

## 不同壳色虾夷扇贝家系F<sub>1</sub>幼虫生长及遗传结构的比较分析

程鹏<sup>1,2</sup>, 杨爱国<sup>1</sup>, 周丽青<sup>1</sup>, 吴彪<sup>1</sup>, 刘志鸿<sup>1</sup>, 李霞<sup>2</sup>, 李德军<sup>3</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. 大连水产学院 生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116023; 3. 胶南市海洋与渔业局, 山东 青岛 266400)

**摘要:** 虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 群体存在2种壳色个体, 简称白贝和褐贝。本研究通过近交和杂交方法建立了褐贝(♀)×褐贝(♂)、白贝(♀)×褐贝(♂)、褐贝(♀)×白贝(♂)和白贝(♀)×白贝(♂)4个家系, 分别用1F、2F、3F和4F代表, 每家系设3个平行, 共12个家系。对各家系的卵径、幼虫的孵化率、成活率和生长性状等生物学参数进行了比较, 建立了各个家系幼虫壳长、壳高的生长方程, 并利用微卫星标记比较4个家系的遗传差异。结果表明, 不同壳色家系间卵径大小、幼虫的孵化率、成活率差异不显著 ( $P>0.05$ ), 家系4F幼虫期壳长和壳高日生长速率均高于1F、2F和3F, 且差异显著 ( $P<0.05$ ), 家系2F、3F和4F间幼虫期壳长和壳高日增长速率差异不显著 ( $P>0.05$ )。家系1F的遗传多样性最低; 遗传相似性系数 (0.635 1 ~ 0.977 2) 和遗传距离 (0.023 1 ~ 0.454 0) 分析表明, 1F和4F之间遗传相似性 (0.635 1) 最低, 遗传距离 (0.454 0) 最远; 不同家系间存在着遗传差异, 1F和4F差异最大。本研究结果初步说明虾夷扇贝群体内白贝个体和褐贝个体之间产生了遗传分化, 这种遗传结构的差异造成了不同壳色家系在幼虫阶段生长性状上的不同。[ 中国水产科学, 2010, 17 (5): 960–968 ]

**关键词:** 虾夷扇贝; F<sub>1</sub>幼虫; 生长; 壳色; 遗传结构

**中图分类号:** S917

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005–8737–(2010)05–0960–09

虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 属于冷水贝类, 原产于日本北海道海域, 是世界上重要的经济养殖贝类之一, 尤其在日本水产业中占有重要地位。20世纪80年代虾夷扇贝被引入中国, 经过多年的养殖经验积累, 人工育苗和养殖技术已发展成熟, 现已成为北方沿海地区主要养殖贝类之一, 促进了中国北方沿海地区贝类养殖业的迅速发展。随着分子生物学的兴起和发展, 一些学者对虾夷扇贝的种质资源<sup>[1–3]</sup>、种群遗传结构<sup>[4]</sup>、家系鉴定<sup>[5]</sup>、遗传图谱构建<sup>[6–7]</sup>、物种特异标记<sup>[8]</sup>和性状特异标记<sup>[9]</sup>的筛选进行了研究并取得了一定的成果。近年来, 随着养殖规模的扩大, 虾夷扇贝养殖群体出现了种质资源退化、养殖群体成活率低等现象。王婷等<sup>[3]</sup>对虾夷

扇贝的养殖群体和野生群体资源进行遗传分析时, 发现养殖群体的多态性有明显的下降趋势, 养殖群体的平均等位基因数和多态性指数均低于野生群体。为了保持虾夷扇贝养殖产业的持续健康发展, 应加快培育虾夷扇贝新品种培育。

壳色作为一种重要的选育性状已被广泛地应用于动植物育种。在海洋经济贝类育种中也有一些成功的例子, 张国范等<sup>[10]</sup>以壳色为遗传标记, 成功选育中科红海湾扇贝 (*Argopectens irradians*)。闫喜武<sup>[11]</sup>通过建立不同壳色菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 家系及对其壳色遗传规律的研究, 成功建立了红斑马品系。虾夷扇贝群体中存在褐色 (上壳为褐色, 下壳为白色) 和白色 (上下壳均为白色) 2种壳色。已报道

收稿日期: 2009–12–31; 修订日期: 2010–03–08.

基金项目: 国家863计划资助项目 (2006AA10A408); 国家科技支撑计划专题项目 (2006BAD01A00); 中央公益性科研院所基本科研业务费项目 (2060302/2–TS10).

作者简介: 程鹏 (1983–), 男, 硕士研究生, 主要从事贝类遗传育种研究. E-mail: cpxna\_1982@163.com

通讯作者: 杨爱国 (1957–), 男, 研究员, Tel: 0532–85811982; E-mail: yangag@ysfri.ac.cn

的虾夷扇贝壳色方面研究仅见在形态学<sup>[9]</sup>和分子遗传学<sup>[12]</sup>方面,并未见有关壳色与其生长和存活等生物学性状关系的报道。

微卫星技术由于其技术简便、位点多态性丰富、稳定性好、以孟德尔方式遗传、呈共显性等优点,已被广泛地应用于动植物分子辅助遗传育种中<sup>[13-14]</sup>。本研究首次建立不同壳色间的虾夷扇贝家系,通过比较不同壳色家系之间幼虫的成活率、孵化率及生长性状方面是否存在差异,探讨幼虫的生长和存活与壳色的关系,并利用微卫星技术分析不同壳色虾夷扇贝家系的遗传多样性,通过对各家系的多态信息含量、等位基因数、有效等位基因数、杂合度、遗传距离的比较分析,探讨各家系在遗传结构上是否存在差异,为虾夷扇贝的壳色选育工作提供基础参考数据和理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 亲贝来源及促熟

