

中国牡蛎产业的嬗变——新认知、 新品种和新产品*

张国范^{1, 2, 3, 5} 李莉^{1, 3, 4, 5} 阙华勇^{1, 2, 3, 5}

- (1. 中国科学院海洋研究所 实验海洋生物学重点实验室 青岛 266071; 2. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室 海洋生物学与生物技术功能实验室 青岛 266237; 3. 中国科学院海洋大科学研究中心 青岛 266071;
4. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室 青岛 266237;
5. 海洋生态养殖技术国家地方联合工程实验室 青岛 266071)

摘要 牡蛎是近海生态系统的重要成员,也是世界性海洋主养贝类。我国牡蛎养殖历史悠久,但高质牡蛎产品的长期匮乏已成为新形势下产业转型升级的卡点。在国际海鲜市场,高质牡蛎就意味着品质好、品相优。为实现产业高质量发展,研究了中国经济牡蛎物种组成和地理分布;揭示了温度是不同尺度种性形成的重要环境驱动因子之一;构建了首个贝类全基因组序列精细图谱,发现基因组的高变异性和基因家族的特异性扩张是种性形成的重要遗传基础;对全球 27 个长牡蛎群体 487 个个体进行全基因组深度重测序,构建了 50M 级单核苷酸多态(SNP)资源库并制成 190k 高密度 SNP 分型芯片。这些资源基因组学(Resourceomics)研究为高质牡蛎创制奠定了基础。其次进一步查清了牡蛎经济性状的遗传力及表型相关性,锚定糖原含量调控的基因组模块区域,建立品质性状基因模块选育技术,育成“海蛎 1 号”新品种,糖原含量提高 25.37%,比传统育种效率提高 65.81%,实现了单一营养物质的定向选育,破解了牡蛎肉质改良的世界性难题。所建立的基因模块育种技术使高质牡蛎遗传创制成为可能。在育成新品种的基础上,还利用牡蛎附着变态阶段的生物学特性及上升流和下降流的物理学原理,创新牡蛎单体种苗制备技术,使种苗单体化率提高 3 倍;建设设施塑形生态育肥技术,通过壳型重塑并结合养殖水层的增肥调控,优型率达 92%,出肉率达 20%—23%。单体塑形养殖技术使牡蛎品相也达到国际知名品牌的标准。团队建立的高质牡蛎创制技术体系在县域规模进行标准化应用示范,支撑了“乳山牡蛎”成为行业第一品牌,产业经济效益提高 2—3 倍,实现了牡蛎产业从低质低效到高质高效的嬗变,示范带动了中国牡蛎产业的高质量发展。

关键词 基因组; 基因模块; 新品种; 单体塑形; 高质牡蛎

中图分类号 S917.4 doi: 10.11693/hyhz20200300092

牡蛎是经济和生态价值兼备、生物学特点突出的海洋无脊椎动物,是近海河口岩礁生境的优势种和关键种,也是世界上最重要的海水养殖贝类(Guo, 2009)。遗传资源是海水养殖产业发展的源头,是国家生物产业的战略资源。贝类养殖是我国海洋经济的重要组成部分,也是我国“海洋强国”战略的重要支点。牡蛎富含糖原、牛磺酸和有机锌等对人体健康有明确

生理功效的营养物质(章超桦等, 2014),是我国传统的四大养殖贝类之一。但在十余年前,中国牡蛎产品在国际市场份额仅占 3%左右,即使在国内市场当时也仅为进口品牌价格的 20%—30%。导致我国牡蛎产业大而不强的重要原因之一是高质牡蛎产品的长期匮乏。传统育种在品质性状改良方面进展缓慢。分子育种已在水产种业领域取得巨大进步(Gui et al, 2012;

* 张国范, 博士生导师, 研究员, E-mail: gfzhang@qdio.ac.cn

收稿日期: 2020-03-25, 收修改稿日期: 2020-05-06

Gui, 2015; 桂建芳等, 2016), 同时也推动了水产养殖模式的持续创新和产业的高质量发展。基于全基因组的模块育种技术将有效地提高育种效率并实现对水产动物品质性状的遗传改良。

本文较系统地介绍了作者团队在高质牡蛎创制的理论和技术体系构建及其产业应用方面所取得的进展。

1 高质牡蛎创制的资源基因组学基础

1.1 中国经济牡蛎的物种组成和地理分布

牡蛎外壳形态常随附着环境不同而改变, 使其基础研究及养殖生产陷入混乱(Bayne, 2017)。西太平洋海域牡蛎物种资源丰富, 也是全球牡蛎物种资源聚集区。我国拥有至少 30 种以上的牡蛎物种资源(Guo *et al.*, 2018; Hu *et al.*, 2019), 约占世界牡蛎物种数的 1/3—1/2。牡蛎物种的高多样性对维持海洋生命系统的稳定意义重大(Duarte *et al.*, 2020)。但我国牡蛎常见种甚至主养种的分类都长期存在争议, 错误订名、同物异名、有名无物及近缘种演化关系不清等问题多见, 严重影响了相关学科和产业有序发展。在国家自然科学基金的支持下, 基本厘清了中国经济牡蛎的种类组成和地理分布, 确认中国经济牡蛎全部隶属于巨蛎属, 而该属在中国海域已订名有 12 个种或亚种(Guo *et al.*, 2018)。长牡蛎 *Crassostrea gigas gigas* (俗称太平洋牡蛎)是西北太平洋中韩日俄海域的特有种, 其生长快、抗逆性强, 特别适合于中高纬度海域养殖(Bayne, 2017)。自 20 世纪 30 年代从日本引种到北美后, 长牡蛎就逐渐成为世界贸易量最大的海水养殖贝类(Guo, 2009)。国际著名牡蛎品牌多源自长牡蛎。中国的长牡蛎自然分布在长江口以北的黄渤海潮间带和潮下带浅海水域(Wang *et al.*, 2008), 其也是中国黄渤海区目前唯一的主养牡蛎; 福建牡蛎 *C. gigas angulata* (Wang *et al.*, 2010)为长牡蛎的暖水姊妹亚种, 在中国主要分布在长江口以南海域, 也是闽台海域的主养种, 其相较于长牡蛎个体偏小; 香港牡蛎 *C. hongkongensis* (Lam *et al.*, 2003)主要分布在福建以南海域, 为粤桂及至东南亚国家的主养牡蛎物种, 经济价值大。过去民间称之为“红眼蚝”的近江牡蛎 *C. ariakensis* (Wang *et al.*, 2004)与香港牡蛎(白眼蚝)同为巨蛎属的大型种和河口种, 前者为广布种, 后者为暖水种, 在热带亚热带河口水域二者常生态位重叠; 熊本牡蛎 *C. sikamea* 与福建牡蛎同域分布, 但习见于潮间带中上部区域, 个体较小, 多用于制作闽台

