



## 长牡蛎壳橙性状遗传参数评估及与生长性状的关联性

陈雨露<sup>1</sup>, 徐成勋<sup>1</sup>, 刘士凯<sup>1</sup>, 孔令锋<sup>1</sup>, 李琪<sup>1,2\*</sup>

(1. 中国海洋大学, 海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003;

2. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室, 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266237)

**摘要:** 长牡蛎壳橙快速生长品系是结合群体选育与种内群体间杂交方法, 以壳色性状和生长性状为选育指标, 经过连续3代选育获得的新品系。本研究以第1代长牡蛎壳橙快速生长品系( $G_1$ )为亲本, 采用巢式设计建立了48个混养家系, 共获得863个个体。利用微卫星标记对混养家系进行了系谱分析, 并基于REML法评估了长牡蛎壳橙快速生长品系壳色性状的遗传参数及与生长性状的相关性。结果显示, 863个个体中, 有851个个体被准确鉴定其所属家系; 长牡蛎壳橙快速生长品系壳色性状颜色参数指标 $a^*$ (红绿轴色品指数)、 $b^*$ (黄蓝轴色品指数)和 $\Delta E$ (色差)等均具中高等遗传力, 大小依次为 $0.47\pm 0.23$ 、 $0.42\pm 0.21$ 和 $0.56\pm 0.29$ 。4个颜色参数指标间的遗传相关和表型相关范围分别为 $-0.79\sim 0.86$ 和 $-0.45\sim 0.48$ 。壳色性状与各生长性状的遗传相关和表型相关较低, 分别为 $-0.33\sim 0.17$ 和 $-0.04\sim 0.11$ 。研究表明, 在长牡蛎壳橙快速生长品系育种过程中, 对壳色性状进行选育可以得到预期的改良效果。此外, 壳橙性状与生长性状应分别作为目标性状进行协同选择, 以实现同时改良两个性状的目的。本研究可为长牡蛎壳橙快速生长品系选育提供基础资料。

**关键词:** 长牡蛎; 壳色; 生长性状; 微卫星; 遗传参数

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, 因其繁殖力高、环境适应能力强、养殖周期短、营养丰富等特点, 已成为世界上最为重要的海产经济贝类, 其产量连续多年高居世界之首。作为我国商业化利用程度高的贝类养殖品种, 2020年牡蛎全国海水养殖产量约为542万t<sup>[1]</sup>。目前, 我国长牡蛎养殖所用苗种主要来源于人工育苗, 培育生产性能优良、品质与品相兼备的新品种, 对进一步提升牡蛎的产值, 促进牡蛎产业的高质量发展尤为重要。

壳色作为海产经济贝类的外观性状, 影响着消费者的喜好, 在提升贝类附加值方面发挥着重

要的作用。壳色性状的选择育种和遗传学研究一直受到育种工作者的关注<sup>[2-4]</sup>, 国内已相继培育出长牡蛎、栉孔扇贝 (*Azumapeecten farreri*)、菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 和文蛤 (*Meretrix meretrix*) 等<sup>[5-8]</sup>壳色新品种, 推动了我国贝类养殖产业的良种化。在长期的牡蛎育种实践中, 已获得了长牡蛎橙色壳色突变体品系, 通过品系间杂交和群体选育开发出长牡蛎壳橙快速生长优良品系, 为长牡蛎新品种培育提供了重要素材。

经济性状的遗传参数评估是水产动物遗传改良过程中的一项基础工作。其中, 狭义遗传力是加性方差在表型方差中所占的比例, 有助于判断

收稿日期: 2021-10-09 修回日期: 2021-11-11

资助项目: 山东省农业良种工程项目 (2020LZGC016); 青岛市科技惠民示范项目 (20-3-4-16-nsh)

第一作者: 陈雨露 (照片), 从事贝类遗传育种研究, E-mail: chenylulu9712@126.com

通信作者: 李琪, 从事贝类遗传育种研究, E-mail: qili66@ouc.edu.cn



亲本性状遗传给后代大小的程度, 性状间的遗传相关性则是多性状选育方案的制定依据<sup>[9]</sup>。在长牡蛎的育种中, 与经济价值紧密相关的生长性状、存活率、抗逆性、壳型、颜色等遗传参数评估相继报道, 并以目标性状遗传力和不同性状间的关联性为依据, 制定了育种计划<sup>[10-14]</sup>。同一性状的遗传参数因生长环境、品系而异, 因此, 在新品系的继代选育过程, 对特定性状的遗传参数进行评估, 探索其作为目标性状的选育潜力, 是确保后续选育工作取得改良效果的重要前提。

本研究以长牡蛎壳橙快速生长品系为素材, 通过巢式交配设计建立了 48 个全同胞混养家系, 利用微卫星亲子鉴定技术获取系谱信息, 采用计算机视觉系统和 Lab 颜色模型获取壳色数据, 估算壳橙性状遗传力及其与生长性状的关联性, 以期为长牡蛎壳橙快速生长品系选育提供基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验设计

实验所用的亲本是经过连续 3 代选育、生长性状得到改良的橙壳色长牡蛎个体, 即第 1 代长牡蛎壳橙快速生长品系 ( $G_1$ )。2020 年 4 月从山东乳山海区养殖的第 1 代长牡蛎壳橙快速生长品系 ( $G_1$ ) 中选取生长性状优良个体作为亲贝, 转移至室内进行人工促熟。2020 年 5 月, 长牡蛎亲本性腺发育成熟, 辨别雌雄后, 利用平衡巢式设计法进行人工授精, 1 雄配 3 雌, 共建立 48 个全同胞家系、16 个半同胞家系。获取所有亲本的闭壳肌, 保存于 70% 酒精中。

