

## 菲律宾蛤仔家系的建立及早期生长发育

闫喜武<sup>1\*</sup>, 霍忠明<sup>1</sup>, 张跃环<sup>1</sup>, 杨凤<sup>1</sup>, 张国范<sup>2</sup>

(1. 大连水产学院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:**采用不平衡巢式设计建立33个菲律宾蛤仔家系(11个父系半同胞家系和33个全同胞家系),并对各家系蛤仔的卵径、受精率、孵化率及生长、存活和变态的相关指标进行了分析。结果表明:各家系蛤仔的卵径、受精率无显著差异( $P > 0.05, n = 90$ ),但孵化率有明显差异( $P < 0.05, n = 90$ )。在不同时期各家系蛤仔的生长情况不同。幼虫期间,9日龄 $C_2$ 生长最快比生长最慢的 $F_2$ 平均壳长大28.24%,且差异显著( $P < 0.05, n = 90$ )。 $D_3$ 绝对生长最大比平均值高37.24%。稚贝期间,40日龄 $I_1$ 生长最快比生长最慢的 $B_3$ 平均壳长大78.29%,且差异显著( $P < 0.05, n = 90$ )。 $I_1$ 绝对生长也最大比平均值高87.61%,其中400~500  $\mu\text{m}$ 个体占30%,500  $\mu\text{m}$ 以上个体占53.33%,家系内个体趋于大型化,而 $B_1$ 、 $B_3$ 家系内个体生长性状出现衰退现象,趋于小型化,300  $\mu\text{m}$ 以下个体分别占整个家系的83.33%、90%。在相同时期各家系蛤仔的存活率不同。幼虫期间,9日龄 $I_2$ 存活率最高比平均存活率高94.14%, $E_3$ 存活率最低比平均存活率低72.65%。稚贝期间,40日龄时各家系稚贝的存活率较高,都在85%以上。变态期间,同胞家系出现变态延迟及变态规格小型化现象。附着变态时间从第15天延迟至22天,变态平均规格为(193.18  $\pm$  12.15)  $\mu\text{m}$ , $K_1$ 变态最小规格为(183.00  $\pm$  14.42)  $\mu\text{m}$ ,以 $K$ 为父本的3个家系变态规格普遍偏小,表现出父本效应。各家系变态率不同,存在明显差异, $E_3$ 家系变态率最高为(94.33%  $\pm$  0.58%), $B_2$ 家系变态率最低为(7.33%  $\pm$  2.08%)。综合33个同胞家系的各项指标, $I_1$ 早期生长抗逆性状最优,可进一步作为优良品种选育的育种材料。

**关键词:**菲律宾蛤仔;家系;生长;发育

**中图分类号:**Q 31;S 917

**文献标识码:**A

菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)分布于太平洋和印度洋沿岸,具有养殖周期短、投资少、收益大的特点。随着人民生活水平的提高,国内外市场均供不应求,市场潜力巨大。目前,菲律宾蛤仔在养殖中存在的主要问题是,种质资源基础状况不清、品质下降、抗逆性差、个体小型化、单位产量降低等不良现象。而且养殖对象均为野生型,没有人工培育的高产、抗逆优良品种<sup>[1]</sup>。对菲律宾蛤仔进行遗传改良,培育出生长速度快,抗逆性强的新品种是解决这些问题的的重要途径。

家系建立是贝类选择育种和杂交育种的基

础<sup>[2]</sup>。优良的家系可以通过逐代筛选,家系内纯化和家系间杂交的方式,固定群体内经济性状的加性基因,增加群体内具有经济价值的基因频率,最终获得人们需求的新品种<sup>[2-5]</sup>。关于贝类家系选育研究,国内外已有不少的研究报道,如牡蛎(*Crassostrea*)<sup>[6-10]</sup>、硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*)<sup>[11]</sup>、海湾扇贝(*Argopecten irradians irradians*)<sup>[12-13]</sup>、马氏珠母贝(*Pinctada martensii*)<sup>[14]</sup>等。这些研究表明家系选育的方法可以不同程度提高贝类的生长性能和抗逆性,经济性状得到明显的遗传改良。当前菲律宾蛤仔的

研究主要集中在人工育苗及养成过程中相关的生物学、生态学方面,对于菲律宾蛤仔的遗传改良的报道很少。本文通过不平衡巢式设计建立同胞家系,并对家系早期的生长发育进行评价,为家系选育菲律宾蛤仔新品种提供基础数据和理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 亲贝来源

选取福建莆田菲律宾蛤仔苗种在庄河生态池

中养成的二龄蛤仔作为亲本。于2007年9月,蛤仔性腺成熟时,随机挖取贝壳无损伤、壳型规整、活力强,无病害的蛤仔500枚作为繁殖群体。

### 1.2 家系建立

在水温23℃、盐度为28、pH为7.8的条件下,菲律宾蛤仔产卵排精。采用巢式设计,1个父本与3个母本交配如表1,建立11个父系半同胞家系和33个母系全同胞家系。每个家系设置3个重复。

表1 巢式设计建立家系的方法  
Tab.1 The method of unbalanced nest design

父本 paternal	母本 maternal	家系子一代 family F <sub>1</sub>	.....	父本 paternal	母本 maternal	家系子一代 family F <sub>1</sub>
	♀1	A <sub>1</sub>			♀1	J <sub>1</sub>
♂ A	♀2	A <sub>2</sub>	♂ B, ♂ C, ♂ D .....	♂ J	♀2	J <sub>2</sub>
	♀3	A <sub>3</sub>			♀3	J <sub>3</sub>

### 1.3 幼虫和稚贝培育

培育期间,试验用水为沙滤海水,水温为19~23℃,盐度为28~29,pH为7.8~8.0。幼虫和稚贝在100L塑料桶中培育,密度为5~8 ind/mL,每2d全量换水1次,为避免不同家系蛤仔的混杂,每组换水后将筛绢网用淡水冲洗。每天投饵3次,饵料为金藻和小球藻(体积比为1:1),浮游期投喂2000~5000 cell/mL,稚贝期投喂(1~2)×10<sup>4</sup> cell/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。为了消除培育密度的影响,在培育阶段每3d对密度进行调整,使各个家系密度基本保持一致。为避免家系混杂,各个家系分桶培育,严格隔离。

