

锯缘青蟹促雄腺发育的组织学研究

叶海辉^{1,2}, 李少菁¹, 黄辉洋¹, 王桂忠¹, 林琼武¹

(1. 厦门大学海洋系, 福建 厦门 361005; 2. 厦门大学生命科学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 采用组织切片技术, 以 Olympus BH-2 型显微镜对锯缘青蟹 (*Scylla serrata*) 促雄腺的发育进行观察。结果显示, 促雄腺附着于射精管近末端, 发育过程可分为 4 期: I 期促雄腺短小, 腺细胞数量少; II 期促雄腺呈明显的索状; III 期促雄腺体积达到最大, 一些部位膨大增生; IV 期促雄腺不再生长, 腺体急剧退化。腺细胞具有 2 种类型: A 型细胞, 核圆、异染色质少、胞质染色浅; B 型细胞, 核扁平、异染色质多, 细胞染色深、界限不清晰, 有时细胞质消失。促雄腺发育过程中, A、B 型细胞数量、比例发生变化。B 型细胞为 A 型细胞完成分泌后的存在形式, B 型细胞比例反映了促雄腺分泌活动的状况。锯缘青蟹促雄腺发育和精巢成熟具有一定的相关性。

关键词: 锯缘青蟹; 促雄腺; 发育; 组织学

中图分类号: Q952

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2003)05-0376-05

甲壳动物的促雄腺 (androgenic gland), 又称为雄性腺或造雄腺, 其功能与雄性分化和发育有关。切除和移植罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 促雄腺, 可以成功地诱导性反转, 且性反转个体具有正常的生殖功能^[1-4]。近年来, 国内在中国对虾 (*Penaeus chinensis*) 和中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 促雄腺的结构与功能^[5-7] 以及罗氏沼虾促雄腺激素 (Androgenic gland hormone, AGH) 的分离与提取等方面已有研究报道^[8]。锯缘青蟹 (*Scylla serrata*) 是我国重要的海洋经济蟹类, 有关其促雄腺发育的研究鲜有报道, 本研究运用组织学方法对其促雄腺的发育情况进行观察, 旨在为进一步了解锯缘青蟹生殖内分泌机制、诱导性反转及进行单性化养殖提供重要科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集与处理

雄性锯缘青蟹 77 只, 体长 36~94 mm, 体重 10

~618 g, 于 1998 年 10 月~2001 年 4 月购自厦门农贸市场, 全部为活体材料。解剖出射精管 (附着有促雄腺) 和精巢, 在 Wild 解剖镜下观察并记录促雄腺长度。

1.2 组织学观察

将射精管 (附着有促雄腺) 和精巢切成小段, 经 PBS 漂洗, 于 Bouin 氏液固定, 系列酒精脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 切片厚度 6~8 μm , Ehrlich 氏苏木精-伊红染色, Olympus BH-2 型显微镜下观察及摄影。

1.3 数据分析

生精小管直径和成熟节段比例的统计参照叶海辉等^[9]。促雄腺细胞直径以细胞短径与细胞长径之和的一半计算。B 型细胞比例: 显微镜下同一个促雄腺小段随机检查 100 个腺细胞, 其中 B 型细胞所占的比例, 即为 B 型细胞比例的 1 个数据点, 每个实验组统计 10 个数据点, 最终以 $(\bar{X} \pm \text{SD})$ 表示该实验组 B 型细胞的比例。

2 结果

2.1 促雄腺发育的组织学

锯缘青蟹的促雄腺为 1 对, 索状, 外包 1 层结缔组织, 附着在左右射精管的近末端。随着锯缘青蟹的生长和精巢发育, 促雄腺经历了一系列的变化。

收稿日期: 2003-01-10; 修订日期: 2003-04-21.

基金项目: 福建省重中之重项目资助 (1998~2002 年); 高等学校博士学科点专项科研基金资助 (20010384010).

作者简介: 叶海辉 (1970-), 男, 博士, 讲师, 从事甲壳动物生殖内分泌学研究. Tel: 0592-2185539, E-mail: haihuiye@163.com

通讯作者: 李少菁.

