

克氏原螯虾卵巢发育时期组织脂肪含量及脂肪酸组成

陈金民¹, 魏华¹, 沈竑², 成永旭¹, 龚蕾蕾³

(1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 上海滩涂生物资源开发研究所, 上海 202179; 3. 崇明县水产技术推广站, 上海 202150)

摘要: 为了研究组织脂肪含量及脂肪酸组成在克氏原螯虾(*Procambrus clarkii*)卵巢发育过程中的变化, 采用粗脂抽提及气相色谱分析法对卵巢发育 5 个不同时期肝胰腺和卵巢组织中脂肪含量及脂肪酸组成进行测定和分析, 结果表明: (1)随着卵巢发育, 卵巢指数由 0.12%显著($P \leq 0.05$)增加到 6.64%, 而肝胰腺指数由 7.95%降至 5.31%。(2)卵巢干重百分含量从 期的 22.29%增至 期的 55.16%, 而干物质中的脂肪含量仅在 期(32.38%)到 期(41.90%)有一个显著增加过程, 后期没有增加。(3)肝胰腺和卵巢中主要脂肪酸都有 $C_{16:0}$ 、 $C_{16:1n7}$ 、 $C_{18:0}$ 、 $C_{18:1n9}$ 、 $C_{18:1n7}$ 、 $C_{18:2n6}$ 和 $C_{18:3n3}$ 等, 不同的是卵巢中的 $C_{20:4n6}$ 及 $C_{20:5n3}$ 含量也较高。在主要脂肪酸中, $C_{16:0}$ 、 $C_{18:1n9}$ 和 $C_{18:2n6}$ 3 种脂肪酸占绝大比例。(4)在卵巢发育过程中, 卵巢中的 3 种高不饱和脂肪酸 $C_{20:4n6}$ 、 $C_{20:5n3}$ 及 $C_{22:6n3}$ 含量呈显著降低趋势($P \leq 0.05$), 而 $C_{18:2n6}$ 含量一直在增加。由此可见, 在克氏原螯虾卵巢发育过程中肝胰腺中脂肪有转运到卵巢的可能, 在卵巢发育后期各营养物质按一定比例积累, 相比于高不饱和脂肪酸, $C_{18:2n6}$ 可能在克氏原螯虾卵巢发育及胚胎发育过程中的作用更加重要。本研究旨在通过了解克氏原螯虾组织中脂肪含量及脂肪酸组成与卵巢发育之间的关系, 深入探讨亲虾在繁殖期的脂肪代谢机制。[中国水产科学, 2010, 17(6): 1278–1284]

关键词: 克氏原螯虾; 卵巢发育; 脂肪含量; 脂肪酸

中图分类号: Q959

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2010)06-1278-07

克氏原螯虾(*Procambrus clarkii*)又名红色沼泽螯虾或淡水龙虾, 属甲壳纲(Crustacen)、软甲亚纲(Malacostraca)、十足目(Decapoda)、螯蛄科(Cambaridae)、螯虾亚科、原螯虾属。原产于美国南部和墨西哥北部, 20 世纪 30 年代末期由日本引入中国南京附近。现已分布至十几个省市, 成为归化于中国自然水体的一个物种。

由于肉质鲜美, 营养丰富, 近几年克氏原螯虾作为一种经济水产物种开始在一些省市地区大力推广试养。对克氏原螯虾进行全面深入的了解迫在眉睫。目前, 有关克氏原螯虾发育生物学^[1-3]、幼体营养学^[4]、生理生态学^[5]、繁殖习性^[6]等方面的研究已经开展, 但在亲虾繁殖营养方面仍未见报道。作为六大营养要素之一, 脂类是生物代谢的

能量来源, 也是构成细胞膜的主要成分, 一些脂肪酸还是固醇和蜕皮激素等生理功能物质的前体, 因此其在甲壳动物性腺发育时期的正常积累不仅对卵巢发育、胚胎发育, 还对早期幼体的成长也起着至关重要的作用^[7-9]。而肝胰腺作为甲壳动物脂类吸收和加工的主要场所, 具有向其他组织储存和转运脂类的功能。为研究组织中脂肪含量及脂肪酸组成与卵巢发育之间的关系, 以探讨亲虾在繁殖期的脂肪代谢, 本实验研究了克氏原螯虾卵巢发育不同时期肝胰腺和卵巢中脂肪含量及脂肪酸组成。

1 材料与方法

1.1 实验材料及处理

实验所用雌性克氏原螯虾于 2009 年 5 月至 9

收稿日期: 2009-12-17; 修订日期: 2010-03-12.

基金项目: 上海市科委攻关项目(05dz1206002).

