

国家攀登计划B类项目

海水增养殖生物优良种质
和抗病力的基础研究

②

对虾繁殖 和发育生物学

主编 杨丛海



山东科学技术出版社

责任编辑 宋 涛 门丽雅
复 审 刘韶明
策划、终审 尹兆长
封面设计 史速建 华 慧

国家攀登计划 B 类项目
海水增养殖生物优良种质和抗病力的基础研究

- ①海水鱼类繁殖发育和养殖生物学
- ②对虾繁殖和发育生物学
- ③贝类繁殖附着变态生物学
- ④经济海藻种质种苗生物学
- ⑤海洋动物细胞和种群生化遗传学
- ⑥海水养殖动物的免疫、细胞培养和病害研究
- ⑦海水养殖生态环境的保护与改善

ISBN 7-5331-2508-8



9 787533 125080 >

ISBN 7-5331-2508-8

Q · 24 定价 28.00 元

国家攀登计划 B 类项目

海水增养殖生物优良种质和抗病力的基础研究

②

对虾繁殖和发育生物学

主 编 杨丛海

山东科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

海水增养殖生物优良种质和抗病力的基础研究. 2,
对虾繁殖和发育生物学/曾呈奎主编;杨丛海分主编.
济南: 山东科学技术出版社, 1999. 10

ISBN 7-5331-2508-8

I. 海… II. ①曾…②杨… III. ①海产动植物 -
品种, 优良 - 研究②海产动植物 - 抗病性 - 研究③对
虾科 - 海水养殖 - 生物学 IV. S96

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (1999) 第 47839 号

山东省泰山科技专著出版基金会

名誉会长 赵志浩 宋木文 陆懋曾 伍 杰

卢鸣谷 董凤基 宋法棠

会 长 陈光林 石洪印

副 会 长 宋桂植 何宗贵 吕可英 车吉心

孙肇琨 王为珍 (常务副会长)

秘 书 长 王为珍 (兼)

副秘书长 尹兆长

理 事 (以姓氏笔画为序)

王为珍 王凤起 尹兆长 刘韶明

李道生 李德泉 张传礼 陈

蒋玉凤

评审委员会 (以姓氏笔画为序)

王思敬 卢良恕 师昌绪 吴阶平

杨 乐 何祚庥 汪成为 高景德

唐敖庆 蔡景峰 戴念慈

山东省泰山科技专著出版基金会
赞助单位

山东省财政厅

山东省出版总社

山东省科学技术委员会

山东科学技术出版社

山东泰山酿酒饮料集团总公司

董事长兼总经理 张传礼

山东金泰集团股份有限公司

董事长兼总裁 刘黎明

国家攀登计划 B 类项目

海水增养殖生物优良种质和抗病力的基础研究

总主编 曾呈奎

总编委 (以姓氏笔画为序)

尤芳湖 何宗贵 李永祺 吴宝铃 张培军

杨丛海 相建海 曾呈奎 董昭和 管华诗

对虾繁殖和发育生物学

主 编 杨丛海

副主编 王清印 王克行

编 委 杨丛海 王清印 王克行 李富花 廖承义

季文娟 李 健 蔡生力 刘世禄

我们的希望

进行现代化建设必须依靠科学技术。作为科学技术载体的专著，正肩负着这一伟大的历史使命。科技专著面向社会，广泛传播科学技术知识，培养专业人才，推动科学技术进步，对促进我国现代化建设具有重大意义。它所产生的巨大社会效益和潜在的经济效益是难以估量的。

基于这种使命感，自 1988 年起，山东科学技术出版社设“泰山科技专著出版基金”，成立科技专著评审委员会，在国内广泛征求科技专著，每年补贴出版一批经评选的科技著作。这一创举已在社会上引起了很大反响。

1992 年，在山东省委、省政府的支持下，在原“泰山科技专著出版基金”的基础上，由山东省出版总社、山东省科学技术委员会和山东科学技术出版社共同成立了“山东省泰山科技专著出版基金会”，并得到企业界的热情赞助，为资助学术专著的出版提供了更加可靠的保证。

