

合浦珠母贝双列杂交家系的建立与遗传分析

谷龙春^{1,2}, 李金碧^{1,3}, 喻达辉^{1*}, 黄桂菊¹, 刘建业^{1,2}

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所,农业部海水养殖生态与质量控制重点实验室,广东 广州 510300;

2. 上海海洋大学水产与生命学院,上海 201306;

3. 华中农业大学水产学院,湖北 武汉 430070)

摘要:以采自广西北海(B)、广东徐闻(X)、海南三亚(S)的3个不同养殖群体的合浦珠母贝为亲贝,按照完全双列杂交的方式,建立了9个交配组合,每个组合10个家系,共90个家系。出苗经60 d养殖后,比较各家系的育种值,并对家系进行综合评价。结果表明:壳长的Kung育种值大于20的家系有8个,分别为BX2(表示北海♂×徐闻♀的2号家系,余依此类推)、BX9、BB4、BB5、BB8、BS9、XS3、SB8,其中XS3的壳长及壳宽的Kung育种值和综合评定值均最大,XX3最小。BB4和XS3的综合评定值大于1。壳长的一般配合力为三亚群体17.40,徐闻17.45,北海18.27;壳高为三亚14.74,徐闻14.79,北海15.54。壳长的特殊配合力为三亚—徐闻17.75,三亚—北海18.27,徐闻—北海18.12;壳高为三亚—徐闻14.98,三亚—北海15.51,徐闻—北海15.46。壳长的平均杂种优势为三亚—徐闻1.41,三亚—北海0.96,徐闻—北海0.67;壳高为三亚—徐闻1.13,三亚—北海1.60,徐闻—北海1.19。表明北海的亲本较好。

关键词:合浦珠母贝;遗传育种;双列杂交;家系

中图分类号:Q 31; S 917

文献标识码:A

合浦珠母贝(*Pinctada fucata*,又称马氏珠母贝*P. martensi*)是我国一种重要的育珠贝,闻名遐迩的“南珠”就是该贝所产^[1-2]。我国有着悠久的珍珠养殖历史,但是近年来养殖过程中出现了一系列问题,如:海区污染加剧、病虫害增多、珍珠贝养殖成活率降低、育珠贝小型化、育珠质量下降,市场价格急剧下滑等^[3-4],致使国产珍珠逐渐被排挤出国际市场。因此,选育出育珠性状优良的合浦珠母贝品系对我国珍珠产业的恢复意义重大。

遗传育种是水产养殖近年来的热点,在鱼^[5-7]、虾^[8-10]、贝^[11-14]、藻^[15-16]等类群都开展了育种及相关研究。育种技术中,家系选育是育种的重要手段,家系培育是家系综合选择的关键。从原始群体中建立多个家系,并且在相同的环境条件下饲养,根据家系的表现对家系进行评价,再制定进一步的育种方案,对所需要的目标加以选

择,经过多代选育能够获得改良品种^[17]。本实验选用广西北海、广东徐闻和海南三亚的亲贝,采用双列杂交方式构建基础家系群,为培育优良合浦珠母贝育珠新品种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 亲贝来源与双列杂交试验设计

亲贝于2007年11月初采自海南三亚(S)、广东徐闻(X)和广西北海(B),在海南省陵水县新村港海区暂养促熟后用于家系构建。11月24-26日采用3×3完全双列杂交方式设计构建选育家系基础群体共9个组,每组10个家系,共90个家系(表1),即三亚、徐闻和北海养殖群体各选30个雌性个体和30个雄性个体共180个个体(90♀,90♂),每个家系由1雌1雄配对繁殖产生。

收稿日期:2009-06-14 修回日期:2009-07-13

资助项目:国家科技支撑计划(2006BAD01A13);国家“八六三”高技术研究发展计划(2006AA10A409);广东省科技计划(2006B20201063)

通讯作者:喻达辉,E-mail:pearlydh@163.com

表 1 合浦珠母贝双列杂交试验设计

Tab.1 Design of diallel cross for *Pinctada fucata*

亲本来源 parental origin	三亚(♀) Sanya(S)	徐闻(♀) Xuwen(X)	北海(♀) Beihai(B)
三亚(♂) Sanya(S)	SS1-10	SX1-10	SB1-10
徐闻(♂) Xuwen(X)	XS1-10	XX1-10	XB1-10
北海(♂) Beihai(B)	BS1-10	BX1-10	BB1-10

