

中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 成熟蟹、抱卵蟹、流产蟹肝胰腺脂肪酸组成的比较研究*

应雪萍 张永普 杨万喜[†]

(温州师范学院生物与环境科学系 温州 325027)

[†](浙江大学生命科学院 杭州 310012)

提要 采用气相色谱仪测定中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 不同生理阶段 (成熟、抱卵、流产) 肝胰腺内的脂肪酸组成。结果表明, 中华绒螯蟹肝胰腺中含有 22 种脂肪酸, 其中饱和脂肪酸 (SFA) 5 种, 单烯酸 (MUFA) 5 种, 多烯酸 (PUFA) 12 种; MUFA 的含量最高, 占 52.47%—58.56%, SFA 次之, 为 23.17%—29.20%, PUFA 的含量较低, 为 8.92%—21.11%。SFA、MUFA、PUFA 的含量和 C_{n-3}/C_{n-6} 值在不同生理阶段的中华绒螯蟹肝胰腺中差异极显著, 油酸 (C18:1)、棕榈酸 (C16:0)、棕榈油酸 (C16:1) 是肝胰腺中的主要脂肪酸, 其含量分别为 35.21%—40.49%、17.97%—21.97% 和 11.69%—14.90%, 不同生理阶段的中华绒螯蟹肝胰腺中各脂肪酸的百分含量差异显著。比较研究温州本地抱卵蟹和太湖抱卵蟹肝胰腺中的脂肪酸, 发现脂肪酸中 SFA、MUFA、PUFA 的含量和 C_{n-3}/C_{n-6} 值差异极显著, 除 C14:1、C18:1、C20:1 及 C20:5 外, 其它脂肪酸的百分含量存在极显著的差异。

关键词 中华绒螯蟹, 肝胰腺, 脂肪酸, 流产

中图分类号 Q959

脂类在十足类甲壳动物的生化代谢和生殖过程中有相当重要的作用 (Teshima *et al.*, 1983; Lautiar *et al.*, 1988; Alava *et al.*, 1993), 而肝胰腺是脂类储存和对脂类进行加工代谢的主要器官 (Loizzi, 1971, Vogt *et al.*, 1985; Mikami *et al.*, 1994), 它对甲壳动物的生殖、卵的生长以及胚胎发育都有举足轻重的作用。研究甲壳动物不同生理阶段肝胰腺脂肪酸的组成及变化特点, 可以从生化和物质代谢的角度了解甲壳动物的生殖生理变动。有关甲壳动物脂肪酸的研究目前主要侧重于海产虾类和蟹类, 研究结果表明, 海产甲壳动物脂肪酸中 C20:5、C22:6 含量较高, 而 C18:3、C18:2 的含量较低 (Mourente, 1996; Teshima *et al.*, 1983; Ward *et al.*, 1979; 成永旭等, 2001); 淡水甲壳动物这方面的研究相对较少 (Gonzalez-Baro *et al.*, 1988; 成永旭等, 1998)。中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 成体生活在淡水中, 其肝胰腺和卵巢中的脂肪酸

组成与海产甲壳动物差异较大, 特别是 C18:3 和 C18:2 含量较高 (成永旭等, 1998、2000)。但中华绒螯蟹的抱卵蟹生活在咸淡水中, 其肝胰腺中脂肪酸的组成和含量, 以及与流产蟹、成熟蟹肝胰腺中脂肪酸的组成有何差异将是一个值得探讨的问题。

中华绒螯蟹是重要的经济种类, 有关其生殖生物学及分子生物学方面的内容已作了较深入的研究 (堵南山等, 1987、1988; 孙金生等, 2001; 王在照等, 2002)。但作为重要的养殖蟹类, 提高其育苗率就显得非常重要。目前这方面的研究虽然较多, 但大多集中在育苗环境及蟹苗病理等方面的研究 (许步劭, 1992; 赵云龙等, 1993; 宋林生等, 2002)。在河蟹育苗生产中往往出现大面积的流产, 虾蟹流产机理在国外已有较多的研究, 但有较大的争论 (Fisher *et al.*, 1983; Goudeau *et al.*, 1987; Harper *et al.*, 1984; Cheung, 1966), 国内这方面的研究起步较晚, 仅见杨万喜等

* 浙江省自然科学基金资助项目, 398081 号; 温州市科委基金资助项目, N2000A26 号。应雪萍, 硕士, 副教授, E-mail: xpying2000@163.net

收稿日期: 2002-07-15, 收修改稿日期: 2003-02-24

(1996, 2000)对日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)的胚胎附着和中华绒螯蟹雌体腹肢外骨骼结构以及粘液腺分布进行的研究,并认为粘液腺与卵膜、卵柄的形成具有一定的关系,从而影响胚胎的附着。康现江等(2000)曾对锯缘青蟹(*Scylla serrata*)的卵膜变化进行了研究,阐明了卵膜变化与卵子附着的相关性。除此之外,国内未见虾蟹流产机理的深入报道。作者选择了高育苗率的太湖抱卵蟹、低育苗率的温州本地抱卵蟹、成年蟹和本地流产蟹,对其脂肪酸的组成及含量进行了比较分析,旨在研究肝胰腺内脂肪酸的组成及含量变化对抱卵的影响,为阐明蟹类流产机理提供基本的生物学资料。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

