

文章编号: 1000-0615(2003)01-0062-07

维生素 C、E 对中华绒螯蟹生殖性能的影响

艾春香¹, 陈立侨¹, 周忠良¹, Glenn Y Deng², 江洪波¹

(1. 华东师范大学生命科学学院, 上海 200062;

2. NuGen Technologies, Inc. 821 Industrial Road, San Carlos, CA 94070, U. S. A.)

摘要:通过对河蟹雌性亲体投喂不添加或添加 V_C 、 V_E 的 4 组实验饲料, 并以新鲜河蚌为对照, 进行 198d 饲养试验, 以雌蟹性腺系数、产卵力、孵化率以及各组织中 SOD 活性、MDA 含量等指标作为判据, 研究了 V_C 、 V_E 对雌蟹生殖性能的影响。结果表明, 1 (投喂添加 $0.5\text{mg} \cdot (100\text{g})^{-1} V_C$ 饲料组)、2 (投喂添加 $0.022\text{mg} \cdot (100\text{g})^{-1} V_E$ 饲料组) 和 3 (投喂添加 $0.5\text{mg} \cdot (100\text{g})^{-1} V_C$ 饲料和 $0.022\text{mg} \cdot (100\text{g})^{-1} V_E$ 饲料组) 3 个组雌蟹的产卵力分别为 3620 个卵细胞 $\cdot \text{g}^{-1}$ 体重、 3540 个卵细胞 $\cdot \text{g}^{-1}$ 体重、 3710 个卵细胞 $\cdot \text{g}^{-1}$ 体重, 孵化率分别是 83.03% 、 84.06% 、 86.27% , 均极显著高于 4 组 (投喂未添加维生素饲料组) 雌蟹的产卵力 (2490 个卵细胞 $\cdot \text{g}^{-1}$ 体重) 和孵化率 (29.28%) ($P < 0.01$), 也显著高于 5 组 (饲喂河蚌) 雌蟹的产卵力 (3010 个卵细胞 $\cdot \text{g}^{-1}$ 体重) 和孵化率 (71.12%) ($P < 0.05$)。雌蟹卵巢中 SOD 活性, 1、2 和 3 组则比 4 组和 5 组显著低 ($P < 0.05$), 分别为 $56.35\text{Nu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $53.61\text{Nu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $39.87\text{Nu} \cdot \text{mL}^{-1}$, 相应地, MDA 含量分别为 $6.03\text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $5.65\text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $5.57\text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$; 4 组雌蟹, 虽然其卵巢中 SOD 活性较高, 达 $79.25\text{Nu} \cdot \text{mL}^{-1}$, 但因饲料中缺乏抗氧化性的 V_C 、 V_E , 引发卵子脂质过氧化, MDA 含量显著增加 ($P < 0.05$), 为 $23.18\text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$, 导致卵质低下, 从而影响了卵子孵化。综上所述, 雌蟹饲料中添加适量的 V_C 、 V_E , 能有效地改善雌蟹生殖性能。

关键词: 中华绒螯蟹; 维生素 C、E; 生殖营养需求; 生殖性能

中图分类号: S963 文献标识码: A

Effect of ascorbic acid and α -tocopherol in broodstock diet on reproductive performance of *Eriocheir sinensis*

AI Chun-xiang¹, CHEN Li-qiao¹, ZHOU Zhong-liang¹, Glenn Y DENG², JIANG Hong-bo¹

(1. School of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China;

2. NuGen Technologies, Inc. 821 Industrial Road, San Carlos, CA 94070, U. S. A.)

Abstract: Cultured trials lasting 198 days were conducted to determine the physiological effects of dietary vitamin C and E on reproductive performance of the Chinese mitten-handed crabs *Eriocheir sinensis*, with mean weight of $78.21 \pm 25.68\text{g}$, and female broodstocks were fed with four experimental diets of varying composition. The control group was fed with fresh clams. The gonadosomatic index (GSI), fecundity, hatchability of eggs,

收稿日期: 2002-01-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(30271012); 上海市“曙光计划”(975G06)基金项目; 高等学校博士点专项基金项目(2000026903); 教育部回国留学人员科研启动基金项目和霍英东青年教师基金项目部分资助

作者简介: 艾春香(1967-), 男, 江西永丰人, 博士, 讲师, 现在厦门大学海洋与环境学院从事博士后研究工作, 从事水生动物营养生理研究。Tel: 0592-2188471, E-mail: chunxai@sina.com