但是，设基金补助科技专著出版毕竟是一件新生事物，也是出版事业的一项改革。它不仅需要在实践中不断总结经验，逐步予以完善；同时也更需要社会上有关方面的大力扶植，以及学术界和广大读者的热情支持。

我们希望，通过这一工作，高水平的科技专著能够及早问世，充分显示它们的价值，发挥科学技术作为生产力的作用，不断推动社会主义现代化建设的发展。愿基金会支持出版的著作如泰山一样，耸立于当代学术之林。

泰山科技专著评审委员会

1992 年 12 月

序

1998年,我国海水养殖生产的总产量已达到860万t,继续居世界各国之首。我为我国海水养殖业已取得的成就感到由衷的高兴。因为这不仅对于振兴沿海地区的经济具有十分重要的意义,而且也向世界表明,中国人民在中国共产党的正确领导下,不仅能养活自己,能吃饱,还能吃好!

但在成绩的面前,作为一名老海洋生物科学工作者,我仍感到不满足。因为海水养殖的产量仍未赶上我国淡水养殖,尚落后几百万t。我国有300多万km²的海域,面积比淡水水面大得多;海水养殖每年有望生产出二三十万t的鱼、虾、贝和藻,为人民提供更多质优、味鲜的食品。问题在于在较长时间内,我们对海洋经济动植物的基础研究跟不上生产发展的需要。1993年我国人工养殖对虾大面积死亡,造成重大经济损失。生产上的问题,实际上是技术上的问题,说到底基础理论与产业发展不相适应的问题。这再次提醒我们,如不加大基础研究的力度,我国海水养殖业就难以持续、健康地发展。国家科委关注国民经济建设中面临的亟待解决的重大科学问题,1994年经论证正式批准山东省科委组织申报的“海水增养殖生物优良种质和抗病力的基础研究”项目,将其列入国家攀登计划B类项目予以支持,委托山东省科委组织管理,这表明国家对发展海水增养殖业的高度重视。

依据国家科委《国家基础研究重大关键项目管理暂行办法》确定的课题组织原则,从发展我国海洋农牧化的根本需要和长远利益出发,针对我国海水增养殖业存在的突出薄弱环节,围绕种质、病害和生态环境中心问题,设立了7个课题:海水鱼类繁殖、发育和养殖生物学的研究,对虾繁殖和发育生物学的研究,贝类繁殖、变态及附着的有关生物学研究,经济海藻种质种苗生物学研究,增养殖动物的种群和细胞遗传学研究,养殖虾、贝致病机理和病害防治研究,增养殖生态环境的保护与改善研究等。在每个课题下各设立3个专题。组织中国科学院海洋研究所、青岛海洋大学、中国水产科学院黄海水产研究所、国家海洋局第一海洋研究所等4个中央驻鲁单位的优势力量联合开展研究。

5年来,由于各单位领导的大力支持,全体研究人员按照既定目标和计划,齐心协力,力争有所发现,有所创新,因而取得了一批在国际上达到领先或先进水平的研究成果,培养了一批中青年学术带头人,积累了项目管理的丰富经验。研究成果突出表现在以下几个方面:

1. 查明了黑鲷、牙鲆、欧氏六线鱼等鱼类性腺发育过程的形态变化,发现了促进牙鲆性腺发育和成熟的理化因子,以及诱导黑鲷提前性转换的试剂;摸清了盐度、光照、温度和 pH 值等环境因子对真鲷、牙鲆胚胎发育的影响,提出了 Ca^{2+} 在牙鲆精子活动中的作用新假说;通过对鱼胚胎不同发育时期蛋白质成分和含量变化的分析,表明核基因活动的启动以原肠作用开始,新的蛋白质开始合成并进而参加细胞分化过程;查明了真鲷和牙鲆的仔、稚、幼鱼的能量代谢基本特征,掌握了在苗种培育过程中对饲料、温度、促生长剂、密度等的基本要求,为鱼类苗种培育提供了科学的依据。

