

· 综 述 ·

牡蛎育种研究进展

宁 岳, 郭 香, 曾志南*, 祁剑飞, 巫旗生

(福建省水产研究所, 福建省海洋生物资源开发利用协同创新中心, 福建 厦门 361013)

摘要: 综述了近年来国内外牡蛎育种的研究现状与进展, 包括传统的选择育种、杂交育种及现代各种生物技术如多倍体、转基因和分子标记技术在牡蛎育种中所取得的成就, 以期对牡蛎及其他贝类的育种研究与应用提供参考。

关键词: 牡蛎; 选择育种; 杂交育种; 分子标记

中图分类号: Q 953; S 917

文献标志码: A

文章编号: 0438-0479(2016)05-0624-13

牡蛎属软体动物门(Mollusca)、双壳纲(Bivalvia)、珍珠贝目(Pterioidea), 牡蛎科(Ostreidae), 是一种重要的海洋生物, 其肉味鲜美, 营养价值较高, 素有“海中牛奶”之美称。牡蛎地理分布广, 生长快, 产量高, 具有很高的经济价值, 是世界各国重要的海水养殖对象。2014 年世界牡蛎产量达 516 万 t, 中国牡蛎产量居全球首位, 达 435 万 t, 占世界牡蛎产量的 84.3%, 特别是近 15 年来中国牡蛎年产量均在 300 万 t 以上, 牡蛎已成为中国乃至世界养殖产量最大的经济贝类^[1-2]。

牡蛎养殖与食用的历史悠久, 目前牡蛎养殖苗种来源主要是通过自然采苗和人工育苗, 但长期人工育苗养殖会导致遗传变异降低、近交衰退、瓶颈效应, 养殖牡蛎普遍出现个体变小、生长缓慢、高死亡率等现象^[3], 因此采用传统遗传育种方法和现代各种生物技术培育出符合生产需要的高产、优质和适应性广的优良品种, 对推动牡蛎养殖产业发展具有重要意义。本文综述了近年来国内外牡蛎育种的研究现状与进展, 以期对牡蛎及其他贝类的育种研究与应用提供参考。

1 牡蛎选择育种

选择育种是遗传育种的最基本方法, 也是目前水产动物遗传改良的主要途径。牡蛎群体中因许多性状

存在可以遗传的变异, 且怀卵量大、性成熟较快、繁殖周期相对短, 故牡蛎已成为良好的选择育种材料^[4]。

近年来除中国外, 美国、澳大利亚、法国等先后开展了牡蛎选择育种研究工作, 并取得了一定的成效(表 1)。在牡蛎抗病育种方面, 1957 年美国特拉华湾(Delaware Bay)美洲牡蛎(*Crassostrea virginica*)开始连续发生单孢子虫病(MSX disease), 其高感染率和高死亡率使美国东海岸牡蛎养殖业遭受严重影响^[16]; 20 世纪 60 年代开始, 美国 Rutgers 大学 Haskin 等^[5]进行了持续的研究, 证实了美洲牡蛎对 MSX 抗性可遗传, 并通过几十年的不懈努力, 成功地人工选择育种出 5 个抗单孢子虫病(MSX disease)的美洲牡蛎新品系, 选择育种群体生长速度与自然群体无差异, 但对该病的抗性提高了 8~9 倍, 并成功进行了商业化养殖。在抗帕金虫病(Dermo disease)选择育种方面, Burreson 等^[6]和 Calvo 等^[7]从特拉华湾美洲牡蛎自然群体中通过 4 代连续选择育种, 成功选择育种出能同时抑制 MSX 和 Dermo 的双抗品系, 第 3 代比对照组死亡率减少 22%, 而且生长速度也有提高。20 世纪 80 年代初, 美国华盛顿大学的 Hershberger 等^[23]针对长牡蛎夏季高死亡率, 开展了较系统的选择育种研究工作, 并对性成熟周期、糖原含量变化等可能导致夏季死亡的影响因素进行了分析。1996 年美国水产遗传育种技术中心(ABC)继续启动了针对 MSX 和 Dermo

收稿日期: 2016-04-14 录用日期: 2016-06-26

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-48); 福建省人民政府种业工程项目(2014S1477-9)

* 通信作者: xmznn@sina.com

引文格式: 宁岳, 郭香, 曾志南, 等. 牡蛎育种研究进展[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2016, 55(5): 624-636.

Citation: NING Y, GUO X, ZENG Z N, et al. Progress on oyster breeding[J]. Journal of Xiamen University(Natural Science), 2016, 55(5): 624-636. (in Chinese)



表 1 部分牡蛎选择育种研究成果总结
Tab.1 Summary of selective breeding research results in oyster

国家	种类	选择育种目标	主要成果	文献
美国	美洲牡蛎	抗尼氏单孢子虫病(MSX)	选择育种出 5 个抗 MSX 美洲牡蛎新品系,选择育种群体生长速度与自然群体无差异,但对该病的抗性提高了 8~9 倍	[5]
美国	美洲牡蛎	抗派金虫病(Dermo)	通过 4 代连续选择育种,成功选择育种出能同时抑制 MSX 和 Dermo 疾病的双抗品系,第 3 代比对照组死亡率减少 22%,而且生长速度也有提高	[6-7]
美国	美洲牡蛎	抗 MSX 和 Dermo	建立了 8 个 ABC 选择育种系,在 4 个地方养殖结果显示,当 MSX 和 Dermo 和发生时,选择育种系存活率明显高于对照组,其中 EC 组、HY 组存活率分别比对照组高 52%~82%和 40%;此外选择育种系平均产量也比对照组高 29%	[8]
澳大利亚	悉尼岩牡蛎	抗 QX(<i>Marteilia sydneyi</i>)	经过 4 代选择育种,当 QX 爆发时选择育种系死亡率为 28%,而未选择育种组死亡率达 97%	[9-12]
法国	长牡蛎	抗 OsHV-1	选择育种至第 4 代时,选择育种系存活达 69.0%,而对照组仅存活 7.3%;此外 4 代选择育种系幼苗期存活率较对照组分别提高了 22.2%,43.9%,50.2%和 61.8%;通过连续 4 代的群体选择育种,显著提高了牡蛎存活及抗 OsHV-1 能力	[13-15]
美国	美洲牡蛎	生长速度	培育出“Wilde strain”品系和“Milford high-line”速长品系,其中“Wilde strain”品系在好的养殖条件下 6 个月可达商品规格	[16]
澳大利亚	悉尼岩牡蛎	生长速度	第 4 代选择育种系上市时间(平均总质量≥50 g)较未选择育种组提前 12.5 个月	[17-20]
中国	长牡蛎	生长速度	经连续 6 代选择育种,培育出“海大 1 号”长牡蛎新品种,该品种 15 月龄平均壳高较普通商品长牡蛎苗种提高 16.2%,总湿重提高 24.6%,出肉率提高 18.7%,且壳型整齐度明显优于普通商品长牡蛎	[21]
中国	葡萄牙牡蛎	贝壳颜色、生长速度	利用群体选择技术,通过连续 5 代选择育种,培育出金黄壳色速长葡萄牙牡蛎“金蛎 1 号”新品系	[22]

的美洲牡蛎育种项目,经过近 10 年的研究,建立了 8 个 ABC 选择育种系,在 4 个地方养殖的结果显示,当 MSX 和 Dermo 发生时,选择育种系存活率明显高于对照组,其中 EC(东海岸组)组、HY(东海岸与路易斯安那杂交组)组存活率分别比对照组高 52%~82%和 40%,选择育种系平均产量也比对照组高 29%^[8]。

澳大利亚 Nell 等^[9-10]和 Dove 等^[11-12]也开展了悉尼岩牡蛎(*Saccostrea glomerata* Gould 1850)抗马尔太虫病(QX, *Marteilia sydneyi* 引起)和抗冬季致死品系的选择育种研究:经过 2 代的选择育种,选择育种系的死亡率比对照组低 22%,显示抗 QX 的选择育种有效可行;经过第 3 代选择,1 号选择育种系显示抗 QX 能力强,但不抗冬季致死,2 号选择育种系同时抗 QX 和抗冬季致死,而 3 号选择育种系仅对抗冬季致死有较好的效果;经过第 4 代选择育种,当 QX 爆发时选择育种系死亡率为 28%,而未选择育种组死亡率达 97%,显示出较好的选择育种效果。

