

# 日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)秋繁仔虾形态表型对氨氮耐受性能的影响效应\*

王志铮<sup>1</sup> 张思铭<sup>1</sup> 蒋宏雷<sup>2</sup> 申屠基康<sup>1,2</sup> 刘伟健<sup>2</sup> 任夙艺<sup>1</sup>  
张晓霞<sup>1</sup> Msumenji Phiri<sup>1</sup>, Donatha Kajuna<sup>1</sup>

(1. 浙江海洋大学水产学院 舟山 316022; 2. 宁波市海洋与渔业研究院 宁波 315000)

**摘要** 以体长  $7.643 \pm 0.639\text{mm}$  的日本囊对虾秋繁同生群仔虾为实验对象, 以氨氮为胁迫因子, 在水温  $18.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ 、盐度 20、 $\text{pH } 8.1 \pm 0.2$  的条件下, 经确认其 96h 成活率略低于 5% 的氨氮攻毒质量浓度为  $52.37\text{mg/L}$  后, 以此为氨氮急性攻毒实验质量浓度, 借助显微扫描像素测量技术和多元分析方法定量研究了 A、B、C、D、E 实验群体(依次为氨氮攻毒 0—24h、24—48h、48—72h、72—96 h 时段内的死亡群体和氨氮攻毒 96 h 时的存活群体)间形态表型特征的差异。结果表明: (1) 在所涉 15 项形态性状中, 各实验群体间均无显著差异( $P > 0.05$ )的性状仅为总长和第四腹节长; (2) 在所涉 17 项形态比例指标中, 各实验群体间均无显著差异( $P > 0.05$ )的指标共计 3 项, 依次为第五腹节长/总长、额剑长/头胸甲长和尾节高/尾节长, 各实验群体间的欧氏距离均达到显著水平( $P < 0.01$ ), 且均有随耐氨氮性能差异的增大而呈显著增大的趋势; (3) 经主成分分析, 提取到的 5 个特征值均大于 1 的主成分, 累计贡献率达 85.940%, 其中第 1 主成分的贡献率高达 46.121%, 其载荷绝对值大于 0.5 的主要影响变量占形态比例指标总数的 64.706%; (4) 将氨氮急性攻毒处理所获 E 实验群体定义为选留群, 其余实验群体统归为淘汰群, 经判别分析, 所建的 Fisher 分类函数方程组可较清晰地区分淘汰群和选留群个体, 其中选留群和淘汰群个体的判别准确率  $P_1$  分别为 99% 和 86.75%,  $P_2$  分别为 88.20% 和 98.86%, 两者综合判别准确率为 92.88%。

**关键词** 日本囊对虾; 秋繁仔虾同生群; 形态表型; 氨氮; 急性攻毒; 多元分析

**中图分类号** S968      **doi:** 10.11693/hyz20170500151

日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)又名日本对虾, 隶属于甲壳纲、十足目、对虾科, 系广泛分布于我国长江口以南海域的土著种, 是中国传统海水养殖虾类品种和出口创汇的重要水产品。氨氮既是评价养殖水质优劣程度的重要监测指标, 也是影响进而威胁水产养殖动物正常存活、生长和繁衍的重要无机污染物。已有研究表明, 氨氮对日本囊对虾幼体具明显致毒作用(姚庆祯等, 2002), 水环境中过高的氨氮质量浓度常会引发日本囊对虾鳃组织排氨作用的受阻和耗氧量的增加(Chen et al, 1992)、血淋巴蛋白

和血蓝蛋白浓度的显著降低(Chen et al, 1994)、免疫活性以及对 WSSV 抗病力的显著下降(Jiang et al, 2004)等一系列氨毒生理反应, 且其血氨含量随氨氮攻毒时间的延长而上升(Chen et al, 1991)并造成暴发性死亡。因此, 开展该虾仔虾耐氨氮性能的等级筛选与定向选择研究也就显得十分必要。

形态表型受遗传因子和环境因子的共同影响(Mayr et al, 1953)。据报道, 分布于西太平洋海域的日本囊对虾具很高的遗传多样性, 可根据其头胸甲侧面斜纹的延伸特征将其分型为形态变异型和型

\* 宁波市科技富民计划项目, 2016C1007 号; 舟山市海洋类科研攻关项目, 2013C41013 号; 宁波市海洋与渔业局科技项目“2015 年宁波市本级增殖放流技术指导和效果评价”。王志铮, 教授/研究员, E-mail: wzz\_1225@163.com

收稿日期: 2017-05-31, 收修改稿日期: 2017-06-27

(Tsio *et al.*, 2005, 2007); 微卫星标记法研究发现, 取自浙江、福建、广东和海南等四个省份的 6 个地理居群野生日本囊对虾均具丰富的遗传多样性, 且遗传变异贡献率的 93.06% 源自群体内(何永琴等, 2012); 主布于东海和南海北部的形态变异型, 其稚虾的耐高温性能弱于主布于南海水域的形态变异型(宋晓红等, 2014), 且在室内同池饲养条件下, 形态变异型的群体生长性能优于型, 但性成熟时间却晚于型(董宏标等, 2014); 对取自福建厦门的野生群体和养成于海南而种苗源自福建厦门的人工养成群体间形态差异进行比较研究, 发现两者在形态比例特征上已出现了较大程度的偏离(李义军等, 2010)。

无疑, 日本囊对虾群体内丰富的遗传多样性可为其表型的强环境可塑性提供证据支持, 而其表型的强环境可塑性则可为具不同抗逆性能的群体分型研究提供线索和标记。另, 日本囊对虾秋繁同生群仔虾在不同抗流性能群体间和不同耐干露性能群体间均表露出较为显著的表型差异特征(王志铮等, 2016a, b)的结果, 则进一步印证了对不同抗逆等级仔虾群体开展表型分型的可行性。鉴于此, 本文作者于 2014 年 10 月开展了日本囊对虾秋繁同生群仔虾形态比例性状对耐氨氮性能的影响研究, 旨为不同耐氨氮性能等级仔虾的形态筛选提供基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验用仔虾

