

· 研究简报 ·

## 锯缘青蟹促雄腺进行全浆分泌的证据

叶海辉<sup>1,2</sup>, 李少菁<sup>1</sup>, 黄辉洋<sup>1</sup>, 王桂忠<sup>1</sup>, 林琼武<sup>1</sup>

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

**摘要:**采用透射电镜技术,对锯缘青蟹(*Scylla serrata*)促雄腺细胞的分泌活动进行了观察。结果表明,腺细胞具有2种类型:A型细胞核内常染色质丰富,具有大量的扁平嵴的线粒体、粗面内质网与核糖体,A型细胞进行分泌时,细胞质大量排出,属于全浆分泌方式;B型细胞异染色质绕核内膜分布,仅见极少量的细胞器或细胞质完全消失。B型细胞为A型细胞完成分泌后的存在形式。本研究为甲壳动物促雄腺的全浆分泌活动提供了直接的证据。

**关键词:**锯缘青蟹;促雄腺;全浆分泌;超微结构

中图分类号: Q952

文献标识码: A

文章编号:1005-8737-(2003)05-0431-03

Charniaux-Cotton<sup>[1]</sup>、Hoffman<sup>[2]</sup>根据甲壳动物促雄腺在光镜下某些部位细胞核呈固缩、细胞质染色深,有的细胞核正常、细胞质呈泡状,推断促雄腺激素是以全浆分泌(holocrine)方式释放的。李霞和李嘉泳<sup>[3]</sup>在电镜下观察到中国对虾(*Penaeus chinensis*)促雄腺细胞核固缩,核周池扩张,高尔基体和内质网解体,细胞膜破碎等现象,支持了全浆分泌的观点。对于锯缘青蟹(*Scylla serrata*)促雄腺全浆分泌过程的报道至今尚未见到,因而尚缺少有力的证据以证实其促雄腺是否进行全浆分泌。本研究观察了锯缘青蟹促雄腺细胞的超微结构特征,旨为促雄腺的全浆分泌活动提供直接的证据。

### 1 材料与方法

雄性锯缘青蟹6只,体长55~84 mm,体重125~335 g,于2000年5月和2001年2月购自厦门农贸市场。促雄腺样品于2.5%戊二醛固定2 h后,经PBS漂洗,再经1%四氧化锇固定1 h,酒精系列脱水,环氧树脂618包埋,用LKB-8800型超薄切片机切片,切片经醋酸铀和柠檬酸铅双重染色,JEM-100CXⅡ型透射电镜观察及摄影。

### 2 结果

#### 2.1 A型细胞

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项目资助(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.

核内常染色质丰富,细胞器数量多,其显著特点是含有大量内质网。细胞内常见层叠状粗面内质网绕核分布,其扁平囊发达,紧密排列,并与核外膜相连接,与核膜形成连续的膜系统;A型细胞内还有少量囊泡状的内质网(图版I-1)。线粒体呈棒状或线状,体积大,长径0.7~1.8 μm。多数线粒体具有发达的扁平内嵴,有时内嵴横贯内膜(图版I-2);少数线粒体具有管状嵴。线粒体通常位于内质网附近或散布于胞质中。核糖体数量极多,游离分布于细胞基质中或附着于粗面内质网。高尔基体发育较差,扁平囊和小囊少,与一些空泡相联系,小囊和胞质中均未见分泌颗粒(图版I-3)。为数不少的多泡小体(multivesicular body)常出现于质膜附近,内有电子密度不同的小泡和颗粒。细胞内还有少量的脂滴和糖元以及椭圆形或不规则形的纤维状结构(图版I-3)。A型细胞进行分泌时,几乎将所有的细胞质排出胞外,细胞内只剩下细胞核与少量的细胞器(图版I-4),A型细胞这种将大量细胞质排出细胞的行为,揭示了它们以全浆分泌方式进行分泌。刚刚完成分泌的A型细胞,常染色质尚未固缩,质膜未完全愈合,还残留着细胞崩解后的痕迹。此时细胞间隙常出现一些外排的细胞器(图版I-4)。

#### 2.2 B型细胞

核圆形或不规则,异染色质绕核内膜分布,核周池扩张成囊状,内有少量小泡;胞质中仅见少量细胞器,或是细胞质完全消失(图版I-5),与刚刚完成分泌的A型细胞相仿。有时B型细胞的细胞核消失,只剩下1个由质膜围成的透明空腔。上述特征表明B型细胞属于结构退化的细胞。促雄腺发育早期,B型细胞较为少见;到了发育晚期,B型细胞经常成群分布,细胞间隙和血窦常出现大量的细胞器和细胞碎

