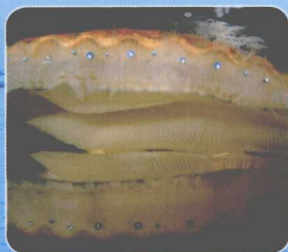


海湾扇贝 养殖遗传学

Aquaculture Genetics in Bay Scallop

张国范 郑怀平 著



科学出版社
www.sciencep.com

海湾扇贝养殖遗传学

Aquaculture Genetics in Bay Scallop

张国范 郑怀平 著

本书献给中国科学院海洋研究所建所六十周年

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书是国内外第一部有关贝类养殖遗传学的著作,也是一部研究贝类遗传理论与育种实践相结合的专著。全书共分 11 章,首先对海产贝类养殖遗传学的研究现状进行了概述。其后,从壳色的表型遗传、基因定位及与数量性状间的关系三个方面系统介绍了海湾扇贝的壳色遗传研究进展;从有效群体大小、选择、杂交、近交四个方面阐述了海湾扇贝数量性状遗传学领域的研究成果;在介绍贝类分子标记研究进展的基础上,从微卫星分子标记开发、遗传连锁图谱构建、生长相关 QTL 定位三个方面对海湾扇贝分子标记辅助育种进行了阐述。本书还介绍了海湾扇贝功能基因开发的研究成果、海湾扇贝家系建立技术和系谱鉴定技术,以及海湾扇贝品种培育的理论和方法。

本书可供从事贝类养殖与遗传育种研究的科技、教学人员及相关专业的本科生、研究生阅读参考。

图书在版编目(CIP)数据

海湾扇贝养殖遗传学/张国范,郑怀平著. —北京:科学出版社,2009

ISBN 978-7-03-025102-2

I. 海… II. ①张…②郑… III. 海湾-扇贝养殖-遗传学-研究
IV. S968.31

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 129660 号

责任编辑:王海光/责任校对:鲁 素

责任印制:钱玉芬/封面设计:耕者设计工作室

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双青印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2009 年 9 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

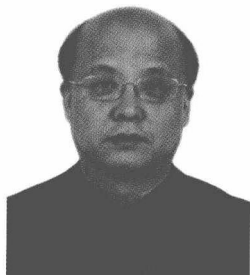
2009 年 9 月第一次印刷 印张:17 插页 8

印数:1—1 000 字数:392 000

定价:75.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

著者简介



张国范

海洋生物学家,博士,研究员,博士研究生导师。现任中国科学院海洋研究所副所长、海洋生物技术中心主任,中国科学院研究生院教授,国家“863”计划现代农业技术领域专家,中国贝类学会理事长,全国水产原种和良种审定委员会委员,中国动物学会常务理事,中国水产学会理事,国家贝类产业技术研发中心主任/首席科学家,国家“973”计划“养殖贝类重要经济性状分子解析与设计育种基础研究”项目首席科学家,山东省“泰山学者”特聘专家。获得国家科技进步二等奖 3 项,省部级科技进步奖 4 项,国家授权发明专利 9 项、国际授权发明专利 2 项。发表论文 130 余篇、其中 SCI 索引论文 40 余篇,出版专著 2 部。



郑怀平

海洋生物学博士,教授,硕士研究生导师。现受聘于汕头大学,从事海洋生物教学与科研工作。中国动物学会会员、中国贝类学会会员。近十年来,一直从事贝类遗传育种研究,承担过多项国家级、省部级课题。目前主持国家“863”计划项目子课题 1 项、中国博士后自然科学基金 1 项、广东省海洋渔业推广专项 1 项。获国家海洋局海洋创新成果奖二等奖 2 项,培育出海湾扇贝新品种 1 个,申请国家发明专利 1 项,发表论文 20 余篇,其中 SCI 收录 6 篇,出版专著 1 部。

序

海湾扇贝原产于美国大西洋近岸水域,是一种经济性状优良的海产贝类,1982年,成功引种到中国,在世界上首次形成了独具特色的海湾扇贝养殖产业,并推动了我国新一次海水养殖浪潮的兴起。

海湾扇贝与其他大多数贝类不同,是一种雌雄同体型动物,行体外受精、体外发育,交配方式多样,可自体受精,也可异体受精,是遗传育种研究的良好材料。系统地开展海湾扇贝养殖遗传学研究,不但对其养殖群体的性状改良和品种培育有重要意义,而且也可有效地提升水产养殖学科的整体学术水平。

张国范研究员及其所带领的团队经过多年的努力,在海湾扇贝的养殖遗传学研究方面取得了显著成绩,在理论和技术上都有创新性贡献。培育出的“中科红”海湾扇贝新品种已在产业上得到应用,产生了良好的经济和社会效益。即将付梓的《海湾扇贝养殖遗传学》专著就是他们辛勤劳动的结晶。

该书是国内外第一部关于贝类养殖遗传学的专著。书中系统地介绍了海湾扇贝壳色遗传、有效群体数、选择与选择反应、杂交与杂种优势、近交与近交衰退、分子标记辅助育种、功能基因的开发等主要研究成果,并详细叙述了其自交建系、杂交建系、谱系鉴定、新品种培育等有关理论与方法。

该专著的出版,不仅可以推动海湾扇贝养殖遗传学理论和品种培育技术的发展,同时,也可对其他贝类的养殖遗传学研究和品种培育提供借鉴。希望以此书出版为契机,触发我国更多的年轻一代学者从事海水动物养殖遗传学研究热忱,推动我国海水养殖业的健康可持续发展。

