

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2018.17315

皱纹盘鲍 4 个养殖群体杂交子代生长与存活状况比较

江海林^{1,2}, 冯艳微¹, 刘春廷^{1,2}, 姜绪¹, 刘相全¹

1. 山东省海洋资源与环境研究院, 山东省海洋生态修复重点实验室, 山东 烟台 264006;

2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306

摘要: 为利用杂种优势培育皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)优良新品种, 本研究以 4 个不同养殖群体[黄岛(HD)、荣成(RC)、日本(JP)、大连(DL)]的皱纹盘鲍为亲本, 设计 4×4 完全双列杂交, 建立了 4 个自交家系和 12 个正反杂交家系, 在利用微卫星标记进行亲子鉴定基础上, 对各家系的 F₁ 在 1、5、13、17 月龄时的生长性状、杂种优势率、生长速度和存活情况进行比较, 分析杂交效应。结果表明, 在各个生长阶段均有部分杂交家系与自交家系相比表现出显著的生长优势; HDRC、HDDL 和 JPDL 家系的生长速度较高; HDDL、HDJP、RCDL、JPRC 及 RCHD 家系有着较高的存活率; 在杂种优势方面, HDRC、HDDL 与 DLHD 家系在各生长参数与生长速度上有明显的杂种优势, HDDL、RCDL、DLHD 家系在存活率上表现出明显的杂种优势。本研究筛选出的具有优势的交配组合, 可作为皱纹盘鲍生产上种苗来源的参考, 也为利用杂种优势培育皱纹盘鲍新品种提供了基础资料。

关键词: 皱纹盘鲍; 养殖群体; 杂交; 生长; 存活; 杂种优势

中图分类号: S966

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2018)03-0536-10

皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)属于软体动物门(Mollusca), 腹足纲(Gastropoda), 原始腹足目(Archaeogastropods), 鲍科(Haliotidae), 鲍属, 主要分布于中国辽宁、山东沿海及日本北部沿海。其个体肥大、肉味鲜美, 营养价值及药用价值较高, 是我国最重要的海产经济贝类之一。近年来由于鲍养殖业的飞速发展而出现的自繁自育、种质退化以及养殖环境恶化致使的病害频发等问题^[1-2], 严重影响了皱纹盘鲍产业的健康发展。因此, 培育生长快速、抗病性良好的皱纹盘鲍优良品种, 改善其种质资源是确保其养殖产业可持续发展的重要手段。

杂交育种是直接利用杂种优势或杂种活力来迅速提高杂交种产量和生活力的一种育种方法, 它在水产动物的品种改良中发挥着巨大的作用。杂种优势是指两个遗传背景不同的亲本杂交产生的杂种 F₁ 在生长性状、生活力、生殖力、抗逆性、

产量和品质上比亲本的一方或双亲优越的现象^[3]。目前, 杂交育种研究已在多种经济贝类中开展。在皱纹盘鲍的杂交育种研究中, 孙振兴等^[4]发现, 皱纹盘鲍和盘鲍(*Haliotis discus*)杂交 F₁ 相对于亲本在营养、生长速度和存活方面表现出明显的优势; 张国范等^[5]、蔡俊鹏等^[6]利用皱纹盘鲍日本岩手群体和大连群体杂交获得的“大连 1 号”杂交新品种在苗种成活率和生长速度等方面优势明显。

本研究利用 4 个不同养殖群体的皱纹盘鲍个体进行杂交实验, 结合微卫星亲子鉴定技术, 比较各杂交组与自交组 F₁ 在不同时期的生长和存活状况, 旨在筛选出具有优势的交配组合, 为皱纹盘鲍的新品种培育提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 亲贝来源

从中国黄岛、荣成和大连, 以及日本 4 个皱

收稿日期: 2017-09-04; 修订日期: 2017-10-26.

基金项目: 山东省农业良种工程项目(2017LZQC009).

作者简介: 江海林(1992-), 女, 硕士研究生, 专业方向为贝类遗传育种. E-mail: hailinchiang@foxmail.com

通信作者: 冯艳微, 助理研究员, 研究方向为贝类遗传育种. E-mail: fywzxm1228@163.com

纹盘鲍养殖群体中, 选取生长性状优良的个体作为亲贝。

1.2 实验方法

1.2.1 家系建立及养成 本实验采用完全双列杂交法, 在山东荣成养殖基地建立了16个不同的交配组合。以字母HD、RC、DL和JP分别表示中国黄岛、荣成、大连以及日本4个养殖群体皱纹盘鲍, 即建立4个自交组合HDHD、RCRC、DLDL、JPJP, 12个正反交组合HDRC、HDDL、HDJP、RCHD、RCDL、RCJP、DLHD、DLRC、DLJP、JPHD、JPRC、JPDL, 每个组合中雌性亲本在前。

2015年4月, 从亲贝中挑选性腺饱满的个体, 进行阴干、紫外线照射、海水刺激, 获得精子、卵子。依据实验设计的交配组合, 收集精卵授精, 当孵化至担轮幼虫时, 投入育苗池附着。为消除环境条件对鲍生长存活的影响, 取16个家系相同个体数子代进行完全混养。入冬前将鲍送往南方越冬, 次年5月回到北方继续养殖。

1.2.2 取样、测量和标记 分别在1、5、13月龄时, 随机选取480、480、800个个体, 用游标卡尺测量其壳长和壳宽, 用电子天平测体重。取腹足或上足小丘组织固定于无水乙醇中备用。从南方越冬回来的13月龄皱纹盘鲍, 采集体征数据后, 在壳上加带编号的夹式标记。17月龄时再次测量其体征数据。

1.2.3 亲子鉴定 亲子鉴定也称亲权鉴定, 是指通过对子代个体遗传特征的分析确定可能的父母, 或通过父母的遗传特征来寻找可能的子女^[7]。水产动物亲子关系的鉴定主要依靠合适的遗传标记或辅助方法, 其中高变异度的微卫星标记为一种有效的遗传标记^[8-9]。

