

## 凡纳滨对虾抗 WSSV 选育家系的建立及其抗病特性

黄永春<sup>1,2</sup>, 艾华水<sup>1</sup>, 潘忠诚<sup>1</sup>, 陈 锚<sup>1</sup>, 翁少萍<sup>1</sup>, 何建国<sup>1\*</sup>, 李色东<sup>3</sup>

(1. 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275;

2. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021;

3. 广东湛江恒兴集团有限公司, 广东 广州 524033)

**摘要:** 2002—2007 年在人工感染白斑综合征病毒 (white spot syndrome virus, WSSV) 的基础上进行一代个体选育 ( $G_1$ ) 后, 对凡纳滨对虾连续进行 4 代家系选育, 共建立 120 个抗 WSSV 家系, 感染实验结果显示,  $G_2 \sim G_5$  选育家系对虾平均成活率分别为  $5.57\% \pm 9.83\%$ ,  $8.66\% \pm 11.52\%$ ,  $9.52\% \pm 8.84\%$  和  $13.79\% \pm 12.86\%$ ;  $G_2 \sim G_5$  选育家系对虾平均成活率的变异系数分别为 1.77、1.40、0.97 和 0.87。根据每个家系对虾的成活情况每个世代可分为敏感、中等抗性和高抗性家系,  $G_2 \sim G_5$  敏感家系在各代选育家系中的比例逐年下降, 分别占 76.5%、55.2%、51.4% 和 33.3%, 抗病成活率分别为  $0.44\% \pm 1.09\%$ 、 $0.78\% \pm 1.70\%$ 、 $2.27\% \pm 2.76\%$  和  $2.44\% \pm 3.09\%$ , 感染 WSSV 后 2~3 d 出现 1 个急性死亡高峰; 中等抗病家系在各代选育家系中的比例逐年上升, 分别占 0、20.7%、31.1% 和 38.5%, 抗病成活率分别为 0、 $9.08\% \pm 1.46\%$ 、 $10.7\% \pm 1.41\%$  和  $11.36\% \pm 3.30\%$ , 感染 WSSV 后出现 2 个死亡高峰, 第 1 死亡高峰值大于第 2 高峰; 高抗家系在各代选育家系中的比例逐年上升 ( $G_4$  除外), 分别占 23.5%、24.1%、17.1% 和 28.2%, 抗病成活率分别为  $22.23\% \pm 5.21\%$ 、 $22.70\% \pm 12.30\%$ 、 $24.45\% \pm 6.56\%$  和  $28.98\% \pm 8.09\%$ , 感染 WSSV 后出现 2 个死亡高峰, 第 1 死亡高峰值小于第 2 高峰。经连续的定向选育, 对虾抗病性状一代比一代强, 表现出明显的抗病性能, 特别是高抗对虾不仅死亡率低且其死亡高峰推迟 2~3 d, 延缓了对虾 WSSV 暴发的时间, 但是每代每尾对虾平均产卵量逐年下降。

**关键词:** 凡纳滨对虾; 白斑综合征病毒; 家系; 选育

**中图分类号:** S 917.4

**文献标志码:** A

凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 原产于南美洲太平洋赤道南北沿海, 是目前世界养殖产量最高的 3 大虾种之一<sup>[1]</sup>。该虾具有生长快、抗逆性强、对饲料蛋白的要求相对较低、肉味鲜美、加工出肉率高等优点。中国于 1988 年引进凡纳滨对虾, 经十几年的探索, 现已在全国各地沿海开展养殖。目前, 该虾养殖产量占虾类总产量的 70% 以上<sup>[2]</sup>。但凡纳滨对虾病害频繁的出现, 特别是白斑综合征病毒 (white spot syndrome virus, WSSV) 的暴发给凡纳滨对虾养殖造成重大经济损失, 是限制凡纳滨对虾养殖业发展的最主要因

素<sup>[3]</sup>。由于 WSSV 感染途径广, 且一经感染就很难控制, 所以单纯的药物防治很难杜绝 WSSV 的暴发流行, 因此选育抗 WSSV 的对虾是预防 WSSV 流行的有效措施<sup>[4-7]</sup>。

家系选育是获得优良品种 (品系) 的重要方法之一, 家系建立对于品种的遗传性状分析与育种研究起着重要作用。通过建立家系, 对不同家系的经济性状表现进行比较分析和选择, 是进行水产动物种质改良的重要途径<sup>[8]</sup>。黄皓等<sup>[9]</sup>采用个体选择和家系选择相结合的方法, 进行了选择育种试验研究凡纳滨对虾第一世代选择育种和

收稿日期: 2012-05-05 修回日期: 2012-11-26

资助项目: 南方海水养殖种子工程规模化应用技术 (I) 项目 (2002AA603031)

