

张千,户文弟,莫爱杰,等.黑米花青素对克氏原螯虾生长、抗氧化能力、免疫酶活和肠道健康的影响[J].华中农业大学学报,2025,44(3):128-135.DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2025.03.015

## 黑米花青素对克氏原螯虾生长、抗氧化能力、免疫酶活和肠道健康的影响

张千<sup>1</sup>,户文弟<sup>1</sup>,莫爱杰<sup>2</sup>,杨慧君<sup>1</sup>,顾泽茂<sup>1,2</sup>,袁勇超<sup>1,2</sup>

1. 华中农业大学水产学院,武汉 430070; 2. 华中农业大学双水双绿研究院/长江经济带大宗水生生物产业绿色发展教育部工程研究中心/湖北洪山实验室,武汉 430070

**摘要** 为综合评估黑米花青素对克氏原螯虾的适用性,试验选取克氏原螯虾450尾,随机分为5组,在饲粮中分别添加0(control group, CON组)、200 g/kg 黑米(black rice 200 g/kg, BR200组)、400 g/kg 黑米(black rice 400 g/kg, BR400组)、200 mg/kg 黑米花青素提取物(black rice anthocyanin extract 200 mg/kg, AC200组)和400 mg/kg 黑米花青素提取物(black rice anthocyanin extract 400 mg/kg, AC400组),试验期8周,探究饲料中黑米花青素的不同添加形式和添加水平对克氏原螯虾生长性能、抗氧化能力、免疫机能和肠道健康的影响。结果显示:(1)BR400组的增重率、特定生长率最高,AC400组次之,均显著高于对照组;(2)处理组试验虾血淋巴、肝胰腺和肠道的抗氧化酶活性均有所升高,AC400组血淋巴和肝胰腺的总抗氧化能力(T-AOC)和超氧化物歧化酶(SOD)活性均最高,与BR400没有显著差异,但BR200组肠道的T-AOC水平和SOD活性最高,且显著高于AC400组和对照组;(3)处理组肝胰腺和肠道的酸性磷酸酶(ACP)和碱性磷酸酶(AKP)的活性均显著高于对照组,BR400组血淋巴的多酚氧化酶(PPO)、ACP和AKP活性均最高;(4)AC400组肠道的淀粉酶活性最高;AC200组胰蛋白酶活性最高,处理组的隐窝深度均显著高于对照组。以上结果表明,饲料中添加黑米或黑米花青素提取物均能够有效提高克氏原螯虾生长、抗氧化、免疫和消化性能,建议添加量为400 g/kg 黑米或400 mg/kg 的黑米花青素提取物。

**关键词** 克氏原螯虾; 生长性能; 肠道健康; 黑米; 花青素

**中图分类号** S966.12    **文献标识码** A    **文章编号** 1000-2421(2025)03-0128-08

克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)俗称红螯虾或淡水小龙虾<sup>[1]</sup>,是我国重要的淡水经济物种。《2023年中国渔业统计年鉴》数据显示其年产量已达到316.1万 t<sup>[2]</sup>。但克氏原螯虾饲养过程中受环境污染、低质量饲料等因素的影响,体内的自由基逐渐增加,引发各种疾病和健康问题<sup>[3]</sup>,加之我国全面禁止在饲料中添加抗生素引发了对于抗生素替代方案的迫切需求。花青素为天然水溶性黄酮类化合物(C6-C3-C6骨架),广泛存在于紫甘薯、黑米等植物中<sup>[4]</sup>,具有抗氧化<sup>[5]</sup>、抗炎<sup>[6]</sup>及延长水产品保质期<sup>[7]</sup>等作用。黑米作为重要来源,其种皮富含以矢车菊素-3-O-葡萄糖苷为主的18种花青素<sup>[8]</sup>,兼具营养与功能特性,可显著提升水生动物的生长性能、抗氧化和免疫相关

基因的表达水平<sup>[9]</sup>,但不同的添加形式<sup>[10]</sup>和添加量<sup>[11]</sup>直接影响了花青素的生物利用度。

目前黑米花青素应用于克氏原螯虾养殖的研究较少,基于其天然抗氧化、抗炎特性及原料的易得性,推测花青素可能会成为解决克氏原螯虾养殖问题的重要添加剂。本研究通过评估饲料中添加黑米花青素对克氏原螯虾生长性能、免疫性能和肠道健康的影响,探究黑米花青素的适宜添加形式和添加量,旨在为克氏原螯虾饲料配方的优化提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验饲料

以鱼粉、菜籽粕、发酵豆粕、进口鸡肉粉为蛋白

收稿日期: 2024-09-30

基金项目: 湖北洪山实验室重大项目(2021hszd002); 中央高校自主创新基金项目(2662024SCPY008; 2662022SCYJ003); 2023—2025省级小龙虾产业链奖补资金项目

