

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2014.00300

克氏原螯虾的适宜蛋氨酸需求量

朱杰, 徐维娜, 张微微, 李向飞, 刘文斌, 杨维维, 王敏

南京农业大学 动物科技学院, 江苏省水产动物营养重点实验室, 江苏 南京 210095

摘要: 以酪蛋白、明胶、鱼粉、小麦面粉和晶体氨基酸为蛋白源配制了6组蛋白质水平为28.25%、能量为16.07 kJ/g的等氮等能的半纯合饲料, 各组蛋氨酸实际含量分别为0.39%、0.53%、0.71%、0.86%、0.98%和1.13%。以初始体质量为(9.80±0.15) g的克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)为试验对象, 每组设4个重复, 每个重复12尾虾。养殖试验于室外网箱(规格为60 cm×60 cm×60 cm)中进行, 饲养周期为56 d。结果表明, 当饲料中蛋氨酸水平由0.39%升高至1.13%时, 克氏原螯虾的增重率、特定生长率和饲料效率均显著升高($P<0.05$)。当蛋氨酸水平为0.86%时, 三者均达到最大值。当蛋氨酸水平进一步升高时, 三者均呈下降趋势。试验各组的成活率为83.33%~91.67%, 但无显著差异($P>0.05$)。当蛋氨酸水平为0.86%时, 全虾粗蛋白含量最高, 其显著高于0.39%组($P<0.05$)。日粮蛋氨酸水平对全虾的水分、灰分和脂肪含量以及肝胰脏组成和肌肉氨基酸组成均无显著影响($P>0.05$)。肌肉粗脂肪含量以蛋氨酸水平0.98%组最低, 其显著低于0.39%组($P<0.05$)。饲料中蛋氨酸水平显著影响肠道蛋白酶的活性($P<0.05$), 但对脂肪酶和淀粉酶活性均无显著影响($P>0.05$)。以增重率为评价指标进行一元二次回归分析, 得出克氏原螯虾的适宜蛋氨酸需求量为0.94%, 占饲料蛋白质的3.36%。本研究通过分析饲料中不同蛋氨酸水平对克氏原螯虾生长、饲料利用、虾体组成、肌肉氨基酸组成和消化酶活性的影响, 确定克氏原螯虾的适宜蛋氨酸需求量, 以期为其人工配合饲料的研制提供基础数据和理论依据。

关键词: 克氏原螯虾; 蛋氨酸需求; 生长性能; 体组成; 消化酶活性

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2014)02-0300-10

水产动物对蛋白质的需求量实际上就是对氨基酸的需要。蛋氨酸是水生动物的含硫必需氨基酸, 同时也是许多植物性原料中的第一限制性氨基酸^[1]。蛋氨酸除直接参与蛋白质的合成外, 还以S-腺苷甲硫氨酸形式在体内作为主要甲基供体参与多种代谢, 并可用于合成多胺以及肌酸等化合物, 同时还可作为前体物质参与鱼体内胆碱的合成^[2]。对虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[3]和杂交条纹鲈(*Moront saxatuis*)^[4]等的研究表明, 蛋氨酸缺乏会导致水产动物日粮氨基酸组成的不平衡, 影响机体蛋白质的合成, 降低饲料利用率, 甚至

还会引起鱼类出现白内障等症状。而对南亚野鲮(*Labeo rohita*)^[5]、红鲮(*Pagrus major*)^[6]、斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)^[7]、鲤(*Cyprinus carpio*)^[8]、罗非鱼(*Oreochromis niloticus*♀ × *O. aureus*♂)^[9]、大黄鱼(*Larimichthys crocea*)^[10]和印鲮(*Cirrhinus mrigala*)^[11]的研究则表明, 向蛋氨酸缺乏的饲料中补充一定量的晶体蛋氨酸可有效提高鱼类的生长性能并改善其饲料效率和体组成^[12]。随着鱼粉价格不断上涨, 水产动物饲料逐渐以植物蛋白替代鱼粉作为主要的蛋白质源, 由此造成饲料中蛋氨酸普遍缺乏, 而补充外源性蛋氨酸源则成为解

收稿日期: 2013-04-09; 修订日期: 2013-06-19.

基金项目: 江苏省水产三项工程(PJ2010-56); 农业部公益性行业科研专项 (201003070).

作者简介: 朱杰(1988-), 男, 硕士研究生, 从事水产动物营养与饲料研究. E-mail: 2011105090@njau.edu.cn

通信作者: 刘文斌, 教授, 博士生导师. E-mail: wbliu@njau.edu.cn

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3446.S.20131205.1113.001.html>

网络出版时间: 2013-12-05 11:13

决此问题的重要途径^[13]。因此, 研究水产动物的适宜蛋氨酸需求量, 并在此基础上保证饲料中限制性氨基酸的含量, 对提高水产动物蛋白质的利用率起到重要作用。目前为止, 国内外对多种经济鱼类的适宜蛋氨酸需求量进行了研究^[14], 结果表明水产动物对蛋氨酸的需求量大致在 1.33%~4.5%(占饲料蛋白的比例)之间, 且不同水产动物对蛋氨酸的适宜需求量存在较大的差异。

克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)是中国规模化养殖的淡水虾类。传统的克氏原螯虾养殖大都采用野杂鱼、玉米、小麦等天然饵料或其他虾蟹饲料替代进行饲喂, 由此造成饲料营养成分不均衡, 并导致养殖虾体出现免疫机能降低、生长速度迟缓和饵料效率低下等问题, 并给养殖水体也造成了严重的污染。因此, 对克氏原螯虾适宜营养需求量的研究对促进其健康集约化养殖具有重要意义。目前, 克氏原螯虾的营养研究主要集中在蛋白质和脂肪的需求量^[15-16]以及蛋能比^[17-19]等方面, 而对其蛋氨酸适宜需求量的研究尚未见报道。鉴于此, 本研究采用剂量-效应法, 探讨饲料中不同蛋氨酸水平对克氏原螯虾生长、饲料利用、体组成和消化酶活性的影响, 确定其适宜蛋氨酸需求量, 以期为其人工配合饲料的研制提供基础数据和理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验饲料

