

暗适应和光适应时三疣梭子蟹光感受器超微结构的比较

罗永婷, 盛春, 钱忠英, 张慧绮

(上海师范大学生命与环境科学学院, 上海 200234)

[摘要] 用透射电镜研究了暗适应和光适应的三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)光感受器的超微结构. 结果显示暗适应时, 感杆束的直径大, 微绒毛整齐, 膜下潴泡囊的体积较小, 线粒体、内质网等细胞器较多, 色素颗粒位于细胞各处. 在光适应时, 感杆束的直径小, 微绒毛凌乱, 膜下潴泡囊的体积较大, 板膜体、多囊体、溶酶体等细胞器较多, 色素颗粒位于细胞远端接近细胞核层面; 另外, 微绒毛基部的胞饮泡数量、递质样颗粒以及其他细胞器的分布, 暗适应和光适应的光感受器也有着较明显的差异.

[关键词] 三疣梭子蟹, 复眼, 超微结构, 暗适应, 光适应

[中图分类号] Q 959. 223; Q 436 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2006)04-0082-04

The Ultrastructure Comparison of the Light and Dark Adaptation of Compound Eyes in *Portunus trituberculatus*

Luo Yongting, Sheng Chun, Qian Zhongying, Zhang Huiqi

(College of Life and Environment Sciences, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China)

Abstract: The ultrastructure of photoreceptor in crab (*Portunus trituberculatus*), either light or dark adapted, are studied by electron microscopy. The results show that the fine structures of the photoreceptor are different in light and dark adaptation. In dark adaptation, the diameter of rhabdom is big, the microvilli is orderly, the dimension of perirhabdom vacuole is small, the number of mitochondria and endoplasmic reticulum are comparatively more, and the pigment granules are distributed around nucleolus. In light adaptation, the diameter of rhabdom is small, the microvilli is messy, the dimension of perirhabdom vacuole is big, and the pigment granules are distributed everywhere in the cytoplasm, and there are more lamellar bodies and multivesicular bodies and lysosomes in cytoplasm. Moreover, the number of pinocytotic vesicle below the microvilli, chemical neurotransmitter-like particles and other organelles in cytoplasm, are different in light and dark adaptation.

Key words: *Portunus trituberculatus*, Compound Eye, ultrastructure, dark adaptation, light adaptation

0 引言

节肢动物作为高等的无脊椎动物,其光感受器的超微结构和生理功能在国内外被广泛地研究,涉及到的动物包括草虾、沼虾、螯虾、中华绒螯蟹、蜘蛛、果蝇、蜚蠊和萤等. 国内外在草虾^[1]和中华绒螯蟹^[2,3]的复眼研究中都发现光适应可使感光器细胞的超微结构发生变化. 袁维佳等^[4]已经对三疣梭子蟹复眼的形态和超微结构进行了研究. 但是,暗适应和光适应条件对其感光器结构影响的工作做的不多,以往涉及的动物种类和数量都比较少. 我们通过研究光、暗不同适应下三疣梭子蟹光感受器结构,为研究节肢动物的光感觉生理提供结构上的证据,以便为进一步了解甲壳动物光感觉生理机制和感光器结构之间的关系提供有意义的资料.

收稿日期: 2005-12-22.

基金项目: 上海市教育委员会基金资助项目(03DZ05).

作者简介: 罗永婷,女,1971—,硕士,讲师,主要从事动物学的教学与研究. E-mail: lyt@shnu.edu.cn

1 材料和方法

1.1 材料

实验选用的三疣梭子蟹在3月中旬从农贸市场购得,每只重450~500 g。在实验室里的大玻璃缸中,静养1 d。一组置于2 000 lx日光灯30 cm下,给予持续的光照1 h;另一组置于全暗的环境中1 h。分别将蟹的复眼从眼柄基部处用镊子取下(暗适应的材料在暗室的微弱红光下操作)。

