

三疣梭子蟹的第二次卵巢发育规律

姚桂桂¹, 吴旭干¹, 杨筱珍¹, 成永旭^{1,*}, 王春琳²

(1. 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;

2. 宁波大学生命科学与生物工程学院, 宁波 315211)

摘要: 2005年3—5月, 在室内养殖条件下对第二次卵巢发育的三疣梭子蟹进行连续采样, 系统研究了其第二次卵巢发育期间的卵巢指数(GSI)、肝胰腺指数(HSI)、卵巢外部特征、卵巢发育分期及其组织学变化。结果表明: ①三疣梭子蟹第二次卵巢发育过程可以分为4期, I期卵巢为乳白色或者淡黄色细带状, 卵巢中主要为卵黄合成期的卵母细胞和内源性卵黄合成前卵母细胞; II期为淡黄色或橘黄色, 主要为外源性卵黄合成期的卵母细胞; III期卵巢为橘红色, 主要为外源性卵黄合成期的卵母细胞和近成熟期的卵母细胞; IV期卵巢发育基本成熟, 肉眼可见卵粒, 主要为成熟期的卵母细胞; ②三疣梭子蟹第二次卵巢发育期间, GSI显著增加, HSI变化不显著, GSI和发育天数呈显著正相关性, HSI和GSI的变化没有显著的相关性。

关键词: 三疣梭子蟹; 第二次卵巢发育; 组织学; 卵巢指数; 卵母细胞

中图分类号: Q253

文献标识码: A

文章编号: 0254-5853(2007)04-0423-07

The Second Ovarian Development of Swimming Crab, *Portunus trituberculatus*

YAO Gui-gui¹, WU Xu-gan¹, YANG Xiao-zhen¹,
CHENG Yong-xu^{1,*}, WANG Chun-lin²

(1. Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquaculture Ecosystem Certificated by the Ministry of Agriculture,
Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China;

2. College of life science and biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: During March to May of 2005, mature female swimming crabs were held in captive conditions and fed with fresh clam, *Sinonovacula constricta*. The spawned crabs were sampled and dissected to investigate the changes to the gonadosomatic index (GSI), hepatosomatic index (HSI), external features of ovary, ovarian histology and its stages during the second ovarian development of *Portunus trituberculatus*. The results demonstrated that: (1) the process of the second ovarian development could be divided into four stages: stage I ovary was ribbonlike and milk white or buff, the main cells in the ovary were endogenous vitellogenic oocytes (EN) and previtellogenic oocytes (PR); stage II ovary was buff and orange, the main cells were exogenous vitellogenic oocytes (EX); stage III ovary was deep orange, the main cell types were ex and nearly-mature oocytes (NO); stage IV ovary was ripe, the main cell type was mature oocytes (MO); (2) During the period, the GSI increased significantly, while the HSI did not show a significant difference. A positive correlation could be found between GSI and ovarian development, days after spawning, however there was no significant correlation between GSI and HSI.

Key words: *Portunus trituberculatus*; Second ovarian development; Histological; Gonadosomatic index; Oocyte

收稿日期: 2007-02-05; 接受日期: 2007-06-26

基金项目: 国家863高科技研究发展计划项目(2006AA10A406); 浙江省重大科技攻关项目(2004C12029); 农业部水产种质资源和
养殖生态重点开放实验室开放课题(KFI2006-3); 上海水产大学研究生科研基金(科06-151); 上海市重点学科建设项目
(Y1101)

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: ycheng@shfu.edu.cn

第一作者简介: 姚桂桂(1983—), 女, 浙江台州人, 硕士研究生, 从事水产动物繁殖生物学的研究。Tel: 021-65711346; E-mail:

ggyao@stmail.shfu.edu.cn

三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) 是我国重要的海洋经济蟹类 (Wu et al, 1996), 由于过度捕捞和环境恶化等原因, 自 20 世纪 80 年代起我国近海三疣梭子蟹的自然资源量正在急剧下降 (Xue et al, 1997), 因此, 20 世纪 90 年代以来三疣梭子蟹的人工育苗和池塘养殖在我国沿海迅速发展起来 (Wu et al, 1996; Xie et al, 2002)。

三疣梭子蟹第一次产卵孵化后, 通常会进行第二次产卵 (在此期间不需要再交配), 第二次产卵前的卵巢发育时间为 1 个月左右, 远短于第一次卵巢发育的时间 (通常从 10 月份开始延续到次年的 3 月份, 5—6 个月) (Song et al, 1988; Wu et al, 1996), 因此, 深入研究三疣梭子蟹的第一次和第二次卵巢发育规律, 对于认识其繁殖生物学和指导育苗生产具有重要的理论意义和应用价值。然而, 有关三疣梭子蟹卵巢发育的研究主要集中于第一次卵巢发育过程的分期和组织学观察 (Li et al, 1993; Xie et al, 2002), 迄今为止尚未见有关三疣梭子蟹第二次卵巢发育规律的报道 (Xie et al, 2002)。鉴于此, 本文系统研究了在室内养殖条件下, 三疣梭子蟹卵巢第二次发育过程中的外部特征、卵巢指数、卵巢发育分期及其组织学变化, 以阐明三疣梭子蟹的第二次卵巢发育规律, 进而丰富三疣梭子蟹繁殖生物学的研究内容, 同时也为三疣梭子蟹亲本培育和人工育苗提供理论依据和实践参考。

