

菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)海洋橙品系 两个世代的杂交与近交效应*

闫喜武¹ 张跃环¹ 孙焕强¹ 霍忠明¹ 李少文¹
杨 凤¹ 张国范²

(1. 大连海洋大学生命科学与技术学院 大连 116023; 2. 中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

摘要 于 2009 年 8 月以菲律宾蛤仔海洋橙品系的全同胞子一代和子二代上选 10% 的个体作为亲本, 通过建立近交组合(F_{22} 、 F_{33})、杂交组合(F_{23} 、 F_{32})和设置对照组(C_{22} 、 C_{33}), 研究了两个近交世代的杂交效应及近交效应, 以提高菲律宾蛤仔海洋橙品系的表型性状。结果表明, 杂交使幼虫和稚贝的生长性状得到了部分改良, 但存活性状尚未得到提高。幼虫和稚贝表现出微弱的生长优势, 正反交组单亲生长优势表现出正负不对称性。杂交效应主要受到母本效应的影响, 母本效应贯穿于幼虫期及稚贝期。近交使世代 F_{33} 的生长性状得到了改良, 且两个世代的存活性状均有不同程度的提高。表型性状的近交效应在幼虫期主要受到交配方式的影响, 而在稚贝期主要受到世代效应的影响。通过上选, 杂交与近交的有机结合, 有效改良了海洋橙品系的表型性状。

关键词 菲律宾蛤仔, 海洋橙品系, 世代, 杂种优势, 近交衰退
中图分类号 S968.3

近交衰退的报道绝大多数见诸于陆生动植物, 尤其是植物中的自花受粉者(张国范等, 2009)。对贝类而言, 利用雌雄同体贝类进行近交衰退的研究相对较多, 因为雌雄同体型贝类比较容易获得自交系, 经过几代自交系自繁, 会获得纯度较高的近交系(纯系)(张国范等, 2003)。为此, 学者们先后研究了自交及杂交对大扇贝 *Pecten maximus* (Beaumont *et al.*, 1983)、墨西哥湾扇贝 *Argopecten circularis* (Ibarra *et al.*, 1995)、紫扇贝 *Argopecten purpuratus* L. (Winkler *et al.*, 2003)、海湾扇贝 *A. irradians irradians* 的影响, 同时分析了产生近交衰退的主要原因(张国范等, 2003; Zheng *et al.*, 2008)。利用雌雄异体型贝类建立近交系的研究很少, 仅见于国外学者通过建立太平洋牡蛎 *Crassostrea gigas* 全同胞家系, 经过全同胞家系自繁若干代, 获得纯度较高的近交系, 利用近交系间杂交,

产生了表型一致的具有杂种优势的杂交子代, 为太平洋牡蛎的种质改良做出了突出贡献(Hedgecock *et al.*, 1995, 2007)。

我国是菲律宾蛤仔 *Ruditapes philippinarum* 生产大国, 2007—2008 年产量均在 300 万 t 左右, 占据我国贝类产量的 30%, 海水养殖总产量的 20%, 世界产量的 90% 以上(张国范等, 2010)。为了适应蛤仔养殖业的发展需求, 培育出养殖新品种, 学者们先后开展了菲律宾蛤仔的遗传育种工作, 研究方向主要集中在壳色、壳型品系的定向选育、杂交育种(张跃环等, 2008)及家系育种上(霍忠明等, 2010)。目前为止, 对于该品种近交衰退的研究仅见于霍忠明等(2010)报道了 9 个全同胞家系 F_2 近交衰退现象, 并分析了产生该现象的主要原因, 尚未见到菲律宾蛤仔品系内不同世代间近交效应的研究报道。本文利用全同胞家系两

* 国家高技术研究发展计划“863”项目资助, 2006AA10A410 号; 国家现代农业产业技术体系专项资助, CARS-48 号; 国家“十一五”课题资助, 2006BAD09A09 号; 辽宁省重大科研项目资助, 990387 号; 辽宁省教育厅创新团队项目资助, 2007T104 号; 辽宁省科技特派团项目资助, 2008203005 号。闫喜武, 博士, 教授, E-mail: yanxiwu2002@163.com

收稿日期: 2010-03-12, 收修改稿日期: 2010-05-17

个世代的海洋橙品系作为研究对象,研究了子二代与子三代的近交衰退效应,并通过建立近交与杂家系来研究世代间的杂交效应,为该品系的性状测试及遗传改良奠定了理论与实践基础。

1 材料与方法

1.1 亲本来源

菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)亲本为2007年建立的全同胞家系(海洋橙品系)子一代 F_1 和子二代 F_2 , 利用三段法(Zhang *et al*, 2006)经过2周年、1周年养成的两个世代。其中,海洋橙品系为具有很强抗逆性的优良家系,壳面背景颜色为橙色,壳面上具有四条深色的不连续状放射条带; F_1 为通过巢式设计建立家系的子一代, F_2 为 F_1 经过自繁获得的子二代(霍忠明等,2010)。2009年5月初,每个世代随机筛选600个个体,采用20目网袋(40cm×60cm),在大连海量水产食品有限公司的室外生态土池中采取吊养的方式进行生态促熟,每袋200粒。期间,水温12.8—30.6,盐度25—28,pH 7.64—8.62。

