



低鱼粉饲料中添加羟基蛋氨酸硒对凡纳滨对虾生长性能、抗氧化能力和抗亚硝酸盐胁迫的影响

李 静, 李晓丽, 王 玲, 鲁康乐, 宋 凯, 张春晓*

(集美大学水产学院, 厦门市饲料质量检测与安全评价重点实验室, 福建 厦门 361021)

摘要: 为研究低鱼粉饲料中添加羟基蛋氨酸硒 (HMSe) 对凡纳滨对虾生长性能、抗氧化能力及抗亚硝酸盐胁迫的影响, 实验选用初始体质量为 (0.90 ± 0.05) g 的凡纳滨对虾, 分别投喂 HMSe 添加水平为 0.000、0.375、0.750、1.500 和 2.250 mg/kg 体质量的实验饲料, 命名为 HMSe0、HMSe1、HMSe2、HMSe3 和 HMSe4, 每组 3 个重复, 养殖 8 周, 养殖实验结束后, 进行 12 h 的亚硝酸盐胁迫实验。结果显示, 凡纳滨对虾的终末体质量 (FBW)、增重率 (WGR) 和饲料效率 (FE) 随着饲料中 HMSe 水平的提高呈现先升高后下降的趋势, 并在 HMSe2 组达到峰值。随着饲料中 HMSe 水平的提高, 对虾全体和肌肉中的硒含量均显著增加, 而全虾粗蛋白和粗脂肪的含量呈现先升高后降低的趋势, 并分别在 HMSe2 组和 HMSe1 组达到最大值。HMSe4 组中凡纳滨对虾的血清谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 和肝胰腺过氧化氢酶 (CAT) 活性显著高于 HMSe0 组。亚硝酸盐胁迫显著影响凡纳滨对虾的存活率。与胁迫前比较, 胁迫后对虾肝胰腺中 MDA 含量升高, GST、CAT 和 T-SOD 的活性降低, 而补充适量的 HMSe 可减轻这些负面影响。根据凡纳滨对虾胁迫后成活率的二次多项式回归分析, 低鱼粉饲料中凡纳滨对虾的 HMSe 最适添加量为 1.350 mg/kg。研究表明, 在低鱼粉饲料中添加 0.750~1.350 mg/kg HMSe, 能够提高凡纳滨对虾的生长性能、饲料利用率和抗亚硝酸盐胁迫的能力。

关键词: 凡纳滨对虾; 羟基蛋氨酸硒; 成活率; 抗氧化能力; 亚硝酸盐; 胁迫

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

硒 (Se) 是水产动物体内重要的微量元素之一, 在动物的生长^[1-3]、抗氧化和免疫^[4-5] 以及维持动物产品品质^[6] 中发挥着重要作用。目前, 动物生产中所用的硒源主要有无机硒和有机硒。无机硒的添加形式主要是亚硒酸钠, 有机硒主要添加形式是羟基蛋氨酸硒和酵母硒^[7-9]。与无机硒相比, 有机硒具有生物利用率高、毒副作用小、对环境污染小等优点, 在动物生长中, 相同的添加水平可起到更为显著的效果^[10-11]。已有研究表明, 相对

于无机硒, 饲料中添加有机硒可提高异育银鲫 (*Carassius auratus gibelio*) 的增重率, 降低饲料系数^[12-13]; 硒代蛋氨酸和酵母硒显著提高了斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*)^[14]、黄尾鲷 (*Seriola lalandi*)^[15] 的生长和肌肉硒的沉积, 以及虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 体内硒的沉积^[16]。硒源对大鼠 (*Rattus norvegicus*) 组织硒沉积有较大影响, 酵母硒相对于亚硒酸钠具有更高的生物学效价^[17]。此外, 在小鼠 (*Mus musculus*) 中羟基蛋氨酸硒 (HMSe) 比酵母硒

收稿日期: 2021-08-30 修回日期: 2021-10-21

资助项目: 福建省水产种子创新与产业化项目 (2017FJSCZY02); 农业公益科研专项基金 (201303053)

第一作者: 李静 (照片), 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: 15935439764@qq.com

通信作者: 张春晓, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: cxzhang@jmu.edu.cn



吸收得更好^[18]。

2020年中国对虾总产量将近150万t, 而凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 的产量高达约120万t^[19]。作为我国重要的经济对虾养殖种类之一, 凡纳滨对虾具有营养要求低、生长速度快、加工出肉率高、对水环境抗逆能力强等优点^[20]。鱼粉是水产饲料中最为重要的蛋白源, 在商业对虾饲料中鱼粉含量高 (>25%)^[21], 所以对虾的养殖会消耗大量的鱼粉。由于鱼粉资源短缺, 价格不断上涨, 研制和应用低鱼粉水产饲料成为水产饲料行业关注的热点及追求的目标。但在配合饲料中降低鱼粉用量后, 养殖对虾会出现生长缓慢、抗病力低下等问题^[22-23], 所以迫切需要营养调控手段来改善这一现状。目前在大规模集约化水产养殖中, 亚硝酸盐浓度超标已成为常态化问题^[24]。亚硝酸盐是引发水生动物应激的潜在因素, 亚硝酸盐的升高能够直接抑制对虾免疫能力, 引起对虾肝胰腺坏死, 增加对虾对病原菌的易感性^[25]。有研究表明, 亚硒酸钠提高了日本沼虾 (*Macrobrachium nipponense*) 血细胞 GSH-Px 的活性和抗氨氮胁迫的能力^[26]; 酵母硒对团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*) 由亚硝酸盐急性胁迫产生的损伤有保护作用^[27]; 在饲料中补硒能提高罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*)^[6]、日本沼虾^[3]、黄金米虾 (*Neocaridina heteropoda*)^[28] 和中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*)^[29] 等甲壳类动物的抗氧化能力。因此, 本实验通过在低鱼粉配合饲料中添加不同水平的羟基蛋氨酸硒, 研究其对凡纳滨对虾生长、抗氧化能力和抗亚硝酸盐胁迫的影响, 以期对凡纳滨对虾的健康养殖提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

