

长牡蛎和岩牡蛎种间配子兼容性及其合子育性分析*

徐洪强, 李琪**, 张景晓

(海水养殖教育部重点实验室(中国海洋大学), 山东 青岛 266003)

摘要: 为评估长牡蛎(*Crassostrea gigas*)和岩牡蛎(*Crassostrea nippona*)种间配子兼容性和合子育性水平,探讨两者的生殖隔离,采用完全双列杂交实验研究了温度(17、21、25、29和33℃)、盐度(18、22、26、30和34)和精子浓度(10^0 、 10^1 、 10^2 、 10^3 和 10^4 个/ μL)对受精率及孵化率的影响。结果表明,长牡蛎卵子可以与岩牡蛎精子受精,相反方向也能够受精,两者之间是双向受精;杂交组受精率及孵化率显著低于自繁组($P < 0.05$),且孵化率变化趋势与受精率基本一致。随着温度和盐度的上升,自繁组和杂交组受精率和孵化率呈先升后降的变化。长牡蛎♀(长牡蛎♂(GG)、长牡蛎♀(岩牡蛎♂(GN)、岩牡蛎♀(长牡蛎♂(NG)和岩牡蛎♀(岩牡蛎♂(NN)交配组胚胎发育最适温度分别为25、21、25和29℃,受精率和孵化率分别为87.0%、43.7%、42.8%、82.8%和76.9%、33.5%、33.4%、74.8%;GG和NG组最适盐度为26,GN和NN组最适盐度为30,各组在最适盐度下受精率和孵化率分别为86.6%、31.6%、41.2%、85.0%和77.3%、25.9%、37.7%、79.8%;在温度25℃、盐度26条件下,各组受精率随精子浓度增加而增大,尤其是杂交组,当精子浓度为 $10^0 \sim 10^4$ 个/ μL 时,GN组受精率和孵化率分别为7.7%~43.9%和2.9%~39.9%;NG组受精率和孵化率分别是9%~46.2%和0%~44.2%。本研究证明温度、盐度和精子浓度对长牡蛎和岩牡蛎种间配子兼容性和合子育性有较大影响。

关键词: 岩牡蛎;长牡蛎;种间杂交;配子兼容性;合子育性

中图分类号: S968.31

文献标志码: A

文章编号: 1672-5174(2018)12-015-08

DOI: 10.16441/j.cnki.hdxh.20170439

引用格式: 徐洪强,李琪,张景晓.长牡蛎和岩牡蛎种间配子兼容性及其合子育性分析[J].中国海洋大学学报(自然科学版),2018,48(12):15-22.

XU Hong-Qiang, LI Qi, ZHANG Jing-Xiao. Analysis of gamete compatibility and zygote fertility for *Crassostrea gigas* and *Crassostrea nippona*[J]. Periodical of Ocean University of China, 2018, 48(12): 15-22.

长牡蛎(*Crassostrea gigas*)是中国主要海水贝类养殖品种,具有生长快,产量高的特点。为达到遗传改良的目的,促进牡蛎养殖业的持续健康发展,近年来,牡蛎育种学家开展了多项选择和杂交育种工作,如Li等^[1]开展了长牡蛎中日韩三个地理群体的选育工作并培育出新品种“海大1号”;Zhang等^[2]将长牡蛎与香港巨牡蛎的杂交子代与亲代回交,通过选育回交子代培育出新品种“华南1号”。实践证明科学的育种方法可以提高牡蛎的表型性状,创造出巨大的经济及社会价值,而杂交育种作为一种传统的育种手段,能够结合双亲的优良性状,甚至产生某些双亲所没有的性状,创造出全新的变异类型^[3]。

岩牡蛎(*Crassostrea nippona*)自然分布于日本和韩国东南沿海,由于其味道鲜美,出肉率高,且壳形优美,可夏季供应市场,经济价值十分可观。岩牡蛎性成

熟期是2~3a^[4],相比长牡蛎生长速度较慢。长牡蛎和岩牡蛎同属于巨牡蛎属(*Crassostrea*),存在互补性状,若能进行种间杂交,有望培育出具有杂种优势的新品种。鉴于种间杂交技术难度高,容易出现配子不亲和、杂交子代生长缓慢等问题^[5],因此需要对胚胎发育的早期性状如配子兼容性、细胞遗传学等进行研究,以探索利用种间杂交培育新品种的可行性。

配子不兼容是指来自一个个体的精子与另外一个个体的卵子不能完成受精作用^[6],属于合子前生殖隔离^[7]。配子兼容性是贝类种间杂交的重要研究内容之一,配子不兼容主要是与控制配子结合相关的基因发生变异所致,如控制结合素(Bindin)、细胞溶素(Lysin)等合成的基因^[8]。学者们从受精细胞学方面研究了长牡蛎×熊本牡蛎(*C. sikamea*)^[9]、岩牡蛎×长牡蛎^[10]、栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)×虾夷扇贝(*Patinopecten*

