

Zheng X L, Ma S H, Liu Y Y, *et al.* Dietary vitamin A requirement of juvenile red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2026, 50(3): 032609. [郑兴龙, 马世豪, 刘洋洋, 等. 克氏原螯虾幼虾对饲料维生素A需求量的研究 [J]. 水生生物学报, 2026, 50(3): 032609.]

克氏原螯虾幼虾对饲料维生素A需求量的研究

郑兴龙^{1,2} 马世豪^{1,2} 刘洋洋² 宋长春² 王晨曦² 罗凯¹
郜卫华^{1*} 田娟^{1,2*}

(1. 长江大学动物科学技术学院, 荆州 434024; 2. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 武汉 430223)

摘要: 本研究旨在探究克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)幼虾对饲料维生素A的需求量。配制6种等氮、等脂、等能的实验饲料, 维生素A实测效价分别为11573 (A1)、20042 (A2)、26274 (A3)、37818 (A4)、55159 (A5)和79200 (A6) IU/kg, 饲喂初始平均体重为(3.40±0.01) g的克氏原螯虾8周。结果显示, 与对照组(A1)相比, A4和A5组的克氏原螯虾的增重率和特定生长率均显著升高($P<0.05$), 且均在A4组达到最大值; 而饲料系数和肝体比则显著降低($P<0.05$), 并在A4组降至最低。与对照组相比, A4组肝胰腺的总抗氧化能力、过氧化氢酶和超氧化物歧化酶活性均显著增强($P<0.05$)。血清谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性随饲料维生素A水平呈先降低后升高的趋势, 均在A4组时有最小值。同时, A4组肝胰腺中B细胞和R细胞的发生率、肠道绒毛长度与宽度以及肝胰腺胰蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶和肠道胰蛋白酶活性均显著提高($P<0.05$)。此外, A4组肝胰腺中几丁质酶、蜕皮激素受体和维甲酸X受体的基因表达水平显著上调, 蜕皮抑制激素显著下调($P<0.05$)。综上所述, 适宜水平的维生素A可改善克氏原螯虾的消化功能, 增强肝胰腺抗氧化与免疫能力, 并调控蜕壳相关基因表达, 从而显著促进其生长性能。对增重率、特定生长率和饲料系数进行折线回归分析, 建议克氏原螯虾幼虾饲料中维生素A的需求量为37976—43443 IU/kg。

关键词: 维生素A; 生长性能; 非特异性免疫; 克氏原螯虾

中图分类号: S963 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2026)03-032609-13

doi: 10.3724/1000-3207.2025.2025.0359 **CSTR:** 32229.14.SSSWXB.2025.0359



作为脂溶性维生素, 维生素A (视黄醇及其衍生物) 是水生动物生长发育不可或缺的微量营养素。它在动物体内发挥多种关键生理功能: 首先, 维生素A通过视黄酸受体(RAR)调控靶基因表达, 参与细胞增殖与分化过程; 其次, 它作为抗氧化剂清除自由基, 维持肝胰腺的氧化还原稳态^[1]; 此外, 维生素A还能促进甲壳动物幼体的趋光行为, 进而诱导摄食活动^[2]; 同时, 它通过增强溶菌酶活性^[3]及血淋巴细胞吞噬能力等途径, 提升机体的非特异性

免疫应答^[4]。然而, 饲料中维生素A缺乏或过量均会对水生动物的生长或健康产生不良影响。维生素A缺乏会降低珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂)的抗氧化能力, 增加肝脏脂质沉积, 抑制消化能力, 从而降低生长性能^[5]; 维生素A缺乏还会导致水生动物高死亡率、出血、鳃盖畸形、鳍糜烂^[6-8]。当鱼类摄食过量的维生素A时, 会导致生长缓慢、鳍坏死和脊椎畸形^[9, 10]。对于甲壳类动物来说, 维生素A缺乏

收稿日期: 2025-10-15; **修订日期:** 2025-11-07

基金项目: 国家重点研发计划(2023YFD2402000); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(YF1202404); 湖北省特色淡水产品产业链科技研发项目; 湖北技术创新计划(2024BBB099)资助 [Supported by the National Key R & D Program of China (2023YFD2402000); Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund, YFI (YF1202404); Technology Research and Development Project of Characteristic Freshwater Products Industry Chain in Hubei Province; Hubei Technology Innovation Plan Project (2024BBB099)]

作者简介: 郑兴龙(2000—), 男, 硕士研究生; 主要从事水产动物营养与饲料研究。E-mail: zxlong0309@163.com

通信作者: 郜卫华, 主要从事水产动物营养与饲料研究。E-mail: gaoweihua@yangzeu.edu.cn 田娟, 主要从事水产动物营养与饲料研究。E-mail: tianjuan@yfi.ac.cn *共同通信作者

会降低日本对虾(*Penaeus japonicus*)的成活率和中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)的生长性能^[11, 12]。因此饲料中必须适量补充维生素A以满足动物健康生长需要。多项研究表明, 饲料维生素A需求量具有显著的物种和发育阶段特异性。例如, 凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)幼体阶段获得最佳生长性能的维生素A最适添加量为60000—75000 IU/kg, 在198366.67 IU/kg时显著提高溶菌酶和酚氧化酶活性^[13]; 斑节对虾(*Penaeus monodon*)成虾饲料中维生素A含量低于8400 IU/kg时, 性腺指数(GSI)和抱卵率显著下降^[11]; 饲料适宜的维生素A含量(8000 IU/kg)可以优化雌蟹脂肪代谢, 促进河蟹卵巢的发育^[14]。中华绒螯蟹大眼幼体对维生素A的需求则与甲壳钙化进程呈剂量依赖性, 推荐量为69740—70770 IU/kg^[15]。这些差异凸显了精准确定特定物种维生素A营养需求的必要性。

克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)属节肢动物门, 俗称小龙虾^[16]。因其肉质高蛋白、低脂肪、低热量而深受消费者欢迎。2024年我国克氏原螯虾年产量高达345万吨, 位列中国淡水养殖总产量第4位^[17], 产业规模巨大, 对优质高效饲料的需求迫切。作为一种底栖杂食性物种, 克氏原螯虾栖息环境光照强度低、摄食节律特殊, 且幼体发育阶段存在密集蜕壳行为, 这些独特的生物学特性可能使其对维生素A等光敏性及调控生长发育的微量营养素具有特殊需求。目前, 克氏原螯虾饲料营养素需求研究主要包括脂肪^[2]、蛋白质^[18]、钙^[19]、磷^[20]、氨基酸^[21]等, 然而, 针对其维生素A等关键微量营养素的需求参数研究尚存空白, 尤其缺乏对其影响生长性能、免疫健康以及关键生理过程(如蜕壳)的系统评估。因此, 本研究通过探讨不同维生素A水平对克氏原螯虾生长、非特异性免疫、抗氧化能力及蜕壳的影响, 旨在确定其饲料中维生素A的适宜需求量, 以完善克氏原螯虾关键营养素的精准需求数据, 并为构建精准、标准化的饲料营养体系提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验饲料配制

本实验以鱼粉、豆粕、花生粕、菜粕和棉籽蛋白为蛋白源, 鱼油和玉米油为脂肪源配制基础饲料, 饲料配方及基本营养成分见表1。参照凡纳滨对虾^[13]、斑节对虾^[11]、中华绒螯蟹^[15]等其他甲壳类动物对维生素A的最适需求量设置梯度, 本实验在基础饲料中添加维生素A的效价为0 (对照组)、6000、12000、24000、42000和66000 IU/kg, 以膨

润土进行配平处理。维生素A购自上海源叶生物科技有限公司, 浓度 $\geq 10^5$ IU/g, 6组实验饲料中维生素A含量实测值分别为11573 (A1)、20042 (A2)、26274 (A3)、37818 (A4)、55159 (A5)、79200 (A6) IU/kg, 其中饲料维生素A效价的测定参照GB/T 17817-2024, 由上海复达检测技术集团有限公司进行测定。饲料原料经粉碎后过80目筛, 按配方比例由小到大依次准确称量, 随后加入溶有维生素A的鱼油和玉米油等油脂原料, 最后按饲料总重量的25%加入固定比例的水, 充分揉搓混合均匀。将混合料挤压成直径2 mm的条状, 于90℃条件下熟化20min, 再置于通风干燥机中60℃干燥2h。随后将饲料破碎为长度3—4 mm的圆柱形颗粒, 于-20℃条件下密封保存备用。经2h浸泡实验, 测得饲料在水中溶失率为9.21%。

1.2 实验用虾与养殖管理

本实验所用的克氏原螯虾购买于湖北省天门市某养殖场。养殖实验在室内工厂化养殖系统中进行, 先将克氏原螯虾转移到养殖箱中(1.2 m×0.8 m×0.26 m, 水体积为250 L)暂养1周, 养殖箱内放有用以防止打斗和提供蜕壳空间的遮蔽管和攀爬网。所有动物护理及使用程序均经长江水产研究所动物伦理委员会批准(依据2018年7月20日颁布的YFI 2018-40号文件)。