仔虾来源、总长规格以及暂养处理方法完全同王志铮等(2016a, b)。

### 1.2 理化条件

实验用水的来源及其理化条件完全同王志铮等(2016a, b)。实验用 NH<sub>4</sub>Cl(AR)购自无锡市晶科化工有限公司, 用双蒸水将其配成 1.667g/L 的母液, 现配现用。

### 1.3 实验方法

以 96h 为实验周期。采取静水停食法, 将经预实验确认的实验用仔虾最终存活率略低于 5% 的氨氮攻毒质量浓度 52.37mg/L, 设为本研究氨氮急性攻毒实验质量浓度。于暂养水槽中随机选取 3000ind 实验用仔虾, 以 150ind/L 为实验密度, 以圆底塑料盆(实验实际容积 1L)为实验容器单元, 开展氨氮对仔虾的急性攻毒实验。实验期间及时取出死亡个体, 并将氨氮急性攻毒 0—24h、24—48h、48—72h、72—96h 等 4

个实验时段内的死亡个体和 96h 时的残存个体分别定义为 A、B、C、D、E 实验类群(图 1)。于各实验类群中分别随机选取 100ind 个体作为其测定样本, 并完全按王志铮等(2016a, b)所述方法逐尾进行形态学指标测定。

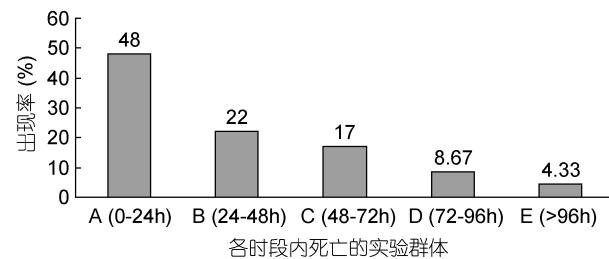


图 1 不同耐氨氮仔虾实验群体的出现率

Fig.1 The occurrence rate of different ammonia-nitrogen resistance of post larval experiment populations

### 1.4 数据处理

借助 SPSS 17.0 软件, 按王志铮等(2016a, b)所述方法, 对所得测量结果依次进行组间形态表型差异显著性检验( $P<0.05$  视为显著水平)、基于标准化欧式距离(全距为 1.00)的组间体型相似性程度分析、基于形态比例指标的主成分分析, 以及针对氨氮急性攻毒处理淘汰群(A、B、C、D 实验群体)和选留群(E 实验群体)的体型判别分析。

## 2 结果

### 2.1 形态表型差异

由表 1 可见, 在所测 15 项形态学指标中, 仅  $X_1$  和  $X_{10}$  无组间差异( $P>0.05$ ),  $X_2$  呈  $D>C>A\approx B$  且 E 与 D、C 均无差异,  $X_3$  呈  $A\approx B\approx C\approx E$  ( $P>0.05$ )且 D 仅与 E 无差异,  $X_4$ 、 $X_6$ 、 $X_{11}$ 、 $X_{14}$  均呈  $E>D>C>B>A$  ( $P<0.05$ ),  $X_5$  仅 B、D 间具差异,  $X_7$ 、 $X_9$ 、 $X_{12}$ 、 $X_{13}$ 、 $X_{15}$  等 5 项指标均呈仅 D 与 A、B 间具差异,  $X_8$  呈  $D>E\approx C\approx A\approx B$ ; 由表 2 可见, 在所涉 17 项形态比例指标中, 仅  $C_9$ 、 $C_{13}$  和  $C_{17}$  无组间差异( $P>0.05$ ),  $C_1$  仅 D 与 A 间具差异,  $C_2$ 、 $C_4$ 、 $C_5$ 、 $C_6$ 、 $C_7$ 、 $C_8$ 、 $C_{10}$ 、 $C_{11}$  等 8 项指标均呈  $B>C>D>E>A$  ( $P<0.05$ ),  $C_3$  仅 C 与 E 间具差异,  $C_{12}$  仅 D 与 E 间具差异,  $C_{14}$ 、 $C_{15}$ 、 $C_{16}$  等 3 项指标均呈  $A>E>D>C>B$  ( $P<0.05$ )。由此可见, 各实验群体间形态表型特征的差异会导致它们在氨氮耐受性能上的分化, 且形态性状比例性状在甄别不同耐氨氮性能实验群体间的差异上较形态性状本身更具有序性。

表 1 实验群体各形态测量指标的均值和标准差( $n=100$ )(单位: mm)  
Tab.1 The parameter statistics of morphological measurement indexes for all tested groups

