

锯缘青蟹幼体肝胰腺的观察研究*

李富花

李少菁

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

(厦门大学海洋系 厦门 361005)

提要 于1988年4月—1990年6月,在实验室培育锯缘青蟹幼体,从蚤状幼体I期培养至仔蟹期。固定各期幼体,通过组织学切片和透射电镜观察研究锯缘青蟹幼体的肝胰腺。结果表明,锯缘青蟹幼体的肝胰腺由四种类型的细胞组成,这四种类型的细胞分别为:胚细胞(E-细胞)、纤维细胞(F-细胞)、吸收细胞(R-细胞)和分泌细胞(B-细胞)。不同类型的细胞显微和超微结构具有明显不同。E-细胞的细胞器不发达;F-细胞内含丰富的粗面内质网,且细胞质中可见酶原颗粒;R-细胞线粒体和滑面内质网比较丰富,呈明显的极性分布;B-细胞内含一个大的液泡,顶端存在顶端复合体,在B-细胞内可观察到胞引作用和胞内消化现象。根据对肝胰腺显微和超微结构的观察提出锯缘青蟹幼体肝胰腺细胞的分化序列,即E-细胞分化有两个趋向,一部分分化为F-细胞,由F-细胞转化为B-细胞;另一部分分化为R-细胞,R-细胞最终发生退化。

关键词 锯缘青蟹幼体 肝胰腺 显微结构 超微结构

学科分类号 Q485

在研究甲壳动物的消化系统时,肝胰腺引起学者极大的兴趣。一方面由于肝胰腺是甲壳动物的重要器官,它担负对消化酶的合成和分泌以及随后对营养物质的吸收,而且也影响排泄、蜕皮周期、无机物质的贮藏、脂类、糖类代谢;另一方面,它可以作为某些动物健康状况的重要指标(Vogt, 1992)。对十足目动物幼体肝胰腺的组织学和超微结构的研究很少。对锯缘青蟹幼体肝胰腺的组织学和超微结构的研究尚未见报道。本文报告锯缘青蟹幼体肝胰腺的组织学和超微结构的研究结果,旨在为其消化生理研究和今后此蟹的大规模人工养殖提供基础资料。

1 材料和方法

锯缘青蟹(*Scylla serrata*)蚤I(Z_1)—蚤V(Z_V)期幼体、大眼幼体和仔蟹于1988—1990年在厦门大学海洋系实验室人工培养而得。(1)用于组织学观察的材料置于Bouin's液中固定,石蜡包埋、切片,苏木精-伊红染色。(2)用于透射电镜观察的材料,先用2.5%的戊二醛固定(对于大眼幼体和仔蟹则先解剖除去附肢和甲壳后用戊二醛固定),再用1%OsO₄后固定,醋酸双氧铀块染,环氧树脂618包埋。超薄切片之前先用半薄切片定位,切片厚度

* 国家自然科学基金资助项目, 3870497号。李富花, 女, 出生于1965年11月, 博士生, 副研究员, Fax: 0086-0532-2870882

收稿日期: 1996-07-23, 收修改稿日期: 1997-07-10

为 $1\mu\text{m}$, 用美蓝-天青 II 染色。光镜下观察找到所需部位后再行超薄切片。超薄切片用柠檬酸铅染色。以 JEM-100CXII 型透射电镜观察拍照。

2 结果

光镜观察的结果表明, 锯缘青蟹幼体的肝胰腺由许多盲管组成, 分为两瓣。从蚤状幼体 I 期开始, 肝胰腺的每一瓣已具有三叶状的雏形。随着幼体的发育, 肝胰腺管的长度和数量增加, 管腔的体积变小, 肝胰腺的三叶状也越来越明显。每一叶由许多小的分支的盲管组成, 这些盲管通到每一叶的收集管, 这三叶的收集管通过肝胰腺的主导管与中肠联系。各期幼体的腺管上皮细胞主要由 4 种类型的细胞组成: 胚细胞 (E-细胞, E)、吸收细胞 (R-细胞, R)、纤维细胞 (F-细胞, F); 分泌细胞 (B-细胞, B)。这些细胞位于一薄的嗜碱性基膜 (b1) 上面, 腺管间充满了结缔组织、血窦和大量游离细胞。通过覆盖在外面的嗜碱性膜保持腺体的总体结构 (图版 I: 1)。根据上皮细胞的分布可将腺管分为三个区域: 盲端即远端、中段和近端。分述如下。

