#### DOI: 10.3724/SP.J.1118.2016.15462

## 星突江鲽和石鲽正反杂交种的形态变异分析

曹栋正<sup>1,2</sup>,陈四清<sup>1</sup>,严俊丽<sup>1,2</sup>,刘长琳<sup>1</sup>,王志军<sup>3</sup>,燕敬平<sup>1</sup>

1. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室, 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;

2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306;

3. 山东科合海洋高技术有限公司, 山东 威海 264500

摘要:对星突江鲽(Platichthys stellatus)、石鲽(Kareius bicoloratus)及其正反杂交种的形态特征进行了测定与分析。 结果显示,正交种(星突江鲽♀×石鲽♂)和反交种(石鲽♀×星突江鲽♂)左眼型比例分别为 66.9%和 57.3%,介于星突 江鲽(84.7%)和石鲽(0%)之间;正反杂交种体表未见似石鲽的长骨板样结构,在此大致位置处仅分布有星突江鲽体 表相似的鳞片;杂交种的背鳍、臀鳍及尾鳍上均有比星突江鲽偏小、颜色偏淡的条纹,但侧线均与母本相似,正交 种在胸鳍末端处弯曲,而反交种近似直线形;两杂交种可数性状的杂种指数平均值分别为 20.73 和 20.76,可量性 状的杂种指数平均值分别为 27.16 和 26.47。卡方检验和聚类分析结果表明两杂交种的性状总体上偏向于母本;利 用判别分析构建了 4 种鱼的判别公式,综合判别准确率达到 97.50%;主成分分析显示,提取的 4 个主成分对总变 异的累积贡献率为 82.562%,主成分 1 对主成分 3 的散点图显示两杂交种在形态差异上独立于星突江鲽和石鲽。研 究表明:星突江鲽与石鲽的正反杂交种在眼睛位置、鳞片和鳍的形态特征上更倾向于星突江鲽,而侧线、可数、可 量性状则更多地遗传了母本的形态特征。本研究旨为星突江鲽、石鲽及其正反杂交种的形态判别和亲缘关系鉴定 以及杂交选育提供理论依据。

关键词: 星突江鲽; 石鲽; 杂交种; 形态变异 中图分类号: S965 文献标志码: A

文章编号:1005-8737-(2016)04-0871-11

杂交是鱼类育种中常用的一种技术手段, Hulata<sup>[1]</sup>的研究表明,大多数杂交后代表现出明 显优于亲本的生长性能和抗逆性等。星突江鲽 (*Platichthys stellatus*)与石鲽(*Kareius bicoloratus*)同 属于鲽形目(Pleuronectiformes)、鲽科(Pleuronectidae), 在生活习性、繁殖调控和遗传进化等方面很相 似<sup>[2-5]</sup>。星突江鲽作为高级生鱼片的主要材料,肉 质鲜美,口感独特,但近年来出现种质退化、病害 频发等问题<sup>[6]</sup>;而石鲽耐低温,抗病能力强,可以 被用作杂交亲本,将优良性状转移给杂交后代<sup>[7]</sup>。 目前,针对二者杂交育种的研究已有相关报道<sup>[8]</sup>。 鱼类形态特征的多元分析、作为直接的选 择参数已用于杂交育种分析并取得了较好的效 果<sup>[9-10]</sup>。但关于星突江鲽、石鲽及其杂交种的形 态特征比较及形态判别分析, 迄今尚未见研究报 道。本研究对星突江鲽、石鲽及其正反杂交种进 行全面的形态观察与测量,并利用多元分析方法 对其可数性状和可量性状进行综合分析, 旨在为 其形态判别、亲缘关系鉴定以及杂交选育提供理 论依据。

1 材料与方法

 1.1 实验材料 星突江鲽、石鲽及其正反杂交种均于 2015 年

作者简介: 曹栋正(1991-), 男, 硕士研究生, 研究方向为海水鱼类增养殖技术研究. E-mail: dongzhengcao@163.com 通信作者: 陈四清, 研究员. E-mail: chensq@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2015-12-20; 修订日期: 2016-03-06.

基金项目: 山东省自主创新成果转化专项(2013ZHZX2A0803); 鳌山科技创新计划(2015ASKJ02-03).

5 月取自山东科合海洋高技术有限公司。其中正 交种为星突江鲽♀×石鲽♂子一代,反交种为石鲽 ♀×星突江鲽♂子一代。4 种鱼为同一批次人工繁 殖的二龄鱼,均在同一条件下进行工厂化养殖, 水温为 8~19℃,盐度 28.50~30.50, pH 7.0~8.5。每 种鱼随机取样 30 尾,体重 449.87~766.93 g,全长 29.66~38.88 cm。

1.2 实验方法

1.2.1 形态特征观察和数据测量 取样前,对养 殖池中 4 种鱼的左右眼型进行随机统计(各 1000 尾)。肉眼观察和记录 4 种鱼的外部形态 (鳞片、鳍条纹、侧线、体表斑点等)特征,并用 数码相机(Nikon E4500)对其有眼侧和无眼侧 分别进行拍照。

分别计数背鳍鳍条、尾鳍鳍条、臀鳍鳍条、 腹鳍鳍条、胸鳍鳍条、鳃耙、幽门盲囊等的数量, 共7项可数性状;选择13项可量性状,全长、体 长、体高、头长、吻长、眼径、眼间距、尾柄长、 尾柄高、消化道长、肠长、体重、内脏团重等,使 用游标卡尺和电子天平(精确到 0.01 g)分别测量 了它们的长度和重量。

**1.2.2** 数据统计与分析 为了消除鱼体大小差异 对形态特征分析的影响,所有可量性状在进行 数据统计分析前,先将其中的所有长度数据除 以全长或者所有重量数据除以体重进行校正。按 照下列公式计算杂交种的杂种指数 HI(hybrid index)<sup>[11-13]</sup>:

HI=100×(*H<sub>i</sub>*-*M<sub>i</sub>*1)/(*M<sub>i</sub>*2-*M<sub>i</sub>*1) 其中, *H<sub>i</sub>*: 杂交种平均值(*n*=30); *M<sub>i</sub>*1: 母本平均值 (*n*=30); *M<sub>i</sub>*2: 父本平均值(*n*=30), HI 介于 45 与 55 之间属中间性状, HI<45 为偏母本性状, HI>55 为 偏父本性状, HI>100 或 HI<0 为超亲偏离性状。

采用 EXCEL 2010和 SPSS 17.0 软件进行数据 处理与分析。参照马海涛等<sup>[9]</sup>的方法,对可数性状 数据进行方差分析和卡方检验,对可量性状数据 进行方差分析、聚类分析、判别分析及主成分分 析,聚类分析的数据是校正后可量性状数据的平 均值,所采用的方法是欧氏距离法,判别分析采 用逐步判别法,而主成分分析是将多个指标综合 成几个因子的方法,计算各主成分负荷值和贡献 率,并绘制散点图。

- 2 结果与分析
- 2.1 左右眼型

4 种鱼的左右眼型数量统计结果见表 1, 星突 江鲽绝大多数为左眼型,石鲽全为右眼型,正交 种和反交种左眼型均明显多于右眼型,左眼型比 例分别为 66.9%和 57.3%。

表1 星突江鲽、石鲽和杂交种的左右眼型比例

Tah 1	Ratio of left eve type and	d right eve type of P	stellatus K hid	coloratus and	their hybrids
1au. 1	Kallo of left eye type and	a fight eye type of r.	sienans, n. on	<i>coloralus</i> , and	then hyprius

种类 species	左眼型/尾 left eye type/ind	右眼型/尾 right eye type/ind	左眼型比例/% the ratio of left eye type
星突江鲽 P. stellatus	847	153	84.7
石鲽 K. bicoloratus	0	1000	0
正交种 obverse hybrid	669	331	66.9
反交种 inverse hybrid	573	427	57.3

### 2.2 外部形态特征比较

4 种鱼的外部形态特征大体相似(图 1)。两杂 交种侧线与背鳍之间、侧线与臀鳍之间、侧线上下 侧、尾柄两侧以及鳃盖上都有不规则排列的和星突 江鲽形状类似的鳞片;背鳍、臀鳍及尾鳍上明显有 和星突江鲽一样的条纹,但条纹的长度和宽度偏 小、颜色偏淡。正交种的背鳍起始于上眼上缘,止 于尾柄前端上边缘,以第 30~35 根鳍条较长,有 7~8 个条纹,分布位置分别为 I 14~15、II 19~20、III 24~25、IV 28~30、V 33~35、VI 38~40、VII 45~46、 VIII 50~51 的鳍条膜上;臀鳍起始于肛门,止于尾 柄前端下边缘,以第 11~16 根鳍条较长,有 5~7 个 条纹,分别位于 I 5~6、II 10~11、III 15~16、IV 19~21、V 25~27、VI 31~32、VII 37~38 的鳍条膜 上;尾鳍上的条纹分布不规律。反交种和正交种相 似,但背鳍以第 30~36 根鳍条较长,有 7~9 个条纹, 分布位置分别为 I 6~7、II 12~13、III 18~19、IV 22~24、V 28~30、VI 34~36、VII 41~43、VIII 46~47、 IX 51~52 的鳍条膜上; 臀鳍以第 13~18 根鳍条较 长,有 5~6 个条纹,分别位于 I 7~8、II 13~14、III 20~22、IV 26~28、V 32~33、VI 39~40 的鳍条膜上。

两杂交种的侧线前端在鳃盖上边缘处分叉, 一条到达上眼后缘下部,一条到达背鳍的第 4~5 根鳍条基部,与两亲本非常相似;但正交种的侧 线在胸鳍末端处弯曲,与母本星突江鲽相似,而 反交种的侧线近似直线形,在胸鳍末端处无明显 的弯曲,与母本石鲽相似。正交种的有眼侧灰青 色,有黑色斑点和更显眼、似珍珠的白色斑点,无 眼侧白色,分布有极少量的黑斑,与母本星突江 鲽相似;反交种的有眼侧深灰色,有黑色斑点, 半数以下有少量白色斑点出现,无眼侧白色,有 大面积的黑斑分布,与母本石鲽相似。



#### 图 1 星突江鲽、石鲽和杂交种的外部形态

1. 星突江鲽背面观; 2. 星突江鲽腹面观; 3. 石鲽背面观; 4. 石鲽腹面观; 5. 正交种背面观; 6. 正交种腹面观;

7. 反交种背面观; 8. 反交种腹面观.

Fig. 1 External morphology of P. stellatus, K. bicoloratus, and their hybrids

1: dorsal view of *P. stellatus*; 2: ventral view of *P. stellatus*; 3: dorsal view of *K. bicoloratus*; 4: ventral view of *K. bicoloratus*; 5: dorsal view of obverse hybrid; 6: ventral view of obverse hybrid; 7: dorsal view of inverse hybrid; 8: ventral view of inverse hybrid.

