

综 述

虾蟹类遗传育种学研究

A REVIEW OF GENETICS AND BREEDING IN SHRIMPS (PRAWNS) AND CRABS

邱高峰

(上海水产大学渔业学院, 200090)

QIU Gao-Feng

(Fisheries College, Shanghai Fisheries University, 200090)

关键词 虾蟹类, 遗传育种学

KEYWORDS Shrimps (prawns) and crabs, Genetics and breeding

虾蟹类在分类学上属十足目(Decapoda)甲壳动物,在水产养殖业中占有极为重要的地位。六十年代以来,随着众多经济虾蟹类(如对虾、罗氏沼虾、中华绒螯蟹)人工培育苗种的成功,其养殖业发展迅猛,特别是近年来特种水产养殖业的兴起,使虾蟹类的身价倍增。据不完全统计,世界上目前主要养殖的虾蟹种类已达 30 余种,养殖总产量仅对虾就高达近 70 万吨,产生了巨大经济效益。然而当今的虾蟹养殖生产中还存在许多急待解决的问题:首先,目前养殖的虾蟹类均为未经系统遗传选育的野生种类,尚未形成养殖品系;其次,人工育苗的成功一方面解决了养殖生产上苗种短缺的难题,另一方面盲目的引种、移植和人工放流,造成诸多养殖对象种质严重下降,如我国名贵的水产资源中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)出现种群变异、个体变小、商品质量降低等资源衰退现象就是佐证之一;第三,高密度集约化养殖单一生产模式的推行,在短期内提高了产量,但同时也带来了养殖水体环境效应产生的灾难性恶果,对虾流行病在世界范围内的猖獗,致使养殖产量骤减,至今尚无有效对策,严重限制了养殖业的进一步发展,从而引起国内外养殖专家、学者的深刻反思。提高水产品质量、培育品质优良、抗逆性强的养殖品种等遗传育种工作的重要性和迫切性已被越来越多的人所认识。众多事实证明,高密度的集约化养殖,必须要有高质量的养殖品种作保证,遗传育种是虾蟹类等特种水产养殖业必不可少的一个重要环节。

与养殖生产相似,虾蟹类遗传育种研究工作起步较鱼类晚,基础较差,但近年来通过遗传育种工作者的共同努力,取得了不少突破性进展,本文拟对几十年来虾蟹类遗传学和育种学研究进行总结和综合评述,为今后进一步开展虾蟹类遗传育种学研究提供参考。

1 遗传学研究

1.1 群体遗传学(Population genetics)

虾蟹类群体遗传学研究主要采用生化技术(同工酶、等位基因酶电泳技术)对不同地理居群或养殖种群的虾蟹类种内、种间生化遗传差异及群体遗传结构进行分析。Proctor 等[1974]首先研究了褐对虾(*Penaeus aztecus*)5 种等位基因酶,随后许多学者对其它虾类进行了同工酶基因座位分析,Lester[1979]对美国墨西哥海湾 3 种对虾各自不同地理居群之间的遗传差异进行了调查,分析了 26 个基因座(gene loci),发现不同地理居群多态性基因座频率没有差异,杂合度(Heterozygosity)小($H = 0.079 \sim 0.092$)。Redfiled 等[1980]分析了墨吉对虾(*P. merguensis*)25 个基因座后发现种群间杂合度也很小($H = 0.008$),Mullely 等

收稿日期:1997-03-20

[1980]对澳大利亚产和养殖的7种对虾和6种新对虾(*Metapenaeus* spp.)的研究结果表明杂合度更低($H=0.006\sim 0.033$), Lioe[1984]研究了6种养殖对虾和1种野生对虾,分析了29个基因座,杂合度同样很低, Tam等[1992]对中国南海7种对虾和3种新对虾17个基因座进行了分析,杂合度 $H=0.007\sim 0.049$,多态性基因座比例 $P_{0.95}=0.059\sim 0.235$ 。除对虾类外龙虾类、长臂虾类、螯虾类和蟹类的杂合度也均小于0.05, Hedgecock等[1982]综述了65种虾蟹种类,平均杂合度 $H=0.000\sim 0.128$ [Tam等1993]。由此可见,虾蟹类十足目甲壳动物的遗传杂合度均较低, Nelson等[1980]认为这是由于野生种群缺乏遗传漂变(genetic drift)的结果,其次过度捕捞压力(intensive fishing pressure)也是遗传杂合度降低的因素之一[Tam等1993],养殖群体遗传杂合度的降低则是瓶颈效应(bottleneck effects)造成的[Sbordoni等1986]。与种内遗传差异相反,虾蟹类种间遗传差异较明显,即使近缘种类也是如此。对虾属和新对虾属野生对虾(澳大利亚产)不同属种间的平均遗传距离(genetic distance) $D=0.95$,对虾属内种间遗传距离 $D=0.44$ [Muley等1980],中国南海对虾与新对虾种间平均遗传近度(genetic identity) I分别为 0.601 ± 0.024 和 0.630 ± 0.077 ,而养殖对虾种间平均遗传距离 $D=0.63$ [Lioe 1984]。

关于养殖虾类有效群体大小 N_e (effective population size)与近交问题已见报道。Sbordoni等[1986]对引进意大利盐湖养殖的日本对虾(*P. japonicus*)繁殖多代群体生化遗传差异进行了研究,引进的第一代海捕亲虾杂合度 $H=0.102$,经过7代增养殖,杂合度大幅度降低($H_7=0.036$),而且孵化率也同时下降至10%。Malecha等[1989]计算了美国两个对虾养殖场的 N_e 值,结果均很小。目前虾蟹类增养殖均采用封闭型或半封闭型群体养殖,如何维持有效群体大小、避免近交是对虾生产中急待解决的重要问题。

