

极低盐度下饲料蛋白质量分数对凡纳对虾生长表现和免疫状况的影响^{*}

刘栋辉¹, 何建国¹, 刘永坚¹, 郑石轩², 田丽霞¹

(1. 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275;

2. 湛江粤海饲料工程中心, 广东 湛江 524059)

摘要:探讨了在室外低盐度池塘网箱中饲料中 w (蛋白) 对凡纳对虾 *Litopenaeus vannamei* 幼虾生长表现和免疫状况的影响。设计6组等能饲料, 其 w (蛋白) 为20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%; 初始体质量为0.28 g左右的凡纳对虾幼虾放养在悬挂于池塘中的18个小网箱中(1 m×1 m×1.2 m), 每个处理设置3个网箱, 每箱放养100尾幼虾, 池塘水的盐度约为 10^{-3} , 虾自由摄食, 饲养期为6周。结果表明, 存活率没有显著差异。凡纳对虾的摄食量、特殊生长率和饲料效率在饲料 w (蛋白) 从20%增长到40%时随 w (蛋白) 增加而显著增加, 蛋白质效率和氮保留效率则饲料 w (蛋白) 最低(20%)和最高(45%)的组显著低。全虾和肌肉粗蛋白含量随饲料 w (蛋白) 增加而显著增加。肝胰脏糖原和肝脂肪含量在饲料 w (蛋白) 从20%升至35%时随饲料 w (蛋白) 增加而显著降低, 在饲料 w (蛋白) 高于35%的组中随饲料 w (蛋白) 加而显著升高, 而肌糖原在饲料 w (蛋白) 从20%增至30%时显著降低, 在饲料 w (蛋白) 高于30%的组间无显著差异。肌脂肪在各组间无显著差异。血淋巴细胞总数、血淋巴蛋白和血蓝蛋白含量、酚氧化酶活性、盐度应激测试存活率只有饲料 w (蛋白) 为20%的组显著低于其它各组, 在饲料 w (蛋白) 高于20%的组之间无显著差异。从本试验表明, 在低盐度室外池塘中, 凡纳对虾幼虾在自由摄食条件下, 生长表现对饲料 w (蛋白) 的反应表明其适宜饲料 w (蛋白) 在40%, 饲料 w (蛋白) 低于30%导致 w (肝糖原) 和 w (肝脂肪) 显著增高, 饲料 w (蛋白) 低于20%导致免疫状况降低。

关键词: 凡纳对虾 *Litopenaeus vannamei*; 蛋白质; 免疫

中图分类号: S963 文献标识码: A 文章编号: 0529-6579 (2005) S2-0217-07

凡纳对虾 *Litopenaeus vannamei* 由于其显著的盐度耐受性, 可生长于极低盐度(10^{-3} 以下)的咸淡水中。近年来, 由于养虾环境的日益恶化, 沿海地区对虾暴发性疾病越来越难以控制, 对虾养殖有向内陆地区发展的趋势。2004年我国凡纳对虾产量估计达到30万t以上, 其中至少有30%为内陆养殖。内陆养虾主要通过抽取地下盐水或运输盐卤水配制海水。由于盐水的成本高, 换水受到限制, 养殖水体的盐度相对较低, 在幼虾期以后通常只有 10^{-3} 左右。在这种“淡水”中养殖的对虾在后期出现生长停滞, 活力差, 不耐运输和操作, 虾壳较薄, 不易蜕壳或蜕壳不完全, 虾体颜色较淡, 体积大而质量轻, 肌肉与壳之间有空隙; 肌肉水分含量较高, 蒸煮后易发生收缩, 弹性和味道差等问题。这些问题可能与虾的渗透调控、免疫状况以及蛋白代谢有关, 解决途径涉及到养殖水体和饲料组成的调整。

在饲料组成中, w (蛋白) 是最重要的指标。有好几项室内研究从生长和饲料转换的角度评估了凡纳对虾在较高盐度下的适宜饲料 w (蛋白), 报道的适宜 w (蛋白) 从15%到超过36%^[1-3]。在室外池塘研究中报道了凡纳对虾幼虾在较高盐度下的适宜饲料 w (蛋白) 低于20%^[6-7], 但这些研究没有评估池塘天然生产力对虾的贡献以虾的饲料摄食量。

虾的免疫系统具有固有的蛋白质基础。Sritunyaluksane等^[8]报道虾的防御反应通常通过血细胞介导的酚氧化酶原激活系统, 催化单酚的O-羟化以及酚氧化为醌导致黑色素的合成, 单酚和醌都对微生物具有杀伤能力。Destoumieux等^[9]发现虾的固有免疫反应也依靠血淋巴细胞中一种对虾抗菌素的抗菌肽来完成, 对虾抗菌素通过一种具有种特异性抑制机制活跃地抵抗很大范围内的病原, 尤其针对革兰氏阳性菌。血蓝蛋白不仅有运输功能,

