各扩增位点显性基因型频率进行统计,在各区间的分布可知3群体的群体遗传结构存在差异,比较发现杂交群体中低频位点显著减少,在20%~29%和80%~89%杂交群体的显性基因型频率出现峰值,表明杂交群体隐性纯合基因位点显著减少,这与遗传多样性参数有效等位基因数结果相一致,均得出多样性指数升高。

综合遗传多样性水平的常用参数可以全面了解群体的多样性状况,哲罗鲑群体内遗传变异较小,细鳞鲑群体内遗传变异较大,杂交种群体内遗传距离介于两亲本群体之间,偏向母本哲罗鲑,这反映出杂交种群体的核DNA分别来自两亲本群体,因而也继承了两亲本群体的遗传变异。结合各项指标分析结果(除有效等位基因数外)均显示杂交群体遗传多样性介于哲罗群体和细鳞群体之间,其多样性远大于哲罗鲑群体,表明杂交群体虽然偏向母本哲罗鲑群体,但融入了细鳞鲑群体的遗传物质,增加了杂种群体的遗传多样性。

### 3.2 哲罗鲑(♀)与细鳞鲑(♂)产生杂交后代的遗传基础

哲罗鲑(♀)与细鳞鲑(♂)亲缘关系较远,获得成活率较高的杂交子代可能有以下几点原因:第一,楼允东<sup>[21]</sup>认为杂交组合两亲本染色体数目和组型越接近,杂交越能成功,哲罗鲑染色体数目和核型( $2n = 84, 2n = 18m + 16sm + 50st, t$ )<sup>[22]</sup>与细鳞鲑染色体数目和核型( $2n = 90, 2n = 16m + 14sm + 60st, t$ )<sup>[23]</sup>相近,且哲罗鲑和细鳞鲑胚胎发育特点基本相同<sup>[24]</sup>,保证了杂种胚胎发育的顺利进行;第二,Theorpe<sup>[25]</sup>

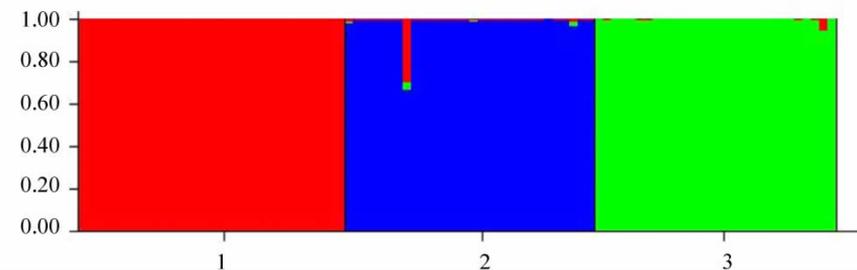


1: 哲罗鲑; 2: 杂交种; 3: 细鳞鲑。不同颜色表示不同的遗传组分,黑色为各群体的分隔线。

1: *H. taimen*; 2: hybrid; 3: *B. lenok*, the more proportion of the color, the more possibility of the represented individual by the color divided into the corresponding group. Black lines separate individuals of different populations.

图5 2群体遗传组成分析结果

Fig. 5 Estimated population genetic structure



1: 哲罗鲑; 2: 杂交种; 3: 细鳞鲑。不同颜色表示不同的遗传组分,黑色为各群体的分隔线。

1: *H. taimen*; 2: hybrid; 3: *B. lenok*, the more proportion of the color, the more possibility of the represented individual by the color divided into the corresponding group. Black lines separate individuals of different populations.

图6 3群体遗传组成分析结果

Fig. 6 Estimated population genetic structure

认为同属种间的遗传相似度  $S$  为 0.2~0.8, 遗传距离  $D$  为 0.2~0.8, 哲罗鲑与细鳞鲑虽然在形态分类上不是同一属, 但二者的遗传距离为 0.669 6, 在同属种间范围内, 小于同属的三角鲂与团头鲂的遗传距离(0.745)<sup>[26]</sup>、也小于同属的菊黄东方鲀和双斑东方鲀的遗传距离(0.733)<sup>[27]</sup>, 上述两组杂交均能获得成活的人工正反交杂交子代<sup>[27-28]</sup>, 因此哲罗鲑与细鳞鲑的亲缘关系比部分同属不同物种要近, 能够获得成活杂交子代; 第三, 哲罗鲑群体共扩增出 205 个位点, 细鳞群体共扩增出 204 个位点, 2 群体有相同位点 99 个, 分别占总扩增带比例为 48.29% 和 48.53%, 二者在遗传结构上也具有较大的相似性。综上所述, 获得成活杂交子代是具有一定遗传基础的。

