

γ 射线对日本囊对虾生物学效应的初步探讨

刘 波¹ 柯才焕² 曾志南¹

(1. 福建省水产研究所, 福建 厦门 361012; 2. 厦门大学海洋与环境学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 本试验探讨了用不同辐照剂量⁶⁰Co γ 射线处理日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus* L.) 亲体及幼体的生物学效应, 并通过产卵量、孵化率、存活率、畸形率及亲虾的活力等, 对辐射诱变效应进行评估。实验数据经过 SPSS11.0 进行单因素方差分析以及线性回归分析显示, 亲虾的活力、产卵量、孵化率和存活率随着辐照剂量的升高而下降, 而畸形率则相应呈现出上升趋势, 辐照剂量同日本囊对虾幼体各性状指标呈显著相关($R^2 > 0.85$)。试验还表明, 大量受精卵在胚胎时期就发生死亡, 但部分畸形的胚胎会发育到无节幼体阶段, 并极有可能进一步发育到成体阶段, 这将对可能产生的诱变个体进行人工筛选的工作基础。

关键词: 日本囊对虾; 辐照; 诱变; ⁶⁰Co γ 射线

A PRIMARY STUDY ON THE BIOLOGICAL EFFECTS OF ⁶⁰Co γ RAYS IRRADIATION ON *Marsupenaeus japonicus* L.

LIU Bo¹ KE Cai-huan² ZENG Zhi-nan¹

(1. Fishery Research Institute of Fujian, Xiamen, Fujian 361012;

2. College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005)

Abstract: The biological effects of ⁶⁰Co γ-rays irradiation on *Marsupenaeus japonicus* L. were studied. Through the data analysis of the spawning number, hatch rate, survival rate, deformity rate and the life performance of parental prawns the irradiation-induced effects was evaluated. The experimental data were analyzed by one-way ANOVA and Linear Regression methods in SPSS11.0. The results showed that the life performance of parental prawn, spawning number, hatch rate and survival rate were decreasing with the increase of irradiation dose. The deformity rate had a raising trend when dose increased. And the irradiation dose were significant related to the above index of *Marsupenaeus japonicus* larvae ($R^2 > 0.85$). Although many oosperms were dead in embryo-state, there were some deformed individuals developed into the nauplius-state. Those individuals might develop into adults which would be the base of selected breeding in further study.

Key words: *Marsupenaeus japonicus* L.; irradiation; induction; ⁶⁰Co γ-rays

对虾是我国沿海地区水产养殖重要的经济种类之一, 自 80 年代以来, 对虾养殖业在东南亚地区已成为年产几十亿美元的产业, 1994 年据 FAO 统计, 我国对虾养殖年总产量已经达到世界对虾总产量的 7%^[1]。随着野生对虾资源的日益衰竭以及对虾养殖过程中种质质量不断的下降, 对虾种质的优劣已经成为影响我

国对虾养殖产业可持续发展的关键因素^[2]。生物对病害的易感染性和低下的生活力与其较低的遗传变异水平有密切关系^[3], 而辐射诱变能够引起基因组广泛的变异并在短时间内获得大量变异品种^[4, 5]。因此, 辐射诱变在育种实践和遗传学基础研究中有着广泛的应用前景, 并已经在各种农作物育种中得到广泛的应

收稿日期: 2009-02-23 接受日期: 2009-03-20

基金项目: 厦门市海洋与渔业局科技计划

作者简介: 刘 波(1984), 男, 湖南邵阳人, 硕士, 助研, 主要从事生物化学与分子生物学专业方面的研究。E-mail: liubo8090@yahoo.com.cn

通讯作者: 柯才焕(1962), 男, 福建厦门人, 博导, 教授, 主要从事生物技术方面的研究。13015956738, E-mail: chke@jingxian.xmu.edu.cn

用^[6-9],并且取得良好的经济效益和社会效益。

日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus* L.)是我国最重要的对虾养殖种类之一,其辐射诱变基础研究尚未见报道。本研究首次将⁶⁰Co γ 射线辐射诱变技术应用于对虾的遗传育种,通过辐照后产卵量、孵化率、存活率、畸形率及亲虾的活力等数据,研究辐射诱变处理对受精卵发育和幼体生长的影响,探讨影响辐照子代生物学诱变效应的关键因素,为进一步诱变育种研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

日本囊对虾采集于广东省东北部自然海区,体长23 cm~ 27 cm,共42尾,为性腺发育良好、处于繁殖期的个体。

国产 FCC8000 型⁶⁰Co治疗机(由厦门市第一医院辐射科提供并操作)配有数码相机的 LEICA090-135.001型倒置显微镜为 Canon 公司 power S45 型产品, HV-110 型高压灭菌锅为 Hirayama 公司产品, GZX-250 型恒温培养箱为北京中兴伟业仪器公司产品。