1 材料与方法

1.1 实验亲本和养殖管理

所有实验用蟹于 2005 年 3 月 15 日购自舟山沈家门渔港的捕捞船, 精心挑选规格接近、四肢健全、卵巢发育良好的已交配雌体 65 只, 作为实验亲本, 平均体重 300 g 左右。实验用蟹饲养于舟山市水产研究所温室水泥池中 (6 m × 5 m × 1.5 m), 池底铺厚约 20 cm 的细砂供亲本产卵和隐蔽, 24 小时连续增氧, 自然光照, 每日下午 16: 00 时投喂足量的新鲜缢蛏 (*Sinonovacula constricta*), 次日上午清除残饵并换新鲜沙滤海水 50% 左右。每日检查并统计亲本的产卵情况, 亲本一旦抱卵, 立即对其进行编号, 记录准确的产卵时间, 并进行跟踪观察和采样。实验期间, 水温为 16—18 ℃, pH 值 7.5—8.5, $\text{NH}_4^+ \text{-N} < 0.5 \text{ mg/L}$, $\text{NO}_2^- \text{-N} < 0.15 \text{ mg/L}$ 。

1.2 实验取样和组织学观察

分别取第二次卵巢发育处于不同发育天数的亲

本蟹各 2—3 只, 第二次卵巢发育前期 (第一次排卵孵化前) 每 2 天取样一次, 卵巢发育后期每 3 天取样一次, 准确称重后进行解剖, 取出体内的全部卵巢和肝胰腺并称重 (精确到 0.1 g), 然后据此计算卵巢指数 (GSI, %) = 卵巢重 (g) × 100 / 体重 (g); 肝胰腺指数 (HSI, %) = 肝胰腺重 (g) × 100 / 体重 (g), 观察并记录卵巢的外部特征。

根据采样时间和卵巢发育情况, 采用 Bouin's 液对每期卵巢组织进行固定, 酒精梯度脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋 (56—58 ℃), Leica RM2016 型切片机连续切片, 切片厚度 5.0—7.0 μm , H. E 染色, 中性树胶封片, 用 Olympus BH-2 显微镜观察拍照。依据 Okumura (2000) 和 Zhu et al (2005) 的方法将卵细胞分为卵原细胞 (oogonia, OG)、卵黄合成前的卵母细胞 (previtellogenic oocytes, PR)、内源卵黄合成期卵母细胞 (endogenous vitellogenic oocytes, EN)、外源卵黄合成期卵母细胞 (exogenous vitellogenic oocytes, EX)、近成熟期卵母细胞 (near maturing oocytes, NO) 及成熟期卵母细胞 (maturing oocytes, MO) 这 6 个主要阶段, 在显微镜下统计切片上各种卵细胞的卵径并计算核质比。每期卵巢各重复 3—5 个样品。

卵径的测量依据 Medina et al (1996) 的方法, 统计切片中有核卵细胞的长径; 根据公式 $NP = V_n / V_c$ (核的体积) / V_c (细胞的体积) 计算核质比 (NP), 其中体积依据 $V = 0.523W^2L$ 求算 (W 为最大宽度, L 为最大长度) (Xue et al, 1987)。

1.3 数据分析

采用 SPSS 13.0 软件对实验数据进行统计分析, 用 Levene 法进行方差齐性检验, 不满足齐性方差时对百分比数据进行反正弦或者平方根处理, 采用 ANOVA 对实验结果进行方差分析, 采用 Tukey's 法进行多重比较, 取 $P < 0.05$ 为差异显著, 在 EXCEL 上绘制相关图表。

2 结果与分析

2.1 三疣梭子蟹第二次卵巢发育的组织学观察

根据三疣梭子蟹第二次卵巢发育过程中的卵巢外部特征和组织学结构变化, 可以将其第二次卵巢发育过程分为 4 期。

I 期 (雌体排卵后 10 d 内): 卵巢颜色为乳白色或淡黄色, 可见少量残余的成熟卵粒, GSI 为 0.9%—1.5%。I 期早期卵巢中主要为内源性卵黄

合成期的卵母细胞、卵黄合成前的卵母细胞(图3A, EN, PR)和卵原细胞的生发区,在内源性卵黄合成期的卵母细胞周围存在大量的滤泡细胞(FC),此时滤泡细胞正在向内源性卵黄合成期的卵母细胞靠近。此时内源性卵黄合成期卵母细胞长径介于42.83—119.69 μm,核长径为21.99—40.73 μm,核质比为0.0297—0.117,卵黄合成前的细胞长径20.93—55.78 μm,核长径19.24—31.32 μm,核质比大于0.116。卵巢中还存在大量排卵后的残留基膜,基膜周围存在大量的空滤泡;此外,还可见正在退化的成熟卵母细胞,卵黄中出现许多泡状的致密结构,为正在降解的卵黄(图3B, RY)。