以豆粕和鱼粉为蛋白源, 鱼油、豆油和大豆磷脂为脂肪源, 淀粉为糖源, 配制成粗蛋白约为42%、粗脂肪约为7%的基础饲料, 配方见表1。羟基蛋氨酸硒由 Adisseo 生命科学有限公司 (中国上海) 提供 (产品名称为 Selisseo[®], 含有5% HMSe)。分别向基础饲料中添加0.000、0.375、0.750、1.500和2.250 mg/kg HMSe, 制成5组等氮等脂的实验饲料, 命名为 HMSe0、HMSe1、HMSe2、HMSe3 和 HMSe4, 实测饲料硒水平分别为1.87、2.06、2.31、2.53和2.91 mg/kg。所有饲料原料均粉碎并

过80目筛, 采用逐级扩大法将 HMSe 与饲料原料混匀, 加入鱼油、豆油、大豆磷脂和水再次混匀, 经螺旋挤压机加工成1.5 mm的颗粒, 经60℃烘干8 h, 保存于-20℃冰箱中备用。

表1 基础饲料配方及营养组成 (干物质基础)

Tab. 1 Formulation and proximate composition of the basal diet (dry-matter basis)

项目 items	含量/(%) content
原料 ingredients	
红鱼粉 brown fish meal ¹	15.00
去皮豆粕 dehull soybean meal ²	40.00
鱿鱼膏 squid visceral paste	2.00
虾粉 shrimp meal ³	5.00
小麦面粉 wheat flour	28.76
鱼油 fish oil	2.20
豆油 soybean oil	1.00
大豆磷脂 lecithin	1.00
胆碱 choline chloride	0.50
磷酸二氢钙 monocalcium phosphate	2.00
矿物质预混料 mineral premix ⁴	0.10
维生素预混料 vitamin premix	0.30
L-抗坏血酸-2-磷酸酯 L-ascorbate-2-phosphate	0.10
蛋氨酸 methionine	0.31
赖氨酸 lysine	0.53
防霉剂 mold inhibitor	0.15
海藻酸钠 sodium alginate	1.00
乙氧基喹啉 ethoxyquin	0.05
营养成分 nutritional composition	
粗蛋白 crude protein	41.79
粗脂肪 crude lipid	7.53
总能/(kJ/g) gross energy	19.56

注: 1. 红鱼粉, 购自厦门ITG集团有限公司, 进口自秘鲁; 2. 去皮豆粕, 购自泉州福海粮油实业有限公司; 3. 虾粉, 购自厦门嘉康饲料有限公司; 4. 每千克矿物质预混料中包含NaF 2 mg, KI 0.8 mg, CoCl₂·6H₂O (1%) 50 mg, CuSO₄·5H₂O 10 mg, FeSO₄·H₂O 80 mg, ZnSO₄·H₂O 50 mg, MnSO₄·H₂O 25 mg, MgSO₄·7H₂O 200 mg, Zoelite 582 mg

Notes: 1. Brown fish meal, obtained from Xiamen ITG group Corp., Ltd., imported from Peru. 2. Dehull soybean meal, obtained from Quanzhou Fuhai cereals and oils industry Co., Ltd.. 3. Shrimp meal, obtained from Xiamen Jiakang Feed Co., Ltd.. 4. Containing the following per kg of mineral premix: NaF 2 mg, KI 0.8 mg, CoCl₂·6H₂O (1%) 50 mg, CuSO₄·5H₂O 10 mg, FeSO₄·H₂O 80 mg, ZnSO₄·H₂O 50 mg, MnSO₄·H₂O 25 mg, MgSO₄·7H₂O 200 mg, Zoelite 582 mg

1.2 实验动物及饲养管理

实验所用凡纳滨对虾购自漳州大北农海康水产养殖基地, 为当年同一批虾苗。对虾在循环系统中驯化2周后, 选用750只规格均匀、体健无

伤的幼虾, 初始体质量 (0.90 ± 0.05) g, 随机分到 15 个 500 L 的循环水养殖缸中, 每箱 50 只。将 15 个养殖缸随机分为 5 组, 每组 3 个重复, 分别投喂对应的实验饲料, 每天投喂 3 次 (08: 00、14: 00 和 19: 00), 饱食投喂。养殖期间记录每个实验缸中对虾的摄食和死亡情况。实验水温 $28 \sim 32$ °C, 盐度 32, pH 8.0, 亚硝酸盐浓度 $0.5 \sim 0.9$ mg/L, 溶解氧含量 5 mg/L 以上。

1.3 样品采集

养殖实验结束后, 凡纳滨对虾禁食 24 h, 称重并记录每桶总数。计算增重率 (WGR)、成活率 (SR) 和饲料效率 (FE)。每个养殖桶随机取 10 只对虾抽血, 放 4 °C 冰箱静置 12 h, 3 500 r/min 离心 10 min, 取上清, 保存在 -80 °C 冰箱, 用于血清酶活性的测定。然后采集肝胰腺和肌肉组织, 肝胰腺在液氮中速冻, 保存在 -80 °C 冰箱, 用于酶活性的测定。全体和肌肉保存在 -20 °C 冰箱中, 用于体组成和硒水平的测定。

1.4 急性亚硝酸盐胁迫

在急性亚硝酸盐胁迫实验之前, 先进行预实验, 计算出凡纳滨对虾的 LC_{50} (24 h) 为 59 mg/L^[30]。在饲养实验结束后, 对虾先稳定 48 h, 使用分析纯亚硝酸钠 (AR, 中国国药化学试剂有限公司) 将每个缸中的亚硝酸盐浓度调整为 59 mg/L。12 h 后记录存活对虾的数量, 然后进行心脏采血和肝胰腺的采集。血清分离后, -80 °C 低温冷冻保存, 肝胰腺在液氮中速冻, 保存在 -80 °C 冰箱。

