

Teng Z Q, Li H, Li W, *et al.* Low fish meal diet on growth performance, hepatopancreas-intestinal health, and muscle quality of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2025, 49(11): 102507. [滕子倩, 李昊, 李为, 等. 低鱼粉饲料对克氏原螯虾生长性能、肝肠健康及肌肉品质的影响 [J]. 水生生物学报, 2025, 49(11): 102507.]

低鱼粉饲料对克氏原螯虾生长性能、肝肠健康及肌肉品质的影响

滕子倩^{1,2,3} 李昊^{1,2,3} 李为^{1,2,3} 李旺^{1,2,3} 苑晶^{1,2}
刘昊昆^{1,2,3*} 张堂林^{1,2,3*}

(1. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072; 2. 湖北省稻田综合养殖工程技术研究中心, 武汉 430072;
3. 中国科学院大学, 北京 100039)

摘要: 为探究低鱼粉饲料对克氏原螯虾存活、生长、肌肉品质及健康状况的影响, 设计了鱼粉含量为10%的高鱼粉饲料作为对照组, 鱼粉含量为2%的低鱼粉饲料(豆粕和菜粕1:1代替鱼粉)作为试验组, 以初始体重为(3.90±0.01) g的克氏原螯虾幼虾为实验对象, 在室内循环水养殖系统中开展了8周的养殖实验。研究结果表明, 低鱼粉饲料对克氏原螯虾的存活率、生长指标(包括增重率、特定生长率、肠指数、肝胰腺指数、性腺指数、肥满度)、表观消化率、消化酶活性、抗氧化能力、非特异免疫力均没有造成显著的负面影响; 对肌肉的基本营养成分和氨基酸组成也没有显著影响。与高鱼粉饲料相比, 低鱼粉(2%)饲料显著提高了克氏原螯虾的出肉率($P<0.05$), 增加了肌肉油酸、亚油酸、 α -亚麻酸、二十碳二烯酸、单不饱和脂肪酸和n-6多不饱和脂肪酸含量($P<0.05$), 降低了肝胰腺的镉含量($P<0.05$), 因而改善了虾的营养品质。此外, 低鱼粉饲料会引起肝胰腺和肠道组织形态发生一定程度的改变, 导致肠道菌群中普通拟杆菌的相对丰度显著降低、铁还原菌的相对丰度显著增加($P<0.05$), 表明饲料中鱼粉含量过低可能不利于克氏原螯虾的肝肠健康。

关键词: 鱼粉; 生长; 消化; 肌肉营养; 抗氧化能力; 肠道微生物; 克氏原螯虾

中图分类号: S966.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2025)11-102507-13

doi: 10.3724/1000-3207.2025.2024.0151 **CSTR:** 32229.14.SSSWXB.2024.0151



克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)俗称小龙虾, 因其鲜美爽滑的肉质受到消费者的喜爱^[1]。近年来, 市场对小龙虾的需求量不断扩大, 其生产规模不断扩大, 产业结构日趋完善^[2]。克氏原螯虾饲料中的蛋白源主要是鱼粉。在水产饲料中高水平添加鱼粉是不可持续的^[3], 且气候变化等因素导致野生鱼类供应不足, 鱼粉价格上涨。基于这些原因将需要开发高营养和功能性的原料, 以有效地替代鱼粉。现有的克氏原螯虾商业饲料大多使用植物蛋白(如豆粕、菜粕、棉籽粕等)代替鱼粉, 以降低饲料成本。其中菜籽粕和豆粕因其优势成为饲料原

料中主要代替鱼粉的植物蛋白。

豆粕的粗蛋白含量较高、有突出的氮代谢效率及较优的必需氨基酸平衡度^[4]。研究表明, 饲料中添加5%的豆粕可替代3%的鱼粉(基础配方鱼粉含量为18%), 对平均初始体重为3.0 g的南美白对虾(*Litopenaeus vannamei*)幼虾的生长性能、营养代谢效率和肠道健康未产生负面影响^[5]。菜粕作为一种产量充足的植物蛋白源, 在养殖业中展现出独特的应用价值。菜粕不仅具备高蛋白特性, 且价格低廉, 容易获得。在一定范围内, 菜粕在饲料中的添加比例不会对水产动物的生长发育产生不利影响。在

收稿日期: 2025-04-27; **修订日期:** 2025-05-15

基金项目: 国家重点研发计划(2023YFD2400505); 湖北省重点研发计划(2023BBB084); 湖南省重点研发计划(2024WK2015); 黄河三角洲产业领军人才项目(DYRC20200215)资助[Supported by the National Key Research and Development Program of China (2023YFD2400505); Hubei Key Research and Development Program (2023BBB084); Hunan Provincial Key Research and Development Program (2024WK2015); Yellow River Delta Industrial Leading Talent Program (DYRC20200215)]

作者简介: 滕子倩(2000—), 硕士研究生; 主要从事水产养殖研究。E-mail: tengzq@ihb.ac.cn

通信作者: 刘昊昆(1984—), E-mail: liuhaokun@ihb.ac.cn 张堂林(1966—), E-mail: tlzhang@ihb.ac.cn *共同通信作者

初始体重为2.49 g的克氏原螯虾幼虾中, 饲料中添加21.25%的菜粕可替代12.50%的鱼粉(基础配方鱼粉含量为50.0%), 对克氏原螯虾幼虾的终末体重、特定生长率、饲料效率和蛋白质效率无显著影响($P>0.05$)^[6]。

植物蛋白中含有硫苷、单宁、植酸、类雌激素物质及多种酶抑制因子等多种抗营养因子, 使用植物蛋白源大量替代鱼粉时可能会对水产动物生长、品质和健康产生一定负面影响。同时, 豆粕和菜粕等植物蛋白粗纤维含量占比高, 会影响饲料适口性, 导致水产动物摄食量低, 生长缓慢。在尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[7]、南美白对虾^[8]、日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)^[9]、大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)^[10]等水产动物中也已发现, 用豆粕或菜粕代替过多的鱼粉, 使得饲料中鱼粉含量过低会对水产动物的生长、体组成、抗氧化、组织形态和健康等产生负面影响。

为了降低饲料的生产成本, 克氏原螯虾的商品饲料大多使用高水平的植物蛋白代替鱼粉作为蛋白源, 大多数饲料中的鱼粉含量不足5%、粗蛋白含量一般在30%—38%。因此, 有必要研究低鱼粉饲料对克氏原螯虾生长、健康和品质的影响。本研究采用豆粕和菜粕(1:1)作为主要蛋白源, 设计了鱼粉含量为10%的高鱼粉饲料作为对照组, 鱼粉含量为2%的低鱼粉饲料作为实验组, 全面探讨低鱼粉饲料对克氏原螯虾存活率、生长指标、表观消化率、消化酶活性、抗氧化能力、非特异免疫力、肝肠组织形态、肠道微生物及营养品质的影响, 以期对克氏原螯虾饲料蛋白组成优化及低碳环保型饲料开发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

实验饲料以鱼粉为动物性蛋白源, 以豆粕和菜籽粕为植物性蛋白源; 脂质来源为豆油; 碳水化合物来源为玉米淀粉和小麦粉; 黏合剂为海藻酸钠。以鱼粉含量为10%的高鱼粉饲料(High fish meal feed, HF)为对照, 通过采用豆粕和菜粕(1:1)替代基础饲料中80%的鱼粉, 设计了一种鱼粉含量只有2%的低鱼粉饲料(Low fish meal feed, LF)。两种饲料的原料均用粉碎机粉碎, 使其均能过60目筛。将维生素预混料和矿物质预混料配制完成后, 按照饲料配方的各原料占比从少到多的顺序逐次添加并混合均匀, 之后使用饲料制粒机(型号SLP-45, 中国水产科学研究院渔业机械仪器研究所)制作成大小均匀、直径为2 mm的颗粒, 用烘箱60℃烘干至水分

含量为7%左右, 然后放入密封袋中密封, 在-20℃下储存备用。两种饲料的配方及基本成分数据见表1, 两种饲料的氨基酸和脂肪酸含量见表2和表3。

1.2 实验动物与养殖管理

用于实验的克氏原螯虾幼虾选自湖北省鄂州市五堰洲种养殖专业合作社。在正式实验开始前,

表1 实验饲料配方及其营养组成(%干物质)

Tab. 1 Formulations of experimental feeds and their nutritional composition (% dry matter)

指标 Index	高鱼粉饲料 High fish meal feed	低鱼粉饲料 Low fish meal feed
鱼粉Fish meal	10.00	2.00
菜粕Rapeseed meal	25.50	32.00
豆粕Soybean meal	25.50	32.00
小麦粉Wheat flour	15.00	15.00
玉米淀粉Corn starch	8.00	2.00
大豆油Soybean oil	5.90	6.50
微晶纤维素Microcrystalline cellulose	0.70	0.90
海藻酸钠Sodium alginate	2.00	2.00
维生素预混料Vitamin premix ¹	0.50	0.50
矿物质预混料Mineral premix ²	1.00	1.00
大豆卵磷脂Soy lecithin	2.00	2.00
氧化钇Yttrium oxide	0.10	0.10
蛋氨酸Methionine	0.40	0.50
精氨酸Arginine	0.10	0.20
氯化胆碱Choline chloride	0.10	0.10
胆固醇Cholesterol	0.50	0.50
磷酸二氢钙Ca(H ₂ PO ₄) ₂	2.80	2.80
基本成分Proximate composition		
粗蛋白Crude protein	35.97	35.86
粗脂肪Crude lipid (%)	10.10	10.38
能量Energy (kJ/g)	17.33	17.37
水分Moisture	6.99	7.71
灰分Ash	10.80	10.20
硒含量Se content (mg/kg)	0.18	0.17
镉含量Cd content (mg/kg)	0.09	0.04