I期后期卵巢中主要为内源性卵黄合成期的卵母细胞,卵径介于74.71—129.02 μm,核长径为(29.30 ± 3.00) μm,核质比介于0.0156—0.0334。此时,少部分卵母细胞已经发育到外源性卵黄合成期,卵黄颗粒明显(图3C', Y)。滤泡细胞已单层排布并贴近在卵母细胞周围,此阶段仍可见部分卵原细胞的生发带(图3C, OG)。此时,残留的成熟卵母细胞中的卵黄物质已被大量吸收,出现许多胶液化的空泡(*),残留的成熟卵母细胞被逐渐吸收(图3D, RO)。

II期(雌体排卵后约10—20 d内):卵巢为淡黄色或橘黄色,卵巢发育加快,肉眼可见细小的卵细胞颗粒,但不能分离。卵巢中主要为外源性卵黄合成期的卵母细胞,卵径长介于104.9—170.34 μm,平均径长为(132.87 ± 20.89) μm,核长径介于16.02—25.33 μm,核质比通常小于0.005,此阶段大部分卵母细胞的胞核仍呈生发泡状,有少部分卵母细胞的核膜已开始皱缩(图3E)。此期仍可见少

量内源性卵黄合成期的卵母细胞(图3E, EN),由于卵母细胞之间的相互挤压滤泡细胞已不明显。

III期(雌体排卵后约20—30 d):卵黄合成旺盛期,卵巢为橘红色,体积继续增大,卵粒明显可见。卵巢中几乎全为外源性卵黄合成期的卵母细胞,许多已经接近成熟,平均卵径为(263.88 ± 24.49) μm,随着卵黄物质的积累,卵母细胞间由于相互挤压呈多边形,核膜皱缩,核区不明显。卵母细胞内近膜的卵黄颗粒较大,已开始融合,核附近卵黄颗粒较小(图3F, NO)。

IV期(雌体排卵后约30—40 d):卵巢发育基本成熟, GSI几乎不再增长,卵巢为橘红色,卵粒极为明显,大小均匀,游离松散,即将进行第二次排卵。卵巢中主要为成熟期的卵母细胞,卵径长介于310—371.48 μm,平均径长为346.85 ± 16.79 μm,卵黄已经基本融合,均匀分布(图3G, MO)。在成熟的卵母细胞之间,偶尔可发现部分卵黄合成前的卵母细胞,嗜碱性较强(图3G, PR)。

2.2 三疣梭子蟹第二次卵巢发育期间的卵巢指数和肝胰腺指数的变化

由图1可知,三疣梭子蟹第二次卵巢发育过程中,卵巢指数(GSI)在产卵后随着时间的延长而极显著增加($n = 49$, $P < 0.01$),但是肝胰腺指数(HSI)与发育天数无显著相关性($n = 49$, $P > 0.05$)。在本实验条件下,三疣梭子蟹第一次产卵后的10 d内,GSI增长缓慢,仅在1%—2%,卵巢颜色为乳白色或淡黄色,主要为I期卵巢(内源性卵黄合成期),此阶段个体间差异较小,发育比较同步;此后,二次卵巢的发育速度加快,产卵后15 d,平均GSI已达(4.35 ± 0.56)% ,卵巢发育已达II期

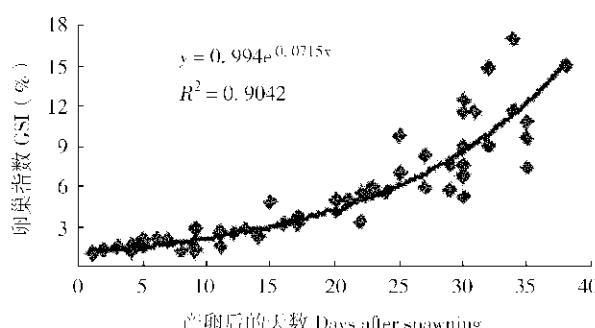


图1 三疣梭子蟹第二次卵巢发育过程中GSI和发育时间的关系

Fig. 1 Correlation of GSI and days after spawning during the second ovarian development of *Portunus trituberculatus*

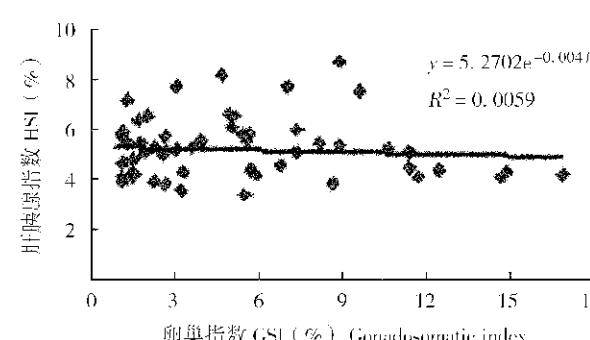


图2 三疣梭子蟹第二次卵巢发育过程中GSI和HSI的关系

Fig. 2 Correlation of GSI and HSI during the second ovarian development of *Portunus trituberculatus*