采用CTAB法^[10]提取基因组DNA。选取8个多态性好的微卫星标记Afa017、Afa005^[11]、ddh41、ddh52^[12]、CHd205、Chd092、CH1820^[13]、Afa029^[14], 进行PCR扩增反应。PCR扩增体系为10 μL体系: 1×PCR缓冲液(Mg²⁺ plus)、0.25 mmol/L dNTPs、1 μmol/L的双向PCR引物、0.25 U的Taq DNA聚合酶、50 ng DNA模板, 灭菌水

补齐体积。PCR程序设定: 94℃变性5 min; 94℃45 s, 退火45 s, 72℃延伸1 min, 循环设置为35个; 循环结束后72℃延伸10 min。扩增产物通过毛细管电泳和自动荧光扫描检测等位基因大小。

1.2.4 数据处理与分析 使用CERVUS 4.0软件对等位基因条带数据进行分析, 对应取样个体和亲本的亲子关系。利用EXCEL分别统计1、5、13月龄时亲子鉴定的污染率C(%)与成功率I(%), 以及不同生长时期混养家系中各家系所占百分比O(%):

$$\begin{aligned} C(\%) &= N_C/A_S \\ I(\%) &= N_I/(A_S-N_C) \\ O(\%) &= N_O/(A_S-N_C) \end{aligned}$$

式中, N_C 、 A_S 分别为与自交、杂交家系无亲子关系的个体数量和取样个体数量, N_I 为去除污染个体后鉴定出单一可信亲子关系的个体数量。

采用SPSS 22.0统计分析软件对各家系各性状的平均值和标准差进行描述统计分析, 利用单因素方差分析比较各家系间均值差异, 差异显著性水平设置为0.05。

统计各家系在1月龄至17月龄期间体重/体长/体宽的生长速度 G_M 、 G_L 和 G_W :

$$\begin{aligned} G_M &= (M_2-M_1)/(t_2-t_1) \\ G_L &= (L_2-L_1)/(t_2-t_1) \\ G_W &= (W_2-W_1)/(t_2-t_1) \end{aligned}$$

式中, M_1 、 L_1 、 W_1 和 M_2 、 L_2 、 W_2 分别为各家系在1月龄和17月龄时的平均体重、体长和体宽, t_2-t_1 是1月龄到17月龄所经过的时间差。

利用EXCEL计算杂交子代各性状的总体杂种优势率 H_T (%)、超亲杂种优势率 H (%)^[15-16]:

$$\begin{aligned} H_T(\%) &= (F_1-P_T)/P_T \times 100\% \\ H(\%) &= (F_1-P)/P \times 100\% \end{aligned}$$

式中, F_1 、 P_T 和 P 分别为杂交家系、父母本自交家系和双亲中最优亲本自交家系各体征性状的表型平均值。

根据13月龄鲍亲子鉴定结果和17月龄存活鲍标记, 统计各个家系的存活率:

$$S = N/A \times 100\%$$

式中, N 为各家系17月龄存活鲍个数, A 为各家系13月龄存活鲍个数。

2 结果与分析

2.1 亲子鉴定结果

根据共享等位基因原则进行污染个体的鉴定,结果表明在 1、5、13 月龄所取的样品中分别鉴定出 50、22、62 个污染个体,污染率分别为 10.4%、4.6%、7.8%;排除污染个体后的取样个体中,亲子鉴定成功率分别达到 91.6%、98.1%和 99.2%。各取样期取样子代在 16 个家系中的分布情况见表 1。如表 1 中所示,各时期不同家系间子代的数量均存在差异,呈不均等分布,从仅占样品的 0.2%(5 月龄时的 JPJP 家系)到 16.3%(5 月龄时的 RCHD 家系)变化不等。相同家系在不同生长时期所占百分比也有所变化,如 HDHD 家系在 1、5 月龄时分别占 11.7%、12.2%,在之后的两次取样中,比例下降到 2.3%和 2.4%。相较于自交家系,杂交家系子代数在 13 月龄与 17 月龄时所占比例较高。

2.2 各家系不同时期生长的比较

2.2.1 各家系生长参数的比较 4 个自交家系和 12 个杂交家系各生长阶段的 3 个体征参数统计结果见表 2。16 个家系的体重、体长和体宽均随着月龄增加呈上升趋势。1 月龄时,自交家系 DLDL 体长与体宽最大,分别为 3.43 mm 和 2.73 mm。杂交家系 HDDL 体重最大,为 0.0037 g,其次是 RCJP、DLJP 家系,均为 0.0035 g, HDDL、RCJP、DLJP 家系的体重均与自交家系 JPJP 存在显著差异;5 月龄时,杂交家系 HDDL、HDJP、RCJP、DLJP 的体重与体长分别为 1.32 g、1.46 g、1.31 g、1.32 g 与 20.84 mm、21.94 mm、21.27 mm、21.46 mm,大于自交家系 HDHD、RCRC、DLDL 的体重与体长;方差分析表明,自交家系 HDHD 的体重、体长及体宽分别与 HDDL、HDJP、RCJP、DLJP 家系,HDJP、RCJP、DLJP 家系及 HDJP 家系之间存在显著差异($P<0.05$),DLDL 家系的体长显著小于 HDJP、DLJP 家系($P<0.05$);13 月龄时,自交家

表 1 各时期取样子代在 16 个家系中的分布情况
Tab.1 Distribution of sampling individuals among 16 F₁ families in different periods

