

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2016.16012

壳金长牡蛎自交和杂交家系生长与存活比较

王雪磊, 李琪, 孔令锋, 于红, 于瑞海

中国海洋大学 海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003

摘要: 选择具有生长优势的长牡蛎(*Crassostrea gigas*)G2(A)家系及具有明显生长和存活优势的 G19(B)和 G28(C)家系进行完全双列杂交, 得到包括 3 个自交组(AA、BB、CC)和 6 个杂交组(AB、AC、BA、BC、CA、CB)共 9 个壳金长牡蛎实验组, 分析各实验组在幼虫期及稚贝期不同日龄的各生长指标和存活性能, 并评估了杂交组的杂种优势。结果表明, 在整个培育阶段, 大多数杂交组在不同生长时期均表现出较高的生长和存活性能, 其中, 浮游幼虫期 5 日龄, 所有杂交组的壳高和壳长均显著大于自交组($P<0.05$); 10 日龄后, 杂交组 CB、BC 和 AC 的壳高显著大于相应的自交组($P<0.05$), 杂种优势明显; 稚贝期 85 和 130 日龄, 杂交组 CB 的壳高性能大于其他实验组。浮游幼虫期 10 日龄, CB 组存活率显著大于 AA、CA 组($P<0.05$); 稚贝期 85 日龄后, 杂交组 AC、CA 和 CB 的存活率杂种优势逐渐增大; 190 日龄, 杂交组 AC、BC 与自交组 AA、CC 之间存活率差异显著($P<0.05$)。研究结果为壳金长牡蛎新品种的培育及杂种优势的充分利用奠定了重要基础。

关键词: 长牡蛎; 壳金; 生长; 存活; 杂种优势

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2016)06-1358-10

长牡蛎(*Crassostrea gigas*), 也称太平洋牡蛎, 属于软体动物门, 瓣鳃纲(Lamellibranchia), 翼形亚纲(Pteriomorpha), 珍珠贝目(Pterioidea), 牡蛎科(Ostreidae), 巨蛎属, 是世界性的重要经济贝类^[1]。中国是牡蛎养殖大国, 2014 年养殖产量达 435 万 t, 比上年增长 3.16%^[2]。为了适应市场对良种的需求, 运用群体选育的方法对长牡蛎进行了遗传改良, 已培育出了具有生长速度快、壳型规则等特点的长牡蛎‘海大 1 号’。

贝类壳色作为一个重要的表现性状, 一直受到育种工作者的重视, 在大多数海洋经济贝类中, 育种工作者都开展了壳色性状的相关选育工作, 相继培育出了多个壳色新品系或新品种^[3-5]。目前, 针对长牡蛎壳色的多态性研究, 国内学者已从长牡蛎养殖群体中筛选出了金色、白色、黑色、紫色等壳色类型, 且比较了不同壳色家系子代的表型性状, 发现金壳色家系后代表现出较高的生长

和存活优势^[6]。由于金壳色通常为人们所喜好, 培育具有金壳色性状且生长快的长牡蛎新品种, 可以满足市场对长牡蛎壳色品种的需求, 进而提高长牡蛎的商品价值, 这对于长牡蛎产业持续健康发展具有重要意义。

杂交育种是生物重要的育种方法之一, 已经在水产动物的品种改良和生产中得到了大量的应用^[7-9]。目前, 有关牡蛎杂交育种的研究主要集中于种(属)间杂交^[10-12]和不同群体(品系)间杂交^[13-15], 而开展同一群体(品系)近交系间杂交实验的报道较少。Hedgecock 等^[16]以雌雄同体牡蛎的自交后代建立近交和杂交系, 分析了杂种优势的机制。张国范等^[17]认为可以通过不断选择得到遗传改良型纯合自交家系或近交系, 再以纯合自交系或近交系间杂交获得强优势的杂交种。Hedgecock 等^[18]又利用长牡蛎近交系进行完全双列杂交试验, 通过分析配合力和回交效应, 筛选出了最佳

收稿日期: 2016-01-13; 修订日期: 2016-03-21.

基金项目: 泰山学者种业计划专家项目; 农业科技成果转化资金项目(2014GB2B020029); 山东省科技发展计划项目(2014GHY115002).

作者简介: 王雪磊(1989-), 男, 硕士研究生, 主要从事贝类遗传育种研究. E-mail: xlwang126@163.com

通信作者: 李琪, 教授. E-mail: qili66@ouc.edu.cn

的杂交组合。可见, 利用近交系间进行完全双列杂交, 筛选出最佳的杂交组合, 是保证长牡蛎金壳色性状纯化的选育效率, 同时提高其生产性能, 达到改良选育效果的关键。

本研究以壳金长牡蛎品系中壳色性状和生产性能优良的 3 个家系为亲本, 进行了双列杂交实验, 比较了自交组和杂交组子一代在幼虫期和稚贝养成期的生长和存活性能, 并对杂交组的杂种优势进行评估, 以期壳金长牡蛎新品系遗传改良和育种策略的制定提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源

2010 年从山东省乳山养殖的 2 龄长牡蛎中筛选出了金壳色的个体作为种贝, 以壳颜色为选育目标性状, 经过两代家系选育和两代群体选育。2014 年以 2013 年选育的壳金长牡蛎群体为亲本, 采用巢式交配的方式成功构建了 25 个壳金长牡蛎全同胞家系。2015 年从中筛选出具有明显生长优势的 G2(A)家系以及具有明显生长和存活性能的 G19(B)和 G28(C)家系, 从每个家系子代中挑选出一定数量的颜色纯正、壳型规则且大小一致的个体进行室内人工促熟。

1.2 实验设计

采用完全双列杂交方式, 构建壳金长牡蛎不同家系交配组合, 包括自交组 AA(A♀ × A♂)、BB(B♀ × B♂)、CC(C♀ × C♂)和杂交组 AB(A♀ × B♂)、BA(B♀ × A♂)、AC(A♀ × C♂)、CA(C♀ × A♂)、BC(B♀ × C♂)、CB(C♀ × B♂)在内的 9 个交配组合(表 1), 每个交配组合设置 3 个平行实验组。实验在烟台海益苗业有限公司莱州育苗基地进行。