### 1.4 数据测量

(1)分别测量各个家系卵径,3、9、15、30、40日龄的壳长,每个重复随机测量30个个体。

(2)测定9、40日龄的存活率。9日龄存活率为9日龄各家系密度与各家系D形幼虫的密度的百分比。40日龄存活率为:成活稚贝占整个出现次生壳稚贝(包括死亡空壳)的百分比。

(3)统计40日龄家系内个体变异情况即4种规格(300 μm以下;300~400 μm;400~500 μm;500 μm以上)在群体中所占百分比。

(4)蛤仔变态以附着幼虫出现鳃原基、足、次生壳为标志。记录各个家系开始出现附着变态时

间到家系全部附着变态的时间。

(5)测量各家系的变态规格及变态率,变态率为:出现鳃原基、足、次生壳稚贝数与足面盘幼虫数量的百分比。

### 1.5 数据分析

(1)采用SPSS 13.0软件对数据进行统计分析,Excel作图。

(2)使用SAS软件的GLM(广义线性模型统计分析)过程,计算3、9、30日龄父系间、母系间、父母间交互作用的壳长遗传方差,并进行F显著性检验。

(3)计算各个家系的绝对生长,公式为 $G = (W_1 - W_0) / (t_1 - t_0)$ ,其中 $W_0$ 为第一次测定的壳长; $W_1$ 为最后一次测定的壳长; $t_0$ 为第一次测定的日龄; $t_1$ 为最后一次测定的日龄; $G$ 为绝对生长。

## 2 结果

### 2.1 家系卵径、受精率、孵化率

菲律宾蛤仔全同胞家系卵径、受精率、孵化率见表2。方差分析表明,各家系卵径大小不同,但无显著差异( $P > 0.05, n = 90$ )。各家系受精率较高(95.92% ± 1.41%)~100%,无显著差异( $P > 0.05, n = 90$ )。各家系孵化率有明显差异,从(15.67% ± 2.08%)~(98.00% ± 1.00%),E<sub>2</sub>家系孵化率最高(98.00% ± 1.00%)与A<sub>3</sub>、B<sub>1</sub>、D<sub>1</sub>、

D<sub>3</sub>、E<sub>2</sub>、H<sub>1</sub>、H<sub>2</sub>、H<sub>3</sub>、K<sub>3</sub> 差异不显著 ( $P > 0.05, n = 90$ ), 与其它家系差异显著 ( $P < 0.05, n = 90$ ), F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> 家系孵化率最低分别为 (15.67% ± 2.08%), (15.67% ± 2.33%) 与 D<sub>2</sub> 家系差异不显著 ( $P >$

0.05,  $n = 90$ ), 与其它家系差异显著 ( $P < 0.05, n = 90$ )。以 H 为父本的 3 个家系孵化率在 95% 以上, 普遍高于其它家系, 以 F 为父本的 3 个家系孵化率普遍低于其它家系, 表现出父本效应。

表 2 同胞家系的卵径、受精率、孵化率的比较  
Tab.2 Comparison of the families in egg-diameter, fertilized rate, hatching rate

家系 family	卵径 (±SD, μm) egg-diameter	受精率 (%) fertilized rate	孵化率 (%) hatching rate	家系 family	卵径 (±SD, μm) egg-diameter	受精率 (%) fertilized rate	孵化率 (%) hatching rate
A <sub>1</sub>	61.26 ± 1.38 <sup>a</sup>	97.62 ± 2.38 <sup>a</sup>	93.00 ± 2.00 <sup>b</sup>	F <sub>3</sub>	61.43 ± 1.79 <sup>a</sup>	98.44 ± 1.24 <sup>a</sup>	87.33 ± 2.52 <sup>a</sup>
A <sub>2</sub>	60.28 ± 2.25 <sup>a</sup>	98.36 ± 3.24 <sup>a</sup>	53.67 ± 4.04 <sup>c</sup>	G <sub>1</sub>	61.56 ± 1.32 <sup>a</sup>	96.36 ± 2.10 <sup>a</sup>	80.00 ± 2.00 <sup>a</sup>
A <sub>3</sub>	60.34 ± 1.24 <sup>a</sup>	99.21 ± 2.38 <sup>a</sup>	96.33 ± 2.08 <sup>a</sup>	G <sub>2</sub>	60.34 ± 1.59 <sup>a</sup>	99.00 <sup>a</sup>	91.00 ± 1.00 <sup>b</sup>
B <sub>1</sub>	62.14 ± 2.18 <sup>a</sup>	96.34 ± 1.34 <sup>a</sup>	96.33 ± 2.51 <sup>a</sup>	G <sub>3</sub>	60.27 ± 1.24 <sup>a</sup>	97.97 ± 1.35 <sup>a</sup>	94.00 ± 1.00 <sup>b</sup>
B <sub>2</sub>	60.27 ± 2.25 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	87.33 ± 2.51 <sup>e</sup>	H <sub>1</sub>	60.36 ± 1.03 <sup>a</sup>	96.23 ± 1.32 <sup>a</sup>	96.67 ± 1.53 <sup>a</sup>
B <sub>3</sub>	60.26 ± 1.36 <sup>a</sup>	99.36 ± 1.22 <sup>a</sup>	96.67 ± 1.15 <sup>a</sup>	H <sub>2</sub>	61.68 ± 1.56 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	96.00 ± 2.64 <sup>a</sup>
C <sub>1</sub>	60.23 ± 0.89 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	95.33 ± 1.53 <sup>a</sup>	H <sub>3</sub>	62.37 ± 0.76 <sup>a</sup>	98.23 ± 2.43 <sup>a</sup>	95.33 ± 2.08 <sup>a</sup>
C <sub>2</sub>	61.10 ± 1.32 <sup>a</sup>	96.91 ± 1.51 <sup>a</sup>	94.00 ± 4.58 <sup>b</sup>	I <sub>1</sub>	60.33 ± 1.34 <sup>a</sup>	97.64 ± 1.34 <sup>a</sup>	92.00 ± 2.00 <sup>b</sup>
C <sub>3</sub>	62.16 ± 1.71 <sup>a</sup>	97.37 ± 1.31 <sup>a</sup>	94.00 ± 2.00 <sup>b</sup>	I <sub>2</sub>	60.24 ± 0.13 <sup>a</sup>	95.97 ± 0.65 <sup>a</sup>	89.33 ± 1.53 <sup>c</sup>
D <sub>1</sub>	60.12 ± 1.29 <sup>a</sup>	95.92 ± 1.41 <sup>a</sup>	96.67 ± 2.52 <sup>a</sup>	I <sub>3</sub>	61.28 ± 0.21 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	64.33 ± 2.52 <sup>f</sup>
D <sub>2</sub>	60.43 ± 1.82 <sup>a</sup>	97.24 ± 1.54 <sup>a</sup>	17.67 ± 2.52 <sup>d</sup>	J <sub>1</sub>	62.00 ± 1.00 <sup>a</sup>	97.82 ± 1.62 <sup>a</sup>	82.00 ± 2.00 <sup>e</sup>
D <sub>3</sub>	60.57 ± 2.34 <sup>a</sup>	98.26 ± 2.36 <sup>a</sup>	97.33 ± 1.53 <sup>a</sup>	J <sub>2</sub>	60.22 ± 1.32 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	90.00 ± 1.00 <sup>b</sup>
E <sub>1</sub>	60.27 ± 1.44 <sup>a</sup>	97.23 ± 2.12 <sup>a</sup>	94.00 ± 1.00 <sup>b</sup>	J <sub>3</sub>	60.56 ± 1.46 <sup>a</sup>	99.17 ± 1.58 <sup>a</sup>	53.00 ± 3.00 <sup>e</sup>
E <sub>2</sub>	60.22 ± 1.10 <sup>a</sup>	98.44 ± 1.56 <sup>a</sup>	98.00 ± 1.00 <sup>a</sup>	K <sub>1</sub>	60.36 ± 1.18 <sup>a</sup>	96.25 ± 0.97 <sup>a</sup>	92.33 ± 1.53 <sup>b</sup>
E <sub>3</sub>	61.43 ± 1.42 <sup>a</sup>	97.45 ± 0.45 <sup>a</sup>	19.00 ± 4.00 <sup>d</sup>	K <sub>2</sub>	60.74 ± 1.25 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	84.00 ± 1.00 <sup>e</sup>
F <sub>1</sub>	62.14 ± 1.92 <sup>a</sup>	95.48 ± 1.57 <sup>a</sup>	15.67 ± 2.08 <sup>d</sup>	K <sub>3</sub>	60.39 ± 1.37 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	97.00 ± 1.00 <sup>a</sup>
F <sub>2</sub>	60.22 ± 0.76 <sup>a</sup>	99.27 ± 2.54 <sup>a</sup>	15.67 ± 2.33 <sup>c</sup>				

