

文章编号: 1674-5566(2017)06-0872-08

DOI:10.12024/jsou.20170402017

中华绒螯蟹成熟雄体生殖系统的生化组成分析

麻楠¹, 龙晓文¹, 吴旭干^{1,2,3}, 成永旭^{1,2,3}

(1. 上海海洋大学上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306; 2. 上海海洋大学农业部鱼类营养和环境生态研究中心, 上海 201306; 3. 上海海洋大学水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306)

摘要: 中华绒螯蟹雄性生殖系统较为复杂, 尚未见其各组成部分生化成分的全面分析, 本实验探究了成熟雄蟹生殖系统各部分的组织系数、常规生化成分、脂肪酸组成和氨基酸含量。结果显示: (1) 副性腺指数 (AGI) 显著高于精巢指数 (TI) 和输精管指数 (VDI), $P < 0.05$ 。(2) 就常规生化成分而言, 精巢中的水分、总脂和总碳水化合物含量均显著高于输精管和副性腺 ($P < 0.05$), 而粗蛋白含量则以副性腺最高, 输精管次之, 精巢最低 ($P < 0.05$)。(3) 就脂肪酸组成而言, 生殖系统各部分的总饱和脂肪酸 (Σ SFA)、n-3 多不饱和脂肪酸总量 (Σ n-3PUFA) 和 n-3/n-6 均无显著差异 ($P > 0.05$), 但精巢中的 C20:3n3、C20:4n6、C22:6n3、总多不饱和脂肪酸 (Σ PUFA)、 Σ n-6PUFA 和总高度不饱和脂肪酸 (Σ HUFA) 含量显著高于其他两个部位 ($P < 0.05$)。(4) 就氨基酸组成而言, 输精管中赖氨酸 (Lys)、缬氨酸 (Val) 和组氨酸 (His) 含量最高, 副性腺次之, 精巢最低 ($P < 0.05$), 副性腺中其余大部分的氨基酸及总氨基酸含量最高。综上, 中华绒螯蟹成熟雄体精巢中主要积累脂肪、碳水化合物、PUFA 和 HUFA, 而副性腺中粗蛋白和大部分氨基酸含量较高, 这可能与不同的生理功能有关。

关键词: 中华绒螯蟹; 成熟雄体; 生殖系统; 生化组成

中图分类号: S 917 **文献标志码:** A

中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*, 简称河蟹), 是我国重要的淡水养殖蟹类之一, 据统计 2015 年全国河蟹总产量高达 82.3 万 t 左右^[1]。池塘养殖河蟹通常在 9 月底至 10 月初完成生殖蜕壳, 此后性腺开始快速发育, 至 11—12 月性腺发育基本达到成熟^[2-3]。研究表明, 河蟹雌雄个体的性腺发育规律及生殖系统组成存在较大差异^[4-5], 其中, 雄蟹的生殖系统相对较为复杂, 主要由精巢、输精管和副性腺组成^[6-7]。先前有研究表明, 河蟹雄体精巢、输精管和副性腺在精子发生和交配过程中起着不同的生理功能^[7-8], 推测这些部位的生化组成也可能存在一定的差异以行使不同的功能, 迄今为止仅王群等^[9]在这方面进行了部分报道, 尚未见这方面全面系统的研究报道。

甲壳动物成体生殖系统的发育状况及其生

化组成对甲壳动物的交配和生殖具有重要作用^[10-12]。雄体生殖系统的生化组成是评价亲本质量的重要指标之一^[13], 先前研究表明河蟹雄体生殖系统中主要为蛋白和脂肪, 碳水化合物含量相对较低^[14], 但是均没有将精巢、输精管和副性腺分开测定, 这不利于进一步研究和理解河蟹雄体亲本营养生理学。此外, 河蟹副性腺是雄性生殖系统最大的组成部分, 也是最主要的可食组织, 因此研究雄体生殖系统各部位的生化组成可为河蟹雄体的营养价值评价提供基础资料^[15-16]。鉴于此, 本文测定和比较了成熟河蟹雄体生殖系统各组成部分指数、常规生化成分、脂肪酸和氨基酸组成, 以期能为河蟹雄体亲本营养学研究、亲本培育、亲本饲料开发和营养价值评价提供参考信息。

收稿日期: 2017-04-11 修回日期: 2017-09-23

基金项目: 上海工程技术中心能力提升项目 (13DZ2280500); 上海市科学技术委员会科研项目 (13320502100, 16DZ2281200); 上海市科技兴农推广项目 (沪农科推字[2015]第 1-7 号); 上海高校水产学高峰学科建设项目 (2015-62-0908); 深圳澳华农业科技开发有限公司委托项目 (D-8006-15-0054)

