

文章编号:1000-0615(2009)02-0188-08

虹鳟、山女鳟及其杂交子代(虹鳟♀×山女鳟♂)的微卫星分析

张玉勇¹, 白庆利¹, 贾智英¹, 牟振波¹, 赵海燕²

(1. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070;

2. 大连水产学院生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116023)

摘要:利用虹鳟(♀)和山女鳟(♂)进行种间杂交,获得了90.00%的受精率,80.52%的发眼率,90.68%的孵化率和30.68%的鱼苗成活率。运用13个微卫星分子标记对杂交亲本与杂交子代进行了分子遗传机制的研究,结果表明:(1)在13个微卫星位点中,3个位点只在虹鳟中得到扩增产物,6个位点扩增出虹鳟和山女鳟清晰的差异条带,另外4个位点在双亲中没有扩增出显著差异条带;(2)双亲遗传分化显著,虹鳟和山女鳟存在杂交现象,虹鳟和山女鳟杂交子代的遗传符合孟德尔遗传规律,属两性融合生殖,是真正意义上的杂交种。(3)杂交后代与虹鳟和山女鳟的遗传相似性系数分别为0.4617和0.5965,遗传距离分别为0.7729和0.5168,表明杂交F₁与两亲本的遗传差异不是对等的,而是偏向父本一方,UPGMA系统树也同样证明了这一点。

关键词:虹鳟;山女鳟;杂交;微卫星标记;遗传关系

中图分类号:S 917

文献标识码:A

虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)和山女鳟(*Oncorhynchus masou masou*)同属于鲑形目、鲑科、鲑亚科、大麻哈鱼属,两者杂交属于属内、种间杂交。

在鲑鳟鱼方面,目前国外研究者已经成功进行了许多种间杂交试验^[1]。山女鳟体态雍容,色彩典雅,肉质细嫩,品味鲜爽,经济价值较高,但其个体较小,亲鱼繁殖后死亡率雌鱼达40%以上,雄鱼达70%以上^[2],在人工养殖条件下亲鱼繁殖后死亡率更高。

虹鳟养殖驯化已有百年的历史,具有对环境适应能力强,生长快速,繁殖后亲鱼不死亡等优点。

本研究将以虹鳟和山女鳟为亲本,开展杂交试验,探讨利用两者互补经济性状来进行杂交育种的可行性,并利用微卫星标记技术,对虹鳟、山女鳟及其杂交子代基因组DNA进行了研究,分析了它们之间的遗传关系,为2种鱼杂交育种工作的进一步开展提供依据。

1 材料与方法

1.1 杂交亲本

于2007年在黑龙江水产研究所渤海冷水鱼实验站进行杂交试验,试验所用虹鳟和山女鳟亲本均来自站内的繁殖群体。试验共用虹鳟雌鱼6尾,体重1 915~2 165 g,雄鱼6尾,体重1 815~2 170 g;山女鳟雌鱼32尾,体重210~430 g,雄鱼6尾,体重125~485 g。

1.2 虹鳟、山女鳟远缘杂交

采用混精、混卵人工授精,随机分组孵化、饲养的方式。试验时采用挤压法获得卵子,挤压时用毛巾包住雌鱼尾部,使生殖孔面向采卵盆,轻压生殖孔前方的腹部获得成熟卵。人工授精采用干法授精,轻轻擦干雄鱼体表水珠,用挤压法将精液直接挤于卵上,将精液与卵子混合,轻轻搅拌使精卵充分接触,随后加少许孵化水静置1~2 min,完成受精过程,再换水1~2次,洗去多余的精液和破损的卵皮,在水中放置30 min,待卵充分吸水膨

收稿日期:2008-07-10 修回日期:2008-08-26

资助项目:国家科技支撑计划(2006BAD03B08-3);黑水研基本科研专项(2007HSYZX-YY-19)

通讯作者:牟振波, Tel: 0451-84602266; E-mail: mouzhenbo@163.com

胀计数后装入孵化器中进行孵化。

1.3 亲本及子代基因组 DNA 的提取

采取从鳍条中提取 DNA 的方法。将新鲜鳍条剪碎,在消化液(10 mmol/L Tris-HCl pH 8.0, 100 mmol/L EDTA pH 8.0, 0.5% SDS, 100 μg/mL 蛋白酶 K)中 55 ℃ 消化 3 h,采取传统酚/氯仿法进行抽提、乙醇沉淀,1/10 TE 溶解后,置于 4 ℃ 冰箱保存备用。

