

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2011.01286

大菱鲂子二代家系白化与正常幼鱼生长及形态学差异

关健^{1,2}, 郑永允², 刘洪军², 官曙光², 张全启¹, 雷霖霖³

1. 中国海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛 266002;
2. 山东省海水养殖研究所, 山东 青岛 266002;
3. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所 山东 青岛 266071

摘要: 白化现象是大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)生产中存在的主要问题之一。2009年, 采用大菱鲂育种标准化苗种培育方案培育大菱鲂子二代全同胞家系32个, 选取其中白化较为严重的16个全同胞家系(包括6对半同胞家系组合)作为样本家系, 抽样测定统计各家系85日龄(dph)幼鱼的形态指标, 比较了各全同胞家系白化和正常鱼的形态特征, 以及全同胞家系间生长的差异。大菱鲂幼鱼体色分为完全正常、局部白化和完全白化3个类型, 白化率统计时将部分白化幼鱼归于白化幼鱼一类。16个全同胞家系的白化率处于17.2%~86.7%范围内, 6对半同胞家系组合的白化率差别较大, 姊妹家系间白化率差值0~46%, 因此认为白化可能受到母系遗传或卵子质量的影响。多数家系的白化与正常幼鱼的全长、体长、总高、体高、全重差异不显著($P>0.05$)。16个全同胞家系样本中, 除2个家系外, 其余家系的白化与体色正常鱼的可比性状差异不显著($P>0.05$)。将各全同胞家系抽样的全部90尾鱼的全重平均值作为指标进行比较, 发现全重的生长差异在全同胞家系间表现较为明显。因此, 白化鱼与原色鱼的生长和身体形态整体上不存在显著差异。本研究还获得速生候选家系1个, 高体型候选家系3个。根据研究结果分析大菱鲂白化现象发生的原因, 认为虽然遗传不是大菱鲂白化与否的决定因素, 但却是一个重要因素。

关键词: 大菱鲂; 子二代家系; 白化; 生长; 形态学

中图分类号: Q954; S96

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2011)06-1286-07

白化现象是大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)苗种繁育、养殖中至今尚未彻底解决的难题之一。在流通市场上, 白化鱼被认为是劣质产品, 其经济价值远低于正常鱼。因此, 研究大菱鲂的白化现象, 具有经济价值和重要的学术意义^[1-2]。为揭开鲆鲽类白化的发生机理, 学者们从环境因子(如底质、光照、水温、培育密度)^[3]、营养条件^[4-9]、遗传学^[9-10]和生理学^[11-13]等不同的视角进行了研究, 多数学者认为营养和生理是导致白化的主因, 但至今尚无定论。在中国的大菱鲂养殖中, 部分养殖业者和技术人员认为白化鱼的生长速度要高于相同批次正常鱼, 为缩短养殖周期、降低养殖成本, 许多养殖户购买廉价的白化苗种用于养殖。

至于白化鱼是否具有生长优势、优势程度如何, 目前尚无任何数据支持的报道。本课题组在2009年的大菱鲂育种研究中, 采用育种标准化培育方法, 将各个全同胞家系的受精卵分别培育至幼鱼阶段, 至85dph(孵化后日龄数, days past hatching)时测定、统计其幼鱼的正常与不正长体色的形态学指标, 以期获得白化与体色正常个体的相关生长数据, 其结果将对大菱鲂养殖业的健康发展提供有价值的指导。

1 材料与方法

1.1 实验鱼

本实验于2009年5月在山东烟台龙口市烟台

收稿日期: 2010-12-30; 修订日期: 2011-03-14.

