

doi: 10.7541/2023.2022.0464

两种不同复合诱食剂添加水平的饲料中添加甜菜碱对凡纳滨对虾生长性能、饲料利用、脂质代谢和免疫应答的影响

何桂伦¹ 谢明胜¹ 屈康渊¹ 陈欣¹ 朱文博² 陈政榜²
谭北平^{1,3,4} 谢诗玮^{1,3,4}

(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. 福州海马饲料有限公司, 福州 350300; 3. 农业农村部华南水产与畜禽饲料重点实验室, 湛江524088; 4. 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: 实验旨在研究两种含不同水平复合诱食剂(8%, 0)的基础饲料中添加甜菜碱对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)生长性能、饲料利用率、脂质代谢和免疫应答的影响。共制备原料型复合诱食剂对照组(P)、豆粕替代原料型诱食剂组(N)及在二者基础上分别添加0.6%甜菜碱的PB组和NB组等四组饲料, 喂养幼虾[初始体重(0.71±0.00) g] 7周。结果显示, 饲料中添加原料型复合诱食剂可提高对虾肝胰腺中*fas*、*acc*、*sod*、*dorsal*和*relish*及肠道*toll*和*sod*的表达量, 而肠道中*relish*表达量则相反。饲料中添加甜菜碱可提高对虾肌肉灰分含量, 上调对虾肝胰腺中*fas*、*acc*、*sod*和*dorsal*及肠道中*sod*的表达量, 而降低摄食量、肌肉粗脂肪和血淋巴中低密度脂蛋白胆固醇和丙二醛的含量及肝胰腺总一氧化氮合酶活性, 下调肝胰腺中*acox*、*cpt-1*、*myd88*和*relish*的表达量。原料型复合诱食剂与甜菜碱在对虾的饲料系数、肝胰腺总一氧化氮合酶活力、*ampk*、*acc*、*cpt-1*、*sod*、*myd88*和*relish*表达量等指标上呈现显著的交互作用。由此可见, 饲料中添加1.30%酵母提取物+ 4.80%鲑鱼内脏粉+ 1.90%鱼溶浆提高了对虾的免疫力和抗氧化能力。饲料中添加0.6%甜菜碱降低了对虾摄食量, 促进了脂质利用, 并上调了免疫相关基因的表达。

关键词: 诱食剂; 甜菜碱; 生长性能; 脂质代谢; 免疫应答; 凡纳滨对虾

中图分类号: S965

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2023)09-1446-10



水产动物饲料不仅要具有促进生长和发育的丰富的营养物质, 还应具有足够吸引水产动物摄食的外观和气味。因而, 诱食剂被广泛应用于水产动物饲料中, 以更好地促进水生动物的摄食和生长。诱食剂分为原料型诱食剂和化合物型诱食剂两种。原料型诱食剂从自然界中获得, 通常包括中草药、大蒜和动物原料(如墨鱼膏、酵母提取物、鲑鱼膏、干贝粉提取物、鲑鱼副产品及鱼溶浆)等, 含多种化合物, 多种组分共同起作用; 化合物型诱食剂包括甜菜碱、氨基酸、DMPT和硫代甜菜碱等, 经过人工加工或者合成获得, 为单一组分^[1]。酵母提取物是从发酵的酵母中提取的, 含有丰富的寡

糖、小肽和氨基酸, 对水生动物的生长和发育有益^[2,3]。先前的研究表明, 饲料中添加2%酵母提取物可有效提高凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)的采食量和饲料利用率^[2]。此外, 酵母提取物还能增加凡纳滨对虾肠道菌群的多样性^[4], 增强其免疫力^[5]。鲑鱼内脏粉和鱼溶浆具有浓郁的腥味, 引起水生动物的味觉刺激从而促进摄食。鲑鱼内脏粉从鲑鱼中提取, 富含氨基酸^[6], 添加到饲料中可以提高云斑尖塘鳢(*Oxyeleotris marmorata*)^[7]和凡纳滨对虾^[8]的摄食量。鱼溶浆的总固体含量为40%—50%, 通常粗蛋白质含量约为30%^[9], 可以有效地促进黑鲷(*Acanthopagrus schlegelii*)^[10]、草鱼(*Ctenopharyngodon*

收稿日期: 2022-11-19; 修订日期: 2023-01-19

基金项目: 国家自然科学基金(32002402); 广东省基础与应用基础研究基金(2021A1515010428); 广东省普通高校特色创新项目(2022KTSCX049); 湛江市科技局项目(2020A05003)资助 [Supported by National Natural Science Foundation of China (32002402); Guangdong Fund for Basic and Applied Basic Research (2021A1515010428); the Characteristic Innovation Projects of Ordinary Universities in Guangdong (2022KTSCX049); Science and Technology Bureau of Zhanjiang (2020A05003)]

作者简介: 何桂伦(1993—), 女, 硕士研究生; 主要研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail: 15018045717@163.com

通信作者: 谢诗玮, 副教授; E-mail: xswzsd@163.com

idella)^[11]、黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)^[12]和凡纳滨对虾^[13]的生长。然而,单一的诱食剂长时间使用可能造成水产动物厌食和健康等问题^[1],同时也会受到自身可用性、成本和成分波动等的因素的限制^[6]。饲料中添加复合诱食剂可在一定程度上解决单一诱食剂存在的问题。研究表明,饲料中添加复合诱食剂可促进大菱鲆幼鱼(*Scophthalmus maximus* L.)^[14]、鳊(*Siniperca chuatsi*)^[15]和凡纳滨对虾^[16]的生长和摄食。

甜菜碱是一种广泛存在于植物、动物和微生物中的氨基酸,可以有效地改善水生动物饲料的适口性^[17–19]。已有研究表明,饲料中添加甜菜碱可使凡纳滨对虾(0.5%)^[20]、罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*; 0.5%)^[21]和印度鲤幼鱼(*Labeo rohita*; 0.25%)^[22]的生长和摄食效果最佳,使凡纳滨对虾(1.0%)获得最佳的饲料利用率^[20]。其两性离子特性能增加水产饲料的水稳性^[19, 23–25]。此外,已有研究表明,饲料中添加甜菜碱可以改善肠屏障功能^[26],促进水产动物脂肪代谢、减少脂肪沉积^[27, 28],并能够调节nf-kb炎症通路^[29],从而改善水产动物的健康。

凡纳滨对虾是世界养殖量最高的对虾品种,具有生长速度快、环境适应性强和经济价值高等特点^[30–32]。而饲料中原料型诱食剂与甜菜碱的效果差异及其组合利用效果对凡纳滨对虾的生长和健康的影响尚未见报道。本实验旨在研究原料型组合诱食剂与甜菜碱对凡纳滨对虾生长性能、饲料利用、脂质代谢及免疫应答的影响。

1 材料与方法

1.1 实验饲料配方

设计4种实验饲料:以商品对虾饲料(P)为阳性对照,利用豆粕替代P中的诱食剂作为阴性对照(N),分别在阳性对照和阴性对照的基础上分别添加甜菜碱(PB和NB)。按如下步骤配制饲料。首先,原料用锤式粉碎机粉碎(SF-320, 苏中制药机械有限公司, 中国江苏)后通过80目筛网。其次,称取原料并混合均匀,然后加入油和水并在霍巴特式搅拌机(M-256, 华南理工大学, 中国广州)中充分混合。最后,使用双螺杆挤出机(F-26, 华南理工大学, 中国广州)将混合物压制成直径为1.0和1.5 mm的饲料,并在电热鼓风干燥箱中65℃干燥30min并进而风干,使用前置于–20℃保存。饲料配方及营养成分分析见表1。

