

文章编号:1000-0615(2007)06-0757-08

亲本强化培育对中华绒螯蟹雌体生殖性能和 Z_1 幼体质量的影响

吴旭干¹, 成永旭¹, 常国亮¹, 隋丽英², 王武¹,
南天佐¹, 王金庆¹, 沈竑³

(1. 上海水产大学农业部水产种质资源与养殖生态重点开放实验室, 上海 200090;

2. 中盐制盐工程研究院, 天津 300450; 3. 上海瀛生实业有限公司, 上海 202150)

摘要:系统比较了亲本强化培育和常规培育对池塘养殖中华绒螯蟹的生殖性能和 Z_1 幼体质量的影响, 同时分析2组 Z_1 幼体的脂肪酸组成。结果表明, ①两种培育方式对亲本的成活率和产卵率均无显著影响, 强化组亲本的GSI、HSI、产卵量和生殖力显著高于常规组; ②两种培育方式对卵的卵径、水分含量、单卵干重和湿重影响不显著, 但强化组的受精率和孵化率略高于常规组; ③强化组 Z_1 幼体的头胸甲长度、变态速度和抗逆境能力均高于常规组, 这可能和幼体中高含量的HUFA有关; ④生产性实验结果表明强化组的出苗率高于常规组, 且幼体培育时间减少4~5 d。因此, 亲本强化培育可以显著提高绒螯蟹中华的生殖性能和 Z_1 幼体质量。

关键词:中华绒螯蟹; 亲本培育; 生殖性能; 苗种质量; 脂肪酸组成

中图分类号:S 961.2

文献标识码:A

Effect of enriching broodstock on reproductive performance and Z_1 quality of *Eriocheir sinensis*

WU Xu-gan¹, CHENG Yong-xu¹, CHANG Guo-liang¹, SUI Li-ying²,
WANG Wu¹, NAN Tian-Zuo¹, WANG Jin-qing¹, SHENG Hong³

(1. Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquaculture Ecosystem Certificated by the
Ministry of Agriculture, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China;

2. Salt Research Institute, Tianjin 300450, China;

3. Shanghai Yingsheng Industry Co. Ltd, Shanghai 202150, China)

Abstract: Although significant advances have been made in the hatchery technology of *Eriocheir sinensis* during the last years, the quality and quantity of larvae are still variable in many artificial hatcheries. The study was conducted to compare the reproductive performance and larval quality of two group females (*E. sinensis*) bred by two methods (enriching breeding and normal breeding)—Group I: female broodstocks were fed experimental artificial diets (rich with HUFA, phospholipid, cholesterol, vitamins C and vitamins E, etc.) during ovarian development (GSI from 2.4% to 12.27%), Group II: broodstock females *E. sinensis*

收稿日期:2006-09-06

资助项目:国家自然科学基金(39900112 和 30471349);上海市曙光计划(02-SG-40);上海市科委重大攻关项目(013212002);上海市重点学科建设项目(Y1101)

作者简介:吴旭干(1978-),男,讲师,硕士,主要从事水生动物营养繁殖学的研究。Tel:021-65711346,13371935021,E-mail: xgwu@shfu.edu.cn

通讯作者:成永旭,E-mail: yxcheng@shfu.edu.cn

were directly obtained from crab ponds (without previous nutritional enrichment) before mating, the fatty acids of two originating Z_1 were also analyzed by gas chromatograph to evaluate the larval quality. The results showed that there were no significant differences on survival rate and spawning rate, while group I had higher gonadosomatic index (GSI), hepatosomatic index (HSI), egg production ind^{-1} , and reproductive performance than those of Group II. The fertilizing rate and hatching rate of egg originating from Group I were slightly higher than those of Group II. The carapace length, metamorphic speed and stress resistance ability of Z_1 produced by Group I were higher than those of Group II, this could be related to high HUFA content in former Z_1 of Group I. From the outdoor experiments of larval breeding, the larval quality and production produced by Group I females were much better than those of Group II, the survival rate (from Z_1 to megalopa) of Group I was also significantly higher than those of Group II, with a shorter larval breeding time in Group I. According to the results, it comes to the conclusion that the reproductive performance and larval quality of *E. sinensis* could be improved by enriching broodstock, and the pond-reared broodstock (*E. sinensis*) should be enriched from September.