* 收稿日期: 2005-03-22

基金项目: 湛江粤海饲料工程中心资助项目(2004-33210-7101061)

作者简介: 刘栋辉(1972年生), 男, 讲师; E-mail: ls59@zsu.edu.cn

Destoumieux 等^[10]发现它还具有抗真菌，Adachi 等^[11]发现它有类酚氧化酶原功能。

综上所述，我们发现凡纳对虾的适宜饲料 w （蛋白）受到许多因素的影响，包括虾的规格、参考营养需求标准、饲料组成、蛋白来源、投饲率、饲养系统、环境条件等。在营养需求研究中统一这些研究条件是非常必要的。由于，在极低盐度下有关凡纳对虾的适宜 w （蛋白）尚未有报道，本试验的目的在于用小型网箱饲养系统模拟室外池塘养虾系统，探讨在极低盐度下饲料 w （蛋白）对凡纳对虾生长表现、机体组成及其免疫状况的影响。

1 验材料与方法

1.1 试验饲料

试验饲料配方和成分分析如表 1 所示，设计 6 组等产能值饲料 w （蛋白）为 20%，25%，30%，35%，40%，45%，平均产能值为 388 kcal/100g， w （脂肪）保持恒定。将各种饲料原料按表 1 配方中的比例准确称量后，用搅拌机（A—200T Mixer, Canada）搅拌 10 min，按原料质量加入 25%的水，继续搅拌 10 min，用双螺杆挤条机（华南理工大学机械工程研究所制造）制成颗粒直径为 1.2 mm 的试验饲料，自然晒干，贮存于-5℃的冰箱中备用。

表 1 实验饲料配方及营养组成

Tab 1 Formulation and composition of experimental diet						$w/\%$
组别	1	2	3	4	5	6
虾头蛋白粉 ¹⁾	40	40	40	40	40	40
酪蛋白	0	4.8	10	14.7	19.6	24.5
明胶	0	1.2	2.5	3.7	4.9	6.1
熟木薯淀粉	44.7	38.7	32.2	26.3	19	11.7
几丁质	1	1	1	1	1	1
纤维素	2.2	3.4	4.6	5.8	7	8.2
鱼油	1	1	1	1	1	1
复合维生素 ²⁾	2	2	2	2	2	2
复合矿物盐 ³⁾	4	4	4	4	4	4
胆固醇	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
大豆磷脂	1	1	1	1	1	1
营养成分组成/%						
粗蛋白	20.2	25.1	30.5	35.3	40.3	45.2
粗脂肪	8.9	8.9	8.9	8.9	8.9	8.9
总糖	50	43.9	37.2	31.2	25	18.9
灰分	9.1	9.2	9.2	9.3	9.3	9.4
平均产能值 APV ⁴⁾	388.1	388.1	388.2	388.1	388.1	388.1
蛋能比 P/APV ⁵⁾	53.4	66.1	79.9	92.2	104.9	117.3

1) 虾头蛋白粉: 由湛江大富洋公司提供, 粗蛋白, 49.6%; 粗脂肪, 16.8%; 总糖, 15.4%;

2) 复合维生素 (mg/g): 氨基苯酸 5; 生物素 0.5; 肌醇 200; 泛酸钙 10; B6 4; B2 5; B5 20; B1 5; VK₃ 4; VA 2000IU; VD₃

500IU; VE 40; B12 0.01; 叶酸 1.5; 氯化胆碱 400; Mg-LAPP 100;

3) 复合矿物质 (mg/g): 复合矿物质 (mg/g): FeSO₄·7H₂O 5.0; MgSO₄·H₂O 300.0; CuSO₄·5H₂O 4.5; MnSO₄·7H₂O 10.0; ZnSO₄·7H₂O 22.0; CoCl₂·6H₂O 1.0; AlCl₃·6H₂O 0.15; CaH₂PO₄ 655.8; NaSeO₃ 0.011; KI 1.5;

4) 平均产能值 (APV) kcal/g: 蛋白质, 5.1; 糖, 4.1, 脂肪, 9.0 (Cuzon and Guillaume, 1997);

