

文章编号: 1000-0615(2004)02-0201-08

• 综述 •

鲍遗传育种研究进展

蔡明夷, 柯才焕, 周时强, 王桂忠

(厦门大学海洋与环境学院, 福建 厦门 361005)

关键词: 鲍; 遗传; 育种; 遗传标记; 生物技术

中图分类号: S917 文献标识码: A

Advances in genetics and breeding in abalone: a review

CAI Ming-yi, KE Cai-huan, ZHOU Shi-qiang, WANG Gui-zhong

(College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Abalones are important farming species with a high economic value. They have already been farmed for more than 50 years. As problems and new requirements rose continuously in culture industry of abalone, studies on genetic and breeding techniques are needed to improve characteristics and to gain new traits. This review concentrates on advances in genetics and breeding techniques in abalone. As for genetic studies, karyological analyses, allozyme, DNA markers and genetic diversity were reviewed. So far, karyological analyses in abalone have been performed in 12 species that can be divided into three groups according to the chromosome number. In some economically important species, loci of allozymes and microsatellites have been isolated and applied to investigate the genetic structure of natural and hatchery populations and to identify the result of chromosome set manipulation, but the related reports are only a few yet. The result of investigation with DNA markers and allozymes showed that the genetic structure of natural populations presents two characteristics: excessive homozygosity and subdivision. Advances of various breeding techniques, including introduction, selection, hybridization, polyploidy, gynogenesis and gene manipulation, were reviewed in the other part. Although *Haliotis discus discus*, introduced from Japan, has become one of the most important culture species in China, the economic, social and environmental effects of introduction have been rarely studied. Selection is one of the most important and basic breeding techniques, but the studies on selection are only a few and preliminary, referring to the relations between genetic characteristics and the traits of growth and resistance, genetic diversity and heritability of quantitative traits, and the effect of selection. Interspecific hybridization was the first breeding program carried out in abalone. Experimental hybridization have been carried out for about 20 crosses. Heterosis, such as faster growth and high survival rate, has been observed in some crosses. Triploids have been successfully induced in many species of abalone with physical or chemical shock, e. g. *H. discus hannai*, *H. rufescens*, *H. diversicolor diversicolor* and *H. midae*. Field experiments were conducted in some species of triploid abalone. In

收稿日期: 2003-03-17

资助项目: 国家 863 课题(2001AA621080)

作者简介: 蔡明夷(1973-), 女, 福建泉州人, 博士研究生, 主要从事鲍遗传育种方面的研究。Tel: 0592-2187420, E-mail: csy0331@

comparison with triploid, the research on tetraploid is still in quest stage. The progress of induction of gynogenesis in abalone is quite slow. Conditions of sperm inactivation, diploid restoration and nuclear behavior of gynogenetically activated eggs have been researched on in *H. discus hannai*. Notwithstanding the gene transfer technology in abalone is in the quest stage, the research have already involved preparation of exogenic DNA, means of gene transfer, identification integration and expression of target gene, etc. Three research directions in these topics were proposed: to investigate the germplasm resources of abalone deeply and widely, to make use of traditional breeding methods and modern biotechnique synthetically, and to combine the science research with production practice.

Key words: abalone; genetics; breeding; genetic marker; biotechnology

目前世界上发现的鲍已接近 100 种, 主要分布于热带、亚热带与温带海域。人类早在几千年前就已开始采捕鲍, 在 50 余年前开始人工养殖鲍, 目前投入养殖生产或处于生产试验阶段的鲍已有 20 多种^[1]。

在养鲍业迅速发展的同时, 也出现了新的问题: 一方面, 鲍病的暴发与流行造成巨大的经济损失; 另一方面, 养殖单位要求提高鲍的产量及品质以满足市场的多种需求。为了解决这些问题, 研究者从多方面进行努力, 遗传育种就是其中最重要的手段之一。培育新品种、改良原有品种可以提高鲍生长速度、抗病力、抗逆能力及对特殊环境的适应力, 还可向市场提供具有各种特殊口味或口感的、各种特殊外形及色彩的鲍以满足顾客的不同需求。本文从

遗传基础及育种技术两方面对近几年鲍遗传育种的研究进展作一综述。

1 鲍的遗传学基础研究

1.1 染色体组型及带型

染色体组型的研究是细胞遗传学的基础, 可以为分类和系统发生研究、染色体组操作提供细胞遗传学证据, 对于现代分子生物学中的基因定位和原位杂交也有重要作用。已报道染色体组型的鲍科动物共有 12 种, 根据染色体数目可以分为 $2n$ 为 36、32 及 28 三类(表 1)。但精细分析染色体形态结构的报道仅见 Okumura 等对皱纹盘鲍染色体进行 C 带分析^[2]及染色体指数测量^[3]。

表 1 鲍染色体组型研究概要

Tab. 1 A summary on studies of karyotypes in *Haliotis*

物种 species	染色体数目 ($2n$) no. of diploid	核型公式 karyotype	参考文献 reference
皱纹盘鲍(<i>H. discus hannai</i>)	36	20m+ 16sm	[4]
黑鲍(<i>H. cracherodii</i>)	36	—	[5]
大鲍(<i>H. gigantea</i>)	36	20m+ 16sm	[6]
日本大鲍(<i>H. madaka</i>)	36	20m+ 16sm	[7]
盘鲍(<i>H. discusdiscus</i>)	36	20m+ 16sm	[4]
平鲍(<i>H. planata</i>)	32	18m+ 12sm+ 2st	[8]
多变鲍(<i>H. varia</i>)	32	18m+ 12sm+ 2st	[8]
杂色鲍(<i>H. diversicolor diversicolor</i>)	32	16m+ 14sm+ 2st	[8]
耳鲍(<i>H. asinina</i>)	32	20m+ 12sm	[9]
羊鲍(<i>H. oina</i>)	32	18m+ 12sm+ 2t	[9]
疣鲍(<i>H. tuberculata</i>)	28	16m+ 12sm	[10]
薄片鲍(<i>H. lamellosa</i>)	28	16m+ 12sm	[10]

