

## 栉孔扇贝和虾夷扇贝杂交子代的 GISH 鉴定及其免疫学特性

吕振明<sup>1,2</sup>, 杨爱国<sup>1</sup>, 王清印<sup>1</sup>, 刘志鸿<sup>1</sup>, 周丽青<sup>1</sup>

(1. 农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室, 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071; 2. 中国海洋大学 生命科学与技术学部, 山东 青岛 266003)

**摘要:**以栉孔扇贝 [*Chlamys farreri* (Jones et Preston)] (♀) 和虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) (♂) 杂交子代担轮幼虫为材料, 分别用栉孔扇贝和虾夷扇贝基因组作探针, 采用基因组荧光原位杂交 (GISH) 的方法, 对杂交后代杂交子代的身份进行初步鉴定。结果表明, 子代分别继承了双亲各一套染色体 ( $n=19$ ), 为真正的杂交种。为了解杂交扇贝的免疫学特性, 在自然海域栉孔扇贝大规模死亡的情况下, 分别对杂交扇贝及其亲本 3 个扇贝群体血细胞的胞内活性氧含量 (ROIs)、血清凝集素效价 (HA)、溶菌酶活力 (LSZ)、抑菌活力、酚氧化酶活性 (PO)、过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD) 以及酸性磷酸酶 (ACP) 和碱性磷酸酶 (ALP) 等 9 种非特异性免疫学指标进行测定。结果表明, 栉孔扇贝除 ROIs、SOD、ACP 等 3 个指标显著低于虾夷扇贝外 ( $P<0.01$ ), 其他 6 种指标均高于虾夷扇贝, 且除血清凝集素效价外均达显著水平 ( $P<0.05$ )。在杂交子代中, 上述免疫指标除 SOD 活性低于低值亲本外 ( $P>0.6$ ), 其余 8 种免疫指标均介于双亲之间。杂交子代在 9 种免疫指标中有 8 种与母本无显著性差异, 而子代与父本之间 9 种免疫指标中有 7 种达显著差异 ( $P<0.05$ )。这些结果说明, 杂交扇贝在非特异性免疫上存在明显的偏母性特征, 这点与子代在外形特征上的偏母性相吻合。因此杂交扇贝相对于其母本在生产实践中表现出的一定程度的抗逆优势可能与非特异性免疫无明显关系。 [中国水产科学, 2006, 13(4): 597-602]

**关键词:** 杂交扇贝; 免疫; GISH; 杂种优势

**中图分类号:** Q321.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8737-(2006)04-0597-06

栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*) 是中国北方沿海重要的海洋经济贝类, 长期以来在中国海水养殖业中占据着重要地位。近年来, 频繁发生的栉孔扇贝大规模死亡事件, 给中国的扇贝养殖业造成了巨大损失, 甚至直接威胁到该产业的生存。虽然国内相关人员从生态、遗传、病原及养殖技术等诸多方面开展了广泛的研究, 但还未从根本上解决问题。

杂交育种技术是新品种开发的有效途径, 也是贝类抗逆品种选育的有效方法, 为解决栉孔扇贝死亡问题提供了新的思路。有关研究表明, 贝类通过杂交可以在生长及抗逆性方面获得显著优势。在牡蛎方面, Hedgecock 等<sup>[1]</sup> 通过太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 的种内杂交获得了在幼虫和成体阶段都具生长优势的杂交种; 在鲍中, 20 世纪 90 年代初, 杂交鲍 (*Haliotis discus hannai* × *H. discus discus*) 的开发和养殖促使国内业已衰退的鲍鱼养殖业的复苏更是贝类杂种优势利用成功的一例<sup>[2]</sup>。在扇贝方面, Heath 等<sup>[3]</sup> 也通过两种扇贝的杂交成功培育出具有抗派金氏虫病品系; 英国哥伦比亚地区利用虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 雌性个体与近缘的西北盘扇贝 (*P. usitomis*) 雄性个体杂交产生了抗鞭孢子虫的杂种<sup>[4]</sup>。

虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 和栉孔扇贝为同科不同属的两种经济贝类, 在生态习性和外部形态方面都有很大差别<sup>[5]</sup>。虾夷扇贝个体大, 经济价值高, 但适温较低, 只能在中国北方的局部海区进行养殖。与栉孔扇贝相比, 双方在性状方面有明显互补性, 而且二者的染色体数目相同, 都是 38 条, 通过杂交途径培育扇贝新品种是可能的。初步研究证实, 通过栉孔扇贝和虾夷扇贝的杂交可培育出在生

收稿日期: 2005-03-25; 修订日期: 2005-11-07。  
基金项目: 国家重大基础研究发展规划 (973) 项目 (G1999012009); 国家高技术研究发展计划 (863) 项目 (2003AA603022); 国家科技攻关计划项目 (2004BA526B0103)。  
作者简介: 吕振明 (1976-), 男, 博士研究生, 主要从事贝类遗传育种的研究。E-mail: nbiam@163.net  
通讯作者: 王清印 (1952-), 男, 研究员, 博士生导师, Tel: 0532-85822959, E-mail: qywang@public.qd.sd.cn

长和成活力方面都有一定优势的子代<sup>[4]</sup>。本研究在上述基础上,通过基因组荧光原位杂交的方法对栉孔扇贝和虾夷扇贝的杂交子代的杂种身份进行初步鉴定,同时采用免疫生化的方法对杂交扇贝成体的免疫学指标进行测定,以期从免疫学水平上探讨杂种扇贝抗逆优势与非特异性免疫之间的关系,为杂种优势的利用及抗病品系的选育提供基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

栉孔扇贝(♀)和虾夷扇贝(♂)亲贝取自山东长岛,杂交于2002年4月在山东长岛增殖站进行,具体方法参照杨爱国等<sup>[2]</sup>。取上浮扇贝担轮幼虫进行染色体标本的制片,用于基因组荧光原位杂交杂种子代的鉴定。

杂交扇贝长至500~600 μm稚贝后,装入60目网袋下海养殖,长至壳高7~8 cm成贝后,于2004年8月初采样(此期为栉孔扇贝大规模死亡的高峰期),用于免疫学指标的测定。虾夷扇贝和栉孔扇贝成贝样品于同期取自相同海区。

### 1.2 方法

**1.2.1 杂交子代的分子细胞学鉴定** 采用基因组荧光原位杂交方法对杂交子代的染色体组成进行鉴定。扇贝担轮幼虫染色体的制备参照吴宝铃等<sup>[6]</sup>。具体方法是:担轮幼虫用0.04%秋水仙素溶液处理30 min后,入25%海水低渗30 min, Carnoy氏液(甲醇:冰醋酸3:1)充分固定,热滴片法制片。染色体标本老化2 d后置于湿盒中保存备用。扇贝基因组DNA的提取参照分子克隆的方法进行。栉孔扇贝和虾夷扇贝基因组探针采用生物素缺口平移法标记,具体方法及其纯化参照Roche公司提供的产品说明进行。荧光原位杂交采用分别变性的方法,具体为:染色体标本的变性:70%甲酰胺/2×SSC溶液中70℃变性3 min,立即置于-20℃70%、90%和100%酒精中逐级脱水,空气干燥;探针变性:含探针杂交液80℃变性5 min,立即置软冰中冷却10 min以上;杂交:将变性后的杂交液20 μL加到染色体标本上,盖上盖玻片,37℃杂交过夜。杂交后的染色体标本经50%甲酰胺/2×SSC溶液和1×SSC溶液洗脱后, FITC(Fluorescein avidin dcs)染色(20 μg/mL), PI(1.5 μg/mL)复染,荧光显微镜观察并拍摄记录。