5) 可消化蛋白能量比 (P/APV) mg/kcal: 蛋白质按实测值

1.2 试验虾和饲养管理

试验在广东省中山市港口镇庆严虾场进行，试验虾来自虾场幼虾培育池，平均体质量为 0.28 g。用于试验的虾塘面积为 0.33 hm²，平均水深 1.5 m，放养凡纳对虾幼虾 30 万尾，沿虾塘四周离池边 5 m 安置小网箱（1 m×1 m×1.2 m）21 个，露出水面部分为 20 cm，在虾塘四角安装 2 台 1.5 HP 的水车式增养机。试验共 6 组饲料，每组饲料设 3 个重复，每个网箱放养 100 尾虾，另设置一个空白对照组不投喂任何饲料。虾塘水为抽取的地下水，放养幼虾前已进行曝气、沉淀、消毒和藻类培养。每天按体质量 20%~10% 平均分二次投喂饲料，时间分别为 9:00 和 16:00。饲料投放在用细网目筛绢制作的圆形饲料台里，饲料台直径 51 cm，高 5 cm，面积约 0.2 m²，每周通过饲料台评估虾的质量并调整投饲量。每次投饲时将饲料台提起，收集上一次投饲剩余的饲料于 105℃ 烘干称量。试验期间养虾塘基本不换水，增养机开启时间为 0:00—8:00，试验周期为 6 周。试验期间水温为 (26.5±2.0)℃，pH 为 7.5±0.4，溶解氧为 4~9 mg/L，盐度为 (1~3)×10⁻³。

1.3 盐度应激测试

饲养试验结束后，每箱随机每批次取 10 尾虾放入 30 L 去氯自来水中停留 60 min，然后将虾转移到 36×10⁻³ 的海水中 60 min，试验重复 3 批次，记录每批次试验虾的死亡率。

1.4 样品的采集和分析

1.4.1 样品采集 饲养试验结束后，称量虾并计数。每箱随机取虾 3 尾，立即处死，剪碎，放于烘瓶中，制备全虾样品。另取 5 尾虾，用 1 mL 注射器（25 G）从每尾虾的围心腔抽取 100 μL 血淋巴，注射器中先抽取 0.9 mL 抗凝剂（柠檬酸钠 30 mmol/L，氯化钠 0.34 mol/L，EDTA 10 mmol/L，pH 7.55，渗透压 780 mOsm·kg⁻¹），将 5 尾虾的血淋巴样混合制备血淋巴样品。抽取血淋巴后的虾迅速取出肝胰脏，称量后用液氮速冻制备肝胰脏样品，置于-20℃ 冰箱保存，剥离肌肉取 0.5 g 左右用液氮

速冻, 其余放于烘瓶中于 105 ℃烘干。

1.4.2 血淋巴细胞计数 将 20 μL 含抗凝剂的血淋巴混合物滴到血细胞计数板上, 用反相显微镜计数血淋巴细胞总数。

1.4.3 酚氧化酶活性测定 将 100 μL 血淋巴细胞溶液和 50 μL 胰蛋白酶 (1 mg/ml) 在室温下孵育 10 min, 然后加入 50 μL L-多巴, 5 min 后再加入 800 μL 亚甲磺酸盐缓冲液 (亚甲磺酸钠 0.01 mol/L, 氯化钠 0.45 mol/L, 氯化钙 0.01 mol/L, 氯化镁 0.26 mol/L, pH 7.0), 在 490 nm 处用 Hitachi U-2200 分光光度计 (Tokyo, Japan) 测定光密度。虾的酚氧化酶活性以每 100 μL 血淋巴的光密度表示。

1.4.4 血蓝蛋白 (OxyHc) 和血淋巴蛋白测定 将 100 μL 血淋巴迅速稀释于 900 μL 蒸馏水中, 倒入 10 mm 比色皿, 在 335 nm 处测量吸光值, 血蓝蛋白的计算根据 Chen 等^[12] 消光系数采用 $e=17.26$, 以相对分子质量为 74000 功能性亚基为标准。血淋巴蛋白采用 Bio-Rad 蛋白分析盒 No. 500-0006 (Bio-Rad, USA), 用小牛血清白蛋白 (相对分子质量为 66 000) 为标准品。

1.4.5 常规营养成分测定 饲料、全虾的水分、粗蛋白、粗脂肪含量分别采用 105 ℃常压干燥法, 凯氏定氮法, 索氏抽提法^[13]。肝胰脏脂肪测定采用甲醇-二甲缩醛法抽提。肝胰脏和肌肉糖原含量测定采用硫酸-酚法^[14]。

1.5 统计分析

实验结果用平均数±标准差表示, 经单因子方差分析 (one way anovy) 之后, 采用 Duncan's 多重比较法分析实验结果平均数的差异显著性 ($P<0.05$), 所用软件为 "STAT FOR WINDOWS 5.0"。

2 试验结果

2.1 生长表现

由表 2 可知, 凡纳对虾摄食不同 w (蛋白) 的饲料后, 生长表现出显著的差异, 但存活率没有显著差异。凡纳对虾的摄食量、增质量、特殊增长率在饲料 w (蛋白) 从 20% 至 40% 时随 w (蛋白) 增加而显著增加, 当 w (蛋白) 为 45% 时, 生长表现指标与 40% 的饲料蛋白组没有显著差异。饲料效率的变化趋势与生长一致, 但蛋白质效率和氮保留效率则在摄食 w (蛋白) 最低 (20%) 和最高 (45%) 的饲料时最低, 当饲料 w (蛋白) 在 25% 至 40% 时, 蛋白质效率随饲料 w (蛋白) 升高而升高, 而氮保留效率则没有显著差异。