在开始实验前, 将实验用虾禁食24h, 随后挑选体格健全、健康活跃、规格均匀[初始平均体重为(3.40±0.01) g]的个体共334尾。随机选取10尾作为初始样本, 于-20℃冷冻保存, 用于后续全虾基本成分分析。剩余324尾虾随机分配至18个养殖箱, 每箱放养18尾, 随机分为6个实验组对应投喂6种饲料, 每组设3个重复。每天早晚投喂前采用虹吸法清除粪便及其他残留物, 于8:00和18:00定时投喂两次, 并根据实际摄食情况调整投喂量。投喂2h后收集残饵, 经烘干后称重, 以准确计算饲料系数。养殖期间加强日常管理, 及时捞出死亡个体并记录其体重, 每日清点各养殖桶内存活虾数量, 防止逃逸及死虾被摄食等情况影响存活率统计。整个养殖实验为期8周, 期间持续充氧, 维持循环水流速度为30 L/h, 水体pH 8.00±0.20, 水温23—27℃, 溶解氧浓度保持在(6.5±0.2) mg/L。

1.3 样品采集

在养殖试验结束后, 按照标准程序处理样品, 首先克氏原螯虾禁食24h, 按照组别依次收集并测定全虾质量, 统计每个试验桶存活数量。每个养殖箱随机取3尾全虾, -20℃冰箱保存, 用于测定全虾的基本成分。每桶随机取8尾虾, 先用一次性无

表 1 实验饲料配方(干物质基础, g/kg)

Tab. 1 Composition of the experimental diets (dry matter basis, g/kg)

原料Ingredient	组别Group					
	A1	A2	A3	A4	A5	A6
鱼粉(脱脂) Fish meal ¹	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
豆粕Soybean meal ¹	150.00	150.00	150.00	150.00	150.00	150.00
花生粕Peanut meal ¹	150.00	150.00	150.00	150.00	150.00	150.00
面粉Wheat flour ²	250.00	250.00	250.00	250.00	250.00	250.00
菜粕Rapeseed meal ¹	150.00	150.00	150.00	150.00	150.00	150.00
棉籽蛋白Cottonseed meal ¹	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00
褐藻酸钠Sodium alginate	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
磷酸二氢钙Ca(H ₂ PO ₄) ₂	23.00	23.00	23.00	23.00	23.00	23.00
酵母膏Yeast	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
鱼油Fish oil ³	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00
玉米油Corn oil ⁴	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00
大豆卵磷脂Soybean lecithin	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
维生素预混料Vitamin premix ⁵	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
胆固醇Cholesterol	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
矿物质预混料Mineral premix ⁶	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
维生素C Vitamin C	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
氯化胆碱Choline chloride	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
壳聚糖Chitosan	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
虾青素Astaxanthin	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
膨润土Bentonite	38.00	37.94	37.88	37.76	37.58	37.34
维生素A Vitamin A	0	0.06	0.12	0.24	0.42	0.66
L-苏氨酸L-Thr	3.60	3.60	3.60	3.60	3.60	3.60
L-赖氨酸L-Lys	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
蛋氨酸二肽Met-Met	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
常规组成Proximate composition						
干物质Dry matter	94.06	93.63	94.04	94.14	93.77	94.19
粗蛋白Crude protein	32.71	31.97	32.37	32.18	32.15	31.68
粗脂肪Crude lipid	7.73	7.73	7.69	7.77	7.76	7.63
灰分Ash	10.41	10.09	10.16	10.09	10.03	10.09
总能Gross energy (kJ/g) ⁷	18.10	18.18	18.17	18.17	18.16	18.24
维生素A Vitamin A (IU/kg) ⁸	11573	20041	26274	37817	55158	79200

注: ¹鱼粉(湿法)、豆粕(浸出法)、花生粕(预榨-浸出法)、菜粕(预榨-浸出法)、棉籽蛋白(棉酚脱毒与蛋白浓缩), 以上原料由武汉澳华农牧有限公司提供; ²面粉(五得利五星小麦粉, 执行标准GB/T 1355-2021); ³鱼油(同美牌饲料用2号鱼油, 执行标准Q/DMS 2-2019); ⁴玉米油(福临门压榨玉米油, 执行标准GB/T 19111-2017); ⁵每千克维生素预混料包括: 维生素B₁ 10 g, 维生素B₂ 10 g, 维生素B₆ 20 g, 维生素B₁₂ 0.01 g, 维生素D 0.02 g, 维生素E 10 g, 维生素K₃ 10 g, 烟酸40 g, 生物素0.2 g, 泛酸钙20 g, 叶酸0.5 g, 维生素C 20 g, 肌醇400 g, 微晶纤维素添加至1 kg; ⁶每千克矿物质预混料包括: 五水亚硒酸钠0.08 g, 碘酸钾0.6 g, 二水氯化铜2 g, 六水氯化钴2 g, 一水硫酸锰20 g, 七水硫酸亚铁50 g, 七水硫酸锌60 g, 氯化钠100 g, 硫酸镁200 g, 磷酸二氢钾320 g, 微晶纤维素添加至1 kg; ⁷饲料总能利用氧弹式量热法(SDC311量热仪, 湖南三德科技股份有限公司)测定; ⁸饲料的维生素A含量的实测值

Note: ¹Fishmeal (wet-processed), soybean meal (solvent-extracted), peanut meal (pre-pressed and solvent-extracted), rapeseed meal (pre-pressed and solvent-extracted), and cottonseed protein (with gossypol detoxification and protein concentration) were supplied by Wuhan Aohua Agriculture & Animal Husbandry Co., Ltd.; ²Wheat flour (Wudeli Five-Star Wheat Flour, compliant with standard GB/T 1355-2021); ³Fish oil (Tongmei brand Feed Grade No. 2 Fish Oil, compliant with standard Q/DMS 2-2019); ⁴Corn oil (Fortune brand pressed corn oil, compliant with standard GB/T 19111-2017); ⁵per kg of vitamin premix contains vitamin B₁ 10 g, vitamin B₂ 10 g, vitamin B₆ 20 g, vitamin B₁₂ 0.01 g, vitamin D 0.02 g, vitamin E 10 g, vitamin K₃ 10 g, nicotinic acid 40 g, biotin 0.2 g, calcium pantothenate 20 g, folic acid 0.5 g, vitamin C 20 g, inositol 400 g, all ingredients were diluted with micro-cellulose to 1 kg; ⁶per kg of mineral premix contains Na₂SeO₃·5H₂O 0.08 g, KIO₃ 0.6 g, CuCl₂·2H₂O 2 g, CoCl₂·6H₂O 2 g, MnSO₄·H₂O 20 g, FeSO₄·7H₂O 50 g, ZnSO₄·7H₂O 60 g, NaCl 100 g, MgSO₄ 200 g, KH₂PO₄ 320 g, all ingredients were diluted with micro-cellulose to 1 kg; ⁷The gross energy of feed was determined using oxygen bomb calorimetry (SDC311 calorimeter, Sunde Science and Technology Co., Ltd., Hunan); ⁸The measured value of vitamin A content in feed

菌注射器将血液从围心腔抽出, 储存在1.5 mL的离心管中, 4℃下静置4h后离心(14400×g, 4℃, 30min), 吸取上清于-80℃保存, 用于血清生化指标检测。接着这8尾虾按照顺序采集肝胰腺、肠道和肌肉等组织, 分别如下处理: 解剖实验虾, 分离肝胰腺组织并准确称重用于计算肝体比, 随后分别置于-20℃和-80℃保存, 用于消化酶活性、抗氧化酶活测定和基因定量分析; 分离肠道组织, 置于-20℃保存, 用于消化酶活性测定; 取肝胰腺、肠道固定在4%多聚甲醛中, 用于制备苏木精-伊红(HE)染色切片; 分离肌肉组织并准确称重用于计算腹部含肉率, 随后置于-20℃冰箱保存, 用于肌肉基本营养成分的测定。剩余虾按照以上方法取出肝胰腺、肠道、肌肉和虾壳组织, 置于-80℃冰箱保存备用。

1.4 指标测定

生长性能评价指标计算公式

增重率(Weight gain rate, WGR, %)=($W_t - W_0$)/ $W_0 \times 100$

存活率(Survival rate, SR, %)= $N_t/N_0 \times 100$

特定生长率(Specific growth rate, SGR, %/d)=($\ln W_t - \ln W_0$)/ $t \times 100$

摄食量(Food intake, FI, g/shrimp)= W_f/N_t

饲料系数(Feed conversion ratio, FCR)= $W_f/(W_t - W_0 N_0 + W_d)$

肝体比(Hepatosomatic index, HSI)= $W_h/W_t \times 100$

腹部含肉率(Abdomen content, AC, %)= $W_m/W_t \times 100$

式中, W_t 为终末体质量(g); W_0 为初始体质量(g); N_t 为终末尾数; N_0 为初始尾数; t 为实验天数(d); W_f 为饲料摄入量(g); W_d 为死亡总重(g); W_h 为肝胰腺重(g); W_m 为虾尾部肌肉重(g)。

基本成分的测定 饲料水分含量采用105℃恒温干燥失重法(GB/T 5009.3-2016)测定, 冷冻干燥法(真空冷冻干燥机Christ Beta 2-4 LD plus LT, Marin Christ Corporation, Osterode, Germany)测定肌肉和全虾水分, 使用自动凯氏定氮仪(Kjelflex K-360; BUCHI Labortechnik AG, Flawil, Switzerland)测定粗蛋白含量, 索氏抽提法测定粗脂肪, 马弗炉灼烧称重法(550℃)测定灰分。

