

# 人工诱导罗氏沼虾同步产卵与卵巢组织学研究

赵维信 魏华

(上海水产大学, 200090)

汪志强 金生仁 周国良

(上海市东海水产养殖公司, 201303)

**摘要** 运用保幼激素类似物—ZR515(JHA—ZR515)诱导罗氏沼虾同步产卵进行了生产性规模试验。每尾雌虾体外点滴 40 $\mu$ l JHA—ZR515(1%浓度),通过体表渗透促进卵巢成熟和产卵。药物处理后 16—17天,产卵率为 41.81%,较常规生产的自然产卵率提高 50.23%。罗氏沼虾卵巢生物学和组织学研究表明,性成熟后的任何发育阶段,卵巢中均存在由卵原细胞组成的生发带和卵黄发生前卵母细胞;即使在雌虾抱卵孵化阶段,卵巢已开始再发育,表明罗氏沼虾在生殖季节的卵子发生是连续的,属一年多次成熟和产卵的类型。

**关键词** 罗氏沼虾,保幼激素类似物,同步产卵,卵巢组织学

罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)个体大、生长快、饲料要求不高,而且人工育苗已成功,因此已成为我国当前淡水池塘养殖结构改革中新的成员。由于人工越冬亲虾的自然产卵相对不集中(一般为 10%—30%产卵率),致使育苗周期长,劳动力消耗大,为了适应育苗规模生产需要,亟待解决人工诱导同步产卵技术。目前,国内外人工诱导虾类产卵的手段主要是采用去除雌虾双侧或单侧眼柄的方法,由于该方法造成盲眼和眼柄部分多种内分泌机能破坏,因此应用上受一定限制。近年来,注射 17 $\alpha$ -羟孕酮或孕酮能诱导日本对虾(*Penaeus japonicus*)血清卵黄蛋白原增加[Yano, 1987],提高日本沼虾(*M. nipponense*)产卵率[虞冰如等, 1990];还发现保幼激素 III 和保幼激素前体——法尼酸甲酯对范氏对虾(*P. vannamei*)离体卵母细胞体积增大刺激作用[Tsukimura 和 Kamemoto, 1991]。以上这些工作均局限于实验室少量活虾或离体试验,我们运用保幼激素类似物—ZR515(JHA—ZR515)促进罗氏沼虾同步产卵,获得 75%产卵率[魏华和赵维信, 1992]。现将这一技术应用于罗氏沼虾育苗规模生产,以确认该技术的可行性及其效果,并结合罗氏沼虾卵巢组织学的相关研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 同步产卵试验亲虾来源

人工诱导罗氏沼虾同步产卵生产性试验在上海市东海水产养殖公司罗氏沼虾育苗工厂进行。繁殖用的亲虾为隔年 10 月中旬起捕进入越冬房的成虾。经室内四个多月越冬饲养,雄虾约为 40g 左右,雌虾约为 30g 左右。越冬水温 20 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C。育苗开始前一个月升高水温至 24 $\pm$

1℃。亲虾越冬水泥池有进排水系统,面积为 10 或 18m<sup>2</sup>,水深 60cm,每个池中放置 3 个充气石。试验用的雌虾绝大部分为当年已产过卵的个体。

## 1.2 药物处理

采用 1%保幼激素类似物—ZR515(JHA—ZR515,由中国科学院昆虫研究所提供)丙酮溶液 40μl,逐滴点滴在每尾雌虾头胸部与腹部交界处[魏 华、赵维信,1992]。每尾雌虾离水处理时间约为 40 秒钟,处理完毕立即放回池中。按常规生产配一定数量雄虾,雄虾不作任何处理。每日投喂 2 次,药物处理后 16—17 天全部出池,检查产卵虾个体数。

