

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2017.16289

饲料蛋白质水平对拟穴青蟹幼蟹生长性能、体成分和消化酶活性的影响

董兰芳¹, 童潼¹, 张琴¹, 许明珠¹, 苏琼¹, 聂振平¹, 杨家林¹, 谢达¹, 林凤²

1. 广西壮族自治区海洋研究所, 广西海洋生物技术重点实验室, 广西 北海 536000;
2. 北海市生产力促进中心, 广西 北海 536000

摘要: 用蛋白质水平分别为 31.45%, 36.37%, 41.55%, 46.13%, 51.72%和 56.86%的 6 种等能饲料, 对初始体重为 (11.86±0.11) mg 的拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*)幼蟹进行为期 3 周的养殖实验, 考察饲料蛋白质水平对拟穴青蟹幼蟹生长性能、体成分以及消化酶活性的影响, 以期获得拟穴青蟹幼蟹饲料蛋白质的适宜添加量。结果表明, 饲料蛋白质水平对拟穴青蟹幼蟹的成活率影响不显著($P>0.05$); 幼蟹的增重率和特定生长率随饲料蛋白质水平的提高先显著升高($P<0.05$)后稍有下降, 最大值出现在蛋白质水平为 51.72%的实验组; 随着饲料蛋白质水平的提高, 幼蟹粗蛋白质含量显著升高($P<0.05$)后趋于稳定, 粗脂肪含量显著降低($P<0.05$), 灰分含量先显著升高($P<0.05$)后显著降低($P<0.05$), 水分含量则没有显著变化($P>0.05$); 随着饲料蛋白质水平的提高, 幼蟹蛋白酶活性显著升高($P<0.05$), 淀粉酶活性显著降低($P<0.05$), 各组脂肪酶活性也有显著差异($P<0.05$), 但没有明显的变化规律。本研究条件下, 饲料蛋白质水平在 41.55%~56.86%, 拟穴青蟹幼蟹均表现出较好的生长率, 增重率和蛋白质水平的回归分析表明, 幼蟹饲料蛋白质适宜水平为 49.03%。

关键词: 拟穴青蟹幼蟹; 蛋白质水平; 生长性能; 体成分; 消化酶活性

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2017)03-0524-09

与虾类相比, 国内外对蟹类营养需求方面的研究较少, 已有报道的主要有蓝蟹(*Callinectes sapidus*)^[1]、中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)^[2-9]、三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)^[10-15]、锯缘青蟹(*Scylla serrata*)^[16-17]等少数几个种。拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*)隶属甲壳纲(Crustacea), 梭子蟹科(Portunidae), 青蟹属, 是一种暖水广盐性海水肉食蟹类, 为我国重要的海水蟹类养殖品种, 在我国浙江、福建、广东、广西和海南等地广泛养殖。过去认为青蟹属在我国只有锯缘青蟹一种, 直到近年来借助于同工酶、分子标记等生物技术, 才确认青蟹属有 4 个种^[18-19]。Ma 等^[19]从线粒体

DNA 角度证实我国青蟹属优势种为拟穴青蟹。林琪等^[20]也通过形态比较明确了中国大陆东南沿海的优势种为拟穴青蟹。尽管我国养殖拟穴青蟹有数十年的历史, 近几年其人工育苗技术也日趋成熟, 但拟穴青蟹相关的基础研究工作明显滞后于生产实际, 且研究多集中于养殖育苗技术^[21-22]、遗传多样性^[23]、生态学^[24-25]、卵巢发育^[26-27]、功能物质^[28-30]等方面, 营养需求及配合饲料方面的研究工作较少^[31-32], 养蟹所用的饵料主要是天然低质鱼、虾、贝类等, 难以满足日益扩大的养蟹业对饵料的需求。因此, 开展拟穴青蟹营养生理和营养需求的研究有重要的现实意义。

收稿日期: 2016-09-27; 修订日期: 2016-11-30.

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科合 14125008-2-20, 桂科能 1598020-10, 桂科合 1599005-2-18, 桂科 AB16380105); 广西自然科学基金项目(2013GXNSFAA019105).

作者简介: 董兰芳(1987-), 女, 硕士, 助理研究员, 主要从事水产动物营养与饲料研究. E-mail: 0xiao0dong0@163.com.

童潼(1982-), 并列第一作者, 男, 学士, 助理研究员. E-mail: ttong1028@126.com

通信作者: 张琴, 博士, 研究员, 硕士生导师. E-mail: zhangqin821220@163.com

水产饲料中, 蛋白质是决定水产动物生长最关键的营养物质, 同时也是饲料成本中比例最大的部分, 确定配合饲料蛋白质的最适需要量在水产动物营养学和饲料生产中均尤为重要^[33]。本实验从拟穴青蟹种苗生产的实际出发, 以拟穴青蟹幼蟹为研究对象, 比较不同蛋白质水平饲料对幼蟹生长性能、体成分及消化酶活性的影响, 确定幼蟹饲料蛋白质的最适水平, 以期为研制适合拟穴青蟹幼蟹生长的饲料提供依据, 促进拟穴青蟹种苗生产的健康可持续发展。

1 材料和方法

1.1 实验饲料配方与制作

以鱼粉、酪蛋白和明胶为蛋白源, 鱼油为脂

肪源, 糊精为糖源, 配制 6 种不同蛋白质含量(含量分别为 30%, 35%, 40%, 45%, 50%和 55%)的等能饲料, 蛋白质含量实测值分别为 31.45%, 36.37%, 41.55%, 46.13%, 51.72%和 56.86%, 饲料配方及营养成分分析见表 1。饲料制作步骤: 固体原料用超微粉碎机粉碎后过 100 目筛, 按配方表设定的各原料添加水平, 从低到高依次称量并混合拌匀, 再按比例加入预先混合的鱼油和卵磷脂, 手工将油脂搓开并混合均匀, 加入适量水揉成面团后制成直径为 2 mm 的颗粒饲料^[34], 保存于 -20℃ 冰箱备用。

