

SPF 凡纳滨对虾 F_1 、 F_2 及杂交代生长和存活比较研究

姚雪梅¹, 黄勃¹, 张继涛², 王志勇²

(1. 海南大学 海洋学院, 海南 海口 570228; 2. 海南陵水海富实业有限公司, 海南 陵水 572400)

摘要:以引进美国夏威夷海洋研究所 SPF 凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 群体建立自交系 F_1 和 F_2 , 并与海南经过若干代养殖后选育的健康凡纳滨对虾建立杂交系 ($\text{SPF} \times \text{海南种}$), 获得杂交代。通过大规模养殖发现, F_1 生长最快, 杂交代居中, F_2 最慢。但 F_1 存活率显著低于 F_2 和杂交代。主要是因为 F_1 适应力差, 甚至不断有发病个体出现。从虾苗下塘至 100 日龄, 杂交代、 F_2 和 F_1 整个养殖周期存活率分别为 60%、54.8% 和 14.6%, 说明杂交代和 F_2 适应力均好于 F_1 。杂交代与 F_1 100 日龄生长相近, 方差分析表明两者差异并不显著 ($P > 0.05$)。在养殖后期杂交代生长和存活率优势明显, 不但保持了引进种较好的生长性状, 而且表现出海南选育的凡纳滨对虾存活率高的优良性状, 杂交优势显著。[中国水产科学, 2007, 14 (2): 326–330]

关键词: SPF 凡纳对虾; F_1 ; F_2 ; 杂交代; 存活率; 生长

中图分类号: Q959.223

文献标识码: A

文章编号: 1005–8737–(2007)02–0326–05

凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 是中国重要海水养殖品种之一。由于长期近亲繁殖, 使凡纳滨对虾种质资源出现退化, 品质与单位产量明显下降。因此, 有必要对凡纳滨对虾的遗传改良和新品系的培育进行深入研究, 以保证凡纳滨对虾养殖业的可持续发展。

1985 年美国夏威夷海洋研究所与 Tufts 大学成功开发出 SPF (Specific Pathogen Free) 养殖系统, 1996 年又运用人工育种方法筛选出抗病力更强的 SPR (Specific Pathogen Resistance) 种苗, 并以引进凡纳滨对虾进行针对生长与抗病力性状的选育及两性状遗传力的研究^[1–3]。之后, Garcia^[4]、Cruz^[5]、张留所^[6]等对凡纳滨对虾进行遗传多样性的分子水平的研究, 以用于遗传改良的评估。沈琪等^[7]进行了凡纳滨对虾优良性状的遗传标记筛选, 李锋等^[8]对凡纳滨对虾引进亲本及其子代进行了 RFLP 分析。

海南省为了培育生长快、养殖存活率高和抗病力好的优良虾苗, 曾先后引进数批 SPF 凡纳滨对虾。本实验从传统育种角度, 以引进美国夏威夷海洋研究所 SPF 凡纳滨对虾群体建立自交系 F_1 和 F_2 , 并与海南经过若干代养殖后选育的健康凡纳滨对虾建立杂交系 ($\text{SPF} \times \text{海南种}$), 获得杂交代。经过养殖实验, 分别研究了这 3 个子代 (F_1 、 F_2

和杂交代) 的生长和存活率, 旨为凡纳滨对虾在中国的育种、健康养殖与种质资源的合理利用提供依据和参考。

1 材料与方法

1.1 F_1 、 F_2 和杂交代虾苗

SPF 凡纳滨对虾 F_1 是 2003 年 5 月由美国夏威夷海洋研究所引进的亲虾繁育的子一代; F_2 是 2002 年 4 月从该研究所引进的亲虾繁育的子一代养成后选育做为亲虾繁育的子二代, 子一代亲虾检测确定无白斑综合征病毒 (WSSV) 及桃拉病毒 (TSV)。杂交代 ($\text{SPF} \times \text{海南种}$) 母系也是采用该研究所提供的 SPF 凡纳滨对虾, 父系是海南省琼海市定大虾苗场经多代选育检测无 WSSV 及 TSV 后的凡纳滨对虾。虾苗体长 0.8~1.0 cm, 虾苗检测确定亦无 WSSV 及 TSV 病毒。

1.2 实验池塘和设施

实验于 2003 年 8 月 5 日~11 月 4 日在海南省陵水海富实业有限公司黎安虾场进行。实验塘面积 0.1 hm², 为铺底膜的高位塘, 中央排水, 水深 2 m, 每口塘配备 2 台叶轮增氧机, 海水经过沙滤并过滤。

在放苗前清洗实验塘, 晒塘 10 d, 因塘底铺黑色的 0.5 mm 厚专用的虾塘膜, 吸热性好, 曝晒 1 周后再

收稿日期: 2006–05–10; 修订日期: 2006–09–18.

