

三疣梭子蟹胚胎发育过程中肝胰腺的发生 与卵黄物质利用的关系

吴旭干¹, 刘智俊¹, 姚桂桂¹, 成永旭^{1,*}, 杨筱珍¹, 王春琳²

(1. 上海海洋大学 农业部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室及上海市高校水产养殖学 E-研究院, 上海 201306;
2. 宁波大学 生命科学与生物工程学院, 浙江 宁波 315211)

摘要: 通过对三疣梭子蟹胚胎进行连续采样和组织切片, 系统研究了三疣梭子蟹胚胎发育过程中卵黄囊和肝胰腺的发生与卵黄物质利用的关系。结果表明:(1)三疣梭子蟹胚胎的卵黄岛和卵黄囊结构分别出现在原肠期和无节幼体期, 胚胎从原肠期至卵内第一期蚤状幼体期, 始终存在卵黄岛结构, 且卵黄岛中的卵黄物质不断被分解和利用。(2)卵内第二期蚤状幼体后, 卵黄囊分为两个区域, 卵黄囊壁中出现肝胰腺细胞(柱状上皮细胞), 此时肝胰腺前体已开始形成, 卵黄岛开始融合。(3)卵内第三期蚤状幼体阶段, 卵黄囊发育成一双肝胰腺, 由于肝胰腺中的卵黄物质互相融合, 卵黄岛结构消失。此阶段胚胎对卵黄物质的利用加快, 卵黄物质中存在许多空泡状结构;(4)胚胎发育进入孵化前期后, 肝胰腺腔内的卵黄物质极少, 而初孵蚤状幼体肝胰腺腔内卵黄物质已完全消失, 肝胰腺为一对囊状结构。这些结果表明在三疣梭子蟹胚胎发育从原肠期到孵化前的过程中, 卵黄岛和肝胰腺细胞对于卵黄物质分解和利用起着十分重要的作用。

关键词: 三疣梭子蟹; 胚胎发育; 卵黄囊; 肝胰腺; 卵黄利用; 组织学

中图分类号: Q954.4; Q959.223 **文献标识码:** A **文章编号:** 0254-5853-(2009)04-0449-08

Relationship Between the Organogenesis of Hepatopancreas and the Yolk Utilization During Embryonic Development of Swimming Crab, *Portunus trituberculatus*

WU Xu-gan¹, LIU Zhi-jun¹, YAO Gui-gui¹, CHENG Yong-xu^{1,*},
YANG Xiao-zhen¹, WANG Chun-lin²

(1. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources and Aquaculture Division, E-Institute of Shanghai Universities, Shanghai Ocean University, Ministry of Education, Shanghai 201306, China; 2. College of Life science and Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: By serial histological sections, embryos at different development stages were sampled and fixed to investigate the relationship between the organogenesis of yolk sac, hepatopancreas and the yolk utilization during the embryonic development of swimming crab, *Portunus trituberculatus*. The results showed that: (1) the formation of yolk island and yolk sac were in gastrula stage and egg nauplius stage, respectively, while the yolk islands could be found in the yolk sac from egg gastrula to egg Zoea I stage. (2) From egg Zoea II stage, the yolk sac was divided into two parts because of further development of the midgut while the hepatopancreatic cells (columnar epithelium) were appearing in the inner of yolk sac membrane. This indicated the starting formation of hepatopancreas. (3) At egg Zoea III stage, the yolk sac had been developed into a pair of hepatopancreas while the yolk from different yolk islands were combined, then all yolk islands disappeared from this stage. Due to yolk utilization, many vacuoles could be found in the hepatopancreatic lumen. (4) When the embryo developed into pre-hatching stage, the yolk in the lumen of hepatopancreas had been nearly depleted while for newly-hatched Zoea I, the yolk had been completely utilized and hepatopancreas

收稿日期: 2009-02-22; 接受日期: 2009-07-02

基金项目: 国家自然科学基金(40806068); 上海市晨光计划(2007CG64); 国家“863”高科技研究发展计划项目(2006AA10A406); 上海市教委水产养殖 E-研究院建设项目(E03009)联合资助

*通讯作者(Corresponding author), E-mail: yxcheng@shou.edu.cn

第一作者简介: 吴旭干(1978-), 男, 江苏盐城人, 讲师, 研究方向: 水产动物营养繁殖学; Tel: 021-61900417, 013371935021;

E-mail: wuxugan@hotmail.com; xgwu@shou.edu.cn

seemed to be a pair of saccate structure. These results indicated that both the yolk islands and hepatopancreatic cells play important roles for the disintegration and utilization of egg yolk from gastrula stage to pre-hatching stage in *P. trituberculatus*.

Key words: *Portunus trituberculatus*; Embryonic development; Yolk sac; Hepatopancreas; Yolk utilization; Histology

卵黄是甲壳动物胚胎发育过程中的营养物质,它不仅为胚胎发育提供蛋白质、脂类和矿物质,而且还为胚胎发育提供能量(Heras et al,2000; Walker et al, 2006; Yao et al, 2006)。尽管甲壳动物胚胎发育过程通常都会形成卵黄囊和肝胰腺,这些组织器官的形成可能与卵黄物质的利用有关系,从而保证胚胎发育的顺利进行(Xue et al, 2001a; 2001b; Meng et al, 2001),但是在胚胎发育过程中,不同种类甲壳动物卵黄囊和肝胰腺形成的时间有所不同(Du et al, 1992; Zhao et al, 1998; Meng et al, 2001),卵黄物质的消失时间也存在着较大的种间差异,如美洲蓝蟹(*Callinectes sapidus*)的初孵溞状幼体肝胰腺腔内已不存在卵黄物质(Walker et al, 2006),而红螯螯虾(*Cherax quadricarinatus*)初孵幼体体内仍有部分卵黄物质存在(Meng et al, 2001)。因此,探明不同甲壳动物胚胎发育过程中卵黄囊和肝胰腺的发生过程,及其与卵黄利用之间的关系,对进一步认识甲壳动物的胚胎发育具有重要的作用。

