

两次卵巢发育成熟拟穴青蟹卵巢与肝胰腺营养成分比较分析

喻国洪¹, 王扬才², 金中文²

(1. 宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315832; 2. 宁波市海洋与渔业研究院, 浙江 宁波 315408)

摘要: 为比较第一次和第二次卵巢发育成熟拟穴青蟹卵巢和肝胰腺营养成分的差异。作者选取一次卵巢发育成熟和二次卵巢发育成熟的拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*)各5只, 对其卵巢和肝胰腺的常规营养成分、氨基酸和脂肪酸含量进行检测和分析, 比较两次卵巢发育青蟹卵巢和肝胰腺主要营养成分的异同, 并对其营养价值进行的分析和评估。结果显示: 卵巢二次发育青蟹性腺指数(GSI)为 9.29 ± 1.81 , 显著低于一次卵巢发育青蟹的 15.46 ± 1.81 。C16: 0(棕榈酸)、C18: 0(硬脂酸)、C16: 1(ω -7)(棕榈油酸)、C18: 1(ω -9)(油酸)、C20: 5(ω -3)(EPA)和 C22: 6(ω -3)(DHA)为卵巢和肝胰腺主要脂肪酸组成, 卵巢中饱和脂肪酸(SFA)、多不饱和脂肪酸(MUFA)、单不饱和脂肪酸(PUFA)和总脂肪酸(TFA)在二次卵巢发育青蟹和一次卵巢发育青蟹均无显著差异($P > 0.05$)。而两次卵巢发育成熟青蟹肝胰腺中 TFA、SFA、MUFA 以及 PUFA 均显著差异($P < 0.05$), 主要的能量型脂肪酸 C16: 0、C18: 0、C16: 1、C18: 1、DHA 和 EPA 二次卵巢发育青蟹显著低于一次卵巢发育青蟹($P < 0.05$)。青蟹卵巢和肝胰腺中氨基酸组成相同, 谷氨酸含量最高, 其次为精氨酸, 半胱氨酸含量最低。无论卵巢还是肝胰腺, 卵巢二次发育青蟹的必需氨基酸(EAA)、非必需氨基酸(NEAA)、总氨基酸(TAA)含量与卵巢一次发育青蟹无显著差异($P > 0.05$), 青蟹卵巢中总氨基酸含量明显高于肝胰腺。二次卵巢发育的青蟹生殖力低于一次卵巢发育青蟹, 尽管卵巢二次发育时间短, 但青蟹卵巢中脂肪酸和氨基酸的含量和组成与一次卵巢发育青蟹相当, 其生殖性能接近一次卵巢发育青蟹。而肝胰腺由于初次繁殖中能量消耗及二次卵巢发育过程对脂肪酸需求, 而导致脂肪酸含量明显低于一次卵巢发育青蟹。

关键词: 拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*); 卵巢发育; 脂肪酸; 氨基酸

中图分类号: S963

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2021)09-0012-09

DOI: 10.11759/hyxx20200908003

拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*, 以下简称青蟹)隶属甲壳纲(Crustacea)、十足目(Decapoda), 梭子蟹科(Portunidae)、青蟹属(*Scylla*), 主要分布于中国浙江、福建、广东、海南等东南沿海各地区, 是中国重要的经济蟹类之一。青蟹营养丰富、味道鲜美、经济价值高, 卵巢发育至V期成熟期的雌蟹俗称“红膏蟹”, 市场价格为普通青蟹的两倍以上^[1], 而膏蟹一旦产卵抱卵, 其经济价值大幅下降。在浙江沿海, 青蟹一般9月—10月进行生殖脱壳并交配, 到次年4月—5月产卵, 第一次卵巢发育历时7~8个月, 营养积累时间长。而产卵1次后的青蟹无需再交配, 再经过1个月的培育, 有些雌蟹的卵巢即可二次发育成熟, 成熟后的卵子也能正常受精、抱卵和孵化。肝胰腺和卵巢是其重要的可食部位, 目前有关青蟹卵巢发育的研究多集中于第一次发育卵巢^[2-3], 而青蟹卵巢二次发育时间远短于第一次卵巢发育, 其卵巢和肝胰腺营养积累状况如何目前研究较少。因此, 本文对卵巢

二次发育红膏蟹卵巢和肝胰腺的主要营养成分进行分析和评价, 并与卵巢一次发育红膏蟹对比, 以为青蟹开发利用及亲本培育提供理论参考和实践依据。

1 材料与方法

1.1 样品来源及制备

第一次卵巢发育青蟹样本为2017年繁育的苗种经过1a养殖达到育苗要求的亲本个体。二次卵巢发育青蟹取自本课题组2018年3月春季育苗, 初次产卵后经过50d左右强化培育的亲本个体。青蟹选择甲壳

收稿日期: 2020-09-08; 修回日期: 2021-01-08

基金项目: 浙江省宁波市科技局科技创新2025重大专项(2019B10010) [Foundation: Science and Technology Innovation 2025 Major Project of Ningbo Science and Technology Bureau of Zhejiang Province, No. 2019B10010]

作者简介: 喻国洪(1995—), 男, 江西九江人, 硕士研究生, 主要从事水产养殖研究, 电话: 13586710059, E-mail: 836410244@qq.com; 金中文(1963—), 通信作者, 电话: 13777129880, E-mail: jzhongwen@sina.com

两侧充满性腺,在光线下观察已无透明区域,解剖后卵巢呈鲜亮桔红色、卵粒可辨、镜检卵巢发育达V期的青蟹。取二次发育和一次发育青蟹各5只,用镊子等工具取出全部卵巢、肝胰腺,将样品分为两份,一份放置-20℃冰箱中冷冻保存,用于一般营养成分测定;另一份放置-80℃冰箱中冷冻保存,用于氨基酸、脂肪酸测定。实验用二次卵巢发育青蟹平均体质量为(344.88±99.07)g、平均壳长(8.71±0.82)cm、平均壳宽(12.61±1.19)cm,与一次卵巢发育青蟹规格(平均体质量(277.44±57.8)g、平均壳长(7.94±0.56)cm、平均壳宽(11.53±0.79)cm)无显著差异($P>0.05$)。

