

水生甲壳类蜕皮发生过程及其影响因素的研究与进展

李旭光^{①②③} 周 刚^② 谷孝鸿^{①*}

① 中国科学院南京地理与湖泊研究所湖泊与环境国家重点实验室 南京 210008; ② 江苏省淡水水产研究所 南京 210017; ③ 中国科学院大学 北京 100049

摘要: 甲壳类的蜕皮发生贯穿甲壳类的整个生命周期,与其生长、发育及繁殖息息相关。相对于其他生物,甲壳类的生长是非连续性的,每次蜕皮过程都需要蜕去旧表皮,合成新表皮,同时体宽与体重在较短时间内实现一次跨越式增长。影响甲壳类的蜕皮发生的因素众多,本文重点从内源因子(蜕皮激素、蜕皮抑制激素、蜕皮激素受体与维甲类 X 受体、性腺发育)与外源因子(温度、光照、盐度、钙离子、饵料与污染物)两个方面概括总结了影响水生甲壳类蜕皮发生的关键因子及其国内外研究进展,分析了其关键因子对水生甲壳类蜕皮发生的影响机制,并尝试对水生甲壳类蜕皮发生当前存在的主要问题进行讨论。

关键词: 甲壳类;蜕皮;生长;影响因子

中图分类号:S917 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2014)02-294-09

Review of Aquatic Crustaceans Molting and Its Influencing Factors

LI Xu-Guang^{①②③} ZHOU Gang^② GU Xiao-Hong^{①*}

① *State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008*; ② *Freshwater Fisheries Research Institute of Jiangsu Province, Nanjing 210017*;

③ *Graduate University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China*

Abstract: Crustacean's life history composed of molting, which was closely related to the crustacean growth, development, reproduction. Comparing with other creatures, Crustaceans grew discontinuously by molting: the complete shedding of the hardened exoskeleton and the formation of a new one, and the body width and weight to achieve a leapfrog growth in a relatively short period of time. Variability in growth was manifested as more or less frequent molting, depending on intrinsic and extrinsic factors. Intrinsic factors that affected aquatic crustaceans molting include molting hormone, molting-inhibiting hormone, ecdysteroid receptor, retinoid X receptor and gonad development. Extrinsic factors that affected molting include temperature, light, salinity, food supply, Ca^{2+} and pollution. In this review, we summarized the principal factors which affect the growth of aquatic crustaceans molting, focusing on influence of the intrinsic mechanism, and provided an overview of research progresses in the molting of aquatic crustaceans at home and abroad. Finally, we discussed the future direction of development of aquatic crustacean molting and growth.

Key words: Crustaceans; Molting; Growth; Influencing factor

基金项目 国家“十二五”科技支撑计划项目(No. 2012BAD25B07, 2012BAD25B06), 江苏省自然科学基金项目(No. BK2012886);

* 通讯作者, E-mail: xhgu@niglas.ac.cn;

第一作者介绍 李旭光,男,博士研究生;研究方向:水生生物资源与增养殖学;E-mail: xuguangli1981@163.com。

收稿日期:2013-06-06,修回日期:2013-09-28

蜕皮贯穿着甲壳类整个生活史,且与其发育、生长、繁殖、附肢再生等环节密切相关,水生甲壳类蜕皮发生调控机制及其影响关键因素一直是人们关注研究的重点。近年来,国内外学者对水生甲壳类蜕皮发生及其影响因素进行了大量的研究,国外早在 20 世纪初就发现切除眼柄能够缩短虾蟹类蜕皮周期时间,促进蜕皮发生,表明眼柄组织中可能分泌一种抑制蜕皮生长的因子(蜕皮抑制激素)影响着甲壳类的蜕皮发生过程;20 世纪 50 至 70 年代,研究主要集中于合成蜕皮激素 Y 器官与分泌蜕皮抑制激素 X 器官等一些蜕皮调控组织器官的发现、组织定位和周期性蜕皮过程中组织细胞水平的变化等(Lachaise et al. 1993);直到 1991 年在美国龙虾(*Homarus americanus*)和岸蟹(*Carcinus maenas*)中首次获得蜕皮抑制激素功能基因的碱基序列,从而在微观分子调控水平上开启了水生甲壳类蜕皮发生研究的序幕(Fingerman 1997)。过去的 20 年间,随着检测分离微量功能蛋白多肽等技术的出现和基因组高通量测序以及 EST 文库构建完成,大大加速了水生甲壳类蜕皮调控激素及其功能基因的筛选、分离和鉴定,逐步揭示了水生甲壳类蜕皮调控机制(Chung et al. 2010)。

国内基于中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)、中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)的人工繁育与规模化养殖生产的驱动,开展了一系列环境生态因子对个体变态发育、蜕皮发生影响等研究。针对虾蟹类蜕皮生长特征开展了生理生态学研究,重点关注蜕皮发生与生态因子交互作用、蜕皮前后蜕皮类激素、钙镁离子变化规律等,研究涉及到环境因子对蜕皮生长的影响、外源激素对蜕皮生长的促进、污染物对蜕皮生长的抑制、内源蜕皮调控激素的变化规律及其作用机理等。纵观我国虾蟹类养殖产业规模,目前关于虾蟹类的基础生物学特别是蜕皮发生的研究相对还比较薄弱。本文综述国内外水生甲壳类蜕皮发生及其内在机制的研究进展,重点分析了影响水生甲壳类蜕皮发生的关键因素,以期对水生甲壳类的相关研究提供

