

中华卤虫不同近交水平家系生长性能比较

喻驰方¹ 栾生² 张志伟² 孔杰^{2*} 张全启¹

(¹ 中国海洋大学海洋生命学院 海洋生物遗传学与育种教育部重点实验室, 青岛 266003)

(² 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

摘 要 本研究评估了近交对中华卤虫生长性状的影响。使用实验室养殖的 4 个世代的中华卤虫近交家系, 统计其生长数据, 利用一般线性模型计算获得体长最小二乘均值, 其中 G₂ 代 3 个近交群体 (F=0.062 5, F=0.125, F=0.25) 的最小二乘均值分别为 9 749.24、9 298.87、9 259.42 μm, 相比对照家系 10 179.57 μm, 分别降低了 4.23%、8.65%、9.04%, 3 个群体体长性状均有不同程度的衰退, 并且随着近交系数的增加, 衰退呈现加重趋势。3 个近交群体每 10% 近交系数导致的近交衰退分别为 -6.77%、-6.92% 和 -3.62%, 综合计算所得所有近交家系每 10% 近交系数导致的近交衰退为 -5.77%。研究结果表明, 中华卤虫近交家系的体长性状有明显的衰退。

关键词 中华卤虫 体长 近交衰退 最小二乘均值

中图分类号 S917 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2013)06-0075-05

Growth performance comparison of different inbreeding levels of families in *Artemia sinica*

YU Chi-fang¹ LUAN Sheng² ZHANG Zhi-wei² KONG Jie^{2*} ZHANG Quan-qi¹

(¹ Key Laboratory of Marine Genetics and Breeding, Ocean University of China, Qingdao 266003)

(² Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

ABSTRACT The purpose of this study is to analyze the inbreeding effect for body length in *Artemia sinica*. Four generations of inbreeding families produced were used as pedigree. Three inbreeding populations of the G₂ generation (F=0.062 5, F=0.125, and F=0.25) were designed. The growth data were recorded, and the least square means were calculated using the general linear model. The least square means of body length were 9 749.24 μm, 9 298.87 μm and 9 259.42 μm, and reduced by 4.23%, 8.65% and 9.04%, respectively, compared to the control family (10 179.57 μm). For body length, high level of recession was observed with the increase in the coefficient of inbreeding. For these 3 levels, increase of 10% inbreeding coefficient led to -6.77%, -6.92% and -3.62% inbreeding depression and -5.77% for the averaged calculation. This result showed a significant recession of body length of *A. sinica* inbreeding families.

KEY WORDS *Artemia sinica* Body length Inbreeding depression Least squares mean

国家自然科学基金项目(30700623)资助

* 通讯作者。E-mail: kongjie@ysfri.ac.cn, Tel: (0532)85833961

收稿日期: 2013-04-11; 接受日期: 2013-05-22

作者简介: 喻驰方(1987-), 男, 硕士研究生, 主要从事育种与分子生物学研究。E-mail: yuchifang@live.cn

近交衰退是指由于近亲交配引起后代适应力的降低,研究者对于这种有害影响的研究已经将近一个半世纪。Crow等(1952)认为,近交衰退是近交群体中突变-选择平衡产生大量的隐性或近隐性有害基因导致的,而Davenport等(1981)则认为,是近交导致杂合优势的降低从而引发近交衰退。研究近交衰退产生的机理及其引发的效应是如今种群生物学研究的基础,这些研究包括对于选育系谱的开发与改进(Charlesworth *et al.* 1987; Thornhill 1993; Uyenoyama 1995)、对珍稀濒危物种的保护(Hedrick *et al.* 2000; Reed *et al.* 2003)以及各类农产品的养殖与种植(Falconer *et al.* 1996)等。近几十年来对于近交衰退的研究非常广泛,据Wang等(2001)报道,近交衰退的研究对象主要是数量性状,如繁殖力、生长性状、存活率、抗病能力、卵大小和饲料转换率等。研究表明,近交衰退正严重影响一些濒危物种的生存(O'Grady *et al.* 2006)。Rye等(1998)利用REML法对大西洋鲑 *Salmo salar* 研究发现,经过两个世代的近交,其加性遗传效应方差下降了50%~79%;Mrakovčić等(1979)发现斑马鱼 *Danio rerio* 近交家系繁殖能力下降,产卵的孵化率相对较低;Goyard等(2008)发现南美蓝对虾 *Penaeus stylirostri* 和南美白对虾 *Penaeus vannamei* Boone 近交家系的存活率相对较低。此外,van Oosterhout等(2003)发现孔雀鱼 *P. reticulata* 由于近交衰退和遗传负荷作用失去斑点。对于大型海洋动物,因其体型较大、繁殖周期较长,近交效应研究相对较少,也因没有合适的研究模型,对海洋动物经济性状近交衰退问题缺少足够的实验数据和理论支撑。

