

锯缘青蟹幼体性分化的解剖学 及组织学实验研究*

林琼武 李少菁 王桂忠**

(厦门大学海洋系, 厦门, 361005)

摘要 锯缘青蟹(*Scylla serrata* [Forskål])背甲宽×长为 2.3×1.5 cm的幼蟹,其外部性征已开始发生分化,雌性个体腹部宽度增大,副性征也有明显的差异,在雄性个体腹足呈单肢型而雌体呈双肢型。但是,在幼蟹生殖腺仍见不到组织学上的差异。腹部附肢是分辨幼蟹性别最为直观、适宜的指标。本文还讨论了青蟹两性生殖系统形态结构及其功能上的差异问题。

关键词 锯缘青蟹 性分化 组织学和解剖学

在受控条件下,对甲壳动物进行人工性转化的研究以及生殖系统的组织学研究,国内外屡见报道。法国学者 Charniaux-Cotton(1954)在跳钩虾(*Orchestia gammarilla*)进行造雄腺移植时,首先发现精巢的发生和分化与否取决于造雄腺的有无,并且通过移植造雄腺成功地使其雌体转化为雄体^[1]。继之,许多学者采用这一方法对甲壳动物的不同种类进行实验,如对等足类 *Armadillidium vulgare*^[2]、扁足沙蟹(*Ocyropode platyferis*)^[3]和十足类的罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)等研究都获得相同的效果^[4]。Nagabhushunam et al. (1981)报道了外源睾丸素对哈氏仿对虾(*Parapenaeopsis hardwickii*)的雄腺和精巢的影响^[5]。我国学者陈倅、邢东方(1986)报道了中国毛虾(*Acetes chinensis*)生殖系统的组织学和组织化学的研究^[6]。宋鹏东(1986)对三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)进行解剖分析,但对其生殖系统只侧重于观察生殖腺^[7],并没言及其他部分。就青蟹而言,作者等对其幼体培育、实验生态以及生理生化等方面都进行了详细的研究。但是,迄今为止,有关性分化方面的研究尚未见诸报道。

近年来,随着水产养殖业的蓬勃发展,养殖业者追求高经济效益和养殖品种的多样化,鱼类和贝类的人工单性化养殖的科学研究应运而生并已获得成功。青蟹人工养殖在我国方兴未艾,对其单性化的研究具有重要的理论意义和应用前景。而查明性分化阶段是人工性转化成功与否的关键。本文主要报道青蟹幼体性分化的解剖学与组织学的实验观测结果。

1 材料与方 法

实验所用材料采自于龙海角美和厦门附近沿海岸域。活体带回实验室后,暂养于盛有砂滤海水、底部铺砂的塑料桶内1~2d,不投饵。实验前,将活蟹置于冰箱冷冻处理5min左右,以其

本文于1994年3月24日收到。

* 福建省自然科学基金资助项目。

** 梅杰、林溪顺参加部分实验工作。

附肢不活动为准。然后,进行解剖、生物学测量和固定。

实验分两组:第一组,成蟹,雄性6尾,背甲宽为72~122mm。将各尾雄蟹的生殖器官完整地取下,观测其外形态特征,然后固定、切片、镜检和显微摄影。第二组,雌雄个体总数51尾,背甲宽×长为23~58mm×15~40mm,在解剖镜下进行活体速冻解剖,然后将其固定、包埋、切片、镜检和显微摄影。同时,测量其腹部附肢和比较其形态差异,比较雌雄两性生殖系统形态特征的差异,并且测量第五节腹节宽度并作图比较。

实验材料用波恩氏(Bouin's)液固定,常规的石蜡包埋切片,苏木精-伊红染色。显微摄影仪系日产Olympus BH-2型。

2 结果

2.1 生殖系统的形态特征

雄性生殖系统主要由精巢、精小管、输精管和交接器等四个部分组成,精巢(testis)成对,位于胃的两侧,向后延伸,在心脏前方两侧愈合合成“H”形,愈合部位为精巢最膨大的部分,精小管(seminiferous tubules)上接精巢基端,下达输精管,肉眼难以辨认。输精管(vas deferens)上接精小管,弯曲地经心脏下方沿两侧向后延伸,于心区后细管变粗,颜色也渐渐透明,至第五步足的环肌间后,又折回心区后方与肠平行排列平直地到达腹甲,与交接器相连。在雄性幼蟹,尚未查到输精管末端的造雄腺(androgenic gland)。

雌性生殖系统包括卵巢、输卵管和受精囊。卵巢(ovary)在发育初期为条细管状结构,附于两侧消化腺的表面。沿着消化腺向胃区的后方延伸,于心区前方通过一细管相通,末端直抵头胸甲基部,且略变细,因此,整个卵巢背观呈“H”形。随着个体发育的不同,卵巢的体积变化幅度很大,至完全成熟时,呈桔红色几乎填满整个头胸甲。输卵管(oviduct)从卵巢心区前方的两侧分别垂直地向腹部延伸出的两条管,直达第五腹节的生殖孔。在雌性幼蟹,尚未查到其输卵管末端有膨大的囊状结构即受精囊(seminal receptacle)。

