中华绒螯蟹第二次卵巢发育期间卵巢和肝胰腺中主要生化成分的变化

于智勇　吴旭干　常国亮　成永旭　刘智俊　杨筱珍
(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)

摘要: 2005 年 3—5 月, 在室内养殖条件下对第一次产卵后的中华绒螯蟹进行连续采样, 系统研究了其第二次卵巢发育期间的卵巢指数(GSI)、肝胰腺指数(HSI)、卵巢外部特征的变化, 并测定了卵巢和肝胰腺中的主要生化成分(水分、蛋白、脂肪和碳水化合物)的变化。结果表明: 1. 中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中, 卵巢指数(GSI)显著增加($p < 0.05$), 肝胰腺指数(HSI)先增加后减少, GSI 与发育天数呈显著正相关性($p < 0.01$), HSI 和 GSI 的变化呈显著负相关性($p < 0.05$)。2. 第二次卵巢发育过程中, 卵巢中的水分含量显著下降, 脂肪、蛋白质和碳水化合物的含量显著上升($p < 0.05$); 肝胰腺中的水分含量显著增加($p < 0.05$), 脂肪和碳水化合物的含量显著下降($p < 0.01$), 蛋白质含量基本不变。3. 第二次发育过程中, 卵巢中的脂肪、蛋白质和碳水化合物的含量与 GSI 呈正相关($p < 0.01$), 卵巢中的水分含量与 GSI 呈显著负相关($p < 0.01$); 肝胰腺中的脂肪和碳水化合物的含量随着 HSI 的下降而显著下降, 肝胰腺中的水分含量与 HSI 呈显著负相关($p < 0.01$); 肝胰腺中的脂肪含量与 GSI 及卵巢中脂肪含量均呈显著负相关($p < 0.01$), 这说明中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中肝胰腺中的部分脂肪转运到二次卵巢中去。

关键词: 中华绒螯蟹; 二次卵巢发育; 卵巢指数; 肝胰腺指数; 生化成分
中图分类号: S963.7　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1000-3207(2007)06-0799-08

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*, H. Milne-Edwards)是我国重要的经济蟹类, 有关其卵巢发育的研究主要集中于第一次发育卵巢[1—8], 有关中华绒螯蟹第二次卵巢发育的研究极少[9]。中华绒螯蟹第一次产卵孵化后, 通常会进行第二次产卵(在此期间不需要再交配), 第二次产卵前的卵巢发育时间为 1—2 个月, 远短于第一次卵巢发育的时间(通常从 8 月底开始延续到 12 月份 3—4 个月)[1, 7, 10]。因此, 深入研究中华绒螯蟹第二次卵巢发育规律对于进一步认识中华绒螯蟹的繁殖生物学具有重要的理论价值。

肝胰腺是虾蟹类主要的营养物质吸收和储存器官, 对甲壳动物的生长和生殖具有极其重要的作用[4, 11, 12], 系统研究卵巢发育过程中肝胰腺和卵巢中主要生化成分的变化, 有助于认识其营养繁殖机理和亲本营养需求[13—15], 也是甲壳动物繁殖生物学的研究热点之一[16, 17]。鉴于此, 本文系统研究了室内养殖条件下中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中卵巢指数、肝胰腺指数及其主要生化成分的变化, 以丰富中华绒螯蟹繁殖生物学的研究内容, 也可为中华绒螯蟹的亲本培育提供理论依据和实践参考。

1　材料与方法

1.1　实验动物和养殖管理　所有实验用蟹于 2005 年 3 月 10 日购自江苏昆山市阳澄湖附近的养殖池塘, 精心挑选规格接近、四肢健全、卵巢发育良好的雌体 100 只(体重 90—135 g), 雄体 50 只(体重 150—175 g), 作为实验亲本。实验用蟹饲养于 60 cm × 40 cm × 45 cm 的玻璃水族箱中, 水深 30 cm, 内放瓦片供亲本蟹隐蔽, 每箱放入 2 只雌蟹, 暂养一周后将水族箱内的淡水换成盐度为 15 的海水, 同时每箱放入 1 只雄蟹交配, 箱底铺 10 cm 左右的细砂供亲本产卵, 每日检查亲本蟹的抱卵情况, 及时移出抱卵蟹, 并准确记录产卵时间。为方便采样, 在亲本的甲壳上进行编号。

所有抱卵蟹均饲养于相同规格的水族箱中, 每箱 2 只, 每日 16:00 时投喂足量的新鲜绒螯

收稿日期: 2007-04-23; **修订日期**: 2007-07-09
基金项目: 国家自然科学基金(39900112; 30471349); 上海市教委重点学科项目(科 04-130); 上海市重点学科项目(Y1101) 联合资助
作者简介: 于智勇(1983—), 男, 汉族, 江西南昌人; 硕士研究生; 主要从事水产动物营养与繁殖生物学的研究。Tel: 021-65711346, E-mail: xgwu@shfu.edu.cn; fishswiml@sohu.com
通讯作者: 成永旭, Tel: 021-65711346, 13371935236, E-mail: yxcheng@shfu.edu.cn

(*Sinonovacula constricta*),次日上午清除残饵并换新鲜海水 30 %—50 %。实验期间,24h 连续增氧,自然光照,水温为 15—20 ℃, pH 值 7.0—8.5, NH_4^+-N < 0.5mg/L, NO_2^--N < 0.15 mg/L。

