

饲料中添加 γ -氨基丁酸对凡纳滨对虾生长性能、血清生化指标和抗亚硝酸氮应激能力的影响

赵红霞^{1,2,3} 陈晓瑛^{1,2,3*} 王国霞^{1,2,3} 彭凯^{1,2,3}

黄燕华^{1,2,3} 陈冰^{1,2,3**} 曹俊明^{1,2,3**}

(1.广东省农业科学院动物科学研究所,广州 510640;2.农业农村部华南动物营养与饲料重点实验室,广州 510640;
3.广东省畜禽育种与营养研究重点实验室,广州 510640)

摘要: 本试验旨在探讨饲料中添加 GABA 对凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 生长性能、血清生化指标和抗亚硝酸氮应激能力的影响。将 906 尾初始均重为 (0.68±0.02) g 的凡纳滨对虾幼虾随机分为 6 组,每组 4 个重复,每个重复放养 40 尾虾。6 组对虾分别投喂添加 0、50、100、150、200 和 250 mg/kg γ -氨基丁酸 (GABA) 的等氮等脂试验饲料 56 d。饲养试验结束后进行 120 h 的亚硝酸氮应激。结果显示:1) 与未添加组相比,饲料中添加 50~250 mg/kg GABA 显著提高了凡纳滨对虾的摄食率和增重率 ($P<0.05$)。2) 与未添加组相比,饲料中添加 100 和 150 mg/kg GABA 显著提高了凡纳滨对虾血清总蛋白、胆固醇、甘油三酯含量 ($P<0.05$),显著降低了血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶活性 ($P<0.05$)。3) 100 和 150 mg/kg GABA 组凡纳滨对虾血清溶菌酶、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶活性和总抗氧化能力显著高于未添加组 ($P<0.05$)。4) 与未添加组相比,饲料中添加 100~250 mg/kg GABA 显著降低了凡纳滨对虾亚硝酸氮应激 120 h 时的累积死亡率 ($P<0.05$),其中 100 mg/kg GABA 组凡纳滨对虾累积死亡率达到最低。综上所述,饲料中添加 GABA 能够提高凡纳滨对虾的摄食率、增重率和抗亚硝酸氮应激能力。以增重率为评价指标,通过二次回归分析得出凡纳滨对虾饲料中 GABA 的适宜添加量为 154.79 mg/kg。

关键词: γ -氨基丁酸;凡纳滨对虾;生长性能;血清生化指标;亚硝酸氮应激

中图分类号:S963

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2020)09-4251-09

凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*), 又称南美白对虾, 具有生长速度快、盐度适应广、高投入高回报等优点, 是目前世界上养殖产量最高的对虾优良品种^[1-2]。然而, 由于集约化高密度养殖的迅猛发展, 对虾养殖过程中受到各种环境因子的应激, 病害频频暴发, 造成对虾养殖产业巨大的经济损失, 严重制约着对虾产业的可持续发展^[3]。

因此, 迫切需要寻找行之有效的疾病防治手段以减少产业损失和增加养殖效益。通过在饲料中添加功能性添加剂促进凡纳滨对虾营养物质代谢和免疫与抗氧化功能是提高其生长和抗病抗应激能力的重要途径^[4-5]。

γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 是一种非蛋白质氨基酸, 由 α -酮戊二酸经转氨基反

收稿日期:2020-03-25

基金项目:国家自然科学基金项目(31402307);广东省现代农业产业技术体系建设项目(2019KJ115);科技创新战略专项资金(高水平农科院建设)(201614TD)

作者简介:赵红霞(1976—),女,内蒙古乌海人,研究员,博士,从事水产动物营养与饲料的研究。E-mail: zhaohongxia8866@163.com

* 同等贡献作者

** 通信作者:陈冰,副研究员,E-mail: chenbing114@163.com;曹俊明,研究员,博士生导师,E-mail: junmcao@163.com

应生成谷氨酸,经谷氨酸脱羧酶催化生成 GABA,在 γ -氨基丁酸转氨酶作用下生成琥珀酸半醛,之后转化为琥珀酸进入三羧酸循环^[6]。GABA 是中枢神经系统内重要的抑制性神经递质,具有镇静和抗惊厥作用,可以缓解环境胁迫对养殖动物产生的生理应激,促进摄食和生长激素分泌,促进机体营养物质代谢和蛋白质沉积,增强机体免疫力和抗氧化功能^[7-10]。已有研究显示,饲料中添加 GABA 有助于提高青鳉 (*Oryzias latipes*)、鲫 (*Carassius auratus*)、泥鳅 (*Misgurnus anguillicaudatus*)、鳊 (*Rhodeus ocellatus*) 等抵抗缺氧应激的能力^[11-14]。但是,目前尚未见 GABA 在对虾养殖中的应用研究。因此,本试验通过在饲料中添加不同水平的 GABA,研究 GABA 对凡纳滨对虾生长性能、血清生化指标和抗亚硝酸氮应激能力的影响,为 GABA 在凡纳滨对虾饲料中的应用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验饲料

