



“黄选 1 号”三疣梭子蟹



中国对虾和 三疣梭子蟹 遗传育种

Genetics and Breeding of
Fenneropenaeus chinensis and
Portunus trituberculatus

李 健 刘 萍 王清印 赵法箴 © 主编



中国海洋大学出版社
CHINA OCEAN UNIVERSITY PRESS

中国对虾和三疣梭子蟹 遗传育种

李 健 刘 萍 王清印 赵法箴 主 编

中国海洋大学出版社
· 青 岛 ·

图书在版编目(CIP)数据

中国对虾和三疣梭子蟹遗传育种 / 李健等主编. —青
岛: 中国海洋大学出版社, 2015. 12

ISBN 978-7-5670-1058-1

I. ①中… II. ①李… III. ①中国对虾—遗传育种 ②
梭子蟹—遗传育种 IV. ① S968. 222 ② S968. 252

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 279761 号

出版发行	中国海洋大学出版社	
社 址	青岛市香港东路 23 号	邮政编码 266071
出 版 人	杨立敏	
网 址	http://www.ouc-press.com	
电子信箱	dengzhike@sohu.com	
订购电话	0532-82032573 (传真)	
责任编辑	邓志科	电 话 0532-85902495
印 制	日照日报印刷有限公司	
版 次	2016 年 6 月第 1 版	
印 次	2016 年 6 月第 1 次印刷	
成品尺寸	185 mm × 260 mm	
印 张	39	
字 数	786 千	
定 价	60.00 元	

编 委 会

主 编 李 健 刘 萍 王清印 赵法箴

编 委(以姓氏笔画为序)

王 正	王 芸	王 渝	王好锋	王清印
吕建建	任宪云	刘 萍	刘 博	刘 磊
安 丽	孙昭宁	杜 盈	李 健	李吉涛
李远宁	李晓萍	李朝霞	何玉英	宋来鹏
张 凤	张天时	张龙涛	张德宁	陈 萍
陈华增	孟宪亮	赵先银	赵法箴	哈承旭
高保全	高俊娜	梁忠秀	隋延鸣	韩永望
韩晓琳	韩智科	戴艳菊		

我国是世界上水产品生产大国,水产品作为优质动物蛋白的重要来源,消费量已占人均动物蛋白消费量的三分之一。据统计海水虾蟹养殖面积近 30 万公顷,养殖产量 130 多万吨。同时虾蟹也是我国主要出口水产品,出口量达 30 多万吨,出口额创汇 20 亿多美元。虾蟹增养殖业是我国海水养殖的代表性产业,具有养殖历史长、范围广、产量高等特点。

发展蓝色农业是解决人类粮食短缺问题的重要途径,也是国际海洋开发的热点。“国以农为本,农以种为先”,种业作为水产养殖业发展的第一产业要素,是确保水产品有效供给的重要物质基础。近年来,我国出台了一系列关于“现代种业”和“蓝色粮仓”等战略性指导方针和规划,要求加强种质资源收集、保护、鉴定,创新育种理论和方法和技术,创制改良育种材料,加快培育一批突破性新品种。

黄海水产研究所的中国对虾养殖研究始于 1952 年,室外土池育苗试验 1959 年在天津北塘初获成功。随后科研人员还比较系统地研究了对虾的生殖习性、性腺发育规律、胚胎发育、幼体发育形态以及同环境条件的关系,基本摸清了对虾育苗中的主要条件,并找出了较为适宜的幼体饵料,于 20 世纪 60 年代取得了“对虾发育条件及其苗种的人工培育”研究成果。而国家水产总局下达的“对虾工厂化育苗技术的研究”攻关于 1981 年取得突破性进展,确立了适合我国实际情况的对虾工厂化育苗方法,标志着我国的对虾育苗技术进入了世界先进行列。黄海水产研究所对虾育种始于 1986 年承担的国家“七五”科技攻关计划专题“对虾良种选育技术”启动,1989 年农业部项目“对虾累代养殖试验”实施。1997 年农业部“948”项目“无特定病原(SPF)对虾种群选育”的立项标志中国对虾育种正式开始,经过连续 7 代的选育,2003 年中国对虾“黄海 1 号”诞生(品种登记号 GS01001-2003)。到 2013 年,经过连续 5 代群体选育,具耐氨氮性状的中国对虾“黄海 3 号”也通过国家审定(品种登记号 GS-01-002-2013)。

黄海水产研究所于 20 世纪 80 年代查明了三疣梭子蟹繁殖和早期发育、年龄和生长、分布和洄游等规律,并突破了三疣梭子蟹人工育苗技术,90 年代开始进行养殖技术推广。