实验所用的中华绒螯蟹取自温州市乐清清江养殖场和温州市乐清南塘养殖场。分别于 2001 年 10

月、2001 年 12 月先后在清江养殖场购得温州本地成熟亲蟹 60 只、本地抱卵蟹 60 只,并于 2002 年 1 月在南塘养殖场购得太湖抱卵蟹(亲蟹来自江苏)60 只。2002 年 1 月又从清江养殖场购得温州本地已交配的雌蟹 150 只,带回实验室,置于装有新鲜海水(缓慢升温并恒温至 18℃)的 5 只玻璃缸中(55cm × 50cm × 40cm),饲喂新鲜的缢蛭,经 24h 充氧养殖 6 天后,雌蟹腹部均已抱卵,然后升温刺激,并改变养殖环境促使亲蟹流产。当温度从 18℃ 升至 20℃,并增强光照,半天后发现有一部分抱卵蟹的胚胎从腹部脱落,再继续升温至 22℃,流产个体明显增多。经过 3 天水温的波动刺激及养殖环境的改变,约有 60% 的个体其腹部胚胎已基本脱落,从中取 60 只流产蟹。将所取得的温州本地成熟蟹、抱卵蟹、流产蟹和太湖抱卵蟹各 60 只随机分为 6 组,每组 10 只,取其新鲜肝胰腺。实验材料的头胸甲长和头胸甲宽见表 1。

表 1 实验用蟹的头胸甲长和宽(cm)($n = 60$)

Tab.1 The length and breadth (cm) of carapace of experimental *E. sinensis* ($n = 60$)

实验材料	温州本地成熟蟹	温州本地抱卵蟹	温州本地流产蟹	太湖抱卵蟹
头胸甲长	5.38 ± 0.03(5.09—5.65)	6.11 ± 0.06(5.96—6.25)	6.18 ± 0.07(5.88—6.33)	7.00 ± 0.10(6.72—7.59)
头胸甲宽	5.10 ± 0.02(4.87—5.35)	5.80 ± 0.08(5.63—6.07)	5.85 ± 0.08(5.67—6.12)	6.73 ± 0.12(6.33—7.41)

注:表中数据为平均值 ± 标准差,括号内为数值范围。表 2、表 3 同

1.2 水分测定

将取得的新鲜肝胰腺在 60℃ 恒温干燥箱中烘干 24h 以上至恒重,测定水分含量。

1.3 脂肪酸分析

在 Shimadzu GC-9A 型气相色谱仪上测定,配有 C-R2AX 色谱数据微机记录仪。

分析条件 分流进样系统;载气为 N_2 ,线速为 20ml/min, H_2 :0.8kg/cm²,空气:0.8kg/cm²;分析柱为长 25m、直径 0.25mm 的 PEG-20M 石英毛细管柱;检测器及进样口温度为 260℃;柱温采用程序升温法,最高升温为 230℃;检测器为氢火焰离子检测器 FID。

脂肪酸甲酯制备 氢氧化钾-甲醇高温酯化法,即提取的脂肪用 1:1 的苯:石油醚溶解,再用 0.4mol/ml 氢氧化钾-甲醇溶液酯化。

脂肪酸定性分析 各脂肪酸依据在相同色谱条件下其标准脂肪酸色谱的特性来确定。混合型标

准脂肪酸甲酯购于 Sigma 公司。

2 结果

2.1 温州本地蟹不同生理阶段肝胰腺的脂肪酸组成

2.1.1 温州本地蟹肝胰腺脂肪酸的组成特点

温州本地蟹肝胰腺中主要含有 22 种脂肪酸,起始碳链长度在 14 碳与 22 碳之间,不含奇数碳脂肪酸(表 2、表 3)。饱和脂肪酸(SFA)5 种,单烯酸(MUFA)5 种,多不饱和脂肪酸(PUFA)12 种。其中 MUFA 含量最高,为 52.47%—58.56%,SFA 次之,占 23.17%—29.20%,PUFA 含量最少,为 8.92%—21.11%;最主要的脂肪酸包括饱和脂肪酸的 C16:0 (17.97%—21.97%)、不饱和脂肪酸的 C18:1 (35.21%—39.66%)和 C16:1 (13.52%—14.90%)。EPA + DHA 的含量维持在比较低的水平(0.94%—2.94%),但在流产蟹的肝胰腺中可达 10.95%。

表 2 温州本地蟹不同生理阶段(成熟、抱卵、流产)肝胰腺脂肪酸组成¹⁾(%)Tab. 2 Fatty acid percentage composition (%) of hepatopancreas on different physiological stages (maturation, spawning, miscarriage) of Wenzhou *E. sinensis*

