

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2011.01115

饲料中添加核苷酸对凡纳滨对虾幼虾生长、肠道形态及抗氧化酶活力的影响

许丹丹^{1,2}, 曹俊明¹, 黄燕华¹, 李雅琪², 蓝汉冰¹, 陈冰¹, 陈晓瑛^{1,2},
严晶^{1,3}, 张荣斌^{1,3}

1. 广东省农业科学院 畜牧研究所, 广东 广州 510640;
2. 华南农业大学 动物科学学院 水产养殖系, 广东 广州 510642;
3. 华中农业大学 水产学院, 湖北 武汉 430070.

摘要: 本实验旨在研究外源核苷酸混合物对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)幼虾生长性能、体组成、中肠肠道形态和抗氧化酶活力的影响。选取 960 尾初始体质量为 (1.01 ± 0.02) g 的凡纳滨对虾, 随机分为 8 组, 分别投喂基础饲料和添加 5 种核苷酸混合物(5'-腺苷酸 5'-胞苷酸 5'-尿苷酸二钠:5'-肌苷酸二钠 5'-鸟苷酸二钠= 1 1 1 1 1, mix-NT)的实验饲料, 各实验组添加量分别为 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 和 1.2 g/kg 饲料, 养殖期为 7 周。结果显示, 饲料中添加 5 种核苷酸混合物对凡纳滨对虾的特定生长率(SGR)和饲料系数(FCR)影响不显著($P>0.05$)。外源核苷酸显著影响凡纳滨对虾全虾水分含量($P<0.05$), 但对全虾粗蛋白、粗脂肪和灰分含量影响不显著($P>0.05$)。肝胰指数(HSI)随饲料中核苷酸添加量的增加而显著升高($P<0.05$), 在 0.6 g/kg 组达到最高。0.4 g/kg 组的肝胰腺谷草转氨酶(GOT)和谷丙转氨酶(GPT)活力及尿酸(UA)含量最低, 但与对照组相比差异均不显著($P>0.05$)。中肠肠壁厚度和肠绒毛高度均随着核苷酸添加量的增加呈先升高后降低的趋势, 其中添加量为 0.1 ~ 0.8 g/kg 组的肠壁厚度显著高于其他组($P<0.05$); 各组间的肠绒毛高度无显著性差异($P>0.05$)。饲料中添加核苷酸混合物可显著提高凡纳滨对虾肝胰腺碱性磷酸酶(AKP)活力和总抗氧化能力(T-AOC)($P<0.05$), 两者的最高值分别出现在 0.2 g/kg 组和 0.4 g/kg 组。各添加组血清碱性磷酸酶(AKP)和超氧化物歧化酶(SOD)活力与对照组相比差异均不显著($P>0.05$)。结果表明, 饲料中添加一定量的 5 种核苷酸混合物有助于改善凡纳滨对虾肠道形态, 增强机体的抗氧化能力。

关键词: 凡纳滨对虾; 核苷酸; 生长; 肠道形态; 抗氧化

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2011)05-1115-10

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)具有抗逆能力强、生长速度快、饲料转化效率高、加工出肉率高等诸多优点, 是中国对虾的主导养殖品种和重要的出口水产品之一。当前养殖环境污染日益严重, 加之高密度养殖条件下许多应激因子的刺激, 使对虾的生长性能、肝胰腺和肠道功能以及免疫能力等受到很大影响, 制约着对虾养殖业的可持续发展。近年来, 通过营养调控途径提高

凡纳滨对虾的抗氧化能力和免疫力日益成为人们关注的热点。

核苷酸是生物体内一类低分子化合物, 是生物体的基本组成成分, 在生物体内具有调节能量代谢、编码遗传信息、传递细胞信号、作为辅酶等重要的生理和生化功能^[1]。核苷酸是一种条件必需的营养物质, 当动物处于免疫应激、肝损伤、饥饿及快速生长的情况下, 内源核苷酸往往不能

收稿日期: 2010-11-25; 修订日期: 2011-01-26.

基金项目: 广东省中国科学院合作项目(2009B091300136); 广东省自然科学基金研究团队项目(10351064001000000).

作者简介: 许丹丹(1986-), 女, 硕士研究生, 主要从事水产经济动物营养与饲料学研究. E-mail: dandxu2008@163.com

通信作者: 曹俊明, 研究员, 主要从事水产动物营养与饲料学研究. E-mail: junmcao@163.com

满足各种代谢旺盛的组织和细胞的需要,这时补充外源核苷酸尤为重要^[2]。饲料核苷酸、核苷可以加快动物的生长速度和提高动物的生产性能^[3-4],增加肠黏膜的核酸和蛋白质含量以及肝脏的核酸含量,并能促进肠绒毛的生长,增加肠壁厚度^[5-6],增强巨噬细胞的吞噬作用^[7-8]以及强化自然杀伤细胞的活力^[9]。在水产动物研究中也发现了核苷酸类似的功能。Borda 等^[10]对海洋鲤科(Cyprinidae)幼鱼的研究表明,外源核苷酸在鱼类和甲壳类等水产动物的早期阶段具有促生长的作用。饲料中添加核苷酸可明显增加鲑(*Salmo salar*)肠道的肠皱褶高度,并且显著提高肠皱襞基底膜厚度和肠道表面积^[11]。核苷酸还可影响鱼类^[12]和虾类^[13]先天免疫系统的激素分泌和细胞组成。本研究室前期的实验结果亦显示,添加适量的酵母核苷酸粗提物能提高凡纳滨对虾的增重率,降低饲料系数,提高全虾粗蛋白和粗脂肪含量^[14],但有关核苷酸混合物对甲壳动物肝胰腺功能及肠道形态的研究尚未见报道。因此,本实验以凡纳滨对虾为

