

蛋粉对克氏原螯虾生长性能、肌肉营养成分和肠道菌群的影响

肖文富^{1,2}, 胡兵³, 崔学海^{1,2}, 曹曼霞², 姚海行^{1,2}, 李鹏⁴, 喻丽娟², 袁汉文¹,
郜卫华¹, 田娟^{1,2}

1. 长江大学/涝渍灾害与湿地农业湖北省重点试验室, 湖北荆州 434024
2. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 湖北武汉 430223
3. 福建天马科技集团股份有限公司/福建省特种水产配合饲料重点实验室, 福建福清 350308
4. 北美动物蛋白油脂炼得行业协会, 香港 999077

摘要: 为评估蛋粉在克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 饲料中的应用效果, 使用喷雾干燥蛋粉等蛋白替代 0% (CON)、25% (R1)、50% (R2)、75% (R3) 和 100% (R4) 鱼粉, 饲喂幼虾 [初始平均体质量 (9.02±0.12) g] 6 周。结果显示, 各组间特定生长率、饲料系数、摄食率、成活率和肝体比均无显著性差异 ($P>0.05$), R4 组体质量增长率较 CON 组显著降低 ($P<0.05$)。R4 组肌肉粗蛋白、必需氨基酸和总氨基酸含量显著升高 ($P<0.05$), R2、R3 和 R4 组肌肉粗脂肪和灰分含量显著升高 ($P<0.05$), 各组肌肉中水解氨基酸含量无显著性差异 ($P>0.05$)。蛋粉添加组肠道蛋白酶活性显著升高, 淀粉酶活性显著降低, R3 和 R4 组肠道脂肪酶活性显著升高 ($P<0.05$)。R2、R3 和 R4 组血清碱性磷酸酶活性以及总蛋白含量显著升高 ($P<0.05$)。R3 组肠道梭状芽孢杆菌属 (*Clostridium*) 和溶杆菌属 (*Lysobacter*) 细菌丰度显著升高, R4 组链球菌属 (*Streptococcus*) 丰度显著升高 ($P<0.05$)。综上, 当克氏原螯虾饲料含 6% 鱼粉时, 蛋粉可替代 75% 鱼粉。

关键词: 克氏原螯虾; 喷雾干燥蛋粉; 肠道微生物; 免疫力; 生长

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



Effects of egg product on growth performance, muscle nutrients, and intestinal microflora of *Procambarus clarkii*

XIAO Wenfu^{1,2}, HU Bing³, CUI Xuehai^{1,2}, CAO Manxia², YAO Haihang^{1,2}, LI Peng⁴, YU Lijuan², YUAN Hanwen¹,
GAO Weihua¹, TIAN Juan^{1,2}

1. Yangtze University/Hubei Key Laboratory of Waterlogging Disaster and Agricultural Use of Wetland, Jingzhou 434024, China
2. Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China
3. Fujian Tianma Science and Technology Group Co., Ltd./Fujian Province Key Laboratory of Special Aquatic Formula Feed, Fuqing 350308, China
4. North American Renderers Association Asia Regional Office, Hong Kong 999077, China

Abstract: To evaluate the application effect of spray-dried egg product in the diet of *Procambarus clarkii*, we formulated five isonitrogenous and isoenergetic diets containing 0% (Control group), 2.0%, 4.0%, 6.0% and 8.0% spray-dried egg product, which replaced 0% (CON), 25% (R1), 50% (R2), 75% (R3) and 100% (R4) fishmeal, respectively, to feed the shrimps [Initial

收稿日期: 2022-05-08; 修回日期: 2022-06-16

基金项目: 福建省特种水产配合饲料重点实验室开放课题资助 (TMKJZ2106); 中国水产科学研究院基本科研业务费专项资金 (2022XT01); 通威股份有限公司产学研合作项目 (TW2018I001, 2011259); 湿地生态与农业利用教育部工程研究中心开放课题 (KFT202003, KFT202102)

作者简介: 肖文富 (1994—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物营养与饲料科学。E-mail: 750965532@qq.com

通信作者: 郜卫华 (1977—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail: gaoweihua@yangzeu.edu.cn

田娟 (1983—), 女, 副研究员, 博士, 研究方向为水产动物营养学。E-mail: tianjuan@yfi.ac.cn

body mass (9.02 ± 0.12) g] for six weeks. The results show that there were no significant differences in the specific growth rate, feed conversion ratio, feeding rate, survival rate and hepatosomatic index among all the groups ($P > 0.05$). The weight gain rate in R4 group decreased significantly compared with the CON group ($P < 0.05$). The contents of crude protein, essential amino acid and total amino acid in abdominal muscle in R4 group increased significantly compared with the CON group ($P < 0.05$). The contents of crude fat and ash in muscle in R2, R3 and R4 groups were significantly higher than those in the CON group ($P < 0.05$). There were no significant differences in the contents of 17 hydrolyzed amino acids in muscle among all the groups ($P > 0.05$). Compared with the CON group, the intestinal protease activities increased significantly but the amylase activities decreased significantly in egg product supplementation groups, and the intestinal lipase activity increased significantly in R3 and R4 groups ($P < 0.05$). The serum alkaline phosphatase activity and total protein content in R2, R3 and R4 groups increased significantly than those in the CON group ($P < 0.05$). The bacterial abundances of *Clostridium sensu stricto* and *Lysobacter* in R3 group were significantly higher than those of the other groups, while the bacterial abundance of *Streptococcus* in R4 group was significantly higher than that of the other groups ($P < 0.05$). In conclusion, when the diet of *P. clarkii* contains 6% fishmeal, the spray-dried egg product can replace 75% fishmeal.

Keywords: *Procambarus clarkii*; Spray-dried egg product; Intestinal microbiome; Immunity; Growth

克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 俗称淡水小龙虾, 属甲壳纲、十足目、螯虾科、原螯虾属。近年克氏原螯虾人工养殖在中国发展迅猛, 年养殖总产量从 2005 年的 8×10^4 t 增长到 2020 年的 239.4×10^4 t, 位居淡水虾类的首位; 其中湖北省 2020 年总产量为 98.2×10^4 t, 居中国之首^[1]。克氏原螯虾产业总产值约 4 000 亿元, 已成为中国重要的淡水养殖经济虾类之一。

目前中国已形成多种克氏原螯虾养殖模式, 主要包括稻虾综合种养、池塘精养、莲藕套养、虾蟹轮养等^[2]。相比其他养殖模式, 池塘精养单产量更高, 但健康风险较大, 特别是投喂低质饵料容易导致水质恶化, 有害微生物、藻类滋生, 影响虾的生长和肌肉品质^[3]。因此, 投喂营养均衡且丰富的人工配合饲料是促进克氏原螯虾养殖业健康可持续发展的有效手段。然而, 鱼粉资源紧缺一直是影响甲壳类人工配合饲料快速发展的瓶颈问题之一^[4], 寻找合适的鱼粉替代源是近年水产饲料研究的热点。

禽蛋从古至今都是人类极为重要的优质营养来源。喷雾干燥蛋粉来源于脱壳的完整卵白和卵黄, 喷雾干燥工艺使得卵白中溶菌酶等多种功能性蛋白质和卵黄中抗体 IgY、胆固醇等功能性物质得以保全^[5], 且富含约 48% 的蛋白质和 40% 的脂肪, 必需氨基酸和小肽含量与鱼粉接近^[6]。20 世纪 80 年代, 国外的畜牧和宠物行业就开始使用蛋粉作为功能性保健品, 用于幼体断奶期、母体孕期和哺乳期等阶段, 以提高生长效率、控制疫病风险并改善动物福利^[7-9]。目前来自国际市场的喷雾干燥蛋粉已