参考。

1 影响水生甲壳类蜕皮发生的内源因子

1.1 蜕皮激素对水生甲壳类蜕皮发生的影响

在甲壳类的蜕皮发生过程中,位于第二触角基部 Y 器官分泌的蜕皮激素与位于眼柄 X 器官分泌的蜕皮抑制激素相互拮抗作用而进行调控。Y 器官是分泌蜕皮类激素,调控蜕皮发生的重要腺体,是昆虫前胸腺的同源器官(Lachaise et al. 1993)。甲壳类通过摄入含有胆固醇类和甾醇类的食物获取合成蜕皮类激素的原料,在 Y 器官内首先将固醇类转化为中间产物,再将其加工形成蜕皮类激素。与昆虫的蜕皮类激素有所不同,甲壳类的蜕皮类激素种类更为丰度,主要包括 20-羟基蜕皮酮(蜕皮激素前体)、25-脱氧蜕皮酮、3-脱氢蜕皮酮等,在蓝蟹(*Callinectes sapidus*)和岸蟹血淋巴中发现蜕皮类激素主要包括 20-羟基蜕皮酮和 25-脱氧蜕皮酮;而南美白对虾(*Penaeus vannamei*)与罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)血淋巴中的蜕皮类激素主要由 20-羟基蜕皮酮和 3-脱氢蜕皮酮构成(Mykles 2011)。Chang 等(2011)报道了甲壳类血淋巴中蜕皮类激素在蜕皮周期不同阶段的变化规律,在蜕皮间期血淋巴中的蜕皮固醇类激素含量处于较低的水平,当进入到蜕皮前期,血淋巴中的蜕皮固醇类激素显著升高,当进入到蜕皮前期 D^{2-3} 亚期蜕皮固醇类激素含量达到峰值,在蜕皮发生之前回落到较低水平,并在蜕皮后期仍保持较低的水平,表明蜕皮固醇类激素对甲壳类的蜕皮发生调控起着关键作用。而 Chung (2010)发现在蜕皮前期阶段切除眼柄蓝蟹血淋巴组织的蜕皮类激素以 20-羟基蜕皮酮为主,而未切除眼柄蓝蟹血淋巴组织中的蜕皮类激素以 25-脱氧蜕皮酮含量最高,表明甲壳类蜕皮激素种类与浓度受不同生理状态影响。

1.2 蜕皮激素受体与维甲类 X 受体对水生甲壳类蜕皮发生的影响

甲壳类蜕皮激素的作用靶标是由核受体家族成员蜕皮激素受体

(ecdysteroid receptor, EcR) 和维甲酸 X 受体 (retinoid X receptor, RXR) 组成。蜕皮激素受体与维甲类 X 受体 (EcR/RXR) 位于甲壳类蜕皮周期过程中信号通路调控的上游端,是参与调控蜕皮过程的关键基因 (Hopkins 2009)。蜕皮激素受体与维甲类 X 受体相对比较保守, Asazuma 等 (2007) 报道罗氏沼虾 RXR 的 DNA 结合区与昆虫 RXR 的 DNA 结合区相似度高达 90% 以上。对节肢动物的蜕皮激素与蜕皮核受体调控关系研究认为,蜕皮激素受体由核受体 EcR 和 USP 构成, EcR-USP 异源二聚体首先在分子伴侣蛋白复合物的协助下获得 DNA 结合活性,蜕皮激素通过接触共阻遏因子和募集共激活因子激活 EcR-USP 异源二聚体并启动下游基因的转录,蜕皮激素与 EcR-USP 配体-受体复合物引起蜕皮激素的级联放大反应,从而调控蜕皮发生过程 (Tarrant et al. 2011)。对蜕皮激素受体与维甲类 X 受体在蜕皮周期过程中的变化规律研究发现,蜕皮激素受体与维甲类 X 受体从蜕皮间期到蜕皮前期出现升高趋势。Durica 等 (1999) 在招潮蟹 (*Uca pugilator*) 不同组织中也发现了蜕皮激素受体与维甲类 X 受体在蜕皮前期表达丰度显著高于其他时期,但与血淋巴蜕皮激素变化趋势无显著相关性。对于甲壳类蜕皮激素如何与蜕皮激素受体和维甲酸 X 受体形成的异源二聚体相结合从而启动蜕皮发生过程的机制尚不清楚。

1.3 蜕皮抑制激素对水生甲壳类蜕皮发生的影响 位于甲壳类动物眼柄中的 X 器官窦腺 (X-organ sinus gland, XO-SG) 复合体是甲壳类重要的神经内分泌调控中心,在结构和功能上类似脊椎动物的下丘脑-神经垂体系统 (Nakatsuji et al. 2009, 亓一舟等 2010)。X 器官是位于眼柄神经节端髓的神经分泌细胞集合体,而窦腺是由位于眼柄神经节终髓的 X 器官神经分泌细胞轴突末梢膨大形成,与甲壳类动物的开放式血淋巴循环系统相联,起着储存与释放激素的功能 (Hopkins 2012)。X 器窦腺分泌一系列重要的甲壳类高血糖激素 (crustacean hyperglycemic neurohormone, CHH), 其中包括

