

池塘养殖三疣梭子蟹雄体生长和性腺发育规律

车杰^① 柳梅梅^① 侯文杰^② 董志国^③ 杨淞^④ 成永旭^{①⑤} 吴旭干^{①⑤*}

① 上海海洋大学, 水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室 上海 201306; ② 上海市水产研究所/上海市水产技术推广站 上海 200433; ③ 淮海工学院, 江苏省海洋生物技术重点实验室 连云港 222005; ④ 四川农业大学动物科技学院 成都 611130; ⑤ 上海海洋大学, 农业农村部鱼类营养和环境生态研究中心, 水产科学国家级实验教学示范中心 上海 201306

摘要: 池塘养殖是三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) 的主要养殖方式, 但关于池塘养殖三疣梭子蟹雄体的生长和性腺发育规律尚不清楚。本研究通过定点连续采样, 首先系统研究池塘养殖过程中三疣梭子蟹雄体的生长和成熟雄体生殖系统的外观及组成的变化, 其次研究池塘养殖三疣梭子蟹雄体性腺发育过程中性腺各部分组织学特征及其指数的变化, 以及不同月份雄体性腺发育的情况和比例。结果表明: (1) 三疣梭子蟹雄体的体重和壳宽增长率及特定增长率均在 8 月份最高, 且体重与壳宽呈显著正相关关系。(2) 三疣梭子蟹成熟雄体的生殖系统由体外 (阴茎、交接器) 和体内 (精巢、输精管) 两部分构成。(3) 根据精巢和输精管的外观、组织学特征及其指数的变化, 可将三疣梭子蟹雄体性腺发育分为 3 期。精子发生期, 即精巢内主要细胞类型是精原细胞和初级精母细胞, 精巢指数为 0.07% ~ 0.16%, 此时输精管呈透明状, 肉眼很难发现; 精荚形成期, 精巢内主要细胞类型为次级精母细胞和精子细胞, 精巢指数为 0.10% ~ 0.51%, 输精管内有大量精荚和分泌物, 输精管指数为 0.01% ~ 0.41%; 成熟期, 精巢内主要细胞类型是精子细胞和成熟精子, 精巢指数为 0.10% ~ 0.41%, 输精管进一步膨大, 输精管指数为 0.20% ~ 0.65%。(4) 在雄体性腺发育期间, 性腺指数和输精管指数呈显著上升趋势, 而精巢指数呈现先上升后下降的趋势, 且统计分析发现性腺指数与肝胰腺指数无明显的相关性。(5) 池塘养殖雄体性腺发育不同步, 7 月份主要处于精子发生期, 8 月底, 有 76% 的雄体性腺发育达到精荚形成期, 至 9 月底, 达到成熟期雄体的比例为 47%, 此后雄体性腺发育趋于成熟, 10 月中下旬至 12 月份池塘养殖雄体均主要处于成熟期。

关键词: 三疣梭子蟹; 池塘养殖; 雄体; 生长; 性腺发育

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2019) 03-347-15

Growth and Gonadal Development of Pond-reared Male Swimming Crab, *Portunus trituberculatus*

CHE Jie^① LIU Mei-Mei^① HOU Wen-Jie^② DONG Zhi-Guo^③ YANG Song^④
CHENG Yong-Xu^{①⑤} WU Xu-Gan^{①⑤*}

基金项目 上海市科技兴农重点推广项目[农科攻字 (2016) 第 1-1-8 号], 江苏省科技厅苏北科技专项项目 (No. SZ-LYG2017019), 上海市高水平地方高校建设科研项目 (No. A1-2801-18-1003);

* 通讯作者, E-mail: xgwu@shou.edu.cn;

第一作者介绍 车杰, 男, 硕士研究生; 研究方向: 甲壳动物营养生理; E-mail: 761743937@qq.com。

收稿日期: 2018-10-23, 修回日期: 2019-01-15 DOI: 10.13859/j.cjz.201903005

- ① Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306; ② Shanghai Fisheries Research Institute, Shanghai Fisheries Technical Extension Station, Shanghai 200433; ③ Key Laboratory of Marine Biotechnology of Jiangsu Province, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005; ④ College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130; ⑤ Centre for Research on Environmental Ecology and Fish Nutrition of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Demonstration Centre for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: Although pond culture is the major culture method for swimming crab *Portunus trituberculatus*, the growth and gonadal development pattern of pond-reared males remain unclear. Firstly, this study was conducted to investigate the changes of the growth parameters, the overall appearance and composition of mature reproductive system of male *P. trituberculatus*. Then, the changes in testis and vas deferens histology, gonadosomatic index, testis index, vas deferens index, hepatosomatic index and the gonadal development pattern during the process of pond culture were described. The results showed that: (1) The highest growth rate and specific growth rate of body weight and carapace width of male *P. trituberculatus* were found during the period of July to August (Fig. 2, 3). Furthermore, a significantly positive correlation was found between body weight and carapace width for pond-reared male *P. trituberculatus* (Fig. 4). (2) The mature reproductive system of male *P. trituberculatus* consisted of external and internal parts: the external part included the penis and petasma consists, while the internal part mainly included testis and vas deferens (Fig. 5). (3) Based on the changes of morphology, histology, and indices of testis and vas deferens, the gonadal development process of *P. trituberculatus* could be divided into three stages. Spermatogenesis (stage I): the dominant types of gametocytes in testis were spermatogonia and primary spermatocytes, the testis index of stage I ranged from 0.07 to 0.16, and the vas deferens appeared transparent and was hard to be found (Fig. 6, 7). Spermatophore formation (stage II): secondary spermatocytes and spermatids were the dominant types of gametocytes in testis (Fig. 6, 7), and the testis index of stage II ranged from 0.10 to 0.51. The vas deferens was filled with a large amount of fluid and spermatophores, and the vas deferens index of stage II ranged from 0.01 to 0.41. Mature stage (stage III): the gametocytes in testis were mainly composed of spermatids and spermatozoa (Fig. 6, 7), and the testis index of stage III ranged from 0.10 to 0.41. The vas deferens was further enlarged and the vas deferens index of stage III ranged from 0.20 to 0.65. (4) During the gonadal maturation, the gonadosomatic index and vas deferens index increased significantly, while the testis index showed a trend of increasing first and then decreasing (Fig. 8, 9). Furthermore, there was no significant correlation between gonadosomatic index and hepatosomatic index. (5) The gonadal development of pond-reared male *P. trituberculatus* was not synchronous. In July, the gonadal development of pond-reared male *P. trituberculatus* was mainly in stage I (Fig. 11). At the end of August, the percentage of males reached stage II was 76% (Fig. 11). At the end of September, the percentage of males reached stage III was 47% (Fig. 11). From mid-late October to December, the gonadal development of pond-reared male *P. trituberculatus* was mainly in stage III (Fig. 11).

Key words: *Portunus trituberculatus*; Pond culture; Male; Growth; Gonadal development

三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) 广泛分布在东亚沿海, 包括日本、朝鲜、中国等海域 (Jin et al. 2015), 为重要的海水经济品种 (Ng'Ambi et al. 2017)。近年来, 由于过度捕捞和环境污染等原因导致野生三疣梭子蟹资源急剧下降 (俞存根等 2006, 程国宝等 2012)。因此, 自 20 世纪 90 年代以来, 较高的市场需求使得池塘养殖三疣梭子蟹产业得到迅速发展 (Wu et al. 2010, He et al. 2016)。据统计, 2017 年人工养殖三疣梭子蟹产量高达 11×10^4 t, 且池塘养殖是其主要的养殖方式 (农业部渔业渔政管理局 2018)。由于三疣梭子蟹具有较强的相残习性, 造成池塘养殖成活率低且亩产量仅 30~60 kg 左右, 这一问题严重阻碍了池塘养殖三疣梭子蟹产业的可持续发展 (丁天宝等 2009, 乔振国 2012)。此外, 因卵巢发育良好的雌体三疣梭子蟹其营养较丰富 (程国宝等 2012), 因此在池塘养殖的后期需要减少三疣梭子蟹雄体的数量, 以获得更大的经济效益和更高的成活率。但研究表明, 三疣梭子蟹交配后, 雌体卵巢才能快速发育 (吴旭干等 2007, Che et al. 2018), 因此池塘中一定比例的雄蟹有利于雌体性腺的发育。