中华卤虫 *Artemia sinica* 是我国特有的一种两性生殖卤虫群体,属于节肢动物门 Arthropoda、有鳃亚门 Branchiata、甲壳纲 Crustacea、鳃足亚纲 Branchiopoda、无甲目 Anostraca、卤虫科 Artemiidae、卤虫属 *Artemia*。中华卤虫不仅是水产养殖业非常重要的饵料生物,同时,由于其个体小、繁殖周期短、容易饲养等特点,可以作为甲壳纲 BLUP 育种的模式生物。国内外对卤虫的近交研究非常少,只有 Nambu 等(2007)对近交家系旧金山湾卤虫的存活率、寿命、繁殖模式、耐盐度等性状进行研究,而对于体征性状,无论是中华卤虫或者其他种类卤虫的研究均未见报道。本研究以中华卤虫为近交研究模式生物,评估其近交家系体征性状的衰退情况,为中华卤虫和其他海洋生物的选择育种提供基础参数。

1 材料与方法

1.1 材料

实验采用来自3个地理群体的中华卤虫卵:山西运城解池群体(SIN)、内蒙古阿拉善左旗群体(ALXZ)、内蒙古伊克昭盟群体(YIM)。SIN群体和YIM群体分别由比利时国家卤虫参考中心的G. van Stappen博士和P. Sorgeloos博士提供,ALXZ群体由青岛农业大学郑一波老师提供。虫卵放于干燥密封袋中置于-20℃冰箱冷冻保存。

1.2 方法

利用人工静水孵化技术将卤虫卵置于装有孵化海水的培养皿中于400 L光照培养箱中培养,培养条件为3 000 lx、温度26℃、盐度30、全天光照、孵化时间30 h。卤虫孵化后用500 ml烧杯暂养,暂养密度为1只/2ml,暂养7 d后将卤虫分开,每只卤虫放于一个50 ml塑料小瓶单独培养,进行个体标记,记录每只卤虫的个体编号与家系编号以及放入养殖环境的时间。每2~3 d换水1次,暂养和分开养殖的养殖条件为1 500 lx光照、25℃、12 h黑暗:12 h光照,卤虫投喂的饵料为螺旋藻片和盐藻粉,饵料投喂时间为每日08:00。投喂前12 h,将需要投喂的螺旋藻片放入盛有200~300 ml养殖海水的烧杯进行浸泡,次日使用前,首先将浸泡好的螺旋藻片和盐藻粉用120目筛绢过滤到烧杯中,然后按5 ml/100只的投喂量用塑料滴管进行饵料投喂,卤虫幼体的摄食量很大,应给予足够的饵料,一般使水体呈淡蓝色即可。每日检查饵料利用情况,及时调整饵料用量,保持水体清洁干净,若出现水体浑浊现象,应及时换水。

