

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20201208003

http://www.yykxjz.cn/

丁君, 韩泠姝, 常亚青. 水产动物种质创制新技术及在海参、海胆遗传育种中的应用. 渔业科学进展, 2021, 42(3): 01-16  
Ding J, Han LS, Chang YQ. Application of germplasm innovation technology in sea cucumber and sea urchin genetic breeding. Progress in Fishery Sciences, 2021, 42(3): 01-16

# 水产动物种质创制新技术及在海参、海胆遗传育种中的应用\*

丁君<sup>1①</sup> 韩泠姝<sup>2</sup> 常亚青<sup>1①</sup>

(1. 大连海洋大学 农业农村部北方海水增养殖重点实验室 大连 116023;  
2. 宁波大学海洋学院 宁波 315832)

**摘要** 随着现代遗传育种理论和生物技术的不断发展与创新,水产育种技术也开始从传统的选择育种、杂交育种技术,逐渐向与分子标记辅助育种、细胞工程育种、全基因组选择育种、分子设计育种、性别控制、基因转移以及基因编辑等现代分子辅助育种技术相结合的方向发展。虽然,我国水产种业已经形成并蓬勃发展,但仍存在良种覆盖率低、研究深度不够等问题和挑战。本文在国内外研究的基础上,重点综述了棘皮动物(海参和海胆)的种质资源概况、水产养殖育种新技术及在经济棘皮动物中的应用,并对海参、海胆养殖业提出了建议,以期合理开发我国经济棘皮动物种质资源提供参考,推动水产养殖业绿色发展。

**关键词** 种质创新技术; 海参; 海胆; 遗传育种

**中图分类号** Q953+1 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2021)03-0001-16

随着经济和科技的发展、人口增长对水产品需求的增加以及基础建设和科研经费的投入,水产养殖行业迅速发展(Bostock *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2017)。截至2019年,我国水产养殖面积为 $7.1 \times 10^6$  hm<sup>2</sup>,养殖产量为5079.07万t,年养殖产值为9761.89亿元(农业农村部渔业渔政管理局等, 2019)。水产种质资源是我国渔业生产的重要物质基础和人类重要的食物蛋白源,然而,随着养殖技术的发展和市场需求的增多,养殖密度不断增加,栖息地环境恶化、苗种混杂,使现有品种种质退化、生长缓慢、抗逆性降低。因此,种质创制已成为我国水产养殖业研究的重点之一。

“发展养殖,种业先行”是养殖业一条亘古不变

的法则。种质创制在水产养殖中发挥着重要的作用,良种培育的突破性成果给水产养殖产业带来巨大的发展和提高。种质创制新技术是国内外最为活跃的研究领域之一,随着生物工程技术在水产动物遗传育种中发挥重要作用,逐步建立了多倍体诱导、雌核发育、性别调控、转基因等细胞工程育种技术。高通量测序技术的发展及分子标记的批量开发为分子辅助育种及全基因组育种提供了重要的平台(常亚青等, 2013; 张晓娟等, 2019)。本文重点介绍了棘皮动物(海参和海胆)的种质资源概况、水产养殖种质创制新技术的研究进展以及在经济棘皮动物中的研究现状,探讨了种质创制新技术在水产养殖及经济棘皮动物中的应用以及未来的发展方向。

\* 国家重点研发计划课题(2018YFD0901601)和辽宁省高等学校创新团队及创新人才支持计划项目(LT2019003)共同资助 [This work was supported by National Key Research and Development Program of China (2018YFD0901601), and Program for Liaoning Innovative Research Team in University (LT2019003)].

① 通讯作者: 丁君, 研究员, E-mail: dingjun19731119@hotmail.com; 常亚青, 教授, E-mail: yqchang@dlou.edu.cn  
收稿日期: 2020-12-08, 收修改稿日期: 2020-12-30

## 1 棘皮动物种质资源概况

海参、海胆分别属于棘皮动物门海参纲(Holothuroidea)、海胆纲(Echinoidea),全球有记录的海参约有1000多种、海胆约有850种。海参纲、海胆纲中有较多的经济物种,2019年中国海参养殖年产量达到171700 t,海胆养殖年产量已达8243 t(农业农村部渔业渔政管理局等,2019)。

### 1.1 海参

海参分布于全球各大洋,主要在热带区和温带区,绝大多数进行底栖生活。温带区海参资源呈单种性,热带区海参资源则呈多种性。目前,世界海参产

量的86%来自热带区,其中,印度洋-西太平洋区是世界上海参种类最多、资源量最大的区域(姜健等,2004; Conand *et al.*, 2010)。中国约有海参120余种,沿海各省均有分布,其中经济价值较高的有10余种(表1),主要分布于温带区和热带区,刺参(*Apostichopus japonicus*)是最主要的经济种类。

### 1.2 海胆

海胆广泛分布于世界各海域中,营底栖生活。自寒带至热带,从潮间带的浅水区到水深5000 m的深海区,均能见到它们的踪迹。中国已记录的海胆有8目26科60属93种,分布于我国山东、辽宁、浙

表1 我国常见海参的种类、形态特征及分布

Tab.1 Species, morphological characteristics and distribution of common sea cucumbers in China

种类 Species	形态特征 Morphological characteristics	分布 Distribution
刺参 <i>Apostichopus japonicus</i>	体呈圆筒状,背面隆起,上有4~6行大小不等、排列不规则的圆锥形疣足(肉刺)。腹面平坦,管足密集,排列成不规则的三纵带。口偏于腹面,具触手20个。肛门偏于背面。呼吸树发达,无居维氏器。	辽宁、山东、河北等北方沿海
梅花参 <i>Thelenota ananas</i>	俗名凤梨参。体形大,背面疣足很大,呈肉刺状,肉刺基部相连,呈梅花状。	海南、广东、西沙群岛等地
花刺参 <i>Stichopus variegatus</i>	体稍呈四方柱形状,背面散布许多小疣足,排列不规则。腹面管足排列为三纵带,中央带较宽。口偏于腹面,具触手20个。肛门端位,周围没有疣。体色变化大。疣足末端常呈红色。	台湾、海南、雷州半岛、西沙群岛
糙刺参 <i>Stichopus horrens</i>	体呈圆筒状,背面具有大的疣足,沿着背面的2个步带区和腹步带排列成4个不规则的纵行。口大,偏于腹面,具触手20个,有发达的疣足襟部,肛门偏于背面,周围没有疣。腹面管足成二纵带排列,中央带较宽。	台湾、海南、西沙群岛等地
绿刺参 <i>Stichopus chloronotus</i>	体呈四方柱。沿着身体两侧缘和背面步带各有两行交互排列的圆柱形疣足。腹面管足密集,排列为三纵带,中央带较宽。口大,偏于腹面,具触手20个。肛门偏于背面,周围没有疣。	海南、西沙群岛
蛇目白尼参 <i>Bohads chiaargus</i>	体呈圆筒状,生活时,体长为400 m,宽约为10 cm,口偏于腹面,具触手20个。肛门体后端,开口很大。波里氏囊2个,石管1个。居维氏器发达。疣足很小,散布于背面。管足很多,不规则地分布于腹面。体呈浅黄色或浅褐色,背面有许多蛇目状斑纹,排列为不规则的纵行。	西沙群岛等地
黑海参 <i>Halodeima atraatru</i>	体圆筒状,前端较细。口偏于腹面,具触手20个。背面疣足小,腹面管足较多,排列也无规则。无居维氏器。肛门端位。生活在珊瑚礁区。	台湾、海南、西沙群岛
辐肛参 <i>Acinarlecg rara</i>	体呈椭圆形。口偏于腹面,具触手20个,肛门偏于背面,周围有5个钙质齿。背面隆起,表面光滑,仅具稀疏的管足。腹面平坦,管足呈三纵带排列,中央带管足较稀,排列较宽,2侧带管足较多,排列较窄。生活时,体色很明显,背面为褐色到黑褐色,并有不规则的灰白色横斑,或黑斑,肛门附近有界限分明的浅色区。	西沙群岛

续表 1

种类 Species	形态特征 Morphological characteristics	分布 Distribution
白底辐肛参 <i>Actinopyga mauritiana</i>	口大, 偏于底面。触手大, 为 25~27 个, 排列为不规则的内、外 2 圈; 生活时, 围绕触手的疣襟部常表现清楚。背面隆起, 散布一些小疣足, 围绕各疣足基部常有一个白色环, 身体后端的白色环尤为明显。腹面平坦, 密布许多管足, 小个体腹面管足明显排成三纵带, 大个体管足排列常无规则。	台湾南部、海南岛南部、西沙群岛和南沙群岛
棘辐肛参 <i>Actinopyga echinites</i>	口偏于腹面, 具触手 20 个。肛门稍偏于背面, 周围有 5 个白色钙质齿。背面密布许多锥形疣足, 排列无规则。腹面平坦, 管足很多, 排列为 3 纵带。	台湾、广东、海南和西沙群岛
乌皱辐肛参 <i>Actinopyga miliaris</i>	体呈圆筒形。背腹面明显有别。口偏于腹面, 具触手 20 个。肛门端位, 周围有明显 5 个钙质齿。体壁厚。背面散布一些不规则的小疣足。腹面管足排列为三纵带。	海南和西沙群岛
黑乳参 <i>Microthele nobilis</i>	大型种, 体长一般为 30 cm, 宽约为 6 cm。体宽而厚, 两端钝圆。口小, 偏于腹面, 具触手 20 个。肛门稍偏于背面, 周围有 5 个钙化疣, 各疣周围有一小圈小疣。背面有分散的小疣足, 2 侧各有几个大的乳房状突起, 这种突起加工成干海参后有时很显著。腹面管足多而密集, 排列无规则。体壁厚。	台湾、海南和西沙群岛
虎纹海参 <i>Holothuria peticar</i>	体呈圆筒状, 口偏腹面, 具触手 20 个, 肛门偏背面。背面散布有小而稀疏的管足。腹面管足多而密集, 排列无规则。生活时, 体色美丽; 背面为浅褐色, 有 6~8 个暗褐色横斑和浅色疣足, 横斑中央的疣足常较大而明显。腹面为灰白色。触手为白色, 稍透明。	福建南部广东中部和西部、海南、西沙群岛
糙海参 <i>Holothuria scabra</i>	大型种, 最大者体长可达 70 cm, 口小, 偏于腹部, 具有小型触手 20 个。肛门端位, 周围有 5 组细疣。背面疣足小, 且数目不多; 腹面管足呈疣足状, 小而稀疏, 背面和腹面交界处常有一行边缘腹侧疣。沿着腹面中央有一条明显的纵沟。体壁厚, 体色变化很大, 疣足基部常为白色, 背中部色泽较深, 两边较浅, 腹面则逐渐变为白色。	广东、海南
米氏海参 <i>Holthuria moebii</i>	体呈圆筒状。背面少数疣足。腹面的足发达而密集。口偏于腹面, 具触手 20 个。各触手不仅顶端有分枝, 稍下方也有分枝, 故伸展时稍呈树枝状, 但与瓜参科的枝状触手不同。肛门偏于腹面, 周围有少数细疣。体壁柔软, 管足内有特殊的“H”形骨片。全体为黑褐色, 腹面色泽略浅。	福建南部沿岸
图纹白尼参 <i>Bohadshiu marmorata</i>	口偏于腹面, 具触手 20 个。肛门位于末端, 周围有 5 组细疣。体呈圆筒状。背面有许多分散的疣足。腹面管足较多, 排列不规则。背面常有几个深色大斑块, 组成地图般的花纹。	海南岛南端、西沙群岛