三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)是我国重要的海产经济蟹类,在海洋捕捞和海水养殖业中占有极其重要的地位(Wu et al, 2007),但是迄今为止有关其胚胎发育的研究主要集中于形态学观察(Xue et al, 1998; 2001c)、器官发生(Xue et al, 1998; 2001b; 2005)和生化成分变化(Chen et al, 2007)等方面,尚未见有关三疣梭子蟹胚胎发育过程中卵黄囊和肝胰腺发生的系统研究报道。鉴于此,本文应用组织学方法研究了三疣梭子蟹胚胎发育过程中卵黄囊的形成、消失及肝胰腺发生,探讨了它们与卵黄物质消耗之间的关系,为进一步完善蟹类胚胎发育生物学理论提供依据,同时对三疣梭子蟹的人工育苗也具有一定的指导意义。

1 材料与方法

1.1 实验亲本和养殖管理

实验用野生亲本于2006年4月10日购自舟山沈家门渔港的捕捞船,精心挑选20只规格接近、肢体健全、卵巢发育良好的已交配雌体亲本用于实验,平均体重为300g左右。实验亲本饲养于浙江省

舟山市水产研究所温室水泥池中(6 m×5 m×1.5 m),池底铺10—20cm厚的细砂供亲本产卵和隐蔽,水深45cm左右。实验期间连续增氧,每日下午定时投喂足量的缢蛭,次日上午清除残饵并换新鲜沙滤海水50%左右,海水盐度为22—24。每日检查亲本的产卵情况,待亲本抱卵后立即对亲本进行编号,准确记录产卵时间,并进行跟踪观察和采样。实验期间自然水温16—19℃,pH值7.5—8.5, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ <0.5mg/L, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ <0.10mg/L。

1.2 实验取样和组织学观察

每日取少量胚胎在显微镜下观察其发育情况,根据胚胎发育情况,每隔12—24h取样一次,直到胚胎孵化。每次取20—30粒胚胎或初孵溞状幼体固定于Bouin's液中,24h后保存于70%的酒精中。参照Xue et al(1998)的方法将胚胎发育过程分为6个主要时期: I(卵裂期)、II(囊胚期)、III(原肠期)、IV(卵内无节幼体期)、V(卵内溞状幼体)和VI(初孵幼体),对各期样品进行组织学切片和观察。所有样品采用酒精梯度脱水,二甲苯透明,石蜡包埋(56—58℃),Leica RM2016型切片连续切片,切片厚度5.0—6.0μm, H.E染色,在Olympus BX-41显微镜下观察拍照。每期样品各重复3—4个,每个样品观察8—10张切片。

2 结果

2.1 卵黄囊的形成和卵黄利用

三疣梭子蟹卵为多黄卵,卵裂方式为表面卵裂,卵裂期的胚胎可见卵裂沟(图1A, CF)。随后,胚胎发育进入囊胚期,该期胚胎中的细胞大小较规则,相互之间距离较近,部分可见细胞核,整个胚胎呈强嗜酸性(图1B)。在原肠期,许多细胞(核)向胚胎表面的一个方向集中形成了原肠和原口(图1C),而整个卵黄区的卵黄分离形成岛状结构,称之为卵黄岛(yolk island),但是此时卵黄岛之间的界限并不清晰。