2006 年国家“863”计划课题“虾、蟹高产、抗病品种的培育”支持了三疣梭子蟹养殖新品种培育,提出了蟹类种质资源收集和保存等技术规范,创建了活体种质资源保存库,制定了种质鉴定国家标准,开发了“海水养殖甲壳类动物育种数据管理与分析系统”,我国海产蟹类第一个新品种三疣梭子蟹“黄选 1 号”(品种登记号 GS-01-002-2012)于 2012 年通过国家审定。

本研究团队先后主持了国家“973”计划课题、“863”计划课题、国家科技支撑(攻关)计划课题、国家自然科学基金、国家社会公益研究专项、国家虾产业技术体系以及省、部级等课题 50 余项。围绕“海水虾蟹新品种选育和健康养殖”学科,在甲壳动物种质资源收集与鉴定、品种改良选育、现代养殖技术和模式等方面进行了一系列原创性、系统性的研究。团队在国内率先进行了中国对虾、三疣梭子蟹等甲壳动物良种选育研究,提出了可持续的虾、蟹育种技术体系,成功培育出中国对虾“黄海 1 号”、中国对虾“黄海 3 号”、三疣梭子蟹“黄选 1 号”3 个新品种。将良种选育和示范养殖推广相结合,与水产龙头企业密切合作,不断提高研究成果的产业化水平,建立了适合我国北方生态特点的多种健康养殖模式,养殖成功率在 90% 以上,在我国沿海带动形成了年产值数十亿元的虾蟹产业区,取得了良好的经济和社会效益。

本研究团队已有多项研究成果达到国际领先水平,在国际上也有重要影响力。“对虾育种与健康养殖创新团队”2008 年获农业部中华农业科技奖优秀创新团队、“高产优质虾、贝、藻类新品种选育团队”2010 年获“十一五”国家科技计划执行优秀团队、“水产育种与健康养殖创新团队”2012 年获山东省优秀创新团队等荣誉称号。

团队获授权国家发明专利 22 项,获软件著作权 3 项;主持和参与制定国家标准 5 项,行业标准 7 项,地方标准 2 项;发表论文 500 余篇,出版论著 20 余部。研究成果“对虾工厂化全人工育苗技术的研究”1985 年获国家科技进步一等奖、“中国对虾‘黄海 1 号’新品种及其健康养殖技术体系”2007 年获国家技术发明奖二等奖、“三疣梭子蟹的良种选育及规模化养殖”2015 年获中华农业科技一等奖。

本书选录了本实验室近年来有关虾蟹种质资源与遗传育种方面的研究论文,为了使本书的内容更充实,实用性更强,作者引用了许多科学家的研究成果和发表的论著资料。本书的出版得到了国家虾产业技术体系(CARS-47)和山东省泰山产业领军人才工程(LJNY2015002)的资助。在此一并致谢。

由于作者的学术水平和实践经验所限,书中难免有许多不足之处,真诚地希望得到读者和同行的批评与指教。

作 者

2015 年 12 月于青岛

第 1 章 中国对虾的种质资源	1
1. 养殖对虾的遗传改良	1
2. 中国对虾种质资源研究现状与保护策略	6
3. DNA 标记技术在海洋生物种质资源开发和保护中的应用	11
4. 中国对虾黄、渤海 3 个野生群体遗传多样性的微卫星 DNA 分析	16
5. cDNA-AFLP 分析方法在中国对虾中的应用	20
6. 中国对虾“黄海 1 号”血细胞和肌肉 cDNA 文库的构建	22
参考文献	25
第 2 章 中国对虾新品种选育	32
1. 对虾新品种培育技术研究进展	32
2. 中国对虾累代养殖育苗效果观察	36
3. 中国对虾品种选育的初步研究	41
4. 中国对虾无特定病原种群选育的研究	44
5. 中国对虾养殖群体生长和抗逆性状杂交优势及遗传相关分析	47
6. 中国对虾生长性状的遗传力和遗传相关估计	53
7. 中国对虾“黄海 1 号”快速生长新品种的选育	58
8. 中国对虾“黄海 1 号”选育群体与野生群体的形态特征比较	62
9. 中国对虾“黄海 1 号”形态性状对体质量的影响效果分析	67
10. 中国对虾“黄海 1 号”体长遗传力的估计	76
11. 中国对虾“黄海 1 号”与野生群体 F ₁ 代生长发育规律比较	80
参考文献	88

