

文章编号: 1674-5566(2011)02-0198-06

翘嘴红鲌(♀) × 团头鲂(♂) 杂种 F₁ 的 SRAP 标记分析

贾永义¹, 顾志敏¹, 叶金云², 杨元杰¹, 朱俊杰¹, 黄鲜明¹

(1. 浙江省淡水水产研究所, 浙江 湖州 313001; 2. 湖州师范学院 生命科学院, 浙江 湖州 313001)

摘要: 相关序列扩增多态性(sequence-related amplified polymorphism, SRAP)是基于 PCR 技术的一种新型分子标记技术。运用 SRAP 分子标记技术对翘嘴红鲌(♀) × 团头鲂(♂) 杂种 F₁ 及其父母本的遗传变异进行了分析。从 24 个 SRAP 引物组合中筛选到 21 个多态性引物组合,共得到 136 条清晰稳定的扩增位点,其中 124 个扩增位点具有多态性,平均每个引物组合产生 6.48 个多态性条带,显示了较高的多态性比率。杂种 F₁ 的 SRAP 扩增条带均能在亲本中找到,未发现杂种 F₁ 特异性条带,直观显示杂种 F₁ 确为杂交种。翘嘴红鲌、团头鲂及其杂种 F₁ 的 Nei's 多样性指数(*H*)分别为 0.194 5、0.172 2、0.198 4, Shannon's 信息指数(*I*)分别为 0.289 1、0.254 7、0.290 5,表明杂种 F₁ 比其父母本有更高的遗传多样性水平。翘嘴红鲌与团头鲂间的遗传距离为 0.420 6,两者基因组有较大的相似性。杂种 F₁ 与翘嘴红鲌和团头鲂间的遗传相似性分别为 0.767 1、0.751 2,两者相差甚微,显示杂种 F₁ 与双亲的相似程度没有明显的倾向性,表明属间杂种 F₁ 整合了翘嘴红鲌和团头鲂的遗传信息。研究结果也表明 SRAP 分子标记技术是比较稳定可靠的标记系统,可有效用于鱼类杂种真实性的鉴定和遗传变异分析。

研究亮点: 应用 SRAP 技术对翘嘴红鲌(♀) × 团头鲂(♂) 的杂种 F₁ 及其亲本的遗传关系进行了分析,计算了杂种 F₁ 代的 Nei's 遗传多样性, Shannon's 信息指数及遗传距离等遗传学参数,解释了翘嘴红鲌和团头鲂杂交具有较高亲和性、杂种 F₁ 的表型近于中间型的原因,证实了该杂交组合是正常的两性杂交,为这两种重要经济鱼类的杂交优势利用提供了基础资料。

关键词: 翘嘴红鲌; 团头鲂; 杂种 F₁; SRAP 标记

中图分类号: S 917

文献标识码: A

翘嘴红鲌(*Erythroculter ilishaeformis*)与团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)为隶属于鲌亚科鲌属和鲂属的两种重要经济鱼类。两者在生理、生态上有较大差异,且具有互补性^[1]。为改良、培育鱼类新品种,我们于 2006 年开展了这两种鱼的属间远缘杂交,并成功获得了杂交子代。两者杂交具有良好的亲和力,其受精率和孵化率均较高。杂交子代多数性状表现为中间型,偏杂食性,耐低氧,抗逆性强,生长快速,其养殖产量较翘嘴红鲌增产 19.2%,表现出明显的杂种优势。

相关序列扩增多态性是于 2001 年由 LI 和 QUIROS^[2] 发展起来的一种新型分子标记系统,

具有简便、稳定、基因组中分布均匀、目标片段便于测序等优点,已广泛用于动植物的遗传多样性、种质鉴定、遗传图谱构建、杂种优势预测及基因克隆等方面的研究^[3-4],而在水产动物方面的应用则刚刚起步,目前仅见于草鱼、黄颡鱼、马氏珠母贝、扇贝、罗氏沼虾和日本沼虾的研究^[5-12]。本文在翘嘴红鲌(♀) × 团头鲂(♂) 杂种 F₁ 的形态变异、染色体组型和 RAPD 分析等前期研究工作^[13]的基础上,尝试运用 SRAP 分子标记技术对杂种 F₁ 及其亲本的遗传关系进行分析,以期阐明亲本对杂种 F₁ 的遗传贡献大小,为进一步优良品种的培育提供基础资料。

