

奥利亚罗非鱼(♀)×鳊(♂)远缘杂交子代的遗传结构

王金龙^{1,2}, 杨弘^{1,2}, 吴婷婷², 张志伟^{1,2}

(1. 南京农业大学 无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081; 2. 中国水产科学研究院 淡水渔业研究中心, 农业部水生动物遗传育种和养殖生物学重点开放实验室, 江苏 无锡 214081)

摘要:采用 RAPD 和测序的方法, 对奥利亚罗非鱼(*Oreochromis aurea*)(♀)与鳊(*Siniperca chuatsi*)(♂)的杂交子代组合与父母本的遗传关系进行研究, 探讨远缘杂交双亲对子代遗传结构的影响。其中, 杂交子代包括 A、B、C 3 个组合, A 组合为奥利亚罗非鱼与鳊杂交的 F₁ 代; 因 A 组合无雄性, 将其与奥利亚罗非鱼(母本)的雄性回交, 所得子代为 B 组合; C 组合为 B 组合间兄妹交的自交子代。结果表明, 奥利亚罗非鱼、鳊、A、B 和 C 组合的多态位点比例分别为 19.32%、15.30%、41.33%、29.80% 和 32.31%。奥利亚罗非鱼和鳊间的遗传相似性系数和遗传距离分别为 0.288 5 和 1.243 2。A、B、C 组合与父本的遗传相似性系数分别为 0.343 4、0.293 7、0.328 7, 遗传距离分别为 1.068 9、1.225 1、1.112 5; 与母本的遗传相似性系数分别为 0.903 7、0.916 8、0.922 5, 遗传距离分别为 0.101 3、0.086 9、0.080 7。本研究中找到一个在杂交 A、B 及 C 组合均出现的与父本共有的条带。测序结果表明, 该条带长 362 bp, 在子代与父本中的一致性为 100%。研究结果说明, 奥利亚罗非鱼和鳊杂交子代中导入了父本遗传物质, 导致子代组合的多态性增加, 与父本的遗传差异变小, 而且, 这些遗传物质能稳定进行遗传; 随着 A 组合与母本的回交及 B 组合的自交, 又使得杂交子代的遗传结构向母本靠近。[中国水产科学, 2007, 14(1): 32—38]

关键词:奥利亚罗非鱼; 鳊; 远缘杂交; 子代; 遗传结构

中图分类号:S917 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-8737-(2007)01-0032-07

远缘杂交(Distant hybridization)是指种间、属间乃至亲缘关系更远的生物类别之间的杂交^[1]。远缘杂交在水产养殖上具有多方面的应用, 如杂种优势利用、性别控制以及诱导多倍体、雌核发育和雄核发育等。国内外学者进行了多种鱼类间的远缘杂交研究^[1-3], 但多集中于亚科以下的杂交, 在科以上水平杂交且成功得到后代的例子, 在中国仅见于奥利亚罗非鱼(*Oreochromis aurea*)和鳊(*Siniperca chuatsi*)之间^[4-5]。奥利亚罗非鱼属鲈形目(Perciformes), 鲷鱼科(Cichlidae), 为世界性养殖品种, 但耐低温能力较差。鳊属鲈形目, 鲈科(Serranidae), 该科鱼类味道鲜美, 但需终生摄食鲜活饵料。吴婷婷等^[6]的研究表明, 奥利亚罗非鱼和鳊相同器官中的 LDH 基因表达基本一致, 而且总的 LDH 酶谱也很相似, 因此预测它们之间可以杂交, 并能得到具有双亲优良性状的杂交后代。2001 年, 本实验室开展

