

文章编号: 1000- 0615(2003)05- 0403- 06

## 异源四倍体鲫鱼及其 原始亲本遗传变异的 RAPD 分析

李建中, 鲁双庆, 刘少军, 刘正华, 张轩杰, 刘 筠  
(湖南师范大学生命科学学院, 湖南 长沙 410081)

**摘要:** 在优化 RAPD 检测条件的基础上, 从 100 个随机引物中筛选出 60 个扩增较好的引物对异源四倍体鲫鱼及其原始亲本红鲫和湘江野鲤相互间扩增 DNA 片段的异同性进行比较研究。结果显示, 60 个引物共产生 1 554 条带, 单一引物扩增的 DNA 片段数在 6~ 20 条之间, 片段大小在 200~ 3 500 bp 之间。遗传相似率分析表明, 异源四倍体鲫鱼与其原始母本红鲫的相似率为 69. 41%, 与其原始父本野鲤的相似率为 64. 47%, 说明异源四倍体鲫鱼接受原始母本红鲫的遗传物质要多一些; 而红鲫和野鲤之间的相似率为 42. 18%, 说明两者的基因组成有较大的相似性, 从分子水平证实了红鲫和野鲤的远缘杂交具有较大的亲和性。在分析中, 还发现异源四倍体鲫鱼有 4 条非亲本带, 非亲本带率达 0. 72%, 这些非亲本带可以作为异源四倍体鲫鱼特异性的分子标记。

**关键词:** 异源四倍体; 红鲫; 野鲤; 随机扩增多态 DNA; 相似率

**中图分类号:** Q319; S917 **文献标识码:** A

## RAPD analysis of genetic variation between the allotetraploid hybrid of red crucian carp × common carp and their original parents

LI Jian-zhong, LU Shuang-qing, LIU Shao-jun, LIU Zheng-hua, ZHANG Xuan-jie, LIU Yun  
(College of Life Science, Hunan Normal University, Changsha 410081, China)

**Abstract:** In this study, the random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique was used to analyze the genetic variation among the allotetraploid hybrid of red crucian carp (*Carassius auratus* red var., ♀) × common carp (*Cyprinus carpio* L. ♂), red crucian carp and common carp. One hundred 10-nucleotide-long random primers were used in the RAPD analysis. Of these primers, 60 primers produced well amplified and reproducible band patterns. There were 6 to 20 bands ranging in size from about 200 to 3 500 bp in the amplified products of a single primer. After excluding bands that were not clearly identifiable, a total of 1 554 distinguishable fragments were compiled for phylogenetic relationship analysis. The genetic similarity index of the amplified DNA bands between the allotetraploid hybrid and their original maternal red crucian carp was 69. 41%, and the genetic similarity index of the amplified DNA bands between allotetraploid hybrid and their original paternal common carp

收稿日期: 2002-09-03

资助项目: 国家自然科学基金资助项目(30170733)

作者简介: 李建中(1969-), 男, 湖南湘乡人, 讲师, 博士研究生, 主要从事鱼类发育生物学的研究。

通讯简介: 刘 筠(1929-), 男, 湖南武冈人, 中国工程院院士, 主要从事鱼类发育生物学的研究。Tel: 0731- 8872450, E-mail: liuyun@

hnnu.edu.cn

was 64.47%. The similarity index of the amplified DNA bands between red crucian carp and common carp was 42.18%. Moreover, 4 specific bands were found only in the allotetraploid hybrid, the non-parental bands ratio of the allotetraploid hybrid was 0.72%. The results not only provided the specific molecular markers of the allotetraploid hybrid, but also demonstrated that the allotetraploid hybrid inherited a little more genetic materials from their original maternal red crucian carp than their original paternal common carp.

