

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2015.140394

牙鲆家系 4 个选育性状的测定与分析

王磊^{1,2}, 胡灿灿¹, 陈松林², 田永胜², 邓寒², 李文龙², 谢明树², 牛余泽²,
庞仁谊², 赵永伟²

1. 河南师范大学 水产学院, 河南 新乡 453007;

2. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室, 山东 青岛 266071

摘要: 为了研究牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)不同选育性状之间的相关性, 2009 年建立了 38 个牙鲆实验家系和 1 个养殖场对照组。选取其中 33 个家系和对照组进行鳃弧菌感染实验并对存活个体进行荧光标记后混合养殖在 2 个水泥池中, 其中一个混养池在平均 400 日龄时暴发了淋巴囊肿病(Lymphocystis Disease, LD), LD 发病率为 62.4%, 包括 16 个家系和对照组。从这些家系中筛选出 4 个发病率低于 40.0%的抗病家系(F0939, F09104, F0915, F0908)。另外, 在 4~5 月龄时, 从每个家系中平均选取 100 尾鱼进行荧光标记后混合养殖, 580 日龄时测定这些家系的养殖存活率和体重, 平均养殖存活率为 32.0%, 将 7 个养殖存活率高于 55.0%的家系定义为高养殖存活率家系(F0908, F0975, F0990, F09125, F0927, F09119, F0905)。对牙鲆 LD 的抗病个体和易感个体的体重和全长进行卡方检验, 发现抗病个体的体重和全长均显著高于易感个体($P < 0.01$), 同时分析牙鲆各个家系的 LD 发病率与发病时的体重和全长的相关性, 结果显示牙鲆各个家系 LD 发病率与发病时体重和全长均呈强负相关($r < -0.6$)。对牙鲆家系鳃弧菌感染存活率、LD 发病率、580 日龄的养殖存活率和体重这 4 个性状两两之间进行相关性分析, 发现 LD 发病率与 580 日龄的体重呈强负相关($r = -0.790$); 鳃弧菌感染存活率与养殖存活率之间为弱正相关($r = 0.371$); 其他性状两两之间不存在显著相关性($-0.092 < r < 0.185$)。本研究共筛选到了 4 个牙鲆 LD 抗病家系和 7 个高养殖存活率家系, 并揭示了 4 个牙鲆选育性状之间的相关性, 为培育速生多抗的牙鲆新品种提供了遗传材料和理论依据。

关键词: 牙鲆; 家系; 淋巴囊肿病; 鳃弧菌; 养殖存活率; 体重

中图分类号: S96

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2015)04-0620-10

良种是推动水产养殖业健康可持续发展的重要因素之一。在牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)良种选育方面, 近年来国内外科研工作者们先后对牙鲆的生长、抗鳃弧菌病和抗淋巴囊肿病等性状等进行了一系列研究^[1-7]。在牙鲆生长性状选育方面, 陈松林等^[1]通过大规模建立家系, 对不同牙鲆群体的遗传力和育种值进行分析^[8], 并对牙鲆生长相关 QTL 进行了定位^[2], 率先培育出了中国第一个牙鲆新品种‘鲆优 1 号’。该品种比普通牙鲆生

长速度快 30%左右, 养殖存活率约高 20%^[9]。由于牙鲆雌雄差异较大, 刘海金等^[10]通过雌核发育和家系选择等技术先后培育出了牙鲆‘北鲆 1 号’和‘北鲆 2 号’两个新品种, 其中‘北鲆 2 号’雌性比例超过 90%, 生长速度比普通牙鲆快 35%以上, 比‘北鲆 1 号’快 15%左右^[11]。与此同时, 浙江海洋学院的詹炜等^[12]也于 2011 年开展了牙鲆家系的建立和生长对比实验, 为当地的牙鲆生长选育工作奠定了基础。

收稿日期: 2014-09-19; 修订日期: 2014-12-11.

基金项目: 国家 863 计划项目(2012AA10A408); 山东省自主创新专项(2013CX80202); 山东省泰山学者工程专项; 2014 年度河南省高校科技创新团队支持计划(14IRTSTHN013).

作者简介: 王磊(1984-), 男, 讲师, 博士, 从事鱼类遗传育种研究. E-mail: hnnuwl@163.com

通信作者: 陈松林, 研究员, 博士生导师. E-mail: chensl@ysfri.ac.cn

鳃弧菌病是对牙鲆幼体危害较为严重的疾病之一^[13]。陈松林等^[1]和王磊等^[3]分别利用鳃弧菌(*Vibrio anguillarum*)对牙鲆家系进行感染,先后在 F₁、F₂、F₃ 和雌核发育家系中筛选到一批抗鳃弧菌病能力强的家系,为培育抗鳃弧菌病的牙鲆新品种奠定了基础。Xu 等^[14]和 Du 等^[15]先后分析了 MHC 多态性与牙鲆抗鳃弧菌病之间的关系,发现 MHC 部分等位基因与牙鲆抗鳃弧菌病之间存在一定的关联性。Wang 等^[4]对牙鲆抗鳃弧菌病的 QTL 进行了定位,为牙鲆分子标记辅助抗鳃弧菌病的育种工作提供了参考。