1.2 营养成分测定

水分、粗蛋白、粗脂肪测定分别按照国标GB5009.3—2016、GB5009.5—2016、GB 5009.6—2016测定,氨基酸分析采用酸水解液质联用外标法

$$AAS = \frac{\text{试样样品中氨基酸含量 (mg/g N)}}{\text{FAO/WHO评分标准模式中同种氨基酸含量 (mg/g N)}} \times 100$$

$$CS = \frac{\text{试样样品中氨基酸含量 (mg/g N)}}{\text{鸡蛋蛋白质中同种含量 (mg/g N)}} \times 100$$

$$EAAI = \sqrt[n]{\frac{Ile(a)}{Ile(b)} \times 100 \times \frac{Leu(a)}{Leu(b)} \times 100 \times \dots \times \frac{Val(a)}{Val(b)} \times 1000}$$

$$IT = \frac{C14:0 + C16:0 + C18:0}{0.5 \times \sum MUFA + 0.5 \times \sum PUFA(\omega-6) + 3 \times \sum PUFA(\omega-3) + \frac{\sum PUFA(\omega-6)}{\sum PUFA(\omega-3)}}$$

式中, MUFA 为多不饱和脂肪酸; PUFA 为单不饱和脂肪酸。

1.4 抱卵率与抱卵量的计算

抱卵率=抱卵只数/初始总只数。

绝对抱卵量=产卵总质量×样本卵数/样本卵质量。取样的卵均为产卵8h~16h间胚胎处于卵裂期的蟹。随机取5份0.1g卵,数出卵数后取平均数。

1.5 数据分析统计

采用SPSS统计软件(SPSS 20)进行统计分析,所有数据均以平均值±标准差表示。T-Text检验方法分析,取 $P<0.05$ 为差异显著标准, $P<0.01$ 为极显著差异标准。

2 结果

2.1 常规营养成分

第二次卵巢发育成熟的青蟹其GSI显著低于第

(LC/MS)^[4],由于采用酸水解法处理样品,因此本文不考虑色氨酸的检测。脂肪酸组成分析采用气质联用外标法(GC/MS)^[5],根据脂肪酸标准品的分析图谱,以峰面积为纵坐标、浓度为横坐标做标准曲线,根据样品溶液的峰面积在曲线上读取样品中绝对含量。

1.3 营养评价

卵巢指数(gonad somatic index, GSI, %)=卵巢质量/体质量×100。肝胰腺指数 (hepatopancreas somatic index, HSI, %) =肝胰腺质量/体质量×100。根据联合国粮农组织/世界卫生组织(FAO/WHO)1973年建议的氨基酸评分标准模式和全鸡蛋蛋白质的氨基酸模式计算氨基酸评分(AAS)、化学评分(CS)、必需氨基酸指数(EAAI)^[6-7],计算脂肪酸致动脉粥样硬化指数(IA)和血栓形成指数(IT)^[8],以评估青蟹卵巢和肝胰腺脂肪酸对人类心血管疾病发生的影响。

式中, n 为必需氨基酸数量; a 为待测样品蛋白质的必需氨基酸的含量; b 为全鸡蛋蛋白质的必需氨基酸含量。

$$IA = \frac{C12:0 + 4 \times C14:0 + C16:0}{\sum MUFA + \sum PUFA}$$

一次卵巢发育成熟的个体($P<0.01$)(表1),肝胰腺粗脂肪含量显著低于第一次卵巢发育成熟的个体($P<0.05$)。而HSI在两次发育中并无显著差异($P>0.05$)。

表1 第一次和第二次卵巢发育成熟拟穴青蟹GSI、HSI及卵巢和肝胰腺常规营养(%、干质量, $n=5$)

Tab. 1 GSI, HSI, and nutrient contents of the ovaries and hepatopancreas of mud crabs (%、fresh weight, $n=5$)

常规营养	第一次卵巢发育	第二次卵巢发育
性腺指数	15.46±1.81 ^a	9.29±1.81 ^b
卵巢含水率	52.08±7.53	53.50±1.8
卵巢粗蛋白	32.15±5.52	31.64±1.36
卵巢粗脂肪	6.63±0.99	6.70±0.52
肝胰腺指数	4.51±1.44	6.61±1.78
肝胰腺含水率	59.84±3.32	63.20±1.75
肝胰腺粗蛋白	13.62±2.39	13.46±1.09
肝胰腺粗脂肪	15.49±3.18 ^a	12.94±1.39 ^b

注:在同一行中,不同上标(a, b)表示的值有显著差异($P<0.05$),下表同

卵巢和肝胰腺中粗脂肪和粗蛋白在两次卵巢发育成熟样本个体中无明显差异($P>0.05$), 卵巢中粗蛋白含量高于肝胰腺、而粗脂肪含量比肝胰腺低。

2.2 脂肪酸组成、含量比较及营养评价

两次卵巢发育成熟青蟹的卵巢中均检测出 30 种脂肪酸, 其中饱和脂肪酸(saturated fatty acid, SFA) 14 种、单不饱和脂肪酸(monounsaturated fatty acid, MUFA) 6 种和多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA) 10 种(表 2)。其中, 含量排前两位的 SFA 为棕榈酸(C16: 0)和硬脂酸(C18: 0), 含量排前两位的 MUFA 为 C18: 1(ω -9)和 C16: 1(ω -7), PUFA 为 C22: 6(ω -3)(DHA)和 C20: 5(ω -3)(EPA), 这 6 种脂肪酸占二次卵巢发育成熟青蟹卵巢总脂肪酸(total fatty acid, TFA)的 83.05%, 占一次卵巢发育成熟青蟹 TFA

