

DOI: 10.12264/JFSC2021-0198

中华绒螯蟹交配系统的形态功能

宣富君¹, 鲍成满¹, 付龙龙², 张悦¹, 王刚¹, 王坤¹, 张建光³, 唐伯平¹, 管卫兵⁴, 成永旭⁵

1. 盐城师范学院湿地学院, 江苏 盐城 224051;
2. 江苏省淡水水产研究所, 江苏 南京 210017;
3. 江苏大仁水产良种有限公司, 江苏 盐城 224300;
4. 上海海洋大学海洋生态与环境学院, 上海 201306;
5. 上海海洋大学省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306

摘要: 为深入了解中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)的交配过程, 利用急速冷冻、扫描电镜、组织学等技术, 对其交配系统的形态特征进行观察。结果表明, 中华绒螯蟹交配系统具有短尾派蟹类的典型特征, 即第一附肢(G1)比第二附肢(G2)长。G1 整体粗壮光滑, 由连接腹部的原肢和内肢组成。内肢长而挺直, 呈三角柱状, 两侧边缘融合而成一缝合沟, 内含输精管道, 纵贯两端; 基部背面近内侧开口比较大, 外侧上覆盖 1 个带羽状刚毛的肉质瓣膜, 交配时阴茎可伸入(或通过瓣膜)开口的外侧部分; 顶端含一类似火山口的通道, 四周布满刚毛。G2 整体细小, 呈帆状, 顶端内陷, 上附 4 根透明状修长刚毛。G1/G2 内肢管壁厚度不一, 协作部分近输精通道一侧均存在较薄管壁, 具有一定收张能力, 交配时可封闭输精通道; G1 内肢内部大部分中空, G2 可深入部分以上存在含液滴的疏松结缔组织, 且管壁内侧出现连接宫腔的通道, 可以推断此处精液和 G1 宫腔积液可能存在某种形式的交流, 而后半段出现肌肉组织。雌性阴门覆盖一光滑厚实的阴盖, 可随所在胸节连接的关节左右摆动, 由此控制阴门开合。阴道呈半月型, 管壁较厚的一侧契入另一侧, 且契入一侧附有厚实的肌肉束。由此可以推断, 中华绒螯蟹交配时 G1 并没有直接插入雌蟹的生殖道内, 而是与阴门及周边胸板直接契合, 通过与 G1 共同进化出“对接状”的交配系统, 以保障精英精液成功通过阴道输入纳精囊内储存。本研究阐述了中华绒螯蟹交配系统潜在的内在协作机制, 可以为今后开展中华绒螯蟹遗传育种及人工授精等相关研究提供理论和技术支持。

关键词: 中华绒螯蟹; 交配系统; 生殖肢; 形态功能

中图分类号: S968

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2022)02-0211-09

自然选择和性选择理论一般认为每个物种独特的交配器官造就了物种间的生殖隔离^[1-2]。以短尾派(*Brachyura*)蟹类为例, 物种间交配系统尽管整体上形态和功能类似, 但均存在显著差异, 比如雄性的腹肢及雌性的生殖道^[3]。

雄蟹交配系统通常由一对阴茎及第一、第二

对腹肢组成。阴茎较短, 一般是雄蟹生殖系统射精管部分外延而成, 而腹肢则特化为生殖肢(gonopod), 行交配功能^[4]。短尾派第一腹肢(first pleopod, G1)通常呈管状, 而第二腹肢(second pleopod, G2)呈棒状。交配时, 第二腹肢和阴茎通常插入第一腹肢的宫腔内^[5]。然而, 不同物种交配

收稿日期: 2021-04-30; **修订日期:** 2021-05-19.

基金项目: 江苏现代农业产业技术体系建设专项(JATS[2021]404); 江苏省种业振兴“揭榜挂帅”专项(JBGS[2021]031); 宁夏自治区科技厅重点项目(2020ZDYF0860); 江苏省科技厅省政策引导类计划-苏北科技专项(SZ-YC202041); 江苏省产学研项目(BY2020587).

作者简介: 宣富君(1981–), 男, 副研究员, 从事甲壳动物生殖生物学研究. E-mail: swimming_crab@126.com

通信作者: 成永旭, 教授, 从事甲壳动物生态养殖研究. E-mail: yxcheng@shou.edu.cn

过程中精荚精液的输送过程不尽相同,这主要与其第二腹肢的形态差异有关。精液输送一般有两种模式:当雄蟹 G2 比 G1 短时, G2 可作为活塞将精荚精液通过 G1 输送到雌蟹纳精囊内,此时仅 G1 与雌蟹阴户接触^[6];当 G2 长于 G1 时,则由 G2 的尖部直接插入雌蟹的生殖道内^[7]。

雌性生殖道由阴户和阴道组成。阴户一般位于螃蟹第六胸节,某些物种还上覆一厚实富含几丁质的盖子(chitinous opercula)。阴道起源于外胚层,内表面覆有一角质层,每个蜕壳周期均可脱落^[8]。短尾派的阴道分为简单型(simple type)和凹陷型(concave type)。简单型含一个开放的腔,外被一肌肉层;凹陷型腔体较为狭小,横断面呈半月状,腔一侧角质层常陷入另一侧,且内陷一侧一般附有厚实肌肉束以控制整个阴道的收缩^[8]。阴道与纳精囊相通,后者主要用来存储交配过程雌蟹获得的精荚精液及作为排卵过程最终精卵交汇的场所^[9]。

