

文章编号:1000-0615(2012)09-1358-09

DOI:10.3724/SP.J.1231.2012.28004

香港巨牡蛎与长牡蛎种间杂交及早期杂种优势分析

张跃环¹, 王昭萍^{1*}, 闫喜武², 苏家齐¹, 张辉²,
姚托¹, 霍忠明¹, 于瑞海¹, 杨鹏²

(1. 中国海洋大学教育部海水养殖重点实验室, 山东 青岛 266003;
2. 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)

摘要: 为测定香港巨牡蛎(*Crassostrea hongkongensis* ♀ × *C. hongkongensis* ♂)、长牡蛎自繁家系(*C. gigas* ♀ × *C. gigas* ♂)及其两者种间杂交家系(*C. hongkongensis* ♀ × *C. gigas* ♂)子代的早期表型性状, 评估种间杂种潜力, 分析早期种间杂种优势, 实验于2010年7月, 采用1雄对3雌的巢式设计建立了9个香港巨牡蛎自繁家系(*Crassostrea hongkongensis* ♀ × *C. hongkongensis* ♂)(HH₁₁、HH₁₂、HH₁₃……HH₃₃)、9个长牡蛎自繁家系(*C. gigas* ♀ × *C. gigas* ♂)(GG₁₁、GG₁₂、GG₁₃……GG₃₃)及45个种间杂交家系(*C. hongkongensis* ♀ × *C. gigas* ♂)(HG₁₁、HG₁₂、HG₁₃……HG₁₅₃)。结果发现, 种间杂交家系受精率及孵化率平均水平的杂种潜力 $hp < -1$, 表现出显著的杂种劣势; 出现了一定程度的种间配子不兼容现象, 而且存在着显著的个体间差异。从其总体水平上看, 幼虫生长性状的杂种潜力 $hp < -1$, 表现出显著的杂种劣势, 出现了远交衰退现象; 幼虫存活性状的杂种潜力 hp 在 $-1 \sim 1$ 之间, 虽然具有正向优势, 但达不到显著标准; 幼虫变态率的杂种潜力 $hp > 1$, 表现出显著的杂种优势。

关键词: 香港巨牡蛎; 长牡蛎; 种间杂交; 杂种潜力; 杂种优势

中图分类号: Q 321⁺.2; S 917.4

文献标志码:A

种间杂交是指同属内不同物种间的交配, 它可以显著地扩大动植物的基因库, 促进种间交流, 引入异种有利基因, 创造出前所未有的变异类型, 甚至会合成新的物种^[1], 它是动植物基本育种手段之一。贝类的远缘杂交起源于牡蛎, 早在1882年, Bouchon^[2]就开展了葡萄牙牡蛎(*Ostrea angulata*)与欧洲牡蛎(*O. edulis*)的种间杂交。在1950年, Davis^[3]研究了太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*) × 美洲牡蛎(*O. virginica*)及美洲牡蛎 × 奥林匹亚牡蛎(*O. lurida*)的种间杂交。随后, 学者们开展了大量的牡蛎种间杂交研究。Gaffney等^[4]在1993年对巨蛎属牡蛎的种间杂交进行了总结, 遗憾的是, 学者们几乎没有发现种间杂种优势。而且, 贝类种间杂交中具有明显杂种优势的

相对较少, 仅见于扇贝^[5]、蛤类^[6]及鲍^[7]的种间杂交研究。

香港巨牡蛎(*Crassostrea hongkongensis*)是暖温性近岸生长的一个经济价值极高的种类, 喜好高温低盐环境, 是我国南方养殖的主要经济种, 分布长江以南, 核心区为广东、广西, 年产量在100多万t^[8]。长牡蛎(*C. gigas*)分布在我国长江以北, 喜好低温高盐环境, 为世界性养殖品种, 主要集中在我国辽宁、山东等地, 年产量在80万t左右。由于生长速度快、环境适应性强、肉味鲜美, 深受广大消费者青睐^[9]。作为我国最重要的两种牡蛎经济种, 从分布范围上, 它们之间无生活重叠区; 从其生活环境上看, 它们生态类型截然相反; 从其遗传进化角度上, 这两个种类在巨蛎属牡

收稿日期:2012-02-24 修回日期:2012-04-23

资助项目:国家自然科学基金项目(31172403);国家重点基础研究发展规(2010CB126406)

通讯作者:王昭萍, E-mail:zpwang@ouc.edu.cn

蛎中遗传距离较远^[10],而且种间分化较早,大约在2880万年前发生了种间分歧,并成功进化为两个物种^[11]。张跃环等^[12]研究发现,这两个物种可以杂交,而且存在单向受精,即香港巨牡蛎的卵子可以与长牡蛎精子受精,相反方向,不能受精;而且在适宜的环境条件下可以培育出大量的种间杂交稚贝。鉴于上述研究基础,本实验采用巢式设计建立了45个种间杂交家系、9个香港巨牡蛎自交家系、9个长牡蛎自交家系,并对其子代早期性状进行了测定,评估了种间杂交子的杂种潜力,旨在进一步分析这两个物种杂交时早期的种间杂种优势。

1 材料与方法

1.1 实验材料

2010年7月,采集成熟的2龄香港巨牡蛎(香港后海湾),运往大连庄河海洋贝类育苗场水泥池中进行暂养,投喂充足饵料、同时适量换水,使其活力恢复,之后开展实验。长牡蛎为2009年在青岛崂东海珍品良种培育有限公司培育的苗种,在大连海洋贝类育苗场生态虾池中自然成熟的一子代^[8]。

1.2 实验设计及处理

为了探讨种间杂种优势,本实验采用1雄对3雌平衡巢式设计,建立了9个长牡蛎家系(GG₁₁₋₃₃)、9个香港巨牡蛎家系(HH₁₁₋₃₃)及45个杂交家系(HG₁₁₋₁₅₃)(表1)。

表1 种内自繁家系及种间杂交家系建立方法
Tab. 1 The conductive method of intraspecific and interspecific families