1.4 微卫星引物与扩增产物检测

本研究共采用 8 对细鳞鱼 (*Brachymystax lenok*)、10 对虹鳟微卫星引物,具体引物信息见表 1。

PCR 扩增体系为 25 μL,其中模板 DNA 50 ng,10 × PCR buffer 2.5 μL,引物 0.2 mmol/L、dNTPs 各 2 mmol/L, *Taq* 酶为 1 U,加无菌去离子水补足 25 μL。PCR 反应程序:预变性 94 ℃,3 min; PCR 循环程序为变性 94 ℃,30 s;退火温度下 30 s;延伸 72 ℃,30 s;总计 25 循环,最后 72 ℃ 延伸 5 min。扩增产物采用 8% 聚丙烯酰胺凝胶进行电泳,银染显色。电泳图谱利用软件 Gel-pro analyzer 4.5 进行分析,分子量标准采用 pBR322/*Msp* I。

表 1 实验所采用的 18 对微卫星标记的特征
Tab.1 The characteristics of 18 microsatellite markers in this experiment

位点 loci	引物序列 primer sequence (5'-3')	退火温度 annealing temperature	GenBank 登录号 GenBank No.
Lenok01	TGCGAGATACATCGTGAA GTTCGTCAGAGGGCATAG	56	AY484451
Lenok02	CCCTTTATCTGGCACTCC GCCTCCAGCGTATCTTTT	56	AY484449
Lenok03	GATGAGGATGTCTCGTGC CCTGTCTAATGTACTGGTTTC	56	AY484447
Lenok04	ACCTCCAGGCCAGGACATA CCGCCACAACAAAATCACA	56	AY484448
Lenok05	ATGTATTTGGCTAAGGTGT CATGGAGTGGAGGTTGT	60.5	AY484447
Lenok06	AGACATCCGCTGCGAAAT CAGGCATACAGTCAGACATACA	53	AY484456
Lenok07	TCCAGTCCAACAGGCAACAA CTTAGGGGGCTGCTCTCAT	58.5	AY484458
Lenok08	GTCCAGACTGCTGCTTGT AGAGGTAGTGTIAGTGGGTAT	57	AY484455
OMM1108	GGCTGACCAGAGAAAGACTAGTTC TGTTACGGTGTCTGACATGC	59.8	AF352769
OMM1116	CAAGGATTCGGGACAT CACCCCTAAAGTAGAGCA	59.8	AF346671
OMM1105	GCACACTGTCTGGTAAGAGA GCAGAGCCACACTAAACCA	58.2	AF352768
OMM5002	GGGCTTCCTGGAGGACTACTTAA GCCCTGACAGACAGCAACATATAG	56.5	CO805108
OMM5004	AGCTTGATTAAGAGGCTTGAAA CAAATTGGACCGCACACTA	56.5	CO805110
OMM5005	TGACCAGCACCTCCTTATACCTCC GGCATCAACCAAGAGCTAAACCAA	56.5	CO805111
OMM5006	AAGGCATCATTGGTGATAACAAGG GGGACGATGCTTTGGCTAAGA	56.5	CO805112
OMM5008	CTGTTTCGTTGTCCTCATATCAACC TCCATTATCCAATCAGGAGAGCTCTAT	58.2	CO805114
OMM5125	AAAGCCCTCATTGTGATAACACTG GCGCTGTGTAGAACGGAATC	57.5	CO805127
OMM5126	CACACTATTTGGGACGCACA CCCAACAGTTGAGTCTCCATAGTT	59.8	CO805128

1.5 数据统计分析

分别统计所选微卫星引物在山女鲢和虹鲢中的通用性,利用 POPGENE version 3.4 软件统计各微卫星位点等位基因数(A)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、遗传相似系数(I),群体间遗传距离(D_s)、Hardy-Weinberg 平衡等参数。多态信息含量(PIC)计算公式^[3]

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i P_j^2$$

式中, P_i 、 P_j 分别为群体中第 i 和第 j 个等位基因频率, n 为某一基因座上等位基因数。应用软件 MEGA 4.0 采用 UPGMA 法进行聚类分析。同时根据两亲本等位基因频率,应用 Structure 2.2 软