1.3 构建家系

野生群体卤虫记作B世代,其后代记作G₀世代,以此类推获得G₁和G₂世代。群体中个体的近交系数

(F_x)的计算公式如下:

$$F_x = \sum \left[\left(\frac{1}{2} \right)^{(n_1+n_2+1)} (1 + F_A) \right]$$

式中, n_1 是共同祖先与个体父本间的世代数, n_2 是共同祖先与个体母本之间的世代数, F_A 是共同祖先的近交系数。本研究中 G_2 代近交家系有三类: 利用 G_1 世代卤虫构建 G_2 代全同胞家系, 其近交系数经计算为 0.25, 此类家系记作 $F_{0.25}$; 构建 G_2 代半同胞家系, 其近交系数经计算为 0.125, 此类家系记作 $F_{0.125}$; 利用拥有两个 B 世代共同亲本的 G_1 代卤虫近交得到的家系, 其近交系数经计算为 0.0625, 此类家系记作 $F_{0.0625}$ 。其具体配种方法见图 1。

1.4 特征性状测量统计

卤虫养殖至 20 日龄时进行生长性状测定。需要测量的卤虫个体当天停止投喂饵料, 在解剖镜下利用目微尺测量体长(图 2)。测量后的卤虫个体立即放回到原小瓶中, 防止因暴露在空气中时间太长导致活力降低。

实验测量 G_2 代 3 个近交群体, 每个群体至少测量 7 个家系, 共测量 26 个近交家系共计 377 个个体。

1.5 数据处理分析

应用一般线性模型, 估计不同近交水平下体长的最小二乘均值。估计模型为:

$$y_{ijkln} = u + sex_i + tank_j + sex_i \times tank_j + hour_k (sex_i \times tank_j) + pop_n + f_l (pop_n) + e_{ijkln}$$

式中, u 表示总体均值, y_{ijkln} 表示第 n 个体体长测定值, sex_i 表示第 i 个性别效应(固定效应), $tank_j$ 表示第 j 个重复效应(固定效应), $sex_i \times tank_j$ 表示性别与重复的交互作用(固定效应), $hour_k (sex_i \times tank_j)$ 为嵌套在第 i 个性别与第 j 个重复内第 k 个家系日龄(协变量), pop_n 表示第 n 个近交水平组效应(固定效应), $f_l (pop_n)$ 表示嵌套在第 n 个群体内第 l 个家系效应(随机效应), e_{ijkln} 表示随机残差。Wald F 检验表明, 上述固定效应、协变量及其交互均达到极显著水平($P < 0.001$)。

利用 R 软件 lsmmeans 包估计各近交群体和对照群体体长的最小二乘均值, 并对其进行多重比较检验。根据近交系数和最小二乘均值计算近交家系每 10% 近交系数引起的衰退比例。

2 结果与讨论

2.1 描述性统计

本研究中利用 G_1 代卤虫个体, 设计 3 个近交系数分别为 0.0625、0.125 和 0.25 近交水平的群体, 每个群体建立 10 个 G_2 代家系。对 3 个近交群体及对照家系进行体长统计, 结果见表 1, 与对照家系相比, 体长性状有明显的下降。

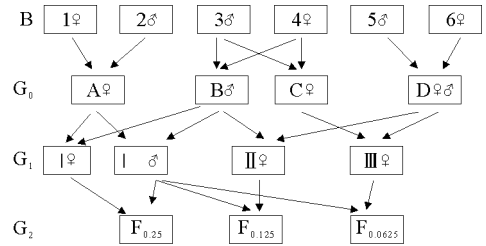
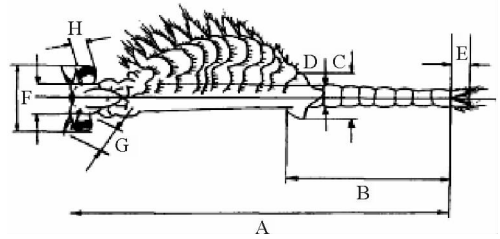


图 1 三类近交家系配种示意
Fig. 1 Schematic diagram for three kinds of inbreeding families



A. 体长; B. 腹部长; C. 卵巢长度; D. 第三腹节宽度;
E. 端肢节; F. 头宽; G. 第一触角长; H. 复眼直径
A. body length; B. abdominal length; C. length of oocysts;
D. width of the third abdominal segment; E. end furca;
F. width of head; G. length of the first antenna;
H. diameter of compound eye