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)俗称河蟹、大闸蟹,属节肢动物门(Arthropoda)、甲壳纲(Crustacea)、十足目(Decapoda)、方蟹科(Grapsidae)、绒螯蟹属,是我国重要的经济蟹类。目前国内外关于中华绒螯蟹生物学方面的研究已有较多报道^[10-11],但至今未对其交配系统进行系统研究。本研究拟利用急速冷冻(flash-frozen)、扫描电镜、组织学等技术,通过对中华绒螯蟹雌雄个体交配过程交配系统(主要是雄性的生殖腹肢和雌性的生殖道)的形态功能研究,阐明其内在协作机制。该工作不仅可以增加人们对中华绒螯蟹繁殖交配过程的认识、丰富蟹类授精生物学知识,而且可为今后开展河蟹遗传育种及人工授精等相关工作提供理论和技术支持。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用蟹由江苏大仁水产良种有限公司射阳县金源育苗场于 2019 年 12 月至 2020 年 4 月提供(雄性体重约 300 g,雌性体重约 200 g)。期间,交配实验及后续工作在江苏省滩涂生物资源与环境保护重点实验室完成。

1.2 实验方法

1.2.1 急速冷冻实验 交配实验于直径 1.2 m,高 0.7 m 的 5 个柱状圆桶内进行,桶底铺有约 10 cm 厚的细沙,水深 0.5 m,水体盐度 25,水温 15~18 ℃。待实验开始后,每个桶内放入一对雌雄亲本,期间每隔 30 min 观察一次,一旦发现其抱对交配(图 1A),迅速放入事先装有液氮(-196 ℃)的泡沫盒内。急速冷冻实验操作规程参考 Mattei 等^[12]。速冻后,待其融化,慢慢掰开雌雄个体,观察交配时雌雄个体交配器官的确切位置,以明确精荚精液进入雌性体内的输送途径。

1.2.2 光镜观察 取雌雄螃蟹各 3 只,解剖取其完整的交配器官[雄:第一腹肢(G1)/第二腹肢(G2);雌:生殖道(包括纳精囊)],保存于 95%的乙醇内固定。24 h 后在体视镜(Leica, M205A)下观察交配器官的外部形态,并拍照分析。

1.2.3 扫描电镜观察 为进一步获取交配器官(主要是雄蟹 G1/G2)关键部位的组织结构信息,另取 3 只雄蟹的交配器官进行扫描电镜(Coxem, EM-30AX)观察。步骤简述如下:(1)剔除 G1/G2 多余组织后在 95%乙醇溶液中固定 48 h;(2)将样本置于烘箱 42 ℃恒温干燥 48 h;(3)待组织完全干燥,使用电镜专用导电胶将组织固定于圆形台座上并对样品进行喷金处理;(4)在连接电镜的可视屏幕中寻找所需要观察的部位,调节焦距倍率后进行观察拍照分析。

1.2.4 组织学观察 为进一步了解交配器官内部组织结构及 G1/G2 的协作情况,取 4 对雄蟹腹肢和雌蟹生殖道,放入含 10%中性甲醛的酸性脱钙液(百奥莱博, KFS015)中固定脱钙,处理时间为 48 h。待组织完全脱钙后,分别经系列乙醇脱水、二甲苯透明、浸蜡及组织包埋后,进行常规石蜡切片(厚度 7 μm, Leica, RM2235);随后进行 Mallory PTAH 染色(如吉生物科技, SJH0278)并在显微镜(Leica, DM2000)下观察拍照。

