

南美白对虾的性腺发育、交配、产卵和受精

蔡生力¹, 戴习林¹, 臧维玲¹, 徐桂荣²

(1. 农业部水产养殖生理、生态重点开放实验室 上海水产大学 渔业学院, 上海 200090;

2. 上海申漕特种水产开发有限公司, 上海 201507)

摘 要: 对池养南美白对虾(*Penaeus vannamei*)亲虾进行人工促熟, 并使之交尾、产卵、受精。实验在上海金山区杭州湾河口低盐地区一套自行设计的水循环系统中进行, 育苗用水通过兑配使盐度为27~28。育苗期间基本不换水和移动亲虾。亲虾205尾, 雌雄比约1:1。雌虾切除眼柄后3~4 d, 性腺即开始发育, 6~7 d产卵, 但未受精。手术后约30 d, 亲虾出现追尾现象、随之发生交配并出现受精卵。实验进行了约60 d, 共收集虾卵456.7万粒, 其中受精卵出现后所产卵为137万粒, 通过设置在水循环系统内的集卵网袋, 可收集到95%以上的卵, 共获受精卵61万粒, 平均日受精率为44.5%, 无节幼体25.1万尾, 受精卵的平均孵化率为41.2%, 最高达87.5%。文中还重点讨论了雌雄亲虾性腺发育的特点, 产卵交配规律, 以及亲虾规格大小、饵料种类、水质状况对南美白对虾交配和受精的影响。

关键词: 南美白对虾(凡纳对虾); 性腺成熟; 交配; 产卵; 受精

中图分类号: Q959.223.63

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737(2002)04-0335-05

南美白对虾(*Penaeus vannamei*)的繁殖生理特性与目前我国广泛养殖的其他几种对虾如中国对虾(*P. chinensis*)、斑节对虾(*P. monodon*)、日本对虾(*P. japonicus*)截然不同。其纳精囊属开放型, 在人工控制条件下很难交配、受精。因此, 在很大程度上制约了该种类的苗种来源和养殖。

南美白对虾的育苗和养殖技术已得到推广^[1], 但在河口地区成功的例子较少。本研究利用河口地区的水利条件, 人工调配海水, 并设计配备水循环系统, 使南美白对虾在该地区能顺利产卵、交配、受精和孵化, 从而培育出高质量的虾苗, 解决部分地区南美白对虾苗种问题, 同时探讨南美白对虾在水循环系统中的性腺发育、成熟、产卵、交配、受精和孵化的规律, 为进一步提高苗种质量, 开拓亲虾来源提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 亲虾来源

2001年3月20日从广东徐闻县购入池养亲虾共205尾(雌雄比为105:100)。雌虾生物学体长12.5~13.5 cm, 平均为(12.8±0.43) cm, 体重约25 g。雄虾生物学体长12.3~13.4 cm, 平均为(12.6±0.35) cm, 体重约24 g。

1.2 亲虾培育及人工促熟

将亲虾放入池深1 m, 面积为17.32 m²的圆池中暂养, 雌雄虾分开。12 d后雌虾接受单侧眼柄切除手术, 随后将雌雄虾并入同一池中(池水深50~60 cm), 使其性腺成熟、交尾, 最终产卵受精。池表面覆盖黑色塑料薄膜。光周期为12:12 h。白天光照为500~600 lx, 晚上则全部覆盖, 也利于保持水温。每2 d清除1次虾壳、死虾、残饵和粪便等, 同时适当添加因吸污和蒸发损失的水分。实验后期, 因亚硝酸盐浓度偏高, 不定期适量换水, 每次不超过20 cm。不间断充气, 溶解氧5 mg/L以上, 水温27~28℃。饵料为鲜活沙蚕(*Nereis* spp.)80%和缢蛏(*Sinonovacula constricta*)20%, 每日7:00和

收稿日期: 2001-08-07.

基金项目: 上海市农委科技兴农重点攻关项目(农科攻字(00)第18号).

作者简介: 蔡生力(1957-), 男, 教授, 博士, 从事水产动物繁殖和发育生物学研究.