以鱼粉、花生粕等为主要蛋白质源,鱼油为主要脂肪源,高筋面粉为主要糖源配制基础饲料,其组成及营养水平如表 1 所示。在基础饲料中分别添加 0 (对照)、50、100、150、200、250 mg/kg GABA,配制 6 种等氮等能的试验饲料。饲料原料经 60 目筛粉碎,混合均匀后用 SLX-80 型挤压机制成直径为 1.0 mm 的颗粒饲料,在 45 °C 下烘干,自然冷却后放入密封袋中于 -20 °C 冰箱中保存待用。

1.2 试验虾与饲养管理

养殖试验在广东省农业科学院动物科学研究所室内循环水养殖系统中进行。试验养殖系统由圆柱形玻璃纤维桶 (40 cm×40 cm×70 cm) 组成,容水量 300 L,养殖用水为进水速率为 1.5 L/min 的曝气自来水。试验开始前,试验虾在室内进行为期 2 周的暂养,期间投喂基础饲料。试验开始前禁食 24 h,选取初始均重为 (0.68±0.02) g 的凡纳滨对虾幼虾 960 尾,随机分为 6 组,每组设 4 个重复,每个重复 40 尾虾,分别投喂添加 0 (对照)、50、100、150、200、250 mg/kg GABA 的试验饲料,试验期为 8 周。试验期间饱食投喂,每日分别在 09:00、14:30 和 20:30 分 3 次投喂,日投喂量为体重的 6%~8%,根据摄食情况调整投喂量。每天观

察虾体健康状况,记录死亡情况。试验期间水温 27~32 °C,氨氮浓度 <0.20 mg/L,亚硝酸盐浓度 <0.01 mg/L,溶氧浓度 >6.0 mg/L, pH 7.5~7.9,自然光源。

表 1 基础饲料组成及营养水平 (风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
鱼粉 Fish meal	22.0
花生粕 Peanut meal	16.0
豆粕 Soybean meal	12.0
乌贼膏 Squid visceral ointment	5.0
虾壳粉 Shrimp shell powder	5.0
面粉 Wheat flour	31.0
鱼油 Fish oil	3.0
磷脂 Lecithin	1.0
维生素预混料 Vitamin premix ¹⁾	0.2
矿物质预混料 Mineral premix ²⁾	0.5
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.5
维生素 C 酯 Vitamin C ester	0.1
胆固醇 Cholesterol	0.2
食盐 NaCl	0.2
氯化胆碱 Choline chloride	0.3
海藻酸钠 Sodium alginate	2.0
合计 Total	100.0
营养水平 Nutrient levels ³⁾	
粗蛋白质 CP	39.2
粗脂肪 CF	9.8
粗灰分 Ash	13.5
水分 Moisture	8.9

1) 每千克维生素预混料含有 One kilogram of vitamin premix contained the following: VA 4 000 000 IU, VD 2 000 000 IU, VE 30.0 g, VK 10.0 g, VB₁ 5.0 g, VB₂ 15.0 g, VB₆ 8.0 g, VB₁₂ 0.02 g, 泛酸钙 calcium pantothenate 25.0 g, 烟酸 niacin 40.0 g, 生物素 biotin 0.08 g, 肌醇 inositol 150.0 g, 叶酸 folic acid 2.5 g。

2) 每千克矿物质预混料含有 One kilogram of mineral premix contained the following: MgSO₄ · H₂O 12 g, MgCl₂ 90.0 g, Ca (IO₃)₂ 0.06 g, KCl 36.0 g, Met-Cu 3.0 g, ZnSO₄ · H₂O 10.0 g, FeSO₄ · H₂O 1.0 g, Met-Co 0.25 g, NaSeO₃ 0.003 6 g。

3) 营养水平均为测定值。Nutrient levels were measured values.

1.3 样品采集

饲养试验结束时,禁食 24 h 后计数、称重,统

计存活率。每个重复随机选取 10 尾虾放入 120 mg/L MS-222 溶液进行麻醉,采集对虾血淋巴,于 4 °C 下 4 000 r/min 离心 10 min,制备血清样品,-80 °C 保存备用。每个重复另随机取 8 尾虾用于体成分分析。

1.4 指标测定

1.4.1 生长性能计算

增重率(weight gain ratio, WGR, %) = $100 \times$
(终末均重-初始均重)/初始均重;

饲料系数(feed conversion ratio, FCR) = 摄食
饲料干重/(终末均重-初始均重);

摄食率(feed intake, FI, %/d) = $100 \times$ 投料总量/
[(初始均重+终末均重) \times 养殖天数/2];

存活率(survival rate, SR, %) = $100 \times$
终末虾尾数/初始虾尾数。

1.4.2 试验饲料和全虾营养成分含量测定

试验饲料和全虾营养成分含量的测定参照 AOAC (2003) [15] 的方法。其中,水分含量采用 105 °C 常压干燥法进行测定,粗蛋白质含量采用凯氏定氮法进行测定,粗脂肪含量采用乙醚抽提法进行测定,粗灰分含量采用 550 °C 灼烧法进行测定。