基金项目: 国家“863”计划项目 (2002AA603032).

作者简介: 姚雪梅, 女, 讲师, 硕士, 主要从事海洋生物技术研究. E-mail: yaoxuemei72@163.com

做消毒处理。放苗的前7 d进水和肥水,进水1.4~1.5 m,肥水使用中国水产科学研究院南海水产研究所提供的EM菌和光合细菌发酵的干燥鸡粪外加少量的无机肥,经过4~5 d,水色呈黄绿色。

1.3 实验设计

F₁、F₂及杂交代各组养殖实验平行3次,各子代虾苗(P7仔虾)分别进行100 d养殖。养殖池塘的水环境变化较大,为了做到实验条件相同,本研究采用一个0.667 hm²池塘先肥水,再把肥好的水抽到各实验池塘,各实验池塘同时进沙滤海水,然后用相同的方法同时肥水。水质调控、病害防治和饲料投喂采用相同方法。为了避免实验密度差异,虾苗刚开始下塘时密度为225尾/m²,在暂养塘养殖40 d(40日龄)后,移至养成塘调整至相同密度75尾/m²,继续养殖至100 d(100日龄),此实验方法设计参考Goyard等^[9]方法和结果。

1.4 实验池塘的投喂管理、水质调控和病害监控

实验塘在前期不排水只加水,每次加水10~15 cm,水深从1.5 m加到2 m。透明度一直保持35~40 cm,后期根据情况换水。用水质测定盒测定水质指标,水质指标如下:pH 8.5~9.0,氨氮和硝酸盐测定值为零。

放苗1~10 d,每天投喂饲料1次;11~30 d,每天投喂2次;31~40 d,每天投喂3次;40~100 d,每天投喂4次。前10 d投虾苗宝,10 d后投凡纳滨对

虾饲料。

每天进行2次巡塘,白天观察水色变化,晚间观察虾苗的活动、虾苗的健康以及摄食情况。根据观察的结果来调整投喂饲料的数量、调节水质和预防病害。

1.5 体质量、存活率测定及数据分析

各实验组子代下塘40 d(40日龄)移塘时,每次取样500 g虾苗,计数后算出虾苗平均体质量,每塘取样20次。40日龄存活率如下计算:实验塘出塘时虾苗总质量/平均体质量=存活数;存活数/放苗量=存活率。100日龄的平均体质量和存活数与40日龄测量方法相同。100日龄存活率=存活数/40日龄放苗量,即各实验组虾苗下塘40~100 d的存活率。

数据采用单因子方差分析及Duncan多重比较进行处理,以 $P<0.05$ 作为差异显著水平。

2 结果与分析

2.1 F₁、F₂和杂交代虾苗下塘1~40 d(40日龄)存活率和生长

表1是F₁、F₂和杂交代虾苗下塘40 d(40日龄)的存活率和生长情况,存活率最好的是F₂,存活率最差的是F₁。从40日龄存活率可以看出,F₁的适应能力很差,甚至不断有发病个体出现,存活率只有35%,体质量为1.35 g;F₂和杂交代的存活率基本接近,分别是92%和86.5%,体质量分别是1.53 g和1.64 g。由此可以看出杂交代存活率较高且生长最快。

表1 凡纳滨对虾F₁、F₂和杂交代虾苗下塘1~40 d(40日龄)的体质量、存活率和变异参数

Tab.1 Survival rate, growth and their variation parameter of each *L. vannamei* group stocking during 1–40 days

