

文章编号:1000-0615(2011)09-1426-10

DOI:10.3724/SP.J.1231.2011.17458

3种不同栖息环境下蟹鳃的超微结构、脂类组成及含量的比较

佟蕊^{1,2}, 成永旭^{1,2*}, 吴旭干^{1,2}, 邱仁杰^{1,2},
杨筱珍^{1,2}, 王春^{1,2}, 杨志刚^{1,2}

(1. 上海海洋大学省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306;

2. 上海海洋大学上海市高校水产养殖学E-研究院, 上海 201306)

摘要:为了探讨三疣梭子蟹、无齿相手蟹和中华绒螯蟹的鳃与其所处生境的关系,分别采用电镜和生化手段观察比较了3种蟹鳃丝的超微结构,并分析了其总脂和脂肪酸组成及含量。结果表明,3种蟹鳃丝均具有相似的超微结构,而其鳃中线粒体个数和微绒毛结构差异显著。中华绒螯蟹前鳃的线粒体个数显著高于其他两者($P < 0.05$),后鳃中三疣梭子蟹的线粒体个数显著低于其它两者($P < 0.05$);三疣梭子蟹鳃的微绒毛较其余两者稀疏。3种蟹总脂及脂肪酸含量存在一定差异性,其中三疣梭子蟹中甘油三酯(TG)含量最高,前鳃中TG含量高出其余两种蟹3倍以上($P < 0.05$);无齿相手蟹的胆固醇(Cho)含量显著高于其余两者($P < 0.05$);磷脂(PL)在3种蟹鳃中的含量均无显著性差异($P > 0.05$)。花生四烯酸(ARA)和高不饱和脂肪酸(HUFA)在无齿相手蟹鳃中的含量显著高于其他两者($P < 0.05$)。实验结果表明,3种蟹鳃丝超微结构和脂类含量的差异与其生活的环境密切相关,这更利于其生理功能的正常发挥和对环境的适应。

关键词:三疣梭子蟹; 中华绒螯蟹; 无齿相手蟹; 鳃; 超微结构; 总脂; 脂肪酸

中图分类号:S 917; Q 174

文献标志码:A

鳃是蟹类主要的呼吸器官,并具有调节体内渗透压和离子浓度的作用。蟹鳃按功能分为呼吸型和渗透压调节型^[1-2]。

从鳃超微结构来讲,其角质层和上皮细胞是外界离子进入鳃的屏障复合体,上皮细胞是负责鳃主要生理功能的组织,按其生理功能的不同分为呼吸型上皮细胞和离子转运型上皮细胞^[3]。前人先后在不同盐度梯度下,对张口蟹(*Chasmagnathus granulatus*)^[4]、岸蟹(*Carcinus maenas*)^[5]、招潮蟹(*Uca uruguayensis*)^[6]等蟹鳃超微结构进行比较观察,发现随着盐度的变化,为了维持鳃的正常生理功能,鳃上皮细胞的厚度、角质层与上皮细胞间的间隙、微绒毛的数量、线粒体的分布和柱细胞的形态发生相应变化。除此之外,重金属和氨^[7-10]也会使鳃出现上皮细胞变

形、变薄,细胞质弥散等破坏鳃超微结构的现象,从而损害鳃正常生理功能的发挥。鳃组织结构直接决定着鳃的生理功能是否能正常发挥,但不同栖息环境蟹鳃的结构如何,与其栖息环境有何关联,目前还未见报道。基于此本研究选择3种典型栖息类型的蟹三疣梭子蟹(海水)、中华绒螯蟹(淡水)、无齿相手蟹(河口及淡水,半陆栖),对其三种蟹鳃组织和超微结构进行了比较研究。

调节鳃生理功能的因素有很多,除上述因素外,其脂类的组成及含量对保证鳃生理功能的正常发挥起到重要作用。在动物细胞中,脂类作用主要体现在它可以作为能源,构成膜结构及作为细胞内调节过程所需的二十烷酸的前体(例如花生四烯酸ARA,二十碳五烯酸EPA和C20:3n-6等),其中ARA是前列腺素的前体,而前列腺素

收稿日期:2011-03-30 修回日期:2011-06-17

资助项目:上海高校创新团队“水产动物营养饲料与养殖环境”建设项目;教育部博士点基金(200802640002);上海市科委科技攻关项目(09dz1205200)

通讯作者:成永旭,E-mail:yxcheng@shou.edu.cn

PGF2 对盐度的适应能力具有调节作用^[11]。胆固醇和磷脂是组成蟹鳃组织的主要物质,也是影响细胞膜流动性、维持膜稳定性的重要因素,对蟹鳃组织的正常生理功能发挥起关键作用。在某一特定阶段,甲壳动物体的脂肪酸组成不但可以在很大程度上反映其在该阶段主要摄食和营养状况^[12],而且还可以根据脂肪酸组成特性来判定它们在特定阶段可能的活动区域,如河口,近海或深海^[13],对评价这3种生活在不同生境的蟹类鳃上脂肪酸的作用提供有力依据。另外,脂肪酸链的长度和脂肪酸链的不饱和程度是脂肪酸对膜流动性影响的非常重要的两个方面^[14]。在不同盐度、温度下蟹类都可以通过调节鳃膜上脂肪酸含量、脂肪酸链的长度和各脂肪酸之间的比例来调节膜的流动性和渗透性,进而影响膜内外离子及酶的活性,这样更利于膜的完整性和稳定性,两者相辅相成,最终达到保证膜生理功能的正常发挥,呼吸及渗透压的调节能力也得以保障^[15~19]。

研究3种蟹类鳃总脂与脂肪酸组成及含量,将为甲壳动物的比较生理生化提供基础资料,并为理解和掌握超微结构及脂类在蟹类鳃的生理功能作用提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验蟹 三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) 购于芦潮港市场,无齿相手蟹 (*Sesarma dehaani*) 和中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 均采自崇明,精心挑选规格接近、四肢健全、发育良好的成熟个体作为实验对象。三疣梭子蟹、无齿相手蟹和中华绒螯蟹平均体质量分别为(117.49 ± 7.67)、(30.42 ± 7.26)、(51.46 ± 8.41) g。在实验室暂养 10 d,三疣梭子蟹、无齿相手蟹和中华绒螯蟹均处于蜕壳间期,三疣梭子蟹、无齿相手蟹暂养水体的盐度分别为 22~24 和 5~10,中华绒螯蟹暂养于淡水中。三疣梭子蟹暂养于循环水体中,其他两种蟹暂养在塑料箱(60 cm × 40 cm × 45 cm)中,水深 30 cm,每箱放养两只蟹并内置遮蔽物。自然水温 15~20 °C,24 h 连续增氧,自然光照,pH 7.0~8.5,NH₄⁺-N < 0.5 mg/L,NO₂⁻-N < 0.15 mg/L。