代码/测量指标	A 实验群体		B 实验群体		C 实验群体		D 实验群体		E 实验群体	
	均值	标准差	均值	标准差	均值	标准差	均值	标准差	均值	标准差
$X_1/\text{总长}$	7.053 <sup>a</sup>	0.223	7.211 <sup>a</sup>	0.198	7.378 <sup>a</sup>	0.196	7.566 <sup>a</sup>	0.215	7.669 <sup>a</sup>	0.216
$X_2/\text{第一触角柄长}$	0.982 <sup>a</sup>	0.116	1.006 <sup>a</sup>	0.122	1.045 <sup>b</sup>	0.110	1.083 <sup>c</sup>	0.119	1.074 <sup>bc</sup>	0.126
$X_3/\text{额剑长}$	1.382 <sup>a</sup>	0.040	1.382 <sup>a</sup>	0.039	1.384 <sup>a</sup>	0.038	1.398 <sup>b</sup>	0.040	1.390 <sup>ab</sup>	0.038
$X_4/\text{眼径}$	0.297 <sup>a</sup>	0.009	0.304 <sup>b</sup>	0.009	0.310 <sup>c</sup>	0.009	0.319 <sup>d</sup>	0.009	0.324 <sup>e</sup>	0.009
$\text{头胸甲长}/X_5$	2.678 <sup>ab</sup>	0.116	2.666 <sup>a</sup>	0.132	2.687 <sup>ab</sup>	0.126	2.704 <sup>b</sup>	0.121	2.693 <sup>ab</sup>	0.130
$\text{头胸甲高}/X_6$	0.911 <sup>a</sup>	0.026	0.932 <sup>b</sup>	0.028	0.952 <sup>c</sup>	0.029	0.978 <sup>d</sup>	0.029	0.996 <sup>e</sup>	0.029
第一腹节长/ $X_7$	0.429 <sup>a</sup>	0.020	0.430 <sup>a</sup>	0.020	0.433 <sup>ab</sup>	0.019	0.436 <sup>b</sup>	0.020	0.432 <sup>ab</sup>	0.020
第二腹节长/ $X_8$	0.384 <sup>a</sup>	0.017	0.384 <sup>a</sup>	0.018	0.385 <sup>a</sup>	0.018	0.390 <sup>b</sup>	0.016	0.384 <sup>a</sup>	0.018
第三腹节长/ $X_9$	0.438 <sup>a</sup>	0.013	0.437 <sup>a</sup>	0.013	0.439 <sup>ab</sup>	0.013	0.442 <sup>b</sup>	0.013	0.441 <sup>ab</sup>	0.012
第四腹节长/ $X_{10}$	0.364 <sup>a</sup>	0.010	0.364 <sup>a</sup>	0.011	0.364 <sup>a</sup>	0.011	0.367 <sup>a</sup>	0.010	0.366 <sup>a</sup>	0.011
第五腹节长/ $X_{11}$	1.586 <sup>a</sup>	0.046	1.615 <sup>b</sup>	0.048	1.659 <sup>c</sup>	0.051	1.697 <sup>d</sup>	0.047	1.720 <sup>e</sup>	0.049
尾节长/ $X_{12}$	0.833 <sup>a</sup>	0.023	0.834 <sup>a</sup>	0.025	0.836 <sup>ab</sup>	0.025	0.841 <sup>b</sup>	0.021	0.838 <sup>ab</sup>	0.024
尾扇长/ $X_{13}$	1.175 <sup>a</sup>	0.032	1.175 <sup>a</sup>	0.035	1.177 <sup>ab</sup>	0.032	1.184 <sup>b</sup>	0.032	1.179 <sup>b</sup>	0.037 <sup>a</sup>
腹节高/ $X_{14}$	0.712 <sup>a</sup>	0.019	0.726 <sup>b</sup>	0.022	0.744 <sup>c</sup>	0.022	0.762 <sup>d</sup>	0.020	0.774 <sup>e</sup>	0.022
$X_{15}/\text{尾节高}$	0.214 <sup>a</sup>	±0.006	0.214 <sup>a</sup>	0.007	0.215 <sup>ab</sup>	0.006	0.216 <sup>b</sup>	0.006	0.215 <sup>ab</sup>	0.006

注: A 实验群体: 氨氮攻毒 0—24h 时段内的死亡群体; B 实验群体: 氨氮攻毒 24—48h 时段内的死亡群体; C 实验群体: 氨氮攻毒 48—72h 时段内的死亡群体; D 实验群体: 氨氮攻毒 72—96h 时段内的死亡群体; E 实验群体: 氨氮攻毒 96h 时的残存群体; 同一行均值上标不同字母示组间显著差异( $P<0.05$ )。下同

表 2 实验群体形态比例特征间的差异( $n=100$ )  
Tab.2 The differences of morphological proportion traits for all tested groups

