

菲律宾蛤仔两道红与白斑马品系的三元杂交

闫喜武^{1*}, 张跃环¹, 孙焕强¹, 霍忠明¹, 孙欣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海洋生物中心, 山东 青岛 266071)

摘要: 为了提高菲律宾蛤仔壳色品系的生产性能, 于2009年8月, 以具有较快生长速度的两道红(R) F_2 和具有显著杂种优势的白斑马(WZ) F_2 为试验材料, 开展了两个蛤仔品系的三元杂交。其中白斑马品系生长快, 抗逆性强, 是由生长最快的珍珠白(W)和抗逆性最强的斑马蛤(Z)杂交产生的二元品系。试验由RR(♀R×♂B)、RWZ(♀R×♂WZ)、WZR(♀WZ×♂R)、WZWZ(♀WZ×♂WZ)4个试验组组成。获得了三元正反交组合RWZ、WZR, 比较了各试验组子代在不同阶段生长、存活的杂种优势并分析了壳色遗传机制。结果表明, 正反交组的单亲杂种优势具有明显的不对称性, 正交组RWZ的生长与存活性状得到了明显的改良; WZR的存活性状得到了一定程度上的改良。从生长上看, 在浮游期, RWZ、WZR的单亲杂种优势分别为+1.70、-2.92; 双亲生长优势为-0.68, 主要受到卵源与配对策略交互作用的影响, 其次为母本效应; 在稚贝培育期, RWZ的单亲生长优势为+9.71, WZR单亲生长劣势为-6.57, 总体上尚未表现出双亲生长优势, 其大小仅为+0.90。从存活上看, RWZ、WZR在浮游期的单亲存活优势分别为+4.47、+3.05; 双亲存活优势为+3.60, 主要受到配对策略的影响, 其次为母本效应; 正反交组在稚贝阶段的单亲杂种优势分别为+13.09、+7.30; 双亲存活优势为+9.00。R×R、R×WZ、WZ×R、WZ×WZ子代的壳色分别表现为两道红、两道红白斑马、两道红白斑马、白斑马; 白斑马自交后代仍然为白斑马, 未出现壳色分离, 且三元正反交的子代壳色表现一致, 说明壳色为非伴性遗传。

关键词: 菲律宾蛤仔; 两道红; 白斑马; 三元杂交

中图分类号: Q 321; S 917

文献标识码: A

三元杂交(three way crosses)是指具有优良性状两个品种(品系)的二元杂交子一代与另一个具有优良性状的品种(品系)再一次杂交, 将不同品种(品系)的优良性状综合到杂交一代上, 再结合定向选育、同质选配等技术获得综合多个优良性状的新品种^[1]。它在农作物(水稻^[2]、玉米^[3]、小麦^[4]、大豆^[5])及陆生家畜类(牛^[6]、羊^[7]、猪^[8])育种上已经得到了广泛应用, 并取得了良好效果; 而对于水产动物而言, 仅在鲤科鱼类(三杂交鲤[(荷包红鲤♀×元江鲤♂) F_1 ♀×散鳞镜鲤♂]^[9])育种上有所应用, 对于贝类, 国内

外尚无多元杂交育种的相关报道。在以往的育种途径上, 二元杂交(单杂交)已经发挥了重要的作用, 使得水产动植物(鱼^[10]、虾^[11]、贝^[12]、藻^[13]、海参^[14])的有利基因得到了充分的开发和利用, 但是可开发的潜力已越来越小。因此, 为了进一步扩大和丰富动植物的育种基因库, 引入其它物种、群体(品系)的有利基因(特别是各种抗逆基因), 创造养殖品种中前所未有的变异类型, 多元杂交及远缘杂交成为各国育种学家关注的焦点。

菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)原产亚洲太平洋和印度洋沿岸, 北起鄂霍次克海、萨哈林

收稿日期:2010-01-16 修回日期:2010-05-20

资助项目:国家“八六三”高技术研究发展计划(2006AA10A410); 国家“十一五”规划项目(2006BAD09A09); 辽宁省重大科研项目(990387); 辽宁省教育厅创新团队项目(2007T104); 辽宁省科技特派团项目(2008203005)

