

文章编号:1000-0615(2009)06-0932-08

凡纳滨对虾全同胞家系的建立及生长比较

张吕平, 吴立峰, 沈琪, 杜少波, 胡超群

(中国科学院南海海洋研究所, 中国科学院海洋生物资源可持续利用重点实验室, 广东 广州 510301)

摘要:全同胞家系是遗传分析的重要材料。采用自然交配法建立了62个凡纳滨对虾第一代全同胞家系, 对其中17个家系进行了比较研究。结果表明, 各家系的孵化率、出苗率与雌性亲本的大小相关性不显著。17个家系中有7个家系显示生长优势, 其大小顺序依次是A02>A11>A01>A17>A06>A08>A16; 7个家系在40周内的生长速度较17个家系的平均值高23.2%。在所有家系中, A01、A02、A11等3个家系的体重显著大于其它家系($P < 0.05$), 其平均生长速度较所有家系平均生长速度分别快25.5%、31.6%和31.0%。这3个家系的整齐度良好, 在养殖中期的个体变异系数分别为11.58%、9.95%和8.48%, 后期均小于5%, 显示出优良的经济性状, 为进一步选择培育凡纳滨对虾的快速生长新品系奠定了基础。

关键词: 凡纳滨对虾; 全同胞家系; 生长; 变异系数

中图分类号: Q 31; S 917

文献标识码: A

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)原产于西半球, 目前是我国最主要的养殖对虾品种, 年产量超过 80×10^4 t, 占我国养殖对虾产量的80%以上^[1-3]。然而, 由于累代养殖, 缺乏系统的良种保持和选育技术体系, 病害检验检疫不严等因素, 目前我国养殖的凡纳滨对虾中, 已开始出现生长慢、个体小和发病率高等种质衰退的现象。因此, 对凡纳滨对虾进行遗传改良, 培育出具有生长快速、抗逆抗病等优良生长性状的新品种(系), 是当前对虾养殖业的当务之急^[4-5]。

对虾选择育种虽然起步较晚, 但在多种对虾遗传改良上均取得了明显效果, 不仅可以显著提高收获体重, 而且可以明显提高抗病力。以李健等^[6]对中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)的选育为例, 他们选育出的我国第一个中国明对虾新品种“黄海一号”, 体长比对照增加了8.4%, 体重增加26.86%, 发病率也由40%降低至10%, 极大地改良了生长与抗病性状。Argue等^[7]针对凡纳滨对虾生长和抗桃拉综合症病毒性状进行选育, 抗病毒性状得到显著改善, 其它经遗传选育并

取得了明显遗传进展的养殖对虾还包括斑节对虾(*Penaeus japonicus*)^[8]、细角滨对虾(*Litopenaeus stylirostris*)^[9]、日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)^[10]等。以上结果表明, 定向选择对改良对虾遗传性状效果显著。

然而, 目前获得的对虾新品种多数是基于群体选育策略之上, 该方法难以避免群体中近交产生的衰退, 从而影响新品种的性状稳定。在群体选育基础上, 通过建立家系并进行家系内和家系间定向选择, 可以有效减少近交衰退, 目前这方面的工作还比较少^[11-12]。同时家系也是进行遗传分析的重要材料, 对于深入分析不同亲本的遗传背景, 构建遗传连锁图谱十分必要。本文报道了17个凡纳滨对虾全同胞家系的建立及生长比较, 为进行遗传连锁图谱的构建, 并通过家系选择育种培育优良的凡纳滨对虾新品种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 家系建立

凡纳滨对虾基础群体来自湛江中联水产公司

收稿日期:2008-11-12 修回日期:2009-05-27

资助项目:国家“八六三”高技术研究发展计划(2006AA10A406);广东省海洋渔业科技推广专项(A200899A02);中国科学院知识创新工程方向项目(KSCX2-YW-N-4701)

通讯作者:胡超群, E-mail:cqhu@scsio.ac.cn

(该群体最初来自美国夏威夷,在中联公司经过5代群体选育),于2007年9月7-9日采用自然交配法授精,将卵巢发育成熟饱满的雌虾挑至交配池,雌雄比1:3,交配完成后立即将雌虾单独至于产卵桶内隔离,等待产卵;产卵后将雌虾捞出,称量体重,打上荧光数字标签后放回亲虾培育池继续饲养(用于半同胞家系的培育)。每个家系取约3万尾无节幼体于育苗桶(400 L玻璃钢桶)育苗,幼体孵化前后分别计数,采用反推法计算孵化

