

三疣梭子蟹胚胎发育过程中主要生化组成的变化及其能量来源

陈石林¹, 吴旭干¹, 成永旭¹, 王春琳², 朱冬发², 周波¹, 王金峰¹, 龚良军¹

(1. 上海水产大学 农业部水产种质资源与养殖生态重点开放实验室, 上海 200090; 2. 宁波大学 生命科学与生物工程学院, 浙江 宁波 315211)

摘要:系统研究了三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) 胚胎发育过程中胚胎体积、单卵干重、湿重、蛋白质、脂肪、碳水化合物的变化规律, 探讨胚胎发育过程中能量来源和消耗规律。结果表明, 三疣梭子蟹胚胎发育过程中, 胚胎体积持续增加, 由受精卵时的 $(24.5 \pm 1.72) \times 10^6 \mu\text{m}^3$ 增加到孵化前的 $(39.2 \pm 2.8) \times 10^6 \mu\text{m}^3$ ($P < 0.01$); 胚胎体积增加主要发生在胚胎发育后期。胚胎发育过程中单卵中水分含量呈上升趋势 ($P < 0.05$), 水分绝对量由受精卵的 $(19.88 \pm 1.65) \mu\text{g}$ 上升到心跳期的 $(28.82 \pm 1.77) \mu\text{g}$, 单卵水分含量升高了 44.97%, 故单卵湿重显著上升 ($P < 0.05$)。整个胚胎发育过程中单卵干重下降了 4.64%。胚胎发育过程中单卵中的蛋白质、脂肪下降显著, 分别减少了 $(1.97 \pm 0.35) \mu\text{g}$ 和 $(1.99 \pm 0.45) \mu\text{g}$, 脂肪含量下降幅度为 50.48%, 而蛋白质含量下降幅度为 23.48%; 三疣梭子蟹胚胎发育过程中能量主要由脂类提供 (71.32 ± 20.46)%, 其次由蛋白质提供 (27.13 ± 4.29)%, 脂类和蛋白质分别充当了不同胚胎时期的主要能量来源, 胚胎中的能量消耗主要发生在卵裂期、原肠期和心跳期。[中国水产科学, 2007, 14 (2): 229–235]

关键词:三疣梭子蟹; 胚胎发育; 生化组成; 能量来源

中图分类号:Q959.223 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-8737-(2007)02-0229-07

三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) 是中国重要的海洋经济蟹类^[1-2], 由于过度捕捞和环境恶化等原因, 自 20 世纪 80 年代起, 近海的三疣梭子蟹的自然资源量正在急剧下降^[3]。因此, 20 世纪 90 年代以来三疣梭子蟹的人工育苗和池塘养殖在中国沿海迅速发展起来^[2,4]。但是, 迄今有关三疣梭子蟹胚胎发育期间主要生化组成变化的研究尚未见报道。国内外大量研究表明, 深入研究胚胎发育期间生化组成的变化有助于认识亲本和幼体的营养需求、胚胎能量来源和利用模式^[5-8]。鉴于此, 本实验系统研究了三疣梭子蟹胚胎发育期间单卵的体积、干重、蛋白质、脂肪及碳水化合物含量的变化规律, 探讨三疣梭子蟹胚胎发育过程中的能量来源和能量利用模式, 旨在深入了解甲壳动物胚胎发育机制积累基础资料, 同时也为研究三疣梭子蟹亲体的营养需求、亲本管理和早期幼体培育提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验亲本和养殖管理

2005 年 3 月 17 日从浙江省舟山市水产研究所养殖基地挑选 40 只体型大小接近、平均体质量为 300 g 左右的已交配雌蟹作为亲本, 饲养于舟山市水产研究所温室水泥池 (6 m × 5 m × 1.5 m) 中, 池底铺 20 cm 厚的细砂供亲本产卵和隐蔽。实验期间自然水温 16~19 ℃, 连续增氧, 每日下午定时投喂缢蛏, 次日上午清除残饵并换新鲜沙滤海水 50% 左右。每日检查亲本的产卵情况, 待亲本抱卵后立即对亲本进行编号, 参考薛俊增等^[9]的方法把三疣梭子蟹胚胎发育分为 7 期: I (受精卵); II (卵裂期); III (囊胚期); IV (原肠期); V (卵内无节幼体期); VI (眼点期); VII (心跳期)。每次采样前先取少量胚胎在解剖镜和显微镜下确定其胚胎发育期, 然后每期胚胎取 3~5 g (湿重) 样品, 用滤纸吸干表面水分, 取 0.5 g 左右的样品于 70 ℃ 下烘干测定水分含量, 其余样品

收稿日期: 2006-06-29; 修订日期: 2006-07-24.