家系编号 family number	1 月龄 1 month age		5 月龄 5 month age		13 月龄 13 month age		17 月龄 17 month age	
	个体数量 quantity	比例/% ratio	个体数量 quantity	比例/% ratio	个体数量 quantity	比例/% ratio	个体数量 quantity	比例/% ratio
HDHD	46	11.7	55	12.2	17	2.3	13	2.4
RCRC	18	4.6	5	1.1	22	3.0	16	2.9
DLDL	6	1.5	7	1.5	49	6.8	29	5.3
JPJP	7	1.7	1	0.2	25	3.4	22	4.0
HDRC	35	8.9	48	10.7	16	2.2	10	1.8
HDDL	11	2.8	34	7.6	37	5.1	32	5.9
HDJP	13	3.3	44	9.8	43	5.9	35	6.4
RCHD	34	8.6	73	16.3	20	2.8	16	2.9
RCDL	23	5.8	53	11.8	83	11.4	68	12.5
RCJP	29	7.4	9	2.0	31	4.3	23	4.2
DLHD	23	5.8	16	3.6	43	5.9	34	6.2
DLRC	35	8.9	20	4.5	51	7.0	36	6.6
DLJP	19	4.8	7	1.5	51	7.0	37	6.8
JPHD	44	11.2	30	6.7	61	8.4	39	7.1
JPRC	35	8.9	35	7.8	91	12.5	75	13.7
JPDL	16	4.1	12	2.7	87	12	62	11.3
合计 total	394	100	449	100	727	100	547	100

表 2 各家系不同时期生长性状(体重、体长、体宽)的比较分析
Tab. 2 Comparative analysis of growth traits (body weight, body length, body width) for different families in different periods

家系编号 family number	1 月龄			5 月龄			13 月龄			17 月龄		
	体重/g	体长/mm	体宽/mm	体重/g	体长/mm	体宽/mm	体重/g	体长/mm	体宽/mm	体重/g	体长/mm	体宽/mm
	body weight	body length	body width	body weight	body length	body width	body weight	body length	body width	body weight	body length	body width
HDHD	0.0030±0.0010 ^{abc}	3.22±0.38 ^{ab}	2.58±0.27 ^{ab}	0.85±0.46 ^a	18.46±3.55 ^a	13.18±2.37 ^a	7.32±3.74 ^a	39.45±6.62 ^a	26.58±4.12 ^a	20.78±8.45 ^{ab}	51.57±6.96 ^a	34.92±4.96 ^a
RCRC	0.0030±0.0010 ^{abc}	3.14±0.38 ^{ab}	2.44±0.28 ^a	1.18±0.24 ^{abc}	20.61±1.27 ^{abcd}	14.85±1.10 ^{ab}	7.92±3.73 ^{abc}	40.21±6.78 ^a	27.14±4.41 ^{abc}	22.39±7.05 ^{ab}	53.35±5.70 ^{ab}	36.81±3.80 ^{ab}
DLDL	0.0030±0.0010 ^{abc}	3.43±0.52 ^b	2.73±0.38 ^b	0.93±0.37 ^{ab}	18.52±3.15 ^{ab}	13.53±1.83 ^{ab}	7.72±3.61 ^{ab}	39.69±6.21 ^a	27.07±4.29 ^{abc}	20.31±8.02 ^a	51.61±6.51 ^a	35.00±5.32 ^a
JPJP	0.0024±0.0012 ^a	3.12±0.42 ^{ab}	2.58±0.53 ^{ab}	1.65	22.54	15.44	10.00±3.65 ^c	43.78±5.97 ^b	29.43±4.12 ^c	23.73±9.30 ^{ab}	53.73±7.01 ^{ab}	36.98±4.37 ^{ab}
HDRC	0.0029±0.0013 ^{abc}	3.18±0.37 ^{ab}	2.51±0.39 ^{ab}	1.26±0.62 ^{abc}	20.90±4.15 ^{abcd}	14.72±2.63 ^{ab}	9.36±5.08 ^{abc}	42.50±7.52 ^{ab}	28.45±5.86 ^{abc}	26.44±6.62 ^b	56.55±3.97 ^b	38.88±2.54 ^b
HDDL	0.0037±0.0014 ^c	3.31±0.31 ^{ab}	2.54±0.22 ^{ab}	1.32±0.69 ^{bc}	20.84±4.47 ^{abcd}	14.62±2.82 ^{ab}	9.45±3.97 ^{abc}	42.29±7.05 ^{ab}	28.61±4.52 ^{abc}	25.87±7.65 ^{ab}	55.77±5.67 ^{ab}	37.63±4.03 ^{ab}
HDJP	0.0026±0.0010 ^{ab}	3.07±0.45 ^{ab}	2.57±0.23 ^{ab}	1.46±0.53 ^c	21.94±2.91 ^d	15.27±2.00 ^b	7.87±3.28 ^{abc}	40.36±5.54 ^{ab}	27.41±3.80 ^{abc}	20.78±7.24 ^{ab}	52.16±6.30 ^{ab}	36.01±4.62 ^{ab}
RCHD	0.0030±0.0010 ^{abc}	3.23±0.53 ^{ab}	2.54±0.40 ^{ab}	0.93±0.41 ^{ab}	18.87±2.55 ^{abc}	13.46±1.81 ^{ab}	8.34±4.38 ^{abc}	40.64±6.09 ^{ab}	27.92±4.27 ^{abc}	23.38±11.25 ^{ab}	53.95±6.98 ^{ab}	36.81±4.78 ^{ab}
RCDL	0.0027±0.0010 ^{abc}	3.18±0.45 ^{ab}	2.51±0.34 ^{ab}	1.12±0.39 ^{abc}	20.20±2.58 ^{abcd}	13.91±1.91 ^{ab}	9.31±3.91 ^{abc}	42.23±5.88 ^{ab}	28.48±3.99 ^{abc}	24.64±8.31 ^{ab}	54.41±6.89 ^{ab}	37.35±4.20 ^{ab}
RCJP	0.0035±0.0016 ^{bc}	3.34±0.49 ^{ab}	2.59±0.33 ^{ab}	1.31±0.45 ^{bc}	21.27±2.51 ^{bcd}	14.98±1.87 ^{ab}	9.72±3.92 ^{bc}	42.55±5.55 ^{ab}	29.23±3.83 ^{bc}	23.51±7.39 ^{ab}	54.41±5.02 ^{ab}	37.42±3.45 ^{ab}
DLHD	0.0032±0.0018 ^{abc}	2.98±0.44 ^a	2.40±0.32 ^a	0.96±0.45 ^{ab}	19.22±2.76 ^{abcd}	13.89±1.88 ^{ab}	8.79±3.70 ^{abc}	41.48±6.72 ^{ab}	28.27±4.23 ^{abc}	23.52±8.09 ^{ab}	54.31±6.73 ^{ab}	37.16±4.42 ^{ab}
DLRC	0.0032±0.0012 ^{abc}	3.24±0.37 ^{ab}	2.50±0.31 ^{ab}	1.00±0.57 ^{ab}	19.68±3.93 ^{abcd}	14.03±2.63 ^{ab}	7.49±2.90 ^a	39.77±5.28 ^a	26.86±3.88 ^{ab}	20.42±5.94 ^a	51.50±4.67 ^a	35.59±3.19 ^a
DLJP	0.0035±0.0017 ^{bc}	3.14±0.76 ^{ab}	2.59±0.39 ^{ab}	1.32±0.30 ^{bc}	21.46±1.58 ^{cd}	14.95±0.77 ^{ab}	8.46±3.71 ^{abc}	41.10±6.45 ^{ab}	27.61±4.35 ^{abc}	23.56±8.94 ^{ab}	54.42±6.29 ^{ab}	37.31±4.29 ^{ab}
JPHD	0.0029±0.0010 ^{abc}	3.21±0.40 ^{ab}	2.54±0.35 ^{ab}	0.94±0.40 ^{ab}	19.03±3.03 ^{abc}	13.69±2.19 ^{ab}	8.74±3.82 ^{abc}	41.29±6.14 ^{ab}	28.14±4.07 ^{abc}	24.34±8.27 ^{ab}	54.61±7.40 ^{ab}	37.25±5.11 ^{ab}
JPRC	0.0032±0.0014 ^{abc}	3.28±0.44 ^{ab}	2.50±0.27 ^{ab}	1.28±0.48 ^{bc}	21.27±2.96 ^{bcd}	15.06±2.01 ^b	8.37±3.71 ^{abc}	41.20±5.81 ^{ab}	27.87±4.04 ^{bc}	22.77±8.80 ^{ab}	53.52±6.77 ^{ab}	36.50±4.58 ^{ab}
JPDL	0.0028±0.0011 ^{abc}	3.09±0.29 ^{ab}	2.49±0.36 ^{ab}	1.08±0.49 ^{abc}	19.96±3.92 ^{abcd}	14.09±2.60 ^b	9.09±3.82 ^{abc}	42.18±6.84 ^{ab}	28.28±4.42 ^{abc}	25.31±8.34 ^{ab}	55.64±6.42 ^{ab}	37.70±4.49 ^{ab}