张千,E-mail: 508652087@qq.com

通信作者: 袁勇超,E-mail: yyc@mail.hzau.edu.cn

源,豆油为脂肪源。在此基础上分别添加不同剂量的黑米(华中农业大学华墨香黑米监利生产基地生产;花青素含量为968.79 mg/kg)或黑米花青素提取物(秦皇岛必爱尔生物科技有限公司生产;纯度25%)。试验配置5种不同饲料,分别为基础饲料(对照,control group, CON)、基础饲料中添加200 g/kg黑米(black rice 200 g/kg, BR200; 花青素含量200 mg/kg)、基础饲料中添加400 g/kg黑米(BR400; 花

青素含量400 mg/kg)、基础饲料中添加200 mg/kg黑米花青素提取物(black rice anthocyanin extract 200 mg/kg, AC200)和基础饲料中添加400 mg/kg黑米花青素提取物(AC400)。饲料配方及其营养成分详见表1。饲料制备后,于50 °C恒温烘箱中烘干至水分含量小于10%,随后使用密封袋密封置于-20 °C冰柜中保存备用。

表1 饲料配方及营养成分(干物质)

Table 1 Feed formula and composition (dry matter)

项目 Item	CON	BR200	BR400	AC200	AC400
<b>原料/% Ingredients</b>					
鱼粉 Fish meal	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
菜籽粕 Rapeseed meal	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
发酵豆粕 Fermented soybean meal	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
进口鸡肉粉 Chicken meal	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00
豆油 Soybean oil	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
黑米 Black rice flour	0.00	20.00	40.00	0.00	0.00
面粉 Wheat flour	40.00	20.00	0.00	39.92	39.84
氯化胆碱 Choline chloride	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
维生素预混料 Vitamin premix	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
矿物质预混料 Mineral premix	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
海藻酸钠 Sodium alginate	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
防霉剂 Mould inhibitor	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
磷酸二氢钙 Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
甜菜碱 Betaine	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
花青素 Anthocyanin	0.00	0.00	0.00	0.08	0.16
总计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
<b>营养成分 Proximate composition</b>					
粗蛋白/% Crude protein	35.35	34.64	33.29	35.42	35.46
粗脂肪/% Crude lipid	3.10	3.40	4.20	2.80	2.70
灰分/% Ash	10.20	11.40	11.60	10.60	10.30
花青素/(mg/kg) Anthocyanidin	0.00	182.45	378.20	170.60	351.20

注:维生素预混料为每千克饲料提供:维生素B<sub>1</sub> 17.60 mg; 维生素B<sub>2</sub> 48.00 mg; 维生素B<sub>6</sub> 30.00 mg; 维生素B<sub>12</sub> 0.25 mg; 维生素E 156 mg; 维生素C 800 mg; 维生素K<sub>3</sub> 14.70 mg; 烟酸胺 79.00 mg; 泛酸钙 73.50 mg; 叶酸 6.50 mg; 生物素 0.64 mg; 维生素A 16 000 IU; 维生素D<sub>3</sub> 8 000 IU; 矿物质预混料为每千克饲料提供:镁(MgSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O) 52.50 mg; 锌(ZnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O) 34.40 mg; 铜(CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O) 2.10 mg; 锰(MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O) 6.10 mg; 碘(Ca(IO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) 1.60 mg; 铁(FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) 21.10 mg; 硒(Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>) 0.19 mg; 钴(CoCl<sub>2</sub>·5H<sub>2</sub>O) 0.24 mg。Note: Vitamin premix is provided for each kilogram of feed: Vitamin B<sub>1</sub>: 17.60 mg; Vitamin B<sub>2</sub>: 48.00 mg; Vitamin B<sub>6</sub>: 30.00 mg; Vitamin B<sub>12</sub>: 0.25 mg; Vitamin E: 156 mg; Vitamin C: 800 mg; Vitamin K<sub>3</sub>: 14.70 mg; Niacinamide: 79.00 mg; Calcium pantothenate: 73.50 mg; Folic acid: 6.50 mg; Biotin: 0.64 mg; Vitamin A: 16 000 IU; Vitamin D<sub>3</sub>: 8 000 IU. Mineral premix is provided for each kilogram of feed: Magnesium (MgSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O): 52.50 mg; Zinc (ZnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O): 34.40 mg; Copper (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O): 2.10 mg; Manganese (MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O): 6.10 mg; Iodine (Ca(IO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>): 1.60 mg; Iron (FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O): 21.10 mg; Selenium (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>): 0.19 mg; Cobalt (CoCl<sub>2</sub>·5H<sub>2</sub>O): 0.24 mg.

## 1.2 试验设计和饲养管理

试验用克氏原螯虾由华中农业大学双水双绿科研基地(湖北省监利市)提供,养殖试验于湖北省武

汉市华中农业大学健康淡水养殖湖北省协同创新中心实施,试验开始前,在实验室养殖环境中暂养1周,期间投喂基础饲料。暂养结束后,挑选体格健硕、附

肢健全、规格均一的克氏原螯虾450尾,随机分成5组:CON、BR200、BR400、AC200、AC400,每组设3个重复。

克氏原螯虾分组后转移到装有曝气、碳过滤和脱氯自来水的玻璃水族箱(60 cm×80 cm×60 cm),每个水族箱放入5根PVC管(25 cm×7.5 cm)为试验虾提供庇护。每天08:00和17:00投喂试验饲料,初始投喂量为幼虾总质量的3%。试验虾不再进食后将食物残渣捞出,饲喂2 h后,采用虹吸法将粪便吸出。食物残渣置于烘箱烘干至恒质量,对试验虾的进食量进行统计,用于养殖试验后期调整投喂量。试验期间,持续观察记录试验虾的进食情况以及死亡情况,水温控制在(24±2)℃,每个试验缸每2 d更换1/5的水量以维持水质稳定。养殖试验为期8周。

