Liu J M, Wu L Y, Jin J Y, *et al*. Replacing fishmeal with methanotroph bacteria meal on growth performance, protein metabolism, and hepatopancreatic health in juvenile *Procambarus clarkii* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2026, 50(8): 082606. [刘金梅, 巫丽云, 金俊琰, 等. 荚膜甲基球菌蛋白替代鱼粉对克氏原螯虾幼虾生长性能、蛋白质代谢及肝胰腺健康的影响 [J]. 水生生物学报, 2026, 50(8): 082606.]

荚膜甲基球菌蛋白替代鱼粉对克氏原螯虾幼虾生长性能、蛋白质代谢及肝胰腺健康的影响

刘金梅[1,2] 巫丽云[2] 金俊琰[2] 韩 冬[2] 刘昊昆[2] 张志敏[2] 解绶启[2]

(1. 大连海洋大学, 大连 116023; 2. 中国科学院水生生物研究所水产品种创制与高效养殖重点实验室, 武汉 430072)

摘要: 为评估荚膜甲基球菌蛋白[Methanotroph bacteria (*Methylococcus capsulatus*) meal, MBM]替代鱼粉在克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)饲料中的可行性, 本研究设计了5种等氮等脂饲料, 分别用MBM替代基础饲料中0 (MBM0)、25% (MBM25)、50% (MBM50)、75% (MBM75)和100% (MBM100)的鱼粉蛋白, 对应的MBM添加量分别为0、2.12%、4.24%、6.36%和8.49%。选取初始体重(3.44±0.02) g的克氏原螯虾幼虾375尾, 随机分成5组, 每组3个重复, 进行为期8周的养殖实验。结果显示: 随着替代比例的升高, MBM75和MBM100组的终末体重、增重率、特定生长率及饲料效率均显著低于MBM0组(P<0.05)。在生理生化方面, 与MBM0组相比, 高替代组(MBM75和MBM100)肝胰腺胰蛋白酶活性显著降低(P<0.05), 而谷草转氨酶活性显著升高(P<0.05)。分子水平上, MBM100组肝胰腺蛋白质合成相关基因(*mtor*、*s6k1*、*akt*、*pi3k*和*p62*)表达量显著下调, 而蛋白质分解相关基因(*gcn2*、*atg3*、*atg9*、*ub*、*psmd1*、*psmd6*)表达量显著上调(P<0.05); 肠道氨基酸转运基因(*eaat3*、*pat1*、*mglur*)在MBM75和MBM100组表达显著受到抑制。组织学观察发现, MBM25组肝胰腺组织结构正常; MBM50组出现轻微损伤; MBM75和MBM100组肝小管管腔畸形, 基膜界限模糊, 空泡化严重, 且炎症相关基因(*tnf-α*、*traf6*、*relish*和*irak4*)基因表达显著上调(P<0.05)。综上所述, 高比例MBM替代鱼粉会抑制克氏原螯虾幼虾生长、蛋白质代谢, 并诱导肝胰腺炎症损伤。因此, 克氏原螯虾幼虾饲料中MBM替代鱼粉比例不宜超过50%, 即饲料中添加量不超过4.24%。

关键词: 荚膜甲基球菌蛋白; 鱼粉; 生长; 蛋白质代谢; 肝胰腺健康; 克氏原螯虾

中图分类号: S966.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2026)08-082606-10

doi: 10.3724/1000-3207.2026.2026.0044 CSTR: 32229.14.SSSWXB.2026.0044

虾类养殖是全球水产养殖的支柱产业, 对保障优质蛋白供给、推动渔业经济发展具有重要意义。2024年虾类养殖产量占全国淡水养殖总产量的13.61%。随着该产业的持续扩张和全球水产养殖的快速发展, 水产饲料的需求日益增长[1]。鱼粉因其蛋白质含量高、氨基酸平衡、消化率高、适口性强等特点被认为是水产饲料中的首选蛋白源[2, 3]。然而, 鱼粉生产严重依赖有限的海洋渔业资源, 其高昂的价格和剧烈的供需失衡, 已成为制约虾类养殖规模化和可持续发展的关键原因[4]。因此, 为了实现水产养殖的可持续发展, 亟须开发新型非粮蛋白源, 以降低饲料对鱼粉的依赖[5]。

单细胞蛋白(Single-cell protein, SCP)是一类源于微生物、可加工成多种形式的蛋白质[6]。因富含脂质、碳水化合物、维生素及矿物质, 营养价值高而备受关注[7]。已有研究表明, 乙醇梭菌蛋白替代克氏原螯虾饲料中25%的鱼粉, 可显著提高其生长性能, 并且改善肌肉氨基酸组成及肠道组织学状态[8]。用产朊假丝酵母替代50%鱼粉蛋白不会对克氏原螯虾幼虾生长性能、消化酶活性、抗氧化能

收稿日期: 2026-02-04; **修订日期:** 2026-03-25

基金项目: 国家重点研发计划(2023YFD2402000)资助 [Supported by the National Key R & D Program of China (2023YFD2402000)]

作者简介: 刘金梅(2000—), 女, 硕士研究生; 主要从事鱼类生理生态学研究。E-mail: liujinmei@ihb.ac.cn

通信作者: 金俊琰(1983—), 女, 博士; 主要从事鱼类生理生态学研究。E-mail: jinjunyan@ihb.ac.cn

©The Author(s) 2026. This is an open access article under the CC-BY 4.0 License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

力和消化系统组织结构等造成不良影响[9]。克氏原螯虾饲料中添加0.3%—0.6%的雨生红球藻可以提高其生长性能, 提高血淋巴和肝胰腺抗氧化能力, 改善克氏原螯虾体色[10]。上述研究结果表明, 单细胞蛋白在改善克氏原螯虾生长性能、提高饲料利用效率及调控机体生化指标等方面均表现优异, 是一种可安全应用于水产养殖领域的优质饲料原料。荚膜甲基球菌蛋白(MBM)是一种以甲烷为唯一碳源, 经微生物发酵生产的细菌来源单细胞蛋白[11, 12]。MBM粗蛋白含量约70%, 粗脂肪含量约8%, 氨基酸组成与优质鱼粉相似。作为细菌来源蛋白, MBM不受耕地、水资源及季节性波动的明显限制, 具有生产周期短、发酵过程可控、产品质量稳定等优势。依托稳定的天然气供应体系, 甲烷底物来源充足、运输便捷且成本可控, 为MBM的连续化和规模化生产提供了保障。此外, 甲烷来源广泛, 部分来源具有可再生特征, 以其为底物生产MBM有助于降低传统蛋白原料开发利用带来的资源与环境压力, 生态效益突出。因此, MBM作为一种兼具营养价值、产业化可行性和可持续发展潜力的单细胞蛋白, 在缓解鱼粉资源短缺和促进饲料蛋白替代方面具有广阔前景[13]。目前, MBM替代鱼粉在甲壳类动物中的研究较少[14]。