代码/形态比例指标	A 实验群体		B 实验群体		C 实验群体		D 实验群体		E 实验群体	
	均值	标准差								
$C_1/(第一触角柄长/总长)$	0.140 <sup>a</sup>	0.014	0.139 <sup>ab</sup>	0.014	0.139 <sup>ab</sup>	0.014	0.141 <sup>b</sup>	0.013	0.143 <sup>ab</sup>	0.013
$C_2/(额剑长/总长)$	0.181 <sup>a</sup>	0.004	0.196 <sup>b</sup>	0.004	0.192 <sup>c</sup>	0.004	0.188 <sup>d</sup>	0.004	0.185 <sup>e</sup>	0.004
$C_3/(眼径/总长)$	0.042 <sup>ab</sup>	0.001	0.042 <sup>ab</sup>	0.001	0.042 <sup>a</sup>	0.001	0.042 <sup>ab</sup>	0.001	0.042 <sup>b</sup>	0.001
$C_4/(头胸甲长/总长)$	0.351 <sup>a</sup>	0.011	0.380 <sup>b</sup>	0.011	0.370 <sup>c</sup>	0.012	0.364 <sup>d</sup>	0.012	0.357 <sup>e</sup>	0.011
$C_5/(第一腹节长/总长)$	0.056 <sup>a</sup>	0.002	0.061 <sup>b</sup>	0.002	0.060 <sup>c</sup>	0.002	0.059 <sup>d</sup>	0.002	0.058 <sup>e</sup>	0.002
$C_6/(第二腹节长/总长)$	0.050 <sup>a</sup>	0.002	0.054 <sup>b</sup>	0.002	0.053 <sup>c</sup>	0.002	0.052 <sup>d</sup>	0.002	0.052 <sup>e</sup>	0.002
$C_7/(第三腹节长/总长)$	0.057 <sup>a</sup>	0.001	0.062 <sup>b</sup>	0.001	0.061 <sup>c</sup>	0.001	0.060 <sup>d</sup>	0.001	0.058 <sup>e</sup>	0.001
$C_8/(第四腹节长/总长)$	0.048 <sup>a</sup>	0.001	0.052 <sup>b</sup>	0.001	0.051 <sup>c</sup>	0.001	0.049 <sup>d</sup>	0.001	0.048 <sup>e</sup>	0.001
$C_9/(第五腹节长/总长)$	0.224 <sup>a</sup>	0.005	0.225 <sup>a</sup>	0.004	0.224 <sup>a</sup>	0.005	0.225 <sup>a</sup>	0.005	0.224 <sup>a</sup>	0.005
$C_{10}/(\text{尾节长}/\text{总长})$	0.109 <sup>a</sup>	0.002	0.118 <sup>b</sup>	0.002	0.116 <sup>c</sup>	0.002	0.113 <sup>d</sup>	0.002	0.111 <sup>e</sup>	0.002
$C_{11}/(\text{尾扇长}/\text{总长})$	0.154 <sup>a</sup>	0.003	0.167 <sup>b</sup>	0.004	0.163 <sup>c</sup>	0.003	0.159 <sup>d</sup>	0.003	0.157 <sup>e</sup>	0.003
$C_{12}/(\text{第一触角柄长}/\text{头胸甲长})$	0.398 <sup>ab</sup>	0.035	0.366 <sup>ab</sup>	0.033	0.377 <sup>ab</sup>	0.034	0.388 <sup>a</sup>	0.029	0.400 <sup>b</sup>	0.032
$C_{13}/(\text{额剑长}/\text{头胸甲长})$	0.517 <sup>a</sup>	0.017	0.517 <sup>a</sup>	0.015	0.519 <sup>a</sup>	0.018	0.516 <sup>a</sup>	0.017	0.518 <sup>a</sup>	0.016
$C_{14}/(\text{眼径}/\text{头胸甲长})$	0.121 <sup>a</sup>	0.004	0.111 <sup>b</sup>	0.003	0.114 <sup>c</sup>	0.004	0.115 <sup>d</sup>	0.004	0.118 <sup>e</sup>	0.003
$C_{15}/(\text{头胸甲高}/\text{头胸甲长})$	0.370 <sup>a</sup>	0.012	0.341 <sup>b</sup>	0.010	0.350 <sup>c</sup>	0.012	0.355 <sup>d</sup>	0.012	0.362 <sup>e</sup>	0.010
$C_{16}/(\text{腹节高}/\text{第一腹节长})$	1.794 <sup>a</sup>	0.057	1.661 <sup>b</sup>	0.054	1.690 <sup>c</sup>	0.051	1.719 <sup>d</sup>	0.049	1.749 <sup>e</sup>	0.057
$C_{17}/(\text{尾节高}/\text{尾节长})$	0.257 <sup>a</sup>	0.006	0.257 <sup>a</sup>	0.005	0.257 <sup>a</sup>	0.006	0.257 <sup>a</sup>	0.006	0.257 <sup>a</sup>	0.005

## 2.2 相似性程度分析

据表 2 所列各项形态比例指标的均值, 依次计算

本研究所涉 5 个不同耐氨氮性能实验群体间的欧氏距离。由表 3 可见, 各实验群体间的欧氏距离均达到

极显著水平( $P<0.01$ ),且均有随耐氨氮性能差异的增大而呈显著增大的趋势,进一步表明可借助形态比例性状来甄别各实验群体间的耐氨氮性能差异。

表 3 实验群体形态比例特征间的欧氏距离( $n=100$ )  
Tab.3 The Euclidean distance of morphological proportion traits for all tested groups

群体类别	A 实验群体	B 实验群体	C 实验群体	D 实验群体
B 实验群体	1.524	0		
C 实验群体	1.942	1.776	0	
D 实验群体	3.029	2.045	1.566	0
E 实验群体	3.598	2.631	2.001	1.274

### 2.3 主成分分析

经 Bartlett 球形检验( $P<0.05$ )和 KMO 适合度检验

( $KMO=0.816>0.700$ , 尚可), 对表 2 所列形态比例指标进行主成分分析, 得表 4。由表 4 可见, 表中所列 5 个主成分的方差累计贡献率为 85.940%, 表明这些主成分可概括不同耐氨氮性能群体间的表型差异。其中,  $PC_1$  的方差贡献率(46.12%)及其所含载荷绝对值  $p>0.5$  的主要影响变量的个数(11 个)均远高于其它主成分之和, 无疑其在甄别不同耐氨氮性能群体间的表型差异上具关键性作用。但由  $PC_1$  与其它 4 个主成分间的得分散布图(图 2)可见, 沿 FAC1 轴自左向右, 氨氮急性攻毒下相邻及相间死亡时段的实测样本间却均存在一定程度的重叠, 表明  $PC_1$  在归纳本研究实测样本的类群归属上明显受到了某些关键影响变量的干扰。

表 4 实验群体形态比例特征指标的主成分分析·  
Tab.4 The principal component analysis of morphological proportion traits for all tested groups

