

## 近交对长牡蛎幼虫和稚贝生长与存活的影响

张景晓, 李 琪\*, 葛建龙, 王许波, 孔令锋

(中国海洋大学水产学院,海水养殖教育部重点实验室,山东 青岛 266003)

**摘要:** 分别以 2010 年通过 2 个野生个体进行交配获得的 A01 全同胞家系和 2011 年通过 A01 家系子代进行交配获得 A02 全同胞家系为亲本,在 2013 年 6 月采用同时建立全同胞交配子一代  $F_1$  ( $F=0.250$ )、全同胞交配子二代  $F_2$  ( $F=0.375$ ) 及设置对照组 ( $F=0$ ) 的方法,研究在相同环境条件下,不同实验组的受精率与孵化率以及近交对长牡蛎幼虫期、稚贝期生长和存活的影响,并初步探讨近交代数与近交衰退的关系。结果发现,各组的受精率均在 90% 以上,除  $F_2$  组外其余 2 组的孵化率也在 90% 以上;幼虫阶段, $F_1$  组和  $F_2$  组的壳高与壳长均从 12 日龄出现衰退(近交衰退系数, inbreeding depression coefficient, IDC < 0),且  $F_2$  组壳高的近交衰退系数均小于同日龄  $F_1$  组壳高的近交衰退系数; $F_1$  组和  $F_2$  组的存活率在整个幼虫期间均出现衰退,且  $F_1$  组和  $F_2$  组存活率的近交衰退系数均随着幼虫日龄的增加而逐渐减小。稚贝阶段, $F_1$  组和  $F_2$  组的平均壳高在各日龄均表现出近交衰退 (IDC < 0),且  $F_2$  组壳高的近交衰退系数均小于相同日龄  $F_1$  组壳高的近交衰退系数;3 个实验组的平均壳长在整个稚贝阶段无显著性差异; $F_1$  组和  $F_2$  组存活率的衰退在不同日龄始终存在 (IDC < 0),且随着稚贝日龄的增加其衰退程度逐渐加大。研究结果为长牡蛎选择育种和遗传改良提供了基础资料。

**关键词:** 长牡蛎; 近交; 生长; 存活

**中图分类号:** S 968.3

**文献标志码:** A

长牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 又称太平洋牡蛎,是世界范围内广泛养殖的种类<sup>[1]</sup>,同时也是我国最主要的牡蛎养殖品种。随着长牡蛎人工育苗技术的成熟,我国北方长牡蛎养殖所需的苗种主要来源于工厂化人工育苗,育苗所用的亲本大多来自野生群体<sup>[2]</sup>。但随着养殖规模的扩大以及野生资源的减少,在可预见的将来,苗种亲本的来源将越来越多地来自于人工繁育的群体。在人工育苗过程中,由于受到有效繁殖群体数量的限制,将不可避免地出现近交的情况。近交是指存在亲缘关系的个体之间的交配。一方面,随着近交代数的增加,可以加快一些控制优良性状的等位基因的纯合,加快育种进程;另一方面,近交也会使生长、存活等相关表型性状的指标降低,即产生近交衰退<sup>[3]</sup>。长期以来,近交都是遗传育种领域研究

的热点问题。

在水产养殖种类中,近交的研究主要集中在鱼类,如大西洋鲑 (*Salmo salar*)<sup>[4]</sup>、团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*)<sup>[5]</sup>、银大麻哈鱼 (*Oncorhynchus kisutch*)<sup>[6-7]</sup>、斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*)<sup>[8]</sup> 等。Gjerde 等<sup>[9]</sup> 研究了 3 个不同近交水平的虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 生长与存活,发现近交组在鱼苗期的存活率下降,并在成体生长性状中存在近交衰退。几乎所有这些研究结果均支持 Keller 等<sup>[10]</sup> 的观点,即近交衰退现象在大多数物种中普遍存在。对于贝类而言,由于雌雄同体现象的存在,研究者可以通过建立自交系的方法,快速获得近交系数较高的家系,因而对雌雄同体型贝类研究较多,如大扇贝 (*Pecten maximus*)<sup>[11]</sup>、紫扇贝 (*Argopecten purpuratus*)<sup>[12]</sup>。Ibarra 等<sup>[13]</sup> 对比

收稿日期:2014-06-23 修回日期:2014-09-19

资助项目:国家“八六三”高技术研究发展计划(2012AA10A405-6);国家自然科学基金(31372524);山东省自主创新专项(2013CXC80202);山东省优秀中青年科学家科研奖励基金(BS2012HZ020)