获得了国家监管部门的安全及质量审核与批准, 有望成为国内水产饲料的新型功能性原料以及虾、蟹等高端养殖品种的基础原料。但有关喷雾干燥蛋粉的营养作用及其在水产动物中的应用研究仍非常有限。喷雾干燥蛋粉在水产动物营养配方体系中应用数据的缺乏限制了其在水产饲料中的应用。本研究旨在评估喷雾干燥蛋粉在克氏原螯虾饲料中的应用效果, 以期为克氏原螯虾养殖业的高效健康发展提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 实验饲料配制

本研究饲料中添加的喷雾干燥蛋粉由美国 IsoNova 公司提供, 鱼粉和蛋粉的必需氨基酸 (EAAs) 比例及含量总体接近, 蛋粉的 EAAs 占比高于鱼粉 (表 1)。实验配制 5 种饲料 (表 2), 对照组饲料含 6% 鱼粉, 鱼粉替代组分别添加 2%、4%、6% 和 8% 的蛋粉, 等蛋白替代 25%、50%、75% 和 100% 的鱼粉, 分别记为 CON、R1、R2、R3 和 R4 组, 同时添加苏氨酸和赖氨酸配平饲料必需氨基酸含量, 以及调节豆油、胆固醇、大豆卵磷脂含量, 配平脂类的含量; 实验饲料所含的营养成分均比较接近 (表 3)。所配制饲料的蛋白和脂肪含量均能满足克氏原螯虾生长和免疫的需要^[10-11]。饲料制作方法参照杨文秀等^[12]。

1.2 养殖管理

实验所用克氏原螯虾由汉川市晶辉合作社提供, 养殖实验在中国水产科学院长江水产研究所室内微流水养殖系统进行。虾运回后, 在室内水

表1 蛋粉和鱼粉的营养组成成分 (干物质基础)
Table 1 Nutritional components of egg product and fishmeal (Dry matter basis)

%

营养成分 Nutritional composition	蛋粉 Egg product	m (氨基酸) : m (总蛋白) Amino acid : Total protein	鱼粉 Fishmeal	m (氨基酸) : m (总蛋白) Amino acid : Total protein
干物质 Dry matter	95.32		91.46	
粗蛋白质 Crude protein	50.23		67.04	
粗脂肪 Crude lipid	34.98		7.54	
灰分 Ash	4.88		15.37	
无氮浸出物 Carbohydrates	6.34		0.46	
可溶性寡肽 ^① Soluble peptides	5.25		7.34	
精氨酸 Arginine	3.01	5.99	3.76	5.61
组氨酸 Histidine	1.09	2.17	1.44	2.15
异亮氨酸 Isoleucine	2.43	4.84	2.50	3.73
亮氨酸 Leucine	4.34	8.64	4.39	6.55
赖氨酸 Lysine	3.37	6.71	4.75	7.09
蛋氨酸 Methionine	1.72	3.42	1.63	2.43
胱氨酸 Cystine	1.36	2.71	0.49	0.73
苯丙氨酸 Phenylalanine	2.59	5.16	2.55	3.80
苏氨酸 Threonine	2.26	4.50	2.39	3.57
色氨酸 Tryptophan	0.50	1.00	0.65	0.97
缬氨酸 Valine	3.21	6.39	2.94	4.39
酪氨酸 Tyrosine	1.84	3.66	1.97	2.94
总必需氨基酸 Σ EAA	24.52	48.82	27.00	40.27

注: ①. 可溶性寡肽指可溶于水的易被吸收的小肽。

Note: ①. Soluble oligopeptides are small peptides which are soluble in water and can be directly absorbed.

族箱中投喂对照组饲料暂养 2 周后, 禁食 24 h, 挑选大小均匀、螯足完好、体质量为 (9.02 ± 0.12) g 的克氏原螯虾 270 尾, 随机分到 15 个养殖箱, 每箱 18 尾。养殖水深 0.35 m, 养殖箱水体体积 0.35 m^3 , 箱内放置供克氏原螯虾栖息及躲避用的 PVC 管和塑料遮蔽网。每组饲料对应投喂 3 个养殖箱, 每天投喂 3 次 (8:00、14:00 和 20:00), 连续投喂 6 周。投喂 2 h 后捞出残饵, 烘至恒质量后称取残饵质量, 根据饲料残留情况及时调整投喂量。若有死虾, 及时捞出, 称体质量并记录。养殖箱内保持微流水 ($250 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$)。养殖水温为 $23 \sim 28 \text{ }^\circ\text{C}$, 氨氮质量浓度低于 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 溶解氧质量浓度高于 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 为 8.2 ± 0.2 。

1.3 样品采集

正式养殖 6 周后, 禁食 24 h, 捞出每个养殖箱的所有虾, 记尾数并称总质量, 用于计算成活率 (Survival rate, SR)、体质量增长率 (Weight gain rate, WGR)、饲料系数 (Feed conversion ratio, FCR) 和摄食率 (Feeding rate, FR)。每箱取 6 尾虾, 称体质量

后, 从头胸甲处用 1 mL 注射器刺入围心腔, 抽取血淋巴置于 1.5 mL 离心管中, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 下静置 4 h, 然后离心 ($4 \text{ }^\circ\text{C}$, $14\ 400 \times g$, 20 min), 吸取上层血清, $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存, 用于血清生化指标分析。接着解剖后称取肝胰腺和腹部肌肉的质量, 用于计算肝体比 (Hepatosomatic index, HSI) 和腹部含肉率 (Flesh content, FC)。将腹部肌肉和肠道分装后放入自封袋中, $-40 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存, 用于后续其他指标的测定。随后对余下的克氏原螯虾进行饱食投喂, 3 h 后, 经丁香油麻醉后, 每桶取 3 尾虾的肠道内容物混合样, 每个组测定 4 个混合样, 进行肠道微生物菌群结构分析。

1.4 指标测定

测定克氏原螯虾的生长性能指标 WGR、SR、FCR、FR、HSI 和 FC 等, 计算公式如下:

$$\text{WGR} = (W_t - W_0) / W_0 \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{SR} = N_t / N_0 \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{FCR} = W_f / (W_t N_t - W_0 N_0 + W_d) \quad (3)$$

$$\text{FR} = W_f / [T \times (W_0 + W_t) / 2] \times 100\% \quad (4)$$

表2 实验饲料基础配方(干物质基础)
Table 2 Ingredients of experimental diets (Dry matter basis)

%

原料 Ingredient	替代鱼粉水平 Substitution levels of fishmeal				
	0% (CON)	25% (R1)	50% (R2)	75% (R3)	100% (R4)
鱼粉 Fishmeal	6.00	4.50	3.00	1.50	0.00
蛋粉 Spray-dried egg product	0.00	2.00	4.00	6.00	8.00
小麦蛋白粉 Wheat gluten	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
豆粕 Soybean meal	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
菜粕 Rapeseed meal	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
棉粕 Cotton meal	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00
面粉 Flour	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00
鱼油 Fish oil	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
大豆油 Soybean oil	2.00	1.60	1.20	0.80	0.40
大豆磷脂油 Soybean phospholipid oil	1.00	0.90	0.80	0.70	0.60
胆固醇 Cholesterol	0.50	0.40	0.30	0.20	0.10
酵母膏 Yeast extract	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
磷酸二氢钙 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
维生素预混料 ^① Vitamin premix	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
无机盐预混料 ^① Mineral premix	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
褐藻酸钠 Sodium alginate	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
虾青素 Astaxanthin	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
壳聚糖 Chitosan	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
赖氨酸 Lysine	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
苏氨酸 Threonine	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38
微晶纤维素 Cellulose	6.78	6.88	6.98	7.08	7.18
膨润土 Amargosite	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
总计 Total	100	100	100	100	100

