

对虾精英和精子的研究进展

Research developments on the spermatophore and speim of the male shrimp

赵连翠, 蔡生力

(上海水产大学, 农业部水产种质资源与养殖生态重点开放实验室, 上海 200090)

中图分类号: S917 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2005)02-0073-05

自 20 世纪 80 年代以后, 对虾养殖业已成为许多国家沿海地区的经济支柱产业, 培育体质健壮的种苗是这一产业兴旺的关键环节之一。因此, 研究对虾生殖生物学, 确保生产大量、充足、高健康苗种以满足养殖的需要是当务之急。目前, 许多研究主要集中在雌虾的生殖系统及卵的发育, 对雄虾生殖系统的研究相对较少, 并且大部分集中在雄虾生殖系统的结构、促雄腺的结构、作用及精子的形态、发生, 而对雄虾成熟度、精子质量评价及影响精子成熟的因素研究较少。但事实上, 雄虾的发育和成熟度同样是对虾繁殖中的重要限制因素, 尤其对于纳精囊开放式的种类如凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 来说, 更是如此。对虾个体发育的基础是精子与卵子的结合, 在繁殖过程中, 精英的发育和精子质量直接影响卵的受精率、孵化率和幼体的质量, 因此, 研究对虾的精英和精子在其繁殖中有重要意义。

1 精英

1.1 精英的形态

精英是十足类动物所具有的一种特殊结构, 成对存在, 贮存在精囊中, 每侧各一个, 其优劣直接影响卵子的受精率和人工育苗的产量, 在对虾受精前, 精英具有传输和保护精子的双重作用。一般由精子, 精英基质, 精英壁三部分构成。形态各异, 主要有三种类型: 柄状(异尾类), 管状(长尾类), 球形或圆形(短尾类)。有关对虾的精英形态已有较多, 如封闭型纳精囊种类包括: 欧洲对虾 (*Penaeus kerathurus*), 日本对虾 (*P. japonicus*), 桃红对虾 (*P. duorarum*); 开放型纳精囊有: 白对虾 (*P. setiferus*), 蓝对虾 (*P. stylirostris*), 凡纳滨对虾、西方对虾 (*P. occidentalis*) 和南方白对虾 (*P. schmitti*)。高洪绪^[1]报道了中国对虾 (*P. sinensis*) 精英在体内时, 豆状体紧靠生殖孔, 瓣状体则卷成柱状;

精英排出后, 瓣状体散开成一扇形, 扇面部分即瓣状体, 扇柄部分即为豆状体(图 1)。Champion^[2]、Tuma^[3]描述了人工挤出的印度对虾 (*P. indicus*) 和亲缘种墨吉对虾 (*P. merguensis*) 的精英为一个坚实的卵圆形球体与一长长的渐尖的翼瓣相连。自然植入的精英和人工挤出的精英在外观和结构上有所不同, 但具体不同未见报道。

1.2 精英的形成和再生

1.2.1 精英的形成

通过 Malek 等^[4]、Champion^[2]、Chow 等^[5]、Leung-Trujillo 等^[6]的研究可知欧洲对虾、印度对虾、白对虾、

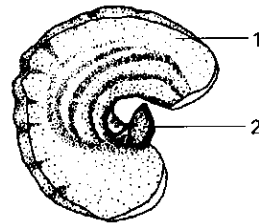


图 1 中国对虾的精英(高洪绪, 1980)

Fig.1 Spermatophores of *P. sinensis*

1. 瓣状体 2. 豆状体

收稿日期: 2002-12-27, 修回日期: 2003-04-18

基金项目: 上海市农委科技兴农重点攻关资助项目 [农科攻字(00)1-18号]

作者简介: 赵连翠(1975-), 女, 河北乐亭人, 硕士研究生, 研究方向: 水产动物繁殖与发育生物学; 通讯作者: 蔡生力(1957-), 男, 博士, 教授, 从事海洋生物繁殖与发育生物学研究, 电话: 021-65710338, E-mail: slcai@shfu.edu.cn