血清生化指标的测定 血清生化指标检测试剂均购自Sysmex公司(日本), 使用希森美康全自动生化分析仪(BX-3010, Sysmex Corporation, 日本)测定。采用双缩脲法测定总蛋白(TP)含量, 己糖激酶法二聚脲法测定血清葡萄糖(GLU)含量, CHOD-PAP法测定总胆固醇(T-CHO)含量, GK-GPO-

POD法测定甘油三酯(TG)含量, LDH-UV法测定谷草转氨酶(AST)活性, MDH-UV法测定谷丙转氨酶(ALT)活性, 以及NPP-AMP法测定碱性磷酸酶(ALP)活性。

肝胰腺及肠道消化酶活性的测定 总蛋白(TP)含量采用BCA法测定(A045-4), 胰蛋白酶活性采用福林酚试剂法测定, 脂肪酶(LPS)活性采用甲基试卤灵底物法测定(A054-2-1), 淀粉酶(AMS)活性采用碘显色法测定(C016-1-1)。所用试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

肝胰腺和肠道组织切片 取肝胰腺和中肠组织样本, 用多聚甲醛固定液常温浸泡24h后, 储存于70%乙醇中。经乙醇梯度脱水、石蜡包埋、切片(Longer Pump YZ II 25, 5 μm)、苏木精-伊红染色、中性树胶封片后, 利用光学显微镜(OLYMPUS DP73, 日本)观察组织学特征并拍照。运用图像分析系统(Image Pro Plus 6.0)测量肠道绒毛长度和宽度, 并统计计算肝胰腺B细胞和R细胞发生率。

肝胰腺抗氧化酶活性的测定 采用南京建成生物工程研究所试剂盒进行抗氧化指标的测定。总蛋白(TP)含量采用BCA法测定(A045-4), 丙二醛(MDA)含量采用TBA法测定(A003-1), 总抗氧化力(T-AOC)采用比色法测定(A015-2-1), 过氧化氢酶(CAT)活性采用钼酸铵法测定(A007-1-1), 超氧化物歧化酶(SOD)活性采用WST-1法测定(A001-3)。

基因表达水平测定 将-80℃保存的肝胰腺样品迅速转移至加有1 mL RNA提取液TRIzol试剂(Life Technologies, Carlsbad, CA, USA)的离心管中, 匀浆后进行RNA的提取。提取的RNA经1%琼脂糖凝胶电泳验证其完整性, 并通过测定260和280 nm处吸光度(A_{260}/A_{280})评估纯度与浓度, A_{260}/A_{280} 比值介于1.8—2.0的样品视为纯度合格, 可用于后续反转录。使用PrimeScript® RT试剂盒将纯化的RNA反转录为cDNA。随后, 依据SYBR® Premix Ex Taq™试剂盒说明书, 在Light Cycler 480 II实时荧光定量PCR仪上进行目的基因扩增。PCR扩增条件: 95℃预变性5min; 随后进行40个循环, 每循环包括95℃变性10s、60℃退火30s; 升温/降温速率均为1.6℃/s。本实验选用18S rRNA作为内参基因, 所有引物(表2)由生工生物工程股份有限公司(上海, 中国)合成。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目标基因(几丁质酶 *Chitinase*、蜕皮激素受体 *EcR*、维甲酸X受体 *RXR*、蜕皮抑制激素 *MIH*)的相对表达量, 以对照组各目标基因表达水平为基准(设为1), 计算其余各组基因的相对表达量。

1.5 数据处理

实验数据采用 GraphPad Prism 8 (GraphPad software, Inc., La Jolla, CA, USA) 软件进行统计分析。结果均以平均值±标准差(mean±SD)表示。数据先采用 Shapiro-Wilk 和 Levene's equal variance tests 进行正态分布检验和方差齐性分析, 随后采用单因

素方差分析(One-way ANOVA), Tukey氏均值多重比较法进行差异显著性检验。此外采用正交多项式比对的方法分析数据的变化趋势, 计算并判断调整后的 R^2 , 以确定实验结果是否符合线性和二阶多项式变化趋势。 $P<0.05$ 时表示差异显著。柱状图使用 GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA) 绘制, 回归分析图采用 Origin 2019 (OriginLab Company, Massachusetts, USA) 绘制。

2 结果

2.1 饲料维生素A水平对克氏原螯虾生长性能的影响

与对照组(A1)相比, A4和A5组的克氏原螯虾 FBW、WGR和SGR均显著升高($P<0.05$), 且均在 A4组达到最大值; 而FCR和HSI则显著降低($P<0.05$), 并在A4组降至最低。饲料中维生素A水平对 AC无显著影响($P>0.05$; 表3)。分别以WGR、SGR和FCR为因变量, 对饲料维生素A水平进行折线回归分析, 得出克氏原螯虾对维生素A的最适需求量分别为39288、37976和43443 IU/kg (图1)。

2.2 饲料维生素A水平对克氏原螯虾全虾及腹部肌肉基本成分的影响

随饲料维生素A水平升高, 克氏原螯虾全虾的粗蛋白含量及腹部肌肉的粗蛋白和粗脂肪含量呈显著二阶多项式变化趋势($P<0.05$), 全虾和腹部肌肉的粗蛋白含量在A4组有最大值, 腹部肌肉的粗脂肪含量在A4组有最小值; 饲料维生素A水平对克氏原螯虾全虾和腹部肌肉的水分和灰分及全虾的粗脂肪含量无显著影响($P>0.05$; 表4)。

表2 荧光定量引物序列及其扩增条件

Tab. 2 Nucleotide sequences of primers and cycling conditions used for PCR amplification

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5'—3')	长度 Length (bp)	熔解温度 T_m (°C)	序列号 Accession No.
蜕皮调控因子 Molting regulatory factor				
<i>EcR</i>	GCTCGGACGCAG AGATTCAA GAAAGTTTTCGC CGCCGATG	165	57.8	KX673814.1
<i>MIH</i>	CTCCCAAGATCA CAGCGTCA CAGTTCAAGGTC GAGTCCCA	214	57.2	MK820025.1
<i>RXR</i>	CACAAGTTTCCA GCCCAAGC GCTTGGCCCATTC TACCAGT	118	57.7	JX003647.1
<i>Chitinase</i>	TTTGACTCGGTG GGTGCT TGTATGGTCCAG GCTTTCC	385	55.8	JQ964138.1
内参基因 Reference gene				
18S rRNA	TCCGCATCACAC TCACGT TGGAACCTCTC CACAGG	165	55.9	KR135172

注: 蜕皮调控因子: 蜕皮激素受体(*EcR*)、蜕皮抑制激素(*MIH*)、维甲酸X受体(*RXR*)、几丁质酶(*Chitinase*)

Note: Molting regulatory factor: ecdysone receptor (*EcR*), molt-inhibiting hormone (*MIH*), retinoid X receptor (*RXR*), and Chitinase (*Chitinase*)

表3 饲料维生素A水平对克氏原螯虾生长性能的影响

Tab. 3 Effect of dietary vitamin A levels on growth performance of *Procambarus clarkii*

参数 Parameter	组别 Group						ANOVA	L		Q	
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	P value	Adj. R^2	P value	Adj. R^2	P value
初始体重 IBW (g)	3.40±0.00	3.40±0.01	3.40±0.00	3.40±0.01	3.40±0.01	3.39±0.00	0.573	0.040	0.209	0.124	0.145
终末体重 FBW (g)	14.06±0.24 ^a	15.08±0.61 ^{ab}	15.45±0.28 ^{ab}	16.76±0.57 ^b	16.41±1.28 ^b	15.73±0.45 ^{ab}	0.004	0.199	0.036	0.640	<0.001
存活率 SR (%)	97.67±2.08	98.00±2.00	98.33±2.08	98.67±2.31	100.00±0.00	100.00±0.00	0.454	0.222	0.028	0.183	0.086
增重率 WGR (%)	313.83±6.97 ^a	343.44±7.32 ^b	354.00±8.17 ^{bc}	392.93±6.38 ^d	382.86±4.28 ^d	363.62±5.98 ^c	<0.001	0.299	0.011	0.886	<0.001
特定生长率 SGR (%/d)	2.54±0.03 ^a	2.66±0.07 ^b	2.70±0.03 ^b	2.84±0.05 ^c	2.82±0.03 ^c	2.74±0.01 ^{bc}	<0.001	0.305	0.010	0.852	<0.001
饲料系数 FCR	1.38±0.03 ^d	1.35±0.04 ^d	1.25±0.02 ^c	1.10±0.01 ^a	1.14±0.02 ^{ab}	1.20±0.01 ^{bc}	<0.001	0.383	0.004	0.842	<0.001
肝体比 HSI	8.96±0.14 ^c	8.04±0.20 ^a	8.60±0.12 ^{bc}	7.93±0.11 ^a	8.14±0.19 ^a	8.29±0.19 ^{ab}	<0.001	0.088	0.124	0.382	0.011
腹部含肉率 AC (%)	14.46±0.37	14.17±1.95	15.39±1.28	14.82±0.25	14.05±1.25	14.12±0.86	0.819	-0.035	0.522	-0.088	0.734

注: 同行数据中上标字母不同表示差异显著($P<0.05$); L 代表线性趋势; Adj. R^2 代表矫正后的 R^2 ; Q 代表二次多项式趋势; 下同

Notes: Values with different superscripts in the same row indicate significant differences ($P<0.05$); Data are expressed as mean±SD ($n=3$). L. linear trend; Adj. R^2 . adjusted R square; Q. second order polynomial trend; the same applies below