通信作者:李 琪, E-mail: qili66@ouc.edu.cn

了卡塔琳娜扇贝 (*Argopecten circularis*) 自交繁育的后代与野生群体交配产生的后代在幼虫期间的生长与存活; 郑怀平等<sup>[14]</sup> 利用海湾扇贝 (*Argopecten irradians irradians*) 2 个不同遗传背景的养殖群体分别建立自交与杂交系, 比较了二者在幼虫期和稚贝期的生长与存活的情况, 并分析了 2 个群体间的遗传差异。相比之下, 雌雄异体型的贝类则研究较少。闫喜武等<sup>[15]</sup> 以菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 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, 通过建立近交系与杂交系的方法研究了 2 个世代的近交和杂交效应。但是, 关于不同近交程度对长牡蛎幼虫和稚贝生长与存活的影响, 目前还未见报道。

本实验利用全同胞交配的方法, 获得了连续 2 代的长牡蛎近交群体, 研究了不同近交系数的长牡蛎家系在幼虫期和稚贝期产生的近交效应, 探讨了近交代数对长牡蛎不同生长阶段表型性状的影响, 为长牡蛎选择育种和遗传改良提供基础资料。

## 1 材料与方 法

### 1.1 种 贝 来 源 与 实 验 设 计

2010 年通过 2 个野生个体进行交配获得 A01 全同胞家系, 2011 年通过 A01 家系子代进行兄妹交配获得 A02 全同胞家系。2013 年 6 月, 分别从 A01 家系和 A02 家系中随机挑选雌雄成贝各 10 个, 逐一进行单对交配, 建立 10 个  $F_1$  家系和 10 个  $F_2$  家系, 其中  $F_1$  的近交系数 0.250,  $F_2$  的近交系数为 0.375。同时, 从山东乳山长牡蛎野生群体中采集雌雄亲贝各 10 个, 进行单对交配, 建立 10 个全同胞家系作为对照组。所有家系均在同一天内构建, 并在相同的实验条件下进行培育。实验在山东烟台海益苗业有限公司育苗基地进行。

### 1.2 人 工 受 精 与 孵 化

从每个家系的亲本中随机选择性腺发育良好的个体进行解剖受精。用解剖刀轻轻划破性腺组织, 再用滴管吸取部分性腺组织成分置于滴有海水的载玻片上进行观察, 辨别雌雄。若性腺组织呈颗粒状迅速散开则为雌性, 如果呈烟雾状且不易散开则为雄性。按此方法依次找到雌雄个体各 10 个。将 10 个雌性亲本的卵子分别置于 10 个装有 25 °C 海水的 15 L 水槽中熟化 30 min。然后

将 10 个雄性亲本的精子与经过熟化的卵子逐一进行受精。精卵比例控制在 (4 ~ 6) : 1。各家系实验器具单独使用, 各实验组之间严防污染, 所有家系的受精在同一天内完成。

各组孵化密度控制在 50 ~ 70 个/mL, 温度 25 °C, 孵化过程中持续地轻微充气, 直至选优前 30 min 停气。

### 1.3 幼 虫 培 养

受精卵经过 22 h 发育到 D 形幼虫。将各组 D 形幼虫分别选优到 100 L 聚乙烯桶中, 并调节密度至每毫升海水平均 10 个幼虫。海水温度控制在 24 ~ 25 °C, 持续充气, 每天换水 2 次, 每次换水量 1/3, 每周清底 1 次。饵料以等边金藻 (*Isochrysis galbana*) 为主, 后期辅助投喂扁藻 (*Platymonas* sp.) 和小球藻 (*Chlorella vulgaris*)。每天投喂 6 次, 投饵量根据水中残饵以及幼虫摄食情况而定。各实验组的换水、投饵、充气等操作保持一致, 所有实验器具在每次使用后均用淡水浸泡并清洗, 避免家系之间的污染。

### 1.4 采 苗 及 海 上 养 殖

21 天后, 各组幼虫开始出现眼点, 当眼点幼虫数量达到幼虫总数的 1/3 时, 投放附着基, 附着基均使用栉孔扇贝壳。在室内继续培养 7 天, 待幼虫充分附着后放于沉淀池中暂养 20 天, 确保幼虫充分变态为稚贝并适应大水体环境, 同时避免海区野生牡蛎浮游幼虫的污染。随后转移至乳山市海阳所镇海区, 使用扇贝笼进行海上吊笼养殖。每个家系的养殖密度, 养殖水层深度等环境条件保持一致, 每隔 1 月定期去除扇贝笼外的附着物。

### 1.5 取 样 观 测

受精及孵化过程中统计受精率与孵化率:

$$\text{受精率}(\%) = \text{卵裂数} / \text{总卵数} \times 100$$

$$\text{孵化率}(\%) = \text{D 型幼虫数} / \text{受精卵数} \times 100$$

浮游幼虫阶段, 在选优后第 4、8、12、16、20 天随机取样 30 个幼虫, 用卢戈氏液固定, 在 100 × 的显微镜下, 用目微尺进行大小测量, 并利用回归方程估测幼虫的日生长速度。在选优后第 5、10、15、20 天统计幼虫存活率, 每次统计后将各实验组幼虫密度调至同一水平, 减少密度因素对实验结果的影响。