第3章 中国对虾分子标记辅助育种 100

1. 中国对虾选育群体的同工酶分析	100
2. 中国对虾选育群体的 RAPD 分析	106
3. 中国对虾第一代和第六代选育群体的遗传结构分析	110
4. 中国对虾选育群体不同世代的 AFLP 分析	113
5. 中国对虾“黄海 1 号”和野生群体不同组织的 MSAP 分析	121
6. 中国对虾选育群体的微卫星 DNA 分析	126
7. 中国对虾选育群体不同世代的微卫星分析	132
8. 对虾抗病性状遗传标记的 RAPD 分析	138
9. 中国对虾与生长性状相关遗传标记的筛选与克隆	140
10. 中国对虾与生长性状相关微卫星 DNA 分子标记的初步研究	143
11. 中国对虾与生长性状相关 SCAR 标记的筛选	146
12. 中国对虾“黄海 1 号”与抗逆性状相关 SRAP 标记的筛选	151
13. 微卫星 DNA 技术用于中国对虾家系构建中的系谱认证	155
14. 微卫星 DNA 技术用于中国对虾亲子关系的鉴定	162
15. 中国对虾 RAPD 和 SSR 两种标记遗传连锁图谱的构建	166
16. 中国对虾遗传连锁图谱的构建	171
17. 中国对虾“黄海 1 号”遗传连锁图谱的构建及生长性状的 QTL 定位	181
18. 中国对虾 MKK4 基因克隆及其在氨氮胁迫下的表达分析	187
19. 中国对虾 Imd 免疫信号通路相关基因克隆及表达分析	194
20. 中国对虾细胞色素 P450 基因的原核表达	198
参考文献	206

第4章 中国对虾环境适应性研究 226

1. 不同溶氧条件下亚硝酸盐和氨氮对中国对虾的急性毒性效应	226
2. 氯化铵对中国对虾“黄海 1 号”免疫相关酶类的影响	230
3. pH 胁迫对 3 种对虾存活率、离子转运酶和免疫酶活力的影响	235
4. 中国对虾家系幼体对氨氮和 pH 值的耐受性比较	242
5. 高 pH 胁迫对中国对虾“黄海 1 号”免疫相关酶的影响	246
6. pH 胁迫对中国对虾抗氧化系统酶活力及基因表达的影响	248
7. pH、氨氮胁迫对中国对虾 HSP90 基因表达的影响	255
8. 塔玛亚历山大藻对中国对虾肝胰腺及鳃 SOD、GST 和 MDA 的影响 ..	259

9. 塔玛亚历山大藻对中国对虾鳃组织的氧化胁迫和对 Caspase 基因表达的影	263
10. 塔玛亚历山大藻对中国对虾免疫相关基因表达和抗病力的影响	267
11. 强壮藻钩虾对中国对虾与日本囊对虾生长和抗病力的影响	272
参考文献	278

第 5 章 三疣梭子蟹种质资源研究 296

1. 三疣梭子蟹 4 个野生群体形态差异分析	296
2. 三疣梭子蟹 4 个野生群体肥满度的初步研究与比较分析	301
3. 三疣梭子蟹 4 个野生群体遗传差异的同工酶分析	303
4. 三疣梭子蟹 3 个野生群体线粒体基因片段的比较分析	309
5. 三疣梭子蟹 4 个野生群体线粒体基因片段的比较分析	317
6. 三疣梭子蟹 4 个野生群体 ITS1 序列分析及系统进化分析	324
7. 三疣梭子蟹 5 个野生地理群的多样性分析	331
8. 三疣梭子蟹 4 个野生群体非特异性免疫酶活的比较	337
参考文献	341

第 6 章 三疣梭子蟹新品种选育 347

1. 三疣梭子蟹 3 个地理种群杂交子一代生长和存活率的比较	347
2. 三疣梭子蟹形态性状对体重影响的效果分析	353
3. 三疣梭子蟹不同日龄生长性状相关性及其对体重的影响	357
4. 近交对三疣梭子蟹若干经济性性状衰退的影响	364
5. 三疣梭子蟹家系的建立及生长性状比较	371
6. 三疣梭子蟹自交与杂交家系子一代生长和存活的比较	376
7. 三疣梭子蟹家系自交与杂交对繁殖和子代早期生长的影响	382
8. 三疣梭子蟹体重遗传力的估计	388
9. 三疣梭子蟹新品种“黄选 1 号”的选育	392
10. 三疣梭子蟹快速生长品系核心种质有效群体含量	398
参考文献	402

第 7 章 三疣梭子蟹分子辅助育种研究 409

1. 蟹类微卫星 DNA 标记的筛选及其在遗传学研究中的应用	409
2. 三疣梭子蟹微卫星文库的构建及特征分析	414
3. 三疣梭子蟹多态性微卫星 DNA 标记的筛选及评价	438

