

Zheng Y D, Chen J, Wang H M, *et al.* Replacement of fish meal with *Tenebrio molitor* meal on growth performance, immune response, and nutritional quality of *Litopenaeus vannamei* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2026, 50(8): 082607. [郑煜东, 陈俭, 王红明, 等. 黄粉虫粉替代鱼粉对凡纳对虾生长、免疫和营养品质的影响 [J]. 水生生物学报, 2026, 50(8): 082607.]

黄粉虫粉替代鱼粉对凡纳对虾生长、免疫和营养品质的影响

郑煜东¹ 陈 俭^{1,2} 王红明¹ 侯翠红¹ 袁 航¹ 胡乃捷¹ 章 双^{1,3}

(1. 广东海洋大学水产学院, 水产动物营养与饲料实验室, 湛江 524088; 2. 中国热带农业科学院湛江实验站, 湛江 524013; 3. 广东省水产动物精准营养与高效饲料工程技术研究中心, 湛江 524088)

摘要: 本实验旨在研究饲料中黄粉虫粉(*Tenebrio molitor* meal, TMM)替代不同水平鱼粉对凡纳对虾(*Litopenaeus vannamei*)生长性能、抗氧化能力和免疫性能及肌肉氨基酸和脂肪酸沉积的影响。本研究以黄粉虫粉分别等蛋白替代0 (TMM0)、15% (TMM15)、30% (TMM30)和45% (TMM45)鱼粉配制4组等氮等脂实验饲料, 投喂初始体质量为(0.42±0.01) g的凡纳对虾幼虾8周。结果表明: 饲料总氨基酸含量随替代比例递增而升高, EAA/TAAs没有显著性变化, 另外, 饲料亚油酸升高16.00%, EPA和DHA分别降低11.79%和20.99% ($P<0.05$)。在生长性能方面, TMM30组增重率和特定生长率较对照组分别提高12.34%和3.47% ($P<0.05$)。在抗氧化性能方面, TMM45组肝胰腺MDA含量显著降低($P<0.05$), SOD和CAT活性及*sod*基因表达显著升高($P<0.05$)。在免疫性能方面, 酚氧化酶和溶菌酶酶活及基因表达随替代比例增加显著上调, 抗菌肽基因(*cru*、*alf*)、Toll/IMD通路基因(*dor*、*rel*)和JAK-STAT通路基因(*stat*、*jun*、*fos*)显著上调($P<0.05$)。在营养品质方面, 对虾肌肉粗蛋白无显著变化, TMM45组风味氨基酸总和显著降低($P<0.05$)。TMM45组肌肉的粗脂肪升高15.38% ($P<0.05$), 尽管饲料EPA和DHA降低, 肌肉EPA和DHA分别升高($P<0.05$)。综合经济效益分析, 与TMM0组相比, TMM30组饲料成本降低8.01%, 而利润提升35.28%。综上, 在等氮等脂条件下, 黄粉虫粉替代30%鱼粉为凡纳对虾配合饲料中的适宜比例, 不仅能节约饲料成本, 还可显著促进凡纳对虾生长, 通过激活Toll/IMD和JAK-STAT信号通路增强凡纳对虾抗氧化功能与免疫功能, 并维持肌肉蛋白质品质和n-3 LC-PUFA的营养价值, 为黄粉虫粉在对虾饲料配方中提供理论依据。

关键词: 黄粉虫粉; 生长性能; 抗氧化能力; Toll/IMD信号通路; JAK-STAT信号通路; 营养品质; 新兴蛋白源; 凡纳对虾

中图分类号: S968.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2026)08-082607-16

doi: 10.3724/1000-3207.2026.2025.0452 CSTR: 32229.14.SSSWXB.2025.0452



凡纳对虾(*Litopenaeus vannamei*)不仅是全球水产贸易中经济价值最高的虾类品种之一, 也是我国和世界范围内产量最大的对虾养殖对象, 可在淡水、咸淡水及海水多类型水体中繁养。据《2025中国渔业统计年鉴》, 2024年全国凡纳对虾养殖产量达237.39万吨, 较2023年增长6.05%, 其中海水养殖产量153.38万吨, 同比增长7.27%, 淡水养殖产量

84.01万吨, 同比增幅3.90%^[1]。近20年来, 水产养殖业快速发展, 而全球鱼粉产量持续下滑, 导致优质鱼粉资源供需失衡, 成为制约行业可持续发展的“卡脖子”因素^[2]。在集约化养殖模式中, 配合饲料成本占比超过一半, 鱼粉价格波动是决定饲料成本的关键变量, 开发可持续的鱼粉替代蛋白源因而成为对虾产业亟待突破的核心科学议题。

收稿日期: 2025-12-26; 修订日期: 2026-03-12

基金项目: 国家重点研发计划(2023YFD2402000); 广东省普通高校重点领域专项(2023ZDZX4010); 广东海洋大学研究生教育创新计划(202321)资助 [Supported by the National Key Research and Development Program of China (2023YFD2402000); the Key Field Special Project of Guangdong Provincial Universities (2023ZDZX4010); the Graduate Education Innovation Program of Guangdong Ocean University (202321)]

作者简介: 郑煜东(1996—), 男, 博士; 研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail: yd_zheng96@126.com

通信作者: 章双(1986—), 教授, 博士生导师; E-mail: zshuang@gdou.edu.cn

近年来,学界与产业界将替代鱼粉的研究聚焦于昆虫蛋白(黄粉虫、黑水虻)、植物浓缩蛋白(棉籽、大豆)及单细胞蛋白(小球藻、乙醇梭菌)等新兴蛋白源,相关研究已成为水产饲料领域的研究热点。Luthada-Raswiswi等^[3]研究表明,昆虫粉、陆生动物副产品和渔业加工副产品等动物性蛋白替代适量鱼粉后,能促进水产动物的生长。值得注意的是,与其他类型蛋白源相比,由于昆虫与甲壳动物同属节肢动物门,其氨基酸组成与对虾的需求更为接近^[4],因此昆虫蛋白被认为是最具替代鱼粉潜力的动物蛋白源之一。黄粉虫粉(*Tenebrio molitor* meal, TMM)是由黄粉虫加工而成的饲料,黄粉虫是一种易于饲养和繁衍的昆虫,自2010年起,黄粉虫已在中国实现工厂化养殖^[5]。同时,由于黄粉虫粉具有优质的营养成分(均衡氨基酸谱、44%—69%蛋白含量、23%—47%脂肪含量,富含无机盐、维生素和多种功能性活性成分),已成为水产饲料研究的热点^[6]。在珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀)、大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)、金头鲷(*Sparus aurata*)、黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)、刺参(*Apostichopus japonicus*)和凡纳对虾等^[7-12]物种中的试验表明,以黄粉虫粉部分替代鱼粉可显著提升生长性能、降低饲料系数并增强免疫性能。黄粉虫粉富含几丁质、内源性抗菌肽等免疫活性物质,其对对虾先天免疫系统的调控效应尚不明确。凡纳对虾缺乏适应性免疫,其免疫防御完全依赖先天免疫系统,其中Toll/IMD和JAK-STAT是调控抗菌肽表达、酚氧化酶激活及抗病毒应答的核心信号通路^[13]。几丁质作为典型的病原相关分子模式(Pathogen-associated molecular patterns, PAMPs),可被对虾模

式识别受体识别并激活Toll通路级联反应,对虾几丁质酶在免疫应答中受c-Jun调控,与JAK-STAT通路下游基因表达密切相关^[14]。已有研究证实,黑水虻粉替代鱼粉可显著上调凡纳对虾Toll和IMD通路关键基因(*traf6*、*dorsal*、*relish*)的表达^[15],表明昆虫源蛋白中的生物活性组分能够激活对虾免疫信号级联。然而,黄粉虫粉替代鱼粉对凡纳对虾Toll/IMD和JAK-STAT通路的影响尚未见系统报道。另一方面,黄粉虫粉替代鱼粉饲料不仅提高大菱鲆的蛋白质和脂肪沉积^[7],还能促使虹鳟肌肉中多不饱和脂肪酸含量增加^[16]。在凡纳对虾中,黄粉虫粉替代水平与肌肉总脂肪酸含量呈显著正相关,替代比例越高,肌肉脂质积累越明显^[11]。然而,黄粉虫粉对对虾饲料及肌肉氨基酸谱、脂肪酸谱影响的系统性研究仍相对匮乏,其营养效应与作用机制亟待深入解析。本研究以凡纳对虾为研究对象,探究黄粉虫粉替代鱼粉对凡纳对虾生长性能、免疫性能及饲料和肌肉氨基酸谱和脂肪酸谱的变化,以期黄粉虫粉在对虾配合饲料中的精准应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

黄粉虫粉由广东泽和诚生物科技有限公司提供,其主要营养成分见表1。本实验以鱼粉、豆粕、花生粕和黄粉虫粉为主要蛋白源,大豆卵磷脂、豆油和鱼油为主要脂肪源,设计等氮等脂的4组实验饲料与之前的研究一致(表2)^[17]。对照组(TMM0组)含25%鱼粉,不含黄粉虫粉,而其余3组分别以黄粉虫粉等蛋白替代15%、30%和45%鱼粉(TMM15、TMM30、TMM45)。实验饲料的氨基

表1 黄粉虫粉的营养成分组成

Tab. 1 Chemical composition of *Tenebrio molitor* meal

常规指标 Proximate indicator	百分比 Percentage (%)	必需氨基酸 EAA	百分比 Percentage (%)	非必需氨基酸 NEAA	百分比 Percentage (%)
水分Moisture	8.43	苏氨酸Thr	2.46	天冬氨酸Asp	4.85
粗蛋白Crude protein	65.88	缬氨酸Val	3.92	酪氨酸Tyr	2.05
粗脂肪Crude lipid	4.19	蛋氨酸Met	1.29	丝氨酸Ser	5.74
粗纤维Crude fiber	5.00	半胱氨酸Cys	4.05	谷氨酸Glu	7.74
几丁质Chitin	5.40	异亮氨酸Ile	2.80	甘氨酸Gly	5.31
灰分Ash	8.00	亮氨酸Leu	5.08	丙氨酸Ala	3.13
钙Calcium	0.45	苯丙氨酸Phe	2.57	脯氨酸Pro	4.43
总磷Total Phosphorus	0.35	组氨酸His	0.90		
		色氨酸Trp	0.70		
		赖氨酸Lys	4.85		

注: EAA: 必需氨基酸; NEAA: 非必需氨基酸

Note: EAA: Essential Amino Acids; NEAA: Non-Essential Amino Acids

酸组成及脂肪酸组成分别见表3和表4。所有饲料原料粉碎后过80目筛,按配方称量,采用逐级扩大法预混,V型混合机处理12min,再加入鱼油、豆油及大豆卵磷脂,手工打散油块并二次过筛。再利用搅拌机(恒联食品机械厂,广州)边加水边混匀,经F-26双螺杆挤条机(华南理工大学,广州)挤出直径1.0与1.5 mm颗粒(比例约1:2),在空调房内自然晾

表2 实验饲料的配方及营养成分(% ,干物质)

Tab. 2 Formulation and nutrient composition of the experimental diets (% , dry matter)

原料Ingredient	组别Group			
	TMM0	TMM15	TMM30	TMM45
红鱼粉Brown fish meal	25.00	21.25	17.50	13.75
豆粕Soybean meal	25.00	25.00	25.00	25.00
花生粕Peanut meal	8.92	8.92	8.92	8.92
面粉Wheat flour	18.00	18.00	18.00	18.00
啤酒酵母Brewers' yeast	2.84	2.84	2.84	2.84
虾粉Shrimp meal	5.53	5.53	5.53	5.53
黄粉虫粉TMM	0.00	3.81	7.63	11.44
鱼油Fish oil	2.00	2.00	2.00	2.00
豆油Soybean oil	2.21	2.40	2.58	2.77
胆碱(50%) Choline chloride	0.30	0.30	0.30	0.30
大豆磷脂Phospholipid	1.00	1.00	1.00	1.00
复合维生素和矿物质盐 Vitamin and Mineral premix*	1.00	1.00	1.00	1.00
磷酸二氢钙Calcium monophosphate	1.50	1.50	1.50	1.50
Vc磷酸酯 Vitamin C phosphate	0.10	0.10	0.10	0.10
微晶纤维Cellulose microcrystalline	6.55	6.30	6.05	5.80
抗氧化剂Antioxidants	0.05	0.05	0.05	0.05
总计Total	100.00	100.00	100.00	100.00
粗蛋白Crude protein	43.04	43.15	42.96	42.77
粗脂肪Crude lipid	6.74	7.28	6.87	7.10
水分Moisture	8.74	8.79	8.70	8.95
灰分Ash	10.87	11.80	11.48	10.80

