

文章编号: 1000-0615(2018)10-1513-07

DOI: 10.11964/jfc.20171211084

克氏原螯虾染色体及其核型

张莎, 俞树惠, 邱高峰*

(上海海洋大学农业部淡水水产种质资源重点实验室, 上海水产养殖工程技术研究中心,
水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306)

摘要: 染色体是遗传物质的载体, 是研究细胞遗传学的基础, 为研究克氏原螯虾染色体及其核型, 实验以性未成熟雄性个体的精巢为材料, 采用低渗和空气干燥常规方法制备细胞分裂中期染色体标本, 研究了克氏原螯虾染色体及核型。Giemsa和DAPI染色后在显微镜下观察到清晰的精母细胞减数分裂中期二价体和精原细胞有丝分裂中期染色体时相。对减数分裂中期二价体及有丝分裂中期染色体进行了数目上的统计。结果显示, 克氏原螯虾二倍与单倍染色体数目分别为 $2N=188$ 和 $N=94$ 。由于有丝分裂染色体形状微小, 核型分析困难, 故选取减数分裂中期二价体, 根据长度及着丝点位置对其进行了初步核型分析, 核型公式为 $N=55M+22(SM, ST)+17T$, 未发现异形性染色体。

关键词: 克氏原螯虾; 染色体; 核型分析; 空气干燥法

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*), 俗称小龙虾, 但在分类学上不属于龙虾科(Palinuridae), 而属于螯蛄科(Astacidae), 原螯蛄属(*Procambarus*)。克氏原螯虾原产于美国东南部, 特别是密西西比河路易斯安那州, 最初作为饲料来源引种到日本, 20世纪又由日本引进中国, 并迅速在我国上海、江浙、安徽、湖北等地扩展^[1]。克氏原螯虾具有生长速率快、养殖周期短、肉质鲜美等优点, 现已成为我国重要的淡水养殖品种。因此, 开展克氏原螯虾染色体研究可为遗传改良及新品种培育提供基础资料。

至今国内外的学者已对近100种十足目(Decapoda)甲壳动物的染色体数目进行了研究, 大多数报道集中在对虾科(Penaeidae)^[2-5]和长臂虾科(Palaemonidae)^[6-7]、单肢虾科(Sicyonidae)^[8]、海螯虾科(Nephropidae)^[9]、螯虾科(Astacidae)^[10]、螯蛄科(Cambaridae)^[11]、拟河虾科(Parastacidae)^[12]等。研究表明, 对虾科的染色体数目比较恒定, 大多数为 $2N=88$ ^[13], 长臂虾科物种间的染色体数目却不稳定, 即使同一个属的物种染色体数目相

差也较大, 如沼虾属的罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergui*)二倍体($2N=118$)^[8], 日本沼虾(*M. nipponense*)二倍体($2N=104$)^[6]。螯虾类不同物种染色体数目变化范围更大($2N=116\sim 376$), 其中亚太螯虾(*Astacus trowbridgii*)是迄今报道的染色体数目最多的物种($2N=376$)。

由于甲壳动物染色体数目庞大, 而且细胞有丝分裂指数低, 进行染色体的核型分析比较困难, 因此核型方面的研究报道很有限。本实验利用常规空气干燥法制备克氏原螯虾精巢细胞染色体标本, 采用Giemsa和DAPI两种染色方法, 获得了清晰的精巢细胞有丝分裂和减数分裂中期分裂相, 对其进行了数目统计及初步核型分析。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

克氏原螯虾购自上海浦东新区临港新城芦潮港镇果园农贸市场。暂养于实验室的水族缸

收稿日期: 2017-12-11 修回日期: 2018-03-14

资助项目: 上海高校水产学高峰学科建设和知识服务平台项目; 上海高校水产学一流学科建设项目

通信作者: 邱高峰, E-mail: gqiu@shou.edu.cn

中。每天给予其充足的氧气以及新鲜的食物，保证其生命活力。

1.2 实验方法

染色体的制备 (1)秋水仙素处理：向克氏原螯虾第二步足侧夹缝中注射浓度为0.01%的秋水仙素，注射剂量为10 $\mu\text{g/g}$ 虾体质量。注射后暂养2~4 h。