#### 2.3 可数性状比较

由表 2 可知, 两杂交种的绝大多数可数性状 处于两亲本的中间范围, 且与二者有重叠。方差 分析结果显示, 4 种鱼的尾鳍鳍条数、腹鳍鳍条数 均未见显著性差异。正交种的臀鳍鳍条数、幽门 盲囊个数均与两亲本无显著性差异; 胸鳍鳍条数 只与母本星突江鲽没有显著性差异, 而背鳍鳍条 数、鳃耙数刚好相反, 只与父本石鲽没有显著性 差异。反交种在鳃耙、幽门盲囊上与两亲本均差 异显著(*P*<0.05); 在背鳍鳍条、臀鳍鳍条上只与父 本星突江鲽有显著性差异(*P*<0.05), 而在胸鳍鳍 条上只与母本石鲽有显著性差异(*P*<0.05)。

正交种所有可数性状的杂种指数平均值为 20.73,反交种在除去偏离太远的幽门盲囊后,所 有可数性状的杂种指数平均值为 20.76,表明两

#### 杂交种可数性状总体上倾向于与母本相似。

对有差异的可数性状进行卡方检验(表 3),除 了正交种与石鲽间背鳍鳍条数差异不显著外,星 突江鲽与石鲽、正交种与父本石鲽、反交种与父 本星突江鲽及正交种与反交种间可数性状均差异 极显著(*P*<0.01)或显著(*P*<0.05)。正交种与母本星 突江鲽的尾鳍鳍条数、胸鳍鳍条数、幽门盲囊个 数差异不显著(*P*>0.05),其他差异极显著(*P*<0.01); 反交种与母本石鲽的背鳍鳍条数、臀鳍鳍条数差 异不显著(*P*>0.05)。

#### 2.4 可量性状比较

方差分析结果显示(表 4), 4 种鱼的眼径/全 长、消化道长/全长和肠长/全长均无显著性差异 (P>0.05)。正交种的眼间距/全长与两亲本之间差 异不显著(P>0.05), 而体长/全长与两亲本之间差

	星突江鲽 1	<sup>o</sup> . stellatus	石蝶 K. bi	icoloratus	正交	种 obverse hybric		反交科	inverse hybrid	
ж п item	数值范围 value interval	$\overline{x} \pm SD$	数值范围 value interval	$\overline{x} \pm SD$	数值范围 value interval	<u>x</u> ±SD	H	数值范围 value interval	$\overline{x} \pm SD$	Ħ
背鳍鳍条数 dorsal fin ray	58~63	$60.40\pm1.82^{a}$	61~68	65.00±2.94 <sup>b</sup>	61~67	64.00±3.00 <sup>b</sup>	78.26	63~68	65.00±2.08 <sup>b</sup>	0.00
尾鳍鳍条数 caudal fin ray	$16 \sim 20$	$17.60 \pm 1.52$	$17{\sim}20$	18.25±1.50	16~18	$17.00 \pm 1.00$	-92.31	18~19	$18.29 \pm 0.49$	-5.49
臀鳍鳍条数 anal fin ray	$40 \sim 44$	$41.40{\pm}1.67^{a}$	44~49	$46.50\pm 2.08^{b}$	42~46	$44.33 \pm 2.08^{ab}$	57.52	42~49	46.14±2.19 <sup>b</sup>	7.00
腹鳍鳍条数 pelvic fin ray	9	$6.00 \pm 0.00$	9	$6.00 \pm 0.00$	9	$6.00 \pm 0.00$	I	9	$6.00{\pm}0.00$	
胸鳍鳍条数 pectoral fin ray	10~12	$11.20 \pm 0.84^{b}$	$8{\sim}10$	$8.75\pm0.96^{a}$	11~12	$11.33\pm0.58^{b}$	-5.44	8~11	$10.14\pm1.07^{b}$	56.85
鰓耙数 gill raker	$10 \sim 12$	$11.20\pm0.84^{\circ}$	6	$9.00{\pm}0.00^{a}$	$9{\sim}10$	$9.67\pm0.58^{ab}$	69.70	9~11	$10.00 \pm 0.58^{b}$	45.45
幽门盲囊个数 pyloric caecum	2~3	$2.40\pm0.55^{a}$	2	$2.00\pm0.00^{a}$	2~3	$2.33\pm0.58^{a}$	16.68	3~4	3.43±0.53 <sup>b</sup>	357.15
平均数 mean							20.73			$20.76^{\odot}$
	関ト関リ日日							「 見」 】 子 十		
项目 item	星突江鲽-石鲽 P. stellatus- K. bicoloratus	正交种-星突 obverse hybi P. stellatu	江骥 正 rid- obv ss K.	交种-石鲽 erse hybrid- <i>bicoloratus</i>	正交种 obverse hyl hyl	-反交种 brid-inverse ɔrid	反交种- <sup>E</sup> inverse hyb <i>lat</i>	星突江蝶 nrid- <i>P. stel-</i> 'us	反交种-石動 inverse hybri K. bicolorat	₩ 45
背鳍鳍条 dorsal fin ray	38.174**	35.949**		9.064	21.08	6**	46.28	86**	12.459	
尾鳍鳍条 caudal fin ray	11.551*	9.848		30.363**	13.95	9**	20.76	52**	38.087**	
臀鳍鳍条 anal fin ray	49.091**	32.182**		28.109**	21.93	7**	46.5(	**00	11.629	
胸鳍鳍条 pelvic fin ray	46.667**	8.182	÷	50.000**	27.05	9**	17.73	33**	30.910**	
鰓耙 gill raker	60.000**	41.538**		29.979**	6.66	7*	29.14	43**	45.882**	
幽门盲囊 pyloric caecum	15.000 **	0.287	Ţ	12.000**	34.81.	5**	31.86	52**	60.000**	

874

异显著(P<0.05); 但体高/全长、头长/全长、吻长/ 全长、尾柄长/全长、尾柄高/全长等 5 项可量性状 比值均与母本星突江鲽没有显著性差异(P>0.05), 而与父本石鲽呈显著性差异(P<0.05)。反交种在吻 长/全长、眼径/全长、消化道长/全长、肠长/全长 等 4 项可量性状比值上与两亲本均差异不显著 (P>0.05), 而在体长/全长、体高/全长、尾柄长/全 长上与两亲本均差异显著(P<0.05); 在眼间距/全 长、尾柄高/全长、内脏团重/体重等 3 项可量性状 比值上只与母本石鲽没有显著性差异(P>0.05)。