* 基金项目:山东省科技发展计划项目(2016ZDJS06A06);青岛市产业培育计划项目(17-3-3-64-nsh)资助

Supported by Science and Technology Development Project of Shandong Province(2016ZDJS06A06); Qingdao Industrial Development Program(17-3-3-64-nsh)

收稿日期:2017-12-26;修订日期:2018-02-26

作者简介:徐洪强(1993-),男,硕士生。E-mail: xuhongqiang@stu.ouc.edu.cn

** 通讯作者:E-mail: qili66@ouc.edu.cn

yessoensis)^[11]、华贵栉孔扇贝(*Chlamys nobilis*)×栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)^[12]及紫贻贝(*Mytilus edulis*)×厚壳贻贝^[13](*M. coruscus*)的早期胚胎发育;从受精及孵化方面研究了香港巨牡蛎(*C. hongkongensis*)×长牡蛎^[14]、葡萄牙牡蛎(*C. angulata*)×熊本牡蛎^[15]、紫扇贝(*Argopecten purpuratus*)×海湾扇贝(*A. irradians irradians*)^[16]、海湾扇贝×虾夷扇贝^[17]的生殖隔离机制。而合子不育是指两个物种的配子可以发生受精作用,但是受精后胚胎发育过程受阻的现象,属于合子后生殖隔离^[7]。合子育性水平也是种间杂交的重要研究内容之一,种间杂交生殖能力的减弱是由于减数分裂异常导致^[18],在贝类种间杂交中存在许多能够受精却无法进行胚胎发育的现象,对合子育性进行研究,是提高种间杂交成功率的重要前提。

本研究以配子兼容性作为合子受精前隔离指标,以合子育性作为合子受精后隔离指标,对长牡蛎和岩牡蛎生殖隔离格局进行探讨,这对研究长牡蛎和岩牡蛎的种间杂交、物种形成与进化等都具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验亲贝选用2015年构建的岩牡蛎养殖群体和2016年构建的长牡蛎“海大1号”群体。为解决岩牡蛎与长牡蛎性腺发育不同步的问题,将岩牡蛎置于莱州海益苗业有限公司20 m³水泥池进行室内催熟,促熟期间水温27~31℃,盐度29~32,至2017年7月下旬,岩牡蛎性腺发育成熟;7月初将性成熟的长牡蛎置于17~18℃冷水中抑制其排卵,海水温度由循环式冷水机调控。

1.2 实验设计

选择对牡蛎受精孵化较为重要的3个指标(温度、盐度和精子浓度)来阐明长牡蛎和岩牡蛎种间配子兼容性与合子育性水平。综合考虑长牡蛎和岩牡蛎的适

应特点,设计5个温度梯度(17、21、25、29和33℃)和5个盐度梯度(18、22、26、30和34),为保证实验数据准确,每个交配组合设置3个生物学重复。选择性腺饱满的长牡蛎和岩牡蛎雌雄各5个个体,解剖性腺组织获取精卵并将每个种类的5个个体卵子混合到一起,精子混合到一起,进行完全双列杂交,得到4个交配组合:长牡蛎♀×长牡蛎♂(GG)、长牡蛎♀×岩牡蛎♂(GN)、岩牡蛎♀×长牡蛎♂(NG)、岩牡蛎♀×岩牡蛎♂(NN)。实验于2 L水族箱中进行,卵子密度为30~40个/mL。温度实验中,利用循环式冷水机和加热棒控制温度,盐度保持在29;盐度实验中,温度保持在28℃。

精子密度是评估种间杂交配子兼容性的重要因素,并可能解释受精障碍的进化机制^[19]。参照Banks等^[20]对贝类杂交配子兼容性格局的分析,设计5个精子浓度梯度(10⁰、10¹、10²、10³和10⁴个/μL),其中精子通过血球计数板测定密度。温度设置为28℃,盐度设置为29。

1.3 数据处理

为保证方差齐性,受精率及孵化率均转化为反正弦函数,精子浓度转化为对数函数。实验数据采用SPSS 19.0软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),并结合Turkey多重比较分析温度、盐度对种间配子兼容性和合子育性的影响。显著性水平设为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 温度对受精率和孵化率的影响

如图1所示,GG组受精率受温度影响较小,维持在78%~87%之间;NN组受精率随温度的升高先增大后降低,29℃时受精率最高,为82%;GN与NG组最适受精温度为分别为21和25℃,对应受精率分别是43.7%和42.8%。方差分析显示,17~33℃时GG组受精率显著高于2个杂交组($P < 0.05$);21~33℃时NN组显著高于2个杂交组($P < 0.05$);在17~33℃之间时2个杂交组受精率无显著性差异($P > 0.05$)(见表1)。

