

研究简报

三倍体大连湾牡蛎的初步研究

A PRELIMINARY STUDY ON THE TRIPLOID OYSTER
CRASSOSTREA TALIENWHANENSIS

梁英 王如才 田传远 于瑞海 曲学存

(青岛海洋大学水产学院, 266003)

Liang Ying, Wang Rucui, Tian Chuanyuan, Yu Ruihai and Qu Xuecun

(Fisheries College, Ocean University of Qingdao, 266003)

关键词 大连湾牡蛎, 低温休克, 三倍体**KEYWORDS** *Crassostrea talienwhanensis*, cold shock, triploid

贝类三倍体具有不育、生长快、抗病力强以及成活率高等特点,并可以缩短养殖周期,提高单位面积产量。人工诱导贝类三倍体的研究工作起步较晚,但进展迅速,在短短几年内,国外已先后在美洲牡蛎(*Crassostrea virginica*) [Stanley等,1981]、海湾扇贝(*Argopecten irradians*) [Tabarini等,1984]等十几种贝类获得成功。在我国已成功地诱导出合浦珠母贝(*Pinctada fucata*) [姜卫国等,1987]、皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*) [王子臣等,1990]、栉孔扇贝(*Chlamys farreri farreri*) [王子臣等,1990]和虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*) [王子臣等,1990]的三倍体。

大连湾牡蛎在我国是一种非常有养殖前景的贝类。我们于1990—1992年,用低温休克法对其三倍体的人工诱导作了初步研究,并进行了单体多倍体牡蛎育苗生产试验,为牡蛎新品种的培育提供经验。

一、材料与方 法

实验是在青岛海洋大学太平角海滨实验室和牟平县养马岛镇中原海珍品育苗场进行的。大连湾牡蛎购自荣成市崖头镇养殖场,平均壳高7.3cm(最大:12.6cm,最小:4.6cm)。亲贝入池前清除壳面的污物,洗刷干净,笼养。按常规方法管理。

采用解剖法获取精卵。分别在卵受精后不同时间,用不同的低温对受精卵进行不同时间的处理,以诱导三倍体产生。以大连湾牡蛎2—4细胞期胚胎为细胞染色体倍性检查材料。以鳃制备大连湾牡蛎的染色体,检查成体染色体倍性。染色体制片方法基本按照 Moynihan 等[1983]的方法,10%Giemsa 染色、冲洗、自然风干后,在油镜下检查。

二、结 果

1. 最佳处理温度试验 卵受精后20min,在4种不同的低温条件下处理15min,结果表明,2-8℃的低温皆可

收稿日期:1993-06-04.

获得三倍体,其中以4-5℃处理诱导率最高,达70%(表1)。

表1 处理温度与三倍体率的关系(起始时间为20min,持续时间15min)

Table 1 Relation of treatment temperature and triploid rate (initiation time 20 min, treatment time 15 min)

温度(℃)	2-3	4-5	5-6	7-8
三倍体率(%)	43	70	59	50

2. 最适起始时间与持续处理时间的试验 根据最适处理温度(4-5℃)设计这项试验,结果表明,最适起始时间和持续处理时间分别为20min和15min,三倍体诱导率可达70.5%(表2)

表2 起始时间与持续时间对三倍体率的影响(4-5℃)。

Table 2 Effect of initiation time of shock and treatment time on triploid rate (4-5℃)

持续时间 (min)	起始时间(min)			
	10	15	20	25
10	22.1	40.2	60.3	42.9
15	24.2	50.3	70.5	40.0
20	51.3	40.1	67.2	60.0
25	42.5	52.2	67.1	45.6

低温处理重复试验表明:卵受精20min后,在4-5℃条件下,持续施加15min的处理,其三倍体诱导效果较好。通过四个重复试验证实,可产生72±5%的三倍体。

3. 处理组和对照组幼虫生长的对比 牡蛎幼虫的生长一般分为缓慢生长的D型幼虫期和快速生长的壳顶幼虫期两个阶段。作为这两个阶段的临分界期,即刚从D型幼虫发育至壳顶初期的死亡率最高。在这一阶段不向壳顶发育的往往死去。在本试验中,这种现象表现得非常明显。幼虫生长发育不同步,个体大小相差悬殊,最快的22天出现眼点(壳长为315μm),而生长较慢的壳长此时还不足100μm。27天后开始大批出现眼点。处理组和对照组生长规律基本相同(表3)。t检验表明,处理组和对照组的壳长生长差异显著,处理组幼虫壳长生长速度显著高于对照组(P<0.05)。

