

中华绒螯蟹胸神经团神经分泌细胞的 显微和超显微结构观察

袁春营 崔青曼 韩青动

(河北农业大学水产学院 秦皇岛 066003)

摘要:应用光学显微镜和电子显微镜技术,研究了中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)胸神经团的神经分泌细胞,描述了其显微和超显微结构。依据细胞形态、细胞核、内分泌颗粒和细胞质的特征将胸神经团神经分泌细胞分为3种类型:I型细胞最大,胞质中存在许多大小不同的空泡,分泌颗粒数量很少;II型细胞中等大小,细胞器发达,分泌颗粒数量较多,形态多样;III型细胞最小,分泌颗粒数量最多,细胞器很少。

关键词:中华绒螯蟹,胸神经团,神经分泌细胞,显微结构,超微结构

中图分类号:Q954 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2006)03-75-05

Microstructure and Ultrastructure of Neurosecretory Cells in the Thoracic Nerve Regiment of *Eriocheir sinensis*

YUAN Chun-Ying CUI Qing-Man HAN Qing-Dong

(College of Fisheries, Agricultural University of Hebei, Qinhuangdao 066003, China)

Abstract: Neurosecretory cells in the thoracic nerve regiment of *Eriocheir sinensis* were investigated with light microscopy and electron microscopy. According to the cell shapes and the features of nucleus, secretory granules and cytoplasm, the neurosecretory cells in the thoracic nerve regiment were divided into three types: type I cells are 50–145 μm in diameter with many vacuoles and few neurosecretory granules; type II cells are 27–53 μm in diameter with many developed organelle and various neurosecretory granules; and type III cells are 7–19 μm in diameter with few organelle and abundant neurosecretory granules.

Key words: *Eriocheir sinensis*; Thoracic nerve regiment; Neurosecretory cells; Microstructure; Ultrastructure

解剖学研究表明,十足目甲壳动物腹神经链的演化按照对虾类(Penaeidea)、真虾类(Caridea)、长尾类(Macrura)、异尾类(Anomura)和短尾类(Brachyura)等分类阶元而发展,短尾类为十足目的高级阶元,其腹神经链的各个神经节高度愈合,成为胸神经团^[1]。实验学研究证实,甲壳动物的胸神经团能够合成性腺刺激激素(gonad-stimulating hormone, GSH),促进性腺发育,是一个重要的神经分泌器官^[2],已有一些关于甲壳动物胸神经节或胸神经团的研究报道^[3~8]。中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)又名河蟹、大闸蟹、螃蟹、毛蟹,分类学上隶属于节肢动

物门、甲壳纲、十足目、方蟹科、弓腿蟹亚科、绒螯蟹属,为我国重要的经济蟹类,众多学者对其生殖生物学、细胞遗传学等方面进行过较系统的研究,为开展和推动该品种的养殖生产提供了宝贵的基础资料。关于神经器官特别是神经分泌细胞的研究主要集中在眼柄视神经节上^[9,10],未见关于胸神经团神经分泌细胞(NSC)研究的

基金项目 河北省教委资助项目(No.2004319);

第一作者介绍 袁春营,男,副教授,研究方向:水产动物增殖;E-mail:ycqm80@163.com。

收稿日期:2005-11-07,修回日期:2006-03-02

报道,本研究旨在丰富这方面的研究内容。

1 材料与方法

实验材料为中华绒螯蟹雌蟹,共计 4 只,体重 67~92.5 g,性腺系数 0.75%~1.75%,实验时间 2005 年 9 月。将蟹杀死,迅速取出胸神经团,根据实验要求,分别固定。组织学材料用 Bouin's 液固定,常规石蜡切片(切片厚 5~7 μm),苏木精-伊红染色^[11],Olympus 显微镜摄影,显微镜下用目测微尺测量各神经分泌细胞的长径和短径,细胞大小(长径+短径)/2 计算,每类细胞测量 30 个。电镜材料经戊二醛、锇酸双重固定、系列酒精和丙酮脱水、Epon 812 环氧树脂包埋、醋酸铀-柠檬酸铅染色等过程后,在电镜 JEM-100CX 下观察和拍照。