1.2 实验设计与饲养管理

养殖实验于 2015 年 8 月在广西海洋研究所海水增殖实验基地进行。实验用拟穴青蟹幼蟹取

表 1 饲料配方及营养成分分析

Tab. 1 Formulation and nutrient level of the diets

%干物质% dry matter

原料 ingredient	饲料编号 diet no.					
	饲料 1 diet1 (31.45%)	饲料 2 diet2 (36.37%)	饲料 3 diet3 (41.55%)	饲料 4 diet4 (46.13%)	饲料 5 diet5 (51.72%)	饲料 6 diet6 (56.86%)
鱼粉 fish meal	21.3	24.85	28.4	31.95	35.5	39.05
酪蛋白 casein	8.52	9.94	11.36	12.78	14.20	15.62
明胶 gelatin	8.52	9.94	11.36	12.78	14.20	15.62
糊精 dextrin	35	30	25	20	15	10
纤维素 cellulose	13.86	12.66	11.46	10.26	9.06	7.86
褐藻酸钠 sodium alginate	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
鱼油 fish oil	5.50	5.31	5.12	4.93	4.74	4.55
卵磷脂 lecithin	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
复合维生素 ¹⁾ vitamin premix ¹⁾	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
复合矿物盐 ²⁾ mineral premix ²⁾	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
维生素 C vitamin C	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
氯化胆碱 choline chloride	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
抗氧化剂 ethoxyquin	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
合计 total	100	100	100	100	100	100
营养组成分析 proximate analysis						
水分 moisture	7.18	6.94	7.22	7.30	7.26	7.08
粗蛋白 crude protein	31.45	36.37	41.55	46.13	51.72	56.86
粗脂肪 crude lipid	7.95	8.17	8.34	8.09	7.96	7.99
灰分 ash	6.59	6.62	7.73	8.03	8.86	9.06

注: 1. 复合维生素为每千克饲料提供: V_D 480000 IU, V_E 20.00 g, V_{B1} 0.10 g, V_{B2} 1.40 g, V_{B6} 1.20 g, V_{B12} 0.20 g, V_K 0.20 g, 肌醇 88.00 g, 泛酸钙 6.521 g, 烟酸 5.60 g, 生物素 0.20 g。2. 复合矿物盐为每千克饲料提供: FeSO₄·7H₂O 152.00 g, CuSO₄·5H₂O 2.4 g, ZnSO₄·7H₂O 31.20 g, MnSO₄·H₂O 8.20 g, NaSeO₃·5H₂O 0.18 g, KI 0.16 g, CaCO₃ 805.86 g。括号中数字为蛋白质水平。

Note: 1. Vitamin premix provided the following per kg of diets: V_D 480000 IU, V_E 20.00 g, V_{B1} 0.10 g, V_{B2} 1.40 g, V_{B6} 1.20 g, V_{B12} 0.20 g, V_K 0.20 g, inositol 88.00 g, calcium pantothenate 6.521 g, niacin acid 5.60 g, biotin 0.20 g. 2. Mineral premix provided the following per kg of diets: FeSO₄·7H₂O 152.00 g, CuSO₄·5H₂O 2.4 g, ZnSO₄·7H₂O 31.20 g, MnSO₄·H₂O 8.20 g, NaSeO₃·5H₂O 0.18 g, KI 0.16 g, CaCO₃ 805.86 g. Figures in the bracket indicate protein content in the diet.

自广西海洋研究所自主培育的同一批人工孵化的仔蟹 I 期苗种。挑选体格健壮、大小规格相近体质量(11.86±0.11) mg 的拟穴青蟹幼蟹 1440 只, 随机分成 6 个蛋白质水平实验组, 进行为期 3 周的饲养实验。饲养实验在直径 20 cm, 高 25 cm 的塑料水桶内进行, 水桶底部铺一层约 0.5 cm 厚的薄沙, 并将水桶放置在阴凉处避免阳光直射。因青蟹性凶好斗, 为避免相互残食, 每个水桶饲养青蟹 1 只, 每个饲料组设 240 个重复, 每 80 个重复作为一个样品组用于统计和指标测定。每天投喂 2 次, 时间分别为 7:00 和 18:00, 以略有剩饵为准, 投喂前先吸出剩饵。隔天换水, 每次换水量约 1/2, 每周彻底清理水桶 1 次。实验期间, 水温 28~30℃, 盐度 20~25, 溶氧大于 5.0 mg/L。

1.3 样品收集与分析

结束后, 收集小桶内的拟穴青蟹, 记录存活数并进行称重, 将每个实验组的幼蟹分装成两管, 保存于-20℃冰箱, 分别用于消化酶活性和体组成的测定。成活率, 增重率和特定生长率的计算公式如下:

$$\text{成活率(Survival Rate, SR, \%)}=100\times N_t/N_0;$$

$$\text{增重率(Weight Gain Ratio, WGR, \%)}=100\times (W_t-W_0)/W_0;$$

$$\text{特定生长率(Specific Growth Rate, SGR, \% /d)}=100\times (\ln W_t-\ln W_0)/t;$$

