中国对虾某些组织中蜕皮甾类的测定*

罗日祥 李光友 王玉英 曹梅讯 蒋蓉静

(中国科学院海洋研究所)

(中国科学院上海昆虫研究所)

蜕皮激素是甲壳动物主要的内分泌物质之一,属蜕皮甾类(MH),具有特异的生理功能。目前的资料对蜕皮激素可以诱导蜕皮的想法比较一致;也有一些学者认为它能加速蛋白质和 DNA 的合成(罗日祥、王玉英,1984;Lowe, M. E., D. H. S. Horn and M. N. Galbraith, 1968; Neufeld, G. J., J. A. Thomson and D. H. S. Horn, 1968),但论据还不够充分。对于蜕皮激素在虾体各组织中的分布, Gorell, Gilbert and Siddall (1972) 用同位素标记示踪的方法在 *Orconectes virilis* 作过研究。Chang and O'connor (1978) 对粗腿厚纹蟹 (*Pachygrapsus crassipes*) 各组织中的蜕皮激素作过定性定量的研究。为了探索蜕皮激素在中国对虾 (*Penaeus orientalis*) 体内的生理功能,本文报道了以放射免疫分析法对对虾各器官组织中的蜕皮甾类含量的测定结果。

一、实验方法与材料

蜕皮甾类的测定参照曹梅讯等人(1980)在昆虫上所使用的测定 20-羟基蜕皮酮的方法。

1. 试剂 甲醇,分析纯,需加 1% 的固体氢氧化钠回馏 2h,再经蒸馏后应用; 0.1% 明胶-0.1mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH7.0, 含 0.1% 的 NaN_3 , 4°C 保存); 含 0.25% 葡聚糖 T-70 和 2.5% Norit A 活性炭的葡聚糖包活性炭悬浮液, 4°C 保存; 20-羟基蜕皮酮标准品由中国科学院上海有机化学研究所周维善教授提供。

2. 标准曲线的制作 取 12 × 75mm 玻璃试管 16 只,依次加入不同浓度的标准 20-羟基蜕皮酮溶液 200 μL (分别含 0, 25, 100, 200, 400, 800, 1600pg)。每管再加 1:10 000 稀释度的抗血清 100 μL , 然后加¹²⁵碘-20-羟基蜕皮酮-2-半琥珀酸-酪氨酸甲酯 100 μL , 放射性为每分钟 10 000 计数 (即 10 000cpm)。另取两管不加抗血清, 而用明胶-磷酸盐缓冲液代替, 用作测量非特异性结合率。混匀后在 4°C 过夜。次日, 用 FJ-603 井型 γ 闪烁计数器先测定各管的总放射性。再加 0.5mL 葡聚糖包活性炭悬浮液, 回旋振荡 1min 后, 于 4°C 静置 10min, 离心 5min (用 800 型电动离心沉淀器, 3000r/min), 吸掉上清液后再测定沉淀的放射性。

3. 实验动物 实验用虾体长为 11—13cm 和 13—17cm, 分别于 5, 9, 10 月采自胶州湾。暂养在玻璃钢水槽中, 流动海水, 每天投喂杂色蛤。一周后随机取 10 条虾用于

* 中国科学院海洋研究所调查报告第 1442 号。

收稿日期: 1987 年 6 月 2 日。

实验。取样时先用注射器从心脏抽取 0.5mL 血淋巴,然后解剖取出肝胰腺,部分肌肉(前、中、后各取一小块),中肠(含内含物),心脏,精荚,中肠(除去内含物),中肠内含物,眼柄等,分别称重,放入磨口试管中按重量与体积之比为 1:4 加入甲醇混匀,加盖 -20°C 保存。

从秋季 9, 10 月采集来的对虾成虾中选择 6 条健康、体长相近者为 1 组, 分别放入 $30 \times 30\text{cm}$ 的 6 个圆玻璃缸内, 内盛 30L 新鲜海水, 连续通气。每天上午 8 点和下午 5 点各换水一次(换水量 2/3), 投喂杂色蛤。注意观察, 在蜕皮期间和蜕皮后第一天、第四天和第八天取出, 以前述操作步骤测定蜕皮甾类。平行实验为 3 个组。

4. 样品测定 将以上样品分别在玻璃匀浆器中磨碎, 用甲醇抽提 2—3 次, 蒸干甲醇提取液后按蜕皮甾类的含量加入一定体积的明胶-磷酸缓冲液, 然后加入抗血清和 ^{125}I -20 羟基蜕皮酮-2-半琥珀酸-酪氨酸甲脂各 $100\mu\text{L}$ ($10\,000\text{cpm}$)。以下步骤同标准样品的操作。

样品中蜕皮甾类 (MH) 的含量, 根据测得的数据从标准曲线中读出。

二、实验结果与讨论

1. 秋季成虾和春季亲虾各组织中蜕皮甾类的测定结果列于表 1。从表中数据看出, 秋季虾体中, 各组织器官的蜕皮甾类含量普遍比春季亲虾高, 取秋季临近蜕皮的虾来测定, 所得数据还要高得多, 从而可以推断蜕皮甾类在对虾生长期的重要性。

表 1 还表明, 各组织的 MH 含量参差不齐, 有的甚至差别很大。这当然与其生理机能有关, 但目前国内外研究不多, 还难以确切指出蜕皮甾类在各组织中的具体功能。

表 1 秋季对虾与春季亲虾各组织 MH 含量(单位: pg/mg)