法国是传统的牡蛎养殖大国,20 世纪 70 年代从

日本引进长牡蛎(*C. gigas*)并开始进行人工养殖.针对牡蛎幼苗夏季高死亡率,法国海洋研究所(IFREMER)开展了“MOREST”牡蛎研究计划,Dégremont 等^[13-15]建立了家系并在 3 个不同的地方进行养殖试验,结果显示在存活率方面家系效应显著,占总方差组分的 46%,同时也存在家系与环境互作效应.近年来由于牡蛎疱疹病毒病(OsHV-1)的爆发,给法国牡蛎养殖业造成了严重的损失,Dégremont 等^[13-15]从 2009 年开始针对存活及抗 OsHV-1 开展了长牡蛎群体选择育种,建立了 2 个选择育种系,平均存活率较对照组提高 22.2%;选择育种至第 4 代时,选择育种系存活达 69.0%,而对照组仅 7.3%;此外 4 代选择育种系幼苗期存活率较对照组分别提高了 22.2%,43.9%,50.2%和 61.8%,抗 OsHV-1 现实遗传力在 0.34~0.63 之间;通过连续 4 代的群体选择育种,显著提高了牡蛎存活及抗 OsHV-1 能力。

在生长速度选择育种方面,早在 1968 年马里兰州的 Wilde 就开始对美洲牡蛎生长速度及杯深(壳宽)

等性状进行选择育种,并培育出“Wilde strain”品系,该品系在好的养殖条件下 6 个月可达商品规格,取得了很好的经济效益,并沿用至今^[16].20 世纪 70 年代开始,美国国家海洋渔业局(NMFS)也开展了牡蛎选择育种计划,通过对长岛海峡(Long Island Sound)的美洲牡蛎进行连续 4 代选择育种,培育出速长品系“Milford high-line”,并一直用于养殖生产;此后 1988 年美国缅因大学又对缅因州本地的“Milford high-line”品系进行了选择育种,经过一代选择育种后获得 10% 的遗传进展^[16].1995 年开始俄勒冈州立大学等单位联合开展了养殖牡蛎选择育种遗传改良计划^[24-25];通过一代的全同胞家系选择育种,长牡蛎 7 个测试群体平均体质量比对照组高 9.5%,同时通过在不同地点建立家系有力地证实遗传与环境的互作^[26];Evans 等^[27]进一步研究了长牡蛎遗传与环境的互作效应,结果显示长牡蛎 24 个家系中,收获时个体大小、成活率和产量都显著地受家系、环境及其交互作用影响,其中家系、环境及其交互作用分别占产量总表型方差的 14%,62%和 5%.

澳大利亚也是传统牡蛎养殖大国,主要养殖悉尼岩牡蛎和长牡蛎.1990 年新南威尔士州启动了以悉尼岩牡蛎快速生长为选择育种目标的育种计划,Nell 等^[17-19]建立了 4 个选择育种系,经 17 个月的养殖,第 2 代选择育种系平均体质量较未选择育种组分别提高 0%,2.9%,5.0%和 8.5%;经连续 2 代选择后,第 3 代 4 个选择育种系的平均体质量比对照组高 18%(各选择育种系在 14%~23%之间),将牡蛎上市时间(平均总质量 ≥ 50 g)提前了 3 个月;第 4 代选择育种系经 3 年养殖,上市时间较未选择育种组提前 12.5 个月,其中 2 号选择育种系提前 15 个月;Dove 等^[20]在 7 个养殖区对第 5 代选择育种系开展了生产性能评价试验,结果显示各养殖区选择育种系均比未选择育种组个体大,平均上市时间为 29.3 个月.20 世纪 40—50 年代,澳大利亚从日本引进长牡蛎并开始进行养殖,Ward 等^[28]从 1996 年起开展长牡蛎选择育种研究,他们首先分析了本地种与日本原种的遗传差异,建立了 2 个独立的基础群体,并通过歧化选择(divergent selection,又称双向选择)分别建立起快速生长和慢速生长系;147 和 275 d 后,快速生长系生长速度明显高于慢速生长系;此后还建立了多个家系,对多个不同生长指标进行了主因子分析,并开展了分子标记辅助育种研究.此外,新西兰考思伦研究所(Cawthron Institute)等机构也开展了牡蛎育种研究,Adams 等^[29]将精子冷冻保存技术应用于长牡蛎选择育种上,利用冷

冻精子建立了 20 个组合(1 雌 $\times$ 1 雄),其中 17 个获得了足够多的 D 型幼虫,显示精子冷冻保存技术可以很好地应用于家系构建.

在国内,王庆志等^[30]获得 56 个全同胞家系,估算了长牡蛎成体阶段生长性状的遗传参数,结果显示长牡蛎成体阶段各生长性状间的遗传和表型均为正相关,壳高和总质量具有较高的遗传力,分别为 0.35 ± 0.15 和 0.27 ± 0.13 .孔宁等^[31]采用模型拟合方法研究了长牡蛎 F_3 代快速生长选择育种群体不同时期各生长性状的发育规律,并利用多项式模型拟合了养成期各生长性状的发育规律,揭示了长牡蛎的生长发育特征.张景晓等^[32]利用连续 2 代的长牡蛎近交群体,研究了不同近交系数的长牡蛎家系在幼虫期和稚贝期产生的近交效应,结果显示:幼虫阶段, F_1 组和 F_2 组的壳高与壳长均从 12 日龄开始出现衰退;稚贝阶段, F_1 组和 F_2 组的平均壳高在各日龄均表现出近交衰退.这些研究为长牡蛎选择育种和遗传改良提供了很好的基础数据和理论参考.张景晓等^[32]以山东乳山海区自然采苗养殖的长牡蛎为基础群体,采用群体选择育种技术,以生长速度和壳型作为选择育种指标,经连续 6 代选择育种,培育出“海大 1 号”长牡蛎新品种,该品种 15 月龄平均壳高较普通商品长牡蛎苗种提高 16.2%,总湿质量提高 24.6%,出肉率提高 18.7%,且壳型整齐度明显优于普通商品长牡蛎.

曾志南等^[22]收集福建沿海诏安、漳浦、罗源及广东南澳等牡蛎主养区人工育苗养殖的葡萄牙牡蛎(*C. angulata*),分别以贝壳颜色和生长速度为选择育种目标性状,利用群体选择技术,通过多代连续选择育种,培育出金黄壳色速长葡萄牙牡蛎“金蛎 1 号”新品系.

2 牡蛎杂交育种

相对于选择育种,牡蛎杂交育种进展相对缓慢^[33-34].牡蛎的远缘杂交研究至今已有 130 多年的历史,Bouchon-Brandely^[35]最早开展了葡萄牙牡蛎与欧洲牡蛎的种间杂交.20 世纪 50 年代开始陆续开展了许多牡蛎种间杂交实验和研究,但由于未进行遗传鉴定,其可信度令人怀疑^[36].目前已经过遗传鉴定的牡蛎种间杂交组合有:美洲牡蛎 $\times$ 长牡蛎^[37]、美洲牡蛎 $\times$ 近江牡蛎(*C. rivularis*)^[37]、长牡蛎 $\times$ 近江牡蛎^[37]、长牡蛎 $\times$ 葡萄牙牡蛎^[38-39]、长牡蛎 $\times$ 熊本牡蛎(*C. sikamea*)^[40-41]、近江牡蛎 $\times$ 熊本牡蛎^[42]、香港巨牡蛎(*C. hongkongensis*) $\times$ 长牡蛎^[43]、香港巨牡蛎 $\times$ 近江

表 2 5 种巨蛎属牡蛎受精方向性及其兼容性
Tab. 2 The fertilization direction and compatibility among five *Crassostrea* oyster species

♀	♂				
	长牡蛎	葡萄牙牡蛎	熊本牡蛎	香港巨牡蛎	近江牡蛎
长牡蛎	✓	✓	×	×	✓
葡萄牙牡蛎	✓	✓	×	×	✓
熊本牡蛎	✓	✓	✓	✓	✓
香港巨牡蛎	✓	✓	✓	✓	✓
近江牡蛎	✓	✓	×	×	✓

注:“✓”表示可以受精,“×”表示不可受精(引自张跃环等^[34]).

牡蛎^[44]等(表 2).大多数牡蛎种间杂交幼虫存活率低,不变态,仅很少一部分可以变态成稚贝.

杂交是否会产生积极的杂种优势是育种学家们最关心的,但杂种优势的产机理十分复杂,既与亲本间的遗传差异有关,同时还与基因的表达调控、基因效应的大小和方向、效应间的相互作用及所处的环境有密切关系^[45-46].在牡蛎杂种优势方面,长牡蛎×熊本牡蛎^[41]、香港巨牡蛎×长牡蛎^[47]杂交后代生长情况均不如自交组,表现出生长缓慢特点;在长牡蛎与近江牡蛎的种间杂交中,以长牡蛎为母本的杂交组具有显著的生长及存活优势,而反交则表现出生长及存活劣势^[48];近江牡蛎×熊本牡蛎杂交后代有明显的生长及存活杂种优势^[42];香港巨牡蛎×葡萄牙牡蛎杂种幼虫生长缓慢,但变态成稚贝后,在不同环境条件下培育的生长状况不同(适宜的条件下,会表现出快速生长的特征;不利于生长的条件下,表现出生长劣势),表明生长性状与环境互作具有一定的相关性^[49];目前仅有报道香港巨牡蛎×近江牡蛎杂交后代表现出明显的杂种优势,1 龄杂交子代平均壳高分别比香港巨牡蛎和近江牡蛎大 54%和 25%^[44].