1.5 测定方法及计算公式

测定方法 饲料和全体的常规营养成分采用 AOAC 的方法测定^[31]。水分的测定是通过样品在 105 °C 烘箱中烘至恒重的方法; 粗蛋白 (粗蛋白, N 因子=6.25) 采用凯氏定氮法, 用 FOSS Kjelttec 8400 分析仪, 在自动消化器中酸消化后测定; 粗脂肪测定采用索氏抽提法; 灰分含量采用 550 °C 灼烧法进行测定。采用氢化物原子荧光光谱法 (GB/T 13883—2008) 测定饲料、全体和肌肉硒含量。谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽转移酶 (GST)、过氧化氢酶 (CAT) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 的活性采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定; 碱性磷酸酶 (ALP) 使用全自动生化分析仪 (Selectra XL, 荷兰威图) 测定。

计算公式

成活率 (survival rate, SR, %) = $N_t/N_0 \times 100\%$

增重率 (weight gain rate, WGR, %) = $(W_t - W_0) / W_0 \times 100\%$

饲料效率 (feed efficiency, FE) = $(W_t - W_0) / W_f$

蛋白质效率 (protein efficiency ratio, PER) = $(W_t - W_0) / (W_f \times W_p) \times 100\%$

式中, N_t 为终末尾数, N_0 为初始尾数, W_t 为终末体质量 (FBW) (g), W_0 为初始体质量 (IBW) (g), W_f 为摄入饲料量 (干重, g), W_p 为饲料中的粗蛋白含量 (%), t 为实验天数 (d)。

1.6 数据分析

实验数据采用 SPSS 23.0 统计软件进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 若差异显著, 则进行 Duncan 氏多重比较, $P < 0.05$ 表示差异显著。所有数据均以平均值 \pm 标准误表示。

2 结果

2.1 羟基蛋氨酸硒对凡纳滨对虾生长性能的影响

凡纳滨对虾的 FBW、WGR 和 FE 随着饲料中 HMSe 水平的增加先升高后下降, 均在 HMSe2 组达到峰值。FI 随着饲料中 HMSe 水平的增加呈先下降后升高的趋势。各组之间 PER 和 SR 差异不显著 ($P > 0.05$) (表 2)。

2.2 羟基蛋氨酸硒对凡纳滨对虾全体及肌肉硒含量的影响

随着饲料中 HMSe 添加水平的增加, 凡纳滨对虾全虾 (图 1-a) 和肌肉 (图 1-b) 中的硒浓度显著提高 ($P < 0.05$)。

2.3 羟基蛋氨酸硒对凡纳滨对虾全体营养成分的影响

饲料中 HMSe 水平显著影响凡纳滨对虾全体粗蛋白和粗脂肪含量 ($P < 0.05$), 全体粗蛋白的含量在 HMSe2 组中达到最大值; 在 HMSe1 组全体粗脂肪的含量达到最大值随后显著降低, 添加 HMSe 组的粗脂肪都显著高于对照组 ($P < 0.05$)。各组间全体水分和粗灰分没有显著影响 ($P > 0.05$) (表 3)。

2.4 羟基蛋氨酸硒对凡纳滨对虾血清和肝胰腺抗氧化能力的影响

血清中 GSH-Px 和 T-SOD 的活性随着饲料

表 2 低鱼粉饲料中添加羟基蛋氨酸硒对凡纳滨对虾生长性能的影响

Tab. 2 Effect of HMSe supplementation in low-fishmeal diet on growth performance of *L. vannamei*

项目 items	组别 groups				
	HMSe0	HMSe1	HMSe2	HMSe3	HMSe4
终末体质量/g FBW	15.38±0.40 ^{ab}	15.53±0.26 ^{ab}	16.11±0.03 ^a	15.17±0.03 ^b	15.03±0.35 ^b
增重率/% WGR	1608.50±44.63 ^{ab}	1626.00±28.80 ^{ab}	1689.80±13.37 ^a	1585.10±3.29 ^b	1570.10±39.18 ^b
饲料效率 FE	1.21±0.02 ^b	1.26±0.01 ^{ab}	1.33±0.02 ^a	1.23±0.02 ^b	1.10±0.05 ^c
摄食率/(%/d) FI	2.46±0.04 ^b	2.35±0.02 ^{bc}	2.21±0.03 ^c	2.39±0.04 ^{bc}	2.68±0.13 ^a
蛋白质效率 PER	2.46±0.17	2.47±0.09	2.38±0.09	2.28±0.03	2.21±0.16
成活率/% SR	95.30±0.03	96.70±0.01	97.00±0.02	95.30±0.01	97.30±0.01

注: 同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同
Notes: Values with different superscript letters in the same row are significantly different ($P < 0.05$), the same below

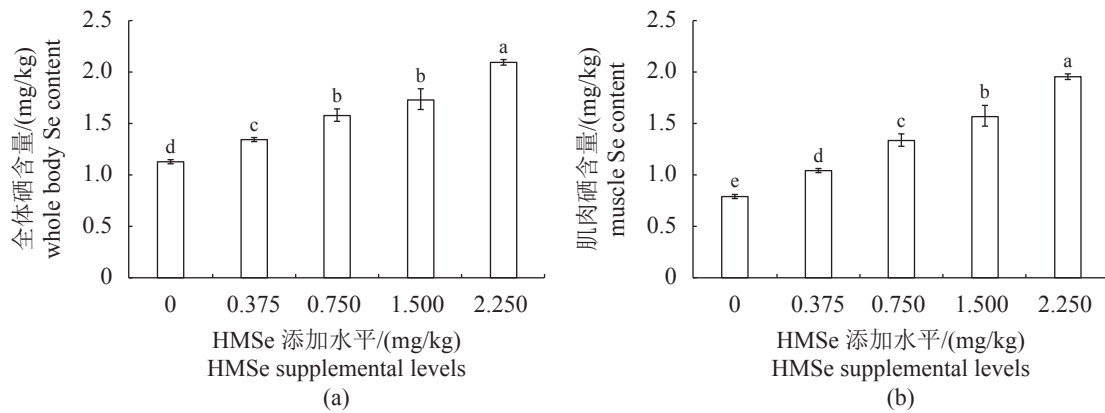


图 1 低鱼粉饲料中添加羟基蛋氨酸硒对凡纳滨对虾全体 (a) 和肌肉 (b) 硒含量的影响 (占干重)

