

中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)外部性征的分化及发育*

冯政夫¹ 林晓菲¹ 葛蕾蕾² 朱 伟^{1①}

(1. 青岛农业大学生命科学学院 青岛 266109; 2. 青岛蔚蓝生物集团有限公司 青岛 266001)

摘要 中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)的性别分化和生殖器官发育是其繁殖生物学的重要部分,也是进行性别调控的基础。经过 2 年的取样观察,研究了中国明对虾雌性纳精囊和雄性交接器的分化与发育过程。结果显示,早在仔虾后 16 d (16 days post-larva, PL16)即开始雌雄分化,此时,雌虾第 4 与第 5 对步足间腹甲处的锥突出现明显下陷,而雄虾的没有下陷。PL54 时,雌虾纳精囊瓣膜出现,然后继续发育,到 PL124 时形成纳精囊锥形;雄虾交接器发育较晚,到 PL54 时,雄虾第 1 泳足的内肢才出现分化,在 PL106 基本形成雄性交接器。

关键词 中国明对虾; 性别分化; 发育; 纳精囊; 交接器

中图分类号 S917 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2016)06-0068-06

中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)是我国重要的海水养殖虾类,属广温、广盐性、一年生暖水性大型洄游虾类。在自然海域条件下,成体雄虾体长 15–18 cm,体重为 30–40 g;雌虾体长为 18–23 cm,体重为 60–80 g,是雄虾体重的 1.5 倍。选育成体个头大、生长速度快的雌虾,可有效缩短养殖周期,提高养殖效益。

对虾外部性征主要有雄性交接器和雌性纳精囊,其形态特征的差异成为对虾属的分类特征和雌雄性别鉴定的主要依据(杨筱珍等, 2010)。雌性纳精囊位于第 4 和第 5 对步足基部之间的腹甲上,分为封闭型和开放型。大多数虾类具有封闭型纳精囊,有 1 个或 2 个囊状结构,用以储藏精子,如中国明对虾、斑节对虾(*Penaeus monodon*)和长毛对虾(*Penaeus penicillatus*)等属于此类;开放型纳精囊无囊状结构,凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)属此类。雄性交接器由第 1 泳足的内肢通过钩状刚毛相连而构成,中部向上纵行隆起,呈半管形。

20 世纪 80 年代初,我国学者对中国明对虾雌雄分化的外部形态特征进行了研究。李富花等(2002)发

现,中国明对虾外部性征分化发生在仔虾后第 35 天 (35 days post-larva, PL35)的幼虾,而尹左芬等(1986)在解剖镜下观察到中国明对虾在进入幼虾时(体长为 34 mm)出现了外部性征的分化。Campos-Ramos 等(2006)观察到凡纳滨对虾 PL50 左右(体重为 150 mg,体长为 20 mm)出现了雌雄外部性征的分化,其外部性征的分化主要与生长龄有关,不受其体长、体重的影响。Sagi 等(1990)在罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)的研究中也得出相同的结论。

迄今为止,有关中国明对虾外部性征发育过程的研究还很少。为此,本研究借助光学显微镜对中国明对虾幼虾的纳精囊和交接器的发育过程进行观察,为完善中国明对虾繁殖生物学、掌握其繁殖规律进而进行性别调控和单性养殖奠定基础。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

连续 2 年(2012 年 4 月和 2013 年 4 月)从中国水产科学研究院黄海水产研究所育苗场取回 PL5 幼虾(体长

* 青岛农业大学高层次人才启动基金(631109)和山东省现代农业产业技术体系项目(SDAIT-15-011-10)共同资助。冯政夫, E-mail: zhffeng@163.com

① 通讯作者: 朱 伟, 教授, E-mail: zhuweiqd@163.com

收稿日期: 2015-11-01, 收修改稿日期: 2015-11-30

为 7 mm)。取回的幼虾在 80 L 的玻璃缸循环水系统中充气培养,海水温度为 22–28℃,每天换水 1/3。饲养前期以投喂卤虫(*Artemia* sp.)无节幼体和虾片为主,每日投喂 4 次;虾片过 120 目筛后投喂。饲养后期投喂人工配合饲料。中国明对虾成体于 2012 年 12 月和 2013 年 1 月购于山东省青岛市城阳新宜家海鲜市场,用于成体外生殖器结构的观察。

