

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20190502001

http://www.yykxjz.cn/

姚高友, 谭杰, 吴羽媛, 苏晓盈, 刘付少梅, 张元, 方家熙, 陈楠生, 王春德, 刘志刚. 墨西哥湾扇贝和扇贝“渤海红”及其杂交子代的遗传分析. 渔业科学进展, 2020, 41(5): 118–126

Yao GY, Tan J, Wu YY, Su XY, Liufu SM, Zhang Y, Fang JX, Chen NS, Wang CD, Liu ZG. Genetic analysis of *Argopecten irradians concentricus*, “Bohai Red” and their hybrids. Progress in Fishery Sciences, 2020, 41(5): 118–126

墨西哥湾扇贝和扇贝“渤海红”及其杂交子代的遗传分析*

姚高友^{1,3} 谭 杰^{1,3} 吴羽媛¹ 苏晓盈¹ 刘付少梅²
张 元^{1,3} 方家熙⁴ 陈楠生⁵ 王春德⁶ 刘志刚^{1,3①}

(1. 广东海洋大学水产学院 湛江 524088; 2. 湛江银浪海洋生物技术有限公司 湛江 524022;
3. 广东省南海经济无脊椎动物健康养殖工程研究中心 湛江 524088; 4. 香港理工大学应用生物及化学科技学系 香港 999077; 5. 西蒙·弗雷泽大学理学院分子生物和生物化学系 加拿大不列颠哥伦比亚省本那比市 V5A 1S6;
6. 青岛农业大学海洋与工程学院 青岛 266109)

摘要 利用 SSR (Simple Sequence Repeats) 分子标记技术, 对扇贝“渤海红”、墨西哥湾扇贝 (*Argopecten irradians concentricus*) 及其杂交子代 3 个群体共 90 个个体的遗传多样性进行分析。结果显示, 8 个 SSR 位点共扩增出 67 个等位基因, 各位点等位基因数范围为 4~14 个, 平均等位基因数为 8.5 个。扇贝“渤海红”有效等位基因数(N_e)、平均观测杂合度(H_o)和多态信息含量(PIC)最高, 分别为 2.3947、0.504 和 0.462; 3 个群体的遗传分化指数(F_{st})、基因流(N_m)和固定系数(F_{is})分别为 0.1398、1.5387 和 0.3698。对亲代与杂交子代间的遗传分化分析表明, 杂交子代与扇贝“渤海红”的遗传距离最小(0.1188), 遗传相似度最大(0.888), 杂交子代的遗传结构更偏向亲本扇贝“渤海红”。研究结果可为扇贝“渤海红”和墨西哥湾扇贝群体种质资源评估和杂交新品种的选育提供理论参考。

关键词 墨西哥湾扇贝; 扇贝“渤海红”; 杂交; 遗传多样性

中图分类号 S966.9 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2020)05-0014-09

扇贝“渤海红”为紫扇贝 (*Argopecten purpuratus*) 与海湾扇贝北部亚种 (*A. irradians irradians*) 杂交, 经 6 代选育而成, 于 2015 年通过新品种审定。与传统海湾扇贝相比, 扇贝“渤海红”生长上表现出极显著的杂种优势, 产生了巨大的社会及经济效益(丰玮等, 2012; 李建立等, 2012; 南乐红等, 2012; Wang *et al.*,

2017), 但扇贝“渤海红”高温耐受性差, 96 h 半致死温度为 29℃ (Wang *et al.*, 2017), 不利于其在全国推广养殖。墨西哥湾扇贝 (*Argopecten irradians concentricus*) 又称海湾扇贝南方亚种, 原产于美国大西洋沿岸, 其生长快、鲜肉柱率高、高温耐受性强, 稚贝在 32℃ 海水中存活率达 76%(刘志刚等, 2007a),

* 广东海洋大学 2017 年“高水平大学”省财政资金支持项目(002026003003)、2019 广东省重点领域研发计划(2019B020238002)和 2019 广东省现代农业产业技术体系创新团队(2019KJ146)共同资助 [This work was supported by Guangdong Ocean University Project of “High-level University”(002026003003) in 2017, Key Research and Development Program of Guangdong (2019B020238002), and 2019 Innovation Team of Modern Agricultural in Guangdong(2019KJ146)].

姚高友, E-mail: gaoyouyao@126.com

① 通讯作者: 刘志刚, 教授, E-mail: liuzg919@126.com

收稿日期: 2019-05-02, 收修改稿日期: 2019-07-10

1991年引进中国后在南方北部湾成功推广,成为北部湾渔业支柱产业之一(Abbott, 1974; 刘志刚等, 2007b)。但由于最初引进群体小且经过20多年小群体繁育,墨西哥湾扇贝已出现较为严重的种质退化问题(彭张明等, 2014),影响产业健康可持续发展。

杂交育种是贝类遗传改良的重要方法,能够有效提高子代生长及抗逆性状。为解决墨西哥湾扇贝种质退化问题,国内学者进行了华贵栉孔扇贝(*Chalmyx nobilis*)×墨西哥湾扇贝(潘奕达, 2016; 潘奕达等, 2017)、紫扇贝×墨西哥湾扇贝(南乐红等, 2012)种间杂交与墨西哥湾扇贝×海湾扇贝等北部亚种(Zhang *et al.*, 2007; Zheng *et al.*, 2011)等种内杂交。其杂交子代虽然在生长上表现出一定的杂种优势,但未能完全适应我国南方海域环境,种质退化问题仍未得到有效解决。为改善墨西哥湾扇贝种质退化和扇贝“渤海红”高温敏感性问题,课题组进行了墨西哥湾扇贝与扇贝“渤海红”的杂交育种研究,并成功获得杂交子代。杂交子代在生长上表现出明显的杂种优势,并完全适应我国南方北部湾海域环境,具有良好的推广养殖前景。

