

文章编号: 1000-0615(2016)04-0612-06

DOI: 10.11964/jfc.20150409829

长牡蛎壳金选育群体生长性状的选择效应

葛建龙, 李琪*, 于红, 孔令锋

(中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 山东青岛 266003)

摘要: 长牡蛎是一种世界性的养殖贝类, 同时是我国最重要的经济贝类之一, 壳色美观和快速生长是目前长牡蛎遗传育种的2个重要目标。2010年通过长牡蛎壳色性状的家系选育, 获得了壳白、壳黑、壳金和壳紫4种壳色品系。实验以第二代壳金品系为基础群体, 对长牡蛎壳金群体的生长性状进行定向选育, 分析了长牡蛎壳金选育群体壳高性状的选择反应、遗传获得和现实遗传力。结果显示, 养成阶段选择组的壳高均大于对照组, 350日龄后表现出显著的生长优势; 幼虫期, 壳高性状的平均选择反应、遗传获得和现实遗传力分别为 0.549 ± 0.277 、 $3.717\% \pm 2.611\%$ 和 0.339 ± 0.171 , 养成期分别为 0.436 ± 0.138 、 $8.253\% \pm 1.014\%$ 和 0.270 ± 0.086 。选择组的贝壳金黄色和外套膜金黄色比例分别提高了22%和10%。研究结果为长牡蛎壳金优良品系培育提供了重要基础资料。

关键词: 长牡蛎; 选育; 壳高; 壳色

中图分类号: S 968.31

文献标志码: A

长牡蛎(*Crassostrea gigas*)又称太平洋牡蛎, 具有生长快、适应性强、肉质鲜美等特点, 是世界上最重要的经济贝类之一, 我国是长牡蛎的养殖大国, 2013年全国牡蛎的总产量超过421.9万t, 占我国贝类养殖总产量的33.1%^[1]。然而, 养殖牡蛎主要来自未经遗传改良的群体, 存在生长慢、死亡率高、外观差等问题^[2]。目前, 国内已有对长牡蛎生长性状进行遗传改良的研究报道^[3-5], 然而良种匮乏依然是我国长牡蛎养殖产业所面临的重要问题。

从人类审美角度, 色彩是影响美观的一个重要因素, 因此在长牡蛎遗传育种中, 壳色作为重要的表观性状, 是一个重要的育种方向。商品牡蛎美观一致的壳色会给消费者带来视觉上的享受, 进而提高商品的价值。2010年在育种实践中发掘了长牡蛎群体中存在的4种贝壳色彩变异类型, 即白色、黑色、金黄色和紫色, 并先后构建了长牡蛎4种壳色的第一代和第二代选育家系, 发现壳金家系与壳白、壳黑家系相比有

着明显的生长优势^[6]。在人们的观念中, 金黄色象征着高贵典雅, 深受大众喜爱, 长牡蛎壳金品系有着广阔的市场前景, 是种质改良的良好素材。交配实验表明长牡蛎壳金黄色为一种背景色, 是单基因控制的显性性状, 可以稳定遗传^[7]。

在水产动物的遗传育种中, 提高生长速率意味着食物转化率的提高和养殖周期的缩短或者产量的增加, 进而带来经济效益的增加, 因此, 生长性状的改良依然是品种培育的主要任务。在选育壳金长牡蛎品系的同时, 进一步改善其生长性能, 有望获得综合性能优良的新品系。

在通过两代家系选育进行壳色纯化以及查清壳色遗传规律的基础上, 本实验以第二代壳金家系为基础群体, 开展长牡蛎壳金群体生长性状的选择反应、遗传获得和现实遗传力, 旨在为培育出壳色美观、生长性能良好的长牡蛎优良品种提供科学依据。

收稿日期: 2015-04-14 修回日期: 2015-11-03

资助项目: 国家“八六三”高新技术研究发展计划(2012AA10A405); 国家自然科学基金(31372524)