脂肪酸	抱卵蟹肝胰腺	成熟蟹肝胰腺	流产蟹肝胰腺
C14:0	2.06 ± 0.03 ^a (1.89—2.21)	1.32 ± 0.06 ^c (1.15—1.59)	1.57 ± 0.03 ^b (1.41—1.70)
C14:1	0.52 ± 0.03 ^b (0.45—0.70)	0.72 ± 0.04 ^a (0.59—0.88)	0.55 ± 0.01 ^b (0.51—0.61)
C14:2	0.88 ± 0.02 ^b (0.82—0.96)	1.71 ± 0.08 ^a (1.42—2.04)	0.56 ± 0.01 ^c (0.53—0.60)
C14:3	0.46 ± 0.03 ^b (0.31—0.55)	0.61 ± 0.02 ^a (0.53—0.69)	0.35 ± 0.01 ^c (0.31—0.40)
C16:0	21.97 ± 0.43 ^a (20.25—23.67)	20.96 ± 0.34 ^c (19.56—22.23)	17.97 ± 0.15 ^b (17.21—18.66)
C16:1	14.90 ± 0.22 ^a (13.69—15.44)	13.73 ± 0.27 ^b (12.84—14.85)	13.52 ± 0.19 ^b (12.83—14.42)
C16:2	0.89 ± 0.04 ^b (0.72—1.03)	1.59 ± 0.07 ^a (1.28—1.88)	0.73 ± 0.02 ^c (0.66—0.82)
C16:3	1.58 ± 0.05 ^b (1.40—1.76)	2.42 ± 0.03 ^a (2.33—2.58)	1.37 ± 0.02 ^c (1.29—1.45)
C18:0	4.77 ± 0.13 ^a (4.27—5.18)	2.93 ± 0.07 ^c (2.64—3.13)	3.50 ± 0.03 ^b (3.32—3.61)
C18:1	39.66 ± 0.36 ^a (38.30—40.70)	35.21 ± 0.29 ^b (34.25—36.49)	35.29 ± 0.37 ^b (35.77—36.74)
C18:2	1.56 ± 0.15 ^c (0.97—2.09)	6.15 ± 0.23 ^a (5.37—7.00)	1.92 ± 0.07 ^b (1.67—2.25)
C18:3	1.41 ± 0.05 ^b (1.30—1.81)	2.21 ± 0.15 ^a (1.86—2.84)	1.36 ± 0.12 ^b (1.32—1.42)
C20:0	—	—	0.19 ± 0.01(0.18—0.21)
C20:1	3.47 ± 0.47 ^b (2.04—6.64)	3.83 ± 0.05 ^a (3.67—4.02)	2.84 ± 0.07 ^c (2.61—3.13)
C20:2	0.79 ± 0.08 ^b (0.61—0.97)	1.02 ± 0.05 ^a (0.83—1.19)	0.77 ± 0.02 ^b (0.72—0.88)
C20:3	0.47 ± 0.04 ^a (0.37—0.62)	0.25 ± 0.02 ^b (0.17—0.31)	0.26 ± 0.01 ^b (0.23—0.28)
C20:4	0.22 ± 0.01 ^c (0.2—0.24)	0.88 ± 0.11 ^b (0.52—1.33)	1.44 ± 0.04 ^a (1.29—1.63)
C20:5	0.99 ± 0.01 ^b (0.98—0.99)	0.28 ± 0.01 ^c (0.27—0.28)	3.42 ± 0.09 ^a (1.29—1.63)
C22:0	0.59 ± 0.05(0.47—0.72)	—	—
C22:1	—	0.93 ± 0.16 ^a (0.54—1.57)	0.26 ± 0.01 ^b (0.18—0.31)
C22:5	—	0.26 ± 0.03 ^b (0.16—0.35)	1.42 ± 0.05 ^a (1.22—1.65)
C22:6	1.89 ± 0.01 ^b (1.87—1.91)	0.84 ± 0.20 ^c (0.32—1.67)	7.52 ± 0.27 ^a (6.76—8.83)
SFA	29.20 ± 0.28 ^a (27.59—30.07)	25.20 ± 0.46 ^b (23.36—26.91)	23.17 ± 0.16 ^c (22.12—23.83)
MUFA	58.56 ± 0.49 ^a (57.11—62.03)	54.42 ± 0.32 ^b (53.03—55.53)	52.47 ± 0.57 ^c (50.31—54.80)
PUFA	8.92 ± 0.54 ^c (7.19—11.02)	18.01 ± 0.65 ^b (16.34—20.76)	21.11 ± 0.45 ^a (19.19—22.53)
EPA + DHA	2.94 ± 0.20 ^b (2.90—2.96)	0.94 ± 0.25 ^c (0.32—0.74)	10.95 ± 0.29 ^a (9.84—12.23)
n-3HUFA	4.29 ± 0.05 ^b (4.17—4.68)	3.33 ± 0.34 ^c (2.49—4.77)	12.30 ± 0.29 ^a (11.18—13.56)
n-6HUFA	1.78 ± 0.15 ^c (1.19—2.29)	7.02 ± 0.34 ^a (5.91—8.33)	3.36 ± 0.12 ^b (2.97—3.88)
C _{n-3} /C _{n-6}	2.56 ± 0.23 ^b (1.82—3.60)	0.47 ± 0.03 ^c (0.39—0.57)	3.68 ± 0.11 ^a (3.26—4.10)

1) 单因子方差分析(one-ANOVA)和 Tukey's 检验。n = 6, 表中上标(以 a、b、c 表示)不同字母表示有显著差异(P < 0.05)

2.1.2 温州本地抱卵蟹、成熟蟹与流产蟹肝胰腺脂肪酸组成的比较

温州本地抱卵蟹、成熟蟹和流产蟹肝胰腺中脂肪酸种类组成有一定的差异,流产蟹肝胰腺中脂肪酸种类最多,为 21 种,不含 C22:0;成熟蟹肝胰腺中的脂肪酸为 20 种,不含 C20:0、C22:0;抱卵蟹肝胰腺中脂肪酸种类最少,为 19 种,不含 C20:0、C22:1、C22:5(表 2)。SFA、MUFA、PUFA 在中华绒螯蟹不同生理阶段肝胰腺中的百分含量差异显著,SFA 和 MUFA 均以 C16:0 和 C18:1 含量最高;PUFA 在成熟

蟹肝胰腺中以 C18:2 含量(6.15%)最高,C18:3(2.21%)次之;而在抱卵蟹和流产蟹肝胰腺中却以 C22:6 最高,分别达 1.89%和 7.52%。此外,流产蟹肝胰腺中的 n-3HUFA 及 C_{n-3}/C_{n-6} 值均最高,而 n-6HUFA 以成熟蟹肝胰腺中最高。