注: ¹维生素预混物(mg/kg diet): 维生素B1, 20; 维生素B2, 20; 维生素B6, 20; 维生素B12, 0.02; 叶酸, 5; 泛酸钙, 50; 肌醇, 100; 烟酸, 100; 生物素, 0.1; 维生素C, 100; 维生素A, 110; 维生素D, 20; 维生素E, 50; 维生素K, 10; 玉米淀粉, 645.2; ²矿物质预混料物(mg/kg diet): 碘化钾, 0.47; 磷酸二氢钾, 320; 硫酸镁, 200; 一水硫酸锰, 20; 硫酸铜, 1.87; 七水硫酸锌, 60; 七水硫酸铁, 50; 氯化钠, 100; 六水硫酸钴, 2; 微晶纤维素, 245.66

Note: ¹Vitamin premix (mg/kg diet): Thiamin, 20; Riboflavin, 20; Pyridoxine, 20; Cyanocobalamine, 0.02; Folic acid, 5; Calcipatthenate, 50; Inositol, 100; Niacin, 100; Biotin, 0.1; Ascorbic acid, 100; Retinol, 110; Vitamin D, 20; Vitamin E, 50; Vitamin K, 10; Corn starch, 645.2; ²Mineral premix (mg/kg diet): KI, 0.47; KH₂PO₄, 320; MgSO₄, 200; MnSO₄·H₂O, 20; CuSO₄, 1.87; ZnSO₄·7H₂O, 60; FeSO₄·7H₂O, 50; NaCl, 100; CoCl₂·6H₂O, 2; Microcrystalline cellulose, 245.66

表 2 两种饲料的氨基酸成分(g/100 g, 干物质)

Tab. 2 Amino acid composition in two feeds (g/100 g, dry matter)

指标 Index	高鱼粉饲料 High fish meal feed	低鱼粉饲料 Low fish meal feed
天冬氨酸Asp	3.48	3.68
苏氨酸Thr	1.29	1.47
丝氨酸Ser	1.55	1.67
谷氨酸Glu	7.72	8.19
甘氨酸Gly	1.39	1.24
丙氨酸Ala	1.63	1.25
半胱氨酸Cys	0.15	0.03
缬氨酸Val	1.40	1.18
蛋氨酸Met	0.78	0.81
异亮氨酸Ile	1.29	1.10
亮氨酸Leu	2.37	2.00
酪氨酸Tyr	0.69	0.69
苯丙氨酸Phe	1.13	1.11
组氨酸His	0.96	0.81
赖氨酸Lys	1.55	1.51
精氨酸Arg	1.99	1.96
脯氨酸Pro	1.71	1.76
必需氨基酸EAA	12.76	11.96
非必需氨基酸NEAA	18.32	18.51
总氨基酸TAA	31.07	30.46
EAA/TAA	0.41	0.39
DAA/TAA	0.52	0.53
EAA/NEAA	0.70	0.65

将幼虾暂养3周, 使其适应室内养殖环境, 暂养期间投喂商业饲料(粗蛋白 $\geq 32.0\%$, 粗脂肪 $\geq 2.5\%$)。

在实验开始时, 将幼虾饥饿处理, 饥饿处理时间为24h。随后挑取附肢完整、体重相近的幼虾[初始体长(5.03 $\pm$ 0.08) cm, 初始体重(3.90 $\pm$ 0.01) g]随机放入8个养殖水缸(100 cm $\times$ 80 cm $\times$ 50 cm), 每缸20尾, 每个饲料处理组设置4个重复。采用循环水养殖, 水深保持在30 cm, 缸内添加塑料草作为隐蔽物。在实验期间, 每天早晚定时定点投喂饲料2次(8:00和18:00), 并记录投喂量和摄食量, 每周根据幼虾体重和摄食率调整投喂量, 投喂结束后清除缸内残饵和排泄物。实验养殖周期为8周, 在整个实验过程中, 水温维持为(26 $\pm$ 0.5) $^{\circ}\text{C}$, 溶解氧含量高于6 mg/L, 氨氮含量低于0.4 mg/L, 光照周期为12h光照(08:00—20:00)和12h黑暗(20:00—08:00)。

1.3 样品采集

在实验结束前1个月收集粪便, 并于 -20°C 冰箱保存, 用于测定表观消化率。在实验结束时, 将每个养殖缸的克氏原螯虾禁食24h后全部捞出, 统计存活数量, 把所有虾体表水分用吸水纸擦干, 称量

体重(g), 测量体长(cm)。每个缸随机取10尾虾, 称量性腺、肠道、肌肉和肝胰腺的重量, 用于形体生长分析。每个缸随机取1尾虾的肝胰腺和肠道组织, 用4%多聚甲醛固定后制备苏木精-伊红(HE)染色切片, 取肌肉用于常规成分、脂肪酸、氨基酸的测定。从每个缸中随机选择2尾虾, 取其肝胰腺和肠道放置在 -80°C 冰箱中, 用于测定消化酶活性及抗氧化和非特异性免疫能力。从每个缸中随机选择3尾虾, 取其肠道保存于 -80°C 冰箱中, 用于测定肠道微生物菌群。从每个缸中随机选择1尾虾, 取其腹甲、头胸甲、肝胰腺和肌肉, 用于测定各组织硒和镉含量。

1.4 测定指标

存活和生长性能的测定

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

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

表 3 两种饲料的脂肪酸成分(mg/g, 干物质)

Tab. 3 Fatty acid composition in two feeds (mg/g, dry matter)

指标 Index	高鱼粉饲料 High fish meal feed	低鱼粉饲料 Low fish meal feed
C14:0	1.55	0.63
C15:0	0.18	0.13
C16:0	35.07	42.07
C16:1n-7	1.83	0.88
C17:0	0.35	0.35
C18:0	10.57	13.30
C20:0	0.89	1.19
C18:3n-3	12.38	15.05
C20:1n-9	0.73	0.73
C21:0	0.07	0.09
C20:2	0.10	0.18
C22:0	0.97	1.33
C23:0	0.33	0.26
C20:5n-3	2.59	0.56
C22:2	1.87	0.43
C22:6n-3	3.36	0.72
Σ UFA	22.85	18.55
Σ SFA	49.98	59.35
Σ MUFA	2.56	1.611
n-3 PUFA	18.33	16.34
n-6 PUFA	0.10	0.18
总脂肪酸Total	72.83	77.90

注: Σ UFA为总不饱和脂肪酸; Σ SFA为总饱和脂肪酸; Σ MUFA为总单不饱和脂肪酸; n-3 PUFA为n-3多不饱和脂肪酸; n-6 PUFA为n-6多不饱和脂肪酸

Note: Σ UFA. total unsaturated fatty acid; Σ SFA. total saturated fatty acids; Σ MUFA. total monounsaturated fatty acids; n-3 PUFA. n-3 polyunsaturated fatty acids; n-6 PUFA. n-6 polyunsaturated fatty acid

100;

体重特定生长率(Specific growth rate in weight, SGR_w , %/d)= $100 \times [\ln(W_t) - \ln(W_0)]/T$;

体长特定生长率(Specific growth rate in length, SGR_L , %/d)= $100 \times [\ln(L_t) - \ln(L_0)]/T$;

肠指数(Intestine-somatic index, ISI)= $W_i/W_t \times 100$

肝胰腺指数(Hepatosomatic index, HSI)= $W_h/W_t \times$

100;

性腺指数(Gonadosomatic index, GSI)= $W_{ov}/W_t \times$

100;

出肉率(Meat yield, MY, %)= $W_m/W_t \times 100$;

肥满度(Condition factor, CF)= $W_t/L_t^3 \times 100$ 。

式中, W_0 和 W_t 分别为克氏原螯虾初始体重(g)和终末体重(Final weight, FW, g), L_0 和 L_t 为平均初始体长(cm)和终末体长(Final length, FL, cm); T 为实验天数(d), N_0 和 N_t 分别是实验开始和结束时的数量(尾), W_h 为肝胰腺湿重(g), W_m 为肌肉湿重(g), W_i 为肠道湿重(g), W_{ov} 为性腺湿重(g)。

饲料和肌肉化学成分的测定 化学成分的分析参考美国分析化学家协会(Association of Official Analytical Chemists, AOAC)的方法测定^[11]。粗蛋白质采用凯氏定氮法(Kjeltec 8400, FOSS), 浓硫酸消化后测定; 采用索氏抽提仪(ST243, FOSS)测定粗脂肪; 水分用烘箱在105℃下烘干至恒重测定; 灰分用马弗炉在550℃下灼烧3h测定。脂肪酸含量参照Caballero等^[12]描述的方法, 利用气相色谱-质谱联用仪(Agilent 7890A, 美国)测定。氨基酸用全自动氨基酸自动分析仪(membraPure A300, 德国)测定。