## 1.3 卵巢生物学和组织学研究的材料来源

根据以下各生殖阶段:性腺成熟期、生殖蜕壳期、抱桔黄卵期、抱黄灰卵期、抱灰色卵期、卵巢再发育期和卵巢休止期,从常规生产亲虾培育池中分别取样,进行雌虾体重、体长(眼眶前缘至尾柄末端)、卵巢重、抱卵重测定,计算成熟系数。并将成熟卵巢、刚产卵卵巢、抱桔黄卵卵巢、抱灰色卵卵巢和未成熟卵巢进行 Bouin's 液固定,24 小时后换用 70%乙醇固定,按常规组织学进行石蜡切片,H. E 染色,光学显微镜观察与拍照。

# 2 结果

## 2.1 保幼激素类似物—ZR515(JHA—ZR515)诱导同步产卵

于 1992 年 4—5 月共进行三批生产性试验。雌虾不作任何选择,处理剂量 40μl/尾,水温 24℃,平均产卵率为 41.81%(表 1)。同年常规生产条件下,由表 2 可见,罗氏沼虾自然产卵率平均为 27.83%(越冬后的第一批抱卵虾数不计在内),JHA—ZR515 诱导产卵率较常规生产自然产卵率提高 50.23%。

表 1 JHA—ZR515 诱导罗氏沼虾同步产卵的生产试验(水温 24℃)  
Table 1 Productive trials of induced synchronous spawning with JHA—ZR515  
in *Macrobrachium rosenbergii* (water temperature, 24℃)

日期 (1992年)	池号	处理雌虾 (尾)	产卵虾 (尾)	未产卵虾 (尾)	死亡雌虾 (尾)	雄 虾 (尾)	雌:雄	产卵率(%)
4月12日*	7	100	43	—	—	25	4:1	
5月8日**	1	43	21	—	—	24	1.8:1	
	3	76	45	—	—	30	2.5:1	
	4	65	29	—	—	34	1.9:1	
	5月10日*	1	95	45	50	0	14	6.8:1
5月10日*	2	100	40	43	17	15	5.5:1	
	3	100	36	59	5	12	7.9:1	
	4	100	42	53	5	13	7.3:1	
	5	100	27	67	6	10	9.4:1	
	6	100	37	60	3	12	8.1:1	
	7	90	38	52	0	12	7.5:1	
	8	100	44	56	0	14	7.1:1	
总计		1069	447					41.81

注:\* JHA—ZR515 处理后 16 天检查。

\*\* JHA—ZR515 处理后 17 天检查。

表 1 中,5 月 10 日处理的 8 个组,雌雄虾比例均在 5.5 : 1 以上,由于雄虾过少(正常雌雄比值一般 < 5),明显影响产卵率,按检查时的实际雌虾数(总雌虾数减去死亡雌虾数)计算产卵率见图 1。

表 2 常规生产条件下罗氏沼虾  
自然产卵率(水温 24℃)

Table 2 Natural spawning rate of *Macrobrachium rosenbergii* under routine productive conditions (water temperature, 24℃)

日期 (1992 年)	总雌虾 (尾)	产卵虾 (尾)	产卵率 (%)
3 月 15 日	1130	320	
4 月 2 日—3 日	1530	362	
4 月 20 日—22 日	1418	422	
5 月 8 日	1230	377	
6 月 15 日	951	261	
总 计	6259	1742	27.83

注:越冬后的第一批产卵虾未计在内。

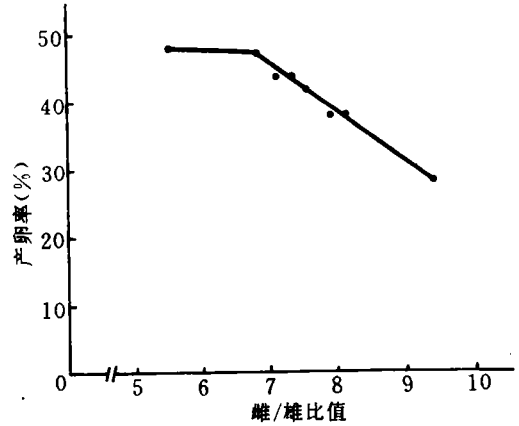


图 1 罗氏沼虾产卵率与雌雄比值的关系

Fig. 1 The relationship between spawning rate and sexual rate in *Macrobrachium rosenbergii*