江、福建和广东沿海一带(杜俊义, 2005; Massin *et al.*, 2000)。目前, 已被较好开发并能形成规模性渔获量的经济种类不超过 30 种, 其中, 已开展规模养殖和研究的品种约有 7 个(表 2)。

## 2 海参、海胆遗传育种应用基础与技术研发

水产养殖产量下降与物种近交衰退及病害直接相关, 且产量和效益取决于其遗传资源的利用率。因此, 了解水产动物的生物学特性至关重要, 许多在产业中影响较大的水产养殖品种, 便是在对其遗传背景

充分了解的基础上培育而成的。刺参具有再生、夏眠、应激排脏、离水后由肛门排水和身体伸缩变形等特殊生理习性和应激反应; 海胆性腺中 n-3、n-6 不饱和脂肪酸含量丰富。开展上述海参、海胆特征遗传性状基础解析及其性状测量技术研发, 对海参、海胆种质创制至关重要。

### 2.1 分子标记开发、遗传连锁图谱构建与全基因组测序

分子标记辅助育种(Molecular marker-assisted breeding, MAS)是借助与性状紧密相关的分子标记对

表 2 我国常见海胆的种类、形态特征及分布

Tab.2 Species, morphological characteristics and distribution of common sea urchin in China

种类 Species	形态特征 Morphological characteristics	分布 Distribution
中间球海胆 <i>Strongylocentrotus intermedius</i>	外壳呈低半球形，壳高略小于壳径的 1/2，体型中等，成体的最大壳径可达 90 mm。口面平坦且稍向内凹，反口面隆起稍低，顶部比较平坦。步带区与间步带区幅宽不等，赤道部以上步带区幅宽约为间步带区的 2/3。两区因隆起程度不同，壳形自口面观接近于圆形的圆滑正五边形。	日本北海道和俄罗斯的远东等地沿海及中国北方沿海
马粪海胆 <i>Hemicentrotus pulcherrimus</i>	外壳为低半球形，壳很坚固，壳高约为壳径的 1/2，最大壳径约为 60 mm。口面稍向内凹，反口面的隆起程度稍低，顶部较平坦。步带区与间步带区幅宽相等，但膨起程度不同，间步带区比步带区略高，壳形自口面观为类似圆形的圆滑正五边形。	中国及日本沿海
光棘球海胆 <i>Strongylocentrotus nudus</i>	外壳呈半球形，壳高略大于壳径的 1/2，最大壳径可达 100 mm，口面平坦，围口部稍向内凹；反口面比较隆起，顶部呈圆弧形。步带区与间步带区幅宽不等，赤道部以上的步带幅宽约为间步带的 2/3，步带至口面逐渐展宽，围口部周围的宽度可等于甚至略宽于间步带。步带区与间步带区的膨起程度相似，壳形口面观为圆形。	西北太平洋沿岸水域、辽东半岛、山东半岛的黄海一侧海域以及渤海海峡的部分岛礁周围
白棘三列海胆 <i>Tripneustes gratilla</i>	外壳半球形，壳高略大于壳径的 1/2。口面比较平坦，围口部大而凹陷，反口面较隆起，顶系大，凸起程度较高，顶部膨起为低圆丘形。步带区与间步带区幅宽不等，间步带区明显宽于步带区，步带区宽度约为间步带区的 4/5。2 区的膨起程度不同，因而壳形自口面观为接近于圆形的圆滑正五边形。	印度洋和西太平洋区域内分布广，日本南部、澳大利亚、夏威夷等地沿海都产，在中国主要分布于南海海域
紫海胆 <i>Anthocidaris erassispina</i>	壳均呈黑紫色。大棘针形，末端尖锐，长度等于壳的直径，有时会出现 2 侧大棘不均等现象，一侧大棘比相对一侧大棘偏长。本种海胆外形上与光棘球海胆相似，但紫海胆的管足孔每 7~9 对排成一个弧(多为 8 对，管足内骨片呈弓形，两端细尖，背部常有一个突起；步带区至围口部稍微下凹(光棘球海胆则恰恰相反；有孔带至围口部边缘渐渐扩宽成瓣状；大疣较少，步带和间步带各有大疣。	太平洋北部、浙江、福建、厦门、广东等地沿海
细雕刻肋海胆 <i>Temnopleurus toreumaticus</i>	壳形和棘的颜色变化大，外壳从呈低半球形到高圆锥状，棘为浅灰褐色并带有紫褐色的环状斑纹、黑绿色带浅色横斑或浅黄褐色带红紫色斑纹。壳径一般为 4~5 cm，步带稍隆起，宽度约为间步带的 2/3。步带板赤道部以上的水平缝合线上有一较深的三角形凹痕，凹痕的边缘整齐。管足孔 3 对排列成一个弧。顶系稍凸起。各生殖板上有很多小疣。眼板都不接触围肛部。	印度-西太平洋区最普遍的一种，也是我国分布范围最广的种类，在中国北起辽宁、南到海南岛，从北到南的大部分海区都有其自然种群分布
哈氏刻肋海胆 <i>Temnopleurus hardwickii</i>	外形与细雕刻肋海胆极其相似，只是本种的大棘上无深色环状斑纹，步带板水平缝合线上的凹痕边缘更倾斜，内端的凹陷及其步带板也比细雕刻肋海胆的更深些。	中国自然分布水域比细雕刻肋海胆偏北，主要分布在浙江省嵊泗列岛以北的中北部海域

具有性状优势的等位基因或基因型的个体进行直接选择育种，是分子生物学和基因组学的研究成果应用到水产养殖品种选育的技术(鲁翠云等, 2019)。

利用 SSR (Simple sequence repeats)分子标记技术，对扇贝“渤海红”、墨西哥湾扇贝(*Argopecten irradians concentricus*)及其杂交子代 3 个群体共 90 个

个体的遗传多样性进行分析,结果可为扇贝“渤海红”和墨西哥湾扇贝群体种质资源评估和杂交新品种的选育提供理论参考(姚高友等, 2020)。廖梅杰等(2021)利用 SSR 指纹图谱技术对中、韩、俄不同地区刺参群体进行遗传多样性分析和指纹图谱构建,构建的指纹图谱可将 8 个群体分开,为刺参种质资源保护及不同地理种群刺参的鉴别提供技术支撑。

卢超等(2010)应用微卫星富集文库——菌落原位杂交的方法,筛选得到 33 个刺参的微卫星标记。利用 48 个野生刺参个体对 33 个微卫星位点进行评价,结果显示,位点都具有多态性,表明富集文库—菌落原位杂交法筛选微卫星标记比较高效,获得的微卫星标记可以用于刺参的分子遗传学研究。

丁君等(2008)采用磁珠法从中间球海胆基因组中分离富集微卫星 DNA,获得 160 个阳性克隆和 108 个微卫星序列,并对其特征进行了分析。在此基础上,根据微卫星位点的侧翼序列,通过筛选,采用其中的 12 对微卫星 DNA 标记对大连凌水、大连獐子岛、山东荣成 3 个中间球海胆养殖群体的遗传多样性进行了分析。Yan 等(2010)也分离并鉴定了 61 个海胆微卫星标记,所开发的多态性标记已用于选择育种亲本的选择。

QTL 辅助育种是通过遗传标记与性状之间的相关性分析,将一个或多个 QTL 定位到染色体的遗传标记之间,并据此标记进行分子标记辅助育种的方法,其基础是高密度遗传连锁图谱。

在遗传连锁图谱构建方面, Li 等(2009)选择 37 个扩增片段长度多态性(AFLP)引物组合,确定了刺参亲本 484 个多态性标记,生成的图谱将作为构建高分辨率遗传图谱以及绘制功能基因和定量性状基因座的基础,为刺参应用标记辅助选择育种策略开辟道路。Yan 等(2013)基于刺参 2 个  $F_1$  家族微卫星和 SNP 标记构建了刺参的共有遗传图谱,雄性连锁图包括 157 个基因座,跨度为 1244.9 cM,而雌性连锁图包括 153 个基因座,跨度为 1399.1 cM,共有图谱中鉴定出 22 个连锁群,与刺参的单倍体染色体数一致。刘安然等(2019)利用已构建的刺参高密度遗传连锁图谱,初步定位了体长、体宽、体重、棘刺总数和存活天数(抗病力) 5 个性状相关的 9 个 QTL 区域,获得 81 个 SLAF 标签。Tian 等(2015)采用 2b 限制性位点相关的 DNA 测序(2b-RAD)方法构建了共有 7839 个标记,覆盖率达到 99.57% 的高密度、高分辨率的海参遗传图谱(这是棘皮动物中最高的标记密度), QTL 作图和关联分析一致捕获了一个位于连锁群(LG)5 的 5 cM 区域的与生长相关的 QTL,结果表明,涉及精细 QTL 定位和标记辅

助选择(MAS)的强大研究工具将促进染色体分配并改善海参的全基因组装配。

Zhou 等(2015)构建了光棘球海胆和中间球海胆 2 种海胆的遗传图谱,为后续开展 QTL 分析和群体遗传学研究提供了便利。Chang 等(2018)构建了包含 21 个连锁群的中间球海胆的高密度遗传图,检测到 33 个潜在的 QTL,并据此开发了与中间球海胆生长性状、性腺性状相关的 KASP 标记,已应用于新品种开发。

近年来,随着大规模测序成本不断降低,海胆、海参全基因组测序相继完成,为全基因组选择育种技术的研发提供了保证。2006 年 11 月 9 日,休斯敦贝勒医学院(Baylor College of Medicine, BCM-HGSC)人类基因组测序中心宣布完成对紫球海胆(*Strongylocentrotus purpuratus*)基因组测序,其序列长约为 814 Mb,编码约 23300 个基因,此后,绿海胆(*Lytechinus variegatus*)、马粪海胆的基因组序列也分别于 2016 年、2018 年被报道(Erica *et al.*, 2006; Sergiev *et al.*, 2016; Kinjo *et al.*, 2018)。自 2012 年起,中国学者相继破译了数十种水产养殖生物的全基因组序列。Zhang 等(2017)和 Li 等(2018)完成了刺参全基因组测序,构建了刺参全基因组的精细图谱,基因组组装全长为 800~950 Mb,编码约 29000~30350 个基因,助推了刺参重要经济性性状解析、全基因组选择育种和分子标记育种。