表观消化率的测定 将粪便样品冷冻干燥并研磨。粪便和饲料中氧化钇(Y_2O_3)含量委托中国科学院水生生物研究所分析测试中心测定。根据以下公式计算表观消化率(Apparent digestibility, ADC)。

饲料干物质表观消化率(ADCd, %)= $100 \times (1 - \text{饲料中} Y_2O_3 \text{ 含量} / \text{粪便中} Y_2O_3 \text{ 含量})$;

粗蛋白表观消化率(ADCp, %)= $100 \times [1 - (\text{粪便中粗蛋白含量} \times \text{饲料中} Y_2O_3 \text{ 含量}) / (\text{饲料中粗蛋白含量} \times \text{粪便中} Y_2O_3 \text{ 含量})]$

硫(S)表观消化率(ADCs, %)= $100 \times [1 - (\text{粪便中硫含量} \times \text{饲料中} Y_2O_3 \text{ 含量}) / (\text{饲料中硫含量} \times \text{粪便中} Y_2O_3 \text{ 含量})]$

碳(C)表观消化率(ADCc, %)= $100 \times [1 - (\text{粪便中碳含量} \times \text{饲料中} Y_2O_3 \text{ 含量}) / (\text{饲料中碳含量} \times \text{粪便中} Y_2O_3 \text{ 含量})]$

肝胰腺和肠道组织切片及消化酶活性的测定 将组织样本固定在4%多聚甲醛中, 完成固定

操作后, 依次经历脱水、透明, 再进行石蜡包埋, 后用冷冻切片(CRYOSTAR NX50, 赛默飞世尔科技有限公司生产)连续切片。在切片制作完成后, 对组织进行苏木精-伊红(HE)染色。采用日本尼康正置显微镜(NIKON ECLIPSE E100)对染色切片进行观察, 并完成拍照记录。随后, 借助尼康图像分析系统(NIKON DS-U3)对HE染色结果进行分析。

胰蛋白酶(Trypsin, TPS)活性由紫外比色法测定, 脂肪酶(Lipase, LPS)活性由微板法测定, α -淀粉酶(α -Amylase, AMS)活性由淀粉-碘比色法测定。所用试剂盒均购自南京建成生物工程研究所, 货号分别为A080-2-2、A054-2-1和C016-1-1。

肝胰腺和肠道抗氧化和免疫相关酶活性的测定 使用微量酶标法测定酸性磷酸酶(Acid phosphatase, ACP)和碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, AKP)活性。采用WST-1法测定超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活性, 采用比浊法测定溶菌酶(lysozyme, LZM)活性, 采用ABTS法测定总抗氧化能力(Total antioxidant capacity, T-AOC), 采用硫代巴比妥酸(TBA)法进行测定丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量。所用试剂盒均购自南京建成生物工程研究所, 货号分别为A060-2-2、A059-2-2、A001-3-1、A050-1-1、A015-2-1和A003-1-2。

组织硒和镉含量的测定 采用微波消解法测定硒和镉元素的含量。先将克氏原螯虾头胸甲、尾部外壳、肌肉和肝胰腺组织样用万分之一天平称取样品0.2—0.4 g于消解罐中, 加入8 mL的电子级硝酸, 拧上盖子, 放置于微波消解仪(MARS 6 CLASSIC)中, 设置好程序中的参数, 启动仪器。程序运行结束, 拿出样品, 用赶酸仪(ETHOS UP, Italy)进行赶酸, 赶酸至尽干, 用2%的硝酸溶液定容到10 mL, 稀释后用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICPMS-OES)测定硒和镉2种元素的含量。

肠道微生物高通量测序 每缸随机取1尾虾, 取其肠道内含物样品用于肠道微生物研究。采用OMEGA Soil DNA Kit (D5625 01; Omega Bio-Tek, Norcross, GA, USA)试剂盒提取DNA。16S rRNA V3—V4区片段的扩增引物为338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3')和806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')。在BGI G99机器上利用DNBS EQ-G99RS高通量测序试剂套装(G99SMFCLPE300), 进行2×250 bp的双端测序。原始序列数据使用demux和cutadapt插件分别进行解码和引物切除操作, 后使用DADA2插件对序列进行数据处理(质量过滤、去噪、拼接和嵌合体去除等)。对上述获得的序列按100%的序列相似度进行归并, 生成扩增

子序列变体(Amplicon sequence variants, ASVs)及丰度数据表格。根据所获得的ASVs分别进行alpha多样性指数分析、beta多样性分析, 以及基于分类学信息在各个分类水平上进行菌群组成和差异分析。所有样本的测定和分析由中国科学院水生生物研究所分析检测中心完成。

1.5 数据分析

运用SPSS 27.0软件(IBM SPSS Statistics 27.0, IBM, USA)统计分析相关数据, 所有平均数都表示为均值±标准误(mean±SE)。采用独立样本 t 检验比较两个处理组均数的差异, 当 $P<0.05$ 时认为差异显著。

2 结果

2.1 存活与生长

高鱼粉和低鱼粉饲料组的存活率均值分别为75.00%和68.33%, 虽然前者高于后者, 但两者在统计学上并没有显著差异($P>0.05$)。低鱼粉饲料组出肉率平均为14.19%, 显著大于高鱼粉饲料组(12.44%; $P<0.05$)。除此之外, 低鱼粉饲料组的终末体长、终末体重、增重率、特定生长率、肝胰腺指数、肥满度均低于高鱼粉饲料组, 但无显著差异($P>0.05$), 相关指标的均值数据列于表4。

2.2 肝胰腺和肠道消化酶活性

低鱼粉饲料组的肝胰腺胰蛋白酶和脂肪酶活性均高于高鱼粉饲料组, 但无显著差异($P>0.05$; 图1A)。低鱼粉饲料组的肠道脂肪酶和淀粉酶活性均高于高鱼粉饲料组, 但无显著差异($P>0.05$)。此外, 低鱼粉饲料组的肠道胰蛋白酶活性显著提高($P<0.05$; 图1B)。

2.3 肝胰腺和肠道抗氧化和免疫相关的指标

在肝胰腺中, 低鱼粉与高鱼粉饲料组的总抗氧

化能力、丙二醛含量及超氧化物歧化酶、碱性磷酸酶、酸性磷酸酶和溶菌酶的活性均没有显著差异($P>0.05$; 图2)。在肠道中, 低鱼粉饲料组的总抗氧化能力及碱性磷酸酶活性显著高于高鱼粉饲料组($P<0.05$), 但丙二醛含量及超氧化物歧化酶、酸性磷酸酶和溶菌酶的活性均无显著差异($P>0.05$; 图3)。这些结果表明, 投喂低鱼粉饲料没有对克氏原螯虾的抗氧化能力和非特异免疫力造成负面影响。

2.4 肝胰腺和肠道组织形态

与高鱼粉饲料组相比, 低鱼粉饲料组肝胰腺组织的肝小管排列不紧密, 多数肝小管管腔扩张, 上皮细胞空泡化, B细胞形态异常, 数量明显增加(图4)。

表4 鱼粉含量对克氏原螯虾存活和生长性能的影响

Tab. 4 Effect of fish meal content on survival and growth performance of *P. clarkii*

指标 Index	高鱼粉饲料 High fish meal feed	低鱼粉饲料 Low fish meal feed
存活率SR (%)	75.00±5.00	68.33±1.67
终末体长FL (cm)	6.77±0.04	6.75±0.07
终末体重FW (g)	12.96±0.17	12.07±0.37
肌肉湿重 W_m (g)	1.60±0.05	1.72±0.14
出肉率MY (%)	12.44±0.70 ^b	14.19±0.83 ^a
增重率WGR (%)	240.72±7.43	203.54±15.33
体重特定生长率SGR _W (%)	2.19±0.04	1.98±0.09
体长特定生长率SGR _L (%)	0.54±0.03	0.52±0.04
肠指数ISI	0.35±0.03	0.35±0.02
肝胰腺指数HSI	4.90±0.10	4.55±0.14
性腺指数GSI	0.22±0.04	0.23±0.04
肥满度CF	4.18±0.14	3.92±0.11

注: 表中同一行数值标有不同的英文字母表示处理组之间存在显著差异 ($P<0.05$)

Note: Different superscript letters in the same row indicate significant differences ($P<0.05$)

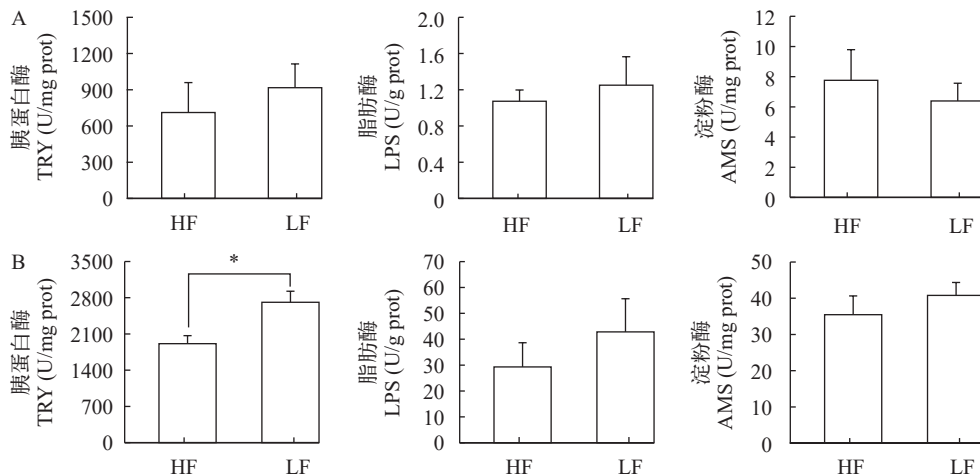


图1 鱼粉含量对克氏原螯虾肝胰腺(A)和肠道(B)消化酶活性的影响

Fig. 1 Effect of fish meal content on the activity of digestive enzymes in the hepatopancreas (A) and intestine (B) of *P. clarkii*

