

菲律宾蛤仔奶牛蛤品系两个世代的杂交与近交效应

闫喜武^{1*}, 孙欣¹, 张跃环¹, 桑士田¹, 霍忠明¹, 杨凤¹, 张国范²

(1. 大连海洋大学生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116023;

2. 中国科学院海洋研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 为改良菲律宾蛤仔奶牛蛤品系的表型性状, 于2010年7月以奶牛品系的全同胞子一代和子二代上选10%的个体作为亲本, 采用双列杂交法, 建立近交组合(F_{22} 、 F_{33})、杂交组合(F_{23} 、 F_{32})并设置对照组(C_{22} 、 C_{33}), 研究了两个近交世代的杂交效应及近交效应。结果表明, 杂交使得幼虫的生长性状和存活性状得到了部分改良, 但稚贝的生长性状尚未得到提高。幼虫表现出微弱的生长优势, 中亲生长优势为(0.95 ± 1.23); F_{23} 杂种优势为(0.36 ± 0.59), F_{32} 杂种优势为(1.56 ± 1.96)。稚贝表现为杂种劣势, 中亲生长劣势为(-2.90 ± 3.20); F_{23} 稚贝杂种劣势为(-4.60 ± 3.21), F_{32} 稚贝杂种劣势为(-0.75 ± 10.13)。幼虫和稚贝均表现为存活优势, 中亲存活优势分别为(9.43 ± 4.41)、(8.66 ± 12.25); F_{23} 存活优势分别为(0.77 ± 3.60)、(6.70 ± 8.81); F_{32} 存活优势分别为(20.93 ± 7.92)、(10.94 ± 16.28)。杂交效应主要受到交配方式的影响, 母本效应主要作用于幼虫期。近交使得世代 F_{22} 、 F_{33} 的生长性状得到了改良, 但两个世代的存活性状均出现了不同程度的近交衰退。世代 F_{22} 、 F_{33} 幼虫期生长性状表现为近交衰退, 衰退率分别为(5.17 ± 4.38)、(4.99 ± 2.72); 稚贝期生长性状未表现出近交衰退现象, 其衰退率分别为(-0.79 ± 13.66)、(-0.93 ± 12.85)。对于存活性状而言, 两个世代均出现近交衰退现象, 世代 F_{22} 及 F_{33} 幼虫和稚贝的近交衰退率分别为(0.16 ± 5.82)、(9.98 ± 10.04)、(19.33 ± 11.28)、(13.08 ± 16.17)。表型性状的近交效应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, 有效地改良了奶牛蛤品系的表型性状。

关键词: 菲律宾蛤仔; 奶牛蛤; 杂种优势; 近交衰退

中图分类号: S 968.31

文献标识码: A

近交是指有亲缘关系的个体相互交配, 从而使一个群体纯合基因型增加的现象^[1]。按交配方式的不同, 近交又可分为自交、全同胞交配、半同胞交配、表兄妹间交配和回交。适度的近交可以清除群体内有害的隐性基因、降低基因的杂合度、纯化和固定能够适应环境的优良等位基因、提高群体的同质性, 从而培育出在遗传学、医学、生物学等研究中具有重要作用的纯系动物。此外, 近交及其遗传稳定性在动物资源保存中具有独特的作用。过度近交是有害的, 最明显的遗传效应就是导致那些与繁殖能力或生理机能相关的性状所表现的表型平均值降低, 这种现象称为近交衰

退^[2-3]。近交衰退的遗传学解释主要有两点: 有害隐性基因的暴露和多基因平衡被破坏。通常两个近交系间的杂交会产生遗传上相同的后代, 这些后代的有害基因座大多处于杂合状态, 这样便会产生具有杂交活力的子一代, 即表现出杂种优势^[4-6]。

近交在以往的植物以及陆生动物育种上已经发挥了巨大的作用, 学者们先后建立不同物种的近交系。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^[7]。对于贝类而言, 对雌雄同体贝类近交衰退的研究相对较多, 因为雌雄同体贝类比较容易获得

收稿日期: 2010-12-27

修回日期: 2011-03-02

资助项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金资助(CARS-48)