字母不同表示存在显著差异 ($P < 0.05$)

Fig. 1 Effect of HMSe supplemental levels in low-fishmeal diet on the whole body (a) and muscle (b) Se contents of *L. vannamei* (Dry matter basis)

The different letters means significantly different ($P < 0.05$)

表 3 低鱼粉饲料中添加羟基蛋氨酸硒对凡纳滨对虾全体营养成分的影响 (湿重 %)

Tab. 3 Effect of HMSe supplementation in low-fishmeal diet on the body nutrient component of *L. vannamei* (wet weight)

项目 items	组别 groups				
	HMSe0	HMSe1	HMSe2	HMSe3	HMSe4
水分/% moisture	74.68±0.24	75.52±0.61	75.15±0.66	75.98±0.46	76.15±0.23
粗蛋白/% crude protein	18.03±0.18 ^{ab}	17.41±0.54 ^{abc}	18.27±0.12 ^a	17.12±0.23 ^{bc}	16.99±0.12 ^c
粗脂肪/% crude lipid	0.80±0.06 ^c	1.17±0.05 ^a	0.95±0.02 ^b	1.00±0.02 ^b	1.05±0.03 ^b
粗灰分/% crude ash	3.34±0.21	3.24±0.13	3.17±0.11	3.20±0.19	3.04±0.08

中 HMSe 的增加而增强, 在 HMSe4 组达到最大值, 并且显著高于 HMSe0 组 ($P < 0.05$), T-AOC 和 ALP 的活性在各组间差异不显著 ($P > 0.05$)(表 4)。肝胰腺 T-SOD 活性在 HMSe4 组最低, 显著低于其他各组 ($P < 0.05$), 而 CAT 活性在 HMSe4 组最高, 显著高于其他各组 ($P < 0.05$), GST 的活性在 HMSe1

组最高, 显著高于 HMSe2、HMSe3、HMSe4 组 ($P < 0.05$), 但与 HMSe0 组差异不显著 ($P > 0.05$)。肝胰腺中 GSH-Px 的活性和 MDA 的含量随着 HMSe 添加量的增加呈现先降低后升高的趋势, 但各组间差异不显著 ($P > 0.05$)(表 5)。

表 4 低鱼粉饲料中添加羟基蛋氨酸硒对凡纳滨对虾血清抗氧化能力的影响

Tab. 4 Effect of HMSe supplementation in low-fishmeal diet on antioxidant ability in serum of *L. vannamei*

项目 items	组别 groups				
	HMSe0	HMSe1	HMSe2	HMSe3	HMSe4
总抗氧化能力/(U/mL) T-AOC	7.32±0.14	6.95±0.21	6.93±0.15	7.02±0.07	7.02±0.20
谷胱甘肽过氧化物酶/(U/mL) GSH-Px	2640.60±20.33 ^b	2658.20±29.53 ^b	2668.90±44.64 ^b	2687.50±33.88 ^b	2834.20±37.27 ^a
总超氧化物歧化酶/(U/mL) T-SOD	317.4±3.24 ^b	322.8±1.23 ^b	340.7±6.66 ^a	342.8±2.28 ^a	346.0±4.15 ^a
碱性磷酸酶/(U/L) ALP	51.70±1.97	51.10±1.46	47.00±2.54	47.10±0.51	49.10±0.38

表 5 低鱼粉饲料中添加羟基蛋氨酸硒对凡纳滨对虾肝胰腺抗氧化能力的影响

Tab. 5 Effect of HMSe supplementation in low-fishmeal diet on antioxidant ability in hepatopancreas of *L. vannamei*

项目 items	组别 groups				
	HMSe0	HMSe1	HMSe2	HMSe3	HMSe4
谷胱甘肽过氧化物酶/(U/mg prot) GSH-Px	179.50±10.99	156.61±12.18	152.69±9.37	150.21±1.97	155.91±3.65
谷胱甘肽-S-转移酶/(U/mg prot) GST	55.52±2.57 ^{ab}	57.40±1.11 ^a	52.14±1.17 ^b	52.40±0.58 ^b	51.99±0.97 ^b
过氧化氢酶/(U/mg prot) CAT	2.37±0.22 ^b	2.59±0.27 ^b	3.56±0.48 ^b	3.74±0.34 ^b	5.71±0.73 ^a
总超氧化物歧化酶/(U/mg prot) T-SOD	12.37±0.35 ^a	13.15±0.36 ^a	12.33±0.71 ^a	14.17±0.75 ^a	9.20±0.53 ^b
丙二醛/(nmol/mg prot) MDA	2.19±0.25	2.36±0.20	2.31±0.23	1.84±0.08	2.47±0.32

2.5 亚硝酸盐胁迫下羟基蛋氨酸硒对凡纳滨对虾成活率的影响

在亚硝酸盐胁迫下,随着饲料中 HMSe 水平的增加,凡纳滨对虾的存活率呈现先增加后降低的趋势。HMSe0 组、HMSe1 组、HMSe3 组和 HMSe4 组之间存活率无显著性差异 ($P>0.05$), HMSe2 组的存活率显著高于 HMSe0 组 ($P<0.05$)。以凡纳滨对虾胁迫后成活率为评价指标进行二次回归分析可得,凡纳滨对虾抗亚硝酸盐胁迫的 HMSe 最适添加量为 1.350 mg/kg (图 2)。