## 2.2 罗氏沼虾卵巢生物学

表 3 罗氏沼虾不同生殖时期的卵巢生物学参数

Table 3 The biological parameters of ovary at different reproductive stages in *Macrobrachium rosenbergii*

雌虾状态	n (尾)	体重 (g)	体长 (cm)	卵巢 颜色	卵巢重 (g)	成熟系数 (%)	抱卵重 (g)
性腺成熟期	9	26.39±4.34	9.91±0.75	黄	1.86±0.54	7.10±1.84	
生殖蜕壳期	6	25.45±3.77	10.13±0.45	桔黄	2.31±0.57	9.19±2.07	
抱桔黄卵期 (刚产卵)	8	28.91±3.61	10.31±0.22	灰黑	0.15±0.02	0.53±0.06	3.16±0.50
抱黄灰卵期	6	26.24±4.66	10.23±0.59	灰黑	0.20±0.04	0.76±0.15	
抱灰色卵期	4	24.02±2.93	9.60±0.43	绿	0.37±0.12	1.55±0.51	
卵巢再发育期	4	25.22±2.39	9.90±0.08	黄绿	1.19±0.29	4.71±1.03	
卵巢休止期 (卵巢未发育)	8	26.20±5.36	10.03±0.78	灰黑	0.18±0.10	0.70±0.42	

根据罗氏沼虾不同生殖时期的特征 划分成以下七个时期,各期的生物学参数见表 3。

(1)性腺成熟期:该时期从头胸甲外观能见黄色卵巢轮廓,成熟系数为  $7.10 \pm 1.84\%$ 。

(2)生殖蜕壳期:为具软壳或双层几丁质壳的雌虾,头胸甲外观能清楚见到桔黄色卵巢轮廓,成熟系数为  $9.19 \pm 2.07\%$ 。

(3)抱桔黄卵期(刚产卵):为产卵一周内的雌虾,这时雌虾游泳肢所抱的卵呈桔黄色。成熟系数为  $0.53 \pm 0.06\%$ 。

(4)抱黄灰卵期:为产卵一周以上的雌虾,这时雌虾所抱的卵色由早期的桔黄色转变成淡

黄色。成熟系数为  $0.76 \pm 0.15\%$ 。

(5)抱灰色卵期:为产卵两周以上的雌虾,这时雌虾所抱的卵色转变成灰色,外观可见胚胎的复眼。成熟系数为  $1.55 \pm 0.51\%$ 。

(6)卵巢再发育期:幼体孵出 3—4 天,头胸甲外观略见黄绿色卵巢轮廓,卵巢体积明显增大,成熟系数为  $4.71 \pm 1.03\%$ 。

(7)卵巢休止期:幼体孵出 2 周,但卵巢体积未见明显增大,头胸甲外观仍不见卵巢轮廓,成熟系数为  $0.70 \pm 0.42\%$ 。

罗氏沼虾卵巢位于头胸部背面,左右两叶合一成块状,卵巢后端略微分开。未发育的卵巢为背面灰黑色,腹面肉白色,随着卵巢生长,颜色由灰黑色→绿色→黄绿色→黄色→桔黄色。成熟的桔黄色卵巢占据头胸部的大部分,与对虾不同,充分成熟的卵巢仅伸至第一腹节背面。从表 3 可见,罗氏沼虾在抱卵期间,其产卵后的卵巢已开始发育,待幼体全部孵出后 3—4 天,卵巢重量已达临产前卵巢重量的一半。但人工育苗生产中,孵化池中的绝大部分抱卵个体的卵巢在孵化期间无明显发育,头胸甲外观不见卵巢轮廓,甚至至幼体孵出 2 周,卵巢仍未发育。产卵群体表现出极大的产后性腺发育的差异。