2.1 E-细胞

只分布在肝胰腺管的盲端, 内含一个圆形或卵圆形的核 (N), 核内具有 1—2 个嗜酸性的核仁 (Nu), 有时可见到处于分裂状态的细胞核, 表明 E-细胞具有分裂能力。电镜下可见细胞器不发达, 线粒体 (M) 小, 球形或棒形, 嵴很少, 有的线粒体中只见到由双膜围成的空间, 而没有明显的嵴; 粗面内质网 (rer) 较丰富; 偶而可见少量脂滴 (li) 和位于细胞核周围的高尔基体 (G) (图版 I: 2)。锯缘青蟹幼体各期 E-细胞的超微结构基本类似。

2.2 F-细胞

主要分布在腺管中段, 散布在 R-细胞和 B-细胞之间, 具强嗜碱性。当用苏木精染色时, 整个细胞被染成深蓝色。细胞核较大, 圆形, 核仁亦较大, 在核膜内面分布许多异染色质。幼体各期 F-细胞的形态无很大差别, 只是在 Z_{III} 可见到有些 F-细胞显得特别膨大, 可能与此期细胞活动比较旺盛有关。电镜下可见 F-细胞内粗面内质网很丰富。位于肝胰腺管远端的 F-细胞, 其顶端微绒毛 (mv) 排列整齐, 上面覆盖一层较厚的表面外衣。粗面内质网相对较少, 线粒体较丰富, 基质较亮, 嵴少。而位于腺管近端的 F-细胞, 粗面内质网数量增多, 线粒体基质的电子密度增大, 嵴增多。高尔基体丰富, 其潴泡发生扩张, 整个高尔基复合体被一些小的致密泡所包围; 其附近可以见到一些较大的酶原颗粒 (En) (图版 I: 3), 在微绒毛的下面酶原颗粒比较密集, 表明 F-细胞是酶的合成部位。幼体各期 F-细胞的超微结构基本类似。

2.3 R-细胞

肝胰腺中数量最多的细胞, 高柱状, 核为圆形, 位于细胞中间近基部, 核内有 1—2 个核仁。有的 R-细胞, 细胞质中无囊泡, 有的在近基部含有一个较大的囊泡, 有的含有多个囊泡。不同幼体期, R-细胞的形态特征不同。在 Z_1 多数 R-细胞的基部不含囊泡, 随着幼体的发育, 含囊泡的 R-细胞的数量逐渐增加, 到了仔蟹, R-细胞在外观上变为多泡型。电镜下可见位于腺管远端的未成熟的 R-细胞, 其内粗面内质网较短, 细胞基部含少量脂滴。成熟的 R-细胞, 微绒毛排列密集有序, 上面覆盖一层较厚的表面外衣——周营养膜。紧靠在微绒毛下面是一不含细胞器的区域, 称为终网。终网下面, 线粒体特别丰富, 其基质较暗, 嵴较多 (图版 I: 4)。在细胞基部, 滑面内质网 (ser) 比较丰富, 它们与细胞基部内凹的细

胞膜结合。高尔基体的数量相对 F-细胞来说较少,外观呈盘状或碟状,高尔基片层排列整齐、致密。细胞内脂滴数量较多,且细胞基部脂滴的数量更大(图版 I: 5)。偶而在 R-细胞中可以看到钙质体(Ca),数量较少(图版 I: 6),其中有些钙质体存在于空泡中。有些 R-细胞表现出明显退化的迹象,细胞质的致密度降低,且其中只松散地分布一些较短的内质网和线粒体。

