

红白锦鲤人工雌核发育纯系的微卫星标记分析

刘静霞 周 莉 魏丽华 桂建芳

(中国科学院水生生物研究所, 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉 430072)

摘要: 利用连续两代人工雌核发育操作, 构建了极具观赏价值的红白锦鲤人工雌核发育系。应用 6 对微卫星引物进行遗传标记研究, 检测分析了该雌核发育系内个体间的遗传同质性及其基因座位的纯合度。实验结果显示, 11 尾经人工挑选具有相同表形、极具观赏价值的 F1 代性成熟个体的微卫星扩增图谱呈现出高度的一致性。同时, 随机挑选的人工雌核发育 F2 代个体在所检测的基因座位均呈现纯合, 扩增图谱呈现了高度的一致, 从分子水平上证实了本实验所获得的红白人工雌核发育 F2 代是一个纯系。

关键词: 锦鲤; 人工雌核发育; 微卫星标记

中图分类号: S965.116 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2003)06-0557-06

红白锦鲤(*Cyprinus carpio* L.) 是一种极具观赏价值的鱼类, 在日本一向被认为是锦鲤的正宗, 其体表底色银白如雪, 上镶嵌有变幻多端的红色斑纹^[1], 是 1917 年由兰木的五助以全身有红点斑纹的雄性“樱斑”鱼与头顶有红色斑纹的雌鱼交配所得后代发展而成的^[2]。由于所有的锦鲤品系由杂交选育而来, 且在养殖和观赏过程中又主要是以色斑这一表形特征进行挑选而分归于不同的品系, 因此, 即使表形一样的个体, 其基因型却存在极大的差异^[3]。另外, 经杂交选育的锦鲤性状极不稳定, 加之养殖条件的限制, 致使养殖者很难预测杂交子代的花色, 只有通过无数次选育, 方能于千万尾中获得几尾具观赏价值的锦鲤^[4]。因此, 通过人工雌核发育或从分子水平上揭示其色素遗传机制, 构建一系列具有观赏价值的纯系, 使育种者能有效地预测和控制花色, 是目前锦鲤育种中亟待解决的难题。

人工雌核发育是一种有效产生纯系的手段, 而且在鱼类染色体操作、遗传分析以及性别控制等方面具有潜在的应用价值。目前, 这种技术已被广泛应用于各种养殖鱼类。迄今为止, 研究人员已对二十多种鱼类成功地进行了人工雌核发育研究^[5-7]。Taniguchi 等^[8]和 Gomelsky 等^[9,10]用人工雌核发育技术初步进行了锦鲤色斑遗传规律的研究, 但仅局限在用统计色斑的分布概率来推测锦鲤体表色素的遗

传规律, 没有采用分子标记来鉴别具有观赏价值的锦鲤个体。另外, 近年来虽然有人将多种分子标记用于锦鲤与鲤鱼其他品种间的亲缘关系^[11,12]分析, 但迄今为止仅本实验室将微卫星标记用来检测过锦鲤不同人工雌核发育系的遗传差异^[3], 而尚没有用其分析锦鲤人工雌核发育纯系的报道。本研究利用微卫星标记, 分别检测了红白锦鲤人工雌核发育 F1 和 F2 连续两代个体间的遗传相似性, 并与两性交配后代进行了比较分析。

1 材料与方法

1.1 人工雌核发育锦鲤的获得 锦鲤的两次人工雌核发育操作实验分别于 1999 年、2001 年在武汉新世界水族馆进行。所有人工雌核发育锦鲤的获得均参照传统的人工雌核发育方法进行^[13-15], 主要步骤是采用紫外线照射使取自于团头鲂的精子遗传失活, 将遗传失活的精子与红白锦鲤的卵子授精, 然后在授精 3—5min 时用 0—2℃ 冰水将受精卵冷休克 1—3min 使第二极体保留, 诱导基因组加倍。由此发育养殖而成的红白锦鲤被称为 F1 代人工雌核发育个体。在养殖过程中经过了几次人为挑选, 最后选取与母本花色相似或基本相似的红白个体经两年养到性成熟。产卵前, 随机选取 11 尾个体抽血用于微卫星标记检测。其中 1 尾经人工催产产卵后, 成

收稿日期: 2003-03-10; 修订日期: 2003-03-30

基金项目: 武汉市科技攻关项目; 国家自然科学基金项目(批准号: 39870430, 39823003)