2.2 肝胰脏、全虾和肌肉组成

由表 3 可知, w (肝胰脏糖原) 在饲料 w (蛋

白) 从 20% 至 35% 时随饲料 w (蛋白) 增加而降低, 但在饲料 w (蛋白) 为 20% 至 30% 的组间没有显著差异, 当饲料 w (蛋白) 从 35% 增至 45% 时, 肝胰脏糖原含量随饲料 w (蛋白) 增加而升高, 在 45% 饲料蛋白组显著高。 w (肝胰脏脂肪) 的变化与 w (肝胰脏糖原) 的变化趋势相同。 w (肝胰脏水分) 则与 w (肝胰脏糖) 原以及 w (脂肪) 的变化趋势相反。

w (全虾粗蛋白) 随饲料 w (蛋白) 增加而增加, 以摄食 w (蛋白) 最低 (20%) 的组 w (全虾粗蛋白) 最低, 显著低于摄食饲料 w (蛋白) 高于 30% 的各组。 w (全虾脂肪) 虽然以饲料蛋白最低与最高的组高于其它组, 但在各组间无显著差异。 w (全虾水分) 与 w (脂肪) 变化趋势相反, 但各组间没有显著差异。

w (肌肉粗蛋白) 随饲料 w (蛋白) 增加而显著增加, 以摄食 w (蛋白) 最低 (20%) 的组 w (肌肉粗蛋白) 最低, 显著低于摄食饲料 w (蛋白) 高于 30% 的各组。 w (肌肉糖原) 在饲料 w (蛋白) 从 20% 至 35% 时随饲料 w (蛋白) 增加而降低, 但在饲料 w (蛋白) 为 20% 至 30% 的组间没有显著差异, 当饲料 w (蛋白) 从 35% 增至 45% 时, w (肌肉糖原) 随饲料 w (蛋白) 增加而升高, 但在 35% 至 45% 饲料蛋白组之间无显著差异。 w (肌肉脂肪) 在各组之间无显著差异。 w (肌肉水分) 则与 w (肌肉糖) 原以及 w (脂肪) 的变化趋势相反。

2.3 血淋巴指标与盐度应激测试存活率

由表 4 可知, 当饲料 w (蛋白) 从 20% 升高至 40% 时, 血淋巴细胞总数, 酚氧化酶活性、血蓝蛋白和血淋巴蛋白都随饲料 w (蛋白) 增加而增加, 但只有饲料 w (蛋白) 最低 (20%) 的组以上血淋巴指标显著低于其它各组, 在饲料 w (蛋白) 高于 20% 的各组中则没有显著差异。盐度应激测试的存活率在饲料 w (蛋白) 从 20% 至 30% 时随饲料 w (蛋白) 增加而增加, 在饲料 w (蛋白) 高于 30% 的组中没有显著差异。

3 讨论

有关凡纳对虾幼虾的蛋白需求的报道结果非常不统一。Colvin 等^[1] 报道凡纳对虾幼虾摄食 w (蛋白) 为 25%, 30%, 35%, 40% 的半纯化饲料 4 周, 发现饲料 w (蛋白) 为 25% 时饲料转换率最高, 他们认为幼虾的饲料蛋白需求水平低于 30%。Smith 等^[3] 报道 0.4 g 的幼虾摄食 w (蛋白) 高于 36% 的饲料获得最佳生长; Aranyakananda 等^[3] 报道

凡纳对虾幼虾摄食 w (蛋白) 在 10% 至 45% 的饲料时, 发现饲料 w (蛋白) 高于 25% 时虾的增重无显著差异, 但他们认为幼虾的最适饲料 w (蛋白) 为 15%。Cousin^[4] 推荐幼虾在饲料 w (蛋白) 为 30% 时获得最佳生长; 最近, Kureshy 等^[5] 表明幼虾最佳生长的 w (蛋白) 高于 32%, 饲料 w (蛋白) 为 48% 时获得更好的饲料效率, 幼虾的维持蛋白需求为 1.8 ~ 3.8 mgDP / g BW d, 而中成虾为 1.5 ~ 2.1 mg DP / g BW d; 幼虾的最大生长蛋白需求为 46 mg DP / g BW d, 而中成虾为 24 mg DP / g BW d。Teichert Coddington 等^[6] 报道大小为 0.3 ~ 1.9 g 的幼虾在池塘中摄食 w (蛋白) 为 20% 和 40% 的饲料, 发现饲料 w (蛋白) 对虾的增量没有显著影响, 与较早前 Teichert Coddington 等^[7] 报道幼虾摄食 w (蛋白) 为 25% ~ 35% 的饲料进行的研究结果相同。结果不统一的原因主要与饲养条件 (室内或室外)、实验饲料、幼虾规格、投饲方式 (定量或饱食) 以及评判指标有关。

