

[文章编号] 1007-7405(2016)01-0001-09

矿物元素平衡对鸡肉粉替代凡纳滨对虾饲料鱼粉的影响

黄飞^{1,2}, 张春晓^{1,2}, 王玲^{1,2}, 宋凯^{1,2}, 骆源^{1,2}

(1. 集美大学农业部东海海水健康养殖重点实验室, 福建 厦门 361021;
2. 集美大学厦门市饲料检测与安全评价重点实验室, 福建 厦门 361021)

[摘要] 为探究低盐度养殖条件下鸡肉粉的矿物元素组成对鸡肉粉替代凡纳滨对虾饲料中的鱼粉的效果, 设计了3组等氮等脂的饲料, 其中对照组(FM组)含鱼粉30%(质量分数); 实验组以鸡肉粉完全替代鱼粉, 一实验组(PBM组)不添加矿物元素, 另一实验组(PBMF组)补充矿物元素使其达到FM组水平. 对初始重(0.30 ± 0.01)g的凡纳滨对虾幼虾进行8周的摄食生长实验. 实验结果显示: PBMF组的对虾增重率显著高于PBM组, 但显著低于FM组($P < 0.05$); PBM组的对虾血清碱性磷酸酶(AKP)、鳃丝总-ATP酶和 Na^+/K^+ -ATP酶活力显著高于FM和PBMF组($P < 0.05$); 但PBM组对虾的血清Na和Mn含量显著低于FM和PBMF组($P < 0.05$); PBMF组对虾全体的Mn含量显著高于FM和PBM组($P < 0.05$). 可见, 在盐度2~3下, 鸡肉粉的矿物元素组成不平衡是影响其替代凡纳滨对虾饲料中的鱼粉的效果的关键因素之一.

[关键词] 凡纳滨对虾; 鸡肉粉; 矿物质元素; 生长

[中图分类号] S 963.71

Effects of Mineral Balance on Fish Meal Replacement with Poultry by Product Meal in Diets for *Litopenaeus vannamei*

HUANG Fei^{1,2}, ZHANG Chun-xiao^{1,2}, WANG Ling^{1,2}, SONG Kai^{1,2}, LUO Yuan^{1,2}

(1. Key Laboratory of Healthy Mariculture for the East China Sea, Ministry of Agriculture, Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. Key Laboratory for Feed Quality Testing and Safety Evaluation, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: A feeding trial was conducted to determine the effects of mineral composition on fish meal replacement with poultry by-product meal in diets for *Litopenaeus vannamei* reared in low-salinity water. Three isoproteic and isolipidic diets were formulated. The control diet (FM) contained 30% of fish meal. The fish meal of FM was replaced by poultry by-product meal to formulate poultry by-product meal diets (PBM and PBMF). PBM wasn't supplemented with minerals, and the PBMF with mineral supplementation had the same mineral composition to FM. Juvenile shrimps with initial weight (0.30 ± 0.01) g were fed for 8 weeks. The results showed that: weight gain rate of shrimps in PBMF groups were significantly higher than PBM groups and lower than FM groups ($P < 0.05$). Shrimps in PBM groups had significantly higher serum AKP activity, gills T-ATPase and Na^+/K^+ -ATPase activity than those in FM and PBMF groups ($P < 0.05$), while the concentration of significantly Na and Mn is serum were lower than those in other groups. The Mn content in whole-body of shrimp in PBMF groups was significantly higher than that in FM and PBM groups ($P < 0.05$).

[收稿日期] 2015-05-06

[修回日期] 2015-05-14

[基金项目] 农业部公益性行业专项子项目(201303053); 福建省高校优秀人才支持计划(JA11145)

[作者简介] 黄飞(1987—), 男, 硕士生, 从事水产动物营养与饲料学研究. 通信作者: 张春晓(1979—), 男, 副教授, 博士, 硕士生导师, 从事水产动物营养与饲料学研究, E-mail: cxzhang@jmu.edu.cn.

These results suggest that the unbalanced mineral composition of poultry by-product meal is one of the key factors that affect replacement of dietary fish meal for *Litopenaeus vannamei* reared in 2 ~ 3 salinity water.

Keywords: *Litopenaeus vannamei*; poultry by-product meal; mineral elements; growth

0 引言

凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 俗称南美白对虾, 是当今世界养殖虾类产量最高的三大品种之一。由于其适应性广、生长速度快以及抗病能力强, 自 1988 年引进中国以来, 已迅速成为我国养殖面积最广和养殖产量最高的虾类养殖品种^[1]。目前, 商业凡纳滨对虾饲料中的鱼粉 (fish meal, FM) 的用量为 30% (质量分数) 左右, 但近些年来鱼粉价格的不断攀升使凡纳滨对虾饲料价格居高不下, 因而减少饲料中的鱼粉用量是节约养殖成本的关键^[2]。而且开发利用适合的蛋白质源替代鱼粉, 降低水产养殖对鱼粉的依赖, 不仅经济意义重大, 还可以避免因过度捕捞所带来的海洋生态环境问题。

众多动物性蛋白质源中, 鸡肉粉 (poultry by-product meal, PBM) 因其来源广, 蛋白质含量较高, 受到许多水产饲料研究者的关注。相比鱼粉, 鸡肉粉中的赖氨酸、蛋氨酸、色氨酸、半胱氨酸、组氨酸以及磷、钠、钾、镁和锰元素含量较低 (见表 1)。因此, 以鸡肉粉高比例替代对虾饲料中的鱼粉, 既可导致饲料中的氨基酸组成不平衡, 也会造成饲料中的部分矿物元素含量不足。在已有替代鱼粉的饲料研究中, 大多数学者会考虑饲料的氨基酸平衡因素^[3], 但少有学者会考虑矿物元素平衡因素。海水中富含多种矿物元素, 对虾可通过口、肠道、体表以及鳃膜从水体摄取一定量的矿物元素, 因而其对饲料中矿物元素依赖程度较低, 所以在海水养殖条件下可以用鸡肉粉高比例替代甚至全部替代凡纳滨对虾饲料中的鱼粉^[4-6]。

