

4种饵料对选育中间养成阶段的凡纳滨对虾投喂效果分析

冀德伟, 张敏, 闫茂仓, 柴雪良, 胡利华

Effects of four diets on the growth performance in *Litopenaeus vannamei* during the middle stage of selective breeding

Ji Dewei, ZHANG Min, YAN Maocang, CHAI Xueliang, HU Lihua

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12024/jsou.20191102866>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

凡纳滨对虾亲虾繁殖期间适宜投喂频率的研究

Optimum Feeding Frequency for *Litopenaeus vannamei* During the Breeding Period

渔业科学进展. 2018, 39(4): 74 <https://doi.org/10.19663/j.issn2095-9869.20170609001>

4种国外引进品系凡纳滨对虾养殖效果的研究

Culture performance in four different strains of Pacific white leg shrimp *Litopenaeus vannamei*

大连海洋大学学报. 2016, 31(1): 71 <https://doi.org/10.16535/j.cnki.dlhyxb.2016.01.012>

放养密度对凡纳滨对虾苗种中间培育效果的影响

Effect of Stocking Density on Intermediate Cultivation of *Litopenaeus vannamei* Postlarvae

渔业科学进展. 2019, 40(1): 76 <https://doi.org/10.19663/j.issn2095-9869.20171221001>

4种微生物制剂对凡纳滨对虾育苗水质及仔虾存活的影响

Effects of Four Microbial Preparations on Water Quality and Postlarval Survival of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei*

水产科学. 2020, 39(3): 316 <https://doi.org/10.16378/j.cnki.1003-1111.2020.03.003>

投喂频率和糖源组成对凡纳滨对虾糖代谢的影响

Effects of feeding frequency and carbohydrate source composition on carbohydrate metabolism of Pacific white leg shrimp *Litopenaeus vannamei*

大连海洋大学学报. 2018, 33(5): 583 <https://doi.org/10.16535/j.cnki.dlhyxb.2018.05.006>

不同淀粉糊化度对凡纳滨对虾生长和体营养成分的影响

The effects of pre-gelatinization of cornstarch on the growth performance and body composition in Pacific white leg shrimp *Litopenaeus vannamei*

大连海洋大学学报. 2010, 25(5): 402 <https://doi.org/10.16535/j.cnki.dlhyxb.2010.05.003>

文章编号: 1674-5566(2021)02-0266-10

DOI:10.12024/jsou.20191102866

4 种饵料对选育中间养成阶段的凡纳滨对虾投喂效果分析

冀德伟^{1,2}, 张敏^{1,2}, 闫茂仓^{1,2}, 柴雪良^{1,2}, 胡利华^{1,2}

(1. 浙江省海洋水产养殖研究所, 浙江温州 325005; 2. 浙江省近岸水域生物资源开发与保护重点实验室, 浙江温州 325005)

摘要: 为了解凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 在选育中间养成阶段 (10~40 g/尾) 的营养需求, 以同一全同胞家系体质量为 (10.30 ± 1.61) g 的凡纳滨对虾为对象, 选择配合饲料、软颗粒饲料、虎斑乌贼 (*Sepia pharaonis*) 和双齿围沙蚕 (*Perinereis aibuhitensis*) 这 4 种饵料进行 60 d 的投喂, 在对 4 种饵料进行营养评价的基础上, 研究其对对虾生长、成活以及消化、生长相关基因表达的影响。结果显示: 4 种饵料投喂下对虾的特定生长率和成活率从高到低依次为双齿围沙蚕、配合饲料、软颗粒饲料和虎斑乌贼; 人工饲料组对虾肝胰腺中消化相关的 α -淀粉酶 d4 基因表达水平显著高于生物饵料组, 蛋白酶基因表达趋势同 α -淀粉酶 d4 基因相似, 双齿围沙蚕组和软颗粒饲料组的胰脂肪酶基因表达显著高于配合饲料组。虎斑乌贼组小核糖核蛋白肽 G 基因表达显著低于其他饵料组, 生物饵料组 y + L 氨基酸转运载体-2 基因表达显著高于人工饲料组; 虎斑乌贼和双齿围沙蚕的氨基酸营养评价相对较高, 而配合饲料和双齿围沙蚕的脂肪组成和含量相对更优。研究发现: 双齿围沙蚕的营养价值最高, 软颗粒饲料最低; 4 种实验饵料的投喂效果依次为双齿围沙蚕、配合饲料、软颗粒饲料和虎斑乌贼; 除蛋白酶基因外, 其他基因表达同实验饵料的营养组成和投喂效果一致。

关键词: 凡纳滨对虾; 选育; 中间养成; 饵料; 生长; 基因表达

中图分类号: S 917 **文献标志码:** A

凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 俗称南美白对虾, 隶属于十足目 (Decapoda) 对虾科 (Penaeidae) 滨对虾属 (*Litopenaeus*), 原产于中南美洲太平洋沿岸, 是全球主要的对虾养殖品种^[1-2]。中国在 1988 年引进凡纳滨对虾, 2000 年后养殖面积迅速扩大, 并取代斑节对虾 (*Penaeus monodon*)、中国对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 等品种, 目前是我国重要的水产养殖大宗品种。中国每年凡纳滨对虾亲虾的需求量约 150 万对, 除了从国外进口, 大部分是养虾塘选留的“菜虾”^[3]。近年来, 国内陆续开展了凡纳滨对虾新品种的选育工作, 目前已选育出“科海 1 号”^[4]、“壬海 1 号”^[5] 等 9 个新品种, 但自主选育品种的市场占有率一直不高。亲虾选育已经成为制约我国凡纳滨对虾产业健康发展的主要瓶颈。

导致国内凡纳滨对虾选育困境的原因: 一是

国外主要对虾选育公司的“育种者锁” (breeder lock) 策略^[6], 使得国内基础选育群体的遗传多样性偏低, 如果选育方案控制不好, 几代近交后, 子代的目标性状会逐渐衰退^[3]; 二是环境胁迫, 特别是营养胁迫会改变选育群体的目标性状, 同时这种改变会通过诸如 DNA 甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑和非编码 RNA 调控等表观遗传修饰等方式影响子代基因表达^[7-8]。研究^[9]发现, 给妊娠期的小鼠饲喂低蛋白质日粮, 会导致子代小鼠的肝脏 DNA 高度甲基化, 子代幼鼠个体显著变小, 增大成年后患葡萄糖不耐受症和高血压症的几率。而用鱼油替代植物油, 提高黄鳍鲷 (*Acanthopagrus latus*) 亲鱼日粮中的 n-3 多不饱和脂肪酸添加比例, 会显著影响孵化 3 d 后的仔鱼存活率和脂肪细胞代谢^[10]。