胚胎发育进入无节幼体期后,胚胎出现了附肢,原肠和原口区的细胞进一步向外迁移形成了一层膜状结构包裹住整个卵黄区,整个区域即为卵黄

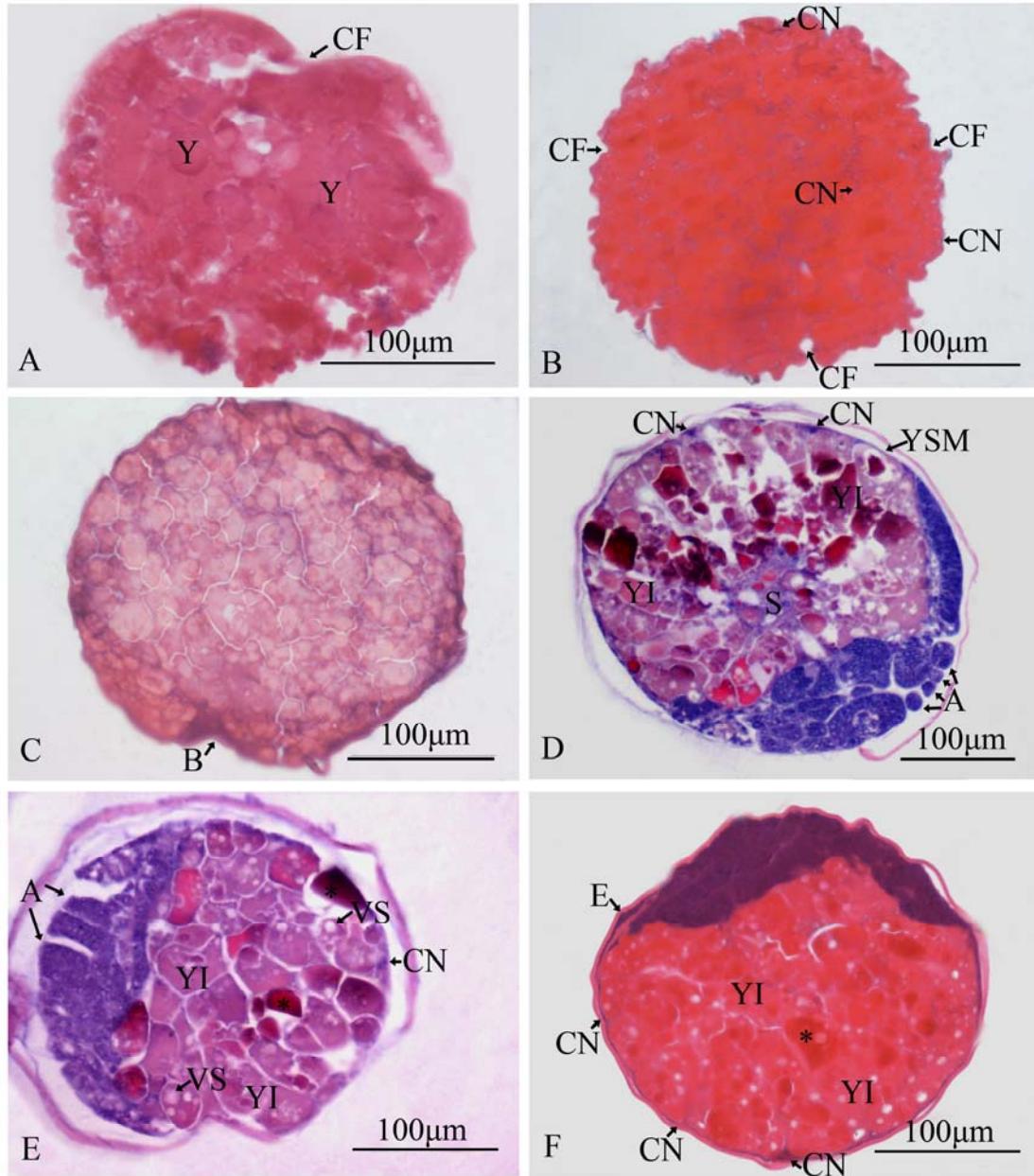


图 1 三疣梭子蟹胚胎发育过程中卵黄囊的形成

Fig. 1 The organogenesis of yolk sac during the embryonic development of *Portunus triberkulatus*

- A: 卵裂期胚胎, 示卵裂沟(cleavage stage with the appearance of cleavage furrow);
- B: 囊胚期胚胎, 示子核外迁移(blastula stage, when the cleavage nucleus migrated to the peripheral of the embryo);
- C: 原肠期胚胎, 开始出现卵黄岛(gastrula stage with the rudiment yolk island);
- D: 卵内无节幼体早期, 形成卵黄囊结构(early egg nauplius stage, when the yolk sac could be found);
- E: 卵内无节幼体后期, 大量卵黄岛中出现空泡状的结构(late egg nauplius stage, when the vacuole structure could be found in most of yolk islands);
- F: 早期卵内第一期蚤状幼体阶段, 示眼点, 此时卵黄岛的嗜酸性增强(early egg Zoea I stage with the first appearing eyes, when the yolk became more acidophilic than last stage).

囊, 至此, 三疣梭子蟹的卵黄囊已经形成(图 1D)。此时, 卵黄囊中的卵黄物质分成许多独立的卵黄

岛, 卵黄岛之间的界限较为清晰。卵黄囊中存在两种卵黄岛, 一种嗜酸性较强; 一种嗜酸性相对较弱。

嗜酸性较弱的卵黄岛中出现部分空泡状结构(图 1D, VS)。此外,原口进一步发育形成口道(stomodaeum)并伸进卵黄囊中(图 1D, S)。到无节幼体后期,卵黄囊中的强嗜酸性卵黄岛的数量减少。由于卵黄物质不断被利用,大量卵黄岛出现了空泡状结构(图 1E)。当胚胎发育到眼点出现后,胚胎进入卵内蚤状幼体阶段,此时几乎所有的卵黄岛

均出现空泡状结构(图 1F),偶尔可见卵黄岛的核物质(图 1F, *)。眼点期胚胎中卵黄岛的嗜酸性有所增强,可能是由于细胞核的收缩造成的。这是因为细胞核是嗜碱性的,故卵黄岛的细胞核收缩可能会导致其嗜酸性增强。随着卵黄物质不断被利用,卵黄岛中空泡结构不断增多,但此时卵黄囊的体积仍占整个胚胎的三分之二左右(图 2A)。