**Key words:** allotetraploid; red crucian carp; wild common carp; RAPD; similarity index

随机扩增多态 DNA 技术(random amplified polymorphic DNA, RAPD)自 1990 年诞生以来<sup>[1]</sup>,已被广泛应用于物种及种群的鉴定、亲缘关系的探讨、基因定位以及构建遗传图谱等<sup>[2-11]</sup>。异源四倍体鲫鲤群体是湖南师范大学和湖南湘阴县东湖渔场在红鲫和湘江野鲤的杂交后代中选育出来的四倍体鱼新种群<sup>[12-13]</sup>。运用 RAPD 技术对异源四倍体鲫鲤及其原始亲本红鲫和湘江野鲤进行遗传变异分析,不仅获得了异源四倍体鲫鲤特异性的分子标记,而且为探讨鱼类远缘杂交的亲合性以及异源四倍体鲫鲤的起源提供了分子生物学方面的证据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验鱼

异源四倍体鲫鲤、红鲫和湘江野鲤均取自于湖南师范大学国家四倍体鱼种质资源保护基地,其中异源四倍体鲫鲤为红鲫和湘江野鲤的杂交 F<sub>10</sub>。选取相同育龄的实验鱼各 1 条提取基因组 DNA。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 试剂和仪器

研究所用随机引物为上海 Sangon 生物工程公司产品;Taq 酶和 dNTPs 为北京华美生物工程公司产品。核酸蛋白测定仪为德国 Eppendorf 公司 Biophotometer, PCR 仪为美国 AB 公司的 GeneAmp PCR System 2700,凝胶成像分析系统为英国 UVP 公司的 GDS 7500。

#### 1.2.2 基因组 DNA 的提取

参照夏德全等<sup>[4]</sup>的方法,从实验鱼的尾静脉中取新鲜血液,在血液中加入 1/6 体积的酸性柠檬酸葡萄糖溶液(ACD)作抗凝剂。将 50  $\mu$ L 全血加入 450  $\mu$ L DNA 抽提缓冲液(10 mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup> Tris-HCl, 5 mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup> EDTA, 75 mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup> NaCl),混匀后依次加入 SDS 和蛋白酶 K 至终浓度为 0.5% 和 200 ng $\cdot$ mL<sup>-1</sup>,然后于 55 $^{\circ}$ C 消化过夜;随后用苯酚、氯仿和异戊醇(25:24:1)抽提,将所得上清液加入 2.5 mol $\cdot$ L<sup>-1</sup> NaCl (终浓度为 0.2 mol $\cdot$ L<sup>-1</sup>)和预冷的 2 倍体积的无水乙醇沉淀,用大口径的 Tip 头将沉淀挑出,70% 乙醇漂洗 2 次后在室温下自然干燥,待乙醇挥发后溶于 200  $\mu$ L 的灭菌双蒸水中,置 4 $^{\circ}$ C 冰箱备用。在核酸蛋白测定仪上测定其纯度,电泳估计其分子量。

#### 1.2.3 RAPD 检测

RAPD 反应的总体积为 25  $\mu$ L,内含 2.5  $\mu$ L  $\times$  10 缓冲液,2.5  $\mu$ L 25 mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>, 5  $\mu$ L 1.0 mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup> dNTP, 1  $\mu$ L 引物(约 15 ng), 1.5 U 的 Taq 酶, 50~100 ng 核 DNA。RAPD 反应的扩增程序参照 Williams 等<sup>[1]</sup>的方法,94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min,然后循环 40 次(94 $^{\circ}$ C, 1 min  $\rightarrow$  36 $^{\circ}$ C, 1 min  $\rightarrow$  72 $^{\circ}$ C, 2 min),最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。扩增产物在 1.4% 琼脂糖凝胶上(含 0.5  $\mu$ g $\cdot$ L<sup>-1</sup> 溴化乙锭)进行电泳,用 GDS 7500 凝胶成像分析系统进行扫描和分析。

### 1.3 分析方法

统计时仅记录清晰稳定的扩增条带,根据 Lynch<sup>[14]</sup>提出的相似率分析公式进行数据分析。相似率

$S_{xy} = 2N_{xy} / (N_x + N_y)$  其中  $N_{xy}$  表示个体  $x$  和  $y$  之间共有的 DNA 扩增片段的数目,  $N_x$  和  $N_y$  分别是个体  $x$  和  $y$  的 DNA 扩增片段的数目。用公式  $D = 1 - S$  计算群体间的遗传距离。