凡纳滨对虾选育群体的保种养成大致分为

收稿日期: 2019-11-22 修回日期: 2020-03-25

基金项目: 浙江省重大科技专项 (2016C02055-5); 浙江省省属科研院所专项 (2017F30041); 浙江农业新品种选育重大科技专项 (2016C02055-5); 温州市农业新品种选育协作组项目 (2019ZX002-01)

作者简介: 冀德伟 (1983—), 男, 工程师, 研究方向为对虾选育与养殖生态。E-mail: jdw8313@163.com

通信作者: 胡利华, E-mail: hulihua1208@163.com

幼虾到商品虾规格阶段(0~10 g/尾)、中间养成阶段(10~40 g/尾)和促熟繁育阶段(40 g/尾以上)。幼虾到商品虾规格阶段,有关幼虾的虾片选择^[11]、商品虾养殖中粗蛋白^[12]和粗脂肪^[13]需求的研究报道较多。促熟繁育阶段,有关不同鲜活饵料对凡纳滨对虾性腺发育的影响研究^[14]也有报道。虽然在中间养成阶段凡纳滨对虾体质量快速增长,并开始积蓄能量为繁殖做准备,是下一代对虾选育和苗种繁育成败的关键时期。但目前关于凡纳滨对虾中间养成阶段的营养需求仍少有研究,相关知识严重匮乏。针对此问题,选择了对虾养殖和促熟培育中常用的4种饵料,对其进行营养价值评价,并对比分析其对中间养成阶段凡纳滨对虾生长、成活以及消化、生长相关基因表达的影响,以期对凡纳滨对虾选育中间养成阶段的饵料选择提供基础数据支撑。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

凡纳滨对虾选自浙江省乐清市清江实验场构建的同一全同胞家系,挑选个体强壮、规格均一的对虾为实验对象,体质量为(10.30 ± 1.61) g。4种实验饵料:饵料1产自宁波的凡纳滨对虾配合饲料(ZD);饵料2产自泰国的亲虾软颗粒饲料(YW);饵料3体质量为(246.14 ± 43.50) g的冰冻虎斑乌贼(*Sepia pharaonis*, SP),购自乐清市蒲岐海鲜市场,投喂前将头足(去除口球、眼)和外套膜肌肉切成条状洗净;饵料4体质量为(2.18 ± 0.35) g的活体双齿围沙蚕(*Perinereis aibuhitensis*, PA),购自温州沙蚕养殖场,投喂前吐泥洗净。

1.2 实验方法

1.2.1 实验处理

4种饵料投喂实验在面积为10 m²(3.7 m × 2.7 m × 1.2 m)的室内水泥池进行,气石密度为1个/m²,每实验组设3个平行(100尾对虾/平行)。每天07:00、15:00和22:00各饱食投喂1次,以饵料少量剩余为准。定时查看对虾摄食及死亡情况,并及时捞出死亡对虾。养殖池每3天排污换水1次,换水量30%~50%,实验用水为自然海水经沉淀、砂滤、海水反渗透膜处理得到的浓缩海水。实验期间水温为(28.8 ± 0.6) °C、pH为8.3 ± 0.2、盐度为29.8 ± 0.4、溶解氧质

量浓度为(5.7 ± 0.6) mg/L。投喂实验持续60 d,结束时逐尾统计各实验组对虾的数量和体质量(精确到0.01 g);每个实验组随机选取12尾对虾(雌雄各6尾),剥取肌肉,组织捣碎机搅碎混匀,-20 °C冻存用于对虾肌肉氨基酸成分的测定;每个实验组随机选取6尾对虾(雌雄各3尾),冰上解剖取肝胰腺和肌肉组织,液氮冻存后-80 °C保存用于后续基因表达分析。

分别称取配合饲料和软颗粒饲料各600 g,取6只虎斑乌贼(将去除口球、眼的头足和外套膜肌肉切成条状后吸干表面水分),称取600 g双齿围沙蚕吐泥洗净吸干表面水分后,用组织捣碎机搅碎混匀,-20 °C密封保存,用于后续4种饵料营养成分的测定。

1.2.2 4种饵料营养成分及实验对虾肌肉氨基酸成分测定

饵料营养成分测定:水分采用恒温干燥法(GB 5009.3—2010)测定;粗蛋白采用微量凯氏定氮法(GB 5009.5—2010)测定;粗脂肪采用索氏抽提法(GB 5009.6—2003)测定;灰分采用马弗炉灼烧法(GB 5009.4—2010)测定;色氨酸参照GB/T 15400—1994,其他氨基酸参照GB/T 5009.124—2016,用氨基酸自动分析仪(日本,L-8900)测定。

脂肪酸参照GB/T 5009.168—2016,称取适量样品,加入100 mg焦性没食子酸、5粒沸石,再加入2 mL 95%乙醇混匀,加入盐酸溶液10 mL混匀。将烧瓶放入70~80 °C水浴中水解40 min,后加入10 mL 95%乙醇混匀。水解液转到分液漏斗中,振摇5 min,静置10 min。将醚层提取液收集到250 mL烧瓶中。重复以上步骤提取水解液3次,最后用乙醚石油醚混合液冲洗分液漏斗,并收集到已恒重的烧瓶中,将烧瓶置水浴上蒸干,置(100 ± 5) °C烘箱中干燥2 h。在脂肪提取物中,继续加入2 mL质量分数为2%氢氧化钠甲醇溶液,85 °C水浴锅中水浴30 min,加入3 mL质量浓度为14%三氟化硼甲醇溶液,于85 °C水浴锅中水浴30 min。水浴完成降至室温后,离心管中加入1 mL正己烷,振荡萃取2 min之后,静置1 h,等待分层。取上层清液100 μL,用正己烷定容到1 mL。用0.45 μm滤膜过膜后上机测试。上样用气相色谱质谱联用仪(Finnigan Trace DSGC/MS,美国)测定,其中色谱柱为CD-2560(100

m × 0.25 mm × 0.20 μm); 升温程序: 130 °C 保持 5 min, 以 4 °C/min 的速率升温至 240 °C, 保持 30 min。进样口温度: 250 °C; 载气流速: 0.5 mL/min; 10:1 分流进样; 检测器: FID; 检测器温度: 250 °C。