4. 三疣梭子蟹微卫星标记与生长相关性状的关联性分析	442
5. 三疣梭子蟹选育家系微卫星分析	450
6. 三疣梭子蟹 SNP 发掘及生长相关 SNP 鉴定	455
7. 微卫星 DNA 标记技术用于三疣梭子蟹家系构建中的系谱认证	460
8. 微卫星多重 PCR 基因扫描技术在三疣梭子蟹快速生长品系的个体 识别中的应用	466
9. 三疣梭子蟹遗传连锁图谱的构建及生长性状的 QTL 定位	476
参考文献	500

第 8 章 三疣梭子蟹功能基因挖掘..... 512

1. 三疣梭子蟹转录组学研究	512
2. 三疣梭子蟹蜕皮相关功能基因研究	523
3. 三疣梭子蟹盐度适应相关功能基因研究	539
4. 三疣梭子蟹抗氧化系统相关基因的克隆表达分析	560
5. 三疣梭子蟹酚氧化酶原系统相关基因的克隆与表达特征分析	571
参考文献	577

第 9 章 三疣梭子蟹盐度适应性研究..... 591

1. 盐度对三疣梭子蟹鳃和肝胰腺显微结构的影响	591
2. 低盐对不同三疣梭子蟹群体幼蟹发育的影响	596
3. 不同家系间耐低盐能力的初步比较	601
4. 三疣梭子蟹耐低盐的遗传力估计	604
5. 三疣梭子蟹“黄选 1 号”盐度耐受性分析	608
参考文献	611

第 1 章

中国对虾的种质资源

1. 养殖对虾的遗传改良

对虾是海洋水产品中经济价值最高且最受消费者欢迎的种类之一。世界上人工养殖对虾的历史,如果从最早开展对虾的繁殖、发育及育苗和养殖技术研究的日本人 Fujinaga 算起,距今已有 80 多年了。Fujinaga 在 20 世纪 30 年代就系统地进行了日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)的繁殖和养殖研究,30 年代末培育出日本囊对虾仔虾,在实验室条件下养殖到商品规格,并于 1935、1941 和 1942 年分别发表了他对日本囊对虾的最早研究结果。这是人工养殖对虾研究最早的文献资料,对后人的工作产生了重要的影响。生产性规模化养殖对虾是在 20 世纪 50 年代开始的,但是真正盈利的商业化对虾养殖,直到 1965 年前后才获得成功。

20 世纪 80 年代以来,养虾业是世界海水养殖业中发展最快、最具活力的产业之一,但也是问题最多、最受社会关注的产业之一。其中,最为突出的问题是疾病泛滥,疾病对世界养虾业造成的损失触目惊心。解除疾病对养虾业的困扰,需要多方面的努力。其中,对养殖对虾进行遗传改良,选育抗病品种是最有希望的途径之一。

1.1 养殖对虾的遗传改良是保证养虾业可持续发展的必要条件

按照 Perez Farfante 和 Kensley 1997 年的分类,对虾科的 29 个种被划分为 6 个属。根据现有的技术条件,其中的多数种类可以在全人工条件下养殖。但到目前为止,世界各主要对虾养殖大国,除美国等少数国家和地区可以向养殖业批量提供经过遗传改良的亲虾以外,多数国家和地区尚未建立起系统、完善的亲虾驯化和新品种培育体系,培育苗种所用的亲体主要来自野生群体。使用野生亲虾繁育苗种的弊端是显而易见的。首先,野生亲体的供应很不稳定,不可避免地“靠天吃饭”;其次,野生亲体携

带病原的可能性很大,很容易造成苗种培育期间的大量死亡;第三,大量捕捞野生亲虾,对自然资源的干扰和破坏是不言而喻的;第四,也是最重要的一点,是养殖业者无法如家畜和家禽养殖那样,获得因使用经过遗传改良的亲体所带来的显著经济效益。

第二次世界大战以后的 50 多年里,遗传改良带给养殖业和种植业的好处可以说是俯拾皆是。据有关资料,经过遗传改良,鸡的生长率提高了 200%,饲料的消耗则降低了 50%;奶牛的产奶量提高了 150%;猪的生长率也增加 1 倍以上。对养殖鱼类进行遗传改良并获得巨大经济效益的,当首推挪威对大西洋鲑鱼的选择育种。从 20 世纪 70 年代开始的这项工作目前仍在进行,选择的性状也从最初的生长率逐步扩大到性成熟年龄、抗病能力、鱼片颜色、脂肪含量等多个性状。经过选育,大西洋鲑鱼的生长率平均提高了 80%~100%,产生了极好的经济效益。近年来,挪威大西洋鲑鱼的养殖年产量都在 40 万吨以上,无论是价格还是质量,其产品在国际市场上都很具竞争力。ICIARM 等对罗非鱼的选择育种在 1988~1997 年之间进行,选育后代的生长率也显著提高。

