

doi: 10.7541/2017.94

饲料中添加合成虾青素对中华绒螯蟹成体雌蟹性腺发育、色泽和抗氧化能力的影响

麻楠¹ 龙晓文¹ 赵磊¹ 常国亮³ 吴旭干^{1,2} 成永旭^{1,2}

(1. 上海海洋大学农业部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306; 2. 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; 3. 淮阴师范学院, 江苏省特色水产繁育工程实验室, 淮安 223300)

摘要: 采用在基础饲料中分别添加0、130和260 mg/kg的合成虾青素配制成3种粗蛋白和粗脂肪含量分别为42%和16%的等氮等脂的中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)育肥饲料(分别记为饲料1、2和3), 以中华绒螯蟹商业育肥饲料作为饲料4, 分别投喂4组雌蟹(每个饲料组3个重复水槽, 每个水槽中12只蟹), 进行为期60d的室内养殖实验, 以探讨添加合成虾青素对中华绒螯蟹成体雌蟹性腺发育、色泽及抗氧化能力的影响。结果显示: (1)实验进行到30d和60d, 在饲料中添加虾青素对雌体肝胰腺指数(HSI)和性腺指数(GSI)均无显著影响($P>0.05$)。 (2)性腺、肝胰腺和头胸甲中的总类胡萝卜素含量和红色值(a 值)均以饲料3组最高, 性腺亮度值(L 值)和黄色值(b 值)以饲料1组最高($P<0.05$); 饲料2组头胸甲的 b 值最高, 饲料1组最低($P<0.05$)。 (3)饲料1组中华绒螯蟹血清过氧化物酶(POD)活性显著高于其他组, 饲料4组的过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽还原酶(GR)、乳酸脱氢酶(LDH)、总抗氧化能力(T-AOC)、丙二醛(MDA)和乳酸(LD)含量最高($P<0.05$); 肝胰腺中的SOD、T-AOC、GSH-Px和GR活性均以饲料1组最高, 饲料2组最低($P<0.05$)。 (4)饲料2组血清酸性磷酸酶(ACP)活性和血蓝蛋白(Hc)含量显著高于其他组, 其余各组间差异不显著。血清中的碱性磷酸酶(ALP)和 γ -谷氨酰转氨酶(γ -GT)活性和一氧化氮(NO)含量均以饲料4组最高($P<0.05$), 肝胰腺中的ACP、ALP和 γ -GT活性以饲料1组最高。 综上, 在育肥饲料中添加合成虾青素对成体雌蟹性腺发育无显著影响, 但可显著提高头胸甲、肝胰腺和卵巢中的类胡萝卜素总量、色泽和抗氧化能力, 建议雌蟹育肥饲料中合成虾青素的含量为90 mg/kg左右。

关键词: 合成虾青素; 中华绒螯蟹; 雌体; 性腺发育; 色泽; 抗氧化能力

中图分类号: S968.25 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2017)04-0755-11

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)(以下简称河蟹), 是我国重要的经济养殖蟹类之一。因其营养价值高和风味独特而深受广大消费者的喜爱^[1, 2], 具有较高的市场经济价值, 2015年全国河蟹养殖总产量高达 8.23×10^8 kg左右^[3]。尽管我国河蟹养殖产量巨大, 但池塘养殖河蟹普遍存在煮熟后壳色、卵巢和肝胰腺颜色较淡的问题, 野生和湖泊增殖的河

蟹通常壳色和卵巢颜色较红^[4, 5]。色泽是影响消费者对甲壳动物感官评价的重要因素之一^[4-9], 色泽较淡会直接影响到商品河蟹的市场价值^[5]。因此, 改善池塘养殖河蟹的色泽十分重要。

研究表明, 甲壳动物的体色与其体内的类胡萝卜素(尤其是虾青素)含量密切相关^[10-13]。甲壳动物自身无法从头合成虾青素等类胡萝卜素, 但其可

收稿日期: 2016-08-18; 修订日期: 2017-02-17

基金项目: 科技部港澳台科技合作专项项目(2014DFT30270); 上海市科学技术委员会科研项(13320502100, 16DZ2281200); 上海高校水产学一流学科建设项目(2012-62-0908); 深圳澳华农牧科技有限公司委托项目(D-8006-15-0054); 江苏省科技厅政策引导类产学研合作项目(BY2016062)资助 [Supported by the Hongkong, Macao and Taiwan Science and Technology Cooperation Projects (2014DFT30270); the Projects (13320502100 and 16DZ2281200) from Shanghai Municipal Science and Technology Commission; the Shanghai Universities First-class Disciplines Project of Fisheries (No.2012-62-0908) from Shanghai Municipal Education Committee; Technology Commission and the R&D Project (D-8006-15-0054) from Shenzhen Alpha Feed Co. Ltd and Jiangsu Department of Science and Technology Policy Guidance Research Cooperation Project (BY2016062)]

作者简介: 麻楠(1991—), 女, 山东滨州人; 在读研究生; 研究方向为水产动物营养与生理。E-mail: 1058974664@qq.com

通信作者: 吴旭干, E-mail: xgwu@shou.edu.cn

利用饵料中的外源类胡萝卜素直接储存或转化后沉积于体内^[4, 11, 13-15], 因此水产甲壳类在很大程度上依赖于饲料中的类胡萝卜素^[14, 15]。池塘养殖虾蟹类颜色较淡可能与其饵料中类胡萝卜素含量较低有关^[4, 11]。此外, 虾青素等类胡萝卜素在甲壳动物机体维生素A合成、抗胁迫和免疫应答等多种生理过程中发挥重要作用^[10, 15-20]。近年来, 在虾蟹类饲料中添加不同来源的类胡萝卜素改善其体色、抗氧化能力和免疫力^[10, 11, 18, 21, 22]等研究结果表明, 虾青素的效果优于其他类胡萝卜素^[23-26]。虾青素是甲壳动物体内主要的类胡萝卜素之一, 主要以虾青素酯的形式存在^[27-30]。在饲料中添加虾青素对虾类色泽、抗氧化能力和免疫力均具有一定的影响, 但不同种类和发育阶段的适宜添加量存在较大差异^[8, 10, 25, 26, 31]。在饲料中使用的虾青素主要有2种来源, 合成虾青素和雨生红球藻粉来源的虾青素与红法夫酵母来源的天然虾青素, 前者由于价格相对便宜、来源方便, 已成为饲用虾青素的主要来源^[22, 30, 32]。众所周知, 肝胰腺和性腺是河蟹重要的可食部分, 其性腺发育状况和色泽是评价其食用价值和经济价值的重要指标^[2, 4, 33]。迄今为止, 尚未见在饲料中添加合成虾青素含量对河蟹卵巢发育、色泽和抗氧化能力影响的报道。鉴于此, 探讨合成虾青素添加水平对成体雌蟹性腺发育、颜色和抗氧化能力的影响, 旨在为河蟹育肥饲料配制及品质调控提供理论依据和实践参考。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

以豆粕、菜籽粕和鱼粉作为主要蛋白源, 以鱼油、猪油、大豆油和菜籽油作为脂肪源配制基础饲料(饲料1), 在基础饲料中分别添加0.13%和0.26%的合成虾青素(巴斯夫露康定红, 虾青素含量为10%), 分别记为饲料2和饲料3; 成蟹商业育肥饲料记为饲料4。在配制饲料前, 所有饲料原料均粉碎后过60目筛, 按照饲料配方将原料充分混合, 加30%蒸馏水混合后, 用膨化机制成沉性膨化饲料, 粒径4.5—5 mm, 长度10 mm左右, 所有饲料在实验室风干后用黑色密封袋包装于-20℃冰箱中保存备用。实验饲料配方及营养成分见表1。