凡纳滨对虾精子团、初级和次级精荚层由输精管的前三段分泌,精荚的其余部分由精囊形成。输精管在精荚形成过程中起重要作用。一般认为精荚是在精子从精巢进入输精管前段以后,由输精管上皮细胞分泌物随即包被精子团形成的,精荚壁则是由这些分泌物逐渐沉积而成,是一种非细胞结构的物质。从中段输精管到精囊,形成精荚的物质的通过是明显不连续的^[5,7],精荚的形成与蜕皮周期有关,在蜕皮间期精荚在输精管末端逐渐形成,夜间蜕皮时移到精囊^[7]。

1.2.2 精荚的再生

对虾精子的发生是连续的、非同步的,从精巢中排出的时间有先有后,精巢中产生的精子数量远远超过了形成一对精荚所需要的精子,这决定了雄虾具有多次交配的能力,对虾的精荚可以再生。精荚再生分为四个阶段:Ⅰ. 未发育阶段,少量不透明乳白色粘液,没有精子和精子团;Ⅱ. 早期发育阶段,大量粘液,其中有薄而硬的片状物质但没有精子和精子团;Ⅲ. 晚期发育阶段,白色柔软具有精子团;Ⅳ. 成熟阶段,精荚变硬具浅黄色或浅橙色^[6,8]。每阶段持续的时间与对虾种类、眼柄是否切除及精荚摘除方式有关。王清印等^[9]报道了中国对虾交配后精荚再生的平均时间为3 d,但部分雄虾在交配的次日就可生成新精荚。Leung-Trujillo等^[6]用人工挤压或电刺激取精荚的方法对三种对虾精荚再生时间进行研究,发现白对虾新精荚形成的时间为5~7 d,凡纳滨对虾2~4 d,蓝对虾4~6 d。Lin和Ting^[10]报道了雄性斑节对虾(*P. monodon*)在人工摘除精荚后,精荚再生需要7~11 d。种间差异、生理状态、营养条件和环境因素等都可能影响精荚的再生,对这方面的研究资料还比较少。

2 精子

2.1 精子的形态结构

十足类动物的精子与其它较高等动物的精子比较有很大的不同,缺少鞭毛,核松散,不运动,依据形态分两类(1)从中央体部散发出若干棘突的精子,如爬行目的蟹、龙虾和螯虾;(2)具有单一棘突的精子,如游泳亚目的各种虾类^[11]。十足目的棘突对于精子在卵的定位和刺穿次序是必需的^[12]。林勤武等^[13-17]、康现江等对中国对虾、长毛对虾(*P. penicillatus*)、斑节对虾、刀额新对虾(*Metapenaeus ensis*)、近缘新对虾(*M. affinis*)的成熟精子进行了研究,结果表明,各种对虾精子属于单一棘突类型,其内部结构分为棘突、中间部和主体部,没有鞭毛,不主动运动。

来自雄虾体内和雌虾纳精囊内的精子有很多不同之处,雄虾体内精子外形似“梨形”,棘部短粗,其基

部有螺旋结构,而雌虾纳精囊中的精子不具螺旋结构,较细长;雄虾体内精子核后细胞质带结构更完整,而雌虾纳精囊内精子核后细胞质带囊泡发达,并常与质膜融合发生胞吐现象;雄虾体内精子核膜比雌虾纳精囊精子核膜完整;雌虾纳精囊精子的环状片层结构更发达;雄虾体内的精子主体部上方内质网发达,而雌虾纳精囊中精子的内质网浓缩为团块状或颗粒状^[13,14,18]。

2.2 精子的发生

精子发生于精巢管的外缘生发层,由精原细胞减数分裂发育而成,精原细胞经过细胞核、内质网等的一系列变化形成精子。根据顶体形成过程中超微结构的变化,把精子发生分为精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精子细胞、精子五个阶段^[19,20]。