父本 pater	母本 mater	家系 family
G δ ₁₋₃	G ♀ ₁	GG ₁₁₋₃₁
	G ♀ ₂	GG ₁₂₋₃₂
	G ♀ ₃	GG ₁₃₋₃₃
H δ ₁₋₃	H ♀ ₁	HH ₁₁₋₃₁
	H ♀ ₂	HH ₁₂₋₃₂
	H ♀ ₃	HH ₁₃₋₃₃
G δ ₁₋₁₅	H ♀ ₁	HG ₁₁₋₁₅₁
	H ♀ ₂	HG ₁₂₋₁₅₂
	H ♀ ₃	HG ₁₃₋₁₅₃

实验处理 建立种内自繁家系和种间杂交家系:首先,通过解剖镜检,选择卵子圆亮,卵核浓缩,精子活泼的亲本作为实验材料。然后解剖精

卵,分别收集。卵子用400目筛绢网洗卵,并用海水浸泡30~60 min,精子用400目筛绢网过滤。然后按照表1建立家系。受精时,自繁家系每个卵子周围由3~5个精子效果最佳,杂交家系每个卵子周围有5~8个精子最好。然后,将受精卵转移至60 L塑料桶中微充气孵化,孵化密度30~50个/mL,由于卵量不同,每个家系孵化2~6桶不等。

幼虫培养 当受精胚胎发育至D形幼虫时,用320目筛绢网进行选育,分别转移至60 L白桶中培养,每个家系培养2~3桶,多余幼虫全部弃掉。幼虫培养密度为5个/mL;饵料以湛江等鞭金藻为主,每天投饵2次,随着幼虫生长,日投饵料5 000~100 000 cells;每3天全量换水一次。为了保证家系间密度一致,采取调节塑料桶中水的体积使其密度一致。为了防止自繁家系与杂交家系间幼虫混淆,每个家系换水网具单独使用。

稚贝附着 当幼虫生长至15日龄时,大部分家系的幼虫已经有一些出现眼点,当眼点幼虫比例达到40%~50%时,放置扇贝壳(牡蛎壳)作为附着基。附着期间,只投饵料,不换水,直到90%以上幼虫全部附着以后,开始换水,进入稚贝培养阶段。

1.3 指标测定

自繁家系及其杂交家系的受精率及孵化率,每个家系测量3次;幼虫15日龄时的壳高(每个家系测量30个个体)、存活率(每个家系测量3次);变态率(每个家系测量3次)。考虑到两种牡蛎及其杂交幼虫浮游期一般为18~25 d,所以选定15日龄作为幼虫生长、存活指标的标准,在此以后,幼虫生长缓慢,主要进行变态前的器官发育。

受精率是指已受精卵子数量与全部卵子数量的百分率;孵化率为D形幼虫密度与受精卵密度的百分率。存活率是指15日龄幼虫数量与D形幼虫数量百分率;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率。

1.4 杂种潜力及杂种优势计算

并非所有的杂交均能产生杂种优势,为了有效的评估杂交效果,参照Zheng等^[13-14]使用的方法,引入杂种潜力(heterosis potency, hp)这一概念。Griffing^[15]首次使用了杂种潜力这一指标来判断是否可以产生显著的杂种优势,其计算公式

如下:

$$hp = [2HG - (GG + HH)] / |GG - HH| \quad (1)$$

式(1)中,HG 为杂交子代的表型值,GG、HH 为双亲子代的表型值。当 $hp > 1.0$ 时,杂交产生了显著的杂种优势;当 $hp < -1.0$ 时,杂交产生了杂交衰退;当 $-1.0 < hp < 1.0$ 时,杂交效果不明显,杂交没有产生显著的杂交效果,也没有产生杂交衰退。

由于本实验中种间配子不对称受精,仅仅可以配对成功一个杂交组 HG,所以用 $2HG$ 表示杂交组表型值进行杂种潜力及杂种优势计算。参照 Zheng 等^[13,16]使用的方法,用下面公式计算杂种优势(heterosis, H):

