

黄颡鱼属物种的 RAPD 分子鉴定及杂种遗传分析

赵文学¹ 杨星¹ 彭智² 刘思阳¹

(1. 武汉大学发育生物学教育部重点实验室; 生命科学学院, 武汉 430072;

2. 华中农业大学水产学院, 武汉 430070)

摘要: 使用 20 个随机引物研究了 4 种黄颡鱼的 RAPD 图谱, 其中 6 个可以用来准确鉴别 4 个种, 分别是 S1、S2、S5、S7、S8、S17。同时也分析了 4 种黄颡鱼之间的亲缘关系, 发现种间遗传距离 D 值在 0.5000 左右波动, 黄颡鱼-叉尾黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼-光泽黄颡鱼之间的 D 值最小, 分别是 0.4816 和 0.4017。聚类图显示, 黄颡鱼和叉尾黄颡鱼属同一分支; 瓦氏黄颡鱼和光泽黄颡鱼属另一分支, 说明它们之间分别有更近的亲缘关系。另外, 采用黄颡鱼作母本, 瓦氏黄颡鱼作父本, 获得了杂交 F₁ 代, 对 F₁ 代进行 RAPD 分析, 发现了杂种遗传图谱的三种变化情况: 叠加、叠加-变异、叠加-弱化, 表明 F₁ 代 DNA 多态性增强, 杂合性提高, 预示着杂种优势的可能性。

关键词: 黄颡鱼属; RAPD; 分子鉴定; 杂种遗传分析

中图分类号: Q953 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2006)01-0101-06

黄颡鱼属隶属于鲶形目, 鲶科, 包括 4 个种: 黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*), 瓦氏黄颡(*Pelteobagrus vachelli*), 又名江黄颡, 光泽黄颡(*Pelteobagrus nitidus*), 又名尖嘴黄颡, 叉尾黄颡(*Pelteobagrus apogon*), 又名长须黄颡^[1-3]。该属种类分布广泛, 其经济价值在过去不被重视而归为杂鱼之列。由于其肉质细腻、味道鲜美、少刺, 现已列为名优经济品种, 具有很大的市场潜力。

黄颡鱼属 4 个种的形态特征较为相似, 种的表型易受到地理位置和环境的影响, 用形态学的方法有时难以准确鉴别。因此, 从遗传本质上寻找相互之间的差异有助于更清楚地鉴别各个种。RAPD 技术以其检测灵敏方便、多态性强等特点而广泛采用^[4-6]。现已成功地应用于许多动物和植物的遗传图谱研究和种质鉴定, 并获得了较好的效果^[7-9]。目前还没看到对 4 种黄颡鱼从分子水平上进行鉴定的报道, 宋平等对黄颡鱼的遗传标记进行了分析, 但只是限于属的水平上, 没有找到各个种的特征标记^[10], 本文拟采用 RAPD 技术, 研究黄颡鱼的遗传图谱, 从分子水平上鉴别黄颡鱼的 4 个种, 并初步探讨它们的亲缘关系。另

外, 许多研究结果表明用 RAPD 技术研究杂交育种是一种十分有效的认定杂种优势的方法^[11, 12]。作者采用黄颡鱼作母本、瓦氏黄颡鱼作父本进行交配, 获得了杂交 F₁ 代, 子代某些性状较其亲本有一定的提高。对杂交 F₁ 代个体进行了 RAPD 分析, 讨论了杂交子代的遗传图谱的变化特点。

1 材料和方法

1.1 材料 黄颡鱼取自武汉汤逊湖; 瓦氏黄颡、光泽黄颡和叉尾黄颡取自湖北省嘉鱼县长江段, 活体运回; 按 1:3 选取瓦氏黄颡鱼(♂)和黄颡鱼(♀)进行人工催产, 人工受精, 人工孵化喂养获得杂交鱼苗。