迄今为止, 仅有李太武 (1995) 和管卫兵等 (2009) 研究了三疣梭子蟹精子的发生, 但并未对三疣梭子蟹性腺发育进行分期。鉴于此, 本文首先较系统地研究了池塘养殖条件下三疣梭子蟹雄体的生长和成熟雄体生殖系统外观及组成的变化, 其次研究了池塘养殖雄性性腺发育过程中性腺的组织学特征和相关指数的变化, 以及不同月份雄性性腺发育情况和比例, 并在此基础上建立了雄性性腺的分期方法, 结果可为进一步了解池塘养殖三疣梭子蟹雄体的生长和性腺发育规律提供基础资料, 也可为池塘养殖科学管理、饵料投喂和人工繁殖提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验池塘和蟹种放养

实验于 2017 年 5 月至 12 月在江苏省大丰

市河口村三疣梭子蟹养殖池塘进行, 选用面积相等的两个室外池塘 (长 × 宽 × 高 = 200 m × 100 m × 1.5 m) 进行养殖实验。由于三疣梭子蟹有相残习性, 因此在养殖池塘底部放置适量瓦片和石块, 为其提供隐蔽场所, 既能减少相残机会, 又能提高养殖成活率。5 月初使用漂白粉对实验池塘进行消毒和清塘, 2 周之后, 挑选个体健壮、规格均匀、活动能力强、无病害且附肢齐全的幼蟹, 雌雄蟹初始体重分别为 (2.10 ± 0.25) g ($n = 5.25$ 万只) 和 (2.21 ± 0.35) g ($n = 1.75$ 万只), 放养密度约为 3~4 只/m², 雌雄比为 2:8。

1.2 养殖管理

池塘养殖过程中, 投喂野杂鱼、糠虾等作为三疣梭子蟹的饵料, 每日早晚各投喂一次, 早晚投喂比例 1:2, 投喂量约占蟹体重的 3%~10%, 具体根据水温和摄食情况灵活掌握。在蜕壳高峰期, 投足新鲜饵料, 以减少相互残杀。8 至 10 月, 每 15 d 全池泼洒一次微生态制剂, 调节水质, 并依据天气及水中溶氧情况, 适时开启增氧机进行池塘增氧。养殖期间, 观察三疣梭子蟹摄食、活动及病害情况, 以便随时调整投喂量。另外, 定期检测水体的 pH、溶氧、氨氮和亚硝酸盐含量, 根据池塘水质情况不定期换水, 每次换水约 20%~30%, 从而维持良好水质, 利于三疣梭子蟹的正常生长和发育。整个养殖期间, 池塘水温变化见图 1。

1.3 实验采样和数据采集

1.3.1 生长指标 2017 年 7 月开始, 每月中下旬采用地笼网抓捕, 每口池塘随机采样 10~15 只雄体, 以研究其生长和性腺发育情况。称重前首先用干毛巾擦去蟹体表水分, 采用电子天平 (上海越平科学仪器有限公司, 精确度为 0.01 g) 称重, 然后采用游标卡尺 (上海精美量具厂, 精确度 0.01 mm) 测量壳宽 (carapace width, CW)。分别计算体重增长率 (weight gain rate, R_w)、壳宽增长率 (carapace gain rate, R_c)、体重特定生长率 (weight specific growth rate, S_{R_w})、壳宽特定生长率 (carapace specific growth

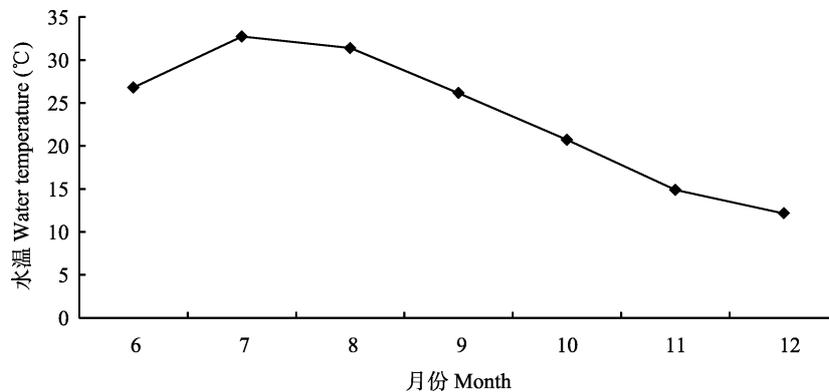


图1 池塘养殖过程中水温的变化情况

Fig. 1 The changes of the water temperature in the pond during the culture process of male *Portunus trituberculatus*

rate, S_{Rc}). R_w (%) = $100\% (W_t - W_{t-1}) / W_{t-1}$, R_c (%) = $100\% (C_t - C_{t-1}) / C_{t-1}$, S_{Rw} (%/d) = $100\% (\ln W_t - \ln W_{t-1}) / D$, S_{Rc} (%/d) = $100\% (\ln C_t - \ln C_{t-1}) / D$, 式中, W_t 和 W_{t-1} 分别为第 t 月和第 $t-1$ 月蟹的平均体重 (单位 g), C_t 和 C_{t-1} 分别为第 t 月和第 $t-1$ 月蟹的平均壳宽 (单位 mm), D 为采样的间隔时间 (单位 d)。

1.3.2 性腺发育 自 2017 年 8 月中下旬开始, 采样的蟹称重并测量甲壳宽后进行活体解剖, 取出每只雄体的全部性腺和肝胰腺精确称重并记录。雄体性腺的两个组成部分精巢和输精管分开称重。随后取小块精巢和输精管组织放于 Bouin's 液中固定 24 h 后用于组织切片。分别计算肝胰腺指数 (hepatosomatic index, I_{HS}) 和性腺指数 (gonadosomatic index, I_{GS}) 以及精巢指数 (index of testis, I_T) 和输精管指数 (index of vas deferens, I_{VD})。 I_{HS} (%) = $(W_H/W) 100\%$, I_{GS} (%) = $(W_G/W) 100\%$, I_T (%) = $(W_T/W) 100\%$, I_{VD} (%) = $(W_{VD}/W) 100\%$, 式中, W_H 为肝胰腺重 (单位 g), W_G 为性腺重 (单位 g), W_T 为精巢重 (单位 g), W_{VD} 为输精管重 (单位 g), W 为体重 (单位 g)。

1.4 组织切片

对 Bouin's 液固定的性腺组织进行常规石

蜡切片, 切片厚度 5.0 ~ 7.0 μm , H.E 染色, 中性树胶封片, 在 Leica DM2500 显微镜 (德国徕卡公司生产) 下进行观察, 并采用 Leica DFC295 自动数码摄像系统进行拍照和图片处理 (软件 Leica Application Suite V3.8)。参考管卫兵等 (2009) 的方法将三疣梭子蟹的精细胞分为精原细胞 (spermatogonium, SPG)、初级精母细胞 (primary spermatocyte, PC)、次级精母细胞 (secondary spermatocyte, SC)、精子细胞 (spermatid, SPD) 和成熟精子 (sperm, S); 精荚分为初级精荚 (primary spermatophore, PS) 和次级精荚 (secondary spermatophore, SS)。在显微镜下统计切片上各种精荚的直径。根据雄体性腺中的优势生精细胞, 每期各重复 3 ~ 5 个个体。根据性腺指数及其组织学特征对每月所采样品进行分期, 统计各期样品所占的百分比。

1.5 数据分析

采用 SPSS 18.0 软件对实验数据进行统计分析, 所有数据用平均值 \pm 标准误表示, 用 Levene 法进行方差齐性检验, 当数据不满足齐性方差时对百分比数据进行反正弦或者平方根处理, 采用单因子 ANOVA 对实验结果进行方差分析, 采用 Tukey's-b (K) 法进行多重比较; 当数据转换后仍不满足齐性方差时, 采用