2.3 饲料维生素A水平对克氏原螯虾血清生化指标的影响

随饲料维生素A水平升高, 血清TP含量、ALP活性及GLU含量均呈现先升高后降低的趋势, TP含量在A4组时达到最大值, 而ALP活性、GLU含量则在A3组时有最大值; 血清AST和ALT活性随饲料维生素A水平呈先降低后升高的趋势, 均在A4组时有最小值; 饲料维生素A水平对克氏原螯虾血清TG和T-CHO含量无显著影响($P>0.05$; 表5)。

2.4 饲料维生素A水平对克氏原螯虾肝胰腺和肠道消化酶活性的影响

随饲料维生素A水平升高, 克氏原螯虾肝胰腺和肠道胰蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性均呈显著二阶多项式变化趋势($P<0.05$), 肝胰腺胰蛋白酶和脂肪酶活性在A4组有最大值, 淀粉酶活性在A3组时有最大值; 肠道胰蛋白酶活性在A4组有最大值, 脂肪酶活性在A5组时有最大值, 在A6组有最小值, 淀粉酶活性在A2组有最大值($P<0.05$; 表6)。

2.5 饲料维生素A水平对克氏原螯虾非特异性免疫的影响

随饲料维生素A水平升高, 肝胰腺的T-AOC、SOD和CAT活性及MDA含量均呈显著二阶多项式变化趋势($P<0.05$), T-AOC、SOD和CAT活性在A4组时达到最大值, MDA含量则在A3组时有最小值(表7)。

2.6 饲料维生素A水平对克氏原螯虾肝胰腺和肠道组织形态的影响

饲料维生素A水平影响了克氏原螯虾肝胰腺组织结构(图2)。当饲料维生素A水平偏低(A2组)或过高(A6组)时, 肝小体排列相对疏松且有一定程度的萎缩; 与对照组相比, 在A3和A5组时, 克氏原螯虾肝胰腺组织切片中肝小体完整紧密, 星形管腔规则化。饲料维生素A水平显著增加了克氏原螯虾肝胰腺中B细胞和R细胞的数量($P<0.05$), 分别在A3和A5组时有最大值($P<0.05$), 且均在A6组时有最小值(图3)。在A3和A4组时克氏原螯虾肠道绒毛形状

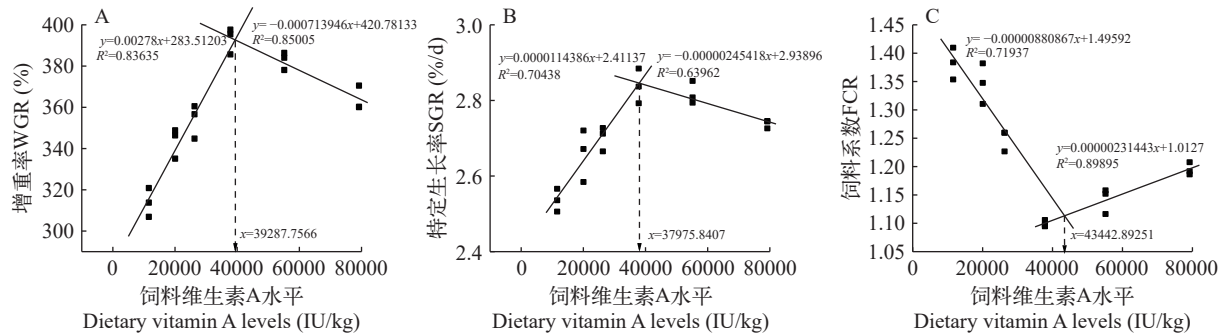


图1 克氏原螯虾增重率(A)、特定生长率(B)、饲料系数(C)与饲料维生素A水平的折线模型分析

Fig. 1 Broken-line model analysis of weight gain rate (A), specific growth rate (B), feed conversion ratio (C), and dietary vitamin A levels in *Procambarus clarkii*

表4 饲料维生素A水平对克氏原螯虾全虾及腹部肌肉基本成分的影响(g/kg, 湿重)

Tab. 4 Effect of dietary vitamin A levels on whole crayfish and abdominal muscle composition of *Procambarus clarkii* (g/kg, wet mass)

参数Parameter	组别Groups						ANOVA	L		Q	
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	P value	Adj. R ²	P value	Adj. R ²	P value
全虾Whole body											
水分Moisture	720.68±7.65	734.85±8.30	733.67±3.40	722.68±6.12	737.42±15.56	734.21±6.50	0.161	0.043	0.203	−0.002	0.397
粗蛋白Crude protein	134.53±3.59 ^a	131.70±3.24 ^a	132.76±2.26 ^a	147.95±5.43 ^b	128.03±7.11 ^a	123.90±2.36 ^a	<0.001	0.125	0.083	0.274	0.036
粗脂肪Crude lipid	31.15±1.94	31.61±1.66	31.93±2.50	32.16±2.51	30.75±1.27	29.06±2.22	0.514	0.114	0.094	0.158	0.107
灰分Ash	47.20±1.42	47.16±2.53	46.84±0.99	47.12±1.39	45.00±2.01	43.41±1.45	0.085	0.430	0.002	0.422	0.006
腹部肌肉Abdominal muscle											
水分Moisture	788.77±4.74	791.60±2.22	787.55±2.48	788.90±2.41	785.81±2.32	787.98±3.21	0.368	0.025	0.249	−0.006	0.408
粗蛋白Crude protein	172.23±3.97 ^a	184.99±8.35 ^{ab}	191.30±4.02 ^b	199.17±2.28 ^b	192.35±6.05 ^b	188.81±4.65 ^b	0.178	0.124	0.083	0.624	<0.001
粗脂肪Crude lipid	4.43±0.32 ^c	4.08±0.07 ^{bc}	3.55±0.24 ^{ab}	3.39±0.25 ^a	3.47±0.21 ^{ab}	3.44±0.16 ^a	<0.001	0.401	0.003	0.679	<0.001
灰分Ash	13.75±0.13	13.56±0.12	14.05±0.27	14.04±0.90	13.59±0.95	13.55±0.47	0.784	−0.037	0.543	−0.068	0.641

更加规则, 绒毛排列和结缔组织致密性更好(图 4)。对克氏原螯虾肠道绒毛长度和宽度量化分析发现, 饲料维生素A水平对肠道绒毛长度和宽度有显著影响, 随饲料维生素A水平升高, 肠道绒毛长度和宽度呈现先升高再降低的趋势, 且在A4组时有最大值($P<0.05$; 图 5)。

2.7 饲料维生素A水平对克氏原螯虾蜕皮调控因子的影响

随饲料维生素A水平增加, 克氏原螯虾肝胰腺

EcR、*RXR*、*MIH*和*Chitinase*基因相对表达水平均呈显著二阶多项式变化趋势($P<0.05$), *EcR*、*RXR*和*Chitinase*基因相对表达水平且在A4组时有最大值, *MIH*基因相对表达水平在A4组时有最小值。与对照组相比, 随饲料维生素A水平的升高, *Chitinase*和*RXR*基因相对表达水平均显著上调($P<0.05$); *EcR*基因相对表达水平在A3、A4和A5组显著提升, 且在A6组有最小值; *MIH*基因相对表达水平除A6外, 其他组与对照组相比均显著降低($P<0.05$; 图 6)。

表 5 饲料维生素A水平对克氏原螯虾血清生化指标的影响

Tab. 5 Effect of dietary vitamin A levels on serum biochemical indexes of *Procambarus clarkii*

参数 Parameter	组别Group						ANOVA	L		Q	
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	P value	Adj. R ²	P value	Adj. R ²	P value
总蛋白TP (g/L)	49.84±3.84 ^a	49.62±2.07 ^a	69.18±1.78 ^c	70.73±5.96 ^c	63.21±1.86 ^{bc}	55.31±4.83 ^{ab}	<0.001	-0.033	0.510	0.534	0.001
谷草转氨酶AST (U/L)	11.67±0.58 ^b	7.33±0.58 ^a	7.33±0.58 ^a	6.67±0.58 ^a	7.33±0.58 ^a	11.33±0.58 ^b	<0.001	-0.034	0.514	0.808	<0.001
谷丙转氨酶ALT (U/L)	37.33±1.15 ^c	23.67±1.53 ^b	22.33±1.53 ^b	14.33±1.15 ^a	20.33±1.53 ^b	46.33±2.31 ^d	<0.001	0.065	0.158	0.964	<0.001
碱性磷酸酶ALP (U/L)	2.33±0.58 ^a	3.33±0.58 ^{ab}	4.33±0.58 ^b	3.67±0.58 ^{ab}	2.67±0.58 ^a	2.67±0.58 ^a	0.010	-0.016	0.406	0.144	0.122
甘油三酯TG (mmol/L)	0.63±0.05	0.56±0.03	0.62±0.06	0.60±0.01	0.62±0.02	0.64±0.02	0.116	0.055	0.177	0.026	0.320
总胆固醇T-CHO (mmol/L)	1.08±0.02	1.09±0.02	1.11±0.02	1.11±0.01	1.10±0.02	1.08±0.02	0.067	-0.054	0.727	0.269	0.037
葡萄糖GLU (mmol/L)	1.84±0.03 ^b	1.71±0.06 ^{ab}	2.21±0.18 ^c	1.90±0.05 ^b	1.53±0.02 ^a	2.21±0.05 ^c	<0.001	-0.009	0.370	0.060	0.246