1.2 DNA 提取 参考文献^[13]方法进行。

1.3 DNA 体外扩增(PCR) 反应系统和扩增程序参见文献^[14]。

1.4 凝胶电泳及图像处理 将 PCR 产物在 1.0% 琼脂糖凝胶中电泳, 电压 4V/cm。再以 EB 染色, 并在紫外凝胶成像系统下获取图像。

1.5 数据处理 把电泳图谱中任何一个个体在任一泳道垂直方向显示的带纹记做“1”, 而其他个体

收稿日期: 2004-12-20; 修订日期: 2005-05-20

基金项目: 武汉大学自强创新基金资助

作者简介: 赵文学(1978-12-), 男, 土家族, 湖北建始人, 硕士生, 从事动物遗传育种及生物多样性研究。部分实验材料是由湖北省良种鱼养殖场提供, 在此表示谢意!

联系地址: 中国科学院遗传与发育生物学研究所 100080, 010-82614420, Email: happy9life@163.com

通讯作者: 刘思阳, syliu1960@yahoo.com.cn

对应的位点缺少此带则记做“0”,这样可以得到各个个体的二进制数据信息的方阵。

1.6 种内及种间遗传距离的获得 将上述二进制数据方阵用 PhyITools 软件^[15] 计算获得个体间遗传距离矩阵; 根据 Nei 公式计算任意两个物种间的遗传相似度 $S = 2N_{xy} / (N_x + N_y)$, 种间遗传距离 $D = 1 - S$ ^[16]。4 个种间的亲缘关系采用 PHYLIP 3.5C 中

UPGMA 程序^[17] 进行分析得到聚类图。

2 结 果

2.1 四种黄颡鱼的 RAPD 图谱鉴定

选用 20 个随机引物对 4 个物种的群体进行 RAPD 分析, 其中 17 个显带良好, 可以用于分析。引物及其扩增的情况见表 1。

表 1 20 个引物序列及扩增情况
Tab. 1 20 primers and the result of amplification

引物编号	引物序列(5'-3')	扩增带数	引物编号	引物序列(5'-3')	扩增带数
S1	GTTTCGCTCC	12	S11	GTTGGTGGCT	10
S2	TGATCCCTGG	10	S12	ACAACGCCTC	12
S3	CATCCCCCTG	19	S13	GGGGGATGAG	0
S4	GGA CTGGAGT	14	S14	GGGGGTTGTC	11
S5	TGCGCCCTTC	14	S15	GGGAACGTGT	10
S6	TGCTCTGCCC	10	S16	CTGGGCAACT	11
S7	GGTGACGCAG	11	S17	AGGGAACGAG	16
S8	GTCCACACGG	20	S18	CCACAGCAGT	10
S9	TGGGGGACTC	0	S19	ACCCCGAAG	9
S10	CTGCTGGGAC	16	S20	GGACCCTTAC	0

表 1 中任意一引物对应的扩增带纹数系指 4 个物种多态位点的并集。因此, 表 1 中的扩增带数并不能反映出各个种群的差异, 仅能反映出带谱的丰

度。真正鉴别 4 个物种要用具体的图谱来说明。以引物 S7 为例(图 1)。

首先将图谱上具有特征性的 5 条带依次定义为

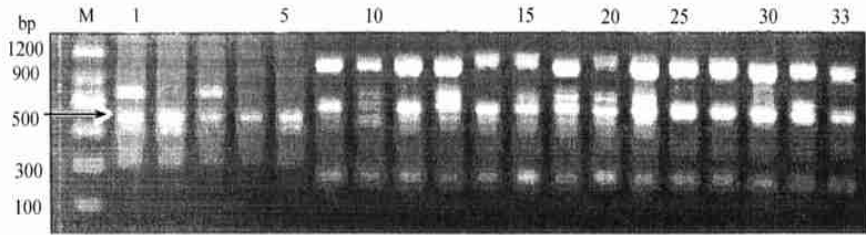


图 1 用引物 S7 对 4 个种的 33 个个体的 RAPD 图谱

Fig. 1 RAPD patterns amplified by primer S7 for the 33 individuals of 4 species 1-10 黄颡鱼 *P. fukiensis*; 11-20 瓦氏黄颡鱼 *P. vahlii*; 21-30 光泽黄颡鱼 *P. nitidus*; 31-33 叉尾黄颡鱼 *P. eupogon*