在甲壳类的营养研究中, 饲养系统的选择比较关键。室内饲养系统虽然容易控制环境条件, 但在室内系统中虾比较难以达到在自然环境下的生长潜力, 比如 0.1 ~ 1.0 g 的凡纳对虾在自然条件下的日生长率在 12% ~ 5% 之间, 1.0 ~ 5.0 g 的幼虾日生长率基本上保持在 5% 左右, 而在许多室内系统中虾的日生长率通常只能达到 3% 左右, 原因可能是由于在室内系统中尚有一些目前未知的因素导致虾的生长不理想。本试验设计不同以往的室外营养研究采用池塘或水泥池, 而是采用小体积的网箱, 主要原因是基于容易操作和控制, 水体环境条件基本相同, 可以记录虾的摄食量, 通过设置不投饲料的网箱可以参考池塘天然生产力对虾的贡献。

从本试验结果看来, 在极低盐度下, 凡纳对虾幼虾摄食 w (蛋白) 为 40% 的饲料生长表现 (增质量、特殊生长率和饲料效率) 最好, 其日生长率 (7.32%) 甚至高于池塘对照的日生长率 (7.26%)。未投饲料的空白对照组的增质量 (16.5 g) 只有 w (蛋白) 为 40% 饲料蛋白组增质量 (393.6 g) 的 4.2%, 似乎可以忽视池塘的天然生产力对虾的生长贡献, 但不可否认虾塘的天然生产力可能虽不足以“充饥”, 但它们提供的天然栖息场所以及藻类细菌碎屑中维生素、酶等未知生长因子却可能达到“锦上添花”的作用。Cuzon 等^[8] 认为凡纳对虾能根据饲料的能量水平调节摄食率, 可通过增加摄食率来弥补低蛋白饲料中蛋白质的缺乏。然而, 在极低盐度下, 本试验的结果显然并不支持凡纳对虾幼虾能通过增加摄食率来弥补饲料中

蛋白质的缺乏而达到与摄食高蛋白饲料同样生长的观点。为什么在极低盐度下凡纳对虾幼虾需要高水平的饲料蛋白质呢? 这可能与虾在极低盐度条件下的渗透调控有关。

Claybrook 等^[6] 表明甲壳类在低盐度条件下利用蛋白质作为氨基酸来源以维持渗透压平衡, 这种渗透压的“亚”平衡依赖于鳃上 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATP 酶的高活性吸收体外环境中的离子, 依赖于血淋巴中源源不断的有机分子充当渗透调控分子。然而, 支持渗透压平衡的氨基酸和能量的来源都必需依赖于肝胰脏的强大功能。一方面消化、吸收和分解食物来源的蛋白质提供氨基酸和能量, 另一方面通过肝胰脏合成和分解血蓝蛋白调节氨基酸的收支, 在食物来源的蛋白质不足以维持氨基酸的来源时, 肌肉中的蛋白质就被动员。由于凡纳对虾的己糖激酶的活力不高限制了葡萄糖作为能量来源。当虾摄食低蛋白高糖饲料时, 一方面导致用来维持生长和渗透压的氨基酸来源减少, 另一方面吸收过多的葡萄糖必然引起肝胰脏中糖原的积累并达到饱和。Rosas 等^[17-19] 在蓝对虾 *L. stylirostris* 和凡纳对虾 *L. vannamei* 中报道肝胰脏贮存糖原的能力是有限的, 当肝胰脏糖原饱和后, 糖原充当了阻止氨基酸和肽进入肝胰脏 B 细胞的物理屏障。肝胰脏中糖原的积累。在本试验中, 摄食低 w (蛋白) (20%) 高糖饲料的 w (虾肝胰脏糖原) 显著高可能损害了肝脏的蛋白质代谢功能。其后果对解释在低盐度条件下, 当虾摄食低蛋白高糖饲料时呆滞不活跃, 脱壳不完全, 生长差, 出现虾空壳, 全虾和肌肉蛋白质量分数低的现象似可言之成理。

虾的免疫功能有其固有的蛋白基础, Pascual 等^[20] 报道凡纳对虾摄食 w (蛋白) 为 40% 的饲料时一些免疫指标 (血淋巴细胞总数、基础和激活的呼吸曝) 比摄食 w (蛋白) 为 5% 和 15% 的饲料显著高, 但随饲料 w (蛋白) 的增加观察到凝集活性降低。由于以上试验中饲料 w (蛋白) 梯度在较低一端过低, 难以确定对免疫状况没有显著影响的饲料 w (蛋白)。在本试验中, 当饲料 w (蛋白) 在 20% 时, 凡纳对虾的血淋巴指标如细胞总数、酚氧化酶活性、血蓝蛋白和血淋巴蛋白均显著低, 许多研究表明这些非特异免疫指标的高低可反映虾的免疫状况, 在本试验中也发现摄食低蛋白饲料的虾在盐度应激测试中存活率显著低, 说明这些虾的抗应激能力降低。但与生长表现指标比较起来, 以免疫指标作为确定凡纳对虾适宜饲料 w (蛋白) 的相对来说敏感性较低。

