

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2011.00809

不同蛋白质、脂肪水平对三疣梭子蟹生长和卵巢色素沉积的影响

段青源^{1,2}, 麦康森¹, 申屠基康², 高前欣³, 杨家峰²

1. 中国海洋大学 教育部海水养殖重点实验室, 山东 青岛 266003;

2. 宁波市海洋与渔业研究院, 浙江 宁波 315012;

3. 浙江工商大学 食品与生物工程学院, 浙江 杭州 310035

摘要: 以鱼粉和豆粕为蛋白源, 鱼油和大豆油为脂肪源, 配制蛋白质水平分别为 35%、40%、45%和脂肪水平分别为 7%、9%、11%的二因子三水平的实验饲料, 并以鲜杂鱼饲料为对照, 对三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)(体重 36.5~42.9 g)进行为期 20 周的养殖实验, 研究三疣梭子蟹对蛋白质、脂肪的需要量, 以及对卵巢色素沉积的影响。养殖实验采用海区串笼吊养方式, 每个吊笼放养 1 只雌蟹。实验共 10 个处理, 每个处理 18 个蟹, 3 个重复。结果表明, 不同蛋白质、脂肪水平饲料对三疣梭子蟹增重率(269.24%~404.90%)、饲料系数(2.01~2.55)、蛋白质效率(1.02%~1.29%)和肥满度(16.26%~23.97%)均有显著影响($P<0.05$); 增加饲料蛋白质和脂肪水平, 可显著提高三疣梭子蟹生长, 降低饲料系数($P<0.05$)。对照饲料组的三疣梭子蟹获得了最高的增重率(461.69%), 但饲料系数也是最高(6.35), 而且肥满度(21.15%)低于 P40L11 组(蛋白质 40%、脂肪 11%组)。三疣梭子蟹水分、肌肉蛋白质、脂肪、灰份和卵巢灰份不受饲料蛋白质、脂肪水平变化的影响($P>0.05$), 但卵巢蛋白质、脂肪影响显著($P<0.05$), 而且高蛋白饲料组的卵巢脂肪含量总是显著低于其他各组。在同一饲料蛋白质水平下, 9%脂肪饲料组的三疣梭子蟹卵巢类胡萝卜素总量、虾青素含量和成色比色值都显著高于其他各饲料组($P<0.05$)。与对照饲料组比较, 实验饲料组的三疣梭子蟹卵巢类胡萝卜素总量和虾青素含量呈显著优势。综合考虑生长、饲料系数和色素沉积, 三疣梭子蟹饲料的适宜蛋白质水平和脂肪水平分别为 40%~45%和 9%。本研究旨在为制定三疣梭子蟹饲料配方和改善其品质提供理论依据。

关键词: 三疣梭子蟹; 蛋白质; 脂肪; 生长; 卵巢; 色素沉积

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2011)04-0809-10

三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)肉肥细嫩, 味道鲜美, 营养丰富, 尤其膏红肥满, 更是上品, 不仅为人们所喜食, 还是中国出口创汇的重要水产品之一。为满足国内外市场需求和缓解自然资源不足的压力, 三疣梭子蟹养殖在中国浙江、江苏、山东、福建等地发展迅速, 已形成池塘养殖、滩涂围栏养殖、浅海延绳串笼养殖和陆基半工厂化养殖等多种养殖方式。据渔业年鉴统计^[1], 2009 年全国三疣梭子蟹的养殖面积为 3.18

万 hm^2 , 产量达到 9.58 万 t, 年增幅达 14.3%, 成为中国重要海水养殖种类之一。但是, 长期以来三疣梭子蟹养殖习惯中多采用低值小杂鱼和贝类直接投喂, 不仅鲜活饵料供求矛盾日益突出, 而且极易造成养殖水域环境污染, 病害频发。更为突出的是, 养殖三疣梭子蟹出现了卵巢(蟹膏)色泽明显变淡(或不红), 肌肉和蟹膏的肥满度差等品质下降的问题, 而蟹膏颜色则还是评价腌制三疣梭子蟹品质的重要指标。上述现象严重阻碍了

收稿日期: 2010-12-07; 修订日期: 2011-02-24.

基金项目: 国家科技支撑计划(2006BAD03B03); 宁波市科技局科技攻关项目(01N40100-32); 宁波市农业八大科技行动项目.

作者简介: 段青源(1959-), 女, 研究员, 在读博士研究生, 主要从事水产动物营养与品质研究. E-mail: duanqy@nbip.net

通信作者: 麦康森, 教授, 中国工程院院士. E-mail: kmail@ouc.edu.cn

三疣梭子蟹养殖、加工产业的出口创汇和可持续发展。因此,研究三疣梭子蟹营养需求和开发人工配合饵料,解决三疣梭子蟹的品质问题,尤为重要与迫切。

就甲壳类的蛋白质、脂肪需求量而言,在虾类的相关研究颇多,大多数的推荐量为蛋白质 30%~57%和脂肪 4%~8%^[2-3],因饲料原料质量、生长发育阶段和生理状态、环境的影响而不尽相同。然而,对经济蟹类的营养需求方面研究主要集中于中华绒螯蟹,而三疣梭子蟹养成期的蛋白质、脂肪需求量未见相关报道。本项研究目的为确定三疣梭子蟹的适宜蛋白质、脂肪需要量,同时阐明饲料蛋白质、脂肪水平对卵巢色素沉积的影响,以期为制定饲料配方和改善品质提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 饲料准备

以鱼粉和大豆粕为蛋白源,鱼油和植物油为脂肪源, α -淀粉为黏合剂,补充 0.05%虾青素(加丽素粉红,罗氏公司生产),分别配制粗蛋白质为 35%、40%、45%和粗脂肪为 7%、9%、11%的二因子三水平的实验饲料(P35L7、P35L9、P35L11、P40L7、P40L9、P40L11、P45L7、P45L9、P45L11)。所有原料经二次粉碎过 200 μm 筛网,混合均匀成粉状饲料,用复合包装袋真空包装, -15°C 下保存。使用前加适量水,用绞肉机挤压制成直径 0.5~0.8 cm、长度 2 cm 左右的湿颗粒饲料直接投喂。对照组的鲜杂鱼饲料以小带鱼为主。饲料组成和一般营养成分见表 1。