参考 WHO/FAO 的氨基酸评分模式^[15], 以实验对虾肌肉的必需氨基酸比率 (A/E) 为标准, 计算氨基酸评分 (AAS)、必需氨基酸指数 (EAAI) 和变异系数 (CV):

$$A_E = A_A / \sum E_{AA} \times 100\% \quad (1)$$

$$A_{AS} = A_{A0} / A_{A1} \quad (2)$$

$$E_{AAI} = 100 \times \sqrt[n]{A_{AS1} \times A_{AS2} \times \dots \times A_{ASn}} \quad (3)$$

$$C_V = \frac{s}{x} \times 100\% \quad (4)$$

式中: A_E 为实验对虾肌肉的必需氨基酸比率, %; A_A 为单个必需氨基酸质量分数, %; $\sum E_{AA}$ 为必需氨基酸总质量分数, %; A_{AS} 为氨基酸评分; A_{A0} 为饵料中某一必需氨基酸质量分数, %; A_{A1} 为凡纳滨对虾肌肉同种氨基酸质量分数, %; E_{AAI} 为必需氨基酸指数; n 为参与比较的必需氨基酸个数; A_{AS1} 、 A_{AS2} 和 A_{ASn} 为实验饵料的单一必需氨基酸评分; s 为同一饵料的必需氨基酸 A_{AS} 标准差; x 为平均值。

1.2.3 4 种饵料投喂对实验对虾生长和成活的影响

不同饵料投喂实验组对虾的特定生长率 (GR) 和成活率 (R):

$$R_{GR} = \frac{\ln W_t - \ln W_0}{t} \times 100 \quad (5)$$

$$R = \frac{N_t}{N_0} \times 100 \quad (6)$$

式中: R_{GR} 为特定生长率, %/d; R 为成活率, %; W_t 为实验结束时对虾平均体质量, g; W_0 为实验

起始时对虾平均体质量, g; t 为实验天数, d; N_t 为实验结束时对虾数量, 只; N_0 为实验开始时对虾数量, 只。

1.2.4 4 种饵料投喂对实验对虾消化、生长相关基因表达的影响

按照 EASYspin Plus 组织/细胞 RNA 快速提取试剂盒说明书对对虾组织样进行总 RNA 提取。RNA 浓度和完整度经 NanoDrop 和凝胶电泳检测合格后, 采用 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time) 反转录试剂盒制备 cDNA 模板, cDNA 模板稀释后 -20 °C 保存备用。

从 NCBI 数据库下载 α -淀粉酶 d4 (*alpha-amylase*, *AMY-d4*)、蛋白酶 (*trypsin*)、胰脂肪酶 (*pancreatic lipase*, *PL*)、核糖体蛋白 L7 (*ribosomal protein L7*, *RpL7*)、小核核糖核蛋白肽 G (*Small nuclear ribonucleoprotein polypeptide G*, *SNRPG*) 和 y^+ L 氨基酸转运载体-2 (y^+ L amino acid transporter-2, y^+ LAT2) 基因的序列, 用 Premier Premier 5.0 设计引物并克隆测序验证特异性。参照 ZHANG 等^[16]的方法, 以 β -actin 为内参基因, 用 StepOnePlus 荧光定量 PCR (美国, ABI) 检测各基因的相对表达水平。表达水平通过公式 $RTL = 1000 \times 2^{-\Delta C_T}$ 计算获得, 其中 $\Delta C_T = C_{T\text{目标基因}} - C_{T\text{actin}}$ 。所分析 6 个基因引物序列见表 1。

1.3 统计分析

用 Excel 2010 和 SPSS 23 对数据进行统计和方差分析, 饵料营养成分结果以平均值 (Mean) 表示。实验对虾的生长、成活和基因表达结果以平均值 ± 标准差 (Mean ± SD) 表示, 组间差异用 LSD 多重比较, 显著水平为 $P < 0.05$, 并用 SigmaPlot 10.0 作图。

表 1 β -actin、AMY-d4、trypsin、PL、RpL7、SNRPG 和 y^+ LAT2 基因的引物序列

Tab. 1 Primers sequences for β -actin, AMY-d4, trypsin, PL, RpL7, SNRPG and y^+ LAT2 used

引物 Primers	正向 (5' to 3') Forward (5' to 3')	反向 (5' to 3') Reverse (5' to 3')
<i>β-actin</i>	CCGGCCGCGACCTCACAGACT	CCTCGGGGACGCGAACCTC
<i>AMY-d4</i>	TCTCACCAACGCAGGAAAC	GAGCCTACTGACGACGAAAAC
<i>trypsin</i>	TCTCCCTGCTCAAGCTGTCT	AGTCCTCAATGTCGGCTCTGG
<i>PL</i>	ATCCACGCCACTTTTCCA	GCAGGTTTATGTTTCAGGAGGT
<i>RpL7</i>	TAGCCTTCGTTATCAGAGTTCG	AGCATGACCACGCTTGTAGAT
<i>SNRPG</i>	TGGATGATGGGCTGGAAGT	CATTTGGGTTTGGGACTACG
y^+ LAT2	TTGAAGGGACCAAGACAGAC	GTGACAACGCCAGATAACCTA

2 结果

2.1 4种饵料的营养成分比较分析

由表2(水分含量为鲜物质基础,粗蛋白、粗脂肪和灰分含量为风干基础)可知。软颗粒饲料的水分含量高于配合饲料,但低于虎斑乌贼和双齿围沙蚕。粗蛋白含量由高到低依次为虎斑乌贼、双齿围沙蚕、软颗粒饲料、配合饲料。粗脂肪含量由高到低依次为软颗粒饲料、双齿围沙蚕、配合饲料、虎斑乌贼。配合饲料和软颗粒饲料的灰分含量高于虎斑乌贼和双齿围沙蚕。

表2 4种饵料的常规营养成分(质量分数)

Tab.2 Nutrition components of the four diets investigated (mass fraction) %

项目 Items	组别 Groups			
	ZD	YW	SP	PA
水分 Moisture	10.43	29.48	81.91	81.15
粗蛋白 Protein	46.85	59.32	80.71	66.05
粗脂肪 Fat	8.40	13.15	3.82	10.70
灰分 Ash	12.55	11.74	5.64	7.11

由表3可知,共检出18种氨基酸,必需氨基酸和总氨基酸含量从高到低依次为对虾肌肉、虎斑乌贼、双齿围沙蚕、软颗粒饲料、配合饲料。EAA/NEAA和EAA/TAA顺序相似,由高到低依次为双齿围沙蚕、虎斑乌贼、对虾肌肉、配合饲料、软颗粒饲料,其中对虾肌肉的EAA/NEAA和EAA/TAA与虎斑乌贼相近。

由图4可知,4种饵料的第一限制性氨基酸均为精氨酸(Arg),而配合饲料的第二和第三限制性氨基酸分别为甲硫氨酸+胱氨酸(Met+Cys)和赖氨酸(Lys),软颗粒饲料为Lys和组氨酸(His),虎斑乌贼为缬氨酸(Val)和Lys,双齿围沙蚕为Met+Cys和亮氨酸(Leu)。4种饵料的CV值由高到低依次为配合饲料、双齿围沙蚕、软颗粒饲料、虎斑乌贼,其中除配合饲料外的3种饵料CV值相近;而EAAI由高到低依次为虎斑乌贼、双齿围沙蚕、软颗粒饲料、配合饲料,其中虎斑乌贼的EAAI指数远高于其他饵料。