$$H(\%) = [2HG - (GG + HH)] \times 100 / (GG + HH) \quad (2)$$

式(2)中,HG 为杂交子代的表型值,GG、HH 为双亲子代的表型值。 $H(\%)$ 是个百分比值,也被称为杂种优势率。

1.5 数据处理

为了减小方差齐性,壳高均转化对数 Log10,

表 2 各家系的受精率及孵化率

Tab. 2 Fertilization rate and hatching rate for each family

%

家系 family	受精率 fertilization rate	孵化率 hatching rate	家系 family	受精率 fertilization rate	孵化率 hatching rate
长牡蛎 <i>C. gigas</i> (F ^A 、H ^A)			HG ₅₁	84.41 ± 5.10 ^a	74.70 ± 3.64 ^b
GG ₁₁	99.97 ± 0.06 ^a	94.97 ± 5.05 ^a	HG ₅₂	81.70 ± 8.39 ^a	68.55 ± 9.51 ^b
GG ₁₂	99.44 ± 0.63 ^a	99.40 ± 0.63 ^a	HG ₅₃	82.15 ± 6.80 ^a	64.36 ± 3.63 ^b
GG ₁₃	99.15 ± 1.41 ^a	95.70 ± 3.49 ^a	HG ₆₁	94.13 ± 3.77 ^a	84.68 ± 4.91 ^a
GG ₂₁	99.63 ± 0.38 ^a	97.38 ± 2.27 ^a	HG ₆₂	97.45 ± 2.15 ^a	91.75 ± 3.64 ^a
GG ₂₂	97.10 ± 4.00 ^a	95.01 ± 6.15 ^a	HG ₆₃	94.32 ± 4.19 ^a	84.83 ± 12.70 ^a
GG ₂₃	99.43 ± 0.70 ^a	96.36 ± 3.03 ^a	HG ₇₁	91.27 ± 4.55 ^a	89.18 ± 6.60 ^a
GG ₃₁	99.71 ± 0.41 ^a	96.92 ± 1.92 ^a	HG ₇₂	95.88 ± 3.88 ^a	87.62 ± 1.82 ^a
GG ₃₂	99.45 ± 0.66 ^a	97.90 ± 2.55 ^a	HG ₇₃	95.86 ± 2.47 ^a	87.95 ± 3.78 ^a
GG ₃₃	99.45 ± 0.51 ^a	96.23 ± 2.20 ^a	HG ₈₁	28.53 ± 3.07 ^d	18.56 ± 3.15 ^d
香港巨牡蛎 <i>C. hongkongensis</i> (F ^B 、H ^B)			HG ₈₂	13.90 ± 3.29 ^d	8.44 ± 1.11 ^e
HH ₁₁	90.93 ± 3.89 ^a	90.90 ± 3.92 ^a	HG ₈₃	54.87 ± 4.80 ^c	43.83 ± 5.23 ^c
HH ₁₂	80.08 ± 4.37 ^b	63.55 ± 8.49 ^c	HG ₉₁	59.17 ± 8.78 ^c	45.94 ± 8.83 ^c
HH ₁₃	78.49 ± 4.14 ^b	70.39 ± 7.70 ^b	HG ₉₂	39.17 ± 5.20 ^c	25.07 ± 6.42 ^d
HH ₂₁	94.21 ± 3.88 ^a	84.70 ± 6.93 ^a	HG ₉₃	74.80 ± 5.85 ^b	60.34 ± 3.90 ^b
HH ₂₂	90.12 ± 5.18 ^a	81.37 ± 7.61 ^a	HG ₁₀₁	92.14 ± 2.58 ^a	91.37 ± 2.32 ^a
HH ₂₃	94.29 ± 6.10 ^a	87.16 ± 2.86 ^a	HG ₁₀₂	92.87 ± 4.00 ^a	78.22 ± 6.80 ^a
HH ₃₁	64.40 ± 4.02 ^c	61.86 ± 2.53 ^c	HG ₁₀₃	93.66 ± 4.58 ^a	86.13 ± 4.99 ^a
HH ₃₂	68.69 ± 5.88 ^c	62.56 ± 8.16 ^c	HG ₁₁₁	68.33 ± 7.64 ^b	64.67 ± 4.07 ^b
HH ₃₃	72.32 ± 6.04 ^c	68.69 ± 4.35 ^b	HG ₁₁₂	34.33 ± 4.04 ^c	33.58 ± 3.19 ^c

续表 2

家系 family	受精率 fertilization rate	孵化率 hatching rate	家系 family	受精率 fertilization rate	孵化率 hatching rate
杂交家系 hybrid family (F ^C 、H ^C)					
HG ₁₁	14.88 ± 2.68 ^e	12.05 ± 2.63 ^d	HG ₁₁₃	79.56 ± 4.35 ^b	73.31 ± 5.04 ^b
HG ₁₂	27.50 ± 2.50 ^d	20.92 ± 2.01 ^d	HG ₁₂₁	44.17 ± 6.73 ^c	37.56 ± 5.48 ^c
HG ₁₃	81.85 ± 7.40 ^a	46.16 ± 12.71 ^c	HG ₁₂₂	69.11 ± 8.00 ^b	66.51 ± 6.08 ^b
HG ₂₁	10.99 ± 6.54 ^e	3.55 ± 1.64 ^e	HG ₁₂₃	56.82 ± 10.16 ^c	45.60 ± 6.12 ^c
HG ₂₂	3.83 ± 1.04 ^e	2.47 ± 0.73 ^e	HG ₁₃₁	55.57 ± 10.79 ^c	52.98 ± 12.53 ^c
HG ₂₃	17.53 ± 2.50 ^e	13.11 ± 1.61 ^d	HG ₁₃₂	72.47 ± 7.31 ^b	67.37 ± 7.67 ^b
HG ₃₁	58.30 ± 6.89 ^c	46.39 ± 4.04 ^c	HG ₁₃₃	64.10 ± 6.00 ^b	48.26 ± 6.64 ^c
HG ₃₂	2.57 ± 2.11 ^e	1.99 ± 1.52 ^e	HG ₁₄₁	28.17 ± 7.42 ^d	26.87 ± 7.85 ^d
HG ₃₃	8.40 ± 1.44 ^e	6.53 ± 1.77 ^e	HG ₁₄₂	44.60 ± 11.61 ^c	33.42 ± 10.26 ^c
HG ₄₁	71.67 ± 10.41 ^b	65.93 ± 9.25 ^b	HG ₁₄₃	23.80 ± 5.41 ^d	20.66 ± 5.20 ^d
HG ₄₂	60.83 ± 13.77 ^b	51.34 ± 14.44 ^c	HG ₁₅₁	88.17 ± 1.61 ^a	83.18 ± 4.23 ^a
HG ₄₃	47.62 ± 2.32 ^c	32.60 ± 4.66 ^c	HG ₁₅₂	72.33 ± 2.52 ^b	68.31 ± 2.32 ^b
			HG ₁₅₃	78.00 ± 2.00 ^b	74.79 ± 1.49 ^b

注:每个家系上标字母不同表示差异显著($P < 0.05$);长牡蛎、香港巨牡蛎及杂交家系中的 F 表示受精率,H 表示孵化率,上标字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。

Notes: Different letters mean the significant difference ($P < 0.05$); F indicates fertilization rate, H indicates hatching rate in three experimental groups, and different letters mean the significant difference ($P < 0.05$).