表1 4种虾类不同发育阶段若干性状的遗传力
Tab. 1 Heritabilities of several character at different developmental stage in 4 species of shrimps (prawns)

| 研究种类 | 遗传性状 | 发育阶段 | 遗传力 | 研究者 |
|----------|------------|---------------|-------------------|-----------------|
| 美洲螯龙虾 | 进攻行为 | 稚 虾 | 0.13±0.03 (潜伏期) | Finley 等[1983] |
| | | | 0.11±0.05(相互进攻期) | |
| | | | 0.08±0.05 (行为反应期) | |
| 罗氏沼虾 | 生长性能 | 稚 虾 | 0.35±0.15 (雄体) | Malecha 等[1984] |
| | | | 0.00(雌体) | |
| 南美白对虾 | 个体大小 | 前蚤状幼体 1 | 0.00~ 0.64 | Lester [1988] |
| | | 糠虾幼体 1 | 0.00~ 0.18 | |
| | | 后期幼体 1 | 0.15~ 0.36 | |
| | | 后期幼体 2~ 30 | 0.23±0.2 | |
| | 生长速率 | 后期幼体 15~ 43 | 0.00 | Lester 等[1988] |
| | | 早期稚虾(冬季) | 0.53±0.27 | |
| | | 后期稚虾(冬季) | 0.60±0.25 | |
| | | 后期幼体(春季) | 0.35±0.17 | |
| 后期稚虾(春季) | 0.05±0.06 | Lester [1988] | | |
| | 前蚤状幼体 1 | | 1.00 | |
| | 糠虾幼体 1 | | 0.64~ 1.00 | |
| 后期幼体 1 | 0.84~ 1.00 | | | |

1.2 数量遗传学(Quantitative genetics)

大多数具有重要经济价值的遗传性状(如个体大小、生长速率等)均为数量性状,由微效多基因控制,它们易受环境因素的影响,因此测量某种由遗传因素引起的数量性状变异在表型变异中所占的比重即估算遗

传力(heritability)大小对于选择育种具有重要指导意义。Hedgecock等[1976, 1978]最早开始虾蟹类数量性状遗传差异的研究,他们估算美洲螯龙虾稚虾生长速率的遗传差异有30%可遗传[Malecha 1983],但未报道具体遗传力大小,随后Finley等[1983]对同一种虾的进攻行为遗传力大小进行了估算,至今已报道过遗传力的仅限于4种虾类(表1),我国仅见吴仲庆等[1990a]、陈刚等[1996]分别对长毛对虾(*P. penicillatus*)和罗氏沼虾体长、体重的一些遗传参数估算的报道。

1.3 细胞遗传学(Cytogenetics)

细胞遗传学的研究是进行遗传育种的基础,虾蟹类细胞遗传学研究始于十九世纪末,Carnoy[1885]首次报道了褐虾(*Crangon cataphractus*)和普通滨蟹(*Carucinus manus*)的染色体。二十世纪三十年代开始,日本科学家Niiyama[1934]对虾蟹类染色体开展了广泛的研究,主要采用传统石蜡切片法制作虾蟹类染色体标本,工作起来既费时又费力,而且获得的染色体数误差较大,这一点已被后人重新研究的结果所证实。随着染色体标本制作技术的发展,七十年代以来,空气干燥法的应用给虾蟹类细胞遗传学研究带来了很大的方便[Milligan 1976, 堵南山等 1986, 相建海 1988, 邱高峰 1996, 1997b, 邱高峰等 1994],而且出现了许多改进的空气干燥法[Farmer 1974, Murofushi等 1983],对用于染色体标本制作的材料也有所研究和改进,如Hayashi等[1988]用再生肢芽法可获得大量细胞有丝分裂相,其优点还表现在毋需杀死实验虾蟹:相建海[1988]通过比较精巢、触角腺、卵子、无节幼体、中肠、中肠腺和鳃等不同材料,得出以精巢和触角腺较易获得分散好的染色体。以精巢为材料,不仅可以获得有丝分裂相,还可获得大量减数分裂相,这对于染色体数目统计极为有利。但与其它动物相比虾蟹类染色体的研究一百多年来进展较缓慢,大多数研究仅限于染色体数目统计水平,迄今已报道过的种类仅70多种,26个科,约占虾蟹类总数的0.7%左右,主要原因是虾蟹类细胞有丝分裂中期染色体太小(一般不超过4μm),且数目庞大,虾蟹类二倍体数目(2n)为64~376,2n最小的种类是短尾类(Brachyura)玉蟹科(Leucosiidae)的拳蟹(*Philyra scabriuscula*),2n最大的种类是长尾类(Macrurans)河虾科(Astacidae)的一种螯蛄(*Astacus trowbridgii*),此外,美洲螯龙虾(*Homarus americanus*)的染色体数目变化较大(94~185),可能是存在超数染色体的结果[Hughes 1982]。核型分析方面的详细报道较少[Murofushi等 1984, 1987, 1989, Mayorga 1982, 戴继勋等 1989],且均未采用染色体分带技术,作者研究日本沼虾(*M. nipponense*)精母细胞减数分裂中染色体行为后发现双线期二价染色体呈棒状,着丝点较清晰,且同源染色体已配对形成二价染色体,核型分析毋需再鉴别对应的同源染色体,故具有较大优越性[邱高峰等 1994, 1997c]。

由于核型资料的缺乏,虾蟹类核型演化的研究进展也相当缓慢,Murofushi[1990]在亚洲第二届水产大会上提出了十足类染色体倍数进化的观点。作者对长臂虾亚科核型演化关系进行过探讨,认为染色体的罗伯逊易位在核型演化中起着重要作用[邱高峰 1996a]。性染色体方面,目前仅在铠甲虾科(Galatheidae)和方蟹科(Grapsidae)分别报道过1种和7种,都是Niiyama用石蜡切片法研究发现的。

1.4 分子遗传学(Molecular genetics)

甲壳动物分子遗传学研究主要以卤虫(*Artemia* spp.)为材料[Hedgecock等 1982],虾蟹类分子遗传学研究开展得相对较少,对基因文库、基因组及有价值基因的结构与功能研究尚属空白。

表 2 虾蟹类细胞核 DNA 相对含量变化范围

Tab. 2 The range of relative amount of the nuclear DNA content in shrimps (prawns) and crabs

| 类 群 | 对虾类 | 真虾类 | 长尾类 | 短尾类 | 异尾类 |
|---------|--------|---------|---------|----------|---------|
| 研究类群大小 | 1科1属5种 | 4科9属13种 | 2科3属3种 | 9科19属26种 | 4科7属11种 |
| 变化范围(%) | 68~101 | 90~1000 | 126~170 | 38~130 | 35~230 |