2.2 生殖系统发育的组织学特征

雄性生殖系统的外包皮为结缔组织薄膜,细胞扁圆,界限不清。

精巢,发育初期于内部的辅助细胞和精原细胞已开始分化。精原细胞大部分分布在精巢基端(上半部),经减数分裂产生初级精母细胞、次级精母细胞。初级精母细胞直径约 $5.5\mu\text{m}$,核圆形,有较浓的染色质。此外,辅助细胞体积变小,在次级精母细胞(直径约 $5.0\mu\text{m}$)产生的同时,辅助细胞以大致相同间隔绕着精巢腔,新形成的精细胞集中于辅助构成的“容精腔”内,精细胞之间充满着嗜酸性物质。

精小管:由单层上皮细胞组成内壁,细胞近立方形,高约 $10\mu\text{m}$,核椭圆形,位于基部,长约 $3\mu\text{m}$ 。精小管贯通精巢基端,管外是排列密集的精母细胞,管内精细胞分布不均,靠近精巢基部的精小管内的精细胞排列密集,出现大量成熟的精子。

输精管:有结缔组织包膜。皆以单层上皮细胞为管的内壁。管壁细胞及管腔内物质在输精管的不同区段有所差异。紧接精小管部分,管壁上皮细胞为单层柱状上皮,核基位,染色质网状,具有分泌功能。当管腔被分泌物涨大时,上皮细胞伸长为扁平状,核倾斜或完全横卧,体积缩小,染色质增浓。腔内分泌物为匀浆状,嗜酸性;中间区段的管子互相缠绕,内部充满乳白色物质,出现精子团,由原先匀浆状的分泌物浓缩成无数颗粒包裹着。该段管上皮细胞为立方型,

核基位,细胞向管腔一侧出现空泡,并有微绒毛伸向腔内,腔内的颗粒状物愈来愈少,精子团结合也显得更紧密,外周出现一层半透明的薄膜包裹着精子团;与交接器连接的区段,管壁较透明,管腔增大,未见精子和精子团,匀浆状物质充满整个管腔,其管壁上皮细胞呈扁平状,体积较小。输精管周边未见任何腺体组织。

雌性背甲宽×长小于 5.8cm×4.0cm 幼蟹的卵巢为管状,内有原始生殖细胞、卵原细胞,未查到初级卵母细胞,卵原细胞为椭圆形,核大,占据细胞的大部分,胞质稀少,仅一薄层,小于 3.4cm×2.3cm 的雌性幼蟹其卵巢内卵原细胞极少。2.3cm×1.5cm 的雌性幼蟹的卵巢内几乎没有卵原细胞,只是在管壁上有一些原始生殖上皮。

雄性幼蟹的生殖腺发育早于同时期雌蟹。大于 5.4cm×3.7cm 的个体,其精巢的组织切片已有初级精母细胞,其核显著膨大,核仁明显,胞体增大,胞质增多。小于 5.4cm×3.7cm 的雄幼蟹,生殖细胞均为原始生殖上皮或精原细胞,其形状与卵原细胞相似。

2.3 雌雄幼蟹腹部形态及其副性征的差异比较

两性成蟹腹部形态具有显而易见的差异,雌性为近似半圆形或“凸”三角形,而雄性为三角形或“凹”三角形。但是这一差异在幼蟹,随着发育期别越早就越不明显,甚至腹部趋于相同的等腰三角形,背甲宽 1.0cm 左右的仔蟹,腹部形态肉眼无法区分出雌雄。相反地,随着幼体发育,于腹部第四、五腹节的宽度变化渐渐地反映出雌雄的差异,见图 1、2。

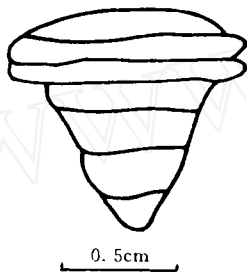


图 1 雌性幼蟹腹部的形态

Fig. 1 Abdominal morphology of female larval crab

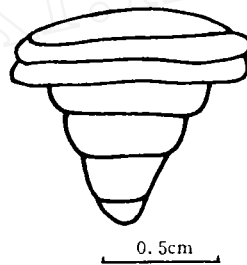


图 2 雄性幼蟹腹部的形态

Fig. 2 Abdominal morphology of male larval crab

表 1 雌雄幼蟹背甲宽度与第五腹节宽度的比较

Tab. 1 Comparison of width of carapace and fifth abdominal segments of male and female larval crabs