根据发育过程腺体形态和腺细胞特征,可以将促雄腺的发育划分为4期。

I期:锯缘青蟹体长36~45 mm,促雄腺短索状,长度5~10 mm,紧贴在射精管上,横切面很小,新月形,横切面细胞数量为15~25个,细胞排列紧密,直径6~8 μm 。胞核染色深,胞质体积小,嗜碱性(图版I-1)。该期锯缘青蟹射精管细,直径不到0.3 mm。色泽与肌肉组织极为相似,在解剖过程中易丢失。

II期:锯缘青蟹体长40~70 mm,促雄腺沿着射精管延伸,长度11~25 mm,呈明显的索状,平行附着于射精管的一侧(图版I-2)。横切面半圆形或近圆形,仅见1个具结缔组织膜的促雄腺细胞团,表明促雄腺由单股细胞索组成。该期促雄腺细胞数量增多,体积增大,直径9~11 μm 。腺细胞可区分为2种类型:A型细胞,与I期的腺细胞相似,细胞核圆形,4~5 μm ,核仁1~2个,异染色质呈细丝状,散布于核内,胞质均匀,染色浅,细胞界限较为清晰;B型细胞,核长条形或圆形,2.5~3 μm ,细胞核内

异染色质多,核常被染成深蓝色,核仁不易识别,胞质染色深,细胞界限不清晰(图版I-3)。该期促雄腺A型细胞数量占优势,随着锯缘青蟹精巢发育,B型细胞由少量零散分布,逐渐发展到某些区域成片的分布(图版I-3)。

III期:锯缘青蟹体长71~94 mm,促雄腺继续生长,体积达到最大,腺体最长时可达60 mm,主要特征是肉眼可以观察到促雄腺的一些部位膨大增生,有时促雄腺包绕射精管半周以上。在横切面可见2~4个相对独立的、具有结缔组织膜的细胞团(图版I-4),表明此时促雄腺的组成已经由单股演变成多股,其中局部膨大的部位即为多股细胞索缠绕突出形成。该期促雄腺细胞达到最大,直径11~14 μm ,A型细胞形态最为清晰,细胞聚集成团,发育成为腺泡,腺泡内细胞界限开始模糊(图版I-5);B型细胞数量逐渐增多,有时超过A型细胞(表1)。与I、II期相比,该期腺细胞之间常见血窦和血细胞。

表1 锯缘青蟹促雄腺发育与精巢成熟的关系

Table 1 Relation between development of androgenic gland and maturation of testis in *Scylla serrata*

