

文章编号: 1000-0615(2018)09-1417-11

DOI: 10.11964/jfc.20171211103

发酵豆粕替代鱼粉对凡纳滨对虾生长、免疫相关酶及免疫相关基因表达的影响

刘 韬^{1,2,3}, 黄旭雄^{1,2,3}, 苏美英⁴, 杨景丰^{1,2,3},
郭子好⁵, 孔 纯^{1,2,3}, 华雪铭^{1,2,3*}

(1. 农业部鱼类营养与环境生态研究中心, 上海海洋大学, 上海 201306;

2. 农业部淡水水产种质资源重点实验室, 上海海洋大学, 上海 201306;

3. 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海海洋大学, 上海 201306;

4. 烟台南山学院工学院, 山东烟台 265713;

5. 上海源耀生物股份有限公司, 上海 201316)

摘要: 从免疫相关酶活及基因转录水平角度探讨发酵豆粕替代鱼粉对凡纳滨对虾健康生长及免疫机能机制的影响。实验设置5种实用饲料, 以30%鱼粉组(FM)为对照组, 分别用4%(FSM4)、8%(FSM8)、12%(FSM12)和16%(FSM16)的发酵豆粕, 替代9.7%、19.4%、29.1%和38.8%鱼粉, 分为4个处理组, 饲养体质量为(7.62±0.23)g的凡纳滨对虾60d后, 统计生长性能, 检测肌肉营养成分、血清及肝胰腺免疫相关酶活性, 肝胰腺HSP70和鳃Toll受体、IMD、溶菌酶(LZM)免疫相关基因mRNA的表达水平。结果显示: ①与对照组相比, 发酵豆粕替代鱼粉对凡纳滨对虾成活率无显著影响; 过低或过高水平的发酵豆粕替代鱼粉皆会影响凡纳滨对虾的特定生长率。②除FSM12组外, 肌肉粗蛋白含量发酵豆粕替代组均低于对照组; 粗脂肪含量随着发酵豆粕替代量的升高而降低, FSM16组最低。③血清谷丙转氨酶活FSM4和FSM16组显著高于对照组; 谷草转氨酶活FSM4组最高, 而FSM8组最低; 除FSM12组外; 碱性磷酸酶活性发酵豆粕替代组显著高于对照组; 除FSM16组外, 血清总蛋白与肝胰腺丙二醛含量发酵豆粕替代组与对照组无显著性差异。④随着发酵豆粕替代量增加, 鳃Toll受体 mRNA表达呈上升趋势, 鳃IMD mRNA表达则呈先升后降趋势, 发酵豆粕替代比例过高会降低鳃LZM mRNA表达水平, 而肝胰腺HSP70 mRNA表达量则随着发酵豆粕替代比例增加呈上升趋势。综上所述, 发酵豆粕适量替代鱼粉对凡纳滨对虾生长性能无显著影响, 并可提高免疫相关酶活, 改变免疫相关基因的表达。本实验条件下适宜发酵豆粕用量为8%~12%; 替代量过高, 会引起机体的过度应激。

关键词: 凡纳滨对虾; 发酵豆粕; 鱼粉; 生长; 免疫相关基因

中图分类号: S 965

文献标志码: A

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)是世界三大养殖虾类之一, 其养殖产量占我国虾类养殖产量的80%左右^[1]。鱼粉, 作为对虾配合饲料的主要蛋白源, 一般用量在25%~50%。但随着渔获量的不断减少, 鱼粉资源已不能满足水产养

殖业的需求, 随之出现的价格上扬使得对虾饲料鱼粉使用成本也不断增加。因此, 寻找高质量、低成本的鱼粉替代物已成为水产养殖业关注的热点。而以豆粕为主的植物蛋白源具有资源丰富、价格低廉、品质较好等特点, 可作为

收稿日期: 2017-12-25 修回日期: 2018-04-06

资助项目: 上海市科委高校能力建设项目(14320502000)

通信作者: 华雪铭, E-mail: xmhua@shou.edu.cn

鱼粉替代物的优选对象。目前,豆粕在虾类饲料中已经广泛应用^[2-4]。然而,豆粕具有以抗原蛋白(球蛋白和 β -伴球蛋白)为主、影响水产动物生长性能、生理功能的多种抗营养因子^[5-6],极大限制了其利用效果,影响其使用水平和范围。

发酵豆粕作为豆粕的加工产物,与豆粕相比,不仅在营养成分上有所提高,且品质也得到改善^[7]。有研究发现,去皮豆粕经发酵后粗蛋白质含量提高了12.38%,17种氨基酸总量提高了6.58%^[8-9],微生物发酵法能够降解豆粕中的大部分抗营养因子(大豆抗原蛋白、胰蛋白酶抑制剂、大豆凝集素、脲酶、脂肪氧化酶)^[8, 10-11]。发酵豆粕和豆粕相比,在相同的鱼粉蛋白质替代水平下,其对水产动物有着更好的表现。刘兴旺等^[12]发现卵形鲳鲹(*Trachinotus ovatus*)饲料在45.1%的鱼粉蛋白质替代水平下,发酵豆粕组的增重率和饲料利用率显著高于普通豆粕替代组;Lin等^[13]发现豆粕在替代20%鱼粉蛋白质时会降低凡纳滨对虾的免疫能力。而用发酵豆粕替代时能改善这种情况。虽然发酵豆粕作为鱼粉替代物更优于豆粕,但其也需要适量替代。冷向军等^[14]发现,发酵豆粕替代饲料中20%的鱼粉不会对凡纳滨对虾体增重率和肌肉组成产生显著影响;杨耐德等^[15]发现发酵豆粕替代鱼粉蛋白量小于33.33%时对凡纳滨对虾生长性能和饲料利用率无显著影响,当发酵豆粕替代鱼粉蛋白超过50%时则会降低对虾的生长性能和饲料利用率,全虾脂肪含量与对照组相比也显著降低。尽管发酵豆粕相较于豆粕对凡纳滨对虾生长性能有着更好的表现,但这种优势能否在对虾的免疫健康中体现还不得而知。鉴于发酵豆粕与豆粕、鱼粉在营养和非营养组分上的差异,有必要研究发酵豆粕替代鱼粉对凡纳滨对虾免疫力的影响。

本实验从凡纳滨对虾生长性能、免疫相关酶活性及免疫相关基因表达等方面综合探讨发酵豆粕对鱼粉的可替代性及适宜替代水平,旨在为凡纳滨对虾免疫优化型饲料的研发、发酵豆粕的合理使用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 饲料制备