1.2 实验用蟹及养殖管理

实验用蟹采自上海海洋大学崇明基地, 均为生殖蜕壳后的雌蟹, 体质量(88.70±2.11) g, 壳长(54.13±0.76) mm, 壳宽(57.52±0.51) mm, 壳高(30.08±0.62) mm, 从中挑选144只附肢健全、体无外伤、活力较好的个体用于实验, 雌体初始的平均性腺指

数为0.34%左右。养殖实验在室内循环水养殖PE (Polyethylene)圆桶(直径×高=Φ1080 mm×H1200 mm)中进行, 实验采用漂白粉消毒曝气后的河道水。实验期间水深50 cm左右。每个饲料组设3个重复水槽, 每个水槽中随机放入12只雌蟹, 在PE桶中暂养3—5d后开始正式实验, 于2015年8月28日开始正式实验。

实验期间, 每日18:00左右投喂, 平均水温高于20℃时, 按总体质量的2%—3%投喂, 当水温为15—20℃, 则按照总体质量的1.5%左右投喂, 根据水温和摄食等情况灵活调整。投喂方式为均匀泼洒, 投喂后2—3h检查残饵情况, 并于次日上午9:00左右检查残饵和死亡情况, 做好相关记录。在养殖过程中, 每隔2天吸1次残饵和粪便, 每隔3天测定1次水质指标, 根据水质指标每2周左右适当换水或加水, 养殖期间水质指标要求为: pH 7.0—9.0, 平均溶氧>4 mg/L, 氨氮<0.5 mg/L, 亚硝酸盐<0.15 mg/L, 这些均在河蟹养殖的安全水质指标范围内, 养殖实验为期60d。

1.3 样品采集

正式实验30d后停食1d, 从每个PE桶中随机采样3只雌蟹。用吸水纸擦干雌蟹体表水分并用电子天平称重(精确度=0.01 g); 用1.0 mL无菌注射器从第三支步足基部抽取2.0 mL血淋巴样品分装于两个1.5 mL离心管中, 于-40℃保存; 然后解剖取出肝胰腺和性腺, 准确称重后分别计算肝胰腺指数(Hepatosomatic index, HSI =肝胰腺质量/体质量×100%) and 性腺指数(Gonadosomatic index, GSI =卵巢质量/体质量×100%), 肝胰腺和性腺样品称重后于-40℃冰箱中保存备用。实验60d后停食1d, 从每个PE桶中随机采样3只雌蟹称重, 解剖采集头胸甲、性腺和肝胰腺, 并计算 HSI 和 GSI , 样品于-40℃冰箱中保存。

1.4 常规成分、类胡萝卜素含量及 L^*a^*b 值测定

按照AOAC^[34]的标准方法测定饲料水分(105℃烘干法)、粗蛋白(凯氏定氮法)和粗灰分(550℃灼烧法); 按照Folch等^[35]的方法, 采用氯仿: 甲醇($v/v=2:1$)提取总脂并测定含量。参考Johnston等^[36]的方法提取样品中的类胡萝卜素, 用分光光度计(型号: T6新世纪, 北京普析通用仪器有限责任公司)在波长470 nm处测定其吸光度值, 并根据虾青素标准曲线($y=4.2327x-0.0108$, $R^2=0.9996$)计算样品中总类胡萝卜素含量。参考Tume等^[8]的方法, 采用液相色谱法测定虾青素含量, 色谱柱为Luna 3u Silica (150 mm×4.60 mm, phenomenex, USA), 流动相为正己烷和丙酮(83:17, v/v), 流速1.0 mL/min, 检

表 1 实验饲料配方及营养成分(%干重)

Tab. 1 Formulation and proximate composition of experimental diet (% dry weight)

项目 Item	饲料1 Diet 1	饲料2 Diet 2	饲料3 Diet 3	饲料4 Diet 4
饲料原料Ingredient of experimental diet				
豆粕Soybean meal	20.00	20.00	20.00	—
菜籽粕Rapeseed meal	11.15	11.15	11.15	—
谷朊粉Wheat gluten	2.00	2.00	2.00	—
鱼粉Fish meal	18.00	18.00	18.00	—
肉粉Meat meal	6.00	6.00	6.00	—
面粉Wheat flour	14.00	13.87	13.74	—
啤酒酵母粉Brewer's yeast	4.00	4.00	4.00	—
乌贼粉Squid meal	8.00	8.00	8.00	—
维生素预混料Vitamin premix ¹	0.60	0.60	0.60	—
矿物质预混料Mineral premix ²	1.20	1.20	1.20	—
磷酸二氢钙Ca(H ₂ PO ₄) ₂	2.00	2.00	2.00	—
氯化胆碱Choline chloride (50%)	0.40	0.40	0.40	—
肌醇Inositol	0.30	0.30	0.30	—
维生素C Vitamin C (35%)	0.15	0.15	0.15	—
磷脂Lecithin	2.00	2.00	2.00	—
猪油Lard	2.00	2.00	2.00	—
食盐Salt	0.20	0.20	0.20	—
鱼油Fish oil	4.00	4.00	4.00	—
大豆油Soybean oil	2.00	2.00	2.00	—
菜油Rapeseed oil	2.00	2.00	2.00	—
虾青素Astaxanthin (10%)	0	0.13	0.26	—
营养成分Proximate composition				
干物质Dry matter	90.66	89.96	90.82	95.07
粗蛋白Crud protein	42.49	42.18	42.43	41.58
粗脂肪Crud lipid	15.97	16.05	16.11	12.91
粗灰分Ash	9.85	9.77	9.79	10.40
类胡萝卜素Carotenoid (mg/kg)	16.92	160.27	326.10	55.90
虾青素Astaxanthin (mg/kg)	0	94.55	232.62	0

注: ¹ 维生素预混料: 1 kg饲料中含维生素A, 62500 IU; 维生素D₃, 15000 IU; 维生素E, 1.75 g; 维生素K₃, 35.4 mg; 维生素B₁, 100 mg; 维生素B₂, 150 mg; 维生素B₆, 150 mg; 维生素B₁₂, 0.2 mg; 生物素, 4 mg; D-泛酸钙, 250 mg; 叶酸, 25 mg; 烟酰胺, 300 mg; 维生素C, 700 mg; ² 矿物质预混料: 1 kg饲料含FeSO₄·H₂O, 200 mg; CuSO₄·5H₂O, 96 mg; ZnSO₄·H₂O, 360 mg; MnSO₄·H₂O, 120 mg; MgSO₄·H₂O, 240 mg; KH₂PO₄, 4.2 g; NaH₂PO₄, 0.5 g; KI, 5.4 mg; CoCl₂·6H₂O, 2.1 mg; Na₂SeO₃, 3 mg; “—”河蟹商业育肥饲料配方涉及企业机密, 未能显示

