

长牡蛎中国群体和美国群体杂交效应与三倍体的优势

孔静¹, 王昭萍^{1*}, 刘剑¹, 于瑞海¹,
张跃环¹, 李晓瑜², 李雅琳², 郭希明³

(1. 中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003;

2. 青岛崂东海珍品良种培育有限公司, 山东 青岛 266003;

3. Haskin Shellfish Research Laboratory, Institute of Marine and Coastal Sciences,
Rutgers University, Port Norris, New Jersey 08349, USA)

摘要: 将长牡蛎中国群体二倍体分别与美国群体二倍体和四倍体进行杂交, 实验共设置4组, 分别为杂交二倍体组、杂交三倍体组、中国二倍体组和美国二倍体组, 比较了各实验组卵裂率、D幼率、D形幼虫大小及幼虫期、稚贝期的壳高生长、存活率等生物学指标, 并估算杂交二倍体的杂种优势率和杂交三倍体的三倍体优势率。结果表明, 杂交二倍体幼虫壳高生长的杂种优势率不明显, 平均杂种优势率为1.21%, 幼虫的存活率及稚贝的壳高生长表现出明显的杂种优势, 平均杂种优势率分别为34.47%和20.39%。杂交三倍体的D形幼虫大小、幼虫和稚贝的壳高生长、存活率均表现出三倍体优势, D形幼虫大小三倍体优势率为5.19%, 幼虫期壳高生长和存活的平均三倍体优势率分别为4.00%和19.92%, 稚贝壳高生长和存活的平均三倍体优势率分别为30.18%和54.43%, 200日龄, 杂交三倍体鲜体质量的三倍体优势率为202.96%, 存活三倍体优势率为73.60%。此外, 稚贝期的杂交二倍体生长性状的杂种优势率和杂交三倍体的三倍体优势率均高于幼虫期的优势率。研究表明, 中、美两地理群体杂交获得的三倍体长牡蛎子代生长和存活性状都比二倍体优良。杂交三倍体的优良性状主要是三倍体优势, 杂交优势的贡献率还有待进一步实验证实。

关键词: 长牡蛎; 杂交; 三倍体; 杂种优势

中图分类号: S 968.31

文献标识码: A

由于贝类具有食物链短、定居性强、育苗和养殖基础好、养殖成本相对较低等特点, 已成为沿海渔民的重要经济来源, 也是我国沿海地区养殖的重要支柱产业之一^[1]。随着养殖规模的扩大, 产量的大幅度提高及市场需求的增加, 人们逐渐认识到培育生长快、品质优、抗逆性强的养殖贝类新品种是亟待解决的问题。应用海洋生物技术培育贝类新品种也是近年来的研究热点之一。目前杂交育种及多倍体育种^[2]等技术均已应用到贝类新品种的研究中, 其中杂交及杂种优势的利用可解决养殖贝类生长慢、生产周期长和大规模死亡等问题^[3]; 三

倍体贝类具有生长快、个体大、品质好、繁殖季节死亡率低等优点, 自20世纪80年代以来备受重视^[4]。杂交三倍体在理论上兼具杂种优势和三倍体优势^[5], 其研究力度也在不断地加大, 但生产的可行性及商业价值有待进一步验证。

以长牡蛎(*Crassostrea gigas*)为研究对象, 通过采用中国二倍体长牡蛎与美国二倍体和四倍体长牡蛎进行杂交, 旨在验证杂交二倍体和三倍体子代的杂种优势及三倍体优势的表现, 旨为以后杂交三倍体的研究提供数据参考, 也为贝类多倍体和杂交的研究开拓更加广阔的领域。

收稿日期: 2011-01-06 修回日期: 2011-03-12

资助项目: 国家自然科学基金项目(30771622); 国家“八六三”高技术研究发展计划(2006AA10A401)