的 82.25%。SFA、MUFA、PUFA 和 TFA 在两次卵巢发育成熟青蟹卵巢中均无显著差异($P>0.05$)。肝胰腺中检测出 30 种脂肪酸, 其中 SFA 14 种, MUFA 6 种和 PUFA 10 种。含量较高的脂肪酸同样是 C16: 0、C18: 0、C16: 1(ω -7)、C18: 1(ω -9)、C20: 5(ω -3)、C22: 6(ω -3)等, 分别占二次卵巢发育成熟青蟹肝胰腺总脂肪酸的 76.99%, 占一次卵巢发育成熟青蟹总脂肪酸的 78.32%, 该 6 种主要的脂肪酸在两次卵巢发育成熟青蟹中的肝胰腺内均存在显著差异, 二次卵巢发育显著低于一次卵巢发育($P<0.05$)。SFA、MUFA、PUFA 和 TFA 在二次卵巢发育和一次卵巢发育成熟青蟹肝胰腺中有显著性差异($P<0.05$), 二次卵巢发育青蟹的主要供能脂肪酸 C16: 0、C18: 0、C16: 1、C18: 1 显著性低于一次卵巢发育青蟹($P<0.05$)。

表 2 拟穴青蟹第一次和第二次卵巢发育中卵巢和肝胰腺中脂肪酸的组成 (mg/g 干质量, $n=5$)

Tab. 2 Composition of fatty acids in ovaries and hepatopancreas of the first and the second ovarian development of mud crab(mg/g dry weight, $n=5$)

脂肪酸	卵巢		肝胰腺	
	一次卵巢发育	二次卵巢发育	一次卵巢发育	二次卵巢发育
C6: 0+C10: 0	0.01±0.00	0.01±0.00	0.05±0.00	0.07±0.05
C12: 0	0.11±0.02	0.11±0.02	0.22±0.10	0.19±0.03
C13: 0	0.04±0.03	0.02±0.00	0.08±0.00 ^a	0.03±0.00 ^b
C14: 0	2.18±0.24	2.13±0.16	4.67±0.38	4.36±0.78
C15: 0	1.28±0.95	0.72±0.10	2.21±0.19 ^a	1.39±0.17 ^b
C16: 0	13.35±1.27	14.20±2.36	28.94±4.51 ^a	20.27±0.91 ^b
C17: 0	1.67±0.95	1.12±0.34	3.60±0.97 ^a	1.62±0.18 ^b
C18: 0	11.09±1.68	11.06±2.34	16.99±2.39 ^a	11.85±0.64 ^b
C20: 0	0.51±0.19	0.46±0.08	1.39±0.16	1.19±0.16
C21: 0	0.13±0.05	0.13±0.03	0.60±0.14	0.48±0.14
C22: 0	0.29±0.11	0.24±0.06	1.32±0.17 ^a	1.04±0.10 ^b
C23: 0	0.13±0.03	0.13±0.02	0.57±0.16	0.42±0.09
C24: 0	0.23±0.04	0.27±0.07	1.06±0.35	0.96±0.11
SFA	31.03±4.04	30.60±5.30	61.70±7.16 ^a	43.88±2.07 ^b
C14: 1(ω -5)	0.08±0.02	0.10±0.04	0.45±0.08	0.38±0.06
C16: 1(ω -7)	11.81±2.10	11.37±2.77	20.24±2.86 ^a	15.43±1.20 ^b
C18: 1(ω -9)	19.25±5.08	19.93±5.44	27.28±5.89 ^a	20.77±1.65 ^b
C20: 1(ω -9)	1.45±0.36 ^a	2.07±0.26 ^b	3.95±0.47	4.22±0.43
C22: 1(ω -9)	0.36±0.12	0.34±0.05	0.59±0.08	0.66±0.17
C24: 1(ω -9)	0.32±0.19	0.32±0.90	1.65±0.72	1.13±0.33
MUFA	33.27±6.88	34.13±4.69	54.15±8.67 ^a	42.59±2.16 ^b
C18: 2(ω -6)	1.95±1.18	1.80±2.05	2.28±0.77 ^a	1.17±0.26 ^b
C18: 3(ω -6)	0.10±0.07	0.07±0.02	0.15±0.04 ^a	0.07±0.00 ^b
C18: 3(ω -3)	0.87±0.42	0.63±0.26	1.52±0.59 ^a	0.57±0.12 ^b
C20: 2(ω -6)	1.04±0.17 ^a	1.39±0.11 ^b	3.04±0.46 ^a	2.34±0.28 ^b
C20: 3(ω -6)	0.22±0.10	0.24±0.10	0.35±0.17	0.20±0.04
C20: 4(ω -6)	3.73±0.65	3.74±1.33	4.34±0.99 ^a	2.81±0.40 ^b
C20: 3(ω -3)	0.31±0.09	0.36±0.06	0.41±0.03	0.40±0.10

续表

脂肪酸	卵巢		肝胰腺	
	一次卵巢发育	二次卵巢发育	一次卵巢发育	二次卵巢发育
C20: 5(ω -3)	11.19 $\pm$ 1.34	10.40 $\pm$ 1.78	11.19 $\pm$ 2.58 ^a	7.69 $\pm$ 1.49 ^b
C22: 2(ω -6)	0.02 $\pm$ 0.00	0.03 $\pm$ 0.00	0.11 $\pm$ 0.00 ^a	0.06 $\pm$ 0.00 ^b
C22: 6(ω -3)	12.29 $\pm$ 4.10	13.60 $\pm$ 2.41	13.47 $\pm$ 1.61 ^a	10.29 $\pm$ 1.20 ^b
PUFA	31.72 $\pm$ 3.74	32.25 $\pm$ 3.05	36.86 $\pm$ 3.80 ^a	25.62 $\pm$ 2.31 ^b
TFA	96.02 $\pm$ 8.56	96.98 $\pm$ 11.26	150.80 $\pm$ 17.01 ^a	112.09 $\pm$ 1.62 ^b
DHA+EPA	23.48 $\pm$ 4.9	24.00 $\pm$ 4.0	24.66 $\pm$ 2.66 ^a	17.98 $\pm$ 2.19 ^b
ω -3PUFA	24.66 $\pm$ 4.70	24.98 $\pm$ 3.82	26.59 $\pm$ 3.11 ^a	18.95 $\pm$ 2.27 ^b
ω -6PUFA	6.03 $\pm$ 1.62	5.88 $\pm$ 3.49	10.27 $\pm$ 1.57 ^a	6.67 $\pm$ 0.55 ^b
IA	0.35 $\pm$ 0.06	0.35 $\pm$ 0.03	0.53 $\pm$ 0.06	0.56 $\pm$ 0.06
IT	0.29 $\pm$ 0.07	0.29 $\pm$ 0.07	0.45 $\pm$ 0.06	0.45 $\pm$ 0.06