基金项目: 浙江省重大农业科技攻关项目 (2004C12029); 农业部水产种质资源和养殖生态重点开放实验室开放课题 (KFT2006-3); 上海水产大学青年基金 (科 05-152); 上海水产大学研究生基金 (科 05-43); 上海市重点学科建设资助项目 (Y1101).

作者简介: 陈石林 (1976-), 男, 硕士研究生, 主要从事水生动物营养繁殖学的研究. E-mail: chenshilin2002@163.com

通讯作者: 成永旭 (1964-), 教授, 博导, 主要从事水生动物繁殖学和养殖学的研究. Tel: 021-65711346; E-mail: yxcheng@shfu.edu.cn

于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存以用于生化成分测定。所有胚胎样品均来自于连续跟踪的7只抱卵蟹。

1.2 实验方法

1.2.1 胚胎体积测量 从刚抱卵的亲本蟹体上取10粒受精卵分别放入10根15 mL试管中,微量充气,盐度20~22,水浴控温在 $(20\pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$,每日在OLYMPUS显微镜下观察胚胎发育状况并用目测微尺测量胚的卵径,同时洗刷试管并换取100%的新鲜煮沸过的海水,直到胚胎中的幼体全部孵化便终止实验。胚胎的体积计算根据公式:

$V=4/3\pi\cdot(r/2)^2\cdot(R/2)$ (r 为短轴半径, R 长轴半径)^[10]。

1.2.2 单卵干重和湿重测定 在不同胚胎发育阶段,将取样卵块在培养皿剔除携卵刚毛(Ovigerous setae)和携卵绒毛(Ovigerous hair)等非胚胎成分,然后准确称取0.1 g(精确度0.1 mg)左右的胚胎,计数器精确计算其数量,然后计算单卵湿重(μg)=卵质量/卵的个数。同时称取0.5 g左右的胚胎在 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下烘干至恒重,测定卵中的水分含量,然后计算单卵干重(μg)=(1-水分含量)×单卵的湿重,每个样品均重复测定2次。

1.2.3 生化测定和能量计算 剔除卵块中的携卵刚毛和携卵绒毛等非胚胎成分后,精确计数2 000~3 000个胚胎,准确称其质量(精确度0.1 mg)后测定其生化成分,每个样品均重复测定2次。总蛋白质含量的测定按照Holland等^[11]的方法,采用1 mol/L NaOH溶液水解蛋白质,然后用考马氏亮蓝G-250法^[12]测定总蛋白含量,标样为牛血清蛋白;按Folch法^[13]提取组织中脂肪;碳水化合物的

提取按照Holland等^[11]的方法,采用苯酚-硫酸法^[14]测定碳水化合物含量,标样为葡萄糖。各生化组成的含量均以单个卵中所含微克数(μg)表示。能量的计算参照Prosser^[15]提出的换算因子,蛋白质、脂类、碳水化合物换算值分别为17.6 kJ/g、39.8 kJ/g、17.6 kJ/g干重。

1.3 数据分析

数据以平均值±标准差($\bar{X}\pm\text{SD}$)表示,利用SPSS 12.0软件对实验数据进行统计分析,采用Levene法进行方差齐性检验,当数据不具有齐性方差时,对百分比数据进行反正弦或者平方根处理,采用one-way ANOVA对实验结果进行方差分析,采用Tukey's法进行多重比较,取 $P<0.05$ 为差异显著,在Excel上绘制相关图表。

2 结果与分析

2.1 单卵体积的变化

胚胎发育过程中,胚胎体积变化显著($P<0.05$)。由受精卵发育至原肠期,胚胎体积略有增加,由 $(2.45\pm 0.17)\times 10^7\text{ }\mu\text{m}^3$ 升到 $(2.51\pm 0.14)\times 10^7\text{ }\mu\text{m}^3$,仅上升了2.62%;但从卵内无节幼体期起胚胎体积迅速增大,至心跳期达最高值 $(4.05\pm 0.29)\times 10^7\text{ }\mu\text{m}^3$,增幅达到61.3%;临孵化出膜前却下降到 $(3.92\pm 0.28)\times 10^7\text{ }\mu\text{m}^3$,下降了3.36%(图1)。胚胎发育过程中胚胎中水分含量(百分比)也呈显著上升趋势,最后两个发育阶段(眼点期和心跳期)的水分含量上升显著,水分百分含量和胚胎体积的变化具有相关性($P<0.05$, $R^2=0.9856$),见图2。

