

5- 溴尿嘧啶对中国明对虾受精卵的处理条件

赖光艳^{1,2}, 孔杰¹, 王清印¹, 张天时¹, 罗坤¹, 黄雪芹^{1,2}

(1. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 农业部海洋渔业可持续利用重点开放实验室, 山东 青岛 266071; 2. 上海海洋大学 生命科学与技术学院, 上海 200090)

摘要: 利用化学诱变剂 5- 溴尿嘧啶 (5-Bromouracil, 5-BrUra) 处理不同发育时期中国明对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 胚胎, 统计孵化率, 根据统计学分析结果获得最佳处理条件, 并探讨温度、盐度和 pH 对 5- 溴尿嘧啶处理效果的影响以及 5- 溴尿嘧啶对中国明对虾幼体发育的影响。结果表明: (1) 5- 溴尿嘧啶诱变中国明对虾的最佳起始处理阶段为原肠期, 达到接近半致死效果的浓度和处理时间组合分别为 0.5 mg/mL 6 h、0.3 mg/mL 15 h 和 0.1 mg/mL 24 h; (2) 温度和盐度对 5- 溴尿嘧啶诱变中国明对虾胚胎的效果可产生显著影响, 而 pH 影响不显著; (3) 5- 溴尿嘧啶能影响中国明对虾幼体前期 (无节幼体 N→ 溞状Ⅲ) 发育, 而对溞状Ⅲ至仔虾期间的幼体发育没有显著影响。在此阶段, 经 5- 溴尿嘧啶处理后孵化出的幼体能够正常变态。[中国水产科学, 2008, 15(5): 860-865]

关键词: 化学诱变; 5- 溴尿嘧啶; 中国明对虾

中图分类号: S91

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2008)05-0860-06

中国明对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 是中国北方沿海海水养殖的重要种类之一。在 20 世纪 90 年代初, 其养殖产量曾占到全国对虾养殖总产量的 70% 以上^[1], 但 1993 年以后出现的病害肆虐、效益下降等问题严重影响了中国明对虾养殖产业的发展。针对白斑综合征 (White spot syndrome, WSS) 的严重危害以及中国明对虾养殖种质存在的问题, 培育抗病能力强、生长速度快的优良品种无疑是实现中国明对虾养殖“二次创业”的基本技术途径之一。

应用化学诱变剂 (Chemical mutagen) 处理胚胎或幼体以诱发基因突变, 从而引起性状的变异, 然后根据育种的目标, 对性状变异进行鉴定、培育和选择, 最终达到化学诱变的目的——育成新的品种^[2], 是生物育种的一项重要技术。迄今为止, 化学诱变已被广泛应用于水稻、大豆、玉米等重要农作物^[3-4] 和微生物育种^[5], 在水产动物中也有相关报道^[2,6], 但在对虾育种中的应用还尚未见报道。

本研究采用核酸类似物 5- 溴尿嘧啶作为诱变剂, 探讨该诱变剂的处理条件, 分析了 5- 溴尿嘧啶对中国明对虾早期各发育阶段胚胎及幼体的存活、生长和发育等方面的影响, 以期为进一步通过化学诱变开展对虾育种研究提供实验依据和技术参数。

1 材料与方法

1.1 材料

亲虾来源及培育: 实验用中国明对虾亲虾于 2007 年 4 月 17 日捕自乳山湾。捕回的亲虾暂养于 9 m³ 的水泥池内, 水体为沙滤海水, 培育水温 12~13 ℃。每天 2 次投喂新鲜鲜肉或沙蚕, 日投喂量为对虾体质量的 8%~10%。驯化培养期间, 每日观察性腺发育情况。2007 年 5 月 7 日开始, 将性腺发育成熟的亲虾移入水温为 14 ℃、容积 200 L 的白色塑料桶中产卵。产卵后的亲虾捞出后, 将产卵桶中的水温缓慢升至 16~18 ℃, 进行胚胎孵化和幼体培养。

化学诱变剂: 5- 溴尿嘧啶 (5-bromouracil, 5-BrUra), 购自 Sigma-Aldrich 公司, 置于 4 ℃冰箱保存。药品配制参照文献 [7], 按所需溶液预先 12 h 于 50 ℃的水浴中溶解, 过夜, 次日使用。

1.2 5-溴尿嘧啶处理

1.2.1 材料、诱变剂浓度及处理 采用同一尾亲虾产出的受精卵, 以发育至 1~2 细胞、4~8 细胞、16~32 细胞以及原肠期的胚胎为实验材料。5- 溴尿嘧啶浓度分别为 0.1 mg/mL、0.2 mg/mL、0.3 mg/

收稿日期: 2007-11-26; 修订日期: 2008-04-07.

