

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2015.14305

凡纳滨对虾群体杂交与自交 F_1 低溶氧与高氨氮耐受性比较

袁瑞鹏, 刘建勇, 张嘉晨, 胡志国

广东海洋大学 水产学院, 广东 湛江 524025

摘要: 利用 6 个遗传背景不同的凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)群体, 通过群体间自交与杂交建立了 8 个交配组合。对不同交配组合 F_1 , 在幼虾和成虾阶段, 进行低溶氧与高氨氮 48 h 胁迫试验, 比较不同交配组合群体在不同生长阶段的高氨氮与低溶氧耐受性。结果显示, 低溶氧胁迫, $YH\text{♀}\times ZX\text{♂}$ 、 $SS\text{♀}\times SS\text{♂}$ 、 $HD\text{♀}\times YH\text{♂}$ 交配组合幼虾存活率分别为 76.23%、74.61%、74.38%, 显著高于其他交配组合存活率($P<0.05$), 成虾的存活率分别为 83.08%、65.57%、71.12%, 可作为耐低溶氧优良品系选育的候选材料; 高氨氮胁迫, $YH\text{♀}\times KN\text{♂}$ 、 $HD\text{♀}\times YH\text{♂}$ 、 $YH\text{♀}\times ZK\text{♂}$ 交配组合幼虾存活率分别为 97.71%、86.43%、80.01%, 显著高于其他交配组合($P<0.05$), 成虾存活率分别为 85.53%、74.18%、69.23%, 可作为耐高氨氮优良品系选育的候选材料; $HD\text{♀}\times YH\text{♂}$ 交配组合低溶氧与氨氮耐受性均较好, 但不同交配组合低溶氧与氨氮耐受性间相关性检验不显著($P>0.05$)。研究发现, 亲本中雌虾来源为 YH , 子代低溶氧耐受性优良, 推断抗低溶氧性状为母系主导遗传; 对虾低溶氧的耐受性随着生长发育的进行而降低, 高氨氮耐受性随着生长发育的进行而增强; 各交配组合高氨氮和低溶氧耐受性, 在幼虾阶段和成虾阶段均呈极显著相关($P<0.01$), 表明凡纳滨对虾低溶氧与高氨氮耐受性适宜在幼虾阶段进行遗传评估。

关键词: 凡纳滨对虾; 低溶氧耐受性; 高氨氮耐受性; 存活率

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2015)03-0410-08

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*), 又称南美白对虾、白对虾, 是对虾科(Penaeidae)的一种, 世界三大养殖虾之一^[1]。近年来, 凡纳滨对虾高密度养殖模式被广泛应用。然而, 高密度养殖带来的水体污染十分严重, 对虾疾病频发。孔巧香等^[2]研究发现, 在凡纳滨对虾高密度养殖过程中, 池塘水体氨氮含量呈增长趋势, 养殖后期氨氮含量超出安全浓度, 而水体溶氧(DO)量呈下降趋势, 养殖后期化学需氧量(COD)较高。养殖水体中较高氨氮含量、较低溶解氧含量会影响对虾的生长、蜕皮、渗透压调节, 造成对虾免疫力、抗病力下降, 对病原菌的敏感性提高, 出现对虾摄食率较低、生长缓慢、死亡率高等现象^[3-5]。开展耐高氨

氮、耐低溶氧等抗逆性强对虾新品种的选育是解决以上问题的有效办法。

耐高氨氮、耐低溶氧等抗逆性状为阈性状, 一般认为阈性状遗传力较低^[6], 通过选择育种提高物种的抗逆性较为困难。但在水产动物中, 王晓清等^[6]研究发现大黄鱼(*Larimichthys crocea*)对低溶氧和低 pH 的遗传力均为 0.23, 达到显著水平; Hyuma 等^[7]估计虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)耐低溶氧的狭义遗传力为 0.54, 达到显著水平; Argue 等^[8]研究发现凡纳滨对虾抗桃拉病毒遗传力为 0.28。可见水产动物的抗逆性状具有较高的遗传力, 通过选择育种能够获得较大的遗传进展。李健等^[9]曾报道, 中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)经

收稿日期: 2014-07-15; 修订日期: 2014-08-17.

基金项目: 广东省海洋渔业科技推广专项科技攻关与研发项目(A201208B05); 广西科学研究与技术开发技术项目(桂科转 12239002-3, 桂科合 14125007-2-9).

