

温度与盐度对福建牡蛎与长牡蛎、熊本牡蛎、香港巨牡蛎种间杂交子代孵化及其早期生长成活的影响

涂康¹, 韩自强², 肖懿哲¹, 谢双如¹, 黄琼叶¹

(1. 莆田市水产科学研究所, 福建 莆田 351100; 2. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361100)

摘要: 本研究以野生福建牡蛎(A)为亲本一方, 分别与野生长牡蛎(G)、熊本牡蛎(S)、香港巨牡蛎(H)进行杂交, 除 A♀×S♂、A♀×H♂两组杂交不育外, 共得到 AG(A♀×G♂)、GA(G♀×A♂)、SA(S♀×A♂)、HA(H♀×A♂)、AA(A♀×A♂)5 个不同组合, 并研究不同盐度与温度对其幼虫孵化率、早期生长及成活率的影响。结果表明, 盐度 25 时 AG、GA、SA、HA、AA 五组孵化率分别达到最大值 78.33%、75.00%、63.33%、55.00%、71.67%; 温度低于 25℃时, GA 孵化率高于其他组, 温度高于 25℃时 AG 孵化率最大, 其中 25℃时达到最大孵化率 83.33%; 不同盐度条件下 D 型幼虫经过 7 d 培育, HA 在盐度 20 时壳高达到最大值 97.8 μm, 成活率 46.67%, 在盐度为 35 时第 5 天全部死亡。AG、GA、SA、AA 四组在盐度为 25 时壳高有最大值, 分别为 124.7 μm、121.2 μm、93.7 μm、111.8 μm; 不同温度条件下 D 型幼虫经过 7 d 培育, 在温度为 25℃时各组壳高和成活率均有最大值, 大小排列依次为 AG>GA>AA>HA>SA, 各组成活率随温度升高呈现出先增大后减小的趋势, AG 在 25℃时成活率在所有组中最高, 为 88.89%; 孵化后在适宜温度盐度条件下连续培养 16 d, 不同组之间壳高表现为: AG > GA > AA > HA > SA, AG 壳高、壳高 SGR 及成活率始终大于其他组, 而 SA、HA 两组壳高、壳高 SGR 及成活率始终小于自交组 AA。研究表明, 相较于福建牡蛎与熊本牡蛎、香港巨牡蛎的杂交, 以及福建牡蛎的自交, 福建牡蛎与长牡蛎的杂交子代表现出明显的生长及存活优势, 生长潜力较好, 且 AG 优于 GA; AG 组在盐度 25、水温 25℃条件下生长速率最大, 成活率最高。研究结果可为福建牡蛎育苗行业良种选育提供参考依据。

关键词: 福建牡蛎; 长牡蛎; 熊本牡蛎; 香港巨牡蛎; 种间杂交

中图分类号: S968.3

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2024)4-0053-10

DOI: 10.11759/hyxx20230915001

牡蛎作为重要的海水养殖贝类, 为人类提供了丰富而优质的蛋白质。2022 年我国牡蛎养殖产量达到 619.9 万吨, 占全国贝类养殖总产量的 38.8%, 福建省牡蛎养殖产量 212.7 万吨, 位居全国第一^[1]。全球共有 100 多种牡蛎, 中国沿海已发现并鉴定的有 23 种^[2], 其中巨蛎属牡蛎(*Crassostrea*)占比最多。我国沿海巨蛎属牡蛎常见养殖种类有福建牡蛎(*C. angulata*)、长牡蛎(*C. gigas*)、熊本牡蛎(*C. sikamea*)、以及香港巨牡蛎(*C. hongkongensis*)。其中福建牡蛎主要分布于长江口以南浙江、福建、广东等地, 尤以福建最为常见, 属于当地优势种; 长牡蛎自然分布于长江口以北沿海地区, 与福建牡蛎互为近缘种^[3]; 熊本牡蛎分布区与福建牡蛎多有重合, 主要分布于长江口以南到广西沿海等地, 其个体大小相较同时期福建牡蛎稍小; 香港巨牡蛎主要分布于福建南部以及两广沿海地区, 适应河口低盐环境^[4]。

遗传学上将两个基因型不同的纯合子之间的交配称为杂交, 杂交育种是动植物进行种质改良的重要手段之一。杂交可以分为种内杂交和种间杂交, 种间杂交加大了物种间的基因交流, 在人为筛选作用下有一定概率促使后代产生积极的变异, 产生杂种优势, 常被用于水产动物遗传改良^[5-6]。牡蛎可以人工解剖授精的繁殖特性, 更是为其杂交育种的运用提供了便利。目前虽然关于牡蛎种间杂交育种的报道很多, 但是多为两个物种间不同杂交与自交组

收稿日期: 2023-09-15; 修回日期: 2023-11-14

基金项目: 福建省科技计划(2021N0041); 农业农村部东海海水健康养殖重点实验室开放课题(2022ESHML19)

[Foundation: Fujian Science and Technology Plan Guiding Project, No. 2021N0041; Key Laboratory of Healthy Mariculture for the East China Sea, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, P. R.China, No. 2022ESHML19]

作者简介: 涂康(1991—), 男, 湖北黄冈人, 助理研究员, 硕士, 研究方向: 水产养殖, E-mail: tu45tu@outlook.com; 韩自强(1993—), 通信作者, 河北邢台人, 副教授, 研究方向: 水产养殖, E-mail: hanzq@jmu.edu.cn

合同的比较, 缺乏多个物种间杂交组合的横向比较。例如, 福建牡蛎与长牡蛎^[7-8]熊本牡蛎^[9-10]和香港巨牡蛎^[11-12]均有种间杂交的报道, 但是福建牡蛎与哪种牡蛎杂交效果最优却无法判断, 限制了种间杂交在福建牡蛎苗种生产实际中的运用。

温度与盐度是影响海洋生物生长、存活与分布最重要的两个环境因子^[13]。巨蛎属牡蛎对环境盐度与温度具有广泛的适应性^[14], 但不同种之间的耐受性存在差异, 在浮游幼虫阶段表现得尤为明显^[15]。因此, 本文研究了福建牡蛎与长牡蛎、熊本牡蛎、香港巨牡蛎种间杂交子代孵化和浮游幼虫阶段生长成活的温度盐度条件, 旨在筛选出适合福建牡蛎的种间杂交组合以及其生长与成活最适的盐度与温度条件, 为种间杂交在福建牡蛎育种中的应用提供实践方案与技术资料, 同时为研究巨蛎属牡蛎杂交子代育苗过程中对盐度与温度的需求提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料处理

