

文章编号:1000-0615(2006)05-0603-08

低温适应下锯缘青蟹肌肉及其细胞膜脂肪酸组成的变化

孔祥会^{1,2}, 王桂忠¹, 李少菁¹

(1. 厦门大学海洋与环境学院, 福建 厦门 361005;

2. 河南师范大学生命科学学院, 河南 新乡 453007)

摘要 研究主要采用生物化学方法对低温适应3周的锯缘青蟹肌肉及肌细胞膜脂肪酸组成进行测定,结果显示,肌肉中脂肪酸C16:0随饲养温度降低而降低,5℃组显著低于27℃组($P < 0.05$);C18:0却在5℃组显著高于27℃组($P < 0.05$);C20:5随着饲养温度降低而升高,5℃和10℃组显著高于27℃组($P < 0.05$)。∑C16随饲养温度的降低而降低,5℃组显著低于27℃组($P < 0.01$);∑C20却随饲养温度的降低而升高,5℃和10℃组显著高于27℃组($P < 0.05$);EPA+DHA随饲养温度降低而升高,5℃和10℃组显著高于27℃组($P < 0.05$),而EPA/DHA仅5℃组显著高于27℃组($P < 0.01$)。低温适应下锯缘青蟹肌肉细胞膜脂肪酸C18:2显著升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),但随养殖温度的降低逐渐降低;低温适应下C18:1降低,在5℃组显著降低($P < 0.05$);C18:0低温适应下也显著降低($P < 0.01$);C20:5低温适应下上升,但仅在15℃适应下显著上升($P < 0.05$);C22:6低温环境下降低,在5℃和10℃组显著下降($P < 0.05$);C20:1、C20:4和C20:3在低温环境下增加,仅5℃组显著高于27℃组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);肌肉细胞膜中∑C18低温环境下降低,而∑C20低温下增加,并且均在5℃组出现显著性差异($P < 0.01$)。∑C22低温适应下降低,仅10℃下降明显($P < 0.05$);∑SFA低温环境下显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);∑UFA低温环境下显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);低温适应下饱和指数∑SFA/∑UFA显著下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);其中不饱和脂肪酸∑UFA低温适应下的升高主要是∑PUFA- ω 6升高,EPA+DHA低温适应下无显著性变化($P > 0.05$),但EPA/DHA仅5℃组显著上升($P < 0.05$)。上述结果表明低温适应下肌肉及肌细胞膜脂肪酸组成的变化是处于不断合成和转化的动态之中。与肌肉组织相比较,肌细胞膜脂肪酸组成变化较大,其脂肪酸饱和指数在低温适应下显著下降。细胞膜对低温环境的敏感反应说明低温适应和生理稳态维持过程中细胞膜起着重要的生物学作用。

关键词 锯缘青蟹;肌肉;细胞膜;脂肪酸;低温适应;

中图分类号:Q 547;S 917 文献标识码:A

Changes of fatty acid composition in muscle and muscle cell membrane of *Scylla serrata* under low temperature adaptation

KONG Xiang-hui^{1,2}, WANG Gui-zhong¹, LI Shao-jing¹

(1. College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China;

2. College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: Mud crab, *Scylla serrata*, is an important commercial crustacean living in estuarine waters. Studies on fatty acids composition changes in muscle and cell membrane of *S. serrata* under low temperature adaptation play an important role in understanding physiological adaptation at low temperature. In this study, *S. serrata* were forced to experience 3-week adaptation at different low temperatures. Biochemistry methods were used to determine the content of various fatty acids in muscle as well as cell

收稿日期:2005-08-07

资助项目:国家“863”重大专项(2002AA603013)

作者简介:孔祥会(1968-),男,河南虞城人,博士,教授,主要从事水生动物环境生理生化适应与分子进化研究。E-mail: xhkong@henannu.edu.cn

通讯作者:王桂忠, E-mail: gzwang@jingxian.xmu.edu.cn

membrane. For muscle, compared with 27 °C, C16 :0 decreased gradually with the decrease of temperature, and decreased significantly at 5 °C ($P < 0.05$); while C18 :0 increased significantly at 5 °C ($P < 0.05$); C20 :5 increased gradually with the decrease of temperature, and was significantly higher at 5 °C and 10 °C ($P < 0.05$). Σ C16 decreased gradually with the decrease of temperature, and decreased significantly at 5 °C ($P < 0.01$); Σ C20 increased gradually with the decrease of temperature, and increased significantly at 5 °C and 10 °C ($P < 0.05$). EPA + DHA increased gradually with the increase of temperature, and increased significantly at 5 °C and 10 °C ($P < 0.05$), while EPA/DHA increased significantly only at 5 °C ($P < 0.01$). For cell membrane of muscle, compared with 27 °C, C18 :2 increased significantly under low temperature adaptation ($P < 0.01, P < 0.05$), and decreased gradually with the decrease of temperature. C18 :1 decreased at low temperature, and decreased significantly at 5 °C ($P < 0.05$). C18 :0 decreased significantly under low temperature adaptation ($P < 0.01$); C20 :5 increased under low temperature adaptation, and increased significantly only at 15 °C ($P < 0.05$). C22 :6 decreased at low temperature, and decreased significantly at 5 °C and 10 °C ($P < 0.05$). C20 :1, C20 :4 and C20 :3 increased under low temperature adaptation, and significantly increased at 5 °C ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). Σ C18 decreased at low temperature; while Σ C20 increased significantly at 5 °C ($P < 0.01$). However, Σ C22 decreased at low temperature and only decreased significantly at 10 °C ($P < 0.05$). Under low temperature adaptation, Σ SFA decreased significantly ($P < 0.05, P < 0.01$), while Σ UFA increased significantly ($P < 0.05, P < 0.01$), thus Σ SFA/ Σ UFA decreased significantly ($P < 0.05, P < 0.01$). Increase of Σ UFA was due to increase of Σ PUFA- ω 6. EPA + DHA had no significant change ($P > 0.05$), but EPA/DHA increased significantly only at 5 °C ($P < 0.05$). In conclusion, changes of fatty acid composition in muscle and muscle cell membrane of *S. serrata* are dynamic during low temperature adaptation, in which desaturation, lengthening and transformation happened continuously in short chain fatty acids. Compared with muscle tissue, fatty acids changes in cell membrane are much more, and its saturated index decreased significantly at low temperature. Changes of fatty acids in cell membrane indicated that cell membrane played an important role in maintaining the physiological homostasis under low temperature condition.