作者简介: 袁瑞鹏(1989-), 男, 硕士, 主要从事水产动物遗传育种研究. E-mail: 1032605173@qq.com

通信作者: 刘建勇, 博士, 教授, 硕士生导师. E-mail: liujy70@126.com

过 6 代的群体选育, 表现出生长快、抗逆性等优良的经济性状。黄建华等^[10]用不同地理群体的斑节对虾(*Penaeus monodon*)建立交配组合进行氨氮胁迫实验发现, 父本和母本均来自非洲的交配组合氨氮耐受性较高, 杂交组合的氨氮耐受性表现出一定的杂种优势。何玉英等^[11]用不同家系的中国明对虾幼体进行急性攻毒试验发现, 不同家系中国明对虾幼体耐氨氮和高 pH 性状差异显著, 具有较大的选择潜力。目前, 关于不同遗传背景凡纳滨对虾群体杂交与自交子代, 不同生长阶段高氨氮与低溶氧抗逆性的研究鲜为报道。

为此, 本试验通过对凡纳滨对虾不同交配组合子代, 在幼虾和成虾阶段, 进行低溶氧、高氨氮胁迫实验, 统计 24 h 与 48 h 的存活率结果, 测定不同生长阶段的 48 h 半致死浓度。比较不同生长

阶段、不同交配组合构建的群体对氨氮与低溶氧的耐受性, 筛选出一批耐氨氮与低溶氧的组合群体, 对选育出的抗逆性强的交配组合进行保种, 为构建抗逆性强的家系、培育耐高氨氮凡纳滨对虾品系与耐低溶氧凡纳滨对虾品系奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

如表 1 所示, 试验群体为我国培育的两个凡纳滨对虾新品种——中科 1 号(ZK)与中兴 1 号(ZX)、科纳湾海洋资源公司(KN)、佛罗里达对虾改良系统公司(SIS)亲虾(SS)和国内两个选育群体——广东海洋大学对虾育种中心选育群体(HD)与广东粤海水产公司选育对虾群体(YH)。引进的亲虾, 按不同群体分开, 放入虾池中强化培育。

表 1 亲虾品种来源与代号
Tab.1 Variety of *Litopenaeus vannamei* and sample code

品种代号 sample code	品种来源 variety of <i>Litopenaeus vannamei</i>
ZK	中科 1 号 Zhongke No.1
ZX	中兴 1 号 Zhongxing No.1
KN	科纳湾海洋资源公司 Kana Bay Marine Resources
SS	佛罗里达对虾改良系统公司 Shrimp Improvement Systems-Florida/USA
HD	广东海洋大学对虾选育中心选育群体 Breeding groups of shrimp breeding center in Guangdong Ocean University
YH	广东粤海水产公司选育对虾群体 Breeding groups of Guangdong Yuehai Aquaculture Company

2013 年 8 月上旬, 按个体大、性腺发育成熟、活力强的标准, 分别从各个不同来源的群体中挑选雌、雄亲虾各 20 尾, 进行群体内和群体间交配试验。

1.2 实验方法

根据试验设计, 建立 YH♀×KN♂、YH♀×ZX♂、SS♀×SS♂、YH♀×ZK♂、ZK♀×YH♂、ZX♀×ZX♂、HD♀×YH♂、ZX♀×KN♂8 个交配组合。每个交配组合促熟、产卵、孵化、幼体的培育以及养成均在广东海洋大学东海岛海洋生物研究基地室内水泥池中进行, 整个过程均保持养殖水质、饵料、养殖密度的一致。

各交配组合, 产生的组合群体养殖至 2013 年 11 月和 2014 年 2 月, 分批挑选各组合群体中体长相近的幼虾[(6.0±0.5) cm]和成虾[(10.0±0.5) cm],

进行 48 h 低溶氧胁迫和氨氮胁迫试验。

低溶氧胁迫试验: 在幼虾和成虾阶段, 从各组合群体中挑选幼虾和成虾各 120 尾, 分别设计 3 个平行组, 每组 30 尾幼虾或成虾。试验在 500 L 的玻璃纤维桶中进行, 注水 400 L。每个组合群体设有实验组和对照组, 对照组所用海水为经沉淀、消毒的自然海水(水温 23~24℃、pH 值 7.8~8.0、溶氧 7.0~9.0 mg/L), 实验组中幼虾和成虾所用海水为经沉淀、消毒自然海水, 其溶氧量分别控制在 0.62 mg/L 与 0.75 mg/L [预试验显示, 低溶氧对凡纳滨对虾幼虾 48 h 半致死浓度(LD)为 0.62 mg/L、成虾 48 h 半致死浓度(LD)为 0.75 mg/L]。实验前先将幼虾或成虾稳定 48 h, 而后通过幼虾或成虾将试验水体的氧消耗至预定值, 此时为试验起始时间, 再通过控制供氧量使氧浓度维持在预定值

