

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2013.00997

β -葡聚糖与硒、维生素 E 联合添加对凡纳滨对虾生长、血清免疫和抗氧化指标及抗病力的影响

刘群芳^{1,2,3,4}, 曹俊明^{2,3,4}, 黄燕华^{2,3,4}, 王国霞^{2,3,4}, 莫文艳^{2,3,4}, 周婷婷^{2,3,4},
孙智武^{2,3,4}, 刘小玲^{1,2,3,4}

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, 广东 广州 510642;
3. 广东省动物育种与营养公共实验室, 广东 广州 510640;
4. 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广东 广州 510640

摘要: 选取 800 尾初始体质量为 (0.83 ± 0.02) g 的凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*), 随机分成 5 组, 分别投喂添加 β -葡聚糖(β G)、硒(Se)和维生素 E(VE)的饲料, 其组合和添加量分别为: 0、300 mg/kg β G、300 mg/kg β G+0.2 mg/kg Se、300 mg/kg β G+100 mg/kg VE、300 mg/kg β G+0.2 mg/kg Se+100 mg/kg VE, 记为 G0、G1、G2、G3 和 G4, 养殖 35 d, 养殖结束后, 采用肌肉注射法对凡纳滨对虾进行白斑综合征病毒(WSSV)感染。结果显示, 养殖结束时 G2 组对虾增重率最高, 比 G1 组提高 6.4%; 饵料系数比 G1 组降低 6.3%, 显著低于 G1 组($P < 0.05$); G3 组对虾存活率显著低于 G0 和 G1 组($P < 0.05$)。与 G0 组相比, G4 组对虾血细胞总数和血清酚氧化酶活性显著升高($P < 0.05$); 与 G1 组相比, G2–G4 组血细胞总数和酚氧化酶活性差异不显著($P > 0.05$), 但溶菌酶活性显著升高($P < 0.05$)。G3 组酸性磷酸酶活性显著低于 G4 组($P < 0.05$); G2 组碱性磷酸酶活性显著高于其他各添加组($P < 0.05$), 而与 G0 组差异不显著($P > 0.05$)。G4 组谷胱甘肽过氧化物酶活性显著高于其他 4 组($P < 0.05$); 谷胱甘肽转移酶活性在各组间差异不显著($P > 0.05$)。G1 组过氧化氢酶活性显著高于 G2 和 G4 组($P < 0.05$)。超氧化物歧化酶活性以 G2 组最高, 显著高于其他各组($P < 0.05$); G1 和 G3 组次之, 分别显著高于 G0 和 G4 组($P < 0.05$)。G1、G2 和 G4 组血清丙二醛含量较低, 分别显著低于 G0 和 G3 组($P < 0.05$); 抗超氧阴离子活性较高, 分别显著高于 G3 组($P < 0.05$)。与 G1 组相比, G3 组总抗氧化能力显著升高($P < 0.05$)。注射 WSSV 粗提液 72 h 时, 对虾的累积死亡率以 G0 组最高, G1–G4 的累积死亡率呈现降低的趋势, 其中 G2 和 G4 组显著降低($P < 0.05$), 其相对保护率分别为 30.8%和 26.9%。结果表明, β G 与 Se 联合添加能一定程度提高凡纳滨对虾生长性能, 降低饵料系数; 与单独添加 β G 相比较, β G 与 Se 联合添加或 β G 与 Se、VE 三者联合添加均能显著提高凡纳滨对虾的非特异性免疫、抗氧化能力和抗病力。

关键词: β -葡聚糖; 硒; 维生素 E; 凡纳滨对虾; 生长; 非特异性免疫; 抗氧化; 抗病力

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005–8737–(2013)05–0997–10

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)是当今世界虾类养殖产量最高的三大品种之一, 具有生长速度快, 抗逆能力强、饲料转化率和加工出肉率高等优点^[1]。随着集约化、规模化养殖的发展, 环

境应激因子增加, 往往造成对虾的应激反应, 使虾体抗氧化和免疫力下降, 生长速度降低甚至死亡^[2]。目前, 通过营养免疫学方式提高对虾的应激能力和免疫力, 进而提高对虾的产量和质量已

收稿日期: 2012–07–31; 修订日期: 2012–11–04。

基金项目: 广东省自然科学基金团队项目(10351064001000000); 广东省省院合作项目(2009B091300136)。

作者简介: 刘群芳(1987–), 女, 硕士研究生, 研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail: liuqunfangbest@163.com

通信作者: 曹俊明, 博士, 研究员。E-mail: junmcao@163.com; 黄燕华, 博士, 研究员。E-mail: huangyh111@126.com

成为人们关注的重要方向^[3]。 β -葡聚糖(β G)广泛存在于微生物和植物体内,是细胞壁的主要结构多糖,主要由 β -1,3和 β -1,6糖苷键连接而成,具有很强的生物活性^[4]。研究发现, β G能够提高虾类的非特异性免疫因子,如血细胞的吞噬活性、酚氧化酶(PO)、溶菌酶(LZM)、超氧化物歧化酶(SOD)等,并且能提高虾类对细菌、病毒等病原菌的感染能力^[5-7]。但随着研究的不断深入,发现饲料中添加单一 β G时存在免疫刺激作用时间短,剂量大,长期使用易出现“免疫疲劳”等问题^[8-10]。Chang等^[9]研究发现,用含 β G的饲料投喂抱卵斑节对虾(*Penaeus monodon*) 40 d,对虾的血细胞吞噬活性和超氧阴离子在第24天时达到峰值,到第40天时减少到开始投喂前水平,他认为这是连续长期投喂免疫增强剂导致动物“免疫疲劳”现象。本实验室前期研究结果亦发现, β G对凡纳滨对虾免疫相关酶活性具有动态调节作用,在第7~14天时免疫相关酶能维持较高的水平,第21~28天时开始下降,到第35天时与开始投喂前水平接近^[11]。目前,通过改变投喂方式缓解“免疫疲劳”已取得了一定效果^[12-14]。