对虾养殖是水产养殖业的支柱产业之一。迄今,养殖虾类的苗种培育主要依靠捕获野生种群的亲体来繁殖,缺少系统的品种选育和改良,逐渐表现出生长缓慢、抗逆能力差,一旦遇到环境变化和病原侵袭,很容易因此暴发大规模流行病。对养殖对虾进行遗传改良,获得生长速度快、抗病能力强、品质优的新品种,对于保证养虾业的可持续发展具有十分重要的意义。尽管养殖对虾的遗传改良和新品种培育工作远远落后于家畜和家禽业,但可喜的是,人们已经认识到,对虾具有可进行选择育种的性状特征,开展遗传改良的潜力很大。在过去的 10 年里,对虾的选择育种计划已先后在亚洲和美洲一些研究机构陆续启动,并已显示出诱人的前景,为进入新世纪后对虾养殖业的可持续发展打下了基础。

1.2 对虾遗传改良和优良品种选育研究的现状和发展

世界上最早对养殖对虾开展遗传改良和选择育种研究的是美国农业部支持的海产对虾养殖计划(U. S. Marine Shrimp Farming Program)。该计划从 1989 年开始培育无特定病原(Specific Pathogen Free, SPF)的凡纳滨对虾(*Litopenaeus Vannamei*)。SPF 对虾的培育,结合严格的养殖期间的“生物安全”(biosecurity)措施,曾有效地减轻了对虾病毒病的发生。在 20 世纪 90 年代初,夏威夷海洋研究所(简称 OI)成功地培育出没有受到 IH-HNV、BP、HPV 感染的凡纳滨对虾的 SPF 种群,建立起设施完善的用于培养 SPF 种群的核心培育设施和培养 SPF 后备种群的二级培育设施。由于病原的多样性,SPF 对虾的培育可能并非防止疾病的灵丹妙药,但无疑是一个明智的选择。SPF 对虾培育技术及其后提出的高健康(High health)养殖技术,对世界对虾养殖业的技术进步产生了十分积极的作用。

在 SPF 对虾培育研究的基础上,1990~1991 年,夏威夷海洋研究所开始实施对凡

纳滨对虾的遗传改良计划。最初的选育是挑选生长表现最佳的个体进行随机交配。1992~1993年开始对个体的选育,采用人工精英移植技术辅助对虾的交配。1994年以来,位于夏威夷科纳(Kona)的高健康水产养殖公司致力于抗 Taura 综合征病毒(TSV)的凡纳滨对虾的选育研究,目标是选育生长快、抗 TSV 的对虾种群,以尽量减少疾病造成的损失。1999 年春天完成第 3 轮的选育。对比试验表明,对照群体的成活率只有 31%,而选育群体的成活率达 69%,且呈逐年增加的趋势。使用该选育群体在得克萨斯南部进行的生产性养殖试验,成活率平均为 70%~80%,个体重 22~25 g。而得克萨斯北部养殖的未选育对虾的成活率只有 30%~50%。

夏威夷海洋研究所的凡纳滨对虾的选择育种计划是在 SPF 基础之上开展起来的,而 SPF 的概念则是从陆地动物,主要是畜牧育种中引进的。现在,在 OI 的 SPF 对虾种群排除的病原包括 8 种病毒、部分寄生性原生动物和蠕虫。培育凡纳滨对虾 SPF 种群的亲虾来源于不同的自然分布区,这保证了选育群体的遗传多样性。在夏威夷马卡甫(Makapuu)的对虾选育中心,每年两次可培育 80 个遗传性状各有不同的对虾家系。1995~1998 年,OI 对凡纳滨对虾的选育主要集中在生长速度和抗 Taura 综合征两个方面。1998 年以来,已建立起两个品系。一个品系的 70% 个体来自抗 Taura 病毒的个体,30% 为生长速度快的个体;另一个品系则 100% 地选择自生长速度快的个体。

OI 还对凡纳滨对虾的主要遗传参数进行了研究,包括遗传力估值 h^2 、表型和遗传型变异、表型和遗传型的相关关系以及遗传型 and 环境的相互作用等。已对 500 多个家系的生长速度和抗 TSV 能力进行了评估。结果表明,凡纳滨对虾体重的遗传力估值为 0.40 ± 0.06 ;利用全同胞和半同胞材料对生长率的遗传力估值分别是 0.45 和 0.50;对 TSV 抗病的遗传力分别是 0.22 和 0.35。每代选择后的遗传获得量分别是 4.4% 和 12.4%。虽然抗 TSV 的遗传力比较低,但家系之间对 TSV 感染反应的变异却比较高。例如,用 TSV 感染之后的第 14 天,80 个家系之间的成活率从 0%~88% 不等,平均成活率为 38%,这说明选择的潜力还是很大的。OI 的研究证明,对生长速度的选择已使养殖凡纳滨对虾的体重提高了 21.2%。而对抗 TSV 性状的选择,使成活率比对照提高了 18.4%。这表明选择育种可明显地改进养殖对虾的生长表现。

