

## 三丁酸甘油酯和包膜丁酸钠对南美白对虾生长性能和肠道微生物的影响

唐启峰<sup>1,2</sup> 徐树德<sup>1,2,3</sup> 卢玉标<sup>2</sup> 郑欣<sup>2</sup> 胡毅<sup>1\*</sup>

(1 湖南农业大学动物科学技术学院, 湖南长沙 410128; 2 广东溢多利生物科技股份有限公司, 广东珠海 519060;  
3 中国海洋大学 农业部水产动物营养与饲料重点实验室和教育部海水养殖重点实验室, 山东青岛 266003)

**摘要:**该文以南美白对虾(*Penaeus vannamei*)为试验对象,研究饲料中添加不同丁酸类产品对其生长性能和肠道微生物的影响。试验分为对照组(基础饲料),三丁酸甘油酯组(0.5g/kg、1.0g/kg和1.5g/kg TB+基础饲料)、包膜丁酸钠组(0.5g/kg、1.0g/kg和1.5g/kg SB+基础饲料)。结果显示,相比对照组,TB各组南美白对虾周增重分别显著提高27.6%、28.7%和31.9% ( $P<0.05$ ),蛋白质效率分别显著提高,饵料系数分别显著降低;1.5g/kg SB组周增重显著提高22.3% ( $P<0.05$ ),蛋白质效率显著提高;TB各组和SB各组肠道致病性弧菌数量显著减少,其中1.5g/kg TB组致病性弧菌数量减少22.4% ( $P<0.05$ , 27d)和25.4% ( $P<0.05$ , 47d)。结果表明,三丁酸甘油酯和包膜丁酸钠均可起到促进生长、减少肠道致病性弧菌数量的作用,但同比之下三丁酸甘油酯效果要优于包膜丁酸钠产品。

**关键词:**三丁酸甘油酯;包膜丁酸钠;南美白对虾;生长性能;肠道微生物

中图分类号 S963 文献标识码 A 文章编号 1007-7731(2018)02-0087-04

DOI:10.16377/j.cnki.issn1007-7731.2018.02.033

### The Effects of Dietary Supplementation with Tributyrin and Microencapsulated Sodium Butyrate on Growth Performance and Intestinal Microorganism of *Penaeus vannamei*

Tang Qifeng<sup>1,2</sup> et al.

(1 College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2 Guangdong VTR Bio-Tech Co., Ltd, Zhuhai 519060, China)

**Abstract:** The aim of this study was conducted to evaluate the effects of dietary tributyrin (TB) and microencapsulated sodium butyrate (MSB) on the growth performance and intestinal microorganism of *Penaeus vannamei*. Diet 1 was the control group, diets 2~4 were supplementation with 0.5, 1.0 and 1.5g/kg TB, respectively, diets 5~7 were supplementation with 0.5, 1.0 and 1.5g/kg MSB, respectively. The results showed that compared with control group, shrimp fed the different levels of TB significantly increased the weekly weight gain 27.6%, 28.7% and 31.9% ( $P<0.05$ ) respectively, increased the protein efficiency rate (PER) ( $P<0.05$ ), respectively, and decreased the feed conversion ratio (FCR) ( $P<0.05$ ). And results showed that shrimp fed the 1.5g/kg MSB diet significantly increased the weekly weight gain and PER ( $P<0.05$ ). Study on the intestinal microorganism showed that shrimp fed the 1.5g/kg TB significantly decreased the counts of *vibrios*. All the data suggested that dietary supplementation with TB and MSB could improve the growth performance and decreased the counts of *vibrios* in intestine of shrimp, and TB was superior to MSB on improving growth of shrimp.