### 1.3 样品采集与处理

养殖试验结束后,试验虾禁食24 h,采样前擦干体表水分称质量,冰水浴中麻醉15 min使用1 mL无菌注射器从虾的头胸甲后部刺入心脏,抽取0.5 mL血淋巴,放入1.5 mL装有等量抗凝剂的离心管内,4℃静置4 h后12 000 r/min离心20 min,取上清液用于部分生理生化指标测定。随后解剖分离肝胰腺和肠道转移至2 mL离心管中在液氮中快速冷冻,保存于-80℃用于酶活性的测定;一部分中肠置于装有克氏原螯虾组织固定液的2 mL离心管中固定,用于制作组织切片。

### 1.4 指标测定与方法

称测试验虾初始体质量(initial body weight, IBW)和终末体质量(final body weight, FBW),用于计算增重率(weight gain rate, WGR)、饲料系数(feed conversion ratio, FCR)和特定生长率(specific growth rate, SGR),增重率、饲料系数、特定生长率和存活率(survival rate, SR)的计算公式参照文献[12]。

分别对试验虾血淋巴、肝胰腺和肠道组织的超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)、总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)和酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)的活性进行定量分析。试剂盒均采购自中国南京建成生物工程研究所,并严格按照对应的试剂盒说明书进行测定。

肠道组织样本在通用组织固定液中固定24 h后,依次通过乙醇溶液进行脱水处理和二甲苯透明

化处理,用石蜡包埋,Leica RM2235半自动切片机(Leica公司,德国)连续切片,厚度为5 μm,样品采用标准苏木精-伊红(H&E)染色法染色,Nikon H600L显微镜观察并拍照记录。

### 1.5 统计分析

试验数据用Excel 2010软件整理,采用SPSS 20.0软件进行统计学分析,数据先经过One-way ANOVA程序进行单因素方差分析,影响显著的数据再用Duncan's多重比较法进行差异统计学意义检验,结果以“平均值±标准差”表示,P<0.05表示有显著差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 克氏原螯虾的生长性能

饲料中黑米和黑米花青素不同添加水平下克氏原螯虾的生长性能见表2。由表2可见,BR400组的WGR、SGR最高,与AC200和AC400组间没有显著差异( $P>0.05$ )。BR200组的FCR(0.91±0.02)最低,其次是BR400和AC200组,均显著低于对照组( $P<0.05$ )。BR400、AC200和AC400组的FBW、WGR、SGR和SR均显著高于对照组( $P<0.05$ ),BR400、AC200和AC400组间没有显著差异( $P>0.05$ );BR400和AC400组的SR显著高于对照组( $P<0.05$ )。

### 2.2 克氏原螯虾的抗氧化性能

表3显示饲料中黑米和黑米花青素不同添加水平下克氏原螯虾血淋巴、肝胰腺和肠道的抗氧化酶活性。AC400组试验虾血淋巴的T-AOC水平最高,为(4.48±0.8) U/mL,处理组试验虾血淋巴的T-AOC水平均显著高于对照组( $P<0.05$ ),但处理组之间T-AOC水平无显著差异( $P>0.05$ );AC400组试验虾血淋巴的SOD水平最高,为(171.22±5.17) U/mL,显著高于其他各组( $P<0.05$ ),BR200、BR400、AC200组的SOD活性与对照组没有显著差异( $P>0.05$ )。

AC400组试验虾肝胰腺的T-AOC水平最高,显著高于其他各组( $P<0.05$ ),而BR400组肝胰腺的T-AOC水平也显著高于对照组( $P<0.05$ )。AC400组试验虾肝胰腺的SOD水平最高,BR400组次之,二者间无显著差异( $P>0.05$ ),但均显著高于对照组( $P<0.05$ )。BR200和AC200组试验虾肝胰腺的T-AOC和SOD活性均与对照组无显著差异( $P>0.05$ )。

BR200组试验虾肠道的T-AOC水平最高,为

表2 黑米和黑米花青素不同添加水平下克氏原螯虾的生长性能

Table 2 Growth performance of *Procambarus clarkii* under different levels of black rice and black rice anthocyanin addition

指标 Index	CON	BR200	BR400	AC200	AC400
初始体质量/g IBW	1.03±0.02	1.04±0.05	1.02±0.02	1.02±0.01	1.02±0.02
终末体质量/g FBW	8.11±0.32c	9.12±0.87bc	10.27±0.67a	9.84±0.09ab	10.13±0.50ab
增重率/% WGR	690.78±45.73b	780.92±99.42ab	905.69±78.58a	863.08±18.24a	893.81±58.97a
特定生长率/(%/d) SGR	3.44±0.10b	3.62±0.18ab	3.84±0.13a	3.77±0.03a	3.83±0.10a
饲料系数FCR	1.00±0.01a	0.91±0.02c	0.96±0.01b	0.96±0.03b	0.97±0.02ab
成活率/% SR	72.22±5.09b	75.56±1.92ab	80.00±3.33a	75.56±1.92ab	81.11±5.09a

注:同行数据后不同的字母表示存在显著差异( $P<0.05$ ),下表同。Note: Different letters following the same data indicate significant differences ( $P<0.05$ ), the same as below.

