

中国毛虾的世代划分 ——生殖痕迹的形成*

陈 球

(辽宁省海洋水产研究所, 大连)

提要 本项研究以定期采集的毛虾及培养的产卵后雌性毛虾标本为材料, 对其卵巢等生殖器官作整体显微观察和组织学、组织化学研究, 以阐明初夏世代毛虾的卵巢中生殖痕迹的形成过程, 及探讨运用这种痕迹作为世代划分标志的可行性。观察结果表明, (1) 在经历首次繁殖周期的初夏世代毛虾的卵巢中, 遗留的卵泡组织一直存在到下一发育周期的新卵泡形成期; 这种遗留组织占据卵巢的周边区, 形成无卵边缘, 与首次发育的夏秋世代毛虾卵巢的形态差异显著, 易于判别; 在遗留的卵泡细胞的胞质中, RNA 减少, 中性多糖产生和积累, 显示细胞的老化趋势, 同时细胞呈 PAS 强阳性反应而区别于新生的卵泡细胞。(2) 在雄性毛虾的精巢中无生殖痕迹可寻, 仅发现较大个体的精囊中射精孔上皮组织破裂, 这是否交配的痕迹, 尚待进一步证明。

查清动物种群的世代组成, 是研究种群数量变动规律的先行步骤。然而, 甲壳动物的世代划分有时是比较困难的。King^[8] 曾试图寻找白对虾 *Penaeus setiferus* 卵巢中的产卵痕迹, 作为鉴别年龄的根据, 但他得到的结论是否定的。吴敬南^[1] 曾查明中国毛虾 *Acetes chinensis* Hansen 一年内有两次繁殖峰期, 并根据群体组成的消长特点说明毛虾每年世代数为两个, 然而对此问题存有争议^[2], 显然有进一步加以证实的必要^[3]。

关于甲壳纲十足目动物产卵后的卵巢组织学, Fauvel, Faure, Isao^[5-7] 等学者曾作过研究, 但运用生殖痕迹鉴别十足目动物种群成员的世代归属的成功例子尚未见有报告。

一、材料和方法

标本采集于辽东湾, 除越冬期(12—2月)外, 每月采集1—2次, 以 Carnoy 氏液、中性福尔马林等固定。分辨雌雄, 测定体长, 取出卵巢先在显微镜下观察其形态特征, 再作石蜡切片, 将组织学和组织化学检验的结果与外观形态的观察结果相对照。共用标本120个。

于8—9月, 在毛虾产卵海区张捕毛虾, 进行培养, 将当夜能够产卵的雌体^[4]选出, 待

* 本文曾在中国甲壳动物学会成立暨学术讨论会上宣读并于《甲壳动物学论文集》第一集上摘要刊登。重新修改后经刘瑞玉、吴尚勳教授审阅; 吴敬南副研究员曾提出宝贵意见, 均此一并志谢。谭克非、邢东方曾参与此工作。

收稿日期: 1987年12月9日。

1) 营口市水产研究所, 1978。营口市水产科学研究报告。营口水产科技(毛虾专刊)。

排卵后运回试验室内继续培养, 定期固定(包括死亡个体), 对其卵巢作显微观察和组织学、组织化学检验, 作组织切片标本 83 个。

作卵巢至输卵管部位的切片观察(不定期), 所用标本 11 个。在已固定的标本中选取不同体长的雄体进行全头胸节的连续切片, 观察其生殖器官发育不同时期的组织学和组织化学变化, 寻找生殖痕迹, 共用标本 43 个。组织化学法同文献[2], [9], [10]。

二、结 果

1. 首次发育(无生殖痕迹)卵巢的主要形态特征

随着发育进程, 在第一复节处的卵巢向两侧伸出大致对称的突起, 在第 2, 3 复节处则向上伸出突起, 卵巢边缘区没有空隙, 充满卵母细胞(图版 I:1, 2; 图版 II:1)。交尾期(卵泡形成)之后, 突起发育成分叶状结构, 卵巢边缘区同样没有空隙。新生的卵泡细胞排列整齐(图版 II:2)。成熟的毛虾卵巢内有三个不同时相的卵母细胞^[2], 与此相应的是毛虾具有多次排卵的特点。