作者简介: 陈金民(1984-), 男, 硕士研究生, 主要从事水生动物营养繁殖学研究. E-mail: jmchen@stmail.shou.edu.cn

通讯作者: 魏华, 教授, 主要从事鱼类和甲壳类生殖生理学研究. Tel: 021-61900434. E-mail: hwei@shou.edu.cn

月采自上海崇明沐雨生态有限公司稻虾养殖基地, 为散养群体, 饵料以屠宰下脚料为主。每月中旬采样一次, 每次 60 只, 体质量为 (28.54 ± 3.05) g, 体长为 (8.51 ± 0.31) cm。取虾的肝胰腺、卵巢称重后立即保存在 -20°C 冰箱内备用。参考李胜等^[10]方法, 以卵巢颜色和卵子大小将所得卵巢发育分为五期。按如下公式计算组织指数、脂肪含量及组织干重百分含量:

肝胰腺指数(HSI,%)= 肝胰腺质量/体质量×100

卵巢指数(GSI, %)= 卵巢质量/体质量×100

脂肪含量(LC,%)= 脂肪质量/组织干重质量×100

组织干重百分含量(DM, %)= 组织干重质量/组织质量×100

1.2 脂肪含量和脂肪酸组成的测定

将肝胰腺、卵巢组织冷冻干燥后, 参照 Folch 法^[11], 用氯仿:甲醇(2:1, V/V)抽提组织中的总脂, 经旋转蒸发除去溶剂, 再经 40 $^{\circ}\text{C}$ 真空烘箱干燥后, 计算脂肪含量。

采用室温脂肪酸快速甲酯化法, 即用石油醚:苯(1:1, V/V)溶解脂肪并稀释至 20~50 mg/mL, 加入 2 mL 0.4 mol/L 氢氧化钾-甲醇溶液, 混匀后室

温静置 10 min, 加蒸馏水、振荡、离心, 取上层清液, 进行气相色谱分析。仪器为 Agilent-6890, 毛细管柱型号为 Omegawax320 (30.0 m×0.32 mm, USA), FID 检测器, 程序升温^[12]。各脂肪酸的定性采用与标准脂肪酸保留时间相比较的方法, 脂肪酸组成的相对含量采用面积归一化法。

1.3 数据处理

采用 SPSS13.0 软件对实验数据进行统计分析, 方差分析用 ANOVA 法, 单因子多重比较用 Duncan's 法, 当 $P\leq 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 组织指数、干重百分含量及脂肪含量

表 1 显示的是克氏原螯虾肝胰腺指数、卵巢指数、组织干重百分含量及脂肪含量在卵巢发育不同时期的变化。随着卵巢的发育, 肝胰腺指数由 7.95%降到 5.31%, 卵巢指数由 0.12%升到 6.64%。肝胰腺干重百分含量总体表现为先升后降的变化趋势, 在 III 期达到最大, 为 50.80%; I 期最小, 为 47.31%; 卵巢干重百分含量在整个时期呈显著增加趋势, 由 22.29%升到 55.16%, 增加近 2.5 倍。就脂肪含量而言, 其在肝胰腺中的含量较

表 1 克氏原螯虾卵巢发育时期肝胰腺指数、卵巢指数、组织干重百分含量及脂肪含量
Tab.1 Hepatosomatic index, gonadosomatic index, dry matter content, and lipid content of *P.clarkii* at each stage during ovarian maturation

n=10; $\bar{x}\pm\text{SD}$

指标 Indicator	时期 Ovary development stage				
	I	II	III	IV	V
肝胰腺 Hepatopancreas					
肝胰腺指数 HSI	7.95±1.71 ^a	7.79±1.06 ^a	6.71±0.70 ^b	6.78±0.64 ^b	5.31±1.44 ^c
干重百分含量/% Dry material	59.44±8.29 ^{ab}	52.08±8.98 ^{bc}	68.98±5.04 ^a	50.80±4.45 ^{bc}	47.31±12.45 ^c
脂肪含量/% Lipid content	73.43±5.57 ^a	68.53±7.15 ^{ab}	74.49±3.78 ^a	56.97±6.31 ^b	68.69±9.63 ^a
卵巢 Ovary					
卵巢指数 GSI	0.12±0.06 ^d	0.51±0.15 ^{cd}	1.09±0.19 ^c	2.26±0.30 ^b	6.64±1.53 ^a
干重百分含量/% Dry material	22.29±1.37 ^e	25.35±2.50 ^d	38.56±2.93 ^c	51.71±1.82 ^b	55.16±2.24 ^a
脂肪含量/% Lipid content	35.22±2.40 ^b	32.38±3.84 ^b	41.90±2.23 ^a	41.06±1.33 ^a	41.83±2.50 ^a

注: 同行数据上标中含不同字母的两数值代表差异显著($P\leq 0.05$); 脂肪含量为脂肪质量/组织干重质量; 组织干重百分含量为组织干重质量/组织质量。
Note: Values in the same line with different superscript letters are significantly different ($P\leq 0.05$);
Tissue lipid content is the ratio of total lipid to tissue dry weight; tissue dry matter content is the ration of dry matter weight to tissue weight.