中华绒螯蟹从成熟到抱卵阶段,SFA、MUFA 和 n-3HUFA 的含量有所上升,分别由 25.20% 升至 29.20%、54.42% 升至 58.56%、3.33% 升至 4.29%;n-6HUFA 和 PUFA 的含量却显著降低,分别由 7.02% 降至 1.78%、18.01% 降至 8.92%,以致

C_{n-3}/C_{n-6} 值也明显上升。除 C16:0 外,其它脂肪酸的百分含量在成熟蟹和抱卵蟹肝胰腺中均差异显著。

除 C14:1、C18:3、C20:2 三种脂肪酸外,抱卵蟹和流产蟹肝胰腺中脂肪酸含量都差异显著。抱卵蟹经流产后,其肝胰腺中 SFA 和 MUFA 含量明显降低,分别由 29.20% 降至 23.17%、58.56% 降至 52.47%; n-3HUFA、n-6HUFA 和 PUFA 的含量明显上升,分别由 4.29% 升至 12.30%、1.78% 升至 3.36%、8.92% 升至 21.11%,其中 HUFA 中变化最显著的为 DHA + EPA 的含量,由 2.94% 上升至 10.95%,大约上升了 3.7 倍。

2.2 温州本地抱卵蟹与太湖抱卵蟹肝胰腺脂肪酸组成的比较

SFA、MUFA、PUFA 及 n-6HUFA 在温州本地抱卵

蟹与太湖抱卵蟹肝胰腺中差异极显著,EPA + DHA 在两者中差异显著,而 n-3HUFA 在两者中差异不显著(表 3)。太湖抱卵蟹的 SFA(23.21%)和 MUFA(56.12%)比温州本地抱卵蟹低(分别为 29.20% 和 58.56%); PUFA(18.84%)及 n-6HUFA(10.43%)分别是温州本地抱卵蟹的 2.1 倍和 5.9 倍。太湖抱卵蟹肝胰腺中共有 21 种脂肪酸,不含 C22:0;温州本地抱卵蟹肝胰腺中脂肪酸仅为 19 种,不含 C20:0、C22:1 和 C22:5。除 C14:1、C18:1、C20:1 和 C20:5 外,各脂肪酸的百分含量在太湖抱卵蟹和温州本地抱卵蟹肝胰腺中差异极显著,特别是太湖抱卵蟹肝胰腺中 C18:2 的含量比温州本地抱卵蟹高 6.2 倍,但 DHA 的含量比温州抱卵蟹低 2.9 倍。

表 3 温州抱卵蟹与太湖抱卵蟹肝胰腺脂肪酸组成¹⁾

Tab.3 Comparison of fatty acids composition of hepatopancreas between Wenzhou and Taihu *E. sinensis*

脂肪酸	太湖抱卵蟹 ($n=6$)	温州抱卵蟹 ($n=6$)	<i>P</i>
C14:0	0.97 ± 0.05(0.83—1.15)	2.06 ± 0.03(1.89—2.21)	0.0001**
C14:1	0.55 ± 0.01(0.50—0.60)	0.52 ± 0.03(0.45—0.70)	0.3872
C14:2	0.38 ± 0.02(0.32—0.46)	0.88 ± 0.02(0.82—0.96)	0.0001**
C14:3	0.31 ± 0.01(0.28—0.33)	0.46 ± 0.03(0.31—0.55)	0.0018**
C16:0	19.28 ± 0.43(17.97—20.97)	21.97 ± 0.43(20.25—23.67)	0.0004**
C16:1	11.69 ± 0.18(11.09—12.42)	14.90 ± 0.22(13.69—15.44)	0.0001**
C16:2	0.70 ± 0.33(0.56—0.78)	0.89 ± 0.04(0.72—1.03)	0.0028**
C16:3	0.92 ± 0.02(0.85—1.07)	1.58 ± 0.05(1.40—1.76)	0.0001**
C18:0	2.76 ± 0.07(2.57—3.03)	4.77 ± 0.13(4.27—5.18)	0.0001**
C18:1	40.49 ± 0.45(39.17—42.35)	39.66 ± 0.36(38.30—40.70)	0.1733
C18:2	9.73 ± 0.54(7.55—11.21)	1.56 ± 0.15(0.97—2.09)	0.0001**
C18:3	2.77 ± 0.24(1.82—3.44)	1.41 ± 0.05(1.30—1.81)	0.0001**
C20:0	0.22 ± 0.04(0.08—0.33)	—	**
C20:1	3.20 ± 0.18(2.42—3.63)	3.47 ± 0.47(2.04—6.64)	0.6009
C20:2	1.41 ± 0.05(1.24—1.59)	0.79 ± 0.08(0.61—0.97)	**
C20:3	0.14 ± 0.02(0.12—0.19)	0.47 ± 0.04(0.37—0.62)	0.0001**
C20:4	0.70 ± 0.09(0.33—0.98)	0.22 ± 0.01(0.2—0.24)	0.0001**
C20:5	1.12 ± 0.12(0.45—1.67)	0.99 ± 0.01(0.98—0.99)	0.6731
C22:0	—	0.59 ± 0.05(0.47—0.72)	**
C22:1	0.56 ± 0.01(0.55—0.57)	—	**
C22:5	0.14 ± 0.03(0.11—0.19)	—	**