稚贝阶段, 在稚贝附着后第 60、120、180 和 240 天从各实验组中随机挑选 30 个个体, 用电子游标卡尺测量大小(精度为 0.02 mm); 记录各笼

牡蛎的存活数,统计存活率,并对各笼层个体做调整,使每层个体数保持一致,消除密度效应的影响。

### 1.6 数据分析

采用 SPSS 18.0 软件对各组实验数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)及 Tukey 多重比较分析,以  $P < 0.05$  作为差异显著性水平。

根据通径系数原理,个体  $x$  的近交系数即形成个体  $x$  的两个配子间的相关系数,用  $F_x$  表示<sup>[16]</sup>。

$$F_x = \sum \left[ \left( \frac{1}{2} \right)^{n_1+n_2+1} (1 + F_A) \right]$$

式中,  $F_x$  表示个体  $x$  的近交系数;  $1/2$  表示各代遗传结构的半数;  $n_1$  表示父亲到共同祖先的代数;  $n_2$  表示母亲到共同祖先的代数;  $F_A$  表示共同祖先自身的近交系数;  $n_1 + n_2 + 1 = N$  为亲本相关通径链中的个体数。

表型性状的近交衰退系数 (inbreeding depression coefficient, IDC)<sup>[17]</sup> 通过以下公式计算:

$$IDC = \frac{1 - \frac{\bar{W}_{mbred}}{\bar{W}}}{(F - F_{mbred})}$$

式中,  $\bar{W}_{mbred}$  和  $\bar{W}$  分别指近交群体和对照群体的表型性状平均值。  $F_{mbred}$  和  $F$  分别指近交群体和对照群体的近交系数。

## 2 结果与分析

### 2.1 受精率与孵化率

各组的受精率均在 90% 以上,其中对照组  $> F_1$  组  $> F_2$  组,  $F_2$  组和对照组有显著性差异 ( $P < 0.05$ ),  $F_1$  组和对照组差异不显著 ( $P > 0.05$ ) (表

1)。  $F_2$  组孵化率为 86.24%, 明显低于对照组 ( $P < 0.05$ ),  $F_1$  组孵化率和对照组之间差异不显著 ( $P > 0.05$ ) (表 1)。

表 1 各实验组的受精率和孵化率

Tab. 1 The rates of fertilization and hatching for different experimental groups

	对照组 control	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>
受精率/%	98.46 ±	96.66 ±	94.42 ±
fertilized rate	1.98 <sup>b</sup>	2.52 <sup>b</sup>	2.12 <sup>a</sup>
孵化率/%	93.09 ±	92.08 ±	86.24 ±
hatching rate	2.83 <sup>b</sup>	5.06 <sup>b</sup>	3.55 <sup>a</sup>

注:同一行中上标具有相同字母表示没有显著性差异 ( $P > 0.05$ )  
Notes: The same letters in each row mean no significant difference ( $P > 0.05$ )

### 2.2 幼虫生长与存活

4 日龄幼虫的平均壳高在各实验组间均无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); 从 12 日龄开始, 幼虫的平均壳高为对照组  $> F_1$  组  $> F_2$  组, 且各组间差异显著 ( $P < 0.05$ ) (表 2)。近交组幼虫的平均壳长在 4 和 8 日龄均显著大于对照组 ( $P < 0.05$ ), 但从 12 日龄开始, 近交组壳长明显小于对照组 ( $P < 0.05$ ); 在 16 和 20 日龄, 幼虫平均壳长为对照组  $> F_1$  组  $> F_2$  组, 且各组间差异显著 ( $P < 0.05$ ), 这与同时期幼虫的平均壳高表现一致 (表 2, 表 3)。幼虫壳高和壳长的平均生长速度均为对照组  $> F_1$  组  $> F_2$  组, 各组间差异不显著 ( $P > 0.05$ ) (表 2, 表 3)。近交组  $F_1$  组和  $F_2$  组的壳高与壳长均从第 12 天开始表现出明显的近交衰退 ( $IDC < 0$ );  $F_2$  组壳高的近交衰退系数均小于同日龄  $F_1$  组壳高的近交衰退系数; 在 16 和 20 日龄,  $F_2$  组壳长的近交衰退系数也小于  $F_1$  组壳长的近交衰退系数 (表 2, 表 3)。

表 2 不同实验组幼虫的平均壳高 ( $\mu\text{m}$ ) 与生长速度 ( $\mu\text{m}/\text{d}$ ) 和近交衰退系数 (%)