通信作者: 何建国, E-mail: lsshjg@mail.sysu.edu.cn

现实遗传力;陈锚等<sup>[10]</sup>采用对虾阶段式种群选育与家系选育相结合的方法,共建立206个不同的凡纳滨对虾家系,研究家系生长情况;张吕平等<sup>[11]</sup>采用自然交配法建立了62个凡纳滨对虾第1代全同胞家系,对17个家系的比较发现有7个家系显示生长优势;梁华芳等<sup>[12]</sup>采用群体选择和家系选择相结合的方法,收集有代表性的优良群体103个,经过2代的群体选育,保留5个基础群体进行家系选育,育出全同胞家系180个,半同胞家系60个,选留其中的35个家系作为下一代的亲本。有研究通过个体选育与连续3代家系选育建立81个抗WSSV选育家系,并研究了凡纳滨对虾抗WSSV选育家系的抗病与生长特性<sup>[2,13-16]</sup>。

本实验从2002—2007年,通过人工感染实验筛选得到抗WSSV亲虾个体,采取一雌一雄一一配对建立120个凡纳滨对虾抗WSSV家系,研究其抗WSSV特性,为抗病良种的筛选及抗白斑综合征病毒(SPR)品系的培育奠定了基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 个体选育

以2002年从美国引进的SPF亲虾生产的子代为实验对象,从中挑选出生长快、体格健壮等性状良好的个体作为后备亲虾,2003年5月对挑选的1361尾凡纳滨对虾亲虾[体长 $(15.9 \pm 1.5)$  cm,体质量 $(35.6 \pm 2.3)$  g]进行WSSV感染实验,从存活的309尾对虾中再筛选出198尾性状良好的对虾为抗病亲本<sup>[14]</sup>。

### 1.2 家系选育

2003年10—11月对个体选育中获得的抗病亲本(雌虾)进行眼柄切除,促进亲本成熟。对成熟亲虾一雌一雄一一配对繁育,建立17个家系<sup>[13-14]</sup>,即 $G_2$ 。各个家系取1500尾仔虾分别置于1000 L玻璃钢桶培育至1.5 g/尾后,进行荧光标记,并与未选育对虾混养在40 m<sup>2</sup>室内水泥池,待体质量6~8 g后进行3次WSSV感染实验,从 $G_2$ 中挑选出抗病力较强、生长较快的候选家系,每个家系挑选出150对雌雄亲本,经人工催熟,一雌一雄一一配对方式于2005年建立29个第三代家系<sup>[2,13,15]</sup>,依此方法,2006年建立35个

第四代家系( $G_4$ ),2007年建立第五代39个家系( $G_5$ )。未选育对虾为常规育苗方法获得的对虾<sup>[2,15]</sup>。

### 1.3 感染实验与管理

每次感染实验均 $G_2 \sim G_5$ 的每个家系中随机取健康对虾90尾,分3组,每组30尾,每尾按每克体质量注射 $1 \times 10^3$ 拷贝浓度的WSSV病毒提取液,观察记录感染后实验对虾的抗病死亡情况;毒源制备与实验管理同黄永春等<sup>[2]</sup>的方法,未选育对虾作为对照组,感染方法同选育对虾。

### 1.4 数据分析

采用SRSS 10.0统计分析软件对不同实验组间数据的比较采用单因素多重方差分析方法进行,差异的显著性设置为 $P < 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 个体选育与家系选育

在个体选育中,经筛选1361尾体格健壮健康凡纳滨对虾,经人工注射感染WSSV,存活309尾,死亡1052尾,存活率为22.7%。其中雌虾死亡560尾,存活率为20%,雄虾死亡492尾,存活率为23.6%。

从存活的309尾对虾中再筛选出198尾性状良好的对虾,经人工催熟并建立一雌一雄一一配对,共促成64对抱卵对虾,产生 $G_2$ 17个家系(其中47个在幼体培育过程中陆续死亡)。

$G_2$ 选育家系对虾经筛选后确定为下一代抗病亲本,并经强化培育和人工催熟,建立一雌一雄一一配对产生 $G_3$ 29个家系,同样方法,产生 $G_4$ 、 $G_5$ ,总共120个家系。

经统计每代每尾对虾平均产卵量逐年下降,且差异显著( $P < 0.05$ );每代家系出苗率( $G_2$ 除外)逐年提高,其中 $G_5$ 比 $G_1$ 提高21.9%,但差异不显著( $P > 0.05$ )(表1)。

### 2.2 选育对虾的抗WSSV特性

各代选育对虾的抗WSSV特性 选育对虾经人工感染WSSV后, $G_2 \sim G_5$ 选育家系对虾平均成活率分别为 $5.57\% \pm 9.83\%$ , $8.66\% \pm 11.52\%$ , $9.52\% \pm 8.84\%$ 和 $13.79\% \pm 12.86\%$ ;  $G_2$ 对虾成活率与 $G_5$ 差异显著( $P < 0.05$ )。  $G_2 \sim G_5$ 选育家系对虾平均成活率的变异系数分别为1.77、1.40、0.97和0.87。