表 6 饲料维生素A水平对克氏原螯虾肝胰腺及肠道消化酶活性的影响

Tab. 6 Effects of dietary vitamin A levels on the activities of digestive enzymes in hepatopancreas and intestines of *Procambarus clarkii*

参数 Parameter	组别Group						ANOVA	L		Q		
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	P value	Adj. R ²	P value	Adj. R ²	P value	
肝胰腺Hepatopancreas												
胰蛋白酶Trypsin (U/mg prot)	1854.29±24.41 ^a	1955.56±42.82 ^a	2327.32±81.16 ^b	2945.61±135.57 ^c	2506.11±73.78 ^b	2460.52±87.70 ^b	<0.001	0.251	0.020	0.672	<0.001	
淀粉酶Amylase (U/mg prot)	1.42±0.10 ^a	1.70±0.06 ^b	2.08±0.11 ^c	1.99±0.07 ^c	1.60±0.07 ^{ab}	1.62±0.05 ^{ab}	<0.001	-0.057	0.770	0.283	0.032	
脂肪酶Lipase (U/g prot)	1.43±0.05 ^a	1.47±0.10 ^a	1.75±0.06 ^b	2.12±0.15 ^c	2.00±0.04 ^c	1.52±0.07 ^{ab}	<0.001	-0.010	0.374	0.796	<0.001	
肠道Intestine												
胰蛋白酶Trypsin (U/mg prot)	993.89±35.26 ^a	1418.17±27.87 ^b	1249.93±28.38 ^b	1634.94±35.68 ^d	1263.17±14.64 ^b	987.99±26.37 ^a	<0.001	-0.011	0.381	0.635	<0.001	
淀粉酶Amylase (U/mg prot)	0.82±0.02 ^{ab}	1.06±0.09 ^b	0.98±0.17 ^b	0.95±0.12 ^b	0.82±0.08 ^{ab}	0.65±0.04 ^a	0.004	0.351	0.006	0.515	0.002	
脂肪酶Lipase (U/g prot)	0.40±0.01 ^b	0.43±0.01 ^c	0.45±0.01 ^{cd}	0.45±0.00 ^d	0.48±0.00 ^e	0.37±0.00 ^a	<0.001	-0.030	0.489	0.871	<0.001	

表 7 饲料维生素A水平对克氏原螯虾非特异性免疫的影响

Tab. 7 Effect of dietary vitamin A levels on non-specific immunity of *Procambarus clarkii*

参数 Parameter	组别Group						ANOVA	L		Q	
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	P value	Adj. R ²	P value	Adj. R ²	P value
总抗氧化能力T-AOC (U/mg prot)	0.27±0.01 ^{ab}	0.27±0.00 ^{ab}	0.28±0.01 ^{ab}	0.28±0.01 ^b	0.27±0.01 ^{ab}	0.26±0.00 ^a	0.036	0.137	0.072	0.430	0.006
超氧化物歧化酶SOD (U/mg prot)	75.43±2.67 ^{ab}	76.09±2.36 ^{ab}	82.60±2.84 ^{bc}	105.56±4.01 ^d	90.04±2.08 ^c	72.18±4.47 ^a	<0.001	−0.062	0.997	0.645	<0.001
过氧化氢酶CAT (U/mg prot)	3.71±0.28 ^{ab}	4.08±0.42 ^{bc}	4.43±0.16 ^c	4.48±0.16 ^c	4.46±0.07 ^c	3.37±0.26 ^a	<0.001	0.012	0.289	0.767	<0.001
丙二醛MDA (nmol/mg prot)	1.53±0.16 ^b	1.33±0.19 ^{ab}	0.92±0.18 ^a	1.37±0.04 ^{ab}	1.46±0.29 ^b	1.71±0.15 ^b	0.004	0.147	0.065	0.295	0.028

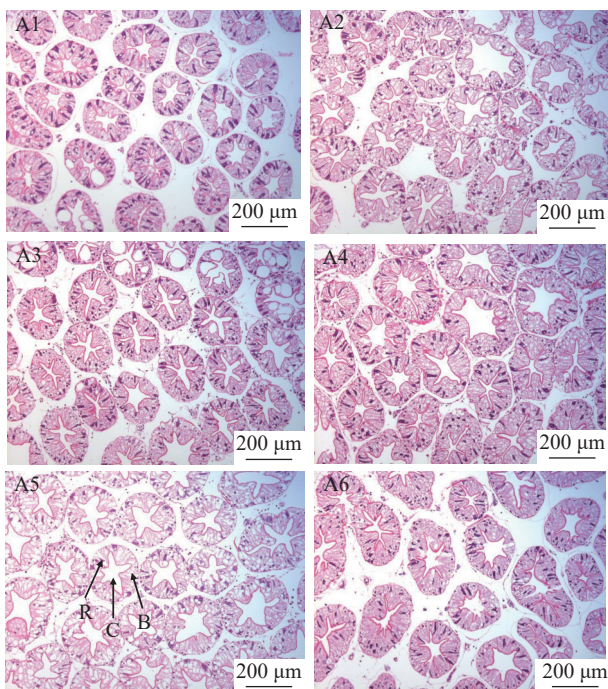


图2 饲料维生素A水平对克氏原螯虾肝胰腺组织形态的影响
Fig. 2 Effect of dietary vitamin A levels on the histomorphology of hepatopancreas of *Procambarus clarkii*

B. B细胞(分泌); R. R细胞(吸收); C. 星形管腔; 放大倍数100× (200 μm)

B. B-cells (secreting); R. R-cells (absorbing); C. stellate lumen. The magnification is 100×; Scale bar=200 μm

3 讨论

3.1 饲料维生素A水平对克氏原螯虾生长性能的影响

本研究表明饲料适宜维生素A水平可以促进克氏原螯虾的生长性能, 并显著改善饲料利用率。通过折线回归模型分析WGR、SGR和FCR与饲料维生素A水平的关系, 分别确定最适添加水平为39288、37976和43443 IU/kg。该结果和黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)33705—40316 IU/kg^[22]的最适宜水平较为接近, 但高于美国红鱼(*Sciaenops ocellatus*)8533 IU/kg^[3], 而低于中华绒螯蟹69740—70770 IU/kg^[15]。不同物种或发育阶段间维生素A需求量的显著差异, 可能归因于物种特异性、实验动物初始规格、维生素A效价、基础饲料组成及养殖环境条件等多种因素的综合影响。此外, 饲料中缺乏或过高的维生素A会对水产动物的生长有负面作用。在本研究中, WGR、SGR和FCR均呈现显著的二次曲线响应关系, 明确指示维生素A水平低于或超出适宜范围均会导致克氏原螯虾生长发育迟缓和饲料利用率下降。在黄颡鱼的研究中发现当维生素A水平高于23720 IU/kg时, 其生长受到了抑制。在甲壳类

动物研究中, 凡纳滨对虾生长前期, 过高维生素A添加导致增重率降低^[13], 中华绒螯蟹维生素A缺乏组生长表现显著低于适宜添加组^[15]。

进一步探究维生素A对克氏原螯虾生长的调控作用机制发现, 饲料适宜维生素A水平显著下调了克氏原螯虾肝胰腺中蜕壳抑制基因(*MIH*)相对表达水平, 上调了肝胰腺中促进蜕壳基因(*EcR*、*RXR*和*Chitinase*)的相对表达水平。这表明维生素A可能通过激活几丁质酶和蜕皮激素受体系统促进蜕壳进程, 进而影响克氏原螯虾的蜕壳行为, 最终促进

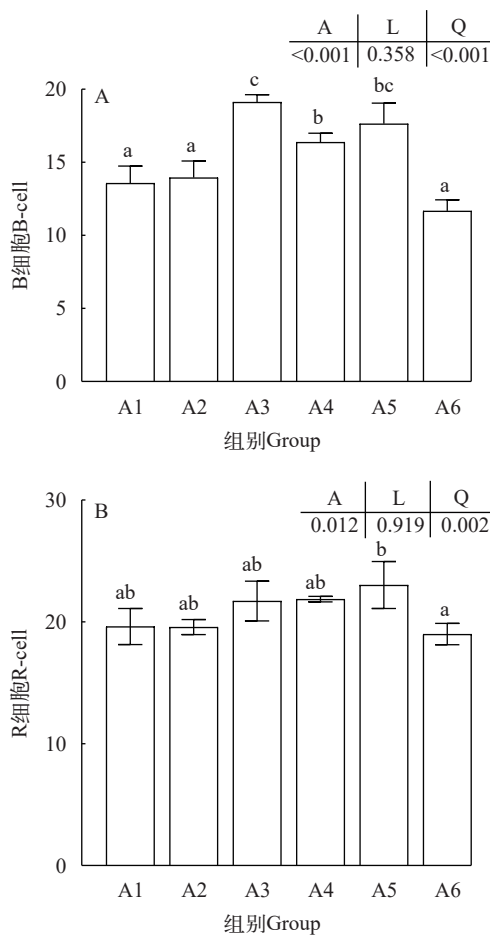


图3 克氏原螯虾肝胰腺B细胞(A)和R细胞(B)的发生率(数量/小管)。

Fig. 3 B-cell (A) and R-cell (B) prevalence (number/tubule) from the hepatopancreas of *Procambarus clarkii*