(2)采样：解剖取出克氏原螯虾的精巢于生理盐水中剪碎。

(3)低渗：将剪碎后的组织1 000 r/min离心10 min，吸去上清液。加入75 mmol/L的KCl低渗液，低渗时间为1 h。

(4)固定：1 000 r/min离心10 min，去除上清液。加入新配制的卡诺固定液(甲醛：冰醋酸=3：1)，固定0.5 h，1 000 r/min离心10 min，吸去上清液加入新的固定液，重复3次。最后将新加入固定液的细胞悬液置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，过夜处理。

(5)解离： $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 中取出已经固定好的细胞悬液，离心去上清液(同上)。加入50%的冰醋酸2~3滴进行细胞解离后，加入新配制的卡诺固定液。

(6)滴片：将细胞悬液滴在载玻片上(载玻片提前冷冻在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中)，滴片的高度为1~2 m。

(7)干燥：立刻将滴有细胞悬液的载玻片置于酒精灯下烘烤，一边用嘴吹气使细胞完全分散。

(8)染色：将载玻片置于Giemsa染缸中(pH=7.0的磷酸缓冲液配制)染色15 min，用清水

冲洗干净，或者将载玻片进行酒精梯度脱水后用DAPI染色8 min。

(9)观察：将染色体标本置于显微镜下观察、拍照。

染色体的核型分析 选取了76个细胞分裂中期分裂相清晰的染色体图片进行数目统计以及核型分析。

2 结果

2.1 克氏原螯虾染色体的形态

实验选取克氏原螯虾的精巢组织制备染色体标本，Giemsa和DAPI染色后，在显微镜下观察到了清晰的精原细胞有丝分裂和精母细胞减数分裂I中期的分裂时相以及精母细胞减数分裂细线期/偶线期、粗线期的分裂相。克氏原螯虾精原细胞有丝分裂中期的染色体形状大多呈X型，为中部着丝点染色体(图1-a)，精母细胞减数分裂中期二价体为短棒状(图1-b)。减数分裂细线期/偶线期发生同源染色体的联会过程，形成二价体，二价体呈细丝状相互缠绕在一起(图1-c)，无法辨认出是细线期还是偶线期。粗线期二价体变粗(图2-a)，呈长条状，每条二价体上有染色较深的颗粒状小点，为异染色质(箭头)部分(图2-b, c)。在显微镜下观察克氏原螯虾的精巢细胞染色体标本可以发现大多数分裂相处于减数分裂时期，证明了细胞分裂的同步性。

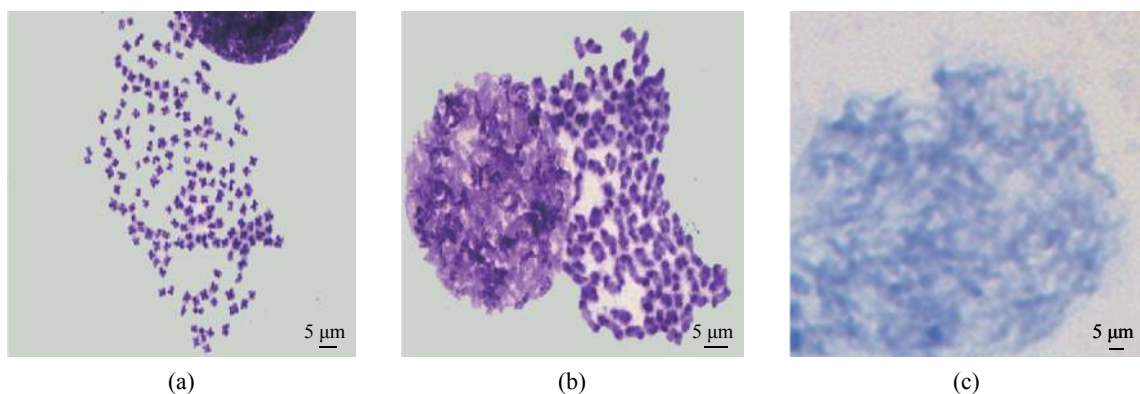


图1 克氏原螯虾精巢细胞分裂染色体时相(Giemsa染色)

(a) 精原细胞有丝分裂中期染色体，(b) 精母细胞减数分裂中期二价体，(c) 精母细胞减数分裂细线期/偶线期二价体

Fig. 1 The phase of chromosomes of the testis cells in *P. clarkii* (Giemsa staining)

