[文章编号] 1007－7405(2017)05－0010－08

复合蛋白 CM2 替代鱼粉对凡纳滨对虾生长、表观消化率和抗氧化能力的影响

胡水城[1,2]，鲁康乐[1,2]，宋 凯[1,2]，张春晓[1,2]，王 玲[1,2]

（1. 集美大学水产学院，福建 厦门 361021；2. 厦门市饲料检测与安全评价重点试验室，福建 厦门 361021）

[摘要] 为研究复合蛋白 CM2 替代鱼粉对凡纳滨对虾生长性能、饲料消化率以及抗氧化能力的影响，本试验设计了3种等氮等脂的饲料，其中：一组饲料含有25%（质量分数）鱼粉，记为基础组（D_1）；另两组用 CM2 等蛋白替代基础饲料中部分鱼粉，使饲料鱼粉的质量分数分别为20%和15%，分别记做 D2 和 D3 组。以这3种饲料投喂初始体重为（0.65±0.05）g 的凡纳滨对虾，进行为期70 d 的生长试验。结果表明：CM2 替代鱼粉对凡纳滨对虾的成活率和生长性能无显著影响（$P>0.05$），对虾体水分、粗蛋白、粗脂肪和粗灰分无显著差异（$P>0.05$）；D2 组饲料干物质、能量和磷表观消化率显著高于 D1 和 D3 组（$P<0.05$）；D1 组蛋白质消化率最低，显著低于其他两组（$P<0.05$），各组对虾血清的碱性磷酸酶、酚氧化酶、总超氧化物歧化酶和总抗氧化能力均无显著差异（$P>0.05$），但 D2 组对虾血清的过氧化物酶的酶活力显著高于 D1 和 D3 组（$P<0.05$）；肝胰腺中的过氧化氢酶、总超氧化物歧化酶的酶活力和丙二醛含量在各试验组间均未见显著差异（$P>0.05$）。综上所述，复合蛋白 CM2 替代5%～10%（质量分数）的鱼粉，对凡纳滨对虾的摄食、生长和体组成无影响，并可提高饲料的表观消化率，且对凡纳滨对虾的非特异免疫、抗氧化指标和肠道炎症因子基因表达无显著影响。

[关键词] 蛋白源；鱼粉替代；凡纳滨对虾；生长性能；抗氧化能力

[中图分类号] S 963

Effects of Fishmeal Replacement by Compound Protein(CM2) on Growth, Apparent Digestibility and Antioxidant of *Litopenaeus vannamei*

HU Shuicheng[1,2], LU Kangle[1,2], SONG Kai[1,2], ZHANG Chunxiao[1,2], WANG Ling[1,2]

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. Xiamen Key Laboratory for Feed Quality Testing and Safety Evaluation, Xiamen 361021, China)

Abstract: A feeding trial was conducted to investigate effects of fishmeal replacement by dietary compound protein(CM2) on growth, apparent digestibility and antioxidant of whiteshrimp *Litopenaeus vannamei*. Three experimental diets were formulated using CM2 to replace 0%(control diet, D1), 5%(D2) and 10%(D3) fishmeal, respectively. The shrimp(initial weight, (0.65±0.05) g) were fed with the experimental diets for 70 days. The survival, growth performance and body composition of shrimp were not significantly affected by fishmeal replacement($P>0.05$). The feed apparent digestibility in dry matter, energy and phosphorus of shrimp fed D2 were significantly higher than those of group D1 and D3($P<0.05$). The protein digestibility

[收稿日期] 2017－04－06 [修回日期] 2017－05－01

[基金项目] 农业部公益性行业专项子项目（201303053）；福建省教育厅面上项目（JA15284）

[作者简介] 胡水城（1991—），男，硕士生，从事水产动物营养与饲料方向研究。通信作者：王玲（1977—），女，副教授，E-mail:lingwang@jmu.edu.cn。

were significantly lower in group D1 than in groups D2 and D3($P<0.05$). No significant differences of shrimp plasma alkaline phosphatase(AKP) activity, phenoloxidase(PO) activity, total superoxide dismutase(T-SOD) activity, total antioxidant capacity(T-AOC) appeared among dietary treatments ($P>0.05$). However, the shrimp plasma peroxidase(POD) activity in group D2 was significantly higher than that of other groups ($P<0.05$). No significant differences of shrimp hepatopancreas catalase(CAT), T-SOD and malondialdehyde (MDA) were observed among all treatments ($P>0.05$). The results indicate that 5% ~10% fishmeal could be replaced by CM2 with no adverse effect ongrowth, body composition, and non-specific immunity of *Litopenaeus vannamei*.