作者简介: 麻楠 (1991—), 女, 硕士研究生, 研究方向为水产动物营养与生理。E-mail: 1058974664@qq.com

通信作者: 吴旭干, E-mail: xgwu@shou.edu.cn

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验用成熟雄蟹取自上海海洋大学崇明养殖基地,池塘面积为 2 000 m² 左右,为隐蔽河蟹在池塘内种植伊乐藻;3 月中旬每个池塘放养平均规格为 7 g 左右的扣蟹,放养密度为 10 000 只/hm²,雌雄比例为 1:1。养殖期间,每天定时投喂配合饲料,观察食台残饵和水温情况来调整投喂量。随着伊乐藻的生长,逐渐加深水位,8 月份水位维持在 1~1.2 m,保持塘内伊乐藻的合理密度,定期检查水体温度、pH、溶氧、氨氮和亚硝酸盐含量,水质指标控制在安全范围内。定期换水,每隔 15 d 使用聚维酮碘消毒 1 次;养殖时间从 3 月份持续至 12 月份。于 2015 年 11 月 25 日,捕捞成熟雄蟹 30 只(体质量为 110~130 g),活体运输到上海海洋大学营养繁殖实验室用于后续实验。

样品采集过程中,首先用吸水纸擦干河蟹体表水分,用电子天平称体质量(精确度 = 0.01 g);解剖取出肝胰腺和完整生殖系统,数码相机拍照后准确称总体质量,用于计算雄体生殖系统指数(reproductive system index, RSI)。然后从生殖系统解剖取出精巢、输精管和副性腺,所有样品分装于自封袋后于 -40 ℃ 冰箱中保存备用。RSI、精巢指数(testis index, TI)、输精管指数(vas deferens index, VDI)和副性腺指数(accessory gland index, AGI)的计算公式如下:

$$R_{SI} = W_1/W \times 100\% \quad (1)$$

$$T_1 = W_2/W \times 100\% \quad (2)$$

$$V_{DI} = W_3/W \times 100\% \quad (3)$$

$$A_{GI} = W_4/W \times 100\% \quad (4)$$

式中: R_{SI} 为生殖系统指数; T_1 为精巢指数; V_{DI} 为输精管指数; A_{GI} 为副性腺指数; W_1 , W_2 , W_3 , W_4 和 W 分别为生殖系统、精巢、输精管、副性腺质量和总体质量。

1.2 实验方法

1.2.1 常规生化成分分析

样品分析前,随机将 10 只成熟雄蟹的精巢、输精管和副性腺分别合并,因此雄蟹生殖系统每个部位均有 3 个重复样品。采用冷冻干燥法将样品冻干并测定其水分含量,然后根据 AOAC^[17] 的标准方法测定雄蟹各组成部分粗蛋白(凯氏定

氮法);按 FOLCH 等^[18] 的方法,采用 V(氯仿):V(甲醇) = 2:1 提取总脂并测定其含量;采用苯酚-硫酸法测定碳水化合物含量,标样为葡萄糖^[19]。

1.2.2 脂肪酸分析

脂肪酸分析依据 WU 等^[13] 的方法。采用 14% 的三氟化硼-甲醇溶液甲酯化处理总脂,旋转蒸发后进行脂肪酸分析。使用 Agilent-6890 气相色谱,毛细管柱型号为 Omegawax320 (30.0 m × 0.25 mm, USA),进样口和 FID 检测器的温度均为 260 ℃,起始柱温为 140 ℃,程序升温到 240 ℃,直到所有脂肪酸全部出峰。脂肪酸含量的计算采用面积百分比法。每组样品均重复测定 3 次。

1.2.3 氨基酸分析

总氨基酸参考 CHEN 等^[20] 的方法进行测定。取 0.05 g 左右冻干后的样品,采用 6 mol/L 盐酸,在 110 ℃ 下水解 24 h,过滤后取 200 μL 水解产物到试管,采用氮气吹干,样品加入 3 mL 0.02 mol/L 盐酸振荡,溶解。取 1 μL 溶解液用于氨基酸分析,使用德国赛卡姆公司 S-433D 氨基酸自动分析仪进行测定。用氢氧化钠水解法进行色氨酸测定[含有 5% SnCl₂(w/V)]在 110 ℃ 条件下水解 20 h,详细水解步骤和测定方法参考 CHEN 等^[20] 的报道。参考 SPINDLER 等^[21] 方法,采用过过氧化水解法测定蛋氨酸和半胱氨酸含量。

1.3 数据分析及统计

采用 SPSS 16.0 软件对实验数据进行统计分析,所有数据均以平均值 ± 标准误差表示。采用 Levene 法对所有数据进行方差齐性检验,当不满足齐性方差时对百分比数据进行反正弦或平方根处理。采用 ANOVA 对实验数据进行方差分析,用 Duncan 氏法进行多重比较,取 $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 河蟹成熟雄体的生殖系统组成

本实验中,成熟雄体的生殖系统指数(RSI)为 2.62% ± 0.12%,其生殖系统组成如图 1 所示,主要由精巢(T)、输精管(VD)和副性腺(AG)组成。生殖系统各部分指数见图 2,副性腺指数(AGI)显著高于精巢指数(TI)和输精管指数

(VDI) $P < 0.05$, 而 TI 与 VDI 之间差异不显著 ($P > 0.05$), 其中 AGI、TI 和 VDI 分别为 1.81%、0.36% 和 0.45%。