种间杂交后经常会出现杂交不亲和、杂种后代育性差和“疯狂”分离等现象^[45],可利用可育的杂种 F₁ 与亲本种间的轮回杂交来改良杂种个体中某一亲本的性状表现.霍忠明等^[50]开展了香港巨牡蛎×近江牡蛎杂种与双亲的回交试验,香港巨牡蛎与近江牡蛎的杂交牡蛎与香港巨牡蛎或近江牡蛎都可以正常交配,但各回交组受精率明显低于两牡蛎自交组,未发现明显的回交优势.喻子牛等^[51]对香港巨牡蛎开展了杂交育种研究,以牡蛎种间杂种(香港巨牡蛎♀×长牡蛎♂)个体与香港巨牡蛎速生品系(F₄)个体回交获得的回交一代(BC₁F₁)为基础群,通过表型性状与分子标记协同筛选,以生长率作为指标,筛选出的生长快、盐

度适应范围略高于香港巨牡蛎的牡蛎新品种“华南 1 号”,“华南 1 号”遗传稳定性达 96.7%;在相同养殖条件下,总体质量较香港巨牡蛎提高 17.1%,产量提高 23.1%,并可在较高盐沿海河口水域养殖(拓宽养殖区域盐度约 5 g/L),适当扩大了现有养殖水域.

张国范^[52]提出了贝类群体间的杂交及其杂种优势利用的可能性,阐明了地理种群或群体间的杂交与农作物品系间杂交的类同性.在牡蛎不同群体杂交方面,孔令锋等^[53]以中国长牡蛎和日本长牡蛎为材料,进行了 4 个组合的杂交和自交实验,揭示长牡蛎日本群体♀×中国群体♂的杂交子代在生长性状方面具有显著的杂种优势.王卫军等^[54]以中国、日本和韩国长牡蛎 F₄ 代选择育种群体为材料,建立了选择育种系间杂交和自交群体,结果表明,各交配组合在 180、360 和 450 日龄生长优势差异显著,多数杂交子代在生长性状上存在一定程度的杂种优势.

3 分子标记技术在牡蛎育种中的应用

分子标记来源于个体 DNA 水平的变异,与传统的形态标记相比有数量多、种类丰富的特点,近年来在经济动植物育种方面已经取得了备受瞩目的成果,如奶牛、水稻和番茄等.在牡蛎中,随着测序成本的降低,基因组^[55]和不同时空条件下转录组^[56-60]测序的完成,表达序列标签(expression sequence tag, EST)数据库的构建^[61],大量的共显性分子标记被相继开发^[62-63].遗传分子标记的丰富将牡蛎的遗传育种工作从传统方法推向分子辅助育种的新层面.目前,分子标记技术已广泛应用于牡蛎的遗传多样性分析、连锁图谱构建、数量性状定位以及关联分析等研究领域,体现出有效可靠、快捷方便的优势,成为培育牡蛎优良品系的有效手段之一.

3.1 图谱构建

1997 年 5 月美国农业部将包含牡蛎在内的 5 种水产种类作为基因组图谱的研究对象,自此多种牡蛎品种都开展了图谱构建工作。Lallias 等^[64]基于 AFLP (amplified fragment length polymorphism) 和 SSR (simple sequence repeats) 标记构建了欧洲食用牡蛎 (*Ostrea edulis*) 的雌雄两性图谱;Yu 等^[65]构建了美洲牡蛎的 AFLP 连锁图;长牡蛎作为最重要的经济牡蛎品种,世界上多个实验室开展了其遗传图谱构建工作,目前已获得了一系列分辨率较高的连锁图,Li 和 Guo^[66]基于 AFLP 标记构建的雌雄两性图谱,Dennis 等^[67]构建的微卫星连锁图,Hubert 等^[68]使用 6 个三倍体家系确定了 52 个微卫星位点的基因-着丝粒距离图谱,Guo 等^[69]基于 AFLP 和 SSR 绘制的性别平均连锁图(图谱平均密度达到 1.2 cM),以及 Zhong 等^[70]利用 SSR 和 SNP 两种共显性标记构建的性别平均连锁图。为了提高长牡蛎遗传图谱上的微卫星标记密度,郭香等^[71]采用 6 个家系图谱间的共有微卫星标记作为锚定标记,构建了长牡蛎的整合图谱,研究发现不同作图家系连锁群上的标记分组保持一致,但标记顺序存在差异,这可能归因于长牡蛎自然群体中存在大量的染色体重排现象。牡蛎遗传图谱的构建为后续的经济性状定位、重要功能基因克隆和分子标记辅助育种打下了坚实的基础。但是,连锁图构建仍然处于初级阶段,主要存在两个方面的问题:1) 以显性标记为主,缺少共显性标记;2) 图谱的密度和覆盖度低,有待进一步完善。

3.2 数量性状定位及关联分析

QTL(quantitative trait locus)定位是以一定饱和度的遗传连锁图谱为基础,通过连锁分析确定数量性状位点,牡蛎的定位工作主要集中在生长发育、抗性、性别和外观颜色等重要经济性状上。Yu 和 Guo^[72]在美洲牡蛎的雌雄两性遗传图谱上,鉴定到了 12 个与抗 Dermo/Summer 病毒相关的 QTLs。Guo 等^[69]基于 F_1 家系性别平均图谱对长牡蛎生长相关性状(壳长、壳高、壳宽、软体部质量、总质量、壳容积、左壳深、出肉率和条件指数)和性别进行 QTL 定位分析,共定位了 3 个与生长相关的 QTLs,解释的表型变异率为 0.6%~13.9%;同时,检测到一个与性别相关的 QTL,父母本等位基因解释的性别表型变异率分别为 39.80%和 0.01%。Zhong 等^[70]基于 SSR 和 SNP 标记连锁图定位了两个 QTLs,其中一个与糖原相关,解释的表型变异率为 0.27%~79.05%,另一个与壳色相

关,定位在第 9 连锁群上,父母本等位基因解释的表型变异率为 6.75%和 17.44%。另外,仲等^[73]对出肉率和壳型(壳宽和壳深)性状也进行了 QTL 定位分析,共检测到 13 个相关的 QTLs,分布在 3 个连锁群上,表型解释率为 0.25%~47.53%。

除了连锁分析,重要功能基因与经济性状的关联分析在牡蛎分子遗传育种中也备受关注。两个淀粉酶基因在部分长牡蛎家系中呈紧密连锁,显著的生长差异在部分养殖场中被观测到,暗示了这种多态性是非中性的,可能经历了选择;两种淀粉酶基因型的预期产量也是有差异的,表明淀粉酶标记在牡蛎选择育种上的潜在育种价值^[74]。随后,Huvet 等^[75]进一步检测了淀粉酶基因与生长、生理生化和淀粉酶分子表达水平的关联性,结果发现这种关联性更多地与长牡蛎的消化率而不是吸收率相关。刘思玮等^[76]在长牡蛎糖原合酶的外显子编码区域,通过连锁不平衡分析构建 SNP 单倍型,筛选到一个可能导致长牡蛎高糖原含量的单倍型;在糖原磷酸化酶基因中检测到 5 个与生长性状显著相关的 SNPs。采用候选基因重测序和 mRNA 表达分析法,在长牡蛎糖原脱支酶和磷酸化酶 2 个基因中共检测到 3 个与糖原含量相关的 SNP 标记,且这 2 个候选基因在糖原含量高和低的两组个体中的转录本丰度是有差异的^[77]。Cong 等^[78-79]在长牡蛎胰岛素相关多肽基因和胰岛素受体相关受体基因中,均检测到与生长性状和糖原含量呈显著相关的 SNP 分子标记和单倍型。

在牡蛎的遗传育种中,表观性状如壳色和外套膜颜色也是一个重要的经济性状,成为一个新的重要的育种研究方向。采用两个着色度相对的长牡蛎亲本构建的 F_1 分离群体,分别选择壳色相对的子代构建 DNA 混合池,然后用 AFLP 标记扫描筛选到与该分离群体的贝壳着色相关联的 7 条多态性片段,且这些标记全部位于同一个连锁群上,可解释 80%的壳色表型变异,且其中一个 AFLP 标记成功转化为共显性的 SCAR(sequence characterized amplified regions)标记,并整合到长牡蛎连锁图谱上^[80]。为了加快长牡蛎壳金品系的选择育种进展,Ge 等^[81]通过构建壳金和壳白亲本的 F_1 分离群体,采用混合池分离分析法,利用 AFLP 标记筛选到 7 条多态性片段,其中 4 个转化为共显性标记,且 7 个片段全部来自母本,定位于同一连锁群上。

3.3 遗传多样性分析

Appleyard 和 Ward^[82]采用同工酶和微卫星标记,比较 4 个塔斯马尼亚岛连续选择育种第 4 代群体

与两个塔斯马尼亚岛野生群体和两个来自日本当地的群体发现,在连续4代选择育种群体中,微卫星等位基因数目减少,杂合度受到了轻微影响.人工选择育种明显导致了部分遗传变异的丢失,这一研究结果暗示了如果要继续开展基于家系的人工选择育种,育种者需要考虑增加亲本数量^[82].

