

文章编号: 1674-5566(2017)04-0501-10

DOI:10.12024/j.sou.20170201962

育肥饲料中植物油替代鱼油对中华绒螯蟹生殖性能的影响

刘 丽¹, 姜晓东¹, 吴旭干¹, 邓 登², 成永旭^{1,3}

(1. 上海海洋大学 农业部淡水种质资源重点实验室, 上海 201306; 2. 深圳市澳华农牧有限公司, 广东 深圳 518054; 3. 上海海洋大学 上海市教委水产动物遗传育种协同创新中心, 上海 201306)

摘要: 采用豆油和菜籽油混合(1:1)替代鱼油, 研究了育肥饲料中不同鱼油替代水平对中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*, 简称河蟹)生殖性能、卵径、单卵质量和胚胎生化组成的影响。实验分为 5 组, 饲料 1#~5# 鱼油替代水平分别为 0、25%、50%、75% 和 100%。每个饲料组设置 3 个重复, 每个重复放入雌蟹和雄蟹各 25 只, 养殖 60 d 后进行交配试验, 比较其生殖性能和胚胎生化组成。结果表明:(1) 饲料 3# 组雌蟹在交配后第 10 天开始抱卵, 其余组均在第 15 天开始抱卵, 饲料 1#、3# 和 5# 组的最终抱卵率均为 100%, 而 2# 与 4# 组抱卵率为 80% 左右; 饲料 4# 的产卵量、生殖力和生殖指数略高于其他各组, 但各组间均无显著差异($P > 0.05$)。(2) 就胚胎质量而言, 饲料 1# 组的卵径相对较大, 但各饲料组的卵径、单卵湿重和干重的差异均不显著($P > 0.05$)。(3) 各饲料组胚胎中的水分、粗蛋白、粗脂肪和脂肪酸组成均无显著差异($P > 0.05$), 22:6n3 含量呈下降趋势, 18:2n6 和 $\sum n-6PUFA / \sum n-3PUFA$ 呈上升趋势。因此, 育肥饲料中采用豆油和菜籽油混合替代鱼油, 投喂性腺发育中期的河蟹, 对其生殖性能、胚胎质量及生化组成均没有显著影响, 育肥饲料 75% 左右的鱼油替代水平可以适当提高其产卵量和生殖力。

关键词: 中华绒螯蟹; 育肥饲料; 植物油; 鱼油; 生殖性能; 脂肪酸组成

中图分类号: S 966.16 **文献标志码:** A

海水鱼油富含高度不饱和脂肪酸、脂溶性维生素等营养成分, 是水产饲料最重要的脂肪源之一, 目前全球鱼油产量已经不能满足水产养殖业的需求^[1-2]。因此, 寻找合适的脂肪源替代水产饲料中的部分或全部鱼油已成为水产养殖业可持续发展的重要热点问题之一^[2-3]。植物油具有来源广泛、总产量大、价格相对较低、脂肪酸组成合理等优点, 是替代鱼油的重要选择^[3-4]。中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*), 简称河蟹, 是我国重要的养殖蟹类^[5], 我国河蟹养殖正向全程投喂配合饲料转变, 河蟹配合饲料正逐步广泛应用^[6]。有研究表明饲料中豆油替代部分鱼油对河蟹幼蟹生长和免疫指标无不良影响^[7-9], 但尚未见饲料中鱼油替代对其生殖性能影响的研究报道。

河蟹性腺发育阶段的亲本饲料中缺乏

HUFA, 通常会影响到其生殖性能^[10-11]。本课题组近期研究表明, 河蟹具有一定的 HUFA 合成能力^[12-13], 饲料中植物油替代适量鱼油, 可提高河蟹的 HUFA 合成能力, 从而降低河蟹饲料对鱼油的需求^[14-15]。不同植物油混合可使脂肪酸平衡, 提高替代效果^[16]。豆油和菜籽油的脂肪酸、维生素组成和含量有一定的互补性, 两者混合在水产饲料上具有一定优势^[4,7,17]。河蟹性腺发育中后期速度快, 时间短, 可能对 HUFA 需求量较大^[5]。鉴于此, 本实验采用植物油(豆油:菜籽油=1:1)混合替代鱼油, 配制 5 种不同鱼油替代水平(0、25%、50%、75% 和 100%)的育肥饲料投喂性腺发育中后期的河蟹 60 d, 研究了育肥饲料中不同鱼油替代水平对河蟹生殖性能、卵质量及其生化组成的影响, 以期对河蟹亲本饲料配制、鱼油替

收稿日期: 2017-02-25 修回日期: 2017-03-20

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31572630, 31472287); 科技部港澳台科技合作专项(2014DFT30270); 上海市科技兴农推广项目[沪农科推字(2015)第 1-7 号]; 上海市科学技术委员会科研项目(13320502100); 上海高校水产学一流学科建设基金项目(2015-62-0908)

作者简介: 刘 丽(1994—), 女, 硕士研究生, 研究方向为水产动物营养和生理。E-mail:765492348@qq.com

通信作者: 吴旭干, E-mail:xgwu@shou.edu.cn

代源开发、育肥养殖和生殖调控提供一定的理论依据和实践参考。

1 材料与方 法

1.1 实验饲料

本实验中采用 $V(\text{豆油}):V(\text{菜籽油})=1:1$ 的混合物替代鱼油,按照赵磊等^[7]的饲料配方(表1)配制5种鱼油替代水平的河蟹育肥饲料,植物油分别替代0、25%、50%、75%和100%鱼

油,5组实验饲料分别记为饲料1#~5#。所有饲料原料粉碎过60目筛并充分混合,双螺杆膨化机加工成沉性膨化饲料,采用真空喷涂装置按比例添加植物油和鱼油。实验饲料粒径和长度分别为4.5 mm和10.0 mm左右,所有实验饲料冷却塑料袋抽真空后保存于 -20°C 冰箱中。饲料中常规营养成分和脂肪酸组成数据来自赵磊等^[7],具体见表2。

