

中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)

“黄海3号”新品种的培育*

李健^{1①} 何玉英¹ 王清印¹ 刘萍¹ 李吉涛¹ 王学忠²

(1. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071;

2. 山东省昌邑市海丰水产养殖有限责任公司 昌邑 261300)

摘要 2006年收集中国对虾“黄海1号”保种群以及海州湾、莱州湾2个野生群体为基础群体构建核心育种群,采用群体选育技术以仔虾I期耐氨氮胁迫成活率和收获时对虾体重为选育指标,经过连续5代选育,培育出中国对虾“黄海3号”新品种。新品种耐氨氮胁迫能力强,仔虾I期成活率较商品苗种提高21.2%,养殖成活率提高15.2%;生长速度快,收获对虾平均体重较商品苗种提高11.8%。AFLP技术分析获得5代选育群体的平均多态位点比例分别为42.28%、40.64%、40.32%、39.95%和38.05%。研究结果显示,随着选育世代的增加,选育群体的遗传多样性呈现下降趋势,但随着选育时间的延长,世代之间的分化逐渐降低,群体的遗传结构开始趋于稳定。

关键词 中国对虾;群体选育;黄海3号;氨氮胁迫

中图分类号 S917 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2015)01-0061-06

中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)又称东方对虾,俗称对虾、明虾,主要分布于黄渤海(包括朝鲜西岸),以及东海北部的嵎泗列岛和舟山群岛一带。自20世纪50年代我国就对中国对虾的繁殖和发育进行了研究,并开展了大规模的育苗和养殖技术研究。20世纪80年代以来,通过对虾养殖技术攻关,中国对虾养殖业开始大规模发展,到1991年养殖产量达20万t,成为我国最主要的对虾养殖品种。1993年由于受白斑综合征病毒(WSSV)病的重创,中国对虾养殖生产严重滑坡(王清印等,1998)。病害暴发的原因是多方面的,其中原因之一是由于当时养殖的中国对虾是未经选育的野生种,抗逆性差。自1997年开始,中国水产科学研究院黄海水产研究所先后选育出具有优良生长和抗病性状的中国对虾“黄海1号”(李健等,2005)和“黄海2号”(孔杰等,2012)新品种。

目前中国对虾的育种目标主要集中于生长和抗病两个性状,而对养殖环境胁迫引起的抗性育种研究

尚未开展。近年来由于渔业水域环境的恶化以及养殖自身有机污染物的积累引起的环境胁迫严重影响着中国对虾的生长。环境胁迫降低了中国对虾对养殖环境的适应性(Capy *et al*, 2000; Moullac *et al*, 2000),增加了对病原微生物的易感性。另外,环境胁迫可激活致病基因,使潜在的病原体引起疾病(Miller *et al*, 2005)。氨氮是对虾养殖环境中最主要的污染物质,在养殖水体中以离子氨(NH₄⁺)和非离子氨(NH₃)两种形式存在。其中,非离子氨具有脂溶性,能穿透细胞膜毒害鳃组织,毒性是离子氨的300-400倍(Thurston *et al*, 1980)。水体中氨氮超过对虾耐受限度时,氨氮能直接损害对虾的鳃组织,使肾和肝组织结构发生病理变化,影响对虾的呼吸、代谢、神经、免疫、渗透调节、排泄及蜕皮和生长,导致对虾对病原微生物抵抗力的下降,严重时导致死亡(姜令绪等,2004;邱德全等,2008;梁俊平等,2012;Wickins, 1976;Chen *et al*, 1990; Racotta *et al*, 2000)。孙舰军等(1999)的研究结

* 国家虾产业技术体系专项(CARS-47)、山东省自主创新专项(2013CX80202)和国家自然科学基金项目(31172401)共同资助

① 通讯作者: 李健, E-mail: lijian@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2014-04-01, 收修改稿日期: 2014-05-29

