

雌性克氏原螯虾不同性腺发育时期 肝胰腺生化组成变化

李 住, 陆锦天, 刘智俊*

上海市水产技术推广站, 上海

Email: *13764381007@163.com

收稿日期: 2020年8月30日; 录用日期: 2020年9月15日; 发布日期: 2020年9月22日

摘要

本实验研究了克氏原螯虾不同发育时期肝胰腺指数变化情况, 并比较了肝胰腺中蛋白、总脂、总糖、水分及脂肪酸组成变化, 结果表明, 1) 克氏原螯虾肝胰腺指数在性腺发育处于六期时(排卵后)和一期时最高, 随着性腺发育逐步成熟, 雌性克氏原螯虾肝胰腺指数持续下降, 此时期也是崇明地区克氏原螯虾的繁殖高峰, 性腺发育处于四期时, 肝胰腺指数达到最低值。2) 随着性腺的发育, 肝胰腺中水分含量逐渐升高, 肝胰腺的干物质中, 蛋白、总糖含量均随着性腺发育显著下降。3) 肝胰腺脂肪酸组成上, C16:0 随着性腺发育逐渐减少, C16:1n7和C18:3n3随着性腺发育先增加后减少, 产卵后达到最低, 而C18:2n6 随着性腺发育逐渐增加。4) 三种高不饱和脂肪酸C20:4n6 (花生四烯酸ARA), C20:5n3 (EPA), C22:6n3 (DHA)均呈显著减少趋势。

关键词

克氏原螯虾, 肝胰腺, 生化组成, 性腺发育

Biochemical Composition Changes of Hepatopancreas during Gonadal Development of Female Crayfish *Procambarus clarkia*

Zhu Li, Jintian Lu, Zhijun Liu*

Shanghai Fisheries Technical Extension Station, Shanghai

Email: *13764381007@163.com

*通讯作者。

Received: Aug. 30th, 2020; accepted: Sep. 15th, 2020; published: Sep. 22nd, 2020

Abstract

This study investigated the variation of hepatopancreas index (HSI), as well as hepatosomatic moisture, lipid, protein, carbo and fat acid contents, of female crayfish (*Procambarus clarkia*) during the ovarian development period. The results showed that: 1) The decreasing trend was observed on HSI with the development of *P. clarkia* ovarian from Stage I to Stage IV, but further ovarian development from Stage V to Stage VI increased the HSI. 2) Hepatosomatic moisture showed a slightly increasing trend with the ovarian development, but hepatosomatic protein and carbo contents showed markedly deceasing trends with ovarian development. 3) As for fat acid composition, C16:0 and C18:2n6 respectively showed a slightly decreasing and increasing trend with ovarian development, in addition, C16:1n7 and C18:3n3 both showed an increasing trend with ovarian development from Stage I to Stage IV, but leveled off thereafter. 4) C20:4n6 (ARA), C20:5n3 (EPA) and C22:6n3 (DHA) all showed a decreasing trend with ovarian development.

Keywords

Crayfish (*Procambarus clarkia*), Hepatopancreas, Biochemical Composition, Gonadal Development

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

克氏原螯虾(*Procambarus clarkia*), 俗称小龙虾, 原产于美国东南部和墨西哥, 随着人类的活动和自然扩散逐渐分布到世界各地, 目前在我国广泛分布, 已归化为我国最重要的水产资源之一[1], 2016 年克氏原螯虾产量首次超越中华绒螯蟹和凡纳滨对虾成为我国养殖规模最大的淡水经济甲壳类动物[2]。随着养殖规模的扩大和环保压力的增大, 原有的不投饵或少投饵的大水面粗养模式和投喂大量低价值农副产品的池塘养殖模式逐渐被淘汰, 克氏原螯虾专用配合饲料及应用环保的养殖模式获得大范围的推广[3], 这对于降低养殖排放水污染, 减少克氏原螯虾养殖活动对周边水域生态系统的影响, 及促进克氏原螯虾养殖业的可持续发展均十分关键。肝胰腺是甲壳动物最大的消化器官, 在食物的消化、吸收、营养物质储存及性腺发育中卵黄物质合成过程均起重要作用[4][5], 研究克氏原螯虾性腺发育过程中肝胰腺蛋白质、脂类、总糖及脂肪酸的变化和特点, 有助于从生化和物质代谢角度了解克氏原螯虾性腺发育期间营养需求, 完善克氏原螯虾的繁殖生物学[6]。因此本实验系统研究了克氏原螯虾不同发育时期肝胰腺指数变化情况, 并比较了肝胰腺中蛋白、总脂、总糖、水分及脂肪酸组成变化, 以期对克氏原螯虾的亲本培育专用饲料开发提供一定的理论指导依据。

