

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2019.18303

熊本牡蛎中国群体与美国群体杂交效应及杂交三倍体优势分析

武祥伟^{1,2,3}, 张跃环¹, 肖述¹, 秦艳平^{1,3}, 马海涛¹, 喻子牛¹

1. 中国科学院南海海洋研究所, 中国科学院热带海洋生物资源与生态重点实验室, 广东省应用海洋生物学重点实验室, 广东 广州 510301;
2. 云南农业大学动物科学技术学院, 云南 昆明 650201;
3. 中国科学院大学, 北京 100049

摘要: 为了评估熊本牡蛎(*Crassostrea sikamea*)中国群体与美国群体的杂交效应与杂交三倍体优势, 构建了杂交群体和自交群体, 并使用细胞松弛素 B 诱导了杂交三倍体, 比较分析了幼虫、稚贝与成贝的生长与存活优势。自交群体和杂交群体的幼虫、稚贝与成贝的培养条件均相同, 室内培育幼虫, 培育密度为 4~5 个/mL, 自然海区养殖稚贝与成贝, 养殖密度为 40~45 个/吊。结果表明, 与自交组相比, 杂交二倍体具有较高的卵裂率(13.61%)与 D 幼率(5.67%)($P<0.05$), 但杂交二倍体幼虫的壳高生长表现杂种劣势(-0.43%), 而稚贝、成贝的壳长与壳高的生长表现杂种优势, 平均优势率分别为 3.96%与 6.65%。杂交三倍体诱导组幼虫的壳高生长优势率为 3.69%, 稚贝及成贝的壳长与壳高平均生长优势率分别为 12.69%与 13.64%, 并且日龄越大生长优势越显著。总体上, 杂交三倍体诱导组在 3~180 日龄具有存活劣势, 并且 15 日龄存活劣势率最大(-48.72%), 而在 360 日龄存活优势率为 6.70%。杂交二倍体幼虫与成贝均具有存活优势, 平均优势率分别为 10.44%与 4.59%。本研究表明熊本牡蛎中美地理群体杂交二倍体的生长和存活优于自交二倍体, 而杂交三倍体诱导组的生长优势较显著, 并且在成贝期具有显著的成活率优势, 表明杂交三倍体诱导组的优势来源于三倍体优势和部分杂种优势。

关键词: 熊本牡蛎; 杂交; 三倍体; 杂种优势; 生长; 存活
中图分类号: S968, Q343.2 **文献标志码:** A

文章编号: 1005-8737-(2019)03-0465-08

杂交育种是新品种培育的重要途径。杂交育种可集合双亲的优良性状, 多数杂交后代在生长和存活率上具有杂种优势。种间杂交可产生较大的遗传变异, 具有较大的杂种优势, 但种间杂交易存在繁殖隔离、操作复杂、成功率低等缺陷^[1]。牡蛎杂交育种研究中, 种内与种间杂交均有报道, 但主要集中于种间杂交^[2-5]。熊本牡蛎(*Crassostrea sikamea*)与其他牡蛎的种间杂交报道相对较少, 熊本牡蛎(♀)×葡萄牙牡蛎(*Crassostrea angulata*, ♂)的杂交子代在脂肪含量和脂肪酸组成上具有杂种优势^[6]; 在稚贝与成贝阶段, 熊本牡蛎与长牡蛎

(*Crassostrea gigas*)杂交子代壳长与壳高的生长均小于自交组^[7]。目前, 未见熊本牡蛎种内杂交研究的报道。

牡蛎三倍体具有生长快、个体大、繁殖季节死亡率低等优点。多种牡蛎已通过人工诱导获得了三倍体^[8-12]。杂交三倍体综合了杂种与三倍体的优势, 子代可能具有更优秀的性状。长牡蛎四倍体与近江牡蛎(*Crassostrea ariakensis*)二倍体的杂交三倍体子代, 幼虫的生长与变态时间具有优势, 并且其兼具了两亲本的特性^[13]; 长牡蛎中国群体与美国群体的种内杂交三倍体, 幼体与稚贝

收稿日期: 2018-09-06; 修订日期: 2018-10-24.

基金项目: 国家贝类产业体系建设专项(CARS-49); 广东省科技厅项目(2016TQ03N905, 2016A02020811, 2016B020233005, 2017B030314052); 广东省海洋与渔业厅项目(A201601A04).

