

中华绒螯蟹胚胎发育及几种代谢酶活性的变化

黄晓荣^{1,2}, 庄平^{1,2*}, 章龙珍^{1,2}, 屈亮^{1,2},
姚志峰^{1,2}, 刘婷^{1,3}, 冯广朋^{1,2}, 刘鉴毅¹

(1. 中国水产科学研究院东海水产研究所,农业部海洋与河口渔业资源及生态重点开放实验室,上海 200090;

2. 上海海洋大学水产与生命学院,上海 201306;

3. 大连海洋大学生命科学与技术学院,辽宁 大连 116023)

摘要: 采用实验室内小规模实验的方法,在水温(16.2±1.5)℃和盐度20的条件下,对中华绒螯蟹胚胎发育过程中的形态学变化和几种重要代谢酶的活性变化进行了系统性研究。实验结果表明,中华绒螯蟹的胚胎发育过程可以分为9个主要阶段:受精卵、卵裂期、囊胚期、原肠期、前无节幼体期、后无节幼体期、原溞状幼体期、出膜前期和孵化期;水温16℃的条件下,整个胚胎发育过程需40d左右,有效积温达到10758h·℃。乳酸脱氢酶(LDH)、总ATPase和苹果酸脱氢酶(MDH)的活性都随胚胎发育时期的变化而变化,LDH活性呈现出先上升后下降的趋势,在囊胚期中活性最高;总ATPase活性在原溞状幼体期最高,在原肠期最低;MDH活性在原溞状幼体期最高,在囊胚期最低。

关键词: 中华绒螯蟹; 胚胎发育; 积温; 酶活性

中图分类号: S917

文献标识码: A

在甲壳动物胚胎发育及其代谢研究方面,许多学者都进行了相关报道。王洪全等^[1]报道了水温、盐度双因子交互作用对中华绒螯蟹胚胎发育的影响,赵云龙等^[2-4]报道了罗氏沼虾胚胎发育及水温对中华绒螯蟹和红螯螯虾胚胎发育的影响,田华梅等^[5-6]研究了中华绒螯蟹胚胎发育过程中消化酶及生化成分的变化,曾朝曙等^[7]研究了锯缘青蟹胚胎发育及温度对胚胎发育的影响,慕峰等^[8]观察了克氏原螯虾胚胎发育的形态学变化,王小艳等^[9]研究了日本新糠虾胚胎发育过程,张志峰等^[10-11]研究了中国对虾的胚胎发育及不同发育阶段同工酶的变化,贾守菊等^[12]和卢建平^[13]分别报道了中华绒螯蟹和罗氏沼虾胚胎发育过程中同工酶的变化。

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*),俗称河蟹、大闸蟹、毛蟹,属于节肢动物门、甲壳纲,在淡水中生长、海水中繁殖。中华绒螯蟹因其味道鲜美而

深受人们喜爱,是我国传统的名特优水产珍品。尽管国内外学者对甲壳动物的胚胎发育及其代谢进行了相关研究,但中华绒螯蟹的胚胎发育过程及不同发育时期代谢酶的变化还未有详细报道。本文系统研究了中华绒螯蟹的胚胎发育过程,描述了胚胎发育中的外部形态结构特征和不同发育阶段的几种重要代谢酶活性的变化情况,旨在丰富其繁殖生物学的研究内容,同时为中华绒螯蟹的人工繁育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

2010年1月从江苏省启东水产养殖场购买成熟的雄性和雌性中华绒螯蟹亲本各20尾,平均体重(352.6±6.8)g。雌蟹和雄蟹按照2:1饲养于直径1.5m的圆形玻璃缸中,每个缸中6只蟹,保持水深60cm,缸内放砖块瓦片提供隐蔽栖息

收稿日期:2010-09-26 修回日期:2010-12-09

资助项目:国家“八六三”高技术研究发展计划(2008AA10Z227);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2007T02);农业部行业专项资金项目(200903048-07)

通讯作者:庄平,E-mail:pzhuang@online.sh.cn

场所,每天 24 h 增氧,12 h 光照。每天晚上按体重的 5% ~ 10% 投喂小型贝类和鱼类,第二天早上清除缸底的残饵和粪便,循环水养殖,日均水体交换量为 70% ~ 80%。水质分析仪(YSI)监测和记录水体温度、盐度、溶氧和 pH,实验用水为经充分曝气的自来水,试验期间水温控制在 $(16.2 \pm 1.5) ^\circ\text{C}$,盐度 (20.1 ± 0.5) ,pH 7.5 ~ 8.5,DO 保持 6 mg/L 以上。