表3 4种饵料与实验对虾肌肉氨基酸组成及含量(风干基础,质量分数)

Tab.3 Composition and contents of amino acids in the four diets investigated (air-dry basis, mass fraction) %

项目 Items	组别 Groups				凡纳滨对虾 <i>L. vannamei</i>
	ZD	YW	SP	PA	
赖氨酸 Lys*	2.81	3.24	6.26	4.64	6.86
甲硫氨酸 Met*	0.67	1.24	2.22	1.14	2.15
精氨酸 Arg*	2.49	3.03	4.76	3.75	8.07
苏氨酸 Thr*	1.69	2.14	3.44	2.37	3.08
缬氨酸 Val*	2.03	2.33	3.07	2.60	3.47
异亮氨酸 Ile*	1.75	2.14	3.61	2.40	3.32
亮氨酸 Leu*	3.24	3.83	6.32	4.10	6.09
苯丙氨酸 Phe*	1.95	2.18	3.03	2.51	3.27
组氨酸 His*	1.07	1.02	1.65	1.43	1.75
色氨酸 Trp*	0.61	0.69	1.09	0.95	1.08
胱氨酸 Cys [△]	0.47	0.61	0.91	0.63	0.89
酪氨酸 Tyr [△]	1.41	1.48	2.65	2.10	2.78
天冬氨酸 Asp	4.13	4.51	8.20	5.65	8.10
丝氨酸 Ser	1.89	2.26	3.62	2.24	3.03
谷氨酸 Glu	7.81	9.25	12.37	7.90	13.12
甘氨酸 Gly	2.17	2.94	5.09	2.74	7.40
丙氨酸 Ala	2.16	2.72	4.24	4.18	4.70
脯氨酸 Pro	2.25	3.01	3.11	2.37	4.38
必需氨基酸 EAA	20.19	23.93	39.01	28.62	42.81
非必需氨基酸 NEAA	20.41	24.69	36.63	25.08	41.00
总氨基酸 TAA	40.60	48.62	75.64	53.70	83.81
EAA/NEAA	98.92	96.92	106.50	114.11	104.41
EAA/TAA	49.73	49.22	51.57	53.30	51.08

注: *代表必需氨基酸; [△]代表半必需氨基酸。

Notes: * indicates essential amino acid; [△] indicates half essential amino acid.

表4 4种饵料的必需氨基酸AAS和EAAI评价

Tab.4 AAS and EAAI evaluation of the four diets investigated

项目 Items	组别 Groups			
	ZD	YW	SP	PA
赖氨酸 Lys	0.41 [△]	0.47 [◇]	0.91 [△]	0.68
精氨酸 Arg	0.31*	0.38*	0.59*	0.46*
苏氨酸 Thr	0.55	0.69	1.12	0.77
缬氨酸 Val	0.59	0.67	0.88 [◇]	0.75
异亮氨酸 Ile	0.53	0.64	1.09	0.72
亮氨酸 Leu	0.53	0.63	1.04	0.67 [△]
组氨酸 His	0.61	0.58 [△]	0.94	0.82
色氨酸 Trp	0.56	0.64	1.01	0.88
甲硫氨酸+胱氨酸 Met+Cys	0.38 [◇]	0.61	1.03	0.58 [◇]
苯丙氨酸+酪氨酸 Phe+Tyr	0.56	0.60	0.94	0.76
变异系数 CV/%	20.09	16.40	15.59	16.75
必需氨基酸指数 EAAI/%	49.12	58.38	94.23	69.97

注: *代表第一限制性必需氨基酸; [◇]代表第二限制性必需氨基酸; [△]代表第三限制性必需氨基酸。

Notes: * indicates first limiting essential amino acid; [◇] indicates second limiting essential amino acid; [△] indicates third limiting essential amino acid.

由表5可知:软颗粒饲料的脂肪酸检出种类数最多(24种),其他依次为配合饲料(22种)、双齿围沙蚕(17种)和虎斑乌贼(12种);饱和脂肪酸(SFA)由高到低依次为虎斑乌贼、双齿围沙蚕、软颗粒饲料和配合饲料,同时4种饵料的SFA均以棕榈酸(C16:0)和硬脂酸(C18:0)为主。虎斑乌贼和配合饲料的单不饱和脂肪酸(MUFA)都高于双齿围沙蚕,低于软颗粒饲料。实验饵料的MUFA都以油酸[C18:1(n-9)]为主。配合饲料和双齿围沙蚕的多不饱和脂肪酸(PUFA)都高于虎斑乌贼和软颗粒饲料,且除双齿围沙蚕外,PUFA中丰度最高的均为亚油酸[C18:2(n-6)]、EPA[C20:5(n-3)]和DHA[C22:6(n-3)]。虎斑乌贼的EPA+DHA和 $\sum n3/\sum n6$ 高于其他饵料组。

表5 4种饵料的脂肪酸组成及质量分数
Tab.5 Composition and content mass fraction of fatty acid in the four diets investigated %

项目 Items	组别 Groups			
	ZD	YW	SP	PA
月桂酸 C12:0	0.13	0.27	1.85	-
肉豆蔻酸 C14:0	3.50	4.75	2.04	0.69
十五碳酸 C15:0	0.52	0.49	-	0.5
棕榈酸 C16:0	19.63	18.62	20.56	20.88
十七碳酸 C17:0	1.09	1.44	-	3.05
硬脂酸 C18:0	4.36	4.81	9.59	6.01
花生酸 C20:0	0.45	0.34	3.05	-
山嵛酸 C22:0	0.27	0.36	-	-
二十三碳酸 C23:0	0.16	0.28	-	1.18
二十四碳酸 C24:0	0.82	1.18	-	1.86
肉豆蔻油酸 C14:1(n-5)	0.13	0.17	-	0.19
棕榈油酸 C16:1(n-7)	3.43	4.68	1.05	2.55
油酸 C18:1(n-9)	16.78	21.08	20.58	12.65
二十碳一烯酸 C20:1	1.95	3.73	1.54	4.31
芥子酸 C22:1(n-9)	0.21	0.39	-	-
鲨油酸 C24:1(n-9)	0.21	0.57	-	-
亚油酸 C18:2(n-6)	26.82	12.43	8.02	15.81
γ -亚麻酸 C18:3(n-6)	-	0.35	-	-
α -亚麻酸 C18:3(n-3)	3.38	2.22	-	1.88
二十碳二烯酸 C20:2	0.14	0.47	-	13.20
二十碳三烯酸 C20:3(n-6)	-	0.39	-	-
花生四烯酸 C20:4(n-6)	0.67	5.20	2.65	3.23
EPA C20:5(n-3)	5.25	6.69	9.02	8.29
DHA C22:6(n-3)	10.13	9.37	20.03	3.71
饱和脂肪酸 SFA	30.92	32.43	37.10	34.19
单不饱和脂肪酸 MUFA	22.71	30.56	23.17	19.69
多不饱和脂肪酸 PUFA	46.37	37.01	39.73	46.12
EPA + DHA	15.38	16.07	29.06	12.00
$\sum n3/\sum n6$	0.68	1.00	2.72	0.73

注: - 代表未检出。

Notes: - indicates not detected.

