

海湾扇贝杂交后代的微卫星鉴定

秦艳杰, 刘晓, 张海滨, 张国范

(中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071)

摘要:海湾扇贝 (*Argopecten irradians*) 是典型的雌雄同体型贝类, 行体外受精, 因此杂交育种过程中存在非目标配子污染的问题。本研究筛选 10 对多态性微卫星引物对海湾扇贝两个亲本及正反交两个 F_1 子代群体各 100 个个体进行了分析。基因型分析结果表明, 所有后代等位基因均来源于双亲, 不存在外源等位基因污染情况。卡方检验表明, 杂交后代基因型比例符合孟德尔遗传分离比, 即微卫星标记符合孟德尔遗传。其中对 AIMS026 扩增位点的分析结果表明, 杂交后代基因型均为双亲互补型, 没有出现自交后代基因型, 即杂交过程中没有自身配子的污染。该研究证实了微卫星在海湾扇贝中分离的孟德尔遗传规律, 同时验证了海湾扇贝杂交过程中一系列避免异源配子污染方法的有效性, 为海湾扇贝定向杂交配子隔离的可靠性提供了分子生物学证据。[中国水产科学, 2007, 14 (4): 672–677]

关键词: 海湾扇贝; 雌雄同体; 杂交; 微卫星

中图分类号: Q959.215

文献标识码: A

文章编号: 1005–8737–(2007)04–0672–06

海湾扇贝 (*Argopecten irradians*) 自 1982 年引入中国以来^[1], 其人工养殖在中国迅速开展, 并在世界上首次形成海湾扇贝养殖业^[2–3], 随着养殖规模的不断扩大, 经济效益的不断增加, 有关海湾扇贝养殖生物学、生理学及遗传学等方面的研究也广泛开展起来^[4–6]。海湾扇贝是典型的雌雄同体型贝类, 雌性腺发育基本同步, 且行体外受精, 体外发育。有研究显示, 海湾扇贝可以自体受精, 也可以异体受精, 即同时存在自交、杂交两种交配方式^[7], 且后代均可以正常发育和存活, 因此, 它是遗传育种研究的理想贝类。

海洋贝类具有配子微小且数量巨大的特点, 进行大规模繁殖操作中, 彼此之间的配子隔离对于贝类定向杂交意义重大。实际操作中往往采用淡水浸泡操作器具以达到杀死非目标配子的目的。针对海湾扇贝雌雄同体的特点, 生产及育种研究中为了达到分离同一个扇贝的两种配子进行杂交的目的, 一般通过依次、分别收集每个扇贝的两种配子、多次洗卵及镜检等手段加以实现。目前, 本实验室已经成功地应用以上方法建立了海湾扇贝的杂交系和自交系^[7–9], 并在此基础上开展了大量遗传育种学方面的研究工作^[10–11]。

当然, 对海湾扇贝杂交后代的鉴别是进行深入

育种学研究的关键。由于不同海湾扇贝个体形态学指标相似, 很难通过观察测量对杂交过程及杂交后代进行有效评价。以 DNA 为基础的分子标记技术可以直接反映生物内在的基因型特性, 因此对杂交过程的验证更加准确、直接。微卫星标记具有多态性高、稳定性好以及共显性等优点, 在生物遗传图谱构建、亲缘关系划分、亲子鉴定及种质结构分析方面已得到广泛应用^[11–15]。利用共显性的微卫星标记对杂交过程进行分析时, 杂交组合均为父母本条带的完全互补型, 因此该标记可以快速、直接地通过亲本与后代的基因型比较来区分杂交后代、自交后代和父母本, 也可以通过非父母本等位基因的出现与否来判断繁殖操作过程中是否存在其他配子的污染。本研究对海湾扇贝两个个体的正反交后代进行了微卫星分析, 借以判断杂交过程的成功与否以及有否其他配子污染情况, 对微卫星在海湾扇贝中的分离方式以及孟德尔分离比加以分析验证, 以期为海湾扇贝遗传学研究奠定分子生物学基础。

1 材料与方法

1.1 材料培育

杂交过程选用两种不同来源的亲本, 其一源自于 2002 年从加拿大引入中国的个体, 这个群体是在

收稿日期: 2006–09–14; 修订日期: 2007–01–15.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30500381 和 30671622); 国家 863 计划课题 (2006AA10A408).