牙鲆淋巴囊肿病(Lymphocystis Disease, LD)是由淋巴囊肿病毒(Lymphocystis Disease Virus, LCDV)引起的,是牙鲆的主要病害之一^[5]。虽然 Fuji 等^[5]筛选到了牙鲆抗淋巴囊肿病的主效 QTL 位点,并在育种中加以应用,取得了一定效果^[6]。但由于 QTL 是在特定家系中检测到的,因此 QTL 对于家系内选择是比较理想的,只有很少具有普遍性^[16],同时牙鲆中国群体与日本群体分属不同的地理群体,因此这个标记不一定适合中国牙鲆群体。鉴于此,范彩霞等^[7]采用 178 对微卫星引物对 102 个牙鲆淋巴囊肿病抗病个体和感病个体进行分析,发现 Fuji 等^[5]筛选的相关标记并不适用于其所检测的牙鲆群体,同时发现微卫星标记 scaffold185_597 在抗病和感病群体中差异显著,认为此标记可能与牙鲆抗淋巴囊肿病相关。

养殖存活率反映了养殖群体受到养殖环境综合选择之后的存活能力,是最重要的养殖指标之一。吴光宗等^[17]对牙鲆早期阶段的存活率进行了研究,发现牙鲆鱼苗存活率的高低取决于“变态期”的发生、进行和完成以及“危险期”的合理管理技术与对策。Furuita 等^[18]和姜志强等^[19]也分别从营养和盐度的角度对牙鲆存活率进行了研究,但尚未见到从家系选育方面对牙鲆进行研究的正式报道。这可能是由于养殖存活率是各种因素综合选择的结果,不同的选择环境给予的选择压力不一样,难以对选择压力进行量化控制。但养殖存活率作为养殖中最重要的指标之一,仍然应该在选育过程中加以重视和选择。

在选育性状的相关性研究方面,Imstrand 等^[20]通过对来自加拿大、冰岛和挪威等 3 个区域的大西洋庸鲽(*Hippoglossus hippoglossus* L.)的生长和抗鳃弧菌病性能进行分析,发现生长速度越快的个体在感染中越容易存活;Overturf 等^[21]对 23 个虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)家系的生长、抗菌性冷水病和抗传染性造血器官坏死之间进行遗传相关分析,发现实验晚期体重与抗传染性造血器官坏死病呈显著正相关($P < 0.05$),实验早期体重与抗菌性冷水病之间呈显著正相关($P < 0.01$),而两种疾病的抗病力之间无显著相关性;徐田军等^[22]发现牙鲆 230 d 的体长和体重与牙鲆鳃弧菌的抗病力存在显著的正相关($P < 0.05$),有可能培育出集快速生长和抗鳃弧菌病于一体的牙鲆新品种。

尽管国内外对牙鲆生长、抗鳃弧菌病和抗淋巴囊肿病的研究较多,对牙鲆的养殖存活率也有一定的研究,但是对它们之间的相关性研究较少,特别是从家系选育角度进行的研究更少,目前仅见徐田军等^[22]对牙鲆家系的体长和体重与抗鳃弧菌病的存活率之间进行了相关性分析。为了揭示牙鲆这 4 个选育性状之间的相关性,本研究在实验室 2009 年建立牙鲆家系的基础上,通过测定牙鲆家系淋巴囊肿病的抗病力、从鱼苗到商品鱼阶段的养殖存活率和生长情况,对牙鲆抗淋巴囊肿病、抗鳃弧菌病、580 日龄的养殖成活率和体重这 4 个性状两两之间进行相关性分析,以期为培育速生多抗的牙鲆新品种提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 牙鲆家系的建立和培育

本研究所用材料为 2009 年建立的牙鲆家系,其亲本包括本地抗病群体(Resistance Stock, RS)、日本群体(Japanese Stock, JS)、韩国群体(Korean Stock, KS)和 2007 年建立的牙鲆家系^[1]。其中日本群体和本地抗病群体分别是由日本引进和人工及自然感染选择培育而成的,其建立和培育过程见陈松林等^[1]的描述;韩国群体是 2008 年从韩国引进的综合性状表现优良的牙鲆亲鱼,其来源请见文献^[3]。

牙鲆家系的建立和培育过程均在海阳市黄海水产有限公司进行, 建立方法及命名规则同王磊等^[3]的描述, 对照组为同时期养殖场生产的普通牙鲆苗种, 家系命名规则为: F(family)+家系建立年份+家系编号。例如: F0905 就是 2009 年建立的第 5 号家系。在鱼苗长到 4~5 月龄时从每个家系和对照组中随机选取约 100 尾牙鲆打上荧光标记,

放入养殖场的水泥池中进行混合养殖。

1.2 牙鲆抗鳃弧菌病性能测定

当牙鲆鱼苗长到 4~5 月龄的时候, 从 38 个实验家系中选取 33 个具有代表性的家系和对照组连续进行两次鳃弧菌感染实验, 其感染方法及结果见王磊等^[3]的描述, 将感染后存活的个体打上荧光标记随机混养在 2 个水泥池中, 感染存活率见表 1。

表 1 牙鲆 33 个家系感染鳃弧菌后的存活率^[3]
Tab. 1 Survival rates of 33 flounder families after *Vibrio anguillarum* infection^[3]