2.2 4种饵料投喂对实验对虾生长和成活的影响

由表6可知:特定增长率由高到低依次为双齿围沙蚕组、配合饲料和软颗粒饲料组、虎斑乌贼组,其中配合饲料组和软颗粒饲料组间差异不显著($P > 0.05$),其他组间均具显著差异($P < 0.05$);同特定增长率类似,实验对虾的成活率由高到低也为双齿围沙蚕组、配合饲料组、软颗粒饲料组、虎斑乌贼组,虽然相邻组间的成活率差异不显著($P > 0.05$),但双齿围沙蚕组显著高于软颗粒饲料组和虎斑乌贼组($P < 0.05$),配合饲料组则显著高于虎斑乌贼组($P < 0.05$)。

2.3 4种饵料投喂对凡纳滨对虾消化、生长相关基因表达的影响

4种饵料投喂下,配合饲料组和软颗粒饲料组对虾的肝胰腺 *AMY-d4* 基因表达水平显著高于虎斑乌贼组和双齿围沙蚕组($P < 0.05$),见图1a。虎斑乌贼组的 *trypsin* 基因表达水平显著最低($P < 0.05$),见图1b,而其他饵料组间表达差异不显著($P > 0.05$)。实验对虾的 *PL* 基因表达水平由高到低依次为双齿围沙蚕组、软颗粒饲料组、虎斑乌贼组和配合饲料组,其中相邻组间无显著差异($P > 0.05$),相隔组间具显著性差异($P < 0.05$),见图1c。4种饵料投喂对 *RpL7* 基因在对虾肌肉中的表达不具显著性影响($P > 0.05$),见图1d。虎斑乌贼投喂下对虾的 *SNPRG* 基因表达显著低于配合饲料组(图1e),而其他饵料组间的表达差异不显著($P > 0.05$)。虎斑乌贼组和双齿围沙蚕组的 y^+ *LAT2* 基因表达水平显著高于配合饲料组和软颗粒饲料组($P < 0.05$),见图1f。

3 讨论

3.1 4种饵料的营养评价和对实验对虾的生长、成活的影响

饲料的营养价值与蛋白含量、氨基酸组成直接相关,特别是必需氨基酸的组成和含量^[17-18]。黄文文等^[12]以6种不同蛋白水平的饲料投喂两种规格的凡纳滨对虾发现,幼虾阶段和养成阶段的蛋白质需要量(质量分数)分别为38.6%和36.8%。李广丽等^[19]用不同蛋白质水平的饲料投喂体长为(4.21 ± 0.31) cm 的凡纳滨对虾发现,蛋白质质量分数在42.37% ~ 44.12%时对虾生

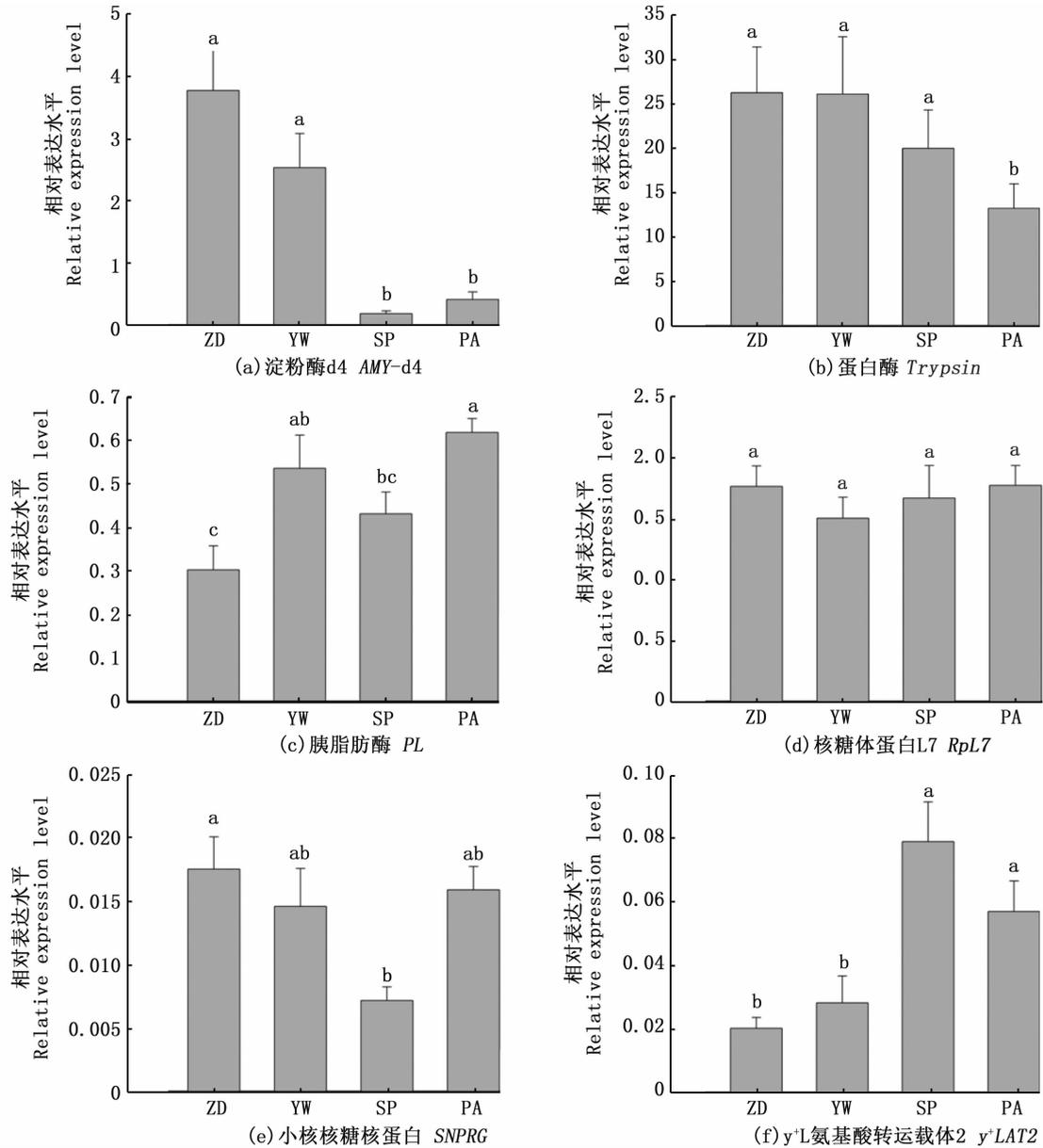
表 6 4种饵料投喂下实验对虾的生长和成活

Tab. 6 Growth and survival rate of *L. vannamei* fed with four diets investigated

