

文章编号: 1674-5566(2020)01-0001-08

DOI:10.12024/jso.20190402614

## 长江中游湖泊鳊与大眼鳊的渐渗杂交

朱书琴<sup>1,2,3</sup>, 曹晓颖<sup>1,2,3</sup>, 赵金良<sup>1,2,3</sup>, 唐首杰<sup>1,2,3</sup>, 吴红岩<sup>1,2,3</sup>

(1. 上海海洋大学 农业农村部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 水产动物遗传育种中心 上海市协同创新中心, 上海 201306; 3. 上海海洋大学 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306)

**摘要:** 在长江中游鄱阳湖和洞庭湖鳊采样中, 采集了兼具鳊(*Siniperca chuatsi*)和大眼鳊(*S. kneri*)部分形态特征的中间类型(主要特征: 口裂后缘伸达眼睛后缘之下, 眼睛大小、头后背部隆起介于鳊与大眼鳊之间) 48 尾。为了明确中间类型的分类学关系, 采用量化传统形态分类指标、筛选种间特异微卫星标记, 对中间类型个体进行鉴定分析。结果:(1) 量化分析表明, 鳊和大眼鳊在头长/眼径、(吻长+眼径)/口裂长上存在显著差异, 鳊头长/眼径为 5.286~7.157、(吻长+眼径)/口裂长为 0.811~0.999, 大眼鳊分别为 3.306~5.106 和 1.040~1.166。48 尾中间类型中, 5 尾判定为鳊, 其他 43 尾个体仍不能鉴定。(2) 从 28 对微卫星标记中筛选出 5 个鳊和大眼鳊的种间鉴别位点(T103、T063、T089、T135、W19517), 利用这 5 个位点对中间类型的个体进行遗传分析和鉴定, 中间类型中有 16 尾为种间杂交后代, 其中 9 尾为杂交 F<sub>1</sub> 与大眼鳊的回交个体。长江中游湖泊中鳊和大眼鳊存在种间渐渗杂交, 今后需加强长江鳊鱼野生资源遗传监测和管理。

**关键词:** 鳊; 大眼鳊; 中间类型; 形态学; 微卫星; 渐渗杂交

**中图分类号:** S 917.4; Q 321<sup>+</sup>.3 **文献标志码:** A

鳊(*Siniperca chuatsi*)和大眼鳊(*S. kneri*)隶属鲈形目(Perciformes)鳊科(Sinipercaidae)鳊属(*Siniperca*), 是东亚地区特有的淡水经济鱼类, 具有重要的经济价值、生态价值。鳊是 BASILEWSKY(1855)在天津鉴定的物种, 主要分布在黑龙江至珠江以北的水系; 大眼鳊是 GARMAN(1912)在湖北宜昌描述的物种, 分布于淮河以南水系<sup>[1]</sup>。这两个物种的形态鉴定标准主要是头后及背部隆起程度、眼睛大小、上颌骨后缘是否伸达眼后缘(鳊: 头后及背部隆起较高, 眼较小, 上颌骨后缘伸达眼后缘之下或更后; 大眼鳊: 头后及背部隆起较低, 眼较大, 上颌骨后端不伸达眼后缘之下)<sup>[1]</sup>。

随着鳊鱼野外采样工作的扩大和深入, 在长江中游发现有些样本兼具鳊和大眼鳊的部分形态特征(口裂后缘伸达眼后缘之下, 而眼睛大小、头后及背部隆起介于鳊与大眼鳊之间), 我们暂将其称为“中间类型”。余帆洋<sup>[2]</sup>首次将这种

类型的鳊鱼称为“过渡类型”(鳊与大眼鳊复合种), 通过线粒体控制区序列比较, 但未能观察到“过渡类型”与鳊、大眼鳊间有明显遗传分化。杨敏<sup>[3]</sup>利用 4 对微卫星标记对陆水水库、沅江、湘江、赣江、鄱阳湖采集的鳊、大眼鳊群体进行分子鉴定, 发现形态上被认为是大眼鳊的群体中有少量杂交 F<sub>1</sub> 个体。SONG 等<sup>[4]</sup>利用靶基因富集与多基因测序技术, 发现长江水系鳊、大眼鳊样品中存在基因交流的现象。

鳊和大眼鳊为姐妹种, 亲缘关系非常近<sup>[5-6]</sup>。卢薛等<sup>[7]</sup>对鳊和大眼鳊进行人工授精试验, 发现正反交后代、正交 F<sub>1</sub> 后代自交的胚胎均能正常发育, 受精率和孵化率均达到 85% 以上, 表明鳊和大眼鳊之间能进行种间杂交, 杂种繁殖力正常, 它们之间没有严格的生殖隔离障碍。在自然环境中, 鳊与大眼鳊自然分布范围不同, 但也存在同域分布, 这些中间类型个体究竟是某个物种的变异类型, 还是野生鳊和大眼鳊的杂交后代, 需

收稿日期: 2019-04-22 修回日期: 2019-05-19

基金项目: 现代农业产业技术体系专项(CARS-46)

