

高温处理中国对虾受精卵对性比结构的影响^①

杨丛海 王清印 孔杰 于佳 刘萍 王印庚

(中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛, 266003)

应用物理或化学方法处理受精卵,在育种方面主要是进行多倍体诱导,以产生三倍体或四倍体。这在海产动物特别是贝类中,已有许多成功的例子^[1]。应用温度刺激来处理受精卵的技术不仅可以改变染色体的倍数,对某些种类动物的性别也能产生重要的影响,如蛙类、鳄鱼以及其他动物等^[2,3,6]。在进行对虾雌性化的研究中,我们应用热冲击(Thermal shock)方法处理中国对虾(*Penaeus chinensis*)受精卵的技术,观察了处理的结果。

1 材料和方法

实验用虾为春季海捕亲虾。选择个体健壮、性腺发育良好的雌虾,单独喂养在产卵网箱中。产出的卵子立即收集在一起,同时在显微镜下观察卵子的发育情况。待第一极体或第二极体排出后即进行热冲击处理。

处理水温用电热恒温水浴控制。受精卵置于100目筛绢网中。处理后的卵子立即倒入大烧杯中,尔后转入孵化箱中孵化。大烧杯中的水温同孵化水温。育苗期间的管理按常规方法进行。

育出的仔虾生长到1~2cm后,转移到崂山区上马镇对虾养殖场的一个3.5亩(1亩=666.6m²)虾池养成培育,养成期间的管理同生产池。定期检查对虾的生长情况,取样测量体长,检查性比。

2 结果和讨论

2.1 热冲击处理时机的确定

中国对虾的卵子排入海水后很快即发生皮质反应,皮质棒呈棒状,透明或半透明。在约5min左右,皮质棒开始消失。此时卵子为圆形,同时在显微镜下观察,可见卵子周围有许多精子。在大约10min左右,第一极体开始排出,卵膜开始膨胀,并逐渐形成一个透明的围卵腔。在卵子产出25~30min时,第二极体开始排出。从卵子产出到围卵腔全部形成,约需1h左右。到完成第一次细胞分裂,形成2个细胞的胚胎,约需1.5~2h。上述的

卵子发育过程受水温的影响极大。水温越高,则发育速度越快。根据这一特点,将对虾产卵时的水温控制在一个较低的范围,可适当减缓卵子发育的速度,从而相应延长处理受精卵的工作时间。

根据上述观察结果,在产卵水温为16~18℃条件下,处理第一极体排出后的受精卵,一般在卵子产出后15min左右进行。第二极体进行温度处理,可在产卵后40min左右进行。

2.2 处理温度及处理持续时间的确定

应用温度冲击法处理受精卵,是根据处理温度愈高则处理持续时间愈短和处理温度愈低则处理持续时间愈长的原则。我们探索了应用高温冲击处理中国对虾受精卵的处理温度和处理持续时间。材料为排出第二极体以后的受精卵。指标是在温度处理后培养72h,有半数以上受精卵可孵出无节幼体。结果见图1。

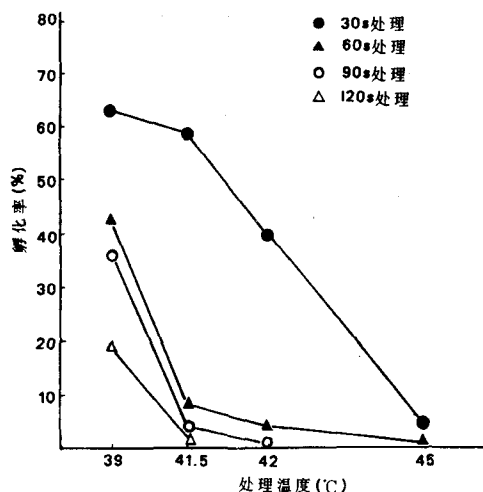


图1 处理温度和处理持续时间对孵化率的影响

① 韩阿寿同志参加了部分实验工作。

分析图 1 的资料可以看出,处理温度和处理持续时间对受精卵的孵化率有直接的影响。基本趋势是:处理温度越高,孵化率越低。处理持续时间的效果亦然。处理持续时间 30 s,实验组,在 39℃时孵化率为 63%,在 41.5℃时为 59%,尔后随着温度的升高,孵化率直线下降,到 45℃时只有 0.4%。据此我们选定处理温度为 41.5~42℃,处理持续时间为 30s。在上述条件下处理的受精卵约有 50%左右可孵化出无节幼体。我们称之为半致死处理温度和半致死处理持时间。