2. 材料和方法

2.1. 克氏原螯虾样品采集

2019 年 3 月至 2020 年 3 月共采集雌性克氏原螯虾 172 尾, 挑选活力良, 肢体健全个体用于实验, 平均每月采集克氏原螯虾样本 10~24 尾, 经过连续一整年的定期跟踪和观察, 记录雌性克氏原螯虾卵巢

发育及相关情况。每次采样后对克氏原螯虾进行称重，随后解剖出肝胰腺和卵巢，分别称重，计算肝胰腺指数和性腺指数[7]。根据卵巢颜色、卵粒大小及形态特征，通过卵巢组织颜色，确定卵巢发育分期(详见表 1) [8]，用波恩氏液对对应卵巢发育分期的肝胰腺组织进行固定，随后进行石蜡切片，HE 染色后进行拍照，统计各时期肝胰腺细胞种类。

$$\text{卵巢指数(GSI)} = \frac{\text{卵巢质量(g)}}{\text{体质量(g)}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{肝胰腺指数(HSI)} = \frac{\text{肝胰腺质量(g)}}{\text{体质量(g)}} \times 100 \quad (2)$$

Table 1. Ovarian development staging of *Procambarus clarkii*

表 1. 克氏原螯虾卵巢发育分期方法

分期	卵巢外观	颜色	卵巢组织学特征	GSI(%)	月份
一期	卵巢呈细带状，位于肝胰腺内侧，不易分辨	透明色	卵巢中以卵原细胞和卵黄合成前卵母细胞为主，滤泡细胞分布于结缔组织间	0.094~0.29	2~3
二期	卵巢体积增大，呈乳白色或淡黄色，无法分辨卵粒	淡黄色	卵巢中主要为卵黄合成前卵母细胞，细胞体积明显增加	0.12~0.90	3~4
三期	卵巢明显分为两叶，呈黄色，可见小叶状结构，肉眼可见细小卵粒，但卵粒边界不明显	黄色	卵巢中主要为小生长期卵母细胞，核质比降低，滤泡细胞紧贴卵母细胞，三期末可见近成熟卵母细胞	0.83~3.28	4~6
四期	卵巢呈紫色或深褐色，膨大	紫色	卵巢中主要为近成熟卵母细胞，滤泡细胞被挤压成扁平状	3.29~4.93	6~7
五期	卵巢紫黑色，卵粒均匀饱满，挑破卵膜即可分离	紫黑色	卵巢中主要为成熟卵母细胞，细胞中充满大卵黄颗粒，细胞核偏位不易观察	4.82~6.31	7~11
六期	外观呈管状空腔，仅有少量未成熟卵粒残存	红褐色	卵巢中仅剩下结缔组织空腔，偶尔可见未排除的残留卵	0.087~1.36	11~1

2.2. 生化成分分析

将所采肝胰腺样品置于冷冻干燥机中-50℃在 40×10^{-3} KPa 下干燥 72 小时至恒定重量用于测定含量；采用凯氏定氮法测定样品中的蛋白质含量；按 Folch 法用氯仿：甲醇(2:1 V/V)提取组织中的总脂[9]，用旋转蒸发的方法去除有机溶剂，经过真空干燥箱干燥后计算脂肪干重；采用 Holland 的方法[9]，采用苯酚硫酸法测定总糖含量[10]；采用 14%的三氟化硼 - 甲醇对总脂进行甲脂化，旋转蒸发到所需浓度进行脂肪酸分析。所用仪器为 Agilent-6890 气相色谱仪，毛细管柱型号为 Omegawax320，混合标准脂作为脂肪酸定性的依据，脂肪酸的相对含量计算采用面积百分比法[6]。