基金项目: 农业部引进国际先进农业科学技术计划 (948 计划) 项目 (2006-G55B); 国家自然科学基金项目 (30500378); 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 项目 (2006AA10A406)。

作者简介: 赖光艳 (1983.11-), 男, 硕士, 主要从事对虾遗传育种研究. E-mail: guangyan.lai@gmail.com

通讯作者: 王清印. Tel: 0532-85822959; E-mail: qywang@public.qd.sd.cn

mL、0.4 mg/mL 和 0.5 mg/mL, 每阶段各设 1 组不加诱变剂的空白处理为对照。诱变处理在直径 15 cm 的培养皿中进行, 每个培养皿中放置约 5 000 个受精卵, 使受精卵平铺于培养皿底部。为控制处理条件的一致性, 所有处理材料均置于 70 cm×40 cm×30 cm 的塑料箱中。

处理开始后, 每隔 3 h 分别从不同处理组的培养皿中随机吸取 100 粒受精卵, 用过滤自然海水洗涤 3 次后, 置于 200 mL 烧杯中孵化, 统计孵化率。每个处理设置 3 个重复。

诱变处理浓度的确定: 参照文献 [7]。确定预处理实验浓度范围; 综合预实验结果, 最终确定本实验 5- 溴尿嘧啶处理浓度范围为 0.1~0.5 mg/mL。

1.2.2 温度、盐度和 pH 对 5- 溴尿嘧啶处理效果的影响 利用正交实验设计, 研究分析温度、盐度和 pH 对 5- 溴尿嘧啶处理效果的影响。实验分别设 3 个温度梯度 (17 °C、20 °C 和 23 °C)、3 个盐度梯度 (24、30 和 36) 和 3 个 pH 梯度 (7.6、8.1 和 8.6) 对材料进行处理。对处理后的材料分别培养, 统计孵化率。同时设置模拟自然条件下 (21 °C, 盐度 31, pH 8.0) 不加诱变剂处理组和自然条件下加诱变剂处理组作为对照。

本实验所有处理均在 200 mL 的烧杯中进行。盐度梯度用预先配置好的 5 mol/L NaCl 调整, pH 梯度用预先配置好的 10 mol/L NaOH 溶液和 36%~38% 浓 HCl 溶液调整。各处理均设置 3 个重复。

1.3 幼体培育

根据 1.2.1 的实验结果, 选取 3 个处理浓度与时间的组合, 每组取约 5 000 个受精卵。受精卵经 5- 溴尿嘧啶处理孵化后, 每组取 300 个无节幼体进行培育。每天观察各期幼体的生长和发育情况。按照各期幼体的营养需求, 分别投喂叉鞭金藻 (*Dicrateria* sp.)、褶皱臂尾轮虫 (*Brachionus plicatilis*)、卤虫 (*Artemia* sp.) 无节幼体以及人工配合饲料 (大乐牌饲料)。每日投喂次数、投喂量以及投喂比例根据幼体不同发育阶段进行调整。日常管理按常规方法。统计各发育阶段幼体的成活率和变态率。

2 结果与分析

2.1 处理材料、5-溴尿嘧啶浓度和处理时间对孵化率的影响

处于不同发育阶段的胚胎在不同 5- 溴尿嘧啶处理浓度和处理时间的孵化率如图 1 所示。其中, 1~2 细胞期、4~8 细胞期、16~32 细胞期、原肠期各

个处理组的孵化率均经归一化处理, 即以相同处理条件下的对照组孵化率为 100%, 各处理组与之相比获得相对孵化率。4 个对照组归一化处理前的孵化率分别为 (87.33±3.63)%、(88.00±3.61)%、(88.67±2.08)% 和 (87.67±4.04)%。