了二者间的杂交, 经过多次实验, 成功地得到了奥利亚罗非鱼(♀)×鳊(♂)的杂交子代(F₁)。外部形态研究表明, 杂交 F₁ 外形接近于母本奥利亚罗非鱼, 某些特征则与父本鳊相似^[4]。对 F₁ 组合与父母本遗传关系的初步研究同样证明, F₁ 在继承大部分母本奥利亚罗非鱼遗传物质的同时, 也组合了部分父本鳊的遗传物质^[5]。经多年对 F₁ 的繁殖和选育, 本实验室目前已获得奥利亚罗非鱼与鳊杂交 F₁ 组合、杂交 F₁ 与奥利亚罗非鱼的回交组合及回交组合间兄妹交配得到的自交组合。远缘杂交双亲对这些子代组合的遗传结构有何影响, 导入 F₁ 的父本遗传物质是否已进入子代基因组中, 能否稳定遗传至下一代, 乃至更远? 目前尚不得而知。蒋一^[7]等^[7]在研究鱼类的异精效应时曾提出片段 DNA 杂交假说, 认为在整体 DNA 分子间互不亲和, 如鱼类的人为远缘婚配时, 可能发生片段 DNA 杂交, 但目前尚

收稿日期: 2006-04-17; 修订日期: 2006-07-20.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30371116); 国家 863 高新技术研究与发展计划项目(2004AA243060); 国家“十五”攻关专题(2004BA526B0110).

作者简介: 王金龙(1975-), 男, 博士研究生, 主要从事鱼类生物技术研究. E-mail: wangjl01@sohu.com

通讯作者: 吴婷婷. E-mail: wutt@ffrc.cn

缺乏直接的证据。因此,加深对奥利亚罗非鱼和鳊杂交子代的研究既可为其进一步选育提供方向,亦能为研究鱼类远缘杂交的机理提供理论依据。本项研究采用 RAPD 和测序的方法,对杂交子代组合与父、母本间的遗传关系做了进一步研究,通过比较子代和父母本基因组 DNA 之间的差异,探讨双亲遗传物质在杂交子代上的呈现及对子代遗传结构的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究中所用奥利亚罗非鱼、鳊及其杂交子代均来自中国水产科学研究院淡水渔业研究中心实验场,每组各随机选取 10 尾。其中,奥利亚罗非鱼为 1983 年从美国奥本大学引进的奥利亚罗非鱼的后裔,杂交 F_1 组合为该品系奥利亚罗非鱼(♀)与鳊(♂)杂交所得的子一代(以下称为 A 组合),因 F_1 组合无雄性,将其与母本奥利亚罗非鱼中的雄性回交,所得子代称为回交组合(以下称为 B 组合),回交组合间兄妹交所生子代称为自交组合(以下称为 C 组合)。

1.2 基因组 DNA 提取

采用酚/氯仿抽提法提取基因组 DNA。尾静脉采血,ACD(柠檬酸 0.48 g,柠檬酸钠 1.32 g,葡萄糖 1.47 g,溶于 100 mL 蒸馏水)抗凝,4 ℃静置 4 h,吸取 50 μ L 抗凝血在消化液(10 mmol/L Tris-HCl pH 8.0,100 mmol/L EDTA pH 8.0,0.5% SDS,100 μ g/mL 蛋白酶 K)中 55 ℃水浴消化过夜,再依次用饱和酚、酚/氯仿、氯仿/异戊醇抽提除蛋白,乙醇沉淀,TE 溶解 DNA。紫外分光光度法和电泳法确定浓度与质量。

1.3 RAPD 扩增

参考 Williams 等^[8]的 RAPD 反应体系。随机引物分别购自上海生工生物工程有限公司(引物编号前为 S)和上海申能博彩生物科技有限公司(引物编号前为 F),其余试剂均购自上海生物工程有限公司。

RAPD 反应程序为:95 ℃预变性 4.5 min;94 ℃变性 1 min,36 ℃退火 1 min,72 ℃延伸 2 min,共 40 个循环;最后在 72 ℃下充分延伸 10 min。

