## 人工选育池蝶蚌的生长及不同世代遗传分析

郭红军<sup>1</sup> 罗 洁<sup>1</sup> 洪 一江<sup>1</sup> 邱齐骏<sup>2</sup> 余 颖<sup>1</sup> 徐毛喜<sup>2</sup> 王军花<sup>1</sup> (1. 南昌大学生命科学学院, 南昌 330031;2. 江西抚州市洪门水库开发公司, 抚州 344712)

摘要: 对引进后的池蝶蚌原种及其选育后代的形态和生长进行了研究, 并利用 RAPD 技术, 对原种、 $F_1$ 代、 $F_2$ 代和  $F_3$ 代的遗传特征进行分析, 以期了解选育的效果。结果表明, 人工选育的池蝶蚌后代具有生长更快、育珠能力更强的发育趋势。经过选育后,  $F_3$ 代较  $F_2$ 代的生长速度更快, 壳的厚度更大, 更适合育珠。 RAPD 结果显示, 10 个随机引物可产生稳定的可重复的多态性扩增结果, 共检测出 45 条扩增带, 池蝶蚌四代间的遗传多样性相差不显著, 遗传分化水平较低, 表明池蝶蚌经人工选育后与生长相关的等位基因频率有较大提高, 遗传性状趋于稳定。

关键词: 池蝶蚌: 人工选育: RAPD: 遗传分析

中图分类号: 0346 文献标识码: A 文章编号: 1000 3207(2008) 02-0220 05

池蝶蚌(*Hyriqpsis schlegeli*) 隶属软体动物门、瓣鳃纲、真瓣鳃目、蚌科、帆蚌属,原产于日本滋贺县的琵琶湖。1997年江西省抚州市洪门水库开发公司从日本引进该蚌,并于1998年人工繁殖获得成功,同时,我们开始对其后代进行选育,以期得到生长速度快、育珠能力佳、抗病性强的优良品种。目前,对池蝶蚌的研究已有报道<sup>[1,2]</sup>,其主要品质指标优于我国主要淡水育珠蚌三角帆蚌,抗病力强,产珠质量高,因此对池蝶蚌的选育和优良品种培育具有十分重要的意义。

到 2007 年, 我们成功选育出了池蝶蚌  $F_3$ 代。为了评价原种和选育后代的效果, 本文对四个世代池蝶蚌的形态和生长进行比较, 并应用 RAPD 技术对人工选育后池蚌的遗传特征进行分析, 为池蝶蚌的进一步选育和合理利用提供科学依据。

#### 1 材料和方法

1. 1 试验材料 池蝶蚌取自江西省抚州市洪门水库 开发公司国家级池蝶蚌良种场。采集的样本共有四个世代, 亲代(P) 为 1997 年自日本引进的池蝶蚌,  $F_1$ 为 1998 年自繁成功的子一代,  $F_2$ 为 2001 年至 2003 年繁殖的子二代,  $F_3$ 为 2004 年至 2005 年繁殖的子三代。

- 1.2 生长指标测量方法 原代总数为 108 个,全部测量;选育后代测量数为每代 600 个,采取随机取样方法。平均每3 个月逐个测量蚌的壳长、壳宽(壳厚)及体重等各项生长指标。
- 1. 3 DNA 提取和 PCR 扩增 RAPD 分析中, 每个世代取 30 只池蝶蚌, 基因组总 DNA 的提取参照标准酚-氯仿抽提程序进行(Sambrook)  $^{[3]}$ 。 OD 值和琼脂糖电泳定量 DNA 参照文献[4]。 PCR 反应扩增程序参照 Williams,et~al.  $^{[5]}$  进行。电泳结束,将凝胶置紫外凝胶成像系统上观察,拍照并记录结果。