项目 Items	组别 Groups			
	ZD	YW	SP	PA
特定生长率 Specific growth rate/(%/d)	2.09 ± 0.27 ^b	1.79 ± 0.20 ^b	0.69 ± 0.18 ^c	2.61 ± 0.16 ^a
成活率 Survival rate/%	76.67 ± 5.05 ^{ab}	61.67 ± 4.83 ^{bc}	51.67 ± 6.68 ^c	88.33 ± 8.32 ^a

注:同行组间肩标字母不同代表差异显著($P < 0.05$),相同代表差异不显著($P > 0.05$)。

Notes: Different letters indicate the mean values in the same line are significantly different ($P < 0.05$), same letters indicate no significant difference ($P > 0.05$).



同一图中字母不同代表差异显著($P < 0.05$),相同则表示差异不显著($P > 0.05$)。

Different letters indicate the mean values in the same figure are significantly different ($P < 0.05$), same letters indicate no significant difference ($P > 0.05$).

图 1 4种饵料投喂对实验对虾消化、生长相关基因表达的影响

Fig. 1 Expression levels of digestion and growth-related genes in shrimps fed with the four diets investigated

长最快。曾雯婷^[17]和MCVEY等^[20]认为,凡纳滨对虾的限制性氨基酸为Lys、苯丙氨酸(Phe)和Arg,需求量(质量分数)分别为2.05%、0.89%和2.16%。本研究中测试的4种实验饵料的粗蛋白和Lys、Phe和Arg含量均高于建议值,但限制性氨基酸种类与报道不同,可能是由于本研究中AAS评价标准为对虾肌肉导致。4种饵料中,虎斑乌贼具有显著高于其他组别的TAA和EAA含量,这与之前报道的乌贼科中杜氏枪乌贼(*Loligo duvancelii*)^[21]、拟目乌贼(*Sepia lycidas*)^[22]等的营养结论相一致。同时,虎斑乌贼和双齿围沙蚕的EAA/NEAA、EAA/TAA、EAAI、CV等指标都优于配合饲料和软颗粒饲料,显示虎斑乌贼和双齿围沙蚕的必需氨基酸评价相对更优。

脂肪是虾生长发育所需的必需脂肪酸、胆固醇和磷脂等的主要来源,不但参与脂溶性维生素的吸收和运输^[23],而且在蜕壳生长^[24]、性腺发育^[25]中起着重要作用。多不饱和脂肪酸特别是EPA、DHA是对虾的必需脂肪酸,由于对虾的自身合成能力有限,主要依靠外源获取^[26]。脂肪添加水平不足会导致对虾蛋白利用率下降乃至代谢紊乱^[27],而添加过量也会导致体内脂肪酸重新合成受到抑制,影响对虾正常的生长发育和免疫应答^[28]。DESHIMARU等^[29]发现,与对照组相比在日粮中添加质量分数6%的豆油和鳕鱼肝油(1:3或1:1)混合物能显著促进日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)的生长。王猛强等^[13]用6种不同粗脂肪水平的饲料投喂规格为(7.93 ± 0.03)g/尾的凡纳滨对虾发现,适宜的粗脂肪质量分数为5.57%~7.86%。在本研究所测试的4种饵料中,配合饲料和双齿围沙蚕具有最高的PUFA。软颗粒饲料的粗脂肪质量分数偏高(13.15%),而PUFA、EPA + DHA和 $\sum n3/\sum n6$ 等指标则均偏低。虽然虎斑乌贼具有很高的EPA + DHA和 $\sum n3/\sum n6$,但其粗脂肪质量分数明显偏低(3.82%)。因此,本研究表明在所测试的4种饵料中,配合饲料和双齿围沙蚕的脂肪组成和含量相对更优。

4种饵料投喂下,实验对虾的生长和成活率由高到低依次为双齿围沙蚕、配合饲料、软颗粒饲料、虎斑乌贼。虽然虎斑乌贼的性腺和肝脏脂肪含量较高,且富含多不饱和脂肪酸^[30],但生产上作为鲜活饵料时,为防止水质败坏,一般只保

留其头足和外套膜肌肉进行投喂。因此虎斑乌贼的投喂效果不佳可能与头足和外套膜肌肉中的粗脂肪含量过低有关,这与高晓兰等^[30]对野生虎斑乌贼外套膜肌肉高蛋白质、低脂肪的评价相一致。软颗粒饲料的投喂效果不佳可能与粗脂肪含量过高,且脂肪酸组成评价相对较低有关。

3.2 4种饵料投喂对实验对虾消化、生长相关基因表达的影响

水产动物对饵料组成有较高的敏感性,肝脏能根据饵料调节体内消化酶的活性,进而影响实验动物的生理状态^[31-33]。适当含量的碳水化合物能降低对虾的蛋白需求而不影响其生长性能^[34],配合饲料和软颗粒饲料投喂下,对虾肝胰腺AMY-d4基因的高水平表达可能与人工饲料中的植物淀粉添加有关。有研究^[34-35]认为,作为实验动物的一种适应本能,饵料的组成与对应的消化酶活性正相关,本研究中PL基因的表达水平同饵料脂肪含量大体一致,而trypsin基因的表达同实验饵料蛋白含量却不相关,有关原因还有待进一步研究。

SNRPG是细胞核内的一种与小核RNA结合的蛋白质多肽,而RpL7是构成核糖体60Sd亚基的成分。此前钱昭英^[36]利用RNAi技术验证了SNRPG和RpL7基因可以正向调控对虾肌肉生长相关基因的表达。 y^+ LAT2是参与细胞内外氨基酸转运的蛋白,主要转运碱性氨基酸和中性氨基酸^[37-38],目前 y^+ LAT2基因表达调控研究已在小鼠^[39]和草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)^[40]等物种中有所报道。本研究中,4种饵料投喂对对虾肌肉SNRPG和RpL7基因表达的影响同对虾的生长趋势相似,而且 y^+ LAT2基因表达同实验饵料的碱性和中性氨基酸含量正相关,但氨基酸转运同对虾生长之间的内在关系仍有待进一步研究。

3.3 选育中间养成阶段凡纳滨对虾的饵料选择及风险评估

凡纳滨对虾世代选育过程中,病害引入的风险评估和隔离是关键。对虾选育中间养成阶段长达3~4个月,尽管可以严格选择产地和进货渠道,但鲜活饵料仍然是病害引入的主要风险源。同时在选育养成中发现,投喂双齿围沙蚕的雄虾性腺会提早成熟,这会导致来年选育时雄虾精荚老化,打乱选育工作的安排。因此,在对虾选育中间养成阶段,选择与双齿围沙蚕营养相近