通信作者: 李琪, E-mail: qili66@ouc.edu.cn

1 材料与方法

1.1 亲贝来源

2012年6月, 以2个第二代壳金家系为基础群体, 利用截头法进行生长性状(壳高)的选择, 选择压为12.0%。选择前, 对亲本群体用游标卡尺进行测量。选择前从2个家系中随机选取80个个体作为对照组亲本, 再从2个壳金家系中选择100个壳高最大的个体, 从中挑选贝壳金黄色优良个体作为选择组。

1.2 人工授精及孵化

选取性腺发育成熟的长牡蛎亲本, 采用人工授精方式分别构建了壳金群体选择组(GS)和对照组(GC)。具体流程: 将各组亲本清洗干净并记录表型数据, 用解剖刀取少量性腺涂在加有海水的载玻片上, 在灯光下辨别其性别, 按性别分别摆放并作记录, 每辨别一个个体的性别均需将所用器具及双手用流水冲洗干净, 以防个体间的污染; 雌贝每10个个体一组收集卵子, 分别于显微镜下检查以排除精子的污染并加海水熟化; 待卵子熟化约30 min, 卵子变得圆滑饱满时, 开始收集雄性配子, 精子先加海水激活3~5 min, 镜检精子游动活跃后开始授精; 按照精卵30~50:1的比例进行人工授精, 用量杯不断搅动使精卵充分接触。分别静置30 min后倒掉多余精子并洗卵, 然后将各组受精卵分别置于水温24℃、微量充气的20 m³水泥培育池中孵化。

1.3 幼虫培育及采苗

经过约24 h, 受精卵孵化至D形幼虫。对各组的幼体进行定量后, 将幼体移入20 m³的水泥池中培养, 幼体初始密度设为6个/mL, 随幼虫生长定期调整, 至眼点幼虫时调整到1个/mL。幼体的前期饵料为球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*), 日投饵量15 000~25 000细胞/mL, 壳高至120 μm后加投扁藻(*Platymonas* sp.)和小球藻(*Chlorella vulgaris*), 日投饵量15 000~55 000细胞/mL(球等鞭金藻:小球藻:扁藻=6:2:1), 每日投喂6次, 根据幼虫日龄及摄食情况及时调整投饵量。每天换水2次, 换水量为水体的1/2, 每隔7 d倒池1次。培育期间保证各组幼体培养条件相同, 包括密度、饵料、水温(23℃)和盐度(30)等。当幼体壳高长至约330 μm, 20%~30%幼虫出现眼点时, 将用每200片栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)壳串成一串制成的附着基, 垂悬于培育池

中供幼虫附着变态, 当每片附着基附着20~30个长牡蛎稚贝时结束采苗。

1.4 养成

稚贝附着后于室外沉淀池暂养约2周, 确定稚贝充分变态且适应海区环境后, 转移至山东省威海湾海区(37.3°N, 122.1°E), 采用筏式吊绳养殖方式进行养成。长牡蛎吊绳养殖所用的夹苗绳为长3~4 m, 直径0.6~0.8 cm的聚乙烯绳或直径1.2~1.5 cm的聚丙烯绳, 将附有10~20个稚贝的附着基夹入苗绳, 附着基间距15~20 cm, 每绳夹15~20片, 苗绳间距30~40 cm。夹苗绳底部挂重约0.2~0.3 kg的石块, 以避免其因风浪相互缠绕。各组夹片密度、水层深度及海域分布等环境条件均保持一致。

1.5 样品采集

幼虫期从D形幼虫开始, 每隔4 d取样1次, 显微镜下测量壳高。养成期分别在50、110、170、260、350和410 d时取样, 每组随机取样3条苗绳, 每条苗绳取样30个, 用游标卡尺(精度0.02 mm)测量壳高。410 d时, 每组随机取样100个个体, 分别统计壳金黄与外套膜金黄个体的比例。

1.6 选择反应、遗传获得和遗传力估计

参照Hadley等^[8]和Zheng等^[9]的方法计算标准选择反应(SR)、现实遗传力(h_R^2)和遗传获得(GG)。

$$SR = \frac{x_s - x_c}{\sigma_c}; GG = \frac{x_s - x_c}{x_c} \times 100;$$

$$h_R^2 = \frac{X_S - X_C}{i\sigma_c}$$

式中, X_S 和 X_C 分别是选择组和对照组的平均值, σ_c 对照组的标准差, i 是选择强度。

使用SPSS 16.0统计软件的独立样本 t 检验分析选择组与对照组的表型差异, 显著性水平 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 亲本选择