1.2 养殖管理

挑选当年经人工育苗的、池塘养殖 2 个月左右尚未交配的雌蟹作为实验三疣梭子蟹。实验开始时蟹体质量为 36.5~42.9 g。

养殖实验在宁波象山港湖头渡养殖海区进行串笼吊养。养殖吊笼为 60 cm $\times$ 40 cm $\times$ 15 cm 的塑料笼,每个吊笼中放养 1 只雌蟹,6 个吊笼为 1 串,3 串为 1 个重复。实验共 10 个处理,每个处理 18 个蟹,各 3 个重复。生长期蜕壳完成后(约第 13

次脱壳),再在每个蟹笼中放入 1 只个体大小与雌蟹相近的市场直接采购的雄蟹,以满足雌蟹交配需要。实验从 8 月到次年 1 月,为期 20 周。每天投喂 2 次(6:00, 17:30),达饱食(脱壳时不投喂)。当水温降至 15°C 以下时,改为每天傍晚投喂 1 次,直到三疣梭子蟹因水温低而停止摄食为止,实际投喂时间 16 周。实验期间水温范围 $10.5\sim30.5^{\circ}\text{C}$, pH8.1~8.3, 盐度 27~28, 溶解氧 6.2~9.25 mg/L, 氨氮 0.021~0.032 mg/L。养殖用吊笼不定期地进行清洗,以利水流畅通。每天投饵时监测水质情况,记录投饵量、死亡量,观察和记录脱壳次数。

1.3 样本处理

实验结束时所有三疣梭子蟹用橡皮筋固定蟹螯足,加适量冰带回实验室分别测定体质量、甲长。考虑到卵巢发育对其成色的影响,在每个处理中选择个体大小基本一致、已交配并卵巢发育 IV 期的雌蟹^[4],保存于 -20°C 以下待测。测定前于 4°C 下解冻,剥开头胸甲(蟹壳),测定分布于蟹肌体中间的卵巢成色。取蟹肌肉分别用于测定除水分外的其他一般营养成分,取蟹的二个螯足用于测定水分。取全部卵巢测定一般营养成分、类胡萝卜素和虾青素。

1.4 测定方法

三疣梭子蟹肌肉、卵巢和饲料的一般营养成分测定采用标准的 AOAC 方法^[5]。用 105°C 常压干燥法测定水分,凯氏定氮法测定粗蛋白质,索氏抽提法测定粗脂肪,灰份在 550°C 马福炉中灼烧 12 h 后测得,总能采用氧弹热量计(IKA-C2000)测定。

类胡萝卜素总量测定采用分光光度法确定总色素浓度^[6]。取 5 g 混合均匀的卵巢样品,在四倍体积的丙酮中匀质,静止 15 min,使色素充分溶出。2 000 g 离心 5 min,移出上清液。沉淀物加入 20 mL 丙酮重复提取至无色素为止。用无水硫酸钠脱水,定容到 50 mL。在 475 nm 处测定提取液的吸光值,采用虾青素(标准品为 Sigma 公司)在丙酮中的 $E_{1\%, 1\text{cm}}$ 值估算总色素浓度(吸光系数 $E_{1\%, 1\text{cm}}=2\ 000$)。

表 1 实验饲料配方和一般营养成分
Tab.1 Ingredient and proximate composition of the experimental diets

原料组分 ingredient	实验饲料 experimental diets									%
	P35L7	P35L9	P35L11	P40L7	P40L9	P40L11	P45L7	P45L9	P45L11	
鱼粉 fish meal	34	34	34	41	41	41	46	46	46	
大豆粕 soybean meal	16.5	16.5	16.5	18.5	18.5	18.5	19	19	19	
鱼油 fish oil	1.0	2.0	3.0	0.5	1.5	2.5	0.5	1.5	2.5	
大豆油 soybean oil	0.5	1.5	2.5	—	1.0	2.0	—	1.0	2.0	
α -淀粉 α -starch	22	22	22	19	19	19	15	14	13	
啤酒酵母 beer yeast	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
小麦粉 wheat meal	22.15	20.15	18.15	17.15	15.15	13.15	15.65	14.65	13.65	
复合维生素 ¹⁾ vitamin mix	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
复合无机盐 ²⁾ mineral mix	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
虾青素 ³⁾ astaxanthin	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	
其他 ⁴⁾ others	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
一般营养成分 proximate composition (n=3)										
水分 moisture	6.9	6.6	6.4	6.8	7.4	6.6	6.7	6.9	7	
粗蛋白质 crude protein	35.7	35.6	35.8	40.7	39.9	40	44.7	45	44.5	
粗脂肪 crude lipid	7.2	9.1	11.4	7.1	8.9	11.6	7.3	9.3	11.8	
灰份 ash	10.1	10	10.1	11.4	11.5	11.5	12.9	12.4	12.5	
总能/(kJ·g ⁻¹ DM)gross energy	18.4	18.9	19.4	18.4	18.7	19.2	18.39	18.73	19.23	
蛋白/能量 P/E (mg protein·kJ ⁻¹)	19.4	18.8	18.5	22.2	21.3	20.8	24.3	24.0	23.1	
类胡萝卜素/(mg·kg ⁻¹) carotenoids	57.9	57.3	58.2	57.8	48.8	56.4	52.3	51.6	54.5	

注: 1)复合维生素(g·100⁻¹·g⁻¹): 硫胺素(B₁) 0.015, 核黄素(B₂) 0.40, 盐酸吡哆醇(B₆) 0.40, 维生素 B12 0.01, 维生素 K₃ 0.05, 肌醇 10.0, 泛酸钙 1.0, 烟酸 1.0, 叶酸 0.1, 生物素(H) 0.04, 维生素 A 0.004, 维生素 D₃ 0.09, 维生素 E 1.2, 维生素 C 10.0, 胆碱 15.0, 纤维素 60.69. 2)复合无机盐(g·100⁻¹·g⁻¹): 磷酸二氢钠 10.0; 磷酸二氢钾 21.5; 磷酸二氢钙 26.5; 碳酸钙 10.5; 氯化钾 2.8; 硫酸镁 10.0; 氯化铝 1.2; 硫酸锌 0.5; 硫酸锰 0.14; 氯化钴 0.18; 碘化钾 0.06; 硫酸铜 0.05; 乳酸钙 16.5; 柠檬酸铁 0.08. 3) 虾青素(加丽素粉红)为罗氏公司生产(瑞士). 4) 其他包括蜕皮素、卵磷脂、胆固醇和甜菜碱.