研究对象,观测了饲料中添加 5 种核苷酸混合物(5'-腺苷酸 5'-胞苷酸 5'-尿苷酸二钠:5'-肌苷酸二钠 5'-鸟苷酸二钠= 1 1 1 1 1)对其生长性能、体组成、肝胰腺生理功能、肠道形态及抗氧化酶活力的影响,以便为核苷酸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 核苷酸混合物

5'-胞苷酸、5'-腺苷酸、5'-尿苷酸二钠、5'-肌苷酸二钠和 5'-鸟苷酸二钠均由南京同凯兆业生物技术有限公司提供,纯度均大于 99%。5 种核苷酸按照质量比为 1 1 1 1 1(m/m)的比例混合,配制实验用核苷酸混合物(mix-NT)。

1.2 实验饲料

以鱼粉、酪蛋白、大豆浓缩蛋白为主要蛋白源,鱼油为主要脂肪源,高筋面粉为糖源配制的基础饲料,其配方和营养组成如表 1 所示。向基础饲料中分别添加 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、

表 1 基础饲料配方及营养组成
Tab. 1 Formulation and nutrient composition of the basal diet

				%	
成分 ingredient	含量 content	成分 ingredient	含量 content		
鱼粉 fish meal	5.00	磷酸二氢钙 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	3.00		
大豆浓缩蛋白 soy protein concentrate	26.40	维生素预混料 ^a vitamin premix	2.60		
酪蛋白 casein	20.00	矿物质预混料 ^b mineral premix	3.00		
高筋面粉 strong flour	23.60	胆固醇 cholesterol	0.70		
鱼油 fish oil	6.50	海藻酸钠 sodium alginate	2.00		
大豆磷脂(50%) soybean lecithin	2.00	氯化胆碱(50%)choline chloride	1.00		
微晶纤维素 cellulose	4.00	乙氧基喹啉 ethoxy quinoline	0.10		
维 C 酯 vitamin C	0.10	总计 total	100.00		
营养水平 nutrient levels					
粗蛋白 crude protein	43.37	水分 moisture	5.56		
粗脂肪 ether extract	10.41	灰分 ash	9.15		

注: a. 1 kg 维生素预混料含有: 维生素 A, 4 000 000 IU; 维生素 D, 2000 000 IU; 维生素 E, 30 g; 维生素 K₃, 10 g; 维生素 B₁, 5 g; 维生素 B₂, 15 g; 维生素 B₆, 8 g; 泛酸钙, 25 g; 叶酸, 2.5 g; 生物素, 0.08 g; 烟酸, 40 g; 维生素 B₁₂, 0.02 g, 肌醇, 150 g. b. 1 kg 矿物质预混料含有: MgSO₄·H₂O, 12 g; KCl, 90 g; 蛋氨酸-铜, 3 g; FeSO₄·H₂O, 1 g; ZnSO₄·H₂O, 10 g; Ca(IO₃)₂, 0.06 g; 蛋氨酸-钴, 0.16 g; NaSeO₃, 0.003 6 g.
Note: a. Content per kg vitamin premix: Vitamine A, 4 000 000 IU; VitamineD 2 000 000, IU; VitamineE 30 g; VitamineK₃, 10 g; VitamineB₁, 5 g; VitamineB₂, 15 g; VitamineB₆ 8g; calcium pantothenate, 25 g; folic acid, 2.5 g; biotin, 0.08 g; nicotinic acid, 40 g; VitamineB₁₂, 0.02 g; inositol, 150 g. b. Content per kg mineral premix: MgSO₄·H₂O, 12 g; KCl, 90 g; Met-Cu, 3 g; FeSO₄·H₂O, 1 g; ZnSO₄·H₂O, 10 g; Ca(IO₃)₂, 0.06 g; Met-Co, 0.16 g; NaSeO₃, 0.003 6 g.

1.2 g/kg(饲料)的核苷酸混合物配制成7种实验饲料, 记为G0(对照组)、G0.1、G0.2、G0.4、G0.6、G0.8、G1.0和G1.2。饲料原料粉碎后过60目筛, 微量成分采取逐级扩大法添加, 核苷酸混合物先溶于水, 然后混入各组饲料中。全部混合均匀后用SLX-80型双螺杆挤压机制成直径为1.0 mm的饲料, 在55℃下烘干, 冷却后放入密封袋中于-20℃冰箱中保存待用。

1.3 实验虾及饲养管理

凡纳滨对虾购自珠海斗门虾苗场, 饲养实验在广东省农业科学院畜牧研究所水产研究中心室内循环水养殖系统中进行。循环流水过滤玻璃纤维桶容积为350 L(直径80 cm, 高70 cm, 水体容积300 L), 进水速率为1.4 L/min。水温20~26℃, 盐度4.5~5.5, pH 7.7~8.0, 溶解氧>5 mg/L, 氨氮0.02 mg/L、亚硝酸盐0.2 mg/L。

实验虾先在室外水泥池中饲养4周至体质量约1.01 g, 然后选择960尾对虾随机分成8组, 每组设3个重复, 每个重复40尾虾, 分别投喂基础饲料和7种实验饲料, 养殖期为7周。采用饱食投喂法, 每天分别在8:00、15:00和20:00分3次投喂, 同时根据摄食情况及时调整投饲量, 投饲后30 min吸出残饵。计算采食量和饲料系数。每天观察对虾健康状况, 记录死亡情况。

1.4 样品采集

实验结束时, 禁食24 h, 称终末体质量, 统计对虾存活率。每个重复随机选取8尾虾用于全虾体成分分析。随机从每个重复取10尾虾, 采集虾血和剥离肝胰腺并制备血清和肝胰腺匀浆上清液。每个重复取4尾虾测定肝胰指数。