### 1.2 孵化、苗种培育和养成

人工授精完成后, 所有家系幼虫在 100 L 聚乙烯桶内进行孵化, 孵化过程中幼虫密度需保持在 20~40 个/mL, 水温控制在 24 °C 左右。孵化过程持续 22 h, 受精卵发育至 D 形幼虫期时进行选优, 从 48 个家系中分别取幼虫密度为 30~40 个/mL 的 2 L 养殖水体并转移至 2 个 500 L 塑料桶中混合培育。苗种培育与养成参照王庆志等<sup>[15]</sup>的方法, 幼虫密度控制在 8~10 个/mL, 至投放附着基时调整至 2~3 个/mL。每日换水 1 次, 每次 1/3 换水量; 每日投喂 4 次, 根据不同生长阶段调整等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*) 和扁藻 (*Platymonas* sp.) 的投喂比例及投喂量。两个聚乙烯桶的管理操作基本保

持一致。当眼点幼虫比例达 30% 左右时, 投放扇贝壳附着基采苗, 幼虫完成附着和变态后, 转移至室外沉淀池暂养 2 周。待自然海区野生牡蛎减少时, 将稚贝置于扇贝笼中转移至山东荣成桑沟湾海区进行养成。养成期间各笼内的放养密度和所处水层均保持一致。2021 年 4 月从长牡蛎家系混养群体中共收获 863 个个体。本研究按照中国海洋大学《实验动物使用指南》的标准操作程序进行。所有动物护理和使用程序均经中国海洋大学动物机构护理和使用委员会批准。

### 1.3 指标测定

**生长性状测定** 对所有个体的壳高 (SH)、壳长 (SL)、壳宽 (SW)、总重量 (TW) 等生长性状指标进行测定。用电子游标卡尺测量壳高、壳长和壳宽 (精确度 0.01 mm), 总重量用电子天平测量 (精确度为 0.01 g)。

**壳色性状测量** 采用计算机视觉系统 (CVS, computer vision system) 和均匀颜色空间  $L^*a^*b^*$  采集、量化壳色数据。CVS 系统包括标准光源、数码相机和图像处理软件。壳色图像采集过程、相机参数设置以及颜色参数  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  值的读取参照 Wan 等<sup>[16]</sup>的方法。 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  和  $\Delta E$  通过以下公式计算<sup>[17-18]</sup>:

$$L^* = \frac{L}{255} \times 100 \quad (1)$$

$$a^* = \frac{240a}{255} - 120 \quad (2)$$

$$b^* = \frac{240b}{255} - 120 \quad (3)$$

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_1^*)^2 + (a^* - a_1^*)^2 + (b^* - b_1^*)^2} \quad (4)$$

式中,  $L^*$  表示明度,  $a^*$  为红绿轴色品指数,  $b^*$  为黄蓝轴色品指数,  $L$ 、 $a$ 、 $b$  分别为所测牡蛎壳的颜色参数,  $L_1^*$ 、 $a_1^*$ 、和  $b_1^*$  是子代中某一标准壳橙个体的颜色指标,  $\Delta E$  为色差值。

### 1.4 家系鉴定

所有雌雄亲本以及子代的闭壳肌使用苯酚-氯仿法<sup>[19]</sup>提取 DNA。利用 4 组多重 PCR 共 12 个微卫星位点对所有样品的 DNA 进行扩增, 多重 PCR 扩增的组合、引物序列和 PCR 扩增条件见表 1。所得的扩增产物用 ABI3730xl (Applied Biosystems) 测序仪进行基因分型。经 GeneMapper v4.0 软件处理得到相应位点的片段大小, 使