1.2 选育家系的构建及培育

采用解剖法分别将精子和卵子吸取在烧杯内,用过滤海水稀释至浓度为 1.0×10^6 ind/mL(精子)和 1×10^5 ind/mL(卵子)。先将卵子加入盛有 2 000 mL 过滤海水的受精桶内,在桶内经 0.06% 的氨水刺激,10 min 后加入精子,搅拌,在氨水的刺激下完成受精。30 min 后将受精桶加水至 5 000 mL,搅拌,再经过 30 min 后转入室外 1 m^3 育苗池内培育,其中 SB 组的 10 家系在室内 0.5 m^3 育苗桶内培育。育苗期饵料以激活的酵母片、金藻(湛江等鞭金藻)、扁藻(亚心形扁藻)为主,每天换水一次,换水量为育苗水体的 $1/3 \sim 1/2$ 。

1.3 养殖方式、笼具及密度

稚贝出池后移至池塘吊养。由于部分家系苗量较少,养殖过程中设置了低密度(500 只/笼)做所有家系标准化养殖筛选,采用传统单圈笼吊养方式。剩余稚贝按密度 5 000 个/笼吊养,采用 $10 \text{ cm} \times 40 \text{ cm} \times 50 \text{ cm}$ 长方形笼具垂直吊养。

养殖过程中,首先用高网目的贝苗笼,随着贝苗的生长逐渐换用低网目的贝笼。养殖密度视贝苗生长情况,逐步分笼调整,1 cm 左右时每笼为 500 ~ 1 000 个;2 cm 以上的每笼 100 ~ 300 个。

1.4 幼苗和幼贝生长测量

在育苗阶段定期取样监测幼体的生长发育情况:自幼苗进入 D 形幼虫期开始每 3 天取样 1 次,至附着期为止,观测贝苗生长情况,第 1 次取样时每组随机抽取 1 个家系进行取样,以后则每次都抽取这些家系的幼体进行跟踪观察。每个样品在显微镜下随机测量 30 只幼苗的壳长和壳高。幼苗出池时统计出苗数量。池塘养殖 60 d 后,从低密度组中每家系随机取 30 个个体,测量壳长和

壳高用于遗传分析。

1.5 数据处理

计算所有家系的 Kung 育种值、综合评定值(P_i)、一般配合力、特殊配合力和杂种优势,对家系进行评价。

Kung 育种值的计算公式^[18]:

$$Z = \bar{y} + C(y - \bar{y})$$

式中, \bar{y} 为所有实验家系的总体观测均值; y 为各家系的观测均值, C 为校正值,其值为 $C = 1 - 1/F$, F 为方差分析的 F 值。

综合评定值(P_i)的计算公式:

$$P_i = \sqrt{\sum_j k_0 \left(\frac{a_{ij}}{a_{0j}} - 1 \right)^2}$$

式中, P_i 为家系的综合评定值,以 P_i 值大为优, k_0 为权重系数(0.33), a_{ij} 为第 i 个家系第 j 个指标的数据, a_{0j} 为第 j 个指标最差家系的数值。

一般配合力、特殊配合力和杂种优势的计算按毛友纯等^[19]方法。幼苗生长等比较用 Excel 和 SPSS 13.0 进行数据分析。

2 结果

2.1 幼苗生长比较

幼苗生长至 36 d(1 月 1 日),幼苗开始出现眼点,幼苗壳长大小在 $180.77 \sim 214.63 \mu\text{m}$,壳宽在 $166.93 \sim 199.60 \mu\text{m}$,实验组 XB 和 XS 在壳长和壳高方面均显著大于其他组,SB 与 SS 次之。

贝苗在育苗池内培育至 2008 年 2 月 18 日出池,共成功培育 90 个双列杂交家系,其中三亚 × 北海(SB)组的苗量明显少于其他组,出苗最少为家系 SB6,仅 136 只。最多为家系 XS10,产苗 272 035 只。出苗时,稚贝大小在 $(1\ 038.75 \mu\text{m} \times 862.5 \mu\text{m}) \sim (3\ 062.5 \mu\text{m} \times 2\ 577.5 \mu\text{m})$,大多数在 $1\ 000 \sim 2\ 000 \mu\text{m}$ 。