表 1 实验用鱼粉和鸡肉粉的常规成分、氨基酸和矿物质组成 (干物质基础)

Tab. 1 Proximate, amino acid and mineral compositions of fish meal and poultry by-product meal in the present test (dry-matter basis)

			%		
原料 Ingredients	鱼粉 Fish meal	鸡肉粉 Poultry by-product meal	原料 Ingredients	鱼粉 Fish meal	鸡肉粉 Poultry by-product meal
干物质 DM	91.92	94.48	色氨酸 Trp	1.76	0.78
粗蛋白质 CP	67.68	68.43	缬氨酸 Val	3.40	3.29
粗脂肪 EE	7.86	12.18	钙 Ca	2.57	3.07
粗灰分 Ash	16.40	10.98	磷 P	2.39	2.21
异亮氨酸 Ile	2.84	2.74	钠 Na	2.64	0.86
亮氨酸 Leu	4.81	4.79	钾 K	1.69	0.87
赖氨酸 Lys	4.99	4.26	镁 Mg	0.28	0.14
蛋氨酸 Met	1.86	1.47	铜 Cu	30.42×10^{-3}	43.58×10^{-3}
苯丙氨酸 Phe	2.56	2.62	锰 Mn	120.80×10^{-3}	19.58×10^{-3}
苏氨酸 Thr	2.68	2.67	锌 Zn	98.61×10^{-3}	118.00×10^{-3}

近年来, 凡纳滨对虾养殖规模不断扩大, 已由沿海向内陆扩展, 从海水养殖向低盐度水体甚至淡水池塘养殖发展。然而, 低盐度或淡水水体中多数矿物元素含量显著低于海水水体, 此条件下对虾正常生长所需要的部分矿物元素主要依靠从饲料中摄取。有研究表明饲料中适宜的钙、磷、钾或镁含量可促进凡纳滨对虾在水体盐度 2 ~ 4 下生长^[7-9]。因而, 以鸡肉粉高比例替代鱼粉可能会因饲料的部分矿物元素含量不足而影响低盐度养殖条件下凡纳滨对虾的生长, 但关于这方面的研究鲜有报道。为此, 本研究通过向鸡肉粉替代鱼粉的饲料中添加矿物元素, 依据凡纳滨对虾的生长性能、非特异免疫因子、血清渗透压以及虾体矿物元素组成等实验指标, 初步探究低盐度养殖条件下鸡肉粉的矿物元素组成对其替代凡纳滨对虾饲料中鱼粉效果的影响, 以期对凡纳滨对虾低鱼粉饲料的配制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1) 实验饲料 将饲料原料进行粉碎后,过80目筛网,按饲料配方(见表2)的比例逐级扩大均匀混合,然后加油加水,经双螺杆制粒机(CD4×1TS型多功能催化成型机,华南理工大学)制成粒径为1.0 mm和1.5 mm的颗粒饲料,自然风干后装袋,于-20℃冰箱保存备用。本实验配制3种等氮等脂的饲料,其中对对照组(FM)含30%(质量分数)的鱼粉,PBM实验组以鸡肉粉完全替代FM组的鱼粉,PBMF实验组在PBM组饲料中添加无机矿物盐,使其矿物元素达到FM组水平。3种实验饲料矿物质元素的含量见表3。根据鱼粉和鸡肉粉饲料中氨基酸含量的差异,PBM和PBMF组添加晶体氨基酸,使3种饲料的氨基酸水平相近。用鱼油和鸡油调节各组饲料达到相似的脂肪酸水平,以无机矿物盐和二氧化硅调节各组饲料的粗灰分达到相似水平。

2) 实验动物 实验所用凡纳滨对虾购于福建省厦门市海沧区育苗场,为人工孵化的同一批淡化虾苗,虾苗先在暂养缸中培育至幼虾(体重(0.3±0.01)g,体长(2.5±0.2)cm)。选用420尾表观正常、体质健壮以及规格均匀的幼虾,随机分配到12个有效体积为100 L的循环过滤水族缸中,每缸放35尾对虾,每组设4个重复,分别投喂3种实验饲料。

1.2 方法

1.2.1 饲养管理

养殖实验在集美大学水产学院水产实验场进行,为期8周。实验水源为经紫外消毒、沙滤的天然海水与曝气的自来水调配而成,盐度2~3,渗透压156 mmol/kg。每天分别在08:00—09:00,13:00—14:00和18:00—19:00投喂,按幼虾体重的6%~10%投饵。为了减少饲料营养物质在水中溶失,每个时间段的饲料分3~4轮投喂,每轮对虾摄食时间约15 min,到对虾达表观饱食为止,收集未食完的饲料用于计算摄食量。实验期间,养殖水体 ρ (溶氧)>6.5 mg/L, ρ (氨氮)<0.2 mg/L, ρ (亚硝酸盐)<0.02 mg/L,pH=(7.8±0.3),水温25~28℃。每天观察并记录对虾

表2 实验饲料配方及营养组成(干物质基础)

Tab.2 Formulation and proximate chemical composition of the test diets (dry-matter basis)

