

文章编号: 1674 - 5566(2014)05 - 0733 - 08

中华绒螯蟹在西藏高原条件下越冬期生化组分的变化

陈伟¹, 王春¹, 杨印璞¹, 龙晓文¹, 王伟¹, 成永旭^{1,2}

(1. 上海海洋大学 省部级水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 上海高校知识服务平台, 上海 201306)

摘要: 分析了在西藏高原条件下驯养的中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 越冬期间生化组分及脂肪酸组成和含量的变化。结果表明: (1) 越冬前后, 中华绒螯蟹肝胰腺指数显著降低, 由越冬前的 11.72% 降为越冬后的 9.96%; (2) 越冬后, 肝胰腺中水分及干物质组分中的总脂和蛋白质相对含量显著下降; 肌肉干物质中总脂和蛋白质相对含量也显著下降, 但水分相对含量显著增加。肝胰腺和肌肉中的总糖相对含量在越冬前后均没有显著性差异; (3) 脂类组分中, 肝胰腺和肌肉中的游离脂肪酸 (FA) 和磷脂 (PL) 相对含量在越冬后都极显著降低; 而肝胰腺中的甘油三酯 (TG) 相对含量显著升高, 肌肉中磷脂的相对含量显著上升; (4) 脂肪酸组分中, 肝胰腺主要的饱和脂肪酸 (SFA) C16:0、C16:1n7 和单不饱和脂肪酸 (MUFA) C18:1n9 和 C18:2n6 在越冬期间作为主要能源物质被动员, 消耗量均在 10% 以上; 肌肉中 SFA 和 MUFA 作为能源被动员的情况和肝胰腺中的情况类似, 但值得注意的是, 肌肉中多不饱和脂肪酸 (PUFA) 中的 C20:5n3 (EPA)、C22:6n3 (DHA) 虽然在越冬后相对含量有明显上升, 但由于肌肉中 EPA 和 DHA 的所占比例较高 (分别占肌肉总脂的 23.47% 和 12.38%), 结合肌肉中总脂的消耗情况来看, 在越冬期间 EPA 和 DHA 的绝对量是下降的, 表明仍有较多的 EPA 和 DHA 被消耗; (5) 越冬期间, 肌肉中的蛋白质和肝胰腺中的脂类均被大量消耗, 表明养殖的中华绒螯蟹已受到低温和饥饿的双重胁迫。如果要提高西藏高原地区养殖中华绒螯蟹越冬后的成活率, 建议在越冬前做好其相关脂类和蛋白质的营养强化。

研究亮点: 中华绒螯蟹是我国重要的淡水养殖经济蟹类, 在其生长过程中对环境有较强的耐受能力。本次首次尝试在西藏海拔 4 000 m 处进行河蟹的养殖试验, 研究并分析了其越冬前后机体重要组织或器官生化组分的变化。阐明了河蟹在较长的越冬过程中营养物质的利用情况, 也是对河蟹养殖技术的补充。

关键词: 中华绒螯蟹; 西藏高原; 越冬; 生化组分; 脂肪酸

中图分类号: S 966.16
文献标志码: A

中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 俗称河蟹, 是我国特有的淡水经济甲壳动物, 自然分布在与海洋相通的淡水、河口及沿海水域^[1]。自然条件下河蟹具有秋季降河洄游的习性, 以满足繁殖的需要, 同时也可以躲避内陆冬季低温及饵料短缺的不良因素。河蟹在水温低于 7.0 °C 时即停止发育^[2], 水温低于 5.0 °C 进入冬眠状态, 停止活动和摄食^[3]。越冬期间或越冬后, 养殖的河蟹经常发生大量的死亡, 其营养物质蓄积不足被认为是

重要原因^[4]。

自 20 世纪 80 年代中始, 河蟹作为名贵水产品, 其养殖产业逐步兴起并迅速发展。至 2013 年底, 我国的河蟹养殖已被推广到所有内陆及沿海各省、自治区, 甚至越海到了台湾省苗栗县^[5]。2012 年春季, 河蟹被引进到西藏自治区亚东地区养殖, 以促进当地经济的发展。由于当地独特的地理和气候条件, 适合河蟹生长的水温只能维持 120 d 左右, 幼蟹在当年不能完成所有的生长蜕

收稿日期: 2014-03-08 修回日期: 2014-05-13

基金项目: 国家高技术研究发展计划(2012AA100809); 上海市科学技术委员会科技合作专项(13340721500); 国家农业科技成果转化项目(2012GB2C000147)

作者简介: 陈伟(1989—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中华绒螯蟹生态养殖。E-mail: rc0122@163.com

通信作者: 成永旭, E-mail: yxcheng@shou.edu.cn

壳而达到商品规格。在长达 500 d 的养成周期内,幼蟹需经历 240 d 左右的严寒、低温和饥饿。虽然分布在温带和寒带的甲壳动物对短期的饥饿或低温胁迫具有相关的适应策略^[6],但从理论上讲,非自然分布在西藏亚东地区的养殖河蟹应该不具有抵御如此之久的低温和饥饿的生理机制。事实上,总是有部分幼蟹安全越冬,并在水温回升到 12 ℃ 后,机体复苏而逐步正常摄食,蜕壳及生长,表明河蟹对严寒条件具有了一定的适应性。