通讯作者: 陈立侨(1962-), 男, 广东梅州人, 教授, 博士生导师, 从事水生动物营养生理研究。Tel: 021-62233637, E-mail: lqchenc@online.sh.cn

activities of SOD and the content of MDA in the different tissues, were used to evaluate the performance of the crabs fed with different diets. The results showed that the fecundity and hatchability of groups 1, 2 and 3 were $3\ 620\ \text{cell} \cdot \text{g}^{-1}$ (body weight) and 83.03%; $3\ 540\ \text{cell} \cdot \text{g}^{-1}$ (body weight) and 84.06% and $3\ 790\ \text{cell} \cdot \text{g}^{-1}$ (body weight) and 86.27% respectively, which were very significantly higher than those of group 4 ($2\ 490\ \text{cell} \cdot \text{g}^{-1}$ body weight and 29.28%) ($P < 0.01$), and those of group 5 ($3\ 010\ \text{cell} \cdot \text{g}^{-1}$ body weight and 71.12%) ($P < 0.05$). The SOD activities in ovaries of groups 1, 2 and 3 were $56.35\ \text{Nu} \cdot \text{mL}^{-1}$, $53.61\ \text{Nu} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $39.87\ \text{Nu} \cdot \text{mL}^{-1}$ respectively, significantly lower than those of group 4 and 5 ($P < 0.05$), and MDA contents were $6.03\ \text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$, $5.65\ \text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $5.57\ \text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$ respectively. Though the SOD activity in ovaries of group 4 was $79.25\ \text{Nu} \cdot \text{mL}^{-1}$, peroxidation still took place because of deficiency in V_C and V_E , so MDA content in ovaries of group 4 was high, $23.18\ \text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$, resulting in very low hatchability of group 4. This experiment demonstrated that V_C , V_E supplemented in the diets of female broodstocks can improve the reproductive performance.

Key words: *Eriocheir sinensis*; vitamin E and C; broodstock nutrition; reproductive performance

已有研究表明, 动物的成功繁殖与生殖期亲体的营养状况密切相关^[1]。然而对甲壳动物生殖营养需求缺乏了解, 阻碍了生殖期亲体全价实用配合饲料的研制, 也影响了批量繁育高质量的幼体^[2]。迄今, 关于脂肪酸对甲壳类生殖性能影响的探讨较多, 而有关维生素对水生动物性腺成熟、胚胎发育和前期幼体影响的研究, 则主要集中在鱼类和其它脊椎动物, 对甲壳类自身还缺乏较为系统的研究^[3]。

本试验以我国主要的经济甲壳动物——中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*, 俗称河蟹) 为研究对象, 着重探讨了维生素 C (vitamin C, V_C)、维生素 E (vitamin E, V_E) 对其性腺成熟、产卵力和孵化率等的影响, 以期了解 V_C 、 V_E 对雌蟹生殖性能的生理作用, 并为研制生殖期河蟹全价配合饲料时维生素的添加提供参考, 同时, 也可为甲壳类生殖营养学积累基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验用蟹

将捕获于上海市崇明岛的 350 只池养雌亲蟹运至华东师范大学水生动物实验室, 投放到 $1\text{m} \times 1\text{m} \times 1\text{m}$ 的水泥池中 1 周适应性暂养后, 挑选 300 只附肢完整、活力好、卵巢发育处于 II 期的雌蟹用于试验^[4]。将选出的 300 只雌蟹随机分成 15 组, 每组 20 只, 均重为 $78.21 \pm 25.68\text{g}$, 按随机原则分配于容积为 $0.98\text{m} \times 0.82\text{m} \times 0.55\text{m}$ 的塑料箱中进行实验, 每处理组设两重复。同时, 挑选 80 只均重为 $95.52 \pm 15.34\text{g}$ 的雄蟹置于相同条件下饲养, 供交配繁殖试验之需。

1.2 实验饲料及饲养管理

实验饲料分别以基础饲料添加或不添加 V_C 、 V_E 配制而成。基础饲料采用鱼粉、豆饼、糊精、明胶、纤维素、不含 V_C 、 V_E 的维生素及矿物质预混料等原料配制而成; 4 种实验饲料分别为: 饲料 1 为基础饲料+ V_C ; 饲料 2, 基础饲料+ V_E ; 饲料 3, 基础饲料+ V_C 、 V_E ; 饲料 4 仅为基础饲料; 饲料 5 (对照组饲料) 为鲜活河蚌。各实验饲料中 V_C (为 V_C 多聚磷酸酯, L-ascorbyl-2-polyphosphate, LAPP)、 V_E 的添加量和实测含量分别见表 1、表 2。