电镜样品 中华绒螯蟹和无齿相手蟹的前鳃取自第二对鳃,后鳃取自第五对;三疣梭子蟹的

前鳃取自第二或三对,后鳃取自第六或第七对。

脂类测定的样品处理 解剖取鳃时先用生理盐水进行冲洗,冲掉附着在鳃上的肝胰腺及体液以减少对测定结果的影响,然后迅速用尖镊子将鳃采下,放入 -20 °C 冰箱保存,供脂类的测定。三疣梭子蟹个体较大,一只作为一个平行;无齿相手蟹个体最小,10 只合并为一个平行;中华绒螯蟹为两只合并为一个平行,3 种蟹均设置了 5 个平行。

1.2 实验方法

超微结构及线粒体的观察 将蟹解剖,立即用生理盐水对鳃进行冲洗,干净后迅速用尖镊子取下,分为前鳃和后鳃进行处理。快速剪取鳃尖部 0.3 cm 长的组织块,投入 2.5% (0.2 mol/L, pH 7.4 磷酸缓冲液配制) 戊二醛(购于 AMERESCO Com.) 固定,于 4 °C 的冰箱中保存备用,之后用 pH 7.4 磷酸缓冲液冲洗 3 次(每次间隔 15~30 min),2% 银酸固定 1.5 h,梯度酒精脱水,EPON812 包埋,65 度聚合 48 h。用钻石刀切成超薄切片,经过醋酸铀和柠檬酸铅双染色后,在高压(75 kV)下用 Hitachi-600 透射电镜观察。

电镜观察线粒体时以每个观察视野(8 000 ×)作为一个面积单位进行统计,各蟹组分别观察 3 个不同个体,共统计 10 个面积单位。

总脂及脂肪酸的分析 按照吴旭干等^[20]的方法进行脂类和脂肪酸分析测定。先用 IAROSCANTM MK-6s 棒状薄层色谱扫描仪 (IATRON LABORATORIES INC., Tokvo, Japan) 进行脂类分析,然后用 Chormstar 软件处理 TLC-FID 的薄层层析图谱。磷脂(phospholipids, PL)、胆固醇(cholesterol, Cho)、甘油三酰(triacylglycerol, TG)、游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)、甘油一酰(monoacylglycerol, MG)和胆固醇酯(cholesterolesters, CE)的标准品均购自 Sigma 公司,用氯仿稀释后在同样的参数条件下进行层析,以此作为脂类成分定性的依据,脂类成分的定量采用面积百分比法。脂肪酸的测定分析是利用了 Agilent-6890 气相色谱和毛细管柱型号为 Omegawax320(30.0 m × 0.32 mm, USA),混合标准脂(Cat. No. 47085-U, 购自 Supelco 公司)作为脂肪酸定性的依据,脂肪酸的含量计算采用面积百分比法。

1.3 数据分析

数据以平均值 ± 标准差(mean ± SD)表示,

利用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,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,然后用 One-Way ANOVA 对实验结果进行方差分析,采用 Duncan 氏方法进行多重比较,取 $P < 0.05$ 为差异显著。利用 Excel 软件进行相关图表的绘制。

2 结果

2.1 各超微结构的观察比较

超微结构的比较 3 种蟹前、后鳃丝的超微结构十分相似,由外至内鳃丝均由角质层,上皮细胞和中央血腔组成。鳃的角质层在 3 种蟹中层数不同,三疣梭子蟹柱细胞较其他两种蟹柱细胞数量少,上皮细胞与角质层间都具有微绒毛,有的细长,排列规则,有的短小,排列不规则(图版-1~16)。图中有许多空泡状结构,其内有残余的嵴,为此可以判断其为线粒体。线粒体形状呈多样,有圆形、椭圆形,还有呈同心圆形(图版-7)。

通过对前后鳃的观察比较发现,前鳃上皮细胞较后鳃上皮细胞要薄,角质层与上皮细胞间距较后鳃上小,微绒毛稀疏,短粗,排列无规则,这使得鳃壁的厚度较后鳃薄。三疣梭子蟹鳃内微绒毛稀疏,中华绒螯蟹的细长并且排列整齐,无齿相手蟹较中华绒螯蟹的更为整齐浓密,且后两者后

鳃微绒毛较前鳃更明显。无齿相手蟹和中华绒螯蟹中柱细胞间隔距离三疣梭子蟹的要小,即柱细胞的密度较三疣梭子蟹的要大。另外,在中华绒螯蟹后鳃中观察到呈簇存在的排列规则的粗面内质网(图版-16)。

线粒体个数的分析比较 前鳃中,无齿相手蟹鳃内线粒体个数最少,中华绒螯蟹的线粒体个数最多;无齿相手蟹后鳃中线粒体个数最多,而三疣梭子蟹后鳃中线粒体个数显著低于其它两者。

表 1 蟹鳃线粒体密度统计

Tab. 1 Statistics of gill mitochondria density in crabs
mean \pm SD, n = 10

线粒体密度 mitochondria density	三疣梭子蟹 <i>P. trituberculatus</i>	无齿相手蟹 <i>S. dehaani</i>	中华绒螯蟹 <i>E. sinensis</i>
前鳃 anterior gills	25.88 \pm 5.14	20.88 \pm 4.97	34.2 \pm 8.3 *
后鳃 posterior gills	11.75 \pm 5.15 *	34.1 \pm 13.56	31.67 \pm 18.36

注:“*”表示与其它组别相比有显著性差异($P < 0.05$)。线粒体密度单位为个/视野。

Notes: the symbol “*” was regarded as statistically significant differences. statistics of mitochondria density are based on the number of mitochondria per visual scope.

