

文章编号:1005-8737(2000)01-0068-05

## 三倍体长牡蛎浮筏养殖技术的研究

张国范,王子臣,常亚青,宋 坚,丁 君,巩 宁

(农业部海洋水产增养殖生态学重点开放实验室,大连水产学院,辽宁 大连 116023)

**摘 要:**本文报道了两个相邻海区近 500 hm<sup>2</sup> 三倍体长牡蛎 *Crassostrea gigas* (Thunberg) 浮筏养殖的研究结果。三倍体牡蛎的采苗器为栉孔扇贝壳,每片采苗器采苗 10~12 个,以 15~20 cm 间距夹于 3 股聚乙(丙)绳间并吊养在浮筏上。三倍体牡蛎在个体重、出肉率和条件指数等养殖经济性状方面比二倍体分别增加 42.1%, 16.2%, 56.7%, 成活率也有一定的提高。三倍体在生长等方面性状优势的生物学基础可能与其低育性和对饵料的高转化率有关。通过在两个相邻海区对三倍体牡蛎浮筏养殖的比较研究,证明了三倍体长牡蛎大规模浮筏养殖技术的可行性。

**关键词:**长牡蛎;三倍体;浮筏养殖

**中图分类号:**S968.311

**文献标识码:**A

贝类养殖是我国海水养殖业中的支柱性产业,产量占海水养殖总产量的 70%~80%,而长牡蛎(*Crassostrea gigas*)从 80 年代初开始浮筏养殖以来,已成为我国重要的养殖对象。同其它养殖贝类一样,海区养殖长牡蛎也常发生异常死亡。三倍体牡蛎具有生长快<sup>[1]</sup>、经济性好<sup>[2]</sup>、繁殖期死亡率低等特点,对于解决或缓解牡蛎的异常死亡有重要的意义。

三倍体牡蛎的研究始于本世纪 80 年代初<sup>[1]</sup>,经过近 20 年各国科学家的努力,使三倍体牡蛎的制备技术日臻完善,同时也在多倍体的生物学和遗传学等各个领域开展了研究<sup>[3~9]</sup>,取得一批重要成果。张国范<sup>[10]</sup>对国内外贝类多倍体研究做了较为全面的评述,认为实现三倍体产业化的关键之一是海区养成技术。

胡庆明等<sup>[11]</sup>报道了三倍体长牡蛎养成的实验结果。除此之外,国内尚未见到有关三倍体牡蛎规

模养殖技术的研究报道,而规模浮筏养殖技术在国际上也未见报道。

### 1 材料和方法

#### 1.1 三倍体牡蛎苗种的生产

本研究采用细胞松弛素 B(CB)和 6-二甲基氨基嘌呤(6-DMAP)抑制受精卵极体排出的方法制备三倍体长牡蛎。使用 CB 的质量浓度为 0.5 mg/L,使用 6-DMAP 的浓度为 400~420 μmol/L。受精卵的处理密度,在 CB 方法为  $(4.0 \sim 4.5) \times 10^7$ /L,在 6-DMAP 为  $(3.0 \sim 3.5) \times 10^7$ /L。经预实验,在 25℃ 条件下受精后 20 min 约有 50% 的受精卵出现第一极体,并以此时间为三倍体处理的起始时间。而处理持续时间则根据处理的起始时间和对照组 50% 受精卵出现第二极体的时间来确定。在 25.0℃ 条件下,受精后约 30 min 有 50% 的受精卵出现第二极体,处理的持续时间选择为 12~17 min。每次处理的持续时间都必须根据对照组第二极体出现的比率来确定。

#### 1.2 养殖海区的条件

实验浮筏设在大连市开发区红星海区和董家沟海区。红星海区位于黄海北部的大连湾东侧,水深

收稿日期:1999-10-13

基金项目:国家“863”资助项目(863-819-01);在执行过程中也得到辽宁省和大连市科委的资助

作者简介:张国范(1954-),男,农业部海洋水产增养殖生态学重点开放实验室主任,大连水产学院教授,博士。

8~14 m, 年水温 1.3℃~26.2℃, 盐度 28~30。海区内浮游植物数量年平均为  $(1.3\sim12)\times10^6/\text{m}^3$ , 其中硅藻占 80.1%。该海区是大连市三倍体长牡蛎的重点养殖区, 三倍体牡蛎养殖 2 100 余台浮筏<sup>①</sup>, 约合 350 hm<sup>2</sup>, 占该区牡蛎养殖浮筏总数的 70% 以上。董家沟海区位于与大连湾毗邻的小窑湾, 水深 8~10 m, 海区透明度低于大连湾, 水温和盐度与大连湾相同, 浮游植物数量平均为  $(3.2\sim48)\times10^5/\text{m}^3$ , 其中硅藻占 85.5%。该区也是牡蛎的重点养殖区, 其中三倍体牡蛎养殖 916 台浮筏, 约合 250 hm<sup>2</sup>。两处养殖面积合计 500 hm<sup>2</sup>。