PL7–PL56, 每 2 d 随机取 30 尾幼虾; PL58–PL124, 每 6 d 随机取 20 尾幼虾并测量体长。将活虾放入含有饱和 $MgSO_4$ 的海水中麻醉后,放入 Bouin's 液(苦味酸饱和液:福尔马林:冰醋酸=15:5:1)中固定 16–24 h 后,转入 70%的乙醇中(4℃)保存备用,用于外生殖器结构观察。

1.2 观察及制片方法

将 Bouin's 液固定后的幼虾在系列乙醇中逐级复水。将复水后的幼虾附肢伸展,腹面向上放到干净的载玻片上,用解剖针将两侧的步足、泳足和尾肢固定,在显微镜下观察第 4 和第 5 对步足之间腹甲上的锥突形态变化和第 1 泳足内肢的发育过程。每次随机取 PL7–PL30 幼虾 30 尾,取 PL32–PL124 幼虾 20 尾,在 Olympus 显微镜下观察并拍照。

2 结果

雌性纳精囊和雄性交接器是中国明对虾的主要外生殖器,它们的形态和着生部位有很大的不同,是性别鉴定的主要依据。

2.1 雌性纳精囊的发育

中国明对虾雌性纳精囊是贮存精荚的器官,由第 4 和第 5 对步足之间腹甲的锥突下陷形成囊腔,第 5 对步足基部的前缘特化为 2 个半圆形甲壳质瓣膜覆盖囊腔,形成封闭式纳精囊,第 4 对步足基部的后缘演变为“山”字形突起,斜插在囊腔内,有固定精荚的作用(图 1)。

2.1.1 前后锥突开始发育 PL15 (平均体长为 11.3 mm)幼虾,第 4 与第 5 对步足基部的腹甲上有 2 个锥形突起,位于第 4 对步足腹甲上的锥突(前锥突)比第 5 对步足的(后锥突)略显钝圆和宽大,个体间锥突形状未观察到明显差异(图 1-A)。

2.1.2 雌性纳精囊的出现 PL16 (平均体长为 11.5 mm)幼虾,雌性与雄性的第 4 与第 5 对步足腹甲间的锥突形态出现分化。雌虾的前锥突和后锥突出现不同程度的下陷,基部着生面积进一步加大(图 1-B)。此时,雄虾的前、后锥突形状相似,没有明显的形态改变和下陷(图 1-A)。随着幼虾发育,雌性幼虾的前锥突与后锥突继续下陷,锥突顶端逐渐变钝,基部面积继

续增大,PL38 雌虾的前锥突顶端面积与基部的近乎相等(图 1-C)。

2.1.3 雌性纳精囊的生长 PL54 雌性幼虾(平均体长为 51.1 mm)的第 4 与第 5 对步足之间腹甲面积继续变宽,第 4 对步足基部的后缘和第 5 对步足基部前缘分别发育为一个三角形瓣膜(前瓣膜和后瓣膜),前瓣膜的左右甲壳质瓣膜连接在一起,后瓣膜的左右甲壳质瓣膜相互分离;后锥突基部着生面积加大,锥突顶部面积进一步减少,下陷明显(图 1-D)。此时,雄虾第 4 与第 5 对步足之间腹甲上锥突的着生面积也增大,但锥突的形状与 PL15 幼虾相比没有明显变化(图 2-A)。随着幼虾的发育,雌虾的后锥突下陷明显,前瓣膜继续生长并向后延伸,后瓣膜继续向前生长并向中央靠近(图 1-E)。

2.1.4 纳精囊的形成 PL86 雌虾(平均体长为 82.2 mm)纳精囊的后瓣膜继续向前生长,并逐渐向中央靠近,前瓣膜后缘中央凹陷明显(图 1-F)。PL112 雌虾(平均体长为 91.6 mm)后瓣膜的前缘已延伸至第 4 对步足基部,后瓣膜的左右甲壳质瓣膜继续向中央靠近;前瓣膜的前缘下陷明显,后缘形成的“山”字形突起更为明显并向上微微翘起,在以后的发育中逐渐下陷并斜插在纳精囊的囊腔内(图 1-G)。PL124 雌虾(平均体长为 97.7 mm)前瓣膜后缘的 3 个舌状突起更加明显,后瓣膜继续生长并向中央靠近,已覆盖第 5 对步足之间腹甲的 1/2,逐渐形成封闭式纳精囊。此外,在纳精囊的发育过程中,没有观察到囊腔内部有分隔膜的出现,推测其为单囊腔的纳精囊(图 1-H)。成体雌虾(平均体长为 123.5 mm)的纳精囊呈圆盘状,中央有一个纵向开口,左右两侧对称,开口的两边外缘稍突起,有如唇状闭合,内部为一个空囊,囊腔的前端有 3 个舌状小突起,斜插在囊腔内,有固定精荚的作用(图 1-I)。在整个发育过程中,雄虾的腹甲面积随着发育进行而增大,但前锥突和后锥突的形态以及腹甲形状与 PL15 幼虾的相比没有明显变化(图 1-A,图 2-C)。