片(图版 I -6)。

### 3 讨论

锯缘青蟹促雄腺 A型细胞在分泌之前,常染色质丰富,含有大量粗面内质网,多数线粒体具有发达的扁平内嵴,核糖体数量极多,与其他甲壳动物的观察相似<sup>[4-7]</sup>。同时也提示了促雄腺细胞具备蛋白质(肽类)的分泌功能。令人困惑的是,至今未见促雄腺细胞具有分泌颗粒的报道,这与蛋白质类分泌细胞具有分泌颗粒的特点明显不同。一般认为,促雄腺激素是通过全浆分泌方式释放的<sup>[1-3]</sup>,但至今未曾发现全浆分泌过程的有力证据。本研究观察到,锯缘青蟹促雄腺中A型细胞进行分泌时,几乎将所有的细胞质排出,细胞内只剩下细胞核与少量的细胞器,揭示了促雄腺细胞以全浆分泌方式进行分泌。该发现首次为促雄腺的全浆分泌方式提供了直接的可靠证据。

据报道,中国对虾(*Penaeus chinensis*)<sup>[8]</sup>和克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)<sup>[9]</sup>促雄腺细胞都具有2种类型,后者两型细胞比例因生殖季节不同而发生变化。上述2种类型的腺细胞属于同一细胞的2种状态或是结构功能不同的2种类型的细胞,尚不得而知。Hoffman<sup>[2]</sup>发现,宽角长额虾(*Pandalus platyceros*)促雄腺发育过程组织学特征不同,腺细胞区分为6种类型,即同种腺细胞在不同阶段,出现了不同的形态特征。经组织学研究,随着锯缘青蟹促雄腺的发育,A、B两型细胞数量发生变更,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,推论B型细胞是A型细胞完成分泌后的存在形式<sup>[10]</sup>。本研究发现,B型细胞刚形成时,细胞结构严重退化,特征与刚刚完成分泌的A型细胞相仿。因此认为,A型细胞完成全浆分泌后,染色质固缩,从而转变成为B型细胞,即:A型和B型细胞

是同一种细胞分泌前后不同的存在形式。

### 参考文献:

- [1] Charniaux-Cotton H. Androgenic gland of crustaceans [J]. Gen Comp Endocrinol Suppl, 1962, 1: 241-247.
- [2] Hoffman D L. The development of the androgenic gland of a preandrogenic shrimp [J]. Biol Bull, 1969, 137: 286-296.
- [3] 李霞,李嘉泳.中国对虾内分泌器官的新发现——促雄性腺[J].大连水产学院学报,1993,8(4):17-21.
- [4] King D S. Fine structure of the androgenic gland of the crab *Pachygrapsus crassipes* [J]. Gen Comp Endocrinol, 1964, 4: 533-544.
- [5] Payen G G, John D, Costlow J R, et al. Etude comparative de l'ultrastructure des glandes androgenes de crabes normaux et pedonculectomises pendant la vie larvaire ou apres la puberte chez les especies *Rhithropanopeus harrissii* (Gould) et *Callinectes sapidus* Rathbun [J]. Gen Comp Endocrinol, 1970, 17: 526-542.
- [6] Joshi P C, Khanna S S. Studies on the androgenic gland of the freshwater crab, *Potamon kooloense* (Rathbun) [J]. Z Mikrosk-anat Forsch Leipzig, 1987, 101(4): 699-713.
- [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] 李富花,柏建海.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.
- [9] Taketomi Y. Ultrastructure of the androgenic of the crayfish, *Procambarus clarkii* [J]. Cell Biol Inter Report, 1986, 10(2): 131-137.
- [10] 叶海辉.锯缘青蟹生殖调控的基础研究[D].厦门:厦门大学,2001.

## Holocrine activity of androgenic gland in mud crab *Scylla serrata*

YE Hai-hui<sup>1,2</sup>, LI Shao-jing<sup>1</sup>, HUANG Hui-yang<sup>1</sup>, WANG Gui-zhong<sup>1</sup>, LIN Qiong-wu<sup>1</sup>

