

饲料中添加不同含量的微量元素锌对河蟹雄性生殖腺的影响

王 群 马 强 李 恺 丁银娣 陈立侨

(华东师范大学生命科学学院, 上海 200062)

摘要:通过投喂不同锌含量的人工配合饲料, 研究饵料微量元素锌对雄性中华绒螯蟹性腺发育的影响。以 ZnSO_4 为锌源, 对照组投喂未添加锌的基础饲料, 实验 1 组至实验 4 组分别投喂: 添加 50mg/kg 饲料、100mg/kg 饲料、200mg/kg 饲料、400mg/kg 饲料的配合饲料。实验为期 70d, 结果如下: 精巢和副性腺锌含量均以实验 2 组最高, 分别为 300mg/kg 和 150mg/kg, 对照组分别为 85mg/kg 和 67mg/kg。睾酮含量和性腺指数亦以实验 2 组最高, 分别为 0.835ng/mL 和 25.94×10^{-3} 。精巢碱性磷酸酶和乳酸脱氢酶活性在整个实验过程中呈现先上升后下降的趋势, 以 30d 时达到最高, 而同一时间各组间的活性均以实验 2 组最高。副性腺碱性磷酸酶和乳酸脱氢酶活性分别在 50d 和 70d 时出现两个峰值, 而同一时间各组间酶活性均以实验 2 组最高, 其中碱性磷酸酶在达到峰值后急剧下降, 实验结束时活性极低。结果表明: 随着饵料锌含量的增加, 河蟹生殖器官内锌的积累量也逐渐上升, 但若超出最适添加量, 则积累量反而下降。饵料中适量添加锌可促进河蟹生殖器官的发育和睾酮的分泌, 河蟹精巢和副性腺中乳酸脱氢酶和碱性磷酸酶的活性明显与其锌含量相关。

关键词:中华绒螯蟹; 雄性生殖腺; 锌; 睾酮

中图分类号: S968.25

文献标识码: A

文献标号: 1000-3207(2005)04-0417-07

已有研究表明, 锌对于动物正常的生长发育、蛋白质代谢、膜完整性、基因表达、多种锌金属酶功能以及免疫功能的正常发挥等是一种必需的微量元素^[1], 锌缺乏可导致动物食欲减退、食物利用率下降以及生长发育迟缓^[2,3]。然而, 在锌的各种功能中, 其对动物生殖机能的影响则更受关注。哺乳动物的研究发现, 锌在雄性生殖系统及精子中的含量较高, 它不仅影响生殖系统的发育, 同时还是精子生成所必需的一种微量元素, 直接参与精子的生成、成熟、激活和获能, 并能延缓精子膜的脂质氧化、维持精子细胞膜的渗透性和结构的稳定性, 从而使精子保持良好的活力^[4]。中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 是我国重要的淡水经济蟹类, 多年来对该蟹的研究已有大量报道^[5-8]。随着河蟹人工育苗的蓬勃开展和养殖规模的不断扩大, 迫切需要培育高质量的亲蟹以解决育苗中孵化率、成活率低的问题。因此, 如何提高亲蟹的繁殖性能已经成为人们关注的焦点。本文

就微量元素锌对雄性中华绒螯蟹生殖器官发育的影响做了初步的探索, 以便为相对滞后的雄性生殖营养研究提供参考。

1 材料与方法

试验始于 2001 年 8 月中旬, 为期 70d。实验用蟹购自上海青浦西岑河蟹养殖基地, 精心挑选出附肢完整、活力强的 1 秋龄雄蟹随机分成 5 组, 对照组投喂未添加锌的基础饲料组, 其余 4 组分别在基础饲料中添加 50mg/kg (实验 1 组)、100mg/kg (实验 2 组)、200mg/kg (实验 3 组)、400mg/kg (实验 4 组), 每组设 2 个平行处理, 实验蟹分别饲养于 45cm × 45cm × 40cm 的无毒聚乙烯塑料箱中, 规格见表 1。实验前将蟹暂养 2 周, 暂养期间投喂基础饲料, 实验开始后分别投喂不同锌含量的人工配合饲料, 饲料组成见表 1。

于实验进行至 30d、50d、60d 和 70d 时分别取

收稿日期: 2005-02-22; 修订日期: 2005-04-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 30271012; No. 30300265); 上海市科技启明星计划 (04QMX1418)

作者简介: 王群 (1968—), 男, 博士, 副教授, 主要从事甲壳动物生殖生物学研究。E-mail: qwang@bio.ecnu.edu.cn; 马强 (1981—), 男, 硕士研究生, 主要从事甲壳动物生殖生物学研究