Games-Howell 非参数检验法进行多重比较。取 $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 池塘养殖三疣梭子蟹雄体的生长规律

池塘养殖三疣梭子蟹雄体的体重和壳宽增长最高发生在 8 月。其中体重增长率最高达 346.21%，雄体在 7 至 12 月份的养殖过程中，体重增长率呈现显著下降趋势（图 2a）。各月壳宽增长率变化情况与体重增长率类似，但增

加幅度远低于体重（图 2b）。各月体重和壳宽的特定增长率变化情况见图 3，8 月体重和壳宽特定增长率均最高，12 月最低。整个养殖过程中体重的特定生长率为 6.94，而壳宽的特定生长率仅为 2.52。在池塘养殖三疣梭子蟹雄体生长过程中，壳宽和体重呈显著正相关（ $P < 0.05$, $n = 98$ ），即随着体重的增长，壳宽呈逐渐增加趋势，两者之间为幂函数关系 $y = 0.0001X^{2.9344}$, $R^2 = 0.99$, $P < 0.05$, y 为体重 (g), X 为壳宽 (mm)，回归曲线见图 4。

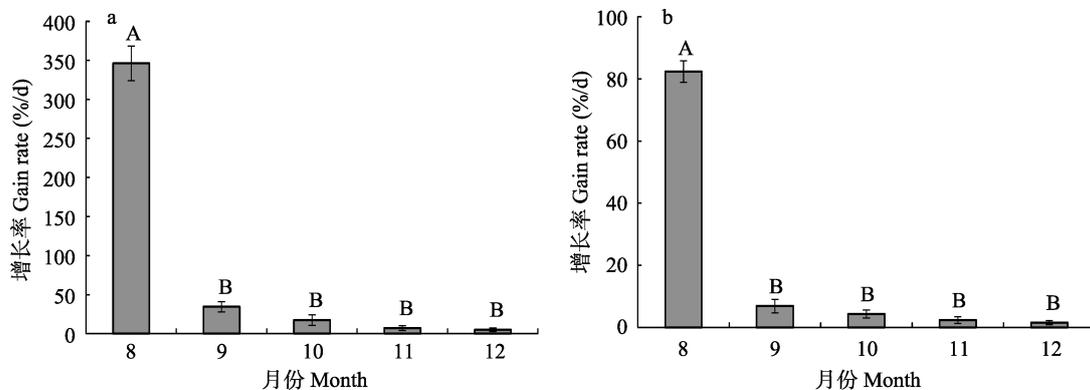


图 2 池塘养殖过程中三疣梭子蟹雄体体重增长率 (a) 和壳宽增长率 (b)

Fig. 2 The gain rate of body weight (a) and carapace width (b) during the culture process of pond-reared male *Portunus trituberculatus*

标注不同字母的数据间差异显著 ($P < 0.05$)。Significant differences between data are marked with different letters ($P < 0.05$).

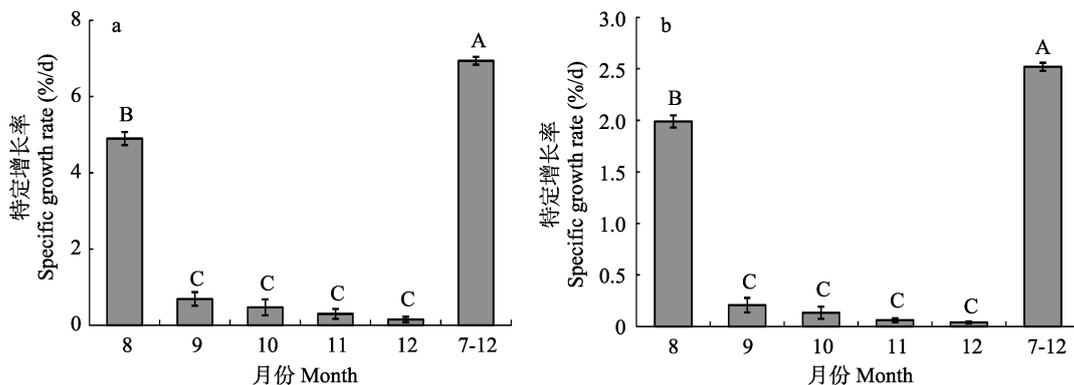


图 3 池塘养殖过程中三疣梭子蟹雄体体重特定增长率 (a) 和壳宽特定增长率 (b)

Fig. 3 The specific growth rate of body weight (a) and carapace width (b) during the culture process of pond-reared male *Portunus trituberculatus*

标注不同字母的数据间差异显著 ($P < 0.05$)。Significant differences between data are marked with different letters ($P < 0.05$).

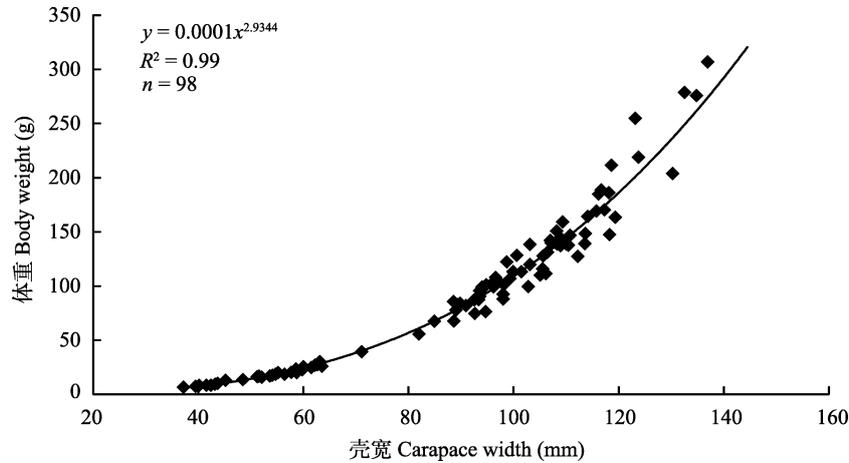


图 4 池塘养殖过程中三疣梭子蟹雄体体重和壳宽的回归曲线

Fig. 4 Regression curves of body weight and carapace width during the culture process of pond-reared male

Portunus trituberculatus

2.2 三疣梭子蟹成熟雄体生殖系统的组成和外观

三疣梭子蟹成熟雄体的整个生殖系统由体外的阴茎和交接器(图 5a)及体内的精巢和输精管(图 5b)两部分组成。体内部分是呈双侧对称的 H 形结构,位于头胸部前外侧,背甲下方(图 5c)。精巢呈乳白色,外开喇叭状,位于头胸甲的前部区域,其内含有不同发育阶段的生精细胞(图 5d)。输精管分为三段,其中,输精管前段是由透明的细管盘曲而成的絮状结构(图 5e),内含少量呈不规则形状的初级精荚(图 5g);输精管中段较长且粗,呈粉色和白色交替的盘曲凝胶管状结构(图 5e),刺破该段输精管在显微镜下很容易发现大量次级精荚及分泌物(图 5h);输精管后段呈透明的盘曲状,内含黏稠的分泌物,并与射精管相连(图 5f)。

2.3 三疣梭子蟹性腺发育过程中的外观和组织学特征变化

根据池塘养殖三疣梭子蟹雄体性腺发育过程中性腺的外观、组织学特征和指数变化,将其性腺发育分为三期。

精子发生期(I期):精巢呈透明或乳白色条带状,体积较小(图 6a)。此期的雄体均处

于生殖蜕壳前,精巢指数在 0.07% ~ 0.16% 之间。7 月份之前,输精管透明,肉眼很难发现,但随着性腺的发育,8 月初可见输精管呈两条平行的管状结构位于体腔内(图 6a)。组织学观察发现,7 月初精巢内的主要细胞类型是精原细胞和初级精母细胞(图 7a)。至 8 月初,精巢的生精小管内可观察到大量初级精母细胞和次级精母细胞及少量精子细胞,输精管内可见少量精荚。此期所有生精细胞均呈嗜碱性。

