

# 杂色鲍日本群体与台湾群体杂交的初步研究

游伟伟<sup>1</sup>, 柯才焕<sup>1\*</sup>, 蔡明夷<sup>1</sup>, 王志勇<sup>2</sup>, 王艺磊<sup>2</sup>

(1. 厦门大学海洋学系, 近海海洋环境科学国家重点实验室(厦门大学), 福建 厦门 361005;

2. 集美大学水产学院水产生物技术研究所, 福建 厦门 361021)

**摘要:** 采用杂色鲍日本群体(RB)和台湾群体(TW)进行群体间杂交及群体内自繁, 得到 RB♀ × TW ♂、TW♀ × RB ♂、TW♀ × TW ♂和 RB♀ × RB ♂ 4 个组合的 F1 代. 对这些交配组合的卵径、受精率、胚胎发育速度、幼体附着率、幼体变态率、幼体存活率以及稚贝早期生长进行了比较. 结果表明, 杂交组与自繁组在卵径、受精率以及胚胎发育速度方面并无显著的差别, 但杂交组在幼体附着率、幼体变态率、幼体存活率以及稚贝早期生长方面, 与自繁组相比表现出不同程度的杂种优势. TW♀ × RB ♂ 组 8 d 的存活率杂种优势达到 40.6%, RB♀ × TW ♂ 组 25 d 壳长的杂种优势达到 48.6%. 实验初步显示, 不同地理群体间的杂交将可能是养殖杂色鲍遗传改良的有效途径.

**关键词:** 杂色鲍; 杂交; 杂种优势; 群体; 幼体

**中图分类号:** S 968.31

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0438-0479(2005)05-0701-05

杂色鲍(*Halotis diversicolor*)是我国南方主要的鲍鱼养殖种类,但是近年来由于病害日益严重,其养殖产业面临着严峻的考验,对杂色鲍进行遗传改良将是该种养殖业可持续发展的根本保证.

进行种内不同群体间的杂交,利用其杂种优势是提高抗逆性以及生产性能的一个有效途径.贝类中这一方面已有不少研究报道,如牡蛎<sup>[1]</sup>、扇贝<sup>[2-4]</sup>等.上述研究显示,杂交组合的生长和抗病力都较自交组合有不同程度的提高.国内在鲍类研究方面,张国范等<sup>[5]</sup>曾对中国种群与日本种群的皱纹盘鲍杂交与自交家系 F1 代进行了 RAPD 研究,但尚未见不同群体间杂色鲍的杂交研究方面的报道.

本实验对杂色鲍日本群体与台湾群体进行不同地理群体间的杂交,对其早期发育的生物学特性与各自自繁组合进行了比较研究,期望为杂色鲍杂种优势利用和新品种选育提供理论和实践基础.

## 1 材料与方法

### 1.1 亲本来源

杂色鲍台湾群体取自福建省东山县海田实业有限公司,为从台湾引进的杂色鲍的多代自繁后代,日本群体引自日本东京都大岛附近海域的野生杂色鲍.选择性腺成熟的个体作为亲贝.

### 1.2 实验设计

利用杂色鲍日本群体(RB)与杂色鲍台湾群体(TW)进行 4 个组合的杂交与自繁实验,得到 4 组的 F1 代,即:

杂交实验组: RB♀ × TW ♂, TW♀ × RB ♂

自繁对照组: TW♀ × TW ♂, RB♀ × RB ♂

### 1.3 催产和卵径测量

采用紫外线照射海水刺激的催产方法获得配子,取新鲜的日本产杂色鲍和台湾产杂色鲍卵子,在光学显微镜下用目微尺测量其卵膜径及卵黄径.每组的卵子各测 30 粒,求其算术平均值和标准误差.

### 1.4 受精率比较

取排放后 0.5 h 之内的配子进行授精,以卵子在受精后出现二分裂为受精指标,统计各组别的受精率.

### 1.5 胚胎发育速度的测定

胚胎发育速度系指从受精卵发育到担轮幼体所需的时间.受精卵到达各个胚胎阶段所需的时间,以在显微镜下观察到 50% 胚胎到达该阶段为准.实验观察的胚胎发育阶段包括:第一极体的放出,第二极体的放出,二细胞期,四细胞期,八细胞期以及担轮幼体期.实验水温为 24.0℃,盐度为 29.5.