2.2 幼贝生长比较及家系评价

78 个家系的幼贝池塘培育 60 d 后,壳长、壳宽测量及统计分析见表 2(有部分家系在养殖过程中标牌脱落,暂不计入统计)。结果显示,壳长的 Kung 育种值大于 20 的家系有 8 个,分别为 BX2、BX9、BB4、BB5、BB8、BS9、XS3、SB8,其中 XS3 的壳长及壳宽的 Kung 育种值和综合评定值最大,XX3 最小,其中 BB4 和 XS3 的综合评定值大于 1。

表2 合浦珠母贝各家系壳长、壳高的 Kung 育种值与综合评定值
 Tab. 2 Kung breeding value and overall comprehensive value of *Pinctada fucata* families

家系 family	Kung 育种值 Kung breeding value		综合评定值 P_i overall comprehensive value	家系 family	Kung 育种值 Kung breeding value		综合评定值 P_i overall comprehensive value
	壳长 (mm) shell length	壳高 (mm) shell height			壳长 (mm) shell length	壳高 (mm) shell height	
XX2	16.62	14.94	0.48	BS5	17.62	14.40	0.50
XX3	10.95	9.83	0.00	BS6	14.11	11.63	0.22
XX4	15.69	12.91	0.35	BS7	17.97	15.96	0.58
XX5	17.97	15.75	0.57	BS9	20.38	17.87	0.77
XX6	18.12	15.54	0.57	BS10	17.23	14.85	0.50
XX8	18.82	15.75	0.61	SX1	20.95	17.62	0.78
XX9	14.62	11.96	0.26	SX2	14.51	12.27	0.26
XX10	19.80	17.16	0.71	SX3	17.96	15.34	0.55
BX1	18.58	16.00	0.61	SX5	15.93	13.34	0.37
BX2	21.96	18.43	0.86	SX6	18.74	15.55	0.60
BX3	19.58	16.82	0.69	SX7	17.91	15.29	0.55
BX4	19.67	16.97	0.70	SX8	19.69	17.17	0.71
BX5	14.00	12.35	0.25	SX9	13.25	11.82	0.19
BX6	17.31	15.15	0.51	SX10	16.31	14.49	0.44
BX7	18.41	16.01	0.60	SS1	16.24	13.56	0.40
BX8	19.65	16.46	0.67	SS2	18.54	16.47	0.63
BX9	21.46	18.92	0.86	SS3	15.57	14.06	0.39
BB1	17.90	14.98	0.53	SS4	17.39	14.45	0.49
BB2	17.45	14.54	0.49	SS5	15.58	13.54	0.37
BB3	16.25	13.84	0.41	SS6	13.87	11.84	0.22
BB4	23.63	20.64	1.03	SS7	16.43	13.49	0.40
BB5	20.59	18.47	0.81	SS8	17.97	15.86	0.58
BB6	15.78	13.57	0.38	SS9	15.34	13.55	0.36
BB7	18.25	15.71	0.58	SS10	15.96	12.98	0.36
BB8	20.52	18.07	0.78	XS1	14.11	12.03	0.24
BB9	15.21	12.72	0.32	XS2	16.73	14.18	0.45
BB10	18.14	15.69	0.57	XS3	25.09	21.68	1.14
XB2	19.39	16.60	0.67	XS4	17.42	14.84	0.51
XB4	17.81	14.98	0.53	XS5	17.40	15.27	0.52
XB5	18.18	18.24	0.70	XS6	19.49	16.70	0.68
XB6	17.54	14.84	0.51	XS7	16.64	14.78	0.47
XB7	18.40	15.60	0.58	XS8	18.13	15.13	0.55
XB8	17.39	13.67	0.46	XS9	19.19	15.63	0.62
XB9	14.86	12.45	0.29	XS10	18.19	15.33	0.56
XB10	14.22	12.07	0.24	SB3	17.47	14.98	0.51
BS1	16.13	13.70	0.40	SB4	16.22	14.34	0.43
BS2	21.67	17.75	0.82	SB8	20.74	18.03	0.79
BS3	17.98	15.14	0.54	SB9	17.22	15.10	0.51
BS4	18.92	17.10	0.67	SB10	20.64	17.15	0.75