通讯作者: 王昭萍, E-mail: zpwang@ouc.edu.cn

1 材料与方 法

1.1 亲贝来源及促熟

长牡蛎中国群体取自威海文登海区,美国群体(二倍体及四倍体)取自美国华盛顿州。亲贝在青岛崂东海珍品培育有限公司育苗池网箱中暂养促熟。

1.2 实验设计及受精

实验方案 以长牡蛎中国群体二倍体为材料,分别与美国群体二倍体和四倍体进行杂交,以长牡蛎中、美两群体二倍体为材料进行群体内交配,获得4个实验组,即中国二倍体组(2 nC)、美国二倍体组(2 nA)、杂交二倍体组(2 nH)和杂交三倍体组(3 nH)。交配设计见表1。

表1 长牡蛎中、美两群体杂交实验设计
Tab.1 The design of cross for *Crassostrea gigas* oysters with two different geographic stocks from China and America

亲本 parents	中国长牡蛎 二倍体(♂C)	美国长牡蛎 二倍体(♂A)	美国长牡蛎 四倍体(♂A)
中国长牡蛎 二倍体(♀C)	2 nC	2 nH	3 nH
美国长牡蛎 二倍体(♀A)	-	2 nA	-

受精 用解剖刀将牡蛎逐个剖开,选择性腺发育良好的用于本研究,显微镜下鉴别性别,并观察性腺细胞发育情况。将雌、雄亲贝(各30个)严格分开放置,防止精、卵污染。将卵子于海水中熟化1 h后,弃去上层。按照实验方案中的组合,使精卵受精,放置于准备好的孵化桶中孵化。全部实验过程重复3次。

1.3 幼虫及稚贝培养

受精卵经24 h发育至D形幼虫,经选优后,于80 L的白桶中培育,密度为8~10个/mL,每日全量换水。幼虫阶段投喂金藻,稚贝阶段混合投喂扁藻和小球藻(1:1)。每日观察牡蛎幼虫及稚贝的生长状况。培育水温21℃。

1.4 数据测量

统计卵裂率、D幼率和D形幼虫大小。统计3、6、9、12、15日龄幼虫和40、110、200日龄稚贝的存活率。测量幼虫期3、6、9、12、15、18日龄的壳高,稚贝期40日龄壳高,110日龄壳高、壳长及200日龄稚贝壳高、壳长和鲜体质量。

1.5 杂交三倍体的倍性测定

实验解剖过程中,同时取亲贝鳃组织于

1.5 mL离心管中,加入DAPI荧光染液1 mL,经振荡器震荡,制成细胞悬液,用Partec PA II流式细胞仪(FCM)对亲贝的倍性进行检测。幼虫及稚贝培育过程中,将杂交三倍体组的D形幼虫和稚贝的鳃组织收集进行倍性检测,具体过程同亲贝检测倍性过程。

1.6 杂种优势率及三倍体优势率的计算

用H%表示中、美两群体长牡蛎杂交二倍体子代的杂种优势率,参照FALCONER等^[6]使用的方法, $H(\%) = [(F_1 - P) \times 100] / P$ 式中, F_1 —杂交二倍体组性状的平均值, P —指中国和美国群体二倍体组性状的平均值。

用Td%表示三倍体优势率,即

$$Td\% = [(A_{3nH} - A_{2nH}) \times 100] / A_{2nH}$$

式中, A_{3nH} —杂交三倍体子代性状的平均值, A_{2nH} —杂交二倍体子代性状的平均值。

1.7 数据处理

实验数据以平均值±标准差(mean±SD)表示,采用Excell作图,SPSS 13.0统计软件进行分析处理,不同实验组间数据的比较采用单因素方差分析方法,差异显著性设置为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 卵裂率、D幼率及D形幼虫大小

各实验组卵裂率、D幼率及D形幼虫大小如表2所示。2 nH组的卵裂率显著高于2 nC组($P < 0.05$),略高于2 nA组,差异不显著($P > 0.05$),杂种