长牡蛎具备极高的繁殖力和很低的死亡率.Taris等^[83]构建了10个父本和3个母本的长牡蛎混养群体,遴选掉群体中偏小的50%个体,测量了幼虫生长、死亡率、变态为面盘幼虫的时间等性状,结果表明遴选对于幼虫性状有一个相对较大的选择效应,尤其是附着时间;同时,采用微卫星多重PCR技术进行了混养群体的亲子鉴定,评估了亲本繁殖成功率差异、有效群体和群体遗传结构,发现养殖过程中的遴选导致群体的遗传多样性丢失,像野生状态下的与体积大小相关的选择压一样,很可能对种群产生了显著的遗传影响.

Li等^[84]采用7个微卫星位点检测了5个中国长牡蛎养殖群体的遗传变异和种群结构, F_{st} 和 R_{st} 值在5个群体之间表现出显著的遗传差异,基于群体间遗传距离构建的NJ(neighbor-joining)树拓扑结构可以清晰地将5个群体分为南北两组.

美国西北部的长牡蛎是20世纪20—70年代陆续从日本引进的种群.Camara^[85]采用AFLP标记分析了1个日本野生群体、5个北美驯化群体、2个新西兰群体、7个来自美国西海岸的选择育种养殖群体,研究每一次大规模移植后美国长牡蛎群体的遗传水平变化,结果发现除了蒂拉穆克群体之外,其他所有驯化群体在遗传上都更加接近日本有明群体,而所有养殖选择育种群体在遗传上与日本宫城群体更相似.据当地长牡蛎养殖者介绍,蒂拉穆克群体可能源自养殖牡蛎的新进殖民化.但在随机遗传漂变广泛存在的情况下,这种一致性是出乎意料的.由此推测,自然和人工选择可能已经改变了AFLP等位基因在驯化和养殖群体中的频率.

Miller等^[86]采用微卫星十重PCR,分析了韩国和日本当地群体、法国和澳大利亚驯化群体以及澳大利亚育种项目养殖群体,结果发现遗传多样性在自然群体和驯化群体中都非常高,养殖群体相对较低.该研究结果暗示了自长牡蛎引进以来,驯化群体在遗传上没有发生变化,该群体也可以作为优良的选择育种材料之一.

An等^[87]采用微卫星九重PCR技术探究了韩国长牡蛎野生和养殖群体之间遗传上可能存在的相似

和差异性,与野生群体相比,养殖群体杂合度和等位基因多样性未显著降低,但是两个群体之间存在显著的遗传异质性.研究结果暗示了多年的养殖实践并未显著影响牡蛎群体的遗传水平.

长牡蛎现今已经入侵欧洲沿海各地,Meistertzheim等^[88]采用7个微卫星标记评估了欧洲沿海自然群体和法国养殖群体的遗传多样性,未发现2种群体间存在遗传差异.这种遗传同质性可能是由于同一入侵群体作为亲本在各地之间多次转运.

Jiang等^[89]采用AFLP和甲基化敏感扩增多态性技术评估了基础群体和第3代选择育种群体之间的遗传和表观遗传差异,两个群体相比,基因频率有所改变,但是未观测到遗传多样性的降低和平均甲基化水平的差异,不过观测到少量的条带在两个群体之间出现频率有差异.

An等^[90]利用微卫星九重PCR评估了韩国来自2个地理分区的6个长牡蛎群体的遗传水平,所有的群体都表现出高水平的遗传多样性和杂合子缺失,在2个地理分区之间存在弱而显著的遗传差异,这主要归因于泰安郡(Taeon)和加德(Gaduk)2个群体间的遗传差异,这种遗传差异可能是最近才出现的,应该是多因素综合作用的结果,暗示了来自2个地理分区的群体应该被区别对待.

欧洲牡蛎自30年前自缅甸州被引进到加拿大沿海诸省,Vercaemer等^[91]利用5个微卫星位点分析了3个加拿大养殖群体和1个缅甸州自然群体遗传多样性的差异,大量的等位基因丢失也被观测到,但遗传多样性和杂合度在各群体中仍然是相当高的.

4 转基因育种

转基因技术的原理是将人工分离和修饰过的优质基因整合到生物体基因组中,并使其稳定遗传给后代,从而达到改造生物的目的.水产动物的转基因研究比较滞后,自1985年Zhu等^[92]报道了第1例转基因鱼以来,其他水产生物也相继开展了一些转基因技术应用研究.在软体动物中,常用的转基因方法有显微注射、基因枪轰击和电穿孔法等,而实际使用中,多种方法联合效果更佳.

1) 显微注射法是利用专业的显微操作设备将外源基因直接注入受体动物的受精卵原核内部,使外源基因整合到受体细胞染色体上发育成转基因动物的技术.显微注射法可直接转移目的基因,外源基因转移效率高,实验周期短;但是,这种方法整合的拷贝数和

位点都具有不确定性,整合到染色体组的非活跃区时,会导致外源基因低表达或不表达。

2) 基因枪轰击法是指利用火药爆炸或高压气体加速等动力系统,将携带了目的基因的金属粒子(金或钨)高速微弹送入生物组织和细胞中,从而实现外源目的基因在生物体内稳定表达的技术。基因枪轰击法操作便捷,可同时处理大量受体细胞,但整合效率较低。

3) 电穿孔法是利用外部的脉冲电压击穿细胞膜后使外源基因直接从击穿的膜孔通道进入受体细胞内的方法。电穿孔法操作简单,一次可以处理大量受精卵;但是,这种方法基因导入无定向、效率低,针对不同物种需要摸索最佳电脉冲条件。

转基因技术在牡蛎中的应用研究比较滞后,还处于初始阶段,迄今仅有少量的研究被报道。Boulo 等^[93]采用受精卵电穿孔后再用泛嗜性病毒处理的方法,成功实现了长牡蛎胚胎解离培养细胞的外源基因的表达;Cadoret 等^[94-95]采用受精卵显微注射技术和对卵、受精卵及担轮幼虫的基因枪轰击法探索了在长牡蛎中开展转基因研究的可能性;Buchanan 等^[96]采用电穿孔和化学介导法将氨基糖苷磷酸转移酶 II 基因成功导入美洲牡蛎受精后 3 h 的胚胎中,显著提高了转基因美洲牡蛎对新霉素和抗生素 G418 的耐受性。

5 多倍体育种

由于二倍体牡蛎在繁殖季节里性腺要经过产卵排精的排放活动,使得牡蛎的软体部会大幅消瘦,致使风味品质受到较大影响;另外精卵排放后引起的体质虚弱还会导致高温季节的大量死亡。三倍体牡蛎因其不育或者育性差,在繁殖季节仅需要消耗少量能量用于性腺发育,从而节省更多的能量用于生长,全年都可以维持较高的糖原含量,肉质肥满。避免了二倍体牡蛎面临的问题,是优良的海水养殖对象。

5.1 多倍体育种原理

牡蛎的精子在排放前已经在体内完成 2 次减数分裂,每个精子只携带了 1 组亲本染色体。而排出的成熟卵子则仍然停留在第 1 次减数分裂中前期,只有在受精激活后,卵子才会进行第 1 次和第 2 次减数分裂,分别释放出第一和第二极体。

目前,牡蛎三倍体育种主要有 2 种方法:1) 人工直接诱导,通过抑制受精卵第一或第二极体的释放,使极体携带的一组染色体停留在受精卵内,达到染色体组增加的目的,得到三倍体;2) 通过四倍体和二倍

体杂交,理论上可以产生 100% 三倍体子代。Guo 等^[97]认为抑制第一极体的释放易导致第 2 次减数分裂过程中染色体的分离复杂化,并带有很大的随机性,得到二倍体、三倍体、四倍体和非整倍体胚胎的可能性增加,降低了三倍体诱导率。

5.2 常用的诱导方法

Stanley 等^[98]最早在 1981 年使用细胞松弛素 B (Cytochalasin B, CB) 抑制第二极体诱导出美洲牡蛎三倍体。随后,牡蛎的三倍体诱导研究相继开展,使用的方法包括温度休克、静水压、电脉冲和渗透压等物理法,6-二甲氨基嘌呤(6-Dimethylaminopurine, 6-DMAP)、CB、咖啡因和聚乙二醇等化学法以及利用二倍体和四倍体杂交的生物法。另外,还可通过细胞融合和雌核发育 2 种方法获得牡蛎的四倍体。

