

聚 β -羟基丁酸酯(PHB)对中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)幼蟹生长和肝胰腺酶活力的影响*

刘玉¹ 隋丽英¹ 邓元告¹ 常国亮² 张文亮^{3,4}

(1. 天津科技大学 天津市海洋资源与化学重点实验室 天津 300457; 2. 淮阴师范学院 江苏省特色水产繁育工程实验室 淮安 223300; 3. 天津大学 环境科学与工程学院 天津 300072; 4. 天津市海洋局渤海海洋监测监视管理基地筹备处 天津 300457)

提要 分别在饲料中添加 0%、1% 和 3% 聚 β -羟基丁酸酯(PHB), 研究 PHB 对中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)幼蟹生长和肝胰腺酶活力的影响。将初始体重为 0.8—1.0g 的幼蟹(每组 60 只)在循环水养殖系统单独培养 60d 后, 对幼蟹蜕皮间隔、个体增重和肝胰腺酶活力等指标进行测定。结果表明, 随饲料中 PHB 添加量的增加, 幼蟹个体体重增加, 蜕皮间隔缩短, 3% PHB 添加组显著高于未添加 PHB 的对照组($P < 0.05$)。肝胰腺中总超氧化物歧化酶(T-SOD)活力下降, 碱性磷酸酯酶(ALP)活力增加, 酸性磷酸酯酶(ACP)活力相对稳定, 谷草转氨酶(GOT)和谷丙转氨酶含量(GPT)活力总体较低且显著下降($P < 0.05$)。PHB 对中华绒螯蟹幼蟹生长发育的促进作用, 除了与 β -羟基丁酸提供能量物质有关外, 还与非特异免疫防御能力的提高和肝胰腺细胞良好的生理状态密切相关。

关键词 聚 β -羟基丁酸酯; 中华绒螯蟹; 生长; 肝胰腺; 酶活力

中图分类号 S963

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)是我国重要的经济蟹类之一, 在淡水养殖业中占有重要地位, 每年成蟹养殖产量约 50 万 t(邱仁杰等, 2012)。但是, 养殖密度较高、养殖水环境恶化和种质退化等造成的疾病暴发流行、早熟和死亡率高, 已经成为影响中华绒螯蟹养殖业发展的重要因素(杨先乐等, 2010)。抗生素在一定程度上可以预防和控制细菌病的流行, 但大量使用和不加选择地滥用抗生素不仅使细菌产生多重抗药性, 而且还会造成水产动物免疫功能下降、体内微生物菌群失调和药物残留等问题(杨先乐等, 2003; Sapkota *et al.*, 2008)。因此, 使用免疫增强剂和微生物控制剂等促进水产动物的生长和提高其抗病力, 日益受到人们的关注(Qi *et al.*, 2009)。短链脂肪酸具有抑制革兰氏阴性细菌生长、降低动物肠道 pH 和促进营养物质消化吸收等生理功能, 且不产生抗药性, 是

一种具有应用前景的生物控制剂(Prebiotics)(Defoirdt *et al.*, 2006, 2009)。

聚 β -羟基丁酸酯(poly- β -hydroxybutyrate, PHB)是由微生物合成的聚合物, 为一定粒度的脂溶性颗粒, 其在动物肠道内可通过酶解和化学水解的方式部分降解为 β -羟基丁酸单体为动物所利用(Defoirdt *et al.*, 2009, 2011)。PHB 的疏水性使其更适合在水产饲料中作为添加剂使用。有关 PHB 在水产养殖中应用的研究在国内外尚处起步阶段, 着重研究其促生长和抑菌能力, 但针对其促生长的机理研究鲜有报道。研究表明, 水体中存在一定量的 PHB 可以抑制弧菌生长并保护被弧菌感染的卤虫(*Artemia franciscana*)(Defoirdt *et al.*, 2007; Halet *et al.*, 2007); 饲料中添加适量的 PHB 可以促进欧洲鲈鱼(*Dicentrarchus labrax*)和罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)的生长并有利于其肠道

