

## 大黄鱼♀与黄姑鱼♂杂交F<sub>1</sub>家系初孵仔鱼的 AFLP 分析

刘颖, 蔡明夷, 刘贤德, 王志勇\*

(集美大学水产学院,福建省高校水产科学技术与食品安全重点实验室,福建 厦门 361021)

**摘要:** 为了评估大黄鱼♀与黄姑鱼♂杂交F<sub>1</sub>在良种培育与遗传学研究中的应用潜力,利用 AFLP 标记研究了双亲基因在 2 个杂交 F<sub>1</sub> 家系(HF1 和 HF2)初孵仔鱼中的传递和分离方式。8 对 AFLP 选择性扩增引物在两对亲本中分别检出 478 和 446 个片段。在 HF1 中,检出片段包括 215 条母本特异条带(FSB)、165 条父本特异条带(MSB)和 98 条双亲共有条带(MuB),其中,121 条(56.3%)FSB、115 条(69.7%)MSB 和 93 条(94.9%)MuB 传递给了全部后代,其余片段在后代中发生分离。FSB 和 MSB 分离位点的平均显性表型频率之间没有显著性差异。AFLP 标记在 HF2 的传递与分离和 HF1 相似,只是分离位点的比例较 HF1 低,而且检出了 2 个非亲位点。此外,在 HF1 和 HF2 中都出现了较高比例的偏离孟德尔定律的分离位点。这些结果表明,大黄鱼♀×黄姑鱼♂杂交 F<sub>1</sub> 初孵仔鱼中同时含有来自双亲的基因;虽然计算结果显示杂交 F<sub>1</sub> 在遗传上略偏向于母本,但是父源基因和母源基因没有明显的选择性丢失;母本特异位点多态比例与大黄鱼种内杂交 F<sub>1</sub> 相当。研究结果为大黄鱼♀×黄姑鱼♂杂交 F<sub>1</sub> 的开发与管理提供了科学依据。

**关键词:** 大黄鱼;黄姑鱼;种间杂交;扩增片段长度多态性标记

**中图分类号:** S 917

**文献标识码:** A

大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*) 和黄姑鱼 (*Nibea albiflora*) 属石首鱼科 (Sciaenidae), 分属黄鱼属 (*Pseudosciaena*) 和黄姑鱼属 (*Nibea*), 都是我国重要的经济鱼类<sup>[1]</sup>。其中,大黄鱼是我国最重要的海水养殖鱼类之一,其养殖量居海水鱼类之首。黄姑鱼是近年来发展起来的养殖对象,肉质细腻,味道鲜美,深得消费者喜爱,其养殖规模不断扩大。但,养殖大黄鱼面临经济性状退化问题,而黄姑鱼育苗成活率较低,生长速度较慢。鉴于两种鱼类经济性状互补、繁殖季节重叠,我们开展了大黄鱼♀与黄姑鱼♂杂交试验,试图利用远缘杂交综合双亲的优势,或者从杂交存活后代中筛选出宝贵的育种中间材料或遗传学研究材料。

扩增片段长度多态性 (amplified fragment length polymorphism, AFLP) 分子标记技术<sup>[2]</sup> 是 20 世纪 90 年代发展起来的分子标记技术,已在

遗传多样性分析<sup>[3-6]</sup>、种质鉴定<sup>[7-9]</sup>、遗传图谱的构建<sup>[10-11]</sup>及仔稚鱼鉴定<sup>[12-13]</sup>等研究中发挥了重要作用。例如,王晓清等<sup>[13]</sup>曾利用 AFLP 技术对大黄鱼♀与黑鲷♂的杂交后代进行遗传分析,证明杂交子代为异精雌核发育个体。与其它分子标记相比,AFLP 具有信息量大、灵敏度高、多态性丰富、稳定性好等优点,而且不需要事先知道研究对象的 DNA 序列信息,可以应用在不同的物种。因此,为了评估大黄鱼♀与黄姑鱼♂杂交 F<sub>1</sub> 在良种培育与遗传学研究中的应用潜力,为合理开发管理种质材料提供科学依据,本研究利用 AFLP 标记研究了亲本基因向在 2 个杂交 F<sub>1</sub> 家系初孵仔鱼中传递和分离方式。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 试验材料