## 2 结果

### 2.1 RAPD 扩增的结果

在所使用的 100 个随机引物中, 有 60 个引物(引物序列见表 1) 的扩增效果良好, 每个引物在每种鱼中均能扩增出 6~ 20 条稳定清晰的条带, 扩增片段长度大多在 200~ 3 500 bp 之间。筛选出的 60 个引物共产生 1 554 条带, 其中异源四倍体鲫鱼、红鲫和野鲤分别扩增出 563、483 和 508 条带, 平均每个引物可扩增出 9.38、8.05 和 8.47 条带。

表 1 筛选出的随机引物及其序列

Tab.1 Selected primers and their sequence

引物 primer	序列(5' → 3') sequence	引物 primer	序列(5' → 3') sequence	引物 primer	序列(5' → 3') sequence
S2	TGATCCCTGG	S39	CAAACGTCGG	S101	GGTCGGAGAA
S5	TGCGCCCTTC	S47	TTGGCACGGG	S102	TCGGACGTGA
S6	TGCTCTGCCC	S48	GTGTGCCCCA	S103	AGACGTCCAC
S7	GGTGACGCAG	S51	AGCGCCATTG	S104	GGAAGTCGGC
S8	GTCCACACGG	S53	GGGTGACGA	S105	AGTCGTCCCC
S10	CTGCTGGAC	S54	CTTCCCAAG	S107	CTGCATCGTG
S12	CCTTGACGCA	S61	TTCGAGCCAG	S108	GAAACACCCC
S17	AGGGAAAGAG	S62	GTGAGGCGTC	S109	TGTAGCTGGG
S18	CCACAGCAGT	S64	CCGCATCTAC	S112	ACGCCATGT
S20	GGACCCTTAC	S65	GATGACCGCC	S113	CACGCCACAC
S27	GAAACGGGTG	S66	GAACGGACTC	S114	ACCAGTTGG
S28	GTGACGTAGG	S67	GTCCCGACGA	S115	AATGGCGCAG
S29	GGGTAAAGCC	S68	TGACCGGTG	S118	GAATCGGCCA
S30	GTGATCGCAG	S70	TGTCTGGGTG	S120	GGGAGACATC
S31	CAATCGCCGT	S71	AAAGCTGCGG	S121	ACGGATCCTG
S32	TCGGCGATAG	S73	AAGCCTCGTC	S122	GAGGATCCCT
S35	TCCGAACCC	S74	TGCGTGCTTG	S123	CCTGATCACC
S36	AGCCAGCGAA	S75	GACGATCAG	S129	CCAAGCTTCC
S37	GACCGCTTGT	S79	GTTGCCAGCC	S130	GGAAGCTTGG
S38	AGGTGACCGT	S80	ACTTCGCCAC	S134	TGCTGCAGGT

### 2.2 异源四倍体鲫鱼、红鲫和野鲤之间的遗传相似率和遗传距离

从扩增的结果来看(图 1), 异源四倍体鲫鱼既有和原始母本红鲫相同的条带, 也有和原始父本野鲤相同的条带。其中异源四倍体鲫鱼和红鲫共有的 DNA 片段为 363 条, 和野鲤共有的 DNA 片段为 341 条, 而红鲫和野鲤相互间共有的 DNA 片段为 209 条。统计分析表明(表 2), 异源四倍体鲫鱼和红鲫的相似率为 69.41%, 和野鲤的相似率为 63.87%, 说明异源四倍体鲫鱼与原始母本红鲫的相似性稍大一些。而红鲫和野鲤之间的相似率相对较小, 为 42.18%, 这种相似率的差异与红鲫和野鲤同为鲤科鱼类但不同属的亲缘关系是一致的。

### 2.3 异源四倍体鲫鱼、红鲫和野鲤三者之间共有的 DNA 扩增片段

在检测中我们发现, 筛选的 60 个随机引物中有 49 个引物的扩增产物可以看到 1~ 6 条由异源四倍体鲫鱼、红鲫和野鲤相互间共有的 DNA 扩增带。三者之间共有的 DNA 扩增片段多达 102 条, 占有扩增片段总数的 6.56%。这些共有的 DNA 扩增片段可能是异源四倍体鲫鱼、红鲫和野鲤 3 种不同的鲤

科鱼类之间的相同遗传物质部分。

表 2 异源四倍体鲫鱼、红鲫和野鲤之间的遗传相似率和遗传距离

Tab. 2 Genetic similarity index and genetic distances among allotetraploid, red crucian carp and wild common carp