精子发生过程中化学成分也有相应的变化。王艺磊等^[21]采用氨银反应与光镜,电镜技术相结合,研究了刀额新对虾成熟精子发生过程中碱性蛋白的变化,精原细胞,精母细胞,早期精细胞核内均含有丰富的碱性蛋白,但在精细胞变态成精子过程中,只有顶体内出现碱性蛋白,核内没有碱性蛋白,在成熟精子中外顶体层碱性蛋白多于内顶体层,棘突中无碱性蛋白存在。

3 精荚、精子的质量评价

3.1 评价指标

主要有(1)精荚重量和外观(2)精子总数(3)活精子的百分含量(4)畸形精子的百分含量。

3.2 评价方法

3.2.1 形态观察法

形态观察法是评价精子质量普遍采用的方法。畸形精子表现为主体部畸形,棘突弯曲或缺少。健康的精荚是具有正常形态的白色精荚;早期退化的精荚有黑色素沉着,前末端可能变黑;中期退化的精荚变成黑褐色,黑化部分扩展到更多的区域,周边区域可能糜烂;严重退化的精荚表面完全变黑,糜烂的区域进一步扩大^[8,22,23]。精荚的粘度对于雌虾获得受精能力是很重要的,粘稠的分泌物贮存在精囊^[5],可能影响精子获能,精荚形态结构的改变可以影响精荚的粘度,进而影响交尾时粘附到纳精囊,从而影响受精率。精荚颜色、膨胀度和外观能指示精子质量,但不能为精子质量提供数量上的检测依据。形态观察法比较直观,却易受以下因素的影响:精子悬液的制备方法、雄虾的年龄、交尾频率、种间差异,对精子活力的生理、生化方面的检测是有限的。

3.2.2 生物染色剂法

一般采用苔盼蓝和吖啶橙作为生物染色剂。用苔盼蓝染色时,活精子不被染色,死精子膜间隙变大而被染成蓝色;吖啶橙用来评价核膜的完整性,具有完整核膜的精子呈淡绿色,活力弱的精子呈黄色或橙色,死精子呈黑红色^[24]。

生物染色剂法多与形态观察法共同使用,以区分活精子和畸形精子,在精子生活力方面得到更多的信息,但有时棘突缺少、弯曲的精子苔盼蓝染色时无色,吖啶橙染色时呈淡绿色,而不是黄色、橙色或黑红色。因此,用这种方法可能对活精子的比例有过高的估计。

3.2.3 卵水诱导反应

与卵水发生反应的精子比例可用来评价精子质量。Anchordogny等^[25]用这种方法评价低温贮藏的单肢虾(*Sicyonia ingentis*)精子的活力;Dougherty等^[26]报道白对虾精子在卵水中出现了顶体反应;Pratoomchat等^[27]用卵水诱导反应鉴定斑节对虾的精子质量;Wang^[24]用卵水反应评价营养物质对凡纳滨对虾精子质量的影响。但同种卵水是这种方法的影响因素,如果用不同种的卵水可能会影响顶体反应,导致结果的偏差。

另外,Pratoomchat等^[27]采用了检测卵的受精率和无节幼体的孵化率来评价精子的质量。

4 生殖质量下降和影响精英和精子质量的因素

4.1 生殖管道退化综合症和生殖系统色素沉着

生殖管道的退化是对虾养殖中普遍存在的问题,生殖管道退化综合症(male reproductive tract degenerative syndrome, MRTDS)和生殖系统色素沉着(male reproductive system melanization, MRSM)的特征是:精子总数和活精子数逐渐减少,畸形精子量增加,并伴随着生殖管道和精英的黑化。Brown等首先注意到白对虾精囊中精英变质,Chamberlain等定义为雄性生殖管道退化综合症(MRTDS),以后陆续出现大量有关这种综合症的报道,种类包括:白对虾^[28-30],蓝对虾^[31-32],凡纳滨对虾^[30-32]。

