

肖楚康,方刘,阮国良,等. 罗氏沼虾淡化养殖的现状与展望[J]. 江苏农业科学,2019,47(8):29-33.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.08.006

罗氏沼虾淡化养殖的现状与展望

肖楚康¹,方刘^{1,2},阮国良^{1,2},杨代勤^{1,2},郑维友^{1,2}

(1. 长江大学动物科学学院/湿地生态与农业利用教育部工程研究中心,湖北荆州 434025; 2. 湖北省水产产业技术研究院,湖北荆州 434026)

摘要:为了使罗氏沼虾养殖产量再次得到提高,养殖模式更生态化,本文就罗氏沼虾的养殖现状作出简要综述。目前,淡化养殖的虾苗主要来源受到地理环境的限制,且经受“苗荒”的挫折;育苗条件受温度、水质、肌肉白浊病等威胁;生态成虾养殖受到高温季节温度难调控、养殖模式过于传统以及“铁壳”虾等问题困扰。经过不断发展,循环水系统的利用、益生菌和微生物的合理利用、养殖模式的不断创新和疾病病理的研究等对于当今罗氏沼虾淡化生态养殖起到了很大的促进作用。但是,目前罗氏沼虾的养殖向更生态、更健康的方向发展仍有很大的提升空间。

关键词:罗氏沼虾;淡化养殖;现状分析;展望

中图分类号: S966.12 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)08-0029-04

罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 又称马来西亚大虾、泰国虾,是一种大型淡水虾,原产于东南亚。它具有生长快、食性广、肉质营养成分好以及养殖周期短等优点^[1]。自20世纪60年代以来,罗氏沼虾的人工养殖在东南亚和其他地区发展迅速。我国自1976年引进此虾,目前已在广东、广西、湖南、湖北、江苏、上海、浙江等10多个省(市、自治区)进行该虾的养殖,一般产量为3 750~6 000 kg/hm²^[2],取得了明显的效益。罗氏沼虾淡化养殖是海虾淡养的一种比较成功的养殖性研究,但是种质变差和长时间集约化养殖对于环境的破坏限制了罗氏沼虾的进一步发展^[3]。如何提高生态养殖的技术和效益是当今罗氏沼虾淡化养殖产业的重点发展方向,其主要限制因素为苗种、水质、温度、密度、饵料和养殖管理等方面。为此,本文就罗氏沼虾淡化生态养殖的现状与展望作出简要综述,旨在为该虾淡化养殖技术的进一步发展提供综合性的理论依据。

1 苗种的来源与质量

罗氏沼虾苗种的质量与供应已经成为制约我国罗氏沼虾淡化养殖发展的首要因素^[4]。1977年广东省水产研究所在从日本引进50尾罗氏沼虾(其中1对亲虾、48尾虾苗)的基础上通过繁殖得到79 600尾虾苗,并向全国多个省(市、自治区)进行养殖推广^[5]。目前该虾的淡化养殖虾苗主要来源于长江三角洲、珠江三角洲地区,但是2010年以来长江三角地区的育苗遇到重大挫折,导致全国性的“苗荒”以及苗价的急剧攀升。不仅如此,由于对可持续发展认识的不足、海洋捕捞对环境的破坏也影响了罗氏沼虾亲虾的数量和质量^[6]。戴习林等通过养殖试验发现,同一批亲虾多次产卵,会使虾苗雌雄比例改变,最终造成虾体质量小,出苗率由第1次产卵高峰

的57.7%降低到第5次产卵高峰的40%^[7]。药物的不合理使用,使得目前罗氏沼虾苗种出现了应激能力弱、个体小等现象^[8]。罗氏沼虾亲虾越冬池的水质恶化也使罗氏沼虾的亲虾发生了质变,引起虾苗种质变差^[9]。周劲松等通过养殖试验验证了缅甸种质和浙江种质以及杂交种质罗氏沼虾的生长性能,发现杂交苗种种质好,应激能力强,活力好,最后成虾个头较大^[10-11]。Nhan等通过养殖试验进行了越南野生、越南池塘养殖、夏威夷池塘养殖、中国池塘养殖的罗氏沼虾亲虾繁殖能力和后代质量的比较,结果表明,有选择地培育适合当地环境特点的虾苗是选择虾苗的关键点^[12]。生态养殖是保证罗氏沼虾虾苗种质的前提,水质是亲虾养殖的关键^[13-14],合理利用维生素来提高母体营养,也能保障和提高虾苗质量^[15]。总体而言,通过试验与实践发现,国内种质较好的虾苗主要是来源于泰国的虾苗以及野生杂交虾苗。