1.4.3 血清生化指标分析

血清总蛋白(total protein, TP)、葡萄糖(glucose, GLU)、胆固醇(cholesterol, CHO)、甘油三酯(triglyceride, TG)含量及谷草转氨酶(glutamic oxaloacetic transaminase, GOT)、谷丙转氨酶(glutamic-pyruvic transaminase, GPT)活性采用 Beckman Synchron CX5 全自动生化分析仪测定。

1.4.4 血清免疫和抗氧化指标分析

血清溶菌酶(lysozyme, LYZ)、酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)活性及总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)采用试剂盒测定,所用试剂盒均购自南京建成生物工程研究所,具体测定方法参照试剂盒所附说明书。

1.5 亚硝酸氮应激试验

56 d 的养殖试验结束后,选取每组 3 个重复,每个重复 20 尾对虾,进行应激试验。应激试验停止循环水,每组设 3 个应激试验缸,应激持续 120 h,应激源为亚硝酸钠(NaNO_2),向养殖系统

中添加 NaNO_2 使氮浓度为 20 mg/L [16]。试验期间继续投喂试验饲料,观察并记录各组对虾 0、24、48、72、96、120 h 内死亡情况,计算 120 h 内的累积死亡率(cumulative mortality rate, CMR)。

累积死亡率(%) = $100 \times$ 应激后试验鱼死亡
尾数/应激前试验鱼尾数。

1.6 数据统计与分析

试验数据用平均值 \pm 标准误(mean \pm SD)表示,采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。先对试验数据开展方差齐性检验,满足方差齐性条件则进行单因素方差分析(one-way ANOVA),差异显著再用 Tukey's 检验方法进行多重比较;方差齐性条件不满足,则用 Dunnett's T3 检验法进行多重比较。差异显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 生长性能

凡纳滨对虾的增重率、摄食率、饲料系数和存活率如表 2 所示。与未添加组相比,饲料中添加不同水平 GABA 均显著提高了凡纳滨对虾的增重率和摄食率($P < 0.05$)。各 GABA 添加组凡纳滨对虾的饲料系数均低于未添加组,但各组之间无显著差异($P > 0.05$)。各组凡纳滨对虾的存活率没有显著差异($P > 0.05$)。二次回归模型拟合增重率和饲料 GABA 添加量,通过分析表明凡纳滨对虾饲料中 GABA 的适宜添加量为 154.79 mg/kg (图 1)。

2.2 体成分

凡纳滨对虾全虾的干物质、粗蛋白质、粗脂肪、粗灰分含量如表 3 所示。各组凡纳滨对虾的全虾干物质、粗蛋白质、粗脂肪、粗灰分含量没有显著差异($P > 0.05$)。

2.3 血清生化指标

凡纳滨对虾血清总蛋白、葡萄糖、胆固醇、甘油三酯含量与谷丙转氨酶、谷草转氨酶活性如表 4 所示。100 和 150 mg/kg GABA 组凡纳滨对虾血清胆固醇和甘油三酯含量显著高于未添加组($P < 0.05$)。与未添加组相比,饲料中添加 100、150、200 和 250 mg/kg GABA 显著提高了凡纳滨对虾血清总蛋白含量($P < 0.05$),显著降低了凡纳滨对虾血清谷丙转氨酶活性($P < 0.05$)。50、100 和 150 mg/kg GABA 组凡纳滨对虾血清谷草转氨酶活性显著低于未添加组($P < 0.05$)。饲料中添加不

同水平 GABA 对凡纳滨对虾血清葡萄糖含量没有显著影响 ($P>0.05$)。

表 2 饲料中添加 γ -氨基丁酸对凡纳滨对虾生长性能的影响

Table 2 Effects of dietary GABA supplemental level on growth performance of *Litopenaeus vannamei*

项目 Items	γ -氨基丁酸添加量 GABA supplemental levels/(mg/kg)					
	0	50	100	150	200	250
初始均重 IBW/g	0.68±0.01	0.69±0.01	0.68±0.01	0.69±0.02	0.68±0.02	0.68±0.01
增重率 WGR/%	669.95±30.16 ^a	715.22±47.21 ^b	789.36±20.31 ^c	782.12±29.52 ^c	745.07±39.47 ^{bc}	747.24±33.18 ^{bc}
摄食率 FI/(%/d)	2.81±0.12 ^a	3.08±0.08 ^b	3.21±0.11 ^c	3.12±0.07 ^b	3.11±0.04 ^b	3.07±0.13 ^b
饲料系数 FCR	1.23±0.06	1.18±0.03	1.15±0.01	1.21±0.03	1.11±0.08	1.09±0.04
存活率 SR/%	87.50±3.68	86.67±2.23	83.33±3.75	89.17±5.01	83.33±3.75	85.50±1.39

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts were significantly different ($P<0.05$). The same as below.