Keywords: protein sources; fishmeal replacement; *Litopenaeus vannamei*; growth performance; antioxidant ability

0　引言

鱼粉是水产饲料最常用的优质蛋白源，然而随水产养殖的迅猛发展，鱼粉的需求量不断升高，而全球鱼粉产量逐年下降，由此导致鱼粉价格居高不下[1]。目前，凡纳滨对虾（*Litopenaeus vannamei*）饲料中鱼粉的使用量约为 25% ~30%，且对虾饲料鱼粉需求量达全球鱼粉产量的 27.2% [2]。因此，降低对虾饲料中鱼粉使用量对保护渔业资源、降低饲料成本、维持水产养殖业健康可持续发展具有重要意义。目前，许多研究者致力于用其他蛋白源替代鱼粉的研究[3-5]。单一的蛋白源，尤其是植物性蛋白源普遍存在着影响水产动物生长和代谢的多种抗营养因子，缺乏部分氨基酸，且适口性差、易引起养殖动物肠道损伤等问题[6-8]。如，豆粕中含有包括球蛋白和 β - 伴球蛋白在内的抗原蛋白、胰蛋白酶抑制剂等多种抗营养因子，会抑制水产动物对营养物质的吸收利用[9-10]，其中 β - 伴球蛋白在引起动物肠道损伤的同时[11]，还会抑制生长、降低免疫功能等；鸡肉粉、玉米蛋白粉和脱脂大豆粉以高比例替代鱼粉后饲料适口性会降低[12-14]；猪肉粉替代鱼粉比例超过 25% 时，凡纳滨对虾增重率下降[15]。为解决单一蛋白源替代鱼粉导致生长缓慢等不利影响，本试验根据前期研究结果，制备复合蛋白源，选用鸡肉粉、血粉、豆粕以及谷朊粉为蛋白源，平衡蛋氨酸、赖氨酸以及苏氨酸等必需氨基酸，并补充丁酸甘油酯、牛磺酸和甘氨酸等功能性添加剂，形成复合蛋白 CM2 产品，探讨 CM2 替代饲料中的鱼粉对凡纳滨对虾生长、消化、抗氧化能力和肠道炎性因子的影响，为开发凡纳滨对虾低鱼粉饲料提供参考。

1　材料和方法

1.1　试验设计及饲料配制

根据对虾的营养需要，试验共设计 3 种等氮等脂的饲料，其中基础组（D1）含有 25%（质量分数）的鱼粉，D2 和 D3 组用 CM2 替代基础饲料中部分鱼粉，形成分别含有 20% 和 15%（质量分数）鱼粉的试验饲料。试验原料（鱼油、豆油和预混料除外）粉碎后过 80 目网筛再混合，加 40% 水揉成面团，经 CD4 × 1TS 多功能催化剂成型机挤成直径为 1.5 mm 的面条状，然后制成长度为 3 mm 颗粒饲料，于 24 ℃风干，装入自封袋，－20 ℃冷藏备用。饲料配方以及营养组成见表 1。

1.2　试验用虾及养殖管理

试验用凡纳滨对虾购于福建省漳浦县福星养殖基地，为当年人工孵化的同批虾苗。试验前，对虾在水泥池(4 m × 6 m × 1.1 m)中暂养，期间投喂对虾商品饲料，每天投喂 3 次(8:00、13:00、18:00)。

试验在福建省漳浦县福星养殖基地的 250L 水族缸中进行，共 3 个组，每组 4 个重复，每个重复随机放 50 尾体格健壮、规格一致的对虾((0.65 ± 0.05)g)。养殖期间，每天投喂 3 次(8:00、13:00、18:00)，观察对虾摄食情况和健康状况，每次投喂完 0.5 h 后吸去残饵并记录。每天于 15:00 吸去粪便并换水，换水量为养殖水体的 1/5。试验为期 10 周，试验期间水温(26 ± 2)℃，溶解氧6 mg/L以

上，盐度 28 ± 2，pH 7.9 ~ 8.2。

表 1 饲料配方以及营养组成(干物质,质量分数)

Tab. 1 Formulation and chemical composition of the experimental diets(dry matter)

%

原料 Ingredients	D1	D2	D3
鱼粉 Fishmeal[1]	25.00	20.00	15.00
豆粕 Soybean meal	30.00	30.00	30.00
虾粉 Shrimp head meal	5.00	5.00	5.00
复合蛋白 Compound proteins(CM2[2])	0.00	5.38	10.75
面粉 Wheat flour	29.50	29.13	28.75
鱿鱼膏 Squid liver paste	1.50	1.50	1.50
混合油 Oil mixture[3]	3.50	3.50	3.50
氯化胆碱 Choline chiorlde	0.50	0.50	0.50
矿物质混合物 Mineral premix[4]	3.00	3.00	3.00
维生素混合物 Vitamin premix[5]	0.20	0.20	0.20
抗坏血酸多聚磷酸酯 VC	0.10	0.10	0.10
丙酸钙 Calcium propionate	0.15	0.15	0.15
海藻酸钠 Calcium alginate	1.00	1.00	1.00
乙氧基喹啉 Ethoxyquin	0.05	0.05	0.05
三氧化二钇 Yttrium oxide	0.50	0.50	0.50
粗蛋白 Crude protein	40.61	40.59	39.28
粗脂肪 Crude lipid	7.64	8.07	8.52
粗灰分 Crude ash	9.88	10.08	9.52