克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*), 俗称小龙虾, 原产于墨西哥东北部和美国中南部[15]。因其鲜美口感和高营养价值而得到广泛养殖, 是我国当前养殖产量最大的淡水甲壳类动物, 2024年产量达344.76万吨, 占我国甲壳类水产养殖总产量的60.45%[1]。鱼粉是克氏原螯虾饲料中营养价值突出的优质动物蛋白源。目前, 关于MBM替代克氏原螯虾饲料中鱼粉的研究尚属空白。因此, 本研究旨在探究MBM以不同比例替代鱼粉对克氏原螯虾幼虾生长性能、肝胰腺健康及蛋白质代谢的影响, 为MBM在甲壳动物饲料中的高效利用提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　实验饲料

实验饲料配方和常规化学成分如表 1所示。用MBM [恺勒司(上海)商务信息咨询有限公司]替代基础饲料中0 (MBM0)、25% (MBM25)、50% (MBM50)、75% (MBM75)和100% (MBM100)的鱼粉蛋白, 配制成MBM含量分别为0、2.12%、4.24%、6.36%和8.49%的5种等氮等脂饲料。将所有饲料原料粉碎后过80目筛, 根据饲料配方中各原料比例, 按由少到多的顺序依次加入并充分混匀, 之后使用单螺杆制粒机(SLP-45, 中国水产科学研究院渔业机械仪器研究所, 中国上海)制成直径2.0 mm的饲料, 饲料颗粒在烘箱中95℃熟化20min, 随后在烘箱中60℃恒温干燥后置于4℃冷库中保存。

1.2　实验动物与养殖管理

克氏原螯虾虾苗购自汉川市晶辉种养殖专业合作社(湖北汉川)。在正式实验开始前, 克氏原螯虾虾苗置于室内养殖系统中暂养2周, 对其进行驯化, 暂养期间投喂基础饲料。正式实验挑取健康、大小均匀的克氏原螯虾幼虾[初始体重(3.44±0.02) g], 随机放入15个养殖水箱(每箱25尾, 水量: 160 L, 120 cm×80 cm×30 cm)。共设置5个实验组, 每组3个重复。实验期间, 每天于8:00和18:00投喂至表观饱食为止。实验持续8周。实验期间水温保持在20—22℃, pH7.0—7.4, 溶解氧6.0—7.5 mg/L, 总氨氮< 0.1 mg/L, 光照为自然光照。

1.3　样品采集

在养殖实验结束后, 记录每缸虾的数量并称重。每缸随机选取3尾虾于围心窦处抽取血淋巴液, 装入酸性枸橼酸盐−葡萄糖溶液润过的离心管里, 并在4℃下3000 r/min离心10min分离血浆, 将血浆样本迅速转移至–80℃冰箱保存, 用于后续分析。将肝胰腺和肠道组织样本立即保存在液氮中用于后续酶活性测定和基因表达分析。部分肝胰腺组织用4%多聚甲醛固定液固定, 用于肝胰腺形态的组织学分析。

1.4　生化分析

准确称量肝胰腺组织, 加入0.01 mol/L磷酸盐缓冲盐溶液制备10% (*w*/*v*)匀浆液, 离心后收集上清液, 使用考马斯亮蓝试剂盒(碧云天生物技术研究所, P0006)测定蛋白质含量, 使用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒检测克氏原螯虾肝胰腺中的谷丙转氨酶(ALT, C009-2-1)、谷草转氨酶(AST, C010-2-1)、胰蛋白酶(TRY, A080-2-2)、脂肪酶(LPS, A054-2-1)和淀粉酶(AMS, C016-1-2), 血浆蛋白质代谢指标白蛋白(ALB, A028-2-1)、总蛋白(TP, A045-2-2)、血氨(BLA, A086-2-1)、谷丙转氨酶(ALT, C009-2-1)和谷草转氨酶(AST, C010-2-1)。具体测定方法参照试剂盒说明书进行。

1.5　基因表达分析

使用TransZol Up Plus RNA试剂盒(北京全式金生物技术股份有限公司, 北京)提取肝胰腺总RNA。RNA浓度和纯度使用超微量分光光度计NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, MA, USA)及Agilent 2100生物分析仪(Agilent Technologies, CA, USA)测定。使用HiScript III All-in-one RT Super-

Mix Perfect for qPCR试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司, 南京)对RNA进行逆转录以获得cDNA。实时荧光定量PCR反应使用SYBR Green Premix Pro Taq HS qPCR Tracking Kit (湖南艾科瑞生物工程有限公司, 湖南)在荧光定量仪LightCycle® 480 Ⅱ (Roche, Basel, Switzerland)中对样品相关基因表达量进行检测。反应体系: 总体系6 μL, cDNA 2 μL, Primer各0.24 μL, dd H_2O 0.52 μL, Master Mix 3 μL。PCR循环条件: 95℃ 预变性30s; 95℃ 5s, 55℃ 30s, 72℃ 30s (循环40次)。本研究使用的引物由武汉天一华煜基因科技有限公司合成, 引物序列列于表 2。以*β-actin*为内参基因, 根据引物扩增效率计算目标基因的相对表达量[16]。

1.6 数据处理

生长性能及形体参数指标计算公式:

存活率(Survival rate, SR, %)=(终末尾数/初始尾数)×100

增重率(Weight gain rate, WGR, %)=100×(终末体重–初始体重)/初始体重

饲料效率(FE, Feed efficiency, %)=(100×总增重)/摄食量

特定生长率(Specific growth rate, SGR, %/d)=

表 1 实验饲料配方及化学组成(%干物质)

Tab. 1 Diet formulation and chemical composition (% dry matter)

原料Ingredient	饲料Diet				
	MBM0	MBM25	MBM50	MBM75	MBM100
鱼粉Fish meal	8.00	6.00	4.00	2.00	0.00
豆粕Soybean meal	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00
荚膜甲基球菌蛋白Methanotroph bacteria meal	0.00	2.12	4.24	6.36	8.49
棉籽浓缩蛋白Cottonseed protein concentrate	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
菜粕Rapeseed meal	14.00	14.00	14.00	14.00	14.00
花生粕Peanut meal	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
玉米DDGS Distillers Dried Grains with Solubles	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
小麦面粉Wheat flour	28.00	28.00	28.00	28.00	28.00
褐藻酸钠Sodium alginate	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
磷酸二氢钙$Ca(H_2PO_4)_2$	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
喷雾干燥酵母粉Spray-dried sourdough powders	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
豆油Soybean oil	3.00	3.05	3.10	3.15	3.20
膨润土Bentonite	1.25	1.08	0.91	0.73	0.56
大豆磷脂油Soybean-lecithin oil	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
胆固醇Cholesterol	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
维生素预混物Vitamin premix[1]	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
矿物盐预混物Mineral premix[2]	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
氯化钠NaCl	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
氯化胆碱Choline chloride	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
维生素C Vitamin C	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
蜕壳素Molting substance	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
苏氨酸L-Threonine	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35
赖氨酸L-Lysined	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
化学组成Chemical composition (%)					
粗蛋白Crude protein	32.33	32.22	33.28	32.48	32.47
粗脂肪Crude lipid	6.19	6.65	6.70	6.15	6.28