各学者对MRTDS和MRSM产生的原因作了研究,得出不同的结论。Bray等^[28],Talbot等^[33]认为MRTDS和MRSM是同一疾病的不同时期;Alfaro等^[30]却认为这是两种不同的现象,MRSM是细菌感染后虾免疫系统产生的黑色素引起的,MRTDS的出现是内分泌调控的结果。Dougherty等^[34]和Talbot等^[32]认为细菌不是引起MRSM的主要原因。Silas、Díaz等^[35]认为精英组织中酚氧化酶活性升高引起了色素沉着。

Sánchez^[36]认为MRTDS和MRSM与对虾对捕获和养殖的应激有关,这种应激影响了对虾的免疫系统和生理表达。引起生殖质量下降的原因可能是种间差异、多次排出精英、电刺激排精英、细菌感染、营养因素和温度等多种因素单一或协同作用的结果。

4.2 影响因素

雄虾的成熟至少包括3个阶段:(1)精巢成熟;(2)输精管成熟(3)精英合成^[30],因此精英和精子质量受多种因素的影响,主要包括以下几点。

4.2.1 外源激素及内分泌

Alfaro^[23]报道了注射0.1 $\mu\text{g/g}$ 和0.01 $\mu\text{g/g}$ 剂量的17 α -甲基睾酮能提高精英质量,推测原因可能是这种化合物的药理作用提高了精子发生和精英合成机制,也可能是这些分子补充了促雄性腺激素,在注射0.1 $\mu\text{g/g}$ 时畸形精子数低,但精英变黑的几率较高,低剂量的激素是否能减慢精英变质的速度需要更进一步的研究。

切除眼柄,去掉眼柄抑制因素可加快蜕皮后新精英的转移,加快精子发生的同步性,对不同的对虾有不同的影响。切除眼柄可以诱导斑节对虾和墨吉对虾雄虾精英早熟^[37],可以增加凡纳滨对虾拟成虾的性腺大小和交尾频率^[38],增加成虾精英重和精子数,减少畸形精子量^[29-30,39];可缩短白对虾新精英形成的时间,但未发现能显著影响白对虾的交尾率、产卵量、受精率和孵化率^[6];也未发现能增加斑节对虾的性腺指数和精子质量,但能增加精子数量^[27-40];切除眼柄并对蓝对虾受精率^[41]、*P. Canaliculatus*的繁殖没有显著的影响,但能缩短其蜕皮周期^[42]。可见不同种类对虾之间存在着一定的差异。

促雄腺在甲壳动物性别发育、性别分化中有重要作用。李霞等^[43]、李富花等^[44]报道了中国对虾的促雄腺对精子成熟未起重要作用,推测可能对精英的形成有作用,也可能对雄性交配活动和精英的排出提供了能量,相关问题有待于进一步深入研究。

4.2.2 温度

凡纳滨对虾、白对虾、蓝对虾对温度有很强的敏感性,推测温度可能与精英和精子的变质有关。Perez-Velazquez等^[22]报道了凡纳滨对虾亲虾在水温26 $^{\circ}\text{C}$ 时产生大量的精子,而且畸形精子百分率较低,但29 $^{\circ}\text{C}$ 和32 $^{\circ}\text{C}$ 时精子质量下降。Leung-Trujillo等^[29]发现在27~29 $^{\circ}\text{C}$ 时,白对虾5周后降低受精力,6周后精子全部消失。Pascual等^[8]研究水温对雄性白对虾生殖管道的影响,发现温度在25~27 $^{\circ}\text{C}$ 时,精英大量再生且雄虾维持健康,温度高时,精英再生时间短,但生殖管退化的几率大。Bray等^[28]指出白对虾亲虾养殖系统的温度高于自然水体,但低温可以减缓精英变

质。Talbot 等^[33]报道在 29.4 °C ± 0.8 °C 时白对虾精英变质, Alfaro 等^[30]发现 27 °C ~ 29 °C 养殖蓝对虾拟成虾 4 个月后, 精英有不同程度的变质。因此, 温度对亲虾精子质量有一定的影响, 温度低时虾发育缓慢, 虾的规格较小, 在性腺产生精子时, 输精管可能没有同步成熟, 畸形精子的百分率较高; 温度高时畸形精子量也会增加。