原料 Ingredients	%		
	FM	PBM	PBMF
鱼粉 Fish meal	30	0	0
鸡肉粉 Poultry by-product meal	0	30.5	30.5
豆粕 Soybean meal	20	20	20
虾粉 Shrimp meal	10	10	10
α -淀粉 Alpha-starch	30.8	28.7	28.7
鱼油 Fish oil	0	2	2
鸡油 Poultry oil	3.3	0	0
卵磷脂 Lecithin	2	2	2
氯化胆碱 Choline chloride (50%)	0.5	0.5	0.5
胆固醇 Cholesterol	0.5	0.5	0.5
维生素混合物 Vitamin premix	0.5	0.5	0.5
氨基酸混合物 Amino acid premix ¹⁾	0	1.0	1.0
矿物质混合物 Mineral premix ²⁾	0	0	2.63
二氧化硅 SiO ₂ ³⁾	0.8	2.63	0
维生素 C Vitamin C	0.5	0.5	0.5
酵母核酸 Yeast nucleic acid	0.5	0.5	0.5
褐藻酸钠 Sodium alginate	1	1	1
防霉剂 Anti-mold	0.15	0.15	0.15
抗氧化剂 Anti-oxidant	0.05	0.05	0.05
主要成分 Proximate chemical composition			
粗蛋白质 Crude protein	38.57	38.89	38.85
粗脂肪 Crude lipid	9.56	9.60	9.43
灰分 Ash	9.73	9.76	9.71

说明:1)100 g 氨基酸混合物中含赖氨酸(Lys)0.26 g,蛋氨酸(Met)0.14 g,组氨酸(His)0.12 g,半胱氨酸(Cys)0.20 g,色氨酸(Trp)0.25 g;2)100 g 矿物质混合物中含NaCl 1.49 g,KCl 0.35 g,KH₂PO₄ 0.30 g,MgSO₄·7H₂O 0.47 g,MnSO₄·H₂O 0.01 g;3)添加二氧化硅保持三组饲料的灰分含量相近。

Notes:1) Amino acid premix (100 g): Lys 0.26 g, Met 0.14 g, His 0.12 g, Cys 0.20 g, Trp 0.25 g; 2) Mineral premix (100 g): NaCl 1.49 g, KCl 0.35 g, KH₂PO₄ 0.30 g, MgSO₄·7H₂O 0.47 g, MnSO₄·H₂O 0.01 g; 3) SiO₂ was used to keep the same level of ash content in each test diet treatment.

表3 实验饲料矿物质元素含量(干物质基础)

Tab.3 The analysis on mineral element concentrations of test diets (dry-matter basis)

矿物元素 Minerals	(g·kg ⁻¹)		
	FM	PBM	PBMF
钙 Ca	11.13	12.47	12.28
磷 P	11.62	9.97	11.29
镁 Mg	2.24	1.39	2.03
钠 Na	7.36	5.05	7.70
钾 K	10.51	7.94	10.91
铜 Cu	15.15	16.92	16.84
锌 Zn	71.46	78.34	77.02
锰 Mn	85.70	37.47	87.01

的摄食、蜕壳及死亡情况。

1.2.2 实验样品制备

8 周养殖实验结束后, 对虾禁食 24 h, 分别称取每缸对虾质量并记录尾数。从每缸随机取 10 尾虾, 合并称重, 绞碎, 70 °C 烘干至恒重, 粉碎后的全虾样品装入密封袋置于 -20 °C 冰箱中保存, 备用于矿物元素含量分析。另从每缸随机取 15 尾虾, 用 1 mL 无菌注射器从对虾腹血窦处采集血淋巴, 按缸号合并样品, 放入灭菌离心管中混匀, 4 °C 静置 12 h, 然后以 3500 r/min 在 4 °C 下离心 10 min, 再收集血清并保存于 -80 °C 冰箱中待测。将采血过的对虾解剖, 剥离出肝胰腺和外壳, 按缸号合并的对虾肝胰腺置冻存管中, 于 -80 °C 冰箱保存。合并后的外壳, 于 65 °C 烘箱中烘干至恒重, 粉碎后的对虾外壳样品装入密封袋于 -20 °C 冰箱中保存, 备用于矿物元素含量分析。

1.2.3 实验指标测定

各组对虾的增重率 (weight gain rate, WGR) R_W 、饲料系数 (feed conversion rate, FCR) R_F 、蛋白质效率 (protein efficiency rate, PER) R_P 和成活率 (survival rate, SR) R_S 的公式^[2]分别为: $R_W(\%) = 100 \times (W_f - W_i)/W_i$, $R_F = I_f/(W_f - W_i)$, $R_P(\%) = 100 \times (W_f - W_i)/W_p$, $R_S(\%) = 100 \times N_f/N_i$, 其中: W_i —初始体重 (g), W_f —终末体重 (g), I_f —摄食饲料总量 (g), W_p —摄入蛋白质总量 (g), N_i —初始虾尾数, N_f —终末虾尾数。

对虾肝胰脏或血清的过氧化氢酶 (Catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione peroxidase, GSH-PX) 以及碱性磷酸酶 (Alkline phosphatase, AKP) 的酶活力, 鳃丝的 Na^+/K^+ -ATP 酶 (Na^+/K^+ -ATPase)、 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶 ($\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -ATPase) 和总 -ATP 酶 (T-ATPase) 的酶活力均采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定, 按照说明书步骤进行操作。