1.2 实验设计与处理

为了提高该品系的生长速度,产卵排精前,按照10%的留种率,分别上选海洋橙品系子一代 F_1 和子二代 F_2 各200粒作为繁殖群体。2009年8月上旬,将性腺发育成熟的亲本移入室内阴干8h,4h后开始产卵排精。随机选取子一代 F_1 和子二代 F_2 雌雄各6个,分别收集精卵,采用双列杂交法,将获得的精卵按照图1(黑体字部分)组合受精建立12个家系,即4个组合,分别为子二代近交组合 F_{22} (L_{1-3})、世代间正交组合 F_{23} (L_{4-6})、世代间反交组合 F_{32} (L_{7-9})、子三代近交组合 F_{33} (L_{10-12})。为测算两个世代上选组的近交衰退率,分别采用 C_{22} 、 C_{33} 作为对照组来计算不同世代的近交效应。其中, C_{22} 为与家系建立同步的对照组子一代60个个体的混交自繁, C_{33} 为与家系建立同步的对照组子二代60个个体混交自繁。之后将受精卵液转入100L白桶中孵化,孵化密度为10—12个/ml,

孵化期间连续充气。受精卵大约经过24h发育为D形幼虫。操作过程中,各实验组严格隔离,防止混杂。

1.3 幼虫及稚贝培育

幼虫和稚贝在60日龄以前培育在100L塑料桶中,幼虫密度为4—5个/ml,稚贝密度为2—3粒/cm²;每天投饵2次,饵料为湛江等鞭金藻(*Isochrysis zhangjiangensis*)和小球藻(*Chlorella vulgaris*) (体积比为1:1),浮游期投喂(0.2—0.5)×10⁴细胞/(ml·d),稚贝期投喂(1—2)×10⁴细胞/(ml·d),根据幼虫和稚贝的摄食情况适当增减饵料量,保持水中有足量的饵料;每2天全量换水1次,为避免不同实验组个体混杂,每组换水的筛绢网单独使用。60日龄以后,稚贝转入60目的网袋(40cm×60cm)中在室外生态池中吊养,每袋200—300粒。培育期间,水温为24.2—30.4,盐度为24—28,pH为7.64—8.62。为了消除培育密度的影响,在培育阶段每3天对密度进行调整,使各个实验组密度基本保持一致。各个实验组个体分桶培育,严格隔离。随稚贝生长定期更换网袋,调整密度,使各实验组密度保持一致。

1.4 指标测定

幼虫、稚贝壳长小于300μm的在显微镜下用目微尺(100×)测量,壳长大于300μm小于3.0mm的稚贝测量在体视显微镜下用目微尺(20—40×)进行,壳长

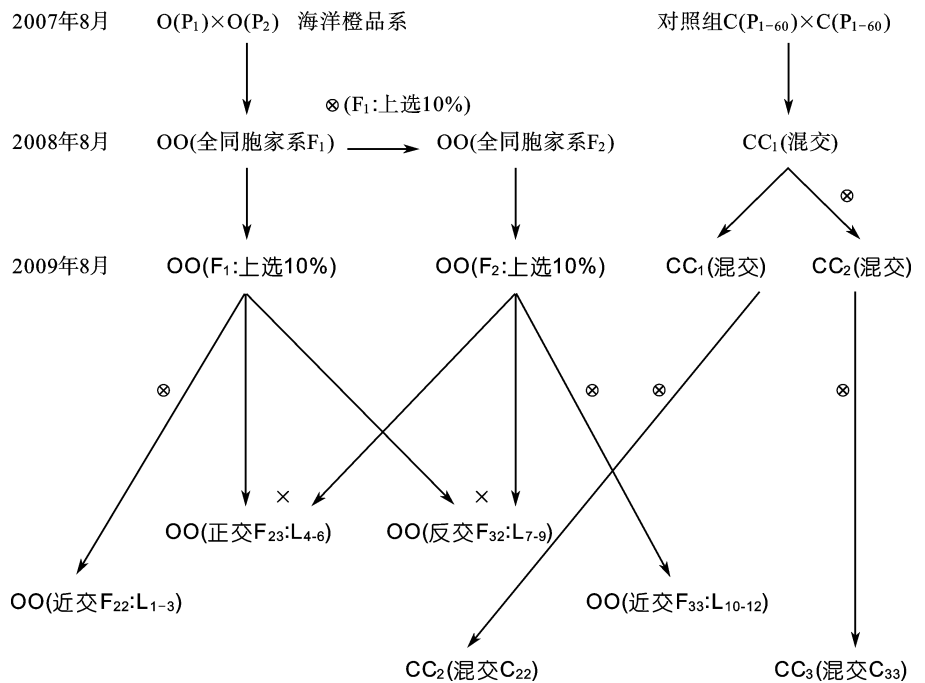


图1 海洋橙品系两个世代杂交与近交的实验设计

Fig.1 The experimental design for hybridization and inbreeding between two generations of Ocean Orange strains