### 1.3 养殖浮筏和夹苗

浮筏筏身长 80 m, 夹苗绳垂系于浮筏上, 苗绳间距 55~60 cm。有效养殖水层为 -0.5~-6.5 m。采用长 4.5~5.5 m, 直径 0.6 cm 的聚乙烯绳或直径 1.2~1.5 cm 聚丙烯绳做夹苗绳。将附有 10~12 个稚贝的扇贝壳夹在苗绳中间, 用铁丝稍加缚固, 间距 15~20 cm, 每根苗绳夹缚扇贝壳 22~25 片, 即为 1 吊。每吊养殖牡蛎苗 240~260 枚。牡蛎长到一定大小时互相挤插形成“朵”后, 即可较牢地固着在养殖绳上。随着生长, “朵”逐渐相互靠拢至

无隙。苗绳下端垂挂一个重 0.5~1.0 kg 石块或沙袋作坠物, 以保持苗绳的垂悬和避免相互缠绕。

### 1.4 取样及性状测定

养殖生产性状的测定遵循随机取样的原则, 样本数 50 个以上。用于测定生产性状的平行样本取自同一海区的不同浮筏, 且夹苗数相同或相近。被测群体的繁殖种贝来源相同。

出肉率 = 软体部鲜重/全重  $\times 100\%$ , 条件指数见文献[12]。

倍性检测采用流式细胞仪 (Flow Cytometry PASⅢ) DNA 定量法。

## 2 结果

### 2.1 三倍体的外部特征

在同样的养殖条件下与二倍体比较, 三倍体牡蛎壳表有明显的光泽, 色泽浅黄, 鳞片薄、耸直、向腹缘伸展, 壳表附着生物较少, 附着力强, 不易掉苗。

### 2.2 养殖前期的生长和成活率

通过对两个不同海区养殖情况的比较可以看出, 早期三倍体处理群体的生长比相应的二倍体快 15.1%~17.7%, 成活率也稍有增加(表 1)。

表 1 不同海区三倍体牡蛎处理群体与二倍体生产性状的比较 (养殖 3 个月)

Table 1 Performance comparison between triploid-treated and diploid groups of oyster in different farming seas in 3 months of culturing

| 养殖海区<br>Farming site      | 测定因素<br>Item                       | 三倍体处理组<br>Triploid-treated group |      | 二倍体对照<br>Diploid group |      | 增减比例/%<br>(3n-2n)/2n<br>Increasing rate |
|---------------------------|------------------------------------|----------------------------------|------|------------------------|------|-----------------------------------------|
|                           |                                    | A                                | B    | A                      | B    |                                         |
| 红星海区*<br>Hongxing farm    | 吊重/kg<br>String weight with oyster | 2.7                              | 3.0  | 2.6                    | 2.2  | 20.8                                    |
|                           | 个体重/g<br>Individual weight         | 3.7±6.8                          |      | 11.9±7.3               |      | 15.1                                    |
|                           | 成活率/%<br>Survival rate             | 80.8                             | 75.6 | 72.1                   | 76.2 | 5.5                                     |
| 董家沟海区*<br>Dongjiagou farm | 吊重/kg<br>String weight with oyster | 6.4                              | 6.8  | 5.4                    | 5.6  | 20.0                                    |
|                           | 个体重/g<br>Individual weight         | 25.9±9.8                         |      | 22.0±10.2              |      | 17.7                                    |
|                           | 成活率/%<br>Survival rate             | 95.0                             | 96.0 | 91.0                   | 92.0 | 4.4                                     |

\* 红星海区夹苗早于董家沟海区。Farming time began earlier in Hongxing farm than in Dongjiagou farm.

