

## 不同壳色杂色鲍 F<sub>1</sub> 家系的早期生长及遗传结构比较

范飞龙, 游伟伟, 战欣, 骆轩, 陈楠, 柯才焕\*

(厦门大学海洋与地球学院, 近海海洋环境国家重点实验室, 福建 厦门 361005)

**摘要:** 在“东优1号”杂色鲍养殖群体中, 实验发现了少量的黄壳色变异个体, 为得到具有优良经济性状的新品种, 实验通过自交和杂交的方法分别建立了正常壳色♀×正常壳色♂(BB)、黄壳色♀×黄壳色♂(YY)、黄壳色♀×正常壳色♂(YB)和正常壳色♀×黄壳色♂(BY)4组家系, 对各家系的卵黄径、受精率、孵化率、变态率、存活率和生长性状等生物学参数进行了比较, 分析了杂交家系的杂种优势, 并利用16个微卫星标记比较了4个家系的遗传差异。结果发现, 黄壳色家系的卵黄径显著大于正常壳色家系的卵黄径( $P < 0.05$ ), 各家系的受精率、变态率和存活率没有显著的差异( $P > 0.05$ ), 幼体壳长和壳宽在不同的发育时间里, 表现的杂种优势不稳定, 在90日龄时, 4个家系生长差异不显著。家系BB的遗传多样性最低, 遗传距离(0.1986~0.4573)和遗传相似性系数(0.6329~0.8972)分析表明, BB和YY家系间的遗传距离最大(0.4573), 遗传相似性系数最低(0.6329), 杂色鲍黄壳色的自交家系与正常壳色的自交家系产生了遗传分化。

**关键词:** 杂色鲍; 壳色; 生长; 遗传结构; 家系

**中图分类号:** Q346; S917.4

**文献标志码:** A

在自然环境里, 一个物种的不同群体或同一个群体、不同个体中呈现两种或两种以上可遗传的分立且不连续的颜色表型称为颜色多态性。颜色作为可稳定遗传的性状, 已在动植物的遗传育种中有大量的研究并得到广泛的应用, 研究颜色调控机理和颜色性状与其他经济性状的相关性十分必要。在贝类遗传育种方面, Newkirk<sup>[1]</sup>在研究贻贝壳色的可遗传性与生长的关系时发现, 由于壳色深浅影响对光和热的吸收, 导致不同壳色贻贝在高温季节生长速度不同, 确认贻贝的壳色是由简单的遗传基因决定的, 且杂交后代表现出一定的杂种优势。张国范等<sup>[2]</sup>以壳色为遗传标记, 成功选育出海湾扇贝(*Argopectens irradians*)“中科红”新品种。刘晓等<sup>[3]</sup>采用杂交育种的方式, 对皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)红壳色突变体进行定向选育和遗传改良, 育成了皱纹盘鲍“中国红”品系。张跃环等<sup>[4]</sup>研究了菲律宾蛤仔2个壳色品系群体间杂交, 使得各杂交组个体在生

长、存活表现出不同程度的杂种优势。程鹏等<sup>[5]</sup>对不同壳色虾夷扇贝(*Mizuhopecten yessoensis*)家系F<sub>1</sub>幼体生长及遗传结构进行比较分析, 发现虾夷扇贝群体内白贝个体和褐贝个体之间产生了遗传分化, 这种遗传结构的差异造成了不同壳色家系在幼体阶段生长性状上的不同。由此可见, 作为质量性状的壳色, 与数量性状密切相关。通过壳色品系的定向选育和杂交, 有望得到具有优良经济性状的新品种。

杂色鲍(*Haliotis diversicolor*)是我国南方重要的养殖鲍种, 近年来, 因养成阶段暴发性死亡症严重, 制约了杂色鲍养殖产业的发展。本实验室采用杂色鲍日本群体选育系和杂色鲍台湾群体选育系作为亲本, 利用群体间杂交的方法, 培育出具有高存活率特性的国家级水产新品种——“东优1号”杂色鲍, 较为有效的解决了这一问题。在“东优1号”杂色鲍的养殖群体中, 首次发现了一些金黄壳色的杂色鲍变异个体, 初步的实验已表

收稿日期:2011-11-22 修回日期:2012-06-03

资助项目:现代农业产业技术体系建设专项(nycytx-47);福建省自然科学基金项目(2011J05095);科技部农转资金项目(2010GB23600665)

通讯作者:柯才焕, E-mail:chke@xmu.edu.cn

明金黄壳色具有一定的可遗传性。研究杂色鲍壳色和生长存活的相关性,将为杂色鲍的遗传改良提供有益的参考。

本实验分别以黄壳色和正常壳色的杂色鲍为亲本,采用双列杂交的策略建立了壳色家系,并对不同壳色家系幼体的成活率、孵化率及生长性状进行比较,探讨幼体的生长和存活与壳色的关系;同时,利用微卫星标记技术对不同壳色杂色鲍家系的遗传多样性和遗传结构进行分析,期望为杂色鲍的壳色选育工作提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 亲贝来源

从“东优1号”杂色鲍的养殖群体中,分别挑选出正常壳色(B)和黄壳色(Y)的个体作为亲本,并进行亲鲍的促熟。

### 1.2 家系建立

从暂养亲鲍中挑选出性腺饱满的个体,采用紫外线照射海水刺激的催产方法获得配子<sup>[8]</sup>。用于杂交的配子限于排放后0.5 h以内的配子,精子和卵子的比例为10:1,受精水温为29℃,盐度为30。建立YY(Y♀×Y♂)、BB(B♀×B♂)、YB(Y♀×B♂)、BY(B♀×Y♂)4个组合家系,每个组合设置3个重复家系,共建立12个家系。