表 2 不同饲料蛋白水平对凡纳对虾幼虾生长表现的影响¹⁾

Tah 2 Effect of various levels of dietary protein on the growth performance of pacific white shrimp (mean±SD, n= 3)

项目	w(蛋白)						
	20%	25%	30%	35%	40%	45%	空白 池塘
初始体质量/g	0. 28	0. 28	0. 28	0. 28	0. 28	0. 28	0. 28 0. 28
末体质量/g	2. 00±0. 05 ^a	3. 23±0. 12 ^b	3. 80±0. 15 ^c	4. 92±0. 07 ^d	5. 56±0. 09 ^e	5. 49±0. 17 ^e	0. 84 5. 32
存活率/%	74. 3±2. 9 ^a	73. 7±2. 9 ^a	76. 3±4. 2 ^a	74. 0±2. 7 ^a	74. 3±2. 2 ^a	73. 3±1. 8 ^a	53. 7 70
摄食量	395. 6±14. 3 ^a	474. 1±21. 4 ^b	522. 5±24. 9 ^b	598. 1±18. 4 ^c	609. 2±18. 8 ^c	593. 5±12. 7 ^c	
特殊增长率/%	4. 76±0. 04 ^a	5. 97±0. 04 ^b	6. 34±0. 11 ^c	7. 01±0. 04 ^d	7. 32±0. 06 ^e	7. 29±0. 06 ^e	0. 84 7. 26
饲料效率/%	30. 4±7. 1 ^a	44. 2±7. 5 ^b	50. 0±8. 9 ^{bc}	56. 1±6. 4 ^c	64. 7±6. 1 ^c	64. 0±6. 0 ^c	
蛋白质效率/%	150. 3±7. 6 ^a	174. 9±7. 8 ^b	165. 4±9. 6 ^b	159. 0±3. 9 ^a	160. 8±2. 7 ^b	141. 2±6. 6 ^a	
氮保留效率/%	23. 9±1. 9 ^a	29. 4±2. 3 ^b	28. 0±2. 6 ^b	26. 9±0. 7 ^a	28. 3±2. 5 ^{ab}	25. 3±1. 2 ^a	

1) 特定增长率/%=(e^(ln末总质量-ln初总质量)/t-1)×100; 存活率/%= 末尾数/初尾数×100; 饲料效率/%=(末总质量-初始总质量)/摄食量×100; 蛋白质效率/%=(末总质量-初始总质量)/摄食蛋白量×100; 氮保留效率/%=(末虾含N总量-初始虾含氮总量)/摄食总N×100; 同一行数据右上角的不同英文字母表示有显著差异(P<0.05), 以下各表相同

表 3 不同 w(饲料蛋白)对凡纳对虾肝胰脏、全虾和肌肉组成的影响

Tah 3 Effect of various levels of dietary protein on the composition of hepatopancreas whole body and muscle

项目	w(饲料蛋白)					
	20%	25%	30%	35%	40%	45%
肝胰脏						
水分/%	76. 37±0. 42 ^a	76. 42±0. 32 ^a	77. 66±0. 26 ^{ab}	78. 26±0. 35 ^b	78. 04±0. 28 ^b	76. 44±0. 24 ^a
肝糖原/%	1. 25±0. 12 ^b	1. 21±0. 14 ^b	1. 05±0. 09 ^b	0. 48±0. 15 ^a	0. 68±0. 08 ^{ab}	1. 35±0. 17 ^b
粗蛋白/%	12. 85±0. 23	12. 89±0. 15	12. 90±0. 22	13. 18±0. 17	13. 24±0. 20	13. 32±0. 18
脂肪/%	14. 88±0. 53 ^b	14. 60±0. 27 ^b	13. 54±0. 23 ^a	13. 25±0. 39 ^a	13. 67±0. 37 ^a	14. 52±0. 16 ^b
全虾						
水分/%	78. 82±0. 48 ^b	78. 64±0. 42 ^{ab}	78. 45±0. 36 ^{ab}	78. 16±0. 52 ^{ab}	77. 36±0. 40 ^a	77. 24±0. 44 ^a
粗蛋白/%	14. 88±0. 15 ^a	15. 51±0. 15 ^{ab}	16. 07±0. 09 ^b	16. 33±0. 12 ^b	16. 49±0. 10 ^b	16. 75±0. 16 ^b
粗脂肪/%	2. 65±0. 23	2. 34±0. 24	2. 05±0. 33	1. 85±0. 23	1. 98±0. 16	2. 73±0. 19
肌肉						
水分	80. 36±0. 24 ^b	79. 64±0. 34 ^b	78. 82±0. 35 ^{ab}	78. 39±0. 18 ^a	77. 70±0. 23 ^a	77. 44±0. 18 ^a
粗蛋白	16. 21±0. 14 ^a	16. 56±0. 13 ^{ab}	16. 70±0. 11 ^b	16. 77±0. 16 ^b	17. 38±0. 12 ^c	17. 50±0. 18 ^c
粗脂肪	1. 08±0. 06	0. 94±0. 08	0. 92±0. 05	0. 97±0. 08	1. 04±0. 07	1. 08±0. 07
糖原	0. 87±0. 15 ^b	0. 74±0. 09 ^{ab}	0. 63±0. 04 ^{ab}	0. 47±0. 10 ^a	0. 56±0. 07 ^a	0. 52±0. 06 ^a