为了探索河蟹在西藏高原地区冬季极端条件下的能量利用机制,丰富河蟹养殖生态学资料,研究并分析了其越冬前后机体重要组织或器官生化组分的变化。同时,以此为线索,期望为提高西藏高原及其他严寒地区河蟹养殖成活率制定科学的越冬计划并且储备相关的养殖技术。

1 材料与方 法

1.1 实验用蟹及样品采集

实验用蟹采自我国西藏自治区亚东县帕里镇附近的中华绒螯蟹养殖试验塘(89°24'36"E,27°36'56"N)。试验塘所在地海拔 4 000 m。9 月底时最低水温 7 ℃ 以下(全天最高温为 13 ℃,最低温为 5 ℃),次年 5 月底水温上升到 7 ℃ 以上。每年 10 月至翌年 4 月为池塘结冰期。越冬期(水温 0 ~ 12 ℃),池塘水位维持在 1.2 m 左右,水体上层 50 ~ 70 cm 被冰覆盖,冰层以下为 3.0 ℃ 左右的水层。采样时间分别为 2012 年 9 月 25 - 30 日和 2013 年 6 月 1 - 5 日。

实验用蟹尚处于幼蟹阶段,因此样品处理未考虑性别因素。越冬前后尽量选取体质量接近的蟹各 20 只准确称量(精确到 0.1 g),实验用蟹越冬前体质量为(23.7 ± 3.3) g,越冬后体质量为(24.5 ± 5.2) g。称量后立即活体解剖,取出全部肝胰腺称量,同时计算肝胰腺指数(HSI):肝胰腺质量与体质量之比。

紧接着肌肉(包括大螯、附肢和躯体肌肉)取样,与肝胰腺一起存于 -40℃ 冰箱中保存用以生化组分测定及分析,每只蟹单独进行常规生化组分分析和脂肪酸测定。

1.2 生化分析

按照 AOAC 标准方法^[7]测定水分和蛋白质含量;采用苯酚-硫酸法^[8]测定总糖含量;按 Folch

法^[9]用 V(氯仿):V(甲醇) = 2:1 提取组织中脂肪,测定总脂含量;参照吴旭干等^[10]的方法进行脂类组成和脂肪酸分析。用 IAROSCAN™ MK-6s 棒状薄层色谱扫描仪(IATRON LABORATORIES INC., Tokyo, Japan)进行脂类组成分析,脂类标准品购自 Sigma 公司。采用三氟化硼法对总脂进行甲酯化处理,用 Agilent-6890 气相色谱仪进行脂肪酸分析,毛细管柱型号为 Omegawax320(30.0 m × 0.32 mm ID × 0.25 μm, USA)。脂类和脂肪酸含量计算均采用面积百分比法,每组样品测定重复 3 次。

1.3 数据处理

用 SPSS 17.0 软件对实验数据进行统计分析,实验结果用“平均值 ± 标准误”(M ± SE)表示。采用独立样本 T 检验(independent samples t-test),用 Levene 法进行方差齐性检验,当不满足齐性方差时,对脂肪酸百分比数据进行反正弦转换,P < 0.05 表示差异显著性,P < 0.01 表示差异极显著。

2 结果

2.1 中华绒螯蟹高原越冬前后肝胰腺指数和常规生化组分的变化

如图 1 所示,中华绒螯蟹在高原越冬前后肝胰腺指数存在明显的变化,越冬后肝胰腺指数显著降低,由 11.72% 降为 9.96%,比越冬前下降了 15.02%。

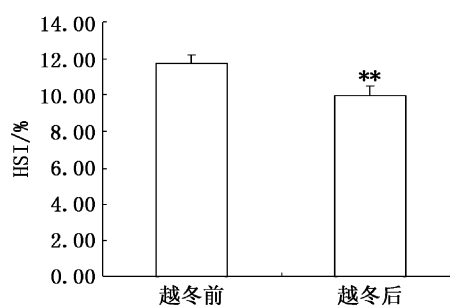


图 1 中华绒螯蟹越冬前后肝胰腺指数的变化
Fig. 1 Variations in HSI of *Eriocheir sinensis* during its overwintering

** 表示差异极显著(P < 0.01)。

如表 1 所示,中华绒螯蟹在高原越冬前后常规生化组分也存在明显的变化,即越冬后肝胰腺中的水分以及干物质组分中总脂和蛋白质的相

对含量均显著下降。而肌肉中水分的相对含量显著上升,总脂和蛋白质的相对含量则显著下降。越冬前后,总糖相对含量在肝胰腺和肌肉中均没有显著性差异。

表 1 中华绒螯蟹越冬前后常规生化组分的变化
Tab.1 Variations in proximate composition of hepatopancreas and muscle of *Eriocheir sinensis* during its overwintering