通讯作者: 闫喜武, E-mail: yanxiwu2002@163.com

自交系,经过几代自繁,会获得纯度较高的近交系(纯系)^[8]。为此,学者们先后研究了自交及杂交对大扇贝(*Pecten maximus*)早期生长发育的影响^[9];不同配对方式下墨西哥湾扇贝(*Argopecten circularis*)^[10]及紫扇贝(*Argopecten purpuratus* L)^[11]早期的近交衰退现象;不同养殖群体、不同近交水平及不同的交配方式对海湾扇贝(*A. irradians irradians*)的近交衰退的影响,有效群体大小对海湾扇贝 F₁ 生长和存活的影响^[12],同时分析了产生近交衰退的主要原因^[13]。利用雌雄异体贝类建立近交系的研究很少,仅见于国外学者通过建立长牡蛎(*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,为长牡蛎的种质改良做出了突出贡献^[14-15]。

我国是菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)生产大国,2008-2009年产量均在300万t左右,占我国贝类产量的30%,海水养殖总产量的20%,世界产量的90%以上^[16]。为了适应蛤仔养殖业的发展,培育高产抗逆品种,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^[17-21]及家系育种上^[22-23]。目前,尚未有对于该品种近交衰退的研究。本文利用全同胞家系两个世代的奶牛蛤品系作为研究对象,研究了子二代与子三代的近交效应,并通过建立近交与杂交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提供参考。

1 材料与方法

1.1 亲本来源

亲贝为2009年建立的全同胞家系子代(奶牛蛤品系)的子一代 F₁ 和子二代 F₂, 利用三段法^[24]经过2周年、1周年养成的两个世代。其中,奶牛蛤品系为抗逆性很强的优良家系,壳面为黑白相间的深色花斑;F₁ 为通过巢式设计建立家系的子一代,F₂ 为 F₁ 经过自繁获得的子二代。2010年5月初,每个世代随机筛选600个个体,采用20目网袋(40 cm×60 cm),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。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,分别上选奶牛蛤品系子一代 F₁ 和子二代 F₂ 各200粒作为繁殖群体。2010年7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 F₁ 和子二代 F₂ 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 F₂₂ (L₁₋₃)、世代间正交组合 F₂₃ (L₄₋₆)、世代间反交组合 F₃₂ (L₇₋₉)、子三代近交组合 F₃₃ (L₁₀₋₁₂)。为了测算两个世代上选组的近交衰退率,分别采用 C₂₂、C₃₃ 作为对照组来计算不同世代的近交效应。其中,C₂₂ 为与家系建立同步的对照组子一代60个个体的混交自繁,C₃₃ 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

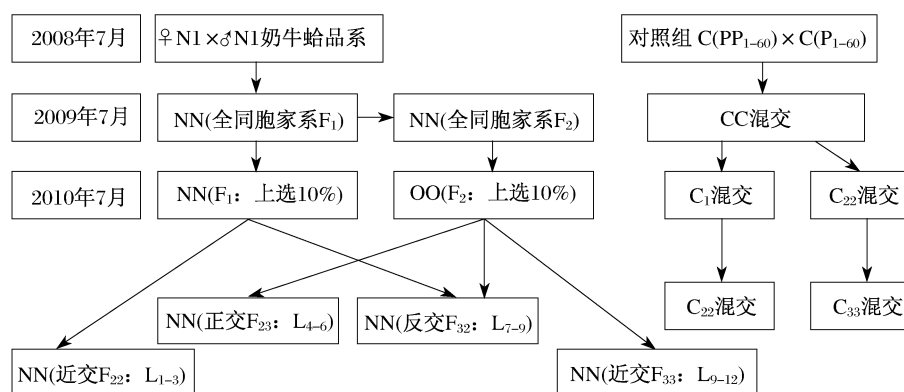


图1 奶牛蛤品系两个世代杂近交的实验设计

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

入 100 L 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 24 h 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 100 L 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 cell/(mL · d),稚贝期投喂 (1 ~ 2) × 10⁴ cell/(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 (40 cm × 60 cm) 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 °C,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 300 μm 的在显微镜下用目微尺 (100 ×) 测量,壳长大于 300 μm 小于 3.0 mm 的稚贝在体视显微镜下用目微尺 (20 ~ 40 ×) 测量,壳长大于 3.0 mm 的用游标卡尺测量。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 Log10^[25],所有的存活率均转化为反正弦函数 ASIN^[26]。用 SPSS 17.0 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^[27-28]、闫喜武等^[18-19]使用的方法,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 ZHEGN 等^[13]使用的方法,利用下面的公式计算近交衰退率 δ_x :