家系 family	存活率/% survival rate	家系 family	存活率/% survival rate
F0905	78.3	F09121	23.1
F0915	72.8	F0992	21.8
F0927	65.0	F0914	20.5
F0917	61.8	F0909	19.2
F09104	55.6	F0913	18.8
F0990	52.7	对照 control	18.5
F0999	38.6	F0939	17.3
F0975	37.9	F09125	17.0
F09128	33.7	F0929	16.5
F09101	33.4	F0930	9.7
F0941	32.2	F0906	7.2
F09102	31.9	F0931	7.2
F09119	30.6	F0902	7.1
F09103	29.2	F0932	6.3
F0910	28.1	F0911	3.3
F0908	26.3	F0912	2.8
F09114	23.2	F09116	2.8

1.3 牙鲆抗淋巴囊肿病、养殖存活率和生长性能测定

2010 年 4 月其中一个感染鳃弧菌后存活的牙鲆混合养殖池暴发了淋巴囊肿病, 到 6 月份(平均 400 日龄)病情基本稳定, 期间没有采取任何治疗措施也没有牙鲆死亡。待病情稳定后统计这些牙鲆的发病情况(将体表、鳍条或口腔中有囊肿块的定义为发病鱼, 未见囊肿块的定义为未发病鱼)、体重、全长和所属家系等指标, 同时剪取部分尾鳍放入无水乙醇中保存备用。

在平均 580 日龄(days after hatching, 580-DAH)时对养殖场中的家系进行生长测定, 同时扫描荧光标记, 记录各个家系的数量, 统计养殖存活率。

1.4 统计分析

用软件 Microsoft Excel 2003 和 SPSS17.0 处

理所得到的数据, 对所有牙鲆淋巴囊肿病的发病鱼与未发病鱼的体重和全长进行卡方检验(Chi-square test); 分析牙鲆家系淋巴囊肿病的发病率与发病时的全长和体重的相关性; 检测牙鲆家系的淋巴囊肿病发病率、感染鳃弧菌后的存活率(survival rates after *V. anguillarum* infection, VSR)、580 日龄的体重(body weight at 580-DAH, 580-BW)和 580 日龄的养殖存活率(breeding survival rates at 580-DAH, 580-BSR)之间的皮尔逊相关系数(Pearson correlation coefficient)。

2 结果与分析

2.1 牙鲆家系抗淋巴囊肿病性能分析

在统计牙鲆家系淋巴囊肿病发病率的时候只

计算牙鲆数量多于10尾的家系,结果显示,在统计的479尾牙鲆中,体表、鳍条或口腔中长囊肿块的牙鲆有299尾,将其定义为易感个体;未见囊肿的牙鲆180尾,将其定义为抗病个体,发病率为62.4%。在统计的16个家系和1个对照组中,发病率从0.0~95.8%不等,家系之间差异很大,来源于养殖场的对照组发病率达93.3%。其中发病率最低的家系是F0939,在检测到的11尾牙鲆中,未发现患病鱼;发病率最高的是F0927,在检测到的72尾牙鲆中,易感个体为69尾,抗病个体只有3尾,这个家系是F0750(2007年建立的鳗弧菌病抗病力强的家系)的雌核发育家系^[1]。

由表2可以看出,发病率低于40%的家系有4个,将其定义为抗病家系,这4个家系分别为:

F0939、F09104、F0915和F0908。发病率最低的2个家系是F0939和F09104,家系F0939是快速生长家系F0719的雌核发育系,F09104的母本来自于F0719,而其他14个家系的亲本都不是来自于F0719,说明F0719可能具有较强的抗淋巴囊肿病能力,可以作为培育抗淋巴囊肿病品系的备选家系;发病率最高的8个家系中,有6个家系的亲本有F0750,说明以F0750作为亲本的家系在整体上对淋巴囊肿病的抗病力比较差,虽然雌核发育家系F0927的抗淋巴囊肿病能力整体较差,但是这个家系的抗鳗弧菌病能力很强,而且家系里面也有一些抗淋巴囊肿病个体,因此可以从这个家系中筛选出抗淋巴囊肿病的个体,从而培育出既抗鳗弧菌病又抗淋巴囊肿病的品系。

表2 16个牙鲆家系的淋巴囊肿病发病率

Tab. 2 Incidences of lymphocystis disease in 16 *Paralichthys olivaceus* families

家系 family	母本 dam	父本 sire	抗病个体数 resistant ind	易感个体数 susceptible ind	总数 total	发病率/% incidence
F0939	F0719	S.P	11	0	11	0.0
F09104	F0719	F0768	18	8	26	30.8
F0915	KS-79	JS-12	19	9	28	32.1
F0908	RS-57	KS-136	22	13	35	37.1
F0930	RS-7	KS-95	11	8	19	42.1
F0913	KS-10	RS-19	16	12	28	42.9
F0917	KS-50	RS-36	7	6	13	46.2
F0914	KS-111	RS-19	7	9	16	56.3
F0905	F0750	F0750	29	43	72	59.7
F0909	RS-82	KS-35	5	9	14	64.3
F0990	F0750	F0750	14	27	41	65.9
F0975	F0750	F0743	6	16	22	72.7
F0941	RS-7	F0768	4	17	21	81.0
F09103	F0750	F0743	3	16	19	84.2
F09119	F0750	KS-42	4	23	27	85.2
对照 control			1	14	15	93.3
F0927	F0750	S.P	3	69	72	95.8
总数 total			180	299	479	62.4

注: S.P 表示灭活的鲈精子。

Note: S.P indicates inactivated *Lateolabrax japonicus* sperm.