表 1 长牡蛎微卫星多重 PCR 引物组合及特征

Tab. 1 Multiplexes of microsatellite markers for *C. gigas*

组合 group	位点 locus	引物序列(5'-3') primer sequence(5'-3')	退火温度/°C $T_a$	产物大小/bp fragment length
Panel 1	<i>ucdCg</i> -117	F-TGTA AAAACGACGGCCAGTCCAAGCTTGCACACTCACTCAA <b>6-FAM</b> R-GAGTGTCTGGTGTGCCAAAT	58	290
	<i>ucdCg</i> -120	F-TGTA AAAACGACGGCCAGTGGGTGAGATTTAGGGGGAGA <b>6-FAM</b> R-CTCCATCAAACCTGCCAAAC	58	152
	<i>ucdCg</i> -198	F-TGTA AAAACGACGGCCAGTGAAGACACGACCGGAGAGA <b>6-FAM</b> R-CTGATGATGTCCACACCTG	58	230
Panel 2	<i>ucdCg</i> -146	F-TGTA AAAACGACGGCCAGTCGCTCTGGTCTTTGTTCCAT <b>NED</b> R-ACCCCAACAGATCACAATCC	56	218
	<i>Crgi3</i>	F-TGTA AAAACGACGGCCAGTTAGGATGAGGCTGGCACCTTGA <b>NED</b> R-GCCTGCCTTGCCTTTGAGGAATA	56	161~173
	<i>uscCgi</i> -210	F-TGTA AAAACGACGGCCAGTTTACAATGAAGATGACAGTGC <b>NED</b> R-CCTCTCTGCCTCCATATCA	56	316
Panel 3	<i>ucdCg</i> -152	F-TGTA AAAACGACGGCCAGTTGGTTTTGGAGCTTGGCTTA <b>VIC</b> R-TCAAGCAAAGAAAGTCACTCA	50	257
	<i>Crgi39</i>	F-TGTA AAAACGACGGCCAGTTTCCAAGTCGGTTTTGTCATCGT <b>VIC</b> R-GTGACAAAACCCACCATCAGCTC	50	190~214
	<i>Crgi45</i>	F-TGTA AAAACGACGGCCAGTGAGTACCACCATGAAGAGTATCTGAA <b>VIC</b> R-ATGATTACATAA ACTCTGACCCAAT	50	158~164
Panel 4	<i>otgfa0_0007_B07</i>	F-TGTA AAAACGACGGCCAGTTATCATCGCGCAATTCGTG <b>PET</b> R-GCAACTTAGCTGGTCGTTC	50	279~295
	<i>otgfa0_0129_E11</i>	F-TGTA AAAACGACGGCCAGTTGACTGTTCTTCGTACCCATCA <b>PET</b> R-AGGTGGAACGAGATTGCCTTT	50	155
	<i>Crgi4</i>	F-TGTA AAAACGACGGCCAGTCCAAAACACGATAAGATACACTTTC <b>PET</b> R-GATCAGTCCCTCACATCTTTCCTC	50	235

注: 加粗字体为荧光引物名称。

Notes: Bold are the different fluorescent dyes used.

用 CERVUS 3.0 软件<sup>[20]</sup>, 基于最大似然法, 结合巢式设计的原则和 12 个微卫星位点提供的信息, 鉴定亲缘关系。

## 1.5 数据分析

使用 SPSS 18.0 和 Excel 软件对长牡蛎子代生长性状和壳色性状的表型参数进行初步处理, 检测正态性和方差齐性。采用 ASREML 3.0 程序包中约束极大似然法 (REML) 进行遗传参数评估, 建立个体动物模型:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_{ijk} + I_{ij} + e_{ijk} \quad (5)$$

式中,  $i$ 、 $j$ 、 $k$  依次为父本编号、母本编号、家系中第  $k$  个体的编号,  $Y_{ijk}$  为个体性状观测值,  $\mu$  为总体平均值,  $\alpha_{ijk}$  为加性遗传效应,  $I_{ij}$  为家系遗传效应,  $e_{ijk}$  为随机残差。

壳色指标和生长性状的遗传相关和表型相关的计算, 使用 ASREML 3.0 软件以及双变量模型。

## 2 结果

### 2.1 系谱鉴定及描述性统计

12 个微卫星位点的平均等位基因数为 10.6,

平均观测杂合度为 0.62, 平均期望杂合度为 0.67, 多态性信息含量 (PIC) 的平均值为 0.62, 表现出高多态性。进行 10 000 次亲本已知情况下的模拟测试, 鉴定准确率为 99.98%。在 95% 的置信度标准下, 863 个个体中有 851 个个体鉴定到其父母本, 实际亲子鉴定成功率为 98.61%。家系重建结果显示, 48 个家系之间的子代个体数存在较大差异 (表 2), 介于 6~48。亲本贡献率最高的是 2 号父本和 4 号母本, 共繁育了 48 个子代。

家系重建后, 统计了 48 个家系的壳色相关指标  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  和  $\Delta E$ 。由 12 号母本和 4 号父本繁育的全同胞家系  $b^*$  值的平均数最大为 -85.93, 而由 47 号母本和 16 号父本产生的后代的  $\Delta E$  值平均数最小, 为 4.21 (图 1)。描述性统计结果包括长牡蛎壳色参数和生长性状的平均值、标准差和变异系数 (表 3)。在生长性状参数中, 总重量的变异系数最高, 为 39.62%, 相比之下, 壳高、壳长和壳宽的变异系数较低, 为 16.51%~21.10%, 说明个体间总重量的差异更为明显。在 4 个颜色参数中,  $L^*$  和  $\Delta E$  的变异系数较大, 说明子代个体间颜色参数中  $L^*$  和  $\Delta E$  的差异更为明显,  $L^*$  的差异可能是个

表 2 基于微卫星分型的系谱鉴定结果

**Tab. 2 Number of progenies assigned to each of the 48 full-sib families based on microsatellite genotyping**

家系序号 family number	雄性亲本序号 sire number															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	44/44/14															
2	48/39/44															
3	6/9/6															
4	12/10/7															
5	35/41/14															
6	7/14/14															
7	12/6/6															
8	14/11/22															
9	31/6/6															
10	14/6/15															
11	12/10/8															
12	24/7/38															
13	7/14/20															
14	26/28/36															
15	26/8/9															
16	8/6/7															
总计 total	102	131	21	29	90	35	24	47	43	35	30	69	41	90	43	21

注: 家系序号用其父本编号命名, -/-/-依次为每个半同胞家系中父本和母本产生的子代数。

Notes: Each family is coded by its dam number. -/-/- means the number of progeny produced by sire and dam in each half-sibling families.