1.2 实验虾和饲养

凡纳滨对虾幼虾从广东恒兴饲料实业有限公

司(中国湛江)种苗基地获得,用商业饲料饲养1周,以适应实验条件。试验选用480尾健康、均匀的初始体重(0.70±0.00) g对虾,随机分为4组,每组4个重复(300 L玻璃纤维桶),每个重复30尾虾。每天7:00、12:00、17:00和21:00投喂4次,饵料重量为对虾体重的5%–10%,共喂养7周。在前4周,投喂直径为1.0 mm的饲料,在最后3周,投喂直径为1.5 mm的饲料。在实验过程中,每3–4天用二氧化氯消毒过的海水换掉桶内60%的水,以维持水质。每天测量水温和盐度,养殖期间分别为24–28℃和26‰–29‰。

表1 实验饲料配方(湿物质基础)

Tab. 1 Formulation of supplement experimental diets (%Wet basis)

配方Formula	组别Group			
	P	N	PB	NB
鱼粉 Fish meal	21.53	21.53	21.53	21.53
鸡肉粉 Chicken by-product meal	4.00	4.00	4.00	4.00
花生粕 Peanut meal	6.00	6.00	6.00	6.00
鱼排粉 Fish by-product meal	7.00	7.00	7.00	7.00
虾粉 Shrimp meal	6.00	6.00	6.00	6.00
玉米蛋白粉 Corn protein powder	5.00	5.00	5.00	5.00
棉籽蛋白 Cottonseed protein	4.00	4.00	4.00	4.00
豆粕 Soybean meal	7.00	15.00	7.00	15.00
小麦面粉 Wheat flour	17.20	17.20	16.60	16.60
氯化胆碱 Choline chloride	0.31	0.31	0.31	0.31
磷酸二氢钙 Monocalcium phosphate	1.23	1.23	1.23	1.23
氯化钙 Calcium chloride	0.98	0.98	0.98	0.98
贝壳粉 Shell powder	0.62	0.62	0.62	0.62
酵母提取物 Yeast extract	1.30	0	1.30	0
鱿鱼内脏粉 Squid visceral powder	4.80	0	4.80	0
鱼溶浆 Fish soluble	1.90	0	1.90	0
甜菜碱 Betaine	0	0	0.60	0.60
大豆磷脂 Soybean phospholipid	1.23	1.23	1.23	1.23
赖氨酸 Lysine	0.37	0.37	0.37	0.37
矿物质预混料 Mineral premix	2.46	2.46	2.46	2.46
维生素预混料 Vitamin premix	0.92	0.92	0.92	0.92
发酵豆粕 Fermented soybean meal	6.15	6.15	6.15	6.15
营养成分 Proximate composition (% wet weight)				
粗蛋白 Crude protein	43.00	42.07	43.53	43.54
粗脂肪 Crude lipid	6.60	5.84	6.91	4.72
水分 Moisture	6.78	6.44	8.51	6.86
灰分 Ash	16.13	15.97	15.83	16.10

注: 所有原料均由福州海马饲料有限公司提供

Note: All raw materials are provided by Grobest Group Holdings Limited (CN), Fuzhou, China

1.3 取样及化学分析

在饲养试验结束后,禁食24h,随后称重计数。从每个重复中随机选取5尾虾,剥去外壳和头尾,置于-20℃的冰箱中保存,用于分析肌肉成分。使用1 mL注射器从围心腔中抽取5尾虾的血淋巴,然后在4℃条件下离心(4000 r/min)10min。收集上清液并置于-80℃下保存。每个重复取2尾虾的肝胰腺和肠,置于RNAlater中,-80℃放置保存,用于实时荧光定量。每个重复取2尾虾的肝胰腺,置于-80℃保存,用于酶活分析。

按标准方法^[33]测定饲料和肌肉样品的水分、粗蛋白质、粗脂肪和灰分含量。水分通过105℃烘干法测定,粗蛋白质含量用杜马斯定氮仪(Kjeltec™ 8400, 瑞典)测定;粗脂肪含量采用XT15脂肪仪(Ankom, USA)测定,粗灰分含量利用马弗炉于550℃下灰化6h测定。

血淋巴中总蛋白(TP)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)甘油三酯(TG)、总胆固醇(T-CHO)和丙二醛(MDA)的含量,以及肝胰腺中的丙二醛含量、总一氧化氮合酶(T-NOS)、总抗氧化能力(T-AOC)和总超氧化物歧化酶(T-SOD)酶活均采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒进行测定,按照试剂盒的说明书方法进行。

使用TransZol Up Plus RNA试剂盒(TransGen, 中国)提取肝胰腺和肠道中的RNA。琼脂糖凝胶电泳和分光光度分析(Nanodrop 2000)用于评估RNA质量和浓度。根据制造商(TaKaRa, 日本)的说明,使用PrimeScript™RT-PCR试剂盒进行cDNA合成。实时荧光PCR用LightCycler 480(Roche Diagnostics, Switzerland)进行测定,反应体积10 μL,包含5 μL的SYBR® Green Pro Taq HS、1 μL的cDNA、0.4 μL的正向和反向引物,以及3.2 μL灭菌双蒸水。反应中每个样品3个重复。PCR的反应条件为:95℃ 2min, 40个反应循环(95℃ 15s, 60℃ 15s, 72℃ 20s),随后进行融解曲线分析并冷却到4℃。根据我们对内参基因评价的初步实验结果,以基因延伸因子1α(*ef-1a*)为内参基因,相对基因表达用2^{-ΔΔCT}法^[34]进行分析。所有引物均使用PrimerQuest工具(National Center for Biotechnology Information, USA)设计,引物序列如表2所示。

1.4 计算公式及统计分析

本研究结果以均值±标准误(SE)表示。采用双因素方差分析(Two-way Anova), $P < 0.05$ 代表有显著性差异。终末体质量(Final body weight, FBW)、成活率(Survival rate, SR)、饲料系数(Feed conver-

sion ratio, FCR)、增重率(Weight gain, WG)、特定生长率(Specific growth rate, SGR)和摄食量(Feed intake, FI)等指标的计算公式如下:

成活率(SR, %)=100×试验结束时虾数量/试验开始时虾数量;

增重率(WGR, %)=100×[终末体质量(g)-初始体质量(g)]/初始体质量(g);

饲料系数(FCR)=摄食饲料干物质质量×100/(终末体质量-初始体质量);

特定生长率(SGR, %/d)=100×[ln平均终末体质量(g)-ln平均初始体质量(g)/实验天数(D)];