作者简介: 刘静霞(1976—), 女, 湖北汉川市人; 博士研究生; 研究方向: 遗传学

通讯作者: 桂建芳

功地进行了第二代人工雌核发育实验,并获得了一批F2代人工雌核发育红白锦鲤。待F2代人工雌核发育锦鲤个体养到10—15cm时随机选取6尾个体连同其父母本抽血,同时作为对照,从一组由父母本都为红白表型的两性交配后代中取8尾个体与其父母本一起分别抽血取样,用于微卫星标记分析。

1.2 基因组 DNA 的提取 基因组 DNA 的提取参照已报道的标准抽提程序^[16,17]进行,并通过琼脂糖电泳定量 DNA。

1.3 PCR 反应 采用了 Crooijmans 等^[18]分离的普通鲤鱼的 6 对微卫星 DNA 引物,分别为 MFW1、MFW4、MFW7、MFW19、MFW24 和 MFW28,各对引物的编号、序列以及退火温度见表 1。PCR 扩增反应总体积为 25μL,内含约 50—100ng 的模板 DNA,0.2μmol/L 引物,0.5U Taq 酶(Biostar International),0.1μmol/L 的 dNTP 和 1×Taq 反应缓冲液。PCR 反应扩增程序参照 Crooijmans 等的报道^[8]进行,整个反应为 35 个循环,每个循环包括 94℃变性 30s,退火 45s,72℃延伸 60s,各对引物的特异退火温度见表 1。首次循环前先预变性 4min,最后一次循环结束后 72℃延伸 7min。

1.4 扩增产物的电泳分析 10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,5V/cm 低电压低温电泳,电泳完毕后用溴化乙锭染色,在 White/Ultraviolet Transilluminator (UVP, Ultraviolet Products) 上观察、记录和分析。

2 结果

2.1 F1 代人工雌核发育红白锦鲤微卫星扩增图谱

采用 10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶,低电压低温电泳分离 PCR 产物,效果较好。所采用的 6 对微卫星引物均能在锦鲤中稳定重复地扩增出相应的 PCR 产物,大小在 100—300bp 之间(图 1,图 2;表 2)。F1 代人工雌核发育红白锦鲤扩增图谱显示,11 属个体的 6 对微卫星引物的扩增结果呈现了高度一致性,与其表型都为红白所表现的一致性相吻合。例如,若根据个体呈现的片段数及其大小来命名基因型,那么 MFW1 在 11 尾个体中呈现的基因型为 200/170;MFW7 在 11 尾个体中呈现的基因型为 240/206;MFW19 在 11 尾个体中呈现的基因型为 148(图 1;表 2)。另外,11 尾个体在 MFW4、MFW24 和 MFW28 的扩增产物中呈现的基因型分别为 178/144,234/202 和 68(表 2)。

2.2 F2 代人工雌核发育红白锦鲤微卫星扩增图谱

F2 代人工雌核发育红白锦鲤是由以上分析的 11 尾 F1 代个体中的 1 尾经人工催产成功产卵后,进行了第二代人工雌核发育实验获得的。随机选取 6 尾个体同其父母本用于微卫星标记分析。扩增图谱显示,人工雌核发育组 F2 代个体的等位基因均来自母本。例如,在 MFW1 的扩增产物中,母本呈现的基因型为 200/170,父本呈现的基因型为 150,6 尾 F2

表 1 6 对微卫星 DNA 引物的序列、特异退火温度和显示的基因座位数
Tab.1 Sequence, specific annealing temperature, and the amplified loci number of six microsatellite marker primers

微卫星标记 (Microsatellite marker)	引物序列 (Primer sequence)	重复序列 (Repetitive sequence)	退火温度(℃) (Annealing temperature)	基因座位数 (Number of loci)
MFW1	5'-GTCCAGACTGTCATCAGGAG-3'	CA	59	2
	5'-GAGGTGTACA CTGAGTCACGG-3'			
MFW4	5'-CACACCGGGCTACTGCAGAG-3'	CA	64.5	3
	5'-GTGCAGTGCAGGCAGTTTGC-3'			
MFW7	5'-TCCAAGTCAGTTTAATCACCG-3'	CA	64	2
	5'-GGGAAGCGTTGACAACAAG-3'			
MFW19	5'-GAATCCTCCATCATGCAAAG-3'	CA	64.5	1
	5'-GCACAAACTCCACATTGTGCG-3'			
MFW24	5'-GCTCCAGATTGCACATTATAG-3'	CA	64.5	2
	5'-CTACACACACGCACAGCCTTTG-3'			
MFW28	5'-GATCCCTTTTGAATTTTCTAG-3'	CA	54	1
	5'-ACAGTGAGGTCCAGAAGTCG-3'			