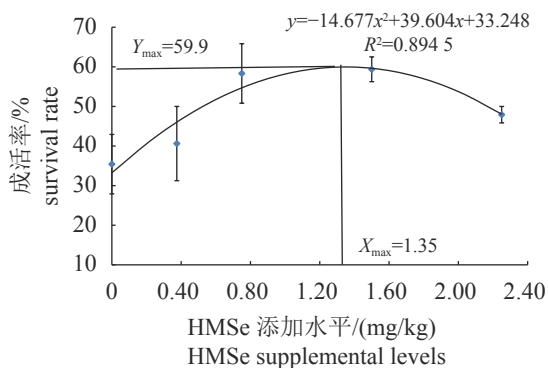


图 2 低鱼粉饲料中羟基蛋氨酸硒添加水平与凡纳滨对虾胁迫后成活率的二次回归分析

Fig. 2 Quadratic polynomial regression analysis between dietary HMSe supplemental levels in low-fishmeal diet and survival rate of *L. vannamei* under nitrite stress

2.6 亚硝酸盐胁迫下羟基蛋氨酸硒对凡纳滨对虾抗氧化能力的影响

在亚硝酸盐胁迫下,随着饲料中 HMSe 水平的增加,血清 GSH-Px 的活性呈逐渐升高的趋势,在 HMSe4 组达到最高。T-AOC、T-SOD 和 ALP 的活力在 HMSe3 组达到最高值,并且显著高于 HMSe0 组 ($P<0.05$) (表 6)。凡纳滨对虾肝胰腺中 GSH-Px 的活性在 HMSe4 组最高,并且显著高于其他各组 ($P<0.05$), GST 的活性在 HMSe3 和 HMSe4 组的活性显著高于其他各组 ($P<0.05$), MDA 的含量在 HMSe1、HMSe2 和 HMSe3 组显著低于 HMSe0 和 HMSe4 组 ($P<0.05$) (表 7)。

3 讨论

3.1 羟基蛋氨酸硒对凡纳滨对虾生长性能的影响

硒是动物生长过程中必需的微量元素之一,缺硒会导致水产动物生长缓慢,摄入适量的硒能促进其生长,提高成活率和饲料利用率等^[2,32],然而,过量的硒也会对动物产生毒性作用^[33]。有研究表明,在饲料中添加 0.2 mg/kg 的酵母硒与对照组相比能显著提高马龙螯虾 (*Cherax cainii*) 的增重率、特定增长率和成活率等^[4]。在饲料中添加 0.3 mg/kg 的有机硒能提高革胡子鲶 (*Clarias gariepinus*)

表 6 亚硝酸盐胁迫下羟基蛋氨酸硒对凡纳滨对虾血清抗氧化能力的影响

Tab. 6 Effect of HMSe levels on antioxidant ability in serum of *L. vannamei* under nitrite stress

项目 Items	组别 groups				
	HMSe0	HMSe1	HMSe2	HMSe3	HMSe4
总抗氧化能力/(U/mL) T-AOC	8.63±0.78 ^b	8.94±0.68 ^b	8.80±0.41 ^b	11.43±0.14 ^a	9.54±0.05 ^b
谷胱甘肽过氧化物酶/(U/mL) GSH-Px	916.12±165.87 ^b	1015.29±83.74 ^b	1278.51±155.47 ^{ab}	1109.09±53.28 ^{ab}	1423.14±47.30 ^a
总超氧化物歧化酶/(U/mL) T-SOD	139.56±3.50 ^b	138.98±0.98 ^b	168.60±7.89 ^a	171.26±3.65 ^a	160.04±3.63 ^a
碱性磷酸酶/(U/L) ALP	8.75±0.50 ^b	10.79±0.73 ^{ab}	13.12±1.53 ^a	13.42±0.12 ^a	9.33±0.39 ^b

表 7 亚硝酸盐胁迫下羟基蛋氨酸硒对凡纳滨对虾肝胰腺抗氧化能力的影响

Tab. 7 Effect of HMSe levels on antioxidant ability in hepatopancreas of *L. vannamei* under nitrite stress

项目 items	组别 groups				
	HMSe0	HMSe1	HMSe2	HMSe3	HMSe4
谷胱甘肽过氧化物酶/(U/mg prot) GSH-Px	356.36±1.52 ^b	369.79±16.02 ^b	353.21±9.58 ^b	375.96±2.79 ^b	414.53±3.88 ^a
谷胱甘肽-S-转移酶/(U/mg prot) GST	41.18±0.32 ^b	41.25±0.13 ^b	40.75±1.12 ^b	44.52±0.13 ^a	43.62±0.10 ^a
过氧化氢酶/(U/mg prot) CAT	0.62±0.04	0.62±0.08	0.65±0.04	0.62±0.02	0.66±0.03
总超氧化物歧化酶/(U/mg prot) T-SOD	11.53±0.85	10.80±1.28	9.84±0.91	9.47±0.85	9.61±0.88
丙二醛/(nmol/mg prot) MDA	2.56±0.02 ^a	2.12±0.16 ^b	2.16±0.00 ^b	2.25±0.12 ^b	2.76±0.02 ^a