2.2 3 种蟹前后鳃中总脂含量的比较

三疣梭子蟹、无齿相手蟹和中华绒螯蟹鳃总脂的组成及含量见表 2。

表 2 3 种蟹前后鳃组织中脂类成分含量
Tab. 2 Contents of lipid class in the gills of the three kinds of crabs % TL, mean \pm SD, n = 5

脂类成分 lipid class		三疣梭子蟹 <i>P. trituberculatus</i>	无齿相手蟹 <i>S. dehaani</i>	中华绒螯蟹 <i>E. sinensis</i>
甘油三酯 triglyceride	前鳃 anterior gills	1.67 \pm 0.97 ^a	0.43 \pm 0.18 ^b	0.49 \pm 0.17 ^b
	后鳃 posterior gills	0.50 \pm 0.42	0.35 \pm 0.09	0.37 \pm 0.08
游离脂肪酸 free fatty acid	前鳃 anterior gills	0.60 \pm 0.08 ^b	0.22 \pm 0.06 ^c	1.65 \pm 0.56 ^a
	后鳃 posterior gills	0.44 \pm 0.18 ^b	0.13 \pm 0.06 ^c	2.61 \pm 0.69 ^a
胆固醇 cholesterol	前鳃 anterior gills	3.61 \pm 1.21 ^b	5.07 \pm 1.15 ^a	2.77 \pm 0.32 ^b
	后鳃 posterior gills	3.89 \pm 1.14 ^b	5.15 \pm 1.06 ^a	2.94 \pm 0.69 ^b
磷脂 phospholipids	前鳃 anterior gills	94.12 \pm 0.91	94.27 \pm 1.28	94.73 \pm 1.34
	后鳃 posterior gills	95.04 \pm 1.44	94.37 \pm 1.14	94.08 \pm 1.25

注:TL 为总脂重。 $P < 0.05$ 为差异显著,同行数据肩标中不含有相同字母的代表不同组织间差异显著($P < 0.05$)。

Notes: TL represent the total lipid content. $P < 0.05$ was regarded as statistically significant Differences. Values in the same line without the same letter on the superscript are significantly different ($P < 0.05$).

前鳃中甘油三酯的含量在 3 种蟹中存在显著性差异($P < 0.05$),其中三疣梭子蟹的含量高于其他两种蟹三倍以上,但中华绒螯蟹与无齿相手

蟹之间无显著性差异。游离脂肪酸在中华绒螯蟹前鳃中含量最高,无齿相手蟹中的含量最低;无齿相手蟹的胆固醇含量显著高于三疣梭子蟹和中华

绒螯蟹($P < 0.05$),分别高出40.44%和83.03%;而3种蟹之间,前鳃上磷脂的含量无显著性差异。

后鳃中各脂类的含量与前鳃相比存在差异,后鳃中甘油三酯和磷脂含量在各种蟹之间都无显著性差异,而游离脂肪酸在3种不同蟹中的含量由高到低依次为中华绒螯蟹(2.61%)>三疣梭子蟹(0.44%)>无齿相手蟹(0.13%);无齿相手蟹中胆固醇显著高于其它两种蟹的含量,为5.15%($P < 0.05$)。

前后鳃中磷脂的含量均在94%以上,说明鳃中脂类组成是以磷脂为主,胆固醇次之。

3种蟹后鳃胆固醇的含量高于前鳃,但没有显著差异,但与磷脂的分布相比存在差异,在三疣梭子蟹中,后鳃中磷脂的含量比前鳃高出0.98%,而无齿相手蟹和中华绒螯蟹前鳃磷脂的含量则是略有差异。

2.3 3种蟹前鳃及后鳃上脂肪酸含量的比较

3种蟹鳃中检测出12种主要脂肪酸,各蟹鳃中的脂肪酸的组成和含量见表3和表4。各鳃组织中饱和脂肪酸(SFA)均含有2种(C16:0和C18:0),其中前鳃的C16:0含量为12.39%~15.15%,C18:0含量为8.95%~10.68%,后鳃中C16:0和C18:0含量较前鳃差异不显著。在3种蟹鳃中,中华绒螯蟹的C16:0含量最高,C18:0在无齿相手蟹中含量显著高于其它两种蟹。前鳃组织中的总饱和脂肪酸(Σ SFA)含量均无显著性差异;但在后鳃中,无齿相手蟹和中华绒螯蟹中含量显著高于三疣梭子蟹中的含量。

对于单不饱和脂肪酸(MUFA),无论前鳃还是后鳃,中华绒螯蟹中C18:1n-9的平均含量明显高于其它蟹;除C18:1n-9外,其它单不饱和脂肪酸在三疣梭子蟹中含量最高;后鳃中C18:1n-7含量在不同蟹鳃中无显著性差异。总单不饱和脂肪酸量(Σ MUFA)在3种蟹鳃间存在显著性差异,其含量由高到低分别为三疣梭子蟹>中华绒螯蟹>无齿相手蟹。鳃中检测出6种主要的多不饱和脂肪酸,无齿相手蟹的总多不饱和脂肪酸量(Σ PUFA)和总高不饱和脂肪酸量(Σ HUFA)均高于其它蟹鳃,其中C20:4n-6(ARA)和C20:5n-3(EPA)含量在中华绒螯蟹组织中低于其它两者,但C18:2n-6的含量在中华绒螯蟹鳃中的含量最高。C18:3n-3(LNA)、C20:3n-6和C20:4n-6

(ARA)在无齿相手蟹中含量最高。后鳃中ARA含量在三疣梭子蟹与中华绒螯蟹之间存在显著性差异,前者高于后者。在三疣梭子蟹中C20:5n-3(EPA)、C22:6n-3(DHA)和 Σ n-3PUFA含量及 Σ n-3PUFA/ Σ n-6PUFA和DHA/EPA的比例最高。 Σ n-6PUFA、ARA/EPA都是在无齿相手蟹中最高,而在三疣梭子蟹中最低。 Σ SFA/ Σ UFA比值在3种蟹前鳃中无显著性差异;后鳃中,无齿相手蟹和中华绒螯蟹中的比值显著高于三疣梭子蟹中的比值。

