

辅酶渣替代鱼粉对中华绒螯蟹生长及肠道菌群的影响

蔡欣好, 刘佳岱, 李二超, 宋铭琪, 余秋然,
王 涵, 王晓丹, 陈立侨*

(华东师范大学生命科学学院, 水生动物营养与环境健康实验室, 上海 200241)

摘要: 为探究饲料中辅酶渣替代鱼粉对中华绒螯蟹生长性能、健康情况和肠道菌群的影响, 以中华绒螯蟹幼蟹 ($0.70 \pm 0.01 \text{g}$) 为研究对象, 分别以等蛋白的辅酶渣替代基础饲料中鱼粉的 0% (对照组, 含 20% 鱼粉)、20%、40%、60%、80%、100% (记为 C、T20、T40、T60、T80、T100) 的饲料投喂 8 周。结果显示, 与 C 组相比, T40 组生长性能无显著改变, T60 组肌肉粗蛋白含量显著降低。T80 组、T100 组生长性能、体粗蛋白和粗脂肪含量显著降低; 与 C 组相比, 替代组血清谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、碱性磷酸酶 (AKP)、甘油三酯 (TG) 水平未见显著差异, 总蛋白水平 (TP) 在 T100 组显著降低。血清葡萄糖 (Glu) 在替代组中显著降低。T60、T80、T100 组的血清总胆固醇 (T-CHO)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 含量显著降低, T80、T100 组的血清低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 含量显著降低; 与 C 组相比, 各替代组肝胰腺超氧化物歧化酶 (SOD) 活性无显著差异, 谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性显著上升, T100 组丙二醛 (MDA) 含量显著降低; C、T40、T80 组肠道菌群 α 多样性指数无显著差异, 主坐标分析显示 T80 组蟹肠道菌群组成较 C 组发生改变。研究表明, 辅酶渣替代饲料中 40% 的鱼粉对幼蟹的生长、抗氧化能力、肠道菌群无负面影响, 但当替代比例超过 80% 时将导致幼蟹的生长性能下降、营养物质积累减少和肠道菌群稳态发生改变。

关键词: 中华绒螯蟹; 单细胞蛋白; 辅酶 Q10 渣; 鱼粉替代; 生长性能; 肠道菌群

中图分类号: S 963

文献标志码: A

鱼粉具有蛋白质含量高、氨基酸构成平衡和微量元素丰富等优点, 是优质的水生动物蛋白质来源。然而, 因海洋渔业资源有限, 加之受全球气候变化的影响, 鱼粉的产量受限, 价格也居高不下^[1]。因此, 有必要寻找更多有应用前景的饲料蛋白源, 来满足水产养殖业的可持续发展。除了动植物原料或副产品蛋白源, 近年来单细胞蛋白的开发利用也逐渐受到关注。单细胞蛋白由细菌、真菌、藻类等生物产生, 相较于植物蛋白源, 其不含植物抗营养因子, 蛋白质含量高, 氨基酸

含量丰富, 生产效率高, 在水产养殖领域具有广阔的潜在应用前景^[2-3]。目前已有多种单细胞蛋白被证明能够作为水生动物饲料蛋白源使用, 如荚膜甲基球菌 (*Methylococcus capsulatus*)、乙醇梭菌 (*Clostridium autoethanogenum*)、酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 等^[2-4]。

紫色非硫细菌 (purple nonsulfur bacteria, PNSB) 蛋白具有生产速度快、毒性低、蛋白质含量高等特点, 是一类具有潜力的单细胞蛋白源^[5]。有研究表明, PNSB 培养物能够替代饲料中 33%

收稿日期: 2023-08-31 修回日期: 2023-10-08

资助项目: 财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系; 国家自然科学基金 (32072986); 上海市中华绒螯蟹产业技术体系 (202304)

第一作者: 蔡欣好 (照片), 从事水生动物营养与环境健康研究, E-mail: xy979562225@163.com

通信作者: 陈立侨, 从事水生动物营养与环境健康研究, E-mail: lqchen@bio.ecnu.edu.cn



的鱼粉而不影响尖吻鲈 (*Lates calcarifer*) 的生长性能^[6]。类球红细菌 (*Rhodobacter sphaeroides*) 是红杆菌属的一种 PNSB, 具有丰富的光合色素, 能够利用包括葡萄糖在内的多种碳源作为营养源进行增殖^[7]。在水生动物养殖中, 红杆菌属微生物及其副产物常被用于改善水体, 或作为免疫增强剂、益生菌剂在饲料中添加^[8-9], 目前将其作为饲料蛋白源的研究较少。研究发现, 凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 饲料中添加 1% 的类球红细菌的冻干细胞, 可显著提高对虾的生长速度, 添加比例提高到 3%、5% 时均不影响虾的生长与存活率^[10]。类球红细菌蛋白能够完全替代配方中的鱼粉 (20%) 而不影响凡纳滨对虾的生长性能^[11]。目前, 我国农业农村部已批准类球红细菌发酵辅酶 Q10 所得的固体副产物, 即辅酶 Q10 渣 (以下简称辅酶渣) 在畜禽饲料中使用, 近年已将适用范围扩大至水产养殖动物, 而关于辅酶渣在饲料中应用效果的研究尚有待补充。^[12]

中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 俗称河蟹, 是我国重要的特色养殖品种。随着养殖面积的扩大和产量的不断提高, 河蟹高效配合饲料的开发和应用日益受到重视, 生产中投喂配合饲料的比例逐年提高。高效饲料的开发需要有充足的优质蛋白源, 在鱼粉资源量不足和受限的情况下, 辅酶渣作为新型饲料蛋白源, 其蛋白质含量高、氨基酸种类组成相对平衡、价格低廉, 是一种能有效替代鱼粉的潜在蛋白源, 然而迄今尚无有关该蛋白源在河蟹饲料中应用的报道。本实验采用辅酶渣为替代蛋白源, 以河蟹幼蟹为对象, 探讨了辅酶渣替代鱼粉对幼蟹生长性能、血清生化、肝胰腺抗氧化能力和肠道菌群的影响, 以评估辅酶渣作为蛋白源在幼蟹饲料中的应用效果。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

实验所用鱼粉与辅酶渣的主要营养成分与氨基酸组成见表 1。基础饲料以鱼粉、豆粕、棉粕为主要蛋白源。饲料用辅酶渣替代不同比例鱼粉制得, 替代比例分别为 0%(C)、20%(T20)、40%(T40)、60%(T60)、80%(T80) 和 100%(T100), 具体配方见表 2。饲料中各组成成分依照逐级放大原则充分混合, 并制成直径 2 mm 的颗粒, 于通风处阴干, 保存在 -20 °C 冰箱中备用。

1.2 饲养管理、样品采集、指标测定与分析

养殖试验管理 本研究获得了华东师范大学实验动物伦理委员会批准, 实验过程中操作人员严格遵守华东师范大学伦理规范, 并按照华东师范大学实验动物伦理委员会制定的规章制度执行。

表 1 鱼粉与辅酶渣的主要营养成分与氨基酸组成 (% , 干物质基础)

Tab. 1 Main nutrients and amino acid composition of fish meal and coenzyme residue (% , dry matter)