硒(Se)和维生素E(VE)是水生动物必需的营养元素,二者在动物营养中具有很多相似之处,而且能相互协同^[15],在动物的生长、免疫、抗氧化和抗应激等方面发挥着重要作用。据报道,大西洋鲑(*Salmo salar*)在摄食同时缺乏Se和VE的饲料时死亡率显著增加;摄食缺乏Se或者VE的饲料时生长缓慢,组织中Se的含量显著降低,血液红细胞异质和血浆谷胱甘肽过氧化物酶活性显著降低^[16-17]。近年来,Se和VE与水生动物生长性能及免疫功能的关系逐渐引起国内外学者的广泛关注^[18-21]。胡俊茹等^[22]报道,饲料中添加适量VE(400 mg/kg)和Se(0.4 mg/kg)能使凡纳滨对虾机体抗氧化能力整体达到平衡,并具有随时间的动态调节作用,同时VE和Se之间存在交互作用。目前,关于Se和VE与 β G联合添加对凡纳滨对虾免疫和抗氧化功能的影响尚未见报道,三者是否具有协同作用亦未见研究。为此,本研究探讨 β G与Se、VE联合添加对凡纳滨对虾非特异性免

疫、抗氧化和抗病力的影响,以便为缓解 β G单独添加造成的“免疫疲劳”现象和开发复合型免疫增强剂提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

实验用 β -1,3-葡聚糖、蛋氨酸硒和VE醋酸酯购自美国Sigma公司,纯度 $\geq 98\%$ 。以鱼粉、酪蛋白和明胶为蛋白源,玉米淀粉为糖源,鱼油和大豆磷脂为脂肪源配成基础饲料,其配方见表1。向基础饲料中分别添加4种不同组合的 β G、Se和VE,其组合方式和添加量分别为:300 mg/kg β G(D1)、300 mg/kg β G+0.2 mg/kg Se(D2)、300 mg/kg β G+100 mg/kg VE(D3)、300 mg/kg β G+0.2 mg/kg Se+100 mg/kg VE(D4)。饲料原料过60目筛,混匀,用SLX-80型双螺杆挤压机制成1 mm $\times$ 3 mm的颗粒饲料,在50 $^{\circ}$ C烘箱中烘干,自然冷却后放置于密封袋中,-20 $^{\circ}$ C冰箱中保存待用。

1.2 实验虾及饲养管理

凡纳滨对虾购自正大集团珠海虾苗场,饲养实验在广东省农业科学院畜牧研究所室内循环水养殖系统中进行。实验开始前将凡纳滨对虾在室外水泥池中培育4周,期间投喂商品饲料。实验开始时,选取健康活泼、体质量为(0.83 $\pm$ 0.02) g的凡纳滨对虾800尾,随机分为5组,每组4个重复,每个重复40尾虾。分别投喂基础饲料和D1、D2、D3、D4这4种实验饲料,记作G0、G1、G2、G3和G4组。饱食投喂,每天分别在8:30、14:30、20:30投喂饲料。水源为经沙滤、消毒后的天然海水与自来水混合后的咸淡水,配好后在循环系统中曝气循环1 d,实验期间盐度3.5~5.5,水温28~31 $^{\circ}$ C,溶解氧 >6.00 mg/L,氨氮 <0.10 mg/L,亚硝酸盐 <0.01 mg/L, pH 7.80~8.20。光照为自然光源。饲养周期为35 d。

1.3 样品采集

养殖实验结束时,停食24 h,称重,统计对虾的存活率。每个重复随机取10~15尾虾,用1 mL无菌注射器从对虾头胸甲插入围心腔抽取血淋巴,合并置于无菌Eppendorf管,4 $^{\circ}$ C下静置3~4 h,

表 1 基础饲料组成及营养水平(风干基础)
Tab.1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis)

		%	
原料 ingredient	含量 content	营养组成 proximate composition	含量 content
鱼粉 fish meal	20.00	粗蛋白 crude protein	40.05
酪蛋白 casein	20.00	粗脂肪 crude lipid	8.94
明胶 gelatin	8.00	水分 moisture	5.54
玉米淀粉 corn starch	28.50	灰分 ash	9.02
鱼油 fish oil	6.50	Se /(mg·kg ⁻¹)	0.23
大豆磷脂 soybean lecithin	2.00	VE /(mg·kg ⁻¹)	234
乌贼膏 squid cream	2.40		
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	3.00		
微晶纤维素 cellulose	3.00		
胆固醇 cholesterol	0.60		
氯化胆碱 choline chloride	1.00		
维生素预混料 ¹⁾ vitamin premix ¹⁾	3.00		
矿物质预混料 ²⁾ mineral premix ²⁾	2.00		

注: ¹⁾ 1 kg 维生素预混料含有: 维生素 A 4 000 000 IU; 维生素 D 2 000 000 IU; 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. ²⁾ 1 kg 矿物质预混料含有: 一水硫酸镁 12 g; 氯化镁 90 g; 蛋氨酸-铜 3 g; 一水硫酸铁 1 g; 一水硫酸锌 10 g; 碘酸钙 0.06 g; 蛋氨酸-钴 0.16 g; 硒酸钠 0.0036 g.

Note: ¹⁾ Content per kg vitamin premix : vitamin A 4 000 000 IU; vitamin D 2 000 000 IU; vitamin K₃ 10 g; vitamin B₁ 5 g; vitamin B₂ 15 g; vitamin B₆ 8 g; calcium pantothenate 25 g; folic acid 2.5 g; biotin 0.08 g; nicotinic acid 40 g; vitamin B₁₂ 0.02 g; inositol 150 g. ²⁾ 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.

在 4℃ 下以 10 000 r/min 离心 10 min, 吸取上清液分装保存于 -80℃ 备用。计算对虾增重率、特定生长率和饵料系数等指标。生长性能计算公式如下:

增重率(weight gain rate, WGR, %)=100×(终末虾体质量+死亡虾体质量-初始虾体质量)/初始虾体质量;

特定生长率(specific growth rate, SGR, %/d)=100×[ln(终末虾体质量+死亡虾体质量)-ln(初始虾体质量)]/饲养天数;

饵料系数(feed conversion ratio, FCR)=投饵总量/(终末虾体质量+死亡虾体质量-初始虾体质量);

存活率(survival rate, SR, %)=100×实验结束时虾的尾数/实验开始时虾的尾数。

1.4 样品分析

1.4.1 血细胞计数 实验结束时, 每缸随机取 5 尾虾, 用 1 mL 无菌注射器于围心腔取血, 合并置于无菌 Eppendorf 管中。吸取 150 μ L 抗凝剂于 Eppendorf 管中, 立即加入对虾血液 100 μ L, 迅速