Key words: *Scylla serrata*; muscle; cell membrane; fatty acids; low temperature adaptation

脂肪酸是机体内重要的脂类物质,包括中性脂中的游离脂肪酸和储存脂肪酸,极性磷脂中的脂肪酸链。机体脂肪酸组成可以在一定条件下反映机体的营养水平,也可以反映机体摄食状况,健康水平及环境改变时机体的生理生化调节。锯缘青蟹(*Scylla serrata*)不同组织^[1],性腺发育不同阶段^[2],饥饿条件下^[3]脂肪酸组成的变化已有报道,其它甲壳动物如中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)^[4-6],日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)^[7],中国对虾(*Penaeus chinensis*)^[8]等也进行了研究,研究结果表明机体组织脂肪酸组成与摄食,性腺发育和幼体成活等具有密切相关性。

细胞膜是保护细胞内环境稳定性的一个重要结构,具有多种功能,如细胞内外的信息传递,物质运输,离子交换,细胞识别,细胞免疫等均是过它来完成的。环境温度变化时,变温动物首先对其细胞膜做出一系列的适应性调节,以适应外界温度的变化。其中一个重要的反应就是改变其脂肪酸组成,维持其相对的流动性,以发挥其正常

的生理功能。有关温度对甲壳类细胞膜脂类组成变化已有研究^[9-11],结果表明,温度变化可引起组织细胞膜脂肪酸组成变化。

锯缘青蟹是生活在河口海区的一种重要经济甲壳动物,其生活的环境温度经常发生变化,低温环境下锯缘青蟹肌肉及肌细胞膜脂肪酸组成变化的研究对于其低温适应具有重要的意义。本实验中,锯缘青蟹在不同低温环境下适应后,通过测定和分析青蟹肌肉及细胞膜脂肪酸组成的变化,旨在探讨低温对肌肉组织及其细胞膜脂肪酸组成的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

采用来自福建诏安国家“863”青蟹育苗基地同一批亲蟹繁殖的、在同一池培育的雄性幼蟹。选择体色鲜艳,无病无伤,规格整齐的60只幼蟹,随机分为4组。各组幼蟹低温驯养前,个体规格见表1。

表1 用于低温适应的锯缘青蟹幼蟹的规格

Tab.1 The size of juvenile crabs of *S. serrata* for low temperature adaptation

	A组(5 °C)	B组(10 °C)	C组(15 °C)	D组(27 °C)
头胸甲宽(cm) carapace width	3.06 ± 0.27	2.88 ± 0.24	2.95 ± 0.24	2.86 ± 0.18
头胸甲长(cm) carapace length	2.16 ± 0.21	2.09 ± 0.18	2.13 ± 0.18	2.08 ± 0.17
体重(g) body weight	5.04 ± 1.18	4.60 ± 1.13	4.69 ± 1.07	4.53 ± 0.49

1.2 低温适应

幼蟹单只饲养,养殖容器为体积 2 L 的半透明圆柱状塑料皿;控温装置为大容积光照生物培养箱;光周期为 12 L:12 D,养殖用水为沙滤海水,经充氧曝气 24 h 和充分沉淀后使用。盐度为 25。每 3 d 换水 1 次。投饵以幼蟹专用配合饲料和菲律宾杂色蛤仔。在适应、降温和适应期间,管理条件基本一致。

幼蟹适应 1 周后进行降温。降温速度为每 12 h 降 1 °C,降至设定温度后恒温,开始计算适应时间。实验组适应期间水温分别为(5 ± 1.5)(10 ± 1.5)和(15 ± 1.5) °C,正常饲养组为自然水温(27 ± 2.5) °C。适应期间定期换水,海水温度降至设定温度后迅速换水。每天早中晚定时观察,并做好记录。