2 苗种的生态培育

罗氏沼虾虾苗的淡化养殖是海虾淡养比较成功的范例,在当今的养殖需求下,生态育苗养殖成为淡化养殖较为关键的一个环节^[16]。目前,罗氏沼虾育苗主要是在大棚和温室中进行的^[17],其技术关键主要体现在水质、温度、饵料、密度等方面。其中水质是基础,在淡化过程中种苗的应激反应等主要靠水质来调节,因此罗氏沼虾生态育苗对于水质的要求极高。张瑞祺等关于循环水处理系统的研究表明,使用循环水处理系统的水质pH值为8.12~8.16,温度为30.3~30.5℃,溶解氧(DO)、氨氮等因子也更加稳定^[18]。刘杜娟等利用变性梯度凝胶电泳(DGGE)分析生物絮团对出苗率和幼体大小的影响,结果表明,生物絮团的生物效应可以改善水质,并且平均苗种存活率比对照组高28.0%^[19]。在调节水质的过程中应避免使用抗生素类药物,育苗用水要经过生物滤膜过滤、消毒,pH值以6.8~8.2为宜,总氨氮含量在0.2 mg/L以下,溶解氧含量在4 mg/L以上^[20-21]。育苗期间的适宜水温为(30±0.5)℃^[22],因各区域气温不一,且大多数区域水温在最佳育苗时间内达不到育苗所需的适宜温度,所以可使用加热棒或者锅炉加温。目前养殖密度主要是靠养殖人员的

收稿日期:2018-01-10

基金项目:国家星火计划(编号:2015GA760018)。

作者简介:肖楚康(1993—),男,湖北英山人,硕士研究生,主要从事淡水经济甲壳类养殖的研究。E-mail:2651723695@qq.com。

通信作者:阮国良,博士,教授,主要从事淡水甲壳类动物养殖技术的研究。E-mail:ruanguoliang@126.com。

经验确定,各地区不能一概而论,需要经过养殖试验验证才能找到适宜、准确的养殖密度数据^[23]。但是养殖密度不适宜会给养殖带来很大危害,育苗密度过高也会引起同类相残,池中有害物质超标^[24-26]。刘永士等研究室内养殖密度分别为150、400、550、800 ind/m³时对于水质和生长特点的影响,结果表明,室内高密度育苗养殖可根据自身条件,以150~400 ind/m³作为布苗密度参考^[27]。在饵料方面,目前一般在育苗前期以鲜活丰年虫为主,辅以蛋黄为宜,中后期以专用虾料为主,适量补喂微生物和维生素^[28]。在管理上,尽量保持水体稳定,水温不宜变化过大,虾苗淡化时间不宜过短,以3~5 d为宜,养殖期间勤换水,清污,测水质^[29]。综合而言,生态育苗就是要培育健康、无害的虾苗,并且在培育虾苗的过程中尽量对环境造成较小的伤害。

3 成虾的生态养殖

罗氏沼虾淡化养殖一般是在内陆地区,自1993年便开始大面积水域淡化养殖,1993—2001年是我国罗氏沼虾淡化养殖的蓬勃发展期,由总产量3 809 t发展到128 878 t,增长接近33倍。2002—2003年由于白体病(WTD)的影响和凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)的冲击,该虾在2003年的产量跌至87 143 t。随着WTD病原的确诊和相关诊断技术的建立,其疫病得到有效控制,养殖产量开始逐渐回升,至2008年全国总产量达到127 788 t,之后呈逐年发展的趋势^[30]。但是随着养殖时间的增长和集约化养殖的发展,罗氏沼虾养殖受环境的制约越来越大,因此发展成虾的生态养殖是必然趋势。而且,经过不断探索试验,混养模式的开发应用也让该虾在成虾养殖收益和生态环境保护上获得提升。罗氏沼虾成虾生态养殖的关键是池塘环境因子的生态控制,本研究主要从以下3个阶段对其进行综述。