调控蜕皮激素的蜕皮抑制激素 (molting-inhibiting hormone, MIH), 通过窦腺轴突末端释放到血淋巴中,抑制蜕皮激素的合成 (Zhang et al. 2011)。Watson 等 (2001) 首次报道了 MIH 在蜕皮周期过程的变化趋势,并印证 MIH 与蜕皮激素变化的拮抗对应关系。蓝蟹眼柄组织 MIH 的表达丰度在蜕皮前期显著下降,特别是在蜕皮前期 D^{3-4} 亚期达到最低水平,进入到蜕皮后期 MIH 丰度增大 10 倍,到蜕皮间期持续上升。而与之对应血淋巴中的蜕皮激素浓度在蜕皮前期含量最高,达 $120 \sim 377 \mu\text{g/L}$,而蜕皮后期与蜕皮间期浓度在 $3.3 \sim 4.4 \mu\text{g/L}$ 之间,这与蜕皮抑制激素负调控蜕皮激素的合成是一致的。此外通过切除眼柄破坏 MIH 分泌组织 X 器官窦腺复合体,能够促进 Y 器官蜕皮激素的分泌,提高血淋巴中的蜕皮激素浓度,缩短蜕皮周期时间;而当向切除眼柄动物体内注射眼柄组织提取物,可降低血淋巴蜕皮激素浓度,延长蜕皮周期时间 (Pamuru et al. 2012)。

1.4 蜕皮抑制激素调控蜕皮激素的信号通路网络机制 近年来,关于蜕皮抑制激素 (MIH) 对蜕皮激素的调控机制研究取得了一些重要进展,逐步构建出蜕皮抑制激素调控蜕皮激素的信号通路网络 (Chang et al. 2011)。蜕皮抑制激素 (MIH) 通过与位于 Y 器官质膜的 MIH 受体相结合,调控环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) 及环磷酸鸟苷 (cyclic guanosine monophosphate, cGMP) 细胞信号通路,并与细胞内钙通路的传导相关联,从而影响蜕皮激素的合成与分泌 (Nakatsuji et al. 2009, Covi et al. 2012)。蜕皮抑制激素调控蜕皮激素合成的信号通路包括两个阶段, cAMP/ Ca^{2+} 的“激发”阶段和一个 NO/cGMP 依赖的“加和”阶段。蜕皮抑制激素 (MIH) 首先通过与 G 蛋白偶联受体 (MIH-R) 相结合,激活腺苷酸环化酶 (adenylyl cyclase, AC), 产生 cAMP, 并活化蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA)。蛋白激酶 A 可以直接影响蜕皮激素的合成或通过活化细胞膜上的 Ca^{2+} 通路,使细胞外 Ca^{2+} 离子进入到细胞内激活钙调节蛋白 (calmodulin,

CaM), 钙调节蛋白通过钙调磷酸酶 (calcineurin, CaN) 直接或间接的激活一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS), 一氧化氮合酶产生一氧化氮激活鸟苷酸 I 型环化酶 (guanylyl cyclase, GC-1), 增加了 cGMP 的合成, 最终激活蛋白激酶 G (protein kinase G, PKG), 从而抑制蜕皮类激素的合成 (Webster et al. 2012)。然而 Nakatsuji 等 (2004) 在克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 蜕皮周期过程中发现 MIH 与血淋巴蜕皮激素的变化趋势并不存在显著的拮抗关系, 进一步表明蜕皮抑制激素对蜕皮激素合成的调控机制可能比人们对其现有的认识更为复杂。

1.5 性腺发育对水生甲壳类蜕皮发生的影响 甲壳类的蜕皮发生与性腺发育是紧密相连而又相互影响抑制的两个生理过程, 均需要大量的物质能量积累和内源激素信号通路网络的调控, 其中一些内源调控激素如蜕皮激素、甲基法尼酯等在蜕皮发生和性腺发育两个生理过程均起到重要的调控作用。当甲壳类完成最后一次生殖蜕皮发生后, 其生长即终止, 而性腺发育迅速加快, 摄入的营养物质与能量由满足于蜕皮生长生理需要转向满足于性腺发育需要。通过切除青春期蜕皮期眼柄破坏 X 器官-窦腺复合体功能方式, 能够加速卵黄蛋白积累, 促进性腺发育进程 (Uawisetwathana et al. 2011)。而在其他一些甲壳类群体, 性腺发育成熟、交配抱卵后仍能进行蜕皮生长。但是性腺发育的营养需求与交配抱卵的生理进程显著延长了蜕皮周期时间, 而当将交配抱卵移除后能够缩短蜕皮周期时间, 加速启动蜕皮发生 (Bauer et al. 2000)。Raviv 等 (2006) 等发现南美白对虾进入到蜕皮前期, 卵巢中的卵黄蛋白被重新吸收利用, 在完成蜕皮过程后一段时间, 卵巢中的卵黄蛋白又重新出现。这表明蜕皮生理过程能够反作用于性腺发育进程, 将营养物质吸收利用于蜕皮发生过程, 在完成蜕皮发生过后再进行营养积累与性腺发育。总之, 繁殖与蜕皮生长存在交互影响, 卵黄蛋白积累、交配抱卵等繁殖的生理行为对蜕皮发生存在显著的抑制作