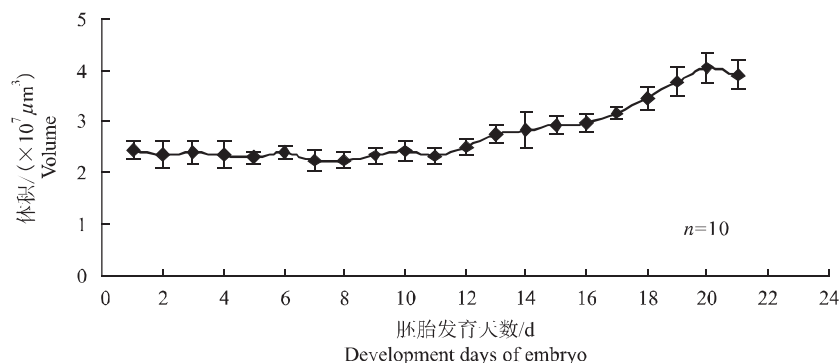


图1 三疣梭子蟹胚胎发育过程中单卵体积的变化

Fig.1 Embryonic volume of *Portunus trituberculatus* egg during embryonic development

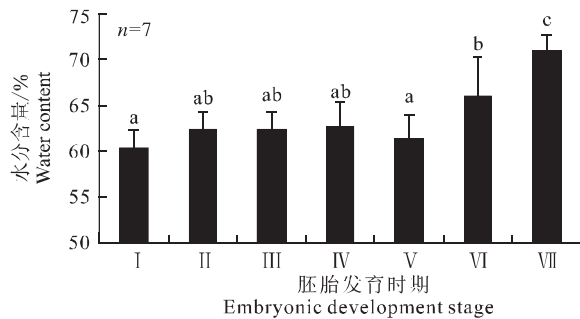


图2 三疣梭子蟹胚胎发育过程中卵中含水量的变化

注:不同字母表示两组间具有统计学上的显著差异 ($P < 0.05$)。

I, 受精卵; II, 卵裂期; III, 囊胚期; IV, 原肠期; V, 卵内无节幼体期; VI, 眼点期; VII, 心跳期。

Fig.2 Change of moisture content in egg during the embryonic development of *Portunus trituberculatus*

Note: Different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$) between two groups. I, Fertilized egg stage; II, Cleavage stage; III, Blastula stage; IV, Gastrula stage; V, Egg nauplius stage; VI, Eye placode stage; VII, Heartbeat stage.

表1 三疣梭子蟹胚胎不同发育期单卵中主要生化物质的含量

Tab.1 Content of proximate compositions in an individual egg during the embryonic development of *Portunus trituberculatus*

n = 7; $\bar{X} \pm SD; \mu\text{g}$:					
发育时期 Development stage	湿重 Wet weight	干重 Dry weight	蛋白质 Protein	脂类 Lipid	碳水化合物 Carbohydrate
I	32.96 ± 2.31^a	13.08 ± 1.00	8.39 ± 0.18^d	4.14 ± 0.50^d	0.40 ± 0.04^b
II	33.35 ± 3.08^a	12.52 ± 0.76	7.70 ± 0.51^{cd}	3.37 ± 0.37^c	0.37 ± 0.03^b
III	33.54 ± 1.57^a	12.67 ± 0.89	7.34 ± 0.66^{bc}	3.36 ± 0.14^c	0.32 ± 0.03^{ab}
IV	34.28 ± 2.65^a	12.79 ± 0.44	7.12 ± 0.35^{abc}	3.03 ± 0.38^{bc}	0.35 ± 0.02^{ab}
V	32.73 ± 2.03^a	12.61 ± 0.36	6.95 ± 0.49^{abc}	2.92 ± 0.53^{bc}	0.36 ± 0.04^b
VI	36.50 ± 2.59^a	12.29 ± 0.92	6.62 ± 0.49^{ab}	2.43 ± 0.38^{ab}	0.34 ± 0.06^{ab}
VII	41.29 ± 1.52^b	12.47 ± 0.75	6.42 ± 0.34^a	2.05 ± 0.54^a	0.28 ± 0.07^a

注:表中同一列数据右上角字母不同表示组间差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Figures with different superscript letters in the same column are significantly different ($P < 0.05$).

2.3 单卵中蛋白质、脂类、碳水化合物含量的变化

三疣梭子蟹胚胎发育过程中,单卵中蛋白质绝对量随着胚胎发育而不断下降,由受精卵期的 (8.39 ± 0.18) μg 降到心跳期的 (6.42 ± 0.34) μg , 下降幅度为 23.48% ($P < 0.05$), 蛋白质含量的下降主要发生在受精卵—卵裂期、卵裂期—囊胚期和卵内无节幼体—眼点期这3个阶段, 蛋白质下降幅度分别为 8.24%、4.66%、4.87%。整个胚胎发育过程中脂类含量下降了 50.54% ($P < 0.05$), 脂类含量的下降主要发生在受精卵—卵裂期、卵内无节幼体—眼点期和眼点期—心跳期这3个阶段, 下降幅度分别为 18.60%、16.78% 和 15.64%。胚胎发育过程中碳水化合物的含量也呈下降趋势, 由受精卵到心跳期