1994 年,哥伦比亚开始遭受 TSV 的侵袭。从发生严重死亡的虾池里存活的对虾中挑选健壮个体并培育为亲虾,以此为基础进行抗 TSV 品种选育。选育第二代的成活率达到 50%,第三代达到 65%~80%,基本恢复到了正常水平。委内瑞拉养殖的凡纳滨对虾在 20 世纪 90 年代初的畸型率达 35%~45%。经过严格的选育,现已降低到 3%~5%。养殖的蓝对虾(*Litopenaeus stylirostris*)由于微孢子虫感染和 IHNV 的影响,成活率只有 5%。经过严格的选育,每代的成活率平均提高 10%,现在已很少见到微孢子虫感染造成的“棉花病”,养殖的蓝对虾成活率可达到 60%~70%。委内瑞拉开发的抗 IHNV 蓝对虾已作为超级虾(Super-shrimpTM)品牌,并对周边国家如墨西哥

的养虾业产生了重要影响。在厄瓜多尔, **Taura** 病毒仍是影响养虾业发展的重要问题, 但 **Taura** 病毒造成的死亡率正在呈逐年下降趋势。据认为, 这一方面是由于发病后存活下来的对虾对抗病力的自然选择过程, 另一方面是对宿主危害较轻的那些病毒株被选择下来。从理论上讲, 不杀死宿主的寄生物才能成功地生存下来。

有关凡纳滨对虾对 **WSSV** 抗病能力选育的工作还很有限。但令人感兴趣的是, 受 **WSSV** 感染发生严重死亡的虾池中, 总有一些个体存活下来并能正常生长。有希望认为, 这些存活的对虾可在一定程度上抵抗或耐受 **WSSV** 的感染, 并有可能把这一特征传给下一代, 这是抗 **WSSV** 对虾选育工作的希望所在。所以, 选择抗 **WSSV** 对虾的一个重要途径是从严重犯病的虾池中寻找存活下来的健康个体, 并把它们培育成亲虾并繁育后代。经过累代选择, 有希望稳定地提高成活率。这在凡纳滨对虾对 **TSV** 和 **IHHNV** 的抗病力选育中证明是有效的。与此同时, 严格的健康管理措施也是必不可少的。

法国海洋开发研究院(以下简称 **IFREMER**)的对虾育种计划开始于 1992 年。法国位于太平洋法属波黎尼西亚塔海堤的海洋学研究中心由于远离对虾的自然产区, 使用的亲虾均从墨西哥等地进口。其中凡纳滨对虾和蓝对虾的种群已在全人工条件下养殖 20 多代。这个漫长的过程也是一个人工驯化过程, 事实上也是一个自然的或无意识的选择过程。通过累代的驯化, 已选择出对当地条件适应性越来越好的品系。

对抗病品系的选育, **IFREMER** 采取的方法主要是通过感染试验来筛选存活的个体。为此建设了专门的感染试验设施, 开发出先进的感染试验程序。与未选育群体相比, 选育群体第 2 代的生长率提高了 6%。在第 4 代和第 5 代的生长率分别提高了 18% 和 21%。第 6 代的选育除生长表现以外, 同时也在比较饵料系数, 并对选育计划进一步优化。

部分蓝对虾的尾扇呈绿色。为利用这一性状作为选育的指示标记, **IFREMER** 对绿尾对虾进行了选育。目前蓝对虾的绿尾比例已达 50%~75%, 由此可见最终选育出 100% 绿尾蓝对虾的种群是可能的。**IFREMER** 已成功地选育出抗 **IHHNV** 的蓝对虾种群, 编号为 **SPR43**。目前正在选育抗对虾弧菌(*Vibrio penaeicida*)的种群。自交系在对虾遗传改良中的应用潜力也正在进一步开发。澳大利亚联邦科学和工业研究院(以下简称 **CSIRO**)对日本囊对虾的驯化和选育明显促进了养殖业的经济效益。全人工控制条件下的养殖试验表明, 选育以后, 日本囊对虾每代的生长表现平均提高了 11%。生产规模的养殖表明, 选育群体比未选育的野生种群的体重增长了 10%~15%。更重要的是, 由于大个体对虾的价格较高, 产值则提高了 21%~34%, 这进一步增强了产业界和科研机构相结合加强对虾遗传改良的信心。现正应用分子生物学技术来监测和定量分析遗传和环境对不同家系的影响, 确认和评价与生长相关的经济性状基因位点(ETL), 进而开发分子标记以辅助选择育种研究。1993 年~1998 年间, **CSIRO** 已