3.1 养殖前期

虾苗下塘前7 d要施足有机底肥,提前5~7 d开始养水,保持水透明度为30~40 cm^[31]。挑选健康有活力的虾苗下塘养殖,下塘前要进行抗应激处理,保证虾苗下塘时水质的稳定性。养殖初期水深保持在0.8 m,通过逐步加水的方式加到1.2 m,每次换水量为30%。刚开始投喂饵料要少投多次,做到水、种、饵相结合,生态养殖,减量用药,节本增效,可根据区域特色进行混养^[32]。池塘水质因子要自始至终保持在稳定状态。刘海春等在监测江苏省高邮市多个罗氏沼虾养殖池pH值的变化规律时发现,pH值变化太大是水质不稳定的表现,正常值为6.5~8.5^[33];氨态氮是主要污染物,主要是毒性伤害;天然磷不能满足池塘需求,可以根据实际测定情况人工添加;溶解氧含量是反映池塘有机物含量的一种表现,对虾的存活率有不小的影响,应保持在4 mg/L以上^[34]。

3.2 养殖中期

养殖温度的控制是罗氏沼虾养殖中期生长的关键,罗氏沼虾不耐高温,在温度超过32℃时,可以通过加深水位至1.5 m的方式度过高温期^[35];此外,高温期是罗氏沼虾生长的快速时期,水体容易富营养化,极易产生蓝藻,应及时监测水质,常换水,观察残饵量,适量降低池水肥度并及时改变投饵量^[36]。

3.3 养殖后期

在养殖中后期应合理使用益生菌、维生素、生物絮团和微生物等来改善水质,能起到少用药、节约用水、预防疾病的效果^[37-38]。罗氏沼虾为热带、亚热带品种,对低温的适应能力较差,在水温低于14℃时难以生存,并且罗氏沼虾个体差异较明显。所以养殖到9月中下旬时采取捕大留小的方式,主要是将20 g以上的虾轮捕上市,既能改变养殖池塘的承载力,又能够让虾上市效益较好^[39]。养殖到后期,应科学预防病害,加强管理,正确使用增氧机。

4 淡化养殖的模式及效益

池塘养殖的日趋单一化和高密度化加大了养殖风险,严重破坏了水质,影响了养殖效益^[40]。由于长期养殖,土地利用变低、池塘老化、种质变差、效益大幅度下降等问题开始出现,养殖工作人员开始探索新的罗氏沼虾养殖模式。经过20多年的不断探索,罗氏沼虾开始由单一化养殖向混养的方式发展,并且取得了不错的经济效益。这些混养对象与罗氏沼虾在养殖生态上可共生^[41],如罗氏沼虾可与凡纳滨对虾、蚌类、中华鳖、青虾、泥鳅、中华绒螯蟹等共生。虾稻共作的模式不仅让罗氏沼虾养殖为农民带来了更大的效益,而且这种模式使土地利用效率实现了最大化^[42]。表1列出了几种混养模式的具体产量与产值情况。可以看出,混养模式的产量和利润相对于单一养殖模式的产量3 750 kg/hm²和利润48 255元/hm²均有不同幅度的提升。并且这些养殖模式的实践应用,不仅改变了传统养殖模式效益不稳定、不能充分利用环境资源等缺陷,同时也为罗氏沼虾生态养殖作出了巨大贡献。尤其是混养模式降低了饲料系数,提高了水体微生物利用率,降低了药物使用量^[43]。

表1 几种罗氏沼虾混养模式的产量效益比较

混养对象	罗氏产量 (kg/hm ²)	混养对象产量 (kg/hm ²)	纯利润 (元/hm ²)	参考文献
中华绒螯蟹	4 740.0	468	90 585.0	[44]
青虾	4 350.0	675	104 962.5	[45]
中华鳖	3 999.0	645	95 400	[46]
泥鳅	4 747.5	477	87 300	[47]
凡纳滨对虾	1 860.0	4 635	84 630	[48]

此外,Elj等使用摘除和移植促雄性腺的方法,获得性反转雌虾和雄虾,再经过交配,获得单性别虾进行养殖^[49]。朱春华等一直致力于罗氏沼虾虾苗培育技术研究,近年来更是将全雄性罗氏沼虾选育至第5代^[50]。全雄性罗氏沼虾模式的发展不仅可有效抑制种质变差,而且其养殖效益可得到显著提升^[51]。