表 1 2003—2007 年选育家系的产卵量和出苗率  
 Tab.1 The spawning quantity and seedling emergence of selective breeding family of resisting WSSV in 2003—2007

世代 generation	家系 families	产卵总量/万个 total spawning quantity	平均产卵量/(万尾/尾) average of spawning quantity	出苗率/% rate of seedling emergence
G <sub>2</sub>	17	323.17	19.01 ± 3.98 <sup>a</sup>	11.03 ± 7.56 <sup>a</sup>
G <sub>3</sub>	29	522.29	18.01 ± 4.88 <sup>a</sup>	10.72 ± 8.29 <sup>a</sup>
G <sub>4</sub>	35	499.80	14.28 ± 3.27 <sup>b</sup>	12.89 ± 8.63 <sup>a</sup>
G <sub>5</sub>	39	402.48	10.32 ± 6.86 <sup>c</sup>	13.45 ± 11.76 <sup>a</sup>

注:标有不同字母的数据间存在差异 ( $P < 0.05$ )。

Notes: Values with the different superscript letters in the same column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

经人工感染 WSSV 后各代对虾存活率为 0 的家系在每一代选育家系中占有的比例由 G<sub>2</sub> 的 64.7% 降到 G<sub>5</sub> 的 17.9%, 平均每代下降 11.6%; 对虾存活率在 5.1% ~ 10.0% 的家系在每一代选育家系中占有的比例由 G<sub>2</sub> 的 0 上升到 G<sub>3</sub> ~ G<sub>5</sub> 的 24.1% ~ 31.4%; 对虾存活率为 20.1% ~ 25.0% 的家系在每一代选育家系中占有的比例由 G<sub>2</sub> 的 0 上升到 G<sub>3</sub> ~ G<sub>5</sub> 的 2.9% ~ 7.7%; 对虾存活率为 35.1% ~ 40.0% 的家系在每一代选育家系中占有的比例由 G<sub>2</sub> 和 G<sub>3</sub> 的 0 上升到 G<sub>4</sub> 和 G<sub>5</sub> 的 2.9% ~ 10.3%, 经连续定向选育的抗病性状一代比一代明显(表 2)。

表 2 凡纳滨对虾历代选育家系抗 WSSV 存活率分布情况

Tab.2 The distribution of survival rate of selective breeding family of resisting WSSV in 2003—2007

存活率/% survival rate	世代 generation			
	G <sub>2</sub>	G <sub>3</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>5</sub>
0	64.7	44.8	22.9	17.9
0.1 ~ 5.0	11.8	3.4	14.3	7.7
5.1 ~ 10.0	0	24.1	31.4	30.8
10.1 ~ 15.0	0	3.4	14.3	7.7
15.1 ~ 20.0	17.6	10.3	8.6	12.8
20.1 ~ 25.0	0	6.9	2.9	7.7
25.1 ~ 30.0	5.9	3.4	2.9	5.1
30.1 ~ 35.0	0	0	0	0
35.1 ~ 40.0	0	0	2.9	10.3
40.1 ~ 45.0	0	0	0	0
45.1 ~ 50.0	0	3.4	0	0
合计 total	100	100	100	100

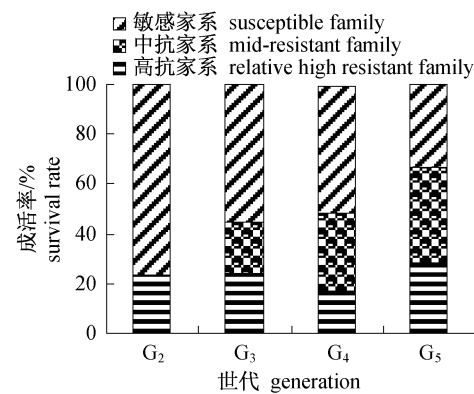


图 1 G<sub>2</sub> 至 G<sub>5</sub> 敏感家系、中抗家系和高抗家系分布情况

Fig.1 The distribution of susceptible resistant families, mid-resistant families and relative high resistant families from G<sub>2</sub> to G<sub>5</sub>

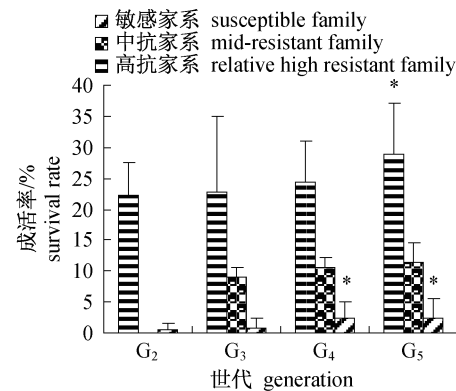


图 2 G<sub>2</sub> 至 G<sub>5</sub> 敏感家系、中抗家系和高抗家系抗病成活率

数据中标有 \* 表示显著差异 ( $P < 0.05$ )。

Fig.2 The survival rate of susceptible families, mid-resistant families and relative high resistant families from G<sub>2</sub> to G<sub>5</sub>

Values with the \* means significant difference ( $P < 0.05$ ).