1.5 样品分析

1.5.1 生长指标计算 特定生长率(SGR, %/d)=[ln(末均重)-ln(初均重)]×100/饲养天数

存活率(SR, %)=(实验结束时虾尾数/实验开始时放虾尾数)×100

饲料系数(FCR)=摄食量/(终末虾体质量-初始虾体质量)

肝胰指数(HSI, %)=(肝胰腺质量/体质量)×100

1.5.2 常规营养成分分析 采用烘干失重法(GB

6435286)、凯氏定氮法(GB6432286)、索氏抽提法(GB6433286)和高温灼烧法(GB6538286)分别测定全虾水分、粗蛋白、粗脂肪和灰分。

1.5.3 生理生化指标分析 谷草转氨酶(GOT)、谷丙转氨酶(GPT)、尿酸(UA)和碱性磷酸酶(AKP)用日立7600全自动生化分析仪测定, 测定试剂采购自罗氏公司。谷草转氨酶(GOT)和谷丙转氨酶(GPT)的测定采用速率法^[15]; 尿酸(UA)的测定采用尿酸酶过氧化物酶偶联-终点法^[16]。总抗氧化能力(T-AOC)和超氧化物歧化酶(SOD)的测定采用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定, 具体测定方法按照试剂盒的说明进行。

1.5.4 对虾中肠石蜡切片制作 每个重复随机选取4尾对虾, 剪取中肠放入10%的福尔马林溶液中固定, 室温保存。已固定的中肠经修块、冲洗、脱水、透明等步骤制成石蜡切片。

1.6 数据统计

实验数据用平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示, 采用SPSS16.0版软件进行数据分析和统计, 先将数据作单因子方差分析(ANOVA), 若处理间有显著差异, 再作Duncan's多重比较, 当 $P < 0.05$ 时认为差异性显著。

2 结果与分析

2.1 特定生长率、饲料系数和存活率

由表2可见, 饲料中添加5种核苷酸混合物对凡纳滨对虾特定生长率和饲料系数的影响不显著($P > 0.05$), 特定生长率的最大值和饲料系数的最小值均出现在0.6 g/kg核苷酸添加组。各组的存活率均在90%以上, 组间差异不显著($P > 0.05$)。

2.2 体成分

由表3可以看出, 凡纳滨对虾全虾水分含量随饲料核苷酸混合物添加量的升高呈先升后降的趋势, 在G0.4组显著升高($P < 0.05$)。各实验组粗蛋白、粗脂肪和灰分含量与对照组相比差异均不显著($P > 0.05$)。

2.3 肝胰指数、肝胰腺谷丙转氨酶、谷草转氨酶活力及尿酸含量

由表4可知, 随饲料中核苷酸混合物添加量

的升高, 凡纳滨对虾肝胰指数逐渐升高, 在 0.6 g/kg 添加组达到最高, 并显著高于对照组($P<0.05$)。肝胰腺谷草转氨酶、谷丙转氨酶活力和尿酸含量随着核苷酸混合物添加量的增加均呈先降低后升高的趋势, 都在 0.4 g/kg 添加组达到最低值, 但各添加组与对照组相比均无显著性差异($P>0.05$)。

2.4 中肠的肠壁厚度和绒毛高度

由表 5 可知, 凡纳滨对虾中肠肠壁厚度和肠绒毛高度均随核苷酸混合物添加量的增加呈先升高后降低的趋势, 其中添加量为 0.1~0.8 g/kg 组

的肠壁厚度显著高于其他 3 组($P<0.05$); 各组间的绒毛高度差异不显著($P>0.05$)。

2.5 肝胰腺和血清抗氧化酶活力

由表 6 可知, 饲料中添加核苷酸混合物可显著提高凡纳滨对虾肝胰腺碱性磷酸酶(AKP)活力和总抗氧化能力(T-AOC)($P<0.05$), 两者的最高值分别出现在 0.2 g/kg 和 0.4 g/kg 添加组。各组血清碱性磷酸酶活力变化不规律, 组间差异不显著; 与对照组相比, 实验组对虾血清超氧化物歧化酶(SOD)活力呈现升高的趋势, 最高值出现在 0.6

表 2 饲料中添加核苷酸对凡纳滨对虾幼虾生长性能的影响

Tab. 2 Effect of mix-NT added to diets on growth performance of juvenile *Litopenaeus vannamei*

$n=3$; $\bar{x} \pm SD$

组别 group	初始体质量/g initial body weight	终末体质量/g final body weight	特定生长率/(%·d ⁻¹) SGR	饲料系数 FCR	存活率/% survival
G0	1.02±0.01	6.48±0.31	3.77±0.08	1.21±0.05	96.67±3.33
G0.1	1.02±0.01	6.45±0.34	3.77±0.08	1.2±0.03	95.56±3.85
G0.2	1.01±0.01	6.50±0.11	3.79±0.04	1.19±0.04	95.56±3.85
G0.4	1.01±0.01	6.50±0.26	3.80±0.10	1.17±0.01	97.78±3.85
G0.6	1.01±0.02	6.60±0.18	3.83±0.09	1.15±0.04	97.78±1.93
G0.8	1.02±0.02	6.58±0.24	3.81±0.06	1.20±0.06	94.55±4.95
G1.0	1.00±0.04	6.32±0.25	3.76±0.04	1.17±0.01	96.81±3.13
G1.2	1.01±0.05	6.39±0.21	3.77±0.04	1.17±0.02	98.89±1.93

注: G0、G0.1、G0.2、G0.4、G0.6、G0.8、G1.0 和 G1.2 组分别表示向基础饲料中分别添加 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 g/kg(饲料)的核苷酸混合物。

Note: G0(as control), G0.1, G0.2, G0.4, G0.6, G0.8, G1.0, G1.2 (as trial groups) were fed with the basal diet and basal diet added with 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 and 1.2 g/kg(diet) nucleotide admixture, respectively.