收稿日期: 2010-08-09 修回日期: 2010-11-23

基金项目: 浙江省重大科技专项重点项目(2006C12005-1)

作者简介: 贾永义(1979-),男,助理研究员,主要从事水产种质资源与选育种方面的研究。E-mail: yongyi_jia@163.com

通讯作者: 顾志敏, Tel: 0572-2041654, E-mail: guzhimin2006@163.com

1 材料与方法

1.1 实验材料

翘嘴红鲌取自南太湖外荡水域,团头鲂购自湖州市德清鱼种场。2006年,以翘嘴红鲌为母本、团头鲂为父本,采用人工授精的方法获得了翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁。本实验分

别选取翘嘴红鲌(5尾)、团头鲂(5尾)及杂种 F₁(6尾)用于 SRAP 标记分析。

Taq DNA 聚合酶、Buffer、Mg²⁺、dNTPs、Marker 及 SRAP 引物等均购自上海赛百盛基因技术有限公司。SRAP 引物为依据 LI 和 QUIROS^[2] 设计的成套引物,选取正向引物 4 条和反向引物 6 条(表 1)。

表 1 引物编号及其序列
Tab.1 SRAP primers and their sequences

正向引物	序列(5'-3')	反向引物	序列(5'-3')
ME ₁	TGAGTCCAAACGGGATA	EM ₁	GACTGCGTAGGAATTAAT
ME ₂	TGAGTCCAAACGGGAGC	EM ₂	GACTGCGTAGGAATTTGC
ME ₃	TGAGTCCAAACGGGAAT	EM ₃	GACTGCGTAGGAATTGAC
ME ₄	TGAGTCCAAACGGGACC	EM ₄	GACTGCGTAGGAATTTGA
-	-	EM ₅	GACTGCGTAGGAATTAAC
-	-	EM ₆	GACTGCGTAGGAATTGCA

1.2 基因组 DNA 制备

按常规酚-氯仿法提取基因组 DNA,并略作修改。取 50 μL 全血,依次加入 450 μL SET, 12.5 μL 的 SDS(200 mg/mL)和 10 μL 蛋白酶 K (20 mg/mL),混匀后置 55 °C 水浴锅中消化过夜,之后用等体积的饱和酚、酚:氯仿(1:1)、氯仿各抽提 1~2 次,2 倍体积 -20 °C 预冷的无水乙醇沉淀 DNA,70% 乙醇清洗,干燥后溶于 50 μL TE 缓冲液中,并置于 -20 °C 保存备用。用 Bio-Photometer 生物分光光度计检测 DNA 样品的浓度和纯度,0.8% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 片段大小。

1.3 SRAP 扩增

SRAP-PCR 反应体系经正交优化后用于杂种 F₁ 及其亲本的 SRAP 扩增。反应总体积为 20 μL,包括 PCR Buffer 2.5 μL、Mg²⁺ 2.5 mmol/L、模板 DNA 40 ng、*Taq* 酶 1.5 U、dNTPs 0.2 mmol/L、引物 5.0 μmol/L 及 ddH₂O。参照 LI 和 QUIROS^[2] 的扩增程序,前 5 个循环 94 °C 变性 1 min,35 °C 复性 1 min,72 °C 延伸 1 min;后 35 个循环将复性温度升为 50 °C;最后 72 °C 延伸 7 min。扩增反应在 Gene Amp PCR System 9700 基因扩增仪上进行。PCR 产物用 2.0% 琼脂糖凝胶电泳,GoldView 染色,Bio-Rad 凝胶成像系统观察、拍照。

1.4 数据分析

选择重现性好且稳定的扩增条带进行分析。根据条带的有无将电泳图谱转化为 1、2 矩阵。

在相同的迁移率上,有带的记为 1,无带的记为 2,对模糊不清的带或数据缺失的记为 0。然后应用 Tfpga 1.31 软件分别统计多态位点比率(*P*)、群体间遗传相似度(*S*)、遗传距离(*D*)、观察等位基因数(*N_a*)、有效等位基因数(*N_e*)、Nei's 遗传多样性指数(*H*)、Shannon's 信息指数(*I*) 等参数,并根据多态性条带对每个个体进行 UPGMA 法聚类分析。

