

皱纹盘鲍中国群体和日本群体的 自交与杂交 F_1 的 RAPD 标记*

张国范¹ 王继红² 赵洪恩³ 阙华勇¹ 刘晓¹

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

¹(大连水产学院 大连 116023)

²(大连市水产研究所 大连 116021)

提要 利用皱纹盘鲍中国群体和日本群体野生个体的单自交和单正反杂交获得了 4 个 F_1 家系, 其中家系 A_{JC} 、 B_{CC} 、 C_{CJ} 、 D_{JJ} 分别为日本♀ × 中国♂、中国♀ × 中国♂、中国♀ × 日本♂和日本♀ × 日本♂组合, 采用 22 个引物对上述四个家系及其各自亲本个体的遗传结构进行了 RAPD 分析。结果表明, 四个家系的平均杂合度: A_{JC} 为 0.2329, B_{CC} 为 0.1667, C_{CJ} 为 0.1773, D_{JJ} 为 0.1649; 各家系两亲本间遗传距离: A_{JC} 为 0.2462, B_{CC} 为 0.1701, C_{CJ} 为 0.2109, D_{JJ} 为 0.1688。各家系子代群体与父母本的遗传距离: A_{JC} 为 0.1772 和 0.2224, B_{CC} 为 0.1181 和 0.1920, C_{CJ} 为 0.1123 和 0.1691, D_{JJ} 为 0.0694 和 0.1947。各家系子代个体间的遗传距离 A_{JC} 为 0.0976, B_{CC} 为 0.0951, C_{CJ} 为 0.0699, D_{JJ} 为 0.0682, 而子代各群体间遗传距离均小于 0.0220。

关键词 皱纹盘鲍, 不同地理群体, 杂交子代, 杂交优势, RAPD 分子标记

中图分类号 Q75

皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai* Ino) 是我国海珍品养殖的重要种类。近年来由于频繁发生病害(张国范等, 1999), 给其养殖产业造成了重大损失。为了提高养殖鲍抗逆性和加快其生长速度, “杂种优势”的利用在生产实践中有很大的应用价值。

遗传育种的理论与实践都已证明杂交优势利用的关键在于找到强优势的杂交组合, 亲本间遗传差异大时, 它们的杂交优势亦强。遗传差异的本质是 DNA 序列水平的差异。用 DNA 分子生物学方法能正确地测定亲本间的分子差异或分子遗传距离, 从而可作为预测杂交种优势的重要指标, 帮助育种学家减少配制杂交组合时的盲目性。分析和比较不同皱纹盘鲍群体间个体及其杂交子代的遗传结构是预测杂种优势的重要途径之一, 而 RAPD 标记技术为此提供了有效的手段。

RAPD 标记现已用于动植物遗传作图、基因快速定位、特殊染色体区段的鉴定和分离、性别鉴定以及群体遗传变异的研究(季维志等, 1996; 张细权等, 1997; 梁利群等, 1998; 滕春波等, 1999; 宋林生等, 1999a, b; 孙致良等, 1999; 石拓等, 1999; 孙效文等, 2000; 孙易等, 2000; 张四明等, 2000; 李斌等, 2000; 刘萍等, 2000; Gustavo *et al.*, 1998; Naciri *et al.*,

* 国家 863 资助项目, 2001AA621070 号; 国家杰出青年科学基金资助项目, 39825121 号。张国范, 男, 出生于 1954 年 4 月, 博士, 研究员, E-mail: gfzhang@ms.qdio.ac.cn

1995)。近期其在杂种优势预测方面的应用又引起越来越多学者的关注(董在杰等, 1999; 吕雪梅等, 1999; 许明辉, 1999; 李祥龙等, 2000)。对于海洋贝类, 进行 DNA 多态性研究的比较多, 主要用于种内与种间不同群体间的变异与分化、种质鉴定与系统进化研究等(刘必谦等, 1998a, b; Brown *et al.*, 1991; Heipel *et al.*, 1998; Naciri *et al.*, 1995; Orbacz *et al.*, 1996)。在预测杂种优势等有关分子标记辅助育种方面的研究还未见报道。

