

# 近交对蛤仔(*Ruditapes philippinarum*) 橙色家系生长及存活的影响\*

梁 健 闫喜武 霍忠明 赵力强 吴云霞 杨 凤

(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 大连 116023)

**提要** 以蛤仔橙色全同胞家系为材料,采用建立近交组和设置对照组的方法,进行了近交对橙色家系的生长和存活性状影响的研究。结果表明:在整个实验期间,橙色家系壳长生长都慢于对照组,除60日龄外,其它各日龄二者壳长差异显著( $P < 0.05$ );橙色家系存活率高于对照组,除360日龄外,其它各日龄二者存活率均差异显著( $P < 0.05$ )。橙色家系生长的近交衰退率范围为5.38%—26.57%,平均值为 $15.48\% \pm 6.44\%$ ,但存活性状在各日龄没有出现近交衰退。在330日龄时,对橙色家系的形态学性状进行正态分布检验,结果表明:近交使橙色家系内出现小型化个体。本研究为通过建立家系选育蛤仔橙色新品系的育种方法奠定了一定的理论基础。

**关键词** 蛤仔; 橙色家系; 近交衰退; 形态学

**中图分类号** S968.3; Q133

近交一直是遗传育种研究领域中的热点问题。近交可以使生活力及生长性状的显性基因得到纯合机会,加快基因的纯化速度,这是近交在育种中的有利一面,但也会引起与繁殖能力或生理机能相关的性状表型平均值降低而引起近交衰退(Falconer, 1981)。在贝类研究中,主要表现为生活力衰退、繁殖力下降,生长速度缓慢等(Longwell *et al.*, 1973; Beaumont *et al.*, 1983; Beattie *et al.*, 1987; Ibarra *et al.*, 1995; Zheng *et al.*, 2008)。利用雌雄同体的贝类建立自交家系来研究近交衰退的结果表明自交后代的存活率和生长速度都显著下降,表现出严重的近交衰退。而利用全同胞家系来研究近交衰退的结果并不一致,这可能是其不同的近交方式和不同的遗传负荷造成的(马大勇等, 2005)。Longwell等(1973)报道了美洲牡蛎 *Crassostrea virginica* 全同胞家系交配( $F=0.25$ )的后代的存活率和生长速度显著地降低了,而Mallet等(1983)却发现这种牡蛎全同胞家系幼虫的存活率都大于对照组,幼虫和早期稚贝的生长没有差异,但稚贝的生长存在6%—10%的近交衰退。Lannan(1980)发现长牡蛎

*C. gigas* 全同胞家系幼虫的存活率并没有衰退,而这种动物的全同胞后代在壳的大小、肉的湿重和干重等方面都显著地小于对照组,近交衰退显著。

蛤仔 *Ruditapes philippinarum* 分布于印度洋和太平洋沿岸;在世界贝类养殖产业中占有重要地位。我国蛤仔产量巨大,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)。蛤仔属双壳纲帘蛤科、缀锦亚科、蛤仔属,为广温、广盐性品种,宜养面积大,因此受到各国学者的广泛关注。国内外已有很多蛤仔的生物学及生态学研究报道(何进金等, 1981; Toba *et al.*, 1991a, b; Cigarria *et al.*, 2000; 张国范等, 2010)。近年来,随着研究的深入,蛤仔遗传育种方面的研究也取得了一定进展,如蛤仔选择育种、杂交育种、壳色、壳型选育等研究均有报道(闫喜武等, 2008, 2009; 张跃环等, 2008; 霍忠明等, 2010),并相继培育出一系列的壳色新品系,如斑马蛤、白蛤、两道红等。本研究中从已建立的全同胞家系中选育出了壳色美观的橙色家系,并开展了近交

\* 现代农业产业技术体系建设专项资助, CARS-48号。梁 健, E-mail: liangjian1230123@126.com

通讯作者: 闫喜武, 教授, 博导, E-mail: yanxiwu@dlou.edu.cn

收稿日期: 2012-05-13, 收修改稿日期: 2012-07-22

对橙色家系(近交系数  $F_x=0.25$ )生长、存活的研究,为蛤仔橙色新品系的培育奠定一定的理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 亲贝来源及实验设计