表1 实验饲料组成

Tab.1 Formulation of experimental diets

原料 Ingredients	饲料 1# Feed 1#	饲料 2# Feed 2#	饲料 3 # Feed 3#	饲料 4# Feed 4#	饲料 5# Feed 5#
豆粕 Soybean meal	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
菜籽粕 Rapeseed meal	14.54	14.54	14.54	14.54	14.54
谷朊粉 Wheat gluten	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
鱼粉 Fish meal	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00
面粉 Wheat flour	14.00	14.00	14.00	14.00	14.00
啤酒酵母粉 Brewer's yeast	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
乌贼粉 Squid meal	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
虾粉 Shrimp meal	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
维生素预混料 Vitamin premix ¹⁾	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76
矿物质预混料 Mineral premix ²⁾	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20
磷酸二氢钙 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
氯化胆碱 Choline chloride (50%)	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
肌醇 Inositol	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
鱼油 Fish oil	8.00	6.00	4.00	2.00	0
豆油 Soybean oil	0	1.00	2.00	3.00	4.00
菜籽油 Rapeseed oil	0	1.00	2.00	3.00	4.00
磷脂油 Lecithin	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
食盐 Salt	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

注:1). 维生素预混料为每千克饲料提供: V_A 62 500 IU, V_{D_3} 15 000 IU, V_E 1.05 g, V_{K_3} 35.4 mg, V_{B_1} 100 mg, V_{B_2} 150 mg, V_{B_6} 150 mg, $V_{B_{12}}$ 0.2 mg, V_C 700 mg, 生物素 4 mg, D-泛酸钙 250 mg, 叶酸 25 mg, 烟酰胺 300 mg。2). 矿物质预混料为每千克饲料提供: $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 200 mg, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 96 mg, $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 360 mg, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 120 mg, $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 240 mg, KH_2PO_4 4.2 g, NaH_2PO_4 0.5 g, KI 5.4 mg, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 2.1 mg, Na_2SeO_3 3 mg

Note:1). The vitamin premix provided the following per kg of diets: V_A 62 500 IU, V_{D_3} 15 000 IU, V_E 1.05 g, V_{K_3} 35.4 mg, V_{B_1} 100 mg, V_{B_2} 150 mg, V_{B_6} 150 mg, $V_{B_{12}}$ 0.2 mg, V_C 700 mg, biotin 4 mg, D-pantothenic acid 250 mg, folic acid 25 mg, nicotinamide 300 mg。2). The mineral premix provided the following per kg of diets: $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 200 mg, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 96 mg, $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 360 mg, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 120 mg, $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 240 mg, KH_2PO_4 4.2 g, NaH_2PO_4 0.5 g, KI 5.4 mg, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 2.1 mg, Na_2SeO_3 3 mg

表 2 实验饲料常规成分(%干重)及脂肪酸组成(%总脂肪酸)
 Tab. 2 Proximate composition (% dry weight) and fatty acid composition
 (% of total fatty acids) of experimental diets

项目 Items	饲料 1# Feed 1#	饲料 2# Feed 2#	饲料 3 # Feed 3#	饲料 4# Feed 4#	饲料 5# Feed 5#
常规成分 Proximate composition					
水分 Moisture	11.81	11.45	11.85	12.34	11.18
粗蛋白 Crude protein	39.55	39.22	39.38	39.59	39.55
粗脂肪 Crude lipid	13.84	14.75	14.18	13.23	14.03
粗灰分 Ash	9.21	9.15	9.14	9.24	9.40
脂肪酸 Fatty acids					
C14:0	4.08	3.63	2.69	1.85	0.92
C15:0	0.59	0.54	0.40	0.25	0.12
C16:0	20.73	19.39	17.09	15.02	12.61
C17:0	0.54	0.49	0.39	0.27	0.15
C18:0	4.52	4.43	4.20	3.89	3.69
C20:0	0.51	0.53	0.46	0.39	0.48
Σ SFA	31.49	29.51	25.47	22.17	18.07
C16:1	4.14	3.89	2.96	1.96	1.04
C18:1n9	15.22	18.77	24.32	28.85	31.91
C18:1n7	3.17	3.38	3.16	3.12	3.13
C20:1	0.90	0.92	0.85	0.75	0.68
Σ MUFA	24.21	27.72	31.96	34.24	37.22
C18:2n6	18.67	18.51	23.83	28.79	33.06
C20:2n6	1.26	1.20	0.87	0.61	0.37
C22:2n6	0.38	0.35	0.26	0.18	0.09
C18:3n3	2.42	2.68	3.44	4.20	5.22
C20:4n6	0.80	0.75	0.52	0.33	0.19
C20:5n3	6.26	5.80	4.25	2.90	1.56
C22:6n3	9.92	9.39	6.62	4.37	2.15
Σ PUFA	39.76	38.68	39.79	41.56	42.78
Σ n-3PUFA	18.66	17.87	14.32	11.47	8.96
Σ n-6PUFA	21.11	20.81	25.48	30.09	33.81
Σ HUFA	17.03	15.94	11.39	7.60	3.87
DHA/EPA	1.58	1.62	1.56	1.51	1.39
n-3/n-6	0.88	0.86	0.56	0.38	0.27

注:表中含量低于0.4%的脂肪酸未列出。SFA. 饱和脂肪酸; MUFA. 单不饱和脂肪酸; HUFA. 高不饱和脂肪酸

Note: Contents less than 0.4% of the fatty acids are not listed in the table. SFA. saturated fatty acid; MUFA. monounsaturated fatty acid; HUFA. highly unsaturated fatty acid