作者简介: 武祥伟(1984-), 男, 博士, 研究方向为贝类养殖与繁育. E-mail: wxw9559@126.com

通信作者: 喻子牛, 研究员, 主要从事贝类遗传育种研究. E-mail: carlzyu@scsio.ac.cn

具有显著的生长优势^[14]。因此, 杂交三倍体亦可成为牡蛎育种的新途径。

熊本牡蛎中国群体与美国群体为两个不同的地理群体, 其中美国群体已在美国大面积养殖, 而中国群体为广西北部湾的野生种群, 个体较小, 成体体重一般小于 10 g, 显著小于美国群体^[12, 15]。本研究将自行人工选育至 F₃ 的中国群体与美国群体进行杂交及三倍体诱导实验, 分析杂交二倍体与杂交三倍体的生长与存活优势, 期望生产出既能适应中国沿海养殖环境又具有优良生长性状的熊本牡蛎杂交群体。

1 材料与方法

1.1 材料

2016 年 5 月在广西北海贝类养殖基地挑选 2~3 龄、体重大于 50 g 的无损伤熊本牡蛎中国群体和美

国群体(本课题组选育的 F₃ 群体)各 100 只作为亲贝, 暂养于人工育苗池中(水温 26~30℃, 盐度 22~25)。

1.2 实验设计

将熊本牡蛎美国群体与中国群体进行杂交和诱导, 分别获得杂交二倍体和杂交三倍体诱导组; 并且分别繁育美国群体和中国群体自交组(表 1)。本课题组已有的研究显示(未发表), 熊本牡蛎中国群体(♀)×美国群体(♂)杂交组合未产生显著杂种优势, 因此, 本研究只进行美国群体(♀)×中国群体(♂)的杂交实验。每组实验重复 3 次。

1.3 精卵的获取

采用人工解剖法获取亲贝的卵子和精子, 解剖后的雌雄性腺分开放置, 避免意外授精; 人工挤取精卵后, 使用 500 目筛绢网过滤掉杂质; 将卵子置于新鲜海水浸泡促熟 1 h, 授精前使用新鲜海水激活精子。

表 1 熊本牡蛎中国群体与美国群体杂交实验设计
Tab. 1 Design for cross between Chinese and American populations of *Crassostrea sikamea*

亲本 parent	中国群体 2n (♀ C) Chinese population	美国群体 2n (♂ A) American population
中国群体 2n (♀ C) Chinese population	2nCC	—
美国群体 2n (♂ A) American population	3nAC, 2nAC	2nAA

1.4 二倍体与三倍体的制作

采用同一批次的精子和卵子制作二倍体与三倍体。杂交三倍体诱导方法为: 当受精卵排出 40%~50% 的第一极体(PBI)时, 采用 0.5 mg/L 的细胞松弛素 B (CB, C6762-10MG, SIGMA, USA)溶液诱导 20 min, 并使用 0.1% 二甲基亚砷(DT0163, Sangon, Shanghai, China)洗掉残留的 CB, 然后置于 500 L 孵化桶中孵化; 杂交二倍体与自交二倍体不进行处理。

1.5 幼虫、稚贝及成贝的培育

幼体培育阶段前期投喂金藻(*Isochrysis galbans*), 后期等量混合投喂金藻与云维藻(*Yunwei alga*), 藻细胞浓度为 60000~80000 个/mL; 每 3 d 全部换水 1 次(水温 27~30℃, 盐度 22~25)。使用成吊的牡蛎壳作为附着基, 幼虫长出眼点与足后开始附着, 附着完毕后转移至自然海区养殖。

1.6 性状测量

分别使用显微镜(Olympus CX22, Tokyo, Ja-

pan)和游标卡尺(精确至 0.01 mm)测量浮游幼虫及稚贝与成贝的壳长与壳高, 测量时间为 3、6、9、12、15、40、180 和 360 日龄, 每次采集 60 个个体。

受精孵化约 8 h 后随机收集受精卵计算卵裂率; 全部发育至 D 形幼虫后计算 D 幼率。使用流式细胞仪(Partec II, 德国)测定倍性, 测定方法为: 随机采集幼虫置于 1.5 mL 离心管中, 加入 1 mL 浓度为 10 μg/mL 的 DAPI 溶液(D9542, SIGMA, USA; 配制方法为: 取 1 mg DAPI 加入 10 mL 双蒸水, 充分溶解后配制成母液, 使用时按 1:9 的比例用磷酸缓冲液稀释至 10 μg/mL 备用)制作细胞悬液, 检测 3 日龄与 9 日龄的三倍体诱导率。取成贝的鳃组织进行倍性检测, 方法同浮游幼虫的倍性检测。

