

三疣梭子蟹蜕皮周期的分期

沈洁, 朱冬发*, 胡则辉, 亓一舟, 汪春建
(宁波大学应用海洋生物技术教育部重点实验室, 浙江 宁波 315211)

摘要: 采用形态学特征观察法对三疣梭子蟹蜕皮周期的划分进行了研究, 并将三疣梭子蟹蜕皮周期划分为蜕皮后期、蜕皮间期、蜕皮前期和蜕皮期。结果显示, 根据甲壳硬度变化蜕皮后期被分成A期(身体各部位很软)、B期(背甲边缘变硬, 腮区、心区尚软); 根据游泳足趾节末端新旧表皮基线间距/旧表皮厚度的比值(R 值)结合解剖后新壳的生长状况, 蜕皮前期被细分为 D_0 亚期($0 < R \leq 0.4$)、 D_1 亚期($0.4 < R \leq 0.65$)、 D_2 亚期($0.65 < R \leq 0.9$)、 D_3 亚期($R \approx 1$)和 D_4 亚期($R \approx 1$, 新旧壳可完全分离)5个亚期; 头胸甲腹面和螯足长节背面蜕皮缝的裂开是进入蜕皮期的先兆。

关键词: 三疣梭子蟹; 蜕皮周期; 蜕皮分期

中图分类号: Q 178.1; S 917.4

文献标志码: A

在甲壳动物个体发育过程中存在蜕皮现象, 即蜕去旧的外骨骼并长出新的外骨骼的过程。蜕皮是甲壳动物生长和发育的标志特征, 它贯穿甲壳动物个体发育的始终^[1-2]。掌握虾蟹类蜕皮规律, 阐明其蜕皮调控机制对提高虾蟹类人工繁育的存活率, 加速生长, 防止性早熟, 提高养殖产量具有十分重要的意义^[3-4]。虾蟹类蜕皮周期的分期是一项极其重要的基础性工作, 是开展蜕皮调控机制研究的前提。十足目甲壳动物的蜕皮周期可分为蜕皮后期、蜕皮间期、蜕皮前期和蜕皮期4个期, 每个期又可分成多个亚期^[5-6]。目前, 甲壳动物蜕皮周期的划分方法有形态特征观察法和显微结构观察法。O' HALLORAN等^[7]根据雪蟹(*Chionoecetes opilio*)甲壳硬度、颜色变化及颚足外肢末端表皮及刚毛的生长情况将其蜕皮周期分成 A_1 、 A_2 、B、 C_1 、 C_2 、 C_3 、 C_4 、 D_0 、 D'_1 、 D''_1 、 D'''_1 、 D'_2 、 D''_2 、 D'_3 14个期。根据腹肢表皮及新刚毛的形成和生长情况, MILLS等^[8]对淡水小龙虾(*Parastacoides tasmanicus*)、LONGMUIR^[9]对墨吉对虾(*Penaeus merguensis*)的蜕皮前期进行了

细分。形态特征观察法简洁实用, 适用于所有十足目甲壳动物, 但不够精细准确。BENHALIMA等^[10]对雪蟹步足掌节的外骨骼进行了显微结构观察并细分了其蜕皮前期。显微结构观察法精细而准确, 但耗时长且较繁琐, 不适宜现场采样和样品数量很大时的蜕皮分期。

三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)是中国沿海重要的大型海产经济蟹类, 但有关三疣梭子蟹蜕皮分期的研究国内外迄今未见报道。为了建立在生产上既准确、简便、快速, 又不伤害三疣梭子蟹蜕皮分期的活体观察方法, 我们依据游泳足趾节末端新旧表皮基线间距与旧表皮厚度的比值(R 值), 并结合甲壳硬度、解剖后新壳的生长状况、蜕皮缝的开裂状况等形态学特征, 对三疣梭子蟹蜕皮周期的划分进行了研究。

1 材料与方 法

1.1 材 料

实验用野生三疣梭子蟹头胸甲宽(CW)为

收稿日期:2011-03-15

修回日期:2011-06-29

资助项目:国家自然科学基金项目(40976098);浙江省科技计划(2008C22048)

通讯作者:朱冬发, E-mail: zhudongfa@nbu.edu.cn

8~12 cm, 体质量(BW)为45~80 g, 暂养于宁波市宁海县得水育苗场。

1.2 观察、拍照

用解剖剪剪下游泳足趾节末端置于干净载玻片上于OLYMPUS CX21FS显微镜下观察、拍照。

1.3 分期方法

根据蜕皮后甲壳硬度的变化和游泳足表皮生长从薄到厚的渐变过程将蜕皮后期分为A和B两个期;根据R值变化(图1),结合解剖后观察到的新壳生长状况,将蜕皮前期细分为D₀、D₁、D₂、D₃和D₄5个亚期。