作者简介: 朱书琴(1995—), 女, 硕士研究生, 研究方向为鱼类遗传育种。E-mail: 1123203633@qq.com

通信作者: 赵金良, E-mail: jlzha@shou.edu.cn

要对此问题作进一步探讨。

为此,在鄱阳湖和洞庭湖采集鳊鱼,根据形态特征鉴定为鳊、大眼鳊及中间类型,测量其相关的形态学数据,同时,筛选鳊和大眼鳊种间特异微卫星位点,对中间类型个体的种属分类进行鉴定,为鳊鱼分类、种质资源监测与管理提供依据。为了减少实验的偶然性误差,尽可能覆盖物种分布最大地理区域,还采集了黑龙江鳊(没有大眼鳊天然分布)和珠江上游大眼鳊(没有鳊天然分布)加以检验。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

2018年3—9月,分别从长江中游湖泊、黑龙江、珠江采集鳊鱼样品共111尾(表1)。鄱阳湖(28°52′56.87″N, 116°25′53.54″E)采集样品72尾;洞庭湖(29°23′49.69″N, 113°05′46.07″E)采集样品25尾。珠江(惠州市三防镇, 25°15′0.21″N, 108°50′28.03″E)采集大眼鳊6尾,黑龙江(抚远市, 48°21′44.60″N, 134°18′0.15″E)采集鳊8尾。根据传统形态学分类鉴别特征,将收集到的每条鱼进行物种鉴定,归类为3种:鳊(上颌骨后端伸达眼后缘之下及更后、眼睛小,背前部隆起较高)、大眼鳊(上颌骨后端不伸达眼后缘之下、眼睛大,背前部隆起较低)和中间类型(上颌骨后端伸达眼后缘之下,眼睛大小、头后背前部隆起介于鳊与大眼鳊之间),见图1。

表1 鳊、大眼鳊及中间类型样本采集信息

Tab.1 Information of collected samples of *Siniperca chuatsi*, *S. kneri* and intermediate form

采样地点 Collection site	采样时间 Collection time	样本 Sample		
		鳊 <i>S. chuatsi</i>	大眼鳊 <i>S. kneri</i>	中间类型 Intermediate form
洞庭湖 Dongting Lake	2018.09	7	8	10
鄱阳湖 Poyang Lake	2018.03	8	8	9
	2018.09	8	10	29
黑龙江 Heilongjiang River	2018.02	8		
珠江 Zhujiang River	2018.07		6	
总计 Total		31	32	48

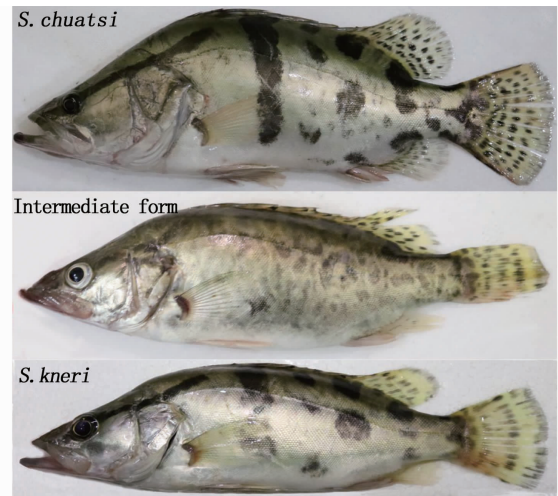


图1 鳊、大眼鳊及中间类型的形态图

Fig.1 Morphology of *S. chuatsi*, *S. kneri* and intermediate form

### 1.2 实验方法

样本经形态鉴定后,使用测量工具(数显游标卡尺和天平)活体测量其头长、头高、眼径、吻长+眼径、口裂长,逐尾做好标签,用95%乙醇固定后,带回上海海洋大学鳊鱼种质资源实验室。

分别用(吻长+眼径)/口裂长、头长/眼径、头长/头高3个形态分类指标来定量描述:(1)上颌骨后端是否伸达眼后缘之下及更后;(2)眼睛大小;(3)头部隆起高低。应用SPSS 22.0软件<sup>[8]</sup>对数据进行单因素方差分析(ANOVA)。

取30~40 mg肌肉组织,采用天根生化科技(北京)有限公司海洋动物组织基因组DNA提取试剂盒提取基因组DNA,溶解于120 μL ddH<sub>2</sub>O中。1%琼脂糖凝胶电泳、分光光度计检测DNA质量(1.8 < OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> < 2.0)和浓度, -20 °C保存备用。

微卫星引物28对,包括鳊微卫星引物7对<sup>[9-10]</sup>和本实验室开发的大眼鳊引物21对,由生物工程(上海)有限公司合成。对鳊、大眼鳊样品进行PCR扩增,扩增产物经8%聚丙烯酰胺凝胶电泳10 h,银染,数码相机拍照。

采用筛选出的5对微卫星引物对中间类型样品PCR扩(表2)增。PCR扩增体系(10 μL): Premix Taq (TaKaRa,大连)5 μL、上下游引物(5 μmol/L)各0.5 μL、模板DNA 1 μL、ddH<sub>2</sub>O 3 μL。PCR扩增程序:94 °C预变性5 min,之后进入32个循环:94 °C变性30 s,退火30 s,72 °C延伸30

s,最后一个循环结束后 72 °C 再延伸 10 min,4 °C 保存。PCR 扩增产物经全自动毛细管核酸分析

系统(QIAxcel)进行基因分型和片段分析,并对其峰值结果进行比对矫正。

表 2 5 个鳊和大眼鳊种间鉴定微卫星位点

Tab. 2 Five species-specific microsatellite loci between *S. chuatsi* and *S. kneri*

