

紫贻贝与厚壳贻贝杂交子代生长和存活比较

杨林颖^{1,2,3}, 刘明坤^{1,3}, 阙华勇^{1,3}, 张国范^{1,3}

(1. 中国科学院 海洋研究所 实验海洋生物学重点实验室, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 海洋生态养殖技术国家地方联合工程实验室, 山东 青岛 266071)

摘要: 利用辽宁大连的紫贻贝(*Mytilus galloprovincialis*)与福建宁德的厚壳贻贝(*M. coruscus*)为亲本, 采用 2×2 双列杂交设计, 构建了紫贻贝自交组(*M. galloprovincialis*♀×*M. galloprovincialis*♂)、正交组(*M. galloprovincialis*♀×*M. coruscus*♂)、反交组(*M. coruscus*♀×*M. galloprovincialis*♂)与厚壳贻贝自交组(*M. coruscus*♀×*M. coruscus*♂)4 个遗传组合, 比较分析了受精率、孵化率、子代的成活率、生长数据等, 探讨了紫贻贝与厚壳贻贝种间杂交的可行性, 同时为贻贝良种选育提供参考。结果表明, 自交组与反交组的受精强度具有不对称性, 正交组与自交组受精率无差异, 反交组的受精率及孵化率显著低于正交组与自交组($P<0.05$), 且浮游幼虫不能正常存活; 正交组子代具有生长优势, 第 9、11、13 天的浮游幼虫及第 78 天的稚贝壳长均显著大于自交组($P<0.05$); 正交组与紫贻贝自交组在整个幼虫阶段存活率无显著差异, 在壳顶幼虫期显著高于厚壳贻贝自交组($P<0.05$)。

关键词: 紫贻贝(*Mytilus galloprovincialis*); 厚壳贻贝(*Mytilus coruscus*); 种间杂交; 生长; 存活

中图分类号: S917.4 文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2019)08-0064-08

DOI: 10.11759/hyxx20190505001

贻贝属(*Mytilus*)贝类广泛分布于全球暖温带水域, 包括多种具有生态与经济价值的种类。历史上, 紫贻贝(*Mytilus galloprovincialis*)、贻贝(*M. edulis*)与盖勒贻贝(*M. trossulus*)由于缺乏有效的分类手段而被混称为 *Mytilus complex*^[1]。随着同工酶及 DNA 分子标记等技术手段的发展^[2, 3], 贻贝属物种的分化、分类及迁移过程逐渐清晰: 在北半球, 盖勒贻贝分布在太平洋东北部、西北部, 大西洋东北部及波罗的海; 贻贝主要分布在大西洋北部; 紫贻贝主要分布在地中海, 欧洲南部等, 后期被引入太平洋西北部海域及北美洲南部^[1, 2, 4-5]。研究证实, 自然界中贻贝属的种间杂交是普遍存在的, 如北美洲太平洋沿岸的紫贻贝-盖勒贻贝杂交带, 北大西洋西部沿岸的贻贝-盖勒贻贝杂交带, 欧洲西海岸达 1 400 km 的紫贻贝-贻贝杂交带等^[6, 7]。杂交带主要出现在物种地理分布的交接带或重叠区, 是研究生殖隔离的理想区域^[8]。此外, 杂交能获得杂种优势, 杂种 F₁ 在生长、存活等方面比亲本一方或双方优越, 是遗传改良的重要手段^[9]。杂交优势的利用在牡蛎^[10]、扇贝^[11]、鲍^[12]及贻贝^[13]等贝类中被广泛研究。

紫贻贝与厚壳贻贝(*M. coruscus*)是有较高经济价值的两种贻贝属贝类, 在中国沿海有广泛养殖。紫

贻贝于 20 世纪 50 年代引入中国, 最早发现于黄海北部。由于其强的环境适应能力及人工采苗与养殖技术的发展, 一度扩散到浙江、福建等进行养殖, 至今在福建平潭仍能发现少量紫贻贝个体。目前, 紫贻贝主要在辽宁、山东、江苏等黄渤海沿岸养殖; 厚壳贻贝是中国的土著种, 虽然在北黄海也有分布, 但养殖中心集中在浙江、福建等南部沿海^[14]。2017 年, 中国贻贝产量超过 92 万吨, 是仅次于牡蛎、蛤、扇贝的第四大养殖贝类^[15]。尽管紫贻贝与厚壳贻贝在中国沿海的分布具有地理重叠区, 但尚无文献报道在自然海区存在两者的杂交后代。值得注意的是, 在厚壳贻贝的人工育苗中, 虽然亲贝均采自远离养殖区的离岸岛礁, 但经常出现子代的生长速度、个体大小差异明显的现象, 可能亲贝并非纯种厚壳贻贝, 而是杂交子, 以致后代出现性状分离^[16]。可见, 自然海区紫贻贝与厚壳贻贝的种间杂交是不能被排除的。