2 结果与分析

2.1 SRAP 扩增结果

从 24 个引物组合中筛选出 21 个条带丰富而清晰的引物组合,并应用这些引物组合对翘嘴红鲌、团头鲂及杂种 F₁ 进行了扩增。SRAP 扩增条带的大小在 100~1 500 bp 之间,21 个引物组合共产生 136 条清晰稳定的扩增带,每个引物组合的扩增位点从 3 到 14 个不等,平均为 6.48 个。136 个扩增位点中有 124 个位点具有多态性,多态位点比率高达 91.18%,其中,翘嘴红鲌多态位点数 68 个,多态位点比例 50.0%,团头鲂多态位点数 63 个,多态位点比例 46.32%,杂种 F₁ 多态位点数 74 个,多态位点比例 54.41%,显示 SRAP 标记具有较高的多态性比率。在杂种 F₁ 中共检测到 105 个位点,其中,来自母本翘嘴红鲌的特异位点为 24 个,包含了 22.86% 的翘嘴红鲌特有信息;而来自团头鲂的特异位点为 23 个,包含了 21.90% 的团头鲂特有信息;三者共有的位点有 58 个,包含有 55.24% 翘嘴红鲌和团头鲂共有信

息。结果表明,属间杂种 F_1 整合了翘嘴红鲌和团头鲂的遗传信息。

2.2 SRAP 扩增图谱分析

杂种 F_1 及其亲本的 SRAP 扩增图谱存在明显差异,而且同一个引物组合对两亲本和杂种 F_1 的扩增条带也存在多样性,主要表现为亲本特有,杂种 F_1 与双亲共有,以及杂种 F_1 与亲本一方共有,而在另一方中不存在或出现频率很低。在所有扩增图谱中未发现杂种 F_1 特有的位点。图 1-a、b、c、d 分别为引物组合 ME_1/EM_2 、 ME_2/EM_5 、 ME_2/EM_1 及 ME_1/EM_4 的 SRAP 扩增图谱,均可用来鉴别亲本和杂交子代。在引物组合 ME_1/EM_4 的扩增图谱中, ME_1/EM_4 500 位点为翘嘴红鲌和杂种 F_1 所共有,团头鲂中未出现; ME_1/EM_4

600 位点为团头鲂和杂种 F_1 共有,翘嘴红鲌中未出现; ME_1/EM_4 300 位点为翘嘴红鲌、团头鲂和杂种 F_1 所共有(图 1-d,箭头所示)。在引物组合 ME_1/EM_2 的扩增图谱中, ME_1/EM_2 500 位点为团头鲂所特有,翘嘴红鲌和杂种 F_1 中均未出现; ME_1/EM_2 1300 为团头鲂和杂种 F_1 所共有,翘嘴红鲌中未出现(图 1-a,箭头所示)。在引物组合 ME_2/EM_5 的扩增图谱中, ME_2/EM_5 750 位点为翘嘴红鲌和杂种 F_1 所共有,团头鲂中未出现; ME_2/EM_5 600 位点为翘嘴红鲌所特有,团头鲂和杂种 F_1 中均未出现。类似情况,也能在引物组合 ME_2/EM_1 扩增图谱中看到。从以上扩增图谱可直观了解到双亲的遗传物质通过杂交传递给了杂交子代。