2. 第一世代毛虾卵巢中产卵痕迹的形成

(1) 产卵延续期的卵巢 毛虾一次排卵后, 余下的卵粒排列有规则, 已被卵泡包围的大卵粒靠外层, 小卵粒靠近生发区, 破裂的卵泡组织曲卷于边缘区, 组织化学特征未起变化。作整体卵巢显微观察, 可见其中卵粒较稀疏(图版 I:3), 但随着卵粒的继续发育, 与未曾排卵的卵巢难以分别。

(2) 产卵期结束后的卵巢 8—9 月份, 产卵期结束后, 毛虾卵巢再经历以下三个变化阶段。

产卵后近期: 显微观察表明, 此期卵巢的分叶仍保持原有的形状, 宽大的无卵区清晰可见(图版 I:4)。组织学特征是, 卵巢包膜未产生皱褶; 生发区完整保存; 余下的卵母细胞分布散乱, 其中较大者出现解体现象; 遗留的卵泡组织盘曲于卵巢的边缘区; 卵巢腔内有大量非结构物质。组织化学特征是, 行将解体的卵母细胞的核内, DNA 聚成团状, PAS 强阳性物质出现于核内及核周, 后扩展到整个胞质; 细胞质中的核糖核酸和蛋白质向皮层区聚集。卵巢腔中的非结构物质含下列主要成分: 颗粒状的核糖核酸蛋白(Unna-Brachet 和 HgBpB 染色均呈阳性); 少数 DNA 颗粒(呈 Feulgen 强阳性反应); 还有较大的糖蛋白或是中性多糖和蛋白质的混合物。未发现遗留的卵泡组织的化学特征有明显变化(图版 II:3)。此期历时甚短, 约 2—8 日。

恢复期: 此期持续 8—9 个月, 直至翌年 5 月中、下旬的交尾期临近时。经显微镜观察表明, 卵巢分叶呈不甚规则状, 卵巢边缘地带依然存在无卵粒区(图版 I:5, 6)。组织学特点是, 遗留的卵泡组织继续存在, 占据卵巢的边缘区; 卵巢包膜皱缩, 腔内较大的卵粒和非结构物质消失; 新的卵母细胞逐渐增多, 占据卵巢腔内的大部分空间; 在此期的后阶段(4 月中旬之后), 次生卵巢包膜出现(图版 II:5)。组织化学特征是, 卵原细胞、卵母细胞皆无异于未产卵个体内的同期细胞; 次生卵巢包膜的组织化学特点亦与未产卵的卵巢外膜一致^[2]; 然而, 遗留的卵泡组织却发生了显著变化。首先, PAS 阳性至强阳性的物质充满卵泡细胞的细胞质(图版 II:4, 5), 这种物质经乙酰化后呈 PAS 阴性, KOH 还原又使其阳性反应恢复, 不为淀粉酶消化; 次甲基蓝消色点(MBE)的 pH 值为 7.25, 故属于

中性多糖。其次, 此期遗留卵泡细胞的细胞质中 RNA 明显减少, 派咯啉染色很弱, 到此期末(5月中旬), 在较大的雌体的卵巢内无卵区已缩得很小, 难以辨别, 但组织切片观察仍可清楚地识别出遗留的卵泡组织。

再次成熟期: 5月下旬, 毛虾进入交尾期, 卵巢中新的卵泡组织大量产生, 遗留的卵泡组织消失。

3. 卵巢开口处的产卵痕迹

未产卵的雌性个体中, 卵巢通往输卵管的开口处有一片上皮-结缔组织隔膜^[2], 排卵前输卵管舒张^[4]后就不复存在; 在卵巢再度成熟之前没有新的隔膜产生。这与卵巢内遗留的卵泡组织的存在相一致。