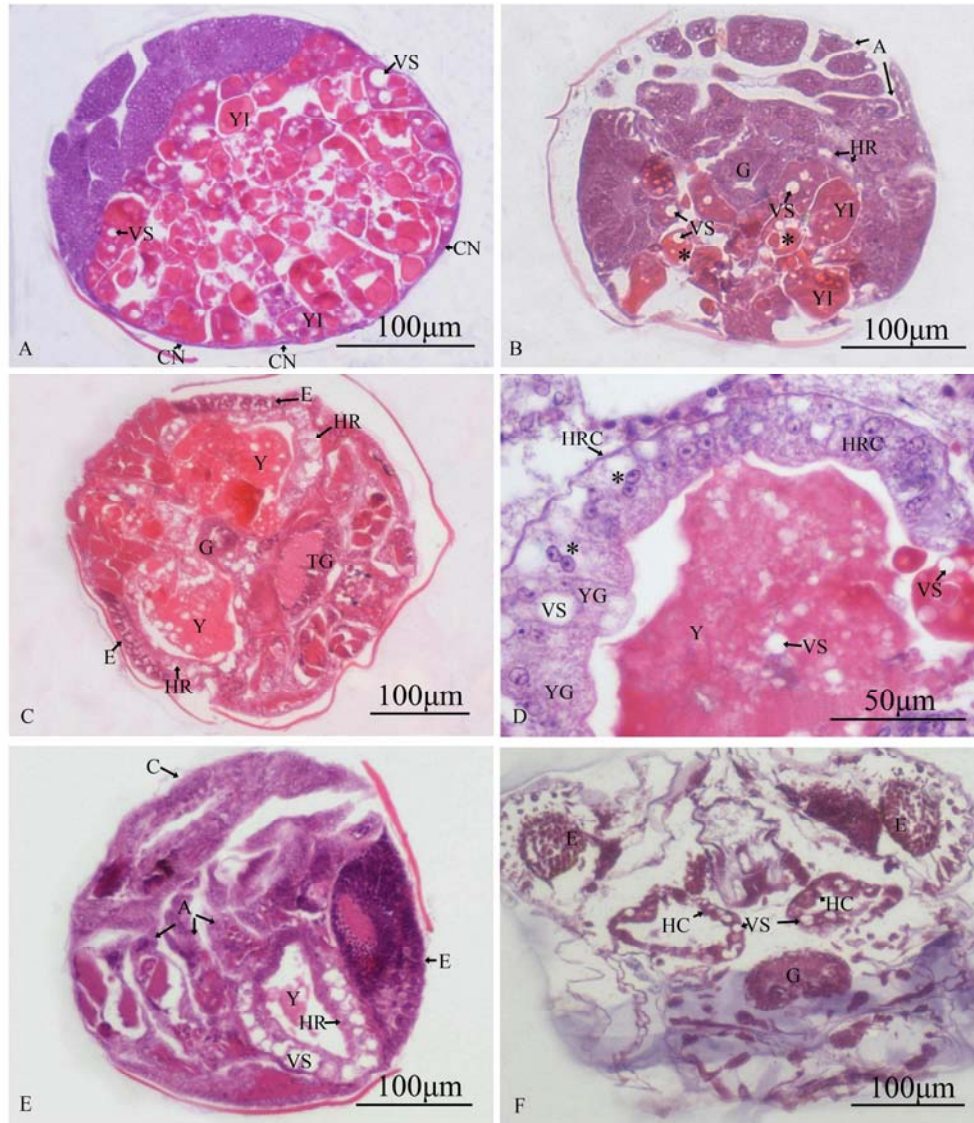


图 2 三疣梭子蟹胚胎发育过程中肝胰腺的形成和卵黄囊的消失

Fig. 2 The organogenesis of hepatopancreas and the disappearance of yolk sac during the embryonic development of *Portunus triberkulatus*

- A: 卵内第一期蚤状幼体阶段,所有卵黄岛中均出现了空泡,卵黄岛的界限开始模糊不清(egg Zoea I stage, when the vacuole structure became bigger in each yolk island than last stage, and the boundary of yolk island start to be unclear);
- B: 卵内第二期蚤状幼体阶段,由于中肠的进一步发育将卵黄囊分成两个部分,同时卵黄囊膜内部开始出现肝胰腺细胞(egg Zoea II stage, the yolk sac was separated into two parts because of further development of the midgut while the hepatopancreatic cells were appearing in the inner of yolk sac membrane);
- C: 卵内第三期蚤状幼体,卵黄囊壁内侧出现许多柱状的肝胰腺细胞,同时卵黄囊已经发育成一对肝胰腺(egg Zoea III stage, the columnar hepatopancreas cells could be found in the inner of yolk sac membrane while the yolk sac had developed into a pair of hepatopancreas);

- D: 卵内第三期溞状幼体的肝胰腺, 肝胰腺中的卵黄物质已经完全融合, 肝胰腺细胞中存在的一些双核结构(the hepatopancreas of egg Zoea III stage, the yolk from different yolk island were merged while the two-nucleus structure could be found in some hepatopancreas cells);
- E: 孵化前的胚胎, 肝胰腺腔中的卵黄物质几乎消耗殆尽, 同时肝胰腺细胞中存在大量泡状结构(pre-hatching larvae stage, the yolk in the lumen of hepatopancreas had been nearly depleted while many vacuoles could be found in the hepatopancreatic cells);
- F: 初孵的第一期溞状幼体, 肝胰腺腔中的卵黄物质已经被完全消耗, 肝胰腺仍然为一对囊状结构, 没有出现三叶状的多管结构(newly-hatched Zoea I, the hepatopancreatic yolk have been completely utilized while the hepatopancreas seems to be a pair of saccate structure. No trifoliate and multibarrel structure could be found on the hepatopancreas of newly-hatched Zoea I)
- CF: 卵裂沟(cleavage furrow); CN: 分裂后的子核(cleavage nucleus); B: 原口(blastopore); Y: 卵黄(yolk); YG: 卵黄颗粒(York granule); YI: 卵黄岛(yolk island); YS: 卵黄囊(yolk sac); YSM: 卵黄囊膜(yolk sac membrane); V: 消黄细胞(vitellophage); E: 眼点(eye); A: 附肢(appendages); TG: 胸神经节(thoraces ganglia); S: 口道(stomodaeum); HR: 肝胰腺原基(hepatopancreatic rudiment); HRC: 肝胰腺原基细胞(hepatopancreatic rudiment cell); H: 肝胰腺(hepatopancreas); HC: 肝胰腺细胞(hepatopancreatic cell); VS: 空泡状结构(vacuole structure); G: 肠(gut); C: 尾肢(cauda)。