表 1 壳金长牡蛎不同家系交配组合
Tab. 1 Design of diallel cross for the golden shell color strain of *Crassostrea gigas*

亲本 parent	G2(A/♀)	G19(B/♀)	G28(C/♀)
G2(A/♂)	AA	BA	CA
G19(B/♂)	AB	BB	CB
G28(C/♂)	AC	BC	CC

1.3 人工授精与幼虫培育

2015 年 5 月 26 日, 壳金长牡蛎亲贝性腺发育

成熟, 采用解剖法先获得雌性亲本的卵子, 待卵子熟化后, 获取雄性的精子, 按照实验的交配组合, 在 15 L 小桶内进行精卵混合。人工授精后, 将受精卵置于 100 L 的聚乙烯塑料桶中进行孵化, 孵化密度为 15~20 个/mL, 并持续微量充气。22 h 后, 受精卵发育至 D 形幼虫。幼虫培育初始密度设定为 10 个/mL, 随着培育时间的延长, 定期对密度进行适当调整, 使各实验组保持一致。在整个培育过程中, 每天早晚各换水 1 次, 前期换水量为 1/3, 后期为 1/2。每天投饵 5 次, 前期饵料以等边金藻(*Isochrysis galbana*)为主, 后期根据幼虫生长情况辅助投喂扁藻(*Platymonas* sp.)和小球藻(*Chlorella vulgaris*), 投饵量根据幼虫摄食情况、水质情况和残饵量适时进行调整; 培育期间水温为 23~27℃, 持续充气。为了减小环境因素和人为操作的影响, 在整个幼虫培育阶段, 各实验组的充气量、换水量和投饵量等所有管理保持一致, 并严防污染。培育 20 d 后, 幼虫陆续出现眼点, 当 30%左右的幼虫出现眼点时, 投放经消毒并洗刷干净的栉孔扇贝壳做成的附着基, 进行人工采苗, 当大部分扇贝壳左右面的附苗数量达到 10 个左右时停止采苗。

1.4 稚贝暂养

把附着稚贝的扇贝片穿绳后放置于室外沉淀池进行保苗, 待自然海区无野生牡蛎幼虫时, 转移到荣成俚岛镇海区进行稚贝的浮筏暂养, 后转至乳山海阳所镇海区进行笼式浮筏稚贝养成。

1.5 数据测定

幼虫期, 在 5、10、15、20 日龄时从各实验组随机取样 30 个, 用鲁格氏液固定后在显微镜下用目微尺测量幼虫的壳高和壳长; 同时, 测定幼虫的密度, 用于估测幼虫的存活率。稚贝期, 在 85、130、190 日龄, 从各实验组随机选取 30 个个体, 用游标卡尺测量壳高(SH)和壳长(SL), 精确到 0.02 mm; 用电子天平测量总重(TW), 精确到 0.01 g; 同时, 统计稚贝的存活率。幼虫存活率根据初始密度、每次调整后密度及测量时密度推算得出, 稚贝存活率为每次观察到的活体数与附着稚贝数的百分比。

1.6 数据分析

用 Excel 2007 对各实验组的生长、存活等数据做初步统计处理后, 采用 SPSS18.0 软件中的单因素方差分析(ANOVA)和 Tukey 多重比较进行分析, 以 $P<0.05$ 作为差异显著性水平。参照 Cruz 等^[8]和 Stufflebeam^[19]计算杂交子代的杂种优势率 $H(\%)$ 的公式:

$$H=(F_1-P)/P\times 100\%$$

式中, F_1 表示杂交组子代性状的平均值, P 表示相应的两个自交组子代性状的平均值。

2 结果与分析

2.1 长牡蛎幼虫期不同实验组壳高生长的比较

自交组和杂交组 9 个实验组在幼虫期第 5 到

20 日龄的壳高生长及日增长率的差异性比较结果见表 2。由表 2 可知, 5 日龄时, 所有杂交组的壳高显著大于所有自交组($P<0.05$); 10 至 20 日龄, 杂交组 AB、AC、BC、CB 的壳高均大于自交组, 且 AC 和 CB 的壳高显著大于自交组($P<0.05$)。在生长速度方面, 杂交组 AC、BC、CB 均大于自交组, 所有组合之间没有显著性差异($P>0.05$)。从整个幼虫阶段壳高生长分析来看, CB、AC 组与自交组相比, 具有显著差异($P<0.05$), 与所有组合相比, 表现出明显的生长优势。

2.2 幼虫期不同实验组壳长生长的比较

幼虫期不同实验组壳长生长及日增长率的比较结果见表 3。由表 3 可知, 5 日龄时, 所有杂交组的壳长显著大于所有自交组($P<0.05$); 10 日龄

表 2 长牡蛎幼虫期不同实验组壳高生长的比较

Tab. 2 Comparison of shell height among different experimental *Crassostrea gigas* groups at larval stages $n=90$; $\bar{x} \pm SD$