2 结果与分析

2.1 雌雄抱对交配

急速冷冻后,瞬间固定了雌雄个体的交配姿态(图 1A):雄性上位,雌性打开腹腔允许雄性介

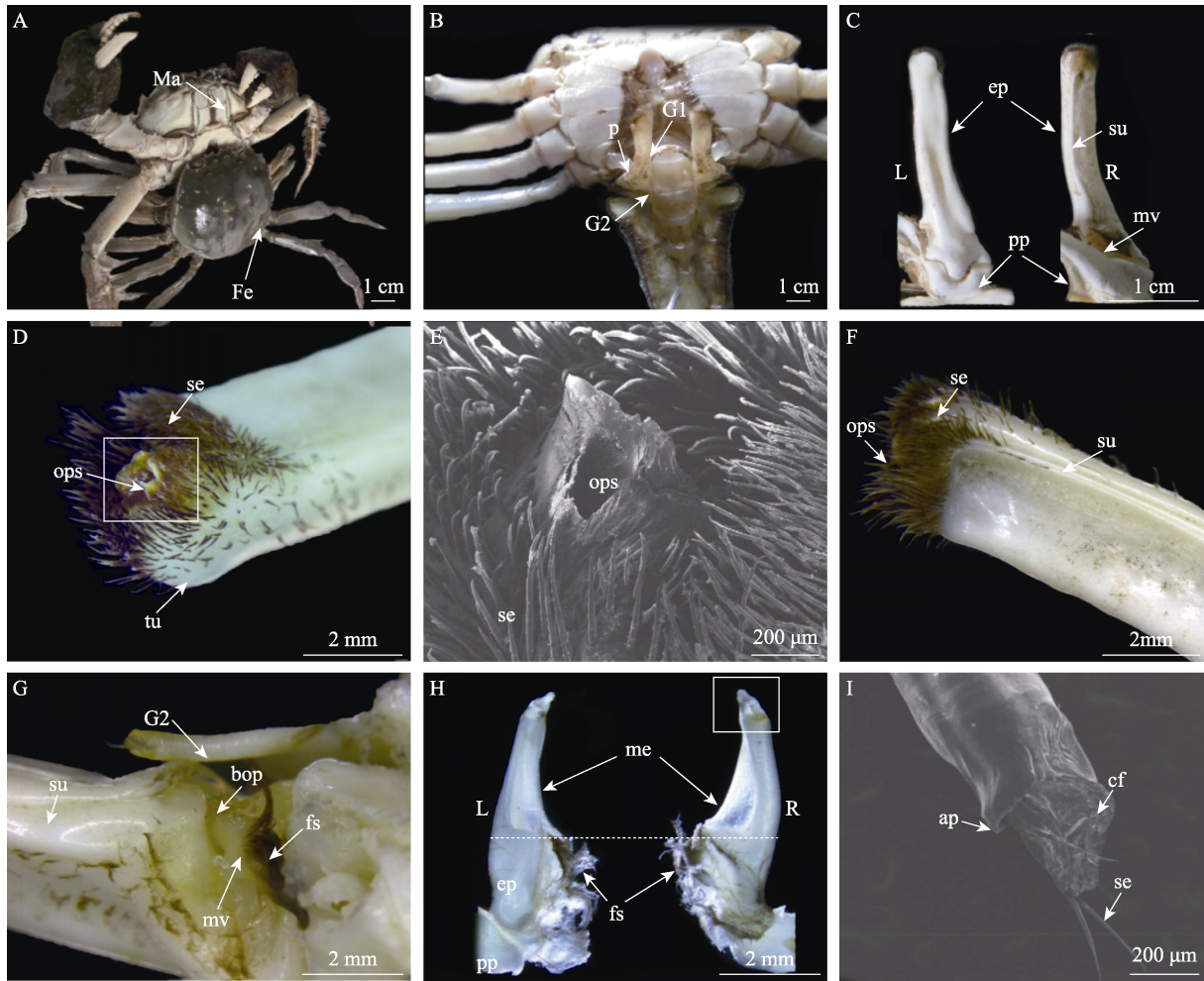


图 1 中华绒螯蟹雄性交配系统

A. 雌雄个体的交配姿势; B. 雄性交配系统的组成; C. 第一附肢(G1)外部结构(L: 腹面; R: 背面); D. G1 的顶端结构, 白框示输精管道; E. 扫描电镜下 G1 顶端输精管道的开口; F. G1 上部结构(侧面观), 示 G1 光滑的管壁和缝合沟; G. G1 基部开口处, 示第二附肢(G2)和阴茎的入口及肉状瓣膜; H. G2 外部结构(L: 腹面; R: 背面), 水平虚线指 G2 插入 G1 部分, 白框指 G2 端部; I. 扫描电镜下 G2 顶端结构, 示围带, 褶皱表皮及 4 根刚毛。ap: 围带; bop: G1 的基部开口; cf: 褶皱表皮; ep: 内肢; Fe: 雌蟹; fs: 羽状刚毛; G1: 第一腹肢; G2: 第二腹肢; Ma: 雄蟹; me: 薄膜; mv: 肉状瓣膜; ops: 精液通道开口; p: 阴茎; pp: 原肢; se: 刚毛; su: 缝合沟; tu: 瘤状突起。

Fig. 1 Overview on the male copulatory system of *Eriocheir sinensis*

A. The mating position of the male and female individuals; B. Overview on the male copulatory system; C. Morphological structure of G1 (L: ventral view; R: dorsal view); D. Top structure of G1. The white box indicates seminal canal; E. The opening of seminal canal, enlarged by SEM; F. The upper part of G1 (lateral view), showing smooth tube wall and suture groove; G. The basal opening in G1, showing the opening for G2 and penis, and meat-like valve; H. Morphological structure of G2 (L: ventral view; R: dorsal view). The dashed line indicates the position where G2 inserts G1. The white box indicates top structure of G2; I. The top structure of G2 enlarged by SEM, showing apical girdle, cuticle foldings and four setae. ap: apical girdle; bop: basal opening in G1; cf: cuticle foldings; ep: epipodite; Fe: female; fs: feathery setae; G1: first gonopod; G2: second gonopod; Ma: male; me: membrane; mv: meat-like valve; ops: opening of seminal canal; p: penis; pp: protopodite; se: setae; su: suture; tu: tubercule.

入。雄性交配器官整体隐藏在其腹部下面, 腹肢只保留 G1/G2, 后续 4 对完全退化; G1/G2 作为交接器, 组成了雄性交配系统的主要器官(图 1B)。雌性生殖道由阴门和阴道组成(图 3A-C)。进一步

观察发现: 交配时雄蟹 G1 并没有直接插入雌蟹的生殖道内, 而是与阴门及周边胸板直接契合, 形成一套“对接状”的交配系统, 以保障精英精液通过阴道输入纳精囊内储存。