由图 1 可知, 在各个胚胎发育时期开始进行处理, 胚胎孵化率随诱变剂浓度的增加而降低; 在处理浓度不变的情况下, 胚胎孵化率随处理时间的增加而降低。随着胚胎发育时期的延长, 在相同处理浓度和处理时间条件下, 孵化率呈逐渐增加的趋势, 揭示同一浓度的 5- 溴尿嘧啶对中国明对虾胚胎的毒性效应随胚胎发育期的延长呈梯次减弱。以处理浓度和处理时间分别为 0.5 mg/mL 和 9 h 为例, 起始处理材料为 1~2 细胞期的胚胎孵化率为 (6.11±2.88)%, 4~8 细胞期的孵化率为 (14.89±2.29)%, 16~32 细胞期的孵化率为 (16.41±2.88)%, 而起始处理材料为原肠期的孵化率则达到 (46.95±1.98)%。

2.2 使不同发育阶段中国明对虾胚胎达到半致死效应的 5-溴尿嘧啶处理浓度和时间

半致死 (LD_{50}) 是衡量生物诱变效应的重要参数, 是诱变实验中确定诱变浓度和诱变时间的重要依据。根据图 1 的结果, 筛选半致死处理浓度和处理时间如表 1 所示。

结果表明, 在本实验条件下, 以 5- 溴尿嘧啶处理中国明对虾受精卵, 最适处理阶段为原肠期胚胎, 获得半致死条件下最佳处理浓度和处理时间组合为 0.5 mg/mL 6 h、0.3 mg/mL 15 h 和 0.1 mg/mL 24 h。

2.3 温度、盐度和 pH 对 5-溴尿嘧啶处理效果的影响

以发育至原肠期的胚胎为处理材料, 处理浓度和处理时间分别为 0.5 mg/mL 6 h、0.3 mg/mL 15 h 和 0.1 mg/mL 24 h。未加诱变剂对照组孵化率为 (94.67±1.53)%, 加诱变剂自然条件下对照组孵化率分别为 (62.67±1.15)%、(60.00±2.00)% 和 (59.33±4.04)%。其正交试验结果如表 2 所示。

经多因素方差分析结果发现, 温度、盐度对 5- 溴尿嘧啶处理的中国对虾受精卵孵化率影响显著 ($P<0.01$), 而 pH 影响不显著 ($P>0.05$)。对各因素水平间进行 LSD 多重比较, 结果显示, 17 °C 和 20 °C 培养条件下的孵化率分别为 (63.963±13.224)% 和 (60.111±11.686)%, 显著高于 23 °C 条件下的 (47.519±22.265)% ($P<0.05$), 盐度为 30 条件下的孵化率为 (69.222±9.724)%, 显著高于盐度为 24 和 36 的孵化率 (61.852±11.779)% 和 (40.519±16.308)% ($P<0.05$)。