注: 相对含量指相对人类细胞核 DNA 含量

1.4.1 细胞核 DNA 含量

Mirsky等[1985]首次报道了低平斜纹蟹(*Plagusia depressa*)单倍体核DNA含量为1.41pg,迄今共报道过20个科29属58种虾蟹核DNA含量[Chow等1990],这些核DNA含量主要采用孚尔根反应细胞光度法(Feulgen reaction photocytoetry)和流式细胞光度法(flow cytometry)测定,为了便于比较分析,

Chow 等[1990]把核DNA绝对含量换算成相对于人类核DNA的相对含量(表2)。

1.4.2 基因组DNA多态性与分子进化

基因组多态性(genome DNA polymorphism)研究对于养殖品系鉴定、遗传选育、杂交亲本选择及后代鉴定、基因定位与克隆、物种分类与分子进化研究均具有重要应用价值。基因组DNA多态性检测主要采用DNA序列多态性(DNA sequence polymorphism)、限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)及应用重复序列、人工合成的寡聚核苷酸(OPs)、噬菌体M13核酸探针杂交法进行DNA指纹图谱(DNA fingerprinting)分析。Neigel等[1991]首先采用 Φ -筛选法(Φ -screen)和传统Southern印迹杂交法制备了雇工哲蟹(*Menippe mercenaria*)和同属的另一种蟹(*M. adina*)的DNA探针,但在虾蟹类可用于基因组DNA RFLP分析的DNA探针还非常少,迄今仅见Palumbi和Benzief[1991]有关线粒体DNA(mtDNA)RFLP分析的报道。Williams等[1990]在PCR技术基础上发明的RAPD(random amplified polymorphic DNA)技术,对于分析缺乏DNA探针和分子遗传背景知之甚少的虾蟹类基因组DNA多态性具有其它同类技术难以比拟的优点[邱高峰1996c]。Garcia和Benzief[1995]及Garcia等[1996]应用该项技术分析了斑节对虾(*Penaeus monodon*)和南美白对虾(*P. vannamei*)基因组DNA多态性,发现RAPD标记对于用同工酶法无法分析多态性的对虾类十分适宜。

2 育种学研究

2.1 选择育种

选择育种作为一种传统而有效的育种手段在陆生作物和鱼类育种中取得过显著成绩,虾蟹类人工培育苗种的成功为开展选择育种工作提供了可能[解焱等1995, Bray 1990]。养殖者在苗种培育过程中,挑选个体大、健康个体作为次年苗种生产的亲本,可视为虾蟹类选择育种发展的萌芽或初级形式。目前世界上养殖的虾蟹均为野生种群,尚未完全驯化形成养殖品系,故选择育种具有很大的潜力。虹鳟鱼正是在尚未驯化之前进行混合选择(mass selection)获得了育种成功[Donaldson 1970],但必须注意的是,选择育种一般只选择少量优良个体,一定要避免近交效应(inbreeding effect),维持有效群体大小(N_e)(如1.1所述),一旦发生近交造成遗传种质的衰退,将是不可恢复的,而遗传种质的衰退将大幅度降低选择效应(selection response),国外鲤鱼选择育种的失败就是其中一例[Malecha 1977],因此在进行虾蟹类选择育种之前最好先开展遗传有效群体大小(N_e)研究,其次由于虾蟹类数量遗传学研究资料还相当有限(如1.2所述),选择育种缺乏重要遗传参数(如遗传力)作为指导,养殖者只能凭直观挑选所选性状,无法预知后代性状的表现和环境因素影响大小,故选择具有盲目性,今后还必须加强数量遗传学基础研究。Lester[1983]提出了对虾选择育种的方案, Malecha[1977]则对罗氏沼虾选择育种进行过一些探讨,但迄今尚未见有关虾蟹类选择育种成功的正式报道。

2.2 杂交育种

杂交育种目前仅限于虾类种内[Sarver 1979, 张子平等1994]和种间杂交(表3),在蟹类未见报道。主要原因是虾类精英移植人工授精技术获得成功[Sandifer等1980, Lin等1986]。虾类种间杂交的受精率和孵化率均较正常种内交配时低,杂种后代的形态特征、生长发育速度大多为父、母本的中间型[Shokita等1978, Uno等1972, Carlberg等1978],长毛对虾×斑节对虾的杂种后代显然成活率较低,但生长速度却明显较快[Lin等1988]。杂种后代的育性也有报道,摘除白对虾×南方对虾杂种后代的眼柄,能促进精巢和卵巢发育,但育性不详[Bray等1990],美洲螯龙虾×*H. gammans*的杂种后代雄体不能产生精子[Carlberg等1978],粗糙沼虾×*M. shokita*的杂种后代不育[Shokitai等1978],长毛对虾×斑节对虾的杂种后代即使摘除雌虾眼柄,卵巢也不能成熟[Lin等1988]。由此可见,虾类种间杂种后代大多是中性不育的。

由于杂交的不亲和性,并不是所有杂交均能成功, Sandifer等[1980]分别在长臂虾亚科(Palaemoninae)沼虾属和长臂虾属进行过4个种类(5个杂交组合)和2个种类(2个杂交组合)的种间杂交,仅沼虾属1个组合获得杂种后代(表3)。台湾沼虾♀×粗糙沼虾♂杂交虽然不能产生杂种后代,但一只雌虾却能同时产下少量大型受精卵(似父本)和大量小型受精卵(似母本),其中小型受精卵不能继续发育而夭折,而大型受精卵却能发育至卵内无节幼体期[Shokita等1978]。

表 3 虾类种间杂交育种的研究

Tab. 3 Studies of interspecific hybridization in shrimps (prawns)

| 亲本组合 | 杂交方式 | 研究者 |
|---------------------------------|----------|--------------------|
| 白对虾 × 红额角对虾 | 人工授精(互交) | Lawrence 等 [1984] |
| 白对虾♀ × 南方白对虾 ♂ | 人工授精 | Bray 等 [1990] |
| 中国对虾 × 斑节对虾 | 人工授精(互交) | 黄海水产研究所(通讯) |
| 长毛对虾 × 斑节对虾 | 人工授精 | Lin 等[1988] |
| 美洲螯龙虾 × <i>H. gammarus</i> | 自然交配(互交) | Carlberg 等[1978] |
| 罗氏沼虾 × <i>M. malacolumsonii</i> | 自然交配 | Sankolli 等[1982] |
| 粗糙沼虾 × <i>M. shokitai</i> | 自然交配(互交) | Shokita 等[1978] |
| 台湾沼虾 × 粗糙沼虾 | 自然交配(互交) | Shokita 等[1978] |
| 台湾沼虾 × 日本沼虾 | 自然交配 | Uno 和 Fujita[1972] |
| 普通长臂虾♀ × 短刀长臂虾 ♂ | 人工授精 | Sandifer 等 [1980] |
| | | Berg 等 [1986] |
| 乡居鲸螯虾 × 近缘螯虾 | 自然交配(互交) | Smith [1981] |
| | | Berrill [1985] |