2.2 雄性交接器的发育

中国明对虾雄性交接器是由第 1 泳足的内肢特化而来。雄虾的第 1 对泳足内肢分别发育为“靴”状结构的生殖肢,左右生殖肢的内缘着生浓密的、呈带状分布的钩状刚毛,巧妙地将左右生殖肢联合在一起形成完整的雄虾交接器(图 2)。对虾交配时,精荚从第 5 对步足基部内侧的裂缝状生殖孔排出,交接器将充满精子的精荚运送到雌性纳精囊中,履行繁育后代的任务。

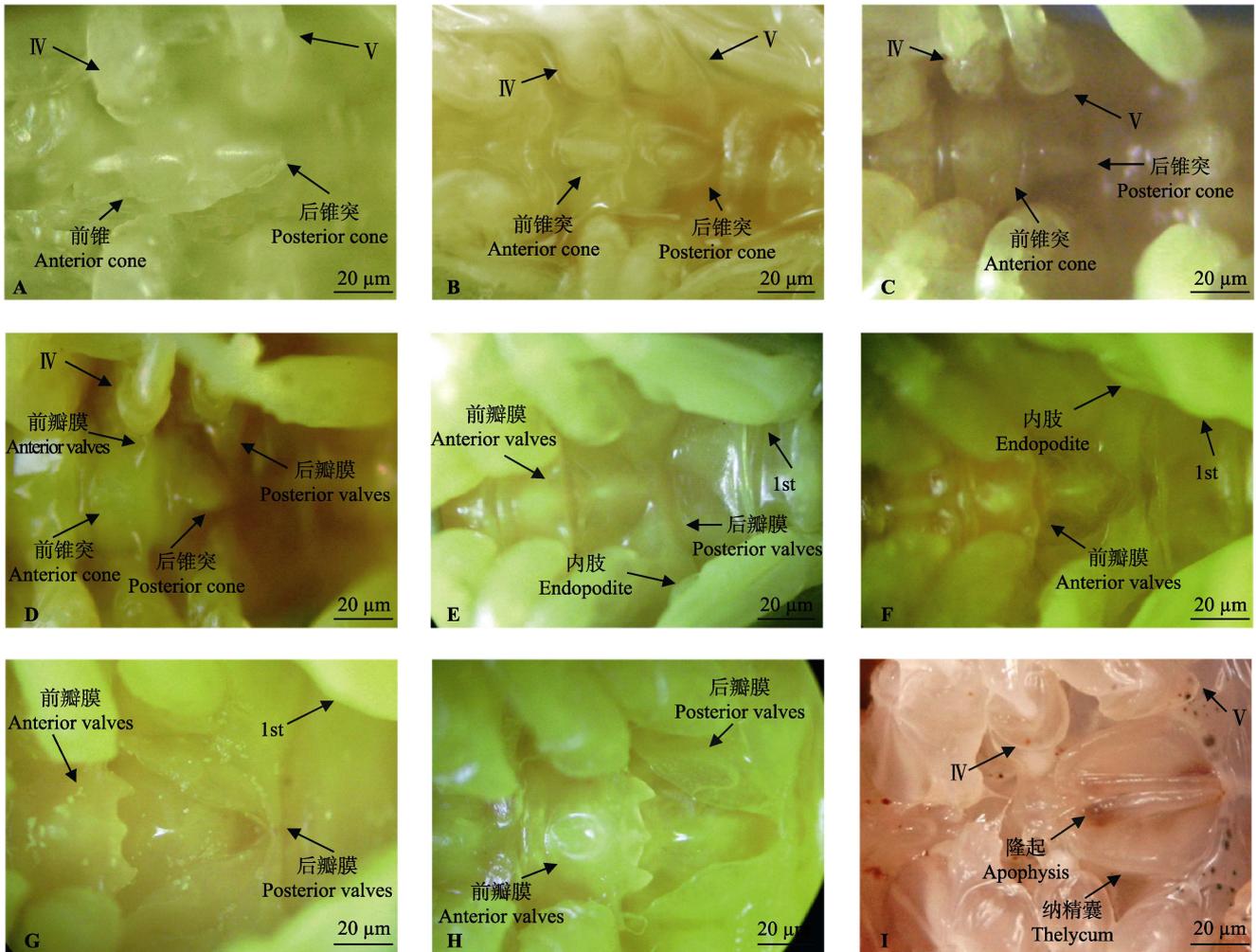


图 1 中国明对虾雌虾纳精囊发育

Fig.1 Thelycum development of female *F. chinensis*

A: PL15 幼虾(锥突形状未分化); B: PL16 雌虾(锥突下陷); C: PL38 雌虾; D: PL54 雌虾(前、后瓣膜出现); E: PL74 雌虾; F: PL86 雌虾(前瓣膜后缘凹陷); G: PL112 雌虾(“山”字形突起形成); H: PL124 雌虾(“山”字形突起后缘下陷); I: 成体雌虾; IV: 第 4 步足; V: 第 5 步足; 1st: 第 1 泳足

A: Juvenile shrimp at 15 days post-larva (conuli has not developed); B: Female shrimp at 16 days post-larva (sunken conuli); C: Female shrimp at 38 days post-larva; D: Female shrimp at 54 days post-larva (anterior and posterior valves appeared); E: Female shrimp at 74 days post-larva; F: Female shrimp at 86 days post-larva (sunken posterior margin of anterior valves); G: Female shrimp at 112 days post-larva (“ε” shaped anterior valve appeared); H: Female shrimp at 124 days post-larva (sunken posterior margin of “ε” shaped anterior valves); I: Adult female shrimp; IV: the fourth pereopod; V: The fifth pereopod; 1st: The first pleopod

PL45 幼虾(平均体长为 41.4 mm)第 1 对泳足的内肢刚出现,为乳突状,个体间第 1 泳足内肢的形态没有明显差异。随着幼虾的发育,幼虾 PL54 第 1 泳足的内肢形态出现分化。雌性幼虾第 1 泳足内肢顶端锐尖,其第 4 对与第 5 对步足之间腹甲的锥突下陷明显,这是雌虾外生殖器的主要特征。而雄性幼虾的第 1 泳足的内肢顶端钝圆,且第 4 对与第 5 对步足之间腹甲的锥突非常明显,由此可以推断,其第 1 泳足内肢将发育为雄性生殖肢(图 2-A)。

随着幼虾的发育,雄虾交接器逐步形成。PL74

雄虾生殖肢的基部变宽,顶部向外侧伸长并与基部成 90°角(图 2-B)。PL86 雄虾的生殖肢继续生长,顶部明显变宽,出现交接器的雏形(图 2-C),此时,雌虾的第 1 泳足内肢基部没有明显的变宽,仍为柳叶状(图 1-F)。PL106 雄虾的生殖肢表面出现明显的双沟回,沟回前端出现弯曲(图 2-D)。PL124 雄虾的交接器外缘沟回加深,外缘开始翻卷,交接器基本形成(图 2-E)。随着发育进行,雄虾生殖肢联合处出现许多小刚毛,并将左右生殖肢巧妙地联合在一起形成交接器。交接器呈半管形,边缘纵行向上卷曲,前端