Note: 1)Vitamin mix (g·100⁻¹·g⁻¹): thiamin, 40; riboflavin, 0.40; pyridoxine, 0.40; cyanocobalamin, 0.01; vitamin K₃ (menadione), 0.05; inositol, 10.0; Ca-pantothenate, 1.0; niacin, 1.0; folic acid, 0.1; biotin, 0.04; vitamin A (retinal), 0.004; vitamin D₃ (cholecalciferol), 0.09; a-tocopherol, 1.2; vitamin C 10.0; choline chloride, 15.0; cellulose 60.69. 2) Mineral mix (g·100⁻¹·g⁻¹): NaH₂PO₄ 10.0; KH₂PO₄ 21.5; Ca(PO₄H₂)₂·H₂O 26.5; CaCO₃ 10.5; KCl 2.8; MgSO₄·7H₂O 10.0; AlCl₃·6H₂O 1.2; ZnSO₄·7H₂O 0.5; MnSO₄·H₂O 0.14; CoCl₂·H₂O 0.18; KI 0.06; CuSO₄·5H₂O 0.05; calcium lactate 16.5; Fe-citrate 0.08. 3) Astaxanthin (Carophyllpink), obtained from Roche Lit.(Roche, Switzerland). 4) The others comprise ecdyson, lecithin, cholesterol and lycine.

虾青素测定采用 HPLC 法^[7]。取混合均匀的卵巢样品 5 g, 放入 50 mL 离心管, 加 20 mL 丙酮(含 1 g/L 的 BHT), 混匀器混匀, 2 000 g 离心 3 min, 移出上清液。重复提取 3 次。合并上清液, 真空蒸发浓缩, 丙酮定容至 50 mL。上机前经 0.45 μ m 滤膜过滤。提取过程避光操作。上机条件: 高效液相色谱仪(HPLC Agilent 1100, 紫外检测器), 色谱柱 Kromasil KR60-5CN(250 mm×4.6 mm, 5.0 μ m), 柱温 20℃, 检测波长 470 nm; 流动相为正己烷与丙酮混合液(正己烷: 丙酮=80: 20, v/v),

流速 1.5 mL/min; 进样量 10 μ L; 用外标法定量。虾青素标准品购于 Sigma 公司。

成色测定采用罗氏比色扇(*SalmoFan*, Roche)对卵巢进行比色。20 号红色最浅, 34 号红色最深。

1.5 数据统计

数据均用平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示。不同处理组数据间的差异性采用双因素方差分析(Two-way ANOVA)和 Tukey's 多重比较(除饲喂鲜杂鱼的对照组外), $P < 0.05$ 为存在显著性差异。统计分析用计算机软件 Micro Excel 和 SPSS 11.5

软件包进行。

2 结果与分析

2.1 生长、饲料系数、蛋白质效率与肥满度

表 2 显示了实验结束时三疣梭子蟹的生长情况。饲料中不同蛋白质、脂肪水平对三疣梭子蟹的增重率(269.24%~404.90%)、饲料系数(2.01~2.55)、蛋白质效率(1.02%~1.29%)、肥满度(16.26%~23.97%)均有显著差异($P<0.05$)。但是,除了蛋白质和脂肪的交互作用对增重率具有显著影响外,对饲料系数、蛋白质效率、肥满度都没有影响($P>0.05$)。

表 2 饲喂实验饲料对三疣梭子蟹生长、饲料系数、蛋白质效率、肥满度和成活率的影响

Tab.2 Growth performance, feed conversion ratio(FCR), protein efficiency ratio (PER), condition factor (K) and survival (SUR) of crab fed experimental diets

n=3, $\bar{x} \pm SD$									
实验饲料 experimental diets	初甲长 /cm ICL	初体质量/g IBW	终甲长/cm FCL	终体质量/g FBW	增重率/% WGR	饲料系数 FCR	蛋白质效率 /% PER	肥满度/% K	成活率/% SUR
P35L7	4.18±0.04	41.47±2.28	6.07±0.15	165.02±15.59	269.24±5.40 ^a	2.55±0.12 ^a	1.10±0.05 ^b	16.26±1.29 ^b	61.11±5.56
P35L9	4.20±0.18	40.90±3.67	6.30±0.10	183.60±8.50	352.25±5.28 ^b	2.26±0.16 ^a	1.26±0.09 ^a	18.10±0.05 ^b	66.67±0.00
P35L11	4.16±0.07	36.52±4.59	6.17±0.19	170.75±16.08	360.56±5.69 ^{bc}	2.19±0.14 ^b	1.29±0.08 ^a	20.14±1.14 ^{ab}	61.11±11.11
P40L7	4.11±0.03	37.99±1.20	6.14±0.23	178.33±34.30	368.89±7.19 ^c	2.23±0.13 ^a	1.11±0.07 ^b	20.35±1.28 ^{ab}	55.56±5.56
P40L9	4.19±0.09	40.96±2.76	6.45±0.04	201.65±6.76	389.94±6.91 ^d	2.01±0.04 ^e	1.24±0.03 ^a	19.29±2.34 ^{ab}	61.11±5.56
P40L11	4.07±0.11	38.29±3.17	6.15±0.11	182.97±17.46	359.63±1.45 ^{bc}	2.15±0.05 ^b	1.16±0.03 ^{ab}	23.97±0.27 ^a	77.78±11.11
P45L7	4.16±0.10	39.04±3.31	6.35±0.05	189.08±9.32	404.90±2.10 ^e	2.18±0.04 ^b	1.03±0.02 ^c	22.50±3.04 ^a	72.22±11.11
P45L9	4.13±0.07	40.14±1.68	6.30±0.10	194.32±18.33	387.47±5.74 ^{de}	2.06±0.01 ^c	1.07±0.01 ^c	22.00±0.97 ^a	77.78±5.56
P45L11	4.13±0.09	37.60±2.24	6.15±0.09	176.75±15.27	370.71±6.65 ^{cd}	2.20±0.04 ^{ab}	1.02±0.02 ^c	20.12±2.21 ^{ab}	55.56±11.11
鲜杂鱼 raw fish	4.25±0.08	42.88±3.21	6.92±0.15	239.47±22.47	461.69±16.02	6.35±0.37	NA	21.15±3.57	61.11±5.56
双因素方差分析(鲜杂鱼组除外)Two-way ANOVA (except raw fish group)									
蛋白质 dietary protein	0.731	0.955	0.713	0.166	0.000	0.030	0.001	0.033	0.294
脂肪 dietary lipid	0.745	0.420	0.212	0.482	0.000	0.037	0.035	0.354	0.833
蛋白质×脂肪 interaction	0.954	0.916	0.620	0.668	0.000	0.321	0.358	0.222	0.034