福建牡蛎取自福建莆田, 长牡蛎取自山东烟台, 熊本牡蛎取自江苏南通, 香港巨牡蛎取自广东饶平, 各种亲贝均是在远离牡蛎养殖区采集的野生群体, 采用 CO1 技术检测确定所有亲本均为纯种。2022 年 7 月至 2022 年 9 月陆续从各地采集 2 龄亲贝转移到福建省中灵农业发展有限公司, 清除壳表附着物后在水泥池中进行性腺促熟, 期间每天投喂云藻、扁藻及角毛藻的混合藻液, 每天换水 50%。

2022 年 10 月在亲贝性腺成熟后, 建立 7 种交配组合: 福建牡蛎♀×长牡蛎♂(AG)、长牡蛎♀×福建牡蛎♂(GA)、福建牡蛎♀×熊本牡蛎♂(AS)、熊本牡蛎♀×福建牡蛎♂(SA)、福建牡蛎♀×香港牡蛎♂(AH)、香港牡蛎♀×福建牡蛎♂(HA)、福建牡蛎♀×福建牡蛎♂(AA)。采用解剖方法分别获取精卵, 在海水中清洗后, 用 300 目洁净筛绢过滤杂质。卵子在海水中促熟 0.5~1 h, 丢弃状态不好的卵子后, 加入适量精子, 在显微镜下观察, 确保每个卵子周围有 7~10 个精子。混合后的精卵轻轻搅拌, 直至全部卵子受精, 将受精卵置于圆柱形孵化桶内孵化, 孵化密度为 20 个/mL, 桶体积为 600 L。至此, 共建立 6 个杂交实验组合及 1 个自交组合。实验发现杂交过程中 AS、AH 两组均无法正常受精, 出现配子不兼容现象, 因此这 2 个实验组无后续幼虫培育环节。

1.2 实验设计

1.2.1 盐度与温度对幼虫孵化的影响

设置盐度梯度为 15、20、25、30、35 的海水孵化桶, 其中 30 为当地正常海水盐度, 低盐组用曝气 1 d 的自来水与砂滤后的海水按比例配置, 高盐组采用砂滤海水与海水晶按比例配置, 用高精度恒温加热棒控制水温为 25±0.5 °C。将不同杂交组合的受精卵分别置于不同盐度孵化桶中孵化, 孵化密度为 15 粒/mL, 每组 3 个重复。24 h 后测算孵化率并开始选优。

设置温度梯度为 15 °C、20 °C、25 °C、30 °C、35 °C 的海水孵化桶, 使用高精度恒温加热棒控制水温。待水温达到目标温度且上下起伏不超过 0.5 °C 后, 将受精卵分别置于不同温度孵化桶中孵化, HA 组控制盐度为 20, 其他组采用正常海水(盐度 25), 孵化密度为 15 粒/mL, 每组 3 个重复。24 h 后测算孵化率并开始选优。

1.2.2 盐度与温度对浮游幼虫生长的影响

选优结束后, 设置 4 组水温 23~25 °C, 盐度梯度 15、20、25、30、35 的 600 L 白色塑料桶, 将不同组合 D 型幼虫各分为 5 个等分组, 分别转移至不同盐度梯度白桶中培育; 同时设置 3 组盐度 25, 1 组盐度 20(HA 组), 温度梯度为 15 °C、20 °C、25 °C、30 °C、35 °C 的 600 L 白色塑料桶, 按照同样的方法将幼虫转移至桶中培育。每个实验组设置 3 个重复。初始 D 型幼虫培育密度设置为 15 粒/mL, 饵料以小球藻和金藻为主, 投喂密度 5×10⁴~1.5×10⁵ cell/mL, 调整投喂藻类的盐度与温度与各实验组相同。每天换水 1 次, 每次换水量 1/3, 避光培养。

1.3 幼虫培育

设置水温 23~25 °C、盐度 23~25、pH 8.2~8.5 的 40 m³ 育苗池, 将选优后的 AG、GA、SA、AA 组 D 型幼虫移入育苗池培养, 同时设置水温 23~25 °C、盐度 18~20、pH 8.2~8.5 的 40 m³ 育苗池, 将选优后的 HA 组 D 型幼虫移入其中培养。幼虫初始培育密度 15 粒/mL。调整投喂藻类的盐度与温度与各实验组相同, 前期饵料以小球藻和金藻为主, 投喂密度 3×10⁴~8×10⁴ cell/mL, 每天投喂 2 次; 待幼虫壳高达到 130 μm 以上后, 以小球藻为主, 角毛藻为辅, 投喂密度 5×10⁴~1.0×10⁵ cell/mL, 每天投喂 3 次。每天换水一次, 每次换水量 1/3, 避光培养。

1.4 数据处理

实验过程中定期统计幼虫壳高与存活数据, 计算壳高特定增长率(SGR)和成活率(S_i)。计算公式如下:

$$SGR(\% \cdot d^{-1}) = \frac{\ln H_t - \ln H_0}{t} \times 100, \quad (1)$$

$$S_t(\%) = \frac{N_t}{N_0} \times 100, \quad (2)$$

式中, H_0 为初始壳高, H_t 为 t 时壳高, t 为实验时间; N_0 为实验初始每毫升海水中幼虫数量, N_t 为 t 时统计每毫升幼虫数量。

1.5 数据分析

使用 Excel 2016 和 SPSS 25 软件对数据进行统计与处理, 使用单因素方差分析(ANOVA)来分析不同实验组之间的差异性, 差异显著性均设置为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 不同盐度和温度条件下的幼虫孵化率