注: ①. 维生素和矿物元素预混料的配制参照本研究室杨文秀等^[12]。

Note: ①. The preparation of the vitamin and mineral element premix is referred to the previous report of this laboratory^[12].

$$\text{HSI} = W_h / W_t \times 100\% \quad (5)$$

$$\text{FC} = W_m / W_t \times 100\% \quad (6)$$

式中: W_t 为终末体质量 (g); W_0 为初始体质量 (g); N_t 为终末尾数; N_0 为初始尾数; W_f 为饲料摄入量 (g); W_d 为死亡总质量 (g); T 为养殖时间 (d); W_h 为胰腺质量 (g); W_m 为虾腹部肌肉质量 (g)。

基本成分测定: 腹部肌肉水分采用冷冻干燥法 (CHRIST 型冷冻干燥机) 测定; 饲料水分采用 105 °C 恒温干燥失重法 (GB/T 5009.3—2016) 测定; 粗蛋白质含量采用凯氏定氮法 (GB/T 5009.5—2016) 测定; 粗脂肪含量采用索氏抽提法 (GB/T 5009.6—2016) 测定; 灰分含量采用马弗炉 550 °C 灼烧法 (GB/T 5009.4—2016) 测定。

血清生化指标测定: 使用希森美康全自动生化分析仪 (CHEMIX-800) 测定血清碱性磷酸酶 (ALP)、谷草转氨酶 (GOT)、谷丙转氨酶 (GPT) 的活性, 以及葡萄糖 (GLU)、总胆固醇 (T-CHO)、总蛋白 (TP)、白蛋白 (ALB)、甘油三酯 (TG) 含量, 所用试剂均购自 Sysmex 公司。

肠道消化酶活性测定: 蛋白酶活性测定采用福林酚试剂法; 总蛋白、脂肪酶及淀粉酶活性采用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定。

肌肉水解氨基酸测定: 取 0.1 g (精确到 4 位小数) 冷冻干燥肌肉样品放入安瓿瓶中, 加入 10 mL $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 优级纯盐酸 (HCl), 经超声和抽真空后封口, 110 °C 烘箱内水解 14 h, 静置 30 min, 取上清

表3 实验饲料营养组成(干物质基础)
Table 3 Nutritional composition of experimental diets (Dry matter basis)

%

营养成分 Nutritional composition	替代鱼粉水平 Substitution level of fishmeal				
	0% (CON)	25% (R1)	50% (R2)	75% (R3)	100% (R4)
干物质 Dry matter	88.74	90.10	89.83	89.97	89.70
粗蛋白质 Crude protein	35.27	35.34	35.22	34.94	35.27
粗脂肪 Crude fate	5.92	5.68	6.03	6.08	6.14
灰分 Ash	8.21	8.31	8.35	8.19	8.29
总能 Gross energy/(kJ·g ⁻¹)	19.87	19.56	19.65	19.77	19.78
必需氨基酸 EAA					
精氨酸 Arginine	1.38	1.48	1.49	1.43	1.43
组氨酸 Histidine	0.55	0.54	0.56	0.53	0.54
异亮氨酸 Isoleucine	0.87	0.82	0.85	0.81	0.81
亮氨酸 Leucine	0.61	0.62	0.63	0.61	0.62
赖氨酸 Lysine	2.62	2.51	2.55	2.58	2.59
蛋氨酸 Methionine	0.26	0.29	0.29	0.26	0.25
苯丙氨酸 Phenylalanine	1.19	1.20	1.25	1.28	1.19
苏氨酸 Threonine	1.77	1.75	1.79	1.77	1.74
缬氨酸 Valine	1.36	1.38	1.49	1.46	1.48
非必需氨基酸 NEAA					
丙氨酸 Alanine	1.02	0.98	0.99	0.94	0.93
天冬氨酸 Aspartic acid	3.27	3.34	3.36	3.33	3.32
胱氨酸 Cysteine	0.25	0.29	0.29	0.28	0.30
甘氨酸 Glycine	1.53	1.40	1.30	1.17	1.11
谷氨酸 Glutamate	7.67	7.50	7.52	7.49	7.49
脯氨酸 Proline	3.51	2.75	2.90	2.82	2.81
丝氨酸 Serine	1.85	1.88	1.97	1.98	1.96
酪氨酸 Tyrosine	1.62	1.59	1.63	1.54	1.64
总必需氨基酸 ΣEAA	10.61	10.61	10.89	10.73	10.44
总非必需氨基酸 ΣNEAA	20.70	19.72	19.96	19.55	19.57
总氨基酸 ΣTAA	31.31	30.33	30.85	30.28	30.21

液 1 mL, 放在 10 mL 小瓶子内真空干燥, 加入 2 mL 0.1 mol·L⁻¹ HCl 回溶, 之后用注射器取 1 mL 用 0.22 μm 滤膜过滤, 取 1 mL 过滤液与氨基酸标准品一起上机测定。使用全自动氨基酸检测仪(日立 HT7800) 检测肌肉结合氨基酸含量。

肠道菌群多样性和结构分析: 每个处理组取 4 个样品进行肠道菌群测序。取约 0.5 g 肠道内容物混合样品, 使用 NanoDrop ND-2000 分光光度计(Thermo, 美国) 测定所提 DNA 纯度和浓度。使用正向引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3') 和反向引物 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 扩增细菌 16S rRNA 基因的 V3—V4 区片段。测序工作在上海美吉生物医药科技有

限公司进行, 通过 Illumina Miseq PE300 平台进行高通量测序。测序后使用 UPARSE 软件 (V 7.1 <http://drive5.com/uparse/>), 根据 97% 的相似度对序列进行 OTU 聚类; 使用 UCHIME 软件剔除嵌合体。利用 RDP classifier (<http://rdp.cme.msu.edu/>) 对每条序列进行物种分类注释。比对 Silva 数据库 (SSU123), 设置比对阈值为 70%。具体测定和分析方法参照 Yu 等^[13]。

1.5 数据分析

实验数据采用 SPSS 26.0 软件进行单因素方差分析 (One-way ANOVA), 用 Tukey 氏均值多重比较法进行差异显著性检验, 结果均以 “平均值±标准差 ($\bar{x} \pm SD$)” 表示, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果

2.1 饲料蛋粉替代鱼粉对克氏原螯虾生长性能的影响

各组间 FCR、FR、SR 和 HSI 均无显著性差异 ($P>0.05$)。蛋粉替代鱼粉水平介于 25%~75%，虾的 WGR 较鱼粉对照组无显著性差异 ($P>0.05$)；替代水平为 100% 时 WGR 显著降低 ($P<0.05$)。鱼粉替代水平介于 25%~50%，FC 较对照组无显著性差异 ($P>0.05$)，替代水平介于 75%~100% 时则显著降低 7.80% ($P<0.05$ ，表 4)。

2.2 饲料蛋粉替代鱼粉对克氏原螯虾腹部肌肉基本成分及水解氨基酸含量的影响

饲料蛋粉添加水平对克氏原螯虾腹部肌肉的水分含量无显著性影响 ($P>0.05$)。腹部肌肉粗蛋白质、EAA 和 TAA 含量均在蛋粉 100% 替代鱼粉时存在最大值，分别较鱼粉对照组显著提高 2.47%、7.32% 和 4.76% ($P<0.05$)。当替代水平为 50%~100% 时，肌肉粗脂肪和灰分含量较对照组显著升高 ($P<0.05$ ，表 5)。各组肌肉中 17 种水解氨基酸含量无显著性差异 ($P>0.05$)。