说明：1—鱼粉，内含粗蛋白 65.30%、粗脂肪 8.56%、粗灰分 14.10%（质量分数）；2—复合蛋白 CM2，由鸡肉粉、血球粉、豆粕、谷朊粉、包膜赖氨酸、包膜蛋氨酸、包膜苏氨酸、牛磺酸、丁酸甘油酯和甘氨酸等按一定比例混合而成，含粗蛋白 65.30%、粗脂肪 8.66%、粗灰分 6.30%（质量分数）；3—混合油，m（鱼油）：m（豆油）：m（大豆磷脂）＝1∶1∶1.5；4—每千克矿物质预混料含有 $FeC_6H_5O_7$ 6.86 g，$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 9.28 g，$MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 6.29 g，$CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 10.20 g，0.99% KIO_3 1.70 g，1% Na_2SeO_3 0.50 g，10% $C_{10}H_{22}N_2O_4S_2Co$ 5 g，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 614.49 g，KCl 191.62 g，NaCl 76.69 g，$C_6H_{10}CaO_6 \cdot 5H_2O$ 77.83 g；5—每千克维生素预混料含有 VA 1 000 000 IU，VD 40 000 IU，VE 20 g，VK_3 12 g，VB_1 12 g，VB_2 10 g，VB_6 12 g，VB_{12} 0.02 g，烟酸 30 g，泛酸钙 24 g，叶酸 2 g，生物素 0.2 g，肌醇 40 g。

Notes: 1 – Fishmeal, crude protein 65.30%, crude lipid 8.56%, crude ash 14.10% (mass ratio); 2 – Compound protein CM2 was mixed by poultry by product meal, blood meal, soybean meal, wheat gluten meal, coated lysine, coated methionine, coated threonine, taurine, tributyrin and glycine et al, which contain 65.30% crude protein, 8.66% crude lipid, 6.30% crude ash (mass ratio); 3 – Oil mixture, m (fish oil) : m (soybean oil) : m (soybean lecithin) = 1∶1∶1.5; 4 – Each kilogram of mineral premix contained $FeC_6H_5O_7$ 6.86 g, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 9.28 g, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 6.29 g, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 10.20 g, 0.99% KIO_3 1.70 g, 1% Na_2SeO_3 0.50 g, 10% $C_{10}H_{22}N_2O_4S_2Co$ 5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 614.49 g, KCl 191.62 g, NaCl 76.69 g, $C_6H_{10}CaO_6 \cdot 5H_2O$ 77.83 g; 5 – Each kilogram of vitamin premix contained VA 1 000 000 IU, VD 40 000 IU, VE 20 g, VK_3 12 g, VB_1 12 g, VB_2 10 g, VB_6 12 g, VB_{12} 0.02 g, nicotinic acid 30 g, calcium pantothenate 24 g, folic acid 2 g, biotin 0.2 g, inositol 40 g.

1.3 样品采集与测定

1.3.1 样品采集

试验结束后，禁食 24 h，对每个缸的对虾称总质量并记录对虾数量，用于计算成活率（survival rates，SR）、增重率（weight gain rate，WGR）、特定生长率（special growth rate，SGR）和饲料系数（feed conversion ratio，FCR）。然后，每缸随机捞取 15 尾对虾，用 1 mL 的一次性无菌注射器从头胸甲抽血，每尾对虾取血约 0.3 mL，每 3 尾对虾血置于 1 个 1.5 mL 离心管中，在 4 ℃冰箱放置 24 h 后，于 4 ℃下 3000 r/min 离心 10 min，取上清存于 –80 ℃冰箱中备用；将抽完血的 15 尾虾肝胰腺取出，立刻放入 10 mL 冻存管中置于液氮中保存。解冻后加入 9 倍体积的生理盐水，匀浆，2500 r/min

离心 10 min，取上清分装存于 -80℃备用；每缸随机挑选 10 尾虾置于 -20 ℃冰箱中用于体组成分析。每个缸随机选 5 尾虾，剥离肠道后立刻放入 2 mL 冻存管中并置于液氮中保存，用于测定肠道炎性因子基因（RAB、MIF、LITA、TNF 和 ATF4）的表达。对虾粪便于试验开始的第 5 周开始收集，饱食投喂后除去饲料残饵，等待 30 min 后用虹吸法将粪便吸出，用 200 目筛绢网小心去除海水，收集粪便并存于 -20 ℃冰箱，用于表观消化率测定。

