

DB 4502

柳 州 市 地 方 标 准

DB4502/T 0050—2022

环棱螺品系选育技术规范

Technical specification for selective breeding of *Bellamyia* sp strains

2022 - 04 - 22 发布

2022 - 05 - 20 实施

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由柳州市农业农村局提出、归口并宣贯。

本文件起草单位：华中农业大学、柳州市渔业技术推广站、中国水产科学研究院长江水产研究所。

本文件主要起草人：曹小娟、王卫民、文衍红、蒋明、杨苏、黄钰微、罗福广、黄杰、朱玉蓉。

环棱螺品系选育技术规范

1 范围

本文件界定了环棱螺品系选育所涉及的术语和定义，规定了环棱螺 (*Bellamya* sp) 品系选育的技术要求。

本文件适用于环棱螺品系的选育。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 19528—2004 奥尼罗非鱼亲本保存技术规范

GB/T 22213 水产养殖术语

3 术语和定义

GB/T 22213界定的以及下列术语和定义适应于本文件。

3.1

品系 strain

来源于一个亲本对（或共同祖先）形成的群体，它具有突出的特点和形状，相对稳定的遗传性和一定数量的个体。

3.2

基础群 basic population

选育过程中待开展人工选择的群。

3.3

核心群 nucleus breeding population

按照选育选种标准，选出的优秀群体，它的生产性能、品种特征等高于一般生产群。

4 选育方案

4.1 目标

根据环棱螺养殖产业需求和条件，制定明确的近期、中期和远期的品系选育目标。

4.2 指标

根据环棱螺的生物学性状特征和育种目标，确定切实可行的各阶段选育指标。

4.3 方法

建立完整的环棱螺繁育体系，确定选育基础群、核心群。采用家系选育和群体选育相结合的方法，结合分子和基因标记辅助选育、数量遗传选育等综合育种技术，培育出优异的环棱螺品系。

4.4 评估

建立以环棱螺品系特征（生长速度、含肉率、味道等）为基础的选育评估体系，评估选育群体主要经济性状、选育潜力和选育效果。

5 亲螺选择

5.1 外形与状态

选择壳面光滑、壳质厚、螺棱明显、健康无病、活动力强的1龄螺（年龄鉴别方法见附录A）为亲螺。

5.2 雌雄鉴别

右触角弯曲的为雄性，不弯曲的为雌性。

5.3 可量性状

5.3.1 雌螺体重 >7 g，雄螺体重 >5 g。

5.3.2 壳高 >37 mm，壳宽 >25 mm。

5.3.3 壳口宽 >13 mm，壳口高 >12 mm。

5.3.4 体螺层高 >25 mm。

6 选育群建立

6.1 群体选育

6.1.1 F₀代基础群

利用微卫星标记对环棱螺遗传背景分析（遗传背景分析方法见附录B），多态信息含量PIC >0.6 ，为选育基础群。群体数量 >2000 个，雌雄比2:1~4:1，组成F₀代基础群。