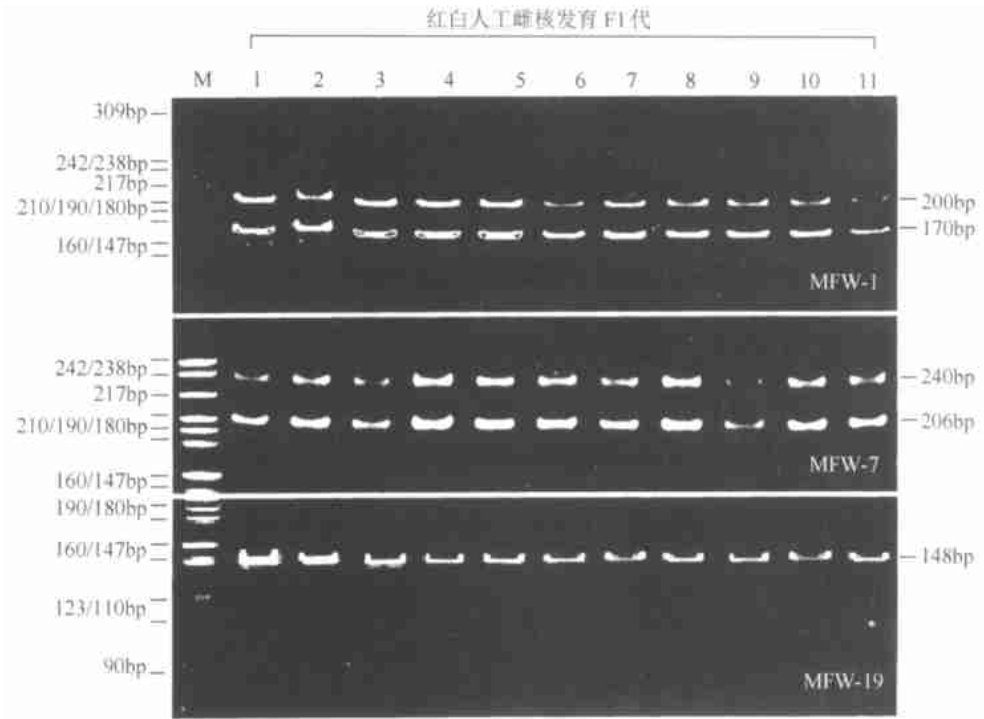


图1 MFW1、MFW7、MFW19 3个微卫星标记对红白人工雌核发育 F1 代的 11 尾个体扩增出的典型的电泳图谱, 显示出选育后的人工雌核发育 F1 代呈现了高度的遗传同质性

Fig. 1 Electrophoretogram of 3 typical microsatellite patterns produced by MFW1, MFW7 and MFW19.

The results show high homogeneity among 11 individuals of the gynogenetic F1 progeny with same phenotype