Note: ¹ Vitamin premix (per kg diet): vitamin A, 62500 IU; vitamin D₃, 15000 IU; vitamin E, 1.75 g; vitamin K₃, 35.4 mg; vitamin B₁, 100 mg; vitamin B₂, 150 mg; vitamin B₆, 150 mg; vitamin B₁₂, 0.2 mg; biotin, 4 mg; D-calcium pantothenate, 250 mg; folic acid, 25 mg; nicotinamide, 300 mg; vitamin C, 700 mg. ² Mineral premix (per kg diet): FeSO₄·H₂O, 200 mg; CuSO₄·5H₂O, 96 mg; ZnSO₄·H₂O, 360 mg; MnSO₄·H₂O, 120 mg; MgSO₄·H₂O, 240 mg; KH₂PO₄, 4.2 g; NaH₂PO₄, 0.5 g; KI, 5.4 mg; CoCl₂·6H₂O, 2.1 mg; Na₂SeO₃, 3 mg; “—” The formulation of commercial fattening feed is a trade secret, and failed to show

测波长为478 nm, 进样量为20 μL。肝胰腺、卵巢和头胸甲充分冷冻干燥后, 采用色差仪(型号: CR-400, 日本柯尼卡美能达公司)在D65光源下测定其表面L*a*b值[L代表亮度值, 从0(黑)到100(白); a代表红绿轴的颜色饱和度, 其中-a为绿, +a为红; b代表蓝黄轴的颜色饱和度, 其中-b为蓝, +b为黄]。由于头胸甲有些区域不太平整, 且不同位置的颜色有一定差别, 因此选择每只河蟹头胸甲上相对平整的

6个测量点进行测量(图 1), 取其平均值作为该个体的测量值。

1.5 样品制备、抗氧化及免疫指标的测定

血淋巴解冻后用微型匀浆器匀浆30s后, 在4℃, 12000 r/min条件下离心20min, 取出上清液(血清)待测。称取0.2 g左右的肝胰腺, 加入1 mL (w:v=1:5) 预冷的生理盐水后用微型匀浆器(型号: T10B, 德国IKA公司生产)匀浆30s后, 在4℃, 12000 r/min条件



图1 成体雌蟹头胸甲 L^*a^*b 值测定位点

Fig. 1 Measure points of carapace L^*a^*b values of adult female *E. sinensis*

下离心20min, 取中间清液再次离心后, 取中间清液用于后续分析。采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、谷胱甘肽还原酶(GR)、总抗氧化能力(T-AOC)、乳酸脱氢酶(LDH)、乳酸(LD)、一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)和酸性磷酸酶(ACP); 根据陈彦良等^[37]的方法测定血清中酚氧化酶活性(PO); 使用全自动生化分析仪(型号: BS-200, 深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)及其配套试剂盒测定碱性磷酸酶(ALP)和 γ -谷氨酰转肽酶(γ -GT)。血蓝蛋白(Hc)测定参考Nickerson^[38]的方法, 用Tris-Ca缓冲液(50 mmol/L Tris-HCl + 10 mmol/L CaCl₂, pH=8.0)将血清稀释70倍后, 在335 nm波长下比色测定OD值, 血蓝蛋白含量(mg/mL)= $3.717 \times A_{335} \times$ 稀释倍数。

1.6 数据处理与分析

采用SPSS 16.0软件统计分析实验数据, 所有数据均以平均值 $\pm$ 标准误表示。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。采用ANOVA对实验数据进行方差分析, 用Duncan法进行多重比较, 取 $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 饲料中虾青素添加水平对成体雌蟹肝胰腺指数和性腺指数的影响

由图2可知, 经过30d育肥后, 各组雌蟹肝胰腺

指数(HSI)和性腺指数(GSI)均无显著差异($P > 0.05$), HSI在10.25%—11.16%, 其中以饲料3组最高, 饲料4组最低, 各组GSI在3.64%—4.27%。经过60d育肥后, 各饲料组HSI和GSI均无显著差异($P > 0.05$), HSI在8.00%—8.85%, GSI在8.25%—8.63%, 与第30天相比, HSI略有下降, GSI明显升高。

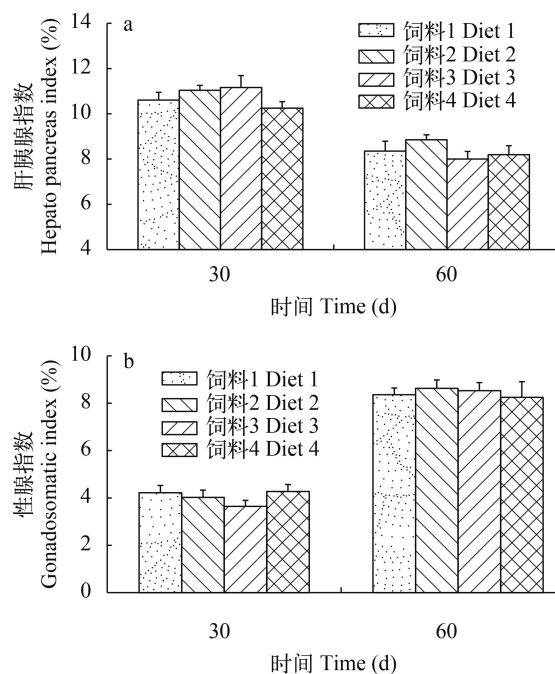


图2 饲料中虾青素添加水平对成体雌蟹肝胰腺(a)和性腺(b)发育的影响

Fig. 2 Effects of dietary supplementation of astaxanthin on hepatopancreas (a) and (b) gonadal development of adult female *E. sinensis*

2.2 饲料中虾青素添加水平对成体雌蟹色泽指标的影响

各组雌蟹色泽指标见表2。饲料3组性腺中的总类胡萝卜素含量和 a 值显著高于饲料1和饲料4组($P < 0.05$), 与饲料2组差异不显著($P > 0.05$), 而 L 值和 b 值均以饲料1组最高, 饲料3组最低($P < 0.05$)。饲料3组肝胰腺中总类胡萝卜素含量和 a 值最高, 这2个指标分别在饲料4和饲料1组最低($P < 0.05$), 各组肝胰腺 L 值和 b 值均无显著差异($P > 0.05$)。就头胸甲而言, 饲料3组总类胡萝卜素含量显著高于饲料1和饲料4组($P < 0.05$), 与饲料2组无显著差异($P > 0.05$); 头胸甲 a 值以饲料2组最高, 饲料1组最低, 而 b 值以饲料3组最高, 饲料1组最低($P < 0.05$)。

2.3 饲料中虾青素添加水平对成体雌蟹抗氧化指标的影响

雌蟹血清中抗氧化指标见表3。各组血清超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活

性均无显著差异($P>0.05$), 饲料1组过氧化物酶(POD)活性显著高于其他组($P<0.05$), 其余3组间差异不显著($P>0.05$)。血清过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽还原酶(GR)、乳酸脱氢酶(LDH)、总抗氧化能力(T-AOC)、丙二醛(MDA)和乳酸(LD)含量均以饲料4组最高($P<0.05$)。由表4可知, 肝胰腺中的SOD、T-AOC、GSH-Px和GR活性均以饲料1组最高, 大部分以饲料2组最低($P<0.05$), 而各组POD、MDA和LD均无显著差异。