杂交试验于 2008 年 10 月在福建省宁德市水

收稿日期:2009-12-22 修回日期:2010-03-11

资助项目:国家“八六三”高技术研究发展计划(2006AA10A405);福建省农业科技条件平台建设(2008N2004-1);集美大学创新团队基金(2006A001);中国科学院海洋生物资源可持续利用重点实验室开放基金(LMB091007)

通讯作者:王志勇, Tel:0592-6183816, E-mail:zywang@jmu.edu.cn

产技术推广站试验场进行。从养殖在官井洋海区网箱的 2 周龄的候选亲本群体中挑选性腺发育良好、体形正常,体表无外伤的雌雄个体,选择的大黄鱼雌鱼体长分别为 27.6 cm 和 28.2 cm,雄鱼体长分别为 26.8 cm 和 26.0 cm,黄姑鱼雄鱼体长分别为 24.8 cm 和 27.5 cm。注射 LRH-A<sub>3</sub> 进行催产,雌鱼催产剂量为 1 μg/kg,雄鱼减半,催产水温为 25.8 ℃。达到效应时间(36 h)后人工挤取精卵进行干法授精,将每尾大黄鱼的卵分成两份,大部分用于异种杂交,小部分用于自繁对照。之后分别剪取雌、雄亲鱼部分胸鳍固定于 95% 乙醇中。受精卵孵化在孵化桶内进行。取初孵仔鱼固定于 95% 乙醇中用于 AFLP 分析。为简便起见,将 2 个大黄鱼(♀)与黄姑鱼(♂)杂交 F<sub>1</sub> 家系分别记为 HF1 和 HF2,2 条大黄鱼母本分别记为 d1 和 d2,2 条黄姑鱼父本分别记为 h1 和 h2。

### 1.2 基因组 DNA 的提取

剪取保存在 95% 乙醇中的亲鱼鳍条用上海生物工程公司的基因组 DNA 纯化试剂盒提取亲本 DNA。初孵仔鱼用蛋白酶 K + 苯酚/氯仿法抽提 DNA。为确保 DNA 样品的质量,对提取的 DNA 样品进行琼脂糖凝胶电泳检测,用紫外分光光度计测定 OD<sub>260</sub> 和 OD<sub>280</sub>。将 DNA 浓度调至 50 ng/μL,保存于 -20 ℃ 备用。

### 1.3 AFLP 分析

AFLP 方法参照 Vos 等<sup>[2]</sup>和王志勇等<sup>[14]</sup>的方法。实验所用接头、预扩增引物和选择性扩增引物均由 Invitrogen 公司合成,选择性扩增引物对序列为 E-AGG/M-CTG, E-AAG/M-CAG, E-AAG/M-CTC, E-AGG/M-CTC, E-AAC/M-CAG, E-ACC/M-CAA, E-AAG/M-CAA 和 E-AGG/M-CAA,其中 E-代表 GACTGCGTACCAATTC, M-代表 GATGAGTCCTGAGTAA。用 6% 的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳结合银染法检测 AFLP 扩增产物。

### 1.4 数据处理

将 8 对引物的 AFLP 扩增图谱合并分析,每个扩增片段视为 1 个位点,按有带(显性表型)记为 1,无带(隐性表型)记为 0,将 AFLP 指纹图谱转换成 1 和 0 构成的数字矩阵。用 AFLP data analyzer<sup>[14]</sup> 计算各群体间的相似系数和遗传距离,将计算结果输入 MEGA 4.1 软件中,用 UPGMA 方法进行聚类分析,构建聚类图<sup>[15]</sup>。其

中,相似系数按 Lynch<sup>[16]</sup> 的公式计算,即:  $S_{ij} = 2N_{ij}/(N_i + N_j)$ , 式中  $S_{ij}$  为相似系数,  $N_{ij}$  为个体  $i$  与  $j$  共有的片段的数量,  $N_i, N_j$  分别为个体  $i$  与  $j$  各具有片段的数量。遗传距离按 Nei 等<sup>[17]</sup> 的方法计算,即:  $D = -\ln S$ , 式中  $S$  为相似系数。