注: [1]多维预混物(mg/kg 饲料): 维生素A 4 g, 维生素D 0.02 g, 维生素E 10 g, 维生素K_3 10 g, 维生素B_1 10 g, 维生素B_2 10 g, 维生素B_6 20 g, 烟酸40 g, 生物素0.2 g, 泛酸钙20 g, 叶酸0.5 g, 维生素B_{12} 0.01 g, 维生素C 20 g, 肌醇400 g; [2]多矿预混物(mg/kg 饲料): 碘酸钾0.6 g, 五水亚硒酸钠0.08 g, 磷酸二氢钾320 g, 硫酸镁200 g, 一水硫酸锰20 g, 二水氯化铜2 g, 七水硫酸锌60 g, 七水硫酸亚铁50 g, 氯化钠100 g, 六水氯化钴2 g

Note: [1]Vitamin premix (mg/kg diet): Vitamin A, 4 g; Vitamin D, 0.02 g; Vitamin E, 10 g; Vitamin K_3, 10 g; Vitamin B_1, 10 g; Vitamin B_2, 10 g; Vitamin B_6, 20 g; Niacin, 40 g; Biotin, 0.2 g; Calcium pantothenate, 20 g; Folate, 0.5 g; Vitamin B_{12}, 0.01 g; Vitamin C, 20 g; Inositol, 400 g. [2]Mineral salt premix (mg/kg diet): KIO_3, 0.6 g; $Na_2SeO_3·5H_2O$, 0.08 g; KH_2PO_4, 320 g; $MgSO_4$, 200 g; $MnSO_4·H_2O$, 20 g; $CuCl_2·2H_2O$, 2 g; $ZnSO_4·7H_2O$, 60 g; $FeSO_4·7H_2O$, 50 g; NaCl, 100 g; $CoCl_2·6H_2O$, 2 g

100×[ln (终末体重)–ln(初始体重)]/投喂天数

肝胰腺指数(Hepatosomatic index, HSI)=100×(肝胰腺重/体重)

含肉率(Flesh content, FC, %)=100×(腹部肌肉重/体重)

所有数据经SPSS 20.0软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA), 采用Duncan's法进行多重比较, 显著性水平设为$P<0.05$。结果以平均值±标准误(mean±SE)表示。

2　结果

2.1　生长性能和体组分

如表 3所示, 各饲料处理组间克氏原螯虾的存活率无显著差异($P>0.05$)。MBM75和MBM100组终末体重(FBW)、增重率(WGR)、特定生长率(SGR)和饲料效率(FE)均显著低于对照组($P<0.05$)。各组肝胰腺指数(HSI)和含肉率(FC)无显著差异($P>0.05$)。

2.2　血淋巴、肝胰腺生理生化指标

如表 4所示, 血淋巴中TP含量随MBM替代比

表 2　实时荧光定量PCR引物序列

Tab. 2　Primers sequences for Real-time quantitative PCR

基因 Gene	引物序列Primer sequence (5′—3′)	序列号Accession number	基因 Gene	引物序列Primer sequence (5′—3′)	序列号Accession number
mtor	GGTGGATGGGTTGCAGTCTT	XM_045763213.2	*psma1*	CTTTACCTCATTGACCCATCT	XM_045741152.2
	CCCAAACCTCGTACTATATGCCA			CACAACCATAGTATCCATTACACAT	
s6k1	AGGAGGACGCCATAGAGTGT	XM_045741213.2	*psmd1*	ACTCATACAGCAAACAGAATCC	XM_045745880.2
	TTTGCCACCGGTCGTTTTTC			CGTCCACCAGCATCAATAA	
4ebp1	CCTGCCCCTTCCTTGGATTT	XM_045727917.2	*psmd6*	AGCTTTTGCTAAAACCTACG	XM_045743433.2
	ATGCGGGTATGACCCTGTTG			TCCCAATCTCCTCCCTCT	
atf4	CCAGCTGTGACGATGCCATA	XM_045739953.2	*psmc1*	TGTCTCCATTCTCTCCTTTGT	XM_045744658.2
	CTTGTCTGTGGCGGCAATTC			TTGAGGTGCCTTCTCTAGCT	
gcn2	AAGCAGAAGAGCTGCAGAGG	XM_069333951.1	*traf6*	CTCAGGCATGCTCCTTCCAA	XM_045747709.2
	GAAAGAACGCCGGTGAGTTG			GCTCGTCACAGAGAGCACAT	
akt	CCTTGGGGCGTCTACTCCTA	XM_069307851.1	*relish*	TGGTCCATGCACGTCTTCGT	XM_069312362.1
	TCCTCATAATCCTCACTTTCCT			GGAAGGGTGATTGGGCGATA	
pi3k	ACCTAATTTTCCTATCACACCTGC	XM_069321151.1	*irak4*	TGCTCCTTCCAACTTCATCTCC	XM_045757634.2
	AGTTCATAAATGGCCTCCTCAC			AGGAGCATGCAACTACCACC	
atg3	GCCAAGACAACCACCATAGC	XM_045763793.2	*tlr4*	GGAGGGCACGTGTCTGTTTA	XM_070135259.1
	AGAGCCGAGGTGTCTGGTAG			ATACCCTTGACGGCTCCTCT	
atg9	TCATACATCCAGGGTTCGCC	XM_045748647.2	*tnf-α*	GGCCTGGGAAGTAAACGCTC	XM_045756285.2
	GGGCAAAGGAACAAACGTCC			CCTGAAGACTGGAGGAGCAC	
atg16	AGATGGATGGCACAGAAGGC	XM_045768894.2	*eaat3*	CCCCCAAGTCTGAGTGGGAT	XM_045747303.2
	GTTCACTTGCTTGGGCTCAC			GTGGTTTTCCTTTCGCACCC	
atg18	CGTGTTGTAGTGGAGGAGCA	XM_045769987.2	*pat1*	GCGTGTGTTTTGAAACGGGA	XM_069300105.1
	CGTGGCTGCTTTTGAATCGT			TTCAGCGTGTGTTCTGGCAT	
p62	TACGGCCAGAGTTCCCCTT	XM_069327145.1	*mglur*	TTCATTCCGAAGCAGGGACG	XM_045739566.2
	GGCAGTTGTTTGTGCTACTGG			GTGGAGTGCAGGCCAATAGT	
ub	TCCAGCCTCTCCTGCCTT	XM_069311960.1	*β-actin*	ACGCCCTTCCCCATGCT	XM_054343472.1
	CCTTCCTTATCCTGAATCTTTGCC			CGAACGATTTCTCGCTCT	

