

文章编号: 1674-5566(2012)03-0396-07

克氏原螯虾不同生理时期肝胰腺和肌肉生化组成及能量的变化

於叶兵, 吕富, 赵卫红, 杨文平, 王爱民, 黄金田

(盐城工学院 江苏省沿海池塘养殖生态重点实验室, 江苏 盐城 224051)

摘要: 研究分析了克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)雌性亲本在产卵和抱卵期间肝胰腺和肌肉生化组成的变化及能量变动。结果表明:(1)克氏原螯虾产卵前后肝胰腺与肌肉指数均无显著性变化($P > 0.05$),而卵巢指数由6.14%降到0.40% ($P < 0.01$),产卵后至卵破膜阶段肝胰腺指数上升了13.29%,显著高于产卵前水平($P < 0.05$)。(2)克氏原螯虾产卵后肝胰腺和肌肉中3大营养物质均呈现下降趋势,其中肝胰腺中粗脂肪含量与肌肉中粗蛋白含量下降极显著($P < 0.01$),至卵破膜阶段,肝胰腺中的蛋白质和碳水化合物含量快速恢复且极显著超过产卵前水平($P < 0.01$)。产卵前后肝胰腺能值下降最大,抱卵期间肌肉能值下降显著。(3)产卵后,多不饱和脂肪酸(PUFA)显著下降, $C_{22:6n-3}$ (DHA)与 $C_{20:5n-3}$ (EPA)下降幅度最大,分别为44.33%,30.80%。在这3个阶段, $C_{20:4n-6}$ (AA)一直呈上升趋势,饱和脂肪酸(SFA)和单不饱和脂肪酸(MUFA)较为稳定,略有上升。

研究亮点: 首次研究了克氏原螯虾产卵前、产卵后和卵破膜3个生理阶段,肝胰腺和肌肉中生化组成和能值的变化,并分析比较了3个阶段亲虾肝胰腺脂肪酸的组成变化规律。发现产卵前后肝胰腺是主要供能器官;抱卵期间肝胰腺营养物质快速恢复,肌肉为供能器官。为研究克氏原螯虾亲虾的营养需求提供相关基础资料。

关键词: 克氏原螯虾;生理阶段;生化组成;能值

中图分类号: S 917

文献标志码: A

克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*),俗称淡水小龙虾,属甲壳纲(Crustacea)、十足目(Decapoda)、螯虾科(Cambaridae)。肉质鲜美,营养丰富,深受消费者喜爱,市场前景十分广阔。由于生态环境的破坏,加上人为的滥捕,克氏原螯虾的野生资源锐减。近年来不少地区掀起了克氏原螯虾养殖热,但总体上养殖规模较小,而苗种繁殖率和成活率不高是其主要原因之一^[1]。

目前,对克氏原螯虾的研究主要集中在形态发育^[2-3]、食性^[4-6]、繁殖习性^[7-9]等方面,而对于克氏原螯虾的生化组成研究相对较少^[10-11],有关克氏原螯虾产卵和抱卵期间亲虾生化组成和能值变化的研究还未见报道。肝胰腺作为甲壳动物脂肪储存、加工、修饰,转运的核心器官具有重要的生理作用^[12-14]。本文研究了克氏原螯虾产卵前后和卵破膜3个阶段,肝胰腺和肌肉中

生化组成和能值的变化,旨在丰富克氏原螯虾繁殖营养学的基础研究,以期研究克氏原螯虾亲体的培育,提高亲体产卵量和孵化率提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料与养殖管理

所有实验用亲虾购自江苏盐城某养殖场,体重为 (21.43 ± 4.45) g,饲养于实验室水族箱(60 cm × 45 cm × 50 cm)中,箱内放置拱形瓦片和水管供亲虾隐蔽栖息,水位保持在15 cm左右,24 h不间断增氧,恒温加热棒控制水温。每天6:00和18:00投喂人工配合饲料,及时吸除残饵和粪便,并添加已充分曝气的自来水。实验期间溶解氧 > 5 mg/L,水温 (18 ± 3) °C, pH 6.8~8.0。

收稿日期: 2011-10-10 修回日期: 2011-12-29

基金项目: 国家自然科学基金(31101887);江苏省自然科学基金(Bk2011419)