6.1.2 F₀代核心群

从F₀代基础群中筛选符合要求的个体组成F₀代核心群，群体数量 >200 个，雌雄比2:1~4:1。

6.1.3 F_n代基础群

由F_{n-1}代核心群获得。

6.1.4 F_n代核心群

由F_n代基础群通过人工选择获得。

6.2 家系选育

6.2.1 F₀代基础家系

根据育种目标选择核心种群的个体，按照雌雄比2:1~4:1进行配对，建立F₀代家系，数量 >80 个。

6.2.2 F₀代核心家系

由F₀代基础家系人工选择获得，数量 >10 个。

6.2.3 Fn代基础家系

由Fn-1核心家系繁育获得。

6.2.4 Fn代核心家系

由Fn代基础家系通过人工选择获得。

7 人工选留

7.1 原则

7.1.1 选留标准

按育种目标确定选留标准。

7.1.2 选育指标

选育指标>群体平均值1个标准差。

7.1.3 性状指标

选留个体或家系的数量和质量性状指标应显著大于总体 ($P<0.05$)。

7.2 群体选留

7.2.1 第一次筛选

在苗种培育结束时进行,选择生长优势的个体,选留率<70%。

7.2.2 第二次筛选

在苗种阶段进行,雌螺发育到个重>5 g,雄螺发育到个重>3 g,选留个体生长快的雌、雄螺分塘饲养,数量小于第一次选留数量70%。

7.2.3 第三次筛选

在后备亲螺培育阶段进行,雌螺发育到个重>6 g,雄螺发育到个重>4 g,以选育指标选留符合育种目标的个体,雌、雄螺分开饲养。数量不多于第二次选留的1/2。

7.2.4 第四次筛选

在亲螺培育阶段进行,雌螺发育到个重>7 g,雄螺发育到个重>5 g,对所有个体进行筛选,选留最优个体组成选育核心群。

7.3 家系选留

7.3.1 第一次选留

在家系苗种培育结束时进行,选留符合育种目标的家系,选留率<70%,选留家系应取同样数量,且大于1 000个的苗种,在相同养殖条件培育。

7.3.2 第二次选留

在螺种培育阶段进行，雌螺发育到个重 >7 g，雄螺发育到个重 >5 g，选留符合选育目标、活力强的家系；雌、雄螺分开培育，各选留数量 >300 个。同时每个家系雄、雌螺随机抽取50个进行壳高、体重等的测量，体重精确到0.1 g、壳高精确到0.1 mm，并记录。每个月对所有家系进行测量1次，并进行评估，直到下次选留。

7.3.3 第三次选留

在后备种螺培育阶段进行，雌螺发育到个重 >7 g，雄螺发育到个重 >5 g。根据养殖评估结果，选择最优家系组成选育核心家系群。

7.4 遗传背景分析

7.4.1 内容

采用微卫星标记技术对选育群体（区分雌、雄螺）的遗传背景分析（遗传背景分析方法见附录B），评估遗传多样性、遗传距离、近交系数及遗传分化等信息。

7.4.2 微卫星标记数

标记数量 >10 个，每个群体的螺数量 >30 个。

7.4.3 遗传效果评估

选育群体应逐代计算遗传进展，评估每个世代的选育效果。选育群体的各世代均应进行主要经济性状的一致性和均匀度的检测。评估试验设计合理，有对照和重复；数据齐全，记录完整；试验结果应做统计分析。

8 育种留档

应按照GB/T 19528—2004中第7章的要求执行。

附 录 A
(资料性)
螺蛳年龄鉴别方法

A.1 初步鉴定

根据螺层缝合线的深浅。体螺层膨胀程度。有无纵肿脉、贝壳颜色。壳顶磨损程度初步鉴别其年龄。

A.2 根据厣形态学鉴定

磨去厣上附生的足部肌肉组织，压片、固定，在低倍镜下观察，根据厣的大小、颜色和生长纹来鉴别年龄。不同年龄的螺，其的形态有较大差别。随着年龄的增长，厣的颜色逐渐变深、变厚。厣上的生长纹从螺旋状变为同心圆状，边缘透明部分逐渐变宽。

附 录 B
(资料性)
遗传背景分析方法

B.1 微卫星分子标记

微卫星 (SSR) 即简单重复序列, 是一种以特异引物PCR为基础的分子标记技术, 也称为微卫星DNA (microsatellite DNA), 是基因组内以1~6个核苷酸为重复单位组成的串联重复序列, 如 (AC)_n、(GA)_n、(AT)_n、(AAG)_n、(AAT)_n等, 其中n代表重复次数, 从几个到几十个不等。广泛分布于基因组的不同位置, 长度一般在100 bp~200 bp之间。由于不同等位基因间的重复数存在丰富差异, 具有高度变异性, 这些变异表现为微卫星数目的整倍数变异或重复单位序列中的序列有可能不完全相同, 因而SSR具有多态性。但每个SSR两侧的序列一般都是相对保守的单拷贝序列, 所以可以通过在SSR两侧序列设计一段互补的特异性引物, 对基因组总DNA进行PCR扩增, 扩增片段通过电泳分析其长度多态性。

B.2 微卫星分子标记的开发

环棱螺缺乏有用序列来进行SSR标记的筛选, 可基于转录组数据构建SSR文库, 开发出大量的SSR标记, 再从中筛选出多态性丰富的环棱螺SSR标记, 从而为进行环棱螺的遗传结构、遗传变异程度及亲缘鉴定的研究提供稳定可靠的SSR标记。

B.3 微卫星序列的查找与分析

根据所测得转录组序列数据, 经Trinity软件拼接后, 利用MISA软件检索全部非冗余Unigenes中的SSR位点, 对于非混合型SSR位点, 设置条件为二碱基、三碱基、四碱基、五碱基、六碱基的重复次数至少是6、5、5、5、5, 单碱基重复微卫星序列的最小重复值设定为10。

B.4 微卫星位点的筛选

从转录组测序数据分析预测的微卫星标记中尽可能选择三、四碱基重复以上的位点进行引物设计, 以环棱螺基因组DNA为模板, 分别对SSR引物进行扩增并检测多态性。

B.5 微卫星验证结果分析

Genemarker软件获得毛细管电泳图峰值, 采用PopGene 32进行数据统计分析, 每个微卫星位点等位基因的数量进行统计, 算群体的等位基因数 (N_a)、有效等位基因数 (N_e)、观测杂合度 (H_o)、期望杂合度 (H_e)、多态信息含量 (PIC)。