第五腹节宽 (cm)	雌	0.5	0.56	0.61	0.62	0.67	0.7	0.73	0.77	0.82	0.9	0.92
	雄	0.47	0.51	0.55	0.59	0.60	0.62	0.65	—	—	—	—
背甲宽 (cm)	雌	2.3	2.7	3.0	3.3	3.6	3.8	4.0	4.5	4.8	5.4	5.8
	雄	2.7	3.0	3.5	3.9	4.2	4.5	5.2	—	—	—	—
第五腹节宽 / 背甲宽 (%)	雌	21.7	20.7	20.3	18.7	18.6	18.4	18.2	17.1	17.0	16.6	15.86
	雄	17.4	17.0	15.7	15.1	14.2	13.7	12.5	—	—	—	—

从表 1 可以看出,雌雄幼蟹随着生长发育,其第五腹节宽与背甲宽之比呈现逐渐下降的趋势,这说明青蟹背甲的增长速率大于第五腹节。同时,更重要的是背甲宽度相同的个体中,其第五腹节宽与背甲宽度之比例在雌体要比雄体大 3% 左右,这说明随着生长发育,雌雄个体间其腹部形态的差异就越明显。

作为判别雌雄性别的指标,腹部形态在成蟹无疑是最为直观的特征,但在幼蟹尤其是背甲

宽于 1.0cm 以下的幼体这个指标就显然不适宜了,而在稚蟹其腹部附肢于雌雄个体之间却有非常明显的差异。雌体具有附肢 4 对,双肢型,内肢略大于外肢且具刚毛,而雄体只有附肢 2 对,单肢型,分别长于第一和第二腹节基部,大小和形态差别较大,第一附肢粗状,外侧具许多细棘。腹部附肢长度上的差异见表 2。

表 2 雌雄幼蟹背甲宽度与第一腹肢长度的比较

Tab. 2 Comparison of width of carapace and length of first adominal appendage of male and female larval crab

背 甲 宽(cm)		第一腹肢长(cm)		第一腹肢长/背甲宽(%)	
雌	雄	雌	雄	雌	雄
5.8	4.8	1.5	1.2	25.86	25.00
4.8	4.2	1.2	0.9	25.00	21.42
3.9	3.6	1.0	0.7	25.64	19.44
3.6	3.0	0.8	0.5	22.22	16.66
2.9	2.7	0.6	0.4	20.68	14.81
平 均				23.88	19.46

从表 2 看出,第一腹肢与背甲宽之比的相对长度雌体平均为 23.88,雄体平均为 19.46,可见雌体要比雄体长 20%左右。

由此可知,腹部附肢(见图 3、4)是鉴别幼蟹雌雄性别最为直观的、适宜的指标。

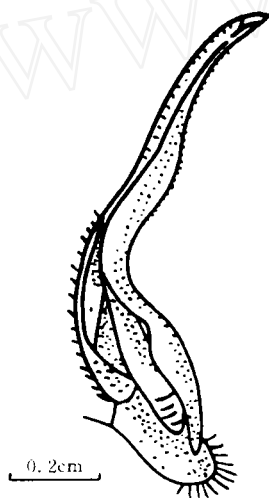


图 3 雄性幼蟹第一腹部附肢

Fig. 3 First male abdominal appendages

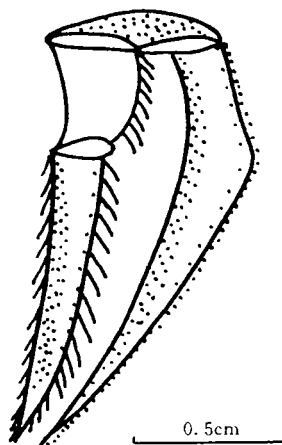


图 4 雌性幼蟹腹部附肢

Fig. 4 Female abdominal appendages

3 讨论

Charniaux-Cotton (1954) 在跳钩虾的输精管末端发现一腺体结构,并命名为造雄腺, Claude Nagamine (1980) 曾报道罗氏沼虾的造雄腺位于输精管凹陷内侧表面,即射精球膨大

处, Rangeneker 等(1971)也证实了青蟹的造雄腺,它位于最后步足基节,附于输精管的肌肉中。Charniaux-Cotton(1962)报道哈氏仿对虾的造雄腺是一个独立腺体,并未紧附于输精管上^[9]。其次,在甲壳动物的许多种类中,雄性生殖系统的输精管末端有一个膨大处即贮精,而在笔者的实验中,尚未查到,有等于进一步实验研究。