注: *mtor*. mammalian target of rapamycin哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; *s6k1*. ribosomal protein S6 kinase B1核糖体蛋白S6激酶B1; *4ebp1*. eukaryotic initiation factor 4E binding protein-1真核翻译起始因子4E结合蛋白1; *atf4*. activating transcription factor 4转录激活因子4; *gcn2*. general control non-derepressible 2一般性调控阻遏蛋白激酶2; *akt*. protein kinase B蛋白激酶B; *pi3k*. phosphoinositide 3-kinase磷酸肌醇 3-激酶; *atg3*. autophagy related 3自噬相关3; *atg9*. autophagy related 9自噬相关9; *atg16*. autophagy related 16自噬相关16; *atg18*. autophagy related 18自噬相关18; *p62*. equestosome1泛素结合蛋白; *ub*. ubiquitin protein泛素; *psma1*. proteasome 20S subunit alpha 1蛋白酶体亚基α1型; *psmd1*. proteasome 26S subunit. non-ATPase 1 26S蛋白酶体非ATP酶调节亚基1; *psmd6*. proteasome 26S subunit. Non-ATPase 6蛋白酶体非ATP酶调节亚基6; *psmc1*. proteasome 26S subunit. ATPase 1蛋白酶体26S亚基. ATPase 1; *traf6*. TNF receptor associated factor 6肿瘤坏死因子受体相关因子6; *irak4*. interleukin-1 receptor-associated kinase 4白细胞介素-1 受体相关激酶; *tlr4*. toll-like receptor 4 Toll样受体4; *eaat3*. excitatory amino acid transporter 3兴奋性氨基酸转运蛋白3; *pat1*. proton-coupled amino acid transporter 1质子偶联氨基酸转运蛋白 1; *mglur*. metabotropic glutamate receptors代谢型谷氨酸受体; *β-actin*. β-肌动蛋白

例的上升而呈现显著性差异(P<0.05); MBM75和MBM100组血淋巴AST活性显著高于MBM0组。MBM75和MBM100组肝胰腺AST和ALT活性显著升高(P<0.05); 同时胰蛋白酶活性显著降低(P<0.05); 各组间肝胰腺脂肪酶和淀粉酶活性均无显著差异(P>0.05)。

2.3 肝胰腺蛋白质代谢和肠道氨基酸转运相关基因表达

荧光定量PCR结果显示, MBM100组mTOR信号通路关键基因(*mtor*、*s6k1*、*akt*、*pi3k*)相对表达量显著低于对照组和MBM25组(P<0.05), 而*gcn2*相对表达量呈相反趋势(图 1)。同时, 与对照组相比, MBM100组自噬−溶酶体途径(*atg3*、*atg9*; 图 2A)及泛素−蛋白酶体途径(*ub*、*psmd1*、*psmd6*; 图 2B)相关基因的表达显著上调, *p62*基因相对表达显著下调(P<0.05; 图 2A)。

当MBM替代比例超过50%时, 克氏原螯虾幼虾的肠道氨基酸转运蛋白*eaat3*、*pat1*和*mglur*基因相对表达量显著下调(P<0.05; 图 3)。

2.4 肝胰腺炎症相关基因表达和组织学

由图 4所示, MBM75和MBM100组炎症因子(*tnf-α*)及信号通路基因(*irak4*、*traf6*、*relish*)的表达水平显著高于其他组(P<0.05)。

组织切片结果如图 5所示, MBM0和MBM25组肝胰腺结构完整, 形态正常, 肝小管界限清晰, 管腔呈星形, 基底膜和上皮细胞连接紧密。MBM50组部分基膜溶解, 肝小管排列松散, 部分肝小管管腔扩张。而MBM75和MBM100组病变严重, 肝小管管腔扩张明显并且退化, 管腔畸形, 基膜界限不清晰; 同时, R细胞数量减少, B细胞肿胀空泡化。

3 讨论

3.1 荚膜甲基球菌蛋白替代鱼粉对克氏原螯虾生长性能的影响

单细胞蛋白在克氏原螯虾饲料中的研究已有报道, 乙醇梭菌蛋白替代鱼粉不会抑制克氏原螯虾的生长, 并且当乙醇梭菌蛋白替代量为25%时可显著提高其增重率[8]。产朊假丝酵母替代50%鱼粉蛋

表 3 MBM替代鱼粉对克氏原螯虾幼虾生长性能的影响

Tab. 3 Effects of MBM on growth performance of juvenile *Procambarus clarkii*

指标Index	MBM0	MBM25	MBM50	MBM75	MBM100
初始均重IBW (g)	3.31±0.09	3.40±0.07	3.34±0.03	3.33±0.09	3.34±0.04
终末均重FBW (g)	11.24±0.48^{a}	10.47±0.61^{ab}	10.08±0.47^{ab}	9.28±0.36^{b}	9.26±0.11^{b}
存活率SR (%)	88.00±2.30	92.00±0.00	90.67±1.33	94.67±1.33	85.33±3.53
增重率WGR (%)	239.64±14.82^{a}	208.23±19.40^{ab}	201.89±12.99^{ab}	178.29±3.64^{b}	177.02±1.96^{b}
特定生长率SGR (%/d)	2.18±0.08^{a}	2.01±0.11^{ab}	1.97±0.08^{ab}	1.83±0.02^{b}	1.82±0.01^{b}
饲料效率FE (%)	67.52±0.68^{a}	66.70±1.68^{a}	63.14±3.81^{ab}	57.51±2.19^{b}	55.69±2.46^{b}
肝胰腺指数HSI	9.16±0.28	8.40±0.30	8.26±0.40	8.27±0.36	8.29±0.39
含肉率FC (%)	18.89±0.32	18.90±0.29	19.12±0.30	18.84±0.31	18.75±0.42

注: 同行数据肩标不同字母表示差异显著(P<0.05); 下同

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

表 4 MBM替代鱼粉对克氏原螯虾幼虾血淋巴、肝胰腺生化指标的影响

Tab. 4 Effect of MBM replacement of fishmeal on haemolymph and hepatopancreas biochemical indices of juvenile *Procambarus clarkii*

指标Index	MBM0	MBM25	MBM50	MBM75	MBM100
血淋巴Haemolymph					
总蛋白TP (g/L)	47.65±3.56^{b}	66.23±5.81^{a}	71.17±4.56^{a}	58.61±4.96^{ab}	59.53±1.62^{ab}
血氨BLA (μmol/L)	128.85±5.35^{b}	159.14±21.22^{ab}	171.16±9.95^{ab}	198.85±19.51^{a}	194.77±13.94^{a}
白蛋白ALB (g/L)	9.61±0.21	9.51±1.38	9.95±1.06	9.32±0.18	10.30±0.95
谷丙转氨酶ALT (U/L)	2.93±0.31	3.03±0.24	3.37±0.44	3.99±0.65	4.02±0.57
谷草转氨酶AST (U/L)	4.00±0.22^{c}	4.20±0.30^{bc}	4.59±0.52^{abc}	5.55±0.67^{ab}	5.87±0.60^{a}
肝胰腺Hepatopancreas					
谷草转氨酶AST (U/ g prot)	20.36±1.03^{b}	21.31±1.26^{b}	23.57±0.82^{b}	27.38±1.88^{a}	28.00±0.89^{a}
谷丙转氨酶ALT (U/g prot)	2.55±0.40^{b}	2.86±0.22^{b}	3.66±0.61^{ab}	4.51±0.76^{a}	4.61±0.52^{a}
胰蛋白酶TRY (U/mg prot)	8.26±0.11^{a}	8.11±0.23^{a}	8.19±0.44^{a}	7.12±0.09^{b}	7.01±0.35^{b}
脂肪酶LPS (U/g prot)	0.41±0.01	0.42±0.02	0.42±0.01	0.39±0.03	0.39±0.03
淀粉酶AMS (U/mg prot)	1.23±0.02	1.19±0.03	1.18±0.06	1.10±0.05	1.11±0.12