HF: 高鱼粉饲料high fish meal feed; LF: 低鱼粉饲料low fish meal feed; * $P<0.05$; 下同The same applies below

低鱼粉饲料组的肠道绒毛高度和宽度显著小于高鱼粉饲料组($P<0.001$), 但两组的肠壁肌层厚度没有显著差异(图 5)。此外, 与高鱼粉饲料组相比, 低鱼粉饲料组的空肠腔面积扩大, 肠绒毛高度呈现萎缩、排列不规则的现象(图 6)。

2.5 肠道微生物

低鱼粉饲料组的Chao1指数、香农指数、辛普

森指数、ace指数值均高于高鱼粉饲料组的, 但无显著差异($P>0.05$; 表 5)。共得到扩增子序列变体(ASVs) 4021个, 高鱼粉和低鱼粉饲料组特有的ASVs数量分别为1755和1322个, 两组共有944个。

β 多样性选用基于Jaccard距离算法的主坐标分析(Principal coordinate analysis, PCoA)和基于Bray距离算法的非度量多维尺度分析(Nonmetric Mu-

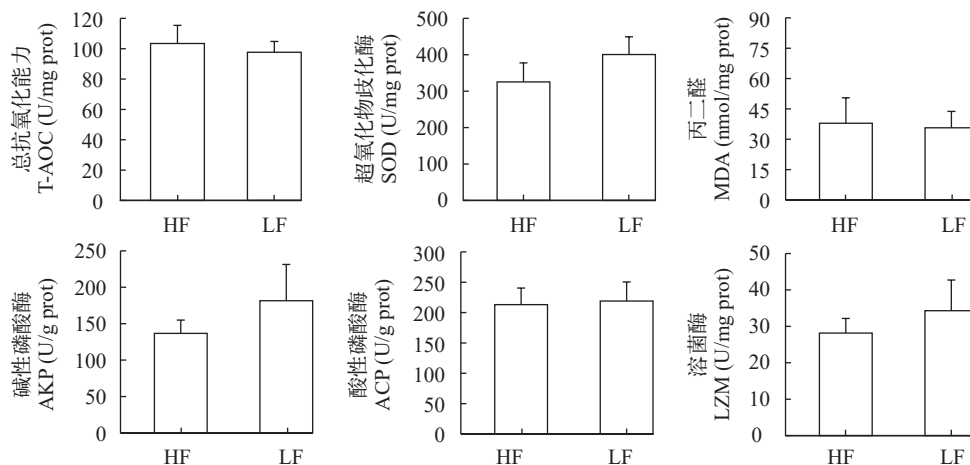


图 2 鱼粉含量对克氏原螯虾肝胰腺抗氧化和免疫相关指标的影响

Fig. 2 Effect of fish meal content on antioxidant and immune-related indicators of hepatopancreas in *P. clarkia*

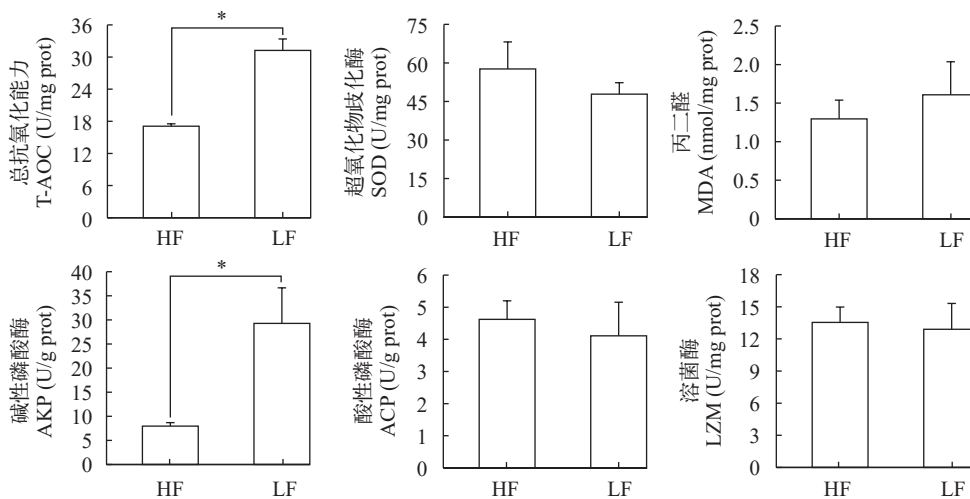


图 3 鱼粉含量对克氏原螯虾肠道抗氧化和免疫相关指标的影响

Fig. 3 Effect of fish meal content on antioxidant and immune-related indicators of intestine in *P. clarkia*

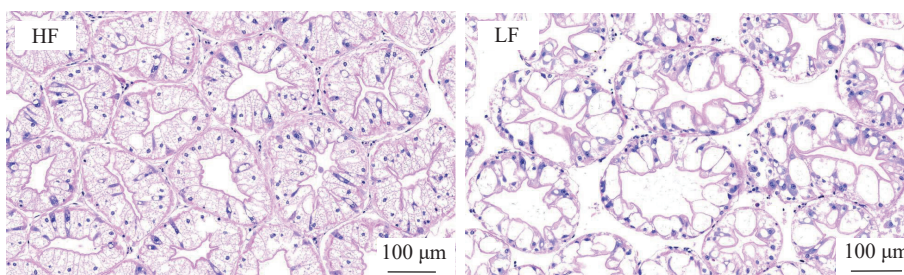


图 4 克氏原螯虾肝胰腺组织特征

Fig. 4 Histological characteristics of hepatopancreas in *P. clarkia*

ltidimensional scaling, NMDS)。两种分析方法均显示低鱼粉与高鱼粉饲料组的肠道菌群的交叉程度较高(图 7), 表明两个处理组肠道菌群的物种组成差异性小。

如图 8 所示, 在门水平上, 克氏原螯虾肠道微生物主要由疣微菌门(Verrucomicrobiota)、拟杆菌门(Bacteroidota)、放线菌门(Actinobacteriota)、变形菌门(Proteobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes)组成; 与高鱼粉饲料组相比, 低鱼粉饲料组的放线菌门和变形菌门的相对丰度增加, 疣微菌门和拟杆菌门的相对丰度减少, 但不存在显著差异($P>0.05$)。在属水平上, 肠道微生物主要由白念珠菌属(*Candidatus Bacilloplasma*)、柠檬酸杆菌属(*Citrobacter*)和气单胞菌属(*Aeromonas*)组成; 与高鱼粉饲料组相比, 低鱼粉饲料组的白念珠菌属相对丰度减少, 柠檬酸杆菌属和气单胞菌属的相对丰度增加, 但不存在显著

差异($P>0.05$; 图 8)。在种水平上, 与高鱼粉饲料组相比, 低鱼粉饲料组显著降低了普通拟杆菌(*Bacteroides vulgatus*)的相对丰度($P<0.05$), 显著增加了铁还原菌(iron-reducing bacterium)的相对丰度($P<0.05$; 图 8)。

2.6 表观消化率

从表 6 可知, 与高鱼粉饲料组相比, 低鱼粉饲料组的克氏原螯虾的饲料干物质表观消化率和碳元素表观消化率呈现下降, 粗蛋白表观消化率和硫元素表观消化率呈现上升, 但均无显著差异($P>0.05$)。

2.7 肌肉品质

低鱼粉与高鱼粉饲料组的克氏原螯虾肌肉水分、灰分、粗蛋白和粗脂肪含量均无显著差异($P>0.05$; 表 7), 氨基酸组成也无显著差异($P>0.05$; 表 8)。与高鱼粉饲料组相比, 低鱼粉饲料组的肌肉油酸(C18:1n-9)、亚油酸(C18:2n-6)、 α -亚麻酸(C18:

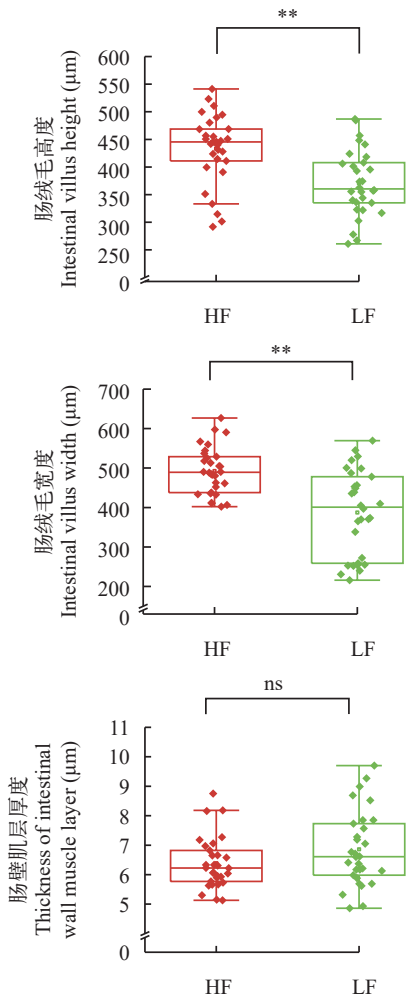


图 5 鱼粉含量对克氏原螯虾肠道组织结构的影响
Fig. 5 Effect of fish meal content on intestinal structure of *P. clarkii*