Key words: *Eriocheir sinensis*; broodstock breeding; reproductive performance; larval quality; fatty acid composition

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*) (以下简称河蟹)是我国重要的经济蟹类,自20世纪80年代人工育苗技术取得重大突破以来,其育苗和养殖规模不断扩大,据统计2004年我国成蟹养殖产量达 50×10^4 t,大眼幼体产量达500 t以上^[1],但是单位水体的育苗产量和质量不稳定,苗种质量参差不齐的现状依然存在,这是困扰河蟹养殖业健康发展的重要问题之一^[2]。

甲壳动物亲本的营养状况对其生殖性能和苗种质量有着极大的影响,在亲本性腺发育期间进行合理的强化培育,可以显著提高其生殖性能和苗种质量^[3-6]。然而,在实际育苗生产中,国内的育苗单位并不重视河蟹的亲本培育^[2],亲本通常在每年11月底至翌年3月直接选自商品蟹养殖池塘,越冬期间很少投喂,仅在交配和抱卵期间投喂优质的生物饵料(缢蛏、沙蚕、杂鱼等)^[7],所以亲本质量极不稳定,卵巢中往往缺乏HUFA^[8],这可能是造成我国河蟹育苗质、量的不稳定的主要因素之一^[2]。河蟹亲本的营养状况直接影响其卵巢发育、产卵和孵化^[3, 6, 8-10],但是这些研究都没有涉及到亲本强化培育对初孵幼体(Z_1)质量和苗种培育过程的影响,而且缺乏生产规模上的系统研究。鉴于此,本文系统研究了雌体亲本强化培育和常规培育(依据生产常规做法,不进行强化培育)对河蟹生殖性能、 Z_1 幼体质量和苗种培育过程的影响,可为进一步完善河蟹亲本培育技术提供理论参考和实践依据。

1 材料与方法

1.1 实验用蟹和养殖管理

实验亲本河蟹分成2组,强化培育组(以下简称强化组)和常规培育组(以下简称常规组)。强化组河蟹亲本于2002年9月底取自上海瀛生实业有限公司养殖池塘,雌体1 000只(体重75~100 g),卵巢发育处于Ⅱ期末至Ⅲ期初^[11],卵巢指数2%左右,整个培育过程中投喂本实验室配制的3#亲本强化饲料^[10](以下简称实验饲料)进行培育。常规组的亲本选择和培育方法依据张列士等^[7],雌蟹1 400只(体重为75~100 g)于2003年2月底取自上海瀛生实业有限公司的同一养殖池塘,与强化组亲本来源相同,该池塘养成期间主要投喂“富民”牌河蟹商品饲料(以下简称商品饲料),越冬期间基本不投喂,未经过强化培育,仅在交配前和抱卵期间投喂鲜活缢蛏(*Sinonovacula constricta*)。实验饲料、商品饲料和缢蛏的主要生化成分见表1。所有实验用蟹均挑选肢体健全、体无损伤、活力较好的个体,2组亲本分别饲养在条件相似的2个实验池塘中(密度 $2 \text{ ind} \cdot \text{m}^{-2}$,每组亲本各1个池塘),池塘底部放瓦片供亲本蟹隐蔽,池塘四周用塑料板防逃。

1.2 亲本的生殖性能测定

亲本 GSI 和 HSI 的测定 亲本交配前,每组各取15只雌蟹用于统计其卵巢指数(gonadosomatic index, GSI)和肝胰腺指数(hepatosomatic

index, HSI), 具体参照文献[10]。

表1 3种饵料的一般生化成分和脂肪酸组成

Tab. 1 Proximate composition and fatty acids profile of three diets

项目 item	实验饲料 experimental diet	“富民”成蟹饲料 commercial diet	缢蛏 <i>Sinonovacula constricta</i>	%
水分 moisture	8.82	9.12	82.16	
蛋白/干重 protein/DW	40.54	38.4	60.10	
总脂/干重 total lipid/DW	16.17	4.51	11.05	
磷脂/干重 phospholipid/DW	2.32	1.24	5.30	
灰分/干重 ash/DW	19.66	15.6	15.56	
脂肪酸 fatty acids				
C18:2n6	12.06	25.60	2.78	
C18:3n3	2.42	0.55	3.02	
C20:4n6(ARA)	1.75	0.83	3.31	
C20:5n3(EPA)	8.10	1.95	8.65	
C22:6n3(DHA)	10.81	2.54	10.45	
ΣHUFA*	20.66	5.32	22.41	

* ΣHUFA = ARA + EPA + DHA

抱卵率和抱卵蟹等级划分 2组亲本均于2003年3月8日交配, 雌雄比为2:1, 雄蟹体重100~130 g, 交配盐度为15。亲本交配10 d后, 排干池水, 剔除雄蟹, 参考文献[7]将抱卵蟹分为3个等级: I级, 腹部不能覆盖大部分卵块, 卵块膨大突出, 俗称“开花”卵; II级, 腹部可以覆盖大部分卵块; III级, 腹部覆盖全部卵块, 不易发现卵块。抱卵率(ovigerous rate)计算公式如下:

$$\text{抱卵率}(\%) = \frac{\text{抱卵蟹数量}}{\text{交配后存活的总亲本数量}} \times 100$$

抱卵量、生殖力和生殖指数的测定 每组随机取体重接近(85~100 g)的抱卵蟹各18~19只, 首先称取抱卵蟹和卵块的重量, 然后精确计数0.1 g左右(精确度0.1 mg)卵的个数, 参照Cavalli等^[12]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:

$$\text{抱卵量} = \frac{\text{每只蟹的卵块重量}}{\text{单个卵重量}}$$

$$\text{生殖力} = \frac{\text{抱卵量}}{\text{抱卵蟹净体重(去卵后的重量)}}$$

$$\text{生殖指数}(\%) = \frac{\text{卵块重}}{\text{抱卵蟹体重}} \times 100$$

1.3 卵的质量评价

卵径 每组随机取9只胚胎发育处于囊胚期的抱卵蟹, 在OLYMPUS显微镜下用目测微尺测量卵径(精确到10 μm), 每只抱卵蟹测量100个卵。

单卵干重和湿重测定 每组取6只胚胎发

育处于囊胚期的抱卵蟹, 准确称取0.1 g左右的卵块(事先去除携卵绒毛等非胚胎成分), 计数器精确计算其数量, 然后计算单卵湿重(卵块重/卵的个数); 同时称取0.5 g左右的卵块在60 °C下烘干至恒重, 测定卵中的水分含量, 然后计算单卵干重(μg)。

受精率和孵化率的测定 根据Millamena等^[4]的方法测定受精率和孵化率, 计算公式如下:

$$\text{受精率} = \frac{\text{受精卵数}}{\text{卵总数}} \times 100$$

$$\text{孵化率} = \frac{\text{Z}_1\text{个数}}{\text{卵的个数}} \times 100$$

1.4 Z₁幼体质量评价

胚胎发育到心跳期时, 每组取体重接近的抱卵蟹10只, 分别饲养于20只150 L的水族箱中, 实验用水为盐度15的消毒海水, 箱底置瓦片供抱卵蟹隐蔽和扇动腹部, 以利于幼体孵化。每日适量投饵并换水, 水温17~19 °C, 24 h增氧, 幼体孵化后便进行如下测定。

体长 每只水族箱取50只Z₁幼体, 4%福尔马林固定后测量头胸甲长度。

变态率实验 取初孵Z₁幼体120只, 平均放入3只烧杯中, 烧杯中盛有盐度为15的过滤海水400 mL, 每日按20 ind·mL⁻¹的密度投喂褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*), 轮虫采用海水小球藻(*Chlorella sp.*)培养, 每日换水50%左右, 水浴控温在(21±0.5) °C, 每隔12 h统计一次幼体死亡和变态情况, 取出变态和死亡个体, 直到幼体

全部变态为止。实验结束统计每组 Z_1 幼体的累计变态率和变态时间,计算公式如下:

$$\text{变态率}(\%) = Z_2 \text{ 个数} / 40 \times 100$$

$$\text{变态时间} = (2 \times N_2 + 2.5 \times N_{2.5} + 3 \times N_3 + \dots + 7 \times N_7) / NZ_2$$

其中, N_2 、 $N_{2.5}$ 、 N_3 分别代表 2 d、2.5 d、3 d 时变态为 Z_2 幼体的个数, NZ_2 为实验结束时变态为 Z_2 幼体的总个数,即每个 $Z_1 \rightarrow Z_2$ 变态时间的加权平均数。

抗盐度实验 抗盐度突变实验参照文献[13]的方法,实验结束后统计 1 h 的累计死亡指数(cumulative mortality index, CMI),计算公式如下:

$$CMI(\%) = D5 + D10 + D15 + D20 + \dots + D60$$

其中,D5,D10,D15 分别代表 5 min,10 min,15 min 时的 Z_1 幼体死亡率。

抗饥饿实验 幼体抗饥饿实验参照文献[14]的方法。具体如下,取初孵 Z_1 幼体 90 只,平均放入 3 只烧杯中,烧杯中盛有 400 mL 盐度为 15 的过滤海水,水浴控温在 (21 ± 0.5) °C,每隔 6 h 检查一次死亡情况,同时取出死亡个体,直到幼体全部死亡,死亡标准同抗盐度变化实验。实验结束统计 50% 死亡率时间,即 PNR₅₀ (point of no return when 50% mortality)。

1.5 生产性土池育苗实验

除了上述用于生殖性能和苗种质量评价的亲本,其余抱卵亲本继续在室外土池培育,强化组仍然投喂实验饲料,常规组投喂鲜活缢蛏,常规管理,盐度为 12~15。待胚胎发育到心跳期开始进行生产性土池育苗实验,测定如下指标。

出苗率($Z_1 \rightarrow$ 大眼幼体的累计变态率)