精巢发育期 Developmental stages of testis	体长 ^② /mm Body length	生精小管直径 ^③ / μm Diameter of seminiferous tubule	成熟节段比例 ^④ Ratio of mature sections	促雄腺长度 ^⑤ /mm Length of androgenic gland	促雄腺横切面 Cross section of androgenic gland		促雄腺细胞直径 ^⑥ / μm Diameter of androgenic glandular cells	B型细胞比例 ^④ Ratio of B cells
					长径 ^⑥ /mm Long diameter	短径 ^⑥ /mm Short diameter		
精原细胞期 Spermatogonium stage	36~45	106.53 $\pm$ 7.82	— ^①	6.95 $\pm$ 1.32	0.06 $\pm$ 0.003	0.02 $\pm$ 0.001	8.14 $\pm$ 0.72	— ^①
精母细胞期 Spermatocyte stage	40~53	117.84 $\pm$ 9.91	0.04 $\pm$ 0.02	11.26 $\pm$ 1.13	0.08 $\pm$ 0.005	0.03 $\pm$ 0.002	8.31 $\pm$ 1.02	0.14 $\pm$ 0.06
	56~70	132.81 $\pm$ 9.23	0.11 $\pm$ 0.04	22.32 $\pm$ 2.67	0.13 $\pm$ 0.016	0.09 $\pm$ 0.008	10.52 $\pm$ 0.80	0.25 $\pm$ 0.07
	71~79	175.04 $\pm$ 12.85	0.18 $\pm$ 0.05	36.68 $\pm$ 3.21	0.22 $\pm$ 0.017	0.17 $\pm$ 0.012	12.10 $\pm$ 1.03	0.34 $\pm$ 0.08
	80~90	207.07 $\pm$ 13.73	0.20 $\pm$ 0.06	51.17 $\pm$ 5.30	1.07 $\pm$ 0.230	0.19 $\pm$ 0.020	12.75 $\pm$ 1.29	0.39 $\pm$ 0.10
精子细胞期 Spermatid stage	56~71	140.23 $\pm$ 14.47	0.15 $\pm$ 0.05	24.15 $\pm$ 2.71	0.13 $\pm$ 0.020	0.10 $\pm$ 0.011	11.23 $\pm$ 0.87	0.49 $\pm$ 0.11
	74~79	172.54 $\pm$ 14.83	0.15 $\pm$ 0.05	37.24 $\pm$ 3.35	0.22 $\pm$ 0.014	0.18 $\pm$ 0.015	12.65 $\pm$ 0.92	0.54 $\pm$ 0.08
	80~94	203.46 $\pm$ 16.22	0.17 $\pm$ 0.06	52.04 $\pm$ 5.02	0.47 $\pm$ 0.072	0.21 $\pm$ 0.017	12.98 $\pm$ 1.21	0.58 $\pm$ 0.09
精子期 Sperm stage	62~79	182.33 $\pm$ 16.45	0.84 $\pm$ 0.07	42.36 $\pm$ 4.13	0.19 $\pm$ 0.015	0.15 $\pm$ 0.012	13.04 $\pm$ 1.47	0.84 $\pm$ 0.09
	80~88	198.10 $\pm$ 17.55	0.85 $\pm$ 0.06	50.12 $\pm$ 5.17	0.45 $\pm$ 0.040	0.20 $\pm$ 0.016	13.03 $\pm$ 1.37	0.91 $\pm$ 0.05
休止期 Resting stage	83~89	/ ^①	/ ^①	51.58 $\pm$ 5.03	0.45 $\pm$ 0.043	0.21 $\pm$ 0.017	12.80 $\pm$ 1.52	0.92 $\pm$ 0.07

注:①“—”代表未观察到该结果;“/”代表不宜作上述统计;②n=7;③n=100;④n=10;⑤n=14

Notes: ①“—” means undetected; “/” means unsuitable for statistics as above; ②n=7; ③n=100; ④n=10; ⑤n=14

IV期:锯缘青蟹体长62~89 mm,促雄腺不再继续生长,促雄腺形态没有明显变化,但腺体内发生退

化。该期A型细胞数量急剧下降,伴随着B型细胞迅速增加,B型细胞比例有时可达80%以上(表

1)。B型细胞细胞核异固缩(heteropycnosis)或消失,原来染色深的胞质,此时大量解体,有的只剩下1个细胞空腔(图版I-6)。在细胞成片解体的区域,血管和结缔组织开始增生。在退化的后期,有时可见整股促雄腺细胞索消失,仅剩下1个增厚的外鞘(图版I-7)。该期促雄腺容易从射精管上剥离开来。

2.2 促雄腺发育和精巢成熟

从表1可见,处于同一个精巢发育期的锯缘青蟹,随着体长的增加,促雄腺的体积也逐渐增大。在精巢发育过程中,促雄腺B型细胞比例显著上升,即随着促雄腺细胞不断完成激素分泌,精巢逐渐发育成熟,显示了促雄腺具有激发和维持精巢成熟的功能。

