

红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)选育家系构建 与早期标准化培育*

李伟业¹ 马爱军¹ 王新安¹ 孟雪松² 刘忠强¹ 刘圣聪²
邹杰¹ 岳亮^{1,2} 张涛² 熊再峰²

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 青岛市海水鱼类种子工程
与生物技术重点实验室 青岛 266071; 2. 大连天正实业有限公司 大连 116000)

提要 采用巢式设计方法和人工受精技术,对红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)选育家系的构建与标准化培育技术进行研究。按照 1 雄配 2 雌的原则,选取养殖、野生和日本 3 个群体的红鳍东方鲀进行定向交配,并对红鳍东方鲀早期阶段苗种进行了环境标准化和一、二、三、四级数量标准化培育。结果表明,红鳍东方鲀亲鱼产卵量大,对构建父系半同胞家系十分有利;从 4 次数量标准化看,每次各家系内鱼苗数量都较为集中,各阶段各家系的成活率也较高,但存在部分家系间数量差异显著;经过 4 次数量标准化,成功构建 22 个父系半同胞家系,48 个母系全同胞家系。对早期阶段家系构建和培育存在的问题,进行了探讨并提出拟解决方法,为大规模建立红鳍东方鲀家系提供参照。

关键词 红鳍东方鲀;选育;家系构建;标准化培育

中图分类号 Q953

红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*),属鲀形目(Tetraodontiformers)、鲀亚目(Tetraodontoidei)、鲀总科(Tetraodontoidea)、鲀科(Tetraodontidae)、东方鲀属(*Takifugu*),俗称河豚、廷巴、腊头、龟鱼等,为近海底层鱼类(成庆泰等,1975)。主要分布于北太平洋西部的日本、朝鲜半岛和中国沿海(王奎旗等,2001),其味道鲜美、肉质细嫩,深受人们的喜爱。我国对红鳍东方鲀的育苗和养殖研究始于 20 世纪 80 年代初,首先由黄海水产研究所开展研究,并于 90 年代初首先在国内获得突破,90 年代中期开始规模化养殖,逐渐成为我国北方沿海的主要养殖品种之一(雷霖霖,2005)。在红鳍东方鲀养殖业迅速发展的同时,由于尚未实施有效的亲鱼管理和合理的配种方案,一些影响产业发展的问題也相继出现。结果导致出现较为严重的孵化率、成活率降低、畸形率增高、生长速度减慢、抗逆性变差等种质退化现象。基于红鳍东方鲀养

殖业发展的现状,采取有效的方法对红鳍东方鲀进行系统选育,培育出优质、高产、抗逆的新品种,从根本上解决红鳍东方鲀养殖产业的良种化问题,从而保证红鳍东方鲀养殖产业健康、稳定、持续的发展。

基于电子标记的大规模家系选育技术是抑制养殖种遗传衰退的最有效、最实用的技术。目前,国际上运用此项技术对一些水产养殖物种的遗传改良已经取得显著的成绩。研究者在挪威运用大规模家系选育技术对大西洋鲑进行遗传改良,成功培育出了优质的大西洋鲑品系(Gjerde *et al.*, 1999; Grimholt *et al.*, 2003);在芬兰利用电子标记辅助的大规模家系选育技术,成功培育出生长速度快、产肉量高的虹鳟 JALO 品系(Gall *et al.*, 1993)。此外,学者们运用大规模家系选育技术,在印度选育出印度鲤(Marc Vandeputte, 2003),在美国选育出抗病虾(Argue *et al.*, 2002),在菲律宾选育出罗非鱼(Gall *et al.*, 2002)。在我

* 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助,20603022012005 号。李伟业, E-mail: liweiye1999@sina.com

通讯作者: 马爱军, 博士, 研究员, 博士生导师, E-mail: maaj@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2012-06-19, 收修改稿日期: 2012-09-21

国国内,人们利用大规模家系选育技术分别对鲤(鲁翠云等,2008)、鲢鳙鱼类(马爱军等,2010;田永胜等,2009;刘永新等,2008)、中国明对虾(张天时等,2007)、海湾扇贝(张国范等,2003)等多种水产动物进行遗传改良,目前已获得良好的遗传进展。基于当前国际上运用大规模家系选育技术对水产动物进行遗传改良取得的重大成效,以及国内运用此项技术在水产育种领域取得的有益实践,运用大规模家系选育技术对红鳍东方鲀进行遗传改良,可望取得良好的效果(李鸿鸣等,2002)。

开展大规模家系选育,首要要建立一定数量的选育家系,这是开展大规模家系选育的前提和基础。尽管构建家系的方法基本相同,但针对不同的鱼类,具体实验操作又存在差异。本文对红鳍东方鲀大规模家系构建和培育技术进行了研究,为下一步红鳍东方鲀大规模家系选育工作提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 亲本来源

本次选育所用的红鳍东方鲀亲本分别来自大连天正实业有限公司人工养殖的亲鱼群体、2010年从日本引进的亲鱼群体以及2009年在黄海捕捞的野生亲鱼群体。以上3个地理群体的红鳍东方鲀经人工培育和生殖调控在同一时期达到性成熟,挑选体格健壮、无外伤、色泽好、活力强、性腺发育成熟的红鳍东方鲀作为构建家系的亲鱼。

