

文章编号: 1674-5566(2024)01-0043-10

DOI: 10.12024/jsou.20230204071

中华绒螯蟹3种亲本规格子代的生长、肠道微生物菌群和代谢组学分析

周振旗^{1,2,3}, 关伟晔^{1,2,3}, 谢昕洋^{1,2,3}, 侯鑫^{1,2,3}, 王军^{1,2,3}, 王成辉^{1,2,3}

(1. 上海海洋大学 农业农村部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306; 3. 上海海洋大学 上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306)

摘要: 中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)繁育亲蟹规格及其子代的生产性能是产业上的热点问题。本研究应用个体生长测定法和代谢组学技术,研究了当前生产上3种主要育苗亲蟹规格(母本200~250 g,父本300~350 g;母本250~300 g,父本350~400 g;母本300 g以上,父本400 g以上)繁殖子代(规格A、规格B和规格C)的蜕壳与生长特性、肠道微生物菌群和肝胰腺代谢物的组成差异。结果发现:在2次个体蜕壳与生长测定中,规格C的生长性能优于其他2种规格,但3种规格子代相互间的蜕壳增重率、蜕壳间隔、肥满度、肝胰腺指数和肌肉指数均不存在显著差异。肠道菌群结果表明: α 多样性指数均显示规格A低于其他2种规格,但3种规格相互间无显著差异,而主坐标分析(PCoA)显示3种规格肠道菌群在属水平上存在显著差异。肝胰腺的代谢组学分析显示,规格A与B间共有100种差异代谢物,规格B与C间共有77种差异代谢物,规格A与C间共有79种差异代谢物。对差异肠道菌群和差异代谢物进行Pearson相关性分析发现:规格A的代谢物生物喋呤与副梭菌属呈显著正相关;规格B的代谢物N-乙酰-D-甘露糖胺分别与硝基螺菌门、硝化螺菌属呈显著负相关;规格C的代谢物四氢吡啶甲酸盐与乳酸菌属呈显著负相关。研究结果初步表明:不同亲蟹规格子代在生长性能、肠道微生物菌群和肝胰腺代谢物组成方面表现出一定差异。

关键词: 中华绒螯蟹; 亲蟹大小; 蜕壳生长; 肠道菌群; 代谢组学

中图分类号: S 966.16 **文献标志码:** A

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*), 俗称河蟹, 是我国重要的水生经济动物, 主要自然分布于长江、黄河、辽河等流域。自1969年长江口天然蟹苗被大量利用以来, 我国中华绒螯蟹养殖经过50余年的快速发展, 已成为年育苗产量约900 t、蟹种产量约7万 t, 成蟹产量达80万 t, 全国28个省市市区养殖的大产业^[1]。然而, 在中华绒螯蟹的育苗生产上, 繁育亲本的规格差异很大, 小的亲本为雌<100 g、雄<125 g, 大的亲本为雌>300 g、雄>400 g, 造成了繁育苗种的销售价格差异很大。近10年来, 不同规格亲本繁育苗种的生产性能和养殖效果已有一些调查和研究。如茅海成等^[2]首次评估了不同规格亲本的池塘生态育苗效果, 发现大规格亲本的出苗量高, 育苗效果好, 建议在生产上使用大规格亲本; 陈军伟等^[3]和范陈伟等^[4]

均发现大规格亲本子代在扣蟹阶段生长速度更优, 建议在生产上选择大规格亲本的后代用于扣蟹养殖; 罗明等^[5]报道了体质量在240~260 g大规格亲本繁育后代在成蟹阶段的养殖性能优势。此外, 宣富君等^[6]进行了体质量约250 g和100 g两种规格母本的卵巢转录组分析, 旨在探讨大规格母本育苗优势的分子机理。然而, 不同规格亲本后代的生产性能及其遗传基础研究仍十分薄弱, 如蜕壳生长特性, 相关生理代谢基础等研究尚未见报道。

肠道微生物菌群是寄生于动物肠道中的数以万计的微生物群体。最新研究^[7]表明, 肠道微生物菌群对中华绒螯蟹的蜕壳与生长发挥着作用。代谢组是生物体或细胞在特定生理时期内所有的低分子量代谢产物的总称。近期, 代谢

收稿日期: 2023-02-03 修回日期: 2023-05-17

基金项目: 上海市中华绒螯蟹现代农业产业技术体系建设项目(沪农科产字[2022]第4号)

作者简介: 周振旗(1997—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物种质资源与苗种工程。E-mail: 1994528395@qq.com

通信作者: 王成辉, E-mail: wangch@shou.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

组学技术在中华绒螯蟹方面也有少量研究,如刘张淮^[8]应用代谢组学筛选针对中华绒螯蟹颤抖病的免疫增强剂,卢德胤^[9]报道了不同饵料组合和温度对中华绒螯蟹血淋巴中代谢组的影响。此外,关于中华绒螯蟹规格与代谢的关系已有部分研究,如鹿珍珍等^[10]发现大规格幼蟹的代谢速率大于小规格幼蟹,陈雪等^[11]发现幼蟹的排氨率、耗氧率与其体质量呈负相关。然而,代谢组学技术尚未应用于不同规格中华绒螯蟹的研究。

本研究以近几年生产上常见的3种大规格亲蟹[(♀:200~250 g, ♂:300~350 g, 产业上简称“4母”)、(♀:250~300 g, ♂:350~400 g, 简称“5母”)和(♀>300 g, ♂>400 g, 简称“6母”)]繁育的子代为研究对象,应用个体生长测定法和代谢组学技术,研究了不同规格亲蟹繁育子代的蜕壳与生长特性、肠道微生物菌群和肝胰腺代谢物的组成差异,以期了解不同规格亲蟹子代的养殖性能差异及其消化生理和代谢基础,为产业上中华绒螯蟹繁育亲本选择提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用蟹来自“江海21”3种不同体质量规格亲本繁育的子一代,即规格A(♀:200~250 g, ♂:300~350 g)、规格B(♀:250~300 g, ♂:350~400 g)和规格C(♀>300 g, ♂>400 g)亲本繁殖的二龄蟹各32只(雌雄各半且处于蜕壳间期)。正式实验时间为2022年6月3日至8月17日,共65 d。