样品 sample	异源四倍体 allotetraploid	红鲫 red crucian carp	野鲤 common carp
异源四倍体 allotetraploid	563	0.6941	0.6387
红鲫 red crucian carp	0.3059	483	0.4218
野鲤 common carp	0.3613	0.5882	508

注:表中对角线以上的数字表示遗传相似率,对角线以下的数字表示遗传距离,对角线上的数字表示总 RAPD 带数

Notes: figures above the diagonal represent the genetic similarity index, below the diagonal represent the genetic distances and figures on the diagonal represent total of RAPD bands of each fish

## 2.4 异源四倍体鲫鱼特有的 DNA 扩增片段

在检测中,还发现有的引物在异源四倍体鲫鱼中扩增出非亲本带,即这些带是原始亲本红鲫和野鲤都没有的,是异源四倍体鲫鱼所特有的。经过多次重复和设置阴性对照实验,发现在 60 个引物的扩增产物中有 4 个引物扩增的一些片段是异源四倍体鲫鱼所特有的,非亲本带谱率达 0.72%。如图 1 中的 S39 引物就扩增出了 1 条大小为 1 259 bp 的特有片段,根据夏德全等的方法命名<sup>[4,11]</sup>,将此片段称为 S39<sub>1259</sub>。另外,引物 S8、S28、S121 分别扩增出了 1 条片段大小为 900~1 600 bp 的非亲本带。这 4 条非亲本带可以作为异源四倍体鲫鱼的特异性分子标记。

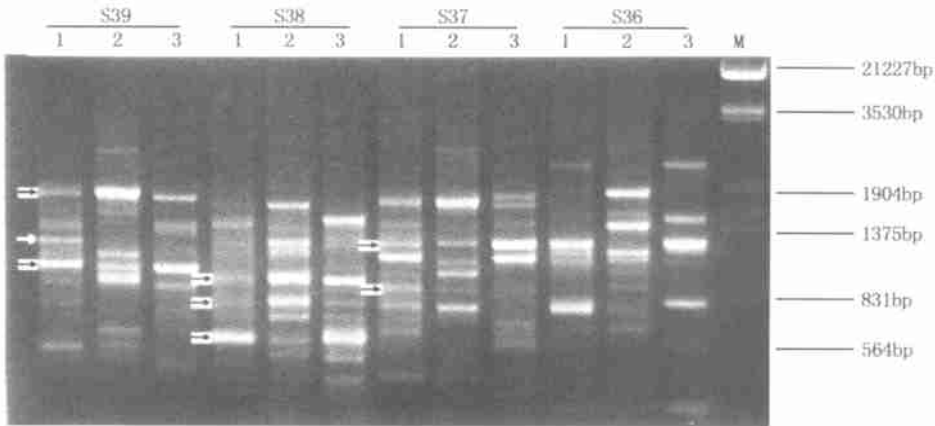


图 1 引物 S36、S37、S38、S39 对 3 种模板的 RAPD 扩增图谱

Fig. 1 RAPD patterns of allotetraploid, red crucian carp and wild common carp produced by primers S36, S37, S38 and S39

注:黑色箭头表示 3 种鱼相互间共有的 DNA 扩增带,白色箭头表示异源四倍体鲫鱼特有的带,1、2、3 分别代表异源四倍体鲫鱼、红鲫和野鲤

Notes: the black arrows showing the shared DNA bands among allotetraploid (1), red crucian carp (2) and wild common carp (3), white arrow showing the specific DNA band of allotetraploid

## 3 讨论

日本学者认为,鲫鱼杂交子一代的雄性是完全不育的<sup>[15]</sup>,而刘筠等在红鲫和湘江野鲤的杂交子一代( $F_1$ )的雄性中发现了 4.67% 完全能育型个体<sup>[16]</sup>,并用  $F_1$  自交获得了  $F_2$ ,  $F_2$  自交又产生了  $F_3$ ,在  $F_3$  中发现了雌雄可育的四倍体鱼,而且它们能自然繁殖,目前已经繁殖到  $F_{12}$ 。通过染色体数目、核型和 DNA 含量以及红细胞核大小等方面的实验,一致证实  $F_3$  以后为遗传性状稳定的四倍体鱼<sup>[12,13,17,18]</sup>。异源四倍体鲫鱼种群的获得,不仅有力地证明了松井佳一等提出的鲫鱼杂交后代雄性完全不育的理论不能继续存在,而且填补了国内外在脊椎动物中没有发现直接形成异源四倍体群体的空白<sup>[12]</sup>。关于鱼