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

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^[29]、ZHANG 等^[30]的方法,利用双因子分析模型检测母本效应^[31]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} 为 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 为壳长 (存活率) 的卵源效应 (母本效应) ($i = 1, 2$); MS_j 为壳长 (存活率) 的配对效应 ($j = 1, 2$); $(EO \times MS)_{ij}$ 为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^[13]的方法,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} 为 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 为壳长 (存活率) 的世代效应 ($i = 1, 2$); MS'_j 为壳长 (存活率) 的配对效应 ($j = 1, 2$); $(IG \times MS')_{ij}$ 为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_{33} 实验组幼虫的壳长最小,显著小于 F_{22} 、 F_{23} 实验组 ($P < 0.05, n = 90$); C_{22} 、 C_{33} 实验组幼虫壳长最大,与各实验组差异显著 ($P < 0.05, n = 90$) (表 1)。在此期间,幼虫表现出微弱的中亲生长优势, F_{23} 、 F_{32} 实验组均表现出一定程度的单亲生长优势; F_{22} 、 F_{33} 实验组生长表现出一定程度上的近交衰退 (表 1)。幼虫的存活状况

(表 2), F_{33} 存活率最低, 显著低于其他实验组及对照组 ($P < 0.01, n = 90$)。幼虫在整个浮游期的中、单亲存活优势均为正值, 说明杂交表现出一定

的存活优势; 与生长情况相似, F_{22} 、 F_{33} 实验组存活表现出一定程度上的近交衰退。

表 1 幼虫的壳长、生长优势及近交衰退率

Tab. 1 Larval shell length, growth heterosis and inbreeding depression rate for each experimental group

类别 item		幼虫日龄/(d) age of larvae			平均值 mean
		3	6	9	
壳长/ (μm) shell length	F_{22}	109.94 \pm 4.75 ^c	156.97 \pm 6.13 ^a	174.26 \pm 4.64 ^b	—
	F_{23}	109.90 \pm 5.83 ^c	158.61 \pm 5.32 ^a	174.42 \pm 4.64 ^b	—
	F_{32}	107.47 \pm 4.49 ^d	151.21 \pm 6.55 ^b	173.27 \pm 5.43 ^b	—
	F_{33}	107.86 \pm 5.71 ^{cd}	146.02 \pm 8.61 ^c	170.72 \pm 5.46 ^c	—
	C_{22}	121.00 \pm 9.14 ^a	157.70 \pm 5.71 ^a	185.23 \pm 4.99 ^a	—
	C_{33}	113.67 \pm 4.07 ^b	149.30 \pm 3.94 ^b	184.87 \pm 4.76 ^a	—
生长优势/(%) growth heterosis	H_{23}	-0.04	1.04	0.09	0.36
	H_{32}	-0.36	3.55	1.49	1.56
	H	-0.20	2.25	0.79	0.95
近交衰退率/(%) inbreeding depression rate	δ_{22}	9.14	0.46	5.92	5.17
	δ_{33}	5.11	2.20	7.65	4.99

注: 同列中具有相同字母表示差异不显著 ($P > 0.05$), 不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下表同。

Notes: The same letters in each row mean no significant difference ($P > 0.05$), the different letters mean significant difference ($P < 0.05$). The following tables mean as the same.

表 2 幼虫的存活率、存活优势及近交衰退率

Tab. 2 Larval survival rate, survival heterosis and inbreeding depression rate for each experimental group %

类别 item		幼虫日龄/(d) age of larvae			平均值 mean
		3	6	9	
存活率 survival rate	F_{22}	89.56 \pm 4.67 ^{ab}	88.67 \pm 5.70 ^a	85.00 \pm 4.44 ^a	—
	F_{23}	90.11 \pm 3.86 ^a	86.22 \pm 4.06 ^a	85.78 \pm 6.78 ^a	—
	F_{32}	81.56 \pm 4.39 ^{abc}	80.67 \pm 7.70 ^a	80.33 \pm 4.80 ^a	—
	F_{33}	72.67 \pm 15.57 ^c	65.67 \pm 9.11 ^b	62.89 \pm 13.02 ^b	—
	C_{22}	85.00 \pm 4.36 ^{ab}	88.33 \pm 4.16 ^a	90.67 \pm 2.52 ^a	—
	C_{33}	78.67 \pm 3.21 ^{bc}	82.33 \pm 2.52 ^a	90.00 \pm 3.00 ^a	—
存活优势 survival heterosis	H_{23}	0.61	-2.8	4.44	0.75
	H_{32}	12.23	22.84	27.73	20.93
	H	5.82	8.13	14.35	9.43
近交衰退率 inbreeding depression rate	δ_{22}	-5.37	-0.39	6.25	0.16
	δ_{33}	7.63	20.24	30.12	19.33