二次卵巢发育成熟青蟹卵巢中 UFA(unsaturated fatty acid, 不饱和脂肪酸)/SFA 为 2.17, 一次卵巢发育为 2.09, 显著($P<0.05$)高于两次卵巢发育成熟青蟹肝胰腺中的 UFA/SFA(一次为 1.44、二次为 1.55), 表明卵巢中脂肪酸不饱和度更高, 而两次卵巢发育成熟青蟹卵巢和肝胰腺前后无显著差异($P>0.05$)。卵巢中(ω -3)PUFA/(ω -6)PUFA 分别为一次 4.09 和二次 4.25, 肝胰腺中为一次 2.59 和二次 2.84。一次和二次卵巢发育的青蟹卵巢的 IA 和 IT 分别为 0.35、0.35 和 0.29、0.29, 肝胰腺的 IA 和 IT 分别为 0.53、0.56 和 0.45、0.45, 两次卵巢发育相比卵巢和肝胰腺均比较接近。

2.3 氨基酸组成及营养评价

两次卵巢发育青蟹卵巢和肝胰腺中氨基酸组成

类似, 均检测出 17 种氨基酸, 其中人体所需的必需氨基酸(essential amino acids, EAA)9 种(色氨酸因酸水解被破坏而无法检出), 非必需氨基酸(non-essential amino acids, NEAA)8 种(表 3)。由表 3 可知, 9 种 EAA 中含量高低依次为赖氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、苏氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸、酪氨酸、甲硫氨酸和半胱氨酸, 卵巢中含量低于 10 mg/g 的为甲硫氨酸和半胱氨酸, 肝胰腺中含量低于 10 mg/g 的为甲硫氨酸、半胱氨酸和酪氨酸。除二次卵巢发育肝胰腺中半胱氨酸显著高于一次卵巢发育外, 其余 EAA 无论在卵巢还是肝胰腺中均无显著差异($P>0.05$)。NEAA 中精氨酸、谷氨酸和天冬氨酸含量较高, 占总 NEAA 的 50%以上。无论卵巢还是肝胰腺, 卵巢二次发育青蟹的 EAA、NEAA、TAA 含量与卵巢一次发育青蟹无显著差异($P>0.05$)。

表 3 第一次和第二次卵巢发育成熟拟穴青蟹卵巢和肝胰腺氨基酸的组成(mg/g 干质量, $n = 5$)

Tab. 3 Amino acid composition in the ovaries and hepatopancreas of mud crabs in the first and second stages of ovarian development (mg/g dry weight, $n = 5$)

氨基酸	卵巢		肝胰腺	
	一次卵巢发育	二次卵巢发育	一次卵巢发育	二次卵巢发育
半胱氨酸 Cys	2.68 $\pm$ 0.65	2.91 $\pm$ 0.26	0.84 $\pm$ 0.51 ^a	2.29 $\pm$ 0.33 ^b
酪氨酸 Tyr	17.11 $\pm$ 2.01	18.33 $\pm$ 1.02	6.45 $\pm$ 1.55	7.61 $\pm$ 0.72
异亮氨酸 Ile	35.30 $\pm$ 0.74	35.45 $\pm$ 0.96	19.09 $\pm$ 2.27	20.17 $\pm$ 1.58
亮氨酸 Leu	22.78 $\pm$ 1.03	22.37 $\pm$ 0.88	11.87 $\pm$ 1.40	11.80 $\pm$ 0.79
赖氨酸 Lys	35.91 $\pm$ 1.00	36.66 $\pm$ 1.51	24.06 $\pm$ 0.50	25.78 $\pm$ 1.92
甲硫氨酸 Met	8.17 $\pm$ 0.76	7.91 $\pm$ 0.95	2.68 $\pm$ 0.18	2.62 $\pm$ 0.36
苯丙氨酸 Phe	24.44 $\pm$ 1.47	24.27 $\pm$ 0.68	14.38 $\pm$ 0.64	13.89 $\pm$ 1.14
苏氨酸 Thr	30.46 $\pm$ 1.01	31.38 $\pm$ 1.01	15.61 $\pm$ 0.53	15.94 $\pm$ 1.45
缬氨酸 Val	33.01 $\pm$ 2.28	32.13 $\pm$ 1.00	15.73 $\pm$ 0.54	15.11 $\pm$ 1.16
必需氨基酸 EAA	209.86 $\pm$ 6.16	211.49 $\pm$ 5.42	110.71 $\pm$ 5.79	115.24 $\pm$ 8.39
丙氨酸 Ala	25.25 $\pm$ 0.79 ^a	26.64 $\pm$ 0.77 ^b	15.60 $\pm$ 2.01	17.54 $\pm$ 1.34
天冬氨酸 Asp	40.31 $\pm$ 3.04	41.88 $\pm$ 1.24	27.47 $\pm$ 1.31	27.91 $\pm$ 2.07

