

文章编号: 1004-7271(2009)01-0107-04

· 研究简报 ·

不同发育期克氏原螯虾卵巢和肝胰腺中孕酮和雌二醇含量变化

张成锋¹, 闵宽洪¹, 张汉华², 朱健¹, 周鑫¹

(1 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 农业部水生动物遗传育种和
养殖生物学重点开放实验室, 江苏 无锡 214081;

2 中国水产科学研究院南海水产研究所, 农业部渔业生态环境重点开放实验室, 广东 广州 510300)

摘要: 对不同发育期的克氏原螯虾的肝胰腺和性腺指数进行了测定, 并采用甲醇抽提的方法, 利用电化学发光免疫分析仪测定了克氏原螯虾不同发育期的卵巢和肝胰腺中孕酮和雌二醇的含量变化。结果表明, 随着卵巢发育, 发育初期肝胰腺指数随着发育的进行逐步增加, 到初级卵黄发声期到达最大值后随之下降。卵巢中孕酮和雌二醇含量随着卵巢发育的程度而逐步提高, 在初级卵黄发生期到达峰值, 随后逐渐下降, 在肝胰腺中有着相似的趋势, 但是峰值出现稍晚, 在次级卵黄发生期。

关键词: 克氏原螯虾; 卵巢; 肝胰腺; 孕酮; 雌二醇

中图分类号: S917 **文献标识码:** A

Content fluctuations of progesterone and estradiol in the ovary and hepatopancreas of *Procambarus clarkia* at different developmental stages

ZHANG Cheng-feng, MIN Kuan-hong, ZHANG Han-hua, ZHU Jian, ZHOU Xin

(1. Key Open Laboratory for Genetic Breeding of Aquatic Animals and Aquaculture Biology Ministry of Agriculture Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China;

2. Key Laboratory of Fishery Ecology Environment Ministry of Agriculture South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Guangzhou 510300, China)

Abstract: The indexes of gonad and hepatopancreas of *P. clarkia* at different developmental stages was measured in this paper. The progesterone and estradiol were extracted from the ovary and hepatopancreas of *Procambarus clarkia* by methanol. The contents were mensurated by the full automatic electrochemistry luminescence immunity analyzer. The results showed that the indexes of hepatopancreas were increasing in the primary stages of ovary development and reached its peak in the primary vitellogenesis stage, then descends gradually. The contents of progesterone and estradiol in ovary of *P. clarkia* were rising along with the development stages the ovary and the contents of two hormones reach their peaks in primary vitellogenesis

收稿日期: 2008-05-27

基金项目: 中国水产科学研究院水产种质资源与养殖技术重点开放实验室开放基金课题

作者简介: 张成锋 (1979-), 男, 山东德州人, 助理研究员, 主要从事鱼类养殖生物学方面的研究。

通讯作者: 闵宽洪, Tel: 0510-85550414, E-mail: minkd@ffrc.cn

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

stage and after that both were decreasing. The same trend was also found in the hepatopancreas, the only difference is that the peaks occurred in secondary vitellogenesis stage.

Key words: *Procambarus clarkii*; ovary; hepatopancreas; progesterone; estradiol

克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 隶属甲壳纲、软甲亚纲、十足目、螯蛄科, 俗称龙虾, 又名克氏螯虾、红色沼泽螯虾, 20世纪 30年代末期由日本人引入我国。现已成为我国重要的水产资源。甲壳动物属于卵生动物, 存在卵黄积累过程, 因此有学者推测类固醇激素可能在甲壳动物的繁殖过程中扮演重要的角色^[1], 随后的研究中孕酮、睾酮、雌二醇等激素陆续在许多甲壳类中被检测到, 如磷虾^[2], 卤虫^[3], 远东长额对虾、斑节对虾^[4-5], 克氏原螯虾^[6]。有关于类固醇激素对甲壳动物繁殖发育关系的研究逐步展开^[7-9]等。目前对于甲壳动物繁殖发育的激素调控机理还没有完全弄清楚, 在这一领域还有着大量的工作要做。本文初步测定了克氏原螯虾不同发育期的卵巢、肝胰腺中孕酮和雌二醇的含量变化, 为进一步弄清两者在克氏原螯虾繁殖周期的作用机理提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验用虾