注: *维生素和矿物质含量: 维生素A. 500000 IU/kg; 维生素D3. 100000 IU/kg; 维生素E. 4000 mg/kg; 维生素K3. 1000 mg/kg; 维生素B1. 500 mg/kg; 维生素B2. 1000 mg/kg; 维生素B6. 1000 mg/kg; 维生素B12. 2.0 mg/kg; 烟酸. 4000 mg/kg; 泛酸钙. 2000 mg/kg; 生物素. 10.0 mg/kg; 叶酸. 100 mg/kg; 维生素C. 15000 mg/kg; 铁. 10000 mg/kg; 铜. 300 mg/kg; 锌. 5000 mg/kg; 锰. 1200 mg/kg; 碘. 80 mg/kg; 钴. 20 mg/kg; 硒. 30 mg/kg

Note: *Vitamin and mineral premix composition: Vitamin A. 500000 IU/kg; Vitamin D3. 100000 IU/kg; Vitamin E. 4000 mg/kg; Vitamin K3. 1000 mg/kg; Vitamin B1. 500 mg/kg; Vitamin B2. 1000 mg/kg; Vitamin B6. 1000 mg/kg; Vitamin B12. 2.0 mg/kg; Niacin. 4000 mg/kg; Calcium pantothenate. 2000 mg/kg; Biotin. 10.0 mg/kg; Folic acid. 100 mg/kg; Vitamin C. 15000 mg/kg; Iron. 10000 mg/kg; Copper. 300 mg/kg; Zinc. 5000 mg/kg; Manganese. 1200 mg/kg; Iodine. 80 mg/kg; Cobalt. 20 mg/kg; Selenium. 30 mg/kg

干,装入封口袋,于-20℃保存备用。

1.2 实验设计与饲养管理

本研究获得广东海洋大学实验动物管理和使用伦理委员会批准(审批号: GDOU-IACUC-2023-A3321),实验人员全程严格遵守相应伦理规范,各项实验工作开展均恪守该委员会制定的规章制度。养殖实验于广东湛江粤海饲料有限公司海水养殖基地开展,选取平均初始体质量为(0.42±0.01) g的凡纳对虾幼虾,经7d暂养驯化后,按完全随机设计分配至12个300 L的玻璃钢实验桶,每桶40尾,每组设3个平行重复。实验周期8周,各处理组每日

表3 黄粉虫粉替代饲料中的鱼粉后各实验饲料的氨基酸组成

Tab. 3 Amino acid composition of each experimental diet after the replacement of FM in the diet by TMM

氨基酸组成 Amino acids composition (mg/g)	TMM0	TMM15	TMM30	TMM45
必需氨基酸EAA				
苏氨酸Thr	14.83	14.99	14.77	13.98
胱氨酸Cys	4.22	4.31	4.28	4.22
缬氨酸Val	16.32	16.79	16.91	17.49
蛋氨酸Met	5.90	6.00	5.78	5.89
异亮氨酸Ile	14.40	14.52	14.78	15.02
亮氨酸Leu	25.90	26.48	26.59	26.70
苯丙氨酸Phe	16.42	17.21	17.21	17.19
赖氨酸Lys	22.91	22.86	22.97	22.58
组氨酸His	9.73	9.52	9.01	8.60
精氨酸Arg	23.83	24.50	24.67	24.58
非必需氨基酸NEAA				
天冬氨酸Asp	35.09	35.07	35.02	34.48
丙氨酸Ala	18.67	18.56	18.12	17.88
谷氨酸Glu	64.52	64.39	64.08	62.93
甘氨酸Gly	19.17	20.29	20.21	20.78
丝氨酸Ser	16.51	18.38	18.61	17.90
酪氨酸Try	9.83	10.73	10.89	11.27
脯氨酸Pro	18.23	19.87	20.11	20.79
氨基酸总和TAAs	336.60	344.43	343.93	342.21
必需氨基酸总和ΣEAA	150.27	152.83	152.67	152.03
非必需氨基酸总和ΣNEAA	186.23	191.57	191.33	190.23
必需氨基酸占比EAA/TAAs	44.64	44.37	44.39	44.43

注: TAAs. 所有氨基酸的总和; ΣEAA. 必需氨基酸的总和,包括苏氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、组氨酸和精氨酸; ΣNEAA 非必需氨基酸的总和,包括天冬氨酸、丝氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、酪氨酸和脯氨酸; EAA/TAAs: EAA在TAAs的百分比

Note: TAAs. sum of total tested amino acids; ΣEAA. sum of essential amino acids, including threonine, valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine, lysine, histidine and arginine; ΣNEAA. sum of non-essential amino acids, including aspartic acid, serine, glutamic acid, glycine, alanine, tyrosine and proline; EAA/TAAs: the percentage of EAA to TAAs

表4 黄粉虫粉替代饲料中的鱼粉后各实验饲料的脂肪酸组成
Tab. 4 Fatty acid composition of each experimental diet after the replacement of FM in the diet by TMM

脂肪酸组成Fatty acids composition (mg/g)	TMM0	TMM15	TMM30	TMM45
饱和脂肪酸SFAs				
C10:0	0.63	0.88	0.87	0.98
C12:0	0.43	0.5	0.51	0.56
C14:0	19.11	16.64	14.51	12.44
C15:0	2.14	1.96	1.75	1.57
C16:0	158.6	155.2	151.69	147.16
C17:0	7.89	7.09	6.55	5.79
C18:0	48.71	48.49	49.39	49.62
C20:0	4.40	4.83	5.34	5.72
C22:0	4.12	4.19	4.46	4.41
C24:0	2.45	2.60	2.54	2.35
单不饱和脂肪酸MUFAs				
C14:1n5	0.75	0.68	0.64	0.56
C16:1n7	25.62	23.18	20.67	17.99
C17:1n7	4.80	4.46	3.91	3.32
C18:1n9c	158.82	159.3	168.18	169.15
C20:1	9.30	8.82	8.94	8.65
C22:1n9	0.97	1.14	0.75	0.38
多不饱和脂肪酸PUFAs				
C20:2	1.40	1.35	1.30	1.25
C18:2n6c	295.7	307.4	326.94	343.01
C18:3n3	37.85	38.69	40.75	43.19
C18:3n6	1.33	1.13	1.15	1.02
C20:3n6	0.89	0.93	0.79	0.79
C20:4n6	7.62	7.50	6.76	6.41
C20:5n3 (EPA)	114.54	114.56	102.92	101.04
C22:6n3 (DHA)	91.93	88.47	78.67	72.63
饱和脂肪酸总和 Σ SFAs	248.48	242.38	237.63	230.6
单不饱和脂肪酸总和 Σ MUFAs	200.26	197.59	203.08	200.06
多不饱和脂肪酸总和 Σ PUFAs	551.26	560.04	559.29	569.34
n-3 不饱和脂肪酸总和 Σ n3	244.32	241.72	222.34	216.86
n-6 不饱和脂肪酸总和 Σ n6	305.54	316.97	335.64	351.23
n-3 不饱和脂肪酸和n-6 不饱和脂肪酸占比n3/n6	79.97	76.26	66.24	61.74
n-3 高度不饱和脂肪酸n-3 HUFA	206.48	203.03	181.59	173.67
DHA/EPA	80.26	77.22	76.43	71.91

注: Σ SFA. 所有不含双键的脂肪酸之和; Σ MUFA. 所有含单双键的脂肪酸之和; Σ PUFA. 所有含 ≥ 2 个双键的脂肪酸之和; Σ n3. 所有n-3 不饱和脂肪酸之和; Σ n6. 所有n-6 不饱和脂肪酸之和, 包括20:3n-6及单独报告的n-6脂肪酸; n3/n6. Σ n3与 Σ n6的比例; n-3 HUFA. n-3 高度不饱和脂肪酸($C \geq 20$), 包括C20:5n3和C22:6n3; DHA/EPA. C22:6n3与C20:5n3的比例

Note: Σ SFA. sum of all fatty acids without double bonds; Σ MUFA: sum of all fatty acids with a single double bond; Σ PUFA. sum of all fatty acids with ≥ 2 double bonds; Σ n3. Sum of all n-3 unsaturated fatty acids; Σ n6. Sum of all n-6 unsaturated fatty acids, includes 20:3n-6 in addition to individually reported n-6 fatty acids; n3/n6. the ratio of Σ n3 to Σ n6; n-3 HUFA. highly unsaturated n-3 fatty acids ($C \geq 20$), including C20:5n3 and C22:6n3; DHA/EPA. the percentage of C22:6n3 to C20:5n3

07:00、11:00、17:00和21:00定时表观饱食投喂对应饲料, 投喂30min后记录残饵量并据此调整次日投喂量。每日通过流水方式更换约80%养殖水体, 以排除残饵和粪便、降低氨氮和亚硝酸盐浓度、维持良好的水质条件。在实验过程中, 水质参数严格控制在适宜范围, 水温维持在27—32℃, 氨氮浓度控制在 ≤ 0.05 mg/L, 盐度保持在27‰—30‰, 溶解氧浓度维持在 > 6.0 mg/L, pH控制在7.7—8.0。

1.3 样品收集

在8周养殖实验结束后, 禁食24h, 每组共有3个重复(即3个养殖桶), 每桶随机取6尾对虾, 分别采集肌肉和肝胰腺组织, 来源于每3尾的相同组织等量混合为1个样品, 每组共有6个混合样品, 分装于1.5 mL离心管中, 液氮速冻后转移至-80℃冰箱保存, 用于后续酶活、营养成分、氨基酸与脂肪酸沉积及基因表达分析。

1.4 生长指标和饲料成本计算公式

增重率(Weight gain rate, WGR, %)=(终末体重-初始体重)/初始体重 $\times 100$

特定生长率(Specific growth rate, SGR, %/d)=[$\ln$ (终末体重)- $\ln$ (初始体重)]/实验天数 $\times 100$

饲料系数(Feed conversion ratio, FCR)=投喂饲料重量/(终末体重-初始体重)

饲料成本(Feed cost)=饲料单价 $\times$ 饲料消耗量

总收入(Gross income)=终末体重 $\times$ 售价

利润(Profit)=总收入-饲料成本

1.5 常规营养成分、氨基酸组成和脂肪酸组成分析

饲料与肌肉样品的水分采用105℃常压烘干法测定(GZX-9146MBE, 上海)。粗蛋白以杜马斯燃烧法测定(Primacs SN-100, 荷兰)。粗脂肪经索氏提取, 石油醚为溶剂。灰分经550℃马弗炉灼烧6h后称量。氨基酸组成按GB 5009.124-2016第一法, 使用L-8900氨基酸分析仪(日本东京)测定。脂肪酸组成按GB 5009.168-2016测定, 饲料样品采用归一化法(第三法)定量, 肌肉样品采用内标法(第一法)定量, 使用Agilent 7890B气相色谱-FID检测器(色谱柱: DB-FastFAME 90 m $\times$ 0.250 mm $\times$ 0.25 μ m)进行分析。

1.6 抗氧化指标和免疫指标测定

取-80℃保存的肝胰腺样品, 解冻后称量, 加入9倍体积预冷0.9%生理盐水, 4℃条件下匀浆并稀释, 随后4℃、4000 r/min离心15min, 取上清液待测。所得匀浆液用于测定总蛋白(TP)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、酚氧化酶(PO)、溶菌酶(LZM)及丙二醛(MDA)等指标。所用试剂盒均购自南京建成生物工程研究所, 操作严格