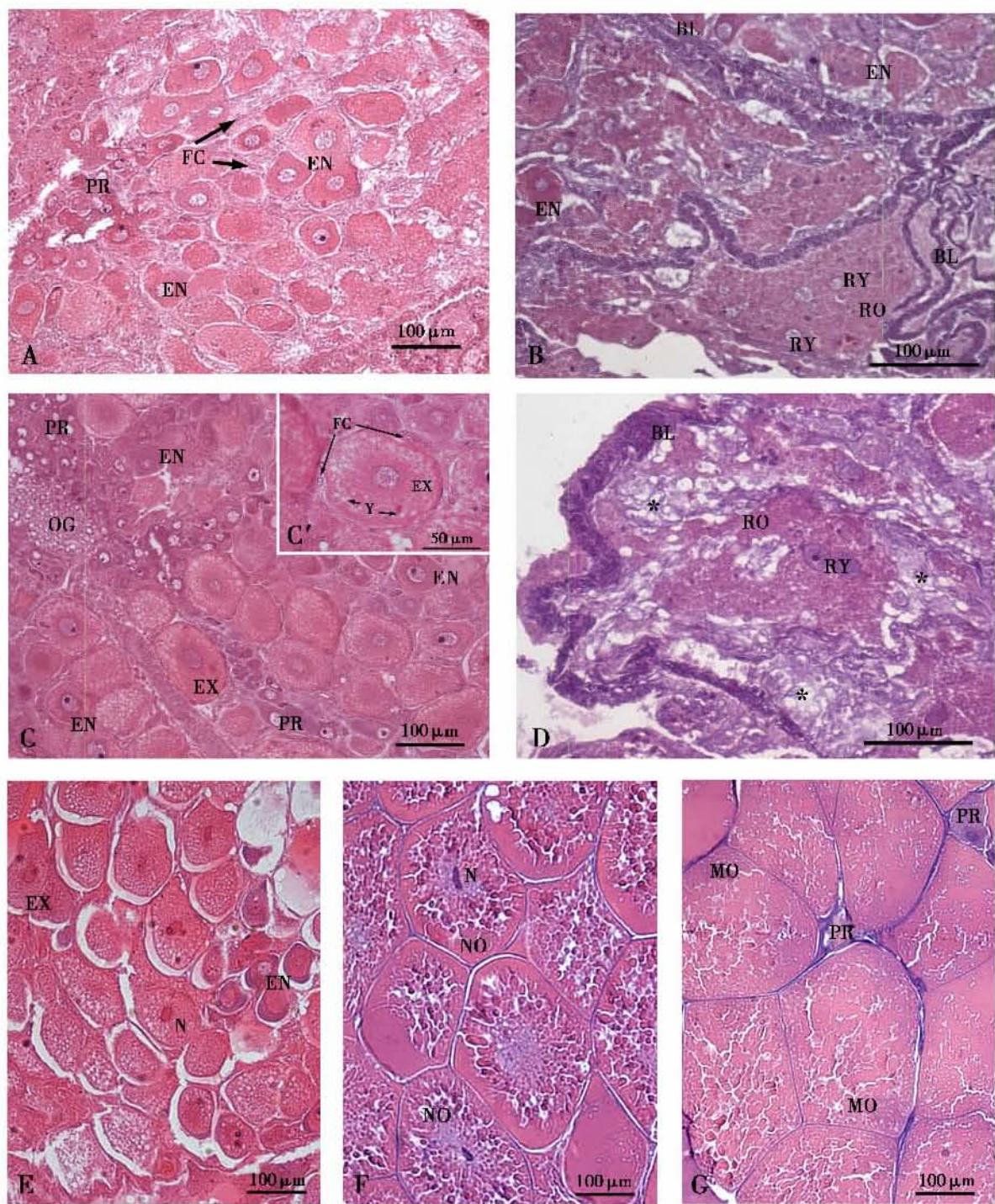


图3 二次卵巢发育各期的组织结构

Figs. 3 Histological configurations of the second ovarian development

- A. I期早期(排卵后6 d)(Early stage I, six days after spawn);
- B. 正在被吸收的残留成熟卵母细胞(排卵后6 d)(Unspawned mature oocytes being regressing, six days after spawn);
- C. I期后期(排卵后10 d)(Late stage I, ten days after spawn);
- C'. 滤泡细胞已贴近外源性卵黄的卵母细胞(Ten days after spawn, the FC being close to the EX);
- D. 退化的成熟卵母细胞中存在大量胶液化的空泡(*) (排卵后10 d)(There being vacuole fill in regressing mature oocytes, ten days after spawn);
- E. II期(排卵后13 d)(Stage II, 13 days after spawn);
- F. III期(排卵后31 d), 近成熟期卵母细胞中的卵黄颗粒开始融合(Stage III, 31 days after spawn, beginning of reorganizing the yolk globules);
- G. IV期(排卵后38 d), 成熟期卵母细胞, 卵黄颗粒基本完成融合(Stage IV, 38 days after spawn, oocytes being full of yolk homogeneously);