实验亲本为 2007 年已建立的橙色家系利用三段法(Zhang *et al.*, 2006)经过 1 周年养成的全同胞家系第一代(图 1)。2009 年 5 月初,从一龄的全同胞橙色家系中随机选取 50 粒蛤仔作为实验亲本( $F=0.25$ )。再在与橙色家系同一环境养殖的一龄自然群体中随机选取 50 粒蛤仔作为对照组。将两实验亲本放 20 目网袋(40cm × 60cm)中,放入大连庄河贝类苗种场生态池中采取吊养的方式进行生态促熟进行促熟。期间,水温 13—25, 盐度 25—28, pH 7.64—8.62。带亲本性腺成熟后移入室内待产。

2009 年 7 月,将性腺成熟的亲贝阴干 8h,经流水刺激后分别放于 100L 大白筒,4h 后开始产卵排精,期间海水水温为 25℃、盐度 28, pH 8.0。收集受精卵于 100L 大白筒中孵化,孵化密度为 10—12 个/mL,孵化期间连续充气。每组设置三组重复,各实验组之间保持孵化密度和环境条件一致,各试验组严格隔离,防止混杂。



图 1 蛤仔橙色家系

Fig.1 The orange family of *R. philippinarum*

### 1.2 苗种培育、稚贝中间育成及海上养成

培育期间,试验用水为沙滤海水,水温为 24—30, 盐度为 28—29, pH 为 7.80—8.00。每 2 天全量换水 1 次,为避免不同实验组蛤仔的混淆,每组换水后将筛绢网用淡水冲洗。每天投饵 3 次,饵料为等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*) 和小球藻 (*Chlorella vulgaris*)(体积比为 1:1),浮游期投喂 2000—5000 细胞/mL,稚贝期投喂 1—2 万细胞/mL,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。幼虫期培育密度为 6—8 个/mL,随着蛤仔幼虫的变态,逐渐减少为 2—3 个/mL。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,保持各个实验组密度基本保持一致。室内培育 60 天后,将实验组蛤仔按每袋 500 粒的数量装入 60 目网袋(40cm × 60cm),做好标记。挂养于生态池中进行中间育成,水温 24—19℃,盐度 28—29, pH 7.8—8.0。

### 1.3 数据测量及分析

分别测量橙色品系及对照组的 3、6、9、30、60、90、150、270、360 日龄的壳长和存活率,每组重复随机测量 30 个个体。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(40×)进行,壳长大于 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。

参照文献(Cronkrak *et al.*, 1999; Zheng *et al.*, 2008),计算橙色家系各日龄的生长和存活的近交衰退率,公式如下:

$$ID\% = 1 - (S_x/P_x) \times 100\% \quad (1)$$

式中,  $S_x$  为橙色家系壳长或存活率,  $P_x$  为对照组壳长或存活率。

使用 SPSS17.0 软件对实验数据进行方差分析(ANVOA),并使用 *T*-test 对数据进行显著性检验。显著性设置为( $P < 0.05$ )。

### 1.4 橙色家系壳形态分析

从已培育出的 330 日龄蛤仔橙色家系中,随机选取 100 粒个体进行测量。用游标卡尺测量壳长、壳宽、壳高精确到 0.02mm。使用电子天平称重,精确到 0.01g。采用 SAS8.0 软件中的 PROC UNIVARITE 程序完成对峰度(Kurtosis)、偏度(Skewness)的计算,同时通过 Shapiro.Wilk 函数对各性状进行正态分布检验。

## 2 结果

### 2.1 橙色家系生长和存活

橙色家系各日龄壳长生长见表 1,方差分析及 *T* 检验结果表明,在幼虫期,橙色家系各日龄壳长生长慢于对照组,二者差异显著( $P < 0.05$ )。在稚贝期,橙色家系壳长生长慢于对照组;在 30 和 90 日龄时,两者差异显著( $P < 0.05$ ),但在 60 日龄时,二者差异不显著