1.2 观察与记录

从试验当天开始,每天上午 9:00 检查蟹的抱卵情况,如有抱卵,则将抱卵蟹移到另外的玻璃缸中单独饲养,其饲养管理方法同前。根据发育情况,每隔 1 天取样观察一次,每次从雌蟹腹部不同位置各取 30 ~ 50 粒卵,采用正置显微镜(Olympus)观察其胚胎发育过程并用 Image-Pro-Plus 5.1 软件测量胚胎大小,以其中 50% 以上胚胎达到某一发育时期作为该时期起始时间。记录每天的平均水温,据此求出孵化所需要的有效积温。有效积温按照公式 $K = N \cdot (T - C)$ 计算,式中, K 为中华绒螯蟹胚胎发育所需要的有效积温 ($\text{h} \cdot ^\circ\text{C}$); N 为中华绒螯蟹胚胎完成发育所需要的时间(h); T 为发育期间的平均水温($^\circ\text{C}$); C 为中华绒螯蟹胚胎发育的阈温度($^\circ\text{C}$)。

1.3 样品采集与制备

镜检后分别选取中华绒螯蟹 5 个代表性发育时期的胚胎作为实验材料,用解剖针小心剥离受精卵,放置于用冰瓶保存的培养皿中,称取一定量的受精卵,用 0.9% 生理盐水经超声波匀浆后配制成 10% 组织匀浆液用于酶活性测定。

1.4 酶活性检测

乳酸脱氢酶(LDH)、总三磷酸腺苷酶(total ATPase)和苹果酸脱氢酶(MDH)均采用试剂盒(南京建成生物工程研究所)检测,相应操作参照说明书进行。LDH 采用比色法,酶活力单位定义为每克组织蛋白 $37 ^\circ\text{C}$ 与基质作用 15 min,在反应体系中产生 1 μmol 丙酮酸为 1 单位(U)。总 ATPase 采用比色法,酶活力单位定义为每小时每毫克组织蛋白的组织中 ATPase 分解 ATP 产生 1 μmol 无机磷的量为 1 个 ATPase 活力单位(U)。MDH 采用比色法,酶活力单位定义为每毫克组织蛋白在反应系统中 1 min 内催化 1 μmol 的底物转变成产物定义为 1 个酶活力单位。分别测定了 6 只中华绒螯蟹 5 个不同时期的胚胎,每个样

重复 3 次,结果取平均值。

1.5 数据分析

采用 Excel 和 Statistica(Version 6.0)软件进行分析处理,利用方差分析(One-Way ANOVA)检验不同发育时期酶活性差异的显著性,差异显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 胚胎发育过程

中华绒螯蟹受精卵的卵裂方式为典型的表面卵裂,依据中华绒螯蟹胚胎发育中一些易于观察的形态特征并参考蟹类的分期方法,对中华绒螯蟹的胚胎发育进行了如下分期:

I 受精卵(fertilized eggs) 受精卵为圆形,卵径 $(367 \pm 6) \mu\text{m}$,含卵黄较多,受精卵内部的卵质和卵膜贴得很紧,卵质颜色较深,在这一时期卵膜的颜色始终是透明的。随着时间的推移,一部分卵质开始和卵膜分离(图版-1)。

II 卵裂期(cleavage stage) 随着时间的推移,胚胎进一步发育。卵裂首先在动物极出现隘痕,不久即分裂成两个大小不等的分裂球,由于分裂是不等分裂,二分裂球后相继出现 4、8、16、32 细胞期,发育至 64 细胞期后,分裂球的大小已不易区分,胚胎进入多细胞期。整个卵膜内的卵质都在收缩,其体积较受精卵期的明显缩小,最后整个卵质表面都呈现成大小不等的裂块,为典型的表面卵裂(图版-2 ~ 6)。

III 囊胚期(blastula stage) 中华绒螯蟹的受精卵不具有常见形式的囊胚腔,发育到囊胚期时,先是受精卵的一部分发生隆起,而另一部分仍卵裂期。分裂开始变快,细胞增加很多,这些细胞都呈圆形或椭圆形,排列在胚胎的周围,组成一层薄的囊胚腔,囊胚层下的囊胚腔则全被卵黄颗粒所填充,也称卵黄囊(图版-7,8)。

