

文章编号: 1000- 0615(2006)01- 0063- 06

## 温度、盐度对凡纳滨对虾精英再生和精子质量的影响

袁 路, 蔡生力

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

**摘要:**研究了 3 种不同温度和盐度对凡纳滨对虾精英再生和精子质量的影响。通过称量精英以及采用染色或显微镜观察养殖在不同温、盐度条件下的雄虾的精子数量和正常率来评价精子质量。结果表明: 随着实验养殖时间的延长和精英再生次数的增加, 26 ℃ 组的精子质量明显好于 22 ℃ 组和 30 ℃ 组, 30 ℃ 组的活精子数由第 1 次再生的  $14.0 \times 10^6$  个下降到  $4.3 \times 10^6$  个, 畸形精子百分率由 6.1 % 增加到 56.6 %。温度越高, 蜕皮周期越短, 精英再生时间也越短, 但精子质量下降也很迅速。盐度 30 组的精英重量显著高于盐度 5 组和 15 组, 但盐度 15 的精子总数和活精子数却显著高于盐度 5 组和 30 组, 随着时间的延长, 3 组盐度的畸形精子百分率都有所增加, 其中盐度 5 组增加得最快。

**关键词:** 凡纳滨对虾; 温度; 盐度; 精英; 精子质量

中图分类号: S917 文献标识码: A

## Effect of temperature and salinity on spermatophore regeneration and sperm quality in *Litopenaeus vannamei*

YUAN Lu, CAI Sheng-li

(The Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquacultural Ecology (AGRA) Certificated by the Ministry of Agriculture, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to investigate the effects of three different temperatures and salinities on spermatophore regeneration and sperm quality in shrimp *Litopenaeus vannamei*. The spermatophores weights were weighed and sperm qualities were evaluated through dyeing and observing under light microscope when shrimps were cultured in different temperature and salinity conditions. Results showed that total sperm count and normal sperm count of shrimps held at 26 ℃ were significantly higher than that of shrimps at 22 ℃ and 30 ℃. Normal sperm count of shrimps held at 30 ℃ reduced from 14.0 million to 4.3 million, and abnormal sperm increased from 6.1% to 56.6%. The higher the temperature was, the shorter the intermolt cycle became, but the sperm quality of shrimps maintained at higher temperature (30 ℃) was worse than those of shrimp at lower temperature (26, 22 ℃). Spermatophore weight of shrimps held at a salinity of 30 was significantly higher than those of shrimp at 5 and 15, but total and normal sperm count of shrimps held at a salinity of 15 was significantly higher than those of shrimps at 5 and 30. With the experiment period lasting, percentage of abnormal sperm of shrimps held at three different salinities increased, especially at 5. The research will be helpful to the shrimp hatcheries for shrimp reproduction in male broodstock selection and culture.

**Key words:** *Litopenaeus vannamei*; temperature; salinity; spermatophore; sperm quality

凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*), 俗称南美白对虾, 是我国最重要的养殖对虾种类, 而健康、

充足的苗种来源是保证对虾养殖业能持续发展的关键。目前, 国内外对该种对虾的繁殖生物学研

收稿日期: 2005-01-25

资助项目: 上海市教委重点科研项目 (科 03- 119); 上海市重点学科建设项目资助 (Y1101)