注: m: 中部着丝点型; sm: 亚中部着丝点型; st: 亚端部着丝点型; t: 端部着丝点型; —: 原文未提供

Notes: m: metacentric; sm: submetacentric; st: subtelocentric; t: telocentric; —: not available data

1.2 生化遗传标记

生化遗传标记即基因产物标记, 如血清蛋白、同工酶、等位酶和配子蛋白等。最常用于鲍遗传育种研究的生化遗传标记是同工酶。日本学者在鲍同工酶标记方面的工作起步较早, Sasaki 等^[11]分析日本沿岸海域 5 种鲍的酶谱差异; 他们还对本海皱纹盘鲍种群同工酶多态位点^[12]、纯合度过剩现象^[13]、同工酶的生理意义^[14]、发育过程中同工酶变化^[15]及同工酶与鲍耐受温度之间的关系^[16]等做过

一定的研究。同工酶在鲍研究中应用最多的是分析天然种群的遗传结构^[17-20], 也用于研究养殖状态下鲍遗传多样性的变化^[21,22]以及遗传操作结果的鉴定^[23-26]。

1.3 DNA 标记

分子标记在遗传育种中的应用包括: 构建分子连锁遗传图、基因定位、分析遗传多样性、分析物种亲缘关系和辅助选择育种等。广义的分子标记包括可遗传的并可检测的 DNA 序列或蛋白质。近年来, DNA 标记的研究与应用

发展十分迅速。

在鲍的 DNA 标记中, 研究及应用最多的是微卫星。鲍的微卫星标记的研究始于 1997 年, 短短几年筛选到微卫星座位的鲍已有 6 种(表 2)。微卫星座位的筛选工作繁重, 所幸其他种类上的研究结果表明, 将已有的微卫星座位应用于亲缘关系相近的生物往往能取得相近的结果。为了考察鲍微卫星引物的保守性, Evans 等^[34]用红鲍的 22 个微卫星座位检测其他种类的鲍, 结果表明, 部分微卫星座位可以应用于其他种类, 但分析结果因种类不同而有很大变化。微卫星主要应用于鲍的种群结构分析^[35,36]及亲子关系分析^[37,38], 但相关报道很少。

其他类型 DNA 标记在鲍遗传育种中的应用仅有零星报道, 如 Huang 等^[35]在分析澳大利亚维多利亚沿岸黑唇鲍种群遗传结构时应用了 RAPD、小卫星及 RFLP; 万俊芬等^[39]应用 RAPD 研究了盘鲍 × 皱纹盘鲍杂种优势产生的分子遗传机制。除了基因组 DNA 多样性, DNA 标记还少量应用于分析线粒体 DNA (mtDNA) 的多样性^[39]。总之, 鲍 DNA 标记的研究及其在遗传育种中的应用还处于初步阶段, 急需进一步开发利用。

表 2 6 种鲍的微卫星座位筛选

Tab. 2 Microsatellites loci isolated from 6 species of abalone

种类 species	座位数 loci no.	实际杂合度 <i>HO</i>	期望杂合度 <i>HE</i>	等位基因数 alleles no.	参考文献 reference
黑唇鲍(<i>H. rubra</i>)	3	—	—	8~41	[27]
黑唇鲍(<i>H. rubra</i>)	9	0.14~0.76	0.40~0.90	2~16	[28]
红鲍(<i>H. rufescens</i>)	21	—	—	12~28	[29]
耳鲍(<i>H. asinina</i>)	11	—	0.29~0.96	2~25	[30]
堪察加鲍(<i>H. kamtschatkana</i>)	12	0.17~0.80	0.20~0.89	3~10	[31]
皱纹盘鲍(<i>H. discus hannai</i>)	4	0.30~0.97	0.60~0.92	14.3	[32]
盘鲍(<i>H. discus discus</i>)	5	0.17~0.80	0.20~0.89	3~10	[33]

注: 一原文未提供相关数据 Notes: —not available data

2 鲍育种学研究

2.1 引种

王子臣等于 1985 年从美国引入红鲍、绿鲍, 并与我国的皱纹盘鲍杂交。聂宗庆等^[42]从日本引进了盘鲍驯养, 并与我国本地的皱纹盘鲍杂交。此外, 智利也从美国引入红鲍, 并持续跟踪研究^[43]。目前从日本引进的盘鲍已成为我国重要的养殖鲍, 但其他引入种类尚未见在生产上应用。另外, 引入种类的经济、社会及环境效应也鲜有报道。

2.2 选择育种

选择是育种的重要方法之一。研究结果表明, 鲍的生长相关性状^[44-46]及抗病性^[47]与亲鲍遗传因素相关, 这暗示着可以通过选育改良这些性状。选择育种的方法及效果取决于目标性状的遗传力及遗传结构。Jonasson 等^[48]从 1996 年开始建立了 100 个家系, 用以研究红鲍生存率、生长率、产肉量、性成熟年龄的遗传多样性及遗传力, 得到不同鲍龄壳长及成活率的多样性及遗传力数据, 并认为理

1.4 遗传多样性研究

遗传多样性是物种多样性的基础, 是评价自然生物资源的重要依据。遗传多样性的研究主要基于遗传标记的检测与统计。遗传标记包括表型标记、染色体多样性、蛋白质多样性及 DNA 多样性等水平。鲍自然种群及养殖种群遗传结构分析主要应用同工酶电泳技术^[17-20]及 DNA 标记^[35,36], 其中微卫星标记是分析种群结构的首选方法^[35,36]。自然种群结构的研究结果表明, 鲍的种群结构有 2 个特点: (1) 普遍存在纯度过剩(实际杂合度低于期望杂合度)的现象, 这表示鲍可能存在近交、非随机交配或哑基因。(2) 种群结构普遍有明显分化, 可以细分为地理亚种群, 这种现象可能与鲍浮游幼体时间短且散播范围有限相关。但也有例外, 如 Zuniga 等^[40]研究了墨西哥 Baja California 产绿鲍(*H. fulgens*)的种群结构时发现, 该地区的绿鲍没有因为地理差异而产生遗传差异, 作者认为, 各鲍库之间的基因流随着影响幼体交换的因素(如地形、气流等)的变化而变化。养殖种群遗传多样性分析结果表明多样性随着世代逐渐丧失^[21,22], 因此要保持遗传多样性就要在人工育苗时保证足够数量的雌性及雄性亲鲍。