的生长性能和饲料效率, 超过 0.5 mg/kg 会降低其生长性能和饲料效率^[34]。对硬头鳟 (*Salmo gairdneri*) 的研究结果也表明, 摄食硒含量 13~15 mg/kg 的饲料时会对硬头鳟产生毒性作用, 导致肾脏钙质沉着症的发病率增加进而降低生长性能^[35]。在本实验中, 饲料中添加 0.750 mg/kg 的 HMSe 能提高对虾的增重率和饲料利用率。但是当饲料中 HMSe 的添加量超过 1.500 mg/kg 时, 对凡纳滨对虾的生长性能产生负面影响, 饲料利用率下降。在本实验中随着饲料中 HMSe 水平的增加, 硒在凡纳滨对虾全虾和肌肉中的沉积显著增加, 会对机体产生毒性^[33], 这也可能是高硒组生长性能下降的原因。本研究结果也提示, 可以通过在饲料中添加适量 HMSe 获得富硒凡纳滨对虾产品。

体组成是水产动物营养学研究中评价动物体营养状况的重要指标^[36]。由本实验结果可知, 饲料硒含量影响了凡纳滨对虾的体组成, 全体粗蛋白的含量在 HMSe2 组中达到最大值。在虹鳟幼鱼 (*Oncorhynchus mykiss*) 饲料中适量补硒可通过促进摄食后蛋白质的合成而对肌肉中蛋白质沉积起到促进作用^[37]。本实验中对虾在 HMSe2 组的增重率最大, 可能是 HMSe 促进了对虾摄食后蛋白质的合成, 蛋白质在机体沉积增多, 从而提高了增重率。苏传福等^[38]在草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 的研究中也得到相似的结果。本实验中在 HMSe1 组, 全体粗脂肪的含量达到最大值而后降

低。在白鲟幼鱼 (*Acipenser transmontanus*)^[39] 和绿鲟幼鱼 (*Acipenser medirostris*)^[40] 中, 随着饲料硒含量的升高鱼体粗脂肪含量显著降低; 在革胡子鲇中, 饲料中高含量的硒也使鱼体粗脂肪含量降低^[34]。De Riu 等^[40]认为在机体储备的分配阶段, 更多的体成分, 如脂肪和蛋白质, 被用来满足与硒中毒相关的额外能量消耗, 故推测在高硒组对虾粗蛋白和粗脂肪含量下降可能是高硒对机体产生毒性有关。另外, 实验动物的种类、实验动物养殖阶段的生长速度也是影响蛋白沉积和脂肪沉积的因素^[40]。饲料硒营养水平对虹鳟摄食后蛋白质合成的调节是通过雷帕霉素复合物 1(TORC1) 途径来实现的^[37], 但到目前为止, 高硒降低机体脂肪含量的机制还有待于进一步研究。

3.2 羟基蛋氨酸硒对凡纳滨对虾抗氧化能力的影响

硒作为抗氧化酶 GSH-Px 的活力中心, 在机体的抗氧化系统中具有重要作用, GSH-Px 能催化还原型谷胱甘肽 (GSH) 转化成氧化型谷胱甘肽 (GSSG), 使有毒的过氧化物还原成无毒的羟基化合物, 并且清除活性氧自由基, 从而保护细胞膜免受过氧化物的损伤^[41]。GSH-Px、CAT、T-SOD 等是动物机体内主要抗氧化物酶, 其活性影响 MDA 的含量^[42-43]。MDA 主要是过氧化脂质分解代谢的产物, 与机体自由基产生量成正比, 过量

的自由基在体内不能被及时清除,即可攻击细胞膜上的不饱和脂肪酸,导致细胞膜脂质过氧化,从而使脂质过氧化产物MDA含量增加,故测定MDA含量常常可以反映机体细胞受自由基攻击和脂质氧化的程度,间接地反映出细胞损伤程度的严重性^[44]。本实验中血清GSH-Px和T-SOD的活性随着饲料中HMSe的增加而提高。在血清中GSH-Px的活性超过肝胰腺GSH-Px活性的20倍以上,说明血清中GSH-Px的活性更灵敏地反映了对虾机体内的硒含量。肝胰腺中HMSe3组T-SOD活性最高,MDA含量最低,在HMSe1组GST的活性最高,说明在本实验条件下添加适量的HMSe能提高对虾的抗氧化能力,降低体内脂质过氧化物和氧自由基的积累,抵抗氧化损伤。Yu等^[45]在饲料中添加不同水平的硒投喂草鱼,发现饲料中硒的水平增加可以通过提高核因子E2相关因子2(Nrf2)的mRNA水平,增强GSH-Px和CAT的活性,从而提高机体清除自由基的能力。这也与用富含硒饲料投喂罗氏沼虾^[6]和鲤^[42]的研究结果相似。

3.3 羟基蛋氨酸硒对凡纳滨对虾抗胁迫能力的影响

亚硝酸盐是养殖水环境中有机物分解的中间产物与一些金属离子结合后所形成,是生态系统中氮循环的重要中间产物,也是水产养殖过程中常见的污染物,水体中高浓度的亚硝酸盐能引起动物机体的应激反应,并能在虾蟹等甲壳动物血液中大量蓄积,导致其离子调控、呼吸、心血管、内分泌等多种生理进程紊乱,甚至引起甲壳类缺氧而窒息死亡及疾病的暴发^[46-53]。有学者用亚硝酸盐对凡纳滨对虾进行急性毒性试验发现,对虾的死亡率随着环境中亚硝酸盐浓度的增加而升高^[54-55]。本实验发现亚硝酸盐急性胁迫会导致凡纳滨对虾的死亡率升高,饲料中添加HMSe可以提高凡纳滨对虾的抗亚硝酸盐胁迫的能力,但过高的HMSe添加对凡纳滨对虾的抗胁迫能力产生负面影响。在本实验条件下,凡纳滨对虾抗亚硝酸盐胁迫的最适添加剂量为1.35 mg/kg (HMSe)。Wang等^[56]认为水体中亚硝酸盐浓度的增加能导致凡纳滨对虾体内活性氧中介产物(ROIs)的增加,并且SOD、GSH-Px和CAT的活性随着亚硝酸浓度的增加而降低。本实验亚硝酸盐胁迫后,血清中T-SOD、GSH-Px、ALP和肝胰腺中GST、CAT