作者简介: 袁路 (1981- ), 女, 江西南昌人, 硕士研究生, 从事水产动物繁殖与发育研究。E-mail: luluqiu@126.com

通讯作者: 蔡生力, Tel: 021- 65711733, E-mail: scai@shfu.edu.cn

究多集中在雌虾上<sup>[1-3]</sup>,而对雄性受精生物学研究相对较少。温度和盐度都是对虾繁殖的重要生态因子。有关温度对对虾精子质量影响的报道多偏重于较高温度(> 28℃)<sup>[4-8]</sup>,而较低温度(< 25℃)对精子质量的影响未见报道,而且这些研究多数集中在对对虾生长和存活的影响<sup>[9-11]</sup>。盐度对精英再生和精子质量的影响迄今为止国内外未见报道。凡纳滨对虾亲虾性腺发育的适宜水温为23~28℃<sup>[12]</sup>。利用捕捞的野生凡纳滨对虾雄虾作亲虾进行人工繁殖经常出现的问题是生殖导管退化,精子失活,生殖导管和精英变黑,称为雄性生殖导管退化综合征(male reproductive tract degenerative syndrome, MRTDS)。MRTDS的原因目前尚不清楚,一般认为与精英的重复射出、细菌感染、营养和水温偏高有关<sup>[6,13-15]</sup>。Perez-Velazquez等<sup>[4]</sup>报道了凡纳滨对虾在水温26℃时产生大量精子,而且畸形精子百分率较低,而29℃和32℃时精子质量下降。Pascual等<sup>[5]</sup>研究水温对雄性白滨对虾(*Litopenaeus setiferus*)生殖导管的影响,发现温度在25~27℃时,精英大量再生且雄虾维持健康。Leung-Trujillo等<sup>[6]</sup>发现在27~29℃时,白滨对虾5周后受精率降低,6周后精子全部消失。Bray等<sup>[7]</sup>指出白滨对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。Alfaro等<sup>[8]</sup>发现27~29℃养殖细角滨对虾(*Litopenaeus stylirostris*)4个月后,精英有不同程度的变质。

凡纳滨对虾是一种广盐性的对虾种类,具有较强的渗透压调节能力,通过离子调节来维持自身渗透压的平衡。盐度是海水虾类养殖环境中最重要的水质指标之一,然而却较少有实验数据说明它对凡纳滨对虾的影响<sup>[16]</sup>。通常,盐度15~25被认为是养殖凡纳滨对虾的理想盐度<sup>[17]</sup>,但通过一定时间的适应,凡纳滨对虾既能生存于1~2的低盐度水甚至淡水中,也能适应40或更高盐度的水环境<sup>[18,19]</sup>。在我国南方沿海省市低盐度养殖中,盐度通常在5~15,如杭州湾河口区盐度在10~15,适宜该种对虾的养殖。近两年来,我国内陆地区淡水养殖也普遍获得成功。凡纳滨对虾是一种海洋虾类,其繁殖条件仍需接近其自然分布的环境,因此繁殖时盐度多采用28~30。但究竟雄性对虾性腺发育的最适盐度为多少,尚未见报道。基于上述情况,本试验设置了3种不同温度(22,

26和30℃)和盐度(5,15和30)条件,研究它们对凡纳滨对虾雄性精英再生和精子质量的影响,以期探讨该种类雄性性腺发育与环境因子的关系,确定雄性亲虾发育的适宜温度和盐度。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验用虾

实验用凡纳滨对虾于2004年4月购自海南定大养殖有限公司,育苗厂水温度为26℃(空运前逐步降至20℃),盐度34.1,空运至上海水产大学南汇水产养殖实验基地。雄性对虾平均体长为(14.3±0.5)cm,平均体重为(37.2±2.5)g,雄虾都携带精英。

实验开始前凡纳滨对虾亲虾在5m×3m×1m的方形水泥池中暂养7d,以适应水质饲料的变化。实验过程中的水质条件:暂养的初始温度21℃,盐度34.1,以后根据实验条件设计而逐步调整改变。海水由浓缩海水与淡水配制而成,pH平均值7.37±0.07,溶解氧(6.59±0.05)mg·L<sup>-1</sup>,氨氮平均值(0.63±0.21)mg·L<sup>-1</sup>。投喂冰冻缢蛭,每天两次,分别在早上8点和下午5点。开始投喂量是虾湿重的8%~10%,以后随虾的蜕皮及摄食情况进行调整。通常蜕皮前的2d摄食量减少,蜕皮后1~2d摄食量开始增加。在实验阶段每天换水一次,换水量约为1/5~1/10,以保持水质的清新,同时避免虾产生较大的应激反应。实验过程中没有雌虾,以消除雌虾对雄虾的影响。