扩增产物在 1.5% 琼脂糖凝胶中电泳,电压为 100 V,EB 染色,在 ImageMasterVDS 影像仪中照相、记录。

1.4 RAPD 特异条带的回收、克隆和测序

利用 DNA 快速回收试剂盒(Omega 公司),从琼脂糖凝胶中回收子代与父本共有而母本中未出现的 RAPD 特异条带,纯化,连接入 pUCm-T 载体,转化于大肠杆菌(*E. coli*)DH5 α 菌株,酶切鉴定,送上海英俊生物技术公司测序。序列分析与比较采用 NCBI 网址(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)的相关软件进行。

1.5 数据分析

琼脂糖凝胶上出现的 DNA 条带,按出现记为 1,不出现记为 0,转换成数字矩阵,采用 PopGene32 (Version 1.31)进行分析。

多态位点比例: $P = \text{多态位点数} / \text{位点总数} \times 100\%$;

组合间遗传相似性系数根据 Nei^[9]的方法计算: $I = \sum (X_i Y_i) / \{ \sum (X_i)^2 \sum (Y_i)^2 \}^{1/2}$, X_i , Y_i 分别为 X 和 Y 组合第 i 个位点的基因频率;

组合间遗传距离: $D = -\ln I$ 。

2 结果与分析

2.1 不同子代组合间的遗传关系

本研究共从 106 个随机引物中筛选出 26 个在奥利亚罗非鱼、鳊及杂交子代中均能扩增出清晰条带的引物。对这 26 个引物的扩增条带进行统计,共得到 319 个扩增位点,单一引物扩增的总位点数介于 3 至 19 之间,鳊、奥利亚罗非鱼、A、B、C 组合的扩增位点与多态位点数详见表 1。从表 1 可知,奥利亚罗非鱼和鳊的多态位点比例较低,分别为 15.30% 和 19.32%,而 A、B、C 组合的多态位点比例分别为 41.3%、29.80%、32.31%,显示子代组合的多态性高于亲本。子代中以 A 组合多态位点比例最大,明显高于 B 和 C 组合。

杂交子代及双亲的遗传相似性和遗传距离见表 2。奥利亚罗非鱼和鳊间的遗传相似性系数和遗传距离为 0.288 5 和 1.243 2,A、B、C 子代组合与父本的遗传相似性均比父母本间的遗传相似性高,而与父本的遗传距离则均更小。杂交子代中,A 组合与父本鳊的遗传相似性系数最高,为 0.343 4,大于 B、C 组合,相对应地,杂交子代中 A 组合与父本的遗传距离最小,说明由于父本遗传物质的进入,导致 A 组合与父本的遗传相似性变大。A 组合与母本的遗传相似性最低,为 0.903 7,与母本的遗传距离最大,B 组合

为A组合与母本回交所得,其与母本的遗传距离较A组合小,遗传相似性更大。C组合为B组合自交所得,其遗传结构较B组合更向双亲靠近(图1)。

根据遗传距离绘制各个组合间的聚类分析图(图2)。A组合最接近于父本,而B、C组合向母本靠近,奥利亚罗非鱼、B、C 3个组合聚于1组。

表1 RAPD反应所用引物序列及在不同组合中的扩增位点数
Tab.1 RAPD primer sequences and polymorphic loci in different groups