每组各取发育同步的抱卵蟹 300 只左右,分别在条件相似的 600 m³ 的室外土池中进行生产性育苗实验,每组重复 5 个池塘,育苗用水为盐度 13 的长江口天然海水, Z_1 幼体的培育密度为 2×10^4 ind·m⁻³,实验期间常规投饵和管理,待幼体变成大眼后第四天起开始用灯光诱捕,称重每个池塘的大眼幼体总产量(kg),出苗结束时按如下公式计算每个池塘的出苗率:

$$\text{出苗率}(\%) = \text{大眼幼体总数} / Z_1 \text{ 总数} \times 100$$

幼体培育时间 记录每个池塘从 Z_1 幼体布苗→大眼幼体出苗的时间(d)。

大眼幼体的体长 每个池塘取 50 只大眼幼体,用福尔马林(4% 甲醛溶液)固定后测量头胸甲长度(mm)。

1.6 生化分析

根据 AOAC^[15] 的标准方法测定 2 组饲料和缢蛏的常规生化成分,采用 Folch 法(氯仿:甲醇 = 2:1) 测定饲料和幼体中的总脂含量,根据成永旭等^[3] 的方法分离中性脂和极性脂。氢氧化钾-甲醇法对脂肪酸进行甲酯化,采用 Agilent-6890 气相色谱仪进行脂肪酸分析,毛细管柱型号为 Agilent 19091J-413(30.0 m × 0.25 mm, USA),混合标准脂(Cat. No. 47085-U, 购自 Supelco 公司)作为脂肪酸定性的依据,脂肪酸的定量分析采用面积百分比法。

1.7 数据分析

利用 STAT5.5 软件对实验数据进行统计分析,采用 Levene 法进行方差齐性检验,当不满足齐性方差时对百分比数据进行反正弦或者平方根处理,采用 t-test 检验法分析两种培育方式对生殖性能和苗种性能的影响, $P < 0.05$ 为差异显著; $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果

2.1 生殖性能和卵的质量

由表 2 可以看出,强化组亲本产卵前的卵巢指数(GSI)和肝胰脏指数(HSI)影响极显著高于常规组($P < 0.01$),常规组个体间的 GSI 差异较大,变异系数(CV)达 15.88%;两组亲本的产卵率无显著差异,均在 90% 左右。强化组的抱卵量、生殖力和生殖指数影响显著高于常规组($P < 0.05$),在体重接近的条件下,强化组和常规组每只蟹的抱卵量分别为 $(38.62 \pm 3.96) \times 10^4$ 粒和 $(25.09 \pm 8.61) \times 10^4$ 粒,前者比后者高出 53.93%。由图 1 可知,强化组的抱卵蟹主要为一级抱卵蟹(71.40%),而常规组主要为二级抱卵蟹(52.63%),常规组抱卵量的变异系数(34.32%)远高于强化培育组(10.25%)。此外,抱卵蟹培育过程中,强化组的成活率也高于常规组,两组抱卵亲本的死亡时间均集中在幼体孵化前 1 周。

不同亲本培育方式对卵径、胚胎水分含量、单卵干重和湿重均没有显著的影响,强化组卵的受精率略高于常规组,强化组的孵化率比常规组高 8% 左右(表 3),但是由于常规组的标准差较大,

所以两组胚胎的孵化率在统计上没有显著差异($P > 0.05$)。实验中发现在室外自然条件下,强化组亲本的胚胎发育速度明显快于常规组,强化

组大部分亲本的胚胎发育时间在35 d左右,而常规组为37~39 d,由于没有统计各个亲本蟹的准确产卵时间,所以无法进行统计学上的比较。

表2 两种亲本培育方式对生殖性能的影响

Tab. 2 Effect of two breeding methods on reproductive performance of *Eriocheir sinensis*

项目 item	强化组 enriching group	常规组 normal group	t-test
卵巢指数(%) gonadosomatic index	12.69 ± 0.94(n = 15)	9.43 ± 1.84(n = 15)	$P < 0.01$
肝胰脏指数(%) hepatosomatic index	4.55 ± 0.43(n = 15)	3.75 ± 0.65(n = 15)	$P < 0.01$
抱卵率(%) ovigerous rate	88.89(n = 856)	91.2(n = 1276)	—
成活率(%) survival rate	96.17(n = 732)	86.21(n = 1052)	—
抱卵蟹体重(g) body weight	91.84 ± 7.18(n = 19)	92.16 ± 7.64(n = 18)	NS
抱卵量($\times 10^4$ eggs·crab ⁻¹) egg production	38.62 ± 3.96(n = 19)	25.09 ± 8.61(n = 18)	$P < 0.01$
生殖力(eggs·g ⁻¹ BW) fecundity	4325.9 ± 435.1(n = 19)	3212.0 ± 1099.6(n = 18)	$P < 0.01$
生殖指数(% egg weight·g ⁻¹ BW × 100) reproductive effort	17.75 ± 1.06(n = 19)	12.27 ± 3.49(n = 18)	$P < 0.05$

注:“—”代表因为没有重复,无法进行t检验分析, NS代表差异不显著($P > 0.05$),以下相同

Notes: “—”means that the values in this line haven't been compared by the t-test because of no repeat; NS means no significant difference, the same as the following tables