本研究在实验室条件下开展紫贻贝与厚壳贻贝

收稿日期: 2019-05-05; 修回日期: 2019-05-10

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-49)

[Foundation: China Agriculture Research System, No. CARS-49]

作者简介: 杨林颖(1993-), 男, 硕士研究生, 主要从事贝类遗传育种学研究, 电话: 0532-82898712, E-mail: yly9303@163.com; 阙华勇, 通信作者, 研究员, E-mail: hque@qdio.ac.cn

的种间杂交研究,比较了自交与杂交子代的受精率、孵化率、生长及存活差异,目的是探究紫贻贝与厚壳贻贝是否可以实现种间杂交,同时验证杂交子代在生长等方面是否有优势,旨在为良种选育提供理论与实践基础。

1 材料与方法

1.1 种贝收集与促熟培育

紫贻贝种贝采自大连金石滩养殖群体,厚壳贻贝种贝采集自福建东礮岛自然野生群体,采集时间均在2018年3月份,实验在辽宁省海洋水产科学研究院育种中心开展。种贝置于4 m³种贝池中暂养7 d,水温保持在7℃。后每天升温0.5℃,直至水温达到16℃,恒温培育,直至性腺成熟。种贝促熟期间,以投喂硅藻(*Nitzschia closterium*)为主,辅以螺旋藻(*Spirulina platensis*)粉、海洋红酵母(*Rhodotorula benthica*)等。

1.2 诱导排放与受精

种贝阴干4 h后,单个置于盛有18℃的过滤海水的3 L水桶中。每个物种选择排放较好的5雌5雄单独收集精卵,将每个种类5个个体的卵子、精子分别混合,得到紫贻贝混合卵子G♀及混合精子G♂,厚壳贻贝混合卵子C♀及混合精子C♂。按照双列杂交设计,组合成紫贻贝自交组G♀×G♂,正交组G♀×C♂,反交组C♀×G♂,厚壳贻贝自交组C♀×C♂,并分别定义为GG、GC、CG、CC,共计4个组合,各组设置1个不授精的空白对照,每个组合设置3个重复。所有组合的授精操作在90 min内完成。用于授精的烧杯、滴管、网具等不交叉使用,且接触精卵前均在淡水中浸泡。授精操作前镜检卵子是否有污染,授精后镜检空白对照是否有授精现象,疑似污染的组合弃掉。

1.3 幼虫培育

受精卵置于盛有18℃过滤海水的100 L桶中进行孵化,密度控制在(10~15)个/mL,经约48 h的孵化后选幼。幼虫培育温度18℃,投喂金藻(*Isochrysis zhangjiangensis*)和角毛藻(*Chaetoceros muelleri*),壳顶幼虫期后加投扁藻(*Platymonas subcordiformis*),日投饵4次,投饵量为(0.3~0.6)×10⁴细胞/(mL·d),附着后增加至(0.8~1.2)×10⁴细胞/(mL·d),根据摄食情况适当增减投饵量。幼虫培育期间,日换水2次,每

次2/3水体。当出现眼点时,以聚乙烯网帘作为附着基进行采苗。附着变态后,继续室内培育至壳长约800 μm,移至海区进行养殖。

1.4 种贝鉴定

用于实验的亲贝排放完成后,取部分外套膜组织提取DNA,扩增线粒体COI基因序列^[17, 18]。对获得的基因片段进行测序,采用Bioedit软件进行比对,使用DNA SP软件进行核苷酸多态性及单倍型分析。为了直观地反映物种鉴定情况,分别从GenBank下载了紫贻贝(KP976302)与厚壳贻贝(FJ495282)的F型线粒体COI基因,利用长牡蛎(*Crassostrea gigas*)COI基因(KF644048)作为外群,采用MEGA6软件构建N-J邻接树。

1.5 指标测定与数据分析

测定指标包括受精率、孵化率,孵化后第1、3、5、7、9、11、13日龄幼虫壳长和第78天稚贝的壳长及第5、7、9、11、13天的幼虫存活率。受精率为受精卵密度与受精前卵密度的百分比;孵化率为D形幼虫与受精卵密度的百分比。幼虫存活率为不同日龄幼虫密度与D形幼虫密度的百分比。每个重复随机测量30个个体。

为减小方差齐性,所有的受精率、孵化率、存活率数据进行反正弦转换,生长数据进行对数转化,不同实验组数据采用单因素方差分析,差异显著性设为P<0.05。数据分析采用SPSS19.0完成。