2. 测定类固醇激素、甲基法泥酯等在对虾组织中的分布及变化,查明了几种常用激素对性腺发育的影响,填补了国内对虾内分泌研究的空白;首次对中国对虾促雄腺进行了外部形态和内部结构的研究,表明它对中国对虾雄性外部特征的发育起着重要作用;对中国对虾产卵行为进行了详细观察,发现亲虾心率变化可以准确预报对虾产卵的时间;仔细地观察了对虾精子入卵前的形态变化及胚胎发育全过程,并进行了录像,对胚胎发育的形态学和细胞化学进行了详细观察分析,首次观察到中肠管的形成和胚孔的变化;详细地测定了对虾幼体发育不同阶段对蛋白质、脂肪酸、磷、维生素等的需求,为对虾育苗生产提供了科学依据。

3. 测定了海湾扇贝性腺发育在青岛地区的生物学零度和产卵的有效积温,详细地观察了多种贝类精子和卵子的超微结构,初步建立了鲍的卵黄膜分析模型,研制了贝类卵子去膜剂,为贝类遗传育种提供了关键技术。对从国外引进的墨西哥湾扇贝的发育生物学、生态学进行了全面研究,并将所得结果成功地用于指导广西、海南的该种贝的工厂化育苗生产;成功地得到了泥蚶和毛蚶的杂交稚贝,将泥蚶发育生物学研究成果运用于山东胶南市泥蚶苗种生产,培育出了数千万稚贝;皱纹盘鲍幼虫附着、变态诱导剂的研究,填补了国内的空白。

4. 在国际上首次建立了海带遗传转化模式,并在实验室成功培育出转(蛋白)基因海带,申请了国家发明专利,并在此基础上,进一步优化了海带遗传转化模型中的基因枪转化参数,克隆藻类病毒启动子,构建藻类自身载体,获得海上养成转 CATHB₁ 基因(乙肝病毒表面抗原基因)孤雌海带,DNA 与蛋白质检测显示外源基因得到整合与表达;利用单克隆技术选育出 2 个优良的裙带菜品系,在山东荣成市海带育苗场进行中试,培育出了 300 个健壮的苗帘,约可供 13hm^2 海面养殖用;建成了紫菜细胞种质库,收集、分离和保存的紫菜丝状体细胞品系有 20 种、120 个品系。1998 年紫菜良种导入生产 400hm^2 ,取得了明显的增产效果,并申请了 3 项国家专利;开展了龙须

菜分子遗传学研究,通过诱变得到了青岛产龙须菜 8 株色素突变体,并运用现代分子生物学技术探讨了龙须菜和江蓠的系统发生。

5. 查清了 41 种海洋经济动物的染色体和核型,发现斑头鱼有性染色体,纠正了国外学者对鹰爪虾的染色体和核型观察的错误;利用细胞流式计等技术对对虾染色体的倍性进行检测,为海洋生物 863 重大项目多倍体育种育苗的立项和顺利实施奠定了基础;鱼类生化遗传研究已达到国际同类研究水平,在同工酶、核 DNA 不同水平上,确立了适合我国国情的检测遗传差异的技术体系,为尽早建立我国海洋动物种质资源的背景开了好头;首次采用 RAPD 等新技术,对引进扇贝和对虾放流增殖的遗传后效进行了评估,找出了区分某些鱼类的分子标记;与上海生物化学研究所合作,开始对中国对虾、中华绒螯虾 DNA 测序,初步获得了转基因的中国对虾幼体。