Tab. 2 Average height ( $\mu\text{m}$ ) and growth rate ( $\mu\text{m}/\text{d}$ ), and inbreeding depression coefficients (%) of larval shell for different experimental groups

实验组 experiment groups	幼虫日龄/d age of larvae					生长速度/ growth rate ( $\mu\text{m}/\text{d}$ )	
	4	8	12	16	20		
壳高 height	对照组	99.67 ± 2.58 <sup>a</sup>	130.00 ± 11.53 <sup>a</sup>	183.00 ± 15.23 <sup>c</sup>	244.67 ± 30.22 <sup>c</sup>	295.33 ± 45.57 <sup>c</sup>	12.23 <sup>a</sup>
	F <sub>1</sub>	101.94 ± 6.62 <sup>a</sup>	140.33 ± 10.65 <sup>b</sup>	165.73 ± 14.24 <sup>b</sup>	218.83 ± 15.01 <sup>b</sup>	266.83 ± 30.66 <sup>b</sup>	10.31 <sup>a</sup>
	F <sub>2</sub>	98.60 ± 3.62 <sup>a</sup>	131.45 ± 10.36 <sup>a</sup>	147.23 ± 17.42 <sup>a</sup>	192.50 ± 24.82 <sup>a</sup>	223.67 ± 44.91 <sup>a</sup>	7.82 <sup>a</sup>
近交衰退系数 IDC	IDC-F <sub>1</sub>	0.091 1	0.317 8	-0.375 3	-0.424 1	-0.386 0	-0.628 0
	IDC-F <sub>2</sub>	-0.028 6	0.029 7	-0.521 2	-0.568 6	-0.647 1	-1.079 3

注:同一列中上标具有相同字母表示没有显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 下同

Notes: The same letters in each column mean no significant difference ( $P > 0.05$ ), the following notes are the same as Tab. 2

表 3 不同实验组幼虫的平均壳长 ( $\mu\text{m}$ ) 与生长速度 ( $\mu\text{m}/\text{d}$ ) 和近交衰退系数 (%)  
 Tab. 3 Average length ( $\mu\text{m}$ ) and growth rate ( $\mu\text{m}/\text{d}$ ), and inbreeding depression coefficients (%) of larval shell for different experimental groups

实验组 experiment groups		幼虫日龄/d age of larvae					生长速度/ $(\mu\text{m}/\text{d})$ growth rate
		4	8	12	16	20	
壳长 length	对照组	90.83 ± 2.04 <sup>a</sup>	116.25 ± 6.97 <sup>a</sup>	159.50 ± 11.34 <sup>b</sup>	207.33 ± 24.65 <sup>c</sup>	244.17 ± 20.02 <sup>c</sup>	9.58 <sup>a</sup>
	F <sub>1</sub>	99.17 ± 7.24 <sup>b</sup>	126.90 ± 9.28 <sup>b</sup>	140.50 ± 10.78 <sup>a</sup>	185.08 ± 14.69 <sup>b</sup>	222.67 ± 28.94 <sup>b</sup>	7.72 <sup>a</sup>
	F <sub>2</sub>	96.20 ± 4.49 <sup>b</sup>	118.64 ± 11.20 <sup>b</sup>	134.41 ± 14.34 <sup>a</sup>	168.45 ± 22.28 <sup>a</sup>	191.83 ± 37.59 <sup>a</sup>	5.98 <sup>a</sup>
近交衰退系数 IDC	IDC-F <sub>1</sub>	0.367 3	0.366 5	-0.476 5	-0.429 3	-0.352 2	-0.776 6
	IDC-F <sub>2</sub>	0.157 7	0.054 8	-0.419 5	-0.500 1	-0.571 6	-1.002 0

在整个幼虫阶段, F<sub>1</sub> 组和 F<sub>2</sub> 组的存活率均比与之相应的对照组低, 表现出近交衰退; 在第 10 和 15 日龄, F<sub>2</sub> 组的存活率明显低于 F<sub>1</sub> 组和对照组 ( $P < 0.05$ ), F<sub>1</sub> 组存活率虽低于对照组, 但无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); 第 20 日龄, 近交组 F<sub>1</sub> 组和 F<sub>2</sub> 组存活率均明显低于对照组 ( $P < 0.05$ ), 而

F<sub>1</sub> 组和 F<sub>2</sub> 组之间则没有显著性差异 ( $P > 0.05$ ) (表 4)。F<sub>1</sub> 组和 F<sub>2</sub> 组存活率的近交衰退系数均随着幼虫日龄的增加呈现出逐渐减小的趋势, 其变化范围分别为  $-0.197 2\% \sim -2.490 5\%$ 、 $-0.136 3\% \sim -2.232 5\%$  (表 4)。