在幼虫培育期, 幼虫生长与存活的杂种优势主要受到母本效应的影响, 交配方式次要影响因素, 卵源与交配方式的交互作用影响最小(表 3)。交配方式主要表现为亲本的近交和杂交间的差异, 实验结果显示近交组合表现出较大近交衰退现象, 这与生物的杂、近交理论相一致。而幼虫生长性状的近交衰退主要受到世代效应的影响, 近交世代与交配方式的交互作用起到次要影响作用, 交配方式对其影响最小。对存活近交衰退而

言, 近交世代是主要影响因素, 起到次要影响作用的为近交世代与交配方式的交互作用, 交配方式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, F_{33} 稚贝壳长最小, 与 F_{23} 实验组无显著差异 ($P > 0.05, n = 90$), 显著小于其他实验组 ($P < 0.05, n = 90$); 60 日龄, C_{33} 稚贝壳长最小, 显著小于 C_{22} 实验组 ($P < 0.05, n = 90$), 与其他实验组差异不显著 ($P > 0.05, n =$

90);90日龄,C₂₂稚贝壳长最小,显著小于其他实验组(表4)。在此期间,除在30日龄表现出微弱中亲生长优势外,60~90日龄均表现为生长劣势;F₂₂实验组在30~60日龄表现出一定程度上的近交衰退,90日龄未出现近交衰退现象;F₃₃实验组30日龄表现为近交衰退,60~90日龄未出现近交衰退(表4)。稚贝的存活状况如表5,30日龄时,F₃₃存活率最低,显著小于对照组和其它

实验组($P < 0.05, n = 90$);60日龄时,F₃₃存活率最低,与C₂₂、C₃₃差异显著($P < 0.05, n = 90$),与其它实验组无显著差异($P > 0.05, n = 90$);90日龄时,F₂₂存活率最低,显著小于C₂₂($P < 0.05, n = 90$),与其它实验组无显著差异($P > 0.05, n = 90$)。在此期间,稚贝表现为中、单亲存活优势,F₂₂、F₃₃实验组表现为一定程度的近交衰退。

表3 幼虫生长与存活的杂交(HE:卵源 & 交配方式)及近交效应(IE:近交世代 & 交配方式)分析
Tab.3 Analyses of variance showing hybrid effects[HE:egg original(EO) and mating strategy(MS)] and inbred effects[IE:inbreeding generation(IG) and mating strategy(MS')] for larval growth and survival

来源 source	df	壳长 shell length		存活率 survival rate		
		M. S.	P	M. S.	P	
Day3	EO	1	0.007	0.000	0.247	0.000
	HE MS	1	6.664E-5	0.693	0.047	0.094
	EO × MS	1	2.181E-5	0.822	0.038	0.127
	IG	1	0.014	0.000	0.107	0.046
	IE MS'	1	0.046	0.000	0.003	0.733
Day6	IG × MS'	1	0.003	0.009	0.027	0.127
	EO	1	0.063	0.000	0.320	0.000
	HE MS	1	0.009	0.000	0.076	0.007
	IG × MS	1	0.003	0.009	0.127	0.001
	IG	1	0.035	0.000	0.160	0.001
Day9	IE MS'	1	0.002	0.042	0.061	0.027
	IG × MS'	1	0.001	0.177	0.064	0.024
	EO	1	0.003	0.000	0.335	0.000
	HE MS	1	0.001	0.011	0.167	0.003
	IG × MS	1	0.001	0.025	0.149	0.005
Day9	IG	1	0.001	0.009	0.122	0.029
	IE MS'	1	0.042	0.000	0.223	0.005
	IG × MS'	1	0.001	0.030	0.111	0.036

表4 稚贝的壳长、生长优势及近交衰退率
Tab.4 Spat shell length, growth heterosis and inbreeding depression rate for each experimental group

类别 item		稚贝日龄/(d) age of spat			平均值 mean
		30	60	90	
壳长/(μm) shell length	F ₂₂	547.67 ± 96.73 ^b	3.95 ± 0.99 ^{ab}	6.90 ± 0.69 ^{ab}	—
	F ₂₃	504.22 ± 80.13 ^{cd}	3.89 ± 0.87 ^b	6.60 ± 0.98 ^b	—
	F ₃₂	530.67 ± 89.45 ^{bc}	3.74 ± 0.92 ^b	6.77 ± 0.98 ^{ab}	—
	F ₃₃	479.11 ± 74.16 ^d	4.08 ± 0.86 ^{ab}	7.10 ± 0.62 ^a	—
	C ₂₂	587.00 ± 57.67 ^a	4.27 ± 0.65 ^a	5.92 ± 0.87 ^c	—
	C ₃₃	555.67 ± 54.75 ^b	3.71 ± 0.54 ^b	6.66 ± 1.04 ^b	—
生长优势/(%) growth heterosis	H ₂₃	-7.93	-1.52	-4.35	-4.60
	H ₃₂	10.76	-8.33	-4.65	-0.74
	H	0.79	-4.98	-4.50	-2.90
近交衰退率/(%) inbreeding depression rate	δ_{22}	6.70	7.49	-16.55	-0.79
	δ_{33}	13.78	-9.97	-6.61	-0.93