表 4 虾蟹类多倍体育种研究

Tab. 4 Studies of polyploidy breeding in shrimps (prawns) and crabs

| 种名 | 诱导方法 | 剂量 | 处理起始时间 (分钟) | 持续时间 (分钟) | 结果 | 最高诱导率 (%) | 研究者 |
|-------|------|-------------------------------|----------------|--------------|---------|--------------|-------------|
| 中国对虾 | 热休克 | 30℃ | | 15~20 | 四倍体成虾 | 60 | 相建海等[1992] |
| | CB | 1ppm | 受精后 50~65 | 15~20 | 四倍体成虾 | 66.7 | 相建海等[1992] |
| | DMAP | 300 μm | 受精后 8 | 12 | 三倍体成虾 | 75 | 相建海等(1995) |
| | 热休克 | 30 | 受精后 15 | 15 | 三倍体成虾 | 70 | 相建海等(1995) |
| | CB | 0.1~2.5 mg/dm ³ | 受精后 5~20 | 10~40 | 三倍体蚤状幼体 | 62.5 | 包振民等[1993] |
| | 热休克 | 30~33℃ | 排卵后 5~20 | 5~30 | 三倍体蚤状幼体 | 32 | 戴继勋等[1993] |
| | 冷休克 | 0~9℃ | 排卵后 5~15 | 15~90 | 三倍体蚤状幼体 | 43.8 | 戴继勋等[1993] |
| 日本沼虾 | 热休克 | 38~41℃ | 排卵后 210~240 | 1~2 | 四倍体胚胎 | 36.8 | 邱高峰等[1997a] |
| 日本绒螯蟹 | 热休克 | 39~40℃ | 受精后 10~40 | 3 | 三倍体胚胎 | | Lu 等 [1993] |
| 合浦亚种 | | | | | | | |
| 中华绒螯蟹 | CB | 1.5 mg/l | 受精后 15 | 18 | 三倍体胚胎 | 58.18 | 陈立侨等[1997] |
| | CB | 1.5 mg/l | 排卵后 570 | 18 | 四倍体胚胎 | 57.89 | |

2.3 多倍体育种

我国最早开始虾蟹类多倍体育种,相建海和 Clark(1990)以锐脊单肢虾(*Sicyonia ingentis*)为材料,最先开始虾类多倍体诱导研究,首次获得对虾三、四倍体幼体,随后又诱导出四倍体和三倍体中国对虾(*P. chinense*)成体[相

(1)相建海, Clark W H. 1990. 锐脊单肢虾染色体组操作的可行性研究(英文). 国际甲壳动物学大会(澳大利亚布里斯班)论文.

(2)相建海,周令华,刘瑞玉. 1995. 中国对虾多倍体诱导(英文). 亚洲水产协会学术会议(北京).

建海 1992]。迄今有 5 种虾蟹进行过多倍体诱导研究(表 4), 但只有中国对虾多倍体诱导最成功, 培育至成虾, 其它种类多倍体尚停留在胚胎水平, 主要原因是大多数虾蟹类具抱卵特性, 进行多倍体诱导并培育至成体首先要克服抱卵及体孵化等难题[邱高峰 1996], 作者采用受精卵连同母体腹部一起浸泡处理(头胸部不浸入)的诱导方法(诱导后的受精卵仍由母体“抱着”孵育), 收到较好效果(邱高峰 1994)、[邱高峰等 1997a], 随后陈立侨等[1997]利用该方法也诱导出中华绒螯蟹多倍体胚胎, 从而证明了该技术的可行性。

养殖生产上诱导三倍体主要目的是利用三倍体不育性导致的生长优势。三倍体中国对虾体长增长比二倍体快 9.4% (三倍体平均体长 8.98cm, 二倍体平均体长 8.21cm), 而且三倍体群体中个体大小均匀[高连勇等 1992]。三倍体中国对虾性腺发育的组织学观察结果表明, 雄性三倍体性腺发育不完全, 甚至停滞[曹玉萍等 1994]。相反, 李富花和相建海(1995)却发现三倍体中国对虾雄体与正常二倍体精巢发育无明显不同, 而三倍体卵巢出现不同程度退化。

2.4 性别控制

虾类同龄雌雄性别个体的大小、生长速度相差悬殊。如中国对虾雌体一般比同龄雄体大, 当体长达到 10cm 以上后, 雌体生长速率明显大于雄体, 相反, 罗氏沼虾在性成熟后, 雄虾个体明显大于雌虾, 若培育出单性虾蟹并进行单性化养殖可以大幅度提高上市商品规格和养殖产量, 因此虾类性别控制一直是遗传育种研究的热点之一, 到目前为止, 虾类性别控制研究主要采用以下 4 种方法。

2.4.1 性激素处理法

性激素处理法是鱼类性别控制的有效途径之一, 通过投喂或浸泡性激素可使鱼类产生生理性别的逆转, 从而达到性别控制的目的。吴仲庆[1990b]用 17β -雌二醇和甲基睾酮投喂和浸泡性别分化前的长毛对虾幼体, 经过 3 年实验, 结果表明脊椎动物性激素及其类似物不能改变长毛对虾性别, 印度科学工作者将睾酮和孕酮按不同时间间隔和剂量注射哈氏仿对虾(*Parapenaeopsis hardwickii*), 能分别促使雄体精巢重量增加、加速精子生成和增强雌体卵巢成熟度[Kulkarni 等 1979, Nagahushanam 等 1981], 我国学者王桂忠等[1989]用已烯雌酚处理锯缘青蟹(*Scylla serata*)能加速其幼体生长, 河北省水产研究所用类固醇类激素浸泡或投喂中国对虾胚胎及幼体, 也只能促进对虾幼体的生长发育[高连勇等 1992], 由此可见脊椎动物性激素不能使对虾类性逆转, 但却能促进其性腺发育和幼体生长。