** $P<0.01$; ns. 无显著差异no significant difference

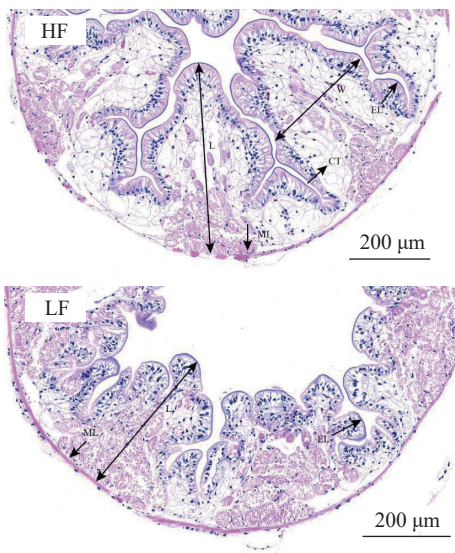


图 6 克氏原螯虾肠道组织特征
Fig. 6 Histological characteristics of intestine in *P. clarkii*
ML. 肌肉层muscle layer; CT. 结缔组织connective tissue layer; EL. 上皮层epithelial layer; L. 肠绒毛高度intestinal villus height; W. 肠绒毛宽度intestinal villi width

表 5 鱼粉含量对肠道菌群 α 多样性指数的影响

α 多样性指数 Alpha diversity index	高鱼粉饲料 High fish meal feed	低鱼粉饲料 Low fish meal feed
观测物种数Observed-asvs	407.50 $\pm$ 67.50	392.42 $\pm$ 60.88
Chao1 指数Chao1 index	446.40 $\pm$ 71.33	432.72 $\pm$ 66.17
香农指数Shannon index	3.88 $\pm$ 0.40	3.76 $\pm$ 0.29
辛普森指数Simpson index	0.78 $\pm$ 0.03	0.77 $\pm$ 0.04
Ace 指数Ace index	446.11 $\pm$ 70.63	433.9 $\pm$ 66.37

3n-3)和二十碳二烯酸(C20:2n-6)、单不饱和脂肪酸(MUFA)和n-6多不饱和脂肪酸(n-6 PUFA)的含量均显著增加($P<0.05$; 表 9)。这些结果表明, 饲料中鱼粉含量降至2%, 对肌肉的基本营养成分和氨基酸组成没有产生显著的影响, 有利于改善肌肉脂肪酸的质量。

2.8 组织硒和镉含量

如图 9 所示, 与高鱼粉饲料组相比, 低鱼粉饲料组的克氏原螯虾头胸甲、肌肉和肝胰腺的硒含量升高, 头胸甲和肌肉的镉含量下降, 但均无显著差异($P>0.05$); 然而, 低鱼粉饲料组的尾部外壳和肝胰

腺中的镉含量显著低于高鱼粉饲料组($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 鱼粉含量对生长性能的影响

豆粕和菜粕可以作为水产动物饲料的蛋白源。在红螯螯虾(*Cherax quadricarinatus*)中, 用豆粕和菜粕混合物(蛋白含量1:1)替代50%、75%和100%的鱼粉(基础配方鱼粉含量为49.0%)对红螯螯虾成活率、肥满度、肝体比均没有造成显著影响($P>0.05$)^[13]。在克氏原螯虾的研究中, 使用33.8%植物性蛋白(豆粕:菜粕=1:1)可替代基础饲料中21.6%的鱼粉(基础配方鱼粉含量为51.6%)对克氏原螯虾的生长性能无显著影响($P>0.05$)^[14]。本研究发现通过植物蛋白替代, 饲料中鱼粉含量由10%降至2%, 对克氏原螯虾存活率、增重率、特定生长率、肠指数、肝胰腺指数、性腺指数、肥满度均无显著影响($P>0.05$)。但是, 低鱼粉组的出肉率显著高于高鱼粉组($P<0.05$), 这可能与构成体重的其他组分(胃、肠、肝胰腺、性腺和甲壳)的综合影响有关, 因为两组的肌肉湿重并没有显著差异(表 4)。以上研究表明, 克氏原螯虾等螯虾可能对饲料蛋白源的要求不高, 采用豆粕和菜粕替代大部分鱼粉不会对生长性能产生负面影响。

3.2 鱼粉含量对肝胰腺抗氧化和非特异免疫相关指标的影响

在本研究中, 低鱼粉饲料对肝胰腺的抗氧化水平和非特异免疫相关的指标均没有显著影响($P>0.05$); 对肠道丙二醛含量及超氧化物歧化酶、酸性磷酸酶和溶菌酶的活性也无显著影响($P>0.05$), 但显著增加了肠道的碱性磷酸酶活性和总抗氧化能力($P<0.05$)。碱性磷酸酶作为溶酶体标志性酶, 主要分布于巨噬细胞和中性粒细胞的吞噬溶酶体中, 通过水解病原体细胞壁的磷酸单酯键, 能够对微生物进行消除与水解^[6]; 同时可调控吞噬体内pH, 激活组织蛋白酶活性, 加速病原体分解, 在细胞的吞噬过程以及细胞内解毒环节发挥重要作用^[15]。总抗氧化能力、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶是酶介导的抗氧化防御系统的重要组成部分, 其活性可以反映生物体的抗氧化状态^[16, 17]。在红螯螯虾的研究中, 用棉籽粕完全替代鱼粉(基础配方鱼粉含量为49.0%)显著提高了血清的谷胱甘肽过氧化物酶、谷丙转氨酶和谷草转氨酶活力($P<0.05$)^[13]。在大鳞副泥鳅(*Paramisgurnus dabryanus*)研究中也表明, 用棉籽浓缩粕替代44%的鱼粉(基础配方鱼粉含量为25.0%)显著提高了肝脏超氧化物歧化酶活性、还原型谷胱甘肽(GSH)含量及总抗氧化能力

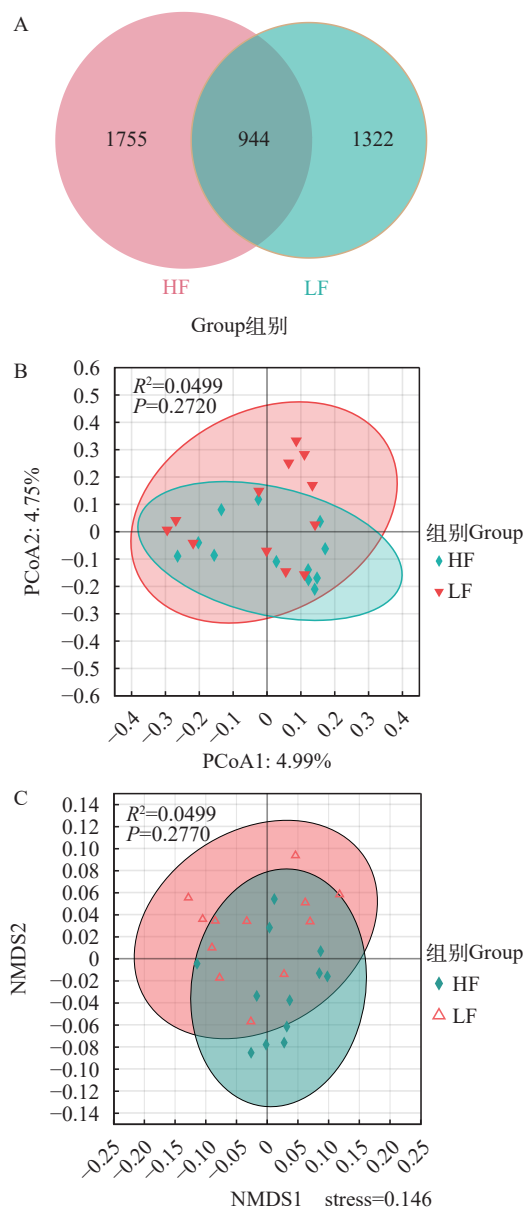


图 7 鱼粉含量对肠道菌群的影响

Fig. 7 Effect of fish meal content on intestine microbiota

A. Venn图 Venn figure; B. PCoA图 PCoA figure; C. NMDS图 NMDS figure

($P<0.05$)^[18]。因此, 低鱼粉饲料可能激活了水产动物内源性抗氧化防御系统, 促使水产动物对高植物蛋白饲料具有一定程度的代谢适应性^[19, 20]。

