

雌雄波纹巴非蛤不同组织中总类胡萝卜素含量比较分析

李庆昌¹, 邓素贞¹, 刘贤德¹, 曾志南²

(1. 农业部东海海水健康养殖重点实验室, 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021; 2. 福建省水产研究所, 福建省海洋生物增养殖与高值化利用重点实验室, 福建 厦门 361013)

摘要: 本文分析了波纹巴非蛤(*Paphia undulata*)斧足、外套膜、鳃、闭壳肌、性腺 5 个组织以及不同性别的总类胡萝卜素含量(TCC)。结果显示: 波纹巴非蛤 5 个组织的总类胡萝卜素含量除外套膜与鳃之间没有显著性差异外($P>0.05$), 其他各组织之间差异均达到极显著水平($P<0.01$), 各组织总类胡萝卜素含量从高到低依次为: 斧足>性腺>外套膜>鳃>闭壳肌; 不同性别波纹巴非蛤的斧足、外套膜、鳃、闭壳肌中总类胡萝卜素的含量没有显著性差异($P>0.05$), 但精巢中总类胡萝卜素的含量要显著高于卵巢($P<0.05$)。本研究结果初步揭示了波纹巴非蛤体内总类胡萝卜素含量的分布规律。

关键词: 波纹巴非蛤(*Paphia undulata*); 组织; 性别; 总类胡萝卜素

中图分类号: S917.4

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2017)11-0102-05

DOI: 10.11759/hyxx20170602002

波纹巴非蛤(*Paphia undulata*)属于软体动物门(Mollusca)、瓣鳃纲(Lamellibranchia)、帘蛤目(Veneroidea)、帘蛤科(Veneridae)、巴非蛤属(*Paphia*), 营埋栖生活, 俗称“油蛤”, 主要分布于中国福建、广东、广西等沿海地区以及日本、澳大利亚、菲律宾等国家和地区, 生活在水深 0.5~3.5m 的潮下带浅海软泥中^[1-2]。波纹巴非蛤对环境适应能力强, 生长周期比较短, 其肉质细嫩、味道鲜美而且营养价值较高, 因而受到广大消费者的喜爱, 是中国东南沿海著名的海产经济贝类之一。近年来, 波纹巴非蛤的养殖面积不断扩大, 至 2011 年, 福建省漳州市东山湾和诏安湾自然海区增养殖面积已超过 4500 hm², 年产量超过 10 万 t, 年创产值 8.4 亿元, 是当地重要支柱产业^[3-4]。

类胡萝卜素是一类天然脂溶性化合物的总称, 自 1928 年 Karrer 等^[5]首次阐明了 β -胡萝卜素的结构以来, 到目前已经报道了 800 多种。类胡萝卜素在人体内的代谢物包括视黄醛、视黄醇等^[6]。研究表明类胡萝卜素在增强人体的免疫功能等方面有很重要的作用, 如预防心血管疾病、老年性黄斑病变、癌症、骨质疏松症及眼疾等^[7-9]。对水产动物而言, 类胡萝卜素主要起到改善卵质、减少胚胎发育死亡率、着色等功能^[10-11]。已有研究表明, 类胡萝卜素广泛存在于多板纲、腹足纲、双壳纲、头足纲等海产贝类中, 特别是牡蛎、扇贝、贻贝等双壳纲中含量更高^[12-14]。但由于贝类体内缺乏相应的酶系, 自身不能合成类胡萝卜素, 其体内丰富的类胡萝卜素来自于所摄食的含有类胡萝卜素的藻类或者微生物, 经代谢吸收,

最后富集在体内^[15]。在虾夷扇贝^[16](*Patinopecten yessoensis*)、华贵栉孔扇贝^[17](*Chlamys nobilis*)、三角帆蚌^[18](*Hyriopsis cumingii*)以及马氏珠母贝^[5](*Pinctada martensii*)中已有类胡萝卜素的相关报道, 本课题组前期分析了波纹巴非蛤斧足颜色与总类胡萝卜素含量的关系^[19], 而有关雌雄不同组织总类胡萝卜素含量的研究至今未见报道。