4. 关于雄性生殖系统中的生殖痕迹

我们未能观察到毛虾的交配, 故只能对不同时期不同体长的雄毛虾的生殖系统作仔细的对比观察。

观察8月份(一世代首次繁殖期)的雄性标本10个, 其中9个的特点是, 精巢体积大, 输精管、分泌管和精囊的内容物饱满^[2], 仅一个标本的精巢内有细胞解体现象, 其输精管、分泌管和精囊虽处于扩张状态, 但其中内容物少, 精囊底部内壁上皮有明显损伤, 封闭射精孔的上皮组织^[2]破裂。

观察25个10月份(一世代首次繁殖期之后)的雄毛虾标本, 结果是, 体长在15 mm以上者, 精巢组织学特征相同, 其体积虽小于繁殖期的精巢, 但皆处于发育状态, 即使在体长为25 mm以上的雄体精巢内, 同样没有见到任何特征上可供辨认的上一生殖周期遗留下的辅助细胞的踪迹。然而, 在两个雄性标本的精囊中, 射精孔上皮组织封膜破裂, 留有开口(图版 II:6)。

表1 两个世代雌毛虾在各体长组中所占百分比(%)

Tab.1 Percentages of the two generations amongst the female shrimps at different body length ranges

体长 (mm)		17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
9月	II	100	94.0	80.6	87.5	86.4	67.9	43.5	23.1	10.0	0	0							
	I	0	6.0	19.4	12.5	13.6	32.1	56.5	76.9	90.0	100	100							
10月	II	100	100	100	100	100	100	95.2	57.1	57.1	21.4	33.3	0						
	I	0	0	0	0	0	0	4.8	42.9	42.9	78.6	66.7	100						
11月	II	100	100	100	100	100	100	100	100	91.2	79.8	67.0	46.3	28.9	18.2	0	0		
	I	0	0	0	0	0	0	0	0	8.8	20.2	33.0	53.7	71.1	81.8	100	100		
3月	II	100	100	100	100	100	100	100	100	95.0	88.0	68.2	64.5	32.5	18.5	0	0	0	0
	I	0	0	0	0	0	0	0	0	5.0	12.0	31.8	35.5	67.5	81.5	100	100	100	100
4月	II	100	100	100	100	100	100	100	100	98.6	92.3	75.8	51.0	40.5	16.0	7.1	7.1	0	0
	I	0	0	0	0	0	0	0	0	1.4	7.7	24.2	49.0	59.5	84.0	92.9	92.9	100	100
5月	II	100	100	100	100	100	100	100	100	95.0	83.5	61.0	42.6	40.0	4.3	—	—	—	—
	I	0	0	0	0	0	0	0	0	5.0	16.5	39.0	57.4	60.0	95.7	—	—	—	—

I, II 分别为一世代、二世代。

表 2 不同体长的雄毛虾精囊的组织学观察结果

Tab.2 Results observing the seminal vesicle of the male shrimps at different body length ranges

体长 (mm)		22	23	24	25	26	27	28	29
8 月	(1)	1	2	2	1	1	2		
	(2)					1			
10 月	(1)	2	2	2	4	5	4	4	
	(2)						1	1	
4 月	(1)				1	2	2	2	
	(2)								1

(1),(2) 分别为精囊上皮完好尾数和精囊上皮破裂尾数。

观察 8 个 4 月份的雄毛虾,精巢组织学特征与秋季时的精巢特征相似,其中有一个标本(体长为 29 mm)的精囊有上述的开口。

5. 毛虾的不同世代与体长分布

将有生殖痕迹的初夏世代雌毛虾与首次发育的夏秋世代雌毛虾在每体长组中各占的百分比列于表 1。从表 1 可看出,两个世代雌毛虾各有其体长分布范围,但二者存在重叠区间,这重叠区间随时间而向上推移,大致反映出毛虾的长度增长。精囊中有破裂痕迹的雄毛虾出现的体长范围见表 2。