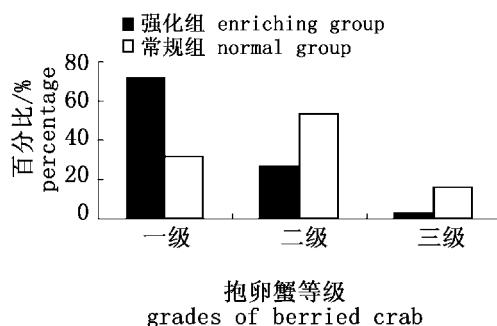


图1 两组抱卵蟹的等级分布
Fig. 1 Grading distribution of berried crab from two breeding group

2.2 Z₁幼体的质量和脂肪酸组成

强化组Z₁的体长、干物质含量、出苗率和苗种产量均显著高于常规组($P < 0.05$)。强化组由Z₁→Z₂的变态时间和整个幼体培育时间均显著

短于常规组(见表4)。强化组Z₁→Z₂的变态时间短、变态整齐,强化组Z₁从第3天开始大量变态,第4天基本变态完毕;常规组Z₁从第3.5天到第4天才开始大量变态。因此,强化组Z₁幼体3~4 d的变态率要显著高于常规组,但是2组Z₁幼体的最终累计变态率均在95%左右(图2)。由图3可知,Z₁幼体饥饿5~10 d时,强化组Z₁幼体的平均成活率要略高于常规组,这说明强化组Z₁幼体的抗饥饿能力略强于常规组,但是PNR₅₀并无显著差异($P > 0.05$),2组Z₁幼体的死亡高峰时间均出现在7~8 d(图3)。盐度突变条件下,在35~60 min内强化组Z₁幼体的死亡率要显著低于常规组($P < 0.05$),强化组Z₁幼体的累计死亡指数(CMI)显著低于常规组($P < 0.01$),可见强化组Z₁幼体的抗盐度突变能力显著强于常规组(图4)。

表3 两种亲本培育方式对卵质量的影响
Tab. 3 Effect of two breeding methods on egg quality of *Eriocheir sinensis*

项目 item	强化组 enriching group	常规组 normal group	t-test
卵径(μm) egg diameter	380 ± 12(n = 9)	378 ± 10(n = 9)	NS
水分含量(%) moisture	70.11 ± 1.44(n = 6)	69.97 ± 1.54(n = 6)	NS
卵湿重(μg) egg wet weight	40.34 ± 2.93(n = 6)	39.74 ± 1.40(n = 6)	NS
卵干重(μg) egg dry weight	12.06 ± 0.88(n = 6)	11.93 ± 0.42(n = 6)	NS
受精率(%) fertilizing rate	98.33 ± 2.17(n = 9)	95.93 ± 2.13(n = 9)	$P < 0.05$
孵化率(%) hatching rate	93.19 ± 2.53(n = 9)	85.25 ± 10.43(n = 9)	NS

无论是中性脂还是极性脂,不论是常规组还是强化组,Z₁幼体中的脂肪酸主要有C16:0、

C16:1n7、C18:1n9、C18:2n6、C20:4n6、C20:5n3、C22:6n3等脂肪酸,但强化组中的HUFA总含量

高于常规组,特别是中性脂中,强化组的ARA、EPA、DHA相对含量显著高于常规组($P < 0.05$);极性脂中,强化组的C18:1n9、C20:1n9、

C22:5n3显著高于常规组,但常规组的C18:2n6高于强化组。 Z_1 体内HUFA含量的差异可能是导致 Z_1 幼体质量不同的主要原因之一。

表4 两种亲本培育方式对幼体质量的影响

Tab. 4 Effect of two breeding methods on larval quality (Z_1) of Chinese mitten crabs

项目 item	强化组 enriching group	常规组 normal group	t-test
Z_1 的体长(μm) carapace length of Z_1	606 ± 4 (n = 6)	588 ± 11 (n = 5)	$P < 0.05$
Z_1 的干物质含量(%) dry material content	15.98 ± 0.90 (n = 8)	14.20 ± 0.59 (n = 7)	$P < 0.01$
Z_1 脂肪含量(%) total lipid · DW ⁻¹	16.39 ± 1.83 (n = 6)	14.40 ± 1.95 (n = 5)	NS
$Z_1 \rightarrow Z_2$ 时间(d) period from Z_1 to Z_2	3.57 ± 0.21 (n = 5)	4.18 ± 0.32 (n = 5)	$P < 0.05$
CMI(%) cumulative mortality index	336.30 ± 128.11 (n = 5)	543.33 ± 35.71 (n = 6)	$P < 0.01$
PNR ₅₀ (h) point of no return when 50% mortality	200.0 ± 23.0 (n = 5)	177.6 ± 12.4 (n = 5)	NS
大眼幼体头胸甲长度(mm) carapace length of megalopa	2.19 ± 0.01 (n = 250)	2.14 ± 0.17 (n = 250)	NS
出苗率(%) survival rate from Z_1 to megalopa	3.49 ± 1.17 (n = 5)	1.21 ± 0.81 (n = 5)	$P < 0.05$
大眼幼体产量(kg·600 ⁻¹ m ⁻²) megalopa production	4.34 ± 1.15 (n = 5)	1.32 ± 0.75 (n = 5)	$P < 0.01$
幼体培育时间(d) period from Z_1 to megalopa	26.4 ± 1.5 (n = 5)	31.4 ± 2.1 (n = 5)	$P < 0.05$