式中, W_0 和 W_t 分别为幼蟹的初始平均体重和终末平均体重, N_t 和 N_0 分别为幼蟹终末和初始的数量, t 为实验天数。

饲料和幼蟹体成分测定: 用恒温干燥法测定水分, 105℃常压烘干至恒重; 用凯氏定氮仪

(Kjeltec 8400, Sweden)测定粗蛋白; 用索氏抽提仪(Soxtec 2050, Switzerland)测定粗脂肪; 用马弗炉 550℃灰化 12 h 测定灰分。

消化酶活性测定: 酶液用幼蟹整体匀浆法获得, 取冷冻的拟穴青蟹幼蟹样品, 在冰盘上用手术剪剪碎后转移至玻璃匀浆器, 按质量体积比 1:2 的比例加入预冷的磷酸缓冲液(pH=7)进行匀浆, 匀浆液于 4℃ 3000 r/min 离心 10 min, 取上清液作为待测酶液。蛋白酶活性采用 Folin-酚法测定; 脂肪酶活性、淀粉酶活性和酶液蛋白质量分数均采用南京建成生物工程研究所研制的试剂盒测定。

1.4 数据统计分析

采用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析, 先检验所有数据的方差齐次性, 再进行单因素方差分析, 显著性水平为 $P<0.05$, 若差异达到显著则进行 Tukey 多重比较, 数据结果用 3 个重复的平均值±标准误($\bar{x}\pm\text{SE}$)表示。

2 结果与分析

2.1 不同蛋白质水平实验组拟穴青蟹幼蟹的生长性能

由表 2 可知, 不同蛋白质水平实验组拟穴青蟹幼蟹的 SR 在 86.67%~91.85%范围内, 各组间没有显著差异($P>0.05$)。不同蛋白质水平饲料对幼蟹的增重率和特定生长率有显著影响($P<0.05$)。随着饲料蛋白质水平的提高, 拟穴青蟹幼蟹的 WGR 呈先升高后降低的趋势, 蛋白质水平为 51.72%实验组最高, 显著高于除蛋白质水平 46.13%实验组

表 2 不同饲料蛋白质水平对拟穴青蟹幼蟹生长性能的影响
Tab. 2 Effects of dietary protein level on growth performance of juvenile *Scylla paramamosain* $\bar{x}\pm\text{SD}$

饲料编号 diet no.	初始体重/mg IBW	终末体重/mg FBW	成活率/% SR	增重率/% WGR	特定生长率/(%·d ⁻¹) SGR
diet1(31.45%)	11.93±0.34	93.89±1.97 ^a	91.85±1.48	680.95±19.83 ^a	10.32±0.16 ^a
diet2(36.37%)	12.13±0.34	108.71±2.10 ^b	90.37±1.96	794.41±23.79 ^{ab}	10.97±0.15 ^{ab}
diet3(41.55%)	11.63±0.38	113.35±1.42 ^b	91.85±2.67	894.57±27.54 ^{bcd}	11.39±0.22 ^{bc}
diet4(46.13%)	11.83±0.20	128.32±2.86 ^{cd}	90.37±0.74	969.50±24.50 ^{cd}	11.92±0.05 ^c
diet5(51.72%)	12.00±0.15	135.71±5.16 ^d	91.11±1.28	1034.36±44.93 ^d	12.12±0.19 ^c
diet6(56.86%)	11.63±0.35	115.79±3.18 ^{bc}	86.67±1.28	882.42±30.70 ^{bc}	11.49±0.21 ^{bc}
<i>P</i>	0.815	0.000	0.321	0.000	0.000

注: 同列数据上标字母不同表示存在显著差异($P<0.05$)。* 括号中数字表示饲料蛋白质水平。

Note: Values with different superscripts in the same column are significantly different ($P<0.05$). Figures in the bracket denote protein content in the diet.

外的其他实验组($P<0.05$)。幼蟹 SGR 随蛋白水平的提高也呈先升高后降低的趋势, 同样是蛋白质水平 51.72% 实验组最高, 显著高于蛋白质水平为 31.45% 和 36.37% 的实验组。实验表明本实验条件下饲料蛋白质水平在 41.55%~51.72% 范围内幼蟹均能获得较好的生长率。通过对拟穴青蟹幼蟹的 WGR(Y) 和饲料蛋白质水平(X) 进行二次回归分析(图 1), 得到二次曲线方程 $Y = -1.033X^2 + 101.3X - 1504$ ($R^2 = 0.916$), 拟穴青蟹幼蟹 WGR 最高时对应的蛋白质水平为 49.03%。

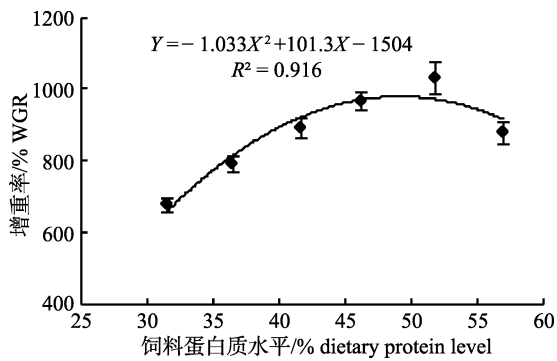


图 1 饲料不同蛋白质水平与拟穴青蟹幼蟹增重率的回归分析

Fig. 1 Regression analysis between dietary protein level and WGR of juvenile *Scylla paramamosain*

2.2 不同蛋白质水平实验组拟穴青蟹幼蟹的体成分

饲料不同蛋白质水平对拟穴青蟹幼蟹体成分影响的结果见表 3。不同蛋白质水平实验组幼蟹的水分含量没有显著差异($P>0.05$), 而不同蛋白质水平饲料对幼蟹的粗蛋白、粗脂肪和灰分含量均有显著影响($P<0.05$)。随着饲料蛋白质水平的提