1.2 实验用蟹及饲喂管理

实验用蟹均采自上海海洋大学崇明河蟹研究基地的养殖池塘,挑选已生殖蜕壳、附肢健全、活力较好的雌蟹和雄蟹各 375 只用于实验,雌雄体质量分别为(109.52 ± 6.79) g 和(147.34 ± 8.94) g,实验初期的雌雄性腺指数分别为3.17%和1.50%,雌雄肝胰腺指数分别为10.70%和9.11%。养殖实验在室外小型实验土池中进行,土池长×宽×深=7.8 m×7.8 m×0.7 m,并在土池四周设置双层防逃塑料板,实验前使用漂白粉进行池塘消毒。每个饲料组设置了3个重复池塘,每个池塘随机放入雌雄各25只,实验池塘

中种植水稻和水花生,以净化水质和提供隐蔽物,实验期间水深为70 cm左右。

土池养殖期间每天下午6:00左右投喂饲料,投喂量按总体质量的1%~3%进行,具体投喂量根据水温和摄食情况等灵活调整。主要投喂区域为池塘四周的浅水区,投喂后2~3 h检查食台残饵情况,并于次日上午再次检查和记录池塘四周残饵和蟹死亡情况,及时调整投喂量。养殖期间的水质指标要求如下:pH 7.0-9.0、平均溶氧大于4 mg/L、氨氮低于0.5 mg/L、亚硝酸盐低于0.15 mg/L,根据水质指标适当换水,土池养殖实验共持续60 d。

1.3 亲本交配及取卵

养殖实验结束后在室内进行交配实验,分别从每个实验池塘中挑选肢体健全的4只雌蟹和2只雄蟹转移到双层PVC桶($\Phi 108\text{ cm} \times H120\text{ cm}$)内,每个饲料组3个重复。交配实验开始之前,在桶底部铺设10 cm厚的细沙以供种蟹产卵,每个桶中加入70~80 cm深的半咸水(盐度约为15),以促进种蟹的交配和产卵。种蟹交配期间每日投喂少量配合饲料,投喂量视摄食情况而定,同时观察并记录种蟹的交配及产卵情况,交配两周后移出桶内雄蟹以避免影响雌蟹产卵。雌体产卵7天后,将雌体从交配桶中取出,擦干其体表水分并取下全部卵块,剔除携卵附肢后分别对卵块和去卵后的雌蟹进行称重,所有卵块保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。

1.4 亲本生殖性能测定

抱卵率亲本交配后,每5天统计一次各桶中的雌蟹抱卵数量,直到绝大部分个体全部抱卵便停止统计,根据如下公式计算抱卵率(ovigerous rate):

$$R_o(\%) = 100 \times N_1 / N_2 \quad (1)$$

式中: R_o 为抱卵率; N_1 为抱卵蟹数量; N_2 为交配后存活的总亲本数量。

产卵7天后,每个饲料组分别取7~9只抱卵蟹用于测定抱卵量、生殖力和生殖指数。从每只抱卵蟹的卵块中取10 mg左右胚胎用百万分之一电子天平(精确度0.001 mg,天平型号赛多利斯CPA225D, Sartorius group, Germany)精确称重,然后计数,据此计算单个卵的湿重,每只抱卵蟹平行测定3次。参照吴旭干等^[18]的方法计算抱卵量(Egg production)、生殖力(Fecundity)和生殖指数(Reproductive effort),计算公式如下:

$$P_E = W_1 / W_2 \quad (2)$$

$$F = P_E / W_B \quad (3)$$

$$E_R(\%) = 100 \times W_E / W_B \quad (4)$$

式中: P_E 为抱卵量(万/只); W_1 为抱卵蟹的卵块湿重; W_2 为单个卵湿重; F 为生殖力(个卵/克体重); E_R 为生殖指数; W_B 为抱卵蟹净体质量(去卵后的质量); W_E 为卵块质量。

1.5 卵径、单卵湿重和干重测定

每个饲料组取7~9只胚胎发育处于囊胚期的抱卵蟹,随机取部分胚胎在显微镜下用目测微尺测量卵径(精确到10 μm),每只抱卵蟹重复测

量50个卵。

单卵湿重测定参照1.4中的方法:将称重后的湿卵置于 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烘干24 h,在干燥皿中冷却20 min左右精确称重,据此计算单卵干重。湿卵称重前需用碳酸氢氨等渗液冲洗和吸干表面水分,防止胚胎表面残留的海水烘干后,盐分在表面导致胚胎干重增加,而碳酸氢氨烘干后挥发为氨气和水蒸气^[19]。每只抱卵蟹平行测定3次,取平均值作为该蟹的单卵干重和湿重。

1.6 常规生化成分和脂肪酸分析

按照AOAC^[20]的标准方法测定样品中水分、粗蛋白和灰分含量,在 $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下烘干测定样品中的水分含量,凯氏定氮法测定粗蛋白含量, $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灼烧样品至恒重测定灰分含量。参考吴旭干等^[21]的方法测定样品中的总脂含量和脂肪酸组成, $V(\text{氯仿}):V(\text{甲醇})=2:1$ 法提取总脂^[22],三氟化硼-甲醇法对提取的总脂进行甲脂化,采用正己烷提取甲酯化后的脂肪酸甲酯,使用美国Agilent7890气相色谱仪对脂肪酸进行定性和定量分析,色谱柱为Omegawax-320毛细管柱($30\text{ m} \times 0.25\text{ mm}$;美国Supelco公司生产),由 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 按程序升温至 $230\text{ }^{\circ}\text{C}$,直到所有脂肪酸全部出峰,每个样品分析共需49 min,进样口温度为 $240\text{ }^{\circ}\text{C}$,分流比为50:1。参照Supelco-37脂肪酸甲酯混合标准品的出峰时间进行脂肪酸定性(货号:47885-U,美国Supelco公司生产),脂肪酸定量均采用面积百分比法。每个饲料组重复7~9个个体,具体根据采样数量确定。