表 4 不同实验组幼虫的存活率以及近交衰退系数

Tab. 4 Survival rates and inbreeding depression coefficients of larvae for different experimental groups

实验组 experiment groups		幼虫日龄/d age of larvae			
		5	10	15	20
存活率/% survival rate	对照组	84.87 ± 9.16 <sup>a</sup>	74.65 ± 14.28 <sup>b</sup>	50.62 ± 19.54 <sup>b</sup>	39.29 ± 17.76 <sup>b</sup>
	F <sub>1</sub>	80.69 ± 9.56 <sup>a</sup>	68.55 ± 12.82 <sup>b</sup>	38.00 ± 17.60 <sup>b</sup>	14.83 ± 7.04 <sup>a</sup>
	F <sub>2</sub>	80.53 ± 7.00 <sup>a</sup>	36.45 ± 22.05 <sup>a</sup>	11.84 ± 7.80 <sup>a</sup>	6.40 ± 5.47 <sup>a</sup>
近交衰退系数/% IDC	IDC-F <sub>1</sub>	-0.197 2	-0.326 7	-0.997 2	-2.490 5
	IDC-F <sub>2</sub>	-0.136 3	-1.364 5	-2.042 8	-2.232 5

### 2.3 稚贝生长与存活

3 个实验组稚贝阶段平均壳高均为对照组 > F<sub>1</sub> 组 > F<sub>2</sub> 组, 其中 F<sub>1</sub> 组和 F<sub>2</sub> 组在各日龄均无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); 在 60 日龄, 近交组的平均壳高与对照组差异不显著 ( $P > 0.05$ ); 在 120 和 180 日龄, 近交组的平均壳高显著小于对照组 ( $P < 0.05$ ) (表 5)。各实验组稚贝的平均壳长在

所有日龄均无显著性差异 ( $P > 0.05$ ) (表 5)。近交组的壳高及 F<sub>2</sub> 组壳长在所有日龄均出现衰退 ( $IDC < 0$ ), 且 F<sub>2</sub> 组壳高的近交衰退系数均小于相同日龄 F<sub>1</sub> 组壳高的近交衰退系数 (表 5); F<sub>1</sub> 组壳长在 60 日龄并无衰退 ( $IDC > 0$ ), 但在 120 和 180 日龄出现衰退 ( $IDC < 0$ ) (表 5)。

表 5 不同实验组稚贝的平均壳高、平均壳长和近交衰退系数

Tab. 5 Average height and length and inbreeding depression coefficients of spat for different experimental groups

实验组 experiment groups	稚贝日龄/d age of spat					
	60		120		180	
	壳高 height	壳长 length	壳高 height	壳长 length	壳高 height	壳长 length
对照组/mm	15.96 ± 1.11 <sup>a</sup>	10.42 ± 1.09 <sup>a</sup>	33.99 ± 1.50 <sup>b</sup>	23.86 ± 0.88 <sup>a</sup>	38.33 ± 1.36 <sup>b</sup>	25.07 ± 0.80 <sup>a</sup>
F <sub>1</sub> /mm	15.27 ± 2.08 <sup>a</sup>	10.58 ± 1.32 <sup>a</sup>	29.97 ± 2.95 <sup>a</sup>	21.43 ± 4.29 <sup>a</sup>	36.72 ± 1.94 <sup>a</sup>	24.50 ± 0.86 <sup>a</sup>
F <sub>2</sub> /mm	14.29 ± 2.70 <sup>a</sup>	10.04 ± 1.83 <sup>a</sup>	29.82 ± 2.55 <sup>a</sup>	21.27 ± 1.86 <sup>a</sup>	35.07 ± 1.14 <sup>a</sup>	23.82 ± 1.42 <sup>a</sup>
IDC-F <sub>1</sub> /%	-0.171 6	0.063 3	-0.446 2	-0.375 7	-0.159 5	-0.137 9
IDC-F <sub>2</sub> /%	-0.686 2	-0.096 5	-1.784 9	-0.268 5	-0.163 8	-0.638 0

3 个实验组在不同日龄的存活率始终为对照组 > F<sub>1</sub> 组 > F<sub>2</sub> 组, 其中 F<sub>2</sub> 组的存活率显著小于 F<sub>1</sub>

组和对照组 ( $P < 0.05$ ), 而 F<sub>1</sub> 组和对照组之间则无显著性差异 ( $P > 0.05$ ) (表 6)。F<sub>1</sub> 组和 F<sub>2</sub> 组存活

率的衰退在不同日龄始终存在 ( $IDC < 0$ ), 且  $F_2$  组存活率的衰退随着稚贝日龄的增加而逐渐地加大, 其中  $F_1$  组存活率的近交衰退系数为  $-0.0763\% \sim -0.1020\%$ ,  $F_2$  组存活率的近交衰退系数为  $-0.6748\% \sim -1.0047\%$  (表 6)。