2 结果

2.1 种贝鉴定

紫贻贝与厚壳贻贝种贝总计20个个体的F型线粒体COI基因序列长度为611 bp,无插入缺失,变异位点123个,其中简约信息位点118个,种间特异性差异位点97个,共定义10个单倍型,其中紫贻贝单倍型3个,厚壳贻贝单倍型7个。通过整合GenBank中紫贻贝(KP976302)与厚壳贻贝(FJ495282)COI序列,以长牡蛎为外群,构建N-J邻接树(图1),可见种贝分别以100%的支持率构成与紫贻贝(KP976302)和厚壳贻贝(FJ495282)单系,是确定的两个物种。

2.2 受精与孵化

4个组合的受精与孵化参数如表1,正反交均可受精,但反交组CG受精率仅为5.41%,明显低于正交组(GC, 88.87%)与自交组(GG, 90.65%; CC, 90.36%)

($P<0.05$)。虽然正交组受精率低于两个自交组, 但并没有显著性差异($P>0.05$)。在孵化率方面, 两个自交组(GG, 93.24%; CC, 91.58%)间无差异, 均显著高于

正交组(GC, 81.30%)。反交组可见极少数的 D 形幼虫, 不足以计算孵化率, 仅存的 D 形幼虫在存活 2 d~3 d 后全部死亡。

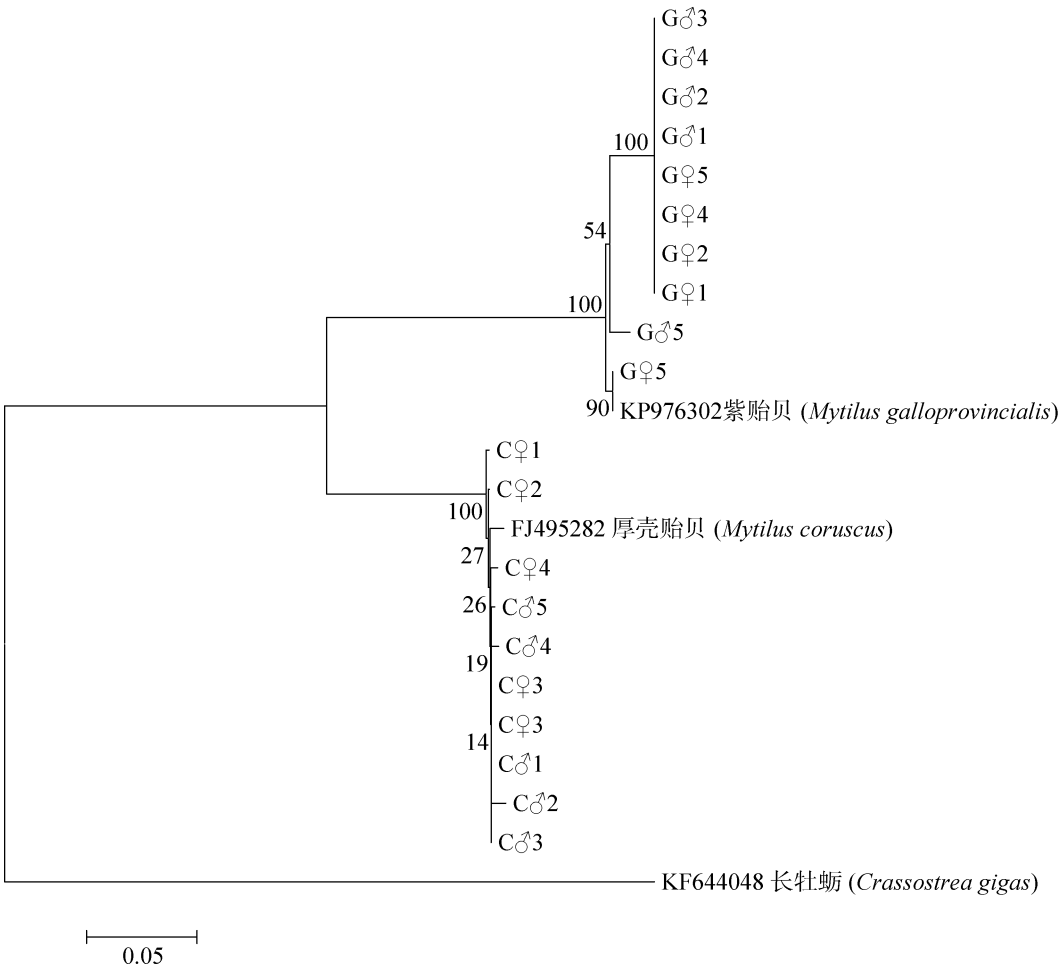


图 1 利用 *COI* 基因序列构建的邻接树(NJ)
Fig. 1 Neighbor-joining tree based on the *COI* gene

表 1 各交配组合的受精率与孵化率
Tab. 1 Fertilization and hatchability index of each group

受精与孵化情况	组别			
	GG	GC	CG	CC
受精率(%)	90.65±4.18 ^a	88.87±7.21 ^a	5.41±4.91 ^b	90.36±3.88 ^a
孵化率(%)	93.24±1.59 ^a	81.30±7.88 ^b	~0 ^c	91.58±4.01 ^a