虾体、饲料以及粪便的水分含量在 105 ℃烘箱中烘至恒重后进行测定；粗蛋白含量采用全自动定氮仪（Rapid N exceed，德国）测定；粗脂肪含量采用索氏抽提法测定；灰分采用 550 ℃灼烧法测定；能量采用氧弹测热仪（Parr 1281，美国）测定。饲料和粪便中磷（P）和钇（Y）含量的测定方法为加酸微波消解（JUPITER - B，多通量微波消解仪，上海新仪微波化学科技有限公司），随后稀释定容，用电感耦合等离子发射光谱仪（ICP - OES，Prodigy7，LEEMAE LABS，USA）测定溶液中 P 和 Y 的浓度。

1.3.2　血清和肝胰腺生化指标测定

血清碱性磷酸酶（alkaline phosphatase，AKP）、总超氧化物歧化酶（total superoxide dismutase，T-SOD）、总抗氧化能力（total antioxidant capacity，T-AOC）、过氧化物酶（peroxidase，POD）和酚氧化酶（phenoloxidase，PO），以及肝胰腺的碱性磷酸酶、过氧化氢酶（catalase，CAT）、总超氧化物歧化酶、丙二醛（malondialdehyde，MDA）和谷胱甘肽过氧化物酶（glutathione peroxidase，GSH-PX），全部采用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定，相应操作均参照试剂盒所附说明书进行。

1.3.3　RNA 提取、反转录和定量 PCR

1）凡纳滨对虾肠道总 RNA 的提取：取 50 ~ 100 mg 肠道组织进行总 RNA 的提取，然后通过琼脂糖凝胶电泳检测其完整性，用核酸蛋白分析仪（NanoDrop 2000，Wilmington，DE，USA）测定 RNA 的浓度。

2）cDNA 第一条链的合成及检测：用 Thermo 逆转录试剂盒-Revert Aid First Strand Cdna Synthesis Kit（#K1621，#K1622）进行 cDNA 第一条链的合成和检测，具体步骤按说明书进行。

3）实时荧光定量 PCR 进行定量分析：采用 SYBR® Green I 嵌合荧光法，使用 SYBR® Green Master Mix（AceQ® qPCR，南京诺唯赞生物科技有限公司）试剂，在 Thermal Cycler（ABIA StepOne PlusTM）仪器上进行。定量数据采用相对定量中的 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析，根据凡纳滨对虾肠道转录组序列（广州基迪奥生物科技有限公司进行的肠道 RNA 转录组测序），选择 β - *actin* 作为内参基因，每个反应设 3 个重复。

1.3.4　数据统计与分析

成活率（SR）、增重率（WGR）、特定生长率（SGR）、饲料系数（FCR）、摄食率（feeding rate，FR）、干物质表观消化率、营养素及能量表观消化率的计算公式如下：

$SR(\%) = (N_0 - N_t) \times 100/N_0$，　$WGR(\%) = (W_t - W_0) \times 100/W_0$，

$SGR(\%/d) = (\ln W_t - \ln W_0) \times 100/t$，　$FCR = W_f/(W_m - W_n)$，

$FR(\%/d) = W_f \times 100/((W_m/2 + W_n/2)/t)$，　干物质表观消化率$(\%) = 100 - 100 \times (A_1/A_2)$，

营养素及能量的表观消化率$(\%) = 100 - 100 \times (A_1 \times B_2)/(A_2 \times B_1)$，

其中：N_0 和 N_t 分别为初始和死亡的虾尾数，W_0 和 W_t 分别为虾初始均体重（g）和终末均体重（final body weight，FBW，g），t 为试验天数（d），W_f 为摄入的饲料总量（干重，g），W_m 和 W_n 分别为虾终末总体重和初始总体重；A_1 为饲料中指示剂 Y 的质量分数，A_2 为粪便中指示剂 Y 的质量分数，B_1 为饲料中某种营养素及能量的质量分数，B_2 为粪便中某种营养素及能量的质量分数。

试验数据采用 SPSS17.0 软件进行分析处理，各组试验的差异采用 one-way ANOVA 方差分析和 Duncan 氏多重比较。试验结果用平均值 ± 标准误差（mean ± SE）表示，$P < 0.05$ 时表示差异显著。

2 试验结果

2.1 复合蛋白 CM2 替代鱼粉对凡纳滨对虾生长性能的影响

由表 2 可知，各处理组间凡纳滨对虾成活率均高于 90%，各组增重率、特定生长率、摄食率和饲料系数无显著差异（$P > 0.05$）。

表 2 复合蛋白 CM2 替代鱼粉对凡纳滨对虾生长性能的影响

Tab. 2 Effects of fishmeal replacement by CM2 on growth performance of *L. vannamei*

组别 Group	末均体重 FBW /g	增重率 WGR /%	特定生长率 SGR /(% · d^{-1})	摄食率 FR /(% · d^{-1})	饲料系数 FCR	成活率 SR/%
D1	9.80 ± 0.18	1408.42 ± 27.55	3.88 ± 0.03	3.42 ± 0.02	1.11 ± 0.04	90.50 ± 2.22
D2	9.80 ± 0.28	1407.57 ± 43.72	3.87 ± 0.04	3.44 ± 0.08	1.08 ± 0.03	90.00 ± 2.16
D3	10.16 ± 0.14	1462.78 ± 21.54	3.93 ± 0.02	3.43 ± 0.05	1.08 ± 0.02	90.50 ± 2.50
P 值	0.42	0.42	0.42	0.69	0.79	0.87