率。变态至仔虾后再饲养20 d,分别计数,计算出苗率。每个家系分别取约3 000尾移至带顶棚的水泥暂养池(25 m³),经饲养60 d后进行荧光标记,再从暂养池移至室外池混合饲养,在相同的饲养条件下进行养殖管理。

采用上述方法,在广东农垦水产公司阳江苗种基地先后建立凡纳滨对虾全同胞家系62个,其中17个家系用于本研究,17个家系的授精时间、出苗率及亲本大小见表1。

表1 凡纳滨对虾全同胞家系培育基本情况

Tab. 1 Basic information of *Litopenaeus vannamei* full-sib families

家系编号 family name	受精时间 date of fertilization	孵化率(%) hatchability	出苗率(%) survival rate of PL ₂₀	雌虾体重(g) female weight
A01	2007-09-07	62.5	25.0	70.9
A02	2007-09-07	67.0	20.0	60.8
A04	2007-09-07	59.8	23.3	63.2
A05	2007-09-07	75.0	21.7	64.8
A06	2007-09-07	58.1	18.3	62.4
A07	2007-09-07	51.5	23.3	52.5
A08	2007-09-07	81.6	25.0	66.8
A09	2007-09-07	75.2	26.7	53.7
A10	2007-09-07	66.4	20.0	76.1
A11	2007-09-09	72.5	25.6	56.9
A13	2007-09-09	62.3	23.0	68.1
A14	2007-09-09	60.1	17.0	58.7
A15	2007-09-09	75.0	21.7	55.6
A16	2007-09-09	70.9	23.3	54.0
A17	2007-09-09	74.0	30.0	73.2
A18	2007-09-09	75.4	23.1	61.4
A20	2007-09-09	63.0	33.3	62.6
平均值 mean value		67.7	23.6	60.8

1.2 家系测量

2007年10月19日开始测量体长,之后平均每两周测量一次,共测量了18次。2008年1月8日开始测量体重,之后平均每两周测量一次,共测量了15次。每次随机取每个家系的30尾进行测量。移至室外池后除测量体长、体重外,还测量头胸甲、腹节等其他12项参数,体长用游标卡尺测量,精确到0.01 cm,体重用电子天平测量,精确到0.01 g。

1.3 数据处理

为了比较各个家系的家系内个体变异,在养殖中期(2008年4月13日)和养殖后期(2008年7月15日)从各个家系随机测量30个个体的体长,分别按不同的大小区间进行分组,计算各区间的比率,体长变异系数(CV)采用如下公式计算:

$$CV = \frac{S}{\bar{x}} \times 100\%$$

式中,S为标准差, \bar{x} 为均值。

所有测量数据用Excel 7和SPSS 11.5分析和处理,相关性采用One-Way ANOVA比较法,差异显著性分析则采用最小显著差异法(least-significant difference,LSD)。

2 结果

2.1 孵化率、出苗率与雌虾体重的相关性

从表1可以看出,17个全同胞家系中有9个受精时间为2007年9月7日,8个为2007年9月9日,相差一天。雌虾产卵后的平均体重为60.8 g,孵化率介于51.5%到81.6%之间,出苗率(PL₂₀)最高为33.3%,最低为17.0%。分别将孵化率、出苗率与雌虾体重进行ANOVA相关性分析,结果(表2)显示,二者与雌虾体重之间的相伴概率值均大于0.5,无显著相关性。

表 2 孵化率(a)、出苗率(b)与雌虾体重(c)的相关性

Tab. 2 Correlation for hatchability (a) and survival rate of PL₂₀ (b) to the weight of female (c)

项目 item	SS 值 sum of squares	自由度 df	MS 值 mean square	F 检验 F	相伴概率值 sig.
a	回归系数 regression	3.376	1	3.376	0.066
	残差分析 residual	769.446	15	51.296	
	总和 total	772.822	16		
b	回归系数 regression	8.595	2	4.298	0.079
	残差分析 residual	764.227	14	54.588	
	总和 total	772.822	16		