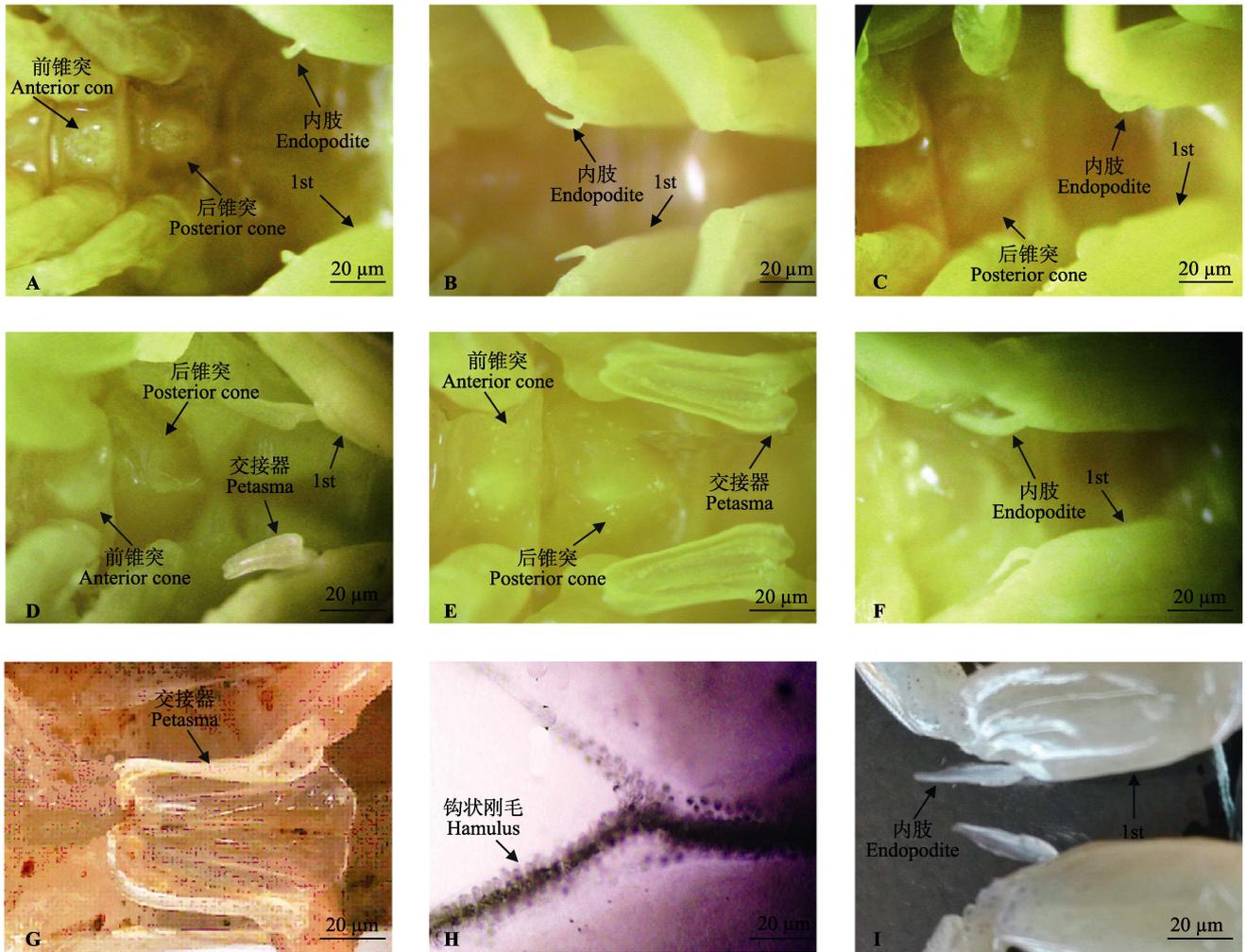


图 2 中国明对虾第 1 泳足内肢的发育
Fig.2 Development of endopodite of the first pleopod of *F. chinensis*

A: PL54 雄虾(生殖肢基部变宽); B: PL74 雄虾(生殖肢的顶部与基部成 90°); C: PL86 雄虾; D: PL106 雄虾; E: PL124 雄虾; F: PL106 雌虾(对照, 柳叶状的第 1 泳足内肢); G: 成体雄虾(交接器); H: 成体雄虾(交接器钩状毛); I: 成体雌虾(对照, 柳叶状的第 1 泳足内肢); 1st: 第 1 泳足

A: Male shrimp at 54 days post-larva (broadening on the base of endopodite of the first pleopod); B: Male shrimp at 74 days post-larva (the top and base of endopodite of the first pleopod forming an angle of ninety degree); C: Male shrimp at 86 days post-larva; D: Male shrimp at 106 days post-larva; E: Male shrimp at 124 days post-larva; F: Female shrimp at 106 days post-larva (control, willow-leaf shaped endopodite of the first pleopod); G: Petasma of adult male shrimp; H: Adult male shrimp (hamulus of petasma); I: Adult female shrimp (control, willow-leaf shaped endopodite of the first pleopod); 1st: The first pleopod

稍尖(图 2-G)。生殖肢边缘的刚毛带状分布, 十分浓密, 类似“尼龙拉链”。当遇到左右方向的外力时, 可将联合在一起的生殖肢上的小钩相互脱钩, 当将它们重新相互靠拢时, 小钩可借助自身弹性重新嵌合(图 2-H)。在幼虾发育过程中, 雌虾第 1 泳足内肢也在不断生长, 前端锐尖, 形状仍为柳叶状(图 2-F, 图 2-I)。