等酶的活性低于胁迫前的活性,但MDA的含量高于胁迫前的含量。推测亚硝酸盐胁迫会促进凡纳滨对虾体内脂质过氧化物的发生,使MDA在体内积累^[57-58]。本实验中在亚硝酸盐胁迫后,凡纳滨对虾肝胰腺中的MDA含量在HMSe1、HMSe2和HMSe3组显著低于HMSe0和HMSe4组,原因可能是添加适量的硒能够提高机体抗应激能力,而在适宜范围之外会引起硒缺乏症或慢、急性中毒^[59]。缺硒会使动物抗氧化能力降低,免疫活性细胞功能受损,从而使动物抵抗外界应激能力降低^[60]。虹鳟摄食缺硒饵料后,其肝脏微粒体中脂质过氧化物含量显著增加^[61]。适度补硒则可提高水生动物的抗氧化功能和免疫功能。有研究发现,0.2 mg/kg的羟基蛋氨酸硒、0.4 mg/kg的酵母硒和亚硒酸钠可显著提高斑点叉尾鲷攻毒后的成活率^[62]。本实验中凡纳滨对虾在胁迫后,相对于HMSe0组,HMSe2和HMSe3组具有更高的抗氧化酶活性,说明对虾摄食适量的硒能提高抗氧化能力,从而提高对虾对亚硝酸盐的耐受性。

4 结论

结果显示,在低鱼粉饲料中添加0.750~1.350 mg/kg HMSe能提高凡纳滨对虾生长性能和饲料利用率,增强其抗亚硝酸盐胁迫的能力。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Wang W F, Mai K S, Zhang W B, *et al.* Dietary selenium requirement and its toxicity in juvenile abalone *Haliotis discus hannai* Ino[J]. *Aquaculture*, 2012, 330-333: 42-46.
- [2] Lin Y H, Shiao S Y. Dietary selenium requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*[J]. *Aquaculture*, 2005, 250(1-2): 356-363.
- [3] Kong Y Q, Ding Z L, Zhang Y X, *et al.* Dietary selenium requirement of juvenile oriental river prawn *Macrobrachium nipponense*[J]. *Aquaculture*, 2017, 476: 72-78.
- [4] Nugroho R A, Fotedar R. Dietary organic selenium improves growth, survival and resistance to *Vibrio mimicus* in cultured marron, *Cherax cainii* (Austin, 2002)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, 35(1): 79-85.
- [5] 李若铭,孔祎頔,王桂芹.微量元素硒的生物学功能及

- 其对水产动物的影响的研究进展[J]. *饲料工业*, 2021, 42(6): 9-14.
- Li R M, Kong Y D, Wang G Q. The biological function of trace element selenium and its influence on aquatic animals[J]. *Feed Industry*, 2021, 42(6): 9-14 (in Chinese).
- [6] Chiu S T, Hsieh S L, Yeh S P, *et al.* The increase of immunity and disease resistance of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* by feeding with selenium enriched-diet[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 29(4): 623-629.
- [7] Lin Y H. Effects of dietary organic and inorganic selenium on the growth, selenium concentration and meat quality of juvenile grouper *Epinephelus malabaricus*[J]. *Aquaculture*, 2014, 430: 114-119.
- [8] 梁达智, 马豪勇, 杨奇慧, 等. 硒源及硒水平对斜带石斑鱼幼鱼生长性能、免疫酶活性和全鱼及脊椎骨硒含量的影响[J]. *动物营养学报*, 2019, 31(6): 2777-2787. Liang D Z, Ma H Y, Yang Q H, *et al.* Effects of selenium sources and selenium levels on growth performance, immune enzyme activities and selenium contents of whole fish and vertebrae for juvenile grouper (*Epinephelus coioides*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(6): 2777-2787 (in Chinese).
- [9] 胡俊茹, 王国霞, 孙育平, 等. 饲料硒含量对黄颡鱼幼鱼生长性能、抗氧化能力和脂肪代谢基因表达的影响[J]. *动物营养学报*, 2016, 28(12): 3925-3934. Hu J R, Wang G X, Sun Y P, *et al.* Effects of dietary selenium content on growth performance, antioxidant capacity and lipid metabolism gene expression of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2016, 28(12): 3925-3934 (in Chinese).
- [10] Meng T T, Liu Y L, Xie C Y, *et al.* Effects of different selenium sources on laying performance, egg selenium concentration, and antioxidant capacity in laying hens[J]. *Biological Trace Element Research*, 2019, 189(2): 548-555.
- [11] 张清雯, 陈超, 邵彦翔, 等. 硒代蛋氨酸对条纹锯鲷生长性能、组织硒含量、抗氧化能力及血清生化指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2018, 30(11): 4746-4756. Zhang Q W, Chen C, Shao Y X, *et al.* Effects of selenomethionine on growth performance, tissue selenium content, antioxidant capacity and serum biochemical indices of *Centropristis striata*[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, 30(11): 4746-4756 (in Chinese).
- [12] 魏文志, 杨志强, 罗方妮, 等. 饲料中添加有机硒对异育银鲫生长的影响[J]. *淡水渔业*, 2001, 31(3): 45-46. Wei W Z, Yang Z Q, Luo F N, *et al.* Effects of adding organic selenium on the growth of allogynogenetic crucian carp[J]. *Freshwater Fisheries*, 2001, 31(3): 45-46 (in Chinese).
- [13] 朱春峰. 有机硒和无机硒对异育银鲫生长、生理的影响[D]. 苏州: 苏州大学, 2009. Zhu C F. Effect of dietary organic Se and inorganic Se supplement on growth performance and physiological function of the different organs in *Carassius auratus gibelio*[D]. Suzhou: Soochow University, 2009 (in Chinese).
- [14] 郑宗林, 黄朝芳, 汪道好. 不同硒源对叉尾鲷生长性能影响的对比试验[J]. *粮食与饲料工业*, 2002(3): 30-32. Zheng Z L, Huang C F, Wang D H. Comparative feeding experiment upon the effects of different selenium sources on the growing performance of channel catfish[J]. *Cereal & Feed Industry*, 2002(3): 30-32 (in Chinese).
- [15] Le K T, Fotedar R. Bioavailability of selenium from different dietary sources in yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*)[J]. *Aquaculture*, 2014, 420-421: 57-62.
- [16] Rider S A, Davies S J, Jha A N, *et al.* Supra-nutritional dietary intake of selenite and selenium yeast in normal and stressed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Implications on selenium status and health responses[J]. *Aquaculture*, 2009, 295(3-4): 282-291.
- [17] 罗培林, 郑萍, 何军, 等. 不同硒源及硒水平对大鼠生长性能、血清抗氧化能力和组织硒沉积的影响[J]. *动物营养学报*, 2012, 24(7): 1311-1319. Luo P L, Zheng P, He J, *et al.* Different selenium sources and levels affect growth performance, serum antioxidant ability and tissue selenium retention in wistar rats[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(7): 1311-1319 (in Chinese).
- [18] Taylor J B, Finley J W, Caton J S. Effect of the chemical form of supranutritional selenium on selenium load and selenoprotein activities in virgin, pregnant, and lactating rats[J]. *Journal of Animal Science*, 2005, 83(2): 422-429.
- [19] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农