图 2 卤虫成体形态部位示意

Fig. 2 Adult artemia diagram

表1 近交群体及对照家系体长统计性描述参数

Table 1 The statistic data of body lengths of inbreeding and control families

群体 Group	体长平均值 Mean(μm)	最大值 Max(μm)	最小值 Min(μm)	标准差 SD	变异系数 CV(%)
F _{0.0625}	10 212.94	11 301.51	8 649.55	909.098	8.90
F _{0.125}	9 963.48	11 063.07	9 005.33	604.93	6.07
F _{0.25}	9 898.86	10 839.64	8 923.93	625.26	6.32
对照 Control family	10 707.54	11 782.09	9 596.81	757.85	7.08

2.2 3个群体的体长最小二乘均值

利用一般线性模型估计3个近交群体体长的最小二乘均值,比较近交系数变化对体长性状的影响。结果表明,F_{0.0625}、F_{0.125}和F_{0.25}3个近交群体的体长最小二乘均值分别为9 749.24、9 298.87、9 259.42 μm ,与对照家系之差分别为-430.33、-880.70、-920.15 μm ,分别下降了-4.23%、-8.65%、-9.04%。近交分析表明,近交家系有一定程度的近交衰退,且随着近交系数的增加而增大。经计算,3个近交群体近交系数每增加10%,近交衰退分别表现为-6.77%、-6.92%、-3.62%,而整个G₂代近交家系近交衰退表现为-5.77%(表2)。

表2 G₂代不同近交水平家系体长的最小二乘均值和近交衰退Table 2 Inbreeding depression in inbreeding groups of G₂ generation

家系/品系 Family	最小二乘均值 Least squares mean (μm)	差值 Difference	百分比 Selection response(%)	10%近交引起的衰退 Recession caused by 10% inbreeding (%)
D	10 179.57 ^a			
F _{0.0625}	9 749.24 ^{ab}	-430.33	-4.23	-6.77
F _{0.125}	9 298.87 ^{ab}	-880.70	-8.65	-6.92
F _{0.25}	9 259.42 ^b	-920.15	-9.04	-3.62

注:4个群体间具有1个相同标记字母为差异未达到显著水平($P>0.05$),具有不同的标记字母为差异达到显著水平($P\leq 0.05$)

Note: Values with one same letter mean no significant difference, while different letters mean significant difference

3 讨论

本研究中,共设计了3个水平G₂代近交群体,近交系数分别为0.0625、0.125和0.25。F_{0.0625}、F_{0.125}和F_{0.25}3个近交群体体长最小二乘均值变化分别为-430.33、-880.70和-920.15 μm ,降低的百分比分别为-4.23%、-8.65%和-9.04%,近交家系有一定程度的近交衰退,并且近交系数越高,衰退呈递增趋势。这与Shao等(2007)在野生鮡*Gobiocypris rarus*的研究以及Li等(2000)在团头鲂*Megalobrama amblycephala*研究中得出的结论一致。

Naciri等(2000)研究报道,近交系数每增加10%,会引起-3%~-50%的近交衰退。本研究中3个近交群体近交系数每增加10%,近交衰退分别表现为-6.77%、-6.92%、-3.62%,综合G₂代近交家系,近交系数每增加10%,近交衰退表现为-5.77%。近交衰退处于较低水平状态的原因可能是以下观点:遗传力高的数量性状近交衰退不明显,而遗传力低的性状衰退相对严重。

在目前甲壳纲的研究中,近交衰退的研究比较少,也没有对中华卤虫近交方面的研究。在Bierne等(2000)的研究中发现,随着近交世代的增加,近交衰退严重影响了经过17年选育的新喀里多尼亚岛和塔西提岛的南美蓝对虾的生长性状,并且影响了潜在的选择反应。在本研究中,近交降低了体长性状。Keys等(2004)研究表明,在高密度养殖的南美白对虾自交家系中,存活率没有明显的降低,更高的近交水平可能会对存活率产生影响。Moss等(2007)对南美白对虾的研究表明,近亲繁殖对存活率的影响主要在幼虾(1~2g)阶段。本研究未采用存活率性状进行近交衰退分析,原因是近交衰退对存活率的影响相对较小,而研究的中华卤