高, 幼蟹的粗蛋白质含量显著升高($P<0.05$)后趋于稳定, 粗脂肪含量显著降低($P<0.05$), 灰分含量则呈先显著升高后显著降低的趋势($P<0.05$)。

2.3 不同蛋白质水平实验组拟穴青蟹幼蟹的消化酶活性

由表 4 所示, 不同蛋白质水平饲料对拟穴青蟹幼蟹的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性均有显著影响($P<0.05$)。随着饲料蛋白质水平的提高, 幼蟹蛋白酶活性显著升高($P<0.05$), 淀粉酶活性显著降低($P<0.05$), 脂肪酶活性也有显著变化($P<0.05$)但没有明显的规律。蛋白质水平为 56.86% 实验组幼蟹的蛋白酶活性最高, 显著高于蛋白质水平为 31.45% 和 36.37% 两实验组。脂肪酶活性则是 31.45% 蛋白质水平实验组最高, 显著高于 51.72% 和 56.86% 两高蛋白质水平实验组。

3 讨论

蛋白质是生命的物质基础, 它是构成组织细胞的主要成分, 是机体生长、组织更新修复的主要原料, 参与组成酶、激素、抗体等功能物质, 同时还可用于分解供能^[35]。甲壳类动物生长快, 尤其在幼龄时期, 其蜕壳周期短、生长迅速, 对蛋白质的要求很高, 摄入的蛋白质不足, 就不能维系正常的生命活动, 造成机体生长停滞, 严重的将导致死亡。Cortés-jacinto 等^[36]研究了饲料蛋白质水平对红螯螯虾(*Cherax quadricarinatus*)幼虾的影响, 结果表明蛋白质水平从 20% 增加到 37% 幼虾的 SR 显著提高, 继续增加则没有显著变化, 蛋白质水平为 31%、37% 和 43% 实验组幼虾的 SGR

表 3 不同饲料蛋白水平对拟穴青蟹幼蟹体成分的影响

Tab. 3 Effects of dietary protein level on body composition of juvenile *Scylla paramamosain*

$n=3; \bar{x} \pm SD; \%$

饲料编号 diet no.	水分 moisture	粗蛋白 crude protein	粗脂肪 crude lipid	灰分 ash
diet1(31.45%)	78.21±0.84	35.03±0.13 ^a	11.85±0.16 ^c	38.23±0.22 ^a
diet2(36.37%)	78.58±0.33	35.37±0.05 ^a	11.86±0.10 ^c	38.21±0.25 ^a
diet3(41.55%)	78.59±0.20	36.91±0.11 ^b	11.17±0.21 ^d	40.69±0.49 ^b
diet4(46.13%)	78.72±0.58	37.17±0.21 ^b	9.14±0.04 ^c	46.31±0.35 ^d
diet5(51.72%)	78.67±0.06	37.02±0.27 ^b	7.88±0.10 ^b	42.38±0.40 ^c
diet6(56.86%)	78.20±0.51	36.96±0.14 ^b	7.10±0.10 ^a	38.20±0.21 ^a
<i>P</i>	0.946	0.000	0.000	0.000

注: 同列数据上标字母不同表示存在显著差异($P<0.05$). 括号中数字表示饲料蛋白质水平。

Note: Values with different superscripts in the same column are significantly different ($P<0.05$). Figures in the bracket denote protein content in the diet.

表 4 不同饲料蛋白质水平对拟穴青蟹幼蟹消化酶活性的影响
 Tab. 4 Effects of dietary protein level on digestive enzyme activity of juvenile *Scylla paramamosain*

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

饲料编号 diet no.	蛋白酶活性 activity of protease	淀粉酶活性 activity of amylase	脂肪酶活性 activity of lipase
diet1(31.45%)	1.84±0.04 ^a	0.73±0.02 ^c	0.08±0.01 ^a
diet2(36.37%)	2.01±0.04 ^{ab}	0.70±0.04 ^c	0.10±0.01 ^{ab}
diet3(41.55%)	2.23±0.04 ^{abc}	0.65±0.04 ^{bc}	0.09±0.01 ^{ab}
diet4 (46.13%)	2.28±0.10 ^{bc}	0.65±0.03 ^{bc}	0.13±0.01 ^b
diet5 (51.72%)	2.31±0.09 ^{bc}	0.52±0.03 ^{ab}	0.09±0.01 ^{ab}
diet6 (56.86%)	2.43±0.14 ^c	0.46±0.01 ^a	0.10±0.01 ^{ab}
<i>P</i>	0.003	0.000	0.034

注: 同列数据上标字母不同表示存在显著差异($P<0.05$). 括号中数字表示饲料蛋白质水平.

Note: Values with different superscripts in the same column are significantly different ($P<0.05$). Figures in the bracket denote protein content in the diet.