1.3 脂肪酸组成测定

脂肪酸测定标准及试剂 脂肪酸测定标准系列购于美国 Fluka 公司,包括 C14:0 (myristic acid), C16:1 ω 7 (palmitoleic acid), C16:0 (palmitic acid), C18:2 ω 6 (linoleic acid), C18:1 ω 9 (oleic acid), C18:3 ω 3 (linolenic acid), C18:0 (stearic acid), C19:0 (nonadecanoic acid), C20:4 ω 6 (arachidonic acid, ArA), C20:5 ω 3 (eicosapentaenoic acid, EPA), C20:1 ω 9 (eicosenoic acid), C20:3 ω 3 (eicosatrienoic acid), C20:0 (arachidic acid), C22:6 ω 3 (docosahexaenoic acid, DHA), C22:1 ω 9 (erucic acid), C22:0 (behenic acid), C24:1 ω 9 (nervonic acid), C24:0 (lignoceric acid), C26:0 (cerotic acid) C19:0 作为内标^[3]。正己烷,甲醇为国产色谱纯,其它试剂为国产分析纯。

样品预处理及甲基酯化 各组随机取 3 只青蟹,分别处理。解剖青蟹,迅速取出肌肉 0.9% 生理盐水洗净后,置 60 °C 烘箱干燥 16~20 h 至恒重。细胞膜提取与处理方法参见文献[12],所得细胞膜在 60 °C 中干燥 12 h 至恒重。干燥样品彻底研碎后,密闭保存于 -20 °C 待测。

在 10 mL 水解管中加入内标 C19:0 (0.15 g·L⁻¹,无水乙醇配制) 0.4 mL,氮气吹干;电子天平称取样品 5 mg,置于加有内标的水解管中,每管加盐酸甲醇(1 mol·L⁻¹, 8.7 mL 浓 HCl + CH₃OH → 100 mL) 2 mL;充氮气密封后超声破碎 5 min,置 100 °C 水浴下 40 min;冷却后分批加入 4 mL 正己烷,充分混匀振荡,进行萃取(上层液为正己烷,下

层为盐酸甲醇);分批用移液器吸取上层液至 1.5 mL 离心管中,氮气吹干,密封保存于 -20 °C 备用。

脂肪酸测定 采用气相色谱仪 SP-3420 型(北京分析仪器厂生产),FID 检测器和 SE-54 弹性石英毛细管柱(30 m × 0.22 mm)进行脂肪酸的测定。

色谱条件 载气为高纯氮,柱头压 0.42 MPa,恒流控制,氮气、氢气和空气流量分别为 30、30 和 300 mL·min⁻¹,进样器温度、辅助温度和 FID 检测器温度均为 300 °C。分流比为 1:16.5。进样量 0.5 μL。

升温程序 按照 SP-3420 型气相色谱仪要求自行设定升温程序。升温程序分为 4 个阶段:(1)升温起始温度为 100 °C,以 50 °C·min⁻¹ 的升温速度从 100 °C 到 120 °C;(2)以 30 °C·min⁻¹ 的升温速度从 120 °C 到 210 °C,然后在 210 °C 保留 5 min;(3)以 3 °C·min⁻¹ 的升温速度从 210 °C 到 250 °C,然后在 250 °C 保留 10 min;(4)以 5 °C·min⁻¹ 的升温速度从 250 °C 到 280 °C,然后在 280 °C 保留 12 min。总时间为 49.7 min。

脂肪酸定性与定量 脂肪酸定性和定量依照脂肪酸标准进行,其标准测定程序与样品相同。单标测定用来定性,定性后制作混标谱图(图 1)来对样品中各脂肪酸组成进行定性和定量。脂肪酸的定量采用内标法,即在样品中加入已知量的样品中不含的 C19:0 作为内标,峰面积定量采用面积归一法,以组分的峰面积和内标的峰面积的比值来计算含量。具体操作按照北京瑞利色谱工作站处理软件的操作程序进行。

1.4 统计分析

采用 EXCEL2000 统计分析软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)和独立性 *t* 检验(Student 氏 *t* 检验)。

2 结果

2.1 低温适应下锯缘青蟹肌肉脂肪酸组成变化

低温适应下锯缘青蟹肌肉中脂肪酸组成变化见表 2。肌肉中主要脂肪酸为 C16:0, C16:1, C18:0, C18:1, C18:2, C20:4, C20:5, C22:6。C16:0 随着温度降低而降低,在 5 °C 组显著低于 27 °C 组($P < 0.05$);C18:0 却在 5 °C 组显著高于 27 °C 组($P < 0.05$);C20:5 随着温度降低而升高,5 °C 和

10℃组显著高于27℃组($P < 0.05$)。C16:1, C18:1, C18:2, C20:4和C22:6低温适应下变化不明显($P > 0.05$)。

Σ C16随温度的降低而降低,5℃组显著低于27℃组($P < 0.01$); Σ C20却是随着温度的降低而升高,5℃和10℃组显著高于27℃组($P < 0.05$); Σ C18, Σ C22在低温适应组与27℃组之间无显

著性差异($P > 0.05$)。

Σ SFA, Σ UFA, Σ SFA/ Σ UFA, Σ MUFA, Σ PUFA- ω 3, Σ PUFA- ω 6以及 ω 6/ ω 3在低温适应组与27℃组之间差异不显著($P > 0.05$)。