项目 items	原料 ingredient		
	鱼粉 fish meal	辅酶渣 coenzyme residue	
水分 moisture	7.04		4.29
粗蛋白 crude protein	69.91		70.55
粗脂肪 crude lipid	6.49		3.01
灰分 ash	15.89		4.39
氨基酸 amino acid			
赖氨酸 Lys	5.35		3.58
蛋氨酸 Met	2.02		2.08
亮氨酸 Leu	5.10		5.88
异亮氨酸 Ile	2.84		3.07
精氨酸 Arg	4.00		4.23
苯丙氨酸 Phe	2.78		3.49
苏氨酸 Thr	2.93		3.23
缬氨酸 Val	3.18		4.44
组氨酸 His	2.35		1.56
必需氨基酸 EAA	30.54		31.56
天冬氨酸 Asp	6.17		6.21
丝氨酸 Ser	2.64		2.52
谷氨酸 Glu	8.90		8.17
脯氨酸 Pro	2.81		2.87
甘氨酸 Gly	4.38		3.72
丙氨酸 Ala	4.29		6.15
半胱氨酸 Cys	0.68		0.33
酪氨酸 Tyr	2.35		2.02
非必须氨基酸 NEAA	32.21		31.99

养殖试验在上海市闵行区华东师范大学生物实验站进行。所用幼蟹购买于上海崇明养殖场。试验开始前, 选取附肢完整、体色健康、活力好的幼蟹共 960 只, 随机分到 24 个循环水族箱 (60 cm×50 cm×80 cm) 中。实验设置 6 个处理组, 每组 4 个水族箱。每箱 40 只幼蟹。每天饱食投喂 2 次 (8: 30, 16: 30), 共持续 8 周。养殖期间每天

表 2 饲料组成及主要营养素含量

Tab. 2 Composition and conventional component levels of diets

原料(g/kg) ingredient	组别 groups					
	C	T20	T40	T60	T80	T100
鱼粉 fish meal	200.00	160.00	120.00	80.00	40.00	0.00
辅酶渣 coenzyme residue	0.00	39.63	79.27	118.90	158.54	198.17
豆粕 soybean meal	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00
棉粕 cottonseed meal	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00
预糊化淀粉 pre-gelatinized starch	180.00	180.00	180.00	180.00	180.00	180.00
鱼油 fish oil	27.26	28.67	30.07	31.48	32.89	34.29
豆油 soybean oil	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00
卵磷脂 lecithin	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
胆固醇 cholesterol	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
甜菜碱 betaine	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00
海藻酸钠 Alginate	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
氯化胆碱 choline chloride	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
BHT	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
复合维生素 ¹ vitamin premix	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00
复合矿物质 ² mineral premix	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
纤维素 cellulose	41.74	40.70	39.66	38.62	37.58	36.54
营养水平(%，干物质基础) nutritional levels (%，dry matter)						
粗蛋白 crude protein	39.43	38.84	39.64	38.81	39.17	38.96
粗脂肪 crude lipid	6.53	6.58	6.38	6.80	6.76	6.55
灰分 ash	9.19	8.45	7.33	7.26	6.52	6.50
水分 moisture	9.83	9.72	9.93	9.09	9.37	8.85

注: 1. 复合维生素组成(g/100 g): 烟酸吡哆醇, 0.225; 维生素 A 醋酸酯, 0.043; 盐酸硫胺素, 0.15; 核黄素, 0.062 5; 抗坏血酸, 0.5; 生物素, 0.005; 叶酸, 0.025; 泛酸钙, 0.3; 胆钙化醇, 0.007 5; α -生育酚乙酸酯, 0.5; 烟酸, 0.3; 甲萘醌, 0.05; 对氨基苯甲酸, 0.1; 所有原料用 α -纤维素补充至 100。2. 复合矿物质组成(g/100 g): 磷酸二氢钙, 26.5; 七水合硫酸锌, 0.476; 六水合硫酸锰, 0.143; 六水合氯化铝, 0.024; 磷酸二氢钾, 21.5; 碘化钾, 0.023; 二水合氯化铜, 0.015; 磷酸二氢钠, 10.0; 六水合氯化钴, 0.14; 乳酸钙, 16.50克; 碳酸钙, 10.5; 七水合硫酸镁, 10.0; 柠檬酸铁, 1; 氯化钾, 2.8; 所有原料用 α -纤维素补充至 100。
 Note: 1. compound vitamin composition (g/100 g): pyridoxine nicotinate, 0.225; Vitamin A acetate, 0.043; Thiamine hydrochloride, 0.15; Riboflavin, 0.062 5; Ascorbic acid, 0.5; Biotin, 0.005; Folic acid, 0.025; Calcium pantothenate, 0.3; Cholecalciferol, 0.007 5; α -Tocopherol acetate, 0.5; Niacin, 0.3; Menadione, 0.05; P-aminobenzoic acid, 0.1; For all raw materials α -Cellulose was supplemented to 100。2. Composite mineral composition (g/100 g): $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, 26.5; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.476; $\text{MnSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.143; $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.024; KH_2PO_4 , 21.5; KI, 0.023; $\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.015; NaH_2PO_4 , 10.0; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.14; $\text{C}_6\text{H}_5\text{CaO}_6$, 16.50; CaCO_3 , 10.5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 10.0; $\text{C}_6\text{H}_5\text{FeO}_7$, 1; KCl, 2.8; For all raw materials α -Cellulose was supplemented to 100.

更换箱中 1/2 的水体, 光照周期 12 h 光照, 12 h 黑暗, 水体温度 24~26 °C, 水中溶解氧>7.0 mg/L, 氨氮浓度<0.05 mg/L, pH 7.4~8.0。

养殖试验结束后, 禁食幼蟹 24 h, 记录体重与存活情况, 用于计算生长指标。每个缸选取 4 只幼蟹用于体成分分析, 其余蟹在冰上麻醉后先后采集其血清、肝胰腺、肠道、肌肉等样品。所采样品被速冻于液氮中并保存于-80 °C 备用。

生长性能测定 参照如下公式计算幼蟹的存活率、增重率、特定生长率、肝体指数。

$$\text{存活率 (survival rate, SR, \%)} = N_F/N_1 \times 100\%$$

$$\text{增重率 (weight gain rate, WGR, \%)} = (W_F - W_1) / W_1 \times 100\%$$

$$\text{特定生长率 (specific growth rate, SGR, \% / d)} =$$

$$(\ln W_F - \ln W_1) / t \times 100\%$$

$$\text{肝体指数 (hepatosomatic index, HSI, \%)} = W_h / W_b \times 100\%$$

式中, N_1 为试验开始时蟹的数量; N_F 为试验结束时蟹的数量; W_1 为试验开始时蟹的均重; W_F 为试验结束时蟹的均重; W_h 为蟹的肝胰腺重量; W_b 为蟹的体重; t 为试验持续时间。

基本营养成分分析 参照 AOAC 标准, 测定饲料原料、饲料成品、全蟹及组织的常规组成。水分采用恒重法 (105 °C) 测定; 粗蛋白含量采用凯氏定氮法测定; 饲料原料、全蟹粗脂肪采用氯仿甲醇法测定, 饲料成品粗脂肪采用索氏抽提法测定; 灰分采用马弗炉灼烧法测定 (550 °C)。

血清及肝胰腺生化指标测定 总蛋白

(TP)、白蛋白 (Alb)、碱性磷酸酶 (AKP)、谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、葡萄糖 (Glu)、甘油三酯 (TG)、总胆固醇 (TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、丙二醛 (MDA) 等均使用南京建成生物工程研究所制备的试剂盒检测, 按说明书所示操作方法测定上述指标。

肠道菌群 16S rRNA 测序 根据 8 周养殖试验后幼蟹的生长性能差异, 选择对照组、适宜替代比例组 (T40 组)、过高替代比例组 (T80) 组蟹的肠道样本进行 16SrDNA 测序分析, 测序工作由北京诺禾致源科技股份有限公司完成。利用 Uparse 算法 (Uparse v7.0.1001, <http://www.drive5.com/uparse/>) 将序列聚类成为 OTUs (Operational Taxonomic Units) 并注释。用 Mothur 方法与 SILVA138.1 (<http://www.arb-silva.de/>) 的 SSUrRNA 数据库进行物种注释分析。