3 讨论

3.1 促雄腺形态与腺细胞类型

甲壳动物的促雄腺为1对,通常附着于射精管近末端,不同种类促雄腺的形态差异很大,呈索状、叶片状、葡萄串状等等,且在不同的生长繁殖季节,促雄腺的形态结构有所变化^[10]。锯缘青蟹促雄腺呈索状。发育过程可分为4期:I期腺体很小,促雄腺仅由少数细胞组成;II、III期促雄腺迅速增生;IV期促雄腺急剧退化,其特征与鲸螯虾(*Orconectes nais*)的观察结果相似^[11]。甲壳动物促雄腺发育过程,腺细胞的特征常常发生改变。宽角长额虾(*Pandalus platyceros*)的促雄腺可分为6期,各期细胞特点不同,即出现了6种类型的腺细胞^[12]。中国对虾促雄腺具有2种类型的腺细胞^[6]。据Taketo-mi^[13]报道,克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)促雄腺细胞也具有2种类型,两者数量因生殖季节不同而发生变化。Rangneker等^[14]曾发现锯缘青蟹促雄腺具有2种类型的腺细胞;本研究不仅证实了这一点,并进一步发现:随着促雄腺的发育,B型细胞从无到有,从少到多。根据B型细胞出现时序以及数量与比例的变化,可以推论B型细胞是A型细胞完成分泌后的存在形式。叶海辉^[15]业已观察到锯缘青蟹促雄腺细胞进行全浆分泌,因此B型细胞数量增多与比例增大,直接反映了相应数量的A型细胞完成了AGH的分泌。

3.2 促雄腺发育与精巢活动

甲壳动物促雄腺发育过程形态的变化与精巢周期具有密切的关系。Joshi和Khanna^[16]报道,当溪

蟹(*Potamon koolooense*)促雄腺达到最大时最活跃,精巢刚好启动精子发生;当精巢进行细胞分裂和精子发生时,促雄腺逐渐缩小,表明促雄腺对精巢活动有直接影响。Carpenter和Deroos^[11]观察到的情况则不同,鲸螯虾促雄腺开始增大时,精巢活动已经开始,精巢活动大大早于促雄腺,因此推测促雄腺在增生前和增生期间,能够分泌足够的AGH激发精巢成熟和精子发生。

本研究发现,锯缘青蟹在精原细胞期,促雄腺和腺细胞均较小,促雄腺处于I期;在精母细胞期,促雄腺和腺细胞发育迅速,增生显著,跨越了II、III两个时期;与相同体长的精母细胞期个体相比,精子细胞期锯缘青蟹的促雄腺和腺细胞仍有所增生,即在精子期之前,促雄腺和腺细胞经历了一个增生的过程,进入精子期后,促雄腺不再继续生长。在精巢发育过程,促雄腺中B型细胞比例发生了显著的变化:精子期之前,B型细胞比例逐渐增加;进入精子期之后,B型细胞比例急剧上升,腺体严重退化。可以推断,锯缘青蟹精子发生启动之际,只需要很低浓度的AGH;精子发生期间,需要较高浓度的AGH,此时促雄腺通过细胞大量增生的方式发挥作用;精子最后成熟之时,不需要或只需要较低浓度的AGH,促雄腺通过存余的A型细胞转化为B型细胞的方式发挥作用,即锯缘青蟹精巢发育对AGH表现为低-高-低的需求模式。

参考文献:

- [1] Nagamine C, Knight A W, Maggenti A, et al. Effect of androgenic gland ablation on the male primary and secondary sexual characteristics in the Malaysian prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) (Decapoda, Palaemonidae) with first evidence of induced feminization in a nonhermaphroditic decapod [J]. Gen Comp Endocrinol, 1980a, 41: 423-441.
- [2] Nagamine C, Knight A W, Maggenti A, et al. Masculinization of female *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) (Decapoda, Palaemonidae) by androgenic gland implantation [J]. Gen Comp Endocrinol, 1980b, 41: 442-457.
- [3] Malecha S R, Nevin P A, Ha P, et al. Sex-reversed freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Aqu, 1992, 105: 201-218.
- [4] Sagi A, Cohen D, Milner Y. Effect of androgenic gland ablation on morphotypic differentiation and sexual characteristic of the male freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Gen Comp Endocrinol, 1990, 77: 15-22.
- [5] 李霞,李嘉泳. 中国对虾内分泌器官的一新发现——促雄性腺[J]. 大连水产学院学报, 1993, 8(4): 17-21.