1.2 亲鱼的催熟及受精

通过注射 LRH-A₃ 250—300 μg/kg + HCG 500 IU/kg 对红鳍东方鲀亲鱼进行催产,在催产后 24—48h,检查亲鱼性腺成熟情况,待性腺成熟后,挤压雌鱼腹部收集成熟卵子于干燥白瓷盆中,然后挤压雄鱼腹部,采集成熟精子,将精子与卵搅拌混合,加入适量海水激活精子,静置 5min 后开始洗卵,直至受精卵不再粘附于盆壁再将受精卵放入直径为 80cm 的 60 目筛绢锥形孵化网中进行孵化,所有锥形孵化网都放在一个 40m³ 的大池中,大充气微流水孵化,孵化温度 18—19℃。

1.3 选育家系的构建

根据巢式设计(Comstock *et al.*, 1952),按照 1 雄配 2 雌的原则,选取养殖、日本和野生 3 个亲本群体的红鳍东方鲀,采用人工采卵受精的方法按照交配设计进行定向交配,具体交配设计见表 1。预计构建 27 个父系半同胞家系,54 个母系全同胞家系。构建半

同胞家系成功后,为进一步研究需要,对已交配的亲鱼,用 PIT (Passive Integrated Transponder)进行电子标记,记录识别代码,同时对其全长、体长、体重等指标进行测量和记录,并取相应的鳍条作为样本,建立繁殖群体档案。将受精卵放置在直径为 80cm 的 60 目筛绢锥形孵化网中,所有锥形孵化网都放在一个 40m³ 的大池中,大充气微流水孵化,孵化温度 18—19℃。

表 1 3 种不同地理种群红鳍东方鲀的交配设计
Tab.1 The mating design of three *T. rubripes* populations

群体	养殖 r(♀)	野生 y(♀)	日本 j(♀)
养殖 R(♂)	Rr(3)	Ry(3)	Rj(3)
野生 Y(♂)	Yr(3)	Yy(3)	Yj(3)
日本 J(♂)	Jr(3)	Jy(3)	Jj(3)

注:大写字母表示雄鱼,小写字母表示雌鱼。括号内数字表示对应亲本群体计划构建的父系半同胞家系数目

1.4 家系早期发育阶段的标准化培育

仔鱼出膜后第 4 天开始投喂营养强化的强化轮虫,第 15 天开始间隔投喂强化轮虫和卤虫无节幼体,第 28 天开始投喂少量的鱼糜,第 45 天后全部转为鱼糜,第 60 天各家系转到海上网箱进行培育。

在家系的早期培育阶段,由于个体太小,无法进行标记识别混养,因此各家系需分池培育,从而不可避免地受到环境因素的影响。为尽量减小各家系培育时环境效应的差异,采用环境条件标准化和数量标准化方式对家系幼体进行培育。

1.4.1 环境条件标准化 从受精卵孵化、仔鱼培育到标记混养前这一阶段,尽量使每个家系在各阶段的培育条件(温度、盐度、光照、溶氧、饵料以及培育空间等)保持一致。按照不同发育阶段,将各家系放置在同一车间进行统一养殖管理。

1.4.2 数量标准化 在红鳍东方鲀发育的不同阶段,为消除放养密度对各家系的影响,结合红鳍东方鲀生态习性和养殖模式,对其进行四级标准化处理。依据本试验点育苗车间培育池和海上网箱的规格,各级数量标准化的标准如下:

一级数量标准化:出膜的仔鱼放在 5m³ 的圆形培育缸中进行培育,出膜后第 15 天,留取活力好的仔鱼 15000 尾继续培育,多余的仔鱼并入到生产中培育。

二级数量标准化:孵化后第 30 天,选取生长快、活力好的稚鱼 8000 尾放置在 6m×6m×1m 的水泥池内培育。

三级数量标准化: 孵化后第 60 天, 选取生长快、活力好的幼鱼 5000 尾放置在 5m×5m×5m 的网箱内进行中间培育。

四级数量标准化: 孵化后第 120 天, 选取生长快、活力好的幼鱼 2000 尾放置在 5m×5m×5m 的网箱内进行中间培育。中间培育 60 天。

2 结果与分析

2.1 亲鱼的产卵及孵化

红鳍东方鲀的家系构建于 4 月 13—18 日, 利用人工干法受精构建了 27 个父系半同胞家系和 54 个母系全同胞家系。亲鱼平均产卵量为 272g, 最高产卵量为 423g, 最低产卵量为 156g; 平均受精率为 84%, 最高受精率为 95%, 最低为 42%; 平均孵化率为 52%, 最高孵化率为 78%, 最低仅为 5%。亲鱼的产卵量、受精率以及仔鱼出膜数量的分布情况分布见图 1、图 2 和图 3。

从图 1 中可以看出, 4 个全同胞家系亲鱼的产卵量有 150—200g, 12 个全同胞家系亲鱼的产卵量有 200—250g, 18 个全同胞家系亲鱼的产卵量有 250—300g, 16 个全同胞家系亲鱼的产卵量有 300—350g, 10 个全同胞家系亲鱼的产卵量有 350—400g, 4 个全同胞家系亲鱼的产卵量有 400—450g, 显然红鳍东方鲀亲鱼的产卵量较多, 这对构建父系半同胞家系十分有利。

从图 2 中可以看出, 母系全同胞家系卵的受精率小于 50% 的有 2 个, 50%—60% 也有 2 个, 60%—70% 和 70%—80% 的各 5 个和 6 个, 而 80% 以上达到 39 个, 占全同胞家系的 72%。

从图 3 中可以看出, 5 个全同胞家系有 1.5—2.5 万尾仔鱼, 6 个全同胞家系有 2.5—3.5 万尾仔鱼, 16 个全同胞家系有 3.5—4.5 万尾仔鱼, 12 个全同胞家系有 4.5—5.5 万尾仔鱼, 超过 5.5 万尾的家系有 12 个(超过 5.5 万尾的家系在一级标准化前分成 2 个培育缸进行培育)。此外, 有 3 个全同胞家系的仔鱼数量不到 1.5