实验过程中 AS、AH 两组均无法正常受精, 出

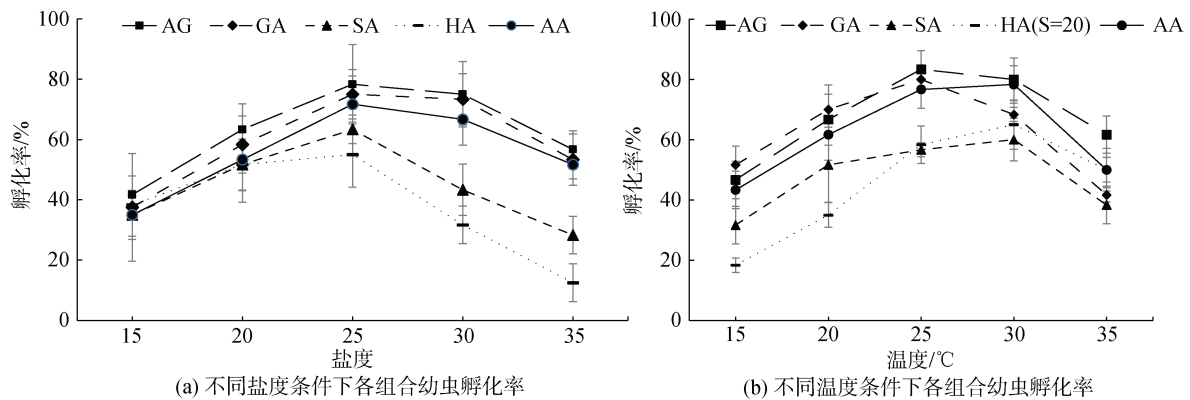


图 1 盐度与温度对各组合幼虫孵化率的影响

Fig. 1 Effects of salinity and temperature on the hatching rate of larvae in different combinations

孵化温度由低到高, 幼虫孵化率同样呈现出先升高后下降的趋势(图 1b)。温度为 15 °C 时, HA 孵化率最低, 为 18.33%±2.36%, GA 孵化率最高为 51.67%±6.24%; GA 组在 25 °C 之后孵化率迅速下降, 低于 AA 组, 表现出对低温的适应性; 温度超过 25 °C 后, AG 孵化率均高于其他实验组, 在温度为 25 °C 时有最高孵化率 83.33%±6.24%; SA、HA 在各温度条件下孵化率均低于 AA 组, 表现出杂种劣势。

2.2 不同盐度和温度条件下的幼虫培育 7 d 生长情况

幼虫孵化后在不同盐度条件下培育 7 d 后, 壳高如图 2a 所示, 成活率如图 2b 所示。盐度由低到高, 不同杂交组合壳高表现出先增大后减小的趋势, 其中 HA 组在盐度 20 时壳高最大, 为(97.8±1.70) μm, 其

现配子不兼容现象, 后续不作分析。不同实验组合幼虫孵化率随盐度的变化整体呈现为先上升后下降的趋势(图 1a)。AG、GA、AA 三组对高盐环境的耐受性强于对低盐环境的耐受性, SA、HA 两组更适应低盐环境; AG、GA、SA、HA、AA 都在盐度 25 时孵化率最高, 分别为 78.33%、75.00%、63.33%、55.00%、71.67%。盐度 15 时, AG 组孵化率最高, 为 41.67±6.24%; 盐度小于 25 时, 不同组合随盐度增大孵化率上升趋势相近; 盐度大于 25 时, AG、GA、AA 三组孵化率缓慢降低, SA、HA 组孵化率急剧下降。从图 1 可知, SA 组孵化率在不同盐度条件下均明显低于 AA 组($P < 0.05$), HA 组在盐度超过 20 后孵化率也显著低于 AA 组($P < 0.05$), 表现出杂种劣势; AG、GA 两组在所有盐度条件下孵化率均高于 AA 组, 表现出杂种优势。

他组在盐度为 25 时壳高最大。AG 组在所有实验组中壳高均为最大, 在盐度为 25 时为(124.7±3.17) μm; SA、HA 在不同盐度条件下壳高均低于 AA 组。由图 2b 可知, 盐度为 15 时, GA 有最高成活率 40.0%±6.67%; 盐度超过 20 后, AG 成活率在各组中均为最高, 在盐度为 25 时达到最大值 86.67%±5.44%; SA 组与 HA 组在盐度超过 20 后成活率均低于 AA 组, 且盐度为 35 时 HA 组在第 5 天死亡率达到 100%, 幼虫全部淘汰, 杂种劣势明显。

幼虫孵化后在不同温度下培育 7 d 后, 壳高情况如图 3a 所示, 成活率情况如图 3b 所示。由图 3a 可知, 所有实验组壳高在不同温度条件下均表现出先增大后减小的趋势, 在温度为 25 °C 的时候壳高有最大值。温度不超过 20 °C 时, GA 组壳高大于 AG 组, 20 °C 时 GA 组壳高

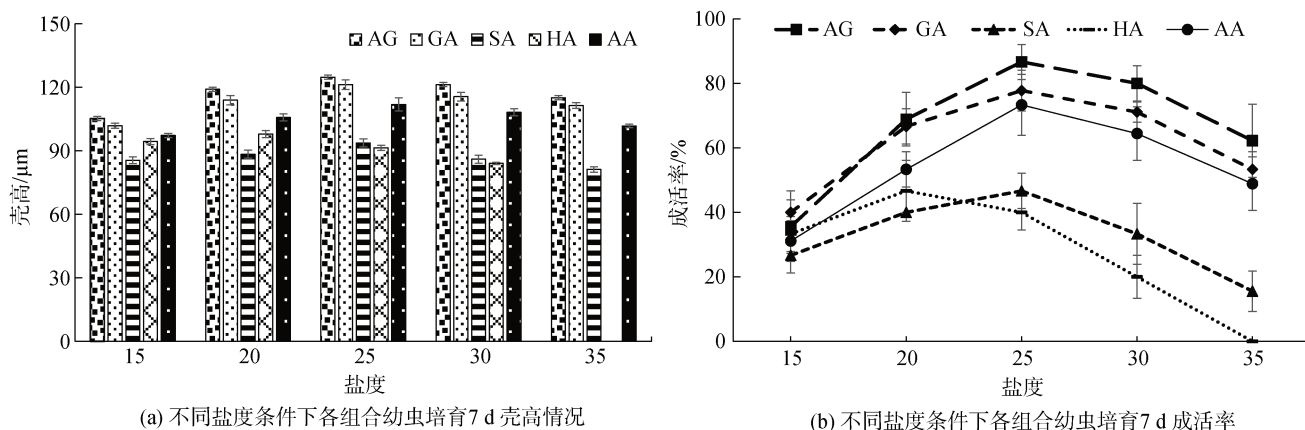


图2 不同盐度条件下各组合幼虫培育7 d 壳高与成活率情况

Fig. 2 Shell height and survival rates of larvae in different combinations cultured for 7 days at different salinities

