

# 基于卵黄蛋白原基因表达的水丝蚓促熟南美白对虾研究

彭金霞, 胡睿宇, 陈晓汉, 蒋小珍, 韦嫔媛, 李咏梅, 陈秀荔, 蒋伟明

(广西壮族自治区水产科学研究院, 广西水产遗传育种与健康养殖重点实验室, 南宁 530021)

**摘要:** 针对传统海产亲虾饵料易感染或携带与对虾共患病毒, 给育种和苗种繁育工作带来巨大生物安全隐患的问题, 以淡水品种水丝蚓作为替代饵料进行南美白对虾亲虾催熟试验, 并以卵黄蛋白原基因的表达水平变化验证饵料的催熟效果。设水丝蚓、水丝蚓组合饵料、商业亲虾饲料及传统沙蚕组合饵料等 4 个饵料组合, 分别投喂南美白对虾后备亲虾, 测定繁殖性能相关参数, 并通过荧光定量 PCR 技术对各亲虾肝胰腺和卵巢中 VTG 的表达水平的变化进行了追踪研究。结果显示, 水丝蚓组的性腺增重最高, 达 1 475%, 连续产卵率最大, 平均为 72.08%, 与传统沙蚕组合饵料组无显著差异性 ( $P > 0.05$ )。南美白对虾肝胰腺和卵巢组织中均存在 VTG mRNA, 在肝胰腺和卵巢中均呈先上升后下降的表达模式; VTG mRNA 的表达量能够一定程度上反映对虾的繁殖性能, 有望发展成为亲虾繁殖性能选育指标; 水丝蚓在促进亲虾性腺发育方面效果较传统沙蚕饵料组合好, 在改善亲虾产卵效果方面基本与沙蚕组合相当, 可作为沙蚕替代饵料用于南美白对虾的亲虾强化培育和催熟。

**关键词:** 卵黄蛋白原; 基因表达; 促熟; 南美白对虾; 水丝蚓

**中图分类号:** Q786, S966.12 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-3075(2014)02-0074-06

南美白对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 是我国水产养殖的主导品种, 目前广泛使用的亲虾催熟饵料主要为富含 EPA 和 DHA 等不饱和脂肪酸的沙蚕 (*Nereis succinea*), 并配合鱿鱼、牡蛎等天然生物饵料, 能达到较好的催熟效果。但沙蚕、鱿鱼、牡蛎等与南美白对虾均为海水物种, 易感染或携带与对虾共有的病毒, 使对虾育种和苗种繁育存在巨大的生物安全隐患 (杜少波等, 2002; Alava et al, 1993; 纪丽丽等, 2008; 刘向辉等, 2002)。因此, 迫切需要进行南美白对虾安全、优质、高效的亲虾催熟饵料的开发。

水丝蚓 (*Limnodrilus hoffmeisteri*), 又称丝蚯蚓, 俗称“红线虫”、“沙子虫”、“红虫”等, 在分类地位、生活习性以及组织结构上与沙蚕相似。研究表明, 水丝蚓的蛋白质、不饱和脂肪酸含量也很丰富, 其干品蛋白质含量达到 62%, 脂肪含量 18% 以上, 特别是其不饱和脂肪酸一般占到了脂肪总量的 58% 以上, 而且, 其氨基酸和脂肪酸组成也与沙蚕、牡蛎的相似 (Wouters et al, 2001; 韩志泉等, 2001; 张琳

等, 1997)。水丝蚓为淡水生物, 与海水养殖的对虾发生病原交叉感染的几率低, 生物安全性高, 且近年来已形成规模化养殖。因此, 如能以水丝蚓替代沙蚕作为南美白对虾亲虾催熟的饵料, 可规避鲜活饵料传染病毒的风险, 同时可大幅降低亲虾培育成本。