17:00各投喂1次,投喂量为虾体重的5%~10%。

1.3 水循环系统

该育苗厂位于钱塘江口和长江口的交汇处,水质情况复杂,盐度为9~12,因此除了需对自然海水进行严格消毒,多重过滤外,还必须加一定量浓缩海水将育苗用水盐度调至27~28。若按常规操作方法,每天换水50%,势必加大育苗成本和工作量。因此特别设计一套水循环系统(图1)。

1.4 水质处理与调控

育苗用水首先进行暗沉淀48 h以上,然后通过砂滤进入海水调配池,加高盐度浓缩海水(购自江苏如东盐场),使育苗用水盐度达27~28,再用有效氯质量浓度为 $(10\sim15)\times10^{-6}$ g/mL的消毒剂消毒,充气24 h后,用 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 去余氯,最后通过多层绒布袋过滤后备用。

每天上午8:00检测水体的pH、COD、氨氮和亚硝酸氮的浓度,并根据这些反馈信息及时指导水质管理。

1.5 卵的采集和孵化

从亲虾产卵起,每天上午用筛绢袋集卵1次。经24 h循环。晚间所产卵被带至集卵箱的网袋中。集卵完毕把筛绢袋洗净,使之流水通畅。在集卵过程中,首先用40目网袋把污物及剩余饵料过滤掉。再用100目网袋收集虾卵,最后放入孵化桶中孵化,孵化温度保持在28℃。盐度与亲虾池相同,并且持续充气。受精卵和无节幼体的计数采用100 mL烧杯,每次计3杯,取平均数,再根据总水体换算出实

际产卵量或无节幼体数。

1.6 性腺发育阶段的判别

在雌虾剪眼柄以后,每天记录雌虾性腺发育情况,产卵数量,产卵时间,以及追尾交配情况,受精卵数量,孵化率等。

雌虾发育分4期(I~IV),具体参照Yano^[2]。

2 结果

2.1 性腺发育

4月2日对暂养后尚存活的98尾雌虾进行了单侧眼柄切除手术,手术后4 d即4月6日就可观察到性腺开始发育的雌虾,4月9日亲虾开始产卵(图2、3)。

雌虾切除眼柄后第3~4天即可观察到卵巢开始发育,1周后雌虾性腺发育数就已达到20%左右,而且,发育至Ⅲ~Ⅳ期的亲虾接近已发育总数的30%。雌虾在剪眼柄后2周左右(4月16日至4月21日),性腺发育达到1个高峰。以后数量有所下降。再经过大约2周(4月底5月初)性腺发育数量又达到1个次高峰。对部分经简单标记留有特征的雌虾观察发现,成熟雌虾产卵后,有的随之蜕皮,经3~5 d的间歇期后,性腺又开始发育;也有的产卵后未蜕皮直接进入下一次的性腺发育期,一般5~7 d后,卵巢就已发育成熟,并再次产卵。卵巢发育期间,雌虾一般不蜕皮,交配发生在蜕皮期间的硬壳阶段。

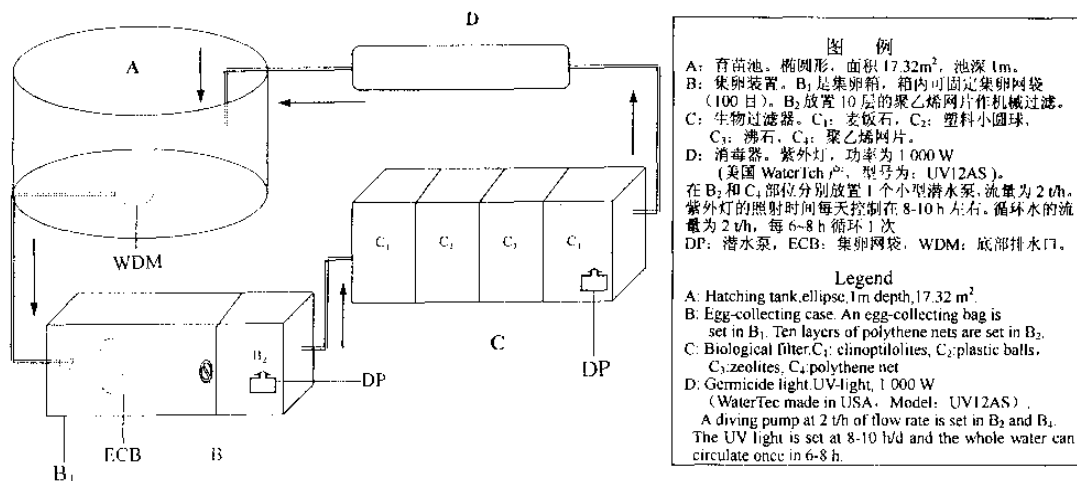


图1 水循环装置示意图

Fig. 1 Sketch of recirculating system

本次实验共收集卵 456.7 万粒,其中 319.7 万粒产于 4 月 10 日至 5 月 5 日,均未受精。5 月 6 日至 5 月 17 日产卵 137 万粒,其中受精卵 61 万粒(表 1)。产卵量在剪眼柄后第 20 天左右(4 月 20 日前后)出现 1 个高峰,产卵量高峰比性腺发育数量高峰滞后 3~4 d。此间,每天均有虾产卵,产卵量最少为 2.6 万粒,最多为 29 万粒。由于本次试验亲虾个体偏小,且大小不一,发育状况各不相同,而且集中在一起产卵,很难确定每尾虾所产卵量。据观察,有部分个体偏小的亲虾性腺始终未发育,而部分亲虾已产卵 2~3 次。