万尾(有 1 个父系半同胞家系因受精率过低, 孵化出的仔鱼未达到 1 万尾, 有 1 个母系全同胞家系几乎未

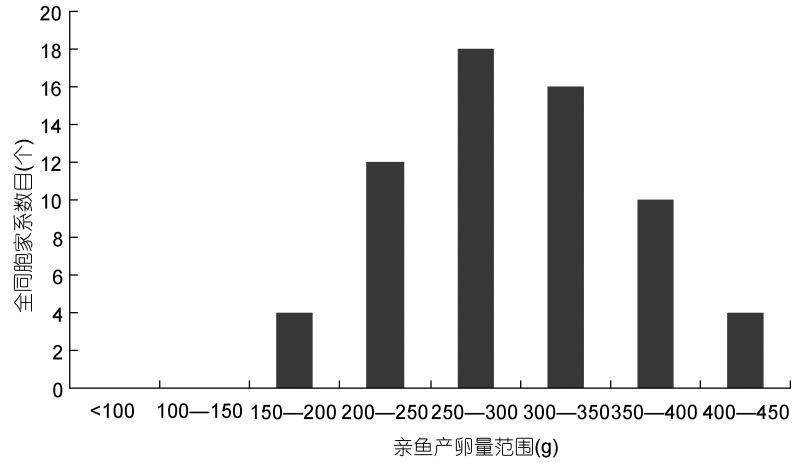


图 1 全同胞家系亲鱼产卵量分布范围

Fig.1 The distribution range of full-sib families eggs spawn

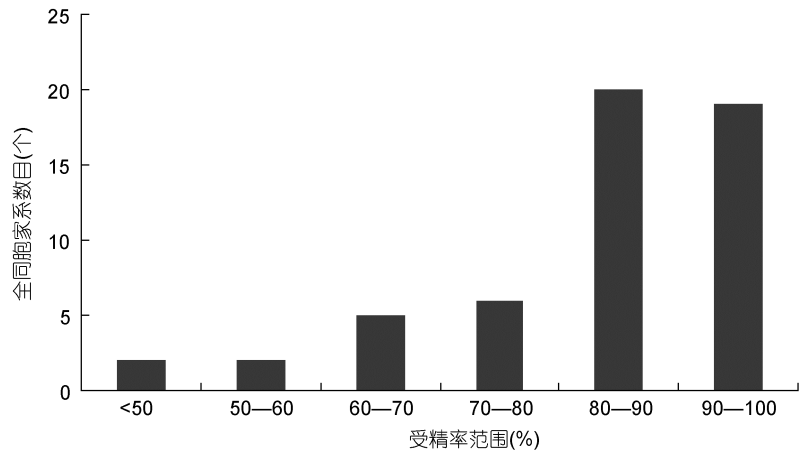


图 2 全同胞家系受精率分布范围

Fig.2 The distribution range of full-sib families fertilization rate

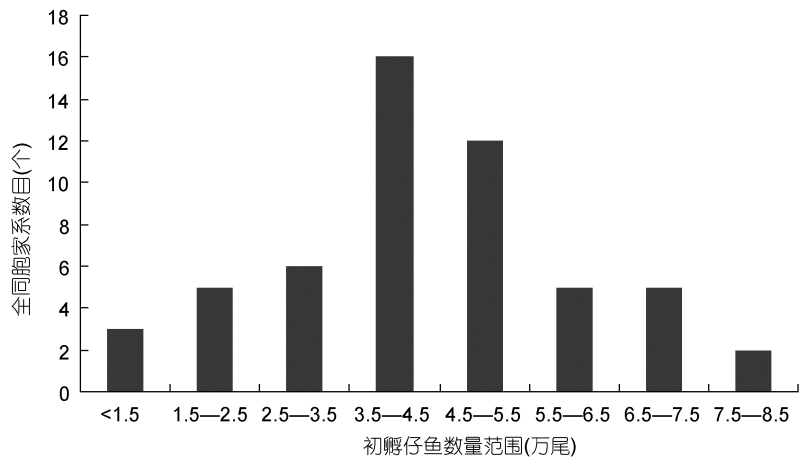


图 3 全同胞家系初孵仔鱼数量分布范围

Fig.3 The quantity distribution range of newly hatched larvae of full-sib families

孵化出仔鱼), 低于一级数量标准化的要求, 因此, 这 3 个家系未进行标准化。这样, 构建的 27 个父系半同胞家系只剩余 25 个父系半同胞家系, 由表 2 可看出, Rr2 和 Yr3 这 2 个半同胞家系已被淘汰。

2.2 家系早期发育阶段的数量标准化培育状况

2.2.1 家系早期发育阶段的数量标准化的时间分布

第一个半同胞家系初孵仔鱼的时间是 4 月 21 日, 最后一个半同胞家系初孵仔鱼的时间是 4 月 27 日, 时间间隔是 7d。仔鱼在出膜后第 15 天进行一级数量标准化, 第一个半同胞家系一级数量标准化的时间是 5 月 6 日, 最后一个为 5 月 12 日; 第一个半同胞家系二级数量标准化的时间是 5 月 21 日, 最后一个为 5 月 27 日; 第一个半同胞家系三级数量标准化的时间是 6 月 20 日, 最后一个为 6 月 26 日。每一处理过程的时