本文中利用 RAPD 技术对中国野生与日本野生皱纹盘鲍个体自交及正反杂交获得的 4 个子一代家系及其各自亲本个体的遗传结构进行了 RAPD 研究, 目的在于从分子水平上了解这 4 个家系及其父母亲本个体的遗传结构, 为杂交育种的生产实践提供分子遗传学基础, 为皱纹盘鲍种质资源的更好利用提供基础资料和科学依据, 促进鲍杂交育种中的杂种优势预测及分子标记辅助育种工作的开展。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验用鲍 实验用皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai* Ino) 于 2000 年 4 月分别采自辽宁大连长海县獐子岛和日本岩手县。取野生中国和日本皱纹盘鲍雌雄亲本各 1 只进行杂交及自交, 产生 4 个交配组合及其 F₁ 家系: A_{JC}: 日本♀ × 中国 ♂; B_{CC}: 中国♀ × 中国 ♂; C_{CC}: 中国♀ × 日本 ♂; D_{JJ}: 日本♀ × 日本 ♂。各家系 F₁ 饲养至壳长 1cm 左右。上述工作均在大连市水产研究所的协助下完成。

1.1.2 仪器与试剂 PCR 扩增仪为 PE 公司生产的 PE-9600 型。引物、Taq DNA 聚合酶、dNTP 等试剂均购自上海 Sangon 公司。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取 按萨姆布鲁克等(1993)的方法略做改进。将各家系的亲本野生鲍及其 16 个 F₁ 个体活体取足部肌肉组织固定于 70% 乙醇中, 取 50mg 组织用蒸馏水清洗、切成碎沫并溶于 500μl 裂解液中(成分: 10mmol/L Tris·Cl (pH= 8.0), 0.1mol/L EDTA (pH= 8.0), 0.5% SDS)。加入蛋白酶 K 至终浓度为 100μg/ml, 来回颠倒离心管数次, 置于 55℃ 水浴中消化 3h(在此期间转动离心管数次, 以使之充分消化)。将上述消化液冷至室温, 加等体积的酚抽提一次, 以 12000 转/min 离心 15m, 取上清液; 再分别用等体积的酚/氯仿(酚: 氯仿: 异戊醇 = 25: 24: 1)及氯仿(氯仿: 异戊醇 = 24: 1)各抽提一次(离心条件同上), 取上清液。向上清液中加入双倍体积的冷的 100% 无水乙醇和十分之一体积的 3mol/L NaAc, -20℃ 冷冻 1h, 再用 70% 乙醇洗涤 DNA 沉淀 2 次, 沉淀置于室温凉干, TE 溶解, 4℃ 保存。

1.2.2 DNA 定量 使用 BECKMAN 公司生产的 DU650 型紫外分光光度计, 将提取的模板 DNA 5μl 稀释 16 倍至 80μl 进行测定。在 260nm 时读数用于计算样品中核酸的浓度(OD 值等于 1 时, 相当于大约 50μg/ml 双链 DNA), 同时读取 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 的比值, 以估计所提 DNA 的纯度(纯 DNA OD₂₆₀/OD₂₈₀ 为 1.8—2.0)。同时辅以凝胶电泳肉眼观察所提 DNA 的完整性。将 DNA 原液稀释到 50ng/μl 于 4℃ 保存待用。

1.2.3 RAPD 条件 RAPD 程序: 94℃ 预变性 5m 后, 94℃ 变性 60s, 36℃ 复性 60s, 72℃ 延伸 120s, 45 个循环。最后 72℃ 延伸 10m, 4℃ 保存。RAPD 反应总体积为 25μl, 其中含有 10X RAPD 反应缓冲液 2.5μl, 2mmol/L MgCl₂, 0.1mmol/L dNTP, 10ng 引物, 1U Taq 酶, 基因

组 DNA 100ng。

1.2.4 电泳及成像 扩增产物在1.4%的琼脂糖凝胶中电泳,电压为3V/cm左右。电泳完成后以 UVP 公司的 GDS7600 型凝胶成像仪对凝胶进行观察、拍照及保存,并以 Gel-Blot-Pro3.30 软件包对图片进行计带处理,有带记为1,无带记为0,并对每个扩增带进行分子量的估算。