2.2 亲虾的交尾、交配

南美白对虾的交配发生于雌虾卵巢充分成熟后。在交配发生前 1~2 d 即可观察到追尾现象,通

常发生在傍晚 6:00 左右,天刚暗时。追尾时,雄虾靠近并追逐雌虾,游动速度比较快。一般雄虾头部位于雌虾尾部下方作同步游泳,这一过程时间较长,反复多次才能成功。真正交配时间仅 2~3 min,交配动作如 Yano 等^[3-4]所述,雄虾转身向上,将雌虾抱住,释放精荚并将其粘贴到雌虾第 3~5 对步足间的位置上。如果交配不成,雄虾会立即转身,并重复上述动作。这期间还观察到雄虾追逐性腺未成熟的雌虾,甚至雄虾追逐雄虾的现象。但正如 Yano^[3]所指出的只有成熟的雌虾才能接受交配行为。

2.3 受精卵出现后的产卵量、受精率和孵化率

在雌虾剪眼柄后经过 32 d(5 月 5 日)第 1 次观察到受精卵出现。表 1 为 5 月 6~17 日产卵、受精和孵化情况。

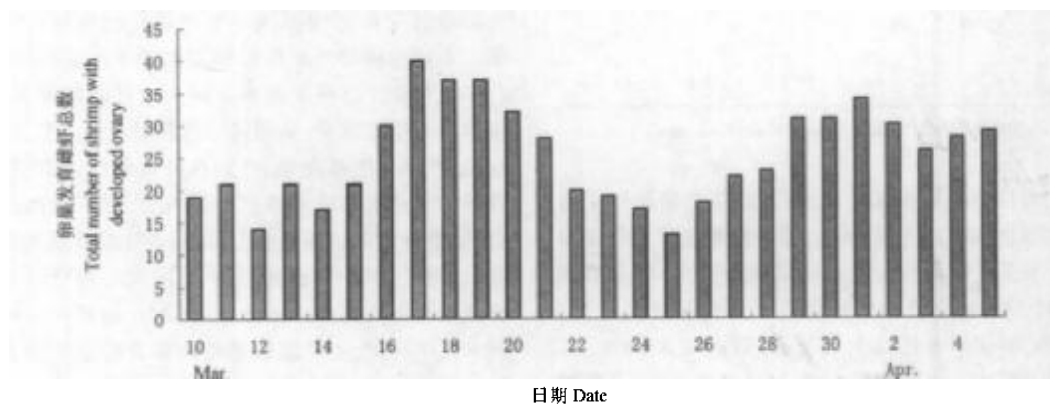


图2 雌虾剪眼柄后卵巢发育情况

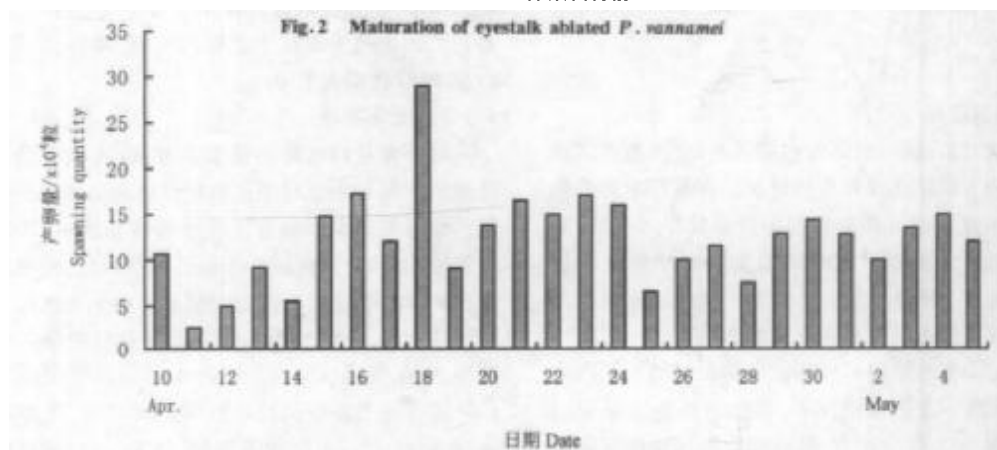


图3 切除眼柄后南美白对虾日产卵量

Fig.3 Eggs spawned by eyestalk ablated *P. vannamei*

表1 亲虾产卵量、受精卵和未受精卵之比及孵化率
Table 1 Spawning, fertilization, and hatching rate of *P. vannamei*