通讯作者: 陈立侨, E-mail: lqchen@bio.ecnu.edu.cn

样,各组随机抽取河蟹 6 只,准确称重后,从第三步足基部关节膜处抽取血淋巴,随后迅速解剖取出精巢和副性腺,准确称重并于 - 70 ℃ 冷藏备用。计算性腺指数,测定精巢、副性腺的碱性磷酸酶和乳酸脱氢酶活性以及血淋巴中睾酮的含量。

性腺指数(Gonadosamic index, GSI) = (精巢 + 输精管 + 副性腺)重量/ 体重

乳酸脱氢酶和碱性磷酸酶活性测定采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒,测定方法见各产品说明书。乳酸脱氢酶活性定义:每克组织蛋白在 37 ℃ 与基质作用 15min,在反应体系中产生 1μmol 丙酮酸为 1 单位。碱性磷酸酶活性定义:每克组织蛋白在 37 ℃ 与基质作用 15min 产生 1mg 酚为 1 单位。

睾酮的测定:采用美国 DSL-10-4000 ACTIVE™ Testosterone EIA 试剂盒,单位为 ng/ mL 具体方法参见姜仁良等^[9]。批内误差和批间误差的测定方法如下:任意配置两个不同睾酮含量的样品,其中一个样品含量相对较高(H),另一个样品含量相对较低(L)。用该试剂盒分别测定两个未知睾酮含量的样品,批内误差重复 16 次,批间误差测定 10 块板,计算批内误差和批间误差,结果见表 2。

锌含量的测定采用美国 PE 公司生产的 AA-300 原子吸收分光光度计(火焰法),测定条件为:波长 213. 9nm,狭缝 0. 70nm,灯电流 8mA。单位为 mg/ kg。

数据处理与分析:本文仅对不同处理组之间的差异性进行检验, $P > 0. 05$ 为差异不显著, $P < 0. 05$ 为差异显著, $P < 0. 01$ 为差异极显著。

表 1 实验用蟹规格及各实验组饲料组成

Tab. 1 The weight of male crabs and the diet composition of each group

项 目		对照组	实验 1 组	实验 2 组	实验 3 组	实验 4 组
Item		Control	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
蟹体重 Weight (g)		19. 2 ±5. 802	19. 85 ±5. 135	18. 79 ±3. 769	19. 08 ±4. 514	19. 63 ±5. 29
饲料组分 Composition of the diets (%)	酪蛋白 Casein	45	45	45	45	45
	糊精 Dextrin	23	23	23	23	23
	纤维素 Cellulose	16	16	16	16	16
	复合维生素 *Compound vitamins	2	2	2	2	2
	甘氨酸 Glycine	1	1	1	1	1
	胆碱 Choline	0. 5	0. 5	0. 5	0. 5	0. 5
	胆固醇 Cholesterin	0. 5	0. 5	0. 5	0. 5	0. 5
	鱼油 Fish oil	6	6	6	6	6
	卵磷脂 Lecithin	2	2	2	2	2
	黏合剂 Pellet binder	2	2	2	2	2
复合矿物质 #Mineral mix	2	2	2	2	2	
	锌 (Zn ²⁺)	0	50mg/ kg	100mg/ kg	200mg/ kg	400mg/ kg

* 复合维生素采用上海湘大新杨兽药厂产“快补 14 多维”。

复合矿物质不含 Zn²⁺: NaH₂PO₄ 10. 0g, KH₂PO₄ 21. 5g, Ca (H₂PO₄)₂ · 2H₂O 26. 5g, CaCO₃ 10. 5g, Ca-Lactate 16. 5g, MgSO₄ · 7H₂O 10. 0g, AlCl₃ · 2H₂O 1. 2g, Fe-citrate 0. 061g, MnSO₄ · 4H₂O 0. 143g, KI 0. 058g, CoCl₂ · 6H₂O 0. 176g, KCl 2. 8g, CuCl₂ 0. 051g。

每公斤饲料的锌添加量,以 ZnSO₄ 为锌源。

* Compound vitamins: “Kuaibu 14 Duowei” obtained from Xiangda Veterinary Drug Lit (Shanghai, China) 。

Mineral premix (without zinc): NaH₂PO₄ 10. 0g, KH₂PO₄ 21. 5g, Ca (H₂PO₄)₂ · 2H₂O 26. 5g, CaCO₃ 10. 5g, Ca-Lactete 16. 5g, MgSO₄ · 7H₂O 10. 0g, AlCl₃ · 2H₂O 1. 2g, Fe-citrate 0. 061g, MnSO₄ · 4H₂O 0. 143g, KI 0. 058g, CoCl₂ · 6H₂O 0. 176g, KCl 2. 8g, CuCl₂ 0. 051g。