### 1.3 生长数据的获得

**卵径测定** 取新鲜的正常壳色杂色鲍和黄壳色杂色鲍卵子,在光学显微镜下用目微尺测量其卵膜径及卵黄径。每组的卵子各测30粒,求其算术平均值和标准误差。

**受精率的测定** 在进行受精之前,取一烧杯海水,杯内放置未受精卵,6 h后再次镜检,如果发现受精卵发生卵裂,则表明该批卵子已受到污染,则该批卵子参与的受精组合加淡水中止实验。取排放后0.5 h以内的配子进行授精,以卵子在受精后出现二分裂为受精指标,统计各组别的受精率。

**幼体附着率及变态率的测定** 实验在直径为3.5 cm的6孔组织培养板中进行,海水体积为10 mL,每个孔中放入30~40个担轮幼体,设6个平行组。每天在每个孔中加入浓度为10 mg/L的青霉素和链霉素,以避免因水体过小而引起的

水质败坏。

按照Roberts<sup>[9]</sup>对鲍的附着与变态指标的定义,附着指标为浮游面盘幼体开始停靠在基质的表面这一行为,变态则是指幼体浮游器官面盘的崩解脱落以及次生壳的长出。本实验分别在受精后24、48、72、96、120和144 h观察4个组别幼体的附着数量和附着率,在受精后第6天计算4个组别幼体的变态数量和变态率,参照Kang等<sup>[10]</sup>的方法,幼体附着率及变态率的计算公式:

$$\text{附着率}(\%) = \frac{\text{附着个体数}}{\text{实验总个体数}} \times 100$$

$$\text{变态率}(\%) = \frac{\text{变态个体数}}{\text{附着个体数}} \times 100$$

**孵化率的测定** 使孵化盆中的受精卵在水中分散均匀,用1 mL移液管从每个孵化盆中取样计数卵数,定量每个孵化盆中的卵数。担轮幼体孵化后,将上浮的幼体转移至另一个盆中,定量该盆的幼体总数,记为孵化幼体数。孵化率为孵化幼体数占卵数的百分比,每个组合分别设置6个重复。

$$\text{孵化率}(\%) = \frac{\text{担轮幼生数}}{\text{受精卵数}} \times 100$$

**幼体存活率的测定** 幼体培养在100 L的塑料桶中,密度为每毫升2~3个。每个实验组设置3个重复,每两天换一次水,换水量为100%。每两天投喂一次饵料,饵料为新鲜海带或江蓠。定期对幼体密度调整,使各实验组密度保持一致。分别测量受精后30、60、90和120 d的存活率。

**稚贝壳长壳宽的测定** 将稚贝置于Leica显微镜下使用Canon数码相机拍照,并以标准台微尺长度作为参照,将数码照片传入电脑中,在电脑屏幕上以直尺测量并转化为实际长度。实验实际测量时间为受精后的第5、10、15、20、25、30、60和90天,每个组合设置3个平行组,每个平行组每次抽样观察测量30~40只,每个组合在每次测量后统计其平均值X和标准差SD。

### 1.4 SSR分析

**稚贝固定** 家系稚鲍发育至2 cm左右时,无水乙醇固定,储存在-20℃,1周后换无水乙醇1次。

**DNA提取** 从固定材料中每种壳色组合家系各取出48个稚贝,无水乙醇自然挥干。每

个个体取 10 mg 足肌,剪碎,加 400  $\mu\text{L}$  DNA 提取 Buffer,50  $\mu\text{L}$  10% 的 SDS,10  $\mu\text{L}$  蛋白酶 K (20 mg/ $\mu\text{L}$ ),混匀,55  $^{\circ}\text{C}$  消化 2 h 至透亮。然后加 400  $\mu\text{L}$  6 mol/L 的饱和 NaCl,12 000 r/min 离心 30 min,取上清液,放在 2 mL 离心管中,加等体积异丙醇,混匀后置 -20  $^{\circ}\text{C}$  1 h,取出后,12 000 r/min 低温 4  $^{\circ}\text{C}$  离心 15 min,弃上清,70% 的乙醇洗涤沉淀两次,干燥,加纯水至 200  $\mu\text{L}$ ,4  $^{\circ}\text{C}$  保存。

**PCR 扩增反应** SSR 引物选自 Zhan 等<sup>[11-12]</sup>的方法,所选引物由上海生物工程技术服务有限公司合成,各引物序列和退火温度见表 1。采用 10  $\mu\text{L}$  反应体系;50 ng 足肌 DNA,正反引物各 0.4  $\mu\text{mol/L}$ ,10  $\times$  Buffer 1  $\mu\text{L}$ ,0.1  $\mu\text{L}$  的 Taq DNA 聚合酶 (TaKaRa) 0.4 mmol/L 的 dNTP;优化后的反应程序:94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min,94  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s,退火 30 s,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 30 s,共 30 个循环,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 5 min,最后 4  $^{\circ}\text{C}$  保存。

表 1 正常壳色和黄壳色卵子的卵径比较  
Tab.1 Mean sizes of egg diameter for different shell color lines of *H. diversicolor*  $\mu\text{m}$

项目 item	正常壳色 (BB) normal shell	黄壳色 (YY) yellow shell
卵黄径 yolk diameter	152.71 $\pm$ 8.85 <sup>a</sup>	165.42 $\pm$ 5.61 <sup>b</sup>
卵膜径 egg diameter	213.79 $\pm$ 22.63 <sup>a</sup>	192.81 $\pm$ 5.73 <sup>b</sup>

注:不同字母表示同一行数值经 ANOVA 检验为显著差异 ( $P < 0.05$ ),相同字母表示数值间无显著差异 ( $P > 0.05$ )。下表同。  
Notes: Means in each column with different superscript differ significantly ( $P < 0.05$ ). The same as the following.