3 讨论

大多数十足目(Decapoda)雄性动物的第 1 泳足的

内肢都会发生特化, 雌雄在其形状、大小和刚毛着生等方面存在明显差异, 这些特征是十足目种属鉴别的主要依据。粗糙沼虾(*Macrobrachium superbum*), 秀丽白虾(*Macrobrachium asperulum*)和中华小长臂虾(*Palaemonetes sinensis*)的雄虾第 1 泳足内肢较长, 前缘钝圆, 中间微凹; 其雌虾第 1 泳足内肢比雄的短, 细长, 前缘锐尖(谈奇坤等, 1984)。中华锯齿米虾(*Neocaridina denticulata sinensis*)雄虾第 1 泳足内肢呈叶状, 卵圆形, 无刚毛; 雌虾第 1 泳足内肢呈尖叶状, 微微弯曲(甄胜涛等, 2012)。中国明对虾雄虾第 1 泳

足内肢基部粗壮,顶部片状,向上卷曲,表面有沟槽,边缘有刚毛,左右生殖肢联合形成筒状交接器;雌虾第 1 泳足内肢狭长,前端锐尖,似柳叶状。

观察显示中国明对虾外部性征的发育主要与其生长龄有关,这与沼虾(Sagi *et al*, 1990)和凡纳滨对虾(Campos-Ramos *et al*, 2006)的研究结果一致。幼虾经过多次蜕皮完成其外部性征的分化与发育。在适宜对虾生长的环境条件下,同龄对虾个体间的外部性征分化时间基本相同,不受其体长和体重的影响。当养殖环境条件不适宜对虾生长时,其外部性征分化时间将向后拖延,但个体间没有明显差异。中国明对虾 PL16 幼虾的纳精囊形成部位腹甲上的锥突形态出现了分化,随着发育的进行,PL54 雌虾出现了甲壳质前瓣膜和后瓣膜,PL112 雌虾的前瓣膜后缘形成 3 个舌状突起。本研究观察到的雌雄外生殖器出现分化的时间比前人的研究有所提前。如李富花等(2002)观察到中国明对虾雌雄外部性征分化发生在 PL35 的幼虾上;凡纳滨对虾的 PL44 雌虾(0.5–0.6 g, 45–50 mm)腹甲的形状发生明显变化(Garza-Torres *et al*, 2009);日本对虾(*Penaeus japonicus*)的雌雄外部性征分化发生在仔虾后的第 2 个月(Charniaux-Cotton *et al*, 1985; Nakamura *et al*, 1992)。中国明对虾雄性外部性征主要出现在第 4 与第 5 对步足间腹甲上锥突形态、腹甲形状和第 1 泳足内肢形态。PL16 雄虾腹甲上的锥突形态与雌虾明显不同,在整个发育中,雄虾腹甲上的锥突形态和腹甲形状变化不明显。中国明对虾 PL54 幼虾的第 1 泳足内肢出现分化,与雌虾相比,雄性幼虾第 1 泳足内肢的顶端钝圆,然后渐渐变宽,最终发育为“靴”状的生殖肢。凡纳滨对虾和日本对虾的 PL50 幼虾,其第 1 泳足内肢开始出现形态分化,PL70 雄虾的交接器锥形形成(Garza-Torres *et al*, 2009; Campos-Ramos *et al*, 2006; Nakamura *et al*, 1992)。

对虾具有开放型和封闭型两种纳精囊,其发育过程中的形态变化也迥然不同。凡纳滨对虾为开放型纳精囊,发育初期雌虾腹甲的形状变化明显,发育后期,第 4 与第 5 对步足之间腹甲的形态变化不大(Garza-Torres *et al*, 2009)。中国明对虾纳精囊为单一囊腔的封闭型纳精囊。对虾交配后,纳精囊外观饱满,向外

突出(王清印等, 1998)。其纳精囊形成部位腹甲上的锥突下陷形成囊腔,第 4 和第 5 对步足基部出现了甲壳质前瓣膜和后瓣膜。前瓣膜后缘形成 3 个舌状突起,前缘下陷,斜插在囊腔内起固定精荚的作用,后瓣膜生长覆盖在囊腔的外面形成封闭型纳精囊,这些结论与吴长功等(1999)的结论一致。