果表明,中国对虾养殖在 2.5 mg/L 氨氮水体中经 20 d 左右,其血细胞数量(2.40×10^5)显著低于养殖在氨氮含量为 0.4 mg/L 水体中对虾的血细胞数(7.15×10^5),且对副溶血弧菌的易感性提高。Kleber 等(2009)的研究结果表明,当非离子氨浓度 ≥ 0.033 mg/L 时,保罗美对虾头胸甲长和湿重降低,影响生长。Chen 等(1988)发现,在对虾集约化养殖过程中氨氮浓度可达 46 mg/L,严重超过了对虾的耐受程度,给对虾养殖业造成重大损失。因此,培育高产、抗逆的中国对虾新品种抵抗养殖环境带来的胁迫是当前水产种业主要任务之一。

本课题组自 2006 年采用群体选育技术开展了耐氨氮胁迫能力强的中国对虾新品种选育研究工作,经过连续 5 代的群体选育,获得我国第一个水产抗逆新品种——中国对虾“黄海 3 号”,并于 2013 年通过全国水产原种和良种审定委员会审定(品种登记号:GS-01-002-2013)。

1 材料与方法

1.1 基础群体的组建

2006 年 3 月收集了昌邑(CY)、唐海(HB)和日照(RZ) 3 个不同地区的中国对虾“黄海 1 号”保种群体亲虾 3200 尾、海洲湾(HZ)海区亲虾 1520 尾以及莱州湾(LZ)海区亲虾 1360 尾,共计 6080 尾亲虾组建基础群体。

1.2 氨氮胁迫实验及核心育种群的组建

对收集的基础群体单独进行育苗,每个基础群体对 15 批次(每一批次 10 万尾)以上的仔虾 I 期进行氨氮胁迫实验,实验氨氮浓度采用 64 mg/L。氨氮胁迫后从每个基础群体的存活个体中随机取 8–10 万尾仔虾放入室外的围隔中单独养殖,统一投喂和日常管理,尽量降低养殖环境影响。秋天收获后,以体重为指标,从每个养殖群体挑选 1000–1500 尾亲虾进行留种,混合组建核心育种群。

1.3 中国对虾“黄海 3 号”的群体选育

对构建的核心育种群进行群体内闭锁繁育,在选育过程中,每年以仔虾 I 期耐氨氮胁迫成活率和收获时对虾体重(年留种率控制在 3%–5%,约 5000 尾亲虾)为选育指标对核心育种群进行 2 次选择。对照群体采用当地野生商品苗种,用于评估群体选育进展。

1.4 新品种与商品苗种的生产性对比实验

为评估选育效果,于 2012–2013 年在日照开航水产有限公司进行了中国对虾“黄海 3 号”的生产性对比单养实验,每个池塘面积 3.96 hm²,新品种与对照各放养 5 个池塘。对照分别采用当地野生商品苗种和中国对虾“黄海 1 号”苗种,养殖密度均为 10 尾/m²。前期投喂丰年虫成体,中、后期投喂鲜活蓝蛤、杂鱼等。收获时随机测量 100 尾中国对虾的体重,统计成活率。

1.5 新品种不同选育世代的遗传多样性检测

利用 6 对 AFLP 引物组合检测了中国对虾“黄海 3 号”连续 5 代选育群体的遗传结构,计算了选育世代群体间的遗传相似系数和遗传距离。

2 结果

2.1 中国对虾“黄海 3 号”群体选育结果

采用群体选育技术对构建的核心育种群体进行连续 5 代的选育,在选育过程中每年统计核心育种群仔虾 I 期耐氨氮胁迫成活率、收获时成活率及收获时的平均体重(表 1),用于估计选育效果。对照群体采用当地野生亲虾培育的商品苗种。

经过连续 5 代的群体选育,中国对虾“黄海 3 号”仔虾 I 期氨氮胁迫后成活率较商品苗种提高 21.2%,养殖成活率提高 15.2%,收获对虾平均体重较商品苗种提高 11.8%。

2.2 生产性对比实验结果

2012–2013 年对新品种进行了生产性对比养殖实验,放苗时间分布为 2012 年 4 月 6 日和 2013 年 4 月 10 日,收获时间分别为当年的 10 月 19–20 日,实验结果见表 2 和表 3。