间间隔都是 7d。从 4 月 13 日到三级数量标准化结束, 共获得 48 个母系全同胞家系, 其中父系半同胞家系 23 个。27 个父系半同胞家系产生初孵仔鱼时间、一级数量标准化时间、二级数量标准化时间、三级数量标准化时间和四级数量标准化时间的分布见表 2。

2.2.2 一级数量标准化培育状况

由于受各家系受精卵质量、数量以及环境因子的影响, 在初孵仔鱼培育一段时间后, 各家系仔鱼的数量和质量会存在一定差异。一级数量标准化(仔鱼出膜后第 15 天)时各家系仔鱼数量分布见图 4。

从图 4 中可以看出, 6 个全同胞家系有 1.5—2.5 万尾仔鱼, 6 个全同胞家系有 2.5—3.5 万尾仔鱼, 17 个全同胞家系有 3.5—4.5 万尾仔鱼, 12 个全同胞家系有 4.5—5.5 万尾仔鱼, 超过 5.5 万尾的家系有 10 个, 不

表 2 父系半同胞家系产生初孵仔鱼时间和数量标准化时间分布(2011 年)

Tab.2 Time distributions of initial hatch larval fish and quantity standardization of paternal half-sib families (in Year 2011)

半同胞家系	初孵仔鱼时间(d)	一级数量标准化时间(d)	二级数量标准化时间(d)	三级数量标准化时间(d)	四级数量标准化时间(d)
Rr1	4—21	5—6	5—21	6—20	8—20
Rr2	—	—	—	—	—
Rr3	4—24	5—9	—	—	—
Ry1	4—21	5—6	5—21	6—20	8—20
Ry2	4—23	5—8	5—23	6—22	8—22
Ry3	4—26	5—11	5—26	6—25	8—25
Rj1	4—22	5—7	5—22	6—21	8—21
Rj2	4—23	5—8	5—23	—	—
Rj3	4—25	5—10	5—25	—	—
Yr1	4—22	5—7	5—22	6—21	8—21
Yr2	4—25	5—10	5—25	6—24	8—24
Yr3	—	—	—	—	—
Yy1	4—22	5—7	5—22	6—21	8—21
Yy2	4—24	5—9	5—24	6—23	8—23
Yy3	4—27	5—12	5—27	6—26	8—26
Yj1	4—22	5—7	5—22	6—21	8—21
Yj2	4—23	5—8	5—23	6—22	8—22
Yj3	4—25	5—10	5—25	6—24	8—24
Jr1	4—21	5—6	5—21	6—20	8—20
Jr2	4—23	5—8	5—23	6—22	8—22
Jr3	4—25	5—10	5—25	6—24	8—24
Jy1	4—22	5—7	5—22	6—21	8—21
Jy2	4—24	5—9	5—24	6—23	8—23
Jy3	4—26	5—11	5—26	6—25	8—25
Jj1	4—22	5—7	5—22	6—21	8—21
Jj2	4—23	5—8	5—23	6—22	8—22
Jj3	4—26	5—11	5—26	6—25	8—25

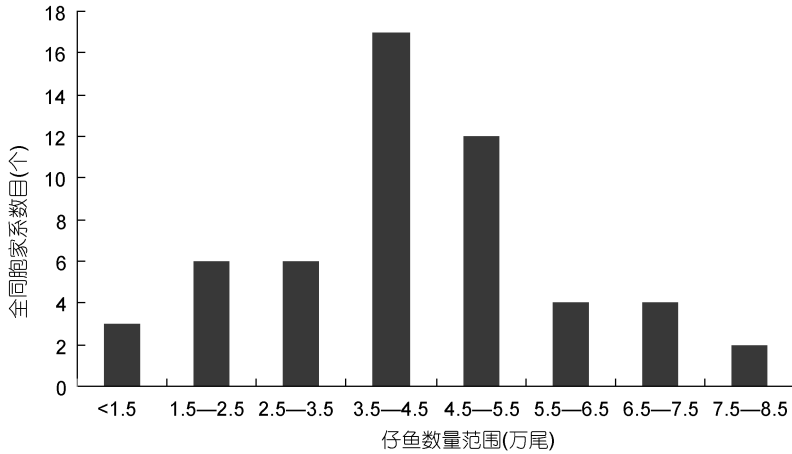


图4 一级数量标准化时全同胞家系仔鱼数量分布范围

Fig.4 The quantity distribution range of larval fish of full-sib families at the first quantity standardization

足 1.5 万尾的家系只有 3 个。这与初孵仔鱼的数量分布情况基本相近。由表 3 可知, 在一级数量标准化时各家系仔鱼的成活率很高, 平均达到 91.5%。Yy1-1(表示母系全同胞家系)的成活率最高, 达到 98%, 只有 Rr3-2 和 Jr1-1 的成活率低于 90%, 分别为 83%和 86%。Yj3 由于受精率过低, 而 Rr2-1 几乎未孵化出仔鱼, 都未到达一级数量标准化的要求, 这样, Yj3 和 Rr2 这 2 个父系半同胞家系被淘汰, 一级数量标准化后剩余 25 个父系半同胞家系。

2.2.3 二级数量标准化培育状况 图 5 为一级数量标准化后到 30d 稚鱼二级数量标准化时 51 个全同胞家系稚鱼数量分布范围。从图 5 中可以看出, 3 个全同胞家系有 1.1—1.2 万尾稚鱼, 18 个全同胞家系有 1.2—1.3 万尾稚鱼, 29 个全同胞家系有 1.3—1.4 万尾稚鱼, 1.1—1.4 万尾稚鱼的全同胞家系为全同胞家系