注: 同一列中不同上标记的数值表示差异显著($P < 0.05$)。增重率(%)=100(终重量-初重)/初重, 饲料系数(FCR)=饲料摄入量/(终重-初重), 蛋白质效率(%)=增重量/蛋白质摄入量, 肥满度(%)=100(结束干物质重量/终甲长), 成活率(%)=100(结束蟹数/开始蟹数)。NA 为不适用的。

Note: Means in the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$). ICL: initial carapace length (cm); IBW: initial wet mean weight(g); FCL: final carapace length (cm); FBW: final wet mean weight (g); weight gain ratio(%)=100 (FBW-IBW)/IBW; feed conversion ratio = feed intake / (FBW-IBW); protein efficiency ratio(%)=100(wet weight gain/crude protein intake); condition factor(%)=100(final dry matter mean weight/FCL³); survival(%)=100(final number of experimental/initial number of experimental). NA= not applicable.

饲料中无论是蛋白质、还是脂肪水平的增加, 都能显著提高三疣梭子蟹的增重率和蛋白质效率($P<0.05$), 降低饲料系数。P40L9 显示了较高的增重率和蛋白质效率(389.94%和 1.24%)、最低的饲料系数(2.01)。但是, 高蛋白(P45)、高脂肪(L11)组的增重率、蛋白质效率反而有下降和饲料系数提高的趋势。P35L7 显著不利于三疣梭子蟹生长, 此时增重率(269.24%)、饲料系数(2.55)和肥满度(16.26%)均为最劣。回归分析显示, 9%脂肪水平下, 含 41.52%饲料蛋白质($X_{\max}$)时三疣梭子蟹的增重率($Y_{\max}$ =395.44%)最高(图 1)。

整个实验期三疣梭子蟹经 6 次脱壳, 生长良好, 未发生病害引起的死亡。但由于受台风影响, 个别实验组的整串吊笼被海浪卷失, 影响三疣梭子蟹的成活率(55.56%~77.78%)。

配合饲料各组与对照饲料组比较, 后者显示

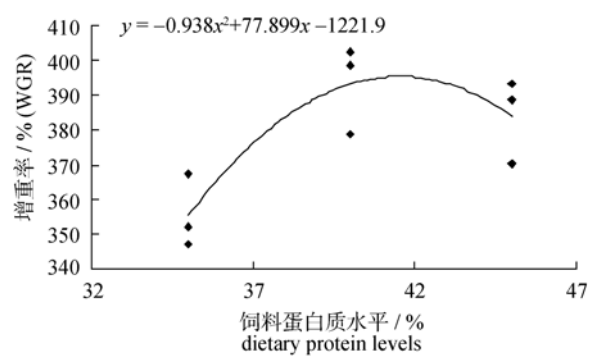


图 1 9%饲料脂肪水平下的饲料蛋白质水平与增重率间的二次回归曲线

Fig.1 Second-order polynomial relation of weight gain rate and dietary protein levels for crab fed diets containing various protein levels with 9% lipid

了最高的增重率(461.69%),但是饲料系数(6.35)则很高(按湿重计算),且肥满度(21.15%)明显不如饲喂配合饲料组的三疣梭子蟹。

2.2 一般营养成分

本实验三疣梭子蟹的整蟹水分为 68.24%~76.07%,三疣梭子蟹肌肉和卵巢的粗蛋白质分别为 75.03%~81.03%、56.83%~65.37%,粗脂肪分别

为 3.23%~4.06%、13.19%~18.17%,灰份分别为 10.45%~11.50%、3.39%~3.64%(表 3)。

饲料中蛋白质、脂肪水平的变化对三疣梭子蟹水分和肌肉蛋白质、脂肪、灰份均无显著影响($P>0.05$),且未发现有交互作用。P40 组的肌肉蛋白质含量相对较高(平均 79.75%),L11 组的肌肉脂肪含量相对较高(平均 3.75%),而且随着蛋白质水平的提高,三疣梭子蟹水分呈下降趋势。

当 P35 和 P45 时,三疣梭子蟹卵巢粗蛋白质随着饲料脂肪水平提高而显著上升,而 P40 的卵巢粗蛋白质未见影响;卵巢粗脂肪受饲料蛋白质水平的显著影响,P45 的卵巢粗脂肪含量显著低于其他各组($P<0.05$),而卵巢粗脂肪未受饲料脂肪含量的影响。卵巢灰份含量不受饲料蛋白质、脂肪水平变化的影响($P>0.05$)。

对照饲料组的三疣梭子蟹水分含量(76.07%)和卵巢粗脂肪含量(18.17%)均最高,其他各营养成分与饲喂配合饲料组的三疣梭子蟹相似。

2.3 卵巢色素

实验三疣梭子蟹卵巢的类胡萝卜素总量和虾

表 3 饲喂实验饲料对三疣梭子蟹肌肉和卵巢一般营养成分的影响
Tab.3 Composition of muscle and ovaries of crab fed experimental diets