表2 实时荧光定量PCR引物序列

Tab. 2 Primer sequence used for quantitative Real-time PCR		
引物 Primer	序列Sequence (5'—3')	登录号 GenBank No.
<i>ef-1a</i> -R	GTATTGGAACAGTGCCCGTG	JF288785.1
<i>ef-1a</i> -F	ACCAGGGACAGCCTCAGTAAG	
<i>ampk</i> -R	TCAGAGGAGGAGCAGGAAC	KP272117.1
<i>ampk</i> -F	CCCGAGGTCTAATAGGCAC	
<i>toll</i> -R	CCTCGCACATCCAGGACTTTT	/
<i>toll</i> -F	GACCATCCCTTTTACACCAG	
<i>sod</i> -R	CAGAGCCTTTCACTCCAACG	/
<i>sod</i> -F	GCAATGAATGCCCTTCTACC	
<i>myd88</i> -R	GGGAGTGGCAGAACTTATC	/
<i>myd88</i> -F	GTGCACCAGAGTCATTGTAG	
<i>dorsal</i> -R	CGTAACTTGAGGGCATCTTC	FJ998202.1
<i>dorsal</i> -F	TGGGGAAGGAAGGATGG	
<i>relish</i> -R	GGCTGGCAAGTCGTTCTCG	EF432734
<i>relish</i> -F	CTACATTCTGCCCTTGACTCT	
<i>fas</i> -R	GGTGACTAGCTCGGCTACAT	XM_027367955.1
<i>fas</i> -F	GGTT CAGGTGGAGATGCTCCTCGT	
<i>acox</i> -R	GTAGCGTCCGAGGCACTGA	XM_027370700.1
<i>acox</i> -F	CCCGGGTGTCCACTGACA	
<i>acc</i> -R	TTTGACACCTGAGCCAGACC	XM_027360190.1
<i>acc</i> -F	TGCATAGAAACGGCATTGCG	
<i>cpt-1</i> -R	GTCGGTCCACCAATCTTC	XM_027361888.1
<i>cpt-1</i> -F	CAACTTCTACGGCACTGAT	

注: F表示正向引物, R表示反向引物; *ef-1a*. 延伸因子1α; *ampk*. AMP-激活蛋白激酶; *toll*. *toll*蛋白; *sod*. 超氧化物歧化酶; *myd88*. 髓系分化因子88; *dorsal*. 转录因子p65样; *relish*. 核因子NF-kappa-B p105亚基样; *fas*. 脂肪酸合成酶; *acox*. 酰基辅酶A氧化酶; *acc*. 乙酰辅酶A羧化酶; *cpt-1*. 肉碱棕榈酰转移酶

Note: F presents forward primer, R presents reverse primer. *ef-1a*. elongation factor 1α; *ampk*. AMP-activated protein kinase; *toll*. protein *toll*; *sod*. superoxide dismutase; *myd88*. myeloid differentiation primary response gene 88; *dorsal*. transcription factor p65-like; *relish*. nuclear factor NF-kappa-B p105subunit-like; *fas*. fatty acid synthase; *acox*. acyl-coenzyme A oxidase; *acc*. acetyl CoA carboxylase; *cpt-1*. carnitine palmitoyl transferase

摄食量(FI, g)=饲料摄食总量(g)/虾数量×100。

2 结果

2.1 生长性能和饲料利用

生长性能和饲料利用见表3。原料型复合诱食剂对对虾的SR、FBW、FI、FCR、WGR和SGR无显著影响($P>0.05$)。甜菜碱显著降低了对虾的FI($P<0.05$); 对SR、FBW、FCR、WGR和SGR无显著影响($P>0.05$)。原料型复合诱食剂与甜菜碱的交互作用对对虾的FCR有显著影响($P<0.05$), 对对虾的SR、FBW、FCR、WGR和SGR无显著影响($P>0.05$)。

2.2 肌肉成分

肌肉成分见表4。原料型复合诱食剂对肌肉水分、灰分、粗脂肪和粗蛋白质均无显著影响($P>0.05$)。甜菜碱显著提高了对虾肌肉灰分含量($P<0.05$), 显著降低了肌肉粗脂肪含量($P<0.05$), 对水分和粗蛋白质含量无显著影响($P>0.05$)。原料型复合诱食剂与甜菜碱的交互作用对肌肉的水分、灰分、粗脂肪和粗蛋白无显著影响($P>0.05$)。

2.3 血淋巴生化指标

血淋巴生化指标见表5。原料型复合诱食剂对血淋巴生化指标无显著影响($P>0.05$)。甜菜碱显著降低了对虾血淋巴中LDL-C和MDA含量($P<0.05$); 对HDL-C、T-CHO、TP和TG含量无显著影响($P>0.05$)。原料型复合诱食剂与甜菜碱的交互作用对血淋巴生化指标无显著影响($P>0.05$)。

2.4 肝胰腺酶活

肝胰腺酶活见表6。原料型复合诱食剂对肝胰

腺酶活无显著影响($P>0.05$)。甜菜碱显著降低了对虾肝胰腺一氧化氮合酶活性($P<0.05$)。甜菜碱对对虾肝胰腺MDA含量、T-SOD和T-AOC活性无显著影响($P>0.05$)。原料型复合诱食剂与甜菜碱的交互作用对T-NOS、T-SOD、MDA和T-AOC活性无显著影响($P>0.05$)。

2.5 肝胰腺基因表达

肝胰腺脂质代谢及免疫相关基因表达如图1所示, 原料型复合诱食剂显著上调了对虾肝胰腺*fas*和*acc*的表达量($P<0.05$); 对*ampk*、*acox*和*cpt-1*的表达量无显著影响($P>0.05$)。甜菜碱显著上调了肝胰腺*fas*和*acc*的表达量($P<0.05$), 并且显著下调了*ampk*的表达量($P<0.05$)。原料型复合诱食剂与甜菜碱的交互作用对*ampk*、*acc*和*cpt-1*的表达量有显著影响($P<0.05$)。原料型复合诱食剂显著上调了对虾肝胰腺*sod*、*dorsal*和*relish*的表达量($P<0.05$); 对*toll*和*myd88*的表达量无显著影响($P>0.05$)。甜菜碱显著上调了肝胰腺*sod*和*dorsal*的表达量($P<0.05$), 并且显著下调了*myd88*和*relish*的表达量($P<0.05$); 对*toll*的表达量无显著影响($P>0.05$)。原料型复合诱食剂与甜菜碱的交互作用对*sod*、*myd88*和*dorsal*的表达量有显著影响($P<0.05$), 对*toll*和*relish*的表达量无显著影响($P>0.05$)。

2.6 肠道免疫相关基因表达

肠道免疫相关基因表达如图2所示。原料型复合诱食剂添加组的*toll*和*sod*表达量显著高于未添加组($P<0.05$), *relish*表达量显著低于未添加组($P<0.05$); 对*dorsal*表达量无显著影响($P>0.05$)。甜菜碱

表3 两种复合诱食剂水平的基础饲料中添加甜菜碱对凡纳滨对虾生长性能和饲料利用率的影响

Tab. 3 Effects of dietary betaine supplementations on growth performance and feed utilization of the *Litopenaeus vannamei* fed two levels of compound attractants

组别Group	成活率SR (%)	终末体质量FBW (g)	摄食量FI (g)	饲料系数FCR	增重率WGR (%)	特定生长率SGR (%/d)
P	97.49±0.83	8.23±0.14	10.05±0.11 ^b	1.33±0.03	1066.04±20.56	4.90±0.03
N	93.33±1.35	8.44±0.34	10.52±0.16 ^b	1.36±0.03	1094.04±47.85	4.95±0.08
PB	92.22±4.84	8.03±0.25	9.05±0.44 ^a	1.37±0.06	1038.81±35.42	4.73±0.13
NB	93.33±1.35	8.27±0.12	9.17±0.16 ^a	1.21±0.01	1070.81±19.03	4.91±0.03
双因素方差分析P值 P-value of two-factor ANOVA						
组合 Combination	0.49	0.35	0.43	0.22	0.38	0.19
甜菜碱 Betaine	0.25	0.44	0.00	0.08	0.46	0.23
交互作用 Interaction	0.25	0.96	0.35	0.04	0.95	0.41