## 2.2 经济性状评测

育种目标的选择、育种方案的制定与经济性状评测技术的发展紧密相关,畜禽动物均有较为成熟、系统的经济性状(生产性状)评测体系。而水产动物由于种类繁多、习性各异,除鱼类外,还没有建立起较为完备的经济性状评测指标体系;近年来,由于水产动物育种目标从单纯的生长性状育种向品质、抗逆育种的转变,水产动物经济性状测评和指标体系建立的工作任务更加艰巨。由于海参、海胆年龄确定困难、应激排脏、离水后吐水和身体伸缩变形等特点,其性状测量更为困难。目前,开展的相关工作有 Chang 等(2012)通过对刺参野生、养殖、杂交 3 个群体的鲜活、水煮和干燥标本进行研究,首次建立了准确测定刺参鲜活、水煮以及干燥状态下,刺参棘刺数目的估算标准,即  $P/L \geq 0.05$  ( $P$ : 棘刺长度;  $L$ : 体长);魏杰等(2007)开发了一种能准确测量活体刺参体长的方法,即利用浓度为 0.5~0.6 mol/L 的  $MgSO_4$  溶液浸泡海参 1.5~2 h 使之达到不化皮、不吐肠的稳定状态后,可测得活体刺参自然伸长的长度,且微流水刺激 5~6 h 后,海参

即可恢复正常运动、摄食。

近年来,近红外光谱(Near infrared spectroscopy, NIR)被广泛应用于水产品多糖、蛋白质、脂肪、锌、硒和灰分等成分检测当中。相较于其他水产品快速检测方法, NIR 技术有重现性好、效率高、成本低、测试简单、分析快速、样品无破坏性等特点;分析过程无污染,对测试人员要求不高,可在线检测等优点(蓝蔚青等, 2017)。目前,近红外光谱技术逐渐成为应用广泛的无损快速检测技术之一,已被应用在棘皮动物的品质鉴定中。王卫军等(2015)以 94 份具有代表性的长牡蛎(*Crassostrea gigas*)鲜样组织样本的近红外数据和其对应的化学真实值数据为基础,研究了 NIR 技术预测长牡蛎鲜样组织中水分、糖原、总蛋白质、总脂肪、锌、硒、牛磺酸和灰分 8 种成分含量的可行性。李尚俊(2017)利用便携式近红外光谱仪和傅里叶变换式近红外光谱仪分别对刺参多糖、蛋白质、脂肪、灰分、皂苷、锌和硒 7 种肉质品质成分进行测量及建模。结果显示,根据各参数指标判断便携式近红外光谱仪扫描的光谱测量结果,多糖和蛋白质建模可行,各决定系数( $R^2$ )均大于 0.8,验证集标准差与预测标准差之比(RPD)分别为 2.67 和 2.99,灰分各  $R^2$  均大于等于 0.9, RPD=3.21>3,表明模型建立良好,可进行含量预测。傅里叶变换式近红外光谱仪对相同样品进行扫描、建模,结果表明,蛋白质各  $R^2$  均大于 0.85, RPD=2.80,建模可行,但需要进一步的优化,灰分各  $R^2$  均大于 0.9, RPD=3.26>3,建模效果良好。

当前,代谢组研究为解析水产动物重要经济性状遗传机制提供了有力工具,在代谢物分子遗传参数估计、不同品种(系)的生物标记筛选、代谢分子全基因组关联分析研究(Genome-wide association studies with metaotypes, mGWAS)以及寻找代谢分子与重要经济性状的关系等方面发挥着重要作用。Zhao 等(2020)采用超高效液相色谱质谱分析(UPLCQ-TOF/MS)对辽宁大连、皮口、锦州和山东乳山不同产地海参的体壁代谢物进行了分析,采用正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)和 KEGG 代谢途径分析方法,对不同地理来源的海参的代谢产物进行了评价。结果表明, OPLS-DA 对这 4 个区域海参的体壁代谢物有明显的鉴别作用,差异代谢物主要包括氨基酸和脂类,而 KEGG 代谢途径结果分析表明,脂质代谢、氨基酸代谢和蛋白质代谢与地理来源密切相关。

### 2.3 经济性状遗传参数测定

遗传参数如遗传力、重复力、遗传相关、近交系

数、亲缘关系等可以反映群体的总体遗传特征。科学合理地利用统计学可准确估计不同遗传背景下重要经济性状的遗传参数,在育种中具有重要的指导作用。

在棘皮动物当中也早已开展遗传参数估计,刺参耳状幼体(初耳、中耳)时期、幼参、成参的生长性状以及刺参重要经济性状已有相关遗传力估计的研究。栾生等(2006)基于全同胞组内相关法估计刺参耳状幼体初、中期体长的遗传力。结果显示,基于刺参耳状幼体体长的加性遗传方差较大,父系半同胞组内相关法计算的狭义遗传力是刺参耳状幼体初、中期体长狭义遗传力的无偏估计值,估计值分别为 0.74 和 0.75。和飞(2016)应用数量遗传学分析和全同胞组内相关法估计了刺参 9 月龄体长、体重和棘刺总数这 3 个生长性状的遗传力。结果显示,9 月龄刺参体长雌性组分、雄性组分和全同胞组分遗传力估计值分别为 0.87、0.8 和 0.86;刺参体重雌性组分、雄性组分和全同胞组分遗传力的估计值分别为 0.20、0.73 和 0.46;棘刺总数雌性组分和雄性组分遗传力的估计值分别为 0.43 和 0.32。李云峰等(2009)对刺参中耳幼体的 27 个全同胞和稚参阶段的 23 个全同胞幼刺参的体长分别进行测量,中耳幼体阶段共测量 81 个个体,稚参阶段共测量 640 个个体,并用 MTDFREML 软件中的混合动物模型对其进行分析,估计刺参早期生长发育的遗传力。结果显示,刺参中耳幼体阶段的体长生长性状遗传力为 0.29,稚参阶段的体长遗传力为 0.49,在刺参的不同发育阶段其体长生长性状的遗传力属于中度遗传力范围,说明刺参的体长生长性状是在加性效应控制下,对刺参进行选择育种具有较大的遗传改良潜力。

海胆幼体、稚海胆及成体生长性状的遗传参数估计(韩奋杰等, 2017; 刘小林等, 2003)及对海胆重要经济性状腺品质的遗传参数估计已被报道(Zhao *et al.*, 2014)。刘小林等(2003)测定虾夷马粪海胆每个母系孵化后 3 月龄和 5 月龄的全同胞幼海胆(40~50 个)后代的体重和壳径,应用数量遗传学原理和半同胞组内相关分析法研究虾夷马粪海胆早期生长发育性状的遗传力。结果显示,3 月龄和 5 月龄海胆体重和壳径的狭义遗传力估计值分别为 0.339~0.523 和 0.316~0.487。分析结果显示,雌性遗传方差组分均显著大于雄性遗传方差组分,雌性遗传方差组分存在显著的母性效应,表明由雄性遗传方差组分估计的遗传力准确可靠,父系半同胞组内相关法计算的狭义遗传力是遗传力的无偏估计值,为海胆选择育种提供了理论指导。Chang 等(2012)构建中间球海胆的选择家系,估

计其生长性状和性腺性状的遗传参数(壳高为 0.24~0.39, 壳径为 0.21~0.48, 体重为 0.16~0.49, 收获期性腺湿重、性腺指数和性腺含水量的遗传力分别为 0.17、0.41 和 0.50), 发现各主要性状具备中度到高度的遗传力, 为中间球海胆选择育种提供了理论指导。韩奋杰等(2017)采用巢式不平衡设计方法, 建立了 44 个中间球海胆全同胞家系, 用于估计中间球海胆幼体及稚海胆生长性状的遗传参数, 采用动物模型和约束性最大似然法(REML)估计中间球海胆幼体和稚海胆生长性状的遗传参数。结果显示, 中间球海胆四腕幼体和八腕幼体体长的遗传力分别为  $0.705 \pm 0.373$  和  $0.538 \pm 0.444$ , 为高度遗传力; 六腕幼体体长和稚海胆壳径的遗传力分别为  $(4.31 \times 10^{-7}) \pm (3.53 \times 10^{-8})$  和  $(2.97 \times 10^{-7}) \pm (2.38 \times 10^{-8})$ , 均接近于 0, 为低度遗传力。因此, 在四腕幼体和八腕幼体时期, 幼体体长具有更好的选育潜力, 而应避免选择六腕幼体和稚海胆时期。

目前, 遗传参数估计可以应用分子标记数据进行估计, 本项目组(大连海洋大学和中国海洋大学团队)对不同地理刺参群体的疣足数量进行重测序全基因组水平的 SNP 遗传力估计, 运用期望最大约束似然法(EM-REML)、平均信息约束似然法(AI-REML)对刺参疣足数量的 SNP 遗传力进行评估。结果显示,  $MAF > 0.05$  时, 在 50 K SNP 基础上均匀抽样不同 SNP 密度的刺参疣足数量, SNP 遗传力估计均值范围为  $(0.566 \pm 0.022) \sim (0.612 \pm 0.003)$ ;  $MAF > 0.1$  时, SNP 遗传力估计均值范围为  $(0.586 \pm 0.015) \sim (0.615 \pm 0.016)$ 。

### 3 水产动物育种技术及其在经济棘皮动物中的应用

目前, 杂交育种和选择育种等传统育种技术在海参、海胆新品种培育中仍占主导地位, 随着现代遗传育种理论和生物技术的不断发展和创新, 全基因组选择育种、基因编辑等前沿技术也有尝试和应用, 在今后一段时间内, 海参、海胆育种将在传统育种技术的基础上, 以现代育种技术为补充, 逐步提高育种效率, 实现精准育种。

#### 3.1 杂交育种与杂交优势利用

杂种优势是普遍存在的一种重要生物学现象, 对改良生物的生产性能有重要作用(张国范等, 2004)。第 1 次记载的杂交育种出现于 1760 年(Xu, 2010)。

在海参方面, 农业农村部审定通过的我国海参养殖的第 1 个新品种刺参“水院 1 号”, 其父本为俄罗斯

远东海参, 母本为辽宁大连海域刺参, 经过近 10 年“优中选优”培育而成。该品种有 6 排棘刺, 具有体大、出皮率高、营养价值高、苗种成活率高和生长速度快等优点(Chang *et al.*, 2012)。此外, 我国刺参与其他国家的刺参在杂交育种过程中, 其苗种在生长、存活率及幼体生长速率等方面均表现出明显的杂种优势(胡美燕, 2009; 孙灵毅等, 2013)。