著名美食“海蛎煎”; 日本牡蛎 *C. nippona* (Wang *et al.*, 2004)见于中国东海舟山群岛外部岛屿, 日本称之为岩牡蛎, 经济价值较高, 但生长较缓慢, 有较大的产业潜力。上述 6 种巨蛎属牡蛎都具有重要经济价值, 有的已成为主养对象。此外, 科学家新近在中国海域还发现和订名了一批巨蛎属新种, 如 *C. treabilineata* (李孝绪等, 1994), *C. iredalei* (Wang *et al.*, 2004), *C. lugubris* (Lam *et al.*, 2004), *C. zhanjiangensis* (Wu *et al.*, 2013), *C. dianbaiensis* (Xia *et al.*, 2014)和 *C. belcheri* (Li *et al.*, 2017d)等。虽然巨蛎属甚至牡蛎科的分类还存争议(Salvi *et al.*, 2017), 但目前多数科学家还是建议采用传统的分类系统。作者团队还从分子、细胞和繁殖习性等不同视角揭示了同域分布牡蛎近源种的生殖隔离机制(Xu *et al.*, 2009, 2014; Wu *et al.*, 2011a, 2011b)。查清经济牡蛎物种组成和分布格局, 对牡蛎基础研究、资源保护、遗传改良和养殖业发展都有重要意义。

1.2 多尺度成种的温度驱动机制

同其他海洋生物一样, 牡蛎的种性形成是个复杂的过程, 也是遗传和环境互作的结果, 而温度在其中起到重要的驱动作用。研究了多尺度下环境温度与种性形成的关系, 以揭示温度在牡蛎成种过程中的作用机制。长牡蛎和福建牡蛎是不同温度适应型的姊妹亚种, 其分化时间约为 2.0—3.6Mya (Ren *et al.*, 2016)。北方海域的长牡蛎和南方海域的福建牡蛎都在种源地表现出高的存活率和生长速度, 说明其发生了适应性分化, 进而形成新的种性。在此基础上, 我们研究了两姊妹亚种的环境适应机制, 发现两亚种的热响应机制存在显著差异。首先, 通过对两亚种的对调养殖和胁迫响应等研究发现, 无论在北方还是在南方海域环境, 绝大多数的热激响应基因在长牡蛎中都表现出高的基础表达和低的热激诱导表达, 而在福建牡蛎中表现出低的基础表达和高的诱导表达。氧化应激基因在两亚种中也表现出相同的动态表达模式。对于能量代谢相关基因, 长牡蛎表现出低的基础表达和低的抑制可塑性, 而福建牡蛎表现出高的基础表达和高的抑制可塑性, 表明两亚种都存在能量代谢和热激响应之间的进化代偿(Li *et al.*, 2017a, 2019)。其次, 进一步分析能量代谢相关基因, 发现牡蛎可通过调控糖酵解、三羧酸循环以及氧化磷酸化等通路关键基因的乙酰化水平来实现能量平衡(Li *et al.*, 2018c; Li *et al.*, 2020)。此外, 其适应生理学研究也表明, 长牡蛎和福建牡蛎的 LT₅₀相差 1.29°C (Ghaffari *et*

al, 2019)。这些结果表明,除逾千公里和长江冲淡水等的基因流阻隔效应外,温度的适应性进化可能是长牡蛎和福建牡蛎种性形成的主要驱动机制(Wang *et al*, 2016; Li *et al*, 2017a, 2018c)。

此外,还研究了长牡蛎不同群体种性。首先,阐明不同温度梯度下的长牡蛎群体在生长、热耐受性、生理代谢等适合度性状方面产生了胁迫性适应差异,且分化模式与栖息地海区水温等物理环境变化一致,进一步表明牡蛎等高扩散性海洋无脊椎动物的种性形成是有限基因流与自然选择平衡作用的结果,其中温度也是种内不同生境种性形成的重要进化驱动力之一。根据这种适应性差异,中国分布区的长牡蛎遗传资源可分为渤海、渤海海峡、北黄海和南黄海等4个遗传单元,水平方向的分化尺度约为百公里量级。其次,进一步研究了长牡蛎群体内垂直尺度上的遗传分化,发现不同海区的潮间带和潮下带的 F_1 子代在各表型指标上都发生了垂直方向米级尺度的精细分化。分析不同潮位群体的环境耐受性差异,发现潮间带的长牡蛎受到强烈的快速大幅温变的正选择,并与低氧窒息的选择效应相耦合,形成更强的应对环境变化的种特异性,这也是长牡蛎能成为潮间带优势种、并在全球成为主养种的重要原因之一(Zhang *et al*, 2016)。上述结果表明,温变、露空等不同因子的多重交互胁迫可能是潮间带与潮下带牡蛎遗传分化的主要环境驱动因子。该成果丰富了牡蛎种性形成驱动机制理论,也表明受限于不同潮位间强大的基因流,快速的环境波动差异和生物通过表型可塑性优化适合度相关性状的组合,在塑造居地生境种性中发挥了重要作用;同时也揭示了海洋贝类成种的肇始过程,暗示潮间带等边域环境可能是贝类成种的热点区域(方宗杰, 1990),为认知贝类的高物种多样性形成机制提供了新视角(Li *et al*, 2017a, 2018c; Meng *et al*, 2018)。

综上所述,牡蛎广泛而精细的适应性成种机制的发现,刷新了人们对海洋高基因流区域无脊椎动物适应性分化不明显的既往认知,丰富了海洋生物特殊生境的成种理论(Li *et al*, 2018c)。同时,对不同遗传单元的牡蛎进行多层次遗传评估,发现唐山乐亭、青岛即墨、大连长海等群体在糖原含量等方面为优异遗传资源(Li *et al*, 2018c),为后续新品种培育奠定了物质基础。该成果对在全球海洋暖化背景下海洋贝类养殖产业布局和种性优化也有重要的指示意义(Froehlich *et al*, 2018)。