1.3 统计分析

数据以平均值±标准误差 (mean±SE) 表示,

并使用 IBM SPSS Statistics 23 软件进行统计分析。对所有数据进行方差齐性检验后, 通过单因素方差分析 (One Way ANOVA) 判断数据间的差异, 若存在差异显著, 再使用 Duncan 氏多重比较法检验组间差异, 显著水平设置为 $P<0.05$ 。

2 结果

2.1 生长性能和体组成

由表 3 可知, 与 C 组相比, T20、T40、T60 组幼蟹的末均重、增重率和特定生长率均无显著差异 ($P>0.05$), T80 组和 T100 组的上述指标则显著降低 ($P<0.05$)。T80 组和 T100 组蟹的肝体指数显著低于 C 组 ($P<0.05$)。各组的存活率无显著性差异 ($P>0.05$)。

由表 4 可知, T20 组、T40 组、T60 组全蟹水分、粗蛋白、粗脂肪含量与 C 组未有显著差异 ($P>0.05$)。T80 组和 T100 组蟹的水分相较 C 组显著上升 ($P<0.05$), 粗蛋白含量和粗脂肪含量显著降低 ($P<0.05$)。此外, 辅酶渣替代鱼粉不影响全蟹灰分和肝胰腺粗蛋白含量 ($P>0.05$)。T60 组、

表 3 辅酶渣替代鱼粉对幼蟹生长性能的影响

Tab. 3 Effect of fish meal replaced by coenzyme residue on growth performance of juvenile *E.sinesis*

项目 items	组别 groups					
	C	T20	T40	T60	T80	T100
初始均量/g IBW	0.70±0.01	0.70±0.01	0.70±0.01	0.70±0.01	0.70±0.01	0.70±0.01
终末均重/g FBW	2.28±0.11 ^c	2.10±0.07 ^{bc}	2.25±0.09 ^c	2.06±0.07 ^{bc}	1.91±0.07 ^{ab}	1.76±0.04 ^a
增重率/% WG	225.03±15.11 ^c	200.13±9.95 ^{bc}	220.48±12.46 ^c	193.57±9.98 ^{bc}	172.23±10.28 ^{ab}	151.63±6.16 ^a
特定生长率/(%/d) SRG	2.10±0.09 ^c	1.96±0.06 ^{bc}	2.08±0.07 ^c	2.01±0.10 ^{bc}	1.78±0.07 ^{ab}	1.65±0.04 ^a
存活率/% SR	76.67±3.77	75.30±3.62	71.70±3.86	86.04±2.44	82.50±8.78	65.83±5.07
肝体指数/% HSI	9.05±0.40 ^c	8.63±0.29 ^{bc}	8.49±0.52 ^{bc}	8.90±0.64 ^{bc}	7.33±0.41 ^{ab}	6.61±0.82 ^a

注: 同行数据后不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$), 下同。

Notes: In data in the same row, values with different lowercase superscripts mean significant difference ($P<0.05$), the same below.

表 4 辅酶渣替代鱼粉对幼蟹体成分的影响

Tab. 4 Effect of fish meal replaced by coenzyme residue on body composition of juvenile *E.sinesis*

项目 items	组别 groups						
	C	T20	T40	T60	T80	T100	
全蟹 Whole body	水分/% moisture	64.00±0.68 ^a	66.83±1.94 ^{ab}	64.24±1.04 ^a	66.86±1.03 ^{ab}	70.49±1.57 ^{bc}	72.36±1.35 ^c
	粗蛋白/% crude Protein	13.94±0.19 ^c	13.04±0.67 ^c	14.17±0.58 ^c	12.49±0.61 ^{bc}	10.96±0.76 ^{ab}	9.85±0.70 ^a
	粗脂肪/% crude Lipid	3.06±0.24 ^b	2.49±0.12 ^b	2.72±0.21 ^b	2.73±0.26 ^b	1.27±0.27 ^a	0.89±0.14 ^a
	灰分/% ash	12.97±0.19	12.69±0.90	13.05±0.24	12.96±0.24	13.07±0.86	13.11±0.29
肝胰腺 Hepatopancreas	粗蛋白/% crude Protein	10.65±0.52	10.08±0.20	10.41±0.19	10.16±0.23	10.95±0.36	11.01±0.21
肌肉 Muscle	粗蛋白/% crude Protein	16.50±0.31 ^b	16.70±0.40 ^b	16.74±0.22 ^b	15.23±0.24 ^a	15.48±0.43 ^a	15.37±0.36 ^a

注: 同行数据后不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$), 下同。

Notes: In data in the same row, values with different lowercase superscripts mean significant difference ($P<0.05$), the same below.

T80 组和 T100 组蟹的肌肉粗蛋白含量显著低于 C 组 ($P<0.05$)。

2.2 血清生化指标和肝胰腺抗氧化能力

由表 5 可知, 相较于 C 组, 幼蟹的血清 TP 含量在 T100 组中显著下降 ($P<0.05$), 各处理组中, T40 组蟹血清 TP 含量最高, 并显著高于 T80 组和 T100 组 ($P<0.05$)。血清 Alb 水平随替代比例增加呈先升高后降低趋势, T20 组 Alb 水平显著高于 T100 组 ($P<0.05$)。各组幼蟹血清 AKP、AST、ALT、TG 含量未见显著变化 ($P>0.05$)。各替代组的血清 Glu 含量显著降低 ($P<0.05$)。T60、T80、T100 组的血清 T-CHO 和 HDL-C 含量相比 C 组显著降低 ($P<0.05$), T80 和 T100 组的血清 LDL-C 含量显著降低 ($P<0.05$)。

由表 6 可知, 相较于 C 组, 饲料中添加辅酶渣替代鱼粉显著提高了幼蟹的肝胰腺 GSH-Px 活性 ($P<0.05$)。各处理组蟹肝胰腺 SOD 活性未见显著差异 ($P>0.05$)。T100 组蟹的肝胰腺 MDA 含量

显著低于 C 组 ($P<0.05$)。

2.3 肠道菌群

C 组、T40 组、T80 组 OTU 数目分别为 831, 1150, 799, 其中共有的 OTU 数目为 270 个, 各自独有的 OTU 数目分别为 339、468、217 个 (图 1)。C 组、T40 组、T80 组的 Shannon 指数 (图 2-a)、Simpson 指数 (图 2-b)、Chao1 指数 (图 2-c)、ACE 指数 (图 2-d) 未呈现显著差异 ($P>0.05$)。基于 bury_crutis, 主坐标 1 和主坐标 2 对样本的解释度分别为 28.00% 和 25.81%, T40 组与 C 组、T80 组的肠道菌群结构未见明显差异, 而 T80 组与 C 组的肠道菌群结构呈现分离趋势 (图 3)。

各组在门水平上和种水平上的物种丰度情况无显著差异 ($P>0.05$)。T80 组蟹肠道的气单胞菌属 (*Aeromonas*) 微生物丰度 (7.790%) 显著高于 C 组 (0.64%) 与 T40 组 (1.36%) ($P<0.05$)。

LEfSe 分析获得的具有显著差异的 Biomarker 如下 ($LDA>3.5$)。在 C 组中, Micrococcales 目较

表 5 辅酶渣替代鱼粉对幼蟹血清生化指标的影响

Tab. 5 Effect of fish meal replaced by coenzyme residue on serum biochemical indices of juvenile *E.sinesis*