**1.2.2 免疫指标的测定** 从栉孔扇贝、虾夷扇贝和

杂交贝成体的闭壳肌血窦中取扇贝血清,用于胞内活性氧含量(ROIs)、血清凝集素效价(HA)、溶菌酶活力(LSZ)、抑菌活力、酚氧化酶(PO)、过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)等7种免疫指标的测定。血细胞胞内活性氧含量(ROIs)的测定参照Arnaud等<sup>[7]</sup>的NBT比色法,以所测OD值表示;血清凝集素效价(HA)的测定采用鸡血细胞作为凝集对象,以形成明显凝集反应的最高扇贝血清稀释度作为血清的凝集效价,具体方法参照刘志鸿等<sup>[8]</sup>;溶菌酶活力(LSZ)测定以溶壁微球菌作底物,按Hultmark等<sup>[9]</sup>的方法加以改进,  $UL = (A_0 - A)/A$ ; 抑菌活力以大肠杆菌作底物按Hultmark等<sup>[9]</sup>的方法进行,  $Ua = [(A_0 - A)/A]^{1/2}$ ; 酚氧化酶(PO)的测定参照Ashida等<sup>[10]</sup>的方法进行,以490 nm下每分钟O.D增加0.001定义为1个酶活力单位;过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定均参照樊甄蛟等<sup>[11]</sup>的方法进行;同时取3种扇贝的肝脏,加入1:2(质量:体积)的0.85%的生理盐水匀浆,离心后取上清用于酸性磷酸酶和碱性磷酸酶的测定,具体参照Kruzel等<sup>[12]</sup>的方法进行,以每100 mL上清液在37℃下与基质液作用15 min产生1 mg酚为1个金氏单位。每个群体随机取20个样品,实验重复1次;结果以样品平均值 $\bar{X}$ 和标准差SD表示,SPSS软件进行t检验以比较每组样品间的差异显著性。

## 2 结果

### 2.1 杂交子代的鉴定

分别采用栉孔扇贝或虾夷扇贝基因组作探针,另一种扇贝基因组作封阻,对杂交子代担轮幼虫的染色体进行荧光原位杂交。结果表明,无论是栉孔扇贝还是虾夷扇贝基因组作探针,杂交扇贝染色体中只有来自与探针同源亲本的19条染色体被标记上,而来自另一亲本的19条染色体未被标记上,如图1-A和1-B所示。在激发波长为450~490 nm条件下,被生物素探针杂交上的染色体显绿色,而未被杂交上的染色体被PI染成红色。这说明,栉孔扇贝和虾夷扇贝的杂交子代分别继承了双亲各一套染色体,从而证实了杂交子代的确切身份。1-C和1-D分别为对照组栉孔扇贝和虾夷扇贝分裂相,栉孔扇贝所有的染色体均被栉孔扇贝基因组探针标记上,而虾夷扇贝染色体均不能被栉孔扇贝基因组探针标记。

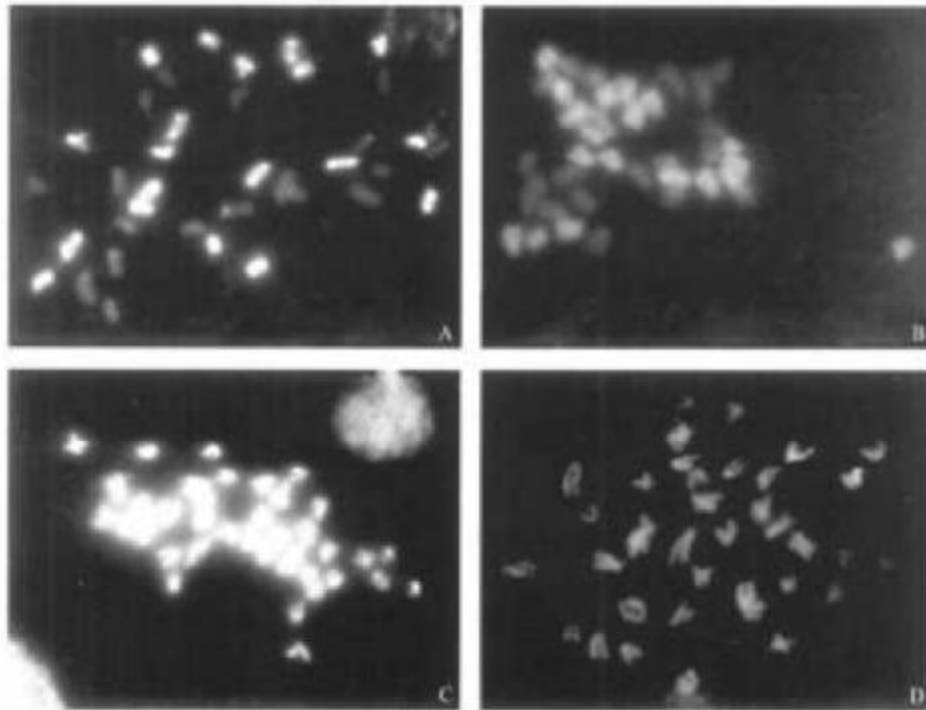


图1 栉孔扇贝♀×虾夷扇贝♂杂交子代荧光原位杂交结果

A: 虾夷扇贝基因组探针在杂交子代分裂相上的杂交结果; B: 栉孔扇贝基因组探针在杂交子代分裂相上的杂交结果; C: 栉孔扇贝基因组探针在栉孔扇贝分裂相上的杂交结果; D: 栉孔扇贝基因组探针在虾夷扇贝分裂相上的杂交结果。