种群结构的变异大小可以评判种群抵御外界环境压力及进化的潜力,即遗传多样性较高的种群对环境恶化耐受力较强,反之,则可能出现衰退(Cronquist, 1991; 钱迎倩等, 1994)。遗传多样性评估对贝类健康养殖指导及适应性进化潜力评价具有重要意义。刘保忠(2003)和Wang等(2011)发现,我国海湾扇贝养殖群体与原引种地区海湾扇贝群体相比,等位基因数量降低了20%,遗传多样性存在瓶颈效应。谭杰等(2018)研究发现,海湾扇贝北部亚种“中科红”经过多年的定向选育,仍具有较高的遗传多样性,还具有较高的选育潜力。目前,关于扇贝“渤海红”及墨西哥湾扇贝及其杂交子代遗传多样性研究未见报道。SSR分子标记技术作为重要的DNA分子标记技术之一,在皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)(聂鸿涛等, 2013)、栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)(张秀英等, 2012)、虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)(韩斐斐等, 2012; 张广明等, 2018)、栉江珧(*Atrina pectinata*)(李东明等, 2017)和马氏珠母贝(*Pinctada martensii*)(赵晓霞等, 2010)等多种重要海水贝类遗传多样性分析中得到广泛应用。荧光标记毛细管电泳检测技术具有自动化、精度高、高通量等优点,已在长牡蛎(*Crassostrea gigas*)(郭香等, 2018)、欧洲牡蛎(*Ostrea edulis*)(Wang *et al.*, 2010)等重要贝类品种中得到应用。本研究利用8对SSR引物,采用毛细管电泳技术,对扇贝“渤海红”、墨西哥湾扇贝及其杂交子代的遗传多样性进行分析,以期扇贝

“渤海红”和墨西哥湾扇贝的群体遗传评估和杂交新品种的选育提供一定的理论指导。

1 材料与方法

1.1 实验材料

墨西哥湾扇贝群体为北部湾普通养殖群体,由湛江银浪生物技术有限公司提供。扇贝“渤海红”群体由青岛农业大学王春德教授提供。杂交贝为扇贝“渤海红”×墨西哥湾扇贝正反交子代(各1/2)中的橙色壳色群体。每个群体随机选取30个个体,取闭壳肌于无水乙醇中,放入-20℃保存备用。

1.2 基因组DNA提取与检测

采用全式金公司海洋生物基因组DNA提取试剂盒(Marine Animal Genomic DNA Kit)提取各群体基因组DNA。以1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA质量。

1.3 微卫星引物

从本课题组开发的墨西哥湾扇贝SSR引物中,挑选多态性好、等位基因数较多的8对引物用于遗传分析,引物信息见表1,荧光SSR引物由天一辉远公司合成。

1.4 PCR扩增程序及反应

PCR反应采用全式金公司Super mix试剂盒,PCR反应体系为10 μl,其中,模板0.5 μl,引物对各0.5 μl, 2×Taq PCR Master Mix 5 μl, 无菌水3 μl。PCR扩增反应程序:95℃预变性5 min, 10个循环,每个循环降低1℃(95℃变性30 s, 62℃~52℃退火30 s, 72℃延伸30 s), 25个循环(95℃变性、52℃退火、72℃延伸), 72℃延伸10 min, 4℃, 保存。扩增产物采用ABI3730XL测序仪进行片段长度分析。

1.5 数据分析

利用POPGENE 1.32软件计算群体的等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、期望杂合度(H_e)、观测杂合度(H_o)、遗传相似系数及遗传距离等。使用PIC-CALC软件计算多态信息含量。

2 结果与分析

2.1 微卫星位点的多态性

8个简单重复序列标记(Simple Sequence Repeats, SSR)位点均能在扇贝“渤海红”、墨西哥湾扇贝及其杂交子代中有效扩增。表2为8个位点的遗传多样性信息。8个微卫星位点共得到68个等位基因,其中,

位点 M1 的等位基因最多(12 个), 位点 M7 等位基因最少(4 个), 各微卫星位点的期望杂合度(H_e)范围为 0.2973~0.6265, 观测杂合度(H_o)范围为 0.1556~0.5385, 平均期望杂合度为 0.5491, 平均观测杂合度

为 0.2960, 多态信息含量(PIC)介于 0.2657~0.6255 之间, 平均多态信息含量为 0.49836, 说明位点具有较高的遗传多样性, 其中, 高度多态位点 5 个(PIC>0.5), 中度多态位点 3 个(0.25<PIC<0.5)。

表 1 8 个多态 SSRs 引物信息
Tab.1 Primer information for eight pairs of polymorphic SSRs

编号 Number	引物 Primers	序列 Sequence (5'~3')	重复类型(次数) Repeat type (frequency)	产物大小 Size of product (bp)
1	M1-F	CAACATTCACACACTACCGTATGA	TA ₍₆₎	125~156
	M1-R	ACCAAAAATGATTGAACGTAACACT		
2	M4-F	TCAAAGTCCAAATTCATAGAACA	AT ₍₆₎	133~137
	M4-R	TGATTTATTCGTGGTAATTTGGAA		
3	M5-R	CATATTGTAGGGGCGTGGTTTTTC	AT ₍₇₎	119~156
	M5-F	CAATAGCAGTAACGGCGAACAAA		
4	M6-F	GACATTTTCCTGTCGATAAGAGCC	TC ₍₆₎	102~126
	M6-R	ATATAGGGGTTGGTGAATGCATTG		
5	M7-F	TGTTAAAGTTGTTCTCTGGCATGT	AT ₍₆₎	119~121
	M7-R	GCTGCAAAATTTTGTACCACCTG		
6	M8-F	GCTTGTAATTTGATTTGGAGTGT	AT ₍₇₎	158~167
	M8-R	TGGCACTTCATCTCAGTTAATATGT		
7	M100-F	GCGAGATTCAATACGCATGTGTA	TA ₍₇₎	99~110
	M100-R	GTGCTGAAATTGATGCATGCATG		
8	M115-F	GTTCCAGATGACTAGTGAAGCA	TA ₍₇₎	101~125
	M115-R	TGCAAAAATGGATGTCTATTGAAGTG		