2.3. 数据分析

测定结果采用平均值±标准差表示。采用 SPSS 13.0 软件对实验数据进行统计分析，用 Levene 法进行齐性检验，当不满足齐性方差时对数据进行取对数处理，采用 One-way 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，在 excel 上绘制相关图表。

3. 结果

3.1. 不同性腺发育时期克氏原螯虾肝胰腺细胞差异

克氏原螯虾肝胰腺位于其头胸部中肠前端、胃的两侧，两瓣左右对称似蝴蝶状，分为许多小叶，组织切片观察可见各叶肝胰腺组织由很多肝胰腺小管组成，肝胰腺小管管壁根据形态结构及功能不同分为 B 细胞(消化细胞)、R 细胞(储藏细胞)、F 细胞(纤维细胞)和 E 细胞(胚细胞) 4 种。

E 细胞位于肝胰腺小管盲端，细胞较小，呈方形或矮柱状，细胞嗜碱性强，染色较深细胞核较大、呈圆形。细胞总体数量较少，多出现在尚未性成熟个体或者性腺发育早期个体，随着性腺发育数量逐渐减少，性腺发育进入三期后消失。

B 细胞多分布于肝胰腺小叶外围小管的近端及中端，细胞体积大，形状不规则。细胞内含有一个明显的消化泡，泡内有絮状内含物。细胞质层薄，围绕在大泡周围，细胞核被挤至位于细胞一侧、靠近小管外侧。在性腺发育早期，细胞数量较多，大多分布在肝胰腺小叶外围较细的肝小管中，随着性腺发育 B 细胞数量减少，分布区域逐渐转移至肝小管外侧及中段近盲端处。性腺发育成熟后细胞数量进一步减少，在较粗的肝胰腺小管上已无有分布，仅仅分布于肝小管尖端部分较细的肝胰腺小管上仍有分布。

R 细胞数量最多，分布广，呈高柱状，细胞核圆形位于细胞基部，有些细胞具多个细胞核，细胞形态较为规则，细胞质均匀，内含大小不一的囊泡，囊泡分布不均，有些分布在细胞核一侧，有些围绕细胞核分布。R 细胞分布在肝胰腺小管的中段，呈柱状，长度小于细胞，细胞核圆形，细胞质嗜碱性较强，染色较深。R 细胞数量随着性腺发育，数量逐渐增多。

3.2. 不同性腺发育时期肝胰腺生化组成变化

克氏原螯虾肝胰腺指数与其性腺发育具有明显相关性，在性腺发育处于六期时(排卵后)和一期时，肝胰腺指数最高，分别为 5.72 ± 1.04 和 5.62 ± 1.88 ，4 月~8 月，随着性腺发育逐步成熟，雌性克氏原螯虾肝胰腺指数持续下降，此时期也是崇明地区克氏原螯虾的繁殖高峰，性腺发育处于四期时，肝胰腺指数达到最低值，为 4.10 ± 0.85 ，10 月后生殖群体逐渐减少，肝胰腺指数开始回升，直至下一个生殖周期开启达到最高值，见表 2。

Table 2. Monthly average hepatopancreas index of *Procambarus clarkii* in Chongming area

表 2. 崇明地区克氏原螯虾月平均肝胰腺指数

时期	样本量	体重	体长	肝胰腺指数	月份
一期	22	28.32 ± 5.33	9.54 ± 0.33	5.62 ± 1.88	2/3/4
二期	18	30.22 ± 5.89	9.79 ± 0.27	5.41 ± 0.39	4
三期	24	26.27 ± 4.31	9.36 ± 1.33	4.88 ± 1.38	6/7
四期	22	27.36 ± 6.98	9.97 ± 0.72	4.10 ± 0.85	7/8
五期	15	30.05 ± 8.21	9.71 ± 1.12	4.53 ± 1.17	9/10/11
六期	12	28.81 ± 7.56	8.91 ± 2.43	5.72 ± 1.04	12/1

克氏原螯虾肝胰腺中生化成分随性腺发育的变化情况见表 3，随着性腺的发育，肝胰腺中干物质含量逐渐下降，处于卵黄物质积累旺季的四期之后尤为明显。肝胰腺的干物质中，蛋白、总糖含量均随着性腺发育显著下降，其中蛋白含量由 43.69% 下降至 38.95%，总糖含量由 3.92% 下降至 1.98%，总脂含量由 38.77% 下降至 34.78%，四期至六期下降趋势更为明显。