1.2 蜕壳与生长评估

取32个容积为200 L的塑料圆桶(高100 cm×直径50 cm),每个桶内放养同性别的经个体标记的3种规格亲蟹繁殖的二龄蟹各1只,平均体质量如表1所示。为保证各桶内的水质条件基本一致,每个桶底部通过水管接入循环水系统,并投放覆盖率为50%左右的水花生作为实验蟹的蜕壳躲避物。实验期间,每天上午8:00和20:00按蟹体质量的1%~2%投喂中华绒螯蟹专用配合饲料,每隔3天换水1/2,每周清理一次残饵和粪便。整个实验期间溶氧维持在5 mg/L以上,试验期间为自然水温(28~35 ℃)。

第1次蜕壳后第3天,即甲壳硬化后用YT 1204电子天平(精确到0.01 g)称量体表无水

分的蟹体质量,用游标卡尺(精确到0.01 mm)测量每只实验蟹的头胸甲长。第2次蜕壳后第3天同样测量蟹体质量和头胸甲长,并记录蜕壳间隔(前后两次蜕壳期间的间隔天数)。蜕壳后增长率计算公式:

$$W_{GR}=(W_2-W_1)/W_1\times 100\% \quad (1)$$

$$A_{GE}=(W_2-W_1)/d \quad (2)$$

$$C_F=W_2/L^3\times 100\% \quad (3)$$

式中: W_{GR} 为体质量增重率,%; W_1 为第1次蜕壳后实验蟹体质量,g; W_2 为第2次蜕壳后实验蟹体质量,g; A_{GE} 为绝对增重率,g/t; d 为蜕壳间隔天数,d; C_F 为肥满度,%; L 为头胸甲长,cm。

1.3 相关样本采集与肝胰腺代谢组学分析

生长实验结束前24 h停止投喂饲料,然后每种亲本规格子代随机挑选12只实验蟹(雌雄各半),称量体质量和测量头胸甲长,用乙醇对蟹体表进行消毒后,解剖取出全部肝胰腺、全部肌肉和全部肠道并准确称重后,分别置于离心管中,经液氮速冻后于-80 ℃冰箱中保存。肌肉指数(M_{SI})和肝胰腺指数(H_{SI})计算公式:

$$M_{SI}=(W_M/W_1)\times 100\% \quad (4)$$

$$H_{SI}=(W_H/W_1)\times 100\% \quad (5)$$

式中: M_{SI} 为肌肉指数,%; H_{SI} 为肝胰腺指数,%; W_M 为实验结束后实验蟹肌肉质量,g; W_H 为实验结束后实验蟹肝胰腺质量,g; W_1 为实验结束后实验蟹体质量,g。

参考许佳等^[11]取样数量,冰上解冻后将每种规格的雌雄各1只实验蟹的肝胰腺组织各取25 mg混合,置于1.5 mL离心管中,形成每种规格蟹共6个生物学重复样本。然后,每个离心管中加入20 μL 2-氯苯丙氨酸(0.3 mg/mL)和1 000 μL 甲醇水提取液($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{水}}=4:1$),在全自动样品匀浆仪上匀浆处理后置于-20 ℃冰箱静置10 min,取出后于1 000 r/min离心5 min,吸取600 μL上清液用于代谢组学分析,实验流程参照卢德胤^[9]的操作。

1.4 肠道菌群分析

取肝胰腺代谢组学分析的相同实验蟹的肠道组织,进行肠道菌群总DNA提取、PCR扩增和测序,具体流程和分析方法参见陈宵等^[12]。

1.5 统计分析

采用SPSS 26.0软件对实验数据进行统计分析,所有数据均采用“平均值±标准差(Mean±SD)”表示,采用Levene检验进行方差齐性检验,

当不满足使用齐性方差时进行平方根处理,最后对数据进行单因素方差分析(ANOVA)和 Tukey 多重比较,以 $P < 0.05$ 为显著性差异,用 Graphpad Prism 8.02 和 Excel 软件进行相关图表的绘制。

2 结果

2.1 蜕壳与生长比较

实验蟹在饲养期内完成2次蜕壳所分析的生长相关指标中,规格C的成活率最高,蜕壳增重率最大,蜕壳间隔最短,但3种亲本规格子代相互间的蜕壳增重率、蜕壳间隔、肥满度、肝胰腺指数和肌肉指数均不存在显著差异($P > 0.05$),具体如表1所示。

表1 中华绒螯蟹3种亲本规格子代的蜕壳与生长指标统计

项目 Item	规格 A Size A	规格 B Size B	规格 C Size C
初始体质量 Initial mass/g	16.16±1.03	16.37±1.33	16.48±1.72
第1次蜕壳体质量 Body mass after the first molting/g	24.89±2.98	25.58±3.11	26.63±3.31
第2次蜕壳体质量 Body mass after the second molting/g	41.21±5.88	39.38±5.33	42.25±6.14
蜕壳间隔 Molting interval/d	33.06±5.20	33.67±4.70	31.23±4.32
最终成活率 Final survival rate/%	53.13	65.63	68.75
增重率 Weight gain rate/%	58.09±14.32	55.16±14.51	59.32±10.01
绝对增重率 Absolute weight gain rate/(g/d)	0.48±0.18	0.43±0.14	0.51±0.13
肥满度 Condition factor/%	53.66±4.67	53.58±3.77	53.77±2.62
肝胰腺指数 Hepatopancreas index/%	9.60±0.91	9.42±1.00	9.54±1.39
肌肉指数 Muscle index/%	14.51±3.31	14.01±2.19	14.14±2.74

表2 中华绒螯蟹3种亲本规格子代的肠道菌群 α 多样性指数($n=6$)

Tab. 2 α diversity index of intestinal microbes in the offspring from the three parental standards of *Eriocheir sinensis* ($n=6$)

规格 Size	Ace 指数 Ace index	Chao 指数 Chao index	Sobs 指数 Sobs index	Simpson 指数 Simpson index	覆盖率 Coverage
A	149.11±69.51	148.34±69.17	147.33±68.67	0.09±0.03	0.999 7
B	229.29±131.95	227.30±131.56	223.83±129.69	0.11±0.05	0.999 4
C	184.60±71.17	183.84±70.81	182.50±69.59	0.15±0.12	0.999 4