的人工饲料更为稳妥,接近促熟繁育阶段时再逐渐用双齿围沙蚕替代。

参考文献:

- [1] ANSARI T M, MARR I L, TARIQ N. Heavy metals in marine pollution perspective; a mini review [J]. *Journal of Applied Sciences*, 2004, 4(1): 1-20.
- [2] 朱亦晨, 谭洪新, 罗国芝. 养殖密度对硝化型生物絮团系统中凡纳滨对虾生长和水质的影响[J]. *上海海洋大学学报*, 2020, 29(1): 27-35.
- ZHU Y C, TAN H X, LUO G Z. Effect of different stocking density on growth performance of *Litopenaeus vannamei* and water quality in nitrifying bio-floc system [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2020, 29(1): 27-35.
- [3] 冀德伟, 胡利华, 闫茂仓, 等. 凡纳滨对虾野生群体 F₁ 与近交群体杂交和自交子代的抗逆、生长性状比较[J]. *中国水产科学*, 2018, 25(6): 1227-1235.
- JI D W, HU L H, YAN M C, et al. A comparative study on stress resistance and growth among the inbred and hybrid offsprings of wild population F₁ and inbreeding population of *Litopenaeus vannamei* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2018, 25(6): 1227-1235.
- [4] 于洋. 凡纳滨对虾分子标记的开发及其在遗传育种中的应用[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2014: 58-69.
- YU Y. Development of molecular markers and their applications in selective breeding of the pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2014: 58-69.
- [5] 冯亚萍. 凡纳滨对虾抗 WSSV 性状遗传参数评估及与中国明对虾抗 WSSV 性状差异研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017: 13-21.
- FENG Y P. Estimation of genetic parameters for white spot syndrome virus (WSSV) resistance traits in *Litopenaeus vannamei* and comparison of resistance to WSSV between *Litopenaeus vannamei* and *Fenneropenaeus chinensis* [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2017: 13-21.
- [6] DOYLE R W. Inbreeding and disease in tropical shrimp aquaculture: a reappraisal and caution [J]. *Aquaculture Research*, 2016, 47(1): 21-35.
- [7] DEANS C, MAGGERT K A. What do you mean, "epigenetic"? [J]. *Genetics*, 2015, 199(4): 887-896.
- [8] COX B D. On the difficulty in getting out of historical ruts: Waddington and an argument for behavioral epigenetics [J]. *New Ideas in Psychology*, 2013, 31(3): 374-389.
- [9] REES W D, HAY S M, BROWN D S, et al. Maternal protein deficiency causes hypermethylation of DNA in the livers of rat fetuses [J]. *The Journal of Nutrition*, 2000, 130(7): 1821-1826.
- [10] ZAKERI M, KOCHANIAN P, MARAMMAZI J G, et al. Effects of dietary n-3 HUFA concentrations on spawning performance and fatty acids composition of broodstock, eggs and larvae in yellowfin sea bream, *Acanthopagrus latus* [J]. *Aquaculture*, 2011, 310(3/4): 388-394.
- [11] 杨育凯, 林黑着, 杨其彬, 等. 3 种虾片在凡纳滨对虾育苗中的效果评价[J]. *四川农业大学学报*, 2017, 35(2): 266-272.
- YANG Y K, LIN H Z, YANG Q B, et al. Effect evaluation of three kinds of shrimp flake in the larval rearing of *Litopenaeus vannamei* [J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2017, 35(2): 266-272.
- [12] 黄文文, 郑昌区, 霍雅文, 等. 凡纳滨对虾不同生长阶段的蛋白质需要量[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(9): 2675-2686.
- HUANG W W, ZHENG C Q, HUO Y W, et al. Protein requirement of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during different growth stages [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26(9): 2675-2686.
- [13] 王猛强, 郑昌区, 金敏, 等. 粗脂肪水平对 2 种规格凡纳滨对虾生长性能、饲料利用和非特异性免疫的影响[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(9): 2687-2697.
- WANG M Q, ZHENG C Q, JIN M, et al. Effects of dietary crude lipid level on growth performance, feed utilization and non-specific immunity of pacific white shrimp at two growth stages [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26(9): 2687-2697.
- [14] 姚卫军, 黄翔鹤, 李活. 不同天然饵料对凡纳滨对虾亲虾性腺发育的影响[J]. *广东海洋大学学报*, 2009, 29(4): 84-88.
- YAO W J, HUANG X H, LI H. Effect of various natural diets on broodstock's gonad development of *Litopenaeus vannamei* [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2009, 29(4): 84-88.
- [15] FAO/WHO Ad Hoc Expert Committee. Energy and protein requirements [R]. Rome: FAO and WHO, 1973: 40-72.
- [16] ZHANG M, HUANG X K, HU L H, et al. Effects of salinity fluctuation on gene expression profiles of female *Litopenaeus vannamei* broodstocks [J]. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 2018, 70: 1476-1484.
- [17] 曾雯婷. 凡纳滨对虾幼虾对赖氨酸、蛋氨酸、精氨酸和苯丙氨酸需要量的研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2012: 1-4.
- ZENG W P. Study on the requirements of lysine, methionine, arginine and phenylalanine for juvenile pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2012: 1-4.
- [18] National Research Council. Nutrient requirements of fish and shrimp [M]. Washington, DC: The National Academies Press, 2011: 57-100.
- [19] 李广丽, 朱春华, 周歧存. 不同蛋白质水平的饲料对南美白对虾生长的影响[J]. *海洋科学*, 2001, 25(4): 1-4.
- LI G L, ZHU C H, ZHOU Q C. Effects of dietary protein level on the growth of *Penaeus vannamei* [J]. *Marine Sciences*, 2001, 25(4): 1-4.