项目 items	C	T20	T40	T60	T80	T100
总蛋白/(g/L) TP	55.42±2.95 ^{bc}	54.99±2.80 ^{bc}	59.34±2.66 ^c	54.86±2.70 ^{bc}	47.98±1.99 ^{ab}	42.80±1.02 ^a
白蛋白/(g/L) Alb	4.38±0.15 ^{abc}	4.85±0.21 ^c	4.81±0.23 ^{bc}	4.48±0.22 ^{abc}	4.07±0.30 ^{ab}	3.76±0.27 ^a
球蛋白/(g/L) Glb	49.03±3.20 ^{ab}	52.35±3.14 ^b	51.80±3.38 ^b	44.70±4.10 ^{ab}	42.15±2.23 ^a	40.41±1.39 ^a
白球比 A/G	0.09±0.00	0.10±0.00	0.09±0.00	0.09±0.00	0.09±0.00	0.09±0.00
碱性磷酸酶/(U/100 mL) AKP	54.31±4.11	46.61±3.12	40.56±5.28	44.52±7.02	41.49±4.51	36.09±3.73
谷丙转氨酶/(U/L) ALT	2.26±0.20	2.40±0.27	2.09±0.25	2.09±0.34	1.76±0.35	2.62±0.25
谷草转氨酶/(U/L) AST	9.22±1.78	9.80±1.71	10.03±1.93	11.97±2.49	11.96±2.44	13.37±2.96
葡萄糖/(μg/L) Glu	0.43±0.02 ^b	0.26±0.02 ^a	0.32±0.04 ^a	0.33±0.03 ^a	0.29±0.03 ^a	0.31±0.02 ^a
甘油三酯/(mmol/L) TG	0.10±0.01	0.08±0.01	0.08±0.01	0.06±0.01	0.07±0.01	0.07±0.01
总胆固醇/(mmol/L) T-CHO	0.56±0.03 ^b	0.58±0.05 ^b	0.56±0.04 ^b	0.44±0.04 ^a	0.38±0.03 ^a	0.36±0.02 ^a
高密度脂蛋白胆固醇/(mmol/L) HDL-C	0.28±0.03 ^c	0.27±0.04 ^{bc}	0.27±0.03 ^{bc}	0.20±0.03 ^{ab}	0.12±0.02 ^a	0.12±0.01 ^a
低密度脂蛋白胆固醇/(mmol/L) LDL-C	0.06±0.01 ^b	0.05±0.00 ^b	0.05±0.00 ^{ab}	0.05±0.00 ^{ab}	0.03±0.01 ^a	0.04±0.01 ^a

注: 同行数据后不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$), 下同

Notes: In data in the same row, values with different lowercase superscripts mean significant difference ($P<0.05$), the same below.

表 6 辅酶渣替代鱼粉对幼蟹肝胰腺抗氧化能力的影响

Tab. 6 Effect of fish meal replaced by coenzyme residue on hepatopancreas antioxidant indices of juvenile *E.sinesis*

项目 items	C	T20	T40	T60	T80	T100
超氧化物歧化酶/(U/mg prot) SOD	5.18±0.45	6.88±0.73	5.70±0.43	5.47±0.40	5.69±0.36	6.58±0.34
谷胱甘肽过氧化物酶/(U/mg prot) GSH-Px	61.05±3.51 ^a	72.94±3.73 ^b	76.39±2.56 ^b	82.89±4.05 ^b	75.11±3.88 ^b	97.97±2.99 ^c
丙二醛/(nmol/mg prot) MDA	3.57±0.18 ^b	3.76±0.36 ^b	3.56±0.21 ^b	2.98±0.26 ^{ab}	2.99±0.31 ^{ab}	2.42±0.22 ^a

注: 同行数据后不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$), 下同

Notes: In data in the same row, values with different lowercase superscripts mean significant difference ($P<0.05$), the same below.

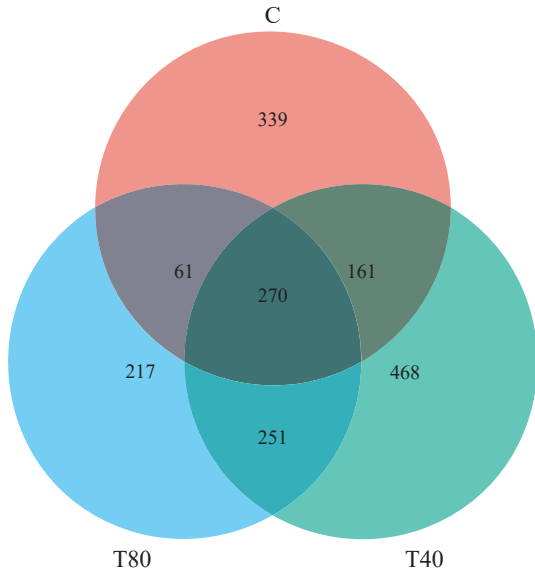


图 1 幼蟹肠道菌群 OTU 韦恩图

Fig. 1 OTU venn diagram of intestinal microbiota of juvenile *E. sinensis*

为丰富；T40 组中，狭义梭菌属 (*Clostridium sensu stricto 1*)、丁酸梭菌 (*Clostridium butyricum*)

较为丰富；T80 组中，气单胞菌属 (*Aeromonas*)、产碱假单胞菌 (*Pseudomonas alcaligenes*)、*Shewanella bicestrii* 等较为丰富。

3 讨论

3.1 辅酶渣替代鱼粉对幼蟹生长性能、血清生化影响

本研究发现，辅酶渣能够替代配合饲料中 60%(T60 组) 的鱼粉，即在饲料中添加 11.89%，而不引起幼蟹的生长性能降低，而当替代比例进一步提高时，则对蟹生长有一定的抑制作用，导致蟹增重率下降、体成分粗蛋白、粗脂肪积累减少。当替代比例达到 80% 时，幼蟹的肝体指数显著低于 C 组，与凡纳滨对虾的相关研究结果类似^[11]。本研究发现，当替代比例达到 60% 及以上水平时，蟹的肌肉粗蛋白含量显著降低，尽管增重率尚未产生差异，但幼蟹的蛋白质沉积已经受到影响。上述结果表明，辅酶渣替代幼蟹饲料中鱼粉的适宜比例为 40%，更高的替代比例会在