续表

氨基酸	卵巢		肝胰腺	
	一次卵巢发育	二次卵巢发育	一次卵巢发育	二次卵巢发育
精氨酸 Arg	45.62±1.76	45.11±2.40	25.55±2.13	25.64±2.09
谷氨酸 Glu	58.43±2.30 ^a	63.34±3.38 ^b	29.17±1.76	30.46±3.18
甘氨酸 Gly	20.75±1.12	19.74±0.48	15.76±2.54	17.29±2.15
脯氨酸 Pro	19.50±0.59 ^a	20.77±0.35 ^b	12.12±0.90 ^a	15.05±2.26 ^b
丝氨酸 Ser	22.46±0.58	23.88±1.31	9.01±1.39	9.89±0.63
组氨酸 His	24.06±2.27	23.05±0.28	13.24±0.47	11.82±1.24
非必需氨基酸 NEAA	256.37±9.29	264.43±8.52	147.91±9.06	155.60±13.29
总氨基酸 TAA	466.23±14.54	475.92±12.45	258.62±14.04	270.84±21.66
EAA/TAA	0.45	0.44	0.43	0.43
EAA/NEAA	0.82	0.80	0.75	0.74
呈味氨基酸 DAA	164.24±6.10 ^a	172.38±4.62 ^b	100.11±6.26	108.25±9.67
DAA/TAA	0.35	0.36	0.39	0.40

一次和二次卵巢发育青蟹卵巢的 EAA/TAA 分别为 0.45 和 0.44, 肝胰腺的 EAA/TAA 都为 0.43。由表 4 可知, 卵巢中的氨基酸得分(AAS)均高于肝胰腺, 二次卵巢发育青蟹 AAS 均低于一次卵巢发育青蟹, 卵巢和肝胰腺中第一和第二限制性氨基酸均为蛋氨酸+半胱氨酸和亮氨酸, 必需氨基酸指

数(EAAI)卵巢高于肝胰腺, 一次卵巢发育高于二次卵巢发育, 两次卵巢发育青蟹的肝胰腺中呈味氨基酸^[9](Taste Amino Acid, TAA)(谷氨酸、天冬氨酸、甘氨酸、丙氨酸和脯氨酸)与总氨基酸比值 DAA/TAA 分别为 0.39 和 0.40, 高于卵巢中的 0.35 和 0.36。

表 4 第一次和第二次卵巢发育成熟拟穴青蟹卵巢和肝胰腺的必需氨基酸成份评价(mg/gN, 干质量, $n = 5$)

Tab. 4 Evaluation of the EAA composition of the ovaries and hepatopancreas of mud crabs in the first and the second stages of ovarian development (mg/g N dry weight, $n = 5$)

必需氨基酸	粮农组织 评估模式	鸡蛋蛋白 质模式	肝胰腺				卵巢			
			一次卵巢发育		二次卵巢发育		一次卵巢发育		二次卵巢发育	
			AAS	CS	AAS	CS	AAS	CS	AAS	CS
Ile	250	331	144	108	123	93	131	99	130	98
Leu	440	534	51	42	41	34	48	40	46	38
Lys	340	441	126	97	115	89	98	76	98	76
Met+Cys	220	386	29	16	34	19	44	25	42	24
Phe+Tyr	380	565	99	66	86	58	102	68	106	71
Thr	250	292	110	94	97	83	113	97	115	98
Val	310	410	90	68	74	56	99	75	95	72
EAAI			82.51 ^a		73.91 ^b		84.74		83.71	

2.4 抱卵率与抱卵量的比较

由表 5 可知, 一次卵巢发育青蟹的抱卵率为 69.4%明显大于二次卵巢发育青蟹的 20%。计算得出

于卵裂期的卵为 5.58 万粒/g, 从而算出第一次卵巢发育青蟹的平均绝对抱卵量为(341.3±45.6)万粒, 显著 ($P<0.05$)高于二次卵巢发育青蟹的(235.2±17.82)万粒。

表 5 第一次和第二次卵巢发育拟穴青蟹抱卵率与抱卵量的比较

Tab. 5 Comparison of the egg-carrying rate and number of eggs carried in the mud crab during the first and second stages of ovarian development

来源	种蟹数量	抱卵数量	抱卵率/%	平均抱卵量/(万粒)
一次卵巢发育	36	25	69.4	341.3±45.6 ^a
二次卵巢发育	20	4	20	235.2±17.82 ^b

3 讨论

3.1 常规营养

拟穴青蟹卵巢和肝胰腺营养成分是衡量养殖产品特别是红膏蟹品质的重要指标。分析结果表明,二次卵巢发育成熟青蟹的性腺指数 GSI 显著低于第一次卵巢发育成熟青蟹($P<0.05$),且肝胰腺粗脂肪含量也显著低于第一次($P<0.05$)。脂肪含量与锯缘青蟹中的报道相一致^[10],粗蛋白含量在卵巢中高于中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*),而肝胰腺中较低^[11]。青蟹第一次抱卵期间能量消耗巨大,卵巢二次发育过程时间短,即使饵料充足条件下卵巢二次发育成熟青蟹的 GSI 也远低于一次卵巢发育成熟青蟹,表明卵巢二次发育的青蟹生殖力下降,这与中华绒螯蟹第二次卵巢发育研究结果基本一致^[12]。造成这种差异的主要原因是,首先两次卵巢发育的时间长短不同,第一次卵巢发育的青蟹从9—10月份一直到翌年3月份至卵巢成熟,其经历了越冬的强化培育,故其肝胰腺中积累了大量的营养物质供卵巢发育。而第二次卵巢发育的时间仅50 d左右,在第一次抱卵期间能量消耗巨大,为保证卵巢发育的正常进行,其肝胰腺脂类的代谢活动大大加强,不断的由食物中摄取脂类物质并合成脂肪,迅速转移至正在旺盛发育的卵巢^[10]。其次,两次卵巢发育起点不同,第一次卵巢发育起点是由卵原细胞开始逐渐发育为成熟的卵母细胞,而第二次卵巢发育的起点主要为卵黄合成前的卵母细胞和内源卵黄合成期的卵母细胞^[13]。