Table 3. Biochemical composition changes of hepatopancreas in *Procambarus clarkii* during gonadal development

表 3. 克氏原螯虾性腺发育各阶段肝胰腺生化组成变化

	一期	二期	三期	四期	五期	六期
水分(%)	42.37 ± 3.42^a	42.54 ± 5.89^a	41.85 ± 6.52^a	44.73 ± 2.78^{ab}	45.51 ± 5.18^b	46.67 ± 7.98^b
蛋白(%干重)	43.69 ± 6.27^a	43.42 ± 2.88^a	40.07 ± 5.29^b	39.14 ± 2.34^{bc}	39.24 ± 8.12^{bc}	38.95 ± 7.36^c
总脂(%干重)	38.77 ± 6.86^a	38.15 ± 4.14^a	37.62 ± 5.24^b	35.37 ± 5.31^{bc}	34.25 ± 8.07^c	34.78 ± 7.62^c
总糖(%干重)	3.92 ± 1.25^a	3.74 ± 0.88^a	2.94 ± 1.43^b	2.34 ± 1.67^b	1.94 ± 1.55^c	1.98 ± 2.17^c

注：同一列数据上标不同英文字母表示有显著差异($P < 0.05$)。

Table 4. Changes of fatty acid composition in hepatopancreas of *Procambarus clarkii* during gonadal development
表4. 克氏原螯虾性腺发育各阶段肝胰腺脂肪酸组成变化