以酪蛋白、明胶、鱼粉、小麦面筋粉和晶体氨基酸为蛋白源, 鱼油和大豆油等比例添加为脂肪源配制出了一组蛋白质水平为 28.25%、脂肪水平为 6.00%, 能量为 16.07 kJ/g 的半精制饲料(表 1)^[15]。试验饲料的配方和养分组成如表 1 所示。试验饲料中除蛋氨酸(Met)外, 其他氨基酸的组成模式与克氏原螯虾肌肉蛋白的氨基酸组成模式一致。分别在试验饲料中添加 0、0.19%、0.37%、0.56%、0.74%和 0.93%的晶体 L-Met·HCl(美国 Amersco 公司的, 南京聚康医药化工有限公司代购, 产品纯度 99%), 配制出 6 组不同蛋氨酸水平的饲料, 相应的调整非必需氨基酸的含量和纤维素的添加量使各组饲料保持等氮等能。经测定, 各组饲料的实际

蛋氨酸含量分别为 0.39%、0.53%、0.71%、0.86%、0.98%和 1.13%, 对应占饲料蛋白质的 1.39%、1.89%、2.54%、3.07%、3.5%和 4.04%(表 2)。饲料中添加的晶体氨基酸均经过预混合, 并用羧甲基纤维素包被^[20]。饲料原料经粉碎过 60 目筛, 按少量到大量的顺序, 逐步混合均匀后加水搅拌。通过绞肉机制成直径为 2~3 mm, 长度为 3~4 mm 的颗粒, 常温干燥后, 于-20 °C 冰箱中保存。

1.2 实验虾及饲养管理

试验用克氏原螯虾来自浦口基地。投喂商品料驯化 1 周后, 挑选大小均一、初体质量为 (9.80±0.15) g、体格健壮的克氏原螯虾幼虾分为 6 组, 每组设 4 个重复(网箱), 每个重复 12 尾虾, 雌雄比例为 1:1。每天于 8:00、16:00 和 22:00 定量投喂 3 次, 投喂量各占日投喂量的 25%、25%和 50%, 日投喂量为虾体重的 5%~7%。每次投喂前, 去除网箱中残饵和粪便。试验周期为 56 d。

养殖试验于江苏省淡水水产研究所禄口养殖基地进行。将试验用网箱(60 cm×60 cm×60 cm, 长×宽×高)置于室外水泥池中, 水深 40 cm, 保持水泥池微流水和不间断充氧, 试验用水为过滤室外池塘水。养殖期间水温 21~30 °C, pH7.0~7.5, 水中溶氧 4.0 mg/L 以上, 氨氮低于 5 mg/L。

1.3 样品采集

生长试验结束后, 禁食 24 h, 按网箱称取末体重, 统计成活率。每网箱随机选取 4 尾虾于-20 °C 冰箱中保存, 用于全虾体组成分析。每网箱另取 4 尾虾进行冰浴解剖, 取肠道置于液氮中保存, 用于相关酶活性的测定, 取去壳肌肉于-20 °C 冰箱中保存, 用于肌肉常规组成和氨基酸分析。

1.4 样品分析

1.4.1 生长指标计算 各相关指标按下列公式计算:

成活率(survival rate, SR)=(试验结束时虾尾数/试验开始时虾尾数)×100%

增重率(weight gain rate, WGR)=[(终末体质量-初始体质量)/初始体质量]×100%

特定生长率(specific growth rate, SGR)/(%)·d⁻¹=100×(ln 终末体质量-ln 初始体质量)/饲养天数

表 1 试验饲料配方及养分组成
Tab.1 Formulation and proximate composition of the experimental diet

成分 ingredient	干重 dry-matter basis					
	饲料 1 Diet 1	饲料 2 Diet 2	饲料 3 Diet 3	饲料 4 Diet 4	饲料 5 Diet 5	饲料 6 Diet 6
酪蛋白/% casein	6.35	6.35	6.35	6.35	6.35	6.35
明胶/% gelatin	1.59	1.59	1.59	1.59	1.59	1.59
鱼粉/% fish meal	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
小麦面筋粉/% wheat gluten	15.75	15.75	15.75	15.75	15.75	15.75
必需氨基酸混合物 ¹⁾ /% essential amino acid mixture ¹⁾	4.82	4.82	4.82	4.82	4.82	4.82
L-Met-HCl/%	0	0.19	0.37	0.56	0.74	0.93
天冬氨酸/% aspartic acid	1.65	1.56	1.48	1.39	1.30	1.22
甘氨酸/% glycine	0.34	0.32	0.30	0.29	0.27	0.25
丙氨酸/% alanine	0.85	0.81	0.76	0.71	0.67	0.62
纤维素/% cellulose	9.00	8.96	8.93	8.89	8.86	8.82
玉米淀粉/% corn starch	46.31	46.31	46.31	46.31	46.31	46.31
鱼油/% fish oil	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57
豆油/% soybean oil	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57
预混料 ²⁾ /% premix ²⁾	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
磷酸二氢钙/% calcium biphosphate	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
氯化胆碱/% choline chloride	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
羧甲基纤维素/% carboxymethyl cellulose	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
常规组成 proximate composition						
粗蛋白/% crude protein	28.25	28.25	28.25	28.25	28.25	28.25
粗脂肪/% crude lipid	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
能值/(kJ·g ⁻¹) energy	16.07	16.07	16.07	16.07	16.07	16.07

注: 1) 必需氨基酸混合物为每 kg 饲料提供以下氨基酸: 苏氨酸 2.8 g, 缬氨酸 1.8 g, 异亮氨酸 0.9 g, 亮氨酸 4.3 g, 苯丙氨酸 3.0 g, 赖氨酸 15.5 g, 组氨酸 2.4 g, 精氨酸 17.5 g; 2) 每千克预混料中包含以下维生素和矿物质: 维生素 E 150 mg, 维生素 K 50 mg, 维生素 B₁ 80 mg, 维生素 B₂ 50 mg, 烟酸 150 mg, 泛酸 150 mg, 维生素 B₆ 50 mg, 生物素 1 mg, 维生素 B₁₂ 0.02 mg, 叶酸 10 mg, 维生素 C 300 IU, 维生素 A 10 000 IU, 维生素 D 2 000 IU, 硫酸铜 2.0 g, 硫酸铁 25 g, 硫酸锌 22 g, 硫酸锰 7 g, 亚硒酸钠 0.04 g, 碘化钾 0.026 g, 氯化钴 0.1 g.

