

甲壳动物卵黄发生及其激素调控研究进展

Advances in the study on vitellogenesis and its hormonal control in crustacea

穆淑梅, 康现江, 牛建章, 郭明申

(河北大学 生命科学学院 河北 保定 071002)

中图分类号: Q959. 223 文献标识码: A 文章编号: 1000- 3096(2004) 06- 0066- 05

1 卵黄发生

卵黄发生是指各种卵黄物质(蛋白质、脂类、碳水化合物等)的形成及其在卵母细胞中的积累,是卵母细胞发育成熟的必要前提^[1],也是雌性甲壳动物生殖周期的决定性时期,它以血淋巴中卵黄蛋白原浓度的大量增加和卵巢的发育为特征^[2]。目前,甲壳动物卵黄发生的研究绝大多数集中在卵黄蛋白的产生和积累上。

1.1 卵黄蛋白原

动物的卵黄根据来源不同可分为内源性卵黄和外源性卵黄两种^[3]。Hinsch 和 Cone^[4]通过对蜘蛛蟹(*Libinia emarginata*)卵黄发生的超微研究揭示出甲壳动物的卵黄具有双重来源。随后,学者们对不同甲壳动物的卵黄来源进行了研究,得出了同样的结论,并且把卵母细胞内合成卵黄物质的过程称为初级卵黄发生,把胞饮方式形成卵黄物质的过程称为次级卵黄发生。来自胞饮的卵黄物质被认为是卵黄蛋白原(Vitellogenin, Vg),是卵黄磷蛋白(Vitellin, Vn)的前体物^[4],与其有着相似的细胞化学特性和免疫原性。

关于Vg的合成部位,是学者们研究的重点,其焦点主要集中在肝胰腺、脂肪组织和卵巢上^[5]。Picaud和Souty认为鼠妇(*Porcellio dilatatus*)的肝胰腺和(或)脂肪组织是其合成场所^[4]。Soroka等^[6]对罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)次级卵黄发生期的肝胰腺和卵巢进行离体培养发现,肝胰腺有合成作用,而卵巢未见有合成。用相似的方法,Pateraki等^[2]研究陆蟹(*Potamon potamios*),Quackenbush^[5]研究南美白对虾(*Penaeus vannamei*)发现它们的卵巢和肝胰腺均有合成功能。Craisille和Junera用放射自显影法研究发现

跳钩虾属的*Orchestia gammarellus*,其皮下脂肪组织有Vg的合成,同时认为卵巢组织无Vg的合成作用。随后,又有学者发现短沟对虾(*Penaeus semisulcatus*)的皮下脂肪组织,日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)的皮下组织有Vg的合成^[6]。

外源的Vg通过血淋巴进入卵巢,很可能这一蛋白的功能之一就是运输脂类到卵巢中。比如Yehzekel等^[7]研究红螯螯虾(*Cherax quadricarinatus*)指出,一种仅在次级卵黄发生期出现的雌性特异高密度脂蛋白LP II(认为它可以作为监控生殖过程的标志,可能就是卵黄蛋白原,它在470nm处有吸收峰,说明含有类胡萝卜素辅基),可以单独或同LP I(一种在雌雄个体血淋巴中均有存在的高密度脂蛋白)一起负责将一些主要的脂类和(或)类胡萝卜素运进卵巢。然而,卵母细胞膜上Vg特异受体的存在使得Vg也可以直接融入卵母细胞中,成永旭等^[8]在研究锯缘青蟹时证实了这一点。

1.2 卵黄磷蛋白

卵黄磷蛋白,又叫做卵黄脂磷蛋白,存在于卵巢及胚胎,作为卵黄蛋白的主要成分,其合成与生化特性得到了广泛研究。Chang等^[9]分别对斑节对虾(*Penaeus monodon*)、罗氏沼虾、中国对虾(*Penaeus chi-*