精荚形成期(II期):精巢呈乳白色条带状(图 6b),体积进一步增大,精巢指数在 0.10% ~ 0.51% 之间。此期的输精管肉眼可见(图 6b),可观察到输精管前段为透明的细管盘曲而成的絮状结构;输精管中段是粉色和白色交替相接的盘曲凝胶管状结构(图 6b),刺破后可观察到大量次级精荚和分泌物;输精管后段为透明的盘曲管状结构。输精管指数在 0.01% ~ 0.41% 之间。此期精巢内以次级精母细胞和精子细胞为主(图 7b),亦可观察到少量成熟精子。输精管前段内可观察到少量三角形的初级精荚和嗜酸性的分泌物,精荚之间排列较为松散(图 7c);输精管中段内可观察到大量椭圆形或圆形次级精荚和嗜酸性分泌物及少量嗜碱性的分泌物(图 7d);输精管后段管腔内仅观察到片状

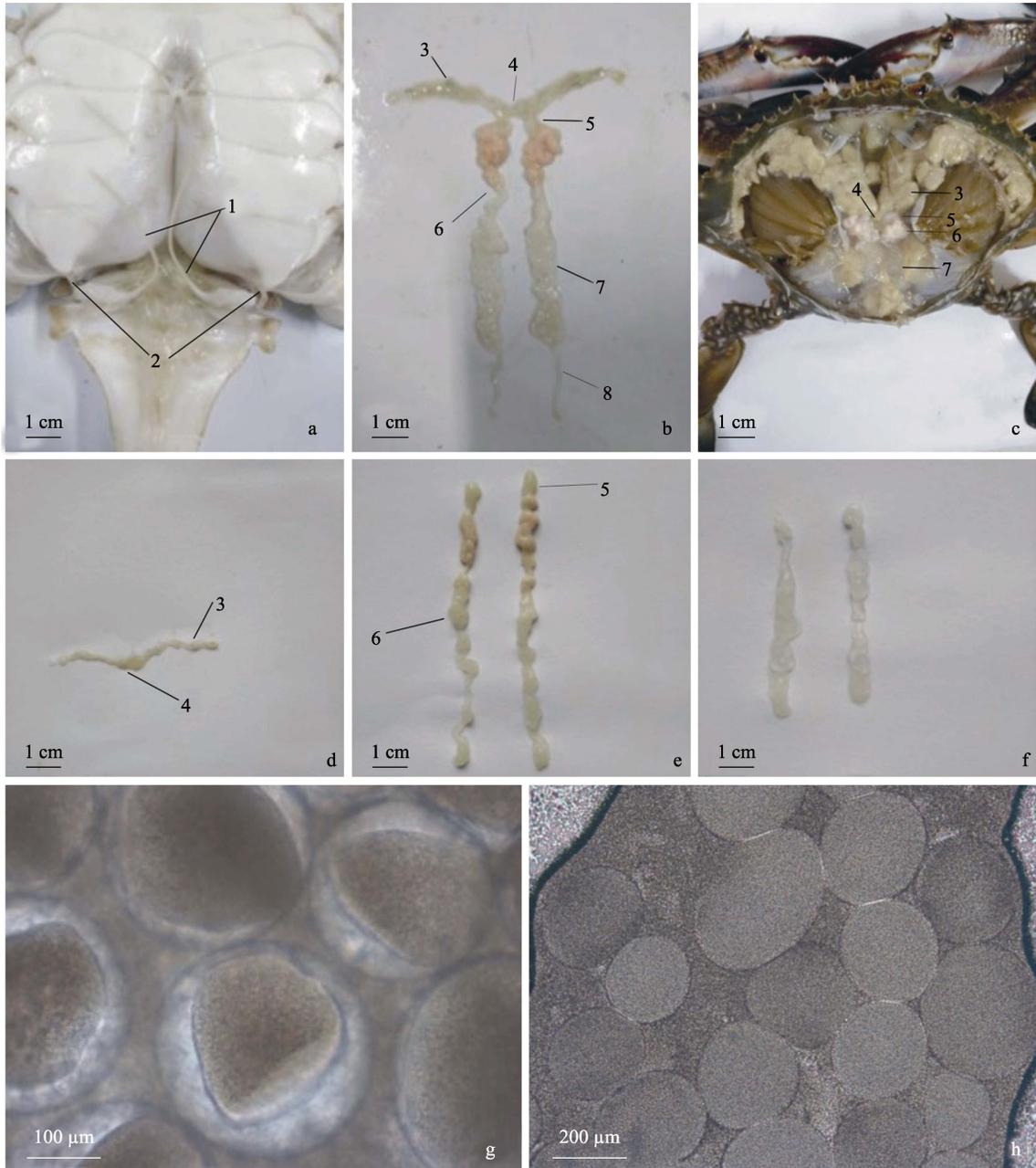


图 5 三疣梭子蟹雄体生殖系统的外观和组成

Fig. 5 The reproductive system components of male *Portunus trituberculatus*

a. 交接器和阴茎; b. 雄性体内生殖系统组成; c. 雄性体内生殖系统外观; d. 精巢; e. 输精管; f. 输精管后段; g. 输精管前段内初级精荚显微照片; h. 输精管中段内次级精荚显微照片。

a. Petasma and penis; b. The composition of inner reproductive system for male; c. Overall appearance of male reproductive system in the body; d. Testis; e. Vas deferens; f. Posterior vas deferens; g. Photomicrographs of primary spermatophore in anterior vas deferens; h. Photomicrographs of secondary spermatophore in median vas deferens.

1. 交接器; 2. 阴茎; 3. 精巢; 4. 横桥; 5. 输精管前段; 6. 输精管中段; 7. 输精管后段; 8. 射精管。

1. Petasma; 2. Penis; 3. Testis; 4. Commissure; 5. Anterior vas deferens; 6. Median vas deferens; 7. Posterior vas deferens; 8. Ejaculatory duct.

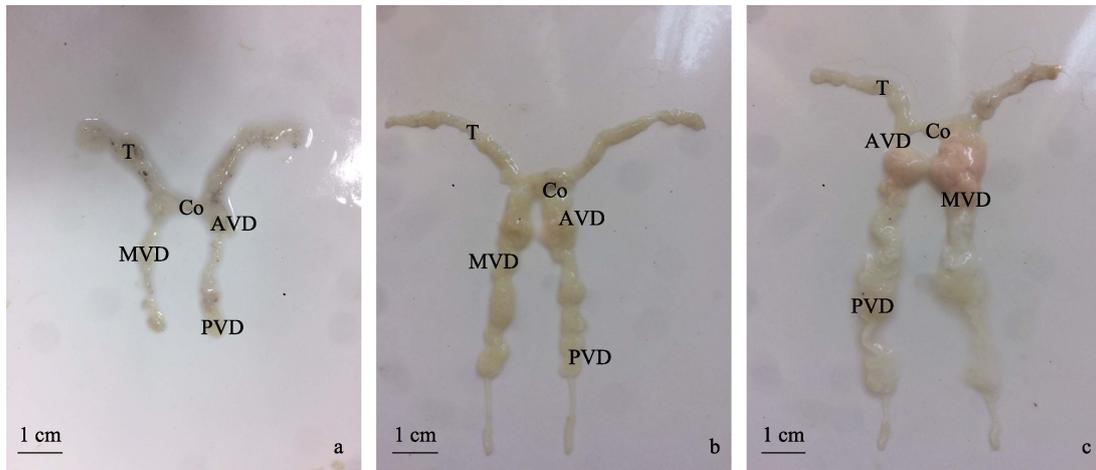


图 6 三疣梭子蟹雄体性腺发育过程中精巢和输精管的外观变化

Fig. 6 Appearance of testis and vas deferens during the gonadal maturation of *Portunus trituberculatus*

a. 精子发生期 (I 期); b. 精荚形成期 (II 期); c. 成熟期 (III 期)。

a. Spermatogenesis (stage I); b. Spermatophore formation (stage II); c. Mature stage (stage III).