从表 2 中可以得知,在相同养殖条件下,2012 年中国对虾“黄海 3 号”新品种体重较“黄海 1 号”苗种降低 3.00%,成活率提高 12.5%,养殖产量提高 8.69%;2013 年中国对虾“黄海 3 号”新品种体重较“黄海 1 号”苗种降低 1.2%,成活率提高 15.2%,养殖产量提高 13.79%。

在相同养殖条件下,2012 年中国对虾“黄海 3 号”新品种体重较野生商品苗种提高 10.40%,成活率提高 13.9%,养殖亩产量提高 25.78%;2013 年中国对虾“黄海 3 号”新品种体重较野生商品苗种提高 13.3%,成活率提高 16.3%,养殖产量提高 31.72%。

表 1 中国对虾“黄海 3 号”群体选育结果
Tab.1 Comparison of traits between “Huanghai No.3” and commercial seedlings

年 Year	仔虾 I 期成活率			养殖成活率			平均收获后体重		
	Survival rate of post-larvae I (%)			Survival rate of farming (%)			Average body weight after harvest(g)		
	黄海 3 号 Huanghai No.3	对照 Control	提高值 Increased value (%)	黄海 3 号 Huanghai No.3	对照 Control	提高值 Increased value(%)	黄海 3 号 Huanghai No.3	对照 Control	提高值 Increased value(%)
2007	31.2	29.9	4.3	30.2	29.2	3.5	32.33	30.42	6.3
2008	29.8	30.2	-1.3	28.8	29.0	-0.7	33.67	31.02	8.5
2009	31.8	28.6	11.2	33.0	30.6	7.8	34.62	31.35	10.4
2010	37.2	32.9	13.1	35.5	31.3	13.4	35.10	31.53	11.3
2011	42.8	35.3	21.2	36.3	31.5	15.2	35.50	31.76	11.8

表 2 中国对虾“黄海 3 号”与“黄海 1 号”生产性对比养殖实验统计结果
Tab.2 Comparison of harvest results between “Huanghai No.3” and “Huanghai No.1”

性状 Traits	2012			2013		
	黄海 3 号 Huanghai No.3	黄海 1 号 Huanghai No.1	提高值 Increased value(%)	黄海 3 号 Huanghai No.3	黄海 1 号 Huanghai No.1	提高值 Increased value (%)
平均收获体重 Average body weight after harvest (g)	34.26	35.46	-3.00	35.52	35.95	-1.2
成活率 Survival rate (%)	35.1	31.2	12.5	37.2	32.3	15.2
养殖产量 Farming yield (kg/hm ²)	1082.25	995.7	8.69	1189.2	1045.05	13.79

表 3 中国对虾“黄海 3 号”与野生对照生产性对比养殖实验统计结果
Tab.3 Comparison of harvest results between “Huanghai No.3” and wild seedlings

性状 Traits	2012			2013		
	黄海 3 号 Huanghai No.3	野生对照 Wild seedlings	提高值 Increased value(%)	黄海 3 号 Huanghai No.3	野生对照 Wild seedlings	提高值 Increased value(%)
平均个体体重 Average body weight after harvest (g)	34.26	31.04	10.40	35.52	31.35	13.3
成活率 Survival rate (%)	35.1	30.8	13.9	37.2	32.0	16.3
养殖亩产量 Farming yield(kg/hm ²)	1082.25	860.4	25.78	1189.2	902.85	31.72

“黄海 3 号”新品种在生产性能上较野生商品苗种具明显优势(表 3)。

2.3 中国对虾“黄海 3 号”不同选育世代的遗传稳定性分析

利用 6 对 AFLP 引物组合检测了中国对虾“黄海 3 号”连续五代选育群体的遗传结构, 计算了选育世代群体间的遗传相似系数和遗传距离。结果表明, 5 代选育群体的平均多态位点比例分别为 42.28%、40.64%、40.32%、39.95%和 38.05%(表 4), 有 89.13% 是来源于群体内, 有 10.87% 是来源于群体间。随着选