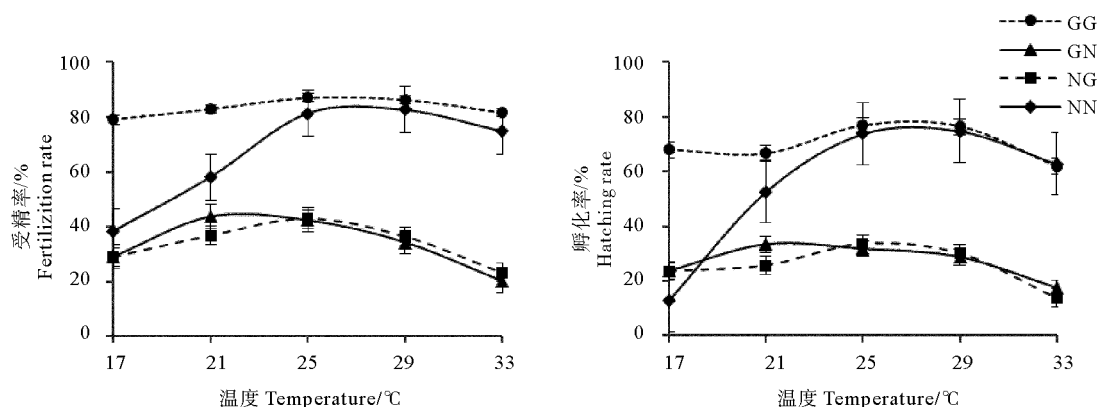


图1 温度对配子兼容性和合子育性的影响

Fig. 1 Effect of temperature on gamete compatibility and zygote fertility

表 1 温度对配子兼容性和合子育性影响的方差分析

Table 1 Analysis of variance for the effect of temperature on gamete compatibility and zygote fertility

	温度/ °C Temperature	df	M. S.	P	多重比较 Multiple comparison
受精率 Fertilization rate	17	3	0.263	0.000**	GG ^a > NN ^b > GN ^b > NG ^b
	21	3	0.214	0.000**	GG ^a > NN ^b > GN ^c > NG ^c
	25	3	0.299	0.000**	GG ^a > NN ^b > GN ^c > NG ^c
	29	3	0.423	0.000**	GG ^a > NN ^a > NG ^b > GN ^b
	33	3	0.471	0.000**	GG ^a > NN ^b > NG ^c > GN ^c
孵化率 Hatching rate	17	3	0.233	0.000**	GG ^a > GN ^b > NG ^b > NN ^c
	21	3	0.138	0.000**	GG ^a > NN ^b > GN ^c > NG ^c
	25	3	0.249	0.000**	NN ^a > GG ^a > GN ^b > NG ^b
	29	3	0.314	0.000**	GG ^a > NN ^a > NG ^b > GN ^b
	33	3	0.268	0.000**	NN ^a > GG ^a > GN ^b > NG ^b

注: df 表示自由度, MS 表示均方, P 表示 P 值; * 表示差异显著 ($P < 0.05$), ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$); 不同的字母表示差异显著 ($P < 0.05$); 下同。

Note: df, MS and P mean degree of freedom, square and P value respectively. * and ** denote significant ($P < 0.05$) and extremely significant ($P < 0.01$), respectively. Data with different letters mean significant difference with each other ($P < 0.05$). The same as the following.

4 个实验组孵化率变化趋势与受精率基本类似, GG、GN、NG 和 NN 组孵化率最大值分别为 76.9%、33.5%、33.4% 和 74.8%。方差分析表明, 在 17 和 21°C, GG 与 NN 差异显著 ($P < 0.05$), 随着温度升高, 两自繁组孵化率差异不显著 ($P > 0.05$); 当温度为 17~33 °C 时, GG 组孵化率显著高于两杂组 ($P < 0.05$), 在 21~33 °C 之间时, NN 组显著高于两杂组 ($P < 0.05$); 同受精率一样, 两杂组孵化率无显著性差异 ($P > 0.05$) (见表 1)。方差分析结果表明, 温度是影响 NN、NG、GN 受精率和孵化率的主要因素, 但对 GG 影响较小 (见表 2)。

2.2 盐度对受精率和孵化率的影响

GG 组受精率受盐度影响较小, 维持在 76.9%~86.6% 之间; NN 组受精率随盐度的升高先增加后降低, 最适盐度为 30, 对应受精率为 85.0%; GN 组受精率在 30 时出现最大值, 为 31.6%, 随后随盐度的升高而降低; NG 组在 26 时出现最大值 41.2%, 相比于 NG 组, GN 组受盐度影响小 (见图 2)。方差分析显示, GG 和 NN 组受精率在盐度 18~22 时差异显著 ($P < 0.05$), 在 26~34 之间差异不显著 ($P > 0.05$), 自繁组受精率显著大于两杂组 ($P < 0.05$); GN 和 NG 组受精率在 18~34 之间差异显著 ($P < 0.05$) (见表 3)。