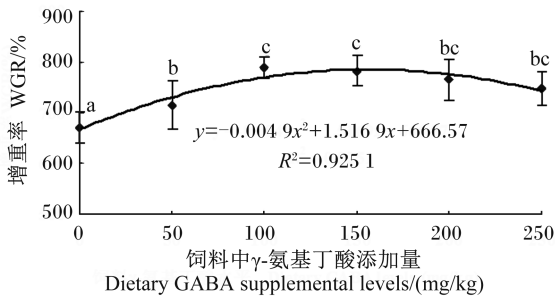


图 1 饲料中 γ -氨基丁酸添加量与凡纳滨对虾增重率的关系

Fig.1 Relationship between dietary GABA supplemental level and WGR of *Litopenaeus vannamei*

2.4 血清免疫和抗氧化指标

凡纳滨对虾血清溶菌酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶活性和总抗氧化能力如表 5 所示。与未添加组和 50 mg/kg GABA 组相比,饲料中添加 100、150 和 200 mg/kg GABA 显著提高了凡纳滨对虾血清溶菌酶和超氧化物歧化酶活性 ($P<0.05$)。100 mg/kg GABA 组凡纳滨对虾血清酸性磷酸酶活性显著高于未添加组以及 50、250 mg/kg GABA 组 ($P<0.05$)。100、150 mg/kg GABA 组凡纳滨对虾血清过氧化氢酶活性和总抗氧化能力显著高于未添加组 ($P<0.05$)。饲料中添加不同水平 GABA 对凡纳滨对虾血清碱性磷酸酶活性无显著影响 ($P>0.05$)。

表 3 饲料中 γ -氨基丁酸添加水平对凡纳滨对虾体成分的影响 (干物质基础)

Table 3 Effects of dietary GABA supplemental level on body composition of *Litopenaeus vannamei* (DM basis) %

项目 Items	γ -氨基丁酸添加量 GABA supplemental levels/(mg/kg)					
	0	50	100	150	200	250
干物质 Dry matter	24.12±0.39	23.39±0.50	24.21±1.02	23.87±1.14	23.34±0.69	24.17±0.39
粗蛋白质 Crude protein	68.59±1.31	69.32±1.06	68.91±0.93	68.96±0.96	69.89±0.81	68.52±0.68
粗脂肪 Crude lipid	5.52±0.59	5.11±0.47	6.02±0.25	5.57±0.61	5.48±0.32	5.98±0.55
粗灰分 Ash	12.21±0.19	11.96±0.25	12.21±0.31	11.89±0.18	12.14±0.69	11.50±1.01

2.5 抗亚硝酸氮应激能力

凡纳滨对虾亚硝酸氮应激 0、24、48、72 和 96 h 的累积死亡率如表 6 所示。应激 96 h 时,与未添加组相比,饲料中添加 100、150、200 和 250 mg/kg GABA 显著降低了凡纳滨对虾的累积死亡率 ($P<0.05$)。

3 讨论

关于 GABA 提高生产性能和抗环境应激的报道多见于猪、羊和鸡等陆生动物。在断奶仔猪中,饲料中添加 20 mg/kg GABA 可显著增加平均日增重和平均日采食^[17]。在绵羊中的研究发现,灌服 GABA 可以显著提高生长期羔羊的平均日增

重^[18]。在鸡上,饲料中添加 30 mg/kg GABA 显著增加了崇仁麻鸡的平均日增重^[19]。在肉鸭上,饲料中添加 120~150 mg/kg GABA 显著增加了平均日增重、饲料转化率和平均日采食量^[20]。本试验发现,饲料中添加 50~250 mg/kg GABA 显著提高了凡纳滨对虾的增重率。GABA 广泛分布于下丘脑,其可能通过调节下丘脑食欲相关因子表达促进动物的采食^[21]。饲料中添加 30~150 mg/kg GABA 能够改善建鲤幼鱼的生长性能^[22],在鳊鱼脑中注射一定剂量的 GABA 可以显著提高摄食量和神经肽 Y 基因的表达^[23]。本试验中,饲料中添加 GABA 显著提高了凡纳滨对虾的摄食率, GABA 可能通过调控下丘脑食欲相关因子表达促进凡纳滨对虾摄食,从而提高凡纳滨对虾的增重率。水生动物血液代谢物受饱食、生长、水温、健康状况、盐度和溶氧浓度等诸多因素的影响,血液指标仍然能够反映动物的健康程度和生理反应,被广泛用于评估水生新陈代谢水平和营养状况^[24-25]。血清总蛋白具有维持渗透压、运输、免疫、修补组织和贮存能量等作用,其含量升高表明机体蛋白质合成和免疫功能增加^[26]。本试验中,饲料中添加 100~250 mg/kg GABA 显著提高了凡纳滨对虾血清总蛋白含量,表明饲料中添加 GABA 促进了对虾的蛋白质合成,这可能是由于 GABA 提高了能量利用,从而减少了蛋白质作为能量的消耗。与本研究相似,刘德稳等^[27]研究发现饲料中添加 GABA 可以提高试验猪血清总蛋白含量。胆固醇是体内重要的固醇类化合物,血液中的胆固醇主要由肝脏合成,其次由饲料提供,血清胆固