育世代的增加, 选育群体的遗传多样性呈现下降趋势, 但随着选育时间的延长, 世代之间的分化逐渐降低, 群体的遗传结构开始趋于稳定。

3 讨论

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。发达国家养殖业发展经验表明, 新品种是推动养殖产品产量和质量大幅提高的主要因素之一。美国是世界上最早开展对虾遗传改良和选择育种研究的国家, 由美国农业部支持的“海产对虾养殖计划”从 1989 年开始研究和培育凡

表4 6个引物对的总扩增位点数及多态位点数
Tab.4 Polymorphic loci/Total loci number from 6 AFLP primer set

引物对 Primer set	多态位点数/总位点数 Polymorphic loci/Total loci number				
	G1	G2	G3	G4	G5
EM1	35/74	29/61	25/72	28/59	26/57
EM2	31/69	33/74	29/70	33/74	30/72
EM3	26/66	29/69	27/61	28/68	26/66
EM4	29/77	26/78	23/62	24/79	23/77
EM5	34/59	18/56	18/45	15/53	14/52
EM6	23/76	30/68	30/67	31/67	29/65
总和 Total	178/421	165/406	152/377	159/398	148/389
多态位点比例 Percentage of polymorphic loci(%)	42.28	40.64	40.32	39.95	38.05

纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)的“无特异病原虾(SPF)”,选育的主要性状是生长和抗 TSV 性状,经过选育使凡纳滨对虾的生长速度提高了 21.00%,而抗 TSV 性状提高了 18.40%,有效地减轻了对虾病毒病的发生(Argue *et al.*, 2002)。Moss 等(2012)已完成 15 代的抗 TSV 的选育,并且找到了几个 TSV 攻毒后成活率在 65%–100%的家系,通过选育在养殖生产过程中 TSV 不再作为一种严重的病害来对待。美国高健康养殖公司通过对凡纳滨对虾抗 TSV 性状的选育,每代成活率增加 15.00%,经过连续 4 代选择,存活率可达到 92%–100%,而对照组的存活率只有 31.00%,对生长速度的选择已使凡纳滨对虾个体体重达到 22–25 g,这表明选择育种可明显改进养殖对虾的生长表现(Wyban, 2000)。Donato 等(2005)通过对凡纳滨对虾委内瑞拉系大规模选育的 11 代(1990–2001)产量记录进行分析发现产量相关参数得到了显著增长:年平均存活率从 59%增至 76%,生长速率从 0.76 增至 0.87 g/周,饲料转换率(FCR)从 1.86:1 增至 1.51:1,产量从 1.20 增至 2.10 t/hm²,畸形率从 29.00%降至 1.00%,终重的变异系数从 19.70%降至 11.60%。Hetzel 等(2000)报道了经过一代选育,日本对虾(*Marsupenaeus japonicus*)生长性状的平均选择反应增加了 10.7%。Goyard 等(1999)报道了细脚滨对虾(*Litopenaeus stylirostris*)经过 4 代和 5 代选育后,其生长性状分别较未选育对虾提高 18%和 21%。这些研究均表明了选择育种在对虾中是切实可行的,尤其是在低选择强度(29%)的群体中。

与国外相比,我国对虾育种工作开展的较晚。

1997 年中国水产科学研究院黄海水产研究所首次采用“大群体、多群组、高强度”选育方法进行了中国对虾快速生长新品种的选育工作,并于 2003 年获得我国第一个人工培育的海水养殖动物新品种——中国对虾“黄海 1 号”,体长较对照组平均增长 8.40%,体重平均增长 26.86%;养殖成功率超过 90%,而未经选育的对照池养殖成功率不足 70%,显示了良好的选育前景(李健等, 2005)。随后在国家“863”、国家科技支撑计划等项目的支持下,水产育种工作获得蓬勃发展,相继培育出“科海 1 号”、“中兴 1 号”、“中科 1 号”、“桂海 1 号”4 个凡纳滨对虾新品种(邓伟等, 2013),中国对虾“黄海 2 号”(孔杰等, 2012)以及斑节对虾“南海 1 号”新品种等等,为我国对虾养殖业的可持续发展提供了重要的种质保障,在一定程度上带动了我国对虾养殖产业的发展。