日期 Date	产卵量/ × 10 ⁴ Egg numbers	受精卵/ × 10 ⁴ Fertilized eggs	受精率/% Fertilized rate	无节幼体/ × 10 ⁴ Nauplius	孵化率/% Hatching rate*
May 6	10	5	50.0	4.0	80
7	4	0	—	—	—
8	8	4	50.0	3.5	87.5
9	8	4	50.0	3.5	87.5
10	12	6	50.0	2.5	41.9
11	18	8	44.4	4.0	50
12	9	3	33.3	1.0	33.3
13	10	4	40.0	1.2	30
14	8	3	37.5	1.2	40
15	20	9	42.9	1.8	20
16	30	15	50.0	2.3	15
合计 Total	137.0	61.0			
平均 Mean			44.5	25.1	41.2

* :指受精卵的孵化率。On the basis of fertilized eggs.

自从受精卵出现之后,每天的总产卵量与受精卵出现之前相比,差异不大,雌虾性腺发育总数也相近。每天受精卵约占总产卵量的一半,平均受精率为44.5%,说明产卵雌虾仅有一半是经过交配的。受精卵孵化率开始几天比较高,最高达87.5%,但后来几天由于水质处理不当,混浊度增加,加上集卵网袋洗刷不净,集卵不够及时,致使部分卵受挤,孵化率下降较明显。

3 讨论

3.1 性腺发育

此次育苗试验,亲虾为池塘养殖虾,在暂养过程中未发现有雌虾性腺发育的情况。在雌虾单侧剪眼柄之后短短3~4 d雌虾性腺即开始发育,6~7 d后产卵。与蒋宏雷等^[5]报道的南美白对虾剪眼柄后雌虾最短7 d开始产卵结果类似。显然切除眼柄对亲虾卵巢发育的促进功能十分显著。

甲壳动物的蜕皮和性腺发育都受眼柄神经内分泌系统调节。在正常情况下,切除眼柄能明显缩短蜕皮周期,增加蜕皮次数,同样切除眼柄也能显著促使甲壳动物性腺发育^[6-8]。然而本实验发现,切除眼柄后,蜕皮周期并没有缩短,反而有所延长。显然这种调节在对虾特定的发育阶段是矛盾的,取决于对虾内部的生理机制以及环境因子对它的影响程

度,即切除眼柄可以加速蜕皮和性腺发育,但这种功能并不能同时发挥^[8]。对于尚未进入成熟阶段的甲壳动物,切除眼柄所起的作用主要是缩短蜕皮周期,加速蜕皮和生长;而对于即将进入性腺发育阶段的甲壳动物来说,其作用主要是促进性腺发育。

3.2 产卵与受精

对于纳精囊开放式的对虾种类,雌虾在切除眼柄后,性腺发育和产卵并无困难,而亲虾的交配和受精是最关键一环。从雌虾接受眼柄切除手术到受精卵的出现通常需30 d甚至更长的时间。Chen等^[9]和Luiz等^[10]也曾报道纳精囊开放式对虾种类在手术后,第45~90 d是交配盛期,在这前后交配率都很低。本次试验雌虾单侧剪眼柄后,30 d之后才有受精卵出现,受精率逐步提高。

亲虾交配迟缓原因主要与雄虾的生殖行为有关。本试验雄虾并未作眼柄切除手术,主要从以下2方面考虑:(1)便于观察。因为雌虾切除眼柄后,很容易与雄虾区分,从而可以清楚的观察亲虾追尾、交配、产卵等生殖现象。(2)从外观和解剖看,精巢在雌虾切除眼柄之前就已开始发育,雌虾开始产卵时,雄虾的精巢已很饱满,并可用手在精巢两侧轻轻挤出,蒋宏雷等^[5]、张伟权等^[11]用人工授精的方法曾成功获得受精卵。因此作者认为,南美白对虾迟迟未发生交配,主要原因是雄虾本身的交配能力不够。试验中曾观察到一些精巢并未成功地粘贴到雌虾的纳精囊,而是在体侧或附肢上,类似的情况Yano等^[4]也曾报道过。Wyban等^[12]认为南美白对虾育苗成功的关键在于亲虾的大小,雌虾必须大于45 g,雄虾必须大于40 g。