2.4 B-细胞

B-细胞主要分布在腺管的近端,细胞体积最大,形状不规则。内含一个大泡(V),约占细胞体积的80%—90%。B-细胞的细胞核在大泡下面被压成新月状,细胞质也被压成环状围绕在大泡的周围。有的B-细胞大泡内比较空,而有的含有许多絮状物质。在肝胰腺的管腔中有时可见到类似B-细胞大泡的结构。不同幼体发育时期,B-细胞的形态略有不同。 Z_1 的B-细胞,体积与其它类型的细胞相近,泡内比较空; Z_{II} , Z_{III} 的B-细胞,细胞体积明显增大,大泡也明显膨大,泡内有许多絮状物质,类似于腺管腔中的絮状物质; Z_{IV} 中B-细胞的大泡与 Z_{II} , Z_{III} 相比显得较空; Z_V 、大眼幼体和仔蟹,B-细胞的大泡也较空,很少看到絮状物质。电镜下观察各期幼体B-细胞的大泡内含有许多絮状物质和膜状结构等,大泡外被一薄层含有粗面内质网和丰富线粒体的致密细胞质包围。位于细胞顶端把大泡和腔面分开的一层窄的结构,称为顶端复合体,由致密细胞质、泡的小聚集体、各种大小的胞饮泡(pv)、小线粒体和朝向细胞表面的微绒毛组成(图版 I: 7)。从超微结构的观察可见,成熟B-细胞的形成是一个逐渐发育的过程。首先F-细胞的顶端细胞膜产生皱褶,以管道的形式进入细胞内产生胞饮泡,胞饮泡向基部移动通过互相融合进行扩大形成小的消化体(db),剩余的三分之二体积含有线粒体和粗面内质网(图版 I: 8)。随着转化过程的进行,胞饮作用越来越活跃,在胞饮系统之下是一个亚顶体泡系统,泡内含有颗粒物质与致密消化体合并,占据了细胞的大部分。后来消化体中逐渐出现小透明区(图版 I: 9),透明区逐渐扩大,当透明区逐渐取代了消化内容物中的物质时,就形成了B-细胞的大泡。大泡与亚顶体泡逐渐融合,使大泡的体积逐渐增大,占据了B-细胞的大部分,形成成熟的B-细胞(图版 I: 7)。幼体各期B-细胞的超微结构基本类似。

3 讨论与结语

本研究表明,在锯缘青蟹幼体不同的发育时期,B-细胞的形态有所不同。在 Z_{II} , Z_{III} , B-细胞的大泡特别膨大,其中充满无定形残余物,而且腺腔中也充满无定形物质,而从 Z_{IV} 开始,B-细胞的大泡多为透明的。B-细胞大泡中内含物的多少是否反映青蟹幼体对饵料的利用程度,它能否作为饵料合理利用的检测指标,这是一个很值得探讨的问题。Al-Mohanna等(1986)观测到,使用不同的饵料,短沟对虾的B-细胞的大泡内含物不同,并认为B-细胞的大泡内未消化的食物残渣的多少可以反映对饵料的利用程度。Vogt(1985)提出,中肠腺可以作为斑节对虾饵料的营养价值的监测器官,并提出R-细胞超微结构的变化可以反映食物营养价值的高低。由此可见,肝胰腺一些细胞的变化可作为投喂饵料的生理指标,这是值得深入研究的。

刚孵化的青蟹幼体的肝胰腺细胞就存在4种细胞类型:E-细胞、F-细胞、R-细胞和B-细胞。它们与幼体的发育程度似乎关系不大。尽管Al-Mohanna等(1985, 1987)在短沟对虾中发现了第五种类型的细胞:M-细胞,并认为它可能是十足目动物肝胰腺中普遍存在

的细胞类型,但在锯缘青蟹幼体中未观察到 M-细胞。由于肝胰腺 R-细胞的超微结构(包括细胞器的形态和丰盛度)较易受幼体的生理状态、蜕皮周期和营养状态的影响,因而不同幼体期以及同一幼体期的不同时间, R-细胞的超微结构可能会有所不同。要比较幼体发育过程中 R-细胞超微结构的变化,必须使各期处在相同的时期,即同处在早期、中期或晚期,这一方面有待于进一步研究。