实验组 group	幼虫壳高/ μm shell height of the larvae				生长速度/ $(\mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1})$ growth rate
	5 d	10 d	15 d	20 d	
AA	82.67 $\pm$ 5.04 ^b	123.78 $\pm$ 12.84 ^c	199.83 $\pm$ 24.61 ^{bcd}	287.42 $\pm$ 38.2 ^{cd}	13.65 ^a
BB	81.67 $\pm$ 4.86 ^b	115.89 $\pm$ 9.82 ^d	193.7 $\pm$ 30.43 ^d	273.57 $\pm$ 62.37 ^d	12.79 ^a
CC	83.84 $\pm$ 5.51 ^b	117.44 $\pm$ 14.03 ^d	197.57 $\pm$ 34.09 ^d	283.60 $\pm$ 58.02 ^d	13.32 ^a
AB	88.22 $\pm$ 4.26 ^a	124.89 $\pm$ 10.63 ^{bc}	212.06 $\pm$ 25.63 ^{abc}	290.00 $\pm$ 33.45 ^{bcd}	13.45 ^a
AC	87.50 $\pm$ 4.70 ^a	129.17 $\pm$ 10.66 ^{ab}	217.61 $\pm$ 31.14 ^a	309.61 $\pm$ 36.14 ^{ab}	14.81 ^a
BC	88.11 $\pm$ 5.12 ^a	131.72 $\pm$ 8.78 ^a	213.18 $\pm$ 19.65 ^{ab}	307.78 $\pm$ 43.03 ^{abc}	14.64 ^a
BA	86.94 $\pm$ 3.87 ^a	123.72 $\pm$ 9.87 ^c	198.43 $\pm$ 19.46 ^{cd}	275.22 $\pm$ 30.03 ^d	12.55 ^a
CA	87.44 $\pm$ 4.51 ^a	123.45 $\pm$ 8.13 ^c	213.15 $\pm$ 29.12 ^{ab}	284.12 $\pm$ 35.03 ^d	13.11 ^a
CB	87.22 $\pm$ 4.25 ^a	133.28 $\pm$ 10.79 ^a	216.60 $\pm$ 27.30 ^a	311.89 $\pm$ 36.53 ^a	14.98 ^a

注: 同列中不同上标字母表示不同实验组间壳高差异显著($P<0.05$)。

Note: Values with different superscripts letters within the same column mean significant differences of the shell height among different groups at 0.05 level.

表 3 幼虫期不同实验组壳长生长的比较

Tab. 3 Comparison of shell length among different *Crassostrea gigas* experimental groups at larval stage $n=90$; $\bar{x} \pm SD$

实验组 group	幼虫壳长/ μm shell length of the larvae				生长速度/ $(\mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1})$ growth rate
	5 d	10 d	15 d	20 d	
AA	85.61 $\pm$ 5.13 ^b	114.78 $\pm$ 9.65 ^{cd}	174.28 $\pm$ 21.03 ^{cd}	246.97 $\pm$ 33.65 ^{cd}	10.76 ^a
BB	85.50 $\pm$ 5.14 ^b	109.17 $\pm$ 7.24 ^e	168.12 $\pm$ 24.48 ^d	228.86 $\pm$ 47.87 ^e	9.56 ^a
CC	86.40 $\pm$ 4.95 ^b	109.50 $\pm$ 10.6 ^e	173.46 $\pm$ 27.10 ^{cd}	241.47 $\pm$ 50.07 ^{de}	10.34 ^a
AB	90.11 $\pm$ 3.51 ^a	114.72 $\pm$ 13.58 ^{cd}	185.61 $\pm$ 21.33 ^{ab}	249.44 $\pm$ 29.39 ^{bcd}	10.62 ^a
AC	90.33 $\pm$ 3.07 ^a	118.28 $\pm$ 8.55 ^{abc}	192.28 $\pm$ 18.38 ^a	266.44 $\pm$ 29.46 ^{ab}	11.74 ^a
BC	90.28 $\pm$ 4.33 ^a	119.72 $\pm$ 7.55 ^{ab}	187.41 $\pm$ 22.62 ^a	259.11 $\pm$ 38.60 ^{abc}	11.26 ^a
BA	89.00 $\pm$ 3.28 ^a	115.78 $\pm$ 6.95 ^{bcd}	174.38 $\pm$ 19.55 ^{bcd}	240.67 $\pm$ 26.39 ^{de}	10.11 ^a
CA	89.50 $\pm$ 3.18 ^a	112.83 $\pm$ 8.07 ^{de}	182.15 $\pm$ 22.52 ^{abc}	243.53 $\pm$ 32.72 ^{cde}	10.27 ^a
CB	89.56 $\pm$ 4.28 ^a	121.94 $\pm$ 9.17 ^a	188.46 $\pm$ 25.05 ^a	269.67 $\pm$ 29.05 ^a	12.01 ^a

注: 同列中不同上标字母表示不同实验组间壳长差异显著($P<0.05$)。

Note: Values with different superscripts letters within the same column mean significant differences of the shell length among different groups at 0.05 level.

时,除了杂交组 AB 和 CA 略低于自交组 AA 外,其他杂交组的壳长均大于自交组,且 BC 和 CB 的壳长显著大于自交组($P<0.05$); 15 日龄时,所有杂交组的壳长均大于所有自交组; 20 日龄时, CB 和 AC 的壳长最大,分别为 $269.67\text{ }\mu\text{m}$ 和 $266.44\text{ }\mu\text{m}$ 。从生长速度来看,杂交组 AC、BC、CB 均大于自交组,所有组合之间无显著差异($P>0.05$)。从整个幼虫时期壳长生长分析来看, CB 与自交组相比,具有显著差异($P<0.05$),与所有组合相比,表现出明显的生长优势。

2.3 长牡蛎幼虫期不同实验组存活率的比较

随着浮游幼虫培育日龄的增加,自交组和杂交组存活率逐渐降低(图 1)。5 日龄时,各组之间存活率没有显著性差异($P>0.05$); 10 日龄时, AA 组、CA 组与 CB 组之间差异显著($P<0.05$),其他各组之间差异不显著($P>0.05$); 15 和 20 日龄时,各组之间也没有显著差异($P>0.05$)。在整个幼虫阶段,与其他组相比,杂交组 CB 均保持较高的存活率。

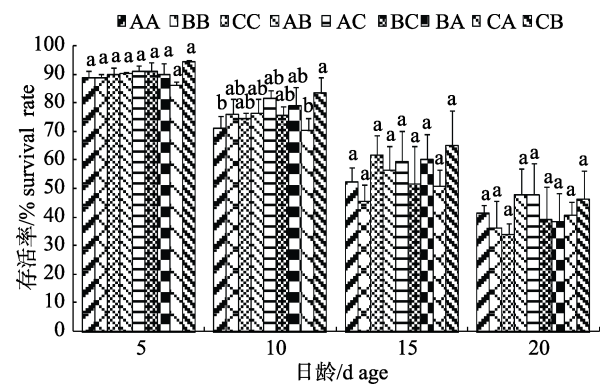


图 1 长牡蛎幼虫期各实验组不同日龄存活率比较
同一日龄标注不同字母表示组间存活率差异显著($P<0.05$).
Fig. 1 Comparison of survival rate among different *Crassostrea gigas* experimental groups at larval stage
Different superscript letters within the same age indicate significant difference of the survival rate among different groups ($P<0.05$).