根据亲本的表型及其在 F<sub>1</sub> 代的分离情况推断亲本的基因型及其预期分离比。双亲表型皆为显性性状(有带),杂交后代性状分离(部分个体有带,部分个体无带)的位点,交配类型为 Aa × Aa,后代预期分离比为 3:1。亲本一方表型为显性性状(有带),另一方表型为隐性性状(无带),性状在后代中分离,交配类型为 Aa × aa,预期分离比为 1:1。按显性型频率 = 有带个体数/总个体数,计算各分离位点的显性表型频率。用卡方检验检测 AFLP 标记在杂交后代中的分离是否符合孟德尔分离规律(显著性水平  $P = 0.05$ )。

## 2 结果

### 2.1 受精率、孵化率和仔鱼成活率

杂交家系(HF1 和 HF2)和对照组(大黄鱼自繁家系 HFC1 和 HFC2)的受精率、孵化率和 1 月龄时的成活率列于表 1,杂交家系的受精率与孵化率与 HFC1 自繁家系相当。但是,杂交家系的成活率极低, HF1 在孵化时约有 1 万尾,孵出后 1~2 周内大量死亡,孵化后 1 个月 HF1 尚存活 17 尾; HF2 杂交仔鱼在孵出后 1~2 周内逐渐死亡,没有个体存活下来。

表 1 杂交家系和对照组的受精率、孵化率和成活率  
Tab.1 Fertilization rate, hatching rate and survival rate of *P. crocea* ♀ × *N. albiflora* ♂ hybrids and control group

家系 family	受精率(%) fertilization rate	孵化率(%) hatching rate	成活率(%) survival rate
HF1	33.33	95.00	0.17
HFC1	37.84	96.06	88.00
HF2	44.12	67.80	0.00
HFC2	40.00	53.49	81.33

注: HFC1 和 HFC2 分别为 HF1 和 HF2 的自繁对照组。

Notes: HFC1 and HFC2 were the control of HF1 and HF2, respectively.

### 2.2 AFLP 标记在杂交 F<sub>1</sub> 初孵仔鱼中的传递与分离

采用 8 对选择性引物对杂交家系 HF1 ( $n = 30$ ) 和 HF2 ( $n = 36$ ) 初孵仔鱼及其亲本进行扩增,分别得到 478 和 448 个条带。图 1 为引物组合 E-ACC/M-CAA 对两个杂交家系的扩增 AFLP 图谱的一部分。

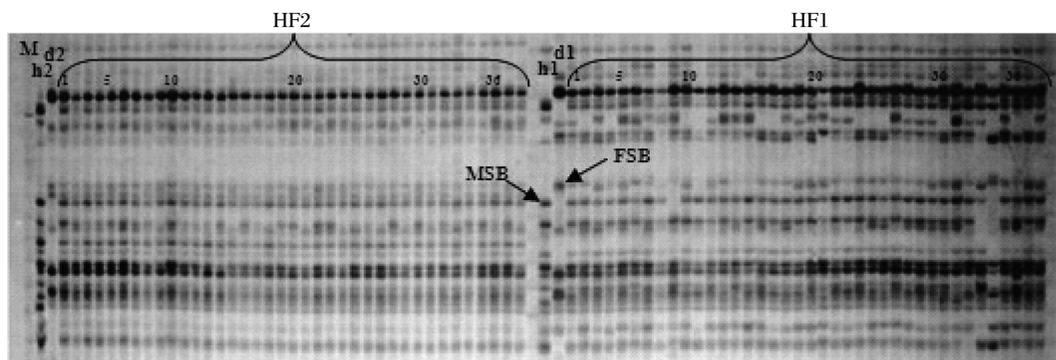


图1 AFLP引物组合E-ACC/M-CAA对两个杂交家系亲本和F<sub>1</sub>的扩增结果

FSB. 母本特异条带;MSB. 父本特异条带;HF1和HF2. 杂交家系1和杂交家系2后代;d1和d2. 家系1和家系2母本(大黄鱼);h1和h2. 家系1和家系父本(黄姑鱼);M为Marker。

Fig. 1 AFLP profiles of hybrid F<sub>1</sub> and their parents by using E-ACC/M-CAA primer combination

FSB. female specific band; MSB. male specific band; HF1 and HF2. progenies of hybrid family 1 and hybrid family 2; d1 and d2. female parent of HF1 and HF2; h1 and h2. male parent of HF1 and HF2; M. DNA Marker.