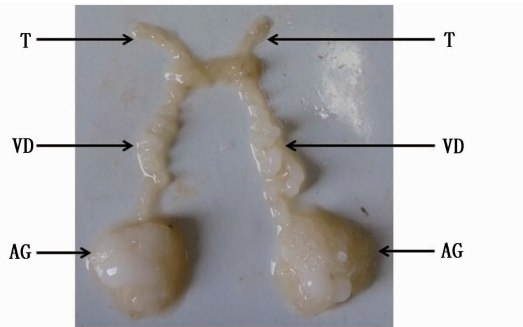


图1 河蟹成熟雄体的生殖系统组成
Fig.1 Reproductive system components of the mature male *E. sinensis*

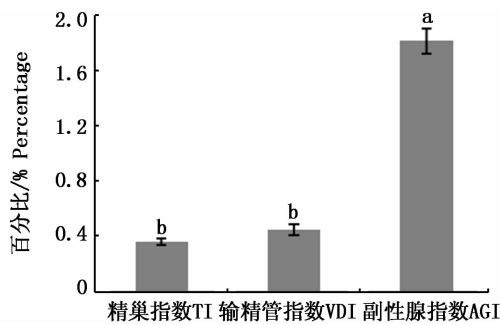


图2 河蟹成熟雄体的生殖系统指数
Fig.2 Reproductive system indexes of the mature male *E. sinensis*

表1 河蟹成熟雄体生殖系统的常规生化成分 (%湿重)

Tab.1 Proximate composition of reproductive system of the mature male *E. sinensis* (% wet weight)

项目 Items	精巢 Testis	输精管 Vas deferens	副性腺 Accessory gland
水分 Moisture	80.79 ± 0.73 ^a	72.90 ± 0.59 ^b	71.62 ± 0.67 ^b
总脂 Total lipid	1.85 ± 0.02 ^a	1.50 ± 0.00 ^b	0.78 ± 0.03 ^c
粗蛋白 Crude protein	11.61 ± 0.13 ^b	14.88 ± 0.14 ^a	15.66 ± 0.65 ^a
总碳水化合物 Total carbohydrate	0.56 ± 0.08 ^a	0.33 ± 0.01 ^b	0.20 ± 0.02 ^b

注:同行数据不含相同字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 表 2、3 同

Note: values in the same row with different letters mean significant difference ($P < 0.05$), the same in Tab. 2、3

2.4 河蟹成熟雄体生殖系统中的氨基酸组成

雄蟹生殖系统的氨基酸组成如表 3 所示, 除蛋氨酸 (Met) 和精氨酸 (Arg) 以外, 各部分中的其余氨基酸含量均有显著性差异 ($P < 0.05$); 其中异亮氨酸 (Ile)、亮氨酸 (Leu)、半胱氨酸 (Cys)、苯丙氨酸 (Phe)、酪氨酸 (Tyr)、苏氨酸 (Thr)、色氨酸 (Trp)、天冬氨酸 (Asp)、丝氨酸 (Ser)、谷氨酸 (Glu)、甘氨酸 (Gly)、丙氨酸 (Ala)、脯氨酸 (Pro) 和总氨基酸 (TAA) 含量均以副性腺最高, 输精管次之, 精巢最低 ($P < 0.05$), 而赖氨酸 (Lys)、缬氨酸 (Val) 和组氨酸 (His) 含量则以输精管最高, 副性腺次之, 精巢最低 ($P < 0.05$)。

2.2 河蟹成熟雄体生殖系统的常规生化成分

河蟹雄体生殖系统中的常规生化成分如表 1 所示。精巢中的水分、总脂和总碳水化合物含量均显著高于输精管和副性腺 ($P < 0.05$), 而输精管与副性腺间的水分和总碳水化合物含量均无显著性差异 ($P > 0.05$), 输精管中总脂含量显著高于副性腺 ($P < 0.05$)。粗蛋白含量以副性腺最高, 输精管次之, 精巢最低 ($P < 0.05$)。

2.3 河蟹成熟雄体生殖系统中的脂肪酸组成

雄蟹生殖系统中的脂肪酸组成见表 2。就饱和脂肪酸 (SFA) 而言, 生殖系统的 3 个组成部分中的 SFA 主要为 C16:0 和 C18:0, 除 C15:0 和 C17:0 外, 大部分 SFA 和总饱和脂肪酸 (Σ SFA) 含量均无显著差异 ($P > 0.05$), 含量均在 19% ~ 21% 之间。就单不饱和脂肪酸 (MUFA) 而言, C16:1n7 和总单不饱和脂肪酸 (Σ MUFA) 含量均以输精管最高, 副性腺次之, 精巢最低, 而 C18:1n7 含量则以副性腺最高 ($P < 0.05$), 各部分中的其余 MUFA 含量均无显著差异 ($P > 0.05$)。就多不饱和脂肪酸 (PUFA) 组成而言, 除了 C20:3n3、C20:4n6、C22:6n3、总多不饱和脂肪酸 (Σ PUFA)、 Σ n-6PUFA 和总高度不饱和脂肪酸 (Σ HUFA) 含量均以精巢最高外 ($P < 0.05$), 各部分中的其余 PUFA、 Σ n-3PUFA 和 n-3/n-6 比例均无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 2 河蟹成熟雄体生殖系统中的脂肪酸组成 (% 总脂肪酸)
 Tab.2 Fatty acid profile of reproductive system of the mature male *E. sinensis* (% total fatty acids)