水平, 实验组桶中放有水泵保持水体溶氧均匀, 用溶氧仪每隔一小时测定、记录并调控溶氧, 每隔 24 h 记录受试虾的存活数。

氨氮胁迫试验: 在幼虾和成虾阶段, 从各组合群体中挑选对虾 120 尾, 设计 3 个平行组, 每组 30 尾虾, 试验在 500 L 的玻璃纤维桶中进行, 注水 400 L, 每个组合群体设有实验组和对照组。对照所用海水为经沉淀、消毒的自然海水(水温 23~24℃、pH 值 7.8~8.0), 实验组中幼虾用海水氨氮浓度为 90 mg/L、成虾用海水氨氮浓度为 120 mg/L [试验用海水用氯化铵(分析纯)配置而成, 预实验显示, 氨氮对凡纳滨对虾幼虾 48 h 半致死浓度(LD)为 90.17 mg/L、成虾 48 h 半致死浓度(LD)为 119.84 mg/L], 实验前先将受试虾稳定 48 h, 实验期间保持试验水体中溶解氧为 7.0~9.0 mg/L, 实验组每隔 24 h 完全更换配置含氯化铵的海水, 每隔 24 h 记录受试虾的存活数。

1.3 数据处理

根据不同时间记录的受试虾的存活数, 用 Excel 2003 计算不同群体 24 h、48 h 存活率的平均值、标准差, 用 SPSS13.0 对数据作单因素方差分析(ANOVA), 当群体存活率差异显著时, 采用 Duncan 法进行多重比较, 分析不同群体间的差异显著性($P<0.05$)。用 SPSS13.0 计算高氨氮与低溶氧胁迫幼虾和成虾的存活率间的 Pearson 相关系数, 分析其显著性, $P<0.05$ 时显著相关。

2 结果与分析

2.1 低溶氧胁迫对幼虾和成虾存活率的影响

实验显示, 对照组在 48 h 内未出现幼虾死亡。如表 2 所示, 低溶氧胁迫 24 h, 不同交配组合子代群体存活率均较高, 其中 YH♀×ZK♂群体存活率最低为 60.12%, 显著低于除 ZX♀×KN♂群体外的其他群体($P<0.05$)。低溶氧胁迫 48 h 显示, 不同群体间低溶氧耐受性差异较大, 其中 YH♀×ZX♂群体存活率最高, 耐受性最强, YH♀×ZX♂、HD♀×YH♂、SS♀×SS♂群体存活率显著高于 YH♀×KN♂(50.00%)、ZX♀×KN♂、YH♀×ZK♂、ZK♀×YH♂ 4 个群体($P<0.05$); ZK♀×YH♂群体存活率为 10.35%, 显著低于其他 7 个群体($P<0.05$)。对比发现, 低溶氧胁迫 24 h 不同群体幼虾低溶氧耐受性的差异, 没有胁迫 48 h 明显。观察发现, 低溶氧胁迫试验相较于对照组, 对虾活动明显减少; 死亡对虾肌肉发白、虾体柔软。

不同交配组合子代群体成虾在低溶氧胁迫下的存活率见表3。低溶氧胁迫24 h 时, HD♀×YH♂、YH♀×ZX♂、YH♀×ZX♂、HD♀×YH♂、ZX♀×KN♂群体存活率均高于95.00%; ZK♀×YH♂群体存活率最低为88.42%。低溶氧胁迫48h 时, 不同群体间存活率差异较大, YH♀×ZX♂群体存活率最高为 83.08%, 显著高于其他群体($P<0.05$), ZK♀×YH♂群体存活率最低为16.54%, 显著低于其他群体($P<0.05$)。

表 2 低溶氧胁迫下不同凡纳滨对虾幼虾群体的存活率
Tab.2 Effect of hypoxia stress on survival rate of different *Litopenaeus vannamei* juvenile groups

n=4; $\bar{x} \pm SD$

组合群体 combination group	24 h 平均存活率/% average survival of 24 hours	48 h 平均存活率/% average survival of 48 hours
YH × KN♂	87.14±0.40 ^a	50.00±0.47 ^c
YH × ZX♂	88.31±7.10 ^a	76.23±5.71 ^a
SS × SS♂	90.52±0.78 ^a	74.61±3.75 ^{ab}
YH × ZK♂	60.12 ±9.54 ^b	20.09±5.90 ^d
ZK × YH♂	84.31±1.43 ^a	10.35±5.19 ^e
ZX × ZX♂	78.49±11.78 ^a	62.32±3.21 ^b
HD × YH♂	91.03±8.62 ^a	74.38±3.46 ^{ab}
ZX × KN♂	75.12±7.15 ^{ab}	45.36±5.21 ^c

注: 同一列中标有不同字母的数据之间差异显著($P<0.05$).
Note: Data in the same column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

表 3 低溶氧胁迫下不同凡纳滨对虾成虾群体的存活率

Tab.3 Effect of hypoxia stress on survival rate of different *Litopenaeus vannamei* adult groups

n=4; $\bar{x} \pm SD$

组合群体 combination group	24 h 平均存活率/% average survival of 24 hours	48 h 平均存活率/% average survival of 48 hours
HD × YH♂	98.43±2.34 ^a	54.49±2.16 ^{cd}
YH × ZX♂	97.61±2.73 ^{ab}	83.08±2.87 ^a
SS × SS♂	98.41±3.52 ^a	65.57±3.51 ^b
YH × ZK♂	90.00±4.75 ^{cd}	28.06±2.81 ^e
ZK × YH♂	88.42±2.31 ^d	16.54±2.07 ^f
ZX × ZX♂	91.75±2.34 ^{bcd}	57.53±3.07 ^c
HD × YH♂	98.43±2.31 ^a	71.12±2.83 ^b
ZX × KN♂	95.06±2.42 ^{abc}	50.12±1.73 ^d

注：同一列中标有不同字母的数据之间差异显著($P<0.05$)。
Note: Data in the same column with different superscripts are significantly different($P<0.05$).

