

中国对虾早期性别分化研究*

李富花 相建海

(中国科学院海洋研究所)

自 20 世纪 80 年代初期,对虾的工厂化育苗获得成功,使对虾养殖业得到长足的发展。为此,科学家们围绕对虾人工养殖,在对虾的性腺发育、性腺成熟等方面进行了研究(洪水根等,1988;李怀梅等,1994)。由于养殖水域的过度开发,养殖环境的恶化,养殖种类的病害越来越严重地影响着水产养殖业的发展。显然,要维持水产养殖业的持续发展,必须通过一些遗传改良技术对现有养殖品种进行遗传改良,从而获得性状优良的养殖品种。目前较为行之有效的方法是对对虾的性别进行控制,获得对虾雌性比例高的种群,才能有效地提高养殖产量,因而对对虾性别控制研究具有重要的意义。脊椎动物激素可引起鱼类发生性别反转,但是,对对虾的性别反转不起作用。利用激素饲喂或浸泡幼小动物可以引起性反转,已完成性分化的鱼苗不能进行性反转,只能抑制或促进性别特征的发育。促雄腺对对虾的外部性征发育起着重要的作用(李富花等,1996),对对虾早期性别分化进行研究是成功进行人工性别控制的基础。目前有关对虾早期性别分化的研究报道很少(尹左芬等,1986;Nakamura,1992)。本文利用扫描电镜和组织学切片观察相结合的方法,研究了中国对虾的早期性别分化情况,为中国对虾性别控制研究奠定了基础。

一、材料与方法

为确保中国对虾发育分期的准确性和发育的同步性,实验材料(仔虾或幼虾)由同一条虾产的卵培育而得。从发育变为仔虾的第 3 d 开始取样,每隔一周取样一次,每次取 10 条左右,直至用肉眼能够区分雌、雄为止。对于早期仔虾,可直接固定在冷的 5% 戊二醛—磷酸缓冲液 (pH 7.2) 中 2 h 左右;为了取得更好的固定效果,晚期仔虾可先去掉腹部及额角等多余部分,再用 5% 的戊二醛固定 2 h 左右。后经酒精、丙酮等系列脱水,醋酸异戊酯冲洗,临界点干燥,喷金,然后在 KYKY-1000B 型扫描电子显微镜下观察并拍照。用于组织学研究材料的取样,与扫描电镜研究材料的取样是同步的,在用戊二醛固定扫描电镜材料的同时,随机取约 10 条虾放在 Bouin 氏液中固定 24 h 左右(为了提高固定效果,Bouin 氏液用海水配制。所用海水经加热消毒,冷却,过滤后方可使用),然后进行系

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 4260 号。

国家 863 计划资助项目 863-819-01-05。

收稿日期:2001 年 1 月 15 日。

列乙醇脱水,常规石蜡包埋,连续切片(厚度为 $6\sim 7\mu\text{m}$),用 Ehrich 氏苏木精染色,在 OLYMPUS BH-2 显微镜下观察生殖腺的早期分化。

二、结 果

扫描电镜观察的结果表明,虾卵在变为仔虾后第 3 d (体长约为 0.6 cm),第七、八胸节腹面的腹甲上各有一个明显的锥形突起,后锥体与前锥体比较,略显粗而短,前锥体较细长(图版 I:1)。总共观察了 6 只仔虾,个体之间未见差异。说明此时尚未出现外部形态的性别分化。以下是虾卵在变为仔虾后第 20~55 d 的发育变化。

第 20 d (体长约为 1.0 cm) 与变为仔虾后第 3 d 比较,第七、八胸节腹甲上的锥形突起明显变得短而钝(图版 I:2)。共观察了 6 条仔虾,个体之间未见明显差异。

第 27 d (体长约为 1.1 cm),共观察了 5 条虾。其中有一条虾的后锥体比较扁平,上面有一个明显的凹陷,似乎被一三角形的片状结构盖住,其他未见明显的不同。

第 35 d (体长约为 1.7 cm),所观察虾的前锥的结构类似,锥体突出部恰似一小的锥形瓶,瓶口有一塞子塞住。后锥的形态有两种情况:一种情况是后锥上有一小的突起,突起顶端是一小的三角形片状结构,此结构似乎是作为盖子盖在一小孔的上面(图版 I:3);另一种情况是后锥的后端边缘类似三角形的两条边,未见明显的后锥孔(图版 I:4)。从此期开始,对虾的外部性征开始分化。第一种情况以后可能发育为雄性个体,第二种情况以后可能发育为雌性个体。