### 2.3 整个养殖生产过程的三倍体处理群体与二倍体牡蛎生长和成活率的比较

综合红星养殖区和董家沟养殖区浮筏养殖的效

<sup>①</sup> 每台浮筏的占用水域面积 1200 m<sup>2</sup>, 加上 40% 的附属水面, 每台浮筏的使用水面约为 0.17 hm<sup>2</sup>。

果表明, 三倍体牡蛎在生长速度、出肉率及条件指数等生产性状方面都与二倍体有明显的差异(表 2)。

### 2.4 三倍体与二倍体生长性状的比较

从三倍体处理群体中检出的三倍体与母群体的二倍体比较, 在壳长、壳宽、壳高和个体重方面存在

极显著差异( $P < 0.01$ ), 三倍体最大个体达 463 g (表 3)。

表 2 浮筏养殖三倍体牡蛎处理群体与二倍体的生长和成活率的比较(养殖 14 个月)

Table 2 Growth and survival comparison between triploid-treated and diploid groups of oyster in the suspended longline farming for 14 months

| 检测项目<br>Item                                   | 三倍体处理群体<br>Triploid-treated group |      | 二倍体群体<br>Diploid group |      | 增减比率/%<br>( $3n-2n$ )/ $2n$<br>Increasing rate |
|------------------------------------------------|-----------------------------------|------|------------------------|------|------------------------------------------------|
|                                                | A                                 | B    | A                      | B    |                                                |
| 三倍体比率/% Triploid percentage                    | 55.0~60.0                         |      | 0.0                    |      | ----                                           |
| 繁殖特性 Reproductive feature                      | 低育 Sterility                      |      | 可育 Reproductive        |      | ----                                           |
| 壳长/cm Shell length                             | $11.0 \pm 4.5$                    |      | $10.4 \pm 4.1$         |      | 5.8                                            |
| 壳宽/cm Shell breadth                            | $6.3 \pm 3.2$                     |      | $5.6 \pm 3.1$          |      | 12.5*                                          |
| 个体重/g Individual weight                        | $104.8 \pm 26.7$                  |      | $80.7 \pm 30.2$        |      | 29.9**                                         |
| 成活率/% Survival                                 | 72.9                              | 68.7 | 65.4                   | 69.6 | 4.9                                            |
| 吊重/kg String weight with oyster                | 19.6                              | 17.4 | 12.4                   | 14.8 | 36.0                                           |
| 浮筏台产/kg(150 吊/台) Output longline (150 strings) | 2 775.0                           |      | 2 040.0                |      | 36.0                                           |
| 腔体积/ml Cavity volume of shell                  | $38.1 \pm 4.5$                    |      | $35.0 \pm 3.8$         |      | 8.9                                            |
| 软体部重/g Weight of wet soft-body                 | $19.4 \pm 4.7$                    |      | $16.7 \pm 5.2$         |      | 16.2**                                         |
| 软体部干重/g Weight of dry soft-body                | $2.5 \pm 0.9$                     |      | $1.4 \pm 0.6$          |      | 78.6**                                         |
| 条件指数 Condition index                           | $6.3 \pm 1.4$                     |      | $4.0 \pm 2.1$          |      | 57.5**                                         |

\* 差异显著( $P < 0.05$ ) Significant difference; \*\* 差异极显著( $P < 0.01$ ) Extremely significant difference.  $3n$ : 三倍体处理群体 Triploid-treated group;  $2n$ : 正常二倍体群体 Diploid group.

表 3 三倍体与二倍体生长的比较

Table 3 Growth comparison between triploid and diploid groups

| 项目<br>Item                 | 三倍体<br>Triploid  | 二倍体<br>Diploid   | 增减比例(%)<br>( $3n-2n$ )/ $2n$<br>Increasing rate |
|----------------------------|------------------|------------------|-------------------------------------------------|
| 壳长/cm<br>Shell length      | $14.1 \pm 2.0$   | $11.8 \pm 2.4$   | 19.5**                                          |
| 壳宽/cm<br>Shell breadth     | $6.9 \pm 0.9$    | $6.2 \pm 1.1$    | 11.3**                                          |
| 壳高/cm<br>Shell height      | $4.8 \pm 0.9$    | $4.0 \pm 0.8$    | 20.0**                                          |
| 个体重/g<br>Individual weight | $261.8 \pm 82.6$ | $175.8 \pm 65.0$ | 49.0**                                          |