作者简介: 秦艳杰 (1977–), 女, 博士研究生. E-mail: qin_tina@163.com

通讯作者: 刘晓. Tel: 0532-82898720; E-mail: liuxiao@ms.qdio.ac.cn

20 世纪 80 年代由美国引种到加拿大的。其二来源于河北农业大学于 1998 年 12 月和 1999 年 2 月分别从美国的马萨诸塞和弗吉尼亚两地引种至中国秦皇岛的群体^[13]。

于 2002 年分别建立两种不同来源的扇贝 F₁ 自交系。于 2003 年 5 月,在两个自交 F₁ 代中分别选取性腺发育成熟的海湾扇贝多个,分别收集每个扇贝的雌雄配子。实验过程中,每个扇贝单独放于加满 23 ℃ 砂滤海水的容器中催产,一般首先排放精子,每当扇贝产卵或排精后,立即收集(精子或卵)。然后,用淡水清洗容器,并加满海水,将扇贝用新鲜海水反复冲洗后放回容器中,待其进一步排放。为了防止自体受精,用直径为 25 μm 的筛绢网洗卵以去除可能存在的精子,然后取样在显微镜下检验,如发现精子存在或出现极体的则弃掉。整个实验过程严格注意隔离,筛绢网等器具在接触不同配子时,采用淡水浸泡法以杀死上一步骤中残存的配子。

从中分别选取没有受到自身配子污染的两个扇贝的雌雄配子,进行正反杂交,共得到两个 F₁ 群体(OW 和 WO)。隔离培养直至 2004 年 1 月,两个杂交后代群体均存活 1 000 只以上,从中分别随机取样 100 只,将所取扇贝解剖取得闭壳肌,75% 酒精固定保存备用。

1.2 DNA 提取

采用常规“酚—氯仿”抽提法提取扇贝基因组 DNA。DNA 浓度采用 Beckman DU-650 型紫外分光光度计测定,并用琼脂糖凝胶电泳—EB 染色检测

所提取的 DNA 含量和质量。将所提取的 DNA 稀释至 50 ng/μL, -20 ℃ 保存备用。

1.3 微卫星分析

微卫星引物及反应条件参照文献^[17-18]。反应体系为 25 μL,包括 1.5 mmol/L MgCl₂, 0.1 mmol/L dNTP(Roche), 40 nmol/L 每种引物(上海博亚合成), 1 U TaqDNA 酶(Shanghai promega)以及 50 ng 基因组 DNA。反应程序为:94 ℃ 5 min, 接下来 94 ℃ 1 min, 退火温度 1 min, 72 ℃ 1 min 共 35 个循环。最后 72 ℃ 延伸 10 min。微卫星反应在 Biometro PCR 仪上进行。PCR 产物经 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测,银染显带。

1.4 数据统计

将亲本及子代微卫星电泳结果按照共显性标记统计,依据片断由大到小依次命名为 A、B、C……。依据微卫星所检测的等位基因特点,每个个体只能有 1 条或 2 条带,一条带个体可认为是纯合子,而两条带者为杂合子。无带或模糊不清者不统计。基因型分离比在 Microsoft - Excel 中计算并进行 X² 检验。

2 结果与分析

2.1 微卫星引物筛选

本实验共筛选了 35 对微卫星引物,其中有清晰扩增条带并在亲本中呈多态性且在子代中分离的微卫星引物共有 10 对。这 10 对引物的序列及适宜的退火温度如表 1 所示。

表 1 实验中筛选出的 10 对微卫星引物的基本信息
Tab.1 Primer sequence of 10 microsatellite loci selected in this study