Note: 1) Essential amino acid mixture provide the following amino acids (per kg diet): Threonine 2.8 g, Valine 1.8 g, Isoleucine 0.9 g, Leucine 4.3 g, Phenylalanine 3.0 g, Lysine 15.5 g, Histidine 2.4 g, Arginine 17.5 g; 2) Premix (per kg) provide the following vitamins and minerals: vitamin E 150 mg, vitamin K 50 mg, thiamine 80 mg, riboflavin 50 mg, nicotinic acid 150 mg, pantothenic acid 150 mg, pyridoxine 50 mg, biotin 1 mg, cyanocobalamin, 0.02 mg, folic acid 10 mg, vitamin C 300 IU, vitamin A 10 000 IU, vitamin D 2 000 IU, copper sulphate 2.0 g, iron sulphate 25 g, zinc sulphate 22 g, manganese sulphate 7 g, sodium selenite 0.04 g, potassium iodide 0.026 g, cobalt chloride 0.1 g.

饲料效率(fed efficiency ratio, FER)=(终末体质量-初始体质量)/摄食量×100%

1.4.2 营养成分分析 饲料、全虾、肌肉和肝脏的营养成分分析采用 AOAC^[21]的方法: 将样品称重后置于玻璃培养皿中, 在(105±2) 的烘箱中烘至恒重得到水分含量; 粗蛋白(N×6.25)含量采用凯氏定氮法通过全自动凯氏定氮仪(FOSS KT260, 瑞士)测定; 粗脂肪含量采用乙醚抽提法测定; 粗灰分采用高温灼烧法测定; 总能采用氧弹测热仪(Parr 1281, 美国)测定; 饲料和肌肉氨基酸分析采用盐酸水解法通过氨基酸分析仪(日立 L-8900,

日本)测定。

1.4.3 消化酶活性测定 准确称取肠道样品, 按质量体积比1:9的比例加入4 生理盐水制成组织匀浆, 以4 000 r/min转速离心10 min, 取上清液于4 保存用于组织消化酶活性和蛋白浓度测定。蛋白酶活性测定参照徐维娜等^[15]方法, 以37 条件下, 每分钟水解干酪素生成1 μg酪氨酸作为1个活性单位。脂肪酶、淀粉酶活性和组织蛋白浓度均采用购自南京建成生物工程研究所的试剂盒测定。脂肪酶以37 条件下, 每毫克组织蛋白在反应体系中与底物反应1 min消耗1 μmol底物为1个

表 2 试验饲料的氨基酸组成
Tab.2 Amino acid composition of the experimental diets

氨基酸 amino acid	饲料 1 Diet 1	饲料 2 Diet 2	饲料 3 Diet 3	饲料 4 Diet 4	饲料 5 Diet 5	饲料 6 Diet 6	%; 干重 dry-matter basis
							28%肌肉蛋白 28% muscle protein
必需氨基酸 essential amino acid							
精氨酸 Arg	2.44	2.48	2.53	2.46	2.58	2.41	2.58
组氨酸 His	0.75	0.76	0.75	0.70	0.78	0.73	0.74
异亮氨酸 Ile	1.08	1.14	1.10	1.09	1.15	1.16	1.15
亮氨酸 Leucine	2.03	2.22	2.24	2.02	2.26	2.11	2.02
赖氨酸 Lys	2.42	2.65	2.64	2.49	2.68	2.68	2.46
蛋氨酸 Met	0.39	0.53	0.71	0.86	0.98	1.13	0.61
苯丙氨酸 Phe	1.14	1.15	1.17	1.18	1.19	1.17	1.12
苏氨酸 Thr	1.10	1.08	1.11	1.09	1.12	1.09	1.01
缬氨酸 Val	1.14	1.19	1.17	1.20	1.20	1.12	1.15
非必需氨基酸 non-essential amino acid							
丙氨酸 Ala	1.65	1.63	1.58	1.51	1.46	1.34	1.71
天冬氨酸 Asp	2.77	2.69	2.57	2.43	2.31	2.21	2.84
胱氨酸 Cys	0.17	0.14	0.14	0.15	0.18	0.19	0.09
谷氨酸 Glu	5.10	4.95	4.98	5.08	5.06	4.94	4.97
甘氨酸 Glycine	1.35	1.27	1.21	1.19	1.11	1.06	1.25
丝氨酸 Serine	1.07	1.03	1.07	1.05	1.08	0.99	1.05
酪氨酸 Tyr	0.92	0.93	0.96	0.91	0.95	0.96	0.92
脯氨酸 Pro	1.73	1.76	1.71	1.73	1.75	1.69	0.94

注: 本研究中色氨酸未检测。

Note: Tryptophane was not determined in this study.

活性单位。淀粉酶以 37 条件下, 每毫克组织蛋白与底物作用 30 min, 水解 10 mg 淀粉为 1 个活性单位。组织蛋白浓度采用考马斯亮兰法^[22]测定。

1.5 统计分析

实验数据以平均值±标准误($\bar{x} \pm SE$)表示。采用 SPSS 16.0 软件对数据进行单因素方差分析(One-way ANOVA)后, 使用 Duncan's 进行多重比较, 标注各组差异性。并对饲料蛋氨酸水平与克氏原螯虾的增重率进行回归分析。

2 结果与分析

2.1 饲料中不同蛋氨酸水平对克氏原螯虾生长和饲料利用的影响

不同蛋氨酸水平对克氏原螯虾生长性能的影响如表 3 所示。饲料蛋氨酸水平显著影响克氏原螯虾的增重率、特定生长率和饲料效率($P < 0.05$),

但对存活率的影响不显著($P > 0.05$)。克氏原螯虾的生长性能以蛋氨酸水平 0.39%组为最低, 随着饲料中蛋氨酸水平的升高, 增重率、特定生长率和饲料效率均显著提高($P < 0.05$), 并且都在 0.86%时达到最大值, 当蛋氨酸水平继续升高, 各项生长指标均呈下降趋势, 但差异不显著($P > 0.05$)。