续表

脂肪酸	太湖抱卵蟹($n=6$)	温州抱卵蟹($n=6$)	P
C22:6	0.65 ± 0.15(0.20—1.21)	1.89 ± 0.01(1.87—1.91)	0.0008**
SFA	23.21 ± 0.40(22.16—24.87)	29.20 ± 0.28(27.59—30.07)	0.0001**
MUFA	56.12 ± 0.55(54.47—58.35)	58.56 ± 0.49(57.11—62.03)	0.0045**
PUFA	18.84 ± 1.09(14.48—22.27)	8.92 ± 0.54(7.19—11.02)	0.0001**
EPA + DHA	1.78 ± 0.32(0.65—2.88)	2.94 ± 0.20(2.90—2.96)	0.0494*
n-3HUFA	4.55 ± 0.53(2.47—6.03)	4.29 ± 0.05(4.17—4.68)	0.6302
n-6HUFA	10.43 ± 0.64(7.93—12.18)	1.78 ± 0.15(1.19—2.29)	0.0001**
C _{n-3} /C _{n-6}	0.42 ± 0.03(0.31—0.50)	2.56 ± 0.23(1.82—3.60)	0.0001**

1) t 检验, n 为样本数, * 表示 $P < 0.05$, 差异显著; ** 表示 $P < 0.01$, 差异极显著; $P > 0.05$ 表示差异不显著

3 讨论

3.1 中华绒螯蟹肝胰腺中脂肪酸组成与其它甲壳动物的比较

表 2、表 3 所示的结果表明, C18:1、C16:0、C16:1 是中华绒螯蟹肝胰腺中的主要脂肪酸, 这与其它甲壳动物肝胰腺中脂肪酸的组成模式基本一致(成永旭等, 2001; Catacutan, 1991)。中华绒螯蟹肝胰腺中 C18:1 含量最高, 可达 35.21%—40.49%, 而海产甲壳动物脂肪酸中 C16:0 的含量一般最高; MUFA 在中华绒螯蟹肝胰腺中的含量高达 52.47%—58.56%, 远远高于斑节对虾(*Penaens monodon*)、锯缘青蟹和中国对虾(*P. chinensis*)肝胰腺中的含量(成永旭等, 2001); SFA、PUFA、n-3HUFA 和 n-6HUFA 在肝胰腺中的含量要比锯缘青蟹和中国对虾肝胰腺中的含量低, 特别是 EPA + DHA 含量较低, 而 C18:2 和 C18:3 的含量相对较高。Mourente(1996)和 Teshima 等(1983)都认为脂肪酸中 C18:2 和 C18:3 的百分含量较低, 而 n-3HUFA, 尤其是 EPA 和 DHA 的含量较高, 是典型海洋十足类甲壳动物脂肪酸的特征。Gonzalez-Baro 等(1988)在研究 *Macrobrachium borellii* 时, 发现淡水十足类甲壳动物脂肪酸组成中, EPA 和 DHA 的含量要比海水种类少得多, 但 EPA 和 DHA 的作用可由其它脂肪酸(C18:2 和 C18:3)来替代。Castell 等(1995)认为甲壳动物脂肪酸组成的特征可以用来判定它们当前可能活动的区域, 如河口、近海和深海等。中华绒螯蟹成体生活在淡水中, 而抱卵蟹和流产蟹在半咸水的环境中生活, 本实验结果发现中华绒螯蟹成体肝胰腺中 C18:2 和 C18:3 的含量明显高于抱卵蟹及流产蟹; 抱卵蟹和流产蟹中 EPA + DHA 的含量及 C_{n-3}/C_{n-6} 值却远远高于成体

蟹, 但低于海产甲壳动物, 这进一步说明淡水甲壳动物与海产甲壳动物脂肪酸组成存在着一定的差异。淡水十足类甲壳动物和海洋十足类甲壳动物不仅 C18:2、C18:3、EPA 及 DHA 的含量有别, 而且 C_{n-3}/C_{n-6} 值及 SFA、MUFA 和 PUFA 在脂肪酸中所占的比例差异较大, 这与它们所处的环境及索饵不同有关。

本实验共测得中华绒螯蟹肝胰腺中的脂肪酸为 22 种, 不含奇数碳脂肪酸, 这与成永旭等(1998)在不同发育阶段中华绒螯蟹肝胰腺中测得的脂肪酸种类(14 种)有别, 其中 C14 至 C17 差异较大, 这是否由实验条件不一或河蟹产地不同造成, 有待于进一步研究。

3.2 温州本地成熟蟹与温州本地抱卵蟹肝胰腺脂肪酸含量的差异

温州本地成熟蟹肝胰腺中 SFA、MUFA 和 n-3HUFA 含量均低于温州抱卵蟹, 而 PUFA、n-6HUFA 的含量显著高于温州抱卵蟹, 除 C16:0 外, 其他脂肪酸的含量在两者间差异极显著, 这与成永旭等(1998)的研究结果有别。成永旭等认为成熟以后的中华绒螯蟹和抱卵蟹的磷脂和中性脂脂肪酸组成相差不大, 其原因不明, 也未见其它十足类甲壳动物类似的情况。本研究发现抱卵蟹肝胰腺中 C18:2、C18:3 的含量较成熟蟹肝胰腺低, Kanazawa 等(1977)曾报道, 在日本对虾的饵料中添加亚油酸(C18:2)和亚麻酸(C18:3), 明显地提高了增重率。C18:2、C18:3 含量的增高有利于中华绒螯蟹成熟亲蟹营养物质的积累, 为以后的胚胎发育奠定基础。抱卵蟹肝胰腺中 EPA、DHA 的含量明显高于成熟蟹, 以致 C_{n-3}/C_{n-6} 的值也高于成熟蟹。由于抱卵蟹的代谢非