注: 同列中具有相同字母者表示差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 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 ( $P < 0.05$ )

2.2 家系生长

同胞家系生长差异分析 菲律宾蛤仔 3、9、30 日龄壳长的方差分析见表 3。方差分析表明: 蛤仔幼虫期 3、9 日龄和稚贝期 30 日龄父系间, 母系间和父母交互作用壳长的  $F$  检验均存在极显著差异 ( $P < 0.01$ )。对各家系幼虫期 9 日龄和稚贝期 40 日龄壳长进行测量, 方差分析比较结果如图 1。各家系个体在不同时期表现出不同的生长情况。9 日龄 C<sub>2</sub> 生长最快壳长为

(174.83 ± 10.87) μm, 与 D<sub>1</sub>、F<sub>3</sub>、G<sub>1</sub>、B<sub>3</sub> 差异不显著 ( $P > 0.05, n = 90$ ), 比生长最慢的 F<sub>2</sub> 壳长为 (139.83 ± 16.68) μm 大 28.24%, 且差异显著 ( $P < 0.05, n = 90$ )。稚贝期间, 40 日龄 I<sub>1</sub> 生长最快壳长为 (460.33 ± 30.28) μm 比生长最慢的 B<sub>3</sub> 壳长为 (258.33 ± 12.39) μm 大 78.29%, 且差异显著 ( $P < 0.05, n = 90$ )。B<sub>3</sub> 家系在浮游期生长较快与生长最快的 C<sub>2</sub> 家系差异不显著, 但在稚贝期生长最慢。

表 3 菲律宾蛤仔家系 3、9、30 日龄壳长表型方差组分分析  
Tab.3 Analysis of variance components of phenotypic variation of shell length at 3, 9, 30 days

方差来源 source	自由度 df	3 日龄 day 3		9 日龄 day 9		30 日龄 day 30	
		均方 MS	F 检验 F-value	均方 MS	F 检验 F-value	均方 MS	F 检验 F-value
父系间 sires	10	1 106.08	82.63 **	3 336.56	27.46 **	40 869.05	53.11 **
雄内雌间 dams within sires	22	1 504.70	112.41 **	2 845.53	23.42 **	13 145.35	17.08 **
母系间 dams	32	1 380.13	103.11 **	2 998.98	24.68 **	21 809.01	28.34 **
父母交互作用 progeny within sires and dams	957	13.39		121.49		769.59	
总和 total	989						

注: \*\* 表示差异显著 ( $P < 0.01$ ), 下同

Notes: \*\* means that difference is very significant ( $P < 0.01$ )

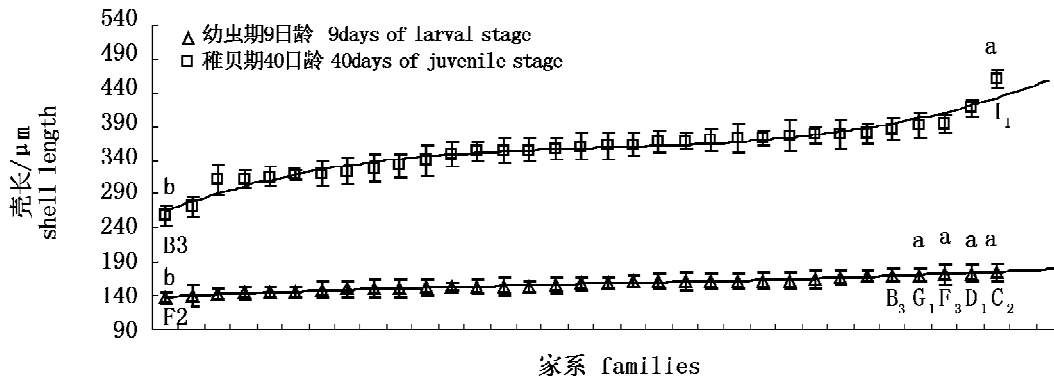


图1 家系9、40日龄壳长比较

同一系列符号中具有相同字母者表示差异不显著( $P > 0.05$ ),下同。具有不同字母者差异显著( $P < 0.05$ )