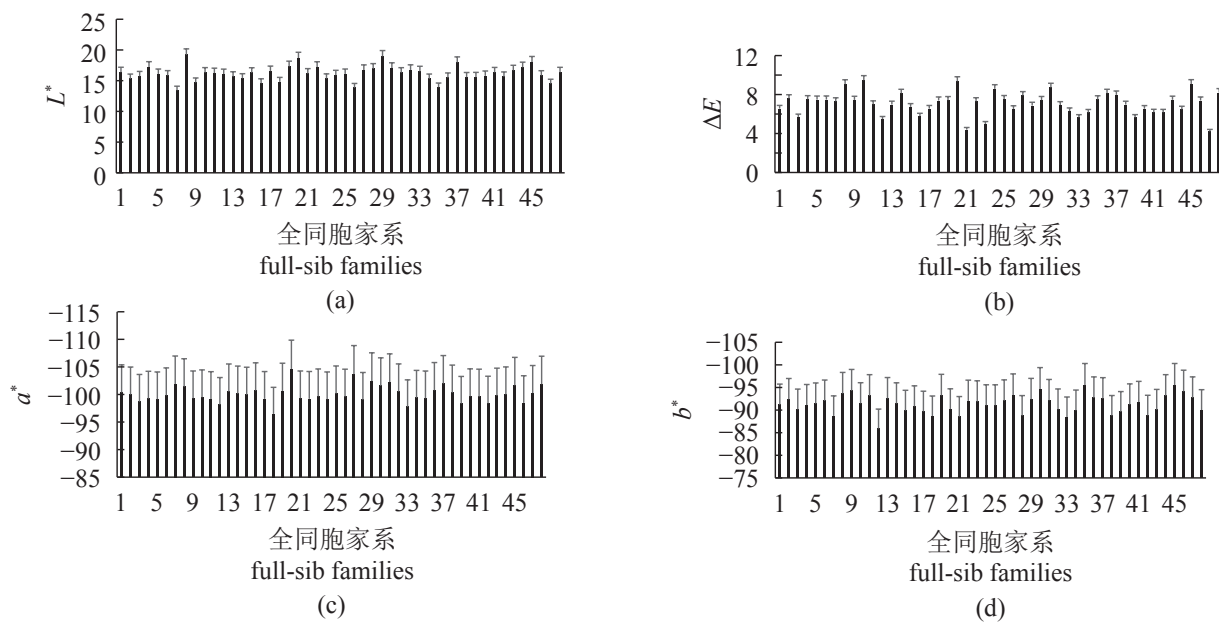


图 1 长牡蛎壳色性状表型值

(a)-(d) 依次为  $L^*$ 、 $\Delta E$ 、 $a^*$  和  $b^*$  的参数值; 每个全同胞家系的表型值用平均值 $\pm$ 标准差表示, 并用其母本编号命名。

**Fig. 1 Shell color-related trait performance in terms of  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , and  $\Delta E$  of *C. gigas***

Parameter values of  $L^*$ ,  $\Delta E$ ,  $a^*$  and  $b^*$  are showed in figures (a)-(d), respectively; the shell color-related trait performances are represented by mean $\pm$ SD. Each family is coded by its dam number.

表 3 长牡蛎壳色性状和生长性状参数的描述性统计结果

Tab. 3 Descriptive statistics of the orange shell color-related parameters ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  and  $\Delta E$ ) and the growth-related traits of *C. gigas*

性状 trait	平均值 mean	标准差 SD	变异系数/% CV
$L^*$	16.08	3.19	19.84
$a^*$	-99.75	3.69	3.70
$b^*$	-91.15	5.20	5.70
$\Delta E$	7.11	3.08	43.32
SH	53.92	8.93	16.51
SL	34.60	7.19	20.78
SW	18.24	3.85	21.10
TW	16.91	6.70	39.62

注: SH.壳高, SL.壳长, SW.壳宽, TW.总重量, 下同。  
Notes: SH. shell height, SL. shell length, SW. shell width, TW. total weight, the same below.

体间  $\Delta E$  差异的来源;  $a^*$  和  $b^*$  的变异系数较小, 为 3.70%~5.70%。

### 2.2 长牡蛎壳橙性状遗传力和遗传相关

基于家系重建后的系谱关系, 利用动物模型和限制性最大似然法进行遗传力的估算。在 4 个颜色参数中,  $L^*$  的遗传力估计值最低, 为  $0.17 \pm 0.07$ 。 $a^*$ 、 $b^*$  和  $\Delta E$  的遗传力估计值较高, 依次为  $0.47 \pm 0.23$ 、 $0.42 \pm 0.21$  和  $0.56 \pm 0.29$  (表 4)。壳色性状颜色参数内部之间相关性的差异既体现在相关性的正负上, 也体现在相关性的大小上,  $L^*$  和  $\Delta E$  的遗传相关和表型相关为正相关, 遗传相关和表型相关依次为  $0.51 \pm 0.30$  和  $0.08 \pm 0.04$ , 表型相关值远小于遗传相关值;  $b^*$  与  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $\Delta E$  均具有较大的负遗传相关, 分别为  $-0.79 \pm 0.24$ 、 $-0.64 \pm 0.31$  和  $-0.68 \pm 0.52$ 。

### 2.3 长牡蛎壳橙性状与生长性状的遗传相关和表型相关

长牡蛎壳色性状和生长性状的表型和遗传相

表 5 长牡蛎壳橙快速生长品系壳色与生长性状的表型 ( $r_p$ ) 和遗传相关 ( $r_g$ )