	肝胰腺		肌肉		%
	越冬前	越冬后	越冬前	越冬后	
水分(湿重)	43.33 ± 0.64	39.78 ± 1.24 **	76.77 ± 0.36	80.42 ± 0.83 **	
总脂(湿重)	40.51 ± 0.60	41.10 ± 0.72	1.49 ± 0.05	1.35 ± 0.03 **	
蛋白质(湿重)	8.85 ± 0.24	8.03 ± 0.22	17.55 ± 0.25	16.77 ± 0.65 **	
总糖(湿重)	0.54 ± 0.01	0.58 ± 0.03	0.68 ± 0.03	0.74 ± 0.02	
总脂(干重)	71.49 ± 0.70	68.25 ± 1.02 *	6.40 ± 0.11	6.47 ± 0.12	
蛋白质(干重)	15.62 ± 0.51	13.34 ± 0.57 **	75.54 ± 0.70	72.20 ± 0.94 *	
总糖(干重)	0.95 ± 0.04	0.97 ± 0.05	2.91 ± 0.16	3.19 ± 0.26	

注:表中数值以 $M \pm SE$ 表示;同一行数值 * 表示差异显著($P < 0.05$), ** 表示差异极显著($P < 0.01$),表 2-4 同此。

如表 2 所示,越冬后,肝胰腺与肌肉中的游离脂肪酸(FFA)相对含量均显著下降。肝胰腺中甘油三酯(TG)的相对含量显著上升,胆固醇(Cho)、甘油一酯(MG)、磷脂(PL)的相对含量则

显著下降。肌肉中 TG 的相对含量显著下降,PL 的相对含量则显著增加,Cho 的相对含量却未呈现显著差异。甘油二酯(DG)在肝胰腺和肌肉中均未检出, MG 在肌肉中未检出。

表 2 中华绒螯蟹越冬前后脂类成分的变化
Tab.2 Variations in lipid composition of hepatopancreas and muscle of *Eriocheir sinensis* during its overwintering

脂类	肝胰腺		肌肉		%
	越冬前	越冬后	越冬前	越冬后	
甘油三酯	88.26 ± 0.75	95.58 ± 0.45 **	0.99 ± 0.14	0.60 ± 0.06 *	
游离脂肪酸	2.83 ± 0.32	0.74 ± 0.19 **	5.73 ± 0.54	0.63 ± 0.04 **	
甘油二酯	-	-	-	-	
胆固醇	1.06 ± 0.09	0.45 ± 0.10 **	4.22 ± 0.13	3.95 ± 0.17	
甘油一酯	0.55 ± 0.09	0.09 ± 0.02 **	-	-	
磷脂	7.30 ± 0.59	3.14 ± 0.27 **	88.24 ± 0.99	95.17 ± 0.52 **	

注:“-”表示未检出。

2.2 中华绒螯蟹高原越冬前后肝胰腺和肌肉脂肪酸组分的变化

如表 3 所示,肝胰腺中脂肪酸组成越冬前后呈现一定的变化。饱和脂肪酸(SFA)中相对含量较高的有 C14:0、C16:0、C18:0,较低的有 C15:0、C17:0、C20:0。其中 C14:0、C17:0 和 C20:0 相对含量在越冬后显著下降,而 C16:0 的相对含量在越冬前后没有显著性差异,C18:0 的相对含量越冬后显著上升。越冬前后,SFA 总相对量没有显著差异。

单不饱和脂肪酸(MUFA)中相对含量较高的有 C16:1n7、C18:1n9、C18:1n7,在越冬前后均没有显著差异。C18:1n9 在总脂中相对含量最高。

其余的 MUFA 中,C16:1n5、C17:1n7、C20:1n9 的相对含量越冬后显著上升,C20:1n7、C22:1n9 的相对含量显著下降。MUFA 的总相对量在越冬前后没有显著差异。

多不饱和脂肪酸(PUFA)中,C18:2n6(LOA)、C18:3n3(LNA)、C20:4n6(ARA)、C20:5n3(EPA)、C22:6n3(DHA)的相对含量较高。其中 LOA、LNA 的相对含量越冬后显著下降,ARA、EPA 的相对含量则显著升高。DHA 的相对含量越冬前后没有显著性差异。含量较少的其他 PUFA 中,C18:4n3 的相对含量越冬后显著下降,其余的则显著上升。越冬前后,PUFA 总相对量没有显著差异。

表3 中华绒螯蟹越冬前后肝胰腺脂肪酸组成的变化
Tab.3 Variations in fatty acids of hepatopancreas of *Eriocheir sinensis* during its overwintering %