杂种优势率 $H(\%) = [(F_1 - P) \times 100] / P$, 其中 F_1 与 P 分别为杂交二倍体组和二倍体组的均值; 杂交三倍体优势率 $T_d(\%) = [(3nH - 2nH) \times 100] / 2nH$, 其中, $3nH$ 与 $2nH$ 分别为杂交三倍体诱导组和杂交

二倍体组的均值^[16]。

1.7 数据处理

使用 SPSS 18.0 软件进行数据分析, 同一因素下不同水平采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 采用独立样本的 *t* 检验检测组间的成活率差异; 显著水平均为 $P<0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 三倍体诱导率、卵裂率、D 幼率及 D 幼大小

3 日龄与 9 日龄 3nAC 组的三倍体诱导率分别为 $(87\pm10.6)\%$ 与 $(77\pm9.2)\%$ (图 1)。3nAC 具有卵裂率与 D 幼率劣势, 劣势率分别为 -23.67% 与 -22.75% , 但在 D 幼大小上具有优势 $(4.06\%, P<0.05)$, 而 2nAC 与之相反 (表 2)。2nAA 的卵裂率、D 幼率和 D 幼大小均高于 2nCC, 但只在 D

幼率上呈显著差异 ($P<0.05$)。

2.2 幼虫的生长与存活

总体上, 3~15 日龄 3nAC 具有生长优势, 9 日龄时优势率最大为 5.53% , 平均优势率为 3.69% , 且与其他组呈显著差异 ($P<0.05$)。2nAC 仅在 9 日龄具有生长优势, 平均优势率为 -0.43% , 且与自交组差异不显著 ($P>0.05$)。3~6 日龄 2nAA 的生长显著高于 2nCC ($P<0.05$), 但 6~15 日龄时两者无显著差异 ($P>0.05$, 表 3)。

总体上, 3~15 日龄 2nAC 组的存活率大于 2nCC 和 2nAA, 平均存活优势率为 10.44% , 并且 6~15 日龄 2nAC 显著高于 2nCC ($P<0.05$), 而与 2nAA 无显著差别 ($P>0.05$)。3~15 日龄 3nAC 具有存活率劣势, 平均劣势率为 -40.54% , 显著低于二倍体自交组与杂交组 ($P<0.05$, 表 4)。

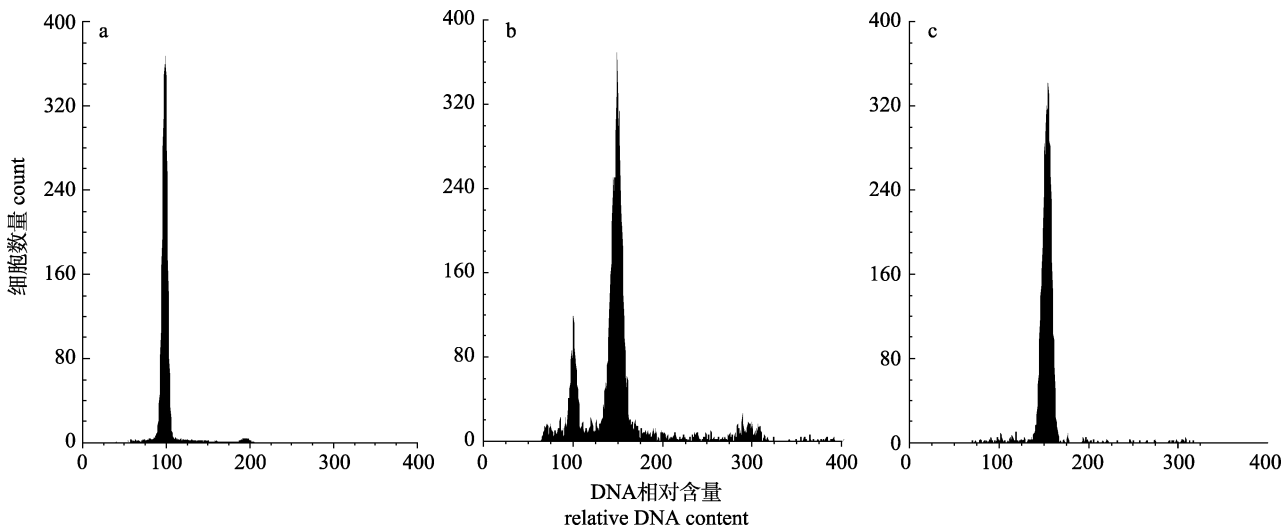


图 1 流式细胞仪检测的熊本牡蛎二倍体(a)及杂交三倍体幼虫(b)与成体(c)的倍性
b 图中杂交三倍体率为 87%。

Fig. 1 Ploidy examination for diploid (a), hybrid larvae (b), and hybrid triploid (c) in *Crassostrea sikamea* by flow cytometry
The triploidy rate is 87% which is displayed in the subfigure b.