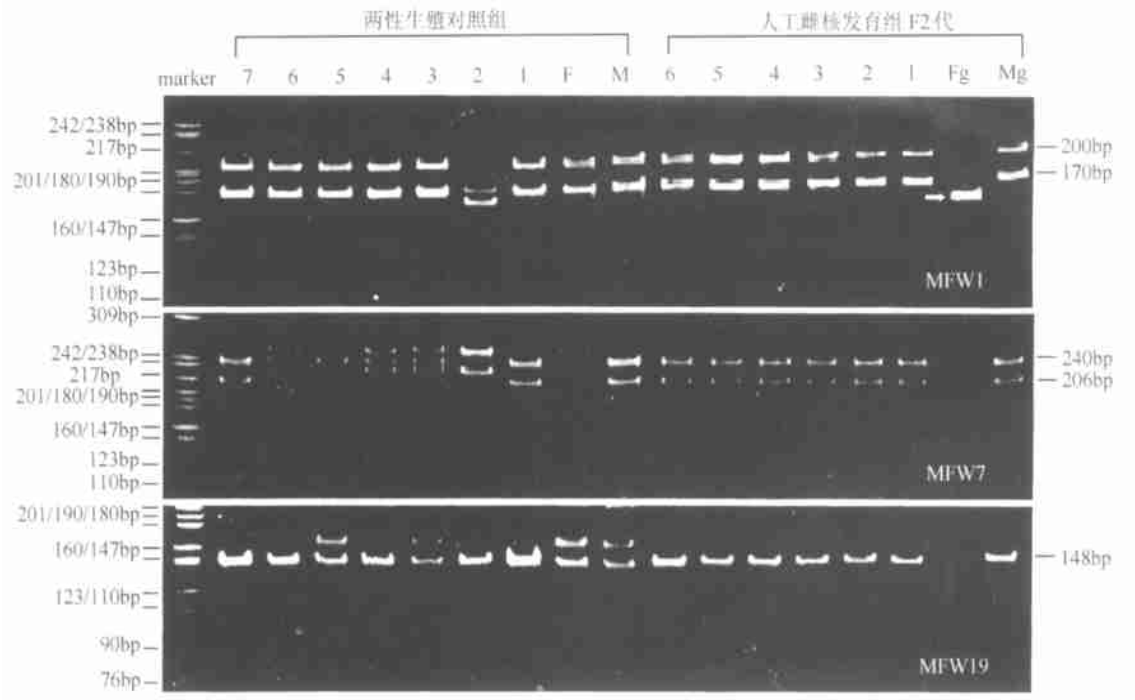


图2 MFW1、MFW7 和 MFW19 3个微卫星标记对红白人工雌核发育 F2 代的 6 尾个体和两性生殖对照组 8 尾个体所扩增出的电泳图谱, 显示出人工雌核发育 F2 个体间与其母本高度一致, 而两性生殖对照组个体出现了遗传重组

Fig. 2 Electrophoretogram of 3 microsatellite patterns produced by MFW1, MFW7 and MFW19. The results show that the 6 F2 gynogenetic individuals possess highly identical DNA patterns to their mother, and genetic recombination has occurred in the control group of bisexual mating

表 2 人工雌核发育 F1 代, F2 代和两性生殖对照组的基因型
Tab 2 Genotypes of artificial gynogenetic F1 progeny, F2 progeny and bisexually mating control group

微卫星标记 Microsatellite marker	基因型及其等位基因(Genotype and alleles)		
	F1 代	F2 代	对照组
MFW1	1—200, 1—170	1—200, 1—170	1—200, 1—170 1—200, 1—190, 1—170, 1—160
MFW4	4—178, 4—144	4—178, 4—144	4—190, 4—178, 4—144 4—178, 4—144
MFW7	7—240, 7—206	7—240, 7—206	7—250, 7—240, 7—218, 7—206 7—240, 7—206 7—250, 7—218
MFW19	19—148	19—148	19—160, 19—148 19—148
MFW24	24—234, 24—202	24—234, 24—202	24—240, 24—210 24—234, 24—202 24—240, 24—234, 24—210, 24—202
MFW28	28—68	28—68	28—68

子代个体均呈现了 200/170 的基因型(图 2, MFW1; 表 2); MFW7 的扩增图谱显示, 母本呈现的基因型为 240/206, 父本无扩增产物, 6 尾 F2 子代个体显示的基因型也为 240/206(图 2, MFW7; 表 2); 在 MFW19 的扩增产物中, F2 子代个体与母本的基因型均为 148(图 2, MFW19; 表 2)。微卫星等位基因为孟德尔遗传, 因此, 根据 6 对微卫星引物的扩增结果, 由孟德尔遗传的分离和自由组合规律, 可以推测, MFW1 和 MFW7 两对引物的扩增产物应该属于两个不同的基因座位, 另外, 扩增结果显示, MFW24 的扩增产物也分别属于两个不同的基因座位, 若以等位基因的大小表示, 基因座位可表示为 MFW24-234 和 MFW24-202, 同时, MFW4 的扩增产物分别属于 3 个不同的基因座位, 即 MFW4-190, MFW4-178 和 MFW4-144(图谱未展示; 表 2)。而 MFW19, MFW28 的扩增产物应属于同一基因座位。

2.3 两性生殖对照组的微卫星扩增图谱

为了进一步证实这 6 对微卫星标记为孟德尔遗传且在两性生殖组合中发生了分离和自由组合, 选用了一两性生殖组合作为雌核发育组的对照, 其父母本也是表型为红白的个体。