脂肪酸 Fatty acids	精巢 Testis	输精管 Vas deferens	副性腺 Accessory gland
C14:0	0.39 ± 0.04	0.45 ± 0.03	0.37 ± 0.01
C15:0	0.21 ± 0.01 ^b	0.26 ± 0.01 ^a	0.23 ± 0.01 ^{ab}
C16:0	8.16 ± 0.37	9.18 ± 0.24	9.24 ± 0.26
C17:0	0.59 ± 0.01 ^b	0.56 ± 0.01 ^b	0.67 ± 0.03 ^a
C18:0	8.00 ± 0.10	7.04 ± 0.29	7.82 ± 0.36
C20:0	0.84 ± 0.08	0.81 ± 0.02	0.84 ± 0.06
C22:0	1.02 ± 0.03 ^b	1.53 ± 0.12 ^a	0.89 ± 0.07 ^b
Σ SFA	19.21 ± 0.36	19.93 ± 0.12	20.05 ± 0.73
C16:1	1.33 ± 0.05 ^b	1.73 ± 0.04 ^a	1.36 ± 0.05 ^b
C17:1	0.22 ± 0.01	0.24 ± 0.04	0.27 ± 0.03
C18:1n9	13.62 ± 0.12	14.76 ± 0.70	14.45 ± 0.29
C18:1n7	2.80 ± 0.03 ^b	2.82 ± 0.08 ^b	3.07 ± 0.04 ^a
C20:1n9	2.52 ± 0.28	3.67 ± 1.66	3.54 ± 0.30
C22:1n9	0.40 ± 0.01	0.47 ± 0.00	0.43 ± 0.04
Σ MUFA	20.90 ± 0.20 ^b	23.46 ± 0.30 ^a	23.12 ± 0.20 ^a
C18:2n6	7.57 ± 0.10	6.98 ± 0.81	7.63 ± 0.34
C20:2n6	4.68 ± 0.07	4.05 ± 0.66	4.45 ± 0.47
C18:3n6	0.24 ± 0.00	0.23 ± 0.02	0.22 ± 0.02
C18:3n3	0.93 ± 0.03	0.85 ± 0.12	0.97 ± 0.06
C20:3n3	0.35 ± 0.03 ^a	0.27 ± 0.03 ^{ab}	0.26 ± 0.01 ^b
C20:4n6	13.09 ± 0.93 ^a	12.16 ± 1.40 ^{ab}	9.63 ± 0.39 ^c
C20:5n3	9.83 ± 0.70	9.60 ± 1.10	8.51 ± 0.47
C22:5n3	0.56 ± 0.01	0.52 ± 0.02	0.49 ± 0.03
C22:6n3	8.44 ± 0.47 ^a	7.18 ± 0.41 ^{ab}	6.39 ± 0.34 ^c
Σ PUFA	44.14 ± 0.78 ^a	39.15 ± 0.89 ^b	38.56 ± 1.22 ^b
Σ n-3PUFA	20.11 ± 1.23	17.93 ± 1.53	16.62 ± 0.86
Σ n-6PUFA	25.57 ± 1.08 ^a	22.96 ± 1.08 ^{ab}	21.93 ± 0.46 ^b
Σ HUFA	30.84 ± 1.24 ^a	27.21 ± 0.78 ^b	25.29 ± 1.18 ^b
n-3/n-6	0.78 ± 0.02	0.77 ± 0.03	0.76 ± 0.03

注: Σ SFA. 总饱和脂肪酸; Σ MUFA. 总单不饱和脂肪酸; Σ PUFA. 总多不饱和脂肪酸; Σ HUFA. 总高度不饱和脂肪酸

Note: Σ SFA. total saturated fatty acid; Σ MUFA. total monounsaturated fatty acid; Σ PUFA. total polyunsaturated fatty acids; Σ HUFA. total highly unsaturated fatty acids

表 3 河蟹成体雄蟹生殖系统中的氨基酸组成 (mg/g 湿重)
 Tab.3 Amino acid composition of reproductive system of the mature male *E. sinensis* (mg/g wet weight)