表 2 二倍体与三倍体组的卵裂率、D 幼率及 D 幼大小

Tab. 2 Cleavage rate, D larvae rate, and D larvae size for the diploid and triploid groups of <i>Crassostrea sikamea</i>			
组别 group	卵裂率/% cleavage rate	D 幼率/% D larvae rate	D 幼大小/ μm D larvae size
2nCC	75.30 ± 1.43^b	86.44 ± 2.02^b	69.70 ± 0.71^a
2nAA	78.04 ± 1.43^b	89.53 ± 3.20^b	79.94 ± 0.33^b
2nAC	87.10 ± 3.20^c	92.97 ± 2.06^c	69.75 ± 0.35^a
3nAC	66.48 ± 3.49^a	71.82 ± 3.28^a	72.58 ± 0.49^a
杂种优势率 heterosis	13.61	5.67	-0.09
三倍体优势率 triploid advantage	-23.67	-22.75	4.06

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异 ($P<0.05$).
Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

表 3 二倍体与三倍体组幼虫壳高生长优势率变化
Tab. 3 Growth advantage of shell height for diploid and triploid larvae of *Crassostrea sikamea*

n=60; $\bar{x} \pm SD$; μm

组别 group	日龄/d days of age				
	3	6	9	12	15
2nCC	70.83±40.43 ^a	123.85±18.97 ^a	136.10±22.79 ^b	157.73±24.18 ^a	240.48±57.06 ^a
2nAA	79.72±44.18 ^b	125.76±23.55 ^a	130.58±19.89 ^b	147.73±23.57 ^a	268.48±48.78 ^a
2nAC	72.37±25.35 ^a	124.81±37.85 ^a	135.66±29.09 ^b	150.36±20.44 ^a	254.12±37.66 ^a
3nAC	75.42±26.74 ^a	130.69±16.82 ^c	143.07±18.68 ^a	156.74±26.59 ^a	258.44±28.73 ^a
杂种优势率 heterosis	-3.89	0.00	1.69	-1.57	-0.14
三倍体优势率 triploid advantage	4.29	4.73	5.53	4.26	1.69

注：同列数据上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$)。
Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

表 4 二倍体与三倍体组幼虫的存活优势率变化
Tab. 4 Advantage of survival rate in diploids and triploids larvae of *Crassostrea sikamea*

n=60; $\bar{x} \pm SD$; %

组别 group	日龄/d days of age				
	3	6	9	12	15
2nCC	96.09±4.00 ^a	77.90±5.26 ^b	65.10±8.34 ^b	60.17±7.31 ^b	58.8±8.58 ^b
2nAA	98.77±5.42 ^a	82.56±8.77 ^c	73.71±8.34 ^c	66.65±5.79 ^c	61.77±4.51 ^b
2nAC	96.52±12.54 ^a	86.37±10.37 ^c	75.65±11.26 ^c	69.79±8.19 ^c	66.58±6.58 ^c
3nAC	71.27±3.05 ^b	50.96±8.13 ^a	39.80±3.10 ^a	38.66±2.98 ^a	34.14±1.93 ^a
杂种优势率 heterosis	-0.93	7.65	9.00	10.06	10.44
三倍体优势率 triploid advantage	-26.16	-41.00	-47.39	-44.61	-48.72

注：同列数据上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$)。
Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

2.3 稚贝与成贝的生长与存活

40~360 日龄 3nAC 与 2nAC 均具有壳长与壳高的生长优势(表 5), 并且两者壳长和壳高的平均优势率分别为 12.69%与 13.64%、3.96%与 6.65%。3nAC 壳长与壳高的生长优势逐步增大,

日龄越大优势率越大; 且在 360 日龄与自交组呈显著差异($P<0.05$), 但与 2nAC 无显著差异($P>0.05$)。2nAC 的杂种优势率逐渐降低, 360 日龄时处于最低水平, 但与自交组仍具有显著差异($P<0.05$)。