2.2 雄性交配系统

2.2.1 G1 和 G2 外部形态 第一腹肢(G1)整体粗壮光滑, 由连接腹部的原肢和内肢组成(图 1C)。原肢较短, 由基节和底节融合而成, 作为基座与内肢绞合衔接。内肢长而挺直, 呈三角柱状, 略微向背腹轴线内侧倾斜。三角柱一面近乎与腹腔中线纵截面平行; 柱状背面近内侧部分留有与内肢两侧边缘高度融合而成的一道缝合沟, 纵贯内肢两端; 腹面两侧稍有内陷且内陷程度由基部向顶端弱化(图 1C, 1F)。内肢基部背面近内侧开口比较大, 仍可分为内外两部分: 靠外部分上覆盖一带羽状刚毛的肉质瓣膜, 交配时, 雄蟹突出在腹甲第 8 胸节上的膜质阴茎(或通过瓣膜)可以伸入这一开口的外侧部分; 靠内部分由 G2 插入(图 1G)。内肢顶端从上往下整体呈半球形, 腹面内侧与平行面汇合处形成一个明显的瘤状隆起(图 1D), 端口自此整体略向腹面一侧倾斜降低; 中间含一输送精荚精液的通道, 向外突出, 类似火山口, 环壁及内侧布满浓密的刚毛。内肢刚毛主要集中在端部, 少许沿缝合沟两侧分布; 刚毛修长, 顶端尖锐, 基部圆柱状切入, 呈咖啡色, 自隆起处向四周长度逐渐增加(图 1D, 1E)。

第二腹肢(G2)细小, 长度不及 G1 的 1/5, 亦由连接腹部的原肢和内肢组成。内肢整体光滑, 呈扁平指状, 由基部向顶端收窄(图 1H)。根据插入 G1 的折痕, 可以推断交配时 G2 内肢 1/2 多可以有效插入 G1, 据此 G2 可分为上下两个部分: 下部较宽, 背腹面内侧处分布多簇羽状刚毛; 上部整体呈帆状, 由腹面圆柱状内肢距端部不远处背面内陷向内侧拉伸形成透明状薄片。G2 顶端部分内陷, 呈水槽状, 表皮充满褶皱; 整体由腹面内侧向外侧倾斜, 围带一侧较高, 上附 4 根透明状修长刚毛(图 1I)。

2.2.2 G1 和 G2 内部协作 结合组织学观察发现, G1 内肢近缝合沟一侧处有一条贯穿两端的输精通道(图 2); 三角柱状内肢其骨骼分布厚度并不一致, 除近缝合沟一侧外, 另外两侧骨骼相对较厚(图 2)。G2 完全插入 G1 的长度仅占 G1 内肢的 1/10 左右, 但 G2 插入深处其端部可完全封闭 G1 输精管道的内腔(图 2D), 而在其插入基部, G1 输精管

道内腔空间相对较大, 除 G2 外, 仍留有精液经肉状瓣膜输入或阴茎插入的空间(图 2E, 图 2F)。

连续切片进一步发现, G1 内肢大部分中空, 前半部分仅分布有疏松的结缔组织并含有明显的分泌液滴(图 2A-C), 而后半部出现肌肉组织(图 2D-E, D')。此外, 在 G2 可插入部分以上, G1 管壁近输精管道部分出现可连接内外的通道(图 2B'), 可以推断此处输送精液和 G1 管腔内部积液可能存在某种形式的交流; 在 G2 插入与 G1 结合处, G1/G2 在输精管道处均存在可以伸缩的薄表皮(图 2E'), 这可能有利于 G1 在其管腔内部肌肉的收缩下自由调控雄性需要输送精液的量。G2 插入部分整体封闭, 内部含疏松结缔组织(图 2E')。

2.2.3 雌蟹交配系统 阴门开口于第六胸节近中线 1/5 处(图 3A), 腹甲沿阴道口环形突起后内陷, 中间配一个显著高于胸板的骨质化突出, 又称阴盖(operculum, 图 3B)。阴盖光滑厚实, 从腹面观呈三角形, 略向内侧倾斜弯曲, 成熟个体的阴盖与所在胸节连接的关节可以左右摆动, 可控制阴门开合(图 3C)。

阴道呈半月型, 表皮厚度不一, 厚实的一侧契入另一侧, 且契入一侧附有厚实的肌肉束(图 3D~F)。通常情况下阴道内部管腔呈压缩状, 并不完全开放; 交配后, 内部仍含有部分精液。

3 讨论

中华绒螯蟹的交配系统由雄性的 G1/G2 和雌性的生殖道组成。交配时, 雄蟹上位, 雌蟹打开腹腔, G1/G2 便整体隐藏在其腹部; 雄蟹的 G1 并没有直接插入雌蟹生殖道内, 而是与阴门及周边胸板直接契合, 形成一套“对接状”的交配系统, 以保障精荚精液通过阴道输入纳精囊内储存。期间, 雄蟹阴茎可能通过 G1/G2 组成的类似活塞式系统源源不断把精荚精液输送给雌蟹, 进而完成整个授精过程。目前, 这种独特“对接状”交配系统仅在蜘蛛蟹^[9]中报道过。

短尾派蟹类雄性交配系统有两大进化趋势: (1) G1 内肢两侧边缘融合度越来越高; (2) G2 越来越短小^[13]。中华绒螯蟹雄性交配系统具备典型的短尾派蟹类的特征, 属于 G1 长型, G2 长度不及