( $P>0.05$ )。在养成期时, 橙色家系各日龄壳长生长仍慢于对照组, 二者差异显著( $P<0.05$ )。

橙色家系各日龄存活率见表 2, 橙色家系在幼虫期, 稚贝期, 养成期时的存活率均高于对照组。方差分析和 T 检验结果表明, 除在养成期 360 日龄时, 二者存活率差异不显著外( $P>0.05$ ); 其它各日龄二者存活率均差异显著( $P<0.05$ )。

表 1 橙色家系和对照组幼虫期、稚贝期及养成期壳长的方差分析及 T 检验

Tab.1 The analysis of variance and T-test for the shell length of orange family and control group at larval, juvenile, and grow-out stages

单因素方差分析(One-way ANOVA)			壳长(Mean±SD)	
日龄(d)	df	P	橙色家系	对照组
幼虫期				
3	1	<0.05	102.50±4.31 <sup>a</sup>	108.33±7.91 <sup>b</sup>
6	1	<0.05	128.00±14.11 <sup>a</sup>	142.27±14.00 <sup>b</sup>
9	1	<0.05	172.67±30.51 <sup>a</sup>	208.00±17.89 <sup>b</sup>
稚贝期				
30	1	<0.05	0.50±0.09 <sup>a</sup>	0.57±0.11 <sup>b</sup>
60	1	0.101	1.32±0.45 <sup>a</sup>	1.54±0.54 <sup>a</sup>
90	1	<0.05	2.57±1.18 <sup>a</sup>	3.50±1.57 <sup>b</sup>
养成期				
150	1	<0.05	4.60±0.86 <sup>a</sup>	5.59±1.17 <sup>b</sup>
270	1	<0.05	7.38±1.79 <sup>a</sup>	9.56±1.75 <sup>b</sup>
360	1	<0.05	9.83±2.37 <sup>a</sup>	11.33±1.19 <sup>b</sup>

注: 壳长单位, 幼虫期为 $\mu\text{m}$ , 稚贝期和养成期为 mm。相同上标字母表示差异不显著( $P>0.05$ ), 不同字母表示差异显著( $P<0.05$ )。表 2 同

表 2 橙色家系和对照组幼虫期、稚贝期及养成期存活率的方差分析及 T 检验

Tab.2 The analysis of variance and T-test of the survival rate of orange family and control group at larval, juvenile, and grow-out stages

单因素方差分析(One-way ANOVA)			存活率(%)	
日龄(d)	df	P	橙色家系	对照组
幼虫期				
3	1	<0.05	93.67±1.53 <sup>a</sup>	78.33±0.58 <sup>b</sup>
6	1	<0.05	93.00±1.00 <sup>a</sup>	76.00±1.00 <sup>b</sup>
9	1	<0.05	76.33±1.53 <sup>a</sup>	64.33±1.52 <sup>b</sup>
稚贝期				
30	1	<0.05	75.67±3.21 <sup>a</sup>	62.67±3.06 <sup>b</sup>
60	1	<0.05	70.33±1.53 <sup>a</sup>	60.00±2.00 <sup>b</sup>
90	1	<0.05	64.67±7.57 <sup>a</sup>	47.67±0.58 <sup>b</sup>
养成期				
150	1	<0.05	60.00±5.00 <sup>a</sup>	44.33±2.08 <sup>b</sup>
270	1	<0.05	42.33±2.52 <sup>a</sup>	35.33±3.06 <sup>b</sup>
360	1	0.65	31.67±1.52 <sup>a</sup>	28.00±2.00 <sup>a</sup>

## 2.2 橙色家系近交衰退率

橙色家系各日龄的生长和存活的近交衰退率见表 3, 结果表明: 在幼虫期、稚贝期、养成期, 橙色家系生长的近交衰退率范围为 5.38%—26.57%, 平均值为 15.48%±6.44%。橙色家系存活没有出现近交衰退。