根据每个家系对虾经人工感染 WSSV 后的成活情况可分为敏感、中等抗性和高抗性家系, G<sub>2</sub> 至 G<sub>5</sub> 敏感家系在各代选育家系中分别占 76.5%、55.2%、51.4% 和 33.3% (图 1)。经 4 代定向选育到 G<sub>5</sub> 时敏感家系下降 56.5%; G<sub>2</sub> 至 G<sub>5</sub> 敏感家系抗病成活率分别为 0.44% ± 1.09%、0.78% ± 1.70%、2.27% ± 2.76% 和 2.44% ± 3.09%, 其中 G<sub>2</sub> 与 G<sub>4</sub>、G<sub>5</sub>, G<sub>3</sub> 与 G<sub>4</sub> 差异显著 ( $P < 0.05$ )。中等抗病家系成活率在各代选育家系中分别占 0、20.7%、31.1% 和 38.5%, 经 4 代定向选育到 G<sub>5</sub> 时中抗家系上升 38.5%; G<sub>2</sub> 至 G<sub>5</sub> 中等抗病家系抗病成活率分别为 0、9.08% ± 1.46%、10.7% ± 1.41% 和 11.36% ± 3.30%, 各代之间差异不显著 ( $P > 0.05$ )。高抗家系在各

代选育家系中分别占 23.5%、24.1%、17.1% 和 28.2%, 经 4 代定向选育到 G<sub>5</sub> 时中抗家系上升 12.8%; G<sub>2</sub> 至 G<sub>5</sub> 高抗病家系抗病成活率分别为 22.23% ± 5.21%、22.70% ± 12.30%、24.45% ± 6.56% 和 28.98% ± 8.09%, G<sub>3</sub> 与 G<sub>5</sub> 差异显著 ( $P < 0.05$ ), 其他差异不显著 ( $P > 0.05$ ) (图 2)。

不同抗病性能对虾感染 WSSV 的反应  
人工感染 WSSV 病毒后各抗性对虾在 24 h 内尚无明显异常, 在 30 ~ 36 h 间未选育虾和个别选育虾出现无摄食、无排便现象, 且活力明显降低, 而中等抗性和高抗性对虾仅有少量摄食和排便, 活力有所下降, 但仍比未选育对虾活泼, 特别是抗性较好对虾的摄食, 排便量和活力基本正常, 36 h 后开始死亡, 出现典型 WSSV 症状 (表 3)。

表 3 各抗性家系对虾感染 WSSV 后活动观察  
Tab. 3 The observation of activity of experimental shrimps by infection with 10<sup>3</sup> copies WSSV

时段 period	高抗性家系 high resistant families	中等抗性家系 mid-resistant families	敏感家系 sensitive families
0 ~ 18 h	对虾活动正常	对虾活动正常	对虾活动正常
18 ~ 36 h	对虾活跃、摄食正常, 无残饵	摄食正常, 无残饵, 活动缓慢	摄食不正常, 有残饵, 活动迟缓, 体色变红、甲壳出现白斑, 侧卧、濒死
36 ~ 60 h	摄食正常, 无残饵; 活动变缓; 体色变红、甲壳出现白斑, 体色变红、甲壳出现白斑, 侧卧、濒死	摄食不正常, 有残饵, 活动缓慢, 体色变红、甲壳出现白斑, 侧卧、濒死	摄食不正常, 有残饵, 活动迟钝, 死亡数迅速增加
60 ~ 72 h	摄食不正常, 有残饵, 活动缓慢, 死亡数开始增加	厌食, 空胃、残饵多, 活动迟钝, 死亡数迅速增加	厌食, 空胃、残饵多, 活动迟缓, 死亡数急剧增加
72 ~ 96 h	摄食不正常, 空胃、有残饵; 活动迟钝; 死亡数迅速增加	厌食, 残饵多, 活动迟慢, 死亡数急剧增加	厌食, 残饵多, 活动迟缓, 死亡数下降
96 ~ 120 h	摄食不正常, 有残饵; 活动迟慢, 死亡数达到高峰	厌食, 残饵多, 活动迟慢; 死亡数下降	厌食, 残饵多, 活动迟缓, 对虾基本上全部死亡
120 ~ 168 h	摄食正常, 有残饵; 活动缓慢, 死亡数下降	开始摄食, 残饵多, 活动迟慢, 偶有死亡现象	
168 ~ 240 h	摄食正常, 稍有残饵; 活动正常; 偶有死亡现象	摄食正常, 无残饵; 活动正常	
240 ~ 288 h	摄食、活动正常, 无残饵	摄食、活动正常	
288 ~ 360 h	摄食旺盛、活动正常	摄食旺盛、活动正常	