2.3 家系遗传评价

各双列杂交组合壳长和壳高的平均表型值、一般配合力、特殊配合力及平均母性效应值统计分析结果见表3~表5。壳长和壳高的最大平均值分别为19.05 mm和16.25 mm(北海 δ × 徐闻 δ),其次为18.51 mm和15.79 mm(三亚 δ × 北

海 δ),最小为16.19 mm和13.72 mm(三亚 δ × 三亚 δ)(表3)。

北海群体壳长和壳高的一般配合力最大,徐闻和三亚一致(表4)。但在母性效应方面,徐闻群体最高,北海群体为负值。

表 3 合浦珠母贝各双列杂交组合壳长和壳高平均值

Tab. 3 Mean shell length and shell height for diallel groups of *Pinctada fucata*

亲本 parents	三亚 Sanya(♀)		徐闻 Xuwen(♀)		北海 Beihai(♀)		平均 mean	
	壳长 shell length	壳高 shell height	壳长 shell length	壳高 shell height	壳长 shell length	壳高 shell height	壳长 shell length	壳高 shell height
	三亚 Sanya(♂)	16.19	13.72	17.21	14.55	18.51	15.79	17.30
徐闻 Xuwen(♂)	18.28	15.40	16.49	13.98	17.19	14.60	17.32	14.66
北海 Beihai(♂)	18.02	15.22	19.05	16.25	18.42	15.69	18.50	15.72
平均 mean	17.50	14.78	17.58	14.93	18.04	15.36	17.71	15.02

表 4 合浦珠母贝双列杂交各群体的一般配合力和平均母性效应

Tab. 4 General combining ability and average maternal effect in diallel cross groups of *Pinctada fucata*

遗传参数 genetic parameter	性状 character	三亚 Sanya	徐闻 Xuwen	北海 Beihai
一般配合力 general combining ability	壳长 shell length	17.40	17.45	18.27
	壳高 shell height	14.74	14.79	15.54
平均母性效应 average maternal effect	壳长 shell length	0.29	0.40	-0.69
	壳高 shell height	0.14	0.40	-0.54

三亚—北海和徐闻—北海组合的特殊配合力最高(表 5),但杂种优势方面,三亚—徐闻的壳长

杂种优势最高(1.41),而三亚—北海壳高的杂种优势最高(1.60)。

表 5 合浦珠母贝双列杂交各组合的特殊配合力和平均杂种优势

Tab. 5 Specific combining ability and average heterosis in diallel crosses of *Pinctada fucata*

遗传参数 genetic parameter	性状 character	三亚—徐闻	三亚—北海	徐闻—北海
特殊配合力 specific combining ability	壳长 shell length	17.75	18.27	18.12
	壳高 shell height	14.98	15.51	15.46
平均杂种优势 average heterosis	壳长 shell length	1.41	0.96	0.67
	壳高 shell height	1.13	1.60	1.19

3 讨论

本实验中各家系幼苗开始出现眼点时壳长大小为 180.77 ~ 214.63 μm ,壳宽为 166.93 ~ 199.60 μm ,实验组 XB 和 XS 在壳长和壳高方面均显著大于其他组。实验中所有组合出现眼点的时间均在 36 d 以后,远远慢于资料记载的 20 d 达到变态期的发育速度^[7],且发育不整齐,变态及附着持续时间跨度大,有的甚至超过 15 d,这种现象可能是由于冬季育苗,水温较低而生长缓慢所致。此外,小水体育苗、各家系幼体密度不同等因素也都可能影响发育的进程和一致性。如 SB 组全部在 0.5 m^3 的桶中培育,温度变异更大,水体更小,出苗量也最少。