按说明书执行。

1.7 实时荧光定量 PCR

肝胰腺总RNA采用TRIzol法(TransGen Biotech, 北京)提取, 经1.0%琼脂糖凝胶电泳和NanoDrop分光光度计(A_{260}/A_{280})检测完整性与浓度后, 使用PrimeScript™ RT reagent Kit (TaKaRa, 中国)去除基因组DNA并反转录为cDNA。荧光定量PCR采用2×SYBR® Premix Ex Taq™ (Perfect Real Time)试剂盒(TaKaRa, 日本)在实时荧光定量PCR仪上(罗氏LightCycler480, 瑞士)进行, 以*ef1a* (GenBank: GU136229)为内参基因, 使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算*cru*、*alf*、*pen*、*po*、*sod*、*lmz*、*lgbp*、*dor*、*rel*、*cact*、*stat*、*jun*和*fos*基因相对表达量(表5)。本研究各目的基因引物的PCR扩增效率通过cDNA混合模板的5个浓度梯度(每个梯度设3个技术重复)构建标准曲线进行评估, 本研究中所有引物的扩增效率均在92%—105%, 相关系数 $R^2 \geq 0.98$, 符合PCR相对定量的 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法分析要求。

1.8 数据处理

实验数据采用SPSS 21.0软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA), 组间差异以Tukey法进行多重比较, 显著性水平设定为 $P < 0.05$, 结果以平均值±标准差表示。

2 结果

2.1 黄粉虫粉替代饲料中鱼粉对凡纳对虾生长性能和饲料利用的影响

凡纳对虾生长性能结果表明(图1A), 黄粉虫粉替代鱼粉显著影响凡纳对虾的生长性能, 增重率方面, TMM30组显著高于TMM0组, 较TMM0组提高12.34% ($P < 0.05$)。TMM15和TMM45组分别较TMM0组提高2.61%和2.83%, 但差异不显著 ($P > 0.05$)。特定生长率呈现相似趋势, TMM30组显著高于TMM0组, 较TMM0组提高3.47% ($P < 0.05$), TMM15组和TMM45组较TMM0组仅提高0.82%, 差异不显著 ($P > 0.05$)。总摄食量和饲料系数方面, 各组间差异不显著 ($P > 0.05$)。饲料系数方面, TMM30组较TMM0组降低15.51%, TMM45组降低7.49%, TMM15组降低1.07%。

基于市场参考价格(www.feedtrade.com.cn)及对虾出塘价格20元/斤, 对各实验组饲料利用情况进行核算(图1B)。结果显示, 随TMM替代FM比例的提高, 各组饲料价格呈逐渐下降趋势, TMM0、TMM15、TMM30和TMM45组的饲料价格分别为8.65、8.31、7.98和7.65元/kg, 与TMM0组相比, TMM15、TMM30和TMM45组的饲料价格分别降

表5 qPCR引物序列

Tab. 5 Sequence of the primers used for quantitative PCR			
基因名称Gene name	基因ID Gene ID	序列Sequence (5'—3')	产物大小Size (bp)
<i>ef1a</i>	XM_070120431.1	TGCACCACGAAGCCCTTAC CAGGGTGGTTGAGGACGAT C	171
<i>cru</i>	XM_027352254.2	GTAGGTGTTGGTGGTGGTTT C CTCGCAGCAGTAGGCTTGA C	192
<i>alf</i>	XM_027372864.2	TTACTTCAATGGCAGGATG TGG GTCCTCCGTGATGAGATTA CTCTG	142
<i>pen</i>	XM_070118967.1	GACGGAGAAGACAATGGA AACC ATCTTTAGCGATGGATAGA CGAA	160
<i>po</i>	XM_070133708.1	AAGCCAGGCAGCAACCAC C CAGAAGTTGAAACCCGTGG C	134
<i>sod</i>	XM_070117072.1	CTTTGCCACCCCTCAAGTAT G TGCCTCCGCCTCAACCA	143
<i>cat</i>	XM_070119527.1	ACAAGACGGACCAAGGCAT C ACTTATATCCTCAGTACTG GCATG	157
<i>lmz</i>	XM_070138434.1	TATTCTGCCTGGGTGGCTTA C CAGAGTTGGAACCGTGAGA CC	91
<i>lgbp</i>	XM_070119658.1	TACGGAGGAACGACGCTGC AAATCATCGGCGAAGGAGC	104
<i>dor</i>	XM_027382194.2	AGATGGAATGATAGAATGG GAAGC GTACACCTTTATGGGGTTCT CTATCTC	127
<i>rel</i>	XM_027357250.2	AGGTGACAGAGGTGGGATG AGT CACTGTTGGTGGAGACGGT ACT	94
<i>cact</i>	XM_027376316.2	GGAGGCGTGCCAGTGACTA TG GAAGTAACGATCTGCATTG AAGGG	75
<i>stat</i>	XM_027383199.2	CTTCGCCATCCGTCCTCTAG GGCTTGATCCTTAGGCACA TTC	85
<i>jun</i>	XM_027351561.2	GCACATCAAGGAGGAGCCG TCCGACGGCGGCACTT	146
<i>fos</i>	XM_070141911.1	CCATTACAGCTGTGGCTAC GAGT GGTCTGTTCGATGTTCTCA AG	173

注: *ef1a*. 延伸因子1 α ; *cru*. 甲壳素抗菌肽; *alf*. 抗脂多糖因子; *pen*. 对虾素; *po*. 酚氧化酶; *sod*. 超氧化物歧化酶; *cat*. 过氧化氢酶; *lmz*. 溶菌酶; *lgbp*. 脂多糖和 β -1, 3-葡聚糖结合蛋白; *dor*. Dorsal转录因子; *rel*. Relish转录因子; *cact*. Cactus蛋白(Toll通路抑制因子); *stat*. 信号转导与转录激活因子; *jun*. Jun转录因子; *fos*. Fos转录因子

Note: *ef1a*. elongation factor 1 alpha; *cru*. crustin; *alf*. anti-lipopolysaccharide factor; *pen*. penaeidin; *po*. prophenoloxidase; *sod*. superoxide dismutase; *cat*. catalase; *lmz*. lysozyme; *lgbp*. lipopolysaccharide and β -1, 3-glucan binding protein; *dor*. dorsal; *rel*. relish; *cact*. cactus; *stat*. signal transducer and activator of transcription; *jun*. c-Jun; *fos*. c-fos

低了3.93%、7.75%和11.56%。饲料成本随替代比例的增加而降低, TMM15、TMM30和TMM45组的饲料成本较TMM0组分别下降了4.47%、8.01%和11.56%。在总收入和利润方面, 各组总收入和利润由高到低依次为TMM30>TMM45>TMM15, 其中,

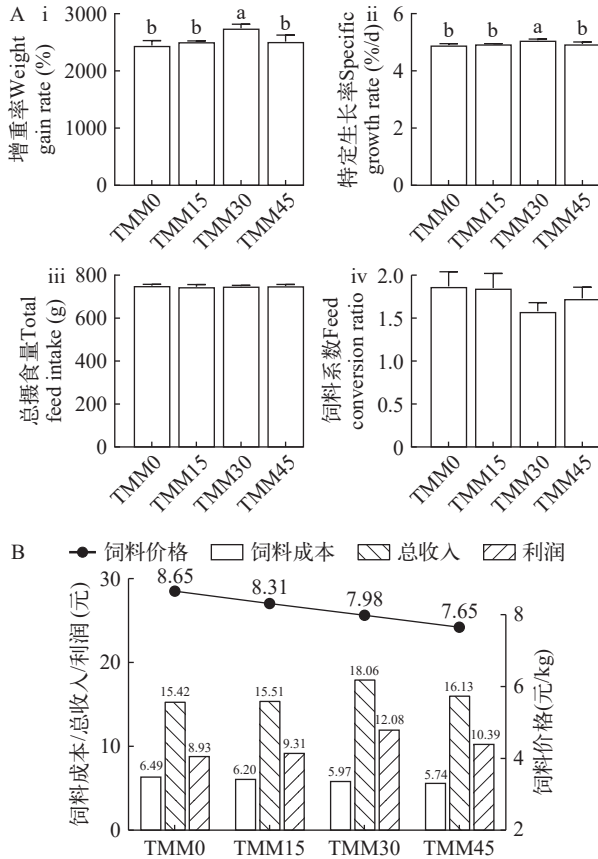


图1 黄粉虫粉替代鱼粉对凡纳对虾生长性能及饲料利用的影响

Fig. 1 Effects of replacing FM with TMM on growth performance and feed utilization of *L. vannamei*

A. 各组对虾生长性能指标, 包括(i)增重率、(ii)特定生长率、(iii)总摄食量及(iv)饲料系数。数据以平均值±标准差表示 ($n=3$), 柱上不同小写字母示组间差异显著 ($P<0.05$); B. 饲料利用经济分析, 左轴柱形图示饲料成本、总收入与利润(元), 右轴折线图示饲料价格(元/kg); 利润仅基于饲料原料成本核算, 为理论毛利润, 不代表实际养殖净利润

A. Growth performance parameters of each group, including (i) weight gain rate (WGR), (ii) specific growth rate (SGR), (iii) total feed intake, and (iv) feed conversion ratio (FCR). Data are expressed as mean±SD ($n=3$); Different lowercase letters above the vertical bars represent significant differences ($P<0.05$); B. Economic analysis of feed utilization; bar charts (left axis) represent feed cost, gross income, and profit (yuan), while the line graph (right axis) indicates feed price (yuan/kg); Profit is calculated based solely on feed ingredient costs and represents theoretical gross profit, excluding expenses such as seed, utilities, labor, and equipment depreciation; thus it does not reflect actual net aquaculture profit

TMM30组表现最为突出, 与TMM0组相比TMM30组的总收入和利润的增幅达17.12%和35.28%。

2.2 黄粉虫粉替代饲料中鱼粉对凡纳对虾抗氧化相关指标的影响

随着黄粉虫粉替代水平上升, 凡纳对虾的抗氧化性能增强(图2), TMM45组MDA显著低于TMM0组 ($P<0.05$), 而TMM15和TMM30组MDA与TMM0组没有显著性差异 ($P>0.05$)。TMM45组SOD与CAT活性均显著高于TMM0组 ($P<0.05$), TMM15和TMM30组SOD与CAT活性与TMM0组没有显著性差异 ($P>0.05$)。在基因水平(图2B), TMM15、TMM30

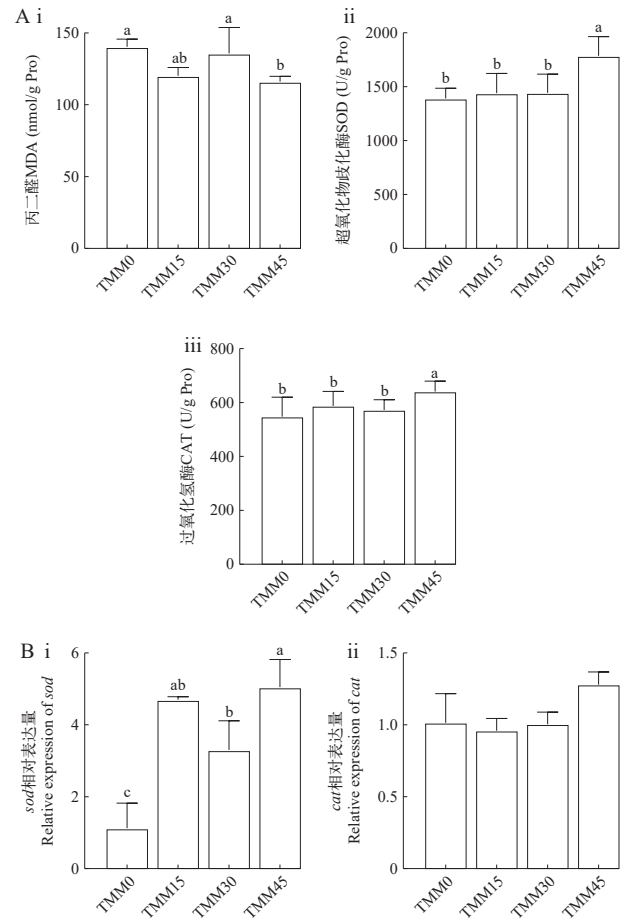


图2 黄粉虫粉替代鱼粉对凡纳对虾抗氧化相关指标的影响

Fig. 2 Effects of replacing FM with TMM on antioxidant-related indices of *L. vannamei*

数据表示为平均值±标准差 ($n=3$); 柱形图上方不同小写字母代表具有显著差异 ($P<0.05$); A. 抗氧化相关指标, 其中包括丙二醛(i), 超氧化物歧化酶(ii)和过氧化氢酶(iii); B. 抗氧化基因表达水平, 其中包括超氧化物歧化酶基因(i)和过氧化氢酶基因(ii)

