

低温诱导太平洋牡蛎产生三倍体*

田传远 王如才 梁 英 于瑞海 王昭萍

(青岛海洋大学水产学院 266003)

提要 用低温休克法诱导太平洋牡蛎产生三倍体。实验结果表明,2~7℃的低温均可获得三倍体,其中4~5℃的效果较好,最优水平组合为,处理温度为4~5℃,处理时刻为受精后15 min,处理持续时间为15 min,最高三倍体率为36.8%。影响三倍体诱导率的3因素的顺序为处理持续时间→处理时刻→处理温度。

关键词 太平洋牡蛎,低温休克,三倍体诱导率

1 材料和方法

1.1 材料

太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)为1996年6月取自山东荣成海区。平均壳长10.1 cm。

1.2 获取精卵的方法

解剖法获取精卵。获取的精卵,用过滤海水浸泡30 min。

1.3 诱导方法

采用低温休克的方法,诱导太平洋牡蛎产生三倍体。实验选用3因素3水平 $L_9(3^4)$ 设计,进行正交试验、分组。处理温度A:2~3,4~5和6~7℃;处理时刻(受精后时间)B:10,15和20 min;处理持续时间C:10,15和20 min。每组实验的胚胎密度相同,为50个

* 国家863项目819子课题,项目编号:863-819-01。

收稿日期:1998-02-24;修回日期:1998-05-05

左右。胚胎孵化水温23~24℃,20 h 孵化。

1.4 倍性鉴定

用常规方法制片、染色。每实验组随机镜检50个左右的胚胎,选用染色体计数法进行倍性鉴定。实验假定二倍体染色体的条数为 20 ± 2 ,三倍体的为 30 ± 3 。

2 结果

2.1 太平洋牡蛎三倍体诱导率

结果见表1。

表1 太平洋牡蛎三倍体诱导率和直观分析

Tab. 1 Results of triploidy rates of Pacific oyster and intuitive analysis

实验号	A (℃)	B (min)	C (min)	D (空列)	三倍体率 (%)
1	1(2~3)	1(10)	1(10)	1	9.5
2	1	2(15)	2(15)	2	5.3
3	1	3(20)	3(20)	3	24.0
4	2(4~5)	1	2	3	0.0
5	2	2	3	2	15.0
6 ¹⁾	2	3	1	1	36.8
7	3(6~7)	1	3	2	21.1
8	3	2	2	3	3.9
9	3	3	1	1	0.0
K ₁	38.8	30.6	46.3	46.3	/
K ₂	51.8	24.2	9.2	41.4	/
K ₃	25.0	60.8	60.1	27.9	/
k ₁	13.0	10.2	15.4	15.4	/
k ₂	17.3	8.1	3.1	13.8	/
k ₃	8.3	20.3	20.0	9.3	/
R	8.9	12.2	17.0	6.1	/

1) 出现2.6%的四倍体。

由表1可以看出,2~7℃的低温休克都能诱导太平洋牡蛎产生三倍体。当卵受精20 min时,立即用4~5℃的低温处理10 min,可产生36.8%的三倍体,并出现2.6%的四倍体。

2.2 影响三倍体诱导率的3因素顺序

由表1中的R值可看出,影响因素的顺序为:处理持续时间→处理时刻(受精后时间)→处理温度。为直观地观察各因素对三倍体诱导率影响的大小,作3因素对三倍体诱导率的效应图(图1)。

图1显示C因素折线图中的直线陡度最大,说明该因素对三倍体诱导率影响大,即处理持续时间是产生三倍体的主要因素。处理时刻和处理温度为次要因素。

2.3 产生三倍体的各因素最优水平组合

取各因素中三倍体诱导率最高的水平(表1和图1),得到最优水平组合为:处理温度4~5℃,处理时刻为受精后15 min,处理持续时间15 min。

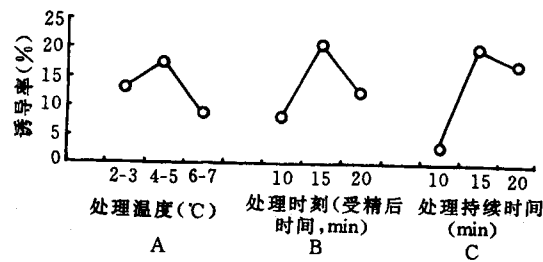


图1 3因素对三倍体诱导率的影响

Fig. 1 Effects of three factors on triploidy rates

3 讨论与结论

3.1 产生三倍体的方法

用化学药品诱导贝类,一般可产生90%以上的三倍体诱导率。Downing 1989年的实验结果表明,细胞松弛素B可产生100%的三倍体牡蛎^[3]。田传远等1998年认为,6-DMAP可产生93.8%的三倍体太平洋牡蛎。

用物理方法诱导产生的三倍体诱导率变化较大;三倍体诱导率也可取得较高的结果,但不稳定。如Quillet等1986年用38℃的高温得到45%的三倍体太平洋牡蛎;Gosling等1989年用32℃的高温得到55%的三倍体*Tapes semidecussatus*;梁英等^[2]用低温休克的方法得到72.5%的三倍体大连湾牡蛎(*Crassostrea talienwhanensis* Crosse);Yamamotos等1988年认为,高温休克贻贝(*Mytilus edulis*)受精卵可产生83%和25%的三倍体;Diaz等1993年用6~8℃的低温休克,得到 $85.9 \pm 5.7\%$ 的三倍体虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*);罗建仁等^[1]用4℃的冷水,对受精后4 min的胡子鲶受精卵处理30 min,产生了100%的三倍体。

可以看出,用药物诱导贝类产生的三倍体诱导率普遍比物理方法的高。但物理方法诱导产生的三倍体无残留药物,不会影响消费者的健康,所以这种方法有很大的应用前景,需作进一步的研究。

作者用低温休克的方法,诱导太平洋牡蛎,产生36.8%的三倍体。本实验三倍体诱导率低的原因,可能与牡蛎成熟度低和处理持续时间较短有直接的关系。

3.2 最优水平组合

本实验的最优水平组合为:处理温度4~5℃,处理时刻为受精后15 min,处理持续时间15 min。本实验未进行该组合的试验,这是本实验的重大缺憾,为此,尚待进一步实验。

3.3 处理强度问题

作者认为,在受精后特定的时刻,用一定的处理温度对受精卵进行休克,三倍体诱导率与处理强度(与处理温度和处理持续时间有直接的关系)间有必然的关系;只有当处理强度达到一定的阈值时,低温

处理才能产生三倍体。

参考文献

- 1 罗建仁、马 进等。南海研究与开发,1995,4:56~61
- 2 梁 英、王如才等。水产学报,1994,18(3):237~240

TRIPLOID PACIFIC OYSTER, *Crassostrea gigas*, AS INDUCED BY COLD SHOCK

TIAN Chuan-yuan WANG Ru-cai LIANG Ying YU Rui-hai WANG Zhao-ping

(Fishery College, Ocean University of Qingdao, 266003)

Received: Feb. 24, 1998

Key Words: *Crassostrea gigas*, Cold shock, Triploidy

Abstract

Triploid induction by application of cold shocks during early development soon after fertilization was attempted on the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. The results indicated that the highest triploidy is 36.8% when the zygotes were treated with 4-5 °C for 15 min at 15 min post-fertilization. The sequence of the three decisive factors is as follows: the duration of treatment, the starting time of the treatment and the treatment temperature.