作者简介: 於叶兵(1980—),男,讲师,研究方向为水产经济动物增养殖。E-mail: yuyebing2005@126.com

通讯作者: 吕富, E-mail: lvfu@163.com

1.2 实验方法

1.2.1 实验取样

克氏原螯虾繁殖与发育具有不同步性,但有一个相对高峰期。取样时间为2009年10月下旬至12月下旬。实验期间每日观察亲虾产卵情况,当雌虾开始产卵时,首先将抱卵亲虾隔离饲养待虾卵孵化,每天观察抱卵虾卵的发育情况,参照慕峰等^[15]的方法,当胚胎发育至破膜阶段,立即称重解剖雌虾取其全部肝胰腺、肌肉和卵巢作为卵破膜时期亲虾样品。当抱卵虾孵化数量充足时其余雌虾一旦产卵结束立即称重解剖雌虾取其全部肝胰腺、肌肉和卵巢,作为产卵后亲虾样品。最后大量解剖剩余还未产卵亲虾,先按照李胜和赵维信^[16]的方法观察选择卵巢发育至成熟期的亲虾,卵粒深褐色,卵径1.5 mm以上,在此基础上挑选那些卵粒游离度大,卵巢极其柔软、具有黑亮光泽并且已稍延伸至腹部第一节背板下的亲虾,解剖取样作为产卵前亲虾样品。所有肝胰腺、肌肉、卵巢样品置于-72℃冰箱中保存备用。按如下公式计算组织指数:

$$H_{IS}(\%) = G_{\text{肝胰腺}} / G_{\text{体重}} \times 100 \quad (1)$$

$$M_I(\%) = G_{\text{肌肉}} / G_{\text{体重}} \times 100 \quad (2)$$

$$G_{SI}(\%) = G_{\text{卵巢}} / G_{\text{体重}} \times 100 \quad (3)$$

式中: H_{IS} 为肝胰腺指数; M_I 为肌肉指数; G_{SI} 为卵巢指数; $G_{\text{肝胰腺}}$ 为肝胰腺重(g); $G_{\text{肌肉}}$ 为肌肉重(g); $G_{\text{卵巢}}$ 为卵巢重(g); $G_{\text{体重}}$ 为虾体重(g)。

1.2.2 常规生化成分分析和能量计算

实验共解剖产卵前雌虾21只,产卵后雌虾24只,破膜虾18只。各组织水分按GB/T 5009.3—2003的方法于105℃温度下烘干测定;采用凯氏定氮法测定组织蛋白质含量;碳水化合物的提取参照HOLLAND和CABBOTT^[17]的方法,采用苯酚-硫酸法测定碳水化合物含量,标样为葡萄糖。脂肪的提取参照FOLCH等^[18]的方法,用氯仿-甲醇[V(氯仿):V(甲醇)=2:1]抽提。能值的计算参照PROSSER^[19]提出的换算因子,脂肪、蛋白质、碳水化合物的比能值分别为39.5 kJ/g、23.6 kJ/g、17.5 kJ/g。按如下公式计算肝胰腺和肌肉的能值:

$$Q(\text{kJ/g}) = \omega_{\text{脂肪}} \times 39.5(\text{kJ/g}) + \omega_{\text{蛋白质}} \times 23.6(\text{kJ/g}) + \omega_{\text{碳水化合物}} \times 17.6(\text{kJ/g}) \quad (4)$$

式中: Q 为组织能值; $\omega_{\text{脂肪}}$ 为脂肪百分含量; $\omega_{\text{蛋白质}}$ 为蛋白质百分含量; $\omega_{\text{碳水化合物}}$ 为碳水化合物百分

含量。

1.2.3 脂肪酸组成的分析

脂肪酸的皂化及甲酯化,参照CHRISTIE^[20]的方法略有改进,吸取1 μL的脂肪酸甲酯样品进行气相色谱-质谱分析。分析仪器为Trace DSQ GC/MS气质联用仪;色谱柱:HP-5MS,30 m × 0.25 mm × 0.25 μL。气象色谱操作条件:气化室温度250℃,传输线温度280℃。色谱柱升温程序:初温50℃,以10℃/min升至280℃并保持10 min。进样方式:分流进样,分流比为10:1。质谱:EI离子源,信增器电压:1 200 V。离子源温度:230℃,四级杆温度:150℃,全扫描(SCAN)质量范围:45~500 amu。检索NIST质谱图库,比较样品质谱图与图库中标准质谱图,确定样品中脂肪酸种类,相对含量采用面积归一化法计算。

1.3 数据分析

用Excel 2003对数据进行整理,SPSS 18.0对数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVY),用Duncan氏多重比较分析组间差异显著性,当 $P < 0.05$ 时认为差异显著,用小写字母表示, $P < 0.01$ 时差异极显著,用大写字母表示。数据用平均值±标准差($\bar{X} \pm SD$)形式表示。