2.4 饲料中虾青素添加水平对成体雌蟹免疫指标的影响

各组雌蟹免疫指标如表5所示。饲料2组血清酸性磷酸酶(ACP)活性和血蓝蛋白(Hc)含量显著高于其他组($P<0.05$), 其余各组间差异不显著, 而碱性

磷酸酶(ALP)、 γ -谷氨酰转移酶(γ -GT)活性和一氧化氮(NO)含量均以饲料4组最高($P<0.05$); 各组血酚氧化酶(PO)活性较为接近, 在16.44—19.04 U/mg-prot之间, 但均无显著差异。就肝胰腺而言, 饲料1组ACP、ALP和 γ -GT活性均显著高于其他组($P<0.05$), 而各组肝胰腺NO含量差异不显著($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 饲料中虾青素添加水平对成体雌蟹性腺发育的影响

性腺和肝胰腺是河蟹主要的可食部分, 性腺指数(GSI)和肝胰腺指数(HSI)是评价蟹类食用价值的重要指标^[2, 33]。本研究结果表明, 饲料中添加不同含量的合成虾青素对雌蟹GSI和HSI均无显著影响,

表2 饲料中虾青素添加水平对成体雌蟹类胡萝卜素含量和 L^*a^*b 值的影响

Tab. 2 Effects of dietary supplementation of astaxanthin on tissue carotenoid content and L^*a^*b value of adult female *E. sinensis*

项目 Item	饲料1 Diet 1	饲料2 Diet 2	饲料3 Diet 3	饲料4 Diet 4
性腺Gonad				
总类胡萝卜素Total carotenoid (mg/kg)	290.90±14.26 ^b	373.12±15.58 ^a	410.01±15.37 ^a	238.35±10.60 ^c
L值L value	68.07±0.98 ^a	54.57±0.73 ^b	53.92±0.42 ^b	66.65±0.81 ^a
a值a value	20.92±0.65 ^b	25.03±0.50 ^a	25.17±1.01 ^a	20.92±0.63 ^b
b值b value	40.08±0.64 ^a	21.59±0.86 ^b	19.64±0.67 ^b	37.94±1.36 ^a
肝胰腺Hepatopancreas				
总类胡萝卜素Total carotenoid (mg/kg)	76.04±8.12 ^b	159.26±18.51 ^a	176.42±16.58 ^a	67.63±5.40 ^b
L值L value	52.52±3.32	44.35±2.63	48.16±2.64	52.53±3.01
a值a value	7.56±0.39 ^b	9.41±0.65 ^a	9.42±0.39 ^a	8.22±0.67 ^{ab}
b值b value	16.84±1.12	17.92±1.40	16.35±1.17	17.62±1.60
头胸甲Carapace				
总类胡萝卜素Total carotenoid (mg/kg)	61.79±1.51 ^b	108.12±0.78 ^a	123.28±9.90 ^a	76.23±5.90 ^b
L值L value	53.20±1.38	55.86±1.39	55.69±1.34	57.41±1.73
a值a value	16.52±0.59 ^b	19.52±0.41 ^a	19.70±0.47 ^a	18.37±0.54 ^a
b值b value	29.34±0.94 ^b	33.66±0.94 ^a	32.54±1.17 ^a	32.84±1.20 ^a

注: 同行数据不含有相同字母表示差异显著($P<0.05$); 下同

Note: The different superscript letters in the same line indicated significant differences ($P<0.05$); the same applies below

表3 饲料中虾青素添加水平对成体雌蟹血清中抗氧化指标的影响

Tab. 3 Effects of dietary supplementation of astaxanthin on serum antioxidant indices of adult female *E. sinensis*

项目 Item	饲料1 Diet 1	饲料2 Diet 2	饲料3 Diet 3	饲料4 Diet 4
超氧化物歧化酶SOD (U/L)	39.40±1.00	37.59±1.59	40.59±1.11	37.72±1.88
谷胱甘肽过氧化物GSH-Px (U/mL)	23.03±0.99	21.63±0.35	22.80±0.81	23.43±0.98
过氧化物酶POD (U/mL)	63.20±1.62 ^a	53.11±2.65 ^b	47.97±1.80 ^b	46.59±2.13 ^b
过氧化氢酶CAT (U/mL)	1.17±0.16 ^c	2.63±0.09 ^a	1.99±0.05 ^b	2.64±0.14 ^a
谷胱甘肽还原酶GR (U/L)	59.17±2.63 ^{ab}	52.73±2.41 ^{bc}	47.59±3.86 ^c	64.31±2.88 ^a
乳酸脱氢酶LDH (U/L)	72.63±4.67 ^{ab}	57.60±4.69 ^b	74.10±6.87 ^{ab}	88.10±4.41 ^a
总抗氧化能力T-AOC (U/mL)	8.05±0.32 ^{ab}	7.66±0.29 ^b	7.72±0.35 ^b	8.86±0.48 ^a
乳酸LD (mmol/L)	10.46±0.17 ^b	11.62±0.41 ^{ab}	12.40±0.51 ^a	13.00±0.30 ^a
丙二醛MDA (nmol/mL)	6.19±0.18 ^a	5.34±0.22 ^b	5.57±0.32 ^{ab}	6.25±0.14 ^a

表 4 饲料中虾青素添加水平对成体雌蟹肝胰腺中抗氧化指标的影响

Tab. 4 Effects of dietary supplementation of astaxanthin on hepatopancreatic antioxidant indices of adult female *E. sinensis*

项目 Item	饲料1 Diet 1	饲料2 Diet 2	饲料3 Diet 3	饲料4 Diet 4
超氧化物歧化酶SOD (U/mgprot)	6.04±0.27 ^a	4.22±0.38 ^b	5.50±0.21 ^a	4.43±0.20 ^b
谷胱甘肽过氧化物酶GSH-Px (U/gprot)	50.88±2.58 ^a	34.02±4.08 ^b	39.22±2.01 ^b	42.09±1.75 ^b
过氧化物酶POD (U/mgprot)	6.69±0.38	6.05±0.80	6.56±0.40	6.87±0.68
谷胱甘肽还原酶GR (U/gprot)	7.75±0.45 ^a	3.93±0.57 ^b	4.33±0.65 ^b	3.59±0.61 ^b
总抗氧化能力T-AOC (U/mgprot)	2.44±0.12 ^a	1.67±0.13 ^b	2.31±0.08 ^a	1.81±0.10 ^b
乳酸LD (mmol/g)	0.27±0.02	0.22±0.03	0.23±0.00	0.24±0.01
丙二醛MDA (nmol/mgprot)	1.99±0.13	1.18±0.11	1.43±0.11	1.66±0.07

表 5 饲料中虾青素添加水平对成体雌蟹免疫指标的影响

Tab. 5 Effects of dietary supplementation of astaxanthin on immune indices of adult female *E. sinensis*