1.2 实验方法

本实验中所用药品都为国产分析纯。

- (1)取下的复眼立即用5%戊二醛(用0.2 mol/L pH 7.2 磷酸缓冲液配制)固定2 h;
- (2)磷酸缓冲液(pH 7.4)洗涤3次,一般每次为30 min;
- (3)2%锇酸后固定(用pH 7.4的磷酸缓冲液配制),时间为90 min;
- (4)用磷酸缓冲液漂洗一下;
- (5)系列酒精脱水(30% 5 min、50% 5 min、70% 10 min、80% 10 min、85% 15 min、90% 15 min、95% 15 min、100% I 20 min、100% II 20 min),使用的100%酒精先要用无水硫酸钠过滤;
- (6)纯丙酮脱水2次,每次15 min(使用的纯丙酮先用无水硫酸钠过滤);
- (7)预包埋(包埋液用Epon812和纯丙酮2:1体积比配制),时间为90 min;
- (8)包埋渗透(Epon812)过夜;
- (9)环氧树脂包埋,聚合48 h;
- (10)用Diatome公司的钻石刀制作超薄切片,再用饱和醋酸铀和pH为12的柠檬酸铅染色;
- (11)在75 kV下用HITACHI-600透射电镜观察,照相。

2 结果

三疣梭子蟹的复眼由小眼组成,小眼的感光部在远端是由11个小网膜细胞构成的,小网膜的中央是小网膜细胞伸出的微绒毛组成的感杆束(图1);其中7个小网膜细胞构成了其感光主体,这7个细胞一直延伸到小眼感光部近端。

2.1 暗适应时的光感受器结构

暗适应条件下,小眼的感杆束的横切面呈圆形,小网膜细胞的细胞核位于小眼远端,在细胞核的部位,感杆束直径约为10.8 μm ,围绕感杆束周围是7个小网膜细胞(图2)。感杆束中的微绒毛排列紧密、整齐、有序,不同来源的微绒毛相互垂直或相互以绒毛顶端接触;感杆束边缘整齐,膜下潴泡囊较小,囊中有些类似胞饮泡的小空泡,感杆束周围的胞质均匀,同样含有一些类似胞饮泡的小空泡;胞质中也有少量板膜体和多囊体,多囊体内包含的小囊泡数量也较少(图3)。小网膜细胞质中内质网丰富,形态长短不一,有些内质网内腔呈泡状膨大;线粒体相对较多,形态多数圆形,内部有较密的嵴突和电子致密的基质;色素颗粒体积大,多位于远端靠近细胞核周围分布;在细胞核周围胞质中几乎不见板膜体和溶酶体,偶尔可见少量的黑色递质样颗粒(图4)。而在小眼近端,细胞中的多囊体、线粒体、板膜体数量比远端增多,多囊体的直径增大,内部含有的小囊泡数量增多,有些多囊体中含有板膜体,细胞质中散布着大量的黑色递质样颗粒,内质网仍较多,有些部位膨大成体积较大的空泡(图5)。

2.2 光适应时的光感受器结构

光适应条件下,在细胞核的部位,小眼的感杆束的直径约为6.2 μm ,感杆束边缘凹凸不平,膜下潴泡囊围绕在感杆束的周围,体积较大,有的部位膨大呈大空泡,感杆束周围的胞质较厚,含有较多的板膜体、囊板体(图6);感杆束中微绒毛排列疏松、杂乱,在微绒毛的基部也有胞饮泡类小囊泡,其数量少于暗适应状态,而体积大于暗适应状态下;胞质中有大量的色素颗粒,均匀分布于细胞各处;线粒体数量少于暗适应状态(图7)。板膜体和囊板体数量较多,有些部位囊板体和多囊体随胞质分布到了感杆束中;内质网数量较少,呈长杆状平行分布,结构紧密,很少膨大成囊状(图7)。在小眼的近端,细胞中的细胞器种类同样比远端多,色素颗粒也较多,但多囊体、板膜体等相对近端减少;大部分胞器分布于细胞的边缘,在细胞中央出现了一个无细胞器区域(图8)。

暗适应时光感受器的超微结构与光适应时相比如表 1 所示具有较大的差异.