虫近交家系中近交系数并不高,同时,进行数据测量时卤虫均已性成熟,部分个体已产卵,所以对早期的存活性状不能做出准确评价,要对卤虫存活率性状进行近交衰退分析,还需进行进一步近交实验设计和性状测量。

参 考 文 献

- Charlesworth D, Charlesworth B. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annu Rev Ecol Syst* 18: 237-268
- Crow JF, Gowen J. 1952. Dominance and over-dominance. *Heterosis* 282-297
- Davenport J, Lønning S, Kjørsvik E. 1981. Osmotic and structural changes during early development of eggs and larvae of the cod, *Gadus morhua* L. *J Fish Biol* 19(3): 317-331
- Falconer DS, Mackay TF, Frankham R. 1996. Introduction to Quantitative Genetics (4th edn). *Trends Genet* 12(7): 280
- Goyard E, Goarant C, Ansquer D and 7 others. 2008. Cross breeding of different domesticated lines as a simple way for genetic improvement in small aquaculture industries: Heterosis and inbreeding effects on growth and survival rates of the Pacific blue shrimp. *Aquaculture* 278(1): 43-50
- Hedrick PW, Kalinowski ST. 2000. Inbreeding depression in conservation biology. *Annu Rev Ecol Syst* 31:139-162
- Keys SJ, Crocos P, Burrige CY and 3 others. 2004. Comparative growth and survival of inbred and outbred, reared under controlled environment conditions: indications of inbreeding depression. *Aquaculture* 241(1): 151-168
- Li SF, Cai WQ. 2000. Two-way selective response of *Megalobrama amblycephala*. *J Fish China* 24(3): 201-205
- Moss DR, Arce SM, Otoshi CA and 2 others. 2007. Effects of inbreeding on survival and growth of Pacific white shrimp. *Aquaculture* 272(S1): S30-S37
- Mrakovčić M, Haley LE. 1979. Inbreeding depression in the Zebra fish *Brachydanio rerio* (Hamilton Buchanan). *J Fish Biol* 15(3): 323-327
- Naciri-Graven Y, launey S, Lebayon N and 1 other. 2000. Influence of parentage upon growth in *Ostrea edulis*: evidence for inbreeding depression. *Genet Res* 76(2): 159-168
- Nambu F, Tanaka S, Nambu Z. 2007. Inbred strains of brine shrimp derived from *Artemia franciscana*: lineage, RAPD analysis, life span, reproductive traits and mode, adaptation, and tolerance to salinity changes. *Zool Sci* 24(2): 159-171
- O'Grady JJ, Juian J, Brook BW and 4 others. 2006. Realistic levels of inbreeding depression strongly affect extinction risk in wild populations. *Biol Conserv* 133(1): 42-51
- Reed DH, Lowe EH, Briscoe DA and 1 other. 2003. Inbreeding and extinction: effects of rate of inbreeding. *Conserv Genet* 4(3): 405-410
- Rye M, Mao I. 1998. Nonadditive genetic effects and inbreeding depression for body weight in Atlantic salmon. *Livestock Production Science* 57(1): 15-22
- Shao Y, Wang JW, Qiao Y and 2 others. 2007. Morphological variability between wild populations and inbred stocks of a Chinese minnow, *Gobio-cypris rarus*. *Zool Sci* 24(11): 1094-1102
- Thornhil NW. 1993. The natural history of inbreeding and outbreeding: theoretical and empirical perspectives. University of Chicago Press
- Uyenoyama MK. 1995. A generalized least-squares estimate for the origin of sporophytic self-incompatibility. *Genet* 139(2): 975-992
- van Oosterhout C, Trigg RE, Carvalho GR and 3 others. 2003. Inbreeding depression and genetic load of sexually selected traits: how the guppy lost its spots. *J Evol Biol* 16(2): 273-281
- Wang S, Hard JJ, Utter F. 2001. Salmonid inbreeding: A review. *Reviews Fish Biol Fish* 11 (4): 301-319