### 1.6 幼体附着率及变态率的计算

实验在直径为 3.5 cm 的 6 孔组织培养板中进行,海水体积为 10 mL,每个孔中放入 30~40 个担轮幼体,设 6 个平行组.每 3 天在每个孔中加入浓度为 10 mg/L 的青霉素和链霉素,以避免因水体过小而引起的水质败坏.

收稿日期: 2005-02-21

基金项目: 国家“863”计划(2003AA603240)资助

作者简介: 游伟伟(1982-),男,硕士研究生.

\* 通讯作者: chke@mxu.edu.cn

按照 Roberts<sup>[6]</sup> 对鲍的附着与变态指标的定义, 附着指标为浮游面盘幼体开始停靠在基质的表面这一行为, 变态则是指幼体浮游器官面盘的崩解脱落以及次生壳的长出. 实验在受精后 48、72、96、120 和 144 h 计算 4 个组别幼体的附着数量和附着率, 在受精后 4、5、6 和 7 d 计算 4 个组别幼体的变态数量和变态率, 参照 Kang 和 Kim<sup>[7]</sup> 的实验方法, 幼体附着率及变态率的计算公式为:

$$\text{幼体附着率}(\%) = (\text{附着个体数} / \text{实验总个体数}) \times 100\%$$

$$\text{幼体变态率}(\%) = (\text{变态个体数} / \text{附着个体数}) \times 100\%$$

### 1.7 幼体存活率的计算

实验方法和条件同上 1.6, 分别计算 4 个组别幼体 1~8 d 的幼体存活个数与存活率.

### 1.8 稚贝壳长的测量与比较

壳长测量方法如下: 将稚贝置于 Leica 显微镜下使用 Canon 数码相机拍照, 并以标准台微尺长度作为参照, 将数码照片传入电脑中, 在电脑屏幕上以直尺测量并转化为实际长度. 实验实际测量时间为受精后的第 5、10、15、20、25、30 天. 各个组合设置 3 个平行组, 每个平行组每次抽样观察测量 30~40 只. 每个组合在每次测量后统计其平均值  $\bar{X}$  和标准差  $S$ .

### 1.9 杂交子代的杂种优势 $H$ 的计算

参照 Cruz 和 Ibarra<sup>[2]</sup> 的实验方法, 用下面的公式来计算杂交子代的杂种优势  $H(\%)$ :

$$H(\%) = \frac{F_1 - \frac{1}{2}(P_1 + P_2)}{\frac{1}{2}(P_1 + P_2)} \times 100\%$$

式中  $F_1$ 、 $P_1$ 、 $P_2$  分别表示杂种一代、亲本 1 和亲本 2 的特定性状的平均值;  $H(\%)$  代表  $F_1$  代的杂种优势.

### 1.10 数据处理与统计

不同实验组间数据的比较采用单因素方差分析方法进行, 方差分析用 SPSS11.0 统计分析软件, 差异的显著性设置为两个程度: 显著 ( $p < 0.05$ ) 和极显著 ( $p < 0.01$ ).

## 2 结果

### 2.1 台湾杂色鲍与日本杂色鲍卵子的卵径比较

台湾杂色鲍的卵膜径为  $0.198 \pm 0.009$  mm, 卵黄径为  $0.162 \pm 0.001$  mm; 日本杂色鲍的卵膜径为  $0.226 \pm 0.011$  mm, 卵黄径为  $0.163 \pm 0.001$  mm. 统计结果显示二者在卵黄径方面没有显著差异, 但是日本杂色鲍的卵膜径比台湾杂色鲍大 12.4%, 差异极显著 ( $p < 0.01$ ).

### 2.2 $F_1$ 代的受精率比较

从表 1 可以看出, 4 个组别的受精率都很高, 均在 90% 以上, 但两个自繁组略高于两个杂交组, 统计结果显示无显著性差异 ( $p > 0.05$ ).