**电泳检测和数据分析** PCR 扩增产物使用 ABI 3 730 测序仪检测等位基因大小。用 POPGENE32 计算每个位点的 Shannon's 多态信息指数 (PIC)、等位基因数 ( $N_a$ )、有效等位基因数 ( $A_e$ )、观测杂合度 ( $H_o$ ) 和期望杂合度 ( $H_e$ ) 以及家系之间的遗传相似性系数 ( $I$ ) 和遗传距离 ( $D$ );根据家系间遗传距离,用 MEGA 3.1 软件对其进行 NJ 系统树构建。

### 1.5 数据处理与统计

不同实验组间数据的比较采用单因素方差

分析方法进行,方差分析用 SPSS 16.0 统计分析软件,为了增加方差的齐次性,将不同生长期的壳长进行自然对数转换<sup>[13]</sup>。 $P < 0.05$  为差异显著性。

计算每个杂交组合子代的中亲杂种优势率 (mid-parent heterosis)  $H_{MP}$  和超亲优势率 (heterobeltiosis)  $H_{BP}$ <sup>[14]</sup>,公式如下:

$$H_{MP}(\%) = \frac{F - P}{P} \times 100$$

$$H_{BP}(\%) = \frac{F - P_0}{P_0} \times 100$$

式中, $F$  表示正交或反交  $F_1$  的表型值, $P$  表示双亲群体自繁子代的表型平均值, $P_0$  表示双亲中较优良的一个亲本自繁子代的表型值。

## 2 结果

### 2.1 正常壳色和黄壳色杂色鲍的卵径比较

正常壳色与黄壳色杂色鲍的卵黄径有明显差异 ( $P < 0.05$ ),黄壳色的卵黄径要大于正常壳色,而黄壳色卵膜径小于正常壳色的卵膜径,而且差异显著 ( $P < 0.05$ ) (表 2)。

表 2 不同壳色杂色鲍家系的受精率、孵化率和变态率

Tab.2 Fertilized rate, hatching rate and metamorphosis rate for different shell color lines of *H. diversicolor* %

家系 line	受精率 fertilized rate	孵化率 hatching rate	变态率 metamorphosis rate
BB	93.43 $\pm$ 2.55 <sup>a</sup>	83.84 $\pm$ 6.84 <sup>a</sup>	77.29 $\pm$ 7.59 <sup>a</sup>
YY	91.97 $\pm$ 3.08 <sup>a</sup>	89.85 $\pm$ 3.65 <sup>a</sup>	71.19 $\pm$ 6.07 <sup>a</sup>
YB	91.04 $\pm$ 3.41 <sup>a</sup>	93.08 $\pm$ 4.74 <sup>b</sup>	70.52 $\pm$ 4.08 <sup>a</sup>
BY	90.80 $\pm$ 2.76 <sup>a</sup>	89.64 $\pm$ 4.74 <sup>a</sup>	71.49 $\pm$ 3.29 <sup>a</sup>

### 2.2 4 个组合的受精率、孵化率、变态率比较

4 种组合的受精率都稳定在 90% 以上,正常壳色自交组的受精率比其他 3 个组合的受精率高,但是差异不显著 (表 3)。YB 组合的孵化率为 93.08%,显著高于其他各组 ( $P < 0.05$ )。YY 组合的孵化率较 BB 和 BY 组合的孵化率高。4 个组合的变态率都保持在 70% 以上,没有显著差异。

表 3 微卫星位点、引物序列、核心序列和退火温度  
Tab. 3 Core sequences, primer sequences and annealing temperature of microsatellite DNA markers