指标 Item	子代 Filial generation	平均值 Means	标准差 SD	最大值 Max	最小值 Min	极差 Ranges	变异系数/% C V
体质量/g Body weight	F ₁	1.35	0.09	1.45	1.24	0.21	6.7
	F ₂	1.53	0.10	1.65	1.38	0.27	6.1
	杂交 Hybrid	1.64	0.09	1.79	1.55	0.24	5.5
存活率/% Survival rate	F ₁	35.0	3.27	38.6	32.2	6.4	9.3
	F ₂	92.0	1.44	93.6	90.8	2.8	1.7
	杂交 Hybrid	86.5	2.52	89.3	84.4	4.9	3.2

2.2 F₁、F₂和杂交代虾苗下塘40~100 d(100日龄)的存活率和生长

由表2可以看出在养殖40~100 d(100日龄)时F₁、F₂和杂交代体质量和存活率分别是17.56 g、15.16 g、16.86 g和41.6%、65.2%、63.3%。结果表明F₁生长最快,F₂存活率最高。杂交代比F₁体质量少0.7 g,而存活率比F₂高1.9%,杂交代具有生长和

存活双重优良性状,杂交优势显著($P<0.05$)。

表3综合比较了F₁、F₂和杂交代40日龄与100日龄的存活率和平均体质量。从表3中可看出100日龄F₁的存活率为41.6%,比40日龄的存活率已明显提高了6.6%,F₂和杂交代的存活率分别为65.2%和63.3%,均明显高于F₁。100日龄时F₂和杂交代的存活率相近,两者差异并不显著($P>0.05$)。

表3可见,从虾苗下塘至100日龄,杂交代、 F_2 和 F_1 整个养殖周期存活率分别为60%、54.8%和14.6%,说明杂交代和 F_2 适应力都好于 F_1 。杂交

代与 F_1 100日龄生长相近,方差分析表明两者差异并不显著($P>0.05$)。

表2 凡纳滨对虾 F_1 、 F_2 和杂交代虾苗下塘40~100 d(100日龄)的体质量、存活率和变异参数

Tab.2 Survival rate, body weight and their variation parameter of each *L. vannamei* group stocking during 40–100 days

指标 Item	子代 Filial generation	平均值 Means	标准差 SD	最大值 Max	最小值 Min	极差 Ranges	变异系数/% C V
体质量/g Body weight	F_1	17.56	0.95	18.65	16.31	2.34	70.4
	F_2	15.16	1.62	17.25	13.70	3.55	105.9
	杂交 Hybrid	16.86	1.22	18.25	15.35	2.9	74.4
存活率/% Survival rate	F_1	41.6	3.05	44.1	38.2	5.9	7.3
	F_2	65.2	4.33	68.5	60.3	8.2	6.6
	杂交 Hybrid	63.3	3.74	67.6	60.8	6.8	5.9

表3 凡纳滨对虾 F_1 、 F_2 和杂交代40日龄、100日龄及整个养殖周期的体质量和存活率 DUNCAN 比较

Tab.3 DUNCAN multiple comparison of survival rate, body weight of each *L. vannamei* group stocking during 1–40 days, 40–100 days and 1–100 days

子代 Filial generation	体质量/g Body weight		存活率/% Survival rate		
	1–40 日龄 1–40 days	40–100 日龄 40–100 days	1–40 日龄 1–40 days	40–100 日龄 40–100 days	整个养殖周期 1–100 days
F_1	1.35 ^b	17.56 ^{aa}	35.0 ^c	41.6 ^b	14.6 ^b
F_2	1.53 ^{ab}	15.16 ^b	92.0 ^a	65.2 ^{aa}	60.0 ^{aa}
杂交 Hybrid	1.64 ^{aa}	16.86 ^{ab}	86.5 ^b	63.3 ^{ab}	54.8 ^{ab}

注:1. 整个养殖周期成活率=40日龄存活率×100日龄存活率;

2. 同列参数上方字母不同代表有显著差异($P<0.05$), 相同则无显著性差异($P>0.05$)。

Note: 1. Survival rate during 1–100 days = survival rate during 1–40 days × survival rate during 40–100 days;

2. Values with different superscripts in the same row are significantly different from each other ($P<0.05$).

2.3 F_1 、 F_2 和杂交代的生长

图1是 F_1 、 F_2 和杂交代养殖40~100日龄生长情况。在暂养1~40日龄, F_1 在没有发病前的生长是最快的,但发病后死亡多为大个体,使之生长优势大受影响,暂养结束时平均体质量反而最低。但在养殖40~100日龄时, F_1 的存活率逐渐得到提高,生长优势亦显示出来。