在杂种指数方面,正交种的11项可量性状比 值中,偏母本性状5项,分别为体高/全长、头长/ 全长、尾柄长/全长、消化道长/全长、肠长/全长; 偏父本性状 1 项, 是内脏团重/体重; 超母本偏离 性状 3 项, 有吻长/全长、眼径/全长、尾柄高/全 长; 超父本偏离性状 2 项, 分别是体长/全长、眼 间距/全长。反交种的偏母本性状 2 项, 分别为体 高/全长、内脏团重/体重; 偏父本性状 3 项, 分别 是头长/全长、消化道长/全长、肠长/全长; 超母 本偏离性状 5 项, 有体长/全长、眼径/全长、眼间 距/全长、尾柄长/全长、尾柄高/全长; 超父本偏 离性状 1 项, 是吻长/全长。尾柄高/全长; 超父本偏 离性状 1 项, 是吻长/全长。尾柄高/全长; 超父本偏 离性状 1 项, 是吻长/全长。眼径/全长、眼间距/全长后, 正交种和反交种的所有可量性状比值的杂种指数 平均值分别为 27.16 和 26.47, 显示两杂交种可量 性状总体上均偏母本遗传。

表 4 星突江鲽、石鲽和杂交种的可量性状比值数据 Tab. 4 Proportional values of traditional metric characters of *P. stellatus*, *K. bicoloratus*, and their hybrids

				~ 1		/0
项目	星突江鲽 P stellatus	右鲽 K bicoloratus	止交 obverse l	柙 hybrid	友交々 inverse h	忡 vbrid
item	T +SD			111		111
	$\lambda \pm SD$	$\lambda \pm 5D$	$x \pm 5D$	П	$\lambda \pm 5D$	П
体长/全长 standard length/total length	$88.03 \pm 1.84^{b}$	$87.52 \pm 0.75^{b}$	$85.84{\pm}1.63^{a}$	429.41	$85.29{\pm}0.43^{a}$	-435.99
体高/全长 body depth/total length	46.51±1.14°	39.76±1.49ª	45.54±1.88°	14.34	$42.65{\pm}1.70^{b}$	42.89
头长/全长 head length/total length	22.99±1.09 <sup>b</sup>	$20.05{\pm}0.82^{a}$	$22.23{\pm}0.64^{\text{b}}$	25.69	$22.08 \pm 1.14^{b}$	69.13
吻长/全长 proboscis length/total length	$3.86{\pm}0.81^{ab}$	3.67±0.47ª	$4.59{\pm}0.45^{\text{b}}$	-375.58	$4.38{\pm}0.59^{ab}$	368.95
眼径/全长 eye diameter/total length	3.15±0.30	3.21±0.61	3.15±0.10	-0.64	3.46±0.15	-401.61
眼间距/全长 interorbital width/total length	$0.31 \pm 0.11^{a}$	$0.32{\pm}0.09^{ab}$	$0.37{\pm}0.04^{ab}$	438.67	$0.45 {\pm} 0.11^{b}$	-830.67
尾柄长/全长 caudal peduncle length/total length	10.63±0.53°	$9.04{\pm}0.65^{b}$	$10.27{\pm}0.47^{c}$	22.59	8.13±0.66 <sup>a</sup>	-56.57
尾柄高/全长 caudal peduncle depth/total length	$10.00{\pm}0.28^{b}$	$9.44{\pm}0.39^{a}$	$10.00{\pm}0.11^{\text{b}}$	-0.53	$9.25{\pm}0.29^{a}$	-33.13
消化道长/全长 digestive tract length/total length	83.18±14.15	73.19±19.54	79.83±5.03	33.52	80.21±9.13	70.31
肠长/全长 intestine length/total length	66.82±8.67	60.69±17.36	65.42±3.99	22.86	$64.98 \pm 7.62$	69.94
内脏团重/体重 visceral weight/body weight	$3.67 {\pm} 0.58^{b}$	2.77±0.43ª	$3.02{\pm}0.11^{a}$	71.66	$2.97{\pm}0.20^{a}$	22.71
平均数 <sup>①</sup> mean <sup>①</sup>				62.00		-101.28
平均数 <sup>2</sup> mean <sup>2</sup>				27.16		26.47

注: ①表示可量性状比值总体的 HI 平均数; ②表示除去体长/全长、吻长/全长、眼径/全长、眼间距/全长等比值后的可量性状比值的 HI 平均数. 同行中标有不同小写字母者表示组间有显著性差异(*P*<0.05).

Note: ① means HI average of proportional values of traditional metric characters; ② means HI average of proportional values of traditional metric characters except standard length/total length, proboscis length/total length, eye diameter/total length, and interorbital width/total length. The means with different letters within the same line are significantly different at the 0.05 probability level.

#### 2.5 可量性状综合分析

2.5.1 聚类分析 可量性状比值的聚类分析(图 2) 和欧氏距离的计算结果(表 5)显示,正交种与反交 种形态最为接近,先聚为一支,欧式距离最小, 为 3.782;再与母本星突江鲽聚为一支,欧氏距离 为 4.537;最后与父本石鲽聚为一支,欧式距离为 10.497。反交种与星突江鲽的欧式距离为 6.567, 与石鲽的欧氏距离为 9.307。星突江鲽与石鲽最后 聚为一支, 欧式距离最大, 为 13.983。 2.5.2 判别分析 判别分析是在鱼类种群确定的 前提下种质鉴定常用的方法。对可量性状比值进 行判别分析, 得到 5 个对结果贡献最大的参数,

0/



图 2 星突江鲽、石鲽和杂交种可量性状的聚类分析

表 5 星突江鲽、石鲽和杂交种间的欧式距离 Tab. 5 Euclidean distance values of *P. stellatus*, *K. bicoloratus*, and their hybrids