1.3 基因组的高变异性和基因家族的种特异性扩张

作者团队构建了首个贝类全基因组序列精细图

谱(Zhang *et al*, 2012),基于从头预测、同源预测以及转录组组装预测,注释到牡蛎候选基因28027个,对所有的基因进行了功能域注释、功能富集以及KEGG注释,这些基因涉及296个信号通路。筛查出抗性性状相关基因8953个,生长发育性状基因4320个,糖原、氨基酸和脂肪酸等品质性状候选基因903个。发现牡蛎基因组单核苷酸变异位点SNP和插入缺失位点InDel数目分别达到9.8M和0.82M,杂合率为2.3%。利用同源预测结合*de novo*预测的方法,获得牡蛎近201M的重复序列,占整个序列图谱长度的36%;如果把图谱中的间隔区域视为重复序列,则占整个基因组的47%。无论是从基因组杂合性还是从重复序列比例角度看,牡蛎都是基因组多态性最高的动物类群之一(Romiguier *et al*, 2014)。发现牡蛎逆境响应相关的基因进化活跃、且更倾向于存在旁系同源基因,说明相关基因在逆境纯化选择下,倾向于复制后保留。长牡蛎通过对热休克蛋白70(HSP70)、凋亡抑制蛋白(IAP)基因的复制并选择性保留等实现关键基因家族的特异性高度扩张,并通过串联重复形成紧密连锁的基因模块以适应露空窒息和温度骤变等多重高选择压力,形成潮间带特殊生境的高抗种性(Zhang *et al*, 2012, 2016; Meng *et al*, 2013, 2017),并利用其特殊种性形成潮间带的种群优势;还发现牡蛎天然免疫和发育基因也通过基因串联重复的功能分化形成基因模块(Zhang *et al*, 2015),揭示了基因家族的特异性扩张是牡蛎适应环境异质性的组学机制。以上主要成果发表在Nature (Zhang *et al*, 2012),并引起了国际学术界的持续关注,被国际牡蛎研究泰斗Bayne(2017)誉为“牡蛎生物学研究的分水岭”,使我国牡蛎适应进化研究步入国际前列,还引发了牡蛎相关基础研究不断取得新进展(Li *et al*, 2018c; Huan *et al*, 2020),同时也推动长牡蛎成为进化研究的模式贝类(Lim *et al*, 2016)。继牡蛎之后,我国又有多种贝类基因组研究取得重要进展(Du *et al*, 2017; Li *et al*, 2017e; Bai *et al*, 2019; Dong *et al*, 2019; Yan *et al*, 2019),进一步丰富了贝类基因组知识库,为中国和世界贝类和水产生物基础研究和产业发展做出了重要贡献。

在个体基因组研究的基础上,我们进一步研究了群体资源基因组学。首次评估了重组热点在牡蛎全基因组范围的分布,初步阐述了长牡蛎基因组多态性机制,发现大部分重组发生在小比例的序列范围内,即超过75%的重组发生在20%的序列中。首次在群体水平评估了牡蛎的连锁不平衡(LD),结果表明,

牡蛎具有快速衰减的LD水平, 大约50bp时, r^2 值衰减至0.3以下, 300bp时, r^2 值即衰减到0.2。牡蛎快速衰减的LD水平暗示牡蛎具有较高的重组率。同时, 还鉴定出牡蛎部分基因组区域具有较大的LD衰减距离, 后续研究证实其与目标性状高度相关。这表明性状调控相关位点在基因组上具有成簇分布的特点, 形成典型的基因组模块区域, 这也可能是决定牡蛎高糖原等种性的成种基因模块(Speciation gene module)。长牡蛎基因组结构和功能认知, 助推了基因模块育种技术取得突破, 为解析高质牡蛎遗传基础, 破解高质牡蛎创制难题提供了关键支撑。

1.4 50M SNP 资源库和 190k SNP 分型芯片

在完成国际首个贝类基因组序列精细图谱基础上, 我们通过重测序评估了测序深度对牡蛎 SNP 检出率以及基因分型准确性影响, 确定 15×测序深度可保证 SNP 检出率达 80%以上, 这为后续贝类进行遗传多态性评估提供了重要参考(Song *et al.*, 2016)。根据这一结果, 进行了全球 27 个长牡蛎群体, 487 个个体的全基因组深度重测序, 测序数据总量达到 4T。对牡蛎群体中变异位点进行分析, 发现在个体内、个体间和群体水平, 牡蛎基因组多态性呈增加趋势, 分别达到 1.3%、2.3%和 10.0%。获得 50M SNP 位点, 其中 30.2M 在基因间区, 7.7M 在内含子区, 3.3M 在外显子区。这些 SNP 构成了迄今为止规模最大的牡蛎 SNP 资源库。通过优化引物设计和位点选择等参数, 构建了基于高分辨率溶解曲线(HRM)的中等通量的 SNP 分型平台; 通过评估, 开发了针对牡蛎基因组的特异的限制性内切酶组合, 并设计了针对酶切后位点和片段分布评估的程序, 构建了基于牡蛎简化基因组测序的 SNP 标记分型技术; 获得与胁迫响应、能量代谢、生长发育等重要基因通路相关的多态 SNP 标记 1300 多个。此外, 对 5 种巨蛎属常见物种 COI 基因序列进行比对, 鉴定物种特异性 SNP 位点, 构建了基于特异性 SNP 的牡蛎快速鉴定技术。SNP 标记资源库的建立为群体基因组资源的批量开发奠定了基础(Wang *et al.*, 2015, 2016; Li *et al.*, 2018b)。

牡蛎的高繁殖力为动物界之翘楚, 一只牡蛎一次可产数千万枚卵子, 在人工控制条件下, 受精成活率可达 90%以上。高繁殖力是长牡蛎的重要种性特征。而且牡蛎生殖操作简便, 可“解剖取卵”进行体外人工授精、杂交等, 易于进行不同基因模块的定向聚合。因此, 只要能获得优异基因型, 即可较易转化形成优势产业。但由于牡蛎变异性高且子裔数量多,

基因型的筛查工作量巨大。因而优异基因型的获得成为高质牡蛎创制的技术难点。因此, 一张高通量、高精度和高覆盖度的 SNP 分型芯片就显得非常重要。研究团队在 SNP 资源库基础上, 制成首张牡蛎 SNP 分型芯片(Oyster SNP Array, OSA)。该芯片包含 19 万个 SNP 位点, 芯片 SNP 在基因组中的平均分布间隔为 2.8Kb, 是目前贝类中密度最高的 SNP 芯片, 而且 SNP 分型准确率平均达 96.6%。SNP 分布在 4315 个 scaffold 上, 覆盖的 scaffold 长度占牡蛎基因组拼接序列总长度的 95.6%, 覆盖了 22876 个基因, 占预测基因总数的 78.2%, 其中也包含与牡蛎糖原、氨基酸、脂肪酸、硒和锌等经济性性状相关的 SNP 超过 6000 个(Meng *et al.*, 2019, 2020)。OSA 成为优异基因型的大规模精准快速筛查和基因组资源产业高效转化的关键技术(Qi *et al.*, 2017)。

2 牡蛎基因模块育种

2.1 品质性状遗传力和表型性状相关性

利用全同胞家系进行性状遗传力和表型相关性分析。糖原、蛋白质、脂肪、硒、锌、壳高、壳长、壳宽和软体重的遗传力分别为 0.41、0.34、0.53、0.39、0.02、0.56、0.6、0.22 和 0.39。个体间糖原含量变化范围为干重的 1.81%—40.90%(CV=0.32), 表明糖原含量具可选择性($R < 0.2$)(Liu *et al.*, 2019a)。系统评估了性状间的相关性, 发现糖原与壳高等体尺性状相关性较弱($R < 0.13$), 与蛋白质含量呈负相关($R = -0.95 \pm 0.004$), 与脂肪含量呈弱正相关($R = 0.16 \pm 0.06$)(Liu *et al.*, 2019b); 阐明高糖原个体因具有更高的代谢水平从而具更高的抗逆性(Li *et al.*, 2017c)。发现短期饥饿(< 50h)没有显著改变糖原、蛋白和脂肪含量($P > 0.05$), 但糖原含量受繁殖行为影响, 非繁殖期整个软体部可食部分的糖原含量均较高, 并与出肉率呈正相关, 即高糖原个体出肉率也较高。欧美有“R”月吃牡蛎的习俗。因此, 应以非繁殖季节为育种亲本选择的窗口期(Liu *et al.*, 2020)。