对饲料蛋氨酸水平与克氏原螯虾的增重率进行二次回归分析, 得到饲料蛋氨酸水平与增重率的二次多项式回归方程为: $y = -82.50x^2 + 155.7x + 37.09$, 经计算得出克氏原螯虾的最适蛋氨酸需求量为 0.94%, 占饲料蛋白的 3.36%, 具体结果如图 1 所示。

2.2 饲料中不同蛋氨酸水平对克氏原螯虾虾体组成的影响

由表 4 可知, 饲料蛋氨酸水平显著影响全虾的粗蛋白含量($P < 0.05$), 而对全虾水分、粗脂肪和

表 3 饲料蛋氨酸水平对克氏原螯虾生长和饲料利用的影响
Tab. 3 Effects of dietary methionine levels on growth and feed utilization of *Procambarus clarkii*

n=4; $\bar{x}\pm SD$

指标 index	饲料蛋氨酸水平/% dietary methionine level					
	0.39	0.53	0.71	0.86	0.98	1.13
初体质量/g initial body weight	9.73±0.03	9.79±0.06	9.85±0.04	9.73±0.03	9.74±0.06	9.73±0.03
末体质量/g final body weight	18.03±0.33 ^a	19.33±0.48 ^{ab}	19.99±0.19 ^b	20.74±0.68 ^b	20.44±0.91 ^b	20.18±0.53 ^b
增重率/% weight gain rate	85.26±3.15 ^a	97.44±3.91 ^{ab}	102.93±2.62 ^{ab}	113.11±7.40 ^b	109.83±9.61 ^b	107.41±5.52 ^b
特定生长率/(%·d ⁻¹) specific growth rate	1.10±0.03 ^a	1.21±0.03 ^{ab}	1.26±0.02 ^b	1.35±0.06 ^b	1.32±0.08 ^b	1.30±0.05 ^b
饲料效率/% feed efficiency ratio	29.64±1.12 ^a	34.08±1.54 ^{ab}	36.22±0.79 ^b	39.31±2.50 ^b	38.20±3.27 ^b	37.32±1.91 ^b
成活率/% survival rate	91.67±4.81	83.33±7.61	85.42±5.24	91.67±3.40	87.50±2.41	89.58±2.08

注：同行上标没有相同字母表示差异显著(P<0.05).

Note: Values with different superscripts in the same column are significantly different (P<0.05).

表 4 饲料蛋氨酸水平对克氏原螯虾全虾、肌肉和肝胰脏组成的影响

Tab.4 Effects of dietary methionine levels on proximate composition of whole body, muscle and liver of *Procambarus clarkii*

n=4; $\bar{x}\pm SD$

指标 index	饲料蛋氨酸水平/% dietary methionine level					
	0.39	0.53	0.71	0.86	0.98	1.13
全虾 whole body						
水分 moisture	66.33±1.13	66.85±1.24	66.95±1.12	69.36±1.51	66.58±0.41	66.38±0.27
粗蛋白 crude protein	11.53±0.48 ^a	12.36±0.20 ^{ab}	12.39±0.24 ^{ab}	12.96±0.23 ^b	12.87±0.33 ^b	12.54±0.14 ^b
粗脂肪 crude lipid	3.04±0.50	2.40±0.26	3.06±0.10	2.44±0.40	3.05±0.36	3.01±0.30
灰分 ash	12.31±1.36	12.46±0.90	12.43±0.86	12.57±0.24	12.05±0.69	12.12±0.44
肌肉 muscle						
粗蛋白 crude protein	18.46±0.36	18.65±0.64	18.67±0.38	19.45±0.41	19.40±0.60	18.93±0.34
粗脂肪 crude lipid	2.21±0.22 ^a	1.56±0.05 ^{ab}	1.75±0.05 ^{ab}	1.52±0.21 ^{ab}	1.05±0.14 ^b	1.48±0.46 ^{ab}
肝 liver						
粗蛋白 crude protein	7.70±0.29	7.82±0.20	8.33±0.30	8.50±0.50	8.38±0.18	7.87±0.65
粗脂肪 crude lipid	29.01±4.93	25.12±1.91	27.21±3.22	24.58±2.20	27.91±3.52	24.62±2.47

注：同行上标没有相同字母表示差异显著(P<0.05).

Note: Values with different superscripts in the same column are significantly different (P<0.05).

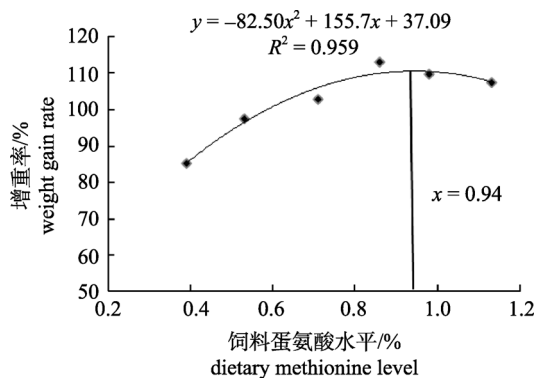


图 1 饲料蛋氨酸水平与克氏原螯虾增重率的回归分析

Fig. 1 Regression analysis between dietary methionine levels and weight gain rate of *Procambarus clarkii*.

灰分含量以及肝胰脏的组成无显著影响(P>0.05)。全虾粗蛋白含量随着饲料蛋氨酸水平的升高呈现先升高后降低的趋势，以蛋氨酸水平 0.86%组最高，其显著高于 0.39%组(P<0.05)，但和其他组之间差异不显著(P>0.05)。肌肉粗脂肪含量随着饲料蛋氨酸水平的升高呈现先降低后升高的趋势，以蛋氨酸水平 0.98%组最低，其显著低于 0.39%组(P<0.05)，但和其他组之间差异不显著(P>0.05)。

2.3 饲料中不同蛋氨酸水平对克氏原螯虾肌肉氨基酸组成的影响

克氏原螯虾肌肉中共测出 17 种氨基酸，包括 9 种必需氨基酸和 8 种非必需氨基酸，色氨酸因

在水解过程中被破坏, 未被测出。由表 5 可知, 饲料蛋氨酸水平对肌肉中的必需氨基酸总量、氨基酸总量和单个氨基酸含量均无显著影响($P>0.05$)。克氏原螯虾肌肉中的必需氨基酸含量均以 0.86% 组最高, 但与其他组之间差异不显著($P>0.05$)。