醇含量的高低反映了机体脂类吸收和肝脏脂肪代谢状况。血液甘油三酯含量与外源性供给、内源性产生和分解代谢的速度有关,可间接反映脂类在肝脏的沉积情况。脂蛋白与肝脂结合通过高尔基体分泌到细胞质,随血液运出肝脏使肝脏脂肪和血液脂肪代谢维持平衡,当脂蛋白合成能力不足时,肝细胞中的脂肪就不能及时随血液运出,脂肪在肝脏积累,导致肝脏中脂肪含量升高,而血液中的脂肪含量则会降低^[25]。本试验中,饲料中添加 100 和 150 mg/kg GABA 显著提高了凡纳滨对虾血清胆固醇和甘油三酯含量,表明 GABA 促进了凡纳滨对虾对饲料中脂肪的吸收和代谢,减少了脂肪在肝胰腺中的积累。GABA 在 γ -氨基丁酸转氨酶作用下生成琥珀酸半醛再转化为琥珀酸进入三羧酸循环,可能为机体代谢提供了必要的能量。研究表明,丁酸能够为鱼类提供能量,从而节约蛋白质用于生长^[28]。研究发现,饲料中添加 90 mg/kg GABA 能够提高建鲤血清总蛋白、白蛋白和胆固醇含量,降低血清尿素氮含量和转氨酶活性^[20]。血清谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性是判断肝脏损害程度的重要依据,当肝细胞遭受破坏或细胞膜通透性增加时,血液中这 2 种酶活性显著升高^[29]。在崇仁麻鸡中,饲料中添加 GABA 对血清总蛋白、白蛋白和尿酸含量没有显著影响,但显著降低了血清谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性^[19]。本试验也发现,饲料中添加 100 和 150 mg/kg GABA 显著降低了凡纳滨对虾血清谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性,进一步表明了 GABA 对凡纳滨对虾肝胰脏功能具有保护作用。

表 4 饲料中添加 γ -氨基丁酸对凡纳滨对虾血清生化指标的影响

Table 4 Effects of dietary GABA supplemental level on serum biochemical indices of *Litopenaeus vannamei*

项目 Items	γ -氨基丁酸添加量 GABA supplemental levels/(mg/kg)					
	0	50	100	150	200	250
总蛋白 TP/(g/L)	68.81±1.06 ^a	75.84±5.21 ^{ab}	89.15±6.18 ^b	80.79±6.14 ^b	83.05±7.16 ^b	81.68±4.59 ^b
葡萄糖 GLU/(mmol/L)	4.00±0.26	4.30±0.65	3.39±0.61	4.53±0.24	3.06±0.87	3.81±0.26
胆固醇 CHO/(mmol/L)	0.78±0.10 ^a	1.13±0.12 ^{ab}	1.31±0.16 ^b	1.51±0.08 ^b	1.04±0.12 ^{ab}	1.18±0.10 ^{ab}
甘油三酯 TG/(mmol/L)	0.89±0.11 ^a	1.25±0.13 ^a	2.94±0.37 ^b	2.68±0.44 ^b	1.75±0.120 ^{ab}	1.84±0.39 ^{ab}
谷丙转氨酶 GPT/(U/L)	476.54±42.08 ^b	425.31±51.04 ^{ab}	379.02±50.15 ^a	383.61±30.45 ^a	409.11±39.86 ^a	401.07±31.06 ^a
谷草转氨酶 GOT/(U/L)	491.48±57.12 ^b	413.06±40.18 ^a	403.21±45.47 ^a	408.84±60.15 ^a	454.22±30.48 ^{ab}	434.06±37.01 ^{ab}

表5 饲料中添加 γ -氨基丁酸对凡纳滨对虾血清免疫和抗氧化指标的影响Table 5 Effects of dietary GABA supplemental level on serum immune and antioxidant indices of *Litopenaeus vannamei*

项目 Items	γ -氨基丁酸添加量 GABA supplemental levels/(mg/kg)					
	0	50	100	150	200	250
溶菌酶 LYZ/(U/mL)	24.38±1.47 ^a	31.08±2.15 ^a	66.76±2.62 ^b	72.41±1.02 ^b	77.14±3.69 ^b	49.16±3.11 ^{ab}
酸性磷酸酶 ACP/(U/L)	12.23±0.78 ^a	15.07±1.18 ^a	26.85±3.04 ^b	21.46±3.18 ^{ab}	19.73±1.07 ^{ab}	15.18±2.12 ^a
碱性磷酸酶 ALP/(U/L)	45.34±5.18	39.61±3.02	51.67±5.29	31.08±5.06	43.49±3.14	47.56±6.13
超氧化物歧化酶 SOD/(U/mL)	181.02±10.75 ^a	176.53±15.39 ^a	293.76±17.93 ^c	241.08±20.13 ^b	221.16±31.27 ^b	198.51±11.27 ^{ab}
过氧化氢酶 CAT/(U/mL)	1.58±0.35 ^a	1.87±0.12 ^{ab}	2.89±0.19 ^b	2.78±0.15 ^b	2.17±0.37 ^{ab}	2.01±0.14 ^{ab}
总抗氧化能力 T-AOC/(U/mL)	4.07±0.21 ^a	4.42±0.19 ^a	5.81±0.44 ^b	6.14±0.48 ^b	5.07±0.34 ^{ab}	5.27±0.27 ^{ab}