表 2 3 个群体在 8 个微卫星位点上的遗传多样性信息
Tab.2 The polymorphism information of eight microsatellite loci in three populations

位点 Locus	等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	期望杂合度 H_e	观测杂合度 H_o	多态信息含量 PIC
M1	12	2.652	0.626	0.538	0.596
M4	7	2.199	0.548	0.195	0.508
M5	7	2.523	0.607	0.489	0.539
M6	6	2.161	0.540	0.250	0.488
M7	4	1.419	0.297	0.239	0.265
M8	10	3.001	0.670	0.155	0.625
M100	8	2.130	0.533	0.271	0.446
M115	14	2.304	0.569	0.228	0.514
均值 Mean	8.500	2.299	0.549	0.296	0.498

2.2 等位基因频率

8 个位点在 3 个群体中扩增的等位基因片段大小范围为 91~205 bp(表 3), 3 个群体均存在稀有等位基因(0<基因频率<0.050), 墨西哥湾扇贝、扇贝“渤海红”及杂交子代分别存在 15、29 和 13 个稀有等位基因。各个微卫星位点在 3 个群体的等位基因频率分布不均, 群体间存在一定的遗传差异。

2.3 遗传距离

墨西哥湾扇贝、扇贝“渤海红”及杂交子代的遗传距离及遗传相似度见表 4。结果显示, 3 个群体间

均具有较高的遗传相似度, 其中, 扇贝“渤海红”与杂交子代的遗传相似度(0.888)高于墨西哥湾扇贝与杂交子代(0.736), 墨西哥湾扇贝与扇贝“渤海红”遗传相似率最小(0.714)。杂交子代与墨西哥湾扇贝的遗传距离(0.279)高于扇贝“渤海红”与杂交子代的遗传距离(0.118)。杂交子代的遗传结构更倾向亲本扇贝“渤海红”。

2.4 3 个群体遗传多样性分析

杂交子代、墨西哥湾扇贝、扇贝“渤海红”的平均多态信息含量分别 0.358、0.4376、0.462(表 5~表 7), 说明 3 个群体都具有中等遗传多样性(0.25<P<0.5)。其中,

扇贝“渤海红”平均期望杂合度、平均观测杂合度和平均有效等位基因最高,分别为 0.2971、0.5045 和 2.394。杂交子代平均期望杂合度、平均观测杂合度、平均有效等位基因最低,分别为 0.2458、0.4230 和 1.8316。

2.5 群体间遗传分化

群体间的基因流(N_m)和遗传分化指数(F_{st})是反应群体遗传分化的重要指标(表 8)。当 $0 < F_{st} < 0.05$ 时,说明群体的遗传分化程度很弱;当 $0.05 < F_{st} < 0.15$ 时,

群体处于中等程度的遗传分化;当 $0.15 < F_{st} < 0.25$ 时,群体有较大的遗传分化;当 $F_{st} > 0.25$ 时,群体的遗传分化极大(Wright, 1951)。在本研究中,3 个群体 8 个微卫星位点 F_{st} 值介于 0.0825~0.2755,平均值为 0.1398,表明 13.98%的遗传变异由群体分化而导致,86.02%的遗传变异来源于群体内部,说明群体中存在较低水平的随机交配,3 个群体平均基因流(N_m)为 1.5387,平均固定系数(F_{is})为 0.3698。3 个群体间出现中等程度的遗传分化。

表 3 3 个群体 8 个微卫星位点上的等位基因频率
Tab.3 Allele frequency of three populations in eight microsatellite loci

位点 Locus	等位基因 大小 Allele size (bp)	墨西哥 湾扇贝 <i>A. irradian sconcentricus</i>	扇贝 “渤海红” “Bohai Red ”	墨西哥湾扇贝 ×扇贝“渤海 红”杂交子代 Hybrid	位点 Locus	等位基因 大小 Allele size (bp)	墨西哥 湾扇贝 <i>A. irradian sconcentricus</i>	扇贝 “渤海红” “Bohai Red ”	墨西哥湾扇贝 ×扇贝“渤海 红”杂交子代 Hybrid	
M1	145	0.241	0.016	0.166	M8	153	0.032	0.379	—	
	147	0.032	0.016	0.133		158	0.854	0.137	0.266	
	151	0.016	0.033	—		160	0.080	0.120	0.550	
	152	—	0.050	—		162	—	0.035	0.033	
	154	—	0.050	0.016		163	—	0.155	0.033	
	156	0.677	0.383	0.683		167	0.032	0.155	—	
	158	0.032	0.050	—		197	—	0.017	0.066	
	160	—	0.300	—		201	—	—	0.033	
	162	—	0.033	—		205	—	—	0.016	
	161	—	0.016	—		M110	98	—	0.016	—
	164	—	0.033	—			101	0.265	0.383	0.383
152	—	0.016	—	103	0.687		0.516	0.566		
M4	135	0.500	—	0.016	106		—	0.016	—	
	136	0.046	0.116	—	109	—	—	0.0333		
	137	0.015	0.033	0.016	110	0.015	0.066	0.016		
	139	0.375	0.666	0.90	96	0.015	—	—		
	140	—	0.033	—	99	0.015	—	—		
	142	0.062	0.133	0.066	M115	91	—	0.033	—	
146	—	0.016	—	92		—	0.016	—		
M5	152	0.062	0.016	0.016		99	—	0.050	—	
	154	0.093	0.233	0.616		102	0.046	—	—	
	156	0.578	0.666	0.366		108	—	0.033	—	
	158	—	0.033	—		113	—	0.033	—	
	160	—	0.016	—		115	0.203	0.783	0.850	
162	—	0.016	—	119	—	—	0.016			
180	0.265	0.016	—	120	0.015	—	—			
M6	152	0.062	0.016	0.033	123	—	—	—		
	154	0.046	0.150	0.466	126	0.046	—	—		
	156	0.609	0.800	0.500	128	0.609	0.017	0.133		
	158	—	0.016	—	121	0.078	—	—		
160	0.281	0.016	—	130	—	0.016	—			
M7	116	0.031	0.050	—	131	—	0.016	—		
	118	—	—	—						
	120	0.687	0.933	0.866						
	122	0.281	0.016	0.133						