显著高于低蛋白质水平(20%和 25%)和高蛋白水平(49%和 55%)实验组。Lin 等^[4]对中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)幼蟹的研究表明, 饲料蛋白质水平从 25%提高到 35%幼蟹的 SGR 显著升高, 蛋白质水平从 35%提高到 40%, SGR 没有显著变化。Unnikrishnan 等^[16]在锯缘青蟹(*S. serrata*)幼蟹饲料蛋白质适宜水平的研究中发现, 蛋白质水平为 15%时幼蟹 SR 为 0, 蛋白质水平为 20%时 SR 为 87.5%, 蛋白质水平超过 20%时幼蟹的 SR 均为 100%, 而其 WGR 和 SGR 随蛋白质水平的升高呈先显著升高后显著降低的趋势, 且均在蛋白质水平为 45%时达到最大。本研究中, 31.45%~56.86%的饲料蛋白质水平对拟穴青蟹幼蟹 SR 没有显著影响。随着饲料蛋白质水平的提高, 幼蟹生长率显著提高, 蛋白质水平为 51.72%时 WGR 和 SGR 均达到最大, 继续提高蛋白质水平, 幼蟹的生长率反而有所降低, 这与上述甲壳动物的研究结果一致。饲料蛋白被分解成氨基酸后才被机体利用, 吸收到体内的氨基酸首先被用于机体组织蛋白的更新与修复, 若有剩余则合成体蛋白用于生长, 若仍有剩余, 这部分氨基酸将作为能源被消耗^[33]。因此, 随着饲料蛋白质水平的提高, 用于机体生长的蛋白越来越多, 即表现为 WGR 和 SGR 的提高。然而机体合成组织蛋白的能力不能无限提高, 饲料蛋白质含量超过一定水平, 多余部分将增加体内负担, 生长率不仅不能继续提高反而可能受到抑制^[37]。此外, 有研究表明, 饲料蛋白质水平对机体生长率的影响还受到饲料脂肪等能量营养

物质含量的协同作用, 在 7%和 9%脂肪水平下, 三疣梭子蟹的增重率随蛋白质水平的提高而增加, 但在 11%脂肪水平时, 增重率随蛋白质水平提高反而下降, 这可能是不同蛋白/能量比的差异所致^[38]。本实验中拟穴青蟹幼蟹的 SR 没有受到饲料蛋白质水平的影响可能是实验设定的蛋白质水平较高, 最低值 31.45%已经满足了幼蟹生命活动的需求。二次回归分析表明, 拟穴青蟹幼蟹饲料蛋白质适宜水平为 49.03%, 与青蟹属另一物种锯缘青蟹幼蟹的蛋白质需要量(46.9%~47.03%)相当^[16]。

不同蛋白质水平饲料对拟穴青蟹幼蟹的水分含量没有显著影响, 对其粗蛋白、粗脂肪和灰分含量的影响显著。随着饲料蛋白质水平的提高, 幼蟹体蛋白质含量显著升高后趋于稳定, 表明饲料蛋白会积累在幼蟹体内, 到一定量就达到了一个平衡状态。动物体内蛋白质始终处在一个不断合成和分解的动态平衡体系中, 生物学上称之为蛋白质的周转代谢^[39]。拟穴青蟹幼蟹体蛋白的这一变化结果与其他学者在锯缘青蟹^[16]、凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)^[40-41]等甲壳动物中的研究结果一致。幼蟹体脂肪含量随饲料蛋白水平提高而显著降低, 这一结果与在宝石鲈^[42]、凡纳滨对虾^[40]和方格星虫(*Sipunculus nudus*)^[43]等水产动物的研究结果一致。张琴等^[43]在方格星虫的研究中分析认为, 低蛋白质水平饲料是通过提高糖含量来达到能量平衡, 而含糖量高饲料易造成机体体脂偏高, 这可能是低蛋白质水平组实验动物体脂肪含量较高的原因。但在锯缘青蟹^[16]、凡纳滨

对虾^[40]等研究中有不同的结果, 因此具体机制有待进一步研究。拟穴青蟹幼蟹体灰分含量随饲料蛋白质水平的提高而呈先升高后降低的趋势, 说明适宜的蛋白质水平使幼蟹机体处在较好的状态, 有利于甲壳质形成及钙质沉积。

甲壳动物摄食不同组成的饲料后, 为更好地消化、吸收和利用饲料中的营养物质, 机体消化酶分泌量出现差异, 表现出对饲料组成的明显适应性^[44]。本研究中, 不同蛋白质水平饲料对拟穴青蟹幼蟹的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性均有显著影响。随着饲料蛋白质水平的提高, 幼蟹蛋白酶活性显著升高, 而淀粉酶活性显著降低, 蛋白酶和淀粉酶活性的变化正是对饲料蛋白质和糖含量变化的适应, 这一结果与 Lin 等^[4]在中华绒螯蟹的研究结果一致。Moullac 等^[45]在凡纳滨对虾的研究中认为, 蛋白质水平影响蛋白酶和淀粉酶活性的机理可能是饲料蛋白改变了血淋巴中氨基酸和葡萄糖的浓度, 通过影响蛋白酶和淀粉酶基因的转录进而干预其合成, 从而导致蛋白酶和淀粉酶活性的改变。不同蛋白质水平实验组拟穴青蟹幼蟹的脂肪酶活性较低, 且没有明显的变化规律。许多甲壳动物幼体的脂肪酶活性测不出或者活性很低^[44], 这需要对脂肪酶的分析方法做进一步研究。

总之, 在本研究条件下, 饲料蛋白质水平在 41.55%~56.86% 范围内, 拟穴青蟹幼蟹表现出较好的 WGR 和 SGR, 体蛋白含量也较高。通过对 WGR 和蛋白水平的回归分析, 得到拟穴青蟹幼蟹饲料蛋白质适宜水平为 49.03%。

参考文献:

- [1] Belgrad B A, Griffen B D. The influence of diet composition on fitness of the blue crab, *Callinectes sapidus*[J]. PLoS One, 2016, 11(1): 1-15.
- [2] Sui L Y, Sun H X, Wu X G, et al. Effect of dietary HUFA on tissue fatty acid composition and reproductive performance of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards) broodstock[J]. Aquac Int, 2011, 19(2): 269-282.
- [3] Chen Y L, Chen L Q, Qin J G, et al. Growth and immune response of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) fed diets containing different lipid sources[J]. Aquac Res, 2014, 47(6): 1984-1995.
- [4] Lin S, Luo L, Ye Y. Effects of dietary protein level on growth, feed utilization and digestive enzyme activity of the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*[J]. Aquac Nutr, 2010, 16(3): 290-298.
- [5] Jiang H B, Chen L Q, Wang Q, et al. Effects of dietary protein on activities of digestive enzyme and trypsin mRNA abundance in *Eriocheir sinensis* juveniles[J]. Journal of Fisheries of China, 2005, 29(2): 216-221. [江洪波, 陈立侨, 王群, 等. 饵料蛋白质对中华绒螯蟹仔蟹消化酶活性及胰蛋白酶丰度的影响[J]. 水产学报, 2005, 29(2): 216-221.]
- [6] Cheng Y X, Yan S L, Wang W, et al. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids, phospholipids on the survival and growth of *Eriocheir sinensis* from the megalopa to the juvenile[J]. Journal of Fisheries of China, 1998, 22(1): 9-15. [成永旭, 严生良, 王武, 等. 饲料中磷脂和多不饱和脂肪酸对中华绒螯蟹大眼幼体育成仔蟹的成活率和生长的影响[J]. 水产学报, 1998, 22(1): 9-15.]
- [7] Sun S, Qin J, Yu N, et al. Effect of dietary copper on the growth performance, non-specific immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* of juvenile Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*[J]. Fish Shellfish Immunol, 2013, 34(5): 1195-1201.
- [8] Wei J, Yu N, Tian W, et al. Dietary vitamin B12 requirement and its effect on non-specific immunity and disease resistance in juvenile Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*[J]. Aquaculture, 2014, 434: 179-183.
- [9] Chen Y, Chen L, Qin J G, et al. Growth and immune response of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) fed diets containing different lipid sources[J]. Aquac Res, 2016, 47(6): 1984-1995.
- [10] Wang J T, Han T, Li X Y, et al. Effects of dietary phosphatidylcholine (PC) levels on the growth, molt performance and fatty acid composition of juvenile swimming crab, *Portunus trituberculatus*[J]. Anim Feed Sci Technol, 2016, 216: 225-233.
- [11] Jin M, Zhou Q C, Zhang W, et al. Dietary protein requirements of the juvenile swimming crab, *Portunus trituberculatus*[J]. Aquaculture, 2013, 414: 303-308.
- [12] Huo Y W, Jin M, Zhou P P, et al. Effects of dietary protein and lipid levels on growth, feed utilization and body composition of juvenile swimming crab, *Portunus trituberculatus*[J]. Aquaculture, 2014, 434: 151-158.
- [13] Li X, Wang J, Han T, et al. Effect of dietary phospholipids levels and sources on growth performance, fatty acid composition of the juvenile swimming crab, *Portunus trituberculatus*[J]. Aquaculture, 2014, 430: 166-172.
- [14] Jin M, Wang M Q, Huo Y W, et al. Dietary lysine require-