5.2.1 物理方法

1) 温度休克主要是通过破坏受精卵细胞中的微管形成,从而阻碍了染色体向两极方向移动,形成多倍体细胞。温度休克法分低温休克和热休克,选择合适的温度是其关键步骤,需根据贝类原生活海区的水温确定休克温度,温度过高或者过低都会导致多倍体的诱导效果较差。Quillet 等^[99]采用热休克法(38 °C)诱导日本长牡蛎,获得 60% 的三倍体胚胎。长牡蛎的受精卵在 0~4 °C 的低温条件下,胚胎孵化率可高达 90% 以上,稚贝的三倍体率可达 80% 以上^[100]。于瑞海^[101]采用 4~5 °C 的低温休克法诱导长牡蛎,三倍体诱导率为 68%。田传远等^[102]发现在 2~7 °C 的低温条件下处理长牡蛎,均可获得三倍体,三倍体率为 36.8%。采用低温(4~5 °C)休克法处理大连湾牡蛎受精卵,可得到约 70% 的三倍体^[103]。采用 35 °C 的热休克和 10 °C 的低温休克处理近江牡蛎的受精卵,获得四倍体胚胎^[104]。Guo 等^[97]采用 35 °C 的热休克法获得长牡蛎的四倍体。

2) 静水压法的原理是利用较高的水静压(一般 650 kg/cm³)作用于受精卵来抑制第二极体的排出,诱发三倍体。Chaiton 等^[105]利用静水压法诱导了长牡蛎的三倍体,成功率为 57%。

3) 电脉冲休克可使细胞融合,从而诱发形成多倍体。Cadoret 等^[106]1992 年采用电脉冲技术(600 V/m)对长牡蛎进行诱导,获得 20% 的长牡蛎四倍体幼虫。

4) 改变渗透压通过改变渗透压培育多倍体是一种新提出的诱导贝类三倍体的方法,其作用机理可能是海水盐度的变化引起细胞内的能量代谢紊乱,阻碍微管和微丝的形成,抑制细胞的分裂,使得复制的染

色体留在胞质内,从而形成三倍体^[107]。于瑞海等^[108]研究发现,在低盐 6~10 和高盐 55~60 的范围内,处理 15 min,长牡蛎三倍体诱导率最高,可达到 90% 以上。王康等^[109]采用低渗法诱导长牡蛎和近江牡蛎,均获得高达 89% 的三倍体个体。通过改变海水盐度培育牡蛎多倍体的方法显示出了一定的应用前景。

5.2.2 化学方法

1) CB 是一种微丝抑制剂,可通过破坏构成微丝的肌动蛋白纤维阻止细胞质分裂和极体释放,从而产生多倍体。但该药难溶于水,剧毒可致癌,且价格昂贵。Downing 等^[110]使用 CB 诱导长牡蛎,三倍体率最高达 $(88 \pm 9)\%$ 。于瑞海等^[111]在受精卵出现 50% 第一极体时,利用 CB 处理长牡蛎,获得 91.5% 的三倍体子代。林位琅^[112]采用 CB 诱导长牡蛎,得到 68.9% 的三倍体子代。利用 CB 诱导僧帽牡蛎受精卵,三倍体诱导率最高可达 87.5%^[113]。利用 CB,采用抑制第一和第二极体的方法,可以获得长牡蛎四倍体^[114-116]。

2) 6-DMAP 是一种嘌呤毒素类似物,低毒无致癌性,较 CB 便宜,易溶于水,有较高的三倍体诱导率,可诱导蛋白质进行去磷酸化,从而通过抑制牡蛎受精卵第二极体的释放来获得三倍体。Scarpa 等^[117]使用 6-DMAP 诱导美洲牡蛎得到的三倍体率为 15%,而田传远等^[118-119]利用 6-DMAP 抑制长牡蛎受精卵第一极体的释放,最高可得到 $(71.3 \pm 1.2)\%$ 的三倍体;抑制受精卵第二极体的释放,最高得到了 93.8% 的三倍体。利用 6-DMAP 抑制第一极体和第二极体的释放,长牡蛎的幼虫四倍体率分别平均为 38.57%~62.18% 和 50.45%~68.87%^[115]。田传远等^[120]在 1996—1997 年使用 6-DMAP 诱导长牡蛎三倍体时,出现了少量的四倍体。

3) 咖啡因可以通过提高细胞内的 Ca^{2+} 浓度引起微管二聚体的解聚,阻止分裂从而形成多倍体。Shpigel 等^[121]在 1992 年发现热休克和咖啡因结合诱导效果更佳。林琪等^[122]采用不同高温结合不同浓度咖啡因诱导长牡蛎,三倍体率最高为 71.88%。于瑞海等^[123]采用咖啡因和热休克结合的方法处理受精卵,诱导长牡蛎三倍体的成功率最高为 90.5%。

4) 聚乙二醇是一种生物学中常用的细胞融合剂,通过促进细胞融合而形成多倍体。采用紫外线照射可使精子染色体失活,主要用于雌核发育,与化学处理相结合可诱导获得四倍体。Guo 等^[124-125]1993 年通过紫外线照射与 CB 处理相结合的方法获得了长牡蛎四倍体胚胎,诱导率高达 96%;1994 年又采用聚乙二醇促进细胞融合得到了 30% 的长牡蛎四倍体胚胎。

5.2.3 生物方法

物理方法安全无毒成本低,但是诱导率偏低;化学方法诱导率较高,但是使用的药物通常具有毒性,残留在三倍体牡蛎体内,对人类健康构成威胁。而且三倍体不育或育性差,不能自我繁育延续种群,需要年年诱导,操作繁琐,技术要求高,推广难度大。而四倍体和普通二倍体杂交的生物方法可以解决上述问题,理论上它们杂交后可以产生 100% 的三倍体子代。并且四倍体牡蛎具有可育性,通过自身繁育可以形成稳定的群系;方法简单操作方便,且避免了理化处理对受精卵和幼虫的伤害,可提高孵化率和幼虫的存活率,是实现三倍体牡蛎规模化生产的有效途径。

1994 年,Guo 等^[125]认为直接诱导的四倍体牡蛎难以培育至成体,可能是由于较大的四倍体核在正常体积的卵中卵裂而细胞数目不足引起的;随后,使用热休克(35℃)和合子融合,即换用体积更大的三倍体卵子与二倍体精子受精后抑制第一极体排出的方法,长牡蛎四倍体诱导成功率为 45%,随后采用四倍体母本和二倍体父本杂交,获得 100% 的三倍体子代。因此,他们的方法首次成功获得了存活的四倍体长牡蛎。另外,利用这种方法在美洲牡蛎中也培育出存活的四倍体,但是目前暂未见应用于生产的报道。学者们花费了大量的精力在牡蛎多倍体育种研究上,迄今为止,采用二倍体和四倍体杂交或者化学药物诱导抑制第二极体排出的方法都可以得到大量的长牡蛎三倍体用以支撑商业生产。目前,三倍体长牡蛎已经在美国西海岸、澳大利亚和我国北方地区获得商业化生产和推广。

6 展 望

牡蛎是一种重要的海洋生物资源,也是沿海各国重要的养殖对象,其养殖总产量在所有养殖品种中位居首位。牡蛎营养价值高,国内外消费者对于牡蛎及其加工产品的需求日益增加。但在牡蛎的养殖过程中,仍经常出现养殖个体小型化、生长慢、出肉率低等经济性状持续衰退现象,严重影响牡蛎的养殖产量和质量。特别是近年来由于牡蛎疱疹病毒病(OsHV-1)的爆发,给牡蛎养殖业造成了严重的损失。优良品种是牡蛎养殖业发展的关键所在,国内外育种学家们通过选择育种、杂交育种及多倍体等育种技术,培育出了一系列生长快、抗性强、品质优的牡蛎新品系/种,有效地促进了产业的发展。未来在保护与挖掘优质牡蛎种质资源的基础上,利用各种育种技术,培育出更多品

质优良的牡蛎新品种/系,结合高效健康养殖新技术,将进一步促进牡蛎养殖产业的持续健康发展。

参考文献:

- [1] FAO Fish Stat Plus. Aquaculture Production (Quantities and Values) 1950—2014[DB/OL].[2016-04-14].http://www.fao.org/fishery/static/FishstatJ/FAO_FI_Global_2016.1.2.fws.
- [2] 农业部渔业局.中国渔业年鉴[M].北京:中国农业出版社,2015:33.
- [3] 曾志南,宁岳.福建牡蛎养殖业的现状、问题与对策[J].海洋科学,2011,35(9):112-118.
- [4] 王如才,王昭萍,张中建.海水贝类养殖学[M].青岛:青岛海洋大学出版社,1995:132-133.
- [5] HASKIN H H, FORD S E. Development of resistance to *Minchinia nelson* (MSX) mortality in laboratory-reared and native oysters stocks in Delaware Bay[J]. Marine Fisheries Review, 1978, 41(1/2):54-63.
- [6] BURRESON E M, ANDREWS J D. Unusual intensification of Chesapeake Bay oysters diseases during recent drought conditions[C]// Proc Ocean's 88 Conference. Piscataway: IEEE, 1988:799-802.
- [7] RAGONECALVO L M, CALVO G W, BURRESON E M. Dual disease resistance in a selectively bred eastern oyster, *Crassostrea virginica*, strain tested in Chesapeake Bay[J]. Aquaculture, 2003, 220:69-87.
- [8] FRANK-LAWALE A, ALLEN S K, DÉGREMONT J L. Breeding and domestication of Eastern oyster (*Crassostrea virginica*) lines for culture in the mid-atlantic, Usa; line development and mass selection for disease resistance[J]. Journal of Shellfish Research, 2014, 33(1):153-165.
- [9] NELL J A, HAND R E. Evaluation of the progeny of second-generation Sydney rock oyster *Saccostrea glomerata* (Gould, 1850) breeding lines for resistance to QX disease *Marteilia sydneyi*[J]. Aquaculture, 2003, 228(1/2/3/4):27-35.
- [10] NELL J A, PERKINS B. Evaluation of the progeny of third-generation Sydney rock oyster *Saccostrea glomerata* (Gould, 1850) breeding lines for resistance to QX disease *Marteilia sydneyi* and winter mortality *Bonamia roughleyi*[J]. Aquaculture, 2003, 228(1/2/3/4):27-35.
- [11] DOVE M C, NELL J A, MCORRIES, et al. Assessment of Qx and winter mortality disease resistance of mass selected Sydney rock oysters, *Saccostrea glomerata* (Gould, 1850), in the Hawkesbury River and Merimbula Lake, NSW Australia[J]. Journal of Shellfish Research, 2013, 32(3):681-687.
- [12] DOVE M C, NELL J A, O'CONNOR W A. Evaluation of the progeny of the fourth-generation Sydney rock oyster *Saccostrea glomerata* (Gould, 1850) breeding lines for resistance to QX disease (*Marteilia sydneyi*) and winter mortality (*Bonamia roughleyi*)[J]. Aquaculture Research, 2013, 44(11):1791-1800.
- [13] DÉGREMONT L, BEDIER E, SOLETSCHNIK P, et al. Relative importance of family, site, and field placement timing on survival, growth, and yield of hatchery-produced Pacific oyster spat (*Crassostrea gigas*) [J]. Aquaculture, 2005, 249:213-229.
- [14] DÉGREMONT L, GARCIA C, ALLEN S K. Genetic improvement for disease resistance in oysters; a review[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2015, 131:226-241.
- [15] DÉGREMONT L, NOURRY M, MAUROUARD E. Mass selection for survival and resistance to OsHV-1 infection in *Crassostrea gigas* spat in field conditions; response to selection after four generations[J]. Aquaculture, 2015, 446:111-121.
- [16] ALLEN S K, GAFFNEY P M, EWART J W. Genetic improvement of the Eastern oyster for growth and disease resistance in the Northeast NRAC fact sheet No. 210 [R]. College Park, MD: Northeastern Regional Aquaculture Center, 1993:2.
- [17] NELL J A, SHERIDAN A K, SMITH I R. Progress in a Sydney rock oyster, *Saccostrea commercialis* (Iredale and Roughley), breeding program [J]. Aquaculture, 1996, 144(4):295-302.
- [18] NELL J A, SMITH I R, MCPHEE C C. The Sydney rock oyster *Saccostrea glomerata* (Gould 1850) breeding programme: progress and goals [J]. Aquaculture Research, 2000, 31(1):45-49.
- [19] NELL J A, PERKINS B. Evaluation of progeny of fourth generation Sydney rock oyster *Saccostrea glomerata* (Gould, 1850) breeding lines[J]. Aquaculture Research, 2005, 36(36):753-757.
- [20] DOVE M C, O'CONNOR W A. Commercial assessment of growth and mortality of fifth-generation Sydney rock oysters *Saccostrea glomerata* (Gould, 1850) selectively bred for faster growth[J]. Aquaculture Research, 2009, 40(12):1439-1450.
- [21] 于喆.长牡蛎减4螯焙艘[J].中国水产,2014(9):35-41.
- [22] 曾志南.一种贝壳金黄色速长葡萄牙牡蛎新品种系的培育方法:中国, ZL 2014 1 0197671.1[P].2015-08-26.
- [23] HERSHBERGER W K, PERDUE J A, BEATTIE J H. Genetic selection and systematic breeding in Pacific oyster culture[J]. Aquaculture, 1984, 39:237-245.

- [24] HEDGECOCK D. Genetics and brood stock management [J]. J. Shellfish Res., 1995, 14: 268-274.
- [25] HEDGECOCK D, LANGDON C, BLOUIN M. Genetic improvement of cultured Pacific oysters by selection; 1996 coastal marine experiment station annual [J]. Zeitschrift Für Anorganische Und Allgemeine Chemine, 1997, 629(10): 778-786.
- [26] LANGDON C, EVANS F, JACOBSON D, et al. Yields of cultured Pacific oysters *Crassostrea gigas* Thunberg improved after one generation of selection [J]. Aquaculture, 2003, 220(1/2/3/4): 227-244.
- [27] EVANS S, LANGDON C. Effects of genotype $\times$ environment interactions on the selection of broadly adapted Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) [J]. Aquaculture, 2006, 261(2): 522-534.
- [28] WARD R D, ENGLISH L J, MCGOLDRICK D J, et al. Genetic improvement of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) in Australia [J]. Aquaculture Research, 2000, 31(1): 35-44.
- [29] ADAMS S L, SMITH J F, ROBERTS R D, et al. Application of sperm cryopreservation in selective breeding of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg) [J]. Aquaculture Research, 2008, 39(13): 1434-1442.
- [30] 王庆志, 李琪, 刘世凯, 等. 长牡蛎成体生长性状的遗传参数估计 [J]. 中国水产科学, 2012, 19(4): 700-706.
- [31] 孔宁, 李琪, 丛日浩, 等. 长牡蛎 F3 代快速生长选育群体生长特性的研究 [J]. 海洋学, 2015, 39(3): 7-11.
- [32] 张景晓, 李琪, 葛建龙, 等. 近交对长牡蛎幼虫和稚贝生长与存活的影响 [J]. 水产学报, 2014, 38(12): 2005-2010.
- [33] 肖述, 喻子牛. 养殖牡蛎的选择育种研究与实践 [J]. 水产学报, 2008, 32(2): 287-295.
- [34] 张跃环, 王昭萍, 喻子牛, 等. 养殖牡蛎种间杂交的研究概况与最新进展 [J]. 水产学报, 2014, 38(4): 612-623.
- [35] BOUCHON-BRANDELY M. On the sexuality of the common oyster (*Ostrea edulis*) and that of the Portuguese oyster (*O. angulata*). Artificial fecundation of the Portuguese oyster [J]. Annals and Magazine of Natural History, 1882, 10(5): 328-330.
- [36] GAFFNEY P M, ALLEN S K. Hybridization among *Crassostrea* species: a review [J]. Aquaculture, 1993, 116(1): 1-13.
- [37] ALLEN S K, GAFFNEY P M, SCARPA J, et al. Inviability of hybrids of *Crassostrea virginica* (Gmelin) with *C. rivularis* (Gould) and *C. gigas* (Thunberg) [J]. Aquaculture, 1993, 113(4): 269-289.
- [38] SOLETSCHNIK P, HUVET A, MOINE O L, et al. A comparative field study of growth, survival and reproduction of *Crassostrea agigas*, *C. angulata* and their hybrids [J]. Aquatic Living Resource, 2002, 15(4): 243-250.
- [39] 郑怀平, 王迪文, 林清, 等. 太平洋牡蛎与葡萄牙牡蛎两近缘种间杂交及其早期阶段生长与存活的杂种优势 [J]. 水产学报, 2012, 36(2): 210-215.
- [40] CAMARA M D, DAVIS J P, SEKINO M, et al. The Kumamoto oyster *Crassostrea sikamea* is neither rare nor threatened by hybridization in the Northern Ariake sea, Japan [J]. Journal of Shellfish Research, 2008, 27(2): 313-322.
- [41] 滕爽爽, 李琪, 李金蓉. 长牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 与熊本牡蛎 (*C. sikamea*) 杂交的受精细胞学观察及子一代的生长比较 [J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(6): 914-922.
- [42] XU F, ZHANG G F, LIU X, et al. Laboratory hybridization between *Crassostrea ariakensis* and *C. sikamea* [J]. Journal of Shellfish Research, 2009, 28(3): 453-458.
- [43] 张跃环. 香港巨牡蛎 *Crassostrea hongkongensis* 与长牡蛎 *C. gigas* 种间杂交效应及遗传改良研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学水产学院, 2012: 60-61.
- [44] HUO Z M, WANG Z P, YAN X W, et al. Fertilization, survival and growth of *Crassostrea hongkongensis* $\times$ *Crassostrea ariakensis* hybrids in Northern China [J]. Journal of Shellfish Research, 2013, 32(2): 377-385.
- [45] 张国范, 刘晓, 阚华勇, 等. 贝类杂交及杂种优势理论和技术研究进展 [J]. 海洋科学, 2004, 28(7): 54-60.
- [46] 张玉勇, 常亚青, 宋坚. 杂交育种技术在水产养殖贝类中的应用及研究进展 [J]. 水产科学, 2005, 24(4): 39-41.
- [47] ZHANG Y, WANG Z, YAN X, et al. Laboratory hybridization between two oysters: *Crassostrea gigas* and *Crassostrea hongkongensis* [J]. Journal of Shellfish Research, 2012, 31(3): 619-625.
- [48] 张跃环, 王昭萍, 闫喜武, 等. 太平洋牡蛎与近江牡蛎的种间杂交 [J]. 水产学报, 2012, 36(8): 1215-1224.
- [49] 张跃环, 王昭萍, 闫喜武, 等. 香港巨牡蛎与长牡蛎幼虫及稚贝表型性状研究 [C] // 贝类学会第九次会员代表大会论文集. 广州: 中国动物学会贝类学会, 2011: 212.
- [50] 霍忠明, 王昭萍, 梁健, 等. 香港巨牡蛎与近江牡蛎杂交及回交子代早期生长发育比较 [J]. 水产学报, 2013, 37(8): 1155-1161.
- [51] 中国科学院南海海洋研究所. “华南 1 号”牡蛎获批准水产新品种证书 [EB/OL]. (2016-03-25) [2016-03-29]. http://www.scio.ac.cn/xwzx/snyw/201603/t20160325_4574418.html.
- [52] 张国范. 中国近海栉孔扇贝遗传结构及遗传变异与生长的关系 [D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 1992: 5.
- [53] 孔令锋, 滕爽爽, 李琪. 长牡蛎中国群体与日本群体杂交