位点 Locus	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	重复单元 Repeat unit	退火温度 Annealing temperature/°C	登录号 Accession number	产物长度 Product length/bp	
					鳊 <i>S. chuatsi</i>	大眼鳊 <i>S. kneri</i>
W19517	F:TTCATGCTGCGGTGAGACAAC R:AGCCCGGTCCCATGTAATAA	(CA)19	61	AY395717.1	178 ~ 230	154 ~ 178
T063	F:TTCITCTATTTTCAGCCAGTTCTT R:AATGGTGGCCATCTTCATAAG	(AAAG)8	52	KY120389	197/197	189/189
T089	F:GATGACGCCCGAGTAAGTTC R:CATTGCTCATGCTCAACAATA	(TGAA)5	52	KY120395	138/138	130/134
T103	F:CTGCGGCTGAAGTTACAAGA R:TGTTGTGAAAAGAAAAATGAGACT	(AAAG)6	50	KY120402	152/152	164/164
T135	F:TCAAACCAACGAAAACAACC R:CATTCTGTCTTGAAACGAGGAT	(AATG)8	50	KY120407	112/112	120 ~ 160

使用 STRUCTURE 2.3 软件<sup>[11]</sup>进行所有样品的微卫星基因型聚类分析。为了确定中间类型是否是一个有效的群体,在混合模型下预先定义了  $K$  值( $1 \leq K \leq 3$ ),每一个  $K$  值进行 10 次模拟计算,每次模拟进行 5 000 次预选代(length of burn-in period)和 50 000 基于马科夫链的蒙特卡罗迭代(Marco's chain monte carlo iterations)。分别依据后验概率  $\Delta k$  和连续两个  $\ln P(D)$  的变化率  $\Delta K$ <sup>[12]</sup>进行估算以确定最佳聚类数目。由于位点数目较少,设置  $q$  值为 0.05 作为纯种和杂种判别标准<sup>[13]</sup>。为进一步揭示鳊和大眼鳊杂交的类别与混杂程度,使用 NEWHYBRIDS 1.1 软件<sup>[14]</sup>,设置纯种(鳊、大眼鳊)、杂交  $F_1$ 、杂交  $F_2$ 、回交 1 代( $F_1$  与鳊回交、 $F_1$  与大眼鳊回交)共 6 种分型类别, burn-in 次数为 100 000,运行 100 000 MCMC 重复计算, $P$  设置为 0.6<sup>[15]</sup>。

## 2 结果分析

### 2.1 形态学

量化结果表明:鳊(吻长+眼径)/口裂长、头长/眼径范围分别为 0.811 ~ 0.999 和 5.286 ~ 7.157,大眼鳊分别为 1.040 ~ 1.166 和 3.306 ~ 5.106(表 3);鳊和大眼鳊在(吻长+眼径)/口裂长、头长/眼径上存在显著差异;鳊头长/头高

(1.236 ~ 1.777)和大眼鳊(1.193 ~ 1.798)间互有交叉分布。所以,确定以(吻长+眼径)/口裂长、头长/眼径作为形态量化鉴定指标。

48 尾中间类型中,有 5 尾鱼(吻长+眼径)/口裂长在 0.891 ~ 0.981 之间、头长/眼径在 5.318 ~ 5.820 之间,符合鳊的形态量化标准,被鉴定为鳊。其他 43 尾个体中,有 31 尾(吻长+眼径)/口裂符合鳊,但头长/眼径符合大眼鳊;6 尾(吻长+眼径)/口裂符合鳊,头长/眼径位于在鳊和大眼鳊之间;6 尾头长/眼径符合大眼鳊,(吻长+眼径)/口裂位于鳊和大眼鳊之间,由于两项指标不能同时满足任一物种的形态量化标准,尚不能鉴定。

### 2.2 微卫星分析

从 28 对引物中筛选了 5 对鳊和大眼鳊种间鉴别引物,分别是 T063、T089、T103、T135、W19517(图 2)。其中:鳊和大眼鳊在 T063、T103 位点均表现为纯合型,但等位基因大小(扩增产物长度)不同;在 T089、T135 位点,大眼鳊表现杂合型,鳊表现为纯合型;在 W19517 位点,鳊和大眼鳊均表现为杂合型,等位基因大小各不相同。在这些鉴别位点上,中间类型个体或表现为鳊、大眼鳊基因型,或表现为杂合基因型。

表 3 鳊、大眼鳊形态比例参数比较

Tab. 3 Comparison of morphological ratio parameters between *S. chuatsi* and *S. kneri*

性状 Trait	鳊 <i>S. chuatsi</i>		大眼鳊 <i>S. kneri</i>	
	均值 Mean value	比值范围 Ratio range	均值 Mean value	比值范围 Ratio range
吻长 + 眼径/口裂长 Snout length + Eye diameter/ Fissure length	0.908 ± 0.055 1 <sup>b</sup>	0.811 ~ 0.999	1.100 ± 0.033 7 <sup>a</sup>	1.040 ~ 1.166
头长/眼径 Head length/Eye diameter	5.888 ± 0.506 0 <sup>a</sup>	5.286 ~ 7.157	4.313 ± 0.494 9 <sup>b</sup>	3.306 ~ 5.106
头长/头高 Head length/Head height	1.536 ± 0.117 7 <sup>a</sup>	1.236 ~ 1.777	1.549 ± 0.165 7 <sup>a</sup>	1.193 ~ 1.798