3.2 脂肪酸

本研究结果表明,C16:0、C18:0、C16:1(ω -7)、C18:1(ω -9)、C20:5(ω -3)、C22:6(ω -3)是青蟹卵巢和肝胰腺主要的脂肪酸。随着二次卵巢发育成熟,卵巢当中的这些物质含量上升,且趋于一次发育卵巢的正常水平。甲壳动物在性腺发育过程中对脂肪酸的需求量是一定的,在饵料充足的情况下,卵巢发育最接近正常值^[14]。然后胚胎发育和幼体的生长蜕壳需要卵巢积累足够的卵黄物质^[15],而卵黄物质中主要是蛋白质和脂肪,其含量相对稳定^[16]。这与于智勇^[12]在中华绒螯蟹第二次卵巢发育中的结果相似。肝胰腺中的这些物质则反向变化,均显著低于一次卵巢发育青蟹。有研究表明,在卵巢发育过程中,肝胰腺中脂类的合成比卵巢强的多,虽然卵巢也合成一部分,但是有相当一部分是从肝胰腺中通过血

液运输以磷脂的形式转移而来^[2]。主要的能量型脂肪酸(C16:0、C16:1(ω -7)、C18:0、C18:1(ω -9)),两次卵巢发育青蟹卵巢中并无显著差异。它们在卵巢发育过程中积累,供其后面的胚胎发育及幼体生长使用^[12]。DHA、EPA、LA 和 LNA 是青蟹的必须脂肪酸(EFA),青蟹自身无法合成,只能从食物中摄取获得,它们对卵子的受精和孵化、幼体存活、生长和变态以及维持成体正常生长和繁殖等均具有重要的营养作用^[2]。两次卵巢发育卵巢中 EFA 无显著差异。另外 C20:4(ω -6)是合成前列腺素的主要前体,前列腺素对于甲壳类等许多无脊椎动物的产卵和孵化起重要作用^[17]。本研究结果发现两次卵巢发育卵巢中 C20:4(ω -6)也无显著差异。以上这些重要的脂肪酸在两次卵巢发育中差异都不显著,说明二次卵巢发育卵巢中的营养能够满足后期胚胎发育及早期幼体的发育。在实际生产中,我们也发现,二次卵巢发育的青蟹抱卵率和抱卵量低于一次卵巢发育青蟹,但是早期幼体的质量以及出苗量与第一次接近,没有明显的生殖性能的下降。这不同于中华绒螯蟹,中华绒螯蟹第二次产卵的生殖性能和苗种的质量远远不及第一次产卵^[18]。但是与三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)相似,三疣梭子蟹二次与一次发育成熟的卵巢的 GSI 以及生殖性能比较接近^[13]。

两次卵巢发育青蟹卵巢中 UFA/SFA 显著($P<0.05$)大于肝胰腺,表明卵巢中脂肪酸饱和度更高,而两次卵巢发育的青蟹卵巢和肝胰腺前后差异不大。两次卵巢发育成熟青蟹卵巢中(ω -3)PUFA/(ω -6)PUFA 都远高于 FAO/WHO 推荐的(ω -3)PUFA/(ω -6)PUFA 日常膳食 0.1~0.2,表明青蟹卵巢和肝胰腺可有效补充膳食中的(ω -3)PUFA。两次卵巢发育青蟹的卵巢和肝胰腺的 IA 和 IT 均比较接近,无显著差异($P>0.05$)。但远低于猪肉(IA: 0.6; IT: 1.37)、牛肉(IA: 0.72; IT: 1.06)和羊肉(IA: 1.00; IT: 1.58),表明卵巢发育成熟的青蟹卵巢和肝胰腺具有降血脂、抗动脉硬化等预防心血管疾病的功效^[19]。

3.3 氨基酸

两次卵巢发育青蟹卵巢中的 TAA 和 EAA 都显著高于肝胰腺,但 EAA/TAA 却比较接近,都在 0.43~0.45 范围内,青蟹的卵巢和肝胰腺前后两次卵巢发育 EAA/TAA 无显著差异($P>0.05$)。FAO/WHO/UNU (1985年)推荐食品中的 EAA/TAA 理想值在 0.4 左右^[7],两次卵巢发育青蟹的卵巢和肝胰腺超过了 0.4,说明

两次卵巢发育青蟹的卵巢和肝胰腺均具有较高的氨基酸营养价值, 蛋白质质量较好。EAAI 是评价蛋白质营养价值的最常用指标之一, 数值越大, 表明营养价值越高^[20]。一次卵巢发育青蟹卵巢 EAAI 为 82.51 显著高于($P>0.05$)二次卵巢发育青蟹卵巢 73.91, 而肝胰腺两次发育比较接近。说明一次卵巢发育成熟青蟹卵巢蛋白质营养价值更高。在味道方面, 两次卵巢发育成熟青蟹的肝胰腺 DAA/TAA 为 0.39~0.40, 大于两次卵巢发育成熟青蟹的卵巢 0.35~0.36, 说明肝胰腺比卵巢更鲜美, 而两次卵巢发育成熟青蟹的卵巢和肝胰腺前后并无显著差异($P>0.05$)。

青蟹的胚胎发育与卵巢的蛋白质和氨基酸的积累有直接的关系。胚胎发育所需要的蛋白质和氨基酸营养仅靠母体储存在卵内的卵黄物质提供^[21]。在红螯螯虾(*Cherax quadricarinatus*)的胚胎发育过程中, 有一部分蛋白质被用于构建组织和器官, 另一部分则被分解为胚胎发育提供所需要的能量^[22]。青蟹生长所必需的氨基酸有: 苏氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、赖氨酸、亮氨酸、组氨酸、精氨酸、苯丙氨酸、色氨酸和缬氨酸^[20]。二次卵巢发育青蟹与一次卵巢发育青蟹在该 10 种 EAA 无显著差异($P>0.05$), 而两次卵巢中的粗蛋白含量也无显著差异($P>0.05$), 表明二次卵巢发育成熟青蟹的蛋白质和氨基酸营养与一次相近, 能满足胚胎的发育。