表 6 不同实验组稚贝的存活率和近交衰退系数  
Tab. 6 Survival rates and inbreeding depression coefficients of spat for different experimental groups

实验组 experiment groups	稚贝日龄/d age of spat		
	60	120	180
存活率/% survival rate	对照组 37.96 ± 4.92 <sup>b</sup>	35.26 ± 4.54 <sup>b</sup>	23.22 ± 4.59 <sup>b</sup>
	$F_1$ 37.24 ± 3.22 <sup>b</sup>	33.42 ± 3.02 <sup>b</sup>	22.63 ± 3.15 <sup>b</sup>
	$F_2$ 28.36 ± 3.64 <sup>a</sup>	24.80 ± 4.13 <sup>a</sup>	14.47 ± 3.96 <sup>a</sup>
近交衰退系数/% IDC	IDC- $F_1$ -0.0763	-0.2090	-0.1020
	IDC- $F_2$ -0.6748	-0.7910	-1.0047

### 3 讨论

近交系数通常被用来衡量个体或群体间的近交程度, 表示一个二倍体生物在任意一个基因座上 2 个等位基因来自与父母共同祖先同一基因座的概率<sup>[18]</sup>; 本研究中,  $F_1$  组和  $F_2$  组的近交系数分别为 0.250 和 0.375。近交衰退程度用近交衰退系数来衡量, 它表示在相同环境下, 近交群体的近交系数每增加 10%, 其表型值与基础群体或非近交群体相比下降的百分率。Charlesworth 等<sup>[19]</sup>认为近交倾向于使一些与生物适合度密切相关的性状出现衰退, 如生长、存活、繁殖力等。本研究结果表明, 近交组的受精率、孵化率以及幼虫和稚贝的生长与存活均出现衰退, 与其观点一致。但近交组的表型性状在不同时期的具体表现并不相同。近交组幼虫的生长在 12 日龄后和对照组有显著性差异, 出现明显的近交衰退; 近交组存活率在 10 日龄出现明显的衰退。近交组的生长与存活在 D 型幼虫和壳顶初期并没有出现明显的衰退, 这可能与母性效应有关, 这一现象在扇贝的杂交实验中已有类似发现<sup>[20]</sup>。幼虫发育至壳顶中后期, 进入快速生长阶段, 近交对其生长性状的衰退作用加剧, 导致  $F_1$  组生长性状的近交衰退系数在 12 和 16 日龄均出现明显降低,  $F_2$  组壳高和壳长的衰退程度也在 12 日龄后随着日龄的增加而加剧。Su 等<sup>[21]</sup>研究发现, 虹鳟随年龄的增加, 体质量的近交衰退有增加的趋势, 这与  $F_2$  组幼虫后期的表现一致。在稚贝阶段, 两个近交组的生长

在 120 和 180 日龄均表现出明显的近交衰退, 这与 Evans 等<sup>[22]</sup>的研究结果一致。

近交衰退主要与近交程度、等位基因的显性和超显性作用以及某些基因座的上位效应有关<sup>[23]</sup>。很多学者认为, 近交使在杂合状态下不表达的隐性有害等位基因纯和, 这种隐性有害等位基因表达后容易被淘汰, 导致相关表型性状的衰退, 即部分显性假说<sup>[24-25]</sup>。该假说表明, 群体杂合度越高, 其近交后衰退程度也越高。在本研究中, 整个幼虫阶段  $F_2$  组壳高的近交衰退系数均小于同时期  $F_1$  组壳高的近交衰退系数; 在 20 日龄,  $F_2$  组壳长的近交衰退系数也小于  $F_1$  组; 这表明在幼虫阶段近交组生长性状的衰退程度随着近交代数的增加而提高。在 180 日龄,  $F_2$  组稚贝壳高与壳长的近交衰退系数小于  $F_1$  组, 衰退程度增加。 $F_2$  组经过连续两代全同胞交配, 杂合度低于  $F_1$  组, 但结果表明  $F_2$  组相关表型性状的衰退程度高于  $F_1$  组。这与部分显性假说并不矛盾, 本实验中  $F_1$  组和  $F_2$  组近交代数少且为人工随机交配, 缺乏有效的自然选择, 导致  $F_2$  组隐性有害基因纯合度高, 在有害等位基因未被淘汰的情况下, 表型性状出现较大程度的衰退。

近交组幼虫的存活率与对照组相比虽出现了衰退, 但  $F_1$  组和  $F_2$  组存活率的近交衰退系数在第 20 日龄分别为  $-2.4905$  和  $-2.2325$ , 幼虫存活率的衰退程度并没有随着近交代数的增加而加剧。Armbruster 等<sup>[26]</sup>认为环境胁迫会加剧近交衰退的程度。据此推测, 这可能是由于长牡蛎在幼虫时期需经过不同的变态阶段, 对环境的敏感性增强, 是基因环境互作的结果, 近交世代对其存活率衰退仅起到次要作用。近交组稚贝期存活率的衰退程度则随着近交代数的增加而提高。