4.2.3 营养物质

Wang^[24]用卵水诱导和生物染色剂的方法研究饵料对凡纳滨对虾精子质量的影响, 4 种饲养方式(含 40% 蛋白质的虾饲料; 100% 鱿鱼; 50% 鱿鱼, 25% 血虫, 25% 卤虫; 饥饿)之间精子质量没有显著不同, 只是卵水诱导反应表明饥饿组精子质量有下降的趋势。Alfaro 等^[30]发现投喂冰冻鱿鱼和混合饲料可提高白对虾精子的产生和精子质量。Chamberlain^[45]研究了腐败饲料和维生素 E 对白对虾性腺成熟的影响。Leung - Trujillo 等^[46]研究了维生素 C 对凡纳滨对虾生殖质量的影响。各学者的研究表明, 营养物质是影响精英发育、再生精子质量的重要限制因素之一, 雄性亲虾的发育与雌虾发育所需的营养物质可能存在差异, 需要深入研究, 以提高雄虾的成熟和精子的质量。

另外, 精英摘除方式也可能影响精英和精子的质量, 电刺激能引起精英变质^[32, 47]。

以上这些因素单独或联合对这三个阶段起作用, 但作用机理尚需进一步研究。通过研究雄虾生殖系统、精英形成、再生及精子的质量, 可充分理解对虾生殖生物学, 为人工繁殖提供理论依据, 从而更好的解决养殖对虾自然交配率低的问题, 生产出大量的优质苗种供大规模养殖需要, 同时, 也为对虾的杂交育种、人工诱导雌核发育的研究提供科学依据。目前有关对虾成熟度和精子质量与其月龄、个体大小以及饵料、环境因素的关系研究尚少或未见报道, 研究结果不够系统完善, 国内涉及更少, 亟待进一步深入研究。

参考文献:

[1] 高洪绪. 中国对虾交配期的初步观察[J]. 海洋科学, 1980, 3: 5-7.

[2] Champion H F B. The functional anatomy of the male reproductive system in *Penaeus indicus*[J]. **South African Journal of Zoology**, 1987, 22: 297-307.

[3] Tuma D J. A description of the development of primary and secondary sexual characters in the banana prawn, *penaeus merguensis* de Man (Crustacea: Decapoda: Penaeinae)[J]. **Australian Journal of Marine and freshwater research**, 1966, 18: 73-88.

[4] Malek S R A, Bawab F M. The formation of the spermatophore in *Penaeus kerathurus* (Forsk.) (Decapoda, Penaeidae) I. The initial formation of a sperm mass[J]. **Crustaceana**, 1974a, 26(3): 273-285.

[5] Chow S, Mary M, William D, Dougherty J, et al. Spermatophore formation in the white shrimp *Penaeus setiferus* and *P. vannamei*[J]. **J of Crustacean Biol**, 1991, 11(2): 201-216.

[6] Joanna R, Leung - Trujillo, Addison L, et al. Spermatophore generation times in *Penaeus setiferus*, *P. vannamei*, and *P. stylirostris*[J]. **Journal of the world aquaculture society**, 1991, 22(4): 244-251.

[7] Heitzmann J C, Diter A, AQUACOP. Spermatophore formation in the white shrimp, *Penaeus vannamei* boone 1931: dependence on the intermoult cycle[J]. **Aquaculture**, 1993, 116: 91-98.

[8] Cristina P, Evangelina V. Effect of water temperature on reproductive tract condition of *Penaeus setiferus* adult males [J]. **Journal of the world aquaculture society**, 1998, 29(4): 477-484.

[9] 王清印, 李健. 中国对虾雄对虾的交配能力和精英再生的研究[J]. 海洋与湖沼, 1998, 29(1): 26-28.

[10] Lin M, Ting Y Y. Spermatophore transplantation and artificial fertilization in grass shrimp[J]. **Bulletin of the Japanese society of scientific fisheries**, 1986, 52(4): 585-589.