1.7 数据分析

本文中所有数据均表示为平均值 \pm 标准误。采用Levene法对所有数据进行方差齐性检验,当不满足齐性方差时对百分比数据进行反正弦或平方根处理。当数据满足齐性方差时,采用ANOVA对实验结果进行方差分析,采用Duncan's法进行多重比较;当数据转换后仍不满足齐性方差时,采用Kruskal-Wallis法进行非参数检验方差分析,采用Games-Howell法进行多重比较。所有分析均采用SPSS 19.0软件进行统计分析,在Excel上绘制相关图表。

2 结果

2.1 抱卵率和生殖性能

图1为不同饲料组雌体交配后的抱卵率变

化情况,饲料 3#组雌蟹在交配后第 10 天开始抱卵,其余各组均在交配后第 15 天开始抱卵;交配 20 天后各组雌体的抱卵率基本稳定,此后没有再出现抱卵蟹,最终饲料 1#、3#和 5#组的抱卵率均为 100%,而饲料 2#和 4#组的抱卵率为 80% 左右。

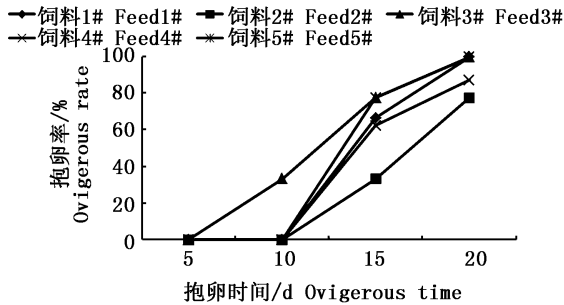


图 1 育肥饲料中植物油替代鱼油对河蟹抱卵率的影响

Fig. 1 Effects of dietary fish oil replacement by vegetable oils on ovigerous rate of female *E. sinensis*

各饲料组雌体的抱卵量、生殖力和生殖指标均无显著差异(表 3)。整体上,饲料 4#组的抱卵量、生殖力和生殖指数高于其他四组,饲料 3#组的生殖力和生殖指数最低,由于不同个体间的误差较大,因此 5 组雌体的生殖性能在统计学上无显著差异($P > 0.05$)。各组雌体的抱卵在 34 ~ 42 万/只雌体,生殖力在 3 342.64 ~ 4 146.85 个卵/克体质量之间,生殖指数均在 12% 左右。

2.2 卵径和单卵质量

育肥饲料中鱼油替代水平对胚胎质量的影响见表 4。饲料 1#组和 2#组的卵径相对较大,均在 360 μm 以上,其余 3 组的卵径仅为 340 ~ 350 μm 之间;单卵湿重范围在 33.51 ~ 35.70 μg 之间,其中饲料 3#和 4#组的单卵湿重相对较大,平均单卵湿量均大于 35 μg ;就单卵干重而言,饲料 4#(12.90 μg)比饲料 2#组(11.95 μg)高出 7.95%。各饲料组雌体所产胚胎的卵径、单卵湿重和干重均无显著差异($P > 0.05$)。

表 3 饲料中植物油替代鱼油对河蟹生殖性能的影响

Tab. 3 Effects of dietary fish oil replacement by vegetable oils on reproductive performance of female *E. sinensis*

项目 Items	饲料 1# Feed1#	饲料 2# Feed 2#	饲料 3# Feed 3#	饲料 4# Feed 4#	饲料 5# Feed 5#
抱卵量/(万/只) Egg production	37.40 \pm 6.94	34.51 \pm 8.30	34.94 \pm 12.71	42.59 \pm 12.29	40.35 \pm 12.02
生殖力/(个卵/g) Fecundity	3542.81 \pm 687.60	3466.22 \pm 784.18	3342.64 \pm 1234.23	4146.85 \pm 1181.93	3698.42 \pm 1058.62
生殖指数/% Reproductive effort	12.12 \pm 1.59	11.79 \pm 3.08	11.54 \pm 3.63	14.51 \pm 3.59	12.60 \pm 2.86

注:同行未标字母或标有相同字母表示各组间差异不显著($P > 0.05$),标有不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),表 4-5 同

Note:In the same column, means with no letter or the same letter mean no significant differences among the groups, ($P > 0.05$) while with different small letter mean significant differences, the same in following($P < 0.05$), the same in fig. 4-5

表 4 育肥饲料中植物油替代鱼油对河蟹雌体卵径和单卵质量的影响

Tab. 4 Effects of dietary fish oil replacement by vegetable oils on egg diameter, individual egg wet weight and dry weight of female *E. sinensis*

项目 Items	饲料 1#Feed 1#	饲料 2#Feed 2#	饲料 3#Feed 3#	饲料 4#Feed 4#	饲料 5#Feed 5#
卵径/ μm Egg diameter	365.27 \pm 44.90	364.21 \pm 41.85	341.53 \pm 17.49	346.8 \pm 9.59	344.66 \pm 11.22
卵湿重/ μg Egg wet weight	34.60 \pm 3.30	33.51 \pm 3.37	35.70 \pm 5.265	35.36 \pm 2.32	34.26 \pm 1.831
卵干重/ μg Egg dry weight	12.47 \pm 0.37	11.95 \pm 1.25	12.59 \pm 1.45	12.90 \pm 1.06	12.47 \pm 0.81

2.3 卵的生化组成

育肥饲料中鱼油替代水平对卵中常规成分和脂肪酸组成的影响如表 5 所示。就常规成分而言,各饲料组胚胎中的水分、粗蛋白、总脂均无显著差异($P > 0.05$),卵巢的水分含量为 64% 左右,粗蛋白和粗脂肪含量分别为 20% 和 10% 左右。就饱和脂肪酸组成而言,各饲料组卵中的总饱和脂肪酸(Σ SFA)百分含量均在 20%,仅