体重  $28.91 \pm 3.61\text{g}$  的雌虾,平均抱卵重  $3.16 \pm 0.50\text{g}$ ,平均每尾产卵  $3.38 \pm 0.54$  万粒,每克体重约产卵 1169 粒。在孵化过程中,随着卵内胚胎发育,卵增重明显,桔黄色卵(刚产出不久)每克约 10700 粒,到灰色卵阶段,则每克约为 7080 粒,卵增重 33.8%。

## 2.3 罗氏沼虾卵巢组织学

### 2.3.1 成熟卵巢

样品取自幼体孵出后 22 天的雌虾卵巢,头胸甲外观可见桔黄色卵巢轮廓,成熟系数为 7.6%。卵巢中以充满卵黄颗粒和脂滴球的卵母细胞为主,仍可见少量卵黄发生前卵母细胞和由卵原细胞组成的生发带(图版—1)。

### 2.3.2 刚产卵后卵巢

样品取自当天产卵的雌虾卵巢,成熟系数为 0.53%。卵巢中主要为排空的卵泡组织,另外还有少量卵黄发生前卵母细胞和生发带(图版—2)。

### 2.3.3 初级卵黄发生期卵巢

样品取自抱桔黄色卵的雌虾卵巢,成熟系数为 0.59%。卵巢中最大的卵母细胞正处于初级卵黄发生期,卵质嗜酸性,卵质中出现多层空泡,表明卵黄发生开始。卵母细胞外围的颗粒细胞呈单层包围着卵母细胞,形成较厚的卵泡膜。卵巢中仍可见部分嗜碱性的卵黄发生前卵母细胞,生发带的比例较在刚产卵后的卵巢中的高(图版—3)。