注: 同一行内各均值后无相同字母表示均值间差异显著($P<0.05$), 表 2、表 3 同

2.3 幼虫的生长

由于反交组(CG)幼虫太少, 且后期全部死亡, 所以只获取了自交组(GG, CC)和正交组(GC)的生长数据(表 2)。幼虫期第 1 到第 11 天, 两个自交组的壳长无显著差异($P>0.05$), 在第 13 天, GG 的壳长显著大于 CC($P<0.05$)。从第 9 天开始, 正交组 GC 呈现较

快的生长速度, 壳长显著大于两个自交组($P<0.05$)。13 日龄时, 正交组 GC 壳长最大, 为 258.83 μm , 其次为自交组 GG 和 CC, 分别为 230.83 μm 和 215 μm 。在第 78 天, 正交组 GC 与自交组 GG 的壳长分别为 15.45 mm±1.54 mm、14.26 mm±1.60 mm, 且具有显著性差异($P<0.05$)。自交组 CC 在附着变态期死

亡率高,未培育至稚贝。

2.4 存活率

表 3 反映了 3 个组合的存活情况。正交组 GC 与自交组 GG 在整个幼虫阶段存活率均无显著差异 ($P>0.05$), 在第 11 天和第 13 天, 自交组 CC 的存活

率显著低于自交组 GG 与正交组 GC($P<0.05$)。在第 13 天, 存活率仅为 41.67%。结合实验观察, 在壳顶幼虫中后期, 自交组 CC 的浮游幼虫出现沉底的现象, 当出现眼点进入附着变态期后, 能观察到幼虫在聚乙烯网帘上附着, 但不能完成变态, 投放附着基一周后镜检, 附着基上发现大量空壳, 且壳长不超过 240 μm 。

表 2 正交组与自交组浮游幼虫的壳长数据

Tab. 2 Shell length of hybrid (GC) and purebred (GG and CC) planktonic larvae at days 1–13

组别	壳长/ μm						
	幼虫日龄/d						
	1	3	5	7	9	11	13
GG	110.43 $\pm$ 1.69 ^a	122.83 $\pm$ 5.27 ^a	143.00 $\pm$ 7.92 ^{ab}	167.33 $\pm$ 7.72 ^a	186.33 $\pm$ 13.84 ^b	207.67 $\pm$ 15.53 ^b	230.83 $\pm$ 13.67 ^b
GC	110.07 $\pm$ 3.43 ^a	124.33 $\pm$ 5.44 ^a	147.50 $\pm$ 6.29 ^a	171.17 $\pm$ 8.13 ^a	205.17 $\pm$ 14.17 ^a	224.50 $\pm$ 16.40 ^a	253.83 $\pm$ 20.32 ^a
CC	110.27 $\pm$ 1.73 ^a	123.67 $\pm$ 6.57 ^a	138.83 $\pm$ 12.89 ^b	166.83 $\pm$ 9.79 ^a	182.33 $\pm$ 10.78 ^b	204.17 $\pm$ 13.91 ^b	215.00 $\pm$ 14.78 ^c

表 3 正交组与自交组浮游幼虫的存活率

Tab. 3 Survival rate of hybrid (GC) and purebred (GG and CC) planktonic larvae at days 1–13

组别	存活率/%				
	幼虫日龄/d				
	5	7	9	11	13
GG	91.67 $\pm$ 4.02 ^{ab}	89.42 $\pm$ 6.72 ^a	87.25 $\pm$ 6.12 ^a	84.17 $\pm$ 10.45 ^a	80.08 $\pm$ 10.47 ^a
GC	94.44 $\pm$ 5.59 ^a	88.00 $\pm$ 7.75 ^a	83.33 $\pm$ 18.61 ^a	82.22 $\pm$ 10.23 ^a	79.11 $\pm$ 13.30 ^a
CC	83.94 $\pm$ 8.84 ^b	83.33 $\pm$ 10.10 ^a	79.17 $\pm$ 16.26 ^a	62.50 $\pm$ 23.90 ^b	41.67 $\pm$ 13.31 ^b

