文章编号:1004-7271(2004)01-0005-05

早熟和正常中华绒螯蟹大颚器官 发育及超微结构

赵维信,陆剑锋

(上海水产大学生命科学与技术学院,上海 200090)

摘要对早熟和正常发育的中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)大颚器官(mandibular organ,MO)进行解剖学和组织 学研究,发现早熟蟹的 MO 在当年秋季已充分发育,MO 细胞直径在当年 11 月达到最大值;而正常发育幼蟹的 MO 在当年细胞排列紧密,直到翌年秋季才充分发育。正常发育成蟹(二秋龄蟹)的 MO 细胞直径在 10 月达到 最大值,明显大于早熟蟹(*P* < 0.05)。表明早熟蟹 MO 较正常发育蟹提早一年发育,但是,秋季早熟蟹 MO 的 发育速度和发育良好程度均不及二秋龄蟹 MO 的发育,这可能是早熟蟹卵黄发生过程较缓慢,较二秋龄蟹滞 后约一个月达到次级卵黄发生末期的原因。中华绒螯蟹 MO 细胞超微结构的显著特征是丰富而形态多样的 光面内质网和具小管状内嵴的线粒体,以及丰富的游离核糖体。 关键词:中华绒螯蟹;大颚器官发育;早熟,超微结构 中图分类号 S917 文献标识码:A

Development and ultrastructure of mandibular organ in precocious and normal Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*

ZHAO Wei-xin ,LU Jian-feng

(College of Aqua-life Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract :Anatomic and histological observations have been made for mandibular organ (MO) in precocious and normal Chinese mitten crabs (*Eriocheir sinensis*), and it was found that the MO of precocious crab well developed in autumn (1st year). The diameter of MO cell reached its maximum value in November. While the MO cells of juvenile normal crab were quite small and close arrangement in autumn (1st year), the MO was not developed until in autumn second year. The diameter of MO cell of adult normal crab (two autumn crab) reached its maximum value in October, and was much bigger than that of precocious crab (p < 0.05). Therefore, the MO of precocious crab developed one year earlier than that of normal crab. In autumn, the speed and degree of MO development of precocious crab were more less than those of two autumn crab. This may be the reason for precocious crab to have slower vitellogenesis and one month delay reaching the late second vitellogenesis stage. The most distinguished features for ultrastructure of MO cells are rich in varied shapes of smooth endoplasmic reticulun, polymorphic mitochondria with tubular critae and numerous free ribosomes.

Key words : Eriocheir sinensis ; development of mandibular organ ; precociousness ; ultrastructure

基金项目:上海市教委重点学科基金资助项目(编号 B991602)

作者简介 赵维信 1937 –) 女 江苏南京市人 教授 主要从事鱼类和甲壳类内分泌研究。Tel:021-65710525 E-mail:wszhao@shfu.edu.en

收稿日期 2003-09-26

中华绒螯蟹大颚器官(mandibular organ, MO)合成和分泌的激素——甲基法尼酯(methyl farnesoate, MF)测定表明早熟蟹在当年 10 月的 MF 合成水平约为正常蟹的 2.5 倍,接近二秋龄成蟹的 MF 水平¹¹, 卵巢发育达到次级卵黄发生期。为了进一步从 MO 的形态学和组织学变化证明早熟蟹的 MO 提早发育 本研究比较了早熟蟹和正常蟹 MO 的发育状况,并对中华绒螯蟹 MO 的超微结构进行了研究。

1 材料和方法

中华绒螯蟹(Eriocheir sinensis)自 2000年9月 – 2001年11月每月采自上海崇明县富民农场的养蟹 塘。暂养一周后,按腹脐形状和卵巢发育状况将每月样品分成早熟蟹和正常发育蟹两组,逐尾活体解 剖,观察 MO的外形和颜色,并用 Bouin 氏液固定每组各7 – 8 尾蟹的 MO,常规石蜡切片,H-E 染色, Olympus 显微镜观察和拍照;MO 细胞直径测定,采用 20 个 MO 细胞测定其最大直径。