2.2 家系间的生长比较

2007 年 10 月-2008 年 8 月(共 40 周), 对 17 个育成的凡纳滨对虾全同胞家系进行了 15 次体重测量和 18 次体长测量。各家系在整个测量阶段的体重增长量见图 1, 体长增长量见图 2。从图 1 上可以明显看出, 随着养殖期的增加, 所有家系分成较快和较慢两组, A02、A11、A01、A17、A06、A08 和 A16 等 7 个家系为较快组, 除家系 A09 外, 其余家系为生长较慢组。7 个较快家系体重大小顺序依次是: A02 > A11 > A01 > A17 > A06 > A08 > A16。

从图 2 可以看出, 17 个家系体长增加具有相同的趋势, 所有家系在第 5 次测量时, 体长均较前一次有所降低, 之后则逐步增加。上述 7 个较快

生长家系在整个实验期(40 周)亦显示体长增长优势, 其大小顺序为: A02 > A11 > A01 > A08 > A17 > A06 > A16。

分别对生长前期(前 20 周)和生长后期(后 20 周)的体重增长率进行 LSD 显著性分析, 结果如表 2 所示。7 个较快家系体重增长率均值与各家系平均值比较差异极显著($P < 0.01$)。所有 17 个家系前 20 周平均体重增长率较小, 每周仅 0.152 g; 后 20 周平均体重增长率较快, 每周为 0.874 g。7 个较快生长家系在 40 周内生长速度较平均值高 23.2%, 其中前 20 周平均体重增长率较平均值高 48.7%, 后 20 周较其平均值高 23.4%。

表 3 17 个凡纳滨对虾全同胞家系体重平均增长率比较

Tab. 3 Comparison of growth rate of 17 full-sib families of *Litopenaeus vannamei*

g

生长期 growth period	平均体重增长率 mean value of growth rate		
	所有 17 个家系 total 17 families	较快生长的 7 个家系 7 faster-growth families	较慢生长的 10 个家系 10 slower-growth families
前 20 周 during the earlier 20 weeks	0.152 ± 0.08 ^c	0.226 ± 0.07 ^a	0.101 ± 0.03 ^c
后 20 周 during the later 20 weeks	0.874 ± 0.22 ^c	1.078 ± 0.07 ^b	0.731 ± 0.18 ^c
总 40 周 during the total 40 weeks	0.656 ± 0.16 ^c	0.808 ± 0.04 ^b	0.550 ± 0.13 ^c

注:a. 差异极显著($P < 0.01$); b. 差异显著($P < 0.05$); c. 差异不显著($P > 0.05$)

Notes: a. high significance ($P < 0.01$); b. normal significance ($P < 0.05$); c. low significance ($P > 0.05$)

2.3 家系内的个体变异

表 4 和表 5 分别显示了生长较快的 7 个家系在养殖实验中期和后期的体长变异比较结果。在养殖中期, 体长最大的是家系 A08, 平均体长达到 7.2 cm, 最小的是家系 A16, 平均体长 5.0 cm。家系 A01、A02 和 A11 是变异系数较小的 3 个家系($A11 < A02 < A01$), 其中家系 A02 和 A11 的体长变异系数 CV 值均小于 10%, 分别是 9.95%

和 8.48%。在养殖后期, 7 个家系的平均体长均大于 12 cm, 且各家系的 CV 值均小于 10%, CV 值最大的是 A08(9.04%), 变异系数小于 5% 的家系为 A01、A02、A06、A11 和 A16, 由小到大的顺序为 A01 < A06 < A02 < A11 < A16。由此可以看出, A01、A02 和 A11 是整个养殖期间家系内体长变异系数最小的 3 个家系。