* 国家自然科学基金资助项目, 31172427 号。刘玉, E-mail: ly03020700@qq.com

通讯作者: 隋丽英, 教授, E-mail: suily@hotmail.com

收稿日期: 2013-05-18, 收修改稿日期: 2013-07-26

益生菌群的形成(De Schryver *et al.*, 2010; Nhan *et al.*, 2010); 采用 PHB 强化的轮虫和卤虫投喂中华绒螯蟹蚤状幼体, 可显著提高其蜕皮和抗弧菌能力(Sui *et al.*, 2012)。本文通过在饲料中添加不同水平的 PHB, 探讨 PHB 对中华绒螯蟹幼蟹生长以及对肝胰腺抗氧化酶、磷酸水解酶和转氨酶活力的影响, 为 PHB 在中华绒螯蟹和其它甲壳动物养殖中的应用提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 养殖条件

实验用中华绒螯蟹幼蟹取自上海海洋大学崇明实验基地。幼蟹运输到实验室后, 在室内玻璃钢水槽(水体约 400L)中暂养, 按河蟹总体重的 8% 投喂不添加 PHB 的基础饲料, 每日傍晚投喂。暂养一周后, 挑选 180 只大小均一、肢体健全和活力好的幼蟹用于实验, 初始平均体重为 0.8—1.0g。幼蟹于室内循环水养殖系统中进行养殖, 为避免幼蟹群体的自相残杀, 每只幼蟹单独饲养于塑料箱中($L \times W \times H = 30\text{cm} \times 24\text{cm} \times 11\text{cm}$), 每箱放置一段 5cm 的 PVC 管作为隐蔽物。实验期间光暗周期为 12h:12h, 光强度为 $\pm 1000\text{lx}$ 。养殖用水为过滤、沉淀和消毒曝气后的自来水。实验期间水温 26—28℃, pH 7.2—7.4, DO 5.9—6.5mg/L。

1.2 养殖管理

本实验分为 3 组, 每组 60 只蟹。每组蟹投喂 PHB 添加量分别为 0(对照组), 1% 和 3% 的饲料。自制饲料中总脂肪和总蛋白含量分别为 8.34% 和 34.26%。PHB 的添加方法是将其溶解于三氯甲烷后, 均匀喷洒在饲料表面, 室温晾干备用。每日投喂 1 次, 傍晚投喂, 次日上午吸出粪便及饵料残渣, 同时观察和记录蟹的蜕壳及死亡情况。日投喂量逐渐增加, 从实验开始时每只蟹 0.1g/d 增加至结束时 0.4g/d。养殖 60d 后, 对蟹逐一称重, 测量甲壳宽度和长度, 解剖并称取肝胰腺重量, 并将样品冷冻保存, 用于总脂肪、粗蛋白、可溶性蛋白和酶活力测定。实验结束后, 统计各组蟹的存活率、增重率、蜕皮间隔和肝胰腺指数(HSI)等。

存活率(%) = $100 \times (\text{实验初始幼蟹数量} - \text{死亡幼蟹数量}) / \text{初始幼蟹数量}$

增重率(%) = $100 \times (\text{实验结束时幼蟹个体体重} - \text{初始个体体重}) / \text{初始个体体重}$

蜕皮间隔(d) = 本次蜕皮日期 - 上次蜕皮日期

HSI(%) = $100 \times \text{肝胰腺湿重} / \text{幼蟹个体体重}$

甲壳宽增长(%) = $100 \times (\text{初始甲壳宽度} - \text{实验结$

束时甲壳宽度) / 初始甲壳宽度

1.3 肝胰腺生化组分及酶活力的测定

肝胰腺水分在 60℃ 下干燥 24h 后测得, 粗蛋白含量采用凯氏定氮法测定, 总脂肪参照 Folch 等(1956)的方法, 用氯仿-甲醇(2:1, V/V)抽提获得。

准确称取肝胰腺组织 0.5g, 加入 9 倍体积的无菌生理盐水, 冰浴下机械匀浆(3000r/min, IKA T18 组织分散机), 匀浆液在 9000r/min, 4℃ 下离心 20min(湘仪离心机 H-2050R), 取上清液进行可溶性蛋白含量和各种酶活力测定。采用考马斯亮蓝法测定可溶性蛋白含量, 以牛血清白蛋白做标准曲线。采用黄嘌呤氧化酶法测定总超氧化物歧化酶(Total superoxide dismutase, T-SOD)、采用赖式法测定谷草转氨酶(Glutamate oxaloacetate transaminase, GOT)和谷丙转氨酶(Glutamate pyruvate transaminase, GPT)、采用磷酸苯二钠法测定碱性磷酸酯酶(Alkaline phosphatase, ALP)和酸性磷酸酯酶(Acid phosphatase, ACP)酶活力。所有酶活力均采用试剂盒(南京建成生物研究所), 方法见试剂盒说明书。各种酶活力单位定义如下:

T-SOD: 1mg 组织蛋白在 1mL 反应液中 SOD 抑制率达到 50% 时所对应的 SOD 量为一个 SOD 活力单位。

GOT 和 GPT: 1g 组织蛋白在 3mL 反应液中 1min 内所生成的丙酮酸, 使 NADH 氧化成 NAD⁺而引起吸光度每下降 0.001 为一个卡门氏单位。

ACP: 1g 组织蛋白在 37℃ 与基质作用 30min 产生 1mg 酚为 1 个活力单位。

ALP: 1g 组织蛋白在 37℃ 与基质作用 15min 产生 1mg 酚为 1 个活力单位。

1.4 数据分析

所有数据均以“平均值 \pm 标准差”表示。酶活力测定样本数为 4 个, 每个样本为 2 只蟹肝胰腺的合并样。采用 SPSS13.0 软件对数据进行统计分析。统计分析前, 采用 Levene's 法进行方差齐性检验, 当不满足齐性方差时, 对数据进行反正弦或平方根处理。采用单因子方差分析(One way ANOVA)对实验结果进行分析, 用 Tukey 法进行多重比较, 以 $P < 0.05$ 为差异显著性标准。

2 结果与分析

在饲料中添加 PHB 对中华绒螯蟹幼蟹甲壳增长、增重率和蜕皮周期的影响如表 1 所示。结果表明, 饲料中添加 PHB 促进幼蟹蜕皮以及甲壳宽和体重增加, 添加 3% PHB 的幼蟹增重率显著高于对照组

($P < 0.05$), 达到初始体重的 501.7%。在 60d 的养殖过程中绝大多数幼蟹蜕皮 3 次, 其中第 1—2 次蜕皮间隔较短(16.2—18.7d), 第 2—3 次蜕皮间隔较长(24.5—28.3d)。随 PHB 添加量的增加, 幼蟹蜕皮间隔缩短。3% PHB 组幼蟹的 1—2 次蜕皮间隔显著低于对照组 ($P < 0.05$); 3% PHB 组幼蟹的第 2—3 次蜕皮间隔显著低于 1% 组和对照组 ($P < 0.05$)。

在饲料中添加 PHB 对中华绒螯蟹幼蟹肝胰腺水分、总脂、蛋白质含量和 HSI 的影响见表 2。随着 PHB 添加量的增加, 肝胰腺中水分(分别为 63.37%、63.25% 和 62.44%)、总脂肪(分别为 61.41%、62.33% 和 62.35%)和粗蛋白含量(分别为 25.65%、24.69% 和 24.21%)有所降低, HSI 有所升高(分别为 7.30%、7.45% 和 7.74%), 但各组之间并无显著差异 ($P > 0.05$)。

在投喂不同 PHB 水平饲料的幼蟹肝胰腺中可溶性蛋白含量和 T-SOD、ACP、ALP、GOT 和 GPT 酶活力见表 3。虽然没有统计学上的显著性差异 ($P > 0.05$), 饲料中 PHB 含量的增加使幼蟹肝胰腺中可溶性蛋白含量(分别为 21711、17898 和 17147 $\mu\text{g/g W/W}$)

和 T-SOD 活力略有降低(分别为 8.15、7.69 和 6.26 U/mg protein), ALP(分别为 82.02、90.29 和 107.52 U/mg protein)活力有所提高, ACP(分别为 19.46、19.60 和 19.84 U/mg protein)活力则维持在相对稳定的水平。饲料中 PHB 对 GOT 和 GPT 活力的影响则比较显著, PHB 的添加使 GOT(分别为 0.56、0.32 和 0.25 U/mg protein)和 GPT(分别为 0.16、0.07 和 0.06 U/mg protein)酶活力的显著低于对照组 ($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 PHB 对中华绒螯蟹幼蟹生长的促进作用