2.3 饲料蛋粉替代鱼粉对克氏原螯虾肠道消化酶活性的影响

肠道蛋白酶和脂肪酶活性随着蛋粉替代鱼粉比例的增加而增大，R1—R4 组蛋白酶活性较对照组显著升高，R3 和 R4 组的脂肪酶活性较对照组显著升高 ($P<0.05$)。肠道淀粉酶活性随蛋粉替代鱼粉水平的升高而降低，R1—R4 组淀粉酶活性较对照组显著降低 ($P<0.05$ ，表 6)。

2.4 饲料蛋粉替代鱼粉对克氏原螯虾血清生化指标的影响

蛋粉替代水平介于 50%~100%，克氏原螯虾血清 ALP 活性及 TP 质量浓度均较对照组显著升高 ($P<0.05$)。蛋粉替代水平介于 25%~50%，血清 TG 质量浓度较对照组显著降低 ($P<0.05$)。各组间 T-CHO、ALB、GLU 浓度及 GOT、GPT 活性均无显著性差异 ($P>0.05$ ，表 7)。

2.5 饲料蛋粉替代鱼粉对克氏原螯虾肠道菌群组成的影响

2.5.1 稀释曲线

对照组和鱼粉替代组肠道样本 16S rDNA 测序分析共获得 877 616 条序列，每个样本测序量超过 35 000 条，平均长度约为 423 bp；对测序数据进行抽平分析，各组克氏原螯虾肠道微生物的稀释曲线趋于平缓，说明测序数据量可反映样本中绝大多数的微生物多样性信息 (图 1)。

2.5.2 Alpha 多样性

对克氏原螯虾肠道微生物 Alpha 多样性进行分析 (图 2)，各样本文库覆盖率均超过 99.9%，对照组 Simpson 指数显著高于 R3 和 R4 组 ($P<0.05$)。

2.5.3 肠道微生物群落组成

在门分类水平上，对照组和鱼粉替代组的细菌群落组成类似，各处理组的肠道优势菌群较为一致，其中变形菌门 (Proteobacteria) 和厚壁菌门 (Firmicutes) 在各样本中变化较大，核心菌群相对丰度最高的是厚壁菌门，其后依次是变形菌门、拟杆菌门 (Bacteroidetes) 和放线菌门 (Actinobacteria)，

表4 饲料蛋粉替代鱼粉对克氏原螯虾生长性能的影响

Table 4 Effect of fishmeal replaced with spray-dried egg product on growth performance of *P. clarkii*

项目 Item	替代鱼粉水平 Substitution level of fishmeal				
	0% (CON)	25% (R1)	50% (R2)	75% (R3)	100% (R4)
初始体质量 IBW/g	9.31±0.22	9.34±0.20	9.34±0.43	9.12±0.20	9.25±0.37
终末体质量 FBW/g	23.70±0.56 ^b	23.76±0.78 ^b	23.40±0.99 ^b	21.93±0.49 ^{ab}	21.63±0.63 ^a
体质量增长率 WGR/%	154.39±2.35 ^b	154.26±6.24 ^b	150.51±4.61 ^b	137.35±8.59 ^{ab}	137.13±8.57 ^a
成活率 SR/%	77.78±5.56	77.79±5.55	83.33±5.56	85.18±3.20	79.63±3.20
饲料系数 FCR	1.35±0.05	1.37±0.08	1.39±0.04	1.31±0.04	1.35±0.04
摄食率 FR/%	3.36±0.14	3.39±0.26	3.46±0.16	3.23±0.29	3.30±0.04
肝体比 HSI/%	5.44±0.56	5.82±0.23	5.77±0.63	5.36±0.91	5.74±1.39
腹部含肉率 FC/%	11.78±1.76 ^c	11.40±1.32 ^{bc}	10.44±1.91 ^{abc}	9.85±1.47 ^{ab}	9.28±0.39 ^a

注：同行数据中上标字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)，下同。

Note: The values with different superscript letters within the same line are significantly different ($P<0.05$). The same below.

表5 饲料蛋粉替代鱼粉对克氏原螯虾腹部肌肉基本成分及水解氨基酸含量的影响
Table 5 Effect of fishmeal replaced with spray-dried egg product on abdominal muscle composition of *P. clarkii* %

项目 Item	替代鱼粉水平 Substitution level of fishmeal				
	0% (CON)	25% (R1)	50% (R2)	75% (R3)	100% (R4)
基本成分 Basic ingredient					
水分 Moisture	77.67±0.82	77.38±1.44	78.21±2.55	76.97±0.81	76.14±0.62
粗蛋白质 Crude protein	18.60±0.15 ^a	18.83±0.11 ^a	18.71±0.12 ^a	18.69±0.13 ^a	19.06±0.21 ^b
粗脂肪 Crude fat	0.20±0.006 ^a	0.24±0.007 ^{ab}	0.31±0.004 ^c	0.40±0.006 ^d	0.44±0.005 ^d
灰分 Ash	1.21±0.07 ^a	1.24±0.05 ^{ab}	1.28±0.02 ^{bc}	1.30±0.03 ^c	1.32±0.06 ^c
水解氨基酸 Hydrolyzed amino acid					
必需氨基酸 EAA					
精氨酸 Arginine	1.83±0.04	1.83±0.02	1.78±0.16	1.77±0.13	1.79±0.10
组氨酸 Histidine	0.38±0.04	0.38±0.02	0.35±0.05	0.33±0.05	0.38±0.05
异亮氨酸 Isoleucine	0.73±0.05	0.76±0.01	0.75±0.08	0.70±0.10	0.77±0.11
亮氨酸 Leucine	1.26±0.04	1.30±0.05	1.26±0.04	1.24±0.08	1.32±0.08
赖氨酸 Lysine	1.32±0.03	1.32±0.07	1.28±0.04	1.30±0.05	1.34±0.05
蛋氨酸 Methionine	0.28±0.02	0.29±0.02	0.30±0.03	0.32±0.03	0.32±0.03
苯丙氨酸 Phenylalanine	0.80±0.02	0.83±0.04	0.80±0.04	0.82±0.05	0.83±0.03
苏氨酸 Threonine	0.71±0.03	0.74±0.02	0.70±0.07	0.69±0.07	0.74±0.06
缬氨酸 Valine	0.77±0.04	0.79±0.03	0.77±0.05	0.75±0.06	0.79±0.06
非必需氨基酸 NEAA					
丙氨酸 Alanine	0.86±0.02	0.90±0.04	0.86±0.06	0.85±0.05	0.91±0.04
天冬氨酸 Aspartic acid	1.43±0.04	1.44±0.06	1.39±0.06	1.40±0.10	1.46±0.08
半胱氨酸 Cysteine	0.10±0.006	0.11±0.002	0.11±0.008	0.11±0.003	0.10±0.004
谷氨酸 Glutamic acid	2.06±0.06	2.03±0.06	1.94±0.20	1.96±0.13	1.93±0.10
甘氨酸 Glycine	0.74±0.01	0.73±0.03	0.75±0.07	0.71±0.05	0.73±0.06
脯氨酸 Proline	0.60±0.04	0.55±0.03	0.55±0.06	0.52±0.03	0.56±0.03
丝氨酸 Serine	0.74±0.02	0.74±0.03	0.71±0.03	0.70±0.04	0.74±0.05
酪氨酸 Tyrosine	0.74±0.04	0.77±0.04	0.74±0.05	0.74±0.06	0.77±0.06
总必需氨基酸 ΣEAA	5.87±0.21 ^a	6.03±0.23 ^a	5.84±0.24 ^a	5.87±0.28 ^a	6.60±0.23 ^b
总非必需氨基酸 ΣNEAA	9.48±0.24	9.48±0.29	9.54±0.62	9.57±0.67	9.48±0.53
总氨基酸 ΣTAA	15.35±0.44 ^a	15.51±0.52 ^a	15.38±0.56 ^a	15.44±0.65 ^a	16.08±0.46 ^b