家系1共有484个个体, 家系2共有351个个体, 基础群体合计835个个体(图1)。以12.0%的选择压, 家系1选取57个, 家系2选取43个, 再选取其中贝壳金黄色性状较为纯正的65个个体为长牡蛎壳金群体选育的亲贝(表1)。

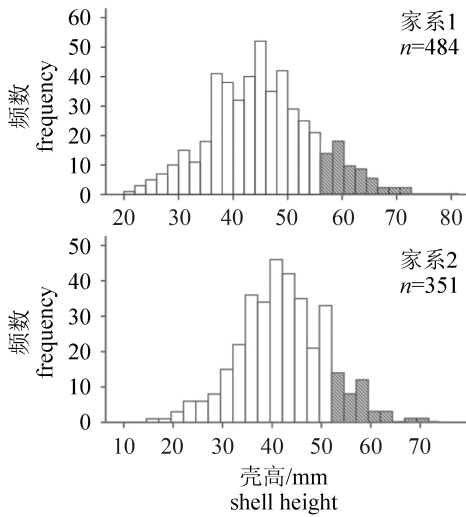


图1 长牡蛎壳金家系壳高分布及其被截头选择的亲本(斜纹部分)

Fig. 1 Shell height distribution of the golden-shell Pacific oyster families and parents selected for truncation (diagonal stripes)

2.2 生长性状的比较

10日龄前, 选择组和对照组壳高差异不显著 ($P>0.05$, 表2), 15日龄开始, 选择组的壳高显著大于对照组 ($P<0.05$)。整个养成阶段, 选择组的壳高均大于对照组, 350日龄后表现出显著的生长优势 ($P<0.05$), 在收获的470日龄, 选择组的平均壳高为 (78.00 ± 12.05) mm, 对照组为 (71.44 ± 12.00) mm, 相对增长9.185%。

2.3 遗传参数

幼虫期, 壳金选育群体壳高的平均选择反应为 0.549 ± 0.277 , 遗传获得为 $3.717\% \pm 2.611\%$, 现实遗传力为 0.339 ± 0.171 (表3)。养成期, 平均选择反应为 0.436 ± 0.138 , 遗传获得为 $8.253\% \pm 1.014\%$, 现实遗传力为 0.270 ± 0.086 。

2.4 壳色和外套膜色的相关分析

长牡蛎壳金群体选育组的贝壳金黄色个体比例达90%, 与对照组相比增加22%(表4)。与对照组相比, 外套膜金黄色个体增加了10%, 达到71%。列表卡方检验显示, 贝壳金黄色与外套膜金黄色显著相关 ($P<0.001$, 表4)。

3 讨论

本实验以2个第二代长牡蛎壳金家系为基础群体, 构建了生长性状选育群体。结果表明, 通过家系内个体选育以提高长牡蛎壳金群体的生长速度是有效的。幼虫后期选择组表现出明显的生长优势; 经过一代选择, 470日龄时选择组平均壳高相比对照组提高9.2%。该结果与应用牡蛎养殖群体对个体生长进行选择的结果相似, 都取得了良好的遗传改良效果。据 Newkirk等^[10]报道, 在欧洲牡蛎(*Ostrea edulis*)经过一代群体选育后, 与对照组相比, 选择组总重提高达8%~38%, 平均23%。Nell等^[11]报道, 用群体选育方法对悉尼岩牡蛎(*Saccostrea commercialis*)的体质量进行连续二代的选育, 选择组较对照组的活体体质量增加17.8%。Langdon等^[12]报道了家系选育的长牡蛎在不同养殖环境下产量的每代遗传获得为10%~20%。在长牡蛎连续三代的群体选育研究中, 3个地理群体(中国、日本和韩国)选择组的壳高每代平均增长10%左右^[3-5]。