2.4 长牡蛎幼虫期生长和存活杂种优势率的比较

幼虫期不同杂交组生长和存活杂种优势率的比较结果见表 4。由表 4 可知,整个幼虫阶段,各杂交组壳高的杂种优势率介于 -1.88% ~ 14.24% ,壳长的杂种优势率介于 -0.28% ~ 14.67% 。其中,杂交组 AC、BC 和 CB 在壳高和壳长性状上均具有较高的杂种优势率; 20 日龄时,杂交组 BA 在壳高

上以及 CA 在壳高和壳长上存在负的杂种优势。在生长速度方面,壳高生长速度的杂种优势率介于 -5.07% ~ 14.72% ,壳长生长速度的杂种优势率介于 -2.65% ~ 20.71% 。其中,杂交组 CB 的杂种优势值最大,其次为 BC 和 AC 组; 杂交组 BA、CA 在壳高和壳长生长速度上表现为负杂种优势。在存活率方面, CA 组表现出杂种劣势, BC 组杂种优势不明显, CB 组在不同日龄均表现出较高的杂种优势。

表 4 长牡蛎幼虫期各杂交组生长和存活的杂种优势率比较
Tab. 4 Heterosis of growth and survival of larvae in different hybrid crosses of *Crassostrea gigas* %

实验组 group	性状 trait	日龄/d days of age				生长速度 growth rate
		5	10	15	20	
AB	壳高 shell height	7.36	4.22	7.77	3.39	1.74
	壳长 shell length	5.32	2.45	8.42	4.84	4.58
	存活率 survival rate	1.74	4.13	15.53	0.40	
BA	壳高 shell height	5.81	3.24	0.85	-1.88	-5.07
	壳长 shell length	4.03	3.40	1.86	1.16	-0.45
	存活率 survival rate	1.45	7.64	23.22	-0.01	
AC	壳高 shell height	5.10	7.10	9.52	8.44	9.81
	壳长 shell length	5.03	5.48	10.59	9.10	11.32
	存活率 survival rate	2.02	12.28	4.20	0.54	
CA	壳高 shell height	5.03	2.35	7.27	-0.49	-2.76
	壳长 shell length	4.06	0.62	4.76	-0.28	-2.65
	存活率 survival rate	-3.31	-3.25	-10.72	-0.27	
BC	壳高 shell height	6.47	12.90	8.97	10.48	12.17
	壳长 shell length	5.04	9.50	9.73	10.18	13.15
	存活率 survival rate	2.04	0.25	-4.13	0.24	
CB	壳高 shell height	5.40	14.24	10.72	11.96	14.72
	壳长 shell length	4.20	11.53	10.35	14.67	20.71
	存活率 survival rate	5.91	10.84	21.20	1.86	

2.5 长牡蛎稚贝期不同实验组生长的比较

稚贝期各实验组生长性状及日增长率的比较结果见表 5。由表 5 可知,随着稚贝养殖日龄的增加,各生长性状先增长迅速后逐渐缓慢,部分性状的生长基本停滞。85 日龄时,杂交组 CB 的壳高和壳长最高,分别为 15.25 mm 和 10.74 mm;AB 组的生长最小,明显低于其他各组。130 日龄时,CB 组壳高最高,BA 组的壳长最高,二者在壳高和壳长性状上无显著差异($P>0.05$);壳高和壳长

最小的分别为 AA 组和 AC 组,分别为 29.04 mm 和 20.17 mm,与生长最快的 CB 组和 BA 组相比,差异显著($P<0.05$)。190 日龄,各实验组在壳长性状上无显著差异($P>0.05$);在壳高性状上,AB 组最高,其次为 AA 组,二者之间无显著差异($P>0.05$);在总重性状上,除 BA 组外,其他各组之间无显著差异($P>0.05$)。在生长速度方面,各组之间没有显著差异($P>0.05$);其中,在壳高生长速度上,最大的为 AB 组,其次为 AC 组和 AA 组,最小的为

表 5 长牡蛎稚贝期不同实验组壳高、壳长和总重的比较
Tab. 5 Comparison of shell height, shell length and total weight among different *Crassostrea gigas* experimental groups at juvenile stage n=90; $\bar{x} \pm SD$