大于 3.0mm 后用游标卡尺测量。每次测量设 3 个重复, 每个重复随机测量 30 个个体。幼虫存活率为单位体积幼虫数与 D 形幼虫数的百分率; 稚贝存活率为不同日龄存活稚贝的数量与变态稚贝数的百分率。

1.5 数据处理

为了减小方差齐性, 所有的壳长均转化对数 \lg 值, 所有的存活率均转化为反正弦函数 Asin 。用 SPSS16.0 统计软件对数据进行分析处理, 不同实验组间数据的比较采用单因素方差分析方法(Turkey HSD), 差异显著性设置为 $P < 0.05$ 。

参照郑怀平等(2004)采用的方法, 用下面公式计算杂种优势(Heterosis):

$$H\% = \frac{(F_{23} + F_{32}) - (F_{22} + F_{33})}{F_{22} + F_{33}} \times 100 \quad (1)$$

$$H_{F_{23}}\% = \frac{F_{23} - F_{22}}{F_{22}} \times 100,$$

$$H_{F_{32}}\% = \frac{F_{32} - F_{33}}{F_{33}} \times 100 \quad (2)$$

式中: F_{22} 、 F_{23} 、 F_{32} 、 F_{33} 分别表示各实验组的个体在同一日龄的表型值(生长、存活)。公式(1)表示中亲杂交杂种优势; 公式(2)表示双列杂交中正、反交组的单亲杂种优势。

参照 Zheng 等(2008)采用的方法, 利用下面的公式计算近交衰退率 x :

$$x = 1 - \frac{S_x}{P_x} \quad (3)$$

式中: S_x 表示两个世代混交对照组的表型值; P_x 表示两个世代近交实验组的表型值。

参照 Cruz 等(1997)、Zhang 等(2007), 利用双因

子分析模型检测母本效应及配对方式对杂交组幼虫生长与存活的影响:

$$Y_{ijk} = u + EO_i + MS_j + (EO \times MS)_{ij} + e_{ijk}$$

式中, Y_{ijk} 表示 k 个重复 i 个卵源 j 种配对方式下的壳长(存活率), u 为常数; EO_i 表示壳长(存活率)的卵源效应(母本效应)($i = 1, 2$), MS_j 表示壳长(存活率)的配对效应($j = 1, 2$), $(EO \times MS)_{ij}$ 表示卵源与配对策略的交互作用, e_{ijk} 为随机误差($k = 1, 2, 3$)。

参照 Zheng 等(2008), 利用双因子分析模型检测世代数目及配对方式对近交组幼虫生长与存活的影响:

$$Y_{ijk} = u + IG_i + MS'_j + (IG \times MS')_{ij} + e_{ijk}$$

式中, Y_{ijk} 表示 k 个重复 i 个世代 j 种配对方式下的壳长(存活率), u 为常数, IG_i 表示壳长(存活率)的世代效应($i = 1, 2$), MS'_j 表示壳长(存活率)的配对效应($j = 1, 2$), $(IG \times MS')_{ij}$ 表示世代数目与配对方式的交互作用, e_{ijk} 为随机误差($k = 1, 2, 3$)。

2 结果

2.1 幼虫的生长与存活

浮游期, F_{22} 实验组幼虫的壳长最小, 显著小于 F_{32} 、 F_{33} 实验组($P < 0.05$); C_{22} 、 C_{33} 实验组的幼虫壳长居中, 与各实验组差异不显著($P > 0.05$)(表 1)。在此期间, 幼虫表现出微弱的中亲生长优势, 且 F_{23} 实验组表现出一定程度的单亲生长优势, 但 F_{32} 实验组尚未表现出生长优势; F_{22} 实验组生长表现出一定程度上的近交衰退率, 但是 F_{33} 实验组尚未出现近交衰退(表 1)。幼虫的存活状况见表 2, F_{32} 、 F_{33} 存活率最高, 显著大于 C_{33} 实验组($P < 0.05$), 与 F_{22} 、 F_{23} 差异不显著

表 1 幼虫的壳长(μm)(a)、生长优势(%)(b)及近交衰退率(%)(c)

Tab.1 Larval shell length (μm) (a), growth heterosis (%) (b), and inbreeding depression rate (%) (c) for each experimental groups