件分析不同等位基因在杂交子代中的分布模式,从而推导山女鲢与虹鲢杂交子代遗传方式。生长数据由 Excel 2003 进行统计分析。

2 结果

2.1 受精率、发眼率、孵化率和成活率

在相同的孵化和培育条件下,测得杂交组与双亲对照组的受精率、发眼率、孵化率和成活率见表 2。杂交组的受精率、发眼率和孵化率与对照组相比没有明显差异($P > 0.05$),但其成活率明显低于对照组($P < 0.01$),平均成活率为 30.68%。

表 2 虹鲢和山女鲢杂交早期数据

Tab.2 The fertilization rate, eyed-egg rate, hatching rate and survival rate in

O. mykiss, *O. masou masou* and their hybrids at fry stage

%

项 目 item	山女鲢 <i>O. masou masou</i>	虹 鲢 <i>O. mykiss</i>	杂交子代 hybrids F_1
受精率 fertilization rate	95.71 ± 0.34	91.78 ± 1.42	90.00 ± 8.11
发眼率 eyed-egg rate	85.04 ± 3.52	72.27 ± 4.04	80.52 ± 5.08
孵化率 hatching rate	90.92 ± 2.90	97.31 ± 1.09	90.68 ± 3.43
成活率 survival rate	80.92 ± 1.88	90.11 ± 8.71	30.68 ± 7.64

注:发眼率(%) = 发眼卵/受精卵 × 100;孵化率(%) = 破膜卵/发眼卵 × 100;成活率(%) = 上浮苗数/孵化出鱼苗数 × 100

Notes: Eyed-egg rate (%) = eyed eggs number / fertilized eggs number × 100; hatching rate (%) = sac fry number / eyed eggs number × 100; survival rate (%) = floating-up fry number / sac fry number × 100

2.2 引物通用性及扩增结果

8 对细鳞鱼微卫星引物对虹鲢和山女鲢基因组 DNA 进行 PCR 扩增,电泳检测结果显示,只有 3 对引物 Lenok02、Lenok04、Lenok08 在虹鲢中扩增出特异产物,Lenok04、Lenok08 在山女鲢中扩增出特异产物,其中引物 Lenok02、Lenok04 在两种鱼中扩增产物大小与细鳞鱼中得出结果相一致,Lenok08 引物扩增片段大小与细鳞鱼不同;10 对虹鲢引物能在山女鲢中扩增出特异产物,其中 4 对在山女鲢中获得的与虹鲢中得到的产物大小相近,而另 6 对与虹鲢大小差异显著(表 3)。

在山女鲢扩增出特异产物的 10 个微卫星位点中,3 个位点 OMM5002、OMM5005、OMM1011 在 6 个亲本个体中表现为单态,其余 7 对引物表现为多态。在 7 个多态位点中,每个位点等位基因数为 2 ~ 4,平均等位基因数 3.3;除位点 OMM5004、OMM5006 表现中度多态外,其它 5 个位点均表现高度多态。Hardy-Weinberg 平衡检验 P 值表明 7 个多态性位点均处于平衡状态,没

有检测到连锁不平衡现象($P < 0.05$) (表 3 和表 4)。3 对能在虹鲢中特异扩增的细鳞鱼引物中,Lenok02 表现为多态,而其它两对为单态(表 3 和表 4)。

2.3 杂交子代遗传关系

由遗传分化系数和遗传距离分析两个亲本的遗传分化情况,发现两个亲本中除基因座 OMM5006 小于 0.05(0.0078)属于低度分化外,其余位点均大于高度分化的标准(0.25),各基因座的分化系数的均值为 0.3128,两亲本间遗传距离为 0.5850,这二者均表明本研究所用亲本高度分化,因而本研究所采用的微卫星标记对研究山女鲢和虹鲢杂交分子机制具有较高价值。

山女鲢、虹鲢及杂交子代在研究位点的等位基因分布、等位基因频率见表 4。位点 Lenok02、OMM1108、OMM1116、OMM5006 中存在虹鲢亲本中等位基因在杂交子代中缺失现象,位点 Lenok04、Lenok08、OMM5004 中存在山女鲢亲本等位基因在杂交子代缺失现象。除位点