2.4.2 造雄腺手术移植或摘除法

造雄腺(androgonic gland)又译作促雄性腺, 是甲壳动物特有的内分泌腺, 它能分泌促雄性化激素, 诱导性别分化和促进精子及雄性第二性征形成。法国女科学家 Charniaux-Cotton[1954]首先在端足类的一种跳钩虾(*Orchestia ganmarella*)发现该腺体, 并将它移植到雌体内, 促使雌体产生性逆转, 卵巢转变成了精巢, 而且还出现雄性第二特征, 随后其他学者在虾蟹等十足类也发现了造雄腺[Hoffman 1969, King 1964, Nagamine 1980, 李霞等 1993, 邱高峰等 1995, 李富花等 1997]、(邱高峰等 1997)。Nagamine[1980]利用造雄腺摘除术首先获得了罗氏沼虾全雌性个体, 实验结果表明, 发育早期的雄性幼体摘除造雄腺后可以完全雌性化, 而发育后期幼体却只能部分或不出现雌性化, 同时他们还证明造雄腺对精子发生并不是必须的, 只对精子数量有影响。随后, Malecha 等[1992]利用造雄腺移植法培育出性逆转的全雄性罗氏沼虾个体。把造雄腺移植入头胸甲长 6.5~7.5cm 的雌性幼体(后期幼体蜕皮后 30 天左右)可以使后者性功能完全雄性化和第二性征几乎完全雄性化, 这些生理上雄性、遗传上仍为雌性的性逆转个体与正常雌虾交配产生的后代雌雄比例为 3.20:1。Sagi 等[1990]则利用造雄腺摘除产生性逆转后的全雌性个体与正常雄虾交配获得了全雄性群体, 此外 Sagi 等[1986]在精养条件下, 采用“挑出饲养法”即及时挑出个体大的雄虾, 使中、小个体雄虾生长速率加快, 并结合单性化养殖, 使养殖产量比常规雌雄虾混合养殖的产量高得多, 因此利用性别控制进行罗氏沼虾单性化养殖可将大幅度提高养殖经济效益。

(3) 邱高峰. 1994. 日本沼虾雄性生殖系统及多倍体诱导的研究. 华东师范大学博士学位论文.

(4) 邱高峰, 吴萍, 楼允东. 1997. 中华绒螯蟹造雄腺结构与功能的研究.

(5) 李富花, 相建海. 1995. 三倍体中国对虾性腺发育. 甲壳动物生物学及增养殖生态学学术讨论会论文摘要.

2.4.3 人工雌核发育

雌核发育对于遗传学理论研究和养殖生产均具有重要意义,它可在短期内快速建立自交系或纯系,一方面可直接用于单性化养殖,另一方面用于杂交育种,通过顶交(top cross)和经济杂交(commercial cross)可以产生杂种优势。此外,雌核发育对于基因-着丝点作图、近交衰退的估计及隐性基因检测等方面均有帮助[楼允东 1986]。相建海等(1990)以确凿的细胞学证据证明了对虾人工雌核发育的可行性,随后戴继勋等[1993]用 Co^{60} 射线照射中国对虾精子进行了雌核发育诱导实验,但没有证实得到的两个膜内无节幼体是否属于雌核发育个体,蔡难儿等[1994]采用研究鱼类人工诱导雌核发育相类似的方法首次人工诱导出中国对虾雌核发育个体(3~3.5cm 幼虾),最高诱导率达 37.22%。低剂量的紫外线辐射可促进顶体反应,大剂量辐射使精子丧失发生顶体反应能力并死亡,紫外线对精子的损伤是一种使染色质变性的化学作用[陈本楠等 1997]。

2.4.4 环境因子控制法

环境因子(如温度)不仅可以改变染色体倍性,还能影响某些动物的性别决定。杨丛海等[1993]用高温处理中国对虾受精卵,改变了对虾群体性比结构,处理温度为 41.5~42°C,于第一、二极体排出后持续处理 30 秒,处理后的受精卵单独孵化,随后移入养殖场培育至成体,随机抽样统计结果表明雌雄比例差异显著 2.44:1 ($P < 0.01$),证明高温对中国对虾性比结构产生了影响,但影响机制尚不清楚。环境因子控制法由于在操作上较简单,对大规模养殖生产可能更有利,因此值得深入研究。

2.5 转基因育种

与选择育种、杂交育种等传统育种方法相比,转基因育种的优点是能定向改变某一遗传性状。刘萍等[1996a]将羊生长激素基因注射至交配过的中国对虾雌体纳精囊中,以精子作为载体,获得了首例转基因仔虾,转基因比率为 1%,而用显微注射法转基因比率在 3% 以上[刘萍等 1996b]。在虾蟹类,由于迄今尚未分离和克隆任何有重要经济价值的基因(如抗逆基因,生长基因)(如 1.4 所述),只能使用其它种动物已分离的有价值基因进行转基因育种,这不是长远之计,由于异源基因(特别是亲缘关系相差较远的动物基因)是否能整合表达,若能表达,表达效率又如何,能产生何种遗传效应,不得而知,要彻底改变这种难堪局面,唯一的出路是加强虾蟹分子遗传学基础研究,早日建立虾蟹基因文库,筛选和克隆一批具有优良性状的基因,这样虾蟹转基因育种才可能有较大发展,同时还必须对转基因带来的遗传影响进行监测,避免“遗传污染”的发生。

3 结语

综上所述,虾蟹类遗传育种学研究在细胞遗传学、群体遗传学、数量遗传学和杂交育种、多倍体育种、性别控制等领域开展得较多,我国在以上大多数领域处于领先地位,在育种学上取得不少突破性进展,但要把这些成果应用于养殖生产实践尚有一段距离,这与虾蟹类某些自身生物学特性有关(如抱卵),生殖生物学等相关学科的发展对虾蟹类遗传育种工作的深入开展将起着积极的推动作用,鱼类人工授精技术的突破,为鱼类杂交育种、多倍体育种、雌核发育等育种学研究的开展奠定了基础,目前虾蟹类体外人工授精技术虽然也取得了突破[陆仁后等 1990],但与鱼类相比在具体操作上还存在一些困难,尚不能很好掌握卵子生理成熟度,获得的人工授精卵还很有限,因此今后除了加强基础遗传学研究外,还必须深入开展虾蟹类全人工授精技术的研究,这样虾蟹类遗传育种学研究才可能取得更大发展。