脂肪酸	越冬前	越冬后
C14:0	2.01 ± 0.03	1.60 ± 0.02 **
C15:0	0.32 ± 0.01	0.34 ± 0.01
C16:0	15.31 ± 0.22	15.21 ± 0.36
C17:0	0.82 ± 0.035	0.72 ± 0.02 *
C18:0	3.08 ± 0.07	3.22 ± 0.11
C20:0	0.20 ± 0.00	0.17 ± 0.01 **
ΣSFA	21.74 ± 0.28	21.28 ± 0.45
C14:1n7	0.25 ± 0.01	0.23 ± 0.01
C16:1n7	13.69 ± 0.31	13.26 ± 0.46
C16:1n5	0.40 ± 0.01	0.45 ± 0.01 **
C17:1n7	0.55 ± 0.02	0.81 ± 0.03 **
C18:1n9	20.40 ± 0.25	19.67 ± 0.27
C18:1n7	5.38 ± 0.18	5.61 ± 0.11
C20:1n9	0.70 ± 0.02	0.80 ± 0.03 *
C20:1n7	0.82 ± 0.03	0.71 ± 0.03 *
C22:1n9	0.20 ± 0.01	0.15 ± 0.01 **
ΣMUFA	42.43 ± 0.43	41.82 ± 0.41
C16:2n4	0.59 ± 0.03	0.44 ± 0.02 **
C18:2n6	11.84 ± 0.35	8.30 ± 0.24 **
C18:3n3	3.63 ± 0.13	3.08 ± 0.12 **
C18:4n3	0.73 ± 0.02	0.59 ± 0.02 **
C20:2n6	0.82 ± 0.03	1.05 ± 0.07 *
C20:3n6	0.26 ± 0.01	0.33 ± 0.01 **
C20:4n6	1.61 ± 0.53	2.52 ± 0.74 **
C20:3n3	0.29 ± 0.01	0.33 ± 0.01 **
C20:4n3	0.28 ± 0.01	0.33 ± 0.02 *
C20:5n3	6.91 ± 0.28	8.44 ± 0.20 **
C22:5n3	0.65 ± 0.03	0.91 ± 0.05 **
C22:6n3	2.14 ± 0.14	2.09 ± 0.15
ΣPUFA	28.96 ± 0.67	29.24 ± 0.65
ΣHUFA	12.13 ± 0.42	15.50 ± 0.30 **
ΣUFA	71.97 ± 0.38	71.50 ± 0.44
SFA/UFA	0.30 ± 0.01	0.30 ± 0.01
Σn-3PUFA	14.64 ± 0.42	16.27 ± 0.21 **
Σn-6PUFA	14.32 ± 0.41	12.66 ± 0.44
n-6/n-3	0.99 ± 0.04	0.80 ± 0.03 **
DHA/EPA	0.31 ± 0.02	0.30 ± 0.04
SUM	93.72 ± 0.25	92.79 ± 0.15 **

注: ΣSFA 为饱和脂肪酸含量总和; ΣMUFA 为单不饱和脂肪酸含量总和; ΣPUFA 为多不饱和脂肪酸含量的总和; ΣHUFA 为高不饱和脂肪酸含量的总和; ΣUFA 为不饱和脂肪酸含量的总和; 表4 同此。

越冬后, 高不饱和脂肪酸 (HUFA)、n-3PUFA 相对含量显著增加; n-6PUFA 总量没有显著差异; n-6/n-3PUFA 值显著下降; ARA/EPA 值显著升高。DHA/EPA 值、SFA/UFA 值在越冬前后没有显著差异。

如表4 所示, 中华绒螯蟹越冬前后肌肉中各

脂肪酸的相对含量也发生一定程度的变化。在SFA 中, C16:0、C18:0 的相对含量较高, 而 C14:0、C15:0、C17:0 和 C20:0 的相对含量则较低。其中, 越冬后, C18:0、C15:0、C20:0 的相对含量显著上升, 而 C17:0 的相对含量下降显著。SFA 总相对量显著上升。

表4 中华绒螯蟹越冬前后肌肉脂肪酸组成的变化
Tab.4 Variations in fatty acids of muscle of *Eriocheir sinensis* during its overwintering %

脂肪酸	越冬前	越冬后
C14:0	0.39 ± 0.03	0.37 ± 0.04
C15:0	0.08 ± 0.01	0.12 ± 0.01 *
C16:0	9.30 ± 0.28	10.06 ± 0.55
C17:0	0.53 ± 0.01	0.33 ± 0.02 **
C18:0	6.25 ± 0.02	6.78 ± 0.06 **
C20:0	0.47 ± 0.01	0.60 ± 0.01 **
ΣSFA	16.43 ± 0.43	18.13 ± 0.59 *
C14:1n7	0.04 ± 0.00	0.17 ± 0.03 **
C16:1n7	3.72 ± 0.11	3.00 ± 0.17 **
C16:1n5	0.23 ± 0.02	0.32 ± 0.03 *
C17:1n7	0.40 ± 0.08	0.69 ± 0.06 *
C18:1n9	12.93 ± 0.23	12.79 ± 0.22
C18:1n7	5.81 ± 0.07	6.13 ± 0.08 **
C20:1n9	0.21 ± 0.01	0.16 ± 0.01 **
C20:1n7	0.83 ± 0.01	0.71 ± 0.04 *
C22:1n9	0.45 ± 0.02	0.57 ± 0.04 *
ΣMUFA	24.35 ± 0.45	24.46 ± 0.58
C16:2n4	0.20 ± 0.03	0.37 ± 0.03 **
C18:2n6	7.12 ± 0.09	4.83 ± 0.11 **
C18:3n3	1.65 ± 0.06	0.98 ± 0.03 **
C18:4n3	0.13 ± 0.01	0.09 ± 0.01 *
C20:2n6	0.30 ± 0.01	0.32 ± 0.02
C20:3n6	1.30 ± 0.04	1.31 ± 0.06
C20:4n6	3.27 ± 0.09	3.94 ± 0.12 **
C20:3n3	0.35 ± 0.02	0.31 ± 0.02
C20:4n3	0.19 ± 0.00	0.12 ± 0.00 **
C20:5n3	23.47 ± 0.42	24.69 ± 0.45
C22:5n3	1.41 ± 0.05	2.10 ± 0.12 **
C22:6n3	12.38 ± 0.28	12.37 ± 0.66
ΣPUFA	52.10 ± 0.89	52.25 ± 0.96
ΣHUFA	42.86 ± 0.97	46.15 ± 0.96 *
ΣUFA	76.64 ± 0.56	76.12 ± 0.64
SFA/UFA	0.21 ± 0.01	0.24 ± 0.01 *
Σn-3PUFA	40.01 ± 0.80	40.07 ± 1.42
Σn-6PUFA	12.00 ± 0.13	10.13 ± 0.15 **
n-6/n-3	0.30 ± 0.00	0.26 ± 0.01 **
DHA/EPA	0.56 ± 0.01	0.55 ± 0.02
SUM	93.07 ± 0.42	93.64 ± 0.13

