

三疣梭子蟹卵巢发育过程中主要类胡萝卜素组成变化及其与抗氧化性能的关系

孙秋凤 柳梅梅 何杰 张敏 陶贤继 吴旭干

CHANGES IN CAROTENOID COMPOSITION AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF *PORTUNUS TRITUBERCULATUS* DURING OVARIAN DEVELOPMENT

SUN Qiu-Feng, LIU Mei-Mei, HE Jie, ZHANG Min, TAO Xian-Ji, WU Xu-Gan

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7541/2023.2022.0152>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

饲料中添加雨生红球藻粉对三疣梭子蟹雌体卵巢发育、色泽、抗氧化能力和生化组成的影响

EFFECTS OF DIETARY SUPPLEMENTATION WITH *HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS* POWDER ON OVARIAN DEVELOPMENT, COLORATION, ANTIOXIDANT CAPACITY AND BIOCHEMICAL COMPOSITION OF ADULT FEMALE SWIMMING CRAB, *PORTUNUS TRITUBERCULATUS*

水生生物学报. 2018, 42(4): 698–708 <https://doi.org/10.7541/2018.086>

三疣梭子蟹 *UHRF1* 基因在胚胎、幼体和性腺发育过程中的表达分析

CLONE AND EXPRESSION OF *UHRF1* DURING EMBRYONIC, LARVAL AND GONADAL DEVELOPMENT IN THE SWIMMING CRAB *PORTUNUS TRITUBERCULATUS*

水生生物学报. 2019, 43(2): 291–297 <https://doi.org/10.7541/2019.036>

三疣梭子蟹 *HMGBa* 基因克隆及其应答不同病原入侵的表达特征

CLONING OF *HMGBa* IN *PORTUNUS TRITUBERCULATUS* AND ITS EXPRESSION IN RESPONDING TO BACTERIAL AND VIRAL INFECTIONS

水生生物学报. 2017, 41(6): 1193–1199 <https://doi.org/10.7541/2017.148>

三疣梭子蟹 *Pt-ddit4l* 基因的克隆及表达分析

CLONING AND EXPRESSION ANALYSIS OF *Pt-ddit4l* IN SWIMMING CRAB (*PORTUNUS TRITUBERCULATUS*)

水生生物学报. 2021, 45(2): 334–340 <https://doi.org/10.7541/2021.2019.249>

三疣梭子蟹 *PtToll-1* 受体的原核表达及组织、细胞分布研究

PROKARYOTIC EXPRESSION OF THE TOLL RECEPTOR *PTTOLL-1* AND ITS CELLULAR DISTRIBUTION IN *PORTUNUS TRITUBERCULATUS*

水生生物学报. 2018, 42(2): 300–306 <https://doi.org/10.7541/2018.038>

三疣梭子蟹 *NF-κB* 家族基因 *Relish* 和 *Dorsal* 的克隆及表达特征

CLONING AND EXPRESSION OF *NF-κB* FAMILY GENES IN *PORTUNUS TRITUBERCULATUS*

水生生物学报. 2019, 43(2): 298–304 <https://doi.org/10.7541/2019.037>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

doi: 10.7541/2023.2022.0152

三疣梭子蟹卵巢发育过程中主要类胡萝卜素组成变化及其与抗氧化性能的关系

孙秋凤¹ 柳梅梅² 何杰³ 张敏¹ 陶贤继^{1,4,5} 吴旭干^{1,4,5}

(1. 上海海洋大学农业农村部鱼类营养和环境生态研究中心, 上海 201306; 2. 江苏海洋大学海洋与水产业学院, 连云港 222005; 3. 浙江省海洋水产研究所, 舟山 316021; 4. 上海海洋大学上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306; 5. 上海海洋大学水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306)

摘要: 实验研究了三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)卵巢发育过程中(I—V期)组织色泽、类胡萝卜素组成与含量、抗氧化和非特异性免疫指标的变化规律, 进一步探讨了肝胰腺中类胡萝卜素含量变化与抗氧化指标的关系。结果表明: (1) 卵巢发育期间, 卵巢指数(GSI)显著增加($P < 0.05$), 肝胰腺指数(HSI)整体呈先升后降的趋势; 卵巢的红色(a^*)值和黄色(b^*)值、肝胰腺的亮度(L^*)值和 b^* 值均呈显著上升趋势, 但卵巢中 L^* 值呈下降趋势。(2) 在卵巢发育过程中, 卵巢中的总类胡萝卜素、虾青素、叶黄素和 β -胡萝卜素含量均为先升后降的趋势, 虾青素含量在IV期最高; 肝胰腺中的虾青素含量呈上升趋势, 而 β -胡萝卜素含量为显著下降趋势; 内表皮中的总类胡萝卜素、虾青素、叶黄素、海胆烯酮和 β -胡萝卜素含量均呈现下降趋势; 就不同组织中类胡萝卜素含量而言, 内表皮中虾青素含量最高。卵巢和肝胰腺的 L^* 值与总类胡萝卜素含量呈显著负相关, 卵巢的 a^* 值和 b^* 值均与总类胡萝卜素、虾青素、叶黄素、海胆烯酮和 β -胡萝卜素含量呈显著正相关。肝胰腺的 a^* 值与各类胡萝卜素含量无显著相关性, b^* 值仅与虾青素含量呈显著正相关。(3) 肝胰腺中I—V期T-AOC呈显著下降趋势($P < 0.05$), 而SOD、CAT和GPX均为“先上升后下降”趋势; 血淋巴中T-AOC呈现“高-低-高-低”的变化趋势, 而SOD和GPX为“先上升后下降”趋势, CAT和MDA为“低-高-低-高”的变化趋势; 卵巢发育过程中肝胰腺中ACP、ALP和NO整体呈下降趋势, 而血淋巴中ACP、ALP和Hc在I—IV期为上升趋势, V期略有下降。(4) 相关性分析表明, 肝胰腺中虾青素含量与T-AOC呈显著负相关, 叶黄素含量与GPX呈显著正相关($P < 0.01$), 其余类胡萝卜素含量与抗氧化指标均无显著相关性。综上, 在三疣梭子蟹卵巢发育过程中, 卵巢中总类胡萝卜素、虾青素和 β -胡萝卜素的含量增加主要发生在II—IV期, 内表皮中大部分类胡萝卜素呈显著下降趋势, 肝胰腺中仅虾青素呈上升趋势。

关键词: 性腺发育; 类胡萝卜素; 抗氧化性能; 免疫性能; 三疣梭子蟹

中图分类号: Q175

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2023)05-0713-10



三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)是我国一种重要的经济蟹类, 在海洋捕捞和海水养殖业占有极其重要的地位^[1]。由于野生三疣梭子蟹捕捞量不能满足市场需求, 因此三疣梭子蟹池塘养殖业在我国沿海迅速发展, 2020年全国产量约10.09万吨^[2]。由于性腺发育良好的三疣梭子蟹雌体(俗称红膏

蟹)可食率和营养价值均优于雄体, 故优质红膏蟹的市场售价通常是雄体或卵巢发育不良雌体(俗称菜蟹)的3—5倍^[3]。目前, 三疣梭子蟹池塘养殖均以雌体为主^[4], 但与野生雌体膏蟹相比, 池塘养殖雌体通常存在卵巢发育不良、卵巢红度较差等缺点, 导致池塘养殖雌体生殖性能较差和市场售价相对较

收稿日期: 2022-04-15; 修订日期: 2022-06-07

基金项目: 国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”专项(2018YFD0900103); 江苏省科技厅苏北科技专项(SZ-LYG202029); 江苏省农业重大技术协同推广计划试点项目(2019-SJ-009-5)资助 [Supported by Key R & D Program from the Ministry of Science and Technology of China (2018YFD0900103); the Science and Technology Special Project of Northern of Jiangsu Province Department (SZ-LYG202029); Technology Department of Jiangsu Province and a Collaborative Extension Project of Major Agricultural Technologies in Jiangsu Province (2019-SJ-009-5)]