三、小结与讨论

能否鉴别种群成员的世代归属,对于毛虾数量变动规律研究的深入与提高有决定性影响。本研究是以解决毛虾世代划分的关键问题——寻找第一世代毛虾体内的生殖痕迹为目的。所得的主要结论是:(1)初夏世代雌性毛虾在首次繁殖期(8—9 月)结束后,其卵巢内发生部分遗留卵母细胞解体和被吸收,但遗留的卵泡组织却继续存在。(2)这种旧卵泡组织的化学特征发生变化,因而运用 PAS 反应可以更清楚地辨别遗留的与新生的卵泡细胞。(3)遗留的卵泡组织占据了卵巢边缘部分的空间,形成无卵粒区;凡是具有无卵粒边缘区的卵巢,一律存在着遗留的卵泡组织;因此,这种无卵粒边缘区可作为鉴别雌毛虾世代归属的标志,只需取出一小段卵巢,用显微镜观察即可辨别;有此标志者属于第一世代,否则属于第二世代。(4)由于从 9 月中旬至翌年 5 月中旬毛虾的卵巢处于缓慢的发育阶段,因而在整个春、秋两渔捞季节皆可用上述的生殖痕迹划分雌毛虾的世代。(5)雄毛虾的精囊中没有生殖痕迹或重复发育的痕迹可寻,未发现老化的辅助细胞,这种细胞概处于不断更新的状态中。由于我们未能观察毛虾的交尾从而也未能获得确实交尾过的雄体,所以,虽然发现在较大的雄体的精囊中,封闭射精孔的上皮组织有破裂现象,但还不能确认它即是交配的痕迹。总之,雄性毛虾的世代划分是较困难的,尚待进一步解决。

关于卵巢的再发育。十足目中的许多种动物具有多次排卵的特性。Fauvel^[6] 记述了罗氏沼虾 *Macrobrachium rosenbergii* 的二次发育过程,发现排卵之后其卵巢内破裂的卵泡组织收缩到卵巢的边缘区;在再次形成卵泡的过程中卵泡细胞没有大量的有丝分裂,而是旧的卵泡组织重新伸展,向卵巢中央区运动,包围卵粒。Isao^[7] 也记述了日本对虾

Penaeus japonicus 卵巢在同一生殖期内的再成熟过程。笔者观察到中国毛虾一次排卵后卵巢内的变化与文献[6]的观察结果很相似,即生殖期末结束时,破裂后的卵泡组织保持其功能,可以形成新的卵泡,使得卵巢能够迅速再成熟。需补充一点,此期卵泡组织的化学特征没有显著变化。

产卵结束,实际上意味着毛虾卵巢内的卵泡组织丧失了继续形成新卵泡的功能,因为此时卵巢生发区的细胞分裂活动仍在进行。旧卵泡细胞的细胞质中 RNA 减少,多糖聚积,表明了细胞趋于老化。在下一生殖周期中的卵泡生成期来临之前,卵巢内有次生卵巢膜出现。它将旧卵泡组织所在的边缘区同卵巢其它部分隔开。新的卵泡形成是发生在次生卵巢膜之内,因而老化的卵泡组织不参与这一过程。

卵泡细胞的行为和功能显然受控于整个机体内的内分泌活动^[9],但在何种条件下排卵后卵泡细胞的功能得以保持或者丧失,这显然是值得探讨的问题。

遗留的卵泡组织长期存在的现象在十足目其它种中是否也存在还不清楚,但笔者推测这种现象是不多见的。中国毛虾作为十足目中的一种,不论在生殖器官的结构或是在繁殖生理方面都表现出鲜明的个性,深入研究毛虾,将会丰富甲壳动物生殖生物学的内容。