2.2.2 肠道菌群组成比较

在门水平上,规格A和B的肠道菌群中厚壁菌门占比最高(54.87%、64.63%),其次为拟杆菌门(23.38%、15.87%)和变形菌门(13.40%、14.86%);而在规格C中,占比最高的是也是厚壁菌门(66.94%)、其次是变形菌门(14.81%)和拟杆菌门(13.75%)。3种规格中,厚壁菌门丰度均在54%以上,且所占比例随规格增加而递增(图2a)。在属水平上,规格A中前4种优势菌属分别为杆状念珠菌属(*Candidatus_bacilloplasma*, 23.15%)、肝浆念珠菌属(*Candidatus_hepatoplasma*, 15.09%)、营发酵单胞菌属(*Dysgonomonas*, 13.83%)和ZOR006属(6.32%)。

2.2 肠道菌群分析

2.2.1 肠道菌群多样性比较

通过16S rRNA高通量测序,3种亲本规格子代的中华绒螯蟹共得到857 722条有效序列,序列长度从223 bp到514 bp不等,平均长度424 bp。以相似性97%为阈值进行聚类分析,共得到1 163个聚类单元(ASV),分属22个门、46个纲、126个目、219个科、383个属和495个种。 α 多样性指数(Ace、Chao、Sobs、Simpson等指数)均显示规格A低于其他两种规格,但3种规格相互间无显著差异($P > 0.05$),见表2。另外,主坐标分析(PCoA)结果显示3种亲本规格子代肠道菌群在属水平上存在显著差异($P < 0.05$),呈现出不同菌群组成,其中坐标2能将规格A与C较好地区分开来(图1)。

规格B中前4种优势菌属分别为杆状念珠菌属(20.15%)、ZOR006(16.10%)、肝浆念珠菌属(13.07%)和营发酵单胞菌属(9.91%)。规格C中前4种优势菌属分别为肝浆念珠菌属(31.06%)、杆状念珠菌属(11.83%)、ZOR006属(8.04%)和营发酵单胞菌属(6.29%),见图2b。这些优势菌属除杆状念珠菌属存在显著差异外($P < 0.05$),其余菌属在3种规格蟹中无显著差异($P > 0.05$)。

2.2.3 差异微生物筛选

3种亲本规格子代肠道菌群中共筛选出19种差异微生物菌群,其中规格A有5种,规格B有11种,规格C有3种。与规格A比较,规格B的拟

杆菌目 (o_Bacteroidales)、诺卡氏菌科 (f_Nocardiaceae)、杆状念珠菌属、副梭菌属 (g_Paraclostridium) 和红球菌属 (g_Rhodococcus) 丰度显著下调 ($P < 0.05$), 而硝基螺菌门 (p_Nitrospirota)、硝基螺旋菌目 (o_Nitrospirales)、芽链菌属 (g_Blastocatella)、未分级_f_微毛蕨属 (g_norank_f_Microtrichaceae) 和硝化螺菌属 (g_Nitrospira) 等丰度显著上调 ($P < 0.05$); 规格 C 的厌氧绳菌纲 (c_Anaerolineae)、乳酸细菌科 (f_Lactobacillaceae) 和乳酸菌属 (g_Lactobacillus) 丰度显著上调 ($P < 0.05$)。

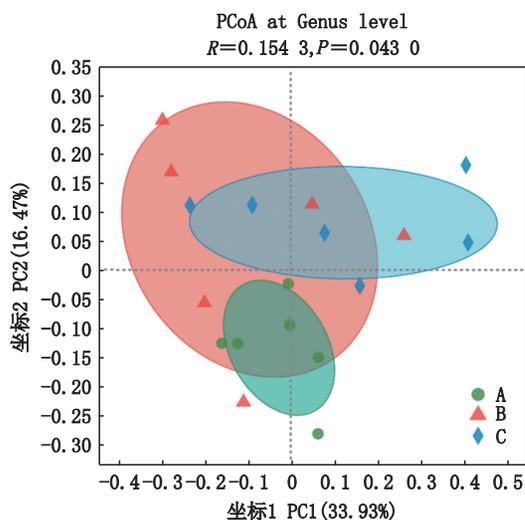


图1 中华绒螯蟹3种亲本规格子代肠道菌群β多样性的PCoA分析 (n=6)

Fig. 1 PCoA analysis of β diversity of intestinal microbes in the offspring from the three parental standards of *Eriocheir sinensis* (n=6)

2.3 代谢组学分析

2.3.1 多元统计分析

偏最小二乘判别分析 (PLS-DA) 结果显示: 在正离子模式下, 规格 A 与其他两种规格区分较明显, 在空间上呈分离状态 (图 3a); 在负离子模式下, 3 种规格相互间区分较为明显 (图 3b), 表明不同亲本规格子代的代谢物存在一定差异。

2.3.2 差异代谢物筛选

规格 A 与 B 间共筛选到 100 种差异代谢物 (57 种上调, 43 种下调), 其中特有的差异代谢物 72 种。规格 B 与 C 间共筛选到 77 种差异代谢物 (9 种上调, 68 种下调), 其中特有的差异代谢物 56 种。规格 A 与 C 间共筛选到 79 种差异代谢物 (27 种上调, 52 种下调), 其中特有的差异代谢物 52 种。3 组间共有 2 种差异代谢物, 分别为 4-羟