代码/形态比例指标	载荷				
	$PC_1$	$PC_2$	$PC_3$	$PC_4$	$PC_5$
$C_1/(第一触角柄长/总长)$	0.235	-0.763*	0.543*	0.122	-0.112
$C_2/(额剑长/总长)$	0.852*	0.362	0.095	0.116	0.007
$C_3/(眼径/总长)$	0.242	0.220	0.673*	-0.389	0.144
$C_4/(头胸甲长/总长)$	0.891*	-0.298	-0.102	-0.243	0.141
$C_5/(第一腹节长/总长)$	0.842*	-0.088	0.123	0.290	-0.109
$C_6/(第二腹节长/总长)$	0.820*	-0.033	0.169	0.091	-0.009
$C_7/(第三腹节长/总长)$	0.861*	0.255	0.018	0.007	0.008
$C_8/(第四腹节长/总长)$	0.856*	0.282	0.031	0.043	0.037
$C_9/(第五腹节长/总长)$	0.354	0.145	0.601*	-0.316	0.246
$C_{10}/(尾节长/总长)$	0.871*	0.283	0.035	-0.124	-0.244
$C_{11}/(尾扇长/总长)$	0.870*	0.270	0.036	0.035	0.007
$C_{12}/(第一触角柄长/头胸甲长)$	-0.153	-0.675*	0.622*	0.240	-0.186
$C_{13}/(额剑长/头胸甲长)$	-0.233	0.777*	0.234	0.437	-0.172
$C_{14}/(眼径/头胸甲长)$	-0.761*	0.412	0.427	0.049	-0.070
$C_{15}/(头胸甲高/头胸甲长)$	-0.757*	0.373	0.366	0.177	-0.079
$C_{16}/(腹节高/第一腹节长)$	-0.694*	0.195	0.127	-0.457	0.216
$C_{17}/(尾节高/尾节长)$	0.009	-0.050	0.044	0.482	0.866*
特征值	7.841	2.586	1.952	1.173	1.058
贡献率(%)	46.121	15.211	11.482	6.902	6.223
累计贡献率(%)	46.121	61.333	72.815	79.717	85.940

### 2.4 判别分析

基于主成分分析,采用逐步导入剔除法,对  $C_2$ 、 $C_4$ 、 $C_6$ 、 $C_{10}$ 、 $C_{13}$ 、 $C_{14}$ 、 $C_{15}$ 、 $C_{16}$ 、 $C_{17}$  等 9 个对淘汰群和选留群判别贡献率较大的表型变量进行判别分析。经检验,上述变量的  $F$  值均达到极显著水平( $P<0.01$ )。据此,建立基于实测样本的 Fisher 分类函

数方程组(表 5),绘制“选留群典型函数判别方程得分/淘汰群典型函数判别方程得分”散布图(图 3)并计算判别准确率(表 6)。由图 3 和表 6 可见,选留群和淘汰群实测样本的判别准确率  $P_1$  分别为 99% 和 86.75%, $P_2$  分别为 88.20% 和 98.86%,两者综合判别准确率为 92.88%,具较强的判别可靠性。

表 5 淘汰群与选留群的实测样本表型 Fisher 分类函数方程组  
Tab.5 The independent variable coefficient and constant terms of the Fisher classification functions

类群	自变量系数									常数项
	C <sub>2</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>6</sub>	C <sub>10</sub>	C <sub>13</sub>	C <sub>14</sub>	C <sub>15</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>17</sub>	
淘汰群	-373239.473	59971.405	-204.015	-5345.370	2773.543	160584.988	6394.044	566.017	7468.213	-15349.352
选留群	-374237.401	60262.529	-482.009	-5837.357	2728.598	161295.154	6521.543	575.301	7363.539	-15438.198

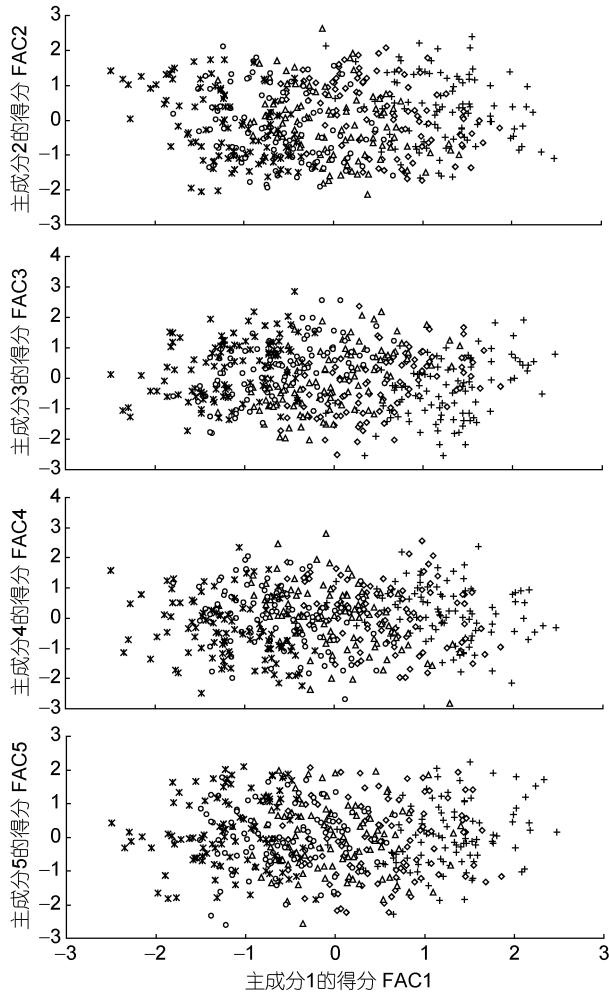


图 2 主成分散布图

Fig.2 The scatter diagram of principal component of morphological proportion traits for all tested groups

注: +、\*、○、\*依次示 A、B、C、D、E 实验群体个体

### 3 讨论

#### 3.1 关于不同耐氨氮性能实验群体的划分方法

公式  $SC=0.1 \times 96hLC_{50}$  (Sprague, 1971) 常用于估算目标水产养殖动物的安全质量浓度, 故毒物对目标水产养殖动物的急性攻毒实验周期常设为 96h。鉴于此, 本研究亦将氨氮对日本囊对虾秋繁仔虾的急性攻毒处理周限设定为 96h。根据小概率事件实际不可能性原理, 农业试验研究中常将大样本水平下  $P$  值

