

养殖牡蛎种间杂交的研究概况与最新进展

张跃环^{1,2}, 王昭萍^{1*}, 喻子牛², 闫喜武³

(1. 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;

2. 中国科学院南海海洋研究所, 热带海洋生物资源与生态重点实验室, 广东 广州 510301;

3. 大连海洋大学水产与生命学院, 辽宁省贝类良种繁育工程研究技术中心, 辽宁 大连 116023)

摘要: 贝类的远缘杂交起源于牡蛎, 至今已经有130多年研究历史, 其研究主要集中在经济价值较高的巨蛎属牡蛎的种间杂交上。作者在分析同类研究的基础上, 结合近年来的研究成果, 综述了国内外牡蛎种间杂交研究成果及其存在问题。具体内容包括种间配子兼容性分析、表型性状评估、杂种遗传鉴定、杂种优势估算、杂交不育格局、异源多倍体诱导及种间回交等几方面的研究进展和要点, 并展望了牡蛎种间杂交的应用前景, 以期对牡蛎种间杂交及遗传分析、优质苗种繁育及育种等方面研究和应用提供科学依据和实践参考。

关键词: 牡蛎; 种间杂交; 表型性状; 杂种优势; 遗传鉴定; 种间回交

中图分类号: Q 321; S 968.3

文献标志码: A

牡蛎属于软体动物门、双壳纲、珍珠贝目、牡蛎科, 为全球性分布类群; 牡蛎肉味鲜美、富含多种人体必需氨基酸, 是一种重要的海洋生物资源, 更是世界上最重要的海水养殖经济类群之一, 其养殖总产量和单位面积产量在所有的贝类养殖种类中位居首位^[1]。我国是牡蛎养殖大国, 2009—2012年产量均在350~380万t, 占养殖贝类产量的35%, 海水养殖总产量的25%^[2]。与其他养殖种类一样, 在牡蛎的养殖过程中, 也常出现抗病抗逆性差、个体小型化、单位产量降低等不良现象(在我国比较明显); 对此, 除了改良环境条件和控制人为因素(如养殖密度过高等), 培育高产、抗逆、优质的牡蛎新品种是解决以上问题的重要途径之一。

种间杂交是动、植物基本育种手段之一, 特点是它可以显著扩大动植物的基因库, 促进种间交流, 引入异种有利基因, 创造出新的变异类型, 甚至会合成新的物种^[3]。贝类的远缘杂交起源于牡蛎, 早在1882年, Bouchon-Brandely^[4]就开展了

葡萄牙牡蛎(*Crassostrea angulata*)与欧洲牡蛎(*C. edulis*)的种间杂交。1950年, Davis^[5]研究了太平洋牡蛎(*C. gigas*)×美洲牡蛎(*C. virginica*)及美洲牡蛎×奥林匹亚牡蛎(*C. lurida*)的种间杂交。随后, 学者们陆续开展了许多牡蛎种间杂交实验和研究。Gaffney等^[6]在1993年对巨蛎属牡蛎的种间杂交进行了总结分析后认为, 在此之前的牡蛎种间杂交, 由于未进行遗传鉴定, 只通过表型性状观测确认杂交成功与否, 其可信度令人怀疑。目前, 已证实经过遗传鉴定的牡蛎种间杂交组合如下: 长牡蛎×近江牡蛎(*C. rivularis*)^[7]、长牡蛎×美洲牡蛎^[7]、长牡蛎(*C. gigas*)×葡萄牙牡蛎^[8-9]、长牡蛎×熊本牡蛎(*C. sikamea*)^[10-12]、近江牡蛎×美洲牡蛎^[7]、近江牡蛎×熊本牡蛎^[13]、香港牡蛎(*C. hongkongensis*)×长牡蛎^[14]、香港牡蛎×近江牡蛎^[15]等。这些杂交组合中, 除了长牡蛎与葡萄牙牡蛎可以成功地获得种间杂种, 其他的种间杂交很少能获得种间杂交稚贝。Wang等^[16]在2010年又将太平洋牡

收稿日期: 2013-11-18 修回日期: 2014-01-27

资助项目: 国家自然科学基金(31172403, 31272658); 国家农业产业技术体系建设专项(CARS-48); 中国科学院南海海洋研究所青年前沿科技创新(SQ201214, SQ201301); 近江牡蛎健康苗种规模化培育与良种选育关键技术研究(2012A020200004); 贝类产业推进关键技术研究示范(2010B020201014)

通信作者: 王昭萍, E-mail: zpwang@ouc.edu.cn

蛎与葡萄牙牡蛎重新划分为两个亚种,使得原来报道的这两个种间杂交变成了亚种间杂交。上述研究表明,巨蛎属牡蛎的远缘杂交虽然报道较多,但真正成功的较少,报道主要集中在早期表型性

状的研究上(表 1),如对种间配子兼容性分析、杂交幼虫早期表型性状,以及其杂交胚胎或幼虫为材料的细胞学、分子生物学等基础研究。

表 1 牡蛎远缘杂交研究的主要结果
Tab.1 Major results of distant hybridization for oyster

杂交组合 crosses	主要结果 major results	参考文献 references	备注 note
葡萄牙牡蛎 <i>C. angulata</i> × 欧洲牡蛎 <i>C. edulis</i>	双向均不能受精	[4]	欧洲牡蛎(胎生型)实际为属间杂交
长牡蛎 <i>C. gigas</i> × 美洲牡蛎 <i>C. virginica</i>	可以双向受精,但正常发育至直线铰合幼虫(D形幼虫)。 获得的 D 形幼虫在 6-10 日龄期间出现大量死亡,没有获得稚贝。	[17]	
长牡蛎 <i>C. gigas</i> × 美洲牡蛎 <i>C. virginica</i>	单向受精,幼虫发育停滞,不能完成变态	[18-22]	美洲牡蛎分类有变化
美洲牡蛎 × 奥林匹亚牡蛎 <i>C. lurida</i>	双向均不能受精	[5]	奥林匹亚牡蛎(胎生型),实际为属间杂交
长牡蛎 <i>C. gigas</i> × 葡萄牙牡蛎 <i>C. angulata</i>	双向受精,可以获得幼虫及稚贝,杂交子完全可育	[8-9,18,23-25]	这 2 个种类现在被重新划分为 1 个种下的 2 个亚种,不再属于真正种间杂交
长牡蛎 <i>C. gigas</i> × 熊本牡蛎 <i>C. sikamea</i>	单向受精,可以产生存活幼虫及稚贝	[10-12,24]	藤爽爽等 ^[12] 发现可以双向受精
长牡蛎 <i>C. gigas</i> × 近江牡蛎 <i>C. rivularis</i>	有限的受精率,可以产生存活稚贝	[21,24,26]	实验中近江牡蛎中含有香港牡蛎
长牡蛎 <i>C. gigas</i> × 近江牡蛎 <i>C. ariakensis</i>	双向受精,AG 受精率较低,可以获得幼虫及稚贝;GA 可以获得生长、存活性状的单亲杂种优势	[27-29]*	实验中近江牡蛎使用的是“红肉”,即 <i>C. ariakensis</i>
长牡蛎 <i>C. gigas</i> × 澳大利亚岩牡蛎 <i>C. rhizophorae</i>	双向较高受精率,但是没有幼虫存活至变态	[30]	
长牡蛎 <i>C. gigas</i> × 易巨迁牡蛎 <i>C. iredalei</i>	有限受精率,幼虫早期夭折	[30]	
长牡蛎 <i>C. gigas</i> × 棘刺牡蛎 <i>Saccostrea echinata</i>	单向受精(GE),反方向较高受精率,可以获得幼虫	[30-31]	
长牡蛎 <i>C. gigas</i> × 悉尼岩牡蛎 <i>C. commerialis</i>	双向不能受精	[23]	
长牡蛎 <i>C. gigas</i> × 僧帽牡蛎 <i>S. cucullut</i>	双向不能受精	[30]	
长牡蛎 <i>C. gigas</i> × 日本岩牡蛎 <i>C. nippona</i>	双向受精,NG 胚胎发育发育延迟,可以获得幼虫及稚贝	[12]*	
近江牡蛎 <i>C. ariakensis</i> × 熊本牡蛎 <i>C. sikamea</i>	单向受精,可以获得幼虫及稚贝	[17]*	
近江牡蛎 <i>C. ariakensis</i> × 葡萄牙牡蛎 <i>C. angulata</i>	双向受精,可以获得幼虫及稚贝	Yao 等(in press)	
香港牡蛎 <i>C. hongkongensis</i> × 长牡蛎 <i>C. gigas</i>	单向受精,可以获得幼虫及稚贝,杂交稚贝生长较慢,抗逆性增强,杂种高度不育	[32]*	
香港牡蛎 <i>C. hongkongensis</i> × 葡萄牙牡蛎 <i>C. angulata</i>	单向受精,可以获得幼虫及稚贝,杂交稚贝生长性状随环境而改变,抗逆性增强,杂交子高度不育	[33]*	
香港牡蛎 <i>C. hongkongensis</i> × 近江牡蛎 <i>C. ariakensis</i>	单向受精,可以获得幼虫及稚贝,杂种完全可育,表型性状随环境变化	[15]*	