根据凡纳滨对虾的营养需求,设计了鱼粉含量为30%的基础饲料(FM),另配制4种发酵豆

粕添加量分别为4%(FSM4)、8%(FSM8)、12%(FSM12)和16%(FSM16)的实用饲料,相应替代9.7%、19.4%、29.1%和38.8%的鱼粉蛋白,5组实验饲料均等氮等能(表1)。本实验中所用发酵豆粕由上海源耀生物股份有限公司提供,其中水分11%,粗灰分小于7%,粗纤维小于7.5%,粗蛋白49%,氨基酸是46%豆粕中各氨基酸的1.1倍(检测方法见肌肉常规检测,氨基酸数据由公司提供)。饲料原料经超微粉碎机粉碎,80目筛网过筛后按饲料配方称重,逐级混匀,加入适量的水,用实验制粒机制粒,烘箱熟化后放于通风处晾干,包装后置于4℃冰箱保存备用。

1.2 饲养管理

实验在上海海洋大学滨海基地进行。实验虾运输至基地前,预先用漂白粉对网箱及水泥池进行消毒。暂养2周后挑选外观正常、体质健壮、平均体质量为(7.62±0.23)g凡纳滨对虾1200尾作为实验用虾,平均分成5组,每组设4个重复,每个重复60尾,放养于悬挂在室内水泥池的网箱(1.90 m×1.25 m×1.00 m)中。实验虾用基础饲料驯化7 d后,采用定量投喂:初期、后期投喂量分别是体质量的8%和6%。每天投喂4次,分别在5:30、10:00、16:00和21:30,早晚投喂量占日投喂量的60%~70%。投料2 h后收集残饵。每周根据对虾生长状况相应调节投饲量。养殖周期为60 d,养殖期间水温为24~32℃,氨氮<0.3 mg/L, pH=8.0±0.2,溶解氧>5 mg/L,24 h连续充氧。

1.3 样品采集

养殖实验结束前24 h停止投喂,捞取各网箱对虾,称重并记录剩余数量,以计算对虾成活率和增重率。分别从各网箱随机取10尾虾,抽取血淋巴液,10 000 r/min离心20 min,取上清液,-20℃保存,用于血清生化指标的检测;另去壳取其肌肉和肝胰腺-20℃保存,用于测定肌肉营养成分及非特异性免疫酶活;同时取鳃组织及肝胰腺置于液氮速冻后,转移至-80℃保存,用于测定鳃组织中的Toll受体(TLR)、溶菌酶(LZM)、免疫缺陷(IMD)和肝胰腺热休克蛋白70(HSP70) mRNA的表达情况。

1.4 样品分析

生长结果计算 增重率(weight gain rate,

表 1 实验饲料配方及营养组成

Tab. 1 Ingredient and proximate composition of experimental diets

	FM	FSM4	FSM8	FSM12	FSM16
原料 ingredient					
发酵豆粕/% fermented soybean meal	0.00	4.00	8.00	12.00	16.00
鱼粉/% fish meal	30.00	27.10	24.20	21.29	18.40
豆粕/% soybean meal	16.96	16.95	16.95	16.94	16.95
肉骨粉/% meat bone meal	2.99	2.99	2.99	2.99	2.99
花生粕/% peanut meal	12.97	12.96	12.96	12.96	12.96
面粉/% flour	22.32	21.18	19.62	18.37	17.00
乌贼膏/% squid visceral ointment	3.99	3.99	3.99	3.99	3.98
啤酒酵母/% brewers yeast	4.99	4.99	4.99	4.98	4.99
磷脂粉/% lecithin powder	1.99	1.99	2.19	2.19	2.19
鱼油/% fish oil	1.99	1.99	2.19	2.29	2.49
多维 ¹ / % vitamin premix	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
多矿 ² / % mineral premix	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70
磷酸二氢钙/% monocalcium phosphate	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
赖氨酸/% crystalline lysine	0.00	0.03	0.07	0.11	0.13
蛋氨酸/% crystalline methionine	0.00	0.02	0.04	0.07	0.09
苏氨酸/% crystalline threonine	0.00	0.01	0.01	0.02	0.02
总计/% total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
营养水平 proximate composition					
粗蛋白/% crude protein	42.37	42.24	42.09	41.95	41.83
粗脂肪/% crude lipid	6.88	6.68	6.77	6.66	6.65
碳水化合物/% carbohydrate	25.98	26.28	26.30	26.52	26.67
总能/(MJ/kg) gross energy	17.20	17.10	17.10	17.10	17.10

注: 1. 每千克矿物质预混料含有: Ca 10.5 g、K 90 g、Mg 12 g、Fe 1.0 g、Cu 3.0 g、Zn 10 g、Mn 3.8 g、Co 0.8 g、Se 20 mg; 2. 每千克维生素预混料含有: VA 8 000 000 IU、VD 2 000 000 IU、VE 50 g、VK 10 g、VB₁5 g、VB₂15 g、VB₆ 8 g、VB₁₂ 0.02 g、烟酰胺 40 g、D-泛酸钙 25 g、叶酸 2.5 g、生物素 0.08 g、肌醇 100 g

Notes: 1. Contained the following per kg of mineral premix: Ca 10.5 g, K 90 g, Mg 12 g, Fe 1.0 g, Cu 3.0 g, Zn 10 g, Mn 3.8 g, Co 0.8 g, Se 20 mg;

2. Contained the following per kg of vitamin premix: VA 8 000 000 IU, VD 2 000 000 IU, VE 50 g, VK 10 g, VB₁5 g, VB₂15 g, VB₆ 8 g, VB₁₂ 0.02 g, nicotinamide 40 g, calcium D-pantothenate 25 g, folic acid 2.5 g, biotin 0.08 g, inositol 100 g

WGR, %)=(终末体质量-初始体质量)/初始体质量×100;

特定生长率(specific growth rate, SGR, %/d)=(ln终末体质量-ln初始体质量)/投喂天数×100;

成活率(survival rate, SR, %)=实验结束时对虾尾数/实验开始时对虾尾数×100。

肌肉常规检测 粗灰分(crude ash, CA)含量在550 °C马弗炉中测定, 粗蛋白质(crude protein, CP)含量采用全自动凯氏定氮仪测定, 粗脂

肪(crude lipid, CL)采用氯仿甲醇法测定。

血清及肝胰腺生化指标 血清生化指标采用迈瑞全自动生化分析仪测定, 所用试剂皆由迈瑞试剂公司提供。肝胰腺用冰浴匀浆处理后稀释成相应的组织匀浆液, 按照南京建成生物工程研究所所购试剂盒说明书测定各免疫酶活。