### 3.3 杂交群体的偏性遗传

运行 Structure2.33 软件<sup>[29]</sup>, 设置类群  $K$  值为 2 时, 更直观得出杂交群体遗传物质来源于哲罗群体及细鳞群体, 且含有哲罗群体遗传组分更大些, 与 UPGMA 聚类树结果相一致, 这表明亲本的基因型在杂交子代的贡献不同, 相对于父本, 母本的贡献较大, 杂交群体与母本亲缘关系更近。王俊等<sup>[30]</sup>对反交群体(哲罗鲑♂×细鳞鲑♀)亲缘关系分析也表明反交子代与母本细鳞鲑亲缘关系较近, 因此, 哲罗鲑与细鳞鲑正反交子代与两亲本群体的遗传差异是不对等, 在遗传上均偏向于母本。这种双亲遗传物质在杂交子代中贡献率不对等的现象在远缘杂交中也是普遍存在的, 例如: 褐牙鲈×夏牙鲈<sup>[31]</sup>、三角鲂×团头鲂<sup>[28]</sup>的杂交子代均表现为偏母本遗传; 皱纹盘鲍中国群体×日本群体的杂交子代<sup>[32]</sup>倾向于父本遗传。分析其原因, 在正交群体(哲罗鲑♀×细鳞鲑♂)中来源于哲罗群体特异条带 70 个, 来源于细鳞群体特异条带 59 个, 父母本的基因型在杂交后代中的分布是不平衡的, 可能受核质相容性的影响, 在精卵结合时的相容性存在个体间差异<sup>[4]</sup>; 同时反交群体(哲罗鲑♂×细鳞鲑♀)在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杂交不相容<sup>[30]</sup>, 也导致了杂交群体的偏性遗传。

### 3.4 杂种鉴定

远缘杂交是产生杂种优势的重要手段之一, 远缘杂交可以显著地促进种间基因的交流, 引入异种的可利基因, 显著地扩大和丰富杂交种的基因库<sup>[33]</sup>。本研究中, 杂交种的死亡率和畸形率均低于两亲本群体<sup>[5]</sup>, 它继承了细鳞鲑易开口、摄食好的特性<sup>[34]</sup>, 同时也继承了哲罗鲑生长迅速、个体大的优势, 因此杂交种(哲罗鲑♀×细鳞鲑♂)具有很大的选育潜力和商品市场。在生产和试验混养过程中, 杂交种与双亲群体在仔鱼期间的外部形态极为相似, 长到成鱼期其外部形态与细鳞鲑群体较为相似, 不易辨别, 本研究利用 SRAP 分子标记技术为显性标记的特点, 当双亲群体分别为显性纯合等位基因(AA)和隐性纯合等位基因(aa)时, 传递到  $F_1$  子代中表现为杂合等位基因(Aa), 因此通过种群单态特征条带是可以鉴定一个杂交种的<sup>[15]</sup>。试验结果共获得正交群体的 3 个单态型特异位点和 53 个引物组合鉴定位点, 可以作为杂种群体鉴别的遗传标记, 另外通过个体聚类分析对鉴定结果进行验证, 以得到更精确结果, 这些都具有一定的应用价值, 也对杂交机理的研究有重要意义。

### 参考文献:

- [1] 张觉民. 黑龙江省鱼类志[M]. 哈尔滨: 黑龙江科技出版社, 1995: 50-54.
- [2] Hartley S E. The chromosomes of salmonid fishes[J]. Biol Rev, 1987, 62(3): 197-214.
- [3] Bartly D M, Rana K, Imm ink J. The use of interspecific hybrids in aquaculture and fisheries[J]. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 2001, 10(3): 325-327.
- [4] 张玉勇, 白庆利, 贾智英, 等. 虹鳟、山女鳟及其杂交子代(虹鳟♀×山女鳟♂)的微卫星分析[J]. 水产学报, 2009, 3(2): 188-195.
- [5] 徐革锋, 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): 956-966.
- [6] LI G, QUIROS C F. Sequence-related amplified polymorphism(SRAP), A new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brossica* [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 103(2/3): 455-461.
- [7] 李驰, 卢新雄, 张志娥, 等. 利用 SRAP、SSR 分子标记检测分析 29 份棉花种质遗传完整性[J]. 植物遗传资源学报, 2007, 8(1): 21-25.
- [8] 张安世, 荆智峰, 刘永英, 等. SRAP 分子标记及其应用[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(9): 2562-2563.
- [9] 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.
- [10] Yeh F C, Yang R C, Boyle T. POPGENE Version 1.31, Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analy-