$R = \text{趾节末端新旧表皮基线间距}(D) / \text{旧表皮厚度}(C) = (5+6) / (2+3+4)$

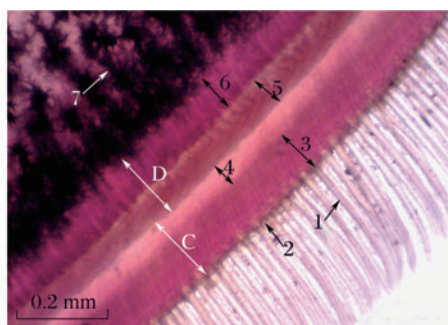


图1 刚开始蜕皮的三疣梭子蟹游泳足趾节末端结构

1. 旧壳刚毛; 2. 旧壳上表皮; 3. 旧壳外表皮; 4. 旧壳内表皮; 5. 新壳刚毛; 6. 新壳上表皮和外表皮; 7. 色素层; C. 旧表皮厚度; D. 新旧表皮基线间距。

Fig. 1 The terminal of dactyl segment in the swimming leg of *P. trituberculatus* during early ecdysis

1. Old setal; 2. Old epicuticle; 3. Old epicuticle; 4. Old endocuticle; 5. New setal; 6. New epicuticle and exocuticle; 7. Pigment layer; C. Old cuticle thickness; D. Distance between new and old cuticle.

2 结果

三疣梭子蟹的蜕皮周期可人为地划分为蜕皮后期、蜕皮间期、蜕皮前期、蜕皮期4个期。

2.1 蜕皮后期(A/B)

刚蜕皮的三疣梭子蟹体内含水量较高, 体积

比蜕皮前增加30%~40%, 继续吸水, 身体柔软似嫩豆腐, 可随意弯曲, 此为A期, 此阶段一般持续2~3 h。蜕皮后4~24 h的梭子蟹处于B期, 水分较A期明显减少, 表面粗糙, 背甲边缘变硬, 腮区、心区稍软。游泳足趾节末端结构观察表明, 从A期(图2-1)到B期(图2-2), 表皮厚度明显增加, 至B期末, 表皮厚度约为A期的2倍(表1)。

2.2 蜕皮间期(C)

身体各个部位甲壳的全部硬化标志着蜕皮间期的开始, 体内含水量进一步下降, 营养物质开始积累为下次蜕皮做物质准备。解剖打开后, 新壳尚未见形成。游泳足趾节末端表皮厚度达到最大, 新表皮还未开始形成(图2-3)。

2.3 蜕皮前期(D)

根据游泳足趾节末端新旧表皮生长变化, 蜕皮前期被细分为D₀、D₁、D₂、D₃和D₄5个亚期(图2)。D₀亚期(图2-4): 新表皮开始分泌, $0 < R \leq 0.40$; D₁亚期(图2-5): 新表皮继续分泌, 上表皮分泌完成, 新旧表皮基线有一定间距, $0.40 < R \leq 0.65$; D₂亚期(图2-6): 外表皮开始分泌, 新旧表皮基线间距拉大, $0.65 < R \leq 0.90$; D₃亚期(图2-7): 外表皮继续分泌, 新旧表皮基线间距进一步拉大, $R \approx 1$; D₄亚期(图2-8): 外表皮分泌完成, 解剖时新壳与旧壳完全脱离, 新旧表皮基线间距接近蜕皮中的距离, $R \approx 1$ 。

2.4 蜕皮期(E)

蜕皮时, 腹部鼓胀, 旧壳与新壳开始分离(图3-1), 头胸甲腹面的蜕皮缝(图3-5)和螯足长节背面的蜕皮缝同时裂开(图3-6)。随后, 背部旧壳隆起, 整个身体收缩摆动, 旧壳与新壳分离(图3-2), 头胸部率先蜕出, 步足及腹部相继蜕出, 螯足因各节较大, 蜕皮最难也最迟。刚蜕完壳的三疣梭子蟹消耗大量能量而软弱无力(图3-3)。整个身体因吸收大量水分较蜕下的旧壳(图3-4)体积明显增大(图3-3)。蜕皮过程中游泳足趾节末端结构观察见图1, $R = 1.06 \pm 0.02$, 从图中可清晰看到, 新旧表皮刚毛、上表皮、外表皮、内表皮等。