Data are presented as mean±standard deviation (S D) ($n=3$); Different lowercase letters above the bars indicate significant differences ($P<0.05$); A. Antioxidant enzyme activity levels, including malondialdehyde (i), superoxide dismutase (ii), and catalase (iii); B. Antioxidant gene expression levels, including superoxide dismutase gene (i) and catalase gene (ii)

和TMM45的*sod*表达显著高于TMM0组($P<0.05$), 另外, TMM15、TMM30和TMM45的*cat*表达则与TMM0组无显著差异($P>0.05$)。

2.3 黄粉虫粉替代饲料中鱼粉对凡纳对虾免疫性能的影响

随着黄粉虫粉替代水平上升, 凡纳对虾的PO和LZM酶活表达增强(图3), TMM30和TMM45

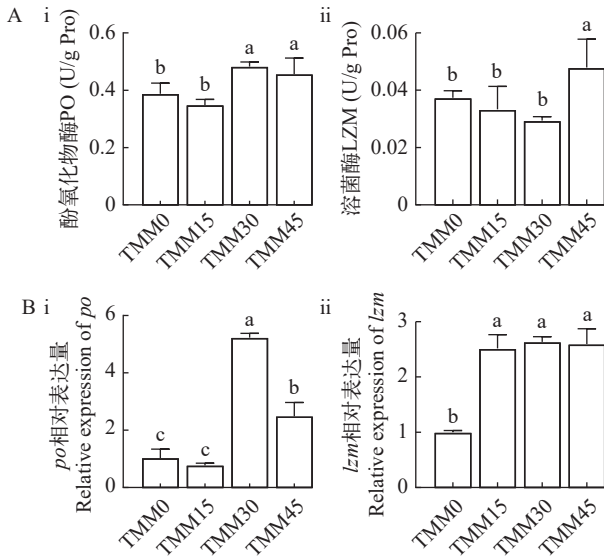


图3 黄粉虫替代鱼粉对凡纳对虾肝胰腺非特异性免疫性能的影响

Fig. 3 Effects of replacing FM with TMM on nonspecific immunity in hepatopancreases of *L. vannamei*

数据表示为平均值±标准差($n=3$); 柱形图上方不同小写字母代表具有显著差异($P<0.05$); A. 免疫酶活水平, 其中包括酚氧化酶(i)和溶菌酶(ii); B. 免疫基因表达水平, 其中包括酚氧化酶基因(i)和溶菌酶基因(ii)

Data are presented as mean±standard deviation ($n=3$); Different lowercase letters above the bars indicate significant differences ($P<0.05$); A. Immune enzyme activity levels, including PO (i) and LZM (ii); B. Immune gene expression levels, including *po* gene (i) and *lzm* gene (ii)

组PO活性显著高于TMM0组($P<0.05$), 而TMM15组PO活性与TMM0组无显著差异($P>0.05$)。TMM45组LZM活性显著高于TMM0组($P<0.05$), TMM15和TMM30组LZM活性与TMM0组无显著差异($P>0.05$)。在基因水平(图3B), TMM30和TMM45组*po*基因表达显著高于TMM0组($P<0.05$), 而TMM15组*po*基因表达与TMM0组无显著差异($P>0.05$)。此外, TMM15、TMM30和TMM45的*lzm*基因表达显著高于TMM0组($P<0.05$)。

随着黄粉虫粉替代水平上升, 凡纳对虾的抗菌肽和免疫相关通路的基因表达随之上升(图4), 在抗菌肽相关基因中, TMM30和TMM45组的*cru*和*alf*基因表达显著高于TMM0组($P<0.05$), 而TMM0、TMM15、TMM30和TMM45组之间的*pen*基因表达无显著差异($P>0.05$)。在Toll/IMD信号通路基因中, TMM30和TMM45的*rel*基因表达显著高于TMM0组($P<0.05$), TMM30组的*lgbp*与*cact*基因表达显著高于TMM0组($P<0.05$), TMM15组的*dor*基因表达显著高于TMM0组($P<0.05$)。在JAK-STAT信号通路基因中, TMM15、TMM30和TMM45的*stat*、*jun*基因表达均显著高于TMM0组($P<0.05$), TMM30和TMM45的*fos*基因表达显著高于TMM0组($P<0.05$)。

2.4 黄粉虫粉替代饲料中鱼粉对凡纳对虾肌肉基本成分的影响

凡纳对虾肌肉基本成分结果表明(表6), 以湿重为基础计, TMM0、TMM15、TMM30与TMM45组对虾肌肉水分(75.49%—76.03%)、粗蛋白(18.44%—18.64%)和粗灰分(2.82%—2.94%)含量差异均不显著($P>0.05$), 表明黄粉虫粉替代鱼粉未改变肌肉的主要营养组成。粗脂肪含量随替代比例增加呈递增趋势, TMM45组较TMM0组显著提高15.38% ($P<0.05$), TMM15和TMM30组与TMM0组差异不显著($P>0.05$), 肌肉脂肪沉积的增加可能与黄粉虫粉本

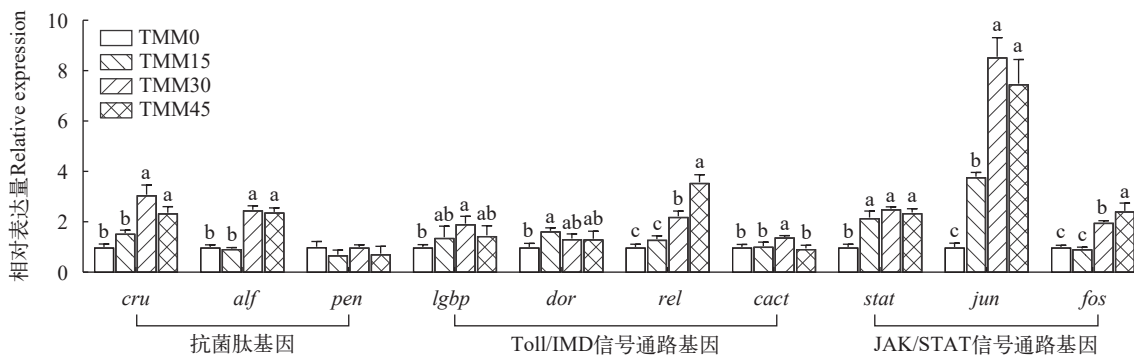


图4 黄粉虫粉替代鱼粉对凡纳对虾免疫相关基因的影响

Fig. 4 Effects of replacing FM with TMM on immune gene expression of *L. vannamei*

数据表示为平均值±标准差($n=3$); 柱形图上方不同小写字母代表具有显著差异($P<0.05$)

Data are expressed as mean±SD ($n=3$); Different lowercase letters above the vertical bars represent significant differences ($P<0.05$)

表 6 黄粉虫粉替代鱼粉对凡纳对虾肌肉基本成分的影响

Tab. 6 Effect of replacing FM with TMM on the muscle composition of *L. vannamei*

组别 Group	水分 Moisture (%)	粗蛋白Crude protein (%)	粗脂肪Crude lipid (%)	粗灰分Ash (%)
TMM0	76.03±1.52	18.64±0.23	1.56±0.03 ^b	2.82±0.12
TMM15	75.62±0.23	18.44±0.30	1.58±0.03 ^b	2.89±0.04
TMM30	75.49±0.89	18.47±0.25	1.64±0.06 ^b	2.92±0.04
TMM45	75.67±1.79	18.62±0.17	1.80±0.04 ^a	2.94±0.06

注: 粗蛋白、粗脂肪和粗灰分含量均以湿重基础表示; 同一列不同上标字母表示差异显著($P<0.05$)

Note: Crude protein, crude lipid, and ash contents are expressed on a wet weight basis; Within the same column, values with different superscript letters indicate significant differences ($P<0.05$)

身脂质含量较高及其脂肪酸组成特点有关。

2.5 黄粉虫粉替代饲料中鱼粉对凡纳对虾肌肉氨基酸组成的影响

凡纳对虾肌肉氨基酸结果表明(表 7), 在必需氨基酸方面, 大多数必需氨基酸在各组间差异不显著($P>0.05$), 包括缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、赖氨酸及组氨酸。其中, 苏氨酸和精氨酸含量随替代比例增加呈递减趋势, TMM45 组分别较 TMM0 组显著降低 9.01% 和 7.87% ($P<0.05$), TMM15 和 TMM30 组与 TMM0 组差异不显著($P>0.05$)。在非必需氨基酸方面, 天冬氨酸、谷氨酸和丙氨酸在各组间保持稳定, 变化幅度均未超过 1.19%。丝氨酸随替代比例增加呈递减趋势, TMM45 组较 TMM0 组降低 8.62%, 但差异不显著($P>0.05$)。酪氨酸和脯氨酸则呈升高趋势, 但组间波动较大, 规律性不强。甘氨酸在 TMM30 组较 TMM0 组提高 5.68%, 但在 TMM45 组降低 4.38%。TAAs 在各组间差异不显著($P>0.05$), 各组维持在 206.33—210.00 mg/g。ΣEAA 在 TMM45 组较 TMM0 组显著降低 2.74% ($P<0.05$), 主要归因于苏氨酸和精氨酸的减少。EAA/TAAs 在各组间变化极小(44.19%—45.05%), 差异不显著($P>0.05$)。风味氨基酸总和(ΣFlavorAA)在 TMM15 和 TMM30 组与 TMM0 组相当, 但 TMM45 组较 TMM0 组显著降低 1.29% ($P<0.05$)。

2.6 黄粉虫粉替代饲料中鱼粉对凡纳对虾肌肉脂肪酸沉积的影响

凡纳对虾肌肉脂肪酸沉积结果表明(表 8), ΣSFA 随替代比例增加而升高, TMM45 组较 TMM0 组显著提高 71.11% ($P<0.05$), 主要由 C16:0 (提高 65.82%) 和 C18:0 (提高 62.80%) 的大幅增加驱动。ΣMUFA 呈相似趋势, TMM45 组较 TMM0 组显著提高 123.71% ($P<0.05$), 主要归因于油酸(C18:1n7c)的显著增加(提高 121.77%, $P<0.05$)。TMM15 和 TMM30 组

表 7 黄粉虫替代鱼粉对凡纳对虾肌肉氨基酸组成的影响

Tab. 7 Effect of replacing FM with TMM on the amino acid composition of the muscle of *L. vannamei*

肌肉氨基酸组成 Amino acid composition of themuscle	TMM0	TMM15	TMM30	TMM45
必需氨基酸				
苏氨酸Thr	7.77± 0.21 ^a	7.57± 0.12 ^{ab}	7.40± 0.10 ^{bc}	7.07± 0.12 ^c
缬氨酸Val	8.07± 0.31	8.13± 0.15	8.23± 0.25	8.27± 0.15
蛋氨酸Met	5.67± 0.15 ^a	5.37± 0.12 ^{ab}	5.63± 0.12 ^a	5.30± 0.10 ^b
异亮氨酸Ile	7.97± 0.31	8.00± 0.17	8.20± 0.26	8.10± 0.20
亮氨酸Leu	15.07± 0.06	15.10± 0.20	15.07± 0.35	14.73± 0.21
苯丙氨酸Phe	7.97± 0.21	8.50± 0.44	8.07± 0.12	8.33± 0.45
赖氨酸Lys	16.47± 0.38	16.50± 0.36	16.27± 0.40	15.97± 0.49
组氨酸His	4.03± 0.23	3.97± 0.06	4.23± 0.15	4.30± 0.10
精氨酸Arg	20.70± 1.18 ^a	20.37± 0.49 ^a	19.87± 1.32 ^{ab}	19.07± 1.23 ^b
非必需氨基酸				
天冬氨酸Asp	20.13± 0.32	20.17± 0.35	20.37± 0.15	19.97± 0.32
谷氨酸Glu	33.13± 0.15 ^{ab}	33.43± 0.15 ^a	32.87± 0.21 ^b	32.83± 0.15 ^b
甘氨酸Gly	22.17± 0.25	21.83± 0.21	23.43± 0.29	21.20± 0.26
丙氨酸Ala	12.37± 0.25	12.80± 0.20	12.23± 0.25	12.67± 0.21
丝氨酸Ser	7.77± 0.40	7.50± 0.10	7.30± 0.36	7.10± 0.46
酪氨酸Try	7.13± 0.40 ^c	8.03± 0.29 ^a	7.30± 0.10 ^{bc}	7.83± 0.15 ^{ab}
脯氨酸Pro	11.87± 0.50 ^a	12.73± 0.40 ^b	11.90± 0.44 ^c	13.87± 1.00 ^d
氨基酸总和TAAs	208.33± 8.39	210.00± 5.29	208.33± 4.16	206.33± 6.81
必需氨基酸总和ΣEAA	93.70± 2.91 ^a	93.50± 1.68 ^a	92.97± 2.30 ^a	91.13± 2.40 ^b
非必需氨基酸总和ΣNEAA	114.57± 2.07	116.50± 0.56	115.40± 1.30	115.47± 2.07
必需氨基酸占比EAA/TAAs	45.05± 2.83	44.53± 0.49	44.62± 0.40	44.19± 1.25
风味氨基酸ΣFlavorAA	87.80± 0.80 ^a	88.23± 0.55 ^a	88.90± 0.50 ^a	86.67± 0.47 ^b