IV 原肠期(gastrula stage) 随着胚胎的发育,胚胎以内移方式形成原肠胚,胚胎的一端出现一个透明区域,在卵的一侧出现一块新月形的透明区,从而与黄色的卵巢块区别开来。随着分裂的加速,细胞越来越小,胚胎前端的大部分形成细胞密集的区域,称为胚区,而后端的一小部分则形成胚外区。在胚区的后端还另有一小区,称为原口或胚孔。随着原口的出现,在胚区前端两侧形成一对密集的细胞群,这对细胞群初呈盘状,后呈

球状,突露于胚胎上,称为视叶原基。随后胚区左右各侧又出现拱桥状的增厚细胞带,称为似桥细胞群(图版-9,10)。

V 前无节幼体期(the egg-nauplius stage) 无色透明区继续向下凹陷,占整个卵面积的1/5~1/4,胚区似桥细胞群形成3对附肢原基,同时视叶原基明显增大,成为视叶(图版-11)。

VI 后无节幼体期(the egg-metanauplius stage) 透明区已占整个卵面积的2/5左右,这期幼体的附肢增加到5对,最终甚至达到7对,胚胎左右两侧各出现一条纵走的隆起,这就是头胸甲原基(图版-12)。

VII 原溞状幼体期(original zoea stage) 头胸甲原基不断生长,左右相连,成为头胸甲。透明区继续扩大,占2/3~1/2,在胚体头胸部前下方的两侧出现桔红色的眼点,呈扁条状,后来条纹逐渐增粗而呈星芒状,复眼的发育基本完成,复眼色素形成后,眼点部分色素加深变黑,眼直径扩大,复眼已呈大而显眼的椭圆形,复眼内各单眼分界逐渐分明,呈放射状排列。胚胎上可见多数棕黑

的色素条纹,这些条纹逐渐变粗而呈星芒状。卵黄收缩呈蝴蝶状,卵黄囊的背方开始出现心脏原基,不久心脏开始跳动(图版-13,14)。

VIII 出膜前期(prehatching stage) 随着胚胎进一步发育,心跳频率继续增加,间隙次数减少,并且趋于稳定,节律性增加,心跳次数增加至每分钟170~200次。胚胎腹部的各节间相继出现黑色素,胚体在卵膜内转动(图版-15)。

IX 孵化期(hatching stage) 受精后978h,有效积温10758h·℃。胚胎发育完全后,借尾部的摆动破膜而出,即为第一幼体(图版-16)。初孵幼体体型与成体基本相同,全长1.6~1.79mm,头胸甲长0.7~0.76mm,腹部长1.1~1.18mm,腹部卷曲,活动能力很弱,依靠卵黄为营养物质,附着在母体腹足上生活。

2.2 胚胎发育时间与积温

在现有试验温度下,中华绒螯蟹胚胎发育所需时间较长,历时978h,各个时期的发育时间、所需有效积温和典型特征见表1。

表1 中华绒螯蟹胚胎发育与有效积温

Tab.1 Embryonic development of *E. sinensis* and effective accumulative temperature

发育时期 development stage	发育时间(h) development time	有效积温(h·℃) accumulative temperature	发育特征 development character
受精卵 fertilized eggs	0	0	圆形,含卵黄较多
卵裂期 cleavage stage	96	1 056	不等分裂,表面卵裂型
囊胚期 blastula stage	340	3 740	形成囊胚腔
原肠期 gastrula stage	400	4 400	新月形的透明区
前无节幼体期 the egg-nauplius stage	580	6 380	视叶出现
后无节幼体期 the egg-metanauplius stage	750	8 250	头胸甲原基形成
原溞状幼体期 original zoea stage	798	8 778	复眼形成,心脏跳动
出膜前期 prehatching stage	954	10 494	心跳频率增加
孵化期 hatching stage	978	10 758	第一幼体孵出