位点 Locus	注册号 Accession no.	引物序列(5' - 3') Primer sequence(5' - 3')		退火温度/℃ Temperature
MSB1248	AY485260	F: AAGTAGAGCGGAACGGATGT	R: TGCTCGAAGTTTGAGATAA	60
MSBcn226		F: AAGTAGAGCGGAACGGATGT	R: GATGCTCGAAGTTTGAGAT	54
MSB5812	AY524781	F: TAATGAGTACCGTTGAATGA	R: AACGCTAACGACTATCTGTA	54
MSBcn413		F: CATAATGAACGGGTGGAGTG	R: CAAATGATGACGATTAGGGA	54
MSB3974	AY496642	F: ATAATGAACGGGTGGAGTGT	R: CAAATGATGACGATTAGGGA	56
MSB2888	AY512571	F: GCATCTAAGCACACTAATCC	R: ACAGTGTATGCTATCAAAGT	50
AIMS012	CN783420	F: GAGAGTACAAGCACTGTTCTCATG	R: GGTGCTATATCGACCTATATCTGAG	63
AIMS020	CB416269	F: AGTAGAGCGGAACGGATGTGC	R: GAAGTTTGAGATAATGAGGTAGGG	61
AIMS022	CB413627	F: GACCCTGGATACCAATAAGACG	R: TTGTATTCCGGGTGAGCGATAG	61
AIMS026	CB416920	F: CACTTCAGACACAAGTTACCGC	R: TGAACCACCAAAGGTGACGGGG	67

2.2 微卫星引物扩增结果

如表2所示,10对微卫星引物在两个杂交子代群体中,共检测到了10个位点,其中9个在双亲中一

方纯合而另一方杂合,只有AIMS012检测位点双方亲本均为杂合,但有一个相同的等位基因。AIMS026检测位点双亲中没有共同的等位基因(图1)。

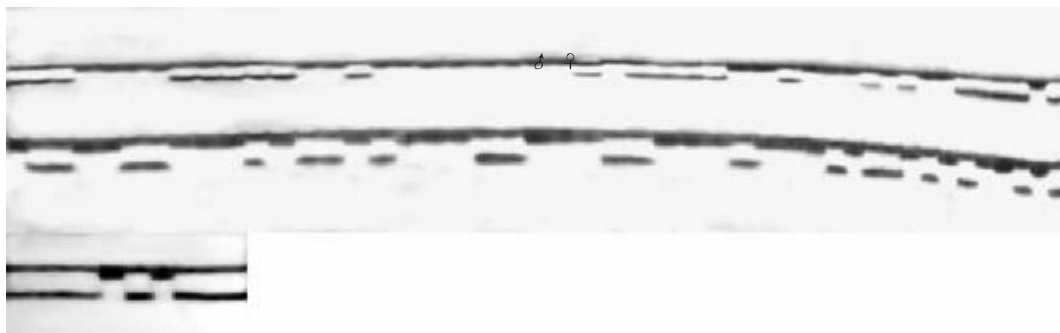


图1 AIMS026在亲本及100个F₁群体(WO子代)中的扩增结果

♂:雌亲本条带带型;♀:雄亲本条带带型。

Fig.1 Amplification results of two parents and 100 F₁ individuals in F₁ (WO) with primer AIMS026

♂:Female parent band type;♀:Male parent band type.