AVD. 输精管前段; Co. 横桥; MVD. 输精管中段; PVD. 输精管后段; T. 精巢。

AVD. Anterior vas deferens; Co. Commissure; MVD. Median vas deferens; PVD. Posterior vas deferens; T. Testis.

的嗜酸性分泌物和颗粒状的嗜碱性分泌物。精荚均呈嗜碱性, 此时次级精荚的平均长径为 $(128.71 \pm 3.74) \mu\text{m}$, 平均短径为 $(110.75 \pm 3.29) \mu\text{m}$ ($n = 73$)。

成熟期 (III 期): 精巢的体积较精荚形成期略微变小 (图 6c), 精巢指数在 0.10%~0.41% 之间。输精管体积较精荚形成期更大, 管状结构更粗 (图 6c), 输精管指数在 0.20%~0.65% 之间。精巢内的主要细胞类型为精子细胞和精子 (图 7e), 其均表现为较强的嗜碱性。输精管前段内初级精荚的体积变大, 数量增多, 且排列较为紧密 (图 7f); 输精管中段内次级精荚的体积亦明显增大, 数量增多, 其管腔内充满大量片状嗜酸性分泌物和少量嗜碱性的分泌物 (图 7g); 输精管后段的管腔内亦观察到大量片状嗜酸性分泌物和少量颗粒状嗜碱性分泌物, 无精荚 (图 7h)。此期次级精荚的平均长径为 $(273.90 \pm 7.70) \mu\text{m}$, 平均短径为 $(257.15 \pm 5.98) \mu\text{m}$ ($n = 78$)。

2.4 三疣梭子蟹性腺发育期间性腺指数、肝胰腺指数、精巢指数和输精管指数的变化

池塘养殖三疣梭子蟹性腺发育过程中其性腺指数呈显著增加趋势 (图 8)。性腺从 I 期到 II 期的发育过程中, 性腺指数的增加幅度高达 166%, 而性腺从 II 期到 III 期的发育过程中, 性腺指数的增加幅度降低为 59%。在性腺发育过程中肝胰腺指数呈现先下降后上升的趋势, 但下降幅度仅为 15.17%。统计学分析表明, 池塘养殖过程中三疣梭子蟹的性腺指数与肝胰腺指数无明显的相关性 ($n = 80$, $r = 0.037$, $P > 0.05$)。

进一步分析可知, 在性腺发育过程中精巢指数呈现先上升后下降的趋势, 而输精管指数则一直呈现出上升趋势 (图 9a)。此外, 在精子发生期, 精巢指数占性腺指数的比例最高达 94%, 此后逐渐下降至 24%; 输精管指数在性腺发育期间占性腺指数的比例持续上升, 到成熟期时达到最高 (76%) (图 9b)。

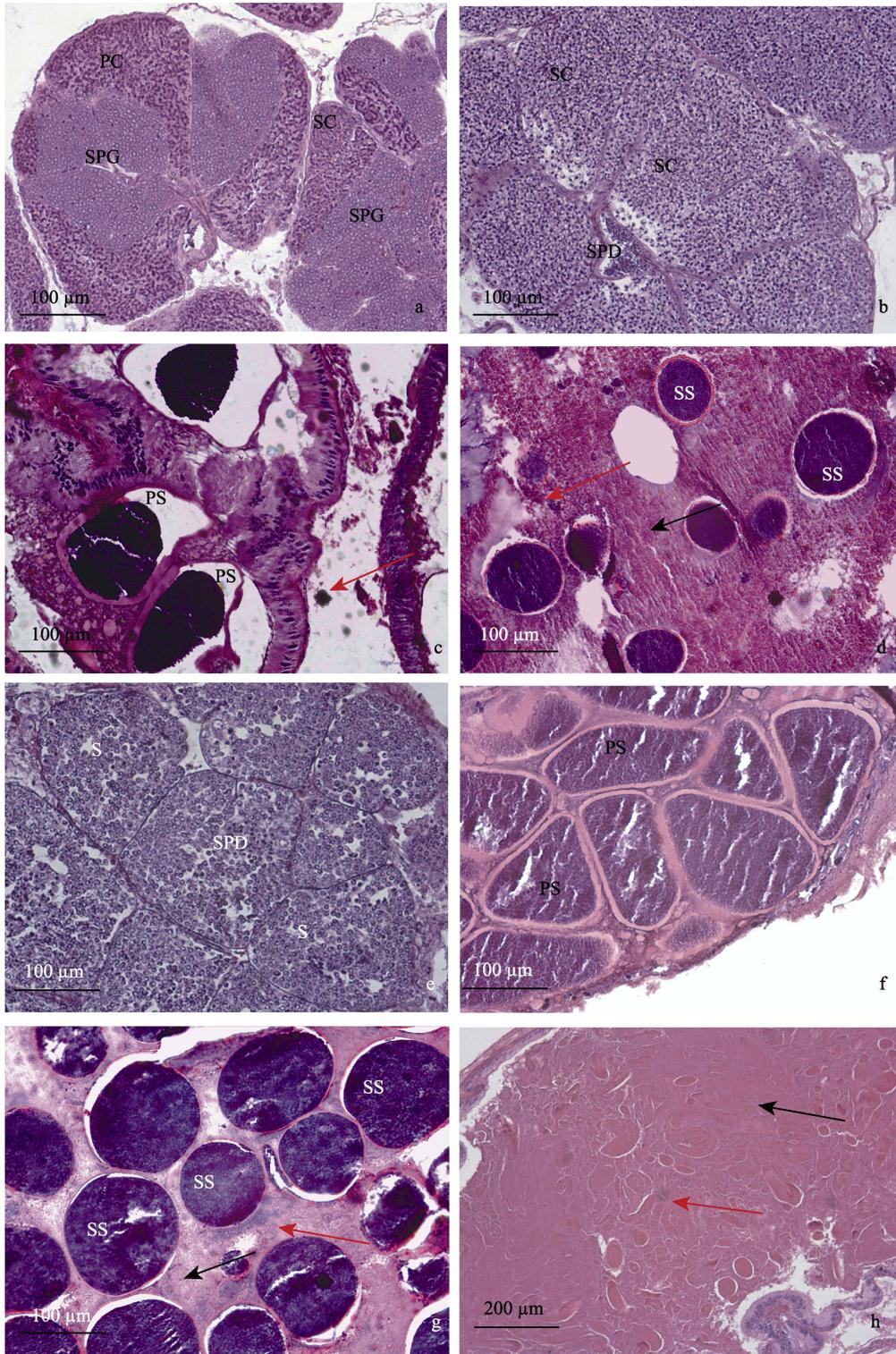


图 7 三疣梭子蟹雄性性腺发育过程中精巢和输精管的组织学变化

Fig. 7 Histological changes of testis and vas deferens during the gonadal maturation of *Portunus trituberculatus* (转下页)

(接上页) a. 精子发生期 (I 期) 精巢; b. 精荚形成期 (II 期) 精巢; c. 精荚形成期 (II 期) 的输精管前段; d. 精荚形成期 (II 期) 的输精管中段; e. 成熟期 (III 期) 精巢; f. 成熟期 (III 期) 的输精管前段; g. 成熟期 (III 期) 的输精管中段; h. 成熟期 (III 期) 的输精管后段。红色箭头指示嗜碱性分泌物; 黑色箭头指示嗜酸性分泌物。

a. Testis in Spermatogenesis stage (stage I); b. Testis in Spermatophore formation stage (stage II); c. Anterior vas deferens in Spermatophore formation (stage II); d. Median vas deferens in Spermatophore formation (stage II); e. Testis in mature stage (stage III); f. Anterior vas deferens in mature stage (stage III); g. Median vas deferens in mature stage (stage III); h. Posterior vas deferens in mature stage (stage III); Red arrows: Basophilic secretions; Black arrows: Eosinophilic secretions.

PC. 初级精母细胞; PS. 初级精荚; S. 精子; SC. 次级精母细胞; SPD. 精细胞; SPG. 精原细胞; SS. 次级精荚。

PC. Primary spermatocyte; PS. Primary spermatophore; S. Sperm; SC. Secondary spermatocyte; SPD. Spermatid; SPG. Spermatogonium; SS. Secondary spermatophore.