表 5 稚贝的存活率、存活优势及近交衰退率

Tab. 5 Spat survival rate, survival heterosis and inbreeding depression rate for each experimental group		稚贝日龄/(d) age of spat			%
类别	item	30	60	90	平均值 means
存活率	F_{22}	65.89 ± 3.22 ^c	82.22 ± 2.64 ^{ab}	82.56 ± 3.75 ^b	—
	F_{23}	77.00 ± 4.30 ^{ab}	83.89 ± 2.20 ^{ab}	83.56 ± 2.19 ^{ab}	—
	F_{32}	73.22 ± 2.73 ^b	83.22 ± 2.28 ^{ab}	83.89 ± 2.20 ^{ab}	—
	F_{33}	56.44 ± 10.74 ^d	81.56 ± 3.36 ^b	83.00 ± 3.12 ^{ab}	—
	C_{22}	84.00 ± 3.61 ^a	85.33 ± 2.52 ^a	86.67 ± 2.08 ^a	—
	C_{33}	82.67 ± 2.52 ^a	85.67 ± 4.04 ^a	85.33 ± 1.53 ^{ab}	—
存活优势	H_{23}	16.86	2.03	1.21	6.70
	H_{32}	29.73	2.03	1.07	10.94
	H	22.80	2.03	1.14	8.66
近交衰退率	δ_{22}	21.56	3.64	4.74	9.98
	δ_{33}	31.72	4.80	2.73	13.08

在稚贝培育期,稚贝表型性状的杂种优势主要受到交配方式的影响;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母本效应的影响(表6)。稚贝期生长和

存活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互作用起次要作用,交配方式尚未产生影响作用(表6)。

表 6 稚贝生长与存活的杂交(HE:卵源 & 交配方式)及近交效应(IE:近交世代 & 交配方式)分析
Tab. 6 Analyses of variance showing hybrid effects[HE:egg original (EO) and mating strategy (MS)] and inbred effects[IE:inbreeding generation (IG) and mating strategy (MS')] for spat growth and survival

来源	source	df	壳长 shell length		存活率 survival rate			
			M. S.	P	M. S.	P		
Day30	HE	EO	1	0.027	0.020	0.108	0.084	
		MS	1	0.002	0.527	0.419	0.000	
		$EO \times MS$	1	0.135	0.000	0.033	0.094	
	IE		IG	1	0.072	0.000	0.039	0.135
			MS'	1	0.118	0.000	0.462	0.000
			$IG \times MS'$	1	0.012	0.104	0.027	0.210
Day60	HE	EO	1	0.000	0.891	0.001	0.455	
		MS	1	0.046	0.042	0.004	0.069	
		$IG \times MS$	1	0.033	0.086	4.430E-7	0.984	
	IE		IG	1	0.021	0.127	2.809E-5	0.890
			MS'	1	0.001	0.778	0.008	0.025
			$IG \times MS'$	1	0.069	0.006	0.000	0.742
Day90	HE	EO	1	0.014	0.032	0.000	0.684	
		MS	1	0.046	0.000	0.001	0.321	
		$IG \times MS$	1	4.969E-5	0.897	6.446E-6	0.943	
	IE		IG	1	0.046	0.000	0.000	0.794
			MS'	1	0.113	0.000	0.007	0.047
			$IG \times MS'$	1	0.016	0.012	0.001	0.572

3 讨论

3.1 亲本背景

本研究中利用的奶牛蛤品系于 2008 年 7 月来源于大连庄河海量水产食品有限公司,采用巢

式设计($\delta : \text{♀} = 1 : 3$)建立蛤仔大连石河群体 11 个父系半同胞家系和 33 个全同胞家系中生长和存活等表型性状最优的 1 个全同胞家系,该家系具有生长快、抗逆性强及产量高的特点。奶牛蛤表观特征是:壳面颜色中具有像奶牛身上一样的

