

家系内大、小两种规格菲律宾蛤仔的双列杂交

桑士田¹, 闫喜武^{1*}, 霍忠明¹, 杨鹏¹, 杨凤¹, 张国范²

(1. 大连海洋大学水产与生命学院, 辽宁省贝类良种繁育工程技术研究中心, 辽宁 大连 116023;

2. 中国科学院海洋研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 以壳长为标准, 在菲律宾蛤仔生长速度快的家系中选择大、小两种规格蛤仔, 上选雌性个体为 A、雄性为 B; 下选雌性个体为 a、雄性为 b, 采用双列杂交方法, 分别建立 AB、Ab、aB、ab 4 组近交家系。测量并统计分析各近交家系的幼虫期和稚贝期的壳长生长及变态情况。结果表明: 近交家系的生长顺序为 AB>Ab>aB>ab, 除 9 日龄外, AB 与 ab 的壳长生长差异显著($P<0.05$)。随着日龄的增加, AB 逐渐体现出明显的生长优势, 在 90 日龄时与其它三个家系的生长差异明显($P<0.05$)。杂交组 Ab 的生长优于 aB, 表明菲律宾蛤仔前期的生长也受母本效应的影响。从 6 日龄起, 各近交家系开始附着变态, AB 的变态率为 $71.12\% \pm 1.53\%$, 与 Ab、aB 差异不显著($P>0.05$), 与 ab ($41.6\% \pm 1.33\%$) 差异显著($P<0.05$)。家系内近交改变了蛤仔附着变态时期的壳长生长分布频率, 上选组 AB 壳长分布趋于大型化, 而下选组 ab 壳长分布趋于小型化, Ab, aB 两家系近似正态分布。研究表明, 在家系内上选生长性状优良个体进行逐代选育是培育蛤仔速生新品种的有效手段。

关键词: 菲律宾蛤仔; 近交家系; 生长; 变态

中图分类号: Q 321⁺.1; S 917

文献标志码: A

菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)^[1]属双壳纲(Bivalvia), 帘蛤科(Veneridae)、蛤仔属, 属于广温、广盐性种类, 是我国重要的养殖贝类之一。国内外关于蛤仔的研究报道较多。在国外, 关于蛤仔群体生态、形态学及壳色遗传等方面的研究较多, 尤其在壳色遗传方面, 学者们通过不同壳色杂交等方式在壳色选育及遗传机制^[2-4]和壳色形成影响因素^[5-6]等方面取得一定成就, 提出了一些壳色遗传机制假说; 而在群体形态学及生态学方面^[7-9], 主要通过连续观测某海域蛤仔生长及生理生化指标等方法, 在蛤仔在不同海域的分布、生长及群体变化等方面取得一定成就。在国内, 对菲律宾蛤仔的研究主要集中在繁殖、养殖生物学、生态学及人工苗种繁育方面^[10-13]。菲律宾蛤仔的新品种选育工作正在开展, 相继运用了壳色协同选育、不同地

理群体杂交、选择育种、家系选育等方法, 初步筛选出生长和抗逆性状优良的斑马蛤、白蛤、海洋红、两道红等一系列新品系^[14-18]。

家系内选育是动植物育种中遗传改良的有效方法。实际上, 该方法是对基因型进行选择, 来加快家系内基因的纯化速度^[19]。通过家系内连续的近交(同胞或半同胞)方式, 最终选育出理想的近交系, 然后利用这些纯系或近交系来组配出性状优良的杂交种^[20]。这种方法在玉米、小麦和水稻的遗传改良中已经取得显著效果, 海洋贝类遗传育种的研究起步较晚。目前, 一些学者通过杂交育种及选择育种方法对牡蛎(*Crassostrea gigas*)、扇贝(*Argopecten irradians*)、等进行遗传改良旨在培育出性状优良的新品种^[21-23]。本研究从已建立的菲律宾蛤仔全同胞家系中, 选择一个生长快家系, 采用双列杂交方式

收稿日期: 2011-10-28 修回日期: 2012-02-25
资助项目: 现代农业体系建设专项经费支持项目(CARS-48)
通讯作者: 闫喜武, E-mail: yanxiwu2002@163.com