在本研究中, 长牡蛎虽经过连续 2 代的全同胞交配, 但仍没有获得具有优良等位基因的纯系后代, 这说明有效淘汰遗传负荷需要经过一段较长的近交历史, 特别是一些在个体生长后期才表现出的危害程度较小的等位基因, 它们并不会随着近交代数的增加而被轻易淘汰。这也要求在利用近交对某个品种进行遗传改良时, 不能盲目地单纯通过增加近交代数来获取纯系, 还应改善选育方法优化选育进程, 并结合分子标记等手段, 这样才会取得较好的选育结果。

## 参考文献:

- [ 1 ] Miossec L, Le Deuff R M, Goulletquer P. Alien species alert: *Crassostrea gigas* (Pacific oyster) [ J ]. ICES Cooperative Research Report, 2009, 299: 1 - 42.
- [ 2 ] Yu R H, Li Q, Wang Z P, et al. The current situation of culture of Pacific oyster ( *Crassostrea gigas* ) in north of China [ J ]. Scientific Fish Farming, 2008 ( 6 ): 3 - 5. [ 于瑞海, 李琪, 王照萍, 等. 我国北方太平洋牡蛎育苗及养殖现状. 科学养鱼, 2008 ( 6 ): 3 - 5. ]
- [ 3 ] Alconer D S. Introduction to quantitative genetics [ M ]. 3rd edition. London: Longman, 1981: 265 - 287.
- [ 4 ] Rye M, Mao I L. Non-additive genetic effects of inbreeding depression for body weight in Atlantic salmon ( *Salmo salar* L. ) [ J ]. Livest Prod Sci, 1998, 57: 15 - 22.
- [ 5 ] Li S F, Cai W Q. Genetic improvement of the herbivorous blunt snout bream ( *Megalobrama amblycephala* ) [ J ]. Naga, 2003, 26 ( 1 ): 20 - 23.
- [ 6 ] Gallardo J A, García X, Lhorente J P, et al. Inbreeding and inbreeding depression of female reproductive traits in two populations of Coho salmon selected using BLUP predictors of breeding values [ J ]. Aquaculture, 2004, 234 ( 1 ): 111 - 122.
- [ 7 ] Myers J M, Heggelund P O, Hudson G, et al. Genetics and broodstock management of Coho salmon [ J ]. Aquaculture, 2001, 197 ( 1 ): 43 - 62.
- [ 8 ] Bondari K, Dunham R A. Effects of inbreeding on economic traits of channel catfish [ J ]. Theoretical and Applied Genetics, 1987, 74 ( 1 ): 1 - 9.
- [ 9 ] Gjerde B, Gunnes K, Gjedrem T. Effect of inbreeding on survival and growth in rainbow trout [ J ]. Aquaculture, 1983, 34 ( 3 ): 327 - 332.
- [ 10 ] Keller L F, Waller D M. Inbreeding effects in wild populations [ J ]. Trends in Ecology & Evolution, 2002, 17 ( 5 ): 230 - 241.
- [ 11 ] 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.
- [ 12 ] Winkler F M, Estévez 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 ( 1 ): 93 - 102.
- [ 13 ] Ibarra A M, Cruz P, Romero B A. Effects of inbreeding on growth and survival of self-fertilized catarina scallop larvae, *Argopecten circulari* [ J ]. Aquaculture, 1995, 134 ( 1 ): 37 - 47.
- [ 14 ] Zheng H P, Zhang G F, Liu X, et al. Comparison of growth and survival between the self-fertilized and hybridized families in *Argopecten irradians irradians* [ J ]. Journal of Fisheries of China, 2004, 28 ( 3 ): 267 - 272. [ 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的比较. 水产学报, 2004, 28 ( 3 ): 267 - 272. ]
- [ 15 ] Yan X W, Zhang Y H, Sun H Q, et al. The effect of hybridization or inbreeding between two generations for ocean orange strain of manila clam ( *Ruditapes philippinarum* ) [ J ]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2011, 42 ( 2 ): 309 - 316. [ 闫喜武, 张跃环, 孙焕强, 等. 菲律宾蛤仔 ( *Ruditapes philippinarum* ) 海洋橙品系两个世代的杂交与近交效应. 海洋与湖沼, 2011, 42 ( 2 ): 309 - 316. ]
- [ 16 ] Ma D Y, Hu H L, Kong J. Inbreeding and its impact on aquaculture [ J ]. Journal of Fisheries of China, 2006, 29 ( 6 ): 849 - 856. [ 马大勇, 胡红浪, 孔杰. 近交及其对水产养殖的影响. 水产学报, 2006, 29 ( 6 ): 849 - 856. ]
- [ 17 ] Keys S J, Crocos P J, Burrige C Y, et al. Comparative growth and survival of inbred and outbred *Penaeus ( marsupenaeus ) japonicus*, reared under controlled environment conditions: indications of inbreeding depression [ J ]. Aquaculture, 2004, 241 ( 1 ): 151 - 168.
- [ 18 ] Yang Y H. Basic genetics [ M ]. Beijing: Higher Education Press, 2008: 329 - 332. [ 杨业华. 普通遗传学. 北京: 高等教育出版社, 2008: 329 - 332. ]
- [ 19 ] Charlesworth D, Willis J H. The genetics of inbreeding depression [ J ]. Nature Reviews Genetics, 2009, 10 ( 11 ): 783 - 796.
- [ 20 ] 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 ( 1 ): 95 - 110.
- [ 21 ] Su G S, Liljedahl L E, Gall G A E. Effects of inbreeding on growth and reproductive traits in rainbow trout ( *Oncorhynchus mykiss* ) [ J ]. Aquaculture, 1996, 142 ( 3 ): 139 - 148.
- [ 22 ] Evans F, Matson S, Brake J, et al. The effects of inbreeding on performance traits of adult Pacific oysters ( *Crassostrea gigas* ) [ J ]. Aquaculture, 2004, 230 ( 1 ): 89 - 98.