本书第一著者张国范研究员,自20世纪80年代初就开始致力于海产贝类养殖遗传学研究,成果良多。欣悉《海湾扇贝养殖遗传学》专著出版,愿乐之作序。

張福綏

中国工程院院士

2009年春

前 言

海湾扇贝是一种优良的海水养殖贝类,20 世纪 80 年代初引种到中国后,在世界上首次形成了海湾扇贝养殖产业。海湾扇贝引种养殖也被誉为是一项最令人兴奋、最成功而又具有历史意义的引种工程。然而,随着海湾扇贝全人工养殖世代的增加,在养殖生产中出现了一些影响产业发展的问题,如“面盘解体症”、“外套膜收缩症”、生长速度减缓、商品贝肉柱得率变低等。虽然通过改进养殖技术和引进新种质能使上述问题得到一定程度的缓解,但性状优良的新品种则可能更有效地解决这些问题。

1993 年笔者首先开展了海湾扇贝自交系的研究,证明自体精卵可以受精,并从 1998 年起以育种体系建设为重点,以品种培育为目标,采用传统与现代相结合的技术路线,在国内外率先开展了海湾扇贝遗传育种理论和技术的系统研究。一份耕耘,一份收获。2007 年,“中科红”海湾扇贝通过了全国水产原种和良种审定委员会的新品种审定;2008 年,“海湾扇贝养殖遗传学与品种培育技术”荣获国家海洋局海洋创新成果奖;2009 年,《海湾扇贝养殖遗传学》一书出版。

本书是一部研究遗传理论与育种实践相结合的专著,也是我们十余年在海湾扇贝养殖遗传学领域研究部分成果的总结。全书共 11 章,既有基本原理,又有关键技术,并有详细的操作工艺。第一章概述了海产贝类养殖遗传学领域的研究现状以及海湾扇贝在该领域的研究进展;第二章详细介绍了海湾扇贝壳色遗传、壳色基因定位以及壳色与数量性状之间的关系;第三章至第六章从有效群体大小对子代的影响、选择与选择反应、杂交与杂种优势、近交与近交衰退等方面阐述了海湾扇贝数量性状遗传学领域的研究成果;第七章在介绍贝类分子标记研究进展的基础上,从分子标记开发、遗传连锁图谱构建、生长相关 QTL 定位等方面对海湾扇贝分子标记辅助育种进行了阐述;第八章介绍了海湾扇贝功能基因研究的成果;第九章和第十章详细介绍了海湾扇贝自交建系和杂交建系技术以及谱系鉴定技术;第十一章重点介绍了“中科红”海湾扇贝新品种培育的理论和方法。

作为国内外第一部系统介绍贝类养殖遗传学的专著,相信本书将对从事贝类遗传育种研究的工作者有所裨益。然而,当今科技发展日新月异,新理论和新方法不断涌现,加之笔者对相关领域的理论与技术方法的理解和认识的局限性,不足和疏漏之处在所难免,恳请各位专家和同仁批评指正。

张福绥院士是我国海湾扇贝研究的奠基者,作为中国科学院海洋研究所海湾扇贝引种养殖项目的负责人,他成功地把海湾扇贝引种到我国,首次建立了一整套海湾扇贝养殖理论和技术体系,形成了国际上独一无二的新产业,推动了新一轮海水养殖浪潮的兴起和发展。他务实创新,辛勤耕耘,为我等后学所敬仰;他为人师表,治学严谨,为我等晚辈之楷模。本专著亦是他近 30 年来海湾扇贝研究的延展和继续。值此《海湾扇贝养殖遗传学》一书即将面世之际,作为他的弟子,我在此对先生长期以来对本人的帮助和教诲、对海湾扇贝养殖遗传学研究的关心和指导及对本专著出版的鼓励和支持表示衷心的感谢,并祈先生健康长寿!

在海湾扇贝养殖遗传学研究过程中,刘晓研究员、郭希明教授、阙华勇博士对研究工作作出了重要贡献;张海滨博士、秦艳杰博士、包永波博士、李莉博士、许飞博士、李宏俊博士参加了相关章节的撰写;张树荣先生对本书初稿进行了校对;相建海研究员、王清印研究员、郭希明教授、包振民教授、柯才焕教授、喻子牛研究员、宋林生研究员、张全启教授、孔杰研究员、李琪教授等对书稿进行了审阅并提出宝贵的建议,在此对各位专家的支持表示感谢。

本专著的出版得到国家自然科学基金(30671622、30800842)、农业行业专项(ny-hyzz07-047)、现代农业产业体系(nycytx-47)和国家“973”计划项目“养殖贝类重要经济性状的分子解析与设计育种基础研究”(2010CB126400)的资助。