亲贝于2009年3月初购自大连长海县养殖海区,在2龄贝中按壳色选取尺寸和规格相当的个体,运至长岛增殖站室内池暂养。

### 1.2 家系的建立

从暂养亲贝中挑选出性腺饱满的个体。每个个体被单独放入1个催产容器中,雌贝直接放入100 L孵化桶中。待精卵排出后,按少量多次加入精液方式授精,并显微镜检测直至每个卵子周围有2~3个精子为宜。建立家系时,精子和卵子均在产出后1 h内授精。本实验所选的亲本按虾夷扇贝壳色划分,组成4种交配方式:褐贝(♀)×褐贝(♂),白贝(♀)×褐贝(♂)、褐贝(♀)×白贝(♂)和白贝(♀)×白贝(♂),分别产生1F、2F、3F和4F这4个家系,每家系3个平行,共建立12个实验家系,各家系间亲本均无亲缘关系。对所有家系授精后进行受精卵密度均等校正,密度控制在30~40个/mL。

### 1.3 幼虫培育

受精卵在13℃水温下孵化,孵化出D型幼虫后换水并转入200 L的桶中培育,密度校正为3~5个/mL。幼虫期间每天换水1/2,每2天全换1次。每4

天测量1次各家系的幼虫密度,根据测得的密度对各个家系进行密度均等校正,以消除实验过程中密度因素对实验结果的影响。幼虫具体培育方法参照刘世禄等<sup>[15]</sup>的工艺流程进行。

### 1.4 生长数据的获得

测量每个家系卵径、D型幼虫孵化率;幼虫期,每天从各个家系随机取样,分别测量30个个体的壳长和壳高;测量各家系第5天、12天和25天幼虫的成活率。用带微尺的显微镜测量各家系的卵径、幼虫的壳长和壳高,测量壳高和壳长时,用4%的甲醛溶液将幼虫杀死。

### 1.5 SSR分析

**1.5.1 幼虫固定** 家系发育至D型幼虫,无水乙醇固定,储存在-20℃,1周后换固定液1次。

**1.5.2 DNA提取** 从固定材料中每种壳色组合家系各取出40个幼虫,无水乙醇自然挥干。用1×PBS吹洗,2 000 r/min离心去除PBS,在解剖镜下加0.1×TE挑取幼虫各置于1个无菌PCR管中,加20 μL蛋白酶K,56℃裂解1 h。

**1.5.3 PCR扩增** SSR引物选自Chen等<sup>[16]</sup>和Sato等<sup>[2]</sup>,所选引物由上海生物工程技术服务有限公司合成,各引物序列和退火温度见表1。采用10 μL反应体系;2 μL幼虫DNA,2 mmol/L Mg<sup>2+</sup>,引物0.2 μmol/L,1×Buffer,0.25 U的Tag DNA聚合酶(Tiagen),0.2 mmol/L的dNTP;优化后的反应程序:94℃预变性5 min;94℃变性30 s,退火30 s,72℃延伸30 s,共35个循环;72℃延伸5 min,最后4℃保存。

**1.5.4 电泳检测 and 数据分析** PCR扩增产物用6%变性聚丙烯酰胺凝胶电泳和银染方法检测。根据每个个体产生的条带位置确定其基因型。使用Invitrogen公司10 bp DNA ladder marker确定等位基因的大小。用POPGENE32计算每个位点的Shannon's多态信息指数(PIC)、等位基因数( $N_e$ )、有效等位基因数( $A_e$ )、观测杂合度( $H_o$ )和期望杂合度( $H_e$ )以及家系之间的遗传相似性系数( $I$ )和遗传距离( $D$ );根据家系间遗传距离,用MEGA3.1软件对其进行NJ系统树构建。

表1 微卫星位点、引物序列、核心序列和退火温度  
Tab. 1 Core sequences, primer sequences and annealing temperature of microsatellite DNA markers

| 位点<br>Locus      | 引物序列<br>Primer sequence                                    | 核心序列 (5'-3')<br>Core sequence (5'-3')                                        | 退火温度/℃<br>Annealing temperature |
|------------------|------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| <i>FJ262381</i>  | F: AGCATCGTCTTTATCATCCTCA<br>R: ATGATGCAACATCGCTTATG       | (CAT) <sub>10</sub>                                                          | 54                              |
| <i>D05H360</i>   | F: GCGAATGTTATCGTTAAACACCT<br>R: GCTGACTCAATCTACCAGTTATTGC | (TG) <sub>15</sub> (AG)(TG) <sub>5</sub> (TC) <sub>2</sub> (TG) <sub>3</sub> | 62                              |
| <i>FJ262375</i>  | F: TCGACGATCAACAAGACATATT<br>R: GTGTTCTGTAGGCCTCGAA        | (TGA) <sub>8</sub> (ATG) <sub>8</sub> (TGA) <sub>9</sub>                     | 58                              |
| <i>FJ262402F</i> | F: GTGTTCTGTAGGCCTCGAA<br>R: TCGACGATCAACAAGACATATT        | (ATC) <sub>9</sub> (CAT) <sub>5</sub> (ATC) <sub>7</sub>                     | 56                              |
| <i>FJ262409</i>  | F: CGACGATCACTGTAATTCACAA<br>R: TCAGGGGTTTTACGTTCTCG       | (TCA) <sub>5</sub>                                                           | 62                              |
| <i>P13F449</i>   | F: TTGTGTAGTGCAGTGTAGTT<br>R: GTCAACACAAGTTCCAGTGT         | (GATT) <sub>8</sub>                                                          | 54                              |