1.2.5 数据处理

各群体的平均杂合度。纯合度: $J = (\sum X_i^2)/n$, 杂合度: $H = 1 - J$ 。其中: X_i 表示第 i 个等位基因的频率, n 为测定位点数(季维志等, 1996)。

遗传分化指数(G_{ST})。总群体的基因多样性(H_T)分解为群体内基因多样性(H_S)和群体间基因多样性(D_{ST}): $H_T = H_S + D_{ST}$, $G_{ST} = D_{ST}/H_T$ 。这里 $H_S = 1 - J_S = 1 - (\sum J_i)/S$, 其中 S 为群体的数目。 $J_i = (\sum X_{ik}^2)/n$, 这里 J_i 是第 i 个群体内的基因一致性, X_{ik} 是第 i 个群体内第 k 个等位基因的频率, n 是 i 个群体的基因位点数目; $D_{ST} = (\sum \sum D_{ij})/S^2$, 这里 $D_{ij} = (J_i + J_j)/2 - J_{ij}$, 其中 J_{ij} 是第 i 个和第 j 个群体间的基因一致性: $J_{ij} = (\sum X_{ik} X_{jk})/n$ 。

群体间的遗传距离。根据 Lynch 的计算方法计算。 $D = -\ln I$, 这里 $I = J_{XY}/(J_X J_Y)^{1/2}$, 其中 J_X 、 J_Y 和 J_{XY} 分别是所有位点上 j_x 、 j_y 和 j_{xy} 的算术平均值。这里 $j_x = \sum X_i$, $j_y = \sum Y_i$, $j_{xy} = \sum X_i Y_i$, X_i 、 Y_i 分别是 X 、 Y 群体中第 i 个等位基因的频率。

群体内遗传距离。随机扩增多态 DNA 片段的共享度根据下列公式(Nei *et al*, 1979)计算: $F = \{ \sum [2N_{xy}/(N_x + N_y)] \} / n$, $P = 1 - F$ 。式中, F 为相似率, N_x 和 N_y 分别为个体 x 和个体 y 的随机扩增多态 DNA 位点数, N_{xy} 为两个个体间相同的位点数, n 为个体间相比较的两两配对数, P 为遗传距离。

多态率。多态率 $p = x/r$, 其中 x 为具有多态性的位点, r 为扩增出的总位点数。

2 结果

2.1 RAPD 扩增结果

在 RAPD 扩增中,所用引物为经过挑选的扩增谱带清晰稳定的 22 条引物: S30、S34、S37、S38、S39、S77、S103、S109、S115、S119、S161、S164、S175、S176、S364、S402、S404、S462、S473、S474、S476、S477。选择扩增片段大小在 300—3000bp 之间的位点进行统计分析。结果共检测到 95 个位点,平均每个引物扩增出 4.32 个位点。其中 A_{JC} 的多态位点数为 45 个,多态率为 47.37%; B_{CC} 的多态位点数为 38 个,多态率为 40.00%; C_{CI} 的多态位点数为 41 个,多态率为 43.16%; D_{JJ} 的多态位点数为 35 个,多态率为 36.84%。多态位点的显性频率为: 家系 A_{JC} 在 0.125—0.9375 之间,家系 B_{CC} 在 0.0625—0.9375 之间,家系 C_{CI} 在 0.125—0.9375 之间,家系 D_{JJ} 在 0.375—0.9375 之间。各引物的扩增情况见表 1。扩增结果显示,不同引物得到的扩增片段数各不相同,所揭示的多态性也不尽相同。图 1a 显示的是引物 S176 对 4 个家系的扩增结果,可以看出扩增位点数虽然居中,却显示很高的多态性,并且在 1375bp、1151bp、816bp 处呈现子代所扩增的谱带强度比亲本大为增强的现象。图 1b 是引物 S473 对 4 个家系的扩增结果,可以看出扩增位点极多,且几乎皆为单态。另外从整体的 RAPD 扩增情况来看,亲本出现的谱带都能在子代中找到,并且有的像