基金项目: 国家鲆鲽类产业技术体系建设项目(nycytx-50); 山东省农业良种工程项目“优质抗病速生鱼类良种选育-工厂化适养品种的选育”资助。

作者简介: 关健(1982-), 男, 博士研究生, 助理研究员, 主要从事海水经济鱼类繁育、育种及增养殖研究. E-mail: guanjian35@gmail.com

通信作者: 雷霖霖, 中国工程院院士. E-mail: leijilin@seacul.com

百佳水产有限公司进行。选用 100 尾子一代(F₁) 优质大菱鲆(体色全部正常, 无白化)作为亲鱼群体, 建立育种用子二代(F₂)全同胞家系 32 个。从各家系中选留幼鱼 500 尾。0~70 dph, 每个家系分别单独饲养于一个培育池中, 至 70 dph 经荧光标记后则合并于同一池中进行混养。

1.2 培育条件

0~70 dph: 培育池为直径 3m 的圆形水泥池, 日常水深 80 cm 左右, 实用水体 6 m³。水温维持在 20~22℃、盐度为 29(自然海水), pH 8.0, 日换水率 300%~400%。

70~85 dph: 使用荧光标记各家系幼鱼(组合: 颜色×标记位点)后转为同池混养。设 3 个重复, 每个重复收容各家系幼鱼 150 尾(即各重复收容总数为 4 800 尾幼鱼)。总培育池为一个方形八角水泥池(边长 5.0 m, 池深 0.6 m), 收容密度 200 尾/m²。使用深井海水(水温 14.5~15.0℃, 盐度 29, pH 8.0) 培育, 日换水率 300%。

培育光照 1 000~2 000 lx; 投喂“日清”配合饲料, 饵料粒径随幼鱼生长而调整。

1.3 白化率、生长、形态的测定

大菱鲆的白化现象多发生于 25~30 dph 变态开始前后, 50 dph 后基本稳定^[12]。为此选择在 85 dph 时进行幼鱼白化和生长的测量统计。在 3 个重复中各家系随机取样 30 尾(即每个家系抽样 90 尾), 统计各家系的白化幼鱼和体色正常鱼(以下简称“白化鱼”、“正常鱼”)数量, 计算平均值, 家系白化率=(完全白化鱼+局部白化鱼)/抽样总数×100%。

在各重复组中每个家系随机取样的 30 尾幼鱼, 使用游标卡尺(精确度达 0.1 mm)测量长度,

使用天平(上海民桥 JA2103, 精确度 0.01g)称其全重。测定全长、体长、总高、体高、总重及正常/白化情况; 计算 5 个重要的可比性状: 体高/体长、全长/体长、全重/体长、体高/总高及全重/体高。选取 16 个白化率较高的家系(家系命名依次为: A、B、C、D、F、G、H、I、K、L、M、O、P、R、U、Z)作为研究样本, 其中半同胞家系组合 6 对(父系半同胞家系组合: C-U、D-M、F-H、G-I, 母系全同胞家系组合: F-G、H-I), 各家系亲本组合见表 1。

1.4 统计与分析

试验结果以平均值±标准差(\bar{x} mean±SD) 表示; 全同胞家系白化、正常鱼的可量、可比性状的差异使用 SPSS11.5 的独立样方 *t* 检验进行数据统计, *P*<0.05 为差异显著, *P*<0.01 则认为是差异极显著。使用 Origin8.0 软件制图。

2 结果与分析

2.1 样本 F₂ 家系的白化率统计

家系大菱鲆幼鱼体色发育为完全正常、局部白化和完全白化 3 个类型。白化率为局部白化与完全白化幼鱼占幼鱼总数的百分比。各家系白化率见图 1, 其中 C 最低 (17.2%), Z 最高(86.7%); 白化率 15%~40%之间的有 6 个家系(B、C、F、G、H、I); 40%~65%之间的有 6 个家系(A、D、L、M、P、U); 65%以上的有 4 个家系(K、O、R、Z)。一些半同胞家系之间的白化率差异较大(图 2), 最大的为 C-U 组合家系(分别为 17.24%、63.33%, 相差 46%, 父系半同胞), G-I 组合也差异较大(分别为 25%、40.63%, 相差 15%以上, 父系半同胞),

表 1 大菱鲆样本家系的亲本组合
Tab. 1 Turbot parents of sample families

家系 families	A	B	C	D	F	G	H	I
父本 male P.	483F	3C67	3E87 ^①	271A ^②	3CE0 ^③	29BB ^④	3CE0 ^③	29BB ^④
母本 female P.	529E	2CA9	4A65	3366	53E4 ^⑤	53E4 ^⑤	4637 ^⑥	4637 ^⑥
家系 families	K	L	M	O	P	R	U	Z
父本 male P.	3920	4836	271A ^②	3F9F	2515	4493	3E87 ^①	530A
母本 female P.	2792	4D68	51AF	5140	3471	2BA1	2C92	4FC7

注: 相同上标(如①)表示此亲本相同, 互为半同胞家系。

Note: The same superscript means the 2 families are ♀/♂parent half-sib families.