表 3 饲料中添加核苷酸对凡纳滨对虾幼虾体组成的影响

Tab. 3 Effect of mix-NT added to diets on whole-body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei*

$n=3$; $\bar{x} \pm SD$; % DW

组别 group	水分 moisture	粗蛋白 crude protein	粗脂肪 ether extract	灰分 ash
G0	73.82±0.57 ^a	69.85±0.81	9.62±0.80	11.78±0.21
G0.1	74.81±1.64 ^{ab}	71.10±2.57	9.38±0.48	11.22±1.23
G0.2	74.89±0.92 ^{ab}	70.21±1.02	9.29±0.74	11.16±0.99
G0.4	75.71±0.70 ^b	70.67±1.28	9.32±0.71	11.23±0.75
G0.6	74.79±0.87 ^{ab}	70.69±1.52	9.88±0.51	11.15±0.92
G0.8	73.75±0.78 ^a	70.65±0.97	9.85±0.09	11.11±1.57
G1.0	73.55±0.61 ^a	70.11±2.29	9.61±0.65	10.87±0.26
G1.2	74.39±0.64 ^{ab}	69.98±1.44	9.76±0.59	11.50±0.87

注: G0、G0.1、G0.2、G0.4、G0.6、G0.8、G1.0 和 G1.2 组分别表示向基础饲料中分别添加 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 g/kg(饲料)的核苷酸混合物。同列上标小写字母不同代表差异显著($P<0.05$)。

Note: G0(as control), G0.1, G0.2, G0.4, G0.6, G0.8, G1.0, G1.2 (as trial groups) were fed with the basal diet and basal diet added with 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 and 1.2 g/kg(diet) nucleotide admixture, respectively. Values in the same line with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

表 4 饲料中添加核苷酸对凡纳滨对虾幼虾肝胰腺谷草转氨酶(GOT)、谷草转氨酶(GPT)活性及尿酸(UA)的影响
Tab. 4 Effect of mix-NT added to diets on GOT, GPT activity and UA in hepatopancreas of juvenile *Litopenaeus vannamei*
n=3; $\bar{x} \pm SD$

组别 group	肝胰指数 /% HIS	谷草转氨酶活性 / (U·L ⁻¹) GOT activity	谷丙转氨酶活性 / (U·L ⁻¹) GPT activity	尿酸 / (mmol·L ⁻¹) UA
G0	4.92±0.39 ^a	1.03±0.32	1.40±0.36	0.55±0.09
G0.1	5.58±0.18 ^{ab}	1.00±0.17	1.13±0.31	0.51±0.06
G0.2	5.59±0.44 ^{ab}	0.97±0.21	1.33±0.31	0.50±0.08
G0.4	5.55±0.39 ^{ab}	0.93±0.15	1.27±0.40	0.49±0.10
G0.6	5.69±0.43 ^b	0.97±0.35	1.33±0.15	0.49±0.08
G0.8	5.30±0.13 ^{ab}	0.93±0.31	1.30±0.10	0.53±0.08
G1.0	5.27±0.25 ^{ab}	1.03±0.25	1.40±0.30	0.52±0.06
G1.2	5.45±0.44 ^{ab}	1.07±0.25	1.47±0.15	0.53±0.04

注: G0、G0.1、G0.2、G0.4、G0.6、G0.8、G1.0 和 G1.2 组分别表示向基础饲料中分别添加 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 g/kg(饲料)的核苷酸混合物。同列上标小写字母不同代表差异显著($P<0.05$)。
Note: G0(as control), G0.1, G0.2, G0.4, G0.6, G0.8, G1.0, G1.2 (as trial groups) were fed with the basal diet and basal diet added with 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 and 1.2 g/kg(diet) nucleotide admixture, respectively. Values in the same line with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

表 5 核苷酸对凡纳滨对虾幼虾中肠肠壁厚度和肠绒毛高度的影响
Tab. 5 Effect of mix-NT on jejunum wall thickness and intestinal villus height of juvenile *Litopenaeus vannamei*
n=3; $\bar{x} \pm SD$; μm

组别 group	肠壁厚度 jejunum wall thickness	绒毛高度 villus height
G0	94.08±3.94 ^a	99.44±11.37
G0.1	106.88±4.62 ^b	94.51±2.23
G0.2	104.96±3.60 ^b	100.02±14.81
G0.4	107.22±3.04 ^b	109.76±11.34
G0.6	105.44±7.91 ^b	99.70±7.78
G0.8	107.86±11.05 ^b	93.24±12.40
G1.0	101.43±3.41 ^a	95.77±3.28
G1.2	102.37±0.56 ^a	96.87±10.45

注: G0、G0.1、G0.2、G0.4、G0.6、G0.8、G1.0 和 G1.2 组分别表示向基础饲料中分别添加 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 g/kg(饲料)的核苷酸混合物。同列上标小写字母不同代表差异显著($P<0.05$)。
Note: G0(as control), G0.1, G0.2, G0.4, G0.6, G0.8, G1.0, G1.2 (as trial groups) were fed with the basal diet and basal diet added with 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 and 1.2 g/kg(diet) nucleotide admixture, respectively. Values in the same line with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

g/kg 组, 比对照组升高 14.06%, 但各实验组与对照组均无显著性差异($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 核苷酸混合物对凡纳滨对虾幼虾生长性能的影响