本研究中随饲料中 PHB 含量的提高, 中华绒螯蟹幼蟹的生长显著提高、蜕皮间隔显著缩短, 与 De Schryver 等(2010)对 *Dicentrarchus labrax* 稚鱼, Nhan 等(2010)对 *Macrobrachium rosenbergii* 仔虾和 Sui 等(2012)对 *Eriocheir sinensis* 蚤状幼体的研究结果一致, 再次证明了 PHB 对水生动物生长发育的促进作用。针对哺乳动物的研究表明, 短链脂肪酸(尤其是丁酸)作为能量物质参与机体代谢, 通过刺激肠道粘膜细

表 1 投喂不同水平 PHB 的中华绒螯蟹幼蟹甲壳增长、增重率及蜕皮间隔

Tab.1 Carapace width gain, weight gain and molting intervals of *E. sinensis* juveniles fed diets containing 0%, 1% and 3% PHB, respectively

PHB 添加量(%)	甲壳宽增长(%)	增重率(%)	蜕皮间隔(d)	
			第 1—2 次	第 2—3 次
0	74.5 ± 9.0 ^a	441.6 ± 76.9 ^b	18.7 ± 3.7 ^a	28.3 ± 3.9 ^a
1	79.0 ± 8.8 ^a	463.9 ± 80.4 ^{ab}	17.2 ± 6.4 ^{ab}	27.9 ± 3.4 ^a
3	79.8 ± 7.7 ^a	501.7 ± 70.9 ^a	16.2 ± 2.9 ^b	24.5 ± 3.5 ^b

表 2 投喂不同水平 PHB 的中华绒螯蟹幼蟹肝胰腺水分、总脂肪和粗蛋白含量及肝胰腺指数(HSI)

Tab.2 Content of moisture, total lipid and crude protein in hepatopancreas and hepatopancreas index (HSI) of *E. sinensis* juveniles fed diets containing 0%, 1% and 3% PHB, respectively

PHB 添加量(%)	水分(%)	总脂肪(% DW)	粗蛋白(% DW)	HSI(%)
0	63.37 ± 1.78 ^a	62.35 ± 4.28 ^a	25.65 ± 4.22 ^a	7.30 ± 1.29 ^a
1	63.25 ± 3.11 ^a	62.33 ± 4.53 ^a	24.69 ± 5.46 ^a	7.45 ± 1.28 ^a
3	62.44 ± 3.86 ^a	61.41 ± 5.88 ^a	24.21 ± 5.66 ^a	7.74 ± 1.06 ^a

表 3 投喂不同水平 PHB 的中华绒螯蟹幼蟹肝胰腺可溶性蛋白和 T-SOD、ACP、ALP、GOT 和 GPT 酶活力

Tab.3 Soluble protein content and hepatopancreatic enzyme activity of T-SOD, ACP, ALP, GOT and GPT of *E. sinensis* juveniles fed diets containing 0%, 1% and 3% PHB, respectively

PHB 添加量(%)	0	1	3
可溶性蛋白($\mu\text{g/g W/W}$)	21711 ± 2154 ^a	17898 ± 1233 ^a	17147 ± 2119 ^a
T-SOD(U/mg protein)	8.15 ± 1.34 ^a	7.69 ± 1.40 ^a	6.26 ± 1.34 ^a
ACP(U/g protein)	19.46 ± 0.30 ^a	19.60 ± 1.95 ^a	19.84 ± 1.79 ^a
ALP(U/g protein)	82.02 ± 22.78 ^a	90.29 ± 11.34 ^a	107.52 ± 17.50 ^a
GOT(U/g protein)	0.56 ± 0.14 ^a	0.32 ± 0.02 ^b	0.25 ± 0.02 ^b
GPT(U/g protein)	0.16 ± 0.02 ^a	0.07 ± 0.01 ^b	0.06 ± 0.01 ^b