Fig.1 Results of genome *in situ* hybridization to the metaphase chromosomes of hybrid scallop from *C. farreri* ♀ × *P. yessoensis* ♂

A: GISH analysis of metaphase chromosomes of hybrid scallops with *P. yessoensis* genome probes;

B: GISH analysis of metaphase chromosomes of hybrid scallops with *C. farreri* genome probes;

C: GISH analysis of metaphase chromosomes of *C. farreri* with *C. farreri* genome probes;

D: GISH analysis of metaphase chromosomes of *P. yessoensis* with *C. farreri* genome probes.

## 2.2 杂交子代与其亲本免疫学指标的测定

在栉孔扇贝大规模死亡的高峰期,分别对同海区的杂交扇贝及其亲本成员血细胞的胞内活性氧含量(ROIs)、血清凝集素效价(HA)、溶菌酶活力(LSZ)、抑菌活力、酚氧化酶(PO)、过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)、酸性磷酸酶(ACP)和碱性磷酸酶(ALP)等9种非特异性免疫学指标进行测定(表1)。

在所测各项免疫指标中,栉孔扇贝除胞内活性氧(ROIs)、超氧化物歧化酶(SOD)、酸性磷酸酶(ACP)等3个指标显著低于虾夷扇贝外( $P < 0.01$ ),其他6种指标均高于虾夷扇贝,且除血清凝

集素效价外均达显著水平( $P < 0.05$ )。在杂交子代中,上述免疫指标除超氧化物歧化酶(SOD)活性低于低值亲本外( $P < 0.6$ ),其余8种免疫指标均介于双亲之间。与单亲相比,杂交扇贝9种免疫指标中有8种与母本无显著性差异( $P > 0.05$ ),而与父本之间9种免疫指标中有7种达显著差异( $P < 0.05$ )。与双亲平均值相比,杂交扇贝中胞内活性氧(ROIs)、酚氧化酶(PO)、超氧化物歧化酶(SOD)和碱性磷酸酶(ALP)等4种指标明显地偏离它们在双亲中的平均值。该结果说明,杂交子代在机体非特异性免疫活性水平上并非表现为双亲的简单综合,而是具有明显的偏母性特征。

表1 杂交扇贝9种非特异性免疫学指标的测定结果及其与双亲差异的显著性比较(*t*检验)  
Tab.1 Measurement of 9 non-specific immune factors in hybrid scallops and statistic significance compared with that of their parents (*t* test)

免疫指标 Immune factors	栉孔扇贝 <i>C. farreri</i>	虾夷扇贝 <i>P. yessoensis</i>	杂交子代 Hybrid scallops	不同扇贝各项指标差异显著性 <i>t</i> 检验( <i>P</i> ) Comparison of values of different immune factors between scallop groups by <i>t</i> test			
				A	B	C	D
胞内活性氧含量(ROIs)	0.1325 ± 0.0305	0.4245 ± 0.0494	0.1836 ± 0.0233	0.0000**	0.0000**	0.0140*	0.0000**
血清凝集素效价(HA)	20.0000 ± 5.1745	14.0000 ± 3.9043	18.0000 ± 4.3197	0.2360	0.2140	0.7900	0.4780
溶菌酶活力(LSZ)	0.1677 ± 0.0298	0.1285 ± 0.0475	0.1647 ± 0.0599	0.0003**	0.0360*	0.8410	0.2180
溶菌活力	0.2497 ± 0.0656	0.2001 ± 0.0439	0.2396 ± 0.0738	0.0450*	0.1040	0.9990	0.2200
酪氨酸酶活性(PO)	0.6333 ± 0.1528	0.3018 ± 0.0215	0.5002 ± 0.0590	0.0000**	0.0000**	0.0610	0.0000**
过氧化氢酶活性(CAT)	143.9753 ± 44.6232	99.3563 ± 32.6150	126.9531 ± 29.1363	0.0010**	0.0130*	0.0800	0.5800
超氧化物歧化(SOD)	37.4133 ± 6.7209	49.2200 ± 12.9340	35.5514 ± 6.6200	0.0000**	0.0000**	0.6040	0.0000**
酸性磷酸酶(ACP)	20.7842 ± 3.1980	29.9264 ± 3.2779	24.2600 ± 2.8916	0.0000**	0.0000**	0.1380	0.0900
碱性磷酸酶(ALP)	10.4644 ± 2.9182	25.4533 ± 1.6329	9.9256 ± 2.3618	0.0000**	0.0000**	0.6990	0.0160*