注: 平均值±标准误($n=4$); 相同字母上标或同一行无字母上标表示无显著差异($P>0.05$), 不同字母表示存在显著差异($P<0.05$)。A和B为原料型复合诱食剂对对虾的显著差异, a和b为甜菜碱对对虾的显著差异; “组合 Combination”表示“双因素方差分析原料型复合诱食剂P值”, “甜菜碱 Betaine”表示“双因素方差分析甜菜碱P值”, “交互作用 Interaction”表示“原料型复合诱食剂与甜菜碱的交互作用P值”, 下同

Note: Mean±SE ($n=4$); The same letter superscript or no letter superscript in the same line indicates no significant difference ($P>0.05$), while different letters indicate a significant difference ($P<0.05$). A and B are the significant differences of raw feed attractants to *Litopenaeus vannamei*; a and b are the significant differences of betaine to *Litopenaeus vannamei*, the same applies below

添加组的*sod*表达量显著高于未添加组($P<0.05$), *toll*显著低于未添加组($P<0.05$); 对*relish*和*dorsal*表达量无显著影响($P>0.05$)。原料型复合诱食剂与甜菜碱的交互作用对*toll*、*relish*和*sod*表达量有显著影响($P<0.05$), 对*dorsal*的表达量无显著影响($P>0.05$)。

3 讨论

营养的摄入及水生动物健康状况是影响其正常生长发育的重要因素。在本实验研究中, 原料型诱食剂添加组饲料(P, PB)与未添加组饲料(N, NB)的不同在于8%的原料型复合诱食剂被8%的豆粕替代, 而原料型复合诱食剂对对虾的SR、FBW、FI、FCR、WGR和SGR无显著影响。而饲料中添加0.6%甜菜碱显著降低对虾的FI, 对SR、FBW、FCR、WGR和SGR无显著影响。已有研究表明, 适宜的植物蛋白量替代鱼粉后对凡纳滨对虾幼虾的生长发育和采食量无不良影响^[35, 36]。此外, 当饲料配方中的动物蛋白含量并不低时, 诱食剂的添加对水产

动物的摄食和生长也无显著影响^[37]。本实验配方中的豆粕替代原料型复合诱食剂对于凡纳滨对虾的生长和饲料利用并没有负面影响, 可能是饲料配方中动物蛋白含量较高, 已满足了对虾生长和摄食的需求。之前的研究表明, 饲料中甜菜碱添加量为0.01%—0.075%时, 凡纳滨对虾的FCR、SR、SGR和WGR与未添加组无显著差异^[20], 饲料中添加量为0.2%时, 凡纳滨对虾获得很好的生长性能和饲料转化率; 另外一个研究结果与本实验结果相近, 甜菜碱添加量达到0.5%时, 对虾生长性能并没有明显改善, 反而有所下降^[38]; 也有研究表明甜菜碱添加量为4%时, 凡纳滨对虾的FI、SR、SGR和FCR无显著变化^[24]。然而, 也有研究报道饲料中甜菜碱添加量(0.5%)和(0.8%)可显著提高罗氏沼虾^[28]和印度白对虾(*Fenneropenaeus indicus*)^[39]的存活率, 饲料中5、10和15 g/kg 的甜菜碱添加量均可提高罗氏沼虾的增重、采食量和饲料利用率^[21]。导致这些不同结果的原因可能是不同浓度的甜菜碱对不同养殖时期的不同物种刺激是不同的, 从而使得水产动物对饲料的敏感度不同^[40]。本研究中, NB组对虾的FCR比其余3组低, 可能饲料中添加0.6%的甜菜碱($P=0.08$)有提高无原料型复合诱食剂添加组对虾的饲料利用率的趋势。

肌肉粗脂肪含量是虾类品质的重要指标。在本研究中, 甜菜碱降低了对虾肌肉的脂质含量, 提高了对虾肌肉的灰分。与我们的研究结果相似, 饲料中添加0.5%的甜菜碱可显著降低罗氏沼虾肌肉的粗脂肪含量^[28]。脂质代谢是生命活动的重要代谢途径, 肝脏中脂质的合成和分解的动态平衡是其健康的重要保证。脂肪酸合成的关键在于脂肪酸合成酶(*fas*)催化乙酰辅酶A转化为丙二酰辅酶A, 乙酰辅酶A羧化酶(*acc*)进一步催化长链脂肪酸的合成^[41], 酰基辅酶A氧化酶(*acox*)将长支链脂肪酸氧化成短链脂肪酸, 且通过氧化胆汁酸的辅酶A酯

表 4 两种原料型复合诱食剂水平的基础饲料中添加甜菜碱对凡纳滨对虾肌肉组成的影响(湿重)

Tab. 4 Effects of dietary betaine supplementations on muscle composition of the *Litopenaeus vannamei* fed two levels of compound attractants (wet basis) (%)

组别 Group	水分 Moisture	灰分 Ash	粗脂肪 Crude lipid	粗蛋白 Crude protein
P	73.86±0.81	0.57±0.08 ^a	1.08±0.15 ^b	22.02±0.41
N	74.51±0.82	0.55±0.04 ^a	0.93±0.06 ^b	21.83±0.33
PB	74.76±0.48	1.48±0.02 ^b	0.65±0.04 ^a	22.27±0.21
NB	74.84±0.33	1.48±0.02 ^b	0.64±0.04 ^a	22.55±0.11
双因素方差分析P值 P-value of two-factor ANOVA				
组合 Combination	0.58	0.84	0.08	0.99
甜菜碱 Betaine	0.36	0.00	0.00	0.12
交互作用 Interaction	0.67	0.84	0.15	0.55

表 5 两种原料型复合诱食剂水平的基础饲料中添加甜菜碱对凡纳滨对虾血淋巴生化指标的影响

Tab. 5 Effects of dietary betaine supplementations on hemolymph biochemical indexes of *Litopenaeus vannamei* fed two levels of compound attractants

组别 Group	低密度脂蛋白胆固醇 LDL-C (mmol/L)	高密度脂蛋白胆固醇 HDL-C (mmol/L)	总胆固醇T-CHO (mmol/L)	总蛋白TP (g/L)	甘油三酯TG (mmol/L)	丙二醛MDA (nmol/L)
P	11.55±0.88 ^b	3.38±0.59	0.46±0.07	71.38±8.63	0.32±0.03	5.33±0.70 ^b
N	14.56±3.95 ^b	2.32±0.63	0.47±0.10	67.66±3.54	0.32±0.10	5.99±0.52 ^b
PB	8.53±1.69 ^a	5.07±0.59	0.26±0.01	69.59±2.55	0.34±0.04	3.74±0.54 ^a
NB	6.91±0.21 ^a	3.59±1.21	0.41±0.08	71.45±5.50	0.35±0.02	3.77±0.39 ^a
双因素方差分析P值 P-value of two-factor ANOVA						
组合 Combination	0.77	0.14	0.31	0.87	0.88	0.56
甜菜碱 Betaine	0.03	0.09	0.13	0.86	0.70	0.00
交互作用 Interaction	0.30	0.79	0.41	0.62	0.95	0.59