实验组 group	日龄/d days of age						生长速度/(mm·d ⁻¹) growth rate		
	85		130		190				
	壳高/mm shell height	壳长/mm shell length	壳高/mm shell height	壳长/mm shell length	壳高/mm shell height	壳长/mm shell length	190 日龄的总重/g total weight	壳高/ shell height	壳长/ shell length
AA	13.67±2.69 ^{bcd}	10.22±2.05 ^{ab}	29.04±4.58 ^c	21.37±3.95 ^{cd}	39.18±6.28 ^a	24.91±4.75 ^a	5.96±2.62 ^{ab}	0.24 ^a	0.14 ^a
BB	14.95±3.26 ^{ab}	10.48±2.67 ^{ab}	31.24±5.75 ^{bc}	21.90±5.24 ^{bcd}	37.66±6.20 ^{abc}	23.30±6.10 ^a	5.40±1.86 ^b	0.22 ^a	0.12 ^a
CC	13.44±3.09 ^{cd}	9.87±2.50 ^{abc}	33.95±5.61 ^{ab}	22.95±5.68 ^{abc}	35.00±5.44 ^c	23.55±4.60 ^a	4.69±2.28 ^b	0.21 ^a	0.14 ^a
AB	12.73±2.82 ^d	9.15±1.98 ^d	29.40±5.47 ^c	21.19±4.36 ^{cd}	40.57±7.77 ^a	24.40±5.59 ^a	6.00±2.63 ^{ab}	0.26 ^a	0.14 ^a
AC	13.62±2.93 ^{bcd}	10.07±2.03 ^{abc}	29.68±6.03 ^c	20.17±5.20 ^d	38.84±7.33 ^{ab}	23.11±4.53 ^a	5.39±2.07 ^b	0.24 ^a	0.13 ^a
BC	14.18±2.54 ^{abc}	9.58±2.09 ^{cd}	31.62±4.74 ^{abc}	23.36±3.34 ^{abc}	38.27±7.06 ^{abc}	23.75±5.34 ^a	5.54±2.53 ^b	0.22 ^a	0.13 ^a
BA	14.62±3.62 ^{abc}	10.61±2.88 ^{ab}	32.98±6.81 ^{ab}	24.66±3.57 ^a	37.10±9.44 ^{abc}	24.85±3.01 ^a	7.27±4.12 ^a	0.21 ^a	0.14 ^a
CA	13.63±2.62 ^{bcd}	9.78±1.94 ^{abc}	32.58±6.17 ^{ab}	22.21±5.18 ^{bcd}	38.00±7.62 ^{abc}	24.92±3.72 ^a	5.12±2.18 ^b	0.23 ^a	0.14 ^a
CB	15.25±2.94 ^a	10.74±2.22 ^a	34.14±7.41 ^a	24.16±6.49 ^{abc}	36.22±7.84 ^{bc}	24.60±3.73 ^a	5.31±3.04 ^b	0.20 ^a	0.13 ^a

注:同列中不同上标字母表示不同实验组间数据差异显著($P<0.05$).
Note: Values with different superscripts letters within the same column mean significant differences among different groups at 0.05 level.

CB 组;在壳长生长速度上,最小的为 BB 组。

2.6 长牡蛎稚贝期不同实验组存活率的比较

随着稚贝养殖日龄的增加,自交组和杂交组存活率呈现逐渐降低趋势(图 2)。在 85 和 130 日龄,各组之间存活率没有表现出显著差异($P>0.05$)。190 日龄时,杂交组 AC、BC 与自交组 AA、CC 之间差异显著($P<0.05$),其他各组之间差异不显著($P>0.05$);杂交组 CA、BA 及其反交组存活率均高于相应的自交组。

2.7 长牡蛎稚贝期生长和存活杂种优势率的比较

稚贝期不同杂交组生长和存活杂种优势率的比较结果见表 6。由表 6 可知,各杂交组壳高的杂种优势率介于-11.04%~9.42%,壳长的杂种优势率介于-11.59%~13.98%,总重的杂种优势率介于

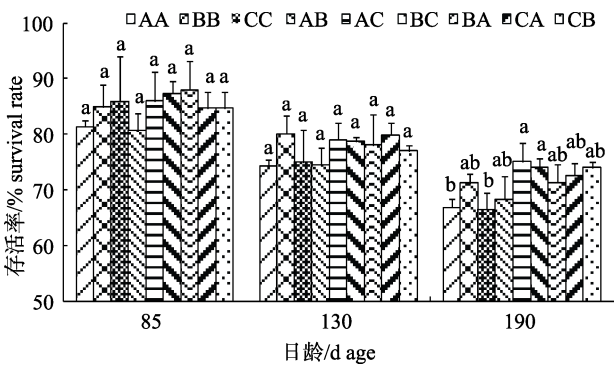


图 2 长牡蛎稚贝期各实验组不同日龄存活率比较
同一日龄标注不同字母表示组间存活率差异显著($P<0.05$).

Fig. 2 Comparison of survival rate among different *Crassostrea gigas* experimental groups at juvenile stage
Different superscript letters within the same age indicate significant difference of the survival rate among different groups ($P<0.05$).

-3.85%~27.99%。其中, 杂交组 AB 在壳高和壳长性状上的杂种优势率随着日龄的增加逐渐增大; 杂交组 BA 和 CB 在壳长性状上的杂种优势率均为正值, CA 在壳高性状上的杂种优势率均为正值, 其他各组在壳高和壳长性状上不同日龄均存在负值。在生长速度方面, 壳高生长速度的杂种优势率介于-7.82%~14.70%, 其中, AB 组的杂种优势最高, BA 组的最低; 壳长生长速度的杂种优势率介于-11.41%~10.58%, 其中, AB 组的杂种优势最高, AC 组最低。在稚贝存活率上, AB 组的存活杂种优势在所有日龄均最低, 且为负值; AC、CA 和 CB 组随日龄增加, 杂种优势值呈增大趋势; 除 BA 组外, 各组 190 日龄的杂种优势为所有日龄中最高。

表 6 长牡蛎各杂交组稚贝生长和存活的杂种优势率
Tab. 6 Heterosis of growth and survival of juvenile in different hybrid crosses of *Crassostrea gigas* %

实验组 groups	性状/trait	日龄/d days of age			生长速度 growth rate
		85	130	190	
AB	壳高 shell height	-11.04	-2.46	5.60	14.70
	壳长 shell length	-11.59	-2.06	1.22	10.58
	总重 total weight			5.63	
	存活率 survival rate	-2.93	-3.60	-1.00	
BA	壳高 shell height	2.17	9.42	-3.44	-7.82
	壳长 shell length	2.51	13.98	3.09	3.78
	总重 total weight			27.99	
	存活率 survival rate	5.89	1.20	3.44	
AC	壳高 shell height	0.48	-5.76	4.72	4.92
	壳长 shell length	0.25	-8.98	-4.62	-11.41
	总重 total weight			1.22	
	存活率 survival rate	2.79	5.86	12.63	
CA	壳高 shell height	0.55	3.44	2.45	1.78
	壳长 shell length	-2.64	0.23	2.85	2.01
	总重 total weight			-3.85	
	存活率 survival rate	1.20	6.92	8.95	
BC	壳高 shell height	-0.11	-2.99	5.34	4.54
	壳长 shell length	-5.85	4.17	1.39	0.15
	总重 total weight			9.81	
	存活率 survival rate	2.22	1.53	7.58	
CB	壳高 shell height	7.43	4.74	-0.30	-5.97
	壳长 shell length	5.55	7.74	5.02	-0.92
	总重 total weight			5.25	
	存活率 survival rate	-0.90	-0.59	7.48	

