

二倍体和三倍体牡蛎的外观鉴别*

曾志南 林 琪 吴建绍 陈 木

(福建省水产研究所 厦门 361012)

摘要 对二倍体、三倍体僧帽牡蛎和太平洋牡蛎外套膜和生殖腺外部形态进行了周年观察。结果表明,从外套膜和生殖腺外观特征上的差异可鉴别出牡蛎二倍体和三倍体。1997年8月至1998年6月,分析了两种牡蛎样品266个,其鉴别准确率达96.99%。

关键词 僧帽牡蛎,太平洋牡蛎,二倍体和三倍体,鉴别

牡蛎三倍体较二倍体具有显著的增长优势,同时由于三倍体牡蛎生殖腺发育受阻,在繁殖季节就可以避免产卵导致肉质变劣等问题,提高其商品价值。因此,近几年,三倍体牡蛎的育种和养殖发展很快,但在二倍体和三倍体牡蛎的鉴别方面还是依靠实验室分析。姜卫国等,1987年;Yamamoto, S 等1988年报道了染色体制片的染色体计数法。Uchhimura, Y. 1989年;Komaru, A. 1988年报道了显微荧光测定法。Tabarini, C. L. 1984年;Allen, S. K. Jr. 1983年报道了流式细胞测定法。但在养殖生产中,如何简易迅速地鉴别二倍体和三倍体牡蛎至今尚未见过报道。本文在对二倍体、三倍体僧帽牡蛎 *Ostrea cucullata* 和太平洋牡蛎 *Crassostrea gigas* 外套膜和生殖腺外部形态的周年观察后,报道从外观特征差异来鉴别二倍体和三倍体牡蛎。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

三倍体僧帽牡蛎和太平洋牡蛎材料是1997年4月采用CB处理抑制受精卵第二极体排放诱导产生的,经室内30 d培育,于5月18日移至厦门同安大嶝阳塘村海区养殖。

1.2 生殖腺和外套膜的外观观察

1997年8月~1998年6月每两个月分别取僧帽牡蛎和太平洋牡蛎样品各20~30个并逐个编号,详细观察并记录生殖腺和外套膜的外部形态特征,同时逐个取下一小块鳃组织,以制备染色体样品。

1.3 糖元和蛋白质的测定

蛋白质测定采用凯氏氮法,糖元的测定采用蒽酮比色定糖法。

1999年第1期

2 结 果

2.1 二倍体和三倍体僧帽牡蛎、太平洋牡蛎生殖腺外观差异

在繁殖季节,二倍体牡蛎生殖腺呈乳白色,饱满鼓起,生殖腺柔软,成熟时卵粒清晰可见,用解剖针刺破,即有精子或卵子流出;三倍体牡蛎生殖腺发育差,包裹于内脏团外的生殖腺层较二倍体薄,且不象二倍

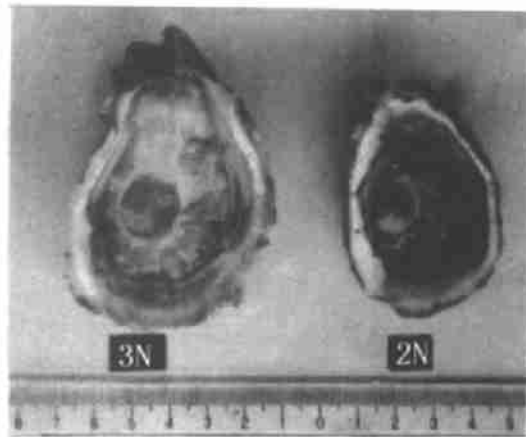


图1 太平洋牡蛎二倍体和三倍体

Fig. 1 Diploid and triploid *Crassostrea gigas*

体鼓起,生殖腺稍坚实,用解剖针刺破除一小部分外大都没有生殖细胞流出。非繁殖季节,二倍体牡蛎生殖腺瘪小、稍透明、充水,而三倍体牡蛎生殖腺大都呈乳白色(图1)。

2.2 二倍体和三倍体僧帽牡蛎、太平洋牡蛎外套膜外观的差异

* 农业部资助项目,渔95-13-96-02-02-02号,
收稿日期:1998-07-13;修回日期:1998-10-25

在繁殖季节,三倍体牡蛎外套膜呈乳白色,二倍体牡蛎外套膜虽也呈乳白色,但较三倍体淡。在非繁殖季节,二倍体牡蛎外套膜透明,而三倍体整个外套膜呈乳白色,且较二倍体厚,外套膜上的血管清晰可见(图1)。对二倍体和三倍体僧帽牡蛎、太平洋牡蛎外套膜糖元和蛋白质测定结果表明(表1):三倍体僧帽牡蛎和太平洋牡蛎外套膜糖元含量分别是二倍体的3.1倍和3.9倍,蛋白质含量二倍体比三倍体稍高。作者认为外套膜呈乳白色可能是糖元在外套膜积累的表现。