表2 微卫星对杂交子代中的基因型检测结果

Tab.2 Segregating tests of microsatellites loci in hybrid family

位点 Locus	亲本基因型 Parents gene type		推测后代可能的 基因型及比例 Projected gene type and ratio of F ₁	WO 后代实际的基因型、 比例及 P 值 Real gene type, ratio and P of WO	OW 后代实际的基因型、 比例及 P 值 Real gene type, ratio and P of OW
	W	O			
MSB1248	BB	AB	AB:BB=1:1	AB:BB=42:58, P=0.109 6	AB:BB=59:41, P=0.071 9
MSBcn226	BB	AB	AB:BB=1:1	AB:BB=43:56, P=0.191 3	AB:BB=40:59, P=0.056 2
MSB5812	BB	AB	AB:BB=1:1	AB:BB=46:52, P=0.544 5	AB:BB=51:48, P=0.763 0
MSBcn413	AB	AA	AB:AA=1:1	AB:AA=43:57, P=0.161 5	AB:AA=49:51, P=0.841 5
MSB3974	AB	AA	AB:AA=1:1	AB:AA=42:58, P=0.109 6	AB:AA=40:55, P=0.123 8
MSB2888	AB	AA	AB:AA=1:1	AB:AA=39:61, P=0.027 8	AB:AA=41:58, P=0.087 5
AIMS012	AB	AC	AA:AC:AB:BC= 1:1:1:1	AA:AC:AB:BC= 20:30:31:19, P=0.180 8	AA:AC:AB:BC= 23:23:26:23, P=0.963 0
AIMS020	BB	AB	AB:BB=1:1	AB:BB=39:61, P=0.027 8	AB:BB=39:57, P=0.066 2
AIMS022	AB	AA	AB:AA=1:1	AB:AA=42:57, P=0.131 7	AB:AA=46:49, P=0.758 2
AIMS026	AA	BC	AB:AC=1:1	AB:AC=51:49, P=0.841 5	AB:AC=49:51, P=0.841 5

2.3 微卫星扩增结果的分离分析

根据孟德尔遗传的分离和自由组合定律,依据扩增得出的两个亲本的基因型,推测出后代的所有可能基因型及理论分离比(表2)。WO后代的实际基因型比例经 χ^2 检验结果表明,10个位点中,8个位点符合孟德尔分离比($P>0.05$),MSB2888和AIMS020两个位点的分离比略偏离这一比例($0.01<P<0.05$),这两个位点均表现为纯合基因型比例

过剩。而在OW后代中,所有位点均符合孟德尔遗传分离比($P>0.05$)。

2.4 微卫星引物扩增结果对杂交、自交过程中异源污染的验证

判断亲子关系的理论依据是孟德尔遗传的分离定律,在配子细胞形成时,成对的等位基因彼此分离,分别进入各自的配子细胞。精、卵细胞受精形成子代,子代的两个基因组分别来自雌雄亲本;因此子

代个体中同一对等位基因一个来自于雌性亲本,一个来自于雄性亲本。鉴定结果如果符合该规律,则不能排除亲生关系;若不符合,则排除亲生关系。本研究中,从筛选的10对微卫星引物扩增位点分析来看,所有杂交后代等位基因均来源于双方亲本,后代中没有出现非亲本等位基因,而且后代基因型比例也基本符合理论比例,因此可以说明杂交过程中没有异源配子(异源等位基因)污染。

从AIMS026位点来看,双亲中没有相同的等位基因,是用于检验杂交过程中是否有自交污染的理想引物。如果存在自交个体的污染,那么后代的基因型应为AA、BB、CC或BC,而在两个杂交后代群体中,分别随机选取的100个 F_1 代个体的基因型只有AB和AC两种,且其比例符合孟德尔分离比,因此可以认为 F_1 代中不存在自交个体。依此判断,在雌雄同体的海湾扇贝进行人为控制的杂交过程中成功排除了自交个体的污染。