### 2.3 $F_1$ 代的胚胎发育速度比较

表 2 显示, 4 个组别除了在第一极体放出, 第二极

表 1 杂色鲍日本群体与台湾群体杂交与自繁组受精率比较

Tab.1 Fertilization rates of cross groups and self-fertilized groups within and between Japanese stock and Taiwan stock in *Haliotis diversicolor*

组别	RB♀ × TW ♂	TW♀ × RB ♂	TW♀ × TW ♂	RB♀ × RB ♂
受精率/ %	94.33 ± 3.61	96.33 ± 1.21	98.67 ± 1.03	97.33 ± 1.97

表 2 杂色鲍日本群体与台湾群体杂交与自繁子一代胚胎发育速度比较

Tab.2 Embryonic development rates of cross groups and self-fertilized groups within and between Japanese stock and Taiwan stock in *Haliotis diversicolor*

胚胎发育阶段	TW♀ × TW ♂	TW♀ × RB ♂	RB♀ × RB ♂	RB♀ × TW ♂
第一极体放出	3 min 40 s	3 min 40 s	5 min 20 s	5 min 40 s
第二极体放出	11 min 51 s	12 min 20 s	13 min 30 s	14 min 20 s
二细胞	46 min 10 s	46 min 30 s	45 min 10 s	45 min 25 s
四细胞	1 h 6 min	1 h 6 min	1 h 8 min	1 h 8 min
八细胞	1 h 30 min	1 h 30 min	1 h 38 min	1 h 38 min
孵化为担轮幼体	10 h 15 min	10 h 15 min	10 h 20 min	10 h 20 min

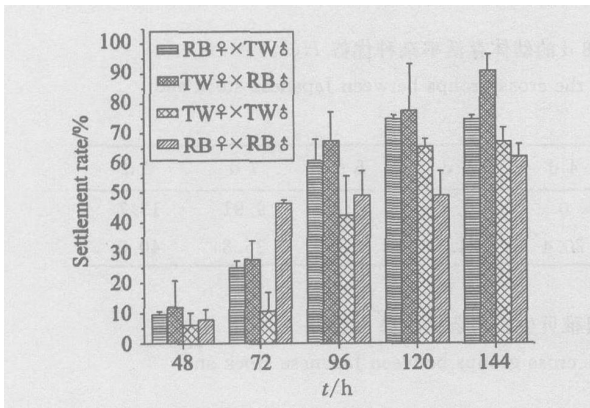


图 1 杂色鲍日本群体与台湾群体杂交与自繁子一代幼体附着率比较

Fig. 1 Larval settlement rates of cross groups and self-fertilized groups within and between Japanese stock and Taiwan stock in *Haliotis diversicolor*

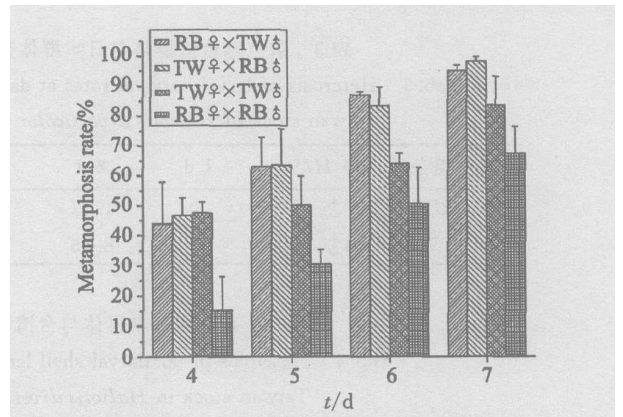


图 2 杂色鲍日本群体与台湾群体杂交与自繁子一代幼体变态率比较

Fig. 2 Metamorphosis rates of cross groups and self-fertilized groups within and between Japanese stock and Taiwan stock in *Haliotis diversicolor*

体放出的时间上有差别外,其他的发育阶段并无显著的差异.

### 2.4 F<sub>1</sub> 代的幼体附着率比较

图 1 显示杂色鲍台湾群体与日本群体杂交与自繁子一代的幼体附着率. 结果显示, 受精后 96、120 和 144 h, 两个杂交组的幼体附着率高于两个自繁组.