2.2 糖原等经济性性状的 QTL 分析

美国学者 Eric S. Lander 于 1996 年正式提出单核苷酸多态性(SNP)为第三代分子标记后(Kruglyak *et al.*, 1996), SNP 已被广泛应用于生物经济性性状关联分析、遗传连锁图谱构建和人类健康等研究领域, 同时也推动了牡蛎及贝类遗传学和育种技术发展(2013; Hedgecock *et al.*, 2002, 2007; Yu *et al.*, 2003, 2006; Li *et al.*, 2004; Hubert *et al.*, 2004; Guo *et al.*, 2004, 2012;

Lallias *et al.*, 2007, 2009; Perry *et al.*, 2008; Sauvage *et al.*, 2010; Plough *et al.*, 2011; Stick *et al.*, 2012; Ge *et al.*, 2014; Jiao *et al.*, 2014; Shi *et al.*, 2014; Zhong *et al.*, 2014)。为进行经济性状定位, 我们分别以乐亭和青岛长牡蛎个体为母本和父本, 构建全同胞家系, 并从中随机选取 169 个个体, 结合双酶切 GBS(Genotyping by sequencing)等方法获得 SNP 标记, 构建高密度遗传图谱。5024 个单倍型标记分布于整合图谱的 10 条染色体连锁群, 图谱总长 1982.07cM, 特异性位点平均间距 0.68cM, 是目前长牡蛎中密度最高的遗传连锁图谱。同时, 利用图谱首次将约 70% 的基因组 scaffold 定位于连锁群上。此外, 将生长、发育、代谢、品质等性状定位到 94 个 QTLs 区间, 其中与生长性状显著相关的基因包括 *AMY* 和 *FGFR*, 同时定位到的多个基因直接参与氨基酸、脂肪酸代谢调控和转运, 如 *P5CS*、*rBAT*、*PLSCR*、*GHSR* 和 *ADAMTS* 等(Li *et al.*, 2018b)。与生长相关的 68 个 QTLs 中, 7 个 QTLs 解释了壳高总表型变异的 35.3%, 3 个 QTL 解释了壳长性状总表型变异的 20.1%, 10 个 QTL 解释了壳宽总表型变异的 50.8%, 1 个 QTL 解释了个体全湿重总表型变异的 7.7%, 6 个 QTL 解释了出肉率总表型变异的 34.1%(Wang *et al.*, 2016)。糖原等肉质性状共定位 26 个 QTL 区间, 解析的表型变异率在 8.1%—48.9% (Li *et al.*, 2018b)。在杂交家系整合图谱的 1694 个标记中, 836 个表现出了偏离孟德尔分离比的现象($P < 0.05$)。偏分离标记倾向于成簇分布于连锁群上, 超过一半的与生长有关的 QTL 位点成簇分布于它们各自的连锁群上, 在 5 个生长性状中, 4 个性状相关 QTLs 在连锁群 A8 上, 表明该连锁群富集了调控生长的基因。该结果为功能基因和基因模块的发掘提供了线索。

2.3 全基因组关联分析及糖原模块的基因组定位

新的基因分型技术推进了基因组资源的高效利用(Wang *et al.*, 2012)。全基因组关联分析(GWAS)已用于水产动物育种(Gonzalez *et al.*, 2016; Gutierrez *et al.*, 2018a, 2018b)。在重测序的基础上, 对牡蛎 486 个家系材料进行 GWAS 分析, 发现一批与糖原含量相关的紧密连锁的基因组模块, 对其中 3 个模块进行了基因组定位。模块 S1243 在牡蛎基因组 scaffold1243 的 16015—67096bp 范围内有 67 个 SNP 位点, 包括有 6 个基因; 模块 S426 在牡蛎基因组 scaffold426 的 290451—307883bp 范围内有 39 个 SNP 位点, 包括有 4 个基因; 模块 S1597 在牡蛎基因组 scaffold1597 的 36512—37583bp 范围内有 7 个 SNP 位点, 包括有 6

个基因。确定了各模块的主导标记(Leading SNP), 并对这些基因模块进行多个群体验证, 并利用反向遗传学方法对基因进行功能解析, 将不同基因型与基因表达、糖原含量以及基因功能建立耦联(Li *et al.*, 2017b, 2017c)。此外, 还批量发掘了氨基酸和脂肪酸含量等相关性状的关键基因, 获得了 300 余个相关性分子标记。性状基因模块的成功发掘, 使性状精准多标的遗传改良成为可能(薛永彪等, 2018; Meng *et al.*, 2019)。

2.4 品质性状基因模块育种

牡蛎的遗传改良日益受到重视, 近些年取得较快进展, 新品种不断涌现。李琪教授团队 2014 年育成我国首个牡蛎新品种“海大 1 号”后, 又育成“海大 2 号”和“海大 3 号”等系列新品种; 喻子牛研究员团队 2015 年育成“华南 1 号”等新品种, 曾志南研究员团队 2017 年育成“金蛎 1 号”新品种, 这些新品种的育成和应用有力地推动了牡蛎产业的发展。此外, “青岛前沿海洋种业有限公司”在牡蛎三倍体的推广应用方面做出了重要贡献。但中国牡蛎育种与国际其他贝类一样, 大多还是重点关注于包括生长和抗病等产量性状的遗传改良, 而对糖原含量等品质性状的遗传改良因手段创新性不够等原因进展缓慢。

作者团队在资源基因组学的基础上(Zhang *et al.*, 2012), 建立了基因模块育种技术并应用于高糖原牡蛎产品的遗传创制, 并育成“海蛎 1 号”高糖原牡蛎新品种。基因模块育种是指综合运用分子生物学、基因组学和系统生物学等相关技术, 通过鉴定目标性状相关的主导基因及多基因网络构成的基因模块, 并将其作为一个遗传单元进行性状改良的技术。处于一个模块的基因在分布和功能上高度关联, 是种性的遗传基础(Hausdorsf, 2011; Bayne, 2017)。长牡蛎“海蛎 1 号”选育过程中就通过基因模块内主导标记的鉴定, 实现了基于少数分子标记的基因模块育种。可以预见到基于少数标记的基因模块育种技术必将以其低成本、高效率和强可操作性等优势在水产动物种业发展中发挥重要作用。

通过对我国沿海长牡蛎不同地理群体进行种性综合测评, 优选了河北乐亭群体作为长牡蛎“海蛎 1 号”新品种创制的基础群体, 并构建育种核心家系。经过 F_1 和 F_2 连续二代家系选育, 糖原含量提高 9.36%, 平均每代提高 4.68%。从共计 290 个 F_2 核心家系的每个家系随机选取 30 个个体, 测评其糖原含量。取糖原含量育种值前 50% 的家系, 采用本团队通过 GWAS