张国范
2009年春节

目 录

序

前言

第一章 概述	1
第一节 水产养殖遗传学的概念	1
第二节 水产养殖遗传学的研究历史	1
第三节 海产贝类养殖遗传学的研究现状	2
第四节 海湾扇贝养殖遗传学的研究进展	4
主要参考文献	8
第二章 海湾扇贝的壳色遗传	13
第一节 壳色的表型遗传	14
第二节 壳色的基因定位	22
第三节 壳色与数量性状之间的关系	27
主要参考文献	33
第三章 海湾扇贝有效群体大小对子代的影响	36
第一节 有效群体大小对 F_1 生长和存活的影响	36
第二节 有效群体大小对 F_2 生长和存活的影响	40
第三节 有效群体大小对子代遗传结构的影响	46
主要参考文献	50
第四章 海湾扇贝选择与选择反应	52
第一节 育种基础群体与选择反应	52
第二节 不同遗传背景养殖群体的一代选择	57
第三节 养殖群体的连续选择	63
第四节 自交家系内的歧化选择	68
主要参考文献	73
第五章 海湾扇贝杂交与杂种优势	76
第一节 两个不同养殖群体间的杂交及其杂种优势	79
第二节 加拿大群体和墨西哥湾群体杂交及其杂种优势	84
第三节 不同亚种间杂交及杂种优势	90
主要参考文献	99
第六章 海湾扇贝近交与近交衰退	103
第一节 两个不同养殖群体近交衰退的比较	104
第二节 两个不同自交系近交衰退的比较	110
第三节 亲本交配方式对其子代适合度的影响	117

主要参考文献·····	123
第七章 海湾扇贝分子标记辅助育种·····	125
第一节 贝类的分子标记·····	125
第二节 微卫星 DNA 标记的筛选·····	135
第三节 遗传连锁图谱的构建·····	141
第四节 生长相关 QTL 的定位·····	151
主要参考文献·····	160
第八章 海湾扇贝功能基因的研究·····	167
第一节 贝类的功能基因·····	167
第二节 MnSOD 基因克隆、3D 模型和 mRNA 表达·····	172
第三节 胞外 CuZnSOD 基因克隆、结构特征和表达·····	181
第四节 胞内 CuZnSOD 的基因结构、mRNA 和重组蛋白·····	191
主要参考文献·····	205
第九章 海湾扇贝自交建系技术·····	210
第一节 自交家系的建立和自交效应·····	210
第二节 不同壳色自交家系的建立及生长发育比较·····	215
第三节 橙壳色家系的建立及生长表现·····	219
主要参考文献·····	224
第十章 海湾扇贝杂交建系技术·····	225
第一节 杂交家系的建立·····	225
第二节 正反交两个家系的形态学比较分析·····	230
第三节 个体间杂交的分子生物学验证·····	234
第四节 杂交子代的微卫星鉴定·····	240
主要参考文献·····	244
第十一章 海湾扇贝品种培育·····	247
第一节 “中科红”海湾扇贝的培育·····	247
第二节 “中科红”海湾扇贝性腺发育周期与积温的关系·····	252
第三节 “中科红”与普通海湾扇贝不同温度下早期性状的比较·····	256
主要参考文献·····	263

第一章 概 述

第一节 水产养殖遗传学的概念

水产养殖遗传学 (aquaculture genetics) 涵盖水产养殖生物的遗传学和育种学两部分内容, 指以养殖的水产生物为对象, 研究其遗传与变异的规律, 并应用各种遗传学方法, 改造其遗传结构, 以实现养殖水产生物的遗传改良并培育出高产优质的新品种, 从而提高水产养殖产量和品质的科学。

水产养殖遗传学与许多学科都有紧密联系, 可涉及细胞遗传学、群体遗传学、数量遗传学、分子遗传学、育种学、水产养殖学、生物统计学及近年兴起的组学等多门学科, 研究内容包括野生种驯化与品种培育、质量性状遗传、数量性状遗传、细胞遗传、分子遗传、遗传参数评估、选择反应与选择育种、杂种优势与杂交育种、近交衰退与近交系培育、性别与倍性控制、遗传连锁图谱与数量性状位点 (QTL) 定位、功能基因与转基因、基因型与环境互作、基因组与分子育种等诸多方面。

第二节 水产养殖遗传学的研究历史

水产生物养殖历史悠久。公元前 496~448 年, 范蠡在浙江开始池塘养鲤, 后人以此总结出《范蠡养鱼经》(郭鄂等, 2004), 而约同时期的罗马人也开始了池塘养鱼并知道如何进行繁殖 (Dunham *et al.*, 2000); 我国汉朝就已开始牡蛎养殖, 距今已有 2000 多年历史 (张玺等, 1961); 宋朝时福建已开始人工繁殖海萝 (刘焕亮等, 2008)。伴随着水产养殖活动的发展, 人类也开始进行水产养殖生物的遗传育种研究。当然, 这种研究活动开始时是无意识的。人们只是因为对野生鲫鱼中的某些在体色、体形及鱼鳍等方面的变异感兴趣, 就选择它们作为亲本从而培育出各种颜色的金鱼。实际上, 这时候选择育种就诞生了! 随着养殖技术的发展, 人工选择培育新品种也逐渐理论化。明代张谦德阐述金鱼的专著《朱砂鱼谱》强调了人工选择新品种的重要性。指出养鱼如同国家选用人才, 供选择的数目要大, 选择要严格, “取数千头分数十缸饲养, 逐日去其不佳者, 百存一二”。正是经过严格的人工选育, 明朝时就培育出纯红、纯白、黑眼、梅花片、波浪纹、七星纹、金管、银管等几十种颜色各异的金鱼, 只不过没有加以明确的品种定义。