数据表示为平均值±标准差($n=3$); 柱形图上方不同小写字母代表具有显著差异($P<0.05$); A表示单因素方差分析 P 值, L表示线性趋势 P 值, Q表示二次趋势 P 值; 下同

Data are expressed as mean±SD ($n=3$). Different lowercase letters above the vertical bars represent significant differences ($P<0.05$); A, P value of the variance analyzed by One-way ANOVA; L, P value of linear trend analyzed by orthogonal polynomial contrasts; Q, P value of quadratic trend analyzed by orthogonal polynomial contrasts; The same applies below

其生长。然而, 维生素A在甲壳动物蜕壳过程中的具体作用分子机制迄今尚未明确, 亟需未来研究深入阐明其调控通路。

3.2 饲料维生素A对克氏原螯虾基本营养成分的影响

饲料维生素A水平对水产动物体成分的影响还未有一致的结果。有报道表明, 维生素A可能与饲料中的蛋白质或氨基酸相互作用, 通过影响皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)幼鲍对饲料蛋白质的吸收和利用, 引起幼鲍基本成分的变化^[23]。蒋明等^[24]发现, 饲料中维生素A的水平对草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)幼鱼的体成分无显著性影响。本实验结

果表明, 饲料维生素A水平对克氏原螯虾全虾水分、粗脂肪、灰分以及腹部肌肉的水分、灰分没有显著性影响, 当饲料维生素A水平为37818 IU/kg时显著增加了全虾和腹部肌肉的粗蛋白含量, 并显著降低了腹部肌肉的粗脂肪含量, 这与大黄鱼(*Pseudosciaena crocea* R.)的研究结果^[25]及Mohamed等^[26]对褐石斑鱼(*Epinephelus tauvina*)幼鱼的报道

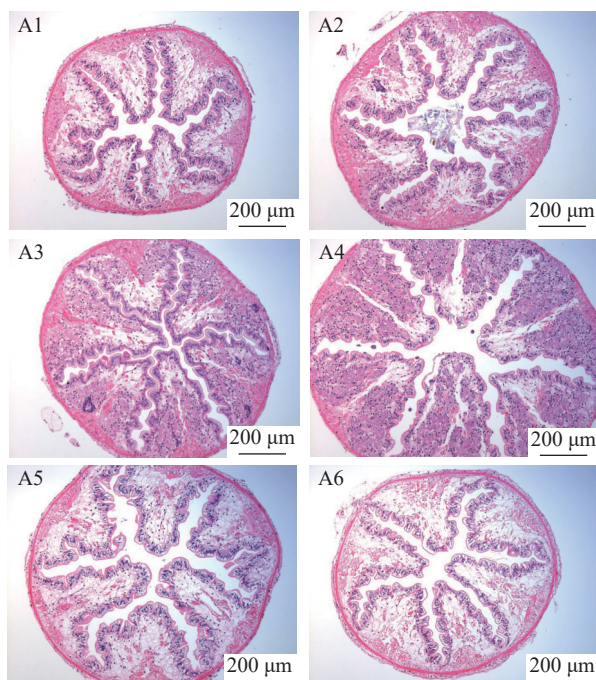


图4 饲料维生素A水平对克氏原螯虾肠道组织形态的影响

Fig. 4 Effects of dietary vitamin A levels on the histomorphology of intestinal of *Procambarus clarkii*

放大倍数100× (200 μm)

The magnification is 100×; Scale bar=200 μm

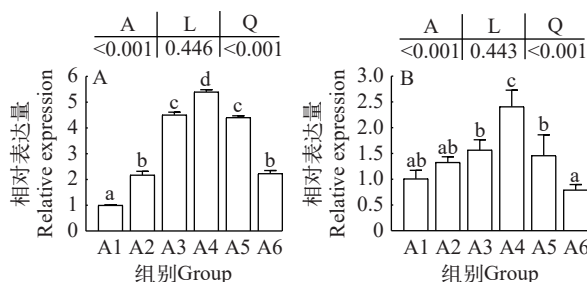


图6 饲料维生素A水平对克氏原螯虾蜕皮发生调控因子的影响

Fig. 6 Effect of dietary vitamin A levels on the regulatory factors of molting in hepatopancreas of red swamp crayfish

A. 几丁质酶基因, *Chitinase*; B. 蜕皮激素受体基因, *EcR*; C. 维甲类X受体基因, *RXR*; D. 蜕皮抑制激素基因, *MIH*
A. *Chitinase*, *Chitinase*; B. ecdysone receptor, *EcR*; C. retinoid x receptor, *RXR*; D. Molting inhibition hormone, *MIH*

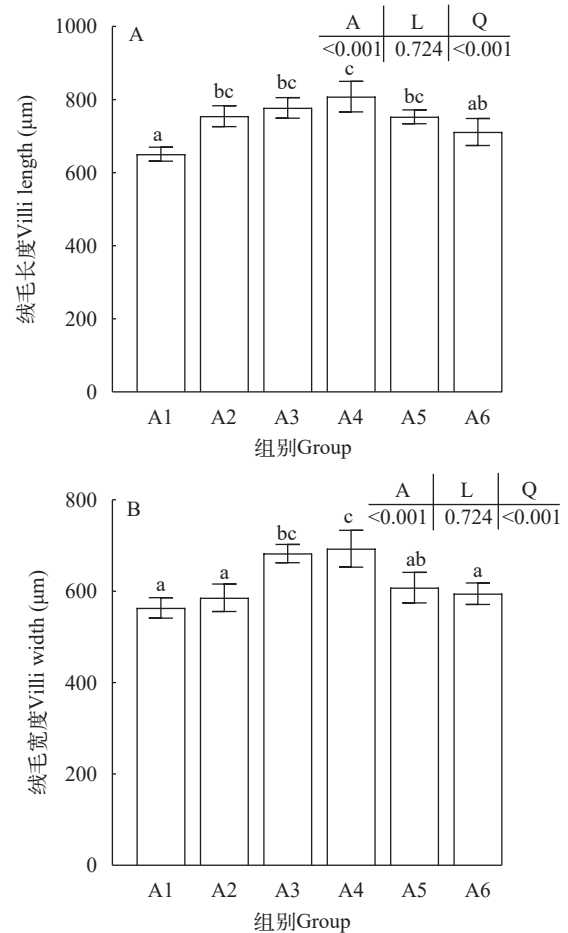


图5 饲料维生素A水平对克氏原螯虾肠绒毛长度(A)和宽度(B)的影响

Fig. 5 Effects of dietary vitamin A levels on the length (A) and width (B) of intestinal villi of *Procambarus clarkii*

相似。此外, 蒋国文等^[27]报道, 维生素A显著影响肉仔鸡肝脏功能, 使血清总蛋白浓度显著增加; 王雪等^[28]发现, 视黄酸能提高成熟脂肪细胞脂质代谢, 降低脂肪细胞的体积; 还可通过调节脂类代谢相关基因的表达影响脂类代谢过程。结合本研究的实验结果, 推测维生素A可能有促进蛋白质沉积, 降低脂肪沉积的作用。但饲料中维生素A水平对水产动物基本营养成分的影响机制目前尚未深入研究。

3.3 饲料维生素A水平对克氏原螯虾营养消化吸收功能的影响

动物的生长与其消化吸收能力密切相关, 而消化器官的正常组织发育是发挥消化功能的基础^[29]。在克氏原螯虾中, 消化吸收过程主要由肝胰腺和肠道共同完成, 其中肝胰腺发挥着主导作用。它不仅负责食物的消化与吸收, 还参与营养物质的储存和代谢废物的排泄^[30]。肝胰腺的功能发挥主要依赖于肝小体内的B细胞和R细胞, 其数量和体积的增加通常与营养物质代谢吸收能力的增强相关联^[31]。本实验结果表明, 饲料中维生素A水平显著影响克氏原螯虾肝胰腺的组织结构。当饲料维生素A水平为37818 IU/kg时, 肝小体分布均匀, 排列紧密, 结构规则完整。当饲料维生素A水平为26274和55159 IU/kg时, 肝胰腺中B细胞和R细胞的数量及发生率显著提高。相比之下, 对照组(11573 IU/kg)和过量添加组(79200 IU/kg)则导致肝小体排列疏松、出现不同程度萎缩, 管腔呈现不规则星形。这些形态学变化表明, 适宜的维生素A水平有助于促进克氏原螯虾肝胰腺组织发育, 进而支持其消化吸收功能。此外, 研究指出甲壳动物肠道中段上皮细胞游离面具有高度特化的绒毛结构, 利于营养物质的储存和运输^[32]。本实验的量化分析进一步发现, 适宜的维生素A水平增加了肠道绒毛的长度和宽度。发达的微绒毛结构增加了肠道的吸收表面积, 说明适宜的维生素A有利于增强克氏原螯虾肠道对营养物质的消化吸收能力。

动物体内酶的消化活性反映了其对营养物质的消化^[33]。本实验中添加维生素A可以显著提高克氏原螯虾肝胰腺和肠道中胰蛋白酶活性, 这与幼建鲤(*Cyprinus carpio* Var. Jian)的研究结果一致^[34]。脂肪酶是催化酰基甘油水解的一类酶, 本实验中, 当饲料维生素A水平为37818和55159 IU/kg时克氏原螯虾肝胰腺和肠道脂肪酶活性有最大值, 说明饲料适宜维生素A水平通过提高克氏原螯虾肝胰腺和肠道脂肪酶活性增强消化能力, 进而促进克氏原螯虾生长。在本实验中当饲料维生素A水平为26274 IU/kg时, 肝胰腺淀粉酶活性有最大值, 肠道淀粉酶活