- [6] 李富花, 相建海. 中国对虾促雄腺形态结构和功能的初步研究[J]. 科学通报, 1996, 41(15): 157-164.
- [7] 邱高峰, 吴萍, 楼允东. 中华绒螯蟹促雄腺的结构与功能[J]. 水产学报, 2000, 24(2): 108-112.
- [8] 张银华, 徐盈, 张菁, 等. 罗氏沼虾中等足类 AGH 类似物的分离与鉴定[J]. 水生生物学报, 2000, 24(2): 167-171.
- [9] 叶海辉, 李少菁, 黄辉洋, 等. 锯缘青蟹精巢发育的组织学研究[J]. 动物学研究, 2002, 23(2): 141-144.
- [10] 吴萍, 楼允东, 邱高峰. 甲壳动物雄性腺研究的进展[J]. 水产学报, 1999, 23(1): 77-83.
- [11] Carpenter M B, Deroos R. Seasonal morphology and histology of the androgenic gland of the crayfish, *Orconectes nais* [J]. Gen Comp Endocrinol, 1970, 15: 143-157.
- [12] Hoffman D L. The development of the androgenic gland of a proandric shrimp [J]. Biol Bull, 1969, 137: 286-296.
- [13] Taketomi Y. Ultrastructure of the androgenic of the crayfish, *Procambarus clarkii* [J]. Cell Biol Inter Report, 1986, 10(2): 131-137.
- [14] Rangneker P V, Madhyastha M N, Latey A N. Hormonal control of reproduction in male crab, *Scylla serrata* (Forsk.) [J]. J Amin Morphol Physiol, 1971, 18(1): 17-29.
- [15] 叶海辉. 锯缘青蟹生殖调控的基础研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2001.
- [16] Joshi P C, Khanna S S. Studies on the androgenic gland of the freshwater crab, *Potamon koolouense* (Rathbun) [J]. Z Mikrosk-anat Forsch Leipzig, 1987, 101(4): 699-713.

Histological study on development of androgenic gland in mud crab *Scylla serrata*

YE Hai-hui^{1,2}, LI Shao-jing¹, HUANG Hui-yang¹, WANG Gui-zhong¹, LIN Qong-wu¹

(1. Department of Oceanography, Xiamen University, Xiamen 361005, China;