2 结果

2.1 不同生理时期组织指数的变化

由表1可知,克氏原螯虾产卵前卵巢指数大于肝胰腺指数。产卵后肝胰腺指数,肌肉指数没有显著性变化($P > 0.05$),而卵巢指数降低了93.49%($P < 0.01$),抱卵期间,肝胰腺指数极显著增加,至卵破膜阶段肝胰腺指数为5.88%,比产卵后上升了13.29%,并且显著高于产卵前水平($P > 0.05$)。

表1 克氏原螯虾不同生理时期组织指数的变化

Tab.1 Tissue indices of *P. clarkii*

at different physiological stages %

生理阶段	产卵前 (n=21)	产卵后 (n=24)	卵破膜 (n=18)
肝胰腺指数	5.36 ± 0.67 ^{ABb}	5.19 ± 0.68 ^{Bb}	5.88 ± 0.74 ^{Aa}
肌肉指数	9.78 ± 1.12	9.80 ± 0.88	10.46 ± 1.16
卵巢指数	6.14 ± 1.19 ^{Aa}	0.40 ± 0.08 ^{Bb}	0.24 ± 0.04 ^{Bb}

注:同行数据肩标不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$);不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$);n代表样本数。表2-表4同此。

2.2 不同生理时期肝胰腺及肌肉中生化组成和能值的变化

由表 2 可知,克氏原螯虾肌肉水分含量远高于肝胰腺。对于 3 大营养物质,肝胰腺主要含脂肪(34.11%~41.50%),肌肉主要含蛋白质(16.48%~18.98%),两种组织的碳水化合物含量均很低。亲虾产卵后,肝胰腺和肌肉中水分含量均极显著上升($P < 0.01$),而 3 大营养物质均呈下降趋势,肝胰腺中粗脂肪由 41.50% 降至

35.10% ($P < 0.01$),粗蛋白降幅为 9.80% ($P < 0.05$),碳水化合物降幅为 11.11% ($P > 0.05$);产卵后肌肉中粗脂肪变化不显著,粗蛋白降幅为 9.38% ($P < 0.01$),碳水化合物降幅为 24.00% ($P < 0.05$)。亲虾抱卵期间肝胰腺中的粗蛋白和碳水化合物快速恢复,至卵破膜阶段均已极显著高于产卵前;抱卵期间肌肉中粗蛋白仍呈下降趋势($P < 0.05$)。

表 2 克氏原螯虾不同生理时期肝胰腺,肌肉中生化组成的变化

Tab.2 Changes in basic composition in the hepatopancreas and muscle of *P. clarkii* at different physiological stages

项目	水分含量		粗蛋白含量		粗脂肪含量		碳水化合物含量	
	肝胰腺	肌肉	肝胰腺	肌肉	肝胰腺	肌肉	肝胰腺	肌肉
产卵前(n=21)	44.45 ± 1.60 ^{Bb}	78.09 ± 0.40 ^{Bb}	7.35 ± 0.34 ^{Bb}	18.98 ± 0.57 ^{Aa}	41.50 ± 1.91 ^{Aa}	0.52 ± 0.01	1.17 ± 0.18 ^{Bb}	2.25 ± 0.40 ^{Aa}
产卵后(n=24)	51.51 ± 3.52 ^{Aa}	80.40 ± 1.14 ^{Aa}	6.63 ± 0.39 ^{Bc}	17.20 ± 0.49 ^{Bb}	35.10 ± 1.87 ^{Bb}	0.49 ± 0.15	1.04 ± 0.28 ^{Bb}	1.71 ± 0.40 ^{Ab}
卵破膜(n=18)	52.13 ± 2.29 ^{Aa}	80.32 ± 0.38 ^{Aa}	8.71 ± 0.79 ^{Aa}	16.48 ± 0.33 ^{Bc}	34.11 ± 2.79 ^{Bb}	0.67 ± 0.05	1.66 ± 0.15 ^{Aa}	1.60 ± 0.24 ^{Ab}

由表 3 可知:产卵前,肝胰腺总能值为 18.33 kJ/g,而肌肉只有 5.11 kJ/g。产卵前后肝胰腺总能减少了 2.72 kJ/g ($P < 0.01$),其中脂肪供能 2.53 kJ/g,占肝胰腺总能变化值的 93.01%;产卵前后肌肉总能减少 0.52 kJ/g ($P < 0.01$),其中蛋白

质供能 0.43 kJ/g,占肌肉总能变化值的 82.69%;两组织碳水化合物的能值均较低,变化也不显著。抱卵期间肝胰腺能值略有上升($P > 0.05$),而肌肉能值下降 4.57% ($P < 0.05$)。

表 3 克氏原螯虾不同生理时期肝胰腺,肌肉能值的变化

Tab.3 Energy density in the hepatopancreas and muscle of *P. clarkii* at different physiological stages