青蟹的精巢和卵巢内部不存在隔室,也无血管或血窦,这与其体积小,便于物质运输有关。

中村井宏(1988)关于十足目甲壳动物的性染色体只在铠甲虾科(Gablatheidae)的 1 个种和方蟹科(Grapsidae)中的 7 个种中有过报道,而且其性别决定类型以 XY 型为主^[10]。吴仲庆报道过虾类至少已查过 16 个种不具有性染色体^①。青蟹有否性染色体,性别决定类型如何?均未见诸报道。但青蟹系属于雌雄异体的甲壳动物,这是无可置疑的。根据遗传学原理,在雌雄异体的生物中,受精卵有朝向两性发育的可能。在一般情况下,它们的性染色体组型就决定了性别发育的方向;但是,在激素、营养、温度、光照以及外科手术等条件下,虽然,不能改变其性染色体组成,也能引起雌雄性别的转变。青蟹要实现单性化的养殖,关键在于查清其性分化歧点,对其进行实验处理,才能达最佳效果。因此,必须深入进行该领域的科学研究。

Rangeneker P V et al. (1971)对青蟹雄性个体进行切除眼柄和注射眼柄、胸神经节(thoracic ganglion)及脑三种组织的萃取物。结果表明眼柄含有降低造雄腺活性的抑制因子,脑和胸神经节不存在性腺的刺激原理^[11]。在软甲亚纲中,精巢的发生和分化需要造雄腺的存在和维持^[12]。造雄腺的有无和活力直接与性别情况相对应,去掉造雄腺的生殖腺必然分化为雌性卵巢,植入造雄腺的生殖腺必然分化为雄性精巢。由此可见,要解决青蟹性别控制的问题,就必须对造雄腺进行深入研究;同时,还应摸索出一套适用于青蟹的组织移植技术。

近几年来,青蟹的养殖给养殖业者带来了可观的经济效益,也获得良好的社会效益,很有开发应用的潜力。性分化和性别控制的研究刚刚开始,距应用还有相当一段的距离,但其前景十分乐观。然而,不能急功近利,必需扎扎实实地做好有关的基础研究工作,这样才会有期望获得突破性的进展。

参考文献

- 1 Katakura Y. Progeny from the mating of the normal female and the masculinized female of *Armadillium vulgare*. *Annotationes Zoologicae Japonenses*, 1961, **34**(4):197~199
- 2 Katakura Y. Transformation of ovary into testis following implantation of androgenous glands in *Armadillium vulgare*, an isopod crustacean, *Annotationes Zoologicae Japonenses*, 1960, **34**(4):241~244
- 3 Sarojini S. Comparison of the effects of androgenic hormone and testosterone propionate on the female Ocypod crab, *Curr. Sci.*, 1963, **32**:411~412
- 4 Nagamine et al. Masculinization of female *Macrobrachium rosenbergii* by androgenic gland implantation, *General and Comparative Endocrinology*, 1980, **41**: 442~457
- 5 Nagabhushnam et al. Effect of exogenous testosterone on the androgenic gland and testis of a marine penaeid prawn, *Parapenaeopsis hardwickii*, *Aquaculture*, 1981, **23**:19~27
- 6 陈侠,邢东方. 中国毛虾生殖系统的组织学和组织化学. 甲壳动物学论文集(第一辑). 北京:科学出版社, 1986. 158~164

① 吴仲庆, 虾类的性别决定和控制, 1990.

- 7 宋鹏东. 三疣梭子蟹的解剖. 甲壳动物学论文集(第一辑). 北京: 科学出版社, 1986. 231
- 8 李少菁等. 锯缘青蟹养殖生物学的研究. 海洋科学, 1994, (2): 21~24
- 9 Charniaux-Cotton H. Androgenic gland of crustaceans, *Gen. Comp. Endocrinol.* 1962, 1: 241~247
- 10 中村井宏等. 十足目(甲壳纲)染色体检索养殖研报, 1988. 13
- 11 Rangnekar P V et al. Hormonal control of reproduction in the male crab, *Scylla serrata* (Forskål), *Jour. Anim. Morphol. & Physiol.* 1971, 18(1): 17~29
- 12 吴仲庆. 水产生物遗传育种学. 厦门: 厦门大学出版社, 1991.

Preliminary studies on sexual differentiation of larval *Scylla serrata*

Lin Qiongwu, Li Shaojing and Wan Gueizhong

(Department of Oceanography, Xiamen University, Xiamen, 361005)

Abstract

The anatomy and histology of the reproductive system of crab [*Scylla serrata* (Forskål)] both in adult and larval stages are described. The results show that there has been differentiation on the secondary sexual characteristics in larval crabs with 2.3cm × 1.5cm in carapace width × length, i. e., an increase in the abdominal width of the female larval crabs, uniramous abdominal appendages in male and biramous in female. No difference in the histological features of the gonad in larval crabs has been found. The abdominal appendages is considered to be a major indicator for separating sexes of larval crabs. The differences in the morphological structure and function of reproductive organs between male and female larval crabs is also discussed.

KEYWORDS *Scylla serrata*, sexual differentiation, anatomy and histology