表 3 各家系受精率、孵化率及幼虫生长、存活及变态的方差分析

Tab. 3 Variance analysis of fertilization rate, hatching level and larval growth, survival, and metamorphosis for each family

来源 source	df	MS	F	P
受精 fertilization	区组 inter-groups	2	0.036	24.635
	父系间 sib-family	20	0.048	47.691
	母系间 full-family	62	0.029	51.227
孵化 hatching rate	区组 inter-groups	2	0.782	73.715
	父系间 sib-family	20	0.120	17.547
	母系间 full-family	62	0.049	12.656
生长 growth	区组 inter-groups	2	0.036	24.635
	父系间 sib-family	20	0.048	47.691
	母系间 full-family	62	0.029	51.227
存活 survival	区组 inter-groups	2	0.185	6.902
	父系间 sib-family	20	0.086	3.970
	母系间 full-family	62	0.065	6.055
变态 metamorphosis	区组 inter-groups	2	0.782	73.715
	父系间 sib-family	20	0.120	17.547
	母系间 full-family	62	0.049	12.656

种间杂交家系受精及孵化总体水平上呈现出一定程度的杂种劣势,其受精水平的杂种潜力 $hp = -3.54$,杂种劣势为 $H = -34.80$;孵化的杂种潜力 $hp = -3.88$,杂种劣势为 $H = -32.73$ (图 1)。从各杂交家系受精水平上分析杂种优势,其中,正向杂种优势的家系有:HG₆₁、HG₆₂、HG₆₃、HG₇₁、HG₇₂、HG₇₃、HG₁₀₁、HG₁₀₂、HG₁₀₃,其杂种潜力 hp 分别为 0.42、0.80、0.44、0.10、0.62、0.62、

0.20、0.28、0.37,也就是说这些家系的 hp 均小于 1,按照计算规定,认为这些家系没有产生积极杂种优势(图 1-a)。从杂交家系孵化水平上看,正向杂种优势的家系有:HG₆₁、HG₆₂、HG₆₃、HG₇₁、HG₇₂、HG₇₃、HG₁₀₁、HG₁₀₂、HG₁₀₃、HG₁₅₁,其杂种潜力 hp 分别为 1.51、2.64、1.53、2.23、1.98、2.03、2.57、0.48、1.74、1.27,也就是说,除了家系 HG₁₀₂,以上列出的其他家系 hp 均大于 1,产生了

积极的杂种优势。这里面, HG₁₅₁ 家系虽然没有受精优势, 但表现出积极的孵化优势, 说明受精率低

的家系孵化率不一定就低(图 1-b)。

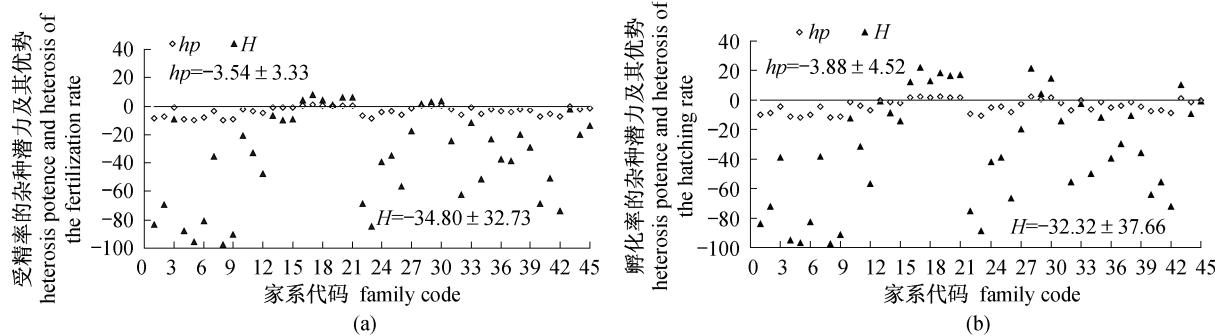


图 1 杂交家系受精(a)及孵化(b)的杂种潜力及杂种优势

Fig. 1 Heterosis potency and heterosis of fertilization rate (a) and hatching level (b) for each hybrid family

2.2 幼虫生长

在幼虫浮游 15 日龄时, 长牡蛎家系幼虫平均壳高为 306.30 μm , 显著大于香港巨牡蛎 294.53 μm ($P < 0.05$) ; 而杂交家系幼虫的平均壳高为 294.18 μm , 与香港巨牡蛎无显著差异 ($P > 0.05$), 但显著小于长牡蛎平均水平 ($P < 0.05$) (表 3, 表 4)。对于长牡蛎种内家系而言, 家系 GG₃₁、GG₃₂ 较小, 显著小于其他家系 ($P < 0.05$) ; 香港巨牡蛎种内家系 HH₁₂、HH₂₂ 壳高较大, 显著大于 HH₁₁、HH₂₃ ($P < 0.05$), 与其它种内家系无显著差异 ($P > 0.05$)。45 个种间杂交家系中, 壳高较大的家系有 12 个, 分别为 HG₁₂、HG₁₃、HG₂₁、HG₂₂、HG₂₃、HG₃₃、HG₆₂、HG₉₁、HG₉₃、HG₁₁₂、HG₁₃₁、HG₁₄₂, 它们均与长牡蛎及香港巨牡蛎中壳高较大家系无显著差异 ($P > 0.05$), 且显著大于 10 个较小的种间家系 (HG₄₁、HG₄₃、HG₅₂、HG₅₃、HG₆₁、HG₆₃、HG₇₃、HG₉₂、HG₁₀₁、HG₁₄₁) ($P < 0.05$)。其中, HG₅₂ 家系生长最慢, 壳高最小, 仅为 244.67 μm , 显著小于其它所有家系 ($P < 0.05$) (表 4, 表 5)。

杂交家系总体上壳高的杂种潜力 $hp = -1.06$, 平均杂种劣势 $H = -2.07$, 杂交使得幼虫生长呈现一定程度的杂种劣势, 表现出远交衰退(图 2-a)。虽然总体水平上为杂种劣势, 但是, 仍有一些家系具有显著的生长优势 ($hp > 1$), 如 HG₁₂、HG₁₃、HG₂₁、HG₂₂、HG₂₃、HG₃₃、HG₆₂、HG₉₃、HG₁₀₁、HG₁₀₃、HG₁₂₁、HG₁₄₁、HG₁₅₂; 还有一些家系没有产生显著优势 ($-1 < hp < 1$), 分别为 HG₁₁、HG₅₁、HG₇₁、HG₇₂、HG₉₁、HG₁₂₃、HG₁₃₃、HG₁₄₂、