论上连续选择 4 代就可以使生长速度加快 2 倍。Hara 等^[49]报道, 经过连续 3 代选择的皱纹盘鲍与对照组鲍相比, 壳长 20~30mm 时, 日生长率增长 21%; 壳长 30~70mm 时, 日生长率增长 65%。

数量性状的遗传研究需要建立家系并多年观察, 选择育种需要多代选择。因此要开展选择育种工作除了需要资金、场地、设备外, 还需要研究工作者的专业知识与毅力, 以及科学的管理体系。

2.3 杂交育种

我国鲍的种苗生产多采用自繁自养亲鲍, 且采用雄鲍数量偏少, 近交严重, 造成群体遗传多样性下降、隐性有害基因纯合表达、种质退化, 导致鲍生长性能及抗逆能力下降。杂交育种是解决种质退化问题的有效、简便途径。

鲍同其他水生生物一样存在着自然杂交的现象, 如太平洋东部分布的 6 种鲍之间^[50], 日本沿岸分布的黑鲍、大鲍、日本大鲍及皱纹盘鲍之间^[51], 及澳大利亚海域分布的黑唇鲍与绿唇鲍之间^[24]均可在自然条件下发生种间杂

交,可见将杂交应用于鲍的遗传改良是可行的。人工杂交是最早开展的鲍遗传育种研究,迄今为止已开展种间杂交试验的组合如表3,部分杂交组合正反交受精率或发育率不一致。研究结果还表明,一些杂种后代表现出杂种优势,如成活率、生长速度^[52,53]及抗病力^[41]优势。

鲍种间杂交的受精率及发育率主要由杂交亲本种类决定,同时还受水温、盐度、精子浓度等外部因子的影响。Leighton等^[53]发现异种杂交授精精子浓度比同种交配高1个数量级。柯才焕等^[55]在研究九孔鲍与皱纹盘鲍和盘鲍的杂交试验时也发现,提高水温可提高杂交受精率。

杂交后代可利用形态、血清学、染色体核型分析、同工酶及分子遗传标记等方法进行鉴定。但鲍人工杂交后代鉴定仅见Hoshikawa等^[57]用同工酶电泳分析证实皱纹盘鲍(♀)×堪察加鲍(♂)杂交子代基因组是亲本基因组互相渗透的结果。关于杂交机理也仅见万俊芬等^[39]用RAPD研究了盘鲍×皱纹盘鲍杂种优势产生的分子遗传机制。后代性状表现主要集中于成活率及生长性能,而性

腺发育、繁殖能力、性状分离规律等仅见Leighton等^[53]的研究。可见,虽然鲍的杂交研究开展得最早,但在杂交亲本的生物学特性和遗传学背景,以及杂交后代鉴定、性状表现、遗传规律、选择及杂交优势机理等方面还需要更深入的研究。

2.4 多倍体育种

抑制受精卵早期细胞分裂会诱导产生三倍体或四倍体。多倍体在实践上的应用包括提高生长率、改善肉质、控制种群、提高杂交成活率、提高杂种优势等,理论上还可应用于研究生长繁殖相互作用机理、繁殖生理学和染色体行为等。

三倍体 三倍体的诱导大多是通过抑制第二极体的排出实现。三倍体鲍已在皱纹盘鲍^[38]、红鲍^[39]、杂色鲍^[60]、九孔鲍^[61]、中间鲍(*H. midae*)^[62]等种类中成功诱导,所用方法包括冷休克、热休克、静水压及各种化学物质诱导等。影响三倍体诱导结果有许多因素,如种类、卵子成熟程度、卵子密度、pH、卵径大小和水温^[39]等。

表3 鲍杂交研究概要

Tab. 3 A summary on studies of hybridization in abalones

亲鲍 parental species		受精率或发育率 (%) fertilization or development rate	文献 reference
♀	♂		
红鲍(<i>H. rufesense</i>)	绿鲍(<i>H. fulgens</i>)	32.1	[52]
绿鲍(<i>H. fulgens</i>)	红鲍(<i>H. rufesense</i>)	29.8	
红鲍(<i>H. rufesense</i>)	粉红鲍(<i>H. corrugata</i>)	16.4	
粉红鲍(<i>H. corrugata</i>)	红鲍(<i>H. rufesense</i>)	23.2	
红鲍(<i>H. rufesense</i>)	白鲍(<i>H. sorenseni</i>)	29.7	
白鲍(<i>H. sorenseni</i>)	红鲍(<i>H. rufesense</i>)	96.3	
绿鲍(<i>H. fulgens</i>)	粉红鲍(<i>H. corrugata</i>)	36.1	
绿鲍(<i>H. fulgens</i>)	白鲍(<i>H. sorenseni</i>)	19.7	
盘鲍(<i>H. discus discus</i>)	皱纹盘鲍(<i>H. discus hannai</i>)	70~85	[54]
皱纹盘鲍(<i>H. discus hannai</i>)	盘鲍(<i>H. discus discus</i>)	87~91	
红鲍(<i>H. rufesense</i>)	皱纹盘鲍(<i>H. discus hannai</i>)	2.1	[41]
皱纹盘鲍(<i>H. discus hannai</i>)	红鲍(<i>H. rufesense</i>)	1.0	
皱纹盘鲍(<i>H. discus hannai</i>)	杂色鲍(<i>H. diversicolor diversicolor</i>)	0.4~2.8	[55]
杂色鲍(<i>H. diversicolor diversicolor</i>)	皱纹盘鲍(<i>H. discus hannai</i>)	3.5~15.0	
盘鲍(<i>H. discus discus</i>)	杂色鲍(<i>H. diversicolor diversicolor</i>)	1.5~4.0	
杂色鲍(<i>H. diversicolor diversicolor</i>)	盘鲍(<i>H. discus discus</i>)	1.0~53.8	
皱纹盘鲍(<i>H. discus hannai</i>)	日本虾夷盘鲍(<i>H. gigantea discus</i>)	57.0	[52]
日本虾夷盘鲍(<i>H. gigantea discus</i>)	皱纹盘鲍(<i>H. discus hannai</i>)	52.0	
大鲍(<i>H. gigantea</i>)	盘鲍(<i>H. discus discus</i>)	81~95	[56]
皱纹盘鲍(<i>H. discus hannai</i>)	堪察加鲍(<i>H. kantschakana</i>)	20	[57]