父本, 有的像母本, 有的是两者基因型的综合, 符合典型的孟德尔共显性遗传规律。

表 1 各引物序列及四个家系的 RAPD 扩增情况

Tab. 1 The primer's sequence and RAPD amplification of four families

引物	序列(5' -3')	产物的总片段数				产物的多态数			
		A _{JC}	B _{CC}	C _{JC}	D _{JJ}	A _{JC}	B _{CC}	C _{JC}	D _{JJ}
S30	GTGATCGCAG	5	5	5	5	2	0	1	1
S34	TCTGGTGAGG	7	7	7	7	6	6	5	5
S37	GACCGCITGT	5	5	5	5	3	5	3	2
S38	GTGTGCCCA	2	2	2	2	2	1	1	1
S39	CAAACGTCCG	1	1	1	1	1	1	1	1
S77	TTCCCCCAG	9	9	9	9	3	2	4	3
S103	AGACGFCAC	1	1	1	1	0	0	1	0
S109	TGTAGCTGGG	4	4	4	4	4	3	3	3
S115	AATGGCGCAG	5	5	5	5	5	1	3	1
S119	CTGACCAGCC	5	5	5	5	3	2	2	2
S161	ACCTGGACAC	5	5	5	5	1	2	2	2
S164	CCGCTAGTC	4	4	4	4	2	1	2	1
S175	TCATCCGAGG	3	3	3	3	2	2	2	2
S176	TCTCCGCCCT	4	4	4	4	4	4	4	4
S364	CCGCCAAAC	2	2	2	2	1	2	2	2
S402	ACAACGCCCTC	5	5	5	5	1	0	0	0
S404	GGCGGTGTTC	6	6	6	6	0	0	0	0
S462	TCGGCACGCA	4	4	4	4	0	0	0	0
S473	GGAGTCCTC	9	9	9	9	2	2	3	2
S474	CCAGCGAAC	4	4	4	4	2	3	1	2
S476	CCAAGTGCC	4	4	4	4	0	0	0	0
S477	TGACCCGCCT	1	1	1	1	1	1	1	1
合计		95	95	95	95	45	38	41	35

2.2 4个家系各群体内的遗传距离

家系 A_{JC} 中父母本之间的遗传距离为 0.2462, 父本对其子代的遗传距离为 0.1772, 母本对其子代的遗传距离为 0.2224, 子代个体间的遗传距离为 0.0976; 家系 B_{CC} 中父母本之间的遗传距离为 0.1701, 父本对其子代的遗传距离为 0.1181, 母本对其子代的遗传距离为 0.1920, 子代个体间的遗传距离为 0.0951; 家系 C_{JC} 中父母本之间的遗传距离为 0.2109, 父本对其子代的遗传距离为 0.1123, 母本对其子代的遗传距离为 0.1691, 子代个体间的遗传距离为 0.0699; 家系 D_{JJ} 中父母本之间的遗传距离为 0.1688, 父本对其子代的遗传距离为 0.0694, 母本对其子代的遗传距离为 0.1974, 子代个体间的遗传距离为 0.0682。