\*\*  $P < 0.01$

### 2.5 繁殖前后的出肉率

三倍体处理群体的出肉率在繁殖期低于二倍体牡蛎, 但繁殖期过后三倍体牡蛎的出肉率比二倍体高 16.2%~18.7% (表 4)。

繁殖期过后, 二倍体牡蛎的性腺透明呈水样状, 俗称“水蛎子”, 而三倍体牡蛎的性腺厚实, 干样组织较多(图版 I)。

### 3 讨论

近几年来, 养殖牡蛎的异常死亡大多发生在繁殖期, 这说明异常死亡与繁殖有关。由于三倍体的不育性或低育性, 则可能会减少繁殖期牡蛎的异常死亡, 并推测由于性腺发育的受阻, 使其它部位可能

获得更多的能量, 而有利于牡蛎的生长。因此, 三倍体只有在繁殖期才能表现出生长的优势。然而, 在贝类三倍体研究中, 在性成熟前即已表现出生长优势的结果已有报道<sup>[13,14]</sup>, 本研究进一步证实了性成熟前三倍体牡蛎的生长速度比二倍体快 15.1%~17.7%。

表 4 繁殖季节三倍体二倍体和牡蛎出肉率的比较

Table 4 Comparison of fatness between triploid-treated and diploid groups of oyster

| 取样时间<br>Sampling time | 出肉率/% Fatness                   |                        | 增减比率/%<br>( $3n-2n$ )/ $2n$<br>Increasing rate |
|-----------------------|---------------------------------|------------------------|------------------------------------------------|
|                       | 三倍体群体<br>Triploid-treated group | 二倍体群体<br>Diploid group |                                                |
| 7月5日<br>July 5        | $12.8 \pm 4.1$                  | $14.3 \pm 4.6$         | -10.5                                          |
| 9月16日<br>Sept. 16     | $16.5 \pm 3.5$                  | $13.9 \pm 6.5$         | 18.7                                           |
| 10月28日<br>Oct. 28     | $19.4 \pm 4.0$                  | $16.7 \pm 6.3$         | 16.2                                           |

三倍体牡蛎在非繁殖期生长速度快于二倍体的主要原因之一是三倍体的饵料效率比二倍体平均高约 1/4<sup>1)</sup>。由于三倍体的代谢效率高, 既可以对所摄食物进行更好的利用, 也可以较低的能耗从环境中

1) 周一兵, 等. 三倍体长牡蛎和二倍体生物能学的比较研究. (待发表)

获取食物,使其比二倍体更健康,对环境的适应能力更强。因此,在不良环境条件下的成活率普遍高于二倍体群体,或在发生病害的条件下对疾病具更强的抵抗力。这也表明导致牡蛎养成期间异常死亡的原因之一是由于营养缺乏而导致的健康状况下降。

通过流式细胞仪检出的全三倍体群体的平均体重比二倍体增加 49.0%,而壳长、壳宽和壳高也都有明显的增加,差异都极显著( $P < 0.01$ ),这确切地证明了三倍体牡蛎生长速度快于二倍体。但是,三倍体养殖群体的三倍体比率在成体一般为 55% ~ 60%,而三倍体处理群体(包括部分二倍体)的平均个体增重为 29.8%,与三倍体本身的增重平均后近于一致。由此证明三倍体处理群体的增重主要是三倍体增重的结果。



图版 I Plate I

1 三倍体 Triploid; 2 二倍体 Diploid

通过细胞-染色体操作技术对贝类的种质进行改良,特别是三倍体可使其比原来二倍体动物具有更好的种质特性。在我国海区养殖环境总体较差、某些海区的环境还有恶化趋势的大背景下,希望通过三倍体对当前贝类养殖产业所面临的问题发挥一定的改善作用。但任何生物的表型性状(包括生长、抗病力等)都是遗传性和环境相互作用的结果,三倍体也不例外。从本项研究可以看出三倍体在生长方面有明显的优势,而且在成活率方面也表现出一定的优势,主要原因是其对饵料的高转化率和低育性(繁殖期)。尽管如此,三倍体养殖环境依然是个重要的问题。已有报道认为,如果环境不合适,三倍体可能就没有优势,甚至为劣势<sup>[11]</sup>。与本文相关的研

究发现三倍体牡蛎的饵料利用率比二倍体高 24.3%,即大约 50% 的生长优势是因其代谢效率较高,而其余部分则必然靠其从环境中摄取比二倍体更多的饵料(能量)来维持。因此,为了使三倍体更好地发挥其优势,应坚持“疏挂坭夹”,降低养殖密度,使三倍体牡蛎获得充足的饵料。