AFLP标记在两个杂交家系F<sub>1</sub>中的传递与分离如表2所示。两个家系的亲本所扩增出的母本特异条带(FSB)、父本特异条带(MSB)和共有条带(MuB)全部可以在杂交后代中检出。此外, HF2杂交后代中还检出了aag-caa440和agg-ctc205 2条非亲条带(NPB)。HF1中, 121条(56.3%)FSB、115条(69.7%)MSB和93条(94.9%)MuB传递给全部杂交后代, 94条(43.7%)FSB、50条(30.3%)MSB和5条(5.1%)MuB在杂交F<sub>1</sub>中分离。HF2中, 154条

(79.0%)FSB、130条(79.8%)MSB和86条(97.7%)MuB传递给全部杂交后代, 41条(21.0%)FSB、33条(20.0%)MSB和2条(2.3%)MuB在杂交F<sub>1</sub>中发生了分离。HF2分离位点的比例略低于HF1, 表现出较低的多态性。在HF1中分离的FSB和MSB中分别有17.0%和24.0%表现为偏分离, 在HF2中分离的FSB和MSB中分别有34.1%和24.2%偏分离。两个家系中, FSB和MSB分离位点的平均显性表型频率都没有显著性差异(表3)。

表2 AFLP标记在两个杂交家系F<sub>1</sub>中的传递与分离

Tab. 2 Inheritance and segregation pattern of AFLP markers in the hybrid F<sub>1</sub> of *P. crocea* (♀) × *N. albiflora* (♂)

家系 family	位点类型 type of loci	位点数 no. loci	未分离位点(%) non-segregated loci	分离位点(%) segregated loci	偏分离位点(%) distorted segregated loci
HF1	FSB	215	121(56.3)	94(43.7)	16(17.0)
	MSB	165	115(69.7)	50(30.3)	12(24.0)
	MuB	98	93(94.9)	5(5.1)	2(40.0)
	NPB	0	-	-	-
HF2	FSB	195	154(79.0)	41(21.0)	14(34.1)
	MSB	163	130(79.8)	33(20.2)	8(24.2)
	MuB	88	86(97.7)	2(2.3)	0(0.0)
	NPB	2	1(50.0)	1(50.0)	1(100.0)

### 2.3 遗传距离与相似系数分析

根据AFLP指纹图谱, 计算得到母本、父本和F<sub>1</sub>代之间的遗传相似系数和遗传距离, 见表4。两家系中, 父母本的遗传距离分别为1.078和1.088。HF1和HF2杂交后代与母本之间的

遗传距离分别为0.301和0.274, 与父本之间遗传距离分别为0.339和0.346。HF1与HF2两个家系后代之间的平均遗传距离和平均相似系数分别为0.143和0.867。用UPGMA方法构建的聚类关系如图2, 该图直观地显示了两家系

杂交后代与亲本之间的亲缘关系。

表 3 父本特异位点和母本特异位点在两家系中的平均表型频率

Tab.3 Average frequency of dominant phenotype of female parent-specific loci and male parent-specific loci in two hybrid families of *P. crocea* (♀) × *N. albiflora* (♂)

家系 family	FSB	MSB
HF1	0.54 ± 0.16 <sup>a</sup>	0.58 ± 0.18 <sup>a</sup>
HF2	0.59 ± 0.16 <sup>a</sup>	0.56 ± 0.15 <sup>a</sup>

表 4 两个家系内 F<sub>1</sub> 与亲本间以及两家系间的平均遗传距离(上三角)和平均相似系数(下三角)

Tab.4 Average genetic distance (above diagonal) and genetic similarity (below diagonal) between F<sub>1</sub> and their parents in the two hybrid families and between the two families of *P. crocea* (♀) × *N. albiflora* (♂)

	HF1	d1	h1	HF2	d2	h2
HF1	-	0.301	0.339	0.143	0.398	0.404
d1	0.740	-	1.078	0.371	0.176	1.088
h1	0.713	0.340	-	0.394	1.11	0.089
HF2	0.867	0.690	0.675	-	0.274	0.346
d2	0.671	0.839	0.330	0.760	-	1.11
h2	0.668	0.337	0.914	0.708	0.330	-