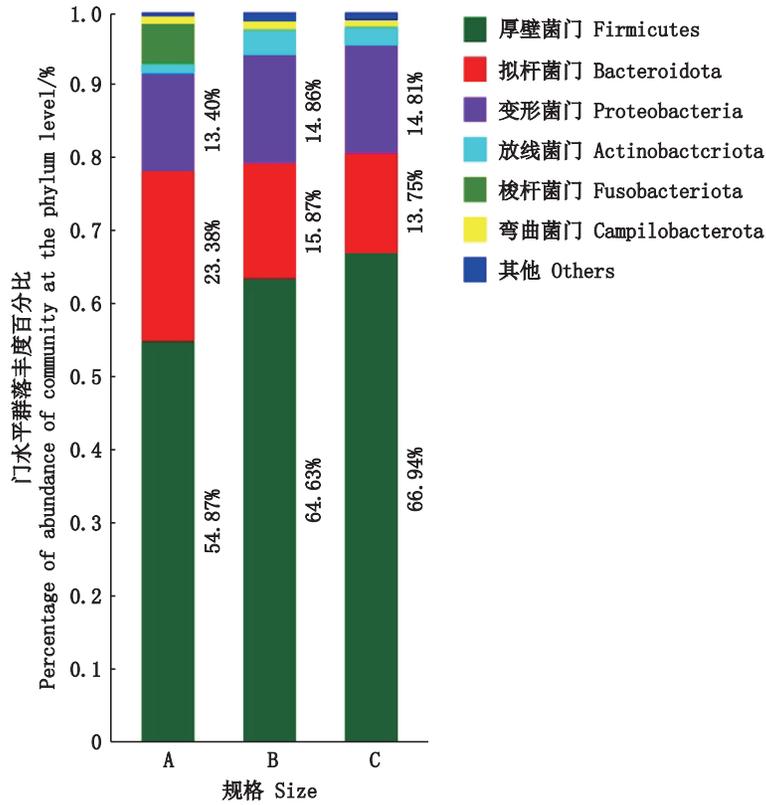
基-5-苯基四氢-1,3-恶嗪-2-酮和丹尼隆, 具体如图 4 所示。在两两交集分析得到的 37 种共有差异代谢物中, 有 9 种代谢物能够注释到具体代谢通路上, 包括氨基酸合成、叶酸合成、氨基糖和核苷酸糖代谢、戊糖与葡萄糖醛酸的相互转化、维生素代谢等通路 (表 3)。

2.3.3 差异肠道菌群与差异代谢物的关联分析

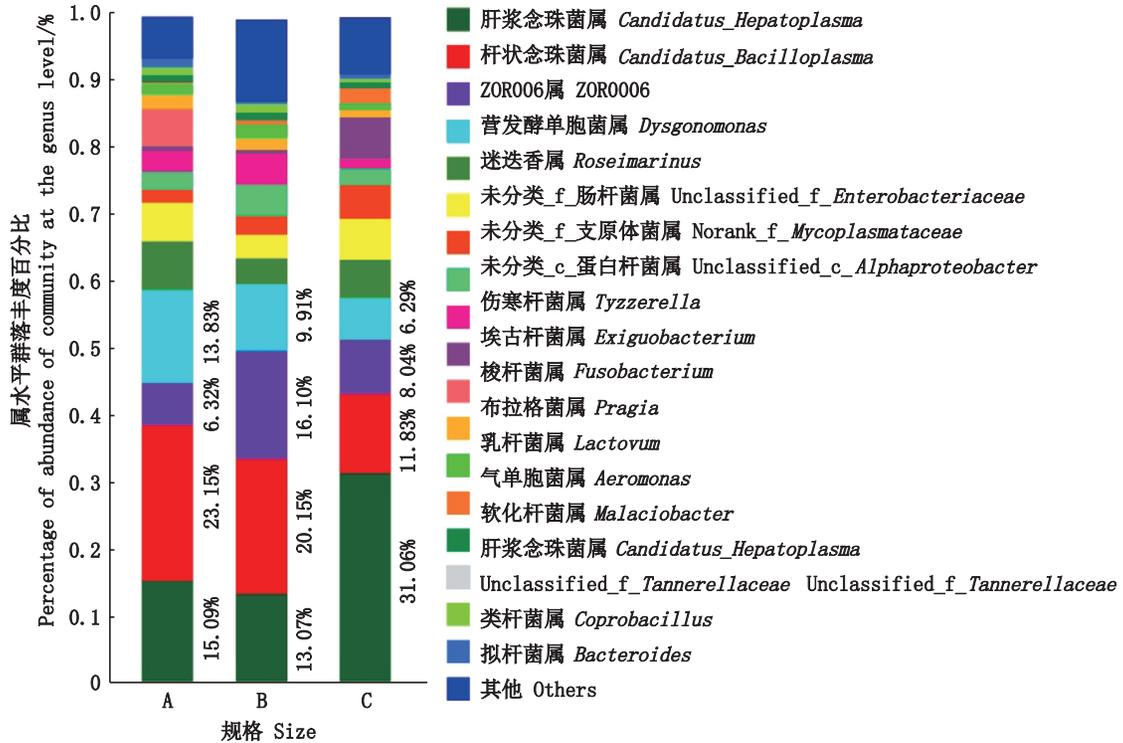
对筛选出来的差异肠道菌群和差异代谢物进行 Pearson 相关性分析, 发现: 在规格 A 中, 代谢物生物喋呤与副梭菌属呈显著正相关 ($R = 0.83$, $df = 12$, $P = 0.03$), 见图 5a; 在规格 B 中, 代谢物 N-乙酰-D-甘露糖胺分别与硝基螺菌门、硝化螺菌属呈显著负相关 ($R = -0.82$, $df = 18$, $P = 0.04$), 见图 5b; 在规格 C 中, 代谢物四氢二吡啶甲酸盐与乳酸菌属呈显著负相关 ($R = -0.91$, $df = 10$, $P = 0.01$), 见图 5c。

3 讨论

近几年来, 大规格亲本在中华绒螯蟹产业上应用越来越普遍。相关报道也表明, 大规格亲本繁育子代的生长更优, 养殖性能更好^[3-4, 14]。从遗传与育种角度看, 大规格亲本的后代应有更好的产业潜力。在本研究中, 通过成蟹阶段 2 次蜕壳个体生长测定, 3 种规格亲蟹子代的平均蜕壳增重率在 55% 以上, 其中规格 C 为 59.32%, 略高于其他两种规格, 且规格 C 平均体质量也略高于其他两种规格 ($P > 0.05$), 同时, 规格 C 的蜕壳间隔较其余两种规格分别缩短了 5.54% 和 7.15% ($P > 0.05$)。此外, 3 种规格亲蟹子代最终成活率约为 60%, 通过观察发现, 死亡主要发生在蜕壳到硬化阶段, 由同类攻击导致, 因而可以通过提高水花生的覆盖率和增加投喂量来降低蜕壳后同类攻击的发生。另外, 陈军伟等^[3]进行了不同规格中华绒螯蟹母本子代的生长特性比较, 认为大规格亲蟹子代在一龄阶段生产性能表现出优于小规格亲蟹子代的趋势, 而本研究中规格 C 在两次蜕壳后的生长性能优于其他两种规格, 跟罗明等^[5]研究结果相似, 且整个实验过程 3 种规格实验蟹的饲养条件一致, 因此, 推测规格 C 在生产上的生长性能可能优于其他两种规格, 亲本规格对子代的生长性能有影响。由于中华绒螯蟹的一生约蜕壳 20 次^[15], 个体大小需到最后一次蜕壳 (生殖蜕壳) 完成后才能确定。本研究只研究了 2 次蜕壳后生长特性, 3 种亲本规格子代的生长性能仍需更多蜕壳生长周期的比较。