3.3 鱼粉含量对肝胰腺和肠道组织形态和消化率的影响

本研究发现, 低鱼粉饲料组的克氏原螯虾肠道

绒毛宽度和高度显著低于高鱼粉饲料组($P<0.001$), 且肝胰腺组织的肝小管排列不紧密, 肝小管管腔有所膨大, 上皮细胞空泡化; 这可能是因为低鱼粉饲料中含有较高的豆粕抗营养因子凝集素^[21]。凝集素是对糖分子高度特异性的糖结合蛋白^[22], 有研究表明大量的凝集素能与大鼠小肠的上皮细胞结合,

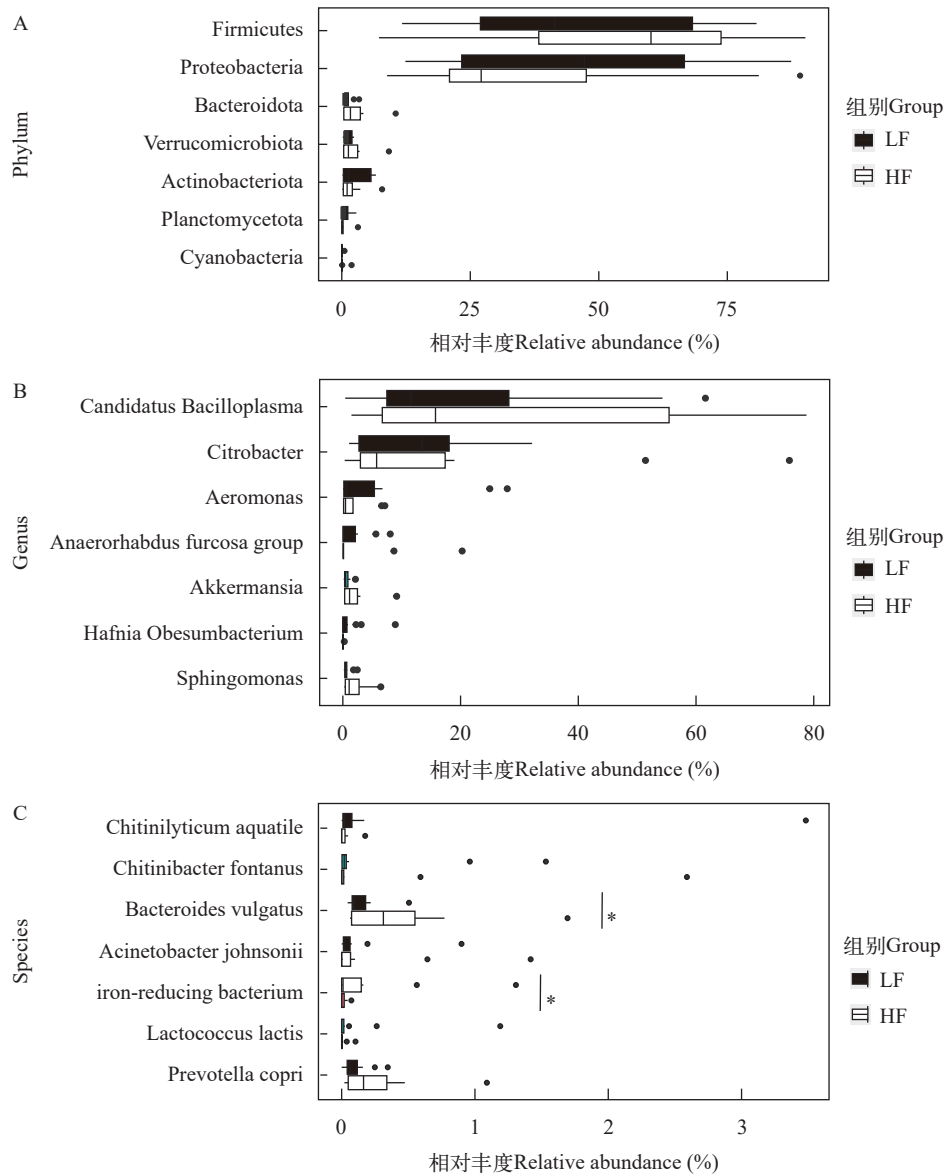


图 8 鱼粉含量对肠道菌群相对丰度的影响

Fig. 8 Effect of fish meal content on the relative abundance of intestine microbiota

A. 门水平上的相对丰度Relative abundance map at the phylum level; B. 属水平上的相对丰度Relative abundance map at the genus level; C. 种水平上的相对丰度Relative abundance map at the species level

表 6 鱼粉含量对克氏原螯虾表观消化率的影响

Tab. 6 Effect of fish meal content on apparent digestibility of *P. clarkii*

组别 Group	饲料干物质表观消化率 Apparent digestibility of dry matter	粗蛋白表观消化率 Apparent digestibility of crude protein	硫元素表观消化率 Apparent digestibility of S	碳元素表观消化率 Apparent digestibility of C
高鱼粉饲料High fish meal feed	80.31±0.69	87.63±0.43	85.06±0.52	82.72±0.61
低鱼粉饲料Low fish meal feed	77.64±2.00	87.68±1.10	86.90±1.17	79.79±1.81

导致上皮细胞微绒毛萎缩和刷状边界膜紊乱,从而降低上皮细胞的正常功能和发育能力,影响肠道功能^[23, 24]。此外,凝集素还会影响胰腺的结构和功能并导致胰腺增生^[25],刺激黏膜下肥大细胞脱颗粒,从而引发过敏反应^[26, 27]。也有研究表明,用植物蛋白源大量替代鱼粉会损害克氏原螯虾幼虾的肝胰腺和肠道组织形态,如用菜粕替代基础饲料中50%的鱼粉(基础配方鱼粉含量为50%)时,会导致肝胰腺肝小管排列松散、空泡化^[6];替代75%鱼粉时,会导致B细胞肿大,数量增加,R细胞萎缩变小,

表 7 鱼粉含量对肌肉基本成分的影响

Tab. 7 Effect of fish meal content on proximate composition of muscles in *P. clarkii*

指标 Index (%)	高鱼粉饲料组 High fish meal feed	低鱼粉饲料组 Low fish meal feed
水分Moisture	79.34±0.40	80.09±0.54
灰分Ash	1.53±0.04	1.56±0.04
粗脂肪Crude fat	1.55±0.09	1.56±0.02
粗蛋白Crude protein	16.39±0.27	16.23±0.34

表 8 鱼粉含量对肌肉氨基酸组成的影响(g/100 g, 干物质)

Tab. 8 Effect of fish meal content on amino acid composition in muscles (g/100 g, dry mater)

指标 Index	高鱼粉饲料组 High fish meal feed	低鱼粉饲料组 Low fish meal feed
天冬氨酸Asp	11.86±0.48	11.25±0.85
苏氨酸Thr	3.49±0.14	3.28±0.25
丝氨酸Ser	3.65±0.10	3.57±0.09
谷氨酸Glu	17.92±0.77	18.84±0.30
甘氨酸Gly	3.75±0.26	3.75±0.23
丙氨酸Ala	5.33±0.32	5.16±0.36
半胱氨酸Cys	0.27±0.16	0.29±0.07
缬氨酸Val	2.97±0.10	2.97±0.06
蛋氨酸Met	1.73±0.08	1.66±0.09
异亮氨酸Ile	3.47±0.17	3.23±0.19
亮氨酸Leu	6.06±0.28	5.73±0.39
酪氨酸Tyr	2.23±0.10	3.24±0.94
苯丙氨酸Phe	2.73±0.08	2.92±0.16
组氨酸His	1.43±0.07	1.41±0.10
赖氨酸Lys	6.90±0.34	6.39±0.55
精氨酸Arg	6.34±0.54	5.35±0.59
脯氨酸Pro	2.28±0.16	2.32±0.21
必需氨基酸EAA	35.12±1.75	32.94±2.19
非必需氨基酸NEAA	47.31±2.07	48.41±0.96
鲜味氨基酸DAA	43.83±1.87	45.15±0.86
总氨基酸TAA	82.42±3.79	81.35±2.97
EAA/TAA	0.34±0.003	0.40±0.01
DAA/TAA	0.53±0.004	0.56±0.01
EAA/NEAA	0.74±0.01	0.68±0.04

肝小管退化;替代100%鱼粉时,会导致肝小管完全退化,结构紊乱,上皮细胞大量坏死,R细胞进一步萎缩消失。由此可见,随着鱼粉替代水平的增加,克氏原螯虾幼虾的肝胰腺和肠道组织受损情况逐渐加重^[6]。在本研究中,虽然低鱼粉饲料引起肝胰腺和肠道组织形态发生一定程度的改变,但对表观消化率、消化酶活性没有产生显著的负面影响。

3.4 鱼粉含量对肠道微生物的影响

肠道微生物组成与宿主健康存在紧密关联,其在生物体内承担着多重生理功能。作为消化系统的核心组成部分,肠道菌群不仅参与营养物质的分解代谢和肠黏膜生态调节,还通过定植抗性机制形成生物防护层,有效抑制致病菌的定殖^[3]。在本研究中,低鱼粉组与高鱼粉组在门和属水平上的肠道菌群组成没有显著差异($P<0.05$),但是,低鱼粉饲料组的疣微菌门、拟杆菌门的相对丰度有下降的趋势,变形菌门及气单胞菌属和柠檬酸杆菌属的相对

表 9 鱼粉含量对肌肉脂肪酸含量的影响(mg/g, 干物质)