HG₁₅₃; 剩下的杂交家系均表现出明显的杂种劣势 ($hp < -1$)。

2.3 幼虫存活

幼虫浮游期间, 香港巨牡蛎家系平均存活率为 74.61%, 显著小于长牡蛎(92.69%)及杂交家系(91.26%) 的平均存活能力 ($P < 0.05$) (表 3, 表 4)。长牡蛎各家系的存活率均在 90%, 且彼此间无显著差异 ($P > 0.05$); 香港巨牡蛎各家系存活率相对较低, 其波动范围在 63.04% ~ 83.75%; 杂交家系存活率相对较高, 仅有 2 个家系 (HG₆₃、HG₁₁₁) 存活率不足 80%, 其它的家系均在 80% 以上。

杂交家系总体水平上存活率杂种潜力 $hp = 0.84$, 存活优势 $H = 9.10$, 说明虽然有正向杂种优势产生, 但达不到显著标准, 没有积极的存活优势(图 2-b)。在杂交家系中, 有一些家系存活力产生了显著优势, 其 $hp > 1$, 如家系 HG₁₂、HG₂₁、HG₂₂、HG₂₃、HG₃₁、HG₃₂、HG₃₃、HG₄₁、HG₄₂、HG₄₃、HG₅₁、HG₅₂、HG₆₁、HG₆₂、HG₇₁、HG₇₂、HG₉₃、HG₁₀₁、HG₁₁₃、HG₁₂₁、HG₁₂₃、HG₁₃₁、HG₁₄₁、HG₁₅₂; 其余的家系均未产生杂种优势, 即 $-1 < hp < 1$ 。

2.4 幼虫变态

变态率是幼虫变态的关键参数, 因为它决定着幼虫能否变态及其变态稚贝数量多寡。杂交家系平均变态率最高 (76.93%), 与长牡蛎 (74.32%) 无显著差异 ($P > 0.05$), 但显著高于香港巨牡蛎 (58.04%) ($P < 0.05$) (表 3, 表 4)。由于变态率及幼虫存活率之间的差异, 各家系均获得了大量的稚贝, 这说明无论是长牡蛎、香港巨牡

蛎还是杂交子均具有很好的变态能力。

从杂交家系变态率总体水平上看,其杂种潜力 $hp = 1.32$, 杂种优势 $H = 16.24$, 说明杂交家系在变态率上产生了显著的杂种优势(图 2-b)。在所有的杂交家系中,只有家系 HG₁₃、HG₆₃、HG₇₃、

HG₈₁、HG₈₂、HG₈₃、HG₉₁、HG₉₂、HG₁₁₁、HG₁₃₂、HG₁₃₃、HG₁₄₂、HG₁₅₁、HG₁₅₃尚未产生显著杂种优势 ($-1 < hp < 1$), 其它的家系均产生了积极的杂种优势 ($hp > 1$) (图 2-c)。