3 讨论

3.1 近交系间杂种优势的应用

杂交具有操作简便, 能综合双亲优良性状等特点, 是国内外普遍运用而且育种效果比较明显的一种育种技术^[20]。无论是杂种优势的显性学说还是超显性学说, 都是基于亲本有利基因在子代杂合性突出表现而建立的, 基因的杂合性能提高

机体的生活力、繁殖力和生长速度等^[21]。近交系间杂交, 基因纯化程度高, 可产生更高的杂种优势。闫喜武等^[22]采用双列杂交法研究了菲律宾蛤仔奶牛蛤品系的全同胞子一代和子二代两个近交世代上选 10%的个体的杂交效应及近交效应, 认为通过上选、杂交与近交的有机结合, 可以有效地改良奶牛蛤品系的表型性状。利用亲缘关系接近的同胞家系个体作为亲本, 通过对性状进行选

择, 继续进行杂交, 可有效淘汰隐性有害等位基因, 加快具有优良性状的等位基因的纯化速度。本研究选用的 3 个家系都是连续进行了 5 代选育, 且每代选育都是在繁殖季节选择性能优良的个体作为亲本, 进行下一代繁育。

3.2 壳金长牡蛎生长和存活的杂种优势分析

从本实验结果来看, 壳金长牡蛎大多数杂交组在不同生长时期均表现出良好的生长和存活性能。其中, 幼虫期不同日龄, 在壳高和壳长生长上, 杂交组 CB、AC 与相应的自交组相比有显著差异, 生长性能突出, 杂种优势明显, 其他杂交组与相应的自交组之间的生长差异不显著, 且自交组在某些日龄表现出比相应杂交组更好的生长性能。整个幼虫阶段, 所有杂交组壳高和壳长的杂种优势率分别为 $-1.88\%\sim 14.24\%$ 和 $-0.28\%\sim 14.67\%$ 。就生长速度而言, 部分杂交组与自交组相比, 得到了明显的提高, 壳高和壳长生长速度的杂种优势率分别为 $-5.07\%\sim 14.72\%$ 和 $-2.65\%\sim 20.71\%$, 其中, BC 和 CB 组最突出。在幼虫存活率方面, 除 10 日龄外, 其他日龄各组之间差异不明显, 仅 CB 组在不同日龄均表现出较高的杂种优势。微效多基因假说认为生物的性状是由一系列独立遗传的微效基因共同决定, 由于所选家系均性能优良, 杂交之后, 使亲本的微效基因得到了累加, 产生了更大的性能优势, 这与桑士田等^[23]对家系内大小两种规格菲律宾蛤仔的双列杂交的结果一致。验证了利用性能优良的不同家系进行杂交以获得期望改良效果的可行性^[24]。

稚贝期 85 日龄和 130 日龄, CB 组与其他实验组相比, 在壳高上有着显著的生长优势, 而在 190 日龄优势不明显; 190 日龄, 各实验组在壳长和总重性状上无显著差异。在壳高和壳长生长速度方面, 各组之间也没有显著差异; 壳高和壳长生长速度的杂种优势率分别为 $-7.82\%\sim 14.70\%$ 和 $-11.41\%\sim 10.58\%$, 其中, AB 组的杂种优势值最大。在存活率上, AC、CA 和 CB 组随日龄增加, 杂种优势呈增大趋势; 除 BA 组外, 各杂交组 190 日龄的存活杂种优势为所有日龄中最大。杂种优势既有正值, 也有负值, 表现出不恒定性和不平衡性, 这与王好锋等^[25]对三疣梭子蟹的杂种优势分

析结果一致。宋盛亮等^[26]发现稚贝期长牡蛎的壳高受显性-环境互作效应作用最大, 而壳长和总重主要受显性效应控制, 认为要通过杂交的方式获得性状的杂种优势时需要考虑环境的影响, 不同环境下杂种优势获得的程度不同。本实验中壳金长牡蛎在 130 日龄测量后, 所有实验组由荣成俚岛海区转移至乳山海阳所镇海区, 190 日龄的生长性能可能存在明显的基因和环境互作效应的影响。所以, 在利用杂种优势改良生物的生产性能时, 选择合理的差异群体进行杂交, 并考虑环境因素的影响是获得杂种优势的关键。

3.3 提高杂种优势的措施

遗传育种的理论和实践研究表明有效避免近交压力, 才能保持好的生物性能^[27-30]。产卵量、选种方式和苗种生产设施规模等是影响近交程度变化的主要因素, 对于同一个群体, 随着选育世代的增加, 近交系数也在不断增大, 并且产卵量越大, 近交系数增加幅度越高^[31]。马大勇等^[32]认为只有通过建立大量的家系才能达到更好地控制近交衰退的效果。

杂交后代在生长势、生活力等方面比双亲优异或是得到理想的有价值的组合是育种的最终目的。由于最初筛查的长牡蛎金壳色种贝较少, 经过连续 5 代的人工繁殖, 个体间的遗传多样性可能发生变化。在保证壳金长牡蛎新品系在颜色稳定遗传的前提下, 同时提高其生长性能、存活率和其他经济性状的表型值, 有必要扩大基础群体的数量, 在人工授精时保证亲本精卵对后代的贡献一致。此外, 还可以继续从自然界不同地理群体中挑选颜色相近的个体进行杂交, 提高遗传多样性。因此, 控制好近交压力, 利用优势明显的杂交组合, 建立有效的育种模式, 才能实现杂种优势的充分利用。