作者简介: 孙秋凤(1994—), 女, 硕士研究生; 研究方向为甲壳动物营养生理。E-mail: 2944377156@qq.com

通信作者: 吴旭干(1978—), 男, 教授; 主要从事甲壳动物营养与育种的研究。E-mail: xgwu@shou.edu.cn

低^[1],因此,池塘养殖雌体卵巢发育不良是影响三疣梭子蟹养殖业高质量发展的重要制约因素之一。

在甲壳动物卵巢发育过程中,通常会在卵巢组织中大量积累类胡萝卜素、卵黄蛋白和脂肪^[5,6],卵巢中积累的类胡萝卜素主要包括虾青素、玉米黄素、海胆烯酮和 β -胡萝卜素等^[7-9]。甲壳动物卵巢中积累的类胡萝卜素不仅可以提高其抗氧化和免疫性能,且可以改善卵巢色泽,进一步提高消费者的接受度和产品价格^[9,10]。先前研究表明,饲料中添加类胡萝卜素可以显著提升三疣梭子蟹的抗氧化能力和类胡萝卜素含量^[11,12]。因此,探明养殖三疣梭子蟹在卵巢发育过程中类胡萝卜素和抗氧化性能的变化规律,对于理解甲壳动物卵巢发育的营养学机制、饲料配制、养殖管理和品质调控都具有重要参考价值。

先前研究发现三疣梭子蟹在卵巢发育过程中,不仅卵巢指数和卵巢体积显著增加,且卵巢颜色呈现“透明-乳白色-蛋黄色-橘黄色-橘红色”的变化规律^[4,5],这暗示着其卵巢发育过程中类胡萝卜素的种类和含量可能发生了较大变化。迄今为止,尚不清楚三疣梭子蟹卵巢发育过程中主要组织色泽参数、类胡萝卜素组成和含量的变化规律。鉴于此,本实验以池塘养殖三疣梭子蟹雌体为实验材料,首先测定了其卵巢发育过程中主要组织的色泽参数、类胡萝卜素组成和含量,进一步研究了卵巢发育过程中肝胰腺和血淋巴的抗氧化性能及免疫指标的变化,最终探讨了肝胰腺中类胡萝卜素组成与抗氧化指标的相关性,研究结果不仅可以为进一步理解甲壳动物卵巢发育机制和营养代谢提供基础资料,且可以为三疣梭子蟹的营养调控和健康养殖提供理论基础和实践依据。

1 材料与方法

1.1 样品来源

实验用三疣梭子蟹雌体于2020年8月至2021年4月取自上海市水产研究所启东科研基地的室外养

殖池塘,养殖期间主要投喂配合饲料(浙江澳华饲料有限公司)、冻鱼和麻虾,日投喂量占蟹总体重的1%—5%,具体投喂量根据水温和残饵情况进行调整。养殖期间,水质指标如下:水体盐度为22‰—26‰,自然水温为5—28℃,pH为7.4—9.2,溶氧>3 mg/L,氨氮<0.5 mg/L,亚硝酸盐<0.15 mg/L。每月中旬随机挑选10—20只肢体健全、活力较好雌蟹进行解剖获得卵巢、肝胰腺和血淋巴组织,参考Che等^[4]方法对三疣梭子蟹卵巢发育状况进行分期(I—V期),解剖后的样品组织保存在-40℃冰箱用于后续分析。由于池塘养殖三疣梭子蟹的卵巢发育同步性较差,每月采样雌体可能处于不同卵巢发育期,因此,同一卵巢发育期的样品可能来自不同采样月份。本实验用各卵巢发育期的样品采集时间及数量如下: I期样品来自8月(生殖蜕壳前,16只), II期样品来自9月(8只), III期样品来自9月(2只)和10月(6只), IV期样品来自11月(3只)和12月(4只), V期样品来自3月(5只)和4月(5只),各期样品的重复数量及生物学信息见表1。

1.2 样品解剖和保存

解剖前首先用干毛巾擦干蟹体表水分,然后测定体重(电子天平:上海越平科学仪器有限公司,精确度为0.01 g)、甲长和甲宽(游标卡尺:上海精美量具厂,精确度为0.01 mm),接着用无菌注射器抽取血淋巴2—3 mL,装入离心管中保存;随后在冰上解剖取出全部卵巢、肝胰腺和甲壳内表皮,用电子天平准确称取每只雌体的卵巢和肝胰腺重量,计算性腺指数 $GSI=100\times\text{卵巢湿重}/\text{蟹体湿重}$ 和肝胰腺指数 $HSI=100\times\text{肝胰腺湿重}/\text{蟹体湿重}$ 。所有样品均避光保存于-40℃冰箱用于后续测定。

1.3 色泽和类胡萝卜素的测定

用色差仪(CR400, Konica Minolta, Tokyo, Japan)测定卵巢和肝胰腺样品的色泽参数($L^*a^*b^*$)。根据前期预备实验结果,卵巢样品冻干后研磨并混合均匀,测定色泽参数更准确,故采用冻干后的卵巢样品测定色泽参数;肝胰腺样品由于脂肪含量相

表1 三疣梭子蟹不同卵巢发育阶段的样品信息

Tab. 1 Samples of female *P. trituberculatus* at different ovarian stages

指标Index	I	II	III	IV	V
体重Body weight (g)	107.24±3.03 ^c	144.84±9.24 ^b	203.65±13.78 ^a	198.52±6.27 ^a	191.18±9.09 ^a
甲长Carapace length (mm)	60.16±0.83 ^c	68.10±1.53 ^b	75.01±1.56 ^a	74.69±0.55 ^a	73.55±1.25 ^a
甲宽Carapace width (mm)	94.92±2.22 ^b	117.79±10.39 ^a	120.20±2.86 ^a	117.69±1.13 ^a	117.06±2.51 ^a
样品数量Number	16	8	8	7	10

注:表中数据用平均值±标准误表示;同行数据上标不同字母表示有差异显著($P<0.05$),下同

Note: Data are presented as mean±SE. Values in the same row with different letters mean significant difference ($P<0.05$), the same applies below

对较高,冻干后不易混合均匀,且冻干后样品中的黄度值(b^*)和虾青素含量下降较多,故肝胰腺样品采用鲜样测定色泽参数。卵巢和肝胰腺测完色泽指标后,进行类胡萝卜素的提取和测定。卵巢、肝胰腺和内表皮中的总类胡萝卜素提取参考Long等^[9]方法,每只雌蟹取0.3—0.5 g卵巢冻干样、0.3—0.5 g肝胰腺湿样和0.05—0.1 g内表皮冻干样加入丙酮,超声波震荡5 min后,离心取出上清液,然后用丙酮重复提取4—5次,直至提取液无色(基本不含有类胡萝卜素),合并上清液后用丙酮定容至15 mL待测定。采用分光光度计(型号: T6新世纪,北京普析通用仪器有限责任公司)测定定容后提取液的OD值,测定波长为470 nm^[13]。提取和测定过程均在避光条件下完成。以纯化的虾青素(纯度: 95.2%, Dr. Ehrenstorfer)为标准品,制备标准曲线,根据标准曲线计算样品中总类胡萝卜素含量。