收稿日期: 2002- 11- 19; 修回日期: 2003- 03- 08

河北省教委基金 97120, 河北省自然科学基金 303118 号

作者简介: 穆淑梅(1972-), 女, 河北保定人, 硕士研究生, 主要研究方向: 生殖生物学, 电话: 0312- 5079594; 康现江, 通讯作者, E-mail: xjk169@hotmail.com

nensis) 的卵黄磷蛋白作了提纯和生化鉴定, 发现它是一种雌性特异的高密度脂蛋白 (HDL), 并含有糖和类胡萝卜素辅基。Komatsu^[10] 的研究结果表明, 类胡萝卜素的的存在可以影响卵黄磷蛋白的颜色。Oberdister 等^[11] 从反面印证了 Vn 是一种脂蛋白, 他们让短刀小长臂虾 (*Palaemonetes pugio*) 的雌性个体与多环芳烃——芘 (一类亲脂性的有机物) 接触, 发现胚胎的死亡率有所上升, 说明 Vn 可以结合亲脂性的致污物, 并能将它们传递给发育的胚胎, 这也从另一个侧面证明了卵黄蛋白的是胚胎发育的营养源。Courcelles 和 Kondo^[12] 研究卤虫 (*Artemia salina*) 的 Vn, 发现其中的结合糖主要是甘露糖, 其余为半乳糖胺、半乳糖、葡萄糖胺等; 脂类组分则包括磷脂 (主要是卵磷脂、脑磷脂和磷脂酰丝氨酸) 和中性脂 (主要是甘油三酯和胆固醇)。Fyffe 和 O' Connor^[13] 研究原螯虾 (*Procambarus sp.*) 的 Vn 氨基酸组成, 表明非极性残基较极性残基占优势, 并显示出 pH 依赖的可逆的光谱移动现象。甲壳动物 Vn 的相对分子量在 240 ku~800 ku 之间, 由 2~ 11 个亚基组成^[14]。比如斑节对虾的 Vn 分子量为 492 ku, 8 个亚基^[15]; 中国对虾 380 ku, 5 个亚基^[15]; 陆蟹 510 ku, 3 个亚基^[12]。

1.3 卵黄中的脂类物质

卵黄中的脂类物质主要是磷脂 (脑磷脂和卵磷脂) 和中性脂 (甘油三酯和胆固醇)。磷脂主要存在于卵黄体中 (卵黄体的另一主要组分就是卵黄磷蛋白), 中性脂则以脂肪滴的形式存在于卵黄物质中^[3]。

堵南山指出合成脂类的物质来自外界食物。中性脂 (脂肪滴) 可能由肝胰腺的 R- 细胞吸收脂肪物质, 再经线粒体和内质网加工而成^[3]; 磷脂则不同, 卵黄发生初期, 磷脂成分可能主要源于自身肝胰腺吸收的外源脂肪物质, 而卵黄发生旺期, 磷脂成分则主要由外源性磷脂而来^[16]。

卵黄发生期, 不同的种类其营养、生活习性、生殖习性不同, 卵巢和肝胰腺的总脂含量的变化以及二者之间的相关性也有不同^[16]。比如, 中华绒螯蟹在这一阶段伴随着卵巢脂类的显著增加, 肝胰腺脂类显著下降, 因此, 雌蟹未成熟时, 卵巢轻于肝胰腺, 一旦成熟, 卵巢就会比肝胰腺重 2~ 3 倍, 就是说, 随着卵黄形成的结束和卵子的成熟, 肝胰腺所储存的脂类已大部分转入卵巢内^[3]。锯缘青蟹 (*Scylla serrata*) 则与此不同, 尽管在卵黄发生阶段卵巢的脂类含量显著增加, 肝胰腺的脂肪含量却未见有显著变化, 说明肝胰腺在这一阶段, 对外源脂类是边吸收, 边合成, 边转移至发育的