扩增图谱显示, 在两性生殖对照组中, 子代个体等位基因均由父母本配子等位基因的自由组合而形成, 同时父本或母本的配子在形成过程中某些座位出现了重组。例如, MFW1 的扩增图谱显示, 父本的基因型为 200/170, 母本的基因型也为 200/170, 6 尾子代个体显示的基因型为 200/170, 而 2 号个体显示的基因型为 200/190/170/160(图 2, MFW1; 表 2); 在 MFW7 的扩增产物中, 父母本分别显示的基因型为

250/240/218/206 和 240/206, 7 尾子代个体显示了三种基因型, 分别为 250/240/218/206, 240/206, 250/218, 其中 2 号个体显示的基因型为 250/218(图 2, MFW7; 表 2)。2 号个体特异的基因型可能是因其来源于父母本的配子在形成过程中出现了重组。

2.4 F1 代和 F2 代人工雌核发育红白锦鲤个体基因座位纯合度分析

扩增图谱显示, F1 代和 F2 代个体的 6 对微卫星引物的扩增结果呈现了高度的一致, 同时, 在所检测的微卫星座位, 这些个体的基因都呈现纯合。实验结果显示, MFW1 的等位基因 200 和 170, MFW4 的等位基因 178 和 144, MFW7 的等位基因 240 和 206, MFW24 的等位基因 234 和 202 分别属于两个不同的基因座位, 由于一个微卫星座位的特异引物在纯合的材料中只能扩增一条 DNA 带^[18], 因此, 这 11 尾 F1 个体在所检测基因座位均呈现纯合, 同时, 6 尾人工雌核发育 F2 代个体不仅呈现完全一致的电泳图谱, 并且在所检测的微卫星座位基因均呈现纯合, 该结果从分子生物学的基础上证实了本实验所获得的人工雌核发育 F2 代是一个纯系。

3 讨论

目前, 日本人已培育了 13 种基本花色的锦鲤品系, 利用 13 个品种彼此杂交又产生了各种各样色彩斑斓的锦鲤^[2]。但困扰锦鲤养殖爱好者的难题仍然是其选育。Kataoka 曾指出, 经验丰富的育种者即使很仔细地进行锦鲤品系间的交配, 仍很难预测其子代的色斑分化。因此, 育种者必须经过数十次挑选, 从数以千计的仔鱼中保留最有观赏潜力的加以养

殖, 并且其中可能只有 0.1%—1% 的个体可以作为以后生产繁育的亲本^[4]。这也是目前锦鲤价格随其观赏价值的增长而成指数比例增长的原因。所以, 锦鲤育种急需解决的问题是揭示锦鲤色斑遗传的调控机制, 人为地控制锦鲤的色斑遗传。而纯合的品系有利于构建基因图谱, 可提高分析质量性状遗传的成功率^[19]。因此, 培育锦鲤的纯合品系, 既可选育一些具有优良性状的锦鲤用于以后的生产繁殖, 又可获得研究锦鲤色斑遗传调控机制的实验材料。吴清江等和 Streisinger 等几乎同时研制出了一套完整的以连续两代的人工雌核发育结合性别人工控制建立纯系的完整技术方案^[5,6]。但是, 在人工雌核发育中还有很多问题需要解决, 对其操作过程和机理的探讨再结合锦鲤的色斑分化研究, 将有助于进行更有效的操作以构建具有较高品位的锦鲤人工雌核发育纯系。

人工雌核发育是一种快速有效产生纯系方法, 一次有丝分裂雌核发育相当于 8—10 个世代同胞兄妹交配, 一次有丝分裂加一次极体雌核发育就可以获得纯系^[5,6]。研究人员运用同工酶和转铁蛋白等分子标记技术, 证实经过一代人工雌核发育后, 家系内个体的遗传同质性明显提高^[20], 但有一定比例的杂合个体存在。Taniguchi 等利用同工酶标记检测了人工雌核发育锦鲤, 也检测出一定比例的杂合个体^[8], 与 Nagy 等的观点一致^[21], 并认为雌核发育子代个体中存在的杂合现象是减数分裂导致的基因重组造成的^[8]。Young 等利用 DNA 指纹检测分析了单性生殖子代个体的纯合度, 同时证实某些座位仍存在一定比例的杂合个体^[19]。刘静霞等^[3]利用微卫星分子标记检测了来自 4 个人工雌核发育 F1 代家系的 20 尾锦鲤个体, 也在某些座位检测出一定比例的杂合个体。