#### 2 结 果

#### 2.1 壳长与体重的关系

根据测量的数据, 四个不同世代相应年龄的池蝶蚌的壳长与体重关系式符合  $W=aL^b$ 。 我们测量了原代( $8^+$ )、 $F_1$ 代( $7^+$ )、 $F_2$ 代( $1^+$ — $5^+$ )和  $F_3$ 代( $0^+$ — $2^+$ )的壳长与体重,得到了它们的回归方程(表 1)。从结果可以看出, 四个不同世代池蝶蚌的壳长与体重的关系中,  $F_3$ 代的 b 值比  $F_2$ 代、 $F_1$ 代和 P代的更接近于 3,说明经过几代的良种选育后更接近匀速生长. 池蝶蚌的生长更为良好。

收稿日期: 2007-07-17; 修订日期: 2008-01-25

基金项目: 农业部 948 项目(2004-T9); 国家发改办([2005]1899)资助

作者简介: 郭红军(1983-), 男. 江西南昌人; 研究生; 主要从事水生动物发育遗传学研究。 E-mail: oliverguo2008@ 126. com

通讯作者: 洪一江, Tel: 0791-3969530, E-mail: yjhong2008@ 163. com

#### 表 1 不同世代池蝶蚌的壳长与体重的关系

Tab 1 The relationship between shell length and body weight in different generations

世代及相应年龄 Generation	回归方程 Regression equation	$R^2$
P, 8 <sup>+</sup>	$y = 0 \ 1052x^{1.7162}$	0. 7311
$F_1, 7^+$	$y = 0 \ 0035x^{2 \ 3584}$	0. 7941
$F_2, 5^+$	$y = 0 \ 0092x^{2.1363}$	0. 7921
$F_2, 4^+$	$y = 0 \ 0149x^{2.0416}$	0. 7264
$F_2, 3^+$	$y = 0 0004x^{2.7421}$	0. 8789
$F_2, 2^+$	$y = 0 0002x^{2.8036}$	0. 9386
$F_2, 1^+$	$y = 0 \ 0002x^{2 - 7175}$	0. 9125
$F_3, 2^+$	$y = 0 0002x^{2.8568}$	0. 8509
F <sub>3</sub> , 1+	$y = 0 0003x^{2.7493}$	0. 8947
F <sub>3</sub> , 0 <sup>+</sup>	$y = 0 0001x^{2.8373}$	0. 9086

#### 2.2 壳长与壳宽的比例关系及成活率

根据测量数据, 计算出了各代蚌相应年龄的壳长与壳宽的比例(表 2)。壳长/壳宽的值随年龄的增大有递减的趋势, 即蚌的体型有向更丰满的方向发育的趋势。对  $F_2$ 代和  $F_3$ 代的同龄蚌的壳长/壳宽的比例关系进行比较, 可以看出,  $F_3$ 代池蝶蚌的壳长/壳宽的比例比  $F_2$ 代同龄蚌的小, 即  $F_3$ 代蚌的体型更适合于育珠。

表 2 不同世代池蝶蚌的壳长与壳宽的比例关系

Tab. 2 The proportion between shell length and shell width in different generations

	c c
世代及相应年龄	长/ 宽( 平均值±SD)
Generation	The ratio of shell-length / shell width
P, 8 <sup>+</sup>	3. 31 ±0. 20
$F_1, 7^+$	$3.25\pm0.23$
$F_2, 5^+$	$3.51\pm0.16$
$F_2, 4^+$	$3.58 \pm 0.21$
$F_2, 3^+$	$3.70\pm0.23$
$F_2, 2^+$	$4.01\pm0.30$
$F_2, 1^+$	4. 21 ±0. 27
$F_3, 2^+$	$3.72\pm0.18$
F <sub>3</sub> , 1 <sup>+</sup>	4. 07 ±0. 27
$F_3, 0^+$	$4.79 \pm 0.39$
	-

#### 2.3 壳长、壳宽及体重的生长速度

对  $F_1 \longrightarrow F_3$ 代的壳长(图 1)、壳宽(图 2)及体重(图 3)进行测量,并对  $F_1 \longrightarrow F_3$ 代生长数据进行统计。

对壳长测量结果表明,在 22-28 月龄阶段前各代的生长速度基本相同, 28 月龄到 34 月龄间,  $F_3$ 代的壳长生长速度较  $F_2$ 和  $F_1$ 快。 34 月龄时  $F_1$ 、 $F_2$ 和  $F_3$ 代的壳长分别为( $110.50\pm6.21$ ) mm、( $113.93\pm6.47$ ) mm 和( $120.87\pm5.91$ ) mm,选育后  $F_3$ 代的生长优势逐渐显现出来。