Fig.1 Comparison of the families in shell length at 9,40 days

The same letters in each series mean no significant difference ( $P > 0.05$ ), the different letters in each series mean significant difference ( $P < 0.05$ ), the following notes are the same

**家系绝对生长** 从绝对生长方面评价家系生长情况,结果见图2。33个全同胞家系在幼虫期,  $D_3$  绝对生长最大为  $(7.16 \pm 1.48) \mu\text{m}$ , 与  $E_1$ 、 $J_3$  差异不显著 ( $P > 0.05, n = 90$ ), 比平均值  $5.21 \mu\text{m}$  高 37.24%,  $G_3$  绝对生长最小为  $(3.38 \pm 0.69) \mu\text{m}$  比平均值低 35.13%。方差分析表明:  $G_3$  与  $B_1$ 、 $B_3$ 、 $G_2$ 、 $G_3$ 、 $H_1$  差异不显著 ( $P > 0.05, n = 90$ ), 与  $D_3$ 、 $E_1$ 、 $J_3$  差异显著 ( $P < 0.05, n = 90$ )。稚贝期  $I_1$  绝对生长最大为  $(20.13 \pm 3.51) \mu\text{m}$ , 比平均值  $10.73 \mu\text{m}$  高 87.61%,  $B_3$  绝对生长最小为  $(4.83 \pm 1.31) \mu\text{m}$  比平均值低 54.98%, 方差分析表明  $B_3$  与  $B_1$ 、 $G_1$ 、 $F_1$ 、 $J_1$ 、 $J_2$  差异不显著 ( $P >$

$0.05, n = 90$ ), 与  $I_1$  差异显著 ( $P < 0.05, n = 90$ )。

各父系半同胞家系组合的绝对生长情况见图3。浮游幼虫期,以E为父本的半同胞家系组合绝对生长均高于平均值,以B、G、K为父本的半同胞家系组合的绝对生长均低于平均值。稚贝期,以G和I为父本的半同胞家系组合的绝对生长均高于平均值,以E和J为父本的半同胞家系组合的绝对生长均低于平均值。从而说明以E为父本的半同胞家系组合在幼虫期体现生长优势,在稚贝期为生长劣势。以G为父本的半同胞家系组合在浮游期体现生长劣势,在稚贝期为生长优势。

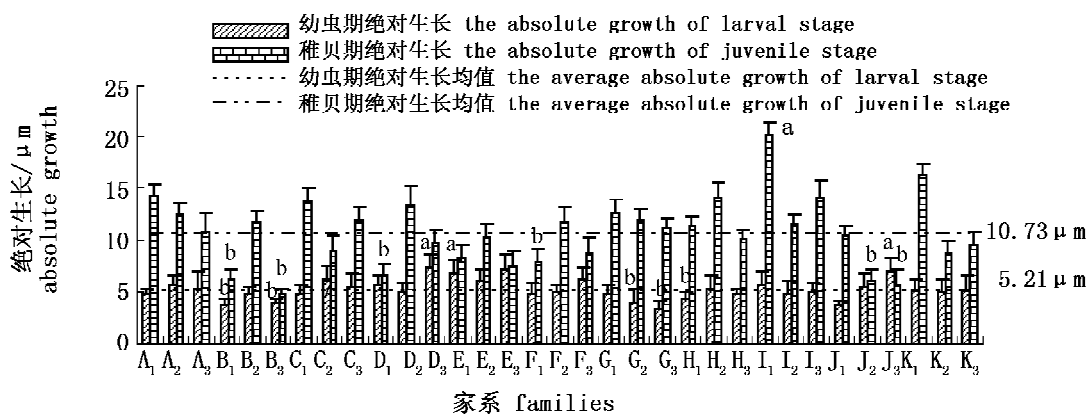


图2 家系幼虫期和稚贝期绝对生长比较

Fig.2 Comparison of the families in absolute growth at larval stage and juvenile stage

**家系内个体大小变异** 从全同胞家系内个体大小变异评价菲律宾蛤仔生长情况,如图3所

示,稚贝期(40日龄)不同规格稚贝在各家系内所占比例不同。 $D_3$ 、 $H_2$ 、 $I_1$ 、 $K_1$  规格在  $400 \mu\text{m}$  以上

个体占50%以上。其中I<sub>1</sub>的400~500 μm个体占30%,500 μm以上个体占53.33%,家系内个体趋于大型化。而B<sub>1</sub>、B<sub>3</sub>家系内个体生长性状出现衰退现象,趋于小型化,300 μm以下个体分别占整个家系的83.33%,90%。C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>、E<sub>1</sub>、E<sub>2</sub>、J<sub>3</sub>家系内壳长表型基本趋于连续正态分布,表明控制生长的基因属数量性状。

### 2.3 家系存活与变态

**家系存活率比较** 如图4为全同胞家系幼虫期9日龄和稚贝期40日龄的存活率。在幼虫期,I<sub>2</sub>存活率最高为(85.36% ± 12.08%)与B<sub>1</sub>、

B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub>、I<sub>1</sub>差异不显著(P > 0.05, n = 90),比平均存活率55.36%高94.14%,E<sub>3</sub>存活率最低为(15.14% ± 2.33%)比平均存活率低72.65%。方差分析表明:E<sub>3</sub>与A<sub>3</sub>、F<sub>2</sub>差异不显著(P > 0.05, n = 90),与I<sub>2</sub>、B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub>、I<sub>1</sub>差异显著(P < 0.05, n = 90)。以A、E、J为父本的同胞家系组合存活率偏低,均低于平均存活率。以B、H为父本的同胞家系组合存活率较高,均高于平均存活率。稚贝期40日龄存活率较高都在85%以上,平均存活率为94.56%。