Zinc does in 1 kg diet, and zinc resource is ZnSO₄。

表 2 睾酮试剂盒的批内误差和批间误差

Tab. 2 The intra-array and inter-array various coefficients of Testosterone

项目 Item	批内误差 (N = 16) (Inter-array)		批间误差 (N = 10) (Intra-array)	
	L	H	L	H
测定含量的平均值 Average (ng)	0. 63	2. 42	0. 66	7. 61
测定含量的标准差 Standard deviation	0. 03	0. 12	0. 03	0. 21
变异系数 Coefficient of variation (%)	5. 3	4. 8	4. 8	2. 8
平均变异系数 Average coefficient of variation (%)	5. 1		3. 8	

2 结果

2.1 各实验组性腺指数的变化(表 3)

随着时间的推移,各实验组性腺指数均呈不断上升的趋势,但各组增幅明显不同,其中以 2 组最高,达 4352.3%,4 组最低,为 1646.0%。其具体变化如下:实验前平均性腺指数为 0.596×10^{-3} ,30d 后以 1 组最高,为 13.25×10^{-3} ,对照组其次,但两者间无显著差异 ($P > 0.05$);2、3、4 组间无显著差异,但均显著低于 1 组和对照组 ($P > 0.05$)。之后则始终以 2 组最高。其中 50d 时性腺指数为 14.56×10^{-3} ,与 1 组和对照组间无显著差异 ($P > 0.05$),但显著高于 3、4 组 ($P < 0.05$);60d 时为 19.56×10^{-3} ,

显著高于 1 组和对照组 ($P < 0.05$),极显著高于 4 组 ($P < 0.01$);70d 时为 25.94×10^{-3} ,与 1 组间无显著差异 ($P > 0.05$);显著高于对照组 ($P < 0.05$),极显著高于 4 组 ($P < 0.01$)。

2.2 各实验组精巢和副性腺锌的积累量(表 4)

至实验结束时,2 组精巢锌含量最高,为 300mg/kg,而对照组虽未添加锌,其含量仍达到 85mg/kg,4 组的锌含量与对照组接近。副性腺锌含量同样以 2 组最高,为 150mg/kg,对照组也达到了 67mg/kg,而 4 组则更低于对照组。统计分析表明,2 组精巢锌含量与 1、3 组之间存在显著差异 ($P < 0.05$),而与 4 组和对照组之间差异极显著 ($P < 0.01$),副性腺的结果与精巢的变化趋势相同。

表 3 各实验组河蟹性腺指数的变化($\times 10^{-3}$)
Tab.3 Variation of gonadosomic index($\times 10^{-3}$)of crab for different groups

时间 Days	对照组 Control	1 组 Group 1	2 组 Group 2	3 组 Group 3	4 组 Group 4
30	10.75 $\pm$ 0.96 ^a	13.25 $\pm$ 1.22 ^a	8.55 $\pm$ 0.81 ^b	7.55 $\pm$ 0.78 ^b	7.45 $\pm$ 0.59 ^b
50	11.10 $\pm$ 1.34 ^a	13.93 $\pm$ 1.26 ^a	14.56 $\pm$ 1.73 ^a	8.70 $\pm$ 0.96 ^b	8.40 $\pm$ 0.77 ^b
60	13.10 $\pm$ 1.36 ^b	15.35 $\pm$ 1.87 ^b	19.56 $\pm$ 1.51 ^a	9.15 $\pm$ 0.75 ^c	8.99 $\pm$ 0.82 ^c
70	14.76 $\pm$ 1.19 ^b	24.35 $\pm$ 2.08 ^a	25.94 $\pm$ 2.05 ^a	14.42 $\pm$ 1.14 ^b	9.81 $\pm$ 1.03 ^c

注:同一行中具不同字母标记的值表示差异显著(Duncan 多重比较, $P < 0.05$)。
Note: In the same raw, means with different superscripts have significant differences(Duncan multiple comparison $P < 0.05$)。

表 4 各实验组河蟹精巢和副性腺锌的积累量变化(mg/kg)
Tab.4 Zinc contents(mg/kg) in testis and glandula accessoria of crab in each group