- ment of juvenile swimming crab, *Portunus trituberculatus*[J]. *Aquaculture*, 2015, 448: 1-7.
- [15] Ding X Y, He Z Y, Xu G H, et al. Preliminary study on the pelletized feed for swimming crab *Portunus trituberculatus*[J]. *Marine Fisheries*, 2003, 25(2): 24-26. [丁雪燕, 何中央, 徐国辉, 等. 三疣梭子蟹配合饲料的初步研究[J]. *海洋渔业*, 2003, 25(2): 24-26.]
- [16] Unnikrishnan U, Paulraj R. Dietary protein requirement of giant mud crab *Scylla serrata* juveniles fed iso-energetic formulated diets having graded protein levels[J]. *Aquac Res*, 2010, 41(2): 278-294.
- [17] Keenan C P, Davie P J F, Mann D L. A revision of the genus *Scylla* de Hann, 1833 (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Portunidae)[J]. *Raffles Bull Zool*, 1998, 46(1): 217-245.
- [18] Klinbunge A, Boonyapakdee B, Pratoomchat B. Genetic diversity and species-diagnostic markers of mud crabs (Genus *Scylla*) in eastern Thailand determined by RAPD analysis[J]. *Mar Biotechnol*, 2000, 2(2): 180-187.
- [19] Ma L B, Zhang F Y, Ma C Y, et al. *Scylla paramamosain* (Estampador) the most common mud crab (Genus *Scylla*) in China: evidence from mtDNA[J]. *Aquac Res*, 2006, 37(16): 1694-1698.
- [20] Lin Q, Li S J, Li Z B, et al. Species composition in genus *Scylla* from the coast of southeast China[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2007, 31(2): 211-219. [林琪, 李少菁, 黎中宝, 等. 中国东南沿海青蟹属(*Scylla*)的种类组成[J]. *水产学报*, 2007, 31(2): 211-219.]
- [21] Ut V N, Vay L L, Nghia T T, et al. Development of nursery culture techniques for the mud crab *Scylla paramamosain* (Estampador)[J]. *Aquac Res*, 2007, 38(14): 1563-1568.
- [22] Wang S Q, Han Y L, Wu Q Y, et al. Comparison of two culture modes for *Scylla paramamosain*[J]. *Journal of Aquaculture*, 2012, 33(4): 32-36. [王树启, 韩耀龙, 吴清洋, 等. 拟穴青蟹两种养殖模式的比较[J]. *水产养殖*, 2012, 33(4): 32-36.]
- [23] Shu M A, Zhou Y F, Zhu X Y, et al. Microsatellite analysis on genetic diversity of seven wild populations of *Scylla paramamosain* in China[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(7): 977-984. [舒妙安, 周宇芳, 朱晓宇, 等. 中国沿海拟穴青蟹群体遗传多样性的微卫星分析[J]. *水产学报*, 2011, 35(7): 977-984.]
- [24] Jiang Y X, Xu H, Ai C X. Effects of Cr^{6+} stress on ATPase and SOD activities in different tissues and organs of mud crab *Scylla paramamosain*[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2010, 16(5): 627-631. [蒋云霞, 徐华, 艾春香. 铬胁迫对拟穴青蟹组织器官中 ATPase 和 SOD 活性的影响[J]. *应用与环境生物学报*, 2010, 16(5): 627-631.]
- [25] Li W J, Chen Q, Yang H, et al. The effects of Hg^{2+} stress on main digest factors and immune factors of *Scylla paramamosain*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2013, 44(3): 747-754. [李文静, 陈强, 杨欢, 等. 汞胁迫对拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*)主要消化和免疫因子的影响[J]. *海洋与湖沼*, 2013, 44(3): 747-754.]
- [26] Jia X, Chen Y, Zou Z, et al. Characterization and expression profile of Vitellogenin gene from *Scylla paramamosain*[J]. *Gene*, 2013, 520(2): 119-130.
- [27] Xie Y J, Huang H Y, Ye H H, et al. Molecular cloning and expression analysis of the follistatin related protein gene in *Scylla paramamosain*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(8): 1201-1208. [解银洁, 黄辉洋, 叶海辉, 等. 拟穴青蟹卵泡抑素相关蛋白基因的克隆和表达分析[J]. *水产学报*, 2012, 36(8): 1201-1208.]
- [28] Imjongjirak C, Amparyup P, Tassanakajon A, et al. Antilipopopolysaccharide factor (ALF) of mud crab *Scylla paramamosain*: Molecular cloning, genomic organization and the antimicrobial activity of its synthetic LPS binding domain[J]. *Mol Immunol*, 2007, 44(12): 3195-3203.
- [29] Imjongjirak C, Amparyup P, Tassanakajon A, et al. Molecular cloning and characterization of crustin from mud crab *Scylla paramamosain*[J]. *Mol Biol Rep*, 2009, 36(5): 841-850.
- [30] Duan L P, Huang B, Zhou L H, et al. Molecular cloning, characterization and expression of two novel lectins in mud crab, *Scylla paramamosain*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2015, 39(2): 321-330. [段利朋, 黄贝, 周立红, 等. 拟穴青蟹两种新 C-型凝集素基因的克隆与表达分析[J]. *水生生物学报*, 2015, 39(2): 321-330.]
- [31] Zhao J, Wen X, Li S, et al. Effects of dietary lipid levels on growth, feed utilization, body composition and antioxidants of juvenile mud crab *Scylla paramamosain* (Estampador)[J]. *Aquaculture*, 2015, 435: 200-206.
- [32] Zhao J, Wen X, Li S, et al. Effects of different dietary lipid sources on tissue fatty acid composition, serum biochemical parameters and fatty acid synthase of juvenile mud crab *Scylla paramamosain* (Estampador 1949)[J]. *Aquac Res*, 2016, 47: 887-899.
- [33] Song Q Q, Qi Z L. *Aquatic Animal Nutrition and Feed Science*[M]. Beijing: China Agriculture University Press, 2011: 27. [宋青青, 齐遵利. *水产动物营养与配合饲料学*[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2011: 27.]
- [34] Blair T, Castell J, Neil S, et al. Evaluation of microdiets versus live feeds on growth, survival and fatty acid composition of larval haddock (*Melanogrammus aeglefinus*)[J]. *Aquaculture*,