获得的糖原相关基因模块(S1243、S426 和 S1597)及高通量基因芯片, 筛查 145 个家系对应亲本的基因型, 将双亲均含不利纯合基因型的家系剔除, 获得 68 个候选家系; 在 F_3 基础上又开发了 1 个新模块 S340 以替换效率较低的模块(S1597), 并另外加入 1 个新的 SNP 标记(TY202)。在每个家系中随机选取 20 个个体, 每个个体用数字标签黏贴在右壳壳顶处, 采用鳃组织微创取样技术, 对 1360 个个体进行芯片筛查, 从中选取糖原含量具有优势的二倍型组合的 200 个个体作为繁育候选亲本。分别获取候选亲本的配子, 采用群繁方式获得高糖原品系 F_4 , 生产测试糖原含量较对照平均提高 25.37%。 F_3 和 F_4 每世代平均提高 7.65%, 较前两代家系育种效率平均提高了 65.81%。在 3 个牡蛎主养区完成了连续两年的生产性能对比测试, “海蛎 1 号”的糖原含量性状改良效果显著, 品质显著提高。通过全人工室内育苗技术, 培育“海蛎 1 号”种苗并进行单体塑形养殖。养殖利润较常规品种提高 2—3 倍。长牡蛎“海蛎 1 号”新品种已通过全国水产原种和良种审定委员会的审定。

3 高质牡蛎单体塑形养殖

3.1 种苗单体化规模制备

牡蛎喜群聚, 互相紧密粘连挤压, 外壳多有不整, 传统多以剝肉出售, 产品价值及市场容量有限。单体化有利于产品质量、食品安全控制以及在线销售和市场扩展, 是实现鲜活牡蛎高值化的必由之路, 也是牡蛎品相优化的前提。但单体牡蛎生产需要从种苗做起。此前, 单体牡蛎种苗的制备方法多有不足(杨爱国等, 1995; Coon *et al*, 1986; Soniat *et al*, 1991), 如环境风险和成本高等, 迫切需要一种工艺稳定、操作方便、无毒无害、生态绿色的单体牡蛎制备技术。利用牡蛎附着变态阶段的生物学特性, 并结合上升流和下降流物理学原理进一步优化了单体牡蛎育苗装置(谭林涛等, 2016)。在 20m^2 的育苗池内一般可布置 24 个育苗桶(约 15L/桶), 每个育苗桶都是一个独立的水流系统, 可有效避免相互间的病原感染。生产当中可根据不同规格的稚贝更换不同网目的筛网, 同时根据种苗培育不同阶段的需求, 只要调整进出水的位置就可完成下降流与上升流的自由转换, 任意育苗桶的水流方向和流速都可单独调节控制, 使得在同一育苗池内可实现不同组、不同流向的培养模式并存。选用人工选育的高质牡蛎亲本催产孵化幼虫, 经过约 20 天培育到眼点幼虫后, 即可进入特殊专用装

置, 进行高密度单体牡蛎种苗制备。每个育苗桶投放眼点幼虫约 40 万个(密度 20—30 个/mL), 此阶段采用下降流进行培养。经过 3—5 天培育, 幼虫完全变态为稚贝后再采用上升流进行培养, 经过约 25 天稚贝生长到壳长 2—3mm, 即可出桶装网袋下海保苗。经多年生产实践, 使用单体牡蛎育苗装置, 从眼点幼虫到出桶(池), 稚贝成活率达 82%, 优型率达 95%, 每批次生产稚贝约 32.8 万粒/桶, 787.2 万粒/ 20m^2 育苗池, 兼具壳型优、易于放养等优点, 为单体塑形育肥养成奠定了基础。目前根据高端养殖客户订单数量, 产能在 1.5—3.0 亿粒/年。

3.2 高质牡蛎品相塑造与增肥

作者团队与地方产业部门合作, 制定了“乳山牡蛎”地方标准(谭林涛等, 2020), 并通过乳山市主管部门进行县域规模的推广应用。在高糖原模块选育和种苗单体化规模制备的基础上, 进一步采用设施塑形养殖技术, 进行杯状壳型的重塑, 以提高产品品相和高端市场的认可度。设计制成专用塑形筐用于塑形养成(曾志南等, 2014)。塑形筐为单层无毒注塑筐, 其既可用于养殖单体牡蛎, 又可利用其特殊结构优化牡蛎壳形。塑形筐四边和底部设有多个孔洞, 上部敞口, 底部设有缺刻的隔条, 隔条将注塑筐底部分割成多个养殖单元; 塑料盖为方形, 并设有多个孔, 孔径 3—4cm; 数个塑形筐上下叠置, 用聚乙烯绳串成一串。根据养殖区水深, 一组养成装置可有 5—7 层, 当牡蛎生长至 10—12 个/kg 规格时, 每筐装牡蛎 20—24 个, 每吊 150 个牡蛎。由于牡蛎在筐内固定间隔中生活并随海浪轻微滚动, 使双壳边缘外向生长受阻, 并随着生长致壳型由扁平逐渐变成扁圆, 壳腔容积增大, 有利于增加出肉率, 而且个体大小均匀规则、外壳光滑少棘刺, 无附着物或污损生物。经过数月养殖, 成活率 85%, 优型率 92%, 是传统养殖效率的 3 倍; 个体全湿重达 100g 以上。在此基础上, 还依据不同季节海域饵料生物在不同水层的丰度变化, 对适养水层进行调控以进一步增肥, 出肉率达 20%—23%, 可与国际著名品牌媲美。开壳后软体部色泽总体呈乳白色, 充实饱满, 表面无泥沙等肉眼可见的外来污物或杂物, 外套膜边缘有清晰的黑色素沉着, 肥美甜脆, 清冽爽滑。单体塑形增肥技术进一步增强了牡蛎产品与高端市场的友好对接, 获得了进入高端市场“通行证”。

4 结语

经过各方面多年的持续努力, 通过多种技术的

集成和优化,建立了具有国际影响力的高质牡蛎创制理论和技术体系,并在县域规模进行一体化应用示范,支撑了全国生鲜牡蛎行业第一品牌“乳山牡蛎”的形成和发展,推动实现牡蛎产业由低质低效向高质高效的嬗变,带动了我国最大宗养殖贝类—牡蛎产业的提质增效和高质量发展。我国近十余年间牡蛎产量增加 56.1%,年产值由 18.8 亿元美元增加到 52.55 亿美元,其间产量年增长 3.35%,而产值年增加 10.82%,产值增加比产量增加快 3 倍(慕永通, 2020, 未发表数据),国际市场占有率提高 32.3%。牡蛎已成为中国海水养殖产量最大的主养品类(张显良, 2020),也是为数不多的保持量效齐增的主养水产品种之一,这也标志着我国牡蛎产业已进入高质量发展阶段,我国正在由牡蛎养殖大国向强国转变。