为各组最大, 达(119.0±1.87) μm; 温度高于 20 °C 后, AG 组在所有实验组中壳高均为最大, 25 °C 时达到最大值 (126.0±2.27) μm; SA 组和 HA 组壳高在不同温度条件下均低于 AA 组, 25 °C 时分别有最大壳高(93.2±1.84) μm、(98.8±1.31) μm。由图 3 b 可知, 不同实验组成活率随温度的上升表现出先增大后减小的趋势, 在温度为 25 °C

时成活率均为最大。温度为 15 °C 时, GA 组成活率最高, 为 66.67%±5.44%; 温度超过 20 摄氏度后, AG 组成活率均为最高, 其中温度为 25 °C 时, AG 成活率达到最高值 88.89%±3.14%。不同温度条件下, SA 组和 HA 组成活率均低于 AA 组, 25 °C 时分别有最大成活率 48.89%±3.14% 和 46.67%±5.44%。

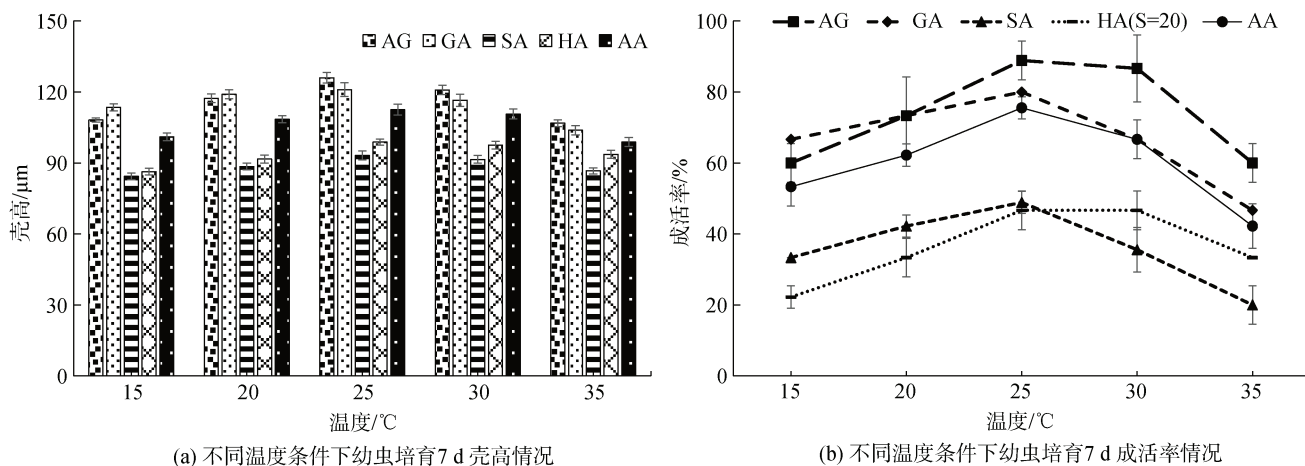


图3 不同温度条件下各组合幼虫培育7 d 壳高与成活率情况

Fig. 3 Shell height and survival rates of larvae in different combinations cultured for 7 days at different temperatures

2.3 不同杂交组合浮游幼虫生长情况

适宜温度与盐度条件下不同杂交组合幼虫壳高生长情况如表 1 所示。由表可知, D 型幼虫时期 GA、AA 之间壳高差异不明显, 两组与 AG、SA、HA 互相差异明显($P < 0.05$)。第 4 日开始所有实验组之间壳高差异明显($P < 0.05$), 不同实验组之间壳高差异表现为 $AG > GA > AA > HA > SA$ 。AG 组壳高 SGR 始终最大, 为 0.09; GA 组次之, 为 0.08; SA 与 HA 组

在幼虫生长前期壳高 SGR 远小于 AA 组, 均为 0.04, 表现为前期生长速度缓慢, 第 4 d 壳高 SGR 为 0.06, 生长速度开始加快, 第 10 d 之后壳高 SGR 稳定为 0.07。培育至第 16 d, 生长速度最快的 AG 组的壳高较 AA 组高出 22.3%, GA 组高出 11.4%, 但 SA 组与 HA 组壳高均低于 AA 组, 其中 SA 组壳高较 AA 组低 13.3%, HA 组壳高较 AA 组低 6.1%。结果表现为 AG 组杂种优势最大, SA 与 HA 组杂种劣势明显。

表 1 不同实验组合幼虫培育 16 d 壳高数据

Tab. 1 Shell height of larvae in different combinations cultured for 16 days

实验组		日龄/d					
		1	4	7	10	13	16
AG	壳高/ μm	72.5 \pm 0.41 ^a	94.8 \pm 1.03 ^a	122.5 \pm 2.45 ^a	158.2 \pm 4.4 ^a	206.5 \pm 5.89 ^a	266.7 \pm 6.79 ^a
	壳高 SGR/(%·d ⁻¹)	—	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
GA	壳高/ μm	71.5 \pm 0.41 ^b	90.8 \pm 0.62 ^b	117.2 \pm 1.65 ^b	150.8 \pm 3.06 ^b	193.5 \pm 3.94 ^b	242.8 \pm 4.73 ^b
	壳高 SGR/(%·d ⁻¹)	—	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
AA	壳高/ μm	70.7 \pm 0.62 ^b	88.0 \pm 0.71 ^c	110.2 \pm 2.32 ^c	137.0 \pm 3.34 ^c	173.8 \pm 4.09 ^c	218.0 \pm 5.35 ^c
	壳高 SGR/(%·d ⁻¹)	—	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08
SA	壳高/ μm	63.7 \pm 0.24 ^c	72.5 \pm 1.08 ^d	92.7 \pm 1.84 ^d	121.3 \pm 2.95 ^d	156.5 \pm 3.63 ^d	189.0 \pm 4.32 ^d
	壳高 SGR/(%·d ⁻¹)	—	0.04	0.06	0.07	0.07	0.07
HA	壳高/ μm	68.5 \pm 0.41 ^d	77.7 \pm 0.85 ^e	99.2 \pm 1.7 ^e	125.8 \pm 2.46 ^e	164.7 \pm 3.52 ^e	204.8 \pm 5.17 ^e
	壳高 SGR/(%·d ⁻¹)	—	0.04	0.06	0.07	0.07	0.07