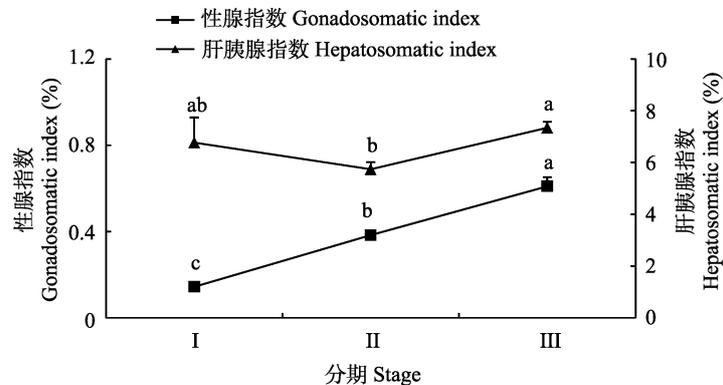


图 8 池塘养殖三疣梭子蟹雄体性腺发育过程中性腺指数和肝胰腺指数

Fig. 8 The gonadosomatic index and hepatosomatic index during the male gonadal development of pond-reared *Portunus trituberculatus*

标注不同字母的数据间差异显著 ($P < 0.05$)。Significant differences between data are marked with different letters ($P < 0.05$).

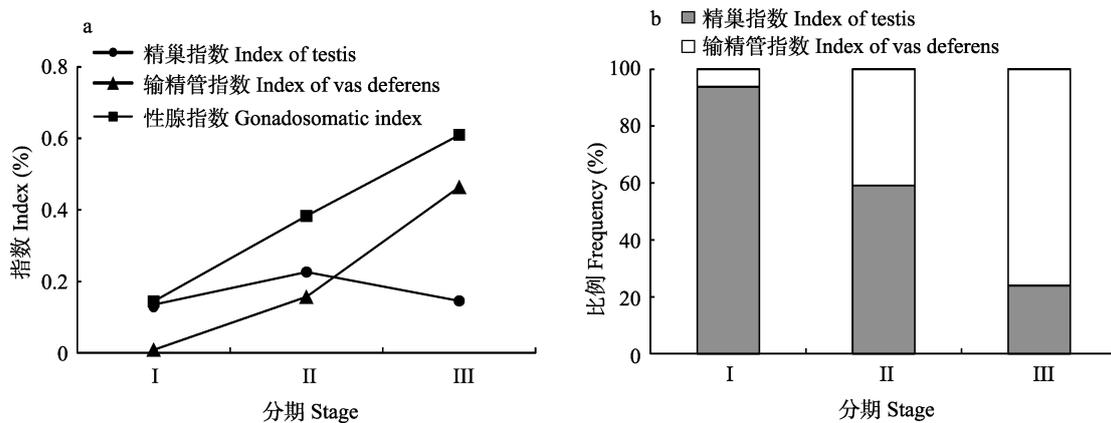


图 9 池塘养殖三疣梭子蟹雄体性腺发育过程中精巢指数、输精管指数 (a) 及其占性腺指数比例 (b)

Fig. 9 The index of testis, index of vas deferens (a) and their proportion (b) to gonadosomatic index during the male gonadal development of pond-reared *Portunus trituberculatus*

2.5 不同月份三疣梭子蟹性腺发育分期、性腺指数和肝胰腺指数的变化

7 月份雄体的性腺发育主要处于精子发生期，此时平均性腺指数和肝胰腺指数分别为 0.08% 和 8.49%；至 8 月底，性腺发育处于精子发生期的雄体比例下降至 24%，而精荚形成期雄体的比例增加至 76%，此时平均性腺指数较 7 月份显著增加至 0.29%，而平均肝胰腺指数却显著降低至 5.93%；9 月底，雄体性腺进一步发育，有 47% 的雄体其性腺发育至成熟期，

此时的平均性腺指数最高，为 0.68%，但平均肝胰腺指数却下降至 5.53%；10 月底，雄体的性腺发育仍处于精荚形成期（42%）和成熟期（58%），此时平均性腺指数却显著降低至 0.52%，而肝胰腺指数略微增加至 5.97%；至 11 月底，处于成熟期雄体的比例增加至 71%，此时平均性腺指数和肝胰腺指数均略微增加；与 11 月底相比，12 月底，采样雄体均基本处于成熟期，此时性腺指数略有下降，肝胰腺指数略有增加，但是差异均不显著（图 10，11）。

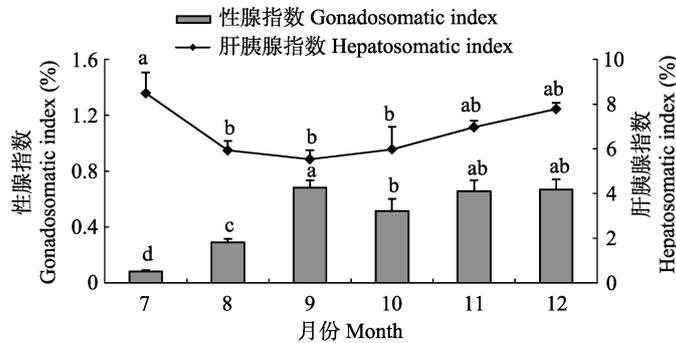


图 10 池塘养殖三疣梭子蟹雄体不同月份的性腺指数和肝胰腺指数

Fig. 10 Monthly variation of gonadosomatic index and hepatosomatic index of pond-reared *Portunus trituberculatus*

标注不同字母的数据间差异显著 ($P < 0.05$)。Significant differences between data are marked with different letters ($P < 0.05$).

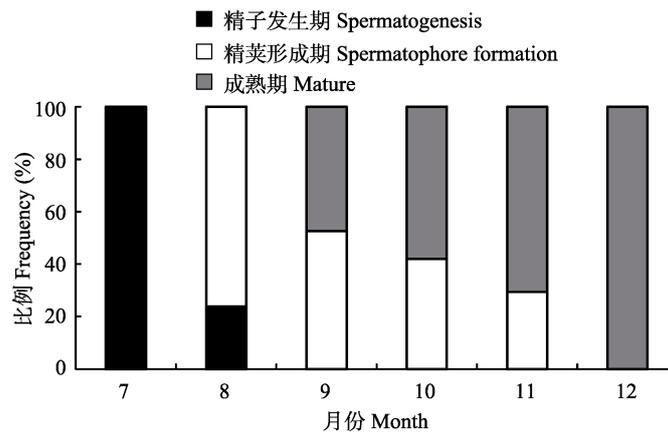


图 11 池塘养殖三疣梭子蟹雄体不同月份的性腺发育分期

Fig. 11 Frequency of occurrence of each male reproductive system developmental stage in different months old of pond-reared *Portunus trituberculatus*

3 讨论

3.1 池塘养殖三疣梭子蟹雄体的生长规律

通常认为蟹类的生长不具延续性, 在每经历一次蜕壳后, 其体重和甲壳宽都会出现明显的增加(王燕飞等 2014)。本研究结果表明, 8 月池塘养殖三疣梭子蟹雄体的平均增重率最高, 而之后各月间的增重率呈现下降趋势。其可能的原因是 8 月份温度较高, 导致三疣梭子蟹蜕壳次数增多, 从而造成较高的增重率(施欧文等 2015, 高天龙等 2016)。若此时在池塘中放置合适的隐蔽物为其提供隐蔽场所, 既可以规避互残习性, 又可以提高养殖成活率(He et al. 2016)。此外, 池塘养殖三疣梭子蟹早期的增重率大于后期, 类似的研究结果亦在锦绣龙虾(*Panulirus ornatus*) (Wu et al. 2011) 和中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*) (Wu et al. 2012) 中发现。本研究发现, 在池塘养殖条件下, 三疣梭子蟹雄体的壳宽与体重之间呈幂函数关系, 这与水泥池中三疣梭子蟹的研究结果类似(高天龙等 2016)。研究表明, 在三疣梭子蟹生长过程中, 每经历一次蜕皮, 其体重和壳宽会出现明显增加, 且雄体体重和壳宽的变化与其所处的生长阶段密切相关(高天龙等 2016)。因此, 建立池塘养殖雄体壳宽与体重的函数关系, 在实际生产中可以利用游标卡尺测量壳宽就可以大致推断出三疣梭子蟹的生长状况, 进而为养殖生产提供方便。