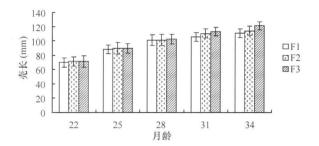


图 1 F, 一F, 代壳长生长变化图

Fig. 1 Growth of the shell length of the F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> and F<sub>3</sub> generations

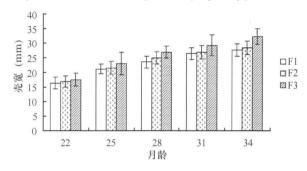


图 2 F<sub>1</sub>-F<sub>3</sub>代壳宽生长变化图

Fig. 2 Growth of the shell width of  $F_1$ ,  $F_2$  and  $F_3$  generations

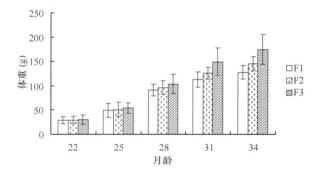


图 3 F<sub>1</sub>-F<sub>3</sub>代体重生长变化图

Fig. 3 Growth of the body weight of F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> and F<sub>3</sub> generations

在壳宽方面, 到 34 月龄时,  $F_3$ 代的壳宽为 (32.32  $\pm 2.63$ ) mm, 而  $F_2$ 和  $F_1$ 代分别为 (28.52  $\pm 2.31$ ) mm 和(27.61  $\pm 2.13$ ) mm。结果显示,  $F_3$ 代的平均壳宽大于  $F_2$ 和  $F_1$ 代, 经选育后, 壳宽的生长速度明显加快。

三个世代的体重在 22 和 25 月龄时无显著差别, 但 在 31 月龄和 34 月龄,  $F_3$ 代体重分别为( 149, 32  $\pm$ 328, 2) g 和( 174 83  $\pm$ 30 87) g,  $F_2$  为( 126, 39  $\pm$  12, 12) g 和( 145, 53  $\pm$ 14, 35) g,  $F_1$ 为( 113, 24  $\pm$ 15, 82) g 和( 127, 84  $\pm$ 13, 75) g,  $F_3$  代平均体重明显高于  $F_1$ 和  $F_2$ 代。

#### 2.4 RAPD 扩增结果

从 99 个随机引物中共筛选出了 10 个扩增结果稳定、重复性佳的引物, 共产生 45 条扩增带, 其中 18 条为多扩增带。这 10 条引物对池蝶蚌四代进行

#### RAPD 扩增, 扩增结果列于表 3。

表 3 四代池蝶蚌中的 RAPD 扩增结果

Tala	2	Namel	of DADD	hand	and	distribution	0200 02004	four generati	

引物 Primers	亲代 Parent al generation		$\mathrm{F}_{1}$		F <sub>2</sub>		F <sub>3</sub>		扩增总位点数 Numbers of amplification sites
	位点数	多态位点	位点数	多态位点	位点数	多态位点	位点数	多态位点	
W91496	6	1	5	0	5	0	5	0	6
W91495	5	0	7	0	7	1	6	0	7
W40354	7	2	5	1	3	0	3	0	7
W40356	3	0	4	0	4	0	4	0	4
W40365	4	0	4	0	4	0	4	0	4
W11847	3	1	3	1	3	0	3	0	4
W11851	5	2	6	2	5	1	5	1	6
W40360	2	1	2	0	2	0	2	0	2
W11837	1	0	1	0	2	0	2	0	2
W11848	2	1	2	1	3	1	3	1	3
Total	38	8	39	5	38	3	37	2	45