项目	蛋白质能值		脂肪能值		碳水化合物能值		总能值	
	肝胰腺	肌肉	肝胰腺	肌肉	肝胰腺	肌肉	肝胰腺	肌肉
产卵前(n=21)	1.74 ± 0.08 ^{Bb}	4.49 ± 0.14 ^{Aa}	16.39 ± 0.75 ^{Aa}	0.20 ± 0.01	0.21 ± 0.04 ^{Bb}	0.39 ± 0.07 ^{Aa}	18.33 ± 0.78 ^{Aa}	5.11 ± 0.10 ^{Aa}
产卵后(n=24)	1.56 ± 0.09 ^{Bc}	4.06 ± 0.11 ^{Bb}	13.86 ± 0.74 ^{Bb}	0.19 ± 0.06	0.18 ± 0.05 ^{Bb}	0.33 ± 0.05 ^{ABab}	15.61 ± 0.74 ^{Bb}	4.59 ± 0.06 ^{Bb}
卵破膜(n=18)	2.10 ± 0.19 ^{Aa}	3.87 ± 0.08 ^{Bc}	13.48 ± 1.10 ^{Bb}	0.26 ± 0.02	0.29 ± 0.03 ^{Aa}	0.28 ± 0.04 ^{Bb}	15.86 ± 1.29 ^{Bb}	4.38 ± 0.11 ^{Bc}

2.3 不同生理时期肝胰腺脂肪酸组成的变化

共检测出 17 种饱和脂肪酸(SFA)(表 4),其中 $C_{16:0}$ 、 $C_{18:0}$ 的含量显著高于其他 SFA,对于奇数碳的 SFA,在这 3 个阶段呈上升趋势,产卵后至卵破膜阶段 $C_{15:0}$ 、 $C_{17:0}$ 极显著上升,绝大多数偶数碳的 SFA 在这 3 个阶段基本保持稳定,但 $C_{18:0}$ 从产卵后至卵破膜阶段下降了 14.95% ($P < 0.01$)。共检测出 10 种单不饱和脂肪酸(MUFA),其中 $C_{18:n-9}$ 、 $C_{16:n-7}$ 的含量显著高于其他 MUFA,产卵后至卵破膜阶段 $C_{16:n-7}$ 、 $C_{24:n-9}$ 下降显著($P < 0.05$),降幅分别为 17.88% 和 26.61%。共检测出 6 种

多不饱和脂肪酸(PUFA),其中 $C_{18:2n-6}$ 、 $C_{20:5n-3}$ (EPA)、 $C_{22:6n-3}$ (DHA) 的含量较高,产卵前到卵破膜阶段 $C_{20:4n-6}$ (AA) 一直上升,幅度为 35.42% ($P < 0.05$)。产卵后,EPA、DHA、 $\sum n-3$ PUFA 极显著下降,幅度分别高达 30.80%、44.33% 和 28.55%。克氏原螯虾肝胰腺中 $\sum n-3$ PUFA 含量远小于 $\sum n-6$ PUFA,产卵后 $n-3/n-6$ 下降显著。DHA 含量小于 EPA,抱卵期间前者仍下降而后者开始恢复,至卵破膜阶段,DHA 与 EPA 的比值减小($P < 0.01$)。

表 4 克氏原螯虾不同生理时期肝胰腺脂肪酸组成的变化
 Tab. 4 Changes in fatty acid composition in the hepatopancreas and muscle
 of *P. clarkii* at different physiological stages