3.4 抱卵率与抱卵量的比较分析

一次卵巢发育成熟青蟹抱卵率远高于二次卵巢发育成熟青蟹, 且绝对平均抱卵量也显著($P<0.05$)高于二次卵巢发育成熟青蟹。说明二次卵巢虽能发育, 但抱卵率却很低, 其中的机制尚不明确。而二次卵巢发育青蟹的平均抱卵量低于第一次与前面的 GSI 相对应, 共同表明二次卵巢发育成熟青蟹生殖力低于第一次。

4 总结

综上所述, 二次卵巢发育成熟的青蟹 GSI 和抱卵率低于一次发育影响了其生殖力, 但其脂肪酸和蛋白质氨基酸营养与一次相近能满足胚胎的发育及初孵幼体的生长, 即两次卵巢发育青蟹生殖性能接近。在实际生产中可选用二次卵巢发育成熟的青蟹, 通过合适的培育技术促进卵巢发育和排卵, 从而延长育苗的时间, 降低育苗亲本成本, 但因为抱卵率低, 故实际生产中因根据具体情况选择是否使用二次卵巢发育成熟的青蟹作为亲本培育。就营养价值

而言, 两次卵巢发育成熟青蟹卵巢和肝胰腺都有较高的脂肪酸和氨基酸营养价值, 推荐食用。

参考文献:

- [1] 黄伟卿, 陈爱平, 张艺, 等. 软颗粒饲料对“红膏蟹”培育生长, 存活和营养成分的影响[J]. 水产科学, 2018, 37(5): 605-611.
HUANG Weiqing, CHEN Aiping, ZHANG Yi, et al. Effect of soft pelleted feed on growth, survival and Ovarian composition in mature mud crab[J]. Fisheries Science, 2018, 37(5): 605-611.
- [2] 李少菁, 林淑君, 刘理东, 等. 锯缘青蟹卵巢发育过程中不同器官组织脂类和脂肪酸组成[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 1994, 33(增刊): 109-115.
LI Shaojing, LIN Shujun, LIU Lidong, et al. Studies on lipid classes & fatty acid compositions during ovarian development of mud crab, *Scylla serrata* (Forsk.)[J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 1994, 33(S): 109-115.
- [3] VERONICA R A, EMILIA T Q, JENNETC B D P, et al. Lipids and fatty acids in wild and pond-reared mud crab *Scylla serrata* (Forsskal) during ovarian maturation and spawning[J]. Aquaculture Research, 2007, 38(14): 1468-1477.
- [4] KRUMPOCHOVA P, BRUYNEEL B, MOLENARR D, et al. Amino acid analysis using chromatography-mass spectrometry: An inter platform comparison study[J]. Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis, 2015, 114(19): 398-407.
- [5] JUSTYNA W, SZYMON B, TOMASZ K, et al. Determination of omega fatty acid profiles in egg yolk by HILIC-LC-MS and GC-MS[J]. Food Analytical Methods, 2017, 10: 1264-1272.
- [6] 陈苏维, 陈胤元, 屈国胜. 秦巴山区野生多鳞白甲鱼的营养成分分析及评价[J]. 生物资源, 2019, 41(2): 112-118.
CHEN Suwei, CHEN Yinyuan, QU Guosheng. Analysis and evaluation of nutritional composition of *Onychostoma macrolepis* in Qinling-Bashan Mountain area[J]. Biotic Resources, 2019, 41(2): 112-118.
- [7] FAO/WHO/UNU. Energy and protein requirements: report of a Joint FAO/WHO/UNU expert consultation. World Health Organization technical report series 724[R]. Geneva: WHO, 1985.
- [8] 朱成科, 朱龙, 黄辉, 等. 野生与养殖岩原鲤肌肉营养成分的比较分析[J]. 营养学报, 2017, 39(2): 203-205.
ZHU Chengke, ZHU Long, HUANG Hui, et al. Comparative the differences in muscle nutrient composition between wild and cultured *Procypris rabaudi*[J]. Journal of Nutrition, 2017, 39(2): 203-205.