(a) chromosomes in mitosis metaphase of spermatogonium, (b) bivalents in meiosis metaphase of spermatocyte, (c) bivalents in meiosis leptotema/zygotema of spermatocyte

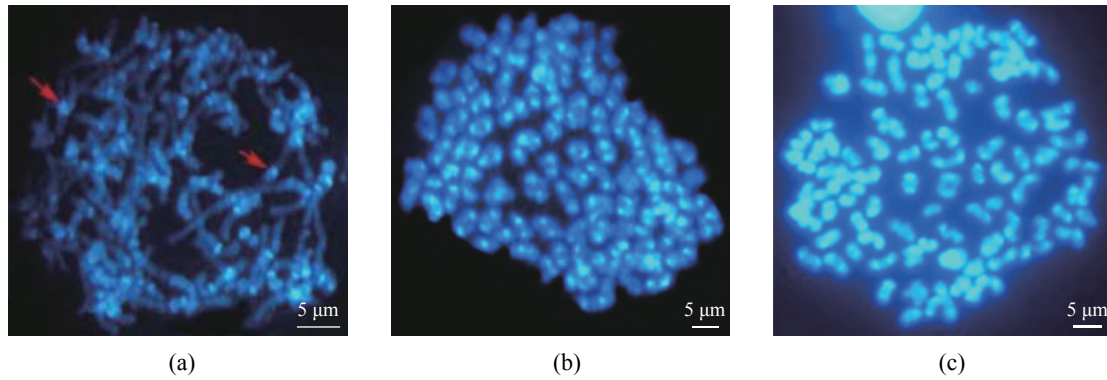


图 2 克氏原螯虾精母细胞减数分裂染色体时相(DAPI染色)

(a) 精母细胞减数分裂粗线期二价体, 箭头指的是异染色质小块, (b) (c) 精母细胞减数分裂中期二价体

Fig. 2 The phase of chromosomes of the spermatocyte meiosis in *P. clarkii* (DAPI staining)

(a) means bivalents in meiosis pachynema of spermatocyte, arrows show heterochromatin, (b) and (c) mean bivalents in meiosis metaphase of spermatocyte

2.2 克氏原螯虾染色体的数目及核型分析

克氏原螯虾染色体分裂相共76个, 其中50个为精母细胞减数分裂时期, 26个为精原细胞有丝分裂时期。对染色体数目及出现的频率进行了统计, 其中初级精母细胞二价体数目 $N=94$ 出现了28次, 占总数的56%, $2N=188$ 出现了20次, 占有丝分裂精原细胞个数的77%(表1)。结果显示, 克氏原螯虾二倍体染色体数目为 $2N=188$, 单倍体数目 $N=94$ 。由于精原细胞有丝分裂染色体微小, 核型分析困难, 实验对精母细胞减数分裂中期二价体做了初步的核型分析(图3), 根据着丝点的位置将克氏原螯虾减数分裂二价体分为3组: A组(1~55号)共有55条, 可以清楚地辨别着丝点的位置, 为中部着丝点二价体; B组(56~77号)共有22条, 为亚中部或者亚端部着丝点二价体; C组(77~94号)共有17条, 找不到着丝点, 且二价体呈小点状, 归为端部着丝点二价体。所以克氏原螯虾二价体核型公式为 $N=55M+22(SM, ST)+17T$ 。绝大多数二价体上都存在异

染色质, 位于染色体的端粒区。核型分析结果未发现异形性染色体。

3 讨论

3.1 染色体的制备

实验材料的选取 甲壳动物染色体的制备关键在于实验材料的选取, 最常见的是精巢组织, 其优点是精巢组织处于细胞分裂旺盛的阶段, 更容易获得细胞的分裂相, 也有人选用卵巢、胚胎、无节幼体等材料^[14], 处理方式也会有相应的变化, 包括秋水仙素的注射浓度、低渗时间等等。本实验选用克氏原螯虾精巢组织为实验材料, 在显微镜下观察到了清晰的精原细胞有丝分裂和精母细胞减数分裂中期分裂相。实验过程中也尝试使用心、鳃、触角腺等组织来制备染色体标本, 但是都未观察到处于中期的细胞分裂相, 甚至找不到分裂的细胞, 说明这些组织不适合用于克氏原螯虾制备染色体标本。