表 4 各家系幼虫的生长、存活及变态

Tab. 4 Larval growth, survival and metamorphosis of each family

家系 family	壳高/ μm shell height	存活/% survival rate	变态率/% metamorphosis	家系 family	壳高/ μm shell height	存活/% survival rate	变态率/% metamorphosis
长牡蛎 <i>Crassoatrea gigas</i>(G^A、S^A、M^B)							
GG ₁₁	319.00 ± 13.98 ^a	94.97 ± 0.05 ^a	71.24 ± 5.25 ^{bc}	HG ₅₁	305.33 ± 12.79 ^{ab}	95.53 ± 3.46 ^a	83.88 ± 4.36 ^a
GG ₁₂	316.67 ± 12.95 ^a	92.76 ± 0.03 ^a	71.31 ± 3.75 ^{bc}	HG ₅₂	244.67 ± 11.06 ^d	95.76 ± 2.64 ^a	80.12 ± 2.43 ^{ab}
GG ₁₃	321.33 ± 12.24 ^a	92.75 ± 0.54 ^a	66.99 ± 4.11 ^c	HG ₅₃	263.33 ± 13.22 ^c	89.51 ± 5.35 ^{ab}	78.24 ± 5.39 ^{ab}
GG ₂₁	326.33 ± 15.20 ^a	90.97 ± 0.05 ^a	75.93 ± 4.12 ^b	HG ₆₁	275.00 ± 22.09 ^c	95.86 ± 0.56 ^a	81.00 ± 2.78 ^{ab}
GG ₂₂	319.67 ± 11.59 ^a	93.90 ± 0.01 ^a	79.70 ± 4.05 ^{ab}	HG ₆₂	311.00 ± 16.47 ^a	98.97 ± 0.06 ^a	82.79 ± 2.29 ^a
GG ₂₃	315.33 ± 16.13 ^a	94.37 ± 0.55 ^a	80.02 ± 2.74 ^{ab}	HG ₆₃	261.00 ± 15.39 ^c	79.98 ± 6.92 ^{bc}	69.81 ± 6.01 ^{bc}
GG ₃₁	271.67 ± 17.91 ^b	92.16 ± 0.51 ^a	78.85 ± 2.17 ^{ab}	HG ₇₁	304.00 ± 15.67 ^{ab}	96.06 ± 2.59 ^a	74.62 ± 3.11 ^b
GG ₃₂	276.67 ± 10.28 ^b	91.64 ± 2.00 ^a	70.07 ± 7.33 ^{bc}	HG ₇₂	302.33 ± 24.45 ^{ab}	93.72 ± 4.46 ^a	75.55 ± 3.58 ^b
GG ₃₃	290.00 ± 25.73 ^{ab}	90.70 ± 3.29 ^a	74.73 ± 4.19 ^b	HG ₇₃	270.33 ± 8.50 ^b	86.20 ± 2.99 ^{ab}	69.46 ± 3.45 ^{bc}
香港巨牡蛎 <i>C. hongkongensis</i>(G^B、S^B、M^B)							
HH ₁₁	269.13 ± 15.29 ^b	84.75 ± 3.44 ^b	53.90 ± 2.83 ^d	HG ₈₁	298.33 ± 19.67 ^{ab}	87.27 ± 2.59 ^{ab}	71.86 ± 3.82 ^{bc}
HH ₁₂	310.00 ± 9.83 ^a	71.46 ± 6.68 ^c	52.92 ± 3.96 ^d	HG ₈₂	290.00 ± 19.48 ^{ab}	81.54 ± 9.06 ^b	68.94 ± 7.74 ^{bc}
HH ₁₃	294.30 ± 22.10 ^{ab}	76.03 ± 3.59 ^c	50.73 ± 5.04 ^{de}	HG ₈₃	307.33 ± 20.67 ^{ab}	81.37 ± 4.28 ^b	69.16 ± 3.65 ^{bc}
HH ₂₁	305.00 ± 13.33 ^{ab}	77.64 ± 4.44 ^c	61.94 ± 3.37 ^{cd}	HG ₉₁	319.00 ± 9.60 ^a	86.29 ± 3.63 ^{ab}	64.57 ± 4.20 ^c
HH ₂₂	318.00 ± 10.95 ^a	63.04 ± 7.63 ^d	57.11 ± 3.94 ^{cd}	HG ₉₂	270.67 ± 14.13 ^b	84.24 ± 9.32 ^b	71.61 ± 7.92 ^{bc}
HH ₂₃	258.00 ± 13.75 ^c	72.94 ± 7.67 ^c	54.91 ± 4.06 ^d	HG ₉₃	313.33 ± 11.55 ^a	97.54 ± 0.54 ^a	80.86 ± 4.08 ^{ab}
HH ₃₁	294.30 ± 20.65 ^{ab}	69.57 ± 5.58 ^c	61.35 ± 4.05 ^{cd}	HG ₁₀₁	265.00 ± 11.96 ^c	99.00 ± 0.01 ^a	85.01 ± 4.82 ^a
HH ₃₂	299.00 ± 16.47 ^{ab}	77.03 ± 6.09 ^{bc}	68.73 ± 3.30 ^{bc}	HG ₁₀₂	289.00 ± 13.22 ^{ab}	89.31 ± 9.47 ^a	77.83 ± 2.36 ^b
HH ₃₃	303.00 ± 16.01 ^{ab}	79.01 ± 6.25 ^{bc}	60.75 ± 3.60 ^{cd}	HG ₁₀₃	294.33 ± 13.82 ^{ab}	90.27 ± 0.05 ^a	79.70 ± 3.81 ^{ab}
杂交家系 Hybrid family(G^B、S^A、M^A)							
HG ₁₁	300.33 ± 11.29 ^{ab}	87.57 ± 2.60 ^{ab}	76.12 ± 3.37 ^b	HG ₁₁₁	314.00 ± 18.86 ^a	77.06 ± 7.21 ^{bc}	65.87 ± 4.04 ^c
HG ₁₂	339.00 ± 10.62 ^a	93.26 ± 2.24 ^a	81.07 ± 3.68 ^{ab}	HG ₁₁₂	316.33 ± 12.45 ^a	92.09 ± 5.27 ^a	80.05 ± 4.19 ^{ab}
HG ₁₃	309.00 ± 15.17 ^a	82.80 ± 4.60 ^b	69.11 ± 3.83 ^{bc}	HG ₁₁₃	303.00 ± 9.88 ^{ab}	95.11 ± 0.55 ^a	76.56 ± 3.50 ^b
HG ₂₁	319.67 ± 17.71 ^a	98.87 ± 0.57 ^a	86.72 ± 3.58 ^a	HG ₁₂₁	290.00 ± 17.22 ^{ab}	94.37 ± 0.51 ^a	76.33 ± 3.54 ^b
HG ₂₂	329.67 ± 19.56 ^a	96.95 ± 0.67 ^a	85.15 ± 2.16 ^a	HG ₁₂₂	302.00 ± 10.31 ^{ab}	98.97 ± 0.06 ^a	79.13 ± 3.28 ^{ab}
HG ₂₃	312.33 ± 18.32 ^a	96.85 ± 0.89 ^a	84.59 ± 3.54 ^a	HG ₁₂₃	313.33 ± 12.41 ^a	98.34 ± 0.57 ^a	80.86 ± 3.60 ^{ab}
HG ₃₁	286.33 ± 16.08 ^{ab}	95.02 ± 5.68 ^a	84.23 ± 4.76 ^a	HG ₁₃₁	297.63 ± 20.50 ^{ab}	81.71 ± 6.51 ^b	79.06 ± 2.79 ^{ab}
HG ₃₂	280.00 ± 18.38 ^b	94.29 ± 4.49 ^a	80.94 ± 3.91 ^{ab}	HG ₁₃₂	290.67 ± 18.93 ^{ab}	81.77 ± 7.61 ^b	66.47 ± 4.38 ^c
HG ₃₃	315.00 ± 23.89 ^a	96.47 ± 0.56 ^a	81.91 ± 1.45 ^{ab}	HG ₁₃₃	280.67 ± 14.37 ^b	98.64 ± 0.75 ^a	69.49 ± 4.07 ^{ab}
HG ₄₁	283.00 ± 18.96 ^b	93.93 ± 5.37 ^a	80.84 ± 4.30 ^{ab}	HG ₁₄₁	315.67 ± 14.06 ^a	80.42 ± 0.47 ^b	81.74 ± 3.40 ^{ab}
HG ₄₂	293.97 ± 24.81 ^{ab}	96.33 ± 5.51 ^a	82.03 ± 4.36 ^a	HG ₁₄₂	305.00 ± 15.92 ^a	92.45 ± 2.90 ^a	64.83 ± 3.54 ^c
HG ₄₃	264.67 ± 18.52 ^c	95.49 ± 3.26 ^a	82.87 ± 4.65 ^a	HG ₁₄₃	298.33 ± 19.67 ^{ab}	81.05 ± 7.50 ^b	78.59 ± 2.48 ^{ab}
				HG ₁₅₁	290.00 ± 19.48 ^{ab}	93.93 ± 5.37 ^a	68.11 ± 4.40 ^{bc}
				HG ₁₅₂	307.33 ± 20.67 ^a	88.28 ± 2.10 ^{ab}	81.10 ± 4.34 ^{ab}
				HG ₁₅₃	290.00 ± 17.22 ^{ab}	94.37 ± 0.51 ^a	72.90 ± 2.91 ^b

注:每个家系上标字母不同表示差异显著($P < 0.05$);长牡蛎、香港巨牡蛎及杂交家系中的 G 表示壳高,S 表示存活率,M 表示变态率,上标字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。

Notes: Different letters mean the significant difference ($P < 0.05$); G, S and M in three experimental groups indicates shell height, survival rate, metamorphosis, respectively. And the different letters mean the significant difference ($P < 0.05$).