白对克氏原螯虾幼虾生长无负面影响, 100%替代则显著抑制其生长性能[9]。在饲料中添加雨生红球藻后, 克氏原螯虾的末重、增重率和特定生长率均显著高于对照组[10]。MBM替代水平为28.40%—43.46%时, 添加适量的必需氨基酸, 可显著促进凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)的生长, 且对饲料利用率无不良影响[14]。本研究结果显示, MBM替代量达50% (添加量4.24%)时, 幼虾生长性能与对照组无显著差异, 表明适量MBM可作为优质蛋白源。然而, 高比例替代(≥75%)显著抑制生长。这可能归因于: (1) MBM中特定的金属离子(如铁、铜)在加工过程中易催化脂质氧化, 从而降低适口性[17]; (2) MBM富含核酸、游离嘌呤及细胞壁肽聚糖可能影响食欲和消化率[18, 19], 从而抑制摄食和生长。

3.2　荚膜甲基球菌蛋白替代鱼粉对幼虾生理生化及肝胰腺健康的影响

甲壳类动物血淋巴代谢产物是其生理、营养代谢和免疫应激的指示物质[20]。血浆总蛋白(TP)和白蛋白(ALB)是反映肝脏合成功能及机体蛋白质代谢状况的重要指标[21, 22]。在本实验中, TP含量在MBM50组达到最大值, 血淋巴TP升高的原因可能是MBM替代25%—50%的鱼粉能有效促进幼虾蛋

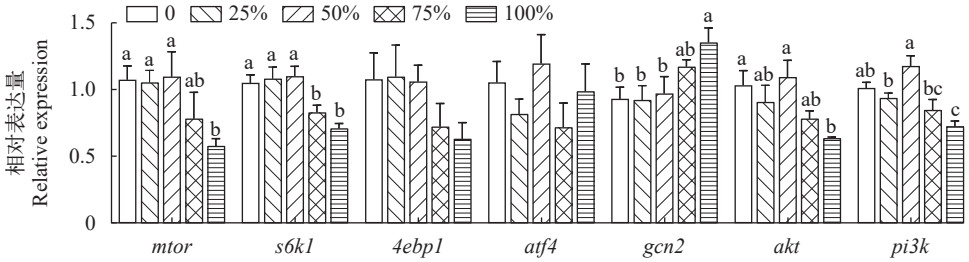


图 1　MBM替代鱼粉对克氏原螯虾幼虾肝胰腺蛋白质合成相关基因表达的影响

Fig. 1　Effects of replacing fishmeal with MBM on the expression of genes related to protein synthesis in the hepatopancreas of juvenile *Procambarus clarkii*

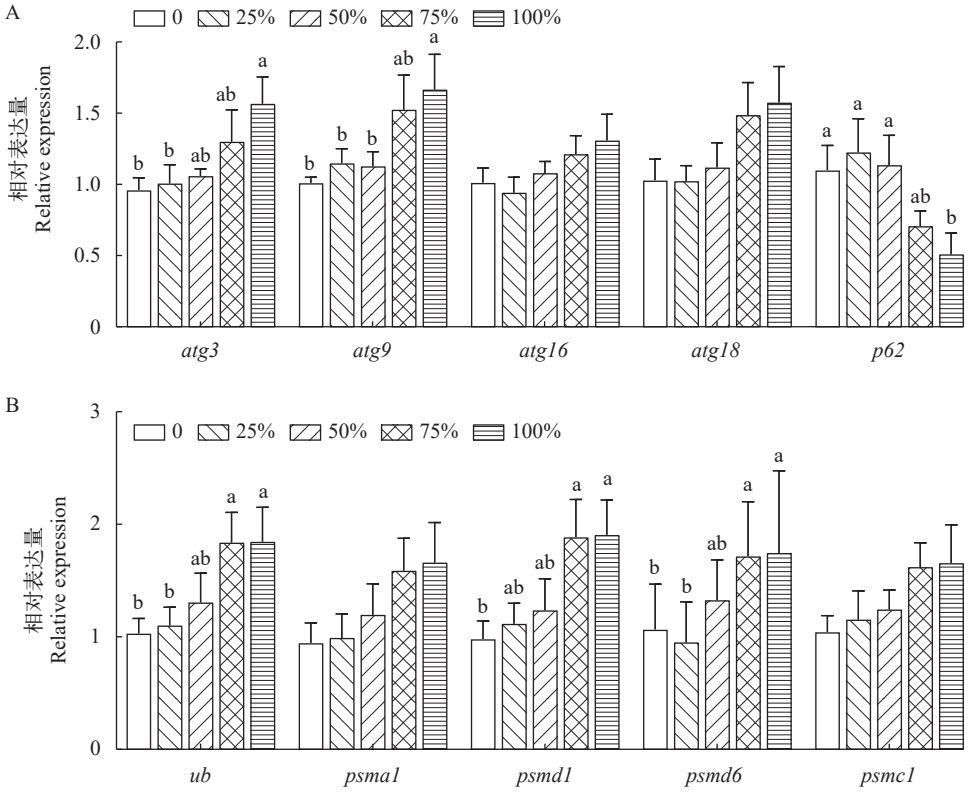


图 2　MBM替代鱼粉对克氏原螯虾幼虾肝胰腺自噬和泛素化相关基因表达的影响

Fig. 2　Effects of replacing fishmeal with MBM on the expression of genes related to autophagy and ubiquitination in the hepatopancreas of juvenile *Procambarus clarkii*

A. 自噬相关基因表达; B. 泛素化相关基因表达

A. Expression of autophagy-related genes; B. Expression of ubiquitination-related genes

白质合成。血氨主要来自各组织中氨基酸代谢分解和肠道吸收, 是反映氨基酸利用率的指标[23, 24]。在皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)的研究中发现, 随着饲料中玉米蛋白粉替代鱼粉的比例提高, 饲料的氨基酸组成逐渐失衡, 血氨含量显著上升, 进而导致机体对氨基酸的利用率下降[25]。在本实验中, 血氨浓度随饲料MBM替代水平的增加而升高, 表明在高水平MBM替代鱼粉时, 氨基酸利用率降低。肝胰腺是蛋白质消化和吸收的主要部位, 控制消化酶的分泌和营养物质的储存[26, 27]。ALT和AST是反映肝胰腺损伤的敏感指标。在MBM替代大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)[28]和中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)[29]饲料鱼粉的研究中, 高水平的MBM替代均观察到血淋巴AST活性升高, 机体肝细胞受到损伤。在本研究中, 高替代组AST和ALT活性显著升高, 结合组织学切片中观察到的肝小管畸形、基膜破裂及细胞空泡化现象, 证实高比例MBM替代导致了肝胰腺组织损伤。此外, 在高比例MBM替代鱼粉时, 胰蛋白酶活性的降低可能与MBM中细菌细胞壁成分难以被消化有关[30], 限制了营养物质的吸收利用, 进而影响生长。因此, 25%—50% MBM替代饲料中鱼粉, 对幼虾不会造成负面影响, 而MBM替代水平超过50%时会降低氨基酸利用率, 抑制胰蛋白酶活性, 并且造成肝损伤。