染色体制备过程 经过实验分析, 克氏原螯虾染色体制备时的低渗液KCl浓度为75 mmol/L,

表 1 克氏原螯虾精巢细胞染色体和二价体数目出现频率

Tab. 1 Frequency of chromosomes and bivalents number of testis cell in *P. clarkii*

结果 result	初级精母细胞二价体数目(N) the number of bivalents in primary spermatocyte									精原细胞染色体数目(2N) the number of chromosomes in spermatogonium					
	80	84	87	88	90	91	92	94	总计 total	126	133	160	186	188	总计 total
出现频率/次 frequency	2	2	2	5	7	1	3	28	50	1	2	2	1	20	26
所占百分比/% percentage	4	4	4	14	16	2	6	56	100	3.8	7.7	7.7	3.8	77	100

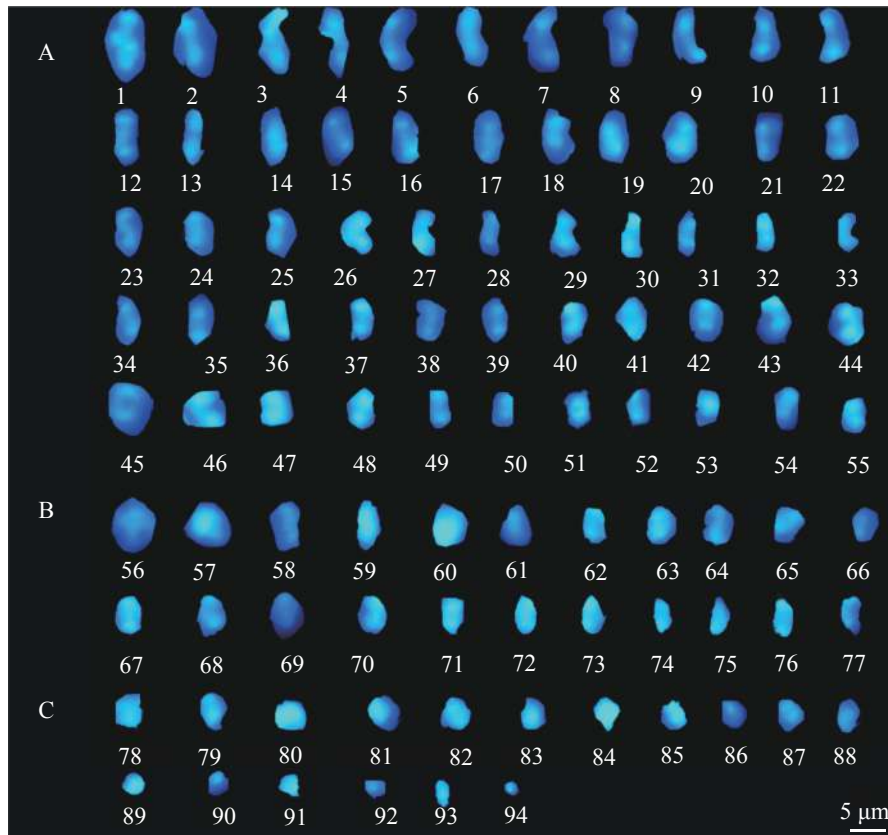


图3 克氏原螯虾精母细胞减数分裂时期二价体核型图

图中数字代表二价体的编号，A组为中部着丝点二价体，B组为亚中部或亚端着丝点二价体，C组为端着丝点二价体

Fig. 3 The karyotype of bivalents in meiotic metaphase of spermatocyte in *P. clarkii*

The numbers in the figure represent the bivalent number. The group A includes metacentric bivalent, the group B includes sub-metacentric or acrocentric bivalent, the group C includes telocentric bivalent

低渗时间为1 h左右；滴片的作用是使染色体均匀的散落在载玻片上，高度过低会使染色体集中在一起难以计数，过高则染色体会过于分散或丢失，同样不利于计数，一般滴片高度为1.5~2 m为最佳。由于克氏原螯虾染色体数目庞大，肉眼进行的核型分析都会有一定的人为误差。所以要得到准确的核型需要进一步的分子遗传学分析，比如GISH (genomic fluorescence *in situ* hybridization)技术可以利用荧光信号在同源染色体上的位置相似来判定同源染色体，用于核型分析^[15]。