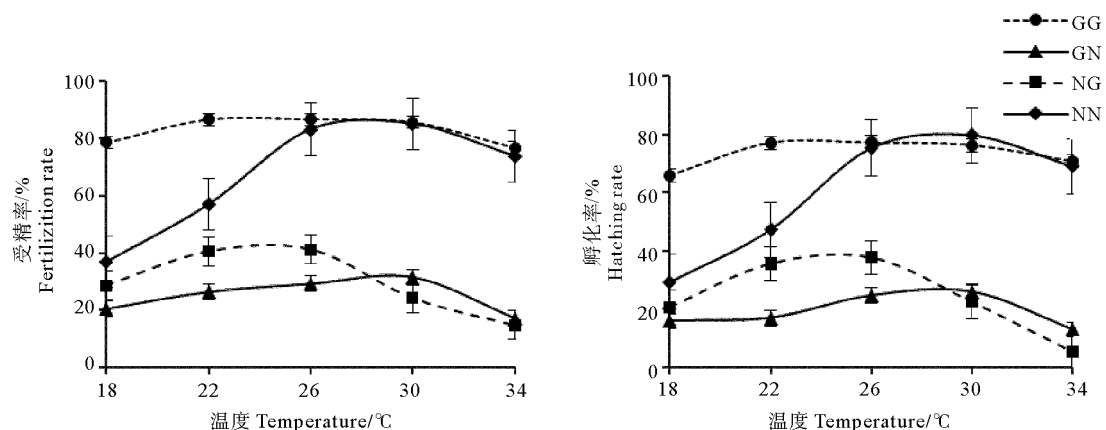


图 2 盐度对配子兼容性和合子育性的影响

Fig. 2 Effect of salinity on gamete compatibility and zygote fertility

表2 温度、盐度作用对配子亲和力及合子育性的影响

Table 2 Analyses of variance showing temperature and salinity effects for gamete compatibility and zygote fertility

受精率 Fertilization rate					孵化率 Hatching rate				
来源 Source		df	M. S.	P	来源 Source		df	M. S.	P
	T	4	0.004	0.687		T	4	0.010	0.150
GG	S	4	0.004	0.653	GG	S	4	0.012	0.104
	T×S	1	0.000	0.970		T×S	1	0.019	0.073
	T	4	0.015	0.000		T	4	0.010	0.001
NG	S	4	0.011	0.000	NG	S	4	0.022	0.000
	T×S	1	0.005	0.005		T×S	1	0.000	0.822
	T	4	0.007	0.000		T	4	0.003	0.002
GN	S	4	0.023	0.000	GN	S	4	0.014	0.000
	T×S	1	0.101	0.000		T×S	1	0.066	0.000
	T	4	0.001	0.815		T	4	0.012	0.000
NN	S	4	0.150	0.000	NN	S	4	0.241	0.000
	T×S	1	0.000	0.760		T×S	1	0.025	0.000

注: T 表示温度效应, S 表示盐度效应, T × S 表示温度与盐度的交互作用。

Note: T, S and T × S mean the effects of temperature, the effect of salinity and the interaction of temperature and salinity respectively.

4 个实验组孵化率变化趋势与受精率基本一致, GG、GN、NG 和 NN 组最大孵化率分别为 77.3%、25.9%、37.7%和 79.8%。GG 和 NN 组受精率在盐度 18~22 时差异显著 ($P < 0.05$), 在 26~34 之间差异不显著 ($P > 0.05$); 在 18~34, GG 组与 2 个杂交组差异显著 ($P < 0.05$); 盐度为 18 时, NN、GN 和 NG 三

组差异均不显著; 而盐度为 18、22、30 和 34 时, GN 与 NG 组差异不显著 ($P < 0.05$)。盐度是影响 NN、NG、GN 组受精率和孵化率最主要因素, 但是对长牡蛎影响不显著 ($P > 0.05$)。温度和盐度的交互作用对杂交组受精率和孵化率具有显著影响 (见表 3)。

表3 盐度对配子兼容性和合子育性影响的方差分析

Table 3 Analysis of variance for the effect of salinity on gamete compatibility and zygote fertility