中间体,催化胆固醇转化为胆汁酸。当机体的能量较低时, *ampk* 可以调控促进分解脂质的过程, 增加 ATP 合成, 从而维持机体能量平衡^[42]。肉碱棕榈酰转移酶(*cpt-1*)则是脂肪酸分解的重要酶, 催化脂酰辅酶A进入线粒体基质彻底分解产生能量^[43]。在本研究中, 饲料中添加原料型复合诱食剂或甜菜碱均显著上调了*fas*和*acc*的表达量, 饲料中添加甜菜碱下调*ampk*、*acox*和*cpt-1*的表达量。添加原料型诱食剂可能会倾向于增加对虾脂肪合成, 肌肉粗脂肪也呈现出类似的结果, 添加原料型诱食剂后对虾肌肉粗脂肪有增加的趋势($P=0.08$)。结合肌肉粗脂肪结果, 饲料中添加甜菜碱可能增强了脂肪分解供能。而生物体的脂质代谢平衡是正常生命活动的保证, 当脂质分解活动到达某一程度时, 机体会负反馈抑制脂质分解, 促进脂质合成, 以保持脂质代谢平衡^[41]。因而饲料中添加甜菜碱使脂肪酸合成相关基因上调可能是生物体内的脂肪分解已经达到正常范围的最大限度, 从而使得脂肪酸合成反弹性增加。尽管甜菜碱在对虾的脂质代谢机制方面的研究较少, 但在陆生动物上有大量的相关报道, 如甜菜碱对大鼠^[44]和小型猪^[45]的降脂作用通过调节其脂质代谢机制达到, 本研究也证实了甜菜碱对降低对虾肌肉脂肪含量, 调节脂质代谢的功能, 但具体的作用机制有待进一步研究。血淋巴生化指标可以在一定程度上反映水生动物代谢和健康状况, 主要体现在水生动物的生理、营养和病理等方面^[46, 47]。LDL是血液循环中主要的胆固醇载体, 它的生理功能是将胆固醇运送到细胞, HDL在胆固醇的逆向运输中起着关键作用, 它的功能与LDL相反^[16]。

表 6 两种原料型复合诱食剂水平的基础饲料中添加甜菜碱对凡纳滨对虾肝胰腺抗氧化相关参数的影响

Tab. 6 Effects of dietary betaine supplementations on hepatopancreas anti-oxidative related parameters of *Litopenaeus vannamei* fed two levels of compound attractants

组别 Group	总一氧化氮 合酶 T-NOS (U/mg prot)	总超氧化物 歧化酶 T-SOD (U/mg prot)	丙二醛 MDA (nmol/mg prot)	总抗氧化能 力T-AOC (mmol/g)
P	2.54±0.19 ^b	21.65±3.16	4.04±0.36	0.28±0.04
N	3.48±0.19 ^b	21.19±1.48	5.55±0.48	0.27±0.10
PB	2.86±0.22 ^a	24.49±1.41	4.92±1.09	0.36±0.05
NB	1.71±0.14 ^a	23.75±4.40	4.81±0.68	0.23±0.05
双因素方差分析 <i>P</i> -value of Two-factor ANOVA				
组合 Combination	0.60	0.84	0.34	0.37
甜菜碱 Betaine	0.00	0.37	0.92	0.77
交互作用 Interaction	0.00	0.96	0.27	0.38

在本研究中, 甜菜碱显著降低血淋巴中LDL-C含量, 而HDL-C、TP、T-CHO和TG含量无显著变化, 说明饲料中添加甜菜碱使对虾将肝胰腺中胆固醇运送到细胞的频率降低, 暗示虾体内脂质分解增强^[48]。总之, 饲料中添加甜菜碱有利于凡纳滨对虾脂质分解代谢。

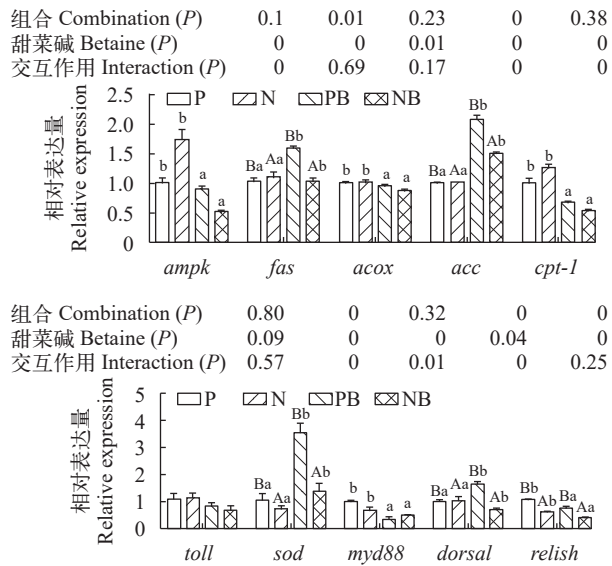


图 1 肝胰腺脂质代谢及免疫相关基因表达
Fig. 1 Hepatopancreas lipid metabolism and immune-related gene expression

平均值±标准误($n=4$); 柱状图中相同字母上标或同一行无字母上标表示无显著差异($P>0.05$), 不同字母表示存在显著差异($P<0.05$)。图中“组合 Combination (P)”表示“双因素方差分析原料型复合诱食剂P值”, “甜菜碱 Betaine (P)”表示“双因素方差分析甜菜碱P值”, “交互作用 Interaction (P)”表示“原料型复合诱食剂与甜菜碱的交互作用P值”, 下同

Mean±SE ($n=4$) are presented as bar charts, the same letter superscript or the same row without letter superscript indicates no significant difference ($P>0.05$), while different letters indicate a significant difference ($P<0.05$). “Combination (P)”, “Betaine (P)”, and “Interaction (P)” means “P value of raw feed attractants in two-way ANOVA”, “P value of betaine in two-way ANOVA”, and “P value of interaction between feedstock raw feed attractants and betaine”, respectively, the same applies below

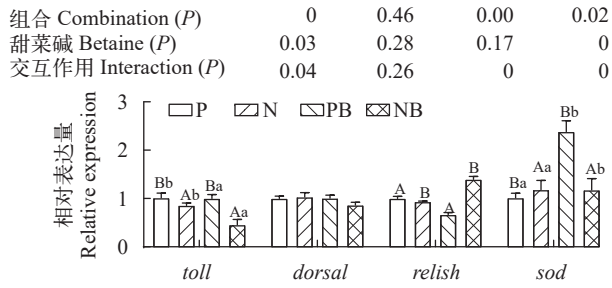


图 2 凡纳滨对虾肠道中基因表达
Fig. 2 Gene expressions in the intestine of *Litopenaeus vannamei*