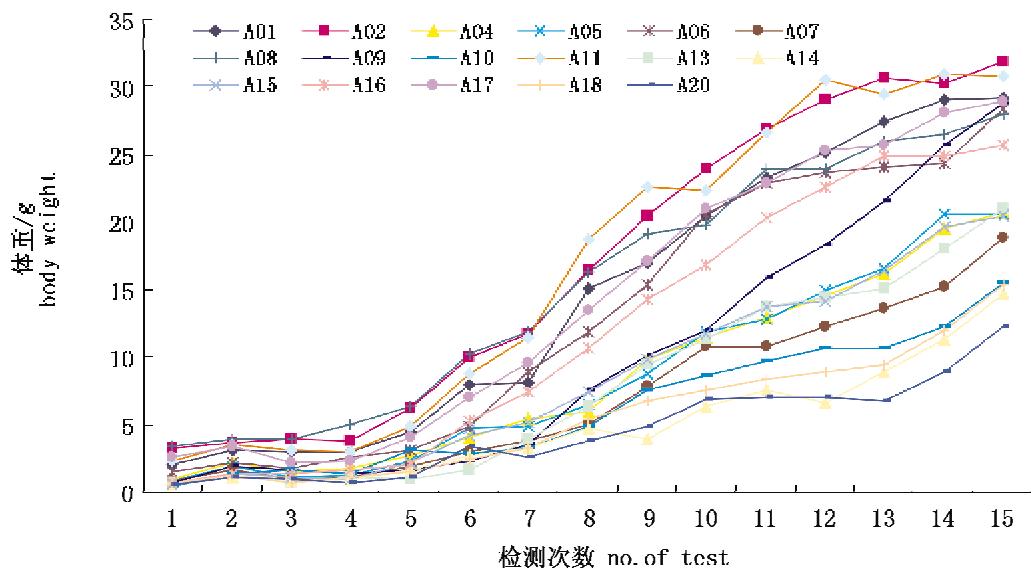


图1 17个凡纳滨对虾全同胞家系在40周实验期内的体重增长比较
Fig.1 Comparison of body weight in 17 full-sib families of *Litopenaeus vannamei* during 40-week experimental period

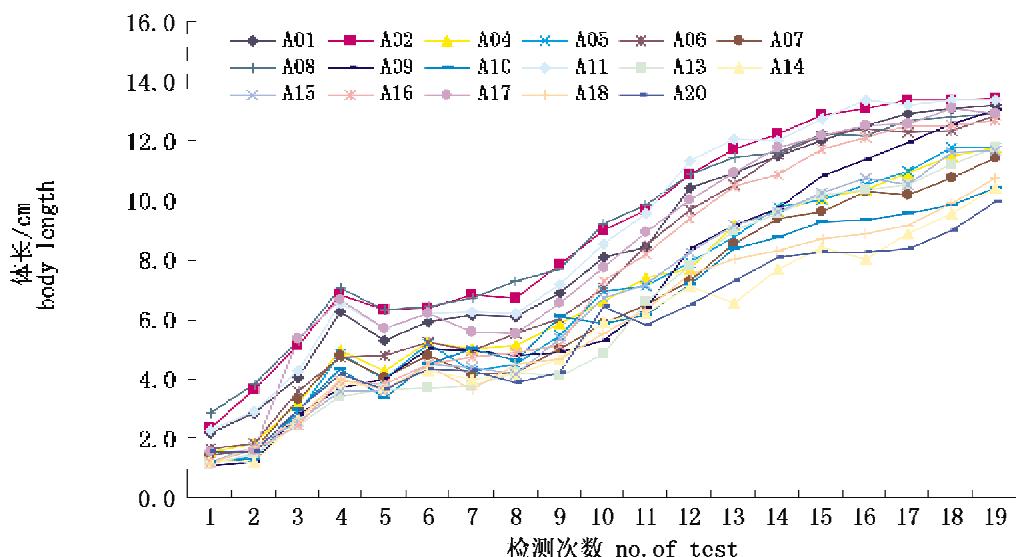


图2 17个凡纳滨对虾全同胞家系在40周实验期内的体长增长比较
Fig.2 Comparison of body length in 17 full-sib families of *Litopenaeus vannamei* during 40-week experimental period

图3显示的是生长较快的7个家系的体长分布比率,图3-A和图3-B分别是养殖中期和养殖后期的分析结果。在养殖中期,按照4 cm以下、4~5 cm、5~6 cm、6~7 cm和8 cm以上5个区间进行分组;从图3-A可以看出,家系A01、A02、A08和A11中6 cm以上个体所占比率分别为62.4%、84.1%、81.2%和63.5%;而家系A06、A16、A17中5 cm以下的个体所占比率较高。在养殖后期,按照10 cm以下、10~11 cm、

11~12 cm、12~13 cm、13~14 cm和14 cm以上6个区间进行分组。从图3-B可以看出,家系A01、A02、A11中12 cm以上个体所占比率都超过90%,其中后两者全部个体均超过12 cm;而家系A08和A16中12 cm以下的个体所占比率分别占到37.5%和55.3%,尤其家系A08中10 cm以下的小个体占7.3%。