2.2 单卵湿重、干重的变化

整个胚胎发育过程中单卵湿重呈上升的趋势, 受精卵期湿重仅 (32.96 ± 2.31) μg , 发育至心跳期达 (41.29 ± 1.5) μg , 上升了 25.27%。自受精卵至卵内无节幼体期单卵湿重变化不大, 但从卵内无节幼体期至心跳期上升显著 ($P < 0.05$), 单卵湿重由 (32.73 ± 2.03) μg 增加到 (41.29 ± 1.5) μg , 增幅分别达 26.15%, 胚胎湿重的增加主要是由于水分含量增加引起的, 单个受精卵的水分绝对量为 (19.88 ± 1.65) μg , 而心跳期则高达 (28.82 ± 3.77) μg , 单卵水分含量升高了 44.97%。胚胎发育过程中单卵干重整体呈下降趋势, 受精卵干重为 (13.08 ± 1.00) μg , 到心跳期为 (12.47 ± 0.75) μg , 下降了 4.66%, 其中受精卵—卵裂期干重下降最多, 但是统计学上均无显著差异 ($P > 0.05$)。囊胚期、原肠期和心跳期的胚胎干重却出现小幅度上升, 这可能与胚胎发育期间吸收水体中矿物质有关 (表 1)。

下降了 30% (表 1)。

2.4 三疣梭子蟹胚胎发育期间的能量消耗和能量来源

三疣梭子蟹胚胎发育过程中能量不断消耗, 能量消耗主要由脂类和蛋白氧化提供, 整个胚胎发育期脂肪供能为 (94.33 ± 27.06) $\times 10^{-3}$ J, 占总能量消耗的 (71.32 $\pm$ 20.46)%; 蛋白供能为 (35.88 ± 5.67) $\times 10^{-3}$ J, 占总能量消耗的 (27.13 $\pm$ 4.29)%; 而碳水化合物供能比例仅为 (1.80 $\pm$ 0.95)% (表 2)。能量消耗主要发生在卵裂期、原肠期和心跳期, 单卵能量消耗分别为 (60.52 ± 11.06) $\times 10^{-3}$ J、(18.46 ± 1.18) $\times 10^{-3}$ J 和 (20.98 ± 3.24) $\times 10^{-3}$ J, 其余各期能量消耗均在 10×10^{-3} J 左右 (图 3)。

表2 三疣梭子蟹胚胎发育过程中单卵的能量消耗

Tab.2 Energy expenditure in an individual egg during the embryonic development of *Portunus trituberculatus* $n=7; \bar{X} \pm SD; \times 10^{-3} J$

发育时期 Development stage	蛋白供能 Energy expenditure provided by protein	脂类供能 Energy expenditure provided by lipid	碳水化合物供能 Energy expenditure provided by carbohydrate	总能量消耗 Total energy expenditure
II	15.34 ± 5.37 ^a	44.11 ± 14.35 ^a	0.53 ± 0.54 ^a	59.98 ± 14.40 ^a
III	22.56 ± 7.94 ^{ab}	45.92 ± 13.13 ^a	1.34 ± 0.80 ^{ab}	66.82 ± 13.67 ^a
IV	22.88 ± 4.08 ^{ab}	61.56 ± 12.57 ^{ab}	0.86 ± 0.51 ^a	85.30 ± 12.59 ^{ab}
V	25.78 ± 8.59 ^{bc}	66.76 ± 17.18 ^{abc}	0.72 ± 0.88 ^a	99.48 ± 20.94 ^b
VI	31.37 ± 6.05 ^{bc}	78.72 ± 15.32 ^{bc}	0.96 ± 0.63 ^a	111.06 ± 19.56 ^{bc}
VII	35.88 ± 5.67 ^c	94.33 ± 27.06 ^c	2.38 ± 1.25 ^b	132.27 ± 30.3 ^c

注:表中同一列数据右上角字母不同表示组间差异显著 ($P < 0.05$).Note: Figures with different superscript letters in the same column are significantly different ($P < 0.05$).