在海胆方面, 丁君(2009)对中国北方地区几种经济海胆的种间杂交和雌核发育进行了研究。杂交子一代在成体生长发育的各项指标中(壳径、壳高、体重、性腺重和性腺指数)均体现出杂种优势, 如虾夷马粪海胆×光棘球海胆组所有性状的杂种优势率均为正值, 范围为 0.32~2.49, 虾夷马粪海胆×紫海胆组的杂种优势率在壳径、壳高、湿重、性腺重和性腺指数方面均为正值, 杂种优势率为 4.00%~49.40%, 具有在生产中应用的潜力。Rahman 等(2005)研究表明, 杂种  $F_1$  代性腺产量比中亲本提高 45%。

在海参、海胆南方群体与北方群体的杂交中, 获得耐高温、品质优新品种, 是海参、海胆杂交育种的新方向, 但其后代的育性是其需要考虑的重要因素。

#### 3.2 选择育种

选择是育种的基础, 自 20 世纪 70~80 年代起, 群体选育和家系选育已广泛应用于水产生物的遗传育种。1996~2020 年农业农村部审定的 243 个水产新品种中, 有 67 个选育品种是通过群体或家系选育培育而成的。在选择育种技术发展过程中, Henderson (1975)提出的最佳线性无偏预测, 因其能对系统环境误差进行矫正, 得到无偏可稳定遗传的育种值, 在 20 世纪 90 年代开始应用于水产生物遗传育种, 特别是对虾和贝类的遗传育种中广泛应用(常亚青等, 2013)。

孙效文等(2009)研究认为, 开展 DNA 水平的标记辅助育种是科学发展的必然, 既包括育种技术的发展, 从统计学分析, DNA 提供的多位点选择明显优于表型性状提供的少数位点; 又包括基因标记, 它是性状的遗传基础, 从基因或基因组与性状的关系获得的标记是用于选择优良性状最根本的工具。2009 年至今, 基因标记已运用到我国大多数水产养殖动物的种质鉴定和品种选育研究中, 取得了较大进步。董玉等(2016)应用一般线性模型对 46 个 SNP 标记与刺参体重、体长、体宽、体壁重和出肉率性状进行关联研究发现, 8 个 SNP 基因型 BB 与这些生长性状显著相关, 推测基因型 BB 是这些位点的优势基因型。赵欢等(2014)测定定向选育获得的刺参耐高温子一代在高温

下的存活率及热休克蛋白基因表达,从一定程度上验证了高温耐受性的可遗传性,为后续刺参良种培育提供了理论基础。随着生物技术的快速发展以及测序价格的急剧下降,分子标记技术得到快速发展和应用(鲁翠云等,2019)。

利用选择育种的方法,我国先后育成了刺参“崆峒岛1号”、“安源1号”、“参优1号”、“东科1号”、“鲁海1号”等国家审定经济棘皮动物新品种。其中,“参优1号”以抗灿烂弧菌(*Vibrio splendidus*)侵染能力和生长速度作为选育性状,利用群体选育方法构建刺参抗逆选育系,并采用抗病分子标记筛选与验证、抗病功能基因筛选与验证等分子标记辅助选育技术,连续4代培育而成。“参优1号”在6月龄时,灿烂弧菌侵染后成活率提高了11.68%,显著提高抗化皮病的能力;生长速度快,池塘养殖收获时的平均体重相比未经选育群体提高了38.75%(丁君等,2020)。

在海胆方面,我国以大连旅顺、大连凌水和山东荣成3个中间球海胆养殖群体构建基础群体,以体重、壳径和生殖腺颜色为选育指标,采用群体选育辅以家系选育技术,经连续4代选育,培育出中间球海胆新品种“大金”。在相同养殖条件下,与未经选育的中间球海胆相比,26月龄平均体重和壳径分别提高31.7%和10.4%,生殖腺饱满、色泽金光(丁君等,2020)。

在基因组选择育种方面,Meuwissen等(2007)基于分子标记辅助育种提出全基因组水平的选择育种技术。目前,水产动物全基因组选择育种技术处于形成发展期,通过搭建贝类全基因组选择育种分析评估系统(Jiao *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2015),培育出新品种栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)“蓬莱红2号”、海湾扇贝(*Argopecten irradians*)“海益丰12”。李富花等(2020)发明了一种提高水产动物全基因组选择育种效率的方法,即通过SNP分型和表型数据进行GWAS分析,获得每个SNP的P值并按从大到小的排序,选择排序靠前的最优标记组合对育种群体和下一代育种群体进行SNP分型,通过GBLUP、BayesB、ssGBLUP等方法预测基因组育种值,并从高到低进行个体选择,此方法应用于对虾体重性状和大西洋鲑(*Salmo salar*)抗病性状的全基因组选择分析,发现最优标记组合能显著提高全基因组选择的准确率。

新品种的培育将会给水产产业带来巨大的社会效益和经济效益,随着水产育种新技术的开发与应用,海参、海胆选择育种将向着多种方式有机融合的方向发展。

### 3.3 细胞工程育种技术

细胞工程育种是当今生命科学最前沿的生物技术之一。细胞工程是在细胞水平上进行遗传操作与加工,定向改变或创造新的物种,或创造具有新遗传特征细胞的技术(陈立侨,1997)。细胞工程育种技术包括核移植(核质杂交)、雌(雄)核发育和多倍体育种技术等。

多倍体育种技术是通过增加染色体组的方法来改造生物的遗传基础,培育出符合人们需要的优良品种,养殖实践发现,人工多倍体水产动物通常具有生长速度快、个体大、抗逆性强、不造成种质资源污染的特点,已在生产中广泛应用。目前,多倍体水产动物育种工作(即细胞工程育种)仍是水产经济动物种质改良的重要途径和研究热点(宋灿等,2012),该技术在鱼类和贝类中研究较多,而针对棘皮动物的研究较少。刘筠等(2003)培育出三倍体“湘云鲫”和“湘云鲤”新品种。阙华勇等(2005)培育出牡蛎四倍体。武祥伟等(2019)研究表明,通过四倍体与二倍体杂交产生的三倍体牡蛎生长性状优势明显、糖原含量丰富,并在美国和中国进行商业化生产,现已占据美国市场的70%。

药物诱导和静水压诱导多倍体技术已运用于刺参和海胆,并取得了成功。常亚青等(2002)和Ding等(2007)研究发现,CB与6-DMAP均可诱导刺参产生三倍体和四倍体,采用CB抑制PBI诱导,到达小耳幼体时,可产生9.7%~21.3%的四倍体;6-DMAP抑制PBI诱导三倍体,三倍体诱导率介于7.5%~58%之间。此外,常亚青等(2005)首次将静水压诱导多倍体技术运用在刺参上,并取得了成功。丁君等(2019)优化了静水压诱导刺参三倍体条件,刺参囊胚期三倍化率达到80%以上。

在海胆多倍体诱导方面,常亚青等(2008)已将静水压诱导多倍体技术运用在海胆上,已经成功获得了中间球海胆四倍体胚胎及发育至四腕时期的幼体,于16℃水温下,提前染色分离时间为12 min,60 MPa下静水压处理9 min的最佳诱导条件下,获得四倍体胚胎,取得91.5%的平均倍化率。研究发现,与二倍体比较,四倍体发育时间显著较慢,各期幼体的个体均显著较小,在发育至四腕幼体时,四倍体死亡率高达50%以上,发育至六腕幼体时,四倍体全部死亡,存活率显著低于二倍体。

在海胆雌核发育研究方面,丁君等(2004)采用不同剂量(30~330 mJ/cm<sup>2</sup>)的紫外线对中间球海胆精子进行照射失活,获得了雌核发育的单倍体胚胎,受精

卵早期和早期囊胚的单倍体率分别达 98.2% 和 70%，但后续研究显示，照射组受精卵发育至破膜囊胚后，出现了大量畸形，27 h 后死亡率达 98%。这可能是由于水产动物中存在较多的隐性致死或有害基因，因而诱发的雌核发育二倍体存活率很低，同时，经紫外线照射的精子本身虽不能参与细胞分裂，但精核仍残留在卵内，对卵的正常发育产生不利的影 响，从而使胚胎生存率降低。曹学彬等(2008)采用紫外线照射使马粪海胆精子遗传失活，用热休克抑制第 1 次卵裂获得雌核发育二倍体。结果表明，热休克法抑制第 1 次卵裂不仅降低了胚胎的畸形率，还提高了胚胎上浮率。

目前在核移植方面，鱼类的研究最为成功(童第周等, 1963)。而针对棘皮动物的核移植技术运用未有报导，具有极大研究空间。

### 3.4 基于全基因组信息及分子设计等前选育种技术

**3.4.1 全基因组关联分析** GWAS 先对研究对象 SNP 标记进行检测，获得基因型，进而将基因型与表型性状进行群体水平统计分析，根据显著性  $P$  值筛选出与目标性状相关联的候选基因或基因区域(Gajardo *et al*, 2015)。GWAS 要比传统 QTL 法有优势，其具有较高的复杂性状相关基因定位效率。近年来，这种方法在动植物重要经济性状主效基因的筛查和鉴定中得到了广泛应用(Carole *et al*, 2008; Charlier *et al*, 2016)。

与植物、脊椎动物相比较，水产动物的 GWAS 研究起步相对较晚，关于 GWAS 应用的报道较少。Sodeland 等(2013)应用 GWAS 技术对大西洋鲑鱼肉脂肪含量和硬度进行分析。结果发现，影响脂肪含量遗传变异的染色体是 9 号和 10 号，影响鱼肉硬度遗传变异的染色体是 3 号和 11 号。Shi 等(2020)利用 QTL 定位和 GWAS 对太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)营养成分分析，确定了 5 个参与脂肪酸代谢的基因，并深入挖掘到了 6 个与肉质相关的基因，为后续选择育种提供了资源。Wang 等(2020)通过 GWAS 鉴定了与凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)生长相关的 SNP，并发现了 1 个调节生长的新基因 *LvMMD2*。

目前，大连海洋大学与中国海洋大学正联合开展水产动物 GWAS 研究。虽然，GWAS 技术已经应用到水产育种工作中，但大部分研究还停留在寻找与目的性状相关的 SNPs 位点/候选区间/候选基因上，只有极少数研究对所获得的目的基因进行过实验验证。在后续的研究中，更多经济水产动物的全基因组测序将完成，在已完成基础群体构建、遗传力等参数固定的情况下，扩大选育群体的规模并结合重测序开展