引物 Primers	序列(5'-3') Sequences	总数 Total	鳊 <i>S. chuatsi</i>		奥利亚罗非鱼 <i>O. aurea</i>		A组合 A Group		B组合 B Group		C组合 C Group	
			L	PL	L	PL	L	PL	L	PL	L	PL
F01	ACGGATCCTG	11	5	0	8	0	8	3	8	1	8	0
F02	GAGGATCCCT	10	5	0	5	1	5	4	4	0	4	1
F03	CCTGATCACC	13	11	2	4	0	5	2	5	3	5	2
F04	GGTGATCAGG	11	8	3	5	3	5	3	6	3	5	1
F05	CCGAATTCCC	7	6	5	5	1	5	1	5	0	5	2
F06	GGGAATTTCGG	19	10	5	9	2	10	5	10	6	10	8
F07	CCGATATCCC	15	10	8	8	2	10	5	9	1	9	3
F08	GGGATATCGG	16	7	1	11	3	11	8	12	7	13	4
F09	CCAAGCTTCC	17	6	0	11	0	12	8	12	2	13	4
F10	GGAAGCTTGG	19	12	0	11	4	13	9	13	9	11	5
F12	ACGGTACCAG	9	5	0	4	0	7	4	6	2	6	3
F15	CCAGTACTCC	13	9	0	6	0	6	2	6	0	6	0
F19	CCTCTAGACC	7	2	0	3	1	4	2	5	4	3	1
S60	ACCCGGTCAC	16	9	1	10	2	11	1	11	4	11	5
S62	GTGAGGCGTC	12	7	0	5	1	4	0	4	0	5	1
S83	GAGCCCTCCA	16	5	0	14	1	14	4	14	0	14	3
S86	GTGCCTAACC	9	7	1	4	0	4	0	4	0	5	2
S142	GGTGCGGGAA	10	3	0	9	1	9	3	9	2	9	3
S145	TCAGGGAGGT	7	6	0	1	0	1	0	1	0	1	0
S187	TCCGATGCTG	13	3	0	7	0	9	6	11	5	9	2
S306	ACGCCAGAGG	19	11	1	14	3	14	4	13	4	13	5
S307	GAGCGAGGCT	7	5	0	4	0	4	0	4	0	4	0
S315	CAGACAAGCC	13	9	1	6	0	6	0	6	0	6	0
S318	GACTAGGTGG	3	3	0	1	0	1	0	1	0	1	0
S326	GTGCCGTTCA	15	8	5	8	0	9	3	10	3	10	4
S336	TCCCCATCAC	12	4	1	10	3	9	4	9	3	9	3
合计 Total		319	176	34	183	28	196	81	198	59	195	63
多态位点比例 Percentage of PL			19.32%		15.30%		41.33%		29.80%		32.31%	

注:L—一位点数;PL—多态位点数。

Note: L—Numbers of loci. PL—Numbers of polymorphic loci.

表 2 各组间的遗传相似性系数(对角线上)和遗传距离(对角线下)

Tab. 2 Genetic similarity indices(above diagonal) and genetic distance(below diagonal) between groups

组合 Groups	鳊 <i>S. chuatsi</i>	奥利亚罗非鱼 <i>O. aurea</i>	A 组合 A Group	B 组合 B Group	C 组合 C Group
鳊 <i>S. chuatsi</i>	—	0. 288 5	0. 343 4	0. 293 7	0. 328 7
奥利亚 <i>O. aurea</i>	1. 243 2	—	0. 903 7	0. 916 8	0. 922 5
A 组合 A Group	1. 068 9	0. 101 3	—	0. 928 7	0. 896 3
B 组合 B Group	1. 225 1	0. 086 9	0. 073 9	—	0. 937 4
C 组合 C Group	1. 112 5	0. 080 7	0. 109 4	0. 064 6	—