用于电镜观察的样品为二秋龄成蟹 4 尾,卵巢处于初级或次级卵黄发生期(Ⅲ或Ⅳ期),解剖取出 MO,在 3%戊二醛溶液中固定过夜,再用 1%的锇酸固定 3h,丙酮梯度脱水,Epon812 环氧树脂包埋,LKB-I型切片机进行超薄切片,醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色,OPTON902 型透射电镜观察和拍照。

采用方差分析对实验数据进行统计处理。

2 结果

2.1 早熟蟹与正常发育蟹大颚器官发育的形态学比较

中华绒螯蟹的 MO 成对 左右侧各一,位于左右大颚背面,大颚几丁质腱外侧基部(图版-1),MO 外被一层结缔组织薄膜。充分发育的 MO 由相互交织的细胞索构成,细胞索间被血淋巴管和血淋巴窦分隔,在细胞索与血淋巴窦的交界面被有基膜,呈现明显的轮廓,胞核偏心,胞质内含物丰富,血淋巴窦中可见血细胞(图版-7)。

2.1.1 早熟蟹与正常发育蟹大颚器官发育在颜色 形状和细胞直径上变化的比较

随着 MO 的发育 ,颜色由白色透明→→白色半透明→→淡黄色→→淡土黄色 ;MO 形状由条带状→→ 团状→→团絮状。

早熟蟹的 MO 在当年秋季迅速发育,至 11 月,MO 的颜色为淡土黄色,形状为团絮状,MO 细胞直径 达到最大值(37.61±3.66µm);而正常发育蟹的 MO 直至翌年 9 月(二秋龄)才呈现淡土黄色,团絮状, MO 细胞的最大直径(44.54±3.58µm)出现在 10 月份,但明显大于早熟蟹(P < 0.05)。另外,9月份,同 样处于初级卵黄发生期(III期)的 MO,早熟蟹 MO 细胞直径(29.06±3.56µm)明显小于二秋龄蟹(37.28 ±6.10µm),差异极显著(P < 0.01)(表 1)。

| 表1 早熟蟹与正常发育蟹 MO 的颜色,形状和 | 细胞直径的变化 |
|-------------------------|---------|
|-------------------------|---------|

| Tab.1 | Changes of MO | color | , shape and | cell | diameter | in | precocious a | and | normal | cral | bs |
|-------|---------------|-------|-------------|------|----------|----|--------------|-----|--------|------|----|
|-------|---------------|-------|-------------|------|----------|----|--------------|-----|--------|------|----|

| 月份 | | | | | 正常发育蟹 | | | | |
|------|-------|-----|------------------|------|-------|-----|------------------|------|--|
| | 颜色 | 形状 | 细胞直径(µm) | 卵巢分期 | 颜色 | 形状 | 细胞直径(μm) | 卵巢分期 | |
| 当年9月 | 白色半透明 | 条带状 | 29.06 ± 3.56 | Ш | 白色透明 | 条带状 | 12.54 ± 2.13 | | |
| 10 | 淡黄色 | 团状 | 36.98 ± 3.02 | IN 初 | 白色透明 | 条带状 | 12.74 ± 1.44 | | |
| 11 | 淡土黄色 | 团絮状 | 37.61 ± 3.66 | NФ | 白色透明 | 条带状 | 14.80 ± 3.38 | | |
| 12 | 淡土黄色 | 团絮状 | 25.78 ± 3.41 | N末 | 白色透明 | 条带状 | 10.13 ± 1.26 | | |
| 翌年2月 | 淡土黄色 | 团絮状 | 29.92 ± 4.69 | N★ | 白色半透明 | 条带状 | 9.80 ± 0.72 | | |
| 4 | | | | | 白色半透明 | 条带状 | 13.09 ± 1.51 | | |
| 6 | | | | | 白色半透明 | 团状 | 19.72 ± 3.17 | | |
| 7 | | | | | 淡黄色 | 团状 | 25.68 ± 3.90 | | |
| 8 | | | | | 淡黄色 | 团状 | 29.87 ± 4.82 | П | |
| 9 | | | | | 淡土黄色 | 团絮状 | 37.28 ± 6.10 | Ш | |
| 10 | | | | | 淡土黄色 | 团絮状 | 44.54 ± 3.58 | Ⅳ初、中 | |
| 11 | | | | | 淡土黄色 | 团絮状 | 38.47 ± 4.17 | N★ | |