(a) 门水平上肠道菌群组成 Composition of intestinal microbes at the phylum level



(b) 属水平上肠道菌群组成 Composition of intestinal microbes at the genus level

图2 中华绒螯蟹3种亲本规格子代的肠道菌群组成 (n=6)

Fig. 2 Composition of intestinal microbes in the offspring from the three parental standards of *Eriocheir sinensis* (n=6)

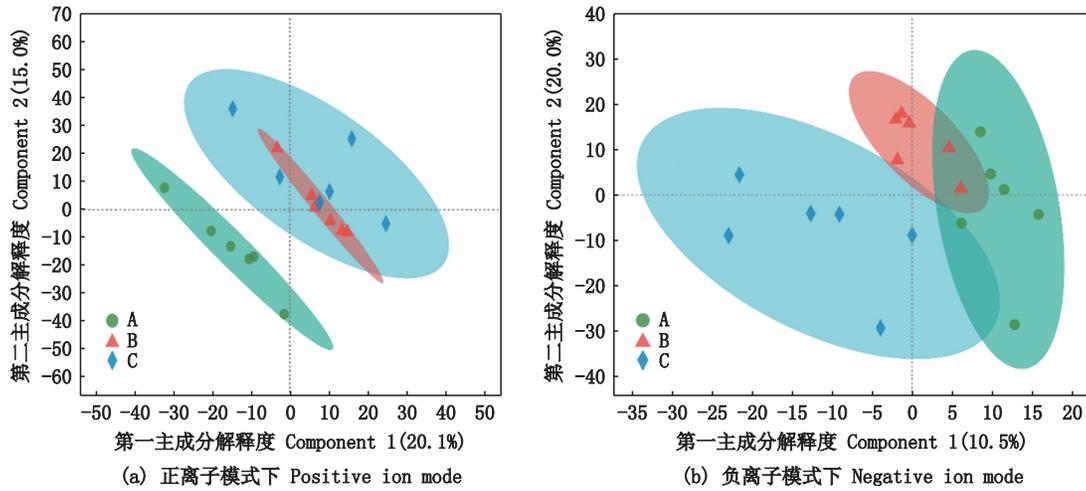


图3 中华绒螯蟹3种亲本规格子代正负离子模式的PLA-DA (n=6)

Fig. 3 PLA-DA in positive and negative ion modes of the offspring from the three parental standards of *Eriocheir sinensis* (n=6)

表3 中华绒螯蟹3种亲本规格子代筛选的代谢物及其代谢通路

Tab. 3 Metabolites and their metabolic pathways in the offspring from three parental standards of *Eriocheir sinensis*

通路编号 Pathway number	差异代谢物 Differential metabolites	代谢通路 Metabolic pathways
1	DG	生长激素合成 Growth hormone synthesis
2	四氢吡啶甲酸盐 Tetrahydrodipicolinate	氨基酸合成 Amino acid synthesis
3	石胆酸葡萄糖苷酸 Lithocholic acid glucuronide	戊糖和葡萄糖醛酸的相互转化 Interconversion of pentose and glucuronide
4	O-琥珀酰-L-高丝氨酸 O-Succinyl-L-homoserine	氨基酸合成 Amino acid synthesis
5	雌二醇 Estradiol	类固醇激素合成 Steroid hormone synthesis
6	生物蝶呤 Biopterin	叶酸合成 Folic acid synthesis
7	N-乙酰-D-甘露糖胺 N-Acetyl-D-mannosamine	氨基糖和核苷酸糖代谢 Amino and nucleotide sugar metabolism
8	核黄素 Riboflavin	维生素代谢 Vitamin metabolism
9	4-羟基-5-苯基四氢-1,3-恶嗪-2-酮 4-Hydroxy-5-phenyltetrahydro-1,3-oxazin-2-one	药物代谢 Drug metabolism