OG: 卵原细胞 (Oogonia); PR: 卵黄合成前卵母细胞 (Previtellogenic oocytes); EN: 内源卵黄合成期卵母细胞 (Endogenous vitellogenic oocytes); EX: 外源卵黄合成期卵母细胞 (Exogenous vitellogenic oocytes); NO: 近成熟卵母细胞 (Nearly-mature oocytes); MO: 成熟卵母细胞 (Mature oocytes); FC: 滤泡细胞 (Follicle cells); BL: 基膜 (Basement membrane); RY: (Regressing yolk); RO: 退化的成熟卵 (Regressing mature oocytes); Y: 卵黄颗粒 (Yolk globules); N: 核 (Nucleus).

(外源性卵黄合成期); 进入第 21 d GSI 达 ($7.62 \pm 1.65\%$), 此时第一次抱卵的胚胎已经开始孵化, 二次卵巢的发育速度进一步加快, 卵巢进入Ⅲ期 (近成熟期, 卵黄合成旺季), 产卵后 30 d 起 (第一次抱卵孵化后的第 10 d) 开始发现第二次抱卵的个体, 此时卵巢指数达 14% 左右, 第二次卵巢发育开始达到成熟期 (Ⅳ期)。

由表 1 可知, 三疣梭子蟹卵巢第二次发育过程中各期 GSI 显著增加, 特别是第一次抱卵的胚胎孵化后, 卵巢发育速度显著加快, 很快便由Ⅲ期发育到Ⅳ期, 此后便出现抱卵蟹。由图 2 可知, 第二次卵巢发育过程中三疣梭子蟹的卵巢指数 GSI 和肝胰腺指数 HSI 并没有显著的相关性 ($n = 49$, $P > 0.05$, $R^2 = 0.0059$), 第二次卵巢发育过程中的肝胰腺指数 HSI 始终保持在 5% 左右。

3 讨论

3.1 三疣梭子蟹的第二次卵巢发育规律及其组织学变化

目前, 国内外有关三疣梭子蟹卵巢发育规律的报道较少, 仅 Li et al (1993) 和 Wu et al (1996) 据卵巢的颜色和组织学观察将三疣梭子蟹第一次卵巢发育大致分为 4 期或 6 期, 尚未见有关三疣梭子蟹第二次卵巢发育的研究报道。本研究通过在室内养殖条件下对第一次产卵后的抱卵蟹进行连续采样, 根据卵巢表观特征、GSI 和组织学观察等, 并结合第一次产卵后的天数和胚胎发育情况等, 首次总结出三疣梭子蟹的第二次卵巢发育规律和分期标准 (表 2), 该分期方法简明直观, 容易把握, 可以直接指导三疣梭子蟹的亲本培育和人工育肥。刚第一次排卵的梭子蟹卵巢中存在大量卵黄合成前的卵母细

胞、内源性卵母细胞及部分残留的卵母细胞, 这与其它甲壳动物的二次卵巢情况十分相似 (Gu & He, 1997; Okumura & Aida, 2000; Okumura et al, 2004)。

三疣梭子蟹第二次卵巢发育过程中, 尽管最初 10 d 内 GSI 增长缓慢, 但是卵巢中组织学发生了显著的变化, 卵黄合成前的卵母细胞已基本转变为内源性卵黄合成期的卵母细胞 (图 3C), 滤泡已经迁移并贴近到卵母细胞周围 (图 3C'), 这为外源性卵黄的快速合成创造了条件 (Cheng et al, 2002)。三疣梭子蟹第一次胚胎未孵化前, 二次卵巢中的卵母细胞已经进入卵黄合成旺季, 平均 GSI 达 7% 以上, 因而第一次胚胎孵化后 10—15 d (饵料充足, 水温 16—18℃) 梭子蟹第二次卵巢发育便基本完成 (可以第二次产卵), 而锯缘青蟹 (*Scylla serrata*) 第二次卵巢发育过程中的外源性卵黄合成期则发生在第一次胚胎孵化后, 且第一次胚胎孵化后需要 35 d 以上 (饵料充足, 水温 27℃ 左右) 才能完成第二次卵巢发育 (Cheng et al, 2001), 这种差异可能是由于他们不同的繁殖习性造成的 (Okumura et al, 2004), 三疣梭子蟹二次卵巢发育周期较短 (两次产卵间隔 30 d 左右), 所以在第一次抱卵期间二次卵巢已经进入卵黄合成旺季, 有关研究表明产卵周期较长的种类通常在抱卵期间卵巢发育极为缓慢, 很难发育到外源性卵黄合成阶段 (Okumura et al, 2004)。三疣梭子蟹第一次胚胎孵化后第二次卵巢发育的速度有所加快, 这在蟹类中具有一定的普遍性 (Cheng et al, 2002; Nan, 2005), 这是因为在第一次抱卵期间, 亲本蟹经常煽动腹部以保证胚胎的正常发育, 这需要消耗大量的能量 (Cheng et al, 2001)。