### 1.2 实验方法

把暂养后的雄虾挤出精英后移入9个0.9m×0.9m×1m的方形小水泥池中。在温度实验中,分别设22、26和30℃3组(盐度30)。在盐度实验中,分别设5、15和303组(温度26℃)。每组各设3个重复,每个重复组分别放养亲虾6尾。每10~12d人工取精英一次,共取两次。精英的获取方法是人工挤压法,轻压雄虾第五步足基节的基部,然后用消毒镊子取出精英。将精英称重,精确到0.1mg,每次取出精英后,用有颜色的线作标记,以便观察精英的再生情况。

精英称重后放入玻璃研钵中加入无Ca<sup>2+</sup>盐溶液(成分见表1)(Leung-Trujillo等<sup>[6]</sup>)研磨,使精英中的精子释放到溶液中,混合均匀,取0.9mL精子悬浊液加入0.1mL1%的萘酚蓝储备液(1g

苔盼蓝溶解到 100 mL 无  $\text{Ca}^{2+}$  盐溶液, 调 pH 值到 7.4), 染色 15 min 后, 用血球计数板计数, 每个样品重复 2 次。

表 1 1 L 无  $\text{Ca}^{2+}$  盐溶液中所含的成分<sup>[6]</sup>

Tab. 1 Composition of the  $\text{Ca}^{2+}$ -free saline per 1L of solution

成分 component	重量 (g) weight
NaCl	21.63
KCl	1.12
$\text{H}_3\text{BO}_3$	0.53
NaOH	0.19
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4.93
distilled water	1000 mL

注: 用  $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  HCl 调 pH 值至 7.4

Notes: adjusting pH to 7.4 with  $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  HCl

### 1.3 精子的评价标准

畸形精子主体部畸形、棘突缺失或弯曲, 苔盼蓝染色时呈蓝色, 活精子不被苔盼蓝染色, 呈无色透明, 精子各部分完整。

### 1.4 统计分析

实验数据用单因素方差分析及 SSR 法进行多重比较, 精子数经过平方根  $Y+3/8$ <sup>[7]</sup> 的变换, 百分率经过反正弦变换<sup>[20]</sup>, 精英重量与精子总数、活精子数与精子总数用相关和回归的方法进行分析, 所有数据分析通过 SPSS for windows 软件来完成。

## 2 结果

在开始温度和盐度实验之前, 我们先对雄性对虾原来携带的精英进行了第 1 次取样(表 2)。

表 2 实验开始前第一次精英取样

Tab. 2 The spermatophore weight and sperm count of the first samples before beginning of the experiment

	数值 count
精英重量 (mg) spermatophore weight	$34.0 \pm 3.5$
精子总数 ( $10^6$ ) total sperm count	$12.5 \pm 3.9$
活精子数 ( $10^6$ ) normal sperm count	$11.7 \pm 2.6$
活精子百分率 (%) percentage of normal sperm count	$93.6 \pm 3.5$
畸形精子数 ( $10^6$ ) abnormal sperm count	$0.8 \pm 1.1$
畸形精子百分率 (%) percentage of abnormal sperm count	$6.4 \pm 1.3$