C14:0 含量存在显著差异,饲料 4#组的含量显著低于其他各组($P < 0.05$);就单不饱和脂肪酸而言,各饲料组卵中的总单不饱和脂肪酸(Σ MUFA)百分含量均在 38%,其中 C18:1n9 占其总含量的 60% 左右,仅 C17:1n7 和 C17:1n5 的含量存在显著差异($P < 0.05$),分别是饲料 3#组和 5#组含量最高;就多不饱和脂肪酸(PUFA)组成而言,18:2n6、20:5n3 和 22:6n3 是 3 种含量最

高的 PUFA, 占总 PUFA 的 80% 以上, 其中各组卵中的 C18:2n6 含量随着鱼油替代水平升高呈上升趋势 ($P < 0.05$), 而 20:5n3、22:6n3 和 Σn -

3PUFA / Σn -6PUFA 比值均呈下降趋势, 但各组间差异不显著。各饲料组卵中的总高度不饱和脂肪酸 (Σ HUFA) 含量均为 20% 左右。

表 5 育肥饲料中植物油替代鱼油对河蟹卵中常规成分和脂肪酸组成的影响

Tab. 5 Effects of dietary fish oil replacement by vegetable oil on proximate composition (% wet weight) and fatty acid composition (% of total fatty acids) in the eggs of female *E. sinensis*

项目 Items	饲料 1#Feed 1#	饲料 2#Feed 2#	饲料 3#Feed 3#	饲料 4#Feed 4#	饲料 5#Feed 5#
常规成分 Proximate composition					
水分 (% 湿重) Moisture	64.33 ± 2.53	64.32 ± 2.47	64.47 ± 3.07	63.52 ± 1.57	63.31 ± 1.81
粗蛋白 (% 湿重) Crude protein	19.47 ± 0.44	19.29 ± 0.65	19.38 ± 0.41	20.13 ± 0.74	20.15 ± 0.51
粗脂肪 (% 湿重) Crude lipid	10.30 ± 0.44	10.59 ± 0.70	9.52 ± 1.26	9.49 ± 1.30	10.01 ± 1.58
脂肪酸 Fatty acids					
C14:0	0.97 ± 0.14 ^b	0.95 ± 0.12 ^b	0.94 ± 0.12 ^b	0.76 ± 0.10 ^a	0.93 ± 0.14 ^b
C15:0	0.41 ± 0.08	0.42 ± 0.06	0.41 ± 0.04	0.37 ± 0.04	0.42 ± 0.04
C16:0	13.86 ± 0.77	14.31 ± 1.01	14.51 ± 0.62	13.71 ± 0.48	14.06 ± 1.06
C17:0	0.45 ± 0.03	0.49 ± 0.05	0.45 ± 0.07	0.47 ± 0.04	0.48 ± 0.04
C18:0	4.44 ± 0.26	4.49 ± 0.38	4.49 ± 0.32	4.53 ± 0.33	4.49 ± 0.17
Σ SFA	20.12 ± 1.08	20.67 ± 1.28	20.80 ± 0.95	19.84 ± 0.64	20.37 ± 1.34
C16:1	7.38 ± 0.91	7.32 ± 0.95	6.84 ± 0.73	6.91 ± 0.82	7.25 ± 0.96
C17:1n7	0.70 ± 0.09 ^{ab}	0.74 ± 0.08 ^{ab}	0.66 ± 0.08 ^a	0.68 ± 0.09 ^{ab}	0.77 ± 0.07 ^b
C18:1n9	23.82 ± 0.69	23.79 ± 1.14	24.10 ± 0.60	24.37 ± 0.50	24.07 ± 1.13
C18:1n7	5.57 ± 0.38	5.64 ± 0.33	5.43 ± 0.44	5.56 ± 0.37	5.45 ± 0.36
C20:1n9	0.59 ± 0.15 ^a	0.68 ± 0.07 ^{ab}	0.70 ± 0.06 ^b	0.68 ± 0.08 ^{ab}	0.65 ± 0.09 ^{ab}
Σ MUFA	38.06 ± 1.46	38.16 ± 1.39	37.74 ± 1.18	38.21 ± 0.64	38.18 ± 1.97
C18:2n6	14.30 ± 1.36 ^{ab}	13.58 ± 1.09 ^a	14.63 ± 1.09 ^{ab}	14.81 ± 0.71 ^b	14.99 ± 0.57 ^b
C20:2n6	1.11 ± 0.18	1.19 ± 0.21	1.11 ± 0.12	1.18 ± 0.09	1.18 ± 0.25
C18:3n3	2.50 ± 0.41	2.58 ± 0.40	2.40 ± 0.32	2.70 ± 0.32	2.78 ± 0.51
C20:3n3	0.35 ± 0.09	0.37 ± 0.07	0.32 ± 0.07	0.36 ± 0.06	0.38 ± 0.11
C20:4n6	2.22 ± 0.26	2.41 ± 0.34	2.17 ± 0.35	2.36 ± 0.46	2.30 ± 0.47
C20:5n3	8.52 ± 0.51	8.15 ± 1.23	8.57 ± 0.86	8.14 ± 0.84	8.18 ± 0.93
C22:5n3	0.51 ± 0.05	0.54 ± 0.08	0.48 ± 0.04	0.50 ± 0.07	0.51 ± 0.06
C22:6n3	8.35 ± 0.88	7.80 ± 1.09	7.90 ± 0.86	7.67 ± 0.71	7.64 ± 1.08
Σ PUFA	37.85 ± 2.48	36.61 ± 3.45	37.58 ± 2.17	37.72 ± 2.35	37.96 ± 3.05
Σ n-3PUFA	20.22 ± 1.51	19.43 ± 2.55	19.68 ± 1.68	19.36 ± 1.55	19.49 ± 2.18
Σ n-6PUFA	17.63 ± 1.40 ^{ab}	17.18 ± 1.18 ^a	17.91 ± 0.96 ^{ab}	18.35 ± 0.92 ^{ab}	18.47 ± 1.01 ^b
Σ HUFA	19.94 ± 1.49	19.26 ± 2.53	19.44 ± 1.51	19.03 ± 1.87	19.01 ± 2.49
DHA/EPA	0.98 ± 1.74	0.96 ± 0.89	0.92 ± 1.00	0.94 ± 0.85	0.93 ± 1.16
n-3/n-6	1.15 ± 0.09	1.13 ± 0.12	1.12 ± 0.11	1.05 ± 0.05	1.05 ± 0.09