- 子一代的生长和存活比较[J].海洋科学,2013,37(8):78-84.
- [54] 王卫军,李琪,杨建敏,等.长牡蛎(*Crassostrea gigas*)三个选育群体完全双列杂交后代生长性状分析[J].海洋与湖沼,2015,46(3):628-635.
- [55] ZHANG G, FANG X, GUO X, et al. The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation[J]. Nature, 2012, 490(7418): 49-54.
- [56] ZHANG L, HOU R, SU H, et al. Network analysis of oyster transcriptome revealed a cascade of cellular responses during recovery after heat shock[J]. PLoS One, 2012, 7(4): e35484.
- [57] QIN J, HUANG Z, CHEN J, et al. Sequencing and de novo analysis of *Crassostrea angulata* (Fujian oyster) from 8 different developing phases using 454 GSFlx[J]. Plos One, 2012, 7(8): e43653.
- [58] ZHU Q, ZHANG L, LI L, et al. Expression Characterization of stress genes under high and low temperature stresses in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* [J]. Marine Biotechnology, 2016, 18(2): 176-188.
- [59] MENG J, ZHU Q H, ZHANG L L, et al. Genome and transcriptome analyses provide insight into the euryhaline adaptation mechanism of *Crassostrea gigas* [J]. PLoS One, 2013, 8(3): e58563.
- [60] ZHAO X, YU H, KONG L, et al. Transcriptomic responses to salinity stress in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* [J]. PLoS One, 2012, 7(9): e46244.
- [61] FLEURY E, HUVET A, LELONG C, et al. Generation and analysis of a 29,745 unique expressed sequence tags from the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) assembled into a publicly accessible database: the Gigas Database [J]. BMC Genomics, 2009, 10: 341.
- [62] KIM W J, JUNG H, SHIN E H, et al. Transferability of cupped oyster EST (Expressed Sequence Tag)-derived SNP (Single Nucleotide Polymorphism) markers to related *Crassostrea* and *Ostrea* species [J]. Korean Journal of Malacology, 2014, 30: 197-210.
- [63] 王家丰.长牡蛎基因区 SNP 标记规模开发及其在遗传育种研究中的应用[D].青岛:中国科学院海洋研究所, 2013: 63-64.
- [64] LALLIAS D, BEAUMONT A R, HALEY C S, et al. A first-generation genetic linkage map of the European flat oyster *Ostrea edulis* (L.) based on AFLP and microsatellite markers [J]. Current Opinion in Ophthalmology, 2007, 38(6): 560-568.
- [65] YU Z, GUO X M. Genetic linkage map of the Eastern oyster *Crassostrea virginica* Gmelin [J]. The Biological Bulletin, 2003, 204(204): 327-338.
- [66] LI L, GUO X M. AFLP-based genetic linkage maps of the pacific oyster *Crassostrea gigas* Thunberg [J]. Marine Biotechnology, 2004, 6(6): 26-36.
- [67] HUBERT S, HEDGECKOCK D. Linkage maps of micro-satellite DNA markers for the Pacific oyster *Crassostrea gigas* [J]. Genetics, 2004, 168(1): 351-362.
- [68] HUBERT S, COGNARD E, HEDGECKOCK D. Centromere mapping in triploid families of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) [J]. Aquaculture, 2009, 288(3/4): 172-183.
- [69] GUO X, LI Q, WANG Q Z, et al. Genetic mapping and QTL analysis of growth-related traits in the Pacific oyster [J]. Marine Biotechnology, 2012, 14(2): 218-226.
- [70] ZHONG X, LI Q, GUO X, et al. QTL mapping for glycogen content and shell pigmentation in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* using microsatellites and SNPs [J]. Aquaculture International, 2014, 22(6): 1877-1889.
- [71] 郭香,李琪,孔令锋,等.基于微卫星标记整合长牡蛎遗传图谱[J].水产学报,2013,37(6):823-829.
- [72] 贺艳.美洲牡蛎(*Crassostrea virginica*)抗病相关基因标记的筛选及应用[D].青岛:中国海洋大学,2012:83.
- [73] 仲晓晓,李琪,孔令锋,等.长牡蛎出肉率与壳形性状的 QTL 定位分析 [J]. 中国水产科学, 2015, 22(3): 574-579.
- [74] PRUDENCE M, MOAL J, BOUDRY P, et al. An amylase gene polymorphism is associated with growth differences in the Pacific cupped oyster *Crassostrea gigas* [J]. Animal Genetics, 2006, 37(4): 348-351.
- [75] HUVET A, JEFFROY F, FABIUUX C, et al. Association among growth, food consumption-related traits and amylase gene polymorphism in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* [J]. Animal Genetics, 2008, 39(6): 662-665.
- [76] 刘思玮,李琪,于红,等.长牡蛎糖原磷酸化酶基因 SNPs 与生长性状和糖原含量的相关性分析[J].中国水产科学,2013(3):481-489.
- [77] ZHICAI S, LI L, HAIGANG Q, et al. Candidate gene polymorphisms and their association with glycogen content in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* [J]. PLoS One, 2015, 10(5): e0124401.
- [78] CONG R, LI Q, KONG L, et al. Association between polymorphism in the insulin receptor-related receptor gene and growth traits in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* [J]. Biochemical Systematics & Ecology, 2014, 54: 144-149.
- [79] CONG R, LI Q, KONG L, et al. Polymorphism in the insulin-related peptide gene and its association with growth traits in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* [J].