到 19 世纪初, 日本人利用选择方法培育出奇特的锦鲤新品种, 定向育种才真正成为一种有目的的育种活动。20 世纪初, 随着人们对育种和遗传理论认识的深入, 鱼类遗传学研究越发盛行, 60 年代开始了有计划的水产养殖动物遗传改良, 80 年代出现了基于分子知识的水产养殖动物遗传改良研究 (Dunham *et al.*, 2000)。目前, 分子育种已成为水产养殖遗传学研究的热点。

随着水产养殖业的发展, 水产养殖遗传学的研究也越来越受到重视。国际水产养殖

遗传学协会 (International Association for Genetics in Aquaculture, IAGA) 于 1985 年在美国加利福尼亚的戴维斯 (Davis) 召开的第二届 IAGA 大会期间正式成立, 其第一届会议于 1982 年在爱尔兰的 Galway 举行, IAGA 第四届学术研讨会于 1991 年在中国武汉召开, 2007 年在法国的 Montpellier 举办了第九届学术研讨会。IAGA 是专门关注提高水产养殖动物遗传改良新知识、新技术的组织, 每届学术研讨会都在 *Aquaculture* 杂志出版专刊 *Genetics in Aquaculture*, 对水产养殖遗传学的发展起到了重要的推动作用。近年来, 我国学者也编撰了一些水产养殖生物遗传育种方面的专著, 如《水产生物遗传育种学》(吴仲庆主编)、《鱼类育种学》(楼允东主编) 等, 它们在我国的水产养殖生物遗传育种研究中发挥了重要作用。

第三节 海产贝类养殖遗传学的研究现状

一、选择与选择反应

数量性状选择技术应用于养殖贝类的历史较短, 最早的报道是 20 世纪 60 年代初关于硬壳蛤生长的选择 (Chanley, 1961), 但对养殖贝类选择研究的兴起却始于 70 年代末。研究的种类几乎全部是牡蛎 (Haskin *et al.*, 1978; Newkirk, 1980; Sheridan, 1997; Nell *et al.*, 1999)、扇贝 (Heffernan *et al.*, 1991, 1992; Ibarra *et al.*, 1999; Zheng *et al.*, 2004, 2006b)、珠母贝 (Wada, 1986; 王爱民等, 2004; 邓岳文等, 2008)、硬壳蛤 (Hadley *et al.*, 1991) 等双壳贝类。由于养殖贝类几乎全部来自野生种群, 具有较高的遗传变异, 因此, 贝类选择绝大多数都取得了令人满意的选择反应。特别是对牡蛎的选择, 全部获得了正的选择反应 (Sheridan, 1997), 如欧洲牡蛎 *Ostrea edulis* 的生长选择, 一代就能够获得 10%~20% 的改良 (Newkirk, 1980), 美洲牡蛎 *Crassostrea virginica* 通过连续四代的抗单孢子虫病 (MSX) 选择, 抗病能力比野生群体提高了 8~9 倍 (Haskin *et al.*, 1978), 悉尼岩牡蛎 *Saccostrea commercialis* 选择二代的平均反应为 17.8% (Nell *et al.*, 1999)。因此, 选择育种在贝类虽然起步较晚, 但发展却很快。通过人工选育, 国外已成功地建立了美洲牡蛎的抗单孢子虫病 (MSX)、派金虫病 (Dermo) 新品系, 国内也成功培育出“中科红”海湾扇贝和“蓬莱红”栉孔扇贝两个新品种。目前, 选择育种已发展成为养殖贝类遗传改良的一条有效途径。

二、杂交与杂种优势

贝类养殖遗传学的研究最早源自于牡蛎的种间杂交, 自 20 世纪 20 年代以来, 几乎每个年代都有牡蛎杂交的文献出现, 其中以巨蛎属 *Crassostrea* 的种间杂交最多, 但绝大多数杂交不能产生可存活的子代 (Gaffney *et al.*, 1993)。1985 年王子臣和张国范等开展了鲍科贝类种间杂交研究 (张国范, 1987), 结果表明中国皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai*) 分别与美国红鲍 (*H. rufescens*) 和绿鲍 (*H. fulgens*) 进行杂交, 可受精、生长和发育, 但受精率、成活率低。虽然有些报道认为种间杂交能够产生正常的子代, 但由于没有对杂交子代进行遗传鉴定, 其杂交的可靠性仍受到质疑 (Gaffney *et*

al., 1993)。贝类的属间杂交以及大多数种间杂交, 由于亲缘关系相距较远, 经常会出现杂交不亲和、幼体不成活、杂种 F_1 不育、育性差和“疯狂”分离等现象(张国范等, 2004), 难以在生产中实际应用。

由于双壳类和腹足类等经济贝类大多行底栖性生活, 其自然分布除与温度、盐度和食物等因素有关外, 还非常依赖底质环境, 使其在自然分布区内亦呈非连续分布, 再加上较为稳定的洋流或海流的作用, 使某些具共同祖先(物种)的贝类, 或同一贝类物种的不同地理群体(种群)间分化趋势明显(张国范, 1992), 而且随着时间的推移, 这些渐行渐远的群体(种群)终会形成新的亚种或物种。在这个分化过程中, 群体(种群)间各自会积累大量的与适度等有关的变异, 而地理空间距离越远或被海流、地质构造隔离时间越久的群体间, 其遗传距离估测值就可能越大。这种同一物种内不同地理群体(种群)间的个体或群体水平的交配, 即为“同源远交”。同源远交子代的数量性状表型均值可能得到积极改变(张国范等, 2002, 2004, 2006), 即为“同源远交优势”。同源远交既可获得如同一些生物远缘杂交的杂种优势, 同时也可较好地解决贝类远缘杂交配子间亲合性差、发育障碍和育性差等问题, 使杂种优势得到更广泛的利用。由于同源远交优势的遗传机制与杂种优势可能大多是相同的, 故把同源远交优势归为杂种优势的一个特殊类型。本书中将不同地理群体(种群)的交配所产生的性状表型值的改变, 还是习惯性地称之为杂种优势。同源远交优势已在许多贝类得到证实。

