

中华绒螯蟹生殖调控研究进展

王美垚, 唐永凯, 俞菊华*, 徐 跑

(中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 农业部淡水渔业和种质资源利用重点实验室, 江苏无锡 214081)

摘要 介绍了中华绒螯蟹繁殖生物学、繁殖影响因素、繁殖调控机制等方面的研究进展, 旨在为今后更好指导河蟹养殖业生产奠定基础。

关键词 中华绒螯蟹; 生殖; 调控

中图分类号 S966.16 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)26-0021-03

Research Progress on Reproduction Regulation of *Eriocheir Sinensis*

WANG Mei-yao, TANG Yong-kai, YU Ju-hua et al (Key Laboratory of Freshwater Fisheries and Germplasm Resources Utilization, Ministry of Agriculture, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi, Jiangsu 214081)

Abstract This article summarized the latest progress from reproductive biology, influencing factors and regulating mechanism on reproduction of *Eriocheir Sinensis*. It can provide a basis for breeding industry of *Eriocheir Sinensis*.

Key words *Eriocheir sinensis*; Reproduction; Regulation

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*), 又名河蟹, 其隶属于节肢动物门(Arthropoda)、甲壳纲(Crustacea)、十足目(Decapoda)、方蟹科(Grapsidae)、绒螯蟹属(*Eriocheir*), 是一种在淡水中生长育肥、在海水中行生殖繁衍的洄游性甲壳类动物^[1-3]。其肉质细嫩、味道鲜美, 被视为水产珍品, 深受广大消费者的青睐。自20世纪70年代开始探索中华绒螯蟹的人工养殖, 现今中华绒螯蟹养殖业取得了突飞猛进的发展。中华绒螯蟹的人工养殖已成为我国淡水名特优新品种养殖中的主导产业和支柱产业, 在推动我国淡水养殖生产持续健康地发展中发挥着至关重要的作用^[4-6]。中华绒螯蟹的生殖活动是我国河蟹人工养殖中的重要环节。探讨河蟹在生殖阶段机体的生理调控机制对于今后更好地促进我国河蟹养殖业的发展具有重要意义。

1 中华绒螯蟹生殖系统结构

有关中华绒螯蟹生殖相关研究始于薛鲁征、堵南山等开展的中华绒螯蟹雌雄生殖系统的组织学结构及发育变化研究^[7-8]。研究表明, 中华绒螯蟹的雄性生殖系统包括一对精巢、射精管、输精管、副性腺以及雄性生殖孔^[9-10]。精巢的发育先于卵巢。河蟹的精巢通常于3月下旬初步具有较为完整的形态, 精子的出现也先于发育成熟期的初级卵母细胞的出现。河蟹精巢的发育具有显著的季节性特点^[11]。在5—6月, 为精巢初级发育期, 副性腺等均不发达, 成熟的精子较少; 7—10月管腔充满成熟精子, 副性腺发达。10月至翌年4月, 则是河蟹的生殖季节。4月后, 精巢进入休止期, 逐渐出现退化^[9-11]。薛鲁征开展的河蟹雌性生殖系统组织学研究表明, 其包括分叶卵巢、受精囊与输卵管。河蟹的卵巢发育同样具有明显的季节性。大致包括三个阶段: 5—7月为发育延缓期, 细胞中初级卵母细胞较多。8—11月为对数增长期,

成熟前期的初级卵母细胞占据较大比例。12月至翌年4月为发育稳定期^[12-13]。

2 中华绒螯蟹生殖系统生化组成

配子质量是动物生殖生物学研究的热点话题。在中华绒螯蟹的研究上, 对于雄性个体研究较少, 但精子为后代提供了同等的遗传物质, 精子的优劣对卵子受精率及个体孵化率等具有直接影响作用。鉴于此, 学者们开展了河蟹雄性生殖系统生化组成及精子代谢研究^[14], 主要探讨了生殖系统中主要能源物质的分布模式及精子代谢关键酶, 乳酸脱氢酶的活性。研究结果表明中华绒螯蟹能源代谢的关键物质主要为蛋白质以及脂类。碳水化合物为其精子代谢主要供能物质, 精子代谢方式以厌氧为主。而后王群又探讨了河蟹雄性生殖系统发育过程中生化成分的季节变化^[15]。结果表明, 肝胰脏内糖脂类物质在性腺快速发育期以前经由血淋巴转移至精巢与副性腺。精巢对糖脂物质的积累早于副性腺, 同时这些物质变化与生殖周期存在显著相关性。