注: 同一列上标具有相同字母的表示无显著性差异 ($P>0.05$); 5 月龄时仅 1 个个体被鉴定到 JPJP 家系, 不能进行单因素方差分析。

Note: The same letters within the same column indicate no significant difference ($P>0.05$). Only one individual was identified to JPJP family at the fifth month, so one-way analysis of variance were not conducted.

$\bar{x} \pm SD$

系 JPJP 和杂交家系 RCJP 的体重、体长和体宽最大, 分别为 10.00 g、43.78 mm、29.43 mm, 与 9.72 g、42.55 mm、29.23 mm, 其中体重和体宽显著大于自交家系 HDHD; 17 月龄时, 4 个自交家系的体重、体长和体宽均无显著差异, 杂交家系 HDRC 的体重、体长和体宽在所有家系中最大, 且与 DLDL、DLRC 家系存在显著差异。

2.2.2 各家系生长速度的比较 各家系体重、体长和体宽的生长速度统计结果见图 1。从 1 月龄到 17 月龄, 各家系 3 个体征参数的生长速度表现出一致的趋势。DLDL、DLRC、HDHD、HDJP 4 个家系的体重、体长和体宽生长速度均较低, HDRC、HDDL 和 JPDL 家系的生长速度较高, 其中 HDRC 家系体重、体长和体宽的生长速度均为各家系中最高, 分别为 0.0551 g/d、0.1112 mm/d 和 0.0758 mm/d。

2.3 各杂交家系不同时期生长杂种优势的比较

各杂交家系不同时期生长性状的杂种优势分析见表 3。杂交家系 HDRC 和 HDDL 从 5 月龄到

17 月龄体重、体长和体宽的总杂种优势率和超亲杂种优势率基本为正值, 表现为较高的杂种优势 (-12.51%~23.27%、5.68%~47.76%); 反交组合 RCHD 在 1 月龄及 13~17 月龄三个性状的杂种优势率较小, DLHD 与 HDDL 表现出相同方向的杂种优势, 但杂种优势率也较小。RCDL 家系在 1 月龄和 5 月龄时杂种优势率主要为负值, 13 月龄和 17 月龄时有所上升, 表现出一定的杂种优势 (1.47%~19.06%), JPJD 家系仅在 17 月龄时表现出一定的杂种优势 (0.71%~9.39%); 其反交家系 DLRC 和 HDJP 在体重、体长、体宽上均无杂种优势。RCJP 家系在 1 月龄时表现出明显的杂种优势 (0.56%~29.63%), 1 月龄后杂种优势不明显; 反交家系 JPRC 仅体重和体长在 1 月龄时有一定的杂种优势, 其他月龄表现为负杂种优势。DLJP 家系 1 月龄时体重表现出较高的杂种优势 (H_T 为 29.63%、 H 为 16.67%), 13~17 月龄时没有表现出杂种优势或杂种优势较小, 体长和体宽仅在 17 月龄表现出较小的杂种优势; JPDL 家系 3 个性状仅