	盐度 Salinity	df	M. S.	P	多重比较 Multiple comparison
受精率 Fertilization rate	18	3	0.300	0.000	GG ^a > NN ^b > NG ^b > GN ^c
	22	3	0.325	0.000	GG ^a > NN ^b > NG ^b > GN ^c
	26	3	0.456	0.000	GG ^a > NN ^a > NG ^b > GN ^c
	30	3	0.599	0.000	GG ^a > NN ^a > GN ^b > NG ^c
	34	3	0.489	0.000	GG ^a > NN ^a > GN ^b > NG ^c
孵化率 Hatching rate	18	3	0.198	0.000	GG ^a > NN ^b > NG ^b > GN ^b
	22	3	0.273	0.000	GG ^a > NN ^b > NG ^b > GN ^c
	26	3	0.299	0.000	GG ^a > NN ^a > NG ^b > GN ^c
	30	3	0.444	0.000	NN ^a > GG ^a > NG ^b > GN ^b
	34	3	0.473	0.000	GG ^a > NN ^a > GN ^b > NG ^b

2.3 精子浓度

如图 3 所示, 自繁组的受精率和孵化率显著高于 2 个杂交组 ($P < 0.05$); 相比于其他 3 组, GG 组受精率受精子浓度影响小, NN 组受精率在精子浓度 10^3 个/ μL 时最大, 为 88.3%, 其后随精子浓度增加有减小趋势; 当精子浓度为 $10^0 \sim 10^4$ 个/ μL 时, GN 和 NG 两组受精率随精子浓度的增大而增大, 最大受精率出现在 10^4 个/ μL ,

分别是 43.9% 和 46.2%, 两组之间受精率差异不显著 ($P > 0.05$)。就孵化率而言, GG、GN、NG 和 NN 组最大孵化率分别为 76.1%、39.9%、44.2% 和 81.9%, 2 个自繁组在精子浓度 10^0 、 10^1 和 10^2 个/ μL 时差异显著 ($P < 0.05$), 但随着精子浓度继续升高, 差异不显著 ($P > 0.05$); 两杂交组孵化率在精子浓度 $10^0 \sim 10^4$ 个/ μL 时差异不显著 ($P > 0.05$) (见表 4)。

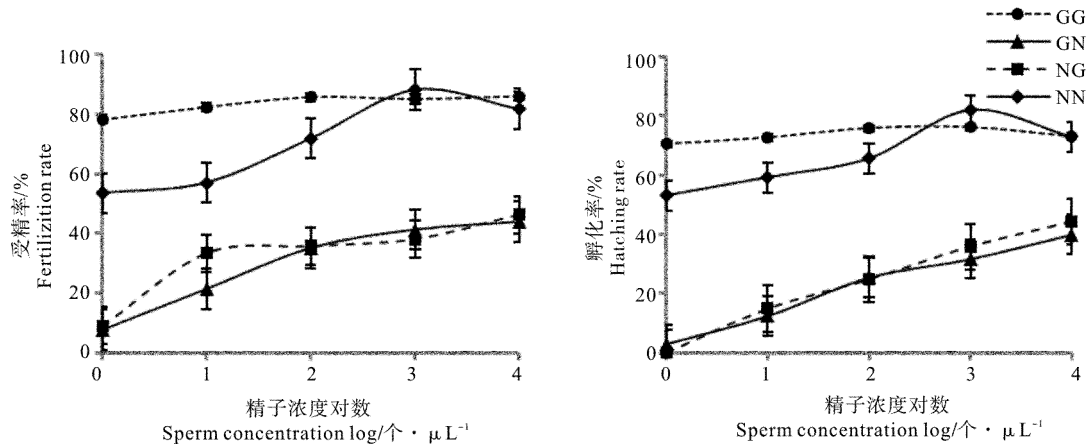


图 3 精子浓度对配子兼容性和合子育性的影响

Fig. 3 Effect of sperm concentration on gamete compatibility and zygote fertility

表 4 精子浓度对配子兼容性和合子育性影响的方差分析

Table 4 Analysis of variance for the effect of sperm concentration on gamete compatibility and zygote fertility

	精子浓度/个 · μL^{-1} Sperm concentration	df	M. S.	P	多重比较 Multiple comparison
受精率 Fertilization rate	10^0	3	0.478	0.000**	GG ^a > NN ^b > NG ^c > GN ^c
	10^1	3	0.333	0.000**	GG ^a > NN ^b > NG ^c > GN ^d
	10^2	3	0.345	0.000**	GG ^a > NN ^b > NG ^c > GN ^c
	10^3	3	0.420	0.000**	NN ^a > GG ^a > GN ^b > NG ^b
	10^4	3	0.284	0.000**	GG ^a > NN ^a > NG ^b > GN ^b
孵化率 Hatching rate	10^0	3	0.457	0.000**	GG ^a > NN ^b > GN ^c > NG ^c
	10^1	3	0.362	0.000**	GG ^a > NN ^b > NG ^c > GN ^c
	10^2	3	0.297	0.000**	GG ^a > NN ^b > GN ^c > NG ^c
	10^3	3	0.329	0.000**	NN ^a > GG ^a > NG ^b > GN ^b
	10^4	3	0.148	0.000**	GG ^a > NN ^a > NG ^b > GN ^b