第 55 d (体长约为 2.5 cm),对虾前、后锥的发育明显分为两种情况:第一种情况,前、后锥两个三角形锥体特别明显,以后将发育为雄性个体(图版 I:5);第二种情况,后锥显得比较扁平,形成纳精囊的两块片层结构的雏形开始出现,以后会发育为雌性个体(图版 I:6)。此时,雌、雄分化已相当明显。随着仔虾的进一步发育,雌体纳精囊逐渐形成。

组织学连续切片的观察结果表明,在切片上可区分出生殖腺组织是从虾卵变为仔虾后第 55 d 开始的。此时的生殖腺组织很小,由两类细胞组成:第一类细胞较大,核为圆形,称为原始生殖细胞;另一类细胞较小,核较扁,称为中胚层细胞。此时从切片上尚无法区分精巢和卵巢。此后生殖腺进一步发育。从变为仔虾后第 76 d (体长约为 4.0 cm) 开始,生殖腺可以区分为精巢和卵巢。精巢是由精原细胞外包有中胚层细胞的许多小团组成的;在卵巢中,由卵原细胞排列在中间,周围包有中胚层细胞。有些卵原细胞开始发育为初级卵母细胞。

三、讨 论

根据本文作者的观察,区分中国对虾性别的重要标志之一是第五对步足基部之间腹甲的形态。这是雄性生殖孔或雌性纳精囊形成的部位。据观察,大约在变为仔虾后第 35 d (体长约为 1.7 cm),雌、雄外部性征开始分化,而内部性征的分化大约是在变为仔虾后第 76 d 开始观察到生殖腺原基发育为精巢或卵巢。尹左芬等(1986)曾通过解剖镜观察了中国对虾外部性征的性别分化,根据这一研究结果,在中国对虾中初次观察到外部性征

的分化是在仔虾刚进入幼虾期,体长平均为 3.4 cm 时观察到的。由于作者所采用的对仔虾的分期方法与前人的不同,因而无法单纯对从那一期开始出现性别分化进行比较。但是,从体长的对比来看,采用扫描电镜观察,是在仔虾体长为 1.7 cm 时观察到对虾外部性征出现性别分化的,比用解剖镜观察的结果早很多。可见,不同的观察手段,所得的结果可能不同。随着研究方法的改进,所得结果会越来越准确。

外部性征的分化可以通过以下几个方面来体现:生殖孔的出现、雄性附肢的形成以及交接器的形成。这三个外部性征开始出现分化的时间各不相同。对虾不同种类,性别分化开始的时间差别很大。在日本对虾中,第一腹肢的内肢——交接器是在变为仔虾后第 50 d 出现的,性腺的性别分化最早是在变为仔虾后第 60 d 观察到的 (Nakamura, 1992); 而在中国对虾中,作者观察到外部性征的分化——第五步足基部之间腹甲的形态出现分化大约是从变为仔虾后第 35 d 开始的,此时,第一腹肢内肢的形态尚未出现不同。生殖管是内部性别分化开始的第一个性别特征。在日本绒螯蟹 (*Eriocheir japonicus*) 中,早在眼幼体期,就可以从生殖管的不同定向来确定性别。它是到目前为止所研究的短尾类十足目动物中开始性别分化最早的种类 (Lee *et al.*, 1994)。在日本对虾 (*Penaeus japonicus*) 中,雄性生殖管在变为仔虾后第 20 d 可以识别出,而性腺的性别分化最早是在变为仔虾后第 60 d 观察到的 (Nakamura, 1992)。在中国对虾中,所观察到的性腺分化时间是在变为仔虾后第 76 d, 实际内部性征的分化时间更早些。对普通平甲虫 (*Armadillidium vulgare*) 研究表明,将促雄腺移植到雌体中引起雌体雄性化的程度依赖于雌体的年龄。在性别分化刚刚开始的时候,雌体的性腺可以保持其性二态性一段时间。在此期间,移植促雄腺很容易引起雌体雄性化 (Suzuki *et al.*, 1998)。由此可见,根据我们的研究结果,在中国对虾中,进行促雄腺的移植或者激素外注射实验至少需要在变为仔虾后第 35 d 之前进行,这样才有可能引起性别反转,这为对虾性别控制研究提供了进一步的理论依据。