斑块,在北方群体中占10%左右,按壳色划分,也是天然群体中产量最高的品系,这与实验中获得的家系产量最高相吻合。2009年7月,采用群体繁育,繁殖得到后代 F_2 。以 F_1 和 F_2 两个世代的奶牛蛤作为亲本,采用双列杂交建立杂交和近交组合。本实验中,近交世代 F_{22} 为全同胞 F_1 上选10%个体的3个家系的均值,近交世代 F_{33} 为 F_2 上选10%的3个家系的均值;世代间正交 F_{23} 为(F_1 上选10%个体) $\text{♀} \times$ (F_2 上选10%) ♂ 的3个家系的均值,世代间正交 F_{32} 为(F_1 上选10%个体) $\text{♀} \times$ (F_2 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对照,来计算近交衰退率。由于近交世代 F_{22} 、 F_{33} 均有共同的祖先,根据近交系数的计算公式,可以得出其近交系数ID分别为0.25、0.375^[32],它们的基因型比较接近,彼此间的差异很小,使得杂交实验组几乎没有产生杂种优势;由于遗传距离较近,个体后代有明显的近交衰退现象发生,但是由于实验采用10%留种率上选,使近交组在产生近交衰退淘汰部分抗逆性差的个体同时累加了生长速度快的基因,使得世代间生长性状获得显著改良。

3.2 杂种优势

杂种优势是生物界普遍存在的一种现象,在农业生产中已经得到了广泛的应用,成功的报道很多。在水生生物,尤其是双壳类中,用同工酶揭示的杂合度和一些生产性状存在明显的相关性。分析杂种优势产生的条件,亲本间的遗传差异无疑是最重要的原因之一^[8]。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^[33]。从本文的亲本背景上看,两个世代来源于共同的祖先,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,在幼虫期,正、反交组合获得了一定程度上的生长优势;稚贝期,杂交组合表现出生长劣势。分析其原因:幼虫期幼虫的生长性状主要受母本效应的影响,由于 F_{22} 为生长两周年的蛤仔, F_{33} 为生长一周年的蛤仔,其母体所能提供的营养物质不尽相同,由此可能导致生长时间长、个体大的母本为子代提供更多的营养, F_{22} 、 F_{23} 实验组生长速度高于 F_{32} 、 F_{33} 。稚贝期,由于亲本拥有共同的祖先,亲本之间的遗传差异比较小,杂交组不足

以产生杂种优势或是获得较小的杂交优势;近交实验组在近交和自然选择联合作用下,使个体中含有的隐性致死基因的个体淘汰,使含有生长好和抗逆性强的基因得到纯化,从而使个体生长性状得到显著提高。从其存活性状上看,杂交组均表现出存活优势。这种存活优势说明:由于世代之间抗逆性状的差异,杂交可以很好的获得存活性状的改良。存活优势的大小主要受到母本效应的影响,可能是近交使得生物体的隐性致死基因暴露,而杂交个体由于存活基因处于杂合态,可以继续存活,产生杂种优势,从而获得存活性状上的改良。

3.3 近交衰退

近交衰退是指近交的发生通常会导致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^[3]。本研究中,近交世代 F_{22} 、 F_{33} 的存活性状都出现了近交衰退现象,但稚贝期后近交组合生长性状尚未出现近交衰退。分析其原因,主要是由于近交增加了群体对环境的敏感性^[1],这种敏感性增加表明了有害突变基因在某些环境中表达的增强或更多的有害等位基因得到表达,也反应出这些群体内的加性遗传变异减少,从而在自然选择的过程中使它们降低了适应环境变化的能力,由此导致存活率的下降。对于生长性状,由于实验设计是子一代和子二代之间杂交和近交,实验亲本亲缘关系较近,故实验必然会产生一定程度的近交衰退,但是实验亲本距离共同的祖先遗传距离很近,且其祖先为随机建立的奶牛蛤家系,彼此之间遗传距离接近为零,实验组近交程度也就相对较弱。实验最终在幼虫期表现为近交衰退,稚贝期未出现衰退。方差分析表明:在幼虫期和稚贝期近交世代都是主要影响因素,交配方式是次要影响因素。说明近交衰退率的大小主要是受近交世代即近交系数的影响,但是在不同的时期可能受到不同因素的影响^[34]。

由于近交造成有益基因和有害基因同时积累,有害基因使个体得到淘汰,有益基因使个体的生长和存活表型性状改良,但基因的显隐性效应决定了有害基因必须在世代交配中慢慢清除,部分有害基因仍然以杂合态存在,这使得近交实验