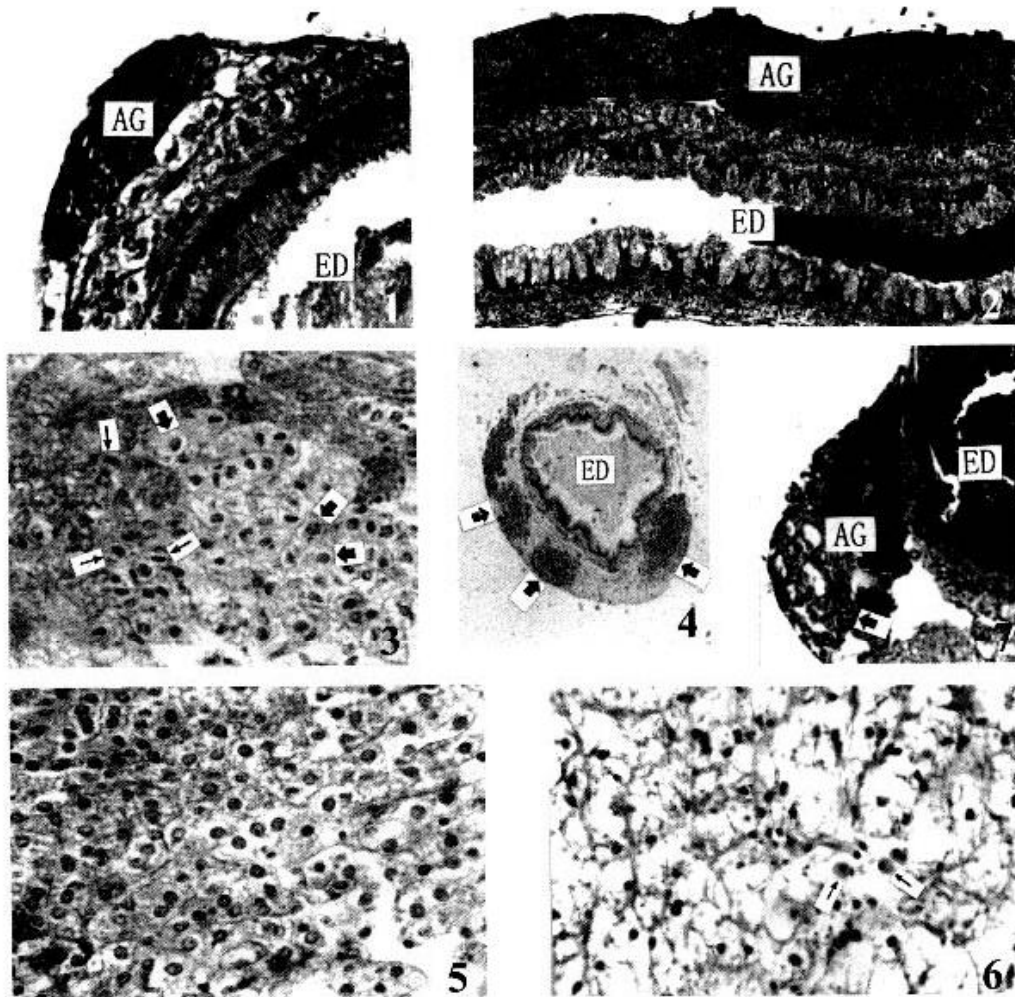
2. College of Life Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: The male *Scylla serrata* individuals were employed with body weight 10-618 g and body length 36-94 mm. The observation was conducted under Olympus BH-2 microscope. The results show that a pair of androgenic glands attach to the subterminal portion of the ejaculatory ducts, and their developmental process can be divided into four stages; at Stage I, the androgenic glands are short and the glandular cells are of small amounts; at Stage II, the glands distinctively take on a cord-figure; at Stage III, the volume of the glands reaches its peak, with hyperplasia in some portion; at Stage IV, the glands no longer grow and degenerate rapidly. There are two types of glandular cells: Type A, which has a round nucleus less in heterochromatin and the cytoplasm stained lightly, and Type B, which has flat nucleus rich in heterochromatin, the cytoplasm stained darkly or vanished. During the development of the androgenic gland, the quantity of Type A cells and Type B cells and their ratio in number have some change. After Type A cells perform the secretion function, they exist as the form of Type B cells. At the same development stage of androgenic gland, the ratio of Type B cells to Type A cells in number increases significantly, which implies that this ratio reflects the secretion activity of the androgenic gland. It can be concluded that androgenic gland correlates closely with the mature degree of the testis.

Key words: *Scylla serrata*; androgenic gland; development; histology

Corresponding author: LI Shao-jing.

叶海辉等：锯缘青蟹促雄腺发育的组织学研究
Histological study on development of androgenic gland in mud crab *Scylla serrata*



图版 I Plate I

1. I 期促雄腺横切面, $\times 330$. Cross section of androgenic gland at Stage I.
 2. II 期促雄腺纵切面, $\times 330$. Longitudinal section of androgenic gland at Stage II.
 3. A 型细胞 ($\blacktriangledown$), B 型细胞 ($\uparrow$), $\times 330$. Type A cells ($\blacktriangledown$) and Type B cells ($\uparrow$).
 4. III 期促雄腺横切面, 示多股细胞索 ($\blacktriangledown$), $\times 330$. Showing the androgenic gland with entwined strand of cells at Stage III ($\blacktriangledown$).
 5. III 期促雄腺的 A 型细胞发育成为腺泡, $\times 330$. Type A cells develop into follicles at Stage III.
 6. B 型细胞大量解体, 示血细胞 ($\uparrow$) $\times 330$. Disaggregation of many Type B cells, showing the haemocytes ($\uparrow$).
 7. IV 期促雄腺腺体退化, 示空鞘 ($\blacktriangledown$), $\times 330$. Degeneration of the androgenic gland in the Stage IV, showing sheath ($\blacktriangledown$).
- AG—促雄腺 Androgenic gland; ED—射精管 Ejaculatory duct