卵黄物质的形成与积累是卵生动物卵子发生过程中的重要事件。在卵巢成熟过程中, 卵母细胞中会快速积累大量的卵黄蛋白前体——卵黄蛋白原 (Vitellogenin, VTG), 然后分裂形成成熟卵黄蛋白 (Vitellin, Vt)。卵黄蛋白是卵黄物质的最主要成分, 为卵母细胞和胚胎的发育提供大量营养, 行使着重要的生物学功能 (Rodgers, 1993)。肝胰腺和卵巢都是对虾卵黄蛋白原的合成场所, 但在发育的不同阶段, 其表达水平呈动态变化 (Yano et al, 1987; Browdy et al, 1990; Fainzilber et al, 1992; Challg et al, 1995; Celia et al, 2002)。已有研究证实, 眼柄摘除前成虾肝胰腺中 VTG 含量反映了雌虾卵巢的发育程度, 因此 VTG 基因被认为是控制繁殖性状的重要基因 (Jasmani et al, 2000; Arcos et al, 2003; Tsutsui et al, 2005; Okumura et al, 2007; Raviv et al, 2006; Ibarra et al, 2007)。南美白对虾中也已克隆获得 1 个 VTG 基因, 且其肝胰腺中 VTG 含量与对虾的平均卵径大小具显著遗传相关性 (Ibarra et al, 2009)。

作者于 2011 年 6 月 19 日至 8 月 23 日期间, 研究比较了 4 种饵料进行南美白对虾亲虾培育催熟的

收稿日期: 2013-10-31

**基金项目:** 广西自然科学基金项目 (2011GXNSFD018020); 广西科学研究与技术开发计划项目 (桂科合 1140010-17); 现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-47)。

**通讯作者:** 蒋伟明。E-mail: 445314960@qq.com

**作者简介:** 彭金霞, 1981 年生, 女, 安徽潜山人, 博士, 助理研究员, 主要从事海水养殖品种遗传育种与分子辅助育种研究。E-mail: pengjinxia@gmail.com

效果,并通过荧光定量 PCR 试验对 4 种组合的亲虾饵料强化培育和催熟南美白对虾过程中 VTG 的表达水平的变化进行了追踪研究,以 VTG 表达量的变化辅助判断各组饵料的催熟效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验亲虾为广西 SPF 南美白对虾良种场后备亲虾。4 种组合的亲虾饵料分别为商品亲虾饲料(A)、水丝蚓组合饵料(B)、水丝蚓(C)和沙蚕组合饵料(D)。

分别于营养强化培育前(样品编号 A1、B1、C1、D1)、强化培育后第 10 天(样品编号 A2、B2、C2、D2)、第 20 天(样品编号 A3、B3、C3、D3)、第 30 天(样品编号 A4、B4、C4、D4)各取样 1 次,摘除单侧眼柄促熟手术后第 3 天(样品编号 A5、B5、C5、D5)取样 1 次。每次每组挑选 3 尾发育一致的雌虾分别取其肝胰腺和卵巢样品适量,编号后于 RNAlater 中保存用于 RNA 提取。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 RNA 抽提** RNA 抽提按照 SV Total RNA Isolation System(Promega)说明书进行。每个样品取约 100 mg 于 1 mL 裂解液中匀浆,吸取 175  $\mu$ L 匀浆液与 350  $\mu$ L SV RNA Dilution Buffer 混匀,70 $^{\circ}$ C 水浴 3 min 后,置离心机,以 12 000 转/min 速率离心,将上清液吸出加入 200  $\mu$ L 95% 乙醇中混匀,转入收集管上的 RNA 吸附柱中,离心后再向柱中加入 RNA Washing Solution 600  $\mu$ L,离心漂洗后,将 DNase I 消化液加到柱子的膜上,室温孵育 20 min;终止反应后,以 600  $\mu$ L、250  $\mu$ L RNA Washing Solution 各漂洗 1 遍,加入 50  $\mu$ L 无 RNA 酶的双蒸水洗脱获 RNA 溶液。1.2% 琼脂糖凝胶电泳分析 RNA 完整性,用紫外分光光度计测定 RNA 到  $A_{260}$  和  $A_{280}$  值,用于判断 RNA 的纯度并计算浓度,提取的 RNA 的  $A_{260}/A_{280}$  值均在 1.8~2.0。