大,最高可占组织干重的 74.49%,在整个卵巢发育过程中并没有表现出明显的变化趋势;在卵巢中,脂肪含量仅在 期到 期有一个显著的增加过程($P \leq 0.05$),在后期变化不明显。

2.2 脂肪酸组成

表 2、表 3 分别显示的是克氏原螯虾卵巢发育各时期肝胰腺和卵巢中脂肪酸的组成及相对含量。从表 2 中可知,各时期肝胰腺中主要脂肪酸有 $C_{16:0}$ 、 $C_{16:1n7}$ 、 $C_{18:0}$ 、 $C_{18:1n9}$ 、 $C_{18:1n7}$ 、 $C_{18:2n6}$ 和 $C_{18:3n3}$,而又以 $C_{16:0}$ 、 $C_{18:1n9}$ 和 $C_{18:2n6}$ 所占比例较大。有众多脂肪酸在卵巢发育过程变化显著。其

中 $C_{16:0}$ 、 $C_{16:1n7}$ 表现为先增加后减少;亚油酸 $C_{18:2n6}$ 一直增加,亚麻酸 $C_{18:3n3}$ 在 期到 期有一个减少过程;而 3 种高不饱和脂肪酸(HUFA) $C_{20:4n6}$ (ARA)、 $C_{20:5n3}$ (EPA)、 $C_{22:6n3}$ (DHA)呈显著减少趋势。就总和来说,饱和脂肪酸($\sum$ SFA)在 期有所减少,单不饱和脂肪酸($\sum$ MUFA)和多不饱和脂肪酸($\sum$ PUFA)变化不明显,高不饱和脂肪酸($\sum$ HUFA)以及 $n3$ 多不饱和脂肪酸($\sum$ $n3$ PUFA)在 期时有个显著的减少过程,而 $\sum$ $n6$ PUFA 含量在后期略有增加,但差异不明显,所以 $n6/n3$ PUFA 值也就表现为在 期增加,后期变化

表 2 克氏原螯虾卵巢发育时期肝胰腺中脂肪酸组成
Tab.2 Fatty acid content in hepatopancreas of female *P. clarkii* at each stage during ovarian maturation
 $n=6$; $\bar{x} \pm SD$; % (占全脂肪酸, of total fatty acids)

脂肪酸 Fatty acid	卵巢发育时期 Ovary development stage				
$C_{14:0}$	1.02±0.65 ^b	1.51±0.28 ^a	0.78±0.14 ^{bc}	0.79±0.28 ^{bc}	0.50±0.22 ^c
$C_{14:1n7}$	0.55±0.41 ^{ab}	0.71±0.14 ^a	0.37±0.09 ^b	0.40±0.11 ^{ab}	0.43±0.22 ^{ab}
$C_{15:0}$	0.63±0.38	0.79±0.18	0.44±0.07	0.68±0.39	0.57±0.39
$C_{16:0}$	19.25±2.05 ^{bc}	20.83±1.16 ^{ab}	21.77±1.48 ^a	20.52±1.51 ^{ab}	17.85±0.53 ^c
$C_{16:1n7}$	8.06±2.59 ^b	11.80±1.35 ^a	10.35±1.56 ^{ab}	9.52±0.99 ^{ab}	4.85±1.51 ^c
$C_{17:0}$	1.08±0.51	0.89±0.24	0.68±0.19	0.71±0.53	1.01±0.86
$C_{18:0}$	4.87±0.60	4.97±0.57	4.87±0.64	4.39±0.60	5.38±2.02
$C_{18:1n9}$	29.72±7.26 ^a	22.71±2.62 ^b	29.08±1.30 ^{ab}	29.02±3.49 ^{ab}	33.82±5.76 ^a
$C_{18:1n7}$	2.49±1.10	2.70±0.39	1.78±0.46	2.09±0.24	2.29±1.17
$C_{18:2n6}$	16.74±2.16 ^{bc}	15.90±2.43 ^c	19.92±1.6 ^{ab}	19.49±1.00 ^{ab}	20.40±4.28 ^a
$C_{18:3n3}$	3.56±1.47 ^{ab}	4.18±0.82 ^a	2.16±0.43 ^c	2.47±0.99 ^{bc}	2.65±1.28 ^{bc}
$C_{20:1n7}$	0.53±0.05 ^{bc}	0.40±0.05 ^c	0.44±0.10 ^c	0.79±0.32 ^a	0.73±0.35 ^{ab}
$C_{20:4n6}$	1.56±0.48 ^a	1.47±0.31 ^a	0.78±0.26 ^b	0.54±0.38 ^b	0.85±0.51 ^b
$C_{20:5n3}$	1.86±1.53 ^a	2.78±0.79 ^a	0.90±0.35 ^b	0.82±0.46 ^b	0.58±0.41 ^b
$C_{22:4n6}$	0.64±0.14 ^a	0.36±0.15 ^b	0.33±0.10 ^b	0.54±0.25 ^{ab}	0.68±0.39 ^a
$C_{22:6n3}$	0.71±0.41 ^{ab}	0.94±0.20 ^a	0.46±0.09 ^{bc}	0.36±0.12 ^c	0.38±0.15 ^c
$\sum$ SFA	26.85±2.78 ^{ab}	28.98±1.17 ^a	28.54±1.74 ^a	27.08±0.92 ^{ab}	25.31±1.95 ^b
$\sum$ MUFA	41.34±6.65	38.31±2.60	42.02±1.91	41.83±2.67	42.11±3.41
$\sum$ PUFA	25.06±2.43	25.62±2.62	24.54±2.40	24.22±1.54	25.56±2.56
$\sum$ HUFA	4.76±2.43 ^a	5.54±1.28 ^a	2.47±0.69 ^b	2.26±1.21 ^b	2.50±1.46 ^b
$\sum$ $n-3$ PUFA	6.12±1.35 ^a	7.89±1.61 ^a	3.52±0.80 ^b	3.65±1.58 ^b	3.62±1.82 ^b
$\sum$ $n-6$ PUFA	18.94±1.91 ^{ab}	17.73±2.35 ^b	21.02±1.75 ^a	20.58±0.69 ^{ab}	21.94±3.42 ^a
$n-6/n-3$	3.97 ^{bc}	2.34 ^c	6.21 ^{ab}	6.27 ^{ab}	7.39 ^a