基于此, 本研究对波纹巴非蛤斧足、外套膜、鳃、闭壳肌、性腺五个组织的总类胡萝卜素含量进行分析, 并对各组织的性别差异情况进行比较, 以期了解波纹巴非蛤体内总类胡萝卜素含量的分布规律, 为波纹巴非蛤品质鉴定、营养成分分析、加工利用与遗传育种研究提供一定基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究所用波纹巴非蛤取自福建省云霄县礁美海区, 该海区是波纹巴非蛤的主要养殖区, 以海洋牧场的

收稿日期: 2017-02-02; 修回日期: 2017-05-11

基金项目: 福建省高等学校新世纪优秀人才支持计划(JA14167); 福建省海洋生物增养殖与高值化利用重点实验室开放课题(2015fjseq05)

[Foundation: Supported by Program for New Century Excellent Talents in Fujian Province University, No. JA14167; Key Laboratory of Cultivation and High-value Utilization of Marine Organisms in Fujian Province, No. 2015fjseq05]

作者简介: 李庆昌(1993-), 男, 河南新乡人, 硕士研究生, 主要从事水产动物遗传育种研究, E-mail: 761239001@qq.com; 刘贤德, 通信作者, 教授, E-mail: xdlu@jmu.edu.cn

形式进行养殖,即每年从广西海区采集天然苗种,然后放流到该海区进行养殖。本实验样品采集时间为2016年12月份,平均规格为:壳长(45.68±2.74)mm、壳宽(24.75±4.38)mm、壳高(15.96±1.10)mm、体质量(7.90±1.24)g。

1.2 方法

1.2.1 波纹巴非蛤雌雄鉴别

采用镜检法鉴定波纹巴非蛤的雌雄。取少许波纹巴非蛤的性腺涂在事先滴有一滴纯水的载玻片上,直接放在显微镜(Olympus BX-53)下观察。

1.2.2 取样

随机选取雌雄波纹巴非蛤样品各30个,打开壳后用剪刀和手术刀剪取斧足、外套膜、鳃、闭壳肌和性腺组织。

1.2.3 总类胡萝卜素的提取

总类胡萝卜素提取方法参阅杨叶欣等^[20]的研究并略有改动,具体方法步骤如下:(1)称取波纹巴非蛤各组织0.1g左右,加入等量的无水硫酸钠和适量的无水乙醇(分析纯)充分匀浆;(2)将匀浆液用无水乙醇润洗两次匀浆管,一并转移到10mL离心管中,加无水乙醇定容至8mL,用锡箔纸避光密封,在4℃冰

箱过夜;(3)用4500 r/min低温离心10 min (Centrifuge 5430R, Eppendorf 公司),取上清液;(4)用紫外分光光度计(UV-1200, MAPADA)测定在480 nm处的吸光值,代入公式算出总类胡萝卜素含量。总类胡萝卜素质量比($\mu\text{g/g}$)= $A_{480} \times K \times V / E^{1\%}_{1\text{cm}} \times G$,其中: A_{480} 为480 nm处吸光度值, K 为常数(10^4), V 为提取液体积(mL), $E^{1\%}_{1\text{cm}}$ 为1 cm光程的比色杯中1 g/L质量浓度溶质的理论吸收值(2500), G 为样品质量(g)。

1.3 数据处理

采用EXCEL 2013和SPSS 22.0软件进行数据统计分析。数据结果以平均值±标准误(Mean±SE)表示, $P < 0.05$ 表示有显著性差异, $P < 0.01$ 表示有极显著性差异, $P > 0.05$ 表示无显著性差异。

2 结果与分析

2.1 波纹巴非蛤雌雄鉴别结果

将波纹巴非蛤性腺组织处理后在显微镜下观察,雌性的个体在10倍镜下可以看到大大的圆形或者椭圆形的卵细胞,雄性个体在10倍镜下只能看到沙粒般点状物质,看不到具体的细胞状物质(如图1所示)。