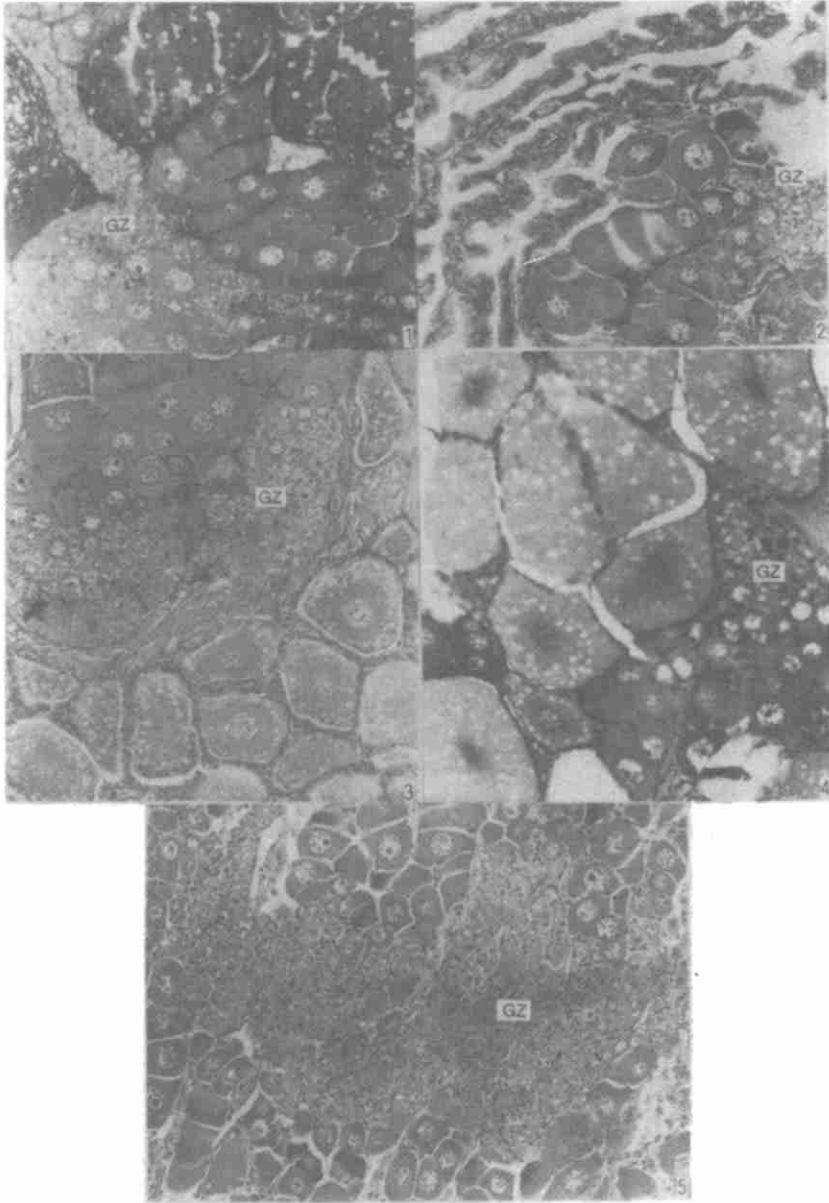
### 2.3.4 次级卵黄发生期卵巢

样品取自抱灰色卵的雌虾卵巢,成熟系数为 1.48%。卵巢中最大的卵母细胞处于次级卵黄发生期,卵母细胞中出现卵黄颗粒和脂滴,卵核相对缩小,并具强的嗜碱性,卵母细胞外周的颗粒细胞变成很薄的一层。卵巢中仍可见部分嗜碱性的卵黄发生前卵母细胞,生发带的比例较在初级卵黄发生期卵巢中的降低(图版—4)。

### 2.3.5 未成熟卵巢(卵黄发生前卵巢)

样品取自产卵后约 25 天的雌虾卵巢,幼体已全部孵出,成熟系数为 0.23%。卵巢中最大的卵母细胞尚未开始卵黄发生,约占卵巢的 60%,生发带发达,约占 30%,两者呈长带状分布

并作相间排列。卵黄发生前卵母细胞的异染色质形成周边核仁,或形成一个较大的核仁。卵母细胞外围的颗粒细胞仅为 3—5 个,尚未形成完整的一层包围卵母细胞(图版—5)。



图版 罗氏沼虾卵巢组织学

Plate The histology of ovary in *Macrobrachium rosenbergii*

1. 成熟卵巢, ×200; 2. 刚产卵后卵巢, ×200; 3. 初级卵黄发生期卵巢, ×200;  
4. 次级卵黄发生期卵巢, ×200; 5. 未成熟卵巢(卵黄发生前卵巢), ×200; GZ. 生发带

### 3 讨论

虾类的传统催熟方法是去眼柄或破坏单侧眼柄,由于眼柄部分存在X器官—窦腺复合体,它分泌的激素参与机体的蜕皮、生殖腺发育、色素运动等的调节。由于X器官—窦腺复合体分泌的生殖腺抑制激素对卵巢和精巢发育有抑制作用,因此,去除或破坏眼柄后,即去除了生殖腺抑制激素的作用,从而使生殖腺发育。由于手术去除或破坏眼柄后不但造成盲眼,同时也破坏了调节机体的其它内分泌机能,因此,亲虾死亡率较高,易感染疾病,还发现去眼柄的亲虾在以后的产卵中,幼体存活率降低等。已知昆虫咽侧体分泌的保幼激素在昆虫幼体阶段有保持幼虫状态,防止变态的作用;而在成虫阶段则具有促进性腺发育的作用[李永才等,1984]。近年来的研究发现,甲壳动物十足目的大颚器产生的法尼酸(farnesoic acid)和法尼酸甲酯(methyl farnesoate)均为昆虫保幼激素的前体,而且认为法尼酸甲酯就相当于昆虫保幼激素[Tobe等,1992],能促进范氏对虾离体卵母细胞体积增大[Tsukimura和Kamemoto,1991]。我们采用外源性JHA—ZR515,通过体表渗透给药方式影响性腺,在小规模实验性试验中获得75%诱导产卵率[魏华、赵维信,1992],进一步说明类似保幼激素结构的活性物质具有促进虾类卵母细胞卵黄发生的作用。有关范氏对虾的离体研究表明,类固醇激素(17 $\alpha$ -羟孕酮)和类萜激素(法尼酸甲酯和保幼激素Ⅲ)对具有晚期周边核仁卵母细胞的卵巢有直接作用[Tobe等,1992]。并证明多种十足目的大颚器能合成和分泌法尼酸甲酯,而法尼酸甲酯的合成与分泌又与卵巢生长相关[Couch等,1987]。超微结构研究表明,大颚器具有与昆虫咽侧体相似的结构特征[Couch等,1976]。本研究结果提示罗氏沼虾的生殖调节作用也可能与其大颚器的分泌机能有关。