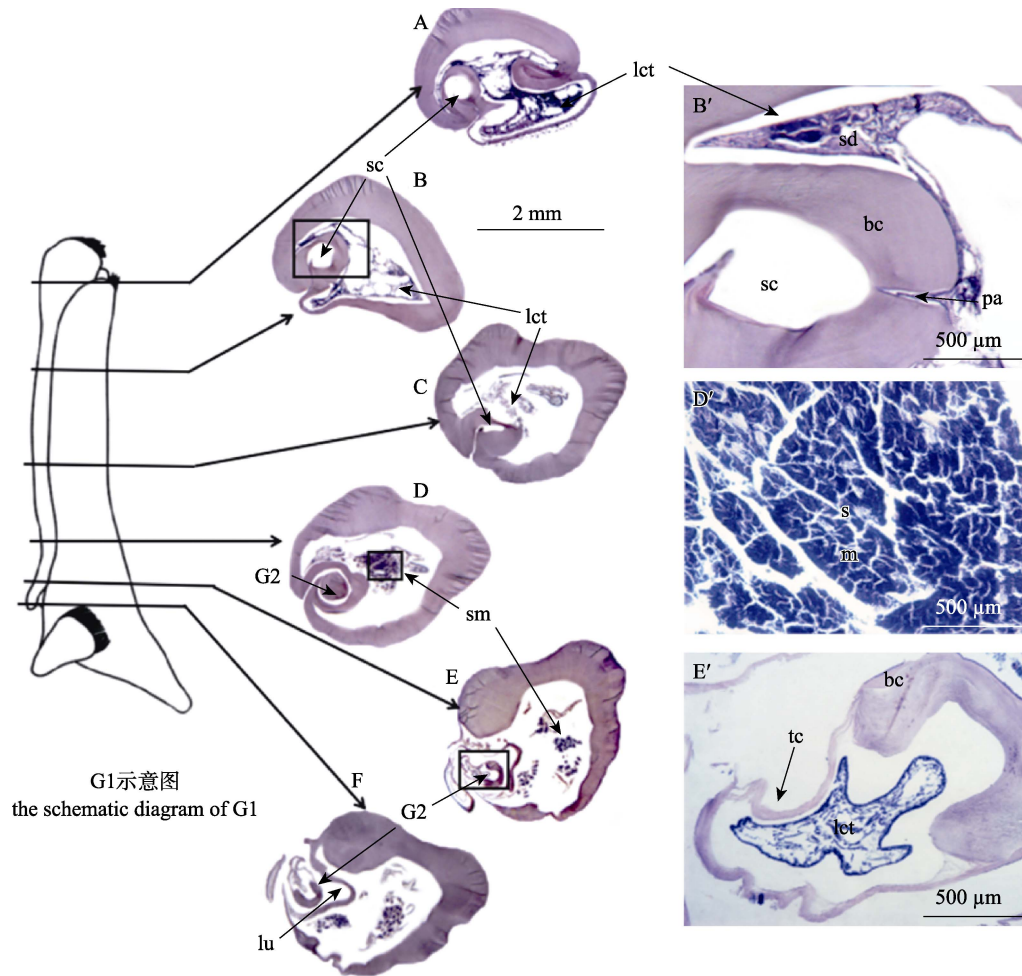


图2 中华绒螯蟹雄性交配系统 G1/G2 的组织学观察

A-F 示雄性腹肢不同部位的组织学结构; A. G1 的顶端部分, 示输精管道、G1 内分布的疏松结缔组织及大量分泌液滴; B. G1 中上部分, 示输精管道; 黑框部分示 G1 内壁通道及带有分泌液滴的疏松结缔组织(B'); C. G1 中间部分, 结构组成跟 B 一致; D. G1 中下部分, G2 出现; 黑框部分示 G1 内部出现大量肌肉组织(D'); E. 接近 G1 基部开口处, 示输精管道内 G2 及剩余空间; 黑框示 G2 结构(E'), 管壁厚薄不一, 内含疏松结缔组织; F. G1 基部开口处, 示输精管道内 G2 及剩余空间; bc: 厚表皮; lct: 疏松结缔组织; lu: 内腔; pa: 通道; sc: 输精管道; sd: 分泌液滴; sm: 条纹肌; tc: 薄表皮。

Fig. 2 Histological observation on male mating system G1/G2 of *Eriocheir sinensis*

A-F show histological cross sections at different regions of the gonopods. A. The top part of G1, showing seminal canal, loose connective tissue and lots of secretory droplets in G1; B. Upper part of G1, showing seminal canal. The black frame indicates one passage connecting the seminal canal on the inner side of the tube wall and loose connective tissue with secretory droplets in G1 (B'); C. Middle part of G1, its structure composition is similar to B; D. Lower part of G1, showing G2 appears in seminal canal of G1. The black frame indicates lots of striated muscle in G1 (D'); E. Close to G1 base opening, showing G2 and the spare space except for G2 in seminal canal. The black frame indicates the structure of G2 (E'), showing the thickness of the tube wall and loose connective tissue. F. Base opening of G1, showing G2 and the spare space except for G2 in seminal canal. bc: bold cuticle; lct: loose connective tissue; lu: lumen; pa: passage; sc: seminal canal; sd: secretion droplet; sm: striated muscle; tc: thin cuticle.

G1 的 1/5。G1 内肢两侧边缘完全融合, 形成封闭式输精管道, 这与目前报道的雪蟹(*Chionoecetes opilio*)^[5]、欧洲豆蟹(*Pinnotheres pisum*, *Pinnotheres pectunculi* 和 *Nepinnotheres pinnotheres*)^[14] 及蜘蛛蟹(*Libinia spinosa*)^[9] 的交配系统较为一致, 但也有其独特的形态功能特征。

中华绒螯蟹 G1 整体粗壮, 呈三角柱状, 内肢顶端成环状内陷, 中间突出, 含一类似火山口的输精管道出口, 四周布满浓密刚毛。与其他已报道的短尾派蟹类相比, 中华绒螯蟹 G1 相对光滑, 除基部还分布有少许微绒毛外, 并没有出现其他类型的刚毛, 而端部集中出现的刚毛, 整体修长,