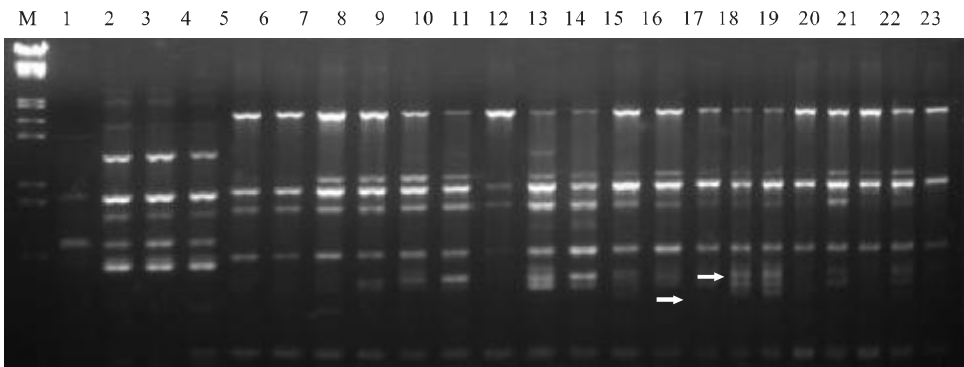


图 1 RAPD 电泳图谱

M:λDNA/*Eco*R I + *Hind* III Marker;1~4:奥利亚罗非鱼;5~8:鳊;9~13:A 组合;14~18:B 组合;19~23:C 组合. 箭头所示为 B 组合与双亲均具较大差异的条带,C 组合中这些条带表现不明显,表明其遗传结构较 B 组合更向双亲靠近。

Fig. 1 RAPD electrophoresis profile

M:λDNA/*Eco*R I + *Hind* III Marker;1~4:*O. aurea*;5~8:*S. chuatsi*;9~13:group A;14~18:group B;19~23:group C. Arrows show different bands between group B and parents. Those bands were not obvious in group C, which indicated the genetic structure of group C is more similar to parents than group B.

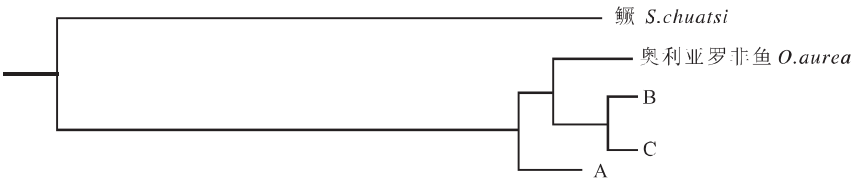


图 2 5 个组合间遗传距离的聚类分析示意图

Fig. 2 Sketch map of dendrogram based on genetic distance of five groups

2. 2 杂交子代与父本共有条带的克隆及测序

本研究中,发现引物 F12 在杂交 A、B、C 组合中均能扩增出与父本共有,而母本中未出现的 1 个条带(图 3)。分别从琼脂糖凝胶中回收子代和父本组合中该特异条带,克隆入载体送生物公司测序。结果显示,该条带在 A、B、C 与父本组合中的序列组

成一致性达 100%,说明杂交子代中该条带确实来自于父本。其长度为 362 bp,碱基序列见图 4。经 Blast 比对,该序列与人和小鼠(*Mus musculus*)基因组中部分染色体片段的同源性高达 40.1%~46.1%,但未发现与其具较高同源性的已知功能 DNA 序列。

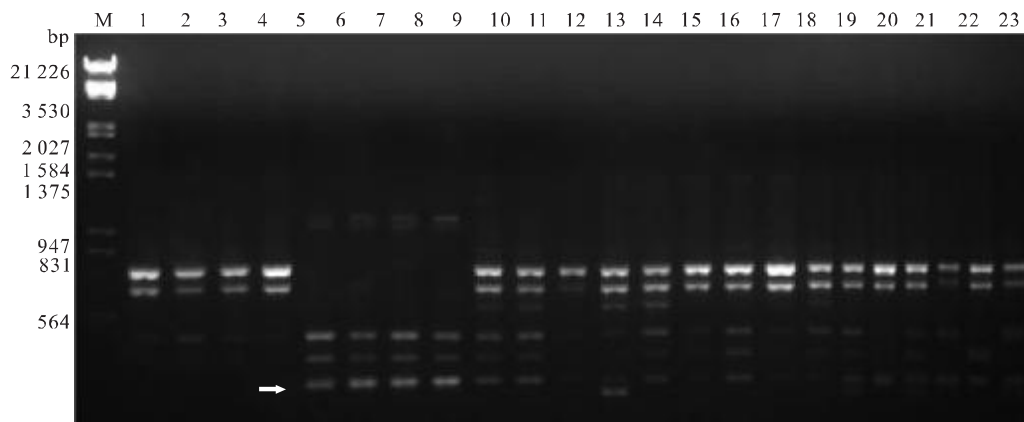


图 3 引物 F12 的 RAPD 电泳图谱

M: λ DNA/*Eco*R I + *Hind* III Marker; 1~4: 奥利亚罗非鱼; 5~8: 鳊; 9~13: A 组合; 14~18: B 组合; 19~23: C 组合. 箭头所示为子代与父本共有条带.