(237.72±33.37) U/mL,与BR400和AC200组无显著差异( $P>0.05$ ),三者均显著高于对照组( $P<0.05$ )。BR200组试验虾肠道的SOD水平最高,与BR400和AC200无显著差异( $P>0.05$ ),但均显著高

于AC400组和对照组( $P<0.05$ ),AC400组试验虾肠道的SOD的活性也显著高于对照组( $P<0.05$ )。提示添加黑米和黑米花青素对克氏原螯虾抗氧化性能的影响差异较大。

表3 黑米和黑米花青素不同添加水平下克氏原螯虾血淋巴、肝胰腺和肠道的抗氧化酶活性

Table 3 The antioxidant enzyme activities in hemolymph, hepatopancreas and intestine of *Procambarus clarkii* under different levels of black rice and black rice anthocyanin addition

组别 Group	总抗氧化能力/(U/mL) T-AOC			超氧化物歧化酶/(U/mg) SOD		
	血淋巴 Hemolymph	肝胰腺 Hepatopancreas	肠道 Intestinal tract	血淋巴 Hemolymph	肝胰腺 Hepatopancreas	肠道 Intestinal tract
CON	1.77±0.36b	7.10±0.39c	151.14±10.51c	130.95±22.02b	111.95±14.60b	173.07±48.41c
BR200	3.49±1.24a	8.30±0.57bc	237.72±33.37a	161.91±24.26ab	151.17±13.58ab	282.70±106.69a
BR400	4.07±0.33a	9.50±1.06b	200.68±35.52ab	165.41±16.6ab	185.92±45.08a	200.68±35.52a
AC200	4.03±0.93a	7.78±0.57bc	199.37±8.48ab	162.37±15.2ab	158.15±37.17ab	199.37±8.48ab
AC400	4.48±0.8a	12.05±2.37a	175.72±13.54bc	171.22±5.17a	206.40±17.55a	156.40±46.68b

### 2.3 克氏原螯虾的免疫酶活性

饲料中黑米和黑米花青素不同添加水平下克氏原螯虾的免疫酶活水平见表4。由表4可见, BR400组试验虾血淋巴的PPO、ACP和AKP活性最高,其中ACP活性显著高于其他各组( $P<0.05$ )。饲料中添加黑米和黑米花青素对血淋巴的ACP和AKP活性有增强作用,处理组血淋巴的ACP和AKP活性均显著高于对照组( $P<0.05$ )。

BR400组试验虾肝胰腺的PPO和AKP活性最高,均显著高于对照组( $P<0.05$ ),但与其他处理组之间无显著差异( $P>0.05$ ); AC400组试验虾肝胰腺的ACP活性最高为(196.74±24.31) U/mg,与BR400无显著差异( $P>0.05$ ),显著高于对照组( $P<0.05$ );处理组试验虾肝胰腺的ACP活性均显著高于对照组( $P<0.05$ )。

BR400组试验虾肠道的PPO活性最高,且显著高于AC200、AC400组和对照组( $P<0.05$ );试验虾肠道的ACP活性在各处理组间没有显著差异( $P>$

0.05

### 2.4 克氏原螯虾的肠道健康

1)克氏原螯虾的肠道消化酶活性。饲料中黑米和黑米花青素不同添加水平下克氏原螯虾的肠道消化酶活性见表5。由表5可知, AC400组试验虾肠道的淀粉酶活性最高,为(12.00±0.32) U/mg,与BR400和AC200组间无显著差异( $P>0.05$ ),但均显著高于BR200组和对照组( $P<0.05$ ); BR200组试验虾肠道的脂肪酶活性最高,与其他处理组之间无显著差异( $P>0.05$ ),处理组的脂肪酶活性均显著高于对照组( $P<0.05$ ); AC200试验虾肠道的胰蛋白酶活性最高,与AC400组无显著差异( $P>0.05$ ),但显著高于BR400、BR200和对照组( $P<0.05$ )。

2)克氏原螯虾的肠道形态。表6显示饲料中黑米和黑米花青素不同添加水平下克氏原螯虾的肠道

表4 黑米和黑米花青素不同添加水平下克氏原螯虾血淋巴、肝胰腺和肠道的免疫酶活性

Table 4 Immune enzyme activities in hemolymph, hepatopancreas and intestine of *Procambarus clarkii* under different levels of black rice and black rice anthocyanin additions