表2 各实验组卵裂率、D幼率、D形幼虫大小比较及杂种优势和三倍体优势

Tab.2 Comparison of cleavaged oocyte, survival to D-stage and D shaped length of different groups, heterosis, advantage of triploidy of them

实验组 experimental group	卵裂率/ (±SD, %) cleavaged oocyte	D幼率/ (±SD, %) survival to D-stage	D形幼虫/ (±SD, μm) D shaped length
2 nC	57.63 ± 2.80 ^a	74.70 ± 2.64 ^b	80.53 ± 1.48 ^b
2 nA	88.99 ± 9.79 ^{bc}	86.67 ± 7.64 ^c	75.27 ± 3.08 ^a
2 nH	92.25 ± 6.63 ^c	77.34 ± 2.85 ^b	79.73 ± 2.08 ^b
3 nH	77.69 ± 6.67 ^b	65.81 ± 3.29 ^a	83.87 ± 2.62 ^c
H%	25.84	-4.15	2.35
Td%	-15.78	-14.91	5.19

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

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

优势率为25.84%。3 nH 组卵裂率显著小于2 nH 组 ($P < 0.05$)。2 nH 组和3 nH 组 D 幼率均未表现出优势。在 D 形幼虫大小方面,2 nH 组的杂种优势为2.35%,3 nH 组的三倍体优势率为5.19%。

2.2 幼虫的生长与存活

幼虫期各实验组壳高生长、杂种优势、三倍体优势 幼虫期各实验组幼虫壳高生长结果如表3。随着幼虫的生长,2 nC 组、2 nA 组、2 nH 组和3 nH 组在浮游期的生长速度分别为 (14.30 ± 1.02)、(11.87 ± 1.50)、(13.64 ± 1.37) 和 (14.23 ± 1.83) $\mu\text{m}/\text{d}$ 。就生长速度而言,2 nH

组的杂种优势率为1.07%,3 nH 组三倍体优势率为4.32%。在3日龄时,2 nH 组与2 nC 组、2 nA 组差异不显著 ($P > 0.05$),表现出负的杂种优势。而从6日龄开始,2 nH 组的杂种优势有所增长,为0.22%~2.87%。3 nH 组从3日龄开始就一直表现出三倍体优势,为0.35%~9.07%,三倍体优势率在3日龄时最高。整个浮游幼虫期,三倍体优势率变化趋势不明显。幼虫期2 nH 组壳高生长的平均杂种优势率为1.21%,3 nH 组平均三倍体优势率为4.00%。

表3 幼虫期各实验组幼虫壳高生长、杂种优势、三倍体优势

Tab.3 Shell height, heterosis and advantage of triploidy of larvae for the experimental groups during planktonic period

实验组 experimental group	幼虫日龄/(d) age of larvae					
	3	6	9	12	15	18
2 nC	92.67 \pm 3.41 ^a	116.17 \pm 5.83 ^a	151.17 \pm 5.97 ^{bc}	195.33 \pm 15.53 ^b	252.67 \pm 20.50 ^b	307.17 \pm 18.74 ^{bc}
2 nA	94.83 \pm 4.64 ^a	114.33 \pm 5.53 ^a	140.33 \pm 7.87 ^a	182.17 \pm 15.68 ^a	238.00 \pm 19.90 ^a	272.83 \pm 27.09 ^a
2 nH	93.67 \pm 3.70 ^a	116.83 \pm 5.65 ^a	148.00 \pm 5.19 ^b	189.17 \pm 9.11 ^{ab}	248.67 \pm 24.46 ^{ab}	298.33 \pm 24.22 ^b
3 nH	102.17 \pm 5.20 ^b	123.00 \pm 3.62 ^b	152.17 \pm 7.51 ^c	189.83 \pm 15.06 ^b	250.33 \pm 25.12 ^b	315.67 \pm 32.69 ^c
H%	-0.09	1.37	1.54	0.22	1.36	2.87
Td%	9.07	5.28	2.82	0.35	0.67	5.81