表3 3种蟹前鳃脂肪酸比较

Tab.3 Fatty acids composition in the anterior gills of the three kinds of crabs

		%TFA, mean ± SD, n = 5		
脂肪酸 fatty acids	三疣梭子蟹 <i>P. trituberculatus</i>	无齿相手蟹 <i>S. dehaani</i>	中华绒螯蟹 <i>E. sinensis</i>	
C16:0	13.67 ± 0.50 ^b	12.39 ± 0.54 ^c	15.15 ± 0.84 ^a	
C18:0	9.31 ± 0.37 ^b	10.68 ± 0.81 ^a	8.95 ± 0.42 ^b	
C16:1n-7	2.23 ± 0.66 ^a	0.78 ± 0.07 ^b	1.17 ± 0.59 ^b	
C16:1n-5	9.61 ± 1.64 ^a	2.01 ± 1.24 ^b	2.12 ± 0.35 ^b	
C18:1n-9	17.70 ± 0.61 ^b	15.64 ± 0.77 ^c	21.59 ± 0.35 ^a	
C18:1n-7	6.14 ± 0.91 ^a	4.50 ± 0.28 ^b	3.15 ± 0.16 ^c	
C18:2n-6	2.40 ± 0.65 ^c	10.77 ± 1.02 ^b	17.94 ± 1.71 ^a	
C18:3n-3	0.72 ± 0.11 ^c	2.40 ± 0.28 ^a	1.23 ± 0.19 ^b	
C20:3n-6	0.72 ± 0.08 ^c	2.72 ± 0.25 ^a	2.36 ± 0.27 ^b	
C20:4n-6	13.33 ± 0.87 ^b	20.60 ± 0.95 ^a	12.83 ± 0.64 ^b	
C20:5n-3	14.27 ± 0.30 ^a	11.76 ± 0.53 ^b	9.79 ± 1.84 ^c	
C22:6n-3	9.90 ± 1.32 ^a	5.74 ± 0.25 ^b	3.71 ± 0.51 ^c	
DHA/EPA	0.69 ± 0.10 ^a	0.49 ± 0.01 ^b	0.39 ± 0.68 ^c	
ARA/EPA	0.94 ± 0.07 ^c	1.75 ± 0.05 ^a	1.34 ± 0.23 ^b	
Σ SFA	22.98 ± 0.38	23.07 ± 1.21	24.10 ± 1.20	
Σ MUFA	35.68 ± 2.10 ^a	22.94 ± 1.55 ^c	28.03 ± 0.19 ^b	
Σ PUFA	41.34 ± 2.04 ^c	53.99 ± 2.04 ^a	47.87 ± 1.28 ^b	
Σ HUFA	38.22 ± 1.80 ^a	40.82 ± 1.85 ^a	28.69 ± 2.02 ^b	
Σ n-3HUFA	24.17 ± 1.34 ^a	17.50 ± 0.78 ^b	13.51 ± 2.01 ^c	
Σ n-6HUFA	14.05 ± 0.90 ^b	23.32 ± 1.16 ^a	15.19 ± 0.52 ^b	
Σ n-3HUFA/ Σ n-6HUFA	1.72 ± 0.12 ^a	0.75 ± 0.02 ^b	0.89 ± 0.14 ^b	
Σ n-3HUFA/SFA	1.05 ± 0.07 ^a	0.76 ± 0.07 ^b	0.56 ± 0.10 ^c	
Σ SFA/ Σ UFA	0.30 ± 0.01	0.30 ± 0.02	0.32 ± 0.02	

注:TFA为总脂肪酸。 $P < 0.05$ 为差异显著,同行数据肩标中不含有相同字母的代表不同组织间差异显著($P < 0.05$)。下同。

Notes:TFA represent the total fatty acids. $P < 0.05$ was regarded as statistically significant differences. Values in the same line without the same letter on the superscript are significantly different ($P < 0.05$). The same as the following.

表4 3种蟹后鳃脂肪酸比较
Tab. 4 Fatty acids composition in the posterior gills of the three kinds of crabs

脂肪酸 fatty acids	% TFA, mean ± SD, n = 5		
	<i>P. trituberculatus</i>	<i>S. dehaani</i>	<i>E. sinensis</i>
C16:0	12.49 ± 0.93 ^b	11.08 ± 0.46 ^c	13.91 ± 0.40 ^a
C18:0	8.83 ± 0.41 ^b	11.17 ± 0.32 ^a	8.63 ± 0.41 ^b
C16:1n-7	0.71 ± 0.20	0.65 ± 0.12	0.91 ± 0.30
C16:1n-5	10.46 ± 1.12 ^a	1.75 ± 0.45 ^b	1.87 ± 0.14 ^b
C18:1n-9	17.31 ± 1.03 ^b	12.96 ± 0.82 ^c	21.26 ± 0.47 ^a
C18:1n-7	6.67 ± 0.95 ^a	4.36 ± 0.26 ^b	3.38 ± 0.13 ^c
C18:2n-6	1.47 ± 0.31 ^c	10.58 ± 0.65 ^b	19.51 ± 1.92 ^a
C18:3n-3	0.70 ± 0.08 ^c	2.25 ± 0.22 ^a	1.41 ± 0.16 ^b
C20:3n-6	0.85 ± 0.05 ^c	2.87 ± 0.11 ^a	2.55 ± 0.08 ^b
C20:4n-6	13.98 ± 0.84 ^b	20.44 ± 0.53 ^a	11.49 ± 1.01 ^c
C20:5n-3	16.75 ± 0.51 ^a	14.39 ± 0.31 ^b	11.67 ± 0.47 ^c
C22:6n-3	9.79 ± 0.96 ^a	7.51 ± 0.57 ^b	3.42 ± 0.28 ^c
DHA/EPA	0.59 ± 0.07 ^a	0.52 ± 0.03 ^a	0.29 ± 0.02 ^b
ARA/EPA	0.84 ± 0.06 ^c	1.42 ± 0.05 ^a	0.99 ± 0.09 ^b
ΣSFA	21.32 ± 0.57 ^b	22.25 ± 0.40 ^a	22.55 ± 0.67 ^a
ΣMUFA	35.14 ± 1.49 ^a	19.71 ± 1.13 ^c	27.41 ± 0.77 ^b
ΣPUFA	43.54 ± 1.10 ^c	58.04 ± 1.46 ^a	50.04 ± 1.37 ^b
ΣHUFA	41.37 ± 1.00 ^b	45.21 ± 0.95 ^a	29.12 ± 1.40 ^c
Σn-3HUFA	26.54 ± 0.56 ^a	21.91 ± 0.78 ^b	15.09 ± 0.61 ^c
Σn-6HUFA	14.83 ± 0.83 ^b	23.30 ± 0.62 ^a	14.03 ± 1.04 ^b
Σn-3HUFA/ Σn-6HUFA	1.79 ± 0.11 ^a	0.94 ± 0.04 ^c	1.08 ± 0.07 ^b
Σn-3HUFA/SFA	1.25 ± 0.05 ^a	0.98 ± 0.04 ^b	0.67 ± 0.04 ^c
ΣSFA/ΣUFA	0.27 ± 0.009 ^b	0.29 ± 0.007 ^a	0.29 ± 0.01 ^a