胞增殖促进矿物质的吸收,增加肠内渗透压,改善肠道微循环,加速食糜的蠕动和转移时间(Mortensen *et al.*, 1990)。同时短链脂肪酸还能降低肠道 pH,调节肠道菌群,有利于乳酸菌等革兰氏阳性细菌在肠道中形成优势菌群(Topping *et al.*, 2001; Baruah *et al.*, 2008)。PHB 对中华绒螯蟹生长的促进作用与其在动物体内全部或部分降解为 β -羟基丁酸而提供能量有关。

肝胰腺是甲壳动物营养物质贮存和转运的重要器官,与其生长发育、性成熟和生殖力密切相关(Harrison, 1990)。中华绒螯蟹生长发育过程中肝胰腺指数 HSI 逐渐增加,但性成熟时在将营养物质(主要是脂类物质)转运到生殖腺后,肝胰腺指数下降(成永旭等, 1998)。本研究中肝胰腺指数 HSI 随饲料中 PHB 含量增加而有所提高,与 PHB 促进幼蟹的蜕皮和生长有关。肝胰腺组织的生化组成和含量(尤其是脂类物质)主要受饲料营养成分的影响(Sui *et al.*, 2011),本研究中各实验组幼蟹肝胰腺总脂肪和总蛋白含量保持在相对稳定的水平,表明 PHB 对幼蟹组织肝胰腺的生化组成无显著影响。

3.2 PHB 对中华绒螯蟹幼蟹肝胰腺酶活力的影响

甲壳类动物无特异性免疫系统,其免疫能力可通过淋巴细胞吞噬能力、血淋巴液抗菌和溶菌能力、酚氧化酶系统及血淋巴的介导吞噬活力等途径实现(姚翠鸾等, 2006; 黄旭雄等, 2007)。与血清、卵巢和肌肉组织相比,SOD、ALP 和 ACP 活力在中华绒螯蟹肝胰腺组织中最高(艾春香等, 2002)。超氧化物歧化酶(SOD)作为活性氧自由基清除剂,是甲壳动物免疫防御系统的重要组成部分。SOD 可作为机体非特异性免疫指标,来评判免疫刺激剂对机体非特异性免疫力的影响(林林等, 1998)。在生物体受到胁迫时,体内氧自由基含量升高,作为底物诱导酶的 SOD 活力增强,以清除体内多余的自由基,保护机体免受损伤。本研究中幼蟹肝胰腺中 T-SOD 活力降低,表明饲料中添加 PHB 能够发挥抗氧化作用,有利于提高幼蟹的非特异性免疫力。

ACP 和 ALP 是甲壳动物非特异性免疫的重要水解酶。分布于细胞质膜上的 ALP 分解正磷酸单酯,为机体的磷代谢和核酸代谢提供磷酸基团,与营养物质的代谢有关。此外 ALP 对钙质的吸收和甲壳素的分泌等也发挥着重要作用,因此对甲壳动物的生存和生长至关重要(陈清西等, 1996)。本研究中饲料中添加 PHB 可使肝胰腺中 ALP 活力增强,加速物质的摄取和转运,从而促进幼蟹生长和蜕皮。ACP 是巨噬

细胞溶酶体的主要组成成分,同样参与机体的物质代谢。陈再忠等(2005)在研究中华绒螯蟹性早熟时发现,性腺发育所需营养物质的转运和合成与肝胰腺中 ACP 活力有关。本研究取样幼蟹个体体重约 4—5g,未到性腺发育阶段,故 ACP 活力变化不明显。值得一提的是,PHB 虽然能够促进幼蟹蜕皮,但较快的蜕皮频率导致性早熟的可能性很小,至少是在实验幼蟹的生长阶段。

转氨酶广泛存在于动物机体内,是催化氨基酸的 α -氨基转移到一种 α -酮酸的酮基上的酶类,在机体蛋白质代谢过程中起着重要作用。GOT 和 GPT 活性的变化可以作为肝胰腺和其他组织损伤或功能紊乱的指标,肝胰腺功能受损导致酶活力升高。丁酸是甲壳动物肝胰腺中存在的主要酮体,其在体内的过量积累可能造成酮酸中毒(ketotic acidosis)(Weltzien *et al.*, 2000),因此长期使用 PHB 的副作用应予以关注。本研究中肝胰腺 GOT 和 GPT 酶活力水平较低,而且随饲料中添加 PHB 量的增加,GOT 和 GPT 酶活力显著下降。可以推测,在饲料中添加 PHB 长期饲喂幼蟹,对幼蟹肝胰腺并未造成损伤。