			•	
项目 item	星突江鲽 P. stellatus	石鲽 K. bicoloratus	正交种 obverse hybrid	反交种 inverse hybrid
星突江鲽 P. stellatus	—	13.983	4.537	6.567
石鲽 K. bicoloratus	13.983	—	10.497	9.307
正交种 obverse hybrid	4.537	10.497	—	3.782
反交种 inverse hybrid	6.567	9.307	3.782	—

分别是体长/全长、体高/全长、眼径/全长、眼间 距/全长、尾柄长/全长。以 *X*<sub>1</sub>~*X*<sub>5</sub>分别表示这 5 个 参数、构建判别公式如下:

(1) 星突江鲽:  $Y_1$ =163.733 $X_1$ +23.739 $X_2$ + 152.760 $X_3$ -340.890 $X_4$ -86.002 $X_5$ -7559.358

(2) 石鲽:  $Y_2$ =163.585 $X_1$ +19.785 $X_2$ +172.523 $X_3$ -360.687 $X_4$ -91.801 $X_5$ -7376.740

(3) 正交种: *Y*<sub>3</sub>=158.087*X*<sub>1</sub>+23.093*X*<sub>2</sub>+149.005*X*<sub>3</sub>-

322.873X<sub>4</sub>-83.325X<sub>5</sub>-7058.644

(4) 反交种:  $Y_4=160.354X_1+21.029X_2+$ 161.112 $X_3$ -328.578 $X_4$ -91.980 $X_5$ -7119.615

如表 6 所示,上述判别式对 4 种鱼的所有观 测样本的综合判别准确率达到 97.50%,判别效果 非常理想。判断 4 种鱼的所属类别时,将所测数 据校正后分别代入 4 个判别公式中,所得函数值 最大的就是所属种类。

	表 6	星突江鲽、	石鲽和杂交	5种的判别结	课	
Tab. 6	Discriminan	t results of P	. stellatus, K.	bicoloratus.	and their	hybrids

种类			判别准确率/%		
species	星突江鲽 P. stellatus	石鲽 K. bicoloratus	正交种 obverse hybrid	反交种 inverse hybrid	discriminant accuracy
星突江鲽 P. stellatus	28	0	2	0	93.33
石鲽 K. bicoloratus	0	29	1	0	96.67
正交种 obverse hybrid	0	0	30	0	100.00
反交种 inverse hybrid	0	0	0	30	100.00
平均数 mean					97.50

2.5.3 主成分分析 对可量性状比值进行主成分 分析(表 7), 共获得 4 个主成分, 贡献率分别为 31.164%、23.281%、16.612%、11.505%。主成分1 中, 载荷较大的可量性状比值是体高/全长、头长/ 全长、尾柄长/全长、尾柄高/全长, 可认为在这 4 个参数上, 4 种鱼存在主要差异; 主成分 2 中, 载 荷较大的是消化道长/全长、肠长/全长及内脏团重/ 体重; 主成分 3 中, 载荷较大的是体长/全长、吻长/ 全长; 主成分 4 中, 载荷较大的是眼径/全长和眼间 距/全长。这 4 个主成分对变异的累积贡献率为 82.562%, 基本可以反映所有可量性状的信息。

用提取出的4个主成分绘制散点图,主成分1 和主成分3的散点图可以清楚地将4种鱼区分开 (图3)。对总变异贡献最大的主成分1上,两杂交 种均与母本有重叠,而与父本无重叠,而主成分1 中载荷较大的性状主要分布于头部、躯干部、尾 部,表明两杂交种的头部、躯干部及尾部偏向于 母本;主成分3上,4种鱼之间均有重叠,而主成 分3中载荷较大的性状主要是吻部,表明4种鱼 的吻部没有明显差异。

Fig. 2 Cluster analysis of metric characters among P. stellatus, K. bicoloratus, and their hybrids

而日 item	Ξ	主成分 principal component				
	1	2	3	4		
体长/全长 standard length/total length	0.198	0.016	-0.862	-0.257		
体高/全长 body depth/total length	0.845	0.333	0.038	0.044		
头长/全长 head length/total length	0.793	0.163	0.465	0.041		
吻长/全长 proboscis length/total length	0.162	0.107	0.919	-0.107		
眼径/全长 eye diameter/total length	0.076	-0.180	0.079	0.865		
眼间距/全长 interorbital width/total length	-0.192	0.093	0.035	0.793		
尾柄长/全长 caudal peduncle length/total length	0.756	-0.144	-0.440	-0.272		
尾柄高/全长 caudal peduncle depth/total length	0.870	0.011	-0.081	-0.105		
消化道长/全长 digestive tract length/total length	0.036	0.957	0.111	0.051		
肠长/全长 intestine length/total length	0.031	0.916	0.183	-0.032		
内脏团重/体重 visceral weight/body weight	0.343	0.697	-0.300	-0.181		
各主成分贡献率/% contributive proportion of each principal component	31.164	23.281	16.612	11.505		
各主成分累积贡献率/% cumulative contributive proportion of each principal component	31.164	54.445	71.057	82.562		

表 7 11 个性状对 4 个主成分的特征向量及主成分的贡献率 Tab. 7 Eigenvectors and contributive proportion of 4 principal components from 11 morphological traits



图 3 星突江鲽、石鲽和杂交种的第一、第三主成分散点图 Fig. 3 Distribution of factor (3)×factor (1) coordinate in *P. stellatus*, *K. bicoloratus*, and their hybrids

3 讨论

3.1 外部形态特征及左右眼型的比较分析

在杂交育种实践中,遗传物质和生活环境是 造成杂交后代形态差异的主要原因<sup>[14]</sup>。本研究中 4 种鱼是同一公司相同条件下工厂化养殖的同一 批次人工繁殖的鱼,因此可认定 4 种鱼之间的形 态差异主要是遗传物质造成的。