但鉴于有关河蟹雄性生殖系统生化组成研究是就其整体开展的, 而未分别论述各部分的组成成分等。为进一步开展河蟹雄性亲本营养学研究及评价, 麻楠等^[16]就雄性亲蟹生殖系统各部分包括精巢、副性腺、生殖管的生化组成、脂肪酸及氨基酸组成等开展了研究, 结果表明, 中华绒螯蟹雄性亲蟹精巢中主要累积碳水化合物、脂肪多不饱和脂肪酸及高度不饱和脂肪酸。副性腺主要累积粗蛋白及大部分氨基酸。

3 生殖影响因素

3.1 脂类物质 研究表明, 动物的繁殖与性成熟亲本营养状况具有显著相关性^[17]。因而探讨中华绒螯蟹营养需求对于更好开展其生殖调控、繁育优质幼体具有重要意义, 因而学者们就此开展了相关研究。Wen等^[18]探讨了不同脂肪源饲料, 包括鱼油、豆油、猪油对河蟹繁殖力、孵化率以及卵脂肪酸组成的影响。结果表明投喂鱼油饲料组的河蟹具有最高繁殖力与孵化率, 同时卵内多不饱和脂肪酸含量最高, 因而在河蟹繁殖期应提供充足的脂类物质营养。而后刘立鹤等^[19]开展了饲料中添加花生油、卵磷脂等不同脂肪源饲料

基金项目 中国水产科学研究院基本科研项目(2018HY-XKQ02-03); 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心基本科研业务费专项(2018JBFR03)。

作者简介 王美垚(1984-), 女, 天津人, 助理研究员, 博士, 从事水生生物分子生物学研究。* 通讯作者, 研究员, 博士, 从事鱼类遗传育种与分子生物学研究。

收稿日期 2018-04-07

对河蟹繁殖力、血淋巴卵黄蛋白原含量的影响。结果表明卵磷脂也可作为河蟹雌性亲本饲料的优质脂肪源。

高度不饱和脂肪酸对于河蟹的发育与生殖具有较为重要的作用,它们是合成卵子正常发育与增殖所需物质的基础^[20],同时不同生物对不饱和脂肪酸需要量因物种而异。艾春香等^[21]开展了 HUFA 对河蟹生殖性能的影响研究。研究结果表明, HUFA 可有效提高雌蟹性腺中的抗氧化能力,是河蟹维持较优的生殖性能的必需营养物质。

Ji 等^[22]开展了投喂不同饵料包括缢蛏、沙蚕、野杂鱼以及人工饲料对河蟹繁殖力、幼体质量以及卵脂肪酸含量的影响研究。结果表明,二十碳五烯酸和高度不饱和脂肪酸对河蟹繁殖极为重要。Gong 等^[23]开展了脂肪酸结合蛋白在河蟹生殖季节中的克隆与表达研究,证实了脂肪酸结合蛋白在河蟹精巢快速生长期中的脂类运输作用,同时也证实了肝、精巢、卵巢以及血淋巴在脂类营养吸收与利用中所发挥的作用。

3.2 维生素 维生素是维持机体正常生理机能的营养物质。水溶性维生素 C 具有良好的抗应激与抗氧化功用,提高生物体性腺指数,最终有益改善亲体的繁殖能力。胶原蛋白是生物体胚胎及个体早期发育中的关键物质,而维生素 C 是胶原蛋白合成中的辅酶,能够促进赖氨酸和脯氨酸的羟基化,而这种作用能够保证胶原蛋白维持未定的螺旋状三级结构,有益幼体发育^[24]。维生素 C 通过影响河蟹性激素的合成进而调节其生殖行为^[25]。而河蟹自身无法合成只能依靠外源物质供给^[26]。探讨维生素 C 对河蟹生殖的影响可更好指导亲蟹生殖期人工饲料的研发。王群等^[15]开展了添加维生素 C 对雄蟹繁殖的影响研究。研究结果表明,添加应适度。适量添加可促进性腺中维生素 C 的累积,进而促进精巢发育。繁殖期内,河蟹性腺的抗氧化保护需要要强于肝脏等组织。

维生素 E 是一种脂溶性维生素,在亲本发育,防止自由基的氧化破坏,进而提高幼体成活率与后代孵化率上具有重要的抗氧化、抗应激功用,同时对于产卵后的亲本体质复壮同样发挥重要功用^[27]。学者们因而又开展了维生素 C、E 对中华绒螯蟹生殖性能的影响研究^[28]。研究结果表明,河蟹饲料中添加适量的维生素 C 与维生素 E,可保护卵子中的脱氧核糖核酸不被破坏,提高受精卵的孵化率,可较好地改善河蟹生殖性能。