采用高效液相色谱(HPLC)法对样品中类胡萝卜素进行分离和定量^[14],所用高效液相色谱仪型号为Agilent 1260 (Agilent Technologies Inc., CA, USA),分离色谱柱为YMC类胡萝卜素分离专用色谱柱(型号: YMC-carotenoidTM, YMC Co., Ltd., Kyoto, Japan),采用紫外检测器对相关类胡萝卜素进行定量。采用0.02 mol/L NaOH-甲醇溶液对卵巢和内表皮中的总类胡萝卜素进行水解,具体参考孙伟红等^[15]方法;前期预备实验结果表明,三疣梭子蟹肝胰腺中基本无酯化类胡萝卜素,因此肝胰腺的总类胡萝卜素提取液经0.22 μm 微孔滤膜过滤后直接上机分析。采用甲醇(A)和甲基叔丁基醚(B)两种流动相进行分步洗脱,流速为1.0 mL/min,柱温为25 $^{\circ}\text{C}$,进样量为20 μL 。采用6种纯化的类胡萝卜素标准品对样品中类胡萝卜素进行定性和定量分析,其中虾青素(Cat. No. A9335)、玉米黄素(Cat. No. 1733119)标准品购自Sigma-Aldrich(USA);叶黄素标准品购自ChromaDex Inc.(Cat. No. ASB-00012453-010, Irvine, CA, USA),角黄素标准品(Cat. No. CA 11045800)和 β -胡萝卜素标准品(Cat. No. CA10947000)购自Dr. Ehrenstorfer GmbH(Augsburg, Germany),海胆烯酮(Cat. No. 0283)购自Clearsynth(India)。

1.4 抗氧化和免疫指标测定

参考赵磊等^[16]方法对肝胰腺和血清样品进行前处理,获得上清液样品均保存在 -40°C 冰箱中待测。总抗氧化能力(T-AOC)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)、丙二醛(MDA)、酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(ALP)、溶菌酶(LZM)和一氧化氮(NO)采用

南京建成生物工程研究所生产的试剂盒进行测定。血清中的血蓝蛋白(Hc)含量测定参考Nicker-son的方法^[17],用Tris-Ca缓冲液(50 mmol/L Tris-HCl+10 mmol/L CaCl_2 , pH=8.0)将血清稀释20—100倍后(视具体情况而定),在335 nm波长下测定OD值后计算Hc含量,计算公式为 $\text{Hc (mg/mL)} = 3.717 \times A_{335} \times \text{稀释倍数}$ 。

1.5 数据分析

本文所有数据均采用平均值 \pm 标准误表示。采用Levene法对所有数据进行方差齐性检验,当不满足齐性方差时对百分比数据进行反正弦、平方根或者对数转换处理。当数据满足齐性方差时,采用ANOVA对实验结果进行方差分析,采用Tukey's-b (K)法进行多重比较;当数据转换后仍不满足齐性方差时,采用Kruskal-Wallis非参数检验,采用Games-Howell法进行多重比较,取 $P < 0.05$ 为差异显著。所有数据分析均采用SPSS 24.0软件进行统计分析,采用Pearson法检验两性状之间的相关性。散点图用Excel 2013绘制。

2 结果

2.1 卵巢指数、色泽和类胡萝卜素组成

三疣梭子蟹卵巢发育过程中GSI显著增加($P < 0.05$),增加幅度最大发生在卵巢II—III期,GSI增加了4.16倍;卵巢发育期间HSI呈现“先上升后下降”趋势,III期和IV期的HSI显著高于其他发育期($P < 0.05$;图1)。三疣梭子蟹卵巢发育阶段,卵巢和肝胰腺的颜色变化和色泽参数分别见图2和表2。

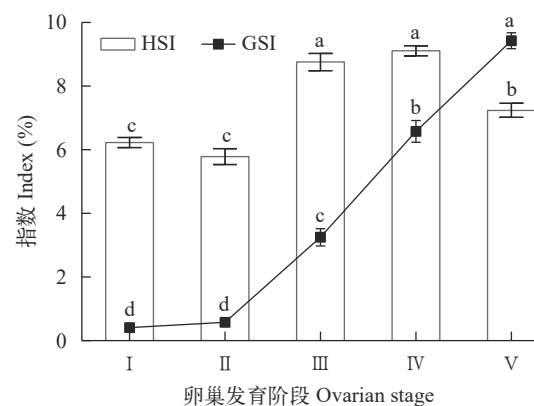


图1 三疣梭子蟹卵巢发育过程中卵巢指数(GSI)和肝胰腺指数(HSI)的变化

Fig. 1 Changes in GSI and HSI in *P. trituberculatus* during ovarian development

数据用平均值 \pm 标准误表示;同指标数据上含有不同字母表示有差异显著($P < 0.05$)

Data are presented as mean \pm SE. Values for the same indices with different letters mean significant difference ($P < 0.05$)

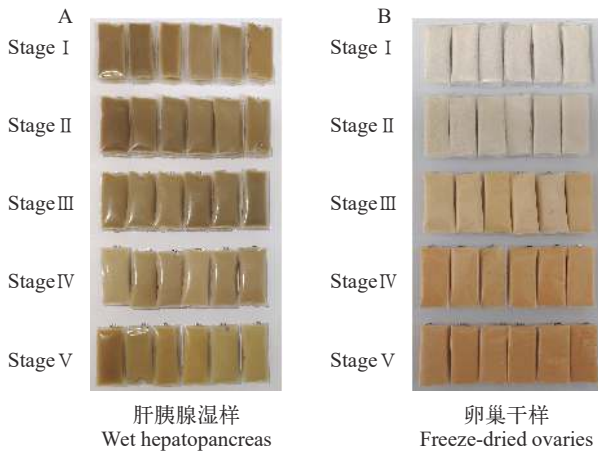


图2 三疣梭子蟹不同卵巢发育时期肝胰腺(湿样)和卵巢(干样)的外观

Fig. 2 Visual appearance of hepatopancreas and ovaries of *P. trituberculatus* at different ovarian stages

表2 三疣梭子蟹卵巢发育过程中卵巢(冻干样)和肝胰腺(湿样)的色泽参数

Tab. 2 Color parameters of ovaries (freeze-dried) and hepatopancreas (wet sample) of *P. trituberculatus* during ovarian development

指标Index	I	II	III	IV	V
卵巢Ovary					
L^*	81.67±0.91 ^a	83.49±0.85 ^a	79.10±0.72 ^b	76.21±0.33 ^c	75.67±0.45 ^c
a^*	0.76±0.07 ^c	1.51±0.14 ^b	14.24±1.06 ^a	17.76±0.60 ^a	17.11±0.72 ^a
b^*	11.15±0.57 ^c	12.48±0.39 ^c	24.54±0.81 ^b	26.76±0.41 ^a	26.90±0.26 ^a
肝胰腺Hepatopancreas					
L^*	45.85±0.97 ^b	46.87±1.37 ^b	53.68±1.87 ^a	58.83±0.85 ^a	57.63±1.60 ^a
a^*	4.98±0.23 ^a	4.89±0.25 ^a	5.65±0.24 ^a	5.94±0.42 ^a	3.00±0.18 ^b
b^*	16.11±0.33 ^c	15.98±0.33 ^c	17.18±0.32 ^{bc}	18.24±0.27 ^{ab}	19.79±1.07 ^a

在卵巢发育过程中, 卵巢亮度(L^*)值呈下降趋势, 红度(a^*)值和黄度(b^*)值均呈显著上升趋势, 卵巢 a^* 值和 b^* 值的最高值分别出现在IV期和V期。在卵巢发育过程中, 肝胰腺 L^* 值和 b^* 值均呈显著上升趋势, IV—V期肝胰腺 a^* 值显著下降($P<0.05$)。

三疣梭子蟹卵巢发育过程中卵巢、肝胰腺和内表皮中类胡萝卜素含量变化情况见表3。卵巢发育I—V期, 卵巢中总类胡萝卜素、虾青素、叶黄素和 β -胡萝卜素含量都表现为“先上升后下降”趋势, 虾青素含量在IV期最高, 而叶黄素、玉米黄素、海胆烯酮和 β -胡萝卜素含量则在III期最高。在卵巢发育过程中, 肝胰腺中总类胡萝卜素含量无显著差异($P>0.05$), 虾青素含量呈现上升趋势, 而 β -胡萝卜素含量呈显著下降趋势, 叶黄素含量在II期肝胰腺中最高。就甲壳内表皮的类胡萝卜素含量