表4 墨西哥湾扇贝、扇贝“渤海红”及其杂交子代的遗传距离(对角线下方)和遗传相似系数(对角线上方)
Tab.4 Genetic similarity coefficient (above the diagonal) and distance (below the diagonal) of three populations

群体 Populations	墨西哥湾扇贝 <i>A. irradians concentricus</i>	扇贝“渤海红” “Bohai Red”	墨西哥湾扇贝×扇贝 “渤海红”杂交子代 Hybrid
墨西哥湾扇贝 <i>A. irradians concentricus</i>	***	0.715	0.756
扇贝“渤海红”“Bohai Red”	0.336	***	0.888
杂交子代 Hybrid	0.279	0.119	***

表5 杂交子代在8个微卫星位点的遗传多样性参数
Tab.5 Genetic diversity index of hybrid (*A. irradians concentricus*×“Bohai Red”) in eight microsatellite loci

参数 Parameters	位点 Locus								均值 Mean
	M1	M4	M5	M6	M7	M8	M110	M115	
N_a	4.000	4.000	3.000	3.000	2.000	7.000	4.000	3.000	3.750
N_e	1.950	1.227	1.941	2.132	1.300	2.620	2.130	1.350	1.831
H_e	0.600	0.066	0.233	0.066	0.266	0.133	0.400	0.200	0.245
H_o	0.495	0.188	0.493	0.540	0.235	0.628	0.539	0.263	0.423
PIC	0.443	0.176	0.382	0.421	0.204	0.569	0.434	0.233	0.358

表6 墨西哥湾扇贝在8个微卫星位点的遗传多样性参数
Tab.6 Genetic diversity index of *A. irradians concentricus* in eight microsatellite loci

参数 Parameters	位点 Locus								均值 Mean
	M1	M4	M5	M6	M7	M8	M110	M115	
N_a	5.000	5.00	4.000	4.000	3.000	4.000	5.000	6.000	4.500
N_e	1.923	2.511	2.395	2.190	1.809	1.352	1.838	2.362	2.048
H_e	0.645	0.250	0.625	0.343	0.375	0.032	0.125	0.343	0.342
H_o	0.488	0.612	0.591	0.552	0.454	0.264	0.463	0.585	0.501
PIC	0.424	0.527	0.52	0.479	0.371	0.248	0.388	0.53	0.437

表7 扇贝“渤海红”在8个微卫星位点的遗传多样性参数
Tab.7 Genetic diversity index of “Bohai Red” in eight microsatellite loci

参数 Parameters	位点 Locus								均值 Mean
	M1	M4	M5	M6	M7	M8	M110	M115	
N_a	12.00	6.000	7.000	5.000	3.000	7.000	5.000	9.000	6.750
N_e	4.017	2.090	1.995	1.507	1.144	4.403	2.387	1.611	2.394
H_e	0.366	0.266	0.600	0.333	0.066	0.310	0.300	0.133	0.297
H_o	0.763	0.530	0.507	0.342	0.128	0.786	0.591	0.385	0.504
PIC	0.718	0.490	0.448	0.306	0.1213	0.743	0.498	0.370	0.462

表8 3个群体8个微卫星位点 F 统计量及基因流值
Tab.8 F -statistics and gene flow value of eight microsatellite loci in three populations

位点 Locus	遗传分化指数 F_{st}	基因流 N_m	固定系数 F_{is}
M1	0.0825	2.7818	0.0621
M4	0.1918	1.0533	0.5546
M5	0.1333	1.6254	0.0690
M6	0.1219	1.8001	0.4730
M7	0.0798	2.8810	0.1195
M8	0.1797	1.1414	0.7119
M110	0.0174	14.0963	0.4738
M115	0.2755	0.6576	0.4430
均值 Mean	0.1398	1.5387	0.3698

3 讨论

3.1 亲本群体遗传多样性

遗传多样性可用于评估一个种群抵御外界环境压力的能力及进化的潜力。在水产动物育种中, 遗传多样性指数常作为一个养殖品种是否需要遗传改良的基础指标之一。本研究中, 墨西哥湾扇贝遗传多样性参数(PIC=0.358)明显低于扇贝“渤海红”(PIC=0.462)。研究表明, 亲本数量的减少会引起一些低频率位点的丢失(万俊芬等, 2004a)。在贝类人工养殖过程中的近亲繁殖、遗传漂变及瓶颈效应使得养殖群体基因库中某些等位基因丢失, 造成养殖群体遗传多样性和遗传变异度降低(吕林兰等, 2008)。墨西哥湾扇贝养殖群体最初引种基础群体小(222个), 且经过20多代的累代养殖(张福绥等, 1994), 遗传多样性出现明显下降。作为新兴的养殖品种扇贝“渤海红”群体, 其遗传多样性参数接近高度遗传多样性(PIC>0.5), 说明扇贝“渤海红”仍具有较大的选育潜力。