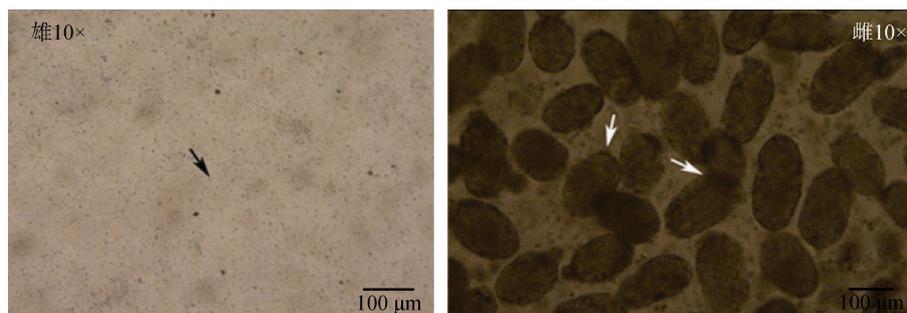


图1 波纹巴非蛤雌雄鉴别

Fig. 1 The gender identification of *P. undulata*

黑色箭头指向精子,白色箭头指向卵细胞

The black arrow points to the sperm and the white arrow points to the egg cell

2.2 波纹巴非蛤不同组织总类胡萝卜素含量的比较分析

对60个波纹巴非蛤的斧足(Fo)、外套膜(Ma)、鳃(Gi)、闭壳肌(Ad)及性腺(Go)5个组织总类胡萝卜素含量进行测量,然后按照总的(不分雌雄)、雌性、雄性进行各组织类胡萝卜素含量比较,结果如表1所示。总的来讲,各组织总类胡萝卜素的含量从大到小依次为:斧足>性腺>外套膜>鳃>闭壳肌,除了外套膜与鳃之间没有显著性差异外($P > 0.05$),其他各组织

之间均存在极显著差异($P < 0.01$),其中斧足中的含量最高,为(15.91±0.62) $\mu\text{g/g}$,闭壳肌中含量最低,为(3.05±0.32) $\mu\text{g/g}$ 。雌、雄各组织中总类胡萝卜素含量的分布基本一致,但在雄性鳃中的含量要大于外套膜中的含量,雌性个体正好相反。

2.3 波纹巴非蛤各组织总类胡萝卜素含量雌、雄比较结果

波纹巴非蛤的斧足(Fo)、外套膜(Ma)、鳃(Gi)、闭壳肌(Ad)及性腺(Go)5种组织的雌雄检测结果如

表 1 所示。雌雄在各组织的差异比较如图 2 所示, 结果显示, 除了性腺之外, 各组织之间总类胡萝卜素

含量没有显著性差异($P>0.05$), 精巢中类胡萝卜素含量要显著高于卵巢。

表 1 波纹巴非蛤不同组织总类胡萝卜素含量差异比较结果

Tab. 1 Comparing results of the total carotenoid content in different tissues of *P. undulata* ($\mu\text{g/g}$, Mean \pm SE)

组织	斧足	性腺	外套膜	鳃	闭壳肌
雌性	15.46 \pm 0.87 ^a	11.23 \pm 1.06 ^b	7.41 \pm 0.77 ^c	6.88 \pm 1.01 ^c	2.86 \pm 0.44 ^d
雄性	16.36 \pm 0.89 ^a	16.14 \pm 1.06 ^b	7.76 \pm 0.54 ^c	8.05 \pm 0.87 ^c	3.23 \pm 0.46 ^d
均值	15.91 \pm 0.62 ^a	13.69 \pm 0.81 ^b	7.59 \pm 0.47 ^c	7.46 \pm 0.66 ^c	3.05 \pm 0.32 ^d

注: 标有不同小写字母者表示组间(横向)差异显著($P<0.05$); 标有相同小写字母者表示组间(横向)差异不显著($P>0.05$)

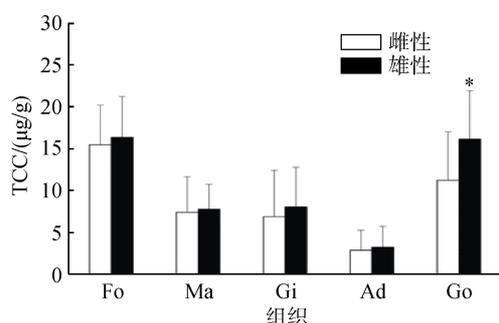


图 2 波纹巴非蛤各组织总类胡萝卜素含量雌、雄比较结果
Fig. 2 Comparing the total carotenoid content in different tissues in male and female *P. undulata*