总数的 98%, 1.2—1.4 万尾稚鱼的全同胞家系为全同胞家系总数的 92%, 可见各家系稚鱼数量范围分布比较集中。不存在有 0.8—1.1 万尾以及 1.4—1.5 万尾的全同胞家系。此外, 有一个全同胞家系的稚鱼数量不足 0.8 万尾, 未达到二级标准化的要求, 从而被淘汰。由表 2 可知, 二级标准化时各家系稚鱼的成活率相对一级标准化时较低, 平均为 85.5%, 有 8 个全同胞家系的成活率达到 90%以上, 其中 Yj3-1 的成活率最高为 93%。有 4 个全同胞家系低于 80%, 其中 Rr3-2 仅为 49%, 其稚鱼数量未达到二级数量标准化要求, 被淘汰。这样, 有一个父系半同胞家系被淘汰, 二数量级标准化后剩余 24 个父系半同胞家系。

2.2.4 三级数量标准化培育状况 二级标准化后到 60d 幼鱼进行三级数量标准化时, 50 个母系全同胞家系幼鱼数量分布见图 6。

从图 6 中可以看出, 有 1 个全同胞家系的幼鱼数目为 0.50—0.55 万尾, 有 3 个全同胞家系的幼鱼数目为 0.55—0.60 万尾, 有 4 个全同胞家系的幼鱼数目为 0.60—0.65 万尾, 22 个全同胞家系有 0.65—0.70 万尾幼鱼, 18 个全同胞家系有 0.70—0.75 万尾幼鱼, 有 0.65—0.75 万尾幼鱼的全同胞家系占全同胞家系总数的 80%。不存在幼鱼数量在 0.75—0.80 万尾内的全同胞家系。有 2 个全同胞家系的幼鱼数量低于 0.50 万尾, 未达到 3 级标准化要求, 被淘汰。从表 3 中可以看出, 三级数量标准化时 50 个全同胞家系的平均成活率为 82.1%, 有 7 个全同胞家系的成活率达到 90%以上, 其中 Yr1-1 的成活率最高, 为 93%。有 7 个全同胞家系的成活率低于 80%。

由于 Rj2-1 和 Rj3-2 染病, 造成这两个家系的幼鱼大量死亡, 成活率只有 22%和 10%, 因此这两个家系的幼鱼数量低于 0.50 万尾, 未达到三级数量标准化要求, 被淘汰。这样, 三级数量标准化后还剩余 22 个父系半同胞家系。

2.2.5 四级数量标准化培育状况 三级标准化后到 120d 幼鱼进行四级数量标准化时, 48 个母系全同胞家系幼鱼数量

表 3 母系半同胞家系四次数量标准化时的成活率

Tab.3 The survival rate of four quantity standardizations of maternal half-sib families

全同胞家系	一级数量标准化时 仔鱼成活率(%)	二级数量标准化时 稚鱼成活率(%)	三级数量标准化时 幼鱼成活率(%)	四级数量标准化时 幼鱼成活率(%)
Rr1-1	95	89	86	91
Rr1-2	96	89	91	93
Rr2-1	—	—	—	—
Rr2-2	—	—	—	—
Rr3-1	94	88	87	92
Rr3-2	83	49	—	—
Ry1-1	93	87	86	89
Ry1-2	94	83	85	83
Ry2-1	93	82	84	91
Ry2-2	93	86	74	88

分布见图 7。

从图 7 中可以看出, 有 2 个全同胞家系的幼鱼数目为 0.35—0.40 万尾, 有 15 个全同胞家系的幼鱼数目为 0.40—0.45 万尾, 有 31 个全同胞家系的幼鱼数目为 0.45—0.50 万尾。46 个全同胞家系有 0.40—0.50 万尾幼鱼, 占全同胞家系总数的 92%。不存在幼鱼数量低于 0.35 万尾的全同胞家系。从表 2 中可以看出, 四级数量标准化时 48 个全同胞家系的平均成活率为 89.9%, 有 31 个全同胞家系的成活率达到 90% 以上, 其中 Jj3-2 的成活率最高, 为 95%。有 2 个全同胞家系的成活率低于 80%。四级数量标准化时, 所有父系半同胞家系幼鱼数量都达到四级数量标准化要求, 这样, 四级数量标准化后还剩余 22 个父系半同胞家系。

经过 4 次数量标准化, 共获得 22 个父系半同胞家系, 48 个母系全同胞家系。四级数量标准化后, 再经过 2 个月的中间培育, 家系培育日龄达 180d 左右, 幼鱼体长可达 18—19cm, 此时对幼鱼进行电子标记, 从而区分不同的家系, 将所有家系进行混养。

3 讨论

3.1 红鳍东方鲀家系构建

家系构建是进行家系选育的基础, 水产品种的家系选育方法通常是构建半同胞家系或全同胞家系(Gjedrem *et al.*, 2005)。本次试验为构建父系半同胞家系, 构建进行的交配严格按照 1 雄配 2 雌的原则进行。在构建父系半同胞家系时, 很