### 2.1 温度试验

实验开始后, 第 1 次再生精英的重量, 30 °C 组 [ $16.2 \pm 1.2$  mg] 显著低于 22 °C 和 26 °C 两组 [ $23.1 \pm 2.3$  mg 和 [ $22.3 \pm 3.1$  mg], 其他两组没有显著差异; 但 30 °C 组精子总数 ( $14.9 \times 10^6$  个) 高于其他两组, 22 °C 组的精子总数 ( $11.8 \times 10^6$  个) 和活精子数 ( $10.3 \times 10^6$  个) 最低, 畸形精子百分率 (12.7 %) 最高, 而 26 °C 组畸形精子百分率最低 (3.6 %) (表 3)。第 2 次精英再生后, 30 °C 组精英重量 [ $16.9 \pm 2.4$  mg] 仍较低, 但 3 组间差异不显著; 26 °C 组的精子总数 ( $13.9 \times 10^6$  个) 和活精子数 ( $11.6 \times 10^6$  个) 最高, 30 °C 组精子总数 ( $9.9 \times 10^6$  个) 和活精子数 ( $4.3 \times 10^6$  个) 下降很快, 显著低于其他两组, 畸形精子百分率达 56.6 % (表 3)。

表 3 第 1、2 次精英再生后不同温度下精子质量的比较

Tab. 3 Comparison of means ( $\pm$  standard error) of sperm quality variables under three different temperatures after the first and second spermatophore regeneration

	第 1 次精英再生 the first spermatophore regeneration			第 2 次精英再生 the second spermatophore regeneration		
	22 °C	26 °C	30 °C	22 °C	26 °C	30 °C
精英重量 (mg) spermatophore weight	$23.1 \pm 2.3^a$	$22.3 \pm 3.1^a$	$16.2 \pm 1.2^b$	$20.4 \pm 3.5^a$	$19.2 \pm 2.7^a$	$16.9 \pm 2.4^a$
精子总数 ( $10^6$ 个) total sperm count	$11.8 \pm 1.1^b$	$13.9 \pm 2.0^{ab}$	$14.9 \pm 1.6^a$	$11.6 \pm 2.8^b$	$13.9 \pm 2.3^a$	$9.9 \pm 3.2^a$
活精子数 ( $10^6$ 个) normal sperm count	$10.3 \pm 1.0^b$	$13.4 \pm 1.7^{ab}$	$14.0 \pm 1.4^a$	$8.7 \pm 2.5^b$	$11.6 \pm 2.1^a$	$4.3 \pm 1.1^c$
畸形精子百分率 (%) percentage of abnormal sperm	$12.7 \pm 2.7^a$	$3.6 \pm 2.5^c$	$6.0 \pm 2.1^b$	$25.0 \pm 3.3^b$	$16.5 \pm 3.5^c$	$57.6 \pm 4.7^a$

注: 不同上标字母代表所得结果差异显著 ( $P < 0.05$ )

Notes: Values with different letters are significantly different from each other ( $P < 0.05$ )

由于实验初始温度为 21 ℃, 所以把 22 ℃ 组再生的 2 次精子总数、活精子数和畸形精子数与实验初始温度条件下第 1 次取样结果进行比较, 结果发现原始携带的精英[(34.0 ± 3.5) mg] 比再生精英显著重[(23.1 ± 2.3) mg、(20.4 ± 3.5) mg]。但 3 次取样结果的精子总数差异并不显著, 而随着实验室养殖时间的延长, 精子质量呈下降趋势, 也就是活精子数逐渐下降, 畸形精子百分率逐渐上升, 第 2 次再生的畸形精子数显著高于其他两组(图 1)。

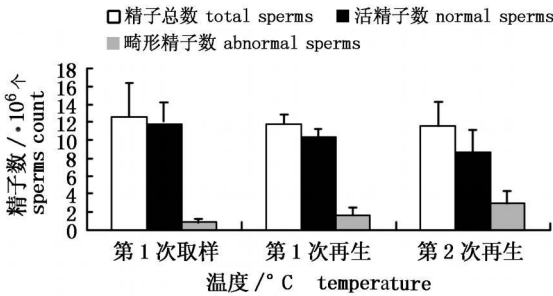


图 1 3 次取样的精子总数、活精子数和畸形精子数的比较

Fig. 1 Comparison of total, normal and abnormal sperm counts under three batches of shrimp samples