**1.2.2 逆转录** 所有样品的 RNA 均以 Random 引物反转录合成第一链 cDNA:取 100 ng~2  $\mu$ g 总 RNA 和 1  $\mu$ g 随机引物于 PCR 管中,70 $^{\circ}$ C 变性 5 min,迅速置冰上冷却;然后向管中加入 0.5 mM dNTP,200 单位的 M-MLV 逆转录酶,25 单位 RNA 酶抑制剂(rRNasin<sup>®</sup> Ribonuclease Inhibitor)及 2.5  $\mu$ L 10 $\times$  M-MLV 缓冲液,补 DEPC 处理水至总体积 25  $\mu$ L。混匀,42 $^{\circ}$ C 孵育 1 h,然后 70 $^{\circ}$ C 加热 10 min 终止反应。将逆转录产物稀释 5~10 倍,以

$\beta$ -actin 基因作内参,PCR 调整至各样品 cDNA 模板浓度一致。同时以基因组 DNA 作为对照,扩增相同循环数,以排除基因组 DNA 的污染。

**1.2.3 荧光定量 PCR** 采用含 SYBR Green I Dye 荧光染料的 THUNDERBIRD qPCR Mix,在 ABI 7500-fast 仪器中进行荧光定量 PCR。反应体系:1.0  $\mu$ L cDNA,10  $\mu$ L 2 $\times$  THUNDERBIRD qPCR Mix (contain ROX),0.5  $\mu$ L 每条引物(0.2  $\mu$ M),补足水至总体积 20  $\mu$ L(每个样品重复 3 管)。反应条件:预变性:94 $^{\circ}$ C 30 s,40 个循环:94 $^{\circ}$ C 10 s,56 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 10 min。

**1.2.4 数据分析** 用 Opticon Monitor 2 软件对数据进行分析,以  $\beta$ -actin 的表达量为内参,用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  方法计算目的基因相对于  $\beta$ -actin 的表达量(Livak et al, 2001)。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同饵料组合亲虾繁殖性能比较

对比亲虾单侧眼柄摘除前后的性腺发育情况,发现不同组的亲虾性腺均有所发育,但其发育程度不一。水丝蚓组的亲虾性腺发育最好,依次为沙蚕组合饵料组和水丝蚓组合饵料组,商品亲虾饲料组最差。方差分析表明,C组、D组、B组亲虾的性腺增重率差异不显著( $P > 0.05$ ),均与A组的差异显著( $P < 0.05$ )。

不同饵料组亲虾的连续产卵率有较大差异。水丝蚓组的连续成熟产卵个体最多,连续产卵率也最大;水丝蚓组合饵料组的连续产卵率次之;商品亲虾饲料组的连续产卵率最小。各组亲虾的繁殖性能见表 1。

### 2.2 VTG mRNA 表达变化

将营养强化前的后备亲虾卵巢中的 VTG mRNA 含量定义为 1 倍,计算得到其他各组肝胰腺和卵巢样品的 VTG mRNA 相对表达量。在确保生物安全的前提下,沙蚕组合是目前生产应用中催熟效果最好的饵料组合,因此在沙蚕组合强化培育和催熟的不同阶段取样检测 VTG mRNA 表达量的变化。结果显示:亲虾饵料投喂 20 d 后,肝胰腺和卵巢中 VTG mRNA 都被诱导而大量表达,肝胰腺和卵巢中 VTG mRNA 均呈现先上升后下调的表达模式,肝胰腺中表达量在强化培育第 20 天达到最高值,而卵巢中在强化培育第 30 天时达到最高值(图 1),此时卵巢中 VTG mRNA 除了卵巢自身合成外,应该还有部分是发育前期肝胰腺中合成的 VTG mRNA 逐步转