Lenok02、OMM1077、OMM1105 外,杂交子代在其它位点上等位基因均来自双亲,即一个来自父本、一个来自母本。位点 Lenok02、OMM1077、OMM1105 只在母本虹鳟中得到特异性扩增,因而子代个体观测杂合度为 0,在其它位点观测杂合度为 1。等位基因频率分布分析也表明在研究位点上两个亲本分化显著,13.3% 杂交个体等位基因频率分布偏向双亲中的一方,其它个体等位基因频率分布平衡。

虹鳟、山女鳟及其杂交子代之间的遗传相似率和遗传距离见表 5,山女鳟与杂交子代遗传相似率最高,其次为山女鳟和虹鳟,而虹鳟和杂交后代相似率最低、遗传距离最大。根据 3 组鱼间的遗传距离,采用 UPGMA 法构建它们之间的聚类分析图(图 1),由图中可知,山女鳟和杂交后代先聚为一支,虹鳟位于最外支。由此可见,杂交后代和父本山女鳟的亲缘关系较近。

表 3 山女鳟、虹鳟和杂交子代 13 个微卫星位点及等位基因频率统计
Tab.3 Allele frequencies of thirteen microsatellite loci in *O. masou masou*,
O. mykiss and their hybridization

位点/等位基因 loci/allele	虹鳟 <i>O. mykiss</i>	山女鳟 <i>O. masou masou</i>	杂交子代 hybrid F ₁	位点/等位基因 loci/allele	虹鳟 <i>O. mykiss</i>	山女鳟 <i>O. masou masou</i>	杂交子代 hybrid F ₁
Lenok02				OMM5004			
248	0.100 0		0.200 0	217	0.100 0	0.333 3	0.183 3
243	0.300 0			209	0.100 0		0.333 3
234	0.100 0		0.733 3	202	0.800 0	0.666 7	0.483 3
230	0.100 0						
225	0.400 0		0.066 7	OMM5005			
Lenok04				212	0.250 0		0.083 3
194		0.333 3	0.016 7	209	0.750 0		0.416 7
170		0.166 7		191		1.000 0	0.500 0
155		0.416 7	0.250 0				
153		0.083 3	0.233 3	OMM5006			
146	1.000 0		0.500 0	232	0.300 0		
Lenok08				226	0.600 0		0.050 0
224		0.166 7		220		0.333 3	0.866 7
278		0.333 3	0.216 7	214	0.100 0	0.666 7	0.083 3
250		0.250 0	0.116 7				
243		0.250 0	0.150 0	OMM5008			
234	1.000 0		0.516 7	362		0.250 0	0.100 0
OMM1108				316		0.250 0	0.333 3
182	0.375 0		0.400 0	291		0.166 7	0.033 3
180	0.125 0		0.033 3	270	0.200 0	0.333 3	0.316 7
170	0.250 0	—		243	0.600 0		0.200 0
162	0.125 0		0.066 7	229	0.200 0		0.016 7
160	0.125 0		0.500 0	OMM5125			
OMM1116				267		0.333 3	0.133 3
235	0.100 0		0.266 7	263		0.083 3	0.033 3
215	0.200 0		0.066 7	257	1.00 0	0.583 3	0.833 3
207	0.100 0	—		OMM5126			
196	0.200 0		0.100 0	299		0.166 7	0.133 3
194	0.100 0		0.066 7	291	0.100 0	0.250 0	0.033 3
187	0.100 0		0.233 3	289	0.900 0	0.083 3	0.783 3
181	0.200 0		0.266 7	287		0.500 0	0.050 0
OMM5002				OMM1011			
168	0.600 0		0.300 0	188	1.000 0		0.500 0
164	0.400 0		0.200 0	178		1.000 0	0.500 0
140		1.000 0	0.500 0				

表 4 通用性引物的遗传多样性

Tab. 4 Genetic diversity of the cross-species microsatellites

位点 loci	等位基因数 A	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	多态信息含量 PIC	Hard-Weinberg 平衡 HW (P value)
Lenok02	5	0.600 0	0.720 0	0.675 6	0.440 5
Lenok04	4	0.833 3	0.680 6	0.621 8	0.865 7
Lenok08	4	0.833 3	0.736 1	0.687 4	0.234 0
OMM5004	2	0.333 3	0.444 4	0.345 7	0.388 3
OMM5006	2	0.666 7	0.444 4	0.345 7	0.300 6
OMM5008	4	1.000 0	0.736 1	0.687 4	0.105 1
OMM5125	3	0.666 7	0.541 7	0.459 9	0.497 2
OMM5126	4	0.666 7	0.652 8	0.599 4	0.681 9