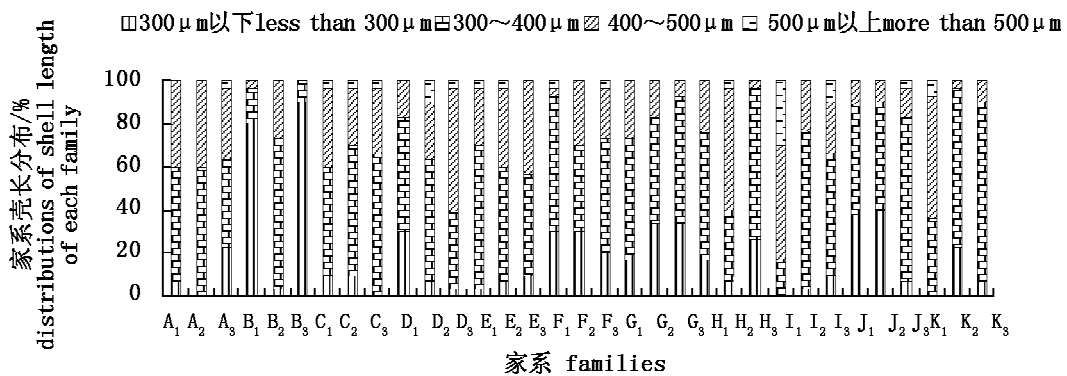


图3 家系壳长分布比例  
Fig.3 Distributions of shell length of each family

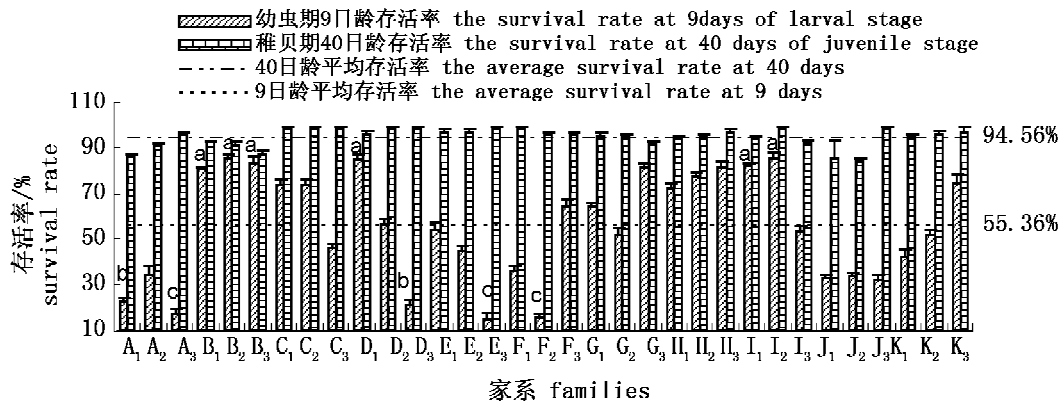


图4 家系9日龄和40日龄存活率比较  
Fig.4 Comparison of the families in survival rate at 9,40 days

**家系变态时间、变态规格、变态率比较** 菲律宾蛤仔全同胞家系变态时间、变态规格、变态率见表4。各家系幼虫附着变态时间不同,从第15天开始附着变态延迟至22天附着变态完毕,变态平均规格为(193.18 ± 12.15) μm,随着时间的延

迟出现变态规格小型化现象,K<sub>1</sub>变态规格最小为(183.00 ± 14.42) μm,以K为父本的3个家系变态规格偏小。各家系变态率有明显差异,从(7.33% ± 2.08%) ~ (94.33% ± 0.58%),E<sub>3</sub>家系变态率最高与E<sub>1</sub>、J<sub>2</sub>差异不显著(P > 0.05, n =

90),与其它家系差异显著( $P < 0.05, n = 90$ ), $B_2$ 家系变态率最低为(7.33%  $\pm$  2.08%)与 $A_1$ 、 $F_3$ 家系差异不显著( $P > 0.05, n = 90$ ),与其它家系差异显著( $P < 0.05, n = 90$ )。

### 3 讨论

#### 3.1 菲律宾蛤仔家系生长能力评价及分析

通过不平衡巢式设计建立菲律宾蛤仔同胞家系是蛤仔家系选育的第一步,为蛤仔优良品种培

育提供了重要的育种材料。本文将同胞家系的壳长,绝对生长和家系内个体大小变异作为评价家系生长的指标。

3、9、30日龄遗传方差分析表明,各日龄雄性间,雌性间和雄内雌间壳长的 $F$ 检验均存在极显著差异。说明在蛤仔家系群体早期中存在较大的遗传变异,其中存在丰富的基因型,可以进一步进行家系内交配,使控制早期生长的数量性状基因得到聚合纯化。

表4 家系附着变态时间、变态规格、变态率比较

Tab. 4 Comparison of families in metamorphosis time, metamorphosis rate and metamorphic size