- [9] WU X G, WANG Q, LOU B, et al. Effects of fattening period on ovarian development and nutritional quality of female swimming crab (*Portunus trituberculatus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(2): 170-182.
- [10] 成永旭, 李少菁, 王桂忠, 等. 锯缘青蟹卵黄发生期卵巢和肝胰腺脂类的变化[J]. 海洋学报, 2001, 23(3): 66-77.
CHENG Yongxu, LI Shaojing, WANG Guizhong, et al. Changes in lipid class and fatty acid compositions in the ovaries and hepatopancreas of the mud crab *Scylla serrata* during the vitellogenesis of the second ovarian maturation[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2001, 23(3): 66-77.
- [11] 赵恒亮, 吴旭干, 姜晓东, 等. 池塘养殖条件下长江、黄河和辽河种群中华绒螯蟹雌体卵巢发育和营养组成的比较研究[J]. 水产学报, 2017, 41(1): 109-122.
ZHAO Hengliang, WU Xugan, JIANG Xiaodong, et al. Comparative study on gonadal development and nutritional composition among Yangtze, Huang, and Liao River populations of adult female *Eriocheir sinensis* cultured in earth ponds[J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(1): 109-122.
- [12] 于智勇, 吴旭干, 常国亮, 等. 中华绒螯蟹第二次卵巢发育期间卵巢和肝胰腺中主要生化成分的变化[J]. 水生生物学报 2007, 31(6): 799-806.
YU Zhiyong, WU Xugan, CHANG Guoliang, et al. Changes in the main biochemical composition in ovaries and hepatopancreas of Chinese mitten crab, *Eriocheir Sinensis* (H.Milne-Edwards) during the second ovarian development[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2007, 31(6): 799-806.
- [13] 姚桂桂, 吴旭干, 杨筱珍, 等. 三疣梭子蟹的第二次卵巢发育规律[J]. 动物学研究, 2007, 28(4): 423-429.
YAO Guigui, WU Xugan, YANG Xiaozhen, et al. The second ovarian development of swimming crab, *Portunus trituberculatus*[J]. Zoological Research, 2007, 28(4): 423-429.
- [14] 李树国, 成永旭, 周波, 等. 蓝蟹抱卵期间卵巢第二次发育过程中主要脂肪酸和脂类的变化[J]. 中国水产科学, 2011, 3: 674-681.
LI Shuguo, CHENG Yongxu, ZHOU Bo, et al. Changes of main fatty acids and lipid classes in second ovarian development of spawning blue crab, *Callinectes sapidus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 3: 674-681.
- [15] LIU Z J, WU X, CHENG Y X, et al. Ovarian re-maturation following the first spawning in the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* (H.Milne-Edwards)[J]. Aquaculture Research, 2011, 42(3): 417-426.
- [16] WU X G, CHENG Y X, SUI L Y, et al. Biochemical composition of pond-reared and lake-stocked Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (H.Milne-Edwards) broodstock[J]. Aquaculture Research, 2007, 38(14): 1459-1467.
- [17] 翁幼竹, 李少菁, 王桂忠. 从锯缘青蟹幼体及其饲料的含脂情况探讨其脂营养需求[J]. 海洋学报, 2003, S2: 88-94.
WENG Youzhu, LI Shaojing, WANG Guizhong. Nutritional requirement for lipid in larvae of mud crab, *Scylla serrata*[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2003, S2: 88-94.
- [18] 南天佐, 成永旭, 吴旭干, 等. 第一次及第二次抱卵的中华绒螯蟹胚胎和 Z1 幼体质量的比较[J]. 上海海洋大学学报, 2006, 15(1): 41-46.
NAN Tianzuo, CHENG Yongxu, WU Xugan, et al. Comparison on the first and second berried crab on embryo and larval quality(Z1)of *Eriocheir sinensis*[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2006, 15(1): 41-46.
- [19] ULBRICHT T L V, SOUTHGATE D A T. Coronary heart disease: seven dietary factors[J]. The Lancet, 1991, 338(10): 985-992.
- [20] 翁幼竹, 李少菁, 王桂忠. 锯缘青蟹幼体饵料蛋白质的营养价值评价[J]. 应用海洋学学报, 2001, 20(s1): 11-15.
WENG Youzhu, LI Shaojing, WANG Guizhong. Evaluation of nutritive value of protein source in diets of larval mud crab, *Scylla serrata*[J]. Journal of Applied Oceanography, 2001, 20(s1): 11-15.
- [21] 李少菁. 锯缘青蟹胚胎发育过程中几种水解酶活力的比较研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 1995, 34(6): 970-974.
LI Shaojing. Comparative studies on the hydrolytic activities for the mud crab, *Scylla serrata* (Forsk.) during embryonic development[J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 1995, 34(6): 970-974.
- [22] 罗文. 红螯螯虾(*Cherax quadricarinatus*)胚胎营养代谢的研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2004.
LUO Wen. Study on embryonic nutrition metabolism of *Cherax quadricarinatus*[D]. Shanghai: East China Normal University, 2004.

Comparative analysis of nutrient composition of the ovaries and hepatopancreas in the mud crab *Scylla paramamosain* at two stages of ovary maturation

YU Guo-hong¹, WANG Yang-cai², JIN Zhong-wen²

(1. School of Marine Sciences, Ningbo University, Zhejiang Province, Ningbo 315832, China; 2. Ningbo Ocean and Fisheries Research Institute of Zhejiang Province, Ningbo 315408, China)

Received: Sep. 8, 2020

Key words: *Scylla paramamosain*; ovary development; fatty acids; amino acids

Abstract: To compare the nutrient composition of the ovaries and hepatopancreas in the primary and secondary fully-developed ovaries of mud crab, *Scylla paramamosain*. Five mature mud crabs with primary and secondary ovary development were selected for detection and analysis of the conventional nutritional, amino acid, and fatty acid contents of the ovaries and hepatopancreas and to compare the development of the mud crab ovaries and hepatopancreas. The similarities and differences in the main nutrients were analyzed and their nutritional value evaluated. The results showed that the gonadal index (GSI) of mud crabs with secondary ovarian development was 9.29 ± 1.81 , which was significantly lower than that of mud crabs with primary ovarian development 15.46 ± 1.81 . C16: 0 (palmitic acid), C18: 0 (stearic acid), C16: 1(ω -7) (palmitoleic acid), C18: 1(ω -9) (oleic acid), C20: 5(ω -3) (EPA), and C22: 6(ω -3) (DHA) were the main fatty acids in the ovary and hepatopancreas. With respect to saturated, monounsaturated, polyunsaturated, and total fatty acids in the ovary, there was no significant difference between primary and secondary ovary development in mud crabs ($P > 0.05$). Although total, saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids in the hepatopancreas were significantly different ($P < 0.05$), the main energy-yielding fatty acids C16: 0, C18: 0, C16: 1, C18: 1, DHA, and EPA were significantly lower in mud crabs with secondary vs. primary ovary development ($P < 0.05$). Overall, the results showed that the fertility of mud crabs with secondary vs. primary ovary development. Although secondary ovary development time was short, the content and composition of fatty acids in the ovaries of mud crabs were equivalent in both developmental stages, and their reproductive performances were comparable. The fatty acid content of the hepatopancreas was significantly lower than the primary ovary development of mud crab due to energy consumption during primary reproduction and the need for fatty acids during secondary ovary development.

(本文编辑: 谭雪静)