2.2 牙鲆家系养殖存活率比较

对38个家系和对照组的养殖存活率进行分析,平均养殖存活率为32.0%,养殖场对照组的养殖存活率为30.0%,接近平均存活率。在38个家系中,养殖存活率从4.9%到78.0%不等,不同

家系间养殖存活率差别很大,养殖存活率最高的为F0908,达78.0%,养殖存活率最低为F0906,只有4.9%(表3),养殖存活率最高的家系是最低家系的15.9倍,是养殖场对照组的2.6倍。养殖存活率低于15.0%的家系有12个,将其定

表 3 38 个牙鲆家系 580 日龄的体重和养殖成活率
 Tab. 3 Breeding survival rates and body weight of 38 *Paralichthys olivaceus* families at 580-DAH

家系号 family	母本 dam	父本 sire	体重/g body weight	标记数量 marked number	存活数量 survival number	养殖存活率/% breeding survival rate
F0908	RS-57	KS-136	467.5	100	78	78.0
F0975	F0750	F0743	336.2	70	45	64.3
F0990	F0750	F0750	425.1	150	90	60.0
F09125	F0750	KS-173	519.2	100	60	60.0
F0927	F0750	S.P	305.0	200	115	57.5
F09119	F0750	KS-42	331.5	100	56	56.0
F0905	F0750	F0750	364.7	200	110	55.0
F0902	JS-30	KS-194	269.1	100	53	53.0
F0913	KS-10	RS-19	443.8	100	52	52.0
F0909	RS-82	KS-35	364.1	100	51	51.0
F09101	F0751	F0743	300.5	116	53	45.7
F0917	KS-50	RS-36	467.9	100	44	44.0
F0947	F0719	S.P	388.8	169	63	37.3
F0912	KS-100	RS-22	302.6	100	36	36.0
F0941	RS-7	F0768	392.8	140	50	35.7
F0932	RS-23	KS-91	297.0	100	35	35.0
F09108	F0719	KS-26	317.2	72	25	34.7
F09104	F0719	F0768	377.8	150	46	30.7
对照 control			280.6	100	30	30.0
F0915	KS-79	JS-12	465.1	100	26	26.0
F0939	F0719	S.P	458.3	128	32	25.0
F0910	RS-24	KS-35	459.4	100	24	24.0
F0921	F0750	S.P	271.6	200	45	22.5
F0911	KS-21	RS-22	278.4	160	31	19.4
F0946	F0719	S.P	315.0	39	7	17.9
F0938	F0751	S.P	430.9	62	11	17.7
F09103	F0750	F0743	373.7	100	15	15.0
F0930	RS-7	KS-95	429.6	100	13	13.0
F09100	F0750	F0743	498.3	50	6	12.0
F0931	RS-24	KS-91	369.4	100	11	11.0
F09114	F0768	KS-144	417.3	100	11	11.0
F09121	F0751	KS-62	441.4	100	11	11.0
F09116	F0751	KS-90	438.8	100	10	10.0
F09102	F0768	F0768	288.1	100	9	9.0
F0914	KS-111	RS-19	416.3	100	8	8.0
F0916	KS-55	JS-12	425.0	100	8	8.0
F0929	RS-34	KS-95	401.4	100	7	7.0
F0992	F0751	F0751	347.1	150	8	5.3
F0906	RS-14	KS-194	394.0	82	4	4.9
平均值 mean			374.7	111.2	35.6	32.0

注: S.P 表示灭活的鲆精子.

Note: S.P indicates inactivated *Lateolabrax japonicas* sperm.

义为低养殖存活率家系, 大于等于 55.0%的家系有 7 个, 将其定义为高养殖存活率家系, 养殖存活率从 15.0%到 55.0%之间每隔 10 个百分点作为一组, 共分为 4 组, 每组的家系数为 4 到 6 个, 分布较为均匀(图 1)。

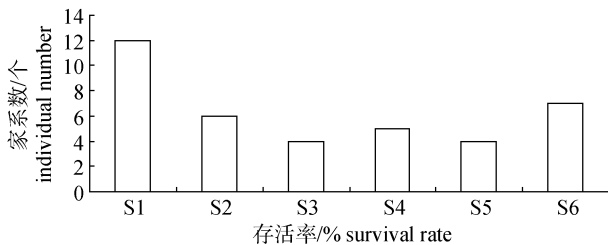


图 1 38 个牙鲆家系存活率的分布

S1~S6 表示的存活率分布区间: S1<15.0%, 15.0%≤S2<25.0%, 25.0%≤S3<35.0%, 35.0%≤S4<45.0%, 45.0%≤S5<55.0%, 55.0%≤S6.

Fig. 1 Distribution of survival rate of 38 flounder families after *Vibrio anguillarum* infection

S1~S6 represent survival rate (S) ranges which are S1<15.0%, 15.0%≤S2<25.0%, 25.0%≤S3<35.0%, 35.0%≤S4<45.0%, 45.0%≤S5<55.0%, 55.0%≤S6, respectively.