而言, 卵巢发育过程中内表皮中的总类胡萝卜素、虾青素、叶黄素、海胆烯酮和 β -胡萝卜素含量都呈现下降趋势。就类胡萝卜素含量而言, 各期组织中均是虾青素含量最高, β -胡萝卜素次之。

2.2 色泽与类胡萝卜素的相关性

三疣梭子蟹卵巢色泽与类胡萝卜素的相关性分析见表4。卵巢亮度(L^*)与总类胡萝卜素、虾青素、海胆烯酮和 β -胡萝卜素含量都呈显著负相关($P<0.05$), 但与叶黄素和玉米黄素含量无显著相关性($P>0.05$); 卵巢红度(a^*)和黄度(b^*)与总类胡萝卜素、虾青素、叶黄素、海胆烯酮和 β -胡萝卜素含量都呈显著正相关($P<0.05$), 但与玉米黄素无显著相关性($P>0.05$)。肝胰腺色泽与类胡萝卜素的相关性分析见表5。肝胰腺 L^* 与其总类胡萝卜素含量呈显著负相关($P<0.05$), 与虾青素含量呈显著正相关($P<0.05$), 与其余类胡萝卜素含量无显著相关性($P>0.05$)。除肝胰腺中 b^* 和虾青素含量呈正相关外, 肝胰腺的 a^* 和 b^* 与其各类胡萝卜素含量均无显著相关性($P>0.05$)。

2.3 抗氧化和免疫指标

表6为三疣梭子蟹卵巢发育过程中肝胰腺和血淋巴的抗氧化指标变化情况。就肝胰腺而言, T-AOC在I—V期呈现显著下降趋势($P<0.05$), II—III期下降幅度最大, 达68.75%; SOD、CAT和GPX均为“先上升后下降”趋势, 其中SOD和CAT在III期达到峰值, GPX在II期达最大值; 肝胰腺中MDA含量在I—IV期无显著差异($P>0.05$), V期含量最低。就血淋巴中抗氧化指标而言, T-AOC呈现“高-低-高-低”变化趋势; SOD和GPX活力为“先上升后下降”趋势, 其中SOD在III期最高, GPX在IV期最高; CAT和MDA均为“低-高-低-高”的变化趋势, 最高值分别在II期、III期和V期。

三疣梭子蟹卵巢发育过程中肝胰腺和血淋巴非特异性免疫指标变化见表7。肝胰腺I期和III期的ACP活力明显高于其余各期, 且其余各期之间无显著差异($P>0.05$); 在卵巢发育过程中, 肝胰腺中ALP活力呈现“先上升后下降”的趋势, II期ALP活力显著高于其余各卵巢发育期($P<0.05$); 肝胰腺I—V期LZM含量无显著差异($P>0.05$), NO含量整体呈下降趋势。就卵巢发育过程中血淋巴的免疫指标而言, ACP和ALP活力变化趋势与肝胰腺中相反, I期和III期ACP及ALP活力均低于其余各期, 且其余各期间无显著差异($P>0.05$); 血淋巴中LZM含量呈现“先下降后上升”趋势, 其中III期含量最低($P<0.05$); 在卵巢发育过程中, 血淋巴中Hc变化趋势为“高-低-高-低”, 其中IV期Hc含量最高,

II 期显著最低($P<0.05$)。

2.4 肝胰腺中类胡萝卜素和抗氧化指标的相关性分析

三疣梭子蟹卵巢发育过程中肝胰腺中类胡萝卜素与抗氧化指标的相关性分析见表 8。肝胰腺中总类胡萝卜素、叶黄素、玉米黄素和 β -胡萝卜素的含量与测定的 5 个抗氧化指标均无显著相关性($P>0.05$), 仅虾青素含量与 T-AOC 呈显著负相关($n=23, P<0.01$, 图 3A), 叶黄素含量与 GPX 呈显著正相关($n=17, P<0.01$, 图 3B)。

表 3 三疣梭子蟹卵巢发育过程中卵巢、肝胰腺和内表皮中类胡萝卜素含量(mg/kg 湿重)

Tab. 3 Carotenoid composition and contents in ovaries, hepatopancreas and epithelium of *P. trituberculatus* during ovarian development (mg/kg wet weight)

指标 Index	I	II	III	IV	V
卵巢 Ovary					
总类胡萝卜素 Total carotenoids	6.28±1.18 ^c	3.03±0.26 ^c	71.01±6.10 ^b	98.41±4.80 ^a	76.12±2.61 ^b
虾青素 Astaxanthin	1.62±0.27 ^c	0.96±0.07 ^c	26.45±2.35 ^b	39.62±2.48 ^a	27.94±2.90 ^b
叶黄素 Lutein	0.41±0.15 ^c	0.30±0.02 ^c	3.96±0.66 ^a	3.03±0.19 ^a	1.38±0.11 ^b
玉米黄 Zeaxanthin	—	—	1.12±0.17 ^a	0.99±0.09 ^{ab}	0.62±0.03 ^b
海胆烯酮 Echinenone	0.04±0.02 ^b	0.01±0.01 ^b	0.95±0.21 ^a	0.89±0.10 ^a	0.82±0.12 ^a
β -胡萝卜素 β -carotene	1.83±0.21 ^b	1.58±0.15 ^b	18.96±3.00 ^a	15.67±1.37 ^a	14.67±1.15 ^a
肝胰腺 Hepatopancreas					
总类胡萝卜素 Total carotenoids	11.61±1.18 ^a	11.84±1.31 ^a	10.31±1.00 ^a	8.42±0.89 ^a	10.40±2.04 ^a
虾青素 Astaxanthin	1.60±0.05 ^b	1.58±0.05 ^b	2.91±0.28 ^{ab}	4.10±0.54 ^a	4.80±1.26 ^a
叶黄素 Lutein	0.30±0.01 ^b	0.64±0.09 ^a	0.45±0.03 ^b	0.40±0.04 ^b	0.42±0.03 ^b
玉米黄 Zeaxanthin	—	—	0.40±0.05 ^a	0.50±0.05 ^a	0.43±0.11 ^a
β -胡萝卜素 β -carotene	3.43±0.56 ^a	2.20±0.08 ^b	2.90±0.18 ^{ab}	2.35±0.06 ^b	2.35±0.10 ^b
表皮 Epithelium					
总类胡萝卜素 Total carotenoids	235.55±13.78 ^a	133.04±20.88 ^b	132.82±5.01 ^b	109.05±10.42 ^{bc}	87.40±6.29 ^c
虾青素 Astaxanthin	75.43±6.44 ^a	34.87±4.92 ^b	39.62±3.90 ^b	32.82±1.39 ^b	22.70±3.43 ^b
叶黄素 Lutein	11.50±1.16 ^a	6.38±1.18 ^b	5.56±0.69 ^{bc}	4.15±0.46 ^{bc}	2.76±0.12 ^c
海胆烯酮 Echinenone	0.32±0.04 ^a	0.20±0.01 ^b	0.07±0.02 ^c	0.07±0.01 ^c	0.05±0.01 ^c
β -胡萝卜素 β -carotene	27.16±1.84 ^a	19.09±2.00 ^b	17.44±1.33 ^b	18.83±0.98 ^b	14.28±1.43 ^b

注: —表示未检测到

Note: — indicates not detected

表 4 三疣梭子蟹卵巢发育过程中卵巢色泽和类胡萝卜素的相关系数

Tab. 4 Pearson correlation coefficients of color parameters and carotenoid contents in ovaries of *P. trituberculatus* during ovarian development