位点 locus name	引物序列(5'-3') primer sequence	核心序列 repeat motif sequence	长度/bp expected size	退火温度/℃ annealing temperature	登录号 GenBank accession no.
Hdi3-33	F:CGCCAGGCAGGTTAAGAAT R:ATGTGAGAAAACGAAACCCG	(AC) <sub>7</sub> (AG) <sub>7</sub> ...(AG) <sub>21</sub>	235	56	HQ650472
Hdi3-81	F:GGGAGTAAGACCCATTCAGGA R:GGTGAACACCCACATTCACA	(GT) <sub>30</sub>	238	58	HQ650506
Hdi3-88	F:CAATCTGGTGTCTGGCATCT R:GCTAGTACCACTGCTGCTTCC	(AGT) <sub>21</sub>	274	60	HQ650509
Hdi3-101	F:CGACTGTTGCCTTTTGTG R:GCAACCACTCACACACATCC	(TG) <sub>9</sub> ttt(GA) <sub>17</sub>	192	58	HQ650465
Hdi3-119	F:ACTTGTGAAATCCCCAGACC R:GCTGTGCAAAACCAATCTCA	(GA) <sub>24</sub> a(AG) <sub>32</sub> ...(AG) <sub>7</sub>	236	58	HQ650483
Hdi182	F:ACAGGCAGATATGGACGCTAA R:caGCCTCTCCATCCAACATAG	(TG) <sub>23</sub>	159	57	HQ650307
Hdi59	F:TTAAGATTCACATCGACACATCG R:GTGATGGTCTGCCATAACACAA	(CA) <sub>29</sub>	214	60	HQ650238
Hdi67	F:TCACGCATACATACCGAAGG R:GACTGAGGAAGTGAGTGCCTG	(CA) <sub>24</sub> ...(GCAC) <sub>7</sub>	196	60	HQ650319
Hdi100	F:CATCACTCACAGCGAACAGTG R:TGTATTGACACAACCTTGATGCCT	(CT) <sub>6</sub> t(TC) <sub>8</sub> (TG) <sub>25</sub>	145	57	FJ167863
Hdi133	F:CGACTCCACCTTCTATTCTCT R:CAACGGAGATGGTGGTCCG	(CTA) <sub>8</sub> (CTG) <sub>7</sub>	214	59	HQ650341
Hdi3-158	F:TATTTGAGCATCGGTTGTCG R:GCTCGTAATGGCCTTCTCAG	(AC) <sub>10</sub> (AG) <sub>32</sub>	280	58	HQ650495
Hdi174	F:CAACACCTGTTCTGTAACACTCAA R:CCATCTGTGTCGGACATTCTT	(GA) <sub>56</sub>	208	57	HQ650273
Hdi294	F:GTCCGAGCTCGACGTGTT R:AAGCAGTAGGTGAGTGACACAA	(ACT) <sub>8</sub> (GCT) <sub>6</sub> acta(CTG) <sub>8</sub> ctat(TAC) <sub>13</sub>	217	59	HQ650411
Hdi299	F:GCTCGTCACGATGCAGAAT R:GAGTGGCTATGGTCTGGCTTC	(C) <sub>19</sub> , (GTG) <sub>7</sub> ...(GTG) <sub>6</sub> ... (GTG) <sub>5</sub> ...(TGG) <sub>5</sub> ...(GTG) <sub>7</sub>	115	59	HQ650432
Hdi405	F:CGTGCATGATGTATGACGTGT R:GTTGCATCTATGTGCTGTGGA	(CA) <sub>6</sub> cggt(CA) <sub>8</sub> ...(CA) <sub>8</sub>	213	60	HQ650405
Hdi421	F:GGAAGTGTGAAGTGTGTGATTC R:GTGGTAGCAGTGTGTGTGTC	(CT) <sub>58</sub>	203	62	HQ650348

### 2.3 幼体附着率的比较

从图 1 中可以看出,在受精 24 h 之后, BB 和 BY 家系的附着率最高(49.97% 和 49.70%),显著高于另外两个家系;48 和 72 h,也是 BB 和 BY 家系的附着率高于另外两个家系,但是 72 h,4 个组合的受精率差异不显著;在随后的发育中,3 个不同时期(96、120、144 h)的附着率都是 BB 家系最高,而且与其他三组相比,差异显著,YY、YB 和 BY 3 个家系的附着率没有显著差异。

### 2.4 不同家系早期发育存活率的比较

从表 4 中可以看出,在 120 d 的早期培育里,随着个体的生长,杂交组合与自繁组合的存活率

整体上都呈下降趋势,但杂交组合与自繁组合的存活率差异不显著( $P > 0.05$ )。

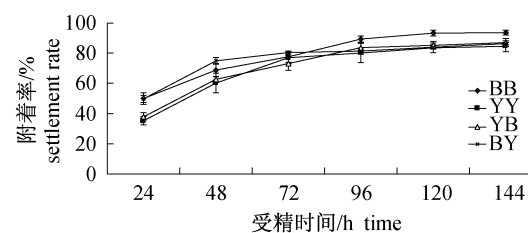


图 1 不同壳色杂色鲍家系幼体的附着率  
Fig. 1 Settlement rate of larvae for all the different shell color lines of *H. diversicolor*

表 4 不同壳色杂色鲍家系在 4 个时期的存活率

家系 line	鲍龄 age			
	30 d	60 d	90 d	120 d
BB	94.80 ± 4.38 <sup>a</sup>	92.33 ± 3.24 <sup>a</sup>	89.25 ± 4.78 <sup>a</sup>	86.12 ± 2.11 <sup>a</sup>
YY	95.25 ± 2.27 <sup>a</sup>	93.08 ± 3.96 <sup>a</sup>	88.13 ± 2.64 <sup>a</sup>	86.71 ± 3.31 <sup>a</sup>
YB	95.66 ± 1.33 <sup>a</sup>	93.50 ± 4.42 <sup>a</sup>	90.25 ± 2.73 <sup>a</sup>	87.50 ± 2.13 <sup>a</sup>
BY	95.25 ± 3.10 <sup>a</sup>	92.16 ± 2.39 <sup>a</sup>	88.33 ± 3.54 <sup>a</sup>	86.24 ± 5.99 <sup>a</sup>

## 2.5 $F_1$ 代早期稚贝生长比较

由表 5 可知,不同壳色杂交组合的稚鲍在 5、10 和 15 d 的时候,壳长和壳宽生长没有显著差异。在 20 和 25 d 日龄时,YY 组合的壳长显著小

于其他 3 个组合 ( $P < 0.05$ )。在 30、60 和 90 d 日龄时,BY 家系的壳长要大于其他 3 个组合,但是差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