用, 而蜕皮发生过程也会反作用于性腺发育进程。但是对于蜕皮发生与性腺发育两者之间的调控与协调机制还知之甚少。

2 影响水生甲壳类蜕皮发生的外源因子

2.1 温度对水生甲壳类蜕皮发生的影响 对于变温动物甲壳类而言, 温度是影响甲壳类蜕皮发生的关键因子。在一定温度范围内, 较高的温度能够提高体内酶的活性, 加速代谢率, 从而促进蜕皮发生频率, 加速生长 (Hartnol 1982)。温度对甲壳类蜕皮生长的直接影响主要体现在蜕皮增长率和蜕皮间期时间两个方面。随着温度的生长, 甲壳类的蜕皮周期时间不断缩减, 而蜕皮增长率的变化并不显著, 甚至减少 (Hartnol 2001)。Verhoef 等 (1998) 设置三个不同温度梯度对佛罗里达蓝螯虾 (*Cherax destructor*) 蜕皮间期时间和蜕皮增长率影响, 研究结果表明蜕皮间期时间和蜕皮增长率随着温度的升高而下降, 而增长率随着温度的升高而增加。Daoud 等 (2010) 对长额对虾 (*Pandalus borealis*) 幼体与成体蜕皮生长受温度影响的研究结果表明, 提高温度能够缩短蜕皮间期时间, 而对蜕皮增长率没有显著影响。温度不仅能够改变甲壳类的蜕皮间期时间, 而且还能够影响到胚胎发育时间与幼体变态发育过程。中华绒螯蟹的胚胎发育周期时间在 15℃ 条件下需 1 098 h, 在 23℃ 缩短为 424 h, 在 26℃ 条件下仅需 339 h; 溞状幼体蜕皮发育的适宜温度在 11 ~ 22℃ 之间, 变态发育时间随着水温的升高而缩短。锯缘青蟹 (*Scylla serrata*) 从孵化至第一次变态, 30℃ 条件下的平均发育时间比 25℃ 条件下的平均发育时间缩短 6 d (曾朝曙等 1992)。

2.2 光照对水生甲壳类蜕皮发生的影响 在水生甲壳类的生存环境中, 光照直接或间接影响着甲壳类的蜕皮、发育、生长与繁殖。光因子通过光照强度与光照周期波动影响蜕皮抑制激素的合成与释放, 进而影响甲壳类的蜕皮生长过程。甲壳类的蜕皮与生长过程受光照强度的影响随着其不同发育阶段变化而变化。中华绒

螯蟹大眼幼体阶段具有较强的趋光性,在黑暗条件下变态发生过程推迟,死亡率升高;而当大眼幼体变态发育到 I 期仔蟹后,对光照的适应性也由趋光性转为避光性,主动选择水草以及掩蔽物等弱光区域进行蜕皮(徐建荣等 2006)。张胜负等(2011)研究了光照强度对拟穴青蟹(*S. paramamosain*)溞状幼体变态发育的影响,结果表明弱光照和强光照均不利于青蟹幼体的蜕皮生长,适当的光照强度对维持甲壳类的正常生理功能非常重要。光照周期的节律性变化也影响着甲壳类的蜕皮与生长过程。一些研究表明长时间光照抑制蜕皮抑制激素的合成与释放,从而缩短蜕皮周期时间;而短时间光照则促进蜕皮抑制激素的升高导致蜕皮周期时间延长。王芳等(2004)研究认为光照周期通过影响中国明对虾(旧称中国对虾)在蜕皮生长过程中的能量分配进而影响其蜕皮发生过程。因此适量的光照时间是甲壳类生长发育所必需的。

2.3 盐度对水生甲壳类蜕皮发生的影响 盐度是影响甲壳类的蜕皮发生的又一关键生态因子。研究表明盐度能刺激淡水甲壳类蜕皮,促进性早熟发生。成永旭等(1997)报道了盐度对淡水甲壳类中华绒螯蟹大眼幼体蜕皮变态发育到三期仔蟹的影响,认为随着盐度的升高,仔蟹的平均蜕皮次数也随着增多,但蜕皮增长率并不显著。淡水甲壳类在一定盐度范围内,随着盐度的升高,蜕皮周期时间缩短,蜕皮频率升高,诱导性早熟比例升高;而对于一些海水甲壳类,随着盐度的降低或盐度波动会刺激甲壳类动物蜕皮的发生,缩短蜕皮间期时间。丁森等(2008)报道了低盐度波动缩短了中国明对虾的蜕皮周期时间。而高盐度水平,甲壳类蜕皮新壳的硬化时间延长,蜕皮周期时间增大,蜕皮频率随着盐度的升高而减少。总体而言,适当盐度范围内能够促进其蜕皮发生与蜕皮同步化水平,低盐度或高盐度水平,甲壳类的蜕皮周期时间与蜕皮频率均会受到影响。甲壳类为了适应一定盐度水体的渗透压变化,通过神经内分泌调控系统第二信使环状腺苷酸(cAMP)、蛋

白激酶 A(PKA)、钙调节蛋白(CaM)等激活 Na^+/K^+ 泵与 Cl^- 通道,调节渗透压,适应水体一定盐度的变化(Zanotto et al. 2002)。而这些神经内分泌调控与蜕皮信号通路之间是否存在关联,渗透压调节是否会影响到蜕皮的信号通路,从而提前触发蜕皮发生,缩短蜕皮周期时间等,还有待于进一步研究。