表3 处理组和对照组幼虫壳长(μm)生长情况

Table 3 Growth of shell length(μm) of larvae in treated and control groups

处理因子	日期(1991年7月)												
	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26
水温(℃)	21.8	21.9	22.1	22.1	22.0	23.2	22.5	22.8	23.8	24.0	24.5	25.5	26.0
处理组	62.4 ±1.2	75.1 ±2.6	77.4 ±4.2	82.9 ±4.2	82.1 ±2.1	85.0 ±4.3	106.1 ±10.1	118.0 ±3.8	150.4 ±19.4	171.0 ±20.9	231.2 ±30.8	270.4 ±40.5	294.4 ±20.9
对照组	60.0 ±1.9	70.0 ±2.5	78.5 ±2.3	84.8 ±3.0	80.9 ±4.3	81.8 ±3.6	88.3 ±4.8	132.0 ±13.6	134.1 ±18.7	168.9 ±24.8	226.6 ±27.4	271.4 ±18.0	287.3 ±20.1

4. 处理组与对照组幼虫死亡率及幼贝生长 随机取样测幼虫密度,发现幼虫在壳顶初期和出现眼点前的

死亡率最高,即两个死亡高峰。从整个幼虫期来看,处理组日死亡率为4.25%,对照组为4.10%,单因子方差分析表明,处理组及对照组幼虫死亡率差异不显著($\alpha=0.05$)。

幼虫于9月3日放至养马岛海珍品育苗场的海区,约1个月左右测一次大小。结果表明,三倍体在幼贝期的生长速度明显地优于对照组(二倍体)。

表4 处理组和对照组幼贝生长情况

Table 4 Growth of juvenile in treated and control groups

日期 (年.月.日)	壳长(mm)		壳高(mm)	
	对照组	处理组	对照组	处理组
1991.9.16	11.4±3.1	15.5±4.9	7.6±3.4	12.8±3.5
1991.10.6	17.5±3.7	30.6±9.5	13.8±3.5	22.5±7.3
1991.11.15	18.8±3.3	32.1±5.6	14.4±3.1	24.0±6.2
1991.12.19	19.8±3.5	34.2±6.7	16.5±3.7	26.3±5.9
1992.1.20	21.6±3.7	36.3±5.8	18.6±3.6	28.2±6.0
1992.3.12	28.3±3.1	43.2±5.4	21.5±3.7	35.3±7.0
1992.4.15	33.4±3.6	50.3±5.2	26.3±3.5	39.4±6.8
1992.5.20	38.4±3.4	58.5±4.3	30.6±3.4	43.5±5.8

5. 成体染色体倍性检查结果 11月底,进行了成体染色体倍性的检查,在检查的65个个体中,42个为三倍体,三倍体率为64.6%。

表5 大连湾牡蛎染色体核型分析

Table 5 Karyotype analysis of *Crassostrea talienwhanensis*

编号	相对长度	臂比	类型
1	13.18±0.50	1.29±0.11	m
2	12.00±0.49	1.40±0.53	m
3	11.31±0.52	1.33±0.29	m
4	10.82±0.24	1.62±0.91	m
5	10.13±0.50	1.64±0.90	m
6	9.81±0.17	1.42±0.07	m
7	9.79±0.17	1.45±0.04	m
8	8.47±0.61	1.53±0.34	m
9	7.40±0.60	1.45±0.39	m
10	6.43±0.53	1.44±0.51	m