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

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

幼虫期各实验组幼虫的存活率、杂种优势、三倍体优势 幼虫期各实验组幼虫存活率结果如表4。3日龄时,2 nH 组和3 nH 组的存活率与2 nC 组、2 nA 组差异不显著 ($P > 0.05$);2 nH 组表现出负的杂种优势;3 nH 组的三倍体优势很明显,为11.07%。自6日龄开始,2 nH 组存活率的杂种优势逐渐表现出来,随着幼虫的生长发育,杂种优势率呈逐渐增大的趋势,为4.54%~

67.35%。从9日龄开始,2 nH 组存活率比2 nC 组略高 ($P > 0.05$),但显著高于2 nA 组 ($P < 0.05$)。3 nH 组存活率在各日龄均高于2 nH 组,从12日龄起,差异显著 ($P < 0.05$),三倍体优势率呈现增长趋势,为11.07%~35.75%,最高值达35.75%。幼虫期2 nH 组存活率的平均杂种优势率为34.47%,3 nH 组平均三倍体优势率为19.92%。

表4 幼虫期各实验组幼虫存活率、杂种优势、三倍体优势

Tab.4 Survival, heterosis and advantage of triploidy of larvae for the experimental groups during planktonic period

实验组 experimental group	幼虫日龄/(d) age of larvae				
	3	6	9	12	15
2 nC	97.51 \pm 16.11 ^a	74.83 \pm 9.09 ^a	61.22 \pm 11.78 ^b	58.96 \pm 10.39 ^b	55.78 \pm 4.71 ^b
2 nA	87.01 \pm 10.11 ^a	69.61 \pm 2.32 ^a	42.84 \pm 10.11 ^a	20.08 \pm 4.02 ^a	19.68 \pm 1.84 ^a
2 nH	88.08 \pm 25.35 ^a	75.50 \pm 24.05 ^a	74.35 \pm 8.64 ^{bc}	64.06 \pm 17.27 ^b	63.14 \pm 6.29 ^b
3 nH	97.83 \pm 11.11 ^a	88.77 \pm 3.53 ^a	87.86 \pm 4.15 ^c	86.96 \pm 9.41 ^c	73.91 \pm 6.79 ^c
H%	-4.53	4.54	42.90	62.10	67.35
Td%	11.07	17.58	18.17	35.75	17.06

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

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

2.3 稚贝的生长与存活

各实验组稚贝生长性状、杂种优势、三倍体优势 各实验组稚贝的壳高如表5所示。40日龄,2 nH组的壳高显著大于2 nC组、2 nA组($P < 0.05$),杂种优势率为35.10%。3 nH组的壳高显著大于2 nH组($P < 0.05$),三倍体优势率为17.71%。110日龄的2 nH组的壳高、壳长大于2 nC组、2 nA组,且显著大于2 nA组($P < 0.05$),3 nH组显著大于2 nH组($P < 0.05$)。200日龄2 nH组的壳高显著大于2 nA组($P < 0.05$),显著小于2 nC组($P < 0.05$),3 nH组显著高于2 nH组($P < 0.05$)。2 nH组的壳长略小于2 nC组,差

异不显著($P > 0.05$),但显著大于2 nA组($P < 0.05$)。在活体质量方面,2 nH组和2 nC组、2 nA组差异不显著($P > 0.05$),3 nH组显著大于2 nC组、2 nA组($P < 0.05$)。2 nH组各测量指标的杂种优势和3 nH组的三倍体优势均表现出来。随着稚贝的生长,2 nH组的杂种优势率呈现降低的趋势,为3.75%~35.10%。3 nH组的三倍体优势率有逐渐上升的趋势,优势率为17.71%~202.96%。稚贝2 nH组壳高生长的平均杂种优势率为20.39%,3 nH组的平均三倍体优势率为30.18%。

表5 各实验组稚贝生长性状、杂种优势、三倍体优势

Tab.5 Growth traits, heterosis and advantage of triploidy of spats for experimental groups at days 40, 110 and 200