表 5 山女鲢、虹鲢及其子代遗传相似率和遗传距离

Tab. 5 Genetic similarity and genetic distance of *O. masou masou*, *O. mykiss* and their hybrids

	杂交子代 hybrid F ₁	虹鲢 <i>O. mykiss</i>	山女鲢 <i>O. masou masou</i>
杂交子代 hybrid F ₁	-	0.461 7	0.596 5
虹鲢 <i>O. mykiss</i>	0.772 9	-	0.557 1
山女鲢 <i>O. masou masou</i>	0.516 7	0.585 0	-

注:右上为遗传相似率,左下为遗传距离

Notes: above diagonal is genetic identity and below diagonal is genetic distance

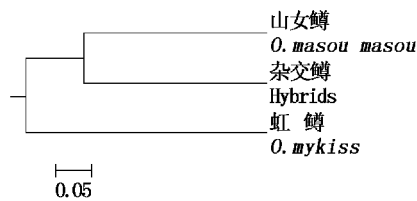


图 1 虹鲢、山女鲢和杂交后代的 UPGMA 聚类分析图

Fig. 1 UPGMA molecular trees based on genetic distance of *O. mykiss*, *O. masou masou* and their hybrids

3 讨论

3.1 山女鲢和虹鲢远缘杂交育种的可行性

种间杂交技术作为鱼类遗传改良的重要方法,通常可以提高生长率、转移优良性状、综合目的性状、通过生产不孕或是单性鱼来控制繁殖、增加产量、获得对环境具有高耐受力的新品种等^[1]。有关鲢鱼种间杂交的研究已有不少报道,早在 1975 年 Refstie 等^[4]就进行了多种鲢鱼之间相互杂交试验,结果表明褐鲢♀×北

极红点鲢♂、大西洋鲢♀×北极红点鲢♂、北极红点鲢♀×褐鲢♂,以及北极红点鲢♀×大西洋鲢♂之间在体重上具有明显的杂种优势;Blanc^[5]利用 40 尾雌性虹鲢与 40 尾雄性的褐鲢进行种间杂交,获得了性成熟杂交亲鱼;虎鲢作为褐鲢和溪鲢的杂交种,虽然早期生长的成活率较低,但其后期生长率较高并且具有不育的生殖特点^[6];Dorson 等^[7]报道虹鲢与红点鲢杂交子代对多种鲢鱼病毒具有免疫能力。而加拿大鲢作为湖鲢和溪鲢的杂交种可以耐受 pH 4.9~5.4 的酸性环境,而湖鲢则只能在 5.4 以上的水中才能够繁殖^[8]。这些研究不仅证明了鲢鱼类种间杂交的普遍性,同时还表明杂种子代具有较高的应用潜力。

本研究远缘杂交所采用的亲本分别是 1956 年从朝鲜引进的虹鲢和 1996 年从日本引进的山女鲢自繁后代,两者的杂交试验在世界上尚属首次。本研究的开展证明了的两者杂交的可行性,并得到了 30% 以上的苗种成活率,这相对于褐鲢和溪鲢^[5]、奥利亚罗非鱼和鳊(*Oreochromis aurea* × *Siniperca chuatsi*)^[9]、大黄鱼和鲈^[10]等杂交种远低于 5% 的苗种成活率而言,更具有商业开发

和育种潜力。此外杂交种早期的生长性状较对照组优势明显($P < 0.01$) (表 6),但有关杂交鳟后期生长、抗逆性和杂种育性等经济性状有待进一步阐明,从而明确其生产利用价值。

表 6 杂交子代 150 d 生长情况
Tab. 6 The growth characters of hybrid after 150 d

种 类 species	叉 长(cm) fork length	体 重(g) body weight
虹 鳟 <i>O. mykiss</i>	5.71 ± 0.66	2.15 ± 0.65
山女鳟 <i>O. masou masou</i>	5.68 ± 0.58	1.90 ± 0.56
杂交鳟 hybrids	6.04 ± 0.19	2.77 ± 0.96