本实验结果表明, 饲料中添加 5 种核苷酸混

合物, 经过 7 周的饲养, 对凡纳滨对虾幼虾的特定生长率和饲料系数的影响均不显著($P>0.05$)。这与蓝汉冰等^[14]、王广军等^[17]对凡纳滨对虾中的研究结果有差异, 他们分别在基础饲料中添加核苷酸粗提物(有效成分 75%)和酵母核苷酸, 可显著性提高凡纳滨对虾的增重率, 降低饲料系数。有研究报道, 饲料中添加酵母核苷酸或商品核苷酸也可显著促进海鲈(*Dicentrarchus labrax*)^[18]、锦鲤(*Brocarded carp*)幼鱼^[19]、异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)^[12]的生长。出现这些差异的原因是多方面的: 1)可能是由于酵母核苷酸与纯品单核苷酸混合物中的成分不同, 引起生长差异; 2) 酵母核苷酸或者核苷酸粗提物中各种单核苷酸的组成比例不同, 起到不同促生长作用。3) 核苷酸的促生长作用可能与投喂时间密切相关, 如 Li 等^[20]在饲料中添加 5 种核苷酸混合物饲喂美国红鱼(*Sciaenops ocellatus*), 结果显示, 饲养 1 周后, 各实验组美国红鱼的增重和饲料利用率均表现出非常显著的差异($P<0.01$), 但在随后的 3 周养殖中, 以上的差异均消失。因此, 在水产养殖中, 选择何种核苷酸、核苷酸混合物的配比、核苷酸的添加周期、以及饲料中的营养水平等问题仍有待进一步研究。

3.2 核苷酸混合物对凡纳滨对虾幼虾体成分的影响

本实验中, 添加 5 种核苷酸混合物的饲料对凡纳滨对虾的粗蛋白、粗脂肪和灰分含量影响均

表 6 核苷酸对凡纳滨对虾幼虾肝胰腺和血清中抗氧化酶活力的影响
Tab. 6 Effect of mix-NT on antioxidant enzymes in hepatopancreas and serum of juvenile *Litopenaeus vannamei*
n=3; $\bar{x} \pm SD$

组别 group	肝胰腺 hepatopancreas		血清 serum	
	碱性磷酸酶/ (mmol·g ⁻¹) AKP	总抗氧化能力/ (U·mg ⁻¹) T-AOC	碱性磷酸酶/ (mmol·L ⁻¹)AKP	超氧化物歧化酶/ (U·mL ⁻¹) SOD
G0	57.18±10.24 ^{ab}	1.91±0.10 ^a	40.27±6.77	254.08±45.72
G0.1	46.85±3.42 ^{ab}	2.38±0.40 ^{ab}	37.63±5.85	277.99±25.79
G0.2	77.98±7.79 ^c	2.17±0.52 ^{ab}	45.13±8.89	266.47±9.08
G0.4	55.32±7.88 ^{ab}	2.64±0.19 ^b	42.67±11.06	258.12±42.92
G0.6	58.67±11.98 ^b	2.25±0.16 ^{ab}	43.33±8.79	289.81±17.07
G0.8	53.43±7.45 ^{ab}	1.96±0.59 ^{ab}	45.53±8.92	266.18±38.72
G1.0	52.32±10.27 ^{ab}	2.22±0.14 ^{ab}	36.50±6.00	275.15±35.04
G1.2	41.33±8.52 ^a	1.98±0.61 ^{ab}	33.97±7.22	274.70±39.51

注: G0、G0.1、G0.2、G0.4、G0.6、G0.8、G1.0 和 G1.2 组分别表示向基础饲料中分别添加 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 g/kg(饲料)的核苷酸混合物。同列上标小写字母不同代表差异显著($P<0.05$)。
Note: G0(as control), G0.1, G0.2, G0.4, G0.6, G0.8, G1.0, G1.2 (as trial groups) were fed with the basal diet and basal diet added with 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 and 1.2 g/kg(diet) nucleotide admixture, respectively. Values in the same line with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

不显著($P>0.05$), 但各核苷酸混合物添加组粗蛋白含量都高于对照组。这与在美国红鱼^[20]中的研究结果类似。外源核苷酸可作为蛋白激酶使代谢活力增强, 诱导体内激素或代谢酶的合成, 促进蛋白质的合成, 从而使体质量增加^[21]。但是, Oliva-Teles 等^[22]在对金头鲷(*Sparus aurata*)进行研究时发现, 饲料中添加核苷酸并不能起到节约氮源、提高氮在体内沉积的作用。核苷酸对水产动物体成分的影响可能与不同动物基因水平和初始体质量有关。有关外源核苷酸对凡纳滨对虾蛋白质和脂肪代谢的研究报道较少, 核苷酸对体成分影响的作用机理尚不清楚。

3.3 核苷酸混合物对凡纳滨对虾幼虾肝胰腺生理指标的影响

肝脏是水产动物主要的中间代谢器官, 同时也是水产动物重要的营养储存器官。肝胰腺的生长发育在养分的消化中起着重要作用, 而营养物质通常对肝胰腺的生长发育有影响。肝胰指数是对长期和短期营养方式都很敏感的指标, 在营养变动时, 肝胰腺质量会发生显著变化。有研究表明, 草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)、凡纳滨对虾、建鲤(*Cyprinus carpio* var. *Jian*)的肝胰脏质量

分别随饲料中 GSH^[23]、抗菌肽^[24]、维生素 A^[25]添加量的增加而显著提高。本实验发现, 饲喂添加 5 种核苷酸混合物的各组凡纳滨对虾的肝胰指数均高于对照组, 其中添加量为 0.6 g/kg 组显著升高($P<0.05$)。在鳙(*Melanogrammus aeglefinus*)饲料中添加核苷酸发现, 添加核苷酸组幼鱼的内脏发育和个体大小比未添加核苷酸组的大^[26]。这可能是核苷酸促进了肝脏细胞 RNA 的合成, 进而表现在肝胰指数显著增加。邬小兵等^[27]研究发现, 饲料中添加 0.2%核苷酸能显著提高雏鸡肝脏核酸含量, 说明肉仔鸡内源合成的核苷酸不能满足肝脏 RNA 合成的需要。Lopez-Navarro 等^[28]认为, 肝脏和其他组织所需要的核苷酸可以由氨基酸从头合成供给, 但通过饲料途径满足肝脏核苷酸具有节约能量的优势, 肝脏中节约的能量可用于肝胰腺中其他物质的合成, 从而使肝脏质量增加。