家系 family	变态时间(d) meta-morphosis time	变态规格 ( $\pm$ SD, $\mu$ m) metamorphic size	变态率( $\pm$ SD, %) metamorphosis rate	家系 family	变态时间(d) meta-morphosis time	变态规格 ( $\pm$ SD, $\mu$ m) metamorphic size	变态率 ( $\pm$ SD, %) metamorphosis rate
$A_1$	15 ~ 17	197.67 $\pm$ 16.75	7.67 $\pm$ 2.52 <sup>f</sup>	$F_3$	16 ~ 19	193.33 $\pm$ 12.69	5.00 $\pm$ 1.36 <sup>f</sup>
$A_2$	15 ~ 17	203.00 $\pm$ 10.88	12.33 $\pm$ 2.52 <sup>e</sup>	$G_1$	16 ~ 19	198.00 $\pm$ 8.87	71.67 $\pm$ 15.33 <sup>c</sup>
$A_3$	17 ~ 19	189.00 $\pm$ 8.03	43.34 $\pm$ 4.16 <sup>d</sup>	$G_2$	20 ~ 22	188.67 $\pm$ 12.79	42.00 $\pm$ 2.00 <sup>d</sup>
$B_1$	20 ~ 22	186.33 $\pm$ 12.99	12.32 $\pm$ 2.08 <sup>e</sup>	$G_3$	20 ~ 22	196.00 $\pm$ 13.03	41.00 $\pm$ 2.00 <sup>d</sup>
$B_2$	19 ~ 21	191.33 $\pm$ 13.32	7.33 $\pm$ 2.08 <sup>f</sup>	$H_1$	16 ~ 19	197.33 $\pm$ 12.58	41.67 $\pm$ 1.53 <sup>d</sup>
$B_3$	20 ~ 22	192.00 $\pm$ 12.43	85.67 $\pm$ 4.04 <sup>b</sup>	$H_2$	15 ~ 17	195.67 $\pm$ 9.32	57.33 $\pm$ 2.52 <sup>d</sup>
$C_1$	15 ~ 17	200.33 $\pm$ 17.11	61.00 $\pm$ 3.00 <sup>c</sup>	$H_3$	18 ~ 20	193.00 $\pm$ 13.93	85.00 $\pm$ 2.65 <sup>b</sup>
$C_2$	15 ~ 17	196.00 $\pm$ 13.22	57.33 $\pm$ 3.06 <sup>c</sup>	$I_1$	15 ~ 17	193.33 $\pm$ 11.84	51.00 $\pm$ 3.00 <sup>c</sup>
$C_3$	15 ~ 17	191.00 $\pm$ 13.22	73.00 $\pm$ 3.61 <sup>c</sup>	$I_2$	15 ~ 17	187.00 $\pm$ 10.22	54.61 $\pm$ 3.51 <sup>c</sup>
$D_1$	18 ~ 20	190.33 $\pm$ 16.08	42.33 $\pm$ 2.52 <sup>c</sup>	$I_3$	15 ~ 17	189.67 $\pm$ 9.99	36.26 $\pm$ 2.00 <sup>d</sup>
$D_2$	15 ~ 17	194.67 $\pm$ 15.25	79.67 $\pm$ 1.53 <sup>b</sup>	$J_1$	18 ~ 20	183.67 $\pm$ 10.66	15.67 $\pm$ 2.08 <sup>e</sup>
$D_3$	15 ~ 17	196.33 $\pm$ 14.74	86.00 $\pm$ 4.00 <sup>b</sup>	$J_2$	18 ~ 20	191.33 $\pm$ 10.08	91.67 $\pm$ 2.08 <sup>a</sup>
$E_1$	15 ~ 17	201.00 $\pm$ 10.29	92.33 $\pm$ 2.08 <sup>a</sup>	$J_3$	15 ~ 17	195.67 $\pm$ 10.40	62.31 $\pm$ 3.21 <sup>d</sup>
$E_2$	15 ~ 17	196.00 $\pm$ 12.76	53.00 $\pm$ 4.36 <sup>c</sup>	$K_1$	20 ~ 22	183.00 $\pm$ 14.42	33.00 $\pm$ 3.00 <sup>d</sup>
$E_3$	15 ~ 17	196.00 $\pm$ 14.04	94.33 $\pm$ 0.58 <sup>a</sup>	$K_2$	18 ~ 20	184.33 $\pm$ 8.58	45.00 $\pm$ 3.00 <sup>d</sup>
$F_1$	18 ~ 20	205.00 $\pm$ 15.53 <sup>a</sup>	43.00 $\pm$ 3.00 <sup>d</sup>	$K_3$	17 ~ 19	185.67 $\pm$ 8.98	44.33 $\pm$ 3.51 <sup>d</sup>
$F_2$	16 ~ 19	193.33 $\pm$ 11.55	45.00 $\pm$ 2.00 <sup>d</sup>				

注: 同列中具有相同字母者表示差异不显著( $P > 0.05$ ), 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 ( $P < 0.05$ )

通过家系间幼虫期和稚贝期壳长和绝对生长比较,发现蛤仔在不同时期表现出不同的生长情况。幼虫期间,9日龄 $C_2$ 生长最快,比生长最慢的 $F_2$ 的平均壳长大28.24%, $D_3$ 绝对生长最大,比平均值高37.24%。稚贝期40日龄 $I_1$ 生长最快,比生长最慢的 $B_3$ 的平均壳长大78.29%,同时 $I_1$ 绝对生长也最大,比平均值高87.61%。 $B_3$ 家系在浮游期生长较快,与生长最快的 $C_2$ 家系差异不显著,但 $B_3$ 在稚贝期生长最慢,绝对生长也最小,比绝对生长平均值低54.98%。同样的现象也出现在父系半同胞组合的比较中,以E为父本的半同胞家系组合在幼虫期表现生长优势,在稚贝期为生长劣势。以G为父本的半同胞家系

组合在浮游期体现生长劣势,在稚贝期为生长优势。蛤仔早期生长的表型值是个体的基因型,与其生活、发育所处的环境共同作用的结果。在环境方面,蛤仔生长主要受到水环境因子和密度影响。在蛤仔同胞家系培育中,各家系的培育水环境(水温、盐度、光照、饵料等)一致,通过定期密度测定、调整,使培养密度基本保持一致。因此这种生长差异主要归结为遗传基因在蛤仔不同时期表现不同。于飞等<sup>[15]</sup>在对大菱鲆群体杂交后代早期生长差异研究中,有同样的结果。在初孵仔鱼25d和80d杂交组合家系的生长体现不一致性,归结为自身早期生长速度差异。Rawson等<sup>[11]</sup>采用巢式设计建立了硬壳蛤(*Mercenaria*

mercenaria) 31 个半同胞家系, 在同样的水环境和密度下饲养, 硬壳蛤父系间 9 月龄壳长存在显著差异, 并指出这种差异是亲本遗传作用的结果。

由于菲律宾蛤仔亲本遗传背景不同, 单对单交配建立家系, 使遗传基因频率发生改变, 产生家系内个体表型变异现象, 因此家系内个体表型变异也是评价家系生长的重要指标。对稚贝期 40 日龄不同规格稚贝在各家系内所占比例进行统计。D<sub>3</sub>、H<sub>2</sub>、I<sub>1</sub>、K<sub>1</sub> 规格在 400 μm 以上个体占 50% 以上。其中 I<sub>1</sub> 400 ~ 500 μm 个体占 30%, 500 μm 以上个体占 53.33%, 家系内个体趋于大型化。而 B<sub>1</sub>、B<sub>3</sub> 家系内个体生长性状出现衰退现象, 趋于小型化, 300 μm 以下个体分别占整个家系的 83.33%, 90%。同时家系内个体变异现象, 也进一步说明家系选择方法的有效性。张国范等<sup>[13]</sup>报道了, 海湾扇贝自交系在成体阶段, 同一家系子代个体间在生长速率方面出现较大的分化, 该现象可能是部分与生长相关的基因出现纯合的结果。何毛贤等<sup>[14]</sup>在同一批马氏珠母贝家系子一代研究中发现 F<sub>15</sub> 壳高分布范围较小, 主要集中在 5 ~ 6 cm 和 6 ~ 7 cm 大小, 家系内个体大小变异较小, 而且其壳高和总重都是所有家系中最大的, 其净增长量也是最大的, 认为该家系具有较强的生长优势。