3.3 色素 类胡萝卜素是一种重要的天然色素,动物自身无法合成,只能依靠外源营养物质供给。类胡萝卜素是维生素 A 的前体物质,对胚胎发育具有较为重要的作用,同时在甲壳动物性腺发育期,类胡萝卜素出现富集,可以维护营养物质的贮存同时保护胚胎免受日光照射及氧化作用的影响^[29]。刘立鹤等^[19]开展了高度不饱和脂肪酸、 β -胡萝卜素、维生素 E 交互作用对中华绒螯蟹繁殖性能的影响研究。结果表明三者具有显著的协同作用,对中华绒螯蟹的卵子质量、生殖性能、非特异性免疫关键酶具有积极作用,可提高河蟹生殖性能与非特异性免疫力。

4 生殖调控机制

4.1 眼柄 外源的营养元素会对河蟹的生殖性能产生影响,

同时,其生殖腺发育还会受到内分泌系统与神经系统的直接调控。其中的脑、胸神经节以及视神经节均会对河蟹卵巢发育发挥调节功用。视神经节 X 器官-窦腺复合体可以分泌性腺抑制激素与蜕皮抑制激素,前者对卵巢发育产生直接抑制作用,后者则通过 Y 器官来间接抑制河蟹卵巢发育^[30]。学者们在探讨河蟹眼柄内的视神经内分泌细胞及神经肽激素的调控机制中国发现河蟹眼柄内的神经肽因子对雌蟹卵巢发育具有重要的调控功用^[31-33]。鉴于此,学者们开展了切除河蟹眼柄来探讨其调控功能。研究表明,切除河蟹眼柄可以显著促进其性腺发育成熟,具体是由于切除眼柄后,可促使肝胰腺中的 B 细胞显著增加,然而 F 细胞与 R 细胞数量则显著下降,加速营养物向精巢进行转移,从而使精巢中的氨基酸含量增多,进而为生殖腺的发育供给营养,促进性腺发育成熟^[34]。

4.2 生殖调控基因 除此之外,学者们还开展了中华绒螯蟹精巢、卵巢的比较转录组分析研究,更广泛地挖掘中华绒螯蟹生殖调控相关基因^[35-36]。精子发生包括三个不同时期:精原干细胞有丝分裂,精原细胞减数分裂以及精子形成。每一时期都会受到各种内源基因的调控^[37]。其中 Jiang 等^[36]挖掘出了成熟雄蟹精巢中与生殖调控相关的基因包括热休克蛋白 70、*vasa* 基因编码蛋白、着丝粒轴基因、抗沉默因子 1、Nuf2 蛋白、富含丝氨酸重复结构蛋白 7、DMC1 基因等。热休克蛋白 70 在精子发生不同时期具有不同表达模式,主要调控细胞生长及分化^[38]。睾丸增强基因转录本是一种保守的细胞死亡抑制因子,在精子发生中发挥着重要调节作用^[39]。富含丝氨酸重复结构蛋白 7 可以调控剪切位点的选择^[40]。DMC1 基因可以催化并促进同源染色体重组^[41]。Nuf2 蛋白则可连接着丝粒至纺锤体^[42]。抗沉默因子 1 具有组氨酸伴侣活性,染色单体可经由其连接至新合成的 DNA 分子^[43]。王敏^[35]开展的河蟹卵巢生殖相关基因的克隆及表达包括 *vasa*、*piwi*、*nanos* 及 *PL10* 基因。*Piwi* 基因通过与一类和精子发生相关的 *microRNA* 的相互作用来对基因表达进行调控,对于胚胎干细胞的维持、胚胎发育阶段等发挥调节作用^[44]。*Nanos* 基因对于河蟹原始生殖细胞的形成和迁移是必需的^[45],*nanos* 的缺失将会致使生殖干细胞项生殖腺的迁移失败^[46]。*PL10* 则对精子发生过程的转录与调控发挥调节作用。其参与精子的发生,主要在河蟹的胚胎发育阶段发挥重要调节作用。