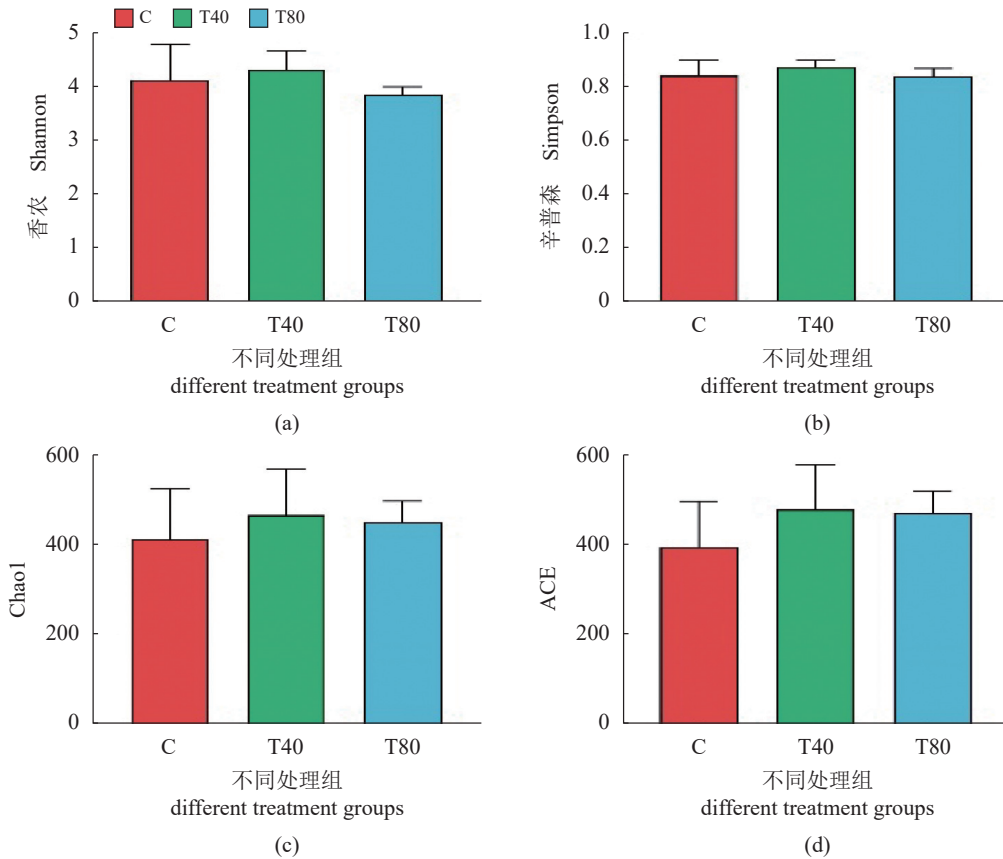


图 2 幼蟹肠道菌群 α 多样性

Fig. 2 Alpha-diversity of intestinal microbiota of juvenile *E. sinensis*

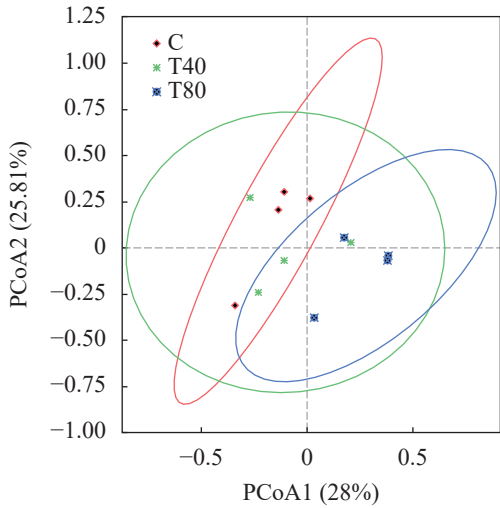


图3 幼蟹肠道菌群主坐标分析 (PCoA)

Fig. 3 Principal coordinate analysis (PCoA) on intestinal microbiota of juvenile *E. sinensis*

定程度影响蟹体营养物质沉积, 进而导致生长速度下降。

饲料中鱼粉组分被过量替代, 可能导致必需氨基酸、微量元素和某些生物活性物质的缺失, 从而导致动物生长发育受限。产氨短杆菌 (*Corynebacterium ammoniagenes*) 蛋白替代 40% 鱼粉时, 凡纳滨对虾的生长性能下降, 且虾肌肉的必需氨基酸含量显著降低^[13]。乙醇梭菌蛋白替代暗纹东方鲀 (*Takifugu obscurus*) 饲料中 40% 以上鱼粉时,

会导致鱼体摄食下降、增重率减少、肌肉和血清的牛磺酸含量降低^[14]。辅酶渣的蛋白质含量高, 氨基酸组成和比例与鱼粉较为接近, 作为新型蛋白源具有良好的应用前景, 但其赖氨酸含量较低, 与豆粕等植物性蛋白源接近。而当赖氨酸缺乏时, 中华绒螯蟹和三疣梭子蟹均表现出体蛋白沉积率降低, 生长性能显著下降^[15-16]。由于辅酶渣在饲料中替代鱼粉将导致饲料赖氨酸含量下降, 蟹的生长性能和体成分组成也将受到影响^[16-17], 这可能是本实验中辅酶渣较高比例替代鱼粉时, 幼蟹的生长和营养物质沉积率受到抑制的一个主要原因。此外, 相较于鱼粉, 辅酶渣中还可能缺少部分水生动物生长所需的营养素, 因此导致高替代时幼蟹的生长受限。

血清蛋白参与维持渗透压平衡、承担物质运输与免疫功能, TP 含量能够反映动物的健康状态^[18-19]。Alb 和 G1b 是血清 TP 的组成者, Alb 与 G1b 的比值可以反映动物免疫能力的变化^[20]。Jiang 等^[21]的研究发现, 乙醇梭菌蛋白过多替代凡纳滨对虾饲料中鱼粉, 将导致虾肝胰腺损伤和血清总蛋白含量降低。本试验中, 随着替代比例的增加, 血清 TP、Alb、G1b 含量呈先增后降的趋势, T100 组中 TP 含量显著降低, 表明以适宜比例辅酶渣替代鱼粉有助于促进幼蟹血清蛋白含量提高, 但过高比例替代不利于蟹的健康。ALT 和 AST 在肝组织中含量丰富, 细胞损伤时进入血液, 其在血液

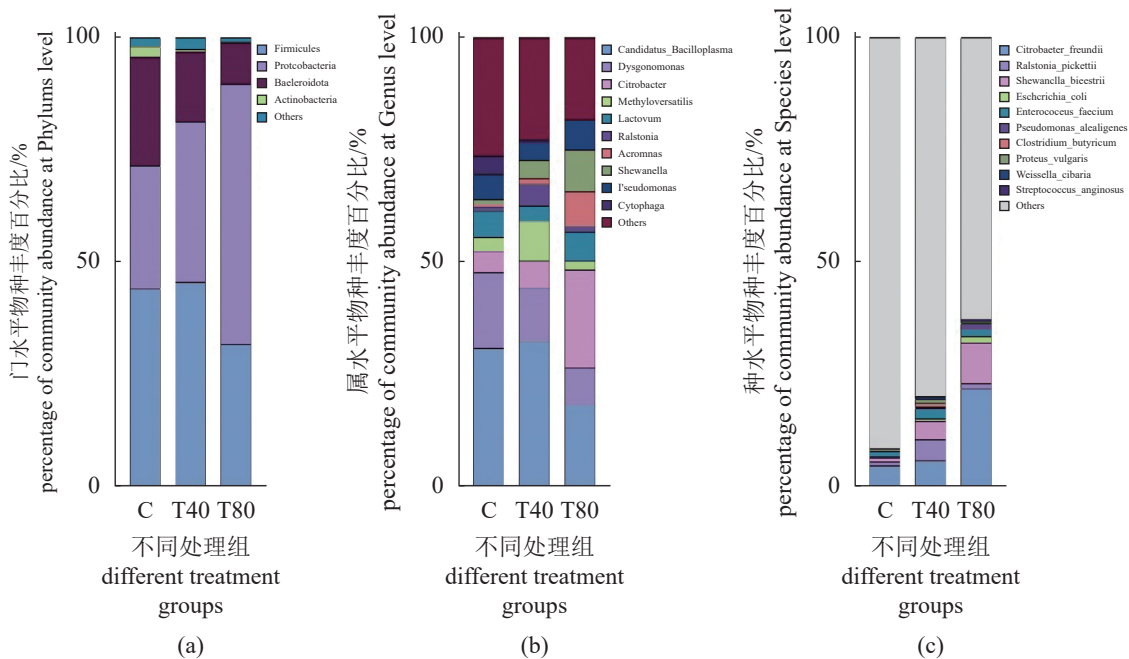


图4 门(a)、属(b)、种(c)水平上的幼蟹肠道微生物相对丰度

Fig. 4 Relative abundance of intestinal species of juvenile *E. sinensis* at Phylums (a), Genus (b), Species (c) level