图4是生长较慢的9个家系的体长分布比率,图4-A和图4-B分别是养殖中期和养殖后期

的分析结果。在养殖中期,按照3 cm以下、3~4 cm、4~5 cm、5~6 cm、6~7 cm和7 cm以上6个区间进行分组;在养殖后期,按照7 cm以下、7~8 cm、8~9 cm、9~10 cm、10~11 cm、11~12 cm和12 cm以上6个区间进行分组。

从图4-A可以看出,在养殖中期,除家系

A04、A05和A18所有个体均在3 cm以上,其余家系个体分布范围较广,差异不明显;在养殖后期,A04、A05、A07、A13和A15等5个家系10 cm以上的超过70%,其中A05和A07两个家系的整体度最好。其余家系个体大小较离散,且小个体所占比率较高。

表4 较快生长的7个家系在养殖中期的体长变异系数比较

Tab. 4 Comparison of CV of the 7 faster-growth families in the middle culture period

家系名称 family name	测量数量 N	平均值(\bar{x}) mean value	标准差 SD	变异系数(%) CV
A01	30	6.028	0.698 0	11.58
A02	30	6.641	0.660 7	9.95
A06	30	5.509	1.546 5	28.07
A08	30	7.227	1.047 0	14.49
A11	30	6.216	0.527 0	8.48
A16	30	5.045	0.716 5	14.19
A17	30	5.472	1.082 2	19.78

表5 较快生长的7个家系在养殖后期的体长变异系数比较

Tab. 5 Comparison of CV of the 7 faster-growth full-sib families in the later culture period

家系名称 family name	测量数量 N	平均值(\bar{x}) mean value	标准差 SD	变异系数(%) CV
A01	30	12.536	0.370 3	2.95
A02	30	13.101	0.474 2	3.62
A06	30	12.416	0.370 9	2.99
A08	30	12.213	1.104 2	9.04
A11	30	13.379	0.592 2	4.43
A16	30	12.135	0.548 5	4.52
A17	30	12.507	0.678 2	5.48

3 讨论

建立家系是培育优良品种的重要途径,不仅能有效消除近亲衰退,也是进行遗传性状分析和构建遗传连锁图的重要材料,对于遗传育种研究起着重要作用,在多种水产新品种培育中得到了很好的证实^[13~14],Wilson等^[15]和李健等^[16]先后利用家系建立了虾类的遗传连锁图谱。本研究成功建立了62个凡纳滨对虾全同胞家系,通过对其中17个家系的测量比较,发现各家系生长状况存在明显差异。

各家系的孵化率、出苗率与雌性亲本的个体大小无显著相关性,这一结果与张天时等^[11]对中国对虾的研究结果相似。Benize等^[12]根据斑节对虾半同胞家系数据推测,对虾孵化率和早期成活率主要与雌性亲本的营养状况,即卵子质量相关,而与雌性亲本个体大小无显著相关性。

体重增长是衡量凡纳滨对虾生长速度的最直接指标,这一指标也是重要的经济性状,而且通常具有中等的遗传力,在不同虾类中得到了证实^[17~18]。本文经过40周的养殖,通过体重增长比较,发现来自不同父母的全同胞后代生长速度存在显著差异,这些差异可以认为是由于家系遗传差异引起的,因其在相同的养殖环境和管理条件下养殖,尽量避免了环境因素和人为因素造成的生长影响。7个较快生长家系前20周平均体重增长率较17个家系的平均值高48.7%,后20周高23.4%,说明较快生长的家系在整个生长期增重均较快,尤其是前期生长速度更快。这与张天时等^[11]对中国明对虾家系不同发育期生长比较结果近似。家系A01、A02、A11的平均生长速度较所有家系平均值分别快25.5%、31.6%和31.0%,而且这3个家系的个体变异系数较小,显示出较明显的生长优势,可作为优良家系进一步