## 2.2 盐度试验

实验结果发现, 第一次再生精英的重量, 盐度 30 组(22.3 ± 1.6 mg) 显著高于其他两组; 盐度 15 组的精子总数(14.5 × 10<sup>6</sup> 个) 和活精子数(14.2 × 10<sup>6</sup> 个) 较高, 盐度 5 组较低, 分别为 11.4 × 10<sup>6</sup> 个和 11.0 × 10<sup>6</sup> 个, 而盐度 5 组的畸形精子百分率

最高(5.5%)(表 4)。

实验发现, 第二次精英再生的重量, 盐度 15 组(14.3 ± 1.6 mg) 显著低于其他两组, 盐度 30 组仍较高; 而盐度 15 组的精子总数(16.7 × 10<sup>6</sup> 个) 和活精子数(15.4 × 10<sup>6</sup> 个) 高于其他两组; 畸形精子百分率差异显著, 盐度 5 组的畸形精子百分率(24.1%) 显著高于其他两组(表 4)。

实验初始盐度为 34.1, 我们把盐度 30 组再生的前后两次的精子总数、活精子数和畸形精子数与实验初始盐度条件下第一次取样的结果进行比较, 结果显示随着时间的延长, 精子总数和活精子数差异不显著, 第二次再生的畸形精子数显著高于前两次(图 2)。

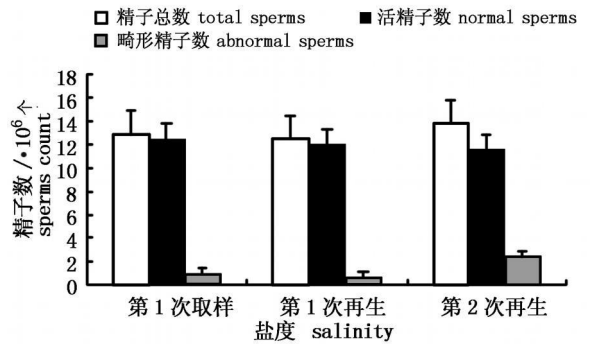


图 2 三次取样的精子总数、活精子数和畸形精子数的比较

Fig. 2 Comparison of total, normal and abnormal sperm counts under three samples of spermatophore

表 4 第 1 次、第 2 次精英再生后不同盐度下精子质量的比较

Tab. 4 Comparison of means( ± standard error) of sperm quality variables under three different salinities after the first and second spermatophore regeneration

	第 1 次精英再生 the first spermatophore regeneration			第 2 次精英再生 the second spermatophore regeneration		
	5	15	30	5	15	30
精英重量(mg) spermatophore weight	13.6 ± 2.9 <sup>b</sup>	16.0 ± 3.1 <sup>b</sup>	22.3 ± 1.6 <sup>a</sup>	16.9 ± 2.2 <sup>ab</sup>	14.3 ± 1.6 <sup>b</sup>	19.2 ± 2.1 <sup>a</sup>
精子总数(10 <sup>6</sup> 个) total sperm count	11.4 ± 2.8 <sup>b</sup>	14.5 ± 1.6 <sup>a</sup>	12.5 ± 2.4 <sup>b</sup>	14.1 ± 3.4 <sup>b</sup>	16.7 ± 2.5 <sup>a</sup>	13.9 ± 3.5 <sup>b</sup>
活精子数(10 <sup>6</sup> 个) normal sperm count	11.0 ± 2.6 <sup>b</sup>	14.2 ± 1.3 <sup>a</sup>	12.0 ± 2.1 <sup>b</sup>	10.7 ± 2.3 <sup>b</sup>	15.4 ± 1.9 <sup>a</sup>	11.6 ± 2.2 <sup>b</sup>
畸形精子百分率(%) percentage of abnormal sperm	5.5 ± 0.5 <sup>a</sup>	2.4 ± 0.2 <sup>b</sup>	4.0 ± 0.6 <sup>ab</sup>	24.1 ± 3.1 <sup>a</sup>	7.8 ± 1.8 <sup>c</sup>	16.5 ± 3.5 <sup>b</sup>