2 结果

2.1 河蟹胸神经团的形态 河蟹的神经系统与其他短尾类甲壳动物一样,为节索形,神经节高度相互愈合。胸神经团呈圆盘状,左右互为镜像,由食道下神经节、胸神经节以及腹神经节全部愈合而成,组织学观察中三者不易区分。胸神经团发出多对神经,除分布在头胸部及腹肢外,还从后端中央发出一条较粗的神经^[12](图 1 a)。

2.2 河蟹神经分泌细胞的显微结构 神经分

泌细胞多呈圆形或卵圆形,大小不一(图 1 b)。细胞膜薄,细胞质中有许多染色较深的细小颗粒状物质,呈弥散状分布,近核膜处分布致密,略成黑色的小块状结构。胞核为圆形或长椭圆形,核膜较薄。

2.3 河蟹神经分泌细胞的超微结构 神经分泌细胞的膜起伏不平,由典型的单位膜构成,内外两层着色较深,中间层着色较浅。细胞质内含有线粒体、高尔基体、内质网等细胞器。线粒体呈圆形或椭圆形,直径 350~1 600 nm,其中平行排列的嵴,把线粒体基质分成许多管状的嵴间腔,有些线粒体的嵴向对侧延伸而形成全嵴(图版 I:1)。高尔基体发达,呈较长的片层结构,由扁平囊和囊泡组成,囊泡面靠近细胞核(图版 I:2)。内质网呈环形,大多分布在核之周围,且其池界膜的外表面有大量的核糖体(图版 I:3)。溶酶体圆形,数量不定,微体极少,在近细胞膜下可见小束的微管。细胞质内还分布着大量电子致密度较高的颗粒,一般为圆形、卵圆形,少数哑铃形和泪滴形,个别颗粒有缺角(图版 I:4)。除此以外,在细胞质内还有许多液泡状结构,呈圆形或椭圆形。神经分泌细胞核圆形或卵圆形,核膜疏松具双层膜结构,核内染色质呈不连续状分布在核膜之内侧,部分染色质边缘化分布。电子致密度较高的核仁是由许多小颗粒聚集而成(图版 I:5、6)。

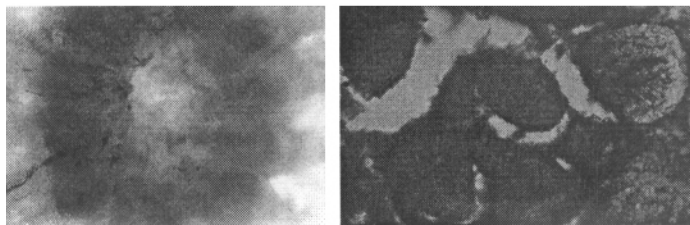


图 1 河蟹胸神经团的形态和神经分泌细胞的组织结构 $\times 400$

a 河蟹胸神经团; b 神经分泌细胞的组织结构。

2.4 神经分泌细胞分类 依据细胞形态、大小和分泌颗粒的特点,可将中华绒螯蟹胸神经团 NSC 分为 3 种类型,分别称为 I 型细胞、II 型细胞和 III 型细胞。

I 型细胞: 近圆形或梨形,直径 50~145 μm 。胞核卵圆形,少量异染色质分布在核膜附近。分泌颗粒椭圆形,直径为 300~500 nm,位于细胞的一侧,数量较少,颗粒电子密度较低,

包被疏松。该型细胞各种细胞器一般为均匀分布,胞质中存在许多大小不同的空泡(图版 I:7)。

II型细胞:卵圆形,直径 $27 \sim 53 \mu\text{m}$ 。胞核卵圆形,核膜较光滑。分泌颗粒较多,形态多样,绕核分布,直径为 $300 \sim 1400 \text{ nm}$ 。颗粒形状一般为圆形、卵圆形,少数呈哑铃形和泪滴形,个别颗粒有缺角。多数颗粒包被紧密,电子密度高,可见粒芯和晕轮,少数颗粒没有被膜。该型细胞胞质丰富,线粒体呈圆形或椭圆形,绕核分布,内质网和高尔基体易见(图版 I:8)。