血清酚氧化酶 (phenol oxidase, PO) 活性的测定方法: 配制 2 mg · mL⁻¹ 的 L-DOPA 溶液作为反应底物, 以 0.1 mol · L⁻¹ 的磷酸钾盐缓冲液 (将 31.05 mL 0.1 mol · L⁻¹ KH₂PO₄ 溶液和 19.05 mL 0.1 mol · L⁻¹ K₂HPO₄ 溶液混合, 稀释至 500 mL, 调至 pH = 6.4) 为溶剂, 取 0.2 g L-DOPA 配制成 2 mg · mL⁻¹ 的溶液。室温下在 96 孔酶标板上加入 10 μL 血清和 220 μL L-DOPA 溶液, 立即在 490 nm 波长处测定吸光度值, 每间隔 10 s 读取 1 次, 共测定 180 s。以吸光度值对反应时间 (t) 作图, 把在实验条件下每分钟吸光度值增加 0.001 定义为一个酶活力单位 (U)。

饲料常规成分测定采用 AOAC 规定的方法^[10]。水分用烘箱 105 °C 中烘至恒重法; 粗蛋白质采用凯氏定氮法 (N × 6.25), 测定仪器为全自动凯氏定氮仪 (FOSS Kjelttec8400, USA); 粗脂肪测定按索氏抽提法 (乙醚为提取溶剂); 粗灰分测定为马福炉灰化法, 550 °C 灼烧 12 h。

矿物元素含量测定: 称取约 0.3 g 的样品 (全体、外壳和饲料, 均为干物质基础) 于消解罐中, 加入优级纯的浓硝酸 10 mL, 180 °C 下微波消解 40 min (JUPITER-B, 多通量微波消解仪, 上海新仪微波化学科技有限公司)。将消解液经 0.22 μm 过滤器 (滤膜) 过滤, 过滤液用双蒸水稀释后转移至 100 mL 容量瓶, 并定容摇匀, 用电感耦合等离子体原子发射光谱仪 (ICP-OES, Prodigy7, LEEMAE LABS, USA) 测定。

血清取 0.4 mL 按上述 (矿物元素含量的测定) 步骤进行测定, 血清渗透压测定所用仪器为冰点渗透压仪 (OM806, 德国 Loser 公司)。

1.3 数据处理和分析

实验数据采用 SPSS 17.0 统计软件进行单因素方差分析, 若差异显著, 则采用 Duncan 氏法进行多重比较, 差异显著性水平为 $P < 0.05$ 。所有数据均以平均值 ± 标准误 (Mean ± SE) 表示。

2 结果

2.1 饲料矿物元素水平对凡纳滨对虾生长性能的影响

由表 4 可知, 各处理组间凡纳滨对虾的存活率无显著性差异 ($P > 0.05$); 对虾的增重率和蛋白

质效率, 添加矿物盐的 PBMF 组显著高于 PBM 组, 但显著低于 FM 组 ($P < 0.05$); 而对虾饲料系数的趋势与之相反, 在 PBM 组取得最大值, 且显著高于其他处理组 ($P < 0.05$).

表 4 饲料矿物元素水平对凡纳滨对虾生长性能的影响

Tab. 4 Effects of dietary mineral element levels on growth performance of *Litopenaeus vannamei*

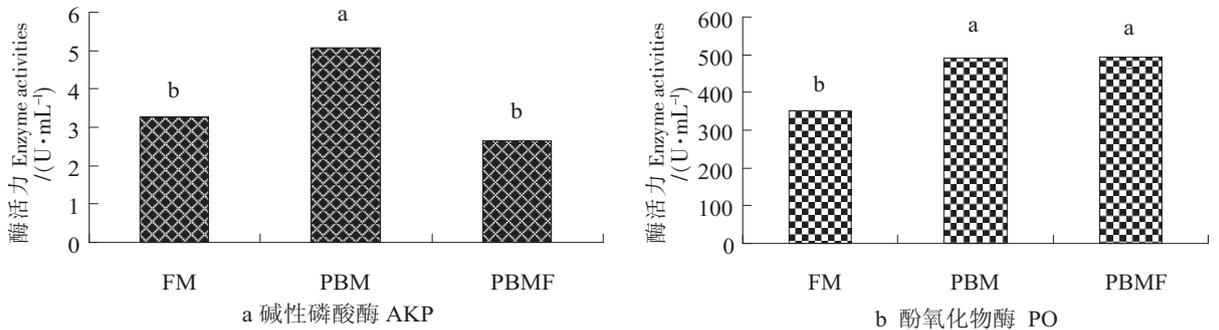
处理组 Treatments	FM	PBM	PBMF
增重率 WGR $R_w/\%$	1136.77 ± 18.46 ^a	737.52 ± 13.69 ^e	878.65 ± 20.63 ^b
饲料系数 FCR R_f	1.33 ± 0.02 ^c	1.73 ± 0.03 ^a	1.46 ± 0.06 ^b
蛋白质效率 PER $R_p/\%$	195.46 ± 3.38 ^a	148.39 ± 2.29 ^e	172.95 ± 2.19 ^b
成活率 SR $R_s/\%$	82.86 ± 2.86	84.76 ± 2.52	84.29 ± 2.97

说明: 平均数右上标字母不同的表示差异显著 ($P < 0.05$).

Note: Means with different superscripts showed significant differences ($P < 0.05$).

2.2 饲料矿物元素水平对凡纳滨对虾血清非特异免疫因子和肝胰腺抗氧化指标的影响

如图 1 所示, PBM 组对虾血清的 AKP 活力显著高于 FM 和 PBMF 组 ($P < 0.05$); PBM 和 PBMF 组之间对虾血清的 PO 活力差异不显著 ($P > 0.05$), 但它们显著高于 FM 组 ($P < 0.05$). 如图 2 所示, 对虾肝胰腺的 CAT 和 GSH-PX 活力在 FM、PBM 以及 PBMF 组之间差异不显著 ($P > 0.05$).