虽然从实际观测的结果表明,三倍体处理群体的成活率高于二倍体,但到目前为止,尚未发现在三倍体处理养殖群体中三倍体的比率随着群体死亡数量的增加而逐渐升高的证据。三倍体和二倍体是否存在抗逆性的差异,或在什么条件下存在差异及差异的原因,还需进一步研究。

致谢:海区实验得到大连开发区水产技术推广站郭海先生的有力支持,在此表示感谢。

#### 参考文献:

- [1] Stanley J G, et al. Polyploidy induced in the American oyster, *Crassostrea virginica* with cytochalasin B[J]. Aquaculture, 1981, 23:1-10.
- [2] Allen S K Jr, et al. Performance of triploid Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). 1. Survival, growth, glycogen content, and sexual maturation in yearlings[J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1986, 102:197-208.
- [3] Quillet E, et al. Triploidy induction by thermal shocks in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* [J]. Aquaculture, 1986, 57:271-279.
- [4] 容寿柏,等.用冷热休克诱导三倍体近江牡蛎[J].湛江水产学院学报,1990,10(2):32-36.
- [5] Guo X, et al. Genetic consequences of blocking polar body I with cytochalasin B in fertilized eggs of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*: I. Ploidy of resultant embryos[J]. Biol. Bull, 1992, 183:381-386.
- [6] Desrosiers P R, et al. A normal method to produce triploids in bivalve mollusca by the use of 6-dimethylaminopurine[J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1993, 170:29-43.
- [7] Gerard A, et al. Optimization of triploid induction by the use of 6-DMAP for the oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) [J]. Aquaculture and Fisheries Management, 1994, 25:709-719.
- [8] 梁英,等.三倍体大连湾牡蛎的初步研究[J].水产学报,1994,8(3):22-24.
- [9] Zhang Guofan, et al. Triploid induction in Pacific oyster *Crassostrea gigas* by caffeine with thermal shock [J]. Chin J Oceanol Limnol, 1998, 16(3):249-255.
- [10] 张国范.贝类染色体组操作技术[A].见:曹呈奎,相建海.海洋生物技术[M].济南:山东科学技术出版社,1998.45-66.
- [11] 胡庆明,等.太平洋三倍体牡蛎的养成及其经济效益分析[J].上海水产大学学报,1997,6(2):128-133.
- [12] 吕豪,等.太平洋牡蛎控温条件下性腺发育与条件指数的关

- 系[J]. 中国水产科学, 1998, 5(1): 18-24.
- [13] Guo X, et al. Sex determination and polyploid gigantism in the dwarf surf clam (*Mulinia lateralis* Say)[J]. Genetics, 1994, 138: 1 199-1 206.
- [14] Zhang Guofan, et al. The Induction of triploid in Pacific abalone, *Haliotis discus hannai* Ino, with 6-DMAP and its performance of triploid juvenile[J]. J Shell Res, 1998, 17(3): 473-478.

## Suspended longline farming in triploid Pacific oyster, *Crassostrea gigas*

ZHANG Guo-fan, WANG Zi-chen, CHANG Ya-qing, SONG Jian, DING Jun, Gong Ning

(Key Laboratory of Mariculture Ecology of Ministry of Agriculture, Dalian Fisheries University, Dalian 116023, China)

**Abstract:** The experiment was performed in 2 adjacent sea farms covering more than 500 hm<sup>2</sup> with 3 016 longlines near Dalian Bay. The water temperature was 1.3~26.2℃ all year, the salinity 28~30 and the water depth 8~14 m. The scallop shells, on which had been spatulated a number of young triploid-treated oysters, were inserted in the lay of 3-strand polypropylene rope at 15~20 cm intervals to allow unhindered growth on all sides. The rope was suspended from the surface of the longline into water, long enough but not touching bottom, tied with weight to avoid twining round each other. In the initial 3 months of farming, the population treated to triploid appeared different in growth. From month 14~26, the individual weight increased by 42.1%, fatness by 16.2% and condition index was 56.7%. The survival performance had showed a similar tendency which seemed to result from its more highly efficient assimilation and lower reproduction. It was concluded that the triploid farming with the longline on the sea was successful and the technique was available to the triploid shellfish mariculture in a large scale based on 3 years of research.

**Key words:** *Crassostrea gigas*; triploid; suspended longline farming