尽管 Shangguan et al (1991) 和 Cheng et al (2002)

表 1 三疣梭子蟹第二次卵巢发育过程中各期的 GSI、HSI 和发育时间

Tab. 1 Gonadosomatic index (GSI), hepatosomatic index (HSI) and days after spawning (DAS) among the different ovarian development stage during the second ovarian development of *Portunus trituberculatus*

发育期 Ovarian stage	I	II	III	IV
样本量 Sample number	14	15	12	8
GSI (%)	1.32 ± 0.27^a	3.38 ± 1.06^b	7.82 ± 1.96^c	14.47 ± 1.49^d
HSI (%)	5.32 ± 1.11	5.65 ± 1.27	5.44 ± 1.34	4.59 ± 0.56
产卵后的天数 Days after spawning	5.57 ± 3.11^a	15.27 ± 5.61^b	26.84 ± 3.66^c	33.17 ± 3.13^d

数据上标字母不同代表组间差异显著 ($P < 0.05$)。

Values that do not share the same letter in superscript are statistically significantly different ($P < 0.05$)。

表 2 三疣梭子蟹第二次卵巢发育过程中不同卵巢发育期的主要特征
Tab. 2 The main features of different ovarian development stage during the second ovarian development of *Portunus trituberculatus*

发育期 Ovarian Stages	卵巢外部特征 External feature of ovary	卵巢的组织学特征 Histological configuration of ovary	卵巢指数 GSI (%)	产卵后的时间 (d) Days after spawning	第一批卵胚 胎发育情况 Embryonic stage
I	卵巢为乳白色或淡黄色细带状, 已经一次排卵, 有少量的残留卵粒	卵巢缓慢发育, 卵巢以内源性卵黄合成期和卵黄合成前的卵细胞为主, I 期后期出现部分外源性卵黄合成期的卵母细胞, 滤泡细胞 (FC) 已排列至外源卵黄合成期的卵母细胞周围, 此外还可见卵原细胞的发生区、排卵后的基膜和正在被吸收的残余成熟卵	0.9—1.5	1—11	卵裂期到原肠期
II	卵巢为淡黄色或橘黄色, 卵巢发育加快, 卵巢变粗体积增大, 肉眼可见细小的卵粒, 但不能分离	卵巢中主要为外源性卵黄合成期的卵母细胞, 大部分卵母细胞的核仍呈生发泡状, 有少部分卵母细胞的核膜已开始皱缩, 仍可见少量的内源性卵黄合成期的卵母细胞	1.3—5	9—23	卵内无节幼体到心跳期初期
III	卵巢橘红色, 体积继续增大, 卵粒明显可见卵	卵黄合成旺季, 主要为外源性卵黄合成期的卵母细胞, 部分已经接近成熟, 卵径为 222.05—309.9 μm , 卵母细胞内近膜的卵黄颗粒已开始相互融合, 近核卵黄颗粒较小	6—12	22—34	心跳期到胚胎孵化后 7 天内
IV	卵巢发达, 膨大柔软, 卵粒极明显, 大小均匀, 游离松散	卵巢发育基本成熟, 主要为成熟期的卵母细胞, 卵黄颗粒分布均匀, 充满整个细胞, 长径为 300 μm 以上, 偶尔可见嗜碱性较强的卵黄合成前卵母细胞	12—15	30—38	胚胎孵化后 8—15 天

报道了锯缘青蟹早期卵母细胞的退化问题, 但是关于蟹类成熟卵母细胞的退化问题尚未见任何报道, 本研究观察了三疣梭子蟹的第一次产卵后残留的成熟卵的退化过程, 首先成熟卵中出现部分泡状的致密结构 (图 3B), 此后这种泡状的致密结构不断增多, 随着卵黄的不断降解吸收, 出现许多胶液化的空泡 (图 3D), 类似的现象在鱼类和虾类中也有发生 (Lou, 1998; Okumura & Aida, 2000), 但是这种成熟卵的退化吸收机制有待进一步深入研究, 推测认为细胞内溶酶体参与了这一个过程 (Zai et al, 2000)。

3.2 三疣梭子蟹的卵巢第一次和第二次发育过程的比较

三疣梭子蟹第一次卵巢发育通常从每年 9 月份起延续到次年的 3—4 月份 (总时间 6—7 个月), 而第二次卵巢发育时间为 1—2 个月 (第一次产卵到第二次产卵的间隔), 远短于第一次 (Song et al, 1988; Wu et al, 1996), 在第一次产卵后, 通常不会进行第二次产卵 (在此期间不需要再交配), 造成这种差异的原因可能有二: 1) 第一次卵巢发育是自卵原细胞开始逐步发育为成熟的卵母细胞, 而第二次卵巢发育的起点是卵黄合成前的卵母细胞和内源卵黄合成期的卵母细胞, 所以需要的时间较短 (Shangguan et al, 1991; Cheng et al, 2002); 2) 第