氨基酸 Amino acids	精巢 Testis	输精管 Vas deferens	副性腺 Accessory gland
异亮氨酸 Ile	3.78 ± 0.15 ^c	5.57 ± 0.11 ^b	7.21 ± 0.04 ^a
亮氨酸 Leu	6.53 ± 0.38 ^c	8.72 ± 0.14 ^b	10.60 ± 0.07 ^a
赖氨酸 Lys	6.80 ± 0.23 ^b	8.05 ± 0.12 ^a	6.99 ± 0.01 ^b
蛋氨酸 Met	1.95 ± 0.00	1.96 ± 0.005	2.00 ± 0.01
半胱氨酸 Cys	1.42 ± 0.01 ^c	2.32 ± 0.09 ^b	3.66 ± 0.08 ^a
苯丙氨酸 Phe	3.49 ± 0.18 ^c	4.42 ± 0.07 ^b	6.05 ± 0.03 ^a
酪氨酸 Tyr	3.29 ± 0.12 ^c	3.94 ± 0.05 ^b	5.40 ± 0.03 ^a
苏氨酸 Thr	7.47 ± 0.10 ^c	12.94 ± 0.31 ^b	14.93 ± 0.17 ^a
缬氨酸 Val	5.92 ± 0.21 ^c	8.33 ± 0.22 ^a	7.35 ± 0.01 ^b
色氨酸 Trp	1.29 ± 0.02 ^b	1.63 ± 0.00 ^a	1.68 ± 0.06 ^a
天冬氨酸 Asp	10.03 ± 0.14 ^c	16.61 ± 0.44 ^b	19.83 ± 0.03 ^a
丝氨酸 Ser	4.63 ± 0.15 ^c	7.03 ± 0.19 ^b	7.65 ± 0.10 ^a
谷氨酸 Glu	14.30 ± 0.40 ^b	20.61 ± 0.49 ^a	21.44 ± 0.06 ^a
甘氨酸 Gly	4.71 ± 0.21 ^c	5.42 ± 0.07 ^b	6.11 ± 0.04 ^a
丙氨酸 Ala	5.61 ± 0.32 ^c	8.84 ± 0.20 ^b	10.61 ± 0.05 ^a
组氨酸 His	3.23 ± 0.02 ^c	4.49 ± 0.06 ^a	4.08 ± 0.03 ^b
精氨酸 Arg	6.53 ± 0.27	6.95 ± 0.09	6.58 ± 0.01
脯氨酸 Pro	8.23 ± 0.02 ^c	16.93 ± 0.45 ^b	23.12 ± 0.22 ^a
总氨基酸 TAA	99.20 ± 2.87 ^c	144.78 ± 2.87 ^b	165.25 ± 0.94 ^a

3 讨论

3.1 河蟹成熟雄体生殖系统的构成

成熟雄蟹的生殖系统构成相对复杂,主要由精巢、输精管和副性腺 3 部分组成,通常所说的河蟹雄体生殖系统指数是指这 3 个组成部分的总质量占体质量的百分比^[5, 22]。本研究中,11 月下旬成熟雄体的副性腺指数 (AGI = 1.81%) 显著高于精巢指数 (TI = 0.36%) 和输精管指数 (VDI = 0.45%)。河蟹雄体的生殖系统发育具有明显的季节性变化,通常在生殖蜕壳前 (6—8 月),池塘养殖雄蟹精巢和输精管的发育速度较快同时伴随着精子的发生,但副性腺较小,8 月底副性腺增长已经非常明显,AGI 约为 0.5% 左右,副性腺体积的显著增加主要发生在生殖蜕壳后 (9—11 月)^[3];副性腺体积的显著增加可能是为了满足大量精荚的存储和此阶段的生理功能,如副性腺蛋白参与了精荚破壁、精子获能和顶体反应等^[23];因此在 11 月下旬成熟河蟹雄体的副性腺指数显著高于精巢指数和输精管指数。

3.2 河蟹成熟雄体生殖系统中常规生化成分

常规生化成分组成及其含量可在一定程度上反映甲壳动物性腺发育程度和营养物质的储备情况^[24]。在本研究中,成熟雄蟹精巢中的总脂含量显著高于输精管和副性腺,其原因可能是由于 11 月下旬河蟹精巢中的脂类随配子的不断形成而大量积累有关^[25, 27]。此外甲壳动物的精子发生和形成过程都是在精巢内产生和进行的,大量研究证实,脂类物质是甲壳动物生殖过程中的主要能量物质,同时也是能量贮存的主要形式^[10],精巢可能需要大量的脂类以保证其正常的生理功能。此外,脂类 (如胆固醇) 也是甲壳动物性激素的生物合成前体物质,而性腺快速发育期是性激素形成的高峰期^[26],因此在精巢中积累大量的总脂可能也是为了保证性腺发育和生殖行为的顺利完成^[27]。就生殖系统粗蛋白含量而言,副性腺和输精管中粗蛋白含量最高,精巢中含量最低,这与王群等^[9]对河蟹生殖系统生化组成的研究结果相似。副性腺是雄蟹生殖系统中不可分割的重要部分,成熟河蟹的副性腺非常发达。有研究表明,雄蟹的副性腺分泌蛋白对精荚具有溶解作用,在河蟹受精过程中精荚经过副性腺时与精液和副性腺分泌蛋白一起由射精管注入到

雌蟹的纳精囊内,精荚经过副性腺蛋白的作用很快破裂释放出精子,同时雌蟹的卵巢收到刺激产生卵子与释放出的精子结合完成受精^[23, 28]。此外副性腺蛋白对精子活力、精子获能和受精能力均具有显著影响^[29-30],这暗示了成熟雄蟹副性腺中储备高含量的蛋白可能是为了适应其生理功能。此外,在输精管中含有大量精浆和精荚,而精荚壁的主要成分是黏多糖蛋白,说明输精管中较高的蛋白含量可能是为了确保精荚结构的完整性和正常的生理功能。本研究中,总碳水化合物含量以精巢最高,输精管次之,副性腺最低。先前的研究表明碳水化合物作为甲壳动物精子代谢的主要能量物质之一^[31-32],精巢在快速发育阶段总碳水化合物含量明显升高,说明该时期对糖类物质的需求较高,这也进一步证实了糖类物质对雄性生殖系统发育的重要性。