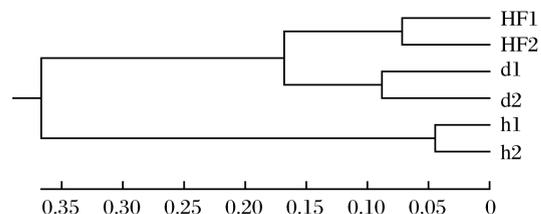


图 2 根据 AFLP 指纹用 UPGMA 法构建的亲缘关系图

Fig.2 Phylogenetic tree based on AFLP fingerprints of F<sub>1</sub> and their parents using UPGMA method

### 3 讨论

AFLP 技术是最可靠的分子标记技术之一,具有灵敏度高、信息量大等特点。大黄鱼与黄姑鱼是同科不同属鱼类,它们的 AFLP 指纹图谱存在较大差异。例如, HF1 中 FSB 和 MSB 分别为 215 条和 165 条,共有条带仅有 98 条。根据 AFLP 数据,本研究中两家系父母本的遗传距离分别为 1.078 和 1.088。因此, AFLP 指纹可以用于鉴别 2 个物种与快速分析正反交 F<sub>1</sub> 的遗传物质组成。

远缘杂交 F<sub>1</sub> 的基因组构成具有一定的不可预见性,从遗传本质上看,能够存活的远缘杂交 F<sub>1</sub> 成体可能是异源二倍体、异源多倍体、雌核发育

单倍体、雌核发育二倍体、雄核发育单倍体或雄核发育二倍体,甚至同一个杂交试验也可能同时产生遗传本质不同的后代<sup>[15]</sup>。本研究中, 56.3% 的 FSB 和 69.7% MSB 传递给 HF1 全部杂交后代, 79.0% 的 FSB 和 79.8% 的 MSB 传递给 HF2 全部杂交后代。这表明, 大黄鱼♀ × 黄姑鱼♂ 杂交 F<sub>1</sub> 在初孵仔鱼阶段同时含有大黄鱼和黄姑鱼的基因。

本研究结果显示, 大黄鱼♀ × 黄姑鱼♂ 杂交 F<sub>1</sub> 遗传上略偏向于母本(大黄鱼)。HF1 和 HF2 杂交后代与母本之间的遗传距离分别为 0.301 和 0.274, 与父本之间的遗传距离分别为 0.339 和 0.346。水产生物种间杂交产生遗传上偏于一方亲本的例子屡见不鲜, 如大黄鱼♀ 与黑鲷♂ 杂交 F<sub>1</sub> 与大黄鱼母本之间具有极高的遗传同质性<sup>[13]</sup>, 银大马哈鱼 (*Oncorhynchus kisutch*) 与溪红点鲑 (*Salvelinus fontinalis*) 杂交后代染色体数目与母本相符<sup>[18]</sup>, 合浦珠母贝 (*Pinctada fucata*) × 长耳珠母贝 (*P. chemnitzii*)、合浦珠母贝 × 大耳珠母贝杂交 F<sub>1</sub> 核型及同工酶谱均与合浦珠母贝一致<sup>[19-20]</sup>, 栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*) ♀ × 华贵栉孔扇贝 (*C. nobilis*) ♂ 杂交、栉孔扇贝 × 虾夷扇贝正反杂交 F<sub>1</sub> 幼虫在遗传上明显地偏向母本<sup>[21-22]</sup>。Fujiwara 等<sup>[23]</sup> 应用基因组荧光原位杂交 (GISH) 发现马苏大马哈鱼♀ × 虹鳟♂ 杂交子代在发育过程中有选择性地丢失父本染色体。染色体丢失可能是造成杂交 F<sub>1</sub> 遗传偏于一方亲本的原因之一。但是本研究中, FSB 和 MSB 分离位点的平均显性表型频率在两个家系中都没有显著性差异, 说明大黄鱼♀ × 黄姑鱼♂ 杂交 F<sub>1</sub> 初孵仔鱼中的父源基因和母源基因并没有明显的选择性丢失现象。母本检出条带多于父本可能才是造成计算遗传距离偏差的原因; 而这显然与杂交子代只拥有母本的线粒体 DNA 有关。

在两个杂交家系后代中分离的多态位点比例不同, 两家系中多态位点分别为 31.17% 和 17.19%, 其中大黄鱼(母本)特有多态位点分别为 94 和 41 个, 多态位点检出水平与种内杂交 F<sub>1</sub> 相当。Ning 等<sup>[10]</sup> 在大黄鱼遗传图谱构建中, 用 64 对选择性引物扩增了种内杂交 F<sub>1</sub> 的 AFLP 标记, 其中本研究所利用的 8 对引物扩增得到 77 个多态位点。另外, 两杂交家系还检出了黄姑鱼(父本)特有多态位点分别为 94 和 41 个。因此,