2.4 饲料中不同蛋氨酸水平对克氏原螯虾肠道消化酶活性的影响

由表 6 可知, 饲料中蛋氨酸水平显著影响克

氏原螯虾肠道蛋白酶的活性($P<0.05$), 但对脂肪酶和淀粉酶活性均无显著影响($P>0.05$)。随着饲料蛋氨酸水平的升高, 克氏原螯虾肠道蛋白酶呈现先升高后降低的趋势, 以蛋氨酸水平 0.86% 组最高, 其显著高于其他组($P<0.05$)。肠道脂肪酶活性为 7.50~8.56 $U \cdot mg^{-1}$, 肠道淀粉酶活性为 1.21~1.30 $U \cdot mg^{-1}$, 都以蛋氨酸水平 0.86% 组最高, 但与其他组差异不显著($P>0.05$)。

表 5 饲料蛋氨酸水平对克氏原螯虾肌肉氨基酸组成的影响

Tab.5 Effects of dietary methionine levels on muscle amino acid composition of *Procambarus clarkii*

%; 鲜重 FW; $n=4$; $\bar{x} \pm SD$

氨基酸 amino acid	饲料蛋氨酸水平/% dietary methionine level (干重 DW)					
	0.39	0.53	0.71	0.86	0.98	1.13
精氨酸 Arg	1.83±0.05	1.81±0.03	1.79±0.04	1.88±0.05	1.81±0.06	1.84±0.09
组氨酸 His	0.43±0.01	0.41±0.01	0.41±0.01	0.45±0.02	0.42±0.01	0.41±0.01
异亮氨酸 Ile	0.79±0.01	0.77±0.03	0.77±0.03	0.83±0.01	0.78±0.02	0.81±0.03
亮氨酸 Leu	1.40±0.03	1.36±0.04	1.36±0.05	1.47±0.03	1.39±0.02	1.43±0.06
赖氨酸 Lys	1.13±0.02	1.09±0.03	1.10±0.04	1.19±0.03	1.12±0.02	1.15±0.04
蛋氨酸 Met	0.43±0.02	0.42±0.01	0.42±0.01	0.44±0.01	0.41±0.01	0.43±0.02
苯丙氨酸 Phe	0.76±0.02	0.73±0.02	0.73±0.02	0.78±0.01	0.75±0.01	0.78±0.03
苏氨酸 Thr	0.71±0.01	0.69±0.01	0.69±0.01	0.74±0.01	0.71±0.01	0.72±0.03
缬氨酸 Val	0.76±0.01	0.73±0.02	0.74±0.03	0.80±0.01	0.75±0.02	0.77±0.03
丙氨酸 Ala	1.06±0.04	1.05±0.03	1.05±0.04	1.13±0.04	1.07±0.04	1.13±0.04
天冬氨酸 Asp	1.70±0.06	1.65±0.09	1.67±0.08	1.87±0.05	1.74±0.04	1.77±0.16
胱氨酸 Cys	0.08±0.01	0.07±0.01	0.08±0.00	0.10±0.01	0.10±0.00	0.09±0.01
谷氨酸 Glu	3.11±0.05	3.04±0.11	3.03±0.10	3.26±0.09	3.14±0.06	3.12±0.09
甘氨酸 Gly	0.80±0.03	0.85±0.03	0.83±0.03	0.83±0.01	0.82±0.03	0.85±0.04
丝氨酸 Ser	0.71±0.02	0.68±0.02	0.68±0.02	0.71±0.00	0.71±0.01	0.72±0.02
酪氨酸 Tyr	0.63±0.01	0.61±0.02	0.61±0.02	0.66±0.01	0.62±0.01	0.64±0.03
脯氨酸 Pro	0.42±0.03	0.40±0.05	0.42±0.04	0.50±0.03	0.42±0.02	0.39±0.05
必需氨基酸 TEAA	8.24±0.16	8.01±0.19	8.01±0.24	8.57±0.16	8.14±0.14	8.35±0.34
氨基酸总量 TAA	16.76±0.35	16.35±0.47	16.38±0.52	17.67±0.33	16.78±0.31	17.06±0.76

注: 同行上标没有相同字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: Values with different superscripts in the same column are significantly different ($P<0.05$).

表 6 饲料蛋氨酸水平对克氏原螯虾肠道消化酶活性的影响

Tab.6 Effects of dietary methionine levels on intestine digestive enzymes activities of *Procambarus clarkii*

$U \cdot mg^{-1}$; 37 ; $n=4$; $\bar{x} \pm SD$

指标 index	饲料蛋氨酸水平/% dietary methionine level (干重 DW)					
	0.39	0.53	0.71	0.86	0.98	1.13
蛋白酶 protease	8.98±1.27 ^a	10.21±1.30 ^{ab}	13.33±1.58 ^b	17.24±1.63 ^c	12.03±0.57 ^{ab}	8.55±0.81 ^a
脂肪酶 lipase	7.50±0.46	7.88±0.52	8.24±0.27	8.56±0.52	8.39±0.27	8.16±0.26
淀粉酶 amylase	1.21±0.03	1.24±0.03	1.27±0.03	1.30±0.04	1.29±0.04	1.27±0.03

注: 同行上标没有相同字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: Values with different superscripts in the same column are significantly different ($P<0.05$).