实验组 experimental group	稚贝日龄/(d) age of spats					
	40		110		200	
	壳高/(mm) shell height	壳高/(mm) shell height	壳长/(mm) shell length	壳高/(mm) shell height	壳长/(mm) shell length	鲜重/(g) weight
2 nC	5.03 ± 1.19 ^b	15.79 ± 5.20 ^b	11.34 ± 3.64 ^b	28.09 ± 5.34 ^c	19.52 ± 3.96 ^b	3.51 ± 1.73 ^a
2 nA	3.50 ± 0.58 ^a	11.72 ± 2.72 ^a	9.04 ± 2.74 ^a	20.52 ± 6.27 ^a	15.55 ± 3.66 ^a	2.35 ± 1.45 ^a
2 nH	5.76 ± 0.68 ^c	16.81 ± 4.99 ^b	12.46 ± 3.90 ^b	25.23 ± 4.96 ^b	18.20 ± 3.57 ^b	3.04 ± 1.83 ^a
3 nH	6.78 ± 0.70 ^d	19.80 ± 4.94 ^c	15.07 ± 5.14 ^c	39.12 ± 6.78 ^d	24.70 ± 4.33 ^c	9.21 ± 3.85 ^b
H%	35.10	22.23	22.33	3.83	3.79	3.75
Td%	17.71	17.79	20.95	55.05	35.71	202.96

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

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

各实验组稚贝的存活率、杂种优势、三倍体优势 各实验组稚贝的存活率如表6。在40日

表6 各实验组稚贝存活率、杂种优势、三倍体优势
Tab.6 Survival, heterosis and advantage of triploidy of spats for the experimental groups during outdoor period

实验组 experimental group	稚贝日龄/(d) age of spats		
	40	110	200
2 nC	81.25 ± 0.34 ^b	9.50 ± 0.21 ^d	3.17 ± 0.04 ^d
2 nA	39.45 ± 0.42 ^a	1.40 ± 0.08 ^a	0.22 ± 0.02 ^a
2 nH	87.81 ± 0.55 ^c	3.47 ± 0.11 ^b	1.25 ± 0.08 ^b
3 nH	90.65 ± 0.38 ^d	6.47 ± 0.28 ^c	2.17 ± 0.10 ^c
H%	45.50	-36.33	-26.25
Td%	3.23	86.46	73.60

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

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

龄时,2 nH组和3 nH组均显著大于2 nC组、2 nA组($P < 0.05$),但随着生长发育,杂交组的存活率迅速下降,均显著小于2 nC组($P < 0.05$)。40日龄2 nH组表现出杂种优势为45.50%,而在110和200日龄2 nH组呈现负的杂种优势。稚贝期3 nH组的存活率都高于2 nH组,具有明显的三倍体优势(3.23%~73.60%)。稚贝2 nH组存活率的平均杂种优势率为-5.69%,3 nH组的平均三倍体优势率为54.43%。

3 讨论

生物杂交即二倍体和四倍体杂交获得三倍体是三倍体育种的一种方法。理论上二倍体与四倍体杂交能产生100%的三倍体,这种方法的可行性已在长牡蛎中得到证实^[11]。生物杂交方法简便、高效、稳定,且能大规模地生产三倍体^[7]。与诱导三倍体一样,杂交获得的三倍体在生长和存