1.2 样品采集 根据亲本蟹的具体抱卵时间,自抱卵后每隔 2—3 天采样一次,每次采样 2—3 只亲本蟹,直到第二次卵巢发育基本成熟,出现大量第二次抱卵的亲本便停止采样,实验采样共持续 45d。准确称重亲本蟹后进行活体解剖,取出体内的全部卵巢和肝胰腺并称重(精确到 0.1g),然后据此计算卵巢指数(GSI, %) = 卵巢重(g) ×100/体重(g);肝胰腺指数(HSI, %) = 肝胰腺重(g) ×100/体重(g),同时观察并记录卵巢的外部特征,所采样品于 -70 ℃超低温冰箱中保存待生化成分测定。参考薛鲁征等的方法[1]将中华绒螯蟹第二次卵巢发育分为 4 期: Ⅰ期 刚排卵,卵巢为乳白色细带状,卵巢发育缓慢; Ⅱ期 卵巢淡黄色或者红色,卵巢发育加快,肉眼很难发现卵粒; Ⅲ期 卵巢呈深红色或者酱紫色,进入卵黄发生旺期,卵粒清晰可见; Ⅳ期 卵巢发育基本成熟,卵巢指数不再增长,卵粒大小均匀,即将进行二次排卵。

1.3 生化分析 根据 AOAC 标准方法[18]采用凯氏定氮法测定样品中的蛋白质含量; 按 Folch 法[19]用氯仿:甲醇(V:V = 2:1)提取组织中脂肪; 碳水化合物的提取按照 Holland 等的方法[20],采用苯酚-硫酸法测定碳水化合物含量,标样为葡萄糖; 取 0.5 g 左右的湿样于 70 ℃下烘干测定水分含量。每期样品均重复测定 9—15 只亲本。

1.4 数据处理 采用 SPSS 11.0 软件对实验数据进行统计分析,用 Levene 法进行方差齐性检验,当不满足齐性方差时对百分比数据进行反正弦或者平方根处理,采用 ANOVA 对实验结果进行方差分析,采用 Duncan's 法进行多重比较,取 $p < 0.05$ 为差异显著, $p < 0.01$ 为差异极显著,在 EXCEL 上绘制相关图表。

2 结果与分析

2.1 中华绒螯蟹第二次卵巢发育期间的卵巢指数和肝胰腺指数的变化

由表 1 可知,中华绒螯蟹第二次卵巢发育期间,卵巢指数(GSI)增加显著,肝胰腺指数(HSI)显著下降,卵巢发育早期(第一次产卵后 1—20d), GSI 增长缓慢,由 Ⅰ期的(0.82 ±0.16) %上升至 Ⅱ期的(1.19 ±0.27) %,此后 GSI 增长速度加快,到Ⅳ期 GSI 高达(5.42 ±0.94) %; 第二次卵巢发育期间, HSI 表现为先上升后下降的趋势。通过回归分析和相关性检验发现,第二次卵巢发育过程中 GSI 和第一次产卵后的卵巢发育天数呈极显著正相关(n = 43, $p < 0.01$,见图 1),GSI 的增长和 HSI 的下降呈显著负相关性(n = 43, $p < 0.05$,见图 2),特别是第二次卵巢发育后期(第一次产卵后 20—40d) HSI 下降显著。此外,第二次卵巢发育过程中,卵巢的颜色经历了由乳白色-淡黄色-浅红色-肉红色-酱紫色的变化,卵巢外部特征变化明显(表 1)。

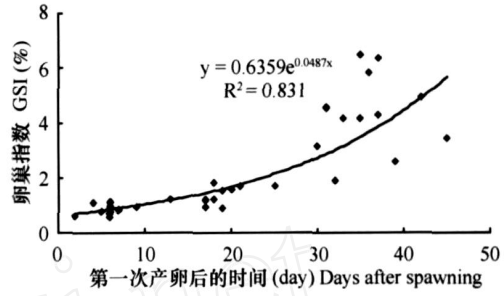


图 1 中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中 GSI 和发育时间的关系

Fig. 1 Correlation of GSI and days after spawning during the second ovarian development of *Eriocheir sinensis*

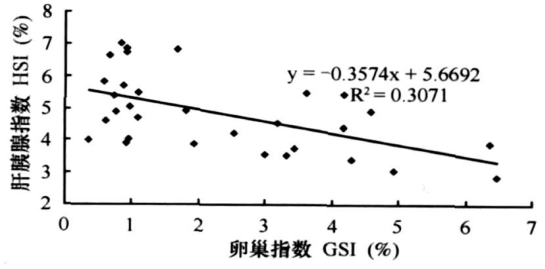


图 2 中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中 GSI 和 HSI 的关系

Fig. 2 Correlation of GSI and HSI during the second ovarian development of *Eriocheir sinensis*

2.2 中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中卵巢和肝胰腺中主要生化成分的变化

由表 2 可知,中华绒螯蟹第二次卵巢发育期间,卵巢中的水分含量显著下降($p < 0.01$),由 Ⅰ期的(79.26 ±1.09) %下降到 Ⅳ期的(58.32 ±0.96) %,水分含量的下降主要发生在 Ⅱ—Ⅲ期,其降幅达 11.41 %。第二次卵巢发育期间,卵巢中的脂肪、蛋白质和碳水化合物含量均显著上升($p < 0.05$),脂肪含量的上升主要发生在 Ⅱ—Ⅲ期,碳水化合物含量的上升主要发生在 Ⅲ—Ⅳ期,蛋白含量的递增比较平稳,平均每期增加 2 %—3 %。由表 3