3.2 杂种优势与亲本遗传距离

杂种优势是指杂交子代在生长、存活等方面均优于双亲的现象(张国范等, 2004)。一般认为, 杂种优势的强弱与亲本自身的遗传差异有关, 即在一定的范围内, 亲本间的遗传差异越大, 其杂交子代往往具有更高的杂种优势(魏继海等, 2016; 谢晓东等, 2003)。而亲本间的遗传差异大小可以用遗传距离来衡量(张佳佳等, 2018)。本研究中, 墨西哥湾扇贝与扇贝“渤海红”的遗传相似度为0.7146, 遗传距离为0.3361。根据Thorpe(1982)提出的同种群遗传相似性系数应介于0.80~0.97, 而遗传距离应介于0.03~0.20的观点, 本研究结果中, 亲本群体这2个参数均不在同种群范围内, 说明2个群体间存在明显的遗传差异。理论上, 二者杂交能够产生杂种优势明显的杂交子代。研究表明, 墨西哥湾扇贝×扇贝“渤海红”的杂交子代生长速度与亲本墨西哥湾扇贝相比, 提高了20%, 具有明显的生长优势, 其结果也验证了本研究的推论(谭杰, 2018)。但贝类遗传育种的实践及理论证明了杂种优势利用的关键不仅在于亲本间的遗传差异, 还需要亲本间具有较高的配合力(张国范等, 2004)。这在海湾扇贝自交家系与交杂家系(郑怀平等, 2004)及太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)近交系间杂交(Hedgecock *et al.*, 1995)的杂种优势比较中均证明了这一点。因此, 在扇贝“渤海红”与墨西哥湾扇贝2个亲本群体中选择更高配合力亲本个体可能会加强杂交子代杂种优势的利用。

3.3 杂交子代遗传偏向性与遗传变异

在贝类杂交育种中, 杂交子代在遗传结构偏向亲本一方的现象已经有较多报道, 如合浦珠母贝(*Pinctada martensii*)×珠母贝(*Pinctada margaritifera*)的杂交子代在核型和同工酶上均与合浦珠母贝一致(姜卫国等, 1983; 李刚等, 1983); 栉孔扇贝×虾夷扇贝的杂交F₁代均偏向各自的母本(何斌等, 2007); 栉孔扇贝×华贵栉孔扇贝的杂交F₁代在遗传上也同样更加偏向母本栉孔扇贝(万俊芬等, 2004b)。本研究中, 杂交子代与亲本扇贝“渤海红”的遗传距离为0.1188, 与亲本墨西哥湾扇贝的遗传距离为0.279, 杂交贝在遗传结构上更偏向于亲本扇贝“渤海红”。研究表明, 杂交子代偏向某一方亲本, 与杂交过程中染色体重组、突变和异染色质附近区域的SSR标记的偏分离聚集(张玉山等, 2008), 以及在胚胎发育过程中染色体的选择性丢失等相关(Estoup *et al.*, 2002; Fujiwara *et al.*, 1997)。但也有学者认为, 亲本遗传物质对后代贡献率不一致是因为两亲本基因纯合度不同, 基因纯度高亲本基因型在后代中被检测几率增加(蔡磊等, 2012)。亲本基因纯合度及遗传物质的重组、变异等原因可能造成杂交子代在遗传结构上更加偏向于亲本扇贝“渤海红”。

杂交能够提高杂交子代的遗传多样性, 如日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)太湖群体和鄱阳湖群体杂交后, 其杂交子代的观测杂合度有明显的提高(李瀚声等, 2011); 马氏珠母贝近交家系遗传多样性显著低于杂交家系(张嘉丽等, 2015)。但本研究中, 杂交子代的遗传参数(N_e 、 H_e 、 H_o 和PIC)均低于亲本墨西哥湾扇贝和扇贝“渤海红”。同样的现象也出现在紫扇贝×海湾扇贝的杂交实验中(孙妍等, 2013)。这可能与杂交实验中使用的亲本数量较少(5个)有关。研究表明, 当亲本数量低于有效亲本数量时, 会导致子代种群遗传变异力下降(Su *et al.*, 1996); 张海滨等(2005)等也发现, 海湾扇贝过低的亲本数量能够显著影响子代的生长及存活。贝类配子具有多产性, 贝类杂交育种常采用少数亲本杂交的方式, 这种杂交方式可能导致子代中亲本部分等位基因丢失而影响子代的遗传变异程度, 不利于后续杂交子代继代选育。此外, 本研究中杂交子代群体选用了橙色群体, 这也可能造成杂交子代遗传多样性低于双亲。

参 考 文 献

Abbott RT. American seashells (2nd ed). New York: Van Nostrand Reinhold Company, 1974