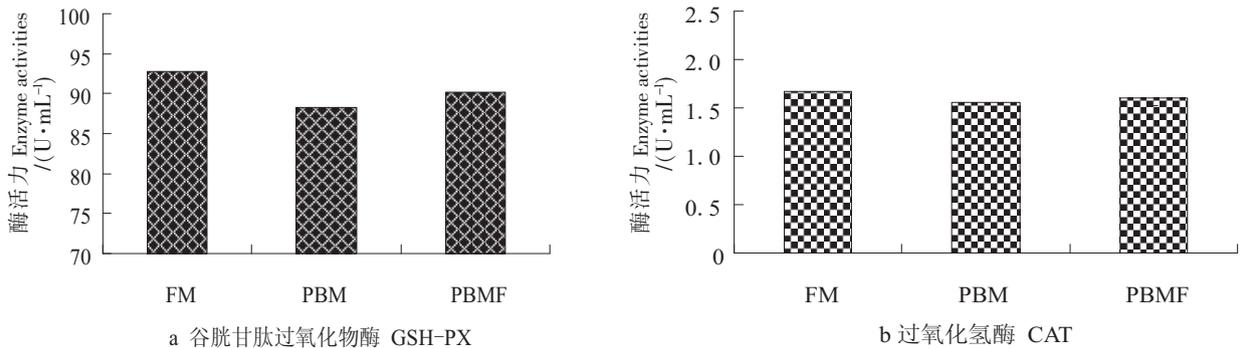


说明: 同一组数据中, 柱状图上方字母不同的表示差异显著 ($P < 0.05$).

Note: Bars with different superscripts in the same group had significant differences ($P < 0.05$).

图 1 饲料矿物元素水平对凡纳滨对虾血清 AKP 和 PO 活力的影响

Fig.1 Effects of dietary mineral element levels on serum AKP and PO activities of *Litopenaeus vannamei*



说明: 同一组数据中, 柱状图上方字母不同的表示差异显著 ($P < 0.05$).

Note: Bars with different superscripts in the same group had significant differences ($P < 0.05$).

图 2 饲料矿物元素水平对凡纳滨对虾肝胰腺 CAT 和 GSH-PX 活力的影响

Fig.2 Effects of dietary mineral element levels on CAT and GSH-PX activities in hepatopancreas of *Litopenaeus vannamei*

2.3 饲料矿物元素水平对凡纳滨对虾血清渗透压调节的影响

由表 5 可知, 各组之间凡纳滨对虾的血清渗透压和鳃丝 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 差异不显著 ($P > 0.05$); 对虾鳃丝的 $\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATPase}$ 和 $\text{T} - \text{ATPase}$ 活力在 FM 和 PBMF 组之间差异不显著 ($P > 0.05$), 但在 PBM 组取得最大值且显著高于其他组 ($P < 0.05$).

表 5 饲料矿物水平对凡纳滨对虾鳃丝 ATP 酶活力和血清渗透压的影响

Tab.5 Effects of dietary mineral element levels on gills ATPase activities and serum osmolality of *Litopenaeus vannamei*

处理组 Treatments	酶活力 Enzyme activity/($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$)			血清渗透压 Serum osmolality /($\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$)
	T - ATPase	$\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATPase}$	$\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$	
FM	6.67 ± 0.04 ^b	7.07 ± 0.29 ^b	2.98 ± 0.07	568.67 ± 8.97
PBM	7.68 ± 0.08 ^a	9.44 ± 0.83 ^a	3.04 ± 0.07	556.67 ± 9.13
PBMF	6.43 ± 0.18 ^b	6.69 ± 0.33 ^b	2.95 ± 0.09	567.67 ± 5.04

说明: 平均数右上标字母不同的表示差异显著 ($P < 0.05$).

Note: Means with different superscripts show significant differences ($P < 0.05$).

2.4 饲料矿物元素水平对凡纳滨对虾全体、外壳和血清的矿物元素含量的影响

由表 6 可知, 对虾 (全体和外壳) 中 Ca、P、Mg、Na、K、Cu 和 Zn 的质量比在 FM、PBM 以及 PBMF 组之间差异不显著 ($P > 0.05$); 对虾 (全体) 中 Mn 的质量比 PBMF 组显著高于 FM 和 PBM 组 ($P < 0.05$); 对虾 (外壳) 中 Mn 的质量比 PBM 组显著低于 PBMF 组 ($P < 0.05$), 但与 FM 组无显著差异 ($P > 0.05$); 对虾血清中 Na 和 Mn 的质量比 PBM 组显著低于 FM 与 PBMF 组 ($P < 0.05$), 而对虾血清中 Ca、P、Mg、K、Cu 和 Zn 的质量比在各处理组之间差异不显著 ($P > 0.05$).