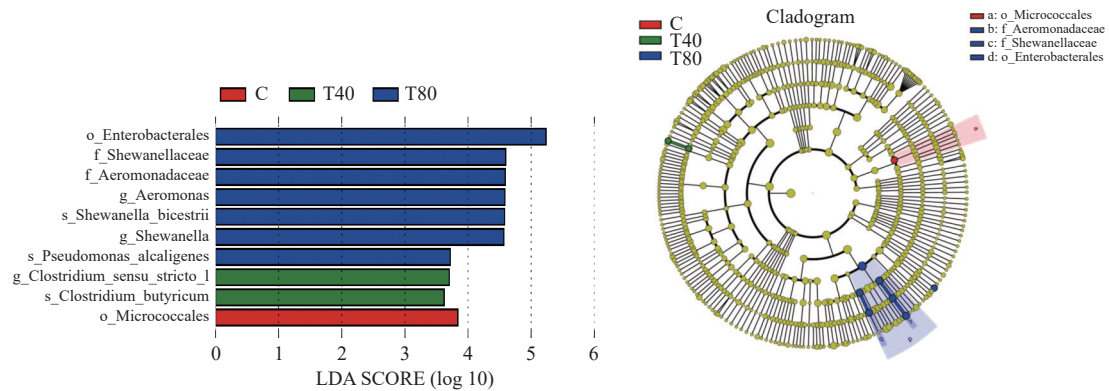


图5 通过 LEfSe 分析各组间的差异物种 (LDA 阈值>3.5)

Fig. 5 Identified differentially abundant intestine bacteria between diet treatments by LEfSe (LDA score>3.5)

中的活力可反映肝胰腺受损情况。相较于 C 组, 各替代组幼蟹的血清 ALT、AST 活力无显著差异, 表明辅酶渣替代鱼粉未引起幼蟹肝胰腺细胞的明显损伤。然而, 在替代比例达到 60% 及以上水平时, AST 活力呈现一定的上升趋势, 因此仍需考虑其可能对蟹健康存在潜在不利影响。血清 Glu 水平受多方面因素的调控, 如健康状态、糖利用能力、应激情况等。乙醇梭菌蛋白替代饲料中的凤尾鱼鱼粉, 降低了大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 血清 Glu 与 TG 水平^[22]。在建鲤 (*Cyprinus carpio* var. *Jian*) 的饲料中, 以荚膜甲基球菌蛋白替代豆粕降低了鱼血清的 Glu 与 MDA 水平^[23]。本研究中, 血清 Glu 水平在鱼粉被辅酶渣替代后显著降低, 提示辅酶渣可能有利于促进蟹的血糖利用, 确切原因仍有待进一步研究。血清胆固醇含量与动物摄入的胆固醇的量具有相关性^[24], 甲壳动物本身不具备从头合成胆固醇的能力, 因此需要通过摄食获取足够的胆固醇。有研究表明, 使用乙醇梭菌蛋白替代鱼粉可能导致凡纳滨对虾血清胆固醇含量下降^[25]。本实验中, 尽管饲料配方中已补充适量胆固醇, 但鱼粉比例的降低仍导致了饲料中可利用的胆固醇含量降低, 这可能是高比例替代组中蟹的血清 T-CHO、HDL-C 和 LDL-C 水平下降的原因。据报道, 饲料中胆固醇添加量提高可促进凡纳滨对虾和三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) 生长, 并有助于提高蟹的蜕壳率^[26-27]。由此推测, 高替代组幼蟹生长受抑制也可能与胆固醇摄取不足有关。

3.2 辅酶渣替代鱼粉对幼蟹肝胰腺抗氧化能力的影响

MDA 是脂质过氧化的产物, 其在组织中的累积水平变化能够反映机体对氧自由基的调节或

抵抗能力的变化。SOD、GSH-Px 等抗氧化酶是机体抵御脂质过氧化的重要防线, 可清除 O₂⁻等氧自由基, 减少氧化损伤现象^[28]。本结果显示, 辅酶渣替代饲料中的鱼粉对幼蟹肝胰腺的 SOD 活性无显著影响, 但提高了 GSH-Px 活性。T60 组、T80 组中, 幼蟹的肝胰腺 MDA 累积呈现下降趋势, 并在 100% 替代时显著降低。辅酶渣替代鱼粉促进了幼蟹的 GPH-Px 酶活的升高, 而在较低比例 (≤60%) 替代时, 肝胰腺 MDA 含量并未因此降低, 提示蟹的 MDA 累积降低的原因可能受到多种因素的影响。有研究报道, 在幼蟹饲料中添加富含虾青素的雨生红球藻粉, 会同时导致蟹肝胰腺 MDA 累积减少和部分抗氧化酶活力下降, 表明藻粉中的抗氧化成分能够直接对抗氧化酶的底物产生清除效果^[29]。类球红细菌细胞含有包括类胡萝卜素在内的多种光合色素^[7], 类胡萝卜素能够清除过氧化物, 从而降低脂质过氧化对质膜的损害。据此, 高替代组中的氧化损伤减少也可能与辅酶渣中所含的抗氧化活性物质有关。

3.3 辅酶渣替代鱼粉对幼蟹肠道菌群的影响

肠道菌群稳态对生物的肠道健康及机体健康有着重要意义。厚壁菌门、变形菌门、软壁菌门等是幼蟹肠道中常见的优势菌门^[30-31], 由于养殖环境、气候、生长阶段的差异, 高丰度菌门的组成在不同报道中有所区别, 占据主导地位的菌门也存在差异^[32-33]。本研究中, C 组幼蟹的肠道优势菌门为厚壁菌门、变形菌门、拟杆菌门和放线菌门。 α 多样性指数在 C 组、T40 组、T80 组间未呈现显著差异, 表明在 T40 和 T80 组中辅酶渣替代鱼粉未引起幼蟹肠道菌群的丰富度和多样性改变。在门水平上, 4 个优势菌门的相对丰度未发生明显改变。而在属水平上, 气单胞菌属微生物的丰

度在 T80 组蟹的肠道中显著增加, 该属包括多种水生动物体内常见的致病菌^[34], 如嗜水气单胞菌、维氏气单胞菌等, 可能对蟹的健康存在潜在威胁。据报道, 类球红细菌蛋白完全替代鱼粉引起了凡纳滨对虾肠道菌群显著改变^[35]。主坐标分析显示, T40 组与 C 组、T80 组样本均有重合, 而 C 组与 T80 组的样本发生分离, 表明辅酶渣高比例替代鱼粉会改变幼蟹肠道的菌群群落结构和组成。

LEfSe 分析能够寻找各处理组中显著丰富的微生物种群, 有助于反映肠道菌群的变化趋势。相较于 C 组, T40 组的狭义梭菌属和丁酸梭菌丰度较高。狭义梭菌属能够利用肠道中的碳水化合物产生短链脂肪酸, 可为肠上皮细胞提供能量^[36]。丁酸梭菌作为肠道益生菌被广泛地研究, 其菌种本身及代谢产物已在多种水生动物上表现出对生长性能、免疫能力的改善作用^[37], 推测这一改变对蟹的肠道健康可能是有利的。T80 组的气单胞菌属、产碱假单胞菌和 *Shewanella bicestrii* 丰度高于其他组。*Shewanella bicestrii* 曾在腐败水产品中被检测出^[38], 相关研究报道较少。如前文所述, 气单胞菌属微生物中有多种成员能够感染幼蟹, 引起蟹组织病变及死亡^[39]。产碱假单胞菌能够分泌脂肪酶^[40], 可利用脂肪酸作为碳源合成生物聚酯^[41], 其在肠道内丰度的提高可能影响蟹的脂质吸收。另外, 产碱假单胞菌也属于水体中的条件致病菌, 能够造成水生动物出血、穿孔病^[42]。上述肠道微生物组成和数量的变化提示, 辅酶渣适度替代饲料中的鱼粉 (T40 组) 可促进肠道益生菌生长, 而过高比例替代 (T80 组) 将引起肠道中部分条件致病菌丰度增大, 可能会影响蟹肠道对营养物质的利用, 进而对蟹的生长产生抑制作用。