组别 Group	多酚氧化酶PPO			酸性磷酸酶ACP			碱性磷酸酶AKP			U/mg
	血淋巴 Hemolymph	肝胰腺 Hepatopancreas	肠道 Intestinal tract	血淋巴 Hemolymph	肝胰腺 Hepatopancreas	肠道 Intestinal tract	血淋巴 Hemolymph	肝胰腺 Hepatopancreas	肠道 Intestinal tract	
	CON 2.22± 2.04c	30.67± 5.21c	6.67± 0.94b	31.78± 2.35d	141.39± 11.04b	91.45± 5.44b	69.22± 19.41b	57.05± 10.70d	69.88± 4.38c	
BR200 1.76ab	6.67± 1.76ab	40.22± 3.36bc	13.33± 4.71ab	72.67± 2.33b	173.84± 14.39ab	137.9± 25.71a	119.7± 27.48a	97.83± 1.77bc	91.14± 8.21b	
	10.67± 3.06a	55.11±1 2.90a	23.00± 7.07a	123.26± 1.01a	185.07± 33.9a	119.32± 17.47a	151.59± 16.35a	127.06± 15.00a	101.16± 5.71ab	
AC200 2.34bc	5.78± 2.34bc	43.11± 6.05abc	11.33± 2.82b	66.28± 3.24c	161.73± 20.8ab	118.46± 14.86a	131.21± 35.6a	87.6± 3.24c	94.19± 2.89b	
	8.22± 0.38ab	47.89± 6.27ab	10.33± 0.47b	66.86± 2.10c	196.74± 24.31a	117.64± 13.83a	133.67± 33.54a	117.89± 18.37ab	109.67± 12.99a	

表5 黑米和黑米花青素不同添加水平下克氏原螯虾的肠道消化酶活性

Table 5 The intestinal digestive enzyme activities of *Procambarus clarkii* under different levels of black rice and black rice

组别 Group	anthocyanin additions			U/mg
	淀粉酶 Amylase	脂肪酶 Lipase	胰蛋白酶 Trypsin	
CON	6.72±0.70b	8.10±2.53b	1 382.64±474.59c	
BR200	8.51±0.71b	18.00±3.91a	2 554.78±288.15bc	
BR400	10.45±1.53a	11.05±1.49ab	2 919.00±351.72b	
AC200	10.95±1.22a	9.38±3.22ab	4 254.29±222.83a	
AC400	12.00±0.32a	12.77±5.08ab	3 002.64±868.95ab	

表6 黑米和黑米花青素不同添加水平下克氏原螯虾的肠道形态

Table 6 The intestinal morphology of *Procambarus clarkii* under different levels of black rice and black rice anthocyanin addition

组别 Group	绒毛高度/ $\mu\text{m}$ Vestibular height	隐窝深度/ $\mu\text{m}$ Crypt depth	绒毛高度/隐窝深度 Vestibular height/crypt depth	
CON	208.89±55.65	23.27±7.61a	9.72±3.82b	
BR200	205.92±8.66	10.47±0.27b	19.67±0.67a	
BR400	233.74±27.54	11.86±5.60b	22.64±9.51a	
AC200	223.04±47.01	13.32±3.10b	17.12±4.57ab	
AC400	234.3±26.14	10.48±0.65b	22.32±1.59a	

绒毛高度、隐窝深度和绒毛高度/隐窝深度比值。AC200组试验虾的肠道隐窝深度值最大,与其他处理组之间没有显著差异( $P>0.05$ ),处理组均显著高于对照组( $P<0.05$ )。各组之间绒毛高度没有显著差异( $P>0.05$ );BR200、BR400和AC400组的绒毛高度/隐窝深度比值显著大于对照组( $P<0.05$ )。

### 3 讨论

#### 3.1 花青素对克氏原螯虾生长性能的影响

研究发现黑米花青素是一种有益的饲料添加剂,可以显著提高水生动物生长性能<sup>[9]</sup>。本研究中以黑米及其提取物形式添加花青素且剂量为400 mg/kg时,能显著提高克氏原螯虾的终末体质量、增重率、特定生长率和存活率。Hoseinifar等<sup>[13]</sup>在饲料中添加红菜苔和甜菜根皮提取的花青素,观察到橙剑尾鱼(*Xiphophorus helleri*)的皮肤色泽显著加深,同时其生长性能和饲料转化率也有所提高,与本研究结果一致。有研究指出给大鼠灌喂100 mg/kg的黑米花青素时,其进食量和体质量与对照组相比无显著差异<sup>[14]</sup>,也与本研究结果一致,本研究中以黑米形式添加200 mg/kg的花青素时,该组的增重率、特定生长率和存活率与对照组之间无显著差异,说明黑米花青素对生长性能的影响可能与黑米花青素的添加剂量密切相关。

#### 3.2 花青素对克氏原螯虾抗氧化酶活的影响

超氧化物歧化酶(SOD)是机体中重要的抗氧化酶<sup>[15]</sup>,对于水生动物而言,总抗氧化能力(T-AOC)可以反映机体的抗氧化能力,并与健康状况息息相关<sup>[16]</sup>。研究发现0.03 mg/mL的紫薯花青素对斑马鱼(*Danio rerio*)体内羟基自由基清除率达到了99.55%,并且SOD和CAT活性随着紫薯花青素添加浓度升高而提高<sup>[17]</sup>,与本研究结果一致,本研究中随着黑米花青素浓度的增加,试验虾肝胰腺的T-AOC和SOD活性显著提升,并且添加400 g/kg黑米的试验组抗氧化能力更好,这表明饲料中添加黑米