类别	幼虫日龄(d)			平均值	
	3	6	9		
a	F_{22}	131.50±7.99 ^b	160.97±11.47 ^c	182.23±13.17 ^b	—
	F_{23}	135.77±8.25 ^{ab}	167.60±11.79 ^a	188.70±10.22 ^a	—
	F_{32}	139.57±9.61 ^a	178.37±12.10 ^a	192.13±11.43 ^a	—
	F_{33}	139.27±9.12 ^a	178.80±11.31 ^a	192.83±12.19 ^a	—
	C_{22}	135.40±9.09 ^{ab}	164.83±10.11 ^{ab}	185.50±12.64 ^{ab}	—
	C_{33}	136.17±10.23 ^{ab}	172.03±11.92 ^{ab}	187.13±12.61 ^{ab}	—
b	H_{23}	3.24	4.12	3.55	3.64
	H_{32}	0.22	-0.24	-0.36	-0.13
	H	1.69	1.82	1.54	1.68
c	22	2.88	2.34	1.76	2.33
	33	-2.28	-3.94	-3.05	-3.09

注: 实验数值上标表示多重比较结果, 同列字母不同表示差异显著($P < 0.05$), 下同

表 2 幼虫的存活率(%) (a)、存活优势(%) (b)及近交衰退率(%) (c)

Tab.2 Larval survival rate (%) (a), survival heterosis (%) (b), and inbreeding depression rate (%) (c) for each experimental groups

类别	幼虫日龄(d)			平均值	
	3	6	9		
a	F ₂₂	83.85±1.88 ^{ab}	79.40±2.95 ^{ab}	75.15±1.78 ^{ab}	—
	F ₂₃	80.73±2.41 ^{ab}	76.83±1.89 ^{ab}	72.78±1.95 ^{ab}	—
	F ₃₂	84.04±3.54 ^a	80.70±2.46 ^a	77.97±2.00 ^a	—
	F ₃₃	84.78±1.95 ^a	81.12±3.82 ^a	78.18±2.45 ^a	—
	C ₂₂	80.47±2.78 ^{ab}	75.95±3.59 ^{ab}	71.23±4.86 ^b	—
	C ₃₃	78.41±4.67 ^b	73.02±5.58 ^b	68.55±6.56 ^b	—
b	H ₂₃	-3.72	-3.24	-3.15	-3.37
	H ₃₂	-0.87	-0.52	-0.27	-0.55
	H	-2.29	-1.86	-1.68	-1.94
c	22	-4.20	-4.54	-5.50	-4.75
	33	-8.12	-11.09	-14.05	-11.09

($P>0.05$)。幼虫在整个浮游期的中、单亲存活优势均为负值,说明杂交尚未表现出存活优势;与生长情况相似, F₂₂ 实验组存活表现出一定程度上的近交衰退率,但是 F₃₃ 实验组尚未出现近交衰退。

在幼虫培育期,幼虫生长与存活的杂种优势主要受到卵源(母本效应)的影响;交配方式为次要影响因素,卵源与交配方式的交互作用影响最小(表 3)。而幼虫表型性状的近交衰退主要受到交配方式的影响;对生长近交衰退影响起到次要影响作用的是近交世代,近交世代与交配方式的交互作用对其影响最小;对存活近交衰退影响起到次要影响作用的为近交世代与交配方式的交互作用,近交世代对其几乎尚未起到影响作用(表 3)。

2.2 稚贝的生长与存活

稚贝培育期,30 日龄, F₂₂ 稚贝壳长最小,显著小于 F₃₃($P<0.05$),与其它实验组无显著差异($P>0.05$);60—90 日龄, F₂₂ 稚贝壳长最小,显著小于其它实验组($P<0.05$)(表 4)。在此期间,稚贝表现出微弱的中亲生长优势, F₂₃ 实验组表现出明显的生长优势, F₃₂ 则表现出一定的生长劣势; F₂₂ 实验组表现出一定程度上的近交衰退, F₃₃ 实验组尚未出现近交衰退(表 4)。稚贝的存活状况见表 5,30 日龄时, F₂₃ 存活率最低,显著小于 F₃₃($P<0.05$),与其它实验组无显著差异($P>0.05$);60 日龄时, F₂₃ 存活率最低,与 C₂₂、C₃₃ 无显著差异($P>0.05$),显著小于其它实验组($P<0.05$);90 日龄时, F₃₃ 存活率最高,显著大于 F₂₃、C₃₃($P<0.05$),与其它实验组无显著差异($P>0.05$)。在此期间,稚贝尚未表现出中、单亲存活优势,表现出一定程度上的存活劣势; F₂₂、F₃₃ 实验组尚未出现近交衰退。

在稚贝培育期,稚贝表型性状的杂种优势主要受到卵源(母本效应)的影响;对生长起到次要影响因素是卵源与交配方式交互作用,对存活的次要影响作用为交配方式的影响(表 6)。稚贝生长的近交衰退主要受近交世代的影响,近交世代与交配方式的交

表 3 幼虫生长与存活的杂交(HE: 卵源和交配方式)及近交效应(IE: 近交世代和交配方式)分析

Tab.3 Analyses of variance showing hybrid effects [HE: egg original (EO) and mating strategy (MS)] and inbreeding effects [IE: Inbreeding generation (IG) and mating strategy (MS')] for larval growth and survival