遗传力是选择育种中重要的遗传参数之一。一般来说, 遗传力高的性状适宜于进行个体选育, 而遗传力低的性状更适宜于家系选育^[13]。大多数研究报道显示, 牡蛎群体的生长性状有着中高等的遗传力, 适宜于个体选育。如欧洲牡蛎第二代选育群体中, 总重的现实遗传力为0.16~0.22^[14]。Toro等^[15]通过亲子回归分析估计欧洲牡蛎18月龄壳高的遗传力为0.19。在智利牡蛎(*Tiostrea Chilensis*)的第一代选育群体中, 壳高的现实遗传力为 0.34 ± 0.12 ^[15]。在长牡蛎遗传参数估

表1 长牡蛎壳金群体选育选择组及对照组亲本信息

Tab. 1 Parents information of the selected and control strains of the golden-shell Pacific oyster

基础群体 base population	对照组亲本 parents of the selected strain			截点/mm cut point	选择组亲本 parents of the control strain		
	雌亲数 female	雄亲数 male	平均壳高/mm mean shell height		雌亲数 female	雄亲数 male	平均壳高/mm mean shell height
家系1 family 1	24	17	44.98±9.25	56.60	22	13	60.96±3.72
家系2 family 2	22	13	42.21±8.88	52.10	14	16	57.14±4.12
合计 total	46	30	43.77±9.14		36	29	59.36±4.31

表 2 长牡蛎壳金选育组及对照组不同日龄的平均壳高

Tab. 2 Mean shell height of the selected and control strains of golden-shell Pacific oyster at different ages

日龄/d age	壳高/mm shell height	
	选择组 selected strain	对照组 control strain
幼虫期/ μm larval stage		
1	64.85 \pm 1.96 ^a	64.7 \pm 1.93 ^a
5	93.52 \pm 2.45 ^a	91.32 \pm 4.04 ^a
10	159.54 \pm 7.74 ^a	154.34 \pm 8.19 ^a
15	233.20 \pm 19.83 ^a	219.00 \pm 20.04 ^b
20	291.75 \pm 19.70 ^a	275.00 \pm 21.56 ^b
养成期/mm grow-out stage		
50	7.76 \pm 1.75 ^a	7.28 \pm 1.43 ^a
110	23.96 \pm 8.51 ^a	22.30 \pm 9.32 ^a
170	37.84 \pm 5.97 ^a	34.75 \pm 6.44 ^b
260	40.33 \pm 7.15 ^a	37.46 \pm 6.75 ^a
350	47.07 \pm 6.60 ^a	43.27 \pm 7.13 ^b
410	70.02 \pm 8.29 ^a	64.13 \pm 10.61 ^b
470	78.00 \pm 12.05 ^a	71.44 \pm 12.00 ^b

注: 同一行内标有不同字母的表示差异显著($P < 0.05$), 下同
Notes: different superscript letters within the same column indicate significant difference among means ($P < 0.05$), the same below

测的相关研究中, Lannan^[16]利用全同胞家系首次估测的18月龄时壳高、总重的广义遗传力分别为0.15和0.33。Hedgecock等^[17]报道达到商品规格的长牡蛎肉重的狭义遗传力为0.2。Langdon等^[12]报道养殖于不同地点的长牡蛎肉重的遗传力为0.01~0.52。Evans等^[18]利用养殖于不同环境下的34个全同胞家系估测的长牡蛎在不同日龄时产量的广义遗传力为0.22~0.54。王庆志等^[19]利用约束性最大似然法估计的360日龄长牡蛎壳高遗传力为0.35 \pm 0.15。Kong等^[20]利用不同家系孵化后混养的方法, 排除环境因素干扰, 估测的长牡蛎壳高和总重的遗传力分别为0.49 \pm 0.25和0.35 \pm 0.17。本研究中, 470日龄时长牡蛎壳金群体壳高性状的现实遗传力为0.34, 与已报道的牡蛎生长性状的遗传力相近, 说明长牡蛎壳金群体有着较大的遗传方差, 通过选育能够获得较大的选择反应。