根据对锯缘青蟹幼体肝胰腺细胞的显微结构和超微结构的观察,提出此蟹幼体肝胰腺细胞的功能和分化序列,即 E-细胞的功能是分裂产生其它类型的细胞。E-细胞的分化有两个趋向,一部分分化为 F-细胞, F-细胞能够合成消化酶,由 F-细胞发育形成 B-细胞, B-细胞具有胞内消化作用;另一部分分化为 R-细胞, R-细胞可以吸收和贮藏营养物质,其最终去路是发生退化。关于十足目动物肝胰腺细胞的分化问题,经过近 80 年的研究,已获得比较一致的意见,即 B-细胞是由 F-细胞转化而来的,但对不同对象做实验的结果仍有所争论。作者的观察结果与 Hopkin 等(1980)对黄道蟹的消化周期进行研究时提出的细胞分化序列一致,而与 Caceci(1983)对白对虾的肝胰腺的超微结构进行研究时提出 E-细胞→R-细胞→F-细胞→B-细胞的分化序列有很大不同。到目前为止对十足目肝胰腺细胞的分化问题还有许多细节没搞清楚,有待于进一步研究。

综上所述,锯缘青蟹幼体的肝胰腺由 4 种类型的细胞组成,这 4 种类型细胞的显微和超微结构不同,生理功能也不同。不同幼体发育时期,这 4 种类型细胞的显微和超微结构有所不同。

参 考 文 献

- Al-Mohanna S Y, Nott J A, Lane D J W, 1985. Mitotic E- and secretory F-cells in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* (Crustacea, Decapoda). *J Mar Biol Ass U K*, 65:901—910
- Al-Mohanna S Y, Nott J A, Lane D J W, 1985. M-midget cells in hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus*, 1884 (Decapoda, Natantia). *Cruataceana*, 48:260—268
- Al-Mohanna S Y, Nott J A, 1986. B-cells and digestion in the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea, Decapoda). *J Mar Biol Ass U K*, 66:403—414
- Al-Mohanna S Y, Mott J A, 1987. R-cells and the digestive cycle in *Penaeus semisulcatus* (Crustacea, Decapoda). *Mar Biol*, 95:129—137
- Al-Mohanna S Y, Nott J A 1987. M-midget cells and moult cycle in *Penaeus semisulcatus* (Crustacea, Decapoda). *J Mar Biol Ass U K*, 61:803—813
- Caceci T, 1983. Ultrastructure of the hepatopancreas of the Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda). *J Mar Biol Ass U K*, 68:323—327
- Hopkin S P, Nott, J A, 1980. Studies on the digestive cycle of the shore crab *Carcinus maenas* (L) with special reference to the B-cells in the hepatopancreas. *J Mar Biol Ass U K*, 60:891—907
- Vogt G, 1985. Midgut gland as monitor organ for the nutritional value of diet in *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 48:1—12
- Vogt G, 1992. Transformation of anterior midgut and hepatopancreas cells by monodon baculovirus (MBV) in *Penaeus monodon* postlarvae. *Aquaculture*, 107:239—248

STUDIES ON THE HEPATOPANCREAS OF LARVAL *SCYLLA SERRATA*

LI Fu-hua, LI Shao-jing[†]

(*Institute of Oceanology, The Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071*)

[†](*Department of Oceanology, Xiamen University, Xiamen, 361005*)