**Key words:** Tributyrin; Microencapsulated sodium butyrate; *Penaeus vannamei*; Growth performance; Intestinal microorganism

频繁暴发的病害已成为制约水产养殖发展的重要因素之一,养殖者越来越多地将抗生素运用到水产养殖中,以期减少养殖过程遇到的各种病害。抗生素的大量使用会带来细菌耐药性和药物残留问题,很多国家和地区限制甚至禁用抗生素<sup>[1]</sup>,因此水产养殖业迫切需求环境友好型替代添加剂<sup>[2]</sup>。短链脂肪酸及其前体物质被认为

是安全的、可用于养殖产业中的抗菌剂<sup>[1]</sup>,前人研究表明,短链脂肪酸,主要包括甲酸、乙酸、丙酸和丁酸,因其可为胃肠道上皮细胞生长发育直接供量,促进细胞增殖,扩大吸收营养物质的表面积<sup>[3]</sup>;提高肠道有益菌和抑制有害菌的生长;能够调控矿物质在肠道中的转运,螯合重金属离子,降低毒性等优点<sup>[4,5]</sup>,已被广泛应用于养殖业中。相较

作者简介:唐启峰(1987—),男,四川达州人,助理工程师,研究方向:渔业。

\*通讯作者

收稿日期:2017-12-05

于甲酸、乙酸和丙酸类产品,丁酸及其盐类和酯类产品已被广泛应用于畜禽养殖中,而在水产养殖中的应用相对匮乏<sup>[6-9]</sup>。本试验以南美白对虾为研究对象,研究三丁酸甘油酯和包膜丁酸钠对南美白对虾生长性能和肠道微生态的影响,以期以南美白对虾饲料中使用丁酸类产品提供参考依据。

## 1 材料和方法

**1.1 试验饲料** 试验分为7组饲料,对照组为基础饲料(配方参照南美白对虾商品饲料配方),试验组为基础饲料分别添加0.5g/kg、1.0g/kg、1.5g/kg的三丁酸甘油酯(TB)和0.5g/kg、1.0g/kg、1.5g/kg的包膜丁酸钠(MSB)。南美白对虾基础饲料配方见表1。其营养水平如下:粗蛋白40.1%,粗灰分9.5%,粗脂肪7%、水分8.9%。三丁酸甘油酯(商品名:威特能,含量>35%)由广东溢多利生物科技股份有限公司提供,包膜丁酸钠为市售。

表1 南美白对虾基础饲料配方

原料	含量(%)
鱼粉	24
豆粕	23
花生粕	18
高筋面粉	19
乌贼膏	5
虾壳粉	4
鱼油	2
大豆卵磷脂	2
磷酸二氢钙	1.5
混合矿物质 <sup>1</sup>	0.5
混合维生素 <sup>2</sup>	0.5
氯化胆碱	0.2
胆固醇	0.1
VC酯	0.2

注:(1)混合矿物质(每kg含量):钾:100g,镁:30g,铁:8g,铜:1g,锌:30g,锰:2g,钴:1g,碘:500mg,硒:40mg。(2)混合维生素(每kg含量):维生素A:4×10<sup>6</sup>IU,维生素D3:2×10<sup>6</sup>IU,维生素E:60g,维生素K3:6g,维生素B1:7.5g,维生素B2:16g,维生素B6:12g,维生素B12:100mg,烟酸:88g,泛酸钙:36g,叶酸:2g,生物素:100mg,肌醇:100g。

**1.2 试验虾与饲养管理** 试验虾苗来自珠海斗门海兴农虾苗场,虾苗在室外养殖池暂养一个月,然后于室内养殖水桶(2500L)驯化2周以适应试验条件。养殖试验分为7组,每组3个平行。挑选规格一致、健壮的南美白对虾(2.56±0.05g),按每个圆柱形养殖水桶200尾虾的密度开展养殖试验。投饵量为虾体量的3%~5%,每天正常投喂3次(9:00、12:00、16:00),定期清理桶底残饵粪便,养殖期间检测氨氮、亚硝酸盐、溶氧等水质指标,试验期间水温为28.5~29.5℃,溶氧为5.5~7.5mg/L,盐度为35ppt,

pH值为7.6~8.1,氨氮<0.2mg/L,亚硝酸盐<0.05mg/L,养殖周期为49d。试验在广东溢多利生物科技股份有限公司产学研基地,于2017年5—7月进行。

## 1.3 指标测定与计算

**1.3.1 生长指标** 49d养殖试验结束后,对所有虾体进行称重,测定终末体重。饲料、肌肉和全鱼样品的水分、粗蛋白、粗脂肪和粗灰分含量分别按国标方法(GB6435-1986、GB6432-1994、GB6433-1994和GB/T6438-1992)测定。计算周增重、饵料系数和蛋白质效率。计算公式如下:

周增重=(末均重-初均重)/7;

饵料系数=饲料消耗量(g,干重)/虾体增重量(g,湿重);

蛋白质效率(%)=虾体增重量(g)/蛋白质摄入量(g)×100。

**1.3.2 南美白对虾肠道微生物计数** 试验期间第27天和第47天测定对虾肠道细菌总数及优势菌数。测定方法:从每组随机取15尾虾,在无菌操作工作台上进行解剖,先去除肠道内粪便,再用无菌生理盐水冲洗干净后用滤纸吸干,放于灭菌玻璃匀浆器,加入1mL无菌生理盐水匀浆,再进行10倍梯度稀释,取0.1mL分别涂布于Marine培养基和TCBS弧菌筛选培养基,每组涂布3个平板,28℃倒置培养24h,统计菌落数。

每尾虾肠道细菌总数(TBC)按下述公式计算:

TBC(CFU)=细菌克隆数目×稀释倍数×匀浆液稀释倍数/对虾尾数;

每尾虾肠道弧菌数(TCBS)按下述公式计算:

TCBS(CFU)=弧菌克隆数目×稀释倍数×匀浆液稀释倍数/对虾尾数

**1.4 数据分析** 原始数据首先使用Microsoft Excel 2010进行处理,再通过Origin9.0软件进行单因素方差分析(ANOVA)和Tukey多重比较法分析,当(P<0.05)表示差异有显著性。结果均以平均值±标准误(Mean±SEM, n=3)来表示。

## 2 结果与分析

**2.1 三丁酸甘油酯和包膜丁酸钠对南美白对虾生长性能的影响** 从表2可知,相比对照组,TB各组南美白对虾周增重分别显著提高27.6%、28.7%和31.9%(P<0.05),蛋白质效率分别显著提高12.3%、20%、30.4%(P<0.05),饵料系数分别显著降低7.9%、9.5%和11.0%(P<0.05);1.5g/kg MSB组周增重显著提高22.3%(P<0.05),蛋白质效率显著提高15.3%(P<0.05),饵料系数略有降低;0.5g/kg和1.5g/kgTB组的成活率分别提高4.1%和4.7%(P>0.05)。

表2 三丁酸甘油酯和包膜丁酸钠对南美白对虾生长性能的影响

分组	初始重量(g)	终末重量(g)	周增重(g)	饵料系数	蛋白质效率	成活率(%)
对照组	2.53±0.02	9.11±0.19 <sup>a</sup>	0.94±0.06 <sup>a</sup>	1.27±0.03 <sup>b</sup>	1.05±0.07 <sup>a</sup>	88.70±0.60
0.5g/kg TB	2.52±0.02	10.92±0.08 <sup>bc</sup>	1.20±0.02 <sup>b</sup>	1.17±0.02 <sup>a</sup>	1.18±0.01 <sup>b</sup>	92.30±1.50
1.0g/kg TB	2.53±0.03	11.01±0.15 <sup>c</sup>	1.21±0.01 <sup>b</sup>	1.15±0.02 <sup>a</sup>	1.26±0.01 <sup>b</sup>	89.30±0.60
1.5g/kg TB	2.56±0.04	11.24±0.13 <sup>c</sup>	1.24±0.08 <sup>b</sup>	1.13±0.01 <sup>a</sup>	1.37±0.05 <sup>c</sup>	93.00±1.40
0.5g/kg MSB	2.55±0.01	9.34±0.11 <sup>a</sup>	0.97±0.01 <sup>a</sup>	1.21±0.04 <sup>ab</sup>	1.08±0.02 <sup>a</sup>	90.10±1.20
1.0g/kg MSB	2.50±0.09	9.78±0.07 <sup>b</sup>	1.04±0.03 <sup>a</sup>	1.20±0.01 <sup>ab</sup>	1.15±0.04 <sup>ab</sup>	89.10±0.70
1.5g/kg MSB	2.55±0.05	10.60±0.13 <sup>bc</sup>	1.15±0.05 <sup>b</sup>	1.19±0.01 <sup>ab</sup>	1.21±0.05 <sup>b</sup>	88.50±1.00