参 考 文 献

- 尹左芬、宋微波、王琳、于建平, 1986, 对虾 (*Penaeus orientalis*) 外生殖器官的发育与分化, 海洋与湖泊通报, 4: 56~61。
- 李怀梅、张乃禹, 1994, 中国对虾卵母细胞发育的初步研究, 海洋与湖泊, 25(3): 243~247。
- 李富花、相建海, 1996, 中国对虾促雄腺形态结构和功能的初步研究, 科学通报, 41(15): 1418~1422。
- 洪水根、林嘉涵、陈细法、倪子绵、朱燕, 1988, 长毛对虾卵子发生的研究 I. 卵子发生过程, 海洋与湖泊, 19(4): 301~305。
- Lee, T. - H., Yamauchi M. and Yamazaki, F. 1994, Sex differentiation in the crab *Eriocheir japonicus* (Decapoda, Grapsidae), *Invert. Reprod. Develop.*, 25: 123~138.
- Nakamura, K., 1992, Differentiation of genital organs and androgenic gland in the kuruma prawn *Penaeus japonicus*. *Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ./Kagoshimadai Suisangakubu Kiyo.*, 41: 87~94.
- Suzuki, S. and Yamasaki, K., 1998, Sex reversal by implantations of ethanol-treated androgenic glands of female Isopods, *Armadillidium vulgare* (Malacostraca, Crustacea), *General and Comparative Endocrinology*, 111: 367~375.

**STUDY ON EARLY SEX DIFFERENTIATION OF
PENAEUS CHINENSIS ***

Li Fuhua, Xiang Jianhai

(*Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Sciences*)

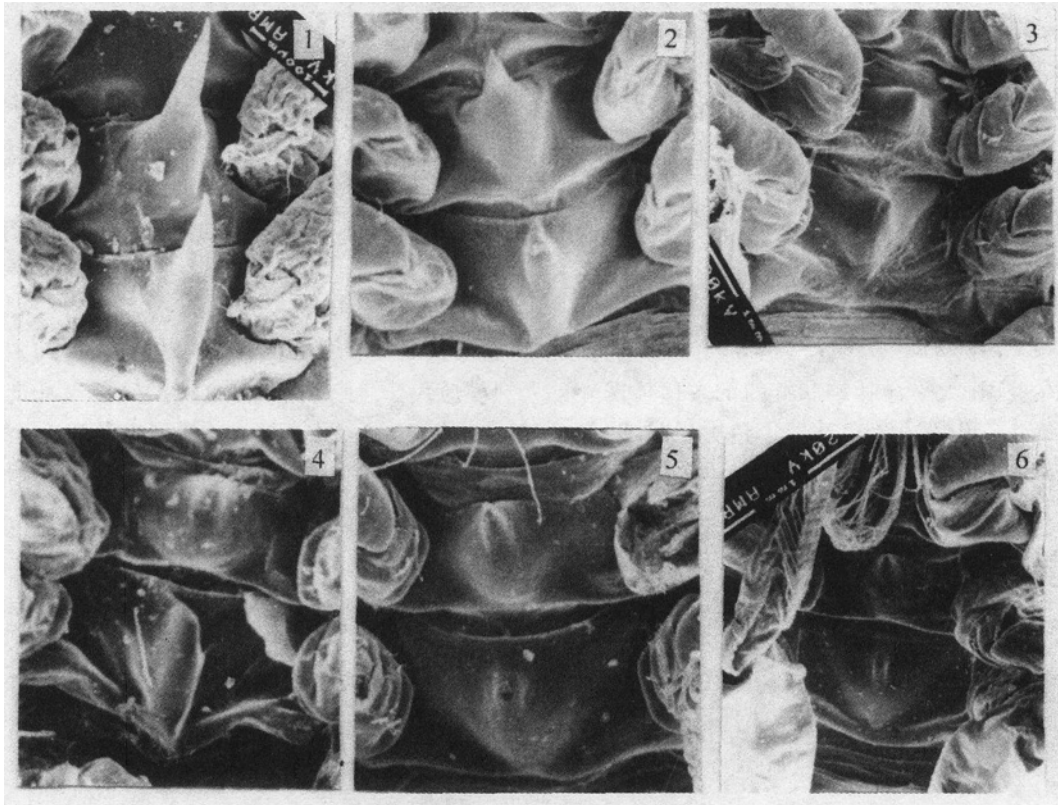
ABSTRACT

Early sex differentiation of Chinese shrimp *Penaeus chinensis* was studied through scanning electronic microscope techniques and histological methods. The results showed that differentiation of external sex characteristics in *P. chinensis* began on the 35th day after the first stage of postlarvae, while sexual discrimination of the gonad through histological methods was possible for the first time on the 76th day after the first stage of postlarvae. This result indicates that sex manipulation should be done before the 35th day after the first day of postlarvae of *Penaeus chinensis*.

* Contribution No. 4260 from the Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Sciences.

李富花等:中国对虾早期性别分化研究

图版(Plate) I



中国对虾仔虾第4、5对步足基部腹面的扫描电镜观察,示中国对虾早期外部形态的性别分化

1. 变为仔虾后第3天;2. 变为仔虾后第20天;3. 变为仔虾后第35天,发育为雄性个体;4. 变为仔虾后第35天,发育为雌性个体;5. 变为仔虾后第55天,为雄性个体;6. 变为仔虾后第55天,为雌性个体。