

文章编号: 1000-0615(2001)03-0193-04

克氏原螯虾大颚器合成甲基法尼酯的研究

赵维信, 白桦

(上海水产大学渔业学院, 上海 200090)

摘要: 利用放射化学方法测定了克氏原螯虾大颚器中甲基法尼酯合成速率。结果发现, 同一尾克氏原螯虾的左、右侧大颚器中甲基法尼酯的合成速率无明显差异 ($P > 0.05$); 雄螯虾甲基法尼酯的合成速率比雌螯虾大 ($P < 0.05$); 处于精巢发育期的雄螯虾甲基法尼酯合成速率明显大于发育前期的雄螯虾 ($P < 0.05$); 在雌螯虾卵巢发育周期中, 甲基法尼酯的合成速率依次为: 次级卵黄发生期 > 初级卵黄发生期 > 成熟期 > 卵黄发生前期 > 恢复期, 表明大颚器合成甲基法尼酯与促进卵黄发生密切相关。

关键词: 克氏原螯虾; 大颚器; 甲基法尼酯; 合成速率

中图分类号: Q579.1; S917 **文献标识码:** A

The synthesis of methyl farnesoate by mandibular organ in *Procambarus clarkii*

ZHAO Wei-xin, BAI Hua

(Fisheries College, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract: The mandibular organs (MO) of the crayfish (*Procambarus clarkii*) are in pairs, a lobate structure, which are located at the dorsal of the pair mandible and outside bases of mandibular chitinous tendons. The rate of methyl farnesoate (MF) biosynthesis in the left MO, determined by radiochemical assay, is close to that in the right one in the same crayfish. The rate of MF synthesis in the MO of male crayfish is higher than that of female. In the male crayfish, the rate of MF synthesis at development stage of the spermary is obviously higher than that at pre-development stage. During the ovarian development stages, the rate of MF biosynthesis is higher at vitellogenic stage than at other stages, which indicates that MF synthesis is in close correlation with vitellogenesis.

Key words: *Procambarus clarkii*; mandibular organ; methyl farnesoate; synthetic rate

近年的研究表明, 大颚器 (mandibular organ, MO) 是甲壳动物一个重要的内分泌器官^[1-4]。从比较内分泌学的观点看, 大颚器类似于昆虫的咽侧体。Laufer 等首先证明甲壳动物的 MO 合成和分泌甲基法尼酯 (methyl farnesoate, MF)^[3], MF 是一种类萜 (terpenoid) 物质, 它的化学结构与昆虫保幼激素 III (juvenile hormone, JH) 相似, 是 JH 的非环氧化形式。离体培养罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 卵黄发生前的卵巢, MF 能促进卵巢总蛋白的合成; 同时, MF 还能促进卵巢总 DNA 和总 RNA 的合成^[5]。因

收稿日期: 2000-07-04

第一作者: 赵维信 (1937-), 女, 江苏南京人, 教授, 主要从事鱼类和甲壳类内分泌学研究。Tel: 021-65710525, E-mail: wxzhao@shfu.edu.cn

此 MF 被认为是甲壳动物中的一种性腺刺激激素^[6]。

国内尚无直接测定和研究 MO 合成和分泌 MF 的报道。本工作在对克氏原螯虾 MO 结构与功能研究的基础上进一步对 MO 合成 MF 的规律进行了研究,以期为甲壳动物生殖内分泌的调控机制提供理论依据,并对水产养殖生产实践有积极的指导意义。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验对象为克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*),从市场上购得。实验前将克氏原螯虾暂养于水族箱 (65cm × 35cm × 50cm),每天换水及除污,喂饲胡萝卜。实验中记录每尾虾的常规生物学指标:体长、体重和性腺重,并按文献^[7]的方法确定卵巢发育时期。按文献^[4]的方法,解剖取各个时期的 MO。