1.6 统计分析方法

Excel 软件用于原始数据的记录和整理。通过幼虫的壳长和壳高数据建立各个家系幼虫生长的一元线性回归方程,每个方程的斜率视为该家系的壳长/壳高日增长速度;方差分析不同壳色家系之间的壳长、壳高、孵化率、成活率的差异。孵化率和成活率转化成反正弦函数,差异显著时用LSD进行多重比较。应用SPSS13.0软件进行所需数据分析,差异显著性水平设为0.05。

2 结果与分析

2.1 不同壳色家系的卵径和孵化率

由表2可知,家系1F、2F、3F和4F平均卵径大小分别为80.75 μm、80.50 μm、79.50 μm、和81.00 μm,各家系之间卵径差异均不显著( $P>0.05$ );各家系D型幼虫的孵化率分别为94.17%、95.17%、92.5%和93.33%,各家系之间差异不显著( $P>0.05$ )。

2.2 幼虫的壳长和壳高生长方程建立及日增长差异分析

家系1F、2F、3F和4F的壳长日增长速率分别为4.349 μm/d、4.495 μm/d、4.623 μm/d、6.366 μm/d(表2),家系1F幼虫壳长日增长最慢,4F幼虫壳长日增长最快;家系1F、2F、3F和4F的壳高日增长速率为

4.464 μm/d、4.644 μm/d、4.691 μm/d、6.365 μm/d(表2),家系1F值最小,家系4F值最大。方差分析表明,家系4F的壳长和壳高日增长速率与1F、2F和3F之间差异显著( $P<0.05$ ),1F、2F、3F之间差异不显著( $P>0.05$ )(表2)。根据每日壳长和壳高的测量数据分别建立各家系的壳长和壳高的一元线性生长回归方程(表3、表4)。

2.3 不同时间幼虫成活率比较

家系1F、2F、3F和4F第5天幼虫的成活率分别为73.00%、70.00%、70.67%和71.67%,第12天幼虫的成活率分别为37.67%、40.00%、39.00%和40.67%,第15天各家系幼虫的成活率分别为61.33%、60.67%、59%和59.33%,方差分析显示,各家系间第5天、12天和25天幼虫成活率差异不显著( $P>0.05$ )(表5)。

2.4 不同家系的遗传多样性

本实验共选取6对SSR引物,对4种不同壳色家系进行扩增,各家系随机取样40个个体用于分析。由表6可知,所有家系中,每个位点扩增的等位基因数( $N_a$ )为1~3,有效等位基因数( $A_e$ )在1到2.589之间,其中家系1F的平均等位基因数和平均有效等位基因数为最少。PIC值从0到0.554 5,大多数位点的PIC值居于0.25和0.5之间,属于中度

表2 不同壳色虾夷扇贝家系卵径大小、孵化率和壳长壳高的日增长速率  
Tab. 2 Mean sizes of egg dismeter (μm), daily mean growth rates of shell length and shell height (μm/d) and embryonic hatching rates (%) for different shell color lines of *Patinppecten yessoensis*

| 项目 Item                                                                | 家系 Line                    |                            |                            |                            |
|------------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                                                                        | 1F                         | 2F                         | 3F                         | 4F                         |
| 卵径大小/μm<br>Size of egg dismeter                                        | 80.75 (0.240)              | 80.50 (0.320)              | 79.50 (0.220)              | 81.00 (0.350)              |
| 幼虫壳长日增长速率/(μm · d <sup>-1</sup> )<br>Daily growth rate of shell length | 4.349 (0.467) <sup>a</sup> | 4.495 (0.309) <sup>a</sup> | 4.623 (0.653) <sup>a</sup> | 6.366 (0.257) <sup>b</sup> |
| 幼虫壳高日增长速率/(μm · d <sup>-1</sup> )<br>Daily growth rate of shell height | 4.464 (0.328) <sup>a</sup> | 4.644 (0.125) <sup>a</sup> | 4.691 (0.134) <sup>a</sup> | 6.365 (0.256) <sup>b</sup> |
| 孵化率/%<br>Embryonic hatching rate                                       | 94.17 (2.02)               | 95.17 (1.26)               | 92.50 (1.80)               | 93.33 (3.06)               |

注: 同一行标有不同字母表示显著差异 ( $P>0.05$ ); 1F、2F、3F 和 4F 分别表示褐贝 (♀)×褐贝 (♂)、白贝 (♀)×褐贝 (♂)、褐贝 (♀)×白贝 (♂) 和白贝 (♀)×白贝 (♂) 4 种交配方式建立的家系。

Notes: Different letters in the row means significant difference ( $P>0.05$ ). 1F, 2F, 3F and 4F represent four experimental lines generated by four mating modes of brown (♀)×brown (♂), white (♀)×brown (♂), brown (♀)×white (♂) and white (♀)×white (♂), respectively.