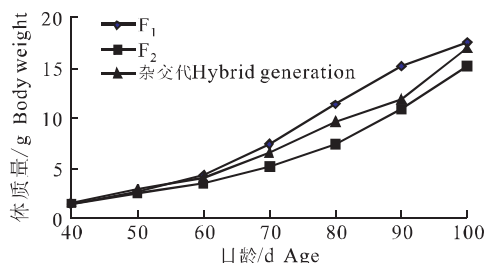


图1 凡纳滨对虾40~100日龄 F_1 、 F_2 和杂交代生长比较

Fig.1 Growth of F_1 , F_2 and hybrid generation of *L. vannamei* stocking during 40–100 days.

在养殖40~60日龄时, F_1 、 F_2 和杂交代生长速度差异并不显著($P>0.05$)。但养殖100日龄时三者的体质量分别为 F_1 17.56 g、 F_2 15.16 g、杂交代 16.86 g。由此可以看出 F_1 的生长速度最快(图1)。

3 讨论

3.1 引进种在移植驯化后的生长和适应力的遗传差异

从本实验结果看,引进凡纳滨对虾在长期驯化过程中,原来具有良好的生长性状容易随着传代而衰退,而适应力明显随传代次数而增加,并随养殖时间逐渐表达出来,因而推测生长与适应力两性状呈负相关。Argue等^[1]对从墨西哥引进凡纳滨对虾的生长及抗病力两性状的选择育种试验时,亦发现生长与抗病力呈负相关。

生长是育种方面的重要数量性状。通过养殖发现 F_1 生长的速度最快,杂交代居中, F_2 最慢。这说明在引进凡纳滨对虾的长期驯化过程中,生长速度

快这一原有优良性状容易随着传代而衰退。引进种在海南经过若干代养殖后作为亲虾培育的虾苗,养殖周期一般为140 d,出塘规格一般为70尾/kg左右(平均体质量14.3 g);而引进种的F₁、F₂及杂交代养殖周期一般90~110 d,说明引进种经过数次传代生长变得较慢。因此笔者认为,SPF凡纳对虾亲本生长性状的优良,仍然需要通过引种不断地回复和保持,才能最大限度地获得引进亲虾生长的优良性状。

从遗传育种的角度来分析,对SPF亲虾的培养较多的考虑其无特异病原,但如果它对不同水域环境的适应能力较差,结果仍然会造成存活率低。本实验就是从存活率间接来体现适应能力和抗病能力。从实验结果来看,适应力明显随传代次数而增加,并随养殖时间逐渐表达出来。

F₁和F₂整个养殖周期存活率分别为14.6%和60.0%,说明F₂适应力显著好于F₁。F₂经过1年的养殖驯化存活率逐渐得到提高。而且F₁40日龄和100日龄的适应力也是完全不同的。F₁在40日龄因为对水域环境的适应能力很差,存活率只有35%,而至100日龄时,F₁成活率则达到41.6%,说明随养殖时间其对水域适应力逐渐地增加。

3.2 选择与杂交育种对生长和适应力性状保持与提高的重要作用

选择育种和杂交育种是当前最有效的育种方法。选择育种是通过不断地对变异群体进行有计划、有目的的反复筛选淘汰,增加群体内有价值的基因频率,降低不需要的基因频率,以达到提高和稳定主要经济性状的目的。杂交育种是对不同亲本进行交配获得基因重新组合的后代,通过对众多类型后代中选留符合选育目的的个体,进一步培育获得优良品种的过程。

如何既获得良好的生长又具有好的适应力是凡纳滨对虾在中国育种工作的重要课题。本实验研究发现从F₁中选育生长快并适应力强的亲本,繁育所得F₂则具有了生长较快与适应力较强两项指标。

Argue等^[1]认为,选择组生长与抗病力两性状高于不选择组,但因为两性状呈负相关,在选择中要有所侧重,如某品系选择要求为70%抗病力+30%生长。Goyard等^[8]发现,蓝对虾(*Penaeus stylirostris*)选择组比不选择组生长要快4%~18%。