* 表示两变量之间有显著差异($P<0.05$)

* indicated significant difference between two variables ($P < 0.05$ were considered significant, 95% CI)

3 讨论

已有研究表明, 不同贝类体内的类胡萝卜素含量存在很大的差异, 波动范围大致为 10~140 $\mu\text{g/g}$, 同种贝类不同组织之间总类胡萝卜素含量也有较大的差异^[21-22]。总类胡萝卜素在华贵栉孔扇贝性腺中的含量最高(59.90 \pm 1.32) $\mu\text{g/g}$, 在马氏珠母贝肝胰腺的含量最高(91.39 \pm 13.09) $\mu\text{g/g}$, 在三角帆蚌的肝脏中含量更是高达(134.8 \pm 61.7) $\mu\text{g/g}$ ^[5, 17-18], 本研究发现波纹巴非蛤斧足中的含量最高(15.91 \pm 4.80) $\mu\text{g/g}$, 说明总类胡萝卜素的组织分布存在种的特异性。此外, 本研究实验结果显示同一组织不同个体之间的总类胡萝卜素含量有较大的差异, 例如斧足中总类胡萝卜素含量为(9.10~29.47) $\mu\text{g/g}$, 而本实验中采集的波纹巴非蛤样品均来自于同一自然海区, 生长环境基本一致, 由此作者推测导致此现象的原因可能是由遗传差异引起的, 这为下一步选育类胡萝卜素含量高的波纹巴非蛤新品种提供一定的理论依据。

本研究结果表明, 波纹巴非蛤各组织的总类胡萝卜素含量除性腺之外, 并没有性别差异, 但精巢中总类胡萝卜素含量显著高于卵巢($P<0.05$), 这一结

果与郑怀平等^[17]在华贵栉孔扇贝上的研究结果相反, 在华贵栉孔扇贝卵巢中的总类胡萝卜素含量显著高于精巢。作者推测造成这种差异的原因可能有两个: 第一种可能是物种特异性, 第二种可能与作者采样时间有关。一般来说, 分布于闽南海区的波纹巴非蛤繁殖期在 5 月中旬至 10 月下旬, 其繁殖高峰有两次, 分别在 5 月下旬和 10 月上旬, 进入 11 月份后, 生殖活动已基本结束, 此时多数个体性腺萎缩退化^[23-24], 而本研究样品采集于 12 月份, 此时波纹巴非蛤的性腺已经退化, 郑怀平等^[23]的采样时间是 4 月份, 此时华贵栉孔扇贝已进入繁殖季节, 而类胡萝卜素具有改善卵质的作用, 作者推测卵巢中的类胡萝卜素含量较精巢增长的多。有关生理状态及繁殖季节对波纹巴非蛤体内类胡萝卜素含量是否有影响及有什么样的影响还需要进一步深入研究。

4 结论

本研究利用镜检法对波纹巴非蛤性别进行了鉴定, 利用分光光度法对雌雄波纹巴非蛤 5 个组织的总类胡萝卜素含量进行检测分析, 结果发现波纹巴非蛤的总类胡萝卜素含量存在组织、性别与个体差异: 不同组织中总类胡萝卜素含量不同, 精巢中总类胡萝卜素含量大于卵巢, 同种性别相同组织不同个体之间也有较大的变异, 推测可能与波纹巴非蛤不同个体积累类胡萝卜素的能力不同有关。本研究初步揭示了波纹巴非蛤体内总类胡萝卜素含量的分布情况, 为深入研究类胡萝卜素在波纹巴非蛤体内的代谢富集以及类胡萝卜素未知功能的探索提供一定的基础数据, 也为下一步波纹巴非蛤优良品种的选育提供了参考依据。

参考文献:

- [1] 蔡明夷, 郭洋, 柯才焕, 等. 波纹巴非蛤染色体核型分析[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2012, 51(5):