3.2 池塘养殖三疣梭子蟹雄体性腺发育规律及应用

本研究结果表明, 三疣梭子蟹雄体性腺是由精巢和输精管构成的双侧对称 H 形结构, 这与在远海梭子蟹(*Portunus pelagicus*) (Batoy et al. 1989, Stewart et al. 2010) 和青蟹物种 *Callinectes danae* (Zara et al. 2012) 中的结果相一致。其中精巢呈乳白色条带状, 这与管卫兵等(2009)对三疣梭子蟹精子发生规律的研究相一致, 是精子发生的地方。而输精管可分为前、中、后三段, 主要功能为形成精荚、储存

精荚及精液, 类似的研究结果亦在管卫兵等(2009)和李太武(1995)的研究中被报道。但在其他研究中, 可能是由于其物种和标准不同而导致输精管的段数有较大差异, 如美洲红树根螃蟹(*Goniopsis cruentata*)的输精管分为 2 段(Garcia et al. 2006), 青蟹(*Scyllarus chacei*)的输精管分 4 段(Hinsch et al. 1988), 寄居蟹(*Diogenes pugilator*)的输精管 8 段(Manjon-Cabeza et al. 2000)。

目前, 有关蟹类雄体性腺发育分期标准主要有以下几种, 一是以精巢内生殖细胞的主要类型作为依据进行分期(叶海辉等 2002, 马丹丹等 2006, Islam et al. 2012, 2013), 二是以精巢和输精管的外观及组织学变化作为依据进行分期(Shinozaki-Mendes et al. 2011, Silva et al. 2012), 三是以其他的形态学特征作为依据进行分期, 如壳宽(Comeau et al. 1992, Soundarapandian et al. 2013)和大螯的大小(Conan et al. 1986, Akemi et al. 2013)。但值得注意的是, 越来越多的研究由以前仅仅以精巢变化为依据进行性腺发育分期转变成以整个性腺的变化来进行分期, 如蓝蟹 *Callinectes ornatus* (Nascimento et al. 2013) 和蓝色陆地蟹 *Cardisoma guanhumi* (Shinozaki-Mendes et al. 2011)。因此, 本研究通过对三疣梭子蟹雄体性腺发育过程中性腺各部分的外观、组织学特征和指数的变化进行总结, 并以此作为依据, 将三疣梭子蟹雄体的性腺发育分为 3 期, 即为精子发生期、精荚形成期和成熟期。该分期方法简明直观, 可直接应用于三疣梭子蟹的资源保护、养殖管理和繁殖交配等相关生产和科研中。此外, 本研究发现在三疣梭子蟹雄体性腺发育过程中, 精巢的外观和组织学特征在其性腺发育的早期阶段变化较为明显, 而随着性腺的发育, 输精管的外观变化较为明显, 且在三疣梭子蟹雄体性腺发育过程中, 精巢指数占性腺指数的比例呈下降趋势, 而输精管指数占整个性腺指数的比例呈显著上升并在成熟期高达 76%。由此可以看出, 以整个性腺的变化为依

据进行三疣梭子蟹性腺发育分期更为全面和准确。

本研究结果表明, 在 8 至 9 月份三疣梭子蟹雄体的性腺指数急剧增高至 0.68%, 且已经有 47.40% 的雄体进入到成熟期, 这说明雄体此时处于性腺快速发育期, 因此应合理投喂饵料, 为其性腺发育提供充足能量, 进而为下一步的交配提供保障。此外, 由于三疣梭子蟹雌体可食部位比例和营养价值都高于雄体 (Wu et al. 2010), 且三疣梭子蟹群体之间存在严重的种内相残现象, 因此在池塘养殖后期养殖户会剔除部分雄体 (乔振国 2012, 沈烈峰等 2013)。本研究发现池塘养殖雄体的性腺指数在 10 至 12 月份增长较为缓慢, 因此剔除雄体的最佳时间是 10 月份以后, 其不仅可以保证雌体的交配成功率, 而且还可以降低养殖密度和死亡率。

3.3 池塘养殖三疣梭子蟹性腺发育过程中性腺指数和肝胰腺指数的关系

作为甲壳动物重要的营养物质储存器官, 肝胰腺中营养物质的变化与其性腺发育密切相关 (成永旭等 1999)。研究表明, 在三疣梭子蟹卵巢发育期间, 随着其卵巢的不断发育, 肝胰腺指数呈下降趋势, 即肝胰腺指数和卵巢指数呈负相关关系 (吴旭干等 2007, Che et al. 2018)。在本研究中, 随着三疣梭子蟹雄体性腺的发育, 其性腺指数呈显著增加趋势, 而肝胰腺指数则呈先下降后上升的趋势, 且统计学分析表明, 池塘养殖三疣梭子蟹雄体的性腺指数与肝胰腺指数之间无明显的相关性, 这与钝齿螯 (*Charybdis affinis*) 的研究结果类似 (Chu 1999)。其可能的原因是雌雄蟹的性腺发育时间存在差异。通常认为蟹类生殖蜕壳后, 其卵巢开始快速发育 (Kobayashi et al. 1992, 1995, 吴旭干等 2007)。对三疣梭子蟹而言, 其生殖蜕壳后便需进行软壳交配, 雄蟹必须传递一定量的精荚给雌蟹为后期的受精产卵做准备 (宣富君等 2009, 2014), 因此雄蟹的性腺发育时间应远远早于雌蟹。此外, 池塘养殖三疣梭子蟹雄体生殖蜕壳主要发生在 8 月中下旬至 9 月

中上旬 (Che et al. 2018), 此时水温较高, 雄体一方面可通过摄食来满足性腺发育的需要, 另一方面雄体此时的性腺指数很低, 用于产生雄性生殖细胞的成本较低 (Wu et al. 2010, Colpo et al. 2018), 因此无需动用肝胰腺中的营养物质。而雌体卵巢发育和成熟时间较晚, 且后期水温低, 因此需要动用肝胰腺中的营养物质用于卵巢发育 (Che et al. 2018)。

参 考 文 献

- Akemi S, Feitosa S, Jones S, et al. 2013. Reproductive biology of the land crab *Cardisoma guanhumii* (Decapoda: Gecarcinidae) in north-eastern Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 93(3): 761–768.
- Batoy C, Sarmago J, Pilapil B. 1989. Breeding season, sexual maturity and fecundity of the blue crab *Portunus pelagicus* (L.) in selected coastal waters in Leyte and vicinity, Philippines. *Annals of Tropical Research*, 9(3): 157–177.
- Che J, Liu M, Dong Z, et al. 2018. The growth and ovarian development pattern of pond-reared swimming crab *Portunus trituberculatus*. *Journal of Shellfish Research*, 37(3): 521–528.
- Chu K. 1999. Morphometric analysis and reproductive biology of the crab *Charybdis affinis* (Decapoda, Brachyura, Portunidae) from the Zhujiang Estuary, China. *Crustaceana*, 72(7): 647–658.
- Colpo K, López-Greco L S. 2018. Dynamics of energy reserves and the cost of reproduction in female and male fiddler crabs. *Zoology*, 126: 11–19.
- Comeau M, Conan G. 1992. Morphometry and gonad maturity of male snow crab, *Chionoecetes opilio*. *Journal Canadien des Sciences Halieutiques et Aquatiques*, 49(12): 2460–2468.
- Conan G, Comeau M. 1986. Functional maturity and terminal molt of male snow crab, *Chionoecetes opilio*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 43(43): 1710–1719.
- Garcia T, Feitosa S. 2006. Testis and vas deferens morphology of the red-clawed mangrove tree crab (*Goniopsis cruentata*) (Latreille, 1803). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 49(1): 339–345.
- He J, Gao Y, Wang W, et al. 2016. Limb autotomy patterns in the juvenile swimming crab (*Portunus trituberculatus*) in earth