2.3 不同发育时期3种酶活性的变化

中华绒螯蟹不同发育时期乳酸脱氢酶、总ATPase酶和苹果酸脱氢酶的活性变化分别见图1~图3。LDH的活性随胚胎发育的进行呈现出先升高后下降的趋势,在囊胚期中酶的活性达到最高值,前无节幼体中活性最低,除原肠期和原溞状幼体期酶活性无显著差异外($P > 0.05$),其他各时期LDH的活性都有显著性差异(图1)。从卵裂期到囊胚期的发育过程中,ATPase酶的活性微弱上升(图2)。发育到原肠期后,ATPase酶

的活性急剧下降到0.075 U/mg prot,此后酶活性又开始显著升高,到原溞状幼体期时,ATPase酶活性快速升高到13.26 U/mg prot,显著高于其他发育时期($P < 0.05$)。在卵裂期,MDH的平均活性为0.17 U/mg prot,发育到囊胚期后,酶活性急剧下降到0.006 U/mg prot,此后随发育时期的变化,MDH的活性呈逐渐升高的趋势,发育到原溞状幼体期时,MDH的活性达到最高,平均为0.30 U/mg prot,显著高于其他发育时期($P < 0.05$)(图3)。

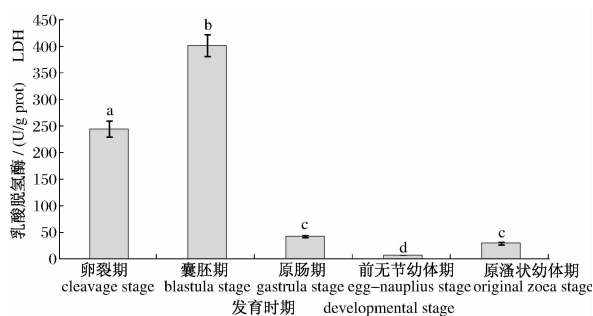


图1 不同发育时期乳酸脱氢酶活性的变化

各组间不同字母代表有显著性差异 ($P < 0.05$)。

Fig. 1 Variation of LDH activity at different developmental stages

Means with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

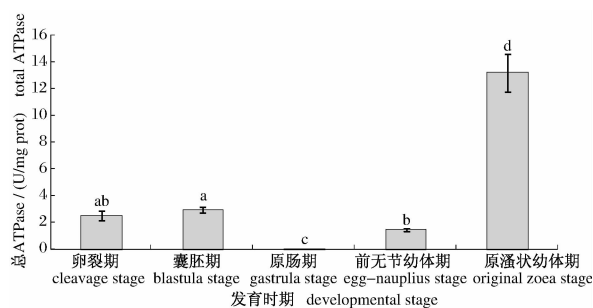


图2 不同发育时期总ATPase活性的变化

各组间不同字母代表有显著性差异 ($P < 0.05$)。

Fig. 2 Variation of total ATPase activity at different developmental stages

Means with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

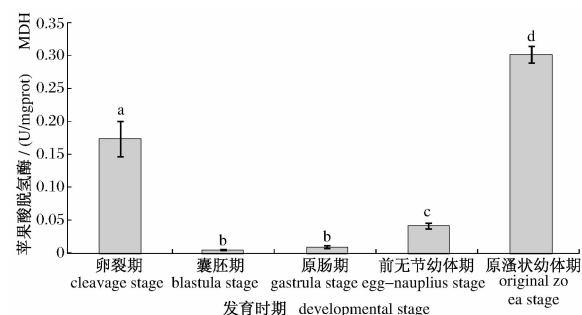


图3 不同发育时期苹果酸脱氢酶活性的变化

各组间不同字母代表有显著性差异 ($P < 0.05$)。

Fig. 3 Variation of MDH activity at different developmental stages

Means with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

3 讨论

3.1 胚胎发育分期

同种类甲壳动物,其卵内幼体的类别及分期

不同,不同学者也有不同的分期方法^[15],但也有共同之处。就目前的研究来看,甲壳动物的胚胎多经历无节幼体阶段,有的种类仅有卵内无节幼体,有的种类有卵内无节幼体和卵内溞状幼体,有的种类除卵内无节幼体和卵内溞状幼体外,还有卵内大眼幼体。河流溪蟹 (*Potamon edulis*) 胚胎除经历 2 期无节幼体和 2 期溞状幼体外,还在卵内出现 1 期大眼幼体^[14]; 锯缘青蟹 (*Scylla serrata*) 经历无节幼体期,5 对附肢幼体期,7 对附肢幼体期,复眼色素形成期和准备孵化幼体期^[15],三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) 胚胎发育分为 2 期无节幼体和 3 期溞状幼体^[16],不同期卵内幼体在形态上具有明显的差异。本研究表明,中华绒螯蟹胚胎发育经历 2 期无节幼体和 1 期原溞状幼体,这与堵南山等^[17]的报道结果相一致。