4 结语

SOD、ACP 和 ALP 在甲壳动物非特异性免疫防御系统中具有重要功能。本研究指出,PHB 能够明显促进中华绒螯蟹幼蟹的蜕皮生长,并能提高机体免疫力。除了作为能量源,PHB 对生长的促进作用与肝胰腺细胞良好的生理状态密切相关,长期饲喂 PHB 对肝胰腺未造成损伤。今后将就 PHB 对中华绒螯蟹肠道微生物菌群及其对其它组织免疫机能的影响等进行深入研究。

致谢 本研究实验用幼蟹及饲料由上海海洋大学水产与生命学院成永旭教授和吴旭干副教授提供,天津科技大学海洋科学与工程学院赵士鹏同学参与取样及酶活力测定等工作,谨致谢忱。

参 考 文 献

- 艾春香, 陈立侨, 高露娇等, 2002. Vc 对河蟹和组织中超氧化物歧化酶及磷酸酶活性的影响. 台湾海峡, 21(4): 431—438
- 成永旭, 堵南山, 赖伟, 1998. 不同阶段中华绒螯蟹肝胰腺的脂类及脂肪酸组成. 动物学报, 44(4): 420—429
- 杨先乐, 刘至治, 横山雅仁, 2003. 盐酸环丙沙星在中华绒螯蟹体内药物代谢动力学研究. 水产生物学报, 27(1): 18—22

- 杨先乐, 黄志华, 陈 力, 2010. 中华绒螯蟹病害的流行态势及其对产业持续发展的思考. 淡水渔业, 40(1): 74—79
- 邱仁杰, 成永旭, 吴旭干等, 2012. 投喂不同油脂饲料对中华绒螯蟹免疫、代谢及耐低氧性能的影响. 动物学杂志, 47(1): 78—87
- 陈再忠, 王 武, 成永旭, 2005. 性早熟中华绒螯蟹肝胰腺与性腺的酸性和碱性磷酸酶活性. 水产学报, 29(5): 630—634
- 陈清西, 陈素丽, 石 艳等, 1996. 长毛对虾碱性磷酸酯酶性质. 厦门大学学报(自然科学版), 35(2): 257—261
- 林 林, 丁美丽, 孙舰军等, 1998. 有机病原体提高对虾对病原菌敏感性. 海洋学报, 20(1): 90—93
- 姚翠鸾, 王志勇, 相建海, 2006. 甲壳动物血细胞及其在免疫防御中的功能. 动物学研究, 25: 549—557
- 黄旭雄, 周洪琪, 2007. 甲壳动物免疫机能的衡量指标及科学评价. 海洋科学, 31(7): 90—96
- Baruah K, Norouzitallab P, Debnath D *et al*, 2008. Organic acids as non-antibiotic nutraceuticals in fish and prawn feed. Aquacult Intl, 12: 4—6
- De Schryver P, Sinha A K, Kunwar P S *et al*, 2010. Poly- β -hydroxybutyrate (PHB) increases growth performance and intestinal bacterial range-weighted richness in juvenile European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. Appl Microbiol Biotechnol, 86: 1535—1541
- Defoirdt T, Boon N, Sorgeloos P *et al*, 2009. Short-chain fatty acids and poly- β -hydroxyalkanoates: (New) Biocontrol agents for a sustainable animal production. Biotechnol Adv, 27: 80—85
- Defoirdt T, Halet D, Sorgeloos P *et al*, 2006. Short-chain fatty acids protect gnotobiotic *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. Aquaculture, 261: 804—808
- Defoirdt T, Halet D, Vervareren H *et al*, 2007. The bacterial storage compound poly- β -hydroxybutyrate protects *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. Environ Microbiol, 9: 445—452
- Defoirdt T, Sorgeloos P, Bossier P *et al*, 2011. Alternatives to antibiotics for the control of bacterial disease in aquaculture. Current Opinion in Microbiology, 14: 251—258
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G H, 1956. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem, 226: 497—509
- Halet D, Defoirdt T, Van Damme P *et al*, 2007. Poly- β -hydroxybutyrate accumulating bacteria protect gnotobiotic *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. FEMS Microbiol Ecol, 60: 363—369
- Harrison K E, 1990. The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod crustaceans: A review. J Shellfish Res, 9: 1—28
- Mortensen F V, Nielsen H, Mulvany M J *et al*, 1990. Short-chain fatty acids dilate isolated human colonic resistance arteries. Gut, 31: 1391—1394
- Nhan D T, Wille M, De Schryver P *et al*, 2010. The effect of poly- β -hydroxybutyrate on larviculture of the giant fresh water prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture, 302: 76—81
- Qi Z Z, Zhang X M, Boon N *et al*, 2009. Probiotics in aquaculture of China: Current state, problems and prospect. Aquaculture, 290: 15—21
- Sapkota A, Kucharski M, Burke J *et al*, 2008. Aquaculture practices and potential human health risks: Current knowledge and future priorities. Environ Intl, 34: 1215—1226
- Sui L Y, Sun H X, Wu X G *et al*, 2011. Effect of dietary HUFA on tissue fatty acid composition and reproductive performance of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards) broodstock. Aquacult Intl, 19: 269—282
- Sui L Y, Cai J L, Sun H X *et al*, 2012. Effect of poly- β -hydroxybutyrate on Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* larvae challenged with pathogenic *Vibrio anguillarum*. J Fish Diseases, 35: 359—364
- Topping D L, Clifton P M, 2001. Short-chain fatty acids and human colonic function: role of resistant starch and non-starch polysaccharides. Physiol Rev, 81: 1031—1064
- Weltzien F A, Hemre G I, Evjemo J O *et al*, 2000. β -hydroxybutyrate in developing nauplii of brine shrimp (*Artemia franciscana*) under feeding and non-feeding conditions. Comp Biochem Physiol B, 125(1): 63—69