表 3 橙色家系生长和存活的近交衰退率

Tab.3 The magnitudes of inbreeding depression for growth and survival of orange family

类别	日龄(d)	近交衰退率	
		生长(ID%)	存活(ID%)
幼虫期	3	5.38	-19.58
	6	10.03	-22.37
	9	16.99	-18.65
稚贝期	30	12.28	-20.74
	60	14.29	-17.22
	90	26.57	-35.66
养成期	150	17.71	-35.35
	270	22.80	-19.81
	360	13.24	-13.11
平均值		15.48±6.44	-22.5±7.81

## 2.3 橙色家系壳形态分析

橙色家系壳长、壳高、壳宽、壳重指标的分布情况结果见表 4, 除壳重指标偏度为正值外, 其余指标偏度均为负值, 即分布曲线峰值偏右。壳重指标的峰度为负值, 其余指标的峰度均为正值。从 Shapiro-Wilk 函数检验所得的 P 值可以看出, 壳长、壳高、壳宽指标完全符合正态分布( $P>0.05$ ), 而壳重指标则略偏离正态分布( $P<0.05$ )。

## 3 讨论

家系内近交使优良性状基因得到纯化, 这是育种的有利的一面; 另一方面, 家系内近交使隐性有害基因纯合、暴露, 引起近交衰退现象(Taris *et al*, 2007)。在本研究中, 橙色家系的存活性状在各日龄并没有出现近交衰退。而橙色家系的壳长生长, 在各日龄均小于对照组, 生长性状出现近交衰退现象, 近交衰退率变化范围为 5.38%—26.57%, 平均值为 15.48%±6.44%。在以往的近交对贝类生长和存活的研究报道中, Mallet 等(1983)在对美洲牡蛎 *C. virginica* 全同胞家系近交效应的研究中发现, 其幼虫的存活率都大于对照组, 但稚贝的生长存在 6%—10% 的近交衰退。另外, 学者们在对长牡蛎 *C. gigas* 全同胞家系生长和存活的研究中发现幼虫的存活率并没

表 4 橙色家系壳长、壳高、壳宽及壳重的分析及正态分布检验

Tab.4 Analysis and normal distribution test for the shell length, shell height, shell width, and live body weight of the orange family

类别	平均值( $\pm$ SD)	最小值	最大值	偏度	峰度	<i>P</i> 值	显著性
壳长	9.62 $\pm$ 1.90	4.46	13.88	-0.1180	-0.2908	0.4489	0.001
壳高	7.09 $\pm$ 1.36	2.98	10.36	-0.1794	-0.0236	0.2631	0.001
壳宽	3.80 $\pm$ 0.79	1.48	5.42	-0.1695	-0.2623	0.2927	0.001
壳重	0.16 $\pm$ 0.09	0.02	0.43	0.7563	0.0618	0.0050	0.001

有衰退(Lannan, 1980), 而全同胞家系后代在壳的大小、肉的湿重和干重等方面都显著地小于对照组, 近交衰退显著(Beattie *et al*, 1987)。由此我们可以发现近交对贝类的生长容易产生影响, 出现个体小型化现象, 而对贝类的存活的影响较小。关于近交衰退的原因, 很多学者(Cheptou *et al*, 2000; Zheng *et al*, 2008)支持部分显性假说(partial dominance): 近交使在杂合状态下被显性等位基因掩盖的有害隐性基因纯合, 这种隐性基因得到完全表达后被自然选择所净化, 导致表型性状衰退。这一假说也说明了近交衰退在杂合度高的群体中应该较高, 在杂合度低的群体中应该较低(Husband *et al*, 1996; Cheptou *et al*, 2000; Zheng *et al*, 2008)。橙色家系在各时期存活性状并没有发生近交衰退现象。这说明橙色家系控制存活的基因的杂合度较低, 但控制生长的基因的杂合度较高。因此近交使橙色家系蛤仔控制生长的隐性基因纯合, 导致生长发育迟缓。