曾朝曙等^[7]将锯缘青蟹胚胎发育分为 10 期,薛俊增等^[18]将三疣梭子蟹胚胎分为 7 个时期,孟凡丽等^[19]根据红螯螯虾的外形特征,将红螯螯虾胚胎发育分为 8 个时期。RODRIGUEZ-SERNA 等^[20]根据胚胎颜色的变化,将隶属于螯虾科的 *Procambarus llamas* 的胚胎发育分为 7 个时期。可见,关于虾蟹类胚胎发育的分期并没有一个统一的划分方法。本研究中根据中华绒螯蟹胚胎发育的重要外部特征变化,将胚胎发育划分为 9 个时期,这些形态特征容易把握,该分期方法在科研和育苗生产中具有一定的指导意义。

3.2 胚胎发育过程

甲壳动物胚胎发育早期(受精卵,卵裂期和囊胚期)形态上比较接近,其差异主要在于卵的大小和胚胎发育时间有所不同。中华绒螯蟹从受精卵排出体外到第 1 次卵裂之间,约有 96 h 的相对静止期,这种现象在三疣梭子蟹和锯缘青蟹中也存在,但滞育时间有种的差异。三疣梭子蟹 52 h,锯缘青蟹 16 h。这段相对静止期具有重要的生物学意义,中华绒螯蟹在这段时间内经过精子顶体反应、受精卵卵膜变化、雌雄原核出现及联合、核质交换和调整,完成受精作用^[21]。滞育时间与温度有密切的关系,中华绒螯蟹在自然温度(7 ~ 8 °C)下,从排卵到卵裂需要 6 ~ 7 d,在 18 °C 时仅需 25 h^[3],本实验中在 16 °C 时,从排卵到卵裂则需要 96 h,有效积温达到 1 056 h · °C。锯缘青蟹在 18 ~ 28 °C 下,从排卵到卵裂需要 16 h^[15],三疣

梭子蟹在 11.5 ~ 12.0 °C 下,从排卵到卵裂需 52 h。与这两种蟹类相比,中华绒螯蟹胚胎发育所需时间较长,16 °C 的水温中发育需约 40 d,有效积温达到 10 758 h · °C。

3.3 不同发育时期代谢酶活性的变化

机体在发育过程中会发生一系列复杂的同工酶变化,由单细胞受精卵阶段一个前体酶谱经不同的发育过程后,因不同细胞中特异基因的表达可产生成体组织中特异的同工酶谱,即同工酶的表达具有时间和空间上的特异性,生物个体发育过程中酶谱的变化能反映细胞组成和生理代谢的变化^[22]。中华绒螯蟹在卵裂期和囊胚期中 LDH 的活性较高,随胚胎发育的进行,酶活性显著下降,这种变化趋势与贾守菊等^[12]对中华绒螯蟹不同发育时期胚胎的同工酶的研究结果基本相似,也与其体内在发育过程中碳水化合物含量的变化规律基本相符^[5],但与卢建平等^[13]对罗氏沼虾的研究有所不同。这可能是由于 LDH 活性的表达与发育过程中胚胎处于不同的温度有关,也可能与胚胎在不同发育过程中氧分压的变化有关,或与中华绒螯蟹在胚胎发育过程中对碳水化合物的利用有关。田华梅等^[5]认为,中华绒螯蟹胚胎发育过程中,碳水化合物只有部分是用于能量代谢,大部分则可能用于构建甲壳动物的几丁质骨骼。MDH 是三羧酸循环中重要的脱氢酶之一,大部分集中于线粒体。中华绒螯蟹不同时期胚胎中 MDH 的变化趋势与张志峰等^[11]对中国对虾和卢建平等^[13]对罗氏沼虾胚胎发育过程中 MDH 同工酶谱的研究有类似的结果,但与贾守菊等^[12]对中华绒螯蟹的研究结果有所不同,他们的研究结果中溞状幼体期无 MDH 酶带显示。本研究中原溞状幼体期 MDH 的活性很高,形成这种差异的原因可能是胚胎划分阶段存在一段时间上的差别,溞状幼体期比原溞状幼体期发育时间更晚,导致酶活性存在较大差异。ATPase 存在于组织细胞及细胞器的膜上,是生物膜上的一种蛋白酶,可催化 ATP 水解释放出大量能量,供生物体进行各需能生命过程。本研究中中华绒螯蟹胚胎发育中总 ATPase 活性与 MDH 活性有相似的变化趋势,这种变化可能与胚胎在发育过程中相应的代谢功能有关。