依选择为基础,以生长快引进亲本与移植驯化后适应本地环境的凡纳滨对虾杂交,大大缩短育种时间,获得可产生良好养殖性状又能很好地适应目前养殖环境的杂交代,也说明通过杂交可能掩盖或弥补某些有害基因。杂交代的生长速度介于F₁和F₂之间,在40日龄内的适应能力虽不如F₂,但是在40~100日龄却很快地提高,与F₂已差别很小,方差分析表明差异不显著($P>0.05$)。这说明杂交代在短时间内适应力的提高很快。

参考文献:

- [1] Argue B J, Arce S M, Lotz J M, et al. Selective breeding of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) for growth and resistance to Taura Syndrome Virus [J]. *Aquaculture*, 2002, 204 (3-4): 447-460.
- [2] Moss S M, Argue B J, Arce S M. Genetic improvement of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*, at the Oceanic Institute [J]. *Global Aquacult Advocate*, 1999, 26: 41-43.
- [3] Wyban J A, Swingle J S, Sweeney J N, et al. Specific pathogen free *Penaeus vannamei* [J]. *World Aquacult*, 1993, 24: 39-45.
- [4] Garcia K G, Faggart M A, Rhoades L, et al. Genetic diversity of cultured *Penaeus vannamei* shrimp using three molecular genetic techniques [J]. *Mar Biol Biotechnol*, 1994, 3 (5): 270-280.
- [5] Gruz P, Ibarra A M, Mejia-Ruiz H, et al. Genetic variability assessed by microsatellites in a breeding program of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). 2004, 6 (2): 157-64.
- [6] 张留所, 相建海. 凡纳滨对虾微卫星位点在两个选育家系中遗传的初步研究 [J]. *遗传*, 2005, 27 (6): 919-924.
- [7] 沈琪, 任春华, 胡超群, 等. 凡纳对虾优良性状的遗传标记筛选 [J]. *海洋科学集刊*, 2002 (44): 134-138.
- [8] 李锋, 刘楚吾, 黄雅丽. 凡纳对虾引进亲本及其子代 RFLP 分析 [J]. *海洋通报*, 2005, 24 (1): 31-34.
- [9] Goyard E, Patrois J, Peignon J M. Selection for better growth of *Penaeus stylirostris* in Tahiti and New Caledonia [J]. *Aquaculture*, 2002, 204: 461-468.

Comparison of growth and survival rate of F_1 , F_2 and hybrid generation from SPF *Litopenaeus vannamei*

YAO Xue-mei¹, HUANG Bo¹, ZHANG Ji-tao², WANG Zhi-yong²

(1. Key Laboratory of Tropic Biological Resources, Ministry of Education, Ocean College, Hainan University, Haikou 570228, China;

2. Hainan Haifu Industry Ltd., Lingshui 572400, China)

Abstract: *Litopenaeus vannamei* is one of the most important maricultured species in China. During the past few years, some batches of SPF *L. vannamei* were introduced to Hainan Province from Hawaii. In this study, the F_1 and F_2 generations from self-crossing lines of primary parent of SPF *L. vannamei* from Ocean Institute of Hawaii were established, and the hybrid generation (SPF ♀ × Hainan ♂) was acquired by crossing introduced SPF *L. vannamei* with selective healthy local broodstock which has been domesticated in Hainan. Three treatments were set up (F_1 , F_2 and hybrid SPF ♀ × Hainan ♂). All the specimens were tested to be WSSV and TSV free. The body length of larval shrimp was 0.8–1.0 cm. We found the growth speed of F_1 was the fastest among the three treatments, followed the hybrid generation and F_2 . But the survival rate of F_1 was not high (14.6%) because of the diseases and dying resulted from their poor adaptability to the aquaculture environment. The survival rate of F_2 and hybrid generation were 60.0% and 54.8%, which were higher than that of F_1 . It showed that the adaptability of F_2 and hybrid generation was better than that of F_1 . During the late period of culture, the difference of growth between F_1 and hybrid generation was not significant ($P > 0.05$). The hybrid generation shows advantage in growth and survival, which reserves the better growth trait of its primary parent from Hawaii and the survival trait of domesticated Hainan parent and the heterosis is obvious. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14 (2): 326–330]

Key words: SPF *Litopenaeus vannamei*; F_1 ; F_2 ; hybrid generation; survival rate; growth