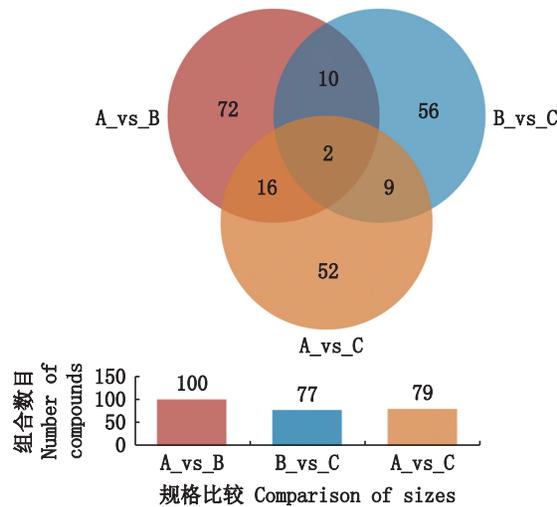
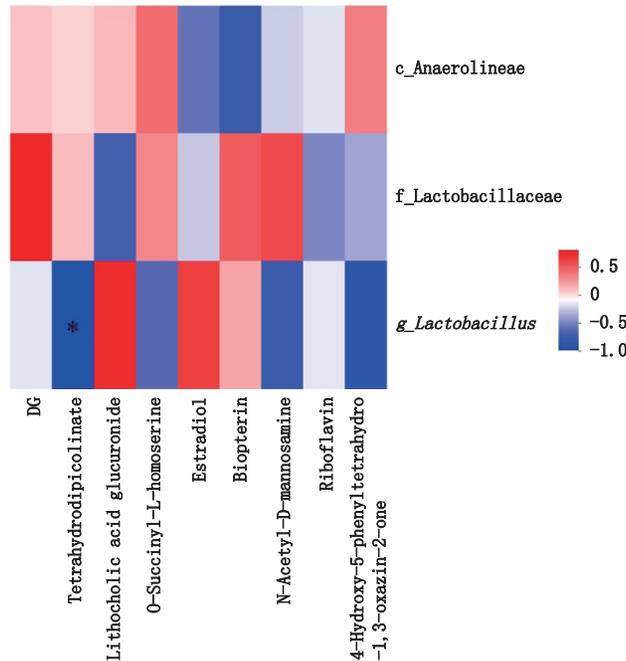
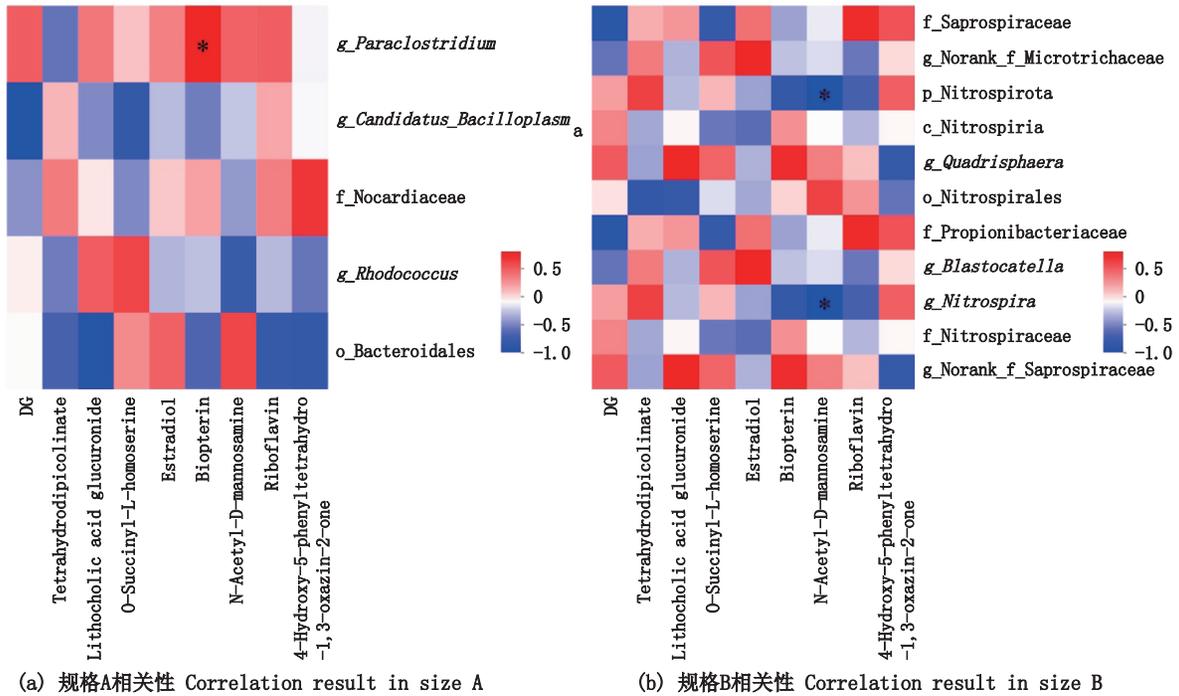


图4 中华绒螯蟹3种亲本规格子代的差异代谢物韦恩图 (n=6)

Fig. 4 Venn diagram of differential metabolites in the offspring from the three parental standards of *Eriocheir sinensis* (n=6)



含“*”代表差异显著($P < 0.05$)。“*” indicates significant difference ($P < 0.05$).

g_Candidatus_Bacilloplasma. 杆状念珠菌属; *o_Bacteroidales*. 拟杆菌目; *g_Paraclostridium*. 副梭菌属; *f_Nocardiaceae*. 诺卡氏菌科; *g_Rhodococcus*. 红球菌属; *g_Blastocatella*. 芽链菌属; *g_norank_f_Microtrichaceae*. 分级_f_微毛蕨科; *p_Nitrospirota*. 硝基螺旋菌门; *o_Nitrospirales*. 硝基螺旋菌目; *g_Nitospira*. 硝化螺菌属; *c_Nitrospiria*. 硝化螺旋菌纲; *f_Nitrospiraceae*. 硝化螺旋科; *g_Quadrifera*. 四球形属; *f_Propionibacteriaceae*. 丙酸杆菌科; *f_Saprospiraceae*. 腐螺科; *g_norank_f_Saprospiraceae*. 未分级_f_腐螺属; *g_Lactobacillus*. 乳酸菌属; *c_Anaerolineae*. 厌氧绳菌纲; *f_Lactobacillaceae*. 乳酸细菌科; DG; Tetrahydrodipicolinate. 四氢二吡啶甲酸盐; Lithocholic acid glucuronide. 石胆酸葡萄糖苷酸; O-Succinyl-L-homoserine. O-琥珀酰-L-高丝氨酸; Estradiol. 雌二醇; Biopterin. 生物蝶呤; N-Acetyl-D-mannosamine. N-乙酰-D-甘露糖胺; Riboflavin. 核黄素; 4-Hydroxy-5-phenyltetrahydro-1,3-oxazin-2-one. 4-羟基-5-苯基四氢-1,3-恶嗪-2-酮。

图5 中华绒螯蟹3种亲本规格子代差异菌群与差异代谢物的相关性分析

Fig. 5 Correlation analysis of differential flora and metabolites in the offspring from the three parental standards of *Eriocheir sinensis*

