

克氏原螯虾大颚器在卵巢发育周期中的组织结构变化

李 胜 赵维信

(上海水产大学渔业学院, 200090)

摘 要 在克氏原螯虾的卵巢发育周期中,大颚器的组织结构呈现周期性变化:大颚器逐渐增大,颜色由白色透明变为淡土黄色;细胞数目增多,细胞直径和细胞间隙增大;基膜逐渐形成并增厚;颗粒血细胞逐渐增多。到卵黄发生期,大颚器的这些形态结构变化到达顶峰。产卵后大颚器细胞解体;随着卵巢的重新发育,大颚器也重新发育。同时,在卵巢发育周期中,卵黄发生期大颚器细胞直径与卵母细胞直径的线性关系最为显著,相关系数最大, $r=0.926$;大颚器细胞直径也最大,与其它时期相比都具有极显著性差异。

关键词 克氏原螯虾,大颚器结构,周期性变化

中图分类号 S917

大颚器(mandibular organ, MO)是甲壳动物一个重要的内分泌器官。在系统发育过程中,甲壳动物的MO相当于昆虫的咽侧体(corpora allata, CA),合成和分泌甲基法尼酯(methyl farnesoate, MF),一种保幼激素(juvenile hormone, JH)的前体物质[Laufer等1992]。昆虫的CA合成和分泌JH,以维持昆虫幼虫性状[Riddiford 1994]和促进繁殖功能[Wyatt 1996];而MF则是甲壳动物的生殖激素[Laufer等1992]。未成熟、成熟和抱卵的尖头蟹(*Libinia emarginata*)雌蟹MO的超微结构具有显著差异[Hinsch 1981];成熟的美洲螯龙虾(*Homarus americanus*)雌虾MO的体积是未成熟雌虾MO的数倍[Couch等1979]。本实验着重研究了克氏原螯虾MO在卵巢发育周期中的形态结构变化,以求说明大颚器在卵巢发育周期中所起的生理功能。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验用虾于1996、1997年5~10月在上海市菜市场购得,暂养在水族箱中。实验前记录每尾虾的体长、体重和性腺重等常规生物学指标。

1.2 实验方法

按赵维信和李胜[1998]的方法,取各个时期的MO(MO位于大颚背面,大颚几丁质腱外侧基部)和卵巢,Bouin氏液固定,常规石蜡切片程序脱水、透明和包埋,8 μ m切片,苏木精-伊红染色,用光镜观察。

MO细胞直径和卵母细胞直径的计算参照Tsukimura和Kamemoto[1991]的方法。MO细胞直径为20个细胞最大直径的平均数;卵母细胞直径为10个切到卵核的细胞最大直径的平均数。

1.3 统计方法

采用t-检验;方差分析和均数之间的多重比较;协方差分析和线性回归进行实验数据处理。

2 结果

2.1 卵巢发育和分期

克氏原螯虾为多年生螯虾,每年卵巢发育成熟一次,产卵一次。根据卵巢颜色变化、外观特征,性腺成熟系数(GSI)和组织学特征,把克氏原螯虾的卵巢发育分成7个时期:未发育期,发育早期,卵黄发生前期,卵黄发生期,成熟期,产卵后期和恢复期。其中,卵黄发生期分为初级卵黄发生期和次级卵黄发生期,产卵后期分为抱卵虾期和抱仔虾期。根据卵巢外观的分期方法见表1。

表1 克氏原螯虾的卵巢发育分期
Tab. 1 Developing stages of ovary in crayfish

卵巢发育时期	卵巢外观
未发育期	白色透明,尚不见卵粒。
发育早期	白色半透明的细小卵粒。
卵黄发生前期	均匀的淡黄色至黄色卵粒,卵径10~300 μ m。
卵黄发生期	
初级卵黄发生期	黄色至深黄色卵粒,卵径250~500 μ m。
次级卵黄发生期	黄褐色至深褐色卵粒,卵径450 μ m~1.6mm。
成熟期	深褐色卵粒,卵径1.5mm以上。
产卵后期	
抱卵虾期	产卵后卵巢内残存有粉红至黄褐色的卵粒。
抱仔虾期	白色透明,不见卵粒。
恢复期	白色半透明的细小卵粒。