注:“*”表示杂交稚贝已经过遗传鉴定,为真正意义上的两性融合杂种

Notes:“*” indicates that the hybrids have been identified by the molecular method

1 常见牡蛎种类

由于牡蛎的贝壳形态可塑性较大,常常很难从外观上对其进行准确的分类,所以分类学家们对于牡蛎的分类一直以来都存在着争议,有些种类被重新分开,有些种类被重新合并,导致了以往的种间杂交结果随着分类地位的演变而逐渐受到后来研究者的质疑。在我国,最主要分布着7种巨蛎属牡蛎:①长牡蛎,又叫太平洋牡蛎,在2008年Wang等^[34]将我国北方原来的大连湾牡蛎及褶牡蛎(*C. plicatula*)划入该种;它主要分布在我国北方辽宁及山东等长江以北的地区,喜好高盐低温环境,年产量在80万t左右;②葡萄牙牡蛎,又称为福建牡蛎,在2010年Wang等^[16]将其定义为长牡蛎的亚种,主要分布在我国长江以南的地区,主产区在福建省,喜好高温、高盐环境,年产量在150万t左右;③香港巨牡蛎,最近被修订为香港牡蛎,俗称“白蚝”,是2003年从近江牡蛎中重新鉴定出来的种类^[35-38],主要分布在我国广东、广西两省,喜好高温、低盐环境,是我国南方土著种,年产量在130万t左右^[39];④近江牡蛎,又称为“红蚝”,也是在2003年从近江牡蛎中重新鉴定出来的种类,即为现今的近江牡蛎,分布在我国南北沿海,喜好低盐环境,年产量在10万t左右^[35-39];⑤熊本牡蛎,主产于日本、韩国,在我国分布于江苏南通以南,主要包括浙江、福建、广东、广西、海南等地,浙江为核心分布区;喜好高温、中高盐环境,均为野生状态,基本无养殖^[40];⑥日本岩牡蛎(*C. nippona*),又称夏牡蛎,主要分布在日本北海道以南及韩国东海岸至济州岛,在日本很受欢迎;在我国浙江舟山有零星分布,喜好高盐中低温环境^[41];⑦易巨迁牡蛎,主要分布在菲律宾群岛及马来群岛,是菲律宾主要牡蛎经济种^[42];在我国南方有零星分布,喜好高温低盐环境。以上7种巨蛎属牡蛎中,前3种是我国牡蛎的主要经济种,而后4种均为野生种,尚未形成产量,尤其是后2种仅有零星分布。在世界范围内,牡蛎经济种还有巨蛎属的美洲牡蛎、牡蛎属的欧洲牡蛎、小蛎属僧帽牡蛎(*Saccostrea cuculata*)、悉尼岩牡蛎等。

2 杂交配子兼容性

种间配子不兼容往往会导致种间产生生殖隔离(reproduction isolation)。生殖隔离是指由于各方面的原因,使亲缘关系较近的物种之间在自然条件下不能交配繁殖或生殖细胞不能相互受精、发育,即使能交配或受精也不能产生可存活后代或不能产生可育性后代的隔离机制。生殖隔离如果发生在受精以前,就称为受精前隔离,包括地理隔离、生态隔离、季节隔离、生理隔离、形态隔离和行为隔离等;若隔离发生在受精以后,就称为受精后隔离,其中包括杂种不存活、杂种不育和杂种衰败等^[43]。在自然界中,种间配子不兼容是保证物种单一性的一种主要手段。对于海洋无脊椎动物而言,分布在重叠区域内不同物种间的生殖隔离大部分是由于种间配子不兼容导致的^[44]。在此,学者们先后从受精水平上研究了长牡蛎×熊本牡蛎^[10]、长牡蛎×美洲牡蛎^[45]、近江牡蛎×熊本牡蛎^[11,13]、香港牡蛎×长牡蛎^[46]、贻贝(*Mytilus edulis*)×盖勒贻贝(*M. trossulus*)^[47]等种间配子不兼容格局,研究、解释受精前生殖隔离机制。

对于巨蛎属牡蛎而言,有些种间杂交表现为单向受精,现有研究已经查明:在牡蛎种间精卵识别的过程中,精子结合素蛋白是决定能否受精的一个关键蛋白,其基因进化速度较快,导致了不对称受精现象的发生^[48-49]。这种单向受精机制引发了不对称的受精前生殖隔离,使种间配子兼容性效应减半。在以往的牡蛎配子兼容性分析中,单向受精比较常见,人们先后发现了熊本牡蛎(♀)×长牡蛎(♂)^[10-12]、熊本牡蛎(♀)×近江牡蛎(♂)^[13]、近江牡蛎(♀)×美洲牡蛎(♂)^[27]、香港牡蛎(♀)×长牡蛎(♂)^[14]、香港牡蛎(♀)×葡萄牙牡蛎(♂)^[30]、香港牡蛎(♀)×近江牡蛎(♂)^[15]等杂交组合具有单向受精现象。而双向受精的组合则有长牡蛎×近江牡蛎^[6-7,27]、长牡蛎×葡萄牙牡蛎^[8-9,18,23-25]、长牡蛎×澳大利亚岩牡蛎(*C. rhizophorae*)^[6]等。表2列出了我国最重要5种巨蛎属牡蛎经济种的种间杂交受精方向性及其兼容性信息。

表 2 我国 5 种巨蛎属牡蛎受精方向性及其兼容性
 Tab. 2 The fertilization direction and compatibility among five oyster species in China