	对照组 Control	1 组 Group 1	2 组 Group 2	3 组 Group 3	4 组 Group 4
精巢 Testis	85 $\pm$ 7.9 ^c	110 $\pm$ 10.3 ^b	300 $\pm$ 25.5 ^a	113 $\pm$ 8.5 ^b	83 $\pm$ 7.6 ^c
副性腺 Glandula accessoria	67 $\pm$ 5.3 ^c	95 $\pm$ 7.6 ^b	150 $\pm$ 12.2 ^a	97 $\pm$ 8.8 ^b	44 $\pm$ 4.9 ^c

表注同表 3。

2.3 各实验组血淋巴睾酮含量的比较(表 5)

通过投喂不同锌添加量的饲料后,各实验组之间睾酮含量出现了明显差异,其最高含量由 3 组向 2 组转变。30d 和 50d 时睾酮含量均以 3 组最高,其中 30d 时其含量为 2.028ng/mL,与 2 组和 4 组间并无显著差异 ($P > 0.05$),但显著高于 1 组和对照组 ($P < 0.05$),其中对照组最低,为 0.945ng/mL;50d 后各组睾酮含量均明显下降,实验 3 组亦下降至 0.570ng/mL,与 2 组间无显著差异 ($P > 0.05$),但显著高于其余 3 个实验组 ($P < 0.05$),其中 4 组最低,仅为 0.420ng/mL。之后睾酮含量则以实验 2 组最高,其中 60d 时为 0.575ng/mL,显著高于 1 组 ($P < 0.05$),极显著高于 3、4 组和对照组 ($P < 0.01$);70d

时各组睾酮含量均略有回升,2 组达到 0.835ng/mL,显著高于 1、3 组,极显著高于 4 组和对照组 ($P < 0.01$),其中对照组睾酮的含量最低,仅为 0.447ng/mL。

2.4 精巢和副性腺碱性磷酸酶活性的变化(表 6)

在整个实验过程中,各实验组精巢碱性磷酸酶活性均在 30d 时最高,随后则呈现逐渐下降的趋势,而各组中以 2 组酶活性最高,与其他各组相比有显著或极显著差异。2 组 30d 时碱性磷酸酶活性为 23.893U/mg,之后不断下降,50、60d 和 70d 的酶活性分别为 13.136U/mg、6.354U/mg 和 5.548U/mg;除 3 组外其他各组也均表现出与 2 组相同的趋势,但对对照组在 70d 时降幅仍较大,酶活性仅为 0.562U/mg,

极显著低于 2 组。

各实验组副性腺碱性磷酸酶活性均以 50d 时最高,呈现先扬后抑的趋势,而组间则以 2 组酶活性最高,与其他各组相比有显著或极显著差异。30d 时 2 组和 3 组酶活性较接近,分别为 5.266U/mg 和 5.003U/mg,两者之间无显著差异 ($P > 0.05$);而对照组、1、4 组则相对较低,三组间虽无显著差异 ($P > 0.05$),但与 2、3 组间的差异显著 ($P < 0.05$);50d

时,各组酶活性均大幅上升,其中 2、3 组升幅显著,分别达到了 20.016U/mg 和 17.358U/mg,故其余酶活性仍远低于 2、3 组,其中对照组最低,仅为 5.551U/mg;随后不断下降,至 70d 时 2 组酶活性仅为 6.138U/mg,但仍显著高于 1、3 和 4 组 ($P < 0.05$),极显著高于对照组 ($P < 0.01$)。从上述变化看出,副性腺碱性磷酸酶峰值出现的时间要晚于精巢。

表 5 各实验组蟹血淋巴睾酮含量的变化(ng/mL)
Tab. 5 Testosterone content (ng/mL) of crab in each group

时间 Days	对照组 Control	实验 1 组 Group 1	实验 2 组 Group 2	实验 3 组 Group 3	实验 4 组 Group 4
30	0.945 ±0.082 ^b	1.013 ±0.093 ^b	1.680 ±0.181 ^a	2.028 ±0.179 ^a	1.920 ±0.145 ^a
50	0.425 ±0.044 ^b	0.435 ±0.032 ^b	0.538 ±0.054 ^a	0.570 ±0.039 ^a	0.420 ±0.033 ^b
60	0.335 ±0.029 ^c	0.475 ±0.036 ^b	0.575 ±0.036 ^a	0.320 ±0.024 ^c	0.311 ±0.027 ^c
70	0.447 ±0.037 ^c	0.645 ±0.054 ^b	0.835 ±0.069 ^a	0.673 ±0.053 ^b	0.580 ±0.046 ^c

表注同表 3。

表 6 各实验组蟹精巢和副性腺中碱性磷酸酶活性变化(U/mg prot)
Tab. 6 AKP activity in testis and glandula accessoria of crab in each group