生物性状分为质量性状(qualitative characters)和数量性状(quantitative characters)2

类。动物的重要经济性状大部分属于数量性状,如生长速率、体长、体重、饲料转化率、产卵量等。性状的表现型是基因型和环境共同作用的结果,基因型值可进一步分解为加性效应值、显性效应值和互作或上位效应值^[20]。显性效应值 D 和上位效应值 I 属于基因的非加性效应值,不能确定遗传,而加性效应值即育种值,在世代传递中是可以得到稳定遗传的,是遗传育种的重要指标。同等条件下,育种值越大越优。本实验中得到的壳长的 Kung 育种值中,有 8 个家系大于 20,分别为 BX2、BX9、BB4、BB5、BB8、BS9、XS3、SB8,将成为以后选育的重要材料来源,其中 XS3 的壳长及壳宽的 Kung 育种值和综合评定值最大,其中 BB4 和 XS3 的综合评定值大于 1。随着养殖时间的延长,各家系的育种值、遗传力等有待进一步深入研究。

配合力的测定是利用杂种优势的必要前提,对亲本的选育和组合的设计有重要指导意义。在亲本选配中,一般配合力(GCA)是对加性效应的度量。由于加性效应易较稳定地遗传,所以GCA的大小在选配亲本中具有重要意义。在数值上,一般配合力代表该亲本杂交后代平均表现的优劣,一般配合力高的亲本才能产生均值高的子代。本研究结果表明,在稚贝生长期,北海亲本具有较高的一般配合力。特殊配合力(SCA)主要是基因的非加性效应作用的结果。这一效应一般只在杂交后才表现出来,较难在上下代之间稳定遗传,作物配合力的研究表明组合间杂种优势的大小与其特殊配合力效应有关,本研究的结果表明,三亚和徐闻与北海组合的特殊配合力较高,是一种优势组合。

不同性状的杂种优势也存在差异。遗传力低的性状,受基因的非加性效应影响作用较大,具有较高的杂种优势。本研究表明,三亚—徐闻组合的壳长平均杂种优势大于壳高的杂种优势,而三亚—北海和徐闻—北海2组的壳高平均杂种优势大于壳长。从表型平均值可看出,有北海亲本参与的杂交组合无论壳长或壳高生长都较快,但其作为父本的表现优于作为母本,北海亲本的平均母性效应值为负,徐闻的平均母性效应值最高。因此在利用杂交优势时,最好是选北海的雄性亲本与徐闻的雌性亲本杂交。

家系是培育优良品种(系)的重要育种材料,同时也是进行性状遗传分析和构建遗传连锁图谱等的重要实验材料^[21-24]。因此,一定数量家系的建立对于遗传育种起着重要作用。本研究共建立双列杂交家系90个并进行了遗传评估,初步了解了三亚、徐闻和北海3个地理群体的遗传作用,为进一步的选择育种和遗传分析奠定了良好的基础。

参考文献:

- [1] 王祯瑞. 中国近海珍珠贝科的研究[J]. 海洋科学集刊,1978,14:101-115.
- [2] 蒙钊美,李有宁,邢孔武,等. 珍珠养殖理论技术[M]. 北京:科学出版社,1996:34-35.
- [3] 谢玉坎. 合浦珠母贝幼苗的正常生长[J]. 广西科学,1996,6(2):152-153.
- [4] 谢玉坎. 关于贝种退化问题的探讨[J]. 广西科学,1998,5(4):250-254.
- [5] 张建森. 建鲤新品系的选育[J]. 水产学报,2007,31(3):287-292.
- [6] 王炳谦,刘宗岳,高会江,等. 应用重复力模型估计虹鳟生长性状的遗传力和育种值[J]. 水产学报,2009,33(2):182-187.
- [7] 颜晓勇,李思发,蔡完其. 吉富品系尼罗罗非鱼选育过程中遗传变异的微卫星分析[J]. 水产学报,2007,31(3):385-390.
- [8] 李健,刘萍,何玉英,等. 中国对虾快速生长新品种"黄海1号"的人工选育[J]. 水产学报,2005,29(1):1-5.
- [9] 李健,刘萍,王清印. 中国对虾遗传连锁图谱的构建[J]. 水产学报,2008,32(2):161-173.
- [10] 李朝霞,李健,王清印,等. 中国对虾"黄海1号"选育群体与野生群体的形态特征比较[J]. 中国水产科学,2006,13(3):384-388.
- [11] 闫喜武,张跃环,金晶宇,等. 大连群体两种壳型菲律宾蛤仔的双列杂交[J]. 水产学报,2009,33(3):389-395.
- [12] 闫喜武,张跃环,霍忠明,等. 不同壳色菲律宾蛤仔品系间双列杂交[J]. 水产学报,2008,32(6):864-875.
- [13] 董迎辉,林志华,柴雪良,等. 文蛤山东种群与江苏种群杂交及自繁子代的遗传差异分析[J]. 水产学报,2009,33(4):557-564.
- [14] 肖述,喻子牛. 养殖牡蛎的选择育种研究与实践[J]. 水产学报,2008,32(2):287-295.
- [15] 陈昌生,徐燕,纪德华,等. 坛紫菜品系间杂交亲本选育及经济性状的初步研究[J]. 水产学报,2007,31(1):97-104.
- [16] 陈昌生,徐燕,谢潮添. 坛紫菜诱变育种的初步研究[J]. 水产学报,2008,32(3):327-334.
- [17] 楼允东. 鱼类育种学[M]. 北京:农业出版社,1999.
- [18] 刘乃见. 植物数量遗传学[M]. 海南:热作学院出版社,1985.
- [19] 毛友纯,徐庆国,胡志明. 杂交早稻农艺性状的配合力研究[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版),2005,(2):115-119.
- [20] 刘来福,毛盛贤,黄远樟. 作物数量遗传[M]. 北京:农业出版社,1984.
- [21] Langdon C J, Jacobson D P, Evans F, et al. The molluscan bloodstock program-improving Pacific oyster bloodstock through genetic selection [J]. Journal of Shellfish Research, 2000, 9(1): 616.
- [22] 郑怀平,张国范,刘晓,等. 海湾扇贝杂交家系与自交家系生长和存活比较[J]. 水产学报,2004,28(3):265-272.

- [23] Yu Z N, Guo X M. Genetic linkage map of the Eastern oyster *Crassostrea virginica* Gmelin [J]. Biol Bull, 2003, 204: 327 -338.
- [24] Lannan J E. Estimating heritability and predicting response to selection for the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* [J]. Proc Natl Shellfish Assoc, 1972, 62: 62 -66.

Establishment and genetic analysis of complete diallel cross families of pearl oyster (*Pinctada fucata*)

GU Long-chun^{1,2}, LI Jin-bi^{1,3}, YU Da-hui^{1*}, HUANG Gui-ju¹, LIU Jian-ye^{1,2}

(1. Key Lab of Mariculture, Ecology and Quality Control, Ministry of Agriculture, South China Sea Fisheries

Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. Fisheries College, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: In order to build base populations for selective breeding, ninety families in nine groups were constructed using a full diallel cross design with parents of *Pinctada fucata* from three different places [Beihai (B), Xuwen (X) and Sanya (S)]. Comparisons of the breeding value and general evaluation among families were studied after 60 days culture in out-door pond. The results showed that the Kung breeding values of shell length were over 20 in eight families (BX2, BX9, BB4, BB5, BB8, BS9, XS3 and SB8). The family XS3 had the largest breeding values in shell length and shell width and comprehensive value, whereas XX3 had the smallest ones. The overall values of BB4 and XS3 were over one. General combining abilities (GCA) in shell length for Sanya, Xuwen and Beihai parents were 17.40, 17.45 and 18.27, respectively while GCAs in shell height were 14.74, 14.79 and 15.54, respectively. Specific combining abilities (SCA) in shell length were 17.75, 18.27 and 18.12 for Sanya(♂)-Xuwen(♀), Sanya-Beihai and Xuwen-Beihai matings, respectively while SCAs in shell height were 14.98, 15.51 and 15.46, respectively. Average heteroses in shell length were 1.41, 0.96 and 0.67 for Sanya-Xuwen, Sanya-Beihai and Xuwen-Beihai matings, respectively while average heteroses in shell height were 1.13, 1.60 and 1.19, respectively. This study suggested that the parents from Beihai are preferable.

Key words: *Pinctada fucata*; genetic breeding; diallel cross; family

Corresponding author: YU Da-hui. E-mail: pearlydh@163.com