试验于 1999 年 9 月–2000 年 4 月间进行, 在自然水温和光照条件下饲养 198d。饲养管理措施为: 间歇充气、定期换水, 每天投喂两次 (9:00, 16:30), 投喂前吸去粪便和残饵, 投喂量为蟹体重的 3% 左右, 其中下午一次投喂量约占一天投喂量的 75%, 并根据水温变化和河蟹实际摄食情况进行调整。各处理组中, 喂以饲料 1 的实验动物称为 1 组, 喂以饲料 2 的实验动物称为 2 组, 其余依此类推, 分别为 3、4 和 5 组。

表 1 4种半纯化实验饲料组成

Tab. 1 Composition of the four semi-purified experimental diets

饲料不变原料 constant ingredients	配比 (%) rate of raw material, dry weight
鱼粉 fish meal	35.0
豆粉 soybean meal	25.0
糊精 dextrin	13.0
明胶 gelatin	10.0
粘合剂 binder	0.5
多维预混料 vitamin mixture ^a	3.478
矿物质预混料 mineral mixture ^b	2.0
氯化胆碱 choline chloride	0.5
胆固醇 cholesterol	0.5
甘氨酸 glycine	0.5
鱼鱼油 anchovy fish oil	6.0
卵磷脂 lecithin	3.0

饲料可变原料 variable ingredients	实验饲料 experimental diet			
	1	2	3	4
维生素 E vitamin E	-	0.022	0.022	-
维生素 C vitamin C	0.5	-	0.5	-
纤维素 carboxymethylcellulose, CMC	0.022	0.5	0.0	0.522

a) 维生素预混料(不含维生素E、C), 每100g饲料中: Vitamin mixture (free V_C 、 V_E) per 100g diet contained: 维生素 K(vitamin K) 60mg; 泛酸(pantothenic acid) 458mg; 维生素 B_6 (pyridoxine) 60mg; 维生素 B_2 (riboflavin) 200mg; 维生素 B_1 (thiamin) 600mg; 生物素(biotin) 120mg; 烟酸(niacin) 600mg; 叶酸(folic acid) 120mg; 肌醇 inositol 600mg; 维生素 A(vitamin A) 600mg; 维生素 D(vitamin D) 60mg

b) 矿物质预混料组成(%) Mineral mixture composition: NaH_2PO_4 10; KH_2PO_4 21.5; $Ca(H_2PO_4) \cdot 2H_2O$ 26.5; $CaCO_3$ 10.5; Ca -lactate 16.5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 10; $AlCl_3 \cdot 2H_2O$ 1.2; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.511; Fe-citrate 0.061; $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0.143; KI 0.058; $CuCl_2 \cdot 0.051$; $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.176; KCl 2.8

表 2 各组饲料中 V_C 、 V_E 浓度

Tab. 2 Vitamin C and vitamin E concentration in experimental diets

 $\mu g \cdot g^{-1}$ dry matter

	饲料 1 diet 1	饲料 2 diet 2	饲料 3 diet 3	饲料 4 diet 4	饲料 5 diet 5
V_C	469.50±22.11	161.60±16.15	439.30±18.96	157.81±10.35	218.45±11.17
V_E	58.81±3.32	186.30±9.64	175.73±8.46	53.84±5.32	98.5±6.23

1.3 检测指标及检测方法

待卵巢发育到IV期后,每处理组随机取出3只雌蟹,擦干体表水份,准确称重后,取各种组织样品:首先从河蟹螯足第二关节处折断取血淋巴,置于Eppendorf管中4℃过夜,经冷冻高速离心机离心后,吸出血清待测;取血淋巴样品的雌蟹同时取出其肝胰腺、卵巢和肌肉,并准确称取卵巢重量,据此计算出性腺系数(gonadosomatic index, GSI)。尽快将上述4种组织放入-80℃超低温冰箱中保存,供测定超氧化物歧化酶(superoxide ismutase, SOD)活性及丙二醛(malonaldehyde, MDA)含量之用。SOD活性和MDA含量测定均采用南京建成生物研究所生产的试剂盒,操作步骤按试剂盒中的说明书进行。

1.4 维生素C、E含量测定

采用高压液相色谱法(HPLC), V_C 的测定参考文献[5, 6], V_E 参照有关报道[7, 8]。

1.5 雌蟹的受精与孵化

雌蟹卵巢发育成熟后,除了用于各项检测的雌蟹外,每组中其余的雌蟹均进行促产与孵化实验。在进行孵化前,精心挑选40只肢全体健的雄蟹与雌蟹进行交配。具体方法是成熟雌蟹转移到0.60m×0.40m×0.38m的玻璃箱中,每只箱中放2只雌蟹和1只雄蟹,用人工配制的半咸水(盐度为18左右),