性除过量添加组(79200 IU/kg)外, 与对照组相比均有所提高, 说明肠道中淀粉酶的分泌可能受到饲料中适宜水平的维生素A的诱导作用。在相关研究中也得到了相似结果, 如饲料维生素A水平为5238 IU/kg时可以改善鲈(*Morone chrysops* × *M. saxatilis*)的肠道形态结构^[35]、适宜维生素A (4010—6510 IU/kg)可以促进黄鳝(*Monopterus albus*)的胰蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶活性, 而过高的维生素A添加量则会抑制消化酶活性^[36]。

上述结果表明, 饲料适宜的维生素A水平能够维持克氏原螯虾消化器官组织结构完整, 增加肝胰腺以及肠道消化酶活性, 提高其对营养物质的消化吸收能力, 进而提高生长性能。

3.4 饲料维生素A水平对克氏原螯虾非特异性免疫能力的影响

克氏原螯虾依赖先天免疫(非特异性免疫)抵御病原侵袭, 其相关免疫酶活性可作为评估个体抗病力的有效指标。其中, ALP是溶酶体中主要的水解酶, 在甲壳动物免疫反应中发挥重要作用^[37, 38]。在本研究中, 当饲料维生素A水平为26274 IU/kg时显著增加了血清中ALP活性, 揭示适宜的饲料维生素A水平可有效促进磷酸酯水解, 增强ALP介导的免疫防御功能。MDA是机体发生氧化应激后的产物, 其含量可反映自由基攻击细胞膜脂质并引发损伤的程度^[39]。本研究发现, 当饲料维生素A水平为26274 IU/kg时, 肝胰腺MDA含量显著降低, 而维生素A缺乏(11573 IU/kg)和过量(79200 IU/kg)则肝胰腺MDA含量显著增加, 同时血清中AST和ALT活性也在维生素A缺乏和过量时显著升高, 这表明当饲料中维生素A缺乏和过高均可诱导克氏原螯虾肝胰腺组织发生显著的氧化应激损伤, 产生细胞毒性效应, 并最终削弱机体的免疫机能。

T-AOC是评估体内抗氧化酶系统及非酶系统能力总和大小的指标, 而SOD和CAT是生物体内最主要的抗氧化酶。SOD催化 O_2^- 自由基生成 H_2O_2 和分子氧 O_2 , CAT进一步催化 H_2O_2 产生水和氧气^[40]。在本研究中, 当饲料维生素A水平为37818 IU/kg时显著增加了克氏原螯虾肝胰腺中T-AOC、SOD及CAT活性, 说明该饲料维生素A水平能有效提升其整体抗氧化防御能力。这与银鲫(*Carassius auratus gibelio* var. CAS III)^[41]、中华绒螯蟹^[15]等的研究有相似结果。综上, 本研究结果表明, 饲料中适宜水平的维生素A可通过有效缓解氧化应激诱导的组织损伤、显著增强机体抗氧化能力(如提升T-AOC、SOD、CAT活性并降低MDA积累), 进而正向调控克氏原螯虾的先天免疫应答(如提升ALP活性), 最

终强化其抗病力。

4 结论

饲料中补充适宜水平的维生素A可显著促进克氏原螯虾的生长。主要是通过提高肝胰腺及肠道的消化吸收代谢能力,为生长提供物质基础;增强肝胰腺抗氧化能力和非特异性免疫能力,维持机体健康状态;并参与调控蜕壳激素分泌协助蜕壳发生。对增重率、特定生长率和饲料系数进行折线回归分析,克氏原螯虾对饲料维生素A最适需求量为37976—43443 IU/kg。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Al Tanoury Z, Piskunov A, Rochette-Egly C. Vitamin A and retinoid signaling: genomic and nongenomic effects [J]. *Journal of Lipid Research*, 2013, **54**(7): 1761-1775.
- [2] Peng D, Chen X R, Wen H, *et al.* Effects of dietary lipid levels on growth performance, muscle composition, reproductive performance and hemolymph biochemical indices of *Procambarus clarkii* broodstock [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, **43**(10): 2175-2185. [彭迪, 陈效儒, 文华, 等. 饲料脂肪水平对克氏原螯虾亲虾生长性能、肌肉成分、繁殖性能以及血淋巴生化指标的影响 [J]. *水产学报*, 2019, **43**(10): 2175-2185.]
- [3] Zhou L B, Wang A L, Zhang W, *et al.* Effects of dietary vitamin A levels on growth and immune response of red drum (*Sciaenops ocellatus* L.) [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2008, **20**(4): 482-488. [周立斌, 王安利, 张伟, 等. 饲料维生素A对美国红鱼生长和免疫的影响 [J]. *动物营养学报*, 2008, **20**(4): 482-488.]
- [4] Lian X Y, Chen N S, Wang M L, *et al.* Dietary vitamin A requirement of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, **29**(10): 3819-3830. [连雪原, 陈乃松, 王孟乐, 等. 大口黑鲈维生素A需求量 [J]. *动物营养学报*, 2017, **29**(10): 3819-3830.]
- [5] Liang D, Yang Q, Tan B, *et al.* Dietary vitamin A deficiency reduces growth performance, immune function of intestine, and alters tight junction proteins of intestine for juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020(107): 346-356.
- [6] Huang Q C, Kwaku A, Du T, *et al.* Dietary vitamin A requirement of *Sillago sihama* Forskål [J]. *Aquaculture Research*, 2018, **49**(7): 2587-2596.
- [7] Guimarães I G, Lim C, Yildirim-Aksoy M, *et al.* Effects of dietary levels of vitamin A on growth, hematology, immune response and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to *Streptococcus iniae* [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2014(188): 126-136.
- [8] Zhang L, Li J, Tan F F, *et al.* Effects of different dietary vitamin A levels on growth and serum biochemical parameters for Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, **39**(1): 88-96. [张璐, 李静, 谭芳芳, 等. 饲料中不同维生素A含量对花鲈生长和血清生化指标的影响 [J]. *水产学报*, 2015, **39**(1): 88-96.]
- [9] Hilton J W. Hypervitaminosis A in rainbow trout (*Salmo gairdneri*): toxicity signs and maximum tolerable level [J]. *The Journal of Nutrition*, 1983, **113**(9): 1737-1745.
- [10] Saleh G, Eleraky W, Gropp J M. A short note on the effects of vitamin A hypervitaminosis and hypovitaminosis on health and growth of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 1995, **11**(3-4): 382-385.
- [11] Shiau S Y, Chen Y. Estimation of the dietary vitamin A requirement of juvenile grass shrimp, *Penaeus monodon* [J]. *The Journal of Nutrition*, 2000, **130**(1): 90-94.
- [12] Huang Q, Wang X, Bu X, *et al.* Dietary vitamin A affects growth performance, immunity, antioxidant capacity, and lipid metabolism of juvenile Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* [J]. *Aquaculture*, 2022(548): 737556.
- [13] Yang Q H, Zhou Q C, Chi S Y, *et al.* Effects of dietary vitamin A levels on growth, feed utilization, body composition and non-specific immunological responses of juvenile shrimp [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2007, **19**(6): 698-705. [杨奇慧, 周歧存, 迟淑艳, 等. 饲料中维生素A水平对凡纳滨对虾生长、饲料利用、体组成成分及非特异性免疫反应的影响 [J]. *动物营养学报*, 2007, **19**(6): 698-705.]
- [14] Huang Q, Wang X, Bu X, *et al.* Role of vitamin A in the ovary development for female *Eriocheir sinensis* in the gonadal development stage [J]. *Aquaculture*, 2022(560): 738612.
- [15] Sun X J, Wang Y, Chen L Q, *et al.* Optimal requirement of dietary vitamin A for juvenile Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2009, **18**(5): 539-545. [孙新瑾, 王玥, 陈立桥, 等. 中华绒螯蟹幼蟹对饲料中维生素A的适宜需要量 [J]. *上海海洋大学学报*, 2009, **18**(5): 539-545.]
- [16] Shi Z P, Wang A M, Chen K J, *et al.* Research Progress on nutrition and feed of *Procambarus clarkii* [J]. *Journal of Yancheng Institute of Technology (Natural Science Edition)*, 2019, **32**(2): 52-56. [史振鹏, 王爱民, 陈开健, 等. 克氏原螯虾营养与饲料的研究进展 [J]. *盐城工学院学报(自然科学版)*, 2019, **32**(2): 52-56.]
- [17] China crayfish industry development report (2024) [J]. *China Fisheries*, 2024, **584**(7): 14-20. [全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 中国小龙虾产业发展报告 (2024) [J]. *中国水产*, 2024, **584**(7): 14-20.]
- [18] Lu X, Peng D, Chen X, *et al.* Effects of dietary protein levels on growth, muscle composition, digestive enzymes