4 结论

辅酶渣替代饲料中 40% 以内的鱼粉不会引起幼蟹的生长性能和体成分的显著变化, 但替代比例进一步提高时, 会对幼蟹的生长及营养物质沉积产生不同程度的抑制作用。作为菌体蛋白, 辅酶渣适宜替代鱼粉不会明显造成幼蟹肝胰腺的生理性损伤。辅酶渣高比例 (80%) 替代鱼粉改变了幼蟹肠道菌群构成, 其对肠道健康的可能不利影响需要引起关注。

本研究使用的辅酶 Q 渣原料由台山市向星饲料有限公司罗运仙先生免费提供, 特此致谢。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] 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.
- [2] Jones S W, Karpol A, Friedman S, *et al.* Recent advances in single cell protein use as a feed ingredient in aquaculture[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2020, 61: 189-197.
- [3] Sharif M, Zafar M H, Aqib A I, *et al.* Single cell protein: Sources, mechanism of production, nutritional value and its uses in aquaculture nutrition[J]. *Aquaculture*, 2021, 531: 735885.
- [4] Chowdhury A J K, Zakaria N H, Abidin Z A Z, *et al.* Phototrophic purple bacteria as feed supplement on the growth, feed utilization and body compositions of Malaysian Mahseer, *Tor tambroides* juveniles[J]. *Sains Malaysiana*, 2016, 45(1): 135-140.
- [5] Garimella S, Kudle K R, Kasoju A, *et al.* Current status on single cell protein (SCP) production from photosynthetic purple non sulphur bacteria[J]. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 2017, 10(2): 915-922.
- [6] Delamare-Deboutteville J, Batstone D J, Kawasaki M, *et al.* Mixed culture purple phototrophic bacteria is an effective fishmeal replacement in aquaculture[J]. *Water Research X*, 2019, 4: 100031.
- [7] Noparatnaraporn N, Nagai S. Selection of *Rhodobacter sphaeroides* P47 as a useful source of single cell protein[J]. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 1986, 32(4): 351-359.
- [8] Chiu K H, Liu W S. Dietary administration of the extract of *Rhodobacter sphaeroides* WL-APD911 enhances the growth performance and innate immune responses of seawater red tilapia (*Oreochromis mossambicus* × *Oreochromis niloticus*)[J]. *Aquaculture*, 2014, 418-419: 32-38.
- [9] Chumpol S, Kantachote D, Nitoda T, *et al.* The roles of probiotic purple nonsulfur bacteria to control water quality and prevent acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) for enhancement growth with higher survival in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during cultivation[J]. *Aquaculture*, 2017, 473: 327-336.
- [10] Chumpol S, Kantachote D, Nitoda T, *et al.* Administra-

- tion of purple nonsulfur bacteria as single cell protein by mixing with shrimp feed to enhance growth, immune response and survival in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultivation[J]. *Aquaculture*, 2018, 489: 85-95.
- [11] Liao Z H, Gong Y Y, Zhao W, *et al.* Comparison effect of *Rhodobacter sphaeroides* protein replace fishmeal on growth performance, intestinal morphology, hepatic antioxidant capacity and immune gene expression of *Litopenaeus vannamei* under low salt stress[J]. *Aquaculture*, 2022, 547: 737488.
- [12] Huang Q C, Wang X D, Bu X Y, *et al.* Role of vitamin A in the ovary development for female *Eriocheir sinensis* in the gonadal development stage[J]. *Aquaculture*, 2022, 560: 738612.
- [13] Hamidoghli A, Yun H, Won S, *et al.* Evaluation of a single-cell protein as a dietary fish meal substitute for whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. *Fisheries Science*, 2019, 85(1): 147-155.
- [14] Cui X S, Ma Q, Duan M, *et al.* Effects of fishmeal replacement by *Clostridium autoethanogenum* protein on the growth, digestibility, serum free amino acid and gene expression related to protein metabolism of obscure pufferfish (*Takifugu obscurus*)[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2022, 292: 115445.
- [15] Jin M, Wang M Q, Huo Y W, *et al.* Dietary lysine requirement of juvenile swimming crab, *Portunus trituberculatus*[J]. *Aquaculture*, 2015, 448: 1-7.
- [16] 叶金云, 王友慧, 郭建林, 等. 中华绒螯蟹对赖氨酸、蛋氨酸和精氨酸的需要量[J]. 水产学报, 2010, 34(10): 1541-1548.
- Ye J Y, Wang Y H, Guo J L, *et al.* Lysine, methionine and arginine requirements of juvenile Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2010, 34(10): 1541-1548 (in Chinese).
- [17] 郭旭, 戴习林, 华雪铭, 等. 发酵豆粕部分替代鱼粉后凡纳滨对虾对赖氨酸的需求量[J]. 水产学报, 2021, 45(6): 910-919.
- Guo X, Dai X L, Hua X M, *et al.* Optimum lysine requirement of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* when fermented soybean meal partially replacing fish meal in the feed[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, 45(6): 910-919 (in Chinese).
- [18] 黄河, 田鑫鑫, 黄旭雄, 等. 发酵豆粕替代鱼粉对大口黑鲈幼鱼生长、脂质代谢、血清非特异性免疫及肠道菌群的影响[J]. 水生生物学报, 2022, 46(4): 466-477.
- Huang H, Tian X X, Huang X X, *et al.* Fermented soybean meal instead of fish meal on growth, lipid metabolism, serum non-specific immunity and intestinal flora of juvenile largemouth bass[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2022, 46(4): 466-477 (in Chinese).
- [19] Esmaeili A, Sotoudeh E, Morshedi V, *et al.* Effects of dietary supplementation of bovine lactoferrin on antioxidant status, immune response and disease resistance of yellowfin sea bream (*Acanthopagrus latus*) against *Vibrio harveyi*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 93: 917-923.
- [20] Liu J D, Chi C, Zheng X C, *et al.* Effect of dietary glutathione supplementation on the immune responses and the fatty acid and amino acid composition in Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*[J]. *Aquaculture Reports*, 2019, 15: 100217.
- [21] Jiang X R, Yao W X, Yang H, *et al.* Dietary effects of *Clostridium autoethanogenum* protein substituting fish meal on growth, intestinal histology and immunity of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) based on transcriptome analysis[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2021, 119: 635-644.
- [22] Ma S F, Liang X F, Chen P, *et al.* A new single-cell protein from *Clostridium autoethanogenum* as a functional protein for largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. *Animal Nutrition*, 2022, 10: 99-110.
- [23] Yu H, Liang H L, Longshaw M, *et al.* Methanotroph (*Methylococcus capsulatus*, Bath) bacteria meal (Feed-Kind®) could effectively improve the growth, apparent digestibility coefficient, blood biochemical parameters, antioxidant indices of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2022, 288: 115293.
- [24] Zhu T F, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Feed intake, growth performance and cholesterol metabolism in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) fed defatted fish meal diets with graded levels of cholesterol[J]. *Aquaculture*, 2014, 428-429: 290-296.
- [25] Chen Y K, Zheng C Z, Zhang X C, *et al.* Evaluation of ratios of fish-to-soybean oils on growth, lipid and cholesterol metabolism and muscle metabolites of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed low fishmeal diets containing *Clostridium autoethanogenum* protein[J]. *Aquaculture Reports*, 2022, 27: 101417.
- [26] Li X Y, Chen Y K, Chen X, *et al.* Cholesterol supplementation improved growth performance, cholesterol metabolism, and intestinal health of Pacific white shrimp