诱导其交配和产卵。一旦确认雌蟹交配后,即取走雄蟹以避免重复交配。各处理中随机抽取 3 只抱卵蟹称重,统计其产卵数,计算出产卵力,同时将其卵收集,供分析测定卵中的 V_C 、 V_E 含量。其余的抱卵蟹在等体积水体的玻璃箱中继续孵化,待孵出 I 期 状幼体后,每个处理组取 50mL(取样 3 次) 状幼体水样,统计 状幼体个数,据此计算出孵化率。

1.6 数据统计分析

实验所得数据采用 SPSS 系统进行方差分析,并进行多重比较。

2 结果

2.1 饲喂不同饲料对雌蟹生殖性能的影响

在 198d 饲养实验和孵化过程中,分别测定并计算出各处理组雌蟹的性腺系数、产卵力和孵化率(表 3)。从表 3 中可以看出,不同的饲料处理对雌蟹的生殖性能有显著影响。其中 1、2 和 3 三个组雌蟹的性腺系数分别是 12.57%、12.45%、13.16%,产卵力分别为 3620 个细胞 $\cdot g^{-1}$ 体重、3540 个细胞 $\cdot g^{-1}$ 体重、3710 个细胞 $\cdot g^{-1}$ 体重,孵化率分别达 83.03%、84.06%、86.27%,而 4 组雌蟹的性腺发育不良,性腺系数仅为 8.27%,产卵力和孵化率分别是 2490 个细胞 $\cdot g^{-1}$ 体重和 29.28%,喂以河蚌肉的 5 组,其性腺系数、产卵力和孵化率分别达到 11.59%、3010 个细胞 $\cdot g^{-1}$ 体重、71.12%。统计分析显示,1、2 和 3 三个组雌蟹的性腺系数、产卵力和孵化率极显著地高于 4 组和 5 组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),且 4 组和 5 组之间也有显著性差异($P < 0.05$);而 1、2 和 3 三个组之间则差异不显著($P > 0.05$)。

表 3 不同饲料对河蟹性腺系数、产卵力和孵化率的影响

Tab. 3 Effect of different experimental diets on GSI, fecundity and hatch rate of *E. sinensis*

饲料 diet	性腺系数(%) GSI (n= 3)	产卵力($\times 10^3$ cell $\cdot g^{-1}$) fecundity (n= 3)	孵化率(%) hatch rate (n= 3)
饲料 1 diet 1	12.57 \pm 0.56 ^a	3.62 \pm 0.21 ^a	83.03 \pm 1.25 ^a
饲料 2 diet 2	12.45 \pm 0.25 ^a	3.54 \pm 0.05 ^a	84.06 \pm 1.18 ^a
饲料 3 diet 3	13.16 \pm 0.35 ^a	3.71 \pm 0.43 ^a	86.27 \pm 3.87 ^a
饲料 4 diet 4	8.27 \pm 0.31 ^c	2.49 \pm 0.08 ^c	29.28 \pm 1.27 ^c
对照组 control	11.59 \pm 0.20 ^b	3.01 \pm 0.83 ^b	71.12 \pm 5.67 ^b

注: 1. 表中的数据为 3 个测定值的平均值 \pm 标准差。各组数据后肩标字母相同表示差异不显著,肩标字母不同表示差异极显著($P < 0.01$); 2. 性腺系数= 卵巢湿重 $\times 100$ / 体湿重; 3. 产卵力= 产卵数量/ 蟹体湿重; 4. 孵化率= 状幼体数量/ 产卵量

Notes: 1. Each value is the mean \pm s. d. of three determinations. Values in the same column with same superscript are no significantly different ($P > 0.05$); Values in the same column with different superscript are significantly different ($P < 0.05$ or $P < 0.01$);

2. Gonadosomatic index, GSI= Ovary wt. $\times 100$ / Body wt; 3. fecundity= Egg number/ Crab wt; 4. hatch rate = Zoea number/Egg number

2.2 不同处理组雌蟹所产卵中 V_C 、 V_E 的浓度

不同处理组的雌蟹所产卵中 V_C 、 V_E 含量测定的结果见表 4。由表 4 中可得出,饲料中 V_C 、 V_E 的含量显著地影响雌蟹所产卵中的 V_C 、 V_E 的浓度($P < 0.05$)。如 3 组雌蟹所产卵中含 V_C 、 V_E 量最高,分别达 367.2 $\mu g \cdot g^{-1}$ 干物质,288.3 $\mu g \cdot g^{-1}$ 干物质;而 4 组雌蟹所产卵中的 V_C 、 V_E 浓度最低,仅为 100.5 $\mu g \cdot g^{-1}$ 干物质和 82.7 $\mu g \cdot g^{-1}$ 干物质。此外还发现,5 组的雌蟹所产卵中的 V_C 含量比 2 和 4 组高、 V_E 浓度比 1 和 4 组高,但均明显低于 3 组。