实验饲料 experimental diets	水分/% moisture	肌肉成分 flesh composition			卵巢成分 ovaries composition		
		粗蛋白	粗脂肪	灰份	粗蛋白	粗脂肪	灰份
		crude protein	crude lipid	ash	crude protein	crude lipid	ash
P35L7	73.31±1.62	75.63±2.46	3.65±0.24	11.31±0.07	59.63±1.48 ^b	15.46±0.16 ^a	3.51±0.07
P35L9	74.96±0.17	77.00±1.55	3.24±0.21	11.43±0.03	61.85±1.15 ^{ab}	16.51±1.14 ^a	3.42±0.02
P35L11	74.33±0.16	75.03±3.04	4.06±0.43	10.98±0.10	65.37±1.01 ^a	17.75±0.33 ^a	3.64±0.03
P40L7	73.31±1.56	80.33±0.78	3.23±0.24	11.04±0.02	64.30±1.08 ^{ab}	15.85±0.27 ^a	3.39±0.01
P40L9	74.30±2.62	77.90±0.20	3.43±0.15	11.50±0.05	59.57±1.20 ^b	16.09±1.39 ^a	3.55±0.02
P40L11	69.44±0.15	81.03±1.94	3.60±0.18	10.77±0.07	63.97±1.62 ^{ab}	17.41±0.23 ^a	3.47±0.01
P45L7	68.24±3.72	76.17±1.14	3.43±0.42	10.45±0.05	56.83±1.94 ^b	13.65±2.43 ^b	3.61±0.04
P45L9	71.69±0.73	79.80±2.31	3.42±0.20	11.23±0.04	64.63±1.97 ^{ab}	14.04±0.32 ^b	3.54±0.02
P45L11	73.37±3.48	77.27±0.82	3.61±0.14	11.13±0.20	63.00±1.27 ^a	13.19±1.57 ^b	3.40±0.01
鲜杂鱼 raw fish	76.07±3.26	75.47±2.79	3.93±0.40	11.09±0.07	60.43±1.10	18.17±1.61	3.57±0.02
双因素方差分析(鲜杂鱼组除外)Two-way ANOVA (except raw fish group)							
蛋白质 dietary protein	0.126	0.054	0.487	0.053	0.635	0.019	0.273
脂肪 dietary lipid	0.829	0.846	0.127	0.471	0.017	0.621	0.319
蛋白质×脂肪 interaction	0.269	0.424	0.574	0.638	0.008	0.833	0.251

注: 同一列中不同上标记的数值表示差异显著($P < 0.05$).
Note: Means in the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

青素含量, 以及其成色比较结果由表 4 所示。饲喂不同蛋白质、脂肪水平饲料的三疣梭子蟹卵巢类胡萝卜素总量为 39.2~68.77 mg/kg, 虾青素含量为 39.12~63.74 mg/kg, 虾青素含量占类胡萝卜素总量为 85.38%~95.55%。三疣梭子蟹卵巢成色比色显示为 25.33~27.67, 并且与色素含量(类胡萝卜素总量和虾青素含量)有正相关关系($r=0.961\ 3$, $0.963\ 1$)。

饲料中蛋白质、脂肪水平的变化显著影响 ($P<0.05$)三疣梭子蟹卵巢的色素沉积, 而且二者具有交互作用。在同一蛋白质水平下, L9 的类胡萝卜素总量、虾青素含量和成色都显著高于其他各组($P<0.05$), 而 L11 的总是最低。在 7%和 11%脂肪水平上, 卵巢类胡萝卜素总量无显著变化 ($P>0.05$)。在 9%脂肪水平上, 饲喂 45%蛋白质饲料的三疣梭子蟹卵巢可获得最高的类胡萝卜素含量(68.77 mg/kg), 即 P45L9 的色素沉积效果最好。

对照饲料组三疣梭子蟹卵巢的类胡萝卜素总量(13.52 mg/kg)、虾青素含量(11.23 mg/kg)和成色(20.67)均显著低于其他各实验组。

3 讨论

3.1 对三疣梭子蟹生长的影响

与一些鱼类的研究结果^[8]相似, 饲料蛋白质水平的增加可以提高蟹的增重率, 在 L7 或 L9 脂肪水平下, 增重率随着饲料蛋白质水平的提高而增加, 但在高脂肪水平(L11)时, 随着蛋白质水平达到 45%时, 增重率反而有下降; 同样, 低蛋白质水平(L35)下, 饲料脂肪水平的提高可以提高增重率, 而在 P40、P45, 脂肪水平达到 11%时, 增重率也有下降趋势, 说明蛋白质、脂肪水平对三疣梭子蟹来说似乎是过剩, 而且这种同一脂肪(蛋白质)水平间饲料蛋白质(脂肪)水平的变化对增重的不同应答可能是由于蛋白/能量比的差异所致^[9]。对于蛋白质效率, P35L9 组显示出最高值, 而且随着饲料蛋白质水平的提高, 蛋白质效率反而降低, 这与其他鱼类研究中得出过剩能量不利于提高蛋白质效率的结果一致^[10-11], 可能与蛋白质降解的代谢能力有关^[12]。因此, 配制适当蛋白质和蛋白/能量比的饲料以降低蛋白被降解为能量是非常重要的。

表 4 饲喂实验饲料对三疣梭子蟹卵巢色素含量和成色的影响

Tab.4 Pigment concentration and colour readings (*Salmo*Fan, Roche) of ovaries of crab fed experimental diets