三疣梭子蟹蜕皮周期分期特征汇总见表1。

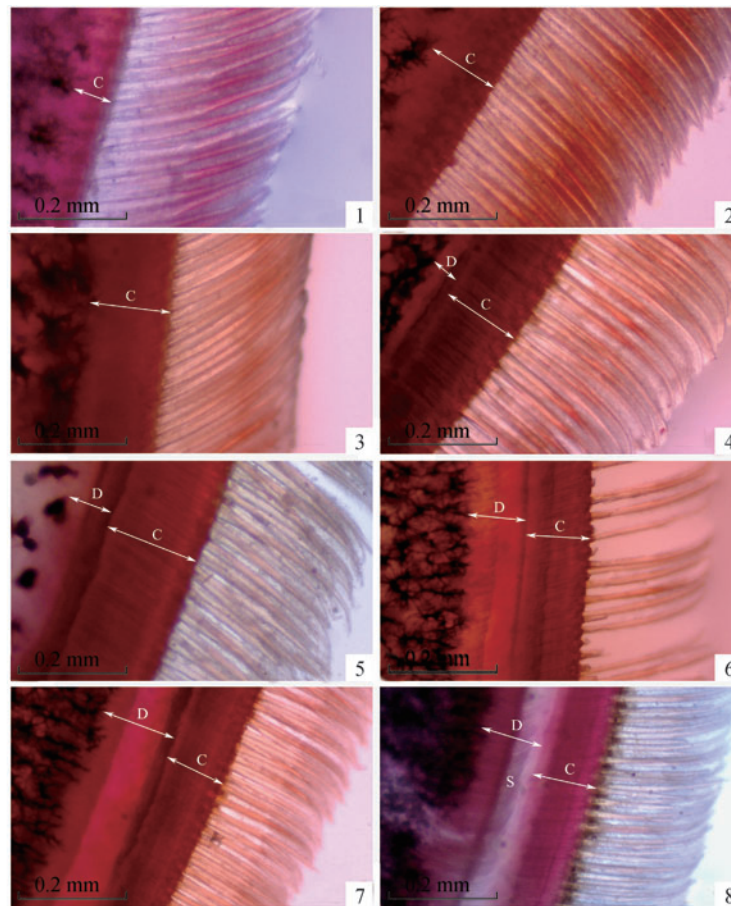


图 2 蜕皮周期中游泳足趾节末端结构观察

1. A 期; 2. B 期; 3. C 期; 4. D₀ 亚期; 5. D₁ 亚期; 6. D₂ 亚期; 7. D₃ 亚期; 8. D₄ 亚期; C: 表皮厚度; D: 新旧表皮基线间距; S: 新壳刚毛。

Fig. 2 The terminal of dactyl segment in the swimming leg of *Portunus trituberculatus* during the molt cycle

1. Stage A; 2. Stage B; 3. Stage C; 4. Substage D₀; 5. Substage D₁; 6. Substage D₂; 7. Substage D₃; 8. Substage D₄; C: Cuticle thickness; D: Distance between new and old cuticle of the dactyl segment; S: New setal.

表 1 三疣梭子蟹蜕皮周期分期特征描述

Tab. 1 Description of molt stages of *Portunus trituberculatus*

时期 period	阶段 stage	甲壳硬度 carapace rigidity	表皮厚度/mm cuticle thickness	$R = D/C$	解剖后新壳的生长情况 growth of the new carapace after dissection
蜕皮后期 postmolt	A 期	各个部位非常柔软,体内充满水,可随意弯曲	10 ~ 20		无
	B 期	背甲边缘变硬,腮区,心区稍软,水分减少,表面粗糙	20 ~ 35		无
蜕皮间期 intermolt	C 期	身体各部位均变硬	35 ~ 45		无
蜕皮前期	D ₀ 亚期	身体各部位很硬		$0 < R \leq 0.4$	开始分泌,但不成形
	D ₁ 亚期	身体各部位很硬		$0.4 < R \leq 0.65$	呈很薄的膜状粘附于旧壳上
	D ₂ 亚期	身体各部位很硬		$0.65 < R \leq 0.9$	膜状新壳变厚,仍粘附于旧壳上
	D ₃ 亚期	头胸甲腹面和螯足长节背面蜕皮缝裂开,均呈一小缝		$R \approx 1$	基本分泌完成,新壳边缘处仍粘附于旧壳上,中间部分脱离旧壳
	D ₄ 亚期	头胸甲腹面和螯足长节背面蜕皮缝进一步裂开		$R \approx 1$	分泌完成,可完全脱离旧壳,开始吸水。
蜕皮期 molt	E 期	头胸甲腹面和螯足长节背面蜕皮缝完全裂开,新壳柔软清晰可见		$R = 1.06 \pm 0.02$	新壳与旧壳分离,在隆起的旧壳下,新壳清晰可见,进一步吸水。