注:同行数据上标中含不同字母的两数值代表差异显著($P \leq 0.05$); HUFA: 高不饱和脂肪酸($\geq 20:3n$); MUFA: 单不饱和脂肪酸; PUFA: 多不饱和脂肪酸($\geq 18:2n$); SFA: 饱和脂肪酸。

Note: Values in the same line with different superscript letters are significantly different ($P \leq 0.05$); HUFA, highly unsaturated fatty acid ($\geq 20:3n$); MUFA, monounsaturated fatty acid; PUFA, polyunsaturated fatty ($\geq 18:2n$); SFA, saturated fatty acid .

差异不显著。

与肝胰腺不同, 卵巢中主要脂肪酸不仅有 $C_{16:0}$ 、 $C_{16:1n7}$ 、 $C_{18:0}$ 、 $C_{18:1n9}$ 、 $C_{18:1n7}$ 、 $C_{18:2n6}$ 和 $C_{18:3n3}$, 还包括 ARA 和 EPA, 特别是在早期, 这 2 种脂肪酸所占比例较大; 主要脂肪酸中的 $C_{16:1n7}$ 、 $C_{18:0}$ 和 $C_{18:3n3}$ 分别在 、 、 期达到最大, 随后减少; $C_{18:2n6}$ 随卵巢发育一直增大; 与肝胰腺相同的是 3 种 HUFA: ARA、EPA 和 DHA 的含量在发育过程中也呈显著降低趋势。就总和而言, Σ SFA 基本不变; Σ MUFA、 Σ PUFA 有变化但趋势不明显; Σ HUFA 表现为减少; Σ n3PUFA 变化趋势不明显, 但前期含量明显大于后期含量, 这主要归因于 EPA 的含量一直在减少; 由于各期卵巢中 ARA 和 EPA 较肝胰腺含量高, 其 Σ HUFA 也明显高于肝胰腺; 与肝胰腺相比, 其 n6/n3PUFA 值一直增加, 在 期达到最大, 为 4.04。

3 讨论

3.1 组织脂肪含量的变化

随着卵巢的发育, 克氏原螯虾卵巢指数由 期的 0.12% 增加到 期的 6.64%, 卵巢干重百分含量由 22.29% 升到 55.16%, 增加近 2.5 倍, 意味

表 3 克氏原螯虾卵巢发育各时期卵巢脂肪酸组成
Tab. 3 Fatty acid content in ovary of female *P. clarkii* at each stage during ovarian maturation
 $n=6$; $\bar{x} \pm SD$; % (占总脂肪酸, of total fatty acids)