注: A—*C. farreri* 和 *P. yessoensis* 差异显著性比较; B—杂交子代与父本 *P. yessoensis* 差异显著性比较; C—杂交子代与母本 *C. farreri* 差异显著性比较; D—杂交子代与双亲均值差异显著性比较; \* 差异显著( $P < 0.05$ ); \*\* 差异极显著( $P < 0.01$ ).

Note: A—significance test of the difference between *C. farreri* and *P. yessoensis*; B—significance test of the difference between hybrids and their paternal parents *P. yessoensis*; C—significance test of the difference between hybrids and their maternal parents *C. farreri*; D—significance test of the difference between the hybrids and the averages of their parents; \* mean significant difference ( $P < 0.05$ ); \*\* mean extremely significant difference ( $P < 0.01$ ).

### 3 讨论

现代育种学研究成果表明,远缘杂交可以产生3种水平的杂交子代:(1)发生真正的精卵结合,即染色体水平上的杂交,如绝大部分物种的杂交。(2)双亲部分遗传物质发生了合并或交换,即分子水平上的杂交,如湘华鲮(*Sinilabeo decorus tungting*)和鲮(*Cirrhinus molitorella*)杂交<sup>[13]</sup>。(3)未发生精卵的结合,异源精子只起着刺激卵子发育的作用,即雌核发育,如奥利亚罗非鱼(*Oreochromis aureus*)和鲮(*Siniperca chuatsi*)的杂交<sup>[14]</sup>;合浦珠母贝(*Pinctada fucata*)、长耳珠母贝(*P. chemnitzii*)和大珠母贝(*P. maxima*)的杂交<sup>[15]</sup>。虽然实践表明,栉孔扇贝和虾夷扇贝的杂交是成功的,杂交子代也在生长和抗逆性方面初步体现了杂种优势,子代在表型上也表现出了一些不同于亲本的方面,但在总体上杂交扇贝成体在表型性状是明显地偏母性的<sup>[5]</sup>,因此有关这两种扇贝杂交所获杂交子代到底是哪种形式的杂交还有必要作深入研究。杨爱国等<sup>[16]</sup>早期的研究工作表明,杂交扇贝在受精过程中父本虾夷扇贝的精子是正常入了卵的,荧光观察也表明雌雄原核能正常融合。核型分析表明,子代染色体中有一半偏向于母本染色体,一半偏向于父本染色体<sup>[17]</sup>。RAPD分子标记也证实了杂交扇贝成体中虾夷贝基

因片段的存在<sup>[18]</sup>,但目前还没有更直观的证据证明栉孔扇贝和虾夷扇贝杂交子代的遗传构成。基因组荧光原位杂交技术是鉴定杂交物种的好方法,在国内外被广泛运用于杂种外缘染色体的检测<sup>[19-20]</sup>,但目前海洋贝类方面的研究还鲜有报道。本研究采用该技术,以分裂速度旺盛的担轮幼虫为材料,分别用栉孔扇贝和虾夷扇贝基因组作探针,成功地在染色体水平上对栉孔扇贝(♀)和虾夷扇贝(♂)的杂交子代进行了鉴定。结果表明,栉孔扇贝和虾夷扇贝杂交得到的早期子代为真正的杂交种(严格地说只证明了在担轮幼虫阶段),子代分别继承了双亲的各1套染色体,这为进一步的育种工作展示了广阔的前景。然而对于杂交扇贝在继承了双亲2套染色体的同时如何在表型性状上显示出明显的偏母性问题还有待于作进一步的研究。