5 展望

生物的生殖发育调控机制一直是生命科学领域的研究热点之一。中华绒螯蟹是我国标志性的经济养殖动物,河蟹养殖业也已成为我国名特优新品种养殖中的支柱性产业。探讨河蟹的生殖发育及其调控机制对于今后河蟹种质改良,更好地推动中华绒螯蟹产业发展具有重要的理论意义及现实意义。纵观现今开展的河蟹生殖发育调控研究,多是在河蟹亲体的营养生理学方面,饲料中脂类、氨基酸物质等的影响方面,也初步开展了河蟹眼柄生殖调控相关基因的分子生物学研究。河蟹生殖调控基因及通路的研究是今后开

展河蟹生殖调控、品质提升的必备信息,今后应加大该方面的研究,采用高通量测序等先进技术手段,探讨雌雄个体、繁殖期不同阶段等的差异调控通路,挖掘关键调控通路及基因,为最终揭示中华绒螯蟹生殖调控分子机制,更好的促进我国河蟹养殖业的发展贡献力量。

参考文献

- [1] 赵乃刚,堵南山,包祥生.河蟹的人工繁殖与增养殖[M].合肥:安徽科学技术出版社,1988:75-77.
- [2] 王克行.虾蟹类增养殖学[M].北京:中国农业出版社,1997:36.
- [3] 王武,李应森.河蟹生态养殖[M].北京:中国农业出版社,2010:34.
- [4] 曹侦.长江口中华绒螯蟹养殖亲蟹的放流、生理适应及与洄游亲蟹形态判别[D].上海:上海海洋大学,2012:1-22.
- [5] 农业部渔业渔政管理局.2016 中国渔业统计年鉴[M].北京:中国农业出版社,2016.
- [6] 周刚,周军.我国河蟹产业现状及可持续发展对策[J].中国水产,2011(2):11-12.
- [7] 堵南山,薛鲁征,赖伟.中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)雄性生殖系统的组织学研究[J].动物学报,1988,34(4):329-335.
- [8] 薛鲁征,堵南山,赖伟.中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)雌性生殖系统的组织学研究[J].华东师范大学学报(自然科学版),1987(3):88-97.
- [9] 堵南山,赖伟,薛鲁征.中华绒螯蟹精子的研究I.精子的形态及超微结构[J].海洋与湖沼,1987,18(2):119-125.
- [10] 堵南山,薛鲁征,赖伟.中华绒螯蟹精子的研究II.精子发生[J].海洋与湖沼,1988,19(1):71-75.
- [11] 胡自强,胡运瑾.河蟹生殖系统的形态学和组织结构[J].湖南师范大学自然科学学报,1997(3):71-76.
- [12] 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[J].上海海洋大学学报,2003,12(2):106-112.
- [13] 堵南山,赖伟,陈鹏程,等.中华绒螯蟹卵黄形成的研究[J].动物学报,1999,45(1):88-92.
- [14] 王群,赵云龙,陈立侨.中华绒螯蟹雄性生殖系统生化组成及精子代谢[J].水产学报,2002,26(5):411-416.
- [15] 王群,丁银娣,赵云龙,等.维生素 C 对中华绒螯蟹雄性生殖的影响[J].动物学杂志,2004,39(2):1-5.
- [16] 麻楠,龙晓文,吴旭干,等.中华绒螯蟹成熟雄体生殖系统的生化组成分析[J].上海海洋大学学报,2017,26(6):872-879.
- [17] BRAY W A, LAWRENCE A L. Reproduction of *Penaeus* species in captivity[M]. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science Publisher B V, 1992:93-170.
- [18] WEN X B, CHEN L Q, ZHOU Z L, et al. Reproduction response of Chinese mitten-handed crab(*Eriocheir sinensis*) fed different sources of dietary lipid[J]. Comparative biochemistry & physiology, part A, 2002, 131(3): 675-681.
- [19] 刘立鹤,陈立侨,李康,等.不同脂肪源饲料对中华绒螯蟹卵巢发育与繁殖性能的影响[J].中国水产科学,2007,14(5):786-793.
- [20] 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[J].动物学报,1998,44(4):420-429.
- [21] 艾春香,陈立侨,温小波,等.维生素 E、C 和 HUFA 交互作用对中华绒螯蟹生殖性能的影响[J].水产学报,2002,26(6):533-541.
- [22] JI Y, SUI L Y, WU X G, et al. Effects of different diets on reproductive performance and HUFA composition of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) broodstock during second spawning[J]. Journal of fishery sciences of China, 2006, 13(1): 92-99.
- [23] LI W W, JIN X K, HE L, et al. Molecular cloning and tissue expression of the fatty acid-binding protein(Es-FABP9) gene in the reproduction seasons of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* [J]. Molecular biology reports, 2011, 38(8): 5169-5177.
- [24] WOUTERS R, LAVENS P, NIETO J, et al. Penaeid shrimp broodstock nutrition: An updated review on research and development[J]. Aquaculture, 2001, 202(1/2): 1-21.
- [25] LEVINE M, MORITA K. Ascorbic acid in endocrine systems[J]. Vitamins & hormones, 1985, 42: 1-64.