交配实验表明长牡蛎贝壳背景色由1个位点的2个等位基因控制, 贝壳金黄色对于白色为显性^[7], 因此选育群体子代依然存在壳色分离。本实验通过淘汰隐性纯合的壳白色亲本, 群体壳金色个体比例得到明显的提高, 达到了90%。理

表 3 长牡蛎壳金选育不同日龄壳高的遗传获得、选择反应和现实遗传力

Tab. 3 Standardized response to selection (SR), current genetic gains (GG) and realized heritability (h_R^2) of shell height from the golden-shell Pacific oyster strain at different ages

日龄/d age	遗传获得/% GG	选择反应 SR	现实遗传力 h_R^2
幼虫期 larval stage			
1	0.232	0.078	0.048
5	2.407	0.544	0.337
10	3.373	0.635	0.393
15	6.484	0.709	0.438
20	6.091	0.777	0.480
均值 mean	3.717	0.549	0.339
标准差 SD	2.611	0.277	0.171
养成期 grow-out stage			
50	6.616	0.336	0.208
110	7.426	0.178	0.110
170	8.895	0.480	0.297
260	7.665	0.425	0.263
350	8.791	0.533	0.330
410	9.197	0.556	0.344
470	9.185	0.547	0.338
均值 mean	8.253	0.436	0.270
标准差 SD	1.014	0.138	0.086

表4 选择组与对照组的壳色和外套膜色比较及2种颜色性状的相关分析

Tab. 4 Comparison of shell color and mantle color between the selected and control strains and correlation analysis of the two color traits

群体 strain	壳背景色 shell background color	外套膜色 mantle color			相关分析 correlation analysis	
		GM	WM	合计 total	χ^2	P
对照组 control	GS	55	13	68	35.310	0.000
	WS	6	26	32		
	合计 total	61	39	100		
选育组 selected	GS	69	21	90	14.036	0.001
	WS	2	8	10		
	合计 total	71	29	100		

注: GS.壳金黄色; WS.壳白色; GM.外套膜金黄色; WM.外套膜白色
Notes: GS. golden shell; WS. white shell; GM. golden mantle; WM. white mantle

论上经过多代的选择淘汰,壳金个体的比例会逐渐趋于100%。同时,结果显示,选育群体中外套膜金色子代的比例也获得明显提高。关联分析表明,长牡蛎壳金群体中贝壳金黄色与外套膜金黄色显著相关,因此,对外套膜色的选择可以通过壳色的选择而实现。

参考文献:

- [1] 农业部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2014.
Ministry of Agriculture Fisheries. China fishery statistical yearbook [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2014 (in Chinese).
- [2] 王清印. 海水养殖生物的细胞工程育种[M]. 北京: 海洋出版社, 2007.
Wang Q Y, Cell Engineering Breeding in Mariculture Organisms [M]. Beijing: Ocean Press, 2007 (in Chinese).
- [3] Li Q, Wang Q Z, Liu S K, *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.
- [4] Wang Q Z, Li Q, Kong L F, *et al.* Response to selection for fast growth in the second generation of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) [J]. Journal of Ocean University of China, 2012, 11(3): 413-418.
- [5] 王庆志, 李琪, 孔令锋, 等. 长牡蛎第三代选育群体生长性状的选择效应[J]. 水产学报, 2013, 37(10): 1487-1494.
Wang Q Z, Li Q, Kong L F, *et al.* Third generation evaluation of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) breeding lines selected for fast growth [J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(10): 1487-1494 (in Chinese).
- [6] 丛日浩, 李琪, 葛建龙, 等. 长牡蛎4种壳色家系子代的表型性状比较[J]. 中国水产科学, 2014, 21(3): 494-502.
Cong R H, Li Q, Ge J L, *et al.* Comparison of phenotypic traits of four shell color families of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2014, 21(3): 494-502 (in Chinese).
- [7] Ge J L, Li Q, Yu H, *et al.* Mendelian inheritance of golden shell color in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* [J]. Aquaculture, 2015, 441: 21-24.
- [8] Hadley N H, Dillon Jr R T, Manzi J J. Realized heritability of growth rate in the hard clam *Mercenaria mercenaria* [J]. Aquaculture, 1991, 93(2): 109-119.
- [9] Zheng H P, Zhang G F, Liu X, *et al.* Sustained response to selection in an introduced population of the hermaphroditic bay scallop *Argopecten irradians* Lamarck (1819) [J]. Aquaculture, 2006, 255(1-4): 579-585.
- [10] Newkirk G F, Haley L E. Progress in selection for growth rate in the European oyster *Ostrea edulis* [J]. Marine Ecology-Progress Series, 1982, 10(1): 77-79.
- [11] Nell J A, Smith I R, Sheridan A K. Third generation evaluation of Sydney rock oyster *Saccostrea commercialis* (Iredale and Roughley) breeding lines [J]. Aquaculture, 1999, 170(3-4): 195-203.
- [12] Langdon C, Evans F, Jacobson D, *et al.* Yields of cultured Pacific oysters *Crassostrea gigas* Thunberg improved after one generation of selection [J]. Aquaculture, 2003, 220(1-4): 227-244.
- [13] Falconer D S, Mackay T F C. Introduction to quantitative genetics[M]. 4th ed. Essex: Longman, 1996.