胚胎发育各阶段能量消耗与脂类和蛋白含量的下降密切相关,脂类和蛋白大量消耗的阶段也是能量大量消耗阶段,如卵裂期、原肠期和心跳期(图4)。就能量来源而言,尽管卵裂期—囊胚期和原肠

期—卵内无节幼体期胚胎中总的能量消耗较少(图3),但是这两个阶段的蛋白供能比例分别达58.73%和51.60%,其他各期脂肪供能比例均在60%以上(图5)。

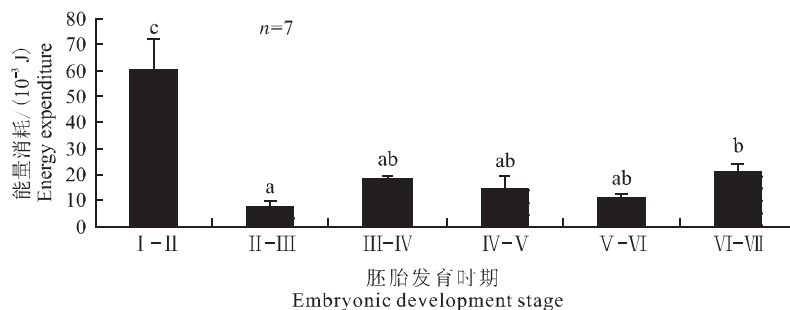


图3 三疣梭子蟹胚胎发育过程中单卵的能量消耗

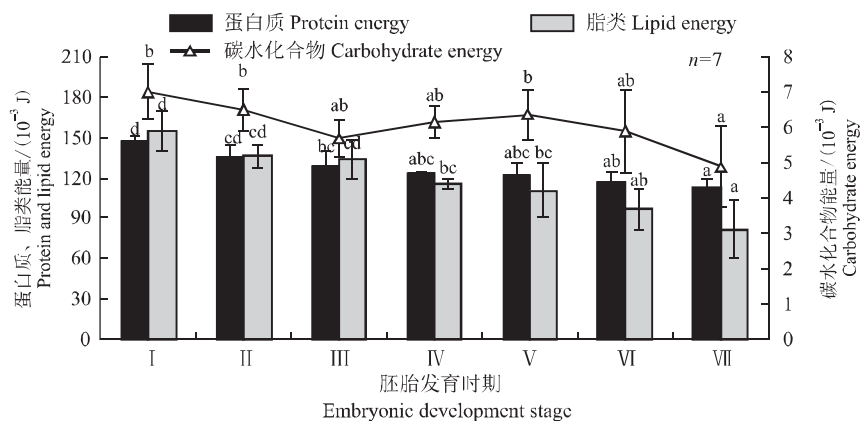
注:不同字母表示两组间具有统计学上的显著差异 ($P < 0.05$).Fig.3 Change of energy expenditure in an individual egg during the embryonic development of *Portunus trituberculatus*Note: Different letters indicate statistically significant differences between two stages ($P < 0.05$).

图4 三疣梭子蟹胚胎发育过程中单卵中主要生化成分(蛋白、脂肪和碳水化合物)含量的变化

注:同一系列标有不同字母的两项间差异显著 ($P < 0.05$).Fig.4 Changes of energy in an individual egg proximate composition (protein, lipid and carbohydrate) during the embryonic development of *Portunus trituberculatus*Note: Columns with different letters in the same series are significantly different ($P < 0.05$).

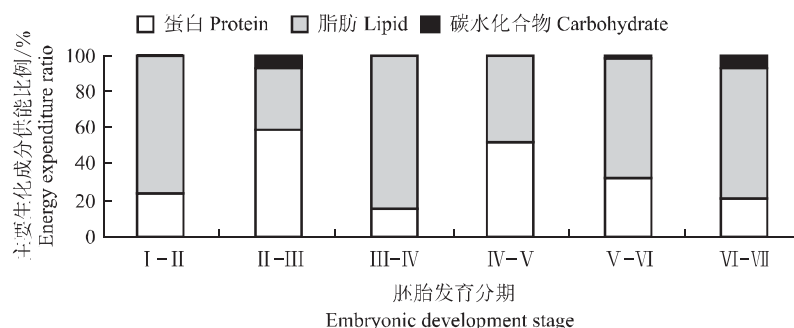


图5 三疣梭子蟹胚胎发育过程中单卵中蛋白质、脂肪和碳水化合物提供能量的比例

Fig.5 Changes of energy expenditure ratio provided by protein, lipid and carbohydrate in an individual egg during the embryonic development of *Portunus trituberculatus*

3 讨论

3.1 胚胎发育过程中胚胎水分、体积、干重和湿重的变化

水是甲壳动物生命活动的必需物质,随着胚胎发育的进行,胚胎中的组织和器官不断增多,水分的含量也会随之增加^[16]。三疣梭子蟹胚胎在眼点期和心跳期水分含量(百分比)大幅上升,而其他时期则缓慢增加,这在其他甲壳动物中也有类似的报道^[16-18]。虾、蟹类胚胎发育至最后阶段,卵内胚胎通常吸入大量的水分,以增加自身的体积,以便幼体突破卵膜,从卵内孵出^[16-18]。