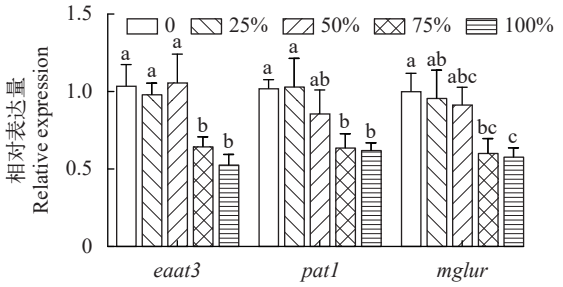


图 3 MBM替代鱼粉对克氏原螯虾幼虾肠道氨基酸转运相关基因表达的影响

Fig. 3 Effects of replacing fishmeal with MBM on gene expression related to amino acid transport in intestine of juvenile *Procambarus clarkii*

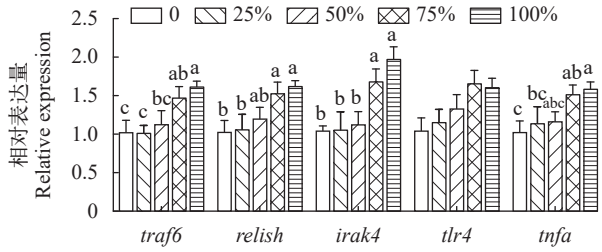


图 4 MBM替代鱼粉对克氏原螯虾幼虾肝胰腺炎症相关基因表达的影响

Fig. 4 Effects of replacing fishmeal with MBM on gene expression related to hepatopancreatic inflammation in juvenile *Procambarus clarkii*

3.3 莱膜甲基球菌蛋白替代鱼粉对克氏原螯虾蛋白质代谢相关基因表达的影响

mTOR信号通路是水产动物蛋白质代谢的重要通路, 调节细胞的生长和代谢[31, 32]。当MBM替代饲料中鱼粉后, 凡纳滨对虾肝胰腺*mtor*表达显著下调, 蛋白质合成受到显著抑制[33]。在本实验中, MBM75和MBM100组幼虾肝胰腺等参与mTOR通路(*mtor*、*s6k1*、*akt*和*pi3k*)的基因表达显著下调, 表明高比例MBM可能损害幼虾肝胰腺的蛋白质合成。动物体内多种特定蛋白质水平的调控由蛋白质合成和蛋白质降解共同决定, 泛素蛋白酶体(UPS)和溶酶体蛋白降解途径构成了蛋白质降解调控系统的主要组成部分[34, 35]。在本实验中, 随着MBM替代水平升高, UPS和溶酶体降解相关因子

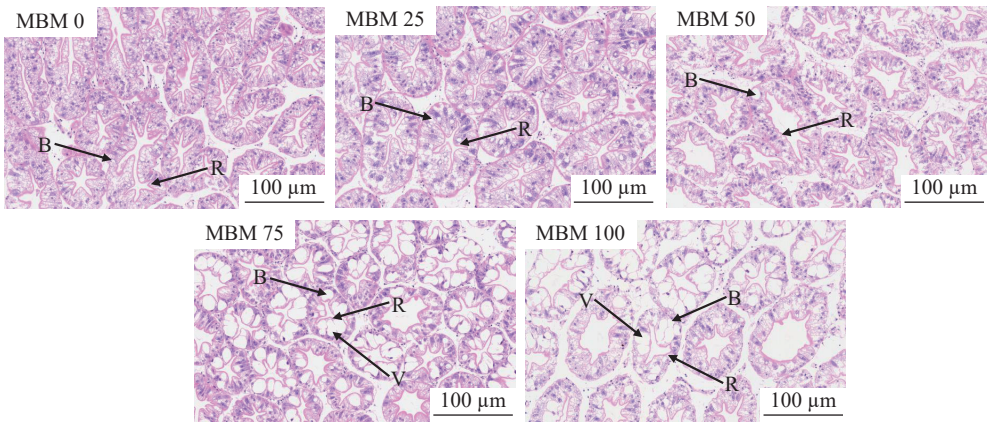


图 5 MBM替代鱼粉对克氏原螯虾幼虾肝胰腺组织学的影响(H&E染色, 200 ×)

Fig. 5 Effects of replacing fishmeal with MBM on the histology of the hepatopancreas in juvenile *Procambarus clarkii* (H&E staining, 200 ×)

B. B细胞(分泌细胞); R. R细胞(吸收细胞); V. 空泡化

B. B cell (blasenzenllen cell); R. R cell (restzellen cell); V. vacuolation

(*atg3*、*atg9*、*ub*、*psmd1*和*psmd6*)表达水平显著上调, 而*p62*表达水平显著下调, 表明幼虾肝胰腺的蛋白质降解代谢增强。上述结果表明, 高比例MBM替代鱼粉可能会影响肝胰腺蛋白质代谢。

肝胰腺作为连接各种组织的代谢中心, 其蛋白质代谢过程所需的氨基酸主要来源于肠道的吸收与转运[36]。氨基酸缺乏会激活GCN2信号通路, 抑制蛋白质合成, 促进氨基酸转运蛋白的表达[37]。*eaat3*、*pat1*和*mglur*是肠上皮细胞负责氨基酸吸收的关键转运蛋白, 直接介导肠道对饲料中氨基酸的摄取与转运。在本实验中, MBM75和MBM100组肝胰腺*gcn2*的表达显著上调, 而肠道中氨基酸转运蛋白*eaat3*、*pat1*和*mglur*的表达显著下调, 表明高水平的MBM替代可能导致幼虾肝胰腺氨基酸稳态被打破, 机体通过激活GCN2信号通路进行补偿性调控。