2.2 氨氮胁迫对幼虾和成虾存活率的影响

不同交配组合子代群体幼体氨氮胁迫下的存活率见表 4。高氨氮胁迫 24 h 时，不同群体的存活率均较高，都高于 85.00%，其中 YH♀×KN♂、YH♀×ZK♂群体存活率显著高于 HD♀×YH♂、ZX♀×ZX♂、SS♀×SS♂群体的存活率($P<0.05$)。高氨氮胁迫 48 h 时，不同群体间存活率差异较大，YH♀×KN♂群体存活率最高为 97.71%，显著高于其他群体($P<0.05$)；ZX♀×KN♂、YH♀×ZX♂、SS♀×SS♂群体存活率较低，显著低于其他群体($P<0.05$)，其中 ZX♀×KN♂群体存活率最低，为 61.79%。对比发现，YH♀×ZK♂群体氨氮胁迫 24 h 的存活率最高，抗氨氮能力最强，而胁迫 48 h 的存活率低于 YH♀×KN♂和 HD♀×YH♂，并非最高；

ZX♀×KN♂群体氨氮胁迫 24 h 时存活率为 91.73%，比 YH♀×ZX♂、SS♀×SS♂、ZX♀×ZX♂、HD♀×YH♂群体存活率高，而氨氮胁迫 48 h 为存活率最低群体，说明不同群体氨氮胁迫 24 h 与 48 h 的氨氮耐受性差异并不一致。观察发现在胁迫试验中，对虾出现痉挛，濒死表现为肌肉发白、失去躲避能力；死亡虾体柔软、鳃部发黄发黑。

不同交配组合子代群体在氨氮胁迫下的存活率见表 5。氨氮胁迫 24 h 时，YH♀×ZX♂群体存活率最低，为 64.31%，其余群体存活率均高于 85.00%。氨氮胁迫 48 h 时，不同群体间存活率差异较大，YH♀×KN♂群体存活率为 85.53%，显著高于其他群体($P<0.05$)；其次，HD♀×YH♂和 YH♀×ZK♂较高，ZX♀×KN♂群体存活率为

表 4 氨氮胁迫对不同凡纳滨对虾群体幼虾存活率的影响

Tab.4 Effect of ammonia stress on survival rate of different *Litopenaeus vannamei* juvenile groups

n=4; $\bar{x} \pm SD$

组合群体 combination group	24 h 平均存活率/% average survival of 24 hours	48 h 平均存活率/% average survival of 48 hours
YH♀×KN♂	99.78±0.76 ^a	97.71±1.50 ^a
YH♀×ZX♂	88.43±2.38 ^{ab}	66.70±4.73 ^{de}
SS♀×SS♂	86.57±4.53 ^b	68.42±2.33 ^{de}
YH♀×ZK♂	99.98±0.34 ^a	80.01±4.72 ^{bc}
ZK♀×YH♂	95.64±4.72 ^{ab}	71.62±2.31 ^{cde}
ZX♀×ZX♂	85.46±1.12 ^b	73.74±5.23 ^{cd}
HD♀×YH♂	85.12±2.30 ^b	86.43±3.58 ^b
ZX♀×KN♂	91.73 ±2.31 ^{ab}	61.79±7.12 ^e

注：同一列中标有不同字母的数据之间差异显著($P<0.05$)。
Note: Data in the same column with different superscripts are significantly different($P<0.05$).

表 5 氨氮胁迫对不同群体成虾存活率的影响

Tab.5 Effect of ammonia stress on survival rate of different *Litopenaeus vannamei* adult groups

$n=4; \bar{x} \pm SD$

组合群体 combination group	24 h 平均存活率/% average survival of 24 hours	48 h 平均存活率/% average survival of 48 hours
YH♀×KN♂	96.72±4.75 ^a	85.53±1.67 ^a
YH♀×ZX♂	82.31±6.51 ^b	58.36±2.63 ^c
SS♀×SS♂	96.62±4.93 ^a	58.64±1.79 ^c
YH♀×ZK♂	89.34±10.23 ^{ab}	69.23±3.33 ^b
ZK♀×YH♂	93.07±4.93 ^a	60.43±0.97 ^c
ZX♀×ZX♂	90.00±14.1 ^{ab}	60.87±3.46 ^c
HD♀×YH♂	87.5±13.58 ^{ab}	74.18±2.79 ^b
ZX♀×KN♂	88.94±15.74 ^{ab}	48.96±0.67 ^d

注：同一行中标有不同字母的数据之间差异显著($P<0.05$)。
Note: Data in the same line with different superscripts are significantly different($P<0.05$).