3.2 克氏原螯虾染色体的数目及核型分析

已有研究报道过克氏原螯虾减数分裂二价体数目 $N=94$ ^[16]，但并未获得有丝分裂染色体分裂相，无法进行 $2N$ 数目统计验证，近年国外也报道过克氏原螯虾染色体数目为 $2N=188$ ，但没有关于染色体核型公式的描述，本研究在显微

镜下观察到清晰的精原细胞有丝分裂中期染色体和精母细胞减数分裂中期二价体分裂相，通过对染色体数目的统计分析，得到克氏原螯虾精母细胞减数分裂中期二价体数目($N=94$)，精原细胞有丝分裂染色体数目($2N=188$)。本实验总结出了相对准确的二价体核型公式 $N=55M+22(SM, ST)+17T$ ，完善了克氏原螯虾染色体核型分析的信息。克氏原螯虾精原细胞有丝分裂时期染色体有丝分裂指数较低、数目庞大、形态较小等原因导致核型分析不准确。减数分裂中期二价体变粗，呈短棒状，相比有丝分裂的染色体要大很多，染色体形态更为清晰，便于进行核型分析。所以，本实验选择精母细胞减数分裂中期进行染色体核型分析，确保了实验数据的准确性。邱高峰^[7]也曾经选择日本沼虾精母细胞减数分裂时期进行了核型分析，证明了分析的可行性。本实验使用Giemsa和DAPI两种方法对克氏原螯虾染色体进行染色，相比于Giemsa染色法

表 2 螯蛄科染色体数目

Tab. 2 The number of chromosomes in Cambaridae

物种 species	单倍体 haploid	二倍体 diploid	核型公式 karyotype formula	文献 reference
<i>Procambarus digueti</i>	N=51	2N=102	N=35M+15m+1ST	[19]
<i>Procambarus llamasii</i>	N=60	2N=120	N=60T	[11]
克氏原螯虾 <i>Procambarus clarkii</i>	N=94		未进行核型分析	[16]
	N=94	2N=188	未进行核型分析	[20]
	N=94	2N=188	N=55M+22(SM,ST)+17T	本文 this paper
<i>Cambaroides japonicus</i>	N=98	2N=196	未进行核型分析	[21]
<i>Cambarus virilis</i>	N=100	2N=200	未进行核型分析	[22]
<i>Cambarus immunis</i>	N=104	2N=208	未进行核型分析	[22]

注: M. 正中部, m. 中部

Notes: M. mediocentrics, m. metacentrics

不容易上色, DAPI的染色效果更明显, 染色体的轮廓更加分明, 异染色质清晰可见, 更加有利于染色体的核型分析, 减少因染色体不清晰带来的实验误差。

螯蛄科二倍体染色体的数目在100~200变化(表2), 虽然没有直接证据显示染色体数目的多少与其进化方面有直接关系, 但是染色体的数目可以作为物种进化过程中亲缘关系判定的依据^[17]。根据一些关于十足目染色体倍数进化的观点^[18], 虾类染色体数目在进化过程中成倍增加, 将虾类分为3组: (1)2N组: 二倍体染色体数目70~90; (2)4N组: 二倍体染色体数目140~180; (3)8N组: 二倍体染色体数目280~360。染色体数目越少, 则进化更为原始。克氏原螯虾二倍体染色体数目为2N=188, 应该归为4N组。*P. digueti*和*P. llamasii*属于2N组, 而其他则属于4N组, 也进一步证明染色体在进化过程中数目呈倍数性增加(表2)。本实验统计的克氏原螯虾二倍体染色体数目2N=188, 为亚太螯虾染色体数目的一半, 具体二者之间在进化上的关系还需要进一步开展分子遗传学研究。

参考文献:

- [1] 徐增洪, 周鑫, 水燕, 等. 克氏原螯虾繁殖行为生态学的实验研究[J]. 中国水产科学, 2014, 21(2): 382-389.
Xu Z H, Zhou X, Shui Y, et al. Experiment study on reproductive behavioral ecology of crayfish *Procambarus clarkii*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2014, 21(2): 382-389(in Chinese).