可见,第二次卵巢发育过程中,肝胰腺中的水分含量呈显著上升趋势,特别是Ⅱ—Ⅲ期水分含量上升了18.86 %,而脂肪和碳水化合物含量则表现为先上升后下降趋势,Ⅱ—Ⅲ期的下降幅度达70 %左右;整个二次卵巢发育期间,肝胰腺中的蛋白含量一直稳定在11 %左右。

表1　中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中各期的GSI、HSI发育时间及卵巢外部特征

Tab. 1　Gonadosomatic index (GSI), hepatosomatic index (HSI), days after spawning (DAS) and external feature of ovary among the different ovarian development stages during the second ovarian development of *Eriocheir sinensis*

卵巢发育期 Ovarian stage	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ
样本量 Sample number	11	16	9	7
卵巢指数 GSI (%)	0.82 ±0.16^{a}	1.19 ±0.27^{b}	3.43 ±0.87^{c}	5.42 ±0.94^{d}
肝胰腺指数 HSI (%)	5.01 ±0.91^{b}	6.17 ±1.01^{c}	4.60 ±1.10^{ab}	3.78 ±0.75^{a}
产卵后的天数 Days after spawning	1—7	6—25	18—36	31—45
卵巢外部特征 External feature of ovary	白色或淡黄色	黄色或者肉红色	深红或咖啡色,肉眼可见卵粒	酱紫色,出现部分游离卵
第一次产卵的胚胎发育阶段 Development stage of first embryo	卵裂期到原肠期	卵内无节幼体到胚胎孵化	胚胎孵化后0—15d	胚胎孵化后10—20d

注:表中同行数据右上标不同表示组间差异的差异显著($p < 0.05$),以下图表相同

Note: Values that do not share the same letter on the superscript are significantly different. The same footnotes are to the following tables and figures

表2　中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中卵巢中的主要生化成分的变化(%)

Tab. 2　Changes in the main biochemical composition of ovary during the second ovarian development of *Eriocheir sinensis*

卵巢发育期 Ovarian stage	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ
水分含量 Moisture (%)	79.26 ±1.09^{d}	76.75 ±2.06^{c}	65.34 ±2.35^{b}	58.32 ±0.96^{a}
脂肪/湿重 TL/WW(%)	2.79 ±0.74^{a}	3.46 ±0.48^{a}	9.61 ±1.29^{b}	11.77 ±0.55^{c}
蛋白/湿重 Protein/WW(%)	13.13 ±0.63^{a}	15.46 ±0.19^{b}	18.43 ±1.20^{c}	21.47 ±1.31^{d}
碳水化合物/湿重 Carbohydrate/WW (%)	0.61 ±0.08^{ab}	0.50 ±0.03^{a}	0.73 ±0.16^{b}	1.18 ±0.23^{c}

表3　中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中肝胰腺中的主要生化成分的变化

Tab. 3　Changes in the main biochemical composition of hepatopancreas during the second ovarian development of *Eriocheir sinensis*

卵巢发育期 Ovarian stage	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ
水分含量 Moisture(%)	62.50 ±9.52^{a}	59.01 ±8.54^{a}	77.87 ±5.74^{b}	79.01 ±5.59^{b}
脂肪/湿重 TL/WW(%)	25.33 ±6.06^{a}	28.98 ±9.84^{a}	5.21 ±2.43^{b}	5.32 ±2.75^{b}
蛋白/湿重 Protein/WW(%)	11.24 ±2.65	10.79 ±1.55	10.96 ±1.39	10.97 ±2.49
碳水化合物/湿重 Carbohydrate/WW (%)	1.28 ±0.33^{b}	2.08 ±0.73^{a}	0.62 ±0.02^{c}	0.46 ±0.18^{c}

2.3　中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中卵巢指数和肝胰腺指数与主要生化成分含量的相关性

由图3可知,中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中,随着GSI的增长,卵巢中的水分含量与GSI呈显著负相关($n = 30$, $p < 0.01$);卵巢中的脂肪含量随着GSI的增长而显著增加(图4, $n = 31$, $p < 0.01$),当GSI增加到3 %左右,卵巢中的脂肪含量达10 % (脂肪/湿重)左右,此后卵巢中的脂肪含量增长缓慢;卵巢中蛋白质含量也随着GSI的上升而显著增加($n = 28$, $p < 0.01$),但是当卵巢指数大于1.8 %时,卵巢中的蛋白质含量增加缓慢,通常在

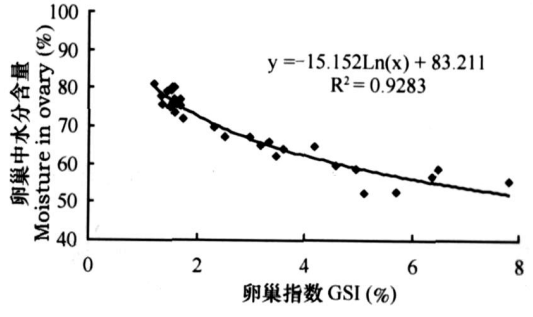


图3　中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中GSI和卵巢水分含量的关系

Fig. 3　Correlation of GSI and moisture in ovary during the second ovarian development of *Eriocheir sinensis*