来源	df	壳长		存活			
		M.S.	P	M.S.	P		
3 日龄	HE	EO	1	0.009	0.001	0.004	0.183
		MS	1	0.001	0.217	0.003	0.241
		EO × MS	1	0.001	0.163	0.001	0.449
	IE	IG	1	0.005	0.012	0.000	0.810
		MS'	1	0.027	0.000	0.021	0.022
		IG × MS'	1	0.003	0.057	0.002	0.426
6 日龄	HE	EO	1	0.040	0.000	0.007	0.133
		MS	1	0.003	0.095	0.002	0.393
		IG × MS	1	0.002	0.167	0.001	0.565
	IE	IG	1	0.032	0.000	0.000	0.869
		MS'	1	0.097	0.000	0.025	0.041
		IG × MS'	1	0.005	0.022	0.004	0.60
9 日龄	HE	EO	1	0.009	0.002	0.012	0.009
		MS	1	0.002	0.091	0.001	0.329
		IG × MS	1	0.002	0.162	0.001	0.420
	IE	IG	1	0.007	0.005	9.16E-005	0.880
		M'	1	0.014	0.000	0.029	0.024
		IG × MS'	1	0.004	0.028	0.005	0.270

表 4 稚贝的壳长(μm)(a)、生长优势(%) (b)及近交衰退率(%) (c)Tab.4 Spat shell length (μm) (a), growth heterosis (%) (b), and inbreeding depression rate (%) (c) for each experimental groups

类别	稚贝日龄(d)			平均值	
	30	60	90		
a	F ₂₂	686.67±121.28 ^b	1184.17±175.98 ^c	4508.35±511.30 ^c	—
	F ₂₃	743.33±142.32 ^{ab}	1370.00±186.09 ^b	5012.76±641.37 ^{ab}	—
	F ₃₂	737.33±133.79 ^{ab}	1425.83±216.31 ^{ab}	5205.52±723.65 ^{ab}	—
	F ₃₃	760.83±105.59 ^a	1579.17±258.48 ^a	5342.41±720.92 ^a	—
	C ₂₂	730.67±104.87 ^{ab}	1310.83±144.84 ^b	4851.67±436.72 ^b	—
	C ₃₃	727.50±139.64 ^{ab}	1398.17±187.86 ^b	5010.67±540.36 ^{ab}	—
b	H ₂₃	8.25	15.69	11.19	11.71
	H ₃₂	-3.09	-9.71	-2.56	-5.12
	H	2.29	1.18	3.73	2.40
c	22	6.02	9.66	7.08	7.59
	33	-4.58	-12.95	-6.62	-8.05

表 5 稚贝的存活(%) (a)、存活优势(%) (b)及近交衰退率(%) (c)

Tab.5 Spat survival rate (%) (a), survival heterosis (%) (b), and inbreeding depression rate (%) (c) for each experimental groups

类别	稚贝日龄(d)			平均值	
	30	60	90		
a	F ₂₂	82.88±4.78 ^{ab}	81.15±5.78 ^a	75.84±6.39 ^{ab}	—
	F ₂₃	78.47±3.34 ^b	72.44±3.75 ^b	70.60±4.53 ^b	—
	F ₃₂	84.04±4.22 ^{ab}	81.50±4.74 ^a	76.73±5.95 ^{ab}	—
	F ₃₃	86.40±2.95 ^a	84.32±4.09 ^a	80.55±5.26 ^a	—
	C ₂₂	81.70±2.54 ^{ab}	80.40±3.96 ^{ab}	75.27±5.31 ^{ab}	—
	C ₃₃	82.79±3.03 ^{ab}	77.83±4.89 ^{ab}	73.10±5.88 ^b	—
b	H ₂₃	-5.32	-10.73	-6.91	-7.65
	H ₃₂	-2.73	-3.34	-4.74	-3.61
	H	-4.00	-6.97	-5.79	-5.59
c	22	-1.44	-0.93	-0.76	-1.04
	33	-4.36	-8.34	-10.19	-7.63

互作用起次要作用, 交配方式几乎尚未起到影响作用; 稚贝存活的近交衰退主要受到交配方式的影响, 近交世代的影响其次, 近交世代与交配方式的交互作用影响最小(表 6)。

3 讨论

3.1 亲本背景

本研究中利用的海洋橙蛤仔品系, 来源于 2007 年 7 月在大连庄河海量水产食品有限公司, 采用巢式设计(: = 1 : 5)建立大连石河群体 14 个父系半同胞家系和 70 个全同胞家系中抗逆性状最优的 1 个全同胞家系。2008 年 8 月, 采用家系选择和个体选择方法对橙色家系生长和存活性状进行进一步的遗传改良; 按照 10% 的留种率, 对 F₁ 进行上选, 经过全同