Tab. 5 Phenotypic and genetic correlation between the shell color and growth traits of the improved orange shell line *C. gigas*

性状 trait	$L^*$		$a^*$		$b^*$		$\Delta E$	
	$r_g$	$r_p$	$r_g$	$r_p$	$r_g$	$r_p$	$r_g$	$r_p$
SH	$-0.02 \pm 0.04$	$0.03 \pm 0.07$	$0.02 \pm 0.04$	$0.04 \pm 0.03$	$0.17 \pm 0.12$	$0.09 \pm 0.04$	$-0.29 \pm 0.23$	$-0.02 \pm 0.09$
SL	$-0.07 \pm 0.02$	$0.05 \pm 0.04$	$0.03 \pm 0.09$	$0.04 \pm 0.03$	$0.03 \pm 0.02$	$0.04 \pm 0.03$	$-0.23 \pm 0.05$	$-0.02 \pm 0.13$
SW	$0.02 \pm 0.05$	$-0.04 \pm 0.03$	$-0.24 \pm 0.18$	$0.11 \pm 0.04$	$0.07 \pm 0.08$	$0.08 \pm 0.04$	$-0.14 \pm 0.04$	$-0.03 \pm 0.14$
TW	$-0.33 \pm 0.25$	$0.06 \pm 0.04$	$0.12 \pm 0.13$	$0.04 \pm 0.03$	$-0.19 \pm 0.18$	$0.01 \pm 0.03$	$-0.05 \pm 0.08$	$-0.03 \pm 0.03$

表 4 长牡蛎壳色参数  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  和  $\Delta E$  的遗传力 (对角线), 遗传相关 (对角线上方) 和表型相关 (对角线下方)

Tab. 4 Heritabilities (in the diagonal), genetic correlations (above the diagonal) and phenotypic correlation (below the diagonal) of shell color parameters of *C. gigas*

参数 parameter	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E$
$L^*$	$0.17 \pm 0.07$	$0.86 \pm 0.45$	$-0.79 \pm 0.24$	$0.51 \pm 0.30$
$a^*$	$-0.09 \pm 0.04$	$0.47 \pm 0.23$	$-0.64 \pm 0.31$	$0.66 \pm 0.33$
$b^*$	$0.16 \pm 0.04$	$0.48 \pm 0.03$	$0.42 \pm 0.21$	$-0.68 \pm 0.52$
$\Delta E$	$0.08 \pm 0.04$	$-0.31 \pm 0.03$	$-0.45 \pm 0.03$	$0.56 \pm 0.29$

关参数列于表 5。 $\Delta E$  和生长性状的遗传相关和表型相关均为负值。其中, 与壳高、壳长的负遗传相关程度高于其他颜色参数, 为  $-0.29 \sim -0.23$ 。在  $L^*$  和生长性状、 $a^*$  和生长性状的遗传相关中, 除  $L^*$  和总重量的相关性以外, 其余均具较低的相关性。在遗传相关方面,  $L^*$  和总重量的负相关性最高为  $-0.33 \pm 0.25$ 。在表型相关方面,  $a^*$  与壳宽的相关估计值最高, 为  $0.11 \pm 0.04$ ;  $b^*$  与总重量的相关估计值最低, 为  $0.01 \pm 0.03$ 。

## 3 讨论

### 3.1 长牡蛎系谱鉴定结果分析

遗传力作为水产动物选择育种中的重要遗传参数, 在育种值估计、选择方法的比较、育种计划的制定等方面具有重要作用, 而使用正确的系谱信息是准确评估遗传参数的前提。基于微卫星分型技术的家系重建方法, 凭借其精确的鉴别力、检测的高稳定性等优点, 已广泛应用到了尖吻鲈 (*Lates calcarifer*)、鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*)、鲤 (*Cyprinus carpio*) 等鱼类<sup>[21-23]</sup>, 以及长牡蛎<sup>[16]</sup>、耳鲍 (*Haliotis asinine*)<sup>[24]</sup> 等贝类混养家系的系谱关系鉴定中。这种将分属于不同全同胞和半同胞家系的个体养殖在共同环境中的方式, 不仅

降低了育种和管理成本, 还排除了传统的家系分养过程引入的环境组分干扰, 提升了遗传参数估测的准确性<sup>[25]</sup>。本研究运用 12 对微卫星位点鉴定了长牡蛎壳橙快速生长品系 G<sub>1</sub> 的子代, 收获的 863 个个体中有 851 个鉴定到其父母本, 成功率达 98.61%, 高于时嘉赓等<sup>[26]</sup>在皱纹盘鲍 (*H. discus hannai*) 中使用 8 个微卫星位点和邢德等<sup>[13]</sup>在长牡蛎中使用 11 个微卫星位点所得的亲生子鉴定成功率, 表明本研究选用的微卫星位点, 其数量和多态性信息含量可以实现对大样本的家系重建。此外, 在实验设计上, 巢式交配设计严格控制了每一个雄性个体只能与特定的 3 个雌性交配, 这也是提高家系鉴定成功率的原因。值得注意的是, 根据家系重建的结果可以发现, 混养群体中不同家系间的亲本贡献率差异较大, 可能会导致选育群体有效种群大小的下降, 进而产生近交。因此, 在选育过程中利用分子标记监测群体的系谱信息及遗传变化, 对于选育群体的种质管理有重要意义。