基因mRNA表达量 将-80 °C冻存对虾的鳃及肝胰腺组织按Trizol试剂盒(TaKaRa)说明书提取总RNA。参照美国国立生物技术信息中心

网站上报道的凡纳滨对虾Toll受体基因(GenBank: DQ923424.1)、LZM基因(GenBank: AY170126.2)、IMD基因(GenBank: FJ592176.1)、HSP70基因(GenBank: AY645906.1)设计引物,同时设计 β -actin引物作为内参(表2),所有引物均由上海鼎晶生物技术有限公司合成。采用荧光定量PCR方法检测,按照SYBR Prmie Script™ RT. PCRKit说明书将提取的总RNA先反转录为cDNA,再采用SYBRR Green I嵌合荧光法进行Real-time PCR反应,PCR程序为95℃、10 s,一个循环;95℃、10 s,55℃、32 s,72℃、32 s共40个循环;95℃熔解曲线检测反应特异性。每个复孔设置参照基因 β -actin,根据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算法进行相对定量后,分析鳃中IMD、LZM和Toll受体及肝胰腺中HSP70 mRNA的相对表达量。

表2 凡纳滨对虾各检测基因与 β -actin参照基因引物序列

Tab. 2 Primer pairs of test genes and β -actin genes for *L.vannamei*

引物 primers	序列 sequence
β -actin-F	CTG TTC CAG CCC TCA TTC C
β -actin -R	TGT CCA CGT CGC ACT TCAT
LZM -F	GTT CCG ATC TGA TGT CCG
LZM -R	TGC TGT TGT AAG CCA CCC
HSP70-F	GAG ACC GCT GAG GCT TAC
HSP70-R	GCA CAT TCA GAC CCG AGA T
Toll receptor -F	TGC CAA GCA GTG ATG TGA
Toll receptor -R	GCG GGA AGG AAG TGA TGT
IMD-F	GCG GCT CTG CGG TTC ACA T
IMD -R	CTC GAC CTT GTC TCG TTC CTC

1.5 数据处理和统计分析

实验结果用平均数 \pm 标准差(mean \pm SD)表示,所有数据使用SPSS 17.0分析软件中的单因素方差分析(One-Way ANOVA)和Duncan氏法多重比较进行差异显著性分析, $P<0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 生长性能

发酵豆粕替代鱼粉对凡纳滨对虾生长性能的影响见表3。发酵豆粕组的成活率与对照组相比无显著差异($P>0.05$),FSM4和FSM16组增重率和特定生长率最低,且明显低于对照组($P<0.05$),而FSM8组、FSM12组与对照组相比差异不显著($P>0.05$),FSM4和FSM16组饲料系数显著高于对照组($P<0.05$)。

2.2 肌肉营养成分

不同比例发酵豆粕替代鱼粉对肌肉成分有显著影响:粗蛋白含量除FSM12组外,其余发酵豆粕组与对照组差异不显著($P>0.05$),粗脂肪含量随着发酵豆粕替代鱼粉比例的升高呈现降低的趋势,FSM16组最低;除FSM4组外,粗灰分含量均显著低于对照组($P<0.05$)(表4)。

2.3 血清生化及肝胰腺免疫酶活

不同水平的发酵豆粕对凡纳滨对虾血清指标影响如表5所示。FSM4和FSM16组谷丙转氨酶(ALT)活性显著高于对照组($P<0.05$);谷草转氨酶(AST)活性分别在FSM4组和FSM8组出现最高值和最低值,碱性磷酸酶(ALP)活性除FSM12组外除其余发酵豆粕组均显著高于对照组($P<0.05$),白蛋白(ALB)含量在FSM4组出现最高值且显著高

表3 不同发酵豆粕添加量对凡纳滨对虾生长性能的影响

Tab. 3 The effects of different levels of fermented soybean meal on the growth performance of *L.vannamei*

组别 groups	成活率/% SR	增重率/% WGR	特定增长率/(%/d) SGR	饲料系数 FCR
FM	90.57 \pm 8.21 ^{ab}	187.27 \pm 4.86 ^b	1.76 \pm 0.03 ^b	1.21 \pm 0.08 ^a
FSM4	88.90 \pm 2.53 ^{ab}	143.70 \pm 18.80 ^a	1.48 \pm 0.13 ^a	1.46 \pm 0.14 ^b
FSM8	92.78 \pm 4.81 ^{ab}	174.63 \pm 24.03 ^b	1.68 \pm 0.15 ^b	1.31 \pm 0.12 ^{ab}
FSM12	86.67 \pm 2.89 ^a	179.54 \pm 14.95 ^b	1.71 \pm 0.09 ^b	1.23 \pm 0.02 ^a
FSM16	96.10 \pm 3.48 ^b	146.04 \pm 14.28 ^a	1.50 \pm 0.10 ^a	1.43 \pm 0.10 ^b

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同

Notes: Values with different small letter superscripts in the same row mean significant difference ($P<0.05$). the same below

表 4 不同发酵豆粕添加量对凡纳滨对虾肌肉营养成分的影响

Tab. 4 The effects of different levels of fermented soybean meal on the muscle nutritional components of *L.vannamei*

组别 groups	粗蛋白% CP	粗脂肪% CL	粗灰分% CA
FM	91.08±0.59 ^{bc}	2.85±0.03 ^{ab}	6.57±0.07 ^c
FSM4	90.77±0.19 ^{ab}	2.85±0.10 ^b	6.41±0.05 ^{bc}
FSM8	90.81±0.05 ^{bc}	2.67±0.09 ^a	6.13±0.06 ^a
FSM12	90.35±0.10 ^a	2.70±0.09 ^{ab}	6.27±0.14 ^{ab}
FSM16	91.04±0.08 ^{cd}	2.63±0.05 ^a	6.23±0.07 ^{ab}

于其他组($P<0.05$), 总蛋白(TP)含量除FSM16组外其余发酵豆粕组与对照组无显著性差异($P>0.05$)。

肝胰腺MDA含量除FSM16组显著低于对照组外($P<0.05$), 其余发酵豆粕组均与对照组无显著性差异($P>0.05$)(表6); 随着发酵豆粕替代比例的增加, 肝胰腺LZM活性和SOD活性呈升高趋势, 且都显著高于对照组($P<0.05$)。