3 讨论

贻贝属贝类的种间杂交在自然界普遍存在, 尽管紫贻贝与厚壳贻贝在自然海区中是否可以杂交尚无报道, 为了避免种贝是杂交子的可能, 本研究对种贝进行了鉴定。线粒体 *COI* 基因是物种鉴定的有效标记^[19], 结果显示所用种贝是纯种紫贻贝和厚壳贻贝。当然, 杂交成功与否的直接证据应该是对杂交子代的遗传鉴定。ITS 基因常被用来进行海洋贝类杂交子代的鉴定, 在牡蛎^[20]、扇贝^[21]等物种的杂交研究中已得到验证, 其特征是杂种具有 2 条与亲本一致的条带, 从而确定含有父母本的遗传信息。本研究也尝试采用 ITS 基因对子代进行鉴定, 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测, 反交组能够获得与父母本一致的 2 条带, 正交组仅得到母本 1 条带。反交组子代的验证说明杂交是成功的, 但正交组的现象值得进一步商榷。这种现象非雌核发育所致, 因为雌核发育所产生的后代虽是纯合的, 但成功难度大, 与正常受精得到的胚胎相比发育速度慢、成活率低^[22], Scarpa 等^[23]通过人工诱导获得了紫贻贝的雌核发育后代,

发现同时期雌核发育个体总是小于对照组, 且附着变态时间较对照组滞后约 3 周, 这与本研究的结果不一致。Wang 等^[24]在栉孔扇贝与海湾扇贝的杂交研究(*Chlamys farreri*♀ $\times$ *Argopecten irradians*♂)中, 同样采用 ITS 基因进行杂交鉴定, 发现杂交基因组中父本 ITS 的数量随着杂种的发育逐渐减少, 在壳顶幼虫前期, 超过 20% 的幼虫仅具有母本 ITS 序列, 在壳顶幼虫晚期, 所有幼虫仅具有母本的 ITS 序列, 即父本 ITS 信息在受精后 14 d 时几乎完全消失。结合 FISH 分析及突变体筛查, 推断 ITS 基因在杂种早期发育中发生了由偏向性基因转变引发的快速的协同进化。本研究中正交组的子代鉴定可能与此结果类似, 还需要进一步的实验验证。

本研究结果表明, 紫贻贝与厚壳贻贝可以双向受精, 但受精强度具有不对称性, 即紫贻贝的卵子很容易与厚壳贻贝的精子结合, 且具有较高的受精率、孵化率; 而厚壳贻贝的卵子很难与紫贻贝的精子结合, 只有少数能够受精, 且孵化率极低。这种不对称性在双壳贝类的种间杂交中普遍存在, 如在牡蛎的杂交研究中, 长牡蛎的卵子可以与近江牡蛎(*C.*

ariakensis)的精子受精,受精率超过 95%,孵化率超过 87%,而反向受精率和孵化率仅为 12.91%和 6.22%^[10];熊本牡蛎(*C. sikamea*)的卵子可与近江牡蛎精子受精,反向完全不能受精^[20]。在贻贝属的种间杂交研究中,陈兴强等^[25]通过细胞学观察贻贝与厚壳贻贝的杂交过程,发现贻贝卵子与厚壳贻贝精子结合受精率高于反向;智利贻贝(*M. chilensis*)与紫贻贝正反交均可受精、也可正常孵化,但在杂交组中有大量的畸形幼虫^[13]。配子的结合过程受多种因素的影响,Rawson 等^[26]指出贻贝与盖勒贻贝杂交组要实现 20%的受精,所需精液浓度是自交组的 100~700 倍,Eads 等^[27]研究了温度对紫贻贝受精的影响,发现随水温升高,受精率总体呈降低趋势。在配子识别过程中,精子结合素蛋白是决定受精与否的关键基因,精子结合素蛋白与其在卵子上的受体在识别过程中是协同进化的,这种进化导致了部分或者完全不对称受精的发生,最终引起种的分化和新种的形成^[28]。

厚壳贻贝的人工繁育技术一直没有得到很好的解决,贝苗获得量不稳定^[29]。陈兴强等^[25]比较了贻贝与厚壳贻贝杂交组与自交组的成活率,50d 时厚壳贻贝自交组的成活率为 28.9%,显著低于贻贝自交组。常抗美等^[30]在进行紫贻贝与厚壳贻贝杂交实验时,厚壳贻贝自交组在第 17 天变态期与第 37 天附着稚贝期有两个死亡高峰,第 17 天时成活率为 50.5%,第 37 天时仅为 1.23%。本研究中厚壳贻贝在第 13 天进入附着变态期,同样观察到较高的死亡率,成活率仅 41.67%。同时,第 13 天时厚壳贻贝自交组壳长仅为 215 μm ,显著小于紫贻贝自交组及正交组,这可能是由于进入附着变态期的较大个体出现死亡,无法参与取样的原因。何义朝等^[31]指出不同地理群体的贻贝因所处环境不同可产生生理上的“适变”,子代发育所需的温度等环境条件与亲贝保持一致,Lazo, Hedgecock 等^[32-33]也发现类似现象。本研究中所用厚壳贻贝亲贝采自福建宁德东礐岛,而育苗实验在辽宁大连进行,两地水环境差异较大,可能是壳顶幼虫后期大量下沉及附着变态期死亡率高的原因。此外,在自然环境下,厚壳贻贝对水质、风浪等要求较高,匍匐幼虫多在风大、浪急的岩礁处附着,室内环境无法满足其附着条件也可能是原因之一^[30]。