研究了家系内的大、小两种规格菲律宾蛤仔间交配组合的生长和变态情况, 以期探索出适于菲律宾蛤仔遗传改良的有效方法, 并为菲律宾蛤仔新品种选育提供优良的材料。

1 材料与方法

1.1 亲贝来源

在已建立的 70 个全同胞家系中选择生长速度快的菲律宾蛤仔家系作为育种材料。用 20 目网袋挂于生态池中养成、促熟, 当菲律宾蛤仔达到一龄性成熟时移入室内待产。

1.2 实验设计

以壳长为标准在家系内进行上选和下选, 选取大规格雌、雄菲律宾蛤仔各一枚分别为 A、B, 及小规格雌、雄菲律宾蛤仔各一枚分别为 a、b。经阴干流水刺激后, 菲律宾蛤仔产卵排精, 采用单体双列杂交方式进行交配, 建立近交家系(表 1), 并作 3 个重复。

表 1 近交家系的建立

Tab. 1 The establishment of inbred families

亲贝 paternal	壳长 shell length	
	B (22.48 mm)	b (14.42 mm)
A (23.86 mm)	A×B	A×b
a (13.52 mm)	a×B	a×b

1.3 幼虫及稚贝的培育

幼虫在 100 L 的白塑料桶中培育, 密度为 3~4 个/mL。每 2 天换水 1 次, 换水量为 100%。饵料每天投喂 2 次, 前期为绿色巴夫藻(*Pavloca viridis*), 后期为绿色巴夫藻、小球藻(*Chlorella vulgaris*)(1:1)混合投喂, 投饵量适幼虫摄食情况而定。为防止不同实验组幼虫之间混杂, 换水网箱单独使用。幼虫培育期间, 水温为 18.2~20.6 °C, 盐度为 25~28, pH 7.96~8.04。为了消除培育密度的影响, 在幼虫期定期对密度进行调整, 使每个重复密度保持一致。幼虫变态后, 稚贝培育水温为 16.4~18.2 °C, 投饵量随着稚贝摄食量增大而增加, 其它管理同幼虫培育。

1.4 数据测量

分别测量各个家系 3、6、9、30、60、90 日龄的壳长, 每个重复随机测量 30 个个体。

测量各家系的变态率, 变态率为出现鳃原基、足、次生壳稚贝数与足面盘幼虫数量的百分比。

1.5 数据分析

采用 SPSS13.0 软件对数据进行单因素方差统计分析, Excel 作图。

2 结果

2.1 近交家系生长比较

近交家系幼虫期 3 日龄近交家系壳长差异并不一致, 全同胞近交家系内生长速度顺序为 AB>Ab>aB>ab(图 1)。AB 与 ab 在幼虫期 6 日龄壳长差异显著($P<0.05$)。Ab, aB 的生长速度处于中间型, 在一个近交家系中生长体现出连续性变化, 而且壳长大的母本与壳长小的父本交配的近交家系生长速度快于壳长小母本与壳长大父本交配的近交家系。近交家系稚贝期和养成期生长比较见图 2, 在稚贝期 30 日龄近交家系壳长差异并不一致。AB 并没有体现出生长优势, 在稚贝期 60、90 日龄时, 壳长的生长顺序为 AB>Ab>aB>ab, AB 与 ab 差异显著($P<0.05$)。

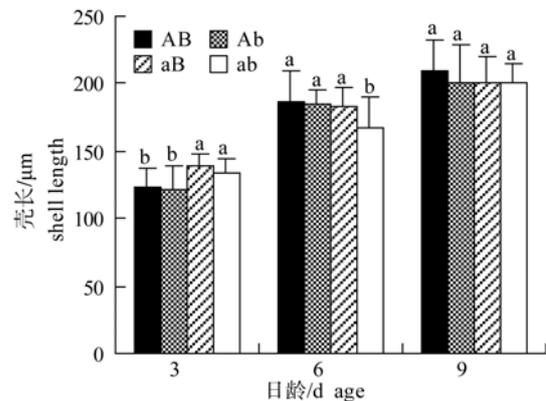


图 1 近交家系幼虫期生长的比较
Fig. 1 The comparison chart of the larval growth of inbred family