2.4 免疫相关基因表达

除FSM8组外, 随着发酵豆粕替代鱼粉比例的增加, Toll受体 mRNA表达量呈现升高趋势(图1)。

除FSM4组外, FSM16组LZM mRNA表达量显著低于其他组($P<0.05$, 图2)。FSM4与FSM8组IMD mRNA表达量显著高于其他组($P<0.05$, 图3)。FSM12与FSM16组的肝胰腺HSP70 mRNA表达量较对照组明显升高, 且差异显著($P<0.05$, 图4)。

3 讨论

3.1 发酵豆粕替代鱼粉对凡纳滨对虾生长性能的影响

已有不少研究表明, 发酵豆粕适量替代饲料中的鱼粉对水产动物的生长无显著影响。程成荣等^[16]发现饲料中发酵豆粕替代鱼粉低于40%时对杂交罗非鱼(*Oreochromis niloticus* ♀ × *O.aureus* ♂)的增重率、特定生长率、饲料效率和蛋白质效率无显著影响; 在等氮(52%粗蛋白)基础上, Luo等^[17]分别以发酵豆粕和普通豆粕替代鱼粉, 发现发酵豆粕可替代斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)饲料中10%的鱼粉; Kader等^[18]研究表明, 发酵豆粕和鱿鱼(*Calamary*)加工副产品可替代牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)饲料中13%的鱼粉。另外, 发酵豆粕在虾类饲料中的应用研究也有所报道, Ding等^[19]研究表明, 发酵豆粕在日

表 5 不同发酵豆粕添加量对凡纳滨对虾血清生化指标的影响

Tab. 5 The effects of different levels of fermented soybean meal on the serum biochemical indexes of *L.vannamei*

组别 group	谷草转氨酶/(U/L) AST	谷丙转氨酶/(U/L) ALT	碱性磷酸酶/(U/L) ALP	总蛋白/(g/L) TP	白蛋白/(g/L) ALB
FM	13.88±1.54 ^b	32.96±7.75 ^{ab}	15.73±1.70 ^a	77.61±3.94 ^a	7.45±0.95 ^{ab}
FSM4	17.71±0.02 ^c	45.00±0.64 ^{dc}	27.39±1.07 ^b	77.68±0.71 ^a	9.66±0.45 ^c
FSM8	10.38±0.20 ^a	36.04±2.29 ^{bc}	24.21±0.92 ^b	73.87±2.65 ^a	8.10±0.40 ^b
FSM12	14.32±0.18 ^b	27.09±2.72 ^a	19.38±3.75 ^a	74.58±5.10 ^a	6.90±0.10 ^a
FSM16	12.84±1.72 ^b	41.90±4.12 ^{cd}	41.65±1.93 ^c	89.34±2.07 ^b	8.33±0.23 ^b

表 6 不同发酵豆粕添加量对对虾肝胰腺溶菌酶及抗氧化能力的影响

Tab. 6 The effects of different levels of fermented soybean meal on lysozyme and antioxidant capacity of hepatopancreas in *L.vannamei*

组别 group	溶菌酶/(U/mg prot) LZM	超氧化物歧化酶/(U/mg prot) SOD	丙二醛/(nmol/mg prot) MDA
FM	46.32±2.44 ^a	43.32±0.94 ^a	5.57±0.36 ^{bc}
FSM4	41.92±1.87 ^a	64.47±6.86 ^c	5.20±0.19 ^{ab}
FSM8	70.64±3.28 ^d	59.29±0.15 ^{bc}	5.84±0.04 ^c
FSM12	56.76±2.54 ^b	52.92±0.16 ^b	5.30±0.07 ^b
FSM16	64.66±3.35 ^c	94.92±5.00 ^d	4.78±0.21 ^a

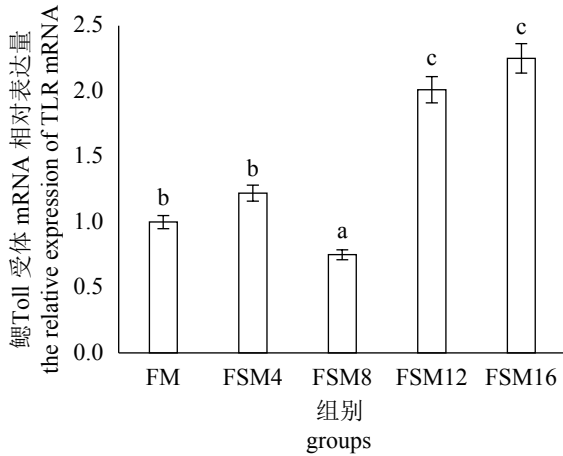


图1 凡纳滨对虾鳃Toll受体mRNA相对表达量
 Fig. 1 The relative expression of the Toll receptor mRNA in gills of *L.vannamei*

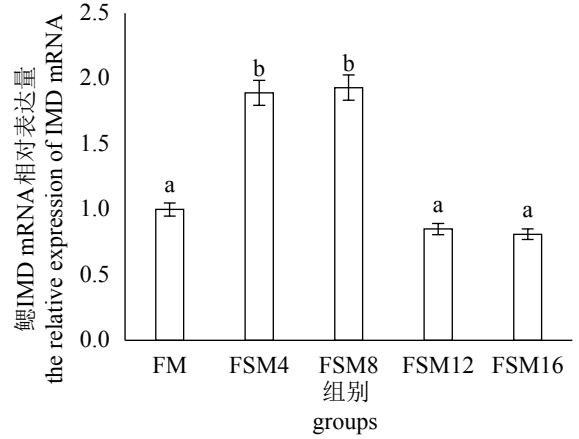


图3 凡纳滨对虾鳃IMD mRNA相对表达量
 Fig. 3 The relative expression of the IMD mRNA in gills of *L.vannamei*

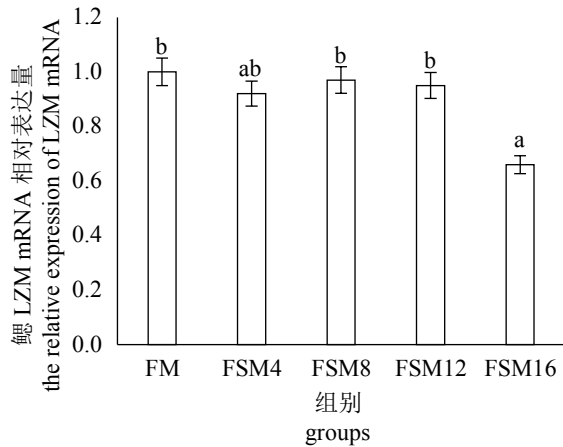


图2 凡纳滨对虾鳃溶菌酶mRNA相对表达量
 Fig. 2 The relative expression of the LZM mRNA in gills of *L.vannamei*