GWAS 分析，可能是未来经济棘皮物种遗传育种的主要途径之一。

**3.4.2 基因编辑** 基因编辑是在基因组水平对基因片段进行插入、敲除、替换或修饰等，能高效、定向地编辑目的基因。主要方法有锌指蛋白核酸酶技术(Zinc-finger nuclease, ZFNs)、类转录激活因子效应物核酸酶技术(Transcription activator-like effector, TALENs)和 CRISPR/Cas9 技术(Clustered regularly interspaced short palindromic repeats-associated protein-9 nuclease)等。基因编辑技术作为现下最热门的研究领域之一，在水产养殖业中得到快速发展。Doyon 等(2008)首次利用 ZFN 技术在斑马鱼(*Danio rerio*)中进行基因敲除，得到了 *ntl*、*slc24a5*、*kdrl* 基因的突变体，构建了斑马鱼的基因敲除品系。Hwang 等(2013)利用 CRISPR 技术实现了对斑马鱼 *fh* 基因的敲除；周运迪等(2019)利用 CRISPR 技术建立了青鳉(*Oryzias latipes*) *foxl2* 基因缺失的突变体，表明 *foxl2* 对维持青鳉性腺功能有重要作用。迄今，CRISPR 技术已在许多水产养殖物种中建立了应用，如牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)、大型溞(*Daphnia magna*)、脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)、太平洋牡蛎、玻璃海鞘(*Ciona intestinalis*)、三角褐指藻(*Phaeodactylum tricorutum*)等(Kim *et al*, 2019; Nakanishi *et al*, 2014; Gui *et al*, 2016; Yu *et al*, 2019; Sasaki *et al*, 2014; Nymark *et al*, 2016)。

CRISPR 技术也应用于模式生物海胆中。Lin 等(2017)将 CRISPR/Cas9 系统应用于海胆胚胎，针对 *Nodal* 基因设计了 6 个引导 RNA (gRNA)，发现其中 5 个 gRNA 在 60%~80% 的注射胚胎中诱导了预期的表型，同时，还开发了 1 种从单个胚胎中分离基因组 DNA 的简单方法。Liu 等(2019)通过 CRISPR/Cas9 系统，敲除海胆中的 *Pks1* 基因，成功诱导出白化病海胆成体，并存活 1 年。这些研究成果有望加快 CRISPR/Cas9 系统在海胆胚胎基因组编辑和分子育种中的应用。

随着海洋生物基因组研究的快速发展，CRISPR 技术也为海洋生物，特别是水产养殖领域的研究带来了前所未有的机遇，今后可重点在提高繁育效率、生长速度、抗逆性和抗病性等方面开展。

**3.4.3 基因转移与转基因技术** 转基因技术主要是将外源基因或体外重组基因转移到受精卵中，使其在动物体内整合和表达，产生具有新的遗传特征或性状的动物。将外源基因导入的方法有很多种，如基因枪法、显微注射法、电穿孔法、精子介导基因转移法、化学诱导法和病毒转染法等。

转基因技术在水产中的应用多见于转基因鱼，

Zhu 等(1985)首次获得了转基因金鱼, 随后率先在世界上开展了鱼类生长激素转移研究, 获得了生长快、产量高的“超级鱼”, 建立了世界上首例转基因鱼模型(Zhu *et al.*, 1986; 朱作言等, 1989; 崔宗斌等, 1995)。转生长激素鱼促生长效应明显, 可望为水产养殖业带来巨大的经济效益。国内外也有很多学者聚焦于抗性基因的转移, 提高鱼类抗寒和抗病性等, 使鱼类更好的适应环境, 在逆境中生长(Assem *et al.*, 2005; Gong *et al.*, 2001、2002; Blake *et al.*, 2016)。

转基因技术在无脊椎动物中的应用越来越多, 同样集中在提高生长速度和抗逆性方面。在虾蟹和贝类方面, 刘萍等(1996)将生长激素基因导入中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)受精卵中, 获得了转基因虾。刘志毅(2000)首次采用基因枪法将 GFP 基因转入中国对虾受精卵中并表达。Piera 等(2004)分别采用显微注射、电穿孔和转染试剂 3 种方法将外源基因转入凡纳滨对虾中, 发现用 DNA/jetPEI 复合物转染处理效率最高。刘向宇等(2000)以精子为载体将 GCHV (Hemorrhagic virus of grass carp)基因导入中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*), 作为蟹类转基因的初步研究。Powers 等(1995)首次将生长激素基因转入红鲍(*Haliotis rufescens*)中, 打开了贝类转基因的研究大门。随后又将外源基因导入了白蛤(*Mulina lateralis*)、太平洋牡蛎、大珍珠母贝(*Pinctada maxima*)、合浦珠母贝(*Pteria martensii*)等贝类中并得到了表达(Lu *et al.*, 1996; Cadoret *et al.*, 1997; 胡炜等, 2000; 喻达辉等, 2005)。

McMahon 等(1985)首次利用显微注射法将构建的氨基糖苷 3'磷酸转移酶的 DNA 序列连接到载体, 构建 *piSA* 质粒, 并导入紫海胆卵细胞, 进行体外受精培育, 发现外源基因在海胆整个胚胎发育时期均有表达, 此研究在海胆胚胎转基因技术研究领域迈出了第 1 步, 为后续海胆转基因的深入研究提供了方法和技术参考。海胆作为模式生物, 通过转基因技术, 可将报告基因转入海胆幼体中, 进而阐明特定基因的转录过程, 构建基因调控网络(Rast, 2000; Buckley *et al.*, 2018)。目前, 转基因技术在海参、海胆育种中还未有成功报道。

**3.4.4 性别控制技术** 自然界中有很多物种的雌雄个体间的形态、颜色或行为等方面存在显著差异, 呈现出“性别二态性”。大量研究发现, 尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)、黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)、斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)等品种雄鱼的生长速度显著快于雌鱼(Beardmore *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2010; Simco *et al.*, 1989); 鲤鱼(*Cyprinus carpio*)、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)、牙鲆、圆斑星鲽(*Verasper*

*variegatus*)等鱼类的雌性个体比雄性大(陈松林, 2013; Bye *et al.*, 1986; Yoneda *et al.*, 2007; Ma *et al.*, 2010); 对虾的性别二态性明显, 成年雌虾体重明显大于雄虾(张乃禹, 1985)。通过对生物性别控制, 可加快育种进程, 培育单性品种, 提高经济效益。性别控制技术是指在动物正常繁育生殖过程中, 通过人为干预, 控制成年的雌性动物下一代性别的生物技术。性别控制育种在鱼类等水产养殖动物中应用广泛, 主要技术方法包括种间杂交、人工诱导雌(雄)核发育、三倍体诱导不育群体、外源激素刺激和温度控制。

目前, 性别控制技术已经广泛应用于生产中, 由于海参、海胆不存在性别二态性, 因此, 刺参、海胆性别控制技术报道较少。但在种参培育过程中, 雌参的需求量大于雄参, 如提前预知种参的性别, 则可节约育种成本。陈廷等(2020a、b)报道了鉴别糙海参卵巢发育期雌参个体的方法, 研究了小疣刺参促排卵短肽及其编码基因与应用。Pereira 等(2018)通过基因组和微卫星分析, 在 *Hgr15607* 基因座上, 观察到雌、雄刺参频率分布差异。Láruson 等(2018)通过对雌、雄白棘三列海胆(*Tripneustes gratilla*)组织表达谱分析发现, Sox 家族在雌、雄海胆中表达有差异, 其中, 雄性中的 *SoxH* 基因表达显著高于雌性, 在哺乳动物中, *SoxH* 也参与了雄性生殖细胞的分化。同时发现, *Wnt-4* 基因仅在雄性海胆中存在, 也参与了哺乳动物发育早期雄性化的抑制, 在幼体和成体中被恢复, 因此推断, *Wnt-4* 基因在海胆中可能没有抑制雄性化的作用, 只是在雄性性腺中发挥作用。

## 4 展望

进入 21 世纪后, 水产养殖对世界水产品供应的重要性已在发达国家达成共识, 海参和海胆是重要的水产养殖动物, 刺参养殖是辽宁省和山东省水产养殖的支柱产业。如何保证刺参和海胆等海珍品产业高效、健康发展, 是应对新时代水产养殖大变革需要回答的问题。以下是对刺参和海胆养殖业的几点思考和建议:

### 4.1 高度重视海参、海胆种质资源保护

水产种质资源是良种创制、增殖生产和渔业科技发展的物质基础。目前, 世界范围内现存棘皮类动物 6000 余种, 我国约有 500 余种, 其中, 种质资源开发利用存在诸多问题, 如已被开发利用的海参不足 20 种、海胆 6~8 种, 已开展种质评价的种类不足 10 种; 目前, 棘皮动物中仅有刺参、中间球海胆可

进行规模化全人工养殖;药用棘皮类动物具有较大市场需求,但开发利用不足;我国南海暖水性海参和海胆资源丰富,但目前尚没有确切分布名录,且近几年种类和数量呈较快下降趋势,其中,海参已被世界自然保护联盟收入濒危物种红色名录;此外,无序的刺参、海胆苗种交流使现有品种(系)种质退化、生长速度下降,抗逆性降低。针对上述情况,应加强海参、海胆种质资源分布、鉴定、评价、种质保存工作,特别是原种场和良种场建设亟待加强,为海参、海胆种质创新提供物质保障。

#### 4.2 加速海参、海胆遗传育种应用基础研究

近10年来,海参、海胆遗传育种应用基础取得长足进步,刺参、海胆全基因组测序和高密度遗传连锁图谱的完成,为下一步全基因组关联分析和分子标记辅助育种(QTL定位)奠定了基础。但较鱼、虾、贝等而言,刺参、海胆遗传育种应用基础研究依旧薄弱,下一步工作将重点解析海参、海胆重要经济性状的遗传基础,挖掘其中与经济性状相关的分子遗传标记、功能基因、调控原件和优异等位基因变异等,并将鉴定出的有育种价值的功能基因和遗传标记,应用于育种。

#### 4.3 “引种制宜”,创新、集成海参、海胆育种技术(模式)

作为被广泛认知的海珍品,海参、海胆育种目标不应局限在生长性状,重点应考虑海参胶原蛋白、酸性粘多糖、皂甙,海胆高不饱和脂肪酸含量等品质性状。同时,应对近年来北方夏季频发的极端天气以及随之而来的海参、海胆病害频发,应关注海参、海胆耐高温、耐低盐以及抗病品种的研发。在育种技术选择方面,针对海参、海胆的繁殖习性和养殖特点,规模化群选结合分子标记辅助育种是目前海参、海胆效率较高的育种方式。概括而言,在育种过程中要“因种制宜”,在传统育种技术基础上,创新、集成育种技术(模式),并研发新品种、规模化繁育和配套养殖技术,培育出满足市场需求、有显示度的海参、海胆优良品种。