活方面均表现出优势。杂交三倍体的优势已在长牡蛎、美洲牡蛎等三倍体贝类研究中得到验证^[8]。NELL 等^[9]发现长牡蛎生长到稚贝期的整个过程,三倍体生长速度是二倍体的 159%。GUO 等^[10]研究美洲牡蛎品系间杂交三倍体,结果表明,其生长比二倍体快 88% ~ 190%,且在三月龄时,表现出明显的生长优势。王昭萍等^[12]通过对太平洋牡蛎三倍体的研究,认为三倍体贝类的生长速度快、产量高,具有明显的生长优势。GUO 等^[11]采用长牡蛎四倍体和二倍体杂交的方法获得全三倍体,结果证实长牡蛎三倍体幼虫及稚贝的生长均显著大于二倍体。本实验结果显示长牡蛎杂交三倍体在幼虫、稚贝的存活及生长方面均优于对照组及杂交二倍体组,表现为正的三倍体优势,这和 GUO 等^[11]研究的结果一致,认为杂交三倍体生长优势的利用对贝类的养殖具有很好的促进作用,其优势性状的体现能够应用到研究贝类新品种的育种中,可以大大提高商业价值,对养殖贝类的研究和发展也是一个重要的方向。杂交三倍体牡蛎的这种生长优势的产生可能和 GUO 等^[13]认为的三倍体巨态性有关,即贝类的发育属于“嵌合型”,分化发育主要取决于分裂的次数,但由于缺乏补偿机制,细胞体积增大而数量不减,从而导致三倍体个体的增大。

杂交三倍体是通过杂交获得的,本实验中其生长、存活等方面表现出很好的性状。杂交育种是遗传育种中培育优良品种的有效途径,杂种优势的利用是产业生存和发展的需求^[3]。在杂交三倍体研究之前,杂交育种方法主要是研究杂交二倍体的杂种优势的表现^[14],如杂交子代发育速度快^[15]、受精率高、附着早^[16]、生命力强、耐性好^[17]等。目前国内杂交三倍体牡蛎的研究以长牡蛎杂交全三倍体研究居多,通常选择中国长牡蛎二倍体与美国长牡蛎四倍体杂交^[18-20]。海洋贝类中,牡蛎种内、种间杂交育种研究较为广泛^[21]。本研究中采用的中、美不同地理群体的长牡蛎杂交属于种内杂交,杂交得到的三倍体子代为种内杂交三倍体。刘小林等^[22]将栉孔扇贝中国群体和俄罗斯群体进行杂交,杂交子代在壳高、壳长、壳宽、体质量及成活率方面均表现出不同程度杂种优势,并以为种内不同种群间的杂交普遍表现不同程度的杂种优势。本实验杂交三倍体子代在生长、存活方面的优良性状,同刘小林等^[22]

栉孔扇贝杂交二倍体实验结果相一致,但并不能完全说明不同地理群体的杂交三倍体优良性状的表现除三倍体优势外,均为杂种优势的贡献率。杂交三倍体的杂种优势表现远比杂交二倍体杂种优势的表现较难分析,所以杂交三倍体优良性状表现中,三倍体优势和杂种优势的表现程度,仍需要实验进一步验证,也是今后需要努力的方向。

以往研究证实了已采用的杂交育种和三倍体育种对养殖贝类应用的优势。张玉勇等^[23]认为传统的杂交育种能使贝类基因重新组合,使杂交后代在生长、生活力、抗逆性、产量和品质方面比双亲优异或是得到更理想的有价值的组合;通过三倍体育种,王昭萍等^[12]得到的三倍体贝类具有生长快、个体大等优势。本实验通过采用中国二倍体长牡蛎与美国四倍体长牡蛎进行不同地理群体间的杂交,在生长存活方面,证实了种内杂交三倍体具有三倍体优势。杂交三倍体与其他人工诱导贝类三倍体技术相比,避免了繁琐的人工处理操作程序及理化诱导手段可能对受精卵造成的伤害,提高了三倍体的孵化率等^[18],也不会对生态造成外来物种的污染,是一种非常理想的获得全三倍体贝类的方法,适合在生产上广泛应用,也是加速贝类养殖业发展的一个可行的重要方向。目前三倍体优势已被验证,但在生产上的应用及推广仍未解决。将杂交育种和三倍体育种结合,获得种内杂交三倍体可能是最佳的育种方法,具有良好的应用前景。王清印等^[5]也认为综合杂交育种和多倍体育种的优势,可能可以培育出满足人们需要的新品种。本实验结果中杂种优势与三倍体优势对于杂交三倍体子代优势的贡献率需要进一步试验;同时对于杂交三倍体除生长性状之外的优势,如抗逆性、避免因繁殖引发的病害等,仍是今后需要深入探讨的重要课题;通过对长牡蛎的研究,也为今后对其他养殖贝类的研究提供基础材料。