目前在高投入、高产出的对虾养殖模式中大量投饵、施肥使池塘中含氮有机废物数量增加,以及因放养密度大,生物代谢旺盛,排泄废物氨的数量增多,致使氨在水中积累严重超过了对虾的耐受程度,而使对虾生长缓慢,适应性下降,对病的易感性增加,严重时可导致对虾的大规模死亡。针对上述问题,本课题组收集中国对虾“黄海 1 号”保种群,以及海洲湾、莱州湾两个野生群体亲虾组建基础群体,通过每年对核心育种群的两次选择,经过连续 5 代的群体选育,培育出中国对虾“黄海 3 号”新品种,耐氨氮胁迫能力强,仔虾 I 期成活率提高 21.2%,可显著提高对养殖水体环境变化的适应力;生长速度快,收获对虾平均体重较野生商品苗种提高 11.8%,规格整齐;养殖成活率高,池塘养殖成活率提高 15.2%,池塘连片养殖成功率达 90%。自 2010 年以来中国对虾“黄海 3 号”逐渐辐射推广到山东、河北、辽宁、天津和江苏连云港等沿海地区,合计推广养殖面积 3000 hm²以上,平均亩产量提高 21.00%。

目前,还需要深入弄清养殖过程中中国对虾如何适应和抵抗环境因子带来的各种胁迫和不良刺激以及其适应机制,为抗逆新品种的选育提供基础依据。

参 考 文 献

- 王清印, 李健. 从持续发展角度展望对虾养殖业的发展趋势. 现代渔业信息, 1998, 13(3): 1–7
- 邓伟, 黄太寿, 张振东. 我国南美白对虾种业发展现状及对策建议. 中国水产, 2013, 12: 22–25
- 孔杰, 罗坤, 栾生, 等. 中国对虾新品种“黄海 2 号”的培育. 水产学报, 2012, 36(12): 1854–1862
- 李健, 刘萍, 何玉英, 等. 中国对虾快速生长新品种“黄海 1