比目鱼因两只眼睛长在头的同一侧, 被认为 需要两鱼并肩而行而得名, 有"左鲆右鲽"之说, 但是王波等<sup>[15]</sup>研究认为中国养殖的星突江鲽左 眼型的比例为 95%~97%,可能受养殖环境的影响, 本研究中星突江鲽的左眼型比例稍低,为 84.7%, 石鲽全为右眼型。而两种鱼的正反杂交后代表现 为中间态,既有左眼型,又有右眼型,但均是左 眼型明显多于右眼型,说明两杂交种在眼睛位置 上更多地受星突江鲽的影响。

齐国山等<sup>[16]</sup>的研究表明星突江鲽全身被覆鳞 片, Tian 等<sup>[17]</sup>发现石鲽身上分布着骨板, 而两杂 交种体表未见似石鲽的长骨板样结构, 在此大致 位置处仅分布有星突江鲽体表相似的鳞片。两杂 交种鳍上的条纹和星突江鲽类似,而侧线和各自 母本相似。Eisler<sup>[18]</sup>和 Seikai<sup>[19]</sup>认为鲆鲽类无眼侧 黑斑可能与栖息环境有一定关系,本研究中的杂 交种和石鲽无眼侧黑斑的大小、形状、颜色以及 分布等都有差异,具体原因还不能确定。

以上的比较结果显示,两杂交种在眼睛位 置、鳞片和鳍的形态特征上更倾向于星突江鲽, 而侧线与母本相似。

3.2 可数、可量性状的比较分析

可数性状的卡方检验结果显示,两杂交种与 各自父本均差异极显著(*P*<0.01),而与母本存在 几个性状差异不显著(*P*>0.05)。结合杂种指数的分 析结果,研究表明两杂交种可数性状总体上倾向 于与母本相似。

11 项可量性状比值中,正交种与母本星突江 鲽有9项差异不显著(P>0.05),占总量的9/11,而 与父本石鲽只有5项差异不显著(P>0.05);反交 种与母本石鲽有7项差异不显著(P>0.05),而与 父本星突江鲽有5项差异不显著(P>0.05)。在杂种 指数方面,正交种偏母本性状5项,而偏父本性 状只有1项;反交种偏母本性状2项,偏父本性状 3项,但是超母本偏离性状有5项,而超父本偏离 性状只有1项。正交种和反交种的所有可量性状 比值的杂种指数平均值分别为27.16和26.47,显 示两杂交种可量性状总体上偏母本遗传。

可数、可量性状的综合分析结果显示,两杂 交种更多地遗传了母本的形态特征,这也与大多 数已报道的杂交后代的形态特征更偏向于母本的 研究结果一致,如翘嘴红鲌(*Erythroculter ilishaeformis*,  $\mathcal{Q}$ )×团头鲂(*Megalobrama amblycephal*,  $\mathcal{J}$ )<sup>20]</sup>、赤眼鳟(*Squaliobarbus curriculus*,  $\mathcal{Q}$ )×鳙(*Aristichthys nobilis*,  $\mathcal{J}$ )<sup>[21]</sup>、斜带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*,  $\mathcal{Q}$ )×鞍带石斑鱼(*Epinephelus lanceolatus*,  $\mathcal{J}$ )<sup>[22]</sup>、云纹石斑鱼(*Epinephelus moara*,  $\mathcal{Q}$ )×七带石斑鱼(*Epinephelus septemfasciatus*,  $\mathcal{J}$ )<sup>[23]</sup> 等, Andersson 等<sup>[24]</sup>和 Bolnick 等<sup>[25]</sup>认为原因可能 是受母体效应的影响,或者杂交种受精卵在发育 过程中线粒体基因起了重要作用。 3.3 4种鱼形态差异的多元分析

传统的形态学分析方法由于简便、易操作, 被广泛地用于多种鱼类的鉴别分类上<sup>[26]</sup>。但本研 究中两杂交种之间很相似,与亲本特别是各自的 母本更相似,很难完全将 4 种鱼区分开,因此必 须借用形态学多元分析方法对 4 种鱼进行比较分 析。形态学多元分析方法被越来越广泛地应用到 水产动物种群鉴别上,并取得了很好的效果<sup>[27]</sup>。 本研究主要利用了聚类分析、判别分析和主成分 分析等多元分析方法。

聚类分析结果显示,正交种先与母本星突江 鲽聚为一支,再与父本石鲽聚为一支,同样证明 了正交种与母本更相似;而反交种与父本星突江 鲽的欧氏距离却小于与母本石鲽的欧氏距离,这 可能与从不同角度进行聚类分析会得到不同的关 系结果有关,像周翰林等<sup>[28]</sup>通过微卫星分析认为 杂交石斑鱼青龙斑和虎龙斑与父本鞍带石斑鱼的 亲缘关系更近,而王燕等<sup>[22]</sup>从形态学角度研究认 为青龙斑和虎龙斑与各自的母本遗传距离更近。

在主成分分析中,提取的 4 个主成分对总变 异的累积贡献率为 82.562%,接近累计贡献率要 大于或等于 85%<sup>[29]</sup>的要求,基本能够概括星突江 鲽、石鲽及其正反杂交种的形态差异。主成分 1 对主成分 3 的散点图可以清楚地将 4 种鱼区分开, 两杂交种均与各自母本更接近,这也再次证明了 上述结论:两杂交种更多地遗传了母本的形态特 征。主成分 1 和主成分 3 中载荷较大的性状遍布 鱼体全身,与判别分析的结果相一致。

综上所述,从不同的角度对星突江鲽、石鲽 及其正反杂交种进行形态学多元分析,结果接近, 两杂交种更多地遗传了母本的形态特征。同时, 采用判别分析和主成分分析对4种鱼的鉴别结果 比较理想。这为星突江鲽、石鲽及其正反杂交种 的形态判别和亲缘关系鉴定提供了基础数据,对 其杂交选育具有重要的理论和实践意义。

#### 参考文献:

Hulata G. Genetic manipulations in aquaculture: a review of stock improvement by classic and modem technologies[J]. Genetica, 2001, 111(1–3): 155–173.