2.2 近交家系变态时期足面盘幼虫百分比、变态率、壳长分布频率

在幼虫期 6 日龄 AB 的足面盘幼虫比率为 73.00%, 变态率为 71.12%±1.53%, ab 在幼虫期 6 日龄足面盘幼虫比率仅为 32.00%, 变态率为 41.60%±1.33%(表 2)。AB、Ab、aB 变态率差异不显著($P>0.05$), 但与 ab 变态率差异显著($P<0.05$)。近交家系 6 日龄的壳长分布频率如图 3 至图 6 所示, 家系内近交改变了家系壳长生长的分布频率, Ab, aB 两家系趋于正态分布, AB 壳长分布趋于大型化, ab 趋于小型化(110~130 μm)比率为 27%。

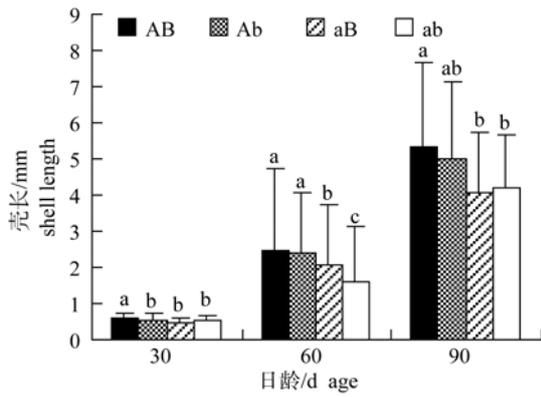


图 2 近交家系稚贝期和养成期生长的比较图
Fig. 2 The comparison chart of growth at the juvenile and grow-out stage of inbred family

3 讨论

在数量遗传育种中，常用的选育方法有家系选育和家系内选育，家系内选育是利用亲缘关系很近的同胞家系内子代个体，通过对性状进行选择，继续建立子代家系，其基因型得到了进一步纯化，加快了优良基因的纯化速度，很快淘汰隐性基

因。本研究采用的是家系内选育的方法，即在已建立的 70 个蛤仔家系中，选育出生长速度快的速生家系，采用双列杂交方式研究了家系内的大、小两种规格蛤仔间交配组合的生长和变态情况。

本实验结果表明，家系内亲贝规格与其后代的生长有密切关系。AB 生长明显快于 ab，且差异显著 ($P < 0.05$)。根据微效多基因假说，生长性状由一系列独立遗传的微效基因共同决定，因此，在本实验中 AB 体现出的生长优势及 ab 体现出生长劣势，是由于生长性状微效基因累加作用的结果。在全同胞家系中上选的 A、B 是家系中生长性状优良的亲贝，因此，其自身的增效基因相比 a、b 要多，经过单体交配后，生长性状增效基因再次累加，使其生长优势更加明显。Ab、aB 壳长生长处于中间型，这是因为 a、b 中携带的增效基因相对于 A、B 少，使得 Ab、aB 中参与累加的增效基因少于 AB，但是多于 ab，所以 Ab、aB 壳长生长处于中间型，这也更加有利的说明了家系内各实验组产生生长差异的主要原因是亲本微效基因累加作用的结果。

表 2 近交家系足面盘幼虫百分比及变态率
Tab. 2 The percentage of metamorphosis rate of inbred family

类别 item	AB	Ab	aB	ab
足面盘幼虫百分比/% percentage	73.00	56.67	53.33	32.00
变态率/% metamorphosis ratio	71.12(1.53) ^a	71.67(1.58) ^a	70.33(2.47) ^a	41.6(1.33) ^b