3.2 引物通用性

微卫星位点在种间具有保守性是其得以广泛应用的原因之一^[11]。在近缘种间尝试微卫星引物的通用性,有助于节省构建微卫星文库的时间和费用。目前,有关山女鳟微卫星分子标记筛选方面未见相关报道。而在虹鳟和细鳞鱼有很多相关报道^[12]。虹鳟与山女鳟隶属于鲑科大麻哈鱼属,细鳞鱼隶属于鲑科细鳞鱼属。本研究采用的 18 对微卫星引物中,细鳞鱼中的 3 对在虹鳟中、2 对在山女鳟中扩增得到相应的产物,10 对虹鳟引物中 8 对在山女鳟中扩增出特异产物,说明这些基因位点具有较高的保守性,这些引物可进一步用来检测不同种群中的多态性,从而大大降低通过构建文库筛选微卫星标记的难度。

微卫星位点在不同物种中的片断大小差异可作为不同物种的特异性标记。Lenok08 引物在细鳞鱼中的扩增片断大小在 162 ~ 182 bp,本研究中山女鳟中扩增片段大小为 234 ~ 278 bp,虹鳟中的大小为 224 bp,后两者均大于 200 bp,与细鳞鱼相差至少 42 bp,因而该引物 Lenok08 可能为细鳞鱼与虹鳟和山女鳟的特异性标记。10 个位点虹鳟和山女鳟中有 6 对扩增产物大小有差异,但长度相差太小,这可能与山女鳟采样个体数多少有关,因而只能作为本研究中两种鱼和杂交后代的特异性标记,至于是否为物种间的特异性标记还需要通过大量样品进行进一步鉴定。

3.3 山女鳟和虹鳟杂交机制

远缘杂交遗传方式主要有 3 种,一是发生真正的精卵结合,但杂种一代通常是不育的,如尼罗罗非鱼与蓝罗非鱼 (*O. niloticus* × *O. aureus*) 杂

交^[13];二是双亲部分遗传物质发生了合并或交换,如湘华鲮和鲮杂交^[14];三是未发生精卵的结合,即雌核/雄核发育,但具有父本/母本遗传物质渗入的现象,如大黄鱼和鲢^[10]。有关鲑鳟鱼种间杂交遗传机制的研究有过相关的报道,如:Blanc 等^[15]利用了 40 尾雌性虹鳟与 40 尾雄性的褐鳟进行了种间杂交和回交,结果表明杂交子代是父系遗传的特性。微卫星分子标记是一种共显性的分子标记,它遵循孟德尔的分离规律,正常杂交子代从双亲获得相同数量的核遗传物质,即子代遗传物质一半来自于父本,一般来自于母本,因而能清楚反映杂交物质的遗传特性。本研究中 13 对微卫星分子标记研究结果,杂交子代的全部位点基因均来自父母本,除三对引物在山女鳟中没有扩增到特异序列外,其余位点等位基因一条来自父本一条来自母本,完全符合孟德尔遗传机制,因而是真正意义上的杂交种。

鱼类远缘杂交存在的主要问题是,杂种胚胎可以发育,但是发育不正常,大部分胚胎在孵化期前后陆续死亡,孵化率极低,有的虽能孵化出苗,但后期发育仍不正常^[14]。本研究中山女鳟和虹鳟两者杂交表现出较高水平的亲和力,杂交后代受精率、发眼率、孵化率与对照组差异不显著,但最终苗种存活率只有 30.68%。等位基因分布频率表明本研究中山女鳟和虹鳟杂交后代等位基因分布是不平衡的,13.3% 杂交个体等位基因频率显著偏向双亲中的一方,而且亲本等位基因在子代中存在缺失现象,分析其原因可能受核质相容性的影响,而且精卵结合时的相容性存在个体间差异。

参考文献:

- [1] Bartly D M, Rana K, Immink J. The use of interspecific hybrids in aquaculture and fisheries [J]. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2001, 10: 325 - 327.
- [2] 白庆利, 杨 萍, 贾钟贺, 等. 山女鳟的生物学特性及繁殖力 [J]. *水产学杂志*, 2004, 17(2): 65 - 68.
- [3] Botstein D, White R L, Skolnick M. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. *American Journal of Human Genetics*, 1980, 32(3): 314 - 331.