三、讨 论

1. 染色体检查 海产贝类染色体的制备不同于其它标本材料染色体的制备,多数贝类生殖腺虽然发育持续时间较长,但细胞分裂高峰期不易掌握[马庆惠等,1988],目前国内还没有培养海产贝类细胞的常规方法。在我们的试验中,以大连湾牡蛎2-4细胞期胚胎为细胞染色体倍性检查材料。在此期,不仅分裂相多,而且不易发生多细胞重叠现象,而利于观察染色体。用鳃制备大连湾牡蛎的染色体,检查成体染色体倍性。用鳃制备染色体,长短合适,分散较好,取材方便,只要有活体材料可不受生殖季节的限制而常年操作。

2. 关于低温诱导产生三倍体的问题 我们的试验结果表明:在孵化水温为21-22℃条件下,受精后20min,在4-5℃低温条件下,对受精卵施加15min处理,可得到72±5%的三倍体。上述结果与在太平洋牡蛎[Quillet等,1986]、合浦珠母贝[姜卫国等,1987]和马氏珠母贝[Patrick等,1990]上用温度休克法所取得的三倍体诱导率相比,诱导率较高,而与在皱纹盘鲍上[Arai等,1986]所得到的诱导率(70%-80%)相近,这可能是由于不同的实验材料所致,也可能由实验条件的不同而引起的。

3. 关于三倍体幼虫的生长和死亡问题 就壳长生长而言,处理组幼虫日增长显著高于对照组,这与姜卫国等[1987]在合浦珠母贝上所得结论相一致。但在壳高生长上,处理组和对照组并无显著差异,原因有待进一步探讨。

在幼虫培育过程中,处理组和对照组幼虫的平均日死亡率并无显著不同,这与在太平洋牡蛎上所得结论相一致[Downing等,1987]。

4. 关于三倍体幼贝的死亡问题 在美洲牡蛎[Stanley等,1981]、太平洋牡蛎[Chaiton等,1985]上均发现,幼虫和幼贝期三倍体所占比例并无很大不同,但Standish等[1986]发现太平洋牡蛎养殖一年后三倍体成活率要比二倍体高得多。本试验结果表明,幼贝期的三倍体率比幼虫期的略有下降,这些差异可能与种类、诱导方法不同有关,原因有待于进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] 王子臣等,1990.皱纹盘鲍三倍体的研究.大连水产学院学报,5(1):1-8.
- [2] ——,1990.温度休克诱导栉孔扇贝和虾夷扇贝三倍体的初步研究.大连水产学院学报,5(3~4):1-6.
- [3] 马庆惠等,1988.锈凹螺染色体制备及核型研究,海洋科学,(3):62-63.
- [4] 姜卫国等,1987.人工诱发合浦珠母贝多倍体的发生.热带海洋,6(4):38-44.
- [5] Arai, K. et al., 1986. Triploidization of the pacific abalone with temperatural and preassure treatments. *Bull. Jpn. Soc. Sic. Fish.*, 52:417-422.
- [6] Chaiton, J. A. et al., 1985. Early detection of triploidy in the larvae of the pacific oyster, *Crassostrea gigas* by flow cytometry, *Aquaculture*, 48:35-53.
- [7] Downing, S. L. and Allen, S. K. Jr, 1987. Induced triploidy in the pacific oyster, *Crassostrea gigas*, optimal treatment with cytochalasin B depend on temperature. *Aquaculture*, 61:1-15.
- [8] Patrick, D. et al., 1990. Triploidy induction by caffeine-heat shock treatments in the Japanese pearl oyster *Pinctada fucata martensii*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56(9):1423-1425.
- [9] Quillet, E. and Panelay, B. J., 1986. Triploidy induction by thermal shocks in the Japanese oyster *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*, 57:271-279.
- [10] Stanley, J. G. et al., 1981. Polyploid induced in the America oyster, *Crassostrea virginica*, with cytochalasin B. *Aquaculture*, 23:1-10.
- [11] Standish K. et al., 1986. Performance of triploid pacific oysters, *Crassostrea gigas*. I. Survival, growth, glycogen content, and sexual maturation in yearlings. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 102:197-208.
- [12] Tabarini, C. L., 1984. Induced triploidy in the bay scallop, *Argopecten irradians* and its effect on growth and gametogenesis. *Aquaculture*, 42:151-160.