参 考 文 献

- 王清印, 李健, 孙修涛, 等. 中国对虾雄对虾交配能力和精荚再生的研究. 海洋与湖沼, 1998, 29(1): 22–28
- 尹左芬, 宋微波, 马琳, 等. 对虾(*Penaeus orientalis*)外生殖器官的发育与分化. 海洋湖沼通报, 1986(4): 56–61
- 李富花, 相建海. 中国对虾早期性别分化研究. 海洋科学集刊, 2002, 44: 101–105
- 杨筱珍, 杨丽丽, 杨丽娜, 等. 日本新糠虾雄性生殖系统发育的组织学研究. 中国水产科学, 2010, 17(5): 941–945
- 吴长功, 周令华, 相建海, 等. 鹰爪虾与中国对虾雌虾纳精囊的形态结构. 水产学报, 1999, 23(3): 223–228
- 谈奇坤, 董秀英, 蒋玉玲. 长江中下游地区四种习见的淡水虾第二性征研究. 安徽师大学报(自然科学版), 1984(1): 39–44
- 甄胜涛, 穆淑梅, 刘涛, 等. 中华锯齿米虾内外性征分化时间与特征. 淡水渔业, 2012, 42(2): 72–75
- Campos-Ramos R, Garza-Torres R, Guerrero-Tortolero DA, *et al*. Environmental sex determination, external sex differentiation and structure of the androgenic gland in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone). Aquac Res, 2006, 37(15): 1583–1593
- Charniaux-Cotton H, Payen G. Sexual differentiation. In: Bliss DE, Mantel LH (eds). The biology of crustacea, integuments, pigments, and hormonal processes. New York: Academic Press, 1985, 9: 217–299
- Garza-Torres R, Campos-Ramos R, Maeda-Martinez AM, *et al*. Organogenesis and subsequent development of the genital organs in female and male Pacific white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*. Aquaculture, 2009, 296: 136–142
- Nakamura K, Matsuzaki N, Yonekura KI. Organogenesis of genital organs and androgenic gland in the kuruma prawn. Nippon Suisan Gakk, 1992, 58(12): 2261–2267
- Sagi A, Cohen D, Milner Y. Effect of androgenic gland ablation on morphotypic differentiation and sexual characteristics of male freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii*. Gen Comp Endocrinol, 1990, 77(1): 15–22

(编辑 马瑾艳)

Differentiation and Development of External Sex Characteristics of Shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*)

FENG Zhengfu¹, LIN Xiaofei¹, GE Leilei², ZHU Wei¹①

(1. College of Life Science, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109;

2. Qingdao Vland Biotech Group Co., Ltd., Qingdao 266001)

Abstract *Fenneropenaeus chinensis* is one of the prominent aquaculture shrimp species in China. To better understand its reproductive biology, here we investigated the sexual differentiation and development of the shrimp. The morphological changes of the female thelycum and the male petasma were observed. The larvae of *F. chinensis* collected from Yellow Sea Fisheries Research Institute (YSFRI) in Aprils of 2012 and 2013 were cultured in a circulating water system. The adult *F. chinensis* were purchased from aquatic produce market. The samples were fixed in Bouin's solution for 16–24 h after being anesthetized with seawater saturated with Mg₂SO₄, and then stored in 70% ethanol at 4°C for observation of external sexual development. The images were taken by Olympus CX22 LEDRFS1 microscope. It was found that the sexual differentiation of female shrimp started at 16 days post-larva (PL16). A subsidence appeared in the conuli on the ventral plate between the fourth and fifth pairs of pereopods in female shrimp, but no subsidence in the conuli was found in male shrimp. The valves that were components of thelycum appeared at the base of the fourth (anterior valve) and fifth pairs of pereopods (posterior valve) at PL54. At PL112, the form of anterior valve appeared to be similar to “epsilon type”. At PL124, the thelycum began to develop. Compared to the development of thelycum, the growth of petasma of male shrimps was late. The initial differentiation of endopodite on the first pair of pleopods was found at PL54, indicating the formation of male external genitalia. At PL106, petasma appeared to be similar to that of adults. The cannellure became obvious and periphery up folded, but the endopodite on the first pair of pleopods in female remained a willow-leaf shape.

Key words *Fenneropenaeus chinensis*; Sexual differentiation; Development; Thelycum; Petasma

① Corresponding author: ZHU Wei, E-mail: zhuweiqd@163.com