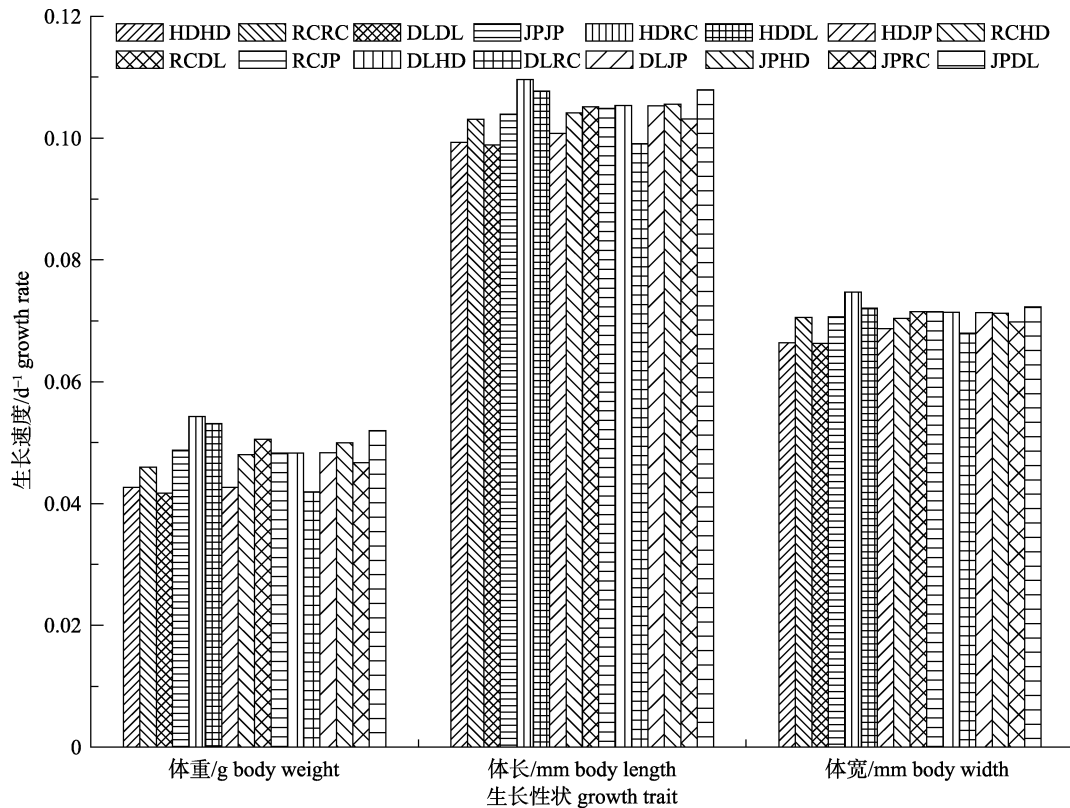


图 1 各家系体重、体长、体宽生长速度比较

Fig. 1 Growth rate of body weight, body length and body width for different families

表 3 各杂交家系不同时期生长性状(体重、体长、体宽)杂种优势的比较分析
 Tab. 3 Heterosis of body weight, body length, body width for different families

家系编号 family number	性状 trait	1 月龄 1 month age		5 月龄 5 month age		13 月龄 13 month age		17 月龄 17 month age		%
		H_T	H	H_T	H	H_T	H	H_T	H	
HDRC	体重 body weight	-3.33	-3.33	23.27	6.04	22.85	18.16	22.48	18.07	
	体长 body length	-0.07	-1.32	6.98	1.40	6.69	5.68	7.71	5.99	
	体宽 body width	0.17	-2.53	5.12	-12.51	5.92	4.83	8.42	5.63	
HDDL	体重 body weight	23.33	23.33	47.76	41.85	25.65	22.43	25.89	24.48	
	体长 body length	-0.25	-3.27	12.69	12.51	6.87	6.55	8.10	8.05	
	体宽 body width	-4.22	-6.79	9.46	8.04	6.65	5.68	7.65	7.52	
HDJP	体重 body weight	-3.70	-13.33	-	-	-9.06	-21.30	-6.62	-12.42	
	体长 body length	-3.20	-4.75	-	-	-3.03	-7.83	-0.92	-2.92	
	体宽 body width	-0.25	-0.25	-	-	-2.14	-6.89	0.02	-2.64	
RCHD	体重 body weight	0.00	0.00	-8.34	-21.15	9.47	5.30	8.32	4.42	
	体长 body length	1.76	0.48	-3.40	-8.44	2.03	1.07	2.77	1.13	
	体宽 body width	1.38	-1.35	-3.92	-9.33	3.95	2.88	2.63	-0.02	
RCDL	体重 body weight	-10.00	-10.00	6.38	-5.16	19.06	17.50	15.38	10.02	
	体长 body length	-3.20	-7.30	3.24	-2.00	5.71	5.03	3.67	1.98	
	体宽 body width	-2.88	-7.97	-1.98	-6.33	5.08	4.96	4.03	1.47	
RCJP	体重 body weight	29.63	16.67	-	-	8.42	-2.83	1.97	-0.52	
	体长 body length	6.70	6.32	-	-	1.32	-2.81	1.63	1.26	
	体宽 body width	3.35	0.56	-	-	3.36	-0.67	1.41	1.18	
DLHD	体重 body weight	6.67	6.67	7.93	3.61	16.93	13.93	14.48	13.20	
	体长 body length	-10.33	-13.05	3.96	3.80	4.82	4.51	5.27	5.23	
	体宽 body width	-9.51	-11.94	4.05	2.70	5.38	4.42	6.29	6.16	
DLRC	体重 body weight	6.67	6.67	-5.04	-15.34	-4.27	-5.53	-4.35	0.54	
	体长 body length	-1.20	-5.36	0.57	-4.53	-0.46	-1.10	-1.87	-3.47	
	体宽 body width	-3.06	-8.14	-1.13	-5.52	-0.89	-1.01	0.88	-3.31	
DLJP	体重 body weight	29.63	16.67	-	-	-4.53	-15.40	6.99	-0.71	
	体长 body length	-3.90	-8.26	-	-	-1.54	-6.14	3.32	1.28	
	体宽 body width	-2.47	-5.09	-	-	-2.28	-6.21	3.66	0.88	
JPHD	体重 body weight	7.41	-3.33	-	-	0.93	-12.59	9.39	2.60	
	体长 body length	1.45	-0.18	-	-	-0.78	-5.69	3.71	1.69	
	体宽 body width	-1.53	-1.54	-	-	0.48	-4.39	3.61	0.71	
JPRC	体重 body weight	18.52	6.67	-	-	-6.55	-16.24	-1.24	-4.02	
	体长 body length	4.80	4.50	-	-	-1.90	-5.90	-0.04	-0.39	
	体宽 body width	-0.38	-3.07	-	-	-1.45	-5.30	-1.09	-1.31	
JPDL	体重 body weight	3.70	-6.67	-	-	2.67	-9.05	14.93	6.66	
	体长 body length	-5.60	-9.90	-	-	1.10	-3.70	5.60	3.60	
	体宽 body width	-6.27	-8.79	-	-	0.09	-3.93	4.76	1.95	