2.2 卵黄囊的消失和肝胰腺(原基)的形成及其卵黄利用

胚胎发育进入卵内第二期溞状幼体阶段后, 中肠进一步发育深入到卵黄囊内部(图 2B, G), 即将与前后肠相通, 此时卵黄囊分为两个较明显的区域(图 2B, *)。卵黄囊壁内部已出现一些柱状细胞结构, 即为肝胰腺细胞, 这说明肝胰腺前体已经开始形成(图 2B, HR), 卵黄囊结构开始逐步消失, 此时, 卵黄囊(肝胰腺前体)内仍然存在一些卵黄岛结构, 但是数量大大减少(图 2B, YI)。随着心脏跳动的出现, 胚胎发育进入卵内第三期溞状幼体阶段, 大量的肝胰腺细胞出现在原先的卵黄囊壁的内侧, 发育成一对肝胰腺(图 2C, HR)。肝胰腺内的卵黄岛结构已经消失, 卵黄开始融合(图 2C, Y), 但卵黄物质仍存在一些泡状结构(图 2C, VS)。由肝胰腺局部放大可知, 其中存在大量的肝胰腺细胞(图 2D, HRC), 可见很多嗜碱性的核, 但是不能区分不同类型的肝胰腺细胞, 可能此阶段尚没有出现 4 种不同类型细胞(R、F、B、E 细胞)的分化。此阶段, 有些肝胰腺细胞存在泡状结构(图 2D, VS)、双核结构(图 2D, *, 就是一个细胞中存在两个细胞核)和细小的卵黄颗粒(图 2D, YG)。此时, 肝胰腺细胞围成的腔体中仍然存在较多卵黄物质, 但是这些卵黄物质存在许多泡状结构, 靠近肝胰腺细胞的卵黄物质动用较快, 形成一些空白区域和泡状结构(图 2D, VS)。此阶段胚胎对卵黄物质的利用加快, 卵黄的体积仅占整个胚胎的三分之一左右。

胚胎内第三期溞状幼体后, 幼体的器官发生基本完成, 消化系统、循环系统、神经系统和运动系统已经发育完全, 其形态和初孵幼体基本相同。此后, 胚胎发育进入孵化前期(近孵化期), 此时, 肝胰腺腔内的卵黄物质极少(图 2E, Y), 肝胰腺细胞中出现了更多的空泡状结构(图 2E, VS), 可能为卵

黄物质利用后剩余的中性脂肪储存在肝胰腺细胞内。初孵幼体的肝胰腺腔内的卵黄物质已完全消失, 此时仍无法确认是否存在 4 种不同类型(R、B、F、E 细胞)的肝胰腺细胞(图 2F), 胚胎中的肝胰腺与幼蟹或成体的“一对三叶状的多管结构”不同, 为一对左右对称的囊状结构。

3 讨论

3.1 胚胎发育过程中卵黄囊的形成

三疣梭子蟹的卵裂方式与红螯螯虾(Meng et al, 2001)和克氏原螯虾(Mu et al, 2007)相同, 为表面卵裂(Xue et al, 1998), 而中华绒螯蟹(Du et al, 1992)和罗氏沼虾(Zhao et al, 1998)的前 5 次卵裂为全裂, 此后, 才开始表面卵裂。锯缘青蟹胚胎的卵裂方式介于两者之间, 第一次卵裂为全裂, 第二次至第六次为螺旋卵裂, 第七至八次为表面卵裂(Wei & Luo, 1986), 其卵裂方式介于螺旋式和表面卵裂之间。Aderson(1982)认为甲壳动物的卵裂方式是一个不断进化的过程, 由原始的螺旋式卵裂进化到全裂, 再到典型的表面卵裂, 因此三疣梭子蟹和螯虾类的卵裂方式为表面卵裂, 故它们属于甲壳动物中较高等的种类。胚胎卵裂后, 随着核物质的集中而出现囊胚细胞, 此间卵黄物质内还存在少量子核, 此后, 这些子核不断向四周的囊胚层集中, 到原肠期卵黄物质中已经不能发现子核, 这与 Xue et al (2001a)的观察结果类似。在较低等的节肢动物中, 如蜃(*Limulus polyphemus*) (Kimble et al, 2002), 胚胎发育到原肠期仍有部分子核未迁移到囊胚层及原口附近, 它们停留在卵黄体中, 这些子核将来发育成消黄细胞(卵黄岛)对卵黄物质进行利用(Aderson, 1973; Campos-Ortega & Hartenstein, 1997)。甲壳动物属于较高等的节肢动物, 在原肠期, 其卵黄体中已经不存在核物质。原肠后期内胚层的一些核物质或卵黄

细胞开始重新进入卵黄体中,进一步发育成消黄细胞或卵黄岛,从而分解卵黄物质供胚胎发育用(Xue et al, 2001a, b; Zhao et al, 1998; Meng et al, 2001; Kimble et al, 2002)。同时内胚层的锥状细胞进一步向四周扩散形成一层膜状结构包围住卵黄体,从而形成卵黄囊(Xue et al, 2001a)。不同甲壳动物胚胎发育过程中卵黄囊的形成时间有所不同,本研究表明三疣梭子蟹胚胎中的卵黄囊形成于无节幼体期,而中华绒螯蟹和红螯螯虾卵黄囊的最终形成期分别为囊胚期(Du et al, 1992)和原肠期(Meng et al, 2001)。