指标 Index		总类胡萝卜素 Total carotenoids	虾青素 Astaxanthin	叶黄素 Lutein	玉米黄素 Zeaxanthin	海胆烯酮 Echinenone	β -胡萝卜素 β -carotene
L^*	r	-0.852**	-0.870**	-0.259	0.130	-0.448*	-0.535**
	P	<0.001	<0.001	0.232	0.607	0.037	0.006
a^*	r	0.967**	0.980**	0.508*	0.104	0.670**	0.730**
	P	<0.001	<0.001	0.013	0.682	0.001	<0.001
b^*	r	0.958**	0.903**	0.592**	-0.066	0.776**	0.813**
	P	<0.001	<0.001	0.003	0.794	<0.001	<0.001

注: *表示在 0.05 级别, 相关性显著($P<0.05$); **表示在 0.01 级别, 相关性显著($P<0.01$); 下同

Note: * indicates the correlation is significant at the 0.05 level ($P<0.05$); ** indicates the correlation is significant at the 0.01 level ($P<0.01$). The same applies below

3 讨论

3.1 卵巢发育过程中色泽和类胡萝卜素含量的变化及相关性

本研究结果表明, 三疣梭子蟹在卵巢发育过程中, II—IV 期, 卵巢中的总类胡萝卜素和虾青素含量显著增加, II—III 期, 卵巢中的叶黄素、玉米黄素、海胆烯酮和 β -胡萝卜素含量也显著增加, 这说明三疣梭子蟹雌体生殖蜕壳后, 卵巢中类胡萝卜素大量积累和卵巢指数增加基本同步。而 IV—V 期,

卵巢中的总类胡萝卜和虾青素含量有所下降,这可能是因为本实验中池塘养殖三疣梭子蟹卵巢发育IV—V期经过了漫长的冬季(12月—次年2月),池塘平均水温相对较低(6—14℃),此时三疣梭子蟹摄食减少^[4],故卵巢中类胡萝卜素含量有所下降。三疣梭子蟹雌体肝胰腺中类胡萝卜素主要为虾青素和β-胡萝卜素,随着卵巢发育成熟,肝胰腺中的虾青素含量显著增加,而β-胡萝卜素含量无显著变化,这

可能是由于三疣梭子蟹肝胰腺中优先储存虾青素,或三疣梭子蟹将食物中的β-胡萝卜素转化成虾青素后沉积在肝胰腺中^[18, 19]。三疣梭子蟹卵巢发育I—II期,甲壳内表皮中总类胡萝卜素、虾青素、叶黄素、海胆烯酮和β-胡萝卜素含量都显著下降,这可能是由于雌体生殖蜕壳后,内表皮中的虾青素等被运输到几丁质甲壳和肝胰腺等组织中^[10, 20];卵巢发育II—III期,甲壳内表皮中总类胡萝卜素、虾

表5 三疣梭子蟹卵巢发育过程中肝胰腺色泽和类胡萝卜素的相关系数

Tab. 5 Pearson correlation coefficients of color parameters and carotenoid contents in hepatopancreas of *P. trituberculatus* during ovarian development

指标 Index		总类胡萝卜素 Total carotenoids	虾青素 Astaxanthin	叶黄素 Lutein	玉米黄素 Zeaxanthin	β-胡萝卜素 β-carotene
<i>L</i> *	<i>r</i>	-0.507**	0.469**	0.100	-0.015	-0.051
	<i>P</i>	0.004	0.006	0.642	0.949	0.782
<i>a</i> *	<i>r</i>	0.015	-0.283	-0.173	-0.064	0.010
	<i>P</i>	0.938	0.111	0.418	0.787	0.957
<i>b</i> *	<i>r</i>	0.035	0.415*	-0.021	0.104	-0.140
	<i>P</i>	0.855	0.016	0.923	0.662	0.446

表6 三疣梭子蟹卵巢发育过程中肝胰腺和血淋巴抗氧化指标变化

Tab. 6 Changes of antioxidant indexes in hepatopancreas and haemolymph of *P. trituberculatus* during ovarian development

指标Index	I	II	III	IV	V
肝胰腺Hepatopancreas					
总抗氧化能力T-AOC (mmol/g prot)	1.33±0.13 ^a	0.80±0.09 ^b	0.25±0.05 ^c	0.17±0.01 ^c	0.09±0.01 ^d
超氧化物歧化酶SOD (U/mg prot)	19.73±2.72 ^{ab}	19.11±2.42 ^{ab}	30.75±3.68 ^a	23.85±1.50 ^{ab}	16.02±2.19 ^b
过氧化氢酶CAT (U/mg prot)	1.02±0.28 ^{ab}	0.70±0.10 ^b	1.54±0.15 ^a	0.85±0.07 ^b	0.38±0.10 ^c
谷胱甘肽过氧化物酶GPX (U/g prot)	122.04±15.41 ^b	325.09±51.56 ^a	154.55±12.51 ^b	105.06±12.65 ^{bc}	62.93±8.06 ^c
丙二醛MDA (nmol/mg prot)	5.57±0.47 ^a	4.30±0.57 ^a	5.41±0.67 ^a	3.48±0.43 ^{ab}	1.63±0.13 ^b
血淋巴Haemolymphs					
总抗氧化能T-AOC (mmol/L)	0.64±0.06 ^a	0.28±0.04 ^c	0.44±0.03 ^b	0.77±0.04 ^a	0.45±0.04 ^b
超氧化物歧化酶SOD (U/mL)	119.65±5.05 ^a	126.49±2.12 ^a	134.93±4.61 ^a	117.84±2.17 ^a	99.05±10.67 ^b
过氧化氢酶CAT (U/mL)	2.73±0.16 ^{ab}	3.22±0.23 ^a	2.36±0.17 ^{bc}	1.70±0.09 ^c	2.35±0.16 ^{bc}
谷胱甘肽过氧化物酶GPX (U/L)	111.84±14.34 ^d	434.46±64.78 ^c	648.65±18.88 ^b	835.68±38.24 ^a	611.24±82.61 ^b
丙二醛MDA (nmol/mL)	5.56±0.58 ^c	9.16±1.38 ^c	25.40±1.32 ^a	19.87±1.32 ^b	26.26±2.70 ^a

表7 三疣梭子蟹卵巢发育过程中肝胰腺和血淋巴非特异性免疫指标变化

Tab. 7 Changes of non-specific immune indexes in hepatopancreas and haemolymphs of *P. trituberculatus* during ovarian development

指标Index	I	II	III	IV	V
肝胰腺Hepatopancreas					
酸性磷酸酶ACP (U/g prot)	1609.09±215.03 ^a	984.09±125.94 ^{ab}	1532.86±201.84 ^a	507.32±25.14 ^b	456.97±27.58 ^b
碱性磷酸酶ALP (U/g prot)	1253.12±156.42 ^b	7785.65±575.36 ^a	772.07±79.88 ^{bc}	455.33±52.08 ^{cd}	367.80±49.22 ^d
溶菌酶LZM (μg/mg prot)	2.30±0.24 ^a	1.73±0.06 ^a	2.25±0.18 ^a	1.94±0.14 ^a	1.61±0.27 ^a
一氧化氮NO (μmol/L)	30.07±2.46 ^{ab}	33.53±2.06 ^a	23.80±1.99 ^{bc}	17.39±1.31 ^c	16.53±2.44 ^c
血淋巴Haemolymphs					
酸性磷酸酶ACP (U/L)	152.15±14.81 ^b	237.23±17.48 ^{ab}	179.78±13.05 ^b	287.90±28.12 ^a	213.05±36.90 ^{ab}
碱性磷酸酶ALP (U/L)	19.06±1.84 ^c	70.06±7.21 ^a	50.34±5.47 ^b	68.52±2.92 ^a	55.02±4.41 ^{ab}
溶菌酶LZM (μg/mL)	6.86±0.51 ^a	4.22±0.13 ^b	2.17±0.28 ^c	4.70±0.60 ^b	3.58±0.40 ^{bc}
血蓝蛋白Hc (mg/mL)	23.98±1.67 ^c	14.60±1.30 ^d	46.88±2.84 ^b	67.71±3.18 ^a	45.21±2.03 ^b