20 %左右(图 5);卵巢中碳水化合物的含量随着 GSI 的增长而呈正线性相关(图 6, n = 34, $p < 0.01$)。

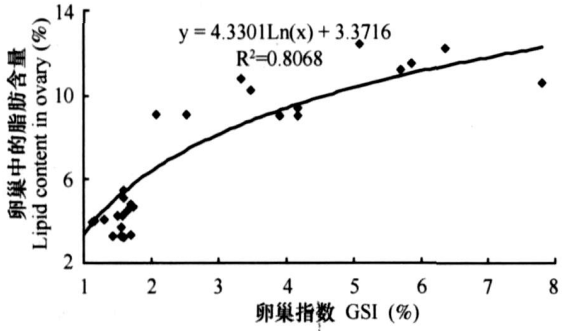


图 4 中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中 GSI 和卵巢中脂肪含量的关系(%湿重)

Fig. 4 Correlation of GSI and lipid content in ovary during the second ovarian development of *Eriocheir sinensis* (% wet weight)

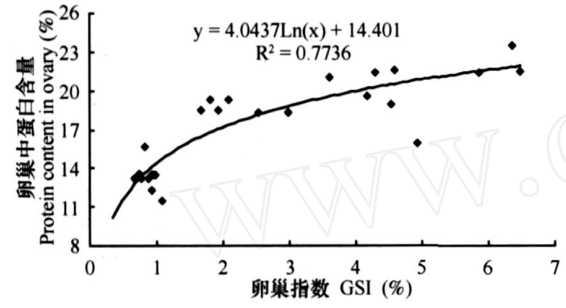


图 5 中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中 GSI 和卵巢中蛋白含量的关系(%湿重)

Fig. 5 Correlation of GSI and protein content in ovary during the second ovarian development of *Eriocheir sinensis* (% wet weight)

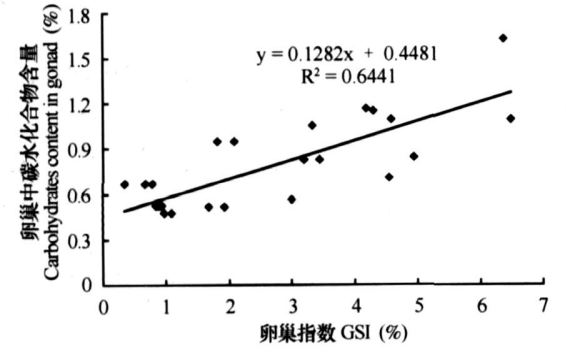


图 6 中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中 GSI 和卵巢中碳水化合物含量的关系(%湿重)

Fig. 6 Correlation of GSI and carbohydrate content in ovary during the second ovarian development of *Eriocheir sinensis* (% wet weight)

肝胰腺中的水分含量随着 HSI 的减少而显著增加(图 7, n = 28, $p < 0.01$);肝胰腺中的脂肪含量和 HSI 呈正相关,随着二次卵巢发育进行, HSI 与其脂肪及碳水化合物含量均显著下降(图 8, n = 21, $p < 0.01$;图 10, n = 23, $p < 0.01$);而肝胰腺中的蛋白含量与 HSI 无显著相关性(图 9)。进一步的相关性分析表明,随着 GSI 的增加肝胰腺中的脂肪含量显著下降(图 11, n = 22, $p < 0.01$),卵巢中的脂肪含量与肝胰腺中的脂肪含量具有负相关性(图 12, n = 18, $p < 0.01$),这说明中华绒螯蟹第二次卵巢发育

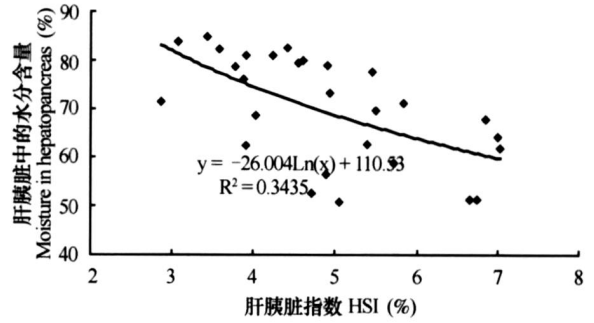


图 7 中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中 HSI 和肝胰腺水分含量的关系(%湿重)

Fig. 7 Correlation of HSI and protein content in hepatopancreas during the second ovarian development of *Eriocheir sinensis* (% wet weight)

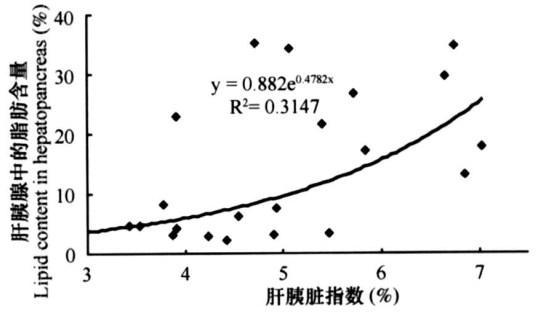


图 8 中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中 HSI 和肝胰腺脂肪含量的关系(%湿重)

Fig. 8 Correlation of HSI and lipid content in hepatopancreas during the second ovarian development of *Eriocheir sinensis* (% wet weight)