参 考 文 献

- [1] 吴敬南、程传申, 1965. 辽东湾毛虾的生活史及其渔获量预报方法的研究。西部太平洋渔业会议论文集 6: 93—103。
- [2] 陈保、邢东方, 1986. 中国毛虾生殖系统的组织学和组织化学。甲壳动物学论文集 1: 158—164。
- [3] 郑重, 1978. 食用海洋浮游动物研究——海洋浮游生物学的新动向之四。自然杂志 2(8): 482—507。
- [4] Chen Qiu, 1986. Observations on the ovulating process of the red flagellated shrimp *Acetes chinensis*. *Cin. J. Oceanol. Limnol.* 4(4): 372—378.
- [5] Faure, V., C. Bellon-Humbert, H. Charniaux-Cotton, 1981. Folliculogenese et vitellogenese secondaires chez la Crevette *Palaemon serratus* (Pennant); controle par les pedoncles oculaires et l'organe X de la medulla externa(MEX). *C. R. Acad. Sc. Paris*, 293(III): 461—467.
- [6] Fauel, Christian, 1981. Etude de l'ovaire de la Crevete d'eau douce *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) au cours du cycle de reproduction. Premiere description de la folliculogenese secondaire chez un Crustace Decapode. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 292(III): 547—552.
- [7] Isao Yano, 1984. Rematuration of spent kuruma prawn, *Penaeus japonicus*. *Aquaculture* 42: 179—183.
- [8] King, J. E., 1948. A study of the reproductive organs of the common marine shrimp, *Penaeus setiferus* Linnaeus. *Biol. Bull.* 94: 244—262.
- [9] Lillie, R. D. H. M. Fullmer, 1976. *Histopathologic Technic and Practical Histochemistry*, 4th ed. New York, McGraw-Hill, pp. 942.
- [10] Pearse, A. G. E., 1968. *Histochemistry, Theoretical and Applied*, Vol. 1, 3rd. ed Williams and Wilkins Company, Baltimore, Maryland, pp. 759.

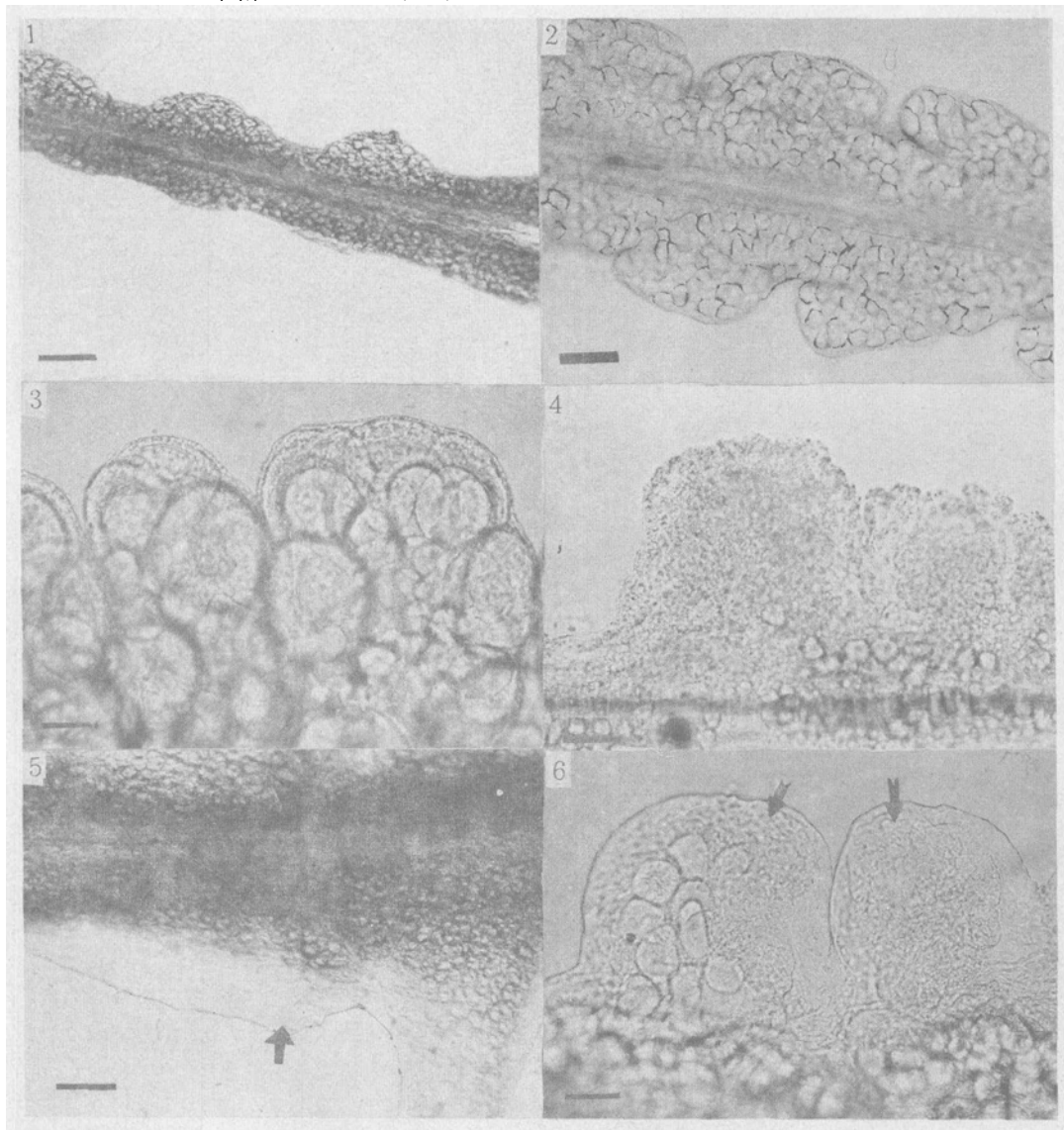
ON DISTINCTION OF THE GENERATIONS OF THE RED
FLAGELLATE SHRIMP
—THE FORMATION OF THE GENITAL TRACES