2.2 MO在卵巢发育周期中的组织结构变化

随着卵巢的逐步发育成熟,MO颜色由浅逐渐转深,MO因细胞数目增多、细胞直径和细胞间隙增大而逐渐长大。不同卵巢发育时期的MO显微结构,如核仁的变化、基膜的有无和厚薄、MO细胞的泡状化、颗粒血细胞数量等方面存在显著差异。下面描述不同卵巢发育时期的MO组织结构。

卵巢未发育期:MO很小,白色透明,肉眼不能观察到,解剖镜下也难以取下。细胞数目很少,细胞直径小于 $8.0\mu\text{m}$ 。细胞核大而圆,1个核仁;细胞排列紧密,细胞间隙不清楚。

卵巢发育早期:MO白色半透明,肉眼较难观察到,细胞数目增加,细胞直径 $7.0\sim 10.0\mu\text{m}$ 。显微结构与卵巢未发育期没有多大差别(图版-1)。

卵黄发生前期:MO淡黄色,肉眼清晰可辨,细胞直径 $9.0\sim 16.0\mu\text{m}$ 。细胞核大而圆,通常1个核仁;已经出现基膜;有很少量的MO细胞出现泡状化,但泡状化程度很低;血细胞数量开始增多,颗粒血细胞较少(图版-2)。

卵黄发生期:MO淡土黄色,解剖镜下呈分枝絮状结构,初级卵黄发生期的MO细胞直径为 $15.0\sim 21.0\mu\text{m}$,次级卵黄发生期的MO细胞直径为 $20.0\sim 26.0\mu\text{m}$ 。初级卵黄发生期MO细胞的细胞核偏离细胞中央,一般多个核仁;基膜明显;泡状化的细胞增多,泡状化程度增高(图版-3)。次级卵黄发生期MO长至最大,细胞排列成短束,细胞直径和细胞间隙增大,有时甚至单个细胞游离;细胞核大而圆,数个核仁排列在核膜内侧边缘;基膜明显增厚;泡状化的细胞更多,程度更高;血细胞越来越丰富,很多颗粒血细胞充盈在血窦中(图版-4)。

卵巢成熟期:MO淡土黄色,细胞直径 $16.0\sim 18.0\mu\text{m}$,较次级卵巢发生期的略小。细胞质较稀薄,泡状化的细胞最多,程度最高(图版-5)。

产卵后期:抱卵虾阶段,MO体积较卵巢成熟期的略小,松散易碎,仍为淡土黄色。MO细胞开始解体,细胞间隙增大,细胞质明显减少,细胞直径 $5.0\sim 8.0\mu\text{m}$;没有完全解体的部位,细胞核占胞体比例很大,1个突出的核仁位于细胞核的中央(图版-6)。抱仔虾阶段,MO细胞几乎全部解体,细胞质大都溶解,只剩下一个固缩的细胞核(图版-7)。