注: 3 个重复的数据均值±标准差SD; 在 Tukey's HSD 的基础上, 同一行中没有上标的均值没有显著差异($P>0.05$); TAAs: 所有氨基酸的总和; ΣEAA: 必需氨基酸的总和, 包括苏氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、组氨酸和精氨酸; ΣNEAA: 非必需氨基酸的总和, 包括天冬氨酸、丝氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、酪氨酸和脯氨酸; EAA/TAAs: EAA 对 TAAs 的百分比; ΣFlavorAA: 风味氨基酸之和, 包括天冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸和丙氨酸; 同一行不同上标字母表示差异显著($P<0.05$)

Note: Data mean values of three replicates±SD. Means in the same row without superscripts do not differ significantly ($P>0.05$) on the basis of Tukey's HSD; TAAs: sum of all tested amino acids; ΣEAA: sum of essential amino acids, including threonine, valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine, lysine, histidine, and arginine; ΣNEAA: sum of non-essential amino acids, including aspartic acid, serine, glutamic acid, glycine, alanine, tyrosine, and proline; EAA/TAAs: the percentage of EAA to TAAs; ΣFlavorAA: sum of flavor amino acids, including aspartic acid, glutamic acid, glycine, and alanine; Within the same row, values with different superscript letters indicate significant differences ($P<0.05$)

表 8 黄粉虫粉替代饲料中的鱼粉对凡纳对虾肌肉脂肪酸沉积的影响

Tab. 8 Effect of replacing FM in the diet with TMM on the fatty acid composition of the muscle of *L. vannamei*

脂肪酸沉积(mg/g 脂质) Fatty acid deposition (mg/g lipid)	TMM0	TMM15	TMM30	TMM45
饱和脂肪酸SFAs				
C14:0	nd	nd	nd	0.05± 0.00
C16:0	7.52± 0.02 ^c	8.05± 0.01 ^b	8.03± 0.03 ^b	12.47± 0.06 ^a
C18:0	3.79± 0.01 ^d	4.71± 0.00 ^b	4.26± 0.02 ^c	6.17± 0.01 ^a
单不饱和脂肪酸MUFAs				
C20:1	nd	nd	nd	0.04± 0.00
C16:1n7	0.65± 0.00	0.67± 0.00	nd	0.95± 0.00
C18:1n9c	4.96± 0.01 ^d	5.32± 0.01 ^c	5.71± 0.03 ^b	11.00± 0.02 ^a
多不饱和脂肪酸PUFAs				
C20:2	0.87± 0.00 ^c	0.98± 0.00 ^b	0.83± 0.00 ^d	1.23± 0.00 ^a
C18:2n6c	5.02± 0.01 ^d	7.28± 0.01 ^c	7.39± 0.04 ^b	9.36± 0.02 ^a
C18:3n3	nd	nd	0.53± 0.00	0.69± 0.00
C20:4n6	1.51± 0.01 ^a	1.05± 0.00 ^c	1.01± 0.00 ^d	1.14± 0.00 ^b
C20:5n3 (EPA)	10.22± 0.14 ^a	11.83± 0.01 ^c	12.05± 0.04 ^b	12.12± 0.01 ^a
C22:6n3 (DHA)	7.57± 0.01 ^a	8.32± 0.00 ^b	8.03± 0.04 ^c	9.07± 0.01 ^a
饱和脂肪酸总和ΣSFA	11.32± 0.02 ^d	12.77± 0.01 ^b	12.28± 0.05 ^c	19.37± 0.07 ^a
单不饱和脂肪酸总和ΣMUFA	5.61± 0.01 ^d	5.99± 0.01 ^b	5.71± 0.03 ^c	12.55± 0.03 ^a
多不饱和脂肪酸总和ΣPUFA	25.19± 0.15 ^d	29.46± 0.02 ^c	29.84± 0.13 ^b	33.60± 0.05 ^a
n-3 不饱和脂肪酸总和Σn3	17.79± 0.14 ^d	20.15± 0.01 ^a	20.61± 0.09 ^b	21.87± 0.03 ^a
n-6 不饱和脂肪酸总和Σn6	6.53± 0.00 ^d	8.33± 0.01 ^c	8.40± 0.04 ^b	10.49± 0.02 ^a
n-3 不饱和脂肪酸和n-6 不饱和脂肪酸占比n3/n6	2.72± 0.02 ^a	2.42± 0.00 ^c	2.45± 0.00 ^b	2.08± 0.00 ^d
n-3 高度不饱和脂肪酸 n-3 HUFA	17.79± 0.14 ^c	20.15± 0.01 ^b	20.08± 0.08 ^b	21.19± 0.03 ^a
DHA/EPA	0.74± 0.01 ^a	0.70± 0.00 ^b	0.67± 0.00 ^c	0.75± 0.00 ^a

注: nd. 未检出, 即低于气相色谱检测限, 而气相色谱检测限为0.033 mg/g 脂质; ΣSFA: 所有不含双键的脂肪酸之和; ΣMUFA: 所有含单双键的脂肪酸之和; ΣPUFA: 所有含≥2个双键的脂肪酸之和; Σn3: 所有n-3高度不饱和脂肪酸之和; Σn6: 所有n-6高度不饱和脂肪酸之和, 包括20:3n-6以及单独报告的n-6高度不饱和脂肪酸; n3/n6: Σn3与Σn6的比例; n-3 HUFA: 高度不饱和的n-3脂肪酸(C≥20), 包括C20:5n3和C22:6n3; DHA/EPA: C22:6n3与C20:5n3的比例; 同一行, 不同上标字母表示差异显著($P<0.05$)

Note: nd. Below the detection limit, limit of detection (LOD) <0.033 mg/g lipid; ΣSFA. sum of all fatty acids without double bonds; ΣMUFA. sum of all fatty acids with a single double bond; ΣPUFA. sum of all fatty acids with ≥2 double bonds; Σn3. Sum of all n-3 fatty acids; Σn6. Sum of all n-6 fatty acids; includes 20:3n-6 in addition to individually reported n-6 fatty acids; n3/n6. the ratio of Σn3 to Σn6; n-3 HUFA. highly unsaturated n-3 fatty acids (C≥20), including C20:5n3 and C22:6n3; DHA/EPA. the percentage of C22:6n3 to C20:5n3. Within the same row, values with different superscript letters indicate significant differences ($P<0.05$)

SFA及MUFA与TMM0组差异不显著($P>0.05$), 表明上述变化主要发生在高替代水平。肌肉PUFAs的变化趋势与饲料存在显著不同。ΣPUFA随替代比例增加而显著升高, TMM45组较TMM0组提高33.39% ($P<0.05$)。亚油酸(C18:2n6c)是增幅最大的脂肪酸, TMM15、TMM30和TMM45组分别较TMM0组显著提高45.02%、47.21%和86.45% ($P<0.05$), 反映出饲料中亚油酸含量升高对肌肉组成的直接影响。在本研究中出现一个结果, 尽管饲料中EPA和DHA含量在TMM30和TMM45组显著降低, 肌肉中EPA和DHA含量反而随替代比例增加而升高。EPA在TMM15、TMM30和TMM45组较TMM0组分别显著提高15.75%、17.91%和18.59% ($P<0.05$), DHA在TMM45组较TMM0组显著提高19.82% ($P<0.05$)。这一结果提示对虾可能对EPA和DHA具有选择性富集和保留能力。C18:3n3在TMM0和TMM15组中未检出, 而在TMM30和TMM45组中出现, 可能来源于黄粉虫粉中较高的α-亚麻酸含量。ARA在各替代组中较TMM0组显著降低24.50%—33.11% ($P<0.05$)。Σn-3和Σn-6均随替代比例增加而升高, TMM45组较TMM0组分别显著提高22.93%和60.64% ($P<0.05$)。由于Σn-6增幅远大于Σn-3, n-3/n-6比值随替代比例增加显著下降, TMM0、TMM15、TMM30和TMM45组分别为2.72、2.42、2.45和2.08 ($P<0.05$)。尽管如此, 各组n-3/n-6比值(2.08—2.72)仍远高于人类膳食推荐范围。n-3 HUFA在各替代组中均显著高于TMM0组, TMM45组较TMM0组提高19.11% ($P<0.05$), 进一步印证对虾对n-3长链PUFAs的选择性保留。DHA/EPA比值在各组间变化较小(0.67—0.75), 差异不显著($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 黄粉虫粉替代鱼粉对饲料营养成分分析

对实验饲料的氨基酸分析表明, 黄粉虫粉替代鱼粉后, 饲料中必需氨基酸和非必需氨基酸含量均有所上升。其中, 丝氨酸、甘氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、精氨酸及脯氨酸的相对含量在替代组中显著升高, 与Sánchez-Muros等^[18]的结果一致。随着替代比例增加, 必需氨基酸占总氨基酸的比例呈下降趋势, 这与鱼粉中EAA/TAA比例高于黄粉虫粉的营养特征相吻合^[19]。同时, 饲料中天冬氨酸、苏氨酸、谷氨酸、丙氨酸和组氨酸的比例有所下降, 与Iaconisi等^[20]的报道一致。总体而言, 即使在最高替代水平(TMM45)下, 饲料中各必需氨基酸含量仍可满足凡纳对虾的营养需求^[21], 表明以黄粉虫粉等蛋白替代鱼粉在氨基

酸平衡方面具有可行性。

在脂肪酸组成方面, 黄粉虫粉替代鱼粉后饲料中ARA、DHA和EPA的含量显著降低, 与Panini等^[11]的研究结果一致。这一变化源于黄粉虫粉本身几乎不含DHA和EPA等n-3长链多不饱和脂肪酸^[19]。相应地, 随着替代比例增加, 实验饲料中油酸和亚油酸含量相应升高, 而 Σ SFAs、 Σ n-3、n-3 HUFA和DHA/EPA则显著降低, 类似趋势在黑鲷^[3]的饲料研究中亦有报道。C14:0含量从TMM0组的19.11 mg/g显著降至TMM45组的12.44 mg/g (降幅达34.90%), C18:2n6c从295.70 mg/g升至343.01 mg/g (增幅16.00%), 这可能是由于黄粉虫粉以亚油酸为主导、缺乏中链饱和脂肪酸和长链n-3 PUFA的脂质特征^[22], 导致C14:0含量和C18:2n6c含量的变化。

