

新型饲料添加剂对对虾生长和免疫力的影响

赵利敏¹, 谭力¹, 朱小花^{1*}, 王荣辉^{1,2}

(1. 深圳市深博泰生物科技有限公司, 广东深圳 518120; 2. 湛江市博泰生物化工科技实业有限公司, 广东湛江 524004)

摘要 [目的]研究新型饲料添加剂对对虾生长和免疫力的影响。[方法]以初始体质量为(0.52±0.08)g的对虾为研究对象,探讨新型添加剂对对虾生长和免疫力的影响。试验设置2个试验组(A、B)组和1个对照组(C组)分别投喂饲料;对照组为对虾专用饲料,A组为在对虾专用饲料中添加1%新型饲料添加剂,B组为在对虾专用饲料中添加2%新型饲料添加剂。[结果]新型饲料添加剂可提高对虾存活率和增重率,降低饲料系数。当新型饲料添加剂添加量为2%,可显著促进对虾生长;试验组的酚氧化酶(PO)、超氧化物歧化酶(SOD)、溶菌酶(LSZ)活力均高于对照组。[结论]新型饲料添加剂具有促进对虾生长和提高免疫力的作用,其最佳添加量为2.0%。

关键词 对虾;新型饲料添加剂;生长;非特异性免疫力

中图分类号 S968.22 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)27-0128-03

Effects of New Feed Additive on the Growth and Immune Functions of Shrimps

ZHAO Li-min, TAN Li, ZHU Xiao-hua^{*} et al (Shenzhen Botai Biotechnology Co., Ltd., Shenzhen, Guangdong 518120)

Abstract [Objective] To study the effects of new feed additive on the growth and immunity of shrimps. [Method] Using shrimps with an initial body mass of (0.52±0.08) g as research objects, the effects of new feed additive on the growth and immunity of shrimps were discussed. The experiment included two treatment groups (A, B) and control group (C). The shrimps were fed with reference diets with different levels of 0 (C), 1.0% (A) and 2.0% (B) new feed additive. [Result] The new feed additive increased the survival rate and growth rate of shrimps, and decreased the feed coefficient. 2.0% new feed additive significantly promoted the growth of shrimps. Compared with control group, the activities of phenol oxidase (PO), superoxide dismutase (SOD) and lysozyme (LSZ) in treatment groups were significantly increased. [Conclusion] New feed additive could improve the growth performance and immune function of shrimps, and its appropriate level was 2.0%.

Key words Shrimp; New feed additive; Growth; Non-specific immunity

我国是世界渔业大国之一,水产品总量达到世界前列^[1],每年都产生大量的虾壳、蟹壳和鱼头等副产品。据统计,每生产1 t 虾仁或虾制品就会产生5~6 t 虾壳和虾头等下脚料^[2]。这些虾下脚料含粗蛋白36%~40%^[3]。由于缺乏综合加工利用技术的深入研究,我国的水产品下脚料部分直接干燥用作饲料,部分被直接丢弃,导致资源浪费以及海洋、陆地环境的严重污染^[4]。

水产养殖一般为集约化高密度模式,因此饲料添加剂是实现动物生长发育的主要营养来源,所需成本高,约占总养殖成本的50%~60%^[5],且国内外水产品安全事件时时发生^[6],因此,为进一步规范水产品添加剂的使用,消除消费者对水产品食品安全问题的质疑,开发绿色、高效、环保和安全的新型饲料添加剂势在必行。研究表明,蝇蛆是一种优质的动物蛋白源^[7-8],但蝇蛆粉存在安全隐患^[9-10]和消化率低^[11],而目前对蝇蛆酶解物的新型饲料添加剂研究甚少。笔者研究了新型饲料添加剂对对虾生长和免疫力的影响,旨在为蝇蛆酶解物在水产品饲料中的应用提供理论支持。

1 材料与方

1.1 试验材料 试验对虾由湛江博泰养殖场提供,选择个体整齐、健壮活泼的对虾为试验对象,初始体质量为(0.52±0.08)g。新型饲料添加剂,由深圳市深博泰生物科技有限公

司研发,由湛江市博泰生物科技有限公司生产,生产许可证编号为饲添(2010)1502。

1.2 试验分组 试验设置2个试验组(A、B组)和1个对照组(C组),对照组饲喂对虾专用饲料;A组饲喂在对虾专用饲料中添加1%的新型饲料添加剂;B组饲喂在对虾专用饲料中添加2%的新型饲料添加剂。对虾专用饲料和添加剂混匀后造粒,制成粒径为0.25 mm的颗粒后保存备用。新型饲料添加剂由课题组自主研发。