由表 3 可以看出, 在高养殖存活率的 7 个家系中, 有 6 个家系至少有一个亲本来自于 F0750, 其中 2 个是 F0750 的全同胞近交系, 1 个 F0750 的雌核发育系, 2 个是 F0750 与韩国个体交配建立的家系, 还有一个是 F0750 与 F0743 的杂交家系, 表明 F0750 可能对提高家系的养殖存活率具有重要作用, 可以将其作为提高养殖存活率的备选家系之一。对 24 个家系的养殖存活率进行分类分析, 发现 7 个组合的养成存活率从 17.0%~58.0%不等(表 4), 其中最高的 3 个组合分别是 F0750 与韩国

群体的杂交组、F0750 全同胞近交组和 F0750 的雌核发育组; 最低的是韩国牙鲆与日本牙鲆杂交的组合, 平均存活率只有 17.0%, 最高组是最低组的 3.4 倍。

2.3 相关性分析

对暴发淋巴囊肿病牙鲆的抗病个体和易感个体的体重和全长进行卡方检验, 发现抗病个体和易感个体的体重平均值分别为 205.9 g 和 149.3 g, 抗病个体和易感个体的全长平均值分别为: 26.3 cm 和 24.1 cm, 无论体重还是全长, 抗病个体均显著高于易感个体($P_{\text{体重}}=1.67 \times 10^{-6}<0.01$, $P_{\text{全长}}=6.57 \times 10^{-11}<0.01$)。分析牙鲆家系 LD 发病率与统计发病率时各个家系的体重和全长(表 5)的相关性, 结果显示: 牙鲆 LD 发病率与统计发病率时的体重和全长呈显著负相关($P_{\text{体重}}=0.003$, $P_{\text{全长}}=0.006$), 相关系数分别-0.667 和 -0.641, 说明生长越快的个体抗病力越强。

对 580 日龄的养殖存活率、580 日龄的体重(表 3)、鳃弧菌感染存活率和淋巴囊肿病发病率这 4 组数据两两之间进行相关性分析, 由表 6 可以看出: 养殖存活率与鳃弧菌感染存活率之间为弱相关($r=0.371$), 显示牙鲆鳃弧菌病抗病力强的家系, 其养殖成活率也较高; 580 日龄时的体重与牙鲆家系 LD 发病率之间为强负相关($r=-0.790$), 其他数据两两之间相关性不显著($-0.092 < r < 0.185$), 表明生长越快的家系其 LD 的抗病力越强。

3 讨论

选育生长速度快的新品种是长期以来鱼类育

表 4 牙鲆 7 个杂交组合在 580 日龄的养殖存活率分析

Tab. 4 Comparisons of breeding survival rate of 7 *Paralichthys olivaceus* cross combinations at 580-DAH

交配组合(♀×♂) cross combination	家系数 family number (n)	养殖存活率/% breeding survival rate
F0750×KS	2	58.0±2.8
F0750×F0750	2	57.5±3.5
F0750(雌核 gynogenesis)	2	40.0±24.7
KS×RS	5	31.9±18.0
RS×KS	8	28.0±25.6
F0719(雌核 gynogenesis)	3	26.7±9.8
KS×JS	2	17.0±12.7

$\bar{x} \pm SD$

表 5 16 个牙鲆家系在统计淋巴囊肿病发病率时的体重和全长
 Tab. 5 Body weight and total length of 16 *Paralichthys olivaceus* families after LCDV infection

				$\bar{x} \pm SD$			
家系 family	体重/g body weight	全长/cm total length	<i>n</i>	家系 family	体重/g body weight	全长/cm total length	<i>n</i>
F0905	166.4±63.0	25.3±3.3	72	F0941	217.6±118.3	27.3±4.6	21
F0908	195.5±55.8	26.7±2.6	35	F0975	142.3±59.7	23.8±3.3	22
F0909	112.9±53.3	22.1±3.5	14	F0990	181.9±68.3	25.6±3.0	41
F0913	208.8±69.3	27.1±4.0	28	F09103	126.0±44.9	22.7±2.9	19
F0914	169.1±56.3	25.4±2.6	16	F09104	150.4±50.7	24.3±3.1	26
F0915	261.0±83.9	29.3±3.5	28	F09119	145.8±46.7	24.3±3.1	27
F0917	175.6±67.3	25.6±3.1	13	对照 control	71.9±23.8	18.9±2.3	15
F0927	140.5±43.9	23.8±2.0	72	平均值 mean	171.3±125.3	25.0±3.6	479
F0930	146.0±74.6	24.2±3.5	19	<i>P</i>	0.003	0.006	
F0939	254.5±70.4	28.2±2.7	11	<i>r</i>	-0.667	-0.641	

注: *P* 和 *r* 分别表示牙鲆家系淋巴囊肿病发病率与体重和全长的不相关概率和相关系数。

Note: *P* and *r* indicates uncorrelated probability and correlation coefficient between body weight, total length and incidence of lymphocystis disease.