注: 不同上标字母代表所得结果差异显著( $P < 0.05$ )

Notes: Values with different letters are significantly different from each other( $P < 0.05$ )

### 3 讨论

#### 3.1 精英重与精子总数的关系

由表 2~4 可见,个体大小相近的凡纳滨对虾的精英重量和精子数量没有相关关系,精英是由精子团、精英基质和精英壁 3 部分组成的,精英的重量由以上 3 部分组成,并不由精子团单一决定<sup>[21]</sup>,因此,重量大的精英精子数量不一定就多。温度与精英重有一定的相关关系,温度低,精英较重(表 3),另外,初始的精英重量显著高于第 1 次和第 2 次再生,而精子数差异不大,这可能是由于精英滞留在体内时间较长,分泌包被精子的精英壁逐渐增厚所致。总体上说,个体大的雄虾,精英大而重,精子数量也多,因此,生产上还是以选用较大个体为宜。

#### 3.2 温度试验

试验显示,26℃组第 2 次再生的精子总数高于其他两组,而 30℃组最低,活精子数由原来的  $14.0 \times 10^6$  个下降到  $4.3 \times 10^6$  个,畸形精子数显著升高。说明温度对活精子数影响较大,高温会降低精子质量,这一结果与 Bray 等<sup>[7]</sup>、Pascual 等<sup>[5]</sup>、Perez-Velazquez 等<sup>[4]</sup>和 Betha 等<sup>[22]</sup>报道的结果相符。捕获野生的白滨对虾在被移入(29.4±0.8)℃的循环系统中后,雄虾精英开始出现退化<sup>[21]</sup>。Leung-Trujillo 等<sup>[6]</sup>报道,野生捕获的白对虾养殖在 27~29℃的环境下 5 周受精率降低,6 周后精子完全消失。Alfaro 等<sup>[23]</sup>观察到,凡纳滨对虾养殖在(28±1)℃的环境下 4 个月精英出现不同程度的退化。Perez-Velazquez 等<sup>[4]</sup>将捕获的重 48.0 g 的野生雄凡纳滨对虾亲虾放在大型海水循环水槽中 42 d,水温分别保持在 26、29 和 32℃。结果发现,在 26℃时产生大量的精子,而且畸形精子百分率较低,但在 29 和 32℃时精子质量明显下降,Perez-Velazquez 等<sup>[4]</sup>认为凡纳滨对虾的精子质量很容易退化,因此水温应该被严格控制,尤其是在只有雄虾的情况下。Bray 等<sup>[7]</sup>研究水温对雄性白对虾生殖导管的影响,发现在 25~27℃的温度下,精英大量再生且雄虾维持健康,当温度升高时,精英再生时间变短,而生殖导管退化程度加快。Betha 等<sup>[22]</sup>认为精子高死亡率的原因可能是水温高(28℃)引起的,但 28℃的水温被证明是诱导雌虾成熟的最适温度,基于这个负面影响,他建议雄虾和雌虾应该分别饲养在

不同温度条件下。

据我们观察,凡纳滨对虾的蜕皮周期一般为 8~11 d,蜕皮后新的精英才能生成。刚生成的精英柔软不易挤出,经过 2~3 d 的时间,精英开始变硬,饱满,方易挤出。Heitzman<sup>[24]</sup>认为精英的合成,而不是精子的形成与蜕皮周期有关。高温组的蜕皮时间比低温组的快 2~3 d,但高温组的精子质量没有低温组的好。这一结果与 Pascual 等<sup>[5]</sup>所报道的相符。精英的再生时间受温度的影响,温度越高,再生时间越短。随着实验时间的延长,高温组先出现精英退化,说明低温能延迟精英的退化,但多次取样后,无论高温组还是低温组都出现不同程度的退化,可见低温并不能完全阻止精英退化。