- [2] 相建海. 中国对虾染色体的研究[J]. 海洋与湖沼, 1988, 19(3): 205-209.
Xiang J H. The chromosome study on chinese shrimp, *Penaeus orientalis kishinouye*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1988, 19(3): 205-209(in Chinese).
- [3] 姜叶琴, 谢树海, 周琴, 等. 秀丽白虾染色体核型的初步分析[J]. 水产科学, 2008, 27(9): 470-472.
Jiang X Q, Xie S H, Zhou Q, et al. Chromosome karyotype in freshwater prawn *Exopalaemon modestus*[J]. Fisheries Science, 2008, 27(9): 470-472(in Chinese).
- [4] 周岭华, 张晓军, 相建海. 鹰爪虾染色体数目与核型的研究[J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(3): 250-254.
Zhou L H, Zhang X J, Xiang J H. Study on number and karyotype of a marine shrimp *Trachypenaeus curvirostris*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1999, 30(3): 250-254(in Chinese).
- [5] 李洋, 刘萍, 李健, 等. 脊尾白虾染色体制备及核型的初步研究[J]. 大连海洋大学学报, 2012, 27(5): 453-456.
Li Y, Liu P, Li J, et al. The chromosome preparation and karyotype in ridgetail white prawn *Exopalaemon carinicauda*[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2012, 27(5): 453-456(in Chinese).
- [6] 邱高峰, 堵南山, 赖伟. 日本沼虾染色体及其核型的研究[J]. 海洋与湖沼, 1994, 25(5): 493-498.
Qiu G F, Du N S, Lai W. Chromosomal and karyological studies on the freshwater prawn *Macrobrachium nipponense* (Crustacea, Decapoda)[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1994, 25(5): 493-498(in Chinese).
- [7] 邱高峰. 细螯沼虾染色体的研究[J]. 中国水产科学,

- 1997, 4(1): 1-6.
- Qiu G F. Studies on chromosomes of *Macrobrachium superbum* Heller (Crustacea, Decapoda)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 1997, 4(1): 1-6(in Chinese).
- [8] González-Tizón A M, Rojo V, Menini E, *et al.* Karyological analysis of the shrimp *Palaemon serratus* (Decapoda: Palaemonidae)[J]. Journal of Crustacean Biology, 2013, 33(6): 843-848.
- [9] Coluccia E, Cau A, Cannas R, *et al.* Mitotic and meiotic chromosomes of the American lobster *Homarus americanus* (Nephropidae, Decapoda)[J]. Hydrobiologia, 2001, 449(1-3): 149-152.
- [10] Mlinarec J, Mužić M, Pavlica M, *et al.* Comparative karyotype investigations in the european crayfish *Astacus astacus* and *A. leptodactylus* (Decapoda, Astacidae)[J]. Crustaceana, 2011, 84(12-13): 1497-1510.
- [11] Indy J R, Arias-Rodríguez L, Páramo-Delgado S, *et al.* Mitotic karyotype of the tropical freshwater crayfish *Procambarus (Austrocambarus) llamasii* (Decapoda: Cambaridae)[J]. Revista de Biología Tropical, 2010, 58(2): 655-662.
- [12] Tan X Q, Qin J G, Chen B N, *et al.* Karyological analyses on redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae)[J]. Aquaculture, 2004, 234(1-4): 65-76.
- [13] 王青, 孔晓瑜, 于珊珊, 等. 十足目染色体研究进展[J]. 海洋科学, 2005, 29(6): 60-65.
- Wang Q, Kong X Y, Yu S S, *et al.* Advance in study on chromosome of deopoda[J]. Marine Sciences, 2005, 29(6): 60-65(in Chinese).
- [14] 张晓军, 周岭华, 相建海. 刀额新对虾染色体核型及细胞核DNA含量[J]. 海洋与湖沼, 2002, 33(3): 225-231.
- Zhang X J, Zhou L H, Xiang J H. The chromosome karyotype and cellular DNA contents of *Metapenaeus ensis*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2002, 33(3): 225-231(in Chinese).
- [15] 郑娇, 曹款, 杨安冉, 等. 黄姑鱼染色体识别与重复序列定位[J]. 水产学报, 2016, 40(8): 1156-1162.
- Zheng J, Cao K, Yang A R, *et al.* Chromosome mapping using genomic DNA and repetitive DNA sequences as probes for somatic chromosome identification in *Nibea albiflora*[J]. Journal of Fisheries of China, 2016, 40(8): 1156-1162(in Chinese).
- [16] 朱越雄, 曹广力. 克氏螯虾染色体研究[J]. 水产养殖, 1997(3): 12-13.
- Zhu Y X, Cao G L. The chromosomes of *Procambarus clarkii*[J]. Journal of Aquaculture, 1997(3): 12-13(in Chinese).
- [17] 杨硕. 口虾蛄染色体核型及细胞核DNA含量研究[D]. 大连: 大连海洋大学, 2015.
- Yang S. The chromosome karyotype and nuclear DNA content of *Oratosquilla oratoria*[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2015(in Chinese).
- [18] 朱冬发, 李少菁, 王桂忠. 东方扁虾的染色体[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2000, 39(6): 844-848.
- Zhu D F, Li S J, Wang G Z. Study on the chromosome of the squat lobster, *Thenus orientalis* (Lund)[J]. Journal of Xiamen University (Natural Science Edition), 2000, 39(6): 844-848(in Chinese).
- [19] Chong M E D, Foster N R, Zarate L A. A Cytogenetic Study of the Crayfish *Procambarus digueti* (Bouvier, 1897) (Decapoda, Cambaridae) from Lake Camecuaro, Michoacan, Mexico[J]. Crustaceana, 1997, 70(8): 875-885.
- [20] Deidda F, Cau A, Sabatini A, *et al.* Karyotype, ribosomal genes, and telomeric sequences in the crayfish *Procambarus clarkii* (Decapoda: Cambaridae)[J]. Journal of Crustacean Biology, 2014, 34(4): 525-531.
- [21] Niiyama H. The Chromosomes of the crayfish, *Cambaroides japonicus* (de Haan) (With 4 Figures in Text)[J]. Journal of the Faculty of Science Hokkaido Imperial University Series VI. Zoology, 1934, 3(4): 41-53.
- [22] Fasten N. Spermatogenesis of the American crayfish, *Cambarus virilis* and *Cambarus immunis*, with special reference to synapsis and the chromatoid bodies[J]. Journal of Morphology, 1914, 25(4): 587-649.