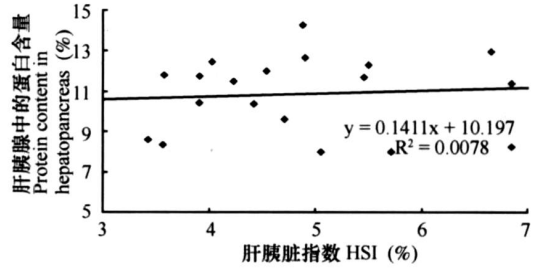


图 9 中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中 HSI 和肝胰腺蛋白含量的关系(%湿重)

Fig. 9 Correlation of HSI and protein content in hepatopancreas during the second ovarian development of *Eriocheir sinensis* (% wet weight)

过程中,肝胰腺中的部分脂肪被转运到快速发育的卵巢中。

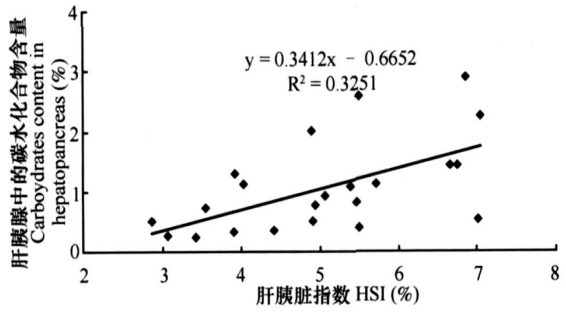


图 10　中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中 HSI 和肝胰腺碳水化合物含量的关系(%湿重)

Fig. 10　Correlation of HSI and carbohydrate content in hepatopancreas during the second ovarian development of *Eriocheir sinensis* (% wet weight)

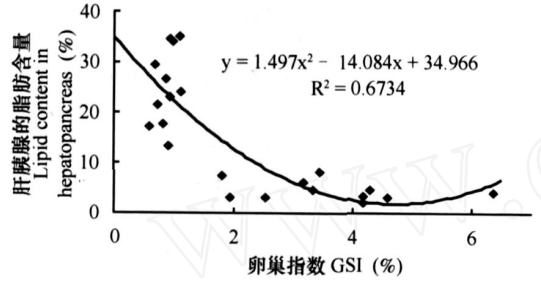


图 11　中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中肝胰腺中的脂肪含量与 GSI 的关系(%湿重)

Fig. 11　Correlation of lipid content in hepatopancreas and GSI during the second ovarian development of *Eriocheir sinensis* (% wet weight)

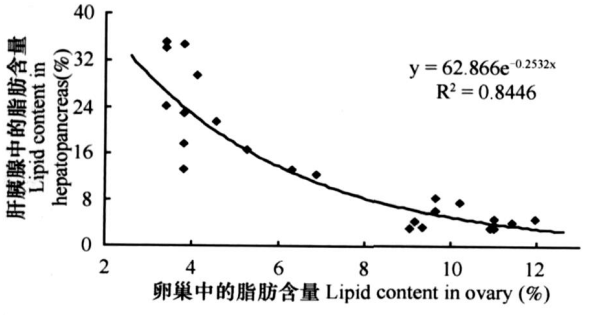


图 12　中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中肝胰腺中的脂肪含量与卵巢中脂肪含量的关系(%湿重)

Fig. 12　Correlation of lipid content in hepatopancreas and ovary during the second ovarian development of *Eriocheir sinensis* (% wet weight)

3　讨　论

3.1　中华绒螯蟹第一次和第二次卵巢发育过程的比较

中华绒螯蟹第一次卵巢发育通常从每年 8 月底延续到 12 月份,持续时间约为 3 —4 个月,而第二次卵巢发育时间为 1 —2 个月(第一次产卵到第二次产卵的间隔),其主要原因有二: 1. 两次卵巢发育的起点不同,第一次卵巢发育起点由卵原细胞开始逐步发育为成熟的卵母细胞,卵原细胞的生成需要较长时间,而第二次卵巢发育的起点主要为卵黄合成前的卵母细胞和内源卵黄合成期的卵母细胞,所以需要的时间较短[21, 22];2. 交配纳精可以加快蟹类卵巢发育和最后成熟[21—24],中华绒螯蟹第一次卵巢发育期间并没有交配纳精,而第二次卵巢发育前已经交配纳精。此外,Sagi 等认为红螯螯虾(*Cherax quadricarinatus*)第一次和第二次卵巢发育及产卵的内分泌调节机理有所不同[25],有关中华绒螯蟹第一次和第二次卵巢发育过程中内分泌调节有待于进一步研究。中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中,GSI 增长与 HSI 的变化也呈显著负相关性(图 2),但下降幅度仅为 1 %左右,而第一次卵巢发育过程中 HSI 下降幅度达 3 %以上[4]。这是因为中华绒螯蟹第一次卵巢发育后期(晚秋到初冬),自然界的食物条件相对较少,所以需要在肝胰腺中储存足够的营养物质来供应此后的卵巢发育[10],而第二次卵巢发育开始时肝胰腺指数仅为 5 %左右,其中的储存脂类较少,所以下降幅度不大。