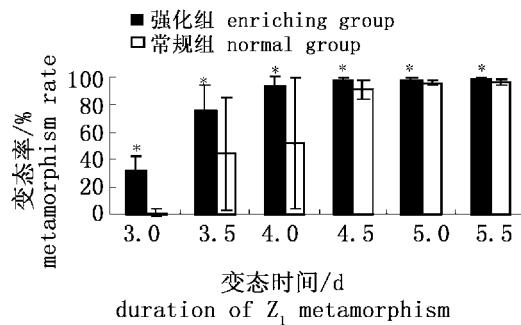


图2 两组 Z_1 幼体在不同时间的变态率

Fig. 2 Metamorphism rate of Z_1 produced by two group females at different days

*为两组幼体变态率差异显著

* means significant difference between two groups Z_1

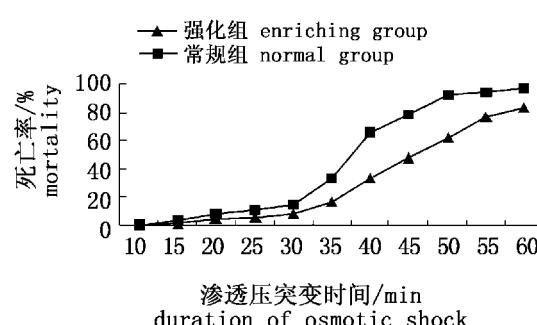


图4 盐度变化时两组 Z_1 不同时间的死亡率

Fig. 4 Cumulative mortality of Z_1 produced by two groups female Chinese mitten crabs under osmotic shock (salinity from 15 to 0)

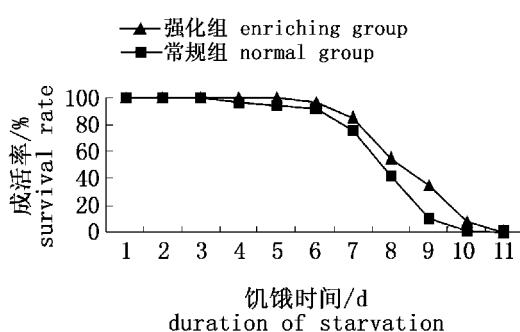


图3 饥饿条件下两组幼体的成活率

Fig. 3 Survival rate of starved Z_1 produced by two group females

生产性实验中也发现强化组的出苗率高、变态快,单位面积大眼幼体产量显著高于常规组(表4)。室外育苗过程中发现,在 Z_1 阶段,连续的暴雨导致育苗土池中的温度(18→13℃)和盐

度(12→9)变化较大,故常规组育苗池中的 Z_1 幼体大量沉底死亡,而强化组此阶段的死亡率明显低于常规组,可见强化组 Z_1 幼体比常规组具有更强的抗逆性,推测认为可能与强化组 Z_1 幼体中高含量的HUFA有关。

3 分析与讨论

3.1 不同亲本培育方式对生殖性能的影响

本研究表明,9月份起强化培育河蟹亲本可以显著提高其卵巢指数(GSI),因而强化组的抱卵量和生殖力均高于常规组,这与先前的许多经济虾蟹类的研究结果一致^[6, 10, 12, 16]。肝胰腺是河蟹体内的营养物质储存器官^[17],强化组河蟹的肝胰腺指数(HSI)高于常规组,这说明强化组肝胰腺中比常规组储存有更多的能量物质,这有利于为抱卵亲本提供能量,从而提高抱卵蟹的成

活率^[17],因而强化组抱卵亲本的成活率要高于常规组。然而,我国目前河蟹育苗生产中亲本培育通常开始于每年12月份,实际上此时河蟹卵巢发育基本成熟^[3, 11],此后即使再投喂优质的生物