EPA+DHA随温度降低而升高,5℃和10℃组显著高于27℃组($P < 0.05$),而EPA/DHA仅5℃组显著高于27℃组($P < 0.01$)。

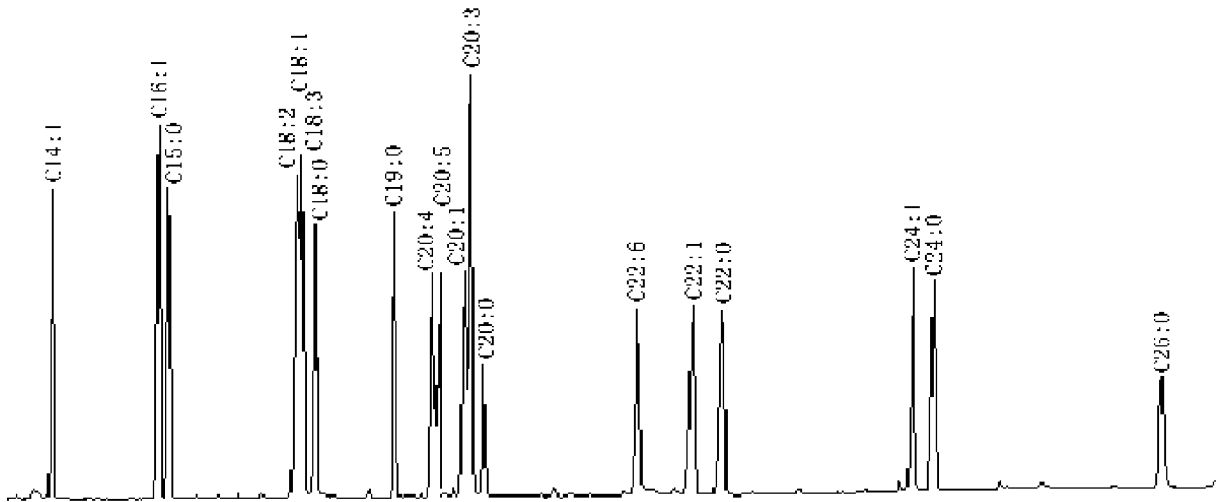


图1 脂肪酸测定标准谱图

Fig.1 Chromatography of fatty acid standards

2.2 低温适应下锯缘青蟹肌肉细胞膜脂肪酸组成的变化

低温适应下锯缘青蟹肌肉细胞膜的脂肪酸组成见表3。肌肉细胞膜中脂肪酸主要以C16:0, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3, C20:5和C22:6为主。C18:2在低温适应下显著升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);C18:1在低温适应下降低,5℃组显著降低($P < 0.05$);C18:0在低温适应下显著降低($P < 0.01$);C20:5在低温适应下上升,但仅在15℃显著上升($P < 0.05$)。C22:6低温适应下降低,在5℃和10℃下降显著($P < 0.05$)。C20:1, C20:4和C20:3在低温适应下增加,仅5℃组显著高于27℃组($P < 0.01$, $P < 0.05$);C16:0, C16:1, C18:3, C20:0等主要脂肪酸在低温适应组和27℃组之间无显著性差异($P > 0.05$)。

肌肉细胞膜中 Σ C18低温适应下降低,而 Σ C20低温适应下增加,并且均在5℃下出现显著性差异($P < 0.01$)。 Σ C22低温适应下降低,仅10℃下降显著($P < 0.05$), Σ C16在低温适应组与27℃组之间差异不显著($P > 0.05$)。

Σ SFA低温适应下显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); Σ UFA低温适应下显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),低温适应下饱和指数 Σ SFA/ Σ UFA显著下降($P < 0.05$,或 $P < 0.01$);其中不饱和脂肪酸 Σ UFA低温适应下的升高主要是 Σ PUFA- ω 6的升高,而 Σ MUFA, Σ PUFA- ω 3及 ω 6/ ω 3则没有显著的变化($P > 0.05$)。

EPA+DHA低温适应下没有显著性变化($P > 0.05$),但EPA/DHA仅在5℃下显著上升($P < 0.05$)。

表 2 低温适应下锯缘青蟹肌肉中脂肪酸组成的变化(相对比例, %)

Tab.2 Changes of the fatty acid composition in muscle of *S. serrata* under low temperature adaptation (relative proportion, %)