48.96%，显著低于其他群体($P<0.05$)。

2.3 不同条件下幼虾和成虾存活率间的相关性

不同条件下对虾存活率间的相关性如表 6 所示。不同交配组合 F_1 ，幼虾低溶氧胁迫 48 h 存活率与成虾低溶氧胁迫 48 h 存活率间的 Pearson 相关系数为 0.975，呈极显著相关($P<0.01$)；不同交配组合 F_1 ，幼虾高氨氮胁迫 48 h 存活率与成虾高氨氮胁迫 48 h 存活率间的 Pearson 相关系数为 0.986，呈极显著相关($P<0.01$)；不同交配组合 F_1 ，幼虾低溶氧胁迫 48 h 存活率与高氨氮胁迫 48 h 存活率间的 Pearson 相关系数为−0.029，相关显著性检验($P>0.05$)，两种胁迫下幼虾存活率间相关性不显著；不同交配组合 F_1 ，成虾低溶氧胁迫 48 h 存活率与高氨氮胁迫 48 h 存活率间的 Pearson 相关系数为−0.024，相关显著性检验($P>0.05$)，两种胁迫下成虾存活率间相关性不显著。

3 讨论

3.1 低溶氧胁迫对幼虾和成虾的影响

由于理化和生物因素季节性或突发性变动、水质调控不力常会引起水体溶氧降低甚至缺氧，导致对虾死亡。Seidman 等^[12]报道，凡纳滨对虾在溶氧低于 2 mg/L 的水体中，肌肉活动减少、摄食量下降、出现死亡现象。本研究发现，凡纳滨对虾在低溶氧胁迫过程中，对虾活动明显减少，死亡对虾肌肉发白、虾体柔软。中国明对虾^[13]、南方滨对虾(*Penaeus chinensis*)^[14]、褐美对虾(*Penaeus setiferus*)^[15]在低溶氧环境中也有类似的现象。低溶氧胁迫幼虾 48 h 的半致死浓度为 0.62 mg/L，成虾的半致死浓度为 0.75 mg/L，表明凡纳滨对虾成虾比幼虾对低溶氧更敏感。本研究中，不同交配组合 F_1 ，幼虾低溶氧胁迫 48 h 存活率与成虾低

表 6 不同条件下凡纳滨对虾存活率间的相关性

Tab.6 The correlation between the survival rate of *Litopenaeus vannamei* under different conditions

相关条件 combination group	Pearson 相关系数 Pearson correlation coefficient	P
幼虾与成虾低溶氧胁迫 48 h 存活率 average survival of juveniles and adults under 48 hours hypoxia stress	0.975	0.001
幼虾与成虾高氨氮胁迫 48 h 存活率 average survival of juveniles and adults under 48 hours ammonia stress	0.986	0.001
低溶氧与高氨氮胁迫 48 h 幼虾存活率 average survival of juveniles under 48 hours ammonia and hypoxia stress	−0.029	0.945
低溶氧与高氨氮胁迫 48 h 成虾存活率 average survival of adults under 48 hours ammonia and hypoxia stress	−0.024	0.955

溶氧胁迫 48 h 存活率间的 Pearson 相关系数为 0.975, 呈极显著相关 ($P < 0.01$), 即凡纳滨对虾对低溶氧的耐受性在幼虾阶段和成虾阶段呈极显著相关。所以, 在凡纳滨对虾低溶氧耐受品系选育时, 可以通过早期选种缩小育种规模、减少留种数量, 节省大量的人力、物力、财力。

低溶氧胁迫 48 h, 不同交配组合群体耐受性差异显著, 耐受性最高为杂交组合 $YH♀ \times ZX♂$, $SS♀ \times SS♂$ 、 $ZX♀ \times ZX♂$ 自交组合低溶氧耐受性中等, 低溶氧耐受性最弱为杂交组合 $ZK♀ \times YH♂$ 。这说明杂交组合子代的低溶氧抗性具有杂交优势, 但有的杂交组合 F_1 , 如 $ZK♀ \times YH♂$ 的低溶氧抗性出现了杂交劣势。在其他水产动物杂交后代也表现出杂种优势和杂交劣势^[16]。从隐性有害等位基因的角度考虑, 杂交优势仅仅是近交衰退的补偿。也就是说, 通过不同近交群体间的交配掩盖隐性有害等位基因, 但是如果相同的有害等位基因被累积并被固定在不同的群体中, 杂交后代可能不表现优势甚至表现杂交劣势^[17]。