二次卵巢发育发生在晚春, 平均水温较高 (16—19 $^{\circ}\text{C}$), 且食物条件相对丰富, 而第一次卵巢通常需要经过漫长的冬季, 不仅卵巢发育期间的平均水温低, 而且自然海区的食物相对较少 (Song et al, 1988; Zhang et al, 1991), 所以第二次卵巢发育的速度相对较快。三疣梭子蟹第二次卵巢发育过程中, HSI 并没有出现显著变化, 而第一次卵巢发育过程中 HSI 显著下降, 这与河蟹和青蟹的二次卵巢发育规律相似 (Cheng et al, 2001; Nan, 2005), 故推测认为这些蟹类二次卵巢发育的营养物质直接来源于食物, 而第一次卵巢发育期间有部分营养物质来源于肝胰脏储存, 所以肝胰腺指数出现了显著下降 (Chen, 2006)。

Nan et al (2005, 2006) 研究表明, 即使在饵料充足的条件下, 河蟹第二次发育成熟的卵巢指数只有 5%—7%, 第二次发育成熟的卵母细胞显著小于第一次的成熟卵母细胞, 因而第二次产卵的生殖性能和苗种质量远低于第一次产卵, 因此生产中不宜采用第二次产卵的河蟹亲本进行规模化人工育苗。本研究中通过合理的亲本培育, 三疣梭子蟹第二次发育成熟的卵巢指数达 (14.47 ± 1.49)%, 卵径长为 350 μm 左右, 这些指标均已经接近第一次发育成熟卵巢指数 (13.92 ± 1.46)% 和卵径 (363 ± 16.53) μm (Chen, 2006), 因此, 可以通过合理的亲本培

育技术(营养强化, 适宜的水温)来促进三疣梭子蟹的第二次卵巢发育和产卵, 进而在生产上利用第

二次抱卵蟹进行育苗生产, 延长育苗时间, 从而减少对野生抱卵亲本的需求量, 以降低育苗成本。

参考文献:

- Chen SL. 2006. Studies on biochemical composition changes during the development of gonad and embryo of female swimming crab, *Portunus trituberculatus* [D]. MS. thesis, Shanghai Fisheries University, Shanghai. [陈石林. 2006. 三疣梭子蟹卵巢及胚胎发育过程中生化组成的变化研究. 硕士论文, 上海水产大学, 上海.]
- Cheng YX, Li SJ, Wang GZ, Chen XL, Lin QW, Xu J. 2001. Changes in lipid class and fatty acid compositions in the ovaries and hepatopancreas of the Mud crab *Scylla serrata* during the vitellogenesis of the second ovarian maturation [J]. *Acta Oceanologica Sinica*, **23**(3): 66–77. [成永旭, 李少菁, 王桂忠, 陈学雷, 林琼武, 许瑾. 2001. 锯缘青蟹卵黄发生期卵巢和肝胰腺脂类的变化. 海洋学报, **23**(3): 66–77.]
- Cheng YX, Wang GZ, Chen XL, Lin QW. 2002. Structural modulation of the area between oocytes and follicular cells during vitellogenesis of the mud crab (*Scylla serrata*) [J]. *Acta Zoologica Sinica*, **48**(1): 80–92. [成永旭, 李少菁, 王桂忠. 2002. 锯缘青蟹卵黄发生期卵母细胞和卵泡细胞之间的结构变化. 动物学报, **48**(1): 80–92.]
- Gu ZM, He LD. 1997. Histological and cytological and observation on the development cycle of crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. *Oceanologia ET Limnologia Sinica*, **28**(2): 138–145. [顾志敏, 何林岗. 1997. 中华绒螯蟹卵巢发育周期的组织学细胞学观察. 海洋与湖沼, **28**(2): 138–145.]
- Li TW, Shu XR, Zhang F. 1993. Histology, histochemistry of the female reproductive system in Blue Crab *Portunus trituberculatus* (Decapoda Portunidae) [J]. *Journal of Liaoning Normal University (Natural Science)*, **16**(4): 315–323. [李太武, 苏秀榕, 张峰. 1993. 三疣梭子蟹雌性生殖系统的组织学研究. 辽宁师范大学学报, **16**(4): 315–323.]
- Lou YD. 1996. Histology and Embryology, 2nd [M]. Beijing: Agriculture Press, 131–137. [楼允东. 1996. 组织胚胎学(第二版). 北京: 中国农业出版社, 131–137.]
- Medina A, Vila Y, Mourente G, Rodríguez A. 1996. A comparative study of the ovarian development in wild and pond-reared shrimp, *Penaeus kerathurus* (Forskal, 1775) [J]. *Aquaculture*, **148**: 63–75.
- Nan TZ. 2005. Studies on the Ultrastructure of Ovary, Lipid Composition and the Reproductive Performance of Chinese Mitten Crab (*Eriocheir sinensis*) Broodstock During Second Ovary Development [D]. MS. Thesis, Shanghai Fisheries University. [南天佐. 2005. 中华绒螯蟹二次发育中卵巢超微结构、脂类组成及生殖性状的研究. 硕士论文, 上海水产大学, 上海.]
- Nan TZ, Cheng YX, Wu XG, Wang JQ, Wang LJ, Liu BL. 2006. Comparison on the first and second berried crab on embryo and larval quality (Z1) of *Eriocheir sinensis* [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, **15**(1): 41–46. [南天佐, 成永旭, 吴旭干, 王金庆, 王丽娟, 刘必林. 2006. 第一次及第二次抱卵的中华绒螯蟹胚胎和Z1幼体质量的比较. 上海水产大学学报, **15**(1): 41–46.]
- Okumura T, Aida K. 2000. Hemolymph vitellogenin levels and ovarian development during the reproductive and non-reproductive molt cycles in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* [J]. *Fisheries Science*, **66**: 678–685.
- Okumura T, Yoshida K, Nikaido H. 2004. Ovarian development and hemolymph vitellogenin levels in Laboratory-maintained Protandric Shrimp, *Pandalus hypsinotus*: Measurement by newly developed time-resolved fluoroimmunoassay (TR-FIA) [J]. *Zoological Science*, **21**: 1037–1047.
- Shangguan BM, Liu ZZ, Li SJ. 1991. Histological studies on ovarian development in *Scylla serrata* [J]. *Fisheries of China*, **15**: 96–102. [上官步敏, 刘正琼, 李少菁. 1991. 锯缘青蟹卵巢发育的组织学观察. 水产学报, **15**(2): 96–103.]
- Song HT, Ding YP, Xu YJ. 1988. A Study on the breeding habits of blue crab (*Portunus trituberculatus*) in the northern coastal waters of zhejiang [J]. *Journal of Zhejiang College of Fisheries*, **7**(1): 39–45. [宋海棠, 丁跃平, 许源剑. 1988. 浙江北近海三疣梭子蟹生殖习性的研究. 浙江水产学院学报, **7**(1): 39–45.]
- Wu CW, Yu SC, Lv YL. 1996. Fisheries technology of *Portunus* [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 27–29. [吴常文, 虞顺成, 吕永林. 1996. 梭子蟹渔业技术, 上海科学技术出版社, 27–29.]
- Xie ZM, Liu HJ, Feng L. 2002. Culture Technology of Economical Crab in Seawater [M]. China: Agriculture Press, 1–18. [谢忠明, 刘洪军, 冯蕾. 2002. 海水经济蟹类养殖技术. 北京: 中国农业出版社, 15–27.]
- Xue JZ, Du NS, Lei W, Wu HX. 1997. A review of studies on *Portunus trituberculatus* in China [J]. *Donghai Marine Science*, **15**(4): 61–65. [薛俊增, 塘南山, 赖伟. 1997. 中国三疣梭子蟹的研究. 东海海洋, **15**(4): 61–65.]
- Xue LZ, Du NS, Lai W. 1987. Histology of female reproductive system in Chinese mitten-handed crab, *Eriocheir sinensis* [J]. *Journal of East Normal University (Nature Science)*, **3**: 88–96. [薛鲁征, 塘南山, 赖伟. 1987. 中华绒螯蟹雌性生殖系统的组织学研究. 华东师范大学学报(自然科学版), **3**: 88–96.]
- Yu CG, Song HT, Yao GZ, Shen XY. 2003. Study on rational utilization of crab resources in the inshore waters of Zhejiang [J]. *Marine Fisheries*, **25**(3): 136–141. [俞存根, 宋海棠, 姚光展, 沈小乐. 2003. 浙江近海蟹类资源合理利用研究. 海洋渔业, **25**(3): 136–141.]
- Zai ZH, Wang XZ, Ding MX. 2000. Cellular Biology [M]. Beijing: Higher Education Press, 181–187. [翟中和, 王喜忠, 丁明孝. 2000. 细胞生物学. 北京: 高等教育出版社, 181–187.]
- Zhang BL, Xiang JH, Wu YQ. 1991. The feeding ecology of the two crabs (*Portunus trituberculatus* and *Ovalipes punctatus*) in the estuary and the adjacent sea waters of Changjiang River [J]. *Marine Sciences*, **5**: 60–64. [张宝琳, 相建海, 吴耀全. 1991. 长江口海区三疣梭子蟹和细点圆趾蟹食性生态因子的研究. 海洋科学, **5**: 60–64.]
- Zhu DF, Wang CL, Yu HW. 2005. Oogenesis, Oocyte activation and early cleavage of *Portunus trituberculatus* (Miers) [J]. *Oceanologia ET Limnologia Sinica*, **36**(5): 423–429. [朱冬发, 王春琳, 余红卫. 2005. 三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)卵子发生、激活与早期卵裂的细胞学观察. 海洋与湖沼, **36**(5): 423–429.]