- 号”的人工选育. 水产学报, 2005, 29(1): 1-5
- 孙舰军, 丁美丽. 氨氮对中国对虾抗病力的影响. 海洋与湖沼, 1999, 30(3): 267-272
- 邱德全, 周鲜娇, 邱明生. 氨氮胁迫下凡纳滨对虾抗病力和副溶血弧菌噬菌体防病效果研究. 水生生物学报, 2008, 32(4): 455-461
- 姜令绪, 潘鲁青, 肖国强. 氨氮对凡纳滨对虾免疫指标的影响. 中国水产科学, 2004, 11(6): 537-541
- 梁俊平, 李健, 李吉涛, 等. 氨氮对脊尾白虾幼虾和成虾的毒性试验. 水产科学, 2012, 31(9): 526-529
- Argue BJ, Arce SM, Lotz JM, *et al.* Selective breeding of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) for growth and resistance to Taura Syndrome Virus. *Aquaculture*, 2002, 204: 447-460
- Capy P, Gasperi G, Biemont C. Stress and transposable elements: co-evolution or useful parasites. *Heredity*, 2000, 85(2): 101-106
- Chen JC, Liu PC, Lei SC. Toxicities of ammonia and nitrite to *Penaeus monodon* adolescents. *Aquaculture*, 1990, 89(2): 127-137
- Chen JC, Liu PC, Lin YT. Super intensive culture of red-tail shrimp *Penaeus penicillatus*. *J Word Aquacul Soc*, 1988, 19: 127-131
- Donato MD, Manrique R, Ramirez R, *et al.* Mass selection and inbreeding effects on a cultivated strain of *Penaeus (Litopenaeus vannamei)* in Venezuela. *Aquaculture*, 2005, 247(1-4): 159-167
- Goyard E, Patrois J, Reignon JM, *et al.* IFREMER's shrimp genetics program. *Global Aquacult Advocate*, 1999, 2(6): 26-28
- Hetzel DJS, Crocos PJ, Davis GP, *et al.* Response to selection and heritability for growth in the Kuruma prawn, *Penaeus japonicas*. *Aquaculture*, 2000, 181: 215-223
- Jim W. Breeding shrimp for fast growth and virus resistance. *The Advocate*, 2000, 3(6): 32-33
- Keleber CM, Grasiela LLP, Wilson WJ. Long-term ammonia toxicity to the pink-shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. *Comp Biochem Physiol, Part C*, 2009: 377-382
- Le Moullac G, Haffner P. Environmental factors affecting immune responses in Crustacea. *Aquaculture*, 2000, 191: 121-131
- Miller SI, Ernst RK, Bader MW. LPS, TLR4 and infectious disease diversity. *Nature Rev Microbiol*, 2005, 3(1): 36-46
- Racotta IS, Hernandez-Herrera R. Metabolic responses of the white shrimp, *Penaeus vannamei*, to ambient ammonia. *Comp Biochem Physiol, Part A*, 2000, 125: 437-443
- Shaun MM, Dustin RM, Steve MA, *et al.* The role of selective breeding and biosecurity in the prevention of disease in penaeid shrimp aquaculture. *J Invertebrate Pathol*, 2012, 110: 247-250
- Thurston RV. Some factor affecting the toxicity of ammonia to fishes. *EPA Ecol Res*, 1980, 118-137
- Wickins JF. The tolerance of warm-water prawns to recirculated water. *Aquaculture*, 1976, 9: 19-37

(编辑 江润林)

Selective Breeding of Fast-Growing and Ammonia Toxicity-Resistant Chinese Shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*)

LI Jian¹①, HE Yuying¹, WANG Qingyin¹, LIU Ping¹, LI Jitao¹, WANG Xuezhong²

(1. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071; 2. Haifeng Aquaculture co., Ltd, Changyi 261300)

Abstract Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*) is one of the most commonly farmed species in China since the 1970s. However, the pond survival and the total output of *F. chinensis* have been low because of the deteriorated pond environment and other factors. Ammonia, as undissociated for (NH₃), is one of the most toxic substances produced during intensive shrimp farming and may reach concentrations high enough to seriously damage the health and growth of *F. chinensis*. To address this issue we collected wild samples of conserved “Huanghai No.1” from two geographical populations in the Haizhou bay and the Laizhou bay for the construction of fundamental stock in 2006. Mass selection was applied to obtain the characteristics of fast growth and high resistance to ammonia at concentrations between 3% and 5%. Five generations, namely “Huanghai No.3”, were selected successively and approved by China National Aquaculture Variety Approval Committee. “Huanghai No.3” displayed traits such as stress tolerance and fast growth. Under the same cultivation conditions, the survival rate of Post-larvae I increased by 21.2%, the survival rate increased by 15.2%, and the average body weight after harvest increased by 11.8%. The proportions of polymorphic loci were 42.28%, 40.64%, 40.32%, 39.95% and 38.05% in the five selective populations respectively, which implied the reduced genetic diversity. However, in later selected generations, there were fewer differences between populations and the genetic structure became more stable. Compared to “Huanghai No.1”, the average body weight and the survival rate of “Huanghai No.3” increased by 2.1% and 13.85% respectively. Compared to the wild seedlings, the average body weight and the survival rate increased by 11.85% and 15.1% respectively. These results showed obvious improvement in the production. To the date, the pioneer scale to grow the new strain of “Huanghai No.3” has reached 400 hectares in the coastal areas of northern Jiangsu province since 2009.

Key words *Fenneropenaeus chinensis*; Mass selection; Huanghai No.3; Ammonia stress

① Corresponding author: LI Jian, E-mail: lijian@ysfri.ac.cn