胚胎的体积变化与单卵中的水分含量变化具有同步性,整个胚胎发育过程中单卵水分含量上升了44.97% ($P < 0.05$),胚胎体积增大59.9%,两者的上升均集中在后期,胚胎发育后期水分含量大幅度增加可能是由于胚胎体积的迅速增加而造成的。胚胎发育过程中,胚胎干重总体上呈下降趋势,但囊胚期、原肠期及心跳期单卵干重相比其前一期略有上升,这可能是由于胚胎中幼体形成外骨骼需从外水体中吸收大量矿物质,所以胚胎中的灰分含量有所上升^[5,19-20]。可能由于三疣梭子蟹在囊胚期、原肠期及心跳期阶段的矿物质增加量大于有机物的消耗量,所以这几个阶段的胚胎干重有所上升。

3.2 胚胎发育过程中主要生化成分的变化

三疣梭子蟹胚胎发育过程中蛋白质、脂类、碳水化合物含量均显著下降 ($P < 0.05$),单卵消耗的脂类和蛋白质均为2 μg 左右,而碳水化合物的消耗仅为0.1 μg 左右,中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)^[21]、蜘蛛蟹(*Hysa araneus*)^[20]、锯缘青蟹(*Scylla serrata*)^[17]和褐虾(*Crangon crangon*)^[22]的胚胎发育过程中主要消耗脂肪,而米虾(*Caridina weberi*)^[23]和

扇蟹(*Xantho bidentatus*)^[5]胚胎发育过程中主要消耗蛋白质,脂肪消耗较少。这种差异与这些种类的生活环境^[24]、卵的大小^[25]和生化组成^[26]密切相关。甲壳动物幼体孵化后通常有一段内源营养期,这阶段主要依靠消耗胚胎发育末期保留下来的内源营养物质,胚胎孵化前保留的营养物质多少与初孵幼体的抗饥饿能力密切相关,孵化前内源营养较多的种类初孵幼体的抗饥饿能力较强,幼体培育也相对容易^[17]。三疣梭子蟹胚胎发育到心跳期每个卵中仍含有 $(6.42 \pm 0.34) \mu\text{g}$ 蛋白质、 $(2.05 \pm 0.54) \mu\text{g}$ 脂类,这比锯缘青蟹胚胎孵化前的蛋白 $(3.93 \mu\text{g}/\text{卵})$ 和脂肪 $(0.64 \mu\text{g}/\text{卵})$ 要高很多,这可能就是三疣梭子蟹前期幼体(Ⅰ或Ⅱ)存活率较高,而锯缘青蟹初孵幼体必须马上从外界摄取能源物质来满足幼体代谢的主要原因^[17]。此外,罗氏沼虾胚胎孵化前单卵中仍然含有大量的蛋白 $(20.18 \mu\text{g})$ 和脂肪 $(7.77 \mu\text{g})$ ^[6,27],这可能是罗氏沼虾早期幼体容易培育的主要原因之一。

3.3 胚胎发育过程中的能量来源和消耗规律

三疣梭子蟹胚胎发育过程中主要依靠消耗胚胎中的蛋白质和脂肪提供能量,胚胎发育过程中有23.48%的蛋白和50.48%的脂肪用于氧化供能,其余部分均被用于胚胎组织和器官的构建而被保留在体内,整个胚胎发育过程中70%以上的能量由脂肪氧化提供。这与锯缘青蟹^[17]和罗氏沼虾^[27]的胚胎发育过程中能量来源和利用模式基本相同,而米虾^[23]和扇蟹^[5]胚胎发育过程中50%以上的能量来源于蛋白氧化。王桂忠等^[24]认为甲壳动物的胚胎发育以何种物质作为主要的能源物质取决于其生活环境,一般来说热带、亚热带海区,由于环境水温较高食物来源丰富,动物体内不必储存大量脂类作为能源物质,因此其胚胎组织中具有高蛋白、低脂类的

特征;寒带-温带海区的甲壳动物胚胎中脂肪含量相对较高,由于脂肪的热值高于蛋白质,这有利于动物适应寒、温带食物匮乏的特性,此外脂类的隔热作用也有助于动物抵御低温环境。因此,三疣梭子蟹胚胎发育过程中以脂类作为主要能源物质与其适应温带海域环境有关。胚胎中碳水化合物含量则很低,这在海洋无脊椎动物中具有普遍性^[5-7,20],这说明碳水化合物不可能是其胚胎发育的主要能源物质。