目前发生的养殖贝类异常死亡大多是环境胁迫导致遗传基础脆弱的养殖对象生理机能退化以至崩溃的结果, 即一种环境-遗传作用综合症(张国范等, 2006)。在本研究中, 橙色家系存活率高于对照组, 这可能是环境-遗传作用结果。橙色家系和对照组在 9 日龄存活率都有明显的降低, 这是由于蛤仔幼虫逐渐开始进入变态期, 这一时期幼虫要经历足的生长、面盘脱落等复杂过程, 对环境变化非常敏感, 抗逆性差的蛤仔大量死亡。在稚贝期的室内培育阶段, 水环境相对稳定, 橙色家系和对照组存活率较稳定。当 60 日龄以后, 稚贝被转入生态池中养成, 室外水环境变化剧烈, 90 日龄时橙色家系的存活率为 64.67% $\pm$ 7.57%相对较稳定, 而对照组的抗逆性较差, 存活率急剧下降仅为 47.67% $\pm$ 0.58%, 这些现象说明了橙色家系稚贝抵抗外部环境变化的能力较强, 相对于对照组, 其抗逆性较强。在养成期 360 日龄时, 橙色家系和对照组的存活率差异不显著, 这可能是由于蛤仔在养殖期时, 水环境(温度、盐度、pH、溶氧等)变化较大, 因此环境作用可能大于遗传作用对蛤仔存

活的影响, 使两者的存活率差异不显著。因此, 应该在环境与基因型互作对蛤仔橙色家系存活影响做进一步研究。

通过对壳形态指标的峰度、偏度计算, 以及 Shapiro-Wilk 函数正态分布检验, 得到橙色家系壳长、壳高、壳宽、壳重呈连续变异, 3 个长度指标(壳长、壳宽、壳高)呈正态分布, 质量指标(壳重)略偏离正态分布。秦艳杰等(2007)对海湾扇贝正反交家系壳形态的研究中发现湾扇贝正反交的质量指标都完全符合正态分布, 3 个长度指标略偏离正态分布。这说明贝类的壳形态性状属于数量性状。数量性状的典型特点就是由多个基因控制。任何程度的近交(近交系数  $F>0$ )都可能会导致形态学指标的衰退, 这种衰退可能表现在一种或几种形态学性状上。在本研究中, 橙色家系亲本近交系数为  $F=0.25$ , 从其壳长、壳高、壳宽、壳重指标的分布情况来看, 其结果表明除壳重指标偏度为正值外, 其余指标偏度均为负值, 即分布曲线峰值偏右, 左侧更为扩展, 说明有少数变量值较小。壳重指标的峰度为负值, 其余指标的峰度均为正值。从 Shapiro-Wilk 函数检验所得的 *P* 值可以看出, 壳长、壳高、壳宽指标完全符合正态分布( $P>0.05$ ), 而壳重指标则略偏离正态分布( $P<0.05$ )。说明橙色家系近交(近交系数  $F=0.25$ )出现一定数量的小型化蛤仔, 并对家系内壳重正态分布的影响较大。