3 讨论

3.1 配子兼容性分析

配子兼容性水平与精子和卵子结合的能力密切相关, 一般而言, 配子不兼容表现为不完全受精并且经常是单向受精^[6]。本研究表明长牡蛎与岩牡蛎种间杂交是双向受精, 即产生正反交子代, 但是种间杂交受精率

较低, 在最佳实验条件下仅为 40%~50%, 远远低于自繁组受精率, 也低于其他巨牡蛎属种间杂交受精率, 如长牡蛎♂ × 香港巨牡蛎♀ (61.6%)^[21]、香港巨牡蛎♂ × 熊本牡蛎 (57.2%)^[22]、熊本牡蛎♂ × 香港巨牡蛎♀ (82.1%)^[22]、葡萄牙牡蛎♂ × 香港巨牡蛎♀ (61.9%)^[23], 这可能是由于岩牡蛎与长牡蛎亲缘关系较远造成遗传差异大^[24], 生殖细胞不能正常结合, 从而

表现出受精障碍。

温度、盐度和精子浓度对 NN、NG 和 GN 三组受精率具有显著影响,但对 GG 组合受精率影响不显著,表明长牡蛎对温度和盐度具有较强的耐受性,这与 Gagnaire 等^[25]的结论一致。大量研究表明较高的精子浓度有助于提高种间杂交的受精率^[18, 26-27],但是过高精子浓度会导致畸形率的增加,本研究杂交组受精率随精子浓度增加呈现出递增趋势,均显著低于自繁组,杂交组精子能够游向卵子发生趋化作用,但是多数精子不能与异种卵子完成受精作用,配子识别蛋白的分化可能导致了两种受精的不完全兼容性^[28]。在温度实验中杂交组最适温度(GN 组 21 °C, NG 组 25 °C)相比于自繁组 NN(29 °C)偏低。盐度实验中,GG 和 NG 组最适盐度为 26,GN 和 NN 组最适盐度为 30,表现出适盐性的父系遗传趋势,而在牡蛎远缘杂交中,幼虫表型性状在前期一般会表现出强烈的母本效应^[21]。这种适盐性的父系遗传是否会维持,有待于对稚贝及成贝进行进一步的研究。

3.2 合子育性分析

胚胎发育是检验合子育性的重要参考。由于种间杂交亲本间存在生殖隔离,杂交子代可能会出现胚胎发育速度变化和畸形等现象^[21]。对于海洋双壳贝类而言,合子不育指精卵能够发生受精作用但无法发育到 D 形幼虫或发育至 D 形幼虫无法继续生长的现象^[29]。本研究中,4 个组孵化率在实验条件下与受精率呈正相关,正反交子代均得到正常 D 形幼虫,且杂交组幼虫发育至 D 形幼虫未观察到明显的延迟,说明长牡蛎与岩牡蛎杂交子代孵化成败的关键是受精过程,种间杂交子在孵化阶段具有较好的合子育性,幼虫及稚贝阶段的生长发育情况有待于进一步观察。

对于种间杂交而言,同一杂交组合在不同实验环境条件下结果往往不同^[29]。张跃环^[21]在不同地点对香港巨牡蛎和长牡蛎种间杂交进行实验,得到了显著不同的幼虫及稚贝数量。考虑到本研究中实验因素对种间受精率及孵化率具有显著影响,在以后的实验中,通过设置不同的外界环境条件来获得更高受精率和孵化率的种间杂交子代是一条可行的途径。

4 结语

本研究证明温度、盐度和精子浓度对长牡蛎和岩牡蛎种间配子兼容性和合子育性具有较大影响,并确定了长牡蛎和岩牡蛎杂交子代孵化的最适温度和盐度:GN 和 NG 组最适温度分别为 21 和 25 °C,最适盐度分别为 30 和 26。两者能够双向受精且获得正常 D 形幼虫,至于合子后生殖隔离有待于进一步研究。本研究结果为进一步开展长牡蛎和岩牡蛎的种间杂交工作、

研究两者之间的进化关系提供了重要的基础资料。

参考文献:

- [1] Li Q, Wang Q, Liu S, et al. Selection response and realized heritability for growth in three stocks of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* [J]. *Fisheries Science*, 2011, 77(4): 643-648.
- [2] Zhang Y H, Zhang Y, Li J, et al. Artificial interspecific backcrosses between the hybrid of female *Crassostrea hongkongensis* × male *C. gigas*, and the two parental species [J]. *Aquaculture*, 2016, 450: 95-101.
- [3] Rahman M A, Arshad A, Marimuthu, et al. Inter-specific hybridization and its potential for aquaculture of fin fishes [J]. *Asian Journal of Animal & Veterinary Advances*, 2013, 8(2): 139-153.
- [4] Douke A, Munekiyo M, Tsuji S, et al. Reproduction cycle of Iwagaki oyster *Crassostrea nippona* in western Wakasa Bay [J]. *Cultivation Technique Research*, 1998, 26(2): 91-98.
- [5] 张国范, 刘晓, 阙华勇, 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.
Zhang G F, Li X, Que H Y, et al. The theory and application of hybridization and heterosis in marine mollusks [J]. *Marine Sciences*, 2004, 28(7): 54-60.
- [6] 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.
- [7] 陈婕, 罗觅, 陶敏, 等. 动物和植物远缘杂交比较研究 [J]. *中国科学: 生命科学*, 2016, 46(10): 1139-1161.
Chen J, Luo M, Tao M, et al. A comparative study of distant hybridization in plants and animals [J]. *Scientia Sinica Vitae*, 2016, 46(10): 1139-1161.
- [8] Palumbi S R, Metz E C. Strong reproductive isolation between closely related tropical sea urchins (genus *Echinometra*) [J]. *Molecular Biology & Evolution*, 1991, 8(2): 227-239.
- [9] 滕爽爽, 李琪, 李金蓉. 太平洋牡蛎 (*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 [J]. *海洋与湖沼*, 2010, 41(6): 914-922.
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.
- [10] 滕爽爽, 李琪, 孔令峰. 岩牡蛎和太平洋牡蛎杂交的受精细胞学观察 [J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2009, 39(S1): 338-342.
Teng S S, Li Q, Kong L F. Cytological observations of nuclear behavior in the eggs of Reciprocal hybrid crosses between *Crassostrea gigas* and *C. nippona* [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2009, 39(S1): 338-342.
- [11] 杨爱国, 王清印, 刘志鸿, 等. 虾夷扇贝 × 栉孔扇贝人工受精过程的荧光显微观察 [J]. *海洋水产研究*, 2002, 23(3): 1-4.
Yang A G, Wang Q Y, Liu Z H, et al. Cytological observation on cross fertilization of *Chlamys farreri* and *Patinopecten yessoensis* with fluorescent microscope [J]. *Marine Fisheries Research*, 2002, 23(3): 1-4.
- [12] 王珏, 毕克, 黄晓婷, 等. 华贵栉孔扇贝 ♀ × 栉孔扇贝 ♂ 远缘杂交的受精细胞学观察 [J]. *生物技术通报*, 2006, 6: 122-126.

- Wang Y, Bi K, Huang X T, et al. Cytological observation on hybrid fertilization on *Chlamys nobilis* ♀ × *Chlamys farreri* ♂ with fluorescent microscope[J]. Biotechnology Bulletin, 2006, 6: 122-126.
- [13] 陈兴强, 李荣华, 王春琳, 等. 紫贻贝(*Mytilus edulis*)与厚壳贻贝(*M. coruscus*)杂交的细胞学观察及子一代的早期生长比较[J]. 海洋与湖沼, 2017, 48(3): 600-608.
- Chen X Q, Li R H, Wang C L, et al. Cytological observation on nuclear behavior of hybrids between *Mytilus edulis* and *M. coruscus* and comparison in early-stage growth[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2017, 48(3): 600-608.
- [14] 张跃环, 王昭萍, 闫喜武, 等. 香港巨牡蛎与太平洋牡蛎种间配子兼容性[J]. 生态学报, 2013, 33(10): 3047-3055.
- 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.
- [15] 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及合子育性分析[J]. 水产学报, 2015, 39(3): 353-360.
- Su J Q, Wang Z P, Zhang Y H, 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.
- [16] Wang C, Liu B, Li J, et al. Introduction of the Peruvian scallop and its hybridization with the bay scallop in China[J]. Aquaculture, 2015, 310(3-4): 380-387.
- [17] 刘宪杰, 常亚青. 扇贝种间杂交的可行性及幼体早期发育的初步研究[J]. 大连海洋大学学报, 2006, 21(4): 346-349.
- Liu X J, Chang Y Q. the feasibility of the hybridization in four species of scallop and the early development of their offsprings [J]. Journal of Dalian Ocean University, 2006, 21(4): 346-349.
- [18] Kregting L T, Thomas F I, Bass A L, et al. Relative effects of gamete compatibility and hydrodynamics on fertilization in the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* [J]. Biological Bulletin, 2014, 227(1): 33-39.
- [19] Mccartney M A, Lessios H A. Quantitative analysis of gametic incompatibility between closely related species of neotropical sea urchins[J]. Biological Bulletin, 2002, 202(2): 166-181.
- [20] 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.
- [21] 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 Y H. Interspecific Hybridization Effect and Genetic Improvement Between Two Cupped Oyster, *Crassostrea hongkongensis* and *C. gigas* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012.
- [22] Zhang Y H, Li J, Zhang Y, et al. Performance evaluation of reciprocal hybrids derived from the two brackish oysters, *Crassostrea hongkongensis*, and *Crassostrea sikamea*, in southern China[J]. Aquaculture, 2017, 473: 310-316.
- [23] Zhang Y H, Zhang Y, Li J, et al. Phenotypic trait of *Crassostrea hongkongensis* ♀ × *C. angulata* ♂ hybrids in southern China [J]. Aquaculture Research, 2016, 47(11): 3399-3409.
- [24] Boudry P, Heurtebise S, Lapegue S. Mitochondrial and nuclear DNA sequence variation of presumed *Crassostrea gigas* and *Crassostrea angulata* specimens: A new oyster species in Hong Kong [J]. Aquaculture, 2003, 228(1-4): 15-25.
- [25] Gagnaire B, Frouin H, Moreau K, et al. Effects of temperature and salinity on haemocyte activities of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg) [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2006, 20(4): 536-547.
- [26] Xu F, Zhang G F, Xiao L, et al. Laboratory hybridization between *Crassostrea ariakensis* and *C. sikamea* [J]. Journal of Shellfish Research, 2009, 28(3): 453-458.
- [27] Zheng H P, Xu F, Zhang G. Crosses between two subspecies of bay scallop *Argopecten irradians*, and heterosis for yield traits at harvest[J]. Aquaculture Research, 2011, 42(4): 602-612.
- [28] Moy G W, Springer S A, Adams S L, et al. Extraordinary intraspecific diversity in oyster sperm binding[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(6): 1993-1998.
- [29] Gaffney P M, Allen S K. Hybridization among *Crassostrea* species: A review[J]. Aquaculture, 1993, 116(1): 1-13.