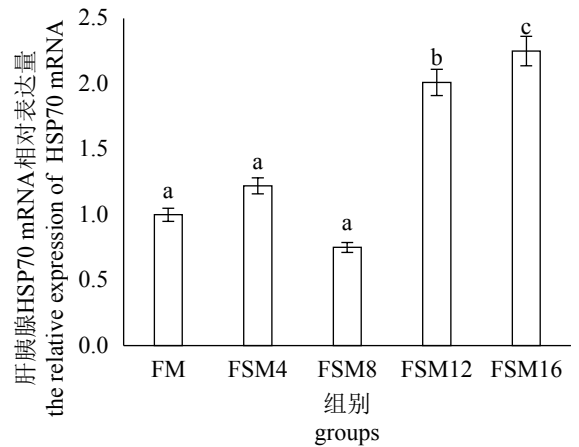


图4 凡纳滨对虾肝胰腺HSP70 mRNA相对表达量
 Fig. 4 The relative expression of the HSP70 mRNA in hepatopancreas of *L.vannamei*

本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)[初始均重(0.10±0.01)g]饲料中替代鱼粉时,替代量在25%~100%时对其存活率和生长率皆无显著影响,替代量为25%时,增重率和饲料系数达到最佳且优于对照组,而杨耐德等^[15]的研究结果显示,当发酵豆粕替代鱼粉比例小于33.33%时,对凡纳滨对虾[初始均重(1.82±0.02)g]生长性能和饲料利用率无显著影响,过高替代水平则会降低对虾的生长性能和饲料利用率。本实验结果也显示,过高或过低发酵豆粕替代鱼粉饲料均会降低凡纳滨对虾的生长性能,降低饲料效率。发酵豆粕虽然相较豆粕含更少的抗原蛋白,但

过多地替代鱼粉会不可避免增加饲料中的抗原蛋白,许多研究发现大豆球蛋白会降低鱼类肠道消化酶活,还可引起肠道过敏反应,导致肠道组织结构损伤,影响肠道对营养物质的消化和吸收,进而降低鱼类的生长性能^[20-23]。本实验高水平发酵豆粕组(FSM16)对虾的生长性能下降可能与发酵豆粕中的抗原蛋白有关,也可能与发酵豆粕中氨基酸等营养物质的降低或不平衡有关。研究发现,发酵豆粕因发酵而产生的生物活性因子能够提高水产动物的适口性,从而促进凡纳滨对虾摄食以进一步提高增重率^[24],在养殖实验过程中,我们观察发现各组之间对虾的摄食情况有很大不同,推测,FSM4组可能因

为这些生物活性因子的含量较低未达到促进摄食的效果进而影响生长。

3.2 发酵豆粕替代鱼粉对凡纳滨对虾肌肉营养成分的影响

肌肉营养成分是体现水产动物营养品质的主要指标。有研究表明发酵豆粕适量替代鱼粉对水产动物的体组成没有显著影响。沈城等^[25]研究表明发酵豆粕替代不同水平鱼粉对中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)的水分、粗蛋白、粗脂肪和粗灰分含量均无显著差异, 冷向军等^[14]发现发酵豆粕替代鱼粉不影响凡纳滨对虾肌肉水分和粗蛋白含量。本实验中除FSM12组外, 对虾肌肉粗蛋白含量与对照组皆无显著性差异, 与以往研究结果一致。但本实验研究发现, 提高发酵豆粕替代鱼粉比例, 虾肌肉粗脂肪和粗灰分的含量降低, 可能与发酵豆粕的来源有关。彭松等^[26]用3种不同的菌发酵而来的发酵豆粕分别加入凡纳滨对虾饲料中, 发现对虾蛋白质和脂肪沉积率有不同表现, 对虾体成分也有所不同。

3.3 发酵豆粕替代鱼粉对凡纳滨对虾血清生化指标及肝胰腺免疫相关酶活的影响

与脊椎动物不同, 甲壳动物免疫系统以非特异性免疫为主, 体液中不含有免疫球蛋白, 无抗体介导的免疫反应, 体液免疫反应主要依靠血液淋巴中的一些酶^[27]。碱性磷酸酶(ALP)是甲壳动物溶酶体酶的重要组成部分, 催化磷酸单酯的水解反应和磷酸基的转移反应, 加速物质的摄取和转运, 其活力升高是肝病病理学原因之一^[28]。本实验结果显示, 随着发酵豆粕替代鱼粉量的增加, 血清ALP有上升趋势。ALT和AST是氨基酸代谢中的两种重要酶, 它们在血清中的含量常用来表征肝胰腺的损伤程度。陈萱等^[29]发现, 用发酵后的豆粕制备饲料饲养异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*), 实验鱼血清ALT活性显著高于用普通豆粕饲料饲养的异育银鲫, 本研究中对虾血清AST在FSM4和FSM16组显著高于对照组, 而发酵豆粕用量居于中间水平的FSM8和FSM12组在AST、ALT、ALP上都显示出较低的值, 这表明发酵豆粕对鱼粉的替代应控制在一定的范围内, 过高或过低都会引起肝胰腺受损。

超氧化物歧化酶(SOD)是机体自由基清除系统中的一种重要抗氧化酶, 具有清除 $O_2^{\cdot-}$ 的作用^[30];

丙二醛(MDA)是膜脂过氧化最重要的产物之一, 它的产生能加剧细胞膜的损伤, 因此二者通常一起用于评价动物肝胰腺的氧化应激程度。Kim等^[31]研究表明, 用4%米曲霉(*Aspergillus oryzae*)发酵的豆粕饲料饲养鸚鵡鱼(*Oplegnathus fasciatus*)后, 其肝脏SOD活性显著升高; 彭松等^[26]发现发酵豆粕替代凡纳滨对虾饲料中的鱼粉时SOD活性也显著升高。本实验中发酵豆粕组对虾肝胰腺SOD活性均不同程度高于对照组。除FSM16组外的发酵豆粕组肝胰腺MDA含量均与对照组无显著性差异。表明发酵豆粕替代鱼粉可增强凡纳滨对虾清除氧自由基的能力, 使肝胰腺免受氧化损伤。值得注意的是, 发酵豆粕FSM16组SOD活性是对照组的2~3倍, 机体中大多数酶是蛋白质, 而FSM16组在血清TP含量与对照组相比没有特别明显优势的情况下, 需要更多的蛋白质来合成SOD, 而用于生长的蛋白质相继减少, 会对生长性能造成负面影响, FSM4组存在类似的情况; 而用8%~12%的发酵豆粕替代鱼粉时, 尽管肝胰腺SOD活性有不同程度的升高, 但增幅小于发酵豆粕16%组, 且血清TP仍处于与对照组相当的水平, 因此仍有较高含量的蛋白质用于机体的生长, 造成实验虾生长性能下降的可能性较小。溶菌酶(LZM)能催化水解细菌细胞壁致细菌溶解死亡而避免机体受细菌感染^[32]。而有研究报道称发酵豆粕中的异黄酮可能会通过提高LZM活性来促进机体抗菌能力^[33]。本实验中各组之间成活率无显著性差异, 对虾肝胰腺LZM活性也随着发酵豆粕替代比例增加有升高趋势, 表明发酵豆粕有助于对虾抗菌能力的增强。