超氧化物歧化酶(SOD)是生物体内重要的抗氧化酶,具有抗氧化和抗衰老的作用,其作用机理主要是清除对机体有害的超氧阴离子自由基(O_2^-)^[49]。在本研究中,原料型复合诱食剂和甜菜碱均能显著上调对虾肝胰腺和肠道中sod表达量。MDA是多不饱和脂肪酸(PUFAs)的脂质过氧化分解产物,具有细胞毒性作用^[50]。在本实验中,饲料中添加甜菜碱可使虾的血淋巴中MDA含量显著降低。因此可以推断,饲料中添加原料型复合诱食剂或甜菜碱均有利于对虾肝胰腺抗氧化基因的表达,从而提高虾的抗氧化能力^[48]。此外,甜菜碱有利于虾的血淋巴中脂质的氧化代谢或过氧化代谢废物的清除^[28]。一氧化氮合酶(NOS)催化产生一氧化氮(NO)杀死细菌和病毒毒素,从而提高虾的免疫力^[51],然而,当细胞内的NOS的浓度过高时,可以对细胞产生毒害作用^[52,55]。在本研究中,饲料中添加甜菜碱显著降低肝胰腺中T-NOS活性,对T-SOD和T-AOC活性以及MDA含量无显著影响。已有研究表明,NO也能够和 O_2^- 作用生成过氧亚硝基($ONOO^-$),它的强氧化和硝基化作用能够氧化酶蛋白,使之硝基化并灭活酶活性,还可通过细胞膜扩散导致细胞的代谢功能紊乱,此外,病原体还能够产生一系列酶并利用抗氧化物和自由基清除剂等物质,以抵抗宿主的抗病反应^[52]。在本研究中,尽管甜菜碱降低了T-NOS的活性,但对T-SOD和T-AOC活性及MDA含量无显著影响,因而我们推测可能这种变化对对虾的健康并无影响。无脊椎动物被认为完全依赖它们的先天免疫来抵御病原体,因为它们缺乏适应性免疫^[53]。toll是一种重要的先天免疫受体,在机体对病原体感染的免疫应答中起着至关重要的作用,它通过与受体复合物结合诱导nf- κ b信号通路实现^[54]。而myd88、relish和dorsal是nf- κ b信号通路的主要组成部分,参与调节许多炎症反应,其中myd88又被认为是激活先天免疫toll通路下游信号的中心连接器^[55]。在本研究中,原料型复合诱食剂显著上调对虾肝胰腺中dorsal和relish及肠道中的toll的表达量,显著下调肠道relish的表达量。这意味着饲料中添加复合诱食有利于提高对虾肝胰腺的免疫相关基因的表达,从而增强对虾免疫应答。饲料中添加甜菜碱显著上调肝胰腺dorsal的表达量,显著下调myd88和relish的表达量;同时显著下调肠道toll的表达量。饲料中添加甜菜碱也可能提高对虾的免疫应答能力^[29]。

4 结论

在本试验中,饲料中添加8%原料型复合诱食剂不影响凡纳滨对虾的生长性能、肌肉成分和血淋

巴生化指标,但促进了凡纳滨对虾肝胰腺中免疫基因的表达;饲料中添加0.6%甜菜碱不影响凡纳滨对虾的生长性能,但显著降低了对虾肌肉粗脂肪的含量,促进对虾的抗氧化能力和脂质代谢,提高肠道免疫相关基因表达。原料型复合诱食剂与甜菜碱的交互作用对对虾的饲料系数、总一氧化氮合酶、脂质代谢相关基因和免疫相关基因有显著影响。

参考文献:

- [1] Jiao Y, Study on feeding attractant of *Litopenaeus vannamei* [D]. Tianjin: Tianjin Agricultural University, 2017: 1-27. [焦迎春. 凡纳滨对虾诱食剂的研究 [D]. 天津: 天津农学院, 2017: 1-27.]
- [2] Zheng L, Xie S, Zhuang Z, et al. Effects of yeast and yeast extract on growth performance, antioxidant ability and intestinal microbiota of juvenile Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Aquaculture*, 2021(530): 735941.
- [3] Jiang W, Liu Y J, Liu X Y. Effect of yeast extract on growth performance, immune function and antioxidant capacity of carp [J]. *Feed Research*, 2022, 45(16): 66-69. [蒋伟, 刘英杰, 刘喜阳. 酵母提取物对鲤鱼生长性能、免疫功能和抗氧化能力的影响 [J]. *饲料研究*, 2022, 45(16): 66-69.]
- [4] He Y F, Chi S Y, Tan B P, et al. Effect of yeast culture on intestinal microbiota of *Litopenaeus vannamei* [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2017, 37(4): 21-27. [何远法, 迟淑艳, 谭北平, 等. 酵母培养物对凡纳滨对虾肠道菌群结构的影响 [J]. *广东海洋大学学报*, 2017, 37(4): 21-27.]
- [5] Gui L, Mai H, Chi S, et al. Effects of yeast culture on growth performance, hematological parameters, immunity and disease resistance of *Litopenaeus vannamei* [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2019, 39(3): 30-37. [桂良超, 麦浩彬, 迟淑艳, 等. 酵母培养物替代鱼粉对凡纳滨对虾生长性能、血清生化指标、免疫力和抗病力的影响 [J]. *广东海洋大学学报*, 2019, 39(3): 30-37.]
- [6] Zhu T, Morais S, Luo J, et al. Functional palatability enhancer improved growth, intestinal morphology, and hepatopancreas protease activity, replacing squid paste in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, diets [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2019, 50(6): 1064-1077.
- [7] Liu D, Feng J, Liu Y, et al. Comparative study on the feeding effects of peptide-rich peptide, squid viscera powder, cuttlefish extract and fish sauce on *Penaeus vannamei* [J]. *Fishery Modernization*, 2003, 30(5): 39-35. [刘栋辉, 冯健, 刘永坚, 等. 富肽素、鱿鱼内脏粉、墨鱼浸膏、鱼露对南美白对虾的诱食效果比较研究 [J]. *渔业现代化*, 2003, 30(5): 39-35.]
- [8] Lim L S, Lai S J, Yong S K, et al. Feeding response of marble goby (*Oxyeleotris marmorata*) to organic acids,