$n=3$; $\bar{x} \pm SD$; $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

实验饲料 experimental diets	色素 pigment			成色 colour readings (<i>Salmo</i> Fan, Roche)
	类胡萝卜素 carotenoids	虾青素 astaxanthin	虾青素/类胡萝卜素 ast./ car.	
P35L7	46.77 $\pm$ 3.27 ^b	39.85 $\pm$ 1.36 ^a	85.35 $\pm$ 4.63 ^a	25.33 $\pm$ 0.58 ^a
P35L9	53.77 $\pm$ 5.41 ^{bc}	51.41 $\pm$ 5.63 ^c	95.55 $\pm$ 1.00 ^b	26.33 $\pm$ 0.58 ^b
P35L11	41.60 $\pm$ 1.77 ^a	38.76 $\pm$ 1.68 ^a	93.16 $\pm$ 0.67 ^b	25.33 $\pm$ 0.58 ^a
P40L7	48.27 $\pm$ 3.59 ^b	42.51 $\pm$ 2.20 ^{ab}	88.36 $\pm$ 5.71 ^a	26.00 $\pm$ 1.00 ^a
P40L9	54.43 $\pm$ 2.04 ^c	50.52 $\pm$ 1.96 ^c	92.87 $\pm$ 3.58 ^b	26.67 $\pm$ 0.58 ^b
P40L11	39.12 $\pm$ 3.80 ^a	36.75 $\pm$ 4.85 ^a	93.91 $\pm$ 4.49 ^b	25.33 $\pm$ 0.58 ^a
P45L7	47.60 $\pm$ 1.27 ^b	43.91 $\pm$ 1.84 ^b	92.20 $\pm$ 1.59 ^b	26.00 $\pm$ 1.00 ^a
P45L9	68.77 $\pm$ 3.99 ^d	63.74 $\pm$ 0.89 ^d	92.93 $\pm$ 6.45 ^b	27.67 $\pm$ 0.58 ^b
P45L11	42.02 $\pm$ 3.09 ^{ab}	38.58 $\pm$ 1.38 ^a	92.00 $\pm$ 3.60 ^b	25.67 $\pm$ 0.58 ^a
鲜杂鱼 raw fish	13.52 $\pm$ 3.94	11.23 $\pm$ 0.97	83.01 $\pm$ 0.91	20.67 $\pm$ 0.58
双因素方差分析(鲜杂鱼组除外)Two-way ANOVA (except raw fish group)				
蛋白质 dietary protein	0.003	0.001	0.861	0.084
脂肪 dietary lipid	0.000	0.000	0.030	0.001
蛋白质 $\times$ 脂肪 interaction	0.003	0.005	0.301	0.632

注: 同一列中不同上标记的数值表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: In the same column values with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

尽管甲壳类在脱壳之前肌体脂肪被大量消耗^[13], 但 Cuzon 等^[14]发现, 甲壳类对饲料脂肪的承受力不超过 10%, 这与本实验可接受的饲料脂肪水平为 9%的结果一致。三疣梭子蟹养成期最佳增重率(370.73%~393.27%)是在蛋白质 40%~45%、脂肪 9%~11%饲料喂养时获得, 这相对三疣梭子蟹幼体^[15] (蛋白质 40%、脂肪 6%~8%)和锯缘青蟹(*Scylla serrata*)^[16]幼体(蛋白质 32%~40%、脂肪 6%或 12%)的适宜量要略高些, 表明养成期三疣梭子蟹的育肥、卵巢成熟需要相对高脂肪水平的饲料。

3.2 对三疣梭子蟹肌肉和卵巢营养成分的影响

本实验中三疣梭子蟹肌肉的粗蛋白(平均 77.56%)、粗脂肪(平均 3.56%)含量与已报道^[17]的结果(粗蛋白 79.9%、粗脂肪 4.8%)相似, 但卵巢的粗蛋白(平均 61.96%)和粗脂肪含量(平均 15.81%)则明显的不同(粗蛋白 32.6%、粗脂肪 52.8%), 可能是研究样本的个体大小、生长年龄、性腺成熟程度等差异所致。

鱼体脂肪沉积与饲料脂肪水平极具相关性, 这已被许多研究所证实^[18-19]。鱼体脂肪一般随饲料中脂肪水平的增加而升高^[8], 这对于甲壳类的三疣梭子蟹来说也具有同样的结果, 当饲料中蛋白水平相同时, 喂以高脂肪含量的饲料比喂以低脂肪含量的饲料明显有利于三疣梭子蟹卵巢脂肪的积累, 而且高脂肪饲料中可适当降低蛋白摄入量而减少氨产物的生成^[9]。但是, 高蛋白质(P45)饲料的三疣梭子蟹卵巢脂肪含量却反而显著降低($P<0.05$), 似乎表明不利于三疣梭子蟹卵巢脂肪的吸收, 这一现象可能与饲料非蛋白能量水平有关。

3.3 对三疣梭子蟹卵巢类胡萝卜素沉积的影响

实验三疣梭子蟹卵巢类胡萝卜素总量 39.2~68.77 mg/kg, 高于 Miki^[20]的研究结果(1.30~5.91 mg/100g), 可能与其成熟度、大小等因素有关, 而虾青素含量占类胡萝卜素总量比例(单酯型, 92%~93%)的结果基本一致。

类胡萝卜素对维持水产动物肌肉、鳍条、皮肤、性腺、甲壳等组织的特征颜色起着重要作用^[21], 但到目前为止, 没有证据证明它们自身可生物合成类胡萝卜素。在已知的 600 余种类胡萝卜素中,

虾青素(astaxanthin)在甲壳类动物中最为普遍, 并且几乎所有甲壳类动物均可将 β -胡萝卜素(β -carotene)、黄体素(也称叶黄素, lutein)、玉米黄质(zeaxanthin)转变成虾青素。水产动物肌体中类胡萝卜素的沉积受饲料组成和质量、遗传、生理状况、养殖环境等多种因素的影响, 其中饲料组成是最重要的因素之一^[22], 它们从饲料中吸收类胡萝卜素直接沉积或转化为自身所需的类胡萝卜素在体内沉积而显示出固有的体色和肉色。以往关于饲料脂肪水平对肌肉色素沉积影响所做的研究有所不同。McCallum^[23]和 March^[24]所做的工作证明了虹鳟肌肉组织中脂肪水平和饲料虾青素水平之间无相关性, Bell^[25]也发现饲料脂肪分别为 16%或 30%时, 对大西洋鲑肌肉中类胡萝卜素沉积无显著影响。但大多数研究认为, 饲料脂肪水平的提高有利于类胡萝卜素积累和虾青素沉积^[2,26-27], 而且不同脂肪来源影响类胡萝卜素的沉积效果, 是因为增加了脂溶性类胡萝卜素的肠道吸收能力。同样, 本实验从 P45L9 组和 P40L9 组的三疣梭子蟹卵巢获得较高类胡萝卜素含量发现, 脂肪对三疣梭子蟹卵巢类胡萝卜素的沉积有一定的协同与促进作用。