[11] Lynn J W, Clark W H. The fine structure of the mature sperm of the fresh water prawn, *Macrobrachium rosenbergii*[J]. **Biol Bull**, 1983, 164: 459-470.

[12] Clark W H, Kleve M G, Yudin L I. An acrosomal reaction in natantian sperm[J]. **J Exp Zool**, 1981, 218: 179-291.

[13] 林勤武, 刘瑞玉, 相建海. 中国对虾精子的形态结构、生理生化功能的研究[J]. 海洋与湖沼, 1991, 22(5): 397-401.

[14] 康现江, 王所安. 中国对虾精子发生后形态结构及其变化[J]. 东海海洋, 2000, 18(3): 40-46.

[15] 洪水根, 陈细法, 周时强等. 长毛对虾精子发生的研究 I. 精子的形态结构[J]. 动物学报, 1993, 39(3): 239-243.

[16] 张子平, 王艺磊. 对虾精子的研究 I——成熟精子的形态与超微结构[J]. 厦门水产学院学报, 1991, 13(2): 1-9.

[17] 林瑞才, 张金标, 何进金. 近缘新对虾成熟精子的超微结构[J]. 台湾海峡, 1991, 10(3): 195-198.

[18] 康现江, 堵南山. 中国对虾精子发生过程内质网的变化[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2000, 39(6): 849-854.

[19] 洪水根, 吴文杰. 长毛对虾精子的发生过程[J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(4): 368-373.

[20] 洪水根, 倪子绵. 斑节对虾精子发生的超微结构[J]. 动物学报, 1998, 44(1): 1-4.

[21] 王艺磊, 张子平. 刀额新对虾精子发生过程中碱性蛋白的变化[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 1996, 35(6): 947-951.