因此,关于诱导三倍体鲍的研究大多集中于对诱导程序的主要参数进行优化,以期得到最高三倍体诱导率及成活率。其中最重要的3个参数是:作用起始时间、作用强度和作用持续时间。用于鉴定三倍体鲍的方法主要有染色体计数法^[59,60]、流式细胞术^[62,59]。另外,Okumura等^[63]报道了利用核仁组织区的银染来鉴定鲍三倍体。李霞等^[64]研究了三倍体鲍受精卵染色体的分离情况,发现三倍体诱导组受精卵在第二次成熟分裂中出现了特殊分离

类型,即“三极分离”、“联合二极分离”、“独立二极分离”等。

三倍体鲍与二倍体鲍相比有一定的优势,如生长速度^[61,65,66]、温度耐受性^[67]和氨基酸含量^[65]等。三倍体鲍的生长速度常表现为早期可能不比二倍体鲍快,但晚期显著快于二倍体鲍,如孙振兴等^[6]比较二倍体三倍体盘鲍生长时发现,鲍龄在8~12个月时,二者壳长与体重没有显著差异;鲍龄达24个月时,三倍体鲍生长性状显著优于

二倍体, 壳长优势达 14.76%, 体重优势达 50.19%。三倍体鲍的研究已进入养成比较阶段^[61,66]。但是, 由于潜在的毒性作用, 目前常用的化学诱导方法不适合推广到商品三倍体鲍的生产中; 另一方面, 目前三倍体诱导技术还比较复杂, 可控性及重复性较差, 还不适合于普通的养殖场大规模生产, 因此三倍体鲍离规模化生产还有一定距离。

四倍体 研究水产动物四倍体的目的, 是期望通过人工四倍体与正常二倍体杂交得到大量的三倍体后代, 为大规模生产三倍体提供有效途径。在诱导三倍体鲍的同时, 常常观察到存在一定比率的四倍体^[62,68], 这可能是由于, 施加的物理或化学作用同时抑制了第一极体与第二极体的排出, 或是抑制了第一次有丝分裂。孙振兴等^[69]采用细胞松弛素 B (CB) 及秋水仙素诱导皱纹盘鲍四倍体, 诱导出 4.8~21.9% 的四倍体鲍幼体, 但发育到面盘幼体就陆续死亡。他们认为, 造成四倍体成活率低的原因可能包括: (1) 化学药品的毒性作用或由于阻止第一极体释放引起 DNA 损伤, 染色体断裂或缺失; (2) 化学药品的毒性破坏受精卵内的细胞器导致代谢缺陷; (3) 核质比例失调引起的发育缺陷等。鲍四倍体诱导研究尚处于探索阶段。

2.5 雌核发育

雌核发育系指遗传失活精子激动卵子发育的方式。人工诱导雌核发育的应用包括快速建立纯系、实现全雌养殖、遗传分析(确定性别控制机制、确定外界因素对遗传性或表型的影响、检测基因图距或隐性基因)、提高产量、综合育种和加快育种速度等。

雌核发育的研究主要集中于诱导程序的建立、相关参数的优化及细胞学机理的初步研究。人工诱导雌核发育是用遗传失活精子授精并结合染色体组的加倍技术来实现的。精子染色体遗传失活的方法有很多, 包括: 辐射(γ 射线、X 射线、紫外线等)及化学处理(甲苯胺兰、乙烯脲、二甲基硫酸盐等), 最常用的方法是紫外线辐射。染色体组加倍的技术与多倍体诱导技术类似。Arai 等^[70]最早开始皱纹盘鲍雌核发育的研究, 探索有效失活精子、产生雌核发育单倍体的条件。Fujino 等^[36]又用冷休克的方法实现皱纹盘鲍雌核发育单倍体染色体组的加倍, 并用同工酶电泳证实存活后代中雌核发育的比率为 50~60%, 同时测量了雌核发育后代的壳长, 发现离差高于对照组。由于鲍及至贝类雌核发育研究进展缓慢, 因此, Li 等^[74-76]试图从细胞学角度研究鲍雌核发育机制, 以寻找改进雌核发育技术的途径。他们先研究了紫外线辐射对精子超微结构的影响^[71,72], 结果表明, 随着紫外线剂量的上升, 精子顶体及鞭毛受损程度加剧。继而他们又研究了雌核发育受精过程配子细胞核的变化^[73], 发现用遗传失活精子激活并经过细胞松弛素 B 处理的卵子中形成 2 个雌性原核及 1 个雄性原核, 但雌性原核与雄性原核没有融合; 有丝分裂中期, 雄性原核仍呈固缩态, 在有丝分裂结束后拉为两部分。要攻克鲍雌核发育后代成活率低的难题, 看来可

以从以下几方面进行探索: (1) 比较不同遗传失活方式对精子结构的影响, 寻找对精子顶体等结构影响较小的失活方式; (2) 更深入地研究贝类雌核发育机制, 比较贝类与鱼类受精生物学及发育生物学的差异; (3) 通过其他方式实现贝类的雌核发育, 如远缘杂交。