表3 各虾夷扇贝家系的壳长(y, μm)和培育时间(x, d)的线性回归方程  
Tab. 3 Equations of linear regression between shell length (y, μm) and culture time (x, d) of reared larvae for four lines of *Patinppecten yessoensis*

| 家系 Line | 方程 Equation                     | 家系 Line | 方程 Equation                     |
|---------|---------------------------------|---------|---------------------------------|
| 1F      | 1. $y=4.575x+100.065$ $r=0.997$ | 3F      | 1. $y=5.335x+93.674$ $r=0.999$  |
|         | 2. $y=4.823x+106.808$ $r=0.999$ |         | 2. $y=4.481x+99.367$ $r=0.997$  |
|         | 3. $y=3.919x+109.764$ $r=0.999$ |         | 3. $y=4.052x+106.292$ $r=0.999$ |
| 2F      | 1. $y=4.411x+102.304$ $r=0.997$ | 4F      | 1. $y=6.095x+100.3$ $r=0.998$   |
|         | 2. $y=4.236x+109.025$ $r=0.997$ |         | 2. $y=6.607x+100.9$ $r=0.997$   |
|         | 3. $y=4.837x+101.343$ $r=0.999$ |         | 3. $y=6.395x+100.117$ $r=0.997$ |

注: 1F、2F、3F 和 4F 分别表示褐贝 (♀)×褐贝 (♂)、白贝 (♀)×褐贝 (♂)、褐贝 (♀)×白贝 (♂) 和白贝 (♀)×白贝 (♂) 4 种交配方式建立的家系。  
Note: 1F, 2F, 3F and 4F represent four experimental lines generated by four mating modes of brown (♀) × brown (♂), white (♀) × brown (♂), brown (♀) × white (♂) and white (♀) × white (♂), respectively.

表4 不同虾夷扇贝家系壳高(y, μm)和培育时间(x, d)的线性回归方程  
Tab. 4 Equations of linear regression between shell height (y, μm) and culture time (x, d) of reared larvae for four lines of *Patinppecten yessoensis*

| 家系 Line | 方程 Equation                    | 家系 Line | 方程 Equation                    |
|---------|--------------------------------|---------|--------------------------------|
| 1F      | 1. $y=4.842x+70.699$ $r=0.997$ | 3F      | 1. $y=4.725x+69.555$ $r=0.995$ |
|         | 2. $y=4.294x+79.192$ $r=0.996$ |         | 2. $y=4.805x+84.765$ $r=0.997$ |
|         | 3. $y=4.255x+75.836$ $r=0.996$ |         | 3. $y=4.543x+70.715$ $r=0.992$ |
| 2F      | 1. $y=4.787x+73.077$ $r=0.994$ | 4F      | 1. $y=6.097x+77.515$ $r=0.996$ |
|         | 2. $y=4.592x+76.431$ $r=0.995$ |         | 2. $y=6.608x+78.73$ $r=0.997$  |
|         | 3. $y=4.554x+83.382$ $r=0.998$ |         | 3. $y=6.389x+77.601$ $r=0.999$ |

注: 1F、2F、3F 和 4F 分别表示褐贝 (♀)×褐贝 (♂)、白贝 (♀)×褐贝 (♂)、褐贝 (♀)×白贝 (♂) 和白贝 (♀)×白贝 (♂) 4 种交配方式建立的家系。  
Note: 1F, 2F, 3F and 4F represent four experimental lines generated by four mating modes of brown (♀) × brown (♂), white (♀) × brown (♂), brown (♀) × white (♂) and white (♀) × white (♂), respectively.



表5 不同壳色虾夷扇贝家系第5天、12天、25天幼虫的成活率  
Tab. 5 Survival rate of larvae for all the different shell color lines of *Patinppecten yessoensis* in day5, day12 and day25  
 $n=3; \bar{x} \pm SD; \%$

| 时间/d<br>Time | 不同壳色家系 Different shell color line |            |            |            |
|--------------|-----------------------------------|------------|------------|------------|
|              | 1F                                | 2F         | 3F         | 4F         |
| 5            | 73.00±3.61                        | 70.00±4.36 | 70.67±8.08 | 71.67±2.52 |
| 12           | 37.67±6.43                        | 40.00±4.36 | 39.00±1.00 | 40.67±4.04 |
| 25           | 61.33±9.07                        | 60.67±7.09 | 59.00±4.00 | 59.33±6.11 |

注：1F、2F、3F和4F分别表示褐贝(♀)×褐贝(♂)、白贝(♀)×褐贝(♂)、褐贝(♀)×白贝(♂)和白贝(♀)×白贝(♂)4种交配方式建立的家系。  
Note: 1F, 2F, 3F and 4F represent four experimental lines generated by four mating modes of brown(♀)×brown(♂), white(♀)×brown(♂), brown(♀)×white(♂), and white(♀)×white(♂), respectively.

表6 4个虾夷扇贝家系在6个SSR位点的遗传多态性  
Tab. 6 Genetic diversity of four *Patinppecten yessoensis* lines on six SSR loci