胞家系 F₁ 自繁获得了近交世代 F₂, 这样在保留原来的抗逆的基因的基础上, 使得近交世代 F₂ 的生长性状得到了提高, 获得了 12.49% 的遗传进展。但是与对照组相比, 仍然表现为生长上的衰退现象, 存活性状尚未出现近交衰退(霍忠明等, 2010; 闫喜武等, 2010)。本实验中, 近交世代 F₂₂ 为全同胞 F₁ 上选 10% 个体的 3 个家系的均值, 近交世代 F₃₃ 为经过一次上选的 F₂ 再一次上选 10% 的 3 个家系的均值; 世代间正交 F₂₃ 为(F₁ 上选 10% 个体) × (F₂ 再一次上选 10%) 的 3 个家系的均值, 世代间正交 F₃₂ 为(F₁ 上选 10% 个体) × (F₂ 再一次上选 10%) 的 3 个家系的均值; 同时, 采用相应的对照组混交作为与近交世代的参照, 来计算近交衰退率。从以上的情况中, 可以看出近交世代 F₂₂、F₃₃ 均有共同的祖先, 其近交系数 ID

表 6 稚贝生长与存活的杂交(HE: 卵源和交配方式)及近交效应(IE: 近交世代和交配方式)分析

Tab.6 Analyses of variance showing hybrid effects [HE: egg original (EO) and mating strategy (MS)] and inbreeding effects [IE: Inbreeding generation (IG) and mating strategy (MS')] for spat growth and survival

来源	df	壳长		存活			
		M.S.	P	M.S.	P		
3 日龄	HE	EO	1	0.018	0.108	0.020	0.084
		MS	1	0.002	0.539	0.011	0.186
		EO × MS	1	0.015	0.076	0.001	0.683
	IE	IG	1	0.023	0.118	0.005	0.229
		MS'	1	0.000	0.048	0.006	0.188
		IG × MS'	1	0.020	0.051	0.002	0.505
6 日龄	HE	EO	1	0.146	0.000	0.030	0.010
		MS	1	0.003	0.384	0.026	0.014
		IG × MS	1	0.086	0.000	0.006	0.175
	IE	IG	1	0.170	0.000	0.000	0.756
		MS'	1	0.000	0.047	0.012	0.022
		IG × MS'	1	0.070	0.000	0.007	0.056
9 日龄	HE	EO	1	0.058	0.139	0.021	0.006
		MS	1	0.009	0.101	0.014	0.016
		IG × MS	1	0.024	0.006	0.000	0.721
	IE	IG	1	0.055	0.000	0.001	0.292
		MS'	1	0.000	0.127	0.012	0.011
		IG × MS'	1	0.026	0.001	0.009	0.023

分别为 0.25、0.375(宋运淳等, 1990), 也就是说, 它们的基因型比较接近, 彼此间的差异很小, 很有可能不会产生杂种优势; 也许会有明显的近交衰退现象发生, 但是由于每代之间采用 10%留种率上选, 可能会使得世代间生长性状获得显著改良。

3.2 杂种优势

杂种优势是一种复杂的生物学现象, 亲本间的遗传差异无疑是最重要的原因之一(张国范等, 2003)。理论上, 用来杂交的系群经常起源于不同的基础群体, 如果它们之间的基因频率不同, 那么它们之间的杂交将会表现出杂种优势(Falconer *et al*, 1996)。从本文的亲本背景上看, 两个世代的来源于共同的祖先, 只不过是近交系数不同, 生长差异不同。那么这些差异是否能够产生杂种优势, 是一个非常值得研究的问题。从本研究的结果上看, 正交组合 F_{23} 获得了一定程度上的单亲生长优势; F_{32} 表现出微弱的单亲生长劣势; 总体上获得了很小一部分的中亲生长优势。分析其原因: F_{22} 自交组仅仅经过了一次上选, 而 F_{33} 经过了两次连续的上选, 这种上选作用使得 F_{33} 的个

体大小显著的大于 F_{22} , 造成了世代间生长上显著差异。也就是说, F_{23} 获得了生长快的 F_{33} 的遗传物质出现了杂种优势, 而 F_{32} 获得了生长慢的 F_{22} 的遗传物质出现了生长劣势。这个研究结果与海湾扇贝自交家系与杂交家系的杂种优势大小差异相似(郑怀平等, 2004; Zheng *et al*, 2006)。杂交组幼虫、稚贝的生长优势主要受到母本效应的影响。在这里, 母本效应不仅存在于幼虫期, 而且贯穿于稚贝期, 说明母本间控制生长的基因存在较大程度上的差异, 也就是说, 世代间连续上选作用是显著的。从其存活性状上看, 杂交组均表现出存活劣势。这种存活劣势说明: 在获得了生长速度改良的同时, 丢弃了每个世代中 90%的个体, 可能会使得控制抗逆性状的基因部分丢失, 导致世代间存活性状的差异度降低, 世代间抗逆性状相似。存活优势的大小主要也是受到母本效应的影响, 可能是控制存活性状的基因纯化速度非常快, 两个世代间的存活差异非常小, 导致母本间抗逆性状的差异很小, 不足以产生杂种优势, 故很难通过杂交获得存活性状上的遗传改良。为此, 作者通过近交来观察是否会使得存活性状得到改良。