♀ \ δ	长牡蛎 <i>C. gigas</i>	葡萄牙牡蛎 <i>C. angulata</i>	熊本牡蛎 <i>C. sikamea</i>	香港牡蛎 <i>C. hongkongensis</i>	近江牡蛎 <i>C. ariakensis</i>
长牡蛎	√	√	×	×	√
葡萄牙牡蛎	√	√	×	×	√
熊本牡蛎	√	√	√	√	√
香港牡蛎	√	√	√	√	√
近江牡蛎	√	√	×	×	√

注:“√”表示可以受精,“×”表示不可受精

Notes:“√” and “×” indicate fertilization and no fertilization, respectively

3 杂种的表型性状

3.1 生长

种间杂交常常伴随着染色体组不兼容或者兼容性比较差,往往会导致杂种生长缓慢、甚至早期夭折。对于海洋双壳贝类而言,种间杂交具有明显生长性状改良的报道不多,仅见于大西洋浪蛤(*Spisula solidissima*) × 侏儒蛤(*Mulinia lateralis*)^[50]及海湾扇贝(*A. irradians irradians*) × 紫扇贝(*A. purpuratus*)^[51]等杂交组合。在牡蛎的远缘杂交中,一般情况下,幼虫表型性状在前 2 周会表现出强烈的母本效应。在众多的牡蛎种间杂交中,大多数研究集中在幼虫的生长情况上,如太平洋牡蛎 × 近江牡蛎^[7,26-28]、熊本牡蛎 × 近江牡蛎^[13]、熊本牡蛎 × 长牡蛎^[12]、近江牡蛎 × 美洲牡蛎^[6-7]等组合。由于种间杂种获得较少,所以对其稚贝的生长报道很少,仅限于 Xu 等^[13]对熊本牡蛎 × 近江牡蛎的稚贝生长研究,藤爽爽等^[12]对长牡蛎 × 熊本牡蛎的杂种的生长情况报道,并且发现杂种生长情况均不如自交组,表现出生长缓慢的特点。Zhang 等^[32]在研究香港牡蛎与长牡蛎种间杂交中,也发现杂种无论幼虫还是稚贝,直到繁殖期,其生长劣势明显;但是 Zhang 等^[33]在研究香港牡蛎与葡萄牙牡蛎种间杂交时发现,杂种幼虫生长缓慢,但是一旦变成稚贝以后,在不同环境条件下培育生长状况不同,在适宜的条件下,会表现出快速生长的特征,在不利于生长的条件下,表现出生长劣势,这表明生长性状与环境互作具有一定的相关性。Huo 等^[15]发现香港牡蛎与近江牡蛎杂种在我国北方沿海具有杂种优势,但由于北方环境均不是两种牡蛎生存最佳环境,其结果有待于在华南沿海展开进一步的论证。

3.2 存活

种间杂种的存活能力实质上并非是遗传上的完全适应,它是一个进化遗传变异的多向性结果^[52]。对于双壳贝类种间杂种存活力的报道,大多是幼虫存活率不高,在变态之前就夭折,或者是获得很少量的稚贝;在此之后,全部死亡^[6,22,30]。牡蛎的早期种间杂交研究结果表明:大多数杂交幼虫具有存活率低、幼虫不变态等特点,仅有很少一部分个体可以完成变态形成稚贝。尤其是在 1993 年, Gaffney 等^[6]在 Aquaculture 上发表了一篇不可存活的牡蛎种间杂种一文,成了后来大多数学者不再进行牡蛎远缘杂交研究的直接原因。事实上,经过作者近年来的对牡蛎远缘杂交研究,发现绝大部分的种间杂种可以存活、可以变态、大部分可育、个别不育。经过仔细分析,认为在不利于幼虫及稚贝养成的条件下,会出现幼虫存活率低、幼虫不变态等不良症状,这一点已经在先前报道的巨蛎属牡蛎种间杂交中得到了验证^[5-8,21,22,25]。但是,在适合于幼虫存活的条件,种间杂种可以表现出良好的存活力,而且一旦形成稚贝以后,具有很强的抗逆能力。张跃环^[14]发现同一个杂交组合在不同环境条件下实验结果不同,尤其是在存活力上表现不同;例如在大连、青岛、深圳研究香港牡蛎与长牡蛎的种间杂交时,在大连可以获得大量的幼虫及稚贝,而且杂种表现出很强的抗逆性;但在青岛仅能获得少量稚贝;在深圳则根本无法获得稚贝。出现这种情况的原因可能是在大连进行的研究其局部环境更适应于杂交幼虫存活及变态。Zhang 等^[32]还发现香港牡蛎与长牡蛎种间杂种具有抵抗冬季严寒、夏季炎热的特点,在稚贝越冬期及繁殖期表现出较高的存活力。作者认为,牡蛎种间杂交,只要能获得正常 D 形幼虫,就应该可以获得杂种稚贝,

而能否获得大量稚贝则取决于实验环境条件及幼虫培育技术水平。

4 杂种的遗传鉴定

杂种的遗传鉴定是非常有必要的,因为在双壳贝类的远缘杂交中,经常会出现雌核发育、天然多倍体、雄核发育等现象的发生;而且会有精子污染、培育过程中的幼虫污染等现象,所以单以表型性状作为杂交成功标志,是不准确的,而且也令人怀疑其结果的可信度^[6-7]。Allen等^[27]对长牡蛎及近江牡蛎杂种进行了遗传鉴定,发现其中有个别个体并非真正的杂种,有可能出现了雌核发育或者培育过程中的混淆。之后,Que等^[28]在利用四倍体长牡蛎与近江牡蛎制作异源三倍体的时候,也进行了遗传鉴定,发现有很少一部分个体并非异源三倍体。Xu等^[13]采用ITS₁对近江牡蛎及熊本牡蛎的种间杂种进行的遗传鉴定发现,杂种为真正的杂种。所以,在今后种间杂交研究中,遗传及倍性鉴定必不可少。第一、可以检测杂种的真伪;第二、可以判断这个杂交属于哪种类型,是真正意义上的两性融合,还是雌核或者雄核发育;第三、查看是否有个体出现了功能性的多倍体。

鉴定出种间杂种的方法有很多,主要包括分子生物学手段及细胞学方法。分子生物学中比较常用的有RFLP、AFLP、SSR、SNP等及复合PCR法,还有利用线粒体基因5S、16S、COI或核基因18S、28S、ITS等手段。细胞学方法包括最直接的染色体荧光标记、荧光原位杂交、Fish杂交及特异位点染色体探针法及DNA含量检测等。目前,Wang等^[53-54]开发了适用于我国5个主要牡蛎经济种快速检测的特异性标记,即复合COI及其ITS。利用该方法,COI可以有效确定杂种的母本来源,ITS₂可以确定的杂种具有2条与亲本一致的条带,从而确认杂种包含两亲本的遗传物质。这种鉴定方法已经在牡蛎^[13,27-28,32-33]、蛤^[50]、扇贝^[51]上等到了验证,具有简便、快速、准确性高的特点。

