

三疣梭子蟹快速生长品系核心种质有效群体含量

任宪云^{1,2}, 高保全¹, 刘萍^{1*}, 韩智科^{1,2}, 李健¹

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 三疣梭子蟹是我国海水养殖的重要种类之一, 良种选育核心种质的繁衍与更新是制约品种选育成功的技术瓶颈。根据 Doyle 和 Talbot 提出的计算有效群体含量的计算公式, 对 2008 年三疣梭子蟹快速生长品系核心育种种群有效群体含量进行估算, 得出实际群体有效含量为 213, 实际近交系数为 0.002 3, 其近交系数较小, 近交衰退控制在较低的水平。但三疣梭子蟹保种数量和留种方式仍然困扰育种群体控制, 因此, 借鉴畜禽的保种模式, 从留种方式、雌雄比例、保种数量等方面对三疣梭子蟹快速生长品系核心基础群进行保种研究。结果表明, 采用随机留种, 雌雄 1:1 比例交尾, 雌雄数量各 131 只, 此保种模式既能保证三疣梭子蟹快速生长品系核心基础群遗传多样性处于较高水平, 使其具有较大的选育潜力, 又能使保种成本维持在一个合理水平。此研究模式也为理论保种模式, 需要在以后的实际群体选育过程中逐步完善。

关键词: 三疣梭子蟹; 快速生长品系; 有效群体含量; 保种模式

中图分类号: S 966.1

文献标识码: A

三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) 是一种重要的海洋经济动物, 隶属甲壳纲 (Crustacea)、十足目 (Decapoda)、梭子蟹科 (Portunidae)、梭子蟹属 (*Portunus*), 主要分布于中国、朝鲜、日本等海域^[1-2]。近年来, 随着沿海各地人工养殖规模的扩展、捕捞强度的加大、人工放流以及生态环境变化等因素的影响, 三疣梭子蟹自然种质资源受到较大影响。为满足水产养殖需要, 越来越多的苗种将由人工蓄养的亲本群体提供, 在苗种生产过程中, 由于亲本数量有限, 群体内近交不可避免, 由此而引起的近交衰退日益引起人们的关注^[3-4]。

保持有效群体大小对育种核心种质延续具有指导意义。有效群体大小 (N_e) 为群体内所具有的相当于理想群体繁殖个体的数目^[5-6], 在群体遗传学中占有十分重要的地位, 这方面的研究在国外已有很多报道^[7-8]。早期研究表明, 为了避免近交衰退, 确保群体短期内的生存能力, 最小的

N_e 值应为 50; 如果要维持适当的遗传变异, 进而确保长期的生存能力, N_e 数量不应小于 500^[9-10]。

对于水产物种总体适应性来说, 10% 的近交能引起 3% ~ 5% 的衰退^[11]。迄今, 水产养殖种类关于近交和近交衰退的研究主要集中在鱼类^[12]。SU 等^[13] 研究虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 和其他鱼类的有效生殖数量时, 发现亲鱼数量低于有效群体数量就会导致孵化种群的遗传变异力下降。另外关于日本对虾^[14] (*Penaeus japonicus*) 及太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 等也有相关报道^[15]。在贝类养殖方面也有一些研究, 如张海滨等^[16] 对海湾扇贝 (*Argopecten irradians*) 报道不同有效群体大小对海湾扇贝 F_1 的生长和存活的影响, 认为自交的确能对海湾扇贝的生长和存活带来明显不利的影响。

因此在 2008 年经过家系选育结合群体选育建立了三疣梭子蟹快速生长品系, 为了科学的指

收稿日期: 2010-05-08 修回日期: 2010-09-30

资助项目: 国家“八六三”高技术研究发展计划 (2006AA10A406); 国家自然科学基金项目 (30871933); 青岛市科技计划项目 (07-2-3-5-jch)

通讯作者: 刘萍, Tel: 0532-85823291, E-mail: liuping@ysfri.ac.cn

导种质保存和更新,以留种的有效繁殖群体为材料探讨三疣梭子蟹核心种质的保种数量,为今后核心育种群的种质可持续利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源