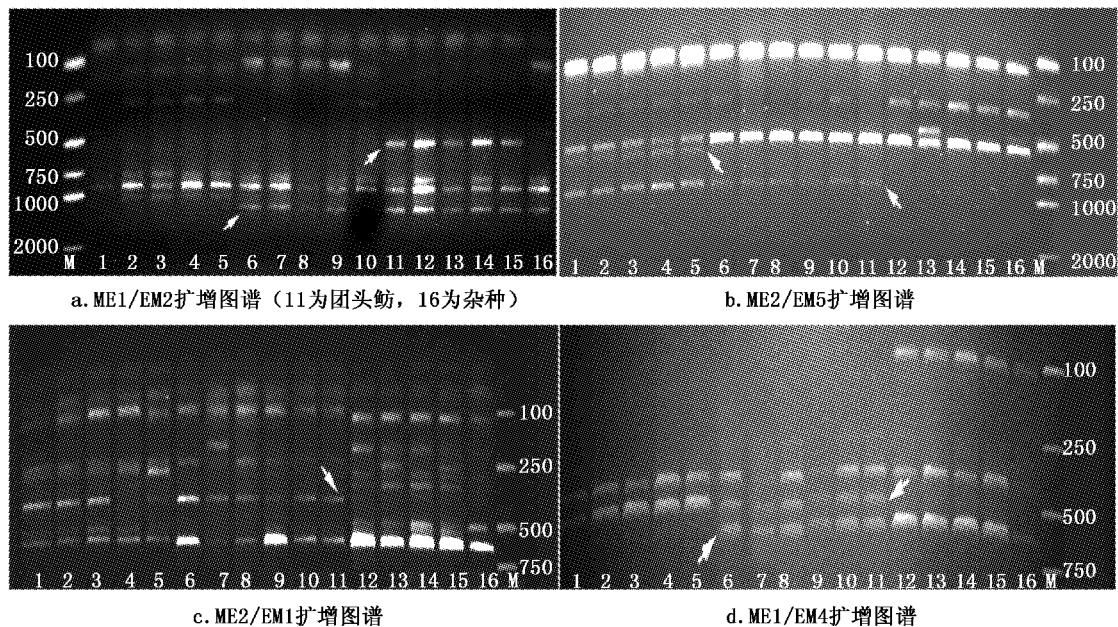


图 1 不同引物组合对翘嘴红鲌、团头鲂及杂交子一代的 SRAP 扩增结果

Fig. 1 SRAP patterns of *E. ilishaeformis* ♀ × *M. amblycephal* ♂ hybrids and their parents generated with different primer combinations

a: 1~5. 翘嘴红鲌 (*E. ilishaeformis*); 6~10, 16. 杂种 F_1 ; 11~15. 团头鲂 (*M. amblycephal*).

b、c、d: 1~5. 翘嘴红鲌 (*E. ilishaeformis*); 6~11. 杂种 F_1 ; 12~16. 团头鲂 (*M. amblycephal*).

2.3 杂种 F_1 及其亲本的遗传多样性参数

翘嘴红鲌、团头鲂及其杂种 F_1 的遗传多样性参数见表 2。由表 2 可知,翘嘴红鲌、团头鲂及其杂种 F_1 的群体内 Nei's 遗传多样性指数 (H) 分别为 0.194 5、0.172 2 和 0.198 4; Shannon's 信息指数 (I) 分别为 0.289 1、0.254 7 和 0.290 5,均显示杂种 F_1 的遗传多样性升高,表明杂种 F_1 的

基因杂合性增强。

2.4 杂种 F_1 与亲本间的遗传关系

翘嘴红鲌、团头鲂及其杂种 F_1 间的遗传相似性指数和相对遗传距离见表 3。从表 3 可以看出,翘嘴红鲌与团头鲂间的遗传距离为 0.420 6,小于 0.54,显示两者基因组有较大的相似性。杂种 F_1 与母本翘嘴红鲌的遗传相似性为 0.767 1,

与父本团头鲂的遗传相似性为 0.751 2,两者相差甚微,显示杂种 F₁ 与双亲的相似程度没有明显

的倾向性。因此,通过属间杂交有可能获得兼具翘嘴红鲌和团头鲂优异基因的新品种。

表 2 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁ 及其亲本的遗传参数

Tab. 2 Genetic parameters of *E. ilishaeformis* (♀) × *M. amblycephala* (♂) hybrids and their parents

	扩增位点数 <i>N_i</i>	多态位点比率 <i>P</i>	观察等位基因数 <i>N_e</i>	有效等位基因数 <i>N_e</i>	遗传多样性指数 <i>H</i>	Shannon's 指数 <i>I</i>
翘嘴红鲌	68	50.00%	1.500 0 ± 0.501 8	1.334 6 ± 0.418 7	0.194 5 ± 0.217 5	0.289 1 ± 0.307 0
杂种 F ₁	74	54.41%	1.544 1 ± 0.499 9	1.359 3 ± 0.378 4	0.198 4 ± 0.202 0	0.290 5 ± 0.288 7
团头鲂	63	46.32%	1.463 2 ± 0.500 5	1.304 4 ± 0.393 8	0.172 2 ± 0.206 2	0.254 7 ± 0.293 5
总群体	124	91.18%	1.911 8 ± 0.284 7	1.586 7 ± 0.343 6	0.334 9 ± 0.164 9	0.495 2 ± 0.218 1

表 3 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F₁ 及其亲本的遗传相似度(右上角)和遗传距离(左下角)