脂肪酸	产卵前(n=21)	产卵后(n=24)	卵破膜(n=18)
C _{10:0}	0.017 ± 0.007 ^{Bb}	0.026 ± 0.005 ^{ABb}	0.042 ± 0.021 ^{Aa}
C _{11:0}	—	—	0.014 ± 0.007
C _{12:0}	0.019 ± 0.003	0.020 ± 0.010	0.025 ± 0.005
C _{13:0}	0.010 ± 0.000 ^b	0.023 ± 0.030 ^{ab}	0.031 ± 0.010 ^a
C _{14:0}	0.810 ± 0.104	0.684 ± 0.141	0.734 ± 0.193
C _{15:0}	0.918 ± 0.136 ^{Bb}	1.063 ± 0.285 ^{Bb}	1.402 ± 0.270 ^{Aa}
C _{16:0}	18.625 ± 0.475	18.583 ± 0.441	18.609 ± 0.901
C _{17:0}	0.673 ± 0.087 ^{Bb}	0.811 ± 0.164 ^{Bb}	1.091 ± 0.191 ^{Aa}
C _{18:0}	4.198 ± 0.312 ^{Aa}	4.283 ± 0.334 ^{Aa}	3.637 ± 0.431 ^{Bb}
C _{19:0}	0.204 ± 0.028 ^{Bb}	0.244 ± 0.037 ^{ABb}	0.295 ± 0.067 ^{Aa}
C _{20:0}	0.437 ± 0.053	0.479 ± 0.062	0.419 ± 0.052
C _{21:0}	0.185 ± 0.023 ^b	0.229 ± 0.041 ^a	0.234 ± 0.053 ^a
C _{22:0}	0.373 ± 0.048	0.441 ± 0.049	0.427 ± 0.093
C _{23:0}	0.294 ± 0.043	0.340 ± 0.037	0.346 ± 0.108
C _{24:0}	0.219 ± 0.035	0.263 ± 0.030	0.254 ± 0.069
C _{25:0}	0.057 ± 0.009 ^{Bb}	0.079 ± 0.023 ^{ABa}	0.098 ± 0.028 ^{Aa}
C _{26:0}	0.040 ± 0.008 ^{Bb}	0.064 ± 0.026 ^{Aa}	0.066 ± 0.015 ^{Aa}
Σ SFA	27.079 ± 1.011	27.631 ± 1.181	27.725 ± 1.449
C _{14: n-3}	0.058 ± 0.010	0.074 ± 0.049	0.071 ± 0.016
C _{15: n-1}	0.142 ± 0.029	0.140 ± 0.036	0.137 ± 0.045
C _{16: n-7}	8.415 ± 1.021 ^a	8.671 ± 1.524 ^a	7.124 ± 1.1579 ^b
C _{18: n-3}	—	—	0.015 ± 0.005
C _{18: n-9}	27.386 ± 3.152	28.096 ± 4.602	29.543 ± 1.258
C _{19: n-9}	0.364 ± 0.039	0.390 ± 0.035	0.370 ± 0.036
C _{20: n-9}	1.802 ± 0.173	1.810 ± 0.200	1.697 ± 0.124
C _{22: n-9}	0.442 ± 0.065	0.490 ± 0.121	0.535 ± 0.131
C _{23: n-1}	0.039 ± 0.009	0.039 ± 0.004	0.037 ± 0.010
C _{24: n-9}	0.131 ± 0.019 ^{Aa}	0.109 ± 0.028 ^{ABa}	0.080 ± 0.019 ^{Bb}
Σ MUFA	38.779 ± 2.176	39.819 ± 2.863	39.610 ± 1.366
C _{18: 2n-6}	27.158 ± 1.030 ^{Aa}	25.839 ± 2.334 ^{ABab}	24.734 ± 1.147 ^{Bb}
C _{18: 2n-7}	0.044 ± 0.013 ^b	0.059 ± 0.019 ^a	0.041 ± 0.006 ^b
C _{18: 3n-7}	—	0.117 ± 0.030	—
C _{20: 4n-6}	0.482 ± 0.106 ^b	0.511 ± 0.132 ^b	0.650 ± 0.154 ^a
C _{20: 5n-3}	1.516 ± 0.353 ^{Aa}	1.049 ± 0.187 ^{Bb}	1.184 ± 0.342 ^{ABb}
C _{22: 6n-3}	1.006 ± 0.418 ^{Aa}	0.560 ± 0.204 ^{Bb}	0.405 ± 0.197 ^{Bb}
Σ PUFA	30.206 ± 1.752 ^{Aa}	28.134 ± 2.587 ^{ABb}	27.014 ± 1.077 ^{Bb}
Σ n-3PUFA	2.252 ± 0.761 ^{Aa}	1.609 ± 0.366 ^{Bb}	1.589 ± 0.521 ^{Bb}
Σ n-6PUFA	27.640 ± 1.118 ^a	26.350 ± 2.388 ^{ab}	25.384 ± 1.083 ^b
n-3/n-6	0.091 ± 0.025 ^a	0.061 ± 0.015 ^b	0.061 ± 0.023 ^b
DHA/EPA	0.642 ± 0.139 ^{Aa}	0.526 ± 0.134 ^{Aa}	0.335 ± 0.095 ^{Bb}
Σ 未知脂肪酸	3.936 ± 0.839 ^b	4.416 ± 1.409 ^b	5.651 ± 1.383 ^a

注: SFA 为饱和脂肪酸; MUFA 为单不饱和脂肪酸; PUFA 为多不饱和脂肪酸; — 表示该脂肪酸成分未检出。

3 讨论

3.1 不同生理时期组织指数的变化

陈金民等^[10]研究发现克氏原螯虾第 V 期卵巢指数是肝胰腺的 1.25 倍,这与本文研究结果相似,是因为甲壳动物卵巢发育期间肝胰腺中的营养物质开始向卵巢中转运^[21],至产卵前卵巢指