1.3 试验方法

1.3.1 新型饲料添加剂营养成分的测定。粗蛋白含量的测定采用凯氏定氮法(GB/T 6432—1994);粗脂肪含量的测定采用索氏抽提法(GB/T 6433—2006);粗灰分含量的测定采用550℃灼烧法(GB/T 6438—2007);水分的测定采用105℃烘箱干燥法(GB/T 6435—2006);水溶性氯化物的测定采用硝酸盐滴定法(GB/T 6439—2007);钙含量的测定采用高锰酸钾滴定法(GB/T 6436—2002);细菌总数采用平板计数法(GB/T 13093—2006);氨基酸含量的测定采用全自动氨基酸分析仪(GB/T 5009.124—2016)。

1.3.2 饲养管理。试验在1.0 m×1.0 m×1.0 m的水泥池中进行,每池中饲养100尾对虾,平均体质量为(0.52±0.08)g,每组试验重复3次。试验用水为经过沙滤的天然海水,盐度为25‰~30‰,水温为21~28℃,pH 7.8~8.3,昼夜连续充气。日投量以虾吃食情况而定,分4次投喂,试验期70 d。

1.3.3 测定项目与方法。试验结束后,收集试验样品,计数并称量,计算成活率、饲料系数和相对增重率。每组随机取30尾,自虾的围心腔抽取血液,经处理后获取血清,置于

基金项目 深圳市战略新兴产业发展专项(JSGG20141118114954828);深圳市未来产业发展专项(HYCYGJ20140512010019);湛江市科技计划项目(2015A01006);大鵬新区产业发展专项(KY20150108)。

作者简介 赵利敏(1983—),女,河南浚县人,工程师,硕士,从事活性成分提取研究。*通讯作者,工程师,博士,从事功能食品开发工作。

收稿日期 2017-07-23

-20℃ 下保存备用。分别测定酚氧化酶 (PO)、溶菌酶 (LSZ)、超氧化物歧化酶 (SOD) 的活力。酚氧化酶活力以 L-dopa 为底物,采用 Ashida^[12] 的方法测定;血清溶菌酶活力的测定采用试管法^[13],超氧化物歧化酶活力的测定采用邻苯三酚自动氧化法^[14]。

1.4 指标计算 试验开始时测定其初始体质量,试验结束后再测定各组虾的体质量,并按照以下公式计算对虾的存活率、饲料系数、相对增重率:

$$\text{存活率} = (\text{成活虾数} / \text{投放虾数}) \times 100\%$$

$$\text{饲料系数} = \text{饲料投喂量} / (\text{试验末虾总体质量} + \text{死亡虾总体质量} - \text{试验初虾总体质量})$$

$$\text{相对增重率} = [(\text{试验末体质量} - \text{试验初体质量}) / \text{试验初体质量}] \times 100\%$$

1.5 数据统计与分析 试验数据以平均值 ± 标准误表示。采用 SPSS 20.0 统计软件,对试验数据进行单因素方差分析,若组间差异显著,则做 LSD 多重比较, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 新型饲料添加剂营养成分 虾为甲壳类动物,其生理特点及生活习性区别于畜禽和鱼类,因此其饲料在营养和加工上也存在一定的特殊性。经测定,新型饲料添加剂的营养成分含量如下:粗蛋白 52.00%、粗脂肪 4.28%、粗灰分 16.48%、水分 9.82%、氯化钠 1.92%、钙 2.94%、活性益生菌 10^8 CFU/g 新型饲料添加剂中粗蛋白含量为 52%,高于现用虾饲料蛋白质水平 (14%)^[15],可以有效促进虾的生长,增强虾的抗应激能力和免疫力。虾的组织细胞中含有 1% ~ 2% 的脂类物质,因此脂类是虾所必需的营养物质。由于虾体内

脂肪的代谢能力较鱼类弱,过多的脂肪会影响虾的生长,因此饲料中脂肪的含量 4% ~ 7% 被认为是合适的水平^[16]。钙是虾营养中最重要的常量矿物质元素之一,主要用于外骨骼的形成和各种代谢。由于虾能通过鳃和体表从周围环境中直接摄入钙,因此虾的钙需要量很大程度上依赖于外界环境,钙的推荐量为 2.3%^[17]。益生菌是饲料中常用的添加剂,可以提高水产动物机体生长和免疫力^[18]。