卵巢恢复期:伴随着卵巢的重新发育,MO也在原部位重新发育。MO白色半透明,体积和显微结构与卵黄发生前期的MO相似(图版-8)。

2.3 卵黄发生前期和卵黄发生期MO细胞直径与卵母细胞直径之间的线性关系

测量卵黄发生前期10尾、卵黄发生期8尾虾的MO细胞直径和卵母细胞直径,用协方差分析求得两个时期MO细胞直径和卵母细胞直径之间的线性关系,并计算相关系数。

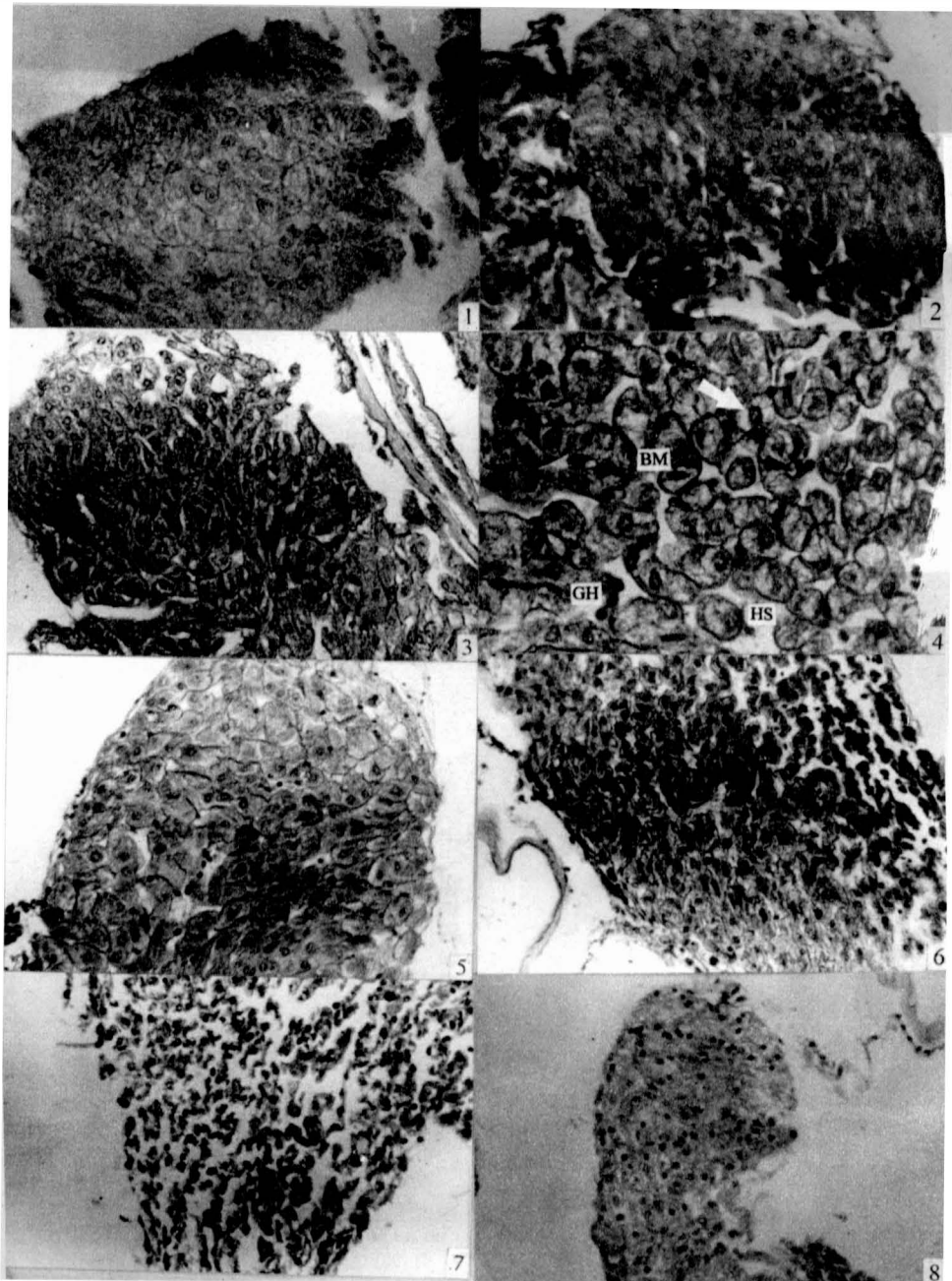
(1)卵黄发生前期MO细胞直径与卵母细胞直径之间的线性关系($n=10$)(图1)

$$Y=0.1599+10.186X, r=0.859$$

(2)卵黄发生期MO细胞直径与卵母细胞直径之间的线性关系($n=8$)(图2)

$$Y=0.6345+55.754X, r=0.926$$

卵黄发生前期和卵黄发生期相比,卵黄发生期MO细胞直径与卵母细胞直径之间的相关系数更大,线性关系更为显著。



图版 Plate

1. 发育早期的 MO, $\times 268$ 。 2. 卵黄发生前期的 MO, $\times 67$ 。 3. 初级卵黄发生期的 MO, $\times 67$ 。 4. 次级卵黄发生期的 MO, $\times 67$ 。 5. 成熟期的 MO, $\times 67$ 。 6. 抱卵虾时期的 MO, $\times 67$ 。 7. 抱仔虾时期的 MO, $\times 67$ 。 8. 恢复期的 MO, $\times 67$ 。

箭头, 泡状化的 MO 细胞; BM, 基膜; GH, 颗粒血细胞; HS, 血窦。

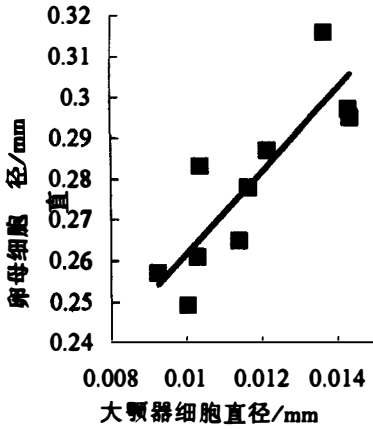


图1 克氏原螯虾卵黄发生前期 MO 细胞直径与卵母细胞直径之间的线性关系 (n=10)