2.1.2 早熟蟹和正常发育蟹大颚器官组织学比较

当年 9 – 11 月的早熟蟹,MO 细胞已充分发育,胞质充实,血淋巴窦丰富,细胞索轮廓明显(图版-2,3);12 月早熟蟹的 MO 细胞出现胞质空泡化,血淋巴细胞较多;翌年 2 月早熟蟹 MO 的泡状化细胞增多,核染色质固缩(图版-4),呈现功能退化状态。而正常发育蟹 MO 在当年(至当年 12 月)不但 MO 细胞直径很小,而且细胞排列紧密,几乎不见血淋巴窦(图版-5 6);至翌年 9,10 月,二秋龄蟹(正常发育蟹)的 MO 细胞发育良好,胞质内含物丰富,细胞索轮廓明显,血淋巴窦丰富(图版-7);翌年 11 月的二秋龄蟹, MO 细胞呈现高度泡状化,核质固缩(图版-8)。

2.2 大颚器官的超微结构

MO 细胞的胞核椭园形 核仁一个,沿核膜内周分布;胞质中散布大量游离核糖体,线粒体丰富(图版-9),形态各异,有椭园形、棒形、环形等,均为小管状内嵴(图版-10);光面内质网形态多样,以小泡状光面内质网聚集体最多,还有池状光面内质网,管状光面内质网(图版-10,11),还可见少量螺纹状光面内质网(图版-12),偶见高尔基体,其扁平囊状的内含物电子密度较高(图版-13);MO 细胞在与血淋巴窦的相邻面形成许多纤细的胞突,外被基膜(图版-11)。

除典型的 MO 细胞外,还可见一些功能退化状态的 MO 细胞 图版-14),尤其是在处于次级卵黄发生 期个体的 MO 中,这些细胞的胞质呈高度泡状化,核染色质凝固并边缘化,核周腔扩大,核膜外层甚至扩 大呈气泡状;与血淋巴窦相邻面的纤细胞突消失,胞质内充满大大小小的泡,呈退化状态的线粒体被包 裹在泡内,邻近 MO 细胞边缘的泡较大,并与细胞膜融合。

血淋巴窦内可见两种类型的血淋巴细胞,颗粒型和非颗粒型,颗粒型血淋巴细胞一般较非颗粒型血淋巴细胞略大,胞质体积较大,胞质内含有电子密度高的颗粒,细胞的伪足一般较短(图版-15);非颗粒型血细胞的胞质体积较小,胞质中无颗粒,细胞伪足一般较长(图版-16)。

3 讨论

从早熟蟹和正常发育蟹 MO 发育的比较看,早熟蟹 MO 细胞直径明显小于二秋龄蟹(P<0.05),而 且早熟蟹 MO 细胞最大直径出现在 11 月,较二秋龄蟹的 MO 细胞最大直径出现晚一个月。早熟蟹的 MO 在功能上与正常发育蟹一样具有合成和分泌促进性腺发育的激素——甲基法尼酯(MF)的功能,当 MO 迅速发育,MF 合成与分泌明显增加^[1] 刺激卵黄发生或精子发生^[1]。

但早熟蟹在 9,10 月份 MF 的合成速率明显较二秋龄蟹低¹¹,这可能与早熟蟹的 MO 发育不及二秋 龄蟹有关,这也是导致早熟蟹卵黄发生速度较二秋龄蟹缓慢,约滞后一个月达到卵黄发生末期的原因。 由此可见,早熟蟹与正常发育蟹 MO 发育的主要差别是在发育时空上,早熟蟹的 MO 提早一年发育,即 在当年已完成 MO 发育,尽管早熟蟹 MO 发育的良好程度明显不及正常发育蟹(二秋龄蟹),但其分泌的 MF 已足够刺激个体的性腺发育成熟,促使个体早熟¹¹。