混匀, 取 50 μ L 抗凝的血液, 加入 10 mL pH 7.3 的 PBS 缓冲液, 用细胞计数仪(Z₂ coulter, BECKMAN COULTER)进行计数。

1.4.2 生化指标分析 酚氧化酶(PO)活性测定: 以 L-多巴为底物, 采用 Ashida^[23]的方法进行。以实验条件下, OD_{490nm} 值每分钟增加 0.001 为 1 个酶活力单位。血清溶菌酶(LZM)活性测定: 采用王雷等^[24]的方法进行。酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)、抗超氧阴离子(Anti-O₂⁻)、谷胱甘肽转移酶(GST)和总抗氧化能力(T-AOC)采用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定。

1.4.3 饲料营养成分分析 饲料水分含量采用 105℃ 烘箱干燥法(GB/T6435—1986), 粗蛋白含量采用凯氏定氮法(GB/T6432—1994), 粗脂肪含量采用乙醚抽提法(GB/T6433—1994), 灰分含量采用 550℃ 灼烧法(GB/T6438—1992)进行测定,

饲料中硒含量采用原子荧光光度法(DZ/T 0183—1997), VE 含量采用高效液相色谱法(JY/T024—1996)测定。

1.5 攻毒实验

携带有 WSSV 的凡纳滨对虾由南海水产研究所提供。病毒粗提液制备参考何建国等^[25]的方法进行, 略有改进。取白斑病毒感染的病虾肌肉 0.3 g 左右, 剪碎混匀, 按 0.1 g 组织加 1.0 mL pH 为 7.4 的 0.01 mol/L 磷酸缓冲液于匀浆器中混匀, 匀浆液以 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 其滤液为 WSSV 粗提液。粗提液于 2 h 内制备完毕。粗提液加磷酸缓冲液稀释 5 倍作为攻毒注射液。

感染实验: 饲养实验结束后, 每个重复取 10 尾对虾, 每尾注射 WSSV 粗提液 50 μL, 继续投喂相应饲料, 计算 72 h 内对虾的累积死亡率(Accumulative Mortality Rate, AMR)和相对保护率(Relative Percentage of Survival, RPS)。公式为:

AMR(%)=攻毒结束时死亡虾尾数/攻毒虾尾数×100

RPS(%)=(1-实验组累积死亡率/对照组累积死亡率)×100

1.6 数据统计

实验结果用平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示。采用 SPSS 13.0 软件进行数据统计和分析, 先对数据进行方差齐性检验, 如满足方差齐性条件则对数据进行单因素方差分析(One-way ANOVA), 若差异显著再作 Duncan 氏多重比较, 如不满足方

差不齐性条作则用 Dunnett's T3 检验法进行多重比较。 $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 βG 和 Se、VE 联合添加对凡纳滨对虾生长性能的影响

由表 2 可知, 各添加组对虾的增重率、特定生长率和饵料系数与 G0 组相比均无显著性差异($P>0.05$)。与 G1 组相比, G2–G4 组对虾增重率有升高的趋势, 饵料系数有降低的趋势, 其中 G2 组对虾增重率升高 6.4%, 饵料系数降低 6.3%, 显著低于 G1 组($P<0.05$)。G3 组对虾成活率最低, 与 G0 和 G1 组相比差异显著($P<0.05$)。

2.2 βG 和 Se、VE 联合添加对凡纳滨对虾血清非特异性免疫因子的影响

如表 3 所示, THC 以 G4 组最高, 显著高于 G0 组($P<0.05$)。PO 活性在 G0 和 G2 组分别显著低于 G4 组($P<0.05$)。G2、G3 和 G4 组 LZM 活性与 G0、G1 组相比显著升高($P<0.05$)。ACP 活性以 G3 组最低, 显著低于 G4 组($P<0.05$)。与 G0 组相比, 各添加组对虾的 THC、PO 和 LZM 活性均有升高的趋势, 其中 G4 组差异显著($P<0.05$)。G2 组 AKP 活性与 G0 组相比差异不显著($P>0.05$), 与其他 3 组比显著升高($P<0.05$)。

2.3 βG 和 Se、VE 联合添加对凡纳滨对虾血清抗氧化指标的影响

如表 4 所示, G4 组 GSH-PX 活性显著高于其他 4 组($P<0.05$), G3 组 GSH-PX 活性显著低于前 3

表 2 β-葡聚糖和硒、维生素 E 联合添加对凡纳滨对虾生长性能的影响
Tab. 2 Effects of β-glucan, Se and VE on growth performance of *Litopenaeus vannamei*

指标 index	组别 group				
	G0	G1	G2	G3	G4
初均重/g initial body weight	0.83±0.01	0.83±0.02	0.83±0.02	0.83±0.02	0.83±0.03
末均重/g final body weight	7.55±0.25	7.29±0.37	7.66±0.13	7.78±0.35	7.59±0.31
增重率/%WGR	813.90±35.98	777.80±46.74	827.28±11.51	819.95±33.73	810.24±11.76
特定生长率/(%·d ⁻¹) SGR	6.31±0.13	6.18±0.07	6.29 ±0.10	6.27±0.08	6.29±0.03
饵料系数 FCR	1.06±0.05 ^{ab}	1.12±0.02 ^a	1.05±0.05 ^b	1.08±0.01 ^{ab}	1.07±0.04 ^{ab}
存活率/% survival	91.25±5.20 ^a	95.63±4.27 ^a	89.38±3.15 ^{ab}	82.50±2.50 ^b	89.38±5.15 ^{ab}

注: 同行数值后不同上标英文字母表示差异显著($P<0.05$).
Note: Values in the same row with different superscripts are significantly different($P<0.05$).