表 5 8 个时期黄壳色和正常壳色杂交后代壳长和壳宽的生长

家系 line		鲍龄 age			
		5 d	10 d	15 d	20 d
长 length	BB	2.399 6 ± 0.07 <sup>a</sup>	2.750 6 ± 0.09 <sup>a</sup>	2.897 6 ± 0.08 <sup>a</sup>	3.109 8 ± 0.05 <sup>a</sup>
	YY	2.422 2 ± 0.09 <sup>a</sup>	2.740 6 ± 0.06 <sup>a</sup>	2.960 5 ± 0.07 <sup>b</sup>	3.077 1 ± 0.08 <sup>b</sup>
	YB	2.401 6 ± 0.06 <sup>a</sup>	2.715 1 ± 0.11 <sup>a</sup>	2.917 1 ± 0.07 <sup>b</sup>	3.122 9 ± 0.05 <sup>a</sup>
	BY	2.380 7 ± 0.08 <sup>a</sup>	2.718 0 ± 0.05 <sup>a</sup>	2.890 5 ± 0.06 <sup>a</sup>	3.122 3 ± 0.09 <sup>a</sup>
宽 width	BB	2.244 2 ± 0.06 <sup>a</sup>	2.668 6 ± 0.09 <sup>a</sup>	2.826 5 ± 0.05 <sup>a</sup>	2.990 9 ± 0.05 <sup>a</sup>
	YY	2.338 4 ± 0.1 <sup>b</sup>	2.636 4 ± 0.06 <sup>a</sup>	2.856 2 ± 0.08 <sup>a</sup>	2.963 8 ± 0.04 <sup>a</sup>
	YB	2.269 3 ± 0.08 <sup>a</sup>	2.630 2 ± 0.07 <sup>a</sup>	2.840 8 ± 0.11 <sup>a</sup>	3.013 3 ± 0.08 <sup>b</sup>
	BY	2.269 6 ± 0.07 <sup>a</sup>	2.627 0 ± 0.04 <sup>a</sup>	2.806 8 ± 0.06 <sup>a</sup>	3.023 4 ± 0.09 <sup>b</sup>
长 length		25 d	30 d	60 d	90 d
	BB	3.143 4 ± 0.08 <sup>a</sup>	3.182 4 ± 0.07 <sup>a</sup>	3.465 9 ± 0.08 <sup>a</sup>	3.532 0 ± 0.07 <sup>a</sup>
	YY	3.098 1 ± 0.10 <sup>b</sup>	3.169 3 ± 0.06 <sup>b</sup>	3.456 9 ± 0.06 <sup>a</sup>	3.497 0 ± 0.09 <sup>a</sup>
	YB	3.147 7 ± 0.07 <sup>a</sup>	3.179 1 ± 0.09 <sup>a</sup>	3.371 6 ± 0.06 <sup>b</sup>	3.497 5 ± 0.05 <sup>a</sup>
宽 width	BB	3.029 7 ± 0.10 <sup>a</sup>	3.087 7 ± 0.06 <sup>a</sup>	3.293 3 ± 0.09 <sup>a</sup>	3.361 1 ± 0.07 <sup>a</sup>
	YY	2.967 6 ± 0.07 <sup>b</sup>	3.016 9 ± 0.07 <sup>a</sup>	3.327 8 ± 0.08 <sup>b</sup>	3.367 4 ± 0.09 <sup>a</sup>
	YB	3.051 4 ± 0.08 <sup>a</sup>	3.206 0 ± 0.13 <sup>b</sup>	3.237 0 ± 0.08 <sup>a</sup>	3.361 2 ± 0.05 <sup>a</sup>
	BY	3.056 1 ± 0.05 <sup>a</sup>	3.115 0 ± 0.08 <sup>b</sup>	3.291 3 ± 0.13 <sup>a</sup>	3.406 6 ± 0.07 <sup>b</sup>

由表 6 可知,BY 和 YB 杂交组合家系的壳长和壳宽的中亲杂种优势率和超亲杂种优势率在 15 d 日龄之前,都是负值,表现为杂种劣势;在 15~30 d 之间,两个组合出现了杂种优势,其壳长和壳宽的中亲杂种优势率和超亲杂种优势率都为正值,表现为杂种优势。但这种杂种优势不稳定,在后期的发育过程中,杂种优势不明显。

## 2.6 不同家系的遗传多样性

由表 7 可知,在 4 个组合家系中,BB 家系的多态信息含量最低(0.547 5),YY 家系的多态信息含量最高(0.671 0),各家系的观测杂合度

( $H_o$ )均大于期望杂合度( $H_e$ )。

通过 POPGENE32 计算出各家系之间的 Nei 氏遗传距离( $D$ )和遗传相似性系数( $I$ ) (表 8),所有家系的遗传距离范围在(0.198 6~0.457 3)和遗传相似性系数范围在(0.632 9~0.897 2),而且 BB 和 YY 家系间的遗传距离最大(0.457 3),遗传相似性系数最低(0.632 9)。根据 Nei 氏计算的遗传距离,通过 MEGA 3.1 软件构建了家系间 NJ 分析树(图 2),可以清晰地看出各家系之间的关系。