6. 查明了造成我国对虾暴发性流行病的病原体是“对虾皮下及造血组织坏死杆状病毒(HHNBV)”,并用人工培养的对虾细胞分离和体外繁殖该病毒获得成功,研制的对虾细胞专用培养基解决了对虾病毒学研究的关键技术问题;对胶东半岛发病的扇贝、鲍进行了大量调查,首次发现、分离了衣原体样生物、原核生物以及几种新的病毒,并对衣原体样生物对栉孔扇贝的致病过程进行了观察和分析;同时对对虾、扇贝、鲍的免疫机能和抗病力开展了深入研究,研制出增强虾、贝免疫机能的饵料和药物。

7. 建立了几种有毒赤潮生物的室内培养、分子生物学测定和赤潮毒素的分析测定技术,对主要有毒赤潮生物与水体富营养化的关系研究取得了突破性进展,开拓了海洋细菌与赤潮藻类相互作用的研究新领域;实验结果表明,有机污染和氨氮增加了对虾对病原体的易感性,也能激活虾体内潜伏的病原体,诱发病害发生,并对其机理进行了探讨,提出了改善环境的生物措施;比较了藻、贝、虾和鱼对有机磷农药的敏感性差异,首次用自由基学说探讨了有机磷农药对海洋生物伤害的机理,发现对虾幼体对某些农药的抗性大于成体,并全面、系统地观察了久效磷农药对对虾各组织细胞超微结构的影响;基本摸清了虾病暴发前后虾池生态系基本要素的变动规律,在能流和物流分析的基础上建立了虾池生态系统框图和数模;对对虾封闭式综合养殖的种类结构优化、生物能量学、氮和磷的利用率等进行了深入研究,提出了最佳综合养殖模式,初步建立了各结构优化系统的能流分析数模。

上述研究成果已陆续撰写成几百篇论文在学术会议上交流、在国内外学术刊物上发表,并得到了好评,不仅对我国当前海水增养殖生产起了指导作用,为我国海洋 863、海洋生物技术的立项和实施奠定了基础,而且扩大了在国际学术界的影响。为满足沿海有关部门生产、科研和教学人员的需要,

我们决定按课题的研究成果编写出版系列专著共 7 卷。

尽管我们取得了上述研究成果，但由于海洋增养殖生物的多样性、海洋生态系统的复杂性、海洋环境的多变性，已取得的成绩还仅仅只能说是好的开头，生产中已有的问题我们还未完全了解，新的问题也将不断出现。可喜的是国家和各级领导已给予了高度的关注，而且通过本项目的实施，一大批中青年科研人员已成长为学术带头人、骨干。

非常感谢国家科技部、山东省科委、各承担单位领导和所有研究人员；感谢李永祺、相建海同志和项目专家委员会、项目办公室全体同志；特别要感谢山东科学技术出版社为保证系列专著出版质量所付出的辛勤劳动！

项目首席科学家

曾呈奎

1999 年 8 月于青岛

前 言

对虾是我国的重要水产资源，在全球的甲壳类渔业中占有重要地位。多数对虾适应海洋沿岸及河口水域生活，生命史较短，产品易加工，商品价值较高，在人工条件下容易养殖，因此，对虾养殖业是全球海水养殖业发展最迅速的产业之一。当前，全球从事对虾养殖的国家和地区超过 50 个，养殖总产量在 70 万 t 左右，约占世界虾类渔业产量的 25%。

该产业发展的重要科学技术基础，乃是由于解决了在人工条件下培育繁殖大量苗种的技术。早期的对虾繁殖和发育生物学的研究工作并不太多，这主要是因为对虾类在甲壳类中虽然经济价值重要，但并不是理想的基础理论生物实验材料。1990 年澳大利亚学者 W. Dall 等在对虾生物学一书中系统地总结了 1989 年以前对虾繁殖和发育生物学方面的研究工作，而涉及我国的中国对虾的资料则很稀少。