注: 不同字母代表不同实验组间存在显著差异($P < 0.05$)

不同杂交组合幼虫培育前 16 d 成活率如图 4 所示。由图可知, AG 组成活率始终最高, 第 16 d 成活率还能达到 66.67% \pm 5.44%; GA 组成活率仅次于 AG 组, 第 4 d 至第 10 d 下降趋势明显, 第 16 d 成活率为 53.33% \pm 5.44%; SA 组与 HA 组成活率始终低于 AA 组, HA 组前 7 d 成活率高于 SA 组, 但下降幅度明显超过 SA 组, 第 10 d 之后成活率低于 SA 组, 该两组孵化后 10 d 内成活率下降明显, 10 d 后下降趋势有所减缓, SA 组第 16 d 成活率为 20.00% \pm 5.44%, HA 组第 16 天成活率为 15.56% \pm 3.14%。

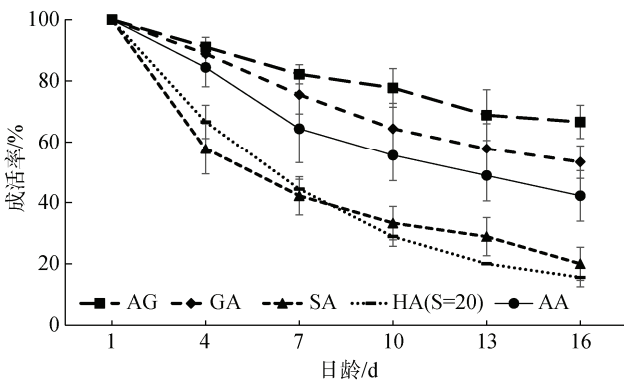


图 4 不同实验组合幼虫培育 16 d 成活率

Fig. 4 Survival rates of larvae in different combinations cultured for 16 days

3 讨论

杂交子代的快速生长和高成活率是贝类杂交育种的最终目的。亲本的选择是子代产生杂种优势的重要前提, 子一代的高杂合度有利于产生杂种优势,

能够获得常规选育多代才能出现的优良性状^[9], 对于水产动物遗传改良、提高产量和提升品质效果显著; 环境盐度与温度对于贝类幼虫的生长与成活具有显著影响^[16], 研究表明, 盐度与温度在影响幼虫生长的时候存在互作效应^[13], 但需要其中一个因子接近幼虫耐受极限, 另一个因子处于适宜范围时, 两者之间才会出现明显的相互作用, 当两个因子均处于适宜范围时, 相互作用并不明显, 单因子实验可以准确反映环境对幼虫生长的影响^[17]。

3.1 巨蛎属牡蛎种间杂交分析

对于巨蛎属牡蛎来说, 由于亲本之间亲缘关系相对较远, 产生了生殖隔离, 杂交成功率普遍很低^[7, 18-19]。本文分别研究了盐度与温度对福建牡蛎与长牡蛎、熊本牡蛎、香港巨牡蛎的杂交子代以及福建牡蛎自交子代生长与成活的影响。福建牡蛎和长牡蛎都是经过长期实践证明的优良养殖物种, 同时亲缘关系相对其他种较近^[20], 种间杂交成功率高, 且杂交子代在生长和存活方面都优于亲本种, 表现出明显的杂种优势^[7, 21], 从研究结果来看, 正反杂交子代的表型结果并不相同, 福建牡蛎♀ \times 长牡蛎♂产生的子一代在与环境互作方面普遍优于长牡蛎♀ \times 福建牡蛎♂子一代, 在最适温盐条件下福建牡蛎♀ \times 长牡蛎♂幼虫孵化率、幼虫生长及成活率均高于反交品系及福建牡蛎自交品系, 杂交子代在浮游幼虫阶段母本效应明显^[22]。福建牡蛎、熊本牡蛎和香港巨牡蛎三者之间亲缘关系相对较远, 产生生殖隔离, 种间杂交成功率普遍较低, 且只能单向受精, 反向受精则会出现杂交不育(hybrid sterility)现象^[10-11, 23]。本研究发现, 熊本牡蛎♀与福建牡蛎♂、香港巨牡蛎♀

与福建牡蛎♂虽然能够正常受精,但由于染色体组兼容性较差或者不兼容,子一代孵化率、生长速度、成活率都显著低于亲本后代,在最适温盐条件下,福建牡蛎与熊本牡蛎、香港巨牡蛎杂交子代在最适温盐条件下孵化率与幼虫生长、成活率均远低于自交品系,杂种劣势明显,印证了 Palumbi^[24]的研究结果。

3.2 盐度对牡蛎幼虫生长与存活的影响

盐度是影响海洋贝类的生长、存活及分布的重要环境因子之一,贝类的受精、孵化及生长各阶段都会随盐度的变化而发生一定的变化^[25-26]。牡蛎是渗透压随变者,体内渗透压会随着周围海水盐度的变化而变化^[27],不同种类牡蛎对盐度的耐受范围不同,当渗透压的变化超过自身调节最大限度,就会出现大量死亡现象。

福建牡蛎与长牡蛎均为广盐分布种,能够适应盐度 15~35 的生存环境^[11, 28],从本研究的结果分析,福建牡蛎与长牡蛎的正反交后代均表现出较强的盐度耐受性,能够在 15~35 盐度范围内正常存活,盐度 25~30 区间为最适生长盐度,盐度为 15 时孵化率、生长和存活都受到一定的抑制作用,可见杂交子代对高盐的耐受性强于对低盐的耐受性;福建牡蛎自交组在培养 16 d 后存活率仍然保持在 46.7%,与苏家齐^[9]结果中第 11 d 全部死亡的结果不一致,可能是由于本研究中采用的亲贝均来自于野生群体,具有更强的抗逆性。王昌勃^[29]研究发现,熊本牡蛎幼虫适宜生长盐度为 18~26,本研究中福建牡蛎与熊本牡蛎的杂交子一代适盐范围与熊本牡蛎相近,与福建牡蛎自交子代幼虫的适应高盐环境差异较大,这一结果表明杂交子代表现出一定的母本效应。本研究发现,盐度对福建牡蛎与香港巨牡蛎杂交子代生长与存活的影响远高于对其他四组。盐度低于 20 时,杂交子代幼虫孵化率高于福建牡蛎自交子代,盐度高于 20 时,杂交子代幼虫孵化率显著低于福建牡蛎自交子代,且下降趋势明显,这与任琰^[12]研究结果相近。与福建牡蛎自交后代相比,福建牡蛎与熊本牡蛎、香港巨牡蛎的杂交子代在孵化、幼虫生长与存活方面均处于劣势,杂种劣势明显,结果与苏家齐^[9]、Zhang 等^[30]研究结果一致。