Tab. 9 Effect of fish meal content on fatty acid composition in muscles (mg/g, dry mater)

指标 Index	高鱼粉饲料组 High fish meal feed	低鱼粉饲料组 Low fish meal feed
C14:0	0.14±0.02	0.14±0.01
C15:0	0.25±0.02	0.26±0.02
C16:0	11.39±0.82	13.76±0.90
C16:1n-7	0.65±0.06	0.54±0.07
C17:0	0.52±0.02	0.46±0.03
C18:0	6.62±0.36	7.15±0.77
C18:1n-9	14.01±1.22 ^b	18.35±0.61 ^a
C18:2n-6	10.71±1.17 ^b	19.53±1.39 ^a
C20:0	0.62±0.06	0.76±0.06
C18:3n-3 (ALA)	1.10±0.06 ^b	2.03±0.20 ^a
C20:1n-9	0.51±0.06	0.55±0.01
C21:0	0.13±0.01	0.12±0.01
C20:2n-6	0.82±0.02 ^b	1.41±0.10 ^a
C22:0	0.34±0.02	0.37±0.02
C20:4n-6	1.72±0.18	1.71±0.15
C20:3n-3	0.60±0.05	0.80±0.11
C23:0	0.57±0.07	0.43±0.07
C20:5n-3 (EPA)	9.12±1.18	8.12±0.59
C22:2	6.45±0.81	4.65±0.79
C22:6n-3 (DHA)	3.20±0.26	2.40±0.36
MUFA	15.18±1.31 ^b	19.44±0.66 ^a
n-3 PUFA	14.03±1.53	13.36±1.06
n-6 PUFA	13.25±1.36 ^b	22.65±1.55 ^a
总不饱和脂肪酸	48.90±4.97	60.10±2.86
总饱和脂肪酸	20.58±1.17	23.45±1.72
总脂肪酸	69.48±6.04	83.55±3.91

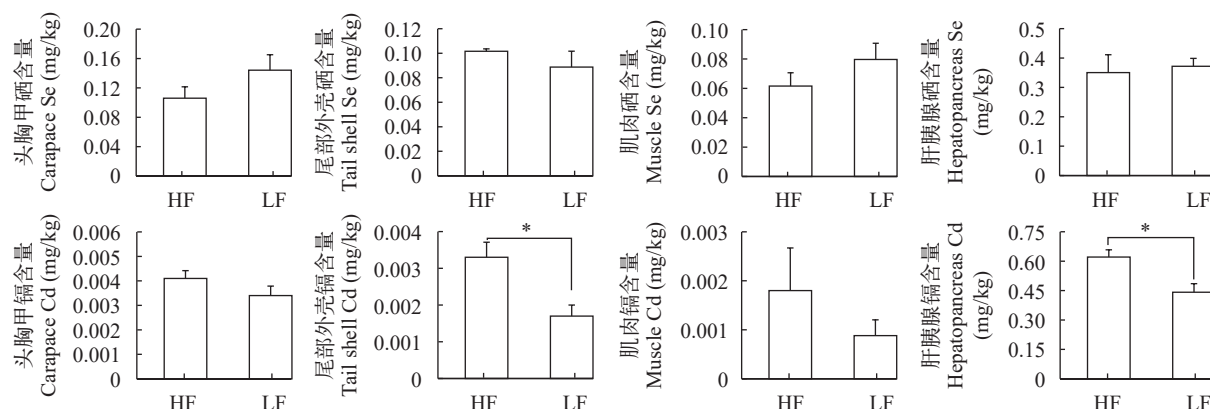


图9 鱼粉含量对克氏原螯虾组织硒和镉含量的影响

Fig. 9 Effect of fish meal content on selenium and cadmium content in tissues of *P. clarkii*

丰度有增加的趋势; 在种水平上, 低鱼粉饲料组的普通拟杆菌的相对丰度显著降低、铁还原菌的相对丰度显著增加($P<0.05$)。已有研究表明, 气单胞菌属含有多种胞外毒素因子(如细胞毒、气溶素), 其丰度升高会使宿主的抵抗力下降^[28]; 柠檬酸杆菌属可引起螯虾尾部肌肉肿胀或溃烂, 严重时可导致死亡^[29]。另一方面, 拟杆菌属作为共生菌在碳水化合物发酵、能量代谢和免疫调节中发挥重要作用, 有研究表明拟杆菌属是克氏原螯虾在应激或有利条件下的有益细菌^[30, 31]。因此, 饲料中鱼粉含量过低可能导致克氏原螯虾肠道有益菌的相对丰度下降、有害菌的相对丰度上升, 不利于肠道健康。

3.5 鱼粉含量对肌肉品质的影响

在本研究中, 与高鱼粉饲料相比, 低鱼粉饲料显著增加了肌肉的油酸、亚油酸、 α -亚麻酸和二十碳二烯酸、MUFA和n-6 PUFA的含量($P<0.05$)。以前研究也表明, 豆粕替代50%的鱼粉(基础配方鱼粉含量为65%)显著增加虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)肌肉的亚油酸含量^[32]。低鱼粉饲料导致鱼体肌肉脂肪酸含量升高, 可能与机体组织脂肪酸合成基因的上调有关; 用豆粕、菜粕、棉籽粕分别替代25%的鱼粉(基础配方鱼粉含量为55%), 可显著上调大口黑鲈肝脏催化脂肪酸合成的FAS和ACCI基因表达水平^[33]。在克氏原螯虾中, 缺乏不同蛋白源对脂代谢影响机制的研究, 相关工作有待开展。

3.6 鱼粉含量对组织硒和镉含量的影响

在本研究中, 低鱼粉饲料组的克氏原螯虾尾部甲壳和肝胰腺中的镉含量显著低于高鱼粉饲料组($P<0.05$), 但肌肉的镉含量没有显著差异。这可能是因为陆生植物蛋白中的重金属含量低于海洋来源的鱼粉。在2007—2013年荷兰各种饲料原料和配合饲料的镉含量研究表明, 海洋来源的鱼粉平均镉浓度为0.68 mg/kg, 其中2.9%的样本镉浓度超过

欧盟委员会设定的最大限值(2 mg/kg), 植物蛋白源的平均镉浓度为0.07 mg/kg, 仅草粉(Grass meal)中1个样本超过最大限值(1 mg/kg)^[34]。在本研究中, 通过豆粕和菜粕部分替代, 饲料中鱼粉含量从10%降至2%时, 饲料中的镉含量从0.09降低至0.04 mg/kg(表1)。因此, 通过使用植物蛋白替代鱼粉可以降低镉在克氏原螯虾肝胰腺中的沉积。

4 结论

本研究表明, 通过氨基酸平衡及豆粕和菜粕的综合替代, 将对照饲料的鱼粉从10%降至2%, 对克氏原螯虾的存活率、生长性能、表观消化率、消化酶活性、抗氧化能力、非特异免疫力均没有造成显著的负面影响, 对肌肉的基本营养成分和氨基酸组成也没有显著影响。与高鱼粉(10%)饲料相比, 低鱼粉(2%)饲料有利于提高克氏原螯虾的出肉率, 增加肌肉的亚油酸、 α -亚麻酸和二十碳二烯酸的含量, 降低肝胰腺的镉含量, 因而改善了虾的营养品质。此外, 低鱼粉(2%)饲料会引起肝胰腺和肠道组织形态发生一定程度的改变, 导致肠道菌群中普通拟杆菌的相对丰度显著降低、铁还原菌的相对丰度显著增加。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Cai M, Qiu X, Zhang H, et al. Effects of replacing fish-meal with soybean meal on the immune and antioxidant capacity, and intestinal metabolic functions of red swamp crayfish *Procambarus clarkii* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2024(149): 109600.
- [2] Jin H H, Li Y, Li Z, et al. A review: Research progress in nutritional requirements and feeding in red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2023, 42(5): 891-900. [金鸿浩, 李雨, 李哲, 等. 克氏原螯虾营养需求与饲料研究进展 [J]. 水