2.2 复合蛋白 CM2 替代鱼粉对凡纳滨对虾体成分的影响

复合蛋白 CM2 替代鱼粉对凡纳滨对虾体成分的影响见表 3。从表 3 中可知，各处理组间水分、粗蛋白（grude protein，CP）、粗脂肪（ether extract，EE）和粗灰分的质量分数无显著差异（$P > 0.05$）。

表 3 复合蛋白 CM2 替代鱼粉对凡纳滨对虾体成分的影响

Tab. 3 Effects of fishmeal replacement by CM2 on body composition of *L. vannamei*

组别 Group	ω(水分 Moisture) /%	ω(粗蛋白 CP) /%	ω(粗脂肪 EE) /%	ω(粗灰分 Grude ash) /%
D1	75.64 ± 0.29	19.95 ± 0.10	1.51 ± 0.09	3.22 ± 0.10
D2	75.90 ± 0.36	19.87 ± 0.24	1.66 ± 0.06	3.17 ± 0.12
D3	76.03 ± 0.15	19.48 ± 0.19	1.73 ± 0.11	3.22 ± 0.13
P 值	0.62	0.21	0.28	0.95

2.3 复合蛋白 CM2 替代鱼粉对凡纳滨对虾表观消化率的影响

复合蛋白 CM2 替代鱼粉对凡纳滨对虾消化率的影响如表 4 所示。其中 D2 组对虾的干物质（dry matter，DM）、能量（gross energy，GE）以及磷的表观消化率都显著高于 D1 和 D3 组（$P < 0.05$），D2 组粗蛋白表观消化率与 D3 组差异不显著，但都显著高于 D1 组（$P < 0.05$）；D3 组对虾的干物质表观消化率显著低于 D1 组（$P < 0.05$），能量消化率与 D1 组差异不显著，而磷的表观消化率显著高于 D1 组（$P < 0.05$）。

表 4 复合蛋白 CM2 替代鱼粉对凡纳滨对虾消化率的影响

Tab. 4 Effects of fishmeal replacement by CM2 on digestibility of *L. vannamei*

组别 Group	ω(干物质 DM) /%	ω(粗蛋白 CP) /%	ω(能量 GE) /%	ω(磷 P) /%
D1	92.32 ± 0.47^{b}	98.90 ± 0.09^{a}	95.52 ± 0.30^{a}	77.88 ± 1.29^{a}
D2	94.37 ± 0.11^{c}	99.16 ± 0.02^{b}	96.56 ± 0.07^{b}	86.92 ± 0.45^{c}
D3	91.03 ± 0.31^{a}	99.32 ± 0.03^{b}	95.07 ± 0.36^{a}	82.85 ± 0.26^{b}
P 值	0.00	0.00	0.01	0.00

2.4 复合蛋白 CM2 替代鱼粉对凡纳滨对虾血清抗氧化的影响

各组凡纳滨对虾血清抗氧化的结果见表 5。各组对虾血清的 T-SOD、T-AOC、AKP 以及 PO 无显著差异（$P > 0.05$）。随着鱼粉替代水平的增加，对虾血清 POD 酶活力先升高后下降，D2 组最高，显著高于 D1 组和 D3 组（$P < 0.05$），而 D3 组与 D1 组对虾血清的 POD 酶活力无显著差异（$P > 0.05$）。

表 5　复合蛋白 CM2 替代鱼粉对凡纳滨对虾血清抗氧化的影响

Tab. 5　Effects of fishmeal replacement by CM2 on plasma antioxidant abilities of *L. vannamei*

组别 Group	AKP /(mU · mL^{-1})	T-SOD /(U · mL^{-1})	T-AOC /(U · mL^{-1})	POD /(U · mL^{-1})	PO /(ng · mL^{-1})
D1	4.34 ± 0.27	50.09 ± 1.87	6.29 ± 0.20	36.20 ± 0.63^{a}	78.6 ± 1.25
D2	3.96 ± 0.31	51.48 ± 1.45	6.04 ± 0.31	38.79 ± 0.84^{b}	77.0 ± 4.66
D3	3.78 ± 0.07	48.83 ± 2.17	6.69 ± 0.06	36.15 ± 0.34^{a}	81.3 ± 2.08
P 值	0.29	0.62	0.15	0.03	0.60

说明：同列数据肩标字母不同，代表组间差异显著。

Note：Each column has different shoulder letters and represents a significont different.