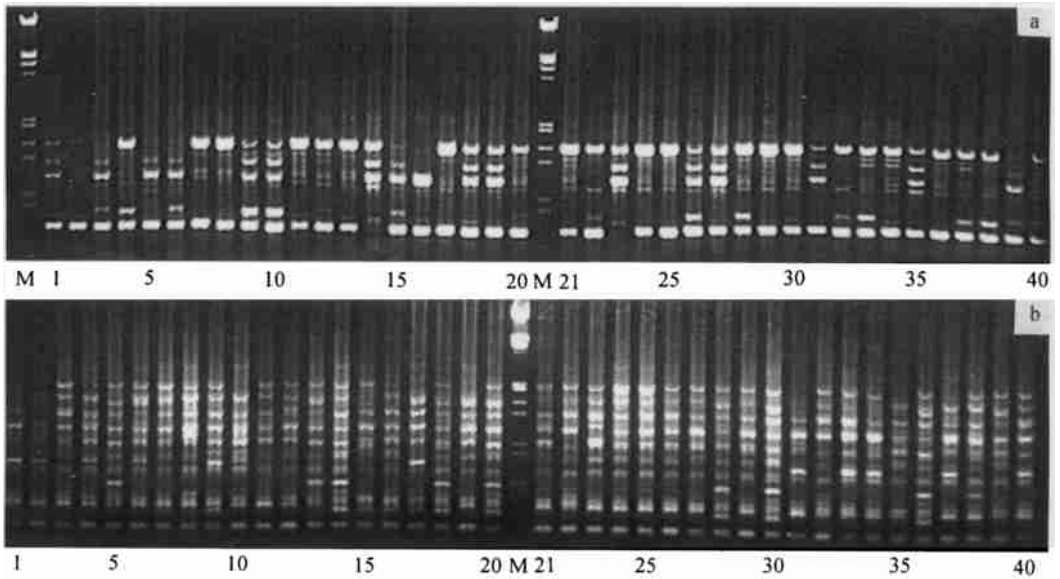


图 1 4个家系的 RAPD 扩增情况

Fig. 1 The RAPD amplifications of the four families

a. S176 引物对四个家系的扩增产物大多为多态, 扩增位点数中等;

b. S473 引物对四个家系的扩增产物大多为单态, 扩增位点数很高

M: 引物。1—10: 家系 A_{JC} , 1 表示母系, 2 表示父系, 其余为子代; 11—20: 家系 B_{CC} , 11 表示母系, 12 表示父系, 其余为子代; 21—30: 家系 C_{CJ} , 21 表示母系, 22 表示父系, 其余为子代; 31—40: 家系 D_{JJ} , 31 表示母系, 32 表示父系, 其余为子代

2.3 4个家系各群体内的平均杂合度

家系 A_{JC} 子代群体的平均杂合度为 0.2329, 家系 B_{CC} 子代群体的平均杂合度为 0.1667, 家系 C_{CJ} 子代群体的平均杂合度为 0.1773, 家系 D_{JJ} 子代群体的平均杂合度为 0.1649。

2.4 4个家系子代群体间的遗传距离

4个家系子代家系间遗传距离的观察值为 0.0063—0.0220, 但最大值不是发生在 B_{CC} 和 D_{JJ} 之间(表 2)。

表 2 4个家系群体间的遗传距离

Tab. 2 The genetic distance between two families

	A_{JC}	B_{CC}	C_{CJ}	D_{JJ}
A_{JC}	0.0000			
B_{CC}	0.0205	0.0000		
C_{CJ}	0.0219	0.0144	0.0000	
D_{JJ}	0.0220	0.0063	0.0108	0.0000

2.5 总群体的基因多样性及基因分化系数

4个子代总群体的基因多样性为 0.1918, 基因分化系数为 4.66%。

3 讨论

从扩增图片来看, RAPD 呈典型的孟德尔共显性遗传规律, 虽不能区分某一座位扩增出的 DNA 片段是纯合的还是杂合的, 但其探测基因多态性效率高, 是研究杂种优势的极好工具, 可以从分子水平上提供基因多态性与杂种优势的关系。

4 个家系的平均杂合度说明两个杂交组合家系的杂合度均高于两个自交组合, 从而可以预测杂交可能产生杂种优势, 而这其中尤以亲本遗传距离最大的家系 A_{JC} 最为突出。 A_{JC} 的两亲本间遗传距离为 0.2462, 家系 B_{CC} 的两亲本间的遗传距离为 0.1701, 家系 C_{CJ} 的两亲本间遗传距离为 0.2109, 家系 D_{JJ} 的两亲本间遗传距离为 0.1688。说明本文中亲本的两不同地理群体的个体间的遗传距离确实大于两同一地理群体的亲本个体间遗传距离, 但因样本少所以尚不能定论。而中国与日本野生亲本的遗传距离都较大的事实说明, 皱纹盘鲍的野生资源保护较好。由亲本间较大的遗传距离可以产生子代群体较大杂合度这一事实说明, 亲本间遗传差异大是产生杂种优势的基础。然而, 家系 C_{CJ} 的亲本遗传距离虽较 B_{CC} 、 D_{JJ} 大很多, 在家系的杂合度上并未表现出明显的增高, 这其中原因尚不能很好说明。但可以肯定的是, 杂种优势是一复杂的遗传现象, 亲本间的遗传差异无疑是重要的原因之一。