杂种优势的利用是杂交育种的出发点和最终目的。杨爱国等<sup>[5]</sup>对栉孔扇贝与虾夷扇贝杂交及子一代的遗传性状进行了跟踪调查,发现杂交扇贝在抗逆性能方面具有显著的杂种优势。表现在成活力上,在同一海区栉孔扇贝大批死亡的情况下,杂交贝达到95%的存活率。目前对杂种扇贝产生这种抗逆优势的机理还不很清楚。免疫是机体产生抗病性的生理基础,在机体疾病防御系统中扮演着重要角色,因此研究杂交子代在免疫机能上的特点对于扇

述杂种抗逆优势产生的机理有一定意义。蔡中华等<sup>[21]</sup>对栉孔扇贝 2 个地理种群及杂交后代抗氧化与溶菌酶等免疫指标进行测定,发现无论是正交还是反交,所测杂交扇贝的免疫学指标均显著高于亲本,与养殖过程中杂交扇贝较高的成活率相一致。Cai<sup>[22]</sup>等对尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)和奥利亚罗非鱼及其杂交子代白细胞吞噬力等非特异性免疫指标进行了测定,发现杂交种相对于亲本具有更强的抗病力。本研究以自然海区栉孔扇贝发病高峰期的 3 种扇贝作材料,也试图从免疫学水平上对杂交贝高成活率和抗逆优势产生的原因进行探讨。结果表明,杂交扇贝除超氧化物歧化酶活性低于双亲外,绝大部分免疫指标介于双亲之间,未发现超过双亲的免疫指标,9 种非特异性免疫指标中有 8 种与母本无显著性差异,而 7 种与父本差异显著。这些结果说明杂交贝在非特异性免疫活性上有显著的偏母性特征,这与杂交扇贝在外部性状上的偏母性相吻合。因此生产实践中杂交贝相对于其母本表现出的抗逆优势可能与其非特异性免疫活性无明显关系,抗逆优势可能体现在杂交贝对诸如温度、盐度、养殖密度、海区污染等各种理化因子更强的适应性上。

#### 参考文献:

- [1] Hodgcock D, Davis J P. Improving pacific oyster brood stock through crossbreeding[J]. J Shell Res, 2000, 199: 614-615.
- [2] 燕敬平,孙慧玲,方建光,等. 日本盘鲍与皱纹盘鲍杂交育种技术研究[J]. 海洋水产研究, 1999, 20(1): 35-39.
- [3] Heath W A. Developments in shellfish culture in British Columbia. Journal of Shell fish Research, 1995, 14: 228.
- [4] Bower S M, Blackburn J, Meyer G R. A new and unusual species of Perkinsus pathogenic to cultured Japanese scallops, *Platinopecten yessoensis*, in British Columbia, Canada[J]. Journal of Shellfish Research, 1997, 16(1), 333.
- [5] 杨爱国,王清印,刘志鸿,等. 栉孔扇贝与虾夷扇贝杂交及子一代的遗传性状[J]. 海洋水产研究, 2004, 25(5): 1-5.
- [6] 吴宝特. 贝类繁殖附着态生态学[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1999. 137-144.
- [7] Arnand L, Sbelagh K M. Stress-induced immune changes in the oyster *Crassostrea gigas*[J]. Development and Comparative Immunology, 2002, 26: 1-9.
- [8] 刘志鸿,张士军,杨爱国. 毛蚶血清凝集素的凝集活性[J]. 海洋学报, 2003, 25(5): 92-96.
- [9] Hultmark D. Insect immunity: Purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hyalophora*[J]. Eur J Biochem, 1980, 106: 7-16.
- [10] Ashida M. Purification and characterization of perphenolase from hemolymph of the silkworm *Bombyx mori*[J]. Acta Biochem Biophys, 1971, 144: 749-762.
- [11] 樊妮妮,刘志鸿,杨爱国. 蟹类对栉孔扇贝血淋巴活性氧含量和抗氧化酶活性的影响[J]. 海洋水产研究, 2005, 26(1): 23-27.
- [12] Krusel M, Morawicka B. Acid phosphatase of potato tubers (*Solanum tuberosum* L.): purification, properties, sugar and amino acid composition[J]. Acta Biochim Pol, 1982, 29: 321-330.
- [13] 楼允东. 鱼类育种学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999. 82-105.
- [14] 杨弘,夏德全,刘雷,等. 奥利亚罗非鱼(♀) × 暹罗(♂)及其子代回交遗传关系的研究[J]. 水产学报, 2004, 28(5): 594-598.
- [15] 李刚,姜卫国,魏旭光,等. 合浦雌母贝、长耳扇贝和大珠母贝种间人工杂交的研究[J]. 热带海洋, 1983, 2(4): 321-328.
- [16] 杨爱国,王清印,刘志鸿,等. 虾夷扇贝 × 栉孔扇贝人工授精过程的荧光显微观察[J]. 海洋水产研究, 2002, 23(3): 1-4.
- [17] 周丽青,杨爱国,刘志鸿,等. 栉孔扇贝 × 虾夷扇贝杂交子一代与双亲染色体核型的分析[J]. 水生生物学报, 2005, 29(1): 105-109.
- [18] 滕丽莉,杨爱国,赵峰,等. 栉孔扇贝 × 虾夷扇贝子一代杂种优势的 RAPD 分析[J]. 高技术通讯, 2005, 15(6): 97-101.
- [19] Schwarzbacher T, Leitch A R, Bennett M D, et al. In situ location of parental genomes in a wide hybrid[J]. Ann Bot, 1989, 64: 315-324.
- [20] Bailey J P, Bennett M D. Genomic *in situ* hybridization identifies parental chromosomes in the wide grass hybrid × *Festuca hubbardii* [J]. Heredity, 1993, 71: 413-420.
- [21] 蔡中华,李焱焱,曹亚青,等. 栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)两个地理种群及杂交后代抗氧化与免疫活性的初步研究[J]. 海洋与湖沼, 2003, (973 专辑): 82-87.
- [22] Cai W Q, Li S F, Ma J Y. Disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), blue tilapia (*Oreochromis aureus*) and their hybrid (female Nile tilapia male blue tilapia) to *Aeromonas sobria* [J]. Aquaculture, 2004, 229(1): 79-87.