致谢 该项研究先后得到科技部 973 计划项目(2010CB126401, 2010CB126402)、863 计划课题(2010AA10A110, 2012AA10A405-1)、国家重点研发计划课题(2018YFD0900304)、国家自然科学基金重点项目(40730845, 31530079)、农业部国家贝类产业技术体系(CARS-49)、中国科学院战略性先导科技专项(XDA23050402, XDA24030105)和山东省重点研发计划(2019JZZY010813)等的支持;本文所述的主要成果是作者团队全体成员长期共同努力的结果;其间还得到美国新泽西州立大学郭希明教授的大力支持和帮助;此外,成果的完成还得到乳山市水产技术推广站谭林涛站长、福建省水产研究所曾志南研究员等的支持和帮助;孟杰博士、黎奥博士、亓海刚博士、王威先生和刘明坤先生等在本文成文过程中提出诸多宝贵建议;在此一并感谢。在本文完成之际还特别怀念我们的导师张福绥院士,是他指明了我们牡蛎研究的方向。特将此文献给尊敬的张福绥先生和中国科学院海洋研究所成立七十周年。

参 考 文 献

方宗杰, 1990. 边域成种、成种事件与物种概念—从假蚊蚌类的演化谈起. 见: 戎嘉余, 方宗杰, 吴同甲主编. 理论古生物学文集. 南京: 南京大学出版社, 35—49

李孝绪, 齐钟彦, 1994. 中国牡蛎的比较解剖学及系统分类和演化的研究. 海洋科学集刊, (35): 143—178

杨爱国, 牛锡端, 沈决奋等, 1995. 太平洋牡蛎单体苗种生产及养殖技术的研究. 中国水产科学, 2(3): 29—35

张显良, 2020. 中国渔业统计年鉴. 北京: 中国农业出版社出版

桂建芳, 包振民, 张晓娟, 2016. 水产遗传育种与水产种业发展战略研究. 中国工程科学, 18(3): 8—14

章超桦, 秦小明, 2014. 贝类加工与利用. 北京: 中国轻工业出版社

曾志南, 宁岳, 祁剑飞等. 一种浅海牡蛎单体养殖方法, 中国:

ZL 201410176922.8. 2014-8-6

谭林涛, 张国范, 王晓通等. DB37/T3928-2020 地理标志产品乳山牡蛎

谭林涛, 侯仕营, 王航宁等. 一种单体牡蛎育苗装置, 中国: ZL 201521074128.9. 2016-8-10

薛勇彪, 种康, 韩斌等, 2018. 创新分子育种科技 支撑我国种业发展. 中国科学院院刊, 33(9): 893—899

Bai C M, Xin L S, Rosani U *et al*, 2019. Chromosomal-level assembly of the blood clam, *Scapharca (Anadara) broughtonii*, using long sequence reads and Hi-C. *GigaScience*, 8(7): 1—8

Bayne B, 2017. *Biology of Oysters*. London, United Kingdom: Academic Press

Coon S L, Bonar D B, Weiner R M, 1986. Chemical production of cultchless oyster spat using Epinephrine and Norepinephrine. *Aquaculture*, 58(3—4): 255—262

Dong Y H, Zeng Q F, Ren J F *et al*, 2019. The chromosomal-level genome assembly and comprehensive transcriptomes of Chinese razor clam (*Sinonovacula constricta*) with deep-burrowing life style and broad-range salinity adaptation. <http://dx.doi.org/10.1101/735142>

Du X D, Fan G Y, Jiao Y *et al*, 2017. The pearl oyster *Pinctada fucata martensii* genome and multi-omic analyses provide insights into biomineralization. *GigaScience*, 6(8): 1—12

Duarte C M, Agusti S, Barbier E *et al*, 2020. Rebuilding marine life. *Nature*, 580(7801): 39—51

Froehlich H E, Gentry R R, Halpern B S, 2018. Global change in marine aquaculture production potential under climate change. *Nature Ecology and Evolution*, 2(11): 1745—1750

Ge J L, Li Q, Yu H *et al*, 2014. Identification and mapping of a SCAR marker linked to a locus involved in shell pigmentation of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture*, 434: 249—253

Ghaffari H, Wang W, Li A *et al*, 2019. Thermotolerance divergence revealed by the physiological and molecular responses in two oyster subspecies of *Crassostrea gigas* in China. *Frontiers in Physiology*, 10: 1137

Gonzalez-Pena D, Gao G T, Baranski M *et al*, 2016. Genome-wide association study for identifying loci that affect fillet yield, carcass, and body weight traits in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Frontiers in Genetics*, 7: 203

Gui J F, 2015. Scientific frontiers and hot issues in hydrobiology. *Chinese Science Bulletin*, 60(22): 2051—2057

Gui J F, Zhu Z Y, 2012. Molecular basis and genetic improvement of economically important traits in aquaculture animals. *Chinese Science Bulletin*, 57(15): 1751—1760

Guo X M, 2009. Use and exchange of genetic resources in molluscan aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 1(3—4): 251—259

Guo X M, Li C, Wang H Y *et al*, 2018. Diversity and evolution of living oysters. *Journal of Shellfish Research*, 37(4): 755—771

Guo X M, Wang Y, Yu Z N, 2004. Physical and linkage mapping in the eastern oyster (*Crassostrea virginica* Gmlin). *Journal of Shellfish Research*, 23(1): 294—295