由表 2 可以看出, 家系 D_{JJ} 与 B_{CC} 的子代群体间的遗传距离小于其他群体间的遗传距离, 这其中的原因有可能是由于当初实验设计受实验条件所限造成的系统的部分开放所致。另一原因可能是这种单交子代群体仅仅由单一个体父母亲本产生, 而且各群体个体间的遗传变异水平较高。因此, 由两对个体产生的子代群体的群体间遗传距离能否与这两个群体的两对父母本的遗传距离有对应的线性关系还值得讨论。现有的理论只能比较个体与个体或群体与群体间遗传距离, 还无法比较一对父母本对另一对父母本之间的遗传距离。两个纯合子代群体在某一位点的基因频率很可能会同时都很高, 导致“两个纯合子代群体间”的 I 值高于“一个纯合子代群体与一个杂合子代群体间”或“两个杂合子代群体间”的 I 值, 从而造成在两个纯合子代群体间 P 值(即群体间遗传距离)最小的事实。因此, 不能简单地用父母本间的遗传距离来推断子代群体间遗传距离。

各家系子代群体与父母亲本的遗传距离表明皱纹盘鲍的子代倾向于父本基因型的几率稍大, 即雄性遗传占主导地位, 在兴国红鲤 *Cyprinus carpio* var. *singuenensis* 与德国镜鲤 *Cyprinus carpio* var. *specularis* 的杂交中也出现类似结果(董在杰等, 1999), 这其中的具体原因尚待进一步研究。皱纹盘鲍在基因组水平上杂合度提高的贡献权重雄性占优这一结果在理论上具有重要意义。这一结果的应用价值在于, 只要引进雄性亲本进行杂交, 即有可能获得杂种优势。皱纹盘鲍的繁殖特点是成熟雌性的产卵量只有几十万到百万, 精子量则以数十亿计。因此, 在生产上只要引进雄性亲本并与本地群体杂交即可获得杂种优势, 这样可大大降低生产成本, 其潜在的经济效益是巨大的。

各家系子代间的遗传距离表明各家系子代个体间的遗传距离都远远低于其野生父母亲本间的遗传距离及子代与亲本的遗传距离, 而子代各群体间遗传距离均小于 0.0220, 指示人工繁育过程中, 一定要避免用人工培育群体内或群体间的子一代个体作为父母亲本, 以免引起种质资源的严重退化, 也提醒我们保护好现有的各地理群落的野生资源对鲍养殖业的可持续发展是非常重要的。

从本文中的实验结果可以看出, 直接利用中国野生皱纹盘鲍与日本野生皱纹盘鲍杂交可能获得较好杂种优势, 本文为此提供了充分的分子生物学证据; 同时也说明 RAPD 做为一种简单快捷的分子标记, 是预测杂种优势的极好手段, 可以广泛应用于分子标记辅助育种。但本文中提供的分子生物学证据也仅限于提供了杂种优势产生的趋势和标记。由于杂种优势遗传机理极其复杂, 一个杂交组合能否表现杂种优势不仅与双亲遗传差异有关, 还与双亲遗传背景、所携带等位基因的类型、基因效应种类以及环境等一系列因素有关(许明辉, 1999)。杂交子代在生产上能否产生某些优良性状以及这些性状能否与这种标记相对应尚需做进一步研究。