谷草转氨酶(GOT)和谷丙转氨酶(GPT)是二种活力最强的转氨酶, 其活力变化也是反映肝细胞受损伤的主要敏感指标^[29]。本实验结果表明, 随着核苷酸混合物添加量的增加, 对虾肝胰腺中 GOT 和 GPT 均呈现先降低后升高的趋势($P>0.05$), 说明外源核苷酸可以一定程度地保护肝胰腺。核

酸能促进蛋白质的合成代谢,使血清尿酸含量下降,但当添加量超过一定范围时,会导致嘌呤核苷酸的代谢发生紊乱,过多的核酸降解成尿酸,导致血清尿酸增多^[30]。本研究发现饲料中添加外源核苷酸对肝胰腺中尿酸的含量影响不显著($P>0.05$)。

3.4 核苷酸混合物对凡纳滨对虾幼虾中肠形态的影响

快速生长的动物肠道细胞周转较快,对核苷酸需求较多,但是小肠利用氨基酸从头合成核苷酸的能力有限,核苷酸的合成主要以补救合成途径进行^[2]。外源核苷酸能够促进肠道的生长发育及加强消化功能。研究表明,核苷酸添加剂能够显著提高刚断奶小鼠^[6, 31]和雏鸡^[27]肠道黏膜蛋白、RNA 和 DNA 含量,显著增加肠绒毛高度和肠壁厚度,提高小肠黏膜的二糖酶活力。离体实验表明,外源核苷酸可以加速小肠上皮隐窝细胞系(IEC-6)细胞的增殖、分化及细胞功能的完善^[32]。外源核苷酸对水产动物肠道功能有类似的作用。Burrells 等^[11]报道大西洋鲑(*Salmo salar*)饲料中添加 0.3%核苷酸混合物,可明显增加小肠的肠皱褶高度,并且显著提高肠皱襞基底膜厚度和肠道表面积。无鱼粉饲料中添加酵母核苷酸可显著提高鲤后肠肠绒毛高度,并且能使肠上皮吸收空泡向肠绒毛边缘集中^[33]。本研究结果表明,添加核苷酸混合物可提高凡纳滨对虾幼虾中肠肠壁厚度和肠绒毛高度,其中添加量为 0.1~0.8 g/kg 组的肠壁厚度显著高于其他 3 组($P<0.05$),但各组间的肠绒毛高度差异不具显著性($P>0.05$)。这可能是由于肠细胞从头合成核苷酸的能力有限,补充外源核苷酸可以增加肠细胞核苷酸池中的核苷酸含量,促进了肠道黏膜 DNA 和 RNA 的合成和肠道蛋白质的合成率^[34-35]。在本实验中,1.0 和 1.2 g/kg 添加组肠壁厚度显著低于 0.1~0.8 g/kg 组,可能是由于添加高剂量的 5'-腺苷酸(AMP)对肠细胞的增殖有抑制作用,导致肠道形态发生变化。Tanaka 等^[32]对离体培养的人类小肠上皮细胞进行研究,发现外源 AMP 可抑制肠上皮细胞增殖。陈祥贵

等^[36]在离体培养的大鼠小肠上皮细胞 IEC-6 中分别添加 10 mg/L 和 50 mg/L 的外源 AMP,发现对照组细胞增殖活跃,但 2 个添加 AMP 组细胞数量随时间延长迅速减少。

3.5 核苷酸混合物对凡纳滨对虾幼虾抗氧化酶活力的影响

在集约化养殖条件下,虾类面临着多种应激条件,各种生理性的应激都会使其免疫功能受抑制,而研究发现受到应激或者感染疾病后的免疫细胞需要额外补充核苷酸^[37]。碱性磷酸酶(AKP)和酸性磷酸酶(ACP)是巨噬细胞溶酶体的标志酶,能催化磷酸单酯水解。磷酸酶对于需要磷酸化以及去磷酸化的各种代谢过程都非常重要^[38]。总抗氧化能力(T-AOC)是用于衡量机体抗氧化系统功能状况的综合性指标,主要作用是分解和清除代谢过程中产生的活性氧自由基,其大小可以反映机体对外来刺激的代偿能力和机体自由基代谢的状态^[39]。SOD 是生物体内一种以自由基为底物的抗氧化酶,与水生生物的免疫水平密切相关,对增强吞噬细胞防御能力和整个机体的免疫功能具有重要作用,可作为水产动物机体的免疫评判指标^[40]。本实验中,饲料中添加一定量的核苷酸混合物可显著提高凡纳滨对虾肝胰腺的 AKP 活力和 T-AOC($P<0.05$);各组血清 AKP 和 SOD 活力与对照组相比差异不显著($P>0.05$),但添加核苷酸组的 SOD 活力都大于对照组。外源核苷酸影响机体非特异性免疫功能的机理还不是很清楚,可能的解释是参加免疫的大部分细胞不能合成足够的核苷酸,从而影响了吞噬细胞等的增殖、分化和活力,因此必须依赖于外源提供,而过度添加核苷酸并不能强化已处于正常状态下的免疫系统。本研究发现,核苷酸对增强对虾的抗氧化能力具有积极作用,作为一种免疫增强剂在提高甲壳动物免疫功能方面具有重要意义。

4 结论

饲料中添加一定量的 5 种核苷酸混合物对凡纳滨对虾的生长性能影响不显著,但显著提高肝

胰指数, 增加中肠肠壁厚度, 显著提高肝胰腺碱性磷酸酶的活力和总抗氧化能力。

参考文献:

- [1] Cosgrove M. Nucleotides [J]. Nutrition, 1998, 14: 748–751.
- [2] Savaiano D A, Clifford A J. Adcninc, the precursor of nucleotide acids in intestinal cells unable to synthesize purines de novo [J]. Nutrition, 1981, 111: 1816–1822.
- [3] 牛淑玲, 刘静波, 侯万文, 等. 外源性环核苷酸对肉鸡性能及酮体品质的影响[J]. 中国家禽, 1998, 20(3): 10–12.
- [4] 王友明, 许梓荣. 酵母核苷酸对肉鸡生长性能和酮体组成的影响[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学学报, 2002, 28(3): 309–313.
- [5] 邬小兵, 乐国辉, 施用晖. 肉仔鸡日粮外源核苷酸营养作用初探[J]. 中国畜牧杂志, 2001, 17(5): 15–17.
- [6] Uauy R, Stringel G, Thomas R, et al. Effect of dietary nucleosides on growth and maturation of the developing gut in the rat [J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 1990, 10(4): 497–503.
- [7] Grimble G K, Westwood O M. Nucleotides as immunomodulators in clinical nutrition [J]. Curr Opin Clin Nutr, 2000, 4: 57–64.
- [8] Gil A. Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides [J]. Eur J Clin Nutr, 2002, 56 (3): 1–4.
- [9] Carver J D, Cox W I, Barness L A. Dietary nucleotide effects upon murine natural killer cell activity and macrophage activation [J]. J Parenter Enteral Nutr, 1990, 14: 18–22.
- [10] Borda E, Martinez-Puig D, Cordoba X. A balanced nucleotide supply makes sense [J]. Feed Mix, 2003, 11: 24–26.
- [11] Burrells C, Williams P D, Southage P J, et al. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds 2: Effects on vaccination, salt water transfer, growth rate and physiology of Atlantic salmon [J]. Aquaculture, 2001, 199: 171–184.
- [12] 魏文志, 罗方妮, 杨成, 等. 酵母核苷酸对异育银鲫生长和免疫酶活性的影响[J]. 淡水渔业, 2007, 37(4): 57–60.
- [13] Devresse B. Nucleotides-a key nutrient for shrimp immune system[J]. Feed Mix, 2000, 8: 20–22.
- [14] 蓝汉冰, 曹俊明, 许丹丹, 等. 饲料中添加核苷酸粗提物对凡纳滨对虾生长性能的影响[J]. 广东农业科学, 2009, 10: 143–145.
- [15] 叶应妩, 王毓三. 全国临床检验操作规程 [M]. 第 2 版. 南京: 东南大学出版社, 1997: 204–208.
- [16] 叶应妩, 王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 第 2 版. 南京: 东南大学出版社, 1997: 266.
- [17] 王广军, 朱旺明, 谭永刚, 等. 酵母核苷酸对凡纳滨对虾生长、免疫以及抗应激影响的研究[J]. 饲料工业, 2006, 27 (8): 29–32.
- [18] Oliva-Teles A, Goncalves P. Partial replacement of fishmeal by brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in diets for sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles[J]. Aquaculture, 2001, 202: 269–278.
- [19] 周兴华, 石芸, 罗孟川, 等. 酵母核苷酸对锦鲤幼鱼生长、体组成及饲料利用影响[J]. 粮食与饲料工业, 2009, 2: 36–40.
- [20] Li P, Delbert M, Gatin D M, Neill W H. Dietary supplementation of a purified nucleotide mixture transiently enhanced growth and feed utilization of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus* [J]. J World Aquacult soc, 2007, 38(2): 281–286.
- [21] 簪林森, 邱怀. 关于环核苷酸与家禽生长之调控[J]. 甘肃畜牧兽医, 1994(5): 27–28.
- [22] Oliva-Teles A, Guedes M J, Vachot C, et al. The effect of nucleic acids on growth, ureagenesis and nitrogen excretion of gilthead sea bream *Sparus aurata* juveniles[J]. Aquaculture, 2006, 253: 608–617.
- [23] 赵红霞, 谭永刚, 周萌, 等. 饲料中添加谷胱甘肽对草鱼生长、生理指标和抗病力的影响[J]. 中国水产科学, 2007, 14(4): 678–683.
- [24] 陈冰, 曹俊明, 陈平洁, 等. 家蝇抗菌肽对凡纳滨对虾生长性能及免疫相关指标的影响[J]. 中国水产科学, 2010, 17(2): 258–266.
- [25] 杨奇慧, 周小秋. 维生素 A 缺乏对建鲤生长性能及免疫功能的影响[J]. 中国水产科学, 2005, 12(1): 62–67.
- [26] Gonzalez-Vecino J L, Cutts C J, Batty R S, et al. The effects of nucleotide-enriched broodstock diet on first feeding success and survival of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) larvae. Abstract Book of 11th International Symposium on Nutrition and Feeding in Fish [R]. Thailand: Phuket Island, 2004: 268.
- [27] 邬小兵, 乐国伟, 施用晖. 肉仔鸡日粮外源核苷酸营养作用初探[J]. 中国畜牧杂志, 2001, 17 (5): 15–17.
- [28] Lopez-Navarro A T, Ortera M A, Peragon J, et al. Deprivation of dietary nucleotides decreases protein synthesis in the liver and small intestine in rats[J]. Gastroenterology, 1996, 110(6): 1760–1769.
- [29] 周顺伍, 邹思湘, 姜涌明, 等. 动物生物化学[M]. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2003: 156–175.
- [30] Agudelo C A, Wise C M. Gout: diagnosis, pathogenesis, and clinical manifestations [J]. Curr Opin Rheumatol, 2001, 13