数显著高于肝胰腺^[22-24]。产卵前克氏原螯虾停止摄食,产卵时需要的营养物质主要来源于肝胰腺和肌肉,但营养物质消耗后组织立即大量吸水,因而克氏原螯虾产卵后,肝胰腺和肌肉中水分含量极显著升高指数变化不显著。卵破膜阶段肝胰腺指数已经超过产卵前的水平,说明产完卵后肝胰腺储存营养物质的速度超过了其向其

它组织输送营养物质的速度。

3.2 不同生理时期肝胰腺、肌肉中生化组成和能值的变化

十足目甲壳动物除对虾科外都具有抱卵习性^[25],产卵时腹肢粘液腺大量分泌粘液促进抱卵^[26-28]。克氏原螯虾产卵前已停止摄食,产卵过程中所需的生化物质以及能量消耗主要来源于肝胰腺和肌肉中贮存的营养物质,本研究发​​现克氏原螯虾产卵前后肝胰腺中粗脂肪和粗蛋白消耗较大,肌肉中粗蛋白和碳水化合物下降较高,营养物质氧化分解的同时也释放出大量的能量为物质重新合成以及亲虾产卵提供动力。甲壳动物碳水化合物含量很少,一般不作为能量物质,而脂肪是甲壳动物主要的能源物质^[29-30],克氏原螯虾亲虾产卵过程中脂肪供能占 3 大营养物质总能耗的 78.39%,肝胰腺是重要的供能器官。

克氏原螯虾抱卵期间恢复摄食,获得的外源性营养物质主要用于 3 个方面:(1)维持正常生命活动;(2)为抱卵活动提供能量;(3)为组织恢复提供营养物质。抱卵期间肝胰腺中的蛋白质和碳水化合物开始积累,肝胰腺总能值略有增加,而肌肉粗蛋白和总能值均显著降低,提示抱卵期间亲虾消耗的能量可能主要由外源性脂肪和肌肉蛋白氧化提供。

3.3 不同生理时期肝胰腺脂肪酸组成的变化

克氏原螯虾肝胰腺中主要脂肪酸有 $C_{18:n-9}$ 、 $C_{18:2n-6}$ 、 $C_{16:0}$ 、 $C_{16:n-7}$ 、 $C_{18:0}$ 、 $C_{20:5n-3}$ (EPA)、 $C_{22:6n-3}$ (DHA),这与陈金民等研究结果相似^[10]。对于 $C_{18:n-9}$ 和 $C_{16:0}$,不仅在克氏原螯虾肝胰腺中,在其他淡水鱼虾体组织中含量也是最高^[31-32],推测这两种脂肪酸是构成体组织的基本成分。产卵后至破膜阶段, $C_{18:0}$ 和 $C_{16:n-7}$ 显著下降,这一阶段亲虾因为孵化的需要,腹足不停地摆动需要消耗大量的能量,此阶段亲虾虽摄食,但可能外源性营养不能完全满足需要,而通过 $C_{18:0}$ 和 $C_{16:n-7}$ 旺盛的代谢进行弥补,中国对虾从无节幼体转变为蚤状幼体时 $C_{16:n-7}$ 的下降有一个突跃^[33],日本对虾也有类似情况^[34],提示 $C_{18:0}$ 和 $C_{16:n-7}$ 可能是重要的能源脂肪酸。

$C_{18:2n-6}$ 和 $C_{20:4n-6}$ (AA) 是 2 种最主要的 n-6PUFA,AA 是虾蟹类合成前列腺素等多种激素的前体^[35], $C_{18:2n-6}$ 是合成 n-6 系列高不饱和脂肪

酸的底物,克氏原螯虾排卵受精和抱卵行为需要大量激素的调控,所以这 3 个阶段 AA 合成较快, $C_{18:2n-6}$ 可能参与了 AA 的合成而极显著降低。EPA,DHA 是重要的 n-3PUFA,EPA 能够促进亲虾卵巢的发育,增加亲虾产卵量,DHA 可以提高卵的孵化率^[36]。克氏原螯虾肝胰腺中 EPA 含量高于 DHA 这与其它甲壳类动物相似^[37],产卵期间 EPA 和 DHA 都极显著降低,推测可能是转移到了性腺或者卵粒中。值得一提的是,抱卵期间 EPA 恢复的比 DHA 快,具体原因有待进一步研究。克氏原螯虾肝胰腺中 Σ n-6PUFA 显著高于 Σ n-3PUFA,主要是因为 $C_{18:2n-6}$ 的含量较高,而且甲壳动物在次级卵黄发生阶段从食物中获得的 n-3PUFA 被快速转移到了卵巢中^[38]。产卵后 n-3/n-6 显著下降,说明克氏原螯虾产卵过程中 n-3PUFA 代谢也很活跃。这提示我们在克氏原螯虾亲体培育期间,饲料中添加富含高不饱和脂肪酸的脂肪将会提高繁殖效率。