运到卵巢中的。而剪眼柄后是亲虾快速成熟期，VTG mRNA 在肝胰腺和卵巢中的表达量均不太高，

此阶段应主要进行 VTG mRNA 的翻译和加工形成成熟卵黄蛋白。

表1 亲虾的繁殖性能

Tab.1 Reproductive performance of parent shrimps

组别	性腺增重率/%	产卵量/万粒	平均产卵次数/次	连续产卵率/%
商品亲虾饲料	675.00 ± 318.19 <sup>b</sup>	9.78 ± 0.09 <sup>Ab</sup>	1.67 ± 0.04 <sup>Cc</sup>	29.29 ± 1.01 <sup>BbC</sup>
水丝蚓组合饵料	1100.00 ± 0.01 <sup>ab</sup>	11.48 ± 0.10 <sup>A</sup>	1.88 ± 0.04 <sup>Bc</sup>	62.99 ± 11.94 <sup>ABa</sup>
水丝蚓	1475.00 ± 106.06 <sup>a</sup>	10.63 ± 0.92 <sup>A</sup>	2.33 ± 0.17 <sup>ABb</sup>	72.08 ± 0.92 <sup>A</sup>
沙蚕组合饵料	1400.00 ± 141.42 <sup>a</sup>	12.59 ± 1.98 <sup>Aa</sup>	2.79 ± 0.06 <sup>Aa</sup>	56.25 ± 8.84 <sup>ABa</sup>

注：“数值 ± 数值”表示2个平行试验组的“平均数 ± 标准差”；同一列数值中有不同上标小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Note: Values were presented as “mean ± standard deviation” of the two parallel trial groups, respectively; values with different superscript small letters in the same column differ significantly ( $P < 0.05$ ).

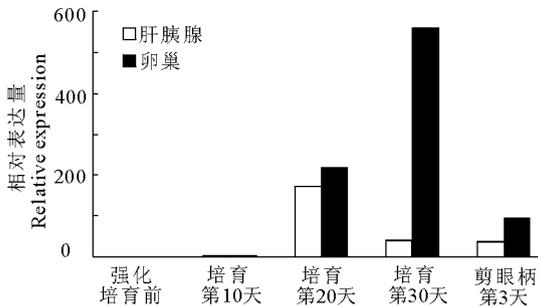


图1 VTG mRNA 在亲虾肝胰腺和卵巢中的表达

Fig.1 Relative expression of VTG mRNA in hepatopancreas and ovary of parent shrimps

### 2.3 VTG mRNA 表达量

养殖13月龄、体长(13.87 ± 0.58) cm、体重(33.87 ± 4.23) g的健壮后备亲虾用亲虾饵料强化培育第20天,其性腺进入第一轮快速生长期,此时卵母细胞中卵黄开始积累,肝胰腺和卵巢中VTG mRNA均进入高丰度表达状态(图2)。而到了培育第30天,卵母细胞进一步发育,双层滤泡细胞发育成熟,大量合成VTG mRNA,卵巢中表达量达到最大值,而肝胰腺中的表达量较培育第20天有所下降(图3)。剪眼柄后,雌虾进入快速成熟期,卵母细胞中卵黄形成速度最快,此时因蛋白质的快速合成消

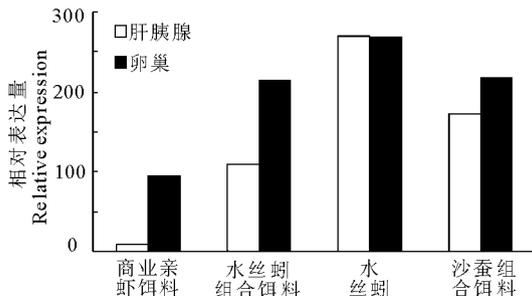


图2 强化培育第20天 VTG mRNA 在肝胰腺和卵巢中的表达

Fig.2 Relative expression of VTG mRNA in hepatopancreas and ovary of parent shrimps on the 20th day after strengthening cultivation

耗VTG mRNA的速度快于其mRNA合成,肝胰腺和卵巢中VTG mRNA含量都呈降低趋势(图4)。

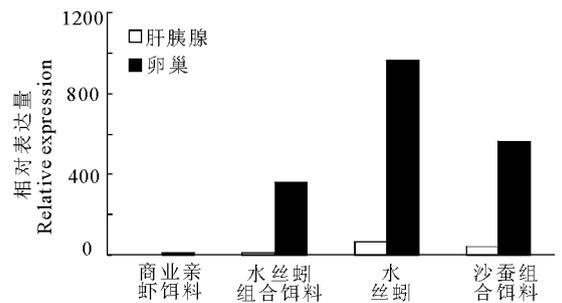


图3 强化培育第30天 VTG mRNA 在肝胰腺和卵巢中的表达

Fig.3 Relative expression of VTG mRNA in hepatopancreas and ovary of parent shrimps on the 30th day after strengthening cultivation