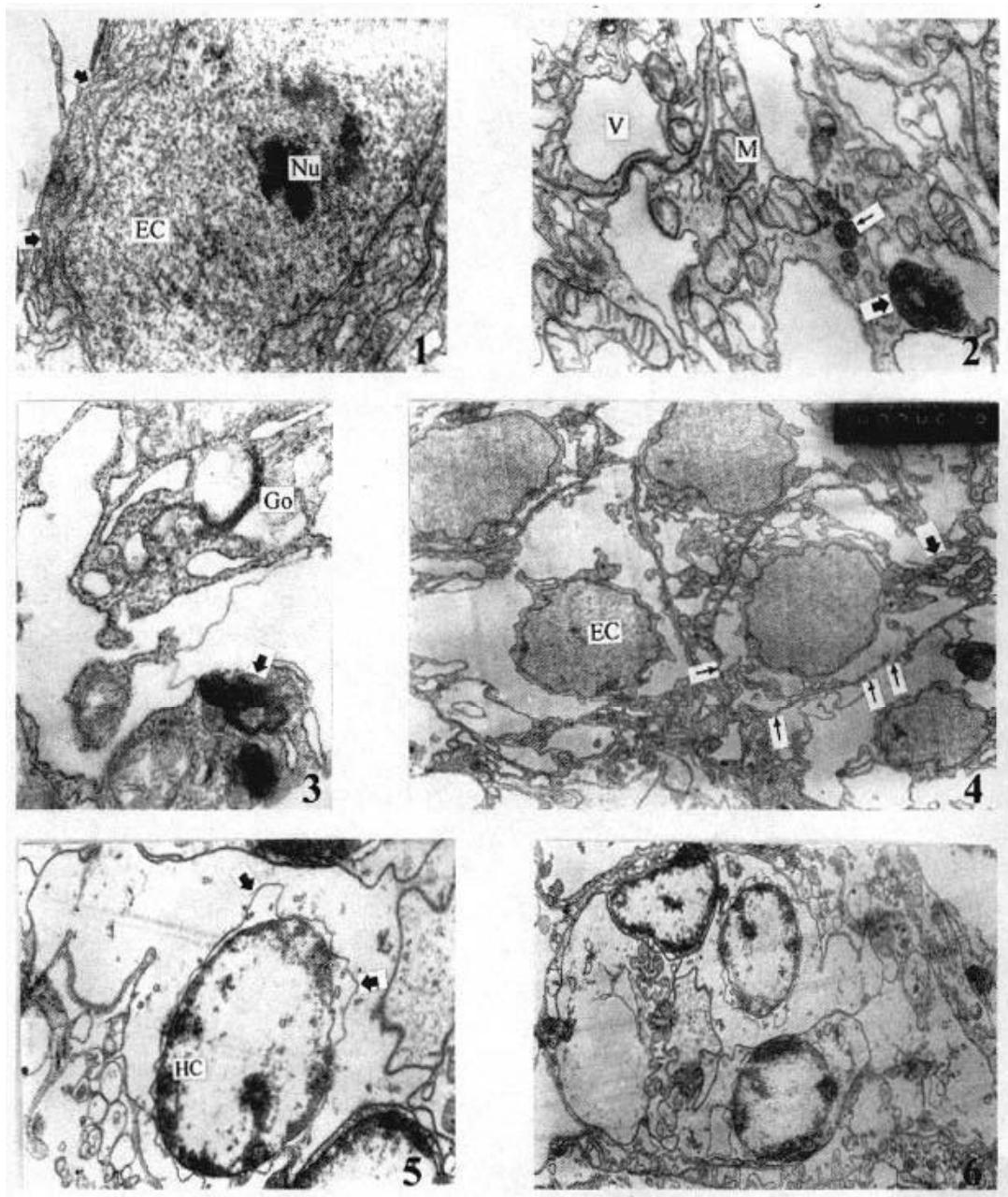
(1. Department of Oceanography, Xiamen University, Xiamen 361005, China;

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

**Abstract:** The secretive activity of androgenic glands in *Scylla serrata* was studied using transmission microscope. The results show that there are two types of glandular cells; Type A, which has nucleus rich in euchromatin, and large numbers of mitochondria with flat cristae, rough endoplasmic reticulum and ribosome; Type B, which has nucleus rich in heterochromatin, and the organelles almost vanished. After Type A cell performed the secretion function, it exists as the form of Type B cell. This paper provides the direct evidence for the holocrine activity of the androgenic gland in crustaceans.

**Key words:** *Scylla serrata*; androgenic gland; holocrine; ultrastructure

**Corresponding author:** LI Shao-jing.



图版 I Plate I

1. A型细胞: 示常染色质(EC), 核仁(Nu), 粗面内质网(↑),  $\times 14\,000$ .
  2. A型细胞: 示线粒体(M), 空泡(V), 多泡小体(↑), 纤维状结构(↑),  $\times 14\,000$ .
  3. A型细胞: 示高尔基体(Go), 纤维状结构(↑),  $\times 20\,000$ .
  4. A型细胞胞质正在外排(↑), 质膜破裂(↑), 常染色质尚未异固缩,  $\times 4\,000$ .
  5. B型细胞: 示异染色质(HC), 核周池(↑), 细胞器消失,  $\times 6\,700$ .
  6. B型细胞成群分布,  $\times 4\,000$ .
1. Type A cell; showing euchromatin (EC), nucleolus (Nu), rough reticulum (↑),  $\times 14\,000$ .
  2. Type A cell; showing mitochondria (M), vacuole(V), multivesclar body (↑), fibrilla material (↑),  $\times 14\,000$ .
  3. Type A cell; showing Golgi complex (Go), fibrilla material (↑),  $\times 20\,000$ .
  4. Type A cell; cytoplasm discharged (↑), plasm menbrane broken (↑), euchromatin not in heteropycnosis,  $\times 4\,000$ .
  5. Type B cell; showing heterochromatin, perinuclear cisterna , the organelle has vanished,  $\times 6\,700$ .
  6. Type B cell; distribute in cluster,  $\times 4\,000$ .