脂肪酸 fatty acid	适应温度 adaptation temperature			M ± SD n = 3
	27 °C			
	5 °C	10 °C	15 °C	
C14 0	1.71 ± 0.67	0.65 ± 0.24	1.21 ± 0.70	0.72 ± 0.30
C16 1ω7	8.03 ± 1.15	7.95 ± 1.70	7.01 ± 0.89	6.99 ± 1.02
C16 0	11.22 ± 1.91*	18.26 ± 1.85	20.13 ± 2.00	21.78 ± 2.86
C18 2ω6	2.08 ± 0.87	2.40 ± 0.55	2.22 ± 0.38	2.70 ± 0.81
C18 1ω9	20.57 ± 2.70	21.98 ± 2.28	25.60 ± 2.52	25.95 ± 3.44
C18 3ω3	1.60 ± 0.71	1.21 ± 0.61	1.99 ± 0.46	1.32 ± 0.56
C18 0	18.49 ± 2.00*	11.90 ± 2.60	10.09 ± 0.87	10.95 ± 2.20
C20 4ω6	6.61 ± 0.71	5.51 ± 0.43	4.16 ± 0.57	4.51 ± 1.19
C20 5ω3	16.04 ± 3.00*	14.01 ± 1.78*	12.69 ± 2.49	8.85 ± 1.30
C20 1ω9	1.35 ± 0.69	1.61 ± 0.59	1.24 ± 0.55	1.37 ± 0.63
C20 3ω3	1.07 ± 0.64	2.18 ± 0.73	0.40 ± 0.21*	2.10 ± 0.69
C20 0	0.00 ± 0.00	1.70 ± 0.64	2.82 ± 0.74	2.52 ± 0.70
C22 6ω3	8.69 ± 1.12	8.56 ± 1.32	7.63 ± 1.41	7.68 ± 1.41
C22 1ω3	—	—	—	0.79 ± 0.34
C22 0	1.75 ± 0.67	tr	0.37 ± 0.10	tr
C24 1	tr	tr	0.55 ± 0.10	0.68 ± 0.38
C24 0	—	—	—	—
C26 0	0.79 ± 0.34	2.08 ± 0.89	1.89 ± 0.59	1.08 ± 0.51
∑C14	1.71 ± 0.67	0.65 ± 0.24	1.21 ± 0.70	0.72 ± 0.30
∑C16	19.25 ± 1.98**	26.21 ± 3.55	27.14 ± 2.89	28.77 ± 1.85
∑C18	42.74 ± 1.90	37.49 ± 3.84	39.90 ± 1.84	40.93 ± 4.25
∑C20	25.07 ± 2.55*	25.01 ± 0.66*	21.30 ± 1.83	19.35 ± 3.24
∑C22	10.44 ± 0.75	8.56 ± 1.32	8.00 ± 1.51	8.47 ± 1.71
∑C24	tr	tr	0.55 ± 0.10	0.68 ± 0.38
∑C26	0.79 ± 0.34	2.08 ± 0.89	1.89 ± 0.59	1.08 ± 0.51
∑SFA	33.95 ± 4.06	34.60 ± 0.98	36.51 ± 3.97	37.05 ± 3.69
∑MUFA	29.95 ± 1.70	31.54 ± 0.39	34.40 ± 1.86	35.78 ± 2.30
∑PUFA-ω6	8.69 ± 0.46	7.91 ± 0.91	6.38 ± 0.48	7.21 ± 1.98
∑PUFA-ω3	27.40 ± 2.83	25.95 ± 2.00	22.71 ± 3.27	19.95 ± 3.92
∑UFA	66.05 ± 4.05	65.40 ± 0.98	63.49 ± 3.96	62.95 ± 3.69
∑SFA/∑UFA	0.52 ± 0.09	0.53 ± 0.02	0.58 ± 0.10	0.59 ± 0.09
ω6/ω3	0.32 ± 0.04	0.31 ± 0.06	0.28 ± 0.03	0.36 ± 0.03
EPA + DHA	24.73 ± 4.11*	22.57 ± 2.99*	20.32 ± 3.90	16.53 ± 2.68
EPA/DHA	1.84 ± 0.12**	1.64 ± 0.13	1.66 ± 0.06	1.16 ± 0.06

注: $\sum Cn_1 n_2 \omega n_3$, 其中 n_1 表示碳原子数, n_2 表示烯键数, ω 表示烯键位置, n_3 表示从甲基碳端开始第 1 个烯键所在碳原子数。∑Cn 表示碳原子数为 n 的脂肪酸之和; ∑SFA 表示饱和脂肪酸之和; ∑MUFA 表示单不饱和脂肪酸之和; ∑PUFA 表示多不饱和脂肪酸之和; ∑UFA 表示不饱和脂肪酸之和; “—”表示未检测到。“tr”表示微量(低于 0.1%)。适应组与 27 °C 间比较分析时, “**”表示具有极显著性差异 ($P < 0.01$); “*”表示具有显著性差异 ($P < 0.05$)

Notes: in $Cn_1 n_2 \omega n_3$, n_1 represents the number of carbon atom; n_2 represents the number of alkene bond; ω represents the position of alkene bond; n_3 represents the position of the first alkene bone from methyl carbon. ∑Cn represents the sum of fatty acids comprised n carbon atoms; ∑SFA represents the sum of the saturated fatty acids; ∑MUFA represents the sum of the mon-unsaturated fatty acids; ∑PUFA represents the sum of poly-unsaturated fatty acids; ∑UFA represents the sum of the unsaturated fatty acids; “—” represents no detection “tr” represents trace ($< 0.1\%$). Compared with 27 °C group, “**” represents the highly significant difference ($P < 0.01$); “*” represents the significant difference ($P < 0.05$)

表3 低温适应下锯缘青蟹肌肉细胞膜脂肪酸组成的变化(相对比例,%)

Tab.3 Changes of fatty acid composition in muscle cell membrane of *S. serrata* under low temperature adaptation (relative proportion, %)