3 讨论

3.1 饲料中不同蛋氨酸水平对克氏原螯虾生长和饲料利用的影响

本试验中, 蛋氨酸缺乏组的克氏原螯虾表现出了较低的生长速度, 而随着饲料中蛋氨酸水平的升高, 其生长速度和饲料利用率均得到了显著的提高。由此证明, 蛋氨酸是克氏原螯虾的必需氨基酸之一, 而经过羧甲基纤维素包被处理后的晶体氨基酸能够被克氏原螯虾有效利用。

大量研究表明, 随着饲料中蛋氨酸水平的提高, 鱼虾类的生长速度呈现两种不同的变化: (1) 随着饲料中蛋氨酸含量的增加鱼虾类生长速度加快, 但当生长速度增至一定程度时, 再提高饲料蛋氨酸含量对其生长速度无显著影响^[4,8,13,23-24]。(2) 随着饲料中蛋氨酸含量增加鱼虾类生长速度提高, 当蛋氨酸水平超过需要量时, 其生长速度显著下降^[10-11]。本试验得出, 当饲料中蛋氨酸含量不足时, 克氏原螯虾生长缓慢、饲料效率低下; 而随着饲料中蛋氨酸水平的提高, 其生长速度和饲料效率均显著升高。但当蛋氨酸含量超过 0.94% 时, 克氏原螯虾的生长速度呈现降低趋势, 这和上述情况(2)一致。推测原因, 可能是饲料中过量的蛋氨酸会引起虾体的代谢负担, 进而对其生长性能造成了负面影响。Murthy 等^[25]推测, 饲料中过量的蛋氨酸会被氧化分解产生酮或其他代谢产物, 而这些代谢产物会对水产动物产生一定的毒害作用进而影响其的生长性能。Coloso 等^[26]研究认为, 当饲料中某种氨基酸和其他氨基酸的比例失衡时将影响其他氨基酸的利用效率, 从而影响水产动物的生长。

3.2 饲料中不同蛋氨酸水平对克氏原螯虾体组成的影响

随着饲料蛋氨酸水平的升高, 克氏原螯虾的全虾粗蛋白含量显著提高, 在蛋氨酸水平 0.86% 组达到最大值。部分研究表明, 补充蛋氨酸可以有效改善水产动物的生产性能, 并提高体蛋白的增长速度^[13,24,27-28], 本试验结果与其一致。蛋氨酸缺乏组的全虾、肌肉和肝脏脏粗蛋白含量均较低。

推测原因, 可能是因为在蛋氨酸不足的情况下, 饲料中的氨基酸模式失衡, 限制了克氏原螯虾对其他氨基酸的利用, 加重了多余氨基酸的脱氨基作用, 最终导致了体蛋白的合成受限^[29]。克氏原螯虾的水分、灰分、全虾粗脂肪受饲料中蛋氨酸水平的影响不大, 这可能是因为基础饲料中的蛋氨酸含量可以满足克氏原螯虾的最低生长需求, 导致其未出现代谢障碍, 所以全虾水分、灰分、粗脂肪含量未出现显著变化。此外, 随着饲料中蛋氨酸水平的升高, 克氏原螯虾肌肉中氨基酸含量也未出现显著变化, 但蛋氨酸水平 0.86% 组的含量最高。除了基础饲料中的蛋氨酸含量未导致代谢障碍外, 还有可能是氨基酸模式失衡导致的。只有蛋氨酸水平提高, 其余氨基酸并没有相应提高, 导致氨基酸不平衡, 蛋氨酸并不能充分代谢利用。这仅仅只是推测, 具体原因必须深入到分子水平, 做进一步的研究。

3.3 饲料中不同蛋氨酸水平对克氏原螯虾消化酶活性的影响

饲料营养水平是影响甲壳类动物消化酶活性的关键因素之一。当摄食不同营养成分的饲料时, 甲壳动物会出现消化酶分泌量的差异, 这种适应性的调节可以使其更好地消化、吸收和利用饲料中的营养物质^[30-31]。本试验中, 随着饲料蛋氨酸水平的升高, 克氏原螯虾的肠道消化酶活性与饲料效率呈相同的升高趋势, 其中肠道蛋白酶与饲料效率均以 0.86% 组最高, 表明饲料蛋氨酸的适宜水平可以提高肠道蛋白酶活性, 促进虾体对饲料养分的利用。而当饲料蛋氨酸水平为 0.86%~1.13% 时, 克氏原螯虾肠道消化酶活性逐渐降低, 说明饲料中较高的蛋氨酸水平抑制了肠道消化酶的活性, 这可能与克氏原螯虾对饲料氨基酸组成不平衡的适应性有关。而较低的肠道消化酶活性也可能是在蛋氨酸过量情况下, 导致克氏原螯虾的生长性能和饲料利用效率降低的原因之一。然而, 这仅仅只是推断, 具体原因尚需进一步研究。

3.4 克氏原螯虾的蛋氨酸需求量及与其他水产类动物的比较

本试验以增重率为指标, 经二次回归分析得

出克氏原螯虾的蛋氨酸最适需求量为 0.94%，占饲料蛋白质的 3.36%。这个结果与大黄鱼 (*Larimichthys crocea*)(3.34%)^[10]、印鲮 (*Labeo rohita*)(3.23%)^[32]、牙鲮 (*Paralichthys olivaceus*)(2.86%~3.46%)^[33]、非洲鲇 (*Clarias gariepinus*)(3.2%)^[34]、日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*)(3.2%)^[35]、大西洋鲑 (*Salmon salar* L.)(3.1%)^[36]、美国黄金鲈 (yellow perch)(3.1%~3.4%)^[37] 等的指标相似；高于点带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*)(2.73%)^[24]、军曹鱼 (*Rachycentron canadum*)(2.64%)^[38]、许氏平鲱 (*Sebastes schlegeli*)(2.8%)^[39]、金头鲷 (*Sparus aurata*)(2.77%)^[40]、红点鲑 (*Salvelinus alpinus*)(2.7%)^[27]、亚洲尖吻鲈 (*Lates calcarifer*)(2.9%)^[26]、银大麻哈鱼 (*Oncorhynchus kisutch*)(2.7%)^[41]、虹鳟 (2.3%)^[28]、真鲷 (*Pagrus major*)(2.2%)^[42]、斑点叉尾鲷 (2.3%)^[43]、斑节对虾 (*Penaeus monodon*)(2.4%)^[44]、凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*)(2.52%)^[45] 等的指标；低于印度鲤 (*Catla catla*)(3.6%)^[46] 和黑鲷 (*Sparus macrocephalus*)(4.5%)^[47] 的指标。

由此可见，水产动物对蛋氨酸需求量存在较大差异。推测原因，除了试验动物种类外，动物的规格、饲料配方、饲料蛋白源、饲养条件和管理方法等因素均会对试验结果造成影响。此外，采用剂量-效应法评定适宜蛋氨酸需求量时，评定方法的不同也会导致需求量的差异。

4 结论

饲料蛋氨酸水平对克氏原螯虾的生长和饲料利用率均具有显著影响；适宜的蛋氨酸水平能够显著提高虾体的粗蛋白含量；饲料中过量蛋氨酸对克氏原螯虾的消化酶活性有一定的抑制作用。以增重率为评定指标，经二次回归分析得出：克氏原螯虾对饲料蛋氨酸的需求量为 0.94%，占饲料蛋白质的 3.36%。

参考文献：

[1] Hansen A C. Effects of replacing fish meal with plant protein in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) [D]. Bergen: University of Bergen, 2009: 13-21.