2.4 钙离子对水生甲壳类蜕皮发生的影响

甲壳类的外骨骼是由大量的钙离子化合物所构成,钙离子参与蜕皮期的信号通路调控与蜕皮后期新表皮的矿化,是保障甲壳类蜕皮生长必不可少的重要元素(Ahearn et al. 2004)。Wheatly(1996)提出甲壳类在蜕皮前期外骨骼中的钙被重新吸收,一部分以磷酸钙形式储存在组织细胞内,一部分通过鳃组织散失到水体当中;蜕皮期部分留存在外骨骼的钙元素随着旧表皮的蜕皮而丢失;蜕皮后期甲壳类外表皮组织迅速发生矿化,所需钙离子主要来自蜕皮前期机体内储存钙的释放,通过鳃组织从水体中吸收钙离子,或是直接摄入含有钙的食物。与陆生甲壳类自身钙元素积累较多相比,海水甲壳类因为生活在钙离子含量相对比较高的水环境中,自身储存较少的钙,绝大部分钙的来源都是通过吸收水体中的钙离子;对于淡水甲壳类自身机体储存的钙元素也并不多,为了适应淡水的低钙浓度环境,增强了从水体中吸收钙离子的能力。一些研究表明,淡水甲壳类的胰腺与胃石组织被认为是钙元素存储的重要组织,并在外表皮钙化过程中起着重要作用(Zanotto et al. 2002)。蜕皮间期钙离子以磷酸钙等化合物形式存在,进入到蜕皮后期胰腺或胃石中钙离子被释放到血淋巴循环系统,并参与新表皮的钙化过程(Shechter et al. 2008)。钙元素在甲壳类蜕皮周期过程的主要存在形式、存储组织,在体内外的吸收与释放途径,在细胞内外的转移机制,以及内分泌激素对钙元素的调控规律还需进一步深入研究。

2.5 饵料对水生甲壳类蜕皮发生的影响 甲壳类的周期性生理蜕皮生长需要一定的能量积累与储备。当饵料不足,营养积累不够充分,蜕

皮间期时间会延长,蜕皮增长率和增重率下降,有些甚至无法顺利完成蜕皮过程而死亡;而当营养物质过剩,脂类等营养物质在肝胰腺等组织中大量积累,蜕皮间期时间会缩短,蜕皮频率提高,性腺发育加速,性早熟比例增大(Hartnoll 2001)。Anger 等(1981)对甲壳类蚤状幼体变态发育阶段研究发现,蜕皮后蚤状幼体在经过一定营养物质的积累,达到或超过饱和储存点(point-of-reserve-saturation, PRS)后,即使后期无饵料能量供应,仍能顺利完成蜕皮,但蜕皮后死亡率随着饥饿时间的延长而增大;而当蚤状幼体蜕皮后经历一段饥饿周期,达到或超过不可恢复点(point-of-no-return)后,即使补充投喂饵料也无法进入下一轮蜕皮周期。黄国强等(2004)报道在较低的饵料供应条件下中国对虾幼体能进行正常蜕皮,但其蜕皮增长率与蜕皮增重率增长较小甚至下降。因此饵料被认为是开启甲壳类蜕皮生长的重要限制因子。

饵料中包含的一些重要营养物质如脂类、固醇类、维生素等对于甲壳类内分泌蜕皮调控也具有重要的作用。脂类、固醇类是甲壳类合成蜕皮激素的原料,维生素也是蜕皮生长的限制因子。在饵料中添加一定比例的磷脂和不饱和脂肪酸等营养物质能提高甲壳类的蜕皮速率和头胸甲增长率,但对蜕皮周期时间、蜕皮增长率及蜕皮成活率无显著影响(常国亮等 2011)。饵料中缺乏一些维生素将会延长其蜕皮周期时间,降低蜕皮频率;而饵料中保持一定水平的维生素含量能够提高摄食消化率,促进对饵料的吸收,加速能量转化,提高蜕皮生长水平。

2.6 内分泌干扰物对水生甲壳类蜕皮发生的影响 环境内分泌干扰物(endocrine disrupting chemicals, EDCs)又被称为环境激素(environmental hormone),是一种外源性干扰内分泌调控网络的化学物,主要包括类固醇雌激素、有机氯农药、杀虫剂农药、重金属等(LeBlanc 2007, Vandenberg et al. 2012)。它们通过食物链的传递与富集,在水生甲壳类体内蓄积放大,干扰水生甲壳类的内分泌调控网络,进而影响正常的蜕皮发育过程(Rodríguez et

al. 2007)。其内在机制是通过影响甲壳类蜕皮类调控激素的合成或竞争蜕皮类调控激素受体等方式,干扰蜕皮激素-蛋白调控信号网络,抑制水解蛋白酶类与几丁质酶类活性,延长了蜕皮周期时间,导致甲壳类无法顺利完成蜕皮而死亡(Zou 2005)。枝角类、桡足类等小型甲壳动物暴露在内分泌干扰素的条件下,蜕皮周期时间延迟,蜕皮次数减少,蜕皮死亡率上升(Oetken et al. 2004)。对于一些大型甲壳类受环境污染物影响研究发现,内分泌干扰物通过干预蜕皮激素受体,进而影响到甲壳类蜕皮的终端——表皮组织中几丁质酶类的活性,抑制甲壳类动物的蜕皮发生与附肢再生过程(Fingerman et al. 1998)。Zou 等(2004)报道了暴露在多氯联苯、有机氯化合物、己烯雌酚、硫丹等环境污染物条件下,招潮蟹外表皮组织的几丁质酶基因 *NAG* 的表达以及酶活性均受到显著抑制。

3 深化水生甲壳类蜕皮研究的几个方面

水生甲壳类的蜕皮发生及其影响因素研究在过去几十年间取得长足发展(图 1)。研究方法由过去的直接观察等方式发展到高效液相分离、荧光免疫定位、体外纯化表达等更精确化技术手段。研究内容由早期的蜕皮行为形态学观察,显微组织学观察,生理生态学研究,逐步拓展到蜕皮功能基因、蛋白以及调控信号通路网络研究。但从指导我国虾蟹类养殖产业的需求相比,水生甲壳类蜕皮的基础与应用研究还不够系统和深入,养殖生产过程中出现如蜕皮成活率波动较大、同步化蜕皮水平偏低、性早熟等蜕皮关联问题依然影响着产业发展,迫切需要深入开展水生甲壳类蜕皮发生及其影响机制的研究并依此指导和解决实际生产问题。