### 3.2 菲律宾蛤仔家系个体发育评价及分析

菲律宾蛤仔的个体发育大体分为胚胎期、担轮幼虫期、D 形幼虫期、壳顶期(前、中、后期)、足面盘幼虫期、单水管稚贝期及双水管稚贝期。因此本文将受精率、孵化率、变态时间、变态规格、变态率作为评价同胞家系个体发育的指标。各家系受精率较高, 但孵化率有明显差异, 从 (15.67% ± 2.08%) ~ (98.00% ± 1.00%), E<sub>2</sub> 家系孵化率最高, F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 家系孵化率最低。以 H 为父本的 3 个家系孵化率普遍高于其它家系, 以 F 为父本的 3 个家系孵化率普遍低于其它家系。闫喜武<sup>[1]</sup>在对菲律宾蛤仔繁殖生物学研究中提出: 受精率、孵化率与亲本的精卵亲和力及精卵质量密切相关。张国范等<sup>[13]</sup>在对海湾扇贝的自交家系研究中发现, 自交家系孵化率大幅度变动范围在 1.35% ~ 68.32%, 指出其主要原因之一, 可能是由于不同家系的亲本个体间的遗传背景存在差异, 自交导致了孵化率降低。在本研究中, 孵化率差异明显, 一方面归因为蛤仔亲本的精卵质量和

遗传背景的不同。另一方面, 蛤仔精卵亲和力在一定有效时间范围内随着单体精卵放置的时间的延长而下降, 表现为孵化率逐渐降低<sup>[1]</sup>。F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 两家系孵化率仅为 15.67%, 可能是由于蛤仔家系的建立过程中, 雌雄蛤仔亲本单独放于容器中产卵、排精的时间并不同步, 导致个别单体的精卵不能及时交配, 从而表现为孵化率较低。

通过家系建立选择存活率高等抗逆性状的报道较少。Lionel 等<sup>[16]</sup>在夏季高温时期建立了太平洋牡蛎 43 个全同胞家系, 研究表明牡蛎抗高温性状遗传差异较大, 各家系在高温季节存活率不同, 经家系逐代筛选, 太平洋牡蛎在高温季节存活率可以得到改良。早在 1988 年, 沈俊宝等<sup>[17]</sup>就运用杂交、分离和系统选育的方法, 育成了荷包红鲤抗寒品系, 其抗寒能力从第一代的越冬成活率 37.6%, 提高到第四代 95% 以上。本文菲律宾蛤仔 33 个全同胞家系在幼虫期, I<sub>2</sub> 存活率最高比平均存活率高 94.14%, 与 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub>、I<sub>1</sub> 差异不显著 ( $P > 0.05, n = 90$ ), E<sub>3</sub> 存活率最低比平均存活率低 72.65%。以 B、H 为父本的半同胞家系组合存活率较高, 均高于平均存活率。稚贝期 40 日龄存活率较高都在 85% 以上, 平均存活率为 94.56%。家系选育的主要目的是使控制经济性状的微效基因及显性基因快速聚合纯化, 在经济性状基因纯合的同时, 也使一些隐性致死基因纯合, 从而导致存活率降低。由于显性致死基因的快速纯合, 蛤仔家系幼虫期存活率明显不一致, 但经过幼虫期存活的选择淘汰, 各家系在稚贝期存活率趋于稳定。

蛤仔各家系变态时间和变态规格不同, 表现出延迟变态, 其附着变态时间从第 15 天延续到第 22 天。变态平均规格为 (193.18 ± 12.15) μm, K<sub>1</sub> 变态规格最小为 (183.00 ± 14.42) μm, 以 K 为父本的 3 个家系变态规格趋于小型化。各家系变态率有明显差异, 从 (7.33% ± 2.08%) ~ (94.33% ± 0.58%), E<sub>3</sub> 家系变态率最高, B<sub>2</sub> 家系变态率最低。附着变态时间延长的家系变态规格普遍偏小, 其主要原因可能是人工选择改变了群体内的基因频率, 也是自然界生物本身应对人为选择的结果。这种现象在张国范等<sup>[13]</sup>对海湾扇贝自交家系的研究中也得到证明。

## 4 结论

菲律宾蛤仔早期生长发育也受到母体效应的

影响,如卵成熟程度、卵黄的营养积累等,本实验选用的亲本材料是同一批苗种在同一生态池内养成且随机选取的二龄蛤仔,其养成和性腺发育环境基本一致,可认为是在同一母体效应下,对菲律宾蛤仔生长发育的各指标的评定。经评定得出  $I_1$  在稚贝期壳长、绝对生长最大,家系内壳长分布范围主要集中在  $400\ \mu\text{m}$  以上,且  $500\ \mu\text{m}$  以上个体占 53.33%,具有较大的生长优势。 $I_1$  在幼虫期存活率较高与存活率最高的  $I_2$  差异不显著( $P > 0.05$ ,  $n = 90$ ),稚贝期存活率为( $94.33\% \pm 0.58\%$ ),变态率为( $51\% \pm 3\%$ )。综合 33 个同胞家系的各指标, $I_1$  早期生长抗逆性状最优。可进一步作为高产抗逆的优良品种选育的育种材料。33 个同胞家系也为构建菲律宾蛤仔遗传连锁图谱提供实验材料。