组($P<0.05$)。GST 活性的组间差异不显著($P>0.05$)。CAT 活性以 G1 组最高, 显著高于 G2 和 G4 组($P<0.05$)。SOD 活性以 G2 组最高, 显著高于其他 4 组($P<0.05$); G1 和 G3 组次之, 分别显著高于 G0 和 G4 组($P<0.05$)。G1、G2 和 G4 组的血清 MDA 含量较低, 组间差异不显著($P>0.05$), 但分别显著低于 G0 和 G3 组($P<0.05$)。G1、G2 和 G4 组

Anti-O₂⁻活性显著高于 G3 组($P<0.05$)。与 G1 组相比, G3 组 T-AOC 显著升高($P<0.05$), 其他组间差异不显著($P>0.05$)。

2.4 β G 和 Se、VE 联合添加对凡纳滨对虾抗 WSSV 感染能力的影响

表 5 为注射 WSSV 粗提液后 72 h 内凡纳滨对虾的累积死亡率(AMR)和相对保护率(RPS)。与

表 3 β -葡聚糖和硒、维生素 E 联合添加对凡纳滨对虾血清非特异性免疫因子相关指标的影响
Tab.3 Effects of β -glucan, Se and VE on serum non-specific immune factors of *Litopenaeus vannamei*

指标 index	组别 group				
	G0	G1	G2	G3	G4
血细胞总数/($\times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$) total hemocyte count, THC	3.53 $\pm$ 0.49 ^b	4.06 $\pm$ 0.22 ^{ab}	3.89 $\pm$ 0.36 ^{ab}	3.92 $\pm$ 0.35 ^{ab}	4.15 $\pm$ 0.22 ^a
酚氧化酶/U phenoloxidase, PO	0.37 $\pm$ 0.05 ^b	0.44 $\pm$ 0.10 ^{ab}	0.38 $\pm$ 0.05 ^b	0.45 $\pm$ 0.14 ^{ab}	0.57 $\pm$ 0.07 ^a
溶菌酶/(U $\cdot$ L ⁻¹) lysozyme, LZM	1.05 $\pm$ 0.56 ^b	1.10 $\pm$ 0.48 ^b	3.49 $\pm$ 0.67 ^a	2.70 $\pm$ 0.98 ^a	3.57 $\pm$ 0.94 ^a
酸性磷酸酶/(U $\cdot$ 100 ⁻¹ $\cdot$ mL ⁻¹) acid phosphatase, ACP	10.96 $\pm$ 3.03 ^{ab}	10.82 $\pm$ 1.59 ^{ab}	11.23 $\pm$ 0.89 ^{ab}	8.20 $\pm$ 2.74 ^b	12.63 $\pm$ 1.11 ^a
碱性磷酸酶/(U $\cdot$ 100 ⁻¹ $\cdot$ mL ⁻¹) alkaline phosphatase, AKP	6.13 $\pm$ 1.79 ^{ab}	3.92 $\pm$ 1.27 ^b	7.04 $\pm$ 0.13 ^a	4.84 $\pm$ 1.24 ^b	4.56 $\pm$ 0.49 ^b

注: 同行数值后不同上标英文字母表示差异显著($P<0.05$).
Note: Values in the same row with different superscripts are significantly different($P<0.05$).

表 4 β -葡聚糖和硒、维生素 E 联合添加对凡纳滨对虾血清抗氧化指标的影响
Tab.4 Effects of β -glucan, Se and VE on serum antioxidant indices of *Litopenaeus vannamei*

指标 index	组别 group				
	G0	G1	G2	G3	G4
谷胱甘肽过氧化物酶/(U $\cdot$ mL ⁻¹) glutathione peroxidase, GSH-PX	299.76 $\pm$ 5.65 ^b	312.17 $\pm$ 17.74 ^b	301.67 $\pm$ 10.33 ^b	288.58 $\pm$ 16.43 ^c	340.50 $\pm$ 18.21 ^a
谷胱甘肽转移酶/(U $\cdot$ mL ⁻¹) glutathione transferase, GST	8.87 $\pm$ 1.79	11.26 $\pm$ 3.30	8.32 $\pm$ 1.16	9.53 $\pm$ 1.62	7.67 $\pm$ 2.38
过氧化氢酶/(U $\cdot$ mL ⁻¹) catalase, CAT	5.25 $\pm$ 0.72 ^{ab}	6.40 $\pm$ 1.38 ^a	4.65 $\pm$ 0.49 ^b	4.87 $\pm$ 0.97 ^{ab}	4.55 $\pm$ 1.35 ^b
超氧化物歧化酶/(U $\cdot$ mL ⁻¹) superoxide dismutase, SOD	126.21 $\pm$ 18.47 ^c	160.61 $\pm$ 27.29 ^b	190.32 $\pm$ 15.48 ^a	163.14 $\pm$ 6.50 ^b	136.88 $\pm$ 13.02 ^c
丙二醛/(nmol $\cdot$ mL ⁻¹) malondialdehyde, MDA	8.00 $\pm$ 0.92 ^a	5.78 $\pm$ 1.22 ^b	5.34 $\pm$ 0.70 ^b	8.01 $\pm$ 1.2 ^a	5.48 $\pm$ 0.42 ^b
抗超氧阴离子/(U $\cdot$ L ⁻¹) anti-O ₂ ⁻	176.80 $\pm$ 13.77 ^{ab}	188.58 $\pm$ 17.47 ^a	185.49 $\pm$ 8.32 ^a	154.23 $\pm$ 9.96 ^b	180.29 $\pm$ 8.95 ^a
总抗氧化能力/(U $\cdot$ mL ⁻¹) total antioxidant, T-AOC	13.05 $\pm$ 2.63 ^{ab}	11.48 $\pm$ 1.03 ^b	14.01 $\pm$ 1.46 ^{ab}	15.23 $\pm$ 2.46 ^a	14.42 $\pm$ 2.05 ^{ab}

注: 同行数值后不同上标英文字母表示差异显著($P<0.05$).
Note: Values in the same row with different superscripts are significantly different($P<0.05$).

表 5 β -葡聚糖和硒、维生素 E 联合添加对凡纳滨对虾抗 WSSV 感染能力的影响
Tab.5 Effects of β -glucan, Se and VE on resistance against white spot syndrome virus of *Litopenaeus vannamei*

指标 index	组别 group				
	G0	G1	G2	G3	G4
累积死亡率/% accumulative mortality rate, AMR	86.7 $\pm$ 11.6 ^a	70.0 $\pm$ 10.0 ^{ab}	60.0 $\pm$ 10.0 ^b	66.7 $\pm$ 5.8 ^{ab}	63.3 $\pm$ 11.6 ^b
相对保护率/% relative percent survival, RPS	0	19.3	30.8	23.1	26.9

注: 同行数值后不同上标英文字母表示差异显著($P<0.05$).
Note: Values in the same row with different superscripts are significant different($P<0.05$).