致谢 在实验过程中得到中国水产科学研究院黑龙江水产研究所孙孝文研究员、梁利群副研究员, 以及中国科学院海洋研究所宋林生研究员和刘保忠博士的热心指导, 谨致谢忱。

参 考 文 献

- 石 拓, 孔 杰, 刘 萍等, 1999. 中国对虾遗传多样性的 RAPD 分析——朝鲜半岛西海岸群体的 DNA 多态性. 海洋与湖沼, 30(6): 609—614
- 吕雪梅, 杨加福, 张细权等, 1999. 蛋鸡品系 RAPD 变异及其与杂种优势关系的分析. 遗传, 21(2): 24—28
- 刘 萍, 孔 杰, 石 拓等, 2000. 中国对虾黄渤海沿岸群亲本及子一代 RAPD 分析. 海洋水产研究, 21(1): 13—20
- 刘必谦, 戴继勋, 1998a. 巨蜆属牡蛎遗传多样性研究. 水产学报, 22(3): 193—197
- 刘必谦, 戴继勋, 喻子牛, 1998b. RAPD 标记在大连湾牡蛎种群研究中的应用. 青岛海洋大学学报, 28(1): 82—87
- 许明辉, 1999. 烟草数量性状遗传距离与杂种优势关系的研究. 遗传, 21(5): 47—50
- 孙 易, 宋文芹, 钟贻诚等, 2000. 用 RAPD 和 AFLP 的方法对中国卤虫(*Artemia*) 种及亲缘关系的研究. 遗传学报, 27(3): 210—218
- 孙效文, 梁利群, 2000. 鲤鱼的遗传连锁图谱(初报). 中国水产科学, 7(1): 1—5
- 宋林生, 相建海, 周岭华等, 1999a. 六种海产虾类基因组 DNA 多态性的 RAPD 标记研究. 海洋与湖沼, 30(1): 62—67
- 宋林生, 相建海, 李晨曦等, 1999b. 日本对虾野生种群和养殖种群遗传结构的 RAPD 标记研究. 海洋与湖沼, 30(3): 261—266
- 李 斌, 鲁 成, 周泽扬等, 2000. RAPD 标记构建家蚕分子连锁图. 遗传学报, 27(2): 127—131
- 李祥龙, 田庆义, 马国强等, 2000. 波尔山羊杂交后代及其亲本随机扩增多态 DNA 研究. 遗传, 22(2): 75—77
- 孙致良, 张超良, 金德敏等, 1999. RAPD 技术在玉米自交系亲缘关系研究中的应用. 遗传学报, 26(1): 61—68
- 张细权, 李加权, 杨加福, 1997. 动物遗传标记. 北京: 中国农业大学出版社, 134—135, 167—172
- 张国范, 李 霞, 1999. 我国贝类大规模死亡现状. 中国水产, 9: 34—39
- 张四明, 邓 怀, 晏 勇等, 2000. 中华鲟随机扩增多态性 DNA 及遗传多样性研究. 海洋与湖沼, 31(1): 1—7
- 季维志, 宿 兵, 1996. 遗传多样性研究的原理与方法. 杭州: 浙江科学技术出版社, 130—135
- 梁利群, 孙效文, 闫学春, 1998. RAPD 技术分析荷包红鲤抗寒品系与亲本的基因组变化. 中国水产科学, 5(1): 6—9
- 滕春波, 孙效文, 沈俊宝等, 1999. 利用异源精子激发雌核发育的银鲫及亲本的 RAPD 分析. 水产学报, 23(4): 420—423
- 董在杰, 夏德全, 吴婷婷等, 1999. 兴国红鲤和散鳞镜鲤杂种优势的 RAPD 分析. 上海水产大学学报, 8(1): 31—35
- 萨姆布鲁克 J, 弗里奇 E F, 曼尼阿蒂斯 T 著, 1993. 金冬雁, 黎孟枫, 张 励等译, 1993. 分子克隆. 北京: 科学出版社, 463—469
- Brown B L, Paynter K T, 1991. Mitochondrial DNA analysis of native and selectively inbred Chesapeake Bay oysters, *Crassostrea virginica*. Mar Biol, 110: 343—352
- Gustavo Caetano-Anolles, Peter M Gresshoff, 1998. DNA markers protocols, applications, and overviews. Wiley-Liss, Inc, 75—84
- Heipel D A, Bishop J D D, Brand A R *et al.*, 1998. Population genetic differentiation of the great scallop *Pecten maximus* in Western Britain investigated by randomly amplified polymorphic DNA. Mar Ecol Prog Ser, 162: 163—171