3 讨论

3.1 饲料中鱼油替代对生殖性能和胚胎质量的影响

由于鱼油资源短缺和价格上涨, 河蟹饲料生产中采用植物油替代鱼油是必然趋势, 因此需要全面评估饲料中植物油替代对河蟹生长、免疫和生殖的影响^[14-15]。本研究首次评价了混合植物油替代鱼油对河蟹生殖性能和胚胎中生化组成的影响, 结果表明实用饲料中混合植物油完全替代鱼油对河蟹生殖性能和胚胎质量均无显著影

响, 75% 鱼油替代水平可以适当提高雌体产卵量和生殖力。这与先前有关河蟹亲本 HUFA 需求的研究结果基本一致^[11], 但与海产对虾类的研究结果不同^[23-25]。造成这种差异的可能原因如下: (1) 河蟹属于淡水甲壳动物, 仅仅河口区咸淡水进行交配和产卵, 对高度不饱和脂肪酸需求量低于对虾类^[11], 对虾属于多次连续产卵的海产甲壳动物, 卵巢发育速度快、周期短, 故对饵料中的 HUFA 需求量较高^[25]; (2) 河蟹卵巢快速发育前通常在肝胰腺中储存大量 HUFA 以满足此后卵巢发育的需求, 因此卵巢发育期间雌体的肝胰腺

指数和肝胰腺中的脂肪含量显著下降^[26-27],故饲料中较低的 HUFA 对河蟹第一次卵巢发育及其生殖性能影响不显著^[11]; (3) 为了使研究结果能够直接为产业服务,本研究中采用实用饲料进行鱼油替代研究,饲料配方中鱼粉、乌贼粉和虾粉等原料中含有一定量的 HUFA,因此,全植物油替代组饲料中仍然存在一定的 HUFA (3.87% 总脂肪酸),河蟹性腺发育期间,可以将饲料中有限的 HUFA 优先转运到性腺中满足性腺发育需求^[14,18],故不同鱼油替代水平没有显著影响河蟹的生殖性能。

本研究结果表明饲料中 75% 的鱼油替代水平可以适当提高雌体产卵量和生殖力,这可能是因为合适的鱼油替代水平可以平衡饲料中的脂肪酸组成,随着植物油含量的增加,饲料中的 18:2n6 含量显著增加,这可能在一定程度上提高了河蟹的产卵量和生殖力,类似的现象已经在罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 中被证实^[28]。本研究中各饲料组河蟹的抱卵量、生殖力、卵径、单卵干重和湿重均与先前的报道接近^[11,18,29],这也暗示实用饲料中植物油替代鱼油对河蟹生殖性能无显著影响。

3.2 鱼油替代对卵生化的影响

本研究结果显示,不同饲料对河蟹卵中的水分、粗蛋白和粗脂肪含量均无显著影响,这说明河蟹胚胎中的常规生化组成比较稳定,不易受到饲料的影响^[10,18]。就脂肪酸组成而言,尽管随着饲料中植物油含量的增加,胚胎中 20:5n3、22:6n3 和 HUFA 均呈下降趋势,18:2n6 为上升趋势,但各饲料组间差异不显著。造成河蟹胚胎中脂肪酸组成无差异的可能原因为: (1) 本实验开始时候,雌雄性腺指数分别为 3.17% 和 1.50%,且肝胰腺中存储着大量的 HUFA 等营养物质(雌雄肝胰腺指数分别为 10.70% 和 9.11%),因此河蟹进一步性腺发育的 HUFA 可以从肝胰腺中转运; (2) 本实验中采用的实用饲料,基础饲料中含有一定的 HUFA,且河蟹具有将 18:2n6 和 18:3n3 转化成 HUFA 的能力^[15],因此 100% 植物油替代鱼油组(饲料 5#组)亲本胚胎中没有表现出 HUFA 缺乏症; (3) 河蟹性腺和胚胎的脂肪酸组成具有一定的保守性,可以优先将饲料和肝胰腺中的 HUFA 转运到性腺中,满足性腺发育和生殖用,因此胚胎中的脂肪酸组成基本稳定。随着饲

料中植物油水平的升高,饲料中的 C18:1n9 和 C18:2n6 含量显著提高,但是河蟹胚胎中这些脂肪酸含量并没有显著升高,这可能是因为河蟹具有在肝胰腺中将这这些脂肪酸氧化功能,从而保证胚胎中的脂肪酸组成基本一致^[27]。值得一提的是,尽管各组饲料中 DHA/EPA 比值均大于 1.39,但是各组胚胎中的 DHA/EPA 比值均在 0.95 左右,这说明河蟹成熟卵巢和胚胎对 DHA 的需求量略低于 EPA^[10,30]。整体上,河蟹胚胎中脂肪酸组成具有较低的 DHA/EPA 比值、较高的 18:2n6,这符合淡水甲壳动物胚胎脂肪酸组成的基本特性^[28,31]。