综上所述, 本研究通过建立壳金长牡蛎生产性能优良的 3 个家系间的完全双列杂交实验, 比较分析了各杂交组和自交组子一代在早中期的生长、存活差异, 并分析了杂交组相应的杂种优势, 发现部分杂交组(如 CB 组)表现出一定程度的杂种优势。本研究为壳金长牡蛎新品种的培育及杂种优势的充分利用提供了重要的参考资料。

参考文献:

- [1] Wang R C, Wang Z P. Science of Marine Shellfish Culture[M]. Qingdao: China Ocean University Press, 2008. [王如才, 王昭萍. 海水贝类养殖学[M]. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2008.]
- [2] Fisheries and Fishery Administration The Ministry of Agriculture. China Fishery Statistical Yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2015. [农业部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2015.]
- [3] Liu X, Zhang G F, Zhao H E. The selective breeding of "Chinese Red" line of abalone, *Haliotis discus hannai* Ino[J]. Chinese Journal of Zoology, 2003, 38(4): 27. [刘晓, 张国范, 赵洪恩. 皱纹盘鲍“中国红”品系的选育[J]. 动物学杂志, 2003, 38(4): 27.]
- [4] Xu F, Zheng H P, Zhang H B, et al. Comparison on the larval traits between strain "Zhongkehong" and common cultured population of bay scallop *Argopecten irradians* under different temperature[J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(6): 876–883. [许飞, 郑怀平, 张海滨, 等. 海湾扇贝“中科红”品种与普通养殖群体不同温度下早期性状的比较[J]. 水产学报, 2008, 32(6): 876–883.]
- [5] Wang Q H, Deng Y W, Du X D, et al. Growth comparison of F1 larvae between four shell color lines of pearl oyster *Pinctada martensii*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15(3): 488–492. [王庆恒, 邓岳文, 杜晓东, 等. 马氏珠母贝 4 个壳色选系 F₁ 幼虫的生长比较[J]. 中国水产科学, 2008, 15(3): 488–492.]
- [6] Cong R H, Li Q, Ge J L, et al. Comparison of phenotypic traits of four shell color families of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2014, 21(3): 494–502. [丛日浩, 李琪, 葛建龙, 等. 长牡蛎 4 种壳色家系子代的表型性状比较[J]. 中国水产科学, 2014, 21(3): 494–502.]
- [7] 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]. Aquac Res, 2011, 42(4): 602–612.
- [8] Cruz P, Ibarra A M. Larval growth and survival of two catarina scallop (*Argopecten circularis*, Sowerby, 1835) populations and their reciprocal crosses[J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1997, 212(1): 95–110.
- [9] You W W, Ke C H, Luo X, et al. Growth and survival of three small abalone *Haliotis diversicolor* populations and their reciprocal crosses[J]. Aquac Res, 2009, 40(13): 1474–1480.
- [10] Allen S K, Gaffney P M, Scarpa J, et al. Inviatile hybrids of *Crassostrea virginica* (Gmelin) with *C. rivularis* (Gould) and *C. gigas* (Thunberg)[J]. Aquaculture, 1993, 113(4): 269–289.
- [11] Zhang Y H, Wang Z P, Yan X W, et al. Analysis of the early heterosis for interspecific hybrids between *Crassostrea hongkongensis* and *C. gigas*[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(9): 1358–1366. [张跃环, 王昭萍, 闫喜武, 等. 香港巨牡蛎与长牡蛎种间杂交及早期杂种优势分析[J]. 水产学报, 2012, 36(9): 1358–1366.]
- [12] Zheng H P, Wang D W, Lin Q, et al. Hybridization between the two close related species *Crassostrea gigas* and *C. angulata* and heterosis for growth and survival at early stage of life history[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(2): 210–215. [郑怀平, 王迪文, 林清, 等. 太平洋牡蛎与葡萄牙牡蛎两近缘种间杂交及其早期阶段生长与存活的杂种优势[J]. 水产学报, 2012, 36(2): 210–215.]
- [13] Song S L, Li Q, Kong L F. Larval growth and survival of hybrid between different geographic populations of Pacific oyster *Crassostrea gigas*[J]. Periodical of Ocean University of China, 2012, 41(12): 30–35. [宋盛亮, 李琪, 孔令锋. 不同地理群体长牡蛎杂交子代的早期生长发育[J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2012, 41(12): 30–35.]
- [14] Nelson L, Friedman C, Davis J, et al. Analysis of larval and juvenile performance in crossbred lines of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, under three feeding regimes[J]. J Shellfish Res, 2004, 23(2): 657.
- [15] Wang W J, Li Q, Yang J M, et al. Analysis of growth trait of pacific oyster *Crassostrea gigas* complete diallel cross from three selective breeding strains[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2015, 46(3): 628–635. [王卫军, 李琪, 杨建敏, 等. 长牡蛎(*Crassostrea gigas*)三个选育群体完全双列杂交后代生长性状分析[J]. 海洋与湖沼, 2015, 46(3): 628–635.]
- [16] Hedgecock D, McGoldrick D J, Bayne B L. Hybrid vigor in Pacific oysters: an experimental approach using crosses among inbred lines[J]. Aquaculture, 1995, 137(1): 285–298.
- [17] Zhang G F, Liu X, Que H Y, et al. The theory and application of hybridization and heterosis in marine mollusks[J]. Marine Sciences, 2004, 28(7): 54–60. [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.]
- [18] Hedgecock D, Davis J P. Heterosis for yield and crossbreeding of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*[J]. Aquaculture, 2007, 272(S1): S17–S29.
- [19] Stufflebeam C E. Genetics of Domestic Animals[M]. New Jersey: Prentice Hall, 1989.
- [20] Wang Q Y. Mariculture Biological Cell Engineering Breeding[M]. Beijing: China Ocean Press, 2007. [王清印. 海水养殖生物的细胞工程育种[M]. 北京: 海洋出版社, 2007.]
- [21] Lv L L, Du X D, Wang Y, et al. Genetic diversity of three