值得注意的是,养殖模式的应用最好是因地制宜,才能使养殖效益最大化,养殖更生态。

5 养殖产业中的问题及其分析

罗氏沼虾在淡化养殖几十年的过程中出现过各种大小不一的问题,归纳起来主要是苗种、生态和病害等方面的问题尤为突出。

5.1 苗种问题

苗种问题一直以来是罗氏沼虾养殖者在探究的问题,栾

生等提出,品种是水产养殖的物质基础,优良品种的选择和培育是增产的有效途径^[52]。目前出现的苗种问题主要来自亲虾,亲虾越冬处理是后期虾苗孵化的关键影响因素,亲虾越冬数量和生态管理是其中的技术要点。熊国根等研究发现,亲虾越冬在标准的环境下成活率最高达到70%^[53]。但是由于野生罗氏沼虾受环境的限制和目前近亲繁育的大量发生,使得当前的罗氏沼虾苗种种质变差,出现了褪壳难、成活率低、免疫能力差和成虾个体小等问题。面对这些问题,主要方法是通过对环境保护、利用生态养殖系统的方式来养殖,同时保护亲虾的质量,提高母体营养,做到不近亲繁殖^[54]。

5.2 生态养殖问题

生态养殖是指在一定的养殖空间内,养殖者根据不同养殖生物之间的食性互补、生态位互补、物质循环、能量流动等原理,辅以相应的养殖技术和管理措施,实现不同生物互利共生,实现生态平衡,提高养殖效益的一种养殖方式。如今,随着集约化养殖发展速度的增快、养殖密度的增大,使罗氏沼虾淡化养殖出现了一系列生态危害。其中主要是由于养殖密度不合理、滥用抗生素类药物、不合理投喂造成的水质严重恶化、水体富营养化、对环境破坏大等问题。温室大棚的应用,使罗氏沼虾淡化养殖效益有了较大增长。但薛飞等试验发现,温室大棚相对密闭的空间让水质变坏速度更快,水质调节也更加难处理^[55]。目前针对以上生态养殖出现的问题,主要是通过合理规划养殖密度、健康调水、合理投饵、定期消毒等方式来调节^[56]。罗氏沼虾淡化生态养殖的成败关键在于养殖水质的好坏^[57]。

5.3 病害问题

目前罗氏沼虾发生的疾病主要分为寄生虫感染、真菌性疾病、细菌性疾病、病毒性疾病4类^[58]。其中寄生虫感染主要是累枝虫、聚缩虫和钟形虫等^[59];真菌性疾病的主要病原有酵母菌、镰刀菌^[60];细菌性疾病分为幼体弧菌感染和亲虾细菌性感染^[61];病毒性疾病常见的有肌肉白浊病和“铁壳”虾病等^[62-63]。上述疾病主要产生破坏种质、影响存活率、破坏生态、影响成虾个体大小等不良影响^[64]。这些疾病从2002年至今给罗氏沼虾淡化养殖的很多区域带来了毁灭性的伤害,如2010年江苏高邮市罗氏沼虾产业受到罗氏沼虾“铁壳”虾病影响,造成了大面积养殖严重减产,平均产量只有1 050 kg/hm²^[65]。目前针对这些疾病,国内外有大量针对病原及预防方法的研究,并取得了一定成果^[66-69]。寄生虫感染、细菌性疾病和真菌性疾病暴发的主要原因是水质变差。Yoganandhan等通过生物试验发现,罗氏沼虾白体病的病原是罗氏沼虾诺达病毒(MrNV)^[70-71]。钱冬等关于罗氏沼虾诺达病毒TAS-ELISA(人总抗氧化状态-酶联免疫吸附实验)检测法的建立及应用对于肌肉白浊病起到了很好的预防免疫作用^[72]。Rao等关于白斑综合征病毒(WSSV)宿主病原的研究对病毒性疾病研究是一种实质性的突破^[73]。安振华等关于“铁壳”虾的病因及预防方法的研究对于该病的发生有着很大的抑制作用^[74]。综上所述,罗氏沼虾疾病主要发生在亲虾和虾苗上,亲虾是病毒的重要感染源,虾苗阶段暴发疾病的概率最高,对于罗氏沼虾的疾病主要是以防为主^[75]。主要防治方法是选择无病、不带病原体的虾苗,定期消毒,定期用微生物调水,日常饲料保证营养齐全,保证水质稳定和健