表6 饲料中添加 γ -氨基丁酸对凡纳滨对虾抗亚硝酸氮应激能力的影响Table 6 Effects of dietary GABA supplemental level on anti-nitrite-nitrogen stress ability of *Litopenaeus vannamei* %

项目 Item	时间 Time/h	γ -氨基丁酸添加量 GABA supplemental levels/(mg/kg)					
		0	50	100	150	200	250
累积死亡率 CMR	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
	24	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
	48	0.00±0.00	3.33±3.33	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
	72	8.32±2.78	10.56±4.66	0.00±0.00	0.00±0.00	3.33±3.33	2.22±2.22
	96	25.63±9.69	15.36±5.65	8.48±4.53	6.03±3.47	15.96±6.07	12.18±4.73
	120	50.98±6.04 ^c	40.15±3.50 ^{abc}	19.54±3.21 ^a	26.73±4.20 ^{ab}	33.46±7.65 ^{ab}	31.64±6.07 ^{ab}

在密度集约化养殖系统中,水生动物放养密度增大,过度投喂的高蛋白质残饵和含氮排泄物不断沉积,导致亚硝酸盐积累,成为诱发鱼病的主要环境胁迫因子^[30]。水体环境中亚硝酸盐浓度升高对水生动物产生多种生理毒性,造成生长抑制、组织损伤和内分泌紊乱等,影响免疫系统和抗病力,甚至导致死亡^[31]。研究表明,饲料中添加 GABA 能够增强青鳉、鲫、泥鳅和鲮等水生动物抵抗缺氧应激的能力^[11-14]。本研究发现,饲料中添加 100~250 mg/kg GABA 可以显著降低凡纳滨对虾亚硝酸氮应激后的累积死亡率。凡纳滨对虾抗亚硝酸氮应激能力的提高可能与 GABA 对凡纳滨对虾免疫和抗氧化功能的调节作用相关。溶菌酶是非特异性免疫系统的主要成分,在对虾免疫中起重要的作用,是吞噬细胞杀菌的物质基础^[32]。研究发现,养殖水体中的溶解态铜污染和氨氮应激显著降低了凡纳滨对虾的溶菌酶活性,导致对虾免疫功能减弱^[32-33]。本试验中,饲料中添加 100、150 和 200 mg/kg GABA 显著提高了凡纳滨

对虾血清溶菌酶活性,表明饲料中添加 GABA 对对虾的免疫力有促进作用。动物体内存在酶促防御系统和非酶促防御系统 2 类自由基防御系统,在正常情况下氧化与抗氧化酶防御系统处于动态平衡状态,通过超氧化物歧化酶、过氧化氢酶等消除机体产生的过量活性氧自由基^[34]。总抗氧化能力也与自由基清除能力相关,反映了非酶促防御系统的防御能力,是抗氧化能力的综合指标^[35]。感染白斑病毒的凡纳滨对虾肝胰腺超氧化物歧化酶等活性显著降低,对虾抗氧化功能明显衰退^[36]。本试验中,饲料中添加 100 和 150 mg/kg GABA 显著提高了凡纳滨对虾血清超氧化物歧化酶、过氧化氢酶活性和总抗氧化能力,这与 GABA 增强凡纳滨对虾抗亚硝酸氮应激能力的结果一致。在建鲤中,饲料中添加 90~150 mg/kg GABA 能够显著提高血清和肝胰脏超氧化物歧化酶活性,降低丙二醛含量^[22]。相似的结果更多的出现在陆生动物中,饲喂 GABA 能够改善小鼠的免疫功能;饲料中添加 50 mg/kg GABA 可显著提高蛋鸡血清谷

胱甘肽过氧化物酶和超氧化物歧化酶活性,显著降低血清丙二醛含量^[8]。目前,关于 GABA 对水产动物免疫和抗氧化功能影响的研究还比较少,其作用机制还有待于进一步深入研究。

4 结 论

① 饲料中添加 50~250 mg/kg GABA 可显著提高凡纳滨对虾的摄食率和增重率。

② 饲料添加中 100 和 150 mg/kg GABA 可显著提高凡纳滨对虾血清总蛋白、胆固醇和甘油三酯含量,降低血清谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性。

③ 饲料中添加 100 和 150 mg/kg GABA 可显著提高凡纳滨对虾血清溶菌酶、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶活性和总抗氧化能力。

④ 饲料中添加 100~250 mg/kg GABA 可显著降低凡纳滨对虾亚硝酸氮应激 120 h 时的累积死亡率。

⑤ 以增重率为评价指标,通过二次回归分析得出凡纳滨对虾饲料中 GABA 的适宜添加量为 154.79 mg/kg。

参考文献:

[1] SAOUD I P, DAVIS D A, ROUSE D B. Suitability studies of inland well waters for *Litopenaeus vannamei* culture [J]. *Aquaculture*, 2003, 217 (1/2/3/4): 373-383.

[2] FAO. Fishery and aquaculture statistics [M]. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018.

[3] SHEN M, CUI Y T, WANG R J, et al. Acute response of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* to high-salinity reductions in osmosis-, metabolism-, and immune-related enzyme activities [J]. *Aquaculture International*, 2020, 28 (1): 31-39.