青素、叶黄素和 β -胡萝卜素含量均无显著变化, 这可能是因为这个阶段三疣梭子蟹摄食较多, 内表皮消耗的类胡萝卜素可以得到补充; 卵巢发育III—V期, 甲壳内表皮中的总类胡萝卜素、虾青素、叶黄素和 β -胡萝卜素含量都呈现下降趋势, 可能因为: (1)此阶段池塘水温较低, 三疣梭子蟹摄食较少, 内表皮中消耗的类胡萝卜素不能及时补充; (2)内表皮中的类胡萝卜素被运输到卵巢中供卵巢发育所用^[21]; (3)内表皮中的类胡萝卜素用于保护细胞免受光损伤而被消耗^[10, 22]。

甲壳动物的组织色泽通常与其类胡萝卜素组

表 8 三疣梭子蟹卵巢发育过程中肝胰腺类胡萝卜素与抗氧化指标的相关性分析

Tab. 8 Correlation analysis between carotenoid contents and antioxidant parameters in the hepatopancreas of *P. trituberculatus* during ovarian development

肝胰腺 Hepatopancreas	<i>P</i>	<i>r</i>	方程Equation	<i>R</i> ²	<i>n</i>
总类胡萝卜素Total carotenoids					
T-AOC	0.496	0.149	$y=0.025x+0.311$	0.022	23
SOD	0.256	-0.274	$y=-0.575x+27.273$	0.075	19
CAT	0.939	-0.019	$y=-0.004x+1.018$	0.000	19
GPX	0.495	-0.158	$y=-5.870x+218.013$	0.025	21
MDA	0.367	0.213	$y=0.122x+3.290$	0.045	20
虾青素Astaxanthin					
T-AOC	0.001	-0.640**	$y=-0.172x+0.966$	0.409	23
SOD	0.480	-0.163	$y=-0.639x+23.496$	0.027	21
CAT	0.556	-0.140	$y=-0.041x+1.078$	0.020	20
GPX	0.056	-0.404	$y=-21.547x+215.537$	0.163	23
MDA	0.077	-0.384	$y=-0.490x+5.619$	0.148	22
叶黄素Lutein					
T-AOC	0.939	0.018	$y=0.055x+0.617$	0.000	20
SOD	0.966	-0.012	$y=-0.421x+21.732$	0.000	15
CAT	0.991	0.003	$y=0.013x+9.69$	0.000	16
GPX	0.002	0.701**	$y=601.460x-82.584$	0.482	17
MDA	0.873	-0.042	$y=-0.423x+4.803$	0.002	17
玉米黄素Zeaxanthin					
T-AOC	0.484	-0.196	$y=-0.129x+0.261$	0.038	15
SOD	0.396	-0.257	$y=-11.633x+29.049$	0.066	13
CAT	0.178	-0.398	$y=-1.213x+1.651$	0.159	13
GPX	0.472	-0.219	$y=-58.140x+145.226$	0.048	13
MDA	0.776	0.084	$y=1.062x+3.753$	0.007	14
β -胡萝卜素 β -carotene					
T-AOC	0.345	0.197	$y=0.187x+0.022$	0.039	25
SOD	0.853	0.043	$y=0.690x+20.870$	0.002	21
CAT	0.160	0.318	$y=0.334x+0.130$	0.101	21
GPX	0.463	-0.165	$y=-31.086x+236.147$	0.027	22
MDA	0.127	0.335	$y=1.281x+1.174$	0.112	22

成和含量密切相关^[9, 23]。本研究结果表明, 尽管三疣梭子蟹卵巢中主要类胡萝卜素为虾青素和 β -胡萝卜素, 但其相关性分析结果显示, 三疣梭子蟹卵巢中的 a^* 值和 b^* 值变化与其总类胡萝卜素、虾青素、叶黄素、海胆烯酮和 β -胡萝卜素都呈显著正相关。先前研究表明, 游离虾青素主要为红色, 游离 β -胡萝卜素主要呈现黄色^[24], 因此, 作者推测三疣梭子蟹卵巢中的虾青素和 β -胡萝卜素对其 a^* 值和 b^* 值都有较大贡献; 三疣梭子蟹卵巢的亮度 L^* 值与其虾青素和 β -胡萝卜素呈显著负相关, 这与中华绒螯蟹的研究结果一致^[9]。就肝胰腺色泽参数与类胡萝卜素组成而言, 仅肝胰腺中的虾青素含量和 b^* 值显著正相关, 总类胡萝卜素含量与 L^* 值显著负相关, 但肝胰腺中的所有类胡萝卜素含量都与 a^* 值没有显著的相关性, 这暗示三疣梭子蟹肝胰腺的色泽不仅受类胡萝卜素含量影响, 且可能受到甲壳动物多酚氧化酶引起的褐变反应等影响^[25], 有关三疣梭子蟹肝胰腺色泽形成的具体原因有待进一步研究。

3.2 组织中抗氧化和非特异性免疫指标变化及原因

抗氧化酶活力(例如SOD、CAT和GPX)是反映甲壳动物抗氧化能力和健康状况的重要指标^[26], 这些酶的主要功能是清除氧自由基, 防止自由基导致的组织损伤^[27]。卵巢发育III期肝胰腺中的SOD和CAT最高, GPX在II期最高, SOD、CAT和GPX均在V期最低, 这可能是因为在V期是卵巢发育成熟期,

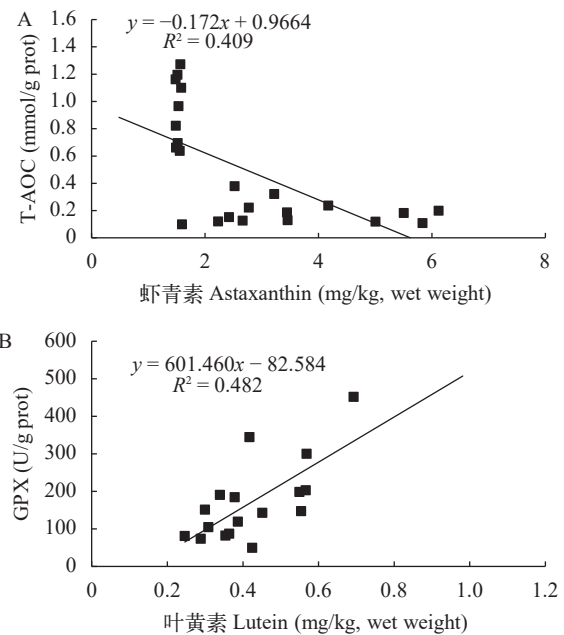


图 3 三疣梭子蟹卵巢发育过程肝胰腺中类胡萝卜素与抗氧化指标的相关性

Fig. 3 Regression analysis of carotenoids and antioxidant indexes in the hepatopancreas of *P. trituberculatus* during ovarian development

不再需要从肝胰腺中大量运输外源营养物质,且此时水温较低,因此,卵巢V期时肝胰腺的营养代谢强度较小,故此时抗氧化酶活较低;而卵巢发育II期和III期时水温较高、三疣梭子蟹摄食多,此时卵巢发育较快需要大量营养物质,故此时肝胰腺中的营养代谢和运输强度较大,故II期和III期肝胰腺中抗氧化酶活力高。MDA是生物体内脂肪的过氧化产物^[28],甲壳动物肝胰腺中的MDA含量通常与其总脂含量有关^[9,12],V期肝胰腺中MDA含量较低暗示该期肝胰腺中的脂肪含量较低。血淋巴中的T-AOC和GPX均在IV期最高,SOD和MDA含量均在III期最高,这可能是由于三疣梭子蟹III期和IV期卵巢发育速度较快,需要大量营养物质和能量,故血淋巴中营养物质运输和代谢强度较大,总抗氧化能力和酶活均较高。