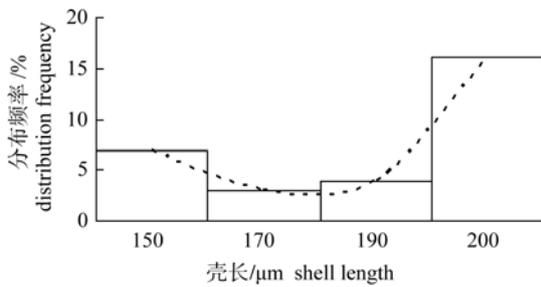


图 3 AB 壳长分布
Fig. 3 AB distribution of the shell length

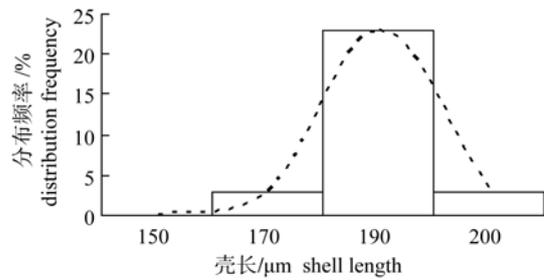


图 4 Ab 壳长分布
Fig. 4 Ab distribution of the shell length

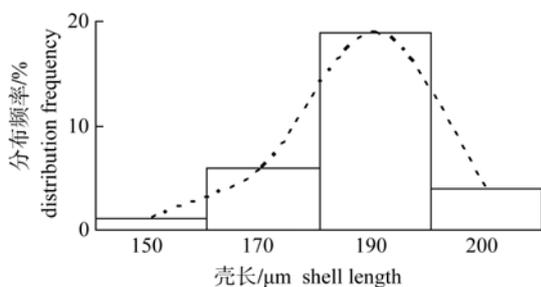


图 5 aB 壳长分布
Fig. 5 aB distribution of the shell length

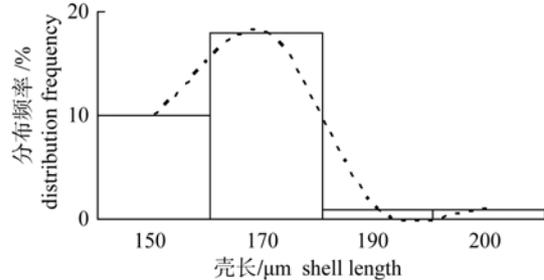


图 6 ab 壳长分布
Fig. 6 ab distribution of the shell length

Hedgecock 等^[24]在对牡蛎杂种优势的研究中指出, 生长性状的杂种优势是由于显性或超显性基因作用而表现出来, 但在本研究中家系内蛤仔生长优势应归因于家系内蛤仔生长性状的微效基因的遗传背景不同。Ward 等^[25]对太平洋牡蛎生长性状进行选育, 发现上选系生长状况明显优于下选系。何毛贤等^[26]对马氏珠母贝个体规格定向选育, 子一代群体生长性状在壳长、高、宽和总重上均优于对照组。邓岳文等^[27]对马氏珠母贝进行两代的连续上选, 发现其壳长生长要优于未选育的对照组, 这与本研究结果相似。

在近交家系壳长比较中, Ab 的壳长大于 aB, 即以壳长较大的母本与壳长较小的父本交配的后代生长快于以壳长较小的母本与壳长较大的父本交配的后代的生长, 体现出一定的母本效应。母本效应的产生原因可能有细胞质遗传、母本营养、母性病原物与抗体的传递和母子间或同胞间习性的模仿等, 在本实验中, 由于亲本是通过上选和下选的方式选自于来源一致且成熟度良好的生长性状优良的家系, 所以产生母本效应主要是遗传物质传递的结果。Jones 等^[28]指出, 母本效应对贝类幼虫阶段生长发育产生较大影响。陈丹群等^[29]在比较分析合浦珠母贝家系间生长发育情况时也发现, 雌性亲本壳长大的家系在壳长生长速度方面要快于其它家系, 表现出母本效应。母本效应也一定程度影响贝类的变态行为, 本实验各实验组变态率不同, ab 的变态率明显低于其它各实验组, 这一方面与亲本的遗传背景有关, 另一方面与母本效应也有很大关系。

家系内近交改变了家系壳长生长的分布频率。分离群体(F_1 、 F_2)或非分离群体(P_1 、 P_2 、 F_1)的个体间数量性状表现型呈连续变异, 且各群体变异呈正态分布或近似正态分布, 这是数量性状的典型特征^[30]。本实验中, 亲本来自于家系子一代中分离出的大、小两种规格个体, 由于微效基因累加的结果, Ab, aB 两家系壳长变异呈连续分布并趋于正态分布, 符合数量遗传学特点。AB 壳长分布趋于大型化, 这正是因为对亲本壳长性状进行选择, 使其生长性状增效基因频率增加的结果, 而相对应的 ab 则趋于小型化, 这是因为携带生长性状减效基因的小型个体交配, 导致 ab 生长缓慢, 趋于小型化。秦艳杰等^[31]在对海湾扇贝正反交两个家系形