[4] DE MELLO M M M, DE FARIA C D F P, ZANUZZO F S, et al. β -glucan modulates cortisol levels in stressed pacu (*Piaractus mesopotamicus*) inoculated with heat-killed *Aeromonas hydrophila* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 93: 1076-1083.

[5] JAMI M J, KENARI A A, PAKNEJAD H, et al. Effects of dietary β -glucan, mannan oligosaccharide, *Lactobacillus plantarum* and their combinations on growth performance, immunity and immune related gene expression of Caspian trout, *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*,

2019, 91: 202-208.

[6] SHEL P B, JBOWN A, MCLEAN M D. Metabolism and functions of γ -aminobutyric acid [J]. *Trends in Plant Science*, 1999, 4 (11): 446-452.

[7] 马玉华,王斌,孙进,等. γ -氨基酸对高脂膳食小鼠免疫功能的影响 [J]. *免疫学杂志*, 2014, 30 (7): 599-603, 607.

[8] 李慧. γ -氨基酸对高温条件下蛋鸡产蛋性能及抗热应激的影响 [D]. 硕士学位论文. 杭州: 浙江大学, 2010.

[9] ZHANG M, ZOU X T, LI H, et al. Effect of dietary γ -aminobutyric acid on laying performance, egg quality, immune activity and endocrine hormone in heat-stressed Roman hens [J]. *Animal Science Journal*, 2012, 83 (2): 141-147.

[10] AL WAKEEL R A, SHUKRY M, ABDEL A A, et al. Alleviation by gamma amino butyric acid supplementation of chronic heat stress-induced degenerative changes in jejunum in commercial broiler chickens [J]. *Stress*, 2017, 20 (6): 562-572.

[11] 魏智清,杨涓,秋小琮,等. GABA、牛磺酸及枸杞子水浸液对青鳉抗缺氧能力的影响 [J]. *水利渔业*, 2006, 26 (2): 1-3.

[12] 魏智清,杨涓,赵红雪,等. 牛磺酸、 γ -氨基丁酸对鲫抗缺氧能力的影响 [J]. *淡水渔业*, 2006, 36 (1): 7-10.

[13] 魏智清,杨涓,赵红雪,等. 牛磺酸、 γ -氨基丁酸影响泥鳅抗缺氧能力的试验研究 [J]. *农业科学研究*, 2006, 27 (1): 39-41, 58.

[14] 谈永萍,于洪川,魏智清. 牛磺酸、 γ -氨基丁酸对高体鳊抗缺氧能力的影响 [J]. *水利渔业*, 2008, 28 (4): 48-49.

[15] AOAC. Official methods of analysis [S]. 17th ed. Washington, D. C.: Association of Official Analytical Chemists Inc., 2003.

[16] ZHAO H X, CAO J M, WANG A L, et al. Effect of long-term administration of dietary β -1, 3-glucan on growth, physiological, and immune responses in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) [J]. *Aquaculture International*, 2012, 20 (1): 145-158.

[17] 韦习会,赵茹茜,陈杰. 日粮中添加 GABA 对断奶仔猪增重和饲料利用的影响 [J]. *畜牧与兽医*, 2009, 41 (8): 40-42.

[18] 吴欣. γ -氨基酸对生长期绵羊生长性能和血液相关指标的影响 [D]. 硕士学位论文. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2015.