肠道微生物包括细菌、真菌、病毒和原生生物等,在生物体的生命活动中具有重要的作用^[16-17]。 α 多样性指数用来衡量微生物菌群组成的多样性和丰度。本研究中规格A的 α 多样性指数均低于其他2种规格($P>0.05$),其中Simpson指数表现出随亲本规格增加而递增的趋势,暗示不同亲本规格子代的肠道菌群有一定差异性。厚壁菌门和拟杆菌门作为肠道菌群中的两大优势菌群,对宿主新陈代谢有着重要作用^[18-20],如厚壁菌群中部分细菌跟食物消化有关^[21],而拟杆菌群主要参与糖类代谢^[9],同时,厚壁菌门与拟杆菌门的比值跟脂肪储存呈正相关^[22-23]。本研究中,厚壁菌门和拟杆菌门是3种规格亲蟹子代的两大优势菌群,其中厚壁菌门丰度随着亲本规格增加而递增,而拟杆菌门正好相反,同时,厚壁菌门和拟杆菌门丰度总和及比值随着亲本规格增加而递增,表明规格C在食物消化和脂肪存储上具有优势,最终会对生长产生影响,这在一定程度上解释了规格C生长性能优于其他两种规格。此外,有研究发现,肝浆念珠菌属(*Candidatus_ hepatoplasma*)、杆状念珠菌属(*Candidatus_ bacilloplasma*)、营发酵单胞菌属(*Dysgonomonas*)等在中华绒螯蟹肠道中占比较高^[7,24],本研究中也得到类似的结果。肝浆念珠菌属丰度随着亲本规格增加而递增,其中规格C为31.06%,远高于其他两种规格($P>0.05$),而规格A和B中该菌属丰度接近。研究^[25]表明,拥有该菌的十足目在营养不足时存活率更高,这在一定程度上解释了规格C的成活率略高于其他两种规格子代的原因。

代谢组是生物体或细胞在特定生理时期内所有的低分子量代谢产物的总称,代谢物差异可以用来表示机体内源性物质的变化。本研究中,3种规格子代共鉴定到217种差异代谢物,在两两交集分析得到的37种共有差异代谢物中,有9种代谢物能够注释到氨基酸合成、叶酸合成、氨基糖和核苷酸糖代谢、戊糖与葡萄糖醛酸的相互转化、和维生素消化吸收等具体通路上,表明中华绒螯蟹不同规格亲本子代在上述代谢通路上存在差异。氨基酸作为蛋白合成的前体物质,在生物体的生长、营养物质代谢和免疫物质合成方面起着重要作用^[26],而维生素是构成辅酶的重要成分^[27],这或许可在一定程度上解释不同规格子代生长差异的代谢基础。由于中华绒螯蟹生长

是一个较长过程,代谢组与生长的关系也需要更多蜕壳生长周期的分析。

参考文献:

- [1] 农业农村部渔业渔政管理局,全国水产技术推广总站,中国水产学会. 2022中国渔业统计年鉴[M]. 北京:中国农业出版社,2022.
Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China fishery statistical yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2022.
- [2] 茅海成,王高龙,杨永超,等. 中华绒螯蟹不同规格亲蟹池塘生态育苗效果的生产性评估[J]. 水产科技情报, 2014, 41(5): 233-236.
MAO H C, WANG G L, YANG Y C, et al. Productive evaluation of ecological seedling rearing effect of different size parent crab ponds of *Eriocheir sinensis* [J]. Fisheries Science & Technology Information, 2014, 41(5): 233-236.
- [3] 陈军伟,马旭洲,王武,等. 不同规格中华绒螯蟹母本子代的生长特性比较[J]. 动物学杂志, 2016, 51(5): 895-906.
CHEN J W, MA X Z, WANG W, et al. The comparative study on growth characteristics of offspring produced by female parents with different weight of the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Chinese Journal of Zoology, 2016, 51(5): 895-906.
- [4] 范陈伟,姜晓东,吴旭干,等. 不同规格中华绒螯蟹亲本子一代在扣蟹阶段养殖性能的比较研究[J]. 水产科技情报, 2021, 48(1): 33-39.
FAN C W, JIANG X D, WU X G, et al. Effects of broodstock size on juvenile culture performance of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* [J]. Fisheries Science & Technology Information, 2021, 48(1): 33-39.
- [5] 罗明,赵恒亮,肖温温,等. 3种规格亲蟹繁育后代养殖性能的比较[J]. 水产养殖, 2022, 43(6): 41-42.
LUO M, ZHAO H L, XIAO W W, et al. Comparison of breeding performance of three parental standards of *Eriocheir sinensis* [J]. Journal of Aquaculture, 2022, 43(6): 41-42.
- [6] 宣富君,王坤,曹佳欣,等. 基于卵巢转录组中华绒螯蟹大规格亲本育苗优势的分子机理[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(23): 166-173.
XUAN F J, WANG K, CAO J X, et al. Molecular mechanism of breeding superiority of large-sized parents of Chinese mitten crab based on ovarian transcriptome [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2021, 49(23): 166-173.
- [7] 张凯军,姜鹏飞,王军,等. 不同温度对中华绒螯蟹生长及肠道微生物菌群的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2022, 31(2): 384-393.