参考文献:

- [1] 周凤建,何玉明,强晓刚,等.克氏原螯虾苗种规模化繁育技术[J].渔业现代化,2009,36(2):38-42.
- [2] 郭晓鸣,朱松泉.克氏原螯虾幼体发育的初步研究[J].动物学报,1997,43(4):372-381.
- [3] 薛俊增,吴惠仙,张丽萍.克氏原螯虾外部形态和各器官系统的解剖[J].杭州师范学院学报:自然科学版,1998(6):67-70.
- [4] 但丽,张世萍,羊茜,等.克氏原螯虾食性和摄食活动的研究[J].湖北农业科学,2007,46(3):436-438.
- [5] CORREIA A M. Niche breadth and trophic diversity: feeding behaviour of the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) towards environmental availability of aquatic macroinvertebrates in a rice field (Portugal) [J]. Acta Oecologica, 2002, 23(6): 421-429.
- [6] ALCORLO P, GEIGER W, OTERO M, et al. Feeding preferences and food selection of the red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*, in habitats differing in food item diversity [J]. Crustaceana, 2004, 77(4): 435-453.
- [7] 董卫军,李铭,徐加元,等.克氏原螯虾繁殖生物学研究[J].水利渔业,2007,27(6):27,104.
- [8] 龚世园,吕建林,孙瑞杰,等.克氏原螯虾繁殖生物学研究[J].淡水渔业,2008,38(6):23-25.
- [9] 朱玉芳,崔勇华,戈志强,等.克氏原螯虾抱卵与非抱卵孵化比较研究[J].水利渔业,2002,22(4):16-17.
- [10] 陈金民,魏华,沈竑,等.克氏原螯虾卵巢发育时期组织脂肪含量及脂肪酸组成[J].中国水产科学,2010,17(6):1278-1284.
- [11] 董卫军.克氏原螯虾繁殖生物学及胚胎发育过程中主要