由表 3, 可以看出 P 代共检出 38 条片段, F<sub>1</sub>代 共检出 39 条, F<sub>2</sub>代检出 38 条, F<sub>3</sub>代检出 37 条。同一世代内的多态位点很少, 多态位点比例极低; 不同世代间多态性片段很少, 多态比例也很低, 因此可以看出, 同一世代不同个体之间的遗传多样性较低, 等位基因的纯合度较高; 不同世代间遗传特性相似程度高, 分化水平较低, 在 P、F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>、F<sub>3</sub>四世代中, 多态位点数分别为 8、5、3、2; 相应地, 多态位点比例分别为 21.0%、12.8%、7.8%、5.4%, 在这四代池蝶蚌中, 多态位点比例不高而且选育后代的纯合度逐渐升高。

### 3 讨论

我们在进行池蝶蚌人工选育过程中,一个重要的选育指标是壳宽。为了培育更大的圆形优质珍珠,长期的选育目标就是为了增加贝壳的凸度,即提高壳厚(宽)指数 $^{[6]}$ 。经过近 10年的选育,我们通过对选育后池蝶蚌的壳长与壳宽比例的比较,发现相同年龄池蝶蚌的  $F_3$ 代较  $F_2$ 代的壳长/壳宽的比例小,即  $F_3$ 代的体型比  $F_2$ 代同龄的更宽厚,这表明  $F_3$ 代池蝶蚌的形态结构更适于培育更大的珍珠。

从生长方面来看, 22 到 34 月龄间,  $F_1$ 、 $F_2$ 和  $F_3$ 代的各生长指标均有增加的趋势,  $F_3$ 的壳长生长速度快于  $F_2$ 和  $F_1$ 代; 三个世代壳宽从 28 月龄差别明显,  $F_3$ 的壳宽优势显著;  $F_3$ 的体重是三个世代中最大的。由此可见, 池蝶蚌经过了几代的人工选育后, 其各生

长指标均获得了较大的提升,选育取得了良好的效果。实验过程中发现,贝类的生长一般具有季节性,尤其是低温对其生长发育的影响较大。池蝶蚌的壳长和壳宽在 3 —6 月份相对生长速度快,而在 12 月份至次年 3 月份相对生长速度慢,这与一些学者的研究相似<sup>[7—9]</sup>,在冬季蚌的生长明显减缓,但并未见体重呈倒逆变化,这可能是由于变温动物的基础代谢较低,而这与刘小林等<sup>[10]</sup>的研究不同,栉孔扇贝在冬季不仅停止生长而且体重下降。此外,池蝶蚌在 4 龄前后,即完全性成熟年龄前后,各指标的生长速度明显减缓,这与其他种类基本相似,低龄个体生长较快,高龄个体生长减慢<sup>[11—14]</sup>。

本实验利用 RAPD 技术对池蝶蚌四代的遗传变异水平及其遗传结构情况进行了探讨。综合评价池蝶蚌的遗传多样性水平,发现各代的遗传多样性水平不高,发现各代的遗传特性纯合度较高,表明经过人工选育后,池蝶蚌的原有的遗传性状得以维持,同时又使生长速度、壳宽等优良经济性状的基因频率有明显提高;经过几代的选育,亲代与子代之间的相关位点不断趋于纯合,之间的遗传多样性也在逐渐降低,选择效果越来越明显。可见,人工选育作为人为的选择压力,已在池蝶蚌内获得了可遗传的适应性,目的等位基因的频率在群体内已有所上升,并将随着人工选育的压力与时间的增长而继续增大,直到获得较稳定的目的群体。因此,经过几代的选育,池蝶蚌已经基本具有了纯合系的特征,为我们目前

#### 开展的家系选育奠定了良好的基础。

#### 参考文献:

- [1] Xu M X, Hong Y J, et al. Preliminary Study on Disease Resistance of Pearl Bivalves (Hyriopsis schlegerli L.) to Disease-causing Sources of The Hyriopsis Cumingii L. [J]. Journal of Nanchang University (Natural Science), 2004, 9, 28(3): 262—269 [徐毛喜,洪一江,等. 池蝶蚌(Hyriopsis schlegerli) 对三角帆蚌病源的抗病性. 南昌大学学报(理科版), 2004, 9, 28(3): 262—269]
- [2] Zhou CH, Xu M X, Ou' Yang S, et al. On the studies of some biological characteristics between Hyriquis schlegeli and H. cumingii.