不同抗性对虾感染 WSSV 后的死亡变化情况  
未选育虾在感染 WSSV 后第 3 天出现死亡高峰 (图 3), 死亡率达 26.67%, 第 4 ~ 5 天仍然保持较高的死亡率, 这段时间处在急性致死时期; 第 5 天后死亡率相对较低, 处在亚急性致死时期, 7 ~ 9 d 死亡率减少, 实验结束时死亡率 100%。

敏感家系对虾在感染病毒后第 2 天出现死亡高峰 (图 4), 死亡率达 30.95%, 第 4 ~ 5 天仍然保

持较高的死亡率, 这段时间处在急性致死时期; 6 ~ 9 d 死亡数较少, 处在慢性致死时期, 实验结束后存活 1.67% ± 2.52%。

中等抗性家系对虾在第 3 天出现第一个死亡高峰 (图 5), 死亡率达 24.29%, 这段时间处在急性致死时期, 以后开始下降。第 5 天出现第二个死亡高峰, 死亡率达 16.67%, 前一高峰大于后一高峰, 处在亚急性致死时期, 7 ~ 9 d 死亡率明显下

降,实验结束后存活  $10.71\% \pm 2.58\%$ 。

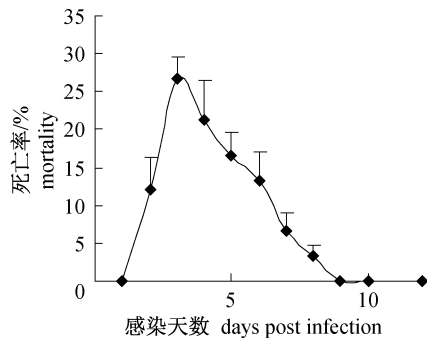


图 3 未选育对虾人工感染 WSSV 后的死亡情况

Fig. 3 Mortality of no-selective breeding shrimp post WSSV infection

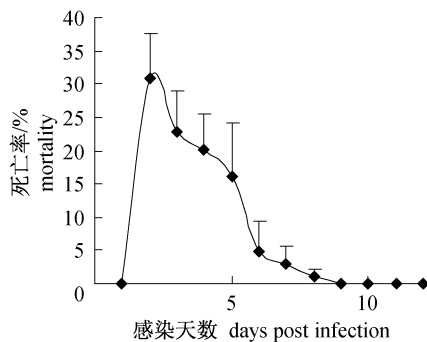


图 4 敏感选育对虾人工感染 WSSV 后的死亡情况

Fig. 4 Mortality of shrimp from sensitive families post WSSV infection

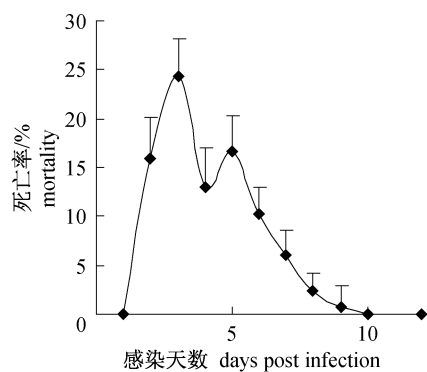


图 5 中等抗性选育对虾人工感染 WSSV 后的死亡情况

Fig. 5 Mortality of shrimp from mid-resisting families post WSSV infection

高抗性家系对虾在第 2 天出现第一死亡高峰(图 6),死亡率为  $8.0\%$ ,处在急性致死时期;第 5 天出现第二个死亡高峰,死亡率为  $25.26\%$ ,处在亚急性致死时期,前一高峰小于后一高峰,以后逐步下降,实验结束后存活  $25.47\% \pm 8.86\%$ 。