续表 3

全同胞家系	一级数量标准化时 仔鱼成活率(%)	二级数量标准化时 稚鱼成活率(%)	三级数量标准化时 幼鱼成活率(%)	四级数量标准化时 幼鱼成活率(%)
Ry3-1	92	84	92	92
Ry3-2	95	89	88	90
Rj1-1	96	90	91	93
Rj1-2	94	86	86	90
Rj2-1	93	80	22	—
Rj2-2	94	83	82	89
Rj3-1	94	84	87	90
Rj3-2	93	79	10	—
Yr1-1	98	91	93	92
Yr1-2	96	90	87	93
Yr2-1	95	89	86	94
Yr2-2	97	88	64	91
Yr3-1	—	—	—	—
Yr3-2	95	87	89	91
Yy1-1	92	87	71	88
Yy1-2	94	86	87	89
Yy2-1	92	84	81	87
Yy2-2	93	87	86	92
Yy3-1	95	89	88	93
Yy3-2	93	88	86	89
Yj1-1	93	85	84	88
Yj1-2	92	88	88	93
Yj2-1	93	86	83	92
Yj2-2	94	90	89	90
Yj3-1	92	93	90	93
Yj3-2	96	88	88	89
Jr1-1	86	78	76	87
Jr1-2	96	90	89	92
Jr2-1	92	90	87	91
Jr2-2	92	87	84	78
Jr3-1	95	86	69	84
Jr3-2	93	87	86	90
Jy1-1	94	89	89	89
Jy1-2	93	84	86	90
Jy2-1	93	83	81	93
Jy2-2	90	85	88	92
Jy3-1	92	79	83	74
Jy3-2	93	81	79	89
Jj1-1	92	87	86	92
Jj1-2	94	89	90	91
Jj2-1	93	82	88	89
Jj2-2	92	88	88	93
Jj3-1	93	85	86	92
Jj3-2	92	90	91	95

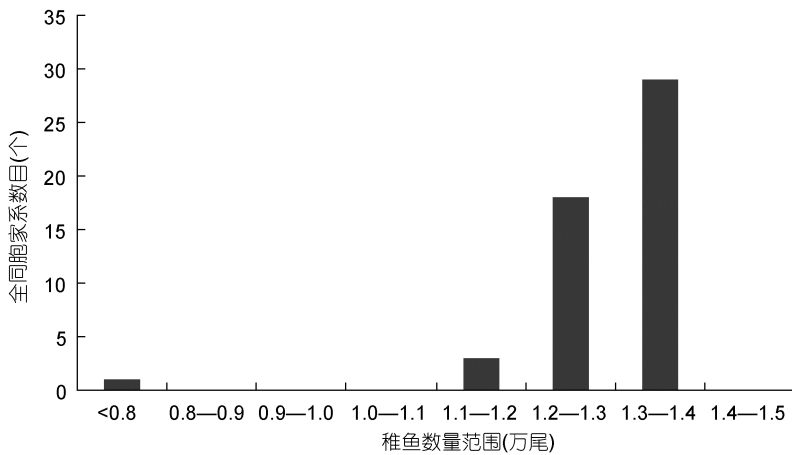


图5 二级数量标准化时全同胞家系仔鱼数量分布范围

Fig.5 The quantity distribution range of juveniles of full-sib families at the second quantity standardization

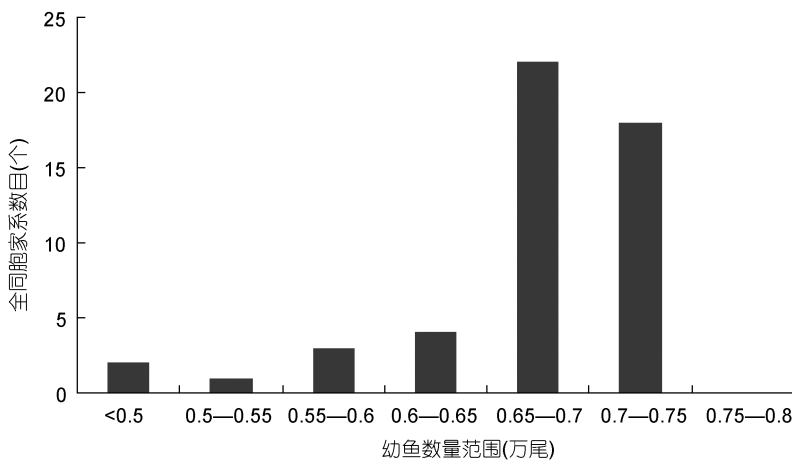


图6 三级数量标准化时全同胞家系仔鱼数量分布范围

Fig.6 The quantity distribution range of larva fish of full-sib families at the third quantity standardization

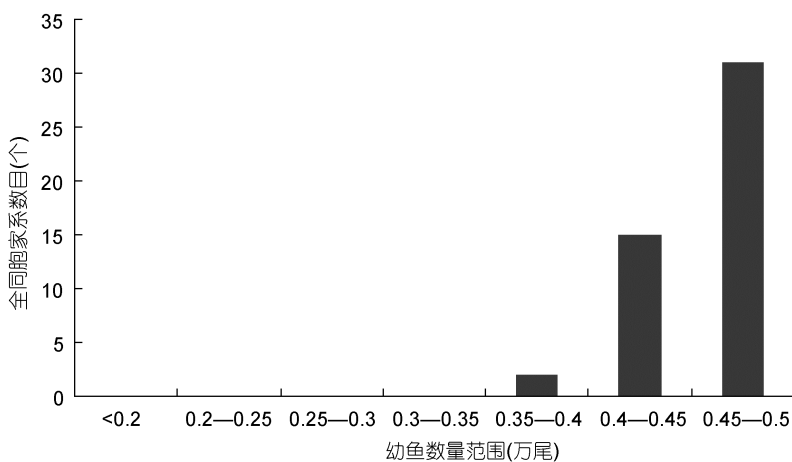


图7 四级数量标准化时全同胞家系仔鱼数量分布范围

Fig.7 The quantity distribution range of larva fish of full-sib families at the fourth quantity standardization