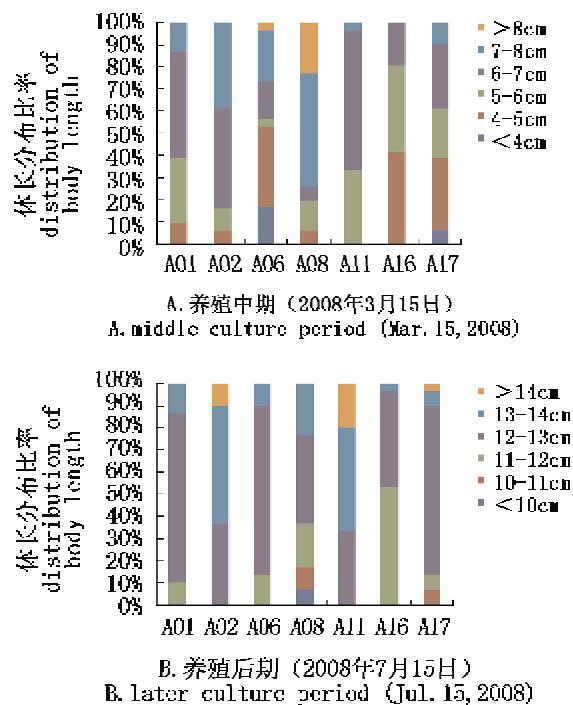


图3 7个快速生长家系分别在养殖中期(A)和后期(B)的体长分布比率

Fig. 3 Distribution of body length of seven faster-growth families in middle (A) and later (B) culture period respectively

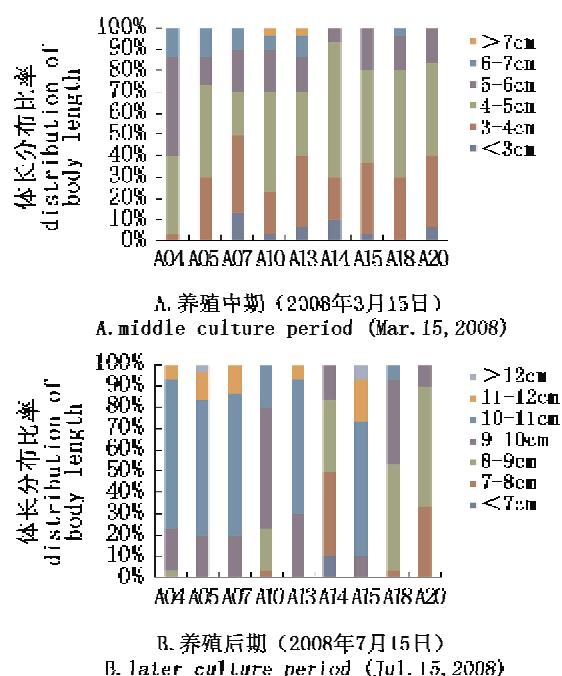


图4 9个较慢生长家系分别在养殖中期(A)和后期(B)的体长分布比率

Fig. 4 Distribution of body length of nine lower-growth families at middle (A) and later (B) culture period respectively

纯化。Argue 等^[7]对凡纳滨对虾生长及抗 TSV 的选择育种表明,经一代选择,选育后代比对照组生长速度提高 21%,本研究基于生长速度的选育效果更理想,为快速生长家系的培育提供了良好的基础。

整齐度也是对虾选育的重要指标之一,整齐度高是优良的生产性状,家系内的个体变异系数(CV 值)反映了个体之间的整齐度差异。本文家系 A01、A02 和 A11 不仅生长快速,而且在整个 40 周内的个体变异系数都较小;家系 A05 和 A07 虽然生长速度较慢,但整齐度较高,为进一步筛选整齐度高的家系提供了材料。

Falconer 等^[19]认为,如果基础群体的基因频率不同,那么它们之间的杂交后代将产生杂种优势。相信采用更多来源不同的基础群体建立全同胞家系和半同胞家系,在对基础群体遗传背景深入分析的基础上,充分利用基础群体的遗传多样性,建立更多具有特殊优良性状的纯系,应用现代遗传模型(如:BLUP、GS 等)设计合理的选育交配方案,结合标记辅助育种(MAS)技术,有望选育出凡纳滨对虾新品种(系)。

参考文献:

- [1] 张伟权. 世界重要养殖品种——南美白对虾生物学简介[J]. 海洋科学, 1990, 3:69-73.
- [2] 农业部渔业局. 中国渔业年鉴[M]. 北京:中国农业出版社, 2007.
- [3] Hu C Q, Shen Q, Zhang L P, et al. Present status and prospect of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* cultured in China [M]// China/FAO/NACA workshop on " healthy safe and environmentally sound shrimp farming ", 2004: 72 -82.
- [4] 张鑫,葛家春. 虾类种质资源研究进展[J]. 水产养殖, 2008, 5:7-10.
- [5] 王清印. 我国对虾业养殖和育种概况[J]. 科学养鱼, 2008, 4:1-3.
- [6] 李健,刘萍,何玉英,等. 中国对虾快速生长新品种“黄海1号”的人工选育[J]. 水产学报, 2005, 29(1):1-5.
- [7] Argue B J, Arce S M, Lots J M, et al. Selective breeding of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) for growth and resistance to Taura Syndrome Virus[J]. Aquaculture, 2002, 204:447 -460.