- amino acids, sugars and some classical taste substances [J]. *Applied Animal Behaviour Science*, 2017(196): 113-118.
- [9] Harrison G, Coates M E. Interrelationship between the growth-promoting effect of fish solubles and the gut flora of the chick [J]. *British Journal of Nutrition*, 1972, **28**(2): 213-221.
- [10] Irm M, Taj S, Jin M, *et al.* Influence of dietary replacement of fish meal with fish soluble meal on growth and TOR signaling pathway in juvenile black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020(101): 269-276.
- [11] Wu D W, Ye Y T, Cai C F, *et al.* Effects of fish meal replacement by stickwater meal on growth and health of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, **27**(7): 2094-2105. [吴代武, 叶元土, 蔡春芳, 等. 鱼溶浆粉替代鱼粉对草鱼生长及健康的影响 [J]. *动物营养学报*, 2015, **27**(7): 2094-2105.]
- [12] Zhou L Y, Wu D W, Gao M M, *et al.* The effects of fish meal replacement on growth performance of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, **43**(3): 504-516. [周露阳, 吴代武, 高敏敏, 等. 鱼溶浆、酶解鱼溶浆和酶解鱼浆完全替代鱼粉对黄颡鱼生长的影响 [J]. *水生生物学报*, 2019, **43**(3): 504-516.]
- [13] Wang C L, Zhang H L, Shi L, *et al.* Effect of Fish soluble pulp on growth of *Penaeus vannamei* in greenhouse [J]. *Journal of Anhui Agriculture Sciences*, 2018, **46**(36): 70-73, 77. [王春利, 张海玲, 石磊, 等. 鱼溶浆对大棚养殖南美白对虾生长的影响 [J]. *安徽农业科学*, 2018, **46**(36): 70-73, 77.]
- [14] Jiang D, Zheng J, Dan Z, *et al.* Effects of five compound attractants in high plant-based diets on feed intake and growth performance of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) [J]. *Aquaculture Research*, 2019, **50**(9): 2350-2358.
- [15] Peng D, Peng B, Li J, *et al.* Effects of three feed attractants on the growth, biochemical indicators, lipid metabolism and appetite of Chinese perch (*Siniperca chuatsi*) [J]. *Aquaculture Reports*, 2022(23): 101075.
- [16] He G, Chen X, Zeng Q, *et al.* Effects of compound feed attractants on growth performance, feed utilization, intestinal histology, protein synthesis, and immune response of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Animals: an Open Access Journal from MDPI*, 2022, **12**(19): 2550.
- [17] Lim L, Isabella E, Chor W, *et al.* Determination on the possibility of dietary Betaine supplementation to improve feed intake of soybean meal-based diet in the juvenile grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*): a pilot study [J]. *Malaysian Applied Biology*, 2015, **44**(2): 137-141.
- [18] Ntroomand email M, Sajadi M, Yahyavi M, *et al.* Effects of dietary Betaine on growth, survival, body composition and resistance of fry rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under environmental stress [J]. *Majallah-i Ilmī-i Shīlāt-i Irān*, 2011, **20**(1): 135-146.
- [19] Yeşilayer N, Kaymak I E. Effect of partial replacement of dietary fish meal by soybean meal with betaine attractant supplementation on growth performance and fatty acid profiles of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture Research*, 2020, **51**(4): 1533-1541.
- [20] Wang G J, Xie J, San S, *et al.* Effects of natural betaine on growth of *Litopenaeus vannamei* [J]. *Guangdong Feed*, 2004, **13**(3): 25-26. [王广军, 谢骏, 三矢展明, 等. 天然甜菜碱对南美白对虾生长的影响 [J]. *广东饲料*, 2004, **13**(3): 25-26.]
- [21] Felix N, Sudharsan M. Effect of glycine betaine, a feed attractant affecting growth and feed conversion of juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2004, **10**(3): 193-197.
- [22] Shankar R, Murthy S, Pavadi P, *et al.* Effect of betaine as a feed attractant on growth, survival, and feed utilization in fingerlings of the Indian major carp, *Labeo rohita* [J]. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 2008, **60**(2): 95-99.
- [23] Peñaflorida V D, Virtanen E. Growth, survival and feed conversion of juvenile shrimp (*Penaeus monodon*) fed a betaine/amino acid additive [J]. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 1996, **48**(1): 3-9.
- [24] Ponpai, Penprapai, Lerssutthichawal, *et al.* Effect of betaine on growth performance and resistance on Vibriosis in white shrimp (*Penaeus vannamei*) [J]. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 2007, **29**(5): 1275-1282.
- [25] Syed A H, Idris A K, Mohshim D F, *et al.* Influence of lauryl betaine on aqueous solution stability, foamability and foam stability [J]. *Journal of Petroleum Exploration and Production Technology*, 2019, **9**(4): 2659-2665.
- [26] Wu J, He C, Bu J, *et al.* Betaine attenuates LPS-induced downregulation of Occludin and Claudin-1 and restores intestinal barrier function [J]. *BMC Veterinary Research*, 2020, **16**(1): 75.
- [27] Gao X, Zhang H, Guo X F, *et al.* Effect of betaine on reducing body fat-a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Nutrients*, 2019, **11**(10): 2480.
- [28] Dong X, Wang J, Ji P, *et al.* Dietary betaine supplementation promotes growth, n-3 LC-PUFA content and innate immunity in *Macrobrachium rosenbergii* [J]. *Aquaculture*, 2020, **525**: 735308.
- [29] Zhao G, He F, Wu C, *et al.* Betaine in inflammation: mechanistic aspects and applications [J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, **9**: 1070.
- [30] Wang A J, Yang Q H, Tan B P, *et al.* Effects of enzymo-

- lytic soybean meal on growth performance, serum biochemical indices, non-specific immunity and disease resistance of juvenile *Litopenaeus vannamei* [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2018, **38**(1): 14-21. [王铵静, 杨奇慧, 谭北平, 等. 大豆酶解蛋白对凡纳滨对虾幼虾生长性能、血清生化指标、非特异性免疫力和抗病力的影响 [J]. *广东海洋大学学报*, 2018, **38**(1): 14-21.]
- [31] He G L, Yi Y M, Yang Q H, *et al.* Effects of inositol on growth and metabolism for juvenile *Litopenaeus vannamei* at different salinities [J]. *South China Fisheries Science*, 2022, **18**(3): 129-138. [何桂伦, 易远名, 杨奇慧, 等. 肌醇对不同盐度条件下凡纳滨对虾幼虾生长和代谢的影响 [J]. *南方水产科学*, 2022, **18**(3): 129-138.]
- [32] Wu Y C, Li R M, Shen G R, *et al.* Effects of dietary small peptides on growth, antioxidant capacity, nonspecific immunity and gut microflora structure of *Litopenaeus vannamei* [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2021, **41**(5): 1-9. [吴远彩, 李日美, 申光荣, 等. 小肽对凡纳滨对虾生长、抗氧化能力、非特异性免疫及肠道菌群结构的影响 [J]. *广东海洋大学学报*, 2021, **41**(5): 1-9.]
- [33] Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis [S]. AOAC, Washington, D. C., 1999.
- [34] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. *Methods*, 2001, **25**(4): 402-408.
- [35] Shao J, Zhao W, Han S, *et al.* Partial replacement of fishmeal by fermented soybean meal in diets for juvenile white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2019, **25**(1): 145-153.
- [36] Bulbul M, Kader M A, Ambak M A, *et al.* Effects of crystalline amino acids, phytase and fish soluble supplements in improving nutritive values of high plant protein based diets for kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus* [J]. *Aquaculture*, 2015(438): 98-104.
- [37] Smith D M, Tabrett S J, Barclay M C, *et al.* The efficacy of ingredients included in shrimp feeds to stimulate intake [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2005, **11**(4): 263-272.
- [38] Liu L H, Zheng S X, Zheng (S/X)C, *et al.* Effects of different attractants on growth and feed digestion of *Litopenaeus vannamei* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2003, **33**(5): 12-15. [刘立鹤, 郑石轩, 郑献昌, 等. 饲料中添加不同诱食剂对南美白对虾生长和饲料消化的影响 [J]. *淡水渔业*, 2003, **33**(5): 12-15.]
- [39] Asadi M, Sajadi M M, *et al.* Effect of rotifers enriched with betaine and concentrated diet containing betaine on growth, survival and stress resistance of Indian white prawn (*Fenneropenaeus indicus*) [J]. *Majallah-i Ilm-i Shīlāt-i Īrān*, 2010(19): 1-10.
- [40] Pittet A O, Ellis J C, Lee P G. Methodology for the identification and quantitative measurement of chemical stimulants for penaeid shrimp [J]. *Aquaculture Nutrition*, 1996, **2**(3): 175-182.
- [41] Fang K, Wu F, Chen G, *et al.* Diosgenin ameliorates palmitic acid-induced lipid accumulation via AMPK/ACC/CPT-1A and SREBP-1c/FAS signaling pathways in LO2 cells [J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2019, **19**(1): 255.
- [42] Yuan X Y, Liu M Y, Cheng H H, *et al.* Replacing fish meal with cottonseed meal protein hydrolysate affects amino acid metabolism via AMPK/SIRT1 and TOR signaling pathway of *Megalobrama amblycephala* [J]. *Aquaculture*, 2019(510): 225-233.
- [43] Chen Y K, Zheng C Z, Zhang S, *et al.* Dietary black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal on growth performance, non-specific immunity and lipid metabolism of *Litopenaeus vannamei* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2023, **47**(2): 269-278. [陈永康, 郑朝中, 章双, 等. 黑水虻幼虫粉对凡纳滨对虾生长、免疫和脂质代谢的影响 [J]. *水生生物学报*, 2023, **47**(2): 269-278.]
- [44] Du J, Shen L, Tan Z, *et al.* Betaine supplementation enhances lipid metabolism and improves insulin resistance in mice fed a high-fat diet [J]. *Nutrients*, 2018, **10**(2): 131.
- [45] Zhong Y, Yan Z, Song B, *et al.* Dietary supplementation with betaine or glycine improves the carcass trait, meat quality and lipid metabolism of finishing mini-pigs [J]. *Animal Nutrition*, 2021, **7**(2): 376-383.
- [46] Hoseinifar S H, Mirvaghefi A, Merrifield D L, *et al.* The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligo-fructose [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2011, **37**(1): 91-96.
- [47] Zhuo H B, Zheng Q Y, Liang H F, *et al.* Respiration, excretion and physiological changes of hemolymph of *Panulirus homarus* during molt cycle [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2019, **39**(5): 24-30. [卓宏标, 郑秋耀, 梁华芳, 等. 波纹龙虾蜕壳周期的呼吸排泄和血淋巴生理学 [J]. *广东海洋大学学报*, 2019, **39**(5): 24-30.]
- [48] Zhang L F. Mechanism of betaine on liver glucose and lipid metabolism [D]. Nanning: Guangxi University, 2019. [张丽芳. 甜菜碱调控肝细胞糖脂代谢的机制研究 [D]. 南宁: 广西大学, 2019.]
- [49] Xie J H, Qiu D Q, Liu C X, *et al.* Effects of *Vibrio alginolyticus* peptidoglycan on astaxanthin level, immune indicators and protection in *Litopenaeus vannamei* [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2013, **33**(1): 50-55. [谢警鸿, 邱德全, 刘春晓, 等. 溶藻弧菌肽聚糖对凡纳滨对虾青素、免疫指标及保护率的影响 [J]. *广东海洋大学学报*, 2013, **33**(1): 50-55.]
- [50] Liu H Y, Li L X, Stephen A, *et al.* Effects of dietary yeast culture supplementation on growth, intestinal morphology, immunity, and disease resistance in *Epinephelus fuscoguttatus*♀×*Epinephelus lanceolatus*♂ [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2021, **41**(3): 1-11. [刘泓宇, 李立贤, Stephen A, 等. 酵母培养物对珍珠龙胆石斑