3.3 温度对幼虫生长与存活的影响

温度是海水贝类的生长、存活及分布的另一重要影响因子^[31]。一方面,贝类是变温动物,当外界温度适宜时,升温能让贝类机体代谢旺盛,摄食活动

增强,进而促进生长^[32-33];温度高于或低于适温范围时,贝类体内新陈代谢收到抑制,同时机体免疫酶活性下降,生理功能紊乱,导致生长缓慢、不生长甚至死亡^[34]。另一方面,温度影响了水中各类因素动态,如 pH、盐度、饵料藻类活性等,间接影响贝类的生长及分布^[35]。本研究中,温度为 15 °C 时,各实验组的孵化率、生长与成活率都处在较低水平,随着温度上升,幼虫各项指标均有不同程度的升高,当温度超过 25 °C 后,大部分实验组幼虫各项指标开始下降,温度超过 30 °C 后,下降趋势进一步加大,与之前的研究结果一致^[35]。

福建牡蛎与长牡蛎的分布特点决定了福建牡蛎的高温耐受性和长牡蛎的低温耐受性^[7]。姜高伟等^[8]研究了温度对长牡蛎与福建牡蛎种间杂交的影响,发现杂交子代能够成功遗传长牡蛎的低温耐受性和福建牡蛎的高温耐受性,与本研究结果一致,同时本研究发现福建牡蛎与长牡蛎正反交子代在孵化率、生长与存活各项指标上存在差异,母本效应明显。

从地理分布上可知,熊本牡蛎^[36]与香港巨牡蛎^[22]均喜好高温环境,从本研究结果来看,福建牡蛎与熊本牡蛎、香港巨牡蛎的杂交子代也呈现出明显的高温适应性,最适生长温度为 25~30 °C,孵化后杂交子代均表现出显著的杂种劣势,且随着培养时间的增长,劣势愈发显著。这种情况同样表现在长牡蛎与熊本牡蛎^[37]、香港巨牡蛎^[38]的杂交子代上。但许飞^[39]在对福建牡蛎与熊本牡蛎杂交进行研究时,发现杂交子代在受精、孵化及成活率方面表现出杂种劣势,但在后期生长方面却表现出一定的杂种优势。因此,杂种优势不仅与亲本的遗传距离有关,也可能与养殖方法、环境因子等有关^[40],如果能够找出影响杂种优势效应的因子,并从技术层面加以解决,那么就可以为改善熊本牡蛎个体太小、香港巨牡蛎无法在高盐环境生存的问题提供新思路。

综上所述,福建牡蛎与长牡蛎的杂交子代在孵化、浮游幼虫生长阶段均表现出优于福建牡蛎自交子代的性状,杂种优势明显;福建牡蛎与熊本牡蛎、香港巨牡蛎只能单向受精,且杂交子代在幼虫孵化及浮游幼虫生长阶段杂种劣势明显;本研究确定了福建牡蛎与长牡蛎的杂交组合更适宜福建地区牡蛎养殖,其中,福建牡蛎♀×长牡蛎♂优于长牡蛎♀×福建牡蛎♂。同时确定了其杂交子代浮游幼虫阶段的最适温盐组合,为福建牡蛎良种选育提供了参考依据,也为杂交子代的人工育苗提供了技术方案。

参考文献:

- [1] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 2023 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2023: 1-180.
Fisheries and Fisheries Administration of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Aquatic Technology Promotion Station, Chinese Fisheries Society. 2023 China fisheries statistic yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2023: 1-180.
- [2] 徐凤山, 张素萍, 王少青. 中国海产双壳类图志[M]. 北京: 科学出版社, 2008: 1-336.
XU Fengshan, ZHANG Suping, WANG Shaoqing. An illustrated bivalvia mollusca fauna of China Seas[M]. Beijing: Science Press, 2008: 1-336.
- [3] FOIGHIL D Ó, GAFFNEY P M, HILBISH T J. Differences in mitochondrial 16S ribosomal gene sequences allow discrimination among American [*Crassostrea virginica* (Gmelin)] and Asian [*C. gigas* (Thunberg) *C. ariakensis* Wakiya] oyster species[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1995, 192(2): 211-220.
- [4] 张天真. 作物育种学总论[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
ZHANG Tianzhen. Crop breeding general[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2003.
- [5] 王如才, 王昭萍. 海水贝类养殖学[M]. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2008.
WANG Rucai, WANG Zhaoping. Marine shellfish culture[M]. Qingdao: China Ocean University Press, 2008.
- [6] 楼允东. 鱼类育种学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.
LOU Yundong. Fish breeding[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1999.
- [7] 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[J]. 水产学报, 2012, 36(2): 210-215.
ZHENG Huaiping, WANG Diwen, LIN Qing, 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.
- [8] 姜高伟, 李琪, 徐成勋, 等. 温度对长牡蛎和葡萄牙牡蛎及其杂交稚贝生长和存活的影响[J]. 中国水产科学, 2021, 28(1): 29-36.
JIANG Gaowei, LI Qi, XU Chengxun, et al. Effects of temperature on the growth and survival of reciprocal hybrids of two oyster species, *Crassostrea gigas* and *Crassostrea angulata*[J]. Journal of Fishery Science of China, 2021, 28(1): 29-36.
- [9] 苏家齐. 葡萄牙牡蛎与熊本牡蛎、僧帽牡蛎的种间杂交研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2016.
SU Jiaqi. Hybridization between *Crassostrea angulata* and *C. sikamea*, *Saccostrea Cucullata*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2016.
- [10] 苏家齐, 王昭萍, 张跃环, 等. 葡萄牙牡蛎与熊本牡蛎种间配子亲和力和合子育性分析[J]. 水产学报, 2015, 39(3): 353-360.
SU Jiaqi, WANG Zhaoping, ZHANG Yuehuan, et al. Analysis of gamete compatibility and zygote fertility for *Crassostrea angulata* and *Crassostrea sikamea*[J]. Journal of fisheries of China, 2015, 39(3): 353-360.
- [11] 杜俊鹏, 王昭萍, 于瑞海, 等. 盐度对香港巨牡蛎♀×葡萄牙牡蛎♂杂交子代早期杂种优势的影响[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2018, 48(1): 31-39.
DU Junpeng, WANG Zhaoping, YU Ruihai, et al. Effect of salinity on early heterosis of hybrid larvae between *Crassostrea hongkongensis* ♀ × *C. angulata* ♂[J]. Periodical of Ocean University of China, 2018, 48(1): 31-39.
- [12] 任琰. 香港牡蛎与近江牡蛎、葡萄牙牡蛎的种间杂交研究[D]. 南宁: 广西大学, 2020.
REN Yan. Hybridization between *Crassostrea hongkongensis* and *C. rivularis*, *C. angulata*[D]. Nanning: Guangxi University, 2020.
- [13] 孔宁. 温度、盐度对皱纹盘鲍“97”选群生长发育的影响[D]. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所), 2016.
KONG Ning. Effects of temperature and salinity on growth and development of "97" selective breeding population of *Haliotis discus hannai* Ino[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2016.
- [14] 李孝绪, 齐钟彦. 中国牡蛎的比较解剖学及系统分类和演化的研究[J]. 海洋科学集刊, 1994, 35: 143-178, 281-290.
LI Xiaoxu, QI Zhongyan. Studies on the comparative anatomy, systematic classification and evolution of Chinese oysters[J]. Studia Marina Sinica, 1994, 35: 143-178, 281-290.
- [15] O'CONNOR W A, LAWLER N F. Salinity and temperature tolerance of embryos and juveniles of the pearl oyster, *Pinctada imbricata* Röding[J]. Aquaculture, 2004, 229(1): 493-506.
- [16] 谭杰, 陈振江, 刘付少梅, 等. 温度和盐度对大珠母贝稚贝存活和生长的互作效应[J]. 广东海洋大学学报, 2016, 36(6): 44-51.
TAN Jie, CHEN Zhenjiang, LIUFU Shaomei, et al. Combined effects of temperature and salinity on the survival and growth rate of juveniles of *Pinctada maxima*[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2016, 36(6): 44-51.
- [17] TETTELBACH S T, RHODES E W. Combined effects

- of temperature and salinity on embryos and larvae of the northern bay scallop *Argopecten irradians irradians*[J]. *Marine Biology*, 1981, 63(3): 249-256.
- [18] DAVIS H C. On Interspecific hybridization in oyster[J]. *Science*, 1950, 111(2889): 522-522.
- [19] ALLEN S K, GAFFNEY P M, SCARPA J, et al. Invi-able hybrids of *Crassostrea virginica* (Gmelin) with *C. rivularis* (Gould) and *C. gigas* (Thunberg)[J]. *Aqua-culture*, 1993, 113(4): 269-289.
- [20] WANG H Y, QIAN L M, LIU X, et al. Classification of a common cupped oyster from southern China[J]. *Journal of Shellfish Research*, 2010, 29(4): 1-10.
- [21] BATISTA F M, LEITÃO A, FONSECA V G, et al. In-dividual relationship between aneuploidy of gill cells and growth rate in the cupped oysters *Crassostrea angulata*, *C. gigas* and their reciprocal hybrids[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2007, 352(1): 226-233.
- [22] 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[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
- ZHANG Yuehuan. Interspecific hybridization effect and genetic improvement between two cupped oyster, *Crassostrea hongkongensis* and *C. gigas*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012.
- [23] 张跃环, 王昭萍, 闫喜武, 等. 香港巨牡蛎与长牡蛎种间杂交及早期杂种优势分析[J]. *水产学报*, 2012, 36(9): 1358-1366.
- ZHANG Yuehuan, WANG Zhaoping, YAN Xiwu, et al. Analysis of the early heterosis for interspecific hybrids between *Crassostrea hongkongensis* and *C. gigas*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(9): 1358-1366.
- [24] PALUMBI S R. Genetic divergence, reproductive iso-lation, and marine speciation[J]. *Annual Review of Ecology, Evolution, Systematics*, 1994, 25(1): 547-572.
- [25] 宁军号, 胡盼, 宋坚, 等. 几种生态因子对偏顶蛤浮游幼虫生长和发育的影响[J]. *大连海洋大学学报*, 2014, 29(6): 601-606.
- NING Junhao, HU Pan, SONG Jian, et al. Effects of several ecological factors on growth and development of planktonic larvae in clam[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2014, 29(6): 601-606.
- [26] 余智彩, 贾真, 彭业韶, 等. 盐度胁迫对香港牡蛎部分生化指标的影响[J]. *海洋科学*, 2019, 43(3): 40-45.
- SHE Zhicai, JIA Zhen, PENG Yeshao, et al. Effects of salinity stress on partial biochemical indicators of the Hong Kong oyster *Crassostrea hongkongensis*[J]. *Marine Sciences*, 2019, 43(3): 40-45.
- [27] 李俊元. 不同温度条件下皱纹盘鲍幼鲍对低盐胁迫的响应及渗透压调节机制的初步研究[D]. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所), 2015.
- LI Junyuan. Response of *Haliotis discus hannai* Ino exposed to low salinity at different temperatures and preliminary study on osmoregulatory mechanism[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2015.
- [28] 姚托, 王昭萍, 闫喜武, 等. 盐度对长牡蛎和近江牡蛎及其杂交稚贝生长和存活的影响[J]. *生态学报*, 2015, 35(5): 1581-1586.
- YAO Tuo, WANG Zhaoping, YAN Xiwu, et al. Effect of salinity on growth and survival of *Crassostrea gigas*, *C. ariakensis* and juvenile hybrids[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(5): 1581-1586.
- [29] 王昌勃. 熊本牡蛎单体苗种生产和养殖技术的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014.
- WANG Changbo. Studies on single-seed oyster spat pro-duction and culture techniques of *Crassostrea sikamea*[D]. Qingdao: Ocean university of China, 2014.
- [30] ZHANG Y H, ZHANG Y, JUN L, et al. Phenotypic trait of *Crassostrea hongkongensis*♀× *C. angulata*♂ hybrids in southern China[J]. *Aquaculture Research*, 2016, 47(11): 3399-3409.
- [31] 王国强. 软体动物幼体存活率和生长发育温度效应研究进展[J]. *动物医学进展*, 2014, 35(1): 90-93.
- WANG Guoqiang. Progress on temperature effect of survival rate and development of mollusk larvae[J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2014, 35(1): 90-93.
- [32] 王丹丽, 徐善良, 尤仲杰, 等. 温度和盐度对青蛤孵化及幼虫、稚贝存活与生长变态的影响[J]. *水生生物学学报*, 2005, 29(5): 495-501.
- WANG Danli, XU Shanliang, YOU Zhongjie, et al. The effects of temperature and salinity on the incubation of *Cyclina sinensis* and survival, growth and metamorphosis of *C. sinensis* and juveniles[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, 29(5): 495-501.
- [33] 王涛, 李琪. 不同盐度和温度对熊本牡蛎(*Crassostrea sikamea*)稚贝生长与存活的影响[J]. *海洋与湖沼*, 2017, 48(2): 297-302.
- WANG Tao, LI Qi. Effects of salinity and temperature on growth and survival of juvenile of kumamoto oyster (*Crassostrea sikamea*)[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2017, 48(2): 297-302.
- [34] 王潇. 温度对岩扇贝免疫酶、无水保活的影响及通径分析[D]. 大连: 大连海洋大学, 2018.
- WANG Xiao. Effects of temperature stress on the anti-oxidant enzymes activity and keeping-alive without water and path analysis of quantitative traits of *Cras-sadoma gigantea* larvae[J]. Dalian: Dalian Ocean Uni-versity, 2018.
- [35] 吴静. 温度和盐度对华贵栉孔扇贝(*Mimachlamys nobilis* Reeve)存活、免疫指标及生理指标的影响[D]. 福州: 福建师范大学, 2016.