表 5 二倍体与三倍体组稚贝和成贝壳长与壳高的生长优势
Tab. 5 Growth advantage of shell length and shell height for juveniles and adults of diploids and triploids in *Crassostrea sikamea*

n=60; $\bar{x} \pm SD$; cm

组别 group	日龄/d days of age					
	40		180		360	
	壳长 shell length	壳高 shell height	壳长 shell length	壳高 shell height	壳长 shell length	壳高 shell height
2nCC	1.04±0.14 ^a	0.86±0.14 ^a	3.49±0.63 ^c	2.42±0.63 ^a	5.01±0.89 ^a	3.59±0.63 ^a
2nAA	0.98±0.12 ^b	0.81±0.09 ^b	3.46±0.65 ^c	2.47±0.50 ^a	5.13±0.77 ^a	3.49±0.52 ^a
2nAC	1.07±0.13 ^a	0.91±0.04 ^a	3.75±0.71 ^b	2.52±0.42 ^a	5.37±0.97 ^b	3.66±0.46 ^b
3nAC	1.11±0.13 ^a	0.92±0.14 ^a	4.14±0.86 ^a	2.62±0.57 ^a	6.33±0.84 ^b	4.45±0.51 ^b
杂种优势率 heterosis	6.19	8.83	7.91	3.09	5.92	3.39
三倍体优势 triploid advantage	3.74	1.10	10.40	3.97	17.88	21.58

注：同列数据上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$)。
Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

在 180~360 日龄二倍体组与杂交三倍体诱导组的存活率急剧减小。因此, 杂交三倍体诱导组在 40~180 日龄呈生存率劣势, 在 360 日龄具有优势($P<0.05$, 6.70%)。而 40~360 日龄 2nAC 的存活率高于 2nCC 和 2nAA, 一直具有生存率优势(表 6)。

表 6 二倍体与三倍体组稚贝与成贝的存活优势率变化
Tab. 6 Variation of survival advantage in juveniles and adults of diploids and triploids in *Crassostrea sikamea*
 $n=60$; $\bar{x} \pm SD$; %

组别 group	日龄/d days of age		
	40	180	360
2nCC	87.75±2.21 ^a	85.01±0.69 ^a	44.35±5.57 ^a
2nAA	91.72±1.74 ^b	85.89±1.46 ^a	49.50±7.41 ^b
2nAC	95.23±2.43 ^c	86.00±1.04 ^a	51.08±7.71 ^b
3nAC	87.24±0.46 ^a	84.87±0.27 ^a	54.50±3.32 ^c
杂种优势率 heterosis	6.12	0.64	8.85
三倍体优势率 triploid advantage	-8.39	-1.31	6.70

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$)。
Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

3 讨论

种内不同种群间的杂交可表现不同程度的杂种优势^[1, 17]。不同家系的壳金长牡蛎杂交子代比自交子代表现出较高的生长和存活性能^[18]。香港牡蛎(*Crassostrea hongkongensis*)两个不同地理群体杂交, 幼虫具有一定的存活优势, 且生长呈现母本效应, 稚贝具有较明显的存活优势与生长优势^[19]。连续选育至 5 代的长牡蛎中国群体与日本群体杂交, 幼虫的存活与生长优势较小, 但稚贝与成贝的生长呈现较显著的杂种优势^[20]。长牡蛎选育群体 F₄ 的中国群体、日本群体、韩国群体双列杂交, 杂交组在 180、360、450 日龄均表现明显的杂种优势^[21]。本研究中熊本牡蛎中国群体与美国群体杂交二倍体的幼虫生长优势较小, 但稚贝与成贝具有较显著的生长与存活优势, 与不同地理群体的长牡蛎及香港牡蛎杂交的研究结果一致^[19-20]; 此外, 本研究中杂交二倍体幼虫亦具有较显著的存活率优势。

3.1 杂种优势

熊本牡蛎美国群体自交子代的卵裂率、D 幼

率、生长速度和存活率均大于中国群体自交子代, 暗示两者的杂交子代可能具有较明显的母本效应^[17]。人工选择可提高基因的纯合度, 可促进杂交效应的效果。因此, 本研究中卵裂率与 D 幼率表现出杂种优势, 原因可能为美国群体具有较高的母本效应。但 6 日龄时杂交幼虫壳长的杂种优势率为 0, 9 日龄已具有杂种优势率为 1.69%。在扇贝(*Argopecten circularis*)杂交群体幼体中亦发现了相似的情况, 其 11 日龄幼虫生长性状的杂种优势率为 0, 17 日龄增加至 6.8%^[22]。本研究中, 12 日龄与 15 日龄幼虫壳长生长又表现为杂交劣势。因此, 本研究可能说明熊本牡蛎杂交群体幼虫阶段的杂种优势并不稳定, 母本效应的作用较显著; 亦说明杂种优势与母本效应存在此消彼长的联系, 在厚壳蛤(*Mercenaria mercenaria*)两个选育群体的杂交后代中也发现幼虫期母本效应掩盖杂种优势的现象^[23]。