而 H-I 组合家系(母系半同胞)几乎一致, 为 40.63%。畸形率方面, 正常鱼为 0.28%, 白化鱼则高达 0.83%, 白化鱼畸形率高于正常鱼。

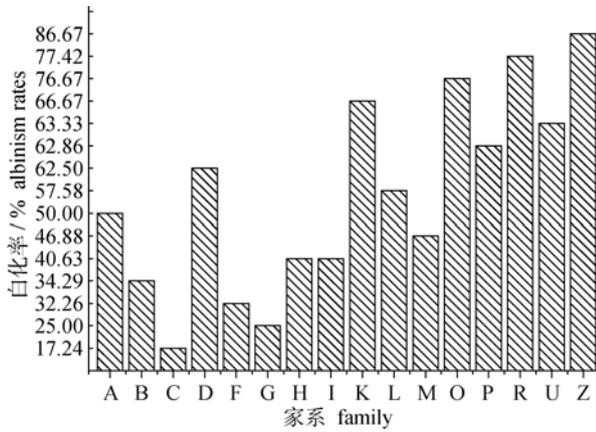


图 1 大菱鲂样本家系的幼鱼白化率

Fig. 1 Albinism rates of sample families juveniles of turbot

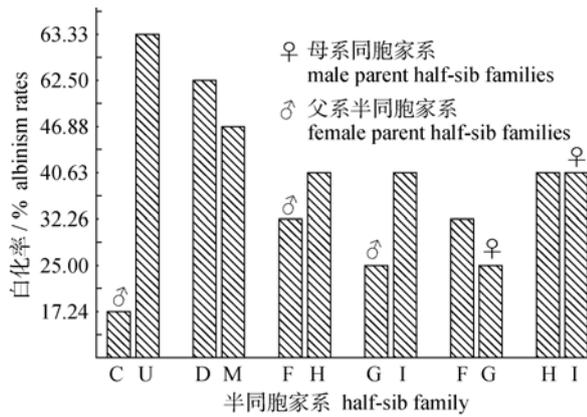


图 2 大菱鲂半同胞家系的幼鱼白化率比较

Fig. 2 Albinism rates of half-sib families juveniles of turbot

2.2 可量性状比较

同家系的大菱鲂白化鱼与正常鱼的全长、体长、总高、体高与全重的比较分别见图 3-图 7。绝大多数家系白化与正常鱼之间全长、体长、总高与体高无显著差异, 仅个别家系的白化与正常鱼存在显著差异, 如家系 C 的全长、体长、总高、体高差异均显著(正常鱼<白化鱼, $P<0.05$); 家系 H 的体长差异显著(正常鱼>白化鱼, $P<0.05$); 家系 R 的总高差异显著(正常鱼<白化鱼, $P<0.05$), 全长、体长、体高差异均极其显著(正常鱼<白化

鱼, $P<0.01$)。同家系白化与正常鱼之间的全重, 除家系 H(正常鱼>白化鱼)、R(正常鱼<白化鱼)差异

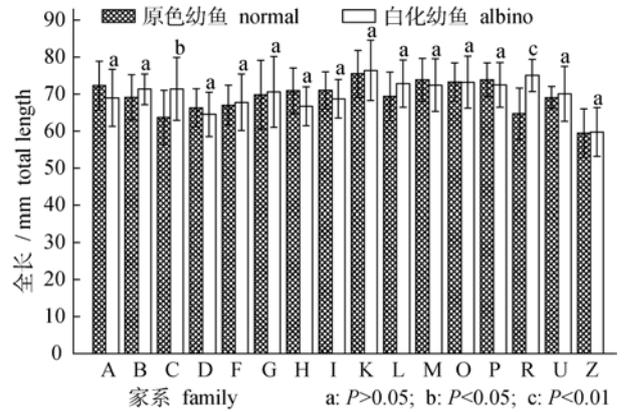


图 3 大菱鲂同家系正常鱼与白化鱼全长的比较

Fig. 3 Total length comparison between normal and albino juveniles of the same turbot families