#### 4.4 推进海参、海胆种业“育繁推一体化建设”

海参、海胆种业的发展必然要依托“育繁推一体化”建设。这就要求海参、海胆种业相关机构有研发和生产新品种的能力,有向市场推广销售的能力。下一步,产学研单位将通过加强国际、国内交流合作,加强种业信息服务平台建设,推进物联网技术应用,

加大种业企业品种、品牌宣传力度,有序推进海参、海胆种业“育繁推一体化建设”。

### 参 考 文 献

- Assem SS, El-Zaeem SY. Application of biotechnology in fish breeding. II: Production of highly immune genetically modified redbelly tilapia, *Tilapia zillii*. African Journal of Biotechnology, 2005, 4(5): 449-459
- Beardmore JA, Mair GC, Lewis RI. Monosex male production in finfish as exemplified by tilapia: Applications, problems, and prospects. Aquaculture, 2001, 197(1-4): 283-301
- Blake A, Crockett R, Nasevicius A. Purple transgenic fluorescent ornamental fish. 2016, United States Patent, 8581023
- Bostock J, McAndrew B, Richards R, et al. Aquaculture: Global status and trends. Philosophical Transactions of the Royal Society: Biological Sciences, 2010, 365(1554): 2897-2912
- Buckley KM, Dong P, Cameron RA, et al. Bacterial artificial chromosomes as recombinant reporter constructs to investigate gene expression and regulation in echinoderms. Briefings in Functional Genomics, 2018, 17(5): 362-371
- Bye VJ, Lincoln RF. Commercial methods for the control of sexual maturation in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). Aquaculture, 1986, 57(1-4): 299-309
- Cadoret JP, Boulo V, Gendreau S, et al. Promoters from *Drosophila* heat shock protein and Cytomegalovirus drive transient expression of luciferase introduced by particle bombardment into embryos of the oyster *Crassostrea gigas*. Journal of Biotechnology, 1997, 56(3): 183-189
- Cao XB, Ding J, Chang YQ. The early embryonic development and the cytological observation of gynogenesis in sea urchin *Hemicentrotus pulcherrimus* artificially induced. Journal of Dalian Fisheries University, 2008, 23(1): 1-7 [曹学彬, 丁君, 常亚青. 人工诱导马粪海胆雌核发育的早期胚胎发育及细胞学观察. 大连水产学院学报, 2008, 23(1): 1-7]
- Carole C, Wouter C, Frédéric R, et al. Highly effective SNP-based association mapping and management of recessive defects in livestock. Nature Genetics, 2008, 40(4): 449-454
- Chang YQ, Ding J, Song J, et al. Triploid induction of *Apostichopus japonicus* by hydrostatic pressure. China: CN1586190, 2005-03-02 [常亚青, 丁君, 宋坚, 等. 静水压诱导刺参三倍体的方法. 中国: CN1586190, 2005-03-02]
- Chang YQ, Ding J, Xu YH, et al. SLAF-based high-density genetic map construction and QTL mapping for major economic traits in sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*. Scientific Reports, 2018, 8(1): 820
- Chang YQ, Shi SB, Zhao C, et al. Characteristics of papillae in wild, cultivated and hybrid sea cucumbers (*Apostichopus japonicus*). African Journal of Biotechnology, 2011, 10(63): 13780-13788
- Chang YQ, Tian Y, Zhang WJ. Progress of mariculture biological

- genetic breeding technology in China. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2013, 15(6): 8–15 [常亚青, 田焱, 张伟杰. 我国海洋水产生物遗传育种技术进展. *中国农业科技导报*, 2013, 15(6): 8–15]
- Chang YQ, Xiang JH. Inducement of polyploidy sea cucumber (*Apostichopus japonicus* Liao). *Journal of Dalian Fisheries University*, 2002, 17(1): 1–7 [常亚青, 相建海. 仿刺参 (*Apostichopus japonicus*) 多倍体诱导的初步研究. *大连水产学院学报*, 2002, 17(1): 1–7]
- Chang YQ, Yu MZ, Cao XB, *et al.* Induction and cultivation of tetraploid sea urchin. China: CN101103707, 2008-01-16 [常亚青, 于明治, 曹学彬, 等. 海胆四倍体苗种的诱导和培育方法. 中国: CN101103707, 2008-01-16]
- Chang YQ, Zhang WJ, Zhao C, *et al.* Estimates of heritabilities and genetic correlations for growth and gonad traits in the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*. *Aquaculture Research*, 2012, 43(2): 271–280
- Charlier C, Li WB, Harland C, *et al.* NGS-based reverse genetic screen for common embryonic lethal mutations compromising fertility in livestock. *Genome Research*, 2016, 26(10): 1333–1341
- Chen LQ. Cell engineering and aquatic animal breeding. *World Science*, 1997(5): 31–33 [陈立侨. 细胞工程与水产动物育种. *世界科学*, 1997(5): 31–33]
- Chen SL. Fish sex control and cell engineering breeding. Beijing: Science Press, 2013 [陈松林. 鱼类性别控制与细胞工程育种. 北京: 科学出版社, 2013]
- Chen T, Ren CH, Hu CQ, *et al.* A method for identifying female individuals of *Stichopus horrens* during ovarian development. China: CN110720413A, 2020-01-24 [陈廷, 任春华, 胡超群, 等. 一种鉴别糙海参卵巢发育期雌参个体的方法. 中国: CN110720413A, 2020-01-24]
- Chen T, Ren CH, Wu FF, *et al.* Short peptide and its coding gene and application in sea cucumber *Stichopus monotuberculatus*. China: CN110845592A, 2020-02-28 [陈廷, 任春华, 吴菲菲, 等. 小疣刺参排卵短肽及其编码基因与应用. 中国: CN110845592A, 2020-02-28]
- Conand C, Byrne M. A review of recent developments in the world sea cucumber fisheries. *Marine Fisheries Review*, 1993, 55(4): 1–13
- Cui ZB, Zhu ZY, Cui YB, *et al.* Feeding and metabolism of red carp (*Cyprinus carpio*) transferred with growth hormone gene. *Chinese Science Bulletin*, 1995, 40(16): 1514–1517 [崔宗斌, 朱作言, 崔奕波, 等. 转人生长激素基因红鲤 F<sub>2</sub> 代阳性鱼的摄食及代谢研究. *科学通报*, 1995, 40(16): 1514–1517]
- Ding J, Chang YQ, Cao XB, *et al.* The embryonic development in gynogenesis monoploid in sea urchin (*Strongylocentrotus intermedius*). *Journal of Dalian Fisheries University*, 2004, 19(1): 10–15 [丁君, 常亚青, 曹学彬, 等. 中间球海胆雌核发育单倍体胚胎的初步研究. *大连水产学院学报*, 2004, 19(1): 10–15]
- Ding J, Chang YQ, Wang ZC, *et al.* Polyploidy induction by hydrostatic pressure shock and embryo development of sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2007, 25(2): 184–190
- Ding J, Chang YQ. Research progress in conservation and utilization of economic echinoderm. A review. *Journal of Dalian Ocean University*, 2020, 35(5): 645–656 [丁君, 常亚青. 经济棘皮动物种质资源保护与利用研究进展. *大连海洋大学学报*, 2020, 35(5): 645–656]
- Ding J, Li RL, Chang YQ, *et al.* Isolation of microsatellite markers and genetic diversity analysis in 3 cultured populations of sea urchin (*Strongylocentrotus intermedius*). *Journal of Molecular Science*, 2008, 24(3): 173–179 [丁君, 李润玲, 常亚青, 等. 虾夷马粪海胆微卫星标记制备及对 3 个养殖群体的遗传多样性分析. *分子科学学报*, 2008, 24(3): 173–179]
- Ding J. Research of interspecific cross and gynogenesis in several kinds of economic sea urchin. Doctoral Dissertation of Dalian University of Technology, 2008 [丁君. 几种经济海胆的种间杂交和雌核发育研究. 大连理工大学博士学位论文, 2008]
- Dong Y, Li Q. Correlation analysis between SNPs and growth traits of *Apostichopus japonicas*. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2016(2): 49–58 [董玉, 李琪. 刺参 SNP 标记与生长性状的关联分析. *海洋湖沼通报*, 2016(2): 49–58]
- Doyon Y, McCammon JM, Miller JC, *et al.* Heritable targeted gene disruption in zebrafish using designed zinc-finger nucleases. *Nature Biotechnology*, 2008, 26(6): 702–708
- Du JY. Natural resources, culture and problems of sea urchins of China. *Science Paper Online*, 2005(11): 1409–1429 [杜俊义. 我国海胆自然资源、养殖状况及存在问题. *中国科技论文在线*, 2005(11): 1409–1429]
- Gajardo HA, Wittkop B, Soto-Cerda B, *et al.* Association mapping of seed quality traits in *Brassica napus* L. using GWAS and candidate QTL approaches. *Molecular Breeding*, 2015, 35(6): 1–19
- Gong Z, Ju B, Wan H. Green fluorescent protein (GFP) transgenic fish and their applications. *Genetica*, 2001, 111(1–3): 213–225
- Gong ZY, Ju BS, Wang XK, *et al.* Green fluorescent protein expression in germ-line transmitted transgenic zebrafish under a stratified epithelial promoter from *Keratin8*. *Developmental Dynamics*, 2002, 223(2): 204–215
- Gui TS, Zhang JQ, Song FG, *et al.* CRISPR/Cas9-mediated genome editing and mutagenesis of EcChi4 in *Exopalaemon carinicauda*. *G3-Genes Genomes Genetics*, 2016, 6(11): 3757–3764
- Han FJ, Zhang WJ, Qing YB, *et al.* Estimates of genetic parameters for growth traits in larval and juvenile sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*. *Journal of Dalian Ocean University*, 2017, 32(2): 145–149 [韩奋杰, 张伟杰, 秦宇