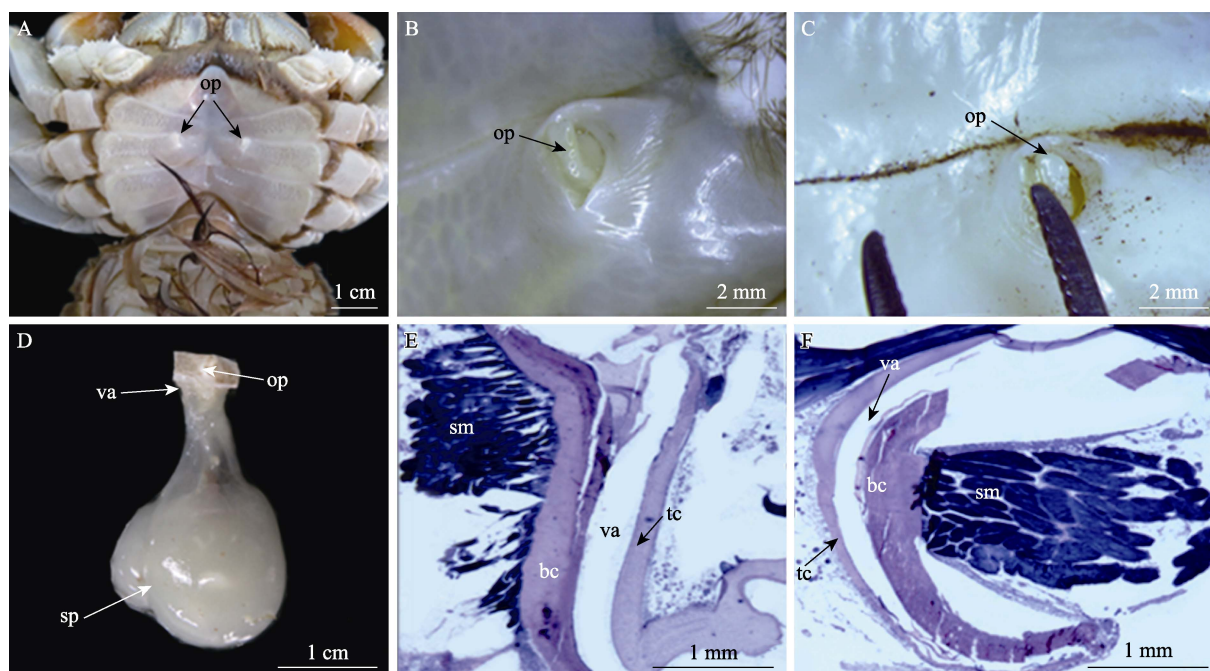


图 3 中华绒螯蟹的雌性生殖道

A. 雌性生殖道的位置; B. 阴门处的阴盖; C. 阴道开口(*), 示阴盖和所在胸节的一道裂缝; D. 完整的雌性生殖道, 示阴盖、阴道和纳精囊; E. 雌性生殖道纵切, 示阴道结构; F. 雌性生殖道横切, 示半月形阴道。

bc: 厚表皮; op: 阴盖; sm: 条纹肌; sp: 纳精囊; tc: 薄表皮; va: 阴道。

Fig. 3 Overview on the genital tract of female *Eriocheir sinensis*

A. Position of female genital tract; B. The operculum of vulva; C. Vaginal opening, black asterisk indicates one suture between operculum and thoracic sternite; D. Complete female genital tract, showing operculum, vagina and spermatheca; E. Longitudinal section of female genital tract, showing vaginal structure; F. Transverse section of female genital tract, showing crescent-shaped vagina.

bc: bold cuticle; op: operculum; sm: striated muscle; sp: spermatheca; tc: thin cuticle; va: vagina.

顶端尖锐, 基部圆柱状切入, 类似于蜘蛛蟹 (*Libinia spinosa*^[9]与 *Inachus phalangium*^[15]) G1 顶端出现的 I 型简单圆锥或金字塔形刚毛, 这类刚毛被认为有助于精英精液在输送过程中精英的机械裂解^[16], 但这种机制在中华绒螯蟹交配过程似乎是不大可能的, 后者其精英裂解已被证实主要由雄性生殖系统副性腺分泌的精液消化完成^[17]。这些刚毛仅分布于 G1 输精管道的开口四周, 由此认为, 中华绒螯蟹有可能在交配过程中利用这些密集分布的刚毛阻止周围水域杂质的渗入或直接指导 G1 与雌性阴门精准对接, 毕竟根据 G1 尺寸推断其在交配过程不可能插入雌蟹阴道内部 (本研究急速冷冻实验亦证实)。G1 基部除了存在阴茎和 G2 的入口外, 还外带 1 片带羽状刚毛的肉状瓣膜。交配时, 雄蟹阴茎可能未必直接插入 G1 (阴茎实际距离 G1 基部开口尚有一段距离) 进行精英精液的输送, 而是通过肉状瓣膜与其上附的

羽状刚毛形成的内在管道间接输入 G1 内部; 当然阴茎也有可能通过伸缩直接插入 G1, 而此时肉状瓣膜等结构可能起到保护阴茎免受外界物理损伤的作用。此外, G1 管腔内的疏松结缔组织中存在一定量的分泌液滴, 而并未出现诸如雪蟹^[18]、蓝蟹 (*Callinectes sapidus*)^[19]、及三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*)^[20]等经济蟹类中报道的玫瑰腺体, 后者已被证实与该物种交配后纳精囊中精子塞的形成有关, 但中华绒螯蟹的这些分泌物在整个交配过程中的功能作用, 目前尚不清楚, 而且其通过 G1 管壁通道与交配过程输送的精液可能存在的交流机制亦没有相关报道, 需进一步研究。