态学指标分布特点研究中发现了数量较多的小型化个体, 并指出可能与扇贝的近交遗传有关。张国范等^[32]报道了海湾扇贝的自交可以导致自交衰退, 其表现是个体发育迟缓 and 小型化。本研究中, 在蛤仔家系中选择生长性状优良个体进行近交繁殖, 其后代生长性状表现优良, 表明选择家系内生长速度快的蛤仔作为亲本进行交配, 是蛤仔遗传改良的有效方法, 可以为蛤仔新品种选育提供优良的材料。

参考文献:

- [1] 庄启谦. 中国动物志, 软体动物门, 双壳纲, 帘蛤科 [M]. 北京: 科学出版社, 2001: 278.
- [2] Gerard A. Recherche sur la variabilite de diverses populations de *Ruditapes decussates* et *Ruditapes philippinarum*(Veneridae, Bivalvia)[D]. Brest: Universite de Bretagne Occidentale, 1978:149.
- [3] Gerard A. Etude des garnitures chromosomiques de deux Veneridae: *Ruditapes decussates*(L.) et *Ruditapes philippinarum*(Adama et Reeve) [J].Haliotis, 1978, 9(1): 69–71.
- [4] Peignon J M, Geraed A, Naciri Y, et al. Analysis of shell colour determinism in the Manila clam *Ruditapes philippinarum* [J]. Aquatic Living Resource, 1995, 8: 181–189.
- [5] Richardson C A. Tidal bands in the shell of the clam *Tapes philippinarum*(Adams & Reeve, 1850) [J].Proc R Soc London, 1987, 230B: 367–387.
- [6] Richardson C A. Exogenous and endogenous rhythms of band formation in the shell of the clam *Ruditapes philippinarum*(Adams & Reeve, 1850)[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1988, 122: 105–126.
- [7] Ponurovskii S K. Population structure and growth of the Japanese littleneck clam *Ruditapes philippinarum* in Amursky Bay, Sea of Japan [J]. Russian Journal of Marine Biology, 2008, 34(5): 329–332.
- [8] Silina A V. A comparative study of samples of the bivalve *Ruditapes philippinarum* (Adams et Reeve, 1850) from populations and shell assemblages[J]. Russian Journal of Marine Biology, 2011, 37(3): 193–200.
- [9] Robert R, Trut G, Laborde J L. Growth, reproduction and gross biochemical composition of the Manila clam *Ruditapes philippinarum* in the Bay of Arcachon, France[J]. Marine Biology, 1993, 116(2): 291–299.
- [10] 董波, 薛亲昭, 李军. 环境因子对菲律宾蛤仔摄食生理生态的影响[J]. 海洋与湖沼, 2000, 31(6): 636–642.
- [11] 王贵宁, 姜令绪, 王韶华, 等. 盐度对菲律宾蛤仔摄食率和清滤率的影响[J]. 海洋科学, 2010, 34(6): 6–8.