- [26] CHATTERJEE I B. Evolution and the biosynthesis of ascorbic acid[J]. Science, 1973, 182(4118): 1271-1272.
- [27] 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, 19: 307-323.
- [28] 艾春香,陈立侨,周忠良,等.维生素 C、E 对中华绒螯蟹生殖性能的影响[J].水产学报,2003,27(1):62-68.
- [29] WYBAN J, MARTINEZ G, SWEENEY J. Adding paprika to *Penaeus vannamei* maturation diet improves nauplii quality[J]. World aquaculture, 1997, 28: 59-62.
- [30] 张宽,王贤森.眼柄切除对中华绒螯蟹肝胰腺和生殖腺蛋白质含量及其种类的影响[J].山西农业大学学报(自然科学版),2006,26(2):128-131.
- [31] 邱高峰.中华绒螯蟹眼柄神经内分泌系统的组织学研究[J].上海水产大学学报,1999,8(3):237-241.
- [32] 韦荣编,邱高峰,楼允东.中华绒螯蟹腺神经末梢及 X-器官神经分泌细胞类型[J].动物学研究,2002,23(3):226-232.
- [33] KELLER R. Crustacean neuropeptides: Structures, functions and comparative aspects[J]. Experientia, 1992, 48(5): 439-448.
- [34] 康现江,米娅,刘彬彬,等.摘除眼柄对中华绒螯蟹精巢发育及其氨基酸含量的影响[J].台湾海峡,2000,19(3):360-363.
- [35] 王敏.中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)生殖相关基因的克隆及其表达模式研究[D].苏州:苏州大学,2015:10-77.
- [36] JIANG H, YIN Y X, ZHANG X W, et al. Chasing relationships between nutrition and reproduction: A comparative transcriptome analysis of hepatopancreas and testis from *Eriocheir sinensis* [J]. Comparative biochemistry & physiology, part D, 2009, 4(3): 227-234.
- [37] DAKSHINAMURTI K. Biotin: A regulator of gene expression[J]. Journal of nutritional biochemistry, 2005, 16(7): 419-423.
- [38] ADLY M A, ASSAF H A, HUSSEIN M R A. Heat shock protein 27 expression in the human testis showing normal and abnormal spermatogenesis [J]. Cell biology international, 2008, 32(10): 1247-1255.
- [39] BOULUDUC N, LAMB G N, CESSNA S G, et al. Modulation of Bax inhibitor-1 and cytosolic Ca^{2+} by cytokinins in *Nicotiana tabacum* cells[J]. Biochimie, 2007, 89(8): 961-971.
- [40] ZHU J, KRAINER A R. Pre-mRNA splicing in the absence of an SR protein RS domain[J]. Genes development, 2000, 14(24): 3166-3178.
- [41] HAYASE A, TAKAGI M, MIYAZAKI T, et al. A protein complex containing Mei5 and Sae3 promotes the assembly of the meiosis-specific RecA homolog Dmc1[J]. Cell, 2004, 119(7): 927-940.
- [42] DELUCA J G, DONG Y, HERGERT P, et al. Hec1 and Nuf2 are core components of the kinetochore outer plate essential for organizing microtubule attachment sites[J]. Molecular biology of the cell, 2005, 16(2): 519-531.
- [43] RAMEY C J, HOWAR S, ADKINS M, et al. Activation of the DNA damage checkpoint in yeast lacking the histone chaperone anti-silencing function 1[J]. Molecular & cellular biology, 2004, 24(23): 10313-10327.
- [44] 周学. 昆虫 Piwi 蛋白及 microRNA 的生物信息学预测与进化分析[D]. 南京: 南京师范大学, 2008: 1-11.
- [45] WYLIE C. Germ cells [J]. Current opinion in genetics & development, 2000, 10(4): 410-413.
- [46] TSUDA M, SASAOKA Y, KISO M, et al. Conserved role of nanos proteins in germ cell development[J]. Science, 2003, 301: 1239-1241.

科技论文写作规范——结果

利用图、表及文字进行合乎逻辑的分析。务求精练通顺。不需在文字上重复图或表中所具有的数据,只需强调或阐述其重要发现及趋势。