通讯作者:闫喜武, Tel:0411-84763026, E-mail:yanxiwu2002@163.com

岛,南到印度、印度尼西亚。20 世纪 30 年代随太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 引种被偶然从日本引到北美西海岸,20 世纪 70 - 80 年代出于商业目的又陆续被引到法国、西班牙、英国、爱尔兰、意大利、挪威、澳大利亚等地^[15]。目前蛤仔已成为北美第二重要的商业性养殖双壳类,在欧洲市场重要性也日益提高。我国北起辽宁(庄河、海洋岛、大连、长兴岛)、河北(北戴河),南至广东(海门、汕尾、上川岛、雷东、洲岛)、香港等地均有蛤仔分布。从目前掌握的资料看,我国南北沿海养殖的只有菲律宾蛤仔这一种。杂色蛤仔还只是野生种,分布面较窄,产量也十分有限^[16]。目前,我国年产菲律宾蛤仔 300 万吨左右,占我国贝类产量的约 30%,海水养殖总产量的约 20%,占世界总产量的 90% 以上^[17]。菲律宾蛤仔壳色具有较高的多态性,壳色作为质量性状可以稳定遗传,采用壳色质量性状 - 表型数量性状协同育种原理,可以培育出一系列的蛤仔新品系。自从 2002 年起,中国科学院海洋研究所培育出菲律宾蛤仔斑马蛤、海洋红、两道红等壳色新品系^[18-19];大连海洋大学通过定向选育和杂交育种先后获了定向选育系(两道红、两道白、玛瑙黑、海洋红、珍珠白、斑马蛤、波纹蛤)和二元杂交系(白斑马、红斑马、黑斑马),并分析了壳色遗传机制^[20-27]。在此基础上,利用二元杂交系中可以稳定遗传,且经济性状最优的白斑马品系与生长较快的两道红品系进行了三元杂交,这为菲律宾蛤仔的种质遗传改良及三元杂交新品系的培育奠定了理论与实践基础。

1 材料与方法

1.1 亲本来源与促熟

亲贝为 2007 年定向选育和杂交的 F_2 , 利用三段法经过 2 周年养成的壳色品系。其中,两道红品系(R):壳面具有两条红色放射条带,为 F_2 两道红品系;白斑马蛤品系(Z):左壳背部有一条深色的放射条带,且壳面具有斑马状花纹,为珍珠白 × 斑马蛤的二元正反杂交子代自繁的 F_2 。2009 年 5 月初,每种壳色品系随机筛选 800 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。期间,水温 12.8 ~ 30.6 °C,盐度 25 ~ 28, pH 7.64 ~ 8.62。

1.2 试验设计及处理

2009 年 8 月上旬,将性腺发育成熟的亲本移入室内阴干 8 h,4 h 后开始产卵排精。随机选取两道红(R)和白斑马(WZ)雌雄各 3 个,其中,选取的两道红个体的平均壳长与鲜重[雌:(20.77 ± 1.23) cm, (2.13 ± 0.21) g;雄:(20.82 ± 1.05) cm, (2.05 ± 0.19) g]与该品系亲本[(19.32 ± 2.51) cm, (1.85 ± 0.46) g]无显著差异;白斑马个体的平均壳长与鲜重[雌:(24.23 ± 1.42) cm, (2.53 ± 0.33) g;雄:(23.82 ± 1.36) cm, (2.46 ± 0.25) g]也与该品系亲本[(22.74 ± 3.02) cm, (2.35 ± 0.51) g]无显著差异,故分别用雌雄各 3 个个体来代表两品系间总体水平上的三元杂交效应。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,建立两个自交组 RR、WZWZ,两个三元正反交组 RWZ、WZR,共 4 个试验组。用 150 目筛绢网过滤杂质,转入 100 L 白桶中孵化,受精卵孵化密度为每毫升 5 ~ 6 个,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,各试验组严格隔离,防止混杂。

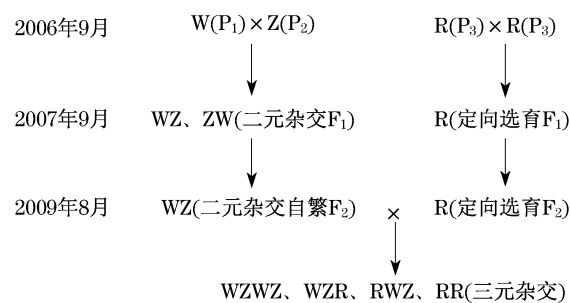


图 1 菲律宾蛤仔两道红与白斑马三元杂交的试验设计

Fig. 1 Experimental design for three way crosses between Two-band Red and White Zebra strains of Manila clam *R. philippinarum*

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,幼虫密度为每毫升 4 ~ 5 个,稚贝密度为每平方厘米 2 ~ 3 粒;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 $(0.2 \sim 0.5) \times 10^4$ 细胞/(mL · d),稚贝期投喂 $(1 \sim 2) \times 10^4$ 细胞/(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,为避免不同试验组个体