3.3 近交衰退

近交衰退是指子代的繁殖或生理机能相关的性状平均值降低的现象。近交衰退率的变化依赖于近交水平、相关的遗传基础(即显性与超显性)、有贡献基因位点数和这些位点上等位基因的变化大小(Charlesworth *et al*, 1987)。实践表明: 近交衰退率随着近交率的增加而减少, 随着近交的加剧, 大多数有害的隐性基因被淘汰(Charlesworth *et al*, 1990)。本研究中, 近交二代 F_{22} 的生长性状发生了近交衰退现象, 但是, 近交三代 F_{33} 尚未出现近交衰退。分析其原因, 主要是因为 F_{22} 仅仅经过了一次上选, 其控制生长的基因纯合度尚未得到有效聚合; 但经过连续两次上选作用的 F_{33} 其生长性状得到了有效的改良, 使得控制生长的基因纯合度明显提高。这一点可以用近交衰退的部分显性假说来解释, 即近交后代较低的适合度是由于在杂合状态下它们被显性等位基因所掩盖了的有害隐性或部分隐性等位基因在纯合子中完全被表达出来; 它可以预测近交衰退随着近交率的发生而降低, 在人为定向选择的情况下, 被自然选择所淘汰的一个过程(Cheptou *et al*, 2000)。对于生长性状的方差分析表明: 在幼虫期交配方式适应性近交衰退的最主要原因, 而在稚贝期近交世代是影响近交衰退的最主要原因。说明近交衰退率大小的影响因素

不是一成不变的,在不同的时期可能受到不同因素的影响(Husband *et al*, 1996)。

对于存活性状而言,近交子二代 F_{22} 与近交子三代 F_{33} 均未发生近交衰退现象,说明了该品系控制存活性状的基因得到了有效的聚合,使得有利于控制存活基因得到了有效纯合,导致这两个世代的存活性状差异很小,这也是导致它们杂交尚未出现杂种优势的最主要原因。这一点也说明:近交后代表型性状未必就衰退,近交衰退是一个变化的结果,它受到遗传、环境因子等的影响;当出现不良疾病或者环境条件比较恶劣的情况下,近交衰退比较容易表现出来,与此相反,优良性状的纯合速度加快(Keller *et al*, 2002)。近交可以使控制存活性状基因的纯化,通过近交率的增加来促使近交子代的基因型不断纯合,最终将会获得纯合子。这与学者们对紫扇贝的研究结果一致(Winkler *et al*, 2003),不同于对海湾扇贝的研究结果(Ibarra *et al*, 1995; Zheng *et al*, 2008)。方差分析表明:配对方式是影响近交世代存活性状的最主要因素。也就是说,是近交还是混交对其存活率有着显著的影响。近交衰退遗传理论认为交配方式及近交世代都能够导致近交子代发生近交衰退现象。交配方式的变化一直是生物演化的热点之一,因为交配方式会直接影响到后代的遗传改良效果,通过不同的交配方式可以培育出不同的系群,再加上适当的杂交,可以培育出性状优良的品系直接应用于生产(张国范等, 2009)。因此,研究海洋橙品系不同世代的杂交及近交效应,有助于进一步改良该品系的表型性状,为其上升为养殖品种奠定了基础。