其最大死亡的高峰比敏感家系和未选育对虾推迟 2~3 d,延缓了对虾 WSSV 暴发的时间。

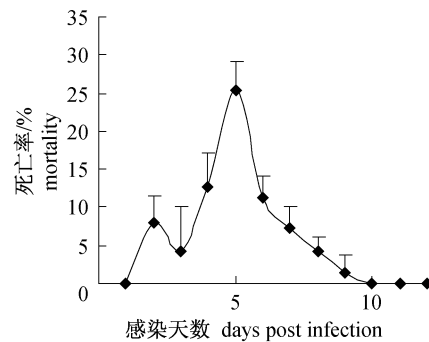


图 6 高抗性选育对虾人工感染 WSSV 后的死亡情况

Fig. 6 Mortality of shrimp from high resisting families post WSSV infection

### 3 讨论

#### 3.1 感染模式的选择

白斑综合征病毒是迄今为止危害最为严重的一种对虾病毒,成为目前对虾养殖业可持续发展的主要障碍之一<sup>[3]</sup>。目前已有许多学者通过人工感染建立病理模型,常见的白斑病感染模式有浸浴感染、投喂感染、注射感染等。几种感染模式比较表明,浸浴感染时间长,在养殖中有较多的影响因素;投喂感染的模式死亡时期较长,死亡个体症状不显著,受影响的因素较多;注射感染模式死亡的对虾症状显著,死亡时间短,影响因素较少,有利于对该病毒感染的机理和病理的实验研究<sup>[17]</sup>。由于投喂感染操作方便在对虾抗病选育较广泛应用<sup>[18]</sup>,但是投喂感染受管理水平(毒饵的拌匀度、稳定性、投喂的均匀度等),实验虾的生理状态(个体大小、抢食能力等)以及毒原(携带 WSSV 的虾)中 WSSV 含量(不同抗病能力、不同死亡时间的对虾体内 WSSV 含量是不同<sup>[15]</sup>)影响到实验虾感染程度的不同,进而影响到实验的准确度。为此,投喂感染一般采用过量投喂,如连续投喂 2 d<sup>[18]</sup>,目的是尽可能使实验虾被感染。另外,投喂感染一般在 2~3 h 后要及时更换新水,否则易恶化水质。因此,投喂感染对虾死亡起伏较大,死亡时间持续较长,症状不明显,对其死亡(或濒死)的判断有一定难度。如果提前捞取,影响实验的准确性,延后捞取容易被暂时存活对虾摄食,引起二次感染,造成多次的死亡高峰,同样影响实验的准确性。

注射感染操作繁琐,技术要求高,但是实验准确,对虾死亡症状明显,没有投喂感染的波动性。特别是定量注射感染更能获得更佳的实验效果<sup>[16]</sup>。本实验采用注射感染,比较客观地反映历代家系对虾的抗病能力,为选育提供保证。

### 3.2 抗病家系的建立

选择育种是新品种培育的有效方法,已经在动植物的育种中取得广泛的成功。其中,建立家系并进行系统选择是选择育种的重要手段和遗传育种工作中非常重要的方法之一,建立自交系能使基因迅速纯合,可以在较短的世代内获得纯系<sup>[19]</sup>。1990—1991年美国国家农业部(USDA)和海洋研究所(OI)开始实施对凡纳滨对虾的遗传改良计划。从最初挑选生长表现最佳的个体进行随机交配,到1995年开始进行抗TSV的选育并建立500个以上的家系,从中选育生长快、抗TSV的对虾种群<sup>[20]</sup>。基于对虾生长性能和TSV抗性,采用30%生长+70%抗病的综合选择指数进行选择育种<sup>[21]</sup>。陈锚等<sup>[10]</sup>建立206个不同的凡纳滨对虾家系,从中挑选生长性状好的家系。梁华芳等<sup>[12]</sup>育出全同胞家系180个,半同胞家系60个,选留其中的35个家系作为下一代的亲本。

本实验历代选育对虾抗病性能逐代提高,成活率的变异系数逐年缩小,且各代对虾存活率为0的家系在每一代选育家系中占有的比例由G<sub>2</sub>的64.7%降到G<sub>5</sub>的17.9%,平均每代下降11.6%;而对虾存活率为在5.1%~10.0%、20.1%~25.0%、35.1%~40.0%之间的家系分别从G<sub>2</sub>的0上升到G<sub>3</sub>至G<sub>5</sub>的24.1%~31.4%、2.9%~7.7%和2.9%~10.3%,经连续的定向选育抗病性状越趋明显,对虾抗病基因逐渐纯合。因此,家系选育方法虽然繁琐、占用场地多,但能增加有效群体含量,从而达到控制近交系数的增量,延长世代间隔,减少基因流失,得到表型与基因型一致的选育结果<sup>[19]</sup>,为此,建立家系选育体系不仅对现实的对虾养殖业迫切需要的优良品种有促进作用,对海水养殖业未来所需的分子育种也将奠定实验基础<sup>[22]</sup>。

### 3.3 抗病选育机制

Flegel等<sup>[23]</sup>报道斑节对虾(*Penaeus monodon*)在黄头病病毒(YHV)感染存活的个体,经注射感染后比对照的存活率明显提高。张庆文等<sup>[6]</sup>在中国明对虾(*Fenneropenaeus*