- populations and the first generations of hybridization between different populations of pearl oyster, *Pinctada martensii* (Dunker)[J]. Acta Hydrobiologica Science, 2008, 32(1): 26–32. [吕林兰, 杜晓东, 王嫣, 等. 马氏珠母贝 3 个野生种群及种群间杂交后代遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 水生生物学报, 2008, 32(1): 26–32.]
- [22] Yan X W, Sun X, Zhang Y H, et al. Hybridization and inbreeding effects between two generations for cow strain of Manila clam *Ruditapes philippinarum*[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(5): 682–691. [闫喜武, 孙欣, 张跃环, 等. 菲律宾蛤仔奶牛蛤品系两个世代的杂交与近交效应[J]. 水产学报, 2011, 35(5): 682–691.]
- [23] Sang S T, Yan X W, Huo Z M, et al. The diallel cross between large and small sizes within family of Manila clam (*Ruditapes philippinarum*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(6): 832–837. [桑士田, 闫喜武, 霍忠明, 等. 家系内大, 小两种规格菲律宾蛤仔的双列杂交[J]. 水产学报, 2012, 36(6): 832–837.]
- [24] Ward R D, English L J, McGoldrick D J, et al. Genetic improvement of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) in Australia[J]. Aquac Res, 2000, 31(1): 35–44.
- [25] Wang H F, Hang X L, Duan Y F, et al. Comparison of growth and survival of the hybrid and inbred families of *Portunus trituberculatus*[J]. Progress in Fishery Science, 2014, 35(3): 74–81. [王好锋, 韩晓琳, 段亚飞, 等. 三疣梭子蟹自交与杂交家系子一代生长和存活活的比较[J]. 渔业科学进展, 2014, 35(3): 74–81.]
- [26] Song S L, Li Q, Kong L F, et al. Genetic effect and interaction between genotype and environment of growth-related traits of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)[J]. Periodical of Ocean University of China, 2013, 43(10): 41–47. [宋盛亮, 李琪, 孔令锋, 等. 长牡蛎生长性状的遗传效应及与环境互作分析[J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2013, 43(10): 41–47.]
- [27] Evans F, Matson S, Brake J, et al. The effects of inbreeding on performance traits of adult Pacific oysters (*Crassostrea gigas*)[J]. Aquaculture, 2004, 230(1): 89–98.
- [28] Naciri-Graven Y, Launey S, Lebayon N, et al. Influence of parentage upon growth in *Ostrea edulis*: Evidence for inbreeding depression[J]. Genet Res, 2000, 76(2): 159–168.
- [29] Moss D R, Arce S M, Otoshi C A, et al. Inbreeding effects on hatchery and growout performance of Pacific white shrimp, *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*[J]. J World Aquac Soc, 2008, 39(4): 467–476.
- [30] Bentsen H B, Olesen I. Designing aquaculture mass selection programs to avoid high inbreeding rates[J]. Aquaculture, 2002, 204(3): 349–359.
- [31] Kong J, Jin W, Luan S, et al. Inbreeding analysis of aquatic animal selective breeding[J]. Progress in Natural Science, 2009, 19(9): 917–923. [孔杰, 金武, 栾生, 等. 水产动物选择育种的近交分析[J]. 自然科学进展, 2009, 19(9): 917–923.]
- [32] Ma D Y, Hu H L, Kong J. Inbreeding and its impact on aquaculture[J]. Journal of Fisheries of China, 2005, 29(6): 849–856. [马大勇, 胡红浪, 孔杰. 近交及其对水产养殖的影响[J]. 水产学报, 2005, 29(6): 849–856.]

Comparison of growth and survival of the hybrid and inbred families in the golden shell color strain of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)

WANG Xuelei, LI Qi, KONG Lingfeng, YU Hong, YU Ruihai

The Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education; Ocean University of China, Qingdao 266003, China

Abstract: The Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) is one of the most important cultured bivalve species in the world. Given that oysters with golden shell coloration are rarely seen in the market and are sold at much higher prices than others, developing the golden shell line of *C. gigas* to have enhanced growth traits and survival rates is of great consequence. A series of 3×3 diallel crosses of three full-sib inbreeding families in the golden shell color strain of *C. gigas* of G2(A) with better growth performance and G19(B) and G28(C) with better growth and survival performance was conducted, including three inbreeding groups (AA, BB, CC) and six hybrid groups (AB, AC, BA, BC, CA, CB). Growth performance, survival rate and heterosis were evaluated and compared at larval and juvenile stages between different groups. The results showed that most of the hybrid groups presented better growth performance and survival rate than their inbreeding groups at different stages. At the larval stage of day 5, the larval shell height and shell length of all the hybrid groups were significantly greater than the inbreeding groups ($P<0.05$). At days 10, 15 and 20, the shell height and shell length of the CB and BC groups were outstanding: the differences between them and their corresponding inbreeding groups were significant ($P<0.05$), and the heterosis was obvious. At day 10, the larval survival rate of CB was significantly greater than AA and CA ($P<0.05$). The heterosis of larval shell height, shell length and survival rate among all hybrid groups were between 1.88% and 14.24%, 0.28% and 14.67% and 10.72% and 23.22%, respectively. At the juvenile stage, each group also showed differences in growth and survival characteristics, and the three growth traits and survival rate of hybrid groups showed different heterosis. At days 85 and 130, the shell height of hybrid group CB was greater than the other experimental groups. The heterosis of the survival rate of AC, CA and CB groups showed a clear trend to increase with age. At day 190, the juvenile survival rate of AC and BC was significantly greater than AA and CC ($P<0.05$). The heterosis of the juvenile shell height, shell length, total weight and survival rate was between 11.04% and 9.42%, 11.59% and 13.98%, 3.85% and 27.99% and 3.60% and 12.63%, respectively. All results were consistent with those of the larval stage, showing good constancy and balance. This result provides an important basis for genetic improvement and better utilization of heterosis of the golden shell color strain of *C. gigas*.

Key words: *Crassostrea gigas*; golden shell color; growth trait; survival; heterosis

Corresponding author: LI Qi. E-mail: qili66@ouc.edu.cn