这四类优势菌群占肠道菌群的比例超过 90% (图 3-a、3-b)。在属分类水平上, 对照组和鱼粉替代组的细菌群落组成类似, 各处理组的肠道优势菌群较为一致, 其中核心菌群相对丰度最高的是 *Candidatus Bacilloplasma*, 其后依次是柠檬酸杆菌属 (*Citrobacter*)、拟杆菌属 (*Bacteroides*)、芽殖杆菌属 (*Gemmobacter*)、希瓦氏菌属 (*Shewanella*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、红杆菌属 (*Rhodobacter*)、气单胞菌属 (*Aeromonas*) 和不动杆菌属 (*Acinetobacter*, 图 3-c、3-d)。

2.5.4 肠道微生物群落差异

比较鱼粉替代组和对照组克氏原螯虾的肠道细菌在门水平和属水平的差异 (图 4), 结果显示, 蛋粉添加水平介于 4%~8% 时, 厚壁菌门的细菌丰度较对照组显著升高, 变形菌门的细菌丰度显著降低 ($P<0.05$)。R3 组梭状芽孢杆菌属 (*Clostridium*) 丰度显著高于其他组 ($P<0.05$), 蛋粉添加组链球菌属 (*Streptococcus*) 丰度显著高于对照组 ($P<0.05$), R1、R2、R3 组溶杆菌属 (*Lysobacter*) 细菌丰度显著高于其他组 ($P<0.05$)。

表6 饲料蛋粉替代鱼粉对克氏原螯虾肠道消化酶活性的影响

Table 6 Effect of fishmeal replaced with spray-dried egg product on intestine digestive enzymes activities of *P. clarkii*

项目 Item	替代鱼粉水平 Substitution level of fishmeal				
	0% (CON)	25% (R1)	50% (R2)	75% (R3)	100% (R4)
蛋白酶活性 Protease/(U·g ⁻¹)	4.61±0.28 ^a	5.26±0.14 ^{bc}	5.41±0.28 ^c	5.01±0.27 ^b	5.23±0.16 ^{bc}
淀粉酶活性 Amylase/(U·mg ⁻¹)	2.36±0.14 ^d	2.01±0.06 ^c	1.89±0.03 ^b	1.83±0.07 ^{ab}	1.79±0.03 ^a
脂肪酶活性 Lipase/(U·g ⁻¹)	14.77±0.96 ^a	15.49±0.87 ^a	16.80±0.47 ^{ab}	17.81±0.87 ^b	18.63±0.71 ^c

表7 饲料蛋粉替代鱼粉对克氏原螯虾血清生化指标的影响

Table 7 Effect of fishmeal replaced with spray-dried egg product on hemolymph biochemical indexes of *P. clarkii*

项目 Item	替代鱼粉水平 Substitution level of fishmeal				
	0% (CON)	25% (R1)	50% (R2)	75% (R3)	100% (R4)
谷草转氨酶活性 GOT/(U·L ⁻¹)	17.75±1.02	18.25±1.67	17.75±1.95	20.00±1.83	18.50±1.45
谷丙转氨酶活性 GPT/(U·L ⁻¹)	24.75±1.93	23.00±1.49	26.75±1.97	24.25±2.90	24.75±1.18
碱性磷酸酶活性 ALP/(U·L ⁻¹)	19.00±1.35 ^a	21.25±1.59 ^a	22.00±1.29 ^b	27.00±2.02 ^b	28.50±1.11 ^b
总蛋白质量浓度 TP/(g·L ⁻¹)	54.27±1.94 ^a	60.31±2.62 ^a	63.54±2.13 ^b	81.07±4.49 ^b	69.89±2.83 ^b
白蛋白质量浓度 ALB/(g·L ⁻¹)	0.42±0.02	0.46±0.02	0.42±0.03	0.51±0.04	0.46±0.02
总胆固醇浓度 T-CHO/(mmol·L ⁻¹)	0.12±0.01	0.12±0.03	0.10±0.02	0.11±0.03	0.13±0.01
甘油三酯浓度 TG/(mmol·L ⁻¹)	0.45±0.05 ^b	0.30±0.07 ^a	0.30±0.03 ^a	0.39±0.09 ^{ab}	0.45±0.06 ^b
葡萄糖浓度 GLU/(nmol·mL ⁻¹)	0.34±0.04	0.43±0.08	0.39±0.05	0.39±0.05	0.39±0.06

3 讨论

3.1 饲料蛋粉可替代克氏原螯虾饲料中 75% 的鱼粉

目前尚未见有关喷雾干燥蛋粉对水产动物生长性能影响的报道。畜禽中, 喷雾干燥蛋粉是保育猪饲料优质的蛋白质和能量来源, 可改善健康, 提高体质量增长率^[14], 且鸡蛋粉可以用来替代断奶仔猪饲料中的血浆蛋白粉^[15-16]。本研究中, 经 6 周养殖对比实验发现, 各组间 FCR、FR、SR 和 HSI 均无显著性差异。当蛋粉替代鱼粉水平介于 25%~75%, 克氏原螯虾的体质量增长率较鱼粉对照组无显著差异。表明以生长性能为评价指标, 当克氏原螯虾饲料中鱼粉水平为 6% 时, 按照等蛋白替代, 喷雾干燥蛋粉可替代 75% 的鱼粉, 且蛋粉添加组的肠道蛋白酶和脂肪酶的活性较对照组显著升高。这可能与蛋粉所含有的胆固醇和磷脂类有关。甲壳动物由于不能将焦磷酸合成鲨烯, 不能内源性合成胆固醇, 需要依靠从饲料中摄入, 并且需要额外添加磷脂来促进胆固醇的转运^[17]。在红螯螯虾^[18] (*Cherax quadricarinatus*)、克氏原螯虾^[19]、三疣梭子蟹^[20] (*Portunus trituberculatus*) 中均发现添加适宜的胆固

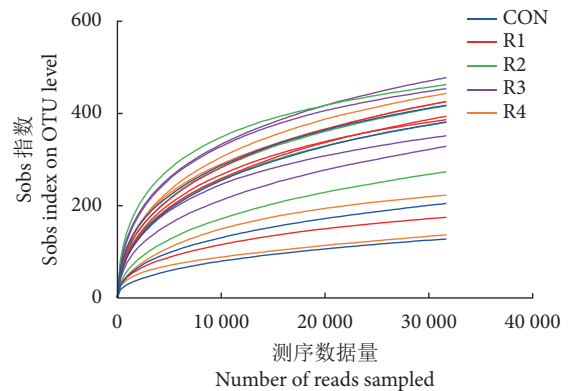


图1 克氏原螯虾肠道微生物样品测序稀释曲线

Fig. 1 Sequencing dilution curve of gut microbial samples from *P. clarkii*

醇有助于蜕壳生长。另外, 本研究中的蛋白源主要为植物蛋白源, 而在植物蛋白源饲料中添加胆固醇可以提高大菱鲂 (*Scophthalmus maximus*)^[21] 和虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)^[22] 对植物蛋白的利用。同时, 蛋粉的必需氨基酸含量与鱼粉较为接近, 且含有大量寡肽。寡肽被认为是更利于水产动物吸收和利用的蛋白质, 具有促进氨基酸吸收、提高蛋白质的合成利用率、促进水产动物生长和降低饲料蛋白含量的作用^[23]。如在德国镜鲤 (*Cyprinus carpio* var. *specularis*) 饲料中添加 0.75% 的丙氨酰谷氨酰胺能