1.2 甲基法尼酯合成速率的离体测定方法

本测定方法根据文献^[8]的方法加以改进。具体步骤是将解剖好的 MO 放入含有³H-甲硫氨酸(³H-Met)的培养管中(每管含 TC199 培养基 100 μ L),放入恒温培养箱中,30 $^{\circ}$ C 闭光培养 3h。用大头针将 MO 从培养管中挑出,向培养管中加入 300 μ L 异辛烷,振荡,3 000r \cdot min⁻¹离心 10min。取出上清液有机相 200 μ L,于塑料离心管中。向每个塑料离心管中加入 1mL 闪烁液。在贝克曼 LS 6500 型液闪仪上读数,计算测定结果。

1.3 数据处理

采用 Student's t-检验、方差分析和多重比较进行实验数据处理。

2 结果

2.1 克氏原螯虾左、右侧 MO 中 MF 合成速率的比较

2.1.1 雄螯虾

根据精巢发育程度的不同,将雄螯虾分为发育前期和发育期两组分别进行左侧和右侧 MO 中 MF 合成速率的测定。其中发育前期的雄螯虾精巢直径约为 1mm,体长范围在 8.7~9.8cm 之间,体重范围在 36~53g 之间(为第一次繁殖后的隔年个体,因此体重较大);发育期的雄螯虾精巢直径约为 2.0~2.5cm,体长范围在 8.0~9.1cm 之间,体重范围在 28~40g 之间。结果发现,发育前期的雄螯虾左侧和右侧 MO 中 MF 的合成速率稍有差异,而发育期的雄螯虾左侧和右侧 MO 中 MF 的合成速率较接近。在两个时期中,左、右侧 MO 中 MF 合成速率之间的差异均不显著 ($P > 0.05$)。并且,发育期雄螯虾 MF 的合成速率较发育前期大。取两个不同发育时期的左、右侧 MO 的 MF 合成速率分别进行比较,结果两者之间都有显著性差异 ($P < 0.05$)(表 1)。

表 1 不同发育时期雄克氏原螯虾左、右侧 MO 中 MF 的合成速率

Fig.1 MF synthetic rates from paired MOs at different developing stages of tests in male *P. clarkii*

	发育前期		发育期	
	左侧	右侧	左侧	右侧
MF 合成速率 (pmol \cdot h ⁻¹ \cdot 个 ⁻¹)	5.35 \pm 1.75(6)*	4.55 \pm 3.05(6)*	10.65 \pm 5.34(12)*	10.76 \pm 5.98(12)*

注:括号中的数字表示样本个数(n),以下相同。

2.1.2 雌螯虾

实验中取性腺处于卵黄发生前期的克氏原螯虾 MO, 分别测定左、右侧 MO 中 MF 的合成速率。卵黄发生前期的克氏原螯虾体长范围在 9.2~9.8cm, 体重范围在 30.88~41.78g, 平均成熟系数(gonadosomatic index, GSI)为 $0.15 \pm 0.10\%$, 卵巢为均匀较小的卵粒。结果表明, 雌螯虾左、右侧 MO 中 MF 的合成速率较接近, 两者无显著性差异 ($P > 0.05$) (表 2)。

2.2 雌、雄克氏原螯虾 MO 中 MF 合成速率的比较

取性腺处于发育期的雄螯虾和卵黄发生期的雌螯虾的 MO, 进行离体 MF 合成速率测定, 实验中取一对 MO 放入每支培养管进行测定。结果发现, 性腺处于发育阶段的雄螯虾的 MF 合成速率比雌螯虾大, 两者有极显著差异 ($P < 0.01$) (表 3)。

2.3 不同发育时期 MF 合成速率的变化

分别取卵巢处于卵黄发生前期、初级卵黄发生期、次级卵黄发生期、成熟期、恢复期五个不同发育时期的雌性克氏原螯虾 MO, 测定了 MF 的合成速率, 各个时期的 MF 合成速率的变化见图 1。从图中可以看出, 在卵巢发育周期中, MO 合成速率呈周期性变化。卵巢发育各个时期中 MF 合成速率依次为: 次级卵黄发生期 > 初级卵黄发生期 > 成熟期 > 卵黄发生前期 > 恢复期。其中次级卵黄发生期的 MF 合成速率最高, 恢复期的 MF 合成速率最低。