参 考 文 献

- 宋运淳, 余先觉, 1990. 普通遗传学. 武汉: 武汉大学出版社, 389
- 张国范, 刘述锡, 刘 晓等, 2003. 海湾扇贝自交家系的建立和自交效应. 中国水产科学, 10(6): 441—445
- 张国范, 闫喜武, 2010. 菲律宾蛤仔养殖学. 北京: 科学出版社, 11—12
- 张国范, 郑怀平, 2009. 海湾扇贝养殖遗传学. 北京: 科学出版社, 103—104
- 张跃环, 闫喜武, 杨 凤等, 2008. 菲律宾蛤仔大连群体两种壳型家系生长发育比较. 生态学报, 28(9): 4246—4252
- 郑怀平, 张国范, 刘 晓等, 2004. 海湾扇贝杂交家系与自交家系生长和存活比较. 水产学报, 28(3): 267—272
- 霍忠明, 闫喜武, 张跃环等, 2010. 菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)大连群体家系建立及生长比较. 海洋与湖沼, 41(3): 334—340
- Beaumont A R, Budd M D, 1983. Effects of self-fertilisation and other factors on the early development of the scallop *Pecten maximus*. Marine Biology, 76(3): 285—289
- Charlesworth D, Charlesworth B, 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. Annual Review of Ecology and Systematics, 18: 237—268
- Charlesworth D, Charlesworth B, 1990. Inbreeding depression with heterozygote advantage and its effect on selection for modifiers changing the outcrossing rate. Genetics Research, 74: 329—340
- Cheptou P O, Berger A, Blanchard A *et al*, 2000. The effect of drought stress on inbreeding depression in four populations of the Mediterranean outcrossing plant *Crepis sancta* (Asteraceae). Evolution, 85: 294—302
- Cruz P, Ibarra A M, 1997. Larval growth and survival of two catarina scallop (*Argopecten circularis*, Sowerby, 1835) populations and their reciprocal crosses. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 212: 95—110
- Falconer D S, Mackay T F C, 1996. Introduction to quantitative genetics (Fourth edition). Longman Group, Essex, England, 232
- Hedgecock D, Davis J P, 2007. Heterosis for yield and crossbreeding of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Aquaculture, 272: 17—29
- Hedgecock D, MaGoldrick D J, Bayne B L, 1995. Hybrid vigor in Pacific oysters: an experimental approach using crosses among inbred lines. Aquaculture, 137: 285—298
- Husband B, Schemske D W, 1996. Evolution of the magnitude and timing of inbreeding depression in plants. Evolution, 50: 54—70
- Ibarra A M, Cruz P, Romero B A, 1995. Effects of inbreeding on growth and survival of self-fertilized catarina scallop larvae, *Argopecten circularis*. Aquaculture, 134: 37—47
- Keller L F, Waller D M, 2002. Inbreeding effects in wild populations. Trends in Ecology & Evolution, 17(5): 230—241
- Winkler F M, Estevez B F, 2003. Effects of self-fertilization on growth and survival of larvae and juveniles of the scallop *Argopecten purpuratus* L. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 292: 93—102
- Zhang G F, Yan X W, 2006. A new three-phase culture method for Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, farming in northern China. Aquaculture, 258: 452—461
- Zhang H B, Liu X, Zhang G F *et al*, 2007. Growth and survival of reciprocal crosses between two bay scallops, *Argopecten irradians concentricus* Say and *A. irradians irradians* Lamarck. Aquaculture, 272(Suppl.1): 88—93
- Zheng H P, Zhang G F, Guo X M *et al*, 2006. Heterosis between two stocks of bay scallop, *Argopecten irradians irradians* Lamarck (1819). Journal of Shellfish Research, 25(3): 807—802
- Zheng H P, Zhang G F, Guo X M *et al*, 2008. Inbreeding depression for various traits in two cultured populations of the American bay scallop, *Argopecten irradians irradians* Lamarck (1819) introduced into China. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 364: 42—47

THE EFFECT OF HYBRIDIZATION OR INBREEDING BETWEEN TWO GENERATIONS FOR OCEAN ORANGE STRAIN OF MANILA CLAM *RUDITAPES PHILIPPINARUM*

YAN Xi-Wu¹, ZHANG Yue-Huan¹, SUN Huan-Qiang¹, HUO Zhong-Ming¹,
LI Shao-Wen¹, YANG Feng¹, ZHANG Guo-Fan²

(1. Institute of Life Science and Technology, Dalian Ocean University, Dalian, 116023;

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

Abstract In order to improve the phenotypic characteristics of Ocean Orange strain of Manila clam *Ruditapes philippinarum*, the effect of hybridization and inbreeding between two generations on this strain were investigated by establishing inbreeding groups (F_{22} , F_{33}), hybrid groups (F_{23} , F_{32}), and control groups (C_{22} , C_{33}) with the parent of full-sib F_1 and F_2 (the up-selection rate 10%), in August of 2009. The results showed that the characteristics on growth of larvae and juveniles were partially improved, whereas the survival rate did not show any sign of improvement through hybridization. The slight improvement in growth through heterosis was observed on larvae (1.68) and juvenile (2.40); Single-parents heterosis of reciprocal groups were asymmetry, the heterosis of larval and juvenile for F_{23} were 3.64 and 11.71, for F_{32} were -0.13 and -5.02, respectively. The mid-parent survival weakness of larvae and juvenile were -1.54 and -5.59; the survival weakness of F_{23} for larvae and juveniles were -3.37 and -7.65, for F_{32} were -0.55 and -3.61, respectively. Influences from maternal mainly impacted hybrid from larvae to juvenile. Survival rate of two generations and growth of F_{33} were improved by inbreeding. The inbreeding depression rate of growth for larval and juvenile for F_{22} was 2.33 and 7.59, whereas for F_{33} was -3.09 and -8.05, respectively. The inbreeding depression rate of survival for larval and juvenile for F_{22} were -4.75 and -1.04, and for F_{33} were -11.09 and -7.63, respectively. The mating strategy was the major factor for inbreeding effects during the larval period, then the generation effect became the major factor during juvenile period. The phenotypic characteristics of this strain were effectively improved by close combination among up-selection, hybridization and inbreeding.

Key words *Ruditapes philippinarum*, Ocean orange strains, Generation, Heterosis, Inbreeding depression