中国水产科学研究院黄海水产研究所自2005年收集4个地理群体(鸭绿江口、莱州湾、海州湾、舟山)作为育种基础群体,采用群体间自交和杂交方式建立家系。

1.2 实验方法

亲蟹的选择 本实验在2008年9月选择发育良好快速生长品系第3代亲蟹696只,体重最小为158 g,最大为380 g,平均为(240 ± 12.4) g。

亲蟹的交配 交配池的规格为5 m × 5 m × 1.5 m,每个池子平均分为16个小网格,将挑选出的亲蟹按雌雄3:1的比例放到交配池中。雌蟹486只,雄蟹165只,交尾过程中由于雄蟹死亡,又补充45只。最终成功交配的雌蟹为292只,实际交配的雄蟹数为198只。

亲蟹的越冬 亲蟹交配后,将交配成功的雌蟹转入越冬池中。越冬池规格为4 m × 2 m × 1 m,池底部分铺10 cm厚细沙,部分作为投饵区。每个水泥池放养50只,越冬饵料主要为沙蚕,投饵量按体重的5%。最终挑选186只抱卵亲蟹排幼,与之相对应的雄蟹为164只,产生22个半同胞家系。

子代培育和养殖 亲蟹排幼后,培育同常规方法。幼体达到Ⅱ期幼蟹,每个亲蟹培育的幼体等比例随机转移到室外8 hm²池塘中养殖。

计算公式

(1) 核心基础群体有效含量的计算公式^[17]:

家系含量的均方和方差为

$$SS_f = N_{of} \left(\frac{N_t}{N_{nf}} \right)^2 + N_{tf} \left(\frac{N_t}{N_{rf}} - \frac{N_t}{N_{nf}} \right)^2 + N_t$$

$$N_t = N_{nm} + N_{nf}$$

$$N_{of} = N_{nf} - N_{tf}, \quad V_f = \frac{SS_f}{N_{nf}}$$

群体有效含量(N_e)为

$$\frac{1}{N_e} = \frac{1}{16N_{nm}L}(2 + V_m) + \frac{1}{16N_{nf}L}(2 + V_f) \quad (1)$$

式中, T :保种场父母本留种的总数, S :苗种生产

中产卵的父母本个体数, N_n :新补充到保种群中的亲本数目。其中, N_{nm} :雄性亲本, N_{nf} :雌性亲本, N_r :新补充到保种群中产卵的亲本数目。其中, N_{rm} :雄性亲本, N_{rf} :雌性亲本, L :为世代间隔。

(2) 近交系数增量的计算公式:

$$\Delta F = \frac{1}{2N_e} \quad (2)$$

(3) 采用随机留种计算群体有效含量的公式:

$$N_e = \frac{4N_s N_d}{N_s + N_d} \quad (3)$$

式中, N_s 为保种群中雄蟹的个数, N_d 为保种群中雌蟹的个数。

(4) 采用随机留种方法,计算需要雄蟹的公式:

$$N_s = \frac{n + 1}{\Delta F \times 8n} \quad (4)$$

(5) 近交系数 F_t 与近交增量 ΔF 的关系式:

$$F_t = 1 - (1 - \Delta F)^n \quad (5)$$

2 结果

2.1 群体有效含量的估计

2008年三疣梭子蟹快速生长品系采用的是随机留种方式,根据公式(1)得出实际群体有效含量: $N_e = 213$;根据公式(2)得出实际近交增量: $\Delta F = 0.0023$;根据公式(3)得出理论群体有效含量为: $N_e = 587$;根据公式(2)得出理论近交增量: $\Delta F = 0.00085$ 。

2.2 保种需要的最少雄蟹数量

根据畜禽每世代近交系数的增量(ΔF)不超过0.25%~1%时^[18],近交引起的衰退不明显;当 $\Delta F = 0.01$, $\Delta F = 0.005$, $\Delta F = 0.0025$ 时,三疣梭子蟹保种需要的最少雄蟹数量:

(1) 保种群的近交系数的增量 $\Delta F = 0.01$ 时,根据公式(2),得出实际群体有效含量 $N_e = 50$,根据公式(4),得出最少雄蟹数量 $N_s = 25$ 。

(2) 保种群的近交系数的增量 $\Delta F = 0.005$ 时,根据公式(2),得出实际群体有效含量 $N_e = 100$,根据公式(4),得出最少雄蟹数量 $N_s = 50$ 。

(3) 对于保种群的近交系数的增量 $\Delta F = 0.0025$ 时,根据公式(2),得出实际群体有效含量 $N_e = 200$,根据公式(4),得出最少雄蟹数量 $N_s = 100$ 。