·研究简报·

## 黄喉拟水龟雌、雄生长及形态差异

朱新平,陈永乐,魏成清,刘毅辉

(农业部热带亚热带鱼类选育和养殖重点实验室,  
中国水产科学研究院珠江水产研究所,广东广州 510380)

**摘要:**人工饲养新孵出黄喉拟水龟(*Mauremys mutica* Cantor)龟苗,试验期为44个月。观察与测量结果表明,雌、雄性别在背甲长、背甲宽、体高的形态参数及其与体重的相关关系上没有明显差异;雌、雄性别形态的区别在于第二性征的出现,即雌性腹甲平坦,尾巴短小,泄殖孔近尾基部;雄性腹甲内凹,尾巴粗壮,泄殖孔远离尾基部。雌、雄生长存在明显差异,雄性生长快于雌性。在试验期间,雄性个体增重为雌性个体的1.253倍。

**关键词:**黄喉拟水龟;性别差异;形态参数

中图分类号:Q959.499

文献标识码:A

文章编号:1005-8737-(2003)05-0434-03

在动物世界中,许多种类的雌、雄性别在生长及形态方面均有一定的差异,在鱼类中,罗非鱼的雄性生长快于雌性,而鲤的雌性则快于雄性<sup>[1]</sup>。在龟鳖目中,中华鳖的雄性生长快于雌性<sup>[2]</sup>,而三线闭壳龟、乌龟则雌性生长快于雄性。在性成熟期,乌龟雌、雄个体的差异很大,雌性往往是雄性的2~3倍<sup>[3]</sup>。黄喉拟水龟(*Mauremys mutica* Cantor),俗称石龟、石金钱,为南方常见的水生龟种之一。近几年,在广东、广西已开展养殖<sup>[4~5]</sup>,但有关其性别差异的研究报道较少,特别是雌、雄生长差异,未见公开报道。本研究对黄喉拟水龟在繁殖生长过程中雌、雄形态及生长差异进行了观察与分析,旨为今后有效进行龟类性别鉴定和单性别养殖提供理论数据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

于1998年7月至2002年3月(44个月)在广州市芳村区西塱中国水产科学研究院珠江水产研究所龟场进行。试验用黄喉拟水龟为1998年当年孵出的龟苗,平均体重(9.75±1.72)g,共600只。亲龟为广西、越南种群。

#### 1.2 饲养

1998年,稚龟在室内胶盆内暂养。1999年稚龟放入室

收稿日期:2002-08-04; 修订日期:2002-12-09。

基金项目:国家“九四八”项目资助(983096);珠江水产研究所所长基金资助。

作者简介:朱新平(1964-),男,硕士,副研究员。从事种质资源与遗传育种研究。Tel: 021-81616509. E-mail: xinpingzhu@163.net

外同一水泥池饲养,以杂鱼肉为饲料,整个饲养过程在自然温度下进行,冬季在原水泥池过冬。

#### 1.3 测量方法

在稚龟孵出时,测定重量,以游标卡尺测定背甲长度、宽度。2002年3月,根据朱新平等<sup>[4]</sup>观察的方法,从外形上可分辨雌、雄。解剖10只,以验证该判断方法是否正确。用此方法判断试验群体的性别,统计性比。随机抽取雄、雌各30只,测定重量、测定背甲长度、宽度及体高,用Microsoft Excel进行数据处理。

### 2 结果与讨论

#### 2.1 雌、雄形态差异及解剖判定

取养殖3年多个体进行形态观察,其第二性征已经出现。根据在繁殖研究<sup>[4]</sup>中观察到雌、雄亲龟的形态差异的方法进行判定,即雌性:腹甲平坦或稍有外突、尾巴短小、泄殖孔近尾基部;雄性:腹甲内凹、尾巴较粗壮、泄殖孔远离尾基部(一般超过背甲端点)。同时以此方法抽取10个个体偏小的试验龟进行解剖,以验证此判定雌、雄形态方法的正确性。

解剖观察,雄性具睾丸2粒,圆形,微黄色,位于下腹腔靠近泄殖孔,在泄殖腔内具有1个黑色的交配器;雌性具2个稍有皱折的线管状的卵巢,同样位于下腹腔靠近泄殖孔。解剖结果与形态判断一致。因此该形态特征可有效判别130 g以上的黄喉拟水龟的雌、雄性别。

#### 2.2 试验群体的性别统计

按照个体形态特点,鉴别试验养殖群体的雌、雄性别。