脂肪酸	一期	二期	三期	四期	五期	六期
C14:0	0.97 ± 0.34 ^a	1.32 ± 0.72 ^b	1.08 ± 0.54 ^{bc}	0.94 ± 0.25 ^{ac}	0.76 ± 0.31 ^c	0.48 ± 0.23 ^d
C14:1n7	0.56 ± 0.17 ^{ab}	0.72 ± 0.18 ^a	0.36 ± 0.08 ^b	0.42 ± 0.12 ^{ab}	0.43 ± 0.18 ^{ab}	0.41 ± 0.26 ^{ab}
C15:0	0.63 ± 0.31 ^a	0.75 ± 0.14 ^b	0.48 ± 0.12 ^c	0.67 ± 0.28 ^a	0.54 ± 0.15 ^{ac}	0.58 ± 0.27 ^d
C16:0	21.22 ± 3.87 ^a	18.43 ± 5.17 ^{ab}	17.77 ± 3.72 ^b	17.52 ± 4.71 ^{ab}	16.04 ± 5.91 ^b	15.07 ± 3.65 ^c
C16:1n7	8.54 ± 3.11 ^a	9.63 ± 3.72 ^b	9.77 ± 2.85 ^b	9.54 ± 3.93 ^b	8.53 ± 1.04 ^a	4.51 ± 1.45 ^c
C16:1n5	0.21 ± 0.04 ^a	0.18 ± 0.02 ^a	0.23 ± 0.02 ^a	0.26 ± 0.08 ^b	0.15 ± 0.06 ^c	0.15 ± 0.04 ^c
C16:2n4	0.27 ± 0.16	0.25 ± 0.11	0.27 ± 0.09	0.24 ± 0.08	0.21 ± 0.17	0.19 ± 0.07
C17:0	0.82 ± 0.09 ^{ab}	0.77 ± 0.17 ^b	1.06 ± 2.64 ^a	0.82 ± 0.05 ^{ab}	1.21 ± 0.32 ^a	0.98 ± 0.31 ^{ab}
C18:0	4.39 ± 0.93	4.42 ± 1.03	4.87 ± 1.15	3.92 ± 1.24	4.57 ± 0.85	4.83 ± 0.95
C18:1n9	29.57 ± 4.33 ^a	31.70 ± 2.83 ^a	33.42 ± 10.52 ^b	31.86 ± 6.46 ^{ab}	30.06 ± 5.56 ^a	34.82 ± 7.38 ^b
C18:1n7	2.58 ± 1.07 ^a	2.06 ± 0.88 ^{bc}	1.88 ± 1.26 ^c	2.14 ± 0.54 ^b	1.97 ± 0.44 ^{bc}	2.64 ± 0.83 ^a
C18:2n6	15.77 ± 4.18 ^a	16.66 ± 2.71 ^{ab}	18.04 ± 5.44 ^b	19.82 ± 3.83 ^b	22.68 ± 7.37 ^c	24.07 ± 6.93 ^c
C18:3n6	0.12 ± 0.032	0.11 ± 0.05	0.18 ± 0.08	0.15 ± 0.04	0.17 ± 0.03	0.18 ± 0.014
C18:3n3	3.43 ± 1.15 ^a	3.27 ± 0.75 ^a	3.07 ± 0.32 ^b	2.46 ± 1.33 ^c	2.42 ± 0.91 ^c	2.27 ± 0.88 ^c
C18:3n4	0.71 ± 0.12 ^a	0.48 ± 0.20 ^b	0.29 ± 0.12 ^c	0.22 ± 0.16 ^c	0.13 ± 0.17 ^d	0.15 ± 0.09 ^{cd}
C18:4n3	0.37 ± 0.04 ^a	0.26 ± 0.032 ^b	0.27 ± 0.024 ^b	0.22 ± 0.028 ^c	0.23 ± 0.16 ^{bc}	0.24 ± 0.061 ^{bc}
C20:1n9	0.84 ± 0.33 ^a	0.86 ± 0.41 ^a	0.78 ± 0.37 ^a	0.96 ± 0.42 ^c	0.97 ± 0.11 ^c	1.09 ± 0.46 ^c
C20:1n7	0.54 ± 0.07 ^a	0.42 ± 0.03 ^a	0.39 ± 0.02 ^a	0.72 ± 0.13 ^b	0.67 ± 0.22 ^b	0.76 ± 0.09 ^b
C20:2n6	0.23 ± 0.05	0.34 ± 0.06	0.44 ± 0.052	0.41 ± 0.13	0.39 ± 0.17	0.48 ± 0.20
C20:4n6	1.33 ± 0.72 ^a	0.95 ± 0.37 ^b	0.82 ± 0.07 ^c	0.79 ± 0.13 ^c	0.84 ± 0.22 ^c	0.85 ± 0.36 ^c
C20:3n3	0.21 ± 0.01	0.19 ± 0.02	0.26 ± 0.09	0.19 ± 0.01	0.21 ± 0.02	0.24 ± 0.02
C20:4n3	0.36 ± 0.04 ^a	0.28 ± 0.02 ^b	0.27 ± 0.09 ^b	0.25 ± 0.02 ^b	0.38 ± 0.09 ^a	0.25 ± 0.02 ^b
C20:5n3	1.86 ± 0.64 ^a	1.75 ± 0.36 ^a	1.14 ± 0.54 ^b	1.06 ± 0.07 ^{bc}	0.92 ± 0.34 ^c	0.87 ± 0.55 ^c
C22:0	0.36 ± 0.11	0.34 ± 0.07	0.31 ± 0.08	0.28 ± 0.03	0.26 ± 0.11	0.34 ± 0.07
C22:2n6	0.36 ± 0.02 ^a	0.45 ± 0.04 ^b	0.31 ± 0.01 ^a	0.42 ± 0.06 ^b	0.61 ± 0.11 ^c	0.44 ± 0.12 ^b
C22:5n3	0.82 ± 0.19	0.81 ± 0.27 ^a	0.93 ± 0.16	0.92 ± 0.13	0.85 ± 0.14	0.87 ± 0.15
C22:6n3	0.86 ± 0.17 ^a	0.77 ± 0.12 ^b	0.43 ± 0.05 ^c	0.46 ± 0.07 ^c	0.31 ± 0.02 ^d	0.25 ± 0.01 ^d
Sum	97.81	97.88	98.76	97.46	96.31	98.61
SFA	28.39	26.03	25.57	24.15	23.38	22.28
MUFA	42.84	45.38	46.83	45.9	42.78	44.38
ΣPUFA	26.31	26.22	26.29	27.17	29.94	30.76
ΣHUFA	5.44	4.75	3.85	3.67	3.51	3.33
DHA/EPA	0.46	0.44	0.37	0.43	0.34	0.28