MUFA 中, C16: 1n7、C18: 1n9、C18: 1n7 相对含量较高。C18: 1n9 不再是总脂肪酸中含量最多的组分。越冬后, C16: 1n7、C18: 1n7 的相对含量显著上升, 而 C18: 1n9 的相对含量没有显著变化。含量较少的 MUFA 中, C20: 1n9、C20: 1n7 的相对含量越冬后显著下降, 其余 MUFA 的相对含量则显著上升。MUFA 总相对量在越冬前后没有显著差异。

PUFA 中, 相对含量较高的脂肪酸除 LOA、LNA、ARA、EPA、DHA 外, 还有 C20: 3n6、C22: 5n3。越冬后, LOA、LNA 的相对含量显著下降, 而 ARA、EPA 显著升高, 其他组分则没有显著差异。PUFA 的总相对量越冬前后没有显著差异, 但 HUFA 的相对含量越冬后显著上升。

与肝胰腺不同的是, n-3PUFA 的相对含量越冬前后没有显著差异, 而 n-6PUFA 的相对含量在越冬后显著下降。DHA/EPA 值越冬前后没有显著差异。越冬后, SFA/UFA 值显著升高, n-6/n-3PUFA 值显著降低。

3 讨论

3.1 西藏高原条件下越冬前后河蟹常规生化组分的适应性变化

河蟹在水温 5.0 °C 以下时, 停止摄食, 进入越冬状态。越冬期间代谢活动的能量消耗完全依赖于身体内部的营养贮存^[11]。肝胰腺是河蟹储存营养的重要器官和代谢中心^[12-13], 越冬前后, 其生化组分相对含量的变化可以反映能量消耗的方式。检测数据表明, 在西藏亚东地区高原养殖的河蟹肝胰腺指数高达 11.72%, 明显比平原地区正常养殖河蟹的肝胰腺指数(6.56%左右)高^[14-15], 甚至明显比经过人工营养强化后河蟹的肝胰腺指数(雄蟹 9.59%、雌蟹 10.8%)高^[16]。可见在越冬前, 河蟹已经存在能量物质的选择性储存。虽然河蟹在西藏高原亚东地区越冬前后肝胰腺中的总糖相对含量变化不明显, 但越冬后肝胰腺指数显著下降, 而且肝胰腺中的水分、总脂和蛋白质相对含量均显著降低。受限于取样和实验条件, 整个越冬期间河蟹组织或器官中的总糖、脂类和蛋白质作为能源物质被动员的先后次序或者动态过程没有研究, 但从肌肉、肝胰腺占整个蟹体质量的比例来看, 经过 240 d 左右的低温和饥饿胁迫, 肝胰腺中总糖、脂类和蛋

白质均参与了越冬期间能量代谢而消耗, 其中蛋白质消耗的绝对数量远远大于脂类和总糖。这与受到短期饥饿胁迫而只动员糖原或脂类或蛋白质参与能量代谢形成了明显的对照^[17-19]。一般情况下, 甲壳动物只有在受到长期的饥饿胁迫后, 才有可能动员两种或两种以上的能源物质^[6]。由此可见, 养殖的河蟹在高原条件下越冬已遭受严重的饥饿胁迫。

如表 1 所示, 河蟹越冬前后肝胰腺和肌肉中水分的变化出现了相反的趋势, 即越冬后肝胰腺中的水分相对含量下降, 而肌肉中的水分含量则上升。这种变化可能与两种组织中生化组分的差异有关, 肝胰腺的主要组分是脂类, 绝大多数以甘油三酯的形式存在, 由于其亲水性差, 因此, 肝胰腺中除了保留一部分水供其水解过程外, 多余的水分被转移到血淋巴等组织中^[20]; 而肌肉是以蛋白质为主, 长期饥饿后肌肉中增加一定的含水量有助于维持体质量及肌肉的功能^[21], 同时增加的水分有利于稀释或转运蛋白质代谢的产物, 如胺类和 NH₃, 维持体内环境的酸碱平衡, 降低 NH₃ 对机体组织的危害^[20]。