在日本囊对虾的基因组中识别出3个可能与生长相关的ETL区。随着研究工作的深入,有可能进一步开发出可预测对虾生长的基因标记。分子生物学技术的应用对于亲虾群体的筛选和评价以及提供病毒病的早期预报,也将发挥重要作用。

对斑节对虾(*Penaeus monodon*)的选择育种研究相比而言进展较慢。但CSIRO近两年开展的工作表明,对斑节对虾的驯化已使这种对虾在全人工控制条件下的繁殖表现达到相当不错的程度,足以支持一个设计合理的选育计划。

1.3 现代生物技术在虾遗传改良和品种培育中的应用

如前所述,已开展的养殖对虾品种培育研究,采用的技术主要还是经典的选择育种技术,但现代生物技术的重要作用也在日益显现出来。可以说,进入新世纪之后,对虾优良品种培育研究将依赖于传统技术和现代生物技术的有机结合,这也是我们必须遵循的一个非常重要的发展策略。现代生物技术在虾新品种培育中的应用将重点体现在以下方面。

1.3.1 SPF和SPR种群的筛选与培育

SPF品种的培育可以防止病原的纵向传播,SPR品种的培育则有可能从根本上抵御某些特定的病原,防止重大疾病的暴发。对特定病原的检疫和检测,依赖于分子病原检测技术的进步。在这方面,核酸探针技术、酶联免疫技术、PCR技术等可发挥重要作用。

1.3.2 抗逆种群的筛选和不同对虾家系的识别技术

微卫星(Microsatellites)和单核苷酸多态(Single Nucleotide Polymorphism, SNP)技术可准确地分析和跟踪不同家系或父母本的遗传特征。当不同家系的对虾混养在同一池塘时,应用这些技术可准确地识别其不同的来源。这对于选择育种研究往往需要同时培育几十甚至上百个家系的对虾来说,有着十分重要的实用意义。尤其是在对虾幼体阶段,机械化操作标记有一定困难,而各家系单独养殖又难于比较相同条件下的生长表现,应用这一技术的优势更加显著。在分析对虾群体的遗传多样性方面,DNA指纹技术的用途很大。建立在分子生物学基础之上的对虾亲虾的筛选、评价和管理技术将有力地促进对虾抗逆品种的选育进度。

1.3.3 分子标记辅助选择育种技术

应用分子标记辅助选择育种(Marker Assisted Selection, MAS),可以提前预知选育的结果,大大提高选育的效率。一般认为,应用传统选育技术每代的遗传获得量(Genetic Gain)通常在10%~15%。但分子标记辅助选择育种技术可明显提高选育进度,特别是对那些靠传统的表型工具难以度量的性状,如抗病力、肉质、饵料系数、对温度和盐度的耐受能力等。对养殖对虾主要经济性状的分子标记研究已取得许多进展。

IFREMER已从蓝对虾种群中找到10个微卫星标记,从斑节对虾中找到了3个微

卫星标记,这些标记在识别混养在一起的不同对虾家系时发挥了作用。CSIRO 的科学家也已成功地从日本囊对虾中找到 3 个可能与生长表现相关的 ETL 区,并有可能进一步开发为可预测生长的基因标记。

1.3.4 DNA 芯片技术

DNA 芯片又称生物芯片或基因芯片。该项技术可使人们对大量生物样品以极快的速度进行分子生物学分析。通常在不大于 2 厘米 × 2 厘米的芯片上可同时进行几千种以上的 DNA 分析。现在,已开发出多种水产养殖动物的用于 DNA 指纹分析和病原检测的 DNA 芯片技术。可以预见,DNA 芯片技术的开发将大大促进分子标记辅助育种,以及对疾病的诊断和检测,提高人们从分子水平上操作和管理对虾种质资源的能力。

2. 中国对虾种质资源研究现状与保护策略

中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)野生资源主要分布在我国的黄、渤海海区,由于受人类活动的影响,致使种质资源的遗传结构遭受到了一定程度的破坏,正面临着更加严重的威胁。鉴于此,迅速开展中国对虾种质资源遗传学研究,查清其原种的遗传背景,并在此基础上对其实施保护策略。对虾养殖业迫切需要培育出抗逆、优质高产的养殖新品种,以保证海水养殖业的健康、稳定、持续发展。