及黑米花青素提取物能增强克氏原螯虾的抗氧化能力。但不同添加形式的黑米花青素对机体抗氧化性能的影响存在显著差异,本研究中添加200 g/kg黑米的试验组克氏原螯虾肠道的T-AOC和SOD活性显著高于添加黑米花青素提取物400 mg/kg处理组和对照组的酶活性,张丽丽等<sup>[18]</sup>通过对包括黑米在内的多种稻米进行主成分分析及综合评价,发现黑米中除了花青素外还含有必需氨基酸、花色苷等营养物质,据此推测,黑米中的其他营养成分可能有助于提升克氏原螯虾肠道的抗氧化性能。

### 3.3 花青素对克氏原螯虾免疫酶活的影响

多酚氧化酶(PPO)参与甲壳类动物多种生理功能如参与宿主防御反应、角质层的硬化作用<sup>[19]</sup>,并且PPO活性反映了甲壳动物的机体健康状况<sup>[20]</sup>;虾类自身的防御技能是通过血细胞的吞噬作用、SOD、碱性磷酸酶(AKP)和酸性磷酸酶(ACP)等共同完成的<sup>[21]</sup>。在Linh等<sup>[9]</sup>的研究中,4~8 g/kg的黑米花青素可以显著提高尼罗罗非鱼(*Oryza sativa L.*)皮肤黏膜免疫酶活性,与本研究结果一致。本研究中,添加400 g/kg黑米及400 mg/kg黑米花青素提取物均可以显著提升克氏原螯虾肝胰腺和血淋巴的PPO活性、血淋巴和肠道的ACP和AKP活性,这说明黑米花青素可以增强克氏原螯虾免疫功能,减少发病率,但黑米花青素提升克氏原螯虾免疫机能的具体机制仍需要进一步探究。

### 3.4 花青素对克氏原螯虾肠道健康的影响

绒毛高度与隐窝深度比值与动物的消化和吸收能力呈正相关<sup>[22]</sup>,研究者发现在日粮中添加花青素可有效提高肉鸡肠道的绒毛高度和隐窝深度比<sup>[23]</sup>,与本研究的结果相同,400 g/kg的黑米或400 mg/kg的黑米花青素提取物能显著提高试验虾的绒毛高度和隐窝深度的比值,这表明饲料中添加黑米花青素可以提高克氏原螯虾的消化功能。研究表明黑米花青素改善肠道的微生物环境并且能促进来源于隐窝基部的肠细胞不断向绒毛尖端发生转移和分化<sup>[14]</sup>,从而促进动物的消化和吸收。花青素与蛋白质结合形成复合物,从而影响蛋白质的消化并且抑制肠道蛋白酶活性<sup>[24]</sup>,但本研究中添加400 g/kg的黑米或400 mg/kg的黑米花青素提取物可以显著提升肠道淀粉酶、胰蛋白酶和脂肪酶活性;此外,本研究中添加200 g/kg黑米提取物能显著提升肠道淀粉酶和胰蛋白酶活性,但添加200 mg/kg黑米花青素提取物却无显著作用,这表明花青素对肠道健康的影响可能

还受到花青素添加形式和剂量的影响。

综上所述,建议克氏原螯虾养殖中黑米花青素的添加量以400 mg/kg最佳。

## 参考文献 References

- [1] HUNER J V. *Procambarus* in North America and elsewhere [M]//HOLDICH D M, LOWERY R S. Freshwater crayfish. London: Croom Helm Ltd, 1988: 239-261.
- [2] 农业部渔业渔政管理局.2023年中国渔业统计年鉴[M].北京:中国农业出版社,2023. Fisheries Bureau of the Ministry of Agriculture. China fisheries statistical yearbook 2023 [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2023 (in Chinese).
- [3] 孙梦芹,穆红城,徐旭,等.养殖密度、断食时长和优势等级对克氏原螯虾摄食行为的影响[J].复旦学报(自然科学版),2024,63(4): 509-518. SUN M Q, MU H C, XU X, et al. Effects of stocking density, feed deprivation duration and dominance hierarchies on feeding behavior of *Procambarus clarkii* [J]. Journal of Fudan University (natural science edition), 2024,63(4): 509-518 (in Chinese with English abstract).
- [4] 曾茜茜,雷琳,赵国华,等.花青素加工贮藏稳定性的改善及应用研究进展[J].食品科学,2018,39(11):269-275. ZENG X X, LEI L, ZHAO G H, et al. Improving the stability of anthocyanins during processing and storage: a review [J]. Food science, 2018, 39 (11) : 269-275 (in Chinese with English abstract).
- [5] 李煦,白雪晴,刘长霞,等.天然花青素的抗氧化机制及功能活性研究进展[J].食品安全质量检测学报,2021,12(20): 8163-8171. LI X, BAI X Q, LIU C X, et al. Research progress on antioxidant mechanism and functional activity of natural anthocyanin [J]. Journal of food safety & quality, 2021, 12(20) : 8163-8171 (in Chinese with English abstract).
- [6] HU J, LI X S, WU N J, et al. Anthocyanins prevent AAPH-induced steroidogenesis disorder in Leydig cells by counteracting oxidative stress and StAR abnormal expression in a structure-dependent manner [J/OL]. Antioxidants, 2023, 12 (2) : 508 [2024-09-30]. <https://doi.org/10.3390/antiox12020508>.
- [7] HUANG J Y, HU Z H, CHIN Y, et al. The preservation behavior and modification effect of Roselle anthocyanin-based film on *Penaeus vannamei*: biochemical property evaluation and flavor composition characterization [J]. Food and bioprocess technology, 2024, 17(11): 3891-3911.
- [8] GOUFO P, TRINDADE H. Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols,  $\gamma$ -oryzanol, and phytic acid [J]. Food science & nutrition, 2014, 2(2): 75-104.
- [9] LINH N V, NGUYEN D V, KHONGDEE N, et al. Influence of black rice (*Oryza sativa L.*) bran derived anthocyanin-extract on growth rate, immunological response, and immune-an-