Tab. 3 Genetic identity and genetic distance between *E. ilishaeformis* (♀), *M. amblycephala* (♂) and their hybrids F₁

	翘嘴红鲌	杂种 F ₁	团头鲂
翘嘴红鲌	-	0.767 1	0.656 6
杂种 F ₁	0.265 1	-	0.751 2
团头鲂	0.420 6	0.286 0	-

注:遗传相似度(右上角),遗传距离(左下角)。

将 SRAP 扩增所得多态性条带进行聚类,得到杂种 F₁ 及其亲本的 SRAP 标记系统聚类树状图(图 2)。由图 2 可知,翘嘴红鲌、团头鲂及杂种 F₁ 个体首先分别聚类,形成翘嘴红鲌、团头鲂及杂种 F₁ 群体,然后翘嘴红鲌与杂种 F₁ 群体聚类,最后与团头鲂群体聚类,显示杂种 F₁ 偏向于母本翘嘴红鲌。

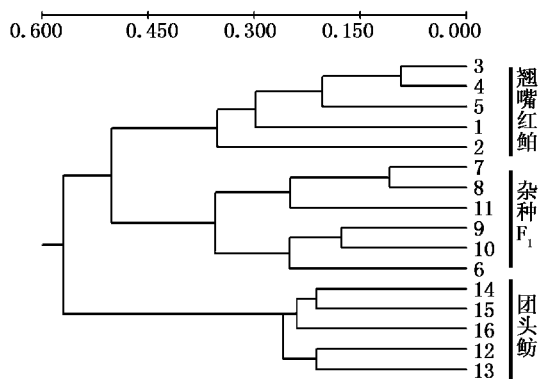


图 2 翘嘴红鲌(♀)、团头鲂(♂)及杂种 F₁ 间的 UPGMA 亲缘关系树状图

Fig. 2 UPGMA dendrogram between *E. ilishaeformis* (♀), *M. amblycephala* (♂) and their F₁

3 讨论

杂交是最经典的育种方法之一^[14]。不同类型的亲本进行杂交,可以获得基因的重新组合且类型丰富的杂交后代。目前,与翘嘴红鲌有关的杂交报道较少,仅见翘嘴红鲌×海南红鲌(*Erythroculter pseudobrevicauda*)^[15]的种间杂交和草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)(♀)×翘嘴红鲌(♂)^[14]的亚科间杂交。而与团头鲂有关的杂交报道较多,其中亚科间杂交有 8 个,包括鳊(*Aristichthys nobilis*)(♀)×团头鲂(♂)及其反交^[14]、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)(♀)×团头鲂(♂)^[14]、鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)(♀)×团头鲂(♂)及其反交^[14]、鲤(*Cyprinus carpio*)(♀)×团头鲂(♂)^[14]、团头鲂(♀)×黄尾密鲴(*Xenocypris daviodi*)(♂)及其反交^[16]、红鲫(*Carassius auratus red variety*)(♀)×团头鲂(♂)^[17]、日本白鲫(*Carassius Curatus Cuvieri*)(♀)×团头鲂(♂)^[17]、团头鲂(♀)×丁鲃(*Tinca tinca*)(♂)及其反交^[18]等;属间杂交有 1 个,为团头鲂(♀)×长春鳊(*Parabramis pekinensis*)(♂)^[14];种间杂交有 2 个,包括广东鲂(*Magalobrama hoffmanni*)(♀)×团头鲂(♂)^[18]、三角鲂(*Magalobrama tarminalis*)(♀)×团头鲂(♂)及其反交^[19]等。上述远缘杂交组合均能获得杂交后代,且部分杂交组合可应用于生产和育种实践^[14]。在获得的杂交后代中,发现有二倍体、三倍体、四倍体、雌核发育等个体,如草鱼×团头鲂杂交可得到雌核发育鱼和三倍体,团头鲂×丁鲃杂交可得到雌核发育、三倍体和四倍体后代,三角鲂(♀)×团头鲂、团头鲂(♀)×长春鳊(♂)、翘嘴红鲌×海南红鲌等杂交可得到二倍体杂种,无多倍体产生。