- [2] Kasper C S, White M R, Brawn P B. Choline is required by tilapia when methionine is not in excess[J]. *J Nutr*, 2000, 130: 238-244.
- [3] Walton M J, Cowey C B, Adron J W. Methionine metabolism in rainbow trout fed diets of different methionine and cystine content[J]. *J Nutr*, 1982, 112: 1525-1535.
- [4] Keembiyehetty C N, Gatlin D M. Total sulphur amino acid requirement of juvenile hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) [J]. *Aquaculture*, 1993, 110: 331-339.
- [5] Mukhopadhyay N, Ray A K. Effects of amino acid supplementation on the nutritive quality of fermented linseed meal protein in the diets of rohu, *Labeo rohita*, fingerlings[J]. *J App Ichthyol*, 2001, 17: 220-226.
- [6] Takagi S, Shimeno S, Hosokawa H, et al. Effect of lysine and methionine supplementation to a soy protein concentrate diet for red sea bream *Pagrus major* [J]. *Fish Sci*, 2001, 67: 1088-1096.
- [7] Cai Y J, Burtle G J. Methionine requirement of channel catfish fed soybean meal-corn-based diets [J]. *J Anim Sci*, 1996, 74(3): 514-521.
- [8] Schwarz F J, Kirchgessner M, Deuringer U. Studies on the methionine requirement of carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Aquaculture*, 1998, 161(1-4): 121-129.
- [9] 林仕梅, 麦康森, 谭北平. 实用饲料中添加结晶蛋氨酸对罗非鱼生长、体组成的影响 [J]. *水生生物学报*, 2008, 32(5): 742-749.
- [10] Mai K, Wan J, Ai Q, et al. Dietary methionine requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. [J]. *Aquaculture*, 2006, 253(1-4): 564-572.
- [11] Ahmed I, Khan M A, Jafri A K. Dietary methionine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) [J]. *Aqu Intern*, 2003, 11(5): 449-462.
- [12] Ruchimat T, Masumoto T, Hosokawa H, et al. Quantitative methionine requirement of yellowtail (*Seriola quinque radiata*) [J]. *Aquaculture*, 1997, 150(1-2): 113-122.
- [13] Cheng Z J, Hardy R W, Blair M. Effects of supplementing methionine hydroxy analogue in soybean meal and distiller's dried grain-based diets on the performance and nutrient retention of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) [J]. *Aqu Res*, 2003(34): 1303-1310.
- [14] Wilson R P, Halver J E. Fish nutrition: Amino acids and proteins (3rd ed) [M]. New York: Academic Press, 2002: 145-175.
- [15] 徐维娜, 刘文斌, 沈美芳, 等. 饲料中不同蛋白质和脂肪水平对克氏螯虾 (*Procambarus clarkii*) 生长性能、体组成和消化酶活性的影响 [J]. *海洋与湖沼*, 2011, 42(4):

- 521-529.
- [16] Jover M, Fernández-Carmona J, Del Río M C, et al. Effect of feeding cooked-extruded diets, containing different levels of protein, lipid and carbohydrate on growth of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*)[J]. *Aquaculture*, 1999, 178: 127-137.
- [17] 王桂芹, 赵朝阳, 周鑫, 等. 饲料蛋白和能量水平对克氏原螯虾生长和蛋白质代谢的影响[J]. *华南农业大学学报*, 2011, 32(2): 109-112.
- [18] 何吉祥, 王志耕, 梅林, 等. 克氏螯虾饲料中适宜的蛋白质含量和能量蛋白比研究[J]. *水生生态学杂志*, 2009, 2(3): 78-86.
- [19] 吴东, 夏伦志, 侯冠军, 等. 3种蛋白水平饲料对克氏螯虾生长和虾肉品质的影响[J]. *淡水渔业*, 2007, 37(5): 36-40.
- [20] Alam M S, Teshima S, Koshio S, et al. Effects of supplementation of coated crystalline amino acids on growth performance and body composition of juvenile kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus*[J]. *Aqu Nutr*, 2004, 10: 309-316.
- [21] AOAC. Official Methods of Analysis(15th ed)[M]. Arlington: Association of Official Analytical Chemists, 2001: 98, 450, 606, 589.
- [22] 李娟, 张耀庭, 曾伟, 等. 应用考马斯亮蓝法测定总蛋白含量[J]. *中国生物制品学杂志*, 2000, 13(2): 118-120.
- [23] Borlongan I G, Coloso R M. Requirements of juvenile milkfish(*Chanos chanos* Forsskal) for essential amino acids[J]. *J Nutr*, 1993, 123: 125-132.
- [24] Luo Z, Liu Y J, Mai K S, et al. Dietary l-methionine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides* at a constant dietary cystine level[J]. *Aquaculture*, 2005, 249: 409-418.
- [25] Murthy R K, Varghese T J. Total sulphur amino acid requirement of the Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton)[J]. *Aqu Nutr*, 1998(4): 61-65.
- [26] Coloso R M, Murillo-Gurrea D P, Borlongan I G, et al. Sulphur amino acid requirement of juvenile Asian sea bass *Lates calcarifer*[J]. *J App Ichthyol*, 1999, 15(2): 54-58.
- [27] Simmons L, Moccia R D, Bureau D P, et al. Dietary methionine requirement of juvenile Arctic charr *Salvelinus alpinus*(L.)[J]. *Aqu Nutr*, 1999, 5: 93-100.
- [28] Kim K I, Kayes T B, Amundson C H. Requirements for sulphur amino acids and utilization of D-methionine by rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture*, 1992b, 101: 95-103.
- [29] Ronnestad I, Conceicao L E C, Aragao C, et al. Free amino acids are absorbed faster and assimilated more efficiently than protein in postlarval Senegal sole (*Solea senegalensis*)[J]. *Nutrition*, 2000, 130: 2809-2812.
- [30] 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, 13(3): 492-501.
- [31] 丁贤, 李卓佳, 陈永青, 等. 芽孢杆菌对凡纳对虾生长和消化酶活性的影响[J]. *中国水产科学*, 2004, 11(6): 581-585.
- [32] Murthy H S, Varghese T J. Total sulphur amino acid requirement of the Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton)[J]. *Aqu Nutr*, 1998, 4:61-65.
- [33] Alam S, Teshima S, Ishikawa M, et al. Methionine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* estimated by the oxidation of radioactive methionine[J]. *Aqu Nutr*, 2001, 7: 201-209.
- [34] Fagbenro O A, Balogun A M, Fasakin E A. Dietary methionine requirement of the African catfish, *Clarias gariepinus*[J]. *J App Aqu*, 1998(8): 47-54.
- [35] NRC. Nutrient Requirements of Fish[M]. Washington, DC: National Academy Press, 1993: 7-13.
- [36] Rollin X. Critical study of indispensable amino acid requirements of Atlantic salmon (*Salmon salar* L.) fry[D]. Belgium: University catholique de Louvain, 1999.
- [37] Twibell R G, Wilson K A, Brown P B. Dietary sulfur amino acid requirement of juvenile yellow perch fed the maximum cystine replacement value for methionine[J]. *J Nutr*, 2000, 130: 612-616.
- [38] Zhou Q, Wu Z, Tan B, et al. Optimal dietary methionine requirement for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) [J]. *Aquaculture*, 2006, 258: 551-557.
- [39] Yan Q, Xie S, Zhu X, et al. Dietary methionine requirement for juvenile rockfish, *Sebastes schlegelii*[J]. *Aqu Nutr*, 2007, 13(3): 163-169.
- [40] Marcouli P, Alexis M N, Andriopoulou A, et al. Amino acid nutrition of gilthead seabream *Sparus aurata* juveniles: Preliminary results on dietary lysine and methionine requirements[J]. *Cahiers Options Mediterran eennes*, 2005, 63: 67-71.
- [41] Arai S, Ogata H. Quantitative amino acid requirements of fingerling coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*)[Z]. In: A Poreedings of the Twentieth U.S.-JaPan Symposium on Aquaculture Nutrition(Collie M R and MeVe Y J P,Eds), 1993: 19-28.
- [42] Forster I, Ogata H Y. Lysine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and juvenile red sea bream *Pagrus major*[J]. *Aquaculture*, 1998, 161: 131-142.
- [43] Harding D E, Allen O W, Wilson R P. Sulfur amino acid