- ZHANG K J, JIANG P F, WANG J, et al. Effects of different temperatures on growth and gut microbiota of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2022, 31(2): 384-393.
- [8] 刘张淮. 基于代谢组学筛选针对中华绒螯蟹颤抖病的免疫增强剂及其抗病效果的研究[D]. 南京: 南京师范大学, 2021.
- LIU Z H. Study on metabolomic screening of immune enhancers for shivering disease of Chinese Mitten crab (*Eriocheir sinensis*) and their disease-resistant effects[D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2021.
- [9] 卢德胤. 不同饵料组合、温度对中华绒螯蟹的蜕壳、代谢组学与肠道微生物研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2019.
- LU D Y. Study on molting, metabolomics and gut microbiotas of Chinese mitten crab under different culture conditions [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2019.
- [10] 鹿珍珍, 徐广伟, 孙云飞, 等. 中华绒螯蟹幼蟹碳稳定同位素周转速率与碳、氮分馏系数的测定[J]. 水产学报, 2023, 47(10): 109611.
- LU Z Z, XU G W, SUN Y F, et al. Determination of carbon stable isotope turnover rate and carbon and nitrogen fractionation in juvenile *Eriocheir sinensis* [J]. Journal of Fisheries of China, 2023, 47(10): 109611.
- [11] 陈雪, 冯文荣, 周立水, 等. 温度和pH对中华绒螯蟹幼蟹耗氧率、排氨率和窒息点的影响[J]. 南方农业学报, 2022, 53(5): 1415-1424.
- CHEN X, FENG W R, ZHOU L S, et al. Effects of temperature and pH on the oxygen consumption rate, ammonia discharge rate and asphyxiation point of juvenile *Eriocheir sinensis* [J]. Journal of Southern Agriculture, 2022, 53(5): 1415-1424.
- [12] 许佳, 江敏, 吴昊, 等. 全氟辛烷磺酸对罗氏沼虾幼虾代谢和抗氧化酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2022, 29(4): 562-573.
- XU J, JIANG M, WU H, et al. Effects of PFOS on the metabolism and antioxidant enzymes of juvenile *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2022, 29(4): 562-573.
- [13] 陈宵. 斑石鲷消化系统形态学、发育规律及不同饵料条件下的肠道菌群差异[D]. 上海: 上海海洋大学, 2022.
- CHEN X. Study on the morphology and development of *Oplegnathus punctatus*'s digestive system and the difference of intestinal flora in different [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2022.
- [14] 汤荣海, 田蕾, 李凌. 大规格亲本河蟹生态养殖效益高[J]. 科学养鱼, 2021(7): 28-29.
- TANG R H, TIAN L, LI L. Large standards of *Eriocheir sinensis* has high ecological breeding efficiency [J]. Scientific Fish Farming, 2021(7): 28-29.
- [15] 王武, 王成辉, 马旭洲. 河蟹生态养殖[M]. 2版. 北京: 中国农业出版社, 2014.
- WANG W, WANG C H, MA X Z. Ecological culture of Chinese mitten crab aquaculture [M]. 2nd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2014.
- [16] LAVELLE A, SOKOL H. Gut microbiota-derived metabolites as key actors in inflammatory bowel disease [J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2020, 17(4): 223-237.
- [17] KINNEBREW M A, PAMER E G. Innate immune signaling in defense against intestinal microbes [J]. Immunological Reviews, 2012, 245(1): 113-131.
- [18] NDEH D, ROGOWSKI A, CARTMELL A, et al. Complex pectin metabolism by gut bacteria reveals novel catalytic functions[J]. Nature, 2017, 544(7648): 65-70.
- [19] LUIS A S, BRIGGS J, ZHANG X Y, et al. Dietary pectic glycans are degraded by coordinated enzyme pathways in human colonic *Bacteroides* [J]. Nature Microbiology, 2018, 3(2): 210-219.
- [20] LIN S L, WANG Z Y, LAM K L, et al. Role of intestinal microecology in the regulation of energy metabolism by dietary polyphenols and their metabolites [J]. Food & Nutrition Research, 2019, 63: 1518.
- [21] 吴金凤, 熊金波, 王欣, 等. 肠道菌群对凡纳滨对虾健康的指示作用[J]. 应用生态学报, 2016, 27(2): 611-621.
- WU J F, XIONG J B, WANG X, et al. Intestinal bacterial community is indicative for the healthy status of *Litopenaeus vannamei* [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2016, 27(2): 611-621.
- [22] ZHU J Q, KONG Y, YU J, et al. Consumption of drinking water N-Nitrosamines mixture alters gut microbiome and increases the obesity risk in young male rats [J]. Environmental Pollution, 2019, 248: 388-396.
- [23] TURNBAUGH P J, LEY R E, MAHOWALD M A, et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest [J]. Nature, 2006, 444(7122): 1027-1031.
- [24] 徐静静, 冯广朋, 陈建华, 等. 长江口中华绒螯蟹雌蟹洄游期的肠道菌群多样性[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(1): 146-151.
- XU J J, FENG G P, CHEN J H, et al. Diversity of intestinal microflora of female *Eriocheir sinensis* in the Yangtze River Estuary during migratory period [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2021, 49(1): 146-151.
- [25] FRAUNE S, ZIMMER M. Host-specificity of environmentally transmitted *Mycoplasma*-like isopod symbionts [J]. Environmental Microbiology, 2008, 10(10): 2497-2504.
- [26] 王洪荣, 季昀. 氨基酸的生物活性及其营养调控功能的研究进展[J]. 动物营养学报, 2013, 25(3): 447-457.

WANG H R, JI Y. Advanced research in biological activities and functions of nutritional regulation of amino acids[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2013, 25 (3): 447-457.

[27] 张远方. 维生素在水产动物饲料中的应用[J]. 河南水产, 2011(3): 18-19.

ZHANG Y F. Application of vitamins in aquatic animal feed[J]. Henan Fisheries, 2011(3): 18-19.

Studies on growth, metabolomics and intestinal microbes of offspring from the three parental standards of *Eriocheir sinensis*

ZHOU Zhenqi^{1,2,3}, GUAN Weiye^{1,2,3}, XIE Xinyang^{1,2,3}, HOU Xin^{1,2,3}, WANG Jun^{1,2,3}, WANG Chenghui^{1,2,3}

(1. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources Certificated, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. National Demonstration Centre for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The parental sizes of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) and the growth performance of its offspring have become interestingly main topics in aquaculture industry in recent years. In this study, we applied individual growth comparison and metabolomics techniques to investigate molting and growth characteristics, intestinal microbes and hepatopancreas metabolites compositions in offspring (Size A, Size B and Size C) of the three parental standards of Chinese mitten crab (200–250 g for females and 300–350 g for males; 250–300 g for females and 350–400 g for males; > 300 g for females and > 400 g for males). The results showed that the growth performance in the offspring of size C was better than the other two sizes in the two individual molting and growth measurements, but there were no significant differences in the molting weight gain rate, molting interval, fatness, hepatopancreas index and muscle index among the three parental sizes of offspring. The results of intestinal microbes analysis showed that α diversity index of the size A was lower than the other two sizes, but there was no significant differences among them, while the PCoA analysis showed significant differences of intestinal microbes composition among the three sizes at the genus level. Metabolomics analysis of hepatopancreas found a total of 100 different metabolites between the sizes A and B, 77 different metabolites between the sizes B and C, and 79 different metabolites between the sizes A and C. Pearson correlation analysis between different intestinal microbes and metabolites revealed that the metabolite Biopterin was significantly positively correlated with Genus *Paraclostridium* in the size A; the the metabolite N-acetyl-d-mannosamine was significantly negatively correlated with Phylum Nitrospira and Genus *Nitrospira* in the size B; the metabolite tetrahydrodipyrindinate carboxylate was negatively correlated with Genus *Lactobacillus* in the size C. The current results of this study indicated some differences have been detected in molting and growth, intestinal microbes and hepatopancreas metabolites composition among the offspring of different parental sizes in Chinese mitten crab.

Key words: *Eriocheir sinensis*; parent size; molting and growth; intestinal microbes; metabonomics