注: H_T 表示总杂种优势率, H 表示超亲杂种优势率。5 月龄时 JPJP 家系仅包含 1 个个体, 无法计算 JP 相关家系的总杂种优势率和超亲杂种优势率。

Note: H_T stands for total heterosis, and H stands for hyperheterosis. Only one individual was identified to JPJP family at the fifth month, so neither H_T nor H of JP related families can be calculated.

在 17 月龄时有较明显的杂种优势。

2.4 各家系存活率与杂种优势的比较

在 13 月龄至 17 月龄期间, JPJP、HDDL、HDJP、RCDL、JPRC 及 RCHD 家系的存活率较高, 分别为 88%、86%、82%、82%、82%及 80%; DLDL、HDRC、JPHD 家系的存活率较低, 分别为 60%、63%、64%(表 4)。杂种优势方面, 杂交家系 HDDL、RCHD、RCDL、DLHD 家系表现出较高的杂种优势, 其总杂种优势率和超亲杂种优势率分别为 26.47%、7.38%、23.31%、16.18%和 13.16%、5.26%、12.33%、3.95%。

表 4 各家系存活率与杂种优势分析
Tab. 4 Survival rate and heterosis of different families

家系编号 family number	个体数量 quantity		存活率/% survival rate	总杂种优 势率/% H_T	超亲杂种 优势率/% H
	13 月龄 13 month age	17 月龄 17 month age			
HDHD	17	13	76	-	-
RCRC	22	16	73	-	-
DLDL	49	29	60	-	-
JPJP	25	22	88	-	-
HDRC	16	10	63	-15.44	-17.11
HDDL	37	32	86	26.47	13.16
HDJP	43	35	82	0	-6.82
RCHD	20	16	80	7.38	5.26
RCDL	83	68	82	23.31	12.33
RCJP	31	23	74	-8.07	-15.91
DLHD	43	34	79	16.18	3.95
DLRC	51	36	70	5.26	-4.11
DLJP	51	37	73	-1.35	-17.05
JPHD	61	39	64	-21.95	-27.27
JPRC	91	75	82	1.86	-6.82
JPDL	87	62	71	-4.05	-19.32

3 讨论

微卫星是指含有少数几个 1~6 碱基对的短串联重复 DNA 序列, 具备高多态性、重复性好、共显性遗传等优点^[17], 已在水产动物遗传结构分析、多样性检测、亲缘关系鉴定以及遗传图谱构建等方面发挥了巨大的作用。本研究为排除环境因素对各家系生长和存活的影响, 采用了家系混养的方式, 选用 8 对多态微卫星标记对 3 个不同

生长时期(1 月龄、5 月龄、13 月龄)的样品进行亲子鉴定, 鉴定成功率高, 分别达到 91.6%、98.1%和 99.2%。研究表明, 分子标记的选择在很大程度上影响着亲子关系鉴定的结果, 用于亲子关系鉴定的微卫星标记数量越大、多态性越高, 则鉴定的成功率和准确率越高^[18-19], 本研究结果说明选用的微卫星标记在数量与多态性方面均是恰当的。

在贝类杂交育种研究中, 种群间的杂交是其中研究较多的^[20-22], 这些研究表明了杂种 F_1 均在存活力、生长性状方面表现出了不同程度的杂种优势。本研究分析比较了皱纹盘鲍 4 个养殖群体间杂交子代的生长、存活情况, 结果显示部分杂交组在生长、生活力上表现出显著的杂种优势, 如 HDDL 家系在 5~17 月龄间, 其体重、体长和体宽的总杂种优势率和超亲杂种优势率介于 5.68%~47.76%; 存活率总杂种优势率和超亲杂种优势率分别达 26.47%和 13.16%。杂交家系 HDRC、HDDL 和 JPDL 生长速度高于自交家系, 说明杂交家系相对于自交家系的生长速度具有杂种优势, 对海湾扇贝(*Argopecten irradians irradians*)^[23]、长牡蛎(*Crassostrea gigas*)^[24]等的杂交研究也表明杂种生长速度高于双亲。

本研究发现, 相同阶段的同一家系在体重、体长和体宽上表现出的杂种优势存在差异, 如 DLJP 家系在 1 月龄时, 其体重表现出明显的杂种优势(H_T 为 29.63%, H 为 16.67%), 而体长、体宽的总杂种优势率和超亲杂种优势率均为负值; 不同阶段的同一家系在相同性状上的杂种优势也存在差异, 如 RCDL 家系, 其体重的总杂种优势率和超亲杂种优势率, 从 1 月龄时的 -10.00%、10.00%增长到 13 月龄的 19.06%、17.50%。这种现象表明, 杂交家系表现的杂种优势具有不平衡和不恒定的特点, 与已有的相关研究一致^[25-26]。

群体间基因频率存在差异是杂种优势产生的基础, 杂种优势的大小取决于杂交群体间基因频率的差异^[27]。本研究中, 不同亲本组合的杂交家系表现出不一样的生长、存活情况, 杂交家系 HDRC 和 HDDL 从 5 月龄到 17 月龄表现为较高的生长杂种优势, HDDL、RCHD、RCDL、DLHD