- [2] Ma A J, Zhuang Z M, Li C, et al. The biologic characteristics of starry flounder (*Platichthys stellatus* Pallas)[J]. Progress in Fishery Sciences, 2006, 27(5): 91–95. [马爱军, 庄志猛, 李晨,等. 星突江鲽生物学特性及养殖前景[J]. 渔业科学 进展, 2006, 27(5): 91–95.]
- [3] Cooper J A, Chaplear F. Monophyly and intrarelationships of the family Pleuronectidae (Pleuronectiformes), with a revised classification[J]. Fish Bull, 1998, 96(4): 686–726.
- [4] Zhang Y, Xiao Y S, Gao T X. Molecular phylogeny of familiar flatfish species (Pleuronectidae) in the northwestern Pacific Ocean based on mitochondrial cytochrome oxidase I gene[J]. Acta Oceanol Sin, 2008, 27(2): 93–101.
- [5] Xiao Y S, Zhang Y, Gao T X. Study of the relationship between genera *Kareius bicoloratus* and *Platichthys stellatus* by mtDNA sequence[J]. Periodical of Ocean University of China: Natural Science, 2010, 40(6): 69–76. [肖永双, 张岩, 高天翔. 基于线粒体 DNA 部分片段探讨石鲽与星突江鲽 的亲缘关系[J]. 中国海洋大学学报:自然科学版, 2010, 40(6): 69–76.]
- [6] Qi G S, Chen S Q, Li Q, et al. The nutritional components of muscle of *Platichthys stellatus* Pallas[J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2009, 31(3): 293–294, 297. [齐国山,陈四清,李琪, 等. 星突江鲽肌肉的营养成分[J]. 营养学报, 2009, 31(3): 293–294, 297.]
- [7] Wang W J, Wang K S, Shao M Y, et al. Histological observation on gonadal development of fries and juveniles in *Kareius bicoloratus* Basiewsky[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(5): 843–848. [王文君,王开顺,邵明瑜,等. 石鲽仔、幼鱼性腺发育的组织学观察[J]. 中国水产科学, 2007, 14(5): 843–848.]
- [8] Takeda Y, Tanaka M. Freshwater adaptation during larval, juvenile and immature periods of starry flounder *Platichthys stellatus*, stone flounder *Kareius bicoloratus* and their reciprocal hybrids[J]. J Fish Biol, 2007, 70(5): 1470–1483.
- [9] Ma H T, Han C H, Teng Z J, et al. Morphological analysis to Scophthalmus maximus, Platichthys stellatus and their hybrid[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2014, 45(6): 1380–1386. [马海涛,韩承慧,滕照军,等. 大菱鲆 (Scophthalmus maximus)、星斑川鲽(Platichthys stellatus) 及其杂交种的形态学分析[J]. 海洋与湖沼, 2014, 45(6): 1380–1386.]
- [10] Ding J Q, Liu P, Li J, et al. Analysis of morphological variation among four wild populations of *Charybdis japonica* from coastal waters of China[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2012, 19(4): 604–610. [丁金强, 刘萍, 李健, 等. 中国沿海日本蟳4个地理群体的形态差异比较分析[J]. 中 国水产科学, 2012, 19(4): 604–610.]

- Witkowski A, Blachutad J. Natural hybrids *Alburnus alburnus* (L.) × *Leucuscus* and *Biebrza*[J]. Acta Hydrobiol, 1980, 22(4): 473–487.
- [12] Crivelli A J, Dupont F. Biometrical and biological features of *Alburnus alburnus × Rutilus rubilio* natural hybrids from Lake Mikri Prespa, northern Greece[J]. Fish Biol, 1987, 31(6): 721–733.
- [13] Matondo B N, Ovidio M, Poncin P, et al. Morphological recognition of artificial F1 hybrids between three common European cyprinid species: *Rutilus rutilus, Blicca bjoerkna* and *Abramis brama*[J]. Acta Zool Sin, 2008, 54(1): 144–156.
- [14] Murta A G. Morphological variation of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) in the Iberian and North Africa Atlantic: implications for stock identification[J]. Mar Sci, 2000, 57: 1240–1248.
- [15] Wang B, Sun P, Fang H H, et al. Morphological characteristics and parameters measurement of starry flounder (*Platichthys stellatus* Pallas)[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2010, 32(2): 139–147. [王波, 孙萍, 方华华, 等. 星斑川鲽 形态特征及相关参数的观测[J]. 海洋学报, 2010, 32(2): 139–147.]
- [16] Qi G S, Li D, Chen S Q, et al. Morphological characteristics and internal structure of *Platichthys stellatus* Pallas[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15(1): 1–11. [齐国山, 李迪,陈四清,等. 星突江鲽的形态特征及内部结构研究 [J]. 中国水产科学, 2008, 15(1): 1–11.]
- [17] Tian Y S, Chen S L, Ji X S, et al. Cryopreservation of spotted halibut (*Verasper variegatus*) sperm[J]. Aquaculture, 2008, 284(1): 268–271.
- [18] Eisler R. Partial albinism and ambicoloration in winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*[J]. Copeia, 1963(2): 275–277.
- [19] Seikai T. Influences of fluorescent light irradiation, ocular side pigmentation, and source of fishes on the blind side pigmentation in the young Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. Suisan Zoshoku, 1991, 39(2): 173–180.
- [20] Gu Z M, Jia Y Y, Ye J Y, et al. Studies on morphological characteristics and genetic analysis of the hybrid F<sub>1</sub>, *Erythroculter ilishaeformis*<sup>Q</sup> × *Megalobrama amblycephal*<sup>∂</sup>[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(Q)×团头鲂(♂)杂种 F<sub>1</sub> 的形态特征及遗传分析[J]. 水产学报, 2008, 32(4): 533–544.]
- [21] Jin W K, Yu L, Yang J X, et al. Biological characteristics of F<sub>1</sub> hybrid generations from *Squaliobarbus curriculus* (♀) × *Aristichthys nobilis* (♂) [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2012, 19(4): 611–619. [金万昆, 俞丽, 杨建新, 等. 赤眼鳟(♀)与鳙(♂)杂交 F<sub>1</sub> 生物学特性[J]. 中国水产科学,

2012, 19(4): 611–619.]