*chinensis*)连续的选育实验中,连续3年的养殖结果和感染实验表明中国明对虾对WSSV的抗性有一定的遗传基础,连续选育的中国明对虾具有明显的WSSV抗性。本试验选育家系的经感染WSSV后存活率从0%到50%,与Moss等<sup>[24]</sup>报道相符,从而证实选育对虾具备抗病的遗传基础。另据2003—2007年间实验基地虾池暴发WSSV,经PCR检测的部分结果为阳性,但选育对虾生长良好,表现出良好的抗病性能,特别是高抗对虾成活率高,死亡的高峰比未选育对虾推迟2~4d,延缓了WSSV综合症的暴发时间,可为对虾生产采取相应预防和治疗措施提供宝贵的时间。

尽管累代近亲繁殖能不断地纯合化某一性状,但近交的实际结果是与繁殖力和生理机能相关性状的表型平均值的降低,即适合度下降,这种现象即为近交衰退(inbreeding depression)<sup>[25]</sup>。本实验发现每代每尾对虾平均产卵量逐年下降( $P < 0.05$ ),这是否与连续几代近亲交配,其繁殖力出现明显衰退现象有关,有待进一步研究。

另外,凡纳滨对虾纳精囊属开放型,在人工控制条件下很难交配、受精,同时雌雄亲虾性腺需同步发育从而增加选育的难度。因此,本研究在第一、二代家系的育苗过程中出现家系内雌雄性腺发育不同步,造成受精率低;后期虽有受精,但精卵质量差,幼体在培育过程中逐渐死亡,或达不到后代选育的数量,打乱了原制定的育种计划,这一点在今后选育要做好充分的准备。

本研究得到广东湛江恒兴集团有限公司“863”基地亲虾养殖场杨才勇、陈浩明、陈龙、王兴柏等技术员的帮助,在此一并致谢!

### 参考文献:

- [1] 张伟权. 世界重要养殖品种—南美白对虾生物学简介[J]. 海洋科学, 1990(3): 69-73.
- [2] 黄永春, 艾华水, 殷志新, 等. 第四代凡纳滨对虾抗选育家系的抗病及免疫特性研究[J]. 水产学报, 2010, 34(10): 1549-1558.
- [3] 许雅香, 许樟荣, 鲁兴萌. 对虾白斑综合征研究进展[J]. 中国兽医科技, 2002, 31(1): 12-14.
- [4] Thomas G, Ragnar S, Bjarne G. Genetic (co) variation in resistance to White Spot Syndrome Virus (WSSV) and harvest weight in *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* [J]. Aquaculture, 2005, (246): 139-149.

- [5] 王清印,杨丛海. 中国对虾健康养殖的发展现状及展望[J]. 中国水产,2005(1):21-24.
- [6] 张文庆,刘萍,王伟继,等. 中国对虾抗病群体选育的初步研究[J]. 海洋水产研究,2002,23(2):53-57.
- [7] 高冬梅,李健,王清印. 养殖对虾新品种培育技术研究进展[J]. 中国水产科学,2002,9(4):375-379.
- [8] 吴仲庆. 水产生物遗传育种学[M]. 厦门:厦门大学出版社,2000:146-186.
- [9] 黄皓,刘小林,陈锚,等. 凡纳滨对虾第一世代选择育种和现实遗传力研究[C]. 第四届世界华人虾类养殖研讨会论文摘要汇编. 2004,65.
- [10] 陈锚,吴长功,相建海,等. 凡纳滨对虾的选育与家系的建立[J]. 海洋科学,2008,32(11):5-9.
- [11] 张吕平,吴立峰,沈琪,等. 凡纳滨对虾全同胞家系的建立及生长比较[J]. 水产学报,2009,33(6):932-938.
- [12] 梁华芳,杜国平,黄海立,等. 凡纳滨对虾快速生长家系选育的初步研究[J]. 广东海洋大学学报,2011,31(3):12-15.
- [13] 黄永春. 凡纳滨对虾抗 WSSV 家系选育及抗病特性和遗传性状研究[D]. 广州:中山大学,2007.
- [14] Pan Z C, He J G, Weng S P, et al. Changes in mortality and immunological variables of *Litopenaeus vannamei* parents and their filial families infected with white spot syndrome under different experimental conditions [J]. Fish & Shellfish Immunology,2008,25(5):459-471.
- [15] Huang Y C, Yin Z X, Ai H S, et al. Characterization of WSSV resistance in selected families of *Litopenaeus vannamei* [J]. Aquaculture, 2011, 311(1-4):54-60.
- [16] 黄永春,艾华水,殷志新,等. 凡纳滨对虾抗 WSSV 选育家系的抗病与生长特性[J]. 台湾海峡,2011,30(3)412-417.
- [17] 邱德全,林继辉,刘丽,等. 斑节对虾白斑综合征杆状病毒感染的实验模式[J]. 湛江海洋大学学报,2001,21(1):10-13.
- [18] Tang K F J, Durand S V, White B L, et al. Postlarvae and juveniles of a selected line of *Penaeus stylirostris* are resistant to infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus infection [J]. Aquaculture,2000,190(3-4):203-210.
- [19] 沈俊宝,刘明华. 鱼类育种学[M]. 北京:中国农业出版社,1999:10-39.
- [20] Goyard E, Patrois J, Peignon J M, et al. Selection for better growth of *Penaeus stylirostris* in Tahiti and New Caledonia [J]. Aquaculture, 2002, 204(3-4):461-468.
- [21] Brock J A. Special topic review: Taura syndrome, a disease important to shrimp farms in the Americas [J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 1997, 13(4):415-418.
- [22] 李鸿鸣,孙效文. 应用大规模家系选育技术促进辽宁海水养殖业的可持续发展[J]. 沈阳农业大学学报:社会科学版,2002-03,4(1):7-10.
- [23] Flegel T W, Boonyaratpalin S, Withyachumnarnkul B. Progress in research on yellow-head virus and white-spot virus in Thailand [M] // Flegel T W, MacRae I H, eds. Diseases in Asian aquaculture. III. Fish Health Section. Manila: Asian Fisheries Society, 1997:285-295.
- [24] Moss S M, Argue B J, Arce S. Genetic improvement of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at the Oceanic Institute [J]. Aquaculture, 1999, 11(1):41-44.
- [25] 张国范,刘晓. 关于贝类遗传改良几个问题的讨论[J]. 水产学报,2006,30(1):129-137.