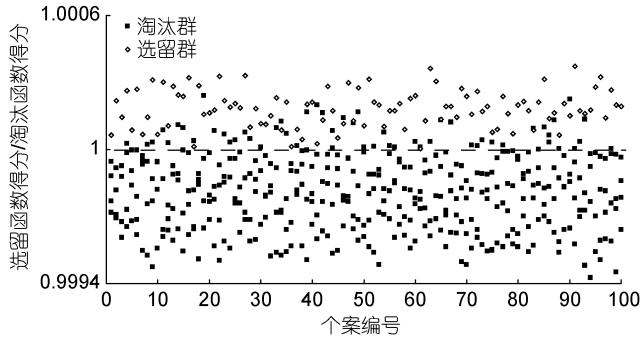


图 3 淘汰群与选留群实验样本的典型判别函数判别得分  
散点图

Fig.3 The scatter diagram of the typical discriminant function for all the tested groups

表 6 淘汰群与选留群实验样本的判别结果

Tab.6 The discrimination classification for all the tested groups

类群	样本数 (ind)	预测分类(ind)		判别准确率(%)		综合判别率 (%)
		淘汰群	选留群	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	
淘汰群	400	347	53	86.75	98.86	92.88
选留群	100	1	99	99.00	88.20	

等于 0.05 设为表露组间差异的临界(盖钧镒, 2000)。因此, 为获得具统计学意义的耐氨氮性能优质仔虾群体, 本研究以随机选取的 3000ind 实验用仔虾作为实验样本, 将经氨氮急性攻毒处理后最终存活率略低于 5% 水平的残存群体定义为氨氮急性攻毒处理选留群, 而将急性攻毒处理期间的所有死亡个体统归为氨氮急性攻毒处理淘汰群, 以确保所得实验结果的可靠性。为进一步阐释形态表型组合与耐氨氮性能梯次变化间的相关性, 本研究按死亡先后时序将淘汰群中的实验样本依次分为 A、B、C、D 实验测定群体。

#### 3.2 耐氨氮性能与形态比例表型间的相关性

由表 4 可见, 尽管  $PC_1$  的方差贡献率及所含主要影响变量的个数均远大于其它主成分, 但就图 2 中各相邻及相间不同类群实测样本间所表露的较大重叠现象, 以及图 3 和表 6 所示选留群和淘汰群中分别有 1% 和 13.25% 的个体被误判的结果, 既反映了本研究所涉不同耐氨氮性能仔虾群体间在形态表型适应上

所具的梯级连续变化特征, 也揭示了仔虾在耐氨氮性能上的间断性与相邻及相间实验群体间在形态表型变化上的连续性的辩证统一。

一般而言, 虾类性成熟之前均处于以体型增长为主和体型增粗为辅的异速生长阶段。王吉桥等(1999)也指出, 虾体各部位的异速生长特征取决于其体内新陈代谢中起主导地位的方面的时序性和阶段性变化, 并与其器官结构和功能的完善与强化秩序密切相关。故所测部位在横轴维度(体长轴)上的占比越大, 或横向与纵向测量值间的比值越大, 则表明该部位的增长速度越快, 所涉生理机能也就愈加获得强化, 反之亦然。由此, 本研究所涉日本囊对虾仔虾同生群在总长相近( $P>0.05$ )的条件下, 其  $C_2$ 、 $C_4$ 、 $C_6$ 、 $C_{10}$  均呈  $B>C>D>E>A$ ( $P<0.05$ ) 和  $C_{14}$ 、 $C_{15}$ 、 $C_{16}$  均呈  $A>E>D>C>B$ ( $P<0.05$ ) 的结果(表 2), 既揭示了形态比例特征与氨氮耐受性能间具强相关性的原因, 系具不同耐氨氮性能的仔虾在额剑、眼径、头胸部、腹节和尾节上具不同增长速度所致, 也反映了这些测量部位所涉生理机能与氨氮耐受性能间有着较为密切的关系。姚庆祯等(2002)发现, 日本囊对虾仔虾受氨氮高质量浓度急性攻毒后, 活动即显异常, 大部分狂游, 有的头翘尾打旋, 随攻毒时间推移, 沉入底部经微弱挣扎后死亡, 死前体色由透明渐变为乳白, 死后虾体僵直或呈弓形。这一中毒致死过程与本研究的观察结果一致, 即仔虾受氨氮胁迫后, 首先表露为极为强烈的应激避趋运动, 待逃逸无望, 体能极度衰竭并伴随鳃、肝胰腺及腹部肌肉的坏死而亡。据报道, 虾蟹类体内能量流动和转换的基本模型为: 摄食能=生长能+呼吸能+排泄能+排粪能+蜕壳能(Breteler, 1975), 多数虾蟹类的呼吸能占其摄入能量的 50%以上(王兴强等, 2005); 高质量浓度的氨氮不仅会妨碍日本囊对虾鳃组织的排氨作用, 而且还会通过显著降低血淋巴蛋白和血蓝蛋白的浓度以迫使其增大耗氧量(Chen et al, 1992, 1994), 进而导致其血氨含量快速上升和机体免疫力的显著下降(Chen et al, 1991; Jiang et al, 2004)。综上可知, 本研究所涉 5 个实验类群间耐氨氮性能差异的实质, 缘于它们表型特征所映射的各不相同的体质状况及与之相匹配的机体能量获取和分配策略。

本研究所涉诸实验类群中, A 实验群体的耐氨氮性能与 E 实验群体差异最大, 与 B 实验群体差异最小(图 1、图 2)的情形, 与表 5 所涉判别自变量除  $C_{13}$ 、 $C_{17}$  均呈  $A\approx B\approx C\approx D\approx E$  ( $P>0.05$ ) 外, 其余均呈  $B>C>D>$