容易出现雄鱼精液不足的现象,当1尾雄鱼的精量不足以保证对2尾雌鱼交配时,很可能1个全同胞家系或2个全同胞家系的受精卵不足,导致构建失败(马爱军等,2010)。马爱军等(2010)构建了32个大菱鲃的父系半同胞家系,仅有1个父系半同胞家系1次构建成功,有11个父系半同胞家系重复8次才构建成功,可见大菱鲃的父系半同胞家系构建成功率很低。

从图1和图2中可以看出,尽管雌鱼的产卵量很大(全部在150g以上),但初始构建的54个母系全同胞家系中只有2个母系全同胞家系的受精率低于50%,其余家系都1次构建成功。说明红鳍东方鲀父系半同胞家系构建的成功率是很高的,这与红鳍东方鲀的繁殖习性密切相关(雷霖霖,2005)。

大规模家系初始构建的另一关键技术是如何保证家系构建的同步性。亲鱼产卵的同步性越好,初孵仔鱼的时间就越集中,家系的环境标准化也就越有效,混养前达到电子标记的规格也越一致,从而可以提早进行混养,有效减少各家系单独养殖的时间,进而将家系单独养殖的环境偏差降到最小(马爱军等,2010)。在构建红鳍东方鲀家系前,采用培育尽量多的亲鱼,扩大亲本范围,以及人工调控亲鱼性腺发育的方法,是十分必要的,以保证在较短的时间内得到较多同步优质的受精卵,为下一步的标准化培育提供有利条件。

3.2 红鳍东方鲀家系早期标准化培育

鱼体早期生长的表型值是个体基因和所处环境共同作用的结果(田永胜等,2009)。Marc Vandeputte等(2009)认为早期苗种阶段是家系培育的关键时期,前期各家系分开培育,养殖环境不同,会使各个家系的生长和存活率差异很大。Refstie等(1978)将大西洋鲑(*Salmo salar*)家系分开饲养6个月后,对生长速率总变异方差进行了剖分,发现其中有约10%是由环境差异引起的。因此,在家系选育过程中,为保证鱼的表型性状差异主要由遗传决定,需从环境和数量两个方面同时采用标准

化的培育方式进行家系培育。

环境标准化包括水温、水流、盐度、溶氧、光照、饵料等外界影响因子的标准化, 早期家系培育阶段, 仔鱼个体较小, 受外界环境影响较大。水温是影响仔鱼发育最重要的环境因子(雷霖霖, 2005), 前期培育水体较小, 水温极易受到室温的影响, 需通过调整水流, 保证各家系的培育水温一致。同时, 此阶段由于涉及仔稚鱼的饵料转换, 包含仔稚鱼的 3 个“危险期”, 此外, 红鳍东方鲀还有相互残食的习性。针对该阶段红鳍东方鲀家系培育的特点, 需多人少而多次的投喂饵料, 降低各家系饵料投喂的时间差。在早期家系培育阶段, 还需定期测量水温、溶氧、氨氮等指标, 尽量保证各家系培育条件一致。此外, 国内红鳍东方鲀常用的养殖模式是“海陆接力”法, 本次家系培育也采用室内养殖和海上网箱养殖结合, 在运输过程中, 也要尽量保持各家系的运输环境一致。

数量标准化是家系早期标准化培育的重要方面。密度是影响鱼类生长的重要因子(雷霖霖, 2005), 过高的密度不仅会影响鱼的生长率和存活率, 还会增加发病率(Allen, 1974); 过低的密度则会影响鱼的摄食率(Andrews *et al*, 1971)。在家系选育中密度也起着重要的作用(Gjedrem *et al*, 2005)。研究表明, 密度会影响鱼的遗传效果(Bagley *et al*, 1994), 适宜的密度会优化选育效果(Marc Vandeputte *et al*, 2009), 高密度不仅会降低选育效果, 还能引起鱼的表型差异(Saillant *et al*, 2006; Leary *et al*, 1991)。

此次家系培育的数量标准化的方式, 根据红鳍东方鲀的生态特性、养殖模式和实际生产条件制定。从初孵仔鱼到 15d 一级标准化时, 由于仔鱼较小, 更易受外界环境的影响, 这一阶段仅进行环境标准化, 而未进行数量标准化。从 4 次数量标准化看, 每次各家系内鱼苗数量都较为集中, 特别二级数量标准化和四级数量标准化时, 苗种集中趋势十分明显, 二级数量标准化时, 苗种数量集中在 1.2—1.4 万尾的全同胞家系为全同胞家系总数的 92%; 三级数量标准化时, 苗种数量主要集中在 0.65—0.75 万尾的全同胞家系占全同胞家系总数的 80%; 四级数量标准化时幼鱼数量集中在 0.4—0.5 万尾的全同胞家系为全同胞家系总数的 95.8%。每个阶段各家系的成活率也比较高, 除部分家系因病害造成成活率很低外, 总体成活率平均都在 80%以上。然而在一级标准化和三级标准化时, 仍有部分家系间数量存在较大差异。这种较大差异除了与遗传原因有关外, 环境差异也是一个重