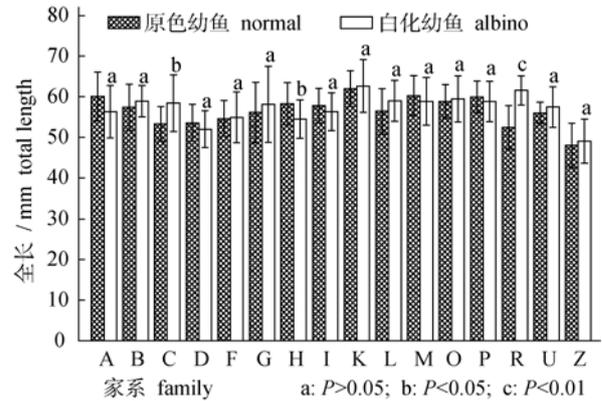


图 4 大菱鲂同家系正常鱼与白化鱼体长的比较

Fig. 4 Body length comparison between normal and albino juveniles of the same turbot families

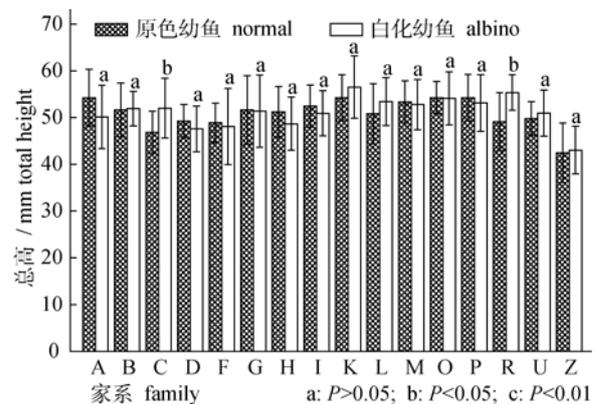


图 5 大菱鲂同家系正常鱼与白化鱼总高的比较

Fig. 5 Total height comparison between normal and albino juveniles of the same turbot families

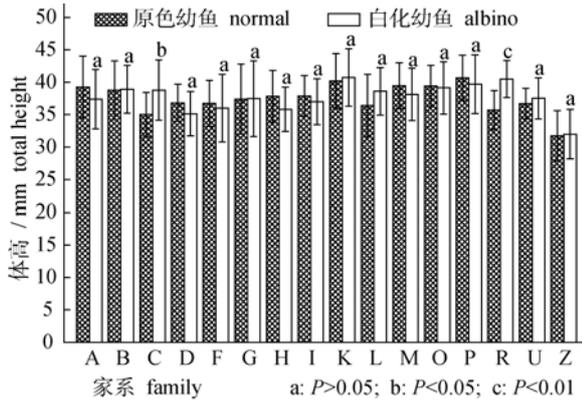


图 6 大菱鲆同家系正常幼鱼与白化鱼体高的比较

Fig. 6 Body height comparison between normal and albino juveniles of the same turbot families

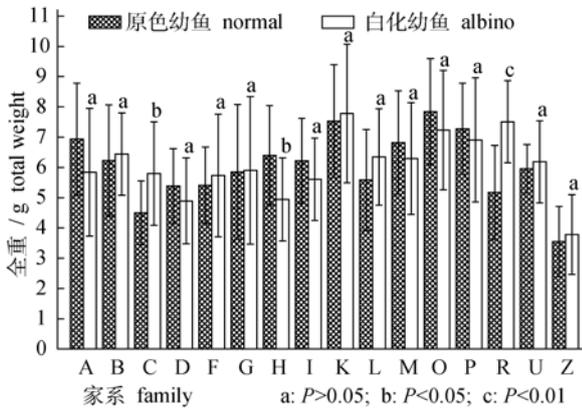


图 7 大菱鲆同家系正常鱼与白化鱼全重的比较

Fig. 7 Total weight comparison between normal and albino juveniles of the same turbot families