### 2.5 F<sub>1</sub> 代的幼体变态率比较

杂色鲍台湾群体与日本群体杂交与自繁获得的子一代幼体变态率比较如图 2 所示. 两个杂交组在 5、6 和 7 d 时的幼体变态率都显著地高于两个自繁对照组 ( $p < 0.05$ ).

### 2.6 F<sub>1</sub> 代的幼体存活率比较

图 3 显示, 3 日龄后 TW♀×RB♂ 组幼体存活率显著高于两个自繁组 ( $p < 0.05$ ). 而 TW♀×RB♂ 组 1~8 日龄的幼体存活率与两个对照组比较相差并不大.

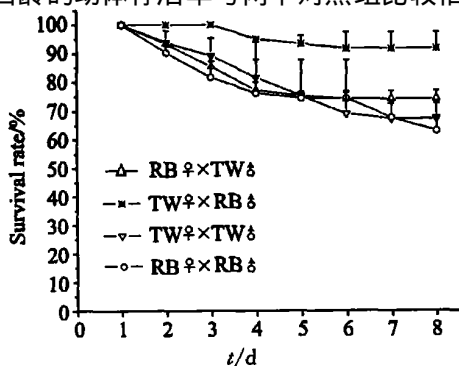


图 3 杂色鲍日本群体与台湾群体杂交与自繁子一代幼体存活率比较

Fig. 3 Survival rates of cross groups and self-fertilized groups within and between Japanese stock and Taiwan stock in *Haliotis diversicolor*

表 3 显示的是两个杂交组 1~8 d 的幼体存活率. 可以看出, TW♀×RB♂ 组随幼体日龄的增长杂种优势逐渐增大. 相比较而言, RB♀×TW♂ 组的杂种优势出现的比较晚, 而且杂种优势也小.

### 2.7 F<sub>1</sub> 代早期稚贝生长比较

图 4 显示的是杂色鲍台湾群体与日本群体杂交与自繁子一代稚贝壳长生长的比较. RB♀×TW♂ 组在 15 d 后壳长显著高于两个自繁组 ( $p < 0.05$ ). TW♀×RB♂ 组在 25 d 后壳长显著优于两个对照组 ( $p < 0.05$ ).

随着稚贝日龄的增加, 两个杂交组别稚贝生长的杂种优势总体上也是增加的, 但是 RB♀×TW♂ 组的杂种优势要远大于 TW♀×RB♂ 组 (表 4).

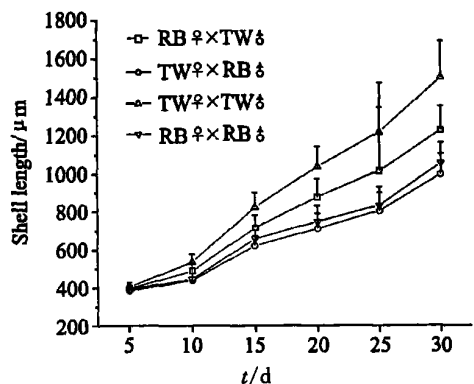


图 4 杂色鲍日本群体与台湾群体杂交与自繁子一代稚贝生长的比较

Fig. 4 Growth rates of cross groups and self-fertilized groups within and between Japanese stock and Taiwan stock in *Haliotis diversicolor*

表 3 杂色鲍台湾群体与日本群体杂交组 1~8 d 的幼体存活率杂种优势  $H$  (%)

Tab. 3 Heterosis of larval survival rates at day 1 to 8 of the cross groups between Japanese stock and Taiwan stock in *Haliotis diversicolor*

杂交组杂种优势 $H$ / %	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d
RB ♀ × TW ♂	0	1.37	0	0	0.4	3.53	9.91	13.7
TW ♀ × RB ♂	0	8.65	17.05	20.4	24.7	27.9	35.8	40.6

表 4 杂色鲍日本群体与台湾群体杂交组稚贝生长的杂种优势  $H$  (%)

Tab. 4 Heterosis of postlarval shell lengths of the cross groups between Japanese stock and Taiwan stock in *Haliotis diversicolor*