注:同行数据上标不同字母表示相互之间差异显著(P<0.05)。

**2.2 三丁酸甘油酯和包膜丁酸钠对南美白对虾肠道微生物的影响** 从表3可知,相比对照组,TB各组 and MSB各组的肠道总菌数量在27d时无显著变化,致病性弧菌数量则均显著减少,同比之下,TB组致病性弧菌减少量比MSB

组更大,其中1.5g/kgTB的弧菌数量减少幅度最大,达22.4%(P<0.05),而在47d时1.5g/kg TB组减幅则达25.4%(P<0.05)。

表3 三丁酸甘油酯和包膜丁酸钠对南美白对虾肠道微生物的影响

分组	Marine培养基(log <sub>10</sub> CFUg <sup>-1</sup> )		TCBS培养基(log <sub>10</sub> CFUg <sup>-1</sup> )	
	27d	47d	27d	47d
对照组	8.64±0.05	8.53±0.25	8.02±0.26 <sup>a</sup>	7.36±0.46 <sup>a</sup>
0.5g/kg TB	7.86±0.29	7.48±0.12	6.38±0.36 <sup>c</sup>	6.81±0.38 <sup>b</sup>
1.0g/kg TB	8.03±0.56	8.04±0.35	6.55±0.21 <sup>c</sup>	6.22±0.41 <sup>b</sup>
1.5g/kg TB	8.79±0.27	8.79±0.23	6.22±0.19 <sup>c</sup>	5.49±0.25 <sup>c</sup>
0.5g/kg MSB	8.26±0.19	8.49±0.12	7.52±0.25 <sup>b</sup>	6.95±0.18 <sup>ab</sup>
1.0g/kg MSB	8.23±0.06	8.34±0.19	6.95±0.31 <sup>bc</sup>	6.33±0.31 <sup>b</sup>
1.5g/kg MSB	7.79±0.25	7.97±0.43	6.86±0.27 <sup>bc</sup>	6.24±0.15 <sup>b</sup>

注:同行数据上标不同字母表示相互之间差异显著(P<0.05)。

### 3 讨论

**3.1 三丁酸甘油酯和包膜丁酸钠对南美白对虾生长性能的影响** 三丁酸甘油酯和包膜丁酸钠作为丁酸的前提物质,均能为动物肠道迅速供能,促进肠道粘膜上皮细胞的增殖,修复受损粘膜,增强肠道对营养物质的消化吸收,从而促进动物生长<sup>[10,11]</sup>。本研究中,南美白对虾基础饲料中添加一定浓度三丁酸甘油酯(0.5g/kg、1.0g/kg、1.5g/kg)和包膜丁酸钠(0.5g/kg、1.0g/kg、1.5g/kg)均能提高周增重和蛋白质效率,降低饵料系数,提高南美白对虾生长性能。这与翟秋玲等<sup>[10]</sup>在菊黄东方鲀的基础饲料中添加一定浓度三丁酸甘油酯(0.05%、0.10%和0.15%)能提高菊黄东方鲀生长性能和Bruno等<sup>[11]</sup>在凡纳滨对虾基础饲料中添加一定浓度丁酸(0.50%、1.0%和2.0%)能提高凡纳滨对虾生长性能的研究结果相一致。本研究中,0.5g/kg、1.0g/kg和1.5g/kg三丁酸甘油酯组均显著提高了南美白对虾生长性能;然而,包膜丁酸钠组中只有1.5g/kg组有显著提高;同等添加浓度相比下,三丁酸甘油酯组均优于包膜丁酸钠组。因此,相较于包膜丁酸钠,三丁酸甘油酯的应用效果更佳,这可能是由于相较于丁酸盐类的产品,三丁酸甘油酯具有在肠道后段缓释丁酸等优点,具体作用机制有待深入研究。