G0 组相比, G1–G4 组的 AMR 有降低的趋势, 其中 G2 和 G4 组显著低于 G0 组($P<0.05$), 其 RPS 分别为 30.8%和 26.9%。

3 讨论

3.1 β G 和 Se、VE 联合添加对凡纳滨对虾生长性能和成活率的影响

本实验结果表明, 单独添加 β G 组凡纳滨对虾的增重率与对照组比有降低的趋势, 存活率升高, 说明在本实验条件下, 饲料中添加 β G 对凡纳滨对虾没有促生长作用, 但有提高对虾存活率的趋势。这与阳会军等^[26]对斑节对虾(*Penaeus monodon*)和陈云波等^[27]对南美白对虾的研究结果不一致, 但与陈乃松等^[28]对凡纳滨对虾的研究结果相似。出现这些差异可能与 β G 来源、结构、分子量大小等有关。本实验中, 当 β G 与 Se 联合添加时, 对虾的增重率比单独添加 β G 组提高 6.4%, 饵料系数降低 6.3%, 说明添加适量 Se 对凡纳滨对虾有促生长作用。这与王安利等^[29]对中国对虾(*Penaeus chinensis*)的研究结果相似。

本实验结果显示, β G 与 VE 联合添加时, 对虾的存活率为 82.5%, 显著低于对照组和 β G 组, 究其原因, 可能与基础饲料中 VE 含量有关。有研究报道, 凡纳滨对虾对 VE 的需要量为 100~200 mg/kg^[30–31]。Ruff 等^[31]报道, 饲料中含 5%的鱼油时, 添加 200 mg/kg VE 组凡纳滨对虾的生长良好。本实验中, 基础饲料 VE 的含量为 234 mg/kg, G0 组凡纳滨对虾的生长和存活良好。当继续添加 100 mg/kg VE 时, 凡纳滨对虾的存活率受到影响, 因此, 推测此剂量可能是凡纳滨对虾摄入的较高剂量。Bai 等^[32]研究发现, 许氏平鲉(*Sebastes schlegeli*)饲料中添加 500 mg/kg VE 比 20~120 mg/kg 组有更低的血细胞比容、增重率和饲料转化率。Baker 等^[33]也研究表明, 非洲鲇(*Clarias gariepinus*)饲喂高剂量(500 mg/kg)的 VE 时比饲喂基础饵料有更低的血细胞比容。说明 VE 摄入量过高对水产动物生长和抗氧化能力具有不利影响。当 β G 和 Se、VE 三者联合添加时, 对虾的存活率提高, 说明 Se 可以抵消较高剂量 VE 产生的

不利影响。有研究表明, 高 Se 或高 VE 情况下, Se 和 VE 具有拮抗作用, 即适量高 Se 可纠正高 VE 对机体抗氧化系统的损伤, 反之亦然^[34]。本实验中, β G 和 Se、VE 三者联合添加时, 凡纳滨对虾的增重率高于单独添加 β G 组, 但与 β G 和 Se 联用、 β G 和 VE 联用组相比有降低的趋势, 这说明 Se 和 VE 联用对凡纳滨对虾的生长没有表现出促进作用。目前, 有关 Se 与 VE 联合添加对动物生长性能影响的报道较少, 其作用效果和机理有待于进一步研究。

3.2 β G 和 Se、VE 联合添加对凡纳滨对虾非特异性免疫的影响

本研究发现, 连续投喂单独添加 β G 的饲料 35 d, 对虾的血细胞总数(THC)和酚氧化酶(PO)、溶菌酶(LZM)、酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)活性与对照组相比差异不显著($P<0.05$)。这可能是由于连续长期投喂 β G, 造成对虾“免疫疲劳”所致。 β G 作为一种外源性免疫刺激剂, 能够被对虾血细胞中的 β -葡聚糖结合蛋白所识别, 并与之发生免疫反应。它的出现可能给机体输入了“外敌”入侵的信息, 从而唤起机体广谱免疫排斥反应并形成记忆^[35], 其在机体内可能存在一定的时间效应。本实验中, β G 与 Se 联合添加时, 对虾的 THC 和血清 PO 活性较 β G 组有所降低, 且显著低于 β G 与 Se、VE 联合添加组, 其原因可能是 Se 和 VE 对对虾 THC 和血清 PO 活性的影响与时间有关。胡俊茹等^[22]在凡纳滨对虾的研究发现, 在 2 周内, Se 能促进 PO 的活性, 但 4 周时 Se 对 PO 的作用不显著, 而 VE 在整个养殖过程中对 PO 活性都有影响。

万敏等^[36]研究发现, 饲料中 Se 和 VE 联合添加对皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai* Ino)的 THC、PO 和 LZM 活性等非特异性免疫因子有显著性影响。本实验结果显示, β G 与 Se、VE 联用以及三者联合添加时, 对虾的血清 LZM 活性显著高于对照组和 β G 组, 说明 Se 或 VE 与 β G 联合添加或三者联合使用能提高对虾的 LZM 活性。ACP 和 AKP 是巨噬细胞溶酶体的标志酶, 在体内直接参与磷酸基团的转移与代谢, 是参与动物体内免疫活动

重要的水解酶类^[37-38]。本研究发现, β G 和 Se 联合添加时, 对虾血清 AKP 活性最高; β G 和 Se、VE 三者联合添加时, 对虾的血清 ACP 活性最高, 显著高于 β G 和 VE 联合添加组, 这说明 Se 与 β G 或 Se 和 VE 与 β G 对这两种酶的活性产生了一定的影响。

Se 是动物必需的微量元素, 国内外许多学者已证实 Se 能够影响水生动物的免疫功能^[39], 适量补充 Se 能够提高水生动物的体液免疫因子。王吉桥等^[40]报道, 连续投喂含 Se 饲料能显著提高仿刺参(*Apostichopus japonicus* Selenka)体内 ACP 和 AKP 活性, 韦宇等^[41]发现, 适当补充 Se 能显著提高凡纳滨对虾血清中 AKP 活性。适量的 Se 可调节机体的生理生化反应, 促进血细胞和各种非特异性免疫因子的生物合成^[42], 从而增强机体的免疫功能, 缓解 β G 单独使用时的“免疫疲劳”问题。关于 β G 与 Se 或 VE 二者联合添加或三者联合添加对凡纳滨对虾体内各种非特异性免疫因子的作用机理以及 3 种物质的最适添加比例等有待于进一步研究。