利用微卫星标记检测了经选育的 11 尾具有高度观赏价值, 表型极其一致的人工雌核发育 F1 代红白个体, 结果显示, 与其表型相同, 微卫星标记引物的扩增结果也呈现了高度的一致, 而且所检测的基因座位均呈现纯合。这可能由于人工雌核发育操作加速了基因座位的纯合, 同时, 红白 F1 代人工雌核发育锦鲤在养殖中结合表型选育又淘汰了一些杂合的个体。本结果表明, 具有高度观赏价值的锦鲤可以采用人工雌核发育技术路线结合其花色表形而获得纯系。进而, 所获得的红白锦鲤纯系可为后续的色斑遗传机制研究提供必要的实验材料, 所鉴定的微卫星标记是进行锦鲤分子标记育种和基因组作图

的有用工具。

参考文献:

[1] Gui J F. Ornamental carp[J]. *Reservoir Fisheries*. 1986, (5): 40—42. [桂建芳. 锦鲤欣赏. 水利渔业. 1986, (5): 40—44]

[2] Kuroki T. Manual to Nishikigoi[M]. Shimomoseki: Shuji Fujita, 1990

[3] Liu J X, Zhou L, Zhao Z S, *et al.* Studies on microsatellite markers of four artificially gynogenetic families in ornamental carp[J]. *Zoological Research*, 2002, **22**(2): 97—105. [刘静霞, 周莉, 赵振山等. 4 个人工雌核发育锦鲤的微卫星标记. 动物学研究, 2002, **22**(2): 97—105]

[4] Kataoka M. Nishikigoi Dangi(Short Story s) [M]. Kumagayashi: Takayoshi Kataoka, 1989

[5] Streisinger G, Walker C, Dower N, *et al.*, . Production of homozygous diploid zebra fish[J]. *Nature*. 1981, **291**: 293—296

[6] Wu Q J, Ye Y Z, Cheng D R. Investigation on the carp gynogenesis with reference to establishing a pure line[J]. *Acta Genetica Sinica* 1981, **8**(1): 50—55. [吴清江, 叶玉珍, 陈德荣. 鲤鱼人工雌核发育及其作为建立近交系新途径的研究. 遗传学报. 1981, **8**(1): 50—55]

[7] Bongers A B J, Berr Ayed M Z, Zandieh Doulabi B, *et al.* Origin of variation in isogenic gynogenetic and androgenetic strains of common carp *Cyprinus carpio* [J]. *Journal of Experimental Zoology*. 1997, **277**: 72—79

[8] Taniguchi N, Kijima A, Tamura T, *et al.* Color, growth and maturation in ploidy-manipulated fancy carp[J]. *Aquaculture*. 1986, **57**: 321—328

[9] Gomelsky B, Cherfas N B, Bendon N *et al.* Color inheritance in ornamental (koi) carp (*Cyprinus carpio* L) inferred from color variability in normal and gynogenetic progenies[J]. *Israeli Journal of Aquaculture*. 1996, **48**: 219—230

[10] Gomelsky B, Cherfas N, Hulata G. Studies on the inheritance of black patches in ornamental (koi) carp[J]. *Israeli Journal of Aquaculture*. 1998, **50**: 134—139

[11] Zhang H, Zhang J Q, Li T P. Studies on the polymorphism of transferrin and serum esterase in common carp[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1993, **17**(30): 278—281. [张辉, 张俊权, 李太平. 鲤转铁蛋白和血清脂酶多态性研究[J]. 水生生物学报, 1993, **17**(30): 278—281]

[12] Gross R, Klaus K, Kersten P. PCR-RFLP analysis of the mitochondrial ND-3/4 and ND-5/6 gene polymorphisms in the European and East Asian subspecies of common carp(*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Aquaculture*. 2002, **204**: 507—516

[13] Gui J F, Sun J M, Liang S C, *et al.* Studies on genome manipulation in fish: I . Induction of transparent colored crucian carp(*Carassius auratus* transparent colored variety) by hydrotatic pressure[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1990, **14**(4): 336—344. [桂建芳, 孙建民, 梁绍昌, 等. 鱼类染色体操作研究, I . 静水压处理和静水压与冷休克结合处理诱导水晶彩鲤三倍体. 水生生物学报. 1990, **14**(4): 336—344]