类远缘杂交的不亲和性,王祖熊等<sup>[19]</sup>认为,鱼类属间杂交不亲和性产生的重要原因是双亲基因组间的矛盾,并提出染色体组相似者亲和性较大。虽然红鲫和野鲤属于鲤科鱼类中两个不同的属,但是从红鲫和野鲤两者的基因组来看,两者的染色体数目均为 100,而且两者的染色体组型基本相同,所以红鲫和野鲤的杂交具有较大的亲和性。龙良启等<sup>[6]</sup>认为,在群体遗传研究中,一级亲缘关系的相似系数在 0.5 左右。本实验用 RAPD 技术对异源四倍体鲫鱼和它们的原始亲本红鲫和野鲤进行的遗传变异分析表明,红鲫和野鲤的相似系数为 0.4218,接近 0.5,进一步从分子水平上证明红鲫和野鲤亲缘关系较近,基因组成有较大相似性,因而在杂交中具有较大的亲和性。

从 RAPD 的分析结果可以看出,异源四倍体鲫鱼和原始母本红鲫的相似率稍大一些,说明异源四倍体鲫鱼接受原始母本的遗传物质要多一些,这样它的生长发育过程受到原始母本红鲫的影响可能大一些,这与异源四倍体鲫鱼个体较小、生长速度缓慢的性状分析结果是一致的<sup>[18]</sup>。当然生物的性状是基因协同表达的综合效应,由于异源四倍体鲫鱼同时也接受了原始父本野鲤的许多遗传物质,所以它的绝大部分形态性状如脊椎骨、下咽齿、鳃耙和侧线鳞数目等介于红鲫和野鲤之间<sup>[18]</sup>。通过 RAPD 分析,一方面说明,红鲫和野鲤杂交后代的遗传物质并非均来自原始双亲,而是偏向于原始母本红鲫;另一方面也从分子水平上证明了这种四倍体鱼是异源四倍体,而不是同源四倍体,它们是通过杂交而来的,而不是通过雄核发育或雌核发育而来的。另外,叶玉珍和吴清江<sup>[20]</sup>获得的人工四倍体鲤鲫也是通过人工复合三倍体鲤鱼作母本和红鲫作父本杂交产生的。由此可以推测,自然界中某些天然多倍体的形成可能是通过远缘杂交而产生的。

研究结果还发现,异源四倍体鲫鱼具有 4 条非亲本带,经过多次重复和对照实验,排除了样品或试剂污染产生假带的原因,因此,这些带可以作为异源四倍体鲫鱼的特异性分子标记。异源四倍体鲫鱼具有的非亲本带可能是由于红鲫和野鲤染色体之间的交换重组而产生的,也有可能是由于异源四倍体鲫鱼的基因组发生变异而产生的。因为异源四倍体鲫鱼染色体数目加倍( $4N=200$ )以后,基因数目增多,而基因数目增多则为基因的变异和新基因的产生提供了基础<sup>[12]</sup>。异源四倍体鲫鱼所特有的这些 DNA 扩增片段究竟是如何产生的,还有待于今后进一步研究。