本实验发现凡纳滨对虾在温度 26℃时的精子质量最好,但在生产上人们为了加快凡纳滨对虾的繁殖速度,一般多采用 28~30℃。高温虽然能缩短生产周期,带来一定的生产效益,但对凡纳滨对虾雄虾精子质量的影响却是负面的。

#### 3.3 盐度试验

本次试验结果表明,3 组不同盐度条件下,精子质量在盐度 15 时最好,盐度 5 较差(表 4)。另外随着实验养殖时间的延长以及精英再生次数的增加,精子质量呈下降趋势。凡纳滨对虾是迄今所知的适应淡水能力最强的对虾种类,这种适应能力不但表现在生长期,同样也表现在繁殖期间,盐度 15 就适合该种类的雄性生殖腺发育,即使在盐度很低(5)的情况下,雄性精子也能在一定的时间内维持相当高的正常比例。但活精子数和精子总数只能在一个方面反应雄性对虾性腺发育情况,至于对虾的生殖能力还要综合考虑交配能力、授精能力等因素。

### 4 小结

(1) 凡纳滨对虾精子质量在温度 26℃条件下比 22℃和 30℃好。高温易导致精子畸形。

(2) 盐度 15 条件下精子发育良好,与盐度 30 结果相近,盐度 5 的畸形精子率比前两者显著高。

(3) 随着实验时间的延长和精英再生次数的增加,凡纳滨对虾的精子质量总体呈下降趋势,尤其在高温和低盐条件下更是如此。

(4) 个体大小相近时,精英重与精子质量没有显著的相关关系。实验初始的精英最重,随着实

验时间的延长和再生次数的增加,呈下降趋势。较低温度条件下有助于精英重量的增加。

(5)人工繁殖凡纳滨对虾,建议雌雄分养,雄性繁殖条件温度 26 ℃,盐度 15~ 25 均适宜。

感谢本实验室刘红老师、赵连翠、张成锋、高祥刚、于伟、曲学伟等同学的指导和帮助,感谢海南定大养殖有限公司梁伦总经理在亲虾选购、运输等方面的多次无私帮助。

## 参考文献

- [ 1 ] Quackenbush L S. Yolk protein production in the marine shrimp *Penaeus vannamei* [ J ]. Journal of Crustacean Biology, 1989, 9 (4): 509– 516.
- [ 2 ] Palacios E, Racotta I S. Spawning frequency analysis of wild and pond-reared Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei* broodstock under large-scale hatchery condition [ J ]. J World Aquac Soc, 1999, 30(2): 180– 191.
- [ 3 ] Wouters R, Molina C M, Lavens P, et al. Lipid composition and vitamin content of wild female *Litopenaeus vannamei* in different stages of sexual maturation [ J ]. Aquac, 2001, 198: 307 – 321.
- [ 4 ] Perez-Velazquez M, Bray W A. et al. Effect of temperature on sperm quality of captive *Litopenaeus vannamei* broodstock [ J ]. Aquac, 2001, 198: 209– 218.
- [ 5 ] Pascual C E, Valera C, Re-Regis G. Effect of water temperature on reproductive tract condition of *Penaeus setiferus* adult males [ J ]. J World Aquac Soc, 1998, 29: 447– 484.
- [ 6 ] Leung-Trujillo J R, Lawrence A L. Observations on the decline in sperm quality of *Penaeus setiferus* under laboratory conditions [ J ]. Aquac, 1987, 65: 363– 370.
- [ 7 ] Bray W A, Leung-Trujillo J R, Lawrence A L. Preliminary investigation on the effects of temperature, bacterial inoculation, and EDTA on sperm quality in captive *Penaeus setiferus* [ J ]. J World Maricult Soc, 1985, 16: 250– 257.
- [ 8 ] Alfaro J. Reproductive quality evaluation of male *Penaeus stylirostris* from a grow-out pond [ J ]. J World Aquac Soc, 1993, 24(1): 6– 11.
- [ 9 ] Geoff L, Maguire A. Effects of pH and salinity on survival, growth and osmoregulation in *Penaeus monodon* Fabricius [ J ]. Aquac, 1992, 107: 33– 47.
- [ 10 ] Cheng W, Wang F I, Hsu P I. Effects of temperature, pH, salinity and ammonia on the phagocytic activity and clearance efficiency of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* to *Lactococcus garviea* [ J ]. Aquac, 2003, 219: 111– 121.