5 杂种优势

无论是种内杂交还是种间杂交,育种学家们最关心的莫过于杂交是否会产生积极的杂种优势。由于贝类远缘杂交过程中,经常会出现配

子不兼容、幼虫停滞生长、幼虫不变态等情况,大多数报道的杂种均为表现杂种劣势,即出现了远交衰退现象。杂种优势的报道仅限于大西洋浪蛤×侏儒蛤^[50]及海湾扇贝×紫扇贝^[51]等杂交组合。至于牡蛎方面,目前为止的报道均为杂种劣势或者没有产生杂种优势。Allen等^[27]报道的太平洋牡蛎与近江牡蛎的杂交中,从其幼虫生长上看,没有杂种优势,从其存活力上看,具有显著的杂种劣势;张跃环等^[29]研究了长牡蛎与近江牡蛎种间杂交,发现以长牡蛎为母本的杂交组具有显著的生长及存活优势,而反交则表现出生长及存活劣势;也就是说,表现为单向杂种优势或不对称现象;Xu等^[13]在研究近江牡蛎与熊本牡蛎杂交时,发现了明显的生长及存活杂种优势;Zhang等^[32-33]发现香港牡蛎与长牡蛎种间杂交时没有生长优势,但存活优势随着环境变化而改变;而香港牡蛎与葡萄牙牡蛎种间杂交时,生长优势随着环境而变化,但稚贝具有存活优势。

对于杂种优势(heterosis)的解释,一直是困扰育种学者一个世纪以来的问题。到目前为止,水产学中的对杂种优势的理解和估算还比较粗糙,其计算方法也比较模糊,相对通用的为中亲杂种优势,但是这种计算是不是最合理,有待于进一步分析。Zheng等^[55]在比较两个亚种海湾扇贝杂交时,定义了母系单亲杂种优势(maternal heterosis),发现母系杂种优势可以解决一些中亲杂种优势说明不了的问题。在此之后,郑怀平等^[9]在研究亚种间杂种优势时再一次引入杂种潜力(heterosis potency),用于杂种优势评判太平洋牡蛎与葡萄牙牡蛎亚种间杂交,这种评判方法先后用于评定海洋双壳贝类中的两个海湾扇贝亚种间杂交^[56]、太平洋牡蛎近交系间的杂交^[57]及两种贻贝种间杂交^[58],发现其具有良好的适用性。为了进一步解释杂种优势来源,可以考虑引入作物上的一般配合及特殊配合力。而且,可以通过建立杂交家系的模式,利用杂种遗传力进一步分析杂种优势。杂种遗传力(cross-heritability)是指加性方差占杂种一代方差的比率。由吴仲贤^[59]于1986年提出,从理论的角度来看,杂种遗传力含义有更加深远的意义。当两个物种杂交时,就可以得到一个遗传力较高的杂种;当两个杂交种再杂交时,它的二代杂种遗传力就更高,如果

这种过程进行下去,将得到 n 代杂种遗传力,它的值接近于 1,此时所有后代个体都表现这一性状,该性状就稳定下来。总之,对于不同的杂交组合,选取合理的方法计算杂种优势至关重要。

6 杂种育性分析

杂交不育 (hybrid sterile) 在远缘杂交中是一种普遍现象,是指亲缘关系较远的生物类型间所获得的杂种,因其生理功能不协调、生殖系统遭受扰乱而不能繁殖后代或者繁殖力低的现象^[3]。对于水产动物而言,远缘杂交不育研究主要集中在鱼类上的鲑鳟类、鲤科类及罗非鱼类上^[60]。对于贝类而言,由于杂交种比较难于存活,往往在幼虫阶段就已经大量死亡,获得的少量稚贝也很难存活至性成熟,因此,即使获得了少量的性成熟稚贝,也由于数量太少,对其性腺生殖发育研究不具有统计学意义,导致了贝类育种上远缘杂种不育性研究非常少。目前,有关双壳贝类远缘杂交中的杂种育性情况,发现海湾扇贝 × 紫扇贝种间杂种在性腺早期发育阶段为雌雄同体,成熟阶段全部为雌性,具有雌性化特征。^[51];Zhang 等^[61]利用杂种卵子与双亲雄性进行了回交实验,发现卵子可与双亲以较低的受精率进行回交,可以获得存活子代,从而拓宽了海湾扇贝遗传学基础。在自然界中,有一些天然杂交贻贝具有可以繁育的特性,而且出现贻贝渐渗群体区域。香港牡蛎与近江牡蛎的种间杂种具有完全可育性,即雌雄杂种均可以正常性腺发育,而且回交及自交都比较容易获得后代,这可能是由于二者亲缘关系较近所致^[62]。与此不同的是,Zhang 等^[32]在研究香港牡蛎与长牡蛎种间杂交时发现,杂种出现了 4 种类型,分别为雌性、雌雄同体、雄性、无性别;而且绝大部分具有高度不育性。如果按照可育能力及配子数量来分析,可以划分为完全可育(雌性)、部分可育(雌性、雌雄同体、雄性)、完全不育(雄性、无性别)3 大类。其中,部分可育类型配子数量不及亲本种的 0.6%,可以认为高度不育。这样一来,该杂种中,高度不育比例可以占到杂种个体的 90% 以上。这使该品系在今后的养殖中出现基因污染的概率大大降低。巨蛎属牡蛎种间杂种育性的情况见表 3;其中仅发现香港牡蛎与长牡蛎杂种是高度不育的,其他组合均为完全可育。

表 3 我国 5 种巨蛎属牡蛎种间杂种育性分析
Tab. 3 The fertility analysis of hybrids among five species oyster in China

♀ \ δ	长牡蛎	葡萄牙牡蛎	熊本牡蛎	香港牡蛎	近江牡蛎
长牡蛎 <i>C. gigas</i>	√	√	?	—	√
葡萄牙牡蛎 <i>C. angulata</i>	√	√	—	—	√
熊本牡蛎 <i>C. sikamea</i>	?	?	√	√	?
香港牡蛎 <i>C. hongkongensis</i>	×	√	√	√	√
近江牡蛎 <i>C. ariakensis</i>	√	√	—	—	√

注:“√”表示完全可育,“×”表示高度不育,“?”表示尚无研究结果,“—”表示这个方向不能受精,无法获得杂种

Notes:“√”,“×”,“?”,“—”indicate fertility, sterility, information not available, no hybrids due to un-fertilization, respectively

7 杂交多倍体

杂交多倍体,又名异源多倍体 (allopolyploid) 是指不同物种杂交产生的杂种后代经过染色体加倍形成的多倍体。在水产动物上,异源多倍体多见于鱼类育种上,如湖南师范大学利用种间杂种一代繁育子二代的过程中,获得了少量双异源鲤鲫四倍体,发现其具有可育性,而且还具有稳定遗传等一些特性,这为倍性育种及其多倍体进化提供了宝贵的材料^[63]。人工诱导的异源多倍体在比目鱼、鲑鱼、鲷科鱼类上也有所报道^[64-67],然而,在一些特定的鱼类中,存在着天然异源多倍体现象,如泥鳅 (*Misgurnus anguillicandatus*)、多棘鱼等^[60,68]。在贝类倍性育种上,主要集中在同源多倍体人工诱导这一领域,自从 Guo 等^[69]首次利用雌性三倍体与雄性二倍体通过抑制第一极体的方式培育出可育的四倍体太平洋牡蛎以来,利用四倍体与二倍体杂交获得全三倍体就成为三倍体生产的最主要途径。学者们先后培育出了四倍体的牡蛎^[70-71]、珍珠贝^[72]、扇贝^[73]、蛤仔^[74]、贻贝^[75]等,为生产相关种类全三倍体奠定了坚实的基础。至于贝类上的异源多倍体,仅在扇贝^[76]、鲍鱼^[77]及长牡蛎与近江牡蛎杂交中有报道^[28]。其中,仅长牡蛎 × 近江牡蛎获得了少量异源三倍体稚贝,而在扇贝及鲍鱼上均没有成功。Zhang 等^[33]利用香港牡蛎卵子与长牡蛎精子采用低渗的方法获得了 100% 异源三倍体稚贝,并发现其