表 1 暗适应和光适应的三疣梭子蟹光感受器在细胞核部位的超微结构比较

	暗适应	光适应
感杆束	直径 10.8 μm,微绒毛整齐	直径 6.2 μm,微绒毛凌乱
胞质中的囊泡	较多,体积较小	较多,体积较大
膜下储泡囊	较小	较大
板膜体、囊板体	较少	较多
脂滴	较少	较多
线粒体	较多	较少
色素颗粒	集中于远端细胞核附近	分布细胞各处

3 讨论

节肢动物光感受器的结构与光照有关. 在光适应和暗适应两种不同的状态下, 光感受器的超微结构及细胞内胞器种类和数量都有变化^[5,6]. 电生理研究发现, 节肢动物光感受器在不同光照时出现光适应和暗适应两种生理状态^[7], 实验中我们主要观察了三疣梭子蟹小眼由 7 个小网膜细胞构成的感光主体部位, 感杆束中的微绒毛是感受光刺激的物质基础, 以往对节肢动物光感受器超微结构的研究已发现, 光照使感杆束的直径缩小, 里面的微绒毛排列凌乱, 这与我们在三疣梭子蟹感光器结构中观察到的结果完全符合. 长期使三疣梭子蟹处于光照下, 其光感受器的感杆束直径下降, 感杆束周围的胞质增厚, 出现大量的多囊体、板膜体、囊板体和溶酶体等胞器; 光照也使细胞中色素颗粒均匀分布于细胞各处, 这样可以防止小眼之间光的相互干扰. 反之, 暗适应条件下, 色素颗粒则集中在细胞核所在的部位. 感杆束中的微绒毛的合成和降解都需要酶的参加, 溶酶体在这个过程中起重要作用, 板膜体被证实含有过氧化酶和酪氨酸酶^[8], 在光适应的小网膜细胞中出现了大量的囊板体结构. Stow 等^[9]认为囊板体是感杆束中微绒毛降解过程中的中间产物. 微绒毛是通过在其基部形成小囊泡, 从而形成囊板体, 最终形成脂滴而被降解的. 降解微绒毛的酶可能只有在光刺激下才被激活, 在光适应时胞质中出现的大量板膜体和溶酶体等胞器就是很好的说明. 微纤毛在酶的作用下分解成小囊泡, 最后形成脂肪滴被储藏.

在暗适应时微绒毛的合成也是在酶的参与下进行的, 在高尔基体和颗粒内质网的作用下可合成新的微纤毛, 感杆束的结构得以恢复^[9]. 我们在暗适应条件下观察到大量的内质网和溶酶体, 暗适应时的内质网都成膨胀状正说明其旺盛的合成活动.

而膜下储泡囊的形态与罗氏沼虾中观察到的结构不同. 我们认为膜下储泡囊仍可以看成是感杆束中的微绒毛降解的中间阶段, 因此, 我们在实验中观察到膜下储泡囊无论是在暗适应还是在光适应中, 都包含较多的类似胞饮泡的小囊泡. 在光适应条件下膜下储泡囊膨大, 这种结构在不同的类群中的变化, 是否具有属的特征还需做更多的研究. 另外, 作为小网膜细胞的“4+7”模式小眼^[4,10], 我们只在小眼远端观察到另外 4 个小网膜细胞, 而这 4 个远端小网膜细胞在不同光适应中所起的作用, 还有待进一步研究.

4 图版说明

图中标尺均为 1 μm.

图 1: 三疣梭子蟹小眼的远端感光部横切, 示 11 个小网膜细胞(数字)及构成的感杆束(rh);

图 2: 暗适应条件下构成感光主体的 7 个小网膜细胞(数字)和感杆束(rh);