2.3 各组雌蟹组织中的 SOD 活性和 MDA 含量

各处理组雌蟹的肝胰腺、卵巢、血清和肌肉等组织中 SOD 活性和 MDA 含量测定结果见表 5 和表 6。由表 5 可知,不同处理组雌蟹各组织中 SOD 活性各异,其中 1、2 和 3 三个组雌蟹的肝胰腺、卵巢、血清和肌肉中的 SOD 活性比 4 组和 5 组雌蟹的相应组织中的要低得多($P < 0.05$);而 MDA 含量(表 6),1、2、3 和 5 组四个组雌蟹各组织中的 MDA 含量较低,而 4 组雌蟹相应组织中的 MDA 含量却较高。此外,实

验中还发现,同一处理组的各组织之间 SOD 活性不同,1、2 和 3 三个组各组织中 SOD 活性从大到小依次为肌肉> 血淋巴> 卵巢> 肝胰腺,MDA 含量的变化也表现同样的趋势;而 4 组和 5 组雌蟹各组织中 SOD 活性则是肝胰腺最高,其次是卵巢,最低的是肌肉,MDA 含量则以肝胰腺为最低,肌肉为最高。

表 4 不同处理组雌蟹卵中维生素 C、E 的浓度

Tab. 4 α -tocopherol and ascorbic acid concentration in eggs

of *E. sinensis* breeders fed on these diets (n = 3)

$\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ dry matter

	卵 1 egg1	卵 2 egg2	卵 3 egg3	卵 4 egg4	卵 5 egg5
V_E	86.5 ± 13.56 ^c	285.2 ± 26.33 ^a	288.3 ± 18.13 ^a	82.7 ± 10.54 ^c	149.0 ± 14.32 ^b
V_C	359.7 ± 20.87 ^a	109.5 ± 18.95 ^c	367.2 ± 18.27 ^a	100.5 ± 15.57 ^c	205.0 ± 16.78 ^b

注: 1. 表中的数据为三个测定值的平均数 ± 标准差。各组数据后肩标字母相同表示差异不显著,肩标字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$); 2. 卵 1 表示 1 组雌蟹所产的卵; 其余卵 2、3、4 和卵 5 与此类同

Notes: 1. Each value is the mean ± s. d. of three determinations. Values in the same column with same superscript are no significantly different ($P > 0.05$); Values in the same column with different superscript are significantly different ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); 2. Egg 1 is stand for the egg spawning from the female crabs in group 1, others are the same as Egg 1

表 5 饲喂不同饲料的河蟹各组织中 SOD 活性

Tab. 5 SOD activities in different tissues of broodstock crab fed with experimental diets

$\text{Nu} \cdot \text{mL}^{-1}$

	饲料 1 diet 1	饲料 2 diet 2	饲料 3 diet 3	饲料 4 diet 3	饲料 5 diet 5
肝胰腺 hepatopancrea	52.01 ± 4.17 ^b	48.09 ± 4.94 ^b	39.87 ± 5.87 ^c	81.26 ± 6.54 ^a	84.83 ± 10.27 ^a
卵巢 ovary	56.35 ± 3.72 ^b	53.61 ± 8.17 ^b	41.78 ± 4.97 ^b	80.05 ± 7.90 ^a	82.37 ± 7.86 ^a
血淋巴 hemolymph	60.12 ± 7.37 ^b	53.29 ± 11.27 ^b	57.91 ± 7.93 ^b	79.25 ± 5.84 ^a	80.97 ± 9.45 ^a
肌肉 muscle	69.84 ± 8.64 ^b	67.72 ± 9.23 ^b	62.14 ± 8.12 ^b	78.95 ± 6.63 ^a	80.27 ± 8.98 ^a

注: 同表 4 注 1

Notes: the same as note 1 of Tab. 4

表 6 投喂不同饲料的河蟹各组织中 MDA 含量

Tab. 6 MDA content in different tissues of broodstock crab fed with different experimental diets

$\text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$

	饲料 1 diet 1	饲料 2 diet 2	饲料 3 diet 3	饲料 4 diet 4	饲料 5 diet 5
卵巢 ovary	6.03 ± 0.69 ^c	5.65 ± 1.681 ^c	5.57 ± 0.52 ^c	23.18 ± 3.07 ^a	7.97 ± 0.98 ^b
肝胰腺 hepatopancrea	7.49 ± 1.86 ^b	7.31 ± 1.55 ^b	6.01 ± 0.32 ^c	25.12 ± 3.72 ^a	7.54 ± 0.86 ^b
血淋巴 hemolymph	8.22 ± 1.24 ^c	8.21 ± 2.03 ^c	7.34 ± 0.63 ^c	27.67 ± 2.73 ^a	9.63 ± 0.92 ^b
肌肉 muscle	9.03 ± 1.01 ^c	8.49 ± 2.82 ^b	8.49 ± 1.50 ^c	38.87 ± 4.41 ^a	11.24 ± 2.32 ^c