卵巢^[16]。而成熟卵子中脂肪酸的组成和利用可能也和物种的栖息环境及早期生活史有关^[17]。

1.4 卵黄中的糖类物质

糖类物质主要是中性粘多糖, 有报道说 1, 2- 乙二醇多糖或糖元在甲壳动物卵母细胞中存在^[4], 而且糖类的出现是在滤泡细胞形成之后, 并由细胞边缘向细胞质中央推进, 直至整个细胞质, 说明滤泡细胞具有向卵母细胞提供糖或构成糖类物质的功能^[18, 19]。Erribabu 等^[4] 认为卵母细胞发育早期多糖和脂类一样以自由状态存在, 随后再与蛋白质形成复合体。

2 激素的调控

2.1 多肽激素

现已知与甲壳动物生殖有关的两种肽类激素, 一种是由甲壳动物眼柄中的 X 器官- 鼻窦复合体合成分泌的性腺抑制激素 (gonad- inhibiting hormone, GIH), 一种是脑和胸神经节分泌的性腺刺激激素 (gonad- stimulating hormone, GSH)。GIH 和 GSH 共同作用于卵巢, 调节其发育。由于 GIH 在雌性动物体内具有抑制卵黄发生的作用, 所以也称它为卵黄发生抑制激素 (vitellogenesis- inhibiting hormone, VIH)。林远声等^[20] 以罗氏沼虾眼柄粗提液的不同浓度梯度对日本沼虾和罗氏沼虾的卵母细胞进行离体培养, 发现无论哪个梯度都对它们的卵母细胞发育有抑制作用, 且浓度越高, 作用越明显, 这与赵维信等^[21] 发现罗氏沼虾眼柄粗提液对卵巢发育的抑制作用相一致。Pateraki 等^[2] 研究陆蟹的 Vn 和 Vg 的合成时指出切除卵黄发生前期成体雌蟹的眼柄, 15~ 17 d 后即在其血淋巴中发现了卵黄蛋白原的存在, 说明切除眼柄可促进该蛋白的合成。切除眼柄消除了 GIH 的抑制作用, 从而促进卵黄的发生。这与 Quackenbush 的研究相一致, 他发现切除范氏对虾单侧眼柄后, 在最初的 7~ 14 d 中, 卵巢和肝胰腺中卵黄蛋白的合成迅速增加。不同的是, 他还观察到 21 d 后, 两种组织卵黄蛋白的合成活性又恢复到甚至低于手术前水平。推测, 眼柄切除后, 动物体内可能还存在其他的调控方式或者自我平衡系统^[5]。这一点有待深入研究。廖家遗等^[22] 对罗氏沼虾脑抽提液进行了 Sephadex G- 50 柱层析, 发现其脑中存在蛋白质性质的 GSH, 能显著地促进体外培养的罗氏沼虾卵母细胞直径增大, 促进体外培养的罗氏沼虾卵巢的总蛋白合成, 对日本沼虾进行肌肉注射可显著地促进其卵巢发育。

2.2 类萜激素

十足目甲壳动物的大颚器能合成甲基法尼酯 (methyl farnesate, MF) ——一种类似昆虫保幼激素 (juvenile hormone, JH) 的类萜化合物^[21]。JO 等^[23]在研究蜘蛛蟹的 MF 对卵巢成熟的诱导时指出, MF 在一定浓度时引发卵巢发育和卵黄发生, 而且切除眼柄还可以提高其在血淋巴中的浓度, 同时也证实了 X 器官- 鳃腺复合体能合成分泌大颚器抑制激素 (mandibular- organ inhibiting hormone, MOIH)。赵维信和李胜^[24]通过埋植和离体方法研究了克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 的大颚器对卵巢发育的作用。发现埋植大颚器 7 次可显著提高成熟系数和促进卵径增大; 处于卵黄发生期的大颚器提取物 (MOE) 对初级和次级卵黄发生期卵径增大均有极显著影响; 处于卵黄发生前期、卵黄发生期和恢复期卵巢的 MOE 对卵黄发生期卵巢小块的总含量升高均有极显著作用, 说明大颚器的功能性物质具有促进卵母细胞发育和卵黄发生的作用。