3.1 水生甲壳类蜕皮内源调控机制 近期一些研究发现蜕皮抑制激素在蜕皮前期一段时间内的表达水平甚至高于蜕皮间期水平,这对传统的蜕皮抑制激素对蜕皮激素经典调控理论提出了挑战,表明蜕皮调控可能还存在负反馈或

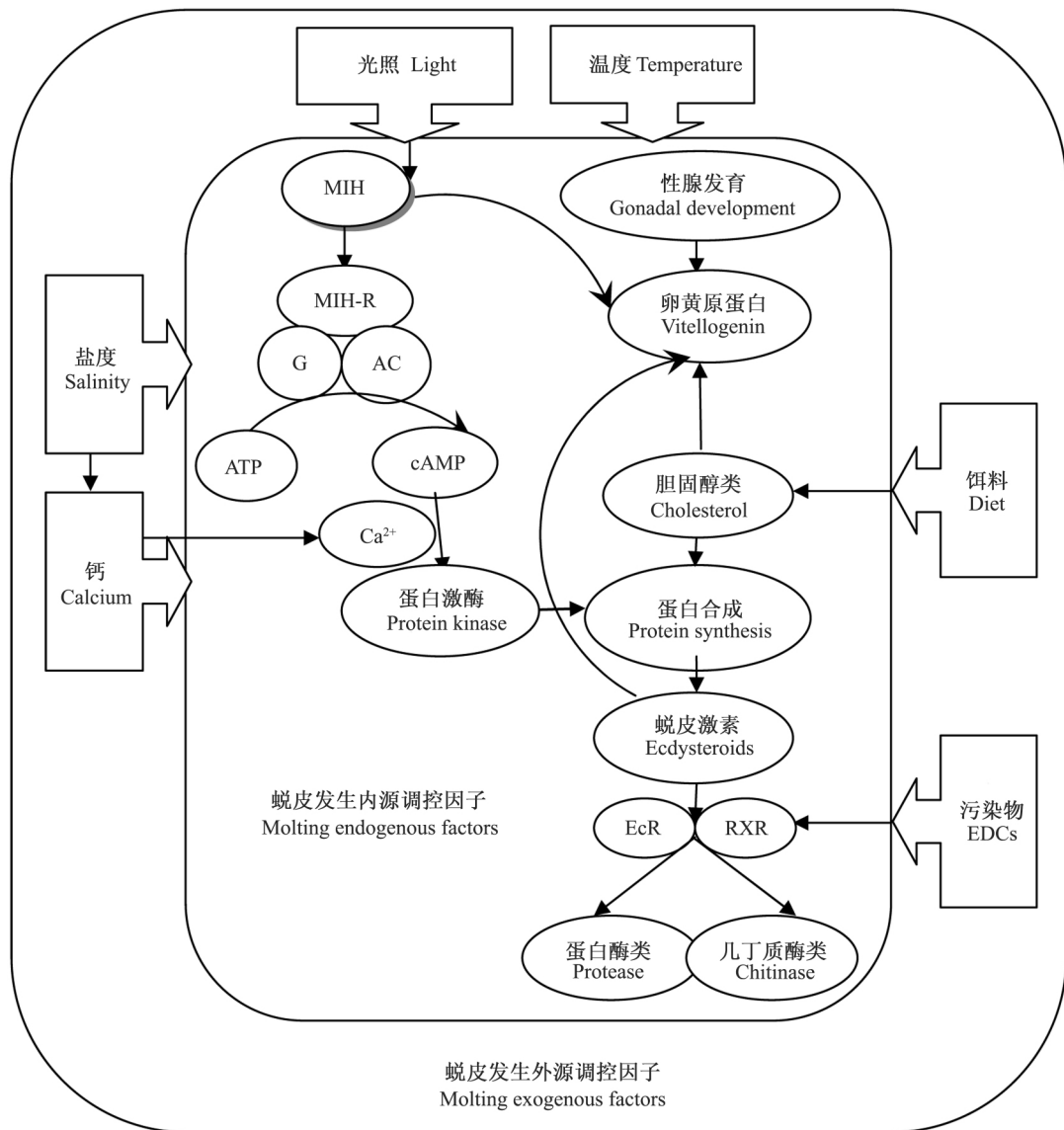


图 1 影响水生甲壳类蜕皮发生的内外源调控因素(参考 Lachaise 等 1993,Chang 等 2011)

Fig. 1 The intrinsic and extrinsic factors that affect the aquatic crustaceans molting

(referenced Lachaise et al. 1993 and Chang et al. 2011)

MIH. 蜕皮抑制激素; MIH-R. 蜕皮抑制激素受体; G. G 蛋白; AC. 腺苷酸环化酶;

ATP. 三磷酸腺苷; cAMP. 环磷酸腺苷; Ca^{2+} . 钙离子; EcR. 蜕皮激素受体; RXR. 维甲类 X 受体。

MIH. Molt inhibiting hormone; MIH-R. Molt inhibiting hormone receptor; G. G protein; AC. Adenyl cyclase;

ATP. Adenosine monophosphate; cAMP. Cyclic adenosine monophosphate; Ca^{2+} . Calcium;

EcR. Ecdysteroid receptor; RXR. Retinoid X receptor.