2.6 转基因

基因工程育种从根本上超越了物种遗传界限和育种资源的限制, 实现定向改造物种基因组, 是一种快速的遗传改良手段。关于转基因鲍的研究已涉及转基因技术的全部内容, 包括外源基因的准备、基因导入技术、外源基因整合及表达的鉴定等。Morse^[74]报道了红鲍生长激素基因的分离、剪切、拼接和重组。Powers 等^[75]运用电穿孔技术将重组质粒导入红鲍胚胎并用点杂交、Southern 杂交证实外源 DNA 与基因组 DNA 有效整合。Sin 等^[76]发现电脉冲可以提高红鲍精子与 DNA 的结合。Tsai 等^[77]先利用电脉冲使抗冻基因重组质粒与精子结合在一起, 再通过受精作用将携带有外源 DNA 的精子导入九孔鲍卵子中, 并用点杂交、PCR 扩增、Southern 杂交等方法检测幼体基因组 DNA, 在部分幼体基因组 DNA 中检测到目标基因。Gomez-Chiarri 等^[78]克隆了红鲍的肌动蛋白启动子。

基因克隆、表达以及各种基因及其产物的作用的研究是转基因育种的基础工作。Wang 等^[79]对黑唇鲍产卵激素基因(aELH)进行克隆及表达。Taylor 等^[80]研究了脊椎动物生长因子对堪察加鲍生长的影响, 肌肉注射重组牛生长基因, 重组猪生长基因, 生长激素抑制素及牛血清白蛋白, 结果各实验组与对照组体重增长没有显著差异。

由于体外受精、体外发育的生殖方式, 以及产卵量巨大的特点, 水生生物转基因操作比哺乳动物转基因容易得多。因此, 转基因鲍无论是在育种实践还是生物学基础研究中都有着广阔的应用前景。但因为起步较晚, 鲍的转基因技术尚处于探索阶段, 要迅速发展鲍的转基因技术必须结合分子生物学家及水产育种学家的智慧。

3 鲍遗传育种的发展方向

3.1 鲍种质资源的研究

种质资源是遗传育种的基础, 系统研究各种鲍的地理分布、生物学习性、遗传学背景, 比较、收集和整理各地野生及养殖鲍在遗传上的分化情况, 将有利于提高鲍遗传育种的针对性, 但这方面的研究尚显不足。已报道的染色体组型仅限于 12 种, 利用同工酶及 DNA 标记研究鲍种群结构的也只有少数地区及少数种类。在我国, 目前应着重研究几种常见经济鲍的种质资源和分布现状, 同时采取必要措施(建设原种场和建立自然保护区)保护野生鲍原种。

3.2 传统方法与现代生物技术的结合

传统育种技术如杂交和选种仍是鲍育种的重要方向。目前, 已开展的鲍育种研究普遍存在不够深入、缺乏系统性及连续性的问题。将传统育种学应用于鲍的遗传育种,

科学管理育种过程,建立纯系,育成优良品种或品系是鲍遗传育种技术研究的重要基础,也是行之有效的方法。

现代生物学技术已应用于鲍的遗传育种,如染色体操作、雌核发育、转基因技术等,但相关研究常常将重点放在技术本身,对于后代的养成、性状观察、选育工作很少涉及。将现代生物技术与传统的杂交选育等技术有机结合,以实现养殖鲍的遗传改良,将是今后研究的主要方向。

分子遗传标记在作物及其他动物遗传育种中已发挥了很大作用,但在鲍遗传育种中,分子遗传标记的应用大多局限于种群结构分析,仅少量用于遗传操作鉴定。如何将分子遗传标记与鲍的遗传育种有机结合,有效地将分子遗传标记应用于遗传操作结果鉴定及相关机理研究,以及数量性状的定位、筛选与重要经济性状连锁的分子标记,并应用于分子标记辅助选育(MAS),是目前研究鲍的分子生物学工作者及育种学工作者急需解决的问题。

3.3 科学研究与生产实践相结合

鲍的遗传育种虽然已经取得不少成果,育种的最终目的是为了生产,因此,如何将遗传育种研究中取得的成果更快捷、更有效、更安全地应用于生产也是该领域研究工作者应努力的方向。

参考文献:

- [1] Elliott N G. Genetic improvement programmes in abalone: what is the future[J]. Aquac Res, 2000, 31(1): 51- 59.
- [2] Okumura S, Yamada S, Sugie T, *et al.* G-banding study of chromosomes in *Haliotis discus hannai* (Archaeogastropoda: Haliotidae)[J]. Chrom Inf Serv, 1995, 59: 7- 9.
- [3] Okumura S I, Kinugawa S, Fujimaki A, *et al.* Analysis of karyotype, chromosome banding, and nucleolus organizer region of Pacific abalone, *Haliotis discus hannai* (Archaeogastropoda: Haliotidae)[J]. J Shellfish Res, 1999, 18 (2): 605- 609.
- [4] Arai K, Tsubaki H, Ishitani Y, *et al.* Chromosomes of *Haliotis discus hannai* Ino and *H. discus* Reeve[J]. Bull Japan Soc Sci Fish, 1982, 48: 1689- 1691.
- [5] Minkler J. Chromosomes of the black abalone (*Haliotis cracherodii*) [J]. Experimentia, 1977, 33: 1143.
- [6] Miyaki K, Tabeta O, Kayano H. Karyotypes of the two species of abalones *Nardotis discus* and *N. gigantea* [J]. Fisheries Sci, 1997, 63: 179- 180.
- [7] Miyaki K, Matsuda M, Tabeta O. Karyotype of the giant abalone, *Nardotis madaka* [J]. Fisheries Sci, 1999, 65: 317- 318.
- [8] Arai K, Fujino K, Kudo M. Karyotype and zymogram differences among three species of the abalones *Haliotis planata*, *H. varia*, and *H. diversicolor* [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1988, 54: 2055- 2064.
- [9] Jarayabhand P, Yonka R, Popongviwat A. Karyotypes of marine mollusks in the family Haliotidae found in Thailand [J]. J Shellfish Res, 1998, 17: 761- 764.
- [10] Colomba D, Tagliaferri F. Chromosomes from male gonads of *Haliotis tuberculata* and *Haliotis lamellosa* (Haliotidae, Archaeogastropoda, Mollusca) [J]. Caryologia, 1983, 36: 231- 234.
- [11] Sasaki K. Zymogram differences among five species of abalones from the coasts of Japan [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1980, 46(9): 1169- 1175.
- [12] Fujino K. Genetic studies on the Pacific abalone I. Inbreeding and overdominance as evidenced by biochemical polymorphism in a wild population [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1978, 44(4): 357- 361.
- [13] Fujino K. Genetic studies on the Pacific abalone II. Excessive homozygosity in deficient animals [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1978, 44(7): 767- 770.
- [14] Sato M. Characterization and physiological role of tauroxime dehydrogenase and lactate dehydrogenase from muscle of abalone *Haliotis discus hannai* [J]. Tohoku J Agric Res, 1991, 41: 83- 95.
- [15] Fujino K, Sasaki K. Age association of genotypic proportions of isozymes in the Pacific abalone [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1984, 50(1): 11- 15.
- [16] Fujino K, Sasaki K, Okumura S. Probable involvement of thermostability variations of enzymes in the mechanisms of occurrence of deficient abalone [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1984, 50(4): 597- 601.
- [17] Hara M, Kikuchi S. Genetic variability and population structure in the abalone, *Haliotis discus hannai* [J]. Bull Tohoku Nat Fisheries Res Ins, 1992, 54(2): 107- 114.
- [18] Brown L D. Genetic variation and population structure in the blacklip abalone, *Haliotis rubra* [J]. Aust J Mar Freshwat Res, 1991, 42(1): 77- 90.
- [19] Del Rio-Portilla M A, Gonzalez-Aviles J G. Population genetics of the yellow abalone, *Haliotis corrugata*, in Cedros and San Benito Islands: a preliminary survey [J]. J Shellfish Res, 2001, 20 (2): 765- 770.
- [20] Hamm D E, Burton R S. Population genetics of black abalone, *Haliotis cracherodii*, along the central California coast [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 254 (2): 235- 247.
- [21] Smith P J, Conroy A M. Loss of genetic variation in hatchery-produced abalone, *Haliotis iris* [J]. N Z J Mar Freshwat Res, 1992, 26(1): 81- 85.
- [22] Mgaya Y D. Genetic variation at three polymorphic loci in wild and hatchery stocks of the abalone, *Haliotis tuberculata* Linnaeus [J]. Aquac 1995, 136(1): 71- 80.
- [23] Fujino K. Differential contribution of oocytes to triploid offsprings due to maternal genotypes at phosphoglucosmutase thermostability variation locus in the Pacific abalone [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1988, 44(4): 357- 361.
- [24] Brown L D. Genetic evidence for hybridisation between *Haliotis rubra* and *H. laevigata* [J]. Mar Biol, 1995, 123(1): 89- 93.
- [25] Hiroshi H. Growth characteristics of the hybrid between pinto abalone, *Haliotis kamtschakana* Jonas, and ezo abalone, *H. discus hannai* Ino, under high and low temperature [J]. J Shellfish Res, 1999, 18(2): 605- 609.