- [12] 梁峻, 闫喜武, 李霞, 等. 菲律宾蛤仔性腺发育生物学零度的研究[J]. 海洋科学, 2007, 31(9): 67-72.
- [13] 闫喜武, 姚托, 张跃环, 等. 冬季饥饿再投喂对菲律宾蛤仔生长、存活和生化组成的影响[J]. 应用生态学报, 2009, 20(12): 3043-3066.
- [14] 闫喜武, 张跃环, 霍忠明, 等. 不同壳色菲律宾蛤仔品系 F₂ 的表型性状[J]. 水产学报, 2010, 34(6): 881-889.
- [15] 闫喜武, 张跃环, 孙焕强. 菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 海洋橙品系两个世代的杂交与近交效应[J]. 海洋与湖沼, 2011, 42(2): 309-316.
- [16] 闫喜武, 张跃环, 孙焕强, 等. 菲律宾蛤仔两道红与白斑品系的三元杂交[J]. 水产学报, 2010, 34(8): 1190-1197.
- [17] 张跃环, 闫喜武, 霍忠明, 等. 不同地理群体菲律宾蛤仔生长发育的比较[J]. 大连水产学院学报, 2009, 24(1): 34-39.
- [18] 闫喜武, 霍忠明, 张跃环, 等. 菲律宾蛤仔家系的建立及早期生长发育[J]. 水产学报, 2010, 34(1): 32-40.
- [19] 盛志廉, 陈瑶生. 数量遗传学[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [20] 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.
- [21] Langdon C J, Jacobson D P, Evan S F, *et al.* The molluscan brood stock program improving Pacific oyster brood stock through genetic selectic[J]. Journal of Shellfish Research, 2000, 19(1): 616.
- [22] Hedgecock D, Cooper K, Hershberger W. Genetic and environmental components of variance in harvest body size among pedigreed Pacific oyster *Crassostrea gigas* from controlled crosses[J]. Journal of Shellfish Research, 1991, 10(2): 516.
- [23] 郑怀平, 张国范, 刘晓, 等. 海湾扇贝杂交家系与自交家系生长和存活的比较[J]. 水产学报, 2004, 28(3): 267-271.
- [24] Hedgecock D, Davis J P. Heterosis for yield and crossbreeding of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*[J]. Aquaculture, 2007, 272: 17-29.
- [25] Ward R D, English L J, McGoldrick D J, *et al.* Genetic improvement of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in Australia [J]. Latin American Journal of Aquatic Research, 2000, 31: 35-44.
- [26] 何毛贤, 史兼华, 林岳光, 等. 马氏珠母贝选育子一代生长特性研究[J]. 热带海洋学报, 2006, 25(01): 20-22.
- [27] 邓岳文, 符韶, 杜晓东, 等. 马氏珠母贝选系 F₂ 早期选择反应和现实遗传力估计[J]. 广东海洋大学学报, 2008, 28(4): 26-29.
- [28] Jones R, Bates J A, Innes D J, *et al.* Quantitative genetic analysis of growth in larval scallops (*Placopecten magellanicus*)[J]. Marine Biology, 1996, 124: 671-677.
- [29] 陈丹群, 张殿昌, 李有宁, 等. 合浦珠母贝家系的建立及生长性状的比较[J]. 安徽农业科学, 2008, 36 (35): 15493-15496.
- [30] 徐云碧, 朱立煌. 分子数量遗传学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 12-13.
- [31] 秦艳杰, 刘晓, 张海滨, 等. 海湾扇贝正反交两个家系形态学指标比较分析[J]. 海洋科学, 2007, 31(3): 22-27.
- [32] 张国范, 刘述锡, 刘晓, 等. 海湾扇贝自交家系的建立与自交效应[J]. 中国水产科学, 2003, 10(6): 441-445.

The diallel cross between large and small sizes within family of Manila clam (*Ruditapes philippinarum*)

SANG Shi-tian¹, YAN Xi-wu^{1*}, HUO Zhong-ming¹, YANG Peng¹, YANG Feng¹, ZHANG Guo-fan²

(1. College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Engineering & Technology Research Center of Shellfish Culture and Breeding in Liaoning, Dalian 116023, China;

2. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: Four inbred families named AB, Ab, aB and ab were obtained using diallel cross between large(♀A, ♂B) and small(♀a, ♂b) sizes selected from a fast-growing family depending on standard of shell length. Growth and metamorphosis were analyzed at the stages of larval and juvenile. The results showed that growth sequence of inbred families was AB>Ab>aB>ab, and AB grew faster than ab with significant difference ($P<0.05$), except day 9. Every group began to metamorphose at day 6, the metamorphosis rates of AB was $71.12\% \pm 1.53\%$ which was higher than ab ($41.6\% \pm 1.33\%$) ($P<0.05$). Distribution frequency of shell length of four experimental groups has changed by inbreeding within family. The size of AB obtained from up-selection verged on becoming large; however, ab obtained from down-selection verged on miniaturization. In conclusion, up-selection within families is the effective method for the genetics improvement of Manila clam.

Key words: *Ruditapes philippinarum*; inbred family; growth; metamorphosis

Corresponding author: YAN Xi-wu. E-mail: yanxiwu2002@163.com