3 讨论

3.1 鳃组织结构对鳃生理功能的影响

相对于后鳃,前鳃上皮细胞薄且微绒毛少,角质层与上皮细胞间间隙小,这些结构特征与前鳃的呼吸功能相适应,即鳃壁薄,利于质膜表面进行气体、液体和离子的交换^[21~22]。在其他蟹类如中华绒螯蟹等对前鳃的研究也证实了此结果^[21~23]。

两栖蟹所处生境要求它们的鳃在水中和空气中同样具有有效调节自身呼吸和渗透压的能力。无齿相手蟹和中华绒螯蟹是两栖蟹,它们鳃中微绒毛较三疣梭子蟹鳃中的细长浓密(图版-1~16)。由于微绒毛能增大上皮细胞表面积,所以相对于三疣梭子蟹,无齿相手蟹和中华绒螯蟹鳃上皮细胞表面积大,同时增大了气体和离子的交

换场所的面积,这是鳃完成呼吸和离子转运功能的基础和保障。

3.2 主要脂类对鳃组织结构及功能的影响

甘油三酯是鳃主要脂类之一,也是细胞内的能源物质。有研究表明中华绒螯蟹在进入低盐度环境时,其线粒体数量会急剧上升,氧化代谢上升,耗能极大,同时伴随着耗氧量的增大^[24],这说明线粒体数量增大,代谢旺盛,消耗TG相应增多。中华绒螯蟹为典型的两栖蟹,与其他两种蟹相比,其前鳃的线粒体数量显著高于其他两者,而其TG的含量并不是最多,这证明中华绒螯蟹前鳃耗能大,调节呼吸所需能量高。三疣梭子蟹后鳃消耗能量少,说明其离子运输和渗透压调节活动弱,这是因为其生活环境相对稳定。相反地,无齿相手蟹生活在盐度变化较大的河口水域,其后鳃对渗透压调节活动较强,能量消耗量大。

胆固醇具有调节膜流动性和加强膜稳定性的重要作用^[14],无齿相手蟹前后鳃中胆固醇含量都显著高于其它两者,这一结果利于无齿相手蟹鳃膜自身的调节能力,有助于其长时间在陆地上活动觅食。

3.3 脂肪酸对鳃生理功能的影响

本实验中蟹类主要脂肪酸组成与李淡秋^[25]研究结果一致,主要包括C16:0、C18:0、C16:1n-5、C18:1n-、C20:4n-6、C20:5n-3和C22:6n-3。有研究表明,HUFA可能对水的渗透性有调节作用,而对离子渗透性的作用可能是受双分子层膜脂肪酸的影响^[26~27],因为增加脂肪酸链长度会降低钠离子和氢离子的渗透性^[28]。中华绒螯蟹鳃中HUFA含量显著低于三疣梭子蟹鳃中的含量,而与生活在海水或半咸水中的动物相比较,生活在淡水中的动物水的渗透性低^[29],可以推测出前者水渗透性低于后者,这与之前的研究结果一致。中华绒螯蟹生活于淡水,具有低的水渗透性有利于其维持机体内环境的稳定。无齿相手蟹前后鳃中HUFA含量最高,这利于它对水的调节能力。无齿相手蟹也是典型的渗透压调节者,生活在近淡水区域或陆地上,其鳃需要较强的对水的调节能力,这样才能保持其在陆地上鳃的湿润环境,这与本实验结果相一致。

蟹类合成n-3HUFA能力有限,需要从外界环境摄入^[30~31],3种蟹n-3HUFA含量的差异是与它们栖息的固有环境相关的(即海水中高,半咸

水略低,淡水最低)。此外,提高饲料中 *n*-3HUFA 含量,能增加水生动物机体对外界的适应能力^[32~40]。

C20:4n-6(ARA)是蟹鳃中 *n*-6HUFA 的主要组成。从一般的生理角度分析,*C20:4n-6* 是合成前列腺素的前体,而前列腺素在机体中是一个效应很大的活性物质,它在生殖、消化和呼吸系统中都有一定作用,且控制着离子对某些膜的通透性及抑制脂质分解等^[41]。这与在仔蟹中的研究结果相似,*C20:4n-6* 的升高可能有助于消化和呼吸系统的发育,尤其是它的升高可能有助于鳃对某些离子的通透性的控制作用加强,抑制鳃组织脂质的分解能力也进一步完善,而这些都有利于增强鳃的渗透压调节能力^[42~43],使仔蟹更好地适应淡水环境。长链不饱和的 ARA 可能参与调节脂类的组成和基底侧质膜的流动性^[17],有利于中央血腔内气体和离子的交换效率。这充分说明了 ARA 是调节蟹鳃呼吸及渗透压功能的重要脂肪酸,同时 ARA 含量也可以在一定程度上反映出机体对外界环境适应能力的强弱。在本实验中,ARA 含量在无齿相手蟹前、后鳃中含量最高。无齿相手蟹生活在盐度变化迅速的河口地区,他们需要到远离水域的沿岸觅食,这就要求其具有较强的呼吸功能和渗透压调节能力,胆固醇和 ARA 的含量反映了这一问题。

本实验证实,3 种蟹鳃丝超微结构和脂类含量的差异是与其生活的环境相适应的。相对于水生三疣梭子蟹,细长整齐的微绒毛以及具有高含量的胆固醇和高不饱和脂肪酸有利于两栖的无齿相手蟹鳃对呼吸作用和渗透压功能的调节作用,更有助于其对陆地和水体环境的调节适应。

参考文献:

- [1] TAYLOR H H, TAYLOR E W. The exchange of gases and ions [M] // HARRISON F W, HUMES A G. Microscopic anatomy of invertebrates, 1992: 203 ~ 293.
- [2] PEQUEUX A. Osmotic regulation in crustaceans [J]. Crustacean Biology, 1995, 15(1) : 1 ~ 60.
- [3] 周双林,姜乃澄,卢建平,等. 甲壳动物渗透压调节的研究进展 I. 鳃的结构与功能及其影响因子 [J]. 东海海洋, 2001, 19(1) : 44 ~ 51.
- [4] GENOVESE G, LUCHETTI C G, LUQUET C M. Na⁺/K⁺-ATPase activity and gill ultrastructure in the hyper-hypo-regulating crab *Chasmagnathus granulatus* acclimated to dilute, normal, and concentrated seawater [J]. Marine Biology, 2004, 144 (1) : 111 ~ 118.
- [5] COMPERE P H, WANSON S, PEQUEUX A, et al. Ultrastructural changes in the gill epithelium of the green crab *Cracinus maenas* in relation to the external salinity [J]. Tissue & Cell, 1989, 21 (2) : 299 ~ 318.
- [6] LUQUET C, PELLERANO G, ROSA G. Salinity-induced changes in the fine structure of the gills of the semiterrestrial estuarine crab, *Uca uruguayensis* (Nobili, 1901) (Decapoda, Ocypodidae) [J]. Tissue & Cell, 1997, 29 (4) : 495 ~ 501.
- [7] DE FREITAS, REBELO M, RODRIGUEZ E M, et al. Histopathological changes in gills of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Crustacea-Decapoda) following acute exposure to ammonia [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Toxicology & Pharmacology, 2000, 125 (2) : 157 ~ 164.
- [8] LAWSON S L, JONES M B, MOATE R M. Effect of Copper on the Ultrastructure of the Gill Epithelium of *Carcinus maenas* (Decapoda: Brachyura) [J]. Marine Pollution Bulletin, 1995, 31 (1 ~ 3) : 63 ~ 72.
- [9] SILVESTRE F, TRAUSCH G, DEVOS P. Hyperosmoregulatory capacity of the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) exposed to cadmium acclimation during chronic exposure [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Toxicology & Pharmacology, 2005, 140 (1) : 29 ~ 37.
- [10] SCHUWERACK P M, LEWIS J W. Cellular responses to increasing Cd concentrations in the freshwater crab, *Potamonautes warreni*, harbouring microbial gill infestations [J]. Cell Tissue Research, 2003, 313 (3) : 335 ~ 346.
- [11] MUSTAFA T, SRIVASTAVA K C. Prostaglandins (eicosanoids) and their role in ectothermic organisms [J]. Advances in Comparative and Environmental Physiology, 1989, 5 : 157 ~ 207.
- [12] MOURENTE G, MEDINA A, GONZALEZ S, et al. Variation in lipid content and nutritional status during larval development of marine shrimp *Penaeus kerathurus* [J]. Aquaculture, 1995, 130 : 187 ~ 199.
- [13] CASTELL J D, BOSTON L D, MILLER R J, et al. The potential identification of the geographic origin of lobster eggs from various wild stocks based on fatty acid composition [J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1995, 52 (6) :

- 1135–1140.
- [14] 王金发. 细胞生物学 [M]. 北京: 科学出版社, 2003.
- [15] LUCU C, PAVICIC J, IVANKOVIC D, et al. Changes in Na^+/K^+ -ATPase activity, unsaturated fatty acids and metallothioneins in gills of the shore crab *Carcinus aestuarii* after dilute seawater acclimation [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2008, 149(4):362–372.
- [16] 孔祥会, 王桂忠, 李少菁. 低温驯化锯缘青蟹鳃抗氧化防护、ATPase 及膜脂肪酸组成变化 [J]. 水生生物学报, 2007, 31(1):59–66.
- [17] BYSTRIANSKY J S, BALLANTYNE J S. Gill Na^+/K^+ -ATPase activity correlates with basolateral membrane lipid composition in seawater-but not freshwater-acclimated Arctic char (*Salvelinus alpinus*) [J]. American Journal of Physiology, 2007, 292:1043–1051.
- [18] CALDER P C, YAQOOB P, HARVEY D J, et al. Incorporation of fatty acids by concavalin A-stimulated lymphocytes and the effect of fatty acid composition and membrane fluidity [J]. Biochemical Journal, 1994, 300:509–518.
- [19] WATANABE T. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish [J]. Journal of the world aquaculture society, 1993, 24(2):152–156.
- [20] 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.
- [21] 顾志峰, 王文. 中华绒螯蟹鳃的组织及超微结构 [J]. 湖泊科学, 2000, 12(2):182–184.
- [22] BARRA J, PEQUEUX A, HUMVERT W. A morphological study on gills of a crab acclimated to fresh water [J]. Tissue & Cell, 1983, 15(4):583–596.
- [23] GILLES R, PEQUEUX A. Physiological and ultrastructural studies of NaCl transport in crustacean gills [J]. Boll Zool, 1986, 53:173–182.
- [24] WELCOMME L, DEYVBOS P. Energy consumption in the perfused gills of the euryhaline crab *Eriocheir sinensis* adapted to freshwater [J]. Journal of Experimental Zoology, 1991, 257(2):150–159.
- [25] 李淡秋. 中国 20 种海水鱼虾脂肪酸组成的分析研究 [J]. 水产学报, 1989, 13(2):157–159.
- [26] HURTADO M A, RACOTTA I S, CIVERA R, et al. Effect of hypo-and hypersaline conditions on osmolality and Na^+/K^+ -ATPase activity in juvenile shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed low-and high-HUFA diets [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2007, 147(3):703–710.
- [27] CHIM L, LEMAIRE P, DELAPORTE M, et al. Could a diet enriched with n-3 highly unsaturated fatty acids be considered a promising way to enhance the immune defenses and the resistance of Penaeid prawns to environmental stress? [J]. Aquaculture Research, 2001, 32(2):91–94.
- [28] PAULA S, VOLKOY A G, VAN HOEK AN, et al. Permeation of protons, potassium ions, and small polar molecules through phospholipid bilayers as a function of membrane thickness [J]. Biophysical Journal, 1996, 70:339–348.
- [29] RASMUSSEN A D, ANDERSEN O. Apparent water permeability as a physiological parameter in crustaceans [J]. Experimental Biology, 1996, 199:2555–2564.
- [30] SHEEN S S, WU S W. Essential fatty acid requirements of juvenile mud crab, *Scylla serrata* (Forskål, 1775) (Decapoda, Scyllaridae) [J]. Crustaceana, 2003(75):1387–1401.
- [31] SUPRAYUDI M A, TAKEUCHI T, KATSUYUKI H. Essential fatty acids for larval mud crab *Scylla serrata*-implications of lack of the ability to bioconvert C18 unsaturated fatty acids to highly unsaturated fatty acids [J]. Aquaculture, 2004(231):403–416.
- [32] TACKAERT W, ABELIN P, LEGER P, et al. Stress resistance as a criterion to evaluate quality of postlarval shrimp reared under different feeding procedures [J]. Proceedings III Simposio Brasileiro Sobre Cultivo de Camarao, MCR Aquaculture, Joao Pessoa, PB, 1992, I:393–403.
- [33] REES J F, CURE K, PIYATIRATITIVORAKUL S, et al. Highly unsaturated fatty acid requirement of *Penaeus monodon* postlarvae: an experimental approach based on Artemia enrichment [J]. Aquaculture, 1994, 122(2–3):193–207.
- [34] MARTINS T G, CAVALLI R O, MARTINO R C, et al. Larviculture output and stress tolerance of *Farfantepenaeus paulensis* postlarvae fed Artemia containing different fatty acids [J]. Aquaculture, 2006, 252(2–4):525–533.
- [35] SUI L Y, WILLE M, CHENG Y X, et al. The effect of dietary n-3 HUFA levels and DHA/EPA ratios on growth, survival and osmotic stress tolerance of

- Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* larvae [J]. Aquaculture, 2007, 273 : 139 – 150.
- [36] MCKENZIE D J. Effects of dietary fatty acids on the respiratory and cardiovascular physiology of fish [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2001, 128 (3) : 601 – 621.
- [37] GERBI A, Z' EROUGA M, DEBRAY M, et al. Effect of fish oil diet on fatty acid composition of phospholipids of brain membranes and on kinetic properties of Na-K-ATPase isoenzymes of weaned and adult rats [J]. Journal of Neurochemistry, 1994, 62 (4) : 1560 – 1569.
- [38] USHIO H, OHISHIMA T, KOIZUMI C, et al. Effect of dietary fatty acids on Ca^{2+} -ATPase activity of the sarcoplasmic reticulum of Rainbow trout skeletal muscle [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 1997, 118 (3) : 681 – 691.
- [39] PAIGE J A, LIAO R L, HAJJAR R J, et al. Effect of a high omega-3 fatty acid diet on cardiac contractile performance in *Oncorhynchus mykiss* [J]. Cardiovascular Research, 1996, 31 (2) : 249 – 262.
- [40] PALACIOS E, BONILLA A, PEREZ A, et al. Influence of highly unsaturated fatty acids on the response of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae to low salinity [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2004, 299 (2) : 201 – 215.
- [41] 沈同, 王镜岩, 赵邦悌. 生物化学(上册) [M]. 北京: 高等教育出版社, 1990 : 35 – 57.
- [42] PEQUEUX A, GILLS R. Na^+ fluxes across isolated perfused gills of Chinese crab *Eriocheir Sinensis* [J]. Experimental Biology, 1981, 92 : 173 – 186.
- [43] PEQUEUX A, GILLS R. The transepithelial potential difference of isolated perfuse gills of the Chinese crab *E. sinensis* acclimated to freshwater [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology, 1988, 89 (2) : 163 – 172.

欢迎订阅 2012 年《中国水产科学》

《中国水产科学》为中国水产科学研究院主办,科学出版社出版的学术性期刊,目前已成为中国水产科学研究领域的重要学术期刊。本刊在促进中国的水产科学研究、加强国际间学术交流、展示中国水产科学研究领域最新科研成果与研究进展等方面发挥了重要作用。期刊影响因子逐年递增,2008 年中国科技期刊引证报告统计的影响因子值为 0.994,CNKI 期刊统计源影响因子为 1.143;期刊多次获得“中国百种杰出学术期刊”奖。

本刊主要报道水生生物学基础研究、水生生物病害及其防治、水生生物营养及饲料、渔业生态保护及渔业水域环境保护、水产品保鲜与加工综合利用、水产资源、海淡水捕捞、水产养殖与增殖以及设施渔业等方面的最新进展、最新成果、最新技术和方法。

本刊为双月刊,A4 开本,每期 200 页,单月出版,国内外公开发行。国内定价 60 元/期,全年 360 元(含邮费)。邮发代号: 18-250, 国内统一刊号: CN 11-3446/S, 国际标准刊号: ISSN 1005-8737, 国外代号 4639Q。

直接向编辑部订阅可享受 8 折优惠,也可在当地邮电局(所)办理订阅手续(可破季订阅)。漏订或补订当年和过期期刊,请直接向编辑部订阅。

编辑部地址: 北京市丰台区青塔村 150 号(中国水产科学研究院内) 邮编: 100141

联系电话: 010-68673921, 010-68673931 传真: 010-68673931

E-mail: zgsckx@cafs.ac.cn; jfishok@publica.bj.cninfo.net

Website: www.fishscichina.com

Ultrastructure and lipid profile of gills in three crabs living in different habitats

TONG Rui^{1,2}, CHENG Yong-xu^{1,2*}, WU Xu-gan^{1,2}, QIU Ren-jie^{1,2},
YANG Xiao-zhen^{1,2}, WANG Chun^{1,2}, YANG Zhi-gang^{1,2}