- activities, hemolymph biochemical indices and ovary development of pre-adult red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) [J]. *Aquaculture Reports*, 2020(18): 100542.
- [19] Xu L, Tian J, Wen H, *et al.* Dietary calcium requirement of red swamp crayfish (*Procambarus clarkia*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2021, **27**(1): 153-162.
- [20] Xu L, Chen X, Wen H, *et al.* Dietary phosphorus requirement of red swamp crayfish (*Procambarus clarkia*) [J]. *Aquaculture Research*, 2022, **53**(4): 1293-1303.
- [21] Yao H, Gao W, Zhang J, *et al.* Effects of dietary histidine on growth, non-specific immune and ovarian development of the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) [J]. *Aquaculture Reports*, 2024(36): 102157.
- [22] Chen X H, Li J, Jiang C G, *et al.* Effects of vitamin A on growth performance and body color of *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. *Feed Research*, 2015, **38**(6): 57-60. [陈学豪, 李剑, 姜才根, 等. 维生素A对黄颡鱼生长性能和体色的影响 [J]. *饲料研究*, 2015, **38**(6): 57-60.]
- [23] Zhou Q C, Mai K S, Tan B P. Effects of vitamin A on growth, survival and carcass composition of juvenile *Haliotis discus Hannai* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2000, **7**(1): 118-120. [周歧存, 麦康森, 谭北平. 维生素A对皱纹盘鲍幼鲍生长、存活及体成分的影响 [J]. *中国水产科学*, 2000, **7**(1): 118-120.]
- [24] Jiang M, Wen H, Wu F, *et al.* Effects of vitamin A on growth performance, body composition and serum transaminase activities in the juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Journal of Northwest A & F University* (Natural Science Edition), 2012, **40**(9): 35-40. [蒋明, 文华, 吴凡, 等. 维生素A对草鱼幼鱼生长、体成分和转氨酶活性的影响 [J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2012, **40**(9): 35-40.]
- [25] Zhang L. *Nutritional physiology of several vitamins and protein sources development for Japanese seabass, Lateolabrax japonicus* C. and large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2006: 69-89. [张璐. 鲈鱼和大黄鱼几种维生素的营养生理研究和蛋白源开发 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2006: 69-89.]
- [26] Shaik Mohamed J, Sivaram V, Christopher Roy T S, *et al.* Dietary vitamin A requirement of juvenile greasy grouper (*Epinephelus tauvina*) [J]. *Aquaculture*, 2003, **219**(1-4): 693-701.
- [27] Jiang G W, Xia Z F, Chang J Y, *et al.* Effect of hypervitaminosis A. K and their interaction on function liver and kidney in AA broilers [J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 1998, **34**(6): 5-7. [蒋国文, 夏兆飞, 常建宇, 等. 大剂量维生素AK及其互作对肝肾功能的影响 [J]. *中国兽医杂志*, 1998, **34**(6): 5-7.]
- [28] Wang X, Yan S M. Regulatory effects of vitamin a on lipid metabolism of animals and its mechanism [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, **29**(5): 1462-1468. [王雪, 闫素梅. 维生素A对动物脂类代谢的调节作用与机制 [J]. *动物营养学报*, 2017, **29**(5): 1462-1468.]
- [29] Caballero M J, Izquierdo M S, Kjorsvik E, *et al.* Morphological aspects of intestinal cells from gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed diets containing different lipid sources [J]. *Aquaculture*, 2003, **225**(1/2/3/4): 325-340.
- [30] Wei K Q, Yang J X. Histological alterations and immune response in the crayfish *Procambarus clarkii* given rVP28-incorporated diets [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2011, **31**(6): 1122-1128.
- [31] De Jong-Moreau L, Brunet M, Casanova J P, *et al.* Comparative structure and ultrastructure of the midgut and hepatopancreas of five species of Mysidacea (Crustacea): functional implications [J]. *Canadian Journal of Zoology*, 2000, **78**(5): 822-834.
- [32] Xu Y, Li Y, Xue M, *et al.* Effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* YFI-SC2 on the growth performance, intestinal morphology, immune parameters, intestinal microbiota, and disease resistance of crayfish (*Procambarus clarkia*) [J]. *Animals*, 2021, **11**(7): 1963.
- [33] Li B S, Wang L L, Wang J Y, *et al.* Optimum dietary vitamin A requirement of the juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2023, **47**(8): 126-134. [李宝山, 王丽丽, 王际英, 等. 仿刺参幼参对维生素A最适需求量 [J]. *水产学报*, 2023, **47**(8): 126-134.]
- [34] Feng R Y. Effects of dietary vitamin a on digestive and immune function of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* Var. Jian) [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2006: 45-47. [冯仁勇. 维生素A对幼建鲤消化能力和免疫功能的影响 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2006: 45-47.]
- [35] Hemre G I, Deng D F, Wilson R P, *et al.* Vitamin A metabolism and early biological responses in juvenile sunshine bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) fed graded levels of vitamin A [J]. *Aquaculture*, 2004, **235**(1-4): 645-658.
- [36] Hu Z H, Zhang W P, Zhou Q B, *et al.* Effects of dietary vitamin a level on growth performance, serum biochemical indices and tissue digestive enzyme activities of *Monopterus albus* [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2022, **34**(5): 3208-3219. [胡重华, 张文平, 周秋白, 等. 饲料维生素A水平对黄鳝生长性能、血清生化指标和组织消化酶活性的影响 [J]. *动物营养学报*, 2022, **34**(5): 3208-3219.]
- [37] Han M, Gao T, Liu G, *et al.* The effect of a polystyrene nanoplastic on the intestinal microbes and oxidative stress defense of the freshwater crayfish, *Procambarus clarkii* [J]. *Science of the Total Environment*, 2022(833): 155722.
- [38] Chen Y K, Chen Z E, Liang W H, *et al.* Effect of yeast hydrolysate on non-specific immunity and antioxidant ability of *Litopenaeus vannamei* under low salinity stress [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, **45**(12): 2061-

2071. [陈永康, 陈泽恩, 梁武辉, 等. 酵母水解物对低盐胁迫凡纳滨对虾非特异性免疫及抗氧化能力的影响 [J]. 水产学报, 2021, 45(12): 2061-2071.]
- [39] Rudnicki M, Silveira M M, Pereira T V, *et al.* Protective effects of *Passiflora alata* extract pretreatment on carbon tetrachloride induced oxidative damage in rats [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2007, 45(4): 656-661.
- [40] Sha W B, Liu C, Sun Y F, *et al.* Effect of low temperature on antioxidant and non-specific immunity of *Procambarus clarkii* [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2025, 34(1): 123-134. [沙文彬, 刘闯, 孙云飞, 等. 低温胁迫对克氏原螯虾抗氧化与非特异性免疫能力的影响 [J]. 上海海洋大学学报, 2025, 34(1): 123-134.]
- [41] Shao L, Zhu X, Yang Y, *et al.* Effects of dietary vitamin A on growth, hematology, digestion and lipometabolism of on-growing gibel carp (*Carassius auratus gibelio* var. CAS III) [J]. *Aquaculture*, 2016(460): 83-89.

DIETARY VITAMIN A REQUIREMENT OF JUVENILE RED SWAMP CRAYFISH (*PROCAMBARUS CLARKII*)

ZHENG Xing-Long^{1,2}, MA Shi-Hao^{1,2}, LIU Yang-Yang², SONG Chang-Chun², WANG Chen-Xi², LUO Kai¹, GAO Wei-Hua¹ and TIAN Juan^{1,2}

(1. College of Animal Science and Technology, Yangtze University, Jingzhou 434024, China; 2. Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China)

Abstract: This study aimed to investigate the effects of dietary vitamin A and determine its requirement of juvenile red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). Six isonitrogenous, isolipidic, and isoenergetic experimental diets were formulated with analyzed vitamin A potencies of 11573 (A1), 20042 (A2), 26274 (A3), 37818 (A4), 55159 (A5), and 79200 (A6) IU/kg, respectively. These diets were fed to crayfish with an initial average body weight of (3.40±0.01) g for 8 weeks. The results revealed that weight gain rate and specific growth rate were significantly higher in groups A4 and A5 compared to the control group (A1) ($P<0.05$), with the highest values observed in group A4. In contrast, feed conversion ratio and hepatosomatic index were significantly decreased ($P<0.05$), reaching the lowest values in group A4. Compared to the control group, the total antioxidant capacity, catalase, and superoxide dismutase activities in the hepatopancreas were significantly enhanced ($P<0.05$) in group A4. Serum aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activities decreased initially and then increased with rising vitamin A levels, both attaining their minimum in group A4. Simultaneously, the incidence of B-cells and R-cells in the hepatopancreas, intestinal villi length and width, and activities of hepatopancreatic trypsin, amylase, lipase, and intestinal trypsin were significantly elevated in group A4 ($P<0.05$). Furthermore, group A4 significantly up-regulated the gene expression levels of *Chitinase*, *EcR*, and *RXR* in the hepatopancreas, while significantly down-regulating the expression of *MIH* ($P<0.05$). In conclusion, optimal vitamin A supplementation improve digestive function, enhance hepatopancreas antioxidant and immune capacity, and regulate ecdysis-related gene expression, thereby promoting growth performance in *P. clarkii*. Based on broken-line regression analysis of weight gain rate, specific growth rate, and feed conversion ratio, the recommended dietary vitamin A requirement for juvenile *Procambarus clarkii* is 37976—43443 IU/kg.

Key words: Vitamin A; Growth performance; Non-specific immunity; *Procambarus clarkii*