- sis [M]. University of Alberta and Centre for International Forestry Research, 1999: 1-27.
- [11] Muluvi G M, Sprent J I, Soranzo N, et al. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis of genetic variation in *Moringa Oleifera* Lam [J]. *Mol Ecol*, 1999, 8(3): 463-470.
- [12] Falush D, Stephens M, Pritchard J K. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles [J]. *Molecular Ecology Notes* 2007, 7(4): 574-578.
- [13] 匡友谊, 佟广香, 徐伟, 等. 黑龙江流域哲罗鲑的遗传结构分析 [J]. *中国水产科学* 2010, 17(6): 1208-1217.
- [14] 蔡明夷, 王志勇, 柯才焕, 等. 杂色鲍 × 盘鲍杂交及亲本自繁群体的 AFLP 分析 [J]. *厦门大学学报: 自然科学版*, 2009, 48(6): 884-889.
- [15] Congiu L, Dupanloup I, T. Patarnello, et al. Identification of interspecific hybrids by amplified fragment length polymorphism: the case of sturgeon [J]. *Molecular Ecology*, 2001, 10(9): 2355-2359.
- [16] 赵文学, 杨星, 彭智, 等. 黄颡鱼属物种的 RAPD 分子鉴定及杂种遗传分析 [J]. *水生生物学报* 2006, 30(1): 101-106.
- [17] 孙效文. 鱼类分子育种学 [M]. 北京: 海洋出版社 2010: 77-83.
- [18] 张全启, 徐晓斐, 齐洁, 等. 牙鲆野生群体和养殖群体的遗传多样性分析 [J]. *中国海洋大学学报* 2004, 34(5): 816-820.
- [19] 陈金平, 董崇智, 孙大江, 等. 微卫星标记对黑龙江流域大麻哈鱼遗传多样性的研究 [J]. *水生生物学报* 2004, 28(6): 607-612.
- [20] 代金霞. 微卫星 DNA 标记技术及其应用 [J]. *农业科学研究* 2005, 26(1): 67-79.
- [21] 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.
- [22] 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.
- [23] 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.
- [24] 徐革峰, 杜佳, 张永泉, 等. 哲罗鱼(♀)与细鳞鱼(♂)杂交种胚胎及仔稚鱼发育 [J]. *中国水产科学* 2010, 17(4): 630-636.
- [25] Theorpe J P. The molecular clock hypothesis: biochemical evaluation, genetic differentiation and systematics [J]. *Am Res Ecol Syst*, 1982, 13(1): 139-168.
- [26] 李思发, 朱泽闻, 邹曙明, 等. 鲂属团头鲂、三角鲂及广东鲂种间遗传关系及种内遗传差异 [J]. *动物学报* 2002, 48(3): 339-345.
- [27] 钟建兴, 钟然, 杨盛昌. 菊黄东方鲀和双斑东方鲀及其种间杂交子代的 ISSR 分析 [J]. *台湾海峡* 2008, 27(2): 152-155.
- [28] 杨怀宇, 李思发, 邹曙明. 三角鲂与团头鲂正反杂交  $F_1$  的遗传性状 [J]. *上海水产大学学报* 2002, 12(4): 305-309.
- [29] LING MING TSANG. Genetic differentiation, hybridization and adaptive divergence in two subspecies of the acorn barnacle *Tetraclita japonica* in the Northwestern Pacific [J]. *Molecular Ecology*, 2008, 17(18): 4136-4148.
- [30] 王俊, 匡友谊, 佟广香, 等. 哲罗鲑(♂)与细鳞鲑(♀)属间杂交不相容现象的 SSR 分析 [J]. *中国水产科学* 2011, 18(1): 1-9.
- [31] 徐冬冬. 褐牙鲆和夏牙鲆杂交的遗传学研究 [D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所 2009: 1-121.
- [32] 张国范, 王继红, 赵洪恩, 等. 皱纹盘鲍中国群体和日本群体的自交与杂交  $F_1$  的 RAPD 标记 [J]. *海洋与湖沼* 2002, 33(5): 484-491.
- [33] 王波, 刘振华, 傅明珠, 等. 星斑川鲈远缘杂交初步研究 [J]. *渔业现代化* 2009, 36(5): 41-44, 53.
- [34] 徐革峰, 夏大明, 姚德鑫, 等. 不同饵料对细鳞鱼仔鱼开口驯化的比较 [J]. *水产学杂志* 2007, 20(2): 7-11.