3.4 发酵豆粕对凡纳滨对虾免疫相关基因及HSP70基因表达的影响

IMD和Toll信号传导途径是虾体先天免疫信号传导系统的重要组成部分^[34]。在凡纳滨对虾血细胞中, LvIMD基因表达能够被WSSV诱导并上调^[35], 暗示虾类免疫系统中的IMD同果蝇中的IMD一样, 具免疫功能。Toll通路主要在机体对抗革兰氏阳性菌和真菌的过程中发挥作用, Yang等^[36]在2007年首次克隆了凡纳滨对虾Toll受体基因。本实验中Toll受体基因表达量在FSM8组最低, 与对照组相比高比例发酵豆粕替代鱼粉组Toll受体基因表达量呈上调趋势, IMD基因表达量随发酵

豆粕替代量的增加而出现先上升后下降的趋势, 这些结果表明, 发酵豆粕能够通过上调对虾免疫相关基因的表达, 达到提高对虾免疫力、清除体内病原体的目的, 具体的影响机制还有待进一步研究。溶菌酶(LZM)基因在水产动物机体广泛分布, 机体经细菌感染后在某些组织中的表达量明显提高^[37], 有学者发现在饲料中添加免疫刺激剂(黄芪多糖, 葡聚糖等)能提高水产动物溶菌酶基因表达量^[38-39], 但对于不同蛋白质源对水产动物溶菌酶基因表达的影响报道较少。本研究中FSM16组鳃LZM基因表达量显著低于对照组, 其余组与对照组并无显著差异, 与LZM酶活不同, 具体原因有待进一步研究。

HSP70热休克蛋白(heat shock protein, HSP)在应激反应中承担修复或减轻因有害刺激造成的应激损伤的分子伴侣作用, 是一类对环境刺激反应极其敏感的蛋白质。在环境胁迫因子, 如高温、低氧、病原入侵、重金属、饥饿等的刺激下, HSP70表达量可显著增加。吴任等^[40]成功地从凡纳滨对虾基因组DNA中直接扩增出HSP70基因的全长编码区序列。肝胰腺作为对虾机体应答环境胁迫和病原刺激的主要组织^[41], 在受环境刺激时其HSP70表达量会显著高于其他组织。本实验中, 凡纳滨对虾肝胰腺HSP70基因表达量随着发酵豆粕用量的增加不断上调, 且FSM16组比对照组高8倍多, 表明当发酵豆粕替代鱼粉比例过高时, 机体受到的应激反应明显增大。这可能是由于和豆粕相比, 发酵豆粕虽能显著降低其中的抗营养因子, 但相较于鱼粉, 残留的部分抗营养因子与营养成分上的降低或缺失, 都可能对机体造成不同程度伤害, 故HSP70基因表达量显著上调是凡纳滨对虾对营养因子变化适应性调节的结果。结合本实验的生长性能指标, 当发酵豆粕用量达到16%时, 凡纳滨对虾因过度应激而影响生长和健康。

4 总结

发酵豆粕可适量替代凡纳滨对虾饲料中的鱼粉, 并通过影响免疫机能机制确保正常生长。本实验条件下发酵豆粕适宜用量为8%~12%, 即替代19.4%~29.1%的鱼粉能更有效地保护对虾肝胰腺健康, 增强凡纳滨对虾免疫机能和抗应激能力。

参考文献:

- [1] 农业部渔业局. 中国渔业年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2017.
Bureau of Fisheries of the Ministry of Agriculture. China Fishery Statistical Yearbook[M] Beijing: Chinese Agricultural Press, 2017(in Chinese).
- [2] Jannathulla R, Dayal J S, Ambasankar K, *et al.* Effect of protein solubility of soybean meal on growth, digestibility and nutrient utilization in *Penaeus vannamei*[J]. *Aquaculture International*, 2017, 25(5): 1693-1706.
- [3] Huang F, Wang L, Zhang C X, *et al.* Replacement of fishmeal with soybean meal and mineral supplements in diets of *Litopenaeus vannamei* reared in low-salinity water[J]. *Aquaculture*, 2017, 473: 172-180.
- [4] García-Ulloa M, Hernandez-Llamas A, de Jesús Armenta-Soto S, *et al.* Substituting fishmeal with mixtures of wheat, corn and soya bean meals in diets for the white leg shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone): effect on production parameters and preliminary economic assessment[J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(9): 4864-4873.
- [5] 陈晓明, 华雪铭, 朱伟星, 等. 大豆抗原蛋白对南美白对虾生长、消化及非特异性免疫的影响[J]. *动物营养学报*, 2015, 27(7): 2115-2127.
Chen X M, Hua X M, Zhu W X, *et al.* Effects of soybean allergic proteins on growth, digestion and non-specific immune of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, 27(7): 2115-2127(in Chinese).
- [6] 吴莉芳, 秦贵信, 朱丹, 等. 大豆中主要抗营养因子对鱼类的影响[J]. *大豆科学*, 2006, 25(4): 450-453.
Wu L F, Qin G X, Zhu D, *et al.* Effects of main antinutritional factors in soybean on fish[J]. *Soybean Science*, 2006, 25(4): 450-453(in Chinese).
- [7] 杨玉娟, 姚怡莎, 秦玉昌, 等. 豆粕与发酵豆粕中主要抗营养因子调查分析[J]. *中国农业科学*, 2016, 49(3): 573-580.
Yang Y J, Yao Y S, Qin Y C, *et al.* Investigation and analysis of main AFN in soybean meal and fermented soybean meal[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2016, 49(3): 573-580(in Chinese).
- [8] 程秋根, 潘志刚, 韩兆红, 等. 发酵豆粕和去皮豆粕离体消化率的比较[J]. *饲料与畜牧*, 2008(5): 42-43.
Cheng Q G, Pan Z G, Han Z H, *et al.* Comparison of in vitro digestibility of fermented and dehulled soybean