2.5　复合蛋白 CM2 替代鱼粉对凡纳滨对虾肝胰腺抗氧化的影响

各组凡纳滨对虾肝胰腺抗氧化结果见表 6。各组对虾肝胰腺的 AKP、CAT、T-SOD、MDA 和 GSH-PX均无显著差异（$P > 0.05$）。

表 6　复合蛋白 CM2 替代鱼粉对凡纳滨对虾肝胰腺抗氧化的影响

Tab. 6　Effects of fishmeal replacement by CM2 on hepatopancreas antioxidant abilities of *L. vannamei*

组别 Group	AKP /(U · g^{-1})	CAT /(U · mg^{-1})	T-SOD /(U · mg^{-1})	MDA /(nmol · mg^{-1})	GSH-PX /(U · mg^{-1})
D1	196.59 ± 5.09	74.75 ± 3.61	21.81 ± 1.17	2.53 ± 0.05	48.15 ± 1.97
D2	193.74 ± 0.91	81.73 ± 0.97	23.04 ± 1.23	2.55 ± 0.09	49.39 ± 0.62
D3	184.55 ± 5.24	72.65 ± 3.26	23.11 ± 1.30	2.52 ± 0.07	48.68 ± 5.02
P 值	0.17	0.12	0.71	0.96	0.96

2.6　复合蛋白 CM2 替代鱼粉对凡纳滨对虾肠道炎性因子相对表达量的影响

复合蛋白 CM2 替代鱼粉对凡纳滨对虾肠道中炎性因子相对表达量的影响见图 1，由图 1 可知，复合蛋白 CM2 替代鱼粉对各组凡纳滨对虾肠道的 RAB、MIF、LITA、TNF 和 ATF4 基因相对表达量无显著影响（$P > 0.05$）。

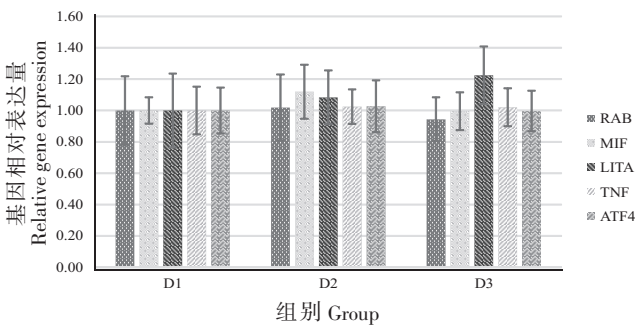

图 1　复合蛋白 CM2 替代鱼粉对凡纳滨对虾肠道炎性因子相对表达量的影响

Fig.1　Effects of fishmeal replacement by CM2 on expression of intestinal inflammatory cytokines of *L. vannamei*

3　讨论

本试验结果表明，复合蛋白 CM2 替代 5% ~10%（质量分数）的鱼粉，对凡纳滨对虾的生长无不利影响，同时摄食率、饲料系数等也无显著变化。这说明复合蛋白 CM2 能较好地替代饲料鱼粉。本试验所用复合蛋白 CM2 为多种原料的混合物，并且添加了蛋氨酸、赖氨酸以及苏氨酸等包膜氨基酸后提高了饲料中氨基酸的平衡，其蛋白质的质量分数为 65.30%，与鱼粉蛋白含量接近，用此复合蛋白 CM2 替代凡纳滨对虾饲料中的部分鱼粉，在等氮等脂条件下，其饲料中氨基酸组成以及其他成分并不会产生很大的变化，能够满足对虾的蛋白质营养需求。

一般而言，用其他植物或动物蛋白替代鱼粉之后，容易引起养殖鱼虾摄食率的降低。研究显示，在没有诱食剂的情况下，土豆浓缩蛋白替代 50%（质量分数）鱼粉，与全鱼粉对照组相比，虹鳟（*Oncorhynchus mykiss*）摄食率显著下降[16]。对此，复合蛋白 CM2 含有甘氨酸和牛磺酸等诱食剂，避免了其替代部分鱼粉后摄食量的降低，因此本试验中各组对虾的摄食率和饲料效率并没有受到替代水平的影响。同时，本试验中凡纳滨对虾摄食一定含量的复合蛋白 CM2 后其体成分没有显著变化，这也保证了养殖对虾的品质。

鱼粉替代之后，对饲料营养的利用率降低是导致增重下降的重要原因。有研究表明，大菱鲆饲料

用鱼粉替代之后，鱼体的生长速率显著降低，主要原因是，复合蛋白源替代营养物质使消化率降低[17]。随着鱼粉替代水平的升高，饲料干物质和蛋白的表观消化率均显著降低，可能是抗营养因子含量的增加导致肠道的形态结构受损，从而影响营养物质的吸收。而本试验结果表明 CM2 替代 5%（质量分数）鱼粉显著提高饲料干物质、蛋白、能量和磷的表观消化率。这可能有以下两方面原因：首先，CM2 通过人为的调配，达到氨基酸平衡，从而保证较好蛋白质的利用效率。如王爱民等[18]和陈冰等[19]的研究也发现饲料中氨基酸平衡具有提高饲料干物质、蛋白质及磷利用率的趋势。此外，丁酸甘油酯能够改善动物肠道形态结构，增强肠道的消化吸收功能，抑制饲料中豆粕含量过高导致的肠道炎症，保证了对虾肠道的健康[20-22]。Luhrs 等[23]对人类以及胡仁伟等[24]对大鼠的研究发现，丁酸钠能够有效防止结肠炎症的发生。而本试验中的 CM2 含有包膜丁酸钠，从而对肠道的健康起到保护作用，且本研究对对虾肠道的炎症因子基因的表达量的研究结果也支持了此推断。