表 6 饲料矿物水平对凡纳滨对虾全体、外壳以及血清矿物元素含量的影响

Tab.6 Effects of dietary mineral element levels on mineral element content in whole-body, exoskeleton and serum of *Litopenaeus vannamei*

处理组 Treatments		$w(\text{Ca})/$	$w(\text{P})/$	$w(\text{Mg})/$	$w(\text{Na})/$	$w(\text{K})/$	$w(\text{Cu})/$	$w(\text{Zn})/$	$w(\text{Mn})/$
		($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)				
全体 Whole-body	FM	23.57 ± 1.14	7.80 ± 0.16	1.97 ± 0.05	10.21 ± 0.67	11.84 ± 0.27	54.33 ± 1.07	87.17 ± 0.64	4.64 ± 0.24 ^b
	PBM	22.85 ± 0.73	7.65 ± 0.07	1.94 ± 0.03	9.89 ± 0.11	11.71 ± 0.16	54.00 ± 0.16	87.38 ± 0.84	4.03 ± 0.36 ^b
	PBMF	22.90 ± 0.46	7.86 ± 0.15	1.95 ± 0.02	10.16 ± 0.37	11.73 ± 0.12	52.75 ± 0.62	88.18 ± 2.45	6.32 ± 0.22 ^a
外壳 Exoskeleton	FM	88.25 ± 1.09	10.03 ± 0.11	3.91 ± 0.08	5.95 ± 0.07	6.48 ± 0.12	52.3 ± 0.49	41.56 ± 1.64	7.04 ± 0.22 ^{ab}
	PBM	87.94 ± 2.54	10.19 ± 0.59	3.92 ± 0.13	5.94 ± 0.11	6.49 ± 0.19	52.69 ± 1.57	41.24 ± 1.87	6.97 ± 0.04 ^b
	PBMF	88.85 ± 2.88	10.62 ± 1.21	3.94 ± 0.12	5.99 ± 0.13	6.55 ± 0.05	50.22 ± 1.26	41.87 ± 0.76	7.79 ± 0.33 ^a
血清 Serum	FM	0.42 ± 0.02	0.17 ± 0.01	0.02 ± 0.00	4.45 ± 0.03 ^a	0.52 ± 0.01	116.90 ± 2.59	12.38 ± 0.91	0.12 ± 0.01 ^a
	PBM	0.43 ± 0.00	0.16 ± 0.01	0.02 ± 0.00	4.21 ± 0.05 ^b	0.50 ± 0.01	112.82 ± 2.88	12.01 ± 0.49	0.08 ± 0.01 ^b
	PBMF	0.43 ± 0.02	0.17 ± 0.01	0.02 ± 0.00	4.57 ± 0.04 ^a	0.52 ± 0.01	114.49 ± 2.57	12.05 ± 0.61	0.13 ± 0.01 ^a

说明: 平均数右上标字母不同的表示差异显著 ($P < 0.05$).

Note: Means with different superscripts show significant differences ($P < 0.05$).

3 讨论

本研究结果表明, 鸡肉粉完全替代鱼粉显著降低了低盐度养殖条件下凡纳滨对虾的增重率, 鸡肉粉组饲料中补充矿物元素达到鱼粉组水平可显著提高对虾的生长性能。低盐度水体的部分矿物元素的含量显著低于海水, 在这种条件下的养殖对虾可能会因饲料矿物元素含量的不足而对其生长产生负面影响^[7-9]。本实验中鸡肉粉组 P、Na、K、Mg 和 Mn 的含量较鱼粉组低, 鸡肉粉完全替代对虾饲料中的鱼粉后, 不添加矿物盐的 PBM 组饲料中 P、Na、K、Mg 和 Mn 的含量相应地低于 FM 和 PBMF 组中

的(见表3),但这些矿物元素具有构成对虾甲壳、酶的辅基或激活剂、维持神经传导,以及调节渗透压和酸碱平衡等重要生理功能^[11-12],它们的缺乏可能是PBM组对虾生长性能较低的主要原因。虽然PBMF组饲料矿物元素含量和FM组相近,但其对虾的生长性能仍显著低于FM组,可能是由于鱼粉的营养物质利用率较高且含有核苷酸、活性肽、牛磺酸等已知或未知的促生长因子^[13-15]。鸡肉粉完全替代鱼粉没有影响对虾的存活率,这与其他学者对凡纳滨对虾饲料鱼粉的替代研究结果类似^[16-18],说明鸡肉粉中不存在对凡纳滨对虾健康不利的特殊因素。

磷是对虾表皮的关键成分,它可刺激对虾内表皮的生成与外骨骼的矿化,以及诱导控制碳酸钙的沉积^[19],虾体需要稳定的磷含量保证其正常的脱壳生长^[8];碱性磷酸酶(AKP)可催化磷酸单酯的水解反应,生成并转移磷酸基团,参与营养物质的消化吸收^[20]。因此,当对虾从饲料中获取的磷不足时,就可能激发体内AKP活力,水解磷酸单酯生成磷酸基团,用于对虾正常的脱壳生长。本研究中PBM组对虾血清的AKP酶活性显著高于FM和PBMF组的,一方面可能是因为其饲料磷含量较低,Cheng等^[8]研究发现凡纳滨对虾肝脏AKP活力随着饲料磷含量的增加而显著降低;另一方面,何海琪等^[21]证实二价阳离子可抑制对虾AKP的活力。本研究FM和PBMF组血清的AKP活力也较低,可能是由于饲料中Mg和Mn含量较高。酚氧化物酶(PO)是甲壳类动物主要的非特异性免疫因子,PO一般以酶原的形式存在于对虾血淋巴细胞内且不显活性,当受到某种因子刺激或生理功能需要时,酚氧化酶原(PPO)才会以PO的形式释放到血液中,发挥生理功能^[22]。PBM和PBMF组对虾血清的PO活力显著高于FM组,可能是由于鸡肉粉中含有的某些因子刺激PPO向PO转化,在血清中发挥非特异免疫作用,而机体较高的免疫水平会消耗大量能量,这也可能是PBMF组对虾增重率低于FM组的原因之一。谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)和过氧化氢酶(CAT)是生物体内的重要抗氧化酶,它们能清除体内过多的自由基,维护细胞的稳态^[23],本实验中各组抗氧化酶结果未表现出显著差异,说明鸡肉粉完全替代饲料鱼粉不会造成凡纳滨对虾肝胰腺的氧化应激。