综上,育肥饲料中植物油混合替代鱼油对河蟹生殖性能、胚胎质量及生化组成均无显著影响,其胚胎中的常规生化成分和脂肪酸组成具有较强的保守性,75% 左右的鱼油替代水平可以适当提高其产卵量和生殖力。河蟹对不同脂肪酸的利用和代谢机制有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] BARLOW S. Fishmeal and fish oil: Sustainable feed ingredients for aquafeeds [J]. *Global Aquaculture Advocate*, 2000, 4 (2): 85-88.
- [2] PICKOVA J, MØRKØRE T. Alternate oils in fish feeds [J]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2007, 109(3): 256-263.
- [3] NASOPOULOU C, ZABETAKIS I. Benefits of fish oil replacement by plant originated oils in compounded fish feeds. A review [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2012, 47(2): 217-224.
- [4] TURCHINI G M, TORSTENSEN B E, NG W K. Fish oil replacement in finfish nutrition [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2009, 1(1): 10-57.
- [5] HE J, WU X G, LI J Y, et al. Comparison of the culture performance and profitability of wild-caught and captive pond-reared Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) juveniles reared in grow-out ponds: Implications for seed selection and genetic selection programs [J]. *Aquaculture*, 2014, 434: 48-56.
- [6] 何杰, 吴旭干, 赵恒亮, 等. 全程投喂配合饲料条件下池塘中华绒螯蟹的生长性能及其性腺发育 [J]. *中国水产科学*, 2016, 23(3): 606-618.
HE J, WU X G, ZHAO H L, et al. Growth performance and gonadal development of pond-reared Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) fed formulated diets during the whole culture process [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2016, 23(3): 606-618.
- [7] 赵磊, 龙晓文, 吴旭干, 等. 混合植物油替代鱼油对中华

- 绒螯蟹成体雄蟹常规成分和脂肪酸组成的影响[J]. 动物学杂志, 2016, 51(6): 1071-1083.
- ZHAO L, LONG X W, WU X G, et al. Effects of fish oil replacement by blending vegetable oils in fattening diets on proximate composition and fatty acid composition of adult male Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Chinese Journal of Zoology, 2016, 51(6): 1071-1083.
- [8] 邱仁杰. 脂肪酸营养对中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 免疫及耐低氧能力的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2011.
- QIU R J. Effect of dietary fatty acid nutrition on the immunological ability and resistance to hypoxia in Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2011.
- [9] 陈彦良, 李二超, 禹娜, 等. 豆油替代鱼油对中华绒螯蟹幼蟹生长、非特异性免疫和抗病力的影响[J]. 中国水产科学, 2014, 21(3): 511-521.
- CHEN Y L, LI E C, YU N, et al. Effect of replacing dietary fish oil with soybean oil on growth, non-specific immune response, and resistance to *Aeromonas hydrophila* challenge in Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2014, 21(3): 511-521.
- [10] WU X G, CHENG Y X, SUI L Y, et al. Biochemical composition of pond-reared and lake-stocked Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards) broodstock[J]. Aquaculture Research, 2007, 38(14): 1459-1467.
- [11] SUI L Y, SUN H X, WU X G, et al. Effect of dietary HUFA on tissue fatty acid composition and reproductive performance of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards) broodstock[J]. Aquaculture International, 2011, 19(2): 269-282.
- [12] WU X G, WANG Z K, CHENG Y X, et al. Effects of dietary phospholipids and highly unsaturated fatty acids on the precocity, survival, growth and hepatic lipid composition of juvenile Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards) [J]. Aquaculture Research, 2011, 42(3): 457-468.
- [13] 施秋燕, 杨志刚, 姚琴琴, 等. 中华绒螯蟹 *ELOVL6* cDNA 全长克隆及其表达分析[J]. 水产学报, 2016, 40(6): 844-855.
- SHI Q Y, YANG Z G, YAO Q Q, et al. Full-length cDNA cloning of *ELOVL6* and its tentative study in Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2016, 40(6): 844-855.
- [14] 赵磊, 龙晓文, 吴旭干, 等. 育肥饲料中混合植物油替代鱼油对中华绒螯蟹成体雄蟹性腺发育、脂质代谢、抗氧化及免疫性能的影响[J]. 动物营养学报, 2016, 28(2): 455-467.
- ZHAO L, LONG X W, WU X G, et al. Effects of fish oil replacement by blending vegetable oils in fattening diets on gonadal development, lipid metabolism, antioxidant and immune capacities of adult male Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2016, 28(2): 455-467.
- [15] 刘泽华, 吴旭干, 龙晓文, 等. 育肥饲料中植物油混合替代鱼油对中华绒螯蟹雄体脂肪酸代谢相关基因表达的影响[J]. 水生生物学报, 2016, 40(4): 767-778.
- LIU Z H, WU X G, LONG X W, et al. Effects of fish oil replacement by vegetable oils in fattening diets on the related gene expression of fatty acid metabolism of adult male Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2016, 40(4): 767-778.
- [16] GLENCROSS B D, TURCHINI G M. Fish oil replacement in starter, grow-out, and finishing feeds for farmed aquatic animals[M]//TURCHINI G M, NG W K, TOCHER D R. Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds. Boca Raton: CRC Press, 2010.
- [17] BROWN P, HART S. Soybean oil and other n-6 polyunsaturated fatty acid-rich vegetable oils[M]//TURCHINI G M, NG W K, TOCHER R D. Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds. Boca Raton: CRC Press, 2010.
- [18] 吴旭干, 成永旭, 常国亮, 等. 亲本强化培育对中华绒螯蟹雌体生殖性能和 Z1 幼体质量的影响[J]. 水产学报, 2007, 31(6): 757-764.
- WU X G, CHENG Y X, CHANG G L, et al. Effect of enriching broodstock on reproductive performance and Z1 quality of *Eriocheir sinensis* [J]. Journal of Fisheries of China, 2007, 31(6): 757-764.
- [19] ZHU C J, LEE Y K. Determination of biomass dry weight of marine microalgae[J]. Journal of Applied Phycology, 1997, 9(2): 189-194.
- [20] AOAC International. Official methods of analysis of the association of official analytical Chemists [M]. 16th ed. Arlington: Association of Analytical Communities International, 1995.
- [21] 吴旭干, 汪倩, 楼宝, 等. 育肥时间对三疣梭子蟹卵巢发育和营养品质的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(2): 170-182.
- WU X G, WANG Q, LOU B, et al. Effects of fattening period on ovarian development and nutritional quality of female swimming crab (*Portunus trituberculatus*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(2): 170-182.
- [22] FOLCH J, LEES M, SLOANE STANLEY G H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues [J]. The Journal of Biological Chemistry, 1957, 226(1): 497-509.
- [23] XU X L, JI W J, CASTELL J D, et al. Influence of dietary lipid sources on fecundity, egg hatchability and fatty acid composition of Chinese prawn (*Penaeus chinensis*) broodstock[J]. Aquaculture, 1994, 119(4): 359-370.
- [24] CAHU C L, CUZON G, QUAZUGUEL P. Effect of highly unsaturated fatty acids, α -tocopherol and ascorbic acid in broodstock diet on egg composition and development of