$E>A$  ( $P<0.05$ ) 均或  $A>E>D>C>B$  ( $P<0.05$ ) 的实测结果(表 2)完全相悖, 表明日本囊对虾仔虾具两种截然不同的机体能量获取和分配策略。据报道, 对虾脏器主要集中于其头胸甲内(王吉桥等, 1999), 额剑系表征对虾体质和生长代谢旺盛程度的重要形态特征(王志铮等, 2012), 在御敌攻击和维系运动平衡中具重要作用(王安利等, 1993; 沈辉等, 2010), 张开尾扇, 腹部迅速向前弯曲, 使虾体向后上方突然跃起是对虾类御敌避害的主要运动方式(堵南山, 1993)。故上述判别表型差异既反映了 A 实验群体通过显著增大眼径、头胸甲高与头胸甲长间的比值(依次为  $C_{14}$ 、 $C_{15}$ ) 并增粗腹节( $C_{16}$ ), 发展了以增强眼部寻食定位能力, 提高头胸部呼吸与血循效率以及腹部弹跃强度为特征的表型生长方式, 揭示了其通过提高捕食成功率以减少捕食频次和降低运动能耗为主旨的机体能量获取和分配策略, 也反映了 B 实验群体通过显著增大额剑长、头胸甲长、第二腹节长以及尾节长与总长间的比值(依次为  $C_2$ 、 $C_4$ 、 $C_6$ 、 $C_{10}$ ), 发展了以增强额剑御敌攻击强度、扩大胸腔血容量、提高腹部肌肉弯曲幅度和尾部后跃强度为特征的表型生长方式, 揭示了其通过增强捕食攻击强度和提高运动能力以扩大寻食空间和增加捕食频次为主旨的机体能量获取和分配策略。无疑, 这也与日本囊对虾仔虾在抗流性能上存在“低能耗慢长型”和“高能耗速生型”两种不同的运动能量代谢机制及相应的形态分型特征(王志铮等, 2016a)的判断相吻。显然, 前者表型生长方式所映射的“节能型”捕食对策更有利于游泳能力和体质均较弱个体的生存和发展, 而后者所映射的“耗能型”捕食对策则更有利于游泳能力和体质个体均较强个体的生存和发展。故, A 实验群体首先被淘汰的原因无疑与其游泳能力和体质过弱有关, 而 B 实验群体随后被淘汰的原因则应与其具过强的游泳能力, 致使其鳃组织、肝胰腺和肌肉生理功能在强烈的应激避趋运动中更易受损进而坏死有关。综上可知, E 实验群体因其机体能量获取和分配策略最倾向于 A, 致使其与 A 实验群体的体质差异随两者间各判别表型数值差异的增大被进一步放大, 并最终被选留, 而 C、D 实验群体因其机体能量获取和分配策略更倾向于 B, 致使两者在氨氮高质量浓度急性攻毒下其鳃组织、肝胰腺和肌肉生理功能受损程度明显高于 E 而先后被淘汰。

鉴于表 6 和图 3 所得判别结果的准确性。实践应用时, 应于选定的仔虾培养池中随机抽取足够数量

的测定样本( $n=60$ ind), 并经统计获得表 5 中所列各自变量均值后, 将这些自变量均值分别代入表 5 所列方程组中, 若其在淘汰群与选留群形态比例特征 Fisher 分类函数方程中的判别得分之比小于或等于 1, 则可判定该池仔虾具较强的耐氨氮性能, 反之亦然。

#### 4 结论

日本囊对虾秋繁同生群仔虾的耐氨氮性能与其形态表型具强相关性, 仔虾群体间耐氨氮性能等级的差异, 有随其体型相似性程度降低而增大, 和形态比例表型主成分散布图中重合度减少而增大的趋势, 可依据形态比例表型  $C_2$ 、 $C_4$ 、 $C_6$ 、 $C_{10}$ 、 $C_{13}$ 、 $C_{14}$ 、 $C_{15}$ 、 $C_{16}$  和  $C_{17}$  来判别仔虾群体的耐氨氮性能等级。日本囊对虾秋繁同生群仔虾间耐氨氮性能差异的实质, 缘于  $C_2$ 、 $C_4$ 、 $C_6$ 、 $C_{10}$ 、 $C_{13}$ 、 $C_{14}$ 、 $C_{15}$ 、 $C_{16}$  和  $C_{17}$  这些形态比例特征所映射的体质状况及与之相匹配的机体能量获取和分配策略。无疑, 对通过提高捕食成功率以减少捕食频次和降低运动能耗, 与通过增强捕食攻击强度和提高运动能力以扩大寻食空间和增加捕食频次这两种机体能量获取和分配策略的权衡与选择是引起仔虾群体间表露体质状况和耐氨氮性能差异的主要原因。