中华绒螯蟹第一次胚胎未孵化前,第二次卵巢发育速度十分缓慢,直到第一次产卵的胚胎孵化时,雌体的最高 GSI 仅为 1. 70 %,此后二次卵巢的发育速度显著加快(图 1)。这是因为在第一次抱卵期间,亲本蟹经常煽动腹部以保证胚胎的正常发育,这需要消耗大量的能量,在一定程度上抑制了第二次卵巢发育[13, 26]。本研究表明,即使在饵料充足的条件下,中华绒螯蟹第二次发育成熟的 GSI 只有 4 % —7 %,远低于第一次发育成熟时的 10 % —14 %,这与南天佐的研究结果基本一致[27],进一步研究表明中华绒螯蟹第二次产卵的生殖性能和苗种质量远低于第一次产卵,因此实际生产中不宜采用第二次产卵的中华绒螯蟹亲本进行人工育苗[28]。但是,三疣梭子蟹的第一次和第二次发育成熟的 GSI、卵径和生殖性能均比较接近[29],造成这种间差异的具体原因有待进一步深入研究。

3.2　中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中主要生化组成的变化

中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中,卵巢中脂肪含量增加幅度最大,增加幅度为 300 %以上,这说明脂类营养对于中华绒螯蟹卵巢和胚胎发育具有十

分重要的意义[5,6]。而卵巢中蛋白质和碳水化合物含量仅增加 1 倍左右,且主要发生在 Ⅰ期—Ⅱ期,Ⅲ期—Ⅳ期发育过程中主要生化成分含量增加幅度均较小,这是因为Ⅱ期卵巢中主要为外源性卵黄合成期的卵母细胞,Ⅲ期—Ⅳ期卵巢中卵母细胞的种类及组成比例变化不大,此阶段主要是积累卵黄物质[1,23],而卵黄物质中脂类、蛋白和碳水化合物的组成比例比较稳定[30,31],所以此阶段卵巢中主要生化成分的含量增加幅度不大。第二次卵巢发育过程中卵巢中水分和脂肪含量的变化规律与第一次卵巢发育基本相似[5,6],但是第二次发育成熟的卵巢脂肪/湿重仅为(11.77 ±0.55) %显著低于第一次的(17.78 ±3.51) %,但第一次和第二次成熟卵巢中脂肪/干重均为 30 %左右。尽管卵巢中碳水化合物含量较低,但是含量却在不断上升,因为卵巢中的碳水化合物主要与甲壳动物胚胎和初孵幼体甲壳形成有关[33,34],所以碳水化合物是卵巢发育所必需的营养物质。

中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中,HSI 及其脂肪含量呈先上升后下降趋势,这是因为第二次卵巢发育前期 GSI 增长缓慢,所以中华绒螯蟹雌体可以预先在肝胰腺中积累部分营养物质供此后的卵巢发育。随着第一次胚胎的孵化,第二次卵巢发育速度显著加快,因而肝胰腺中的脂类和碳水化合物被大量转移到快速发育的卵巢,所以肝胰腺中的脂肪含量与 GSI 呈显著负相关(图 11)。中华绒螯蟹第二次卵巢发育过程中,肝胰腺中蛋白质含量基本保持不变,这是因为蛋白质不是甲壳动物肝胰腺中存储的主要营养物质,所以肝胰腺中的蛋白质含量与 GSI 及 HSI 均无显著相关性,这在其他虾蟹类中具有普遍性[16,17]。第二次卵巢发育到成熟阶段,肝胰腺中的水分含量高达(79.01 ±5.59) %,脂肪含量仅为(5.32 ±2.75) %,成永旭等发现此时大部分肝胰腺处于解体状态,大部分 R 细胞已从肝小叶脱落,F 细胞很少见,所以肝胰腺基本不再具备从外界吸收和储存营养物质的功能[4]。

参考文献:

[1] Xue L Z, Du N S, Lai W. Histology of female Reproductive system in Chinese mitten-handed crab, *Eriocheir Sinensis* [J]. *Journal of East Normal University* (Nature Science), 1987, (3): 88—96 [薛鲁征, 堵南山, 赖伟. 中华绒螯蟹雌性生殖系统的组织学研究. 华东师范大学学报(自然科学版), 1987, (3):88—96]

[2] Du N S, Lai W, Nan C R, *et al*. The morphology and ultrastructure of the mature egg of *Eriocheir sinensis* [J]. *Acta Zoologica Sinica*, 1995, **41**(3): 229—234 [堵南山, 赖伟, 南春容, 等. 中华绒螯蟹成熟卵形态和超微结构的研究. 动物学报, 1995, **41**(3): 229—234]

[3] Du N S, Lai W, Chen P C, *et al*. Studies on vitellogensis of *Eriocheir sinensis* [J]. *Acta Zoologica Sinica*, 1999, **45**(1): 88—92 [堵南山, 赖伟, 陈鹏程, 等. 中华绒螯蟹卵黄形成的研究. 动物学报, 1999, **45**(1): 88—92]

[4] Cheng Y X, Du N S, Lai W. Lipid composition in hepatopancreas of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* at different stages [J]. *Acta Zoologica Sinica*, 1998, **44**(4): 420—429 [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. 动物学报, 1998, **44**(4): 420—429]

[5] Cheng Y X, Du N S, Lai W. The lipid accumulation during the stages of the ovarian fast maturation and their effect on the spawning of *Eriocheir sinensis* [J]. *Journal of Fishery of China*, 2000, **24**(2): 113—119 [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及对抱卵的影响. 水产学报, 2000, **24**(2): 113—119]

[6] Wen X B, Chen L Q, Ai C X, *et al*. Variation in lipid composition of Chinese mitten-handed crab, *Eriocheir sinensis* during ovarian maturation [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2001, **130**B: 95—104