3.2 黄粉虫粉替代鱼粉可提高凡纳对虾的生长性能和饲料利用

近年来, 关于以黄粉虫粉替代鱼粉的研究日益增多, 并且研究表明适量替代可改善水产动物的生长性能, 但过量替代则会产生负面影响。黄粉虫粉替代25%鱼粉可显著提升真鲷^[23]、欧洲鲈^[24]的生长性能和饲料转化率。然而, 当替代比例升至50%及以上时, 真鲷^[23]的生长性能不再继续改善。另外, 当黄粉虫粉替代饲料中一半以上鱼粉时, 欧洲鲈^[24]、许氏平鲉^[25]、大黄鱼^[26]的生长性能则会被显著抑制。而在罗氏沼虾研究中, Feng等^[27]报道12%黄粉虫蛋白替代鱼粉即可显著促进生长, 但是黄粉虫粉替代饲料中一半以上鱼粉时, 罗氏沼虾生长性能受到抑制。在中华绒螯蟹研究中, 脱脂黄粉虫粉替代25%鱼粉时, 生长性能略有升高, 而替代高达75%鱼粉仍未对生长性能、免疫和消化酶活性产生显著负面影响^[28]。在窄额螯虾研究中发现, 黄粉虫粉替代50%鱼粉时可以提高窄额螯虾的生长性能, 但是完全替代鱼粉会产生生长抑制^[29]。在凡纳对虾研究中, Panini等^[30]指出黄粉虫粉完全替代鱼粉未显著影响对虾生长性能, 而Choi^[31]发现黄粉虫粉替代50%鱼粉还能促进对虾生长, 与本试验结果一致。在本研究中, TMM30组的生长性能显著优于其他处理组。各组间饲料系数无显著差异, 与Feng和Panini^[30]的研究结果一致。其中值得注意的是, TMM45组生长性能相较于TMM30组有所回落, 本研究中厂家提供黄粉虫粉中几丁质含量为5.40% (表1), 理论上随替代比例递增, 饲料中几丁质累积量会相应增加。现有研究表明, 几丁质作为昆虫粉中的主要抗营养因子, 其抗营养效应具有明显的剂量依赖性: 在大菱鲆中, 当饲料几丁质含量达1.47%时, SGR即出现显著降低^[32], 而一篇系统综

述指出, 几丁质可与蛋白质通过共价键形成复合物, 从而降低蛋白质和脂质的消化吸收效率^[33]。然而, 对虾对昆虫源几丁质的表观消化率不高只有28%—36%^[34], 在日本对虾的研究中, 摄入过多的几丁质会抑制其生长性能^[35], 结合本研究配方发现, 基础配方中含有虾粉可能也有提供几丁质, 加上黄粉虫替代鱼粉提供的几丁质, 可能导致TMM45组饲料几丁质含量过多。由于本研究没有对饲料进行几丁质含量测定, 只能推测TMM45组的生长性能下降可能是几丁质含量过高导致, 上述推测有待后续研究进一步验证。

从经济性角度分析, 应考虑饲料成本效益。近年来, 全球鱼粉价格波动剧烈且呈长期上升趋势, 2023年进口秘鲁超级蒸汽鱼粉价格一度突破17500元/吨, 创历史新高^[36], 2025年上半年回落至12900—13500元/吨, 但仍处于历史中高位水平。目前, 本研究中使用的脱脂黄粉虫粉价格约为8200元/吨, 其价格显著低于进口红鱼粉。以本研究TMM30组为例, 每吨饲料中鱼粉用量由250降至175 kg, 同时添加黄粉虫粉76.3 kg, 每吨饲料可节约原料成本约670元。在本研究中, 与TMM0组相比, TMM30组饲料成本降低8.01%, 同时由于该组增重率和饲料系数均优于TMM0组, 总收入和利润分别提升17.12%和35.28%, 实现降本增效。因此, 本研究以TMM等蛋白替代30% FM不仅能够改善对虾生长性能, 还具有明显的饲料成本优势, 为黄粉虫粉在对虾配合饲料中的规模化推广应用提供了经济可行性依据。

3.3 黄粉虫粉替代鱼粉提高凡纳对虾抗氧化能力

MDA含量通常可以反映脂质过氧化的程度, 也间接反映细胞损伤的严重程度^[37]。SOD催化自由基生成 H_2O_2 和 O_2 , CAT进一步催化 H_2O_2 产生水和氧气^[38]。在本研究中, 黄粉虫粉替代鱼粉有效提高凡纳对虾的抗氧化能力, 表现为SOD和CAT活性及其基因表达上调, MDA含量下降, 表明饲料中的黄粉虫粉可通过增强酶促抗氧化系统缓解脂质过氧化。鱼类研究表明, 以黄粉虫粉替代50%鱼粉可提高虹鳟SOD和CAT等抗氧化酶活性^[39], 以黄粉虫粉替代75%鱼粉可提高尼罗罗非鱼SOD和CAT等抗氧化酶活性^[40], 在罗氏沼虾研究中, 以黄粉虫蛋白替代鱼粉可提高罗氏沼虾的SOD等抗氧化酶活^[27], 表明饲料中黄粉虫粉能增强水生动物的抗氧化能力。黄粉虫粉中提高抗氧化性能的活性成分可能包括多个方面, 几丁质及其衍生物壳聚糖具有自由基清除活性, 被认为是潜在的天然抗氧化剂^[38]。此外, 黄粉虫粉中还含有多酚类物质和类胡萝卜素等非蛋白活性成分, 可能对抗氧化防御产生协同促进

作用^[41]。饲料中黄粉虫粉具体是如何增强凡纳对虾的抗氧化能力, 仍需进一步实验验证。

3.4 黄粉虫粉替代鱼粉提高凡纳对虾免疫

凡纳对虾作为典型无脊椎动物, 其免疫防御主要依赖先天性免疫系统。先天免疫系统通过种系编码的模式识别受体(Pattern recognition receptors, PRRs)识别病原相关分子模式, 进而激活下游信号级联和效应分子表达^[42]。其中, 脂多糖和 β -1, 3-葡聚糖结合蛋白(Lipopolysaccharide and β -1, 3-glucan binding protein, LGBP)可识别细菌脂多糖和真菌 β -葡聚糖, 激活酚氧化酶原级联反应和抗菌肽基因表达^[43]。抗菌肽(Antimicrobial peptides, AMPs)是对虾先天免疫的重要效应分子, 在抵御病原菌入侵中发挥关键作用, 其中包括甲壳素抗菌肽(Crustin)、抗脂多糖因子(Anti lipopolysaccharide factor, ALF)和对虾素(Penaeidins)^[44, 45]。已有研究表明, 饲料中黄粉虫粉可增强多种水产动物的免疫功能。在鱼类中, 黄粉虫粉替代鱼粉可显著提升褐牙鲈^[46]、大口黑鲈^[47]、黄颡鱼^[48]和虹鳟^[39]的多项免疫指标, 并提高黄颡鱼^[48]和真鲷^[23]对迟缓爱德华氏菌的抗病能力。在甲壳类的研究中, Choi等^[31]报道饲料添加黄粉虫粉可显著提高凡纳对虾抵抗白斑综合征病毒攻毒后的存活率, Motte等^[12]进一步证实黄粉虫粉组在副溶血弧菌感染后累积死亡率显著降低, Feng等^[27]在罗氏沼虾中也观察到类似的免疫增益效应。本研究结果与上述报道相互印证, 随着黄粉虫粉替代比例提高, 凡纳对虾酚氧化酶和溶菌酶酶活和基因表达均提升, 为探究黄粉虫粉调控对虾免疫的分子机制, 本研究检测Toll/IMD和JAK-STAT两条主要免疫信号通路的关键基因表达。在Toll/IMD通路中, Dorsal和Cactus是Toll通路的核心转录因子和调节蛋白, Dorsal经级联放大效应启动Toll通路介导抗真菌和革兰氏阳性菌防御, Relish驱动IMD通路, 上调抗菌肽基因表达, 以抵御革兰氏阴性菌侵袭^[49]。在本研究中, *dor*表达在TMM15组显著上调, *rel*和*cact*在TMM30组显著上调, 表明黄粉虫粉可激活对虾TLR/IMD信号通路。Gu等^[47]在大口黑鲈中也观察到黄粉虫粉可上调TLR相关基因表达。另外, JAK-STAT通路是对虾另一条重要的先天免疫信号通路, 参与调控抗菌肽表达和免疫应答^[44, 50]。Sun等^[50]研究表明, C型凝集素可通过其卷曲螺旋结构域直接结合Domeless受体, 从而激活对虾JAK/STAT通路。在本研究中, *stat*、*jun*和*fos*基因在各替代组中的表达均显著上调, 表明黄粉虫粉替代鱼粉可激活凡纳对虾的JAK-STAT信号通路。尽管目前尚无黄粉虫粉直接激活JAK-STAT通路的

研究报道, 但已有证据表明, 几丁质酶在对虾免疫应答中可响应并调控*jun*、*fos*和*stat*基因的表达^[14, 51]。黄粉虫粉中几丁质含量较高, 可能通过诱导几丁质酶活性增加, 进而激活JAK-STAT通路。此外, 黄粉虫体内含有丰富的内源性抗菌肽, 包括tenecin-1(防御素家族)、tenecin-2(天蚕素家族)、tenecin-3(硫代宁家族)和tenecin-4(attacin家族)^[52, 53]。这些昆虫源AMPs在黄粉虫粉加工过程中可能部分保留其生物活性, 当被对虾摄入后, 可作为外源免疫刺激物质被PRR识别, 从而通过Toll/IMD通路的级联效应间接激活JAK-STAT通路。然而, 目前关于黄粉虫粉与JAK-STAT通路的直接研究仍属空白, 上述机制推测仍需要实验加以验证。

3.5 黄粉虫粉替代鱼粉对凡纳对虾肌肉氨基酸沉积与风味品质的分析

肌肉蛋白质和脂肪含量及组成是评价对虾营养价值的关键指标。已有研究指出, 复合植物蛋白源替代鱼粉使对虾肌肉的氨基酸谱发生显著变化^[54]。在本研究中, 黄粉虫粉替代对虾饲料鱼粉后, 对养殖8周后的对虾肌肉进行氨基酸和脂肪酸沉积分析, 发现凡纳对虾整体脂质含量随着黄粉虫粉的增加而增加, 而对虾肌肉粗蛋白含量未受黄粉虫替代影响, 虽然在鱼类的研究中表明, 饲料中黄粉虫粉可提高水生动物的全身粗蛋白含量^[55], 降低欧洲鲈和虹鳟的全身粗脂含量^[55, 56], 这与我们的研究结果不相符。但在其他甲壳类中也观察到类似现象, Yao等^[28]报道中华绒螯蟹摄食黄粉虫替代饲料后, 体脂含量随替代比例增加而升高。但是在凡纳对虾的研究中, Panini等^[11]研究的结果与本研究的結果一致。

在肌肉氨基酸组成方面, 肌肉EAA/TAA比例在各组间变化极小(44.19%—45.05%), 与斑鳊和罗非鱼在摄食黄粉虫粉替代饲料后的结果一致^[57, 58]。然而, 风味氨基酸总和在TMM45组显著降低, 主要归因于精氨酸含量的线性下降。除谷氨酸、天冬氨酸、甘氨酸等甜氨基酸对虾肌肉的味道有显著影响, 精氨酸被认为是虾肌肉风味贡献最大的氨基酸^[59], 精氨酸的降低可能对高黄粉虫粉替代水平下虾产品的感官品质产生不利影响。饲料中精氨酸含量随替代比例增加而下降的趋势与肌肉中的变化一致, 表明饲料中氨基酸供给直接影响肌肉氨基酸沉积^[60]。这说明黄粉虫粉高比例替代鱼粉水平可能影响对虾肌肉风味品质。