2.3 近交系数的预测

对于三疣梭子蟹良种选育,采用 10 代以上的选育标准,根据公式(5),计算 10 代以后近交系数 F_t 。由表 1 可以看出,随着选育世代的增加,近交增量即使保持不变,近交系数依然增加。因此可以推测三疣梭子蟹核心种质会逐渐衰退,但是增大保种量可以减小近交系数的上升,如果保持合适的保种数量,使近交系数在一定时期内维持在一个较低的水平,可以减缓三疣梭子蟹核心种质的衰退。

表 1 三疣梭子蟹选育世代与近交系数 F_t 的关系
Tab.1 The relationship between breeding generations and the rate of inbreeding F_t in *P. trituberculatus*

世代 generation	$F_t = 1 - (1 - \Delta F)^n$		
	$\Delta F = 0.01$	$\Delta F = 0.005$	$\Delta F = 0.0025$
1	0.01	0.005	0.0025
2	0.02	0.01	0.005
3	0.03	0.015	0.0075
4	0.039	0.02	0.01
5	0.049	0.025	0.012
6	0.059	0.03	0.015
7	0.068	0.034	0.017
8	0.077	0.039	0.02
9	0.086	0.044	0.022
10	0.096	0.049	0.025

2.4 三疣梭子蟹快速生长品系保种模式

将近交系数增量控制在 0.5%,假设越冬交配率为 60%,存活率为 85%,最终排幼率为 75%,最佳保种模式为随机留种,采用雌雄比例 1:1 定向交配,越冬前保种需要的雌蟹数量为 131 只,与之成功交配雄蟹数量为 131 只。

将近交系数增量控制在 0.25%,假设越冬交配率为 60%,存活率为 85%,最终排幼率为 75%,最佳保种模式为:随机留种,采用雌雄比例 1:1 定向交配,越冬前保种需要的雌蟹数量为 262 只,与之成功交配雄蟹数量为 262 只。

3 讨论

在畜禽上普遍认为影响保种效率的重要因素有:(1)群体的有效含量;(2)留种方式;(3)公母比例;(4)世代间隔;(5)交配系统。

3.1 留种方式和雌、雄比例

在畜禽保种中,采用的留种方式有两种,随机留种和各家系等量留种。所谓随机留种就是将群

体内所有公畜的后代放在一起,根据个体的表型值高低来选留后备种畜。而各家系等量留种是在每世代中,各家系选留的数量相等,雌、雄保持原比例。群体雌雄比例其影响保种效率的一个重要因素,对于一个保种数量一定的保种群,根据公式(3),当雌、雄比例为 1:1 时群体有效含量最大。因而建议三疣梭子蟹的育种核心群体雌、雄候选亲本采用 1:1 的随机交配方式。

3.2 世代间隔

根据关系式(5)可以看出,在近交系数增量(F)不变的情况下,延长世代间隔,可以使近交系数(F_t)变小。这一点对家畜家禽来说比较重要,但是对三疣梭子蟹这些只能人工养殖一年的水产动物来说,延长世代间隔是不可能的。

3.3 保种群数量

保种一般认为就是妥善地保存现有家畜家禽种群,使之免遭混杂和灭绝。广义的概念是保存现有家畜家禽种群的基因库(gene pool),使其中的全部基因不至于丢失,不论目前是有益的,还是有害的。FRANKEL 等^[19]认为,生物资源的“保存(conservation)”是指在允许持续进化的环境条件下使得生物资源以自然群落形式长期保留的措施和方案。对品种资源的保种工作,引起全世界的重视,但也出现了偏差。如注重了对陆生物种的保护,忽略了对水产动物品种保护;注重地方品种保护,忽略培育品种的保护。在保种观念上,地方品种、培育品种注重单纯保种,忽略选育,忽略利用,造成保种工作难以持续有效,保种群生产性能不能提高,相反,如繁殖性能等下降严重。

为了便于比较各种实际群体的遗传漂变效应,研究人员提出了有效群体含量(effective population size)的概念^[20],即与实际群体有相同基因频率方差或相同的杂合度衰减的理想群体含量,记为 N_e 。对水产动物有效群体的研究主要集中在贝类和鱼类。HEDGECOCK 等^[21]估计了牡蛎(*Crassostrea gigas* 及 *C. virginica*)和硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*)等 16 个人工养殖条件下的贝类群体的有效群体大小。结果显示,所有这些群体的有效群体大小都少于 100,其中 13 个群体少于 50,都存在着不同程度的近交现象。