## 参 考 文 献

- 马大勇, 胡红浪, 孔 杰, 2005. 近交及其对水产养殖的影响. 水产学报, 29(6): 849—856
- 闫喜武, 张跃环, 金晶宇等, 2009. 大连群体两种壳型菲律宾蛤仔的双列杂交. 水产学报, 33(3): 389—395
- 闫喜武, 张跃环, 霍忠明等, 2008. 不同壳色蛤仔品系间双列杂交的研究. 水产学报, 32(6): 864—875
- 何进金, 齐秋贞, 韦信敏等, 1981. 菲律宾蛤仔幼虫食料和食性的研究. 水产学报, 5(4): 275—284
- 张国范, 刘 晓, 2006. 关于贝类遗传改良几个问题的讨论. 水产学报, 30(1): 130—137
- 张国范, 闫喜武, 2010. 蛤仔养殖学. 北京: 科学出版社, 1—12
- 张跃环, 闫喜武, 杨 凤, 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
- 秦艳杰, 刘 晓, 张海滨等, 2007. 海湾扇贝正反交两个家系形态学指标比较分析. 海洋科学, 31(3): 22—27
- 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
- Beattie J H, Perdue J, Hershberger W *et al*, 1987. Effects of inbreeding on growth in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Journal of Shellfish Research, 6: 25—28
- Beaumont A R, Budd M D, 1983. Effects of self-fertilization and other factors on the early development of the scallop *Pecten maximus*. Mar Biol, 76: 285—289
- 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
- Cigarria J, Fernandez J M, 2000. Management of Manila clam beds: I. Influence of seed size, type of substratum and protection on initial mortality. Aquaculture, 182(1—2): 173—182
- Cronkrak P, Roff D A, 1999. Inbreeding depression in the wild. Heredity, 83: 260—270
- Falconer D S, 1981. Introduction to Quantitative Genetics, 3<sup>rd</sup> edition. London: Longman, 265—287
- 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
- Lannan J E, 1980. Broodstock management of *Crassostrea gigas*: I. Genetic and environmental variation in survival in the larval rearing system. Aquaculture, 21: 323—336
- Longwell A C, Stiles S S, 1973. Gamete cross incompatibility and inbreeding in the commercial American oyster, *Crassostrea virginica* Gmelin. Cytologia, 38: 521—533
- Mallet A L, Haley L E, 1983. Growth rate and survival in pure population matings and crosses of the oyster *Crassostrea virginica*. Can J Fish Aquat Sci, 40: 948—954
- Taris N, Batista F M, Boudry P, 2007. Evidence of response to unintentional selection for faster development and inbreeding depression in *Crassostrea gigas* larvae. Aquaculture, 272S1: 69—79
- Toba D R, Chew K K, Thompson D, 1991a. Effects of substrate modification on the growth and survival of planted Manila clam seed (*Venerupis japonica*). J Shellfish Res, 10: 291
- Toba D R, Thompson D, Chew K K, 1991b. Effects of substrate modification on the growth, survival, and recruitment of Manila clams (*Venerupis japonica* Deshayes). In: Noshio T Y, Chew K K ed. Remote Setting and Nursery Culture for Shellfish, Growers Workshop Record, 19 Feb 1991, Olympia, WA (USA), 56—57
- 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
- Zheng H P, Zhang G F, Guo X M, 2008. Inbreeding depression for various traits in two cultured populations of the American bay scallop, *Argopecten irradians irradians* Lamarck (1819) introduced into China. J Exp Mar Bio Ecol, 364: 42—47

## INBREEDING AND ITS IMPACT ON GROWTH AND SURVIVAL OF THE ORANGE FAMILY MANILA CLAM *RUDITAPES PHILIPPINARUM*

LIANG Jian, YAN Xi-Wu, HUO Zhong-Ming, ZHAO Li-Qiang,  
WU Yun-Xia, YANG Feng

(Engineering and Technology Research Centre of Shellfish Breeding in Liaoning Province, College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian, 116023)

**Abstract** Inbreeding and its impact on growth and survival of the orange family were investigated by establishing full-sib family with orange shell color and control group. The results showed that the shell length of orange family was smaller than that of control group during the whole stages. The one-way ANOVA showed that the difference in the shell length was significant ( $P < 0.05$ ) between the two lines, except for day 360. The survival rates were significantly ( $P < 0.05$ ) higher in the orange family than the control group, except for day 330. The inbreeding depression of growth for orange family was observed at the range of 5.38% to 26.57%, with a mean of 15.48%, however, that of the survival rate was not found during the whole stages. In addition, the morphological traits of shell length for the orange family were evaluated on day 270. The results show that the miniaturization individuals were found in the orange family after inbreeding within the full-sib family. In conclusion, the results in this study reveal a basic theory to select the strain of Manila clam with orange shell color in the full-sib family.

**Key words** *Ruditapes philippinarum*, Orange family, Inbreeding depression, Morphology