其他调控通路。因此需深化水生甲壳类内源调控类激素及其相关信号通路网络的研究,并结合甲壳类模式生物与功能基因组、转录组进展,开展甲壳类蜕皮周期过程的相关功能基因调控

与关联研究,分析蜕皮不同时相的功能基因转录表达变化及其相关代谢酶类的活性,研究蜕皮类激素的种类结构及其合成与释放途径,筛选蜕皮内分泌信号网络通路与关键调控点。

3.2 水生甲壳类蜕皮的外源因子与内源因子

关联性 外源生态因子对水生甲壳类蜕皮发生影响是一个长周期过程,当温度、营养等积累达到某一“阈值”时,即活化机体内源调控因子,启动蜕皮发生过程。对于外源生态因子是否存在关键“阈值”、内源调控因子如何识别关键“阈值”仍然存在争议。因此加强长周期过程外源生态因子如积温效应、光周期与营养积累等对蜕皮发生的诱导影响研究,比较脂类、固醇类等营养物质对甲壳类蜕皮进程的影响,分析外源生态因子如何干预内源调控因子,进而调控甲壳类蜕皮发生过程显得尤其重要。

3.3 水生甲壳类蜕皮发生与发育、生长、生殖、

附肢再生的相互关系 甲壳类的发育生长过程是由多次蜕皮梯度式增长所构成的,蜕皮增长率、蜕皮间期时间和蜕皮次数影响着其生长速率;在进入生殖期之前甲壳类最后一次生殖蜕皮决定了个体性腺发育进程,生殖蜕皮发生过早会导致性早熟现象出现;甲壳类的附肢发生脱落后再生过程必须通过蜕皮发生才能得以实现。因此今后需进一步加强对甲壳类生活史多次蜕皮的生长方式、生殖蜕皮与性腺发育规律以及附肢再生对蜕皮发生的影响等相关研究。

参 考 文 献

- Ahearn G A, Mandal P K, Mandal A. 2004. Calcium regulation in crustaceans during the molt cycle: a review and update. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 137(2): 247–257.
- Anger K, Dawirs R R, Anger V, et al. 1981. Effects of early starvation periods on zoeal development of brachyuran crabs. *Biological Bulletin*, 161(2): 199–212.
- Asazuma H, Nagata S, Kono M, et al. 2007. Molecular cloning and expression analysis of ecdysone receptor and retinoid X receptor from the kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 148(2): 139–150.
- Bauer R T, Abdalla J H. 2000. Patterns of brood production in the grass shrimp *Palaemonetes pugio* (Decapoda: Caridea). *Invertebrate Reproduction & Development*, 38(2): 107–113.
- Chang E S, Mykles D L. 2011. Regulation of crustacean molting: A review and our perspectives. *General and Comparative Endocrinology*, 172(3): 323–330.
- Chung J S. 2010. Hemolymph ecdysteroids during the last three molt cycles of the blue crab, *Callinectes sapidus*: quantitative and qualitative analyses and regulation. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 73(1): 1–13.
- Chung J S, Zmora N, Katayama H, et al. 2010. Crustacean hyperglycemic hormone (CHH) neuropeptides family: functions, titer, and binding to target tissues. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 166(3): 447–454.
- Covi J A, Chang E S, Mykles D L. 2012. Neuropeptide signaling mechanisms in crustacean and insect molting glands. *Invertebrate Reproduction & Development*, 56(1): 33–49.
- Daoud D, Lambert Y, Audet C, et al. 2010. Size and temperature-dependent variations in intermolt duration and size increment at molt of Northern Shrimp, *Pandalus borealis*. *Marine Biology*, 157(12): 2655–2666.
- Durica D S, Chung A C, Hopkins P M. 1999. Characterization of *EcR* and *RXR* gene homologs and receptor expression during the molt cycle in the crab, *Uca pugnator*. *American Zoologist*, 39(4): 758–773.
- Fingerman M. 1997. Crustacean endocrinology: a retrospective, prospective, and introspective analysis. *Physiological Zoology*, 70(3): 257–269.
- Fingerman M, Jackson N C, Nagabhushanam R. 1998. Hormonally-regulated functions in crustaceans as biomarkers of environmental pollution. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 120(3): 343–350.
- Hartnoll R G. 1982. Growth // Abele L G. *The Biology of Crustacea*. Vol. 2. New York: Academic Press, 1982: 11–96.
- Hartnoll R G. 2001. Growth in Crustacea—twenty years on. *Hydrobiologia*, 449(1/3): 111–122.
- Hopkins P M. 2009. Crustacean ecdysteroids and their receptors // Smagghe G. *Ecdysone: Structures and Functions*. Netherlands Oklahoma: Springer, 73–97.
- Hopkins P M. 2012. The eyes have it: A brief history of crustacean neuroendocrinology. *General and Comparative Endocrinology*, 175(3): 357–366.
- Lachaise F, Roux A L, Hubert M. 1993. The molting gland of crustaceans: localization, activity, and endocrine control (a review). *Journal of Crustacean Biology*, 13(2): 198–234.
- LeBlanc G A. 2007. Crustacean endocrine toxicology: a review. *Ecotoxicology*, 16(1): 61–81.
- Mykles D L. 2011. Ecdysteroid metabolism in crustaceans. *Steroid Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 127(3/5): 196–203.
- Nakatsuji T, Lee C Y, Watson R D. 2009. Crustacean molting-inhibiting hormone: structure, function, and cellular mode of