在对虾繁殖和发育方面的研究，大量的工作侧重于人工繁殖实用技术、工艺及有关发育形态、生态学方面的研究。世界上，首先在人工条件下进行对虾人工繁殖研究，并获得成功的是日本学者藤永元作。1933 年他开始在实验条件下，利用捕捞天然水域的日本对虾亲体进行繁殖培育日本对虾实验，在 20 世纪 40 年代获得初步成功。1942 年发表于日本动物学杂志的论文《日本对虾的繁殖、发育与培育》揭开了对虾人工繁殖的历史。1964 年，他的研究成果在日本达到商业性的规模，主要是解决了对虾幼体期的饵料、使用骨条藻和卤虫幼体这一关键技术。

我国也是在对虾繁殖方面研究开展较早的国家，并且取得了巨大的成就。我国海洋生物学家于 20 世纪 50 年代即开展了中国对虾人工育苗原理和应用技术研究，并于 1959 年获少量仔虾，1963 年达到可以应用小批量生产的对虾虾苗开展养殖实验。1965 年赵法箴发表了《中国对虾幼体形态研究》一文，首次系统描述了中国对虾幼体发生形态，奠定了对虾人工繁殖生物学中幼体形态基础。我国学者在 20 世纪 60 年代以后，研究了影响对虾产卵、孵化、幼体发育的主要环境因子，幼体期所需饵料培养技术，对虾亲体在人工条件下越冬培育及全人工繁殖技术。1968 年后，我国台湾省廖一久采用切除斑节对虾眼柄技术，解决了斑节对虾在人工控制条件下性腺发育成熟、产卵的关键技术。应用该方法，同时对数种对虾进行大批量繁殖苗种的开发也取得了较大进展。我国 1981 年后实现对虾苗种大规模产业化生产，具备年产

1000 亿尾苗的能力，满足了养殖和放流增殖用苗的需要。虽然对虾养殖业获得很大发展，但由于该产业发展历史较短，绝大多数有关对虾繁殖、发育研究仍着重于工艺技术的应用研究，而与育种、良种选育等密切相关的繁殖发育的基础生物学研究较薄弱，尤其是中国对虾主要产于黄海、渤海，该种是对虾属中肉质较好的品种，最易在人为条件下成熟繁殖，适温、适盐性广泛。然而自从 1993 年后，虾病及养殖环境恶化日益严重，迫切需要对其繁殖、发育的生物学进行深入研究，从而选育和培育抗逆性强的亲体和健康苗种，以保持对虾养殖业可持续发展。

本书汇集了攀登计划 B 类项目“海水增养殖生物优良种质和抗病力的基础研究”有关中国对虾的繁殖发育生物学中性别分化、内分泌、受精生物学、幼体发育等研究成果。为了完整地反映中国对虾繁殖发育生物学进展，也适当引用了一些非课题内的资料。参与本书编写的有关人员如下：杨丛海（前言、第一章第一节），李富花、相建海（第一章第二节），蔡生力（第一章第三节），王清印、李健、张岩、孙修涛等（第二章第一节～第五节），廖承义、张志峰（第三章第一节、第三节），季文娟、潘鲁青（第三章第二节），王克行、马甦（第三章第三节），刘世禄（文字图表校对处理）。

作者

1999 年 8 月



杨丛海 1937年5月生，1960年毕业于天津南开大学生物系。从事对虾养殖研究30年，曾参加对虾工厂化育苗技术和对虾养殖技术国家攻关研究及对虾人工配合饲料研究。主持中国对虾人工移植精英技术研究，该项目获农业部科技进步二等奖。主持对虾人工越冬工艺研究，该项目获山东省科技进步三等奖。主持山东省北部斑节对虾养殖技术研究，获山东省科技进步三等奖。主持国家“八五”攻关对虾疾病防治技术研究，该项目获农业部科技进步二等奖。曾主持“八五”国家攻关专题对虾良种选育技术及“八五”应急攻关课题对虾暴发性流行病防治及控制技术研究。现主持国家“九五”攻关专题对虾病毒暴发性流行病防治技术研究。