- 产科学, 2023, **42**(5): 891-900.]
- [3] Kasamechotchung C, Munkongwongsiri N, Plaipetch P, *et al.* Effect of partial and total replacement of fishmeal by soybean meal in feed on growth and gut performance of *Penaeus vannamei* [J]. *Scientific Reports*, 2025, **15**(1): 451.
- [4] Wan J, Shen M, Tang J, *et al.* Effects of soybean meal processing treatments on growth performance, nutrient digestibility, nitrogen and phosphorus excretion in red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* [J]. *Aquaculture International*, 2017, **25**(2): 543-554.
- [5] Yao W, Zhang C, Li X, *et al.* The replacement of fish meal with fermented soya bean meal or soya bean meal in the diet of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Aquaculture Research*, 2020, **51**(6): 2400-2409.
- [6] Huang Y, Lou G G, Liu X Y, *et al.* Replacing fish meal with rapeseed meal on growth performance, antioxidant capacity and digestive system morphology of juvenile *Procambarus clarkii* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2023, **47**(12): 1918-1931. [黄莹, 娄格格, 刘轩宇, 等. 双低菜粕替代鱼粉对克氏原螯虾幼虾生长性能、抗氧化能力和消化系统组织形态的影响 [J]. *水生生物学报*, 2023, **47**(12): 1918-1931.]
- [7] Obirikorang K A, Gyamfi S, Goode M E, *et al.* Effect of soybean meal diets on the growth performance, ammonia excretion rates, gut histology and feed cost of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry [J]. *Aquaculture Research*, 2020, **51**(9): 3520-3532.
- [8] Huang F, Wang L, Zhang C X, *et al.* Replacement of fishmeal with soybean meal and mineral supplements in diets of *Litopenaeus vannamei* reared in low-salinity water [J]. *Aquaculture*, 2017(473): 172-180.
- [9] Bulbul M, Kader M A, Asaduzzaman M, *et al.* Can canola meal and soybean meal be used as major dietary protein sources for kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus* [J]? *Aquaculture*, 2016, **452**: 194-199.
- [10] Chen W, Gao S, Chang K, *et al.* Partial fishmeal replacement by soybean meal induces fish growth retardation and gut inflammation via gut mucosal barrier dysfunction and dysbiosis in largemouth bass [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2024(316): 116067.
- [11] AOAC, Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists [M]. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA., 2003.
- [12] Caballero M J, Obach A, Rosenlund G, *et al.* Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Aquaculture*, 2002, **214**(1/2/3/4): 253-271.
- [13] Jiang Z, Qian D, Liang Z, *et al.* Effects of dietary plant protein sources intake on growth, digestive enzyme activity, edible tissue nutritional status and intestinal health of the omnivorous redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* [J]. *British Journal of Nutrition*, 2023, **130**(6): 978-995.
- [14] Yao J P, Tan Q S, Zhu Y H, *et al.* Effects of dietary fish meal replacement with vegetable protein on reproduction performance of red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2020, **44**(3): 479-484. [姚俊鹏, 谭青松, 朱艳红, 等. 植物蛋白替代鱼粉对克氏原螯虾生长和繁殖的影响 [J]. *水生生物学报*, 2020, **44**(3): 479-484.]
- [15] Zhao L, Yang X, Cheng Y, *et al.* Effects of histamine on survival and immune parameters of the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* [J]. *Journal of Shellfish Research*, 2012, **31**(3): 827-834.
- [16] Martínez-Álvarez R M, Morales A E, Sanz A. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors [J]. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2005, **15**(1): 75-88.
- [17] Wu J Q, Kosten T R, Zhang X Y. Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia [J]. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2013(46): 200-206.
- [18] Chen Q, Li Y J, Yuan Z W, *et al.* Effects of replacing fish meal with cottonseed protein concentrate on growth performance, antioxidant ability, immune function and intestinal health of *Paramisgurnus dabryanus* [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2025: 1-22. [陈琪, 李佑杰, 袁志文, 等. 棉籽浓缩蛋白替代鱼粉对大鳞副泥鳅生长性能、抗氧化能力、免疫功能和肠道健康的影响 [J]. *动物营养学报*, 2025: 1-22.]
- [19] Kokou F, Sarropoulou E, Cotou E, *et al.* Effects of fish meal replacement by a soybean protein on growth, histology, selected immune and oxidative status markers of gilthead sea bream, *Sparus aurata* [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2015, **46**(2): 115-128.
- [20] Gu M, Jia Q, Zhang Z, *et al.* Soya-saponins induce intestinal inflammation and barrier dysfunction in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018(77): 264-272.
- [21] Pratiwy F M, Triyani D A. Replacement of fish meal with fermented soybean meal in fish feed: a review [J]. *Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research*, 2022: 71-77.
- [22] Xiao M, Xu H L. Research progress on the biological mechanism of lectins [J]. *Acta Medicinæ Sinica*, 2013, **26**(1): 189-193. [肖敏, 徐洪来. 凝集素生物机制的研究进展 [J]. *华夏医学*, 2013, **26**(1): 189-193.]
- [23] Ramadass B, Dokladny K, Moseley P L, *et al.* Sucrose co-administration reduces the toxic effect of lectin on gut permeability and intestinal bacterial colonization [J]. *Digestive Diseases and Sciences*, 2010, **55**(10): 2778-2784.
- [24] Yamamoto K, Qi W M, Yokoo Y, *et al.* Lectin histochemical detection of special sugars on the mucosal surfaces of the rat alimentary tract [J]. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 2010, **72**(9): 1119-1127.
- [25] Rocha C, Durau J F, Barrilli L N E, *et al.* The effect of raw and roasted soybeans on intestinal health, diet digestibility, and pancreas weight of broilers [J]. *Journal of Applied Poultry Research*, 2014, **23**(1): 71-79.

- [26] Rougé P, Culerrier R, Granier C, *et al.* Characterization of IgE-binding epitopes of peanut (*Arachis hypogaea*) PNA lectin allergen cross-reacting with other structurally related legume lectins [J]. *Molecular Immunology*, 2010, 47(14): 2359-2366.
- [27] Kong X, Li Y, Liu X. A review of thermosensitive antinutritional factors in plant-based foods [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2022, 46(9): e14199.
- [28] Pei C, Song H, Zhu L, *et al.* Identification of *Aeromonas veronii* isolated from largemouth bass *Micropterus salmoides* and histopathological analysis [J]. *Aquaculture*, 2021(540): 736707.
- [29] Yan B L, Zhang X J, Liang L G, *et al.* Detection of cfa gene and isolation and identification of the pathogen *Citrobacter freundii* isolated from *Portunus trituberculatus* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(3): 391-398. [阎斌伦, 张晓君, 梁利国, 等. 三疣梭子蟹病原弗氏柠檬酸杆菌的分离鉴定及定居因子抗原基因检测 [J]. *水产学报*, 2012, 36(3): 391-398.]
- [30] Xu L, Yuan J, Chen X, *et al.* Screening of intestinal probiotics and the effects of feeding probiotics on the digestive enzyme activity, immune, intestinal flora and WSSV resistance of *Procambarus clarkii* [J]. *Aquaculture*, 2021(540): 736748.
- [31] Ruan G, Li S, He N, *et al.* Short-term adaptability to non-hyperthermal stress: Antioxidant, immune and gut microbial responses in the red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* [J]. *Aquaculture*, 2022(560): 738497.
- [32] Yeşilayer N, Kaymak I E. Effect of partial replacement of dietary fish meal by soybean meal with betaine attractant supplementation on growth performance and fatty acid profiles of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture Research*, 2020, 51(4): 1533-1541.
- [33] Yao S, Li W, Cai C, *et al.* Comparative study on the effects of four plant protein sources on the liver and intestinal health of largemouth bass, *Micropterus salmoides* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2024, 2024(1): 6337005.
- [34] Adamse P, Van der Fels-Klerx H J, de Jong J. Cadmium, lead, mercury and arsenic in animal feed and feed materials—trend analysis of monitoring results [J]. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2017, 34(8): 1298-1311.

LOW FISH MEAL DIET ON GROWTH PERFORMANCE, HEPATOPANCREAS- INTESTINAL HEALTH, AND MUSCLE QUALITY OF RED SWAMP CRAYFISH (*PROCAMBARUS CLARKII*)

TENG Zi-Qian^{1,2,3}, LI Hao^{1,2,3}, LI Wei^{1,2,3}, LI Wang^{1,2,3}, YUAN Jing^{1,2}, LIU Hao-Kun^{1,2,3} and ZHANG Tang-Lin^{1,2,3}

(1. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 2. Hubei Research Center for Integrated Rice Field Aquaculture Engineering, Wuhan 430072, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: In order to reduce feed costs, commercial diets for *Procambarus clarkii* mostly use high-level plant protein to replace fish meal, resulting in diets containing less than 5% fish meal. This study evaluated the effects of low fish meal diets on the survival, growth, muscle quality, and health of *P. clarkii* by comparing a control diet with 10% fish meal to an experimental diet with 2% fish meal (replacing fish meal with a 1:1 soybean meal-rape seed meal mixture). *P. clarkii* with an initial weight of (3.90±0.01) g were used as the experimental subjects, and an 8-week aquaculture experiment was conducted in an indoor circulating water aquaculture system. The results showed that low fish meal diet did not significantly effect the survival rate, growth indicators (including weight gain rate, specific growth rate, intestine-somatic index, hepatopancreatic index, gonadosomatic index, and condition factor), apparent digestibility, digestive enzyme activity, antioxidant capacity, and non-specific immunity of *P. clarkii*. There is no significant impact on the basic nutritional components or amino acid composition of muscles. Compared with high fish meal feed, low fish meal (2%) diet significantly increased meat yield ($P<0.05$), increased the muscle content of oleic acid, linoleic acid, alpha linolenic acid, eicosaenoic acid, monounsaturated fatty acids, and n-6 polyunsaturated fatty acids ($P<0.05$), and reduced cadmium content in the hepatopancreas ($P<0.05$), thus improving the nutritional quality of crayfish. In addition, low fish meal diet induced morphological changes in hepatopancreas and intestinal tissues, significantly decreasing the relative abundance of *Bacteroides vulgatus* and increasing iron-reducing bacteria in the intestinal microbiota ($P<0.05$). Although these changes did not have a negative impact on the survival, growth, digestion, antioxidant levels, or non-specific immunity, they also indicate that low fish meal content in feed may be detrimental to the hepatopancreas and intestinal health of *P. clarkii*.

Key words: Fish meal; Growth; Digestion; Muscle nutrition; Antioxidant capacity; Gut microbiota; *Procambarus clarkii*