Abstract Larval *Scylla serrata* were cultured from the first stage of zoea to the first larval crab in every April from 1988 to 1990. For every stage, larval *Scylla serrata* were fixed in Bouin's fluid and 2.5% glutaraldehyde separately and their hepatopancreases were studied using light and transmission microscopes. The result obtained through histological sections shows that the hepatopancreas of larval *Scylla serrata* consists of many blind tubules. With the development of larval stages, the length and amount of hepatopancreas tubules increase. The hepatopancreas cells can be divided into four types: embryo cells (E-cells), fibrillar cells (F-cells), resorptive cells (R-cells) and blister-like cells or secretary cells (B-cells) (Plate I:1). These types locate at one thin basophile basement. Connective tissue, blood sinus and a lot of dissociate cells fill among the hepatopancreas tubules. The whole hepatopancreas is covered by a basophile membrane (Plate I:1). E-cells locate at the blind end of tubules. A round or oval nucleus exists in E-cells. E-cells at the mitotic division state can be observed sometimes; they may be involved in mitotic activity for production of other cell types which comprise the tubule epithelium. Cytoplasmic organelles are undeveloped. The mitochondria with little ridges appears as small spheres or rods. High amounts of rough endoplasmic reticulum (RER) exist in E-cells. Little lipid droplets and Golgi bodies were observed once (Plate I:2). F-cells mainly locate in the middle region of the tubules, scattering among R-cells and B-cells. It is strongly basophile. Plenty of RER can be observed in F-cells. The number of RER and electron density of mitochondria differ in F-cells located at different positions of the tubules. Golgi bodies are very rich in F-cells and zymogen granules can be seen near them (Plate I:3). The zymogen granules aggregate in the apical cytoplasm. F-cells are believed to be specialized for the synthesis and secretion of digestive enzymes. R-cells are the most numerous cell type. Their nuclei are near the basement of the cells. In some R-cells, there are no vacuoles in the cytoplasm while some R-cells have one or many vacuoles. At different larvae stages, the morphology of R-cells are different. There is one region in the cell where no cytoplasmic organelles exist. This region is next to the apical cell membrane. Under this region, the number of mitochondria with high electron density matrix and plenty of ridges is very large (Plate I:4). In the proximal cytoplasm near the base of the cell, there is a plenty of smooth endoplasmic reticulum. The number of Golgi bodies is less than that in F-cells, and their morphology differs from that of F-cells. There is much lipid droplet especially near the base of R-cells (Plate I:5). The calcium body can be observed, and its number is

very small (PlateI:6). Some R-cells show signs of degeneration. B-cells mainly locate in the proximal regions of the tubules, their volume are the biggest and shapes not regular. There is a big vacuole whose volume may occupy 80%—90% of the whole volume of the cell. There is a thin rim around the vacuole which includes dense cytoplasm, RER and mitochondria. On the top of B-cells, there exists a top complex body consisting dense cytoplasm, pinocytotic vesicles, small mitochondria and microvilli on the surface of B-cells (PlateI:7). Cytosis and intracellular digestive phenomenon can be observed. Observations on the ultrastructure of B-cells show that the formation of B-cells is a progresseve process. It is transformed from F-cells. Firstly the apical cell membrane of F-cells develops invagination which extend as channels deep into the cell to form pinocytotic vesicles. The pinocytotic vesicles move toward the base of the cell and enlarge by fusion with each other to form small digestive bodies. The remaining two thirds of the volume of the cells contain mitochondria and rough endoplasmic reticulum (PlateI:8). With the transformation progressing, pinocytosis becomes increasingly active. Under the pinocytotic system there is a subapical vacuole system. Granules inside the vacuoles coalesce with dense digestive bodies. Small translucent region appears in the digestive body and enlarges gradullly (PlateI:9). When such a region replaces the digestive inclusion, the vesicles of B-cells are formed. The vesicle coalesce with subapical vacuole and make the volume of vesicle increase; finally mature B-cells are formed (PlateI:7). Through the present study, the differentiation sequence of four cell types of hepatopancreas in larval *Scyllas serrata* are identified. There are two tendency for the differentiation of E-cells. Some E-cells develop to F-cells; B-cells are then derived from F-cells. Some other E-cells develop to R-cells, and R-cells degenerate eventually.

Key words Larval *scylla serrata* Hepatopancreas Microstructure Ultraculture

Subject classification number Q485