常旺盛,需要大量的营养物质供胚胎发育,此时卵巢的发育需要肝胰腺由吸收外源的脂类快速转移到卵巢中。季文娟(1998)认为,EPA在与亲虾产卵有关的卵巢发育中起重要的作用,而DHA在胚胎的发育中起某种特别的作用,能提高孵化率。温州本地抱卵蟹肝胰腺中高含量的DHA、EPA部分转移到卵巢中,有利于受精卵的发育和卵膜、卵柄的形成,为受精卵的附着做好充分的准备。

肝胰腺中花生四烯酸(C20:4)在成熟蟹中的含量(0.88%)显著高于抱卵蟹(0.22%)。肝胰腺发达的膜系统中高含量的C20:4可能有利于合成前列腺素,从而抑制脂肪的分解,使成熟蟹肝胰腺中脂肪的积累大于分解,有促进亲蟹卵巢成熟的作用。随着卵巢的进一步发育和卵子的产出,抱卵蟹肝胰腺中C20:4的含量降低,脂肪的分解加强,使处于代谢旺盛阶段的抱卵蟹能吸收和利用到更多的能量。

3.3 温州本地抱卵蟹和流产蟹肝胰腺脂肪酸的区别

除C14:1、C18:3、C20:2外,温州本地抱卵蟹和流产蟹肝胰腺脂肪酸含量差异显著。抱卵蟹肝胰腺中SFA含量(29.20%)高于流产蟹(23.17%);除C18:2、C20:4、C20:5和C22:6外,温州本地抱卵蟹肝胰腺中的不饱和脂肪酸含量都高于流产蟹。抱卵蟹处于生殖发育的一种特殊阶段,脂肪是胚胎发育和幼体变态的惟一能量来源,故抱卵阶段部分脂肪酸的含量较流产蟹高。但流产蟹肝胰腺脂肪酸中的n-3HUFA含量远远高于抱卵蟹,n-6HUFA含量及 C_{n-3}/C_{n-6} 值也高于抱卵蟹,其中最显著的为C20:4、C20:5和C22:6。C20:5和C22:6是虾、蟹等的必需脂肪酸,它们对卵子的受精和孵化(Catacutan, 1991)、幼体的存活、生长和变态(Levine, 1984),以及维持成体正常生长和繁殖(Lytle, 1990)等,均具有重要的营养作用。成永旭等(1998, 2001)分别研究了不同阶段中华绒螯蟹及锯缘青蟹肝胰腺脂肪酸组成时,发现在卵巢快速发育阶段,肝胰腺中储存的中性脂在转运至卵巢的过程中,脂肪酸组成发生了变化,即卵巢中的长链不饱和脂肪酸含量增加,于是抱卵蟹肝胰腺中的C20:5和C22:6明显降低。流产蟹肝胰腺中C20:5和C22:6的含量明显增高,可能是流产蟹肝胰腺中的长链不饱和脂肪酸没有及时转移到卵巢中,而C20:5和C22:6是卵巢发育所必需的营养成分,若这些必需的成分没有足够获取,就可能会影响卵巢的正常发育和产卵(Alva *et al.*, 1993),也使

营养物质不能及时输送到刚毛和胚胎,以致胚胎发育不良或不能很好地附着在刚毛上,引起流产。这与成永旭等(2000)在不抱卵的中华绒螯蟹卵巢中所发现的C20:5和C22:6含量较低相一致。

花生四烯酸在抱卵蟹肝胰腺中的含量为0.22%,在流产蟹中却上升至1.44%,几乎为抱卵蟹肝胰腺含量的7倍。从一般的生理角度分析,C20:4是合成前列腺素的前体,而前列腺素是机体中一个效应很大的活性物质,它在生殖、消化、呼吸等生理活动中均有一定的作用,且还控制着离子对某些膜的通透性,以及抑制脂质的分解等(沈同等, 1980)。作者认为,流产蟹肝胰腺的C20:4含量显著升高可能抑制脂肪分解,使正在发育的胚胎得不到足够的营养和能量,也使卵膜及卵柄的发育受阻,以致胚胎发育不良或难以附着。抱卵蟹中C20:4的含量极低,可能导致前列腺素合成水平低,有助于脂肪分解,给受精卵提供必需的营养。

3.4 温州本地抱卵蟹与太湖抱卵蟹肝胰腺脂肪酸的比较

除C14:1、C18:1、C20:1、C20:5外,温州本地抱卵蟹和太湖抱卵蟹肝胰腺脂肪酸含量差异极显著。太湖抱卵蟹的SFA和MUFA均低于温州抱卵蟹,PUFA的含量(18.84%)却是温州抱卵蟹(8.92%)的2倍多,特别是C18:2、C18:3的含量显著高于温州抱卵蟹。亚油酸、亚麻酸有利于河蟹的生长,故太湖蟹的个体通常比温州本地蟹大;此外亚油酸是组织细胞的组成成分,特别是参与线粒体及细胞膜磷脂的合成,亚油酸的缺乏可导致细胞膜结构、功能的改变,使膜透性、脆性增加。低育苗率的温州本地蟹可能与其肝胰腺中亚油酸与亚麻酸的含量较低有关,高育苗率的太湖蟹其肝胰腺中的亚油酸和亚麻酸部分能转移给卵巢,有利于受精卵的发育及卵膜、卵柄的形成,使胚胎的附着率大大提高。值得注意的是太湖抱卵蟹肝胰腺中EPA+DHA的含量为1.78%,显著低于温州抱卵蟹的EPA+DHA含量(2.94%)。而成永旭等(2000)认为,在中华绒螯蟹卵巢快速发育阶段,必须从外界获得大量的磷脂、C20:5和C22:6,如这些必需的成分没有被足够获取,就可能会影响卵巢的正常发育和产卵。太湖抱卵蟹肝胰腺中低含量的C20:5和C22:6,是否意味着其卵巢中的C20:5和C22:6含量高于温州抱卵蟹,有待于进一步研究。Lytle(1990)的研究显示,n-3HUFA和n-6HUFA的平衡对动物体性成熟十分重要,n-3HUFA只有在 C_{n-3}/C_{n-6} 比例适当的条件下,才能有效地促进性腺的