家系表现出较高的存活杂种优势, 说明黄岛、大连和荣成养殖群体间存在明显的遗传差异。

体征性状、生长速度和存活率, 是对育种具有重要指导意义的生产指标。本研究报道了皱纹盘鲍 4 个养殖群体家系间的杂交效应, 揭示了杂交后代的杂种优势, 发现 HDRC、HDDL 与 DLHD 家系在各生长参数与生长速度上有明显的杂种优势, HDDL、RCDL、DLHD 家系在存活上表现出明显的杂种优势。以上家系为具有优势的交配组合, 可作为生产上种苗来源的参考。

本研究通过对 F₁ 体征性状、生长速度和存活率的研究, 获取了部分优势的交配组合。下一步将以此为基础, 持续进行选育, 以实现优势性状的稳定遗传, 最终培育出生长速度快、存活率高的皱纹盘鲍新品种。

参考文献:

- [1] Li X, Wang B, Liu S F, et al. Studies on pathogeny and histopathology of “crack shell disease” of *Haliotis discus hannii*[J]. Journal of Fisheries of China, 1998, 22(1): 61-66. [李霞, 王斌, 刘淑范, 等. 皱纹盘鲍“裂壳病”的病原及组织病理研究[J]. 水产学报, 1998, 22(1): 61-66.]
- [2] Wang J K, Yan Z L. Current status and development trend on abalone culture[J]. Fisheries Science, 2012, 31(12): 749-753. [王进可, 严正凇. 鲍养殖现状及发展趋势[J]. 水产科学, 2012, 31(12): 749-753.]
- [3] Zhang G F, Liu X, Que H Y, et al. The theory and application of hybridization and heterosis in marine mollusks[J]. Marine Science, 2004, 28(7): 54-60. [张国范, 刘晓, 阙华勇, 等. 贝类杂交及杂种优势理论和技术研究进展[J]. 海洋科学, 2004, 28(7): 54-60.]
- [4] Sun Z X, Chang L R, Song Z L. Effects of hybridization between *Haliotis discus hannai* and *Haliotis discus*[J]. Fisheries Science, 2005, 24(8): 1-3. [孙振兴, 常林瑞, 宋志乐. 皱纹盘鲍与盘鲍杂交效果分析[J]. 水产科学, 2005, 24(8): 1-3.]
- [5] Zhang G F, Wang J H, Zhao H E, et al. The RAPD marker of self-bred and hybrid progeny between Chinese and Japanese populations of *Haliotis discus hannai* INO[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2002, 33(5): 484-491. [张国范, 王继红, 赵洪恩, 等. 皱纹盘鲍中国群体和日本群体的自交与杂交 F₁ 的 RAPD 标记[J]. 海洋与湖沼, 2002, 33(5): 484-491.]
- [6] Cai J P, Chen H, Lin A Q, et al. Extra-cellular enzyme-producing abilities of vibrios and heterotrophic bacteria isolated from hybrid abalone intestines and the abalone culture waters[J]. Fisheries Science, 2008, 27(3): 129-134. [蔡俊鹏, 陈华, 林阿乞, 等. 福建大连 1 号杂交鲍肠道及养殖水体中细菌产酶能力的分析[J]. 水产科学, 2008, 27(3): 129-134.]
- [7] Gao H, Kong J, Yu F, et al. The identification of agnates of *Fenneropenaeus chinensis* naturally copulated with artificial control by using the microsatellite technology[J]. Marine Fisheries Research, 2007, 28(1): 1-5. [高焕, 孔杰, 于飞, 等. 人工控制自然交尾条件下中国对虾父本的微卫星识别[J]. 海洋水产研究, 2007, 28(1): 1-5.]
- [8] Xia J H, Zheng J S, Wang D. Individual identification of the Yangtze finless porpoises *Neophocaena phocaenoides asi-aorientalis* inhabiting the Tian-e-Zhou Natural Reserve based on microsatellite fingerprints[J]. Acta Zoologica Sinica, 2005, 51(1): 142-148. [夏军红, 郑劲松, 王丁. 用微卫星指纹识别天鵝洲保护区长江江豚个体[J]. 动物学报, 2005, 51(1): 142-148.]
- [9] Sun Z N, Liu P, Li J, et al. Applicability of microsatellite DNA markers to the parentage determination of *Fenneropenaeus chinensis*[J]. Marine Fisheries Research, 2007, 28(3): 8-14. [孙昭宁, 刘萍, 李健, 等. 微卫星 DNA 标记用于中国对虾亲子关系的鉴定[J]. 海洋水产研究, 2007, 28(3): 8-14.]
- [10] 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.
- [11] Sekino M, Saido T, Fujita T, et al. Microsatellite DNA markers of Ezo abalone (*Haliotis discus hannai*): a preliminary assessment of natural populations sampled from heavily stocked areas[J]. Aquaculture, 2005, 243(1-4): 33-47.
- [12] Shu J. Molecular population genetics of the Pacific abalone, *Haliotis discus hannai*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2007. [束靖. 皱纹盘鲍分子群体遗传学研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007.]
- [13] Zhang Z. Construction and application of genetic linkage map for Pacific abalone (*Haliotis discus hannai*) based on microsatellite and SNP markers[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2010. [张振. 基于微卫星和 SNP 标记的皱纹盘鲍遗传连锁图谱及其应用[D]. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所), 2010.]
- [14] Nie H T, Li Q, Kong L F. Development of four multiplex PCR panels of microsatellites and application to kinship analysis in the Pacific abalone (*Haliotis discus hannai*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 7(2): 207-215. [聂鸿涛,