自 20 世纪 80 年代以来, 养殖贝类同源远交的研究逐渐增多, 并且大多数都能够获得显著的杂种优势。在牡蛎(Mallet *et al.*, 1983; Hedgecock *et al.*, 1995, 1996, 2007)、硬壳蛤(Manzi *et al.*, 1991)、扇贝(Cruz *et al.*, 1997; 常亚青等, 2002, 2006; 刘小林等, 2003, 2005; 郑怀平等, 2004; Zheng *et al.*, 2006a; Zhang *et al.*, 2007)、珠母贝(王爱民等, 2004; 邓岳文等, 2008)以及鲍(张国范等, 2002)等种类上都得到了很好的验证。皱纹盘鲍的中国大连群体和日本岩手群体杂交, 杂种 F_1 壳长的杂种优势率为 17.98%, 壳宽为 22.07%, 体重为 61.93%, 而存活率的杂种优势率可达到 180% (张国范等, 2004)。基于该杂交组合培育的“大连 1 号”杂交鲍新品种已成功应用于养殖业。

由于同源远交可操作性强、易推广, 对产业的直接利用价值大于远缘杂交, 已成为养殖贝类杂种优势利用的主要途径之一。

三、近交与近交衰退

自 20 世纪 70 年代以来, 近交对养殖贝类的影响逐渐受到重视。尽管利用雌雄异体的贝类研究近交衰退经常会获得不一致的结果, 但利用雌雄同体的贝类建立自交家系研究近交衰退的结果都是一致的, 即自交子代的存活率和生长速度都显著地下降, 表现出严重的近交衰退(Beaumont *et al.* 1983; Beaumont, 1986; Ibarra *et al.*, 1995; Stiles *et al.*, 1995; 张国范等, 2003; 张海滨, 2005; 郑怀平, 2005; Zheng *et al.*, 2008)。由于养殖贝类多来自野生型群体, 累代人工繁育和养殖易导致经济性状的近交衰退, 如何避免近交也是当今海产贝类遗传育种领域关注的热点问题之一。

四、分子标记与分子标记辅助育种

DNA 分子标记自 20 世纪 80 年代出现以来备受关注,目前已经广泛应用于生物遗传多样性和亲缘关系分析、品种鉴定、遗传图谱构建、QTL 定位、标记辅助选择育种等研究。利用各种分子标记研究养殖贝类遗传多样性的报道涉及贻贝、扇贝、珠母贝、牡蛎、蛤类、蚶类、鲍等众多种类。海洋贝类遗传连锁图谱的研究起步较晚,但发展速度很快,目前已经构建了包括美洲牡蛎 (Yu *et al.* 2003; Guo *et al.*, 2004)、长牡蛎 *C. gigas* (Hedgecock, 2002; Li *et al.*, 2004; Hubert *et al.*, 2004)、欧洲牡蛎 (Lallias *et al.*, 2007)、栉孔扇贝 *Chlamys farreri* (Wang *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2005)、海湾扇贝 (Wang *et al.*, 2007; Qin *et al.*, 2007a, 2007b)、皱纹盘鲍 *Haliotis discus hannai* (Liu *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2007; Sekino *et al.*, 2007a)、黑唇鲍 *H. rubra* (Baranski *et al.*, 2006) 等一系列图谱。针对海湾扇贝雌雄同体的繁殖特性,分子标记已经成功应用于其杂交子代的鉴定 (孙博等, 2003; 秦艳杰等, 2007a)。分子标记辅助选择 (MAS) 育种是现代分子生物学技术与传统遗传育种方法的结合点,借助分子标记可以对育种材料从 DNA 水平上进行选择,从而达到对目标生物产量、品质和抗性等综合性状的高效改良。但海洋贝类这方面的研究还刚刚起步,仅开始应用于牡蛎 (Hedgecock *et al.*, 2002; Guo *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2005; Yu *et al.*, 2006; Sokolova *et al.*, 2006)、扇贝 (Qin *et al.*, 2007a, 2007b)、鲍 (Liu *et al.*, 2007) 等少数种类。随着分子生物学技术的发展以及贝类遗传连锁图谱标记密度的不断增加,特别是功能性标记的不断增多,将有越来越多的重要经济性状 QTL 被精确定位并应用于分子标记辅助选育,这将大大提高目标性状选择的准确性,从而有效地加快选择育种的进程。

五、基因克隆与功能基因

与哺乳动物相比,养殖贝类功能基因开发和应用十分薄弱,研究主要集中于一系列免疫分子及其抗病机理方面。尽管研究功能基因的方法很多,但采取大规模 EST 测序技术结合 cDNA 末端快速扩增技术,直接从 cDNA 文库中分离、克隆仍是目前获得贝类功能基因的主要方法。到 2008 年 12 月 19 日为止,贝类中已经获得 cDNA 全长的有 38 549 个基因,其中腹足纲最多,其次是双壳纲,主要原因是大多数的经济种类都属于这两个纲。此外,基因芯片、荧光定量 PCR、体外表达蛋白、基因文库、生物信息学等技术也已开始应用于鲍 (赵敏, 2005; Cheng *et al.*, 2006)、牡蛎 (Badariotti *et al.*, 2006)、扇贝 (Zhao *et al.*, 2007a, 2007b; Bao *et al.*, 2008, 2009) 等贝类的功能基因研究。