Chen Qiu

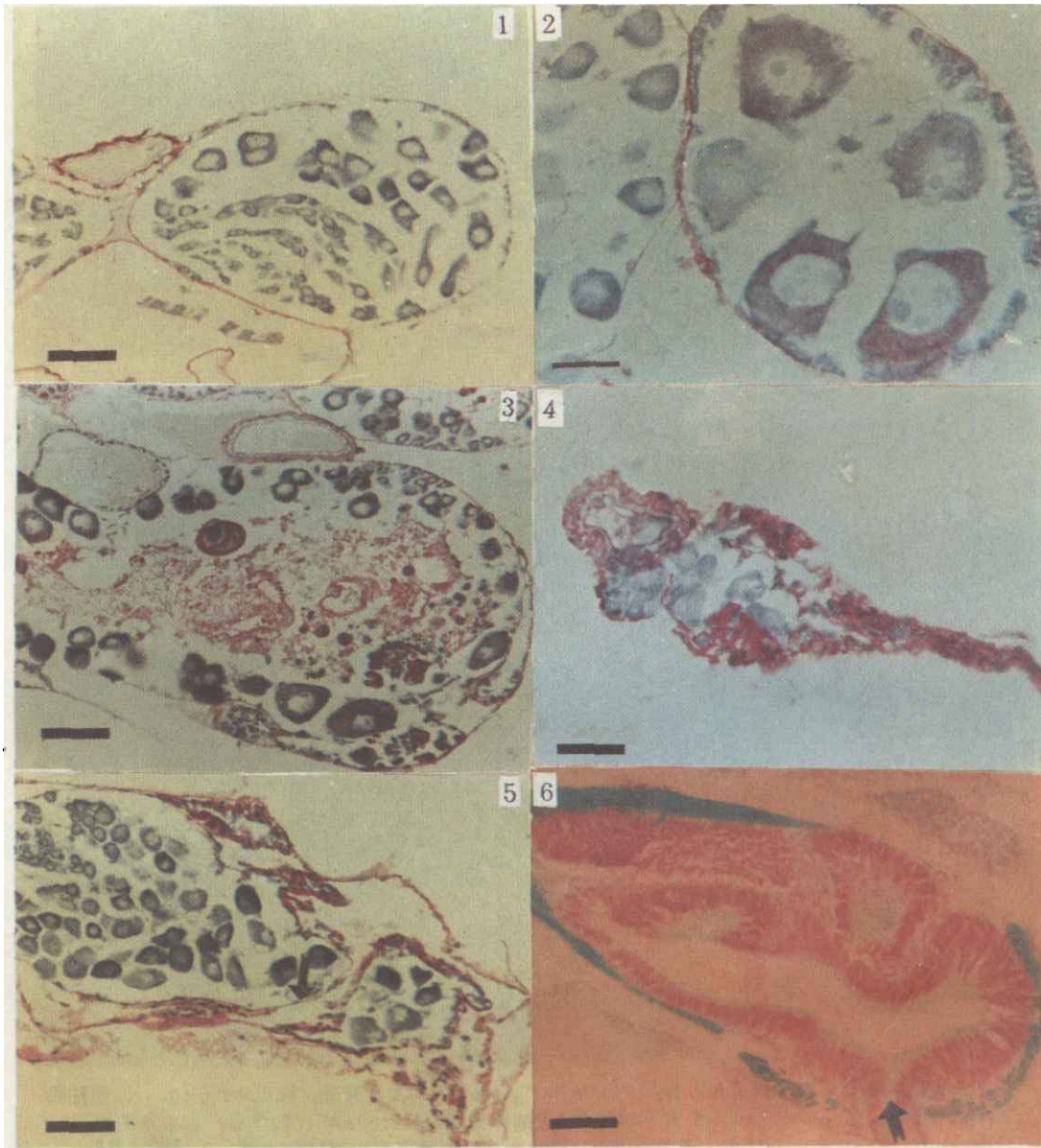
(Liaoning Marine Fisheries Research Institute, Dalian)