虾对蛋白质的需要实际上是对氨基酸的需要。虾将饲料中获取的蛋白质消化成肽、氨基酸等小分子化合物后,吸收到体内进行生化反应,从而形成机体组织。新型饲料添加剂中含有多种必需氨基酸,其中亮氨酸 4.43%、苯丙氨酸 2.78%、赖氨酸 4.06%、苏氨酸 3.01%、蛋氨酸 1.26%、精氨酸 2.88%、组氨酸 1.56%。新型饲料添加剂中的必需氨基酸种类齐全^[19],营养价值高。邵金良等^[20]认为任何一种饲料蛋白质的氨基酸都很难达到理想的氨基酸平衡。周兴华^[21]提出将蛋氨酸和赖氨酸作为水产饲料中的限制性氨基酸。新型饲料添加剂中蛋氨酸和赖氨酸含量分别为 1.26% 和 4.06%,均高于虾饲料氨基酸推荐量,因此新型饲料添加剂能有效改善氨基酸的平衡程度,提高饲料蛋白质的消化利用率。

2.2 新型饲料添加剂对对虾生长的影响 由表 1 可知,在第 30、70 天试验组 (A、B) 相对增重率和存活率均显著高于对照组 (C),饲料系数低于对照组,说明添加 1% 和 2% 新型饲料添加剂均能显著促进对虾的健康生长,且提高饲料效率。与对照组相比,第 30、70 天 B 组对虾的相对增重率分别提高了 26% 和 38%,且虾体大小均匀,体色健康,活力和采食量高。此外,新型饲料添加剂有助于对虾脱壳、长壳。由此可见,新型饲料添加剂能够使对虾获得较好生长。

表 1 新型饲料添加剂对对虾生长的影响

Table 1 The effects of new feed additive on the growth of shrimps

组别 Group	第 30 天 The 30 th day			第 70 天 The 70 th day		
	存活率 Survival rate // %	饲料系数 Feed coefficient	相对增重率 Relative weight gain rate // %	存活率 Survival rate // %	饲料系数 Feed coefficient	相对增重率 Relative weight gain rate // %
A	98.67 ± 1.82	1.62 ± 0.43	1 566.67 ± 70.62	91.81 ± 1.25	1.48 ± 0.21	8 233.33 ± 385.82
B	100.00 ± 0.00	1.51 ± 0.26	1 684.01 ± 101.36	97.54 ± 0.83	1.32 ± 0.28	10 169.22 ± 523.18
C	86.52 ± 2.12	1.85 ± 0.53	1 338.22 ± 67.67	78.62 ± 3.63	1.65 ± 0.35	7 366.67 ± 681.24

2.3 新型饲料添加剂对对虾非特异性免疫酶活力的影响 由表 2 可知,新型饲料添加剂能显著提高血清中 PO、SOD、LSZ 的活力。当新型饲料添加剂添加量为 2% 时,对虾

血清中 PO 活力较对照组均提高了 25%,SOD 和 LSZ 活力较对照组提高了 60% 以上。由此可见,新型饲料添加剂在促进对虾生长发育和提高对虾免疫力方面具有显著效果。

表 2 新型饲料添加剂对对虾非特异性免疫指标的影响

Table 2 The effects of new feed additive on non-specific immunity indices of shrimps

组别 Group	第 30 天 The 30 th day			第 70 天 The 70 th day		
	PO 活力 PO activity	SOD 活力 SOD activity	LSZ 活力 LSZ activity	PO 活力 PO activity	SOD 活力 SOD activity	LSZ 活力 LSZ activity
A	2.85 ± 0.56	104.61 ± 11.23	0.08 ± 0.01	4.65 ± 0.95	120.54 ± 15.68	0.12 ± 0.01
B	3.45 ± 0.80	120.36 ± 13.63	0.12 ± 0.01	5.05 ± 0.81	130.50 ± 10.12	0.18 ± 0.01
C	2.14 ± 0.34	88.95 ± 5.36	0.06 ± 0.01	3.01 ± 0.65	105.32 ± 12.35	0.08 ± 0.01