	时间 Days	对照组 Control	实验 1 组 Group 1	实验 2 组 Group 2	实验 3 组 Group 3	实验 4 组 Group 4
精巢 Testis	30	9.212 ±0.619 ^c	11.218 ±0.934 ^c	23.893 ±2.021 ^a	15.729 ±1.422 ^b	12.999 ±1.017 ^c
	50	5.237 ±0.378 ^c	5.557 ±0.421 ^c	13.136 ±1.097 ^a	10.477 ±1.036 ^b	6.550 ±0.511 ^c
	60	2.694 ±0.203 ^d	4.329 ±0.377 ^b	6.354 ±0.528 ^a	5.082 ±0.468 ^b	4.980 ±0.357 ^b
	70	0.562 ±0.034 ^c	4.286 ±0.382 ^b	5.548 ±0.503 ^a	4.449 ±0.411 ^b	4.056 ±0.368 ^b
副性腺 Glandula accessoria	30	2.188 ±0.176 ^b	1.736 ±0.156 ^b	5.266 ±0.545 ^a	5.003 ±0.518 ^a	2.262 ±0.209 ^b
	50	6.551 ±0.493 ^c	8.350 ±0.733 ^c	20.016 ±1.973 ^a	17.358 ±1.537 ^b	6.742 ±0.522 ^c
	60	3.893 ±0.327 ^c	7.141 ±0.467 ^b	8.235 ±0.692 ^a	3.536 ±0.327 ^c	3.880 ±0.391 ^c
	70	1.736 ±0.153 ^c	5.041 ±0.588 ^b	6.138 ±0.544 ^a	4.926 ±0.466 ^b	4.566 ±0.304 ^b

表注同表 3。

2.5 精巢和副性腺乳酸脱氢酶活性的变化(表 7)

各实验组精巢乳酸脱氢酶活性均以 30d 时最高,各时间段组间酶活性 2 组显著高于其他各组,而对照组最低,两者有极显著的差异 ($P < 0.01$)。具体变化如下:30d 时 2 组酶活性为 1824.94U/mg,对照组仅为 123.97U/mg;50d 后各实验组酶活性均有较大幅度的下降,2 组为 288.13U/mg,而对照组则为 12.88U/mg;60d 时各组酶活性略有回升,2 组达到 527.00U/mg,对照组亦升至 122.95U/mg;70d 时各组酶活性又大幅下降,2 组为 155.55U/mg,而对照组仅为 11.03U/mg。

各实验组副性腺乳酸脱氢酶活性均以 50d 时最高,各时间段组间酶活性的最高值则随实验时间

的延长,由 4 组逐渐向 2 组转变,实验至 60d 后始终以 2 组最高;相比之下,对照组始终处于最低水平,且与酶活性最高组之间有极显著的差异 ($P < 0.01$)。具体变化如下:30d 时 4 组酶活性最高,为 347.98U/mg,至 50d 时,4 组大幅下降,仅为 76.20U/mg,并始终维持较低的活性,而 3 组则达到最高,为 423.21U/mg,2 组其次,对照组最低,仅为 59.37U/mg;60d 后各组酶活性均显著下降,但酶活性却以 2 组最高,为 76.30U/mg prot,实验 3 组其次,对照组最低;70d 时除对照组仍下降外,其余各组均有较大幅度的上升,并仍以 2 组最高,为 254.62U/mg,1 组其次,对照组则远低于其他各组,仅为 14.30U/mg。

表 7 各实验组蟹精巢和副性腺中乳酸脱氢酶的变化(U/ mg)
Tab. 7 LDH activity in testis and glandula accessoria of crab in each group

	时间	对照组	1 组	2 组	3 组	4 组
	Days	Control	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
精巢 Testis	30	123. 97 ±10. 67 ^d	1064. 05 ±93. 55 ^b	1824. 94 ±63. 22 ^a	891. 54 ±69. 33 ^c	853. 99 ±78. 49 ^c
	50	12. 88 ±1. 03 ^d	154. 07 ±12. 32 ^b	288. 13 ±25. 47 ^a	78. 09 ±7. 19 ^c	67. 23 ±7. 01 ^c
	60	122. 95 ±10. 05 ^d	354. 41 ±31. 27 ^b	527. 00 ±46. 32 ^a	348. 66 ±28. 61 ^b	135. 38 ±11. 58 ^c
	70	11. 03 ±1. 04 ^d	79. 78 ±6. 83 ^b	155. 55 ±13. 28 ^a	71. 72 ±7. 93 ^b	57. 52 ±4. 22 ^c
副性腺 Glandula accessoria	30	126. 35 ±10. 33 ^d	234. 13 ±20. 31 ^c	239. 87 ±20. 82 ^c	294. 30 ±24. 29 ^b	347. 98 ±23. 99 ^a
	50	59. 37 ±4. 21 ^d	83. 67 ±7. 69 ^c	387. 42 ±33. 57 ^b	423. 21 ±37. 08 ^a	76. 20 ±7. 91 ^c
	60	21. 49 ±2. 03 ^d	35. 89 ±3. 08 ^c	76. 30 ±7. 12 ^a	58. 55 ±5. 16 ^b	39. 99 ±31. 57 ^c
	70	14. 30 ±1. 22 ^d	201. 81 ±19. 64 ^a	254. 62 ±23. 61 ^a	156. 84 ±13. 49 ^b	73. 44 ±6. 72 ^c