#### 参 考 文 献

- 王吉桥, 靳翠丽, 姜静颖等, 1999. 中国对虾和日本对虾身体不同部位生长的研究. 见: 中国动物科学研究——中国动物学会第十四届会员代表大会及中国动物学会 65 周年年会论文集. 郑州: 中国动物学会, 92—98
- 王兴强, 马 钊, 董双林, 2005. 虾蟹类生物能量学研究进展. 海洋科学, 29(10): 65—69
- 王安利, 母学全, 周世梅等, 1993. 中国对虾行为的观察. 海洋科学, 17(4): 16—18
- 王志铮, 朱海军, 任夙艺等, 2016a. 日本囊对虾 (*Marsupenaeus japonicus*) 秋繁仔虾形态表型与抗流性能的相关性. 海洋与湖沼, 47(2): 360—368
- 王志铮, 杨 磊, 施建军等, 2012. 日本沼虾 (*Macrobrachium nipponensis*) 池养越冬抱卵亲虾表型性状对个体繁殖力的影响效应. 海洋与湖沼, 43(1): 166—173
- 王志铮, 祝本强, 任夙艺等, 2016b. 日本囊对虾 (*Marsupenaeus japonicus*) 秋繁同生群仔虾不同耐干露性能群体间的形态表型差异. 海洋与湖沼, 47(3): 673—680
- 李义军, 李 婷, 王 平等, 2010. 日本囊对虾 (*Marsupenaeus japonicus*) 3 个野生种群和 1 个养殖种群的形态差异与判别分析. 海洋与湖沼, 41(4): 500—504
- 何永琴, 苏永全, 毛 勇等, 2012. 用微卫星标记分析不同形态变异类型日本囊对虾的遗传多样性. 水产学报, 36(10): 1520—1528
- 沈 辉, 万夕和, 许 璞等, 2010. 脊尾白虾的行为学观察研究. 海洋科学, 34(10): 53—56, 61
- 宋晓红, 毛 勇, 董宏标等, 2014. 两种形态变异类型日本囊对虾稚虾高温耐受性的比较. 水产学报, 38(1): 84—90
- 姚庆祯, 臧维玲, 戴习林等, 2002. 亚硝酸盐和氨对凡纳对虾和日本对虾幼体的毒性作用. 上海水产大学学报, 11(1): 21—26
- 堵南山, 1993. 甲壳动物学. 北京: 科学出版社, 743
- 盖钧镒主编, 2000. 试验统计方法. 北京: 中国农业出版社, 49
- 董宏标, 苏永全, 毛 勇等, 2014. 室内环境下日本囊对虾 2 种形态变异类型群体生长特性比较研究. 热带海洋学报, 33(4): 51—60
- Breteler W C M K, 1975. Food consumption, growth and energy metabolism of juvenile shore crabs, *Carcinus maenas*. Netherlands Journal of Sea Research, 9(3—4): 255—272
- Chen J C, Cheng S Y, Chen C T, 1994. Changes of haemocyanin, protein and free amino acid levels in the haemolymph of *Penaeus japonicus* exposed to ambient ammonia. Comparative Biochemistry and Physiology, 109A(2): 339—347
- Chen J C, Kou Y Z, 1991. Accumulation of ammonia in the hemolymph of *Penaeus japonicus* exposed to ambient ammonia. Diseases of Aquatic Organisms, 11: 187—191
- Chen J C, Lai S H, 1992. Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus japonicus* adolescents exposed to ambient ammonia. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology, 102(1): 129—133
- Jiang G J, Yu R C, Zhou M J, 2004. Modulatory effects of ammonia-N on the immune system of *Penaeus japonicus* to virulence of white spot syndrome virus. Aquaculture, 241(1—4): 61—75
- Mayr E, Linsley E G, Usinger R L, 1953. Methods and Principles of Systematic Zoology. New York and London: McGraw Hill, 23—39, 125—154
- Sprague J B, 1971. Measurement of pollutant toxicity to fish-III: sublethal effects and “safe” concentrations. Water Research, 5(6): 245—266
- Tsio K H, Wang Z Y, Chu K H, 2005. Genetic divergence between two morphologically similar varieties of the kuruma shrimp *Penaeus japonicus*. Marine Biology, 147(2): 367—379
- Tsio K H, Wang Z Y, Chu K H, 2007. Molecular population structure of the kuruma shrimp *Penaeus japonicus* species complex in western Pacific. Marine Biology, 150(6): 1345—1364

## THE CORRELATION BETWEEN AMMONIA ENDURANCE AND MORPHOLOGICAL TRAITS OF THE *MARSUPENAEUS JAPONICUS* POST LARVA

WANG Zhi-Zheng<sup>1</sup>, ZHANG Si-Ming<sup>1</sup>, JIANG Hong-Lei<sup>2</sup>, SHENTU Ji-Kang<sup>1,2</sup>, LIU Wei-Jian<sup>2</sup>, REN Su-Yi<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-Xia<sup>1</sup>, Msumenji Phiri<sup>1</sup>, Donatha Kajuna<sup>1</sup>

(1. Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China;  
2. Marine and Fishery Research Institute of Ningbo, Ningbo 315000, China)

**Abstract** A study was conducted to investigate the correlation between ammonia endurance and morphological traits of the post larva *Marsupenaeus japonicus*. Research specimens were kept under the following conditions prior to the experiment: water temperature  $18.0\pm1.0^{\circ}\text{C}$ , salinity 20, and pH  $8.1\pm0.2$ . The post larva *M. japonicus* from the autumn propagation (body length  $7.643\pm0.639\text{mm}$ ), and ammonia-N as stress factor. After 96h experiment, when the survival rate of post larva was slightly less than 5%, the ammonia concentration was 52.37%, and taking this concentration as the ammonia acute toxicity experiment concentration. Using microscopic pixel measurement technology and multivariate analysis method to study the different morphological traits of five groups, A, B, C, D, E which represent the death groups of A (0—24h), B (24—48h), C (48—72h), D (72—96h) and the survival group of E (>96h). The results showed that: (1) Among the 15 morphological traits, there were no significant differences in total length and fourth abdominal segment length between all groups; (2) Among the 17 trait proportions, there were no significant differences in 3 indexes which were fifth abdominal segment length / total length, rostrum length / carapace length, and telson height/telson length. The level of Euclidean distance was extremely significant difference ( $P<0.01$ ), and its significant difference increased with the increasing difference endurance to ammonia. (3) The results of the principle component analysis (PCA) showed that there are five principal components to be extracted whose eigenvalues were larger the 1. the accumulative contribution of the five principal components was 85.940%. The accumulative contribution of first principal component was 46.121%, and its absolute loading value was more than 0.5 which accounted for 64.706% of the total proportion indexes. (4) In discriminant analysis, the groups A, B, C and D were concluded as elimination groups and group E was concluded as retention group. The independent variables were used to establish Fisher classification function equations which could clearly distinguish the individual in elimination groups and retention group. The result showed that the discriminant accuracy rate of individuals in retention group for  $P_1$  and  $P_2$  were 99% and 88.20% respectively. The discriminant accuracy rate of  $P_1$  and  $P_2$  for the elimination group was 86.75% and 98.86% respectively and the synthetic discriminant accuracy rate was 92.88%.

**Key words** *Marsupenaeus japonicus*; post larva; autumn propagation; morphological traits; ammonia; multivariate analysis