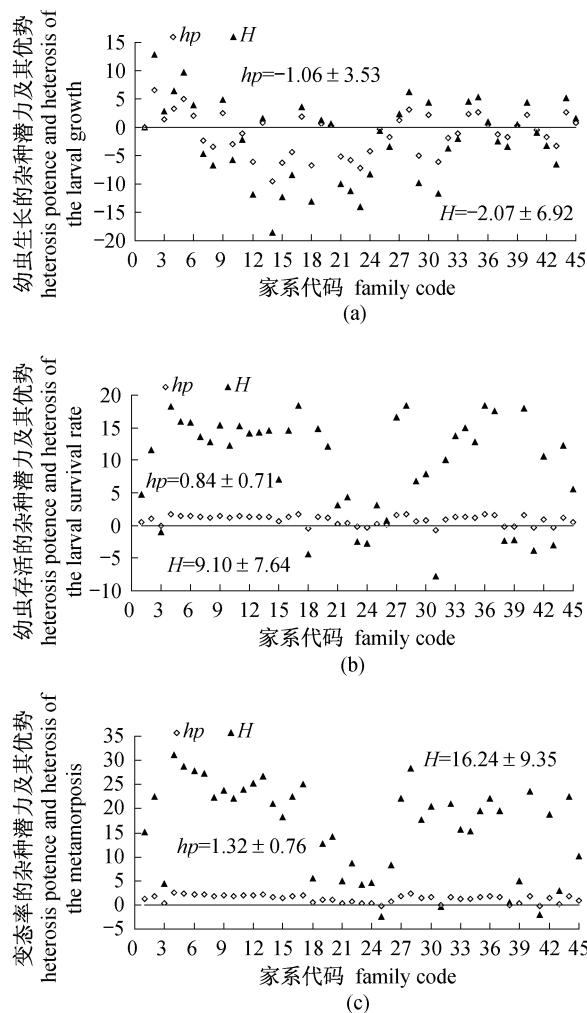


图2 杂交家系幼虫生长(a)、存活(b)及变态(c)的杂种潜力及杂种优势

Fig. 2 Heterosis potency and heterosis of larval growth (a), survival (b) and metamorphosis (c) for each hybrid family

3 讨论

3.1 杂种潜力

为了有效地评估杂种优势显著程度,实验引入了杂种潜力这一概念。杂种潜力并非是杂种优势,它只不过是评定杂种优势的一个度量标准,它表示的是亲本间差异对杂种优势的贡献力大小,这不同于杂种优势的计算方法。根据定义,当杂种潜力 >1 情况下可以认为杂交产生了显著的杂种优势,当杂种潜力 <-1 的时候,认为杂交产生了显著的杂种劣势,当杂种潜力 $-1 \sim 1$ 之间时,认为杂交没有产生显著杂种优势^[15]。这种判别方法,先后用于评定海洋双壳贝类中的太平洋牡蛎近交系间杂交^[17]、太平洋牡蛎与葡萄牙牡蛎亚

种间杂交(*C. gigas* × *C. angulata*)^[14]、两个海湾扇贝亚种间杂交(*Argopecten irradians irradians* × *A. irradians concentricus*)及两种贻贝种间杂交(*Mytilus edulis* × *M. galloprovincialis*)^[18]效果。根据以前的研究,发现用杂种潜力评估杂种优势显著性具有高度的适用性,而且取得较为理想的评估效果。

3.2 杂种优势

从本文研究结果上看,种间杂交配子兼容性较差,孵化率相对较低,表现出一定程度的受精不亲和,而且存在明显的个体间差异。从受精及孵化水平的杂种潜力(*hp*)上看,均 <-1 ,说明种间杂交家系产生显著的杂种劣势,这种原因可能是种间精卵识别差异造成的^[19]。

总体上看,幼虫生长性状表现出一定程度的远交衰退现象,而且表现出显著的杂种劣势(*hp* <-1);幼虫存活性状虽具有杂种优势,但达不到显著程度(*hp* <1);幼虫变态率具有显著杂种优势(*hp* >1)。远交衰退是指种间(亚种间)杂交时子代产生的生活力、适应性、可育性等性状减退现象,它多发生于亲本遗传差异较大时^[20]。本实验中的香港巨牡蛎与长牡蛎的遗传差异是巨牡蛎属牡蛎中较大的两者^[10-11],与其它牡蛎的种间杂交一样^[4,20]。另一方面原因,可能是来自于种间染色体组兼容性差异,虽然杂交子可以很好的兼容两物种的染色体,但是控制生长性状的相关基因没有得到有效地表达,从而导致了生长衰退现象^[9,19]。在牡蛎的种间杂交中,除了长牡蛎雌与近江牡蛎雄杂交组合具有杂种优势外^[21],尚未见到杂种优势相关报道。与此相反,其它贝类种间杂交中伴随着显著杂种优势的组合有扇贝^[5]、蛤类^[6]及鲍^[7]等。幼虫的存活性状具有杂种优势,这可能是亲本两套染色体兼容性较好,出现了内部适应这种状况,产生了正向优势。幼虫的变态率优势极其显著,说明杂交幼虫不存在变态问题,这与以往的牡蛎种间杂交不同。在适宜的环境条件下,幼虫具有较高的存活变态能力;在不适宜的条件下,幼虫往往会停滞生长或者夭折^[22]。

参考文献:

- [1] 楼允东. 鱼类育种学 [M]. 北京: 科学出版社, 1998: 83-84.
- [2] Bouchon B. On the sexuality of the common oyster (*Ostrea edulis*) and that of the Portuguese oyster (*O.*

- angulata*). Artificial fecundation of the Portuguese oyster [J]. Annals and Magazine of Natural History, 1882, 10(5): 328–330.
- [3] Davis H C. On interspecific hybridization in *Ostrea* [J]. Science, 1950, 111(12): 522.
- [4] Gaffney P M, Allen S K. Hybridization among *Crassostrea* species: a review [J]. Aquaculture, 1993, 116(1): 1–13.
- [5] Wang C, Liu B, Li J, et al. Introduction of the Peruvian scallop and its hybridization with the bay scallop in China [J]. Aquaculture 2011, 310(3–4): 380–387.
- [6] Lindell S, Walton B, Simmons J, et al. Hybridization between two genera of clams, *Spisula solidissima* and *Mulinia lateralis*, and early growth trials [J]. Journal of Shellfish Research 2006, 25(2): 750.
- [7] Luo X, Ke C, You W, et al. Molecular identification of interspecific hybrids between *Haliotis discus hawaii* Ino and *Haliotis gigantea* Gmelin using amplified fragment-length polymorphism and microsatellite markers [J]. Aquaculture Research, 2010, 41(12): 1827–1834.
- [8] 张跃环, 王昭萍, 闫喜武, 等. 香港巨牡蛎与长牡蛎早期表型性状研究 [J]. 生态学报, 2012, 32(4): 1105–1114.
- [9] Guo X, Zhang G, Qian L, et al. Oysters and oyster farming in China: A review [J]. Journal of Shellfish Research, 2006, 25(2): 734.
- [10] Yu Z, Wei Z, Kong X, et al. Complete mitochondrial DNA sequence of oyster *Crassostrea hongkongensis*—a case of “Tandem duplication-random loss” for genome rearrangement in *Crassostrea*? [J]. BMC Genomics, 2008, 9: 447.
- [11] Ren J, Liu X, Jiang F, et al. Unusual conservation of mitochondrial gene order in *Crassostrea* oysters: evidence for recent speciation in Asia [J]. BMC Evolutionary Biology, 2010, 10: 394.
- [12] Zhang Y, Wang Z, Yan X, et al. Laboratory hybridization between two oyster species, *Crassostrea gigas* and *C. hongkongensis* [J]. Journal of Shellfish Research, 2012, 31(3): 1–7.
- [13] 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]. Aquaculture Research, 2011, 42(4): 602–612.
- [14] 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.
- [15] Griffing B. Use of a controlled-nutrient experiment to test heterosis hypothesis [J]. Genetics, 1990, 126(3): 753–756.
- [16] Zheng H P, Zhang G F, Guo X, et al. Heterosis between two stocks of the bay scallop, *Argopecten irradians* Lamarck (1819) [J]. Journal of Shellfish Research, 2006, 25(4): 807–812.
- [17] Hedgecock D, Davis J P. Heterosis for yield and crossbreeding of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* [J]. Aquaculture, 2007, 272(213): 17–29.
- [18] Beaumont A R, Turner G, Wood A R, et al. Hybridisations between *Mytilus edulis* and *Mytilus galloprovincialis* and performance of pure species and hybrid veliger larvae at different temperatures [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2004, 302(2): 177–188.
- [19] Xu F, Zhang G, Liu X, et al. Laboratory hybridization between *Crassostrea ariakensis* and *C. sikamea* [J]. Journal of Shellfish Research, 2009, 28(3): 453–458.
- [20] Edmands S. Heterosis and outbreeding depression in interpopulation crosses spanning a wide range of divergence [J]. Evolution, 1999, 53(6): 1757–1768.
- [21] Que H, Allen S K. Hybridization of tetraploid and diploid *Crassostrea gigas* (Thunberg) with diploid *C. ariakensis* (Fujita) [J]. Journal of Shellfish Research, 2002, 27(K): 137–143.
- [22] Johnson N A, Wade M J. Conditions for soft selection favoring the evolution of hybrid inviability [J]. Journal of Theoretical Biology, 1995, 176(4): 493–499.

Analysis of the early heterosis for interspecific hybrids between *Crassostrea hongkongensis* and *C. gigas*

ZHANG Yue-huan¹, WANG Zhao-ping^{1*}, YAN Xi-wu², SU Jia-qi¹,
ZHANG Hui², YAO Tuo¹, HUO Zhong-ming¹, YU Rui-hai¹, YANG Peng²

(1. Key Laboratory of Mariculture Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Engineering Research Center of Shellfish Culture and Breeding of Liaoning Province,

College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China)

Abstract: To improve the oyster phenotypic character, 9 *Crassostrea gigas* families (HH₁₁, HH₁₂, HH₁₃……HH₃₃), 9 *C. hongkongensis* families (GG₁₁, GG₁₂, GG₁₃……GG₃₃) and 45 interspecific hybrid families (*C. hongkongensis* ♀ × *C. gigas* ♂) (HG₁₁, HG₁₂, HG₁₃……HG₁₅₃) were established by the method of unbalanced nest design (one male to three female) in July 2010. Moreover, their early phenotypic character, heterosis potency and heterosis were examined under the identical conditions. These results show that the hybrid weakness of fertilization and hatching levels ($hp < -1$) were observed among interspecific hybrid families due to the gametal incompatibility and individual variation. On the whole, the outbreeding depression of larvae growth was observed with the significant hybrid weakness ($hp < -1$); the heterosis potency of larval survival ranged from -1 to 1, and survival advantage occurred without the remarkable level; the significantly metamorphic heterosis ($hp > 1$) was investigated during the planktonic stage. Cytology and molecular biology of interspecific hybridization were further researched on the base of numerous hybrids with genetic information.

Key words: *Crassostrea hongkongensis*; *C. gigas*; interspecific hybridization; heterosis potency; heterosis

Corresponding author: WANG Zhao-ping. E-mail: zpwang@ouc.edu.cn