饵料(缢蛏、沙蚕等)对亲本第一次发育的卵巢指数及其生化组成影响不大^[10],因而不可能显著提高其第一次产卵的生殖能力和苗种质量。

表5 亲本不同培育方式所产Z₁的脂肪酸组成

Tab. 5 The principal fatty acid composition of Z₁ produced by two group females

脂肪酸种类 fatty acids	中性脂 neutral lipids			极性脂 polar lipids		
	强化组 enriching group	常规组 normal group	t-test	强化组 enriching group	常规组 normal group	t-test
C16:0	15.29 ± 0.56	16.00 ± 0.50	NS	12.58 ± 0.52	13.59 ± 1.61	NS
C16:1n7	8.10 ± 1.59	11.44 ± 0.51	P < 0.05	5.47 ± 1.73	4.53 ± 1.41	NS
C18:0	4.94 ± 1.57	4.31 ± 0.06	NS	5.98 ± 0.59	6.57 ± 0.14	NS
C18:1n9	32.84 ± 5.79	33.88 ± 5.15	NS	19.23 ± 2.31	16.24 ± 0.54	NS
C18:1n7	5.22 ± 1.21	5.12 ± 0.59	NS	5.23 ± 0.30	5.96 ± 0.61	NS
C18:2n6	7.71 ± 0.21	6.66 ± 3.03	NS	5.77 ± 1.15	9.98 ± 0.74	P < 0.01
C18:3n3	-	2.30 ± 3.25	NS	0.90 ± 0.35	-	P < 0.05
C20:1n9(11)	1.66 ± 0.06	2.04 ± 0.52	NS	5.10 ± 0.09	3.81 ± 0.76	P < 0.05
C20:4n6	3.17 ± 0.61	1.33 ± 1.36	P < 0.05	2.18 ± 0.23	2.07 ± 0.64	NS
C20:5n3	7.82 ± 2.50	4.68 ± 1.23	P < 0.05	18.8 ± 3.25	17.02 ± 0.92	NS
C22:5n3	0.60 ± 0.04	0.68 ± 0.08	NS	3.34 ± 0.01	1.35 ± 0.69	P < 0.01
C22:6n3	6.83 ± 0.88	4.38 ± 0.72	P < 0.05	9.92 ± 1.79	8.00 ± 1.15	NS
ΣSFA	22.44 ± 2.38	21.90 ± 0.63	NS	19.49 ± 1.47	20.99 ± 2.35	NS
ΣMUFA	48.04 ± 6.45	52.88 ± 5.77	NS	35.02 ± 3.65	30.72 ± 0.98	P < 0.01
ΣPUFA	26.13 ± 4.25	20.19 ± 4.72	NS	41.72 ± 3.87	38.92 ± 0.56	NS
Σn3PUFA	15.25 ± 3.43	12.04 ± 2.82	NS	32.95 ± 5.38	26.36 ± 1.39	NS
Σn6PUFA	10.88 ± 0.82	8.15 ± 1.90	NS	8.78 ± 1.51	12.56 ± 0.83	P < 0.01
Σn3/n6	1.39 ± 0.21	1.48 ± 0.00	NS	3.86 ± 1.28	2.11 ± 0.25	P < 0.05
ΣHUFA	18.42 ± 0.38	11.23 ± 1.56	P < 0.01	35.06 ± 4.67	28.65 ± 1.72	P < 0.05

有研究表明河蟹卵巢快速发育期需要大量的外源磷脂和HUFA^[3, 6],才能保证卵巢的正常发育。但是,由于生产成本和加工工艺的限制,目前大多数河蟹商品饲料中的HUFA和磷脂含量较低,容易导致卵巢发育不良^[8],影响其生殖性能的提高。因此,河蟹亲本的强化培育应该从9月份卵巢发育大生长期开始(Ⅱ期末-Ⅲ期初^[11]),且必需使用富含HUFA、磷脂和维生素C、E的优质强化饲料^[3, 6-7, 10]。

3.2 不同亲本培育方式对卵和Z₁幼体的影响

关于不同亲本培育方式对甲壳动物卵的质量影响主要集中在不同脂肪酸营养对卵的受精率^[4, 18-19]和孵化率^[4, 12, 16, 18]的影响上,普遍认为亲本饵料和卵中的HUFA含量与卵的孵化率呈正相关,但是卵中HUFA含量对受精率的影响却存在争议^[18-19],本研究发现河蟹亲本强化培育对受精率影响不大,但可以提高其孵化率,这说明河蟹的受精率不仅与卵子质量有关,而且和精子活力^[20]与交配条件^[7]等密切相关。本实验中强化组蟹卵的平均孵化率比常规组高8%左右,这可

能与其胚胎中HUFA含量较高有关^[5, 12]。甲壳动物幼体内高含量的HUFA不仅可以加快幼体的发育和变态速度^[21],而且可以提高其渗透压调节能力^[13],因此,强化组初孵Z₁幼体不仅抗盐度突变能力较强,而且变态速度显著快于常规组。强化组Z₁幼体的抗饥饿能力略好于常规组,可能与其Z₁体内的高脂肪含量有关^[22]。

本研究结果表明,河蟹亲本强化培育不仅可以提高其生殖性能,而且其幼体培育过程中具有抗逆境能力强、变态迅速、出苗率高、育苗时间短、大眼幼体产量高等优点,可以显著降低河蟹育苗风险。因此,河蟹亲本培育应该从9月份起进行营养强化,以提高其生殖性能和苗种质量。

3.3 河蟹初孵Z₁幼体的质量评价

初孵幼体质量的好坏直接影响育苗成败,对虾蟹类初孵幼体质量进行科学评价不仅可以深化育苗理论,而且可以提高人工育苗水平,减少生产中的盲目性^[22]。目前,国内对河蟹初孵Z₁幼体质量评价还停留在大小、体色和活力等经验水平上,缺乏快速、直观、可靠的评价指标^[7]。许多研