表注同表 3。

3 讨论

3.1 锌元素对雄性生殖器官发育的影响

微量元素中锌在生物体内的含量是最高的。对于水生动物而言,锌主要由肠道吸收,但吸收率低,故必需由饵料不断提供^[4]。锌是肾上腺皮质的固有成分,在垂体、性腺等器官中含量较高,长期缺锌会引起垂体释放激素明显减少^[10],影响类固醇激素的合成,并导致睾酮生物合成和释放明显减少^[11],以及精巢发育和精子发生的紊乱^[12]。而在日粮中添加一定量的锌,则可明显提高睾酮的含量,促使睾丸间质细胞、支持细胞体积增大^[13]。从对照组、实验 1、2 组的测定结果发现,随着饵料锌添加量的增加,精巢和副性腺中的锌积累量随之增加,血淋巴睾酮含量亦随之上升,性腺指数升高;然而,过量添加后(>200—400mg/kg),3、4 组精巢和副性腺的锌积累量则出现了明显的下降,睾酮含量亦随之降低,性腺指数下降。上述结果表明,饵料中适量添加锌元素可增加河蟹雄性生殖器官的锌积累量,并促进睾酮的分泌及雄性性腺的发育,因此,锌对于河蟹性腺的发育是必需的。

3.2 锌元素对生殖系统乳酸脱氢酶和碱性磷酸酶活性的影响

锌既可作为很多蛋白质的结构成分,也是许多酶的辅助因子^[14,15]。目前已知锌与 250 多种酶的活性有关^[16],在动物体内至少有 80 多种酶的结构和活性与锌相关^[17];雄性动物性腺中的乳酸脱氢酶、苹果酸脱氢酶、醇脱氢酶、透明质酸酶,以及精子中的α-D-甘露糖苷酶、腺苷酸环化酶、碱性磷酸酶、DNA 和 RNA 聚合酶等活性都与锌直接相关^[18]。锌可通过直接参

与酶的催化过程或维持蛋白质结构的完整性来调节精子的生成或维持精子的生理功能^[19]。

碱性磷酸酶在精巢(或睾丸)和附睾组织中有大量分布,是与生殖细胞的发育、分化关系密切^[20],而且该酶的活性与性器官发育、精子密度及活率呈显著正相关。乳酸脱氢酶是糖酵解过程中一种重要的酶,是细胞在厌氧条件下获取能量的主要方式。对河蟹精子代谢的研究发现,精子在输精管中可利用乳酸脱氢酶获取能量,以维持正常的生理代谢^[21]。本研究中,河蟹精巢和副性腺中锌的积累量明显与碱性磷酸酶和乳酸脱氢酶的活性呈正相关,即性腺中锌积累量高,则相应地上述两种酶的活性亦高,反之则低;而锌含量高的实验组所对应的性腺指数和睾酮含量也高,这一结果同样说明,锌对于维持河蟹性腺中碱性磷酸酶和乳酸脱氢酶的活性是必需的,性腺中锌积累量的增加可有效提高碱性磷酸酶和乳酸脱氢酶的活性,从而促进河蟹性腺的发育。

此外,有研究发现,随着精巢发育的深入,乳酸脱氢酶的活性会不断上升,而本实验过程中河蟹性腺中乳酸脱氢酶的活性则呈现逐渐下降的趋势。从表面看两者的结论似乎截然相反,但从本实验的时间以及河蟹的性腺发育周期来看,两者并不矛盾。自然状态下雄蟹性腺的发育从 6 月份就已开始,7—8 月间已有成熟精子出现,快速发育期在 8—10 月之间,而本实验乳酸脱氢酶活性最高值(实验进行至 30d)出现的时间正值 9 月中旬,正是雄蟹性腺发育的高峰期,这从另外一个侧面证实了乳酸脱氢酶活性与雄蟹性腺发育的相关性。