2.3 类固醇激素

蔡生力等^[25]首次证实了孕酮和雌二醇这两种类固醇激素在中国对虾体内的存在。性腺未发育阶段, 肝胰腺、卵巢、血淋巴中两种激素含量均很低; 卵黄发生前期, 卵巢的雌二醇含量达到高峰; 初级卵黄发生阶段, 卵巢孕酮含量达高峰; 次级卵黄发生阶段, 两种激素含量迅速下降, 显示孕酮和雌二醇可能具有刺激和调控中国对虾性腺发育的作用。赵维信等^[26]采用放射免疫测定法, 研究克氏原螯虾卵黄发生过程中卵巢和大颚器的孕酮含量变化时发现, 次级卵黄发生早期的卵巢孕酮含量最高, 卵黄发生前期次之, 次级卵黄发生中期卵巢孕酮含量显著降低, 产卵后的卵巢已检测不到孕酮含量, 推测孕酮与卵黄发生的启动有关。蔡生力、杨丛海^[27]用 100 ng/g 浓度的 17 α - 羟孕酮对中国对虾进行体外注射, 追踪 20 d, 发现对其卵巢的发育有明显的刺激作用。然而 Tsukimura 等^[14]的研究结果显示, 注射孕酮、17 α - 羟孕酮和 17 β - 雌二醇 7 d 后检测锐脊单肢虾 (*Sicyonia ingentis*) 的血淋巴, 发现对其中的卵黄蛋白原水平并无显著影响, 推测这些激素的促进功能或许还需要更长的时间才能显现出来。

Oberlander 等^[11]的实验在前人的基础上证实了蜕皮固醇对卵黄发生的调控作用。多环芳烃 (PAHs) 可以改变蜕皮固醇的基因表达和细胞增殖, 他们发现雌性短刀小长臂虾与芘 (典型的多环芳烃) 接触后, V_n

含量增加, 说明蜕皮固醇的作用是一种正效应。

2.4 其他激素

蔡生力、杨丛海^[27]用 100 ng/g 浓度的 5- 羟色胺注射中国对虾, 20 d 后, 发现其卵巢的性腺指数 (GSI) 比对照组增加了 44.7%, 同时指出, 5- 羟色胺对甲壳动物卵巢发育的作用是间接的。而同浓度的前列腺素的体外注射作用则不明显, 分析可能与注射剂量及试验条件等因素有关。

3 研究方法

研究卵黄发生, 合理的实验设计和适宜方法的选择, 往往是获得预期结果的关键。学者们对甲壳动物的 V_g 和 V_n 的生化特性以及合成部位的研究提供了许多可以借鉴的方法。

3.1 V_n 的提纯

测定 V_n 的分子组成, 一般用 SDS- 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS- PAGE), Tsukimura 等^[14]对此方法进行了一些修改: (1) 电泳前不对蛋白样品进行加热处理; (2) 调整样品缓冲液 pH, 使之高于 7.2 以减少 V_n 的沉淀。SDS- PAGE 后, 可以从凝胶上回收所需蛋白: 卵巢粗提液经 SDS- PAGE 分离后, 考马斯亮蓝染色确定所需的蛋白带, 将其切下, 褪色, 加等体积的 0.01% SDS 匀浆, 使蛋白溶解, 12 h 后离心分离蛋白和凝胶, 凝胶碎片还可以再用同样的方法提取 12 h, 合并上清液, 在真空浓缩器中进行浓缩^[15]。

如果用 V_n 作为抗原来制备抗- V_n 的单克隆抗体, 必须对 V_n 进行提纯。为此, Soroka 等^[6]进行了一连串的提纯操作: 硫酸铵沉淀; 溴化钠密度梯度离心; Sephadex G- 200 凝胶过滤层析; PAGE 分离, 对分离得到的蛋白带进行透析洗脱。