3.3 河蟹成熟雄体生殖系统中的脂肪酸和氨基酸组成

生殖系统中的脂肪酸组成可作为甲壳动物生殖性能优劣的评价指标之一^[33-34]。本研究结果显示,C18:1n7 和 Σ MUFA 均以副性腺最高,精巢最低,其余 MUFA 均无显著差异,而 C20:3n3、C20:4n6 (ARA)、C22:6n3 (DHA)、 Σ PUFA、 Σ n-3PUFA、 Σ n-6PUFA 和 Σ HUFA 则以精巢最高,副性腺最低。精巢中高含量的 ARA、EPA 等 HUFA 可能是用于转化增加前列腺素水平来促进精子的生成和维持精子活力^[35-36]。此外,有研究发现甲壳动物精巢中 HUFA (主要是 C20:5n3 和 C22:5n3) 含量的显著增加可能与精子的流动性增强相关^[37-38]。性腺中的 ARA、EPA 和 DHA 3 种脂肪酸对成体雄蟹生殖性能具有重要的影响^[39],可能对精巢的生理作用更为突出。MUFA 在副性腺中含量最高,精巢中含量最低,这可能因为 MUFA 用于供能优先于 PUFA 消耗导致精巢中 MUFA 含量较低^[40-41],而副性腺中含量较高可能与 MUFA 在副性腺中的特定功能有关,其原因有待于进一步分析验证。

氨基酸是生物机体合成肽类激素、酶、性腺组织和配子等蛋白质的重要原料^[11],在水生动物的生殖性能方面起着重要作用^[42]。本研究中,除蛋氨酸 (Met) 和精氨酸 (Arg) 以外,副性腺中的大部分氨基酸含量及氨基酸总含量显著高于精巢和输精管,这与其粗蛋白含量较高的结果相一

致。这可能与副性腺的多种生理功能有关,先前的研究表明,副性腺蛋白在精荚破裂、精子获得和精子顶体反应等方面发挥着重要作用^[8,29],因此副性腺中储存较多的氨基酸可能为蛋白等分泌物的合成做储备。此外,在本研究中值得关注的是副性腺中脯氨酸含量明显高于其他氨基酸,有研究表明给凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)外源提供脯氨酸,可提高其免疫反应和抗氧化能力^[42],因此副性腺中高含量的脯氨酸储备可为其生理功能正常发挥提供有力保障。目前关于雄蟹副性腺中的氨基酸的研究相对较少,特定氨基酸对应雄蟹生殖系统中的生物功能还有待于进一步研究。

综上,11月下旬池塘养殖成熟河蟹雄体副性腺指数(1.81%)显著高于精巢指数(0.36%)和输精管指数(0.45%);精巢中主要积累脂肪、碳水化合物、PUFA和HUFA,而副性腺中粗蛋白和大部分氨基酸含量较高。

参考文献:

- [1] 农业部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴 2016 [R]. 北京: 中国农业出版社, 2016.
The People's Republic of China Ministry of Agriculture, Fisheries Bureau. China fishery statistical yearbook 2016 [R]. Beijing: China Agriculture Press, 2016.
- [2] 吴萍, 楼允东, 邱高峰. 中华绒螯蟹性腺发育的形态学、组织学和组织化学变化[J]. 上海水产大学学报, 2003, 12(2): 106-112.
WU P, LOU Y D, QIU G F. Morphological, histological and histochemical variation of sexual gland development in *Eriocheir sinensis* [J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2003, 12(2): 106-112.
- [3] 徐佳倩, 吴旭干, 张鹏超, 等. 池塘养殖中华绒螯蟹二龄雄体生长、性腺发育和第二性征的变化[J]. 动物学杂志, 2016, 51(3): 434-448.
XU J Q, WU X G, ZHANG P C, et al. Growth, gonadal development and secondary sexual characteristics of pond-reared male Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) during the second year culture [J]. Chinese Journal of Zoology, 2016, 51(3): 434-448.
- [4] 滕炜鸣, 成永旭, 吴旭干, 等. 莱茵种群和长江种群一代中华绒螯蟹性腺发育及相关生物学指数变化的比较[J]. 上海水产大学学报, 2008, 17(1): 65-71.
TENG W M, CHENG Y X, WU X G, et al. A comparative study on some biological index changes concerned with gonad development between two population of the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*): Rhine and Yangtze [J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2008, 17(1): 65-71.
- [5] HE J, WU X G, LI J Y, et al. Comparison of the culture performance and profitability of wild-caught and captive pond-reared Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) juveniles reared in grow-out ponds: Implications for seed selection and genetic selection programs [J]. Aquaculture, 2014, 434: 48-56.
- [6] 薛鲁征, 堵南山, 赖伟. 中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 雌性生殖系统的组织学研究[J]. 华东师范大学学报(自然科学版), 1987, (3): 88-97.
XUE L Z, DU N S, LAI W. Histology of female reproductive system in Chinese mitten-handed crab, *Eriocheir sinensis* [J]. Journal of East China Normal University (Natural Science Edition), 1987, (3): 88-97.
- [7] 堵南山, 薛鲁征, 赖伟. 中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 雄性生殖系统的组织学研究[J]. 动物学报, 1988, 34(4): 329-333, 389-390.
DU N S, XUE L Z, LAI W. Histology of the male reproductive system in *Eriocheir sinensis* (Decapoda, Crustacea) [J]. Acta Zoologica Sinica, 1988, 34(4): 329-333, 389-390.
- [8] HOU X L, MAO Q, HE L, et al. Accessory sex gland proteins affect spermatophore digestion rate and spermatozoa acrosin activity in *Eriocheir sinensis* [J]. Journal of Crustacean Biology, 2010, 30(3): 435-440.
- [9] 王群, 赵云龙, 陈立侨. 中华绒螯蟹雄性生殖系统生化组成及精子代谢[J]. 水产学报, 2002, 26(5): 411-416.
WANG Q, ZHAO Y L, CHEN L Q. Biochemical composition and sperm metabolism in the reproductive system of the male *Eriocheir sinensis* [J]. Journal of Fisheries of China, 2002, 26(5): 411-416.
- [10] HARRISON K E. The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod crustaceans: A review [J]. Journal of Shellfish Research, 1990, 9: 1-28.
- [11] WOUTERS R, LAVENS P, NIETO J, et al. Penaeid shrimp broodstock nutrition: an updated review on research and development [J]. Aquaculture, 2001, 202(1/2): 1-21.
- [12] SUI L Y, WU X G, WILLE M, et al. Effect of dietary soybean lecithin on reproductive performance of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards) broodstock [J]. Aquaculture International, 2009, 17(1): 45-56.
- [13] 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.
- [14] 吴旭干, 龙晓文, 刘乃更, 等. 中华绒螯蟹、日本绒螯蟹及其杂交种性腺发育和生化组成的比较[J]. 淡水渔业, 2015, 45(3): 3-8.
WU X G, LONG X W, LIU N G, et al. Comparative study on gonadal development and biochemical composition among *Eriocheir sinensis*, *E. japonica* and their hybrids [J].