- Penaeus indicus* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, 1995, 112(3/4): 417-424.
- [25] WOUTERS R, LAVENS P, NIETO J, et al. Penaeid shrimp broodstock nutrition: An updated review on research and development[J]. Aquaculture, 2001, 202(1/2): 1-21.
- [26] 成永旭, 堵南山, 赖伟. 不同阶段中华绒螯蟹肝胰腺的脂类及脂肪酸组成[J]. 动物学报, 1998, 44(4): 420 - 429.
- CHENG Y X, DU N S, LAI W. Lipid composition in hepatopancreas of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* at different stages[J]. Acta Zoologica Sinica, 1998, 44(4): 420-429.
- [27] WU X G, CHENG Y X, ZENG C S, et al. Reproductive performance and offspring quality of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards) females fed an optimized formulated diet and the razor clam *Sinonovacula constricta* [J]. Aquaculture Research, 2009, 40(12): 1335-1349.
- [28] CAVALLI R O, LAVENS P, SORGELOOS P. Performance of *Macrobrachium rosenbergii* broodstock fed diets with different fatty acid composition[J]. Aquaculture, 1999, 179(1/4): 387-402.
- [29] SUI L Y, WU X G, WILLE M, et al. Effect of dietary soybean lecithin on reproductive performance of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (H. Milne - Edwards) broodstock[J]. Aquaculture International, 2009, 17(1): 45-56.
- [30] 成永旭, 堵南山, 赖伟. 中华绒螯蟹卵巢和胚胎发育期脂类在卵黄物质中存在的形态及其变化[J]. 动物学杂志, 1999, 34(1): 51-55.
- CHENG Y X, DU N S, LAI W. On the ultrastructure of yolk lipid distribution and its changes during the Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* ovarian maturation and embryonic development[J]. Chinese Journal of Zoology, 1999, 34(1): 51-55.
- [31] 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.
- LI H, ZHAO Y L, WANG Q, et al. Variations in biochemical composition during embryonic development of *Macrobrachium nipponense*[J]. Journal of Fisheries of China, 2003, 27(6): 545-549.

Effects of dietary fish oil replacement by vegetable oils on reproductive performance of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)

LIU Li¹, JIANG Xiaodong¹, WU Xugan¹, DENG Deng², CHENG Yongxu^{1,3}

(1. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shenzhen Alpha Feed Co. Ltd., Shenzhen 518054, Guangdong, China; 3. Collaborative Innovation Center of Aquatic Animal Breeding Center Certificated by Shanghai Municipal Education Commission, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: This study was conducted to investigate the effects of different fish oil replacement levels on reproductive performance, egg diameter, individual egg wet weight and dry weight, proximate composition and fatty acid composition in the eggs produced by Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*). Five isonitrogenous and isolipidic fattening diets were formulated by the blending vegetable oils (soybean oil: rapeseed oil = 1:1) to replace 0, 25%, 50%, 75% and 100% of fish oil (defined as feed 1#, 2#, 3#, 4# and 5#, respectively). Each experimental diet was fed to three replicates and each replicate consisted of 25 females and 25 males. After 60-day feeding, four females and two males from each replicate were randomly transferred into the brackish water tanks for the mating, and the reproductive performance and egg biochemical composition were further studied for the evaluation of effects of fish oil replacement. The results showed that: (1) Feed 3# treatment started to spawn only after 10 days of post-mating, while there were 15 days of post-mating for the other treatments; the final ovigerous rate was 100% for the treatments of feed 1#, feed 3# and feed 5#, while the final ovigerous rate of feed 2# and feed 4# was around 80%; although feed 4# treatment had the highest egg production, fecundity and reproductive effort among five treatments, no significant differences were found among the five treatments ($P > 0.05$). (2) As for the egg quality, feed 1# had the slightly higher egg diameter than the others, but no significant differences were found on egg diameter, individual egg wet weight and dry weight among the five treatment ($P > 0.05$). (3) As for the egg biochemical composition, no significant differences were found for the moisture, crude protein, crude lipid and fatty acid composition in the eggs among the five treatments ($P > 0.05$); the percentages of 18:2n6, and the ratio of n-6 polyunsaturated fatty acids / n-3 polyunsaturated fatty acids ($\sum n-6PUFA / \sum n-3PUFA$) increased with increasing the replacement levels of dietary vegetable oils, while the decreasing trend was found on the percentage of 22:6n3 in the eggs. In conclusion, dietary fish oil replacement have no significant effect on reproductive performance, egg quality, proximate composition, and fatty acid composition of eggs for feeding *E. sinensis* at middle stage of gonadal development. Therefore, the appropriate replacement level of dietary fish oil is around 75% in consideration of egg production and fecundity.

Key words: *Eriocheir sinensis*; fattening diet; vegetable oil; fish oil; proximate composition; fatty acid composition