图3 三疣梭子蟹蜕皮过程和蜕皮缝的观察

1. 刚开始蜕皮; 2. 蜕皮中; 3. 刚蜕完皮的软壳蟹; 4. 蜕下来的旧壳; 5. 蜕皮时, 头胸甲腹面的蜕皮缝裂开, 新壳清晰可见; 6. 蜕皮时, 螯足长节背面的蜕皮缝裂开。

Fig. 3 Molt process of *P. trituberculatus* and the observation of the ecdysial suture

1. Early ecdysis; 2. Ecdysis; 3. Soft crab of early postmolt; 4. Old carapace; 5. The ecdysial suture opens in the ventral surface of thoracic and the new carapace can be seen clearly; 6. The ecdysial suture in the dorsal of cheliped merus.

3 讨论

3.1 十足目甲壳动物蜕皮分期依据

虾蟹类蜕皮分期方法有以附肢刚毛生长为基础的形态学特征观察法^[11-12]和表皮显微结构观察法^[13]。由于表皮及刚毛形态结构存在差异, 虾蟹类蜕皮分期依据因种而异。PROMWIKORN等^[14]在研究斑节对虾(*Penaeus monodon*)时根据其尾肢刚毛基部刚毛锥的形成状况及其与上皮组织间距的大小将其蜕皮周期分成A、B、C、D₀、D₁、D₂、D₃、D₄、E 8个期。AIKEN^[15]在细分美国龙虾(*Homarus americanus*)的蜕皮周期时也应用了此划分依据。LONGMUIR^[9]认为墨吉对虾的蜕皮是随着腹肢基部新刚毛锥的形成和旧刚毛锥的脱落而进行的, 并据此对其蜕皮周期进行了细分。

研究结果表明, 该分期依据精确而实用, 普遍适用于虾类。REAKA^[16]研究十足目甲壳动物的蜕皮周期时发现刚毛锥结构存在于虾类而不存在于蟹类。MORIYASU等^[17]在研究雪蟹蜕皮周期时取小颚内肢观察没有发现类似刚毛锥结构的存在, 但发现从蜕皮后期到蜕皮期整个过程中表皮生长从薄到厚, 新旧表皮间距逐渐变大, 从D期至E期新壳刚毛的形成及生长具有很强的规律性, 并以新刚毛的生长程度为分期依据细分了雪蟹的蜕皮周期。ANDRIEUX^[18]在研究普通滨蟹(*Carcinus maenas*)的蜕皮周期时亦未发现刚毛锥结构, 并认为MORIYASU等^[17]的分期依据同样适用于细分普通滨蟹的蜕皮前期。我们在观察三疣梭子蟹游泳足趾节末端新旧表皮变化时, 也没有发现刚毛基部的刚毛锥结构。由此可见, 蟹

类附肢刚毛基部不存在刚毛锥结构,附肢新旧表皮变化及新刚毛的形成和发育状况作为分期依据非常有效,普遍适用于蟹类。此外,在细分虾蟹类蜕皮前期时,有些学者^[19-22]不仅观察了新刚毛的生长变化,还特别考察了附肢新刚毛管套的发育状况。