III型细胞:卵圆形或多边形,直径 $7 \sim 19 \mu\text{m}$ 。核膜起伏不平,有时核外膜膨大,形成膜下囊泡。分泌颗粒圆形或椭圆形,直径 $400 \sim 1500 \text{ nm}$ 。颗粒有膜,包被紧密,少数颗粒囊泡状,有粒芯,该型细胞分泌颗粒最为丰富,遍布胞质,细胞器数量少,极少数细胞未见明显细胞核,常见该型细胞紧密相邻,胞质内陷(图版 I:9)。

3 讨论

甲壳动物脑或胸神经节可促进卵巢成熟,其神经分泌细胞在卵巢成熟期明显活跃,因此认为脑或胸神经节分泌性腺刺激激素(gonad-stimulating hormone GSH),对卵巢起刺激作用^[13];Otsu^[14]首次报道溪蟹(*Potamon magnum magnum*)的胸神经团具有GSH,此后又证实了GSH对性腺的促进作用和脑、胸神经节是GSH释放的来源^[15,16]。有关甲壳动物的神经分泌细胞,已有一些研究。锯缘青蟹(*Scylla serrata*)和日本绒螯蟹(*Eriocheir japonicus*)胸神经团均具有3种类型NSC,而后者大型NSC直径 $80 \sim 120 \mu\text{m}$,形态特征与青蟹I型细胞相似^[7,17];无色相手蟹(*Sesarma*)仅见1种直径约 $60 \mu\text{m}$ 的大型NSC^[18]。溪蟹胸神经节有4种类型神经分泌细胞A、A'、B和C,进一步的研究发现B细胞有两种类型即B和B',区别在于有无轴突^[3];Rashan^[4]对成体和幼体溪蟹胸神经节巨大神经分泌细胞进行了组织化学研究,细胞分泌物主要为蛋白类物质,包括相当数量的酸性粘物质、

硫酸酯、脂肪和少量碳水化合物,但没有糖原。成体神经分泌物含有适度的巯基类及极少二硫键,没有观察到酪氨酸,神经分泌颗粒与胞质RNA的数量紧密相关,一般来说分泌活动最强在夏季和冬季,招潮蟹(*Uca pugilator*)胸神经节神经分泌细胞分为4种类型,即A、B、C、D。神经分泌细胞的数量、分泌活性随着季节的变化而变化,推测与个体大小的增长、生殖及相关结构的发育有关^[6]。本实验经显微和超显微观察,将中华绒螯蟹胸神经团神经分泌细胞分为3种类型,NSC的形态与锯缘青蟹相似。同时实验中观察到脑神经分泌细胞和胸神经团神经分泌细胞形态结构及分类很相似,但脑神经分泌细胞的数目要比胸神经团多些,是不是意味着其分泌的促性腺激素的量会大些,有待进一步研究。此外日本绒螯蟹胸神经团的NSC分泌产物释放后,直接进入周围的毛细血管,而中华绒螯蟹胸神经团的分泌产物是通过轴突末梢释放还是从胞体直接释放有待进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] 陈宽智. 东方对虾 *Penaeus orientalis* 和三疣梭子蟹 *Portunus trituberculatus* 中枢神经系统解剖及十足目动物腹神经的形态比较. 山东海洋学院学报, 1980, 10(3): 91~99.
- [2] Fingerman M. Crustacean endocrinology: a retrospective, prospective and introspective analysis. *Physiological Zoology*, 1997, 70(3): 257~269.
- [3] Gorgees N S, Rashan L J. Further observations on the B-type neurosecretory cells in the thoracic ganglion of the crab, *Potamon magnum magnum* (Pretzman). *Z Mikrosk Anat Forsch*, 1976, 90(5): 959~967.
- [4] Rashan L J, Gorgees N S. Histochemical observations on the giant neurosecretory cells of the thoracic ganglion of the adult and juvenile crabs, *Potamon magnum magnum* (Pretzman). *Acta Biol Acad Sci Hung*, 1977, 28(3): 299~310.
- [5] Joshi P C, Khanna S S. Neurosecretory system of the thoracic ganglion and its relation to testicular maturation of the crab, *Potamon kooloense* (Rathbun). *Z Mikrosk Anat Forsch*, 1984, 98(3): 429~442.
- [6] Jadhav S, Ragunathan M G, Deecaraman M. Changes in the neurosecretory cells of the brain and thoracic ganglion of male crab, *Uca (celuca) lactea annulipes* with respect to seasons. *J*