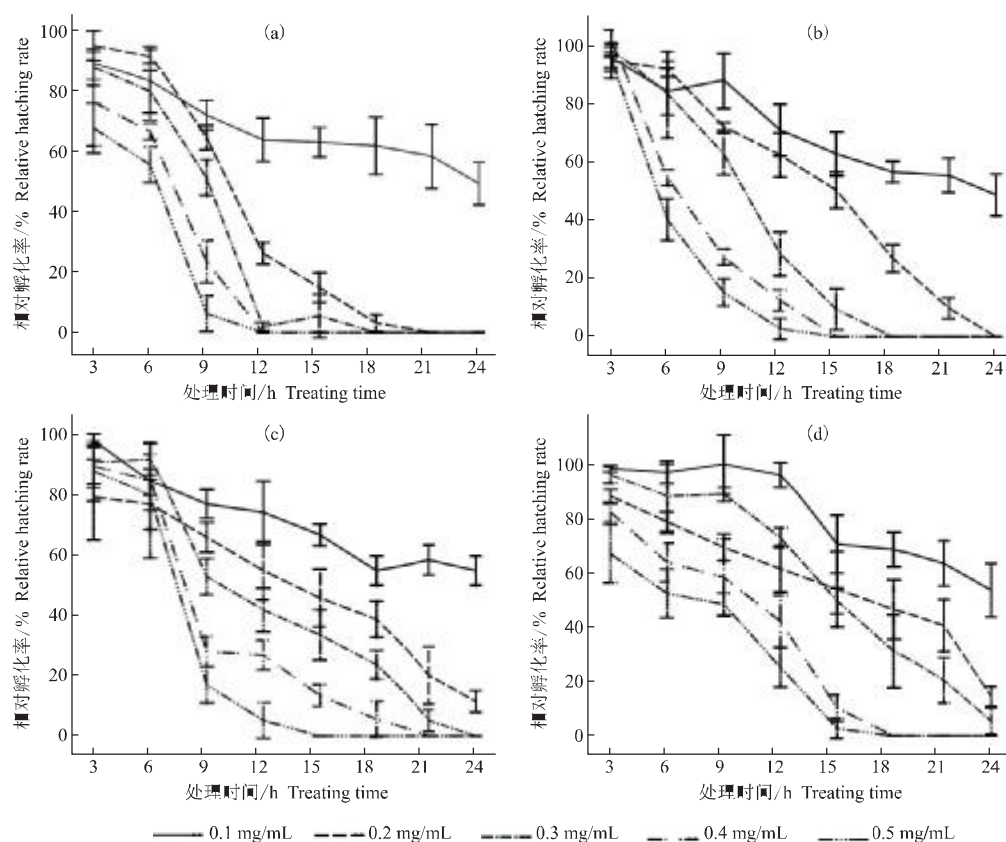


图1 5-溴尿嘧啶处理浓度、处理时间对不同发育阶段胚胎相对孵化率的影响

(a) 1~2 细胞期; (b) 4~8 细胞期; (c) 16~32 细胞期; (d) 原肠期

Fig. 1 Hatching rates of embryos at different developmental stages after 5-BrUra treatments of different concentration for different time

(a) 1-2 cell stage; (b) 4-8 cell stage; (c) 16-32 cell stage; (d) gastrula stage

表1 导致不同发育时期中国明对虾胚胎半致死效应的 5-溴尿嘧啶处理质量浓度和处理时间

Tab. 1 LD₅₀ concentrations and treating times of 5-bromouracil for *F. chinensis* at different embryonic stages

材料 Materials	处理质量浓度 / (mg·mL ⁻¹) Concentration	处理时间 / h Treating time	孵化率 / % Hatching rate ($\bar{X} \pm SD$)
1~2 细胞期 1 2 cell stage	0.1	24	49.62±1.53
	0.3	9	50.00±2.52
	0.5	6	54.20±2.52
4~8 细胞期 4-8 cell stage	0.1	24	56.49±2.08
	0.2	15	49.24±2.65
	0.4	6	53.44±1.15
16~32 细胞期 16 32cell stage	0.1	24	53.05±2.08
	0.2	12	53.05±4.04
	0.3	9	51.15±2.52
原肠期 ▲ Gastrula stage▲	0.1■	24■	51.91±4.16
	0.2	18	45.04±4.62
	0.3■	15■	48.09±2.00
	0.4	9	56.49±6.03
	0.5■	6■	50.76±4.34

注: “▲”表示最适处理胚胎发育时期; “■”半致死条件下浓度和处理时间组合。

Note: “▲” shows optimal embryonic stage; “■” shows combinations of concentration and treating time at half lethal death.

表 2 不同处理条件下中国明对虾受精卵的孵化率
Tab.2 Hatching rates of *F. chinensis* embryo under different experimental conditions $\bar{X} \pm SD$; %

实验条件 Experimental condition			处理浓度和处理时间组合 Treatment concentration and time		
温度 / °C Temperature	盐度 Salinity	pH	0.5 mg/mL 6h	0.3 mg/mL 15h	0.1 mg/mL 24h
17	24	7.6	72.67±4.51	47.67±4.93	69.33±4.16
17	30	8.1	80.33±3.51	69.33±5.13	77.33±3.21
17	36	8.6	41.67±0.58	59.00±3.61	58.33±7.09
20	24	8.1	62.67±3.06	69.67±1.53	71.00±6.11
20	30	8.6	60.67±2.08	68.33±4.93	66.67±3.51
20	36	7.6	35.67±3.06	58.33±5.51	47.67±3.21
23	24	8.6	62.00±1.73	63.67±3.51	37.67±2.52
23	30	7.6	65.00±2.65	80.67±3.06	54.67±13.32
23	36	8.1	17.33±2.52	27.67±3.06	19.00±1.00