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)中移到室外生态池中吊养,每袋200~300粒。培育期间,水温为24.2~30.4℃,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,使各个试验组密度基本保持一致。各个试验组个体分桶培育,严格隔离。随稚贝生长定期更换网袋,调整密度,使各试验组密度保持一致。

1.4 测定指标

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的稚贝测量在体视显微镜下用目微尺(20~40×)进行,壳长大于3.0 mm后用游标卡尺测量。每次测量设3个平行,每个平行随机测量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^[28],所有的存活率均转化为反正弦函数Asin^[29]。用SPSS 16.0统计软件对数据进行分析处理,不同试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Zheng等^[30-31]、闫喜武等^[20,32]使用的方法,用下面公式计算杂种优势(Heterosis):

$$H\% = \frac{(RR + WZWZ) - (RWZ + WZR)}{RR + WZWZ} \times 100 \quad (1)$$

$$H_{RWZ}\% = \frac{RWZ - RR}{RR} \times 100$$

$$H_{WZR}\% = \frac{WZR - WZWZ}{WZWZ} \times 100 \quad (2)$$

式中,R、WZ分别代表两道红和白斑马品系,RR、RWZ、WZR、WZWZ分别表示各实验组的F₃在同一日龄的表型值(生长、存活)。公式(1)表示双亲杂交杂种优势;公式(2)表示双列杂交中正、反交组的单亲杂种优势。

参照Cruz等^[33]、Zhang等^[34],利用双因子分析模型检测母本效应及配对策略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, $Y_{ijk} = k$ 个重复*i*个卵源*j*种配对方式下的壳长(存活率); $u =$ 常数; $EO_i =$ 壳长(存活率)

的卵源效应(母本效应)($i = 1, 2$); $MS_j =$ 壳长(存活率)的配对效应($j = 1, 2$); $(EO \times MS)_{ij} =$ 卵源与配对策略的交互作用; $e_{ijk} =$ 随机误差($k = 1, 2, 3$)。

2 结果

2.1 幼虫生长、存活及杂种优势

由于亲本来自于同一群体,其卵径及D形幼虫大小非常一致,彼此间无显著差异,故将此时的生长优势定义为0。表1为各试验组幼虫在3、6、9日龄的平均壳长及其生长优势。3日龄时,WZWZ幼虫壳长显著大于其它3个试验组($P < 0.05, n = 30$);6日龄时,4个试验组幼虫壳长大小,彼此间无显著差异($P > 0.05, n = 30$);9日龄时,WZWZ幼虫壳长最大,与RR试验组幼虫大小差异显著($P < 0.05, n = 30$),与RWZ、WZR试验组幼虫无显著差异($P > 0.05, n = 30$)。从其生长优势上看,RWZ试验组幼虫表现出正的单亲生长优势,其平均大小为+1.70;与此相反,WZR表现出单亲生长劣势,其大小为-2.92;总体上的表现出微弱的生长劣势,其大小为-0.68。

将刚刚孵化出的D形幼虫存活率定义为100%,存活优势为0。表2为各试验组幼虫在3、6、9日龄的平均存活率及其存活优势。3日龄时,RR幼虫存活率最低为(83.17 ± 3.04)%,显著小于其它试验组($P < 0.05, n = 3$);6日龄时,4个试验组幼虫的存活能力,彼此间存活率无显著差异($P > 0.05, n = 3$);9日龄时,WZR试验组幼虫存活率最高,显著大于RR试验组($P < 0.05, n = 3$),与其它试验组无显著差异($P > 0.05, n = 3$)。从存活优势上看,RWZ、WZR存活率均在80%以上,比相应的对照组高,其单亲存活优势平均值分别为+4.47和3.05;总体上表现出微弱的存活优势,其大小为+3.60。

由此可见,浮游期杂交组幼虫总体上尚未表现出生长优势,其大小主要受卵源与配对策略的交互作用影响,其次为卵源的影响,而配对策略基本没有起到影响作用(表3);但表现出微弱的存活优势,其大小主要受配对策略的影响,其次为卵源的影响,而卵源配与对策略的交互作用几乎尚未起到影响作用(表3);三元正反交组的单亲杂种优势大小表现出明显的不对称性。

表 1 浮游期幼虫的壳长及生长优势

Tab. 1 Larval shell length (μm) and growth heterosis for the experimental groups during planktonic period