- meals[J]. *Feed and Husbandry*, 2008(5): 42-43(in Chinese).
- [9] 杨旭, 蔡国林, 曹钰, 等. 固态发酵提高豆粕蛋白含量的条件优化研究[J]. *中国酿造*, 2008(5): 17-20, 38.
- Yang X, Cai G L, Cao Y, *et al.* Optimization of solid-substrate fermentation to improve the content of soybean meal protein[J]. *China Brewing*, 2008(5): 17-20, 38(in Chinese).
- [10] Feng J, Liu X, Xu Z R, *et al.* The effect of *Aspergillus oryzae* fermented soybean meal on growth performance, digestibility of dietary components and activities of intestinal enzymes in weaned piglets[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2007, 134(3-4): 295-303.
- [11] Hirabayashi M, Matsui T, Yano H, *et al.* Fermentation of soybean meal with *Aspergillus usamii* reduces phosphorus excretion in chicks[J]. *Poultry Science*, 1998, 77(4): 552-556.
- [12] 刘兴旺, 王华朗, 张海涛, 等. 豆粕和发酵豆粕替代鱼粉对卵形鲳鲹摄食生长的影响[J]. *中国饲料*, 2010(18): 27-29, 36.
- Liu X W, Wang H L, Zhang H T, *et al.* Effects of fish meal in diets replaced by soybean meal and fermented soybean meal on growth performance and feed intake in Pompano[J]. *China Feed*, 2010(18): 27-29, 36(in Chinese).
- [13] Lin Y H, Mui J J. Comparison of dietary inclusion of commercial and fermented soybean meal on oxidative status and non-specific immune responses in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 63: 208-212.
- [14] 冷向军, 王文龙, 李小勤. 发酵豆粕部分替代鱼粉对凡纳滨对虾的影响[J]. *粮食与饲料工业*, 2007(3): 40-41.
- Leng X J, Wang W L, Li X Q. Experiment on feeding *penaeus vannamei* boones with fermented soybean meal as partial substitute for fish meal[J]. *Cereal & Feed Industry*, 2007(3): 40-41(in Chinese).
- [15] 杨耐德, 符广才. 凡纳滨对虾饲料中发酵豆粕替代鱼粉的研究[J]. *饲料工业*, 2008, 29(10): 24-26.
- Yang N D, Fu G C. Study of fermented soybean meal replacing fish meal in *Litopenaeus vannamei* feed[J]. *Feed Industry*, 2008, 29(10): 24-26(in Chinese).
- [16] 程成荣, 刘永坚. 杂交罗非鱼饲料中发酵豆粕替代鱼粉的研究[J]. *广东饲料*, 2004, 13(2): 26-27.
- Cheng C R, Liu Y J. Study on fermented soybean meal replacing fish meal in juvenile hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) diet[J]. *Guangdong Feed*, 2004, 13(2): 26-27(in Chinese).
- [17] Luo Z, Liu Y J, Mai K S, *et al.* Partial replacement of fish meal by soybean protein in diets for grouper *Epinephelus coioides* juveniles[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2004, 28(2): 175-181.
- [18] Kader M A, Koshio S, Ishikawa M, *et al.* Can fermented soybean meal and squid by-product blend be used as fishmeal replacements for Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)?[J]. *Aquaculture Research*, 2012, 43(10): 1427-1438.
- [19] Ding Z L, Zhang Y X, Ye J Y, *et al.* An evaluation of replacing fish meal with fermented soybean meal in the diet of *Macrobrachium nipponense*: growth, nonspecific immunity, and resistance to *Aeromonas hydrophila*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 44(1): 295-301.
- [20] Kaushik S J, Covès D, Dutto G, *et al.* Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*[J]. *Aquaculture*, 2004, 230(1-4): 391-404.
- [21] Baeverfjord G, Krogdahl A. Development and regression of soybean meal induced enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., distal intestine: a comparison with the intestines of fasted fish[J]. *Journal of Fish Diseases*, 1996, 19(5): 375-387.
- [22] 吴莉芳, 孙泽威, 秦贵信, 等. Glycinin和 β -Conglycinin对不同食性鱼类生长及肠道组织的影响[J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2011, 39(2): 59-66, 74.
- Wu L F, Sun Z W, Qin G X, *et al.* Effects of dietary Glycinin and β -conglycinin on growth performance and intestinal tissue of fishes with different food habits[J]. *Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition*, 2011, 39(2): 59-66, 74(in Chinese).
- [23] 孙玲. 大豆抗原蛋白对不同食性鱼类消化酶活性及血液指标的影响[D]. 长春: 吉林农业大学, 2008.
- Sun L. Effects of soybean antigen on the activities of digestive enzyme and blood index of different fishes[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2008 (in Chinese).
- [24] Visessanguan W, Benjakul S, Potachareon W, *et al.* Accelerated proteolysis of soy proteins during fermentation of Thua-nao inoculated with *Bacillus subtilis*[J]. *Journal*