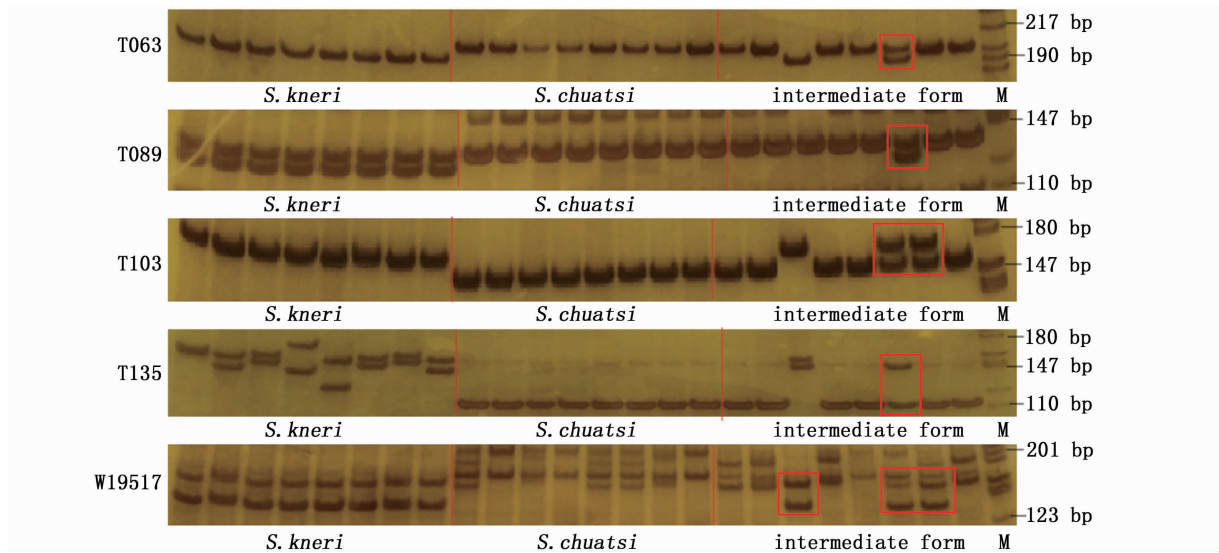


图 2 鳊、大眼鳊及中间类型在 5 个微卫星位点扩增结果

Fig. 2 Electrophoresis result of *S. chuatsi*, *S. kneri* and intermediate form at five microsatellite loci

运用 STRUCTURE 2.3.2 对所有鳊鱼样品进行遗传聚类分析表明,  $K = 2$  时出现最高峰值, 为最佳聚类, 即鳊为一类, 大眼鳊为一类, 中间类型大部分个体聚入大眼鳊, 小部分个体聚入鳊 (图 3)。鄱阳湖、洞庭湖、黑龙江、珠江的鳊和大眼鳊样品  $q > 0.95$ , 表明在传统形态鉴定的 31 尾鳊个体和 32 尾大眼鳊个体上没有基因的导入。在 48 尾中间类型中, 有 16 尾个体的  $q$  为 0.05 ~ 0.95 (表 4), 表明鳊和大眼鳊存在种间杂交。应用 NEWHYBRIDS 分析鳊和大眼鳊种间杂交类型情况 (表 4), 在中间类型中检测到了 9 尾杂交个体, 且均为  $F_1$  与大眼鳊的回交个体类型, 其余杂交类型未检测到。

### 3 讨论

形态特征是物种遗传特性最直观的表现形式, 也是传统分类学上重要的依据<sup>[16]</sup>。通过量化

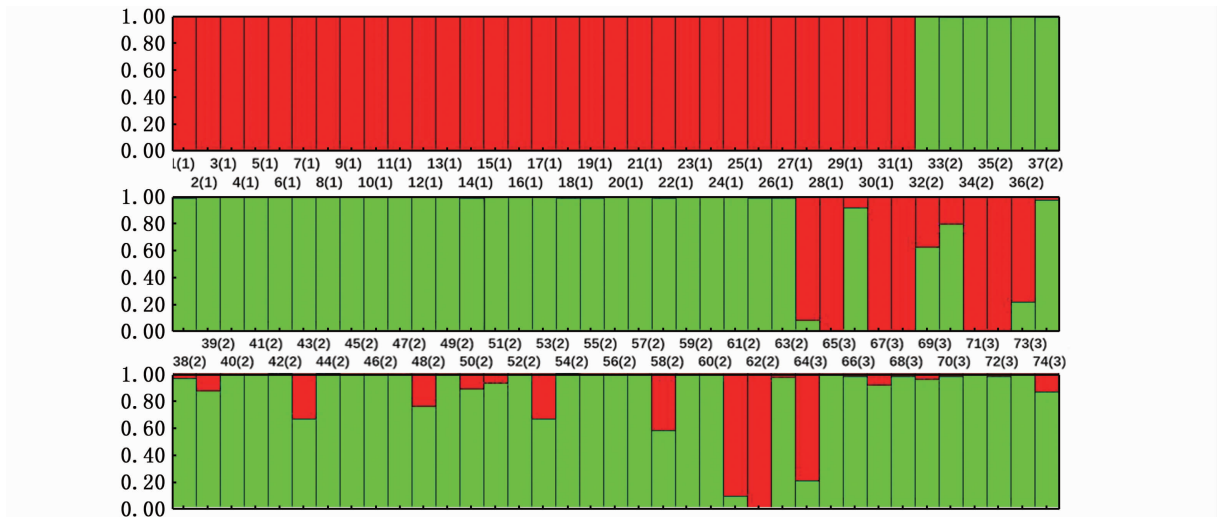
这些形态分类特征, 鳊 (吻长 + 眼径)/口裂为 0.811 ~ 0.999, 大眼鳊 1.040 ~ 1.166, 从数值上准确反映了鳊与大眼鳊在口裂后缘与眼睛后缘相对位置上的差异; 鳊头长/眼径为 5.286 ~ 7.157, 大眼鳊为 3.306 ~ 5.106, 这与成庆泰等<sup>[17]</sup>提出的鳊眼睛较小 (头长为眼径的 5.3 ~ 8.1 倍), 大眼鳊眼睛较大 (头长为眼径的 4.7 ~ 5.1 倍) 基本符合。鳊和大眼鳊在 (吻长 + 眼径)/口裂长、头长/眼径存在差异性显著, 这些形态定量指标可作为鳊与大眼鳊物种鉴定的依据。鳊和大眼鳊的头高/头长比分别为 1.236 ~ 1.777、1.193 ~ 1.798, 数值上明显交叉。这可能是本研究中样品均为 1 龄鱼, 在自然水体中, 饵料生物资源不均、个体捕食能力差异, 导致个体生长慢、个体间生长变异大, 在一定程度上影响该参数的稳定可靠性。根据 (吻长 + 眼径)/口裂长、头长/眼径 2 项定量指标, 鉴定出 5 尾个体为鳊, 4 尾样