对中华绒螯蟹胚胎发育时期中 LDH、总 ATPase 和 MDH 的研究结果显示,原溞状幼体期的酶活性或低于或显著高于胚胎发育的其他各时期,

这与张志峰等^[11]对中国对虾幼体发育阶段的同工酶研究结果相似。其主要原因可能是,在早期的胚胎发育过程中,其发育主要依靠卵内丰富的营养物质,主要是卵黄中的蛋白质和脂滴,尤其是蛋白质,这是胚胎发育中重要的结构物质和主要的能源物质^[23],其可用于胚胎发育过程中组织的分化和器官的形成。当胚胎发育至溞状幼体期时,母体的营养贮存已全部耗尽,个体开始新的酶合成以消化由外界摄食的饵料物质。因此有关甲壳动物溞状幼体期一些酶活性的变化规律与该期的特殊代谢之间的关系,尚需要进一步深入的研究。

参考文献:

- [1] 王洪全,黎志福. 水温、盐度双因子交互作用对河蟹胚胎发育的影响[J]. 湖南师范大学学报:自然科学版,1996,19(3):63-67.
- [2] 赵云龙,王群,堵南山,等. 罗氏沼虾胚胎发育的研究:I. 胚胎外部结构形态发生[J]. 动物学报,1998,44(3):249-256.
- [3] 赵云龙,堵南山,赖伟. 不同水温对中华绒螯蟹胚胎发育的影响[J]. 动物学研究,1993,14(1):49-53.
- [4] 赵云龙,孟凡丽,陈立侨,等. 不同水温对红螯螯虾胚胎发育的影响[J]. 湖泊科学,2000,12(1):59-67.
- [5] 田华梅,赵云龙,李晶晶,等. 中华绒螯蟹胚胎发育过程中主要生化成分的变化[J]. 动物学杂志,2002,37(5):18-21.
- [6] 田华梅,王群,赵云龙,等. 中华绒螯蟹胚胎发育过程中的消化酶活力及氨基酸组成[J]. 中国水产科学,2003,10(5):404-408.
- [7] 曾朝曙,王桂忠,李少菁. 锯缘青蟹胚胎发育的观察及温度影响胚胎发育的研究[J]. 福建水产,1991(1):45-50.
- [8] 慕峰,吴旭干,成永旭,等. 克氏原螯虾胚胎发育的形态学变化[J]. 水产学报,2007,31(增刊1):6-11.
- [9] 王小艳,杨筱珍,王金峰,等. 日本新糠虾胚胎发育及母体大小与幼体关系研究[J]. 水生生物学报,2009,33(5):851-859.
- [10] 张志峰,廖承义,王海林,等. 中国对虾胚胎发育的研究[J]. 水产学报,1997,21(2):201-205.
- [11] 张志峰,马英杰,廖承义,等. 中国对虾幼体发育阶段的同工酶研究[J]. 海洋学报,1997,19(4):63-71.
- [12] 贾守菊,应雪萍,陈艳乐,等. 中华绒螯蟹不同发育时期胚胎及流产胚胎的同工酶变化[J]. 动物学杂志,2005,40(1):76-83.