[19] 陈黎龙,游金明,黄建珍,等. γ -氨基丁酸对崇仁麻

- 鸡生长性能和血液生理生化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2010, 22(2): 452-459.
- [20] 刘德稳, 乔建光, 吕俊龙, 等. 日粮 γ -氨基丁酸对肉鸭生产性能及胴体品质的影响[J]. 畜牧与兽医, 2010, 42(10): 53-55.
- [21] WANG D M, WANG C, LIU H Y, et al. Effects of rumen-protected γ -aminobutyric acid on feed intake, lactation performance, and antioxidative status in early lactating dairy cows [J]. Journal of Dairy Science, 2013, 96(5): 3222-3227.
- [22] 陈秀梅. γ -氨基丁酸对建鲤生长、免疫和抗氨氮胁迫的影响[D]. 硕士学位论文. 长春: 吉林农业大学, 2015.
- [23] 黄东, 梁旭方, 袁小琛, 等. γ -氨基丁酸对鳊摄食和食欲的影响(英文)[J]. 水生生物学报, 2017, 41(6): 1311-1317.
- [24] LI J T, LI W T, ZHANG X M. Effects of dissolved oxygen, starvation, temperature, and salinity on the locomotive ability of juvenile Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis* [J]. Ethology Ecology & Evolution, 2019, 31(2): 155-172.
- [25] LI T Y, LI E C, SUO Y T, et al. Energy metabolism and metabolomics response of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* to sulfide toxicity [J]. Aquatic Toxicology, 2017, 183: 28-37.
- [26] PERAZZOLO L M, GARGIONI R, OGLIARI P, et al. Evaluation of some hemato-immunological parameters in the shrimp *Farfantepenaeus paulensis* submitted to environmental and physiological stress [J]. Aquaculture, 2002, 214(1/2/3/4): 19-33.
- [27] 刘德稳, 吕俊龙, 张彦庭. γ -氨基丁酸对生长肥育猪生长性能及血清生化指标的影响[J]. 饲料与畜牧, 2009(6): 44-47.
- [28] LEE C S, LIM C, GATLIN III D M, et al. Dietary nutrients, additives, and fish health [M]. New York: John Wiley & Sons, 2015.
- [29] 王媛, 杨康健, 吴中, 等. 氯氰菊酯对鲫鱼血清中谷丙转氨酶及谷草转氨酶活力的影响[J]. 水产科学, 2005(9): 8-10.
- [30] SUN S M, GE X P, XUAN F J, et al. Nitrite-induced hepatotoxicity in bluntnose bream (*Megalobrama amblycephala*): the mechanistic insight from transcriptome to physiology analysis [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2014, 37(1): 55-65.
- [31] SILVA M J D S, DA COSTA F F B, LEME F P, et al. Biological responses of neotropical freshwater fish *Lophiosilurus alexandri* exposed to ammonia and nitrite [J]. Science of the Total Environment, 2018, 616-617: 566-1575.
- [32] 宋泰, 黄艇, 张晨捷, 等. 养殖水体中二种溶解态铜对凡纳滨对虾生长和免疫功能的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2019, 28(1): 75-83.
- [33] 方金龙, 王元, 房文红, 等. 氨氮胁迫下白斑综合征病毒对凡纳滨对虾的致病性[J]. 南方水产科学, 2017, 13(4): 52-58.
- [34] TRENZADO C E, MORALES A E, PALMA J M, et al. Blood antioxidant defenses and hematological adjustments in crowded/uncrowded rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed on diets with different levels of antioxidant vitamins and HUFA [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2009, 149(3): 440-447.
- [35] POHLENZ C, BUENTELLO A, MWANGI W, et al. Arginine and glutamine supplementation to culture media improves the performance of various channel catfish immune cells [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2012, 32(5): 762-768.
- [36] NIU J, XIE S W, FANG H H, et al. Dietary values of macroalgae *Porphyra haitanensis* in *Litopenaeus vannamei* under normal rearing and WSSV challenge conditions: effect on growth, immune response and intestinal microbiota [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2018, 81: 135-149.

Effects of Dietary γ -Aminobutyric Acid Supplemental Level on Growth Performance, Serum Biochemical Indices and Anti-Nitrite-Nitrogen Stress Ability of *Litopenaeus vannamei*

ZHAO Hongxia^{1,2,3} CHEN Xiaoying^{1,2,3*} WANG Guoxia^{1,2,3} PENG Kai^{1,2,3}
HUANG Yanhua^{1,2,3} CHEN Bing^{1,2,3**} CAO Junming^{1,2,3**}

(1. Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China; 2. Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science in South China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangzhou 510640, China; 3. Guangdong Key Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Guangzhou 510640, China)

Abstract: This experiment was conducted to investigate the effects of dietary γ -aminobutyric acid (GABA) supplemental level on growth performance, serum biochemical indices and anti-nitrite-nitrogen stress ability of *Litopenaeus vannamei*. Six isonitrogenous and isolipidic diets were formulated to contain graded levels of GABA (0, 50, 100, 150, 200 and 250 mg/kg of diet), by adding GABA. Nine hundred and sixty *Litopenaeus vannamei* shrimp with an initial average body weight of (0.68±0.02) g were randomly divided into 6 groups with 4 replicates of 40 shrimp each and each group was fed with one of the diets. After 56 d feeding, shrimp were exposed to nitrite-nitrogen for 120 h. The results showed as follows: 1) the weight gain rate (WGR) and feed intake (FI) of shrimp fed diet with 50 to 250 mg/kg GABA were significantly higher than those of shrimp fed diet without GABA ($P<0.05$). 2) Compared with the no-adding group, diet with 100 and 150 mg/kg GABA significantly increased the contents of serum total protein (TP), triglyceride (TG) and cholesterol (CHO) ($P<0.05$), and significantly decreased the activities of serum glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamic-pyruvic transaminase (GPT) ($P<0.05$). 3) The serum lysozyme (LYZ), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) activities and total antioxidant capacity (T-AOC) in 100 and 150 mg/kg GABA groups were significantly higher than those in no-adding group ($P<0.05$). 4) After 120 h challenge to nitrite-nitrogen stress, the cumulative mortality rate in 100, 150, 200 and 250 mg/kg GABA groups was significantly lower than that in no-adding group ($P<0.05$). In conclusion, dietary supplemented with GABA can improve the FI, WGR and anti-nitrite-nitrogen stress ability of *Litopenaeus vannamei*. Using WGR as the evaluation index, the optimal dietary GABA supplemental level is estimated to be 154.79 mg/kg of diet by quadratic regression analysis. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(9):4251-4259]

Key words: γ -aminobutyric acid; *Litopenaeus vannamei*; growth performance; serum biochemical indices; nitrite-nitrogen stress

* Contributed equally

** Corresponding authors: CHEN Bing, associate professor, E-mail: chenbing114@163.com; CAO Junming, professor, E-mail: junmcao@163.com