2.4 5-溴尿嘧啶对中国明对虾幼体发育的影响

5- 溴尿嘧啶对中国明对虾幼体发育影响的实验结果如图 2 所示。诱变剂处理组各期成活率均显著低于对照组 ($P<0.05$), 幼体死亡主要发生在溞状 I 期 (Z I)→溞状 II 期 (Z II)、溞状 II 期 (Z II)→溞状 III 期 (Z III) 和糠虾 (M)→仔虾 (PL) 的变态过程中。而从变态率来看, 在无节幼体到 Z I、Z I 到 Z II 过程中, 对照组的变态率显著高于其他 3 个诱变

剂处理组; Z II 到 Z III 过程中, 对照组和 0.5 mg/mL 处理组不存在显著性差异 ($P>0.05$) 而和其他 2 个处理组存在显著性差异 ($P<0.05$); 从 Z III 开始, 对照组与处理组之间不存在显著性差异 ($P>0.05$)。说明本实验处理浓度范围内, 5- 溴尿嘧啶对 Z III 期之前幼体发育的影响明显, 而对 Z III 之后的幼体变态没有显著影响。

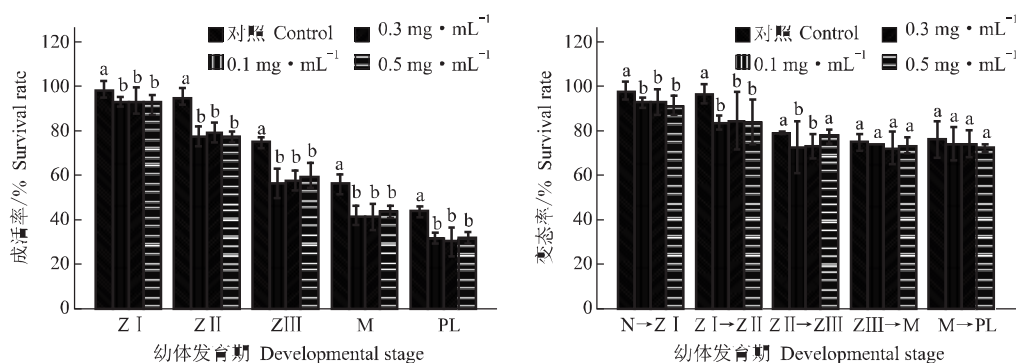


图 2 5- 溴尿嘧啶处理对中国明对虾各发育时期幼体成活率和变态率的影响

N: 无节幼体; Z I: 溞状 I 期; Z II: 溞状 II 期; Z III: 溞状 III 期; M: 糠虾; PL: 仔虾。同一发育时期中不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

Fig.2 Effects of 5-BrUra on metamorphosis and survival rates of *F. chinensis* at different developmental stages

N: nauplius; Z I: zoea I; Z II: zoea II; Z III: zoea III; M: mysis; PL: post-larvae. Different letters in the same developmental stage mean significant statistical difference ($P<0.05$).

3 讨论

3.1 5-溴尿嘧啶浓度和处理时间对不同发育阶段胚胎孵化率的影响

处理浓度是化学诱变首先需要考虑的因素。对于浓度对处理效果的影响, 主要存在两种不同的

假说^[8]: 其一为阈值假说, 该假说认为低于某个值 (阈值) 的诱变剂剂量不会对生物体产生不利影响; 其二为线性非阈值假说, 该假说认为不论诱变剂剂量为多大, 诱变剂对生物体产生的不利影响都将发生, 且随着剂量的增加而增加。本实验结果表明, 在一定的处理时间后, 胚胎孵化率随着处理浓

度的增加而降低;在浓度不变的情况下,胚胎孵化率随着处理时间的增加而降低。因此,在分析处理浓度对处理效果的影响时,必须充分考虑与处理时间的综合作用。

处理材料所处的发育阶段是另一个值得关注的问题。在水温为 16~17℃时,中国明对虾受精卵发育至 2 细胞期仅需 15 min 左右,从 4 细胞发育至 8 细胞期和从 16 细胞发育至 32 细胞期约需 55 min,而原肠期从开始到结束则需 10 h 左右^[9]。研究发现,不管细胞是处于分裂期还是非分裂期,5-溴尿嘧啶均能嵌入 DNA 而产生突变^[10-13]。本实验结果表明,5-溴尿嘧啶处理中国明对虾胚胎,随着起始处理阶段的延迟,孵化率有不同程度的上升,在胚胎发育早期(如 1~32 细胞期)进行处理对胚胎损伤过大,孵化率过低。因此,综合考虑以上因素后,笔者认为以原肠期作为起始处理阶段为佳。