  [J]. Jiangxi Science, 2003, 21(2): 122—124 [周春花,徐毛喜,欧阳珊,等. 池蝶蚌(Hyriopsis schlegeli)与三角帆蚌(H. cumingii)若干生物学性状比较研究. 江西科学,2003, 21(2): 122—124]
- [ 3 ] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular Cloning; A Laboratory Manual [M]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory. 1989, 463—468
- [4] Zhou L, Fan L C, Gui J F. RAPD analysis of incorporation of heterologous genetic materials in multiple species of silver crucian carp [J]. Acta Hydrobiologica Sinia, 1998, 22(4): 301—306 [周莉, 樊连春, 桂建芳. 银鲫复合种外源遗传物质整入的 RAPD 分析. 水生生物学报, 1998, 22(4): 301—306]
- [5] Williams J.G., Kubelik A.R., Livak K.J., et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers [J]. Nucleic Acids Res., 1990, 18: 6531—6535
- [6] Wang A M, Shi Y H, Zhou Z G. Morphological trait parameters and their correlations of the first generation from matings and crosses of geographical populations of *Pinctada martensii* (Dunker) [J]. *Marine Fisheries Research*, 2004, **25**(3): 39—45 [王爱民, 石耀华, 周志刚. 马氏珠母贝不同地理种群内自繁和种群间杂交子一代形态性状参数及相关性分析. 海洋水产研究, 2004, **25**(3): 39—45]
- [7] He M X, Shi JH, Lin Y G, et al. Studies on growth traits of first generation of selective line of *Pinctada mantensii* Dunker [J]. *Jour*–

- nal of Tropical Oceanography, 2006, **25**(1): 19—22 [何毛贤, 史兼华, 林岳光, 等. 马氏珠母贝选育子一代生长特性研究. 热带海洋学报, 2006, **25**(1):19—22
- [8] He M X, Lin Y G, Yuan T. Growth characteristics of cultured population of Pindada martensii Dunker [J]. Journal of Trapical Oceanography, 2006, 25(4): 56—60[何毛贤,林岳光,袁涛. 马氏珠母贝养殖群体的生长特性研究. 热带海洋学报, 2006, 25(4):56—60]
- [9] Zheng G M, Wei Q S. A study on the diet and growth of Anodonta Woodiana Pacifica (HEUDE) in south lake, Wuhan [J]. Journal of Huazhoung Agricultural University, 1999, 18(1): 62—67 [郑光明, 魏青山. 武昌南湖圆背角无齿蚌食性与生长的研究. 华中农业大学学报, 1999, 18(1): 62—67]
- [10] Liu X L, Chang Y Q, Xiang J H, et al. The medium-term growth and development of hybrid between Chinese and Japanese populations of Chlamys fareri [J]. Journal of Fisheries of China, 2003, 27(3): 193—198 [刘小林,常亚青,相建海,等. 栉孔扇贝中国种群与日本种群杂交一代的中期生长发育. 水产学报, 2003, 27(3): 193—198]
- [11] Yu Y S, Wang H. Habitat and growth of clam (*Cydina sinensis gmdin*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1998, **19**(3): 276—279 [于业绍, 王慧. 青蛤的生境及生长. 水产学报. 1998, **19**(3): 276—279]
- [12] Wang Z C, Liu J M, Zhu A, et al. A preliminary survey on the biology of mactra chinersis in the outfall of Yalu Jiang River [J]. Journal of Fisheries of China, 1984, 8(1): 33—44 [王子臣,刘吉明,朱岸,等.鸭绿江口中国蛤蜊生物学的初步研究.水产学报,1984,8(1): 33—44]
- [13] Gan X, Gao J. On the age and growth of Lamprotula mansuni [J].