**Establishment and WSSV resistant characteristics of selective breeding families for resistance to the white spot syndrome virus of *Litopenaeus vannamei***

HUANG Yongchun<sup>1,2</sup>, AI Huashui<sup>1</sup>, PAN Zhongcheng<sup>1</sup>, CHEN Mao<sup>1</sup>,  
WENG Shaoping<sup>1</sup>, HE Jianguo<sup>1\*</sup>, LI Sedong<sup>3</sup>

(1. School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

2. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China;

3. Guangdong Evergreen Ltd. Corporation, Zhanjiang 524033, China)

**Abstract:** Based on one generation of individual selective breeding and four generations of family selective breeding of *Litopenaeus vannamei*, 120 selective breeding families of resistance to WSSV were produced from 2002 to 2007. Experimental WSSV challenging tests showed that the survival rates of generation 2 ( $G_2$ ),  $G_3$ ,  $G_4$  and  $G_5$  were  $5.57\% \pm 9.83\%$ ,  $8.66\% \pm 11.52\%$ ,  $9.52\% \pm 8.84\%$  and  $13.79\% \pm 12.86\%$ , and the variation coefficient of survival rates were 1.77, 1.40, 0.97 and 0.87, respectively. Each generation of selective breeding families of resistance to WSSV was divided into three groups: relatively high resistant families, mid-resistant families and susceptible families post WSSV infection. The proportions of susceptible families in  $G_2$  to  $G_5$  were 76.5%, 55.2%, 51.4% and 33.3%, and the survival rates were  $0.44\% \pm 1.09\%$ ,  $0.78\% \pm 1.70\%$ ,  $2.27\% \pm 2.76\%$  and  $2.44\% \pm 3.09\%$ , respectively, with an acute mortality peak occurring on 2nd – 3rd day post infection. The proportions of mid-resistant families in  $G_2$  to  $G_5$  were 0, 20.7%, 31.1% and 38.5%, and the survival rates were  $0, 9.08\% \pm 1.46\%$ ,  $10.7\% \pm 1.41\%$  and  $11.36\% \pm 3.30\%$ , respectively, with two mortality peaks at post WSSV infection, and the 1st peak value was greater than that of the 2nd peak. The proportions of relatively high resistant families in  $G_2$  to  $G_5$  were 23.5%, 24.1%, 17.1% and 28.2%, and the survival rates were  $22.23\% \pm 5.21\%$ ,  $22.7\% \pm 12.30\%$ ,  $24.45\% \pm 6.56\%$  and  $28.98\% \pm 8.09\%$ , respectively, with two mortality peaks at post WSSV infection, and the 1st peak value was less than that of the 2nd peak, which showed that these families in this group possessed strong resistance to WSSV infection. So the eruption time of WSSV was delayed and the valuable opportunity could be used to take effective measure to prevent and cure. However, the average of spawning quantity of each generation was declining ( $P < 0.05$ ) year after year.

**Key words:** *Litopenaeus vannamei*; white spot syndrome virus (WSSV); family; selection

**Corresponding author:** HE Jianguo. E-mail: lsshjg@mail.sysu.edu.cn