尽管杂种优势的机理尚未研究清楚,但其已成为遗传改良的重要手段^[11, 34, 35]。由于缺少反交组 CG 幼虫数据,加之厚壳贻贝自交组 CC 在浮游幼虫期的不正常死亡,及稚贝数据的缺失,本研究未进行杂

种优势的计算,但通过显著性检验,仍可发现正交组 GC 在幼虫生长及存活方面具有一定优势。浮游幼虫从第 9 天开始,正交组的壳长就显著大于自交组,存活率与正交组无差异;在第 78 天时,稚贝壳长也显著大于自交组。紫贻贝与智利贻贝杂交研究中,在第 9 天和第 13 天时正交组(*M. galloprovincialis*♀×*M. chilensis*♂)浮游幼虫壳长均大于自交组及反交组;第 168 天时自交组壳长及湿重同样具有优势^[36]。常抗美等^[30]在紫贻贝与厚壳贻贝的杂交研究中,同样发现正交组在幼虫期和稚贝期具有生长优势,收获时正交组壳长 61.7 mm,与紫贻贝自交组 61.5 mm 无差异,但大于厚壳贻贝自交组 39.6 mm,及反交组 38.8 mm。母本效应被认为会影响贝类的早期发育,主要包括细胞质遗传、母体营养等,对杂交个体的早期生长与存活性状的影响尤为突出,随着幼虫的生长会逐渐消失,有时会影响至成体阶段^[37-39]。就本研究而言,正交组较自交组有显著的生长优势,可能是母本效应和杂种优势共同作用的结果。

总之,本研究报道了紫贻贝与厚壳贻贝种间杂交的受精率、孵化率、子代的成活率、生长数据,发现紫贻贝♀与厚壳贻贝♂杂交是可行的,而反向则不能杂交,同时发现杂交后代具有一定的生长优势,这位贻贝种间杂交及良种选育等提供了参考依据。

参考文献:

- [1] Gosling E. The mussel *Mytilus*: ecology, physiology, genetics and culture[J]. *Mussel Mytilus Ecology Physiology Genetics & Culture*, 1992, 127(S2-3): 283-285.
- [2] McDonald J, Seed R, Koehn R. Allozymes and morphometric characters of three species of *Mytilus* in the Northern and Southern Hemispheres[J]. *Marine Biology*, 1991, 111(3): 323-333.
- [3] Fernández-Tajes J, Longa A, García-Gil J, et al. Alternative PCR-RFLP methods for mussel *Mytilus* species identification[J]. *Eur Food Res Technol*, 2011, 233(5): 791-796.
- [4] Suchanek T H, Geller J B, Kreiser B R, et al. Zoogeographic distributions of the sibling species *Mytilus galloprovincialis* and *M. trossulus* (bivalvia, mytilidae) and their hybrids in the north pacific[J]. *The Biological Bulletin*, 1997, 193(2): 187-194.
- [5] Hilbish T J, Mullinax A, Dolven S I, et al. Origin of the antitropical distribution pattern in marine mussels (*Mytilus* spp.): routes and timing of transequatorial migration[J]. *Marine Biology*, 2000, 136(1): 69-77.
- [6] Toro J, Innes D J, Thompson R J. Genetic variation