康,分池捕捞时减轻虾体损伤,加强日常管理等^[76]。

6 展望

经过30余年的养殖发展,罗氏沼虾养殖从当初的淡化养殖技术积累及养殖面积推广发展到高密度、集约化养殖。但是集约化养殖存在环境不友好及技术要求高等缺陷,因而发展生态养殖或者工厂循环水养殖应该成为今后的发展方向。发展生态养殖,不仅可以使罗氏沼虾淡化养殖收到更好的效益,而且对于环境有很好的保护,能够做到长远发展;工厂化循环水养殖是一种新型高效养殖模式,以水的综合循环利用为主要特征,能够为环境友好型的水产养殖提供必要的技术支撑^[77]。此外,在着力复苏和推进罗氏沼虾淡化养殖的过程中,应加强虾类的良种选育与扩繁,创新健康养殖模式,实行标准化的养殖,罗氏沼虾的养殖效益将会朝着健康、生态和高效的方向发展。

参考文献:

- [1]魏琦.世界罗氏沼虾养殖概况[J].淡水渔业,1996,7(1):31-33.
- [2]余求妹,水柏年,谢旭,等.罗氏沼虾养殖管理问题及对策研究[J].农村经济与科技,2013,24(9):152-153,124.
- [3]周俊名,戴习林,蒋飞,等.池养罗氏沼虾生长缓慢原因初步分析[J].上海海洋大学学报,2017,4(6):853-861.
- [4]卢小花,江林源,黄光华,等.罗氏沼虾幼体质量对育苗影响的研究[J].科学养鱼,2011(1):7-8.
- [5]刘恩生,万全.罗氏沼虾的养殖现状与发展前景(综述)[J].安徽农业大学学报,1997,12(2):85-88.
- [6]Ahmed,Nesar,Troell,et al. Fishing for prawn larvae in Bangladesh: an important coastal livelihood causing negative effects on the environment[J]. Ambio,2010,39(1):36-39.
- [7]戴习林,王海洋,过正乾,等.罗氏沼虾多次产卵对子代生长与遗传结构的影响研究[J].上海海洋大学学报,2016,25(4):488-496.
- [8]杨明,丁福江.罗氏沼虾产业健康发展措施初探[J].上海农业科技,2014(3):62,70.
- [9]严银龙,刘建忠,吴锦忠,等.提高罗氏沼虾育苗成活率的主要技术措施[J].水产科技情报,1998,66(2):46-48.
- [10]周幼松,曹哲明,杨国梁,等.罗氏沼虾缅甸引进种和浙江本地种及其杂交种的生长性能与SRAP分析[J].中国水产科学,2006,13(4):667-673.
- [11]史建华,肖雨,徐琴英.罗氏沼虾引种复壮技术的研究[J].水产科技情报,2001,28(2):64-67.
- [12]Nhan D T,Wille M,Hung L T,et al. Comparison of reproductive performance and offspring quality of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) broodstock from different regions[J]. Aquaculture,2009,298(1/2):36-42.
- [13]刘晓倩.罗氏沼虾人繁种苗技术研究[J].科学养鱼,2014(1):11-12.
- [14]谢芹,江敏,胡成枫,等.罗氏沼虾亲虾越冬池中不同基质上微生物群落多样性分析[J].微生物学通报,2017,44(2):336-347.
- [15]Pakdeenarong N,Damrongphol P. Effects of all-trans retinoic acid on germ cell development of embryos and larvae of the giant freshwater prawn,*Macrobrachium rosenbergii*[J]. Biologia,2006,61