- Res, 1998, 17(3): 673- 677.
- [26] Fujino K, Arai K, leadare K, *et al.* Induction of gynogenetic diploid by inhibiting second meiosis in the pacific abalone[J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1990, 56(11): 1755- 1763.
- [27] Huang B X, Hanna P J. Identification of three polymorphic microsatellite loci in blacklip abalone, *Haliotis rubra* (Leach), and detection in other abalone species[J]. J Shellfish Res, 1998, 17: 795- 799.
- [28] Evans B, White R W G, Elliott N G. Characterization of microsatellite loci in the Australian Blacklip abalone (*Haliotis rubra*, Leach) [J]. Mol Ecol, 2000, 9(8): 1183- 1184.
- [29] Kirby V L, Villa R, Powers D A. Identification of microsatellites in the California red abalone, *Haliotis rufescens* [J]. J Shellfish Res, 1998, 17, 801- 804.
- [30] Selvamani M J P, Degnan S M, Paetkau D, *et al.* Highly polymorphic microsatellite loci in the Heron Reef population of the tropical abalone *Haliotis asinina* [J]. Mol Ecol, 2000, 9(8): 1184- 1186.
- [31] Miller K M, Laberee K, Kaukinen K H, *et al.* Development of microsatellite loci in pinto abalone (*Haliotis kamtschatkana*) [J]. Mol Ecol Notes, 2001, 1(4): 315- 317.
- [32] Li Q, Park C, Kijima A. Isolation and characterization of microsatellite loci in the Pacific abalone, *Haliotis discus hannai* [J]. J Shellfish Res, 21(2): 811- 815.
- [33] Sekino M, Hara M. Microsatellite DNA loci in Pacific abalone *Haliotis discus discus* (Mollusca, Gastropoda, Haliotidae) [J]. Mol Ecol Notes, 2001, 1(1- 2): 8- 10.
- [34] Evans B, Conod N, Elliott N G. Evaluation of microsatellite primer conservation in abalone [J]. J Shellfish Res, 2001, 20(3): 1065- 1070.
- [35] Huang B X, Peakall R, Hanna P J. Analysis of genetic structure of blacklip abalone (*Haliotis rubra*) populations using RAPD, minisatellite and microsatellite markers [J]. Mar Biol, 2000, 13(2): 207- 216.
- [36] Conod N, Bartlett J P, Evans B S, *et al.* Comparison of mitochondrial and nuclear DNA analyses of population structure in the blacklip abalone *Haliotis rubra* Leach [J]. Mar Freshwater Res, 2002, 53(3): 711- 718.
- [37] Selvamani M J P, Degnan S M, Degnan B N. Microsatellite genotyping of individual abalone larvae: parentage assignment in aquaculture [J]. Mar Biotech, 2001, 3(5): 478- 485.
- [38] Evans B, White R W G, Elliott N G. The use of molecular markers for parentage analysis in farmed Australian abalone [J]. Aquac, 2002, 204: 202.
- [39] Wan J F, Wang X L, Pan J, *et al.* RAPD analysis of the genetic change in parent abalone and their hybrids [J]. J Ocean Univ Qingdao, 2001, 31(4): 506- 512. [万俊芬, 汪小龙, 潘洁, 等. 日本盘鲍×皱纹盘鲍子代杂种优势的 RAPD 分析. 青岛海洋大学学报, 2001, 31(4): 506- 512.]
- [40] Zuniga G, del Proo S A G, Cisneros R, *et al.* Population genetic analysis of the abalone *Haliotis fulgens* (Mollusca: Gastropoda) in Baja California, Mexico [J]. J Shellfish Res, 2000, 19(2): 853- 859.
- [41] Wang R B, Fan J C. Artificial breeding of red abalone, *Haliotis rufescens*, and cross breeding with Pacific abalone, *H. discus hannai* Ino [J]. J Dalian Fish Univ, 1999, 14(3): 64- 66. [王仁波, 范家春. 红鲍人工育苗及其与皱纹盘鲍杂交试验的初步研究 [J]. 大连水产学院学报, 1999, 14: 64- 66.]
- [42] Nie Z Q, Wang X P, Li M B, *et al.* Introduction, culture and artificial larvae rearing of *Haliotis discus discus* [J]. Fujian fish, 1995(1): 9- 16. [聂宗庆, 王素平, 李木彬, 等. 盘鲍引进养殖与人工育苗试验 [J]. 福建水产, 1995, (1): 9- 16.]
- [43] Owen B, Di Salvo L, Ebert E, *et al.* Culture of the California red abalone *Haliotis rufescens* Swainson (1822) in Chile [J]. Veliger, 1984, 27: 101- 105.
- [44] Hara M. The effect of genetics on growth in three groups of abalone seeds [J]. Bull Tohoku Nat Fisheries Res Ins, 1990, 52, 73- 77.
- [45] Kobayashi M, Fujio Y. Genetic study on metric traits of the Pacific abalone, *Haliotis discus hannai* [J]. Tohoku J Agric Res, 1994, 44, 59- 66.
- [46] Kobayashi M, Fujio Y. Genetic study on shell shape and growth-related traits in the Pacific abalone, *Haliotis discus hannai* [J]. Tohoku J Agric Res, 1996, 46, 141- 147.
- [47] Okada K, Nishimura M, Kawamura T, *et al.* The differences in resistance to amyotrophia disease in juvenile abalone, *Haliotis discus*, from different spawners [J]. Suisanzoshoku, 1999, 47(4): 537- 582.
- [48] Jonasson J, Stefansson S E, Gudnason A, *et al.* Genetic variation for survival and shell length of cultured red abalone (*Haliotis rufescens*) in Iceland [J]. J Shellfish Res, 1999, 18(2): 621- 625.
- [49] Hara M, Kikuchi S. Increasing the growth rate of abalone, *Haliotis discus hannai*, using selection techniques [J]. NOAA Techl Rep NMFS, 1992, 106: 21- 26.
- [50] Owen R S, McLean J H, Meyer R J. Hybridization in the eastern Pacific abalones (*Haliotis*) [J]. Bull Los Angeles C Mus Nat Hist Sci, 1971, 9: 1- 37.
- [51] Hara M. Breeding of abalone-cross and selection [J]. Fish Genet Breed Sci, 1992, 18: 1- 2.
- [52] Zhang Q X, Ni M K, Liu G M, *et al.* Studies on high production of hybridization on breeding of abalone [J]. Mar Sci, 24(3): 11- 13. [张起信, 牛明宽, 刘光穆, 等. 鲍的杂交育种高产技术研究 [J]. 海洋科学, 2000, 24(3): 11- 13.]
- [53] Leighton D L, Lewis C A. Experimental hybridization in abalone [J]. Int J Invert reprod, 1982, 5(5): 273- 282.
- [54] Yan J P, Sun H L, Fang J G. Study on the technology of crossbreeding abalones *Haliotis discus discus* and *Haliotis discus hannai* Ino [J]. Mar Fish Res, 1999, 20(1): 36- 38. [燕敬平, 孙慧玲, 方建光, 等. 盘鲍与皱纹盘鲍杂交育种技术研究 [J]. 海洋水产研究, 1999, 20(1): 36- 38.]
- [55] Ke C H, Tian Y, Zhou S Q, *et al.* Preliminary studies on hybridization of three species of abalone [J]. Mar Sci, 2000, 24: 39