PO、AKP 是评价对虾非特异性免疫力的重要指标，T-AOC、T-SOD、CAT、MDA 和 POD 是反映对虾机体抗氧化能力的重要指标。在本试验中，各组凡纳滨对虾血清 T-SOD 以及肝胰腺 MDA、CAT、T-SOD 和 GSH-PX 等指标无显著差异，表明 CM2 替代鱼粉并没有使凡纳滨对虾机体受到氧化损伤，而各组对虾血清 PO、AKP、T-AOC 和肝胰腺 AKP 等指标也未受试验处理影响，并且各组对虾的成活率均在 90% 以上，表明试验对虾的健康状况良好，用复合蛋白 CM2 替代鱼粉后不会对凡纳滨对虾的免疫与健康带来不利的影响。这与黄雄斌等[25]对方正鲫（*Carassius auratus*），刘勇等[26]对奥尼罗非鱼（*Oreochromisniloticus* × *O. aureus*）和方卫东等[27]对牛蛙（*Rana*（*Lithobates*）*catesbeiana*）的研究结果不同，他们的研究发现饲料中豆粕水平的提高会显著降低水产动物抗氧化能力。虽然本试验的复合蛋白 CM2 含有一定水平的豆粕，然而凡纳滨对虾血清和肝胰腺的抗氧化指标却未受替代水平的影响，这可能是由于丁酸钠和牛磺酸具有提高机体抗氧化能力的作用。如，张淞琳等[28]发现 0.1% 丁酸钠可提高美洲鳗鲡肝脏的总抗氧化能力和过氧化氢酶活力；乔丽红等[29]在饲料中添加 1g/kg 三丁酸甘油酯可显著提高建鲤肠道超氧化物歧化酶活性；徐奇友等[30]对虹鳟、邱小琮等[31]对鲤的研究发现，牛磺酸能保护生物系统免受氧的攻击，牛磺酸进入动物体后，提高动物体抗氧化能力，从而增强鱼体体质，提高机体的抗逆能力。因此，本试验复合蛋白 CM2 中包含的丁酸钠和牛磺酸，在一定程度上减缓了其替代鱼粉后对凡纳滨对虾的氧化损伤。

4 结论

用复合蛋白 CM2 替代 5% ~10%（质量分数）的鱼粉，不影响凡纳滨对虾的摄食、生长和体成分，且凡纳滨对虾能维持正常的非特异免疫和抗氧化能力；且用复合蛋白 CM2 替代 5%（质量分数）的鱼粉时可提高饲料的表观消化率。

[参 考 文 献]

[1] 张明海. 新型昆虫源蛋白质原料实现量产［J］. 科学养殖, 2016(10): 33-34.

[2] TACON A G J, METIAN M. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects［J］. Aquaculture, 2008, 285(1): 146-158.

[3] EUSEBIO B P S, COLOSO R M. Nutritional evaluation of various plant protein sources in diets for Asian sea bass *Lates calcarifer*［J］. Journal of Applied Ichthyology, 2000, 16(2): 56-60.

[4] MILLAMENA O M. Replacement of fish meal by animal by-product meals in a practical diet for grow-out culture of grouper *Epinephelus coioides*［J］. Aquaculture, 2002, 204(1): 75-84.

[5] SHIMENO S, MASUMOTO T, HUJITA T, et al. Alternative protein sources for fish meal in diets of young yellowtail［J］. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries (Japan), 1993, 59(1): 137-143.

[6] AKIYAMA D M. The use of soybean meal to replace white fish meal in commercially processed *Penaeus monodon* feeds in Taiwan［C］//TAKEDA M, WATATANABE T. Proceeding of the 3rd International Symposium on Feeding and Nutrition

in Fish. Toba: s. n. 1990: 289-299.

[7] MILLAMENA O M, BAUTISTA-TERUEL M N, REYES O S, et al. Requirements of juvenile marine shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius) for lysine and arginine [J]. Aquaculture, 1998, 164(1): 95-104.

[8] 周歧存，麦康森，刘永坚，等. 动植物蛋白源替代鱼粉研究进展 [J]. 水产学报，2005, 29(3): 404-410.

[9] 高美云，张通，刘宾，等. 豆粕抗营养因子及其生物改性的研究 [J]. 中国饲料，2010(3): 37-41.