表 6 牙鲆家系 580 日龄养殖存活率、体重、鳃弧菌感染存活率和淋巴囊肿病发病率的关系
 Tab. 6 Relationship between breeding survival rates at 580-DAH (580-BSR), body weight at 580-DAH (580-BW), survival rates after *V. anguillarum* infection (VSR) and incidence of lymphocystis disease (LD) in *Paralichthys olivaceus* families

项目 item	系数 parameter	580 日龄体重 580-BW	580 日龄养殖存活率 580-BSR	鳃弧菌感染存活率 VSR	淋巴囊肿病发病率 LD incidence
580 日龄体重 580-BW	C_1	1	-0.092	0.144	-0.790**
	<i>P</i>		0.563	0.432	0.00016
580 日龄养殖存活率 580-BSR	C_1		1	0.371*	0.185
	<i>P</i>			0.037	0.478
鳃弧菌感染存活率 VSR	C_1			1	0.043
	<i>P</i>				0.871
淋巴囊肿病发病率 LD incidence	C_1				1
	<i>P</i>				

注: C_1 表示相关系数. *表示在 0.05 水平上显著相关, **表示在 0.01 水平上显著相关(双尾检验).

Note: C_1 means correlation index. * indicates correlation is significant at the 0.05 level, ** indicates correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

种工作者们研究的重点, 然而, 病害对水产养殖业的危害越来越大, 如何培育出既生长快又抗病的新品种成为研究的热点之一。在这方面, 国内外鱼类育种工作者们开展了大量工作, 徐田军等^[22]通过对牙鲆不同时期的生长情况与抗鳃弧菌病的抗病力之间进行相关性分析, 结果显示牙鲆鳃弧菌病的抗病力与 65 日龄和 85 日龄的体长和体重相关性不显著($P>0.05$), 而与 230 日龄的体长和体重存在显著的相关性, 皮尔森相关系数分别为 0.282 和 0.237, 认为抗病力强的家系在后期体现出了生长优势; Imsland 等^[20]对与牙鲆亲缘关系比

较近的大西洋庸鲈的生长与鳃弧菌病抗病力的研究也发现生长速度越快的个体抗病力越强; Overturf 等^[21]通过对虹鳟家系的生长和抗病力进行研究, 认为虹鳟抗传染性造血器官坏死病和细菌性冷水病与不同时期的生长性状呈显著正相关。本研究的结果显示鳃弧菌感染存活率与 580 日龄的体重之间无显著相关性, 高存活率的牙鲆在后期并未显示出较快的生长速度, 这与徐田军等^[22]、Imsland 等^[20]和 Overturf 等^[21]对所研究的鱼类细菌性疾病和生长之间的研究结果不同, 这可能是由于研究对象、统计生长时的时期和环境

等因素造成的, 因此关于牙鲆鳃弧菌感染存活率与牙鲆后期生长之间的关系还需要进一步研究; 对于病毒性疾病与生长之间的关系, Overturf 等^[21]的研究结果与本结果类似, 均认为所研究的病毒性疾病的抗病力与生长呈显著的正相关, 有可能选育出既抗病毒性疾病又生长快的新品种。

自然界中的鱼类往往会感染各种不同的疾病, 因此需要培育多抗新品种。在这方面, Kjølglum 等^[23]对大西洋鲑(*Salmo salar* L.)抗疝病、传染性鲑贫血病和传染性胰脏坏死病进行了遗传相关分析, 发现它们之间的相关性较弱($r=-0.11\sim 0.07$), 弱的相关性可以较为容易地对多种抗病性状同时进行选育; Overturf 等^[21]对 23 个虹鳟家系抗细菌性冷水病和抗传染性造血器官坏死进行了研究, 发现这两种疾病的抗病力之间无显著相关性; Ødegård 等^[24]对鲤 92 个家系的抗锦鲤疱疹病毒病和嗜水气单胞菌病的研究发现这两个抗病力之间有较高的遗传相关性($r=0.61\pm 0.29$)。在这些报道中, 抗细菌性疾病和抗病毒性疾病之间不存在显著的遗传负相关现象, 这与本研究的结果相似, 在本研究中, 牙鲆鳃弧菌病抗病力和淋巴囊肿病抗病力之间也不存在显著相关性。这些结果显示鱼类抗病毒性疾病和抗细菌性疾病的抗病通路可能不存在拮抗作用, 有可能培育出双抗(既抗细菌性疾病又抗病毒性疾病)新品种。

养殖成活率是养殖过程中最重要的指标之一, 而病害对养殖成活率有着重要影响, 因此揭示鱼类的抗病力与养殖成活率之间的关系对于提高养殖成活率具有重要意义。Ødegård 等^[24]对鲤的池塘养殖成活率与抗锦鲤疱疹病毒病和抗嗜水气单胞菌病的抗病力之间进行了分析, 结果显示池塘养殖成活率与这两种抗病力之间遗传相关系数较低且不显著。而本研究认为牙鲆 580 日龄的养殖成活率与鳃弧菌病抗病力之间呈显著正相关, 这可能是因为在在本实验的养殖水体中由鳃弧菌相关的疾病引起的死亡率较高, 从而导致鳃弧菌病抗病力强的家系养殖成活率也较高, 因此可以选择对养殖业危害比较大的一些疾病进行抗病选育, 这样可以在一定程度上提高品种的养殖成活率。

另外, 养殖成活率反映了鱼类对整个环境的适应能力, 它同时受到多种因素的影响, 但目前育种方面开展的相关研究较少, 未来还要继续加强养殖成活率在选育方面的研究工作。