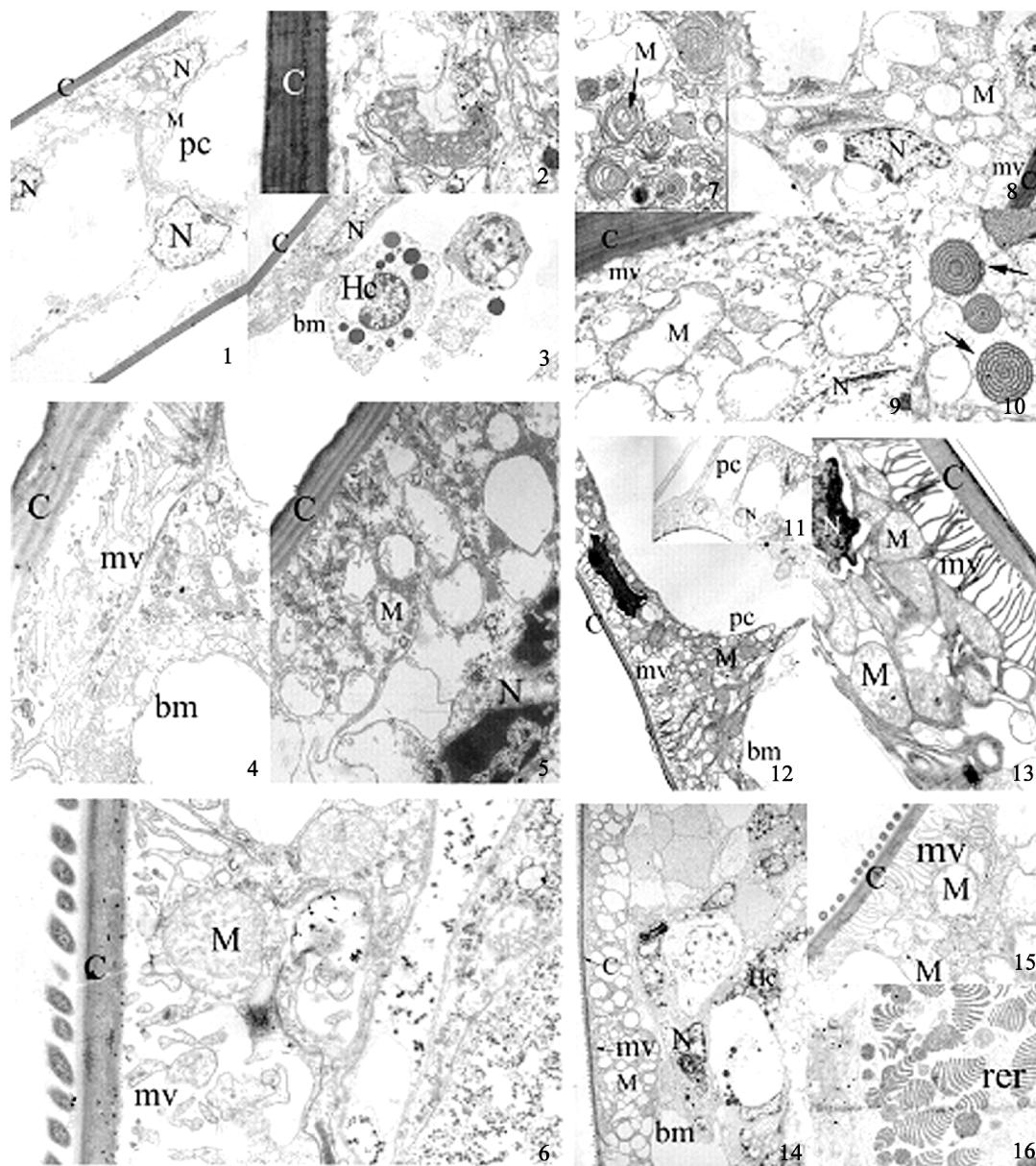
(1. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education,
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Aquaculture Division, E-Institute of Shanghai Universities, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: In order to study the relationship between the ultrastructure, lipid profile of gills and their different habitats, the gills of three typical crabs living in different habitats were chosen as experimental materials. They are *Portunus trituberculatus*, *Sesarma dehaani* and *Eriocheir sinensis*, living in the seawater, estuary (or near freshwater) and freshwater respectively. The ultrastructure and lipid profile were also compared by using electron microscope and biochemistry, aimed to provide the basic data for comparative physiology and biochemistry in crustacean, and promote the understanding of the physiological functions of the ultrastructure and lipid profile in gills. The results indicated that the ultrastructure of gill filaments in the different crabs were similar, with cuticle, epithelial cell and a central haemolymph space, but the amount of mitochondrion and the microvilli in the three kinds of crabs had significant difference: the density of mitochondria in the anterior gills of the Chinese mitten crab was significantly higher than the other two crabs ($P < 0.05$), and in posterior gills of *P. trituberculatus* was significantly lower ($P < 0.05$). Besides, *P. trituberculatus* has lower density of microvilli, compared to the other two crabs. The content of triglyceride (TG) in the anterior of *P. trituberculatus* was higher than that in the others (more than 3 times, $P < 0.05$), also the content of cholesterol (Cho) in the gills of *S. dehaani* was significantly higher than the other two crabs ($P < 0.05$), while the contents of the phospholipids showed no significant differences between the three kinds of crabs ($P > 0.05$). The gills of *S. dehaani* have a significantly higher arachidonic acid (ARA) and total highly unsaturated fatty acids (HUFA) content than that of *E. sinensis* and *P. trituberculatus* ($P < 0.05$). The result shows that the significant differences in the ultrastructure, contents of total lipids and fatty acids contributed to their normal physiological function and their adaptation to their habitats.

Key words: *Portunus trituberculatus*; *Eriocheir sinensis*; *Sesarma dehaani*; gills; ultrastructure; total lipids; fatty acids; physiological function

Corresponding author: CHENG Yong-xu. E-mail: yxchen@shou.edu.cn



图版

1~3. 三疣梭子蟹前鳃(示C,pc,N,bm,1. $\times 1500$,2. $\times 15000$,3. $\times 3500$),4~5. 无齿相手蟹前鳃(示C,mv,M,bm,N,4. $\times 15000$,5. $\times 5000$),6. 中华绒螯蟹前鳃(示C,M,mv, $\times 10000$),7. 三疣梭子蟹后鳃(示同心圆状的线粒体, $\times 10000$),8~9. 三疣梭子蟹后鳃(示C,mv,M,N,8. $\times 3500$,9. $\times 15000$),10. 三疣梭子蟹后鳃(示规则同心圆状的致密结构, $\times 15000$),11~13. 无齿相手蟹后鳃(示C,mv,M,pc,bm,11. $\times 1500$,12. $\times 3000$,13. $\times 15000$),14~15. 中华绒螯蟹后鳃(示C,mv,M,N,bm,Hc,14. $\times 1500$,15. $\times 8000$),16. 中华绒螯蟹后鳃(示rer, $\times 6000$)。

C:角质层,pc:柱细胞,N:细胞核,M:线粒体,Hc:血细胞,bm:基底膜,mv:微绒毛,rer:粗面内质网。

Plate

1~3. anterior gills of *Portunus trituberculatus* (show C,pc,N,bm,1. $\times 1500$,2. $\times 15000$,3. $\times 3500$),4~5. anterior gills of *Sesarma dehaani* (show C,mv,M,bm,N,4. $\times 15000$,5. $\times 5000$),6. anterior gills of the Chinese mitten crab (show C,M,mv, $\times 10000$),7. posterior gills of *Portunus trituberculatus* (show the circular mitochondrion $\times 10000$),8~9. posterior gills of *Portunus trituberculatus* (show C,mv,M,N,8. $\times 3500$,9. $\times 15000$),10. posterior gills of *Portunus triuberbuculatus* (show the circular dense structure $\times 15000$),11~13. posterior gills of *Sesarma dehaani* (show C,mv,M,pc,bm,11. $\times 1500$,12. $\times 3000$,13. $\times 15000$),14~15. posterior gills in the Chinese mitten crab (show C,mv,M,N,bm,Hc,14. $\times 1500$,15. $\times 8000$),16. posterior gills in the Chinese mitten crab (show rer, $\times 6000$).

C:cuticle,pc:pillar cell,N:nucleus,M:mitochondrion,Hc:hemocyte,bm:basal lamina,mv:microvilli,rer:rough endoplasmic reticulum.