类别 item	幼虫壳长 (μm) larval shell length			生长优势平均值 average growth heterosis
	3 日龄	6 日龄	9 日龄	
RR	129.33 \pm 6.46 ^b	165.83 \pm 8.11 ^a	189.83 \pm 10.76 ^b	-
RWZ	133.13 \pm 6.02 ^b	166.50 \pm 8.76 ^a	193.17 \pm 12.13 ^{ab}	-
WZR	130.67 \pm 7.51 ^b	162.67 \pm 9.31 ^a	192.00 \pm 11.04 ^{ab}	-
WZWZ	138.83 \pm 7.29 ^a	165.17 \pm 9.34 ^a	194.67 \pm 10.94 ^a	-
H _{RWZ}	2.94	0.40	1.76	1.70
H _{WZR}	-5.88	-1.51	-1.37	-2.92
H	-1.66	-0.56	0.17	-0.68

注:RR 表示两道红品系自交组,RWZ 表示两道红 ♀ \times 白斑马 ♂ 正交组,WZR 表示两道红 ♂ \times 白斑马 ♀ 反交组,WZWZ 表示白斑马二元自交组;H_{RWZ} 及 H_{WZR} 表示单亲杂种优势,H 表示双亲杂种优势,下同。

Notes:RR means the self-fertilized group of Two-band Red strains,RWZ means the three way cross between Two-band Red ♀ \times White Zebra ♂ strains,WZR means the other three way cross between Two-band Red ♂ \times White-zebra ♀ strains,WZWZ means the self-fertilized group of White Zebra strains; H_{RWZ} and H_{WZR} means the single-heterosis,while H means the mid-parent heterosis,the following notes are the same as Tab. 1.

表 2 浮游期幼虫的存活及其存活优势

Tab. 2 Larval survival rate (%) and survival heterosis for the experimental groups during planktonic period

类别 item	幼虫存活率 (%) larval survival rate			存活优势平均值 average survival heterosis
	3 日龄	6 日龄	9 日龄	
RR	83.17 \pm 3.04 ^b	81.77 \pm 3.72 ^a	78.40 \pm 3.42 ^b	-
RWZ	87.97 \pm 2.67 ^a	83.87 \pm 5.78 ^a	82.37 \pm 4.18 ^{ab}	-
WZR	88.77 \pm 3.35 ^a	85.73 \pm 4.97 ^a	84.50 \pm 3.78 ^a	-
WZWZ	86.87 \pm 2.73 ^{ab}	84.03 \pm 3.61 ^a	80.53 \pm 3.35 ^{ab}	-
H _{RWZ}	5.77	2.57	5.06	4.47
H _{WZR}	2.19	2.02	4.93	3.05
H	3.79	2.24	4.75	3.60

表 3 卵源与配对策略对浮游期幼虫生长与存活的方差分析

Tab. 3 Analyses of variance showing egg origin (EO) and mating strategy (MS) effects for growth and survival during the planktonic period

来源 source	df	壳长 shell length		存活率 survival rate		
		M S	P	M S	P	
Day3	EO	1	0.004	0.021	0.006	0.124
	MS	1	0.002	0.159	0.013	0.031
	EO \times MS	1	0.011	0.000	0.002	0.300
Day6	EO	1	0.001	0.315	0.004	0.410
	MS	1	0.000	0.728	0.004	0.393
	EO \times MS	1	0.001	0.531	5.655	0.918
Day9	EO	1	0.001	0.141	0.004	0.200
	MS	1	2.541	0.750	0.014	0.034
	EO \times MS	1	0.001	0.021	1.849	0.928

2.2 稚贝生长、存活及杂种优势

表 4 为各试验组稚贝的平均壳长及生长优势。室内培育期间,30 日龄时,WZWZ 试验组稚

贝壳长最大,显著大于 RR 试验组 ($P < 0.05, n = 30$),与其它试验组无显著差异 ($P > 0.05, n = 30$);60 日龄时,WZWZ 试验组稚贝壳长最大,与 RWZ 试验组大小无显著差异 ($P > 0.05, n = 30$),显著大于另外两个试验组 ($P < 0.05, n = 30$)。室外育成期间,90 日龄时,仍然是 WZWZ 试验组稚贝壳长最大,显著大于 RR 试验组 ($P < 0.05, n = 30$),与其它试验组无显著差异 ($P > 0.05, n = 30$)。从其生长优势上看,RWZ 试验组表现出一定的单亲生长优势,其大小为 +9.71,而 WZR 试验组则表现出单亲生长劣势,其大小为 -6.57;总体上的几乎尚未表现出生长优势,其大小为 0.90。