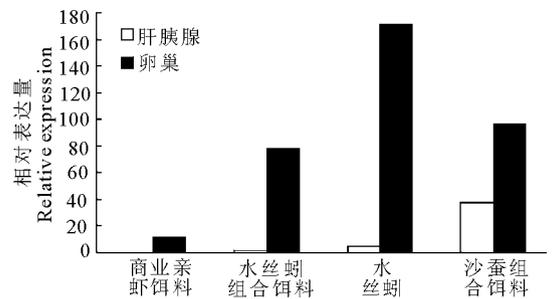


图4 摘除眼柄第3天 VTG mRNA 在肝胰腺和卵巢中的表达  
Fig.4 Relative expression of VTG mRNA in hepatopancreas and ovary of parent shrimps on the 3rd day after eyestalk ablation

## 3 讨论

### 3.1 VTG mRNA 有望成为南美白对虾繁殖性能选育的指标

在4种饵料组的试验中,南美白对虾肝胰腺和卵巢中VTG mRNA表达量基本与观察到的催熟结果相一致,水丝蚓组合饵料、水丝蚓和沙蚕组合饵料组培育后南美白对虾VTG mRNA表达量明显高于

商品亲虾饲料组,性腺增重率、连续产卵率及其他繁殖性能也均高于商品亲虾饲料组,说明 VTG mRNA 能够反映对虾的繁殖性能,有希望成为亲虾繁殖性能选育指标。

### 3.2 VTG mRNA 在南美白对虾肝胰腺和卵巢中呈动态表达

虾的卵黄蛋白原合成部位,已报道的有肝胰腺和卵巢,但不同研究者得出的结果不一致。日本对虾的卵巢是卵黄蛋白的合成场所,而肝胰腺抽提液与卵黄蛋白抗体没有沉淀反应,所以肝胰腺被认为不参与卵黄的合成(Yano et al, 1987); Browdy 等(1990)的研究结果表明卵巢是短沟对虾唯一的卵黄蛋白原合成部位;Fainzilber 等(1992)研究认为卵巢是短沟对虾主要的卵黄蛋白原合成场所,处于卵黄合成早期雌体的肝胰腺也有合成卵黄蛋白原的功能,但其合成量低于合成总蛋白量的 15%,对卵黄发生的作用较小。Chang 和 Jeng (1995)在中国对虾的血淋巴中发现一种卵黄蛋白原,说明中国对虾也可能存在着外源性合成部位。印度对虾在卵巢发育早期,肝胰腺和性腺中 VTG 表达均呈上升趋势,而在卵巢发育晚期呈下降趋势,但卵巢中卵黄蛋白含量仍在快速增加,说明肝胰腺能合成卵黄蛋白原,但成熟卵黄蛋白不仅仅依靠肝胰腺合成(Vazquez Boucard, et al, 2002)。

本研究通过荧光定量 PCR 试验发现,南美白对虾肝胰腺和卵巢组织中均存在 VTG mRNA,在肝胰腺和卵巢中的表达趋势都是随着卵巢发育先上升后下降,肝胰腺中检测到的 VTG 低于卵巢,且肝胰腺中 VTG 比卵巢中早 10d 达到峰值。在卵巢发育早期,VTG mRNA 主要合成场所滤泡细胞尚未发育成熟,肝胰腺合成 VTG mRNA 占较大比例,推测 VTG mRNA 在肝胰腺合成后转运到卵巢中,供应卵黄物质的合成,而到了较晚期滤泡细胞发育成熟后,VTG mRNA 主要由滤泡细胞合成,肝胰腺中表达量逐步下降。

### 3.3 水丝蚓可作为南美白对虾亲虾强化培育和催熟的饵料

对水丝蚓组合饵料、水丝蚓和沙蚕组合饵料 3 组数据进行比较分析,结果支持水丝蚓可作为沙蚕替代饵料用于南美白对虾苗种生产中的亲虾强化培育和催熟。水丝蚓组合饵料组水丝蚓投喂量小于水丝蚓组,南美白对虾的繁殖性能不如水丝蚓组,说明水丝蚓确实具有促熟营养成分,并在促熟过程中呈剂量效应。