笔者对罗氏沼虾不同生殖时期的卵巢重量、成熟系数和卵巢组织学研究表明,罗氏沼虾的卵巢在繁殖季节的发育是连续的,即使在抱卵孵化阶段,卵巢已开始增重,待幼体孵出时,卵巢中的卵母细胞已发育到卵黄颗粒沉积阶段(次级卵黄发生期),这部分雌虾经两周培育后可以再次产卵。Ang等人对天然河流中捕获的罗氏沼虾卵巢形态学研究表明,在抱卵孵化阶段的雌虾卵巢不断增重,卵母细胞的卵径不断增大[Ang等,1990]。但是,用于人工育苗中的繁殖群体,大部分雌虾在产卵后,卵巢未能继续发育,停留在卵黄发生前卵母细胞阶段,直至幼体全部孵出,进行分池培育时卵巢才得以再次发育。这是由于孵化池中投放的抱卵虾密度较大(约20尾/m<sup>2</sup>),以便能较集中地捞出刚孵出的蚤状幼体,而投喂相对不足,孵化后期甚至不投喂,以免影响水质,致使卵巢的发育差异甚大。Pandian和Balasundarana[1982]对饲养在水簇箱中的一种产于印度的沼虾(*M. nobilii*),进行蜕皮和产卵周期研究表明,该虾一次产卵后,39%的雌虾性腺不进行连续发育,性腺进入休止期(静止期),直至下一次蜕皮,甚至经历三次蜕皮后,性腺才开始重新发育,这种性腺发育是间断性的,称之为跳跃式的产卵周期;61%的雌虾在产卵后,其性腺继续发育,在下次蜕皮后即产卵。他们还发现,若除去雌虾所抱的卵,则能提高连续进入生殖周期的雌虾数量,提高产卵频率,年产卵量可提高1.5倍。由于抱卵虾在孵化阶段,腹肢不断划水,而且划水频率在孵化后期增高一倍以上,从而消耗大量能量,倘若不能从摄食获得额外能量补充以保证机体能量的分配利用,就会抑制性腺再发育。而天然水体空间较大,营养和氧气条件充足,明显优于人工监禁养殖环境,这可能是天然水体中绝大部分抱卵个体性腺能继续发育的原因。本研究也发现,在养殖密度较低(5尾/m<sup>2</sup>)的亲虾池中,

凡抱卵的雌虾,绝大部分性腺又继续发育,进一步说明产后性腺的连续发育与否,直接与养殖环境条件有关。

卵巢组织学研究表明,任何生殖时期的卵巢中均存在由卵原细胞组成的生发带,这与 Ang 等人描述的生殖核相一致。生发带在卵巢中所占的比例以卵黄发生前的卵巢比例最高,约占 30%,60%为早期卵黄发生前卵母细胞。进入卵黄发生阶段后,生发带所占比例明显降低。在刚产卵后的卵巢中,生发带仅占极小的比例,随后,生发带的卵原细胞不断增殖,细胞数量迅速增加,生发带扩大,同时一部分卵原细胞发育成早期卵黄发生前卵母细胞。在一个生殖群体中,由于营养、空间等条件限制,部分个体的卵巢就停留在此阶段,进入休止期,经历一个或几个蜕皮周期 [Pandian 和 Balasundaram, 1982],卵巢开始继续发育,进入卵黄发生阶段。罗氏沼虾卵巢生发带的存在正是该虾在生殖季节卵子连续发生和多次产卵的基础;应用外源激素提高同步产卵率则可能是通过激素刺激性腺发育,减少进入性腺休止期的个体,从而增加产卵率。