在早期生长阶段对母本种香港牡蛎生长性状都具有一定的改良作用,但是其生长性状不如长牡蛎自交组好。异源多倍体的应用,对于可育的个体而言,起到了抑制性腺发育的作用,同时,也可能对养殖性状有所改良;而对于二倍体本身部分不育的个体来讲,可以进一步遏制牡蛎的性腺发育情况,提高生长、存活等表型性状。

8 杂种回交

种间回交(interspecific backcross),是指利用可育的种间杂种 F_1 与亲本种间的轮回杂交,是育种中一种重要的遗传改良手段。一般情况下,种间回交往往会获得比较理想的遗传改良效果。对于水产动物而言,种间回交主要集中在鱼类上,如鲤鲫杂交 F_1 与亲本种的种间回交^[3]。在贝类,由于大部分的种间杂种难于培养,所以,种间回交报道极少,仅见于长牡蛎与熊本牡蛎天然杂种与其亲本种回交受精实验,至D形幼虫之后实验就结束了;再有就是利用天然杂交贻贝进行的回交受精实验,以观测其生殖隔离机制^[11]。在牡蛎育种上,目前,霍忠明等^[62]开展了香港牡蛎×近江牡蛎杂种与双亲的回交试验,但尚未发现明显的回交优势。张跃环^[14]利用香港牡蛎与长牡蛎的种间杂种,进行了杂种与亲本种的种间回交育种研究。令人欣慰的是,回交子代均表现出了明显的杂种优势,无论是生长性状还是存活性状都得到了大幅度的改良。这种效果与作物育种比较相像,因为在作物育种上,种间杂种一代往往是不育的,或者很少可育,且伴随着显著的杂种劣势,但是在回交中往往会获得显著杂种优势^[78]。

9 牡蛎杂交的要点及展望

9.1 历史

牡蛎的选择育种相对比较成功,育种学家们选出了一系列生长快、抗性强的新品系/种,但是种间杂交育种结果并不是很理想^[79]。牡蛎的远缘杂交研究自1882年起,至今已有130多年的历史^[4],可以划分为4个阶段。第一个阶段在1882—1950年,在这个时期,贝类学家们主要关注的是胎生型牡蛎与卵生型牡蛎能否杂交,也就是说不同生殖类型牡蛎能否杂交产生具有两种生殖性状的杂交个体,结果均以失败而告终。他们采用天然模拟杂交及人工远缘杂交两种手段同时

进行。第二个阶段1950—1993年,由于种间杂交往往会创造出变异新型个体,贝类育种学家们放弃了不同生殖类型间远缘杂交,展开了大量的同生殖类型牡蛎种间杂交研究,但几乎没有获得杂交稚贝。直至1993年,Gaffney等^[22]开展了长牡蛎、近江牡蛎及美洲牡蛎种间杂交研究,结果除了获得了长牡蛎与近江牡蛎种间杂交稚贝以外,并没有获得其他组合杂种。另外,他们指出了一个问题,即种间杂种的遗传鉴定。由于在1993年以前的杂交没有进行遗传鉴定,即使获得了杂种也有可能来自自交组混淆、天然雌雄核发育、或者天然多倍体,可能并非真正意义上的两性融合个体。这样看来,1993年以前牡蛎远缘杂交工作结果难以获得证实。第三个阶段就是1993—2009年,在这个阶段,由于受到Gaffney等^[6]发表的种间杂种不存活结论的影响,牡蛎的远缘杂交研究相对不多,但是学者们对杂种的遗传鉴定步骤广泛实施。其中,太平洋牡蛎与葡萄牙牡蛎的“种间”杂交是个特例,因为这两个物种的关系一直具有争议,直到2010年,Wang等^[34]又再次将这两个物种定义为一个种下的两个亚种。因此,在此前提下,这个亚种间杂交应该不能算做真正的种间杂交。除此之外,就是Que等^[28]培育出很少量的长牡蛎与近江牡蛎异源三倍体稚贝。第四个阶段2009—至今,在这个阶段,Xu等^[13]培育出一些近江牡蛎与熊本牡蛎种间杂种;藤爽爽等^[12]培育出少量的长牡蛎与熊本牡蛎的种间杂种;Zhang等^[33]突破了牡蛎远缘杂交中的生殖隔离障碍,培育出大量高度不育的香港牡蛎与长牡蛎种间杂种,而且对表型性状及其育性格局进行了分析,使牡蛎种间杂交可以实现批量培育,可用于进一步的育种研究与实践。

9.2 要点

综上所述,牡蛎的远缘杂交主要有以下5个要点:①亲本性腺成熟同步性:在杂交的过程中,亲本性腺成熟度直接关系到杂种能否存活,所以应该尽量选用成熟度好的亲本。因为在做杂交时,往往杂交亲本种没有生活重叠区域,存在一定程度的地理隔离,这样就会造就亲本间成熟度不一致现象,所以,通常都是采用升温促熟或者提前同步促熟,使其亲本间性腺成熟度尽量保持一致。②受精及胚胎发育观察:要对杂种受精率及其方向兼容性进行观察,确定杂交受精水平的高或低,

及其与受精水平相关的外在或者内在因子,以便消除不利因素,获得更高水平的受精率;对胚胎进行细致观察,查看孵化率、畸形率,以及胚胎是否发育加快或者延迟;以自交组为对照,记录杂交胚胎的发育时间;最后计算获得杂交幼虫的百分率,即孵化率水平等数据。③杂种培育:杂交幼虫培育是至关重要的,要选择适宜于幼虫生活的环境条件,包括温度、盐度、饵料种类、培育密度等环境因子,否则很难获得杂种个体。之前报道的杂种稚贝数量极少或者为零的情况,经仔细分析,认为多数情况下是由于培育条件不适宜于杂种生存所致。所以,Gaffney 等^[6]认为杂种不能存活,很可能是由于当时选择的条件不一定适合于杂种的生存所致;但事实上并非杂种个体都不能生存。④遗传鉴定:对获得的杂交稚贝一定要进行遗传鉴定,否则,不能确定杂种是不是真正意义上的杂种,也不知道杂种是否发生了雌性发育、雄核发育,或者出现了天然多倍体;也不清楚在培育过程中是否被亲本种子代混淆。而且,如果需要进一步利用该杂种进行回交或者自繁,更需要遗传验证。⑤表型性状测试及推广应用:对培育出的杂种要进行变态、生长、存活等相关性状评估,以确定该杂种是否具有杂种优势或者劣势,而且还要对杂种可育性进行分析,为其生产应用提供理论与实践根据。如果杂种一代已经具备很好的表型性状,而且高度不育,或者回交时与亲本种不亲和,达到完全的生殖隔离,仍然要继续进行年度之间的重复,继续验证 2~3 年,才可以进行该杂交品系的推广。如果杂种达不到生产水平,就继续通过异源多倍体、回交或者多元杂交继续改良该杂交品系,直到养殖性状满意为止。当然,还有一种可能就是,杂种一代不育,而且表型性状也不好,这时就需要测试其他种间杂交组合,以进行下一步的遗传改良。值得注意的是,如果杂种具有养殖优势,但是完全可育,一定要单独划分养殖区域,或制成三倍体,以免造成与其他种类的天然杂交,出现遗传污染,破坏原种种群平衡。