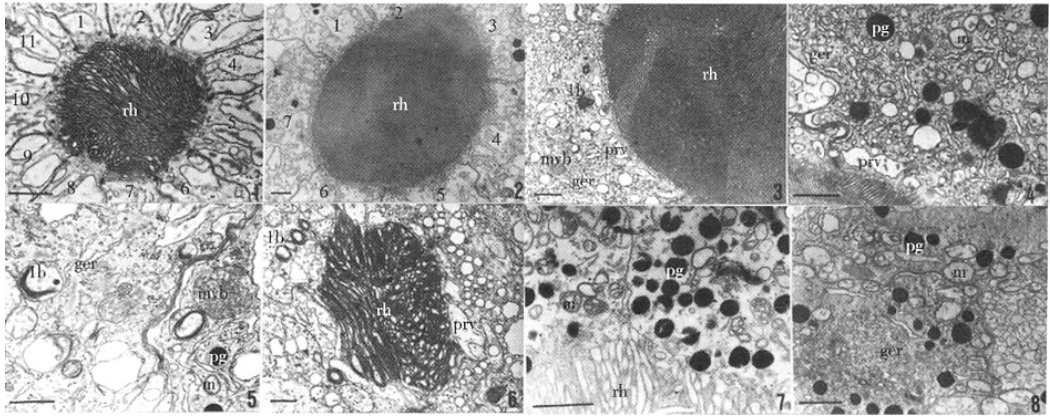
图 3: 暗适应条件下感杆束(rh)及周围胞质中包含的胞器, 如膜下储泡囊(prv), 多囊体(mvb), 内质网(ger), 板膜体(lb)等;

图 4, 5: 暗适应条件下胞质中胞器种类和数量: 如膜下储泡囊(prv), 多囊体(mvb), 内质网(ger), 色素颗粒(pg), 线粒体(m), 板膜体(lb)等;

图 6: 光适应条件下感杆束(rh)及周围胞质中的膜下储泡囊(prv), 板膜体(lb)等胞器;

图 7: 光适应条件下感杆束(rh)边缘及周围胞质中的色素颗粒(pg), 线粒体(m)等胞器;

图 8: 光适应条件下胞质中的内质网(ger), 色素颗粒(pg), 线粒体(m)等胞器.



图版 I

[参考文献]

- [1] Stow S. Light-induced and spontaneous breakdown of the rhabdoms of a crab at dawn: depolarisation vs calcium levels[J]. J Comp Physiol, 1983, 153(1): 365-375.
- [2] 袁维佳,汪琴,胡珣韵,等. 中华绒螯蟹光感受器超微结构在昼夜光周期中的变化[J]. 动物学报, 1997, 43(4): 344-352.
- [3] 袁维佳,胡珣韵,汪琴,等. 不同光适应的中华绒螯蟹光感受器在昼夜光周期中的变化[J]. 上海师大学报:自然科学版, 1998, 27(1): 68-76.
- [4] 袁维佳,陈红,张慧琦,等. 三疣梭子蟹光感受器的形态和超微结构[J]. 动物学报, 2001, 47(5): 578-582.
- [5] Eguchi E, Waterman T H. Changes in retinal fine structure induced in the crab *Libinia* by light and dark adaptation[J]. Z Zellforsch, 1967, 79(2): 209-229.
- [6] Herman K G. Light-stimulated rhabdom turnover in *Limulus* ventral photoreceptors maintained in vitro[J]. J Comp Neurol, 1991, 303(1): 11-21.
- [7] Stieve H, Reuss H, Hennig H T, et al. Single photon-evoked events of the ventral nerve photoreceptor cell of *Limulus*. facilitation, adaptation and dependence of lowered external calcium[J]. Z Naturforsch, 1991, 49(C): 461-482.
- [8] Schraermeyer U. Evidence for a pathway of distal screening pigment granules across the basement membrane of the crayfish photoreceptor[J]. Z Naturforsch, 1992, 47(5): 453-464.
- [9] Stowe S, De Couet H G, Davis D. Photoreceptor membrane turnover in the crayfish *Cherax destructor*: electron microscopy and anti-rhodopsin electron-microscopic[J]. Cell Tissue Res, 1990, 262(3): 483-499.
- [10] 罗永婷,袁维佳,马勇杰,等. 锯缘青蟹复眼的形态和超微结构[J]. 动物学研究, 2003, 24(3): 220-226.

[责任编辑:孙德泉]