3 讨论

家蝇幼虫俗称蝇蛆,其粗蛋白含量都与鲜鱼、鱼粉及肉骨粉相近或略高。蝇蛆粉具有蛋白含量高、氨基酸平衡性

好、诱食性好、抗菌肽含量高等优点,是一类具有较高应用价值的昆虫蛋白原料。笔者用复合酶酶解蝇蛆制成的新型饲料添加剂中粗蛋白含量最高,蛋白质是饲料中最主要的营养

成分,蛋白质的营养价值与其氨基酸的组成密切相关,特别是必需氨基酸的含量和比例。新型饲料添加剂是一种优质的动物性蛋白质饲料,其营养物质种类丰富且限制性氨基酸含量较高,可改善饲料蛋白质的品质,提高饲料的利用率。该研究表明,新型饲料添加剂能促进对虾的生长,提高饲料系数,当新型饲料添加剂添加量为2%时效果显著。通过研究发现,新型饲料添加剂可完全水解,蛋白消化吸收率大于95%,远高于进口鱼粉,且市场价格仅为进口鱼粉的70%左右,可部分或完全取代进口鱼粉,具有一定的经济效益和社会效益。

对虾的抗病防御机制主要是通过非特异性免疫系统来实现的。对虾的免疫反应受非特异性免疫因子的调节,因此,非特异性免疫酶的活力常被用来衡量对虾免疫活性的大小。酚氧化酶(PO)系统在对虾的防御系统中起着重要的异物识别和防御功能,酚氧化酶催生成的黑色素及黑化反应的中间产物都具有细胞毒性或抗微生物功能,所以酚氧化酶激活系统对于维持甲壳动物体液的无菌性十分重要。超氧化物歧化酶(SOD)是超氧阴离子自由基的清除剂,可保护机体细胞免受活性氧自由基的伤害,是抵抗氧化防御系统的关键酶。溶菌酶(LSZ)是吞噬细胞杀菌的物质基础,许多组织和体液中都含有溶菌酶,是一种碱性蛋白,能水解革兰氏阳性细菌的细胞壁中肽聚糖的乙酰氨基多糖并使之裂解被释放出来,形成水解酶体系,破坏和消除侵入体内的异物,从而担负起机体防御的功能。溶菌酶也是对虾非特异性免疫的重要组成部分,其活性直接关系到对虾的免疫状态。该研究用酚氧化酶、超氧化物歧化酶、溶菌酶来评价对虾的免疫水平。新型饲料添加剂可在一定程度上提高免疫酶的活力。

4 结论

笔者通过复合酶解蝇蛆制成的新型饲料添加剂,蛋白质含量高,氨基酸种类齐全,具有较高的营养价值,可在一定程度上促进对虾的生长,改善非特异性免疫力。其中,以添加2%的新型饲料添加剂的效果最佳。