表 4 基于 STRUCTURE 和 NEWHYBRIDS 对中间类型进行分类鉴定  
 Tab. 4 Identification of intermediate form in STRUCTURE and NEWHYBRIDS

中间类型 Intermediate form	STRUCTURE				NEWHYBRIDS			
	$q(SC)$	$q(SK)$	$P(SC)$	$P(SK)$	$F_1$	$F_2$	$F_1 \times (SC)$	$F_1 \times (SK)$
1	<b>0.916</b>	<b>0.084</b>	0.968	0.000	0.000	0.006	0.026	0.000
2	0.993	0.007	0.999	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000
3	<b>0.082</b>	<b>0.918</b>	0.000	0.214	0.000	0.010	0.000	<b>0.776</b>
4	0.993	0.007	0.999	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
5	0.993	0.007	0.999	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000
6	<b>0.376</b>	<b>0.624</b>	0.000	0.000	0.006	0.049	0.000	<b>0.944</b>
7	<b>0.204</b>	<b>0.796</b>	0.000	0.085	0.002	0.031	0.000	<b>0.882</b>
8	0.993	0.007	0.999	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000
9	0.994	0.006	0.999	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
10	<b>0.784</b>	<b>0.216</b>	0.848	0.000	0.000	0.132	0.019	0.000
11	0.023	0.977	0.000	0.890	0.000	0.001	0.000	0.109
12	0.037	0.963	0.000	0.931	0.000	0.003	0.000	0.066
13	<b>0.135</b>	<b>0.865</b>	0.000	0.931	0.000	0.003	0.000	0.066
14	0.008	0.992	0.000	0.979	0.000	0.000	0.000	0.021
15	0.009	0.991	0.000	0.979	0.000	0.000	0.000	0.021
16	0.006	0.994	0.000	0.993	0.000	0.000	0.000	0.007
17	<b>0.332</b>	<b>0.668</b>	0.000	0.001	0.013	0.044	0.001	<b>0.942</b>
18	0.006	0.994	0.000	0.992	0.000	0.000	0.000	0.007
19	0.014	0.986	0.000	0.964	0.000	0.001	0.000	0.035
20	0.013	0.987	0.000	0.964	0.000	0.001	0.000	0.035
21	0.013	0.987	0.000	0.964	0.000	0.001	0.000	0.035
22	<b>0.246</b>	<b>0.754</b>	0.000	0.464	0.000	0.095	0.001	0.440
23	0.008	0.992	0.000	0.979	0.000	0.000	0.000	0.020
24	<b>0.121</b>	<b>0.879</b>	0.000	0.188	0.000	0.016	0.000	<b>0.796</b>
25	<b>0.075</b>	<b>0.925</b>	0.000	0.314	0.000	0.008	0.000	<b>0.678</b>
26	0.013	0.987	0.000	0.897	0.000	0.002	0.000	0.102
27	<b>0.336</b>	<b>0.664</b>	0.000	0.001	0.013	0.044	0.001	<b>0.942</b>
28	0.006	0.994	0.000	0.987	0.000	0.000	0.000	0.013
29	0.008	0.992	0.000	0.979	0.000	0.000	0.000	0.021
30	0.009	0.991	0.000	0.979	0.000	0.000	0.000	0.020
31	0.008	0.992	0.000	0.979	0.000	0.000	0.000	0.020
32	<b>0.425</b>	<b>0.575</b>	0.000	0.000	0.014	0.091	0.005	<b>0.890</b>
33	0.014	0.986	0.000	0.965	0.000	0.001	0.000	0.034
34	0.013	0.987	0.000	0.962	0.000	0.000	0.000	0.037
35	<b>0.909</b>	<b>0.091</b>	0.972	0.000	0.000	0.006	0.022	0.000
36	0.993	0.007	0.999	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000
37	0.036	0.964	0.000	0.932	0.000	0.003	0.000	0.066
38	<b>0.790</b>	<b>0.210</b>	0.784	0.000	0.000	0.074	0.142	0.000
39	0.008	0.992	0.000	0.978	0.000	0.000	0.000	0.021
40	0.026	0.974	0.000	0.738	0.000	0.003	0.000	0.259
41	<b>0.087</b>	<b>0.913</b>	0.000	0.258	0.000	0.013	0.000	<b>0.729</b>
42	0.026	0.974	0.000	0.743	0.000	0.002	0.000	0.254
43	0.042	0.958	0.000	0.821	0.000	0.006	0.000	0.173
44	0.026	0.974	0.000	0.743	0.000	0.002	0.000	0.255
45	0.014	0.986	0.000	0.965	0.000	0.001	0.000	0.034
46	0.026	0.974	0.000	0.743	0.000	0.002	0.000	0.254
47	0.009	0.991	0.000	0.979	0.000	0.000	0.000	0.021
48	<b>0.136</b>	<b>0.864</b>	0.000	0.705	0.000	0.041	0.000	0.254