3.2 蟹类蜕皮分期方法的比较

蟹类主要以观察附肢新旧表皮变化及刚毛的生长程度并结合甲壳硬度和颜色的变化作为划分蜕皮周期的依据。但由于种类不同,具体的分期方法亦有所差异。O'HALLORAN 等^[7]选择颚足外肢末端、MORIYASU 等^[17]选择小颚内肢基部作为观察点,根据新旧表皮及刚毛的生长情况对雪蟹的蜕皮前期进行了细分。但颚足和小颚均较小,不易解剖,而且取材具伤害性。我们在对三疣梭子蟹的蜕皮周期进行划分时,选择游泳足趾节末端作为观察点。三疣梭子蟹趾节末端呈扁平半透明状态易于显微观察,且适于进行活体观察,对实验蟹无伤害。FREEMAN 等^[23]根据甲壳硬度变化将可口美青蟹(*Callinectes sapidus*)的蜕皮后期分成软壳蟹、皮壳蟹、纸壳蟹 3 个期,但后两个期仅凭感觉判断时间上均为蜕皮后 4~18 h,不易区分。根据蜕皮后各个部位甲壳硬度变化不同,我们将三疣梭子蟹的蜕皮后期分成了 A、B 两个期,A 期身体各部位都很软,B 期背甲边缘变硬,仅心区和腮区还较软。此外,游泳足趾节末端观察表明,表皮厚度从 A 期到 B 期明显增加,与甲壳变硬相对应,该分期方法较可口美青蟹蜕皮后期分期方法更准确和可靠。BENHALIMA 等^[10]采用表皮显微结构观察法,以新旧表皮(上表皮、外表皮、内表皮)的结构变化为依据将雪蟹的蜕皮前期分成了 D₀、D₁、D₂、D₃ 和 D₄ 5 个期。此方法可精细准确地划分蜕皮周期,但耗时且较繁琐,不适宜现场采样和样品数量较大时的蜕皮分期。近期,ALVAREZ 等^[24]依据蜕皮缝、游泳足趾节及基部组织的外部形态变化将浆蟹(*Ovalipes trimaculatus*)的蜕皮周期划分为 5 个时期,但没有对每个期再进行细分。本文着力观察游泳足趾节末端新旧表皮变化及刚毛的生长程度,根据 R 值(游泳足趾节末端新旧表皮基线间距/旧表皮厚度)的大小并结合观察活体解剖后新壳的生长状况,将三疣梭子蟹的蜕皮前期细分为 D₀、D₁、D₂、D₃ 和 D₄ 5 期;根据蜕皮后各个部

位甲壳硬度变化,并结合游泳足趾节表皮厚度变化,将三疣梭子蟹蜕皮后期细分为 A 期和 B 期。这一准确、快捷、实用且无伤害性的三疣梭子蟹蜕皮分期方法的建立,必将为今后深入研究其蜕皮过程中的生理生化变化和阐明其蜕皮调控机制提供很大的帮助。

参考文献:

- [1] 姚俊杰,赵云龙. 甲壳动物蜕皮的调节机制研究进展[J]. 水利渔业,2006,26(6):8-10.
- [2] 蔡生力. 甲壳动物内分泌学研究展望[J]. 水产学报,1998,22(2):154-161.
- [3] 朱冬发,沈建明,杨济芬,等. 三疣梭子蟹蜕皮抑制激素 cDNA 的克隆与序列分析[J]. 动物学报,2008,54(6):1112-1118.
- [4] 邱高峰,张爱萍,楼允东. 锯缘青蟹蜕皮抑制激素 cDNA 的分子克隆及其表达分析[J]. 水产学报,2003,27(3):207-212.
- [5] PRATOOMCHAT B, SAWANGWONG P. Cuticle ultrastructure changes in the crab *Scylla serrata* over the molt cycle[J]. Journal of Experimental Zoology, 2002,293:414-426.
- [6] 朱小明,李少菁. 甲壳动物幼体蜕皮的调控[J]. 水产学报,2001,25(4):379-384.
- [7] O'HALLORAN M J, O'DOR R K. Molt cycle of male snow crabs, *Chionoecetes opilio* from observations of external features, setal changes, and feeding behavior [J]. Journal of Crustacean Biology,1988,8(2):164-176.
- [8] MILLS B J, LAKE P S. Setal development and moult staging in the crayfish *Parastacoides tasmanicus* (Erichson), (Decapoda Parastacidae) [J]. Australian Journal of Marine and Freshwater Research,1975,26:103-107.
- [9] LONGMUIR E. Setal development, moult-staging and ecdysis in the banana prawn *Penaeus merguensis* [J]. Marine Biology,1983,77:183-190.
- [10] BENHALIMA K, MORIYASU M, HEBERT M. A technique for identifying the early-premolt stage in the male snow crab *Chionoecetes opilio* (Brachyura: Majidae) in Baie des Chaleurs, southern Gulf of St. Lawrence [J]. Canadian Journal of Zoology, 1998, 76:609-617.
- [11] FREEMAN J A, BARTELL C K. Characterization of the molt cycle and its hormonal control in *Palaemonetes pugio* (Decapoda, Caridea) [J]. General and Comparative Endocrinology, 1975, 25:

- 517 – 528.
- [12] VAN H F, BELLON H C. Setal development and molt prediction in the larvae and adults of the crayfish, *Astacus leptodactylus* (Nordmann, 1842) [J]. *Aquaculture*, 1978, 14: 289 – 301.
- [13] BLISS D E, MANTEL L H. The Biology of Crustacea[M]. New York: Academic Press, 1985, 9: 1 – 42.
- [14] PROMWIKORN W, KIRIRAT P, THAWEETHAMSEWEE P. Index of molt staging in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) [J]. *Songklanakarin Journal of Science Technology*, 2004, 26(5): 765 – 772.
- [15] AIKEN D E. Proecdysis, setal development, and molt prediction in the American lobster (*Homarus americanus*) [J]. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 1973, 30: 1337 – 1344.
- [16] REAKA M L. Molting in stomatopod crustaceans. I. Stages of the molt cycles, setagenesis, and morphology [J]. *Journal of Morphology*, 1975, 146: 55 – 80.
- [17] MORIYASU M, MALLET P. Molt stages of the snow crab *Chionoecetes opilio* by observation of morphogenesis of setal on the maxilia [J]. *Journal of Crustacean Biology*, 1986, 6(4): 709 – 718.
- [18] ANDRIEUX N. L'apolyse au cours du cycle d'intermue de deux Crustacés Décapodes Brachyours, *Carcinus maenas* Linné et *Carcinus mediterraneus* Czerniavsky [J]. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences (Series D)*, 1979, 288: 1595 – 1597.
- [19] MUSGROVE R J B. Molt staging in the southern rock lobster *Jasus edwardsii* [J]. *Journal of Crustacean Biology*, 2000, 20(1): 44 – 53.
- [20] MILLER T W, HANKIN D G. Descriptions and durations of premolt setal stages in female dungeness crabs, *Cancer magister* [J]. *Marine Biology*, 2004, 144: 101 – 111.
- [21] VIGH D A, FINGERMAN M. Molt staging in the fiddler crab *Uca pugilator* [J]. *Journal of Crustacean Biology*, 1985, 5(3): 386 – 396.
- [22] GUERAO G, ROTLLANT G, ANGER K. Characterization of larval moulting cycles in *Maja brachydactyla* (Brachyura, Majidae) reared in the laboratory [J]. *Aquaculture*, 2010, 302: 106 – 111.
- [23] FREEMAN J A, KILGUS G, LAURENDEAU D, et al. Postmolt and intermolt molt cycle stages of *Callinectes sapidus* [J]. *Aquaculture*, 1987, 61: 201 – 209.
- [24] ALVAREZ J, VELIZLY C, MEUANE J. Estados del ciclo de muda de la jaiba nadadora *Ovalipes trimaculatus* (de Haan, 1833) basados en observaciones de la morfología externa [J]. *Revista de Biología Marínay Oceanografía*, 2009, 44(1): 217 – 225.

Molt staging in the swimming crab *Portunus trituberculatus*

SHEN Jie, ZHU Dong-fa*, HU Ze-hui, QI Yi-zhou, WANG Chun-jian

(Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology of Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: Swimming crab, *Portunus trituberculatus* as a fashionable table delicacy is one of the most important fishing and aquaculture species of crab along the coast of China. Molting too frequently and molting attempted are commonly found during its molting process. Therefore, it is very important to investigate the molt cycle of the swimming crab in order to provide the background information for the production and management of the species. Observations of morphological changes were successfully used for the study of defining molt stages of the swimming crab. The molt cycle of the swimming crab was divided into four basic periods: postmolt, intermolt, premolt and molt. The results indicated that the postmolt period was subdivided into stage A (parts of the body flaccid), stage B (dorsal carapace edge hard, branchial and cardiac region still soft) based on shell rigidity changes, and the premolt period was divided into substage D_0 ($0 < R \leq 0.4$), substage D_1 ($0.4 < R \leq 0.65$), substage D_2 ($0.65 < R \leq 0.9$), substage D_3 ($R \approx 1$), substage D_4 ($R \approx 1$, the old and new carapaces were separated completely) based on the ratio that was the distance between new and old cuticles to old cuticle thickness of the end of dactyl segment in the swimming leg combining with the growth of the new carapace after dissection; opening of the ecdysial sutures in the ventral surface of thoracic and the dorsal of cheliped merus was the omen that was the beginning of ecdysis. The results showed that the technique of molt cycle staging in this paper was a simple, fast, nondestructive and reliable method for the swimming crab.

Key words: *Portunus trituberculatus*; molt cycle; molt staging

Corresponding author: ZHU Dong-fa. E-mail: zhudongfa@nbu.edu.cn