大黄鱼与黄姑鱼杂交  $F_1$  可以作为资源家系,用于同时构建两个物种的遗传图谱。

此外,两杂交家系后代中还出现较高比例偏离孟德尔规律分离位点。HF1 中多态 FSB 和多态 MSB 中分别有 17.0% 和 24.0% 偏分离, HF2 中多态 FSB 和多态 MSB 中分别有 34.1% 和 24.2% 偏分离。偏离孟德尔分离位点比例略高于 Ning 等<sup>[10]</sup> 在大黄鱼种内杂交家系检测结果(雌性 13.9%, 雄性 15.7%)。AFLP 标记偏离孟德尔分离的现象在其他物种中也普遍存在,并且在不同物种间存在很大差异。牡蛎(*Crassostrea virginica*)的偏分离比例为 8.2%<sup>[24]</sup>, 合浦珠母贝 45.1%<sup>[25]</sup>, 皱纹盘鲍(*Haliotis hannai*) 25.9% ~ 33.9%<sup>[20,26]</sup>, 尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*) 8.0%<sup>[27]</sup>, 虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*) 13.3%<sup>[11]</sup>, 斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*) 16.6%<sup>[28]</sup>。总的来看,本研究两杂交家系子代中偏分离位点比例处于中等偏高水平。目前学界认为出现偏分离位点的可能原因包括:(1) 样本量太小造成的取样误差;(2) 杂交细胞中染色体发生结构重排、缺失、插入和突变等也可能导致偏分离<sup>[29]</sup>; (3) AFLP 片段的同形性(homoplasmy)也可能产生偏分离,即同一大小的扩增片段来自不同位点的扩增,这样该片段就不具有遗传一致性,从而产生偏分离<sup>[25]</sup>。

除了来自父母亲本的位点外,在 HF2 中还出现了 2 条非孟德尔遗传的非亲条带(0.45%)。远缘杂交子代出现非亲位点的现象较为常见。万俊芬等<sup>[21]</sup> 用 ISSR 分析栉孔扇贝和华贵栉孔扇贝杂交家系幼体中发现,非亲位点的比例为 16.7% ~ 18.7%。何斌等<sup>[22]</sup> 发现栉孔扇贝 × 虾夷扇贝正反杂交子代中分别有 12.9% 和 14.3% ISSR 位点为非亲位点。非亲位点可能来源于不同长度的扩增片段之间形成的异源双链<sup>[30]</sup>, 或者由于配子形成过程中染色体的不等价交换产生的新序列<sup>[29]</sup>。

研究结果还表明,虽然杂交家系的受精率与孵化率与自繁家系相当,但仔鱼成活率极低(低于 0.2%)。早期发育阶段成活率低的现象同样见于其他鱼类和贝类远缘杂交,这是杂交不亲和的体现。如王晓清等<sup>[13]</sup> 开展大黄鱼 ♀ 与黑鲡 ♂ 杂交,5 月龄时鱼苗成活率只有 0.65%; 草鲤杂交出苗率仅为十万分之一<sup>[31]</sup>。合浦珠母贝、长耳珠母贝和大珠母贝之间杂交时,12 次杂交试验仅 5

次收到极少量贝苗,收苗率仅为 0.01% ~ 0.04%<sup>[32]</sup>。

根据本研究结果,我们至少可以对大黄鱼 ♀ × 黄姑鱼 ♂  $F_1$  的应用提出 3 点建议:(1) 大黄鱼 ♀ × 黄姑鱼 ♂ 杂交  $F_1$  初孵仔鱼含有双亲基因组,是构建两物种遗传图谱的好材料;(2) 大黄鱼 ♀ × 黄姑鱼 ♂ 杂交具有较高的受精率及存活率极低,因此遗传失活的黄姑鱼精子是诱导大黄鱼雌核发育的合适精源,与大黄鱼精子相比可以避免未失活精子的遗传污染;(3) 大黄鱼 ♀ × 黄姑鱼 ♂ 杂交成活率极低,不可能直接利用杂交  $F_1$ ,但仍可能在少数存活后代中寻找到的育种中间材料。