中华绒螯蟹 MO 的超微结构与真蟹(*Carcinus maenas*)²¹和美洲兰蟹(*Callinectes sapidus*)³¹基本相似。 MO 细胞的主要特征是有丰富的线粒体和光面内质网,线粒体的形态多样而且结构特异;光面内质网以 小泡状聚集体为主,这与螯虾类不同^{4,51},还可见少量螺纹状光面内质网,这在美国龙螯虾(*Homarus americanus*)⁴¹和克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)⁵¹MO 细胞中也观察到,另外,在黄猩猩果蝇(*Drosophila melanogaster*)的咽侧体(与甲壳动物 MO 同源)中也观察到⁶¹。

参考文献:

- [1] 赵维信 陆剑锋.中华绒螯蟹大颚器激素生物合成与性早熟的关系[J].水产学报 2003.27(4):1-6.
- [2] Buchholz C, Adelung D, The ultrastructural basis of steroid production in the Y-organ and the mandibular organ of the crabs Hemigrapsus mudus (Dana) and Crarcinus maenas I[J]. Cell Tissue Res. 1980 206 83 – 94.
- [3] Yudin A I , Diener R A , Clark W H , et al. Mandibular gland of the blue crab , Callinectes sapidus [J]. Bol Bull ,1980 ,159 760 772.
- [4] Byard E H , Shivers R R , The mandibular organ of the lobster , Homarus americanus [J]. Cell Tessue Res , 1975 , 162 : 13 22.
- [5] 赵维信 李 胜.克氏原螯虾大颚器的超微结构研究 J]. 水产学报,1998 22(4) 301 307.



[6] Dai J Gilbert L I. Metamorphosis of the corpus allatum and degeneration of the prothoracic glands during the larval-pupal-adult transformation of Drosophila melanogaster: A cytophysiological analysis of the ring gland J. Developmental Biology, 1991, 144 309 – 326.

图版 Plate

1. MO 在头胸部的解剖学位置, 箭头示 MO 的位置,×1.5 2. 当年 9 月早熟蟹(♀)的 MO 切片,×66 3. 当年 11 月早熟蟹(♀)的 MO 切片,示充分发育的 MO 细胞,×66 4. 翌年 2 月早熟蟹(♀)的 MO 切片,示 MO 细胞质泡状化和胞核固缩,×66 5. 当年 9 月正常发育幼蟹 的 MO 切片,示 MO 细胞小而排列紧密,×66 6. 当年 11 月正常发育幼蟹的 MO 切片,×66 7. 翌年 9 月正常发育成蟹(♀)的 MO 切片,示充分发育的 MO 细胞,血淋巴翼(S),血淋巴管(C),血细胞(H),基膜(忄),×66 8. 翌年 11 月正常发育成蟹(♀)的 MO 切片,示胞质泡状化和胞核固缩,×66



图版 Plate

9. MO 细胞,示核 N) 核仁 (NL) 线粒体 (M) 小泡状光面内质网聚集体(vSER) 核糖体(r)×4800;10. 多种形态的线粒体和光面内 质网 示棒状,卵圆状和环状 rM 线粒体;小泡状光面内质网聚集体(vSER),池状光面内质网(cSER),管状光面内质网(tSER),×14400; 11. MO 细胞质形成众多胞突,示胞突(CP) 基膜(↑),非颗粒血细胞(AH)×5760;12. 螺纹状光面内质网(wSER),×19200;13. 高尔基复 合体(G)×32000;14. MO 细胞凋亡,示细胞缩小 核质固缩(PN) 核周腔扩大(PnS),胞质泡状化(V)线粒体退化(M),×7040;15. 颗粒血 细胞,示颗粒(gr), 伪足(P),×11200;16. 非颗粒血细胞,示伪足(P),×5760