[10] 陈科全，叶元土，蔡春芳，等. 饲料中豆粕含量对草鱼肝胰脏结构和功能的影响 [J]. 动物营养学报，2014, 26(7): 1873-1879.

[11] CHEN F, HAO Y, PIAO X S, et al. Soybean-derived β-conglycinin affects proteome expression in pig intestinal cells in *vivo* and *in vitro* [J]. Journal of Animal Science, 2011, 89(3): 743-753.

[12] 林建伟，张春晓，孙云章，等. 鸡肉粉完全替代鱼粉饲料中补充晶体氨基酸对凡纳滨对虾生长性能、体成分、血浆及肌肉游离氨基酸含量的影响 [J]. 动物营养学报，2015, 27(6): 7.

[13] AMAYA E, DAVIS D A, ROUSE D B. Alternative diets for the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. Aquaculture, 2007, 262(2): 419-425.

[14] 韩斌，黄旭雄，华雪铭，等. 玉米蛋白粉替代部分鱼粉对凡纳滨对虾摄食量、生长和肌肉成分的影响 [J]. 水产学报，2009, 33(4): 658-665.

[15] 邱红，李弋，侯迎梅，等. 鸡肉粉或猪肉粉部分替代鱼粉对凡纳滨对虾生长性能、饲料利用及血清生化指标的影响 [J]. 动物营养学报，2015, 27(9): 2784-2792.

[16] 解绶启，JOKUMSEN A. 饲料中土豆蛋白替代鱼粉对虹鳟摄食率、消化率和生长的影响 [J]. 水生生物学报，1999, 23(2): 127-133.

[17] 董纯，周慧慧，麦康森，等. 复合蛋白源替代鱼粉对大菱鲆生长、体组成和表观消化率的影响 [J]. 中国海洋大学学报（自然科学版），2015, 45(4) 27-34.

[18] 王爱民，刘文斌. 外源酶对异育银鲫鱼种生长及表观消化率的影响研究 [J]. 饲料工业，2006, 27(2): 26-29.

[19] 陈冰，齐飞，黄燕华，等. 豆粕和花生粕部分替代鱼粉添加四种添加剂对凡纳滨对虾饲料表观消化率的影响 [J]. 饲料工业，2014, 35(20): 19-24.

[20] PIVA A, PRANDINI A, FIORENTINI L, et al. Tributyrin and lactitol synergistically enhanced the trophic status of the intestinal mucosa and reduced histamine levels in the gut of nursery pigs [J]. Journal of Animal Science, 2002, 80(3): 670-680.

[21] 曲悦. 丁酸钠对动物胃肠道影响的研究进展 [J]. 中国畜牧兽医，2009, 36(8): 23-26.

[22] MANZANILLA E G, NOFRARIAS M, ANGUITA M, et al. Effects of butyrate, avilamycin, and a plant extract combination on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs [J]. Journal of Animal Science, 2006, 84(10): 2743-2751.

[23] LUHRS H, GERKE T, MULLER J G, et al. Butyrate inhibits NF-κB activation in lamina propria macrophages of patients with ulcerative colitis [J]. Scandinavian Journal of Gastroenterology, 2002, 37(4): 458-466.

[24] 胡仁伟，欧阳钦，王皓. 丁酸钠对三硝基苯磺酸实验性结肠炎的疗效研究 [J]. 四川大学学报（医学版），2003, 34(3): 562-564.

[25] 黄雄斌，李国富. 方正鲫饲料中发酵豆粕和豆粕替代鱼粉的研究 [J]. 湖南农业科学，2010(13): 143-145, 148.

[26] 刘勇，冷向军，李小勤，等. 豆粕替代鱼粉对奥尼罗非鱼生长，表观消化率及血清非特异性免疫的影响 [J]. 中国粮油学报，2009, 24(12): 95-100.

[27] 方卫东，鲁康乐，张春晓，等. 豆粕替代鱼粉对牛蛙生长、体组成、消化酶活力及肝脏生化指标的影响 [J]. 水产学报，2016, 40(11): 1742-1752.

[28] 张淞琳，常建波，叶继丹，等. 丁酸钠对美洲鳗鲡摄食、生长性能和抗氧化能力的影响 [J]. 福建农业学报，2011, 26(4): 549-551.

[29] 乔丽红，洑琴，温超，等. 三丁酸甘油酯对建鲤生长、体组成、肠道免疫功能的影响 [J]. 江苏农业科学，2014, 42(12): 275-278.

[30] 徐奇友，许红，郑秋珊，等. 牛磺酸对虹鳟仔鱼生长、体成分和免疫指标的影响 [J]. 动物营养学报，2007, 19(5): 544-548.

[31] 邱小琮，赵红雪，王远吉，等. 牛磺酸对鲤非特异性免疫及抗氧化能力的影响 [J]. 上海水产大学学报，2008, 17(4): 429-434.

(责任编辑　朱雪莲　英文审校　马　英)