注：同一列数据上标不同英文字母表示有显著差异($P < 0.05$)。

克氏原螯虾性腺发育各时期肝胰腺中, 共检测到 27 种脂肪酸(见表 4), 其中饱和脂肪酸 6 种, 单不饱和脂肪酸 7 种, 多不饱和脂肪酸 12 种。主要脂肪酸有 C16:0、C16:1n7、C18:0、C18:1n9、C18:2n6 和 C18:3n3, 而又以 C16:0、C18:1n9 和 C18:2n6 所占比例较大。肝胰腺中有多种脂肪酸在性腺发育过程变化显著, 其中 C16:0 随着性腺发育逐渐减少, C16:1n7 和 C18:3n3 随着性腺发育先增加后减少, 产卵后达到最低, 而 C18:2n6 随着性腺发育逐渐增加。三种高不饱和脂肪酸 C20:4n6 (花生四烯酸 ARA), C20:5n3 (EPA), C22:6n3 (DHA) 呈显著减少趋势。就总和来说, 饱和脂肪酸在整个性腺发育过程中是逐渐减少的, 而单不饱和脂肪酸呈现出先上升后下降趋势, 在卵黄发旺季, 及性腺发育四期达到峰值随后再次下降。

4. 讨论

肝胰腺作为甲壳动物最大的消化和营养储存器官, 其生化组成通常会随着性腺发育而发生显著变化 [11], 性腺发育是一个卵黄物质逐渐积累的过程, 有些甲壳动物用肝胰腺中储存的营养供性腺发育, 之前有学者多种对虾科甲壳动物的研究均表明了此种趋势 [12]。北部褐对虾和长毛对虾的研究结果表明, 北部褐对虾肝胰腺中蛋白和总糖含量随着卵巢发育减少, 而对长毛对虾的研究表明其肝胰腺中的总脂含量随着卵巢发育减少 [13]。中国对虾肝胰腺中总脂含量在卵巢发育一期时含量最高, 随着性腺发育, 含量逐渐降低, 到卵巢成熟时达到最低值 [14], 与克氏原螯虾肝胰腺生化组成变化趋势一致。克氏原螯虾其肝胰腺中的主要脂肪酸有 C16:0、C16:1n7、C18:0、C18:1n9、C18:1n7、C18:2n6 和 C18:3n3, 其中 C16:0、C18:1n9 和 C18:2n6 所占比例较大, 达到 65% 以上。由于不同性腺发育时期, 肝胰腺的生理代谢不同, 克氏原螯虾肝胰腺中脂肪酸相对含量存在显著差异, 作为最大的消化吸收器官和性腺发育的主要营养提供者, 肝胰腺中脂肪酸的变化可以大致推断不同性腺发育阶段卵细胞形态结构和新陈代谢的需要 [15]。克氏原螯虾肝胰腺中的 C18:2n6 含量要比海水甲壳动物偏高, 而高不饱和脂肪酸含量偏低, 脂肪酸是甲壳动物卵巢发育过程中重要的能源物质之一, 不同脂肪酸在性腺和胚胎发育不同时期被动员, 其中饱和脂肪酸主要在原肠胚时期供能、单不饱和脂肪酸在无节幼体时期供能、高不饱和脂肪酸在胚胎发育晚期被利用 [16], 高不饱和脂肪酸在多种甲壳动物性腺及后续胚胎发育中起着重要作用, ARA 和 EPA 是细胞膜结构的组成物质, DHA 可能在甲壳动物中枢神经形成过程中起着重要作用 [17], 由于甲壳动物的高不饱和脂肪酸合成能力有限, 因此食物是其所需高不饱和脂肪酸的重要来源 [18], 单本研究中, 克氏原螯虾性腺发育各时期肝胰腺中的高不饱和脂肪酸相对含量均较低。作为淡水甲壳动物, 克氏原螯虾的食物组成决定了其高度不饱和脂肪酸摄入量较低, 此外对罗氏沼虾的研究表明, 其体内对 C18:2n6 的吸收具有更强的偏向性, 克氏原螯虾可能也具有此特性 [19]。因此通过调整饲料中高不饱和脂肪比例, 可能是提升克氏原螯虾生殖性能和苗种质量的有效方法。