要因子。本次家系构建历经 7d, 尽管每一阶段都进行环境标准化, 但是由于家系初始构建的不同步性, 环境标准化只是相对的, 而不是绝对的。

参 考 文 献

- 马爱军, 王新安, 薛宝贵等, 2010. 大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)选育家系的构建和培育技术研究. 海洋与湖沼, 41(3): 301—306
- 王奎旗, 陈梅, 高天翔, 2001. 东方鲀属分类与区系分布研究. 青岛海洋大学学报, 31(6): 855—860
- 田永胜, 陈松林, 徐田军等, 2009. 牙鲆不同家系生长性能比较及优良亲本选择. 水产学报, 33(6): 901—911
- 成庆泰, 王存信, 田明诚等, 1975. 中国东方鲀属鱼类分类研究. 动物学报, 21(4): 359—378
- 刘永新, 刘海金, 2008. 牙鲆不同家系早期形态性状差异比较. 东北农业大学学报, 39(8): 82—87
- 李鸿鸣, 孙效文, 2002. 应用大规模家系选育技术促进辽宁海水养殖业的可持续发展. 沈阳农业大学学报, 4(1): 7—10
- 张天时, 孔杰, 刘萍等, 2007. 中国对虾家系建立及不同家系生长发育的初步研究. 海洋学报, 29(3): 120—124
- 张国范, 刘述锡, 刘晓等, 2003. 海湾扇贝自交家系的建立和自交效应. 中国水产科学, 10(6): 441—445
- 鲁翠云, 曹顶臣, 孙效文等, 2008. 微卫星分子标记辅助镜鲤家系构建. 中国水产科学, 15(6): 893—901
- 雷霖霖, 2005. 海水鱼类养殖理论与技术. 中国农业出版社, 687—696
- Allen K O, 1974. Effects of stocking density and water exchange rate on growth and survival of channel catfish *Ictalurus punctatus* in circular tanks. Aquaculture, 4: 29—39
- Andrews J W, Knight L H, Page J W, 1971. Interactions of stocking density and water turnover on growth and food conversion of channel catfish reared in intensively stocked tanks. Prog Fish Cult, 33: 197—203
- Argue B J, Arce S M, Lotz J M, 2002. Selective breeding of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) for growth and resistance to Taura Syndrome Virus. Aquaculture, 204: 447—460
- Bagley M J, Bentley B, Gall G A E, 1994. A genetic evaluation of the influence of stocking density on the early growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 121: 313—326
- Comstock R E, Robinson H F, 1952. Estimation of Average Dominance of Genes. Helerosis. Iowa: Iowa State College Press, 221: 68—75
- Gall G A E, Bakar Y, 2002. Application of mixed-model techniques to fish breed improvement: analysis of breeding-value selection to increase 98-day body weight in tilapia. Aquaculture, 212: 93—113
- Gall G A E, Bakar Y, Famula T, 1993. Estimating genetic change from selection. Aquaculture, 111: 75—88

- Gjedrem T, Olesen I, 2005. Basic Statistical Parameters. In: Gjedrem T ed. Selection and Breeding Programs in Aquaculture. Springer Dordrecht the Netherlands, 110: 2—3
- Gjerde B, Korsvoll A, 1999. Realised selection differentials for growth rate and early sexual maturity in Atlantic salmon. *Aquaculture*, 99: 73—74
- Grimholt U, Larsen S, Nordmo R *et al*, 2003. MHC polymorphism and disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*); facing pathogens with single expressed major histocompatibility class I and class II loci. *Immunogenetics*, 55: 210—219
- Leary R F, Allendorf F W, Knudsen K L, 1991. Effects of rearing density on meristics and developmental stability of rainbow trout. *Copeia*, 18: 44—49
- Marc Vandeputte, 2003. Selective breeding of quantitative traits in the common carp (*Cyprinus carpio*): a review. *Aquatic Living Resources*, 16: 399—407
- Marc Vandeputte, Mathilde Dupont-Niveta, Pierrick Haffray, 2009. Response to domestication and selection for growth in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in separate and mixed tanks. *Aquaculture*, 286: 20—27
- Refstie T, Steine T A, 1978. Selection experiments with salmon III growth of Atlantic salmon in the freshwater phase. *Aquaculture*, 14: 221—234
- Saillant E, Dupont-Nivet M, Haffray P *et al*, 2006. Estimates of heritability and genotype-environment interactions for body weight in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) raised under communal rearing conditions. *Aquaculture*, 254: 139—147

THE STUDY OF *TAKIFUGU RUBRIPES* BREEDING FAMILY ESTABLISHMENT AND THE EARLY STANDARDIZED CULTIVATION TECHNIQUE

LI Wei-Ye¹, MA Ai-Jun¹, WANG Xin-An¹, MENG Xue-Song², LIU Zhong-Qiang¹,
LIU Sheng-Cong², ZOU Jie¹, YUE Liang^{1,2}, ZHANG Tao², XIONG Zai-Feng²

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture; Qingdao Key Laboratory for Marine Fish Breeding and Biotechnology, Qingdao, 266071; 2. Dalian Tianzheng Industrial Co. Ltd., Dalian, 116000)

Abstract To carry out a family selective breeding for *Takifugu rubripes*, a breeding-family program was constructed, and the relevant breeding technology was tested. Three *T. rubripes* populations, including cultured, wild, and Japanese populations were used in nest mating design at artificial fertilization in 2:1 females : male ratio. At the early breeding stage of *T. rubripes*, the environment was standardized and the first, second, third and fourth quantity standardization were demanded. The parental fish had large amounts of eggs, which is benefit to the construction of paternal half-sib families. It was found that each family was concentrated in fish number and the survival rate of each family was high. However, a significant difference was found in some families. 22 paternal half-sib families and 48 maternal full-sib families were successfully constructed. Solutions were provided for the problems in family construction and breeding at the early stage, with which a reference was offered to large-scale family breeding program for *T. rubripes*.

Key words *Takifugu rubripes*; selective breeding; family construction; standardized cultivation