试验用克氏原螯虾取自江苏省大丰市, 运至本中心水族箱养殖, 投喂螺丝肉, 水温为 22~23℃。根据不同的发育分期, 每个发育期取 30尾, 进行基础数据测量, 并取其中 9尾虾的肝胰腺和卵巢分 3个平行组进行激素测定, 显微镜观察同期卵细胞 60个, 并进行卵径测量。

1.1.2 取样

活虾解剖, 分别取肝胰腺和卵巢 0.2 g置于 1.5 mL离心管, 参考 Cosm^Q的方法^[10]进行抽提, 加入 0.5 mL70%甲醇抽提液, 研磨, 另加入 0.5 mL冲洗, 混匀, 置于 75℃水浴过夜, 24 h后, 常温, 2 000 g离心 30 min, 收集上清液, 置于 4℃保存, 24 h内完成测定。克氏原螯虾的发育分期根据卵巢外观、组织切片和成熟系数确定^[11]。

1.2 样品测定

测试仪器为罗氏 E170全自动电化学发光免疫分析系统, 采用罗氏 ProgesteroneII、EstradiolII 试剂盒, 分别用于测定孕酮和雌二醇含量。

2 结果

2.1 克氏原螯虾生物学数据

试验用克氏原螯虾体长范围 8.70~10.50 cm, 体重范围 28.89~42.42 g。不同发育期的性腺指数及肝胰腺指数见表 1。

表 1 试验用克氏原螯虾生物学数据

Tab 1 Description of shrimps *P. clarkii* used in the experiment

发育分期	体长范围 (cm)	体重范围 (g)	肝胰腺指数 (%)	性腺指数 (%)	卵径范围 (μm)
发育早期	9.60~10.50	32.40~41.47	4.06±0.21	0.21±0.08	10.28~70.50
卵黄发生前期	8.70~9.90	28.89~32.22	5.18±0.33	0.32±0.11	68.09~260.217
初级卵黄发生期	9.20~9.60	30.45~31.94	6.15±0.19	0.51±0.06	151.13~673.34
次级卵黄发生期	9.20~9.80	35.20~36.72	5.43±0.25	1.45±0.02	551.14~1550.90
成熟期	9.60~10.00	37.55~42.42	3.34±0.38	4.60±0.14	>1500

图 1 为不同发育期克氏原螯虾肝胰腺指数和性腺指数的比较, 可以看出在发育早期到初级卵黄发

生期, 肝胰腺指数随着发育的进行逐渐增大, 并在初级卵黄发生期达到峰值, 而随着卵黄积累的开始(初级卵黄发生期)和卵子的成熟, 肝胰腺指数逐步下降, 成熟期最低, 而性腺指数则达到峰值。

2.2 不同发育期卵巢和肝胰腺中孕酮和雌二醇的含量

2.2.1 孕酮含量变化

从图 2 中可以看出, 孕酮含量在发育早期的卵巢和肝胰腺中的含量相对较低, 为 $(6.86 \pm 0.12) \text{ ng/g}$ 和 $(8.98 \pm 0.20) \text{ ng/g}$ 。卵巢中孕酮含量在初级卵黄发生期达到峰值 $(12.31 \pm 0.05) \text{ ng/g}$ 但随着卵巢发育呈现下降的趋势。而肝胰腺中孕酮的含量在初级卵黄卵发生期 $(13.07 \pm 0.09) \text{ ng/g}$ 和次级卵黄发生期 $(13.60 \pm 0.11) \text{ ng/g}$ 维持较高的水平, 到成熟期则有所下降。