甲壳动物胚胎发育过程中脂类的主要功能有:(1)作为细胞膜的结构成分;(2)为胚胎发育提供能量;(3)提供必需脂肪酸^[6-8,28]。而蛋白质的主要功能为:(1)作为胚胎组织的结构成分;(2)一定条件下作为能源物质^[5,16,18,29]。因此,胚胎发育过程中,通常蛋白质的消耗的比例较小,脂肪的消耗量与胚胎发育阶段密切相关^[5,29]。本研究结果表明,三疣梭子蟹胚胎中的脂肪大量消耗发生在卵裂期、原肠期和心跳期这3个阶段。卵裂期细胞不断快速分裂,原肠期形成大、小触角原基和视叶原基等结构,心脏跳动这几个阶段均需要大量耗能,因而消耗脂肪较多。囊胚期和卵内无节幼体期主要依靠蛋白质供能,脂类消耗较少,其原因可能是这些阶段组织器官大量形成需要较多的脂肪来构建细胞膜,因而蛋白质代替脂类作为主要的供能物质^[16,29]。三疣梭子蟹胚胎发育过程中,蛋白含量下降幅度仅为23.48%,而脂类下降50.48%,这说明蛋白不是三疣梭子蟹整个胚胎发育过程中的主要能源物质,蛋白主要用于构建组织器官,只在胚胎发育的个别阶段(囊胚期和卵内无节幼体期)作为主要的能量来源。此外,三疣梭子蟹胚胎中碳水化合物的消耗主要集中在后期,这可能与此阶段胚胎内大量合成甲壳素相关^[5,27]。

致谢:浙江华兴海水苗种有限公司为本试验提供了实验场地和育苗设施,上海水产大学生命学院2006届本科生秦志浩、杨美、王兆伟、杨伟和、韩丽萍等同学参加了部分实验工作,在此一并表示致谢。

参考文献:

- [1] 戴爱云,冯钟琪,宋玉枝,等.三疣梭子蟹的渔业生物学初步调查[J].动物学杂志,1977,(2):30-33.
- [2] 吴常文,虞顺成,吕永林.梭子蟹渔业技术[M].上海:上海科学技术出版社,1996:28-31.
- [3] 薛俊增,堵南山,赖伟.中国三疣梭子蟹的研究[J].东海海洋,1997,(4):60-64.
- [4] 谢忠明,刘洪军,冯蕾.海水经济蟹类养殖技术[M].北京:中国农业出版社,2002:15-27.
- [5] Babu D E. Observations on the embryonic development and energy source in the crab *Xantho bidentatus* [J]. Mar Biol, 1987, 95: 123-127.
- [6] Clarke A, Brown J H and Holmets L J. The biochemical composition of eggs from *Macrobrachium rosenbergii* in relation to embryonic development [J]. Comp Biochem Physiol, 1990, 96 (3): 505-511.
- [7] Clarke A. Egg size and egg composition in polar shrimps (Caride: Decapoda) [J]. J Exp Mar Biol Eco, 1992, 16: 188-203.
- [8] Heras H, Gonzales-Baro M, Pollero R. Lipid and fatty acid composition and energy portioning during the embryo development in the shrimp *Macrobrachium borellii* [J]. Lipids, 2000, 35: 645-651.
- [9] 薛俊增,堵南山,赖伟.三疣梭子蟹活体胚胎发育的研究[J].动物学杂志,1998,33(6):45-49.
- [10] 殷名称.鲢、鳙、草、银鲫卵黄囊仔鱼的摄食、生长、耐饥饿能力[C]//鱼类学论文集:第六集.武汉:中国鱼类学会,1997:69-79.
- [11] 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]. JMB, 1971, 51: 659-668.
- [12] Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72: 248-254.
- [13] Folch J, Lees M, Sloane Stanley G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues[J]. J Biol Chem, 1957, 226: 497-509.
- [14] 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.
- [15] Prosser C L. Oxygen, respiration and metabolism // [M]. In: CL Prosser, ed. Comparative Animal Physiology. Philadelphia: W B Saunders Company, 1973, 3: 165-211.
- [16] 李红,赵云龙,王群,等.日本沼虾胚胎发育不同阶段主要生化成分的变化[J].水产学报,2003,27(6):545-549.
- [17] 成永旭,李少菁,王桂忠,等.锯缘青蟹胚胎发育期脂类变化的研究[J].海洋学报,2000,22(增刊):433-441.
- [18] 罗文,周忠良,赵云龙,等.红螯螯虾胚胎发育过程中蛋白质含量及氨基酸组成的分析[J].华东师范大学学报:自然科学版,2004,3(1):88-92.
- [19] O'leary M A, George R Y. Seasonal variation in the biochemical composition of the embryos of *Callinectes Sapidus* Pathbun [J]. J Crust Biol, 1984, 4 (4): 546-553.
- [20] Petersen S, Anger K. Chemical and physiological changes during the embryonic development of the spider crab *Hyas araneus* [J]. Comp Biochem Physiol, 1997, 117B (2): 299-306.
- [21] 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].上海水产大学学报,2006,15(1):41-46.
- [22] Kattner G, Wehrmann I S, Merck T. Interannual variations of lipids and fatty acids during larval development of *Crangon* spp. in the German Bight [J]. North Sea Comp Biochem Physiol, 1994, 107B: 103-110.
- [23] Rao C N, Ponnuchamy R, Shakuntala K, et al. Fecundity and energetics of embryonic metabolism of *Caridina weberi* (Decapoda) [J]. Int J Invertebrate Reprod, 1981, 3: 75-86.