甲壳动物体内的总糖主要是动物糖原, 分布在肝胰腺、血淋巴和肌肉组织中, 由于其代谢途径短, 有氧或缺氧条件下可被迅速氧化释放能量, 参与细胞的多种活动, 使组织或器官发挥功能。动物在短暂的应激条件下, 肌糖原首先被迅速动用以响应外界条件的剧烈变化^[22]。动物为了度过严苛的环境条件(如极端寒冷、长时间饥饿), 常常采用行为和生理的调整策略, 如降低代谢强度, 重建从氧化磷酸化到有氧糖酵解(aerobic glycolysis)的代谢途径, 来应对恶劣的环境胁迫。因此在组织中维持一定糖原水平, 是实现有氧糖酵解反应的重要基础^[23]。在西藏高原越冬期间, 养殖中华绒螯蟹似乎也采取了类似的策略, 其肝胰腺和肌肉中始终保持一定的总糖水平。作者推测, 越冬期间中华绒螯蟹始终处于一种“应激”状态, 使机体维持机能发挥的最低水平, 不至于冻僵, 一旦外界条件好转(如水温上升), 即可迅速促成糖原动用, 使肌肉恢复正常的伸缩等活动, 重新觅食, 补充身体在越冬期间的消耗。

脂类是甲壳动物肝胰腺中储存的主要营养物质, 也成为越冬过程中营养消耗的重要来

源^[24]。三酰甘油是动物机体内脂类存在的主要形式^[25]。对甲壳动物越冬策略的研究表明,体内三酰甘油含量的增加有助于动物适应低温环境^[26]。高含量的三酰甘油以脂滴的形式存在,越冬过程中脂滴的抗寒机制可能类似于昆虫的脂类体细胞中脂滴的结合作用(lipid loalescence)^[27]。尤其是需要动用三酰甘油供能时,其水解释放的甘油是很好的抗冻剂^[28]。

磷脂作为极性脂类,既有亲水性,又具疏水性,不仅是生物膜结构的主要组分,而且是一种很好的乳化剂^[29]。正常情况下,磷脂一般不作为主要的供能物质。在青藏高原冬季严寒条件下,就河蟹肌肉和肝胰腺中磷脂绝对含量而言,在整个越冬期间均明显减少,肝胰腺中磷脂的减少量尤其明显(表2)。本研究条件下,就测定结果而言,磷脂可能作为供能物质被动用,也可能是蛋白质和脂类同时被动员供能,代谢过程需要较多的磷酸参与而启动了磷脂的水解反应^[30],从而造成组织中磷脂数量的减少。而肌肉总脂中磷脂相对含量上升,更加表明肌肉中被动员供能的主要物质是蛋白质。

3.2 青藏高原条件下越冬前后河蟹体内脂肪酸组成及数量的适应性变化

脂肪酸在有充足氧供给的情况下,可氧化分解为CO₂和H₂O,并释放大能量,因此是机体主要能量来源之一。碳链长度适宜的脂肪酸首先被氧化释能,供机体代谢所需^[30]。本研究条件下,就脂肪酸绝对值而言,河蟹肝胰腺和肌肉中的脂肪酸大部分被动员供能。而从脂肪酸各自对应的相对含量来看,其中肝胰腺中被动员较多的脂肪酸主要是SFA中的C14:0、C16:0、C17:0和C20:0;MUFA中的C20:1n7和C22:1n9;PUFA中的C16:2n4、C18:2n6、C18:3n3和C18:4n3。但就这些脂肪酸各自在总脂中所占的比例和越冬前后肝胰腺指数的差异以及肝胰腺中总脂的消耗情况推算,青藏高原冬季条件下,河蟹肝胰腺中被动员作为能源物质的主要脂肪酸有C16:0、C16:1n7、C18:1n9和C18:2n6,它们的消耗量均在10%以上;其次是C18:1n7、C20:5n3均超过了5%,虽然C20:5n3在越冬后相对含量有所上升,但是其绝对含量是下降的。C16:0和C18:1n9是中华绒螯蟹肝胰腺中主要的能源脂肪酸,在蜕壳过程中被大量消耗已被证实^[31]。看

来,C16:0和C18:1n9在河蟹能量代谢中占有重要的作用。肌肉中SFA和MUFA作为能源被动员的情况和肝胰腺中的情况类似,但值得注意的是,肌肉中PUFA中的C20:5n3(EPA)、C22:6n3(DHA)由于其相对含量高(分别占肌肉总脂的23.47%和12.38%)也在越冬后被消耗不少,是否作为能源物质被氧化,或是参与其他代谢过程而减少,尚需做进一步的研究。