表 4 不同 w(饲料蛋白)对凡纳对虾幼虾血淋巴细胞总数、酚氧化酶原、血淋巴蛋白以及盐度应激测试存活率的影响

Tah 4 Effect of various levels of dietary protein on the total haemocyte count (THA), phenoloxidae (PO) activity, haemolymph protein contentand salinity test survival of pacific white shrimp (mean±SD, n= 3)

项目	w(蛋白)/%					
	20	25	30	35	40	45
每 mL 血淋巴细胞总数/10 ⁵	216. 4±22. 3 ^a	278. 2±15. 7 ^b	292. 5±23. 4 ^b	306. 3±15. 8 ^b	313. 4±20. 6 ^b	328. 4±18. 5 ^b
每 100mL 酚氧化酶活性	0. 11±0. 03 ^a	0. 23±0. 05 ^b	0. 24±0. 04 ^b	0. 27±0. 05 ^b	0. 28±0. 03 ^b	0. 28±0. 04 ^b
c(血蓝蛋白)/(mmol·L ⁻¹)	0. 95±0. 09 ^a	1. 27±0. 05 ^{ab}	1. 32±0. 08 ^b	1. 34±0. 07 ^b	1. 38±0. 06 ^b	1. 38±0. 06 ^b
ρ(血淋巴蛋白)/(mg·mL ⁻¹)	68. 6±7. 5 ^a	95. 8±6. 2 ^b	102. 5±8. 4 ^b	105. 4±10. 3 ^b	110. 6±6. 9 ^b	114. 5±14. 2 ^b
盐度应激测试存活率/%	30. 0±6. 7 ^a	63. 3±4. 4 ^b	80. 0±6. 7 ^c	80. 0±0. 0 ^c	83. 3±4. 4 ^c	86. 7±4. 4 ^c

参考文献:

[1] COLVIN L B, BRAND C W. The protein requirement of penaeid shrimp at various life cycle stages in controlled environment systems[J] . Proc World Maric Soc 1977, 8: 821—840.