究表明甲壳动物幼体的质量和体内 HUFA 含量呈显著相关, 盐度突变、温度突变、抗氨氮、抗饥饿等抗逆性试验已被广泛应用于多种虾蟹类的幼体质量快速评价中^[12~13,19], 本文在国内外首次采用抗盐度突变和抗饥饿试验对河蟹初孵 Z₁ 质量进行评价, 结果表明抗盐度突变试验简单易行, 可以快速准确评价河蟹初孵 Z₁ 幼体的质量, 容易在生产实际中推广应用, 可以作为育苗生产中 Z₁ 质量评价的指标之一。抗饥饿试验不仅需要较长时间(通常 6~10 d), 而且操作繁琐, 因此不适合河蟹育苗生产中的 Z₁ 质量的快速评价。

参考文献:

- [1] 杨维龙, 张关海. 河蟹生产现状与可持续发展的思考[J]. 淡水渔业, 2005, 35(4): 62~64.
- [2] 成永旭. 虾蟹类营养繁殖学的研究及进展[C]//甲壳动物学论文集(第四辑). 北京: 科学出版社, 2003: 350~358.
- [3] 成永旭, 堵南山, 赖伟. 中华绒螯蟹卵巢快速发育期内脂类积累以及对抱卵的影响[J]. 水产学报, 2000, 24(2): 113~118.
- [4] Millamena O S, Quintilio E. The effects of diets on reproductive performance of eyestalk ablated and intact mud crab *Scylla serrata* [J]. Aquaculture, 2000, 181: 81~90.
- [5] Wouters R, Lavens P, Nieto J, et al. Penaeid shrimp broodstock nutrition: an updated review on research and development [J]. Aquaculture, 2001, 202: 1~21.
- [6] 艾春香, 陈立桥, 温小波, 等. 维生素 E、C 和 HUFA 交互作用对中华绒螯蟹生殖性能的影响[J]. 水产学报, 2002, 26(6): 533~541.
- [7] 张列士, 李军. 中华绒螯蟹增养殖技术[M]. 北京: 金盾出版社, 2002: 124~303.
- [8] Wu X G, Cheng Y X, Sui L Y, et al. A comparative study of biochemical composition in pond-reared and lake-stocked adult *Eriocheir sinensis* [C]// Hendry C I, van Stappen G, Wille M, et al (Eds). Larvi' 2005-4th Fish and Shellfish larviculture symposium. Oostende: European Aquaculture Society, 2005, 36: 568~571.
- [9] Wen X B, Chen L Q, Zhou Z L, et al. Reproductive response of Chinese mitten-handed crab (*Eriocheir sinensis*) fed different sources of dietary lipid [J]. Comp Bioch Physiol, 2002, 131A: 675~681.
- [10] 吴旭干, 成永旭, 沈璇, 等. 饲料中添加磷脂和高不饱和脂肪酸对中华绒螯蟹育肥和卵巢发育的影响 [J]. 上海师范大学学报(自然科学版), 2004, 33(增刊): 33~41.
- [11] 薛鲁征, 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.
- [12] Cavalli R O, Lavens P, Sorgeloos P. Performance of *Macrobrachium rosenbergii* broodstock fed diets with different fatty acid composition [J]. Aquaculture, 1999, 179: 387~402.
- [13] Rees J F, Cure K, Piyatiratitivorakul S, et al. Highly unsaturated fatty acid requirements of *Penaeus monodon* postlarvae: an experimental approach based on *Artemia* enrichment [J]. Aquaculture, 1994, 122: 193~207.
- [14] Strussmann C A, Takashima F. PNR, histology and morphometry of starved *Pejerry odontesthes bonariensis* larvae [J]. Nipp Suis Gakk, 1989, 55(2): 237~246.
- [15] Williams S. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists (14th edn.) [S]. Arlington, VA, 1984. 114.
- [16] 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: 359~370.
- [17] 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.
- [18] Wouters R, Zambrano B, Espin M, et al. Experimental broodstock diets as partial fresh food substitutes in white shrimp *Litopenaeus vannamei* B [J]. Aquaculture Nutrition, 2002, 7: 1~8.
- [19] Djunaidah S I, Wille M, Kontara E K, et al. Reproductive performance and offspring quality in mud crab (*Scylla paramamosain*) broodstock fed different diets [J]. Aquaculture Int., 2003, 11: 3~15.
- [20] 王群, 马强, 李恺, 等. 饲料中添加不同微量元素锌对河蟹雄性生殖腺的影响[J]. 水生生物学报, 2005, 29(4): 417~423.
- [21] Suprayudi M A, Takeuchi T, Hamasaki K, et al. The effect of n-3HUFA content in rotifers on the development and survival of mud crab, *Scylla serrata*, larvae [J]. Suis Zosh, 2002, 50: 205~212.
- [22] 成永旭, 王武, 吴嘉敏, 等. 虾蟹幼体的脂类需求及脂类与发育的关系[J]. 中国水产科学, 2001, 7(4): 104~107.