S7-700、S7-600、S7-500、S7-400、S7-300(S7 指引物, 后面的数字指相应片段的分子量), 如果某个物种享有某一特征带则计为“+”, 无此带则计为“-”, 这样可以形成 4 种“正负组合”, 见表 2。

由表 2 可以看出这 4 个种“正负组合”中, 没有任何两个组合是相同的, 这意味着没有任何两个种是相同的, 从而清楚地鉴别出 4 个物种。这种方法称为带谱组合法。从图 1 中可以看出 S7-700 是瓦

表 2 引物 S7 对 4 种黄颡鱼的带谱组合

Tab. 2 Band combination of 4 species on genus *Pelteobagrus* by primer S7

	S7-700	S7-600	S7-500	S7-400	S7-300
黄颡鱼	-	-	+	+	+
瓦氏黄颡	+	-	+	+	-
光泽黄颡	-	+	-	+	-
叉尾黄颡	-	-	+	+	-

氏黄颡鱼的特征标记; S7-600 是光泽黄颡鱼的特征标记; S7-300 是叉尾黄颡鱼的特征标记。因此引物 S7 对于黄颡鱼属是一个非常适合的引物,即使不采

用带谱组合也可以鉴定 4 个种。另外,能够很好地鉴定 4 个物种的还有 S1、S2、S5、S8、S17 等引物。结果见表 3。

表 3 引物 S1、S2、S5、S8、S17 对 4 种黄颡鱼的鉴定

Tab.3 The identification of 4 species of the genus *Pelteobagrus* by primers S1, S2, S5, S8, S17

	1	2	3	4		1	2	3	4		1	2	3	4
S1-2027	-	-	-	+	S2-450	+	-	-	-	S8-520	+	-	-	-
S1-1904	-	+	-	+	S2-300	-	+	-	-	S8-420	+	-	+	+
S1-1700	+	-	+	+	S5-1700	+	+	+	-	S8-400	-	+	+	-
S1-1300	+	-	-	+	S5-1400	-	-	-	+	S8-350	+	-	-	+
S1-1100	-	+	-	-	S5-1300	+	-	-	-	S8-200	-	+	+	-
S2-1200	-	+	+	-	S5-1200	-	-	-	+	S17-1200	+	+	+	-
S2-1100	-	-	-	+	S5-1100	-	-	+	-	S17-1100	+	-	-	+
S2-750	-	+	+	-	S5-831	+	+	-	-	S17-1000	-	+	+	-
S2-600	+	-	-	-	S8-1200	-	+	+	-	S17-900	-	+	-	-
S2-550	+	-	-	-	S8-900	-	+	+	+	S17-800	+	-	+	+
S2-500	-	+	-	-	S8-700	-	+	-	+	S17- 700	-	+	+	-

注: 1. 黄颡鱼 *P. fulvidrao*; 2. 瓦氏黄颡鱼 *P. vadhelli*; 3. 光泽黄颡鱼 *P. nitidus*; 4. 叉尾黄颡鱼 *P. eupogon*.

2.2 种间遗传相似度和亲缘关系

根据以上结果,计算出 4 个种之间的遗传距离和相似度(表 4)。

表 4 黄颡鱼属 4 个种的种间遗传距离和相似度

Tab.4 Genetic distance and similarity among 4 species of genus *Pelteobagrus*

D \ S	1	2	3	4
1	—	0.4747	0.5111	0.5183
2	0.5252	—	0.5982	0.4445
3	0.4888	0.4017	—	0.4315
4	0.4816	0.5554	0.5684	—

注: 上矩阵为遗传相似度,下矩阵为遗传距离(The matrix above is genetic similarity; the matrix below is genetic distance.) 1—4 同表 3 注