- requirement of channel catfish: L-methionine and L-cystine[J]. *Nutrition*, 1977, 107: 2031–2035.
- [44] Millamena O M, Bautista-Teruel M N, Kanazawa A. Methionine requirement of juvenile tiger shrimp *Penaeus monodon Fabricius*[J]. *Aquaculture*, 1996, 143: 403–410.
- [45] 怀明燕. 凡纳滨对虾对赖氨酸、蛋氨酸、精氨酸和苯丙氨酸需要量及低蛋白饲料研究[D]. 广州: 中山大学, 2009.
- [46] Ravi J, Devaraj K V. Quantitative essential amino acid requirements for growth of catla, *Catla catla*[J]. *Aquaculture*, 1991, 96: 281–291.
- [47] Zhou F, Xiao J X, Hua Y, et al. Dietary L-methionine requirement of juvenile black sea bream(*Sparus macrocephalus*) at a constant dietary cystine level[J]. *Aqu Nutr*, 2011, 17(5): 469–481.

Optimal dietary methionine requirement of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*)

ZHU Jie, XU Weina, ZHANG Weiwei, LI Xiangfei, LIU Wenbin, YANG Weiwei, WANG Min

Key Laboratory of Aquatic Animal Nutrition and Feed Science of Jiangsu Province, College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

Abstract: We conducted this experiment to determine the optimal dietary methionine requirement of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*), as was based on the evaluation of growth performance, feed utilization, body composition, muscle amino acids composition and digestive enzyme activities. Six isonitrogenous (28.25% crude protein) and isocaloric (16.07 kJ/g gross energy) diets were formulated with the protein sources originated from casein, gelatin, fish meal, wheat gluten and crystalline amino acid (AA) mixture. The measured methionine levels of the experimental diets were 0.39%, 0.53%, 0.71%, 0.86%, 0.98%, and 1.13%, respectively. The dietary AA pattern, except for methionine, was applied to the muscle AA pattern of this species. Each diet was fed to four groups of 12 crayfish with an average initial body weight of (9.80±0.15) g in floating net cages (60 cm × 60 cm × 60 cm). Crayfish was fed three times daily for 56 d. The results indicated that weight gain rate, specific growth rate and feed efficiency ratio all increased significantly ($P<0.05$) as dietary methionine levels increased from 0.39% to 1.13% with their maximum values all being attained 0.86%, respectively. However, they all decreased with further increasing dietary methionine levels. Survival rate ranged from 83.33% to 91.67%, and showed no significant difference ($P>0.05$) among all the dietary treatments. The highest whole-body protein content was observed in crayfish fed 0.86% dietary methionine. It was significantly ($P<0.05$) higher than that of crayfish fed 0.39% dietary methionine, but showed little difference ($P>0.05$) with that of the other treatments. No significant difference ($P>0.05$) was found in whole-body moisture, ash and lipid content and liver composition and muscle AA contents among all the treatments. The muscle lipid content of crayfish fed 0.98% dietary methionine was significantly ($P<0.05$) lower than that of crayfish fed 0.39% dietary methionine, but showed little difference ($P>0.05$) with that of the other treatments. Intestinal protease activities were significantly ($P<0.05$) affected by dietary methionine levels, whereas the opposite was true for lipase and amylase activities. The second-order regression analysis of WGR against dietary methionine levels indicated that the optimal dietary methionine requirement of red swamp crayfish was 0.94% of diet (and 3.36% of diet protein).

Key words: *Procambarus clarkii*; methionine requirement; growth performance; body composition; digestive enzyme activity

Corresponding author: LIU Wenbin. E-mail: wbliu@njau.edu.cn