G2 内肢呈扁平指状, 上部呈帆状, 顶端部分内陷, 水槽状, 内表皮充满褶皱, 这种结构与已经报道的雪蟹^[5]和蜘蛛蟹^[9]类似。Hartnoll^[13]和 Beninger 等^[5]建议这种结构可能有利于精英精液

在 G1 输精管道内运输, 其可以通过自身的收涨能力封闭管道进而形成一定的水压, 这种假说可能与组织学观察到的 G1/G1 管壁厚薄不一、均存在可以自由伸缩的一侧的结构相一致, 而 G2 顶端上附的 4 根刚毛可能有感受管腔内在水压的功能, 进而整体协调 G1/G2 将阴茎输送过来的精荚精液成功注入雌蟹生殖道。

短尾派蟹类雌性生殖道的阴门存在 3 种封闭形式: (1) 由肌肉收缩控制的一层薄膜; (2) 一层软膜; (3) 一个脱钙的阴盖^[8,21-22]。中华绒螯蟹阴门存在一个厚实的阴盖。一般该类型的蟹类, 交配前应该存在一个脱钙的过程, 比如招潮蟹(*Uca pugnax*)的雌蟹进入雄蟹已挖好的洞后开始脱钙^[23], 但脱钙通常发生在抱对前后, 此时卵巢已经成熟^[24]。这可能与中华绒螯蟹阴盖的脱钙机制较为一致, 前期观察发现, 每当 11 月中下旬, 雌蟹卵巢发育普遍接近成熟(卵巢Ⅳ期), 阴盖与其腹甲连接处的关节此时便可以自由移动, 而这对于刚完成生殖蜕壳(8—9 月, 卵巢Ⅱ~Ⅲ期)^[25]、卵巢尚未完全发育的个体是不可能的, 因其阴盖不能移动(作者亲自观察)。此外, 中华绒螯蟹的阴道属于凹陷型, 呈半月状, 一侧厚的几丁质表皮切入另一侧(连接阴盖), 切入一侧附有厚实的肌肉束, 这与目前已报道的该类型短尾派蟹类一致^[8], 可以控制阴道收缩。

参考文献:

- [1] Eberhard W G. Sexual Selection and Animal Genitalia[M]. Cambridge: Harvard University Press, 1985.
- [2] Masly J P. 170 years of “lock-and-key”: Genital morphology and reproductive isolation[J]. International Journal of Evolutionary Biology, 2012, 2012: Article ID 247352.
- [3] Ewers-Saucedo C, Hayer S, Brandis D. Functional morphology of the copulatory system of box crabs with long second gonopods (Calappidae, Eubrachyura, Decapoda, Crustacea)[J]. Journal of Morphology, 2015, 276(1): 77-89.
- [4] Smalley A E. A terminology for the gonopods of the American river crabs[J]. Systematic Biology, 1964, 13(1-4): 28-31.
- [5] Beninger P G, Elnor R W, Poussart Y. Gonopods of the majid crab *Chionoecetes opilio* (O. Fabricius)[J]. Journal of Crustacean Biology, 1991, 11(2): 217-228.
- [6] Hartnoll R G. Mating in the Brachyura[J]. Crustaceana, 1969, 16(2): 161-181.
- [7] Brandis D, Storch V, Türkay M. Morphology and function of the copulatory system in freshwater crabs of the genus *Potamon*[J]. Journal of Morphology, 1999, 239(2): 157-166.
- [8] Hartnoll R G. Morphology of the genital ducts in female crabs[J]. Journal of the Linnean Society of London, Zoology, 1968, 47(312): 279-300.
- [9] McLay C L, López Greco L S. A hypothesis about the origin of sperm storage in the Eubrachyura, the effects of seminal receptacle structure on mating strategies and the evolution of crab diversity: How did a race to be first become a race to be last?[J]. Zoologischer Anzeiger - A Journal of Comparative Zoology, 2011, 250(4): 378-406.
- [10] Wang W, Wang C H, Ma X Z. Ecological Culture for *Eriocheir sinensis*[M]. 2nd Edition. Beijing: China Agriculture Press, 2013: 20-58. [王武, 王成辉, 马旭洲. 河蟹生态养殖[M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 2013: 20-58.]
- [11] Chen L Q, Du N S. Biology of *Eriocheir sinensis*[M]. Beijing: Science Press, 2017. [陈立乔, 堵南山. 中华绒螯蟹生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2017.]
- [12] Mattei A L, Riccio M L, Avila F W, et al. Integrated 3D view of postmating responses by the *Drosophila melanogaster* female reproductive tract, obtained by micro-computed tomography scanning[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2015, 112(27): 8475-8480.
- [13] Hartnoll R G. Copulatory structure and function in the Dromiacea, and their bearing on the evolution of Brachyura[J]. Pubblicazioni Della Stazione Zoologica Napoli, 1975, 39(supplement): 657-676.
- [14] Becker C, Türkay M, Brandis D. The male copulatory system of European pea crabs (Crustacea, Brachyura, Pinnotheridae)[J]. Journal of Morphology, 2012, 273(11): 1306-1318.
- [15] Sal Moyano M P, Gavio M A, Cuartas E I. Copulatory system of the spider crab *Libinia spinosa* (Crustacea: Brachyura: Majoidea)[J]. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 2011, 91(8): 1617-1625.
- [16] Rorandelli R, Paoli F, Cannicci S, et al. Characteristics and fate of the spermatozoa of *Inachus phalangium* (Decapoda, Majidae): Description of novel sperm structures and evidence for an additional mechanism of sperm competition in Brachyura[J]. Journal of Morphology, 2008, 269(3): 259-271.
- [17] Wang J, Fang D A, Wang Y, et al. Cathepsin A protein from the accessory sex gland of the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) plays a key role in spermatophore digestion[J]. Journal of Insect Physiology, 2013, 59(9): 953-960.