Fig. 3 RAPD electrophoresis profile of primer F12

M: λ DNA/*Eco*R I + *Hind* III Marker; 1~4: *O. aurea*; 5~8: *S. chuatsi*; 9~13: group A; 14~18: group B; 19~23: group C. Arrow shows the same band of *S. chuatsi* and offsprings.

ACGGTACCAG TGAGACATGAAATACAATCCAGGAAGTCCAGTCTGAGTAATAGATCCAGGAGTGTGA
AGGCTTATCACAGCAGTCTGTAAATCTTACAACCTCGGAAGTTATCAGACTACAAATATTTTCTTTC
A TCATCACCACGTGAGGTGAAGAGTAGAAATACAGCGTTCCCGTTTCAAAGTAATCTAACAGAAATG
TGCCTTGACGTAACCTGTGCCCTGCCAGGAAATGTCGTGTTGCGGTCCGGCATTGTTTTGC
GTAGCCCTGTGCGTTGGCAACCGCGCTCACTGCCACGGCGTCACTCGTGGGTCTGAGCGCAGGTCC
GTGCTTGGATCCC CTGGTACCGT

图 4 引物 F12 扩增产物的核酸序列

□表示引物序列

Fig. 4 Nucleotide sequence of product amplified by prime F12

□ means primer sequence

3 讨论

由于核质不相容等原因,在进行亲缘关系较远(目、科、亚科间)的鱼类间杂交时很难得到后代,得到的后代也往往被认为是雌核发育的结果。但是对草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*) (♀) × 三角鲂(*Megalobrama terminalis*) (♂)^[10], 兴国红鲤(*Carassius carpio*) (♀) × 草鱼 (♂)^[11] 等的受精生物学研究发现,这些亲缘关系较远的鱼种间也存在正常的受精程序。本实验室在对奥利亚罗非鱼和鳊之间杂交的受精生物学观察中,证实有雌雄原核融合的存在^[12]。本研究结果也表明,2 个亲本的遗传物质在杂交子代中均有呈现,这可以从子代与父母本的遗传相似性和遗传距离表现出来:杂交子代与父本鳊的遗传相似性比奥利亚罗非鱼(母本)与鳊之

间的遗传相似性更大,遗传距离更小,说明鳊遗传物质的进入,导致子代遗传结构向父本的靠近。但是,杂交子代与母本的遗传相似性远高于与父本间的遗传相似性(表 2),表明尽管雌雄原核能够融合,但在受精和发育过程中,父本遗传物质发生丢失,仅余少量导入子代。此前对草鱼(♀) × 鲤(♂)杂交的细胞学研究也发现父本染色体在杂交胚胎中大量丢失的现象^[13]。

RAPD 电泳图谱中,有时扩增得到的位置相似的条带其组成序列并不一致,如张连全等^[14]在对远缘杂交小麦与亲本进行的 RAPD 分析中发现,位置类似条带的组成序列一致性仅为 51%,因此仅凭条带位置一致还不能完全判断子代与父本有相同的等位基因。本实验将找到的子代与父本共有条带进行了测序,结果显示其一致性达 100%,证明杂交子代