3 讨论

理论上,任何分子标记系统都可以用于亲缘关系分析,这方面的研究最早是从蛋白质多态性标记开始的^[20],近来则主要围绕着以DNA标记为基础的分子标记方法来进行,常用的标记手段为小卫星、RAPDs、AFLP和微卫星。显性标记信息对于利用排除法为主要手段的亲缘分析研究来说是有效的。Urasaki等^[21]利用筛选出的雄性和雌雄同体番木瓜的特异性RAPD标记对后代进行鉴别,并将这一标记转化成了SCAR(sequence-characterized amplified region)标记。Brazeau等^[22]同样利用RAPD标记技术研究了两种珊瑚虫(*Favia fragum*和*Porites astreoides*)自交个体的比例。本实验室也成功利用RAPD技术对海湾扇贝个体间单向授精的过程加以验证^[23]。需要指出的是,由于缺乏相应的统计学方法,利用RAPD标记手段区分杂交和自交个体也存在一定的缺陷。首先,RAPD标记是显性标记,当后代中出现一个或多个亲本中未出现的谱带时,认为该个体来源于杂交,但当两个亲本所出现的带相同时,便无法区分;另外,RAPD标记手段通过琼脂糖凝胶电泳进行检测,会出现不同片段具有相近的分子量和迁移率而表现为同一条带的现象,这也加大了统计的误差^[24]。

微卫星标记具有多态性丰富、重复性好、在基因组中广泛分布以及可鉴别杂合子的共显性等优点,

因此是RAPD、AFLP等显性标记所无法比拟的。尤其是在个体水平上的遗传结构分析中,微卫星标记更要优于其他标记方法。利用微卫星DNA的孟德尔遗传特性和共显性的特征,可以通过分析基因型特征来确定种群的遗传杂合度,同时可以进一步描述种群以及种群内个体的遗传结构。因此微卫星标记广泛用于个体识别,家谱组成及遗传分析研究中,在动物及人类的亲缘关系分析、法医鉴定等领域多有报道^[25-26]。

对于每个微卫星位点来说,每个后代从父本和母本中分别遗传一个等位基因,这种相对简单的遗传模式可以应用于水产养殖动物自然群体、养殖群体亲缘关系追踪分析^[24]。对于共显性标记来说,可以用简单的排除法来进行亲缘关系分析和亲子鉴定。在符合孟德尔遗传分离的微卫星标记分析中,由于后代将分别继承两个亲本各一个等位基因^[27],因此不符合这一遗传规律的个体便可以排除。已有研究表明,用很少的微卫星引物就可以辨别混合群体的亲本来源。在高等动物中,母、子关系常常是确定的,因此常用微卫星技术筛选鉴定可能的父本。如果子代不具有假设父本的等位基因,则可排除这种父、子关系^[25-26]。但在大多数水产动物中,由于养殖群体较大,亲本产卵量多,且多行体外受精和体外发育,因此在亲子鉴定方面还存在一定的难度。但近年来已经逐渐出现将微卫星进行亲子鉴定的原理应用到水产动物中的报道。如Herbinger等^[28]仅用了5个微卫星标记中的4个标记就将91%的虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)后代个体归于100个可能亲本对中的1到2个亲本组合;Vandeputte等^[29]用了8对微卫星引物在鲤(*Cyprinus carpio* L.)10×24种杂交可能的后代中鉴别亲本组合的效率达到95%;在中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)中也有相关的亲缘关系分析报道^[30]。与以上研究相似,本实验将微卫星标记应用于海湾扇贝杂交过程的鉴别,利用10个微卫星位点分析两个杂交 F_1 代群体各100个个体,从而鉴别它们是来源于自交、杂交还是存在其他的亲本。分析结果表明,随机取得的100个个体全部来源于两个亲本杂交,可以初步认为不存在自交和其他个体配子污染的可能。

在刚刚起步的水产动物育种工作中,准确的系谱分析记录是十分重要的。海洋贝类存在体外受精与混合受精等特点,如若不能准确的确认某个个体的亲缘关系,将严重影响育种中的遗传进展。海洋