- Cai L, Bai JJ, Li SJ, *et al.* Genetic analysis of northern largemouth bass, Florida largemouth bass, and their reciprocal hybrids. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2012, 19(1): 70–76 [蔡磊, 白俊杰, 李胜杰, 等. 大口黑鲈北方亚种和佛罗里达亚种及其杂交子代的遗传分析. *中国水产科学*, 2012, 19(1): 70–76]
- Cronquist A The evolution process: A critical study of evolutionary theory (2nd ed). New York: Columbia University Press, 1991
- Estoup A, Jarne P, Cornuet JM. Homoplasy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetics analysis. *Molecular Ecology*, 2002, 11(9): 1591–1604
- Feng W, Li JL, Cai DQ, *et al.* Comparison of development and growth of the F₁ and F₂ hybrids between the Peruvian and Bay scallop. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2012, 28(20): 118–124 [丰玮, 李建立, 蔡德泉, 等. 紫扇贝与海湾扇贝杂交后代生长发育的比较研究. *中国农学通报*, 2012, 28(20): 118–124]
- Fujiwara A, Abe S, Yamaha E, *et al.* Uniparental chromosome elimination in the early embryogenesis of the inviable salmonid hybrids between masu salmon female and rainbow trout male. *Chromosoma*, 1997, 106(1): 44–52
- Guo X, Zeng ZN, Zheng YY, *et al.* Genetic diversity in selected lines of *Crassostrea angulata*. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2018, 25(5): 1131–1136 [郭香, 曾志南, 郑雅友, 等. 福建牡蛎选育群体的遗传多样性. *中国水产科学*, 2018, 25(5): 1131–1136]
- Hang FF, Zhang JB, Li L, *et al.* Genetic diversity in two-generation of cultured Japanese scallop (*Patinopecten (Mizuhopecten) yessoensis*) populations. *Marine Sciences*, 2012, 36(9): 1–8 [韩斐斐, 张继彪, 李莉, 等. 虾夷扇贝养殖群体及其子代的遗传多样性分析. *海洋科学*, 2012, 36(9): 1–8]
- He B, Yang AG, Wang YQ, *et al.* Segregation of ISSR markers in hybrid larvae of scallop *Chlamys farreri*×*Patinopecten yessoensis*. *Marine Fisheries Research*, 2007, 28(6): 32–38 [何斌, 杨爱国, 王清印, 等. 栉孔扇贝×虾夷扇贝单对杂交子一代幼虫 ISSR 标记的分离方式. *海洋水产研究*, 2007, 28(6): 32–38]
- Hedgecock D, McGoldrick DJ, Bayne BL. Hybrid vigor in Pacific oysters: An experimental approach using crosses among inbred lines. *Aquaculture*, 1995, 137(1): 285–298
- Jiang WG, Wei Y, Li G. Studies on the cultivated interspecific hybridizations between pairs of *Pinctada martensi*, *P. chemnitzii* and *P. maxima* (Mollusca, Bivalvia) II. Observation on the chromosomes of fertilization and hybrids. *Tropic Oceanology*, 1983, 2(4): 316–320 [姜卫国, 魏贻尧, 李刚. 合浦珠母贝、长耳珠母贝和大珠母贝种间人工杂交的研究——II. 受精过程和杂交后代的染色体观察. *热带海洋*, 1983, 2(4): 316–320]
- Li DM, Yang AG, Wu B, *et al.* Development and application of the EST-SSR markers in *Atrina pectinata*. *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(2): 137–142 [李东明, 杨爱国, 吴彪, 等. 栉江珧(*Atrina pectinata*)EST-SSR 标记的开发与应用. *渔业科学进展*, 2017, 38(2): 137–142]
- Li G, Jiang WG, Wei YY. Studies on the cultivated interspecific hybridizations between pairs of *Pinctada martensi*, *P. chemnitzii* and *P. maxima* (Mollusca, Bivalvia) III. Comparative study on zymograms. *Tropic Oceanology*, 1983(4): 321–328 [李刚, 姜卫国, 魏贻尧. 合浦珠母贝、长耳珠母贝和大珠母贝种间人工杂交的研究——III. 同工酶谱的比较研究. *热带海洋*, 1983(4): 321–328]
- Li HS, Feng JB, Xie N, *et al.* Genetic structure analysis of parents and F₁ generation groups of *Macrobachium nipponense* from Taihu Lake and Poyang Lake. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2011, 20(3): 321–327 [李瀚声, 冯建彬, 谢楠, 等. 日本沼虾太湖和鄱阳湖群体及其 F₁ 的遗传结构分析. *上海海洋大学学报*, 2011, 20(3): 321–327]
- Li JL, Wang CD, Li ZX, *et al.* Growth and path analyses of hybrid families between the Peruvian and Bay scallop. *Marine Sciences*, 2012, 36(8): 15–20 [李建立, 王春德, 李朝霞, 等. 紫扇贝和海湾扇贝杂交家系的生长和通径分析. *海洋科学*, 2012, 36(8): 15–20]
- Liu BZ. Study on the population genetics of Bay scallop *Argopecten irradians* and the molecular phylogeny of Pectinidae. Doctoral Dissertation of Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2003 [刘保忠. 海湾扇贝群体遗传学和扇贝科分子系统演化的研究. 中国科学院海洋研究所博士研究生学位论文, 2003]
- Liu ZG, Wang H, Fu SW. Morphological growth of cultured *Argopecten irradians concentricus* Say in Beibu Bay in Zhanjiang. *Journal of Fisheries of China*, 2007a, 31(5): 675–681 [刘志刚, 王辉, 符世伟. 湛江北部湾养殖墨西哥湾扇贝的形态增长规律. *水产学报*, 2007a, 31(5): 675–681]
- Liu ZG, Wang H, Li ZM, *et al.* Upper incipient lethal temperature of *Argopecten irradians concentricus* Say. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2007b, 14(5): 778–785 [刘志刚, 王辉, 栗志民, 等. 墨西哥湾扇贝高起始致死温度的研究. *中国水产科学*, 2007b, 14(5): 778–785]
- Lü LL, Du XD, Wang Y, *et al.* Genetic diversity of three populations and the first generations of hybridization between different populations of pearl oyster, *Pinctada martensii* (Dunker). *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2008, 32(1): 26–32 [吕林兰, 杜晓东, 王嫣, 等. 马氏珠母贝 3 个野生种群及种群间杂交后代遗传多样性的 ISSR 分析. *水生生物学报*, 2008, 32(1): 26–32]
- Nan YH, Zhang JS, Feng W, *et al.* Inter-specific hybridization between *Argopecten purpuratus* and *Argopecten irradians concentricus*. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2012, 28(20): 131–135 [南乐红, 张金盛, 丰玮, 等. 紫扇贝和墨西哥湾扇贝种间杂交的初步研究. *中国农学通报*, 2012, 28(20): 131–135]
- Nie HT, Li Q, Kong LF. Development of four multiplex PCR panels of microsatellites and application to kinship analysis in the Pacific abalone (*Haliotis discus hannai*). *Journal of Fisheries of China*, 2013, 37(2): 207–215 [聂鸿涛, 李琪, 孔令锋. 皱纹盘鲍微卫星多重 PCR 体系构建及其在家系鉴定中的应用. *水产学报*, 2013, 37(2): 207–215]
- Pan YD, Feng J, Liu H, *et al.* Reciprocal crosses between *Argopecten irradians concentricus* and *Chlamys nobilis*. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2017, 24(4): 698–709 [潘奕达, 封杰, 刘行, 等. 墨西哥湾扇贝与华贵栉孔扇贝的远缘杂交. *中国水产科学*, 2017, 24(4): 698–709]
- Pan YD. A preliminary study on the inter-genus hybridization