黄永春等^[18]研究表明, 正、反交凡纳滨对虾的抗 WSSV 遗传上偏向母本, 即母系遗传占主导地位。本试验中 $YH♀ \times ZX♂$ 群体低溶氧抗性强于 $ZX♀ \times ZX♂$ 群体且 $YH♀ \times ZX♂$ 群体低溶氧抗性最好, $YH♀ \times KN♂$ 群体低溶氧抗性强于 $ZX♀ \times KN♂$, 表明不同群体的雄虾与来自 YH 的雌虾交配所产子代的低溶氧抗性较好, 正反交组合 $YH♀ \times ZK♂$ 群体抗性好于 $ZK♀ \times YH♂$, 推断低溶氧耐受性为母系主导遗传。

3.2 高氨氮胁迫对幼虾和成虾的影响

氨氮是对虾养殖水体的主要污染物^[11]。在高氨氮胁迫实验中, 对虾出现痉挛, 濒死表现为肌肉发白、失去躲避能力; 死亡虾体柔软、鳃部发黄发黑。李波等^[19]发现, 高氨氮会使黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 的鳃受到强烈的刺激, 影响鱼的呼吸机能, 严重时鱼会产生剧烈游窜挣扎、窒息死亡。Cheng 等^[20]研究发现, 对虾体内氨氮浓度升高时, 血蓝蛋白含量降低造成血液的载氧能力下降, 从而造成对虾生理代谢紊乱, 甚至死亡。由此推断, 对虾高氨氮急性中毒死亡的

一个重要原因是氨氮严重影响对虾呼吸机能, 导致对虾窒息死亡。本研究显示, 氨氮对凡纳滨对虾幼虾的半致死浓度为 90.17 mg/L, 成虾为 119.84 mg/L, 可见凡纳滨对虾成虾的氨氮耐受力强于幼虾。邹栋梁等^[21]研究发现, 长毛对虾 (*Penaeus penicillatus*) 仔虾的氨氮耐受性强于蚤状幼体。可见, 随着对虾的生长发育进行, 其氨氮耐受性越来越强。不同交配组合 F_1 , 幼虾高氨氮胁迫 48 h 存活率与成虾高氨氮胁迫 48 h 存活率间的 Pearson 相关系数为 0.986, 呈极显著相关 ($P < 0.01$)。凡纳滨对虾对高氨氮的耐受性, 在幼虾阶段和成虾阶段成极显著相关。因此, 在凡纳滨对虾高氨氮耐受品系选育时, 也可以通过早期选种缩小育种规模、降低选育成本。

近年来, 通过选择育种提高对虾的高氨氮耐受性已成为了研究热点。本研究中, $YH♀ \times KN♂$ 、 $HD♀ \times YH♂$ 、 $YH♀ \times ZK♂$ 交配组合幼虾阶段的高氨氮耐受性显著高于其他组合 ($P < 0.05$), 可作为耐高氨氮优良品系的候选材料。何玉英等^[11]研究发现, 不同中国明对虾家系氨氮耐受性间差异极显著 ($P < 0.01$), 筛选出 7 个氨氮耐受性强的家系作为保种材料。黄建华等^[10]研究发现, 斑节对虾杂交组合对氨氮耐受性表现出杂种优势。本研究也发现, 凡纳滨对虾对氨氮耐受性也表现出一定的杂种优势。

3.3 幼虾和成虾高氨氮耐受性与低溶氧耐受性相关性分析

已有报道, 中国明对虾^[22]、大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*)^[23]、半滑舌鳎 (*Cynoglossus semilaevis*)^[24]、黄颡鱼^[19]在氧浓度高的水体中氨氮耐受性强于氧浓度低的水体。本研究中凡纳滨对虾不同交配组合 F_1 有成虾高氨氮耐受性与低溶氧耐受性间相关系数为 -0.024, 相关性检验不显著 ($P > 0.05$); 幼虾两性状间相关系数 -0.029, 相关性检验不显著 ($P > 0.05$)。但是, 实验发现 $HD♀ \times YH♂$ 交配组合低溶氧与氨氮耐受性均较好, 说明耐低溶氧与耐高氨氮的基因能够“富集”于同一凡纳滨对虾个体。因此, 在制定育种方案时, 可以采用选择指数法同时考虑低溶氧耐受性和耐氨氮耐受性, 培育出

既耐低溶氧又耐氨氮的凡纳滨对虾品种。O'Flynn 等^[25]采用选择指数法,同时提高了加拿大大西洋鲑(*Salmo salar*)的幼鲑存活率和抗 BKD 存活率。Rezk 等^[26]也利用选择指数法,提高了尼罗罗非鱼的养殖成活率。

参考文献:

- [1] Li S K, Jiang M, Dai X L, et al. Comparative analysis of water quality in *Litopenaeus vannamei* ponds and nutritional quality of shrimp muscle[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2012, 21(6): 955–964. [李世凯, 江敏, 戴习林, 等. 凡纳滨对虾池塘水质及对虾肌肉品质的对比分析[J]. 上海海洋大学学报, 2012, 21(6): 955–964.]
- [2] Kong Q X, Li R W, Zhang B, et al. The preliminary study of physical and chemical factors of water in culturing *Litopenaeus vannamei* ponds[J]. Environmental Chemistry, 2012, 31(11): 1823–1824. [孔巧香, 李仁伟, 张宾, 等. 南美白对虾养殖水质理化因子的初步研究[J]. 环境化学, 2012, 31(11): 1823–1824.]
- [3] Chen J C, Nan F H. Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis* (Osbeck, 1765) juveniles at different salinity levels (Decapoda, Penaeidae)[J]. Crustaceana, 1995, 68(8): 712–719.
- [4] Wei L Z. Effects of low dissolved oxygen on the growth of chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis* and the mechanism[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010: 4–32. [韦柳枝. 低溶解氧对中国明对虾生长的影响及其机制的实验研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010: 4–32.]
- [5] Jiang L X, Pan L Q, Xiao G Q. Effects of ammonia-N on immune parameters of white shrimps *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2005, 11(6): 537–541. [姜令绪, 潘鲁青, 肖国强. 氨氮对凡纳对虾免疫指标的影响[J]. 中国水产科学, 2005, 11(6): 537–541.]
- [6] Wang X Q, Wang Z Y, He X R. Heritability and tolerance of *Larimichthys crocea* to environmental factors[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2009, 40(6): 781–785. [王晓清, 王志勇, 何湘蓉. 大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 耐环境因子试验及其遗传力的估计[J]. 海洋与湖沼, 2009, 40(6): 781–785.]
- [7] Hynma K, Nobuyuki I, Akihiro K. Estimation of heritability of tolerance to low-oxygen water in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Suisanzoshoku, 2002, 50(3): 369–374.
- [8] 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): 447–460.
- [9] Li J, Liu P, He Y Y, et al. Artificial selection in the new breed of *Fenneropenaeus chinensis* named “Yellow Sea 1” based on fast growth trait[J]. Journal of Fisheries of China, 2005, 29(1): 1–5. [李健, 刘萍, 何玉英, 等. 中国对虾快速生长新品种“黄海 1 号”的人工选育[J]. 水产学报, 2005, 29(1): 1–5.]
- [10] Huang J H, Li Y, Yang Q B, et al. Comparison of tolerance to ammonia-N in *Penaeus monodon* families[J]. South China Fisheries Science, 2012, 8(6): 37–43. [黄建华, 李永, 杨其彬, 等. 斑节对虾家系氨氮耐受性的比较[J]. 南方水产科学, 2012, 8(6): 37–43.]
- [11] He Y Y, Li J, Li P, et al. Comparison of the resistance to pH value and ammonia in chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*) families[J]. Periodical of Ocean University of China, 2008, 38(5): 761–765. [何玉英, 李健, 刘萍, 等. 中国对虾家系幼体对氨氮和 pH 值的耐受性比较[J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2008, 38(5): 761–765.]
- [12] Seidman E R, Lawrence A. Growth, feed digestibility and proximate body composition of juvenile *Penaeus uannamei* and *Penaeus monodon* grown at different dissolved oxygen levels[J]. J World Maricult Soc 16, 1985: 333–346.
- [13] Li J, Sun X T, Zhao F Z. Observation on effects of temperature and dissolved oxygen on ingestion of *Penaeus chinensis*[J]. Journal of Fisheries of China, 1993, 17(4): 333–336. [李健, 孙修涛, 赵法箴. 水温和溶解氧含量对中国对虾摄食影响的观察[J]. 水产学报, 1993, 17(4): 333–336.]
- [14] MacKay R D. A note on minimal levels of oxygen required to maintain life in *Penaeus schmitti*[C]//Proceedings of the annual meeting-World Mariculture Society. Blackwell Publishing Ltd, 1974, 5(1–4): 451–452.
- [15] Renaud M L. Detecting and avoiding oxygen deficient sea water by brown shrimp, *Penaeus aztecus*, and white shrimp *Penaeus setiferus* (Linnaeus)[J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1986, 98(3): 283–292.
- [16] World Fish Center. Genetic improvement of carp species in Asia[R]. ICLARM Final Report, 2001: 159.
- [17] Ma D Y, Hu H L, Kong J. Inbreeding and its impact on aquaculture[J]. Journal of Fisheries of China, 2006, 29(6): 849–856. [马大勇, 胡红浪, 孔杰. 近交及其对水产养殖的影响[J]. 水产学报, 2006, 29(6): 849–856.]
- [18] Huang Y C. Selective breeding families for resistance to the white spot syndrome virus (WSSV) and WSSV resistance characteristic and hereditary traits of *Litopenaeus vannamei*[D]. Guangzhou: Sun Yat-Sen University, 2007: 108–120. [黄永春. 凡纳滨对虾抗 WSSV 家系选育及抗病特性和遗传性状研究[D]. 广州: 中山大学, 2007: 108–120.]
- [19] Li B, Fan Q X, Zhang L, et al. Acute toxic effects of ammonia and nitrite on yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) at different dissolved oxygen levels[J]. Freshwater Fisheries, 2009, 39(3): 31–35. [李波, 樊启学, 张磊, 等. 不同溶氧水