杂交组杂种优势 $H$ / %	5 d	10 d	15 d	20 d	25 d	30 d
RB ♀ × TW ♂	3.98	20.7	28.9	42.3	48.6	46.2
TW ♀ × RB ♂	1.75	10.4	11.8	20.4	24.1	19.5

### 3 讨 论

从卵膜径和卵黄径的比较来看,台湾杂色鲍与日本杂色鲍的卵黄径几乎相同,但是卵膜径上却有明显的差异,日本杂色鲍的卵膜径比台湾杂色鲍大 12.4%。可见杂色鲍台湾群体和杂色鲍日本群体由于地理上的隔离,卵膜径存在差异,但是否还有其他因素对卵膜径的大小产生影响还有待于进一步研究。

鲍的种间远缘杂交的实验较多,如皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)与杂色鲍<sup>[8]</sup>,皱纹盘鲍与勘察加鲍(*Haliotis kamtschatkana* Jonas)<sup>[9]</sup>等。虽然远缘杂交可以利用不同种在生理生态和形态上的互补以期获得较大的杂种优势,但是都由于受精率太低,幼体发育畸形等问题,很难在生产上得到应用。在本实验中,自繁组和杂交组的受精率都很高,而且在胚胎发育时间上也无明显差异,证明了杂色鲍不同地理群体间进行杂交并不存在授精时配子间不亲和和胚胎发育障碍等问题。因此种内远距离的杂交育种较易在生产上推广应用。

贝类幼体的附着和变态是其生活史的一个重要环节,幼体的附着率特别是变态率是贝类人工育苗成败的关键问题。本实验对 4 个组合的附着率和变态率做了研究。实验表明,杂交组与自繁组之间的附着率和变态率存在显著差异,杂交提高了杂色鲍的附着率和变态率。

本实验中两个杂交组在幼体存活率和早期稚贝生长方面的杂种优势都较高,这种现象也见于对其它贝类的杂种优势的研究结果。常亚青等<sup>[4]</sup>对栉孔扇贝中国种群与日本种群杂交一代的早期生长发育进行了研究,实验表明杂交组壳长、壳高、壳宽的杂种优势在

23%~30% 之间,成活率的杂种优势在 10% 以上。海湾扇贝幼体阶段杂交家系的生长杂种优势为 35%,存活率杂种优势也达到 19.93%<sup>[10]</sup>。本实验中, TW ♀ × RB ♂ 组的 8 d 存活率杂种优势度为 40.6%, RB ♀ × TW ♂ 组的壳长在 25 d 时的杂种优势高达 48.6%,这说明杂色鲍不同群体间杂交可以获得很大的杂种优势。关于杂色鲍杂交组在养成阶段的杂种优势变化趋势,将在今后的研究中继续跟踪观察。

在存活率方面, TW ♀ × RB ♂ 组从 2 d 起杂种优势就显著地表现出来, RB ♀ × TW ♂ 组直到 6 d 才开始显示出杂种优势,而且杂种优势也不高。但是在壳生长方面, RB ♀ × TW ♂ 组的杂种优势要远大于 TW ♀ × RB ♂ 组,表明不同杂交配对后代表现出不同的杂种优势。

本实验所用台湾群体为从台湾引进的杂色鲍的多代自繁后代,其杂合度可能降低,而日本杂色鲍来自野生种,可以推论日本杂色鲍的杂合度可能较高。很多研究已经发现杂合度与其存活和生长之间都存在显著的正相关<sup>[11,12]</sup>,因此可以通过增加杂合度高的群体在交配亲本中的数量来提高其生长性能。针对我国南方杂色鲍种苗生产多采用自繁自养的亲鲍,近交现象十分严重,群体遗传多样性下降这一问题,采用不同遗传背景的种群或群体进行种内杂交,将是解决杂色鲍种质退化十分有效和可行的途径。

### 参考文献:

[1] Newkirk G. Interaction of genotype and salinity in larvae of the oyster *Crassostrea virginica* [J]. Marine Biology, 1978, 48: 227- 234.  
 [2] Pedro Cruz, Ana M Ibarra. Larval growth and survival of two catarina scallop (*Argopecten circularis*, Sowberly,