## Preliminary cytological identification and immunological traits of hybrid scallop from *Chlamys farreri* (♀) × *Patinopecten yessoensis* (♂)

LÜ Zhen-ming<sup>1</sup>, YANG Ai-guo<sup>2</sup>, WANG Qin-ying<sup>2</sup>, LIU Zhi-hong<sup>2</sup>, ZHOU Li-qing<sup>2</sup>

(1. Key laboratory for sustainable utilization of marine fisheries resources, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071; 2. Faculty of life science and technology of Ocean University of China, Qingdao 266003)

**Abstract:** Genome *in situ* hybridization technique was employed to clarify the identity of the scallop hybrid offspring from *Chlamys farreri* ♀ × *Patinopecten yessoensis* ♂, and immunological characteristics were analyzed and compared between the hybrid and their parent stocks in this paper. Results showed that the hybrid offspring inherited one set of chromosomes ( $n = 19$ ) from each side of the parents. 9 immune parameters, intracellular reactive oxygen species (ROIs), agglutination titers (HA), lysozyme (LSZ), bactericidal activity, Phenoloxidase (PO), Catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), acid phosphatase (ACP) and alkaline phosphatase (ALP) were compared between the hybrid and their parents stocks. The result indicated that all of the immunological traits analyzed in maternal stock *Chlamys farreri* were significantly higher than those of paternal stock *Patinopecten yessoensis* ( $P < 0.05$ ) except ROIs, SOD and ACP. While in the hybrid stock, almost all values of these parameters were between those of their parents except SOD. Seven of nine immune parameters in hybrid stock significantly departed from the values of their paternal parents ( $P < 0.05$ ). But no significant difference was found in 8 of 9 immune parameters between the hybrids and their maternal parent stock *Chlamys farreri* ( $P > 0.05$ ). These results indicated that the non-specific immune activities in the hybrids were more similar to that of their maternal parents rather than their paternal parents. The hybrid heterosis in survival rate compared with their maternal parents in mariculture practice may not be correlated to the change of non-specific immune activities in hybrids. [Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(4): 597–602]

**Key words:** scallop hybrid, immune, genome *in situ* hybridization, heterosis