**3.2 三丁酸甘油酯和包膜丁酸钠对南美白对虾肠道微生物的影响** 有研究报道表明,乳酸菌能改变或减少虾肠道弧菌的数量<sup>[12-15]</sup>,但益生菌产生的有机酸才是抑制致病菌的主要物质<sup>[16-17]</sup>。本研究中,三丁酸甘油酯各组和包膜丁酸钠各组分南美白对虾肠道的致病性弧菌的数量均比对照组显著减少,肠道总菌数量没有显著变化,表明三丁酸甘油酯和包膜丁酸钠能调节肠道微生态的平衡,促进肠道有益菌,抑制肠道有害致病菌<sup>[18]</sup>。近年来造成南美白对虾养殖巨大经济损失的病害是肠道致病菌引起的消化道疾病<sup>[19]</sup>,三丁酸甘油酯和包膜丁酸钠释放出有效物质——丁酸,其强酸性不仅能有效抑制有害致病菌的增殖,而且能促进乳酸菌等益生菌的增殖,使肠道微生态维持在正常的水平。同比之下,三丁酸甘油酯组的效果优于包膜丁酸钠组,可能其到达肠道作用位点的丁酸浓度高于包膜丁酸钠组,其具体作用原理有待进一步研究。

### 4 小结

在南美白对虾饲料中添加一定浓度的三丁酸甘油酯和包膜丁酸钠均可促进南美白对虾生长,降低饵料系数。同时,饲料中添加上述两种丁酸类产品均可促进南美白对虾肠道有益菌的生长,抑制致病菌的生长,降低南美白对虾病害的爆发率,最终提高南美白对虾养殖的经

济效益。相比之下,三丁酸甘油酯产品效果优于包膜丁酸钠产品。

#### 参考文献

- [1] Hoseinifar S H, Sun Y Z, Caipang C M. Short-chain fatty acids as feed supplements for sustainable aquaculture: an updated view[J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(4): 1380-1391.
- [2] Carbone D, Faggio C. Importance of prebiotics in aquaculture as immunostimulants. Effects on immune system of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*[J]. *Fish & shellfish immunology*, 2016, 54: 172-178.
- [3] Baruah K, Sahu N P, Pal A K, et al. Dietary microbial phytase and citric acid synergistically enhances nutrient digestibility and growth performance of *Labeo rohita* (Hamilton) juveniles at sub-optimal protein level[J]. *Aquaculture Research*, 2007, 38(2): 109-120.
- [4] Cross H S, Debiec H, Peterlik M. Mechanism and regulation of intestinal phosphate absorption[J]. *Mineral and electrolyte metabolism*, 1989, 16(2-3): 115-124.
- [5] Ravindran V, Kornegay E. Acidification of weaner pig diets: a review[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1993, 62: 313-322.
- [6] Rivera-Chávez F, Zhang L F, Faber F, et al. Depletion of butyrate-producing *clostridia* from the gut microbiota drives an aerobic luminal expansion of *Salmonella*[J]. *Cell host & microbe*, 2016, 19(4): 443-454.
- [7] Antongiovanni M, Buccioni A, Petacchi F, et al. Butyric acid glycerides in the diet of broiler chickens: effects on gut histology and carcass composition[J]. *Italian Journal of Animal Science*, 2007, 6(1): 19-25.
- [8] 彭丽莎, 孙健栋, 史艳云, 等. 三丁酸甘油酯对肉鸡生长性能、养分表观消化率、屠宰性能、肠道形态及微生物菌群的影响[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(2): 466-473.
- [9] 詹彦, 支兴刚. 短链脂肪酸的再认识[J]. *实用临床医学*, 2007, 8(1): 134-136.

(上接 38 页) 穗粒数, 总体上来讲构建出了相对均衡的群体结构和产量构成; 大株距构造出小群体个体可以获得更好的光温条件, 在穗粒数和结实率方面表现出一定优势, 但优势并不显著, 同时由于群体量的大幅下降, 很难获得较好的产量结果; 实测产量数据显示, 株距为 11cm 和 12cm 时产量显著高于 14cm 和 17cm 处理, 表现出较好的产量结果。总之, 在双季早稻毯状秧机插条件下 25cm×12cm 和 25cm×11cm 优于大株距处理, 更容易获得高产, 是配合毯状秧机插的适宜株行距。

#### 参考文献

- [1] 辛良杰, 李秀彬. 近年来我国南方双季稻区复种的变化及其政策启示[J]. *自然资源学报*, 2009, 24(01): 58-65.
- [2] 李仙娥, 王春艳. 国外农村剩余劳动力转移模式的比较[J]. *中国农村经济*, 2004(05): 69-75.
- [3] 朱德峰, 陈惠哲, 徐一成, 等. 我国双季稻生产机械化制约因子与发展对策[J]. *中国稻米*, 2013, 19(04): 1-4.