4 结论

牙鲆暴发淋巴囊肿病时的体重、全长和 580 日龄的体重均与牙鲆淋巴囊肿病发病率呈极显著负相关, 因此选择抗淋巴囊肿病家系的同时也是对生长速度较快家系的选择, 选出来的家系可能既抗淋巴囊肿病又生长快; 另外 580 日龄的养殖成活率与鳃弧菌感染存活率之间存在弱正相关性, 通过选择抗鳃弧菌病的家系, 在一定程度上也是对高养殖成活率家系的选择, 所以选出来的双抗(既抗鳃弧菌病又抗淋巴囊肿病)家系有可能同时具备较快的生长速度和较高的养殖成活率。本研究为培育生长速度快、养殖成活率高的牙鲆双抗新品种提供了理论依据。

参考文献:

- [1] Chen S L, Tian Y S, Xu T J, et al. Development and characterization for growth rate and disease resistance of disease-resistance population and family in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(5): 665–673. [陈松林, 田永胜, 徐田军, 等. 牙鲆抗病群体和家系的建立及其生长和抗病性能初步测定[J]. 水产学报, 2008, 32(5): 665–673.]
- [2] Song W, Pang R, Niu Y, et al. Construction of high-density genetic linkage maps and mapping of growth-related quantitative trait loci in the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. PLoS One, 2012, 7(11): e50404.
- [3] Wang L, Chen S L, Zhang Y P, et al. Comparative analysis of disease resistance among three successive generations of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) families[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(5): 990–996. [王磊, 陈松林, 张英平, 等. 牙鲆连续三代抗鳃弧菌病家系的筛选与分析[J]. 中国水产科学, 2013, 20(5): 990–996.]
- [4] Wang L X, Fan C X, Liu Y, et al. A genome scan for quantitative trait loci associated with *Vibrio anguillarum* infection resistance in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) by bulked segregant analysis[J]. Mar Biotechnol, 2014, 16(5): 513–521.
- [5] Fuji K, Kobayashi K, Hasegawa O, et al. Identification of a

- single major genetic locus controlling the resistance to lymphocystis disease in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. Aquaculture, 2006, 254(1-4): 203-210.
- [6] Fuji K, Hasegawa O, Honda K, et al. Marker-assisted breeding of a lymphocystis disease-resistant Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. Aquaculture, 2007, 272(1-4): 291-295.
- [7] Fan C X, Chen S L, Wang L, et al. Screening and identification of SSR markers associated with lymphocystis disease resistance in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(4): 577-583. [范彩霞, 陈松林, 王磊, 等. 牙鲆抗淋巴囊肿病相关 SSR 标记的筛选与鉴定[J]. 水产学报, 2014, 38(4): 577-583.]
- [8] Liu F, Chen S L, Wang L, et al. Analysis of heritability and breeding value of different stocks for Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(4): 691-697. [刘峰, 陈松林, 王磊, 等. 不同牙鲆群体遗传力和育种值分析[J]. 中国水产科学, 2013, 20(4): 691-697.]
- [9] Chen S L, Tian Y S. Japanese flounder "Ping You No.1"[M]// National Fishery Technical Extension Center. 2010 Aquatic New Varieties Promotion Guidelines. Beijing: China Agriculture Press, 2011: 242-249. [陈松林, 田永胜. 牙鲆"鲆优 1 号"[M]//全国水产技术推广总站. 2010 水产新品种推广指南. 北京: 中国农业出版社, 2011: 242-249.]
- [10] Liu H J, Liu Y X, Wang Y F, et al. Genetic difference between meiotic gynogenesis and mitotic gynogenesis in the Japanese flounder[J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(6): 898-904. [刘海金, 刘永新, 王玉芬, 等. 牙鲆减数分裂与有丝分裂雌核发育的遗传差异[J]. 水产学报, 2010, 34(6): 898-904.]
- [11] Liu H J, Wang Y F. Bei Ping No.2[M]// National Fishery Technical Extension Center. 2014 Aquatic New Varieties Promotion Guidelines. Beijing: China Agriculture Press, 2014: 207-227. [刘海金, 王玉芬. 北鲆 2 号[M]//全国水产技术推广总站. 2014 水产新品种推广指南. 北京: 中国农业出版社, 2014: 207-227.]
- [12] Zhan W, Lou B, Xu D D, et al. Establishment of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) families and comparison of their growth traits in juvenile stage[J]. Journal of Zhejiang Ocean University: Natural Science, 2011, 30(3): 200-204. [詹炜, 楼宝, 徐冬冬, 等. 牙鲆家系的建立及早期生长比较[J]. 浙江海洋学院学报: 自然科学版, 2011, 30(3): 200-204.]
- [13] Zhou L, Gong Q L, Yu K K. Diseases of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. Journal of Ocean University of Qingdao, 1997, 27(2): 173-180. [周丽, 宫庆礼, 俞开康. 牙鲆的疾病[J]. 青岛海洋大学学报, 1997, 27(2): 173-180.]
- [14] Xu T J, Chen S L, Ji X S, et al. MHC polymorphism and disease resistance to *Vibrio anguillarum* in 12 selective Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) families[J]. Fish Shellfish Immun, 2008, 25(3): 213-221.
- [15] Du M, Chen S, Liang Y, et al. Polymorphism and balancing selection of MHC class II DAB Gene in 7 selective flounder (*Paralichthys olivaceus*) families[J]. Evid-Based Complement Altern Med, 2011: 613-629.
- [16] Sonesson A K. Within-family marker-assisted selection for aquaculture species[J]. Genet Sel Evol, 2007, 39(3): 301-317.
- [17] Wu G Z, Zhang Y. Survival rate study in the early stages of Japanese flounder[J]. Marine Sciences, 1993(1): 13-17. [吴光宗, 张英. 牙鲆早期阶段存活率研究[J]. 海洋科学, 1993(1): 13-17.]
- [18] Furuita H, Takeuchi T, Uematsu K. Effects of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on growth, survival and brain development of larval Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. Aquaculture, 1998, 161(1-4): 269-279.
- [19] Jiang Z, Zhao X, Wang G. The effects of salinity on survival, growth and feeding of *Paralichthys olivaceus* juveniles[J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2002, 17(2): 79-83. [姜志强, 赵祥东, 王国祖. 不同盐度下牙鲆幼鱼存活、生长和摄食的研究[J]. 大连水产学院学报, 2002, 17(2): 79-83.]
- [20] Imsland A K, Jonassen T M, Langston A, et al. The interrelation of growth and disease resistance of different populations of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.)(J). Aquaculture, 2002, 204(1-2): 167-177.
- [21] Overturf K, LaPatra S, Towner R, et al. Relationships between growth and disease resistance in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)[J]. J Fish Dis, 2010, 33(4): 321-329.
- [22] Xu T, Chen S, Tian Y, et al. Comparative analysis of disease resistance among Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) families[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(1): 59-68. [徐田军, 陈松林, 田永胜, 等. 牙鲆抗鳃弧菌病家系筛选及其分析[J]. 中国水产科学, 2010, 17(1): 59-68.]
- [23] Kjøglum S, Henryon M, Aasmundstad T, et al. Selective breeding can increase resistance of Atlantic salmon to furunculosis, infectious salmon anaemia and infectious pancreatic necrosis[J]. Aquac Res, 2008, 39(5): 498-505.
- [24] Ødegård J, Olesen I, Dixon P, et al. Genetic analysis of common carp (*Cyprinus carpio*) strains. II: Resistance to koi herpesvirus and *Aeromonas hydrophila* and their relationship with pond survival[J]. Aquaculture, 2010, 304(1-4): 7-13.