3.2 胚胎发育过程中肝胰腺的形成

三疣梭子蟹胚胎发育到第二期溞状幼体阶段时,中肠已经深入到卵黄囊内部(图 2B, G),将卵黄囊分为较明显的两个区域(图 2B, *),且卵黄囊壁内部已出现一些柱状的肝胰腺细胞,这说明肝胰腺前体已经开始形成(图 2B, HR),卵黄囊结构将逐步消失,此时,卵黄囊(肝胰腺前体)内仍然存在一些卵黄岛结构,但是数量大大减少(图 2B, YI)。第三期溞状幼体阶段时,大量的肝胰腺细胞出现在原先的卵黄囊壁的内侧,同时卵黄岛的结构完全消失,这说明卵黄囊已经消失,一双肝胰腺正式形成(图 2C, HR),但是此时肝胰腺中尚不能确定 4 种不同功能的细胞分化(R、F、B、E 细胞)。Kimble et al (2002)对螯(*Limulus polyphemus*)的研究表明,之所以卵黄岛的消失和肝胰腺的柱状上皮细胞形成是同时进行的,是因为卵黄岛中核物质被细胞膜结构包裹,从而形成细胞结构,这些细胞进一步向外迁移并形成肝胰腺的柱状上皮细胞。尽管本研究中并没有能够采用荧光标记技术跟踪到三疣梭子蟹肝胰腺柱状细胞的形成和迁移过程,但是类似机制可能在三疣梭子蟹胚胎发育中也存在。

有关甲壳动物胚胎发育过程中肝胰腺的来源一直是一个争论不休的话题, Du(1987)认为多数甲壳动物的肝胰腺是由中肠的突出物形成的,罗氏沼虾和红螯螯虾的肝胰腺则是由卵黄囊囊壁细胞发育而成(Zhao et al, 1998; Meng et al, 2001)。结合本研究结果,作者推测认为三疣梭子蟹肝胰腺的形成可分为两步:第一,卵黄囊的囊壁细胞形成基膜结构;第二,卵黄岛(消黄细胞)中的核物质在卵黄体中形成柱状上皮细胞,进一步迁移卵黄囊壁上形成肝胰腺的柱状上皮细胞,这样才形成了肝胰腺。造成这种差别的可能原因是,不同分类地位的甲壳动

物,其肝胰腺的形成过程及其细胞来源可能有所不同。有研究结果表明,同为梭子蟹科的美洲蓝蟹(*Callinectes sapidus*)胚胎发育过程中肝胰腺的形成过程与三疣梭子蟹类似(Walker et al, 2006),由此可见,分类地位接近的甲壳动物,其胚胎发育过程中器官的发生具有一定的相似性。

此外,三疣梭子蟹胚胎孵化前的卵内幼体和初孵幼体仍然不具备幼蟹或成体肝胰腺的“三叶状的多管结构”(Yao et al, 2008),完整的肝胰腺结构(三叶状的多管结构和存在 4 种肝胰腺细胞的分化)可能需要到胚后的仔蟹阶段才能完成(Nakamura, 1990)。对大多数甲壳动物而言,肝胰腺小管数量的增长通常是随着幼体蜕壳而逐步实现的(Factor, 1981; Ceccaldi, 1998)。

3.3 胚胎发育过程中卵黄物质的消化利用

迄今为止,有关甲壳动物胚胎发育过程中卵黄物质的利用过程尚不清楚,绝大多数研究仍停留在推测阶段。Cheng et al (1999)认为中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)胚胎发育过程中对卵黄物质的利用是以合胞体的形式吸收的,在合胞体核物质的引导和编码下,把吸收的卵黄物质转化为胚胎发育所需要的营养物质,合胞体对卵黄物质的吸收是就近逐块“啄”取的。Xue et al (2001b)认为三疣梭子蟹胚胎发育在无节幼体期前,由于细胞直接与卵黄物质接触,胚胎发育所需要的营养物质直接从卵黄中吸收;无节幼体到第一期溞状幼体阶段,由于消化系统和循环系统尚未形成,腹肢和头胸甲等不直接与卵黄接触的器官主要通过细胞间物质运输获得卵黄囊中的卵黄物质;第二期溞状幼体阶段后,由于出现了胃、后肠及心脏等器官,且这些器官皆与卵黄囊相通,因此对卵黄物质的吸收及运输则是通过这些器官来实现的;卵黄物质中的脂肪滴主要在第三期溞状幼体阶段被卵黄囊细胞和大颚吸收。

本研究结果并不完全支持以上结论。其理由如下:(1)胚胎从无节幼体阶段起,卵黄囊和卵黄岛的结构(消黄细胞)已经完全形成,随着胚胎的进一步发育,卵黄岛中出现了很多空泡状的结构,显然卵黄物质的消化很可能是在卵黄岛中进行的;(2)由于甲壳动物的卵黄物质的主要成分是脂蛋白 II (Lp II)主要存在于卵黄囊中,少量存在于后期的肝胰腺细胞中,美洲蓝蟹(*Callinectes sapidus*)胚胎发育过程中卵黄物质主要成分—脂蛋白 II (Lp II)从未在胃、腹肢和头胸甲等组织细胞中出现(Walker et al,