第四节 海湾扇贝养殖遗传学的研究进展

一、海湾扇贝的亚种与地理分布

海湾扇贝 *Argopecten irradians* Lamarck 隶属于软体动物门 (Mollusca)、双壳纲 (Bivalvia)、珍珠贝目 (Pterioidea)、扇贝科 (Pecten)、海湾扇贝属 (*Argopecten*),有

A. i. irradians (Lamarck)、*A. i. concentricus* (Say)、*A. i. amplicostatus* (Dall) 和 *A. i. taylorae* (Petuch, 1987) 4 个地理亚种, 均为优良养殖贝类 (Wilbur *et al.*, 1997), 其中北方亚种 *A. i. irradians* 和南方亚种 *A. i. concentricus* 是主要的养殖对象。这四个亚种不连续地分布于美国的东海岸和墨西哥湾沿岸 (图 1.1)。*A. i. irradians* 在马萨诸塞 (Massachusetts) 的科德角 (Cape Cod) 北岸到新泽西 (New Jersey) 都有分布 (Clarke, 1965), 在特拉华 (Delaware) 和马里兰 (Maryland) 偶有发现 (Wilbur *et al.*, 1997); *A. i. concentricus* 分布在新泽西到南卡罗来纳 (South Carolina) 以及佛罗里达 (Florida) 西岸到得克萨斯 (Texas) 东部 (Clarke, 1965); *A. i. amplicostatus* 沿着墨西哥湾的西岸分布; *A. i. taylorae* 仅局限在佛罗里达湾和佛罗里达暗礁的中上部 (Petuch, 1987)。其中, *A. i. irradians* 在其分布区的南部与 *A. i. concentricus* 在其分布区的北部有重叠 (Clarke, 1965; Wilbur *et al.*, 1997)。

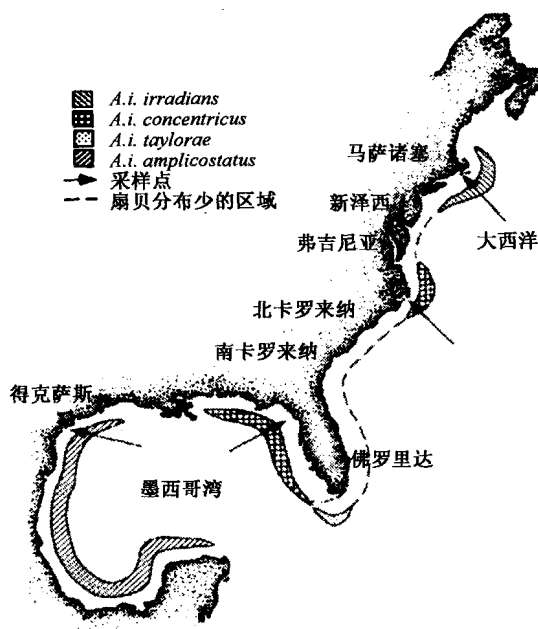


图 1.1 海湾扇贝四个亚种的自然分布 (引自 Wilbur *et al.*, 1997)

二、海湾扇贝的生活习性和繁殖特性

在自然海区, 海湾扇贝生活于水面以下 3~10m 的海底, 泥沙底质, 常与大叶藻场相关联。海湾扇贝生存温度 0~34℃, 适盐为 20~34, 对盐度的变化比较敏感, 很少分布在盐度 20 以下的海区 (Gutsell, 1930), 以浮游植物、底栖硅藻和有机碎屑等为食。

海湾扇贝寿命通常为 18~30 个月, 少数可达 32 个月。在受精卵形成并正常生长发育 3~5 个月后, 子代又可达性成熟并进行新一次繁殖, 但具体的繁殖时间与其栖息地的环境以及地理纬度有关。*A. i. irradians* 在一年中水温较高的季节产卵, 从 5~9 月份都有产卵的报道。引种到我国后, 在人工条件下, 性腺可周年成熟; 在自然海区, 7

~11 月份发现有性成熟个体。性腺发育生物学零度为 7.8°C ，产卵的有效积温为 144.5°C （周玮等，1999）。春季繁殖的个体当年秋季可达 5cm 以上，较大个体可达 7cm。生物学最小型为 2.2cm。海湾扇贝为雌雄同体，成熟的卵巢为橘红色，精巢为乳白色（彩图 1.2）。海湾扇贝行体外受精，繁殖力强，可自体受精，也可异体受精。

三、中国对海湾扇贝的引种与养殖

海湾扇贝引种到中国是一项最令人兴奋、最成功且具历史意义的贝类引种工程（Chew, 1990）。20 世纪 80 年代初，海湾扇贝北方亚种 *A. i. irradians* 首次成功引种到中国，在实验室经人工培育，1983 年 1 月用 26 个亲贝培育出 F_1 ，并试养成功（张福绥等，1986）。由于育苗和养成技术的成功和广泛推广，海湾扇贝养殖很快就成为我国北方海区养殖的支柱产业之一（张福绥，1993），并在世界上首次形成了海湾扇贝养殖业（张福绥，1992），1990 年的养殖产量已达 20 万 t（张福绥等，1992），现年产量已达 50 万 t 以上，为我国沿海经济的发展作出了巨大贡献。