感谢青岛亚特兰生物科技有限公司提供四倍体牡蛎亲贝,感谢青岛崂东海珍品良种培育有限公司郭希瑞、马强、孙军委等对本试验的帮助。

参考文献:

- [1] 薛明,杜晓东. 牡蛎的遗传育种研究进展[J]. 湛江海洋大学学报,2004,24(1):78-84.
- [2] 包振民,万俊芬,王继业,等. 海洋经济贝类育种研

- 究进展[J]. 青岛海洋大学学报, 2002, 32(4): 567-573.
- [3] 张国范, 刘晓, 阙华勇, 等. 贝类杂交及杂交优势理论和技术研究进展[J]. 海洋科学, 2004, 28(7): 54-58.
- [4] STANLEY J G, ALLEN S K, HIDU H. Ployploidy induced in the American oyster *Crassostrea virginica* with cytochalasin B [J]. *Aquaculture*, 1981, 23: 1-10.
- [5] 王清印, 杨爱国. 栉孔扇贝三倍体研究进展和展望[J]. 中国水产科学, 2000, 7(3): 93-96.
- [6] FALCONER D S, MACKAY T F. Introduction to Quantitative Genetics (4th edition) [M]. Longman Group, Essex, England, 1996.
- [7] 王丽敏, 赵艳珍. 贝类多倍体的育种现状及前景展望[J]. 河北渔业, 2003(2): 10-11.
- [8] GUO X, WANG Y, YANG H. Chromosome set manipulation in shellfish [J]. *New Technologies in Aquaculture*, 2009: 174-183.
- [9] NELL J A, PERKINS B. Studies on triploid oysters in Australia: farming potential of all-triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg), in Port Stephens, New South Wales, Australia [J]. *Aquac Res*, 2005, 36(6): 530-536.
- [10] GUO X, WANG Y, DEBROSSE G A, et al. Building a superior oyster for aquaculture [J]. *Jersey Shoreline*, 2008, 25: 7-9.
- [11] GUO X, DEBROSSE G, ALLEN S K. All-triploid Pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg) produced by mating tetraploids and diploids [J]. *Aquaculture*, 1996, 142: 149-161.
- [12] 王昭萍, 王如才, 于瑞海, 等. 多倍体贝类的生物学特性[J]. 青岛海洋大学学报, 1998, 28(3): 399-404.
- [13] GUO X, ALLEN S K. Sex determination and polyploid gigantism in the dwarf surfclam (*Mulinia lateralis* Say) [J]. *Genetics*, 1994, 138(4): 1199-1206.
- [14] 吕豪, 魏若飞, 吕典壮, 等. 太平洋牡蛎和大连湾牡蛎杂交实验[J]. 水产科学, 1994, 13(6): 8-11.
- [15] 汪德耀, 刘汉英. 牡蛎人工杂交的初步研究[J]. 动物学报, 1959, 11(3): 283-295.
- [16] 周茂德, 高允田, 吴融. 太平洋牡蛎与近江牡蛎、褶牡蛎人工杂交的初步研究[J]. 水产学报, 1982, 6(3): 235-241.
- [18] 刘小林, 常亚青, 相建海, 等. 栉孔扇贝不同种群杂交效果的研究 II. 中国种群与俄罗斯种群及其杂种 F₁ 中期生长发育[J]. 海洋学报, 2005, 27(2): 135-140.
- [19] 阙华勇, 张国范, 刘晓, 等. 雄性四倍体与雌性二倍体杂交培育全三倍体长牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 的研究[J]. 海洋与湖沼, 2003, 34(6): 656-662.
- [20] 王昭萍, 姜波, 孔令峰, 等. 利用四倍体与二倍体杂交规模化培育全三倍体太平洋牡蛎苗种[J]. 中国海洋大学学报, 2004, 34(5): 742-746.
- [21] 肖述, 喻子牛. 养殖牡蛎的选择育种研究与实践[J]. 水产学报, 2008, 32(2): 287-295.
- [22] 刘小林, 常亚青, 相建海, 等. 栉孔扇贝不同种群杂交效果的初步研究 I. 中国种群与俄罗斯种群的杂交[J]. 海洋学报, 2003, 25(1): 93-99.
- [22] 姜波, 王昭萍, 于瑞海, 等. 杂交三倍体太平洋牡蛎群体的染色体数目组成初步观察[J]. 中国海洋大学学报, 2007, 37(2): 255-258.
- [23] 张玉勇, 常亚青, 宋坚. 杂交育种技术在海水养殖贝类中的应用及研究进展[J]. 水产科学, 2005, 24(4): 39-41.