- [22] Wang Y, Zhang Y, Zhang H F, et al. Comparison of morphology between two kinds of hybrid groupers and their parents[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(6): 778–785. [王燕, 张勇, 张海发, 等. 两种杂交石斑鱼及其 亲本的形态差异分析[J]. 水产学报, 2014, 38(6): 778–785.]
- [23] Li Y L, Chen C, Wang Q Y, et al. Comparative analysis of the morphological characteristics between hybrid F<sub>1</sub> by *Epinephelus moara* (♀) × *E. septemfasciatus* (♂) and the offspring of its parents[J]. Progress in Fishery Sciences, 2014, 35(5): 104–108. [李炎璐,陈超,王清印,等. 云纹石斑鱼 (♀)×七带石斑鱼(♂)杂交 F<sub>1</sub>形态特征与其亲本子代的比较 分析[J]. 渔业科学进展, 2014, 35(5): 104–108.]
- [24] Andersson A M, Silva P I M, effensen J F, et al. Effects of maternal stress coping style on offspring characteristics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Horm Behav, 2011, 60(5): 699–705.
- [25] Bolnick D I, Turelli M, López-Fernández H, et al. Acceler-

ated mitochondrial evolution and "Darwin's corollary": asymmetric viability of reciprocal F<sub>1</sub> hybrids in centrarchid fishes[J]. Genetics, 2008, 178(2): 1037–1048.

- [26] Cadrin S X. Advances in morphometric identification of fishery stocks[J]. Rev Fish Biol Fish, 2000, 10(1): 91–112.
- [27] Kinsey S T, Orsoy T, Bert T M, et al. Population structure of the Spanish sardine *Sardinella aurita*: natural morphological variation in a genetically homogenous population[J]. Mar Biol, 1994, 118: 309–317.
- [28] Zhou H L, Zhang Y, Qi X, et al. SSR analysis of the heterosis in the two grouper hybrids[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(2): 161–169. [周翰林, 张勇, 齐鑫, 等. 两 种杂交石斑鱼子一代杂种优势的微卫星标记分析[J]. 水 产学报, 2012, 36(2): 161–169.]
- [29] Veasey E A, Schammass E A, Vencovsky R, et al. Germplasm characterization of *Sesbania accessions* based on multivariate analysis[J]. Genet Res Crop Evol, 2001, 48(1): 79–90.

# Morphological variations analysis of reciprocal hybrids from *Platich-thys stellatus* and *Kareius bicoloratus*

CAO Dongzheng<sup>1, 2</sup>, CHEN Siqing<sup>1</sup>, YAN Junli<sup>1, 2</sup>, LIU Changlin<sup>1</sup>, WANG Zhijun<sup>3</sup>, YAN Jingping<sup>1</sup>

- 1. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture; Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;
- 2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
- 3. Kehe Ocean High Technologies Company of Shandong, Weihai 264500, China

**Abstract:** Morphological variations in *Platichthys stellatus, Kareius bicoloratus*, and their reciprocal hybrids were measured and analyzed. The results showed that the ratios of left eye type in the obverse hybrid (*P. stellatus* $\bigcirc \times K$ . *bicoloratus* $\bigcirc$ ) and inverse hybrid (*K. bicoloratus* $\bigcirc \times P$ . *stellatus* $\bigcirc$ ) were 66.9% and 57.3%, respectively, which was between that of *P. stellatus* (84.7%) and *K. bicoloratus*(0). The scales on the reciprocal hybrids were distributed similarly to those on *P. stellatus* and on the equivalent body positions where bony plates occurred on *K. bicoloratus*. The reciprocal hybrids had dorsal, anal, and caudal finstripes similar to those of *P. stellatus*, but they were smaller and more lightly colored. The lateral lines of the obverse hybrid and *P. stellatus* bent at the end of the pectoral fin, whereas the lateral lines of the inverse hybrid were 20.73 and 20.76, indicating that their meristic character ratios, most of the metric characters were not different (*P*>0.05) between the hybrids and their female parents, and the average hybrid index values of the two hybrids were 27.16 and 26.47, indicating that their metric characters tended to be more similar to those of their female parents, as shown by the cluster analysis. Four discriminant functions were established in the discriminatory analysis. Average discriminant accuracy was 97.50%, indicating that the discriminant effect was ideal. Four principal components were constructed by factor loadings in

the principal component analysis, and the cumulative contributing proportion was 82.562%. Scatter plots showed that the morphological differences between the two hybrids were independent of *P. stellatus* and *K. bicoloratus*. Therefore, a multivariate analysis of meristic and metric characters could be useful to identify and distinguish the morphological variations among *P. stellatus*, *K. bicoloratus*, and their reciprocal hybrids. These results indicate that the reciprocal hybrids between *P. stellatus* and *K. bicoloratus* resembled *P. stellatus* in eye position and scale and fin morphological characteristics and resembled their female parents in the lateral line and meristic and metric characters. The results will help discriminate the morphological characters and determine the genetic relationships between *P. stellatus*, *K. bicoloratus*, and their reciprocal hybrids and allow for breeding excellent hybrids.

Key words: *Platichthys stellatus; Kareius bicoloratus*; hybrid; morphological variation Corresponding author: CHEN Siqing. E-mail: chensq@ysfri.ac.cn