- Freshwater Fisheries, 2015, 45(3): 3-8.
- [15] 何杰, 吴旭干, 龙晓文, 等. 长江水系中华绒螯蟹野生和养殖群体选育子一代养殖性能和性腺发育的比较[J]. 海洋与湖沼, 2015, 46(4): 808-818.
HE J, WU X G, LONG X W, et al. Culture performance and gonadal development of the first generation of selectively-bred Chinese mitten crabs from wild and cultured populations[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2015, 46(4): 808-818.
- [16] 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 H L, WU X G, JIANG X D, 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.
- [17] AOAC. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists[M]. 16th ed. Arlington, VA: Association of Analytical Communities International, 1995.
- [18] FOLCH J, LEES M, SLOANE STANLEY G H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues [J]. The Journal of Biological Chemistry, 1957, 226(1): 497-509.
- [19] KOCHERT A G. Carbohydrate determination by the phenol-sulfuric acid method[M]//HELLEBUST J A, CRAIGIE J S. Handbook of Phycological Methods; Physiological and Biochemical Methods. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1978; 95-97.
- [20] CHEN D W, ZHANG M, SHRESTHA S. Compositional characteristics and nutritional quality of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Food Chemistry, 2007, 103(4): 1343-1349.
- [21] SPINDLER M, STADLER R, TANNER H. Amino acid analysis of feedstuffs; determination of methionine and cystine after oxidation with performic acid and hydrolysis[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1984, 32(6): 1366-1371.
- [22] 李思发, 王成辉, 赵乃刚. 湖泊放养长江水系中华绒螯蟹的性成熟规律研究[J]. 水生生物学报, 2001, 25(4): 350-357.
LI S F, WANG C H, ZHAO N G. Studies on gonad developmental rule of lake stocked mitten crab of Yangtze population[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2001, 25(4): 350-357.
- [23] 程立均. 中华绒螯蟹精子膜蛋白的提取分离及部分生化性质研究[D]. 保定: 河北大学, 2004.
CHENG L J. Extraction and characterization of the sperm membrane proteins in *Eriocheir sinensis*[D]. Baoding: Hebei University, 2004.
- [24] ROSA R, NUNES M. Biochemical changes during the reproductive cycle of the deep-sea decapod *Nephrops norvegicus* on the south coast of Portugal [J]. Marine Biology, 2002, 141(6): 1001-1009.
- [25] KULKARNI G K, NAGABHUSHANAM R. Mobilization of organic reserves during ovarian development in a marine penaeid prawn, *Parapenaeopsis hardwickii* (Miers) (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) [J]. Aquaculture, 1979, 18(4): 373-377.
- [26] LOWERY R S. Growth, moulting and reproduction[M]//HOLDICH D M, LOWERY R S. Freshwater Crayfish. Biology, Management and Exploitation. London, England: Croom Helm, 1988; 83-113.
- [27] 王群, 赵云龙, 马强, 等. 中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 雌性生殖系统发育过程中生化成分的季节变化[J]. 海洋与湖沼, 2004, 35(4): 351-357.
WANG Q, ZHAO Y L, MA Q, et al. Seasonal changes of biochemical components in reproductive system of male chinese mitten-handed crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2004, 35(4): 351-357.
- [28] ELZANATY S, RICHTHOFF J, MALM J, et al. The impact of epididymal and accessory sex gland function on sperm motility[J]. Human Reproduction, 2002, 17(11): 2904-2911.
- [29] YING Y, CHOW P H, O W S. Effects of male accessory sex glands on deoxyribonucleic acid synthesis in the first cell cycle of golden hamster embryos [J]. Biology of Reproduction, 1998, 58(3): 659-663.
- [30] JEYALECTUMIE C, SUBRAMONIAM T. Cryopreservation of spermatophores and seminal plasma of the edible crab *Scylla serrata*[J]. The Biological Bulletin, 1989, 177(2): 247-253.
- [31] JEYALECTUMIE C, SUBRAMONIAM T. Biochemistry of seminal secretions of the crab *Scylla serrata* with reference to sperm metabolism and storage in the female [J]. Molecular Reproduction and Development, 1991, 30(1): 44-55.
- [32] TAVILANI H, DOOSTI M, NOURMOHAMMADI I, et al. Lipid composition of spermatozoa in normozoospermic and asthenozoospermic males [J]. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 2007, 77(1): 45-50.
- [33] IZQUIERDO M S, FERNÁNDEZ-PALACIOS H, TACON A G J. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish [J]. Aquaculture, 2001, 197(1/4): 25-42.
- [34] CONQUER J A, MARTIN J B, TUMMON I, et al. Fatty acid analysis of blood serum, seminal plasma, and spermatozoa of normozoospermic vs. Asthenozoospermic males [J]. Lipids, 1999, 34(8): 793-799.
- [35] VAN DER KRAAK G, BIDDISCOMBE S. Polyunsaturated fatty acids modulate the properties of the sex steroid binding protein in goldfish [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 1999, 20(2): 115-123.
- [36] LIN D S, NEURINGER M, CONNOR W E. Selective changes of docosahexaenoic acid-containing phospholipid molecular species in monkey testis during puberty [J].