Fig. 1 The linear relation between the diameter of MO cell and oocyte diameter at pre-vitellogenesis stage in crayfish

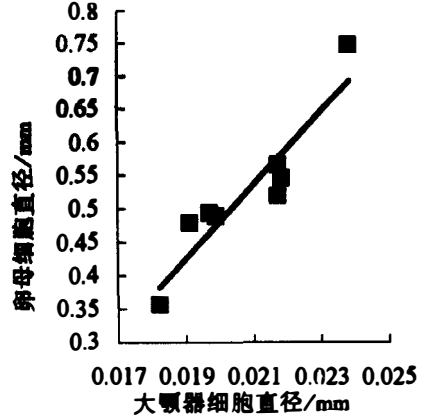


图2 克氏原螯虾卵黄发生期 MO 细胞直径与卵母细胞直径之间的线性关系 (n=8)

Fig. 2 The linear relation between the diameter of MO cell and oocyte diameter at vitellogenesis stage in crayfish

2.4 不同卵巢发育时期 MO 细胞直径差异的显著性检验

测量发育早期、卵黄发生前期、卵黄发生期、产卵后期、恢复期各4尾虾的 MO 细胞直径。MO 细胞直径大小依次是卵黄发生期>卵黄发生前期>恢复期>发育早期>产卵后期(图3)。与产卵后期 MO 细胞直径相比,除发育早期 MO 细胞直径为显著性差异外(P<0.05),其余均为极显著性差异(P<0.01)。卵黄发生前期的 MO 细胞直径与恢复期的 MO 细胞直径之间无显著性差异(P>0.05),但与发育早期的 MO 细胞直径有显著性差异(P<0.05)。卵黄发生期的 MO 细胞直径与发育早期、卵黄发生前期和恢复期的 MO 细胞直径都有极显著性差异(P<0.01)。

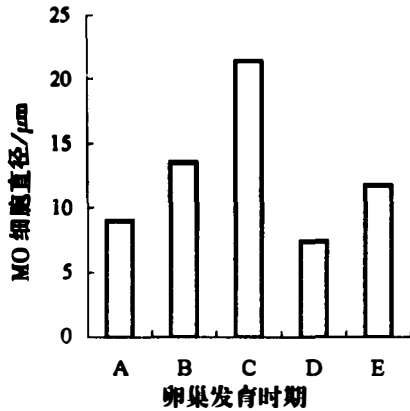


图3 克氏原螯不同卵巢发育时期的 MO 细胞直径 (n=4)

Fig. 3 The diameter of MO cell at different developing stages of ovary in crayfish

A. 发育早期 8.49±0.42; B. 卵黄发生早期 13.58±1.01; C. 卵黄发生期 21.40±2.32; D. 产卵后期 7.38±0.12; E. 恢复期 11.72±0.30

3 讨论

内分泌器官形态结构的变化,往往伴随着生理功能的变化。不同卵巢发育时期的尖头蟹 (*L. emarginata*) 雌蟹 MO 的超微结构具有显著差异。未成熟雌蟹的 MO 细胞内有大量的线粒

体、滑面内质网(SER)和高尔基体;成熟雌蟹的MO细胞出现泡状化, SER变成环状片层;抱卵的雌蟹MO细胞线粒体很少或形成环状, SER减少[Hinsch 1981]。性成熟的美洲龙螯虾(*H. americanus*)雌蟹MO的体积是未成熟雌蟹MO的数倍, 此时的MO细胞直径和细胞间隙都很大[Couch等1979]。黄猩猩果蝇(*Drosophila melanogaster*)的CA形态结构因JH的生物合成能力不同差别很大。卵黄发生旺盛时, CA的JH生物合成能力很强, 此时, CA细胞内SER、线粒体、线粒体—梯形结合复合体和脂质状内含物都很多[Dai和Gilbert 1991]。