- [23] Charlesworth D, Charlesworth B. Inbreeding depression and its evolutionary consequences [J]. Annual Review of Ecology and Systematics, 1987; 237 – 268.
- [24] Cheptou P O, Berger A É, Blanchard A, *et al.* The effect of drought stress on inbreeding depression in four populations of the Mediterranean outcrossing plant *Crepis sancta* (Asteraceae) [J]. Heredity, 2000, 85(3):294 – 302.
- [25] Husband B C, Schemske D W. Evolution of the magnitude and timing of inbreeding depression in plants [J]. Evolution, 1996; 54 – 70.
- [26] Armbruster P, Reed D H. Inbreeding depression in benign and stressful environments [J]. Heredity, 2005, 95(3):235 – 242.

## Effects of inbreeding on growth and survival of larval and juvenile Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)

ZHANG Jingxiao, LI Qi\*, GE Jianlong, WANG Xubo, KONG Lingfeng

(Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

**Abstract:** The effects of inbreeding on growth and survival of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) were investigated using inbreeding families which were established by first generation of full-sib mating ( $F_1$ ,  $F = 0.250$ ) and second successive generation of full-sib mating ( $F_2$ ,  $F = 0.375$ ). Control group ( $F = 0$ ) was produced by random mating of wild oysters. The fertilized rate, hatching rate, survival rate, growth and inbreeding depression coefficients were compared between different experimental groups. The results indicated that all the three experimental groups had high fertilized rates ranging from 94.42% to 98.46%, and hatching rates were all above 90% except group  $F_2$ . The growth of  $F_1$  and  $F_2$  showed significant inbreeding depression after 12 days of breeding at larval stage. An increasing inbreeding depression of growth was observed with the increase of inbreeding coefficient in group  $F_1$  and  $F_2$  at post-larval stage. The inbreeding depression coefficient of average shell height was found to be  $-0.3860\%$  at  $F = 0.250$ ,  $-0.6471\%$  at  $F = 0.375$  at 20 d. The inbreeding depression of larval survival was obvious and increasing with age. The inbreeding depression coefficients of larval survival in group  $F_1$  and  $F_2$  ranged from  $-0.1972\%$  to  $-2.4905\%$  and  $-0.1363\%$  to  $-2.2325\%$ , respectively. A significant inbreeding depression in average shell height of spat was observed all the time in families with  $F = 0.250$  and  $F = 0.375$ . Inbreeding depression of shell height of group  $F_2$  was higher than group  $F_1$  at juvenile stage. However, no significant difference of average shell length of spat was found between control group and the other two inbreeding groups. Inbreeding depression of survival existed all the time in inbreeding families with  $F = 0.250$  and  $F = 0.375$  at juvenile stage, and both of them increasing with age. This study demonstrates that inbreeding has negative effects on the economic traits, especially on growth and survival. These effects even still exist in the family with second successive generation of full-sib mating, thus it is necessary to highlight the importance to maximize the genetic diversity in selective breeding programs. These results also emphasize the significance of maintaining pedigree records which are used to avoid the deleterious effects of inbreeding depression in shellfish breeding programs.

**Key words:** *Crassostrea gigas*; inbreeding; growth; survival

**Corresponding author:** LI Qi. E-mail: qili66@ouc.edu.cn