项目 Item	饲料1 Diet 1	饲料2 Diet 2	饲料3 Diet 3	饲料4 Diet 4
血清Serum				
酸性磷酸酶ACP (U/100mL)	3.17±0.16 ^b	7.85±0.68 ^a	3.28±0.19 ^b	2.50±0.25 ^b
碱性磷酸酶ALP (U/L)	191.70±6.4 ^{ab}	192.30±5.0 ^{ab}	173.90±9.2 ^b	207.40±8.8 ^a
γ-谷氨酰转移酶 γ-GT (U/L)	13.30±1.35 ^b	17.90±2.5 ^{ab}	19.60±1.1 ^{ab}	22.70±3.6 ^a
血蓝蛋白Hc (mg/mL)	57.14±1.90 ^b	66.12±2.41 ^a	56.46±1.33 ^b	61.03±1.81 ^b
酚氧化酶PO (U/mgprot)	19.04±0.56	16.44±0.81	18.07±0.79	18.58±0.68
一氧化氮NO (umol/L)	10.83±1.30 ^c	33.70±1.56 ^b	35.33±3.03 ^b	42.22±3.44 ^a
肝胰腺Hepatopancreas				
酸性磷酸酶ACP (U/100gprot)	11.70±1.24 ^a	4.55±0.54 ^b	6.16±0.54 ^b	4.76±0.71 ^b
碱性磷酸酶ALP (U/gprot)	51.43±3.48 ^a	31.60±3.83 ^b	34.67±1.84 ^b	37.16±2.37 ^b
γ-谷氨酰转移酶 γ-GT (U/gprot)	256.48±14.84 ^a	154.96±3.84 ^c	195.75±12.23 ^b	134.65±7.76 ^c
一氧化氮NO (umol/gprot)	2.07±0.10	1.84±0.50	1.48±0.36	1.24±0.13

这与郭春雨^[39]对河蟹一龄扣蟹的研究结果不同。出现这种差异的可能原因为: (1)研究对象所处的阶段不同, 初始平均体质量为27 g左右, 未完成生殖蜕壳的一龄雌体扣蟹实验过程中需要经过生殖蜕壳后才可能进行卵巢发育, 在饲料中添加了虾青素可能促进了其蜕壳速度, 从而促进其性腺发育; 在本研究中实验对象为初始平均体质量为90 g左右, 完成生殖蜕壳的一龄成熟雌蟹, 实验过程不需要再进行生殖蜕壳。(2)前者采用雨生红球藻粉中提取的天然虾青素, 主要为全反式左旋虾青素^[40-42], 可能具有较高的生物利用率; 在本研究中采用的合成虾青素, 包含多种同分异构体的虾青素, 全反式左旋虾青素仅占合成虾青素中含量的25%左右^[43, 44], 今后需要进一步研究不同结构异构体和来源的虾青素对河蟹不同生长发育阶段的影响, 以全面评估不同虾青素的生物学功效。研究表明, 虾青素在水生动物性腺发育过程中主要起到抗氧化和防止光对卵巢的氧化损伤的作用, 对斑节对虾(*Penaeus monodon*)、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)、大西洋鳕(*Gadus morhua*)等水生动物的性腺发育和生殖量并

无直接影响^[45-47]。甲壳动物卵巢的发育受到激素、神经递质、营养条件和水温、盐度和光照等共同影响^[33], 在本实验条件下, 在饲料中添加合成虾青素对雌蟹性腺发育并无显著影响。河蟹育肥过程中GSI明显升高, HSI显著下降, 这是卵巢快速发育过程中, 肝胰腺中的部分营养素转移到卵巢中了, 从而导致肝胰腺指数下降^[33, 48, 49]。

3.2 饲料中虾青素添加水平对成体雌蟹色泽的影响

甲壳动物的体色与其体内类胡萝卜素的含量和组成密切相关^[10, 50, 51]。尽管甲壳动物自身无法从头合成虾青素, 但可利用饵料中外源类胡萝卜素转化成虾青素或直接将饵料中其他类胡萝卜素和虾青素贮存于体内^[13-15], 饲料中虾青素对甲壳动物的色泽影响较大^[11, 24]。在本研究中, 添加虾青素饲料组的雌蟹性腺、肝胰腺和头胸甲中的类胡萝卜素总量显著高于对照组和商业饲料组, 且总类胡萝卜素含量以卵巢最高, 这与饲料中补充虾青素可显著提高日本对虾(*Penaeus japonicus*)和罗非鱼(*O. mossambicus* × *O. niloticus*)体内类胡萝卜素总量的研究结果相似^[52, 53], 说明雌蟹可有效利用饲料中添加

的合成虾青素并沉积于体内。此外, L^*a^*b 值是评价水生动物色泽的重要指标, 其大小与组织中的类胡萝卜素, 尤其是虾青素含量有关^[32, 54, 55]。本研究发现雌蟹性腺、肝胰腺和头胸甲的红度(a 值)及头胸甲黄度(b 值)随饲料中虾青素含量的升高而明显上升, 这与在银大马哈鱼(*Oncorhynchus kisutch*)和帝王蟹(*Paralithodes camtschaticus*)上的研究结果相类似^[21, 32]。与之相反的是, 添加虾青素饲料组雌蟹性腺的 L 值和 b 值显著低于对照组和商业饲料组, 但各组头胸甲和肝胰腺 L 值无显著差异。虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)和大马哈鱼(*Salmo salar* L.)饲料中添加合成虾青素(主要为反式虾青素)的研究发现, 肌肉 L 值随其类胡萝卜素含量的升高呈线性下降趋势^[32, 56]。我们推测, 可能是由于本研究雌蟹性腺中所积累的类胡萝卜素含量随饲料虾青素水平的上升而升高, 且要高于其他组织, 因此 L 值随类胡萝卜素含量的升高而降低^[32, 56], 因此实验说明了饲料中添加适宜的合成虾青素可显著提高雌蟹组织红度, 但摄食高含量虾青素则会降低卵巢亮度。

3.3 饲料中不同虾青素添加水平对成体雌蟹抗氧化及免疫性能的影响

甲壳动物的抗氧化防御系统由酶促和非酶促2个体系组成, 酶促体系包括SOD、CAT、GSH-Px等抗氧化酶, 非酶促体系包括维生素、类胡萝卜素、氨基酸和金属蛋白等, 在2个体系的相互作用下, 使机体免受自由基的侵害^[57-59]。在本研究中, 雌蟹血清和肝胰腺中的大部分抗氧化酶活性均以饲料1和饲料4组最高, 添加虾青素的饲料组相对较低, 这与裴素蕊等^[57]对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)的研究结果较为相似, 可能是由于雌蟹摄食虾青素后作为非酶体系成分参与体内的抗氧化过程, 清除体内过多的氧自由基^[60], 从而减少了抗氧化酶的反应底物, 最终导致其活性的降低^[57, 61]。饲料添加虾青素可以降低河蟹肝胰腺和血清中的MDA含量, 这说明虾青素饲料组雌蟹机体所受氧化胁迫相对较低, 因此, 在饲料中添加合成虾青素可减少雌蟹机体的氧化损伤。

ACP和ALP作为2种重要的磷酸酶, 对机体的代谢和免疫都具有重要的作用^[62]。在本研究中添加虾青素组血清中ACP活性高于对照组和商业饲料组, 与崔培等^[63]对锦鲤(*Cyprinus carpio haematopterus*)的研究结果较为相似。ALP活性以饲料4组最高, 结合饲料4组雌蟹血清中较高的 γ -GT活性说明了饲料中添加合成虾青素降低了雌蟹的应激水平, 因此血清免疫酶活性保持在较低的水平, 对照组和商业饲料组的雌蟹对外源虾青素的摄取较