Analysis of Gamete Compatibility and Zygote Fertility for *Crassostrea gigas* and *Crassostrea nippona*

XU Hong-Qiang, LI Qi, ZHANG Jing-Xiao

(The Key Laboratory of Mariculture (Ocean University of China), Ministry of Education, Qingdao 266003, China)

Abstract: To evaluate the gamete compatibility and zygote fertility between *Crassostrea gigas* and *C. nippona*, a 2×2 diallel crosses were conducted, producing four groups including *C. gigas* ♀ \times *C. gigas* ♂ (GG), *C. gigas* ♀ \times *C. nippona* ♂ (GN), *C. nippona* ♀ \times *C. gigas* ♂ (NG) and *C. nippona* ♀ \times *C. nippona* ♂ (NN). The fertilization and hatching rates of the four groups were investigated at different temperatures (17, 21, 25, 29 and 33 °C), salinities (18, 22, 26, 30 and 34) and sperm densities (10^0 , 10^1 , 10^2 , 10^3 and 10^4 sperms/ μ L). Results showed that hybridization between *C. gigas* and *C. nippona* was achievable using any one of them as sperm donor (two-way fertilization). The fertilization rate and hatching rate of reciprocal hybrids were significantly lower than those of both parental crosses ($P < 0.05$). The hatching rate of the four groups had the similar tendency as the fertilization rate. Fertilization and hatching level of GG, GN, NG and NN groups rose firstly and fell then with increasing temperature and salinity. The maximal fertilization rate and hatching rate of GG, GN, NG and NN groups occurred at 25, 21, 25 and 29 °C, respectively, with the maximum value of 87.0%, 43.7%, 42.8% and 82.8% for fertilization rate, and 77.1%, 33.4%, 75.2% and 35.5% for hatching rate, respectively. The maximal fertilization rate and hatching rate of GG, GN, NG and NN groups occurred at 26, 30, 26 and 30, respectively, with the maximum value of 86.6%, 31.6%, 41.2% and 85.0% for fertilization rate, and 77.3%, 25.9%, 37.7% and 79.8% for hatching rate, respectively. The fertilization rate and hatching rate of the four groups increased with the increase of sperm concentration, especially the reciprocal cross. The fertilization and hatching rates of the GN group ranged from 7.7% to 43.9%, and from 2.9% to 39.9%, while the fertilization and hatching rates of the NG group ranged from 9% to 46.2%, and from 0 to 44.2%. The results indicated that temperature, salinity and sperm density could affect the gamete compatibility and zygote fertility between *C. gigas* and *C. nippona*.

Key words: *Crassostrea gigas*; *Crassostrea nippona*; interspecific hybridization; gamete compatibility; zygote fertility

责任编辑 朱宝象