- Journal of Lipid Research, 2004, 45(3): 529-535.
- [37] EVANS R W, SETCHELL B P. Lipid changes during epididymal maturation in ram spermatozoa collected at different times of the year[J]. *Reproduction*, 1979, 57(1): 197-203.
- [38] WU X G, CHENG Y X, SUI L Y, et al. Effect of dietary supplementation of phospholipids and highly unsaturated fatty acids on reproductive performance and offspring quality of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards), female broodstock[J]. *Aquaculture*, 2007, 273(4): 602-613.
- [39] 谢小军, 邓利, 张波. 饥饿对鱼类生理生态学影响的研究进展[J]. *水生生物学报*, 1998, 22(2): 181-188.
- XIE X J, DENG L, ZHANG B. Advances and studies on ecophysiological effects of starvation on fish [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1998, 22(2): 181-188.
- [40] JEZIERSKA B, HAZEL J R, GERKING S D. Lipid mobilization during starvation in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, with attention to fatty acids [J]. *Journal of Fish Biology*, 1982, 21(6): 681-692.
- [41] WATANABE T, TAKEUCHI T, SAITO M, et al. Effect of low protein-high calory of essential fatty acid deficiency diet on reproduction of rainbow trout [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1984, 50(7): 1207-1215.
- [42] XIE S W, TIAN L X, LI Y M, et al. Effect of proline supplementation on anti-oxidative capacity, immune response and stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. *Aquaculture*, 2015, 448: 105-111.

Biochemical composition in the reproductive system of the mature male Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*

MA Nan¹, LONG Xiaowen¹, WU Xugan^{1,2,3}, CHENG Yongxu^{1,2,3}

(1. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Centre for Research on Environmental Ecology and Fish Nutrition of the Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. National Demonstration Centre for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The reproductive system of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* is complicated, and accessory gland, testis and vas deferens are three major constituents. However, no available information could be found on the biochemical composition of these three tissues for the mature male *E. sinensis*. Therefore, this study was conducted to investigate the proportion, proximate composition, fatty acid composition and amino acid contents in the reproductive system of mature male *E. sinensis*. The results showed that: (1) the accessory gland index (AGI) was significantly higher compared to the testis index (TI) and vas deferens index (VDI) ($P < 0.05$). (2) For the biochemical composition, the contents of moisture, total lipid and total carbohydrate in the testis were significantly higher than those of the other parts ($P < 0.05$), while the highest crude protein content was detected in the accessory gland ($P < 0.05$). (3) For fatty acids profile, no significant differences were found in the percentages of the most saturated fatty acid (SFA), total saturated fatty acid (Σ SFA) and monounsaturated fatty acid (MUFA) among three parts, while the testis had the highest levels of C20:3n3, C20:4n6, C22:6n3, total polyunsaturated fatty acids (Σ PUFA), Σ n-6PUFA and total highly unsaturated fatty acids (Σ HUFA) ($P < 0.05$). (4) For amino acids composition, the highest contents of the major amino acids were detected in accessory gland, while the contents of L-lysine (Lys), valine (Val) and Histidine (His) were shown as VD > AG > T ($P < 0.05$). In conclusion, the high contents of total lipid, total carbohydrate, PUFA and HUFA were stored in the testis of mature *E. sinensis*, while the accessory gland had the highest contents of crude protein and total amino acids. These differences may indicate their different physiological function for these tissues of mature *E. sinensis*.

Key words: *Eriocheir sinensis*; mature male; reproductive system; biochemical composition