2.3 外观鉴别二倍体、三倍体僧帽牡蛎和太平洋牡蛎的准确率

每两个月分别取僧帽牡蛎和太平洋牡蛎样品各16~30个,先从外观判别每个个体是二倍体或三倍

表2 僧帽牡蛎和太平洋牡蛎二倍体、三倍体的外观鉴别与染色体计数法鉴别的比较

Tab. 2 Comparison of outward appearance observation and chromosome count method to distinguishing *Ostrea cucullata* and *Crassostrea gigas* as diploid or triploid

日期 (年.月.日)	项目	检查个数	外观鉴别		染色体计数鉴别		外观鉴别的 准确率 ¹⁾ (%)
			二倍体	三倍体	二倍体	三倍体	
1997. 8. 26	僧帽牡蛎	20	8	12	6	14	90
	太平洋牡蛎	20	5	15	5	15	100
1997. 10. 27	僧帽牡蛎	16	8	8	7	9	93.75
	太平洋牡蛎	19	6	13	7	12	94.74
1997. 12. 17	僧帽牡蛎	23	8	15	8	15	100
	太平洋牡蛎	24	9	15	9	15	100
1997. 2. 14	僧帽牡蛎	22	9	13	11	12	90.91
	太平洋牡蛎	22	11	13	11	13	100
1997. 4. 22	僧帽牡蛎	22	8	14	9	13	95.45
	太平洋牡蛎	30	14	16	14	16	100
1997. 6. 16	僧帽牡蛎	24	7	17	8	16	95.83
	太平洋牡蛎	24	7	17	7	17	100
平均							96.99

1) 外观鉴别的准确率 = $(1 - \frac{\text{鉴别错误个数}}{\text{检查个数}}) \times 100\%$ 。

3 讨论

多倍体的鉴定在多倍体育种和养殖中是非常重要的。目前贝类三倍体鉴定多采用的3种方法中,染色体制片计算最为准确,但工作量大,且实验时间稍长;用显微荧光测定法进行DNA量的相对值比较时,精确度方面还有些问题,且仪器价格也贵;而流式细胞测定法不仅仪器昂贵且测定费用高。Gardner^[1]报道过,通过组织切片在光镜下观察测定血细胞核的尺寸及光密度大小来鉴别二倍体和三倍体太平洋牡蛎。作者测定二倍体和三倍体僧帽牡蛎成熟卵母细胞卵径与核径的结果也表明,三倍体卵母细胞卵径和核径

体,然而相应逐个做染色体样品计数染色体数目,以确定其外观鉴别的准确率。从表2可以看出,外观鉴别准确率都在90%以上,平均达到96.99%。

表1 二倍体和三倍体僧帽牡蛎、太平洋牡蛎外套膜糖元和蛋白质的含量

Tab. 1 Glycogen and protein content of mantle in diploid and triploid oyster, *Ostrea cucullata* and *Crassostrea gigas* as diploid or triploid

取样 日期 (年.月.日)	测定 项目	僧帽牡蛎		太平洋牡蛎	
		二倍体	三倍体	二倍体	三倍体
1997. 12. 24	糖元	2.12	6.58	2.00	7.92
1998. 1. 14	糖元	2.08	6.49	1.96	7.74
	蛋白质	10.44	9.35	9.17	9.05

分别比二倍体大19.6%和17.6%,这些也都可做为鉴别二倍体与三倍体牡蛎的方法。但是所有这些方法均无法迅速、简易地鉴别出二倍体和三倍体牡蛎。目前随着三倍体牡蛎养殖的推广,在生产上急需一种简便的鉴别二倍体和三倍体牡蛎的方法。

作者对二倍体、三倍体僧帽牡蛎和太平洋牡蛎的外观特征进行1a的观察比较后,发现了二倍体和三倍体牡蛎性腺及外套膜外观特征的明显差异,并可以此来鉴别二倍体和三倍体。同时,通过制做染色体样品的染色体计数法验证了这种方法的准确性。共分析了两种牡蛎266个样品,鉴别准确率平均达96.99%。值得提出的是在采用该方法时,必须把生殖腺及外套膜的外观特征结合观察鉴别,因为一部分三倍体牡蛎

生殖腺发育较好并有一定量的生殖细胞,因此,必须结合观察外套膜外观特征才能做出比较准确的鉴别。这种方法在鉴别时虽然有时会出现个别个体鉴别错误,但它简易、快捷,在养殖生产上有一定的应用意义。

参考文献

- 1 Gardner, N. C. . *Journal of Shellfish Research*, 1996, 3: 609~615

METHOD FOR DISTINGUISHING OYSTER AS DIPLOID OR TRIPLOID BY OUTWARD APPEARANCE

ZENG Zhi-nan LIN Qi WU Jian-shao CHEN Mu

(Fujian Fisheries Research Institute, Xiamen 361012)

Received: July, 13, 1998

Key Words: *Ostrea cucullata* and *Crassostrea gigas*, Diploid and triploid, Distinguishing

Abstract

The authors observed outward appearance characteristics of mantle and gonad of diploid and triploid oysters, *Ostrea cucullata* and *Crassostrea gigas* and found this method as described here is effective to distinguish oyster as diploid or triploid. We analysed 266 samples from september 1997 to June 1998, the result showed this method accuracy reached 96.99 % compared to that of chromosome count.