ACP和ALP是两种重要的磷酸酶,在甲壳类动物的新陈代谢和免疫系统中起着至关重要的作用^[16,29]。ALP在参与磷酸基团转移、钙磷代谢和营养物质吸收利用等方面有重要作用^[29]。NO是一种生物信使分子和免疫调节分子,可抑制杀伤病毒、细菌、真菌及寄生虫的感染^[30]。先前研究表明,动物体的卵巢发育和免疫过程都需要消耗能量^[31]。因此,三疣梭子蟹卵巢快速发育阶段,大部分免疫相关基因表达水平都较低^[32]。血蓝蛋白(Hc)在甲壳动物氧运输、能量代谢、甲壳硬化、渗透压调节、先天免疫和生长发育等过程中起着重要作用^[33,34],三疣梭子蟹卵巢发育II—IV期,血淋巴中Hc含量一直显著上升,IV期Hc含量最高,可能原因为:IV期卵巢发育需要大量营养物质、能量和氧气。

虾青素是在甲壳动物体内抗氧化能力较高的天然抗氧化剂^[35,36],但本研究结果表明肝胰腺中虾青素含量与其总抗氧化能力(T-AOC)呈显著负相关,其原因可能为:三疣梭子蟹肝胰腺中的抗氧化能力包括生物抗氧化酶活和非生物抗氧化(如:虾青素等抗氧化剂)两部分组成。在本研究中,三疣梭子蟹卵巢发育V期时,尽管肝胰腺中的虾青素含量最高,但是其SOD、CAT和GPX等抗氧化酶活最低,故此时总抗氧化能力最低。

4 结论

三疣梭子蟹在卵巢发育过程中,卵巢中虾青素和 β -胡萝卜素在II—IV期大量积累,这些类胡萝卜素可能来自于甲壳内表皮、肝胰腺储存和饲料中;卵巢和肝胰腺中的亮度与其主要类胡萝卜素含量呈负相关,红度值与虾青素含量呈正相关。在卵巢发育过程中,肝胰腺和血淋巴的抗氧化及免疫性能

变化规律复杂,可能与其类胡萝卜素组成和卵巢发育的生理代谢有关,具体调控机制有待进一步研究。本研究结果为理解甲壳动物卵巢发育过程中的类胡萝卜素积累规律提供了基础资料,也可为三疣梭子蟹的类胡萝卜素营养调控提供科学依据。

参考文献:

- [1] Wu X G, Zhou B, Cheng Y X, *et al.* Comparison of gender differences in biochemical composition and nutritional value of various edible parts of the blue swimmer crab [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2010, **23**(2): 154-159.
- [2] Bureau of Fisheries and Fishery Management, Ministry of Agriculture and Rural affair of China. China Fisheries Statistical Yearbook in 2021 [M]. Beijing: Chinese Agricultural Press. 2021: 21-36. [农业农村部渔业渔政管理局. 2021年中国渔业统计年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2021: 21-36.]
- [3] Sun Q F, Jiang X D, Hou W J, *et al.* Ovarian fullness affects biochemical composition and nutritional quality of female swimming crab *Portunus trituberculatus* [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2022(106): 104271.
- [4] Che J, Liu M M, Dong Z G, *et al.* The growth and ovarian development pattern of pond-reared swimming crab *Portunus trituberculatus* [J]. *Journal of Shellfish Research*, 2018, **37**(3): 521-528.
- [5] Wu X G, Yao G G, Yang X Z, *et al.* A study on the ovarian development of *Portunus trituberculatus* in East China Sea during the first reproductive cycle [J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2007, **29**(4): 120-127. [吴旭干, 姚桂桂, 杨筱珍, 等. 东海三疣梭子蟹第一次卵巢发育规律的研究 [J]. 海洋学报, 2007, **29**(4): 120-127.]
- [6] Rotllant G, González-Gurriarán E, Fernández L, *et al.* Ovarian maturation of the multi-spawning spider crab *Maja brachydactyla* (Decapoda: Majidae) with special reference to yolk formation [J]. *Marine Biology*, 2007, **152**(2): 383-394.
- [7] Sagi A, Rise M, Isam K, *et al.* Carotenoids and their derivatives in organs of the maturing female crayfish *Cherax quadricarinatus* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 1995, **112**(2): 309-313.
- [8] Kalinina M V, Zadorozhnyi P A, Vinnikova N A. Sexual cycle properties and changes in carotenoid levels in ovary of Japanese mitten crab *Eriocheir japonica* from rivers of Primorye [J]. *Russian Journal of Developmental Biology*, 2009, **40**(3): 176-182.
- [9] Long X W, Wu X G, Zhao L, *et al.* Effects of dietary supplementation with *Haematococcus pluvialis* cell powder on coloration, ovarian development and antioxidation capacity of adult female Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* [J]. *Aquaculture*, 2017(473): 545-553.
- [10] Wade N M, Gabaudan J, Glencross B D. A review of carotenoid utilisation and function in crustacean aquacul-