表 5 为各试验组稚贝的存活率及存活优势。将刚完成变态的稚贝存活率定义为 100%,30 ~ 60 日龄,WZR 试验组稚贝存活率最高,显著大于 RR 试验组 ($P < 0.05, n = 3$),与其它两个试验组

无显著差异 ($P > 0.05, n = 3$); 90 日龄时, WZR 试验组稚贝存活率最高, 与 RWZ 试验组无显著差异 ($P > 0.05, n = 3$), 显著大于两个自交组 ($P < 0.05, n = 3$)。从存活优势上看, RWZ 试验组稚贝表现出明显的单亲存活优势, 其大小为 13.09, WZR 试验组也表现出一定的单亲存活优势, 其大小为

7.30; 总体上杂交稚贝表现出一定的存活优势, 其大小为 9.00。

由此可见, 稚贝培育期母本效应消失, 正反交组杂交稚贝的生长优势表现出明显的正负不对称性; 虽然杂交组稚贝均表现出了存活优势, 但是仍存在大小的不对称性。

表 4 稚贝的壳长及其生长优势

Tab. 4 Juvenile shell length (μm) and growth heterosis for the experimental groups

类别 item	稚贝壳长 (μm) juvenile shell length			生长优势平均值 average growth heterosis
	30 日龄	60 日龄	90 日龄	
RR	437.33 \pm 41.18 ^b	1070.83 \pm 214.97 ^b	3122.00 \pm 300.69 ^b	-
RWZ	487.33 \pm 64.43 ^a	1163.33 \pm 269.88 ^{ab}	3405.00 \pm 250.31 ^{ab}	-
WZR	472.67 \pm 73.67 ^{ab}	1135.00 \pm 217.71 ^b	3381.53 \pm 335.22 ^{ab}	-
WZWZ	495.67 \pm 76.50 ^a	1286.67 \pm 191.49 ^a	3496.67 \pm 221.96 ^a	-
H _{RWZ}	11.43	8.64	9.06	9.71
H _{WZR}	-4.64	-11.79	-3.29	-6.57
H	2.81	-2.57	2.48	0.90

表 5 稚贝的存活及其存活优势

Tab. 5 Juvenile survival rate (%) and survival heterosis for the experimental groups

类别 item	稚贝存活率 (%) juvenile survival rate			生长优势平均值 average growth heterosis
	30 日龄	60 日龄	90 日龄	
RR	87.59 \pm 4.65 ^b	77.10 \pm 3.57 ^b	71.09 \pm 4.65 ^c	-
RWZ	94.49 \pm 3.50 ^{ab}	87.36 \pm 5.90 ^a	83.93 \pm 3.88 ^{ab}	-
WZR	97.45 \pm 3.73 ^a	91.71 \pm 3.20 ^a	88.81 \pm 3.64 ^a	-
WZWZ	94.83 \pm 4.05 ^{ab}	86.18 \pm 2.54 ^{ab}	78.79 \pm 2.89 ^{bc}	-
H _{RWZ}	7.88	13.32	18.06	13.09
H _{WZR}	2.76	6.41	12.72	7.30
H	4.96	8.82	13.23	9.00

2.3 子代的壳色表现

两道红自交组后代仍为两道红(壳面上具有两条红色的放射条带), 白斑马后代仍为白斑马(左壳背面有一条深色放射条带), 说明两道红与白斑马品系的壳色可以 100% 稳定遗传。RWZ 杂交组子代全部表现为两道红白斑马, 即原来的白斑马的壳面上增加了两条红色的鲜艳的放射条带, WZR 杂交组子代也为两道红白斑马, 与 RWZ 杂交组相同(表 6); 进一步说明杂交子代的壳色表现与性别无关, 为非伴性遗传。

表 6 杂交、自交子代的壳色表现

Tab. 6 Shell color between hybrid and self-fertilized generations

亲本 parents	R δ	WZ δ
R φ	RR (两道红)	RWZ (两道红白斑马)
WZ φ	WZR (两道红白斑马)	WZWZ (白斑马)

3 讨论

3.1 母本效应

母本效应是指子代的某些外貌特征、生理性状和生产性能受其母本直接影响的一种生理现象; 其表现不仅受其自身遗传基础的影响, 还与其生活环境有着十分密切的关系。在动物早期的生长和存活等方面, 母本效应是一个非常重要的影响因素^[34]。个体在其生活史的早期阶段, 比较容易受到母本效应的影响, 而后母本效应减弱或消失, 杂种优势得到充分表达^[35]。母本效应包括细胞质遗传、母本的营养环境等多个方面。本试验中, 正反交幼虫的生长与存活主要受到母本效应与配对策略交互作用、配对策略影响, 其次为母本效应的影响。造成这种原因的可能是由于亲本来自于同一群体, 养殖与促熟环境条件一致, 故亲本