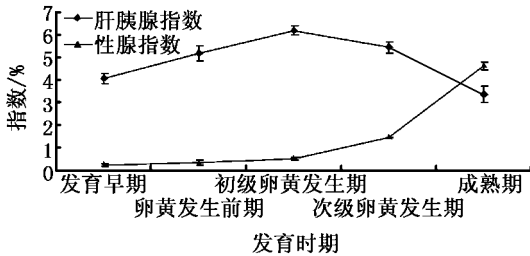


图 1 不同发育期克氏原螯虾肝胰腺和性腺指数

Fig 1 Indexes of gonad and hepatopancreas of *P. clarkii* at different developmental stages

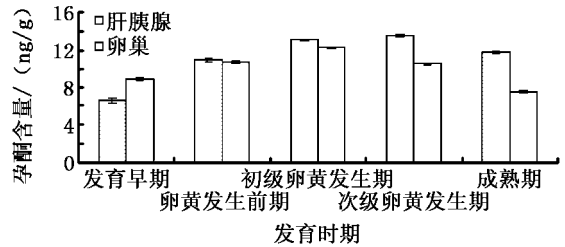


图 2 不同发育期肝胰腺和卵巢中孕酮含量

Fig 2 Content fluctuations of progesterone in the ovary and hepatopancreas of *P. clarkii* at different developmental stages

2.2.2 雌二醇的含量变化

从图 3 中可以看肝胰腺和卵巢中雌二醇的含量变化趋势和孕酮的含量变化趋势较为一致。发育早期和成熟期的卵巢中雌二醇含量较低, 卵黄发生前期, 初级卵黄发生期和次级卵黄发生期, 雌二醇的含量维持一个较高的水平, 分别为 $(299.11 \pm 0.30) \text{ pg/g}$ $(296.22 \pm 0.41) \text{ pg/g}$ $(288.69 \pm 0.28) \text{ pg/g}$ 。肝胰腺中雌二醇的含量随着卵巢发育逐步升高, 在次级卵黄发生期到达峰值 $(392.91 \pm 0.25) \text{ pg/g}$ 随着卵黄的进一步发育成熟也呈现下降趋势。

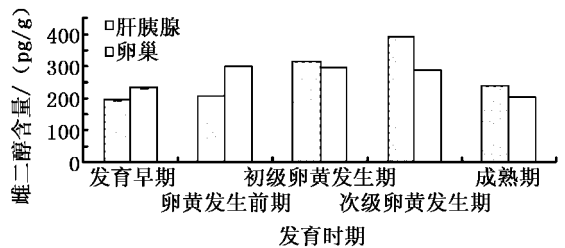


图 3 不同发育期肝胰腺和卵巢中雌二醇的含量

Fig 3 Content fluctuations of estradiol in the ovary and hepatopancreas of *P. clarkii* at different developmental stages

3 讨论

类固醇激素如孕酮, 睾酮, 雌二醇等是脊椎动物的性激素。在两栖类、鱼类等卵生动物的繁殖中, 对于卵黄生成和积累起重要的诱导作用。孕酮在脊椎动物中是许多类固醇类激素的前体, 在体内可转化为雌二醇、睾酮、 17α -羟孕酮等激素, 而雌二醇正是参与诱导鱼类、两栖类卵黄发生的激素^[12-13]。目前在多种甲壳动物中检测到类固醇激素^[14-15], 而一些活体注射或者体外培养试验也证实孕酮、雌二醇等激素具有明显的促进卵黄生成, 加快卵巢发育的作用^[16-17]。

从试验结果看, 孕酮和雌二醇的含量在发育早期的两种组织中含量都较低, 随着卵黄积累的过程, 在卵黄发生前期到次级卵黄发生期, 克氏原螯虾的肝胰腺和卵巢中孕酮和雌二醇的含量有递增的趋势, 而且保持在较高的水平, 到成熟期则有所下降, 而二者的变化趋势也较为相似。这说明在克氏原螯虾中, 两种激素与卵黄发生过程和卵巢发育有着密切的关系。

另外, 从肝胰腺指数变化可以看出在初级卵黄发生期肝胰腺指数达到顶峰, 成熟期则降至最低, 而此时正是性腺指数的峰值, 这说明在克氏原螯虾卵巢发育成熟过程中, 肝胰腺对卵子中营养的积累有着