本实验养殖水体渗透压($156 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$)远低于对虾血清的渗透压($500 \sim 600 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$),处于高渗透位的对虾面对着被动地吸水分和失去离子的胁迫。甲壳动物依赖对体内的水分和无机离子的转运来调节血淋巴渗透压以维持其正常的生命活动^[24]。对虾主要靠鳃组织进行离子转运,而且这些离子转运主要通过 $\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATPase}$ 、 $\text{V} - \text{ATPase}$ 、 $\text{HCO}_3^- - \text{ATPase}$ 和碳酸酐酶等多种离子转运酶的作用来完成,其中 $\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATPase}$ 大约占 $\text{T} - \text{ATPase}$ 活力的70%^[25-26]。本研究中,FM、PBM和PBMF组之间对虾的血清渗透压差异不显著,但PBM组对虾鳃丝的 $\text{T} - \text{ATPase}$ 和 $\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力显著高于FM和PBMF组,可能由于PBM组饲料的Na和K含量较低,对虾必须依靠鳃组织较高的 $\text{T} - \text{ATPase}$ 和 $\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力从水体中获取更多离子以维护血淋巴的渗透压稳定。本实验的结果表明,对虾血清中Na的含量是K、Ca和Mg的10倍以上,因而血清Na含量应当是影响血清渗透压水平的主要因素。FM和PBMF组对虾血清的Na含量显著高于PBM组,它们的血清渗透压也相应地高于PBM组,这些结果表明饲料中适宜的Na可提高凡纳滨对虾血清中的Na含量,并有利于对虾血淋巴渗透压的稳定。血淋巴中渗透压效应物不仅有无机离子,还有部分游离氨基酸、葡萄糖以及蛋白质等物质^[24]。当对虾处于高渗或低渗位时,大量氨基酸和葡萄糖也被用于渗透压调节或分解供能,而这也会影响对虾蛋白质和能量的沉积^[27-29]。因此,PBM组饲料的蛋白质效率较低、饲料系数较高以及生长性能较差,可能与其对虾的渗透压调节状态关系密切。所以,低盐度养殖凡纳滨对虾投喂鸡肉粉饲料,需要通过补充矿物盐来维持对虾的血淋巴渗透压稳定及正常生长。

各组对虾全体和外壳的矿物元素含量数据表明,鸡肉粉完全替代鱼粉不会显著影响虾体的Ca、P、Mg、Na、K、Cu、Zn和Mn的含量。虽然PBM组饲料中Na、K、Mg和Mn的含量低于FM和PBMF组,但其对虾可能依靠鳃丝较高的 $\text{T} - \text{ATPase}$ 活力主动地从水体中摄取相应的矿物离子以满足虾体的矿化需求。相比于Na、K和Mg,鸡肉粉中Mn的含量仅是鱼粉的 $1/6 \sim 1/7$,而且低盐度水体中Mn的含量也较低^[7],因此,对虾从饲料和水体中获取的Mn不足,可能是造成PBM组血清中Mn

含量低的主要原因。而 PBMF 组虾体的 Mn 含量高于 PBM 和 FM 组,可能是由于 PBMF 组饲料中添加的 $MnSO_4$ 比原料中的 Mn 更易被对虾吸收利用。根据本实验的对虾血淋巴渗透压调节结果和虾体矿物元素含量,可得出饲料中矿物元素含量不足可能会增加 PBM 组对虾的能量消耗(用以维持平衡的血清渗透压)及虾体矿物含量,进而对其生长产生负面影响。

综上所述,低盐度养殖条件下饲料中以鸡肉粉完全替代鱼粉,其矿物元素不平衡会通过影响凡纳滨对虾的虾体矿物元素组成和渗透压调节能力,从而降低其生长性能。可见,鸡肉粉的矿物元素组成不平衡是影响其替代凡纳滨对虾饲料中的鱼粉的效果的关键因素之一。

[参 考 文 献]