| 遗传参数<br>Genetic parameter |       | 位点 Locus |         |          |           |          |         | 平均值<br>Mean |
|---------------------------|-------|----------|---------|----------|-----------|----------|---------|-------------|
|                           |       | FJ262381 | D05H360 | FJ262375 | FJ262402F | FJ262409 | P13F449 |             |
| 1F                        | PIC   | 0.3192   | 0.0000  | 0.3515   | 0.3472    | 0.3047   | 0.2688  | 0.2652      |
|                           | $N_a$ | 2.0000   | 1.0000  | 2.0000   | 2.0000    | 2.0000   | 2.0000  | 1.8333      |
|                           | $A_e$ | 1.9988   | 1.0000  | 1.8349   | 1.8089    | 1.6000   | 1.4706  | 1.6189      |
|                           | $H_o$ | 0.4250   | 0.0000  | 0.6000   | 0.6250    | 0.5000   | 0.4000  | 0.4250      |
|                           | $H_e$ | 0.5060   | 0.0000  | 0.4608   | 0.4528    | 0.3797   | 0.3241  | 0.3539      |
| 2F                        | PIC   | 0.3192   | 0.2471  | 0.3374   | 0.3725    | 0.2471   | 0.3750  | 0.3164      |
|                           | $N_a$ | 2.0000   | 2.0000  | 2.0000   | 2.0000    | 2.0000   | 2.0000  | 2.0000      |
|                           | $A_e$ | 1.6632   | 1.4060  | 1.7534   | 1.9802    | 1.4060   | 2.0000  | 1.7015      |
|                           | $H_o$ | 0.5500   | 0.3500  | 0.4200   | 0.5000    | 0.3500   | 1.0000  | 0.5283      |
|                           | $H_e$ | 0.4038   | 0.2924  | 0.4315   | 0.5013    | 0.2924   | 0.5063  | 0.4046      |
| 3F                        | PIC   | 0.3374   | 0.3047  | 0.3258   | 0.2966    | 0.5545   | 0.3750  | 0.3657      |
|                           | $N_a$ | 2.0000   | 2.0000  | 2.0000   | 2.0000    | 3.0000   | 2.0000  | 2.1667      |
|                           | $A_e$ | 1.7534   | 1.6000  | 1.6940   | 1.5679    | 2.5890   | 2.0000  | 1.8674      |
|                           | $H_o$ | 0.5750   | 0.5000  | 0.5250   | 0.4750    | 1.0000   | 1.0000  | 0.6792      |
|                           | $H_e$ | 0.4351   | 0.3797  | 0.4149   | 0.3668    | 0.6215   | 0.5000  | 0.4530      |
| 4F                        | PIC   | 0.3258   | 0.3192  | 0.3258   | 0.3318    | 0.5456   | 0.3318  | 0.3633      |
|                           | $N_a$ | 2.0000   | 2.0000  | 2.0000   | 2.0000    | 3.0000   | 2.0000  | 2.1667      |
|                           | $A_e$ | 1.6940   | 1.6632  | 1.6940   | 1.7241    | 2.5890   | 1.7241  | 1.8481      |
|                           | $H_o$ | 0.5750   | 0.5500  | 0.5250   | 0.6000    | 1.0000   | 0.6000  | 0.6417      |
|                           | $H_e$ | 0.4149   | 0.4038  | 0.4149   | 0.4253    | 0.6215   | 0.4253  | 0.4510      |

注：多态信息含量(PIC)；等位基因数( $N_a$ )；有效等位基因数( $A_e$ )；观测杂合度( $H_o$ )；期望杂合度( $H_e$ )；1F、2F、3F和4F分别表示褐贝(♀)×褐贝(♂)、白贝(♀)×褐贝(♂)、褐贝(♀)×白贝(♂)和白贝(♀)×白贝(♂)4种交配方式建立的家系。  
Note: Polymorphism information content (PIC); Number of alleles ( $N_a$ ); Effective number of alleles ( $A_e$ ); Observed heterozygosity ( $H_o$ ); Expected heterozygosity ( $H_e$ ). 1F, 2F, 3F and 4F represent four experimental lines generated by four mating modes of brown(♀)×brown(♂), white(♀)×brown(♂), brown(♀)×white(♂), and white(♀)×white(♂), respectively.

多态位点。观测杂合度( $H_o$ )变化范围在0到1之间,家系1F中除位点FJ262381的 $H_o$ 小于期望杂合度( $H_e$ )外,其余位点观察杂合度均大于期望杂合度;3F和4F中所有位点的 $H_o$ 值均大于 $H_e$ ,从所有位点在4个家系中的 $H_o$ 均值来看,家系1F的 $H_o$ 值最小,为0.425,家系4F的 $H_o$ 值最大,为0.6417。通过POPGENE计算出各家系之间的Nei's遗传距离( $D$ )

和遗传相似性系数( $I$ ) (表7),所有家系的遗传相似性系数在0.635 1~0.977 2之间,遗传距离范围为0.023 1~0.454 0。其中家系3F和家系4F遗传距离最近,家系1F和家系2F次之,家系1F和家系4F遗传距离最远;根据Nei's(1972)计算的遗传距离,通过MEGA3.1软件构建了家系间NJ分析树(图1),可以清晰地看出各家系之间的关系。

表 7 虾夷扇贝 4 个家系间 Nei's 遗传距离 (*D*) 及遗传相似性系数 (*I*)  
Tab. 7 Nei's genetic identity (*I*) and genetic distance (*D*) in four *Patinppecten yessonsis* lines

| 家系 Line | 1F     | 2F     | 3F     | 4F     |
|---------|--------|--------|--------|--------|
| 1F      | ****   | 0.9483 | 0.6385 | 0.6351 |
| 2F      | 0.053  | ****   | 0.6919 | 0.7297 |
| 3F      | 0.4487 | 0.3683 | ****   | 0.9772 |
| 4F      | 0.4540 | 0.3151 | 0.0231 | ****   |

注: 对角线以上为相似性系数, 对角线以下为遗传距离; 1F、2F、3F 和 4F 分别表示褐贝(♀)×褐贝(♂)、白贝(♀)×褐贝(♂)、褐贝(♀)×白贝(♂)和白贝(♀)×白贝(♂) 4 种交配方式建立的家系。  
Note: Genetic identity is above diagonal and genetic distance is below diagonal. 1F, 2F, 3F and 4F represent four experimental lines generated by four mating modes of brown (♀)×brown (♂), white (♀)×brown (♂), brown (♀)×white (♂), and white (♀)×white (♂), respectively.