- 935-938.
Cai Mingyi, Guo Yang, Ke Caihuan, et al. Karyotype Analysis on *Paphia undulata*[J]. Journal of Xiamen University(Natural Science), 2012, 51(5): 935-938.
- [2] 齐钟彦. 中国经济软体动物[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
Qi Zhongyan. Economic mollusca of China[M]. Beijing: Agricultural Press, 1998.
- [3] 方镇熔. 波纹巴非蛤人工育苗技术[J]. 福建水产, 2011, 33(1): 59-62.
Fang Zhenrong. *Paphia undulata* artificially seedling techniques[J]. Journal of Fujian Fisheries, 2011, 33(1): 59-62.
- [4] 陈何东. 波纹巴非蛤大规模苗种培育技术[J]. 中国水产, 2015(5): 62-63.
Chen Hedong. The large-scale seed breeding technology of *Paphia undulata*[J]. China Fisheries, 2015(5): 62-63.
- [5] 吴小芬, 雷超, 陈思曼, 等. 马氏珠母贝养殖群体两种规格个体的类胡萝卜素含量比较[J]. 广东海洋大学学报, 2016, 36(1): 31-34.
Wu Xiaofen, Lei Chao, Chen Siman, et al. Total carotenoid content in soft tissues of two-sized groups in pearl oyster *Pinctada martensii* stock[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2016, 36(1): 31-34.
- [6] 何强强, 惠伯棣, 宫平, 等. 类胡萝卜素代谢物的生物学活性研究进展[J]. 食品科学, 2011, 32(15): 289-295.
He Qiangqiang, Hui Bodi, Gong Ping, et al. Research Progress in Bioactivities of Carotenoid Metabolites[J]. Food Science, 2011, 32(15): 289-295.
- [7] Yagi A, Fujimoto K, Michihiro K, et al. The effect of lutein supplementation on visual fatigue: a psychophysiological analysis.[J]. Applied Ergonomics, 2009, 40(6): 1047-1054.
- [8] LaRowe T L, Snodderly D M, Wooten B, et al. Macular lutein (L) and zeaxanthin (Z) density and age-related maculopathy (ARM) in the carotenoids in age-related eye disease study (CAREDS), an ancillary study of the women's health initiative (WHI)-observational study[C]. BETHESDA: FASEB Journal, 2005, 19(5): A986-A986.
- [9] Rao A V, Rao L G. Carotenoids and human health (Review)[J]. Pharmacological Research, 2007, 55(3): 207-216.
- [10] 高前欣. 水产动物中类胡萝卜素的生理功能[J]. 中国饲料, 2005(11): 29-30.
Gao Qianxin. Physiological functions of carotenoids in aquatic animal[J]. China Feed, 2005(11): 29-30.
- [11] 刘金海, 王安利, 王维娜, 等. 水产动物体色色素组分及着色剂研究进展[J]. 动物学杂志, 2002, 37(3): 92-96.
Liu Jinhai, Wang Anli, Wang Weina, et al. Progress of Study on the Component of Pigment and Painting Substance of Aquatic Animals[J]. Chinese Journal of Zoology, 2002, 37(3): 92-96.
- [12] Ackman R G. Marine biogenic lipids, fats, and oils[M]. Boca Raton, FL: CRC Press, 1989.
- [13] 张倩, 郑怀平, 刘合露, 等. 海产贝类体内类胡萝卜素的研究进展[J]. 海洋通报, 2011, 30(1): 108-112.
Zhang Qian, Zheng Huaiping, Liu Helu, et al. Research progress of carotenoids in marine mollusks[J]. Marine Science Bulletin, 2011, 30(1): 108-112.
- [14] 李庆昌, 刘坦, 陈小明, 等. 织锦巴非蛤斧足颜色与总类胡萝卜素含量相关分析[J]. 海洋科学, 2016, 40(10): 120-125.
Li Qingchang, Liu Tan, Chen Xiaoming, et al. Correlation analysis of the color and total carotenoid content in *Paphia textile* foot tissue[J]. Marine Sciences, 2016, 40(10): 120-125.
- [15] Britton G, Liaaen-Jensen S, Pfander H. Carotenoids. Volume 1A: Isolation and analysis[J]. Carotenoids, 1995, 26: 197-243.
- [16] 李宁. 虾夷扇贝橘红色闭壳肌产生的原因及其在育种中的应用[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009.
Li Ning. What accounting for orange color of Yesso scallop muscle (*Patinopecten yessoensis*) and its application in breeding [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009.
- [17] Zheng H, Liu H, Tao Z, et al. Total carotenoid differences in scallop tissues of *Chlamys nobilis* (Bivalve: Pectinidae) with regard to gender and shell colour[J]. Food Chemistry, 2010, 122(4): 1164-1167.
- [18] 闻海波, 聂志娟, 曹哲明, 等. 不同颜色珍珠层的三角帆蚌组织中类胡萝卜素含量的分析[J]. 大连海洋大学学报, 2012, 27(3): 265-268.
Wen Haibo, Nie Zhijuan, Cao Zheming, et al. Carotenoid levels in soft tissues of triangle pearl mussel *Hyriopsis cumingii* with different color nacreous layer[J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2012, 27(3): 265-268.
- [19] 李庆昌, 刘坦, 陈小明, 等. 波纹巴非蛤斧足颜色与总类胡萝卜素含量的相关分析[J]. 渔业研究, 2017, 39(1): 15-21.
Li Qingchang, Liu Tan, Chen Xiaoming, et al. Correlation analysis of foot color and total carotenoid content in *Paphia undulata* [J]. Journal of Fisheries Research, 2017, 39(1): 15-21.
- [20] 杨叶欣, 顾党恩, 牟希东, 等. 常用萃取剂提取福寿螺卵中类胡萝卜素的初步研究[J]. 生物安全学报, 2012, 21(4): 291-294.
Yang Yexin, Gu Dangen, Mu Xidong, et al. Total carotenoids in the eggs of the golden apple snail, *Pomacea canaliculata*[J]. Journal of Biosafety, 2012, 21(4):