极其显著($P < 0.01$)外, 其余家系差异不显著; 总体上, 同家系的白化/正常鱼的生长差异不显著。但家系间幼鱼平均全重差别较大, 即全重的生长表现出较为明显的家系间差异。

2.3 可比性状比较

因各家系白化/正常鱼之间和家系之间的全长/体长、体高/总高的比值较为一致, 故本文只对 5 个可比性状中差异较为显著的体高/体长、全重/体长、全重/体高进行比较(图 8、9、10)。体高/体长比, 除家系 H(正常鱼<白化鱼, $P < 0.01$)与 R(正常鱼>白化鱼, $P < 0.05$)外, 其余家系差异不显著。全重/体长的情况与全重/体高类似, 除家系 H(正常鱼<白化鱼, $P < 0.01$)、R(正常鱼>白化鱼, $P < 0.01$)的正常鱼、白化鱼之间的差异特别显著以

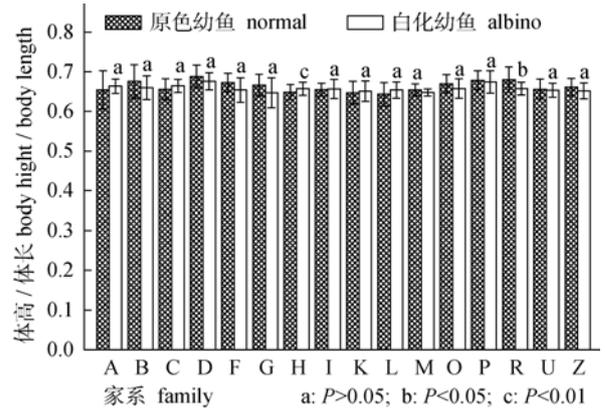


图 8 大菱鲆同家系正常鱼与白化鱼体高/体长比比较

Fig. 8 Body height/ Body length comparison between normal and albino juveniles of the same turbot families

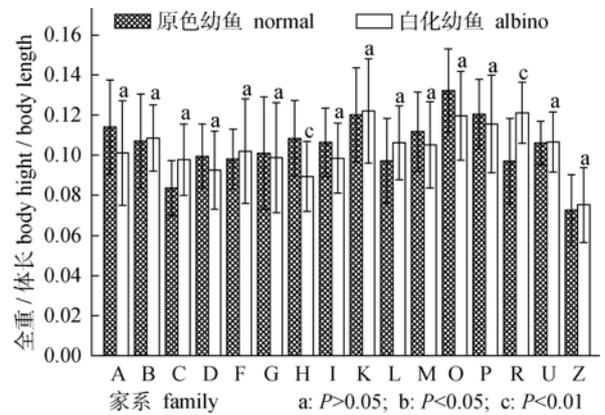


图 9 大菱鲆同家系正常鱼与白化鱼全重/体长比的比较

Fig. 9 Comparison of total weight/ body length between the same turbot families' normal and albino juveniles

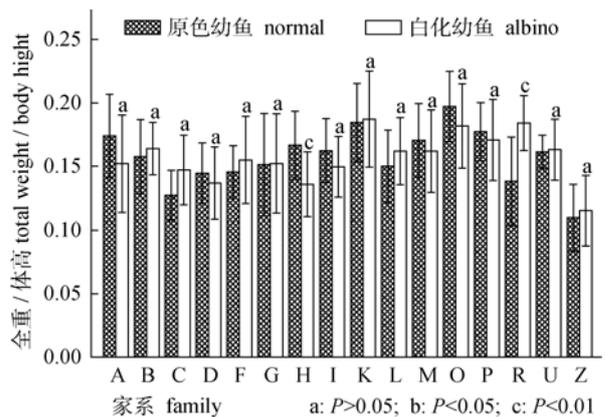


图 10 大菱鲆同家系正常鱼与白化鱼全重/体高比比较

Fig. 10 Comparison of total weight/ body height between the same turbot families' normal and albino juveniles