- (5):621-625.
- [16]江林源,黄光华,卢小花,等. 罗氏沼虾健康育苗技术研究[J]. 南方农业学报,2011,42(4):446-449.
- [17]杨琼,黄光华,黄立彬,等. 罗氏沼虾生态育苗技术[J]. 科学养鱼,2015,12(2):9.
- [18]张瑞祺,苏建,鞠波,等. 筒装循环水处理系统处理罗氏沼虾育苗废水的效果[J]. 南方农业学报,2016,47(1):140-146.
- [19]刘杜娟,潘晓艺,尹文林,等. 生物絮团在罗氏沼虾育苗中的应用[J]. 上海海洋大学学报,2013,22(1):47-53.
- [20]辛建美,李倩,周志明,等. 罗氏沼虾育苗系统中生物滤池对水质的净化作用[J]. 环境化学,2014,33(5):850-854.
- [21]姜增华,周学金,丛宁. 罗氏沼虾育苗水质研究的若干进展[J]. 福建水产,2009,12(1):60-64.
- [22]陆锦天,林惠山. 罗氏沼虾规模性育苗的水质标准及水质优化技术[J]. 水产科技情报,2001,28(4):157-160,162.
- [23]陈建酬,高腾,张济培,等. 养殖密度和投饵策略对罗氏沼虾幼体生长发育的影响[J]. 江西农业学报,2017,29(1):92-95.
- [24]戴习林,周梦颖,鞠波,等. 养殖密度对罗氏沼虾生长、性别分化与性腺发育的影响[J]. 水产学报,2016,40(12):1874-1882.
- [25]吴锐全,肖学铮,黄樟翰,等. 罗氏沼虾养殖密度与产量关系的研究[J]. 淡水渔业,2000,30(3):8-10.
- [26]Nhan D T, Wille M, Hung L T, et al. Effects of larval stocking density and feeding regime on larval rearing of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) [J]. Aquaculture, 2010, 300(1/2/3/4):80-86.
- [27]刘永土,臧维玲,侯文杰,等. 室内罗氏沼虾幼虾养殖密度对水质与生长的影响[J]. 上海海洋大学学报,2010,19(2):184-189.
- [28]王辅宏. 罗氏沼虾饵料投喂技术[J]. 科学种养,2008,66(10):41-42.
- [29]江敏,臧维玲,陈飞舟,等. 罗氏沼虾育苗水质变动因子及处理技术的研究[J]. 水产科技情报,1999,22(5):195-201.
- [30]杨国梁,陈雪峰,王军毅,等. 罗氏沼虾产业在中国持续增长的经济与社会原因分析[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版),2011,30(5):450-457.
- [31]李学慧. 罗氏沼虾池塘无公害健康养殖试验[J]. 云南农业,2016,27(8):53-55.
- [32]杨大伟,种. 饵相结合的罗氏沼虾高效养殖之路[J]. 渔业致富指南,2013,12(18):37-39.
- [33]刘海春,刘志国,董学洪. 罗氏沼虾养殖池塘水质变化规律研究[J]. 江苏农业科学,2011,39(6):397-399.
- [34]杨明,丁福江,戴习林. 池塘精养罗氏沼虾生长特性研究[J]. 水产科技情报,2017,44(5):229-235.
- [35]陈正兴,董学洪,马建社. 高温季节罗氏沼虾养殖技术管理要点[J]. 水产养殖,2016,37(8):48-49.
- [36]董学洪. 高温季节罗氏沼虾塘口管理要点[J]. 科学养鱼,2008,12(8):37.
- [37]朱锦裕,卜弘毅,胡冲冲,等. 泼洒糖蜜对池塘养殖罗氏沼虾生长和水质的影响[J]. 水产科学,2017,36(2):202-206.
- [38]Asaikkutti A, Bhavan P S, Vimala K. Effects of different levels of dietary folic acid on the growth performance, muscle composition, immune response and antioxidant capacity of freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Aquaculture, 2016, 464(6):136-144.
- [39]元绿. 罗氏沼虾成虾养殖方法[J]. 农家之友,2011,12(4):22.
- [40]姜增华,丛宁,周学金. 扬州市罗氏沼虾养殖模式比较研究[J]. 河北渔业,2008,12(5):36-37,45.
- [41]张清毅,李敦岳,倪良良. “1+1+2”养殖模式在罗氏沼虾养殖上的运用[J]. 渔业致富指南,2010,40(3):49-50.
- [42]郭水荣,孙逢明,陈凌云,等. 南美白对虾与罗氏沼虾淡水池塘混养试验[J]. 科学养鱼,2017(1):33-34.
- [43]黄翠,胡忠军,刘其根. 淡水池塘虾蚌混养对浮游甲壳动物群落结构的影响[J]. 上海海洋大学学报,2014,23(2):186-192.
- [44]叶金明,孙桂尧,董学洪,等. 罗氏沼虾与河蟹混养技术[J]. 水产养殖,2013,34(3):34-35.
- [45]叶金明,马建社,董学洪,等. 罗氏沼虾与青虾轮茬养殖技术[J]. 水产养殖,2011,32(9):36.
- [46]徐培品,谢俊刚,翁如柏. 罗氏沼虾与中华鳖生态混养技术[J]. 海洋与渔业,2017,5(4):51-53.
- [47]马建社,张敏,董学洪,等. 罗氏沼虾池套养泥鳅高效养殖模式[J]. 科学养鱼,2015(12):26-27.
- [48]江山. 南美白对虾与罗氏沼虾混养增效益[J]. 科学养鱼,2017,22(2):31-32.
- [49]Eli D, Afialo, Raju V N, et al. Neo-females production and all-male progeny of a cross between two Indian strains of prawn (*Macrobrachium rosenbergii*): population structure and growth performance under different harvest strategies [J]. Aquaculture, 2014, 26(17):428-429.
- [50]方琼玖. 朱春华:全雄性罗氏沼虾已选育到第五代[J]. 海洋与渔业,2017(9):52-53.
- [51]徐承旭. 吴江攻克罗氏沼虾繁育难题雌虾变雄亩增千元[J]. 渔业致富指南,2000(15):9.
- [52]栾生,孔杰,王清印,等. 水产动物育种分析与管理系统的开发和应用[J]. 海洋水产研究,2008,29(3):92-100.
- [53]熊国根,裴建明,陈文静,等. 罗氏沼虾亲虾越冬及产前培育技术[J]. 江西水产科技,2000,12(4):25-28.
- [54]张峰,曹文元. 罗氏沼虾高产高效养殖实例[J]. 科学养鱼,2013(4):27.
- [55]薛飞,梁云安,李映明,等. 温室大棚培育大规格罗氏沼虾苗试验报告[J]. 中国农业信息,2016,12(5):123-124.
- [56]薛飞,梁云安,李映明,等. 罗氏沼虾生态立体养殖试验[J]. 养殖与饲料,2016,65(2):8-9.
- [57]熊燕. 罗氏沼虾常见疾病的发生与防治[J]. 现代农业科技,2015,39(8):288-289.
- [58]徐洋,沈锦玉,姚嘉赟,等. 罗氏沼虾主要病害研究概况[J]. 生物学杂志,2012,29(6):74-76.
- [59]邓勇辉,熊国根,周智勇,等. 罗氏沼虾常见病及其防治技术[J]. 江西水产科技,2002,45(2):44-45.
- [60]孙玉华,孙其焕. 罗氏沼虾亲虾暴发性疾病病原的研究及防治[J]. 水产学报,1998,15(1):57-61.
- [61]叶星,祁宝伦,潘德博. 广东罗氏沼虾育苗中幼体大量死亡原因初探[J]. 中国水产科学,1998,1(3):120-122.
- [62]徐洋,沈锦玉,姚嘉赟,等. 长三角地区罗氏沼虾成虾主要疾病的病原研究[J]. 淡水渔业,2012,42(5):27-32.
- [63]熊良伟,王帅兵,王洲. 罗氏沼虾几种常见疾病的防治技术[J]. 河北渔业,2006,45(4):49-50.
- [64]姚邵云,高继昌,鲍振海. 罗氏沼虾暴发病病因及防治初探[J]. 科学养鱼,2005(11):54.
- [65]袁锐,张朝晖,陈辉,等. 罗氏沼虾“铁壳”现象及其防控研究进展[J]. 水产科学,2017,36(3):383-390.
- [66]Bonami J R, Shi Z, Qian D, et al. White tail disease of the giant