经方差分析, 各个发育时期之间有显著性差异 ($P < 0.05$)。并且, 次级卵黄发生期和初级卵黄发生期的 MF 合成速率与其他各时期之间的差异极显著 ($P < 0.01$)。

从图中还可以看出, MF 的合成速率与成熟系数(GSI)各自的峰值出现在不同的时期, MF 合成速率的最大值出现在次级卵黄发生期, 而 GSI 的最大值出现在成熟期。

3 讨论

本实验是国内首次对十足目甲壳动物的离体 MO 进行 MF 合成速率的研究, 利用放射化学方法对克氏原螯虾的 MO 进行体外培养测定 MF 的合成速率。目前, 已证明有多种十足目动物的 MO 可以合成 MF^[3,6,8,9]。本研究证明, 同一尾克氏原螯虾左、右侧 MO 中 MF 的合成速率差异均不显著, 说明克氏原螯虾的 MO 在合成和分泌 MF 的功能上并无明显差异。这与 Laufer 等^[10]在对幼尖头蟹 (*Libinia emarginata*) MO 的研究中, 发现不论是去眼柄或不去眼柄, 同一个体的一对 MO 合成 MF 的速率无显著差异的结果相类似。本实验中, 性腺发育程度相当的雄螯虾 MF 合成速率比雌螯虾高, 两者存在极显著

表 2 雌克氏原螯虾左、右侧 MO 中 MF 的合成速率

Fig.1 MF synthetic rates from paired MOs in female *P. clarkii*

	左侧	右侧
MF 合成速率 ($\text{pmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{个}^{-1}$)	$4.42 \pm 3.20(5)^*$	$4.87 \pm 4.83(5)^*$

注: 同上。

表 3 雌、雄克氏原螯虾 MF 合成速率的比较

Tab.3 Comparison of MF synthetic rates in male and female *P. clarkii*

性别	n	MF 合成速率($\text{pmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{个}^{-1}$)	性腺状况
雌	26	7.10 ± 3.64	初级卵黄发生期
雄	12	10.71 ± 4.92	发育期

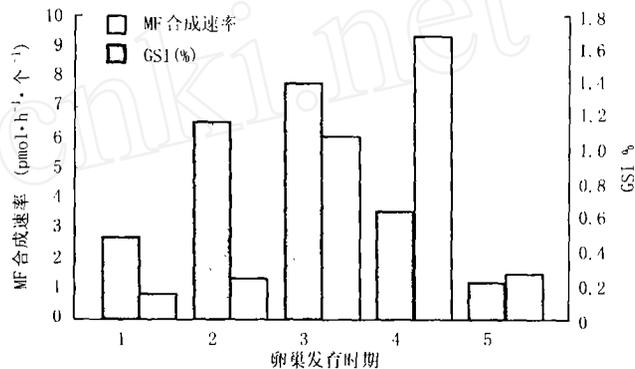


图 1 不同卵巢发育时期雌螯虾 MO 中 MF 合成速率的变化

Fig.1 Changes of synthetic rates of MF by MOs at different developing stages of ovary in female *P. clarkii*

1. 卵黄发生前期 MF: $2.71 \pm 2.32(17)$, GSI: $0.15 \pm 0.10(17)$;
2. 初级卵黄发生期 MF: $6.50 \pm 3.52(14)$, GSI: $0.24 \pm 0.14(14)$;
3. 次级卵黄发生期 MF: $7.79 \pm 3.81(12)$, GSI: $1.08 \pm 1.24(12)$;
4. 成熟期 MF: $3.57 \pm 1.70(5)$, GSI: $1.67 \pm 1.10(5)$;
5. 恢复期 MF: $1.23 \pm 0.56(5)$, GSI: $0.27 \pm 0.14(5)$;