脂肪酸 Fatty acid	时期 Ovary development stage				
$C_{14:0}$	0.43±0.17 ^b	0.56±0.15 ^b	0.58±0.1 ^b	0.86±0.53 ^a	0.49±0.10 ^b
$C_{15:0}$	0.44±0.15 ^b	0.47±0.09 ^b	0.41±0.04 ^b	1.47±1.15 ^a	0.56±0.14 ^b
$C_{16:0}$	15.73±3.15 ^{ab}	14.69±1.78 ^b	17.10±0.7 ^{ab}	16.87±1.32 ^{ab}	18.26±1.32 ^a
$C_{16:1n7}$	8.21±1.59 ^b	7.96±1.47 ^b	10.73±1.73 ^a	8.37±1.84 ^b	7.82±2.4 ^b
$C_{17:0}$	0.57±0.2 ^{bc}	0.70±0.1 ^b	0.44±0.07 ^c	0.95±0.48 ^a	0.38±0.10 ^c
$C_{16:3n4}$	0.43±0.11 ^b	0.51±0.07 ^b	0.43±0.03 ^b	1.14±0.91 ^a	0.56±0.29 ^b
$C_{18:0}$	3.7±1.14 ^b	5.97±0.07 ^a	4.14±0.32 ^b	3.71±1.12 ^b	2.57±0.38 ^c
$C_{18:1n9}$	30.23±2.01 ^a	31.13±2.34 ^a	33.3±0.83 ^a	24.65±6.48 ^b	32.41±2.69 ^a
$C_{18:1n7}$	2.35±0.36 ^a	2.57±0.49 ^a	1.73±0.19 ^b	2.66±0.94 ^a	1.55±0.19 ^b
$C_{18:2n6}$	14.17±2.02 ^c	12.57±0.86 ^c	16.64±0.61 ^b	18.64±3.44 ^b	22.61±1.84 ^a
$C_{18:3n3}$	3.73±1.55 ^b	3.37±0.42 ^b	2.42±0.22 ^b	5.39±3.36 ^a	2.91±0.45 ^b
$C_{20:1n7}$	0.53±0.06 ^b	0.57±0.06 ^b	0.41±0.05 ^{bc}	0.31±0.11 ^c	0.73±0.31 ^a
$C_{20:2n6}$	0.69±0.15 ^a	0.66±0.09 ^a	0.48±0.04 ^b	0.62±0.03 ^a	0.59±0.05 ^{ab}
$C_{20:4n6}$	6.76±1.95 ^a	4.55±0.82 ^b	2.97±0.55 ^{cd}	3.29±0.37 ^{bc}	1.83±0.54 ^d
$C_{20:5n3}$	7.24±0.86 ^a	8.00±1.56 ^a	4.49±0.83 ^b	4.12±0.62 ^b	2.34±0.42 ^c
$C_{22:6n3}$	1.05±0.3 ^b	1.47±0.24 ^a	0.63±0.11 ^c	0.84±0.40 ^c	0.54±0.17 ^c
Σ SFA	20.86±1.55	22.38±1.79	22.67±0.78	23.87±0.62	22.25±1.46
Σ MUFA	41.31±2.02 ^b	42.23±2.49 ^b	46.17±1.85 ^a	35.96±2.25 ^c	42.51±1.70 ^b
Σ PUFA	33.60±2.36 ^a	30.61±2.67 ^{ab}	27.64±1.58 ^b	32.89±2.38 ^a	30.82±2.30 ^{ab}
Σ HUFA	15.01±2.61 ^a	14.01±2.31 ^a	8.10±1.41 ^b	8.25±0.81 ^b	4.70±0.17 ^c
Σ n-3PUFA	11.98±1.40 ^{ab}	12.83±2.04 ^a	7.54±1.07 ^c	10.35±1.83 ^b	5.79±0.94 ^c
Σ n-6PUFA	21.62±2.16 ^b	17.78±1.50 ^c	20.09±0.65 ^{bc}	22.54±2.69 ^{ab}	25.04±1.75 ^a
n-6/n-3	1.83 ^c	1.41 ^c	2.70 ^b	2.53 ^b	4.42 ^a

注: 同行数据上标中含不同字母的两数值代表差异显著($P \leq 0.05$); HUFA: 高不饱和脂肪酸($\geq 20:3n$); MUFA: 单不饱和脂肪酸; PUFA: 多不饱和脂肪酸($\geq 18:2n$); SFA: 饱和脂肪酸。
Note: Values in the same row with different superscript letters are significantly different ($P \leq 0.05$); HUFA, highly unsaturated fatty acid($\geq 20:3n$); MUFA, monounsaturated fatty acid; PUFA, polyunsaturated fatty($\geq 18:2n$); SFA, saturated fatty acid.

着在这过程中卵巢发育以及胚胎发育所需要的各类结构、营养和功能物质在大量积累。虽然水分也是生物体中重要的组成部分,但对于克氏原螯虾来说,卵巢在发育过程中更多积累的是有机物、无机盐等,水分可在排卵后从水体环境中摄取。作者在随后的实验中发现,克氏原螯虾早期胚胎中的干物质百分含量又降至 40.99%,相关数据另文发表。值得注意的是,虽然卵巢干重百分含量一直在增加,但卵巢干物质中的脂肪含量并不是一直增加,仅在 期到 期之间有显著增加的过程。卵巢脂肪含量的增加在其他虾类研究中也发现,与克氏原螯虾不同的是,某些虾类脂肪含量的增加一直持续到卵巢完全成熟^[13-14],本实验结果与 Wouters 等^[15]对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)的研究结果相同。对克氏原螯虾来说,卵巢发育早期卵细胞的大量增值以及细胞内参与卵黄颗粒合成的各类细胞器的形成需要大量膜结构物质可能导致早期脂肪含量的增加,但在后期其他营养物质如蛋白质、碳水化合物、无机盐等的积累也是同等重要的,说明各营养物质的积累可能存在着一定的比例。