李钰华,李爽,盖颖. 毛白杨木葡聚糖内转糖苷酶/水解酶 *PtoXTH35* 原核可溶性表达方法研究[J]. 江苏农业科学,2019,47(8):33-36. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.08.007

毛白杨木葡聚糖内转糖苷酶/水解酶 *PtoXTH35* 原核可溶性表达方法研究

李钰华,李爽,盖颖

(北京林业大学生物科学与技术学院/林木育种国家工程实验室,北京 100083)

摘要:从毛白杨中克隆得到木葡聚糖内转糖苷酶/水解酶 *PtoXTH35* 基因,根据 SignalIP 在线软件预测蛋白信号肽,并分别构建至 pET28a、pET32a、pGEX-4t-1、pMAL-c5e、pET 43.1a 等 5 种原核表达载体,经双酶切和测序验证后转化至 BL21(DE3)感受态,使用终浓度为 0.4 mmol/L 的异丙基- β -D-硫代吡喃半乳糖苷(IPTG)诱导其表达目的蛋白。经 SDS-PAGE 检测,结果表明 5 种载体均可表达目的蛋白,pET28a、pET32a、pGEX-4t-1 等 3 种载体所表达蛋白均以包涵体的形式存在,而 pMAL-c5e 和 pET 43.1a 载体携带蛋白表达量高并且所表达蛋白 50% 为可溶性蛋白,实现了毛白杨 *PtoXTH35* 在原核表达系统中的高效可溶性表达,该试验为后续进一步研究毛白杨 *PtoXTH35* 的体外功能奠定了基础。