### 3.2 长牡蛎壳橙性状遗传力分析

随着长牡蛎活体、半壳等销售状态在消费市场的兴起, 长牡蛎外壳的颜色、形状等壳性状开始影响消费者的消费偏好<sup>[27]</sup>。培育长牡蛎壳橙快速生长品系, 不但可以满足市场多样化的需求, 还可以为长牡蛎壳色性状遗传模式的研究提供材料。目前, 关于长牡蛎壳色性状的遗传模式及相关 QTL 定位等研究已取得了一系列进展<sup>[28-29]</sup>。本研究通过结合使用系谱鉴定技术和计算机视觉颜色量化系统估算了 10 月龄长牡蛎壳色性状的遗传力, 颜色参数  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 、 $\Delta E$  的遗传力分别为 0.17、0.47、0.42 和 0.56。在以前的研究中, 研究者将遗传力 ( $h^2$ ) < 0.15 划分为低遗传力水平, 0.15 <  $h^2$  < 0.30 划分为中等遗传力,  $h^2$  > 0.30 划分为高遗传力<sup>[30]</sup>。可见, 与壳色明暗程度相关的  $L^*$  为低遗传力, 该颜色参数可能受海区环境因素的影响较大。 $a^*$ 、 $b^*$ 、 $\Delta E$  等颜色参数均为高遗传力, 这表明长牡蛎壳色性状受遗传因素控制程度较高, 以橙壳色为目标性状的选育具有较大的潜力。此外, 通过家系混养的方式排除了环境效应, 将非遗传方差从表型总方差去除, 也可能会导致加性遗传方差增高。Xu 等<sup>[14]</sup>和 Evans 等<sup>[4]</sup>对长牡蛎壳色遗传参数的评估中也得到了较高的遗传力。在其他贝类中, 王照旗等<sup>[31]</sup>评估的三角帆蚌紫色选育系 1 龄阶段内壳色颜色参数  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 、 $\Delta E$  的遗传力也是中高等水平, 均证明了以壳色为选

育目标可以取得较好的选育效果。

### 3.3 长牡蛎壳橙性状与生长性状的关联性分析

选择育种是指通过挑选表型性状优良的个体繁育子代, 并进行多代反复地选择与淘汰, 从而选育出新品系或品种的方法。在水产动物选育过程中, 需要量化表型性状以筛选最佳亲本, 而有些性状的量化过程会致使个体机械损伤, 导致其丧失作为亲本的有利条件, 倘若容易测量的性状与不易测量的性状间具相关性, 则可对后者进行间接选育。因此, 在连续多代选育的过程中, 需要开展目标性状关联分析以提高育种效率。表型相关主要分为遗传相关和环境相关两部分, 其中, 遗传相关是由基因间连锁不平衡性和基因多效性形成的<sup>[9]</sup>。通常, 性状间的正遗传相关值与间接选育的效果成正比。

在海产经济贝类中, 已有研究报道壳色性状和生长性状的相关程度因壳色而异。例如, 邢德等<sup>[13]</sup>发现长牡蛎壳黑品系  $L^*$  与生长参数遗传相关值为 0.49~0.91, 两性状间可进行互相选择。而 Wan 等<sup>[16]</sup>估测壳金长牡蛎颜色参数与各生长性状之间的遗传相关范围为 -0.04~0.26, 表型相关范围为 -0.10~0.13, 无法利用生长性状实现对壳金性状的间接选育, 在三角帆蚌内壳色与生长性状的关联性分析中也得到了相同的结果<sup>[31]</sup>。本研究中, 长牡蛎壳橙快速生长品系壳色性状与生长性状之间的遗传相关和表型相关普遍较低, 范围介于 -0.33~0.17, 不同研究中长牡蛎壳色和生长性状的遗传相关存在较大的差异可能是生长环境和生长时期的不同所导致。不同养殖海区温度、盐度、海流和饵料组成不同, 生物间资源分配存在差异。在不同的生长时期, 母本效应大小对遗传参数的评估结果也有影响<sup>[32]</sup>。此外, 不同壳色选育群体的壳色遗传模式不同, 这也可能是引起不同壳色品系颜色性状的关联分析出现差异的原因。橙壳色性状与生长性状间的关联性结果说明, 在长牡蛎壳橙快速生长品系的育种实践中, 可通过将壳色性状和生长性状作为目标性状协同选育的方法, 取得遗传进展, 提高育种效率。

## 4 结论

本研究分析了 10 月龄长牡蛎壳橙快速生长品系壳色性状的表型变异、遗传力及与生长性状的关联性, 进一步确定了在共同的养殖环境中以分

子标记系谱鉴定为基础的家系重建方法的可行性。长牡蛎壳色性状颜色参数多具中高遗传力, 以其作为选育的目标性状, 有望达到良好的改良效果。长牡蛎壳色性状与生长性状没有明显的相关性, 无法单一地通过壳色性状的选育来实现对生长性状的改良, 将这两种性状视为目标性状协同选育是可行的措施。本研究结果为长牡蛎壳橙快速生长品系的选育提供了重要参考。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