组内个体出现两极分化,个体间的大小差异大,造成实验结果中误差波动幅度较大。部分研究认为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,它受遗传、环境因子等影响;在出现不良疾病或环境条件比较恶劣的情况时,近交衰退比较容易表现出来,而优良性状纯合速度加快^[35]。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。本实验结果表明:近交世代是影响近交组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群体,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^[36]。为此,研究奶牛蛤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基础。

参考文献:

- [1] 马大勇,胡红浪,孔杰. 近交及其对水产养殖的影响[J]. 水产学报,2005,29(6):849-856.
- [2] 王峥峰,傅声雷,任海,等. 近交衰退:我们检测到了吗[J]. 生态学杂志,2007,26(2):245-252.
- [3] CHARLESWORTH D, CHARLESWORTH B. Inbreeding depression and its evolutionary consequences[J]. Annual Review of Ecology and Systematics,1987,18:237-268.
- [4] 谢雍(译). 遗传学[M]. 北京:科学出版社,2006:204-205.
- [5] 张国范,刘晓,阚华勇,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.
- [6] MISAMORE M, BROWDY C L. Evaluating hybridization potential between *Penaeus setiferus* and *Penaeus vannamei* through natural mating, artificial insemination and *in vitro* fertilization [J]. Aquaculture,1997,150:1-10.
- [7] 陈小勇,林鹏. 厦门木麻黄种群交配系统及近交衰退[J]. 应用生态学报,2002,13:1377-1380.
- [8] 张国范,刘述锡,刘晓,等. 海湾扇贝自交家系的建立和自交效应[J]. 中国水产科学,2003,10(6):441-445.
- [9] BEAUMONT A R, BUDD M D. Effects of self-fertilisation and other factors on the early development of the scallop *Pecten maximus* [J]. Marine Biology,1983,76(3):285-289.
- [10] IBARRA A M, CRUZ P, ROMERO B A. Effects of inbreeding on growth and survival of self-fertilized catarina scallop larvae, *Argopecten circularis* [J]. Aquaculture,1995,134:37-47.
- [11] WINKLER F M, ESTEVEZ B F. Effects of self-fertilization on growth and survival of larvae and juveniles of the scallop *Argopecten purpuratus* L [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology,2003,292:93-102.
- [12] 张海滨,刘晓,张国范,等. 有效群体大小对海湾扇贝 F_1 生长和存活的影响[J]. 海洋学报,2005,27(2):177-180.
- [13] ZHENG H P, ZHANG G F, GUO X M, *et al.* Inbreeding depression for various traits in two cultured populations of the American bay scallop, *Argopecten irradians irradians* Lamarck (1819) introduced into China [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology,2008,364:42-47.
- [14] HEDGECOCK D, MAGOLDRICK D J, BAYNE B L. Hybrid vigor in Pacific oysters: an experimental approach using crosses among inbred lines [J]. Aquaculture,1995,137:285-298.
- [15] HEDGECOCK D, DAVIS J P. Heterosis for yield and crossbreeding of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* [J]. Aquaculture,2007,272:17-29.
- [16] 张国范,闫喜武. 菲律宾蛤仔养殖学[M]. 北京:科学出版社,2010.
- [17] 闫喜武,张国范,杨凤,等. 菲律宾蛤仔莆田群体与大连群体生物学比较[J]. 生态学报,2005,25(12):3329-3333.
- [18] 闫喜武,张跃环,霍忠明,等. 不同壳色菲律宾蛤仔品系间双列杂交的研究[J]. 水产学报,2008,32(6):864-875.
- [19] 闫喜武,张跃环,金晶宇,等. 大连群体两种壳型菲律宾蛤仔的双列杂交[J]. 水产学报,2009,33(3):389-395.
- [20] 闫喜武,霍忠明,张跃环. 菲律宾蛤仔家系建立及早期生长发育研究[J]. 水产学报,2010,34(16):933-941.
- [21] 张跃环,闫喜武,杨凤,等. 菲律宾蛤仔大连群体两种壳型家系生长发育比较[J]. 生态学报,2008,28(9):4246-4252.
- [22] 张跃环,闫喜武,王艳,等. 不同壳型菲律宾蛤仔的家系建立及早期生长发育比较[J]. 渔业科学进展,2009,30(2):71-77.