本实验证明克氏原螯虾的MO形态结构随着卵巢发育而发生周期性变化。MO的发育与卵巢发育几乎同步: MO随着卵巢的逐渐发育成熟而逐渐长大, 到次级卵黄发生期, MO长至最大; 卵巢成熟后, MO开始退化; 产卵后, 卵巢发育停止, MO解体; 第2年, 卵巢重新发育, MO也重新发育。MO形态结构的周期变化说明MO的生理功能也发生了周期变化。在卵黄发生前期, 开始有少量泡状化MO细胞出现, 但泡状化程度很低; 卵黄发生期, 随着卵黄发生加快, 泡状化的MO细胞增多, 泡状化程度更高; 到成熟期, 泡状化的MO细胞最多, 泡状化程度也最高。MO细胞的泡状化从超微结构观察表明是MO细胞内含物分泌后形成的[赵维信和李胜1998]。这说明, MO可能在卵黄发生前期开始分泌MF这种甲壳动物生殖激素, 在卵黄发生期分泌旺盛, 成熟期后不再分泌。MO提取物和一种JH类似物ZR515一样, 能够促进卵黄发生期的卵母细胞直径增大和卵巢总RNA含量增多, 而且卵黄发生期的MO提取物作用效果最为显著, 是其它各期MO提取物的数倍或更多(赵维信和李胜1998)。这与卵黄发生期MO处于旺盛分泌状态, 在结构和功能上是完全一致的。卵黄发生期和卵黄发生前期MO细胞直径与卵母细胞直径之间都有较好的线性关系, 但是前者的相关系数更大, 线性关系更为显著; 同时, 在MO的发育过程中, 卵黄发生期的MO细胞直径最大, 和其它各个卵巢发育时期的MO细胞直径相比都具有极显著性差异。从以上几个方面分析, 克氏原螯虾MO的周期性变化与卵巢发育密切相关, 特别是在卵黄发生期, MO发育最为完善, 呈现出旺盛的合成和分泌状态[赵维信和李胜1998]。

本实验通过观察克氏原螯虾MO在卵巢发育周期中的形态结构变化和相关性分析, 说明MO的作用与促进卵巢发育, 尤其是促进卵黄发生的生理功能有关。

李胜现在中国科学院上海昆虫研究所攻读博士学位。

参 考 文 献

- 赵维信, 李 胜. 1998. 克氏原螯虾大颚器的超微结构研究. 水产学报, 22(1): 303~308
- Couch E F, Adejuwon C A, Koide S S. 1979. Production and metabolism of steroids in *Homarus americanus*. Cell Tiss Res, 157: 364
- Dai J D, Gilbert L. 1991. 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. Dev Biol, 144: 309~326
- Hinsch G W. 1981. The mandibular organ of the female spider crab, *Libinia emarginata*, in immature, mature and ovigerous crabs. J Morphol, 168: 181~187
- Laufer H, Sagi A, Ahl J S B, et al. 1992. Methyl farnesente appears to be crustacean reproduction reproductive hormone. Inberbetr Reprod Dev, 22: 17~20

(1)赵维信, 李 胜. 1998. 克氏原螯虾大颚器对卵巢发育作用的离体和活体研究.

- Riddiford L M. 1994. Cellular and molecular actions of juvenile hormones I: general considerations and premetamorphic actions. *Adv Insect Physiol*, 24:213~273
- Tsukimura B, Amemoto F I K. 1991. *In vitro* stimulation of oocytes by presumptive mandibular organ secretions in the shrimp, *Penaeus Vannamei*. *Aqua*, 2:59~66
- Wyatt G R. 1996. Cellular and molecular action of juvenile hormone I: role of juvenile hormone in adult insects. *Adv Insect Physiol*, 26:1~156

STRUCTURAL CHANGES OF MANDIBULAR ORGAN DURING THE OVARY DEVELOPING CYCLE IN CRAYFISH

LI Sheng, ZHAO Wei-Xin

(*Fisheries College, SFU, 200090*)

ABSTRACT During the ovary developing cycle in crayfish (*Procambarus clarkii*), the histological structures of mandibular organ(MO) show a cyclical change: MO grows bigger, and its color turns from pale to yellow. Cell number becomes more, cell diameter and cell space become larger. Basical membrane forms slowly and then grows thicker. Granular hemocytes become more and more. These histological structure changes of MO reach to the top at vitellogenesis stage. MO cells breakdown after spawning. With ovary re-developing next year, MO develops again. Meanwhile, at vitellogenesis stage, the linear relation between the diameter of MO cell and oocyte diameter is the most significant, and the correlation coefficient is the biggest, $r=0.926$. Moreover, the diameter of MO cell is the largest, there are significant differences between the diameter of MO cell at vitellogenesis stage and that of other stages of the ovary developing cycle.

KEYWORDS *Procambarus clarkii*, mandibular organ structures, cyclical change