翘嘴红鲌和团头鲂为隶属于同一亚科的鲌属和鲂属,染色体数(2n)均为48,且染色体的形态差异很小,以中部和亚中部着丝点染色体为主,没有端着丝点染色体,最大染色体均出现在亚中部着丝点染色体组。翘嘴红鲌(♀)与团头鲂(♂)杂交子代能正常发育,且有较高的受精率和成活率,这一现象反映两者杂交具有良好的亲和力。关于鱼类远缘杂交的亲合性,王祖熊等^[20]曾提出染色体组型相似、亲本间基因组差异较小的种类,远缘杂交的亲合性会较大。本实验应用SRAP标记对亲本的遗传变异分析表明,翘嘴红鲌与团头鲂的相似系数为0.66,大于群体遗传一级亲缘关系的相似系数0.54,说明翘嘴红鲌和团头鲂的基因组成有较大相似性,从分子水平上解释了两亲杂交具有较高亲合性的原因。从扩增图谱看,杂种 F_1 的扩增条带均能在父母本中找到,其中来自母本翘嘴红鲌的特异位点为24个,来自团头鲂的特异位点为23个,说明双亲的遗传物质通过杂交传递给了杂交子代,证实该杂交是正常的两性杂交,排除了雌核发育的可能。此外,在不同批次的杂交实验群体中,我们发现杂种 F_1 的体型虽近于中间型,但也不完全一致,依据体高可基本区分为两类体型,这可能与染色体倍性有关。因此,该杂种是二倍体,还是三倍体、四倍体,尚需要进一步做染色体和DNA含量方面的鉴定。

远缘杂交获得的杂交子代的形态变异较大^[15,21-23],有的偏向于亲本一方,有的近于中间型。多数学者认为,这可能是远缘杂交双亲的遗传物质对子代的贡献不对等的缘故^[8,15,24]。本研究获得的翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)杂种 F_1 的多数表型性状表现为中间型。从SRAP的分析结果来看,杂种 F_1 与母本翘嘴红鲌的遗传相似性为0.7671,与父本团头鲂的遗传相似性为0.7512,两者相差甚微,显示杂种 F_1 与双亲的相似程度没有明显的倾向性,即父本和母本对杂种 F_1 的影响没有显著差异,因而子代的生长发育可能受来自双亲的基因共同调控,这为杂种 F_1 的表型近于中间型提供了分子依据。但该结果却与我们前期的RAPD分析结果不一致^[13]。RAPD分析表明,翘嘴红鲌和团头鲂在杂交后代基因组中所占的比例是不均等,偏向父本团头鲂一方。结果的不一致可能是由于SRAP标记主要是针对基因组的

开放阅读框(ORF)进行扩增,扩增结果与表现型的相关性更高的缘故,也可能与选用的引物组合数和样本数少有关,尚待进一步研究。

参考文献:

- [1] 倪勇,朱成德.太湖鱼类志[M].上海:上海科学技术出版社,2005:109-116.
- [2] 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 Brassica[J]. Theor Appl Genet, 2001, 103(3): 455-461.
- [3] 任羽,王得元,张银东.序列相关扩增多态性(SRAP)一种新的分子标记技术[J].中国农学通报,2004,20(6): 11-13.
- [4] 张安世,邢智峰,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.
- [5] 周劲松,曹哲明,杨国梁,等.罗氏沼虾缅甸引进种和浙江本地种及其杂交种的生长性能与SRAP分析[J].中国水产科学,2006,13(4): 667-673.
- [6] 丁炜东,曹丽萍,曹哲明.草鱼种质退化相关SRAP分析[J].广东海洋大学学报,2007,27(6): 13-17.
- [7] 张志伟,韩曜平,仲霞铭,等.草鱼野生群体和人工繁殖群体遗传结构的比较研究[J].中国水产科学,2007,14(5): 720-725.
- [8] 程宁宁,杨爱国,刘志鸿,等.栉孔扇贝(♀)×虾夷扇贝(♂)子一代杂种优势的SRAP分析[J].海洋科学,2009,33(10): 107-111.
- [9] 丁炜东,曹丽萍,曹哲明.草鱼种质相关SRAP及SCAR的分子标记[J].动物学报,2008,54(3): 475-481.
- [10] 辛文婷,孙中武,尹洪滨,等.黄颡鱼雌雄差异的SRAP标记[J].东北林业大学学报,2009,37(5): 112-114.
- [11] 姚建华,傅洪拓,龚永生,等.日本沼虾SRAP反应体系正交设计及优化[J].华北农学报,2008,23(S): 122-125.
- [12] 张红玉,何毛贤,管云雁.马氏珠母贝红色壳家系不同世代遗传变异的SRAP分析[J].水产学报,2009,33(5): 727-733.
- [13] 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] 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.
- [15] 朱华平,黄樟翰,卢迈新.翘嘴红鲌和海南红鲌同工酶的比较研究[J].大连水产学院学报,2003,18(3): 175-179.
- [16] 刘少军,刘筠,罗凯坤,等.团头鲂与黄尾密鲃间远缘杂交的方法:中国,CN101341859[P].2005-12-21.
- [17] 刘少军,刘筠,罗凯坤,等.红鲫、日本白鲫与团头鲂亚种间远缘杂交的方法:中国,CN1709046[P].2009-01-14.