水丝蚓和沙蚕为近缘物种,可能含有相近的可促熟的营养成分。从试验结果看,水丝蚓组和沙蚕组合饵料组的南美白对虾繁殖性能也最接近。水丝蚓组比沙蚕组合饵料组南美白对虾性腺增重率大、产卵快但连续产卵次数不够多,可能与 VTG mRNA 的在肝胰腺中的快速回落、后续供给不足有关(陈泳先,2012)。

商品亲虾饲料组雌虾虽在肝胰腺重、肝胰腺指数和肝胰腺增重方面有更大的优势,但性腺重、性腺指数和性腺增重方面却没有相应的优势;同时肝胰腺和卵巢中与繁殖性能密切相关的 VTG 基因的表达量也很低,可见其营养成分主要还是作用于促进虾体肌肉或肝胰腺的生长。这说明商品亲虾饲料缺少某种成分来促进雌虾体内营养物质转化为性腺发育所需的物质。

### 参考文献

- 陈泳先. 2012. 几种饵料对凡纳滨对虾亲虾繁殖性能的影响[D]. 南宁:广西大学.
- 杜少波,胡超群,沈琪. 2002. 亲虾营养需求研究进展[J]. 热带海洋学报, 21(4):80-91.
- 韩志泉,郭雪清,田雨,等. 2001. 淡水鱼所需五种动物性饵料脂肪酸组成比较[J]. 首都师范大学学报:自然科学版, 22(1):73-79.
- 纪丽雨,黄翔鹤,李活,等. 2008. 南美白对虾饲料中沙蚕的营养成分分析[J]. 氨基酸和生物资源, 30(4):63-65.
- 刘向辉,戈峰,潘卫东. 2002. 沙蚕组织内几种营养成分的分析[J]. 中国海洋药物, (6):35-41.
- 张琳. 1997. 水丝蚓原液的提取及营养成分分析[J]. 四川畜牧兽医, (6):14-15.
- Alava VR, Kanazawa A, Teshima S, et al. 1993. Effect of dietary vitamins A, E and C on the ovarian development of *Penaeus japonicus* [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 59(7): 1235-1241.
- Arcos FG, Ibarra AM, Vazquez-Boucard C, et al. 2003. Hemolymph metabolic variables in relation to eyestalk ablation and gonad development of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* Boone [J]. Aquacult Res, 34(9): 1-7.
- Browdy CL, Fainzilber M, Tom M, et al. 1990. Vitellin synthesis in relation to oogenesis in vitro-cubated ovaries of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) [J]. Exp Zool, 255(2): 205-215.
- Vazquez Boucard CG, Levy P, Ceccaldi HJ, Brogren C. 2002. Developmental changes in concentrations of vitellin, vitellogenin, and lipids in hemolymph, hepatopancreas, and ovaries from different ovarian stages of Indian white prawn Fen-