参考文献

- [1] 江镇海. 我国水产饲料添加剂市场广阔[J]. 精细化工原料及中间体, 2003(1): 33.
- [2] 顾增权, 吕丹娜, 王卫东, 等. 碱性蛋白酶酶解虾下脚料的工艺[J]. 农业机械, 2013(6): 83-86.
- [3] 赵艳霞. 超声预处理虾下脚料制备抗氧化肽工艺研究[J]. 化工管理, 2014(3): 200.
- [4] 白福玉, 郑华, 蒋爱民. 低值水产品及其水产副产品的加工与综合利用[J]. 农产品加工·学刊, 2007(4): 76-79.
- [5] 胡毅. 凡纳滨对虾饲料配方优化及几种饲料添加剂的应用[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007.
- [6] 何洪政. 饲料安全存在的问题及其应对策略[C]// 中国林牧渔业经济学会饲料经济专业委员会. 第九届学术交流会论文集. 北京: 中国林牧渔业经济学会, 2012: 22-24.
- [7] 李华, 李立军, 黄卫, 等. 蝇蛆粉在水产饲料中的应用研究[J]. 饲料工业, 2014, 35(21): 70-73.
- [8] 汪宴廷, 雷毅, 王文云, 等. 蝇蛆粉对肉鸡生长性能和死亡率的影响[J]. 四川畜牧兽医, 2013, 40(4): 21-22.
- [9] 吴有松, 周秀丽, 桂永清, 等. 蝇蛆养殖过程中的常见问题分析及对策研究[J]. 湖北畜牧兽医, 2016, 37(12): 28-29.
- [10] 张琴, 罗慧敏. 蝇蛆养殖不同饲料的优缺点[J]. 生物技术世界, 2014(1): 36.
- [11] 严晶, 曹俊明, 王国霞, 等. 凡纳滨对虾对家蝇蛆粉的表现消化率[J]. 饲料工业, 2012, 33(4): 13-16.
- [12] ASHIDA M. Purification and characterization of prophenoloxidase from the hemolymph of the silkworm *Bombyx mori*[J]. Archives of biochemistry & biophysics, 1971, 144(2): 749-762.
- [13] HULTMARK D, STEINER H, RASMUSON T, et al. Insect immunity. Purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hyalophora cecropia*[J]. European journal of biochemistry, 1980, 106(1): 7-16.
- [14] 邹国林, 桂兴芬, 钟晓凌, 等. 一种SOD的测活方法: 邻苯三酚自氧化法的改进[J]. 生物化学与生物物理进展, 1986(4): 73-75.
- [15] 过世东. 虾、蟹饲料营养要求与加工方法[J]. 饲料研究, 2001(2): 16-19.
- [16] 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]. 海洋与湖泊, 2011, 42(4): 521-529.
- [17] 谢荣华. 虾饲料中矿物质的需要量[J]. 兽药与饲料添加剂, 1997(6): 23.
- [18] 林黑着, 李卓佳, 郭志勋, 等. 益生菌对凡纳滨对虾生长和全虾营养成分的影响[J]. 南方水产科学, 2008, 4(6): 95-100.
- [19] 孙占田, 刘志敏. 虾的营养需要[J]. 邯郸农业高等专科学校学报, 1999(2): 15-18.
- [20] 邵金良, 黎其万, 刘宏程, 等. 动物源饲料氨基酸含量的测定与评价[J]. 饲料工业, 2010, 31(1): 40-43.
- [21] 周兴华. 水产饲料中氨基酸类添加剂[J]. 中国饲料, 2003(12): 26-27.
- [16] CHENG J I, ZHANG X H, TANG Z W, et al. Concentrations and human health implications of heavy metals in market foods from a Chinese coal-mining city[J]. Environmental toxicology and pharmacology, 2017, 50: 37-44.
- [17] MISHRA V K, UPADHYAYA A R, PANDEY S K, et al. Heavy metal pollution induced due to coal mining effluent on surrounding aquatic ecosystem and its management through naturally occurring aquatic macrophytes[J]. Bioresource technology 2008, 99(5): 930-936.
- [18] COBBETT C S. Phytochelatin biosynthesis and function in heavy-metal detoxification[J]. Current opinion in plant biology 2000, 3(3): 211-216.
- [19] LI T Q, LIANG C F, HAN X, et al. Mobilization of cadmium by dissolved organic matter in the rhizosphere of hyperaccumulator *Sedum alfredii*[J]. Chemosphere, 2013, 91(7): 970-976.
- [20] 陈同斌, 范稚莲, 雷梅, 等. 磷对超富集植物蜈蚣草吸收砷的影响及其科学意义[J]. 科学通报, 2002, 47(15): 1156-1159.
- [21] XUE S G, CHEN Y X, REEVES R D, et al. Manganese uptake and accumulation by the hyperaccumulator plant *Phytolacca acinosa* Roxb. (Phytolaccaceae)[J]. Environmental pollution 2004, 131(3): 393-399.
- [22] ZHAO H J, WU L Q, CHAI T Y, et al. The effects of copper, manganese and zinc on plant growth and elemental accumulation in the manganese-hyperaccumulator *Phytolacca americana*[J]. Journal of plant physiology, 2012, 169(13): 1243-1252.
- [23] 李晋川, 白中科, 张立城, 等. 露天煤矿土地复垦与生态重建[M]. 北京: 科学出版社, 2000.
- [24] 刘青柏, 刘明国, 刘兴双, 等. 阜新地区砷石山植被恢复的调查与分析[J]. 沈阳农业大学学报, 2003, 34(6): 434-437.
- [25] 陈来红, 马万里. 霍林河露天煤矿排土场植被恢复与重建技术探讨[J]. 中国水土保持科学, 2011, 9(4): 117-120.
- [26] ALI Z, WAHEED H, KAZI A G, et al. Duckweed: An Efficient Hyperaccumulator of Heavy Metals in Water Bodies[M]. London: Elsevier Inc., 2016: 411-429.
- [27] FERNÁNDEZ S, POSCHENRIEDER C, MARCENÓ C, et al. Phytoremediation capability of native plant species living on Pb-Zn and Hg-As mining wastes in the Cantabrian range, north of Spain[J]. Journal of geochemical exploration, 2017, 174: 10-20.
- [28] YILDIRIM D, SASMAZ A. Phytoremediation of As, Ag, and Pb in contaminated soils using terrestrial plants grown on Gumuskoy mining area (Kutahya Turkey)[J/OL]. Journal of geochemical exploration, 2016[2017-04-11]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gexplo.2016.11.005>.

(上接第94页)