[7] Li S F, Wang C H, Zhao N G.. Studies on gonad developmental rule of lake stocked mitten crab of Yangtze population [J]. *Acta Hydrobiologia Sinica*, 2001, **25**(4): 350—356 [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. 水生生物学报, 2001, **25**(4): 350—356]

[8] 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 [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. 上海水产大学学报, 2003, **12**(2): 106—112]

[9] Yang X Z, Wu X G, Cheng Y X, *et al*. Ultrastructure of oocytes and follicular cells during vitellogenesis of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. *Journal of Fishery of China*, 2007, **31**(2): 171—177 [杨筱珍, 吴旭干, 成永旭, 等. 中华绒螯蟹卵黄发生期卵母细胞和卵泡细胞超微结构观察. 水产学报, 2007, **31**(2): 171—177]

[10] Zhang L S, Li J. The breeding and culture of Chinese mitten crab [M]. Beijing: JingDun Press. 2002, 135—142 [张列士, 李军. 河蟹增养殖技术. 北京: 金盾出版社. 2002, 135—142]

[11] Vogt G, Storch V, Quinito T, *et al*. Midgut gland as monitor organ of the nuritional value of diets in *Penaeus monodon* [J]. *Aquaculture*, 1985, **48**: 1—12

[12] Fang Z P, Pan Q S, Huang F J, *et al*. Studies on histology and scanning electron microscope of digestive tract of Chinese mitten-handed crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. *Acta Hydrobiologia Sinica*, 2002, **26**(2): 136—141 [方之平, 潘黔生, 黄凤杰, 等. 中华绒螯蟹消化道组织学及扫描电镜研究. 水生生物学报, 2002, **26**(2): 136—141]

[13] Cheng Y X, Li S J, Wang G Z, *et al*. Changes in lipid class and

fatty acid compositions in the ovaries and hepatopancreas of the mud crab *Scylla serrata* during the vitellogensis of the second ovarian maturation [J]. *Acta Oceanologgica Sinica*, 2001, **23**(3): 66—77 [**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. 海洋学报**, 2001, **23**(3): 66—77]

[14] 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

[15] Rosa R, Numes M L. Biochemical changes during the reproductive cycle of the deep-sea decapod *Nephrops norvegicus* on the south coast of Portugal [J]. *Marine Biology*, 2002, **141**: 1001—1009

[16] Hasek B E, Felder D L. Biochemical composition of ovary, embryo, and hepatopancreas in the grapsoid crabs *Armases cinereum* and *Sesarma nr. reticulatum* (Crustacea, Decapoda) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2005, **140**B: 455—463

[17] Rodriguez-Gonzalez H, Hernandez-Llamas A, Villarreal H, *et al*. Gonadal development and biochemical composition of female crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae) in relation to the Gonadosomatic Index at first maturation [J]. *Aquaculture*, 2006, **254**: 637—645

[18] Williams S. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 14th[M]. Washington: Science Press. 1985, 114

[19] 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, **226**: 497—509

[20] 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]. *JMBA*, 1971, **51**: 659—668

[21] Shangguan B M, Liu Z Z, Li S J. Histological studies on ovarian development in *Scylla serrata* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1991, **15**(2): 96—102 [**上官步敏, 刘正琮, 李少菁. 锯缘青蟹卵巢发育的组织学观察. 水产学报**, 1991, **15**(2): 96—102]

[22] Okumura T, Aida K. Hemolymph vitellogenin levels and ovarian development during the reproductive and non-reproductive molt cycles in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* [J]. *Fisheries Science*, 2000, **66**: 678—685

[23] Gu Z M, He L G. Histological and cytological and observation on the development cycle of crab (*Eriocheir Sinensis*) [J]. *Oceanologia ET Limnologia Sinica*, 1997, **28**(2): 138—145 [**顾志敏, 何林岗. 中华绒螯蟹卵巢发育周期的组织学细胞学观察. 海洋与湖沼**, 1997, **28**(2):138—145]

[24] Cheng Y X, Li S J, Wang G Z, *et al*. Structural modulation of the area between oocytes and follicular cells during vitellogenesis of the mud crab (*Scylla Serrata*) [J]. *Acta Zoologica Sinica*, 2002, **48**(1): 80—92 [**成永旭, 李少菁, 王桂忠, 等. 锯缘青蟹卵黄发生期卵母细胞和卵泡细胞之间的结构变化. 动物学报**, 2002, **48**(1): 80—92]

[25] Sagi A, Shoukrun R, Levy T, *et al*. Reproduction and molt in previously spawned and first-time spawning red-claw crayfish *Cherax quadricarinatus* females following eyestalk ablation during the winter reproductive-arrest period [J]. *Aquaculture*, 1997, **156**: 101—111

[26] Zhao W X, Wei H, Wang Z Q, *et al*. Induced synchronous spawning in giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1995, **19**(4): 289—296 [**赵维信, 魏华, 汪志强, 等. 人工诱导罗氏沼虾产卵与卵巢组织学研究. 水产学报**, 1995, **19**(4): 289—296]

[27] Nan T Z. Studies on the ultrastructure of ovary, lipid composition and the reproductive performance of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) broodstock during the second ovary development [D]. Thesis of Master Science. Shanghai Fisheries University, Shanghai. 2005 [**南天佐. 中华绒螯蟹第二次发育中卵巢超微结构、脂类组成及生殖性状的研究. 上海水产大学硕士论文, 上海**. 2005]