ARA主要存在于动物机体脑、肝脏和肌肉细胞膜的磷脂中,或作为多种酶信号传导调节中的第二信使,或参与免疫反应,或作为肌肉组织生长和修复的必需脂肪酸发挥作用^[32]。河蟹肝胰腺和肌肉中越冬前分别含有1.61%、3.27%的ARA,越冬后ARA对应的相对含量均显著上升。虽然越冬期间绝对含量有所减少,但并不伴随肝胰腺中磷脂绝对量和相对量的显著减少而减少,推测并非作为能源被消耗,而是参与机体其他代谢过程或修补组织冻伤过程而有限度地减少,从而使其越冬后相对含量升高。

综上所述,养殖中华绒螯蟹在青藏高原地区越冬前后生化组分的变化表明其遭受了饥饿和寒冷的双重胁迫,在此期间动员了身体的大部分蛋白质和脂类作为能量物质以响应这种极端环境条件。从肝胰腺中磷脂大量消耗以及肌肉中EPA、DHA和ARA绝对含量减少情况来看,越冬期间的河蟹可能已遭受严重的饥饿和低温胁迫。因此,在西藏地区养殖中华绒螯蟹应做好越冬前蛋白质和脂类营养的双重强化,尤其是要注意在饲料中添加富含C16:0、C16:1n7、C18:1n9和C18:2n6脂肪酸的油脂。否则,由于其身体蛋白质和脂类的过度消耗,可能影响到水温回暖后的重新摄食及越冬后第一次蜕壳的成功率。

参考文献:

- [1] 王武,李应森. 河蟹生态养殖[M]. 北京:中国农业出版社,2010:57-58.
- [2] ANGER K. Effects of temperature and salinity on the larval development of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (Decapoda: Grapsidae)[J]. Marine Ecology Progress Series, 1991, 72: 103-110.
- [3] 金刚,李钟杰. 秋龄性成熟中华绒螯蟹的生物学——2. 生殖、越冬行为及脱壳的可能性[J]. 湖泊科学,1999,11(2):172-175
- [4] 王飞生,杨海明. 中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)肌肉中不饱和脂肪酸含量与越冬死亡、产卵关系[J]. 激光生物学

- 报, 2002, 11(3): 182 - 187.
- [5] 李娃娃. 上海输出大闸蟹养殖技术与台湾苗栗结缘[EB/OL]. 2011 - 10 - 15 [2013 - 12 - 30]. <http://www.chinanews.com/tw/2011/10-15/3391299.shtml>.
- [6] SANCHEZ-PAZ A, GARCIA-CARRENO F, MUHLIA-ALMAZAN A. Usage of energy reserves in crustaceans during starvation: Status and future directions [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2006, 36(4): 241 - 249.
- [7] AOAC. Official methods of analysis of official analytical chemists international [M]. 16th ed. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists, 1995.
- [8] 张惟杰. 复合多糖生化研究技术 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987: 6 - 7.
- [9] FOLCH J, LEES M, STANLEY G H S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1957, 266: 497 - 509.
- [10] 吴旭干, 成永旭, 唐伯平, 等. 瘤背石磺产卵前后体内的脂类和脂肪酸组成的变化 [J]. *动物学报*, 2007, 53(6): 1089 - 1100.
- [11] 裴光富, 唐士桥. 河蟹安全越冬技术 [J]. *中国水产*, 2010(1): 53 - 54.
- [12] ADAMCZEWSKA A, MORRIS S. Exercise in the terrestrial Christmas Island red crab *Gecarcoidea natalis*. II. Energetics of locomotion [J]. *Journal of Experimental Biology*, 1994, 188: 257 - 274.
- [13] LUVIZOTTO-SANTOS R, LEE J T, PEREIRA-BRANCO Z, et al. Lipids as energy source during salinity acclimation in the euryhaline crab *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851 (Crustacea: Grapsidae) [J]. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology*, 2003, 295A(2): 200 - 205.
- [14] 常国亮, 成永旭, 吴旭干, 等. 中华绒螯蟹白化症、正常肝胰腺组织结构及脂肪酸组成的比较研究 [J]. *水生生物学报*, 2008, 32(5): 687 - 693.
- [15] 成永旭, 堵南山, 赖伟. 不同阶段中华绒螯蟹肝胰腺的脂类及脂肪酸组成 [J]. *动物学报*, 1998, 44(4): 420 - 429.
- [16] 常国亮, 吴旭干, 成永旭, 等. 不同脂类营养对中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 幼蟹生长、成活、肝胰腺指数和生化成分的影响 [J]. *海洋与湖沼*, 2008, 39(3): 276 - 283.
- [17] ANGER K. The Biology of Decapod Crustacean Larvae [M]. The Netherlands: Crustacean Issues, 2001.
- [18] CUZON G, CECCALDI H J. Influence of the fasting stabulation on the metabolism of the shrimp *Crangon crangon* (L.) [J]. *Comptes Rendus des Séances de La Société de Biologie et de Ses Filiales*, 1973, 167: 66 - 69.
- [19] NEILAND K A, SCHEER B T. The hormonal regulation of metabolism in crustaceans. V. The influence of fasting and of sinus gland removal on body composition of *Hemigrapsus nudus* [J]. *Physiological Comparative Oecology*, 1953, 3: 321 - 326.
- [20] FREDERICH M, WACHTER B D, SARTORIS F J, et al. Cold tolerance and the regulation of cardiac performance and hemolymph distribution in *Maja squinado* (Crustacea: Decapoda) [J]. *Physiological and Biochemical Zoology*: 2000, 73(4): 406 - 415.
- [21] PUOLANNE E, HALONEN M. Theoretical aspects of water-holding in meat [J]. *Meat Science*, 2010, 86(1): 151 - 165.
- [22] ZOU E, DU N S, LAI W. The effects of severe hypoxia on lactate and glucose concentrations in the blood of the chinese freshwater crab *Eriocheir sinensis* (Crustacea: Decapoda) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1996, 114A(2): 105 - 109.
- [23] WHITELEY N M, TAYLOR E W, HAJ A J E. Seasonal and latitudinal adaptation to temperature in crustaceans [J]. *Journal of Thermal Biology*, 1997, 22(6): 419 - 427.
- [24] HOLLAND D. Lipid reserves and energy metabolism in the larvae of benthic marine invertebrates [J]. *Biochemical and Biophysical Perspectives in Marine Biology*, 1978, 4: 85 - 123.
- [25] CLARKE A. Lipid class and fatty acid composition of *Chorismus antarcticus* (Pfeffer) (Crustacea: Decapoda) at South Georgia [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1977, 28(3): 297 - 314.
- [26] HAGEN W, KATTNER G, GRAEVE M. *Calanoides acutus* and *Calanus propinquus*, Antarctic copepods with different lipid storage modes via wax esters or triacylglycerols [J]. *Marine Ecology-Progress Series*, 1993, 97: 135 - 142.
- [27] LEE R E J R, MCGRATH J J, MORASON R, et al. Survival of intracellular freezing, lipid coalescence and osmotic fragility in fat body cells of the freeze-tolerant gall fly *Eurosta solidaginis* [J]. *Journal of Insect Physiology*, 1993, 39(5): 445 - 450.
- [28] 李冰祥, 陈永林, 蔡惠罗. 过冷却点和昆虫的耐寒性 [J]. *昆虫知识*, 1998, 35(6): 361 - 364.
- [29] 殷涌光, 陈玉江, 刘瑜, 等. 磷脂功能性质及其生产应用的研究进展 [J]. *食品与机械*, 2009, 25(3): 120 - 124.
- [30] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学 [M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2002.
- [31] 陈再忠, 成永旭, 王武. 早熟期间中华绒螯蟹肝胰腺指数、肝脂含量及脂肪酸组成的变化 [J]. *水产学报*, 2003, 27(1): 57 - 61.
- [32] TRAPPE T A, FLUCHEY J D, WHITE F, et al. Skeletal muscle PGF (2) (alpha) and PGE (2) in response to eccentric resistance exercise: influence of ibuprofen acetaminophen [J]. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2001, 86(10): 5067 - 5070.