2006); (3) 本研究结果表明, 三疣梭子蟹胚胎中的肠和胃等组织也没有出现嗜酸性的卵黄物质, 故腹肢和头胸甲等组织不可能通过细胞运输获得卵黄囊中的卵黄物质, 但可以获得卵黄物质分解后的脂类和蛋白等营养物质(Walker et al, 2006)。因此, 作者认为三疣梭子蟹胚胎发育中卵黄物质的利用过程如下: (1) 胚胎发育早期(无节幼体前), 胚胎主要通过合胞体的形式对卵黄物质进行分解和吸收; (2) 从无节幼体到第二期溞状幼体阶段, 卵黄物质主要是通过卵黄岛中的核物质编码生成相应的酶, 从而在卵黄囊中对卵黄物质进行分解和消化, 故卵黄岛中可见许多空泡状结构, 然后这些营养物质通过卵黄囊及其它与卵黄物质直接接触的细胞运输到发育中的组织(细胞); (3) 第三期溞状幼体阶段起, 三疣梭子蟹胚胎中的循环系统和消化系统(特别是肝胰腺)已经形成, 此时卵黄岛的结构已经消失, 此阶段胚胎对卵黄物质的利用主要是通过肝胰腺细胞进行分解和吸收, 然后通过循环系统运输到各个组织中去。

本研究发现三疣梭子蟹初孵幼体肝胰腺腔内

的卵黄物质已完全消失, 而罗氏沼虾(Zhao et al, 1998)、红螯螯虾(Meng et al, 2001)和克氏原螯虾(Mu et al, 2007)等种类的初孵幼体肝胰腺腔内仍然存在部分卵黄物质。这说明三疣梭子蟹初孵幼体抗饥饿能力较差, 没有内源性的卵黄物质支持其进一步发育, 必须马上摄食。此外, 初孵幼体肝胰腺的结构简单, 尚没有出现三叶状的多管结构, 这也暗示初孵幼体消化能力可能相对较弱, 故三疣梭子蟹幼体培育的难度相对较大(Nakamura, 1990; Wu et al, 2006)。而红螯螯虾(Meng et al, 2001)和克氏原螯虾(Mu et al, 2007)等种类的初孵幼体具有较强的抗饥饿能力, 内源性的卵黄物质可以支持幼体发育到一定阶段。随着幼体的发育, 其肝胰腺的结构进一步复杂化, 消化能力也开始增强, 因此这些种类的幼体培育也相对容易(Ceccaldi, 1998)。

致谢: 上海海洋大学 09 届本科毕业生邵神舒和蔡美红参加后期胚胎的部分切片工作, 浙江省舟山市水产研究罗海忠所长和傅荣兵高工在采样过程给予热情指导, 在此深表感谢!

参考文献:

- Anderson DT. 1973. Embryology and Phylogeny in Annelids and Arthropods [M]. New York: Pergamon Press, 495.
- Anderson DT, 1982. The Biology of Crustacea: Vol. Embryology [M]. New York: Academic Press, 1-41.
- Campos-Ortega JA, Hartenstein V. 1997. The Embryonic Development of *Drosophila melanogaster* [M]. 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag, Heidelberg, 405.
- Ceccaldi HJ. 1998. A synopsis of the morphology and physiology of the digestive system of some crustacean species studied in France [J]. *Rev Fish Sci*, 6(1): 13-39.
- Chen SL, Wu XG, Cheng YX, Wang CL, Zhu DF, Zhou B, Wang JF, Gong LJ. 2007. The changes of proximate biochemical composition and energy source during embryonic development of swimming crab, *Portunus trituberculatus* [J]. *J Fish Sci Chn*, 14(2): 229-235. [陈石林, 吴旭干, 成永旭, 王春琳, 朱冬发, 周波, 王金峰, 龚良军. 2007. 三疣梭子蟹胚胎发育过程中主要生化组成的变化及其能量来源. 中国水产科学, 14(2): 229-235.]
- Cheng YX, Du NS, Lai W. 1999. On the ultrastructure of yolk lipid distribution and its changes during the Chinese crab, *Eriocheir sinensis*, ovarian maturation and embryonic development [J]. *Chn J Zool*, 34(1): 51-56. [成永旭, 堵南山, 赖伟. 1999. 中华绒螯蟹卵巢和胚胎发育期脂类在卵黄物质中存在的形态及其变化. 动物学杂志, 34(1): 51-56.]
- Du NS. 1987. Carcinology: I [M]. Beijing: Science Press, 21-50. [堵南山. 1987. 甲壳动物学: 上册. 北京: 科学出版社, 21-50.]
- Du NS, Zhao YL, Lai W. 1992. A study on the embryonic development of the Chinese Mitten-handed Crab, *Eriocheir sinensis* (Crustacea: Decapoda) [A]. The Chinese Crustacean Society. Transactions of the Chinese Crustacean Society No. 3. Qingdao: Qingdao Ocean University Press, 128-135. [堵南山, 赵云龙, 赖伟. 1992. 中华绒螯蟹胚胎发育的研究. 甲壳动物学会主编. 甲壳动物学论文集: 第三辑. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 128-135.]
- Factor JR. 1981. Development and metamorphosis of the digestive system of larval lobsters, *Homarus americanus* (Decapoda, Nephropidae) [J]. *J Morphol*, 169: 225-242.
- Heras H, Gonzales-Baro M, Pollero R. 2000. Lipid and fatty acid composition and energy partitioning during the embryo development in the shrimp *Macrobrachium borellii* [J]. *Lipids*, 35: 645-651.
- Kimble M, Coursey Y, Ahmad N, Hinsch GW. 2002. Behavior of the midgut nuclei during embryogenesis, and development of the midgut diverticulum in the horseshoe crab *Limulus polyphemus* [J]. *Invert Biol*, 121(4): 365-377.
- Meng FL, Zhao YL, Chen LQ, Gu ZM, Xu GX, Liu QW. 2001. Embryonic development of redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*: II. Development of digestive system [J]. *Zool Res*, 22(5): 383-387. [孟凡丽, 赵云龙, 陈立桥, 顾志敏, 徐谷星, 刘启文. 2001. 红螯螯蟹胚胎发育的研究: II. 消化系统的发育. 动物学研究, 22(5): 383-387.]
- Mu F, Wu XG, Cheng YX, Lu JF. 2007. Observations on the embryonic development of *Procambarus clarkii* [J]. *J Fish Chn*, 31(Sup.), 6-11. [慕峰, 吴旭干, 成永旭, 陆剑峰. 2007. 克氏原螯蟹胚胎发育的形态学变化观察. 水产学报, 31(增刊): 6-11.]
- Nakamura K. 1990. Organogenesis during metamorphosis in the swimming crab *Portunus trituberculatus* [J]. *Nippon suisan gakkaiishi*, 65(10): 1561-1564.
- Walker A, Ando S, Smith GD, Lee RF. 2006. The utilization of lipovitellin during blue crab (*Callinectes sapidus*) embryogenesis [J]. *Comp Biochem Physiol*, 143B: 201-208.
- Wei SQ, Luo YY. 1986. A study of the embryonic development of *Scylla*