9.3 展望

远缘杂交在水产动物上已经获得了一些新品系(新品种),如尼罗罗非鱼(♀ *Oreochromis niloticus*) × 奥利亚罗非鱼(♂ *Oreochromis aureus*) 杂交产生全雄罗非鱼,使其生长速度加快,有利于同步清塘;鳊(♀) × 小体鲴(♂

Acipenser ruthenus) 杂交新品种完全可育,并且其性腺成熟期提前,通过与鳊回交获得了大量伴随有较好经济性状的完全可育的后代^[3]。海湾扇贝 × 紫扇贝等杂种具有很好的养殖性状,表现出显著杂种优势,是目前双壳贝类中报道的最成功的典范^[51]。牡蛎的远缘杂交已经陆续研究了很多年,杂种子一代优势的报道仅限于张跃环等^[29]研究的长牡蛎与近江牡蛎种间杂交中的以长牡蛎为母本的杂交组合及 Huo 等^[15]香港牡蛎与近江牡蛎杂种;再就是张跃环^[14]利用香港牡蛎 × 长牡蛎种间杂种与亲本种回交产生的明显优势。相信在不久的将来,牡蛎远缘杂交新品系(种)将得到推广应用。远缘杂交不仅可以获得具有良好表型性状的种间杂种,而且它可为牡蛎的遗传性状分析、以及基础生物学、细胞学及进化等研究领域提供宝贵的科研材料。

参考文献:

- [1] Guo X, Zhang G, Qian L, et al. Oysters and oyster farming in China; a review [J]. Journal of Shellfish Research, 2006, 25(2): 734.
- [2] Fishery Bureau in Ministry of Agriculture. Chinese fishery statistical almanac [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2013. [农业部渔业局. 中国渔业年鉴. 北京: 中国农业出版社, 2013.]
- [3] Lou Y D. Fish breeding [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1999: 83-84. [楼允东. 鱼类育种学. 北京: 中国农业出版社, 1999: 83-84.]
- [4] Bouchon-Brandely. On the sexuality of the common oyster (*Ostrea edulis*) and that of the Portuguese oyster (*O. angulata*). Artificial fecundation of the Portuguese oyster [J]. Annals and Magazine of Natural History, 1882, 10(5): 328-330.
- [5] Davis H C. On interspecific hybridization in *Ostrea* [J]. Science, 1950, 111(2889): 522.
- [6] Gaffney P M, Allen S K. Hybridization among *Crassostrea* species; a review [J]. Aquaculture, 1993, 116(1): 1-13.
- [7] Allen S K, Gaffney P M, Scarpa J, et al. Inviabile hybrids of *Crassostrea virginica* (Gmelin) with *C. rivularis* (Gould) and *C. gigas* (Thunberg) [J]. Aquaculture, 1993, 113(4): 269-289.
- [8] Soletchnik P, Huvet A, Moine O L, et al. A comparative field study of growth, survival and reproduction of *Crassostrea gigas*, *C. angulata* and their hybrids [J]. Aquatic Living Resource, 2002, 15

- (4):243-250.
- [9] Zheng H P, Wang D W, Lin Q, *et al.* Hybridization between the two close related species *Crassostrea gigas* and *C. angulata* and heterosis for growth and survival at early stage of life history [J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36 (2): 210-215. [郑怀平, 王迪文, 林清, 等. 太平洋牡蛎与葡萄牙牡蛎两近缘种间杂交及其早期阶段生长与存活的杂种优势. 水产学报, 2012, 36(2): 210-215.]
- [10] Banks M A, McGoldrick D J, Borgeson W, *et al.* Gametic incompatibility and genetic divergence of Pacific and Kumamoto oysters, *Crassostrea gigas* and *C. sikamea* [J]. Marine Biology 1994, 121 (1): 127-135.
- [11] Camara M D, Davis J P, Sekino M, *et al.* The Kumamoto oyster *Crassostrea sikamea* is neither rare nor threatened by hybridization in the Northern Ariake sea, Japan [J]. Journal of Shellfish Research, 2008, 27(2): 313-322.
- [12] Teng S S, Li Q, Li J R. Cytological observations of nuclear behavior and comparative growth of the hybrids between *Crassostrea gigas* and *C. sikamea* [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2010, 41 (6): 914-922. [滕爽爽, 李琪, 李金蓉. 长牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 与熊本牡蛎 (*C. sikamea*) 杂交的受精细胞学观察及子一代的生长比较. 海洋与湖沼, 2010, 41(6): 914-922.]
- [13] Xu F, Zhang G F, Liu X, *et al.* Laboratory hybridization between *Crassostrea ariakensis* and *C. sikamea* [J]. Journal of Shellfish Research, 2009, 28 (3): 453-458.
- [14] Zhang Y H. Interspecific hybridization effect and genetic improvement between two cupped oyster, *Crassostrea hongkongensis* and *C. gigas* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012. [张跃环. 香港巨牡蛎 *Crassostrea hongkongensis* 与长牡蛎 *C. gigas* 种间杂交效应及遗传改良研究. 青岛: 中国海洋大学水产学院, 2012.]
- [15] Huo Z M, Wang Z P, Yan X W, *et al.* Fertilization, survival and growth of *Crassostrea hongkongensis* ♀ × *Crassostrea ariakensis* ♂ hybrids in Northern China [J]. Journal of Shellfish Research, 2013, 32 (2): 377-385.
- [16] Wang H, Qian L, Liu X, *et al.* Classification of a Common Cupped Oyster from Southern China [J]. Journal of Shellfish Research, 2010, 29 (4): 857-866.
- [17] Galtsoff P S, Smith R O. Stimulation of spawning and cross-fertilization between American and Japanese oysters [J]. Science, 1932, 76 (1973): 371-372.
- [18] Imai T, Hatanaka M, Sato R, *et al.* Artificial breeding of oysters in tanks [J]. Tohoku Journal of Agriculture Research, 1950, 1(1): 69-86.
- [19] Stiles S. Cytogenetic analysis of an attempted interspecies hybridization of the oyster [J]. Incompatibility Newsletters, 1973, 3: 41-45.
- [20] Stiles S. Conventional and experimental approaches to hybridization and inbreeding research in the oyster [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 1978, 9(1-4): 577-586.
- [21] Downing S L. Comparing adult performance of diploid and triploid monospecific and interspecific *Crassostrea* hybrids [J]. Journal of Shellfish Research, 1988, 7(3): 549.
- [22] Gaffney P M, Allen S K. Hybridization among *Crassostrea* species: a review [J]. Aquaculture, 1993, 116(1): 1-13.
- [23] Menzel R W. Portuguese and Japanese oysters are the same species [J]. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 1974, 31(4): 453-456.
- [24] Numachi K. Japanese oyster species, breed and distribution [M] // Imai T. Aquaculture in shallow seas; progress in shallow sea culture. New Delhi: Amerind Publishing Co., 1977: 123-126.
- [25] Huvet A, Gerard A, Ledu C, *et al.* Is fertility of hybrids enough to conclude that the two oysters *Crassostrea gigas* and *Crassostrea angulata* are the same species? [J]. Aquatic Living Resource, 2002, 15(1): 45-52.
- [26] Zhou M D, Gao Y T, Wu R. Preliminary studies on hybridization of *Crassostrea gigas* with *Ostrea rivularis* and *Ostrea plcatula* [J]. Journal of Fisheries of China, 1982, 6(3): 235-241. [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. 水产学报, 1982, 6(3): 235-241.]
- [27] Allen S K, Gaffney P M. Genetic confirmation of hybridization between *Crassostrea gigas* (Thunberg) and *Crassostrea rivularis* (Gould) [J]. Aquaculture, 1993, 113(4): 291-300.
- [28] Que H, Allen S K. Hybridization of tetraploid and diploid *Crassostrea gigas* (Thunberg) with diploid *C. ariakensis* (Fujita) [J]. Journal of Shellfish Research, 2002, 21(1): 137-143.
- [29] Zhang Y H, Wang Z P, Yan X W, *et al.* Interspecific hybridization between two oysters *Crassostrea gigas*