少, 因此通过激活免疫相关酶来增强机体的免疫系统功能^[21]。此外, 酚氧化酶(PO)被认为是甲壳动物对病原体识别和防御的重要酶类之一, 是评价甲壳动物免疫抗病性能的重要指标^[64-66]。在本实验中, 各组间PO差异不显著, 这与Supamattaya等^[10]的研究结果相吻合, 可能是未引起相关的免疫应答。血蓝蛋白(Hc)主要存在于甲壳动物的血淋巴中, 发挥着氧气运输和免疫防御的功能^[67]。在本研究中, 饲料2组血清Hc含量显著高于其他组, 但随着虾青素添加水平的升高, 血淋巴中的Hc含量显著降低, 这暗示饲料中适宜浓度的虾青素可提高雌蟹的免疫力, 但吸收过高的饲料虾青素可能会增加体内维生素A的合成^[45, 68, 69], 从而对机体产生毒性作用。类似的现象已在鼠、兔和人类中有所发现^[70-73]。

综上所述, 在饲料中添加合成虾青素对中华绒螯蟹成体雌蟹性腺发育无显著影响, 但可提高性腺、肝胰腺和头胸甲中的类胡萝卜素总量, 改善色泽, 同时提高机体抗氧化能力及免疫性能。综合考虑成本、着色效果、抗氧化能力和免疫力等因素, 建议河蟹雌蟹育肥饲料中合成虾青素含量为90 mg/kg左右。

致谢:

上海海洋大学甲壳动物营养繁殖研究室吴仁福同学协助进行类胡萝卜素测定, 刘泽华同学参与部分采样工作, 中国科学院海洋研究所苏芳同学帮助进行虾青素测定, 在此表示感谢。

参考文献:

- [1] Gao X C, Gu S Q, Tao N P, *et al.* Comparison of volatile compounds in Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) hepatopancreas and crab gonad by monotrapp adsorption [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2014, **35**(15): 324—329 [高先楚, 顾赛麒, 陶宁萍, 等. 基于MonoTrap捕集法检测中华绒螯蟹性腺和肝胰腺中的香气成分. 食品工业科技, 2014, **35**(15): 324—329]
- [2] Shao L C, Wang C, He J, *et al.* Meat quality of chinese mitten crabs fattened with natural and formulated diets [J]. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 2014, **23**(1): 59—72
- [3] The People's Republic of China Ministry of Agriculture, Fisheries Bureau. China Fishery Statistical Yearbook [R]. Beijing: China Agriculture Press. 2015 [农业部渔业渔政管理局编. 中国渔业统计年鉴. 北京: 中国农业出版社. 2015]
- [4] Kong L, Cai C, Ye Y, *et al.* Comparison of non-volatile compounds and sensory characteristics of Chinese mitten crabs (*Eriocheir sinensis*) reared in lakes and ponds: Po-

- tential environmental factors [J]. *Aquaculture*, 2012, **364**–**365**(1): 96–102
- [5] Ma M J. Comparison on nutrients of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) during molting stages and under different feeding patterns [D]. Thesis for Master of Science. Shanghai Ocean University, Shanghai, 2015 [马明君. 不同蜕壳阶段和投喂模式下中华绒螯蟹营养成分的比较研究. 上海: 上海海洋大学, 2015]
- [6] Meilgaard M C, Carr B T, Civille G V. Sensory Evaluation Techniques. Fourth Edition [J]. *Physiology & Behavior*, 2007, **107**(4): 598–605
- [7] Chien Y H, Jeng S C. Pigmentation of kuruma prawn, *Penaeus japonicus* Bate, by various pigment sources and levels and feeding regimes [J]. *Aquaculture*, 1992, **102**(4): 333–346
- [8] Tume R K, Sikes A L, Tabrett S, *et al.* Effect of background colour on the distribution of astaxanthin in black tiger prawn (*Penaeus monodon*): Effective method for improvement of cooked colour [J]. *Aquaculture*, 2009, **296**(1–2): 129–135
- [9] Regunathan C, Wesley S G. Pigment deficiency correction in shrimp broodstock using Spirulina as a carotenoid source [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2006, **12**(6): 425–432
- [10] Supamattaya K, Kiriratnikom S, Boonyaratpalin M, *et al.* Effect of a *Dunaliella* extract on growth performance, health condition, immune response and disease resistance in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) [J]. *Aquaculture*, 2005, **248**(1): 207–216
- [11] Wade N M, Budd A, Irvin S, *et al.* The combined effects of diet, environment and genetics on pigmentation in the Giant Tiger Prawn, *Penaeus monodon* [J]. *Aquaculture*, 2015, **449**: 78–86
- [12] Menasveta P, Worawattanamateekul W, Latscha T, *et al.* Correction of black tiger prawn (*Penaeus monodon* Fabricius) coloration by astaxanthin [J]. *Aquacultural Engineering*, 1993, **12**(93): 203–213
- [13] Boonyaratpalin M, Thongrod S, Supamattaya K, *et al.* Effects of β -carotene source, *Dunaliella salina*, and astaxanthin on pigmentation, growth, survival and health of *Penaeus monodon* [J]. *Aquaculture Research*, 2001, **32**(Suppl. 1): 182–190
- [14] Yamada S, Tanaka Y, Sameshima M, *et al.* Pigmentation of prawn (*Penaeus japonicus*) with carotenoids I. Effect of dietary astaxanthin, β -carotene and canthaxanthin on pigmentation [J]. *Aquaculture*, 1990, **87**(3–4): 323–330
- [15] Dall W. Carotenoids versus retinoids (Vitamin A) as essential growth factors in penaeid prawns (*Penaeus semisulcatus*) [J]. *Marine Biology*, 1995, **124**(2): 209–213
- [16] Miki W, Yamaguchi K, Konosu S. Comparison of carotenoids in the ovaries of marine fish and shellfish [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1982, **71**(1): 7–11
- [17] Chien Y H, Pan C H, Hunter B. The resistance to physical stresses by *Penaeus monodon* juveniles fed diets supplemented with astaxanthin [J]. *Aquaculture*, 2003, **216**(1–4): 177–191
- [18] Niu J, Wen H, Li C H, *et al.* Comparison effect of dietary astaxanthin and β -carotene in the presence and absence of cholesterol supplementation on growth performance, antioxidant capacity and gene expression of *Penaeus monodon* under normoxia and hypoxia condition [J]. *Aquaculture*, 2014(422–423): 8–17
- [19] Linan-Cabello M A, Paniagua-Michel J, Hopkins P M. Bioactive roles of carotenoids and retinoids in crustaceans [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2002, **8**(4): 299–309
- [20] Wang H, Dai A, Liu F, *et al.* Effects of dietary astaxanthin on the immune response, resistance to white spot syndrome virus and transcription of antioxidant enzyme genes in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 2015, **14**(3): 699–718
- [21] Daly B, Swingle J S, Eckert G L. Dietary astaxanthin supplementation for hatchery-cultured red king crab, *Paralithodes camtschaticus*, juveniles [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2013, **19**(3): 312–320
- [22] Salarzadeh A, Rajabi B. The effects of dietary supplementation synthetic astaxanthin on body astaxanthin, survival, growth of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *International Journal of Advanced Research*, 2015, **3**(3): 797–803
- [23] Barbosa M J, Morais R, Choubert G. Effect of carotenoid source and dietary lipid content on blood astaxanthin concentration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture*, **176**(3): 331–341
- [24] Gong Z, Yi S P, Kong L, *et al.* Comparison of the improvement effect on body colour of Chinese mitten crab caused by three carotenoid sources [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, **26**(8): 2408–2413 [龚志, 伊淑平, 孔丽, 等. 3种类胡萝卜素源对中华绒螯蟹体色改善效果的比较研究. 动物营养学报, 2014, **26**(8): 2408–2413]
- [25] Paibulkichakul C, Piyatiratitivorakul S, Sorgeloos P, *et al.* Improved maturation of pond-reared, black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) using fish oil and astaxanthin feed supplements [J]. *Aquaculture*, 2008, **282**(1): 83–89
- [26] Amar E C, Kiron V, Satoh S, *et al.* Influence of various dietary synthetic carotenoids on bio-defence mechanisms in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) [J]. *Aquaculture Research*, 2001, **32**(1): 162–173
- [27] Tanaka Y, Matsuguchi H, Katayama T, *et al.* The biosynthesis of astaxanthin. XVIII. The metabolism of the carotenoids in the prawn, *Penaeus japonicus* as Bate [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1976, **42**(2): 197–202
- [28] Cianci M, Rizkallah P J, Olczak A, *et al.* The molecular basis of the coloration mechanism in lobster shell: β -