- [23] 霍忠明, 闫喜武, 张跃环, 等. 菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 大连群体家系建立及生长比较[J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(3): 334-340.
- [24] ZHANG G F, YAN X W. A new three-phase culture method for Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, farming in northern China [J]. Aquaculture, 2006, 258: 452-461.
- [25] NETER J, WASSERMAN W, KUTNER M. Applied linear statistical models [M] // Irwin R D, Ed., 2nd Edition. 1985: 1127.
- [26] ROHLF F J, SOKAL R R. Statistical tables [M]. New York: W. H. Freeman and Company, 1981: 219.
- [27] ZHENG H P, ZHANG G F, GUO X M, et al. Heterosis between two stocks of bay scallop, *Argopecten irradians irradians* Lamarck (1819) [J]. Journal of Shellfish Research, 2006, 25(3): 807-802.
- [28] 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比较[J]. 水产学报, 2004, 28(3): 267-272.
- [29] 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: 95-110.
- [30] ZHANG H B, LIU X, ZHANG G F, et al. Growth and survival of reciprocal crosses between two bay scallops, *Argopecten irradians concentricus* Say and *A. irradians irradians* Lamarck [J]. Aquaculture, 2007, 272 (Suppl. 1): 88-93.
- [31] BENTSEN H B, EKNATH A E, PALADA-DE VERA M S, et al. Genetic improvement of farmed tilapias: Growth performance in a complete diallel cross experiment with eight strains of *Oreochromis niloticus* [J]. Aquaculture, 1998, 160: 145-173.
- [32] 宋运淳, 余先觉. 普通遗传学 [M]. 武汉: 武汉大学出版社, 1990: 389.
- [33] FALCONER D S, MACKAY T F C. Introduction to quantitative genetics (Fourth edition) [D]. Longman group, Essex, England, 1996.
- [34] HUSBAND B, SCHEMSKE D W. Evolution of the magnitude and timing of inbreeding depression in plants [J]. Evolution, 1996, 50: 54-70.
- [35] KELLER L F, WALLER D M. Inbreeding effects in wild populations [J]. Trends in Ecology & Evolution, 2002, 17(5): 230-241.
- [36] 许飞, 郑怀平, 张海滨, 等. 海湾扇贝“中科红”品种与普通群体不同温度下早期性状的比较 [J]. 水产学报, 2008, 32(6): 876-883.

Hybridization and inbreeding effects between two generations for cow strain of Manila clam *Ruditapes philippinarum*

YAN Xi-wu^{1*}, SUN Xin¹, ZHANG Yue-huan¹, SANG Shi-tian¹,
HUO Zhong-ming¹, YANG Feng¹, ZHANG Guo-fan²

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

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

Abstract: In order to improve the phenotypic characters of cow strain of Manila clam *Ruditapes philippinarum*, hybridization and inbreeding effects of this strain were investigated between two generations 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 July 2010. The results showed that the growth character and survival rate of larvae were partially improved, whereas the juveniles growth character was not increased by hybridization. The little growth heterosis was observed on larvae (0.95 ± 1.23); the heterosis of larvae for F_{23} was (0.36 ± 0.59), that of F_{32} was (1.56 ± 1.96). The survival respectively was observed on juveniles (-2.90 ± 3.20), the respectively of juveniles for F_{23} was (-4.60 ± 3.21), that of F_{32} was (-0.75 ± 10.13). The mid-parent survival rate of larvae and juvenile were (9.43 ± 4.41) and (8.66 ± 12.25); the survival rate for F_{23} were (0.77 ± 3.60) and (6.70 ± 8.81), that of F_{32} were (20.93 ± 7.92) and (10.94 ± 16.28). The mating strategy was the major factor for hybrid effects during the larval period, then the maternal effect became the major factor for that during juvenile period. Growth of two generations was improved by inbreeding, but the survival rate of two generations was inbreeding depression. Generations F_{22} , F_{33} were inbreeding depression on larvae, inbreeding depression rates of growth were (5.17 ± 4.38) and (4.99 ± 2.72); juveniles period of growth did not show inbreeding depression, inbreeding depression rates were (-0.79 ± 13.66) and (-0.93 ± 12.85). The inbreeding depression rate of survival for F_{22} was (0.16 ± 5.82) and (9.98 ± 10.04) between larvae and juvenile, then these of F_{33} were (19.33 ± 11.28) and (13.08 ± 16.17) respectively. The generation effect was the major factor for inbreeding effects. The phenotypic characters of this strain were effectively improved by close combination of up-selection, hybridization and inbreeding.

Key words: *Ruditapes philippinarum*; cow strains; heterosis; inbreeding depression

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