- 李琪, 孔令锋. 皱纹盘鲍微卫星多重 PCR 体系构建及其在家系鉴定中的应用[J]. 水产学报, 2013, 37(2): 207-215.]
- [15] Wang H F, Han X L, Duan Y F, et al. Comparison of growth and survival of the hybrid and inbred families of *Portunus trituberculatus*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2014, 35(3): 74-81. [王好锋, 韩晓琳, 段亚飞, 等. 三疣梭子蟹自交与杂交家系子一代生长和存活比较[J]. 渔业科学进展, 2014, 35(3): 74-81.]
- [16] Topal A, Aydın C, Akgün N, et al. Diallel cross analysis in durum wheat (*Triticum durum* Desf.): identification of best parents for some kernel physical features[J]. Field Crops Research, 2004, 87(1): 1-12.
- [17] Schug M D, Wetterstrand K A, Gaudette M S, et al. The distribution and frequency of microsatellite loci in *Drosophila melanogaster*[J]. Molecular Ecology, 1998, 7(1): 57-70.
- [18] Sugaya T, Ikeda M, Mori H, et al. Inheritance mode of microsatellite DNA markers and their use for kinship estimation in kuruma prawn *Penaeus japonicus*[J]. Fisheries Science, 2002, 68(2): 299-305.
- [19] Jerry D R, Preston N P, Crocos P J, et al. Parentage determination of Kuruma shrimp *Penaeus (Marsupenaeus) japonicus* using microsatellite markers (Bate)[J]. Aquaculture, 2004, 235(1-4): 237-247.
- [20] Dong Y H, Lin Z H, Chai X L, et al. Genetic variation analysis on the first generation from matings and crosses of two geographic populations in *Meretrix meretrix*[J]. Journal of Fisheries of China, 2009, 33(4): 557-564. [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.]
- [21] Zhang S D. Selective and cross breeding of bay scallop, *Argopecten irradians irradians* (Lamarck)[D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2013. [张守都. 海湾扇贝的选择和杂交育种[D]. 北京: 中国科学院大学, 2013.]
- [22] Jiang X, Liu J Y, Lai Z F. Growth and survival studies on hybridization between cultured stock and wild stock of *Haliotis diversicolor supertexta*[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2013, 33(1): 22-27. [蒋湘, 刘建勇, 赖志服. 九孔鲍养殖群体与野生群体杂交一代生长比较[J]. 广东海洋大学学报, 2013, 33(1): 22-27.]
- [23] Zheng H P, Zhang G F, Liu X, et al. Comparison of growth and survival between the self-fertilized and hybridized families in *Argopecten irradians irradians*[J]. Journal of Fisheries of China, 2004, 28(3): 267-272. [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): 267-272.]
- [24] Cong R H, Li Q, Ge J L, et al. Comparison of phenotypic of four shell color families of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)[J]. Journal of Fisheries Sciences of China, 2014, 21(3): 494-502. [丛日浩, 李琪, 葛建龙, 等. 长牡蛎 4 种壳色家系子代的表型性状比较[J]. 中国水产科学, 2014, 21(3): 494-502.]
- [25] Yao X M, Huang B, Lai Q M, et al. Comparison of growth and survival of the hybrid and inbred lines in *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Fisheries of China, 2006, 30(6): 791-795. [姚雪梅, 黄勃, 赖秋明, 等. 凡纳滨对虾自交系与杂交系早期生长和存活比较[J]. 水产学报, 2006, 30(6): 791-795.]
- [26] Wu Y P, Chen A H, Zhang Y, et al. Heterosis analysis and diallel cross of red *Meretrix meretrix*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2015, 46(1): 43-49. [吴杨平, 陈爱华, 张雨, 等. 红壳文蛤双列杂交及杂种优势分析[J]. 海洋与湖沼, 2015, 46(1): 43-49.]
- [27] Falconer D S, Mackay T F. Introduction to Quantitative Genetics[M]. 4th ed. Essex: Longman, 1996.

Growth and survival of self-fertilized and hybridized families of *Haliotis discus hannai*

JIANG Hailin^{1,2}, FENG Yanwei¹, LIU Chunting^{1,2}, JIANG Xu¹, LIU Xiangquan¹

1. Shandong Provincial Key Laboratory of Restoration for Marine Ecology, Shandong Marine Resource and Environment Research Institute, Yantai 264006, China;

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

Abstract: *Haliotis discus hannai* (abalone, Gastropoda) is an economically important species. However, the rapid development of industrialized and intensive farming, as well as frequent hybridization and inbreeding, are gradually reducing the genetic diversity and parental effective group of hybrid abalone, thereby reducing abalone growth and quality. An effective way to improve abalone quality is to breed a new fast-growing and disease-resistant variety. Cross breeding, which increases the yield and viability of hybrid offspring *via* heterosis, is a traditional breeding method that plays an important role in improving aquatic animals. In the present study, we constructed four self-fertilized and twelve reciprocal hybrid *H. discus hannai* families from four cultured populations (Huangdao, HD; Rongcheng, RC; Japan, JP; and Dalian, DL) using a 4×4 complete diallel cross. Based on paternity testing, which was performed using eight polymorphic microsatellite markers, the growth traits, heterosis rate, growth rate, and survival of the F₁ families were compared at 1, 5, 13, and 17 months, and the hybridization efficiency was estimated. Some hybrid offspring exhibited significant growth advantages, when compared to self-fertilized families. The HDRC, HDDL, and JPDL families exhibited greater growth rates than those of other families, and the HDDL, HDJP, RCDL, JPRC, and RCHD families exhibited greater survival rates. Furthermore, the HDRC, HDDL, and DLHD families exhibited significant heterosis in growth parameters and growth rate, and the HDDL, RCDL, and DLHD families exhibited significant heterosis in survival. The heterosis of body weight, body length, and body width of the same family in the same stage and heterosis of the same trait of one family in different stages were found different in the present study, which indicates that hybrid families possess unbalanced and unstable heterosis. Differences in the gene frequency of populations are the basis of heterosis. The results of the present study suggest that there are significant genetic differences among the HD, DL, and RC populations. The superior hybrid offspring identified in the present study can be used as a germplasm reference and provide a basis for breeding new varieties of *H. discus hannai*.

Key words: *Haliotis discus hannai*; cultured populations; cross breeding; growth; survival; heterosis

Corresponding author: FENG Yanwei. E-mail: fywzxm1228@163.com