- 博, 等. 中间球海胆幼体及稚海胆生长性状的遗传参数估计. 大连海洋大学学报, 2017, 32(2): 145–149]
- He F. Estimation of the heritability of important economic traits and construction of high density genetic linkage map for sea cucumber (*Apostichopus japonicus*). Master's Thesis of Shanghai Ocean University, 2016 [和飞. 刺参(*Apostichopus japonicus*)重要经济性状遗传力估计及高密度遗传连锁图谱的构建. 上海海洋大学硕士研究生学位论文, 2016]
- Henderson CR. Best linear unbiased estimation and prediction under a selection model. *Biometrics*, 1975, 31(2):423–447
- Hu MY. Studies on intraspecific hybridization and effects of environmental factors on growth and survival of sea cucumber *Apostichopus japonicus* Selenka. Master's Thesis of Ocean University of China, 2009 [胡美燕. 刺参的种群杂交及环境因子对稚参生长与存活的影响研究. 中国海洋大学硕士研究生学位论文, 2009]
- Hu W, Yu DH, Wang YP, *et al.* Electroporation of sperm to introduce foreign DNA into the genome of *Pinctada maxima* (Jameson). *Chinese Journal of Biotechnology*, 2000(2): 165–168 [胡炜, 喻达辉, 汪亚平, 等. 大珠母贝精子介导外源基因转移研究. 生物工程学报, 2000(2): 165–168]
- Hwang WY, Fu YF, Reyon D, *et al.* Efficient genome editing in zebrafish using a CRISPR-Cas system. *Nature Biotechnology*, 2013, 31(3): 227–229
- Jiang J, Yang BL, Tai Y. Studies on resources and bioactive substances of sea cucumber. *Letters in Biotechnology*, 2004, 15(5): 537–540 [姜健, 杨宝灵, 郜阳. 海参资源及其生物活性物质的研究. 生物技术通讯, 2004, 15(5): 537–540]
- Jiao W, Fu X, Dou J, *et al.* High-resolution linkage and quantitative trait locus mapping aided by genome survey sequencing: Building up an integrative genomic framework for a bivalve mollusc. *DNA Research*, 2014, 21(1): 85–101
- Kim J, Cho JY, Kim JW, *et al.* CRISPR/Cas9-mediated myostatin disruption enhances muscle mass in the olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 2019, 512: 734336
- Kinjo S, Kiyomoto M, Yamamoto T, *et al.* HpBase: A genome database of a sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*. *Development, Growth and Differentiation*, 2018, 60(3): 174–182
- Lan WQ, Zhang NN, Liu SC, *et al.* Research progress in the application of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for detection of aquatic products. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2017, 37(11): 3399–3403 [蓝蔚青, 张楠楠, 刘书成, 等. 近红外光谱技术在水产品检测中的应用研究进展. 光谱学与光谱分析, 2017, 37(11): 3399–3403]
- Láruson AJ, Coppard SE, Pespeni MH, *et al.* Gene expression across tissues, sex, and life stages in the sea urchin *Tripneustes gratilla* [Toxopneustidae, Odontophora, Camarodonta]. *Marine Genomics*, 2018, 41: 12–18
- Li FH, Yu Y, Luo Z, *et al.* A method to improve the efficiency of whole genome selection breeding of aquatic animals. China: CN110867208A, 2020-03-06 [李富花, 于洋, 罗正, 等. 一种提高水产动物全基因组选择育种效率的方法. 中国: CN110867208A, 2020-03-06]
- Li H, Wang J, Bao Z. A novel genomic selection method combining GBLUP and LASSO. *Genetica*, 2015, 143(3): 299–304
- Li Q, Chen L, Kong L. A genetic linkage map of the sea cucumber, *Apostichopus japonicus* (Selenka), based on AFLP and microsatellite markers. *Animal Genetics*, 2009, 40(5): 678–685
- Li SJ. Establishment of near infrared models of a variety of components determination in sea cucumbers *Apostichopus japonicus* Selenka. Master's Thesis of Shanghai Ocean University, 2017 [李尚俊. 仿刺参多种成分含量近红外模型的建立. 上海海洋大学硕士研究生学位论文, 2017]
- Li YF, Chang YQ, Tian Y, *et al.* Heritability of early growth traits in larval and juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2009, 24(1): 30–33 [李云峰, 常亚青, 田毅, 等. 仿刺参耳状幼体和稚参阶段的体长遗传力估计. 大连水产学院学报, 2009, 24(1): 30–33]
- Li YL, Wang RJ, Xun XG, *et al.* Sea cucumber genome provides insights into saponin biosynthesis and aestivation regulation. *Cell Discovery*, 2018, 4: 29
- Liao MJ, Wang JJ, Li B, *et al.* Genetic diversity analysis and fingerprint construction for different geographical populations of the sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) based on SSR markers. *Progress in Fishery Sciences*, 2021, 42(1): 165–176 [廖梅杰, 王锦锦, 李彬, 等. 基于 SSR 标记的刺参不同地理群体的遗传结构分析及指纹图谱构建. 渔业科学进展, 2021, 42(1): 165–176]
- Lin CY, Su YH. Genome editing in sea urchin embryos by using a CRISPR/Cas9 system. *Developmental Biology*, 2016, 409(2): 420–428
- Liu AR, Liao MJ, Li B, *et al.* Validation of SNPs associated with important economic traits of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*). *Progress in Fishery Sciences*, 2019, 40(1): 101–109 [刘安然, 廖梅杰, 李彬, 等. 刺参(*Apostichopus japonicus*)重要经济性状相关 SNP 标记的验证分析. 渔业科学进展, 2019, 40(1): 101–109]
- Liu DM, Awazu A, Sakuma T, *et al.* Establishment of knockout adult sea urchins by using a CRISPR-Cas9 system. *Development, Growth and Differentiation*, 2019, 61(6): 378–388
- Liu P, Kong J, Wang QY, *et al.* The studies on the fertilized egg of *Penaeus chinensis* with microinjection of the growth hormone gene. *Journal of Fishery Sciences of China*, 1996, 3(4): 36–39 [刘萍, 孔杰, 王清印, 等. 显微注射生长激素基因导入中国对虾(*Penaeus chinensis*)受精卵的研究. 中国水产科学, 1996, 3(4): 36–39]
- Liu XL, Chang YQ, Xiang JH, *et al.* Heritability of juvenile growth for the sea urchins *Strongylocentrotus intermedius*.

- Journal of Fishery Sciences of China, 2003, 10(3): 206–211 [刘小林, 常亚青, 相建海, 等. 虾夷马粪海胆早期生长发育的遗传力估计. 中国水产科学, 2003, 10(3): 206–211]
- Liu XY, Wang TH, Zhang Q, *et al.* Preliminary study on sperm as vector for introducing foreign DNA into Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*). Acta Hydrobiologica Sinica, 2002, 26(2): 194–196 [刘向宇, 王铁辉, 张菁, 等. 以精子为载体把外源 DNA 导入中华绒螯蟹的初步研究. 水生生物学报, 2002, 26(2): 194–196]
- Liu Y, Liu SJ, Sun YD, *et al.* Ployploid hybrids of crucian carp × common carp. Review of China Agricultural Science and Technology, 2003, 5(6): 3–6 [刘筠, 刘少军, 孙远东, 等. 多倍体鲫鱼. 中国农业科技导报, 2003, 5(6): 3–6]
- Lu C, Bao ZM, Peng W, *et al.* Isolation and characterization of microsatellite markers for sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) by screening the SSR-enriched library. Periodical of Ocean University of China, 2010, 40(S): 137–141 [卢超, 包振民, 彭薇, 等. 富集文库-菌落原位杂交法筛选仿刺参微卫星标记. 中国海洋大学学报, 2010, 40(S): 137–141]
- Lu CY, Kuang YY, Zheng XH, *et al.* Advances of molecular marker-assisted breeding for aquatic species. Journal of Fisheries of China, 2019, 43(1): 38–53 [鲁翠云, 匡友谊, 郑先虎, 等. 水产动物分子标记辅助育种研究进展. 水产学报, 2019, 43(1): 38–53]
- Lu JK, Chen TT, Allen SK, *et al.* Production of transgenic dwarf surfclams, *Mulinia lateralis*, with pantropic retroviral vectors. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996, 93(8): 3482–3486
- Luan S, Sun HL, Kong J. Heritability of auricularia larval body length for sea cucumber *Apostichopus japonicus* Selenka. Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(3): 378–383 [栾生, 孙慧玲, 孔杰. 刺参耳状幼体体长遗传力的估计. 中国水产科学, 2006, 13(3): 378–383]
- Ma HY, Chen SL, Yang JF, *et al.* Isolation of sex-specific AFLP markers in spotted halibut (*Verasper variegatus*). Environmental Biology of Fishes, 2010, 88(1): 9–14
- Massin C, Mercier A, Hamel JF. Ossicle change in *Holothuria scabra* with a discussion of ossicle evolution within the Holothuriidae (Echinodermata). Acta Zoologica, 2000, 81(1): 77–91
- McMahon AP, Flytzanis CN, Hough-Evans BR, *et al.* Introduction of cloned DNA into sea urchin egg cytoplasm: Replication and persistence during embryogenesis. Developmental Biology, 1985, 108(2): 420–430
- Meuwissen T. Genomic selection: Marker assisted selection on a genome wide scale. Journal of Animal Breeding and Genetics, 2007, 124(6): 321–322
- Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China fishery statistical yearbook. Beijing: China Agricultural Press, 2019 [农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 中国渔业统计年鉴. 北京: 中国农业出版社, 2019]
- Mushegian A, Arnone MI, Sodergren E, *et al.* The genome of the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. Science, 2006, 314(5801): 941–952
- Nakanishi T, Kato Y, Matsuura T, *et al.* CRISPR/Cas-mediated targeted mutagenesis in *Daphnia magna*. PLoS One, 2014, 9(5): e98363
- Nymark M, Sharma AK, Sparstad T, *et al.* A CRISPR/Cas9 system adapted for gene editing in marine algae. Scientific Reports, 2016, 6(1): 24951
- Pereira, VA, Forte JM, Arruda-Júnior JPV, *et al.* Identification and characterization of microsatellite loci in west Atlantic sea cucumber *Holothuria grisea* (Selenka 1867). Journal of Genetics, 2018, 97(5): 1363–1369
- Piera SS, Nel CV, Fernanda ROC, *et al.* Evaluation of methods for DNA delivery into shrimp zygotes of *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*. Aquaculture, 2004, 243(1–4): 19–26
- Powers DA, Kirby VL, Cole T, *et al.* Electroporation as an effective means of introducing DNA into abalone (*Haliotis rufescens*) embryos. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 1995, 4(4): 369–375
- Que HY, Guo XM, Zhang GF, *et al.* Tetraploids induced by inhibiting polar body I with cytochalasin B in Jinjiang oyster, *Crassostrea rivularis*. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2005, 36(5): 437–444 [阙华勇, 郭希明, 张国范, 等. 利用细胞松弛素 B 抑制第一极体排放诱导近江牡蛎 (*Crassostrea rivularis*) 四倍体. 海洋与湖沼, 2005, 36(5): 437–444]
- Rahman MA, Uehara T, Lawrence JM. Growth and heterosis of hybrids of two closely related species of Pacific sea urchins (Genus *Echinometra*) in Okinawa. Aquaculture, 2005, 245(1–4): 121–133
- Rast JP. Transgenic manipulation of the sea urchin embryo. Methods in Molecular Biology, 2000, 136: 365–373
- Sasaki H, Yoshida K, Hozumi A, *et al.* CRISPR/Cas9-mediated gene knockout in the ascidian *Ciona intestinalis*. Development, Growth and Differentiation, 2014, 56(7): 499–510
- Sergiev PV, Artemov AA, Prokhortchouk EB, *et al.* Genomes of *Strongylocentrotus franciscanus* and *Lytechinus variegatus*: Are there any genomic explanations for the two order of magnitude difference in the lifespan of sea urchins? Aging (Albany NY), 2016, 8(2): 260–271
- Shi RH, Li CY, Qi HG, *et al.* Construction of a high-resolution genetic map of *Crassostrea gigas*: QTL mapping and GWAS applications revealed candidate genes controlling nutritional traits. Aquaculture, 2020, 527: 735427
- Simco BA, Goudie CA, Klar GT, *et al.* Influence of sex on growth of channel catfish. Transactions of the American Fisheries Society, 1989, 118(4): 427–434
- Sodeland M, Gaarder M, Moen T, *et al.* Genome-wide