EFFECT OF POLY- β -HYDROXYBUTYRATE ON GROWTH AND HEPATOPANCREATIC ENZYME ACTIVITIES OF *ERIOCHEIR SINENSIS* JUVENILES

LIU Yu¹, SUI Li-Ying¹, DENG Yuan-Gao¹, CHANG Guo-Liang², ZHANG Wen-Liang^{3, 4}

(1. Tianjin University of Science & Technology, Tianjin Key Laboratory of Marine Resources & Chemistry, Tianjin, 300457; 2. Huaiyin Normal University, Jiangsu Engineering Laboratory for Characteristic Aquatic Species Breeding, Huaian, 223300; 3. School of Environmental Science and Engineering, Tianjin University, Tianjin, 300072; 4. Department of Preparing of Tianjin Bohai Oceanic Monitoring & Surveillance Management Base, Tianjin Oceanic Administration, Tianjin, 300457)

Abstract Poly- β -hydroxybutyrate (PHB) is a bacterial storage compound, and can be partially degraded into water-soluble β -hydroxybutyric acid in gastrointestinal tract of aquatic animals. Apart from being an energy source, PHB is currently considered an alternative bio-control compound (prebiotics) due to its antibacterial activity. We investigated the effect of PHB on growth and hepatopancreatic enzyme activity of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* juveniles. Juvenile crabs in initial body weight (BW) of 0.8—1.0g were reared separately in a recirculation system for 60 days. Crabs were fed dry feeds supplemented with 0 (control), 1%, and 3% PHB at a daily ration of 10% BW. Each treatment contained 60 juveniles. The results show that the molting frequency and BW gain of the crabs were improved with increasing PHB supplementation in feed. Supplementation of 3% PHB resulted in a significantly shorter molting interval and a better BW gain than control's ($P < 0.05$). In hepatopancrease, PHB supplementation declined the total superoxide dismutase activity and elevated alkaline phosphatase (ALP) activity, whilst acid phosphatase (ACP) activity remained at constant level. On the other hand, both glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) and glutamate pyruvate transaminase (GPT) were kept in relative low levels but decreased significantly with increasing PHB ($P < 0.05$). We concluded that as an energy source for promoting the growth of *E. sinensis* juveniles, PHB could also improve non-specific immunity for good physiological status of the hepatopancrease.

Key words Poly- β -hydroxybutyrate; *Eriocheir sinensis*; growth; hepatopancreatic enzyme activity