- [24] 王桂忠, 汤鸿, 李少菁. 锯缘青蟹胚胎发育过程主要生化组成[J]. 台湾海峡, 1995, 14 (3): 280–283.
- [25] Anger K, Dawirs R R, Anger V, et al. Starvation resistance in first stage zoeae of brachyuran crabs in relation to temperature[J]. J Crust Biol, 1981, 1: 518–525.
- [26] Herring P J. Depth distribution of pigment and lipid in some decapod eggs[J]. Deep Sea Research, 1974, 21: 91–94.
- [27] Yao J J, Zhao Y L, Wang Q, et al. Biochemical compositions and digestive enzyme activities during the embryonic development of prawn, *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Aquaculture, 2006, 253: 573–582.
- [28] Wehrtmann L S, Kattner G. Changes in volume, biomass, and fatty acids of developing eggs in *Nauticaris magellanica* (Decapoda Caridea): a latitudinal comparison [J]. J Crust Biol, 1998, 18: 413–422.
- [29] Garcia-Guerrero M, Humberto V, Racotta I S. Effect of temperature on lipids, proteins, and carbohydrates levels during development from egg extrusion to juvenile [J]. J Crust Biol, 2003, 23: 1–6.

Changes of proximate biochemical composition and energy source during embryonic development of swimming crab, *Portunus trituberculatus*

CHEN Shi-lin¹, WU Xu-gan¹, CHENG Yong-xu¹, WANG Chun-lin², ZHU Dong-fa², ZHOU Bo¹, WANG Jin-feng, GONG Liang-jun¹

(1. Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquaculture Ecosystem Certificated by the Ministry of Agriculture, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China; 2. College of Life Science & Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: The experiment was carried out in the hatchery farm in Zhoushan Island of Zhejiang Province during March to May, 2005. The samples were collected from seven berried females by continuous observation and sampling. The embryonic volume, egg wet weight, egg dry weight and proximate biochemical composition (moisture, protein, lipid, and carbohydrate) per egg were measured and analyzed during the embryonic development of *Portunus trituberculatus* at seven different main stages, which were as follows: I, fertilized egg stage; II, cleavage stage; III, blastula stage; IV, gastrula stage; V, egg nauplius stage; VI, eye placode stage; VII, heartbeat stage. The energy source and energy expenditure were also analyzed.

The results showed that the egg volume increased continuously from $(24.5 \pm 1.72) \times 10^6 \mu\text{m}^3$ to $(39.2 \pm 2.8) \times 10^6 \mu\text{m}^3$ ($P < 0.05$) during the embryonic development, with the main increase occurring at the end of developmental phase. Moisture content per egg increased significantly by 44.97% during the embryonic development ($P < 0.05$) from fertilized egg stage [$(19.88 \pm 1.65) \mu\text{g}$] to heartbeat stage [$(28.82 \pm 1.77) \mu\text{g}$], and the wet weight per egg increased accordingly ($P < 0.05$). The dry weight per egg dropped from $(13.08 \pm 1.00) \mu\text{g}$ at the fertilized egg stage to $(12.47 \pm 0.745) \mu\text{g}$ at the heartbeat stage, decreasing by 4.64% compared to the beginning stage. Protein and lipid in individual egg all decreased significantly ($P < 0.05$) during the embryonic development. Their losses were $(1.97 \pm 0.35) \mu\text{g}$ per egg and $(1.99 \pm 0.45) \mu\text{g}$ per egg respectively. At the heartbeat stage, lipid decreased by 50.48% while protein decreased by 23.48% compared to the beginning stage. The energy source was provided by lipid [$(71.32 \pm 20.46) \%$] and protein [$(27.13 \pm 4.29) \%$], with the main energy expenditure happening in cleavage stage, gastrula stage and heartbeat stage. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14 (2): 229–235]

Key words: *Portunus trituberculatus*; embryonic development; biochemical composition; energy source

Corresponding author: CHENG Yong-xu. E-mail: yxcheng@shfu.edu.cn