- 鱼生长性能、肠道形态、免疫功能和抗病力的影响 [J]. *广东海洋大学学报*, 2021, **41**(3): 1-11.]
- [51] Liu W Z, Qiu D Q. Effect of *Vibrio alginolyticus* on nitric oxide and oxygen free radical in serum of *Penaeus vannamei* Boone [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2007, **27**(3): 60-63 [刘文珍, 邱德全. 溶藻弧菌对凡纳滨对虾血清中一氧化氮及氧自由基的影响 [J]. *广东海洋大学学报*, 2007, **27**(3): 60-63.]
- [52] Zhu H Y. Study on nitric oxide synthase in immunity of aquatic animals [J]. *Feed Industry*, 2006, **27**(16): 43-46. [朱宏友. 一氧化氮合酶在水产动物免疫中的研究 [J]. *饲料工业*, 2006, **27**(16): 43-46.]
- [53] Zhai Y, Xu R, He P, *et al.* A proteomics investigation of 'immune priming' in *Penaeus vannamei* as shown by isobaric tags for relative and absolute quantification [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2021(117): 140-147.
- [54] Anthony N, Foldi I, Hidalgo A. Toll and Toll-like receptor signalling in development [J]. *Development (Cambridge, England)*, 2018, **145**(9): dev156018.
- [55] Zhang S, Li C Z, Yan H, *et al.* Identification and function of myeloid differentiation factor 88 (MyD88) in *Litopenaeus vannamei* [J]. *PLoS One*, 2012, **7**(10): e47038.

TWO DIETARY BETAIN SUPPLEMENTATIONS ON GROWTH, FEED UTILIZATION, LIPID METABOLISM, AND IMMUNE RESPONSE OF WHITE SHRIMP (*LITOPENAEUS VANNAMEI*) FED TWO LEVELS OF COMPOUND ATTRACTANTS

HE Gui-Lun¹, XIE Ming-Sheng¹, QU Kang-Yuan¹, CHEN Xin¹, ZHU Wen-Bo², CHEN Zheng-Bang², TAN Bei-Ping^{1,3,4} and XIE Shi-Wei^{1,3,4}

(1. Laboratory of Aquatic Animal Nutrition and Feed, College of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China; 2. Grobest Group Holdings Limited, (CN), Fuzhou 350300, China; 3. Aquatic Animals Precision Nutrition and High-Efficiency Feed Engineering Research Centre of Guangdong Province, Zhanjiang 524088, China; 4. Key Laboratory of Aquatic, Livestock and Poultry Feed Science and Technology in South China, Ministry of Agriculture, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: Feed attractants have been widely used to improve the palatability of aquatic animal feeds, but there are few studies on the effects of feed attractants on growth and health of *Litopenaeus vannamei*. This study aims to investigate the effects of betaine supplementations on growth performance, feed utilization, lipid metabolism, and immune response of *Litopenaeus vannamei* fed two levels of raw feed attractants (8%, 0). Juvenile shrimp [initial body weight (0.71±0.00) g] were randomly distributed into four groups, each group included four fiberglass tanks [30 shrimp in each tank (0.3 m³)]. The shrimp were fed with raw feed attractants group (P), soybean meal replacing feed attractants in P (N), raw feed attractants + betaine group (PB) and betaine supplementation group (NB) for 7 weeks, respectively. Results showed that the raw feed attractants enhanced the expression levels of *fas*, *acc*, *sod*, *dorsal*, *relish* in hepatopancreas, as well as *toll* and *sod* in the intestine of shrimp, while the expression levels of *relish* in the intestine were reversed. Betaine increased ash content in muscle, upregulated *fas*, *acc*, *sod*, and *dorsal* in hepatopancreas, as well as *sod* expression in the intestine, while it decreased feed intake, muscle crude lipid, low density lipoprotein cholesterol, malondialdehyde contents and total nitric oxide synthase activity in hepatopancreas, as well as the expression levels of *acox*, *cpt-1*, *myd88* and *relish* in hepatopancreas. The interaction of raw feed attractants and betaine had significant effects on feed conversion ratio, hepatopancreas total nitric oxide synthase activity, *ampk*, *acc*, *cpt-1*, *sod*, *myd88* and *relish*. In conclusion, a diet with 1.30% yeast extract +4.80% squid viscera powder+1.90% fish soluble improves the immunity and antioxidant capacity of shrimp. Dietary 0.6% betaine reduces feed intake and promotes lipid utilization, and up-regulates the expression of immune-related genes of shrimp. This study showed that two dietary betaine supplementations on growth, feed utilization, lipid metabolism, and immune response of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed two levels of compound attractants, which provides reference value for white shrimp culture.

Key words: Feed attractants; Betaine; Growth performance; Lipid metabolism; Immune response; *Litopenaeus vannamei*