### 参考文献 (References):

- [1] 农业农村部渔业渔政局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 2021年中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2021: 45.  
Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China fishery statistical yearbook in 2021[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2021: 45 (in Chinese).
- [2] Nell J A. The history of oyster farming in Australia[J]. Marine Fisheries Review, 2001, 63(3): 14-25.
- [3] Brake J, Evans F, Langdon C. Evidence for genetic control of pigmentation of shell and mantle edge in selected families of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*[J]. *Aquaculture*, 2004, 229(1-4): 89-98.
- [4] Evans S, Camara M D, Langdon C J. Heritability of shell pigmentation in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*[J]. *Aquaculture*, 2009, 286(3-4): 211-216.
- [5] Han Z Q, Li Q, Liu S K, et al. Genetic variability of an orange-shell line of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* during artificial selection inferred from microsatellites and mitochondrial *CO I* sequences[J]. *Aquaculture*, 2019, 508: 159-166.
- [6] 孙建璋, 王孟兴, 褚长建. “蓬莱红”栉孔扇贝养殖试验[J]. 渔业现代化, 2003(4): 18-19.  
Sun J Z, Wang M X, Zhu C J. Experiment on "Penglai Hong" scallop culture[J]. Fishery Modernization, 2003(4): 18-19 (in Chinese).
- [7] 闫喜武, 张跃环, 张国范等. 菲律宾蛤仔两道红与白斑马品系的三元杂交[J]. 水产学报, 2010, 34(8): 1190-1197.  
Yan X W, Zhang Y H, Zhang G F, et al. Three way crosses between two-band red and white zebra strains of Manila clam, *Ruditapes philippinarum*[J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(8): 1190-1197 (in Chinese).
- [8] 张安国, 李太武, 苏秀榕. 不同花纹文蛤杂交育种初步研究[J]. 水产科学, 2010, 29(7): 403-407.  
Zhang A G, Li T W, Su X R. Hybridization of different decorative pattern on clam *Meretrix meretrix* Linnaeus[J]. Fisheries Science, 2010, 29(7): 403-407 (in Chinese).
- [9] Falconer D S, Mackay T F C. 数量遗传学导论 [M]// 储明星, 译. 第4版. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.  
Falconer D S, Mackay T F C. Introduction to quantitative genetics[M]// Chu M X, trans. 4th ed. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000 (in Chinese).
- [10] 赵宗武, 李琪, 张景晓, 等. 壳白长牡蛎家系幼体生存存活比较及生长性状遗传参数评估[J]. 水生生物学报, 2019, 43(2): 315-321.  
Zhao Z W, Li Q, Zhang J X, et al. Genetic parameters and growth traits in white shell families of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2019, 43(2): 315-321 (in Chinese).
- [11] Chi Y, Li Q, Liu S K, et al. Genetic parameters of growth and survival in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*[J]. *Aquaculture Research*, 2021, 52(1): 282-290.
- [12] Azéma P, Lamy J B, Boudry P, et al. Genetic parameters of resistance to *Vibrio aestuarianus*, and OsHV-1 infections in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, at three different life stages[J]. *Genetics Selection Evolution*, 2017, 49: 23.
- [13] 邢德, 李琪, 张景晓. 壳白长牡蛎品系生长和壳色性状遗传参数估计[J]. 中国水产科学, 2018, 25(1): 26-33.  
Xing D, Li Q, Zhang J X. Estimates of genetic parameters for growth and shell color traits in the white-shell strain of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2018, 25(1): 26-33 (in Chinese).
- [14] Xu L, Li Q, Yu H, et al. Estimates of heritability for growth and shell color traits and their genetic correlations in the black shell strain of Pacific oyster *Crassostrea gigas*[J]. *Marine Biotechnology*, 2017, 19(5): 421-429.
- [15] 王庆志, 李琪, 刘士凯, 等. 长牡蛎幼体生长性状的遗传力及其相关性分析[J]. 中国水产科学, 2009, 16(5): 736-743.