杂交稚贝与成贝均表现出稳定的杂种优势, 与幼虫的杂种效应有一定差异。长牡蛎不同选育群体的 F₂ 杂交, 其杂交幼体与杂交稚贝亦表现出不同模式的杂种优势^[24]。此外, 不同生长阶段具有不同的杂种优势亦属常见现象。本研究中 40 日龄、180 日龄、360 日龄杂交稚贝与成贝的生长性状的杂种优势呈现下降趋势。生长性状杂种优势的变异可能与外部环境和繁殖季节有关联。40 日龄处于 8 月份, 水温较高, 饵料生物丰富, 而此时性腺又未成熟, 因此具有较高的生长速度和杂种优势, 而 180 日龄为 12 月份, 水温较低, 饵料少, 生长速度慢, 360 日龄为下一年的 6 月份, 虽具有较高的水温与饵料密度, 但此时处于繁殖期, 大量能量物质用于性腺发育、配子生成, 个体生长速度变慢。总之, 遗传因素与环境因素共同决定了稚贝与成贝杂种优势的程度。

3.2 杂交三倍体优势

本研究中, 杂交三倍体诱导组的卵裂率与 D 幼率均表现负的三倍体优势, 这可能与 CB 的毒性有关, CB 较大的毒性可致胚胎发育畸形^[25]。而杂交三倍体诱导组幼虫、稚贝与成贝的生长均具有三倍体优势。一般认为三倍体细胞的巨态性是三倍体具有生长优势的原因之一^[26]。此外, 杂交

三倍体中也包含杂交效应, 杂交效应可产生生长优势^[27], 例如: 使用长牡蛎四倍体与二倍体杂交制作的杂交三倍体比使用化学药物诱导产生的三倍体具有更大的生长优势^[28]。本研究中, 40~360 日龄杂交三倍体诱导组幼虫、稚贝与成贝的生长均具有优势, 且日龄越大, 生长优势率越大, 但在 40~360 日龄杂交二倍体的生长优势率逐渐降低, 呈现日龄越大生长优势率越小的趋势。这种现象可能与性腺发育相关。40~360 日龄二倍体性腺逐步发育成熟, 二倍体性腺发育和繁殖消耗了大量本该用于个体生长的能量物质, 而三倍体具有不育性, 较多的能量用于个体生长。因此, 特殊的能量利用与分配机制亦是杂交三倍体诱导组后期杂种优势较大的原因。种内杂交三倍体亦可能同时拥有杂种优势和三倍体优势, 两者相互叠加表现出更优秀的经济性状。但杂交三倍体杂种优势的原因比杂交二倍体复杂, 三倍体优势与杂交优势的表现程度及相互作用仍需深入研究。

综上所述, 综合杂交育种与三倍体育种的优势, 可以培育出经济性状更加优秀的新品种。杂交三倍体育种也可成为牡蛎育种的新途径。本研究初步探讨了熊本牡蛎杂交三倍体育种的可行性, 为今后的熊本牡蛎育种研究提供了新思路。

参考文献:

- [1] Wang Q Y. Cell Engineering Breeding for Marine Aquaculture Species[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.]
- [2] Du J P, Wang Z P, Yu R H, et al. Effect of salinity on early heterosis of hybrid larvae between *Crassostrea hongkongensis* × *C. angulata*[J]. Periodical of Ocean University of China, 2018, 48(1): 31-39. [杜俊鹏, 王昭萍, 于瑞海, 等. 盐度对香港巨牡蛎♀ × 葡萄牙牡蛎♂杂交子代早期杂种优势的影响[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2018, 48(1): 31-39.]
- [3] Zhang Y H, Wang Z P, Yan X W, et al. Interspecific hybridization between two oysters *Crassostrea gigas* and *C. ariakensis*[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(8): 1215-1224. [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, 36(8): 1215-1224.]
- [4] 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.]
- [5] Zhang Y H, Wang Z P, Yu Z N, et al. Analysis of the medium-term heterosis of *Crassostrea hongkongensis* (♀) × *C. gigas* (♂) hybrids in Northern China[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(9): 1310-1317. [张跃环, 王昭萍, 喻子牛, 等. 北方沿海香港牡蛎(♀) × 长牡蛎(♂)杂种中期优势评估[J]. 水产学报, 2014, 38(9): 1310-1317.]
- [6] Yan L L, Wang Z P, Su J Q, et al. Determination of nutritive components and expression analysis of lipid metabolism related genes of hybrid of Kumamoto oyster (♀) and Portuguese oyster (♂)[J]. Periodical of Ocean University of China, 2017, 47(6): 53-60. [闫路路, 王昭萍, 苏家齐, 等. 熊本牡蛎(♀) × 葡萄牙牡蛎(♂)杂交子代的营养成分和脂肪代谢相关基因表达分析[J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2017, 47(6): 53-60.]
- [7] Teng S S, Li Q, Li J R. Cytological observations of nuclear behavior and comparative growth of the hybrids between *Crassostrea gigas* and *C. sikamea*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2010, 41(6): 914-922. [滕爽爽, 李琪, 李金蓉. 长牡蛎(*Crassostrea gigas*)与熊本牡蛎(*C. sikamea*)杂交的受精细胞学观察及子一代的生长比较[J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(6): 914-922.]
- [8] Allen S K Jr, Downing S L. Performance of triploid Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). I. Survival, growth, glycogen content, and sexual maturation in yearlings[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1986, 102(2-3): 197-208.
- [9] Allen S K Jr, Downing S L. Performance of triploid Pacific oyster, *Crassostrea gigas*: gametogenesis[J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1990, 47(6): 1213-1222.
- [10] Allen S K Jr, Bushek D. Large-scale production of triploid oysters, *Crassostrea virginica* (Gmelin), using "stripped gametes"[J]. Aquaculture, 1992, 103(3-4): 241-251.
- [11] Mondol M R, Kim C W, Kang C K, et al. Growth and reproduction of early grow-out hardened juvenile Pacific oyster, *Crassostrea giga* in Gamakman Bay, off the south coast of Korea[J]. Aquaculture, 2016, 463: 224-233.
- [12] Zhang Y H, Li J, Qin Y P, et al. A comparative study of the survival, growth and gonad development of the diploid and triploid Hong Kong oyster, *Crassostrea hongkongensis* (Lam & Morton 2003)[J]. Aquaculture Research, 2017, 48(5): 2453-2462.

- [13] Que H, Allen S K Jr. Hybridization of tetraploid and diploid *Crassostrea gigas* (Thunberg) with diploid *C. ariakensis* (Fujita)[J]. Journal of Shellfish Research, 2002, 21(1): 137-143.
- [14] Kong J, Wang Z P, Liu J, et al. Heterosis and triploid advantage between Chinese and American populations of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(5): 675-681. [孔静, 王昭萍, 刘剑, 等. 长牡蛎中国群体和美国群体杂交效应与三倍体的优势[J]. 水产学报, 2011, 35(5): 675-681.]
- [15] Zhang Y H, Li J, Zhang Y, et al. Performance evaluation of reciprocal hybrids derived from the two brackish oysters, *Crassostrea hongkongensis* and *Crassostrea sikamea* in southern China[J]. Aquaculture, 2017, 473: 310-316.
- [16] Callam B R, Allen S K Jr, Frank-Lawale A. Genetic and environmental influence on triploid *Crassostrea virginica* grown in Chesapeake Bay: Growth[J]. Aquaculture, 2016, 452: 97-106.
- [17] Gaffney P M, Allen S K Jr. Hybridization among *Crassostrea* species: a review[J]. Aquaculture, 1993, 116(1): 1-13.
- [18] Wang X L, Li Q, Kong L F, et al. Comparison of growth and survival of the hybrid and inbred families in the golden shell color strain of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2016, 23(6): 1358-1367. [王雪磊, 李琪, 孔令锋, 等. 壳金长牡蛎自交和杂交家系生长与存活比较[J]. 中国水产科学, 2016, 23(6): 1358-1367.]
- [19] Guan J L, Zhang Y H, Su J Q, et al. Heterosis in early growth stage of Hong Kong oyster *Crassostrea hongkongensis* hybridids from two geographical populations[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2016, 47(1): 182-187. [官俊良, 张跃环, 苏家齐, 等. 两个地理群体香港牡蛎(*Crassostrea hongkongensis*)杂交子代早期生长发育的杂种优势研究[J]. 海洋与湖沼, 2016, 47(1): 182-187.]
- [20] Yu Y, Li Q, Yu H, et al. Heterosis of hybrid between Chinese and Japanese populations of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)[J]. Periodical of Ocean University of China, 2016, 46(2): 35-41. [余勇, 李琪, 于红, 等. 长牡蛎中国群体和日本群体杂交子代的杂种优势分析[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2016, 46(2): 35-41.]
- [21] Wang W J, Li Q, Yang J M, et al. Analysis of growth trait of Pacific oyster *Crassostrea gigas* using 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.]
- [22] Cruz P, Ibarra A M. Larval growth and survival of two catarina scallop (*Argopecten circularis*, Sowerby, 1835) populations and their reciprocal crosses[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1997, 212(1): 95-110.
- [23] Manzi J J, Hadley N H, Dillon R T Jr. Hard clam, *Merccenaria mercenaria*, brood stocks: growth of selected hatchery stocks and their reciprocal crosses[J]. Aquaculture, 1991, 94(1): 17-26.
- [24] 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, 2011, 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, 2011, 41(12): 30-35.]
- [25] Stanley J G, Allen S K Jr, Hidu H. Polyploidy induced in the American oyster, *Crassostrea virginica*, with cytochalasin B[J]. Aquaculture, 1981, 23(1-4): 1-10.
- [26] Guo X, Allen S K Jr. Reproductive potential and genetics of triploid Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg)[J]. The Biological Bulletin, 1994, 187(3): 309-318.
- [27] Piferrer F, Beaumont A, Falguière J C, et al. Polyploid fish and shellfish: Production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment[J]. Aquaculture, 2009, 293(3-4): 125-156.
- [28] Guo X M, DeBrosse G A, Allen S K Jr. All-triploid Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg) produced by mating tetraploids and diploids[J]. Aquaculture, 1996, 142(3-4): 149-161.