注:SC,SK 各代表鳊和大眼鳊;STRUCTURE( $K=2$ ,以亲本种为参照); $q(SC)$ 和 $q(SK)$ 代表聚类 $K$ 值在每个个体中的概率值,杂交个体( $0.05 < q < 0.95$ )用黑色加粗显示;NEWHYBRIDS: $P(SC)$ 和 $P(SK)$ 代表纯代鳊和大眼鳊个体的概率值, $F_1$ 和 $F_2$ 代表杂交 $F_1$ 和杂交 $F_2$ , $F_1 \times (SC)$ 代表 $F_1$ 和鳊回交, $F_1 \times (SK)$ 代表 $F_1$ 和大眼鳊回交,杂交个体用黑色加粗显示

Notes:SC,SK represents *Siniperca chuatsi* and *Siniperca kneri*; In STRUCTURE ( $K=2$ , using parental species as reference),  $q(SC)$  and  $q(SK)$  represent to the proportion of ancestry in each individual assigned to clusters ( $K$ ), hybrid individuals ( $0.05 < q < 0.95$ ) were marked in black bold; In NEWHYBRIDS, the probability that each individual belonged to P (parental generation),  $F_1$ -generation,  $F_2$ -generation,  $F_1 \times (SC)$  and  $F_1 \times (SK)$  (first generation backcross), the hybrid individuals were marked in bold



1(1)~7(1)洞庭湖鳊; 8(1)~15(1)黑龙江鳊; 16(1)~31(1)鄱阳湖鳊; 32(2)~39(2)洞庭湖大眼鳊; 40(2)~45(2)珠江大眼鳊; 46(2)~63(2)鄱阳湖大眼鳊; 64(3)~101(3)鄱阳湖中间类型; 102(3)~111(3)洞庭湖中间类型。红色代表鳊,绿色代表大眼鳊

1(1)~7(1) are *S. chuatsi* in Dongting Lake; 8(1)~15(1) are *S. chuatsi* in the Heilongjiang River; 16(1)~31(1) are *S. chuatsi* in the Poyang Lake; 32(2)~39(2) are *S. kneri* in the Dongting Lake; 40(2)~45(2) are *S. kneri* in the Zhujiang River; 46(2)~63(2) are *S. kneri* in the Poyang Lake; 64(3)~101(3) are intermediate form in the Poyang Lake; 102(3)~111(3) are intermediate form in the Dongting Lake. Red represented *S. chuatsi* population; Green represented *S. kneri* population

图3 鳊、大眼鳊及中间类型的STRUCTURE聚类分析图

Fig. 3 STRUCTURE genetic cluster profile for *S. chuatsi*, *S. kneri* and intermediate form

品和微卫星标记结果一致,仅有1尾样品在STRUCTURE分析中出现杂交信号,但在NEWHYBRIDS分析中归类为鳊。其他43尾因不能同时满足上述2项定量指标,身份无法鉴别,表明形态学定量鉴定指标对中间类型的鉴别仍有一定的局限性。

从28对微卫星引物中筛选了5对鳊和大眼鳊种间鉴别的微卫星标记,这一结果支持了鳊与大眼鳊物种的有效性。相比线粒体标记<sup>[18]</sup>,微卫星标记鉴定更加有效。在STRUCTURE聚类分析中,洞庭湖鳊(7尾)、鄱阳湖鳊(16尾)、黑龙江(鳊8尾)聚为一个群体,洞庭湖大眼鳊(8尾)、鄱阳湖大眼鳊(18尾)、珠江大眼鳊(6尾)聚为另一个群体,表明这5对种间特异性鉴定位点不受地理地域差异的影响,同时也支持了本研究样本形态学分类鉴定结果。

根据5对微卫星标记对48尾中间类型进行鉴定,在STRUCTURE聚类分析中有16尾出现杂交信号( $0.95 < q < 1$ ),证实了长江中游鳊与大眼鳊之间存在种间杂交,在NEWHYBRIDS分析中,检测到9尾个体为杂交 $F_1$ 与大眼鳊回交后代类