- tioxidant gene expression in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultivated in a biofloc system [J]. Fish & shellfish immunology, 2022, 128: 604-611.
- [10] EKERM E, AABY K, BUDICLETO I, et al. A review of factors affecting anthocyanin bioavailability: possible implications for the inter-individual variability [J]. Foods, 2020, 9 (1) : 2-20.
- [11] KALT W, MCDONALD J, VINQVIST-TYMCHUK M, et al. Human anthocyanin bioavailability: effect of intake duration and dosing [J]. Food Funct, 2017, 8: 4563-4569.
- [12] 彭迪, 陈效儒, 文华, 等. 饲料脂肪水平对克氏原螯虾亲虾生长性能、肌肉成分、繁殖性能以及血淋巴生化指标的影响 [J]. 水产学报, 2019, 43(10) : 2175-2185. PENG D, CHEN X R, WEN H, et al. Effects of dietary lipid levels on growth performance, muscle composition, reproductive performance and he molymph biochemical indices of *Procambarus clarkii* brood-stock [J]. Journal of fisheries of China, 2019, 43(10) : 2175-2185 (in Chinese with English abstract).
- [13] HOSEINIFAR S H, AZIMI M. Effects of anthocyanin extracts from red cabbage and beetroot peel on skin color, growth performance, and feed conversion rate in orange swordtail fish (*Xiphophorus helleri*) [J]. Journal of aquaculture research, 2019, 7(5) : 144-149.
- [14] 陈玮, 李帅, 荣晓, 等. 黑米花青素在大鼠视网膜光化学损伤中的防护作用研究 [J]. 成都医学院学报, 2010, 5(2) : 174-175. CHEN W, LI S, RONG X, et al. Protective effect of black rice anthocyanin on photochemical damage of rat retina [J]. Journal of Chengdu Medical College, 2010, 5(2) : 174-175 (in Chinese).
- [15] CSERNUS B, BIRÓ S, BABINSZKY L, et al. Effect of carotenoids, oligosaccharides and anthocyanins on growth performance, immunological parameters and intestinal morphology in broiler chickens challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide [J/OL]. Animals, 2020, 10(2) : 347 [2024-09-30]. <https://doi.org/10.3390/ani10020347>.
- [16] GIANNENAS I, DOUKAS D, KARAMOUTSIOS A, et al. Effects of *Enterococcus faecium*, mannan oligosaccharide, benzoic acid and their mixture on growth performance, intestinal microbiota, intestinal morphology and blood lymphocyte subpopulations of fattening pigs [J]. Animal feed science and technology, 2016, 220: 159-167.
- [17] 孙姗姗, 熊蕾, 杨洋, 等. 紫薯花青素的提取工艺及抗氧化、抗紫外活性研究 [J]. 中国野生植物资源, 2024, 43(12) : 10-18. SUN S S, XIONG L, YANG Y, et al. Study on the extraction process and antioxidant and anti-ultraviolet activities of anthocyanins from purple potato [J]. Chinese wild plant resources, 2024, 43(12) : 10-18 (in Chinese with English abstract).
- [18] 张丽丽, 李振宇, 陈广红, 等. 基于主成分分析的特种稻种质资源营养成分分析与评价 [J]. 作物杂志, 2024 (5) : 40-47. ZHANG L L, LI Z Y, CHEN G H, et al. Analysis and evaluation of nutrient composition of special rice germplasm resources based on the principal component analysis [J]. Crops, 2024 (5) : 40-47 (in Chinese with English abstract).
- [19] 李姗姗, 王俊保, 简永慧, 等. 饲料中添加过氧化氢酶对日本沼虾生长性能、抗氧化能力、免疫性能和肠道菌群结构的影响 [J]. 动物营养学报, 2024, 36(1) : 464-477. LI S S, WANG J B, JIAN Y H, et al. Effects of adding catalase in diets on growth performance, antioxidant activity, immune performance and intestinal flora structure of *Macrobrachium nipponense* [J]. Chinese journal of animal nutrition, 2024, 36(1) : 464-477 (in Chinese with English abstract).
- [20] HOU S Q, LI J Y, HUANG J, et al. Effects of dietary phospholipid and cholesterol levels on antioxidant capacity, nonspecific immune response and intestinal microflora of juvenile female crayfish, *Procambarus clarkii* [J/OL]. Aquaculture reports, 2022, 25 : 101245 [2024-09-30]. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101245>.
- [21] CHENG Y X, WU S J. Effect of dietary astaxanthin on the growth performance and nonspecific immunity of red swamp crayfish *Procambarus clarkii* [J/OL]. Aquaculture, 2019, 512 : 734341 [2024-09-30]. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734341>.
- [22] 迟淑艳, 韩凤禄, 谭北平, 等. 饲料精氨酸水平对斜带石斑鱼幼鱼生长和肠道形态的影响 [J]. 水生生物学报, 2016, 40 (2) : 388-394. CHI S Y, HAN F L, TAN B P, et al. Effects of dietary arginine levels on growth performance and intestinal morphology of juvenile grouper *Epinephelus coioides* [J]. Acta hydrobiologica sinica, 2016, 40(2) : 388-394 (in Chinese with English abstract).
- [23] 刘喆, 孙二东, 徐大海, 等. 花青素对太行鸡生产性能、蛋品质、免疫功能、抗氧化能力及肠道组织形态的影响 [J]. 动物营养学报, 2025, 37(3) : 1727-1737. LIU Z, SUN E D, XU D H, et al. Effects of anthocyanins on performance, egg quality, immune function, antioxidant capacity and intestinal tissue morphology of Taihang chickens [J]. Chinese journal of animal nutrition, 2025, 37 (3) : 1727-1737 (in Chinese with English abstract).
- [24] KRAITHONG S, LIU Y H, SUWANANGUL S, et al. A comprehensive review of the impact of anthocyanins from purple/black rice on starch and protein digestibility, gut microbiota modulation, and their applications in food products [J/OL]. Food chemistry, 2025, 473 : 143007 [2024-09-30]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.143007>.