- WU Jing. Effects of temperature and salinity on survival, immune indexes and physiological indexes of *Mimachlamys nobilis* Reeve[D]. Fuzhou: Fujian Normal University, 2016.
- [36] 吕晓燕. 熊本牡蛎人工繁育与长牡蛎单体苗种培育技术研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
- LV Xiaoyan. Studies on the techniques of artificial reproduction of the *Crassostrea sikamea* and Cultivation of the cultchless spat of *Crassostrea gigas*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013.
- [37] 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, 310.
- [38] ZHANG Y H, WANG Z P, YAN X W, et al. Laboratory hybridization between two oysters: *Crassostrea gigas* and *Crassostrea hongkongensis*[J]. Journal of Shellfish Research, 2012(3): 619-625, 617.
- [39] 许飞. 小庙洪牡蛎礁巨蛎属牡蛎间生殖隔离研究[D]. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所), 2009.
- XU Fei. Reproductive isolations between oysters of genus *Crassostrea* on the Xiaomiaohong oyster reef[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2009.
- [40] 姚托. 长牡蛎, 葡萄牙牡蛎与近江牡蛎的种间杂交研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014.
- YAO Tuo. Hybridization between *Crassostrea ariakensis* and *C.gigas*, *C.angulata*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2014.

Effects of temperature and salinity on hatching, early growth, and survival of interspecific hybrid larvae between *Crassostrea angulata* and *C. gigas*, *C. sikamea*, and *C. hongkongensis*

TU Kang¹, HAN Ziqiang², XIAO Yizhe¹, XIE Shuangru¹, HUANG Qiongye¹

(1. Putian Institute of Aquaculture Science of Fujian Province, Putian 351100, China; 2. Fisheries College of JIMEI University, Xiamen 361100, China)

Received: Sep. 15, 2023

Key words: *Crassostrea angulata*; *C. gigas*; *C. sikamea*; *C. hongkongensis*; interspecific hybridization

Abstract: The Fujian oyster *Crassostrea angulata* is the most cultivated oyster species in the Fujian province. To evaluate the effects of different temperatures and salinities on the hatching rate, the early growth and survival rate of *C. angulata* (A) and their crosses with *C. gigas* (G), *C. sikamea* (S), and *C. hongkongensis* (H), five experimental groups of AG (A ♀×G ♂), GA (G ♀×A ♂), SA (S ♀×A ♂), HA (H ♀×A ♂), and AA (A ♀×A ♂) were produced using diallel crosses, except for hybrid sterility that existed in A ♀×S ♂ and A ♀×H ♂ combinations. The hatching rates of AG, GA, SA, HA, and AA reached maximum values of 78.33%, 75.00%, 63.33%, 55.00%, and 71.67%, respectively, when the salinity was 25. When the temperature was <25 °C, the hatching rate of GA was higher than that of other groups; when the temperature was >25 °C, the hatching rate of AG was the highest, and the maximum hatching rate reached 83.33% at 25 °C. After 7 days of culture under different salinity conditions, the shell height of HA reached a maximum of 97.8 μm at a salinity of 20, with a survival rate of 46.67%, and all larvae died on the 5th day at a salinity of 35. The maximum shell height of AG, GA, SA, and AA was 124.7, 121.2, 93.7, and 111.8 μm, respectively, when salinity was 25. After culturing for 7 days at different temperatures, all groups showed the maximum shell height and survival rate at 25 °C, and the survival rate of each group showed a trend of first increasing and then decreasing with increased temperature; the survival rate of AG was highest in all groups (88.89%) at 25 °C. After 16 days of continuous cultivation under suitable temperature and salinity conditions, the shell heights of the different groups were as follows: AG > GA > AA > HA > SA. Shell height, shell height SGR, and survival rate of AG were always higher than those of other groups, while those of SA and HA were always lower than those of the self-crossing group AA. Our study showed that the hybrid offspring of *C. angulata* and *C. gigas* showed obvious growth and survival advantages; AG was better than GA, and the growth and survival rates of AG were highest under the conditions of salinity of 25 and temperature of 25 °C. These results provide a reference for the breeding of Fujian oysters.

(本文编辑: 赵卫红)