由于养殖业发展的需要，自 20 世纪 90 年代以来，海湾扇贝北方亚种 *A. i. irradians* 和南方亚种 *A. i. concentricus* 的不同地理群体新的种质又多次引种到中国，形成了遗传背景不同的养殖群体。

北方亚种引入的新种质主要有：①1991 年 12 月经美国华盛顿大学从加拿大引种到辽宁大连。1992 年培育出 F_1 ，1993 年在山东青岛用 42 个亲贝通过大群繁育培育出 F_2 ，1994 年在山东全省推广养殖（张福绥等，1997）；②1998 年 12 月和 1999 年 2 月，从美国的马萨诸塞和弗吉尼亚两地将 401 个野生贝引种到河北秦皇岛，1999 年培育出 F_1 （李云福等，2000），2001 年在黄渤海养殖区全面推广养殖，成为近年来北方海区的主要养殖群体；③2002 年 2 月从加拿大引种到山东青岛（刘晓等，2006），当年培育出 F_1 ，但未能形成养殖群体。加拿大的海湾扇贝源自美国的海湾扇贝北方亚种，是 20 世纪 80 年代初从美国马萨诸塞引种到加拿大的。

南方亚种引种到中国的种质主要有：①1991 年 12 月从美国南佛罗里达引种稚贝 222 粒（墨西哥湾扇贝的南方种群），1992 年夏季养成至性腺成熟，在山东青岛培育出 F_1 稚贝，并先后在广西、海南、广东等地进行养成驯化和育苗等实验，均取得较好的结果，1993 年在广西、福建培育出 F_2 ，在南海北部湾及海南岛进入产业化养殖阶段，较好地解决了中国南方海域养殖海湾扇贝的需求（张福绥等，1994），目前，该群体仍是南方海域的主要养殖群体；②1995 年 12 月从美国北卡罗来纳引种一批亲贝（墨西哥湾扇贝的北方种群），其后代经 1996 年与 1997 年连续两个冬季低温期的海区养殖驯化，越冬成功，1998 年在山东各海区试养，并于同年在东海南麂岛试养，生长良好（张福绥等，2000）。

除了 2002 年引种的海湾扇贝一直没有形成养殖群体外，其他的几次引种都在中国形成了不同的养殖群体，已拓展到我国渤海、黄海、东海和南海各海区（张福绥等，2000）。

海湾扇贝引种到中国养殖已有近 30 年历史，已发现秋季在北方自然海区可达性成熟，并完成受精、发育及附着变态过程。在山东莱州实施海区采苗，当年年底壳高可达

2~3cm (李国江等, 1995), 并可在当地虾池越冬养殖到翌年4月底。养殖生产过程中, 个体逃逸、被遗弃及在海区产卵受精是难以避免的。但到目前为止, 在自然海区仍未发现海湾扇贝野生化群体的存在, 其原因可能与海区捕食性敌害生物有关(张福绥等, 2000), 但是否还有其他原因也很值得研究。海湾扇贝是否能在我国形成野生化群体——“中国海湾扇贝”已成为国际同行关注的重要科学问题。

四、海湾扇贝在水产养殖遗传学上的意义

海湾扇贝是雌雄同体的动物, 除了具有雌雄同体动物所具有的共性外, 还有其自身的特性:

1) 体外受精, 便于人工生殖操作。人工诱导可分别获得精、卵, 可通过自体受精建立自交系, 两个个体间异体受精建立杂交系以及多个个体间混合受精(包括自体受精和异体受精)建立混交系, 从而建立起不同的遗传和育种材料体系。相对于自交系而言, 通常将异体受精产生的家系称为杂交系。此外, 为了研究叙述的方便, 本书将亲缘关系较近的同胞、半同胞等个体间异体受精产生的家系称为近交系。

2) 怀卵量大, 繁殖季节能多次产卵。通过人工促熟可分批多次获得成熟精卵, 每个亲贝每次产卵多达百万粒, 可为研究提供充足的实验材料。

3) 生长快、繁殖周期短。海湾扇贝在我国北方(山东、河北)通常每年3月前后进行人工育苗, 于当年9~10月达性成熟, 年底前收获。翌年可进行下一世代的繁殖。但也有很大部分的个体, 特别是一些早苗和大苗, 经过三个多月的养殖, 于当年6~7月前后就可达性成熟, 并可在自然海区多次排放精卵。海区自然繁殖的稚贝在8月上中旬规格可达2~3mm, 该批稚贝年底又可达性成熟。由此可见, 在人工养殖条件下, 海湾扇贝每年至少可以繁殖1个世代, 甚至有可能繁殖2个世代, 这样可明显加快养殖遗传学和品种培育进程。

因此, 海湾扇贝在遗传和进化的理论以及育种实践上有重要的意义:

1) 通过自交、杂交和混交等建立不同的系群可研究杂种优势的遗传机理, 再结合近交衰退研究, 则能够更清楚地了解基因的作用机制。

2) 通过连续多代的自交, 可研究雌雄同体型动物的近交衰退机理以及交配方式演化趋势。

3) 自交家系可使基因得到更快的纯化和固定, 通过选择, 使有利的性状被固定下来, 从而加快育种进程。

可以说, 海湾扇贝是贝类养殖遗传学及相关理论研究较为理想的实验材料。

五、海湾扇贝养殖遗传学的研究进展

养殖的海湾扇贝主要是北方亚种 *A. i. irradians* 和南方亚种 *A. i. concentricus*, 其遗传学研究也多集中于这两个亚种。

第一篇关于海湾扇贝遗传学的报道是北方亚种壳色遗传的研究(Kraeuter *et al.*, 1984), 20世纪90年代前的研究主要集中于这方面(Elek, 1985; Adamkewicz *et al.*, 1988; Elek *et al.*, 1990)。进入90年代后, 出现了数量遗传和群体遗传方面的研究。

2000年以前的研究工作几乎全部是国外学者所为,主要是对南方亚种的连续选择 (Heffernan *et al.*, 1991, 1992)、北方亚种的自体受精和近交衰退 (Choromanski *et al.*, 1995; Stiles *et al.*, 1995) 以及群体遗传多样性分析 (Bricelj *et al.*, 1992; Krause, 1995; Blake *et al.*, 1997) 等。2000年以后,海湾扇贝养殖遗传学的研究工作多为中国学者所为,且集中于北方亚种,研究内容比较深入,研究范围也比较广泛,包括自交系和杂交系建立技术 (张国范等, 2003; 郑怀平等, 2003, 2004; 秦艳杰等, 2007b) 以及杂交子代分子鉴定技术 (孙博等, 2006; 秦艳杰等, 2007a)、养殖群体遗传结构与分化 (张雯等, 2005; 刘晓等, 2006)、壳色遗传 (郑怀平, 2005)、壳色与数量性状之间的关系 (Zheng *et al.*, 2005; 郑怀平等, 2008)、有效群体大小对子代表型和遗传结构的影响 (张海滨等, 2005; Zhang *et al.*, 2005; Qin *et al.*, 2007c)、选择与遗传获得 (Zheng *et al.*, 2004, 2006a; Zhang *et al.*, 2006)、杂交与杂种优势 (Zheng *et al.*, 2006b; Zhang *et al.*, 2007; 郑怀平, 2007)、近交与近交衰退 (郑怀平, 2005; 张海滨, 2005; Zheng *et al.*, 2008)、分子标记开发 (Roberts *et al.*, 2005; Zhan *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2007)、分子遗传连锁图谱的构建和 QTL 定位 (Qin *et al.*, 2007a, 2007b) 以及功能基因克隆 (Song *et al.*, 2006; Zhu *et al.*, 2006; Bao *et al.*, 2008, 2009a, 2009b; Zhao *et al.*, 2007b) 等诸多方面。此外,根据壳色-生长性状的协同选择原理,在纯化壳色的基础上,通过对系群内个体的大小、体重等数量性状的定向选择,培育出了“中科红”海湾扇贝新品种。

随着研究的深入和手段的更新,水产养殖遗传学的研究必将有新的突破,新理论、新技术、新品种将不断涌现,并促进水产养殖学科的整体水平提高和产业的健康可持续发展。

主要参考文献

- 常亚青, 刘小林, 相建海等. 2002. 栉孔扇贝中国种群与日本种群杂交一代的早期生长发育. 水产学报, 26 (5): 385~390.
- 常亚青, 刘小林, 相建海等. 2006. 栉孔扇贝不同种群杂交效果 III. 中国种群与俄罗斯种群及其杂种 1~2 龄的生长发育. 海洋学报, 28 (2): 114~120.
- 邓岳文, 符韶, 杜晓东等. 2008. 马氏珠母贝选系 F₂ 早期选择反应和现实遗传力估计. 广东海洋大学学报, 28 (4): 26~29.
- 郭鄂, 钱燕文, 马建章. 2004. 中国动物学发展史. 哈尔滨: 东北林业大学出版社.
- 李国江, 李学祥, 周经济等. 1995. 海湾扇贝秋季半人工采苗试验. 齐鲁渔业, 12 (6): 28~30.
- 李云福, 刘路伟, 邢光敏等. 2000. 美国海湾扇贝引种制种及选育技术报告. 河北渔业, 2: 29~32.
- 刘焕亮, 黄樟翰. 2008. 中国水产养殖学. 北京: 科学出版社.
- 刘小林, 常亚青, 李富花等. 2005. 栉孔扇贝不同种群杂交效果的研究: II. 中国种群和俄罗斯种群及其杂种 F₁ 中期生长发育. 海洋学报, 27 (2): 135~140.
- 刘小林, 常亚青, 相建海等. 2003. 栉孔扇贝不同种群杂交效果的初步研究: I. 中国种群与俄罗斯种群的杂交. 海洋学报, 25 (1): 93~99.
- 刘晓, 孙博, 张国范等. 2006. 海湾扇贝 4 次引种后代的表型特征和遗传分化. 海洋与湖沼, 37 (1): 61~68.
- 楼允东. 2001. 鱼类育种学. 北京: 中国农业出版社.
- 秦艳杰, 刘晓, 张海滨等. 2007a. 海湾扇贝杂交后代的微卫星鉴定. 中国水产科学, 14 (4): 672~677.
- 秦艳杰, 刘晓, 张海滨等. 2007b. 海湾扇贝正反交两个家系形态学指标比较分析. 海洋科学, 31 (3): 22~27.