在整个卵巢发育过程中,克氏原螯虾肝胰腺指数呈显著降低趋势。肝胰腺作为营养物质消化吸收器官被认为是甲壳动物脂肪主要的储存和加工场所^[13,16]。在十足目甲壳动物卵巢发育大量积累脂肪阶段,是否动用肝胰腺储存的脂肪存在有两模式。大多数十足类甲壳动物在卵巢发育过程中,卵巢发育会动用肝胰腺中储存的脂肪,卵巢脂肪量的增加与肝胰腺脂肪含量的减少具有明显的相关性^[17]。但在 Cavalii 等^[18]研究结果中,罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)肝胰腺指数随着卵巢的发育并没有降低,肝胰腺中的脂肪含量也未有明显的减少,因此肝胰腺中储存的脂肪并没有转运到卵巢中或转运量很少,同样的结果也出现在对其他物种的研究中^[16]。对于克氏原螯虾来说,随着卵巢的发育,虽然肝胰腺脂肪含量变化不明显,但由于肝胰腺指数由 7.95%到 5.31%显著降低,其肝胰腺中绝对脂肪含量在降低,因此它属于动用肝胰腺储存脂肪的一类。

比较肝胰腺干重,在 期达到最大,在 期含量最小,有先增加后减少的变化趋势。可知在卵巢发育早期,其需求的营养物质还较少,肝胰腺中的营养物质依然呈积累趋势,但在后期,由于卵细胞的急剧增长,卵黄物质的大量积累,导致肝胰腺中的营养物质加速向卵巢转移。因此,从这一方面来讲,确保母虾营养充足是至关重要的,也是一个长期的过程。

3.2 组织中脂肪酸的组成及变化

克氏原螯虾肝胰腺和卵巢脂肪酸相对含量的差异是由组织间生理功能的差异所决定的。肝胰腺作为消化吸收器官,有储存并向其他组织提供营养物质的功能,其组织内脂肪酸组成容易受食物中脂肪酸组成的影响^[19]。对于卵巢来说,物质的积累和组成不仅要满足卵细胞形态结构和新陈代谢的需要,还要满足胚胎发育以及幼体成长的需要,所以各脂肪酸之间的合理组成意义更加重要。

克氏原螯虾属淡水种,其肝胰腺和卵巢中的主要脂肪酸有 $C_{16:0}$ 、 $C_{16:1n7}$ 、 $C_{18:0}$ 、 $C_{18:1n9}$ 、 $C_{18:1n7}$ 、 $C_{18:2n6}$ 和 $C_{18:3n3}$, 其中 $C_{16:0}$ 、 $C_{18:1n9}$ 和 $C_{18:2n6}$ 所占比例较大,而卵巢中 ARA 和 EPA 的含量也较高。与海水虾蟹类相比,克氏原螯虾肝胰腺和卵巢中的 $C_{18:2n6}$ 含量更高,而 HUFA 含量偏低,导致 $n6/n3PUFA$ 值远高于海水虾蟹类^[13-14]。同为淡水种,罗氏沼虾在卵巢发育过程中,其 $C_{18:2n6}$ 在肝胰腺和卵巢中的含量也较其他多不饱和脂肪酸高,与克氏原螯虾不同的是其 $C_{18:2n6}$ 在肝胰腺中的含量并不随性腺的发育增加,在卵巢中也只在 到 期有个显著增加过程;其 ARA 含量只在卵巢中降低,而 EPA 含量只在肝胰腺中降低^[18]。甲壳动物卵巢发育以及胚胎发育需要消耗大量的能量。作为能源物质, SFA 主要在原肠胚期被利用, MUFA 在无节幼体时期被利用,而 HUFA 在发育晚期被利用^[20]。从克氏原螯虾卵巢脂肪酸组成来看, HUFA 作为能源物质的可能性比较少,主要由 $C_{16:0}$ 和 $C_{18:1n9}$ 提供,还有可能是 $C_{18:2n6}$ 。