- Biochemical Systematics & Ecology, 2013, 46(2):36-43.
- [80] GE J L, LI Q, KONG L F, et al. Identification and mapping of a SCAR marker linked to a locus involved in shell pigmentation of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) [J]. Aquaculture, 2014, 434:249-253.
- [81] GE J, QI L, HONG Y, et al. Identification of single locus PCR-based markers linked to shell background color in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) [J]. Marine Biotechnology, 2015, 17(5):655-662.
- [82] APPELYARD S A, WARD R D. Genetic diversity and effective population size in mass selection lines of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) [J]. Aquaculture, 2006, 254 (1/2/3/4):148-159.
- [83] TARIS N, ERNANDE B, MCCOMBIE H, et al. Phenotypic and genetic consequences of size selection at the larval stage in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) [J]. Journal of Experimental Marine Biology & Ecology, 2006, 333(1):147-158.
- [84] LI Q, YU H, YU R H. Genetic variability assessed by microsatellites in cultured populations of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in China [J]. Aquaculture, 2006, 259(1):95-102.
- [85] CAMARA M D. Changes in molecular genetic variation at AFLP loci associated with naturalization and domestication of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) [J]. Aquatic Living Resources, 2011, 24(1):35-43.
- [86] MILLER P A, ELLIOTT N G, KOUTOULIS A, et al. Genetic diversity of cultured, naturalized, and native Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, determined from multiplexed microsatellite markers [J]. Journal of Shellfish Research, 2012, 31:611-617.
- [87] AN H S, LEE J W, KIM W J, et al. Comparative genetic diversity of wild and hatchery-produced Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) populations in Korea using multiplex PCR assays with nine polymorphic microsatellite markers [J]. Genes & Genomics, 2013, 35(6):805-815.
- [88] MEISTERTZHEIM A L, ARNAUD-HAOND S, BOUDRY P, et al. Genetic structure of wild European populations of the invasive Pacific oyster *Crassostrea gigas* due to aquaculture practices [J]. Marine Biology, 2013, 160(2):453-463.
- [89] JIANG Q, LI Q, YU H, et al. Genetic and epigenetic variation in mass selection populations of Pacific oyster *Crassostrea gigas* [J]. Genes & Genomics, 2013, 35(5):641-647.
- [90] AN H S, KIM W J, LIM H J, et al. Genetic structure and diversity of *Crassostrea gigas* in Korea revealed from microsatellite markers [J]. Biochemical Systematics & Ecology, 2014, 55(4):283-291.
- [91] VERCAEMER B, SPENCE K R, HERBINGER C M, et al. Genetic diversity of the European oyster (*Ostrea edulis* L.) in Nova Scotia: comparison with other parts of Canada, Maine and Europe and implications for broodstock management [J]. Journal of Shellfish Research, 2006, 25(2):543-551.
- [92] ZHU Z, LI G, He L, et al. Novel gene transfer into the fertilized eggs of gold fish (*Carassius auratus* L. 1758) [J]. Journal of Applied Ichthyology, 1985, 1(1):31-34.
- [93] BOULO V, CADORET J P, SHIKE H, et al. Infection of cultured embryo cells of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, by pantropic retroviral vectors [J]. Vitro Cellular & Developmental Biology: Animal, 2000, 36(6):395-399.
- [94] CADORET J P, BOULO V, GENDREAU S, et al. Promoters from *Drosophila* heat shock protein and cytomegalovirus drive transient expression of luciferase introduced by particle bombardment into embryos of the oyster *Crassostrea gigas* [J]. Journal of Biotechnology, 1997, 56(3):183-189.
- [95] CADORET J P, GENDREAU S, DELECHENEAU J M, et al. Microinjection of bivalve eggs: application in genetics [J]. Molecular Marine Biology & Biotechnology, 1997, 6(1):72-77.
- [96] BUCHANAN J T, NICKENS A D, COOPER R K, et al. Transfection of eastern oyster (*Crassostrea virginica*) embryos [J]. Marine Biotechnology, 2001, 3(4):322-335.
- [97] GUO X, DEBROSSE G A, ALLEN S K. All-triploid Pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg) produced by mating tetraploids and diploids [J]. Aquaculture, 1996, 142(3/4):149-161.
- [98] STANLEY J G, ALLEN S K, HIDU H. Polyploidy induced in the American oyster, *Crassostrea virginica*, with cytochalasin B [J]. Aquaculture, 1981, 23(1/2/3/4):1-10.
- [99] QUILLET E, PANELAY J. Triploidy induction by thermal shocks in the Japanese oyster, *Crassostrea gigas* [J]. Aquaculture, 1986, 57(1/2/3/4):271-279.
- [100] YAMAMOTO S, SUGAWARA Y, NOMURA T, et al. Induced triploidy in Pacific oyster *Crassostrea gigas*, and performance of triploid larvae [J]. Tohoku Journal of Agricultural Research, 1988, 39(1):47-59.
- [101] 于瑞海. 温度休克诱导长牡蛎三倍体的研究 [J]. 海洋科学进展, 1994(3):31-36.
- [102] 田传远, 王如才, 梁英, 等. 低温诱导太平洋牡蛎产生三倍体 [J]. 海洋科学, 1999, 23(1):53-55.

- [103] 梁英,王如才,田传远,等.三倍体大连湾牡蛎的初步研究[J].水产学报,1994(3):237-240.
- [104] 容寿柏,李一民.用冷热休克诱导四倍体近江牡蛎[J].湛江水产学院学报,1992(2):18-21.
- [105] CHAITONJ A, ALLEN S K. Early detection of triploidy in the larvae of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, by flow cytometry [J]. Aquaculture, 1985, 48 (1):35-43.
- [106] CADORET J P. Electric field-induced polyploidy in mollusc embryos[J]. Aquaculture, 1992, 106(2):127-139.
- [107] 王昭萍,赵婷,于瑞海,等.一种新方法——低渗诱导虾夷扇贝三倍体的研究[J].中国海洋大学学报(自然科学版),2009,39(2):193-196.
- [108] 于瑞海,王昭萍,孔静,等.利用不同盐度诱导长牡蛎三倍体的研究[J].中国海洋大学学报(自然科学版),2015,45(1):26-29.
- [109] 王康.盐度诱导太平洋牡蛎和近江牡蛎三倍体的研究[D].青岛:中国海洋大学,2014:54.
- [110] DOWNING S L, ALLEN S K. Induced triploidy in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*: optimal treatments with cytochalasin B depend on temperature[J]. Aquaculture, 1987, 61(1):1-15.
- [111] 于瑞海,王昭萍.三种化学诱导剂诱导太平洋牡蛎三倍体的比较研究[J].青岛海洋大学学报(自然科学版),2000,30(4):589-592.
- [112] 林位琅.人工诱导长牡蛎 *Crassostrea gigas* (Thunberg) 三倍体发生的初探[J].现代渔业信息,2001,16(5):18-19.
- [113] 曾志南,陈木.僧帽牡蛎三倍体的研究[J].海洋通报,1994(6):34-40.
- [114] 阙华勇,张国范,刘晓,等.雄性四倍体与雌性二倍体杂交培育全三倍体长牡蛎(*Crassostrea gigas*)的研究[J].海洋与湖沼,2003,34(6):656-662.
- [115] 李慷均.太平洋牡蛎四倍体育种研究[D].青岛:中国海洋大学,2004:6.
- [116] STEPHENS L B, DOWNING S L. Inhibition of the first Polar body formation in *Crassostrea gigas* produces tetraploids, not meiotic I triploids[J]. Shellfish Research, 1988, 7(3):550-551.
- [117] SCARPA J, WADA K, KOMARU A. Induction of tetraploidy in mussels by suppression of polar body formation[J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1993, 59(12):2017-2023.
- [118] 田传远,梁英.6-二甲在氨基嘌呤诱导太平洋牡蛎三倍体-抑制受精卵第一极体释放[J].水产学报,1999(2):128-132.
- [119] 田传远,王如才,梁英,等.6-DMAP 诱导太平洋牡蛎三倍体-抑制受精卵第二极体释放[J].中国水产科学,1999,6(2):1-4.
- [120] 田传远,王如才,梁英,等.6-DMAP 诱导太平洋牡蛎三倍体-4.四倍体现象的研究[J].青岛海洋大学学报(自然科学版),1998(4):560-64.
- [121] SHPIGEL M, BARBER B J, MANN R. Effects of elevated temperature on growth, gametogenesis, physiology, and biochemical composition in diploid and triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, Thunberg [J]. Journal of Experimental Marine Biology & Ecology, 1992, 161(1):15-25.
- [122] 林琪,吴建绍.长牡蛎三倍体的诱导和培育[J].应用海洋学学报,2000,19(4):478-483.
- [123] 于瑞海,王昭萍,田传远,等.利用咖啡因和热休克诱导太平洋牡蛎三倍体[J].青岛海洋大学学报(自然科学版),2001,31(4):518-522.
- [124] GUO X, HERSHBERGER W K, COOPER K, et al. Artificial gynogenesis with ultraviolet light-irradiated sperm in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. I. Induction and survival[J]. Aquaculture, 1993, 113(3):201-214.
- [125] GUO X, ALLEN S K. Viable tetraploid Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunburg) produced by inhibiting polar body I in eggs of triploids[J]. Molecular Marine Biology & Biotechnology, 1994, 3(1):42-50.

Progress on Oyster Breeding

NING Yue, GUO Xiang, ZENG Zhinan*, QI Jianfei, WU Qisheng

(Fujian Fisheries Research Institute, Fujian Collaborative Innovation Center for Exploitation and Utilization of Marine Biological Resources, Xiamen 361013, China)

Abstract: This paper gives a detailed statement of current status of and progress on oysters breeding at home and abroad, including traditional selective breeding, cross breeding and modern biological technologies, such as polyploid, transgenic and molecular markers. We are aiming to provide references for research and applications of oysters and other shellfish breeding.

Key words: oyster; selective breeding; cross breeding; molecular marker

<http://jxmu.xmu.edu.cn>