硫酸铵 (SAS) 沉淀法: 卵巢粗提液分别经 25%、40%、50%、60% 的 SAS 沉淀 4 次^[14], 或用 100% SAS 液沉淀 2 次^[15], 然后离心弃上清, 将沉淀溶解并透析除去过量的 SAS, 备用。

3.2 免疫学方法

3.2.1 抗体的制备 以新西兰白兔或瑞典小鼠作为免疫对象来制备抗体。Fyffe 和 O'Connor^[13]进行了如下操作: 免疫当天, 在兔的背部进行多点皮下注射, 注射总剂量为 2.0 mL, 该注射液由 1.0 mL 弗氏佐剂 (Freund's adjuvant) 和 1.0 mL 含有 0.25 mg 纯化 V_n 的 0.9% NaCl 溶液组成; 第 11 d 进行第二次注射, 除 V_n 量增至 0.45 mg 外, 其它与免疫当天相同。Tsukimura 等^[14]在免疫当天注射加有完全弗氏佐剂的

含 500 mg 纯化 Vn 溶液; 8 周后, 以不完全弗氏佐剂代替完全弗氏佐剂加 100 mg Vn 进行加强免疫。Longyant 等^[15]用含 0.5 mg 抗原蛋白的卵巢粗提液与完全弗氏佐剂 1: 1 (体积比) 混合注射小鼠; 2 周后, 以不完全弗氏佐剂代替完全弗氏佐剂再次注射; 再 2 周, 不加佐剂注射; 再 2 周, 不加佐剂注射。如此进行 4 次注射后, 隔周收集抗血清, 与卵巢提取液、雌性个体血淋巴、雄性个体血淋巴进行双向免疫扩散, 以鉴定 Vn 和 Vg。

3.2.2 免疫印迹法 此法可以用来检测特定的蛋白质。SDS-PAGE 电泳后, 用转移缓冲液漂洗凝胶, 然后将凝胶上的蛋白通过电印迹方式转移到 PVDF 膜 (或硝酸纤维素膜) 上, 转移时间 1 h, 可用丽春红 S (Ponceau S) 染色来确定转移效果, 用终止液终止反应, 与专一抗-Vn 的抗体孵育 10 min, 随后再与第二抗体——偶联辣根过氧化物酶的羊抗兔 IgG 抗体孵育, 进一步再与 3, 3'-二氨基联苯胺和过氧化氢反应, 显示清晰的染色区带^[6, 14]。

3.2.3 酶联免疫吸附法 (ELISA) 此法可用来测定血淋巴中 Vg 含量, 还可用来在单克隆抗体研究中, 对杂交瘤细胞株进行筛选。Tsukimura 等^[14]设计了一种测定血淋巴中 Vg 含量的实验方法, 首先将已知浓度的抗原 Vn 吸附在 ELISA 反应板的凹孔内, 用 0.05% 的明胶终止吸附; 抗-Vn 的抗体与待测抗原 Vg 室温下进行竞争反应 1 h, 4 °C 过夜, 同时用已知浓度的 Vn 进行系列稀释, 做标准曲线; 将上述竞争反应混合物加入 ELISA 反应板, 平衡 1 h, 加第二抗体——辣根过氧化物酶酶标羊抗兔 IgG (GtαRbIgG-HRPO) 抗体孵育 1 h, 加底物显色, 用 ELISA 反应板读数器 405 nm 测定 Vg 含量。Longyant 等^[15]让小鼠脾脏细胞与 P3X 骨髓瘤杂交, 对杂交瘤细胞株用 ELISA 进行初选, 已知浓度的抗原吸附在微量反应板的凹孔内, 加待测抗体, 再加酶标抗体——辣根过氧化物酶酶标羊抗鼠 IgG (GAM-HRP) 抗体, 挑选阳性反应孔, 可做进一步筛选之用。