3.3 河蟹性腺发育最适锌需求量的探讨

对于陆生动物而言,其体内微量元素的积累完

全由食物提供,然而水生动物包括水生甲壳动物,除了能从食物中获得自身所需的大部分微量元素外,还能通过鳃上皮细胞和肠粘膜直接从水体中吸取少量矿物质。本实验结果发现,对照组虽未添加锌,但其含量仍然接近实验 3、4 组,其原因除了前期可能存在一定的积累外,还极可能从水环境中吸收了部分锌元素以弥补饵料锌的不足;此外,实验 3、4 组与对照组在锌积累量上如此小的差异,说明饵料中过量添加锌可严重影响其吸收率,进而导致其积累量的大幅下降,并造成大量浪费,因而在实际操作过程中应针对该动物的需求,适量添加锌元素。

本结果发现,无论是锌积累量、睾酮的分泌量、性腺的发育程度,还是相关酶活性,均以 2 组最高,表明该添加量能有效促进河蟹性腺的发育,但由于河蟹同样存在从水环境中直接吸收该元素的可能,故其最适生理需求量尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] Coleman J E, Zinc proteins: enzymes, storage proteins, transcription factors, and replication proteins, Ann. Rev[J]. *Biochem*, 1992, **61**: 897—946
- [2] Shay N F, Manigan H F, Neurobiology of zinc-influenced eating behavior[J]. *J. Nutr.*, 2000, **130**: 1493—1499
- [3] Essatara M B, Levine A S, Morley J E, et al. Zinc deficiency and anorexia in rats: normal feeding patterns and stress induced feeding[J]. *Physiol and Behav*, 1984, **32**: 469—474
- [4] Wu J Q. Animal nutriology(second edition) [M]. Hefe: Anhui science and technology publishing company, 1999, 119—120[吴晋强. 动物营养学(第二版). 合肥:安徽科技出版社, 1999, 19—20]
- [5] Ying X P, Luo Y Y, Zhang Y P. A comparative study on the composition of amino acid and fatty acid in fertilized eggs and lost eggs of *Eriocheir sinensis* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2004, **28** (4): 402—408[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. 水生生物学报, 2004, **28** (4): 402—408]
- [6] Wen X B, Chen L Q, Ai C X, et al. Effects of temperature and body weight on fasting metabolism of the juvenile *Eriocheir sinensis* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2003, **27** (4): 357—361[温小波, 陈立乔, 艾春香, 等. 温度和体重对中华绒螯蟹幼蟹饥饿代谢的影响. 水生生物学报, 2003, **27** (4): 357—361]
- [7] Shi W G, Zhou X, Du X Y. Studies on dynamic change of matured mitten crab resource in the middle and lower reaches of the Yangze rivers[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2002, **26** (6): 641—647[施伟纲, 周昕, 杜晓燕. 长江中下游中华绒螯蟹亲体资源动态研究. 水生生物学报, 2002, **26** (6): 641—647]
- [8] Wang Q, Zhao Y L, Ma Q, et al. Seasonal changes of biochemical components in reproductive system of male Chinese mitten handed crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2004, **35** (4): 351—357[王群, 赵云龙, 马强, 等. 中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 雄性生殖系统发育过程中生化成分的季节变化. 海洋与湖沼, 2004, **35** (4): 351—357]
- [9] Jiang R L, Tan Y J, Wu J M, et al. Changes of hemolymph 20-hydroxyecdysone 17 β -oestradiol and testosterone levels in *Eriocheir sinensis* [J]. *Journal of fisheries of China*, 1992, **16** (2): 101—106[姜仁良, 谭玉钧, 吴嘉敏, 等. 中华绒螯蟹血淋巴中 20-羟基蜕皮酮、17 β -雌二醇和睾酮含量的变动. 水产学报, 1992, **16** (2): 101—106]
- [10] Mackenzie A R, T Hall, W F Whitmore. Zinc content of expressed human prostatic fluid[J]. *Nature*, 1962, **193**: 72
- [11] Kellokumpu S, H Rajaniemi. Effect of zinc on the uptake of human chorionic gonadotropin (hCG) in rat testis and testosterone response in vivo[J]. *Biol Reprod*, 1981, **24**: 298
- [12] Cigankova V, Mesáros P, Bires J, et al. The morphological structure of the testis in stallions with zinc deficiency (in Slovak) [J]. *Slov. Vet. J.*, 1998, **23**: 97—100
- [13] Li Q W, Geng G X, Wang J C. Effects of Zinc on Ram Testicular Histocyte, Plasma Hormone Levels [J]. *Acta of West-north agriculture University*, 1998, **26** (2): 37—40[李青旺, 耿果霞, 王建辰. 锌对绵羊睾丸组织细胞和血浆激素水平的影响. 西北农业大学学报, 1998, **26** (2): 37—40]
- [14] Batra N, Nehru B, Bansal M P. Influence of lead and zinc on rat male reproduction at "Biochemical and Histopathological Levels" [J]. *J. Appl Toxicol*, 2001, **21**: 507—512
- [15] Waltraud Eggert-Kruse, M. D, Eva-Maria Zwick, M. D, et al. Are zinc levels in seminal plasma associated with seminal leukocytes and other determinants of semen quality? [J]. *Fertility and sterility*, 2002, **77** (2): 260—269
- [16] Wang Z M. A brief introduction to the rules in the bioselection of elements [J]. *Journal of Nature*, 1997, **19** (1): 47—49[王则民, 元素的生物选择规律[J]. 自然杂志, 1997, **19** (1): 47—49]
- [17] Yang Z Q. Zinc is the essential trace element of nutrition [J]. *Gansu Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 1990, (1): 30—32[杨志强. 锌是动物营养价值所必需的微量元素. 甘肃畜牧兽医, 1990, (1): 30—32]
- [18] Sun Y. Zinc and male reproduction [J]. *Livestock And Poultry Industry*, 2000, **1**: 12—13[孙燕. 锌与雄性动物生殖. 畜禽业, 2000, **1**: 12—13]
- [19] Li W L, Lu Z P. Zinc and the nutrition of livestock [J]. *Overseas stockbreeding—feedingstuff*, 1990, **3**: 20[李文立, 陆治平. 锌与公畜营养[J]. 国外畜牧学—饲料, 1990, **3**: 20]
- [20] Wang S Z. Distribution of alkaline phosphatase in seminiferous tubules [J]. *Journal of Tianjin Second Medicine University*, 1993, **10** (3): 4[王世忠, 曲精小管碱性磷酸酶分布的探讨. 天津第二医学院学报, 1993, **10** (3): 4]
- [21] Wang Q, Zhao Y L, Chen L Q. Biochemical composition and sperm metabolism in the reproductive system of the male *Eriocheir sinensis* [J]. *Journal of fisheries of China*, 2002, **26** (5): 411—416[王群, 赵云龙, 陈立乔. 中华绒螯蟹雄性生殖系统的生化组成及精子代谢. 水产学报, 2002, **26** (5): 411—416]