3.4　荚膜甲基球菌蛋白替代鱼粉对克氏原螯虾肝胰腺组织学和炎症相关基因表达的影响

研究表明, MBM替代鱼粉达10%—30%时卵形鲳鲹(*Trachinotus ovatus*)肝细胞的细胞核减少, 肝细胞出现空泡化现象[38]。高比例MBM替代鱼粉时大菱鲆肝脏细胞出现严重的核萎缩和空泡化[28]。同样地, 本实验中MBM25和MBM50组幼虾肝胰腺均正常, 但当MBM替代水平大于50%时, 幼虾肝胰腺受损, 这与血淋巴中AST活性显著升高的结果相符。炎症反应是机体应对组织损伤的防御机制, TLR通过MyD88-IRAK-TRAF6激活NF-κB/MAPK, 进而介导NF-κB家族核心转录因子Relish诱导炎症与抗菌免疫反应[39]。在本研究中, 高比例MBM显著上调了TLR通路相关基因(*irak4*、*traf6*、*relish*)及下游炎症因子*tnf-α*的表达。这表明过量的MBM可能作为一种外源刺激物(如细菌细胞壁成分), 激活了幼虾先天性免疫系统, 从而诱导了炎症反应, 加剧了肝胰腺的代谢负担和组织损伤。

4　结论

在克氏原螯虾幼虾饲料中, MBM替代鱼粉比例可达50% (饲料中添加量4.24%)而不影响其生长及健康。当替代比例达到75%及以上时, 会通过抑制mTOR通路、激活蛋白质降解途径、诱导肝胰腺炎症及组织损伤, 从而显著降低幼虾的生长性能。因此, 克氏原螯虾幼虾饲料中MBM添加量不应超过4.24%。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

[1] Bureau of Fisheries Ministry of Agriculture and Rural Affair, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China Fishery Statistical Yearbook 2025 [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2025: 24. [农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 中国渔业统计年鉴-2025 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2025: 24.]

[2] Biswas A, Takakuwa F, Yamada S, *et al*. Methanotroph (*Methylococcus capsulatus*, Bath) bacteria meal as an alternative protein source for Japanese yellowtail, *Seriola quinqueradiata* [J]. *Aquaculture*, 2020(529): 735700.

[3] Cho J H, Kim I H. Fish meal–nutritive value [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2011, **95**(6): 685-692.

[4] Olsen R L, Hasan M R. A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2012, **27**(2): 120-128.

[5] Cottrell R S, Blanchard J L, Halpern B S, *et al*. Global adoption of novel aquaculture feeds could substantially reduce forage fish demand by 2030 [J]. *Nature Food*, 2020, **1**(5): 301-308.

[6] Amara A A, El-Baky N A. Fungi as a source of edible proteins and animal feed [J]. *Journal of Fungi*, 2023, **9**(1): 73.

[7] Raziq A, Lateef M, Ullah A, *et al*. Single cell protein (SCP) production and potential substrates: a comprehensive review [J]. *Pure and Applied Biology*, 2020, **9**(3): 1743-1754.

[8] Dai J H, Chen T, Guo X R, *et al*. Evaluation of fish meal replacement by *Clostridium autoethanogenum* protein in diets for juvenile red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) [J]. *Aquaculture*, 2023(570): 739379.

[9] Huang Y, Lan Y F, Ye Z X, *et al*. Replacing fish meal protein with *Candida utilis* on growth performance, antioxidant capacity, and digestive system morphology of juvenile *Procambarus clarkii* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2025, **49**(12): 127-139. [黄莹, 兰怡菲, 叶忠勋, 等. 产朊假丝酵母替代鱼粉蛋白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, 2025, **49**(12): 127-139.]

[10] Hui W J. Effects of *Haematococcus pluvialis* on growth, body color, antioxidation, hepatopancreas and intestinal of *Procambarus clarkii* [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2021: 30. [惠文杰. 雨生红球藻对克氏原螯虾生长、体色、抗氧化及肝肠组织的影响 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2021: 30.]

[11] Wang S, An Z H, Wang Z W. Bioconversion of methane to chemicals and fuels by methane-oxidizing bacteria [J]. *Advances in Bioenergy*, 2020(5): 169-247.

[12] Bothe H, Jensen K M, Mergel A, *et al*. Heterotrophic bacteria growing in association with *Methylococcus capsulatus* (Bath) in a single cell protein production process [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2002, **59**(1): 33-39.

[13] Alves S J F, Pires E B E, Alexandre M A S, *et al*. Single-cell proteins as alternative sources of proteins and nutrients [J]. *Food Research International*, 2025(214): 116631.

[14] Chen K, Sagada G, Xu B Y, *et al*. Evaluation of methanotroph (*Methylococcus capsulatus*, Bath) bacteria meal as an alternative protein source for growth performance, digestive enzymes, and health status of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Aquaculture International*, 2022, **30**(4): 1693-1710.

[15] Luo S, Li X Q, Onchari, M M, *et al*. High feeding level alters physiological status but does not improve feed conversion efficiency and growth performance of juvenile red swamp crayfish *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) [J]. *Aquaculture*, 2021(537): 736507.

[16] Pfaffl M W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR [J]. *Nucleic Acids Research*, 2001, **29**(9): e45.

[17] Clearwater S J, Farag A M, Meyer J S. Bioavailability and toxicity of dietborne copper and zinc to fish [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology C*: *Toxicology & Pharmacology*, 2002, **132**(3): 269-313.

[18] Aas T S, Hatlen B, Grisdale-Helland B, *et al*. Effects of diets containing a bacterial protein meal on growth and feed utilisation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture*, 2006, **261**(1): 357-368.

[19] Rumsey G L, Winfree R A, Hughes S G. Nutritional value of dietary nucleic acids and purine bases to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture*, 1992, **108**(1/2): 97-110.

[20] de Jesús Becerra-Dorame M, Martinez-Cordova L R, Martínez-Porchas M, *et al*. Effect of using autotrophic and heterotrophic microbial-based-systems for the pre-grown of *Litopenaeus vannamei*, on the production performance and selected haemolymph parameters [J]. *Aquaculture Research*, 2014, **45**(5): 944-948.

[21] Chen X Y, Hu J R, Wang G X, *et al*. Effects of fish meal replacement by black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal on growth performance, serum biochemical indices and meat quality of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, **31**(6): 2788-2799. [陈晓瑛, 胡俊茹, 王国霞, 等. 黑水虻幼虫粉替代鱼粉对黄颡鱼幼鱼生长性能、肌肉品质及血清生化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2019, **31**(6): 2788-2799.]

[22] Liang L W, Zhou L T, Zhou Q B, *et al*. Dietary lysine levels on growth performance, biochemical indexes, and protein metabolism related genes of juvenile rice field eel (*Monopterus albus*). [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2025, **49**(3): 032510. [梁立文, 周磊涛, 周秋白, 等. 饲料赖氨酸水平对黄鳝幼鳝生长性能、生化指标、蛋白质代谢相关基因的影响[J]. 水生生物学报, 2025, **49**(3): 032510.]

[23] Lu G Z, Yao Z L, Lai Q F, *et al*. Growth performance, blood parameters and texture characteristics of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) exposed to highly saline-alkaline water [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2022, **43**(4): 1-11. [逯冠政, 么宗利, 来琦芳, 等. 高盐碱环境下大口黑鲈幼鱼生长性能、血液生理指标与质构特征研究 [J]. 渔业科学进展, 2022, **43**(4): 1-11.]