## Effects of black rice anthocyanins on growth, antioxidant capacity, immune enzyme activity, and intestinal health of *Procambarus clarkii*

ZHANG Qian<sup>1</sup>, HU Wendi<sup>1</sup>, MO Aijie<sup>2</sup>, YANG Huijun<sup>1</sup>, GU Zemao<sup>1,2</sup>, YUAN Yongchao<sup>1,2</sup>

1. College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Shuangshui Shuangli Research Institute, Huazhong Agricultural University/

Engineering Research Center of Ministry of Education for Green Development of Aquatic Biological Industry in Yangtze River Economic Belt/Hubei Hongshan Laboratory, Wuhan 430070, China

**Abstract** To comprehensively evaluate the applicability of black rice and black rice anthocyanin extract in the feed of *Procambarus clarkii*, 450 juvenile crayfish were randomly allocated into five groups. These groups were fed diets supplemented with 0 (control group, CON), 200 g/kg black rice (BR200), 400 g/kg black rice (BR400), 200 mg/kg anthocyanin extract (AC200), or 400 mg/kg anthocyanin extract (AC400) for 8 weeks. The effects of different forms and supplementation levels of black rice anthocyanins in feed on growth performance, antioxidant capacity, immune response, and intestinal health were investigated. The results revealed that: (1) The BR400 group achieved the highest weight gain rate (WGR) and specific growth rate (SGR), showing no significant difference from AC400, and both were significantly higher than those of the control group. (2) Antioxidant enzyme activities in the hemolymph, hepatopancreas, and intestine were elevated across all treatment groups. AC400 exhibited the highest total antioxidant capacity (T-AOC) and superoxide dismutase (SOD) activity in both the hemolymph and hepatopancreas, with no significant difference observed compared to BR400. Notably, BR200 displayed the highest intestinal T-AOC and SOD activity, significantly surpassing both AC400 and CON groups. (3) Acid phosphatase (ACP) and alkaline phosphatase (AKP) activities in hepatopancreas and intestine were significantly elevated across all treatment groups. BR400 exhibited the highest levels of polyphenol oxidase (PPO), ACP, and AKP activities in the hemolymph. (4) AC400 demonstrated the highest intestinal amylase activity, while AC200 showed the highest trypsin activity. Additionally, crypt depth in all treatment groups was significantly greater than in CON. These findings indicate that dietary supplementation with either 400 g/kg of black rice or 400 mg/kg of black rice anthocyanin extract effectively enhances growth performance, antioxidant capacity, immune function, and digestive efficiency in *P. clarkii*. Optimal supplementation levels are recommended at 400 g/kg of black rice or 400 mg/kg of black rice anthocyanin extract.

**Keywords** *Procambarus clarkii*; growth performance; intestinal health; black rice; anthocyanins

(责任编辑:边书京)