ABSTRACT

Two generations—the early summer generation and its filial one, the summer-autumn generation—are bred yearly in the population of the shrimp *Acetes chinensis* Hansen in the Bohai Sea. In order to study the genital mark in the reproductive systems of the early summer generation after its first reproductive season and distinguish the individuals belonging to the generation from its filial ones in the population, the following methods were employed. (1) The females were collected from Liaodong Bay of the Bohai Sea in the reproductive season and cultivated. The spawning process was monitored. The gonads were removed from the spent females in 1—10 days after spawning for morphologic observation and histo-histochemical testing. (2) The samples were caught 1 or 2 times in each month except December—February from the same sea area. After separating the sexes, morphologic and histo-histochemical observations on the genital organs of the females of different body length ranges were carried out. The male reproductive system was observed histochemically only. It is found that after primary breeding season of the first generation, the remaining follicular tissue exists in the spent ovary until new folliculogenesis taking place during next developing period. A decrease in RNA and the cumulation of neutral polysaccharide occurs in the cytoplasm of the remaining follicular cell, showing a tendency of getting senile. The senile cell differs from the newly produced one in the strong positive PAS reaction. There is no oocyte lying in the ovarian periphery occupied by the remaining follicular tissue, that can be identified by microscopy without sectioning, so is a reliable spawning trace and a mark for distinguishing the individuals belonging to the first generation from its filial ones. No remaining or senile accessory cell can be found in the testis of the male shrimp of any body length at any season. But the epithelium blocking the ejaculatory pore in the seminal vesicle is broken in a few males of larger body length, suggesting that it was the mating trace.



1. 初次发育的卵巢，捕于10月份，标尺=200 μ m；2. 春季的初发育卵巢，标尺=200 μ m；3. 刚排卵一次的卵巢，标尺=50 μ m；4. 产卵结束后6天的卵巢，标尺=100 μ m；5. 具有产卵痕迹的卵巢，捕于10月份，标尺=100 μ m；6. 产卵期之后约8个月的卵巢仍有产卵痕迹（箭头），捕于4月份，标尺=80 μ m。



1. 卵泡生成前的卵巢, PAS 法, 标尺=50 μ m; 2. 卵巢, 卵泡形成期, 卵泡细胞呈 PAS 阴性, 基膜呈 PAS 阳性, 标尺=20 μ m; 3. 产卵结束后的卵巢, PAS 法, 标尺=50 μ m; 4. 产卵后8天的卵巢, 旧的卵泡组织呈 PAS 阳性, 标尺=20 μ m; 5. 生殖期后约8个月的卵巢, 旧卵泡组织还存在, 次生卵巢膜(箭头)出现, PAS 法, 标尺=50 μ m; 6. 精囊, 示射精孔开放(箭头), Feulgen 法, 标尺=25 μ m。