关键词:毛白杨;木葡聚糖内转糖苷酶/水解酶;原核表达;包涵体;可溶性蛋白

中图分类号: S792.117.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)08-0033-04

在植物的生长发育以及抵御生物和非生物胁迫过程中,细胞壁发挥着不可忽视的作用。在双子叶植物的初生细胞壁中,木葡聚糖以非共价键的形式与纤维素相连,从而形成了初生细胞壁当中主要的张力承载结构,木葡聚糖水解酶(xyloglucan endohydrolase, XEH)可以快速催化木葡聚糖的水解从而实现细胞壁的膨胀^[1]。Albersheim 等做出假设认为在植物细胞生长过程中还存在一种糖苷内部转移酶,将多糖链

的一部分转移至自身的其他位置^[2]。随后 Fry 等率先发现了一种蛋白可以在快速生长的植物细胞当中催化木葡聚糖链的断裂以及重连,并命名为木葡聚糖内转糖苷酶(xyloglucan endotransglycosylase, XET)^[3],XET 和 XEH 共同组成了木葡聚糖内转糖苷酶/水解酶(xyloglucan endotransglycosylase/hydrolase, XTH)家族,被认为是一种细胞壁松弛酶,在植物生长过程中以及抵御外界胁迫过程中参与了细胞壁重构。XTH 是一类庞大的多基因家族,属于碳水化合物活性酶家族数据库(CAZy)中的糖苷水解家族 GH16。在毛果杨、拟南芥中已经发现了该基因家族中分别含有 41、33 个成员^[4],根据 XTH 蛋白编码的氨基酸序列以及蛋白质的结构可以将它们分为 I、II、III 等 3 类,其中 I 和 II 类具有糖基转移酶活性,III 类具有糖苷水解酶活性^[5]。

目前对于 XTH 的研究主要集中在对该基因家族成员的

收稿日期:2018-01-15

基金项目:国家自然科学基金(编号:31300498)。

作者简介:李钰华(1992—),女,山西临汾人,硕士研究生,主要从事生物化学与分子生物学研究。E-mail:liyuhua921216@163.com。

通信作者:盖颖,博士,副教授,主要从事生物化学与分子生物学研究。E-mail:gaiying@bjfu.edu.cn。

freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*: separation of the associated virions and characterization of MrNV as a new type of nodavirus[J]. Journal of Fish Diseases, 2005, 28(1): 23-31.

[67] Bonami J R, Widada J S. Viral diseases of the giant fresh water prawn *Macrobrachium rosenbergii*: a review [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2010, 106(1): 131-142.

[68] 姜兰,邓国成,石存斌,等. 罗氏沼虾肌肉白浊病病原研究[J]. 水生生物学报, 2002, 26(5): 477-482.

[69] Arockiaraj J, Vanaraja P, Easwaran S, et al. Gene profiling and characterization of arginine kinase-1 (MrAK-1) from freshwater giant prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) [J]. Fish and Shellfish Immunology, 2011, 10(1): 31-33.

[70] Yoganandhan K, Leartvibhas M, Sriwongpuk S A. White tail disease of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* in Thailand [J]. Diseases of Aquatic Organisms, 2006, 69(2/3): 255-258.

[71] 钱冬,杨国梁,刘问,等. 罗氏沼虾肌肉白浊病原的初

步研究[J]. 水生生物学报, 2002, 26(5): 472-476.

[72] 钱冬,刘问,潘晓艺,等. 罗氏沼虾诺达病毒 TAS-ELISA 检测法的建立及应用研究[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2006, 32(4): 377-382.

[73] Rao R, Bhasu S, Bing R Z, et al. A transcriptome study on *Macrobrachium rosenbergii* hepatopancreas experimentally challenged with white spot syndrome virus (WSSV) [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2016, 136(5): 10-22.

[74] 安振华,孙龙生,陈佳毅. 罗氏沼虾“铁壳”现象出现原因探究[J]. 科学养鱼, 2014(1): 56-58.

[75] 王磊. 罗氏沼虾养殖常见疾病防治技术[J]. 水产养殖, 2011, 32(2): 48-50.

[76] 张水波. 罗氏沼虾常见疾病及防治[J]. 渔业致富指南, 2002(18): 39-40.

[77] 张晓双,傅玲琳,吕振明,等. 国内外循环式工厂化水产养殖模式研究进展[J]. 饲料工业, 2017, 38(6): 61-64.