组织 MH 含量 季节	肝胰腺	中 肠	肌 肉	眼 柄	血淋巴	精 荚	卵 块	心 脏
秋季成虾	0.53 ± 0.13	4.68 ± 0.93	0.29 ± 0.08	2.96 ± 0.87	2.82 ± 0.71	2.82 ± 0.91	—	2.34 ± 0.69
春季亲虾	0.13 ± 0.07	2.33 ± 0.43	0.20 ± 0.06	1.77 ± 0.67	—	—	0.14 ± 0.05	0.75 ± 0.19

表 2 对虾蜕皮周期各阶段某些组织中 MH 的含量变化 (pg/mg)

组织 MH 含量 时间	蜕皮期间	蜕 皮 后		
		1 天	4 天	8 天
肝胰腺	极微	痕迹量	1.12 ± 0.41	1.69 ± 0.65
眼 柄	3.08 ± 0.94	0.36 ± 0.06	2.21 ± 0.81	2.5 ± 0.74
血淋巴	—	1.12 ± 0.29	1.85 ± 0.42	3.65 ± 0.87
肌 肉	—	0.45 ± 0.04	0.34 ± 0.05	0.25 ± 0.03

2. 由表 2 可见, 对虾在进行蜕皮时肝胰腺中蜕皮甾类含量极微(约 $0.03\text{pg}/\text{mg}$), 而

蜕皮后第一天降至几乎测不出来(约 0.0068pg/mg),说明蜕皮后虾体肝胰腺中的蜕皮甾类几乎耗尽,到蜕皮间期和蜕皮前期,激素的含量又慢慢回升。这个结果进一步证实了 Gorell, Gilbert and Siddall 等人(1972)根据在其他节肢动物上的研究工作所提出的肝胰腺是蜕皮激素的靶器官,对蜕皮激素有累积作用的想法。

3. Chang and O'Connor (1978) 用粗腿厚纹蟹的 Y-器官体外培养,观测 Y-器官的分泌活动,认为眼柄的 Y-器官是蜕皮激素的分泌器官;其观测结果表明蜕皮时蜕皮激素合成器官的活动加强,蜕皮后其活动大幅度下降,之后又慢慢回升,本文表 2 所列实验结果与他们的观测结果基本一致。

4. 从表 2 可知,血淋巴中不同时期蜕皮甾类含量的变化趋势与眼柄的一致。这说明眼柄的 MH 分泌器官并不担负储存的功能,MH 分泌后,是由血淋巴运送到有关组织中去。肌肉中的 MH 含量变化不很大,MH 在肌肉中的功能尚不清楚,有待进一步探讨。

5. 为了了解生活在自然海域中的对虾体内蜕皮激素的外源途径,我们还测定了它们中肠及其内含物中的 MH 含量,在中肠是 4.68 ± 0.93 pg/mg,而在中肠内含物为 2.27—28.36pg/mg。内含物中 MH 的较大含量说明自然海域中的对虾的食物含有较丰富的蜕皮激素,这也许是对虾生长发育的一种有利因素。所测得的数据波动较大,可能是由于食物种不同及其食量多少的差异所致。

参 考 文 献

- 罗日祥,王玉英,1984. 甲壳类的蜕皮激素. 海洋科学 8(3):59—61.
 曹梅讯等,1981. 20-羟基蜕皮酮的放射免疫分析法及其在蓖麻蚕蛹上的应用. 昆虫学研究集刊 1:1—6.
 Chang, E. S. and J. D. O'Connor, 1978. In vitro Secretion and Hydroxylation of α -Ecdysone as a Function of the Crustacean Molt Cycle. *Gen. Comp. Endocrinol* 36: 151—158.
 Gorell, T. A., L. I. Gilbert and J. B. Siddall, 1972. Studies on Hormone Recognition by Arthropod Target Tissues. *Am. Zoologist* 12: 347—356.
 Lowe, M. E., D. H. S. Horn and M. N. Galbraith, 1968. The role of crustecdysone in the moulting crayfish. *Experientia* 24: 518—519.
 Neufeld, G. J., J. A. Thomson and D. H. S. Horn, 1968. Shortterm effects of crustecdysone (20-hydroxyecdysone) on protein and RNA synthesis in third instar larvae of *Calliphora*. *J. Insect Physiol* 14: 789—804.

DETERMINATION OF ECDYSTEROID CONCENTRATION IN CERTAIN ORGANS OF *PENAEUS ORIENTALIS**

Luo Rixiang Li Guangyou Wang Yuying

(Institute of Oceanology, Academia Sinica)

Cao Meixun Jiang Rongjing

(Shanghai Institute of Entomology, Academia Sinica)

ABSTRACT

Ecdysteroid concentration determined by RIA in certain organs (hepatopancreas, hemolymph, eyestalk, muscle, heart, etc) of prawn (*Penaeus orientalis*) demonstrated that the concen-

tration of ecdysteroid in prawn collected from Jiaozhou Bay, Qingdao in September and October is generally higher than that in the matured prawn collected in May.

The concentration of ecdysteroid in eyestalk of the prawn during the moulting period is the highest.

The ecdysteroid concentrations in the organs excepting muscle during the intermoult period increased gradually, and reached the highest during the moulting period. This result suggests that the activity of eyestalk Y-organ changes within moult cycle.

The present experiment shows that concentration of ecdysteroid in the inclusions of mid-gut is 2.27—28.36 pg/mg, which suggests that there is rich ecdysteroid in the food ingested by prawn from natural sea.