- [20] MCVEY J P, FOX L M. Hatchery techniques for penaeid shrimp utilized by Texas A&M-NMFS Galveston Laboratory program[M]//MCVEY J P. CRC Handbook of Mariculture, Vol. 1, Crustacean Aquaculture. Boca Raton, FL, USA: Chemical Rubber Company Press, 1983: 129-154.
- [21] 杜少波, 胡超群, 沈琪, 等. 凡纳滨对虾亲虾常用天然饵料营养成分的比较研究[J]. 热带海洋学报, 2005, 24(1): 50-59.
DU S B, HU C Q, SHEN Q, et al. A comparative study on biochemical composition of main natural diets for broodstock *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2005, 24(1): 50-59.
- [22] 蒋霞敏, 彭瑞冰, 罗江, 等. 野生拟目乌贼不同组织营养成分分析及评价[J]. 动物营养学报, 2012, 24(12): 2393-2401.
JIANG X M, PENG R B, LUO J, et al. Analysis and evaluation of nutrient composition in different tissues of wild *Sepia lycidas* [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2012, 24(12): 2393-2401.
- [23] CASTELL J D, COVEY J F. Dietary lipid requirements of adult lobsters, *Homarus americanus* (M. E.) [J]. The Journal of Nutrition, 1976, 106(8): 1159-1165.
- [24] CAVALLI R O, LAVENS P, SORGELOOS P. Performance of *Macrobrachium rosenbergii* broodstock fed diets with different fatty acid composition[J]. Aquaculture, 1999, 179(1/4): 387-402.
- [25] SPAARGAREN D H, HAEFNER P A JR. Interactions of ovary and hepatopancreas during the reproductive cycle of *Crangon crangon* (L.). II. Biochemical relationships[J]. Journal of Crustacean Biology, 1994, 14(1): 6-19.
- [26] LIM C, AKO H, BROWN C L, et al. Growth response and fatty acid composition of juvenile *Penaeus vannamei* fed different sources of dietary lipid [J]. Aquaculture, 1997, 151(1/4): 143-153.
- [27] 姬红臣. 饲料对凡纳滨对虾生长、生化成分及养殖水质的影响[D]. 厦门: 厦门大学, 2005: 9-10.
JI H C. The effects of formula feeds on the growth, biochemical compositions of *Litopenaeus vannamei* and water quality[D]. Xiamen: Xiamen University, 2005: 9-10.
- [28] SARGENT J R, HENDERSON R J, TOCHER D R. The lipids[M]//HALVER J E. Fish Nutrition. 2nd ed. New York: Academic Press, 1989: 153-218.
- [29] DESHIMARU O, KUROKI K, YONE Y. The composition and level of dietary lipid appropriate for growth of prawn[J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1979, 45: 591-594.
- [30] 高晓兰, 蒋霞敏, 乐可鑫, 等. 野生虎斑乌贼不同组织营养成分分析及评价[J]. 动物营养学报, 2014, 26(12): 3858-3867.
GAO X L, JIANG X M, LE K X, et al. Analysis and evaluation of nutritional components in different tissues of wild *Sepia pharaonis* [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2014, 26(12): 3858-3867.
- [31] BOLASINA S, PREZ A, YAMASHITA Y. Digestive enzymes activity during ontogenetic development and effect of starvation in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. Aquaculture, 2006, 252(2/4): 503-515.
- [32] SHAN X J, XIAO Z Z, HUANG W, et al. Effects of photoperiod on growth, mortality and digestive enzymes in miiuy croaker larvae and juveniles [J]. Aquaculture, 2008, 281(1/4): 70-76.
- [33] 王海英. 大菱鲆主要消化酶——蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2004: 4-5.
WANG H Y. Digestive enzyme in turbot *Scophthalmus maximus* L. [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2004: 4-5.
- [34] 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: 18-20.
HU Y. Optimum feed formula selection and some feed additive application on juvenile *Litopenaeus vannamei* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2007: 18-20.
- [35] TAKII K, SHIMENO S, TAKEDA M. The effect of feeding stimulants in diet on some hepatic enzyme activities of eel [J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1986, 52(12): 2131-2134.
- [36] 钱昭英. 凡纳滨对虾生长性能相关候选基因的分离鉴定、表达规律及调控功能研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014: 91-139.
QIAN Z Y. Isolation, identification, expression and function studies of growth performance candidate genes in *Litopenaeus vannamei* [D]. Yangling: Northwest A & F University, 2014: 91-139.
- [37] CHILLARÓ N J, ESTÉVEZ R, MORA C, et al. Obligatory amino acid exchange via systems b⁰+ -like and y⁺ L-like: a tertiary active transport mechanism for renal reabsorption of cystine and dibasic amino acids[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1996, 271(30): 17761-17770.
- [38] MEIER C, RISTIC Z, KLAUSER S, et al. Activation of system L heterodimeric amino acid exchangers by intracellular substrates[J]. The EMBO Journal, 2002, 21(4): 580-589.
- [39] DAVE M H, SCHULZ N, ZECEVIC M, et al. Expression of heteromeric amino acid transporters along the murine intestine [J]. The Journal of Physiology, 2004, 558(2): 597-610.
- [40] 杨吉轩. 草鱼碱性氨基酸转运载体 y⁺ LAT1 和 y⁺ LAT2 的基因克隆及其 mRNA 表达研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013: 14-51.
YANG J X. Molecular cloning and expression analysis of cationic amino acid transporters y⁺ LAT1 and y⁺ LAT2 in *Ctenopharyngodon idellus* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2013: 14-51.

Effects of four diets on the growth performance in *Litopenaeus vannamei* during the middle stage of selective breeding

JI Dewei^{1,2}, ZHANG Min^{1,2}, YAN Maocang^{1,2}, CHAI Xueliang^{1,2}, HU Lihua^{1,2}

(1. Zhejiang Mariculture Research Institute, Wenzhou 325005, Zhejiang, China; 2. Zhejiang Key Laboratory of Exploitation and Preservation of Coastal Bio-resource, Wenzhou 325005, Zhejiang, China)

Abstract: In order to know the nutrition demands of *Litopenaeus vannamei* during the middle stage of selective breeding preservation period, juvenile shrimps [(10.30 ± 1.61) g/ind.] from the same breeding family were fed with two artificial diets [formula feed (ZD) or soft pellet feed (YW)] or two live diets [*Sepia pharaonis* (SP) or *Perinereis aibuhitensis* (PA)] for 60 days. The nutrition composition of these four diets was determined and the effects of different diets on the growth performance, survival rate and the expression levels of digestion and growth-related genes were evaluated. The results showed that: shrimps which were fed with PA had the highest specific growth rate and survival rate, followed by ZD, YW, and SP; expression levels of α -amylase d4 and trypsin in hepatopancreas of shrimps fed with artificial diets were significantly higher than those fed with live diets; the expression level of pancreatic lipase in shrimps fed with PA or YW was significantly higher than that of formula feed. Shrimps fed with SP had significantly lower expression level of small nuclear ribonucleoprotein polypeptide G (SNRPG) than others, whereas shrimps fed with live diets had significant higher expression level of y + L amino acid transporter 2 than those fed with artificial diets. the PA and SP had relatively higher amino acid evaluation scores, while ZD and PA possessed optimal fatty acid composition and content. In conclusion, PA and YW had the highest and lowest nutritional values, respectively; among the four diets, shrimps fed with PA had the best growth performance, and the expression patterns of digestion or growth-related genes were consistent with the nutrition composition (except trypsin) of the diets.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; selective breeding; middle stage; diet; growth; gene expression