- 41. [柯才焕, 田越, 周时强, 等. 杂色鲍与皱纹盘鲍、盘鲍杂交的初步研究[J]. 海洋科学, 2000, 24: 39- 41.]
- [56] Miyaki K, Niyama H, Tabeto O. Growth and survival of artificial hybrid abalone, *Nordotis gigantea* ♀ × *N. discus* ♂ under laboratory condition[J]. Suisanzoshoku, 1995, 43(3): 401- 405.
- [57] Hoshikawa H, Sakai Y, Kijima A. Growth characteristics of the hybrid between pinto abalone, *Haliotis kamschatkana* Jonas, and ezo abalone, *H. discus hannai* Ino, under high and low temperature[J]. J Shellfish Res, 1998, 17: 673- 677.
- [58] Zhang G F, Wang Z C, Chang Y Q, et al. Triploid induction in Pacific abalone *Haliotis discus hannai* Ino by 6-dimethylaminopurine and the performance of triploid juveniles[J]. J Shellfish Res, 1998, 17(3): 783- 788.
- [59] Maldonado R, Ibarra A M, Ramirez J L, et al. Induction of triploidy in Pacific red abalone (*Haliotis rufescens*) [J]. J Shellfish Res, 2001, 2(3): 1071- 1075.
- [60] Yan Z L, Jiang H, Li P L, et al. Study on induction of triploids in abalones *Haliotis diversicolor diversicolor* and *H. diversicolor aquatilis* by chemicals[J]. J Ocean Taiwan Strait, 1999, 18(3): 337- 341. [严正凜, 江宏, 李丕廉, 等. 杂色鲍和九孔鲍三倍体的化学诱导[J]. 台湾海峡, 1999, 18(3): 337- 341.]
- [61] Yan Z L, Chen J H. Seed breeding and culturing of triploid abalone *Haliotis diversicolor aquatilis* [J]. J Fish China, 2002, 26(1): 54- 60. [严正凜, 陈建华. 三倍体九孔鲍的育种和养成技术研究[J]. 水产学报, 2002, 26(1): 54- 60.]
- [62] Stepto N K, Cook P A. Induction of triploidy in the South African abalone using cytochalasin B [J]. Aquacult Int, 1998, 6, 161- 169.
- [63] Okumura S, Furukawa S, Kawai T, et al. Comparison of nucleoli number in diploid and triploid larva of Pacific abalone *Haliotis discus hannai* [J]. Fisheries Sci, 2001, 67(1): 176- 178.
- [64] Li X, Wang Z C, Zhang G F, et al. Studies on the mechanism of effects of medicines on inducing triploid abalone [J]. J Dalian Fish Univ, 1999, 14(3): 7- 12. [李霞, 王子臣, 张国范, 等. 药物诱导皱纹盘鲍三倍体作用机理研究[J]. 大连水产学院学报, 1999, 14(3): 7- 12.]
- [65] Sun Z X, Li N, Song Z L, et al. The condition of triploid induction in abalone *Haliotis discus hannai* and its indoor raised experiment [J]. J Fish China, 1993, 17(3): 243- 48. [孙振兴, 李诺, 宋志乐, 等. 皱纹盘鲍三倍体诱导条件及其室内饲养试验[J]. 水产学报, 1993, 17(3): 243- 248.]
- [66] Chen Q Z, Yang J Y, Gao A G, et al. A study on the growth comparisons of triploid of *Haliotis discus Reeve* [J]. Donghai Mar Sci, 2002, 20(1): 49- 54. [陈全震, 杨俊毅, 高爱根, 等. 盘鲍三倍体及二倍体生长的比较[J]. 东海海洋, 2002, 20(1): 49- 54.]
- [67] Fujino K, Okumura S, Inayoshi H. Temperature tolerance differences among normal and triploid Pacific abalone [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1987, 53(1): 15- 21.
- [68] Mao L J, Wang Z C, Liu X Q, et al. Induction of polyploidy in the Pacific abalone by caffeine-heat shock treatments [J]. Acta Genet Sin, 2000, 27(11): 959- 965. [毛连菊, 王子臣, 刘相全, 等. 咖啡因加热休克诱导皱纹盘鲍多倍体的研究[J]. 遗传学报, 2000, 27(11): 959- 965.]
- [69] Sun Z X, Wang R C, Wang Z Q, et al. Induction of tetraploid in the disk abalone *Haliotis discus hannai* [J]. J Ocean Univ Qingdao, 1998, 28(1): 63- 69. [孙振兴, 王如才, 王在卿, 等. 人工四倍体皱纹盘鲍的发生[J]. 青岛海洋大学学报, 1998, 28(1): 63- 69.]
- [70] Arai K, Naito F, Sasaki H, et al. Gynogenesis with ultraviolet ray irradiated sperm in the Pacific abalone [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1984, 50: 2019- 2023.
- [71] Li Q, Osada M, Kashihara M, et al. Artificially induced gynogenetic diploid in the Pacific abalone, *Haliotis discus hannai* [J]. Fish Genet Breed Sci, 1999, 28: 85- 94.
- [72] Li Q, Osada M, Kashihara M, et al. Effects of ultraviolet irradiation on genetical inactivation and morphological structure of sperm of the Pacific abalone *Haliotis discus hannai* [J]. Tohoku J Agric Res, 1999, 50: 1- 10.
- [73] Li Q, Osada M, Kashihara M, et al. Cytological studies on artificially induced gynogenesis in the Pacific abalone [J]. Fisheries Sci, 2000, 66: 701- 707.
- [74] Morse A N C. Alternative use of recombinant DNA technology: enhancement of endogenous production of molluscan growth factors [A]. Aquaculture '92: growing toward the 21st Century [C], 1992. 164- 165.
- [75] Powers D A, Kirby V L, Cole T, et al. Electroporation as an effective means of introducing DNA into abalone (*Haliotis rufescens*) embryos [J]. Mol Mar Biol Biotech, 1995, 4: 369- 375.
- [76] Sin F Y T, Mukherjee U K, McKenzie J C, et al. Electroporation of abalone sperm enhances sperm-DNA association [J]. J Fish Biol, 1995, 47 (Suppl. A): 20- 28.
- [77] Tsai H J, Lai C H, Yang H S. Sperm as a carrier to introduce an exogenous DNA fragment into the oocyte of Japanese abalone (*Haliotis diversicolor supertexta*) [J]. Trans Res, 1997, 6: 85- 95.
- [78] Gomez-Chiarri M, Kirby V L, Powers D A. Isolation and characterization of an actin promoter from the red abalone (*Haliotis rufescens*) [J]. Mar Biol, 1999, 1(3): 269- 278.
- [79] Wang L, Hanna P J. Isolation, cloning and expression of a DNA sequence encoding an egg-laying hormone of the blacklip abalone (*Haliotis rubra* Leach) [J]. J Shellfish Res, 1998, 17: 789- 793.
- [80] Taylor B E, Donovan D A, McLean E, et al. Effect of recombinant vertebrate growth hormones on growth of adult abalone, *Haliotis kamschatkana* [J]. Aquac, 1996, 140: 153- 158.