[2] SMITH L L, LEE P G, LAWRENCE A L, et al. Growth and

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

- digestibility by three sizes of *Penaeus vannamei annamensis* Boone: effects of dietary protein level and protein source [J]. *Aquaculture*, 1984, 46: 85—96.
- [3] ARANYAKANANDA P, LAWRENCE A L. Dietary Protein and Energy Requirements of the White-legged Shrimp, *Penaeus Vannamei* and the Optimal Protein to Energy Ratio. From Discovery to Commercialization[M]. Oostende, Belgium: European Aquaculture Soc, 1993: 21.
- [4] COUSIN M, CUZON G, BLANCHET E, et al. Protein requirements following an optimum dietary $\dot{Z}$ energy to protein ration for *Penaeus annamensis* juveniles//Kaushik S J, et al, eds. *Fish Nutrition in Practice*[M]. Paris, France: Institut National de la Recherche Agronomique, 1995: 599—606.
- [5] KURESHY N, DAVIS D A. Protein requirement for maintenance and maximum weight gain for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. *Aquaculture*, 2002, 204 (1—2): 125—143.
- [6] TEICHERT-CODDINGTON D R, ARRUE M. Effects of protein diets and stocking density on production of *Penaeus vannamei* cultured in earth ponds [J]. *Rev Latinoam Acuicult*, 1988, 35: 29—33.
- [7] TEICHERT-CODDINGTON D R, RODRIGUEZ R. Semi-intensive commercial grow-out of *Penaeus annamensis* fed diets containing differing levels of crude protein during wet and dry seasons in Honduras[J]. *J World Aquacult Soc*, 1995, 26: 72—79.
- [8] SRITUNYALUCKSANA K, SÖDERHALL K. The proPO and clotting system in crustaceans[J]. *Aquaculture*, 2000, 191: 53—69.
- [9] DESTOUMIEUX D, MONZ M, BULET P, et al. Penaeidins, a family of antimicrobial peptides from penaeid shrimp (Crustacea, Decapoda)[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2000, 57: 1260—1271.
- [10] DESTOUMIEUX D, SAULNIER D, GARNIER J, et al. Antifungal peptides are generated from the C terminus of shrimp hemocyanin in response to microbial challenge[J]. *J Bio Chem*, 2001, 276: 47070—47077.
- [11] ADACHI K, HIRATA T, NISHIOKA T, et al. Hemocyte components in crustaceans convert hemocyanin into a phenoloxidase-like enzyme[J]. *Comp Biochem Physiol*, 2003, 134B: 135—141.
- [12] CHEN J C, CHENG S Y. Hemolymph PCO_2 , hemocyanin, protein level and urea excretions of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia[J]. *Aquat Toxicol*, 1993, 27: 281—292.
- [13] 林鼎, 毛永庆, 刘永坚, 编. 鱼类营养学实验[M]. 广州: 中山大学出版社, 1987: 58—65.
- [14] DUBOIS M K, LILLES L A, HAMILTON J C, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. *Anal Chem*, 1965, 28: 350—356.
- [15] CUZON G. Nutritional review of *Penaeus stylirostris*[J]. *Reviews Fish Sci*, 1998, 6: 129—141.
- [16] CLAYBROOK D L. Nitrogen metabolism//Mantel L H, ed. *The Biology of Crustacea, Internal Anatomy and Physiological Regulation*[M]. New York: Academic Press, 1983: 163—213.
- [17] ROSAS C, CUZON G, GAXIOLA G, et al. Influence of dietary carbohydrate on the metabolism of juvenile *Litopenaeus stylirostris*[J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 2000, 249: 181—198.
- [18] ROSAS C, CUZON G, TABOADA G, et al. Effect of dietary protein and energy levels (P/E) on growth, oxygen consumption, hemolymph and digestive gland carbohydrates, nitrogen excretion and osmotic pressure of *Litopenaeus vannamei* and *L. setiferus* juveniles (Crustacea, Decapoda: Penaeidae)[J]. *Aquacult Res*, 2001b, 32: 1—20.
- [19] ROSAS C, CUZON G, GAXIOLA G, et al. Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrates levels[M]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 2001a, 259: 1—22.
- [20] PASCUAL C, ZENTENO B, CUZON G, et al. *Litopenaeus vannamei* juveniles energetic balance and immunological response to dietary protein[J]. *Aquaculture*, 2004, 236: 431—450.

Effects of Dietary Protein Levels on Growth Performance and Immune Condition of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* Juveniles at Very Low Salinity

LIU Dong hui¹, HE Jian guo¹, LIU Yong jian¹, ZHENG Shi xuan², TIAN Li xia¹

(1. School of Life Sciences, Sun Yat sen University, Guangzhou 510275, China;

2. Zhanjiang Yuehai Feed engineering center, Zhanjiang 524059, China)

Abstract: An experiment was conducted to determine of the response of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* juvenile to isoenergetic diets containing various protein and carbohydrate levels. Six diets containing various levels of protein (20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%) were formulated and prepared. Each treatment had triplicate nets (1 m×1 m×1.2 m) deposited in the middle of shrimp pond and 100 juveniles (average body weight 0.28 g) were

acclimated in each net. The salinity of the pond water was about 1ppt. The shrimp were fed ad lib their respective diets for 6 weeks. There were no differences in survival rates among all feeding groups. Results showed that the feed intake, special growth rate (SGR), feed efficiency ratio (FER) improved with increase in dietary protein level from 20% to 40% and then leveled off when dietary protein level exceeded 40%. Protein efficiency ratio (PER) and nitrogen retention of the lowest (20%) and highest (40%) dietary protein groups were significantly lower than other groups. Whole body and muscle protein content increased with increase in dietary protein level from 20% to 45%. The hepatopancreas glycogen and lipid content decreased with dietary protein level increasing from 20% to 35% and then leveled off when dietary protein level exceeded 35% to 40%, and finally increased in the highest dietary protein group (45%), whereas muscle glycogen content decreased with dietary protein level increasing from 20% to 30% and then leveled off. There was no difference in muscle lipid content among all groups. A reduction of total hemocyte count, hemolymph protein and hemocyanin content, phenoloxidase activity and survival rate of salinity challenge test was only found in the lowest dietary protein group (20%), which indicated dietary protein lower than 20% would impair the immune condition of the shrimp. Therefore, it is recommended that 40% dietary protein should be included in feed used in low salinity shrimp culture pond to improve growth and to keep good health.

Key words: Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*; protein; immune condition