表 6 不同壳色家系在 8 个生长时期的壳长和壳宽的杂种优势  
Tab.6 Heterosis of shell length and width growth of the cross lines  
between yellow shell and normal shell in eight different periods

鲍龄/d age	长 length				宽 width			
	YB		BY		YB		BY	
	$H_{MP}$	$H_{BP}$	$H_{MP}$	$H_{BP}$	$H_{MP}$	$H_{BP}$	$H_{MP}$	$H_{BP}$
5	-0.39	-0.85	-1.25	-1.71	-0.96	-2.96	-0.95	-2.94
10	-1.11	-1.29	-1	-1.85	-0.84	-1.44	-0.96	-1.56
15	-0.4	-1.47	-1.31	-2.36	-0.02	-0.54	-1.22	-1.73
20	0.9	0.45	0.9	0.43	1.21	0.75	1.55	1.09
25	0.8	0.15	1.5	0.8	1.76	0.72	1.92	0.87
30	0.1	-0.1	2.34	2.14	5.04	3.83	2.05	0.88
60	-2.5	-2.72	-0.3	-0.51	-2.22	-2.73	-0.58	-1.1
90	-0.4	-0.98	0.5	0.05	-0.09	-0.18	1.26	1.16

表 7 杂色鲍不同家系在 16 个微卫星标记的遗传多样性  
Tab.7 Genetic diversity of four *H. diversicolor*  
lines on sixteen SSR loci

遗传参数 genetic parameter	家系 line			
	BB	YY	YB	BY
$PIC$	0.547 5	0.671 0	0.589 7	0.629 4
$N_a$	3.312 5	3.875 0	3.375 0	3.687 5
$A_e$	2.756 1	3.445 5	3.102 8	3.212 4
$H_0$	0.874 6	0.938 2	0.929 8	0.835 1
$H_e$	0.628 8	0.732 6	0.662 3	0.696 7

表 8 杂色鲍 4 个家系间 Nei 氏遗传距离 ( $D$ ) 和遗传相似性系数 ( $I$ )

Tab.8 Nei's genetic identity ( $I$ ) and genetic distance ( $D$ )  
in four *H. diversicolor* lines

家系 line	BB	YY	YB	BY
BB		0.632 9	0.897 2	0.646 5
YY	0.457 3		0.644 3	0.827 5
YB	0.198 6	0.401 2		0.766 1
BY	0.400 4	0.213 8	0.323 9	

注: 对角线以上为相似性系数, 对角线以下为遗传距离。  
Notes: Genetic identity is above diagonal and genetic distance is below diagonal.

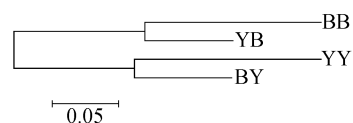


图 2 应用 NJ 法构建 4 个杂色鲍家系的系统树  
Fig.2 NJ dendrogram showing polylogenetic  
relationship among four *H. diversicolor* lines

### 3 讨论

#### 3.1 不同壳色家系幼体的生长存活比较

实验结果表明, 不同壳色杂色鲍的杂交使得

各杂交组个体在生长、存活表现出不同程度的杂种优势, 与张跃环等<sup>[16]</sup>对两个壳色蛤群体的杂交研究结果一致, 受精率和变态率没有显著的差异, 而杂交组合的孵化率明显高于其他两个组合, 就生长而言, 杂种优势的平均水平在不同阶段表现不同。Liu 等<sup>[17]</sup>对橘红色壳色和正常绿色壳色的皱纹盘鲍群体的生长进行了比较, 发现在幼苗期, 橘红色壳色对生长没有影响。对于杂色鲍而言, 在幼苗期, 黄壳色对生长的影响不显著, 但在成体养成阶段, 不同壳色的生长和存活是否有差异, 还需要进一步的研究。

#### 3.2 不同壳色家系遗传结构分析

本研究采用 16 对微卫星引物对不同壳色杂色鲍交配所产生的各家系  $F_1$  幼体进行了遗传结构分析, 结果显示, 家系 BB 的遗传多样性最低, 可能是由于正常壳色的杂色鲍在继代培养的过程中, 由于人工选育的亲本数量少引起的遗传漂变、近交衰退和瓶颈效应, 从而降低选系的遗传多样性。在贝类生产性育苗过程中, 由于节省成本常使用少量的亲本进行繁育, 这样极易引起子代养殖群体遗传结构变化<sup>[18]</sup>。Vespoor 等<sup>[19]</sup>和 Winans 等<sup>[20]</sup>认为, 当群体有效亲本数量小于 100 时, 会降低该群体的遗传多样性。

从遗传距离和遗传相似性指数来看, BB 和 YY 家系的遗传距离最大, 相似度最低; 而 BB 和 YB 家系的遗传距离最小, 相似度最高, 从系统发育树中可以看出, 以正常壳色为父本的两个家系聚类在一起, 以黄壳色为父本的两个家系聚类在一起。程鹏等<sup>[5]</sup>用 SSR 对不同壳色虾夷扇贝  $F_1$  的遗传结构进行分析, 同样认为不同壳色虾夷扇

贝的家系,以父本为相同壳色的家系聚类在一起。本实验的 4 个家系的遗传距离在 0.198 6 ~ 0.457 3。高祥刚等<sup>[21]</sup>用 SSR 对不同地理虾夷扇贝养殖群体进行了遗传多样性分析,其中大连地区的 5 个群体遗传距离在 0.068 8 ~ 0.208 1,日本青森县自然群体与大连的 5 个群体遗传距离在 0.042 2 ~ 0.177 5。