- [14] Newkirk G F, Haley L E. Selection for growth rate in the European oyster, *Ostrea edulis*: response of second generation groups [J]. *Aquaculture*, 1983, 33(1-4): 149-155.
- [15] Toro J E, Newkirk G F. Response to artificial selection and realized heritability estimate for shell height in the Chilean oyster *Ostrea chilensis* [J]. *Aquatic Living Resources*, 1991, 4(2): 101-108.
- [16] Lannan J E. Estimating heritability and predicting response to selection for the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* [J]. *Proceedings of the National Shellfisheries Association*, 1972, 62: 62-66.
- [17] Hedgecock D, Cooper K, Hershberger W. Genetic and environmental components of variance in harvest body size among pedigreed Pacific oysters *Crassostrea gigas* from controlled crosses [J]. *Journal of Shellfish Research*, 1991, 10(2): 516.
- [18] Evans S, Langdon C. Direct and indirect responses to selection on individual body weight in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) [J]. *Aquaculture*, 2006, 261(2): 546-555.
- [19] 王庆志, 李琪, 刘世凯, 等. 长牡蛎成体生长性状遗传参数估计[J]. *中国水产科学*, 2012, 19(4): 700-706.
Wang Q Z, Li Q, Liu S K, *et al.* Estimates of genetic parameters for growth-related traits in adult *Crassostrea gigas* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2012, 19(4): 700-706.
- [20] Kong N, Li Q, Yu H, *et al.* Heritability estimates for growth-related traits in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) using a molecular pedigree [J]. *Aquaculture Research*, 2013, 46(2): 499-508.

Selection response in mass selection of golden shell Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)

GE Jianlong, LI Qi*, YU Hong, KONG Lingfeng

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

Abstract: The Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) is a major global aquaculture species and a commercially important shellfish species in China. Beautiful shell color and fast growth are two important goals in Pacific oyster genetic breeding at present. We initiated selective breeding of shell color traits via family selection in 2010, and obtained four kinds of shell color strains including white shell, black shell, golden shell and purple shell. In the present study, the selection response, genetic gain and realized heritability of mass selection for shell height based on second-generation golden-shell families were analyzed. The results showed that shell height of the selected strain was greater than that of the control strain during the grow-out stage and the selected strain presented significant growth superiority after 350 d. The average selection response, genetic gain and realized heritability were 0.549 ± 0.277 , $3.717\% \pm 2.611\%$, 0.339 ± 0.171 respectively, during larval stage, and were 0.436 ± 0.138 , $8.253\% \pm 1.014\%$, 0.270 ± 0.086 during grow-out stage. In addition, golden shell and golden mantle proportion in the selected strain were increased by 22% and 10% compared with that of control strain, respectively. The information obtained in this study is of great significance for the selective breeding of golden shell Pacific oyster.

Key words: *Crassostrea gigas*; selective breeding; shell height; shell color

Corresponding author: LI Qi. E-mail: qili66@ouc.edu.cn

Funding projects: National Key Technology R & D Program of China (2012AA10A405); National Science Foundation of China(31372524)