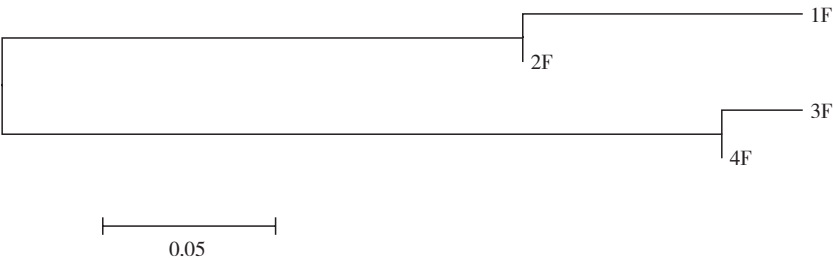


图 1 应用 NJ 法构建 4 个虾夷扇贝家系的系统树  
1F、2F、3F 和 4F 分别表示褐贝♀×褐贝♂、白贝♀×褐贝♂、褐贝♀×白贝♂和白贝♀×白贝♂ 4 种交配方式建立的家系。

Fig. 1 NJ dendrogram showing polylogenetic relationship among four *Patinppecten yessonsis* lines  
1F, 2F, 3F and 4F represent four experimental lines by four mating modes of brown (♀)×brown (♂), white (♀)×brown (♂), brown (♀)×white (♂) and white (♀)×white (♂), respectively.

3 讨论

3.1 不同壳色家系幼虫的生长存活

通过建立家系和对家系个体生长、存活等生物学性状的研究是水产动物选择育种的重要手段。多年的生产实践表明, 虾夷扇贝白贝成体体长比褐贝大。本研究建立了不同壳色虾夷扇贝家系, 并对各壳色系虾夷扇贝的卵径、孵化率、成活率、壳长、壳高等生物学参数进行了分析, 结果显示各家系间卵径、幼虫孵化率和不同日龄幼虫成活率均没有显著差异; 但在壳长和壳高的日增长速度上家系 4F (白贝♀×白贝♂) 明显优于其他家系, 而家系 1F (褐贝♀×褐贝♂) 生长最慢。这说明在虾夷扇贝的生活史早期, 白贝近交组合的后裔较其他交配组合的后裔具有明显的生长优势。王庆恒等<sup>[17]</sup>在马氏珠母贝 (*Pinctada martensii*) 壳色选系时发现, 在幼虫阶段, 4 个壳色家系的生长性状上有显著差异; 闫喜武等<sup>[18]</sup>对菲律宾蛤仔莆田群体 2 个

壳色品系生长发育比较时发现, 在幼虫阶段不同壳色品系间的壳长存在显著差异。生物个体表型性状由遗传、环境以及两者互作效应三方面因素决定。在本研究中, 由于本实验的所有家系的建立和培育都在相同的条件下进行, 并且选取同一养殖区的同龄亲贝, 方差分析各家系卵径均无差异, 由此推断, 各家系幼虫期在生长性状上所产生的差异可能由遗传物质不同造成的, 本研究用 SSR 分析家系的遗传结构时发现不同家系间存在遗传差异。

3.2 不同壳色家系遗传结构分析

等位基因数、有效等位基因数、多态信息含量和杂合度均为衡量群体遗传多样性的重要指标, 其值越大, 群体结构越复杂, 遗传多样性越丰富<sup>[19]</sup>。笔者使用 6 对微卫星引物对不同壳色虾夷扇贝亲本交配所产生的各家系 F<sub>1</sub> 幼虫进行了遗传结构分析, 结果显示, 家系 1F 的平均等位基因数、有效等位基因数、多态信息含量以及观测杂合度的值在 4 个家系

中均为最低,其他家系间相差不大,表明1F的遗传多样性低于其他3个家系,推测其原因可能是虾夷扇贝群体中褐贝个体等位基因纯合度较高所致。

从遗传距离和遗传相似性系数来看,4F和3F相似度最高,遗传距离最近;1F和4F的遗传相似度最小,遗传距离最远;4个家系的遗传距离在0.023 1~0.454 0之间。高祥刚等<sup>[20]</sup>用SSR对不同地理虾夷扇贝养殖群体进行了遗传多样性分析,其中大连地区的5个群体遗传距离在0.068 8~0.208 1之间,日本青森县自然群体与大连的5个群体遗传距离在0.042 2~0.177 5之间;李春艳等<sup>[21]</sup>用SSR标记对大连的黑石礁、小长山岛、广鹿岛3个海区虾夷扇贝养殖群体进行遗传分析时得到3个群体的遗传距离在0.038 4~0.073 5之间。两群体的遗传距离越远,其遗传差异也越大。本研究结果说明虾夷扇贝群体内白贝个体和褐贝个体之间已产生了一定程度的遗传分化,这与笔者之前研究得到的白贝群体和褐贝群体之间产生了遗传分化的结果一致,分析其原因可能由于白贝个体大,在育苗生产中选种贝时被优先选择,以及近年来在育苗生产选出纯白贝个体进行繁育,使得白贝比褐贝得到更多的世代选育所致。由此推断,白色贝家系在幼虫阶段生长速度最快,而褐色贝家系生长速度最慢很有可能是由遗传差异造成的,而这种由遗传差异产生的生长性能上的优势可以稳定地遗传给下一代。