### 3.3 壳色可作为遗传标记应用于杂色鲍的育种工作

贝类壳色具有明显多态性,而且壳色表现出明显的规律性,贝类壳色可能由环境、遗传或两者共同决定<sup>[17]</sup>。张跃环等<sup>[16]</sup>研究了菲律宾蛤仔 2 个壳色品系群体间的杂交,结果表明,海洋红与斑马蛤仔 2 品系间存在遗传差异,这奠定了壳色间群体杂交的基础。在试验条件相同的情况下,可以排除环境对性状的影响,不同壳色品系间的差异主要来自于遗传差异。Brake 等<sup>[22]</sup>对太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 进行选择家系研究,发现壳的色素沉积与其外套膜缘的色素沉积有一定的遗传相关性,但平均个体体质量、成活率及生长率性状都与壳色素及外套膜缘色素没有相关性。

贝类壳色是可以遗传的,壳色及色素沉积模式往往是由简单的孟德尔遗传基础控制<sup>[23]</sup>,但是很多环境因素,如生长环境的盐度、温度和深度,以及摄食的被动色素吸收和防被捕食对壳色的选择都有影响。Winkler 等<sup>[24]</sup>研究了海湾扇贝 (*Argopecten purpuratus*) 壳色多态性的遗传规律,提出海湾扇贝的壳色多态性是由一个简单的孟德尔遗传机制控制,即一对单一的隐性等位基因控制。Kobayashi 等<sup>[25]</sup>对皱纹盘鲍种的浅蓝色和浅绿色壳色群体进行了研究,结果表明,两种壳色受一个隐性等位基因 *b* 和一个显性等位基因 *G* 控制,并可遗传。

本实验对不同壳色杂色鲍家系幼体的生长进行了比较,同时分析了不同壳色家系的遗传结构。结果表明黄壳色性状和早期稚贝的生长存活性状没有显著的相关性。但是,黄壳色是一个明显的表型性状,将黄壳色作为一个遗传标记引入到育种过程中,同时结合抗逆和抗病的选择育种,能够为杂色鲍生长和经济性状提供一个很好的方向。

### 参考文献:

- [1] Newkirk G F. Genetics of shell color in *Mytilus edulis* L and the association of growth rate with shell color [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1980, 47(1): 89 - 94.
- [2] 张国范,刘述锡,刘晓,等. 海湾扇贝自交家系的建立和自交效应 [J]. *中国水产科学*, 2003, 10(6): 441 - 445.
- [3] 刘晓,张国范,赵洪恩. 皱纹盘鲍“中国红”品系的选育 [J]. *动物学杂志*, 2003, 38(4): 7 - 8.
- [4] 张跃环,闫喜武,杨风,等. 菲律宾蛤仔大连群体两种壳型家系生长发育比较 [J]. *生态学报*, 2008, 28(9): 4246 - 4252.
- [5] 程鹏,杨爱国,周丽青,等. 不同壳色虾夷扇贝家系  $F_1$  幼体生长及遗传结构的比较分析 [J]. *中国水产科学*, 2010, 17(5): 960 - 968.
- [6] Reece K, Ribeiro W, Gaffney P, et al. Microsatellite marker development and analysis in the eastern oyster (*Crassostrea virginica*): confirmation of null alleles and non-Mendelian segregation ratios [J]. *Journal of Heredity*, 2004, 95(4): 346 - 352.
- [7] 游伟伟. 杂色鲍的数量性状遗传与育种研究 [D]. 厦门: 厦门大学, 2009.
- [8] 游伟伟,柯才焕,蔡明夷. 杂色鲍日本群体与台湾群体杂交的初步研究 [J]. *厦门大学学报*, 2005, 44(5): 25 - 28, 701 - 705.
- [9] Roberts R A. review of settlement cues for larval abalone (*Haliotis* spp.) [J]. *Journal of Shellfish Research*, 2001, 20(2): 571 - 586.
- [10] Kang K H, Kim B H, Kim J M. Induction of larval settlement and metamorphosis of the abalone, *Haliotis discus hannai* larvae using bromomethane and potassium chloride [J]. *Aquaculture*, 2004, 230(1-4): 249 - 259.
- [11] Zhan X, Hu H, Ke C, et al. Isolation and characterization of eleven microsatellite loci in small abalone, *Haliotis diversicolor* Reeve [J]. *Conservation Genetics*, 2009, 10(4): 1185 - 1187.
- [12] Zhan X, Fan F, You W, et al. Construction of an integrated map of *Haliotis diversicolor* using microsatellite markers [J]. *Marine Biotechnology*, 2012, 14: 79 - 86.
- [13] Cruz P, Ibarra A. M. Larval growth and survival of two catarina scallop (*Argopecten circularis*, 1835) populations and their reciprocal crosses [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1997, 212: 95 - 110.
- [14] Fonseca S, Patterson F L. Hybrid vigor in a seven