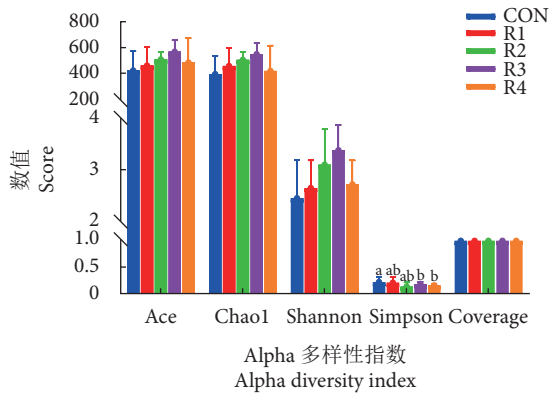


图2 蛋粉替代水平对克氏原螯虾肠道菌群 α 多样性的影响
 注：图中上标字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)，图 4 同此。
 Fig. 2 Effect of egg product replacement level on α diversity of intestinal flora of *P. clarkii*
 Note: Different superscript letters indicate significant difference ($P < 0.05$). The same case in Fig. 4.

够显著提高其生长性能和饲料蛋白质利用率^[24]；在凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 饲料中添加 1.0%~1.5% 小肽，除了胰腺的类胰蛋白酶外，各种消化酶活性均随着小肽添加量的增加而升高^[25]。当蛋粉完全替代鱼粉后，克氏原螯虾的生长性能显著降低，这可能是由于鱼粉本身特有的微量促生长因子或免疫因子如牛磺酸、磷酸肌酸、微量元素等，可促进营养物质的吸收及代谢^[6]，而这些微量物质难以被蛋粉替代。

本研究发现，肌肉粗蛋白质、EAA 和 TAA 含

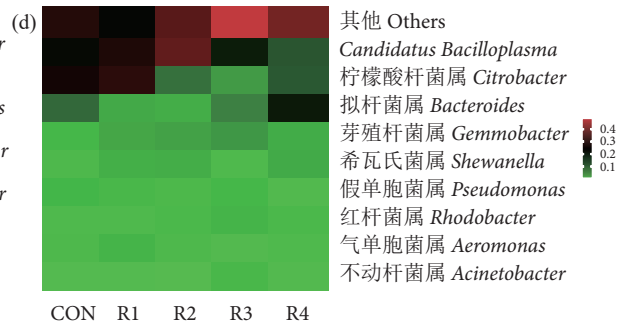
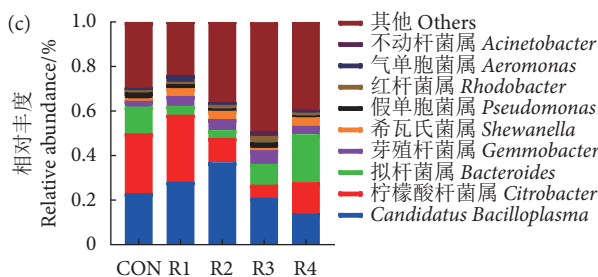
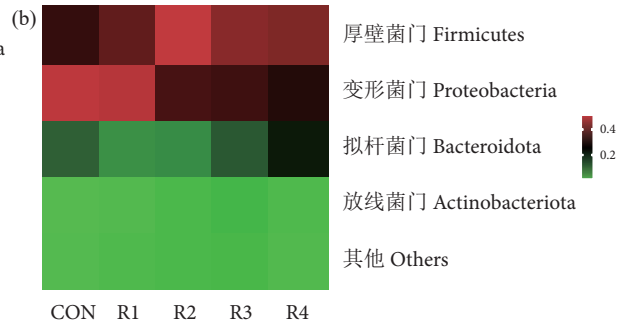
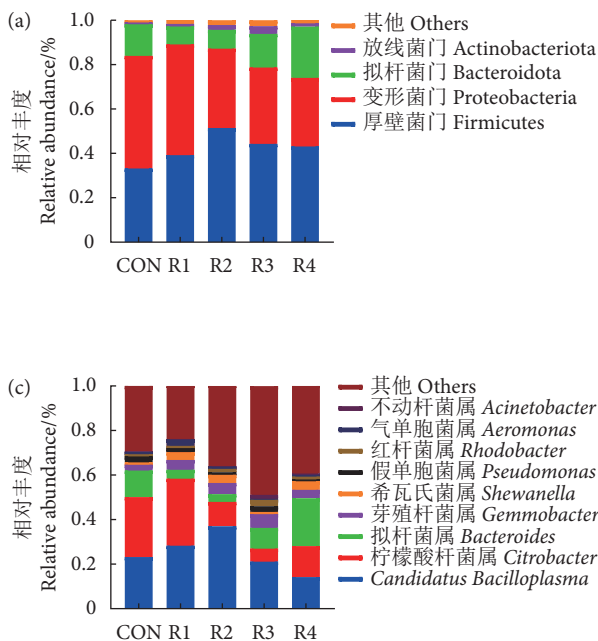


图3 克氏原螯虾肠道微生物在门水平 (a、b) 和属水平 (c、d) 上的群落组成

Fig. 3 Community composition of gut microbes of *P. clarkii* at phylum level (a, b) and genus level (c, d)

量均在蛋粉 100% 替代鱼粉时较对照组显著升高；当替代水平介于 50%~100% 时，肌肉粗脂肪和灰分含量较对照组显著升高。这可能与高蛋白组饲料中含 EAA、寡肽、甘氨酸、脯氨酸、4-羟脯氨酸、多胺、胆固醇、卵磷脂等活性物质有关^[6]，而这些活性物质有助于蛋白质和脂肪在肌肉内的沉积，从而提高营养价值。如在凡纳滨对虾饲料中添加 0.05%~0.10% 的胆固醇可促进其肌肉脂肪蓄积^[26]；在饲料中添加 1.47% 的脯氨酸，可显著提高浅色黄姑鱼 (*Nibea coibor*) 全鱼中的蛋白质含量^[27]。

3.2 饲料蛋粉可改善克氏原螯虾肠道菌群结构

本研究中克氏原螯虾肠道中的核心菌群在门水平上分别为厚壁菌门、变形菌门、拟杆菌门和放线菌门，在属水平上分别为 *Candidatus*，其后依次是柠檬酸杆菌属、拟杆菌属、芽殖杆菌属、希瓦氏菌属、假单胞菌属、红杆菌属、气单胞菌属和不动杆菌属，这与其他学者对克氏原螯虾肠道菌群结构的研究结果类似^[28-29]。

厚壁菌门含诸多有益菌，如乳杆菌 (*Lactobacillus*)、链球菌、瘤胃球菌 (*Ruminococcus*)、梭菌 (*C. prazmowski*) 等，有助于机体对碳水化合物的利用^[30]。变形菌门包含诸多病原菌，如大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、沙门氏菌 (*Salmonella*)、弧菌 (*Vibrio*)、幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*) 等，该门丰