- ture [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2017, **9**(2): 141-156.
- [11] Han T, Li X Y, Wang J T, *et al.* Effects of dietary astaxanthin (AX) supplementation on pigmentation, antioxidant capacity and nutritional value of swimming crab, *Portunus trituberculatus* [J]. *Aquaculture*, 2018(490): 169-177.
- [12] Wu R F, Long X W, Hou W J, *et al.* Effects of dietary supplementation with *Haematococcus pluvialis* powder on ovarian development, coloration, antioxidant capacity and biochemical composition of adult female swimming crab, *Portunus trituberculatus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2018, **42**(4): 698-708. [吴仁福, 龙晓文, 侯文杰, 等. 饲料中添加雨生红球藻粉对三疣梭子蟹雌体卵巢发育、色泽、抗氧化能力和生化组成的影响 [J]. *水生生物学报*, 2018, **42**(4): 698-708.]
- [13] Castillo R, Lenel R. Determination and metabolism of carotenoid pigments in the hermit crab *Clibanarius erythropus* latreille (1818) [Syn. *Cl. Misanthropus* Heller (1863)] [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 1978, **59B**(1): 67-73.
- [14] Peng J, Xiang W Z, Tang Q M, *et al.* Comparative analysis of astaxanthin and its esters in the mutant E1 of *Haematococcus pluvialis* and other green algae by HPLC with a C30 column [J]. *Science in China Serise C, Life Sciences*, 2008, **51**(12): 1108-1115.
- [15] Sun W H, Zhang Y, Leng K L, *et al.* GB/T 31520-2015, Determination of Astaxanthin in *Haematococcus pluvialis* by Liquid Chromatography [S]. General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China; Standardization Administration of the People's Republic of China, 2015: 1-12. [孙伟红, 张勇, 冷凯良, 等. GB/T 31520-2015, 红球藻中虾青素的测定液相色谱法 [S]. 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局; 中国国家标准化管理委员会, 2015: 1-12.]
- [16] Zhao L, Long X W, Wu X G, *et al.* Effects of fish oil replacement by blending vegetable oils in fattening diets on gonadal development, lipid metabolism, antioxidant and immune capacities of adult male Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2016, **28**(2): 455-467. [赵磊, 龙晓文, 吴旭干, 等. 育肥饲料中混合植物油替代鱼油对中华绒螯蟹成体雄蟹性腺发育、脂质代谢、抗氧化及免疫性能的影响 [J]. *动物营养学报*, 2016, **28**(2): 455-467.]
- [17] Nickerson K W, van Holde K E. A comparison of molluscan and arthropod hemocyanin-I. Circular dichroism and absorption spectra [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 1971, **39B**(4): 855-872.
- [18] Katayama T, Kunisaki Y, Shimaya M, *et al.* The biosynthesis of astaxanthin—XIII. * The carotenoids in the crab, *Portunus trituberculatus* [J]. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1973, **39**(3): 283-287.
- [19] Katayama T, Kunisaki Y, Shimaya M, *et al.* The biosynthesis of astaxanthin—XIV. The conversion of labelled β -carotene-15, 15'- 3 H₂ into astaxanthin in the crab, *Portunus trituberculatus* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 1973, **46B**(2): 269-272.
- [20] Castillo R, Négre-Sadargues G, Lenel R. The carotenoids of the hermit crab *Clibanarius erythropus* latreille (1818) (Crustacea, Decapoda, anomoura) during the moulting cycle-I. Quantitative aspects [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 1988, **89B**(2): 239-243.
- [21] Tantikitti C, Kaonoona R, Pongmaneerat J. Fatty acid profiles and carotenoids accumulation in hepatopancreas and ovary of wild female mud crab (*Scylla paramamosain*, Estampador, 1949). [J]. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 2015, **37**(6): 609-616.
- [22] Liñán-Cabello M A, Paniagua-Michel J, Hopkins P M. Bioactive roles of carotenoids and retinoids in crustaceans [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2002, **8**(4): 299-309.
- [23] Wade N M, Anderson M, Sellars M J, *et al.* Mechanisms of colour adaptation in the prawn *Penaeus monodon* [J]. *The Journal of Experimental Biology*, 2012, 215(Pt 2): 343-350.
- [24] Britton G, Liaaen Jensen S, Pfander H. Carotenoids [M]. Basel, Switzerland, 2008.
- [25] Montero P, Ávalos A, Pérez-Mateos M. Characterization of polyphenoloxidase of prawns (*Penaeus japonicus*). Alternatives to inhibition: additives and high-pressure treatment [J]. *Food Chemistry*, 2001, **75**(3): 317-324.
- [26] Xie S W, Fang W P, Wei D, *et al.* Dietary supplementation of *Haematococcus pluvialis* improved the immune capacity and low salinity tolerance ability of post-larval white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. *Fish and Shellfish Immunology*, 2018(80): 452-457.
- [27] Chien Y H, Shiau W C. The effects of dietary supplementation of algae and synthetic astaxanthin on body astaxanthin, survival, growth, and low dissolved oxygen stress resistance of kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus* Bate [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2005, **318**(2): 201-211.
- [28] Janero D R. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 1990, **9**(6): 515-540.
- [29] Ai C X, Chen L Q, Wen X B, *et al.* Effect of vitamin E on SOD, ALP and ACP activities of Chinese mitten-handed crab, *Eriocheir sinensis* [J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 2003, **22**(1): 24-31. [艾春香, 陈立侨, 温小波, 等. VE对河蟹血清和组织中超氧化物歧化酶及磷酸酶活性的影响 [J]. 台湾海峡, 2003, **22**(1): 24-31.]
- [30] Xie G J, Xie J, Yu D G, *et al.* The advances of the nitric oxide and nitric oxide synthase in immune system of aquatic animals [J]. *Fisheries Science and Technology*, 2009(3): 7. [王广军, 谢骏, 余德光, 等. 一氧化氮及一氧化氮合酶在水生动物免疫系统中的研究进展 [J]. 水产科技, 2009(3): 7.]
- [31] French S S, Moore M C. Immune function varies with reproductive stage and context in female and male tree lizards, *Urosaurus ornatus* [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2008, **155**(1): 148-156.

- [32] Wang W, Wu X G, Liu Z J, *et al.* Insights into hepatopancreatic functions for nutrition metabolism and ovarian development in the crab *Portunus trituberculatus*: gene discovery in the comparative transcriptome of different hepatopancreas stages [J]. *PLoS One*, 2014, **9**(1): e84921.
- [33] Mendoza-Porras O, Kamath S, Harris J O, *et al.* Resolving hemocyanin isoform complexity in haemolymph of black tiger shrimp *Penaeus monodon*-implications in aquaculture, medicine and food safety [J]. *Journal of Proteomics*, 2020(218): 103689.
- [34] Gianazza E, Eberini I, Palazzolo L, *et al.* Hemolymph proteins: An overview across marine arthropods and molluscs [J]. *Journal of Proteomics*, 2021, **245**(2): 104294.
- [35] Zhang J, Liu Y J, Tian L X, *et al.* Effects of dietary astaxanthin on growth, antioxidant capacity and gene expression in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2013, **19**(6): 917-927.
- [36] da Silva F O, Tramonte V L C G, Parisenti J, *et al.* *Litopenaeus vannamei* muscle carotenoids versus astaxanthin: A comparison of antioxidant activity and *in vitro* protective effects against lipid peroxidation [J]. *Food Bioscience*, 2015(9): 12-19.

CHANGES IN CAROTENOID COMPOSITION AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF *PORTUNUS TRITUBERCULATUS* DURING OVARIAN DEVELOPMENT

SUN Qiu-Feng¹, LIU Mei-Mei², HE Jie³, ZHANG Min¹, TAO Xian-Ji^{1,4,5} and WU Xu-Gan^{1,4,5}

(1. Centre for Research on Environmental Ecology and Fish Nutrition of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. School of Marine Science and Fisheries, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, China; 3. Marine and Fisheries Research Institute of Zhejiang Province, Zhoushan 316021, China; 4. Shanghai Engineering Research Centre of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 5. National Demonstration Centre for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Female *Portunus trituberculatus* at different stages of ovarian development (stage I—V) were investigated for their color, carotenoids contents, antioxidant and non-specific immune parameters. The results indicated that: (1) the gonadosomatic index (GSI) increased significantly ($P < 0.05$), while the hepatosomatic index (HSI) rose slightly, then declined gradually. The redness (a^*) and yellowness (b^*) values in ovaries showed an increasing trend, as did lightness (L^*) and b^* values in hepatopancreas, but L^* values in ovaries showed a decreasing trend. (2) Total carotenoids, astaxanthin, zeaxanthin and β -carotene content in ovaries showed an increasing trend followed by a decreasing trend, with the highest astaxanthin content in stage IV. Astaxanthin content in hepatopancreas was on the rise, while β -carotene was on a significant decline. Regarding the content of carotenoids in different tissues, the epithelium contained the highest amount of astaxanthin. L^* values in the ovary and hepatopancreas exhibited a significant negative correlation with total carotenoids, and a^* and b^* values in the ovary both showed a significant positive correlation with total carotenoids, astaxanthin, luteolin, echinenone and β -carotene. There was no significant correlation between a^* values and various carotenoids in hepatopancreas, and b^* values only showed a significant positive correlation with astaxanthin. (3) For antioxidant indexes, T-AOC in hepatopancreas showed a significant decrease in stage I—V ($P < 0.05$), while SOD, CAT and GPX showed an “increasing and then decreasing” trend. The T-AOC in hemolymph showed a trend of “high-low-high-low”. SOD and GPX showed an increasing trend and then decreasing trend, while CAT and MDA showed a “low-high-low-high” trend. In terms of immune indexes, ACP, ALP and NO in the hepatopancreas showed an overall decreasing trend during ovarian development, while ACP, ALP and Hc in the hemolymph showed an increasing trend in stage I—IV and a slight decrease in stage V. (4) Correlation analysis showed that astaxanthin content in hepatopancreas was significantly negatively correlated with T-AOC, lutein content was significantly positively correlated with GPX ($P < 0.01$), and no significant correlation was found between the other carotenoids content and antioxidant indexes. In conclusion, the increase of total carotenoids, astaxanthin and β -carotene in the ovaries of *P. trituberculatus* occurred mainly in stage II—IV, while most of the carotenoids in the epithelium showed a significant decreasing trend and only astaxanthin in the hepatopancreas showed an increasing trend.

Key words: Gonadal development; Carotenoids composition; Antioxidation; Non-specific immune; *Portunus trituberculatus*