HUFA 在对虾卵巢发育以及胚胎发育中起着重要作用^[14,21], ARA 和 EPA 是细胞膜结构的组成物质,而 DHA 可能在甲壳动物中枢神经形成过

程中起着重要作用^[22]。但在克氏原螯虾卵巢发育过程中, HUFA 的相对含量却一直在降低。由于 HUFA 在甲壳动物体内不能合成^[16]或合成能力有限^[23], 因此克氏原螯虾卵巢中的 HUFA 主要来源于肝胰腺对食物脂肪的吸收或前期储存, 但各时期肝胰腺中的 HUFA 含量也比较低。造成肝胰腺 HUFA 含量偏低的原因有两种可能, 一是克氏原螯虾所摄取的食物中 HUFA 的含量比较低, 二是克氏原螯虾对食物中的 HUFA 吸收能力较弱。在对淡水罗氏沼虾营养需求的研究结果中发现, 卵巢中的 n6/n3 脂肪酸比例远大于食物中的比例, 说明相比于 n3 系列脂肪酸罗氏沼虾对 n6 系列脂肪酸特别是 C_{18:2n6} 的吸收能力更强^[24-25], 克氏原螯虾是否也有这种选择倾向还需要进一步的实验证实。

从整个卵巢发育过程来讲, Σ HUFA 在肝胰腺和卵巢中都呈下降趋势, 但 Σ HUFA 在卵巢各期的含量比在肝胰腺中的含量要高, 说明卵巢有优先选择 HUFA 的可能, 意味着虽然其在卵巢中的含量较低, 但 HUFA 依然对克氏原螯虾卵巢发育和胚胎发育有重要作用。卵巢中 HUFA 的早期含量显著高于晚期, 其可能的解释是: 在卵巢发育早期主要发生的是卵细胞的增值, 卵黄物质的积累还相对较少, 所以 HUFA(细胞膜组成物质)在早期中占的比重较大, 但随着卵细胞体积的增涨, 卵黄物质大量积累, 低饱和脂肪酸主要是 C_{18:2n6} 的增加速度大于 HUFA 的增加速度, 从而导致 HUFA 的相对含量降低。由于在整个性腺发育过程中卵巢 C_{18:2n6} 含量的增加与 HUFA 含量的减少因果关系明显, 意味着相比于 HUFA, C_{18:2n6} 在克氏原螯虾卵巢和胚胎发育过程中的作用更加重要。但是, 如果在人工饲养中向克氏原螯虾投喂含有更高比例的 HUFA 饵料, 是否对克氏原螯虾的繁殖力有促进作用; 还是克氏原螯虾在长期的进化中就适应了这种脂肪酸组成, 卵巢和胚胎发育不需要较高含量的 HUFA, 这还需要更多的实验证实。

参考文献:

[1] 戴颖, 巩雪洁, 李兵, 等. 武汉地区克氏原螯虾繁殖期的研究[J]. 动物学杂志, 2008, 43(2): 21-27.

- [2] 吕建林, 恭世园, 李浪平. 克氏原螯虾胚胎发育的初步研究[J]. 长江大学学报: 自然科学版, 2006, 4(4): 179-182.
- [3] 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.
- [4] Wen X B, Ku Y M, Zhou K Y. Growth response and fatty acid composition of juvenile *Procambarus clarkia* fed different sources of dietary lipid [J]. Agr Sci Chin, 2003, 2(5): 583-590.
- [5] 温小波, 库天梅, 罗静波. 克氏原螯虾的生理生态学研究[J]. 湖北农学院学报, 2003, 23(1): 41-44.
- [6] 谢文星, 董方勇, 谢山, 等. 克氏原螯虾的食性、繁殖和栖息习性研究[J]. 水利渔业, 2008, 28(4): 63-65.
- [7] Teshima S, Kanazawa A. Variation in lipid composition during the ovarian maturation of the prawn[J]. Bull Jpn Soc Sci Fish, 1983, 49(6): 957-962.
- [8] Galois R G. Variations de la composition lipidique tissulaire au cours de la vitellogenese chez la crevette *Penaeus indicus* Milne Edwards [J]. J Exp Mar Bio Ecol, 1984, 84: 155-166.
- [9] Harrison K E. The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapods crustaceans: a review [J]. Shellfish Res, 1990, 9(1): 1-28.
- [10] 李胜, 赵维信. 克氏原螯虾大额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.
- [11] Folch J, Lees M, Sloane Stanley G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues [J]. Biol Chem, 1957, 226(1): 497-509.
- [12] 吴旭干, 成永旭, 唐伯平, 等. 瘤背石磺产卵前后脂类和脂肪酸组成的变化[J]. 动物学报, 2007, 53(6): 1089-1100.
- [13] Teshima S I, Kanazawa A, Koshio S, Horinouchi K. Lipid metabolism of the prawn *Penaeus japonicus* during maturation: variation in lipid profiles of the ovary and hepatopancreas [J]. Comp Biochem Physiol, 1989, 92B: 45-49.
- [14] Ravid T, Tietz A, Khayat M. Lipid accumulation in the ovaries of a marine shrimp *Penaeus semisulcatus*(De Haan) [J]. J Exp Biol, 1999, 202(13): 1819-1829.
- [15] Wouters R, Molina C, Lavens P, et al. Lipid composition and vitamin content of wild female *Litopenaeus vannamei* in different stages of sexual maturation [J]. Aquaculture, 2001, 198: 307-323.
- [16] Clarke A. Lipid synthesis and reproduction in the polar shrimp *Chorismus antarticus*[J]. Mar Ecol Prog Ser, 1982(9): 81-90.
- [17] 成永旭, 赖伟, 堵南山. 十足类甲壳动物卵巢发育过程中脂肪酸的积累与肝胰腺脂肪的变化[J]. 动物学杂志, 1997, 32(2): 57-60.