- neropenaeus indicus [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 281(1-2): 63-75.
- Chang CF, Jeng SR. 1995. Isolation and characterization of the female-specific protein(vitellogenin) in mature female hemolymph of the prawn *Penaeus chinensis* [J]. Comp Biochem Physiol, 112B(2): 257-263.
- Fainzilber M, Tom M, Shatlr S, et al. 1992. Is there extra ovarian synthesis of vitellin in Penaeid shrimp? [J]. Biol Bull, 183(2): 233-241.
- Ibarra AM, Racotta IS, Arcos FG, et al. 2007. Progress on the genetics of reproductive performance in Penaeid shrimp [J]. Aquaculture, 268(1-4): 23-43.
- Ibarra AM, Famula TR, Arcos FG. 2009. Heritability of vitellogenin in hemolymph, a pre-spawning selectable trait in *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*, has a large genetic correlation with ovary maturity measured as oocytes mean diameter [J]. Aquaculture, 297(1-4): 64-69.
- Jasmani S, Kawazoe I, Shih TW, et al. 2000. Hemolymph vitellogenin levels during ovarian development in the kuruma prawn *Penaeus japonicus* [J]. Fish Sci, 66(3): 535-539.
- Livak KJ, Schmittgen TD. 2001. Analysis of relative gene expression data using realtime quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method [J]. Methods, 25(4): 402-408.
- Okumura T, Yamano K, Sakiyama K. 2007. Vitellogenin gene expression and hemolymph vitellogenin during vitellogenesis, final maturation, and ovoposition in female kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus* [J]. Comp Biochem Physiol: Part A, 147(4): 1028-1037.
- Raviv S, Parnes S, Segall C, et al. 2006. Complete sequence of *Litopenaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda) vitellogenin cDNA and its expression in endocrinologically induced subadult females [J]. Gen Comp Endocrinol, 145(1): 39-50.
- Rodgers PA. 1993. Pressure-volume-temperature relationships for polymeric liquids I A review of equations of state and their characteristic parameters for 56 polymers [J]. J Appl Poly Sci, 48(6): 1061-1080.
- Tsutsui N, Kim YK, Jasmani S, et al. 2005. The dynamics of vitellogenin gene expression differs between intact and eyestalk ablated kuruma prawn *Penaeus (Marsupenaeus) japonicus* [J]. Fish Sci, 71(2): 249-256.
- Wouters R, Lavens P, Nieto J, et al. 2001. Penaeid shrimp broodstock nutrition: An updated review on research and development [J]. Aquaculture, 202(1-2): 1-21.
- Yano I, Chinzei Y. 1987. Ovary is the site of vitellogenins synthesis in Kuruma prawn, *Penaeus japonicus* [J]. Comp Biochem Physiol: Part B, 86(2): 213-218.

(责任编辑 张俊友)

## Feasibility of Ripening *Litopenaeus vannamei* by *Limnodrilus hoffmeisteri* Based on Vitellogenin Gene Expression

PENG Jin-xia, HU Rui-yu, CHEN Xiao-han, JIANG Xiao-zhen, WEI Pin-yuan,  
LI Yong-mei, CHEN Xiu-li, JIANG Wei-ming

(Guangxi Key Laboratory of Aquatic Genetic Breeding and Healthy Aquaculture,  
Guangxi Academy of Fisheries Science, Nanning 530021, P. R. China)

**Abstract:** Traditional broodstock diets, being susceptible to virus attacks or carrying the virus to parent shrimps, bring a huge bio-security risk to shrimp breeding. This study was carried out to determine the feasibility of *Limnodrilus hoffmeisteri* as a replacement of traditional bait to accelerate the maturity of parent shrimps of *Litopenaeus vannamei*, which was verified by the dynamics of vitellogenin gene expression in hepatopancreas and ovary of *Litopenaeus vannamei*. The parent shrimps fed on four different diets (commercial parent shrimps feed, *Limnodrilus hoffmeisteri* combination bait, *Limnodrilus hoffmeisteri* and *Nereis succinea* combination bait), and the effect of each diet on the maturity of parent shrimps was evaluated by testing the gonad weight increase rate, eggs amount, average spawning time and levels of VTG gene expression. The results showed that *Limnodrilus hoffmeisteri*, as a closely related fresh water species of *Nereis succinea*, had the best effect on maturation of parent shrimps. The highest gonad weight increase rate of 1475% and the largest consecutive spawning rate with average value of 72.08% were both in groups fed on *Limnodrilus hoffmeisteri*, with no significant difference from the groups fed on *Nereis succinea* combination bait. The dynamics of VTG mRNA level were observed in hepatopancreas and ovary of *Litopenaeus vannamei* with the trend of increasing firstly and then decreasing, which reflected reproductive performance of the parent shrimps and was suggested to be an indicator of reproductive performance for selective breeding. As a result, *Limnodrilus hoffmeisteri* is a suitable substitute of *Nereis succinea* based on its effect on the reproductive traits and VTG mRNA expression level in parent shrimps of *Litopenaeus vannamei*.

**Key words:** Vitellogenin; gene expression; ripening; *Litopenaeus vannamei*; *Limnodrilus hoffmeisteri*