Heterosis and triploid advantage between Chinese and American populations of Kumamoto oysters (*Crassostrea sikamea*)

WU Xiangwei^{1,2,3}, ZHANG Yuehuan¹, XIAO Shu¹, QIN Yanping^{1,3}, MA Haitao¹, YU Ziniu¹

1. Key Laboratory of Tropical Marine Bio-resources and Ecology, Guangdong Provincial Key Laboratory of Applied Marine Biology, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China;
2. Animal Science and Technology College, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;
3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

Abstract: The Kumamoto oyster *Crassostrea sikamea* (Amemiya, 1928) is mainly distributed in Eastern Asia, from the southern coast of China to Korea and the Ariake Sea of Japan. Compared to other oysters, *C. sikamea* is known for its flavored meat and firm texture, and it is therefore preferred in commercial markets over other commercial oyster species. It has been one of the most important commercial species in the shellfish industry on the west coast of America since the 1950s. In China, the wild population of *C. sikamea* is abundant and is considered an important wild fishery resource. In our laboratory, two strains of *C. sikamea* have been developed for artificial hatchery breeding in recent years. Hybridization breeding is one of the important methods for developing a new strain of *C. sikamea*. Moreover, triploid marine bivalves generally have growth and survival advantages over common diploids. Therefore, hybridization for marine bivalves has gained increasing interest for scientists. In the present study, the hybrid diploids and triploids from two strains of the Chinese population and American population of *C. sikamea* were induced to evaluate the hybridization effect and triploid advantage. The conditions for larvae and adult rearing were the same throughout the entire period. The larvae were reared in indoor tanks, with a density of 4–5 individuals per milliliter water. The juveniles were farmed on the sea, with 40–45 individuals per sting of attachment. The results showed that the hybrid diploids had heterosis for cleavage rate (13.61%) and D larvae rate (5.67%) compared to that of the controls, while the larvae of hybrid diploids had negative heterosis for their shell height growth (−0.43%). However, the juveniles and adults had heterosis of 3.96% and 6.65% for their shell height and shell length, respectively. On the other hand, the hybrid triploids had a growth advantage during the entire period, with high levels of advantage in the late growth stage. The larvae had a growth advantage of 3.69% on average, and the juveniles and adults had an advantage of 12.69% and 13.64% for their shell height and shell length, respectively. The hybrid triploids had negative survival rate from 3 days to 180 days, with a highest value of −48.72% at 15 days. However, a positive survival rate of 6.70% was detected at 360 days. In contrast, the hybrid diploids had a higher survival rate compared to that of the hybrid triploids, with mean survival advantages of 10.44% and 4.59% for the larvae and adults, respectively. The hybrid triploids had a significant growth advantage in the entire period and had a positive advantage of survival rate in the adults, suggesting that the advantages of hybrid triploids resulted from triploidy advantage and partial heterosis.

Key words: *Crassostrea sikamea*; hybridization; triploid; heterosis; growth; survival

Corresponding author: YU Ziniu. E-mail: carlzyu@scsio.ac.cn