- [18] 邹曙明. 团头鲂人工同源和异源四倍体的繁育群体建立及其不同倍性后代的生物学特征分析[D]. 上海: 上海海洋大学, 2004.
- [19] 叶星, 谢刚, 许淑英, 等. 广东鲂(♀)×团头鲂(♂)杂交子一代及其双亲同工酶的比较[J]. 上海水产大学学报, 2001, 10(2): 118-122.
- [20] 王祖熊, 张锦霞, 靳光琴. 鱼类杂交不亲和性的研究[J]. 水生生物学报, 1986(2): 171-179.
- [21] 杨怀宇, 李恩发, 邹曙明. 三角鲂与团头鲂正反杂交 F₁ 的遗传性状[J]. 上海水产大学学报, 2002, 11(4): 305-309.
- [22] 宓国强, 赵金良, 贾永义, 等. 鳊(♀)×斑鳊(♂)杂种 F₁ 的形态特征与微卫星分析[J]. 上海海洋大学学报, 2010, 19(2): 145-150.
- [23] 刘志国, 蔡完其, 王成辉. 瓯江彩鲤与日本锦鲤及其正反杂交 F₁ 形态特征和生长初步研究[J]. 上海水产大学学报, 2003, 12(4): 289-292.
- [24] 陈友明, 陈校辉, 潘莹, 等. 江黄颡(♀)和乌苏里拟鲿(♂)及其杂交子代遗传变异的 RAPD 分析[J]. 上海海洋大学学报, 2010, 19(1): 12-18.

Analysis on genetic variations of *Erythroculter ilishaeformis* (♀) × *Megalobrama amblycephala* (♂) Hybrids F₁ by SRAP markers

JIA Yong-yi¹, GU Zhi-min¹, YE Jin-yun², YANG Yuan-jie¹, ZHU Jun-jie¹, HUANG Xian-ming¹

(1. Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, Huzhou 313001, China; 2. Huzhou Normal University, Huzhou 313001, China)

Abstract: SRAP (sequence-related amplified polymorphism) is a new molecular marker based on Polymerase Chain Reaction. SRAP markers were used to detect genetic variations of two parents *E. ilishaeformis* ♀, *M. amblycephala* ♂ and the F₁ in this paper. 21 polymorphic primer combinations were selected from 24 pairs of primer combinations. 136 loci were amplified and 124 loci were polymorphic. Each primer combination generated 6.48 polymorphic loci, which showed comparatively high polymorphism on average. The results showed that the differentiations between parents were remarkable, and all the loci of F₁ came from their parents, and no hybrid-specific locus was found. Among *E. ilishaeformis* ♀, *M. amblycephala* ♂ and F₁, the values of Nei's genetic diversity (*H*) were 0.194 5, 0.172 2, 0.198 4, respectively; the values of Shannon's information index (*I*) were 0.289 1, 0.254 7, 0.290 5 respectively. All the parameters indicated that hybrids F₁ showed a greater genetic diversity than their parents. Furthermore, the genetic distance between *E. ilishaeformis* ♀ and *M. amblycephala* ♂ was 0.420 6. The genetic identity between F₁ and *E. ilishaeformis* ♀ was 0.767 1, and the genetic identity between F₁ and *M. amblycephala* ♂ was 0.751 2, the differentiation was insignificant. This indicated that the hybrid F₁ has an equal heredity similarity to their parents, and this also showed that F₁ combined genetic information from both of their parents. The results also demonstrated that SRAP molecular marker technology can be applied to the hybrids tested and genetic analysis of fish breeding effectively and reliably.

Key words: *Erythroculter ilishaeformis*; *Megalobrama amblycephala*; hybrids F₁; sequence related amplified polymorphism