- [1] 中华人民共和国农业部. 中国渔业年鉴. 北京: 海洋出版社, 2005: 40-44.
- [2] TAN R K H, DOMINY W G. Commercial pelleting of crustacean feeds//D'ABRAMO L R, CONKLIN D E, AKIYAMA D M. Crustacean Nutrition Advances in World Aquaculture. Baton Rouge, Louisiana: World Aquaculture Society, 1997: 520-549.
- [3] YE J D, LIU X H, KONG J H, et al. The evaluation of practical diets on a basis of digestible crude protein, lysine and methionine for *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture Nutrition, 2012, 18(6): 651-661. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2011.00932.x.
- [4] CHI S Y, TAN B P, MAI K S, et al. Growth and feed efficiency of juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* fed formulated diets containing different levels of poultry by-product meal. Journal of Ocean University of China, 2009, 8(4): 399-403. DOI:10.1007/s11802-009-0399-8.
- [5] YE J D, WANG K, LI F D, et al. Incorporation of a mixture of meat and bone meal, poultry by-product meal, blood meal and corn gluten meal as a replacement for fish meal in practical diets of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at two dietary protein levels. Aquaculture Nutrition, 2011, 17(2): 337-347. DOI:10.1111/j.1365-2095.2010.00768.x.
- [6] LUO L, WANG J, PAN Q, et al. Apparent digestibility coefficient of poultry by-product meal (PBM) in diets of *Penaeus monodon* (Fabricius) and *Litopenaeus vannamei* (Boone), and replacement of fishmeal with PBM in diets of *P. monodon*. Aquaculture Research, 2012, 43(8): 1223-1231. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2011.02926.x.
- [7] ROY L A, DAVIS D A, SAOUD I P, et al. Supplementation of potassium, magnesium and sodium chloride in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared in low salinity water. Aquaculture Nutrition, 2007, 13(2): 104-113. DOI:10.1111/j.1365-2095.2007.00460.x.
- [8] CHENG K M, HU C Q, LIU Y N, et al. Effects of dietary calcium, phosphorus and calcium/phosphorus ratio on the growth and tissue mineralization of *Litopenaeus vannamei* reared in low-salinity water. Aquaculture, 2006, 251(2): 472-483. DOI:10.1016/j.aquaculture.2005.06.022.
- [9] CHENG K M, HU C Q, LIU Y N, et al. Dietary magnesium requirement and physiological responses of marine shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in low salinity water. Aquaculture Nutrition, 2005, 11(5): 385-393. DOI:10.1111/j.1365-2095.2005.00364.x.
- [10] AOAC. Official methods of analysis of official analytical chemists international. 16th ed. Gaithersburg, M D, USA: AOAC International, 1995: 1-28.
- [11] NRC (National Research Council). Nutrient requirements of fish and shrimp. Washington, D C: National Academies Press, 2011: 163-167.
- [12] 麦康森. 水产动物营养与饲料学. 北京: 中国农业出版社, 2011: 87, 135, 140.
- [13] LIU X H, YE J D, KONG J H, et al. Apparent digestibility of 12 protein-origin ingredients for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. North American Journal of Aquaculture, 2013, 75(1): 90-98. DOI:10.1080/15222055.2012.716019.
- [14] 滕绪霞. 鱼粉的营养特点及应用. 养殖技术顾问, 2014(3): 57.
- [15] 周歧存, 麦康森, 刘永坚, 等. 动植物蛋白源替代鱼粉研究进展. 水产学报, 2005, 29(3): 404-410.
- [16] DAVIS D A, ARNOLD C R. Replacement of fish meal in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus van-*
<http://xuebaobangong.jmu.edu.cn/zkb>

- namei*. *Aquaculture*, 2000, 185(3): 291-298. DOI:10.1016/S0044-8486(99)00354-3.
- [17] ZHU W, MAI K S, ZHANG B G, et al. A study on the meat and bone meal and poultry by-product meal as protein substitutes of fish meal in practical diets for *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Journal of Ocean University of China*, 2004, 3(2): 157-160. DOI:10.1007/S11802-004-0027-6.
- [18] CRUZ-SUÁREZ L E, NIETO-LÓPEZ M, GUAJARDO-BARBOSA C, et al. Replacement of fish meal with poultry by-product meal in practical diets for *Litopenaeus vannamei*, and digestibility of the tested ingredients and diets. *Aquaculture*, 2007, 272(1/4): 466-476. DOI:10.1016/j.aquaculture.2007.04.084.
- [19] ARSENAULT A L, CASTELL J D, OTTENSMEYER F P. The dynamics of exoskeletal-epidermal structure during molt in juvenile lobster by electron microscopy and electron spectroscopic imaging. *Tissue and Cell*, 1984, 16(1): 93-106. DOI:10.1016/0040-8166(84)90021-1.
- [20] BLASCO J, PUPPO J, SARASQUETE M C. Acid and alkaline phosphatase activities in the clam *Ruditapes philippinarum*. *Marine Biology*, 1993, 115(1): 113-118. DOI:10.1007/BF00349392.
- [21] 何海琪, 孙凤. 中国对虾酸性和碱性磷酸酶的特性研究. *海洋与湖沼*, 1992, 23(5): 555-560.
- [22] 陈国福, 黄健, 宋晓玲. 对虾免疫机能研究概况. *水产学报*, 2004, 28(2): 209-215.
- [23] TRENZADO C E, MORALES A E, PALMA J M, et al. Blood antioxidant defenses and hematological adjustments in crowded/uncrowded rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed on diets with different levels of antioxidant vitamins and HUFA. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2009, 149(3): 440-447. DOI: 10.1016/j.cbpc.2008.10.105.
- [24] 潘鲁青, 刘泓宇. 甲壳动物渗透调节生理学研究进展. *水产学报*, 2005, 29(1): 109-114.
- [25] MORRIS S. Neuroendocrine regulation of osmoregulation and the evolution of air-breathing in decapod crustaceans. *Journal of Experimental Biology*, 2001, 204(5): 979-989.
- [26] FURRIEL R P M, MCNAMARA J C, LEONE F A. Characterization of (Na⁺, K⁺)-ATPase in gill microsomes of the freshwater shrimp *Macrobrachium olfersii*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2000, 126(3): 303-315. DOI:10.1016/S0305-0491(00)00184-X.
- [27] DEATON L E. Hyperosmotic cellular volume regulation in the ribbed mussel *Geukensia demissa*: inhibition by lysosomal and proteinase inhibitors. *Journal of Experimental Zoology*, 1987, 244(3): 375-382. DOI:10.1002/jez.1402440304.
- [28] CARLOS ROSAS, GERARD CUZON, GABRIELA GAXIOLA, et al. Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrate levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2001, 259(1): 1-22. DOI:10.1016/S0022-0981(01)00222-2.
- [29] CUZON G, LAWRENCE A, GAXIOLA G, et al. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. *Aquaculture*, 2004, 235(1): 513-551. DOI:10.1016/j.aquaculture.2003.12.022.

(责任编辑 朱雪莲 英文审校 张子平)