3.2.4 荧光免疫检验法 此法可以用来检测卵黄蛋白的合成部位。取卵巢或肝胰腺等组织样品室温下 3% 多聚甲醛固定 2 h, 液氮中速冻, 恒冷切片机切片, 厚度 6 μm, 置于载玻片上, 终止缓冲液终止 1 h, 在终止缓冲液中与专一抗体 (如, 抗-Vn 抗体) 结合, 4 °C 过夜, 过量的抗体用磷酸缓冲盐溶液 (PBS) 洗涤, 再与结合有异硫氰酸荧光素 (FITC) 的第二抗体孵育, 荧光显微镜观察分析^[6]。

3.3 放射示踪法

用放射性同位素标记的氨基酸, 如 [³⁵S] 标记的甲硫氨酸, [¹⁴C] 标记的亮氨酸等, 注射到动物体内, 或加入培养基中对卵巢或肝胰腺组织进行离体培养, 这些组织无论是在活体内还是离体培养时都将利用这些标记的氨基酸进行蛋白质的合成, 通过对组织提取物或分泌物进行液闪计数或 SDS-PAGE 后的放射自显影分析, 可以测定蛋白的含量, 并判定其合成部位^[2, 5, 6]。

4 展望

综观甲壳动物卵黄发生及其激素调控的研究, 已取得了显著的进展, 尤其是卵黄磷蛋白和卵黄蛋白原的生化特性及其研究方法已日趋成熟, 但仍有一些问题有待深入研究和探讨: (1) 卵黄是胚胎发育所需的营养源, 它的产生、积累、多寡等对于胚胎和幼体来说至关重要^[3], 因此, 有待从这一方面确立一种判定卵子质量的客观标准; (2) 卵黄蛋白原 Vg 的合成部位仍是目前争论的焦点, 可能不同的属种由于进化地位不同引起 Vg 合成部位的差异, 利用分子生物学方法, 或许有助于阐明这一问题; (3) 有学者认为血淋巴中的 Vg 可能是脂类的运输载体, 追踪卵黄发生过程中血淋巴和卵巢中蛋白多肽的组成及脂类变化, 可能会得出一定的结论; (4) 激素调控是一个复杂过程, 它是众多神经内分泌激素和内分泌激素共同作用的结果, 结合现代生物技术深入了解不同激素的作用以及不同激素间的相互关系必将使这一过程得到进一步澄清。

参考文献:

- [1] 张文晔, 周斌. 蜜蜂卵黄发生及激素调控概述[J]. 蜜蜂杂志, 2001, 11: 3-5.
- [2] Pateraki L E, Stratakis E. Synthesis and organization of vitellogenin and vitellin molecules from the land crab *Potamon potamios* [J]. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, 2000, 125: 53-61.
- [3] 堵南山, 赖伟, 陈鹏程, 等. 中华绒螯蟹卵黄形成的研究[J]. 动物学报, 1999, 45(1): 88-92.
- [4] 陈休. 甲壳动物卵发生过程的物质合成和贮存[A]. 中国甲壳动物学会: 甲壳动物学论文集(第二辑)[C]. 北京: 科学出版社, 1990. 73-78.
- [5] Quackenbush L S. Yolk protein production in the marine shrimp *Penaeus vannamei* [J]. **Journal of Crustacean Biology**, 1989, 9(4): 509-516.
- [6] Soroka Y, Milner Y, Sagi A. The hepatopancreas as a site of yolk protein synthesis in the prawn *Macrobrachium rosen-*