的营养积累几乎无差异;各壳色亲本的卵径大小一致,其卵子在显微镜下颜色色度一致,说明不存在卵内营养物质分布不均的情况^[20],这与不同壳色菲律宾蛤仔品系间的杂交结果一致;但不同于牡蛎、扇贝、鲍鱼等的种间、群体间杂交。在种间或同种的不同群体间杂交时,杂交个体在不同环境下的遗传变异程度很难确定^[36],由于不同种间、群体间个体的营养积累程度、卵径大小、携带的卵内营养物质多少均不同,故在胚胎发育早期表现出显著的母本效应^[20,35]。

3.2 杂种优势的不对称性

杂种优势是一种普遍的生物学现象,是指两个或者两个以上不同遗传类型的物种、品种(品系)或自交系杂交产生的杂种子一代,在生长势、生活力、产量等方面优于双亲的现象^[12]。本试验中,按照杂种优势的类型,划分为单亲杂种优势与双亲杂种优势;按照生产性能表现类型,划分为生长优势与存活优势。从生长优势上看,正反交组表现出明显的正负不对称性;从存活优势上看,正反交组表现出大小不对称性;而且存活优势大于生长优势,这与太平洋牡蛎^[37]、海湾扇贝^[29-30]、栉孔扇贝^[38]的杂交结果相似。在杂交育种中,正反交子代的杂种优势不对称现象是广泛存在的。造成这种现象的原因一方面可能是本研究中的两道红品系系蛤仔壳色选育系种 F₂,具有较快的生长速度,但存活力较差;白斑马为二元杂交品系,经过一代的自繁,仍保持着生长、存活优势,为所有壳色选育系及杂交系中表型性状最优品系,亲本间的这种遗传差异对于三元杂交的杂种优势不对称性可能有一定的影响^[25];另一方面可能是由于杂交群体间的基因频率差异,如果用于杂交的群体基因频率没有差异,那么就不会产生杂种优势,当一个基因在一个群体中固定,另一个基因在另一个群体中固定时,杂种优势则达到峰值^[33]。Cockerham^[39]指出,对于植物育种而言,如果考虑加性效应,二元杂交效应可能会超过多元杂交效应两倍以上;如果考虑显性效应及上位效应,二元杂交的杂种优势也很有可能会超过多元杂交效应。本研究中,三元杂交的生长优势不如白斑马二元杂交自繁效应,主要是因为二元杂交亲本两道红与白斑马品系间的差异不足够大,所以导致三元杂交效应在生长优势上不如二元杂交,这与大麦育种上的多元杂交效应分析相吻合^[40]。故

应用两个群体(品系)进行杂交是改良现有养殖种类的一个有效途径。在菲律宾蛤仔遗传育种的研究中,应有目的、有计划地进行品系间的多元杂交;同时,应该注意观察正反交组合的差异性并分析多元杂交效应,再辅助以分子标记等手段,以达到对品种进行遗传改良的预期目的。

3.3 亲本与子代的壳色表现

如果将菲律宾蛤仔的壳色定义为放射条带、壳面花纹、背景颜色、壳面斑块的话,本文主要研究了放射条带与壳面花纹间杂交的效果^[20,23]。两道红自交后代 100% 仍为两道红,说明放射条带可以稳定的遗传给后代^[18-19];白斑马为珍珠白与斑马蛤的杂交后代,但是作为二元杂交的白斑马子二代并未发生壳色分离现象,这主要是由于壳面花纹与背景颜色不是两对相对的表型性状,而且控制这两对性状的基因可能发生了连锁所致,且位于非同源染色体上。如果是这样的话,子代就不会发生分离,这也极有可能是造成蛤仔高度、复杂壳色多态性的主要原因。在本研究中,两道红的放射条带可以与壳面花纹叠加,而且杂交子代完全保留原来白斑马的特征,即左壳背部仍留有一条深色的放射条带;正反交子代壳色一致,进一步说明蛤仔的壳色遗传为非伴性遗传,这一点与闫喜武等^[20]研究不同壳色品系菲律宾蛤仔双列杂交的结果一致。放射条带与壳面花纹的叠加,说明了在蛤仔的壳色遗传机制上,壳面花纹、放射条带的表达为显性表达,占主导地位,这一点与以往的研究结果一致^[20,23,41]。这里,需要进一步研究的是三元杂交子代两道红白斑马自繁是否会发生壳色分离现象。利用壳色这一质量性状,可以作为杂交子代的遗传标记,这样即可以准确识别子代是否为杂交子代,又能大大节约用分子手段来识别杂交子代的成本。