成熟,并在提高卵子的受精和孵化率方面也起着同样的重要作用。太湖蟹和温州本地蟹肝胰腺脂肪酸中的 n-3HUFA 差异不显著,而 n-6HUFA 及 C_{n-3}/C_{n-6} 在两者间差异极显著,这似乎可以认为中华绒螯蟹肝胰腺中 C_{n-3}/C_{n-6} 的值小于 1,也即在 n-3HUFA 含量差异不显著条件下,适当增加 n-6HUFA 的含量更有利于卵子的受精和孵化。从亚油酸、亚麻酸、EPA 和 DHA 这四种必需脂肪酸的生理角度来看,亚油酸、亚麻酸可能更有利于卵膜和卵柄的形成,使受精卵的附着率大大提高;EPA、DHA 可能对胚胎发育所起的作用更大,但必须在 C_{n-3}/C_{n-6} 比例适当的条件下才能发挥作用。

综上所述,肝胰腺是中华绒螯蟹脂类贮存的器官,其所含的主要脂肪酸为 C18:1、C16:0、C16:1。温州本地成熟蟹、抱卵蟹和流产蟹肝胰腺中各脂肪酸含量有显著差异;温州本地抱卵蟹和太湖抱卵蟹肝胰腺脂肪酸的含量差异显著。而 C18:2、C18:3、C20:4、C20:5、C22:6 在不同生理阶段的中华绒螯蟹肝胰腺中的含量差异极显著。Castell 等(1975)认为,缺少这几种必需脂肪酸将会导致脂肪酸缺乏症,使质膜的通透性变差,间接影响细胞对膜外营养物质的利用,导致胚胎发育异常。本研究结果也认为,肝胰腺中脂肪酸的组成及必需脂肪酸的比例与育苗率的高低、胚胎的附着及发育存在着一定的关系。

参 考 文 献

王在照,相建海,崔朝霞,2002. 编码中华绒螯蟹蜕皮抑制激素基因的 cDNA 片段克隆和序列分析. 海洋与湖沼,33(4): 432—438

孙金生,刘安西,贺秉军等,2001. 不同甾醇类物质对河蟹眼柄神经分泌细胞 I_{Ca} 的影响. 海洋与湖沼,32(6): 627—634

许步劭,1992. 中华绒螯蟹土池育苗几个技术问题的讨论. II. 钙离子对河蟹幼体培育成活率的影响. 见:中国甲壳动物学会编辑. 甲壳动物学论文集(第三辑). 青岛:青岛海洋大学出版社,100—103

成永旭,堵南山,赖伟,1998. 不同阶段中华绒螯蟹肝胰腺的脂类及脂肪酸组成. 动物学报,44(4): 420—429

成永旭,堵南山,赖伟,2000. 中华绒螯蟹卵巢快速发育期内脂类积累以及对抱卵的影响. 水产学报,24(2): 113—118

成永旭,李少菁,王桂忠等,2001. 锯缘青蟹卵黄发生卵巢和肝胰腺脂类的变化. 海洋学报,23(3): 66—77

宋林生,苏建国,崔朝霞等,2002. 中华绒螯蟹幼蟹上岸病的免疫学研究. 海洋与湖沼,33(6): 657—662

沈同,王镜岩,赵邦悌,1980. 生物化学(上册). 北京:高

等教育出版社,35—37

赵云龙,堵南山,赖伟,1993. 不同水温对中华绒螯蟹胚胎发育的影响. 动物学研究,14(1): 49—53

杨万喜,堵南山,赖伟,1996. 日本沼虾卵子附着机制研究 I. 卵膜及卵子附着的扫描电镜观察. 河北大学学报(自然科学版),16(4): 34—40

杨万喜,周宏,2000. 中华绒螯蟹雌体腹肢外骨骼组织学初步研究. 东海海洋,18(3): 20—33

季文娟,1998. 高度不饱和脂肪酸对中国对虾亲虾的产卵和卵质的影响. 水产学报,22(3): 240—246

堵南山,赖伟,薛鲁征,1987. 中华绒螯蟹精子的研究 I. 精子的形态及超微结构. 海洋与湖沼,18(2): 119—125

堵南山,薛鲁征,赖伟,1988. 中华绒螯蟹精子的研究 II. 精子发生. 海洋与湖沼,19(1): 71—75

康现江,李少菁,王桂忠等,2000. 锯缘青蟹卵膜变化与卵子附着研究. 水产学报,24(6): 500—503

Alava V R, Kanazawa A, Teshima S *et al*, 1993. Effects of dietary phospho lipids and ω -3-high unsaturated fatty acid on ovarian development of kuruna prawn. Nippon Suisan Gakkaishi, 59(2): 345—351

Castell J D, Davies P A, Deucher E M, 1975. Cholesterol requirement of juvenile American lobster (*Homarus americanus*). J Fish Res Board Can, 38: 1431—1435