- (*Litopenaeus vannamei*) fed a low fishmeal diet[J]. *Aquaculture Reports*, 2022, 27: 101351.
- [27] Zhu T T, Zhou Q C, Yang Z, *et al.* Dietary cholesterol promotes growth and ecdysone signalling pathway by modulating cholesterol transport in swimming crabs (*Portunus trituberculatus*)[J]. *Animal Nutrition*, 2022, 10: 249-260.
- [28] Ighodaro O M, Akinloye O A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid[J]. *Alexandria Journal of Medicine*, 2018, 54(4): 287-293.
- [29] Ma N, Long X W, Liu J G, *et al.* Defatted *Haematococcus pluvialis* meal can enhance the coloration of adult Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*[J]. *Aquaculture*, 2019, 510: 371-379.
- [30] Ding Z F, Cao M J, Zhu X S, *et al.* Changes in the gut microbiome of the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) in response to White spot syndrome virus (WSSV) infection[J]. *Journal of Fish Diseases*, 2017, 40(11): 1561-1571.
- [31] Yu C Y, Li L S, Jin J X, *et al.* Comparative analysis of gut bacterial community composition during a single day cycle in Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)[J]. *Aquaculture Reports*, 2021, 21: 100907.
- [32] Zhang M L, Sun Y H, Chen L Q, *et al.* Symbiotic bacteria in gills and guts of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) differ from the free-living bacteria in water[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0148135.
- [33] 周振旗, 关伟晔, 谢昕洋, 等. 中华绒螯蟹三种亲本规格子代的生长、肠道微生物菌群和代谢组学分析[J/OL]. 上海海洋大学学报, 1-11[2023-10-06]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2024.S.20230602.1744.004.html>.
- Zhong Z Q, Guan W Y, Xie X Y, *et al.* Studies on growth, metabolomics and intestinal microbes of offspring from the three parental standards of *Eriocheir sinensis*[J/OL]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 1-11[2023-10-06]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2024.S.20230602.1744.004.html> (in Chinese).
- [34] Semwal A, Kumar A, Kumar N. A review on pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* and their mitigation through medicinal herbs in aquaculture[J]. *Heliyon*, 2023, 9(3): e14088.
- [35] Liao Z H, Gong Y Y, Wang Z Q, *et al.* Effects of dietary *Rhodobacter sphaeroides* protein substitution of fishmeal and coenzyme Q10 supplementation on growth performance, intestinal microbiota and stress tolerance of *Litopenaeus vannamei* in acute low salinity[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2022, 9: 851649.
- [36] Lopetuso L R, Scaldaferri F, Petito V, *et al.* Commensal Clostridia: Leading players in the maintenance of gut homeostasis[J]. *Gut Pathogens*, 2013, 5(1): 23.
- [37] Tran N T, Liang H F, Li J K, *et al.* Health benefits of butyrate and its producing bacterium, *Clostridium butyricum*, on aquatic animals[J]. *Fish and Shellfish Immunology Reports*, 2023, 4: 100088.
- [38] Dabadé D S, Yessoufou N, Adido L, *et al.* Quality changes, potential spoilage organisms, and shelf-life prediction of brackish river prawn (*Macrobrachium macrobrachion*) at different storage temperatures[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2023, 405: 110344.
- [39] 周丽颖, 姜姿妍, 钱且奇, 等. 中华绒螯蟹病原豚鼠气单胞菌的鉴定及其致病性分析[J]. *淡水渔业*, 2022, 52(1): 58-65.
- Zhou L Y, Jiang Z Y, Qian Q Q, *et al.* Identification and pathogenicity of pathogenic *Aeromonas caviae* isolated from *Eriocheir sinensis*[J]. *Freshwater Fisheries*, 2022, 52(1): 58-65 (in Chinese).
- [40] Rios N S, Pinheiro B B, Pinheiro M P, *et al.* Biotechnological potential of lipases from *Pseudomonas*: Sources, properties and applications[J]. *Process Biochemistry*, 2018, 75: 99-120.
- [41] Pan L J, Li J, Wang R M, *et al.* Biosynthesis of polyhydroxyalkanoate from food waste oil by *Pseudomonas alcaligenes* with simultaneous energy recovery from fermentation wastewater[J]. *Waste Management*, 2021, 131: 268-276.
- [42] 崔青曼, 袁春营, 任旭兵, 等. 中华鳖穿孔病的病原菌及其防治的研究[J]. *河北农业大学学报*, 1998, 21(4): 76-80.
- Cui Q M, Yuan C Y, Ren X B, *et al.* Study on caverned disease pathogens of soft-shelled turtle and control[J]. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 1998, 21(4): 76-80 (in Chinese).

Growth, health and intestinal microbiota of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) fed diets with coenzyme residue replacing fish meal

CAI Xinyu, LIU Jiadai, LI Erchao, SONG Mingqi, YU Qiuran,
WANG Han, WANG Xiaodan, CHEN Liqiao*

(Laboratory of Aquaculture Nutrition and Environmental Health, School of Life Science,
East China Normal University, Shanghai 200241, China)

Abstract: Coenzyme residue (CR) is a by-product of the production of coenzyme Q10. It is mainly obtained by fermentation products of *Rhodobacter sphaeroides*, glucose, and corn steep liquor. At present, it has been approved as a feed material for aquaculture of aquatic animals in China. To explore the effect of CR replacing fish meal in the compound feed of juvenile Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) on the growth performance, health and intestinal flora, juvenile crabs (0.70 ± 0.01 g) were fed in an 8-week feeding trial. On the basis of 20% fish meal level (control group), CR was used to replace 20%, 40%, 60%, 80%, 100% fish meal in the feed (recorded as C, T20, T40, T60, T80, T100). The results showed that, compared with C, the growth performance of T40 had no significant change, and the crude protein content of muscle in T60 was significantly reduced. The growth performance, body crude protein and crude fat content of T80 and T100 were significantly reduced; Serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (AKP), triglyceride (TG) showed no significant difference among the groups. Total protein (TP) level was significantly decreased in T100. Serum glucose (Glu) was significantly decreased in the replacement groups. The serum levels of total cholesterol (T-CHO) and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) in T60, T80 and T100 were significantly decreased, and the levels of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) in T80 and T100 were significantly decreased. Compared with C, there was no significant difference in the activity of hepatopancreas superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) activity increased significantly. The content of malondialdehyde (MDA) decreased significantly in T100. Alpha diversity index showed no significant difference among three treatments (C, T40, T80). Principal coordinate analysis (PCoA) suggested that the microbial community structure in T80 group changed compared with the C group. In conclusion, CR can replace 40% fish meal in the feed of juvenile *Eriocheir sinensis* without affecting growth performance, antioxidant capacity and intestinal flora. When the replacement level reaches 80%, the growth performance and accumulation of nutrients of crab will be limited, and intestinal microbiota also changed. This experiment provides a theoretical reference for the application of CR in aquatic animal feed.

Key words: *Eriocheir sinensis*; single cell protein; coenzyme Q10 residue; fish meal replacement; growth performance; intestinal microbiota

Corresponding author: CHEN Liqiao. Email: lqchen@bio.ecnu.edu.cn

Funding projects: China Agriculture Research System of MOF and MARA; the National Natural Science Foundation of China (32072986); Agriculture Research System of Shanghai, China (202304)