- Jason H Brickner, Timothy J Lynch, Zeilinger D *et al.*, 1996. Identification, mapping and linkage analysis of randomly amplified DNA polymorphism in *Tetrahymena thermophila*. *Genetics*, 143: 811—821
- Naciri Y, Vigouroux Y J, Dallas E *et al.*, 1995. Identification and inheritance of (GA/TC)_n and (AC/GT)_n repeats in the European flat oyster *Ostrea edulis*. *Mol Mar Biol Biotechnol*, 4: 83—89
- Nei M, Li W H, 1979. Mathematical models for studying genetic distance in terms of restriction endonucleases. *Proceeding National Acad Sci*, 76: 5269—5273
- Orłacz E A, Wilbur A E, Gaffney P M *et al.*, 1996. RFLP analysis of genetic diversity in a Siberian population of the Japanese scallop (*Patinopecten yessoensis*). *J Shellfish Res*, 15(2): 529
- Patweny M U, Kenchington E L, Bird C J *et al.*, 1994. The use of RAPD markers in genetic studies of the sea scallop *Placopecten magellanicus*. *J Shellfish Res*, 13(2): 547—553
- Reeb C A, Avise J C, 1990. A genetic discontinuity in a continuously distributed species: mitochondrial DNA in the American oyster, *Crassostrea virginica*. *Genetics*, 124: 397—406

THE RAPD MARKER OF SELF-BRED AND HYBRID PROGENY BETWEEN CHINESE AND JAPANESE POPULATIONS OF *HALIOTIS* *DISCUS HANNAI* INO

ZHANG Guo-Fan, WANG Ji-Hong, ZHAO Hong-En, QUE Hua-Yong, LIU Xiao

(*Institute of Oceanology, The Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071*)

(*Dalian Fisheries University, Dalian, 116023*)

(*Dalian Institute of Fisheries Research, Dalian, 116021*)

Abstract The random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique was used to investigate the genetic differences of the abalone (*Haliotis discus hannai* Ino) in 4 progeny families from different geographical populations of China and Japan: The 4 progeny families were A_{JC}(Japanese ♀ × Chinese ♂), B_{CC}(Chinese ♀ × Chinese ♂), C_{CJ}(Chinese ♀ × Japanese ♂), D_{JJ}(Japanese ♀ × Japanese ♂). The average heterozygous rates of 4 families was: A_{JC} 0.2329, B_{CC} 0.1667, C_{CJ} 0.1773, D_{JJ} 0.1649, showed that the heterozygous rates in the hybrid progeny populations were higher than the self-bred and the higher might be cause heterosis. The genetic distance between parents in 4 families were: A_{JC} 0.2462, B_{CC} 0.1701, C_{CJ} 0.2109, D_{JJ} 0.1688, showed that the genetic distance between the two individuals from different geographic populations was longer than that from the same geographical populations, and this was the reason leading to higher heterozygous rates in their progeny, and the facts of genetic distances between wild individuals either from China or from Japan were all longer indicate that the wild resources of abalone were protected very well. The genetic distances between the progeny populations and its male/female parent were: A_{JC} 0.1772 and 0.2224, B_{CC} 0.1181 and 0.1920, C_{CJ} 0.1123 and 0.1691, D_{JJ} 0.0694 and 0.1947, these showed that the abalone progeny inherited more genetic material from its male parent. The genetic distances within the progeny populations were: A_{JC} 0.0976, B_{CC} 0.0951, C_{CJ} 0.0699, D_{JJ} 0.0682 and the genetic distances were all lower than 0.0220. These show that the genetic variation within and among the progeny populations were all extremely lower and indicating that the hybrid progeny was avoided to be used as the parents.

Key words *Haliotis discus hannai* Ino, Different population, Hybrid progeny, Heterosis, RAPD marker