1985年被授予青岛市劳动模范，1988年被授予山东省优秀科技工作者称号，1990年获农业部中青年突出贡献专家称号，享受政府特殊津贴。

目 录

第一章 对虾性别的系统发生	1
第一节 对虾性别分化的形态学	1
第二节 对虾性别决定及性别分化	4
第三节 对虾性腺发生的内分泌调控	9
第二章 对虾受精生物学	16
第一节 生殖系统和配子的发生	16
第二节 对虾的生殖行为	28
第三节 配子及其激活和受精	40
第四节 对虾胚胎发育及环境因子的影响	49
第五节 对虾性腺发育的人工调控与人工授精	56
第三章 对虾的幼体发育	62
第一节 对虾幼体发育形态学	62
第二节 对虾幼体发育的营养需求	72
第三节 对虾幼体发育的生理与生态学	92
参考文献	105

第一章 对虾性别的系统发生

对虾是雌雄异体，成体不但有明显的外部形态特征，而且由于性别不同，体长及体重有较大的差别。对于中国对虾而言，当群体体长达到 70mm 以后，雌雄个体的体长开始出现生长差异；当群体平均体长达到 100mm 以后，雌性对虾的平均体长及体重明显大于雄性对虾。在自然海区，雄性对虾性成熟后不再生长，平均体长是 140 ~ 150mm，体重为 30 ~ 38g。雌性对虾交尾后，一般不再生长，平均体长为 175 ~ 185mm，体重为 60 ~ 70g。虽然雄性对虾的精英具有多次形成的能力，但在交尾季节结束后，据邓景耀等 (1990) 的资料，多数雄虾自然死亡，只有少数参加第二年的生殖洄游。在自然海区及养殖水体，幼体期的性比为 1:1，但在自然海区，9 月份交尾季节前的性比已开始发生变化，此时，雌性略多于雄性，雌雄比为 1:0.9，交尾季节结束后期，雌雄比为 1:0.49，第二年春季洄游到产卵场的雌雄性比为 1:0.28。这一生物学特性引起人们对其性别差异的生物学及养殖期调控对虾性别产生浓厚兴趣。

虽然对甲壳类的性别系统发生、性别决定机制有广泛的研究 (Ginsburger - vogel, 1982; Charmiaux - cotton, 1985)，但涉及到对虾属的内容则很少，只有零星的报道。其中关于中国对虾的性别系统发生，1985 年以前，仅侧重于性分化后的卵巢、精巢发育的描述，如日本学者冈正雄 1964 年就中国对虾的卵巢、精巢发育作了详细的描述。20 世纪 80 年代以后，我国学者开始研究控制性别分化的方法，同时也对对虾性别分化的外部形态特征作了研究 (尹左芬等, 1986)，并探讨对虾性分化机制。近几年我们在研究对虾性别决定、性别分化的基础上，又进一步对中国对虾的早期性别分化做了观察，着重研究了中国对虾促雄腺 (androgenous gland) 的形态发生、结构、功能及中国对虾繁殖的内分泌调控等。

第一节 对虾性别分化的形态学

与生殖有关的对虾外生殖器官的分化与发育，是了解对虾分类特征、性别特征、控制对虾繁殖的重要形态学内容。但是有关中国对虾性别分化系统研究不多，关于性别分化的组织形态学方面内容，Charmiaux - Cotton 等 (1985) 报道了日本对虾 (*P. japonicus*) 在糠虾期后期解剖可以发现雄性的输精管，但外部形态的性别差别要到仔虾期才可显示出雄性特征。第二腹肢的雄性附肢发育后，第一腹肢内肢开始分化成交接器，同时雌性对虾在胸部第八节处的胸板发育出纳精囊的雏形。尹左芬等 (1986) 曾对中国对虾外生殖器官的发育与分化作了较为详细的描述，而李富花等 (1996) 在前人工作的基础上，利用电镜和组织切片又进一步对中国对虾外生殖器的形成作了观察，同时也对精巢的分化时间作了观察。王克行等 (1992) 对中国对虾卵巢发育的发生学进行了超微结构的描