型,表明鳊与大眼鳊间不仅存在种间杂交,而且存在杂交渐渗现象。两个分析方法对9尾杂交个体的判定是一致的,另外7尾(1、10、13、22、35、38、48)在STRUCTURE聚类分析被归类为杂交个体,但在NEWHYBRIDS分析中,因其杂交确定性值较低,而被判定为亲本个体,推测它们可能是多代回交杂种的缘故。杂种 $F_1$ 、 $F_2$ 和回交 $F_1 \times (SC)$ 的类型并未检测到,可能是由于采样样品数量有限,或与鉴定位点数目偏少有关,今后还需再扩大样本和标记数量进行深入探讨。此外,在STRUCTURE聚类分析中,中间类型有26尾鉴定为大眼鳊、6尾为鳊,在NEWHYBRIDS分析中,28尾鉴定为大眼鳊,10尾为鳊,表明鳊、大眼鳊自然群体内存在明显的个体变异,变异类型是个体因其生存环境做出的适应性改变<sup>[19]</sup>。

当亲缘关系相近的两个亲缘物种在地理分布上重叠时,易发生渐渗杂交。由于鳊和大眼鳊在自然分布区域上存在重叠,给鳊和大眼鳊种间杂交提供了可能性,而人类活动引起的生态环境的改变可能加快了杂交渐渗发生频率<sup>[20]</sup>。近年来,由于气候变化、长江大型水利工程(葛洲坝、

三峡大坝)建设、围湖造田、渔业过度捕捞等,长江中游水域水文特征发生了显著变化,枯水期提前、枯水期延长已经成为长江中游湖泊的常态,水位年年降低,严重时湖区只剩下航道<sup>[21-22]</sup>,这些环境剧变会引起物种栖息场所和繁殖场所变动,这可能是造成种间生殖隔离破坏的主要原因。此外,长江中游湖泊附近有大量鳊鱼繁殖场、养殖场,也不排除人工杂交鳊鱼逃逸到自然水体并与野生鳊鱼间杂交造成渐渗的可能性。本研究结果证实了长江中游湖泊鳊和大眼鳊之间存在种间渐渗杂交,因此,我们需要加大对长江鳊于种质资源的遗传保护举措,并监测鳊鱼种间渐渗杂交的发展趋势。

### 参考文献:

- [1] 周才武,杨青,蔡德霖. 鳊亚科 SINIPERCINAE 鱼类的分类整理和地理分布[J]. 动物学研究, 1988, 9(2): 113-125.
- ZHOU C W, YANG Q, CAI D L. On the classification and distribution of the SINIPERCINAE fishes (Family Serranidae)[J]. Zoological Research, 1988, 9(2): 113-125.
- [2] 余帆洋. 长江鳊和大眼鳊复合种的遗传多样性研究[D]. 广州:暨南大学, 2011.
- YU F Y. Study on genetic diversity of *Siniperca chuatsi/kneri* complex in the Yangtze River [D]. Guangzhou: Jinan University, 2011.
- [3] 杨敏. 翘嘴鳊、大眼鳊和斑鳊的分子标记及种群遗传结构研究[D]. 武汉:华中农业大学, 2014.
- YANG M. Molecular markers and population genetic structure of *Siniperca chuatsi*, *Siniperca kneri* and *Siniperca scherzeri* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2014.
- [4] SONG S L, ZHAO J L, LI C H. Species delimitation and phylogenetic reconstruction of the sinipercids (Perciformes: Sinipercidae) based on target enrichment of thousands of nuclear coding sequences [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2017, 111: 44-55.
- [5] 殷文莉,戴建华,杨代淑,等. 鳊与大眼鳊线粒体 DNA 比较研究[J]. 水生生物学报, 1998, 22(3): 257-264.
- YIN W L, DAI J H, YANG D S, et al. Comparative studies on mitochondrial DNA from *Siniperca chuatsi* and *Siniperca kneri*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1998, 22(3): 257-264.
- [6] 赵金良,李思发,蔡完其,等. 基于细胞色素 b 基因序列的东亚鳊类系统发育关系[J]. 动物学报, 2006, 52(4): 676-680.
- ZHAO J L, LI S F, CAI W Q, et al. Phylogenetic relationship of sinipercine fishes in East Asia based on cytochrome b sequences analysis [J]. Acta Zoologica Sinica, 2006, 52(4): 676-680.
- [7] 卢薛,孙际佳,王海芳,等. 大眼鳊与翘嘴鳊正反交及其正交子代自交的胚胎发育观察[J]. 中国水产科学, 2013, 20(5): 975-981.
- LU X, SUN J J, WANG H F, et al. Observations on embryonic development of reciprocal hybrids of *Siniperca kneri* Garman × *Siniperca chuatsi* Basilewsky and F<sub>2</sub> of *S. kneri* females × *S. chuatsi* males F<sub>1</sub>[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(5): 975-981.
- [8] 冯岩松. SPSS 22.0 统计分析应用教程[M]. 北京:清华大学出版社, 2015.
- FENG Y S. SPSS 22.0 Statistical analysis application tutorial [M]. Beijing: Tsinghua University Press, 2015.
- [9] 匡刚桥. 鳊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.
- KUANG G Q. Microsatellite markers development and genetic diversity research in *Siniperca* [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2007.
- [10] 孙际佳. 翘嘴鳊微卫星标记及其与主要经济性状的相关分析[J]. 水产学杂志, 2017, 30(1): 11-18.
- SUN J J. Analysis of microsatellite DNA markers emphasis on correlation with some economically important traits in mandarin fish *Siniperca chuatsi* [J]. Chinese Journal of Fisheries, 2017, 30(1): 11-18.
- [11] PRITCHARD J K, STEPHENS M, DONNELLY P. Inference of population structure using multilocus genotype data [J]. Genetics, 2000, 155(2): 945-959.
- [12] EVANNO G, REGNAUT S, GOUDET J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study [J]. Molecular Ecology, 2005, 14(8): 2611-2620.
- [13] VÄHÄ J P, PRIMMER C R. Efficiency of model-based Bayesian methods for detecting hybrid individuals under different hybridization scenarios and with different numbers of loci [J]. Molecular Ecology, 2006, 15(1): 63-72.
- [14] ANDERSON E C, THOMPSON E A. A model-based method for identifying species hybrids using multilocus genetic data [J]. Genetics, 2002, 160(3): 1217-1229.
- [15] DO PRADO F D, FERNANDEZ-CEBRIÁN R, HASHIMOTO D T, et al. Hybridization and genetic introgression patterns between two South American catfish along their sympatric distribution range [J]. Hydrobiologia, 2017, 788(1): 319-343.
- [16] SISTROM M, EDWARDS D L, DONNELLAN S, et al. Morphological differentiation correlates with ecological but not with genetic divergence in a *Gehyra* gecko [J]. Journal of Evolutionary Biology, 2012, 25(4): 647-660.
- [17] 成庆泰,郑葆珊. 中国鱼类系统检索(上册)[M]. 北京:科学出版社, 1987.
- CHENG Q T, ZHENG B S. Chinese fish system retrieval (volume 1) [M]. Beijing: Science Publishing House, 1987.