[22] Martin Perez - Velazquez, William A, Bray, et al. Effect

- of temperature on sperm quality of captive *Litopenaeus vannamei* broodstock[J]. **Aquaculture**, 2001, 198: 209 – 218.
- [23] Jorge Alfaro. Effect of 17 α – methyltestosterone and 17 – α – hydroxyprogesterone on the quality of white shrimp *Penaeus vannamei* spermatophores[J]. **Journal of the world aquaculture society**, 1996, 27(4): 487 – 492.
- [24] Qingyin Wang. Egg water induced reaction and biostain assay of sperm from marine shrimp *Penaeus vannamei*: dietary effects on sperm quality[J]. **Journal of the world aquaculture society**, 1995, 26(3): 261 – 271.
- [25] Anchordogny T, Crown J H, Griffin F J, *et al.* Cryopreservation of sperm from the marine shrimp *Sicyonia in – gentis* [J]. **Cruobiology**, 1988, 25: 238 – 243.
- [26] Dougherty W J, Griffin F, Clark W H. Ultrastructural and video – microscopic observations on isolated sperm of the shrimp, *Penaeus setiferus*, following exposure to "egg water". (Abstract) [A]. The summer meeting of the Crustacean Society. USA: South Carolina, Charleston, 1992. 11 – 14.
- [27] Pratoomchat B, Piyatiratitivorakul S, Menasveta P. Sperm quality of pond – reared and wild – caught *Penaeus monodon* in Thailand[J]. **Journal of the world aquaculture society**, 1993, 24(4): 530 – 540.
- [28] Bray W A, Leung – Trujillo J, Lawrence A L. Preliminary investigation on the effects of temperature, bacterial inoculation, and EDTA on sperm quality in captive *Penaeus setiferus* [J]. **Journal of the World Mariculture Society**, 1985, 16: 250 – 257.
- [29] Joanna R, Leung – Trujillo, Addison L, *et al.* Observations on the decline in sperm quality of *Penaeus setiferus* under laboratory conditions[J]. **Aquaculture**, 1987, 65: 363 – 370.
- [30] Jorge alfaro. Reproductive quality evaluation of male *Penaeus stylirostris* from a grow – out pond[J]. **Journal of the World Aquaculture Society**, 1993, 24(1): 6 – 11.
- [31] Chamberlain G W, Gervais N F. Comparison of unilateral eyestalk ablation with environmental control for ovarian maturation of *Penaeus stylirostris* [J]. **Journal of the world aquaculture society**, 1984, 15: 29 – 30.
- [32] Chamberlain G W, Johnson S K, Lewism D L. Swelling and melanization of the male reproductive system of captive adult penaeid shrimp[J]. **Journal of the World Mariculture Society**, 1983, 14: 135 – 136.
- [33] Talbot P, Howard D, Leung – Trujillo J, *et al.* Characterization of male reproductive tract degenerative syndrome in captive penaeid shrimp (*Penaeus setiferus*) [J]. **Aquaculture**, 1989, 78: 365 – 377.
- [34] Dougherty W J, Dougherty M M. Electron microscopical and histochemical observations on melanized sperm and spermatophores of pond – cultured shrimp, *Penaeus vannamei* [J]. **Journal of invertebrate pathology**, 1989, 54: 331 – 343.
- [35] Ana Cristina Díaz, Analía V, Fernández Gimenez, *et al.* Fenucci. Reproductive performance of male argentine red shrimp *Pleoticus muelleri* Bate (Decapoda, Penaeoidea) in culture conditions[J]. **Journal of the world aquaculture society**, 2001, 32(2): 236 – 242.
- [36] Ariadna Sánchez, Crostina Pascual, Adolfo Sánchez, *et al.* Hemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: the effect of acclimation[J]. **Aquaculture**, 2001, 198: 13 – 28.
- [37] Alikunhi K H, Poernomo A, Adikusnesno S, *et al.* Preliminary observations on induction of maturity and spawning in *Penaeus monodon* Fabricius and *Penaeus merguensis* de Man by eyestalk extirpation[J]. **Bulletin of the Shrimp Culture Research Center**, 1975, 1: 1 – 11.
- [38] Chamberlain G W, Lawrence A L. Effect of light intensity and male and female eyestalk ablation on reproduction of *Penaeus stylirostris* and *P. vannamei* [J]. **Journal of the world aquaculture society**, 1981, 12: 357 – 372.
- [39] Leung – Trujillo J, Lawrence A L. The effect of eyestalk ablation on spermatophore and sperm quality in *Penaeus vannamei* [J]. **Journal of the World Mariculture Society**, 1985, 16: 258 – 264.
- [40] Gomes L A O, Honculada – Primavera J. Reproductive quality of male *Penaeus mondon* [J]. **Aquaculture**, 1993, 112: 157 – 164.
- [41] Ottogalli L, Galinie C, Goxe D. Reproduction in captivity of *Penaeus stylirostris* over ten generations in New Caledonia[J]. **Journal of aquaculture in the tropics**, 1988, 3: 111 – 125.
- [42] Choy S C. Growth and reproduction of eyestalk ablated *Penaeus cacaliculatus* (Olivier, 1811) (Crustacea: Penaeidae) [J]. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 1987, 112: 93 – 107.
- [43] 李霞 李嘉泳. 中国对虾内分泌器官的一种新发现——促雄性腺[J]. 大连水产学院学报, 1993, 8(4): 17 – 21.
- [44] 李富花 相建海. 中国对虾促雄性腺形态结构和功能的初步研究[J]. 科学通报, 1996, 41(15): 1 418 – 1 422.
- [45] Chamberlain G W. Stepwise investigation of environmental and nutritional requirements for reproduction of Penaeid shrimp[M]. Doctoral dissertation. Texas A & M University, College Station, Texas, USA. 1988.
- [46] Leung – Trujillo J R, Lawrence A L. The effect of ascorbic acid on sperm and spermatophore quality in *Penaeus vanamei* males fed prepared diets[J]. **Journal of the world Aquaculture Society**, 1988, 19: 46A.
- [47] Rosas C, Sanchez A, Chimal M E, *et al.* The effect of electrical stimulation on spermatophore regeneration in white shrimp *Penaeus setiferus* [J]. **Aquatic Living Resources**, 1993, 8: 139 – 144.

(本文编辑:刘珊珊)