[28] Nan T Z, Cheng Y X, Wu X G, *et al*. Comparison on the first and second berried crab on embryo and larval quality (Z_1) of *Eriocheir sinensis* [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2006, **15**(1):41—46 [**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 Z_1 幼体质量的比较. 上海水产大学学报**, 2006, **15**(1): 41—46]

[29] Chen S L. Studies on biochemical composition changes during the development of gonad and embryo of female swimming crab, *Portunus trituberculatus* [D]. Thesis of Master Science. Shanghai Fisheries University, Shanghai. 2006 [**陈石林. 三疣梭子蟹卵巢及胚胎发育过程中生化组成的变化研究. 硕士学位论文, 上海水产大学, 上海**. 2006]

[30] Lee R F, Walker A. Lipovitellin and lipid droplet accumulation in oocytes during ovarian maturation in the blue crab, *Callinectes sapidus* [J]. *J Exp. Zoo*, 1995, **271**: 401—412

[31] Serrano-pinto V, Vazquez-Boucard C, Villarreal-clmenares H. Yolk proteins during ovary and egg development of mature female freshwater crayfish (*Cherax quadricarinatus*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2003, **134**A: 33—43

[32] Wen X B, Chen L Q, Ai C X, *et al*. Variation in lipid composition of Chinese mitten-handed crab, *Eriocheir sinensis* during ovarian maturation [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2001, **130**B: 95—104

[33] Babu D E. Observations on the embryonic development and energy source in the crab *Xantho bidentatus* [J]. *Marine Biology*, 1987, **95**: 123—127

[34] Garcia-Guerrero M, Humberto V, Racotta I S. Effect of temperature on lipids, proteins, and carbohydrates levels during development from egg extrusion to juvenile stage of *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae) [J]. *J. Crust. Biol*, 2003, **23**: 1—6

CHANGES IN THE MAIN BIOCHEMICAL COMPOSITION IN OVARIES AND HEPATOPANCREAS OF CHINESE MITTEN CRAB, ERIOCHEIR SINENSIS (H. MILNE-EDWARDS) DURING THE SECOND OVARIAN DEVELOPMENT

YU Zhi-Yong, WU Xu-Gan, CHANG Guo-Liang, CHENG Yong-Xu, LIU Zhi-Jun and YANG Xiao-Zhen

(*Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquaculture Ecosystem Certificated by the Ministry of Agriculture, Shanghai Fisheries University, Shanghai* 200090, *China*)

Abstract: Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* is a very important aquaculture species in China. Because of high edible yield, delicate flavour, excellent nutritional quality and rapid growth, the crab has been widely cultured and stocked in ponds, reservoirs and lakes after 1990's. As a consequence, the aquaculture production of this species had increased from 8,000 tons in 1991 to approximately 500,000 tons in 2004. Female *E. sinensis* is known to be able to spawn more than one batch of eggs after a single mating, which will take approximately one or two month to develop their ovaries for the second spawning after the first spawning. There are some differences between the first ovarian development and the second ovarian development of *E. sinensis*, i.e. the first ovarian development always lasts 3-4 months, while the second ovarian development only takes 1-2 months. Although there are many researches conducted to investigate the first ovarian development, only one available literature could be found on the second ovarian development of *E. sinensis*. So, the present study aimed to investigate the changes of the gonadosomatic index (GSI), hepatosomatic index (HSI), external features of ovary, main biochemical composition in ovaries and hepatopancreas during the second ovarian development of *E. sinensis*, which should provide valuable information for comprehending the reproductive biology and optimizing broodstock breeding on female *E. sinensis*.

During March to May in 2005, the mature female *E. sinensis* were held in the indoor captive conditions and fed with fresh clam, *Sinonovacula constricta*. After the mating, the spawned females were sampled and dissected to investigate the changes of the GSI, HSI, external features of ovary. Furthermore, the main biochemical composition in ovaries and hepatopancreas were determined during the second ovarian development of *E. sinensis*. The results showed that: 1. During the second ovarian development of *E. sinensis*, the GSI increased significantly from 0.82 % in stage Ⅰ to 5.42 % in stage Ⅳ, which was significantly lower than the GSI in stage Ⅳ (GSI 10 %—14 %) during the first ovarian development. The ovary developed slowly during the berried period of female *E. sinensis*, which could be explained that the more energy was consumed by agitating their abdomens for embryonic development. 2. However, the HSI rose slightly, then declined gradually during the period. The positive correlation could be found between GSI and days after spawning (DAS) and the negative correlation could be observed between GSI and HSI during the second ovarian development. 3. The moisture in ovary decreased significantly, while the lipid, protein and carbohydrate content increased significantly. However the moisture in hepatopancreas increased significantly, the lipid and carbohydrate content decreased dramatically. 4. The correlative analysis showed that there were significantly positive correlations between the lipid, protein, carbohydrate content and GSI, and the negative correlation was found between GSI and moisture in ovary. The similar trend was also found between those biochemical compositions in hepatopancreas and HSI except for protein level in hepatopancreas, which was constant (10 %—12 % of wet weight) during the second ovarian development. The lipid content in hepatopancreas and ovary was negative correlation during the period, which indicated that the hepatic lipid was transported to ovary during the second ovarian development of *E. sinensis*.

Key words: *Eriocheir sinensis*; The second ovarian development; Hepatosomatic index; Gonadsomatic index; Biochemical composition