  Journal of Fisheries of China, 1991, 15(4): 341—344 [甘西,高健:佛耳丽蚌的年龄与生长.水产学报,1991,15(4): 341—344]
- [14] Wei L P, Shu Y F, Guan F T, et al. A preliminary survey on the biology of Saxidomus purpuratus [J]. Journal of Fisheries of China, 1982, 6(1): 1-10 [魏利平,束蕴芳,关福田, 等. 紫石房蛤生物学的初步研究. 水产学报, 1982, 6(1): 1-10]

# GROWTH AND GENETIC ANALYSIS ON THE SELECTED BREEDING HYRIOPSIS SCHLEGELI

GUO Hong-Jun<sup>1</sup>, LUO-Jie<sup>1</sup>, HONG Y÷Jiang<sup>1</sup>, QIU Q÷Jun<sup>2</sup>, YU-Ying<sup>1</sup>, XU Mao-Xi<sup>2</sup> and WANG Jun Hua<sup>1</sup>

(1. College & Life Science, Nanchang University, Nanchang 330031; 2. Fizhou Hongmen Reservoir

Exploitation Corporation Company, Fizhou 344712)

Abstract: Hyriopsis schlegeli was originally from BiWa Ko Lake in Japan which was introduced into China by Fuzhou Hongmen Reservoir Exploitation Corporation Company in 1997. Artificial propagation was achieved in the next year. With the expectation to gain high-blooded breed, Hyriopsis schlegeli had been selected for several generations. 43 individuals from 108 stock introduced directly from Japan was selected as parents and its offspring F<sub>1</sub> generation was gained in 1998. 5000 individuals of F<sub>1</sub> were selected as reserve parents every year based on the shell which characteristics were measured including the ratio of shell-length to shell-width and weight. F<sub>2</sub> and F<sub>3</sub> were also gotten in 2001 and 2004, respectively. The shape and the growth of Hyriopsis schlegeli and its descendants by artificial selected breeding had been researched. 600 individuals of each generation as sample in the three generations were investigated. The average ratio of shell-length to shell-width of the F<sub>2</sub> was 4. 21 ±0. 27 in one-year-old while decreased to 4.01 ±0.30 in the next year. Individuals which the ratio of shell-length to shell-width was lower than the average ratios were selected as parents. The selected effects showed advantages in the F<sub>3</sub>. The average ratio of shell-length to shell-width of  $F_3$  was 4. 07  $\pm 0.27$  in one year-old while decreased to 3.72  $\pm 0.18$  in the next year. Results indicated that in the growth rate of shell-length, shell-width and weight, the F<sub>3</sub> generation was the fastest among three generations during the culture period from 22 to 34 months. At 34 month, the average shell-length of each generation were (110.50  $\pm$ 6.21) mm, (113.93  $\pm$ 6.47) mm and (120.87  $\pm$ 5.91) mm, respectively. The average shell-width of the  $F_3$  was (32.32  $\pm$ 2.63) mm while  $F_2$  and  $F_1$  were  $(28.52 \pm 2.31) \text{ mm and } (27.61 \pm 2.13) \text{ mm. The weight of } F_3 \text{ was } (174.83 \pm 30.87) \text{ g, while } F_2 \text{ and } F_1 \text{ were } (145.53 \pm 1.00) \text{ mm}$ 14.35) g and (127.84  $\pm$ 13.75) g separately. The weight of  $F_3$  generation was heavier than that of  $F_2$  and  $F_1$ . The results indicated that the descendant by artificial selected breeding could have better capacity on growth and pearl performance.

Random amplification polymorphic DNA (RAPD) technique was used to analysis the genetic characteristics and to evaluate the artificial selection effect among the four generations. 10 primers, with more stable and reproducible characteristics, were selected from 99 random primers in RAPD to evaluate the selection effect. 45 bands were amplified in all. In the four generations, there were 8, 5, 3 and 2 polymorphic fragments were detected from P,  $F_1$ ,  $F_2$  and  $F_3$ , respectively. Accordingly, the proportions of polymorphic loci were 21.0%, 12.8%, 7.8% and 5.4%. In each generation, all the individuals had the similar genetic characteristics. The results showed that the genetic diversity of the four generations is similar and the level of genetic differentiation in the home-generation is lower. It indicated that the genetic characteristics of the *Hyriopsis schlegeli* tends to be stable and become pure strain after three generation artificial selected.

**Key words:** Hyriquis schlegeli; Selected breeding; RAPD; Genetic analysis