1.2 方法

1.2.1 亲虾的处理 经过手术剪除日本囊对虾眼柄后暂养于24m²水泥池内,水温27℃~ 29℃,比重1.020 g/ml,盐度30, pH 值7.9。连同对照组在内共设置7个组。每组设置3个平行进行实验对比。性腺成熟后运往厦门市第一医院进行⁶⁰Co γ 射线诱变处理,辐照剂量为0.5、1、5、10、12和15Gy,剂量率为0.034Gy/s。处理后运往厦门市水产技术推广站,放于500kg圆桶内培育产卵。

1.2.2 受精卵的孵化及虾苗的培育 亲虾产卵后,进行产卵量计数,记录亲虾的死亡比率和死亡时间,每个组分别收集400个受精卵于3个1000 ml玻璃烧杯中。受精卵在经过沙滤、脱水棉、水质过滤袋3次过滤,在高温灭菌的海水中孵化,水温为26℃~ 28℃,比重1.020 g/ml,盐度30,在恒温培养箱中进行充气培育。培育过程中,通过倒置显微镜观察胚胎形态,计算胚胎畸形率。

1.2.3 数据统计 亲虾产卵后将水搅拌均匀用100 ml玻璃烧杯在圆桶上、中、下3个位置进行3次取样计算卵量,求其平均值,再进行换算;亲虾死亡数量只计算辐照后3d内死亡的个体;孵化率(%)=(无节幼体数/受精卵数)×100%;存活率(%)=(仔虾幼体数/

无节幼体数)×100%;胚胎畸形率(%)=(胚胎畸形数/受精卵数)×100%;实验数据通过 SPSS11.0 进行单因素方差分析以及线性回归分析。

2 结果和分析

2.1 辐照处理对亲虾的影响

通过对亲虾产卵情况的观察发现,诱变各组的产卵量比对照组减少,且辐照剂量越高,产卵量也低;而亲虾死亡数随时间的推移逐渐增多。从第3天开始,对照组亲虾也开始死亡,此时停止计算亲虾死亡数。表1列出了不同辐照剂量下亲虾实验结果。

表1 辐照对日本囊对虾产卵的影响

Table 1 The experimental data of spawning of *Marsupenaeus japonicus* by ⁶⁰Co γ irradiation ($x \pm s$)

辐照剂量 irradiation dose (Gy)	亲虾数量 No. of parental prawn	亲虾死亡数 No. of dead prawn	亲虾平均产卵量 average No. of spawning
0	6	0	138.2±6.3
0.5	6	1	124.3±4.4
1	6	2	130.5±6.1
5	6	2	126.3±6.6
10	6	4	119.8±6.2
12	6	3	122.4±8.9
15	6	5	112.7±7.2

2.2 辐照对对虾幼体的影响

从各组受精卵和幼体的孵化和生长情况(表2)来看,胚胎畸形率随辐照剂量增加而显著提高($P < 0.05$),孵化率和存活率随剂量增加则呈现出不断下降的趋势(图1)。通过 SPSS11.0 统计软件进行单因素方差分析,发现各诱变组之间的实验数据差异显著($P < 0.05$);应用 SPSS11.0 统计软件对日本囊对虾的辐照剂量与孵化率、存活率、畸形率进行线性回归分析,得如下回归方程:

日本囊对虾辐照剂量与孵化率之间的一元回归方程: $y = -3.6871x + 68.970$;经检验,辐照剂量与孵化率之间呈显著性负相关($R^2 = 0.8811$)。

日本囊对虾辐照剂量与存活率之间的一元回归方程: $y = -1.3634x + 66.387$;经检验,辐照剂量与存活率之间呈显著性负相关($R^2 = 0.9126$)。

日本囊对虾辐照剂量与畸形率之间的一元回归方程: $y = 4.2055x + 32.709$;经检验,辐照剂量与存活率之间呈显著性正相关($R^2 = 0.8544$)。

表 2 日本囊对虾经⁶⁰Co γ 射线处理后 M₁ 幼体的试验数据Table 2 The experimental data of *Marsupenaeus japonicus* M₁ larvae by ⁶⁰Co γ irradiation($x \pm s$)