2.3 高温处理后培养的仔虾养成结果

1988 年 5 月,我们采用上述处理方法和处理条件,先后分多批处理了已排出第二极体的中国对虾受精卵。处理的受精卵单独孵化,并培育成仔虾。育苗过程中的观察表明,经过高温处理后的受精卵孵出的无节幼体,有许多活动力很弱,幼体往往附肢残缺,不能进行正常的变态,以后即陆续死亡。这说明,高温冲击具有很强的筛选作用。经受不住筛选的即被淘汰。这些经高温冲击处理后的受精卵,最后培育出 7 500 尾仔虾,于 1988 年 6 月 15 日运往崂山区上马镇对虾养殖场进行养殖。平均放苗量为 2 100 尾/亩。养成期间的生长情况见表 1。

表 1 实验对虾的生长情况

检查时间(月.日)	测量虾数(尾)	平均体长(cm)
6.28	34	2.4
7.26	43	7.1
8.23	35	9.1
10.3	234	12.2

10 月 3 日,该虾池收虾,同时随机取样检查体长、性比及每 kg 虾的尾数,结果为:测量虾数 234 尾,体长 10.3~14.3cm,平均 12.2cm,检查重量 5.275kg,44 尾/kg,总产量 105.25kg,成活率 61.75%,雌虾 166 尾,平均体长 12.6cm,雄虾 68 尾,平均体长 11.3cm,雌雄比 2.44:1。

从本实验培育的虾苗入池后的生长情况来看,6 月 28 日~7 月 26 日,一个月内平均体长增长达 4.7cm,这

可能与放苗密度较稀及土池中基础饵料较丰富有关。高温季节的 7 月 26 日~8 月 23 日,平均体长增长 2cm,也应属于正常情况。从仔虾入池到收获,养成时间共 110d,收虾时平均体长为 12.2cm,生长速度正常。

7 月 26 日检查对虾生长情况时,发现实验对虾的性比变化明显。用旋网捕虾 3 次,共计 43 尾,全部为雌性。实验结束时,在随机抽取的总重量为 5.275 kg 的 234 尾对虾中,雌虾 166 尾,雄虾 68 尾,雌雄比为 2.44:1。 χ^2 检验的结果表明 $P < 0.01$,差异极显著。说明受精卵经高温冲击处理以后,培育出的对虾群体的雌雄性比发生了明显变化。

在自然对虾种群中,无论是野生自然种群还是人工养殖种群,雌雄性别比例基本上是 1:1^[4,5]。受精卵经高温处理以后培育的对虾种群,何以发生性比上的显著变化?我们分析有两个可能,其一是高温处理对性别有筛选作用,即发育为雌性对虾的受精卵耐受高温的能力大于那些发育为雄性对虾的受精卵。经高温处理后,大批即将发育为雄虾的受精卵死亡。但是,由于我们对中国对虾发生性分化的时间和机制还不甚了解,因而还难以肯定高温处理受精卵对雄性具有致死作用。其二是高温处理有诱使对虾受精卵向雌性发育的可能性。到目前为止,已有一些关于温度等环境因子可以诱使水生生物性别比例发生变化的例子。温度对甲壳类动物性比变化的影响还有待于进一步研究。本实验的结果是很初步的,但有可能为探索对虾性别分化的机制提供一些启示。

参考文献

- [1] 吴融,1990。现代渔业信息 5(4):6~9。
- [2] 方宗熙,1979。普通遗传学,第 4 版。科学出版社,376~391。
- [3] 吴仲庆,1985。自然杂志 8(1):52~55。
- [4] 邓景耀,1982。水产学报 6(2):119~127。
- [5] 杨丛海等,1990。海洋水产研究丛刊 32:1~4。
- [6] Gary H. Thorgaard,1986。Aquaculture 57(1-4):57-64。