M ± SD, n = 3

脂肪酸 fatty acid	适应温度 adaptation temperature			27 °C
	5 °C	10 °C	15 °C	
C14 :0	1.09 ± 0.59	1.26 ± 0.67	1.17 ± 0.59	2.20 ± 0.79
C16 :1 ω 7	2.78 ± 0.80	2.59 ± 0.85	2.59 ± 0.75	2.68 ± 0.68
C16 :0	12.83 ± 1.48	14.19 ± 0.91	14.18 ± 1.60	11.09 ± 1.71
C18 :2 ω 6	8.69 ± 1.30*	9.83 ± 1.53*	10.58 ± 0.56**	5.99 ± 0.95
C18 :1 ω 9	13.40 ± 1.89*	16.64 ± 1.94	16.33 ± 0.76	17.82 ± 1.15
C18 :3 ω 3	5.58 ± 0.94	7.77 ± 1.09	6.80 ± 0.90	7.44 ± 1.21
C18 :0	12.08 ± 1.53**	12.50 ± 2.00**	11.91 ± 2.05**	20.54 ± 1.70
C20 :4 ω 6	4.23 ± 0.68*	3.20 ± 0.91	3.16 ± 1.21	2.56 ± 0.59
C20 :5 ω 3	14.49 ± 1.37	15.48 ± 2.09	17.28 ± 1.52*	13.88 ± 1.21
C20 :1 ω 9	3.78 ± 0.79*	2.64 ± 0.59	2.20 ± 0.74	2.06 ± 0.67
C20 :3 ω 3	6.71 ± 1.18**	3.33 ± 1.06*	1.58 ± 0.56	1.27 ± 0.66
C20 :0	3.82 ± 0.85	2.59 ± 1.00	2.92 ± 0.76	3.20 ± 0.84
C22 :6 ω 3	4.37 ± 1.37*	5.08 ± 1.01*	7.63 ± 1.10	8.12 ± 0.95
C22 :1 ω 3	2.03 ± 0.94*	0.29 ± 0.11	0.12 ± 0.08	0.17 ± 0.13
C22 :0	1.43 ± 0.56	0.57 ± 0.26	1.24 ± 0.49	0.98 ± 0.25
C24 :1	-	-	0.21 ± 0.09	tr
C24 :0	2.68 ± 0.71	2.03 ± 0.86	0.13 ± 0.09	-
C26 :0	-	-	-	-
∑C14	1.09 ± 0.59	1.26 ± 0.67	1.17 ± 0.59	2.20 ± 0.79
∑C16	15.61 ± 1.62	16.78 ± 0.24	16.76 ± 1.02	13.77 ± 2.37
∑C18	39.75 ± 3.06**	46.74 ± 4.32	45.61 ± 2.44*	51.79 ± 2.50
∑C20	33.03 ± 1.27**	27.25 ± 1.79	27.13 ± 1.02	22.97 ± 2.75
∑C22	7.83 ± 0.27	5.94 ± 1.37*	8.99 ± 1.65	9.27 ± 1.32
∑C24	2.68 ± 0.71	2.03 ± 0.86	0.34 ± 0.18	0.00 ± 0.00
∑C26	-	-	-	-
∑SFA	33.94 ± 1.57*	33.15 ± 0.62**	31.54 ± 1.70**	38.02 ± 1.54
∑MUFA	21.99 ± 0.65	22.16 ± 0.48	21.44 ± 0.88	22.72 ± 1.03
∑PUFA- ω 6	12.92 ± 0.76*	13.03 ± 0.95*	13.74 ± 1.75*	8.55 ± 1.52
∑PUFA- ω 3	31.15 ± 2.52	31.66 ± 1.66	33.28 ± 0.92	30.71 ± 3.96
∑UFA	66.06 ± 1.57*	66.85 ± 0.62**	68.46 ± 1.70**	61.98 ± 1.53
∑SFA/∑UFA	0.51 ± 0.04*	0.50 ± 0.01**	0.46 ± 0.04**	0.61 ± 0.04
ω 6/ ω 3	0.42 ± 0.05	0.41 ± 0.05	0.41 ± 0.05	0.29 ± 0.08
EPA + DHA	18.85 ± 2.73	20.56 ± 1.23	24.91 ± 0.93	22.00 ± 2.16
EPA/DHA	3.47 ± 0.77*	3.18 ± 1.00	2.31 ± 0.53	1.71 ± 0.05

注 本表注释同表2

Notes the meaning of the symbols in this table is the same as the table 2

3 讨论

3.1 低温适应下锯缘青蟹肌肉脂肪酸组成变化

锯缘青蟹肌肉组织中 C16 :0 随温度降低而降低,在 5 °C 组显著低于 27 °C 组 ($P < 0.05$), C16 :0 降低一方面是组织在低温下脂肪酸去饱和作用的结果;另一方面是 C16 :0 分解为机体提供能量。而 C18 :0 却在 5 °C 组显著高于 27 °C 组 ($P < 0.05$), C20 :5 随温度降低而升高, 5 °C 和 10 °C 组

显著高于 27 °C 组 ($P < 0.05$)。青蟹幼蟹在低温适应下短链脂肪酸下降,长链脂肪酸增加,尤其是长链不饱和脂肪酸的增加,主要是生物内部转化和链加长作用的结果,这和鲢鱼早期发育阶段鱼体脂肪酸组成变化的研究结果^[13]相似。这一转化主要是对低温适应,维持生存的生理反应结果。因为低温下幼蟹基本不摄食,10 °C 蟹处于静止状态,不运动,5 °C 蟹基本处于麻木状态,没有任何反应。所以脂肪酸组成的变化主要限于体内的分解