- [18] Cavalli R O, Tamtin M. Variations in lipid classes and fatty acid content in tissues of wild *Macrobrachium rosenbergii*(de Man) females during maturation [J]. Aquaculture, 2001, 193: 311–324.
- [19] Reigh R C, Stickney R. Effects of purified dietary fatty acids on the fatty acid composition of freshwater shrimp, *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Aquaculture, 1989, 77: 157–174.
- [20] Yao J J, Zhao Y L, Wang Q. Biochemical compositions and digestive enzyme activities during the embryonic development of prawn, *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Aquaculture, 2006, 253: 573–582.
- [21] Alava V R, Kanazawa A, Teshima S, et al. Effect of dietary phospholipids and *n*-3 highly unsaturated fatty acids on ovarian development of kuruma prawn [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1993, 59: 345–351.
- [22] Xu X L, Ji W J, Castell J D, et al. Influence of dietary lipid sources on fecundity, egg hatchability and fatty acid composition of Chinese prawn *Penaeus chinensis* broodstock[J]. Aquaculture, 1994, 119: 359–370.
- [23] Mourente G. In vitro metabolism of C-14-polyunsaturated fatty acids in midgut gland and ovary cells from *Penaeus kerathurus* Forskal at the beginning of sexual maturation [J]. Comp Biochem Physiol, 1996, 115B: 255–266.
- [24] Cavalli R O, Lavens P, Sorgeloos P. Performance of *Macrobrachium rosenbergii* broodstock fed diets with different fatty acid composition [J]. Aquaculture, 1999, 179: 387–402.
- [25] Cavalli R O, Menschaert G, et al. Maturation performance, offspring quality and lipid Composition of *Macrobrachium rosenbergii* females fed increasing levels of dietary phospholipids [J]. Aquacult Int, 2000 (8): 41–58.

Lipid content and fatty acid composition in hepatopancreas and ovaries of *Procambrus clarkii* during ovarian maturation

CHEN Jinmin¹, WEI Hua¹, SHEN Hong², CHENG Yongxu¹, GONG Leilei³

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shanghai Development Institute of Coastal Wetland Bioresources, Shanghai 202179, China; 3. Chongming Fishery Technical Extension Center, Shanghai 202150, China)

Abstract: *Procambrus clarkii* has become a popular crustacean species for aquaculture in China, and more studies are required on the nutritional requirements of the broodstock during maturation to improve broodstock and egg quality. Lipid is an important nutrient for growth of crustaceans not only as energy sources but also as essential nutrient. Hepatopancreas is regarded as a major lipid storage and processing organ in crustaceans. To clarify the variation of the lipid content and fatty acid composition during ovarian maturation (five stages divided), lipid content and fatty acid composition in hepatopancreas and ovary of *Procambrus clarkii* were determined at each stage during ovarian maturation. The results indicated that: (1) During ovarian maturation, the gonadosomatic index (GSI) increased dramatically from 0.12% to 6.64%, while the hepatopancreas index (HSI) decreased from 7.95% to 5.31%. (2) Although the dry matter content (%) in ovaries increased from 22.29% to 55.16% between stages I and V, a significant increase in the levels of lipid content in dry matter was only observed from stage II (32.38%) to stage III(41.90%). (3) In hepatopancreas, C_{16:0}, C_{16:1n7}, C_{18:0}, C_{18:1n9}, C_{18:1n7}, C_{18:2n6} and C_{18:3n3} were the principal fatty acid (FA). Compared to hepatopancreas, ovaries also contained high C_{20:4n6} and C_{20:5n3} proportions. Among the principal fatty acid, C_{16:0}, C_{18:1n9} and C_{18:2n6} accounted for a large proportion. (4) During ovarian maturation, C_{20:4n6}, C_{20:5n3} and C_{22:6n3} decreased significantly, while C_{18:2n6} increased continuously. These results suggest that lipids in hepatopancreas may be transferred to the ovary of *P.clarkii* during maturation. The accumulation of nutrients accorded to appropriate proportions at post-stages of ovarian maturation. C_{18:2n6} may play a more vital role during the ovarian and embryonic development compared to highly unsaturated fatty acid.[Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(6): 1278–1284]

Key words: *Procambrus clarkia*; ovarian maturation; lipid content; lipid acid

Corresponding author: WEI Hua. E-mail: hwei@shou.edu.cn