- [18] Urbani N, Sainte-Marie B, Sévigny J M, et al. Sperm competition and paternity assurance during the first breeding period of female snow crab (*Chionoecetes opilio*) (Brachyura: Majidae)[J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1998, 55(5): 1104-1113.
- [19] Wolcott D L, Hopkins C W B, Wolcott T G. Early events in seminal fluid and sperm storage in the female blue crab *Callinectes sapidus* Rathbun: Effects of male mating history, male size, and season[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2005, 319(1-2): 43-55.
- [20] Xuan F J, Guan W B, Dai X J, et al. Structure and content of spermathecae of *Portunus trituberculatus* from East China Sea[J]. Chinese Journal of Zoology, 2009, 44(2): 1-11. [宣富君, 管卫兵, 戴小杰, 等. 东海三疣梭子蟹纳精囊形态结构与内含物的变化[J]. 动物学杂志, 2009, 44(2): 1-11.]
- [21] Hartnoll R G. Reproductive investment in Brachyura[J]. Hydrobiologia, 2006, 557(1): 31-40.
- [22] Thompson G A, McLay C L. Mating behaviour of *Heterozius rotundifrons* (Crustacea: Brachyura: Belliidae): Is it a hard or soft shell mater?[J]. Marine & Freshwater Research, 2005, 56(8): 1107-1116.
- [23] Greenspan B N. Semi-monthly reproductive cycles in male and female fiddler crabs, *Uca pugnax*[J]. Animal Behaviour, 1982, 30(4): 1084-1092.
- [24] Henmi Y, Murai M. Decalcification of vulvar operculum and mating in the ocypodid crab *Ilyoplax pusilla*[J]. Journal of Zoology, 1999, 247(1): 133-137.
- [25] Ge Y C, Wu X G. Ovarian development of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* after genital molting[J]. Fisheries Science, 2020, 39(5): 766-770. [葛永春, 吴旭干. 中华绒螯蟹生殖蜕壳后卵巢发育规律的研究[J]. 水产科学, 2020, 39(5): 766-770.]

Functional morphology of the copulatory system of the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)

XUAN Fujun¹, BAO Chengman¹, FU Longlong², ZHANG Yue¹, WANG Gang¹, WANG Kun¹, ZHANG Jianguang³, TANG Boping¹, GUAN Weibing⁴, CHENG Yongxu⁵

1. Wetland College, Yancheng Teachers University, Yancheng 224051, China;
2. Jiangsu Freshwater Fisheries Research Institute, Jiangsu, Naijing 210017, China;
3. Jiangsu Da-ren Aquatic Products Co., Ltd., Yancheng 224300, China;
4. College of Marine Ecology and Environment, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
5. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education; Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: To enhance our understanding of the mating process of the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*, the morphological functions of the copulatory system were observed and studied using flash-frozen samples, scanning electron microscopy, and histology. The copulatory system had the typical characteristics of Brachyura and belonged to the G1 long type. The male G1 was generally thick and smooth, in the form of a triangular column, with a suture groove formed by the overlap of the lateral margins of the endopodite, which contained a seminal canal and ran through the two ends. The base had one relatively large opening oriented towards the inner side of the dorsal surface, and the outer side was covered with a meat-like valve with feathery setae. During mating, the penis can extend into the outer part of the opening (or through a valve), and the inner part is inserted by G2. The distal end contained the other seminal opening, similar to a volcano mouth with bristle-like setae all around. G2 was small and sail-like, with the tip invaginated and four long transparent setae attached. The walls of both G1/G2 endopodites were different in thickness, and the seminal lumen of G1 corresponding to the G2 insertion part was thin. Therefore, the wall had a certain swelling capacity, and the lumen could be completely closed with the G1/G2 interaction during mating. Most of the G1 endopodite was hollow, and there were loose connective tissues with droplets above the insertable part of G2; correspondingly, many passages connected the lumen on the inner side of the tube wall. It could be inferred that there could be some form of communication between semen and G1 itself. Muscle tissue appeared in the latter half. The vulva was covered with a smooth and thick operculum, and the joint between the operculum and the thoracic segment of the mature individual could be easily shifted left and right to control the opening and closing of the vulva. The vagina was crescent-shaped in cross-section. One side of the chitinous wall was invaginated into the other, and thick muscles were attached to the invaginated wall. Finally, it can be concluded that G1 does not directly insert into the female reproductive tract but directly matches with the operculum and the surrounding thoracic segment. Through the co-evolution of G1 and G2, a “docking” mating system has developed to ensure that the sperm and other male materials are successfully transported into the spermathecae through the vagina for storage. This study described the potential internal cooperation mechanism of the copulatory system of *E. sinensis*, enriching the biological knowledge regarding crab insemination and providing theoretical and technical support for its genetic breeding and artificial insemination in the future.

Key words: *Eriocheir sinensis*; copulatory system; gonopod; functional morphology

Corresponding author: CHENG Yongxu. E-mail: yxcheng@shou.edu.cn