3.6 黄粉虫粉替代鱼粉对凡纳对虾肌肉脂肪酸沉积影响的分析

在脂肪酸沉积方面, 本研究发现对虾肌肉的主

要脂肪酸种类与Panini等^[11]的报道基本一致,但在n-3/n-6多不饱和脂肪酸比值的变化趋势上存在显著差异。在本研究中,随着黄粉虫粉替代鱼粉水平的升高,对虾肌肉的n-3/n-6比值呈下降趋势,而Panini等^[11]的研究则未观察到类似的下降趋势。该差异主要源于两项研究所使用的黄粉虫粉加工工艺不同,导致饲料配方中脂肪来源构成存在差异。本研究采用的是脱脂黄粉虫粉,其脂肪含量较低,因此在配方设计中需增加豆油添加量以满足饲料等脂需求,随着黄粉虫粉替代水平的升高,豆油比例相应增加。豆油富含亚油酸(C18:2n-6),其大量引入势必提高饲料中n-6 PUFA的比例,从而降低对虾肌肉的n-3/n-6比值^[61]。相比之下,Panini等^[11]使用的是全脂黄粉虫粉,黄粉虫粉本身可提供部分脂肪,因此其配方中豆油添加量随替代比例增加而减少至零,n-6 PUFA的外源输入相应降低。因此,两项研究中对虾肌肉n-3/n-6比值变化趋势的差异,可能并非源于黄粉虫蛋白本身,而主要由于脱脂与全脂黄粉虫粉在配方中对油脂来源调配方式的不同所致。此外,本研究还发现,尽管饲料中ARA、DHA和EPA含量随替代比例增加而降低,肌肉中EPA和DHA绝对含量反而呈上升趋势,而EPA和DHA作为细胞膜磷脂的重要组分,参与调控膜流动性、类二十烷酸合成和信号转导等生理过程^[62],Araújo等^[63]在凡纳对虾无鱼油饲料试验中发现,对虾优先保留n-3 HUFA用于膜磷脂的结构和功能需求,将高浓度的油酸(Oleic acid, OA, C18:1n-9)和亚油酸(Linoleic acid, LA, C18:2n-6)作为 β -氧化底物供能,而非氧化DHA和EPA等功能性长链多不饱和脂肪酸。另外,本研究中随替代比例增加,饲料ARA含量显著下降,而肌肉中ARA含量也相应降低(各替代组较TMM0组降低24.50%—33.11%)。这可能由于饲料ARA含量降低的间接促进效应,已有研究表明,ARA与EPA/DHA在组织中的沉积存在竞争关系,ARA含量的降低可能减少其对COX-2和LOX等脂肪酸代谢酶活性的竞争性抑制,从而间接促进EPA/DHA在组织中的沉积^[64,65]。另外,尽管饲料中EPA和DHA含量有所降低,但本研究中各实验饲料的DHA+EPA含量均高于凡纳对虾的最低需求量(≥ 120 mg/g脂质)^[66],表明在足量供给条件下,对虾能够维持甚至增强关键n-3 HUFA的肌肉沉积。虽然传统观点认为,海洋甲壳类动物与大多数海水鱼类类似,缺乏将ALA和LA等C18 PUFA前体转化为EPA和DHA等LC-PUFA的能力,因此EPA和DHA被视为对虾的必需脂肪酸^[67]。Monroig和Kabeya^[68]在水生无脊椎动物PUFA生物合成酶系统的系统综

述中指出,包括中华绒螯蟹、锯缘青蟹、凡纳对虾和澳洲红螯螯虾在内的多种十足目甲壳类已克隆获得被标注为“ $\Delta 6$ 脂肪酸去饱和酶”的类似基因,Chen等^[69]在低盐度养殖条件下的转录组分析也发现,凡纳对虾肝胰腺中参与不饱和脂肪酸生物合成的相关通路(包括亚油酸代谢和花生四烯酸代谢通路)可因摄入脂肪来源不同而发生显著变化。另一项研究首次证实凡纳对虾具有以外源 α -亚麻酸(α -Linolenic acid, ALA, C18:3n-3)为前体、经 $\Delta 6$ 去饱和酶介导合成EPA和DHA的能力,且敲低或抑制 $\Delta 6$ 去饱和酶后,即使补充外源ALA,对虾组织中EPA和DHA水平仍显著下降^[70]。上述系列研究表明,凡纳对虾具备经 $\Delta 6$ 去饱和酶介导、以ALA为前体合成EPA和DHA的潜力。在本研究中,饲料LA和ALA含量随黄粉虫粉替代比例增加而升高(TMM45组ALA较TMM0组提高14.10%),这在一定程度上为对虾内源性PUFA生物合成通路提供更为充足的C18前体底物供给,则有助于进一步促进EPA和DHA的内源性合成。综合而言,本研究中EPA和DHA的肌肉沉积现象可能是选择性保留、ARA竞争性解除和内源合成能力三者协同作用的结果,这一推测需要通过同位素示踪或脂肪酸去饱和或延长酶基因表达分析等手段进一步验证。

4 结论

在等氮等脂的条件下,黄粉虫粉替代30%鱼粉可显著提高凡纳对虾增重率与特定生长率。黄粉虫替代鱼粉后可能通过激活TLR与JAK-STAT信号通路,上调凡纳对虾抗氧化与抗菌肽相关基因表达,从而增强对虾的非特异性免疫与抗氧化防御。随着饲料中黄粉虫替代鱼粉比例递增,饲料总氨基酸含量呈线性升高,而n-3 HUFA水平相应降低,提高凡纳对虾的肌肉粗脂肪并增加DHA、EPA含量,改善肌肉脂肪酸营养品质。综上,在本研究条件下,黄粉虫粉在凡纳对虾饲料中替代鱼粉的适宜比例约30%,可在保证生长性能的前提下提升对虾免疫机能并改善肌肉脂肪酸沉积,并且降低约8.01%饲料成本和提升35.28%利润,具有显著的经济优势,为黄粉虫粉在对虾配合饲料中的经济可行性依据和精准应用提供理论依据。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

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,中国水产学会编制. 中国渔业统计年鉴-2025 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2025.

- [2] Majluf P, Matthews K, Pauly D, *et al.* A review of the global use of fishmeal and fish oil and the Fish In: Fish Out metric [J]. *Science Advances*, 2024, **10**(42): eadn5650.
- [3] Luthada-Raswiswi R, Mukaratirwa S, O'Brien G. Animal protein sources as a substitute for fishmeal in aquaculture diets: a systematic review and meta-analysis [J]. *Applied Sciences*, 2021, **11**(9): 3854.
- [4] Mishyna M, Glumac M. So different, yet so alike Pancrustacea: Health benefits of insects and shrimps [J]. *Journal of Functional Foods*, 2021(**76**): 104316.
- [5] Grau T, Vilcinskas A, Joop G. Sustainable farming of the mealworm *Tenebrio molitor* for the production of food and feed [J]. *Zeitschrift Fur Naturforschung C, Journal of Biosciences*, 2017, **72**(9-10): 337-349.
- [6] Syahrulawal L, Torske M O, Sapkota R, *et al.* Improving the nutritional values of yellow mealworm *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae as an animal feed ingredient: a review [J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2023, **14**(1): 146.
- [7] Li Y Y, Guo R. Effect of *Tenebrio molitor* meal replacing fish meal on growth performance of turbot juvenile [J]. *Hebei Fisheries*, 2016(5): 17-21. [李垚垚, 郭冉. 黄粉虫粉替代鱼粉对大菱鲆幼鱼生长性能的影响 [J]. 河北渔业, 2016(5): 17-21.]
- [8] Burr G S, Wolters W R, Barrows F T, *et al.* Replacing fishmeal with blends of alternative proteins on growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), and early or late stage juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *Aquaculture*, 2012(334): 110-116.
- [9] Piccolo G, Iaconisi V, Marono S, *et al.* Effect of *Tenebrio molitor* larvae meal on growth performance, *in vivo* nutrients digestibility, somatic and marketable indexes of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2017(226): 12-20.
- [10] Song S G, Chi S Y, Tan B P, *et al.* Effects of fishmeal replacement by *Tenebrio molitor* meal on growth performance, antioxidant enzyme activities and disease resistance of the juvenile pearl gentian grouper (*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀) [J]. *Aquaculture Research*, 2018, **49**(6): 2210-2217.
- [11] Panini R L, Pinto S S, Nóbrega R O, *et al.* Effects of dietary replacement of fishmeal by mealworm meal on muscle quality of farmed shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. *Food Research International*, 2017(102): 445-450.
- [12] Motte C, Rios A, Lefebvre T, *et al.* Replacing fish meal with defatted insect meal (yellow mealworm *Tenebrio molitor*) improves the growth and immunity of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Animals*, 2019, **9**(5): 258.
- [13] Li F, Xiang J. Signaling pathways regulating innate immune responses in shrimp [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, **34**(4): 973-980.
- [14] Niu S, Zhu Y, Geng R, *et al.* A novel chitinase Chi6 with immunosuppressive activity promotes white spot syndrome virus (WSSV) infection in *Penaeus vannamei* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2023(132): 108450.
- [15] Chen Y, Zhuang Z, Liu J, *et al.* Effects of *Hermetia illucens* larvae meal on the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) revealed by innate immunity and 16S rRNA gene sequencing analysis [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D, Genomics & Proteomics*, 2023(46): 101080.
- [16] Belforti M, Gai F, Lussiana C, *et al.* *Tenebrio molitor* meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets: effects on animal performance, nutrient digestibility and chemical composition of fillets [J]. *Italian Journal of Animal Science*, 2015, **14**(4): 4170.
- [17] Zheng Y, Hou C, Chen J, *et al.* Integrating microbiome and transcriptome analyses to understand the effect of replacing fishmeal with *Tenebrio molitor* meal in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) diets [J]. *Aquaculture*, 2023(575): 739818.
- [18] Sánchez-Muros M, de Haro C, Sanz A, *et al.* Nutritional evaluation of *Tenebrio molitor* meal as fishmeal substitute for tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2016, **22**(5): 943-955.
- [19] Makkar H P S, Tran G, Heuzé V, *et al.* State-of-the-art on use of insects as animal feed [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2014(197): 1-33.
- [20] Vikeså V, Nankervis L, Hevrøy E M. High dietary energy level stimulates growth hormone receptor and feed utilization in large Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) under hypoxic conditions [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2017, **23**(6): 1193-1203.
- [21] National Research Council. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp [M]. Washington, D. C.: National Academies Press, 2011.
- [22] Errico S, Spagnoletta A, Verardi A, *et al.* *Tenebrio molitor* as a source of interesting natural compounds, their recovery processes, biological effects, and safety aspects [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2022, **21**(1): 148-197.
- [23] Ido A, Hashizume A, Ohta T, *et al.* Replacement of fish meal by defatted yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae in diet improves growth performance and disease resistance in red seabream (*Pagrus major*) [J]. *Animals*, 2019, **9**(3): 100.
- [24] Tran H Q, Prokešová M, Zare M, *et al.* Production performance, nutrient digestibility, serum biochemistry, fillet composition, intestinal microbiota and environmental impacts of European perch (*Perca fluviatilis*) fed defatted mealworm (*Tenebrio molitor*) [J]. *Aquaculture*, 2022(**547**): 737499.
- [25] Khosravi S, Kim E, Lee Y S, *et al.* Dietary inclusion of mealworm (*Tenebrio molitor*) meal as an alternative