注: 同表 4 注 1

Notes: the same as note 1 of Tab. 4

3 讨论

研究表明, V_C 、 V_E 作为天然生物抗氧化剂, 具有调节动物机体新陈代谢的功能, 能使机体保持旺盛的代谢, 有利于促进雌蟹的性腺发育; V_C 、 V_E 能调节动物体内内脏和性腺中类固醇类激素的生物合成, 从而促进亲体性腺成熟和调控胚胎发育, 改善亲体生殖性能^[9-12]。

本实验结果发现, 单独添加 V_C 、 V_E 或两者联用的 1、2 和 3 三个组雌蟹的卵巢发育良好、产卵力较大和孵化率较高, 雌蟹的生殖性能均得到了明显的改善, 尤其是对性腺系数和孵化率的改善更为明显, 雌蟹的性腺系数(GSI)、产卵力和孵化率, 比 4 组分别高 52.00%, 59.13% 和 50.54%、45.38%, 49.00% 和 42.69% 以及 183.57%, 194.64% 和 187.10%。若亲体饲料中 V_C 、 V_E 缺乏或不足, 会导致雌蟹的新陈代谢受阻, 卵巢发育缓慢, 如 4 组雌蟹的生殖性能就较低。Cahu 等^[13] 研究发现, 100g 饲料中添加

Vc250mg 时,能显著提高印度对虾(*Penaeus indicus*) 卵的孵化率,并于 1995 年 Cahu 等^[14]进一步证实,Vc 对印度对虾的性腺发育和卵子孵化的影响显著,表现为高剂量 Vc 组(58% ± 21.0%)的孵化率显著地高于低剂量组(32% ± 19.3%);Alava 等^[15, 16]研究表明,添加 Vc 可促进日本对虾(*Penaeus japonicus*) 性腺发育,缺乏 Vc 时,其性腺发育不良。Alava 等^[15]研究证实,饲料中添加 V_E 能显著改善日本对虾卵子质量、卵的孵化率和早期幼体的存活率,缺乏 V_E,会影响其性腺发育;V_E 对印度对虾(*P. indicus*) 的性腺成熟和卵子孵化影响显著,高剂量 V_E 组的孵化率(55% ± 15.3%)显著地高于低剂量组(28% ± 15.8%)^[14];饲料中添加 3% 的 V_E 能够促进斑节对虾(*Penaeus monodon*) 性腺成熟和产卵,并显著提高了受精率和孵出早期幼体的活力^[17]。Wouters 等^[18]研究也证实,投喂强化 V_C、V_E 的卤虫成体,能促进南美白对虾(*Penaeus vannamei*) 性腺成熟,增加其产卵频率。Soliman 等^[19]研究发现,在莫桑比克罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*) 亲体生殖期饲料中添加 V_C 能提高卵的孵化率;适量添加 V_C、V_E 可促进遮目鱼(*Chanos forsskal*) 性腺发育,获得优质的鱼卵和优良的幼体^[20]。以上研究结果和本实验结果相似。

本实验结果表明,亲体饲料中 V_C、V_E 的添加,促进了卵巢组织和卵中 V_C、V_E 的积累,进而改善了雌蟹的生殖性能。已有研究表明,Vc 能在甲壳类的卵巢中积累,以满足其性腺成熟、胚胎发育和开口摄食前的幼体生长发育对 Vc 营养需要^[16, 21, 22],V_E 也能较好地积累在甲壳动物的卵巢和卵中,以促进其性腺成熟,提高其生殖性能^[14, 23, 24]。发育的卵母细胞中储存的高浓度 V_C,在整个胚胎发育过程中能促进多肽连接的脯氨酸、赖氨酸转化成羟基赖氨酸和羟基脯氨酸,从而促进胶原蛋白生物合成,进而改善卵子的孵化和鱼苗的存活^[25]。Terova 等^[26, 27]研究证实,在鲈鱼(*Dicentrarchus labrax* L.) 和鲷鱼(*Sparus aurata* L.) 生殖期饲料中添加 Vc 能使鱼卵中积累较多的 V_C,从而有效地促进卵的早期胚胎发育。积累到雌蟹的卵子中的 V_C、V_E,既可以保护卵子不被氧化损伤;也能调控胚胎发育过程中卵内物质和能量代谢以及类固醇类激素的生物合成,进而改善亲体的生殖性能。此外,本实验还发现,雌蟹亲体仅喂新鲜河蚌(5 组),尽管河蚌的脂肪酸含量较高^①,但其体内所含 V_C、V_E 相对较少,还不能完全满足雌蟹性腺成熟的营养需求,导致雌蟹的性腺系数、产卵力和孵化率均不能达到最高,与 3 组雌蟹相比,分别低 13.55%、23.26% 和 21.30%,提示人工培育亲蟹时,在全价配合饲料未研制成功前,饲喂河蚌的同时,应适当补充人工配合饵料,尤其是添加全面平衡的维生素预混料,以促进雌蟹性腺成熟,提高其生殖性能。