- [4] Refstie T, Gjedrem T. Hybrids between salmonidae species. hatchability and growth rate in the freshwater period[J]. *Aquaculture*, 1975, 6:333 - 342.
- [5] Blanc J M. Paternal variation in juvenile survival and growth of the triploid hybrid between female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) and male brown trout (*Salmo trutta* L.) [J]. *Aquaculture Research*, 2003, 34, 205 - 210.
- [6] Scheerer P D, Thorgaard G H. Increased survival in salmonid hybrids in induced triploidy [J]. *Can J Fish Aquat Sci*, 1983, 40, 2040 - 2044.
- [7] Dorson M, Chevassus B, Torhy C. Comparative susceptibility of three species of char and rainbow trout x chartriploid hybrids to several pathogenic salmonid viruses[J]. *Dis Aquat Org*, 1991, (11): 217 - 224.
- [8] Snucins E J. Relative survival of hatchery-reared lake trout, brook trout and F₁ splake stocked in low-pH lakes[J]. *N Am J Fish Manage*, 1993, (12): 460 - 464.
- [9] 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.
- [10] 王晓清, 王志勇, 谢中国, 等. 大黄鱼(♀)与鳊(♂)杂交的遗传分析[J]. *水产学报*, 2008, 32(1):51 - 57.
- [11] Primmer C R, Moller A P, Ellegren H, *et al.* A wide-range survey of cross-species microsatellite amplification in birds [J]. *Molecule Ecology*, 1996, 5:365 - 378.
- [12] Rexroad C E III, Coleman R L, Gustafson A L, *et al.* Development of rainbow trout microsatellite markers from repeat enriched libraries [J]. *Marine Biotechnology*, 2002, 4(1):12 - 16.
- [13] Wohlfarth G W. The unexploited potential of tilapia hybrids in aquaculture [J]. *Aqua Fish Manag*, 1994, 25, 781 - 788.
- [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] Blanc J M, Poisson H. Parental sources of variation in hatching and early survival rates of *Salmo trutta Salvelinus fontinalis* hybrid[J]. *Aquaculture*, 1983, 32:115 - 122.

Microsatellite analysis of *Oncorhynchus mykiss*, *Oncorhynchus masou masou* and their hybrid offspring (*Oncorhynchus mykiss* ♀ × *Oncorhynchus masou masou* ♂)

ZHANG Yu-yong¹, BAI Qing-li¹, JIA Zhi-ying¹, MOU Zhen-bo¹, ZHAO Hai-yan²

(1. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070;

2. Life Science and Technique Institute, Dalian Fishery University, Dalian 116023)

Abstract: Inter-specific hybrids of *Oncorhynchus mykiss* (♀) and *Oncorhynchus masou masou* (♂) were produced in this study. The results showed that the fertilization rate was 90.00%, eyed-egg rate was 80.52%, the hatching rate was 90.68% and the survival rate was 30.68% at fry stage. The genetic analysis on the relationship between the F₁ progenies and their parents were carried out using microsatellite markers. The results are as follows: (1) Three pairs of primers only gave good images in *Oncorhynchus mykiss*. Ten pairs of primers gave clear bands in *Oncorhynchus mykiss* and *Oncorhynchus masou masou*, six showed specific bands and four showed no specific bands between the parents. (2) Genetic differentiation between the parents was significant at these microsatellite loci. Hybridization between *Oncorhynchus mykiss* and *Oncorhynchus masou masou* was feasible. The inherited character between parents and hybrid follows the Mendelian inheritance rule and they are indeed hybrids in genetic material. (3) The hybrid F₁ has a relative genetic similarity of 0.4617 and 0.5965 from *Oncorhynchus mykiss* and *Oncorhynchus masou masou*, separately. The hybrid F₁ has a genetic distance of 0.7729 and 0.5167 from *Oncorhynchus mykiss* and *Oncorhynchus masou masou*, separately. The former is farther than the later, which elucidates that the hybrid F₁ has an unequal heredity difference to its parents and a genetic inclination to its paternity. This is also supported by UPGMA. The results of the research will be useful for the further study on the hybridization between *Oncorhynchus mykiss* and *Oncorhynchus masou masou*.

Key words: *Oncorhynchus mykiss*; *Oncorhynchus masou masou*; hybridization; microsatellite marker; hereditary relationship