### 3.3 壳色可作为遗传标记应用于虾夷扇贝的育种工作

通常情况下,贝类壳色受1个基因座上的2个或者多个等位基因控制,有些带花纹的贝壳可能受多个等位基因控制;浅色相对于深色为隐性。海湾扇贝的背景色由1个基因座的不同的等位基因控制,橙色和黄色对于白色为显性,同时证明了壳色位点出现了决定壳色素分配的1个或者多个基因的上位效应<sup>[22]</sup>;紫色海湾扇贝(*Argopecten purpuratus*)的壳色中,对于紫色、褐色和黄色而言,白色由1对隐性等位基因控制<sup>[23]</sup>;Peignon等<sup>[24]</sup>在研究菲律宾蛤仔壳面花纹多态性时,把壳色分为3个决定因素:对称

性、花纹和颜色,而至少受2个基因控制。海白樱蛤[*Macoma balthica* (L.)]的壳色遗传呈线性模型,壳色遗传由弱到强的顺序为白、黄、橙、红,不对称和对称受1个基因座的2个等位基因控制,不对称相对于对称为显性,有斑纹的对于杂色的为显性<sup>[25]</sup>。虾夷扇贝群体中存在2种颜色的个体,即白贝和褐贝,通过以上结论可以推断白色和褐色可能受1对等位基因控制,白色相对于褐色为隐性,白色个体很有可能为隐性纯合,并可以稳定遗传给后代。已有研究报道虾夷扇贝白贝个体的壳长、壳宽和壳高之间及其与鲜重均有极显著的相关性,且白贝个体的壳宽对鲜重的直接影响最大<sup>[26]</sup>。本研究通过对不同壳色家系幼虫的生长性状和遗传结构对比分析,得出了白贝家系幼虫具有生长优势,并且与生长最慢的褐贝家系存在遗传差异。因此,在虾夷扇贝选择育种过程中,可将壳色作为遗传标记进行选育,以达到对生长发育指标和经济性状同时改良的目的。

### 参考文献:

- [1] 常亚青,陈晓霞,丁君,等. 虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*) 5个群体的遗传多样性[J]. 生态学报,2007,27(3): 1145-1152.
- [2] Sato M, Kawamata K, Zaslavskaya N, et al. Development of microsatellite markers for Japanese scallop (*Mizuhopecten yessoensis*) and their application to a population genetic study[J]. Mar Biotechnol,2005,7(6): 713-728.
- [3] 王婷,丁君,于佳平,等. 利用 ISSR 技术研究虾夷扇贝不同地理种群的遗传多样性及其分化[J]. 烟台大学学报: 自然科学与工程版,2009,22(1): 35-41.
- [4] Nagashima K, Sato M, Kawamata K, et al. Genetic structure of Japanese scallop population in Hokkaido, analyzed by mitochondrial haplotype distribution[J]. Mar Biotechnol,2005,7(1): 1-10.
- [5] Xu K, Li Q. Inheritance pattern of microsatellite loci and their use for kinship analysis in the Japanese scallop *Patinopecten yessoensis* [J]. J Ocean Univ Chin,2009,8(2): 184-190.
- [6] Xu K, Li Q, Kong L, et al. A first-generation genetic map of the Japanese scallop *Patinopecten yessoensis*-based AFLP and microsatellite markers[J]. Aquac Res,2008,40(1): 35-43.
- [7] 刘卫东,鲍相渤,宋文涛,等. 虾夷扇贝遗传连锁图谱的初步构建[J]. 遗传,2009,31(6): 629-637.