从表 4 可以看出,种间遗传距离 D 值在 0.5000 左右波动,最小的 2 组是黄颡鱼-叉尾黄颡、瓦氏黄颡鱼-光泽黄颡,其 D 值分别是 0.4816 和 0.4017。黄颡鱼-瓦氏黄颡、黄颡鱼-光泽黄颡、叉尾黄颡-瓦氏黄颡和叉尾黄颡-光泽黄颡这 4 组的 D 值较大。对 4 种黄颡鱼的聚类图分析结果见图 2。该图清楚地显示黄颡鱼和叉尾黄颡鱼属同一分支,瓦氏黄颡鱼和光泽黄颡鱼属另一分支。

2.3 黄颡鱼(♀)与瓦氏黄颡(♂)杂交分析

用 S1、S2、S5、S7、S8、S17 等引物对杂交 F₁ 进行图谱分析,杂交子代与亲本相比图谱发生了明显的改变,大致有三种类型:

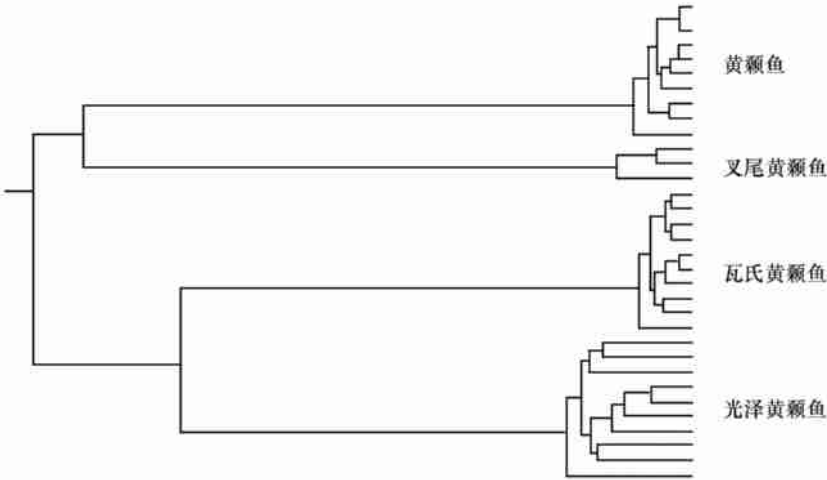


图 2 4 种黄颡鱼的聚类图

Fig.2 The phylogenetic tree of the 4 species of genus *Pelteobagrus*

2.3.1 叠加 表现为子代图谱是父、母本图谱叠加的结果,即亲代的图谱完全被子代所继承,以引物 S7 扩增的结果为例(图 3)。子代共有 4 条特征带:300bp、400bp、500bp、700bp。从图上可以看出,700bp 带为子代和父本共享,表明子代的 700bp 来源与父本。400bp、500bp 带为父母本和子代共享,表明其遗传来源是父本或母本或者双亲都有。300bp 为母本

和子代共享,表明其遗传来源是母方,反映了子代对亲代的高度继承。

2.3.2 叠加-变异 这种图谱同样具有叠加性,但是亲本中的某些带在子代中出现了变异情况。以引物 S2 为例(图 4),父本中约 1100bp 处的片断在子代第 10、11 和 13 个体中的分子量发生了明显的改变,即发生了变异。