EFFECTS OF DIETARY ZINC ON DEVELOPMENT OF REPRODUCTIVE SYSTEM OF MALE CHINESE MITTEN-HANDED CRAB (ERIOCHEIR SINENSIS)

WANG Qun, MA Qiang, LI Kai, DING Yir-Di and CHEN Li-Qiao

(School of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062)

Abstract: This study investigated the effects of dietary zinc on the development of reproductive system in male Chinese mitten-handed crab (*Eriocheir sinensis*). Zn sulfate (ZnSO_4) was added as dietary zinc source. The crabs were assigned to five groups and fed with an artificial compound diet which added different content of zinc except controls, group 1 to group 4 were added 50mg/kg feed, 100mg/kg feed, 200mg/kg feed and 400mg/kg feed of zinc, respectively. The experiment lasted for 70 days and the results were as follows: zinc content of testis and glandula accessoria of group 2 was the highest (300mg/kg and 150mg/kg, respectively) of all the groups. Controls was zinc non-added, but its zinc content of testis and glandula accessoria were still reached to 85mg/kg and 67mg/kg, respectively. The testosterone concentration and GSI (Gonadosomatic index) of group 2 were also the highest one (0.835ng/mL and 25.94×10^{-3} , respectively), and controls was the lowest one. In testis, the activities of AKP and LDH increased fastly and then descended rapidly during the whole experiment, and all groups reached their peaks at 30 days, and group 2 was always the highest one between all groups. In glandula accessoria, the activities of AKP and LDH reached their peaks at 50 and 70 days respectively, and group 2 was still the highest one, and it was important to mention, the activity of AKP descended quickly after its peak, and reached very low level at the end of the experiment. All results suggested: the content of zinc in reproductive system based on the proper content of dietary zinc, and once zinc over-added it would result in the reduce of the zinc accumulation; Proper zinc content could accelerate the speed of development of reproductive system and increase the secretion of testosterone; The activities of AKP and LDH of testis and glandula accessoria had obvious relevancy with its zinc content.

Key words: *Eriocheir sinensis*; Male reproduction; Zinc; Testosterone