#### 参考文献:

- [1] 王德祥,苏永全,王世锋,等. 异源精子诱导大黄鱼雌核发育的研究[J]. 高技术通讯,2006,16(11): 1206 - 1210.
- [2] Vos P, Hogers R, Bleeker M, et al. AFLP; a new technique for DNA fingerprinting[J]. Nucleic Acids Research, 1995, 23(21): 4407 - 4414.
- [3] Wang Z, Jayasanka P, Khoo S K, et al. AFLP fingerprinting reveals genetic variability in common carp stocks from Indonesia [J]. Asian Fisheries Science, 2000, 13(2): 139 - 147.
- [4] 韩志强,高天翔,王志勇,等. 黄姑鱼群体遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 水产学报,2006,30(5): 640 - 646.
- [5] 王志勇,王艺磊,林利民,等. 福建官井洋大黄鱼 AFLP 指纹多态性的研究[J]. 中国水产科学, 2002, 9(3): 198 - 202.
- [6] 马洪雨,陈松林,田永胜,等. 我国引进条斑星鲽群体遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 水产学报,2008, 32(3): 321 - 326.
- [7] Wang Z Y, Tsoi K H, Chu K H. Applications of AFLP technology in genetic and phylogenetic analysis of penaeid shrimp [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2004, 32(4): 399 - 407.
- [8] Congiu L, Dupanloup I, Patarnello T, et al. Identification of interspecific hybrids by amplified fragment length polymorphism: the case of sturgeon [J]. Molecular Ecology, 2001, 10(9): 2355 - 2359.
- [9] Liu Z, Nichols A, Li P, et al. Inheritance and usefulness of AFLP markers in channel catfish (*Ictalurus punctatus*), blue catfish (*I. furcatus*), and their  $F_1$ ,  $F_2$ , and backcross hybrids [J]. Molecular and General Genetics MGG, 1998, 258(3):

- 260-268.
- [10] Ning Y, Liu X, Wang Z, *et al.* A genetic map of large yellow croaker *Pseudosciaena crocea* [J]. *Aquaculture*, 2007, 264(1):16-26.
- [11] Young W P, Wheeler P A, Coryell V H, *et al.* A detailed linkage map of rainbow trout produced using doubled haploids [J]. *Genetics*, 1998, 148(2):839-850.
- [12] 张俊彬, 黄良民, 陈真然. AFLP 技术在笛鲷的仔鱼鉴定及其分类学上的研究[J]. *海洋学报*, 2005, 27(2):165-171.
- [13] 王晓清, 王志勇, 谢中国, 等. 大黄鱼(♀)与鲷鱼(♂)杂交的遗传分析[J]. *水产学报*, 2008, 32(1):51-57.
- [14] 王志勇, 王艺磊, 林利民, 等. 利用 AFLP 指纹技术研究中国沿海真鲷群体的遗传变异和趋异[J]. *水产学报*, 2001, 25(4):289-293.
- [15] Chevassus B. Hybridization in fish[J]. *Aquaculture*, 1983, 33(1-4):245-262.
- [16] Lynch M. The similarity index and DNA fingerprinting[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 1990, 7(5):478-484.
- [17] Nei M, Li W. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, 76(10):5269-5273.
- [18] Uyeno T. Chromosomes of offspring resulting from crossing coho salmon and brook trout [J]. *Japanese Journal of Ichthyology*, 1972, 19(3):166-171.
- [19] 姜卫国, 魏贻尧, 李刚. 合浦珠母贝、长耳珠母贝和大珠母贝种间人工杂交的研究 II. 受精过程和杂交后代的染色体观察[J]. *热带海洋*, 1983, 2(4):316-320.
- [20] 李刚, 姜卫国, 魏贻尧. 合浦珠母贝、长耳珠母贝和大珠母贝种间人工杂交的研究同工酶谱的比较研究[J]. *水产学报*, 1983, 2(4):321-327.
- [21] 万俊芬, 包振民, 刘广绪, 等. 扇贝种间单对杂交一代幼虫 ISSR 标记的分离方式[J]. *高技术通讯*, 2004(5):82-87.
- [22] 何斌, 杨爱国, 王清印, 等. 栉孔扇贝 × 虾夷扇贝单对杂交子一代幼虫 ISSR 标记的分离方式[J]. *海洋水产研究*, 2007, 28(6):32-38.
- [23] Fujiwara A, Abe S, Yamaha E, *et al.* Uniparental chromosome elimination in the early embryogenesis of the inviable salmonid hybrids between masu salmon and rainbow trout male [J]. *Chromosoma*, 1997, 106:44-52.
- [24] Yu Z N, Guo X M. Genetic linkage map of the eastern oyster *Crassostrea virginica* Gmelin [J]. *Biol Bull*, 2003, 204:327-338.
- [25] 王小玉, 俞达辉, 黄桂菊, 等. 合浦珠母贝印度家系 F<sub>1</sub> 代的 AFLP 分析[J]. *中国水产科学*, 2007, 14(1):52-58.
- [26] 刘贤德, 刘晓, 张国范. 皱纹盘鲍杂交 F<sub>1</sub> AFLP 标记偏分离现象初析[J]. *海洋科学*, 2007, 31(10):70-76.
- [27] Kocher T D, Lee W J, Sobolewska H, *et al.* A genetic linkage map of a cichlid fish, the tilapia *Oreochromis niloticus* [J]. *Genetics*, 1998, 148:1225-1232.
- [28] Liu Z J, Karsi A, Li P, *et al.* An AFLP-based genetic linkage map of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) constructed by using an interspecific hybrid resource family [J]. *Genetics*, 2003, 165(2):687-694.
- [29] 房经贵, 章镇, 马正强, 等. AFLP 标记在两个芒果品种间杂交代的多态性及分离方式[J]. *中国农业科学*, 2000, 33(3):19-24.
- [30] Ayliffe M A, Lawrence G J, Ellis J G, *et al.* Heteroduplex molecules formed between allelic sequences cause nonparental RAPD bands [J]. *Nucleic Acids Res*, 1994, 22:1632-1636.
- [31] 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.
- [32] 魏贻尧, 姜卫国, 李刚. 合浦珠母贝、长耳珠母贝和大珠母贝种间人工杂交的研究 I. 人工杂交和杂交后代的观察[J]. *热带海洋*, 1983, 2(4):309-315.