重要的作用。在甲壳动物中已经有证据表明肝胰腺是卵黄蛋白原的合成部位^[12-13], 而克氏原螯虾的肝胰腺对于卵黄蛋白的合成, 卵子发育的贡献, 以及卵黄蛋白的转运方式等还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Couch E F. Changes in estradiol and progesterone immunoreactivity in tissues of Lobster *Homarus americanus* with developing and immature ovaries [J]. *Comp Biochem Physiol* 1987 67A: 765-770
- [2] Nikitina SM, Wu CH, Ferin M, et al. Radioimmunoassay of plasma estrone and estradiol [J]. *Steroids* 1970 15: 333-352
- [3] van Beek E, de Loof A. Radioimmunochemical determinations of concentrations of six C₂₁, C₁₉, and C₁₈ steroids during the reproductive cycle of female *Artemia* sp. (Crustacea: Anostraca) [J]. *Comp Biochem Physiol* 1988 89A: 595-599
- [4] Quinito TE, Yamauchi K, Hara A, et al. Profiles of progesterone and estradiol like substances in the hemolymph of female *Pandalus kessleri* during an annual reproductive cycle [J]. *Gen Comp Endocrin* 1991 81: 343-348
- [5] Quinito TE, Hara A, Yamauchi K, et al. Changes in the steroid hormone and vitellogenin levels during the gametogenic cycle of the giant tiger shrimp *Penaeus monodon* [J]. *Comp Biochem Physiol* 1994 109C: 21-26
- [6] 赵维信, 白桦, 马晓萍. 克氏原螯虾卵黄发生过程中卵巢和大颚腺孕酮含量变化 [J]. *上海水产大学学报*, 1999 8(3): 232-236
- [7] Yano J. Induced ovarian maturation and spawning in greasyback shrimp *Metapnaeus ensis* by progesterone [J]. *Aquaculture* 1985, 47: 223-229
- [8] Ghosh D, Ray A K. 17 β -Hydroxysteroid dehydrogenase activity of ovary and hepatopancreas of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* relation to ovarian condition and estrogen treatment [J]. *Gen Comp Endocrinol* 1993 89: 248-254
- [9] 赵维信, 贾江, 安苗. 外源激素和眼柄提取物对罗氏沼虾卵母细胞的离体诱导作用 [J]. *上海水产大学学报* 1996 5(4): 221-225
- [10] Cosmo A D, Crisio C D, Paolucci M. Sex steroid hormone fluctuations and morphological changes of the reproductive system of the female of *Octopus vulgaris* throughout the annual cycle [J]. *Experimental Zoology* 2001 289: 33-47.
- [11] 李胜, 赵维信. 克氏原螯虾大颚器在卵巢发育周期中的组织结构变化 [J]. *上海水产大学学报*, 1999 8(1): 12-18
- [12] Redshaw M R. The hormonal control of the amphibian ovary [J]. *Am Zool* 1972 12: 289-306
- [13] 王义强, 黄世蕉, 赵维信, 等. 鱼类生理学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990 192-260
- [14] CAI S L, ZHAO W X, LI D S, et al. Profile of progesterone and estradiol in hepatopancreas ovary and hemolymph of shrimp *Penaeus chinensis* during reproduction cycle [J]. *Journal of Fisheries of China* 2001 25(4): 304-310
- [15] 张成锋, 刘红, 高祥刚, 等. 中国明对虾卵黄蛋白原合成部位的初步研究 [J]. *海洋水产研究*, 2006 12(6): 8-13
- [16] Quackenbush L S. Vitellogenesis in the shrimp *Penaeus vannamei* in vitro studies of the isolated hepatopancreas and ovary [J]. *Comp Biochem Physiol* 1989 94B: 253-261
- [17] 蔡生力, 杨丛海. 17 α -羟基孕酮对离体培养的对虾卵巢组织发育的促进作用 [J]. *海洋水产研究*, 2000 21(2): 7-11