[24] Wang B, Liu Y, Feng L, *et al*. Effects of dietary arginine supplementation on growth performance, flesh quality, muscle antioxidant capacity and antioxidant-related signalling molecule expression in young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Food Chemistry*, 2015(167): 91-99.

[25] Wu Z H, Yu X J, Guo J S, *et al*. Effects of replacing fish meal with corn gluten meal on growth performance, intestinal microbiota, mTOR pathway and immune response of abalone *Haliotis discus hannai* [J]. *Aquaculture Reports*, 2022(23): 101007.

[26] Jintasataporn O, Chumkam S, Triwutanon S, *et al*. Effects of a single cell protein (*Methylococcus capsulatus*, Bath) in pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) diet on growth performance, survival rate and resistance to *Vibrio parahaemolyticus*, the causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease [J]. *Frontiers in Marine Science*, 2021(8): 764042.

[27] Wei K Q, Wei Y, Song C X. The response of phenoloxidase to cadmium-disturbed hepatopancreatic immune-related molecules in freshwater crayfish *Procambarus clarkii* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020(99): 190-198.

[28] Zheng J, Zhang W, Dan Z, *et al*. Effects of fish meal replaced by methanotroph bacteria meal (*Methylococcus capsulatus*) on growth, body composition, antioxidant capacity, amino acids transporters and protein metabolism of turbot juveniles (*Scophthalmus maximus* L.) [J]. *Aquaculture*, 2023(562): 738782.

[29] Dai, J H., Luo, H., Liu, Z P, *et al*. Evaluation of fish meal replacement by *Methylcoccus capsulatus* protein in diets for juvenile Chinese softshell turtle (*Pelodiscus sinensis*) [J]. *Aquaculture*, 2024(587): 740857.

[30] Rumsey G L, Hughes S G, Smith R R, *et al*. Digestibility and energy values of intact, disrupted and extracts from brewer's dried yeast fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 1991, **33**(3/4): 185-193.

[31] Polak P, Hall M N. mTOR and the control of whole body metabolism [J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 2009, **21**(2): 209-218.

[32] Liu Y, Mai K S, Zhang W B. mTOR signaling in aquaculture animals: a central nutrient-sensing hub orchestrating growth, metabolism, health and quality [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2025, **17**(4): e70068.

[33] Chen Y K, Chi S Y, Zhang S, *et al*. Evaluation of Methanotroph (*Methylococcus capsulatus*, Bath) bacteria

meal on body composition, lipid metabolism, protein synthesis and muscle metabolites of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Aquaculture*, 2022(547): 737517.

[34] Varshavsky A. The ubiquitin system, autophagy, and regulated protein degradation [J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2017(86): 123-128.

[35] Sun-Wang J L, Yarritu-Gallego A, Ivanova S, *et al*. The ubiquitin-proteasome system and autophagy: self-digestion for metabolic health [J]. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 2021, **32**(8): 594-608.

[36] Rui L. Energy metabolism in the liver [J]. *Comprehensive Physiology*, 2014, **4**(1): 177-197.

[37] Liu C, Wang X, Zhou H, *et al*. Recent advances in amino acid sensing and new challenges for protein nutrition in aquaculture [J]. *Marine Life Science & Technology*, 2019, **1**(1): 50-59.

[38] Gao W H, Peng S F, Liao C Y, *et al*. Methanotroph (*Methylococcus capsulatus*, Bath) bacteria meal replacement of fishmeal on growth, lipid deposition and antioxidant capacity of *Trachinotus ovatus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2023, **47**(2): 195-203. [高文浩, 彭树锋, 廖春燕, 等. 荚膜甲基球菌蛋白替代鱼粉对卵形鲳鲹生长和抗氧化能力的影响 [J]. 水生生物学报, 2023, **47**(2): 195-203.]

[39] Janssens S, Beyaert R. Role of toll-like receptors in pathogen recognition [J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2003, **16**(4): 637-646.

REPLACING FISHMEAL WITH METHANOTROPH BACTERIA MEAL ON GROWTH PERFORMANCE, PROTEIN METABOLISM, AND HEPATOPANCREATIC HEALTH IN JUVENILE *PROCAMBARUS CLARKII*

LIU Jin-Mei[1, 2], WU Li-Yun[2], JIN Jun-Yan[2], HAN Dong[2], LIU Hao-Kun[2], ZHANG Zhi-Min[2] and XIE Shou-Qi[2]

(1. *Dalian Ocean University*, *Dalian* 116023, *China*; 2. *State Key Laboratory of Breeding Biotechnology and Sustainable Aquaculture*, *Institute of Hydrobiology*, *Chinese Academy of Sciences*, *Wuhan* 430072, *China*)

Abstract: To evaluate the feasibility of replacing fish meal with Methanotroph bacteria meal (MBM) in feed for the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*), this study designed five isonitrogenous and isolipidic diets. MBM replaced 0 (MBM0), 25% (MBM25), 50% (MBM50), 75% (MBM75), and 100% (MBM100) of fish meal protein, corresponding to MBM additions of 0, 2.12%, 4.24%, 6.36%, and 8.49%, respectively. A total of 375 juvenile crayfish with initial body weight of (3.44±0.02) g were randomly divided into five groups with three replicates each and reared for 8 weeks. Results showed that as the substitution ratio increased, the final body weight, weight gain rate, specific growth rate, and feed efficiency in the MBM75 and MBM100 groups were significantly lower than those in the MBM0 group (P<0.05). Physiologically and biochemically, compared with the MBM0 group, the high-substitution groups (MBM75, MBM100) exhibited significantly reduced pancreatic trypsin activity (P<0.05) and significantly increased alanine aminotransferase activity (P<0.05). At the molecular level, the MBM100 group showed significantly downregulated expression of hepatopancreatic protein synthesis-related genes (*mtor*, *s6k1*, *akt*, *pi3k*, and *p62*), while proteolysis-related genes (*gcn2*, *atg3*, *atg9*, *ub*, *psmd1*, *psmd6*) were significantly upregulated (P<0.05). Intestinal amino acid transporter genes (*eaat3*, *pat1*, *mglur*) showed significantly suppressed expression in the MBM75 and MBM100 groups. Histological examination revealed normal hepatopancreatic structure in the MBM25 group, mild damage in the MBM50 group. The MBM75 and MBM100 groups exhibited hepatopancreatic ductal lumen deformities, blurred basement membrane boundaries, and severe vacuolation. Inflammation-related genes (*tnf-α*, *traf6*, *relish*, and *irak4*) showed significantly upregulated expression (P<0.05). In summary, high proportions of MBM replacing fish meal inhibit growth and protein metabolism in juvenile crayfish while inducing hepatopancreatic inflammatory damage. Therefore, the replacement ratio of MBM for fish meal in juvenile crayfish feed should not exceed 50%, corresponding to a maximum feed inclusion rate of 4.24%.

Key words: Methanotroph bacteria meal; Fish meal; Growth performance; Protein metabolism; Hepatopancreas health; *Procambarus clarkii*