Determination and analysis of 4 breeding traits in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) families

WANG Lei^{1,2}, HU Cancan¹, CHEN Songlin², TIAN Yongsheng², DENG Han², LI Wenlong², XIE Mingshu², NIU Yuze², PANG Renyi², ZHAO Yongwei²

1. College of Fisheries, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China;

2. Key Laboratory for Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture; Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China

Abstract: Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) is an important commercially cultured fish in China, Japan, and Korea. The rapid development of the Japanese flounder aquaculture has led to problems with various diseases that have reduced growth rates and caused huge economic loss. One way to address these problems is to cultivate strains with characteristics such as high growth performance, breeding survival rates, and disease resistance. For this purpose, 38 families and a control group were established in 2009. Four to five months after hatching, 33 of the 38 families and the control group were selected for exposure to *Vibrio anguillarum*. The surviving individuals were marked with fluorescent-dye and cultivated in two cement pools. Four hundred days after hatching, lymphocystis disease (LD) broke out in one of the pools containing 16 families and the control group. The average rate of incidence was 62.4%; those families (Families 8, 15, 39, and 104) with disease incidence below 40% were defined as disease-resistant. At the same time, 100 fish selected from each family were marked with fluorescent-dye and cultivated in different cement pools. Roughly 580 d after hatching, breed survival rate (580-BSR) and body weight (580-BW) were determined. For the 38 families, the average 580-BSR was 32.0%. There were seven families (Families 5, 8, 27, 75, 90, 119, and 125) with a 580-BSR above 55%, and they were defined as high breed survival rate families. Notably, in 6 of the 7 families, at least one parent was derived from F0750 (Family 50 established in 2007), suggesting that individuals from F0750 may effectively improve 580-BSR. Chi-square tests indicated that body weight (400-BW) and total length (400-TL) of the resistant group were significantly higher than those of the susceptible group ($P < 0.01$). Pearson correlation demonstrated a strong negative correlation ($r < -0.6$) between 400-BW, 400-TL, and disease incidence of these families, indicating that growth performance positively correlated with LD-resistance. Pearson correlation was also used to determine the relationships between the incidence of LD, 580-BSR, 580-BW and the survival rate after infection with *V. anguillarum* (VSR). There was a strong negative correlation between the incidence of LD and 580-BW ($r = -0.790$), while VSR was weakly positively correlated with breeding survival rate ($r = 0.371$). In contrast, no significant correlations were found between the other traits ($-0.092 < r < 0.185$). In conclusion, 4 families with strong disease-resistance against LD and 7 families with high breed survival rate were screened. The correlations between the four breeding traits indicate that selection can be used to jointly improve the occurrence of these four traits in Japanese flounder.

Key words: *Paralichthys olivaceus*; family; lymphocystis disease; *Vibrio anguillarum*; breeding survival rate; body weight

Corresponding author: CHEN Songlin. E-mail: chensl@ysfri.ac.cn