- among life-history stages of mussels in a *Mytilus edulis*-*M. trossulus* hybrid zone[J]. Marine Biology, 2004, 145(4): 713-725.
- [7] Doherty S D, Brophy D, Gosling E. Synchronous reproduction may facilitate introgression in a hybrid mussel (*Mytilus*) population[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2009, 378(1-2): 1-7.
- [8] Klibansky L K J, McCartney M A. Conspecific sperm precedence is a reproductive barrier between free-spawning marine mussels in the northwest Atlantic *Mytilus* hybrid zone[J]. Plos One, 2014, 9(9): e108433.
- [9] 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[J]. 海洋科学, 2004, 28(7): 54-60. Zhang Guofan, Liu Xiao, Que Huayong, et al. The theory and application of hybridization and heterosis in marine mollusks[J]. Marine Sciences, 2004, 28(7): 54-60.
- [10] 张跃环, 王昭萍, 闫喜武, 等. 太平洋牡蛎与近江牡蛎的种间杂交[J]. 水产学报, 2012, 38(8): 1215-1224. Zhang Yuehuan, Wang Zhaoping, Yan Xiwu, et al. Inter-specific hybridization between two oysters *Crassostrea gigas* and *C. ariakensis*[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 38(8): 1215-1224.
- [11] Zhang S D, Li L, Wu F C, et al. Yield trait improvement of bay scallops following complete diallel crosses between different scallop stocks[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2014, 32(1): 1-7.
- [12] 柯才焕, 田越, 周时强, 等. 杂色鲍与皱纹盘鲍、盘鲍杂交的初步研究[J]. 海洋科学, 2000, 24(11): 39-41. Ke Caihuan, Tian Yue, Zhou Shiqiang, et al. Preliminary studies on hybridization of three species of abalone[J]. Marine Sciences, 2000, 24(11): 39-41.
- [13] Toro J E, Oyarzun P A, Penaloza C, et al. Production and performance of larvae and spat of pure and hybrid species of *Mytilus chilensis* and *M. galloprovincialis* from laboratory crosses[J]. Latin American Journal of Aquatic Research, 2012, 40(1): 243-247.
- [14] 王祯瑞. 中国动物志[M]. 北京: 科学出版社, 1997: 46-55. Wang Zhenrui. Fauna Sinica[M]. Beijing: Science Press, 1997: 46-55.
- [15] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 中国渔业统计年鉴(2018)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2018. Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China: Authority of Fisheries and Fisheries Administration, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China Fishery Statistical Yearbook (2018)[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2018.
- [16] 吴常信. 动物遗传学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2015. Wu Changxin. Animal Genetics[M]. Beijing: Higher Education Press, 2015.
- [17] Folmer O, Black M B, Hoeh W, et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates[J]. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 1994, 3(5): 294-299.
- [18] Machordom A, Araujo R, Toledo C, et al. Female-dependent transmission of paternal mtDNA is a shared feature of bivalve species with doubly uniparental inheritance (DUI) of mitochondrial DNA[J]. Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research, 2015, 53(3): 200-204.
- [19] Paul D N, Cywinska A, Ball S L, et al. Biological Identifications through DNA Barcodes[J]. Proceedings of the Royal Society B, 2003, 270(1512): 313-321.
- [20] Xu F, Zhang G F, Liu X, et al. Laboratory Hybridization between *Crassostrea Ariakensis* and *C. Sikamea*[J]. Journal of Shellfish Research, 2009, 28(3): 453-458.
- [21] Wang C D, Liu B Z, Li J Q, et al. Introduction of the Peruvian scallop and its hybridization with the bay scallop in China[J]. Aquaculture, 2011, 310(3): 380-387.
- [22] 潘英, 李琪. 海洋贝类雌核发育研究进展和展望[J]. 水产学报, 2002, 26(5): 465-471. Pan Ying, Li Qi. Progress and perspectives of gynogenesis research in marine molluscs[J]. Journal of Fisheries of China, 2002, 26(5): 465-471.
- [23] Scarpa J, Komary A, Wada K T. Gynogenetic induction in the mussel, *Mytilus galloprovincialis*[J]. Bulletin of the National Research Institute of Aquaculture, 1994(23): 33-41.
- [24] Wang S, Zhang L L, Hu J J, et al. Molecular and cellular evidence for biased mitotic gene conversion in hybrid scallop[J]. BMC Evolutionary Biology, 2010, 10(1): 6.
- [25] 陈兴强, 李荣华, 王春琳, 等. 紫贻贝(*Mytilus edulis*)与厚壳贻贝(*M. coruscus*)杂交的细胞学观察及子一代的早期生长比较[J]. 海洋与湖沼, 2017, 48(3): 600-608. Chen Xingqiang, Li Ronghua, Wang Chunlin, et al. Cytological observation on nuclear behavior of hybrids between *Mytilus edulis* and *M. coruscus* and comparison in early-stage growth[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2017, 48(3): 600-608.
- [26] Rawson P D, Slaughter C, Yund P D. Patterns of gamete incompatibility between the blue mussels *Mytilus edulis* and *M. trossulus*[J]. Marine Biology, 2003, 143(2): 317-325.
- [27] Eads A R, Evans J P, Kennington W J. Plasticity of fertilization rates under varying temperature in the broadcast spawning mussel, *Mytilus galloprovincialis*[J]. Ecology and Evolution, 2016, 6(18): 6578-6585.