3.3 β G 和 Se、VE 联合添加对凡纳滨对虾抗氧化能力的影响

本实验结果显示, 饲料中单独添加 β G 能显著提高血清超氧化物歧化酶(SOD)活性, 降低血清丙二醛(MDA)含量, 能一定程度提高血清谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽转移酶(GST)和抗超氧阴离子(Anti- O_2^-)活性。这表明饲料中添加 β G 有助于凡纳滨对虾清除机体内的自由基, 阻止脂质过氧化反应, 维持机体的健康状态。体外实验和小鼠体内实验已发现, β G 具有一定的抗氧化功能。赵雪等^[43]报道, 海带多糖中的糖醛酸、甘露糖、半乳糖和葡萄糖形成的糖苷键具有清除超氧阴离子自由基(O_2^-)和羟基自由基($\cdot OH$)的作用。段会柯等^[44]研究表明, 以酵母 β -1,3-葡聚糖酶解产物为原料, 经超滤得到的水溶性 β G(分子量>10 ku)可显著增加小鼠血清 SOD 和 GSH-Px 等抗氧化酶的活性, 降低脂质过氧化产物 MDA 含量。曹磊等^[45]研究表明, 真菌多糖能提高小鼠血清 SOD 活性, 降低血清

MDA 含量。本实验中, β G 和 Se、VE 联合添加组对虾的血清 SOD 活性与 β G、 β G 和 Se 联用、 β G 和 VE 联用组相比, 呈现降低的趋势, GSH-Px 活性呈现升高的趋势, 其原因可能与 VE 和 Se 能够产生互补作用, 共同参与体内自由基的清除有关^[15]。VE 不仅能诱导 SOD 活性的提高, 参与体内超氧阴离子自由基(O_2^-)的清除, 并且能直接清除超氧阴离子^[46], 当生物膜受到自由基攻击时, VE 会首先与自由基反应生成非自由基产物, 从而降低自由基的攻击能力。Se 是 GSH-Px 的必需成分, 通过 GSH-Px 活性阻断自由基对机体的损伤。此外, Se 和 VE 在防止脂质过氧化反应方面具有互补作用, 即补充 VE 的同时, 应适量补充 Se, 否则也会造成过量的过氧化物与不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应^[15]。本实验中, β G 与 VE 联用组对虾血清 MDA 含量显著高于其他各添加组, 与对照组水平接近, 进一步证明 VE 和 Se 的互补作用, 当 VE 的量超过一定添加量时, 会促进脂质过氧化物的产生, 但是补充 Se 能够阻止过氧化反应的发生。本研究中, 联合添加组对虾的总抗氧化能力(T-AOC)水平均比单独添加 β G 组高, 说明 β G 与 Se 或 VE 二者联合添加或三者联合添加时, 总体抗氧化作用比单独添加 β G 时效果好。有关 β G 与 Se 或 VE 二者联合添加或三者联合添加对凡纳滨对虾抗氧化能力的作用机理及适宜添加比例有待于进一步研究。

3.4 β G 和 Se、VE 联合添加对凡纳滨对虾抗 WSSV 感染能力的影响

抗病力是反映机体免疫功能状态的综合性评价指标。已有许多研究证实, β G 作为单一免疫增强剂能够提高水产动物的免疫力和抗病力^[47-48]。本实验中, β G 单独添加组 72 h 的累积死亡率较对照组降低, 相对保护率为 19.3%, 说明饲料中单独添加 β G 能够提高凡纳滨对虾抗 WSSV 的能力。当 β G 与 Se 或 VE 二者联合添加或 β G 与 Se、VE 三者联合添加时, 对虾的相对保护率比单独添加 β G 时高, 说明 β G 和 Se、VE 的复合免疫增强剂的抗病效果比单一添加 β G 更好。这与其他学者的研究结果一致。Verlhac 等^[49]对虹鳟(*Oncor-*

hynchus mykiss)的研究发现, 饲料中酵母 β G 和 VC 组合能显著提高替代途径补体活力和吞噬细胞的化学发光反应, 并在接种疫苗后增加抗体的产生。刘栋辉等^[50]研究表明, β G 与 VC 联合添加能显著提高斑节对虾对溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)和白斑病毒的抗感染能力。王正丽等^[51]研究结果显示, 饲料中 VC 和 β G 联合添加能显著提高牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)LZM 活性、替代途径补体活力和呼吸暴发活力等非特异性免疫因子, 并降低感染爱德华氏菌(*Edwardsiella ictaluri*)后的累积死亡率。目前, 关于 β G 与 Se 或 VE 联合添加的研究尚未见报道。笔者推测, β G 与 Se 或 VE 二者联合添加或 β G 与 Se、VE 三者联合添加提高凡纳滨对虾免疫和抗病力的机理与 β G 与 VC 联合添加的机理可能是相似的, 即 Se、维生素 E 和维生素 C 都是营养性免疫增强剂, 都通过抗氧化性质来发挥作用, 从而引起免疫增强作用, 这有待进一步研究证实。

参考文献:

- [1] 张伟权. 世界重要养殖品种—南美白对虾生物学简介[J]. 海洋科学, 1990(3): 69-73.
- [2] Winston G W. Oxidants and antioxidants in aquatic animals [J]. Comp Biochem Physiol, 1991, 100(1-2)C: 173-176.
- [3] 叶建生, 马甦, 王兴强, 等. 虾类营养免疫学研究进展[J]. 海洋湖沼通报, 2007(4): 167-176.
- [4] 陈昌福, 陈萱, 陈超然, 等. β -葡聚糖的特性及其对动物免疫功能的调节[J]. 华中农业大学学报, 2003, 22(1): 95-100.
- [5] Thanardkit P, Khunrae P M, Supphantharika M, et al. Glucan from spent brewer's yeast: preparation, analysis and use as a potential immunostimulant in shrimp feed[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2002, 18(6): 527-539.
- [6] Sahoo P K, Das A, Mohanty S. Dietary β -1,3-glucan improves the immunity and disease resistance of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* challenged with *Aeromonas hydrophila*[J]. Aquacult Res, 2008, 39(14): 1574-1578.
- [7] Misra C K, Das B K, Pradhan J, et al. Changes in lysosomal enzyme activity and protection against *Vibrio* infection in *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) post larvae after bath immunostimulation with β -glucan[J]. Fish Shellfish Immunol, 2004, 17(4): 389-395.
- [8] 王雷, 李光友, 毛远兴. 口服免疫药物后中国对虾某些血淋巴因子的测定及方法研究[J]. 海洋与湖沼, 1995, 26(1): 34-41.
- [9] Chang C F, Chen H Y, Su M S, et al. Immunomodulation by dietary β -1, 3-glucan in the brooders of the black tiger shrimp *Penaeus monodon*[J]. Fish Shellfish Immunol, 2000, 10(6): 505-514.
- [10] 刘倩. 复合免疫增强剂对凡纳滨对虾生长、存活及非特异性免疫力的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010: 1-60.
- [11] 王计刚. β -葡聚糖对凡纳滨对虾生长和免疫相关酶活性变化的影响[D]. 广州: 华南农业大学, 2007: 1-63.
- [12] Itami T, Asano M, Tokushige K, et al. Enhancement of disease resistance of kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, after oral administration of peptidoglycan derived from *Bifidobacterium thermophilum*[J]. Aquaculture, 1998, 164(1-4): 277-288.
- [13] Bai N, Zhang W B, Mai K S, et al. Effects of discontinuous administration of β -glucan and glycyrhizin on the growth and immunity of white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. Aquaculture, 2010, 306(1): 218-224.
- [14] Zhao H X, Cao J M, Wang A L, et al. Effect of dietary β -1,3-glucan on the immune response of *Litopenaeus vannamei* exposed to nitrite-N[J]. Aquacult Nutr, 2012, 18(3): 272-280.
- [15] 余禄明. 维生素 E 与硒的抗氧化机理及应用现状[J]. 山东畜牧兽医, 2011, 32(9): 75-76.
- [16] Poston H A, Combs G, Leibovitz L. Vitamin E and selenium interrelations in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) gross, histological and biochemical signs[J]. J Nutr, 1976, 106(7): 892-904.
- [17] Bell J G, Cowey B C. Some effects of selenium deficiency on enzyme activities and indices of tissue peroxidation in Atlantic salmon parr (*Salmo salar*)[J]. Aquaculture, 1987, 65(1): 43-54.
- [18] 张琴, 麦康森, 张文兵, 等. 饲料中添加硒酵母和维生素 E 对刺参生长、免疫力及抗病力的影响[J]. 动物营养学报, 2011(10): 1745-1755.
- [19] 张琼. 维生素 E 对幼建鲤生产性能和免疫功能的影响[D]. 四川: 四川农业大学, 2004: 1-70.
- [20] 梁萌青, 王家林, 常青, 等. 饲料中硒的添加水平对鲈鱼生长性能及相关酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2006, 13(6): 1017-1022.
- [21] Lin Y H, Shiau S Y. Dietary vitamin E requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus*, at two lipid levels, and their effects on immune responses[J]. Aquaculture, 2005, 248(1-

- 4): 235–244.
- [22] 胡俊茹, 王安利, 曹俊明. 维生素 E 和硒互作对凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 抗氧化系统调节作用[J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(1): 68–74.
- [23] Ashida M. Purification and characterization of pre-phenoloxidase from hemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*[J]. Arch Biochem Biophys, 1971, 144(2): 749–762.
- [24] 王雷, 李光友, 毛远兴. 中国对虾血淋巴中的抗菌、溶菌活力与酚氧化酶活力的测定及其特性研究[J]. 海洋与湖沼, 1995, 26(2): 179–185.
- [25] 何建国, 周化民, 姚伯, 等. 白斑综合症杆状病毒的感染途径和宿主种类[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 1999, 38(2): 66–70.
- [26] 阳会军, 谭北平, 方怀义. 饲料中添加不同水平 β -葡聚糖对斑节对虾生长、存活及其抗病力的影响[J]. 饲料工业, 2001(9): 18–19.
- [27] 陈云波, 周洪琪, 等. 饲料中添加 β -葡聚糖对南美白对虾的生长、存活及饲料系数的影响[J]. 淡水渔业, 2002, 32(5): 55–56.
- [28] 陈乃松, 魏涛涛, 廖奕招. 蝇蛆粉和 β -葡聚糖对凡纳滨对虾生长和免疫的影响[J]. 水产学报, 2007, 31(6): 771–777.
- [29] 王安利, 王荣端. 饲料中硒含量对中国对虾生长及其体内含量的影响[J]. 水产学报, 1994, 18(3): 245–248.
- [30] He H Q, Lawrence A L. Vitamin E requirement of *Penaeus vannamei*[J]. Aquaculture, 1993, 118(3–4): 245–255.
- [31] Ruff N, Lavens P, Huo J Z, et al. Antioxidant effect of dietary tocopherol and ascorbic acid on growth and survival of *Litopenaeus vannamei* postlarvae[J]. Aquacult Int, 2001, 9(2): 115–126.
- [32] Bai S C, Lee K J. Different levels of dietary DL- α -tocopheryl acetate affect the vitamin E status of juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegelii*[J]. Aquaculture, 1998, 161(1/4): 405–414.
- [33] Baker R T M, Davies S J. Changes in tissue-tocopherol status and degree of lipid peroxidation with varying α -tocopheryl acetate inclusion in diets for the African catfish[J]. Aquacult Nutr, 1996, 2(2): 71–79.
- [34] 邓守恒, 孙各琴. 高硒情况下维生素 E 对幼龄大鼠抗氧化作用的研究[J]. 广东微量元素科学, 2001, 8(6): 23–26.
- [35] 王京杭, 王强, 徐兵. β -1,3-葡聚糖的结构与功能[J]. 国外医学: 分子生物学分册, 1997(4): 183–187.
- [36] 万敏. 皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai* Ino)营养免疫学初步研究[D]. 青岛中国海洋大学, 2003: 1–88.
- [37] Pipe R K. Hydrolytic enzymes associated with the granular haemocytes of the marine mussel *Mytilus edulis*[J]. Histochem J, 1990, 22(11): 595–603.
- [38] 孙虎山, 李光友. 栉孔扇贝血淋巴中 ACP 和 AKP 活性及其电镜细胞化学研究[J]. 中国水产科学, 1999, 6(4): 6–9.
- [39] 罗辉, 周小秋. 硒与水生动物免疫功能的关系[J]. 动物营养学报, 2006, 18(S1): 378–382.
- [40] 王吉桥, 李爽, 路飏, 等. 间歇投喂添加蛋氨酸硒饲料对仿刺参(*Apostichopus japonicus* Selenka)幼参生长和免疫指标的影响[J]. 水产学杂志, 2011, 24(3): 1–9.
- [41] 韦宇, 曹俊明, 朱选, 等. 蛋氨酸硒对凡纳滨对虾生长及非特异免疫相关酶活性的影响[C]. 2007 年中国水产学会学术年会暨水产微生态调控技术论坛, 广西桂林, 2007: 54–55.
- [42] 艾春香, 陈立侨, 刘晓玲, 等. 维生素 E 对中华绒螯蟹 (*Eriocheirs sinensis*) 酚氧化酶、抗菌力和溶菌酶活性的影响[J]. 海洋与湖沼, 2008, 39(2): 119–123.
- [43] 赵雪, 董诗竹, 孙丽萍, 等. 海带多糖清除氧自由基的活性及机理[J]. 水产学报, 2011, 35(4): 531–538.
- [44] 段会轲, 熊善柏, 胡筱波. 酵母 β -1,3-葡聚糖酶解产物体内抗肿瘤及抗氧化活性的测定[J]. 华中农业大学学报, 2007, 26(5): 871–874.
- [45] 曹磊. 四种真菌多糖抗氧化和抗肿瘤及免疫调节活性的研究[D]. 河南: 郑州大学, 2010: 1–67.
- [46] 张云龙, 潘冬冬, 袁娟, 等. 饲料中 VE 对水生动物生理作用的研究进展[J]. 饲料广角, 2010(24): 42–50.
- [47] Sang H M, Fotedar R. Effects of dietary β -1,3-glucan on the growth, survival, physiological and immune response of marron, *Cherax tenuimanus* (Smith, 1912)[J]. Fish Shellfish Immunol, 2010, 28 (5–6): 957–960.
- [48] Chang J, Zhang W B, Mai K S, et al. Effects of dietary beta-glucan and glycyrrhizin on non-specific immunity and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone) challenged with *Vibrio alginolyticus* [J]. Aquaculture, 2011, 42(8): 1101–1109.
- [49] Verlhac V, Gabaudan J, Obach A, et al. Influence of dietary glucan and vitamin C on non-specific and specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Aquaculture, 1996, 143(2): 123–133.
- [50] 刘栋辉, 阳会军, 刘永坚. β -葡聚糖和维生素 C 对斑节对虾生长和抗病力的效果[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2002, 41(4): 59–62.
- [51] 王正丽, 麦康森, 刘付志国, 等. 饲料中维生素 C 和 β -葡聚糖对牙鲆免疫力和抗病力的影响[J]. 高技术通讯, 2006, 16(7): 757–761.