- protein source in practical diets for juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*) [J]. *Entomological Research*, 2018, **48**(3): 214-221.
- [26] Redman D H, Nelson D A, Roy J, *et al.* A pilot study using graded yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) meal in formulated diets for growth performance of black sea bass (*Centropristis striata*) [R]. *NOAA Technical Memorandum*, 2019.
- [27] Feng P, He J, Lv M, *et al.* Effect of dietary *Tenebrio molitor* protein on growth performance and immunological parameters in *Macrobrachium rosenbergii* [J]. *Aquaculture*, 2019(511): 734247.
- [28] Yao W, Zhang C, Zhang S, *et al.* The potential of defatted yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) meal as an alternative protein source for juvenile Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2024, **2024**(1): 8782924.
- [29] Mazlum Y, Turan F, Bircan Yıldırım Y. Evaluation of mealworms (*Tenebrio molitor*) meal as an alternative protein source for narrow-clawed crayfish (*Pontastacus leptodactylus*) juveniles [J]. *Aquaculture Research*, 2021, **52**(9): 4145-4153.
- [30] Panini R L, Freitas L E L, Guimarães A M, *et al.* Potential use of mealworms as an alternative protein source for Pacific white shrimp: Digestibility and performance [J]. *Aquaculture*, 2017(473): 115-120.
- [31] Choi I H, Kim J M, Kim N J, *et al.* Replacing fish meal by mealworm (*Tenebrio molitor*) on the growth performance and immunologic responses of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, 2017, **40**(1): 39077.
- [32] Kroeckel S, Harjes A G E, Roth I, *et al.* When a turbot catches a fly: Evaluation of a pre-pupae meal of the black soldier fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute-growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*) [J]. *Aquaculture*, 2012(364): 345-352.
- [33] Eggink K M, Gonçalves R, Skov P V. Shrimp processing waste in aquaculture feed: nutritional value, applications, challenges, and prospects [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2025, **17**(1): e12975.
- [34] Shin J, Lee K J. Digestibility of insect meals for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and their performance for growth, feed utilization and immune responses [J]. *PLoS One*, 2021, **16**(11): e0260305.
- [35] Shiao S Y, Yu Y P. Chitin but not chitosan supplementation enhances growth of grass shrimp, *Penaes monodon* [J]. *The Journal of Nutrition*, 1998, **128**(5): 908-912.
- [36] Zhang W B, Xie S Q, Xu H, *et al.* High-quality development strategy of fisheries in China [J]. *Strategic Study of CAE*, 2023, **25**(4): 137-148. [张文兵, 解绥启, 徐皓, 等. 我国水产业高质量发展战略研究 [J]. *中国工程科学*, 2023, **25**(4): 137-148.]
- [37] Zhang N, Liu R Q, Zhan T Y, *et al.* Effects of proline on gill tissue structure, antioxidant capacity and apoptosis of *Sinonovacula constricta* under high salt stress [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2025, **45**(2): 27-34. [张娜, 刘瑞琦, 詹天宇, 等. 脯氨酸对高盐下缢蛏鳃组织结构、抗氧化能力及细胞凋亡的影响 [J]. *广东海洋大学学报*, 2025, **45**(2): 27-34.]
- [38] Sreeja S J, Tamilarutselvi K, Tamilselvi A, *et al.* Production of chitin and conversion into chitosan from crab (*Scylla tranquebarica*) shells and evaluation of its antioxidant activities [J]. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 2024, **14**(15): 17193-17199.
- [39] Henry M A, Gai F, Enes P, *et al.* Effect of partial dietary replacement of fishmeal by yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae meal on the innate immune response and intestinal antioxidant enzymes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018(83): 308-313.
- [40] Dernekbaşı S, Karadayı B T. Effects of mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae meal on growth, digestive and antioxidant parameters in Nile tilapia juvenile (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2025, **51**(6): 198.
- [41] Zielińska E, Baraniak B, Karaś M. Antioxidant and anti-inflammatory activities of hydrolysates and peptide fractions obtained by enzymatic hydrolysis of selected heat-treated edible insects [J]. *Nutrients*, 2017, **9**(9): 970.
- [42] Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors [J]. *Nature Immunology*, 2010, **11**(5): 373-384.
- [43] Chen Y Y, Chen J C, Kuo Y H, *et al.* Lipopolysaccharide and β -1, 3-glucan-binding protein (LGBP) bind to seaweed polysaccharides and activate the prophenoloxidase system in white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2016(55): 144-151.
- [44] Tassanakajon A, Somboonwivat K, Supungul P, *et al.* Discovery of immune molecules and their crucial functions in shrimp immunity [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, **34**(4): 954-967.
- [45] Wang P H, Huang T, Zhang X, *et al.* Antiviral defense in shrimp: From innate immunity to viral infection [J]. *Antiviral Research*, 2014(108): 129-141.
- [46] Jeong S M, Khosravi S, Yoon K Y, *et al.* Mealworm, *Tenebrio molitor*, as a feed ingredient for juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. *Aquaculture Reports*, 2021(20): 100747.
- [47] Gu J, Liang H, Ge X, *et al.* A study of the potential effect of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) substitution for fish meal on growth, immune and antioxidant capacity in juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2022(120): 214-221.
- [48] Su J, Gong Y, Cao S, *et al.* Effects of dietary *Tenebrio*

- molitor* meal on the growth performance, immune response and disease resistance of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017(69): 59-66.
- [49] Li F, Xiang J. Recent advances in researches on the innate immunity of shrimp in China [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2013, **39**(1-2): 11-26.
- [50] Sun J J, Lan J F, Zhao X F, *et al.* Binding of a C-type lectin's coiled-coil domain to the Domeless receptor directly activates the JAK/STAT pathway in the shrimp immune response to bacterial infection [J]. *PLoS Pathogens*, 2017, **13**(9): e1006626.
- [51] Niu S, Yang L, Geng R, *et al.* A double chitin catalytic domain-containing chitinase targeted by c-Jun is involved in immune responses in shrimp [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2020(113): 103808.
- [52] Yi H Y, Chowdhury M, Huang Y D, *et al.* Insect antimicrobial peptides and their applications [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, **98**(13): 5807-5822.
- [53] Chae J H, Kurokawa K, So Y I, *et al.* Purification and characterization of tenecin 4, a new anti-Gram-negative bacterial peptide, from the beetle *Tenebrio molitor* [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2012, **36**(3): 540-546.
- [54] Yang P, He C, Qin Y, *et al.* Evaluation of composite mixture of protein sources in replacing fishmeal for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*): Based on the changing pattern of growth performance, nutrient metabolism and health status [J]. *Aquaculture Reports*, 2021(21): 100914.
- [55] Rema P, Saravanan S, Armenjon B, *et al.* Graded incorporation of defatted yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diet improves growth performance and nutrient retention [J]. *Animals*, 2019, **9**(4): 187.
- [56] Mastoraki M, Mollá Ferrándiz P, Vardali S C, *et al.* A comparative study on the effect of fish meal substitution with three different insect meals on growth, body composition and metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) [J]. *Aquaculture*, 2020(528): 735511.
- [57] Zhang L, Wu H X, Li W J, *et al.* Partial replacement of soybean meal by yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) meal influences the flesh quality of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Animal Nutrition*, 2023(12): 108-115.
- [58] Sankian Z, Khosravi S, Kim Y O, *et al.* Effects of dietary inclusion of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) meal on growth performance, feed utilization, body composition, plasma biochemical indices, selected immune parameters and antioxidant enzyme activities of mandarin fish (*Siniperca scherzeri*) juveniles [J]. *Aquaculture*, 2018(496): 79-87.
- [59] Wang Y, Gao Y, Ding H, *et al.* Subcritical ethanol extraction of flavonoids from *Moringa oleifera* leaf and evaluation of antioxidant activity [J]. *Food Chemistry*, 2017(218): 152-158.
- [60] Bégout Anras M L, Lagardère J P. Measuring cultured fish swimming behaviour: first results on rainbow trout using acoustic telemetry in tanks [J]. *Aquaculture*, 2004, **240**(1-4): 175-186.
- [61] González-Félix M L, da Silva F S D, Davis D A, *et al.* Replacement of fish oil in plant based diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Aquaculture*, 2010, **309**(1-4): 152-158.
- [62] Tocher D R. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and aquaculture in perspective [J]. *Aquaculture*, 2015(449): 94-107.
- [63] Araújo B C, Mata-Sotres J A, Viana M T, *et al.* Fish oil-free diets for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*: The effects of DHA-EPA supplementation on juvenile growth performance and muscle fatty acid profile [J]. *Aquaculture*, 2019(511): 734276.
- [64] Araújo B C, Flores-Galvez K, Honji R M, *et al.* Arachidonic acid effects on the overall performance, fatty acid profile, hepatopancreas morphology and lipid-relevant genes in *Litopenaeus vannamei* juveniles [J]. *Aquaculture*, 2020(523): 735207.
- [65] González-Félix M L, Gatlin III D M, Lawrence A L, *et al.* Nutritional evaluation of fatty acids for the open thelycum shrimp, *Litopenaeus vannamei*: II. Effect of dietary n-3 and n-6 polyunsaturated and highly unsaturated fatty acids on juvenile shrimp growth, survival, and fatty acid composition [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2003, **9**(2): 115-122.
- [66] Wang F M. Study on the requirements of the dietary phosphatidylcholine, cholesterol and n-3HUFA at different growth stages of *Litopenaeus vannamei* [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2013. [王凤美. 不同生长阶段凡纳对虾对卵磷脂、胆固醇和n-3HUFA需要量的研究 [D]. 湛江: 广东海洋大学, 2013.]
- [67] Glencross B D. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2009, **1**(2): 71-124.
- [68] Monroig Ó, Kabeya N. Desaturases and elongases involved in polyunsaturated fatty acid biosynthesis in aquatic invertebrates: a comprehensive review [J]. *Fisheries Science*, 2018, **84**(6): 911-928.
- [69] Chen K, Li E, Xu Z, *et al.* Comparative transcriptome analysis in the hepatopancreas tissue of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed different lipid sources at low salinity [J]. *PLoS One*, 2015, **10**(12): e0144889.
- [70] Chen Z, Kong Y, Huang Z, *et al.* Exogenous alpha-linolenic acid and *Vibrio parahaemolyticus* induce EPA and DHA levels mediated by delta-6 desaturase to enhance shrimp immunity [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024(257): 128583.

REPLACEMENT OF FISH MEAL WITH *TENEBRIO MOLITOR* MEAL ON GROWTH PERFORMANCE, IMMUNE RESPONSE, AND NUTRITIONAL QUALITY OF *LITOPENAEUS VANNAMEI*

ZHENG Yu-Dong¹, CHEN Jian^{1,2}, WANG Hong-Ming¹, HOU Cui-Hong¹,
YUAN Hang¹, HU Nai-Jie¹ and ZHANG Shuang^{1,3}

(1. Laboratory of Aquatic Nutrition and Feed, College of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;
2. Zhanjiang Experimental Station, CATAS, Zhanjiang 524013, China; 3. Aquatic Animals Precision Nutrition and
High-Efficiency Feed Engineering Research Centre of Guangdong Province, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: This study was conducted to investigate the effects of dietary fish meal (FM) replacement with *Tenebrio molitor* meal (TMM) at different inclusion levels on body composition, muscle amino acid and fatty acid profiles, antioxidant capacity, and immune performance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Four isonitrogenous and isolipidic experimental diets were formulated by replacing FM with TMM at 0 (TMM0, control), 15% (TMM15), 30% (TMM30), and 45% (TMM45) on an equal protein basis. Juvenile shrimp with an initial body weight of (0.42±0.01) g were randomly distributed into four experimental groups and fed the respective diets for 8 weeks under controlled laboratory conditions. The results demonstrated that the total amino acid content in the experimental diets increased linearly with increasing substitution levels of TMM, while the ratio of essential amino acids to total amino acids (EAA/TAAs) remained statistically unchanged among all dietary treatments. Notably, dietary linoleic acid content was elevated by 16.00% in the TMM45 group compared to TMM0 group. Conversely, eicosatetraenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) levels were significantly decreased by 11.79% and 20.99%, respectively ($P<0.05$). In terms of growth performance, shrimp fed the TMM30 diet exhibited significantly higher weight gain rate and specific growth rate, which were improved by 12.34% and 3.47% compared to the control group, respectively ($P<0.05$), indicating that moderate replacement of FM with TMM promotes growth without adverse effects. For antioxidant capacity, hepatopancreas malondialdehyde content in the TMM45 group was significantly decreased, indicating reduced lipid peroxidation and oxidative stress. Concurrently, superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities, as well as *sod* gene expression, were significantly upregulated ($P<0.05$), demonstrating enhanced antioxidant defense. In terms of immune performance, phenoloxidase and lysozyme activities, along with their corresponding gene expression, were significantly elevated with increasing dietary TMM substitution levels. Furthermore, key genes involved in the Toll/IMD signaling pathway (*dor*, *rel*), the JAK-STAT signaling pathway (*stat*, *jun*, *fos*), and antimicrobial peptide genes (*cru*, *alf*) were significantly upregulated in treatment groups compared to the control group ($P<0.05$), suggesting that TMM could activate innate immune responses through multiple signaling pathways. Regarding nutritional quality, no significant differences were observed in crude protein content of shrimp muscle among all treatment groups. However, the total content of flavor amino acids in the TMM45 group was significantly reduced compared to the TMM0 group ($P<0.05$). Interestingly, although dietary EPA and DHA levels decreased with increasing TMM inclusion, the concentrations of EPA and DHA in shrimp muscle were significantly elevated by 18.59% and 19.82% in the TMM45 group ($P<0.05$), suggesting a potential compensatory mechanism or selective retention of these long-chain polyunsaturated fatty acids. Additionally, crude lipid content in muscle increased significantly by 15.38% in the TMM45 group ($P<0.05$). Based on the economic benefit analysis, compared with the control group, the TMM30 group reduced feed costs by 8.01% while increasing profit by 35.28%. In conclusion, under isonitrogenous and isolipidic conditions, the optimal dietary inclusion level of TMM as a FM replacement for *L. vannamei* is 30%, which can not only reduce feed cost but also significantly promote shrimp growth performance, maintain muscle protein quality and the nutritional value of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids, and enhance antioxidant function and immune capacity through the activation of Toll/IMD and JAK-STAT signaling pathways. These findings provide theoretical support and practical guidance for the application of TMM in shrimp feed formulations, contributing to the sustainable development of aquaculture through reduced reliance on FM.

Key words: *Tenebrio molitor* meal; Growth performance; Emerging protein sources; Toll/IMD signaling pathway; JAK-STAT signaling pathway; Nutritional quality; Antioxidant capacity; *Litopenaeus vannamei*