- 1835) population and their reciprocal crosses [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1997, 212: 95– 110.
- [ 3 ] Cochard J C, Devauchelle N. Spawning, fecundity and larval survival and growth in relation to controlled conditioning in native and transplanted populations of *Pectin maximus* (L.): evidence for the existence of separate stocks [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1993, 169: 41– 56.
- [ 4 ] 刘小林, 常亚青, 相建海, 等. 栉孔扇贝中国种群与日本种群杂交一代的早期生长发育[J]. 水产学报, 2002, 26(5): 385– 390.
- [ 5 ] 张国范, 王继红, 赵洪恩, 等. 皱纹盘鲍中国种群和日本种群自交与杂交 F<sub>1</sub> 的 RAPD 标记[J]. 海洋与湖沼, 2002, 33(5): 484– 491.
- [ 6 ] Roberts R. A review of settlement cues for larval abalone (*Haliotis* spp.) [J]. Journal of Shellfish Research, 2001, 20(2): 571– 586.
- [ 7 ] Kang K H, Kim B H, Kim J M. Induction of larval settlement and metamorphosis of the abalone, *Haliotis discus hannai* larvae using bromomethane and potassium chloride [J]. Aquaculture, 2004, 230, (1– 4): 249– 259.
- [ 8 ] Hoshikawa H, Sakai Y, Kijima A. Growth characteristics of the hybrid between pinto abalone, *Haliotis kamtschaticana* Jonas, and ezo abalone, *H. discus hannai* Ino, under high and low temperature [J]. Journal of Shellfish Research, 1998, 17: 673– 677.
- [ 9 ] 柯才焕, 田越, 周时强, 等. 杂色鲍与皱纹盘鲍、盘鲍杂交的初步研究[J]. 海洋科学, 2000, 24: 39– 41.
- [ 10 ] 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.
- [ 11 ] English L J, Maguire G B, Ward R D. Genetic variation of wild and hatchery population of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg), in Australia [J]. Aquaculture, 2000, 187: 283– 298.
- [ 12 ] Bierne N, Launey S, Naciri-Graven Y, et al. Early effect of inbreeding as revealed by microsatellite analyses on *Ostrea edulis* larvae [J]. Genetics, 148(4): 1 893– 1 906.

## Preliminary Studies on Hybridization Between Japanese Stock and Taiwan Stock of *Haliotis diversicolor*

YOU Wei-wei<sup>1</sup>, KE Cai-huan<sup>1\*</sup>, CAI Ming-yi<sup>1</sup>, WANG Zhi-yong<sup>2</sup>, WANG Yi-lei<sup>2</sup>

(1. Department of Oceanography, Xiamen University, State Key Laboratory of Marine Environmental Science (Xiamen University), Xiamen 361005, China; 2. Fisheries College, Institute of Aquaculture Biotechnology, Jimei University, Xiamen 361021, China)

**Abstract:** F<sub>1</sub> generation of 4 groups, Japanese (RB) ♀ × Taiwan (TW) ♂, TW ♀ × RB ♂, TW ♀ × TW ♂ and RB ♀ × RB ♂ were obtained from mating and crossing within and between Japanese stock and Taiwan stock of *Haliotis diversicolor*. Comparisons of egg size, fertilization rate, embryonic development rate, larval settlement rate, larval metamorphosis rate, larval survival rate and postlarval growth among four groups were made. The results revealed that there were no significant differences on egg size, fertilization rate, and embryonic development rate. But the hybridization groups showed heterosis of various degrees on larval settlement rate, larval metamorphosis rate, larval survival rate and postlarval growth compared to self-fertilized groups. Heterosis of survival reached 40.6% in TW ♀ × RB ♂ (Day 8) and heterosis of growth achieved 48.6% in RB ♀ × TW ♂ (Day 25). It is indicated that the cross between geographically different stocks may be an effective way for genetic improvement of small abalone *Haliotis diversicolor*.

**Key words:** *Haliotis diversicolor*; hybridization; heterosis; population; larva