本研究系上海市教委青年教师学术基金和上海市教育发展基金会设立的上海市高等学校跨世纪人才培养基金——“曙光计划”项目(96SG18)资助的部分内容。楼允东教授给本文提出了宝贵的修改意见,硕士研究生吴萍帮助打印文稿,在此一并表示衷心感谢。

参 考 文 献

- 王桂忠, 李少菁. 1989. 己烯雌酚影响锯缘青蟹幼蟹生长的初探. 厦门大学学报(自然科学版), 28(2): 199~ 202.
- 包振民, 张全启, 王海. 1993. 中国对虾三倍体的诱发研究①: 细胞松弛素 B 处理. 海洋学报, 15(3): 101~ 105.
- 刘萍, 孔杰, 李健. 1996a. 中国对虾精子做载体将生长激素基因导入受精卵的研究. 中国水产科学, 3(1): 6~ 10.
- 刘萍, 孔杰, 王清印. 1996b. 显微注射生长激素基因导入中国对虾受精卵的研究. 中国水产科学, 3(4): 35~ 38.
- 张子平, 王艺磊. 1994. 中国对虾两个种群的 F1 的 LDH 和 MDH 同工酶的初步分析. 热带海洋, 13(1): 87~ 90.
- 吴仲庆, 徐福章, 周雪芳. 1990a. 长毛对虾体长、体重的一些遗传参数. 厦门水产学院学报, 12(2): 5~ 14.
- 吴仲庆. 1990b. 17 β -雌二醇作用下的长毛对虾性别比例. 海洋科学, 2: 53~ 56.
- 李霞, 李嘉泳. 1993. 中国对虾内分泌器官的一新发现——促雄性腺. 大连水产学院学报, 8(4): 17~ 20.
- 李富花, 相建海. 1996. 中国对虾促雄腺形态结构和功能的初步研究. 科学通报, 41(15): 1418~ 1422.
- 陆仁后, 张菁. 1990. 中华绒螯蟹人工授精的突破. 水生生物学报, 14(3): 274~ 275.
- 邱高峰. 1996a. 罗氏沼虾核型及长臂虾亚科核型演化关系的探讨. 水产学报, 20(4): 294~ 300.
- 邱高峰. 1996b. 虾蟹类多倍体育种的研究现状及存在问题. 华东师范大学学报(自然科学版, 动物学专辑), 105~ 110.
- 邱高峰. 1996c. 分析基因组 DNA 多态性的 RAPD 技术在水产生物技术研究中的应用前景. 上海水产大学学报, 5(2): 101~ 106.
- 邱高峰, 堵南山, 赖伟. 1994. 日本沼虾染色体及其核型的研究. 海洋与湖沼, 25(5): 493~ 498.
- 邱高峰, 堵南山, 赖伟. 1995. 日本沼虾雄性生殖系统的研究: 雄性生殖系统的结构及发育. 上海水产大学学报, 4(2): 107~ 111.
- 邱高峰, 堵南山, 赖伟. 1997a. 热休克法诱导日本沼虾四倍体的初步研究(英文). 水产学报, 21(1): 13~ 17.
- 邱高峰, 楼允东, 顾功超. 1997b. 南美白对虾染色体的研究. 上海水产大学学报, 6(1): 50~ 53.
- 邱高峰. 1997c. 细螯沼虾染色体的研究. 中国水产科学, 4(1): 1~ 6.
- 陈立侨, 赵云龙, 王玉凤等. 1997. 中华绒螯蟹多倍体的诱导研究: iv. 细胞松弛素 B 诱导中华绒螯蟹三倍体和四倍体胚胎. 水产学报, 21(1): 18~ 25.
- 陈本楠, 蔡难儿, 李光友. 1997. 中国对虾人工诱导雌核发育的研究: II. 紫外线辐射对精子顶体反应和受精能力的影响. 海洋科学, 1: 41~ 47.
- 陈刚, 柴华金, 林晓文. 1996. 罗氏沼虾体长和体重的一些遗传参数分析. 湛江水产学院学报, 16(1): 25~ 30.
- 杨丛海, 王清印, 孔杰. 1993. 高温处理中国对虾受精卵对性比结构的影响. 海洋科学, 4: 1~ 2.
- 相建海. 1988. 中国对虾染色体的研究. 海洋与湖沼, 19(3): 205~ 209.
- 相建海, 周令华, 刘瑞玉. 1992. 中国对虾四倍体诱导研究. 海洋科学, 4: 55~ 60.
- 高连勇, 刘英杰, 王玉梅. 1992. 对虾遗传育种研究进展. 河北渔业, 62(1): 8~ 10.
- 曹玉萍, 王所安. 1994. 人工诱导三倍体中国对虾性腺组织学观察. 河北大学学报(自然科学版), 14(2): 34~ 37.
- 蔡难儿, 林峰, 柯亚夫. 1995. 中国对虾人工诱导雌核发育的研究: iv. 四步诱导法. 海洋科学, 3: 35~ 41.
- 堵南山, 赖伟, 薛鲁征. 1986. 中华绒螯蟹染色体的研究. 动物学研究, 7(3): 293~ 296.
- 解焱, 师守. 1995. 经济虾类(对虾和罗氏沼虾)遗传育种研究现状. 遗传, 17(增刊): 71~ 73.
- 楼允东. 1986. 人工雌核发育及其在遗传学和水产养殖上的应用. 水产学报, 10(1): 111~ 123.
- 楼允东, 李元善. 1989. 鱼类育种学. 上海: 百家出版社. 13~ 182.
- 戴继勋, 张全启, 包振民. 1989. 中国对虾的核型研究(英文). 青岛海洋大学学报, 19(4): 97~ 104.
- 戴继勋, 张全启, 包振民. 1993. Co⁶⁰r 射线诱导中国对虾雌核发育的观察. 青岛海洋大学学报, 23(4): 151~ 156.
- 戴继勋, 包振民, 张全启. 1993. 中国对虾三倍体的诱发研究 iv: 温度休克. 遗传, 15(5): 15~ 18.
- Berg A B, Sandifer P, Harris S. 1986. *In vitro* fertilization and hybridization of palaemonid shrimps. World Maricult Soc, 1986: 77.
- Berrill M. 1985. Laboratory induced hybridization of two crayfish species, *Orconectes rusticus* and *O. propinquus*. J Crust Biol, 5(2): 347~ 349.
- Bray W A, Lawrence A, Lester L, et al. 1990. Hybridization of *Penaeus setiferus* (Linnaeus, 1967) and *Penaeus schmitti* Burkenroad, 1936(Decapoda). J Crust Biol, 10: 278~ 283.
- Carlberg J M, Van Ist J, Ford R. 1978. A comparison of larval and juvenile stages of the lobsters *Homarus americanus*, *Homarus gammarus*, and their hybrids. Proc World Maricult Soc, 11: 488~ 499.
- Carnoy J B. 1885. La cytodierese chez les Arthropodes. La Cellule. 1.
- Charniaux-Cotton H. 1954. D couverte chez un Crustace Amphipode (*Orchestia gamarella*) d'une gland endocrine responsable de la differentiation des caracteres sexuels primaires et secondaires males. C R Acad Sci, 239: 780~ 782.
- Donaldson L R. 1969. Selective breeding of salmonid fishes. In: Marine Aquaculture. Oregon State Univ Press. 65~ 74.
- Farmer A S. 1974. A new technique applied to the chromosomes of *Nephrops norvegicus* (L.) (Decapoda, Nephropi-