- and *C. ariakensis* [J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(8): 1215 - 1224. [张跃环,王昭萍,闫喜武,等.太平洋牡蛎与近江牡蛎的种间杂交.水产学报,2012,36(8):1215-1224.]
- [30] Menzel R W. Hybridization of oysters and clams [M] // Tiews K. Selection, hybridization and genetic engineering in aquaculture. Vol. II. Berlin: Heenemann, 1987: 47 - 59.
- [31] Seno H, Hori J. Study on the cross-fertilization among *C. gigas* (Magaki), *O. echinata* (Kegaki), and *C. nippona* (Iwagaki) [J]. Japan Journal of Zoology, 1929, 2: 406 - 407.
- [32] Zhang Y, Wang Z, Yan X, et al. Laboratory hybridization between two oysters: *Crassostrea gigas* and *Crassostrea hongkongensis* [J]. Journal of Shellfish Research, 2012, 31(3): 619 - 625.
- [33] Zhang Y H, Wang Z P, Yan X W, et al. Proceedings of 9th member congress for conchology conference [C]. Guangzhou: China Institute of Zoology Shellfish Branch, 2011. [Zhang Y, Wang Z, Yan X, et al. 贝类学分会第九次会员代表大会论文集. 广州: 中国动物学会贝类学分会, 2011.]
- [34] Wang H, Zhang G, Liu X, et al. Classification of common oysters from North China [J]. Journal of Shellfish Research, 2008, 27(3): 495 - 503.
- [35] Lam K, Morton B. Mitochondrial DNA and morphological identification of a new species of *Crassostrea* (Bivalvia: Ostreidae) cultured for centuries in the Pearl River Delta, Hong Kong, China [J]. Aquaculture, 2003, 228(1-4): 1 - 13.
- [36] Wang H, Guo X. Identification of *Crassostrea ariakensis* and related oysters by multiplex species-specific PCR [J]. Journal of Shellfish Research, 2008, 27(3): 481 - 487.
- [37] Wang H Y, Guo X M, Liu X, et al. Classification of "Jinjiang" oysters in China [J]. Marine Science, 2007, 31(9): 85 - 86. [王海燕, 郭希明, 刘晓, 等. 中国近海“近江牡蛎”的分类和订名. 海洋科学, 2007, 31(9): 85 - 86.]
- [38] Wang H, Guo X, Zhang G, et al. Classification of jinjiang oysters *Crassostrea rivularis* (Gould, 1861) from China, based on morphology and phylogenetic analysis [J]. Aquaculture, 2004, 242(1-4): 137 - 155.
- [39] Wang H, Qian L, Zhang G, et al. Distribution of *Crassostrea ariakensis* in China [J]. Journal of Shellfish Research, 2006, 25(3): 789 - 790.
- [40] Wang H, Qian L, Wang A, et al. Occurrence and distribution of *Crassostrea sikamea* (Amemiya 1928) in China [J]. Journal of Shellfish Research, 2013, 32(2): 439 - 446.
- [41] Li W J. Biology and cultivation of oyster *Crassostrea nippona* [J]. Fisheries Science, 2007, 26(12): 689 - 690. [李文姬. 岩牡蛎的生物学及其养殖. 水产科学, 2007, 26(12): 689 - 690.]
- [42] Anonymous. Annual malaysian fisheries statistics [R]. Department of Fisheries Malaysia, Ministry of Agriculture, 1996.
- [43] Palumbi S R. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation [J]. Annual Review of Ecology and Systematics, 1994, 25: 547 - 572.
- [44] Palumbi S R. Marine speciation on a small planet [J]. Trends in Ecology & Evolution, 1992, 7(4): 114 - 118.
- [45] Lyu S, Allen S K. Effect of sperm density on hybridization between *Crassostrea virginica*, Gemelin and *C. gigas* (Thunberg) [J]. Journal of Shellfish Research, 1999, 18(2): 459 - 464.
- [46] Zhang Y H, Wang Z P, Yan X W, et al. Analysis of gamete compatibility between *Crassostrea hongkongensis* and *C. gigas* [J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(10): 3047 - 3055. [张跃环, 王昭萍, 闫喜武, 等. 香港巨牡蛎与长牡蛎种间配子兼容性. 生态学报, 2013, 33(10): 3047 - 3055.]
- [47] Rawson P D, Slaughter C, Yund P O. Patterns of gamete incompatibility between the blue mussels *Mytilus edulis* and *M. trossulus* [J]. Marine Biology, 2003, 143(2): 317 - 325.
- [48] Springer S A, Moy G W, Friend D S, et al. Oyster sperm binding is a combinatorial fucose lectin with remarkable intra-species diversity [J]. International Journal of Developmental Biology, 2008, 52(5-6): 759 - 768.
- [49] Wu Q, Li L, Zhang G. *Crassostrea angulata* binding gene and the divergence of fucose-binding lectin repeats among three species of *Crassostrea* [J]. Marine Biotechnology, 2011, 13(2): 327 - 335.
- [50] Lindell S, Walton B, Simmons J, et al. Hybridization between two genera of clams, *Spisula solidissima* and *Mulinia lateralis*, and early growth trials [J]. Journal of Shellfish Research, 2006, 25(2): 750.
- [51] Wang C, Liu B, Li J, et al. Introduction of the Peruvian scallop and its hybridization with the bay scallop in China [J]. Aquaculture, 2011, 310(3-4): 380 - 387.
- [52] Johnson N A, Wade M J. Conditions for soft