本研究得到 2008 年三疣梭子蟹快速生长品系核心基础群体理论有效群体含量为 587,理论近交系数增量: $\Delta F = 0.00085$,实际群体有效含量

为213,实际近交系数增量为 $\Delta F = 0.0023$ 。理论有效群体含量与实际群体有效含量差别比较大,主要因为三疣梭子蟹交配成功率、越冬成活率、排幼率均无法达到100%,如2008年三疣梭子蟹快速生长品系:交配成功率为60%,越冬存活率为85%,排幼率为75%。

FRANKEL等^[19]认为,近交增量1%时对家畜比较安全,目前近交增量1%原则已为广大家畜保种学家所接受,被称为保种遗传学基本法则(basic rule of conservation genetics)。参考畜禽的保种标准和影响保种效率的五个主要因素,结合蟹类与畜禽等高等动物的不同,例如:蟹类有较高的表型变异、较低的遗传力,加上性产物数量大,后代的差异颇大。因此作者采用 $\Delta F = 0.005$ 的选育标准,10代后近交系数为4.9%,需要收集子代的雄蟹数量为50只,越冬前保种需要的雌蟹数量为131只,与之成功交配雄蟹数量131只。10代后的近交系数也是比较好的,可以有效的减小近交衰退,使保种成本维持在一个合理水平。采用 $\Delta F = 0.0025$ 的选育标准,10代后近交系数为2.5%,基因丢失的概率小,可以保证基因的杂合状态。但是需要收集与越冬后雌蟹交尾的雄蟹数量为100只,越冬前保种需要的雌蟹数量为262只,与之成功交配雄蟹数量262只。这样无疑会增加保种成本。而2008年三疣梭子蟹快速生长品系实际近交系数增量 $\Delta F = 0.0023$,如果采用此选育标准,保种成本更大,显然是不可取的。

实际生产中如果要维持 $\Delta F = 0.005$,据公式(2),得出 $N_e = 100$ 。实际生产中雌雄比例为3:1,根据公式(3),得出需要的雄蟹为34只,雌蟹数为100只(按照上述的交尾率,越冬死亡率,排幼率),越冬前保种需要的雌蟹数量为262只,与之成功交配雄蟹数量87只。总共需要保种亲蟹数为349只,而改进后的保种模式,需要保种亲蟹数为262只,使保种亲蟹数量大大减少,更加利于节约保种成本。

4 小结

通过对2008年三疣梭子蟹快速生长品系核心基础群有效群体估算,得出实际群体有效含量为213,实际近交系数为0.0023,其近交系数处在较低的水平,能有效防止近交衰退,但2008年为三疣梭子蟹快速生长品系核心基础群保种花费

大量人力、物力、财力。因此,借鉴畜禽的保种模式,从留种方式、雌雄比例、保种数量等方面对三疣梭子蟹快速生长品系核心基础群进行保种研究,制定保种模式:采用随机留种,雌雄1:1的比例交配,雌雄各131只。此保种模式既能保证三疣梭子蟹快速生长品系核心基础群遗传多样性处于较高,使其具有较大的选育潜力,又能使保种成本维持在一个合理水平,同时,也为三疣梭子蟹种质资源的保护提供理论依据。这一保种模式仅是一个理论的保种模式,需要在以后的实际保种过程中不断改进,逐步完善。

参考文献:

- [1] 戴爱云,冯钟琪,宋玉枝,等. 三疣梭子蟹渔业生物资源的初步调查[J]. 动物学杂志,1977(2):30-33.
- [2] 戴爱云,杨思谅,宋玉枝,等. 中国海洋蟹类[M]. 北京:海洋出版社,1986:213-214.
- [3] 杨翠华,孔杰,王清印,等. 控制环境养殖下近交对中国对虾早期和抗WSSV性状的影响(英)[J]. 水产学报,2007,31(2):226-234.
- [4] 孔杰,金武. 水产动物选择育种的近交分析[J]. 自然科学进展,2009,19(9):917-923.
- [5] WRIGHT S. Evolution in mendelian populations[J]. Genetics,1931,16:97-159.
- [6] NEI M. Molecular population genetics and evolution[M]. Amsterdam and New York: North-Holland, 1975:88-89.
- [7] SU G S, LILJEDAHL L E, GALL G A E. Effects of inbreeding on growth and reproductive traits in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Aquaculture,1996,142:139-148.
- [8] EKNATH E, DOYLER W. Effective population size and rate of inbreeding in aquaculture of indian major carps[J]. Aquaculture,1990,85:293-305.
- [9] FRANKLIN I R. Evolutionary changes in small populations [C] // SOULE M E, WILODX B. Conservation biology: an evolutionary-ecological perspective. Sunderland: Sinauer Associates, 1980:135-150.
- [10] SOULE M E. Thresholds for survival: maintaining fitness and evolutionary potential [C] // SOULE M E, WILODX B. Conservation biology: an evolutionary-ecological perspective. Sunderland: Sinauer Associates,1980:151-169.
- [11] 马大勇,胡红浪,孔杰,等. 近交及其对水产养殖的影响[J]. 水产学报,2005,29(6):849-856.

- [12] WANG S Z, HARD J J, UTTER F, *et al.* Salmonid inbreeding: a review [J]. *Rev F Biol Fish*, 2002, 11: 301 - 319.
- [13] SU G S, LILJEDAHL L E, GALL G A E. Effects of inbreeding on growth and reproductive traits in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture*, 1996, 142: 139 - 148.
- [14] KEYS S J. Comparative growth and survival of inbred and outbred *Penaeus (Marsupenaeus) japonicus*, reared under controlled environment conditions; indications of inbreeding depression [J]. *Aquaculture*, 2004, 241 - 151.
- [15] BUCKLIN K A. Analysis of the genetic basis of inbreeding depression in Pacific oyster *Crassostea gigas* [D]. Davis: University of California Davis, 2002: 140.
- [16] 张海滨, 刘晓, 张国范, 等. 不同有效繁殖群体数对海湾扇贝 F₁ 生长和存活的影响 [J]. *海洋学报*, 2004, 27(2): 177 - 180.
- [17] EKNATH A E, DOYLE R W. Effective population size and rate of inbreeding in aquaculture of Indian major carps [J]. *Aquaculture*, 1990, 85 (1 - 4): 293 - 305.
- [18] 刘荣宗, 罗玉英. 家畜遗传资源保护的新途径 [J]. *畜牧兽医杂志*, 1998, 17(2): 16 - 19.
- [19] FRANKEL O H, SOULE M E. Conservation and evolution [M]. Cambridge: Oambrige University Press, 1981.
- [20] 盛志廉, 陈瑶生. 数量遗传学 [M]. 北京: 科学出版社, 1990: 301 - 308.
- [21] HEDGECOCK D, CHOW V, WAPLES R S. Effective population numbers of shellfish broodstocks estimated from temporal variance in allelic frequencies [J]. *Aquaculture*, 1992, 108: 215 - 232.

Effective population size of rapid growth line core collection in *Portunus trituberculatus*

REN Xian-yun^{1,2}, GAO Bao-quan¹, LIU Ping^{1*}, HAN Zhi-ke^{1,2}, LI Jian¹

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Qingdao 266071, China;

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

Abstract: According to the formulas of effective population size, which were brought forward by Doyle and Talbot, we estimated the effective population size (N_e) for rapid growth line fundamental stock in *Portunus trituberculatus*. The real N_e was 213, which corresponded to a rate of inbreeding (F) of 0.23%. Results indicated that F is relatively small, and inbreeding depression was in a low level, however, the cost of conservation was too high, it did not meet the conservation requirements. In light of breed conservation model in livestock and poultry, we investigated rapid growth line fundamental stock in *P. trituberculatus* on methods of selecting parents and ratio of dams and sires and the size of conservation population. We made the rules as follows: random selecting parents, the ratio of dams and sires is 1:1, and the number of dams and sires is 131, respectively. In this situation, genetic diversity of rapid growth line fundamental stock is preferably rich, which satisfies selective breeding, at the same time the cost of breed conservation is economical. This is only a theoretical model of breed conservation, and it needs the process of gradual improvement of breeding populations in the future.

Key words: *Portunus trituberculatus*; rapid growth line; effective population size; breed conservation model

Corresponding author: LIU Ping. E-mail: liuping@ysfri.ac.cn