中该条带确实为父本所导入。Blast 比对并未找到与该条带具较高同源性的已知功能 DNA 序列, 因此, 尚需对其功能做进一步研究, 以探究其在受精过程中的作用。该条带在子代 A、B 和 C 组合中均出现, 显示其已整合进入子代基因组, 随着子代组合的扩繁, 能够进行稳定遗传。在对植物远缘杂交的研究中, 张连全等也发现类似现象, 即子代导入了外源 DNA 片段并发生了重排^[14]。进一步的研究可采用荧光原位杂交(FISH)、基因组原位杂交(GISH)等方法, 直接观察染色体的整合情况, 探讨其在进化上的意义。目前在作物^[15]、两栖类^[16]等已发现存在类似的染色体整合现象。对杂交 F₁ 代与父母本遗传关系的初步研究中, 杨弘等^[5]发现有 2 个引物可扩增出奥利亚罗非鱼(♀)×鳊(♂)杂交子代与父本鳊的共有条带, 但本研究并未能在 B、C 组合中得到相应条带, 而仅有引物 F12 在子代 A、B 和 C 组合中扩增出与父本共有的片段, 可能由于以下原因: ①父本鳊进入子代的遗传物质的遗传能力存在差异, 一部分遗传物质导入子代后, 在 A 组合与母本的回交过程中丢失, 不能稳定遗传, 因此仅呈现于 A 组合, 而另外一些父本遗传物质则整合进入子代基因组, 可以稳定遗传, 在多代组合中均能呈现; ②杨弘等^[5]所采用的父母本样品为子代个体的亲生父母, 因此在子代中扩增得到的 2 个条带可能仅为该父本鳊所独有, 而本研究中所采用的杂交子代和父母本均为包含多个样品的组合, 在子代中扩增得到的与父本共有条带则可能为鳊所共有。

综上所述, 从本研究可认为, 奥利亚罗非鱼和鳊远缘杂交子代中导入了父本遗传物质, 导致子代组合的多态性增加, 与父本的遗传差异变小。导入子代的父本遗传物质可能为一些短的染色体片段, 在遗传过程中, 其遗传能力存在差异, 一部分在遗传过程中丢失, 仅出现于 F₁ 代; 另一部分则能遗传至下一代。对这些父本遗传物质在子代中的表达及其转移研究, 不仅可以寻找和鉴定出那些转移到子代中产生生长效应的基因或起调控作用的 DNA 片段, 而且还有可能为解决当前基因转移研究中有关基因整合和表达的难题寻找到一些有益的启示^[16]。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] Schwartz F J. World literature to fish hybrids with an analysis by family, species, and hybrid [M]. Mississippi: Pub Gulf Coast Res Lab Mus, 1972.
- [3] Schwartz F J. World literature to fish hybrids with an analysis by family, species, and hybrid; supplement 1 [M]. NOAA Technical Report NMFS SSRF 1981, 750.
- [4] 俞菊华, 夏德全, 杨弘, 等. 奥利亚罗非鱼(♀)×鳊(♂)杂交后代的形态[J]. 水产学报, 2003, 27(5): 431—435.
- [5] 杨弘, 夏德全, 刘蕾, 等. 奥利亚罗非鱼(♀)、鳊(♂)及其子代间遗传关系的研究[J]. 水产学报, 2004, 28(5): 594—598.
- [6] 吴婷婷, 张燕生, 薛国雄. 鳊鱼和奥利亚罗非鱼乳酸脱氢酶谱的比较[J]. 水产学报, 1993, 17(4): 325—329.
- [7] 蒋一, 梁绍昌, 陈本德, 等. 异源精子在银鲫雌核发育子代中的生物学效应[J]. 水生生物学集刊, 1983, 8(13): 1—13.
- [8] Williams J G K, Kubelik A R, Livak K J, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers[J]. Nucl Acids Res, 1990, 18, 6: 531—6 535.
- [9] Nei M. Genetic distance between populations[J]. Am Nat, 1972, 106: 283—292.
- [10] 刘思阳. 草鱼卵子和三角鲂精子杂交的受精细胞学研究[J]. 水产学报, 1987, 11(3): 225—232.
- [11] 刘国安, 吴维新, 林临安, 等. 兴国红鲤同草鱼杂交的受精细胞学研究[J]. 水产学报, 1987, 11(1): 17—21.
- [12] 唐永凯, 杨弘, 吴婷婷, 等. 奥利亚罗非鱼与鳊杂交的受精生物学及胚胎发育研究[J]. 水生生物学报, 2006, 30(5): 559—562.
- [13] 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.
- [14] 张连全, 刘登才, 颜泽洪, 等. 远缘杂交早代稳定小麦导入了外来 DNA 片段并发生了 DNA 重排[J]. 中国科学: C 辑, 2005, 35(4): 318—325.
- [15] 陈新宏, 王小利, 刘淑会, 等. 普通小麦×大麦杂交后代中间材料的 GISH 及 PAGE 鉴定[J]. 遗传学报, 2004, 31(7): 730—734.
- [16] Bi K, Bogart J P. Identification of intergenomic recombinations in unisexual salamanders of the genus *Ambystoma* by genomic in situ hybridization(GISH)[J]. Cytogenet Genome Res, 2006, 112: 307—312.
- [17] 桂建芳. 银鲫天然雌核发育机理研究的回顾与展望[J]. 中国科学基金, 1997, 1: 11—16.