外, 其余家系则差异不显著; 但家系间的差别明显(图 9、10), 与全重(图 7)情况类似。

3 讨论

3.1 大菱鲂选育家系幼鱼白化现象的探讨

通常认为,白化是由于色素细胞的发育或色素的生成出现异常所致,任何一种遗传缺陷或生理生化的改变,只要能够干扰黑色素细胞发育和分化过程中的任一个环节,或者干扰黑色素生成过程中的任一环节,都会导致白化^[2]。本研究中,大菱鲂 F₂ 全同胞家系的幼鱼,出现体色完全正常、局部白化和全部白化 3 个类型,即遗传相同的幼鱼可发育为不同的表现型,说明白化现象不是单纯由遗传决定。因各家系受精卵是在完全相同条件下培育至 85 dph 的,故各家系受到的环境因子和营养因子的影响力可视为相同,而各家系间白化率差异较大,又表明遗传可能是大菱鲂白化重要的决定因素,但不是唯一因素。

有研究表明,哺乳动物、两栖类、鸟类和青鳞鱼的白化与酪氨酸酶基因的突变有关,是一种常染色体隐性遗传病。在比目鱼类方面,Kazuo^[14]使用同一尾牙鲆雌鱼的卵进行雌核发育,比较培育雌核发育子代与正常发育子代,认为牙鲆的白化与遗传有关;王家庆等应用 mRNA 差异显示技术,发现差异表达基因片段 DEN-1 与 DEN-2 表达均在白化大菱鲂的有眼侧皮肤组织中发生下调,两个基因片段表达量的多少与大菱鲂白化病的发生密切相关^[9]。一般认为,色素形成的遗传机制是非常复杂化和多样性的,许多基因都可介导色素细胞的形成^[11,15],而正常/白化表型与基因型却未必存在紧密的连锁关系,相关基因表达与否及表达水平在相当大的程度上可能受到环境因子与生理状态的调高或抑制。因而,大菱鲂白化可能是遗传、环境、营养共同作用的结果,遗传基因是基础,环境和营养是白化发生的条件和诱因。

本研究中的母系半同胞家系组合内白化率差值,总体上低于父系半同胞家系组合(见 2.1),这可能是由于母系遗传造成,也可能由相同雌鱼、同批次卵子质量的一致性导致。但由于实验所统计的半同胞家系组合较少(5 组),现有数据尚难判断母系遗传和卵质对大菱鲂个体白化发生是否会

产生影响及其程度如何,今后还应补充更多的半同胞家系,进行更深入的研究。

3.2 大菱鲂 F₂ 全同胞家系白化与正常鱼的生长、形态的对比

鲆鲽鱼类色素发育异常往往伴随着较高畸形率的出现,如逆向变态和异常转眼,脊椎骨、鳃盖骨、背鳍畸形等情况^[16]。有观点认为,部分鲆鲽鱼类的白化是由于转眼不彻底,导致视力发育异常,对光线的强弱产生错觉,从而产生错误的激素信号使有眼侧色素细胞不能正常发育所致^[17];Guo 等^[18]研究认为,大菱鲂白化鱼有眼侧的白化皮肤中能够表达出大量正常酪氨酸酶,但是由于缺乏黑色素细胞及其中的黑色素体所适宜的微环境的缺失,该酶的活性被某种未知因子抑制。虽然本研究也发现大菱鲂白化鱼的畸形率明显高于正常鱼,但就形态特征,大多数全同胞家系白化、正常鱼的体高/体长比差异并不显著,尚未发现体色白化者表现出诸如长宽比例和肥满度等方面的异常。所以,白化现象很可能是仅仅发生于大菱鲂皮肤的现象,对形态比例和生长速率无显著影响,通过养殖白化鱼获得更高的生长速度和经济效益是难以实现的。