- Crustacyanin at 3.2-Å resolution [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, **99**(15): 9795—9800
- [29] Katayama T, Hirata K, Chichester C O. The biosynthesis of astaxanthin-IV. The carotenoids in the prawn *Penaeus japonicus* Bate (Part I) [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1971, **37**(7): 614—620
- [30] Katayama T, Katama T, Chichester C O. The biosynthesis of astaxanthin in the prawn *Penaeus japonicus* Bate (Part II) [J]. *International Journal of Biochemistry*, 1972, **3**(15): 363—368
- [31] Parisenti J, Beirão L H, Maraschin M, *et al.* Pigmentation and carotenoid content of shrimp fed with *Haematococcus pluvialis* and soy lecithin [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2010, **17**(2): e530—e535
- [32] Smith B E, Hardy R W, Torrissen O J. Synthetic astaxanthin deposition in pan-size coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) [J]. *Aquaculture*, 1992, **104**(1-2): 105—119
- [33] Wu X G, Cheng Y X, Sui L, *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
- [34] AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists [M]. 16th ed. Arlington, VA: Association of Analytical Communities International, 1995, 993
- [35] Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1957, **226**(1): 497—509
- [36] Johnston I A, Alderson R, Sandham C, *et al.* Muscle fibre density in relation to the colour and texture of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J]. *Aquaculture*, 2000, **189**(3-4): 335—349
- [37] Chen Y L, Li E C, Yu N, *et al.* Effect of replacing dietary fish oil with soybean oil on growth, nonspecific 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 [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. 中国水产科学, 2014, **21**(3): 511—521]
- [38] Nickerson K W, Van Holde K E. A comparison of molluscan and arthropod hemocyanin- I . Circular dichroism and absorption spectra [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1971, **39B**(4): 855—872
- [39] Guo C Y. The effect and mechanism of astaxanthin to *Eriocheir sinensis* [D]. Thesis for Master of Science. Hebei University, Hebei. 2007 [郭春雨. 虾青素对中华绒螯蟹的影响及作用机理. 河北: 河北大学. 2007]
- [40] Holtin K, Kuehnle M, Rehbein J, *et al.* Determination of astaxanthin and astaxanthin esters in the microalgae *Haematococcus pluvialis*, by LC-(APCI)MS and characterization of predominant carotenoid isomers by NMR spectroscopy [J]. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 2009, **395**(6): 1613—1622
- [41] Krinsky N I, Mathews-Roth M M, Taylor R F. Carotenoids: Chemistry and Biology [M]. Plenum Press. 1989, 617
- [42] Johnson E A, An G H. Astaxanthin from microbial sources [J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2008, **11**(4): 297—326
- [43] Vecchi M, Müller R K. Separation of (3S, 3'S)-, (3R, 3'R)-and (3S, 3'R)-astaxanthin via (-)-camphanic acid esters [J]. *Journal of High Resolution Chromatography*, 1979, **2**(2): 195—196
- [44] Lura H, Saegrov H. A method of separating offspring from farmed and wild Atlantic salmon [J]. *Canadian Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 1991, **48**(3): 429—433
- [45] Dall W, Smith D M, Moore L E. Carotenoids in the tiger prawn *Penaeus esculentus* during ovarian maturation [J]. *Marine Biology*, 1995, **123**(3): 435—441
- [46] Liu H L, Zheng H P, Zhang T, *et al.* Metabolism, transportation and deposition of astaxanthin in marine animals [J]. *Marine Sciences*, 2010, **34**(4): 104—108 [刘合露, 郑怀平, 张涛, 等. 海产动物体内虾青素的代谢及转运沉积. 海洋科学, 2010, **34**(4): 104—108]
- [47] Sawanboonchun J, Roy W J, Robertson D A, *et al.* The impact of dietary supplementation with astaxanthin on egg quality in Atlantic cod broodstock (*Gadus morhua*, L.) [J]. *Aquaculture*, 2008, **283**(1): 97—101
- [48] 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, **9**(4): 420—429 [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. 动物学报, 1998, **9**(4): 420—429]
- [49] Teng W M, Cheng Y X, Wu X G, *et al.* A comparative study on some biological index changes concerned with gonad development between two population of the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*): Rhine and Yangtze [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2008, **17**(1): 65—71 [滕炜鸣, 成永旭, 吴旭干, 等. 莱茵种群和长江种群子一代中华绒螯蟹性腺发育及相关生物学指数变化的比较. 上海水产大学学报, 2008, **17**(1): 65—71]
- [50] Okada S, Borhan N E, Yamaguchi K. Carotenoid composition in the exoskeleton of commercial black tiger prawns [J]. *Fisheries Science*, 1994, **60**(2): 213—215
- [51] Pavlidis M, Papandroulakis N, Divanach P. A method for the comparison of chromaticity parameters in fish skin: Preliminary results for coloration pattern of red skin Sparidae [J]. *Aquaculture*, 2006, **258**(258): 211—219
- [52] Chien Y H, Shiau W C. The effects of dietary supple-