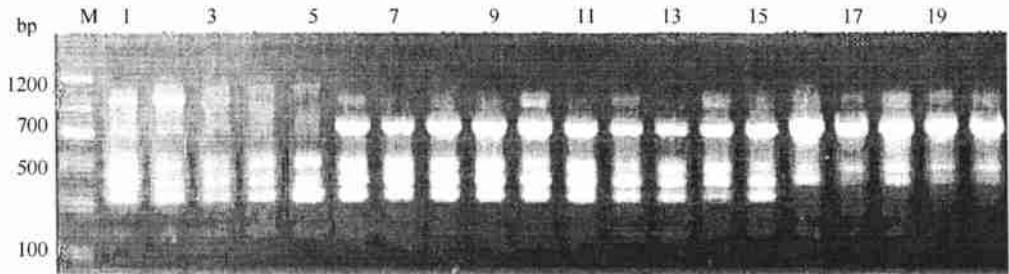


图 3 引物 S7 对黄颡鱼(♀)、瓦氏黄颡(♂)和杂交 F₁ 代的 RAPD 图谱

Fig.3 RAPD patterns of *P. fukiensis* (♀), *P. vachelli* (♂) and F₁ offsprings by primers S7. 1—5 是黄颡鱼, *P. fukiensis*; 6—15 是杂交 F₁, 16—20 是瓦氏黄颡 *P. vachelli*

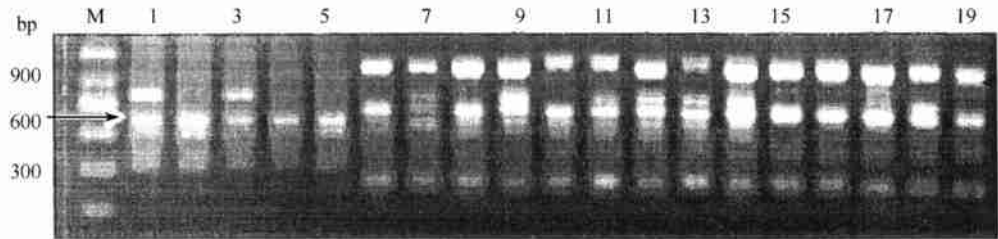


图 4 引物 S2 对黄颡鱼(♀)、瓦氏黄颡(♂)和杂交 F₁ 代的 RAPD 图谱(1-5 是黄颡鱼, 6-14 是杂交 F₁, 15-19 是瓦氏黄颡)

Fig.4 RAPD patterns of *Pelteobagrus fukiensis* (♀), *Pelteobagrus vachelli* (♂) and F₁ offsprings by primers S2 (1-5 *P. fukiensis*; 6-14 F₁; 15-19 *P. vachelli*)

2.3.3 叠加-弱化 这种图谱一方面表现为叠加,另一方面又有一些片段出现弱化。仍以图 4 为例,子代的图谱基本表现为叠加形式,但在母本中清晰可见的 600bp 带在子代中明显变弱,即弱化。

3 讨论

3.1 种质资源的鉴定是一项非常基础性的工作,对探明物种和遗传资源有重要意义。黄颡鱼属的 4 个种在形态上很相似,种间鉴别比较困难。即使是同一个种也会存在种内变异,用形态学特征作为鉴别依据在有些情况下难以把握^[18],用同工酶方法则易受到自然环境的影响^[19],但是,利用具有重复性和非编码 DNA 的标记如 RAPD 标记则很少受到自然环境的限制,其较高的多态性增加了种内和种间鉴定的可行性^[20, 21]。本文采用 RAPD 方法对 4 种黄颡鱼进行了鉴定,获得可分别将 4 种黄颡鱼鉴别开来

的 6 个引物。各个引物的扩增情况不一样,有的情况是 4 个种在同一引物下有各自的特异标志带,例如引物 S7, S7-700 是瓦氏黄颡鱼的特征标记; S7-600 是光泽黄颡鱼的特征标记; S7-300 是叉尾黄颡鱼的特征标记。只需考虑这些特异的标记带即可将 4 种黄颡鱼鉴别开来。实际上,引物 S7 是一个很特殊的例子,大多数情况没有这样理想,往往是几个种享有同一片段,在这种情况下采用“带谱组合法”会很容易地将它们区别开来,这个方法的优点是,即使在鉴别多个种和缺乏典型标记的情况下仍然适用。另外,这里值得注意的是 S7-400 带,它在 4 个组合中均存在,这显示了 4 种黄颡鱼作为同一个属所具有的共性。