- ponds. *Aquaculture*, 463(1): 189–192.
- Hinsch G, Mcnigh C. 1988. The vas deferens of spanish lobster, *Scyllarus chacei*. *Journal of Invertebrate Reproduction and Development*, 13(33): 267–280.
- Islam M, Kurokura H. 2012. Male reproductive biology of mud crab *Scylla olivacea* in a tropical mangrove swamps. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 7: 194–204.
- Islam M, Kurokura H. 2013. Gonad development and size at maturity of the male mud crab *Scylla paramamosain* (Forsskål, 1755) in a tropical mangrove swamp. *Journal of Fisheries*, 1(1): 7–13.
- Jin M, Wang M, Huo Y, et al. 2015. Dietary lysine requirement of juvenile swimming crab, *Portunus trituberculatus*. *Aquaculture*, 448(6): 1–7.
- Kobayashi S, Matsuura S. 1992. Morphological changes of the exoskeleton of the female japanese mitten crab, according to growth and maturity. *Research on Crustacean*, 21(0): 159–168.
- Kobayashi S, Matsuura S. 1995. Reproductive ecology of the japanese mitten crab *Eriocheir japonicus* (de haan) in its marine phase. *Benthos Research*, 49: 15–28.
- Manjon-Cabeza M, Raso J. 2000. Morphological reproductive aspects of males of *Diogenes pugilator* (Roux, 1829) (Crustacea, Decapoda, Anomura) from southern Spain. *Sarsia*, 85(3): 195–202.
- Nascimento F, Zara F. 2013. Development of the male reproductive system in *Callinectes ornatus* Ordway, 1863 (Brachyura: Portunidae). *Nauplius*, 21(2): 161–177.
- Ng'Ambi J, Li R, Mu C, et al. 2017. The immunostimulatory effect of saponin immersion against *Vibrio alginolyticus*, in swimming crab *Portunus trituberculatus*. *Aquaculture International*, 25(4): 1777–1778.
- Shinozaki-Mendes R, Silva J, Hazin F. 2011. Development of male reproductive system of the blue land crab *Cardisoma guanhumi* Latreille, 1828 (Decapoda: Gecarcinidae). *Acta Zoologica*, 93(4): 390–399.
- Silva L, Martinellimos J, Ferreira M, et al. 2012. Gonadal development in the freshwater crab *Sylviocarcinus pictus* (H. Milne Edwards, 1853) (Brachyura: Trichodactylidae) from the Guama river, state of Para, Brazil. *Anais Da Academia Brasileira De Ciencias*, 84(3): 789–798.
- Soundarapandian P, Ilavarasan N, Varadharajan D. 2013. Reproductive system of flower crab, *Charybdis feriata* (Linnaeus). 2: 701, doi: 10.4172/scientific reports.
- Stewart M J, Stewart P, Soonklang N, et al. 2010. Spermatogenesis in the blue swimming crab, *Portunus pelagicus*, and evidence for histones in mature sperm nuclei. *Tissue & Cell*, 42(3): 137–150.
- Wu X, Cheng Y, Zeng C, et al. 2010. Reproductive performance and offspring quality of wild-caught and pond-reared swimming crab *Portunus trituberculatus* broodstock. *Aquaculture*, 301(1/4): 78–84.
- Wu X, Greg S, Michael H. 2012. Patterns of larval growth, lipid composition and fatty acid deposition during early to mid stages of development in *Panulirus ornatus* phyllosoma. *Aquaculture*, 330(1): 63–73.
- Wu X, Wang Z, Cheng Y, et al. 2011. Effects of dietary phospholipids and highly unsaturated fatty acids on the precocity, survival, growth and hepatic lipid composition of juvenile Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards). *Aquaculture Research*, 42(3): 457–478.
- Zara F, Toyama M, Caetano F, et al. 2012. Spermatogenesis, spermatophore and seminal fluid production in the adult blue crab *Callinectes danae* (Portunidae). *Journal of Crustacean Biology*, 32(2): 249–262.
- 成永旭, 堵南山, 赖伟. 1999. 中华绒螯蟹卵巢和胚胎发育期脂类在卵黄物质中存在的形态及其变化. *动物学杂志*, 34(1): 51–55.
- 程国宝, 史会来, 楼宝, 等. 2012. 三疣梭子蟹生物学特性及繁殖现状. *河北渔业*, (4): 59–61.
- 丁天宝, 刘振华. 2009. 影响梭子蟹池塘养殖成活率的因素及应对措施. *河北渔业*, (8): 21–22.
- 高天龙, 王燕飞, 鲍雪宁, 等. 2016. 单体筐养三疣梭子蟹的蜕壳与生长规律研究. *生物学杂志*, 33(3): 41–47.
- 管卫兵, 宣富君, 戴小杰, 等. 2009. 东海三疣梭子蟹精子发生及精荚形成. *中国水产科学*, 17(2): 173–182.
- 李太武. 1995. 三疣梭子蟹精子的发生及超微结构研究. *动物学报*, 41(1): 41–47.
- 马丹丹, 康现江, 董丽君, 等. 2006. 中华绒螯蟹精巢发育组织学. *水产科学*, 25(6): 291–296.
- 农业部渔业渔政管理局. 2018. 2018 年中国渔业统计年鉴. 北京:

- 中国农业出版社, 22.
- 乔振国. 2012. 海水蟹类安全生产技术指南. 北京: 中国农业出版社.
- 沈烈峰, 伊祥华, 刘长军, 等. 2013. 三疣梭子蟹高产高效养殖技术研究. 河北渔业, (9): 30-34.
- 施欧文, 李荣华, 母昌考, 等. 2015. 不同环境因素对三疣梭子蟹“科甬1号”(Portunus trituberculatus) 仔蟹蜕壳的影响. 海洋与湖沼, 46(4): 870-878.
- 王燕飞, 陈晨, 鲍雪宁, 等. 2014. 三疣梭子蟹“中宁1号”的形态性状增长规律. 水产学报, 38(2): 183-192.
- 吴旭干, 姚桂桂, 杨筱珍, 等. 2007. 东海三疣梭子蟹第一次卵巢发育规律的研究. 海洋学报, 29(4): 120-127.
- 宣富君, 管卫兵, 戴小杰, 等. 2009. 东海三疣梭子蟹纳精囊形态结构与内含物的变化. 动物学杂志, 44(2): 1-11.
- 宣富君, 姜森颢, 卞勋光, 等. 2014. 室内养殖条件下三疣梭子蟹的生殖蜕壳和交配行为. 动物学杂志, 49(4): 579-586.
- 叶海辉, 李少菁, 黄辉洋, 等. 2002. 锯缘青蟹精巢发育的组织学观察. 动物学研究, 23(2): 141-144.
- 俞存根, 宋海堂, 姚光展, 等. 2006. 东海大陆架海域经济蟹类种类组成和数量分布. 海洋与湖沼, 37(1): 53-60.

《动物学杂志》第十二届编辑委员会

名誉主编: 马 勇

主 编: 宋延龄

副 主 编: 赵 勇 彭景榭 孙悦华 梁 冰 (常务)

编 委: (以姓氏笔画为序)

丁长青 马 勇 马志军 马建章 王德华 计 翔 石树群 边疆晖 刘迺发
 孙青原 孙悦华 宋延龄 宋林生 宋昭彬 张正旺 张明海 张春光 张树义
 张堰铭 李 明 李枢强 李保国 李春旺 李新正 杨增明 陈广文 宛新荣
 郑光美 费 梁 赵 勇 赵亚辉 夏国良 徐宏发 桂建芳 梁 冰 彭贤锦
 彭景榭 曾治高 蒋志刚 蒋学龙 谢 锋 戴家银 魏辅文

编 辑: 梁 冰