- Guo X, Li Q, Wang Q Z *et al*, 2012. Genetic mapping and QTL analysis of growth-related traits in the Pacific Oyster. *Marine Biotechnology*, 14(2): 218—226
- Gutierrez A P, Bean T P, Hooper C *et al*, 2018a. A Genome-wide association study for host resistance to ostreid herpesvirus in Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *G3*, 8(4): 1273—1280
- Gutierrez A P, Matika O, Bean T P *et al*, 2018b. Genomic selection for growth traits in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*): potential of low-density marker panels for breeding value prediction. *Frontiers in Genetics*, 9: 391
- Hausdsorf B, 2011. Progress toward a general species concept. *Evolution*, 65(4): 923—931
- Hedgecock D, Hubert S, Li G *et al*, 2002. A genetic linkage map of 100 microsatellite markers for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Journal of Shellfish Research*, 21(1): 381
- Hedgecock D, Perry G M L, Voigt M L, 2007. Mapping heterosis QTL in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*, 272 Suppl 1: S267—S268
- Hu L S, Wang H Y, Zhang Z *et al*, 2019. Classification of small flat oysters of *Ostrea stentina* species complex and a new species *Ostrea neostentina* sp. nov. (Bivalvia: Ostreidae). *Journal of Shellfish Research*, 38(2): 295—308
- Huan P, Wang Q, Tan S J *et al*, 2020. Dorsoventral decoupling of Hox gene expression underpins the diversification of molluscs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(1): 503—512
- Hubert S, Hedgecock D, 2004. Linkage maps of microsatellite DNA markers for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Genetics*, 168(1): 351—362
- Jiao W Q, Fu X T, Dou J Z *et al*, 2014. High-resolution linkage and quantitative trait locus mapping aided by genome survey sequencing: building up an integrative genomic framework for a bivalve mollusc. *DNA Research*, 21(1): 85—101
- Kruglyak L, Daly M J, Reeve-Daly M P *et al*, 1996. Parametric and nonparametric linkage analysis: a unified multipoint approach. *American Journal of Human Genetics*, 58: 1347—1363
- Lallias D, Beaumont A R, Haley C S *et al*, 2007. A first-generation genetic linkage map of the European flat oyster *Ostrea edulis* (L.) based on AFLP and microsatellite markers. *Animal Genetics*, 38(6): 560—568
- Lallias D, Gomez-Raya L, Haley C S *et al*, 2009. Combining two-stage testing and interval mapping strategies to detect QTL for resistance to bonamiosis in the European flat oyster *Ostrea edulis*. *Marine Biotechnology*, 11(5): 570—584
- Lam K, Morton B, 2003. Mitochondrial DNA and morphological identification of a new species of *Crassostrea* (Bivalvia: Ostreidae) cultured for centuries in the Pearl River delta, Hong Kong, China. *Aquaculture*, 228(1—4): 1—13
- Lam K, Morton B, 2004. The oysters of Hong Kong (Bivalvia: Ostreidae and Gryphaeidae). *The Raffles Bulletin of Zoology*, 52(1): 11—28
- Li A, Li L, Song K *et al*, 2017a. Temperature, energy metabolism, and adaptive divergence in two oyster subspecies. *Ecology and Evolution*, 7(16): 6151—6162
- Li A, Li L, Wang W *et al*, 2018a. Transcriptomics and fitness data reveal adaptive plasticity of thermal tolerance in oysters inhabiting different tidal zones. *Frontiers in Physiology*, 9: 825
- Li A, Li L, Wang W *et al*, 2019. Evolutionary trade-offs between baseline and plastic gene expression in two congeneric oyster species. *Biology Letters*, 15(6): 20190202
- Li A, Li L, Wang W *et al*, 2020. Acetylome analysis reveals population differentiation of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in response to heat stress. *Marine biotechnology*, 22(2): 233—245
- Li B S, Meng J, Li L *et al*, 2017b. Identification and functional characterization of the glycogen synthesis related gene glycogenin in Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(35): 7764—7773
- Li B S, Song K, Meng J *et al*, 2017c. Integrated application of transcriptomics and metabolomics provides insights into glycogen content regulation in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *BMC Genomics*, 18: 713
- Li C Y, Wang J P, Song K *et al*, 2018b. Construction of a high-density genetic map and fine QTL mapping for growth and nutritional traits of *Crassostrea gigas*. *BMC Genomics*, 19: 626
- Li C, Haws M, Wang H Y *et al*, 2017d. Taxonomic classification of three oyster (Ostreidae) species from Myanmar. *Journal of Shellfish Research*, 36(2): 365—371
- Li L, Guo X M, 2004. AFLP-based genetic linkage maps of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* Thunberg. *Marine Biotechnology*, 6(1): 26—36
- Li L, Li A, Song K *et al*, 2018c. Divergence and plasticity shape adaptive potential of the Pacific oyster. *Nature Ecology & Evolution*, 2(11): 1751—1760
- Li Y L, Sun X Q, Hu X L *et al*, 2017e. Scallop genome reveals molecular adaptations to semi-sessile life and neurotoxins. *Nature Communications*, 8: 1721
- Lim H J, Lim J S, Lee J S *et al*, 2016. Transcriptome profiling of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* by Illumina RNA-seq. *Genes and Genomics*, 38(4): 359—365
- Liu S, Li L, Meng J, Song K *et al*, 2019a. Association and functional analyses revealed that PPP1R3B plays an important role in the regulation of glycogen content in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Frontiers in Genetics*, 10: 106
- Liu S, Li L, Wang W *et al*, 2020. Characterization, fluctuation and tissue differences in nutrient content in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in Qingdao, northern China. *Aquaculture Research*, 51(4): 1353—1364
- Liu S, Li L, Zhang S D *et al*, 2019b. Heritability estimates for nutritional quality-related traits of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 50(4): 738—748
- Meng J, Song K, Li C Y *et al*, 2019. Genome-wide association analysis of nutrient traits in the oyster *Crassostrea gigas*: genetic effect and interaction network. *BMC Genomics*, 20(1): 625