本文为上海市科学技术发展基金资助项目的部分内容。上海水产大学 1991 和 1992 届毕业生蒋争春、况梓云和施卫国参加部分工作,张敏同志协助拍摄照片,在此一并致谢。

### 参 考 文 献

- [1] 李永才、黄溢明(主编),1984。比较生理学,200—272。高等教育出版社(京)。
- [2] 虞冰如等,1990。人工诱导青虾成熟和产卵。水产科技情报,(3): 66—68。
- [3] 魏华、赵维信,1992。保幼激素类似物及 $17\alpha$ -羟孕酮对罗氏沼虾的产卵作用。上海水产大学学报,1(1—2): 66—70。
- [4] Ang, K. J. *et al.*, 1990. Some aspects of the morphology and histology of the ovary of the Malaysia freshwater giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de man). *The Second Asian Fisheries Forum*, pp. 991. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.
- [5] Couch, E. F. *et al.*, 1976. Ultrastructural study and radioimmunological evidence for progesterone production in the mandibular gland of the lobster, *Homarus americanus*. *Biol. Bull.*, 155: 433.
- [6] ———, 1987. Regional differences in methyl farnesoate (MF) production by the mandibular organ (MO) of the lobster. *Am. Zool.*, 27: 68.
- [7] Pandian, T. J. and C. Balasundaram, 1982. Moulting and spawning cycles in *Macrobrachium nobilii*. In B. New Michael (Ed.), *Giant Prawn Farming*. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam—Oxford—New York, pp. 59—71.
- [8] Tobe, S. S. *et al.*, 1992. Juvenile hormone-related compounds in crustaceans; regulation of biosynthesis. *Third Asian Fisheries Forum*. pp. 8. Asian Fisheries Society, Singapore.
- [9] Tsukimura, B. and F. I. Kamemoto, 1991. In vitro stimulation of oocytes by presumptive mandibular organ secretions in the shrimp, *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 92: 59—66.
- [10] Yano, I. 1987. Effects of  $17\alpha$ -hydroxyprogesterone on vitellogenin secretion in kuruma prawn, *Penaeus japonicus*. *Aquaculture*, 61: 49—57.

**INDUCED SYNCHRONOUS SPAWNING  
IN GIANT FRESHWATER PRAWN  
(*MACROBRACHIUM ROSENBERGII*)**

Zhao Weixin and Wei Hua

(*Shanghai Fisheries University, 200090*)

Wang Zhiqiang, Jin Shengren and Zhou Guoliang

(*Shanghai Donghai Aquatic Breeding Corporation, 201303*)

**ABSTRACT** A productive scale trial production on inducing synchronous spawning in giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* has been conducted. 1% juvenile hormone analogue—ZR515 (JHA—ZR515) 40 $\mu$ l per individual was dropped on the prawn body surface. JHA—ZR515 permeated through the integument to stimulate the ovary maturation and spawning. After 16—17 days treatment spawning rate reached 41.81%, it was 50.23% higher than that of the routine production. The investigation of ovarian biology and histology of *M. rosenbergii* showed that the ovary of this prawn is redeveloping even the females berried with eggs. The previtellogenic oocytes and germinative zone with oogonia are always existed at any developmental stage of mature ovary. The results indicate that the oogenesis occurred continuously, and *M. rosenbergii* is a multiple brooder in a year.

**KEYWORDS** *Macrobrachium rosenbergii*, juvenile hormone analogue, synchronous spawning, histology of ovary