- [ 11 ] Bray W A, Lawrence A L, Leung-Trujillo J R. The effect of salinity on growth and survival of *Penaeus vannamei*, with observations on the interaction of IHNV virus and salinity [ J ]. Aquac, 1994, 122: 133– 146.
- [ 12 ] Yano I, Kanna R A, Oyama R N. Mating behavior in the penaeid shrimp *Penaeus vannamei* [ J ]. Mar Biol, 1988, 97: 171 – 175.
- [ 13 ] Alfaro J, Lozano X. Development and deterioration of spermatophores in pond-reared *Penaeus vannamei* [ J ]. J World Aquac Soc, 1993, 24(4): 522– 529.
- [ 14 ] Samuel M J, Kannupandi T, Soundarapandian P. Nutritional effects on male reproductive performance in the freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii* [ J ]. Aquac, 1999, 172: 327– 333.
- [ 15 ] Perez-Velazquez Martin, Gonzalez-Felix M L. Dietary effects on sperm quality of *Litopenaeus vannamei* broodstock [ J ]. J World Aquac Soc, 2003, 34(1): 92– 98.
- [ 16 ] Bray W A, Lawrence A L. The effect of salinity on growth and survival of *Penaeus vannamei*, with observations on the interaction of IHNV virus and salinity [ J ]. Aquac, 1994, 12: 133– 146.
- [ 17 ] Boyd C E. Water quality management and aeration in shrimp farming [ M ]. Fisheries and Allied Aquacultures Departmental Series No. 2, Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, Auburn, AL, USA, 1989. 83.
- [ 18 ] Merz A, Blake B F. Experiments on the growth of *Penaeus vannamei* Boone [ J ]. J Exp Mar Biol Ecol, 1980, 48: 99– 111.
- [ 19 ] Stern S, Daniels H, Letellier E. Tolerance of post larvae and juvenile *Penaeus vannamei* to low salinity [ M ]. In: Abstracts, World Aquaculture 90, Halifax, Nova Scotia, Canada, T30. 12, National Research Council Canada, Ottawa, Ont., Canada, 1990.
- [ 20 ] Leung-Trujillo J R, Lawrence A L. The effect of eyestalk ablation on spermatophore and sperm quality in *Litopenaeus vannamei* [ J ]. J World Maricult Soc, 1985, 16: 258– 264.
- [ 21 ] 王群, 赵云龙. 甲壳动物十足类精英的研究概况 [ J ]. 海洋科学, 2000, 24(3): 22– 25.
- [ 22 ] Bertha P, Ceballos-Vazquez, Benjamin A S, et al. Sperm quality over consecutive spermatophore regenerations in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* [ J ]. J World Aquac Soc, 2004, 35: 178– 188.
- [ 23 ] Alfaro J, Lozano X. Development and deterioration of spermatophores in pond-reared *Penaeus vannamei* [ J ]. J World Aquac Soc, 1993, 24: 522– 529.
- [ 24 ] Heitzmann J C, Diter A. Spermatophore formation in the white shrimp, *Penaeus vannamei* Boone 1931: dependence on the intermoult cycle [ J ]. Aquac, 1993, 116: 91– 98.