辐照剂量 irradiation dose(Gy)	受精卵数量 No. of oospem	无节幼体数量 No. of nauplius	仔虾数量 No. of postlarva	胚胎畸形数量 No. of defomity	孵化率 hatch rate (%)	存活率 survival rate (%)	畸形率 defomity rate(%)
0	400	354.4±4.0	251.8±7.2	48.3±5.5	84.4±1.0	70.9±1.4	12.0±1.4
0.5	400	256.3±6.1	160.0±6.1	168.7±6.7	64.1±1.5	62.4±1.2	42.1±1.7
1.0	400	231.7±8.7	145.4±7.6	184.1±7.8	57.8±2.2	62.9±1.9	46.1±1.9
5.0	400	164.2±9.3	98.3±6.6	247.0±10.2	40.9±2.3	59.9±0.7	61.8±2.6
10.0	400	141.2±9.2	75.3±5.3	288.4±9.2	35.3±2.3	53.2±1.9	72.3±2.3
12.0	400	96.0±5.7	49.7±2.5	349.1±8.4	23.9±1.4	51.5±0.6	87.3±2.1
15.0	400	64.6±4.4	29.1±4.0	363.1±6.5	16.0±1.1	44.6±3.5	90.8±1.6

图 2~ 图 3 为孵化率、存活率和畸形率同辐照剂量之间的效应曲线图。

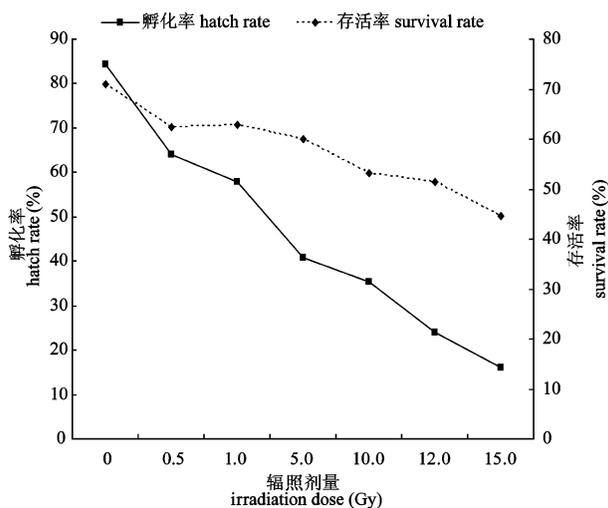


图 1 日本囊对虾幼体的孵化率和存活率与辐照剂量之间的关系

Fig. 1 The relationship between hatch rate/survival rate of *Marsupenaeus japonicus* larvae and irradiation dose

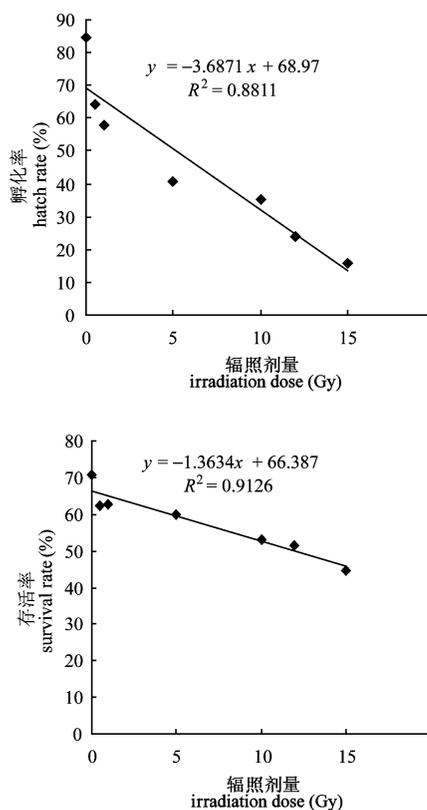


图 2 日本囊对虾幼体孵化率和存活率的剂量效应曲线

Fig. 2 The curves of hatch rates and survival rates of the irradiation effect of *Marsupenaeus japonicus* larvae

3 结论和讨论

通过用⁶⁰Co γ 射线对日本囊对虾进行辐射诱变,成功地获得了子一代(M₁)诱变个体,对经过辐射诱变的受精卵及其幼体的生长发育情况进行观察。日本囊对虾对辐射的敏感程度主要表现在亲虾死亡数及亲虾产卵量等生命活力指标上,因此,在将来的辐射诱变遗传育种过程中应充分考虑这一因素,以达到满足生产条件的最佳诱变效果。此外,受精卵经⁶⁰Co γ 射线不同辐照剂量的辐照后,造成碱基突变、DNA 链断裂、染色体畸变等,使受精卵的胚胎发育出现不同程度的异常,从而使得受精卵及其幼体出现畸形甚至死亡。

由图 2、图 3 的线性回归分析可以看出,经辐照处

理后,辐照剂量同幼体各性状指标有显著的相关关系($R^2 > 0.85$),其幼体性状指标孵化率、存活率及畸形率与剂量间存在线性关系,故可用剂量效应方程在已知剂量下预测辐照处理后幼体各性状指标的变化,为遗传育种的定向诱变提供技术依据。此外,本试验中亲虾的死亡情况随着培养时间的增加、剂量的增大而变得严重,这一试验现象与其他报道提出的“生物经过辐射后,诱变效应一般发生在 24 h 之后”的现象一