- between *Argopecten irradians concentricus* Say and *Chlamys hobillii*. Master's Thesis of Guangxi University, 2016 [潘奕达. 墨西哥湾扇贝与华贵栉孔扇贝属间远缘杂交的初步研究. 广西大学硕士研究生学位论文, 2016]
- Peng ZM, LiuFu SM, Liu ZG. Research progress of artificial culture and genetic breeding of *Argopecten irradians concentricus* Say. Journal of Guangdong Ocean University, 2014, 34(1): 91–97 [彭张明, 刘付少梅, 刘志刚. 墨西哥湾扇贝人工养殖及遗传育种研究进展. 广东海洋大学学报, 2014, 34(1): 91–97]
- Qian YQ, Ma KP. Principles and methods of biodiversity research. Beijing: China Science and Technology Press, 1994 [钱迎倩, 马克平. 生物多样性研究的原理与方法. 北京: 中国科学技术出版社, 1994]
- Su GS, Liljedahl LE, Gall G. Effects of inbreeding on growth and reproductive traits in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 1996, 142(3–4): 139–148
- Sun Y, Huang XT, Hu LP, et al. AFLP analysis of genetic structure of *Argopecten purpuratus*, *Argopecten irradians* and their positive and negative hybrid offspring. Marine Sciences, 2013, 37(8): 1–5 [孙妍, 黄晓婷, 胡丽萍, 等. 紫扇贝、海湾扇贝及其正反杂交子代群体遗传结构的 AFLP 分析. 海洋科学, 2013, 37(8): 1–5]
- Tan J, Peng XJ, Liu ZG, et al. SSR analysis of genetic diversity of *Argopecten irradians concentricus* and *Zhongkehong Argopecten irradians*. Genomics and Applied Biology, 2018, 37(4): 1397–1405 [谭杰, 彭晓君, 刘志刚, 等. 墨西哥湾扇贝与“中科红”海湾扇贝群体遗传多样性 SSR 分析. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(4): 1397–1405]
- Tan J. Transcriptome analysis of *Argopecten irradians concentricus* and study on the molecular markers of its progeny crossed with *Argopecten 'Bohaihong'*. Master's Thesis of Guangdong Ocean University, 2018 [谭杰. 墨西哥湾扇贝转录组分析及其与扇贝“渤海红”杂交 F₁ 代分子标记研究. 广东海洋大学硕士研究生学位论文, 2018]
- Thorpe JP. The molecular clock hypothesis: Biochemical evolution, genetic differentiation and systematics. Annual Review of Ecology and Systematics, 1982, 13: 139–168
- Wan JF, Bao ZM, Liu GX, et al. Segregation of ISSR markers in hybrid larvae of two scallop species. Chinese High Technology Letters, 2004b, 14(5): 82–87 [万俊芬, 包振民, 刘广旭, 等. 扇贝种间单对杂交一代幼虫 ISSR 标记的分离方式. 高技术通讯, 2004b, 14(5): 82–87]
- Wan JF, Bao ZM, Wang XL, et al. The influence of parental stock size on the genetic structure of *Haliotis discus*. Journal of Fisheries of China, 2004a, 28(2): 127–132 [万俊芬, 包振民, 汪小龙, 等. 亲本数目对鲍养殖群体 AFLP 标记位点及其遗传结构的影响. 水产学报, 2004a, 28(2): 127–132]
- Wang C, Liu B, Li J, et al. Introduction of the Peruvian scallop and its hybridization with the Bay scallop in China. Aquaculture, 2011, 310(3–4): 380–387
- Wang C, Liu B, Liu X, et al. Selection of a new scallop strain, the Bohai Red, from the hybrid between the Bay scallop and the Peruvian scallop. Aquaculture, 2017, 479: 250–255
- Wang Y, Wang X, Wang A, et al. A 16-microsatellite multiplex assay for parentage assignment in the eastern oyster (*Crassostrea virginica* Gmelin). Aquaculture, 2010, 308(1): S28–S33
- Wei JH, Zhao JL, Wu JW, et al. Genetic characterization of *Oreochromis niloticus* (♀) × *Sarotherodon melanotheron* (♂) hybrid F₂ and F₃ by microsatellite analysis. South China Fisheries Science, 2016, 12(1): 30–35 [魏继海, 赵金良, 吴俊伟, 等. 尼罗罗非鱼(♀)×萨罗罗非鱼(♂)杂交 F₂ 与 F₃ 群体遗传特征的微卫星分析. 南方水产科学, 2016, 12(1): 30–35]
- Wright S. Genetical structure of populations. Annals of Eugenics, 1951, 15(1): 323–354
- Xie XD, Ni ZF, Meng FR, et al. Relationship between differences of gene expression in early developing seeds of hybrid versus parents and heterosis in wheat. Acta Genetica Sinica, 2003, 30(3): 260–266 [谢晓东, 倪中福, 孟凡荣, 等. 小麦杂交种与亲本发育早期种子的基因表达差异及其与杂种优势关系的初步研究. 遗传学报, 2003, 30(3): 260–266]
- Zhang FS, He YZ, Qi LX, et al. Introduction and spat-rearing of the F₁ generation of *Argopecten irradians concentricus* Say. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1994, 25(4): 372–377 [张福绥, 何义朝, 亓铃欣, 等. 墨西哥湾扇贝的引种和子一代苗种培育. 海洋与湖沼, 1994, 25(4): 372–377]
- Zhang GF, Liu X, Que YH, et al. The theory and application of hybridization and heterosis in marine mollusks. Marine Sciences, 2004, 28(7): 54–60 [张国范, 刘晓, 阙华勇, 等. 贝类杂交及杂种优势理论和技术研究进展. 海洋科学, 2004, 28(7): 54–60]
- Zhang GM, Sun XJ, Wu B, et al. Transferability of EST-SSR from *Patinopekten yessoensis* into *Chlamys farreri*. Progress in Fishery Sciences, 2018, 39(4): 139–146 [张广明, 孙秀俊, 吴彪, 等. 虾夷扇贝 EST-SSR 标记在栉孔扇贝中的通用性研究. 渔业科学进展, 2018, 39(4): 139–146]
- Zhang H, Liu X, Zhang G, et al. Growth and survival of reciprocal crosses between two Bay scallops, *Argopecten irradians concentricus* Say and *A. irradians irradians* Lamarck. Aquaculture, 2007, 272(S1): S88–S93
- Zhang HB, Liu X, Zhang GF, et al. Effects of effective population size on the F₁ growth and survival of Bay scallop *Argopecten irradians*. Acta Oceanologica Sinica, 2005, 27(2): 177–180 [张海滨, 刘晓, 张国范, 等. 不同有效繁殖群体数对海湾扇贝 F₁ 生长和存活的影响. 海洋学报, 2005, 27(2): 177–180]
- Zhang JJ, Li J, Zhang GS, et al. Microsatellite-based analysis of genetic diversity of parent and hybrid of yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*(♀)×*P. vachelli*(♂). Fisheries Science, 2018, 37(5): 612–621 [张佳佳, 李杰, 张国松, 等. 杂交黄颡鱼(黄颡鱼♀×瓦氏黄颡鱼♂)及其双亲遗传多样性的微卫星分析. 水产科学, 2018, 37(5): 612–621]
- Zhang JL, Luo YQ, Huang Y, et al. Genetic structure of inbred and hybrid families of pearl oyster *Pinctada martensii*. Genomics and Applied Biology, 2015, 34(4): 723–730 [张嘉丽, 罗燕秋, 黄怡, 等. 马氏珠母贝近交与杂交家系的遗传结构比较. 基因组学与应用生物学, 2015, 34(4): 723–730]
- Zhang XY, Zhang XJ, Zhao C, et al. The development of BAC-end sequence-based microsatellite markers and analysis on population genetic diversity in Zhikong scallop (*Chlamys farreri*). Journal of Fisheries of China, 2012, 36(6): 815–824