- Wang Q Z, Li Q, Liu S K, *et al.* Estimates of heritabilities and genetic correlations for growth in *Crassostrea gigas* larvae[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2009, 16(5): 736-743 (in Chinese).
- [16] Wan S, Li Q, Liu T, *et al.* Heritability estimates for shell color-related traits in the golden shell strain of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) using a molecular pedigree[J]. *Aquaculture*, 2017, 476: 65-71.
- [17] Hunter R S. Scales for the measurements of color difference[M]. New York: John Willy & Sons, 1975: 133-140.
- [18] Chakraborty S K, Singh D S, Kumbhar B K. Influence of extrusion conditions on the colour of millet-legume extrudates using digital imagery[J]. Irish Journal of Agricultural and Food Research, 2014, 53(1): 65-74.
- [19] Li Q, Yu H, Yu R H. Genetic variability assessed by microsatellites in cultured populations of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in China[J]. *Aquaculture*, 2006, 259(1-4): 95-102.
- [20] Kalinowski S T, Taper M L, Marshall T C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment[J]. *Molecular Ecology*, 2007, 16(5): 1099-1106.
- [21] Wang C M, Lo L C, Zhu Z Y, *et al.* Estimating reproductive success of brooders and heritability of growth traits in Asian sea bass (*Lates calcarifer*) using microsatellites[J]. *Aquaculture Research*, 2008, 39(15): 1612-1619.
- [22] Gheyas A A, Woolliams J A, Taggart J B, *et al.* Heritability estimation of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) harvest traits using microsatellite based parentage assignment[J]. *Aquaculture*, 2009, 294(3-4): 187-193.
- [23] Vandeputte M, Kocour M, Mauger S, *et al.* Heritability estimates for growth-related traits using microsatellite parentage assignment in juvenile common carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. *Aquaculture*, 2004, 235(1-4): 223-236.
- [24] Lucas T, Macbeth M, Degnan S M, *et al.* Heritability estimates for growth in the tropical abalone *Haliotis asinina* using microsatellites to assign parentage[J]. *Aquaculture*, 2006, 259(1-4): 146-152.
- [25] Fu J J, Shen Y B, Xu X Y, *et al.* Genetic parameter estimates for growth of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*, at 10 and 18 months of age[J]. *Aquaculture*, 2016, 450: 342-348.
- [26] 时嘉庚, 冯艳微, 赵海峰, 等. 皱纹盘鲍绿卵家系生长性状比较与遗传参数分析[J]. 海洋湖沼通报, 2019(6): 83-89.
- Shi J G, Feng Y W, Zhao H F, *et al.* A comparison of growth traits and analysis of genetic parameters among green eggs families of *Haliotis discus hannai*[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2019(6): 83-89 (in Chinese).
- [27] Mizuta D D, Wikfors G H. Seeking the perfect oyster shell: a brief review of current knowledge[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2019, 11(3): 586-602.
- [28] Han Z Q, Li Q. Mendelian inheritance of orange shell color in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*[J]. *Aquaculture*, 2020, 516: 734616.
- [29] Han Z Q, Li Q, Xu C X, *et al.* QTL mapping for orange shell color and sex in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)[J]. *Aquaculture*, 2021, 530: 735781.
- [30] 张沅. 家畜育种学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 37-38.
- Zhang Y. Animal breeding[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2001: 37-38 (in Chinese).
- [31] 王照旗, 韩学凯, 白志毅, 等. 三角帆蚌紫色选育系1龄阶段内壳色及生长性状的遗传参数估计[J]. 水产学报, 2014, 38(5): 644-650.
- Wang Z Q, Han X K, Bai Z Y, *et al.* Estimates of genetic parameters for inner shell color and growth traits during one year old stage in the purple strain of *Hyriopsis cumingii* using microsatellite based parentage assignment[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(5): 644-650 (in Chinese).
- [32] Evans S, Langdon C. Effects of genotype×environment interactions on the selection of broadly adapted Pacific oysters (*Crassostrea gigas*)[J]. *Aquaculture*, 2006, 261(2): 522-534.



## Estimates of genetic parameters for orange shell color and their correlation with growth traits in the improved orange shell line of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)

CHEN Yulu<sup>1</sup>, XU Chengxun<sup>1</sup>, LIU Shikai<sup>1</sup>, KONG Lingfeng<sup>1</sup>, LI Qi<sup>1,2\*</sup>

(1. Key Laboratory of Mariculture of Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes,

Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266237, China)

**Abstract:** The Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) is one of the most widely farmed shellfish species in the world. With the rise in market demand for in-shell oysters, shell color trait is increasingly of interest to the breeding industry and has been a target trait for selection. In our previous breeding process, an improved orange shell line of *C. gigas* with a unique shell color was established by the means of hybridization and mass selection. However, the genetic parameters for shell color trait and their correlation with growth traits for the improved orange-shell line remains undocumented. This study aims to estimate genetic parameters (heritability and correlations) for *C. gigas* at 10 months of age by applying mixed-family approach combined with a nested mating design and CVS imaging system. In this study, heritability for shell color-related traits was estimated in the improved orange shell line of *C. gigas* by fostering a single cohort of 48 families consisting of 16 sires and 48 dams. A total of 863 offspring were harvested at 10-month age. Pedigree was reconstructed with 12 microsatellite markers. The shell color parameters of selected oysters were measured based on the computer vision system and Lab colorimetric system. REML based on the animal model was used to estimate the genetic parameters of orange shell color traits and correlation with growth traits of *C. gigas*. The results of parentage assignment showed that 98.61% of the oysters were unambiguously assigned to single parent pairs. Unbalanced contributions of parents were found among families and parents. Coefficients of variation of the progeny were 16.51%-39.62% for growth traits, and 3.70%-43.32% for shell color parameters, suggesting that there was great genetic variation among growth traits. Heritabilities of  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , and  $\Delta E$  were  $0.17\pm 0.07$ ,  $0.47\pm 0.23$ ,  $0.42\pm 0.21$ , and  $0.56\pm 0.29$ , respectively. The phenotypic correlations and genetic correlations of  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  and  $\Delta E$  were with the ranges of  $-0.4-0.48$  and  $-0.79-0.86$ , respectively. The phenotypic correlations and genetic correlations between the growth traits and shell color traits were low, ranging from  $-0.04-0.11$  and  $-0.33-0.17$  respectively. These results indicated that the breeding population had considerable additive genetic variation in orange shell color traits, and the ongoing selective breeding program should produce considerable genetic improvement in the orange shell color traits of *C. gigas*. However, indirect selection of growth traits using the shell color trait is infeasible due to their low correlations. Only when both the shell color traits and growth traits were selected as the targets of selective breeding, the traits could be improved. Furthermore, our studies confirmed the feasibility of the posteriori family reconstruction based on molecular markers in a communal rearing environment. The present study provides important information for future selective breeding programs for *C. gigas* with orange shell color trait.

**Key words:** *Crassostrea gigas*; shell color; growth traits; microsatellite; genetic parameter

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

**Funding projects:** Agriculture Seed Improvement Project of Shandong Province (2020LZGC016); Science and Technology Benefiting People Demonstration Project of Qingdao City (20-3-4-16-nsh)