## 参考文献:

- [1] Williams J G, Kubelik A R, Livak K J, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers [J]. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18: 6531- 6535.
- [2] Zhou L, Fan L C, Gui J F. RAPD analysis of incorporation of heterologous genetic materials in multiple species of silver crucian carp [J]. *Acta Hydrobiol Sin*, 1998, 22(4): 301- 306. [周莉, 樊连春, 桂建芳. 银鲫复合种外源遗传物质整合的分析[J]. *水生生物学报*, 1998, 22(4): 301- 306.]
- [3] Yao J H, Lou Y D. Preliminary report on the RAPD analysis of three populations of *Carassius auratus gibelio* [J]. *J Shanghai Fish Univ*, 2000, 9(1): 11- 14. [姚纪花, 楼允东. 三种群银鲫的 RAPD 分析[J]. *上海水产大学学报*, 2000, 9(1): 11- 14.]
- [4] Xia D Q, Cao Y, Yang H, et al. The relationships between  $F_1$  hybrids from tilapia and their parents and the use of their heterosis [J]. *J Fish Sci China*, 1999, 6(4): 29- 32. [夏德全, 曹莹, 杨弘, 等. 罗非鱼杂交  $F_1$  代与亲本的遗传关系及其杂种优势的利用[J]. *中国水产科学*, 1999, 6(4): 29- 32.]
- [5] Wang W, He S P, Nakajima T. The RAPD analysis for cyprinid fish (*Aphyocypris* and *Hemigrammocypripis*) [J]. *Acta Hydrobiol Sin*, 2001, 25(4): 358- 360. [王伟, 何舜平, 中岛经夫. 日本产和中国产中华细鲫的 RAPD 分析[J]. *水生生物学报*, 2001, 25(4): 358- 360.]
- [6] Long L Q, Zhao Z S, Tang B G, et al. Analysis of genetic variation in hybrids between *Misgurnus anguillicandatus* cross *Paramisgurnus dabryanus* reciprocally by using RAPD [J]. *Acta Hydrobiol Sin*, 2000, 24(6): 659- 662. [龙良启, 赵振山, 汤保贵, 等. 泥鳅与大鳞副泥鳅正反交子代遗传变异的 RAPD 分析[J]. *水生生物学报*, 2000, 24(6): 659- 662.]
- [7] Teng C B, Sun X W, Shen J B, et al. RAPD analysis of gynogenetic crucian carp activated by heterologous sperm and their parents [J]. *J Fish Sci China*, 1999, 23(4): 420- 423. [滕春波, 孙效文, 沈俊宝, 等. 利用异源精子激发雌核发育的银鲫及其亲本的 RAPD 分析[J]. *水产学报*, 1999, 23(4): 420- 423.]
- [8] Zhang S M, Deng H, Wang D Q, et al. Population structure and genetic diversity of silver carp and grass carp from population of Yangtze River system revealed by RAPD [J]. *Acta Hydrobiol Sin*, 2001, 25(4): 324- 330. [张四明, 邓怀, 汪登强, 等. 长江水系鲢和草鱼遗传结

构及变异性的研究[J]. 水生生物学报, 2001, 25(4): 324- 330. ]