- of Food Bio-chemistry, 2005, 29(4): 349-366.
- [25] 沈城, 方华, 郭子好, 等. 发酵豆粕替代部分鱼粉对中华绒螯蟹幼蟹生长性能、体成分及相关消化酶活性的影响[J]. 中国饲料, 2016(6): 29-33, 36.
- Shen C, Fang H, Guo Z H, *et al.* The effect of fermented soybean meal partially replacing fish meal on the growth performance, body composition and related digestive enzyme activity of Chinese mitten crab[J]. China Feed, 2016(6): 29-33, 36(in Chinese).
- [26] 彭松, 张敏, 李小勤, 等. 发酵豆粕替代鱼粉对凡纳滨对虾的作用效果研究[J]. 中国粮油学报, 2017, 32(4): 103-109, 115.
- Peng S, Zhang M, Li X Q, *et al.* Effect of replacing fish meal with fermented soybean meal on white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone)[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2017, 32(4): 103-109, 115(in Chinese).
- [27] 管晓娟. 甲壳动物体液免疫相关酶及免疫因子研究概况[J]. 生命科学仪器, 2009, 7(6): 3-7.
- Guan X J. Progress on the researches of humoral immunity of crustacean[J]. Life Science Instruments, 2009, 7(6): 3-7(in Chinese).
- [28] Giannini E G, Testa R, Savarino V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians[J]. Canadian Medical Association or Its Licensors, 2005, 172(3): 367-379.
- [29] 陈萱, 梁运祥, 陈昌福. 发酵豆粕饲料对异育银鲫非特异性免疫功能的影响[J]. 淡水渔业, 2005, 35(2): 6-8.
- Chen X, Liang Y X, Chen C F. The effects of fermented soybean meal on non-specific immune function of *Carassius auratus gibelio*[J]. Freshwater Fisheries, 2005, 35(2): 6-8(in Chinese).
- [30] 姚翠鸾, 王维娜, 王安利. 水生动物体内超氧化物歧化酶的研究进展[J]. 海洋科学, 2003, 27(10): 18-21.
- Yao C L, Wang W N, Wang A L. Progress of studies on superoxide dismutase in the body of aquatic animals[J]. Marine Sciences, 2003, 27(10): 18-21(in Chinese).
- [31] Kim S S, Galaz G B, Pham M A, *et al.* Effects of dietary supplementation of a meju, fermented soybean meal, and aspergillus oryzae for juvenile parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*)[J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2009, 22(6): 849-856.
- [32] Mori K, Nakanishi T, Suzuki T, *et al.* Defense mechanisms in invertebrates and fish[J]. Tanpakushitsu Kakusan Koso, 1989, 34(3): 214-223.
- [33] 嵇美华. 发酵豆粕中异黄酮对细菌抑制作用的研究[J]. 四川粮油科技, 2003(2): 11-12.
- Ji M H. Progress of the antibacterial effect of isoflavones in fermented soybean meal[J]. Si-chuan Grain and Oil Technology, 2003(2): 11-12(in Chinese).
- [34] Li F H, Xiang J H. Signaling pathways regulating innate immune responses in shrimp[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2013, 34(4): 973-980.
- [35] Wang P H, Gu Z H, Huang X D, *et al.* An immune deficiency homolog from the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, activates antimicrobial peptide genes[J]. Molecular Immunology, 2009, 46(8-9): 1897-1904.
- [36] Yang L S, Yin Z X, Liao J X, *et al.* A Toll receptor in shrimp[J]. Molecular Immunology, 2007, 44(8): 1999-2008.
- [37] Burge E J, Madigan D J, Burnett L E, *et al.* Lysozyme gene expression by hemocytes of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, after injection with *Vibrio*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2007, 22(4): 327-339.
- [38] Wang Y C, Chang P S, Chen H Y. Differential time-series expression of immune-related genes of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in response to dietary inclusion of β -1, 3-glucan[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2008, 24(1): 113-121.
- [39] Bulgakov A A, Nazarenko E L, Petrova I Y, *et al.* Isolation and properties of a mannan-binding lectin from the coelomic fluid of the holothurian *Cucumaria japonica* [J]. Biochemistry. Biokhimiia, 2000, 65(8): 933-939.
- [40] 吴任, 谢数涛, 孙勇, 等. 凡纳滨对虾热休克蛋白70的原核高效表达[J]. 中国水产科学, 2006, 13(2): 305-309.
- Wu R, Xie S T, Sun Y, *et al.* High level prokaryotic expression of heat shock protein 70 in *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(2): 305-309(in Chinese).
- [41] 蒋昊. 中国明对虾在胁迫条件下肝胰脏的差异蛋白质组学研究[D]. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所), 2009.
- Jiang H. Comparative proteomic profiles of the hepatopancreas in *Fenneropenaeus chinensis* response to stresses[D]. Qingdao: Graduate University of the Chinese Academy of Sciences (Marine Research Institute), 2009 (in Chinese).

Effects of fermented soybean meal replacing fish meal on the growth performance, immune-related enzymes and gene expression of *Litopenaeus vannamei*

LIU Tao^{1,2,3}, HUANG Xuxiong^{1,2,3}, SU Meiyong⁴, YANG Jingfeng^{1,2,3},
GUO Zihao⁵, KONG Chun^{1,2,3}, HUA Xueming^{1,2,3*}

1. Centre for Research on Environmental Ecology and Fish Nutrition (CREEFN), Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
3. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
4. College of Engineering, Yantai Nanshan University, Yantai 265713, China;
5. Shanghai Yuanyao Biotechnology Co. Ltd, Shanghai 201316, China]

Abstract: This study intends to explore the health and immunology mechanism of fermented soybean meal replacing fish meal affecting the growth of the *Litopenaeus vannamei* based on varying immune-related enzymes activity and genes transcription levels. Five experiment diets were designed, in which 30% of fish meal diet (FM) as the control group, and 4% (FSM4), 8% (FSM8), 12% (FSM12) and 16% (FSM16) of the fermented soybean meal were used to replace 9.7%, 19.4%, 29.1% and 38.8% of the fish meal respectively. After 60-day feeding test for *L. vannamei* [initial weight=(7.62±0.23) g], the growth performance, muscle nutrition composition, serum and hepatopancreas immune enzymes activity, the expression levels of HSP70 mRNA in hepatopancreas and Toll receptor mRNA, IMD mRNA and LZM mRNA in gill were determined. The results indicated that the substitution of fermented soybean meal for fish meal had no significant effect on the survival rate of the shrimp compared with the control group, both too low and too high levels of fermented soybean meal reduced the specific growth rate of shrimp. Muscle crude protein content was lower in the addition group of fermented soybean meal than the FM group with no significant difference except FSM12, crude fat has a tendency to decrease with the increase of fermented soybean meal, and the lowest value was found in the FSM16 group. The serum alanine aminotransferase (ALT) in FSM4 and FSM16 groups was significantly higher than that of control group, and the aspartate amino transferase (AST) was the highest and lowest in FSM4 group and FSM8 group respectively; except FSM12 group, serum ALP showed no marked difference between other FSM groups and the control group; as for TP in serum and MDA in hepatopancreas, there was no statistic difference either between FSM groups (except FSM16 group) and the control. With the increase of the amount of fermented soybean meal, the level of gill Toll receptor mRNA expression increased, and the level of IMD mRNA expression increased first and then decreased, and excessive or less of the added fermented soybean meal would decrease the expression of LZM mRNA in gill, while the expression of HSP70 mRNA in hepatopancreas increased with the increase of fermented soybean meal. To sum up, in the conditions of this experiment, optimum amount of the fermented soybean meal was 8% to 12%, i.e replacing 19.4%–29.1% of fish meal without affecting the growth of the tested shrimp, accompanied by improved immune-enzyme activity and changed expression of immune related genes, however, too high substitution can cause excessive stress response.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; fermented soybean meal; fish meal; growth; immune-related genes

Corresponding author: HUA Xueming. E-mail: xmhua@shou.edu.cn

Funding projects: Shanghai University's Ability Construction Project from Shanghai Science and Technology Committee (14320502000)