3.2 杂交育种是鱼类遗传育种的重要手段之一,它的理论基础是杂种优势。本文选择黄颡鱼和瓦氏黄颡鱼进行人工杂交并分析了 F₁ 代的基因图谱变化,

发现了 3 种变化模式: 叠加、叠加-变异和叠加-弱化。叠加反映了子代对亲本遗传物质继承。在杂交过程中, 父本和母本的遗传物质等量地传递给子代, 在对子代进行遗传标记分析时, 父本和母本的标记理应并列出现在子代个体的图谱中, 因而表现为叠加现象。其他研究者也有获得了类似的结果, Liu 等研究了家蚕与蓖麻蚕杂交后代的 RAPD 图谱, 发现了大量的“亲本带”^[22]。Kari Elo 等研究了鲮鱼和大马哈鱼的杂交子代 RAPD 图谱, 也发现了大量可重复的“亲本带”^[23], 这些结果都显示 RAPD 标记在 F_1 代呈共显性遗传。

在以上几位作者的研究中还发现在 F_1 代 RAPD 图谱中存在少许“非亲本带”, Luo 等发现在葡萄杂交 F_1 中也有“非亲本带”^[24]。Ayliffe *et al.* 认为“非亲本带”的出现频率一般在 0.16%—10% 之间, 因为 RAPD 标记通常是显性遗传^[25]。Riedy 等认为, 人类后代的“非亲本带”出现频率约为 4.4 带/引物, 他们解释这些“非亲本带”是基因漂变的结果, 或者是异源基因相互作用发生重排的结果。“非亲本带”表明子代个体发生了变异, 这与本文发现的黄颡鱼图谱变异情况很类似, 说明黄颡鱼 F_1 代也发生了变异。另外还发现有些“亲本带”发生了“弱化”现象。这些现象在文献中鲜有报道, 目前尚无合理的解释, 作者推测, “弱化”可能是由于“亲本带”原先是以一对纯合的等位基因形式存在, 而在杂种 F_1 中却以杂合的形式存在, 这样子代基因组中原来的“亲本带”的量相应地减少了 1 倍, 扩增时“亲本带”模板的含量相应地也减少了 1 倍, 因此扩增产物中“亲本带”的产物量也减少了一倍, 因而呈现“弱带”。也可能是 DNA 重组的结果, 由于杂合的 DNA 发生片段的交换使得原先可以同“亲本带”正常结合的序列变得不能被引物识别, 或者引物与模板的结合常数变小致使产物中“亲本带”的含量不足而导致“弱带”产生。以上 3 种方式并不代表全部, 随着引物的增多, 可能还会发现其他方式。但总的来说, 杂交 F_1 图谱基本上呈共显性遗传。一方面子代表现出对亲本的继承性; 另一方面子代的基因杂合度也明显增强, 直观地表现为带谱丰度的增加, 这预示着杂交优势的可能性。

参考文献:

- [1] Wu X W. Documents of Chinese economic animals (2nd ed.) [M]. 1979. Beijing: Science Press [伍献文. 中国经济动物志, 第二版, 1979. 北京: 科学出版社]
- [2] Huang Y Q, Wang G T, Sun J, *et al.* Purification and molecular weight determination of serum immunoglobulin from pseudobagrus fulvidraco [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2003, **27**(6): 654—656. [黄艳青, 王桂堂, 孙军, 等. 黄颡鱼血清免疫球蛋白的纯化及分子量的初步测定. 水生生物学报, 2003, **27**(6): 654—656]
- [3] Duan Z H, Sun J Y. Studies on the reproductive biology of *Pelteobagrus vachelli* (Richardson) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1999, **23**(6): 611—616 [段中华, 孙建贻. 瓦氏黄颡鱼的繁殖生物学研究. 水生生物学报, 1999, **23**(6): 611—616]
- [4] Qiu F, Fu J M, Jin D M, *et al.* The Molecular detection of genetic diversity [J]. *Chinese Biodiversity*, 1998, **6**(2): 143—150. [邱芳, 伏健民, 金德敏, 等. 遗传多样性的分子检测, 生物多样性, 1998, **6**(2): 143—151]
- [5] Mao H, Zhou L G, Gui J F. RAPD Marker analysis of two artificial gynogenetic families in silver carp [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2003, **27**(5): 548—550. [毛晗, 周莉, 桂建芳. 鲢两个人工雌核发育家系的 RAPD 分析. 水生生物学报, 2003, **27**(5): 548—550]
- [6] He S P, Wang W, Chen Y Y. The RAPD analysis and the phylogenetic concerning for primitive cyprinidae [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2000, **24**(2): 101—106 [何舜平, 王伟, 陈宜瑜. 低等理科鱼类 RAPD 分析及系统发育研究. 水生生物学报, 2000, **24**(2): 101—106]
- [7] Chen Z M, Chen Y F. Genetic relationships of the specialized schizothoracine fishes inferred from RAPD analysis [J]. *Zoological Research*, 2000, **21**(4): 262—268 [陈自明, 陈毅峰. 用 RAPD 技术对特化等级裂腹鱼类亲缘关系的探讨, 动物学研究, 2000, **21**(4): 262—268]
- [8] Callejas C, Ochando M. D. Molecular identification (RAPD) of eight species of the genus *Barbus* (Cyprinidae) in the Iberian Peninsula [J]. *Journal of Fish Biology*, 2001, **59**: 1589—1599
- [9] Maria T D, Maria A P. Identification of *Fejoo sellowiana* Berg accessions by RAPD markers [J]. *Scientia Horticulturae*, 2000, **86**: 279—290
- [10] Song P, Pan Y F, Xiang Z, *et al.* PARD markers and Genetic Diversity in *Pelteobagrus Fulvidraco* [J]. *Wuhan Univer.* (Nat. Sci. Ed), 2001, **47**: 233—237 [宋平, 潘云峰, 向筑等. 黄颡鱼 RAPD 标记及其遗传多样性的初步分析, 武汉大学学报(理学版), 2001, **47**: 233—237]
- [11] Xu Y, Xu L, Zhong J. Comparison of genomic DNA of hybrid (*Orachromis niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂) and its parents [J]. *Journal of fisheries of China*, 2001, **25**(1): 16—19 [许玉德, 许莉, 钟建兴. 杂交子一代(尼罗罗非鱼 ♀ × 奥利亚罗非鱼 ♂)及其亲本基因组 DNA 的比较, 水产学报, 2001, **25**(1): 16—19]
- [12] Kari E, Saku I, Jukka A, *et al.* Inheritance of RAPD markers and detection of interspecific hybridization with brown trout and Atlantic salmon [J]. *Aquaculture* 1997, **152**: 55—65
- [13] Ausubel F, Short protocols in molecular biology (3rd ed) [M]. 1998, Beijing: Science Press. [奥斯特伯. 精编分子生物学实验指南. 北京: 科学出版社, 1998]
- [14] Zhao W X, Sun Y H, Shao X L, *et al.* Study on genetic diversity of *Silurus asotus* (Linnaeus) and *Italurus nebulosus* with RAPD technique [J]. *Wuhan Univer.* (Nat. Sci. Ed), 2001, **47**(6): 782—784.