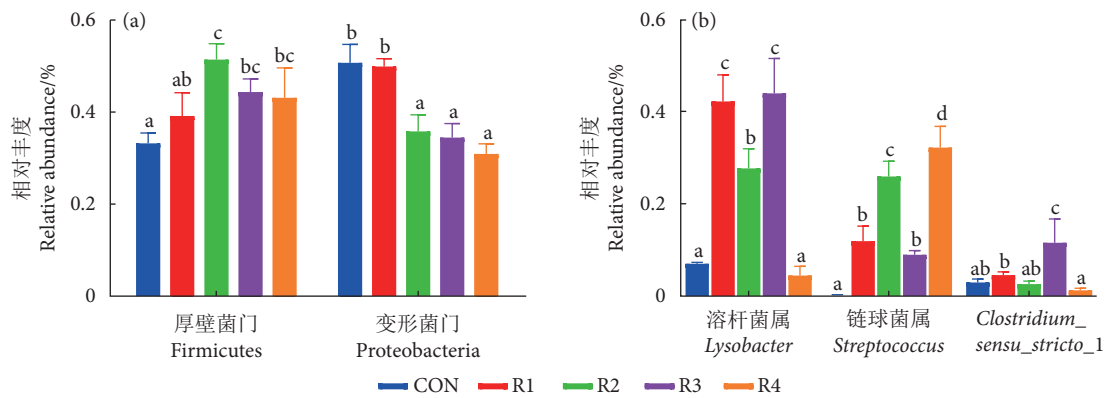


图4 克氏原螯虾肠道微生物在门水平 (a) 和属水平 (b) 上差异菌群分析

Fig. 4 Differential flora analysis of gut microbes of *P. clarkii* at phylum level (a) and genus level (b)

度过高易导致消化吸收紊乱^[31]。本研究发现当蛋粉添加水平介于 4%~8% 时, 克氏原螯虾肠道厚壁菌门的细菌丰度显著升高, 变形菌门的细菌丰度显著降低, 说明蛋粉可改善肠道菌群结构, 有益于肠道健康。在属水平上, 本研究发现 75% 鱼粉替代组的梭状芽孢杆菌属和溶杆菌属丰度较对照组显著提高。梭状芽孢杆菌属中的一些菌种如丁酸梭菌 (*C. butyricum*) 可分解未被肠道分解的碳水化合物而产生各种有机酸 (乙酸、丙酸、丁酸) 和醇类 (乙醇、异丙醇、丁醇), 这些代谢产物能够改变凡纳滨对虾肠道的菌群结构, 提高肠道中消化酶活性和对营养物质的利用, 调节免疫系统来提高水产动物肠道的抗炎能力^[32]。溶杆菌属是一类具有很强溶菌抑菌效果的革兰阴性菌, 产生的大分子活性物质主要是蛋白水解酶、聚糖酶、磷酸酶、脂解酶等, 小分子活性物质主要为抗生素或其中间体^[33]。本研究结果表明蛋粉替代 25%~75% 鱼粉, 可以通过影响梭状芽孢杆菌属和溶杆菌属丰度来提高抗菌功能。另外, 蛋粉添加组显著提高了链球菌属的丰度。链球菌属是一种革兰氏阳性球菌, 广泛分布于自然界, 大多数不致病^[34], 但该属也有部分致病菌, 如感染无乳链球菌后, 奥尼罗非鱼 (*Oreochromis* spp.) 会出现白细胞显著升高, 红细胞数、红细胞压积和血红蛋白显著下降, 呼吸暴发抑制, 甚至导致大量死亡^[35]; 停乳链球菌 (*S. dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae*) 会导致日本沼虾 (*Macrobrachium nipponense*) 死亡^[36]。目前在种水平上的对虾类肠道微生物研究还鲜有报道, 特别是科学地分离和鉴定菌种有待后续进一步研究。

3.3 饲料蛋粉可提高克氏原螯虾非特异免疫能力

由于克氏原螯虾等较低等的水产动物缺乏特异

性免疫系统, 只能依赖非特异性免疫形成有效免疫, 如细胞免疫和体液免疫, 其中就包括球蛋白、酸性磷酸酶和碱性磷酸酶^[37]。酸性磷酸酶被认为是巨噬细胞中溶酶体的标志性酶和重要组成部分, 与机体的免疫和骨骼发育密切相关^[38]。血清总蛋白包括白蛋白和球蛋白, 血清球蛋白与机体免疫应答有关, 血清白蛋白具有维持渗透压、结合和转运配体 (如脂肪酸和荷尔蒙等)、参与物质代谢、清除自由基、抗凋亡、抗凝血和抗血栓等一系列的生理生化功能^[39]。在本研究中 R2—R4 组克氏原螯虾血清 ALP 活性和总蛋白含量较对照组显著提高, 而白蛋白含量无显著差异, 说明克氏原螯虾饲料中添加蛋粉可通过提高球蛋白含量和碱性磷酸酶活性来提高机体免疫力, 而这可能与蛋粉中富含免疫因子 IgY 和溶菌酶有关^[5]。如 IgY 可显著提高印度白虾 (*Fenneropenaeus indicus*) 溶菌酶活性和吞噬活性^[40]。当饲料中添加 54~72 mg·kg⁻¹ 溶菌酶, 罗非鱼的免疫-抗氧化能力和血清抗菌性能均得到了显著提高^[41]。

血清甘油三酯和总胆固醇是监测心血管健康的主要指标之一。在人体研究中发现食用鸡蛋与心血管病、糖尿病的风险之间存在剂量反应性正相关^[42]。本研究发现饲料蛋粉质量分数为 2%~6% 时, 血清甘油三酯浓度较对照组显著降低, 而蛋粉质量分数对血清总胆固醇浓度无显著影响, 说明摄入蛋粉反而有利于克氏原螯虾的心血管健康, 这可能是由于鸡蛋中所含的胆固醇和卵磷脂是克氏原螯虾的必需营养素。同时, 饲料蛋粉水平对血清 GOT 和 GPT 活性无显著影响, 表明蛋粉并未对克氏原螯虾肝脏代谢造成负担, 其肝脏代谢依然维持在正常水平。

4 结论

在本研究条件下, 克氏原螯虾饲料含 6% 鱼粉, 以生长性能和饲料利用为评价标准, 喷雾干燥蛋粉可等蛋白替代 75% 的鱼粉, 并可提高虾的肠道健康和机体免疫力。

参考文献:

- [1] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 2021 中国渔业统计年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2021: 34.
- [2] 徐滨, 魏开金, 马宝珊, 等. 不同克氏原螯虾养殖模式下幼虾生长、体成分和血淋巴生化指标的比较 [J]. 淡水渔业, 2021, 51(5): 84-90.
- [3] 王松刚, 周日东. 淡水小龙虾发病原因及病害防治 [J]. 科学养鱼, 2016(8): 92.
- [4] CARTER C G, MENTE E. Protein synthesis in crustaceans: a review focused on feeding and nutrition[J]. Cent Eur J Biol, 2014, 9(1): 1-10.
- [5] 刘琛, 陈继兰. 鸡蛋中蕴藏的生物活性物质及其应用 [J]. 中国畜牧兽医, 2009, 36(4): 186-190.
- [6] LI P, WU G. Composition of amino acids and related nitrogenous nutrients in feedstuffs for animal diets[J]. Amino Acids, 2020, 52(4): 523-542.
- [7] OPRIESSNIG T, XIAO C T, GERBER P F, et al. Porcine epidemic diarrhea virus RNA present in commercial spray-dried porcine plasma is not infectious to naïve pigs[J]. PLoS One, 2014, 9(8): e104766.
- [8] LLATA M, GOODBAND R, TOKACH M, et al. Effects of spray-dried egg albumin on growth performance of early-weaned pigs[J]. Kansas Agric Exp Sta Res Rep, 1998(10): 38-40.
- [9] CZARNECKI-MAULDEN G L, RUDNICK R C. Development of a successful spray-dried egg white-based experimental diet for dogs: effect of heat treatment on diet utilization[J]. Nutr Res, 1990, 10(1): 109-115.
- [10] 彭迪, 陈效儒, 文华, 等. 饲料脂肪水平对克氏原螯虾生长性能、肌肉成分、繁殖性能以及血淋巴生化指标的影响 [J]. 水产学报, 2019, 43(10): 2175-2185.
- [11] LU X, PENG D, CHEN X, et al. Effects of dietary protein levels on growth, muscle composition, digestive enzymes activities, hemolymph biochemical indices and ovary development of pre-adult red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) [J]. Aquac Rep, 2020, 18: 100542.DOI.
- [12] 杨文秀, 陈效儒, 文华, 等. 高植物蛋白饲料中添加蛋白酶对克氏原螯虾生长、免疫力及消化力的影响 [J]. 水产学报, 2022, 46(6): 1-10.
- [13] YU L, WEN H, JIANG M, et al. Effects of ferulic acid on intestinal enzyme activities, morphology, microbiome composition of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed oxidized fish oil[J]. Aquaculture, 2020, 528: 735543.
- [14] SONG M, CHE T M, LIU Y, et al. Effects of dietary spray-dried egg on growth performance and health of weaned pigs[J]. J Anim Sci, 2012, 90(9): 3080-3087.
- [15] 詹黎明, 吴德, 李勇, 等. 饲料蛋白质来源对仔猪生长性能、肠道形态、血清激素和免疫指标的影响 [J]. 动物营养学报, 2010, 22(5): 1192-1199.
- [16] ZHANG S, PIAO X, MA X, et al. Comparison of spray-dried egg and albumen powder with conventional animal protein sources as feed ingredients in diets fed to weaned pigs[J]. Anim Sci J, 2015, 86(8): 772-781.
- [17] KUMAR V, SINHA A K, ROMANO N, et al. Metabolism and nutritive role of cholesterol in the growth, gonadal development, and reproduction of crustaceans[J]. Rev Fish Sci Aquac, 2018, 26(2): 254-273.
- [18] 甘信辉, 李伟微, 李嘉尧, 等. 饲料中胆固醇含量对雄性红螯光壳螯虾生长及生殖的影响 [J]. 动物学杂志, 2011, 46(1): 86-92.
- [19] TIAN H, YANG C, YU Y, et al. Dietary cholesterol level affects growth, molting performance and ecdysteroid signal transduction in *Procambarus clarkii* [J]. Aquaculture, 2020, 523: 735198.
- [20] HAN T, WANG J, LI X, et al. Effects of dietary cholesterol levels on the growth, molt performance, and immunity of juvenile swimming crab, *Portunus trituberculatus* [J]. Isr J Aquac-Bamidgeh, 2015, 67: 20696.
- [21] YUN B, AI Q, MAI K, et al. Synergistic effects of dietary cholesterol and taurine on growth performance and cholesterol metabolism in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) fed high plant protein diets[J]. Aquaculture, 2012, 324: 85-91.
- [22] DENG J, KANG B, TAO L, et al. Effects of dietary cholesterol on antioxidant capacity, non-specific immune response, and resistance to *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed soybean meal-based diets[J]. Fish Shellfish Immunol, 2013, 34(1): 324-331.
- [23] BHAT Z F, KUMAR S, BHAT H F. Bioactive peptides of animal origin: a review[J]. J Food Sci Technol, 2015, 52(9): 5377-5392.
- [24] 朱青, 徐奇友, 王长安, 等. 丙氨酰-谷氨酰胺对德国镜鲤幼鱼 (*Cyprinus carpio* L.) 血清生化指标及体组成的影响 [J]. 水产学杂志, 2009, 22(4): 12-15.
- [25] 许培玉, 周洪琪. 小肽制品对南美白对虾蛋白酶和淀粉酶活力的影响 [J]. 中国饲料, 2004(23): 30-31.
- [26] ZHANG W, YANG Q, TAN B, et al. Study of the requirements of dietary cholesterol at two different growth stages of Pacific white shrimps, *Litopenaeus vannamei* [J]. Aquac Int, 2019, 27(6): 1583-1597.
- [27] 荣华, 夏优, 王晓雯, 等. 饲料中添加脯氨酸对浅色黄姑鱼生长、体组成及抗氧化能力的影响 [J]. 上海海洋大学学报, 2023, 32(1): 89-97.
- [28] 冯光志, 邹颜霓, 王月琳, 等. 小龙虾肠道产木聚糖酶细菌的分离与鉴定 [J]. 微生物学通报, 2019, 46(6): 1364-1370.
- [29] ZHANG Y, LI Z, KHOLODKEVICH S, et al. Effects of cadmium

- on intestinal histology and microbiota in freshwater crayfish (*Procambarus clarkii*)[J]. Chemosphere, 2020, 242: 125105.
- [30] 韩岗, 马婧, 陶士珩, 等. 厚壁菌门细菌及其祖先蛋白的氨基酸偏好性研究 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39(30): 18408-18410.
- [31] TAYLOR J A, SICHEL S R, SALAMA N R. Bent bacteria: a comparison of cell shape mechanisms in proteobacteria[J]. Annu Rev Microbiol, 2019, 73(1): 457-480.
- [32] LI H D, TIAN X L, DONG S L. Growth performance, non-specific immunity, intestinal histology and disease resistance of *Litopenaeus vannamei* fed on a diet supplemented with live cells of *Clostridium butyricum*[J]. Aquaculture, 2019, 498: 470-481.
- [33] 陈志红, 王明兹, 陈必链, 等. 溶杆菌属及其活性物质研究与应用进展 [J]. 农产品加工: 创新版(中), 2013, 304(1): 5-10.
- [34] 陆德胜. 链球菌属的特性及其检验 [J]. 中国当代医药, 2010, 17(31): 80-81.
- [35] 祝璟琳, 李大宇, 邹芝英, 等. 奥尼罗非鱼及其亲本感染无乳链球菌后生理响应变化 [J]. 水生生物学报, 2021, 45(6): 1190-1200.
- [36] 赵卫红, 张凤英, 於叶兵, 等. 停乳链球菌对日本沼虾总超氧化物歧化酶活性的影响 [J]. 生物技术通报, 2015, 31(1): 209-213.
- [37] YEH S P, CHEN Y N, HSIEH S L, et al. Immune response of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, after a concurrent infection with white spot syndrome virus and infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus[J]. Fish Shellfish Immunol, 2009, 26(4): 582-588.
- [38] FEDDE K N, BLAIR L, SILVERSTEIN J, et al. Alkaline phosphatase knock-out mice recapitulate the metabolic and skeletal defects of infantile hypophosphatasia[J]. J Bone Miner Res, 2010, 14(12): 2015-2026.
- [39] ROZGA J, PIĄTEK T, MAŁKOWSKI P. Human albumin: old, new, and emerging applications[J]. Ann Transpl, 2013, 18(20): 205-217.
- [40] KUMARAN T, THIRUMALAIKUMAR E, LELIN C, et al. Physicochemical properties of anti *Vibrio harveyi* egg yolk antibody (IgY) and its immunological influence in Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*[J]. Fish Shellfish Immunol, 2018, 74: 349-362.
- [41] 王坛, 华雪铭, 朱伟星, 等. 饲料中添加溶菌酶对吉富罗非鱼生长, 免疫-抗氧化功能及血清抗菌性能的影响 [J]. 水生生物学报, 2016, 40(4): 663-671.
- [42] 李岳华. RANTES 基因多态性与中国汉族人群大动脉炎的关联研究及鱼类食用与心衰发生率, 鸡蛋的食用与心血管病、糖尿病风险的荟萃分析 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2013: 63-84.