- association testing reveals quantitative trait loci for fillet texture and fat content in Atlantic salmon. *Aquaculture*, 2013, 408: 169–174
- Song C, Liu SJ, Xiao J, *et al.* Progress in polyploid organisms research. *Scientia Sinica Vitae*, 2012, 42(3): 173–184 [宋灿, 刘少军, 肖军, 等. 多倍体生物研究进展. *中国科学: 生命科学*, 2012, 42(3): 173–184]
- Sun LY, Zhao Q, Ren LH, *et al.* Crossing and offspring development of sea cucumber *Stichopus japonicus* between Chinese and Korean populations. *Journal of Dalian Ocean University*, 2013, 28(3): 281–286 [孙灵毅, 赵强, 任利华, 等. 中国刺参与韩国红刺参杂交及子代发育特性的研究. *大连海洋大学学报*, 2013, 28(3): 281–286]
- Sun XW, Lu CY, Jia ZY, *et al.* The progress of molecular marker-based breeding for aquatic species. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2009, 16(6): 981–990 [孙效文, 鲁翠云, 贾智英, 等. 水产动物分子育种研究进展. *中国水产科学*, 2009, 16(6): 981–990]
- Tian M, Li Y, Jing J, *et al.* Construction of a high-density genetic map and quantitative trait locus mapping in the sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Scientific Reports*, 2015, 5: 14852
- Tong DZ, Wu SQ, Ye YF, *et al.* Nuclear transfer of fish. *China Scientific Bulletin*, 1963(7): 60–61 [童第周, 吴尚懋, 叶毓芬, 等. 鱼类细胞核的移植. *科学通报*, 1963(7): 60–61]
- Wang D, Mao HL, Chen HX, *et al.* Isolation of Y- and X-linked SCAR markers in yellow catfish and application in the production of all-male populations. *Animal Genetics*, 2010, 40(6): 978–981
- Wang Q, Yu Y, Zhang Q, *et al.* The polymorphism of LvMMD2 and its association with growth traits in *Litopenaeus vannamei*. *Marine Biotechnology*, 2020, 22(4): 564–571
- Wang QD, Li ZJ, Gui JF, *et al.* Paradigm changes in freshwater aquaculture practices in China: Moving towards achieving environmental integrity and sustainability. *Ambio*, 2017, 47(4): 410–426
- Wang WJ, Yang JM, Dong YH, *et al.* Establishment of near infrared models of eight components in fresh tissue of Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Ocean and Limnology*, 2015, 46(4): 845–852 [王卫军, 杨建敏, 董迎辉, 等. 长牡蛎(*Crassostrea gigas*)鲜样组织八种成分含量近红外(NIR)模型的建立. *海洋与湖沼*, 2015, 46(4): 845–852]
- Wei J, Chang YQ, Nie ZL, *et al.* The method for measuring the body length of sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *China: CN101006922A*. 2007. 01. 25 [魏杰, 常亚青, 聂竹兰, 等. 准确测量活体刺参体长的方法. *中国: CN101006922A*. 2007. 01. 25]
- Wu XW, Zhang YH, Xiao S, *et al.* Heterosis and triploid advantage between Chinese and American populations of Kumamoto oysters (*Crassostrea gigas*). *Journal of Fishery Sciences of China*, 2019, 26(3): 465–472 [武祥伟, 张跃环, 肖述, 等. 熊本牡蛎中国群体与美国群体杂交效应及杂交三倍体优势分析. *中国水产科学*, 2019, 26(3): 465–472]
- Xu YB. Molecular plant breeding. *Field Crops Research*, 2010, 123(2): 183–184
- Yan JJ, Jing J, Mu XY, *et al.* A genetic linkage map of the sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) based on microsatellites and SNPs. *Aquaculture*, 2013, 440: 69–71
- Yan JJ, Peng W, Du HX, *et al.* Isolation and characterization of 61 microsatellite markers from sea urchin *Strongylocentrotus nudus*. *Conservation Genetics Resources*, 2010, 2(S1): 35–38
- Yao GY, Tan J, Wu YY, *et al.* Genetic analysis of *Argopecten irradians concentricus*, “Bohai Red” and their hybrids. *Progress in Fisheries Science*, 2020, 41(5): 118–126 [姚高友, 谭杰, 吴羽媛, 等. 墨西哥湾扇贝和扇贝“渤海红”及其杂交子代的遗传分析. *渔业科学进展*, 2020, 41(5): 118–126]
- Yoneda M, Kurita Y, Kitagawa D, *et al.* Age validation and growth variability of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* off the Pacific coast of northern Japan. *Fisheries Science*, 2007, 73(3): 585–592
- Yu DH, Jia XP, Chen SW, *et al.* Optimization of pulse parameters in electroporation of *Pinctada fucata* eggs. *Marine Sciences*, 2005, 29(8): 15–19 [喻达辉, 贾晓平, 陈素文, 等. 合浦珠母贝卵子电击脉冲参数的初步研究. *海洋科学*, 2005, 29(8): 15–19]
- Yu H, Li HJ, Li Q, *et al.* Targeted gene disruption in pacific oyster based on CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein complexes. *Marine Biotechnology*, 2019, 21(3): 301–309
- Zhang GF, Liu X, Que HY, *et al.* The theory and application of hybridization and heterosis in marine mollusks. *Marine Sciences*, 2004, 28(7): 54–60 [张国范, 刘晓, 阙华勇, 等. 贝类杂交及杂种优势理论和技术研究进展. *海洋科学*, 2004, 28(7): 54–60]
- Zhang NY. Mathematical analysis on growth of *Penaeus orientalis kishinouye*. *Marine Sciences*, 1985(4): 1–7 [张乃禹. 中国对虾生长的数理分析. *海洋科学*, 1985(4): 1–7]
- Zhang XJ, Sun LN, Yuan JB, *et al.* The sea cucumber genome provides insights into morphological evolution and visceral regeneration. *PLoS Biology*, 2017, 15(10): e2003790
- Zhang XJ, Zhou L, Gui JF. Biotechnological innovation in genetic breeding and sustainable green development in Chinese aquaculture. *Scientia Sinica Vitae*, 2019, 49(1): 1409–1429 [张晓娟, 周莉, 桂建芳. 遗传育种生物技术创新与水产养殖绿色发展. *中国科学: 生命科学*, 2019, 49(11): 1409–1429]
- Zhao C, Sun P, Zhou HS, *et al.* Heritability and phenotypic correlations of gonad sweetness in the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*. *Aquaculture International*, 2014, 22(6): 1737–1742
- Zhao GH, Zhao WF, Han LS, *et al.* Metabolomics analysis of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) in different geographical origins using UPLC–Q-TOF/MS. *Food Chemistry*, 2020,

- 333: 127453
- Zhao H, Liu SL, Yang HS, *et al.* The study on thermo tolerance of juvenile offspring *Apostichopus japonicus* (Selenka) with directive breeding. *Marine Science*, 2014, 38(9): 1–6 [赵欢, 刘石林, 杨红生, 等. 刺参高温定向选育群体子一代耐温性状的分析. *海洋科学*, 2014, 38(9): 1–6]
- Zhou YD, Wu XX, Zhao HP, *et al.* Generation and phenotype analysis on *foxl2* mutant in Medaka, *Oryzias latipes*. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2019, 39(2): 20–30 [周运迪, 吴星星, 赵海洋, 等. 青鳞 *foxl2* 基因敲除突变体的构建与表型分析. *广东海洋大学学报*, 2019, 39(2): 20–30]
- Zhou ZC, Liu SK, Dong Y, *et al.* High-density genetic mapping with interspecific hybrids of two sea urchins, *Strongylocentrotus nudus* and *S. intermedius*, by RAD Sequencing. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0138585
- Zhu Z, Li J, He L, *et al.* Novel gene transfer into the fertilized eggs of gold fish (*Carassius auratus* L. 1758). *Journal of Applied Ichthyology*, 1985, 1(1): 31–34
- Zhu ZY, Xu KJ, Li GH, *et al.* Biological effects of human growth hormone gene microinjected into the fertilized eggs of loach *Misgurnus anguillicaudatus* (Cantor). *Science Bulletin*, 1986(14): 988–990
- Zhu ZY, Xu KS, Xie YF, *et al.* Establishment of transgenic fish model. *Scientia Sinica (Chimica)*, 1989(2): 147–155 [朱作言, 许克圣, 谢岳峰, 等. 转基因鱼模型的建立. *中国科学(B辑)*, 1989(2): 147–155]

(编辑 马瑾艳)

## Application of Germplasm Innovation Technology in Sea Cucumber and Sea Urchin Genetic Breeding

DING Jun<sup>1</sup>Ⓐ, HAN Lingshu<sup>2</sup>, CHANG Yaqing<sup>1</sup>Ⓐ

(1. Key Laboratory of Mariculture & Stock Enhancement in North China's Sea, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Dalian Ocean University, Dalian 116023; 2. School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315832)

**Abstract** Along with the development and innovations in genetic engineering and biotechnology, aquaculture breeding has expanded from traditional selective breeding and hybrid breeding to marker-assisted selective breeding, cell engineering breeding, genome-wide genotyping-based selective breeding, molecular design breeding, sex control breeding, gene transfer, gene editing, and other molecular marker-assisted breeding technologies. Although the aquaculture seed industry has advanced, several problems and challenges remain such as the low coverage rate of improved varieties and insufficient research depth. This review provides a detailed analysis of the main advances made in the field of aquaculture technology and summarizes the commercially valuable germplasm resources of echinoderms (sea cucumbers and sea urchins) and their applications. We also propose to the sea cucumber and sea urchin breeding industry to provide a reference for the development of germplasm resources for echinoderms of commercial value and promote the green development of the aquaculture industry.

**Key words** Germplasm innovation technology; Sea cucumber; Sea urchin; Genetic breeding

Ⓐ Corresponding author: DING Jun, E-mail: dingjun19731119@hotmail.com;  
CHANG Yaqing, E-mail: yqchang@dlou.edu.cn