- 生生物质变化的研究[D]. 武汉:华中师范大学,2007.
- [12] MIKAMI S, GREENWOOD J G. Functional morphology and cytology of the phyllosomal digestive system of *Sivacus ciliatus* and *Panulirus japonicus* (Decapoda) [J]. *Crustaceana*, 1994, 67: 212 - 225.
- [13] VOGT G, STORCH V, QUINTIO E T, et al. Midgut gland as monitor organ for the nutritional value of diets in *Penaeus monodon* (Decapoda) [J]. *Aquaculture*, 1985, 48(1): 1 - 12.
- [14] LOIZZI R F. Interpretation of crayfish hepatopancreatic function based on fine structural analysis of epithelial cell lines and muscle network. [J]. *Zeitschrift Fuer Zellforschung and Mikroskopische Anatomie*, 1971, 113: 420 - 440.
- [15] 慕峰, 吴旭干, 成永旭, 等. 克氏原螯虾胚胎发育的形态学变化[J]. *水产学报*, 2007, 31(s): 6 - 10.
- [16] 李胜, 赵维信. 克氏原螯虾大颚器在卵巢发育周期中的组织结构变化[J]. *上海水产大学学报*, 1999, 8(1): 12 - 18.
- [17] HOLLAND D L, CABBOTT P A. A micro-analytical scheme for the determination of protein, carbohydrate, lipid and RNA levels in marine invertebrate larvae[J]. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 1971, 51: 659 - 668.
- [18] FOLCH M, LEES M, STANLEY G H S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1957, 226: 497 - 509.
- [19] PROSSER C L. Oxygen, respiration and metabolism [M]// PROSSER C L. *Comparative Animal Physiology*. Philadelphia: W B Saunders Company, 1973: 165 - 211.
- [20] CHRISTIE W W. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesteryl esters [J]. *Journal of Lipid Research*, 1982, 23: 1072 - 1075.
- [21] 成永旭, 赖伟, 堵南山. 十足类甲壳动物卵巢发育过程中脂肪的积累与肝胰腺脂肪的变化[J]. *动物学杂志*, 1997, 32(2): 57 - 60.
- [22] 堵南山, 赖伟, 陈鹏程, 等. 中华绒螯蟹卵黄形成的研究[J]. *动物学报*, 1999, 45(1): 88 - 92.
- [23] 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.
- [24] 黄建华, 杨其彬, 林黑着, 等. 南海野生斑节对虾亲虾卵巢发育过程中的脂肪酸组成[J]. *热带海洋学报*, 2011, 30(1): 144 - 151.
- [25] 薛俊增, 吴惠仙. 三疣梭子蟹卵附着机制及相关形态学特征[J]. *动物学报*, 2004, 50(5): 873 - 879.
- [26] 杨万喜, 堵南山, 赖伟. 日本沼虾 *Macrobrachium nipponense* (de Haan) 卵子附着机制研究 I. 卵膜及卵子附着的扫描电镜观察[J]. *河北大学学报: 自然科学版*, 1996(4): 34 - 40.
- [27] YONGE C M. The nature and significance of membranes surrounding the developing eggs of *Homarus vulgaris* and other Decapoda [J]. *Proceeding of the Zoological Society of London*, 1937, 107: 499 - 517.
- [28] FISHER W S, CLARK W H. Eggs of *Palaemon macrodactylus*: I. Attachment of the pleopods and formation of the outer investment coat [J]. *The Biological Bulletin*, 1983, 164: 189 - 200.
- [29] 杨凤. 动物营养学 [J]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 76 - 88.
- [30] 艾春香, 李少菁, 王桂忠, 等. 虾蟹类亲体生殖营养需求研究的进展[J]. *台湾海峡*, 2003, 22(2): 254 - 261.
- [31] 李淡秋. 二十种淡水鱼虾脂肪酸组成的分析研究[J]. *水产科技情报*, 1991, 18(3): 73 - 76.
- [32] 李淡秋. 中国 20 种海水鱼虾脂肪酸组成的分析研究[J]. *水产学报*, 1989, 13(2): 157 - 159.
- [33] 季文娟. 中国对虾 (*Penaeus chinensis*) 幼体发育各阶段脂肪酸组成的研究[J]. *中国水产科学*, 1996, 3(4): 28 - 33.
- [34] TESHIMA S, KANAZAWA A. Variation in lipid compositions during the larval development of the prawn (*Penaeus japonicus*) [J]. *Memoirs of Faculty of Fisheries, Kagoshima University*, 1982, 31: 205 - 212.
- [35] 常国亮, 吴旭干, 成永旭, 等. 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[J]. *中国水产科学*, 2011, 18(2): 329 - 337.
- [36] 季文娟. 高度不饱和脂肪酸对中国对虾亲虾的产卵和卵质的影响[J]. *水产学报*, 1998, 22(3): 240 - 246.
- [37] 李淡秋. 七种甲壳类水产品脂肪酸组成的分析研究[J]. *水产科技情报*, 1992, 19(6): 173 - 176.
- [38] 成永旭, 堵南山, 赖伟. 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[J]. *水产学报*, 2000, 24(2): 113 - 118.

Changes of biochemical composition and energy in hepatopancreas and muscle of *Procambarus clarkii* at different physiological stages

YU Ye-bing, LÜ Fu, ZHAO Wei-hong, YANG Wen-ping, WANG Ai-min, HUANG Jin-tian

(Key Laboratory of Aquaculture and Ecology of Coastal Pool of Jiangsu Province, Yancheng Institute of Technology, Yancheng 224051, Jiangsu, China)

Abstract: In present research work, the changes of the biochemical composition and energy density in hepatopancreas and muscle of *Procambarus clarkii* before and after spawning and during the berried stages were studied. The results showed that (1) before and after spawning stages there was no significant change for indices of hepatopancreas and muscle ($P > 0.05$), while the ovarian index decreased from 6.14% to 0.40% ($P < 0.01$). Meanwhile, the hepatopancreas index increased by 13.29% from after spawning stage to berried stage, which was significantly higher than that before spawning stage; (2) The crude protein, crude lipid and carbohydrate decreased significantly after spawning, in which crude lipid in hepatopancreas and crude protein in muscle decreased significantly ($P < 0.01$). During the berried stage, the protein and carbohydrate were quickly recovered and exceeded the levels of those before spawning stage ($P < 0.01$). The energy in hepatopancreas decreased significantly before and after spawning stage, while the energy in muscle decreased significantly at the berried stage; (3) The PUFA was decreased significantly after spawning stage, in which DHA and EPA decreased by 44.33% and 30.80% respectively. During the three stages, the $C_{20:4n-6}$ displayed an increasing pattern, while the SFA and MUFA were stable, and only increased slightly.

Key words: *Procambarus clarkii*; physiological stages; biochemical composition; energy density