- (3): 234–239.
- [31] 王兰芳, 乐国伟, 施用晖, 等. 日粮核苷酸对早期断奶小鼠生长发育的影响[J]. 无锡轻工大学学报, 2003, 22 (4): 18–22.
- [32] Tanaka M, Lee K, Martinez-Augustin O, et al. Exogenous nucleotides alter the proliferation, differentiation and apoptosis of human small intestinal epithelium [J]. *Nutrition*, 1996, 126: 424–433.
- [33] 朱天和, 吉红, 王丽宏, 等. 酵母核苷酸对鲤鱼生长性能、生化指标和肠道发育的影响[J]. 饲料研究, 2010, 9: 1–4.
- [34] Ortega M A, Nunez M C, Gil A, et al. Dietary nucleotides accelerate intestinal recovery after food deprivation in old rats [J]. *J Nutr*, 1995, 125: 1413–1418.
- [35] He Y, Chu S W, Walker W A. Nucleotide supplements alter proliferation and differentiation of cultured human (Caco-2) and rat (IEC-6) intestinal epithelial cells [J]. *Nutrition*, 1993, 123: 1017–1027.
- [36] 陈祥贵, 王瑞淑, 邓茂先, 等. 腺苷一磷酸对小肠上皮细胞增殖和凋亡的影响[J]. 卫生研究, 2001, 30(3): 165–167.
- [37] Anderson D P. Environmental factors in fish health: immunological aspects [C]//Nakanishi T. The fish immune system. Organism, pathogen and environment. San Siego: Academic Press, 1996: 289–337.
- [38] 陈清西, 陈素丽. 长毛对虾碱性磷酸酶性质[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 1996, 35(2): 257–261.
- [39] 张春玲, 胡俊林, 王丕文. 苯并芘对鲫鱼肝脏总抗氧化能力的影响[J]. 环境与健康杂志, 2004, 21(5): 325.
- [40] 李光友. 中国对虾疾病与免疫机制[J]. 海洋科学, 1995, 4: 1–3.

Effects of dietary nucleotides on growth performance, intestinal morphology and anti-oxidative activities of juvenile *Litopenaeus vannamei*

XU Dandan^{1,2}, CAO Junming¹, HUANG Yanhua¹, LI Yaqi², LAN Hanbing¹, CHEN Bing¹,
CHEN Xiaoying^{1,2}, YAN Jing^{1,3}, ZHANG Rongbin^{1,3}

1. Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China;

2. College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

3. Fisheries College, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract: There has been extensive research into the role of nucleotides and their related metabolic products in aquatic feeds. Nucleotides and metabolites play key roles in many biological processes and are considered conditionally essential nutrients. During periods of rapid growth or certain disease states, dietary nucleotides may spare the cost of de novo nucleotides synthesis and optimize the function of rapidly dividing tissues, such as those in the gastrointestinal and immune systems. Research on dietary nucleotides in aquatic animals has illustrated that they may improve diet palatability, enhance growth in early stages of development, and maintain intestinal and liver health, as well as increase immunity and disease resistance. Despite their apparent importance, little is known about the benefits of supplementary nucleotides in *Litopenaeus vannamei*. We evaluated the effects of dietary nucleotides on growth, body composition, midgut morphology, and anti-oxidant activity in the hepatopancreas and serum in juvenile *L. vannamei*. We randomly assigned 960 shrimp (mean body weight: 1.01 g±0.02 g) into 8 triplicate groups. Group G0 (control) was fed a base diet and the remaining seven groups (G0.1, G0.2, G0.4, G0.6, G0.8, G1.0, and G1.2) were fed the base diet supplemented with 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, or 1.2 g/kg, respectively, of a nucleotide mixture containing adenosine-5'-monophosphate (AMP), cytidine-5'-monophosphate (CMP), uridine-5'-monophosphate disodium salt (UMP), inosine-5'-monophosphate disodium salt (IMP), and guanosine-5'-monophosphate disodium salt (GMP) (1 : 1 : 1 : 1 : 1 w/w, mix-NT). All groups were fed their respective diets three times a day (8:00, 15:00, and 20:00) at the same fixed rate, which ranged from 4% to 6% of body weight, for 7 weeks. Specific growth rate (SGR) and survival (SR) tended to increase as the concentration of the dietary mix-NT increased, peaking in the group supplemented with 0.6 g/kg, though the differences among the groups were not significant ($P>0.05$). The feed conversion rate (FCR) was lower in the treatment groups than in the control group, but not significantly ($P>0.05$). The whole body moisture content was significantly affected by the level of dietary mix-NT supplementation ($P<0.05$), but there were no significant differences in the content of crude protein, ether extract, or ash ($P>0.05$). The dietary mix-NT had a significant effect on the hepatosomatic index (HSI) in the group supplemented with 0.6 g/kg ($P<0.05$). Glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic-pyruvic transaminase (GPT), and uric acid (UA) content were significantly lower in shrimp fed 0.4 g/kg mix-NT ($P>0.05$). There was a significant increase in the midgut jejunum wall thickness in shrimp fed 0.1–0.8 g/kg mix-NT, but there no significant difference in villus height of all groups. Alkaline phosphatase (AKP) activity and total antioxidant capacity (T-AOC) in the hepatopancreas tended to increase as the level of supplementation with dietary mix-NT increased, and were significantly higher in groups G0.2 and G0.4, respectively, than in the control ($P<0.05$). Adding mix-NT had no significant effect on serum alkaline phosphatase (AKP) and superoxide dismutase (SOD) activity ($P>0.05$). In conclusion, supplementing the diet with a mixture of 5 nucleotides improves hepatopancreas function, maintains intestinal morphology, and enhances anti-oxidant activity in the hepatopancreas of juvenile *L. vannamei*. It would be interesting to determine the effects of nucleotide supplementation on immune function, particularly with respect to white spot syndrome virus (WSSV).

Key words: *Litopenaeus vannamei*; nucleotides; growth performance; intestinal morphology; anti-oxidative activities

Corresponding author: CAO Junming. E-mail: junmcao@163.com