贝类繁殖操作过程中为防止异源配子污染,常常采用淡水浸泡操作器具的方法来杀死非目标配子,该方法理论上可行,但实际操作过程中存在一定的随机性和经验性,对这一操作过程也无法通过肉眼观察等简单手段加以验证。本实验在进行海湾扇贝大规模繁殖操作过程中,随机抽取一个正反杂交过程,在两个杂交家系中对其异源配子隔离效果加以分子生物学验证。10个微卫星位点的分析结果表明,淡水隔离方法对于隔离非目标配子来说是有效的。海湾扇贝是雌雄同体型贝类,繁殖季节每个扇贝个体可以同时产生雌雄配子,自体受精和异体受精现象可同时发生。正在广泛开展的海湾扇贝遗传育种工作中,杂交是建立基础研究材料的主要手段之一,而为了确保雌雄同体型的海湾扇贝的杂交效率,成功避免自身配子的混杂,生产上采用一系列的隔离和显微观察方法。笔者已开展了海湾扇贝个体间定向杂交技术的研究,通过人为调控海湾扇贝精子与卵子的排放方式等多种措施成功实现了海湾扇贝个体间的定向交配^[8-9]。由于海湾扇贝不同来源的个体之间缺乏明显的可用于分辨的形态学特征,因此对杂交过程的有效性验证将是海湾扇贝遗传育种研究所必须面对的问题。近年来发展起来的分子标记技术为这一验证过程提供了可能。微卫星标记是公认的进行亲子鉴定的有效手段,但如果两个亲本存在相同的等位基因,则无法准确判断后代是否来自于两个亲本的完全互补。本实验采用一个双亲中没有相同等位基因的微卫星位点,根据孟德尔遗传和自由组合定律,成功验证了两个个体杂交过程中均不存在自身配子污染的问题,即杂交过程成功地避免了自交,对海湾扇贝杂交过程中的一系列隔离措施的有效性提供了分子生物学验证,对雌雄同体型的海湾扇贝杂交育种学研究奠定了分子生物学基础。

参考文献:

- [1] 张福绥,何义朝,刘祥生,等.海湾扇贝(*Argopecten irradians*)引种、育苗及试养[J].海洋与湖沼,1986,17(5):367-374.
- [2] 张福绥.中国海湾扇贝养殖业的发展[J].海洋科学,1992,4:1-4.
- [3] Guo X M, Ford S E, Zhang F S. Molluscan aquaculture in China[J]. J Shellfish Res, 1999, 18: 19-31.
- [4] 刘晓,孙博,张国范,等.海湾扇贝4次引种后代的表现特征和遗传分化[J].海洋与湖沼,2006,37(1):61-68.
- [5] 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[J].海洋学报,2005,27(2):177-180.
- [6] 梁玉波,王立俊,杨波,等.不同筏式养殖区海湾扇贝的呼吸代谢[J].海洋与湖沼,2002,33(1):97-104.
- [7] 张国范,刘述锡,刘晓,等.海湾扇贝自交家系的建立和自交效应[J].中国水产科学,2003,10(6):441-445.
- [8] 郑怀平,张国范,刘晓,等.不同贝壳颜色海湾扇贝(*Argopecten irradians irradians*)家系的建立及生长发育研究[J].海洋与湖沼,2003,34(6):632-639.
- [9] 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的比较[J].水产学报,2004,28(3):267-271.
- [10] Zheng H P, Zhang F F, Liu X, et al. Different responses to selection in two stocks of the bay scallop, *Argopecten irradians irradians* Lamarck (1819) [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 2004, 313: 213-223.
- [11] Zheng H P, Zhang G F, Liu X. Sustained response to selection in an introduced population of the hermaphroditic bay scallop *Argopecten irradians irradians* Lamarck (1819) [J]. Aquaculture, 2006, 255: 579-585.
- [12] 何平.真核生物中的微卫星及其应用[J].遗传,1998,20(4):42-47.
- [13] Powell W, Morgante M, Andre C, et al. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis[J]. Mol Biol Evol, 1996, 13: 225-238.
- [14] Guilford P, Mhinur S. Microsatellite in *Malus domestica* (apple): abundance, polymorphism and cultivar identification [J]. Theor Appl Genet, 1997, 94: 249-254.
- [15] O'Connell M, Wright J M. Microsatellite DNA in fishes [J]. Fish Biol, 1997, 7: 331-363.
- [16] 李云福,刘路伟,邢光敏,等.美国海湾扇贝引种制种及选育技术报告[J].河北渔业,2000,2:29-32.
- [17] 王玲玲.栉孔扇贝和海湾扇贝遗传连锁图谱的构建研究[D].青岛:中国科学院海洋研究所,2005.
- [18] Zhan A B, Bao Z M, Wang X L, et al. Microsatellite markers derived from bay scallop *Argopecten irradians* expressed sequence tags [J]. Fisheries Sci, 2005, 71: 1339-1344.
- [19] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. Genetics, 1978, 89: 583-590.
- [20] Queller D C, Goodnight K F. Estimating relatedness using genetic markers [J]. Evolution, 1989, 43(2):258-275.
- [21] Urasaki N, Tokumoto M, Tarota K, et al. A male and hermaphrodite specific RAPD marker for papaya (*Carica papaya* L.) [J]. Theor Appl Genet, 2002, 104: 281-285.
- [22] Brazeau D A, Gleason D F, Morgan M E. Self-fertilization in brooding hermaphroditic Caribbean corals: Evidence from molecular markers [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1998, 231: 225-238.
- [23] 孙博,刘晓,郑怀平,等.海湾扇贝个体间单向授精的分子生物学验证[J].水产学报,2006,30(5):713-719.
- [24] Liu Z J, Cordes J F. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics [J]. Aquaculture, 2004, 238: 1-37.
- [25] 韩春梅,张嘉保,高庆华,等.微卫星DNA在吉克兔亲自鉴定中的应用研究[J].遗传,2005,27(6):903-907.