- selection favoring the evolution of hybrid inviability [J]. *Journal of Theoretical Biology*, 1995, 176(4): 493 - 499.
- [53] Wang H, Guo X. Identification of *Crassostrea ariakensis* and related oysters by multiplex species-specific PCR [J]. *Journal of Shellfish Research*, 2008, 27(3): 481 - 487.
- [54] Wang Y, Guo X. Its length polymorphism in oysters and its use in species identification [J]. *Journal of Shellfish Research*, 2008, 27(3): 489 - 493.
- [55] Zheng H P, Zhang G F, Guo X, *et al.* Heterosis between two stocks of the bay scallop, *Argopecten irradians irradians* Lamarck (1819) [J]. *Journal of Shellfish Research*, 2006, 25(3): 807 - 812.
- [56] Zheng H P, Xu F, Zhang G F. Crosses between two subspecies of bay scallop *Argopecten irradians* and heterosis for yield traits at harvest [J]. *Aquaculture Research*, 2011, 42(4): 602 - 612.
- [57] Hedgecock D, Davis J P. Heterosis for yield and crossbreeding of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* [J]. *Aquaculture*, 2007, 272(S1): 17 - 29.
- [58] Beaumont A R, Turner G, Wood A R, *et al.* Hybridisations between *Mytilus edulis* and *Mytilus galloprovincialis* and performance of pure species and hybrid veliger larvae at different temperatures [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2004, 302(2): 177 - 188.
- [59] Wu Z X. The heritability theory of heterosis and its meaning for global agriculture [J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2003, 30(3): 193 - 200. [吴仲贤. 杂种优势的遗传力理论及其对全球农业的意义. 遗传学报: 英文版, 2003, 30(3): 193 - 200.]
- [60] Bartley D M, Rana K, Immink A J. The use of interspecific hybrids in aquaculture and fisheries [J]. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2005, 10(3): 325 - 337.
- [61] Zhang S, Zhang G, Li L, *et al.* Broadening of the Genetic Basis of the Atlantic Bay Scallop *Argopecten irradians* after interspecific hybridization and backcrossing [J]. *Journal of Shellfish Research*, 2013, 32(3): 709 - 718.
- [62] Huo Z M, Wang Z P, Liang J, *et al.* Comparisons of growth and development of hybrid and backcrossing progenies between *Crassostrea hongkongensis* and *Crassostrea ariakensis* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, 37(8): 1155 - 1161. [霍忠明, 王昭萍, 梁健, 等. 香港巨牡蛎与近江牡蛎杂交及回交子代早期生长发育比较. 水产学报, 2013, 37(8): 1155 - 1161.]
- [63] Piferrer F, Beaumont A, Falguière J C, *et al.* Polyploid fish and shellfish: production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment [J]. *Aquaculture*, 2009, 293(3-4): 125 - 156.
- [64] Chevassus B. Hybridization in fish [J]. *Aquaculture*, 1983, 33(1-4): 245 - 262.
- [65] Grav A K, Evans M A, Thorgaard G H. Viability and development of diploid and triploid salmonid hybrids [J]. *Aquaculture*, 1993, 112(2-3): 125 - 142.
- [66] Gorshkov S, Gorshkova G, Hadani A, *et al.* Chromosome set manipulations and hybridization experiments in gilthead seabream (*Sparus aurata*). II. assessment of diploid and triploid hybrids between gilthead seabream and red seabream (*Pagrus major*) [J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2002, 18(2): 106 - 112.
- [67] Akhan S, Sonay F D, Okumus I, *et al.* Inter-specific hybridization between black sea trout (*Salmo labrax* Pallas, 1814) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) [J]. *Aquaculture Research*, 2011, 42(11): 1632 - 1638.
- [68] Arai K. Genetic improvement of aquaculture finfish species by chromosome manipulation techniques in Japan [J]. *Aquaculture*, 2001, 197(1-4): 205 - 228.
- [69] Guo X, DeBrosse G A, Allen S K. All-triploid Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg) produced by mating tetraploids and diploids [J]. *Aquaculture*, 1996, 142(3-4): 149 - 161.
- [70] Nell J A. Farming triploid oysters [J]. *Aquaculture*, 2002, 210(3-4): 69 - 88.
- [71] Allen S K, Erskine A J, Walker E, *et al.* Production of tetraploid Suminoe oysters, *Crassostrea ariakensis* [J]. *Journal of Shellfish Research*, 2003, 22(1): 317.
- [72] He M, Lin Y, Shen Q, *et al.* Production of tetraploid pearl oyster (*Pinctada martensii* Dunker) by inhibiting the first polar body in eggs from triploids [J]. *Journal of Shellfish Research*, 2000, 19(1): 147 - 151.
- [73] Maldonado R, Ibarra A M, Ramirez J L. Induction to tetraploidy in Catarina scallop, *Argopecten ventricosus* (Sowerby II, 1842) [J]. *Ciencias Marinas*, 2003, 29(2): 229 - 238.
- [74] Allen S K, Shpigel M, Utting S, *et al.* Incidental production of tetraploid Manila clams, *Tapes*

- philippinarum(Adam and Reeve) [J]. *Aquaculture*, 1994,128(1-2):13-19.
- [75] McCombie H, Cornette F, Beaumont A R. Short sharp shock produces viable tetraploids in crosses of diploid blue mussels *Mytilus edulis* [J]. *Aquaculture Research*, 2009,40(14):1680-1682.
- [76] Meng Q L, Huang X T, Zhao H B, *et al.* Induction of scallop allotriploid [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2009,16(5):718-727. [孟庆磊,黄晓婷,赵海波等. 扇贝异源三倍体诱导. *中国水产科学*, 2009,16(5):718-727.]
- [77] Hernandez-Ibarra N K, Morelos R M, Cruz P, *et al.* Allotriploid genotypic assignment in abalone larvae by detection of microsatellite recombinant genotypes [J]. *Journal of Heredity*, 2010,101(4):476-490.
- [78] Zhang T Z. *Pandect of crop breeding* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2006. [张天真. 作物育种学总论. 北京:中国农业出版社, 2006.]
- [79] Xiao S, Yu Z N. Review of selective breeding research and practice in oyster cultivation [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2008,32(2):287-295. [肖述,喻子牛. 养殖牡蛎的选择育种研究与实践. *水产学报*, 2008,32(2):287-295.]

A recent review of interspecific hybridization among cultivated oysters

ZHANG Yuehuan^{1,2}, WANG Zhaoping^{1*}, YU Ziniu², YAN Xiwu³

1. Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Fisheries College, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Key Laboratory of Tropical Marine Bio-resources and Ecology, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China;

3. Engineering Research Center of Shellfish Culture and Breeding of Liaoning Province, College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China)

Abstract: The distant hybridization of mollusk originated from oyster with 130 years' history. Moreover, both the prospects and problems for interspecific hybridization of oyster were summarized on the basis of the numerous attempts and recent research results. Generally, interspecific hybridization can generate transgressive hybrid phenotypes, which have extreme trait values exceeding the combined range of the parental species. Such as increasing growth rate, increasing harvest ability, increasing environmental tolerances, and increasing overall hardiness in culture conditions. Numerous attempts at hybridization in the genus *Crassostrea* have been reported, most of them suffer from several problems. In this review, the authors summarized up the past of works and pointed out the new aspects as follows: ① Confirmation the taxonom of oyster; ② Gametic compatibility: including one direction or two directions in fertilization and fertilized strength; ③ Evaluating the phenotypic character; ④ Genetic identification for hybrids; ⑤ Heterosis examination; ⑥ Analysis of the patterns of hybrid sterility; ⑦ Alloploidy induction; ⑧ Interspecific hybridization; ⑨ Questions and prospects. Finally, we must indicate that the opinion of unviable hybrid larvae was inaccurate, and a lager number of hybrids were able to obtain in certain environments. Key issues in the interspecific hybridization required to carefully consider and carry out it in the genus *Crassostrea*. Trustingly, interspecific hybridization will be a good tool to improve phenotypic traits with modifying genes from two parents to the hybrids; and these were made as the excellent research materials for the molecular, cellular and evolutionary biology.

Key words: oyster; interspecific hybridization; phenotypic trait; heterosis; genetic identification; interspecific backcross

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