- serrata* (Forsk.) [J]. *Trop Ocean*, **5**(3): 57-62. [韦受庆, 罗远裕. 1986. 青蟹胚胎发生的研究. 热带海洋, **5**(3): 57-62.]
- Wu XG, Fu RB, Cheng YX, Chen SL, Yang XZ, Wang CL, Zhu DF, Luo HZ. 2006. Effect of starvation on the survival and main composition of newly hatched Zoea 1 of blue swimming crab, *Portunus trituberculatus* [J]. *Chn J Zool*, **41**(6): 19-26. [吴旭干, 傅荣兵, 成永旭, 陈石林, 杨筱珍, 王春琳, 朱冬发, 罗海忠. 2006. 饥饿对三疣梭子蟹Z₁存活和生化组成的影响. 动物学杂志, **41**(6): 19-26.]
- Wu XG, Yao GG, Yang XZ, Cheng YX, Wang CL. 2007. A study on the ovarian development of *Portunus trituberculatus* in East Sea during the first reproductive cycle [J]. *Acta Ocean Sin*, **29**(5): 120-128. [吴旭干, 姚桂桂, 杨筱珍, 成永旭, 王春琳. 2007. 东海三疣梭子蟹卵巢发育规律的研究. 海洋学报, **29**(5): 120-128.]
- Xue JZ, Du NS, Lai W. 1998. Studies on the embryonic development of *Portunus trituberculatus* [J]. *Chn J Zool*, **33**(6): 45-49. [薛俊增, 堵南山, 赖伟. 1998. 三疣梭子蟹活体胚胎发育的研究. 动物学杂志, **33**(6): 45-49.]
- Xue JZ, Du NS, Lai W. 2001a. Studies on the histology of early embryonic development of *Portunus trituberculatus* [J]. *Zool Res*, **22**(1): 69-73. [薛俊增, 堵南山, 赖伟. 2001a. 三疣梭子蟹胚胎发育早期的组织学研究. 动物学研究, **22**(1): 69-73.]
- Xue JZ, Du NS, Lai W. 2001b. Genesis and development of the digestive system of the swimming crab, *Portunus trituberculatus*, in the embryo [J]. *Zool Res*, **22**(5): 375-378. [薛俊增, 堵南山, 赖伟. 2001b. 三疣梭子蟹胚胎发育过程中消化系统的发生和发育. 动物学研究, **22**(5): 375-378.]
- Xue JZ, Du NS, Lai W. 2001c. Morphology of egg larvae of swimming crab (*Portunus trituberculatus*) during embryonic development [J]. *Acta Zool Sin*, **47**(4): 447-452. [薛俊增, 堵南山, 赖伟. 2001c. 三疣梭子蟹胚胎发育过程中卵内幼体形态. 动物学报, **47**(4): 447-452.]
- Xue JZ. 2005. Neurogenesis and development of the central nervous system in the embryonic stage of swimming crabs, *Portunus trituberculatus* [J]. *Zool Res*, **26**(2): 184-189. [薛俊增. 2005. 三疣梭子蟹神经系统的发生发育. 动物学研究, **26**(2): 184-189.]
- Yao GG, Wu XG, Yang XZ, Cheng YX, Wang CL. 2008. The changes of histology and main biochemical composition in the hepancreas at the different physiological stages of *Portunus trituberculatus* in East Sea [J]. *Acta Ocean Sin*, **29**(4): 120-127. [姚桂桂, 吴旭干, 杨筱珍, 成永旭, 王春琳. 2008. 东海三疣梭子蟹雌体不同生理阶段肝胰腺的生化组成和组织学结构的关系. 海洋学报, **30**(6): 122-131.]
- Yao JJ, Zhao YL, Wang Q, Zhou ZL, Hu XC, Duan XW, An CG. 2006. Biochemical compositions and digestive enzyme activities during the embryonic development of prawn, *Macrobrachium rosenbergii* [J]. *Aquaculture*, **253**: 573-582.
- Zhao YL, Wang Q, Lai W, Du NS. 1998. Embryonic development of the Giant Freshwater Prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea, Decapod) : II. The formation of the primary organ rudiment and development of the digestive system [J]. *J Ocean Sci*, **5**: 49-52. [赵云龙, 王群, 赖伟, 堵南山. 1998. 罗氏沼虾胚胎发育研究: II. 原始器官原基形成和消化系统的发生. 海洋科学, **5**: 49-52.]