Nickell^[26]以粗脂肪 8.2%、17.7%或 26.7%, 虾青素水平范围 43.7~49.7 $\mu\text{g/g}$ 的饲料持续饲喂虹鳟 25 周, 发现增加饲料脂肪水平导致虹鳟肌肉中虾青素含量的提高, 但 Sheehan^[28]未能检测到饲料脂肪含量(21%、25%、30%)变化对虹鳟生鱼片 a^* 值(CIE 1976)的影响。本实验中饲料脂肪达到 11%时, 三疣梭子蟹卵巢的虾青素含量反而显著下降, 成色比色结果也表现了相同的趋势, 说明脂肪吸收效果对虾青素的影响和沉积是有一定限度的。甲壳动物与鱼类在类胡萝卜素代谢途径上有所不同, 但表现在色素沉积上这种对饲料脂肪吸收都具有一定饱和水平的解释还不清楚。饲料中脂肪来源和脂肪酸组成影响鲑类对虾青素的利用, 饱和脂肪酸、单烯脂肪酸和高度不饱和脂肪酸之间的关系似乎与虾青素利用有关^[29], 三疣梭子蟹卵巢的虾青素沉积是否与饲料脂肪酸组成有密切相关尚有待进一步研究。

类胡萝卜素与蛋白质分子之间的相互结合形成类胡萝卜素—蛋白复合体,而对颜色产生强烈的影响。虾青蛋白(甲壳蓝蛋白)是类胡萝卜素亚基与蛋白亚基通过非共价键直接结合形成的兰色虾青素—蛋白质复合体,而使甲壳产生“红移”现象。在龙虾和河虾中,虾青素附着在蛋白质上产生类胡萝卜素蛋白、虾青蛋白,赋予活体时的蓝色;当加热后,类胡萝卜素蛋白分解,因而导致熟龙虾和河虾特征性的虾青素红色。卵黄中含有蛋白质、脂类和碳水化合物,其中重要的成分是脂蛋白—卵黄磷蛋白。龙虾子青阮(虾卵绿蛋白, ovoverdin)是卵巢或卵中的类胡萝卜素简单地分散在脂蛋白亚基中的脂部分中而形成绿色虾青素—脂糖复合体^[30],使得高蛋白饲料对三疣梭子蟹卵巢类胡萝卜素的吸收显示出具有一定的促进作用。

由此推断,饲料蛋白质和脂肪可能对三疣梭子蟹卵巢类胡萝卜素吸收有协同促进作用。低脂低蛋白的饲料不利于卵巢沉积类胡萝卜素。从节约蛋白质的角度考虑,选用 P40L9 更合适,而这个结果与生长指标中所获得的最优水平是一致的。也即,按此配比饲喂三疣梭子蟹可提高卵巢类胡萝卜素沉积,同时也能满足三疣梭子蟹的生长需求。

3.4 与鲜杂鱼饵料比较

实验结果显示,饲喂鲜杂鱼饲料对照组的三疣梭子蟹获得了最高增重率,而且在实验过程中也发现其蜕壳周期要比配合饲料组的略微短些,但蜕壳次数没有增加。可见,三疣梭子蟹的其他营养需求还有待进一步研究。但是,该组饲料系数、卵巢色素却显著低于其他各组,而且肌体水分含量相对较高,肥满度明显不如配合饲料组(P40L11),说明采用小杂鱼这种单一饲料是难以满足三疣梭子蟹对色素的需求和获得最佳肥满度的。

总之,在本实验条件下,饲喂含 40%~45%蛋白质和 9%脂肪的饲料对三疣梭子蟹生长、饲料系数和蛋白质利用率都是适宜的,而且,适当提高饲料脂肪水平有利于三疣梭子蟹卵巢色素的沉积。

参考文献:

- [1] 农业部渔业局. 中国渔业年鉴 2010[M]. 北京:中国农业出版社, 2010.
- [2] Shiau S Y. Nutrient requirements of penaeid shrimp[J]. Aquaculture, 1998, 164: 77–93.
- [3] 李爱杰. 中国对虾营养研究进展[J]. 上海水产大学学报, 1998, 7(增刊): 16–23.
- [4] 谢忠明, 刘洪军, 冯蕾. 海水经济蟹类养殖技术[M]. 北京:中国农业出版社, 2000.
- [5] AOAC (Association of Official Chemists). Official Methodsof Anylysis of the Association of Official Analytical Chemist, 14th edition[M]. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, 1998: 1141.
- [6] Johnston I A, Alderson R, Sandham C, et al. Muscle fibre density in relation to the colour and textural of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J]. Aquaculture, 2000, 189: 335–349.
- [7] Bjerkeng B, Storebakken T, Liaaen-Jensen S. Pigmentation of rainbow trout from start feeding to sexual maturation[J]. Aquaculture, 1992, 108: 333–346.
- [8] Lee O K, Lee S-M. Effects of the dietary protein and lipid levels on growth and body composition of bagrid catfish, *Pseudobagrus fulvidraco*[J]. Aquaculture, 2005, 243: 323–329.
- [9] McGoogan B B, Gatlin D M. Dietary manipulations affecting growth and nitrogenous waste production of red drum, *Sciaenops ocellatus*: I. Effects of dietary protein and energy levels[J]. Aquaculture, 1999, 178: 333–348.
- [10] Davis D A, Arnold C R. Response of Atlantic croaker fingerlings to practical diet formulations with varying protein and energy contents[J]. J World Aquac Soc, 1997, 28: 241–248.
- [11] Jover M, Garcia-Gomez A, Tomas A, et al. Growth of Mediterranean yellowtail (*Seriola dumerilii*) fed extruded diets containing different levels of protein and lipid[J]. Aquaculture, 1999, 179: 25–33.
- [12] Vergara J M, Fernandez-Palacios H, Robaina L, et al. The effects of varying dietary protein level on the growth, feed efficiency, protein utilization and body composition of gilthead sea bream[J]. Fish Sci, 1996, 62: 620–623.
- [13] Dall W, Hill B J, Rothlisberg P C, et al. The biology of the Penaeidae[J]. Adv Mar Biol, 1990, 27: 1–489.
- [14] Cuzon G, Guillaume J. Energy and protein: energy ratio[M]. In: D'Abramo L, Conklin D, Akiyama D(Eds.), Crustacean