#### 参考文献:

- [1] 闫喜武. 菲律宾蛤仔养殖生物学、养殖技术与品种选育[D]. 青岛:中国科学院海洋研究所, 2005.
- [2] 盛志廉, 陈瑶生. 数量遗传学[M]. 北京:科学出版社, 2001.
- [3] 张国范, 刘晓. 关于贝类遗传改良几个问题的讨论[J]. 水产学报, 2006, 30(1): 130-137.
- [4] Katsuhiko T W. Aquaculture genetics of bivalve molluscs: a review [J]. 青岛海洋大学学报, 2000, 30(1): 107-114.
- [5] 唐启升. 中国海洋渔业可持续发展及其高技术需求[J]. 中国工程科学, 2001, 3(2): 7-9.
- [6] Toro J E, Newkirk G F. Divergent selection for growth rate in the European oyster *Ostrea edulis*: Response to selection and estimation of genetic parameters [J]. Marine Ecology Progress Series, 1990, 62(3): 219-227.
- [7] Toro J E, Aguila P, Vergara A M. Spatial variation in response to selection for live weight and shell length from data on individually tagged Chilean native oysters (*Ostrea chilensis* Philippi, 1845) [J]. Aquaculture, 1996, 146(1-2): 27-36.
- [8] Davis C V. Estimation of narrow-sense heritability for larval and juvenile growth traits in selected and unselected sub-lines of eastern oysters, *Crassostrea virginica* [J]. Journal of Shellfish Research, 2000, 19(1): 613.
- [9] Newkirk G F, Haley L E. Selection for growth rate in the European oyster, *Ostrea edulis*: response of second generation groups [J]. Aquaculture, 1983, 33: 149-155.
- [10] Hakin H H, Andress J D. Uncertainties and speculations about the life cycle of the eastern oyster pathogen *Haplosporidium nelsoni* (MSX) [M]//Fisher W S, ed. Disease processes in marine bivalve molluscs. American Fisheries Society, Special Publication, 1988: 5-2.
- [11] Rawson P D, Hilbish T J. Heritability of juvenile growth for the hard clam *Mercenaria mercenaria* [J]. Marine Biology, 1990, 105: 429-439.
- [12] Zheng H, Zhang G, Liu X, et al. Different responses to selection in two stocks of the bay scallop, *Argopecten irradians* Lamarck (1819) [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2004, 31(3): 213-223.
- [13] 张国范, 刘述锡, 刘晓, 等. 海湾扇贝自交家系的建立与自交效应 [J]. 中国水产科学, 2003, 10(6): 441-445.
- [14] 何毛贤, 管云雁, 林岳光, 等. 马氏珠母贝家系的生长比较 [J]. 热带海洋学报, 2007, 26(1): 39-43.
- [15] 于飞, 张庆文, 孔杰, 等. 大菱鲆不同进口群体杂交后代的早期生长发育差异 [J]. 水产学报, 2008, 32(1): 58-64.
- [16] Lionel E T. Summer mortality of hatchery-produced Pacific oyster spat (*Crassostrea*). I: Estimation of genetic parameters for survival and growth [J]. Aquaculture, 2007, 262: 41-45.
- [17] 沈俊宝, 刘明华. 荷包红鲤抗寒品系的筛选和培育 [J]. 淡水渔业, 1988, 3(3): 14-17.



## Preliminary study of establishment of families and their early growth and development for manila clam (*Ruditapes philippinarum*)

YAN Xi-wu<sup>1\*</sup>, HUO Zhong-ming<sup>1</sup>, ZHANG Yue-huan<sup>1</sup>, YANG Feng<sup>1</sup>, ZHANG Guo-fan<sup>2</sup>

(1. College of Life Science and Technology, Dalian Fisheries University, Dalian 116023, China;

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

**Abstract:** A total of 11 half-sib families and 33 full-sib families were generated by using the method of unbalanced nest design, in Sept. 2007. Phenotypic traits of different families, such as egg sizes, fertilization rates, embryonic hatching rates, larval and juvenile growth, survival and metamorphosis were analyzed. The results showed that the differences in egg sizes and fertilization rates among the full-sib families were not significant, but those in embryonic hatching rates were significant ( $P > 0.05$ ,  $n = 90$ ). The growth of each family was not the same at different stages. The fastest growth family named  $C_2$  was significantly larger than the slowest growth family named  $F_2$  by 28.24% in average shell length ( $P < 0.05$ ,  $n = 90$ ) at 9 days of larval stage.  $D_3$  whose absolute growth was the largest of all families was bigger than the average absolute growth by 37.24%. The fastest growth family  $I_1$  at 40 days of nursing stage was significantly larger than the slowest growth family  $B_3$  by 78.29% in average shell length ( $P < 0.05$ ,  $n = 90$ ). Moreover,  $I_1$  was the largest of all families in absolute growth, and it was bigger than the average absolute growth by 87.61%, the distributions of shell length between 400–500  $\mu\text{m}$  and above 500  $\mu\text{m}$  accounted for 30% and 53.33% of total shell length among  $I_1$ , respectively. However, the growth trait depression families  $B_1$  and  $B_3$  involved in miniaturization, the distributions of shell length below 300  $\mu\text{m}$  accounted for 83.33% and 90% of total shell length of  $B_1$  and  $B_3$ , respectively. The survival of each family was different at the same stage. The highest survival family  $I_2$  was significantly larger than the average survival by 94.14%, and the lowest growth survival family  $F_2$  was obviously smaller than the average survival by 72.65% at 9 days of larval stage. The survivals of all families at 40 days of nursing stage were higher than 85%. The study of full-sib families at metamorphosis stage presented some phenomena, such as metamorphosis time delay and metamorphosis individual miniaturization. The metamorphosis time was delayed from 15 to 22 days. The average metamorphic size was  $(193.18 \pm 12.15) \mu\text{m}$ . The smallest metamorphic size family was  $K_1$  with  $(183.00 \pm 14.42) \mu\text{m}$  of shell length, and the metamorphic sizes of three families which were generated through each female mated with the same male named K were generally smaller than other families, and this was mainly due to paternal effect. The metamorphosis rates were significantly different among the full-sib families. The highest metamorphic rate family was  $E_3$  with the rate of  $(94.33\% \pm 0.58\%)$ , and the lowest metamorphic rate family was  $B_2$  with the rate of  $(7.33\% \pm 2.08\%)$ . These results suggest that  $I_1$  is a family with the best early growth and development traits, and it could be used to produce high-quality seed which presents short culture cycle, and higher production in artificial selection breeding.

**Key words:** *Ruditapes philippinarum*; family; growth; development

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