- parent diallel cross in common winter wheat (*Triticum aestivum* L) [J]. *Crop Sciences*, 1968, 8: 85 - 88.
- [15] 楼允东. 鱼类育种学 [M]. 北京: 农业出版社, 1998: 23.
- [16] 张跃环, 闫喜武, 姚托, 等. 菲律宾蛤仔 2 个壳色品系群体杂交的研究 [J]. *南方水产*, 2008, 4 (3): 27 - 32.
- [17] Liu X, Wu F C, Zhao H G. A novel shell color variant of the pacific abalone *Haliotis discus hannai* ino subject to genetic control and dietary influence [J]. *Journal of Shellfish Research*, 2009, 28 (2): 419 - 424.
- [18] 代悦, 喻子牛, 赵晓霞, 等. 马氏珠母贝 4 个壳色选育系  $F_1$  遗传结构的 AFLP 分析 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2010, 29 (2): 252 - 258.
- [19] Vespoor E. Reduced genetic variability in first generation hatchery populations of Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1988 (45): 1686 - 1690.
- [20] Winans G A. Genetic variability in Chinook salmon stocks from the Columbia river basin [J]. *North American Journal of Fisheries Management*, 1989 (1): 47 - 52.
- [21] 高祥刚, 曹洁, 刘莹, 等. SSR 不对称 PCR 法分析虾夷扇贝遗传多样性 [J]. *生物技术通报*, 2009 (2): 118 - 123.
- [22] Brake J, Evans F, Langdon C. Evidence for genetic control of pigmentation of shell and mantle edge in selected families of Pacific oyster, *Crassostrea gigas* [J]. *Aquaculture*, 2004, 229: 89 - 98.
- [23] 管云雁, 何毛贤. 海产经济贝类壳色多态性的研究进展 [J]. *海洋通报*, 2009, 28 (1): 108 - 114.
- [24] Winkler F M, Estevez B F, Jollan L B, *et al.* Inheritance of the general shell color scallop *Argopecten purpuratus* (Bivalvia: Pectinidae) [J]. *Journal of Heredity*, 2001, 92: 521 - 525.
- [25] Kobayashi T, Kawahara I, Hasekura O, *et al.* Genetic control of bluish shell color variation in the Pacific abalone, *Haliotis discus hannai* [J]. *Journal of Shellfish Research*, 2004, 23 (4): 1153 - 1156.

### Comparison of growth traits at early stages and genetic diversity of $F_1$ among different shell color lines of the small abalone (*Haliotis diversicolor*)

FAN Fei-long, YOU Wei-wei, ZHAN Xin, LUO Xuan, CHEN Nan, KE Cai-huan\*  
(College of Ocean and Earth Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

**Abstract:** A small amount of yellow shell color of small abalone were found in the stock of "Dongyou No. 1". In order to understand the relationship between shell color and growth traits, four different color lines of *Haliotis diversicolor* including BB (normal ♀ × normal ♂), YY (yellow ♀ × yellow ♂), YB (yellow ♀ × normal ♂) and BY (normal ♀ × yellow ♂) were established by inbreeding and crossbreeding. The biological parameters of egg diameter, fertilization rate, hatching rate, metamorphosis rate, survival rate and growth traits among different shell color lines were studied. Genetic diversity and genetic structure for the four lines were compared using 16 microsatellite markers. The results showed that yolk diameter of yellow shell color line was significantly larger than that of normal shell color line ( $P < 0.05$ ). Egg diameter, fertilization rate, hatching rate, metamorphosis rate and survival rate showed no significant differences ( $P > 0.05$ ) among BB, YY, YB and BY lines. At 90 days after fertilization, the growth of shell length and width among the four lines showed no significant differences ( $P > 0.05$ ). The results also showed that BB line had the lowest



genetic diversity. In addition, Nei's genetic identity (0.632 9 – 0.957 1) and genetic distance (0.043 9 – 0.457 3) indicated that genetic identity between BB and YY (0.632 9) was the lowest and genetic distance between them was the farthest (0.457 3). The results indicated genetic differentiation exists between normal and yellow color individuals. The present study provides basic data and theoretical basis for selective breeding of the small abalone using shell color as a candidate marker.

**Key words:** *Haliotis diversicolor*; shell color; growth; genetic diversity; family

**Corresponding author:** KE Cai-huan. E-mail: chke@xmu.edu.cn

---

### 会议简讯

2012年6月22–30日,第11届国际水产养殖遗传学研讨会(International Symposium on Genetics in Aquaculture, ISGS)在美国阿拉巴马州奥本大学(Auburn University)召开,来自30多个国家和地区的150多名学者参与了此次大会。会议由奥本大学 Rex Dunham 教授组织,主题之一是“将基因组学应用到水产养殖遗传改良”,并举行了与该议题有关的圆桌讨论会。大会主题报告人包括密苏里大学 Jerry Taylor 教授和奥本大学刘占江教授等,口头报告和墙报的内容涉及各类水产养殖动物的数量遗传学、分子遗传和生物技术、遗传改良和基因组学的环境风险评价等领域。会议期间还举办了生物信息学特别研讨班,与会代表参观了实验室、试验站以及阿拉巴马附近的斑点叉尾鲷和三倍体草鱼等鱼类养殖场。10位中国大陆学者参加了此次大会,分别来自中国海洋大学、上海海洋大学、海南大学、中国科学院水生生物研究所、中国水产科学研究院黄海水产研究所、北京市水产研究所等单位。

ISGS 是水产养殖领域影响力较大的国际研讨会,第4届大会(1991年)曾在中国武汉举办,第12届 ISGS 大会将于2015年在西班牙历史文化名城圣地亚哥-德孔波斯特拉市(Santiago de Compostela)举行。

(中国科学院水生生物研究所 童金苟)