- Meng J, Wang T, Li L *et al*, 2018. Inducible variation in anaerobic energy metabolism reflects hypoxia tolerance across the intertidal and subtidal distribution of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Marine Environmental Research*, 138: 135—143
- Meng J, Zhu Q H, Zhang L L *et al*, 2013. Genome and transcriptome analyses provide insight into the euryhaline adaptation mechanism of *Crassostrea gigas*. *PLoS ONE*, 8(3):e58563
- Meng J, Wang W X, Li L *et al*, 2017. Cadmium effects on DNA and protein metabolism in oyster (*Crassostrea gigas*) revealed by proteomic analyses. *Scientific Reports*, 7(1): 11716
- Meng J, Wang W X, Shi R *et al*, 2020. Identification of SNPs involved in Zn and Cu accumulation in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) by genome-wide association analysis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 192: e110208
- Perry G N L, Voigt M L, Hedgecock D, 2008. Mapping QTL controlling growth and body size in the Pacific oyster. *Journal of Shellfish Research*, 27(4): 1040
- Plough L V, Hedgecock D, 2011. Quantitative trait locus analysis of stage-specific inbreeding depression in the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*. *Genetics*, 189(4): 1473—1486
- Qi H G, Song K, Li C Y *et al*, 2017. Construction and evaluation of a high-density SNP array for the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *PLoS One*, 12(3): e0174007
- Ren J F, Hou Z H, Wang H Y *et al*, 2016. Intraspecific variation in mitogenomes of five *Crassostrea* species provides insight into oyster diversification and speciation. *Marine Biotechnology*, 18(2): 242—254
- Romiguier J, Gayral P, Ballenghien M *et al*, 2014. Comparative population genomics in animals uncovers the determinants of genetic diversity. *Nature*, 515: 261—263
- Salvi D, Mariottini P, 2017. Molecular taxonomy in 2D: a novel ITS2 rRNA sequence-structure approach guides the description of the oysters' subfamily Saccostreinae and the genus *Magallana* (Bivalvia: Ostreidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 179(2): 263—276
- Sauvage C, Boudry P, De Koning D J *et al*, 2010. QTL for resistance to summer mortality and OsHV-1 load in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Animal Genetics*, 41(4): 390—399
- Shi Y H, Wang S, Gu Z F *et al*, 2014. High-density single nucleotide polymorphisms linkage and quantitative trait locus mapping of the pearl oyster, *Pinctada fucata martensii* Dunker. *Aquaculture*, 434: 376—384
- Song K, Li L, Zhang G F, 2016. Coverage recommendation for genotyping analysis of highly heterologous species using next-generation sequencing technology. *Scientific Report*, 6: 35736
- Soniat T M, Broadhurst R C, Haywood E L, 1991. Alternatives to clamshell as cultch for oysters, and the use of gypsum for the production of cultchless oysters. *Journal of Shellfish Research*, 10(2): 405—410
- Stick D A, Camara M D, 2012. Identification and mapping of growth-related QTL using microsatellite and AFLP markers for the Pacific oyster. *Journal of Shellfish Research*, 31(1): 349
- Wang H Y, Guo X M, Zhang G F *et al*, 2004. Classification of Jinjiang oysters *Crassostrea rivularis* (Gould, 1861) from China, based on morphology and phylogenetic analysis. *Aquaculture*, 242(1—4): 137—155
- Wang H Y, Qian L M, Liu X *et al*, 2010. Classification of a common cupped oyster from southern China. *Journal of Shellfish Research*, 29(4): 857—866
- Wang H Y, Zhang G F, Liu X *et al*, 2008. Classification of common oysters from North China. *Journal of Shellfish Research*, 27(3): 495—503
- Wang J F, Qi H G, Li L *et al*, 2015. Discovery and validation of genic single nucleotide polymorphisms in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Molecular Ecology Resources*, 15(1): 123—135
- Wang J P, Li L, Zhang G F, 2016. A high-density snp genetic linkage map and qtl analysis of growth-related traits in a hybrid family of oysters (*Crassostrea gigas* × *Crassostrea angulata*) using genotyping-by-sequencing. *G3*, 6: 1417—1426
- Wang S, Meyer E, McKay J K *et al*, 2012. 2b-RAD: a simple and flexible method for genome-wide genotyping. *Nature Methods*, 9(8): 808—810
- Wu Q, Li L, Zhang G F, 2011a. *Crassostrea angulata* bindin gene and the divergence of fucose-binding lectin repeats among three species of *Crassostrea*. *Marine Biotechnology*, 13(2): 327—335
- Wu Q, Xu F, Bao Y B *et al*, 2011b. Bindin gene from the Kumamoto oyster *Crassostrea sikamea*, and divergence of the fucose lectin repeats of bindin among three species of *Crassostrea*. *Journal of Shellfish Research*, 30(1): 55—64
- Wu X Y, Xiao S, Yu Z N, 2013. Mitochondrial DNA and morphological identification of *Crassostrea zhanjiangensis* sp. nov. (Bivalvia: Ostreidae): a new species in Zhanjiang, China. *Aquatic Living Resources*, 26(4): 273—280
- Xia J J, Wu X Y, Xiao S *et al*, 2014. Mitochondrial DNA and morphological identification of a new cupped oyster species *Crassostrea dianbaiensis* (Bivalvia: Ostreidae) in the South China Sea. *Aquatic Living Resources*, 27(1): 41—48
- Xu F, Li L, Wang J F *et al*, 2014. Use of high-resolution melting analysis for detecting hybrids between the oysters *Crassostrea sikamea* and *C. angulata* reveals bidirectional gametic compatibility. *Journal of Molluscan Studies*, 80(4): 435—443
- Xu F, Zhang G F, Liu X *et al*, 2009. Laboratory hybridization between *Crassostrea ariakensis* and *C. sikamea*. *Journal of Shellfish Research*, 28(3): 453—458
- Yan X W, Nie H T, Huo Z M *et al*, 2019. Clam genome sequence clarifies the molecular basis of its benthic adaptation and extraordinary shell color diversity. *iScience*, 19: 1225—1237
- Yu Z N, Guo X M, 2003. Genetic linkage map of the eastern oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. *The Biological*

- Bulletin, 204(3): 327—338
- Yu Z N, Guo X M, 2006. Identification and mapping of disease-resistance QTLs in the eastern oyster, *Crassostrea virginica* Gmelin. *Aquaculture*, 254(1—4): 160—170
- Zhang G F, Fang X D, Guo X M *et al*, 2012. The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation. *Nature*, 490(7418): 49—54
- Zhang G F, Li L, Meng J *et al*, 2016. Molecular basis for adaptation of oyster to stressful marine intertidal environments. *Annual Review of Animal Biosciences*. 4(1): 357—381
- Zhang L L, Li L, Guo X M *et al*, 2015. Massive expansion and functional divergence of innate immune genes in a protostome. *Scientific Reports*, 5: 8693
- Zhong X X, Li Q, Guo X *et al*, 2014. QTL mapping for glycogen content and shell pigmentation in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* using microsatellites and SNPs. *Aquaculture International*, 22(6): 1877—1889

AN EVOLUTION OF OYSTER MARICULTURE INDUSTRY IN CHINA: NEW KNOWLEDGE , VARIETY AND PRODUCT

ZHANG Guo-Fan^{1, 2, 3, 5}, LI Li^{1, 3, 4, 5}, QUE Hua-Yong^{1, 2, 3, 5}

(1. Key Laboratory of Experimental Marine Biology, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Laboratory for Marine Biology and Biotechnology, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266237, China; 3. Center for Ocean Mega-Science, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 4. Laboratory for Marine Fisheries and Food Production Processes, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266237, China; 5. National and Local Joint Engineering Laboratory of Ecological Mariculture, Qingdao 266071, China)

Abstract The oyster, as major marine bio-resources, has become one of the most important maricultural species world-wide. Although oysters have been cultured for a long history, the lack of high-quality oysters hinders the improvement of both efficiency and economic return of the industry. High-quality and good shell-shaping oysters dominate the high end international market. To address high-quality oysters production in China, we investigated the composition and distribution of *Crassostrea* sp., followed by construction of the first whole-genome sequence map, revealing high variability of the genome and significant specific expansion of gene families. A 50-million level SNPs resource library was constructed and 190K gene chip for genotyping was built following re-sequencing of global 27 populations with a total of 487 individuals. Resourceomics progress paves the road for innovation of high-quality oysters. The gene modules which involved in the regulation of glycogen content have been located in the genomes. Gene-module assisted selective breeding technique was established to improve the meat quality, as evidenced the breeding of Haili No. 1, a new variety with high glycogen content. The breeding efficiency improved by 65.81%, solving the problem of nutrition content selection in oysters. Cultchless oyster preparation technique is built on the base of characteristics of oyster metamorphism, as well as utilization of both up-welling and down-welling systems. The harvest of cultchless oysters was improved by 3 times. The application of both shell-remolding grow-out technique and optimization of grow-out water depth helps the production of high-quality oyster, in which the meat rate and good shell-shape approximated to 20%—23% and 92%, respectively. Cultchless oyster preparation and shell-remolding grow-out technique ensures the oysters to reach the standard of international brands of oysters. A standardized culture technique of high-quality oyster has been formulated and implemented on a county scale, supporting the forming of the leading brand of Rushan Oyster, in which the over-all economic return increases 2—3 times compared to the previous culture techniques. Rushan Oyster promotes the improvement of industry quality and efficiency, as well as upgrading of oyster mariculture industry.

Key words genomics; gene module; new variety; cultchless remolding; high-quality oyster