- Environ Biol* 2001 **22**(4) 311 ~ 314.
- [7] 叶海辉 李少菁 金朱兴等. 锯缘青蟹胸神经团的组织学观察. 厦门大学学报 2002 **40**(4) 6 ~ 8.
- [8] 黄辉洋 叶海辉 李少菁等. 锯缘青蟹胸神经团的免疫细胞化学定位研究. 海洋科学 2003 **27**(3) 77 ~ 80.
- [9] 孙金生. 中华绒螯蟹眼柄神经内分泌细胞胞吐分泌活动的实时监测. 海洋与湖沼 2003 **34**(5) 552 ~ 557.
- [10] 邱高峰. 中华绒螯蟹眼柄神经内分泌系统的组织学研究. 上海水产大学学报 1999 **8**(3) 237 ~ 241.
- [11] 芮菊生 杜懋琴 陈海明等. 组织切片技术. 北京: 人民教育出版社 1980 98 ~ 107.
- [12] 堵南山. 甲壳动物学(下册). 北京: 科学出版社 1993, 708 ~ 712.
- [13] 陆剑锋 赵维信. 十足目甲壳动物生殖激素对卵巢的作用及其调控. 上海水产大学学报 2001 **10**(2) 166 ~ 170.
- [14] Ostu T. Biohormonal control of sexual cycle in the freshwater crab, *Potamon dehaani*. *Embryologia* 1963 **8**: 1 ~ 20.
- [15] Eastmanreks S, Fingerman M. Effects of neuroendocrine tissue and cyclic AMP on ovarian growth *in vivo* and *in vitro* in the fiddler crab, *Uca pugilator*. *Comp Biochem Physiol* 1984, **79A** 679 ~ 684.
- [16] Kulkarni G K, Glade L, Fingerman M. Oogenesis and effects of neuroendocrine tissue on *in vitro* synthesis of protein by the ovary of the red swamp crayfish, *Procambarus clarkia* (Girard). *J Crust Biol* 1991 **11** 513 ~ 522.
- [17] Matsumoto K. Neurosecretion the thoracic ganglion of the crab *Eriocheir japonicus*. *Biol Bull* 1954 **106** 60 ~ 68.
- [18] Enami M. The sources and activities of two chromatophorotropic hormones in crabs of the genus *Sesarma*. II Histology of incretory elements. *Biol Bull* 1995 **101**(3) 241 ~ 258.

图版说明

1. 神经分泌细胞线粒体(箭头所示) × 30 000; 2. 神经分泌细胞高尔基体(箭头所示) × 20 000; 3. 神经分泌细胞内质网(箭头所示) × 30 000; 4. 神经分泌颗粒(箭头所示) × 10 000; 5. 神经分泌细胞核 × 8 000; 6. 神经分泌细胞核 × 20 000; 7. I 型细胞 × 3 000; 8. II 型细胞 × 5 000; 9. III 型细胞 × 6 000.

Explanation of Plate

1. Mitochondria in neurosecretory cells(arrow) × 32 000; 2. Golgi body in neurosecretory cells(arrow) × 22 500; 3. Endoplasmic reticulum in neurosecretory cells(arrow) × 30 000; 4. Neurosecretory granule(arrow) × 10 000; 5. Neurosecretory karyon × 8 000; 6. Neurosecretory karyon × 20 000; 6. Type I cell × 3000; 7. Type II cell × 5 000; 8. Type III cell × 6 000.

袁春营等 :中华绒螯蟹胸神经团神经分泌细胞的显微和超显微结构观察

图版 I

YUAN Chun-Ying *et al.* :Microstructure and Ultrastructure of Neurosecretory Cells
in the Thoracic Nerve Regiment of *Eriocheir sinensis*

Plate I