- [张秀英, 张晓军, 赵翠, 等. 栉孔扇贝 BES-SSR 的开发及遗传多样性分析. 水产学报, 2012, 36(6): 815–824]
- Zhang YS, Chen QQ, Wu W, *et al.* Integration of centromeric regions on the rice molecular linkage map of SSR markers. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2008, 27(2): 167–171 [张玉山, 陈庆全, 吴薇, 等. 水稻 SSR 标记遗传连锁图谱着丝粒的整合及其偏分离分析. 华中农业大学学报, 2008, 27(2): 167–171]
- Zhao XX, Deng YW, Du XD, *et al.* Genetic structure of four progeny stocks of *Pinctada martensii* by microsatellite markers analysis. *Genomics and Applied Biology*, 2010, 29(5): 879–884 [赵晓霞, 邓岳文, 杜晓东, 等. 利用微卫星标记分析马氏珠母贝 4 个养殖群体遗传结构. 基因组学与应用生物学, 2010, 29(5): 879–884]
- Zheng H, Xu F, Zhang G. Crosses between two subspecies of Bay scallop *Argopecten irradians* and heterosis for yield traits at harvest. *Aquaculture Research*, 2011, 42(4): 602–612
- Zheng HP, Zhang GF, Liu X, *et al.* Comparison of growth and survival between the self-fertilized and hybridized families in *Argopecten irradians irradians*. *Journal of Fisheries of China*, 2004, 28(3): 267–272 [郑怀平, 张国范, 刘晓, 等. 海湾扇贝杂交家系与自交家系生长和存活比较. 水产学报, 2004, 28(3): 267–272]

(编辑 马瑰艳)

Genetic Analysis of *Argopecten irradians concentricus*, “Bohai Red” and Their Hybrids

YAO Gaoyou^{1,3}, TAN Jie^{1,3}, WU Yuyuan¹, SU Xiaoying¹, LIUFU Shaomei², ZHANG Yuan^{1,3}, FANG Jiayi⁴, CHEN Nansheng⁵, WANG Chunde⁶, LIU Zhigang^{1,3①}

(1. Fisheries College of Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088; 2. Zhanjiang Silverwave Marine Biotechnology Co.Ltd., Zhanjiang 524022; 3. Guangdong Province Nanhai Economic Invertebrates Healthy Breeding Engineering Research Center, Zhanjiang 524088; 4. Department of Applied Biology and Chemical Technology of Hong Kong Polytechnic University, Hong Kong 999077; 5. Department of Molecular Biology and Biochemistry of Simon Fraser University, British Columbia V5A 1S6; 6. College of Marine Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109)

Abstract Hybridization between the ‘Bohai Red’ and *Argopecten irradians concentricus* was conducted. The hybrids exhibited heterosis in terms of survival rate, growth rate, and heat tolerance, demonstrating substantial potential to replace *A. irradians concentricus*. To ensure the efficient use of these hybrids, we need to understand the genetic structure of the hybrids and their parents. Microsatellites are widely used to assess the genetic diversity of aquaculture species and to construct a quantitative trait locus due to their characteristics such as abundant polymorphism, rich information, and high codominance and conservation. In this research, the genetic diversity of 90 individuals in 3 populations of *A. irradians concentricus*, ‘Bohai Red’, and their hybrids was analyzed using 8 pairs of microsatellite primers. A total of 67 alleles were amplified, and 4~14 alleles at each locus were generated, with a mean allele number of 8.5. Effective allele number, expected heterozygosity, and polymorphic content were the highest in ‘Bohai Red’ (2.3947, 0.504, and 0.462, respectively). The genetic differentiation index, gene flow, and fixed coefficient were 0.1398, 1.5387, and 0.3698, respectively. Between the hybrids and ‘Bohai Red’, the genetic distance was the smallest (0.1188) and the genetic similarity was the highest (0.888), suggesting their similar genetic structures. These findings provide a reference for the genetic analyses of ‘Bohai Red’ and *A. irradians concentricus* as well as for the breeding of new varieties.

Key words *Argopecten irradians concentricus*; “Bohai Red”; Hybridization; Genetic diversity

① Corresponding author: LIU Zhigang, E-mail: liuzg919@126.com