- [赵文学, 孙玉华, 邵雪玲, 等. 用 RAPD 技术对鲟和褐首鲟遗传多样性的研究, 武汉大学学报(理学版), 2001, **47**(6): 782—784]
- [15] Philippe H, Douzery E. The pitfalls of molecular phylogeny based on four species, an illustrated by the Cetacea/Artiodactyla relationships [J]. *Journal of Mammalian Evolution*. 1994, **2**: 133—152
- [16] Lynch M. The similarity index and DNA fingerprinting[J]. *Mol. Biol. Evol.* 1990, **7**: 478—484
- [17] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for restriction phylogenetic tree[J]. *Mol Bio Evol*, 1987, **4**: 406—425
- [18] Briolay J. Molecular phylogeny of Cyprinidae inferred from cytochrome b DNA sequences[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1998, **9**: 100—108
- [19] Caccone A. Genetic differentiation within the European sea bass (*D. labrax*) as revealed by RAPD-PCR assays[J]. *Journal of Heredity* 1997, **88**: 316—324
- [20] Williams J. K. G. , DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers[J]. *Nucleic Acids Research* 1990, **18**: 6531—6535
- [21] Haymer D. Resolution of populations of the Mediterranean fruit fly at the DNA level using random primers for the polymerase chain reaction [J]. *Genome*, 1994, **37**: 244—248
- [22] Liu C Y, Chen Y L, Gui M Y, *et al.* Studies on the Mechanism of Variations of Hybrids of Domesticated Silkworm and Eri Silkworm—RAPD Analysis of Genome[J]. *Hereditas*, 1998, **20**(2): 5—8[刘春宇, 陈元霖, 桂慕燕等, 家蚕与蓖麻蚕杂交后代变异机理的探讨——基因组 RAPD 检测. 遗传, 1998, **20**(2): 5—8]
- [23] Kari E, Saku I, Jukka A V, *et al.* , Inheritance of RAPD markers and detection of interspecific hybridization with brown trout and Atlantic salmon[J]. *Aquaculture*. 1997, **152**: 55—65
- [24] Sulan Luo, Puchao H, Xuepin Z, *et al.* , Inheritance of RAPD markers in an interspecific F₁ hybrid of grape between *Vitis quinquangularis* and *V. vinifera*, *Scientia*[J]. *Horticulture* 2002, **93**: 19—28
- [25] Ayliffe M A. Heteroduplex molecules formed between allelic sequences cause nonparental RAPD bands[J]. *Nucleic Acids Res.* , 1999, **22**: 1632—1636

MOLECULAR IDENTIFICATION OF THE FOUR SPECIES OF THE GENUS *PELTEOBAGRUS* AND THE GENETIC ANALYSIS OF THEIR HYBRID

ZHAO Wen-Xue¹, YANG Xing¹, PENG Zhi² and LIU Si-Yang¹

(1. Key Laboratory of the Ministry of Education for Developmental Biology, College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072;

2. College of Fishery, Huazhong Agricultural University 430070)

Abstract: The genus *Pelteobagrus* is classified in Order Siluriformer, Family Siluridae, consisting of 4 species: *P. fulvidraco*, *P. vachelli*, *P. nitidus* and *P. eupogon*. They are similar in morphological characters, which are easily influenced by the geographical regions and environments. Therefore, it is often difficult to identify them accurately at morphological level. It is necessary to research the genetic difference and identify them more distinctly. RAPD(Random Amplification of Polymorphic DNA) technique, as an important tool for genetic study, is widely used in identification of species. 20 random primers(S1-S20) were used to study the RAPD patterns of 4 species of genus *Pelteobagrus*, 6(S1, S2, S5, S7, S8, S17) among which could be employed to identify the 4 species. Each species bore a unique band with the primer S7 used to RAPD amplification, while the others did not. We also studied the phylogenetic relationships of this 4 species based on the data obtained from RAPD analysis above, and found that the genetic distance fluctuated at the point of 0.5000. The genetic distance values of *P. fulvidraco* and *P. eupogon*, *P. vachelli* and *P. nitidus* were the least, 0.4816 and 0.4017 respectively. The phylogenetic tree showed that *P. fulvidraco* and *P. eupogon* originated from a common branch, while *P. vachelli* and *P. nitidus* from another one. That indicated that they were closer in relationship. To study difference between the RAPD patterns of parents and that of offspring, in addition, individuals of *P. fulvidraco*(♀) and *P. vachelli*(♂) were hybridized, and a group of F₁ offsprings were generated. We investigated the offsprings by RAPD method and found three types of genetic patterns: full overlapping, overlapping-variation and overlapping-faintness. This indicated the DNA polymorphism of F₁ offsprings was increased, which forecasted the possibility of heterosis.

Key words: *Pelteobagrus*; RAPD; Molecular identification; Hybrid genetic analysis