Heterosis and triploid advantage between Chinese and American populations of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*)

KONG Jing¹, WANG Zhao-ping^{1*}, LIU Jian¹, YU Rui-hai¹,
ZHANG Yue-huan¹, LI Xiao-yu², LI Ya-lin², GUO Xi-ming³

(1. Fisheries College, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;
2. Qingdao Laodong Aquaculture Breeding Company, Qingdao 266003, China;
3. Haskin Shellfish Research Laboratory, Institute of Marine and Coastal Sciences,
Rutgers University, Port Norris, New Jersey 08349, USA)

Abstract: The Pacific oyster *Crassostrea gigas* is a major aquaculture species in China and around the world. A serious problem in Pacific oyster farming is the occurrence of summer mortalities. Heavy summer mortalities have been observed in cultured Pacific oysters in US, China and France. While the causes for the summer mortality are not well understood. The production and use of triploid oysters may help to reduce summer mortalities. The goal of this study is to determine if heterosis exists between US and China populations of the Pacific oyster and if the interstrain hybrid triploids have greatly improved performance compared to diploids. Hybrid crosses of Pacific oysters between diploids from China and diploids as well as tetraploids from America were conducted. Four groups were produced; Chinese diploid ♀ × Chinese diploid ♂, American diploid ♀ × American diploid ♂, Chinese diploid ♀ × American diploid ♂ and Chinese diploid ♀ × American tetraploid ♂. Heterosis and triploid advantage of experimental groups were studied for traits such as fertilization and hatching success, survival, larval and juvenile growth. Our results show that heterosis in diploid hybrid progeny varied among traits and developmental stages: 1.21% for larval growth, 34.47% for larval survival and 20.39% for juvenile growth. The triploid advantage was significant for all traits and stages, except D larval size (5.19%) and larval growth (4.00%). Triploid advantages for larval survival, larval growth and juvenile survival were 19.92%, 30.18% and 54.43%, respectively. The highest triploid advantage (202.96%) was observed in wet weight of juveniles at Day 200. Heterosis and the triploid advantage were stronger at juvenile stages than at larvae stages. Our results suggest that the hybrid triploid Pacific oysters between Chinese diploid females and American tetraploid males have greatly improved growth and survival compared to all diploid groups. Production of triploids through interstrain crossing may be the best way for producing triploids for aquaculture. However, at Day 200 when the triploid advantage was 202.96% in growth and 73.6% in survival, the diploid heterosis was only 3.75% and -26.25%, respectively. This finding suggests that the superior performance of the triploids may not be caused by the same heterosis observed in diploids. It is possible that heterosis in triploids is different from heterosis in diploids. We did not have pure-line triploids as controls in this study. Further studies are needed to determine to what degree that heterosis contributes to the superior performance of hybrid triploids.

Key words: *Crassostrea gigas*; hybridization; triploidy; heterosis

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