- Nutrition Advances in World Aquaculture, vol. VI, World Aquaculture Society, USA, 1997: 51–70.
- [15] 高红建, 何中央, 丁雪燕, 等. 三疣梭子蟹幼蟹配合饲料中蛋白质、脂肪、粗纤维适宜含量研究[J]. 渔业现代化, 2009 (1): 26–29.
- [16] Catacutan M R. Growth and body composition of juvenile mud crab, *Scylla serrata*, fed different dietary protein and lipid levels and protein to energy ratios[J]. Aquaculture, 2002, 208(1-4): 113–123.
- [17] 苏秀榕, 李太武, 欧阳芬, 等. 三疣梭子蟹营养成分的研究[J]. 营养学报, 1996, 18: 342–346.
- [18] Lie O, Lied E, Lambertsen G. Feed optimization in Atlantic cod (*Gadus morhua*): fat versus protein content in the feed[J]. Aquaculture, 1988, 69: 333–341.
- [19] Hillestad M, Johnsen F T. High-energy/low-protein diets for Atlantic salmon: effects on growth, nutrient retention and slaughter quality[J]. Aquaculture, 1994, 124: 109–116.
- [20] Miki W, Yamaguchi K, Konosu S. Comparison of carotenoids in the ovaries of marine fish and shellfish[J]. Comp Biochem Physiol, 1982, 71b: 7–11.
- [21] Scalia S, Isaksen M, Francis G W. Carotenoids of the Arctic charr, (*Salvelinus alpinus* L.)(J). J Fish Biol, 1989, 34: 969–970.
- [22] Torrissen O J. Pigmentation of salmonids: factors affecting carotenoid deposition in rainbow trout (*Salmo gairdneri*)(J). Aquaculture, 1985, 46: 133–142.
- [23] McCallum I M, Cheng K M, March B E. Carotenoid pigmentation in two strains of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and their crosses[J]. Aquaculture, 1987, 67: 291–300.
- [24] March B E, Hajen W E, Deacon G, et al. Intestinal absorption of astaxanthin, plasma astaxanthin concentration, body weight, and metabolic rate as determinants of flesh pigmentation in salmonid fish[J]. Aquaculture, 1990, 90: 313–322.
- [25] Bell J G, McEvoy J, Webster J L, et al. Flesh lipid and carotenoid composition of Scottish farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*)(J). Agric Food Chem, 1998, 46: 119–127.
- [26] Nickell D C, Bromage N R. The effect of dietary lipid level on variation of flesh pigmentation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)(J). Aquaculture, 1998, 161: 237–251.
- [27] Torrissen O J, Hardy R W, Shearer K D, et al. Effects of dietary lipid on apparent digestibility coefficients for canthaxanthin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)(J). Aquaculture, 1990, 88: 351–362.
- [28] Sheehan E M O, Connor T P O, Sheehy P J A, et al. Effect of dietary fat intake on the quality of raw and smoked salmon[J]. Irish F Agric Food Res, 1996, 35: 37–42.
- [29] Bjerkeng B, Johnsen K, Mayer I, et al. Influence of 11-ketotestosterone, 17 β -estradiol, and 3,5,3'-triiodo-L- thyronine on distribution and metabolism of carotenoids in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.)(J). Fish Physiol Biochem, 1999, 21: 353–364.
- [30] 惠伯棣. 类胡萝卜素化学及生物化学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005.

Effects of dietary protein and lipid levels on growth and ovary pigmentation in *Portunus trituberculatus*

DUAN Qingyuan^{1,2}, MAI Kangsen¹, SHENTU Jikang², GAO Qianxin³, YANG Jiafeng²

1. Key Laboratory of Mariculture, Education Ministry of China, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Ningbo Academy of Ocean and Fishery, Ningbo 315012, China;

3. College of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035, China

Abstract: We evaluated the dietary protein and lipid requirements of *Portunus trituberculatus* and determined the effects of dietary protein and lipid levels on the ovary pigmentation of the crab. The protein and lipid were from two sources, fish meal, and soybean meal and fish oil and soybean oil, respectively. We used a two factor, three level, factorial design. Each diet contained 35%, 40%, or 45% protein (P) from either source and 7%, 9%, or 11% lipid (L) from either source. *Portunus trituberculatus* (initial body weight 36.5–42.9 g) were feed with the appropriate diet for 20 weeks and an additional group was fed a raw fish diet as a control. The feeding experiment was conducted in sea cages using a hanging cultivation technique. Each female was held in a hanging cage. The feeding trial consisted of 10 treatments with 18 samples per treatment. All treatments were triplicated. Dietary protein and lipid levels had a significant influence on the weight gain (269.24%–404.90%), feed conversion ratio (2.01–2.55), protein efficiency ratio (1.02%–1.29%), and condition factor (16.26%–23.97%) ($P<0.05$). The feed conversion ratio decreased and growth rate increased as the level of dietary protein or lipid increased ($P<0.05$). The group fed a raw fish had the highest increase in weight gain (461.69%) and the highest feed conversion ratio (6.35). The condition factor of this group (21.15%) was lower than that in the group fed 40% protein/11% lipid. The ovarian protein and lipid content was significantly influenced by the level of dietary protein or lipid ($P<0.05$). The group fed a high level of dietary protein had higher total ovarian fat content than the other groups. However, there were no significant differences in moisture, crude protein, or fat levels or in total ash or ovarian ash content among the treatment groups ($P>0.05$). In groups fed the same level of dietary protein, those that were fed 9% lipid had significantly higher levels of total carotenoids and astaxanthin and higher chromaticity values than the groups fed 7% or 11% lipid ($P<0.05$). Taken together, the results suggest that the optimal level of dietary protein and lipid are 40%–45% and 9%, respectively, for *P. trituberculatus*.

Key words: *Portunus trituberculatus*; protein; lipid; growth; ovaries; pigment concentration

Corresponding author: MAI Kangsen. E-mail: kmail@ouc.edu.cn