本研究中全同胞家系间生长速度差异显著,这是速生选育的理论基础,说明通过家系选育法培育大菱鲂速生品系是可行的。而家系 K 的全长、全重均居 16 个样本家系之冠,表明该家系在早期发育阶段具有一定的生长优势,可作为候选优势家系重点跟踪培育。

我国开展商业养殖大菱鲂以来,随着累代养殖和繁育,原种大菱鲂具有的高体型性状发生不同程度的遗失,养殖鱼有逐渐向长体型发展的趋势,因此定向培育高体型品系成为大菱鲂选育、复壮的重要内容之一。16 个样本家系中, D、P、R 3 个家系的体高/体长比值高于其他家系,表明这 3 个家系幼鱼体型相对较高,有定向培育成为高体型品系的可能。

3.3 大菱鲂白化鱼生长优势

中国开展大菱鲂养殖十余年来,许多养殖者和技术人员根据直观观察,认为白化大菱鲂无

论在生长速度还是抗病能力方面, 都不同程度地优于正常鱼, 并且一些养殖企业的生产记录似乎也证明了这一观点。但本研究选取的多数样本家系(13 个全同胞家系, 占总数 16 个家系的 81.25%) 白化与正常鱼的生长没有表现出显著差异, 说明在 0~85 dph 白化鱼并未表现出生长优势。也许幼鱼发生白化(25~30 dph)至 85 dph 测定生长期间内, 仅经过了相对短暂的 55~60 dph, 白化鱼的生长优势尚未明显表现出来所致, 因此还需要连续测定混养家系的生长指标, 比较整个养殖周期的生长差异方可获得有说服力的结果。

近 3 年来, 大菱鲆正常苗种的价格基本在人民币 1~2 元/尾(全长 60 mm 左右)范围, 而白化苗种作为残次品处理, 相同规格的仅 0.3~0.6 元/尾, 价格相差 3~4 倍; 成品鱼的价格上, 白化鱼却仅比正常鱼低 2~3 元/kg。如果确实具有生长快、发病少的特点, 则白化鱼的养殖成本必然低于正常鱼, 养殖白化鱼似乎有利可图。但若不具备上述优点, 则养殖白化鱼不能获得更高的收益, 不仅浪费了宝贵的资源, 而且作为残次品的白化鱼充斥市场, 会严重影响大菱鲆的产品形象和市场价值, 对产业的稳定性和可持续性有百害而无一利, 所以今后应该立章建制, 严格限制白化苗进入苗种市场, 以免影响产品的质量和声誉。

致谢: 本研究得到了烟台百佳水产有限公司的协助和该公司的曲效志经理、陈志信、陈海滨、李祥东等同仁的支持, 在此表示衷心感谢。

参考文献:

- [1] 马爱军, 雷霖霖, 陈四清, 等. 鲆鲽类白化机理的研究进展[J]. 海洋水产研究, 2003, 24(3): 80-85.
- [2] 黄冰, 郭华荣, 张士瑾. 鱼类白化病的研究进展[J]. 海洋科学, 2003, 27(5): 11-14.
- [3] 马爱军, 陈超, 雷霖霖, 等. 饲养密度对大菱鲆 (*Scophthalmus maximus* L.) 生长、饲料转化率及色素的影响[J]. 海洋与湖沼, 2005, 23(4): 207-212.
- [4] Iwata N, Kikuchi K. Effects of sandy substrate and light on hypermelanosis of the blind side in cultured Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*[J]. Environ Biol Fishes, 1998, 52: 291-297.
- [5] Oddvar H, Ottswsn, Hans K. Strand. Growth, development, and skin abnormalities of halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) juveniles kept on different bottom substrates[J]. Aquaculture, 1996, 146(1-2): 17-25.
- [6] Venizelos A, Benetti DD. Pigment abnormalities in flatfish[J]. Aquaculture, 1999, 176: 181-188.
- [7] 马爱军, 陈四清, 雷霖霖, 等. 维生素与矿物质对大菱鲆幼鱼色素恢复作用的研究[J]. 海洋水产研究, 2004, 25(5): 25-29.
- [8] 陈炜, 姜志强, 吴立新, 等. 牙鲆正常个体与白化个体脂肪酸组成的比较[J]. 大连水产学院学报, 2004, 19(1): 21-25.
- [9] 王家庆, 侯林, 邹向阳, 等. 大菱鲆白化相关基因 (DEN-1、DEN-2) 的分离鉴定及特征分析[J]. 动物学报, 2007, 53(1): 159-164.
- [10] 侯林, 姚锋, 王伟. 以 mRNA 差异显示法分离牙鲆白化相关基因的初步研究[J]. 辽宁师范大学学报: 自然科学版, 2004, 27(1): 65-68.
- [11] 黄冰. 大菱鲆白化病白化发生机理研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2004.
- [12] 朱杰, 张秀梅, 高天翔, 等. 大菱鲆早期变态发育和体表黑色素细胞形态学观察[J]. 水产学报, 2002, 26(3): 193-200.
- [13] 朱杰, 张秀梅, 高天翔. 正常和白化褐牙鲆皮肤和肌肉中 DHA 和 EPA 含量的比较[J]. 水产学报, 2004, 28(1): 74-78.
- [14] Kazuo. Genetic factors on the albinism of Hiramé *Paralichthys olivaceus*[J]. Suisan Zoshoku, 1991, 29(1): 29-35.
- [15] Gregory S, Barsh. The genetics of pigmentation; from fancy genes to cvomplex traits[J]. Reviews, 1996, 12(8): 299-305.
- [16] Tadahisa Seikai. Early development of squamation in relation to color anomalies in hatchery-reared flounder *Paralichthys olivaceus*[J]. Jpn J Ichthyol, 1980, 27(3): 249-255.
- [17] Bolker J A, Hill C R. Pigmentation development in hatchery-reared flatfishes[J]. J Fish Biol, 2000, 56(5): 1029-1052.
- [18] Guo Hua-rong, Huang Bing, Zhang Shi-cui, et al. Biochemical and histochemical activities of tyrosinase in the skins of normal and albino turbot *Scophthalmus maximus*[J]. Fish Physiol Biochem, 2003, 29: 67-76.

Growth and morphology of albino and normal F₂ juveniles from different families of turbot *Scophthalmus maximus*

GUAN Jian^{1,2}, ZHENG Yongyun², LIU Hongjun², GUAN Shuguang², ZHANG Quanki¹, LEI Jilin³

1. College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Mariculture Institute of Shandong Province, Qingdao 266002, China;

3. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China

Abstract: Albinism has a significant effect on the market value of cultured turbot *Scophthalmus maximus*. We investigated the causes of albinism in cultured turbot by constructing 32 full-sib turbot families using standardized larval-rearing in 2009. We measured weight and documented the morphology of 16 full-sib families (including 6 pairs of half-sib families) with higher rates of albinism 85 days post hatching (dph). We compared the morphology of albino juveniles and normal juveniles in every F₂ family. In addition, we selected a fast growing family and three high-body type families as candidates for a selective breeding program. The skin pigmentation pattern could be classified into 3 types: albino, partial albino, and normal, in which the partial albino was classified as being within the range of albinism. The albino rate of every F₂ family was between 17.2 and 86.7%. There was a significant difference in the rate of albinism among half-sib families, which was likely caused by maternal inheritance and ovular quality. We also found a significant difference in total length, body length, total height, body height, and total weight ($P < 0.05$) between albino and normal juveniles in families C, Hand R. In addition, total height and body weight were significantly different among the 16 full sib families ($P < 0.05$). There was no significant difference in any of the measures between albino and normal juveniles within the same family, with the exception of families H and R. In summary, there were no significant differences in growth rates and body shape between albino and normal juveniles. Our results suggest that although genetics play a role in albinism, it is not the determining factor.

Key words: *Scophthalmus maximus*; family; albino; growth; morphology

Corresponding author: LEI Jilin. E-mail: lejilin@seacul.com