Chromosome and karyotype of the crayfish (*Procambarus clarkii*)

ZHANG Sha , YU Shuhui , QIU Gaofeng *

(Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources,
Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture,
National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education,
Shanghai Ocean University, Ministry of Agriculture, Shanghai 201306, China)

Abstract: The crayfish *Procambarus clarkii* was introduced into China in the last century and has become a commercially important cultured species. Most of previous research of *P. clarkii* focus on physiology, ecology and reproductive biology. Little is known about its genetic basis. Chromosomes are carriers of genetic material. The study of chromosome in *P. clarkii* can provide indispensable basic data for genetic improvement and breeding of new varieties. In this paper, the chromosome and karyotype of the crayfish *P. clarkii* were studied by preparing metaphase spreads from the tissue of immature testis using the conventional method of hypotension and air-dry. Well-spreads in meiotic metaphase of spermatocyte and mitotic metaphase of spermatogonium were obtained after DAPI and Giemsa staining. Most of chromosomes in mitotic metaphase were X-shaped, which are regarded as metacentric chromosomes. The bivalents in meiotic metaphase were short rod with heterochromatin located at the end. The number of chromosomes in mitotic metaphase and bivalents in meiotic metaphase was statistically calculated based on 50 spermatocytes and 26 spermatogonia division phases, respectively. The number of bivalents which was $N=94$ appeared 28 times, accounting for 56% of spermatocyte. The number of chromosomes with $2N=188$ appeared 20 times, accounting for 77% of the number of mitotic spermatogonia. Thus we concluded that the number of diploid and haploid chromosomes of *P. clarkii* was $2N=188$ and $N=94$, respectively. Since the mitotic chromosome is too small to perform karyotype analysis, we conducted a preliminary meiotic karyotype analysis based on bivalent length and position of the centromere. The karyotype formula is $N=55M+22(SM, ST)+17T$, including 55 metacentric bivalents, 22 sub-metacentric or acrocentric bivalents, and 17 telocentric bivalents. No sex chromosome was identified.

Key words: *Procambarus clarkii*; chromosome; karyotype analysis; air-dry

Corresponding author: QIU Gaofeng. E-mail: gfqiu@shou.edu.cn

Funding projects: Funding for Shanghai University Fisheries Summit Discipline Construction and Knowledge Service Platform Shanghai University Fisheries First-class Discipline Construction Projects