Genetic constitutions of distant hybridization offsprings between *Oreochromis aurea* (♀) × *Siniperca chuatsi* (♂)

WANG Jin-long^{1,2}, YANG Hong^{1,2}, WU Ting-ting², ZHANG Zhi-wei^{1,2}

(1. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agriculture University, Wuxi 214081, China; 2. Key Open Laboratory for Genetic Breeding of Aquatic Animals and Aquaculture Biology, Ministry of Agriculture, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China)

Abstract: There were a variety of applications on distant hybridization of fish, such as heterosis utilization, sex control, polyploid induction, gynogenesis and androgenesis, etc. So, many studies about distant hybridization of fish have been performed for a long time. However, most of these studies focused on inter-subfamily, intergeneric and interspecific hybridization. Successful interfamilial and interorder hybridization of fish was sporadically reported. *Oreochromis aurea* and *Siniperca chuatsi* belong to different families. Since 2001, the hybridization between them has been performed successfully. Up to now, a series of hybridization offsprings were obtained. We investigated the genetic relationship between offsprings of *O. aurea* (♀) × *S. chuatsi* (♂) and their parents by using RAPD and sequencing methods to test the effect of distant hybridization on the genetic constitutions of three offspring groups which included groups A, B and C. Group A was F₁ of *O. aurea* (♀) × *S. chuatsi* (♂). Group B was back-cross offsprings between A and male of *O. aurea* because no male existed in group A. Group C was derived from self-cross offsprings of group B. The results showed polymorphic locus ratios of *S. chuatsi*, *O. aurea*, and groups A, B and C were 19.32%, 15.30%, 41.33%, 29.80% and 32.31%, respectively. The genetic identity and distance between *O. aurea* and *S. chuatsi* were 0.288 5 and 1.243 2, respectively. Genetic identity between groups A, B and C and *S. chuatsi* were 0.343 4, 0.293 7, 0.328 7; genetic distance were 1.068 9, 1.225 1 and 1.112 5, respectively. Genetic identity between groups A, B, C and *O. aurea* were 0.903 7, 0.916 8, 0.922 5; genetic distance were 0.101 3, 0.086 9 and 0.080 7, respectively. One primer (F12) could be amplified into 1 special RAPD band on groups A, B and C which was the same as that of *S. chuatsi* and did not exist in *O. aurea*. This band was 362 bp. The sequence identity of this band was 100% between offsprings and *S. chuatsi*. The conclusion is that some genetic substances of father are induced into offsprings of distant hybridization, and make the genetic constitutions of offsprings more polymorphic and closer to paternal parent's. Furthermore, these genetic substances could transfer to the next generation. However, because of backcross between A and *O. aurea* and self-cross of B, the genetic structures of offsprings are more and more close to the maternal parent. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(1): 32–38]

Key words: *Oreochromis aurea*; *Siniperca chuatsi*; distant hybridization; offspring; genetic constitution

Corresponding author: WU Ting-ting. E-mail: wutt@ffrc.cn