- dae). *Crustaceana*, 27: 17~ 20.
- Finley L M, Haley L. 1983. The genetics of aggression in the juvenile American lobsters, *Homarus americanus*. *Aquaculture*, 33: 135~ 139.
- Garcia D K, Benzie J A H. 1995. RAPD markers of potential use in penaeid prawn (*Penaeus monodon*) breeding programs. *Aquaculture*, 130: 137~ 144.
- Garcia D K, Dhar A, Alcivar- Warren A. 1996. Molecular analysis of a RAPD marker 9b200 reveals two microsatellites and differential mRNA expression in *Penaeus vannamei*. *Mol Mar Biol Biotechnol*, 5: 71~ 83.
- Goswami U, Dalal S, Goswami S. 1986. Preliminary studies on prawn, *Penaeus merguensis*, for selection of broodstock in genetic improvement programs. *Aquaculture*, 53: 41~ 48.
- Hayashi K, Fujiwara. 1988. A new method for obtaining metaphase chromosomes from the regeneration blastema of *Penaeus (Marsupenaeus) japonicus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54: 1563~ 1565.
- Hedgecock D, Nelson K. 1978. Components of growth rate variation among laboratory cultured lobsters (*Homarus*). *Proc World Mari Soci*, 9: 125~ 137.
- Hedgecock D. 1976. Growth differences among families of the lobster, *Homarus americanus*. *Proc World Mari Soci*, 7: 347~ 361.
- Hedgecock D, Tracey M, Nelson K. 1982. Genetics. In: Bliss D E, editor- in- ch. *The biology of Crustacea*. Vol. 2. Abele L G, ed. Embryology, morphology, and genetics. Acad Press. New York. 283~ 403.
- Hoffman D L. 1969. The development of the androgenic gland of a protandric shrimp. *Biol Bull*, 137: 286~ 296.
- Hughes J B. 1982. Variability of chromosome number in the Lobsters, *Homarus americanus* and *Homarus gammarus*. *Caryologia*, 35: 279~ 289.
- King D D. 1964. Fine structure of the androgenic gland of the crab *Pachygrapsus crassipes*. *Gen Comp Endocri*, 4: 533~ 544.
- Kulkarni G K. 1979. Effect of progesterone on ovarian maturation in a marine penaeid prawn *Parapenaeopsis hardwickii*. *India. J Exp Biol*, 17: 986~ 988.
- Lawrence A L. 1984. Successful interspecific cross of two species of marine shrimp, *Penaeus stylirostris* × *Penaeus setiferus*. *World Mari Soci*, 1984: 39. (Abstract)
- Lester L J. 1979. Population genetics of penaeid shrimp from the Gulf of Mexico *J Hered*, 70: 175~ 180.
- Lester L J. 1983. Developing a selective breeding plan for penaeid shrimp. *Aquaculture*, 33: 41~ 50.
- Lester. 1988. Differences in larval growth among families of *Penaeus stylirostris* Stimpson and *Penaeus vannamei* Boone. *Aquacul and Fish Manag*, 19: 243~ 251.
- Lester L J, Pante M. 1992. Genetics of *Penaeus* species. In: Fast A W, Lester L J, eds. *Marine Shrimp Culture: Principles and practices*. Elsevier science publishers B. V, 29~ 51.
- Lin M N, Ting Y. 1986. Spermatophore transplantation and artificial fertilization in grass shrimp. *Bull Japan Soci Sci Fish*, 52: 585~ 589.
- Lin M N, Ting Y. 1988. Hybridization of two close- thelycum Penaeid species *Penaeus monodon* × *P. penicillatus* and *P. penicillatus* × *P. monodon*, by means of spermatophore transplantation. *Bull Taiwan Fisheries Res Inst No*. 45.
- Lioe K G. 1984. La variabilite et la defferenciation genetique de quelques especes Peneides. Thesis Univ Sci Techniques Languedoc de Montpellier.
- Lu R H, Zhang J, Liu X. 1993. An experiment on induction of triploidy in *Eriocheir japonicus Hepuensis Dai* by heat treatment. *Chin J Oceanol Limnol*, 11(1): 21~ 24.
- Malecha S R. 1977. Genetics and selective breeding. In: Hanson J A, Goodwin H L, eds. *Shrimp and Prawn Farming in the Western Hemispher*. Dowden, Hutchinson and Ross Pennsylvania, PA, 328~ 334.
- Malecha S R. 1983. Crustacean genetics and breeding: an overview. *Aquaculture*, 33: 395~ 413.
- Malecha S R, Masuno S, Onizuka D. 1984. The feasibility of measuring the heritability of growth pattern variation in juvenile freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquacul*, 38: 347~ 363.
- Malecha S R. 1989. Sea grant technical report, Unihi- Seagrant- Tr- 89- 01. Uni: Hawaii Sea Grant College Program.
- Malecha S R, Nevin P, Ha P. 1992. Sex- ratios and sex- determination in progeny from crosses of surgically sex- reversed freshwater prawns *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 105: 201~ 218.
- Milligan D J. 1976. A method for obtaining metaphase chromosome spreads from marine shrimp with notes on the karyotypes of *Penaeus aztecus*, *Penaeus setiferus*, and *Penaeus duorarum*. *Proceedings of the World Mariculture Society*, 7: 327~ 332.
- Mulley J C, Latter B. 1980. Genetic variation and evolutionary relationships with in a group of thirteen species of penaeid prawns. *Evolution*, 34: 904~ 916.