V_C、V_E 具有较好的抗氧化功能,能够保持机体内环境平衡,特别是保证卵膜结构的完整性,保护卵中 DNA 不被氧化破坏,再加上 Vc 能促进胶原蛋白的生物合成,进而提高受精卵的孵化率^[25, 28],从而显著改善动物的生殖性能。本实验通过测定雌蟹各组织中 SOD 活性和 MDA 含量,较好地反映了 V_C、V_E 在雌蟹体内各组织中的抗氧化效果,结果表明,单独添加了 V_C、V_E 或两者联用的 1、2 和 3 三个组雌蟹各组织中 SOD 活性降低,以 3 组为最低,表明 V_C、V_E 有协同作用,且同一组雌蟹各组织中以肝胰腺和卵巢降幅最大,MDA 含量也较低。而未添加 V_C、V_E 的 4 组雌蟹,尽管各组织中 SOD 活性较大,以肝胰腺和卵巢最大,肌肉最小;但 MDA 含量也较高,却以肌肉为最高。这较充分地说明 V_C、V_E 在雌蟹机体内较好地发挥了抗氧化的生理功能,在自由基尚为发挥作用前就被清除了,使得诱导性酶 SOD 活性降低,从而维持动物体自身自由基的产生和清除的动态平衡。另一方面还说明,V_C、V_E 在雌蟹各组织中分布不均衡,在肝胰腺和卵巢中积累较多,以调节机体的新陈代谢和促进卵巢正常发育,并防止肝胰腺和卵巢脂质过氧化。3 组抗氧化效果最好,是由于同时添加具有水溶性和脂溶性抗氧化物 V_C 和 V_E,它们协同作用,更好地起到了抗氧化保护作用。综上所述,V_C、V_E 对维持河蟹雌性亲体良好的生殖性能具有十分重要的作用,但雌蟹亲体培育期间,饲料中维生素的添加量以多少为最佳,尚需进一步研究。

参考文献:

[1] Bray W A, Lawrence A L. Reproduction of *Penaeus species* in captivity[A]. Marine culture principles and practices[C]. Edited by A W Fast

①艾春香,陈立侨,温小波,等. 维生素 E、C 和 HUFA 交互作用对中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*) 生殖性能的影响.

and L J Lester, Elsevier Science Publisher B V, Amsterdam, The Netherlands. 1992. 93- 170.