性差异($P < 0.01$)。Laufer 等同样也发现雄性尖头蟹血淋巴中 MF 的含量比雌蟹高,雄蟹为 $24\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$,雌蟹为 $11\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ^[3],说明甲壳动物雌、雄个体 MO 合成 MF 的能力存在差异。

本实验证实,在克氏原螯虾的卵巢发育周期中,MO 的 MF 合成速率呈现周期性变化,随着卵巢的发育,MO 合成的 MF 逐渐增多。赵维信和李胜^[11]发现卵黄发生期的克氏原螯虾 MO 提取物对卵母细胞直径增大和卵巢总 RNA 含量增多的作用最显著。离体培养罗氏沼虾卵黄发生前的卵巢,MF 能促进卵巢总蛋白的合成;同时,MF 还能促进卵巢总 DNA 和总 RNA 的合成^[5]。说明 MF 的合成与雌性甲壳动物的卵巢发育有密切关系。在本实验中,次级卵黄发生期的 MF 合成速率在各个发育时期中最高;至成熟期,MF 的合成速率有所下降,这与 Laufer 等^[3]对雌性尖头蟹 MO 离体分泌 MF 含量的研究结果相吻合,Laufer 等^[3]发现 MO 分泌的 MF 含量在卵黄发生时最高,并在卵巢完全发育后降低。李胜和赵维信^[7]在对克氏原螯虾 MO 的研究中发现在卵巢发育周期中,MO 的组织结构呈现周期性变化,次级卵黄发生期的大颚器细胞直径最大,而成熟期的大颚器细胞直径减小。因此,从 MO 组织学也证明,次级卵黄发生期的 MO 细胞发育最完善。由此表明,克氏原螯虾的 MO 合成与分泌 MF 的活动主要与卵黄发生有关,与昆虫的 JH 类似,甲壳动物通过 MO 合成和分泌 MF 对生殖进行调控。

参考文献:

- [1] LeRoux A. Description d'organes mandibulaires nouveaux chez les Crustacés Décapodes[J]. C R Hebd Acad Sci Ser D Sci Nat, 1968, 266: 1414 - 1417.
- [2] Byard E H, Shivers R R. The mandibular organ of the lobster, *Homarus americanus*[J]. Cell Tiss Res, 1975, 162: 13 - 22.
- [3] Laufer H, Borst D, Baker F C, et al. Identification of a juvenile hormone-like compound in a crustacean[J]. Science, 1987, 235: 202 - 205.
- [4] 赵维信,李 胜. 克氏原螯虾大颚器的超微结构研究[J]. 水产学报, 1998, 22(4): 303 - 308.
- [5] Soroka Y, Milner Y, Laufer H, et al. A protein synthesis in the ovary of *Macrobrachium rosenbergii* during the reproductive cycle: Effects of methyl farnesoate (MF)[J]. Am Zool, 1993, 33: 123A.
- [6] Laufer H, Sagi A, Ahl J S, et al. Methyl farnesoate appears to be a crustacean reproductive hormone [J]. Invertebr Reprod Dev, 1992, 22(1-3): 17 - 20.
- [7] 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.
- [8] Tobe S S, Young D A, Khoo H W. Production of methyl farnesoate by the mandibular organs of the mud crab, *Scylla serrata*: Validation of a radiochemical assay[J]. Gen Comp Endocrinol, 1989, 73(3): 342 - 353.
- [9] Borst D W, Laufer H, Landau M, et al. Methyl farnesoate and its role in crustacean reproduction and development[J]. Insect Biochem, 1987, 17: 1123 - 1127.
- [10] Laufer H, Landau M, Homola E, et al. Methyl farnesoate: Its site of synthesis and regulation of secretion in a juvenile crustacean[J]. Insect Biochem, 1987, 17: 1129 - 1131.
- [11] 赵维信,李 胜. 克氏原螯虾大颚器对卵巢发育的影响[J]. 水产学报, 1999, 23(3): 229 - 233.