- [26] 张于光,李迪强,饶力群,等.东北虎微卫星 DNA 遗传标记德筛选及在亲子鉴定中的应用[J].动物学报,2003,49(1):118-123.
- [27] Wilson A J, Ferguson M M. Molecular pedigree analysis in natural populations of fishes: approaches, applications, and practical considerations[J]. Can J Fish Aquat Sci, 2002, 59: 1 696 - 1 707.
- [28] Herbinger C M, Doyle R W, Pitman E R, et al. DNA fingerprint-based analysis of paternal and maternal effects on offspring growth and survival in communally reared rainbow trout [J]. Aquaculture, 1995, 137: 245 - 256.
- [29] Vandeputte M, Kocour M, Mauger S. Heritability estimates for growth-related traits using microsatellite parentage assignment in juvenile common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. Aquaculture, 2004, 235: 223 - 236.
- [30] Dong S, Kong J, Zhang T, et al. Parentage determination of Chinese shrimp (*Penaeus chinensis*) based on microsatellite DNA markers[J]. Aquaculture, 2006, available on line.

Cross-fertilization in hermaphroditic bay scallop, *Argopecten irradians*: Evidence from microsatellite

QIN Yan-jie, LIU Xiao, ZHANG Hai-bin, ZHANG Guo-fan

(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: A reciprocal cross of *Argopecten irradians* was performed between two parent scallops and then, two hybrid families were established in this study. Ten microsatellite loci, polymorphic in two parents and their progenies, were screened from 35 publicly reported ones. The rates of successive cross and possibilities of interfusion of other gametes were examined. Two F_1 families, each with 100 individuals, and their two parents were subjected to microsatellite analysis. The alleles in all progenies were derived from their parents without any other alleles involved in the progeny. All the markers were segregated according to the 1:1 Mendelian ratio ($P > 0.01$). The amplified results in AIMS026 showed that there were no individuals generated from self-fertilization. All the results showed that microsatellite marker was effective in parentage analysis, and artificial control is successful in reproduction and breeding of hermaphroditic bay scallop. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14 (4): 672 - 677]

Key words: *Argopecten irradians*; hermaphroditism; cross-fertilization; microsatellite

Corresponding author: LIU Xiao. E-mail: liuxiao@ms.qdio.ac.cn