The combined effects of β -glucan with selenium and vitamin E on the growth performance, serum immune and antioxidant indexes, and disease resistance of *Litopenaeus vannamei*

LIU Qunfang^{1,2,3,4}, CAO Junming^{2,3,4}, HUANG Yanhua^{2,3,4}, WANG Guoxia^{2,3,4}, MO Wenyan^{2,3,4}, ZHOU Tingting^{2,3,4}, SUN Zhiwu^{2,3,4}, LIU Xiaoling^{1,2,3,4}

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

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

3. Guangdong Public Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Guangzhou 510640, China;

4. Guangdong Key Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Guangzhou 510640, China

Abstract: A feeding trial was conducted to investigate the effects of combined addition of β -glucan(β G) with selenium (Se) and vitamin E (VE) on the growth performance, serum immune, and antioxidant indexes, and disease resistance of *Litopenaeus vannamei*. Eight hundred juvenile shrimps with an initial body weight of (0.83 ± 0.02) g were randomly divided into 5 groups and fed one of five diets with added β G, Se, and VE. The combination and levels were 0, 300 mg/kg β G, 300 mg/kg β G+0.2 mg/kg Se, 300 mg/kg β G+100 mg/kg VE, and 300 mg/kg β G+0.2 mg/kg Se+100 mg/kg VE, named G0, G1, G2, G3, and G4, respectively. After 35 d feeding, the shrimps were infected with white spot syndrome virus(WSSV). The results showed that, weight gain rate(WGR) was highest in G2, which was significantly higher than that of G1 by 6.4% ($P > 0.05$) and the feed conversion ratio(FCR) exhibited a reverse change ($P < 0.05$). Survival rate(SR) in G3 was significantly lower than in G0 and G1 ($P < 0.05$). Total hemocyte count (THC) and phenoloxidase (PO) activity increased significantly in G4 ($P < 0.05$) compared with G0. No significant differences were observed in THC and PO activity in G2–G4 compared with G1 ($P > 0.05$); however, lysozyme(LZM) activity increased significantly ($P < 0.05$). Acidic phosphatase(ACP) activity in G3 was significantly lower than that in G4($P < 0.05$). Alkaline phosphatase (AKP) activity in G2 was significantly higher than that in the other three treatment groups ($P < 0.05$). Glutathione peroxidase (GSH-PX) activity in G4 increased significantly compared with the other four groups ($P < 0.05$). There was no significant difference among the five groups in glutathione transferase (GST) activity ($P > 0.05$). Catalase (CAT) activity was highest in G1, being significantly higher than that in G2 and G4 ($P < 0.05$). The highest value of superoxide dismutase (SOD) activity was observed in G2, followed by G1 and G3. The former was significantly different compared with the other four groups ($P < 0.05$), and the latter two were increased significantly in comparison to G0 and G4 ($P < 0.05$). Malondialdehyde (MDA) content in G1, G2 and G4 decreased significantly compared with G0 and G3 ($P < 0.05$). Anti-superoxide anion (Anti-O₂⁻) radical activity in G1, G2, and G4 was significantly higher than that in G3 ($P < 0.05$). Compared with G1, total antioxidant (T-AOC) capacity in G3 increased significantly ($P < 0.05$). After 72 h of WSSV infection, the highest cumulative mortality rate (AMR) was observed in G0, AMR in G1–G4 were lower, with a significant decrease in G2 and G4 ($P < 0.05$). The relative percent survival (RPS) in these two groups was 30.8% and 26.9%, respectively. In conclusion, the combined addition of β G+Se or β G+Se+VE might improve non-specific immunity, antioxidant capacity, and resistance to the white spot syndrome virus (WSSV) in *Litopenaeus vannamei*.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; β -glucan; selenium; vitamin E; growth performance; non-specific immunity; antioxidant capacity; disease resistance

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

HUANG Yanhua. E-mail: huangyh111@126.com