- bergii* [J]. **Invertebrate Reproduction and Development**, 2000, 37(1): 61- 68.
- [7] Yehezkel G, Chayoth R, Abdu U, *et al.* High- density lipoprotein associated with secondary vitellogenesis in the hemolymph of the crayfish *Cherax quadricarinatus* [J]. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, 2000, 127: 411- 421.
- [8] 成永旭, 李少菁, 王桂忠, 等. 锯缘青蟹卵黄发生期卵母细胞和卵泡细胞之间的结构变化 [J]. **动物学报**, 2002, 48(1): 80- 92.
- [9] Abdu U, Yehezkel G, Sagi A. Oocyte development and polypeptide dynamics during ovarian maturation in the red-claw crayfish *Cherax quadricarinatus* [J]. **Invertebrate Reproduction and Development**, 2000, 37(1): 75- 83.
- [10] 孙海峰, 王兰, 曲运波. 甲壳动物卵黄磷蛋白研究进展 [J]. **山西大学学报(自然科学版)**, 2000, 23(4) 369- 372.
- [11] Oberlander E, Rice C D, Irwin L K. Purification of vitellin from grass shrimp *Palaemonetes pugio*, generation of monoclonal antibodies, and validation for the detection of lipovitellin in Crustacea [J]. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, 2000, 127: 199- 207.
- [12] Courcelles Ch, Kondo M. Lipovitellin from the crustacean, *artemia salina*. Biochemical analysis of lipovitellin complex from the yolk granules [J]. **J Biol Chem**, 1980, 255(14): 6 727- 6 733.
- [13] Fyffe W E, O'Connor J D. Characterization and quantification of a crustacean lipovitellin [J]. **Comp Biochem Physiol**, 1974, 47B: 851- 867.
- [14] Tsukimura B, Bender J S, Linder C J. Development of an anti- vitellin ELISA for the assessment of reproduction in the ridgeback shrimp, *Sicyonia ingentis* [J]. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, 2000, 127: 215- 224.
- [15] Longyant S, Sithigomgul P, Thammapalerd N, *et al.* Characterization of vitellin and vitellogenin of giant tiger prawn *Penaeus monodon* using monoclonal antibodies specific to vitellin subunits [J]. **Invertebrate Reproduction and Development**, 2000, 37(3): 211- 221.
- [16] 成永旭, 李少菁, 王桂忠, 等. 锯缘青蟹卵黄发生期卵巢和胰腺腺脂类的变化 [J]. **海洋学报**, 2001, 23(3): 66- 77.
- [17] Wehtmann I S, Graeve M. Lipid composition and utilization in developing eggs of two tropical marine caridean shrimps (Decapoda: Caridea: Alpheidae, Palaemonidae) [J]. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, 1998, 121: 457- 463.
- [18] 王兰, 陈丽梅, 李春源. 长江华溪蟹卵子发生的细胞化学研究 [J]. **动物学杂志**, 1999, 34(2): 2- 5.
- [19] 王玉凤, 堵南山, 赖伟. 罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 卵子发生的细胞化学研究 [J]. **华东师范大学学报(自然科学版)**, 1997, 4: 91- 94.
- [20] 林远声, 邓锋, 廖家遗. 罗氏沼虾眼柄性腺抑制激素 (GIH) 的分离纯化及性质的研究 [J]. **中山大学学报(自然科学版)**, 2000, 39(增刊2): 93- 95.
- [21] 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 [J]. **上海水产大学学报**, 2001, 10(2): 166- 171.
- [22] 廖家遗, 张艳, 孙继贤, 等. 罗氏沼虾脑促性腺激素的初步分离及活性检测 [J]. **水产学报**, 2001, 25(1): 5- 10.
- [23] Jo Q T, Laufer H, Biggers W J, *et al.* Methyl farnesoate induced ovarian maturation in the spider crab, *Libinia emarginata* [J]. **Invertebrate Reproduction and Development**, 1999, 36(1- 3): 79- 85.
- [24] 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.
- [25] 蔡生力, 赵维信, 李德尚, 等. 中国对虾肝胰腺、卵巢及血淋巴中的孕酮和雌二醇含量的生殖周期变化 (英) [J]. **水产学报**, 2001, 25(4): 304- 310.
- [26] 赵维信, 白桦, 马晓萍. 克氏原螯虾卵黄发生过程中卵巢和大颚器孕酮含量的变化 [J]. **上海水产大学学报**, 1999, 8(3): 232- 235.
- [27] 蔡生力, 杨丛海. 体外注射激素对中国对虾卵巢发育的影响 [J]. **中山大学学报(自然科学版)**, 2000, 39(增刊): 91- 95.

(本文编辑: 刘珊珊)