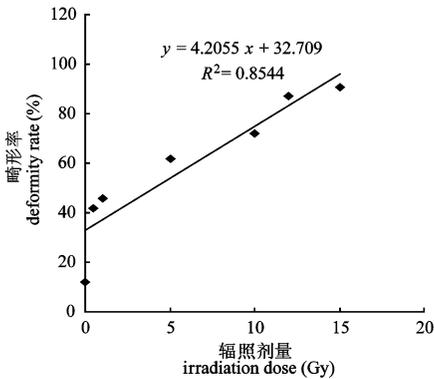


图3 日本囊对虾幼体畸形率的剂量效应曲线

Fig. 3 The deformity rate curve of irradiation effect of *Marsupenaeus japonicus* larvae

致^[8]。

本研究结果表明,用⁶⁰Co γ射线辐照亲虾,产卵量的变化幅度要低于孵化率、存活率和畸形率的变化幅度(表1、表2)。我们认为,这是由于辐照对亲虾的诱变效应一般在24h之后比较明显,如造成亲虾活力下降、死亡等,而产卵一般在诱变后18h左右,所以对产卵量的影响相对较小;而从表2来看,随着剂量的增加,越来越多的受精卵发生畸变,在胚胎时期就不断死亡,不能发育到无节幼体阶段。但是,孵化率和畸形率的数据表明,在高剂量中,尽管大量的受精卵在胚胎时期发生死亡,但还有部分畸形胚胎能发育到无节幼体阶段,而从无节幼体到仔虾阶段的发育过程中虽然不断有幼体死亡,但死亡数相对受精卵时期的死亡数少得多,说明部分畸形的无节幼体具有一定的生命活力,极有可能进一步发育到成体阶段,这将对可能产生的诱变个体进行人工筛选的工作基础。

辐射诱变的效果随着剂量、强度(剂量率)、对象的敏感程度有所变化^[9],可以通过固定强度调节剂量或固定剂量调节强度这两种模式来探讨。但从已有的报道来看,剂量率的大小对诱变效果的影响并不明

显^[10]。因此,在本研究中,主要通过改变辐照剂量并限定辐照强度及辐照方式对日本囊对虾进行辐照处理,综合评估受精卵及幼体的生长发育如孵化率、存活率、畸形率等,同时参考亲虾产卵量的数据,从而完成诱变效果评价。本文初步探讨了日本囊对虾在不同辐照剂量下的生物学表现。在适宜的辐照剂量下,日本囊对虾变异个体能否发育到成体阶段以及其基因水平上的遗传分析等还需进一步探索。

参考文献:

- [1] 蔡生力. 东南亚地区对虾养殖业的现状及未来研究之重点[J]. 现代渔业信息, 1997, 12(2): 19- 24
- [2] 蔡雅儿, 林 蜂, 柯亚夫, 陈本楠. 中国对虾人工诱导雌核发育的研究¹/ 四步诱导法[J]. 海洋科学, 1995, (3): 35- 41
- [3] Carr WJ, Sweeney J, Swingle J. The oceanic institute SPF shrimp breeding program status[C]. In: USMSFP (US Marine Shrimp Farming Program) 10th Anniversary Review. GCRL: Special Publication, 1994: 47- 54
- [4] Schappi G, Georg F. Adaptability reaction of black drosophila reduced by low dose X ray[J]. Radiation Biology, 1994, 65(4): 427- 435
- [5] 夏寿萱. 辐射生物学[M]. 北京: 军事医学科学出版社, 1998: 7 - 19
- [6] 王志东. 我国辐射诱变育种的现状分析[J]. 同位素, 2005, 18 (3): 183- 185
- [7] 周章印. 玉米诱变育种研究进展[J]. 河北农业科学, 2008, 12 (7): 54- 57
- [8] 李 鹏, 李新华, 张 锋, 邱登林. 植物辐射诱变的分子机理研究进展[J]. 核农学报, 2008, 22(5): 626- 629.
- [9] 马 爽, 李文建, 周利斌, 余丽霞, 董喜存. 观赏植物诱变育种的 研究现状和展望[J]. 核农学报, 2007, 21(4): 378- 382.
- [10] 彭小明, 刘 晓, 张国范, 尤仲杰. ⁶⁰Co γ 辐射处理对成体长牡 蛎致死时间效应的初步研究[J]. 海洋科学, 2005, 29(10): 8- 11
- [11] 朱壬葆, 刘 永, 罗祖玉. 辐射生物学[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 389- 476
- [12] 王 丹, 任少雄, 苏 军, 李卫锋, 王熙. 核技术在观赏植物诱 变育种上的应用[J]. 核农学报, 2004, 18(6): 443- 447