- Mulley J C, Latter B. 1981a. Geographic differentiation of Eastern Australian penaeid prawn populations. *Aust J Mar Fresh Res*, 32: 889~ 895.
- Mulley J C, Latter B. 1981b. Geographic differentiation of tropical Australian penaeid prawn populations. *Aust J Mar Fresh Res*, 32: 897~ 906.
- Murofushi M, Deguchi Y. 1983. A method for obtaining metaphase chromosome from large shrimp-like crustaceans. *Pep Mishima Res Inst Sci Liv Nihon Univ*, 6: 31~ 34.
- Murofushi M, Deguchi Y, Yosida T. 1984. Karyological study of the red swamp crayfish and the Japanese lobster by air - drying method. *Proc Japan Acad Ser B*: 22~ 25.
- Murofushi M Y, Odagaki M, Inoue T. 1989. Chromosomes of eleven crab species. *Rep Mishima Res Inst Sci Liv. Nihon Univ*, 12: 25~ 34.
- Murofushi M Y, Deguchi Y. 1987. Species specificity in Karyotype of Pacific Ocean spiny lobsters. *Pacific Sci Assoc 16th Congr*. 171.
- Murofushi M, Deguchi Y. 1990. Karyotype evolution in Decapoda Crustacea. In: Hirano R, Hanyu I, eds. *Proc Second Asian Fisheries Forum*. Asian Fisheries Society, Tokyo, Japan. 549~ 553.
- Niiyama H. 1934. The chromosomes of the crayfish, *Cambaroides japonicus* (de Haan). *J Fac Sci Hokkaido Imp. Univ Ser V I. Zoology*, 3: 41~ 53.
- Nagamine C, Knight A, Maggenti A. 1980. Masculinization of female *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) (Decapoda, Palaemonidae) by androgenic gland implantation. *Gen Comp Endocri*, 41: 442~ 457.
- Neigel J E, Darryl L, Caryl A. 1991. Cloning and screening of DNA probes for genetic studies in stone crabs (Decapoda: Xanthidae: Menippe). *J Crust Biol*, 11(4): 496~ 505.
- Nelson K, Hedgecock D. 1980. Enzyme polymorphism and adaptive strategy in the decapod crustacea. *Amer Nat*, 116(2): 238~ 279.
- Nagnbhushanam R, Kulkarni G. 1981. Effect of exogenous testosterone on the androgenic gland and testis of a marine penaeid prawn, *Parapenaeopsis hardwickii*. *Aquaculture*, 23: 19~ 27.
- Palumbi S R, Benzie J A H. 1991. Large mitochondrial DNA differences between morphological similar penaeid shrimp. *Mol Mar Biol Biotech*, 1: 27~ 34.
- Proctor R R, Marvin K, Lansford L, et al. 1974. Phosphoglucosylase polymorphism in brown shrimp, *Penaeus aztecus*. *J Fish Res Board Can*, 31: 1405~ 1407.
- Redfield J A, Hedgecock D, Nelson K. 1981, et al. Low heterozygosities in tropical marine crustaceans of Australia and the trophic stability hypothesis. *Mar Biol Lett*, 1: 303~ 313
- Sagi A, Ra'anan Z, Cohen D, et al. 1986. Production of *Macrobrachium rosenbergii* in monosex populations: yield characteristics under intensive monoculture conditions in cages. *Aquaculture*, 51: 265~ 275.
- Sagi A, Cohen D, Milner Y. 1990. Effect of androgenic gland ablation on morphotypic differentiation and sexual characteristics of male freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii*. *Gen Comp Endocrinol*, 77: 15~ 22.
- Sandifer P A, Lynn J. 1980. Artificial insemination of caridean shrimp. In: Clark W H, Adams H S, eds. *Recent advances in invertebrate reproduction*. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands. 271~ 288.
- Sankolli K N, Shenoy S, Jalihal D, et al. 1982. Crossbreeding of the giant freshwater prawns *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) and *M. malcolmsonii* (H. Milne Edwards). In: New M B, eds. *Giant prawn farming*, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands. 91~ 98.
- Sarver D, Malecha S, Onizuka D, et al. 1979. Development and characterization of genetic stocks and their hybrids in *Macrobrachium rosenbergii*: Physiological responses and larval development rates. *Proc World Mari Soc*, 10: 880~ 892.
- Sbordoni V, Matthaeis E, Cobdli S, et al. 1986. Bottleneck effects and the depression of genetic variability in hatchery stocks of *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda). *Aquaculture*, 57: 239~ 251.
- Shokita S. 1978. Larval development of interspecific hybrid between *Macrobrachium asperulum* from Taiwan and *Macrobrachium shokitai* from the Ryukyus. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 44: 1187~ 1195.
- Smith D G. 1981. Evidence for hybridization between two crayfish species (Decapoda: Cambaridae: Orconectes) with a comment on the phenomenon in cambarid crayfish. *Amer Mid Natur*, 105: 405~ 407.
- Tam Y K, Chu K. 1993. Electrophoretic study on the phylogenetic relationships of some species of *Penaeus* and *Metapenaeus* (Decapoda: Penaeidae) from the south China sea. *J Crust Biol*, 13(4): 697~ 705.
- Uno Y, Fujita M. 1972. Studies on the experimental hybridization of freshwater shrimp, *Macrobrachium nipponense* and *M. formosense*. Abstracts, Second International Ocean Development Conference, October, Tokyo, Japan. 5~ 7.
- Williams J G K, Kubelik A, Livak K, et al. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res*, 18(22): 6531~ 6535.