参考文献:

- [1] 楼允东. 鱼类育种学[M]. 北京:中国农业出版社, 1999:45.
- [2] Devanand P S, Rangaswamy M, Ikehashi H. Identification of hybrid sterility gene loci in two cytoplasmic male sterile lines in rice [J]. Crop Science, 2000, 40(3): 640-646.
- [3] Ininda J, Njuguna J G M, Gichuru L, et al. Performance of Three-way cross hybrids for agronomic traits and resistance to maize streak virus

- disease in Kenya [J]. African Crop Science Journal, 2006, 14(4): 287-296.
- [4] Reynolds M, Manes Y, Izanloo A, et al. Phenotyping approaches for physiological breeding and gene discovery in wheat [J]. Annals of Applied Biology an International Journal of the AAB, 2009, 155(3): 309-320.
- [5] Ortiz-Perez E, Cianzio S R, Wiley H, et al. Insect-mediated cross-pollination in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]: I. Agronomic performance [J]. Field Crops Research, 2007, 101(3): 259-268.
- [6] 陈涛, 杨光勇. 三元杂交母牛回交试验研究 [J]. 中国畜牧兽医, 2008, 35(8): 141-142.
- [7] 贾存灵, 魏泽辉, 孔祥浩, 等. 萨陶寒三元杂交肉羊主要经济性状表型相关及回归分析 [J]. 湖北农业科学, 2008, 47(2): 203-206.
- [8] 李琼华, 覃小荣, 殷进炎. 陆川猪二元、三元杂交组合对提高商品猪生产性能的研究 [J]. 广西畜牧兽医, 2008, 24(5): 259-261.
- [9] 马仲波, 唐钢胜, 张峰, 等. 鲤 [(荷包红鲤 ♀ × 元江鲤 ♂) F₁ ♀ × 散鳞镜鲤 ♂] 三杂交遗传改良与利用的研究 [J]. 淡水渔业, 1984(6): 25-27.
- [10] 楼允东, 李小勤. 中国鱼类远缘杂交研究及其在水产养殖上的应用 [J]. 中国水产科学, 2006, 13(1): 151-158.
- [11] 姚雪梅, 黄勃, 赖秋明, 等. 凡纳滨对虾自交系与杂交系早期生长和存活比较 [J]. 水产学报, 2006, 30(6): 791-795.
- [12] 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.
- [13] 陈昌平, 徐燕, 纪德华, 等. 坛子菜品系间杂交藻体选育及经济性状的初步研究 [J]. 水产学报, 2007, 31(1): 97-104.
- [14] 许芳. 青岛杂交参新种集 26 种海参品质 [J]. 水产科技情报, 2009(3): 155-155.
- [15] Gosling E. *Bivalve molluscs*, biology, ecology and culture [M]. Oxford: Blackwell Publishing, 2002.
- [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] 中国渔业协会. 中国 2008 年渔业年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2009: 321.
- [18] 闫喜武. 菲律宾蛤仔养殖生物学、养殖技术和品种选育 [D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2005.
- [19] 闫喜武, 张国范, 杨凤, 等. 菲律宾蛤仔莆田群体两个壳色品系生长发育的比较 [J]. 大连水产学院学报, 2005, 20(4): 266-269.
- [20] 闫喜武, 张跃环, 霍忠明, 等. 不同壳色菲律宾蛤仔品系间的双列杂交 [J]. 水产学报, 2008, 32(6): 864-875.
- [21] 闫喜武, 张跃环, 杨凤, 等. 菲律宾蛤仔选育系的制种方法: 中国, CN101288387 [P]. 20081001.
- [22] 闫喜武, 张跃环, 杨凤, 等. 菲律宾蛤仔杂交系的制种方法: 中国, CN101292635 [P]. 20081001.
- [23] 张跃环. 菲律宾蛤仔壳色、壳型的品系选育及其遗传机制研究 [D]. 大连: 大连水产学院, 2008.
- [24] 张跃环, 闫喜武, 张澎, 等. 贝类壳色多态的研究概况及展望 [J]. 水产科学, 2008, 27(12): 681-684.
- [25] 张跃环, 闫喜武, 姚托, 等. 菲律宾蛤仔 2 个壳色品系群体杂交的研究 [J]. 南方水产, 2008, 4(3): 27-32.
- [26] 张跃环, 闫喜武, 霍忠明, 等. 菲律宾蛤仔 4 个斑马蛤品系 F₂ 的表型性状研究 [R]. 南昌: 第十二次贝类学会分会, 2009.
- [27] Neter J, Wasserman W, Kutner M. Applied linear statistical models [M] // 2nd Edition. Irwin, 1985: 1127.
- [28] Rohlf F J, Sokal R R. Statistical tables [M]. New York: W. H. Freeman and Company, 1981: 219.
- [29] 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.
- [30] 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.
- [31] 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.
- [32] 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.
- [33] 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.
- [34] 张国范, 郑怀平. 海湾扇贝养殖遗传学 [M]. 北京: 科学出版社, 2009: 89.
- [35] Solemdal P. Maternal effects—a link between the past and the future [J]. Journal of Sea Research, 1997, 37(3-4): 213-227.
- [36] Laugen A T, Kruuk L E B, Laurila A. Quantitative genetics of larval life-history traits in *Rana temporaria*