- [8] Kenway M, Macbeth M, Salmon M, et al. Heritability and genetic correlations of growth and survival in black tiger prawn *Penaeus monodon* reared in tanks [J]. Aquaculture, 2002, 204:447–460.
- [9] Goyard E, Patrois J, Peignon J M, et al. Selection for better growth of *Penaeus stylostris* in Tahiti and New Caledonia [J]. Aquaculture, 2002, 204:461–468.
- [10] Preston N P, Crocos P J, Keys S J, et al. Comparative growth of selected and non-selected Kuruma shrimp *Penaeus (Marsupenaeus) japonicus* in commercial farm ponds: implications for broodstock production [J]. Aquaculture, 2004, 231:73–82.
- [11] 张天时,孔杰,刘萍,等.中国对虾家系建立及不同家系生长发育的初步研究[J].海洋学报,2007,29(3):120–124.
- [12] Benzie J A H, Kenway M, Trott L. Estimates for the heritability of size in juvenile *Penaeus monodon* prawns from half sib matings [J]. Aquaculture, 1997, 152:49–53.
- [13] 何毛贤,管云雁,林岳光,等.马氏珠母贝家系的生长比较[J].热带海洋学报,2007, 26(1):39–43.
- [14] Kocour M, Mauger S, Rodina M, et al. Heritability estimates for processing and quality traits in common carp (*Cyprinus carpio* L.) using a molecular pedigree [J]. Aquaculture, 2007, 270:43–50.
- [15] Wilson K, Yutao L, Whan V, et al. Genetic mapping of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* with amplified fragment length polymorphism [J]. Aquaculture, 2002, 204:297–309.
- [16] 李健,刘萍,王清印,等.中国对虾遗传连锁图谱的构建[J].水产学报,2008,32(2):161–173.
- [17] Keys S J, Crocos P J, Burridge C Y, et al. Comparative growth and survival of inbred and outbred *Penaeus (Marsupenaeus) japonicus*, reared under controlled environment conditions: indications of inbreeding depression [J]. Aquaculture, 2004, 241:151–168.
- [18] Moss D R, Arce S M, Otoshi C A, et al. Effects of inbreeding on survival and growth of Pacific white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* [J]. Aquaculture, 2007, 272:S30–S37.
- [19] Falconer D S, Mackay T F C. Introduction to quantitative genetics (4th edition) [M]. Essex, England: Longman Group, 1996:261–263.

Full-sib families construction and their growth comparison of Pacific white leg shrimp, *Litopenaeus vannamei*

ZHANG Lv-ping, WU Li-feng, SHEN Qi, DU Shao-bo, HU Chao-qun

(*Laboratory of Marine Bio-resources Sustainable Utilization, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China*)

Abstract: Full-sib family is an important material for genetic analysis. Sixty-two full-sib families of the first generation of Pacific white leg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, are constructed by natural mating and seventeen of them are studied in growth traits. Results indicate no significant correlation of hatchability and survival rate of postlarvae to the weight of female parent. Seven families are significantly faster in growth than others in the 40 weeks of growth traits, and the order of their weight is A02 > A11 > A01 > A17 > A06 > A08 > A16. These seven faster families are 23.2% higher than the mean value of all 17 families in growth rate (g/week) during the 40 weeks traits ($P < 0.05$). By comparison of each family, families A01, A02 and A11 are 25.5%, 31.6% and 31.0% larger than the mean value of the seventeen families respectively. Moreover, these three families display the smaller coefficient of variation (CV), and the CV values in the middle of growth period are 11.58%, 9.95% and 8.48% respectively. The CV values of the three families are <5% in the later growth period. Therefore the results indicate that they are three families with excellent economic properties. These results are helpful for further selective breeding of fast-growth line of *Litopenaeus vannamei*.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; full-sib family; growth; coefficient of variation