Castell J D, Boston L D, Miller R J *et al*, 1995. The potential identification of the geographic origin of lobster eggs from various wild stocks based on fatty acid composition. Can J Fish Aquat Sci, 52: 1135—1140

Catacutan M R, 1991. Growth and fatty acid composition of *Penaens monodon* juveniles fed various lipids. J Aquacul, 43(2): 47—56

Cheung T S, 1966. The development of egg-membranes and egg attachment in the shore crab, *Carcinus maenas*, and some related decapods. J Mar Biol Ass U K, 46: 373—400

Fisher W S, Clark W H, 1983. Eggs of *Palaemon macrodactylus* I. Attachment to the pleopods and formation of the outer investment coat. Biol Bull, 164: 189—220

Gonzalez-Baro M R, Pollero R J, 1988. Lipid characterization and distribution among tissues of the freshwater crustacean *Macrobrachium borellii* during annual cycle. Comp Biochem Physiol, 91B: 711—715

Goudeau M, Talbot P, Harper R, 1987. Mechanism of egg attachment stalk formation in the lobster, *Homarus*. Gamete Res, 18: 279—289

Harper R E, Talbot P, 1984. Analysis of the epibiotic bacteria of lobster (*Homarus*) eggs and their influence on the loss of eggs from the pleopods. Aquaculture, 36: 9—26

Kanazawa A, Tokiwa S, Kayama M *et al*, 1977. Essential fatty acids in the diet of Prawn-I, effects of linoleic and linolenic acids on

- growth. Bull Jap Soc Sci Fish, 43(9): 1111—1114
- Lautiar J, Lagarrigue J G, 1988. Lipid metabolism of the crab *Pachygrapsus marmoratus* during bitellogenesis. Biochem Syst and Ecology, 16: 203—212
- Levine D M, 1984. Nutritional significance of long-chain Polyunsaturated fatty acids to the zoeal development of the brachyuran crab, *Eurypanopens depressus*. JEMBE, 81: 211—233
- Loizzi R F, 1971. Interpretation of crayfish hepatopancreatic function based on fine structural analysis of epithelial cell lines and muscle network. Z Aellforsch Mikrosk Anat, 113: 420—440
- Lytle J S, 1990. Polyunsaturated fatty acid profiles as a comparative tool in assessing maturation diets of *Penaeus vannamei*. Aquaculture, 89(314): 287—299
- Mikami S, Greenwood J G, 1994. Functional morphology and cytology of the phyllosomal digestive system of *Sivacus ciliatus* and *Panulirus japonicus* (Decapoda). Crustaceana, 67: 212—225
- Mourente G, 1996. In vitro metabolism of ¹⁴C-Polyunsaturated fatty acids in midgut gland and ovary cells from *Penaeus kerathurus* at the beginning of the sexual maturation. Comp Biochem Physiol, 115b: 255—266
- Teshima S, Kanazawa A, 1983. Variation in lipid compositions during the ovarian maturation of the prawn. Bull Japan Soc Sci Fish, 49: 957—962
- Vogt G, Storch V, Quintio E T *et al*, 1985. Midgut gland as monitor organ for the nutritional value of diets in *Penaeus monodon*. Aquaculture, 48: 1—12
- Ward G D, Middle ditch B S, Missler S R *et al*, 1979. Fatty acid changes during larval development of *Penaeus setiferus*. Proc World Maricul Soc, 10: 464—471

COMPARATIVE STUDY ON FATTY ACIDS COMPOSITION IN CRAB *ERIOCHEIRS SINENSIS* DURING MATURATION, SPAWNING AND MISCARRIAGE

YING Xue-Ping, ZHANG Yong-Pu, YANG Wan-Xi[†]

(Department of Biological and Environmental Science, Wenzhou Normal College, Wenzhou, 325027)

[†](College of Life Science, Zhejiang University, Hangzhou, 310012)

Abstract In this paper, fatty acid compositions at different physiological stages (maturation, spawning, miscarriage) of the crab *Eriocheir sinensis* were determined with capillary gas chromatography. The results showed that 22 kinds of fatty acids were present in the hepatopancreas of *E. sinensis*. The major fatty acids in each group were C18:1 (35.21%—40.49%), C16:0 (17.97%—21.97%) and C16:1 (11.69%—14.90%). Saturated fatty acids (SFA), monounsaturated fatty acids (MUFA) and polyunsaturated fatty acids (PUFA) represented 23.17%—29.20%, 52.47%—58.56% and 8.92%—21.11% respectively, of total fatty acids in the hepatopancreas at the different physiological stages of *E. sinensis*. Content at the different physiological stages showed significant variation and some fatty acid was hardly determined at some stage. From maturation to spawning, ratios of SFA, MUFA and n-3HUFA to the total increased significantly, but ratios of n-6HUFA and PUFA to the total decreased significantly. Nevertheless, it is noteworthy that contents of n-3HUFA, n-6HUFA and PUFA all increased during miscarriage, and the DHA + EPA content was much higher than that during the maturation and spawning stage. Comparative research on the Wenzhou and Taihu spawning crab revealed significant differences in the contents of fatty acids, SFA, MUFA, PUFA and C_{n-3}/C_{n-6}. Contents of C18:2, C18:3, PUFA and n-6HUFA in the hepatopancreas of the Taihu spawning crab were much higher than that of the Wenzhou spawning crab. However, content of DHA was much lower in the Taihu spawning crab. In summary the results indicate that C18:2, C18:3 might form egg membranes and egg stalks, and EPA and DHA might play an important role in growth and development of *E. sinensis* embryos.

Key words *Eriocheir sinensis*, Hepatopancreatic, Fatty acids, Miscarriage