- [ 9] Sun X W, Liang L Q. A genetic linkage map of common carp[J]. J Fish Sci China, 2000, 7(1): 1- 5. [孙效文, 梁利群. 鲤鱼的连锁遗传图谱(初报)[J]. 中国水产科学, 2000, 7(1): 1- 5. ]
- [ 10] Liang L Q, Sun X W, Yan X C. RAPD analysis of the genomic change in red common carp(K) [J]. J Fish Sci China, 1998, 5(1): 6- 9. [梁利群, 孙效文, 闫学春. RAPD 技术分析荷包红鲤抗寒品系与亲本的基因组变化[J]. 中国水产科学, 1998, 5(1): 6- 9. ]
- [ 11] Zou S M, Li S F, Cai W Q, et al. Establishing gynogenetic groups of genetic improved *Megalobrama amblycephala* and its genetic analysis[J]. J Fish China, 2001, 25(4): 311- 316. [邹曙明, 李思发, 蔡完其, 等. 团头鲂良种雌核发育群体的建立及其遗传规律[J]. 水产学报, 2001, 25(4): 311- 316. ]
- [ 12] Liu S J, Cao Y C, He X X, et al. The formation of tetraploid hybrids of common carp with red crucian carp and the evolutionary significance of tetraploidization in vertebrate[J]. Engineering Science, 2001, 3(12): 33- 41. [刘少军, 曹运长, 何晓晓, 等. 异源四倍体鲫鲤群体的形成及四倍体化在脊椎动物中的作用[J]. 中国工程科学, 2001, 3(12): 33- 41. ]
- [ 13] Shao J L, Liu Y, Zhou G J, et al. The formation of tetraploid stocks of red crucian carp × common carp hybrids as an effect of interspecific hybridization[J]. Aquac, 2001, 192: 171- 186.
- [ 14] Lynch M. The similarity index and DNA fingerprinting[J]. Mol Biol Evo, 1990, 7: 478- 484.
- [ 15] Matuyoshihikazu. Cytological study of the hybrid incompatibility of *Cyprinus carpio* L. and *Carassius auratus* [J]. Japanese Journal of Ichthyology, 1956, 5(2- 3): 52- 57. [松井佳一. コイとフの雑種不妊に关する细胞学的研究[J]. 鱼类学杂志, 1956, 5(2- 3): 52- 57. ]
- [ 16] Liu Y, Zhou G J. Cytological study on the gonadal development of F<sub>1</sub> hybrid produced by crossing *Carassius auratus* L. (♀) with *Cyprinus carpio* (♂)[J]. Acta Hydrobiol Sin, 1986, 10(2): 101- 107. [刘 筠, 周工健. 红鲫(♀) × 湘江野鲤(♂)杂交一代生殖腺的细胞学研究[J]. 水生生物学报, 1986, 10(2): 101- 107. ]
- [ 17] Li J Z, Zhang X J, Liu S J, et al. Studies on the gonadal development in allotetraploid hybrids *Carassius auratus* L. (♀) with *Cyprinus carpio* (♂)[J]. Acta Hydrobiol Sin, 2002, 26(2): 116- 122. [李建中, 张轩杰, 刘少军, 等. 异源四倍体鲫鲤的性腺发育[J]. 水生生物学报, 2002, 26(2): 116- 122. ]
- [ 18] Li J Z, Zhang X J, Liu S J, et al. Study on the morphological characteristics of the allotetraploid hybrids of *Carassius auratus* L. (♀) with *Cyprinus carpio* (♂)[J]. J Nat Sci Hunan Norm Uni, 2001, 24(2): 64- 66. [李建中, 张轩杰, 刘少军, 等. 异源四倍体鲫鲤的形态特征[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 2001, 24(2): 64- 66. ]
- [ 19] Wang Z X, Zhang J X, Jin G Q. Study on the incompatibility of fish hybridization[J]. Acta Hydrobiol Sin, 1986, 10(2): 171- 179. [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, 10(2): 171- 179. ]
- [ 20] Ye Y Z, Wu Q J. The artificial tetraploid produced by crossing triploid common carp with red crucian carp[J]. Progress in Natural Science, 1999, 9(7): 658- 661. [叶玉珍, 吴清江. 人工四倍体鲤鲫的产生[J]. 自然科学进展, 1999, 9(7): 658- 661. ]

## 欢迎订阅 2004 年《中国农学通报》

《中国农学通报》是中国科协主管、中国农学会主办的农业综合性学术期刊, 中国科技核心期刊、中国科协优秀学术期刊和全国优秀农业期刊。主要刊登种植业、养殖业、农牧产品贮藏加工业等方面的国家级和省部级基金项目所资助的研究论文、学术报告、文献综述等, 栏目设置有作物遗传育种、种质资源、耕作栽培、生理生态、植物保护、土壤肥料、节水灌溉、园艺园林、贮藏保鲜加工、畜牧兽医、资源昆虫和研究简报等。另外, 还开设了有关农业、农村、农民等社会经济发 展的宏观社科栏目——三农论坛。读者对象为各级农牧科研人员、农业大中专院校师生、农牧行政管理干部、农技推广人员等。

本刊系双月刊, 大 16 开本, 200 页, 彩色封面, 胶版印刷, 逢单月 30 日出版, 国内外公开发 行。国内统一刊号: CN 11- 1984/S, 每期定价 15.00 元, 全年 6 期合计 90.00 元。本刊由北京报刊发行局面向全国公开发 行, 邮发代号: 2- 772, 也可直接汇款至编辑部订阅。

汇款地址: 北京市朝阳区麦子店街 20 号中国农学会编辑出版部, 邮编: 100026

开户银行: 农行北京分行朝阳支行营业部, 帐号: 040101040003509, 户名: 中国农学会

联系电话: 010- 64194480, 传真: 010- 64194709

E-mail: edit@ cav. net. cn