- action. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 152(2): 139–148.
- Nakatsuji T, Sonobe H. 2004. Regulation of ecdysteroid secretion from the Y-organ by molt-inhibiting hormone in the American crayfish, *Procambarus clarkii*. General and Comparative Endocrinology, 135(3): 358–364.
- Oetken M, Bachmann J, Schulte U. 2004. Evidence for endocrine disruption in invertebrates. International Review of Cytology, 236: 1–44.
- Pamuru R R, Rosen O, Manor R, et al. 2012. Stimulation of molt by RNA interference of the molt-inhibiting hormone in the crayfish *Cherax quadricarinatus*. General and Comparative Endocrinology, 178(2): 227–236.
- Raviv S, Parnes S, Segall C, et al. 2006. Complete sequence of *Litopenaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda) vitellogenin cDNA and its expression in endocrinologically induced sub-adult females. General and Comparative Endocrinology, 145(1): 39–50.
- Rodríguez E M, Medesani D A, Fingerma M. 2007. Endocrine disruption in crustaceans due to pollutants: A review. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 146(4): 661–671.
- Shechter A, Berman A, Singer A, et al. 2008. Reciprocal changes in calcification of the gastrolith and cuticle during the molt cycle of the red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. The Biological Bulletin, 214(2): 122–134.
- Tarrant A M, Behrendt L, Stegeman J, et al. 2011. Ecdysteroid receptor from the American lobster *Homarus americanus*: EcR/RXR isoform cloning and ligand-binding properties. General and Comparative Endocrinology, 173(2): 346–355.
- Uawisetwathana U, Leelatanawit R, Klanchui A, et al. 2011. Insights into eyestalk ablation mechanism to induce ovarian maturation in the Black Tiger Shrimp. PLoS ONE, 6(9): e24427.
- Vandenberg L N, Colborn T, Hayes T B, et al. 2012. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: Low-dose effects and nonmonotonic dose responses: A review by Pete Myers. Endocrine Reviews, 33(3): 1–78.
- Verhoef G D, Austin C M, Jones P L, et al. 1998. Effect of temperature on molt increment and intermolt period of a juvenile Australian fresh-water crayfish, *Cherax destructor*. Journal of Crustacean Biology, 18(4): 673–679.
- Watson R D, Lee K J, Qiu S H, et al. 2001. Molecular cloning, expression, and tissue distribution of crustacean molt-inhibiting hormone. American Zoologist, 41(3): 407–417.
- Webster S G, Keller R, Dirksen H. 2012. The CHH-superfamily of multifunctional peptide hormones controlling crustacean metabolism, osmoregulation, moulting, and reproduction. General and Comparative Endocrinology, 175(2): 217–233.
- Wheatly M G. 1996. An overview of calcium balance in crustaceans. Physiological Zoology, 69(2): 351–382.
- Zanotto F P, Wheatly M G. 2002. Calcium balance in crustaceans: nutritional aspects of physiological regulation. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 133(3): 645–660.
- Zhang Y C, Sun Y, Liu Y C, et al. 2011. Molt-inhibiting hormone from Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*): Cloning, tissue expression and effects of recombinant peptide on ecdysteroid secretion of YOs. General and Comparative Endocrinology, 173(3): 467–474.
- Zou E M. 2005. Impact of xenobiotics on crustacean molting: The invisible endocrine disruption. Integrative and Comparative Biology, 45(1): 33–38.
- Zou E M, Bonvillain R. 2004. Chitinase activity in the epidermis of the fiddler crab, *Uca pugilator*, as an in vivo screen for molt-interfering xenobiotics. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 139(4): 225–230.
- 常国亮, 吴旭干, 成永旭, 等. 2011. 磷脂和 HUFA 对中华绒螯蟹幼蟹存活、生长、蜕壳及生化组成的影响. 中国水产科学, 18(2): 329–337.
- 成永旭, 王武, 谭玉钧, 等. 1997. 盐度及钙镁离子对中华绒螯蟹大眼幼体育成 III 期仔蟹的成活率和生长的影响. 水产学报, 21(1): 84–88.
- 丁森, 王芳, 郭彪, 等. 2008. 盐度波动对中国对虾稚虾蜕皮、生长和能量收支的影响. 应用生态学报, 19(2): 419–423.
- 黄国强, 董双林, 王芳, 等. 2004. 饵料种类和摄食水平对中国对虾蜕皮的影响. 中国海洋大学: 自然科学版, 34(6): 942–948.
- 元一舟, 朱冬发, 杨济芬, 等. 2010. 甲壳动物蜕皮抑制激素调控机制的研究进展. 动物学杂志, 45(2): 165–170.
- 徐建荣, 沈颂东, 张加梅, 等. 2006. 环境条件对中华绒螯蟹大眼幼体蜕壳生长的影响. 水产科学, 25(10): 505–508.
- 王芳, 董双林, 董少帅, 等. 2004. 光照周期对中国对虾稚虾蜕皮和生长的影响. 中国水产科学, 11(4): 354–359.
- 曾朝曙, 李少菁. 1992. 温度对锯缘青蟹幼体存活与发育的影响. 水产学报, 16(3): 213–221.
- 张胜负, 蒋科技, 顾孝连, 等. 2011. 光照强度对拟穴青蟹幼体生长及能量收支的影响. 海洋渔业, 33(2): 187–194.