- [8] Zhan A, Hu X, Bao L, et al. Molecular identification of scallop planktonic larvae using species-specific microsatellites [J]. Acta Oceanol Sin, 2008, 27(5): 134–146.
- [9] 孙秀俊, 杨爱国, 刘志鸿, 等. 两种壳色虾夷扇贝的同工酶分析 [J]. 渔业科学进展, 2009, 30(1): 54–60.
- [10] 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.
- [11] 闫喜武. 菲律宾蛤仔养殖生物学、养殖技术与品种选育 [D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2005: 1–206.
- [12] Li C, Ding J, Zhu S, et al. Studies on genetic and character differences of Japanese scallop (*Patinopecten yessoensis*) with different shell colors [J]. J Biotechnol, 2008, 136: S67.
- [13] Reece K, Ribeiro W, Gaffney P, et al. Microsatellite marker development and analysis in the eastern oyster (*Crassostrea virginica*): confirmation of null alleles and non-Mendelian segregation ratios [J]. J Hered, 2004, 95(4): 346.
- [14] 谭杰, 孙慧玲, 刘萍, 等. 仿刺参自然群体和养殖群体间遗传变异的微卫星标记研究 [J]. 海洋水产研究, 2007, 28(3): 38–43.
- [15] 刘世祿, 杨爱国. 中国主要海产贝类健康养殖技术 [M]. 海洋出版社, 2005: 54–59.
- [16] Chen M, Chang Y, Ding J, et al. Isolation and characterization of new microsatellite markers from the Japanese scallop (*Patinopecten yessoensis*) [J]. Conserv Genet, 2010, 11(3): 1139–1142.
- [17] 王庆恒, 邓岳文, 杜晓东, 等. 马氏珠母贝 4 个壳色选系 F<sub>1</sub> 幼虫的生长比较 [J]. 中国水产科学, 2008, 15(3): 488–492.
- [18] 闫喜武, 张国范, 杨凤, 等. 菲律宾蛤仔莆田群体两个壳色品系生长发育的比较 [J]. 大连水产学院学报, 2005, 20(4): 266–269.
- [19] 杨敏生. 欧洲刺槐种源群体遗传结构和多样性 [J]. 生态学报, 2004, 24(12): 2700–2706.
- [20] 高祥刚, 曹洁, 刘莹, 等. SSR 不对称 PCR 法分析虾夷扇贝遗传多样性 [J]. 生物技术通报, 2009, 2: 118–123.
- [21] 李春艳, 丁君, 常亚青, 等. 虾夷扇贝微卫星标记的分离及其养殖群体的遗传结构分析 [J]. 中国水产科学, 2009, 16(1): 39–46.
- [22] Adamkewicz L, Castagna M. Genetics of shell color and pattern in the bay scallop *Argopecten irradians* [J]. J Hered, 1988, 79(1): 14.
- [23] Winkler F, Estevez B, Jollan L, et al. Inheritance of the general shell color in the scallop *Argopecten purpuratus* (Bivalvia: Pectinidae) [J]. J Hered, 2001, 92(6): 521.
- [24] Peignon J, Gerard A, Naciri Y, et al. Analysis of shell colour determinism in the Manila clam *Ruditapes philippinarum* [J]. Aquat Living Res, 1995, 8: 181–189.
- [25] Luttikhuizen P, Drent J. Inheritance of predominantly hidden shell colours in *Macoma balthica* (L.) (Bivalvia: Tellinidae) [J]. J Moll Studies, 2008, 74(4): 1–9.
- [26] 孙秀俊, 杨爱国, 刘志鸿, 等. 2 种壳色虾夷扇贝的形态学指标比较分析 [J]. 安徽农业科学, 2008, 36(23): 10008–10010.



## Comparison of growth development and genetic diversity of $F_1$ larvae among different shell color lines of Japanese scallop, *Patinopecten yessoensis*

CHENG Peng<sup>1,2</sup>, YANG Aiguo<sup>1</sup>, ZHOU Liqing<sup>1</sup>, WU Biao<sup>1</sup>, LIU Zhihong<sup>1</sup>, LI Xia<sup>2</sup>, LI Dejun<sup>3</sup>

(1.Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources; Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China; 2.School of Life Science and Technology, Dalian Fisheries University, Dalian 116023, China; 3.Oceanic and Fisheries Administrator of Jiaonan City, Qingdao 266400, China)

**Abstract:** Four different color lines of *Patinopecten yessoensis* including 1F (brown ♀ × brown ♂), 2F (white ♀ × brown ♂), 3F (brown ♀ × white ♂) and 4F (white ♀ × white ♂) were established by inbreeding and crossing. Each line had three parallel groups. Biology parameters of egg size, hatching rate, juvenile's growth rate and survival rate were compared among different shell color lines. The four lines' genetic diversity was mutually compared with microsatellite markers. Linear regression equations between shell length and culture time, and between shell height and culture time for all lines were obtained. Comparison of egg diameter, hatching rate of larvae and larval survival rate among 1F, 2F, 3F and 4F lines showed no significant differences ( $P > 0.05$ ). But daily growth rates of shell length for 1F, 2F, 3F and 4F were significantly different ( $P < 0.05$ ), which were 4.349  $\mu\text{m}/\text{d}$ , 4.495  $\mu\text{m}/\text{d}$ , 4.623  $\mu\text{m}/\text{d}$  and 6.366  $\mu\text{m}/\text{d}$ , respectively. Shell height daily growth rates for 1F, 2F, 3F and 4F were also significantly different from each other ( $P < 0.05$ ), which were 4.464  $\mu\text{m}/\text{d}$ , 4.644  $\mu\text{m}/\text{d}$ , 4.691  $\mu\text{m}/\text{d}$  and 6.365  $\mu\text{m}/\text{d}$ , respectively. The growth rates of larva's shell length and shell height of 4F were significantly higher than those of 1F, 2F, 3F ( $P < 0.05$ ). The important genetic parameters of all lines such as allele number, expected heterozygosity and observed heterozygosity were analyzed by SSR. The results showed that 1F had the lowest genetic diversity. In addition, Nei's genetic identity (0.635 1–0.977 2) and genetic distance (0.023 1–0.454 0) indicated that genetic identity between 1F and 4F (0.635 1) was the lowest and genetic distance between them was the farthest (0.454 0). The present results indicated genetic differentiation exists between white and brown individuals within *Patinopecten yessoensis* populations, which caused different larval growth rates among four kinds of shell color lines of *Patinopecten yessoensis*. The present study provides basic data for selective breeding of different shell color Japanese scallop. [Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(5): 960–968]

**Key words:** *Patinopecten yessoensis*;  $F_1$  larva; growth; shell color; genetic diversity

**Corresponding author:** YANG Aiguo. Tel: 0352-85811982; E-mail: yangag@ysfri.ac.cn

### 更正启事

《中国水产科学》2010年第17卷第3期孟庆辉等发表的论文《尼罗罗非鱼、萨罗罗非鱼及其杂交子代的催乳素I基因克隆及序列分析》中,表2中萨罗罗非鱼编号应改为21,尼罗罗非鱼编号应改为20,特此更正。