和转化,基本上无外源性脂肪酸的补充。Lytle^[14]认为 EPA、DHA、C20:4、C18:2 和 C18:3 是虾、蟹等的必需脂肪酸,它们对幼体存活、生长和变态,以及维持成体正常生长和繁殖等均有重要的营养作用,当外源性脂肪酸不能及时得到补充,体内脂肪酸转化不能满足生理需求时,生理机能逐渐衰减,最后死亡。所以,5℃组青蟹在后期已出现少数个别死亡的现象。

Σ C16 随温度的降低而降低,5℃组显著低于 27℃组 ($P < 0.01$); Σ C20 却是随着温度的降低而升高,5℃和 10℃组显著高于 27℃组 ($P < 0.05$);说明脂肪酸内部转化主要是在 C16 和 C20 之间进行,并且是由 C16 向 C20 进行转化。低温适应下青蟹肌肉中 Σ SFA、 Σ UFA 及饱和指数 Σ SFA/ Σ UFA 没有发生显著变化,而童圣英^[15]报道北方鱼类越冬期间肌肉脂肪酸饱和指数降低,这主要是由于短期低温适应与长期低温驯化形成的生理适应策略不同。锯缘青蟹很多脂肪酸指标,如 Σ MUFA、 Σ PUFA- ω 3、 Σ PUFA- ω 6 以及 ω 6/ ω 3 等在低温适应下与 27℃组之间也没有显著差异,说明 3 周低温适应后,锯缘青蟹通过内部脂肪酸转化及生成,可以维持机体肌肉组织处于一个相对稳定的生理状态。

3.2 低温适应下锯缘青蟹肌肉细胞膜脂肪酸组成的变化

低温适应下锯缘青蟹肌肉细胞膜脂肪酸的组成变化与 27℃相比,C18:0 显著降低 ($P < 0.01$);C18:1 低温适应下降低,仅 5℃显著降低 ($P < 0.05$)。C18:2 低温适应下显著升高 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),但就 3 个低温适应组而言,其数值为 5℃ $<$ 10℃ $<$ 15℃,这是由于 C18 脂肪酸链去饱和作用,转化为不饱和脂肪酸的结果,C18:2 是线粒体膜及细胞膜磷脂的重要组成成分,其缺乏可导致细胞膜生物学功能变化,膜透性、脆性增加,严重时可导致膜裂解,细胞凋亡^[16],所以,低温适应下肌肉细胞膜 C18:2 增加,也是维持其生物学功能的需要,但随着温度的降低,C18:2 含量下降,这是由于脂肪酸代谢和转化能力下降所致。C20:5 低温适应下上升,但仅在 15℃显著上升 ($P < 0.05$)。C22:6 低温适应下降低,在 5℃和 10℃下显著下降 ($P < 0.05$),说明其在较低的温度环境下会大量消耗,但其消耗可由 ω 6 PUFA (C18:2) 进行一定的生理代偿^[17]。

本实验中,青蟹在不同的温度区间适应时脂肪酸代谢不同,27~15℃是青蟹生长和代谢正常的温度区间,但 15℃以下是不利于青蟹生长和代谢的温度区间,15~10℃是青蟹进入冬眠的温度区间,5℃以下青蟹难以维持生存。本实验中,5℃组在后期出现个别青蟹的死亡。C20:1、C20:4 和 C20:3 在低温适应下增加,仅 5℃组显著高于 27℃组 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),可能是由于在不同温度区间青蟹代谢存在差异所致。肌肉细胞膜中 Σ C18 低温适应下降低,而 Σ C20 低温适应下增加,并且均在 5℃组出现显著性差异 ($P < 0.01$),说明 C18 链加长,向 C20 进行转化,以增加长链不饱和脂肪酸所占的比例。

低温适应下肌肉细胞膜 Σ SFA 显著降低; Σ UFA 显著升高,所以其饱和指数 Σ SFA/ Σ UFA 显著下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),这一结果也与对螯虾 (*Austropotamobius pallipes*)^[10,18]、岸蟹 (*Carcinus maenas*)^[11] 和端足类的钩虾 (*Gammarus duebeni*)^[19] 组织细胞膜脂肪酸组成的研究结果相同。按照细胞膜稳态理论^[20],细胞膜在低温下饱和指数降低主要是增大其流动性,维持细胞膜的正常生理功能,这种膜饱和度的维持是在脂肪酸代谢和转化过程中实现的。实际上是脂肪酸代谢的酶系统(参与脂肪酸的合成、碳链去饱和与加长等生化过程的各种酶)调节所致。本实验中不饱和脂肪酸 Σ UFA 在低温适应下升高主要是由于 Σ PUFA- ω 6 升高所致。