- 2003, 225(1-4): 451-461.
- [35] NRC (National Research Council). Nutrient Requirements of Fishes[M]. Washington D C, USA: National Academy Press, 1993: 5.
- [36] Cortés-Jacinto E, Villarreal-Colmenares H, Civera-Cerecedo R, et al. Effect of dietary protein level on growth and survival of juvenile freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae)[J]. Aquac Nutr, 2003, 9(4): 207-213.
- [37] Chen X F, Xu J, Ai C X. Protein requirement and feed assessment of *Litopenaeus vannamei*[C]/Li Z B. Low carbon crustacean farming and its health and safety: Paper compilation on the seventh symposium of world's Chinese scientists on culture of shrimp and crab. Fujian: Xiamen University Press, 2011: 246-255. [陈曦飞, 许洁, 艾春香. 凡纳滨对虾的蛋白质营养需求研究及其配合饲料质量评价[C]/黎中宝. 甲壳动物低碳养殖与健康安全: 第七届世界华人虾蟹类养殖研讨会论文集. 福建: 厦门大学出版社, 2011: 246-255.]
- [38] Duan Q Y, Mai K S, Shentu J K, et al. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and ovary pigmentation in *Portunus trituberculatus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(4): 809-818. [段青源, 麦康森, 申屠基康, 等. 不同蛋白质、脂肪水平对三疣梭子蟹生长和卵巢色素沉积的影响[J]. 中国水产科学, 2011, 18(4): 809-818.]
- [39] Deng J M, Mai K S, Ai Q H, et al. Protein turnover of fish: a review[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 14(1): 165-172. [邓君明, 麦康森, 艾庆辉, 等. 鱼类蛋白质周转代谢的研究进展[J]. 中国水产科学, 2007, 14(1): 165-172.]
- [40] Yun H, Lee J, Park G, et al. Reevaluation of optimum dietary protein level in juvenile whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)[J]. An Nutr Feed Technol, 2015, 15(3): 385-394.
- [41] Li G L, Zhu C H, Zhou Q C. Effects of dietary protein level on the growth of *Penaeus vannamei*[J]. Marine Sciences, 2001, 25(4): 1-4. [李广丽, 朱春华, 周歧存. 不同蛋白质水平的饲料对南美白对虾生长的影响[J]. 海洋科学, 2001, 25(4): 1-4.]
- [42] Shao Q J, Su X F, Xu Z R, et al. Effect of dietary protein levels on growth performance and body composition of jade perch *Scortum barcoo*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2004, 28(4): 367-373. [邵庆均, 苏小凤, 许梓荣, 等. 饲料蛋白水平对宝石鲈生长和体组成影响的研究[J]. 水生生物学报, 2004, 28(4): 367-373.]
- [43] Zhang Q, Tong W P, Dong L F, et al. Effects of dietary protein level on growth performance and body composition of juvenile peanut worm, *Sipunculus Linnaeus*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2012, 33(1): 86-92. [张琴, 童万平, 董兰芳, 等. 饲料蛋白水平对方格星虫稚虫生长和体组成的影响[J]. 渔业科学进展, 2012, 33(1): 86-92.]
- [44] Pan L Q, Liu H Y, Xiao G Q. A review on digestive enzyme of crustacean larvae[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 14(1): 165-172. [潘鲁青, 刘泓宇, 肖国强. 甲壳动物幼体消化酶研究进展[J]. 中国水产科学, 2006, 14(1): 165-172.]
- [45] Moullac G L, Klein B, Sellos D, et al. Adaptation of trypsin, chymotrypsin and alpha-amylase to casein level and protein source in *Peaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda)[J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1996, 208(1-2): 107-125.

Effect of dietary protein level on growth performance, body composition, and digestive enzyme activities in green mud crab (*Scylla paramamosain*) juveniles

DONG Lanfang¹, TONG Tong¹, ZHANG Qin¹, XU Mingzhu¹, SU Qiong¹, NIE Zhenping¹, YANG Jialin¹, XIE Da¹, LIN Feng²

1. Guangxi Institute of Oceanology, Key Laboratory of Marine Biotechnology of Guangxi, Beihai 536000, China;
2. Beihai Productivity Promotion Center, Beihai 536000, China

Abstract: The green mud crab *Scylla paramamosain* has been widely cultured in coastal areas of southern China for many years, with production reaching approximately 14.1 tons in 2015. The successful farming of mud crabs presently depends on conventional diets, comprising mainly trash fish, mollusk meat and animal viscera, but the demand for these foods by the crab industry is difficult to satisfy. Compared with the traditional feeds, compound feeds offer better-balanced nutrition and have better storage qualities. Studies of the nutritional requirements of cultured mud crab are important to developing cost-effective, environmentally friendly and nutritionally balanced artificial diets. Dietary protein, a major macronutrient in aquatic animal diets, provides the essential and non-essential amino acids needed to synthesize body protein and energy. As protein represents the most expensive component in feeds, it is important to determine the optimal level for a cultured species. This study investigated the effects of dietary protein level on growth performance, body composition, and digestive enzyme activities in mud crab (*S. paramamosain*) juveniles. Six isoenergetic diets were formulated with varying protein content (i.e., 31.45%, 36.37%, 41.55%, 46.13%, 51.72% and 56.86%) and fed to juvenile mud crabs for three weeks. Triplicate groups of 80 juvenile crabs, with an average body weight of 11.86 ± 0.11 mg, were randomly assigned to each of the six diets. Each crab was raised in a bucket (20 cm diameter \times 25 cm height) provided with a 5 cm layer of sand. The results showed that the dietary protein level did not influence crab survival rate in any of the treatments ($P < 0.05$). The weight gain ratio and specific growth rate of the juvenile crabs significantly increased as dietary protein was increased from 31.45% to 51.72% ($P < 0.05$), and then the indicators showed a slight decrease with a further increase to 56.86% protein; the gains were highest for crabs fed 51.72% protein. Dietary protein level significantly affected the whole-body crude protein, lipid and ash contents ($P < 0.05$), but did not show any significant influence on the moisture content of the crabs ($P > 0.05$). Values for crude protein content of crabs raised on one of the four higher protein diets (41.55%–56.86%) were significantly higher than that for crabs fed a lower protein diet (31.45% and 36.37%) ($P < 0.05$), while the whole-body lipid content significantly decreased as the dietary protein content was increased ($P < 0.05$). The trend in whole-body ash content was similar to that observed for weight gain ratio, which significantly increased at first and then decreased as the dietary protein content was increased ($P < 0.05$). With an increasing level of dietary protein, the protease activity significantly increased ($P < 0.05$) and amylase activity significantly decreased ($P < 0.05$). The level of dietary protein also affected lipase activity in the crabs. Under the present experimental conditions, juvenile green mud crabs fed 41.55%–56.86% protein exhibited the best growth performance, and regression analysis showed that the optimal level was 49.03% protein. These results will be helpful for formulating pelleted diets for commercial mud crab culture. Future studies of protein metabolism mechanisms and the interactions of proteins with other nutritional components are recommended for this species.

Key words: *Scylla paramamosain*; protein level; growth performance; body composition; digestive enzyme activities

Corresponding author: ZHANG Qin. E-mail: zhangqin821220@163.com