3.3 水循环系统

对虾育苗对水质的要求非常高,本试验设计和使用的水循环系统对净化稳定水质起到了较好的作用。并可节约水和能量。在水循环系统中,不需要反复挑选亲虾,从而减少亲虾的应激反应,给亲虾交配产卵提供了较安全稳定的场所。由于系统配备了紫外灯消毒,使病原微生物对亲虾和卵的危害大为减小,孵化率得以提高。另外水循环系统中设置集卵网袋可免去亲虾倒池和虹吸换水之苦,集卵率可达95%以上。亲虾池的氨氮、COD、pH、溶解氧等指标均很正常,只有亚硝酸氮的浓度一直偏高,约2 mg/L。这与水循环系统中生物膜的亚硝化菌生长不良,亚硝酸氮未能有效降解成硝酸盐有关。此问题今后可通过添加硝化菌和亚硝化菌来解决。

参考文献:

- [1] 林治术, 高庆良, 高东英. 南美白对虾渤海湾全人工繁育技术研究[J]. 海洋科学, 1997(6):10-12.
- [2] Yano I. Oocyte development in the kuruma prawn *Penaeus japonicus*[J]. Marine Biology, 1988, 99:547-553.
- [3] Yano I. Final oocyte maturation, spawning and mating in penaeid shrimp[J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1995, 193:113-118.
- [4] Yano I, Kanna R A, Oyama R N, et al. Mating behaviour in the penaeid Shrimp *Penaeus vannamei*[J]. Marine Biology, 1988, 20(2):171-175.
- [5] 蒋宏雷, 尤尔茂, 朱励华, 等. 凡纳对虾人工繁育技术[J]. 上海水产大学学报, 1999, 8(3):282-286.
- [6] Chen S, Malone R F, Hunter J V. Molting and mortality of red swamp and white river crawfish subjected to eyestalk ablation: a preliminary study for commercial soft-shell crawfish production[J]. J World Aquacult Soc, 1993, 24(1):48-56.
- [7] Choy S C. Growth and reproduction of eyestalk ablated *Penaeus canaliculatus* (Oliver, 1811) (Crustacea: Penaeidae)[J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1987, 112:93-107.
- [8] Quackenbush L S, Herrnkind W F. Regulation of molt and gonadal development in the spiny lobster, *Panulirus argus* (Crustacea: Palinuridae): effect of eyestalk ablation[J]. Comp Biochem Physiol, 1981, 69:523-527.
- [9] Chen F, Reid B, Arnold C R. Maturing spawning and egg collection of the white shrimp *Penaeus vannamei* Boone in a recirculating system[J]. J World Aquacult Soc, 1991, 22(3):167-172.
- [10] Luiz S, Bueno S. Maturing and spawning of the white shrimp *Penaeus schmitti* Brukenroak, 1936, under large scale rearing conditions[J]. J World Aquacult Soc, 1990, 21(3):170-179.
- [11] 张伟权, 丁琳江, 童保福, 等. 南美洲白对虾全人工授精技术研究[J]. 海洋与湖沼, 1993, 24(4):428-432.
- [12] Wyban J A, Lee C S, Sweeney J N, et al. Observation on development of a maturation system for *Penaeus vannamei*[J]. J World Maricult Soc, 1987, 18(3):198-220.

Behaviors of maturation, mating, spawning and fertilization in *Penaeus vannamei*

CAI Sheng-li¹, DAI Xi-lin¹, ZANG Wei-ling¹, XU Gui-rong²

(1. Key Laboratory of Ecology and Physiology in the Ministry of Agriculture,
Fisheries College, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China;

2. Shencao Special Fisheries Development Company of Jinshan District, Shanghai 201057, China)

Abstract: The experiment was conducted at Jinshan estuary area near Shanghai. About 200 parents *Penaeus vannamei* (sex ratio 1:1) were cultured in a water recirculating system designed specially so that the samples did not have to be removed again and again. The recirculating water was kept at salinity 27 by mixing the natural sea water (salinity 9-12) with concentrated sea water (salinity 100-120). During the breeding, the culture water was not changed. The unilateral eyestalk ablation was conducted for the female parent shrimp to stimulate the ovary maturation. Three days after the operation the ovary development could be observed clearly and one week later, a part of shrimp began to spawn, but the eggs were not fertilized. One month later, fertilized eggs appeared and naupliar larvae were obtained. During the experiment, total 4 570 000 eggs were get from the spawning, but the fertilized numbers were 610 000 and the naupliar larvae numbers were 251 000, the hatching rate reaching 41.2%. Over 95% of the eggs could be collected automatically through the collecting bag fixed in side of the system.

Key words: *Penaeus vannamei*; maturation; mating; spawning; fertilization