3.3 低温适应下锯缘青蟹肌肉组织与细胞膜脂肪酸组成的比较

锯缘青蟹经 3 周低温适应后肌肉组织及细胞膜脂肪酸组成的很多指标发生了一定的变化。短链脂肪酸在各种酶的作用下不断的进行加长和去饱和作用,肌肉组织主要是 C16 向 C20 转化,而细胞膜主要是 C18 向 C20 转化。低温适应下青蟹肌肉组织脂肪酸饱和指数 Σ SFA/ Σ UFA 没有发生显著变化,而细胞膜脂肪酸饱和指数则是显著降低。肌肉组织脂肪酸组成各指标变化相对较小,在细胞膜中变化较大,说明细胞膜生物学功能在对低温环境适应中反应敏感,同时也说明在维持机体生理稳态中,细胞膜具有极其重要的作用。

锯缘青蟹体内脂肪酸组成受饲料、摄食、温度、生理及病理等多种因素的影响,其代谢和变化复杂。为了更好地说明低温对机体脂肪酸组成及

相关生物学功能的影响,有必要对低温适应下调节脂肪酸代谢的各种酶活性及其调控进行更深入的研究。

参考文献:

- [1] 李少菁,林淑君,刘理东,等.锯缘青蟹卵巢发育过程中不同器官组织脂类和脂肪酸组成[J].厦门大学学报(自然科学版),1994,33(增刊):109-115.
- [2] 成永旭,李少菁,王桂忠,等.锯缘青蟹卵黄发生期卵巢和肝胰腺脂类的变化[J].海洋学报,2001,23(3):66-77.
- [3] 翁幼竹,李少菁,王桂忠.饥饿对锯缘青蟹幼体生化组成的影响[J].厦门大学学报(自然科学版),2002,41(1):84-88.
- [4] 陈再忠,成永旭,王武.早熟期间中华绒螯蟹肝胰腺指数、肝脂含量及脂肪酸组成的变化[J].水产学报,2003,27(1):57-61.
- [5] 艾春香,陈立桥,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.
- [6] 陈立桥,江洪波,周忠良,等. ω -3 HUFA 对中华绒螯蟹幼体存活率及体脂组成的影响[J].水产学报,2000,24(5):448-452.
- [7] 李红,赵云龙,王群,等.日本沼虾胚胎发育不同阶段主要生化成分的变化[J].水产学报,2003,27(6):545-549.
- [8] 季文娟.高度不饱和脂肪酸对中国对虾亲虾的产卵和卵质的影响[J].水产学报,1998,22(3):240-246.
- [9] Pruitt N L. Adaptations to temperature in the cellular membranes of Crustacea: membrane structure and metabolism [J]. J Therm Biol, 1990, 15: 1-8.
- [10] Farkas T, Nevenzel J C. Temperature acclimation in the crayfish: effects on phospholipid fatty acids [J]. Lipids, 1981, 16: 341-346.
- [11] Chapelle S. The influence of acclimation temperature on the fatty acid composition of an aquatic crustacean (*Carcinus maenas*) [J]. J Exp Zool, 1978, 204: 337-346.
- [12] Cuculescu M, Bowler K. The isolation of a plasma membrane-rich fraction from the skeletal muscle of two species of marine crab, *Carcinus maenas* and *Cancer pagurus* [J]. Comp Biochem Physiol, 1993, 106: 263-267.
- [13] 朱邦科,曹文宣.鲢早期发育阶段鱼体脂肪酸组成变化[J].水生生物学报,2002,26(2):130-135.
- [14] Lytle J S. Polyunsaturated fatty acid profiles as a comparative tool in assessing maturation diets of *Penaeus vannamei* [J]. Aquaculture, 1990, 89(314):287-299.
- [15] 童圣英.四种鲤科鱼类越冬时脂肪酸组成的变化[J].水产学报,1997,21(4):373-379.
- [16] 王镜岩,朱圣庚,徐长法.生物化学(第3版)[M].北京:高教出版社,2002.82-91.
- [17] 应雪萍,罗媛媛,张永普.中华绒螯蟹受精卵、流产卵氨基酸及脂肪酸组成的比较研究[J].水生生物学报,2004,28(4):402-408.
- [18] Cossins A R. Changes in muscle lipid composition and resistance adaptation to temperature in the freshwater crayfish, *Austropotamobius pallipes* [J]. Lipids, 1976, 11: 307-316.
- [19] Dawson M E, Morris R J, Lockwood A P M. Some combined effects of temperature and salinity on water permeability and gill lipid composition in amphipod *Gammarus duebeni* [J]. Comp Biochem Physiol, 1984, 78A: 729-735.
- [20] Sinensky M. Homeoviscous adaptation—a homeostatic process that regulates the viscosity of membrane lipids in *Escherichia coli* [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1974, 71: 522-525.

欢迎订阅 2007 年《水利渔业》

《水利渔业》是由水利部中国科学院水工程生态研究所主办的中文核心期刊。主要刊登水产研究探索、名特优新、增殖养殖、生态环境、营养饲料、病害防治、管理开发方面的科技论文,适合广大科教、推广、生产和管理单位的读者订阅。本刊为双月刊,大 16 开本,2007 年每期页码增至 120 页,国内外发行,国际标准刊号 ISSN 1003-1278,国内统一刊号 CN 42-1247/S,邮发代号 38-76,每期定价 10 元,全年 60 元。全国各在邮局均可订阅,也可直接汇款到编辑部订阅。

编辑部地址:武汉市雄楚大街 578 号,邮政编码:430079。

电话:027-87189555。电子信箱:scan@chinajournal.net.cn