- mentation of algae and synthetic astaxanthin on body astaxanthin, survival, growth, and low dissolved oxygen stress resistance of kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus* Bate [J]. *Journal of Experimental Marine Biology & Ecology*, 2005, **318**(2): 201—211
- [53] Gong C P, Zhu W B, Liu H L, *et al.* Effect of dietary astaxanthin on carotenoid content and deposition rate in tissues of red tilapia [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2014, **23**(3): 417—422 [公翠萍, 朱文彬, 刘浩亮, 等. 饲料中添加虾青素对红罗非鱼各组织类胡萝卜素含量和沉积率的影响. 上海海洋大学学报, 2014, **23**(3): 417—422]
- [54] Booth M A, Warner-Smith R J, Allan G L, *et al.* Effects of dietary astaxanthin source and light manipulation on the skin colour of Australian snapper *Pagrus auratus* (Bloch & Schneider, 1801) [J]. *Aquaculture Research*, 2004, **35**(5): 458—464
- [55] Christiansen R, Struksnæs G, Estermann R, *et al.* Assessment of flesh colour in Atlantic salmon, *Salmo salar* L [J]. *Aquaculture Research*, 1995, **26**(5): 311—321
- [56] Bjerkeng B, Berge G M. Apparent digestibility coefficients and accumulation of astaxanthin E/Z isomers in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2000, **127B**(3): 423—432
- [57] Pei S R, Guan Y Q, Ma Y T. Effects of dietary supplementation of astaxanthin on growth, survival and antioxidant capacity of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Fisheries Science*, 2009, **28**(3): 126—129 [裴素蕊, 管越强, 马云婷. 饲料中添加虾青素对凡纳滨对虾生长、存活和抗氧化能力的影响. 水产科学, 2009, **28**(3): 126—129]
- [58] Cui Y Y, Zhang N N, Ma Q Q, *et al.* Effects of four commonly used plant protein sources on growth performance, amino acids retention and antioxidant enzyme activities in juvenile Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2017, **41**(1): 146—154 [崔燕燕, 张南南, 马倩倩, 等. 四种植物蛋白对中华绒螯蟹幼蟹生长性能、氨基酸沉积率和抗氧化酶活性的影响. 水生生物学报, 2017, **41**(1): 146—154]
- [59] Niu J, Tian L X, Liu Y J, *et al.* Effect of dietary astaxanthin on growth, survival, and stress tolerance of Postlarval shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2009, **40**(6): 795—802
- [60] Zhang, J, Liu Y J, Tian L X, *et al.* Effects of dietary astaxanthin on growth, antioxidant capacity and gene expression in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2013, **19**(6): 917—927
- [61] Xue Q G, Renault T. Enzymatic activities in european flat oyster, *Ostrea edulis*, and pacific oyster, *Crassostrea gigas*, hemolymph [J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2000, **76**(3): 155—163
- [62] Cui P, Liu F, Yang G, *et al.* Effect of dietary astaxanthin on hematic and immune parameters of Ornamental Carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2013, **44**(3): 89—94 [崔培, 刘芳, 杨广, 等. 虾青素对锦鲤血液及抗氧化指标的影响. 东北农业大学学报, 2013, **44**(3): 89—94]
- [63] Alexander J B, Ingram G A. Noncellular nonspecific defence mechanisms of fish [J]. *Annual Review of Fish Diseases*, 1992, **92**(2): 249—279
- [64] Wu S, Wang S H, Wang Y L, *et al.* Phenoloxidase in mollusca and crustacean [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2009, **44**(5): 137—146 [吴曙, 王淑红, 王艺磊, 等. 软体动物和甲壳动物酚氧化酶的研究进展. 动物学杂志, 2009, **44**(5): 137—146]
- [65] Liu H, Jiravanichpaisal P, Cerenius L, *et al.* Phenoloxidase is an important component of the defense against *Aeromonas hydrophila* infection in a crustacean, *Pacifastacus leniusculus* [J]. *Journal of Biological Chemistry*, **282**(46): 33593—33598
- [66] Gu W, Chen J, Huang Y Q, *et al.* The characterization of prophenoloxidase and phenoloxidase from red claw crayfish, *Cherax quadricarinatus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2015, **39**(1): 117—125 [顾伟, 陈静, 黄艳青, 等. 红螯螯虾酚氧化酶原及其特性研究. 水生生物学报, 2015, **39**(1): 117—125]
- [67] Britton G. Functions of intact carotenoids. In: Britton G, Liaaen-Jensen S, Pfander H (Eds.), Carotenoids. Volume 4: Natural Functions. Birkhauser Verlag AG, Basel. 2008, 189—212
- [68] Ong D E, Chytil F. Retinoic acid-binding protein in rat tissue. Partial purification and comparison to rat tissue retinol-binding protein [J]. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 1975, **250**(15): 6113—6117
- [69] Cohlan S Q. Excessive intake of vitamin A as a cause of congenital anomalies in the rat [J]. *Science*, 1953, **117**(117): 535—536
- [70] Hillgartner F B, Morin D, Hansen R J. Effect of excessive vitamin A intake on muscle protein turnover in the rat [J]. *Biochemical Journal*, 1982, **202**(2): 499—508
- [71] St Claire M B, Kennett M J, Besch-Williford C L. Vitamin A toxicity and vitamin E deficiency in a rabbit colony [J]. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science*, 2004, **43**(4): 26—30
- [72] Thurnham D I, Northrop-Clewes C A. Optimal nutrition: vitamin A and the carotenoids [J]. *Proceedings of the Nutrition Society*, 1999, **58**(58): 449—457

EFFECTS OF DIETARY SUPPLEMENTATION OF SYNTHETIC ASTAXANTHIN ON OVARIAN DEVELOPMENT, COLORATION AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF ADULT FEMALE CHINESE MITTEN CRAB, *ERIOCHEIR SINENSIS*

MA Nan¹, LONG Xiao-Wen¹, ZHAO Lei¹, CHANG Guo-Liang³, WU Xu-Gan^{1,2} and CHENG Yong-Xu^{1,2}

(1. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Collaborative Innovation Center of Aquatic Animal Breeding Center Certificated by Shanghai Municipal Education Commission, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Jiangsu Engineering Laboratory for Characteristic Aquatic Species Breeding, Huaiyin Normal University, Huai'an 223300, China)

Abstract: To investigate the effects of dietary supplementation of synthetic astaxanthin on ovarian development, coloration and antioxidant capacity of adult female Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*), three isonitrogenous and isolipidic fattening diets with 42% crude protein and 16% crude lipid were formulated by adding 0, 130 and 260 mg/kg synthetic astaxanthin (named as Diet 1, Diet 2, and Diet 3, respectively), and commercial fattening diet was used (named as Diet 4). Each diet was fed to triplicate tanks with 12 female crabs per tank for 60-day fattening. The results showed that dietary supplementation of synthetic astaxanthin had no significant effect on the hepatosomatic index (*HSI*) and gonadosomatic index (*GSI*) of adult female *E. sinensis* ($P>0.05$). Diet 3 treatment had the highest contents of carotenoid and redness value (*a*), and Diet 1 group had the highest lightness value (*L*) and yellow value (*b*) in the ovaries. The highest and the lowest *b* value of carapace were found in Diet 2 and Diet 1 treatments, respectively ($P<0.05$). Diet 1 group had the highest activity of peroxidase (POD) in the serum. The activities of catalase (CAT), glutathione reductase (GR), lactic dehydrogenase (LDH), total antioxidant capacity (T-AOC) and the contents of malondialdehyde (MDA) and lactic acid (LD) in serum from Diet 4 group were significantly higher than those of other groups ($P<0.05$). The highest and lowest activities of superoxide dismutase (SOD), T-AOC, glutathione peroxidase (GSH-Px) and GR in hepatopancreas were found in Diet 1 treatment and Diet 2 treatment, respectively ($P<0.05$). The activity of acid phosphatase (ACP) and hemocyanin (Hc) content in the serum from Diet 2 treatment were significantly higher than those of other treatments ($P<0.05$). The highest activities of alkaline phosphatase (ALP) and γ -glutamyl transpeptidase (γ -GT), and nitric oxide (NO) content were found in Diet 4 treatment. The highest activities of ACP, ALP and γ -GT in the hepatopancreas were shown in Diet 1 group. In conclusion, dietary supplementation of synthetic astaxanthin did not significantly affect the ovarian development of adult female crabs, but could enhance content of carotenoid, coloration and antioxidant capacity. These results suggest that the appropriate content of synthetic astaxanthin in the fattening diet is 90 mg/kg for female *E. sinensis*.

Key words: Synthetic astaxanthin; *Eriocheir sinensis*; Female; Ovarian development; Coloration; Antioxidant capacity