- [2] Bray W A, Lawrence A L, Lester L S. Reproduction of *Penaeus stylirostris* fed varying levels of total dietary lipid[J]. J World Aquacult Soc, 1990, 21: 41- 52.
- [3] Harrison K E. Broodstock nutrition and maturation diets[A]. Crustacean nutrition[M]. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA. 1997. 390- 408.
- [4] Xue J Z, Du N S, Lai W. Histology of female reproductive system in Chinese mitter-handed crab, *Eriocheir sinensis* (Crustacean, Decapoda) [J]. J East China Normal Univ (Natural Science), 1987, 3: 88- 97. [薛君征, 堵南山, 赖伟. 中华绒螯蟹雌性生殖系统的组织学研究[J]. 华东师范大学学报(自然科学版), 1987, 3: 88- 97.]
- [5] Wang X Y, Seib P A. Liquid chromatographic determination of a combined form of L-ascorbic Acid (L-A-2-sulfate) in fish tissue by L-ascorbic Acid[J]. Aquac, 1990, 87: 65- 84.
- [6] Nelis H J, De Leenheer A, Merchie G, et al. Liquid chromatographic determination of vitamin C in aquatic organisms[J]. Journal of Chromatographic Science, 1997, 35: 337- 341.
- [7] Xu L H, Chen Z, Xu Y, et al. Measurement of vitamin D₃ and vitamin E of fish samples by HPLC[J]. Acta Hydrobiol Sin, 1994. 18(2): 192- 193. [徐立红, 陈专, 徐盈, 等. 用高效液相色谱法测定鱼样中的维生素 D₃ 和 E[J]. 水生生物学报, 1994, 18(2): 192- 193.]
- [8] Huo J Z, Netis H J, Lavvens P, et al. Simultaneous determination of α -tocopheryl acetate and tocopherols in aquatic organism and fish feed[J]. Journal of Chromatography B, 1999, 724: 249- 255.
- [9] Hilton J W, Cho C Y, Brown R G, et al. The synthesis, half-life and distribution of ascorbic acid in rainbow trout[J]. Comp Biochem Physiol, 1979, 63A: 447- 453.
- [10] Tolbert B M. Ascorbic acid metabolism and physiological function[J]. Int J Vit Nutr Res, 1979, 19(suppl.): 127- 142.
- [11] Dabrowski K, El-Fiky N, Kock G, et al. Requirement and utilization of ascorbic acid and ascorbic sulfate in juvenile rainbow trout[J]. Aquac, 1990, 91: 317- 337.
- [12] Viehoveer A, Cohen I. The responses of daphnia to vitamin E[J]. Am J Pharm, 1983, 110: 297- 315.
- [13] Cahu C L, Gonilou Coustans M F, Fakhfah M, et al. The effect of ascorbic acid concentration in broodstock feed on reproduction of *Penaeus indicus*[C]. ICES, Mariculture Committee Paper, 1991, 40.
- [14] 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 indius*[J]. Comp Biochem Physiol, 1995, 112A(3/4): 417- 424.
- [15] Alava V R, Kanazawa A, Teshima S, et al. Effects of dietary vitamins A, E and C on the ovarian development of *Penaeus japonicus*[J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1993a, 59(7): 1235- 1241.
- [16] Alava V R, Kanazawa A, Teshima S, et al. Effects of dietary L-ascorbyl-2-phosphate magnesium on gonadal maturation of *Penaeus japonicus*[J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1993b, 59(4): 691- 696.
- [17] Wang Y W. The effect vitamin C in diets on maturity and spawn of *Penaeus monodon*[J]. World of Culture Fish, 1999, 23(8): 71- 74. [王映文. 斑节对虾(*Penaeus monodon*)的饵料中添加 V_E 对促进成熟和产卵过程的影响[J]. 养鱼世界, 1999, 23(8): 71- 74.]
- [18] Wouters R, Gomez L, Lavens P, et al. Feeding enriched *Artemia* biomass to *Penaeus vannamei* broodstock: it's effect on reproductive performance and larval quality[J]. Journal of Shellfish Research, 1999, 18(2): 651- 656.
- [19] Soliman A K, Jauncey K, Roberts R J. The effects of dietary ascorbic acid supplementation on hatchability, survival rate and fry performance in *Oreochromis mossambicus* (Peters)[J]. Aquac, 1986, 59: 197- 208.
- [20] Emata A C, Borbongan I G, Damaso J P. Dietary vitamin C and E supplementation and reproduction of milkfish *Chanos Forsskal*[J]. Aquaculture Research, 2000, 31(7): 557- 564.
- [21] Sandnes K, Ulgenes Y, Braekkan O R, et al. The effect of ascorbic acid supplementation in broodstock feed on reproduction in rainbow trout (*Salmo gairdneri*)[J]. Aquac, 1984, 43: 167- 177.
- [22] Sangha R S, Chavez-Sanchez M C, Martinez-Palacios C A, et al. Effect of supplementing ascorbic acid (L-ascorbyl-2-polyphosphate) in broodstock diet of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. J World Aquac Soc, 2000, 31(1): 137- 144.
- [23] Wouters R, Patrick L, Julia N, et al. Penaeid shrimp broodstock nutrition: an updated review on research and development[J]. Aquac, 2001a, 202(1- 2): 1- 21.
- [24] Wouters R, Cesar M, Patrick L, et al. Lipid composition and vitamin content of wild female *Litopenaeus vannamei* in different stages of sexual maturation[J]. Aquac, 2001b, 198(3- 4): 307- 323.
- [25] Waagbo R, Thorsen T, Sandnes K. Role of dietary ascorbic acid in vitellogenesis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*)[J]. Aquac, 1989, 80: 301- 314.
- [26] Terova G, Saroglia M, Papp Z G, et al. Ascorbate dynamics in embryos and larvae of sea bass and sea bream, originating from broodstocks fed supplements of ascorbic acid[J]. Aquaculture International, 1998, 6: 357- 367.
- [27] Terova G, Saroglia M, Papp Z G, et al. Dynamics of collagen indicating amino acids, in embryos and larvae sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*), originated from broodstocks fed with different vitamin C content in the diet[J]. Comparative Biochemistry Physiology, 1998, 121A: 111- 118.
- [28] He H Q, Lawrence A. Vitamin E requirement of *Penaeus vannamei*[J]. Aquac, 1993, 118: 245- 255.