- [13] 卢建平,姜乃澄. 罗氏沼虾胚胎发育过程中同工酶的研究[J]. 东海海洋,2000,18(3):34-39.
- [14] PACE F, HARNIS R R, JACCARINI V. The embryonic development of the Mediterranean freshwater crab, *Potamon edulus*[J]. J Zool,1976,180(1):93-106.
- [15] 韦受庆,罗远裕. 青蟹胚胎发育的研究[J]. 热带海洋,1986,5(3):57-61.
- [16] 薛俊增,堵南山,赖伟. 三疣梭子蟹胚胎发育过程中卵内幼体形态[J]. 动物学报,2001,47(4):447-452.
- [17] 堵南山,赵云龙,赖伟. 中华绒螯蟹胚胎发育的研究[C]//甲壳动物学论文集(第三辑). 青岛:青岛海洋大学出版社,1992:128-135.
- [18] 薛俊增,堵南山,赖伟. 三疣梭子蟹活体胚胎发育的研究[J]. 动物学杂志,1998,33(6):45-49.
- [19] 孟凡丽,赵云龙,陈立侨. 红螯螯虾胚胎发育研究: I. 胚胎外部结构的发生[J]. 动物学研究,2000,21(6):468-472.
- [20] RODRIGUEZ-SERNA M, CARMONA-OSALDE C, OLVERA M A. Fecundity, egg development and growth of juvenile crayfish *Procambarus (Austrocambarus) llamasii* (Villalobos 1955) under laboratory conditions [J]. Aquaculture Research,2000,31:173-179.
- [21] 堵南山,赖伟,安婴,等. 中华绒螯蟹受精的细胞学研究[J]. 中国科学(B辑),1992,36(3):260-265.
- [22] 赖德 C C, 泰勒 C B. 生物学研究概说(同工酶)[M]. 范培昌,译. 北京:科学出版社,1987:35-54.
- [23] BABU D E. Observations on the embryonic development and energy source in the crab *Xantho bidentatus*[J]. Mar Biol,1987,95:123-127.

**Embryonic development and the variation of some metabolism
enzyme activity during embryonic development of
Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)**

HUANG Xiao-rong^{1,2}, ZHUANG Ping^{1,2*}, ZHANG Long-zhen^{1,2}, QU Liang^{1,2},
YAO Zhi-feng^{1,2}, LIU Ting^{1,3}, FENG Guang-peng^{1,2}, LIU Jian-yi¹

(1. East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key and Open Laboratory of
Marine and Estuarine Fisheries Resources and Ecology, Ministry of Agriculture, Shanghai 200090, China;

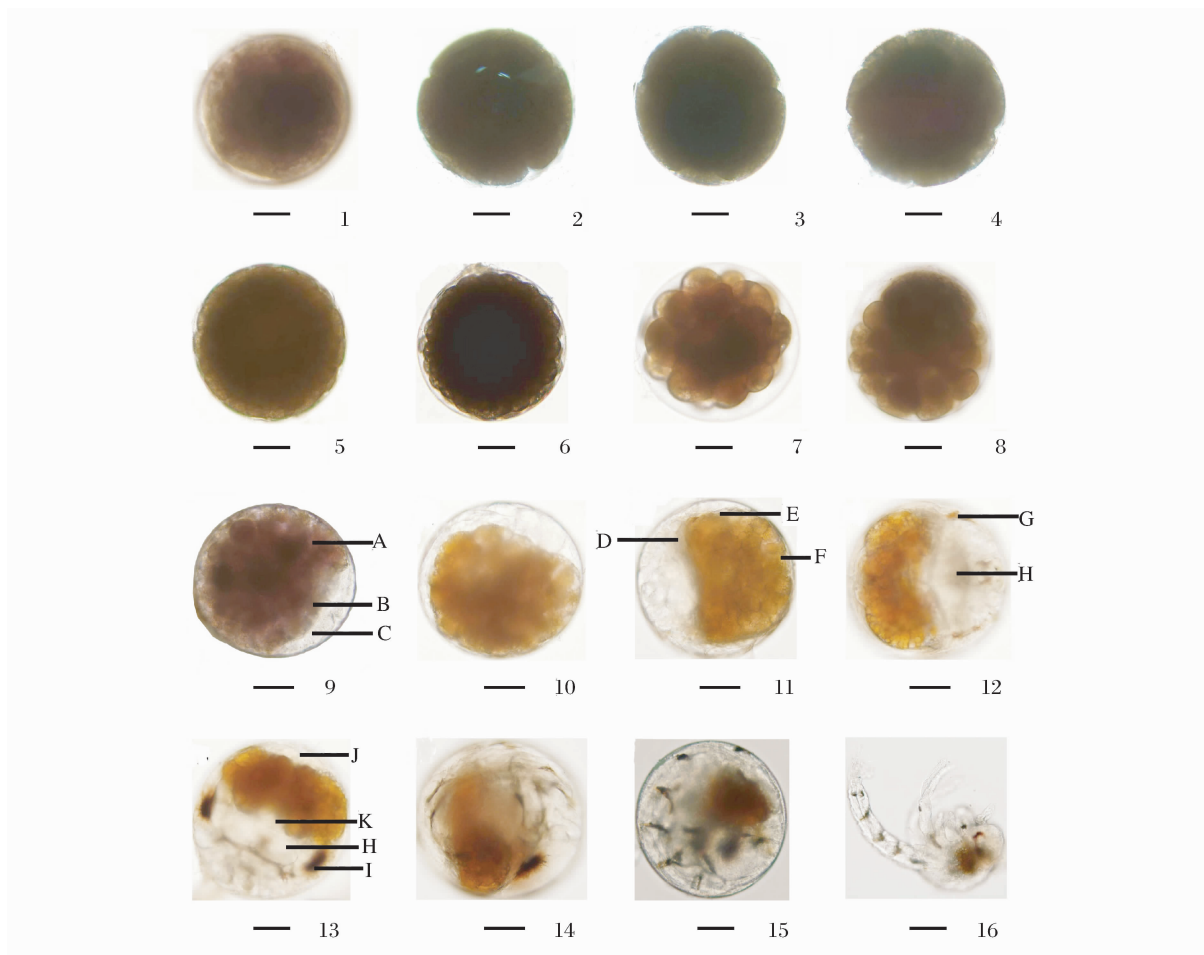
2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. College of Aqua-life Science and Technology, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China)