基金项目

上海市农委青年人才成长计划《克氏原螯虾脂类营养需求研究与应用》。

参考文献

- [1] 慕峰, 成永旭, 吴旭干. 世界淡水螯虾的分布与产业发展[J]. 上海水产大学学报, 2007, 16(1): 64-72.
- [2] 农业部渔业渔政管理局. 中国渔业年鉴 2016[M]. 北京: 中国农业出版社, 2017: 55-57.
- [3] 徐加涛, 阎斌伦, 徐国成. 克氏原螯虾产业发展背景、现状与展望[J]. 水产科技情报, 2011, 38(4): 172-176+180.
- [4] 周永奎, 刘立鹤, 陈立侨, 于丰军, 李二超. 卵巢发育过程中河蟹肝胰腺消化酶活力的变化[C]. 中国水产学会第五届青年学术年会摘要集. 北京: 中国水产学会, 2004: 72.
- [5] 成永旭, 赖伟. 十足类甲壳动物卵巢发育过程中脂肪的积累与肝胰腺脂肪的变化[J]. 动物学杂志, 1997, 32(2): 57-60.

- [6] 吴旭干. 三疣梭子蟹生殖性能和幼体质量评价及其与脂类营养的关系[D]: [博士学位论文]. 上海: 上海海洋大学, 2010.
- [7] 李胜, 赵维信. 克氏原螯虾大颚器在卵巢发育周期中的组织结构变化[J]. 上海海洋大学学报, 1999, 8(1): 12-18.
- [8] 刘智俊, 李建忠, 陆锦天. 上海崇明地区克氏原螯虾卵巢发育规律研究[J]. 水产科技情报, 2017, 44(1): 1-5.
- [9] Folch, J. (1957) A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipids from Animal Tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, **226**, 497-509.
- [10] Holland, D.L. and Gabbott, P.A. (1971) A Micro-Analytical Scheme for the Determination of Protein, Carbohydrate, Lipid and RNA Levels in Marine Invertebrate Larvae. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, **51**, 659-668. <https://doi.org/10.1017/S0025315400015034>
- [11] 陈金民, 魏华, 沈竑, 等. 克氏原螯虾卵巢发育时期组织脂肪含量及脂肪酸组成[J]. 中国水产科学, 2010, 17(6): 1278-1284.
- [12] 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以及对抱卵的影响[J]. 水产学报, 2000, 24(2): 113-118.
- [13] Castille, F. and Lawrence, A. (1989) Relationship between Maturation and Biochemical Composition of the Gonads and Digestive Glands of the Shrimps *Penaeus aztecus* and *Penaeus setiferus* (L.). *Journal of Crustacean Biology*, **9**, 202-211.
- [14] 吴垠, 孙建明, 周遵春. 中国对虾亲虾生殖周期中消化酶活性及组织生化成分的变化[J]. 水产学报, 2003, 27(6): 550-557.
- [15] Ravid, T., Tietz, A., Khayat, M., Boehm, E., Michelis, R. and Lubzens, E. (1999) Lipid Accumulation in the Ovaries of a Marine Shrimp *Penaeus semisulcatus* (De Haan). *Journal of Experimental Biology*, **202**, 1819-1829.
- [16] Teshima, S.I., Kanazawa, A., Koshio, S., et al. (1989) Lipid Metabolism of the Prawn *Penaeus japonicus* during Maturation: Variation in Lipid Profiles of the Ovary and Hepatopancreas. *Comparative Biochemistry & Physiology Part B Comparative Biochemistry*, **92**, 45-49. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(89\)90311-8](https://doi.org/10.1016/0305-0491(89)90311-8)
- [17] Xu, X.L., Ji, W.J. and Castell, J.D. (1994) Influence of Dietary Lipid Sources on Fecundity, Egg Hatchability and Fatty Acid Composition of Chinese Prawn (*Penaeus chinensis*) Broodstock. *Aquaculture*, **119**, 359-370. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90300-X](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90300-X)
- [18] Reigh, R.C. and Stickney, R.R. (1989) Effects of Purified Fatty Acids on Fatty Acid Composition of Freshwater Shrimp, *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, **77**, 157-174. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(89\)90199-3](https://doi.org/10.1016/0044-8486(89)90199-3)
- [19] Cavalli, R.O., Lavens, P. and Sorgeloos, P. (1999) Performance of *Macrobrachium rosenbergii* Broodstock Fed Diets with Different Fatty Acid Composition. *Aquaculture*, **179**, 387-402. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00173-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00173-8)