- [28] Wu Q, Li L, Zhang G F. *Crassostrea angulata* binding gene and the divergence of fucose-binding lectin repeats among three species of *Crassostrea*[J]. Marine Biotechnology, 2011, 13(2): 327-335.
- [29] 孙景伟, 代红梅, 孙吉东. 厚壳贻贝人工育苗技术[J]. 河北渔业, 2018, 6: 27-29.
Sun Jingwei, Dai Hongmei, Sun Jidong. Technologies for artificial seed-breeding of *Mytilus coruscus*[J]. Hebei Fisheries, 2018, 6: 27-29.
- [30] 常抗美, 刘慧慧, 李家乐, 等. 紫贻贝和厚壳贻贝杂交及 F₁ 代杂交优势初探[J]. 水产学报, 2008, 32(4): 552-557.
Chang Kangmei, Liu Huihui, Li Jiale, et al. A primary study on hybridization of *Mytilus galloprovincialis*, *Mytilus coruscus*, heterosis of F₁ generation[J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(4): 552-557.
- [31] 何义朝, 张福绥. 贻贝胚胎发育的有效温度范围的变化[C]//中国贝类学会论文集(第二辑). 北京: 科学出版社, 1986: 89-93.
He Yichao, Zhang Fusui. Changes of effective temperature range for embryonic development of mussel[C]// Transactions of the Chinese Society of Malacology (No. 2). Beijing: Science Press, 1986: 89-93.
- [32] Lazo C S, Pita M I. Effect of temperature on survival, growth and development of *Mytilus galloprovincialis* larvae[J]. Aquaculture Research, 2012, 43(8): 1127-1133.
- [33] Hedgecock D, Lin J Z, DeCola S, et al. Transcriptomic analysis of growth heterosis in larval Pacific oysters (*Crassostrea gigas*)[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(7): 2313-2318.
- [34] Zheng H P, Xu F, Zhang G F. Crosses between two subspecies of bay scallop *Argopecten irradians* and heterosis for yield traits at harvest[J]. Aquaculture Research, 2011, 42(4): 602-612.
- [35] Zheng H P, Zhang G F, Guo X M, et al. Heterosis between two stocks of the bay scallop, *Argopecten irradians irradians* Lamarck (1819)[J]. Journal of Shellfish Research, 2006, 25(3): 807-812.
- [36] Curiel-Ramirez S, Caceres-Martinez J. Reproductive cycle of coexisting mussels *Mytilus californianus* and *Mytilus galloprovincialis* in Baja California, NW México[J]. Journal of Shellfish Research, 2004, 23(23): 515-520.
- [37] Falconer D S. Introduction to quantitative genetics[J]. American Journal of Human Genetics, 1990, 46(6): 1231.
- [38] Evans D M, Gillespie N A, Martin N G. Biometrical genetics[J]. Biological Psychology, 2002, 61(1): 33-51.
- [39] 张国范, 郑怀平. 海湾扇贝养殖遗传学[M]. 北京: 科学出版社, 2009.
Zhang Guofan, Zheng Huaipin. Aquaculture Genetics in Bay Scallop[M]. Beijing: Science Press, 2009.

Comparison of growth and survival among the hybrid offspring of *Mytilus galloprovincialis* and *M. coruscus* from laboratory crosses

YANG Lin-ying^{1, 2, 3}, LIU Ming-kun^{1, 3}, QUE Hua-yong^{1, 3}, ZHANG Guo-fan^{1, 3}

(1. CAS Key Laboratory of Experimental Marine Biology, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. National and Local Joint Engineering Laboratory of Ecological Mariculture, Qingdao 266071, China)

Received: May. 5, 2019

Key words: *Mytilus galloprovincialis*; *M. coruscus*; interspecific hybridization; growth; survival

Abstract: This study was designed to clarify the feasibility of interspecific hybridization between two commercially important mussel species, *Mytilus galloprovincialis* and *M. coruscus*, for which a diallel cross was conducted with 3 replicates using the broodstock of *M. galloprovincialis* from Dalian, Liaoning, and *M. coruscus* from Ningde, Fujian. Two cross groups, i.e., *M. galloprovincialis*♀×*M. coruscus*♂ and *M. coruscus*♀×*M. galloprovincialis*♂, were established, along with two purebred groups (*M. galloprovincialis*♀×*M. galloprovincialis*♂, *M. coruscus*♀×*M. coruscus*♂) used as controls. Subsequently, the rates of fertilization, hatching, survival, and growth of all the offspring were monitored and evaluated to compare the development and growth among the four groups. Results demonstrated that the fertilization rate was remarkably asymmetric between the two cross groups. A mean fertilization rate of 88.87% was observed in the cross group *M. galloprovincialis*♀×*M. coruscus*♂, which was not significantly different compared with that of the two purebred groups. The fertilization and hatching rates of the cross group *M. coruscus*♀×*M. galloprovincialis*♂ were significantly lower than those of all the other groups ($P < 0.05$), ultimately resulting in the lack of offspring. The offspring derived from the cross group *M. galloprovincialis*♀×*M. coruscus*♂ exhibited a remarkable advantage in growth, as evidenced by the shell lengths of the planktonic larvae on days 9, 11, and 13 and the juvenile on day 78, which were significantly larger than those of the purebred groups ($P < 0.05$). The survival rate of the cross group *M. galloprovincialis*♀×*M. coruscus*♂ showed no significant difference compared with the purebred group *M. galloprovincialis*♀×*M. galloprovincialis*♂ during the planktonic larval stage; however, it was significantly higher than that of the purebred group *M. coruscus*♀×*M. coruscus*♂ ($P < 0.05$). These results provide valuable information that can be used in mussel breeding programs in the future.

(本文编辑: 谭雪静)