2.1 中国对虾野生资源状况

2.1.1 中国对虾的地理分布特性

中国对虾分布范围局限于我国大陆周围的浅海水域(刘瑞玉,1959),以黄海北部和渤海的产量最大,是这一海区最主要的水产资源之一。通过多年人工标志放流的回捕资料,黄、渤海海区的中国对虾可分为两个独立的种群。一个是分布于黄海东岸,即朝鲜半岛西海岸海域的朝鲜西海岸种群;另一个是在渤海和黄海西岸海域出生的中国黄、渤海沿岸种群。这两个种群每年 5~11 月期间分别在朝鲜西海岸海域和黄、渤海中国沿岸河口附近繁殖产卵、索饵生长,10~11 月性成熟后交配。在 11 月末,两个种群均开始越冬洄游,最终汇集在黄海中南部的暖水区越冬,两个种群在越冬场的分布稍有不同,前者偏东而后者偏西。因此,可以认为这两个种群在地理分布上是隔离的。目前已经发现,两个种群在个体大小和资源数量上都存在显著差异,朝鲜半岛西海岸种群的个体和资源量明显少于中国黄、渤海沿岸种群(邓景耀,1991)。

除上述两个较大的自然群体外,在南海珠江口也有一个较小的独立种群(刘瑞玉,1990);20 世纪 80 年代以来,由于大规模的人工放流,在东海亦有一定数量分布,如:福建的东吾洋、浙江的象山港也形成了有一定数量规模的放流群体。但近年来,我国东南沿海中国对虾较少见,认为该群体已灭绝。其次,日本的西部偶尔捕到,但数

量甚少,未形成群体。近几年来,在韩国济州岛近岸发现中国对虾群体,但形成的来历尚不清楚,估计该群体与刘瑞玉报道的日本西部对虾有关。

2.1.2 中国对虾野生资源现状

中国对虾为一年生虾类,具有生命周期短、群体组成单一,时代更替快等特点,历来是我国重要的渔业资源。目前已经发现:两个种群数量和资源数量年间的波动幅度都比较大,1958~1974年的平均年产量前者为1 052 t,而后者为12 900 t,两个种群越冬雌虾的平均体长分别为166 mm和185 mm(邓景耀,1991)。

根据渔获量和世代产量的比值变化,中国对虾资源变动可以分成4个阶段。第一阶段是1962~1972年,年均渔获量为10 658 t,占世代产量的59.5%;第二阶段是1973~1981年,年均渔获量为25 448 t,占世代产量的72.7%;第三阶段是1982~1990年,年均渔获量为10 543 t,渔获量与20世纪60年代基本持平,但世代产量的比重达到90%,说明亲虾数量显著减少。1991~1998年渔获量大幅度下降,秋汛渔获量平均为2 022 t;1999年以来,年均渔获量则不足1 000 t(邓景耀,2001)。

1986年后,为了恢复中国对虾的渔业资源量,我国每年在渤海、黄海北部和山东半岛南部进行人工培育苗种的放流,年放流规模在10亿~30亿尾,回捕率在3%~10%之间。20世纪90年代后期,回捕率下降至3%以下(邓景耀,1997),估计增殖放流年产量可达5 000 t。单纯从数量上来看,黄、渤海中国对虾群体似乎完全依赖于人工放流。

2.2 中国对虾种质资源研究进展

2.2.1 染色体分析

我国海洋生物种质资源的研究起步较晚,直到20世纪80年代中期有关中国对虾的染色体研究才有相继报道,确定了染色体数目为88条(刘萍等,1987;相建海等,1988;Dai et al, 1989;刘萍等,1992)。研究结果之不同是核型的分析上有所区别,戴继勋等(1989)作出的核型为: $2n = 54 m + 20(m - sm) + 10 sm + 4(sm - st)$,刘萍等(1992)作出的核型为: $2n = 66 m + 16 sm + 6 st$ 。对于中国对虾染色体形态的描述,1992年刘萍等作了进一步的研究,发现正中期的分裂相有1对染色体存在次缢痕。

2.2.2 同工酶分析

中国对虾遗传多样性的研究直到20世纪90年代才有报道,刘旭东等(2001)建立了13种同工酶20个基因位点的遗传变异情况,认为中国对虾遗传变异水平较低。Wang等(2001)对中国对虾自然群体和养殖群体进行对比研究,认为所分析的12种同工酶编码的20个基因位点中,有4个是多态位点。数据分析结果表明,中国对虾群体杂合度在0.010~0.033之间,证实了中国对虾群体遗传多样性低的结论。张志峰等(1997)检测了中国对虾各期幼体的8种酶的变化,发现EST、AMY、MDH、Gd等4种同工酶的酶带数和酶活性,均随着发育表现出明显的增多和增强。LDH的酶谱变化