[14] Gui J F, Sun J M, Liang S C, *et al.* Studies on genome manipulation

in fish: II. Tetraploidy induced by hydrostatic pressure treatment and a combination of hydrostatic pressure and cold treatments in transparent colored crucian carp[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1991, **15**(4): 333—341. [桂建芳, 孙建民, 梁绍昌, 等. 鱼类染色体操作研究, II. 静水压处理和静水压与冷休克结合处理诱导水晶彩鲫四倍体. 水生生物学报. 1991, **15**(4): 333—341]

[15] Jia H B, Zhou L, Gui J F. The establish of two artificial gynogenetic red white ornamental carp and detection of RAPD markers[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2002, **26**(1): 1—7[贾海波, 周莉, 桂建芳. 两个不同锦鲤的红白雌核发育系的建立及其 RAPD 分子鉴别标记. 水生生物学报. 2002, **26**(1): 1—7]

[16] 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 Hydrobiologica Sinica*, 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入的 RAPD 分析. 水生生物学报, 1998, **22**(4): 301—306]

[17] Zhou L, Wang Y, Gui J F. Analysis of genetic heterogeneity among five gynogenetic clones of silver crucian carp, *Carassius auratus gibelio* Bloch, based on detection of RAPD molecular markers[J]. *Cytogenet. Cell Genet.* 2000a, **88**: 133—139

[18] Crooijmans R P M A, Bierbooms V A F, Komen J, *et al.* Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Animal Genetics*. 1997, **28**: 129—134

[19] Young W P, Wheeler P A, Thorgaard G H. DNA fingerprinting confirms isogenicity of androgenetically derived rainbow trout lines[J]. *J Hered.* 1996, **87**(1): 77—80

[20] Yang S T, Gui J F. Isozyme analysis and preliminary confirmation of the genetic markers in two artificial gynogenetic populations of silver carp, *H. molitrix*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, **23**(3): 264—268. [杨书婷, 桂建芳. 两上雌核发育白鲢群体同工酶分析及遗传标记的确定. 水生生物学报. 1999, **23**(3): 264—268]

[21] Nagy A, Rakji K, Bakos J, *et al.* Genetic analysis in carp(*Cyprinus carpio*) [J]. *Heredity*. 1979, **43**: 35—40

MICROSATELLITE MARKER ANALYSIS ON ARTIFICIALLY GYNOGENETIC PURE LINE OF RED WHITE ORNAMENTAL CARP

LIU Jing-Xia, ZHOU Li, WEI Li-Hua and GUI Jian-Fang

(State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology; Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China)

Abstract: One pure line of red white ornamental carp(*Cyprinus carpio* L.) was produced by two successive artificial gynogenesis with the combination treatment of UV irradiation sperm and cold shock (3—5℃) to block second polar body extrusion. The used heterozygous sperm came from bluntnose black bream(*Megalobrama amblycephala* Yih). Six microsatellite markers of the poly (CA) type isolated from common carp were used to assess genetic homogeneity among individuals of the artificially gynogenetic Red White ornamental carp pure line. Electrophoretic patterns showed that the six pairs of microsatellite primers all produced well-identifiable DNA fragments, and their size ranged from 100bp to 300bp. In this study, 11 individuals similar to their mother in the color phenotype were selected from the artificially gynogenetic F1 progeny of Red White ornamental carps. The DNA fragment patterns of 11 individuals amplified by six primers were highly identical. One of them was successfully induced to spawn, and the ovulated eggs were used to produce artificial gynogenetic F2 progeny. Six individuals were randomly sampled from the F2 gynogenetic ornamental carps to analyze their genetic homogeneity. As a control, 8 individuals reproduced from bisexual mating were also analyzed by the six microsatellite markers. The results indicated that the 6 F2 gynogenetic individuals showed highly identical DNA patterns to their mother, and Mendel’s genetic law of the six microsatellite markers were demonstrated by the control group. The current study provides a new technique to produce pure line in ornamental carp. Moreover, the artificially gynogenetic pure line of red-white ornamental carp will be useful for further studying on genetic mechanism of body color types in ornamental carp, and the molecular markers will be able to provide some valuable tools for marker-assisted selection breeding or gene mapping in the ornamental carp.

Key words: Ornamental carp; Artificial gynogenesis; Microsatellite; Molecular marker