Variations in biochemical composition of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* acclimated to Tibetan plateau during its overwintering

CHEN Wei¹, WANG Chun¹, YANG Yin-pu¹, LONG Xiao-wen¹, WANG Wei¹, CHENG Yong-xu^{1,2}

(1. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shanghai Universities Knowledge Service Platform, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The paper dealt with the proximate biochemical composition and fatty acid composition of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* acclimated to Tibetan plateau during its overwintering by virtue of biochemical analysis. The results are as follows: (1) Hepatopancreas index (HSI) decreases significantly after overwintering, from 11.72% to 9.96%; (2) After overwintering, relative content of total lipid and protein in hepatopancreas and muscle decreases significantly, and relative content of water in hepatopancreas goes up but down in muscle significantly; Amount of saccharides showed no significant difference in both hepatopancreas and muscle during overwintering; (3) Relative content of free fatty acids and phospholipid in total lipids of hepatopancreas and muscle reduces significantly after overwintering; Relative contents of triglyceride in hepatopancreas increases but lowers in muscle significantly; (4) Among fatty acids, primary saturated fatty acids (SFA) C16:0, C16:1n7 and primary monounsaturated fatty acids (MUFA) C18:1n9 and C18:2n6 were consumed above 10% for energy metabolism during overwintering, nearly in line with SFA and MUFA burned in muscle. It was worth noting that C20:5n3 (EPA) and C22:6n3 (DHA) of high level in polyunsaturated fatty acid (PUFA) (23.47% and 12.38% of total lipid in muscle respectively) were also consumed, but its relative content increased to some extent after overwintering; (5) A large amount of protein in muscle and lipids in hepatopancreas are simultaneously mobilized to fuel for energy metabolism during overwintering, implying that *E. sinensis* cultured in Tibetan plateau is subjected to stress of both coldness and starvation. It is suggested that prior to overwintering, Chinese mitten crab acclimated to Tibetan plateau be enriched with relevant lipids and protein to improve the survival rate during its overwintering.

Key words: *Eriocheir sinensis*; Tibetan plateau; overwintering; biochemical composition; fatty acids