**Amplified fragment length polymorphism analysis on newly hatched hybrid fries between *Pseudosciaena crocea* ♀ and *Nibea albiflora* ♂**

LIU Ying, CAI Ming-yi, LIU Xian-de, WANG Zhi-yong\*

(The Key Laboratory of Science and Technology for Aquaculture and Food Safety, Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China)

**Abstract:** In order to assess the potential applications of hybrid  $F_1$  between *Pseudosciaena crocea* ♀ and *Nibea albiflora* ♂ in the genetic breeding and the basic research, the inheritance and segregation patterns of AFLP markers in the offspring of two hybrid families (HF1 and HF2) were investigated. Totally, 478 and 446 fragments were detected in two pairs of parents by using 8 selective primer combinations, respectively. In the parents of HF1, the amplified fragments included 215 female parent-specific bands (FSB), 165 male parent-specific bands (MSB) and 98 mutual bands (MuB). All of these fragments were transmitted to the hybrid offspring. Among these fragments, 121 (56.3%) FSB, 115 (69.7%) MSB and 93 (94.9%) MuB were transmitted to all the offspring, while the other loci were segregated in the offspring. The level of polymorphism of the FSB was comparable to that in the intraspecific hybrid  $F_1$ . There was no significant difference between the average frequency of the segregated FSB and that of the segregated MSB. The inheritance and segregation patterns of AFLP markers in HF2 were similar to those in HF1, except that the proportion of segregated loci in HF2 was lower than that in HF1 and 2 non-parental bands were detected in HF2. In addition, a relative high proportion of loci showing distorted segregation was found in both HF1 and HF2. These results suggested that the newly hatched hybrid fries between *P. crocea* ♀ and *N. albiflora* ♂ contained the genome of both parents, and the phenomenon of uniparental gene elimination was not obvious. The findings would serve as the basis for further development and management of the hybrids.

**Key words:** *Pseudosciaena crocea*; *Nibea albiflora*; interspecific hybridization; amplified fragment length polymorphism (AFLP)

**Corresponding author:** WANG Zhi-yong. E-mail: zywang@jmu.edu.cn