半致死是衡量生物对化学诱变剂敏感性的重要参数,也是诱变育种中确定诱变剂量的重要参数^[14-15]。本研究综合考虑半致死浓度、半致死时间和起始处理阶段,获得接近半致死的处理浓度和处理时间(表 1),为实际应用提供了一定的依据。

3.2 温度、盐度和 pH 对 5-溴尿嘧啶处理效果的影响

温度是影响胚胎发育速度和胚胎孵化率的直接因素。在恒温条件下,中国明对虾受精卵正常发育的温度上限是 26℃,下限是 11℃,最适温度为 18~22℃^[9]。本实验所用 3 个温度梯度虽均属于胚胎正常发育温度范围,但结果显示,随着温度的升高,处理胚胎的孵化率逐渐降低,其中 17℃和 20℃处理组的孵化率显著高于 23℃时的孵化率,表明温度对 5-溴尿嘧啶的处理效果产生显著影响。

盐度直接影响中国明对虾胚胎渗透压的调节。中国明对虾胚胎发育的最适盐度范围为 24.54~35.08,可以正常适应的盐度范围是 23.82~36.97,可耐受盐度范围为 20.35~39.13^[9]。当盐度接近可耐受的上限或者下限时,胚胎的发育速度变缓,畸形率增加。在没有经过 5-溴尿嘧啶处理时,本实验 3 个盐度梯度均能使胚胎正常发育。但盐度梯度对 5-溴尿嘧啶处理胚胎的孵化率存在显著影响。其中,盐度为 30 时的孵化率显著高于 24 和 36 时的孵化率,表明盐度对 5-溴尿嘧啶作用产生显著影响。

中国明对虾胚胎发育对 pH 的要求比较严格。胚胎可以正常发育的 pH 范围是 7.504~8.78,其最

适 pH 范围为 7.84~8.6^[9]。本实验结果显示,本实验所设 pH 梯度并未显著影响孵化率,表明所采用的 pH 范围对 5-溴尿嘧啶处理效果没有显著影响。

3.3 5-溴尿嘧啶对中国明对虾幼体变态率和成活率的影响

本实验对 5-溴尿嘧啶处理后的中国明对虾幼体变态和存活情况的研究结果表明,对照组幼体成活率显著高于 5-溴尿嘧啶处理组成活率,处理组的幼体发育过程受到 5-溴尿嘧啶的抑制,其中幼体死亡主要出现在 ZI→Z II、Z II→Z III 和 M→PL 的变态过程中。从变态率来看,5-溴尿嘧啶处理主要影响幼体的前期(无节幼体 N→溞状 III)发育,而经过 5-溴尿嘧啶处理过的溞状 III 之后的幼体能够顺利变态到仔虾。Xiang 等^[16]认为,中国明对虾幼体发育死亡主要发生在 Z II→Z III 和 M→PL,其卵的质量在很大程度上影响幼体的发育。本实验所采用的胚胎为同一尾中国明对虾产出的受精卵,观察结果表明各处理组的卵子质量与对照组不存在明显差异,说明 5-溴尿嘧啶处理在 N→ZI、ZI→Z II 变态期间造成了显著影响。

参考文献:

- [1] 王清印,杨从海. 中国对虾健康养殖的发展现状及展望[J]. 中国水产, 2005, 1: 21-24.
- [2] 楼允东. 鱼类育种学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 108-116.
- [3] 郭玉虹,王培英,张军政. EMS 对大豆的诱变效应[J]. 核农学通报, 1994, 1(4): 162-164.
- [4] Efron Y. EMS-sensitivity factor in maize conditioning albino leaf stripes[J]. Genetics, 1974, 78: 399-867.
- [5] Freese E. The difference between spontaneous and base-analogue induced mutations of phage T4[J]. PNAS, 1959, 45: 622-633.
- [6] Kirpichnikov V S. Genetic bases of fish selection[C]. Berlin: Springer-Verlag. 1981, 18-19: 302-303.
- [7] Sawant M S, Zhang S, Wang Q. Effects of base analogues 5-bromouracil and 6-aminopurine on development of zebrafish *Danio Rerio* [J]. Chin J Oceanol Limnol, 2005, 23(1): 54-59.
- [8] Broome E J. The adaptive response: I. Assessing the relative biological effectiveness of low doses of Tritium II. Determining its effect on DNA repair at a chromosomal level[D]. University of Ottawa, 1999.

- [9] 杨丛海. 对虾繁殖和发育生物学 [M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1999: 16–61.
- [10] Freese E. The specific mutagenic effect of base analogues of phage T4[J]. J Mol Biol, 1959, 1: 87–105.
- [11] Litman R M, Pardee A B. The induction of mutants of bacteriophage T2 by 5-bromouracil. III. Nutritional and structural evidence regarding mutagenic action[J]. Biochim Biophys Acta, 1960, 42: 131–140.
- [12] Zamenhof S, Reiner B, De Giovanni R, et al. Introduction of unnatural pyrimidines into deoxyribonucleic acid of *Escherichia Coli*[J]. J Biol Chem, 1956, 219: 165–173.
- [13] Zamenhof S, Rich K, De Giovanni R. Studies on thymine-5-bromouracil “exchange” in deoxyribonucleic acids of *Escherichia coli*[J]. J Biol Chem, 1959, 234(11): 2 960–2 964.
- [14] 刘世英. 鱼类化学诱变的研究 [J], 水产学报, 1988, 12(1): 81–86.
- [15] 刘晓, 彭小明, 张国范, 等. 60Co- γ 射线对成体长牡蛎生长的影响及致死效应 [J]. 水产学报, 2005, 29(3): 424–428.
- [16] Xiang J, Li F, Zhang C, et al. Evaluation of induced triploid shrimp *Penaeus (Fenneropenaeus) chinensis* cultured under laboratory conditions[J]. Aquaculture, 2006, 259: 108–115.

Treatment factors of 5-bromouracil on *Fenneropenaeus chinensis*

LAI Guang-yan^{1,2}, KONG Jie¹, WANG Qing-yin¹, ZHANG Tian-shi¹, LUO Kun¹, HUANG Xue-qin^{1,2}

(1. Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China; 2. College of Aqua-life Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 200090, China;)

Abstract: Artificially induced mutation by chemical mutagens plays an important role in new variety breeding of crops and micro-organisms. And a lot of new strains with new commercial traits have been produced. However, few studies are reported on mutagen's application in aquatic organism breeding, especially in marine shrimps. In the present study, embryos of marine shrimp *Fenneropenaeus chinensis* at different developmental stages were treated by 5-bromouracil (5-BrUra) at different concentration and duration time. To investigate the influence of environmental factors on the effects of 5-BrUra, three temperature (17, 20 and 23 °C), three salinity (24, 30 and 36) and three pH value (7.6, 8.1 and 8.6) were set and orthogonal test was adopted in this test. Metamorphic rates and survival rates were obtained under different treatment conditions. Results are as follows: 1) The optimum initial embryonic stage for mutagen treatment was gastrula stage, and three combinations of treating concentration and duration which could induce 50% lethal death were screened as 0.5 mg/mL and 6 hours duration, 0.3 mg/mL and 15 hours duration, and 0.1 mg/mL and 24 h duration, respectively. 2) Temperature and salinity significantly affected the effects of 5-BrUra on hatching rate ($P < 0.05$) while no significant effects of pH was observed within the experimental pH ranges ($P > 0.05$). 3) From the stage of zoea III, no meaningful differences were observed on the metamorphosis rates between 5-BrUra treatment and control groups, and 5-BrUra treated larva could normally metamorphose, suggesting that 5-BrUra mainly affect larva on the early developmental stages from nauplius to zoea III. [Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15(5): 860–865]

Key words: chemical mutagen; 5-bromouracil; *Fenneropenaeus chinensis*

Corresponding author: WANG Qing-yin. E-mail: qywang@public.qd.sd.cn.