- [10] 瞿秋玲, 张春晓, 孙云章, 等. 三丁酸甘油酯和甘露寡糖对菊黄东方鲀生长性能、体组成及肠道健康指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(8): 2197-2208.
- [11] Silva B C, Vieira F N, Mourinho J L P, et al. Butyrate and propionate improve the growth performance of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Aquaculture research*, 2016, 47(2): 612-623.
- [12] Vieira F N, Buglione Neto C C, Mourinho J L P, et al. Time-related action of *Lactobacillus plantarum* in the bacterial microbiota of shrimp digestive tract and its action as immunostimulant[J]. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 2008, 43(6): 763-769.
- [13] Castex M, Lemaire P, Wabete N, et al. Effect of probiotic *Pedococcus acidilactici* on antioxidant defences and oxidative stress of *Litopenaeus stylirostris* under *Vibrio nigripulchritudo* challenge[J]. *Fish & shellfish immunology*, 2010, 28(4): 622-631.
- [14] Vieira F N, Buglione C C, Mourino J P L, et al. Effect of probiotic supplemented diet on marine shrimp survival after challenge with *Vibrio harveyi*[J]. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 2010, 62(3): 631-638.
- [15] Kongnum K, Hongpattarakere T. Effect of *Lactobacillus plantarum* isolated from digestive tract of wild shrimp on growth and survival of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) challenged with *Vibrio harveyi*[J]. *Fish & shellfish immunology*, 2012, 32(1): 170-177.
- [16] Vázquez J A, González M P, Murado M A. Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota from fish[J]. *Aquaculture*, 2005, 245(1): 149-161.
- [17] 陈燕, 曹郁生, 刘晓华. 短链脂肪酸与肠道菌群[J]. *江西科学*, 2003, 24(1): 38-40.
- [18] Rivera-Chávez F, Zhang L F, Faber F, et al. Depletion of butyrate-producing *clostridia* from the gut microbiota drives an aerobic luminal expansion of *Salmonella*[J]. *Cell host & microbe*, 2016, 19(4): 443-454.
- [19] 黄志坚, 陈勇贵, 翁少萍, 等. 多种细菌与凡纳滨对虾肝胰腺坏死症(HPNS)爆发有关[J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2016, 55(1): 1-11.

(责编:张宏民)

- [4] 钱银飞, 张洪程, 钱宗华, 等. 我国水稻机插秧发展问题的探讨[J]. *农机化研究*, 2009, 31(10): 1-5.
- [5] 王春乙, 姚蓬娟, 张继权, 等. 长江中下游地区双季早稻冷害、热害综合风险评价[J]. *中国农业科学*, 2016, 49(13): 2469-2483.
- [6] 杨林健. 关于双季早稻生产的几点思考[J]. *农业科技通讯*, 2007(11): 8-9.
- [7] 林洪鑫, 潘晓华, 石庆华, 等. 行株距配置对超高产早晚稻产量的影响[J]. *中国水稻科学*, 2011, 25(01): 79-85.
- [8] 闫川, 丁艳锋, 王强盛, 等. 行株距配置对水稻茎秆形态生理与群体生态的影响[J]. *中国水稻科学*, 2007(05): 530-536.
- [9] 杨长明, 杨林章, 韦朝领, 等. 不同品种水稻群体冠层光谱特征比较研究[J]. *应用生态学报*, 2002(06): 689-692.
- [10] 高亮之, 金之庆, 张更生, 等. 水稻最佳株型群体受光量与光合量的数值模拟[J]. *江苏农业学报*, 2000(01): 1-9.
- [11] 凌启鸿, 张洪程, 蔡建中, 等. 水稻高产群体质量及其优化控制探讨[J]. *中国农业科学*, 1993(06): 1-11.
- [12] 吴洪恺, 纪风高, 文正怀, 等. 水稻栽插不同株行距配比方式初探[J]. *耕作与栽培*, 2000(01): 17-22.

(责编:张宏民)