- 291-294.
- [21] Kantha S S. Carotenoids of edible mollusks; a review[J]. Journal of food biochemistry, 1989, 13(6): 429-442.
- [22] 石婧, 顾赛麒, 王锡昌. 水产动物组织中类胡萝卜素的研究进展[J]. 食品工业科技, 2014, 35(12): 373-377.
Shi Jing, Gu Saiqi, Wang Xichang. Research progress in carotenoids in aquatic animal[J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(12): 373-377.
- [23] 徐小伟. 波纹巴非蛤早期发育及遗传多样性研究[D]. 福建: 厦门大学, 2015.
Xu Xiaowei. Studies on early development stages and genetic diversity of *Paphia undulate*[D]. Fujian: Xiamen University, 2015.
- [24] 赵志江, 李复雪, 柯才焕. 波纹巴非蛤的性腺发育和生殖周期[J]. 水产学报, 1991, 1: 1-8.
Zhao Zhijiang, Li Fuxue, Ke Caihuan. On the sex gonad development and reproductive cycle of clam *paphia undulata*[J]. Journal of Fisheries of China, 1991, 1: 1-8.

Analysis of total carotenoid content in different tissues of male and female *Paphia undulate*

LI Qing-chang¹, DENG Su-zhen¹, LIU Xian-de¹, ZENG Zhi-nan²

(1. Key Laboratory of Mariculture for the East China Sea, Ministry of Agriculture of China, Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. Fisheries research Institute of Fujian, Key Laboratory of Cultivation and High-value Utilization of Marine Organisms in Fujian Province, Xiamen 361013, China)

Received: Feb. 2, 2017

Key words: *Paphia undulate*; Tissue; Gender; total carotenoid

Abstract: In this paper, the total carotenoid content (TCC) in five tissues of *Paphia undulata* including axe foot, mantle, gill, adductor muscle, and gonad were analyzed. The TCC in male and female genders of *Paphia undulata* were also compared. The results showed that there are significant TCC differences in the five tissues ($P < 0.01$) except the mantle and gill ($P > 0.05$). The total carotenoid content of each tissue from high to low are as follows: axe foot, gonad, mantle, gill, and adductor muscle. There were no significant TCC differences in the axe foot, mantle, gill, and adductor muscles between male and female *Paphia undulata* ($P > 0.05$). However, the TCC in the testis was higher than in the ovary ($P < 0.05$). The results of this study reveal the distribution of TCC in *Paphia undulata*.

(本文编辑: 梁德海)