Abstract: Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* grows in freshwater habitats until maturity and then migrates into saline waters to spawn. Although it is regarded as an invader causing great ecological and economic loss in European and American countries, the mitten crab has long been a fashionable table delicacy in autumn in China, Japan and other Asian countries. The study was carried out to investigate the changes of external morphological character and some metabolism enzyme activity during the embryonic development of *E. sinensis* at water temperature (16.2 ± 1.5) °C and salinity 20 through laboratory experiment. The results indicated that the process of embryonic development could be divided into nine stages: fertilized eggs, cleavage stage, blastula stage, gastrula stage, egg-nauplius stage, egg-metanauplius stage, original zoea stage, prehatching stage and hatching stage. There were significant differences in external morphological character of each stage during the whole process. The whole incubation period is about 40 days at water temperature 16 °C and effective accumulative temperature reached 10 758 h · °C. The activity of LDH, total ATPase and MDH changed with the developmental stage of embryos, LDH activity increased first and then dropped with the developmental stage, the highest activity occurred at blastula stage; total ATPase activity was the highest at original zoea stage and was the lowest at gastrula stage; the activity of MDH was the highest at original zoea stage and was the lowest at blastula stage, respectively.

Key words: *Eriocheir sinensis*; embryonic development; effective accumulative temperature; enzyme activity

Corresponding author: ZHUANG Ping. E-mail: pzhuang@online.sh.cn



图版 中华绒螯蟹胚胎发育(图中标尺均为 100 μm)

1. 受精卵; 2. 2 细胞; 3. 4 细胞; 4. 8 细胞; 5. 16 细胞; 6. 32 细胞; 7~8. 囊胚期; 9~10. 原肠期; 11. 前无节幼体期; 12. 后无节幼体期; 13. 前溞状幼体期; 14. 溞状幼体期; 15. 出膜前期; 16. 出膜期。

A. 胚区; B. 原口; C. 胚外区; D. 视叶原基; E. 似桥细胞群; F. 腹板原基; G. 视叶; H. 头胸甲原基; I. 复眼; J. 心脏; K. 口道。

Plate Embryonic development of *Eriocheir sinensis* (bar:100 μm)

1. fertilized eggs; 2. 2-cell stage; 3. 4-cell stage; 4. 8-cell stage; 5. 16-cell stage; 6. 32-cell stage; 7-8. blastula stage; 9-10. gastrula stage; 11. the egg-nauplius stage; 12. the egg-metanauplius stage; 13. the protozoa stage; 14. the zoea stage; 15. the prehatching stage; 16. the hatching stage.

A. germinal area; B. blastopore; C. extraembryonic area; D. optic lobe rudiment; E. bridge-like cell group; F. ventral plate rudiment; G. optic lobe; H. carapace rudiment; I. compound eye; J. heart; K. stomodaeum.