- [18] ZHAO J L, WANG W W, LI S F, et al. Structure of the mitochondrial DNA control region of the Siniperceine fishes and their phylogenetic relationship [J]. Acta Genetica Sinica, 2006, 33(9): 793-799.
- [19] 张堂林, 李钟杰, 曹文宣. 鱼类生态形态学研究进展 [J]. 水产学报, 2008, 32(1): 152-160.
- ZHANG T L, LI Z J, CAO W X. Advances in studies on the ecomorphology of fish [J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(1): 152-160.
- [20] SCRIBNER K T, PAGE K S, BARTRON M L. Hybridization in freshwater fishes: a review of case studies and cytonuclear methods of biological inference [J]. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 2000, 10(3): 293-323.
- [21] 甘小艳. 干旱对鄱阳湖湿地影响研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2011.
- GAN X Y. The research about the impact of drought on the Poyang Wetland [D]. Nanchang: Nanchang University, 2011.
- [22] 吉红霞, 吴桂平, 刘元波. 极端干旱事件中洞庭湖水面变化过程及成因 [J]. 湖泊科学, 2016, 28(1): 207-216.
- JI H X, WU G P, LIU Y B. Sharp change of lake levels during the two extreme droughts and its hydroclimatic processes in Lake Dongting, China [J]. Journal of Lake Sciences, 2016, 28(1): 207-216.

## Hybridization and introgression between *Siniperca chuatsi* and *S. kneri* from two lakes in middle Yangtze River

ZHU Shuqin<sup>1,2,3</sup>, CAO Xiaoying<sup>1,2,3</sup>, ZHAO Jinliang<sup>1,2,3</sup>, TANG Shoujie<sup>1,2,3</sup>, WU Hongyan<sup>1,2,3</sup>

(1. Laboratory of Freshwater Fisheries Germplasm Resource, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shanghai Collaborative Innovation for Aquatic Animal Genetics and Breeding, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** In sampling of *Siniperca* fishes from Poyang Lake and Dongting Lake in the middle Yangtze River, 48 intermediate individuals with partial morphological features of *S. chuatsi* and *S. kneri* (Main feature: The posterior edge of the cleft mouth is below the posterior edge of the eye, the eye size and the anterior ridge of head are between the *S. chuatsi* and *S. kneri*) were collected. In order to clarify their taxonomic relationship, the quantitative morphological parameters and species-specific microsatellite loci were screened for identification. Results showed: (1) there was significant difference in head length/eye diameter and (snout length + eye diameter)/fissure length between *S. chuatsi* and *S. kneri*. Head length/eye diameter in *S. chuatsi* is from 5.286 to 7.157, (snout length + eye diameter)/fissure length is from 0.811 to 0.999, they are from 3.306 to 5.106 and 1.040 to 1.166 in *S. kneri*, respectively. Among 48 intermediate individuals, 5 individuals were identified as *S. chuatsi*, and the remaining 43 individuals were still unable to be identified. (2) Five species-specific loci (T103, T063, T089, T135, W19517) were screened from 28 pairs of microsatellite markers. In genetic analysis and identification of intermediate types of individuals using these five loci, 16 were inter-species hybrid progeny, and 9 of them were identified as backcross progeny ( $F_1 \times SK$ ). The results indicated that inter-species introgressive hybridization between *S. chuatsi* and *S. kneri* existed in the middle Yangtze River, and it is necessary to strengthen genetic monitoring and management of mandarin fish resources in the Yangtze River.

**Key words:** *Siniperca chuatsi*; *Siniperca kneri*; intermediate form; morphology; microsatellite loci; introgressive hybridization