- in different environmental conditions [J]. *Genetical Research*, 2005, 86(3): 161–170.
- [37] Hedgecock D, McGoidrick D J, Bayne B L. Hybrid vigor in Pacific oyster: an experimental approach using crosses among inbred lines [J]. *Aquaculture*, 1995, 137: 285–298.
- [38] 刘小林, 常亚青, 相建海, 等. 不同种群栉孔扇贝杂交效果的初步研究 [J]. *海洋学报*, 2003, 25(1): 93–99.
- [39] Cockerham C C. Implications of genetic variances in a hybrid breeding program [J]. *Crop Science*, 1961, 1(1): 47–52.
- [40] Arnel R H. History, contribution, and future of quantitative genetics in plant breeding: lessons from maize [J]. *Crop Science*, 2007, 47(S3): 4–19.
- [41] Peignon J M, Geraed A, Naciri Y, *et al.* Analysis of shell colour determinism in the Manila clam *Ruditapes philippinarum* [J]. *Aquatic Living Resources*, 1995, 8: 181–189.

Three way crosses between two-band red and white zebra strains of Manila clam, *Ruditapes philippinarum*

YAN Xi-wu^{1*}, ZHANG Yue-huan¹, SUN Huan-qiang¹, HUO Zhong-ming¹,
SUN Xin¹, YANG Feng¹, ZHANG Guo-fan²

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

2. *The Center of Marine Biology, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)*

Abstract: In order to improve the phenotypic character of Manila clam *Ruditapes philippinarum*, three way crosses between Two-band Red (R; fast growth) and White Zebra strains (WZ; obvious heterosis) were conducted in August 2009. The generation F₂ of White Zebra strain was from two way crosses between Pearl White and Zebra strains. The experiments consisted of two self-fertilized groups (RR, WZWZ) and two hybrid groups (RWZ, WZR). Then the growth, survival, heterosis and shell color genetic mechanism were investigated in the study. The results showed that the single-parental heterosis was asymmetrical between two reciprocal crosses, and the growth and survival were clearly improved in RWZ group, whereas only survival heterosis was observed in another group. Considering growth, the value of mid-parental heterosis was -0.68, and that of single-parental heterosis was +1.70 for RWZ, and -2.92 for WZR, respectively. It was mainly affected by the interaction between egg origin and mating strategy, next is maternal effect during planktonic stage. The value of mid-parental heterosis was only +0.90, and that of single-parental heterosis was +9.71 for RWZ, and -6.57 for WZR during juvenile stage. Considering survival, the value of mid-parental heterosis was +3.60, and that of single-parental heterosis was +4.47 for RWZ, and +3.05 for WZR, respectively. It was mainly affected by the mating strategy, next that is maternal effect during planktonic stage. The value of mid-parental heterosis was +9.00, and that of single-parental heterosis was +13.09 for RWZ, and +7.30 for WZR during juvenile stage. The shell color of generation for R × R, R × WZ, WZ × R, WZ × WZ were two band red, two band red with white zebra, two band red with white zebra and white zebra, respectively. The generation of white zebra was still white zebra on the outer shell color, that is, no shell color separated for two way hybrids. These results indicated that coloring was linked to sex and was not of sex-linked inheritance.

Key words: *Ruditapes philippinarum*; two-band red strains; white zebra strains; three way crosses

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