- 平下氨氮和亚硝酸盐对黄颡鱼的急性毒性研究[J]. 淡水渔业, 2009, 39(3): 31–35.]
- [20] Cheng S Y, Chen J C. Haemocyanin oxygen affinity and the fractionation of oxyhemocyanin and deoxyhemocyanin for *Penaeus monodon* exposed to elevated nitrite[J]. Aquat Toxicol, 1999, 45: 35–46.
- [21] Zou D L, Gao S Y. The ammonia toxicity of *Penaeus penicillatus* larvae[J]. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 1994, 13(2): 133–137.[邹栋梁, 高淑英. 氨对长毛对虾幼体的毒性[J]. 台湾海峡, 1994, 13(2): 133–137.]
- [22] Liu H Y. Water quality characteristic of industrial shrimp farming and effects of higher dissolved oxygen on in its farming[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2006: 4–54. [刘海英. 对虾工厂化养殖水质特征及高溶解氧对养殖的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2006: 4–54.]
- [23] Qu K M, Xu Y, Ma S S, et al. Acute toxic effects of nitrite and non-ion ammonia on turbot (*Scophthalmus maximus*) at different DO levels[J]. Marine Fisheries Research, 2007, 28(4): 83–88. [曲克明, 徐勇, 马绍赛, 等. 不同溶解氧条件下亚硝酸盐和非离子氨对大菱鲆的急性毒性效应[J]. 海洋水产研究, 2007, 28(4): 83–88.]
- [24] Xu Y, Zhang X F, Qu K M, et al. Acute toxic effects of nitrite and ammonia on *Cynoglossus semilaevis* at different dissolve oxygen levels[J]. Marine Fisheries Research, 2006, 27(5): 28–33. [徐勇, 张修峰, 曲克明, 等. 不同溶氧条件下亚硝酸盐和氨氮对半滑舌鳎的急性毒性效应[J]. 海洋水产研究, 2006, 27(5): 28–33.]
- [25] O'Flynn F M, Bailey J K, Friars G W. Responses to two generations of index selection in Atlantic salmon (*Salmo salar*)[J]. Aquaculture, 1999, 173(1): 143–147.
- [26] Rezk M A, Smitherman R O, Williams J C, et al. Response to three generations of selection for increased body weight in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, grown in earthen ponds[J]. Aquaculture, 2003, 228(1): 69–79.

A comparative study of hypoxia and high-ammonia resistance between *Litopenaeus vannamei* inbred and hybrid offspring at different stages

YUAN Ruipeng, LIU Jianyong, ZHANG Jiachen, HU Zhiguo

Fisheries College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China

Abstract: We conducted a comparative study of hypoxia and high-ammonia resistance in *Litopenaeus vannamei* after 48 hours of stress in different mating combinations of the F₁ generation at the juvenile and adult stages. We set up eight mating combinations of inbred and hybrid *L. vannamei* with six different genetic backgrounds. The results show that the survival rates of the YH♀×ZX♂, SS♀×SS♂, and HD♀×YH♂ juvenile shrimp mating combinations were 76.23%, 74.61%, and 74.38%, which were significantly higher than those of the other mating combinations ($P<0.05$). Survival rates of adult shrimp under hypoxic stress were 83.08%, 65.57%, and 71.12%. Thus, these adults could be used as candidates for hypoxia-resistant breeding. Survival rates of the YH♀×KN♂, HD♀×YH♂, and YH♀×ZK♂ juvenile shrimp mating combinations were 97.71%, 86.43%, and 80.01%, which were significantly higher than those of the other mating combinations ($P<0.05$). Survival rates of the adult shrimp under high-ammonia stress were 85.53%, 74.18%, and 69.23%. Thus, these adults could be used as candidates for high-ammonia resistant breeding. Hypoxia and high ammonia resistance of the HD♀×YH♂ mating combination was high, but the correlation between hypoxia and high-ammonia resistance in the different mating combinations was not significant. We found that if a female parent originated from the YH group, its offspring were also hypoxia resistant, suggesting that the hypoxia resistance trait is a maternal dominant genetic trait. Hypoxic resistance decreased during the growth and development of the shrimp. The correlation between mating combinations of juvenile and adult shrimp for hypoxic stress and high-ammonia stress was highly significant ($P<0.01$). These results suggest that the hypoxia and high-ammonia resistance traits of *L. vannamei* should be evaluated at the juvenile stage. This study lays the foundation for developing and culturing hypoxia- and high ammonia-resistant *L. vannamei* strains.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; hypoxia resistance; high ammonia resistance; survival

Corresponding author: LIU Jianyong. E-mail: liujy70@126.com