- 业出版社, 2021.
- The China Society of Fisheries, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China Fishery Statistical Yearbook[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2021 (in Chinese).
- [20] 储霞玲, 曹俊明, 赵红霞, 等. 饲料中联合添加硒和谷胱甘肽对凡纳滨对虾生长、饲料系数和体成分的影响[J]. *饲料工业*, 2008(12): 28-31.
- Chu X L, Cao J M, Zhao H X, *et al.* Effects of dietary Se and GSH on growth, feed utilization and body nutrient in *Litopenaeus vannamei*[J]. *Feed Industry*, 2008(12): 28-31 (in Chinese).
- [21] Han D, Shan X J, Zhang W B, *et al.* A revisit to fish-meal usage and associated consequences in Chinese aquaculture[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2018, 10(2): 493-507.
- [22] 张海涛, 蒲雪松, 杨奇慧, 等. 高蛋白棉粕替代鱼粉对凡纳滨对虾生长性能、非特异性免疫指标及抗病力的影响[J]. *广东海洋大学学报*, 2018, 38(4): 20-26.
- Zhang H T, Pu X S, Yang Q H, *et al.* Effects of replacing fish meal with high-protein cottonseed meal on growth performance, non-specific immune index and disease resistance for *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2018, 38(4): 20-26 (in Chinese).
- [23] 王武刚, 罗词兴, 黄旭雄, 等. 酵母提取物替代鱼粉对凡纳滨对虾免疫抗菌机能和溶菌酶mrna及toll受体mrna表达的影响[J]. *上海海洋大学学报*, 2012, 21(6): 1003-1010.
- Wang W G, Luo C X, Huang X X, *et al.* The effect of replacement of fish meal by yeast extract on the immunity, vibrio-resistant ability, lysozyme mRNA and Toll receptor mRNA expressions of the shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2012, 21(6): 1003-1010 (in Chinese).
- [24] Gomes R S Jr, De Lima J P V, Cavalli R O, *et al.* Acute toxicity of ammonia and nitrite to painted river prawn, *Macrobrachium carcinus*, larvae[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2016, 47(2): 239-247.
- [25] 黄翔鹤, 李长玲, 郑莲, 等. 亚硝酸盐氮对凡纳滨对虾毒性和抗病相关因子影响[J]. *水生生物学报*, 2006, 30(4): 466-471.
- Huang X H, Li C L, Zheng L, *et al.* The toxicity of NO₂-N on *Litopenaeus vannamei* and effects of NO₂-N on factors relating to the anti-disease ability[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2006, 30(4): 466-471 (in Chinese).
- [26] Cheng S Y, Chen J C. Hemocyanin oxygen affinity, and the fractionation of oxyhemocyanin and deoxyhemocyanin for *Penaeus monodon* exposed to elevated nitrite[J]. *Aquatic Toxicology*, 1999, 45(1): 35-46.
- [27] Morris P C, Gallimore P, Handley J, *et al.* Full-fat soya for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in freshwater: Effects on performance, composition and flesh fatty acid profile in absence of hind-gut enteritis[J]. *Aquaculture*, 2005, 248(1-4): 147-161.
- [28] Wang H W, Cai D B, Xiao G H, *et al.* Effects of selenium on the activity of antioxidant enzymes in the shrimp, *Neocaridina heteropoda*[J]. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 2009, 61(4): 322-329.
- [29] 高霄龙. 光照对皱纹盘鲍生长、行为、生理的影响及其机制研究 [D]. 青岛: 中国科学院研究生院 (海洋研究所), 2016.
- Gao X L. Effects of light on the growth, behavior, and physiology of *Haliotis discus hannai* Ino and the impact mechanism[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2016 (in Chinese).
- [30] Wang L, Li X L, Lu K L, *et al.* Dietary hydroxyl methionine selenium supplementation enhances growth performance, antioxidant ability and nitrite tolerance of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Aquaculture*, 2021, 537: 736513.
- [31] Lee M H. Official methods of analysis of AOAC International (16th edn): Edited by Patricia A. Cunniff, AOAC International, 1995. \$359.00 (North America)/\$399.00 (elsewhere) (xxvi + 1899 pages) ISBN 0 935 584 54 4[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 1995, 6(11): 382.
- [32] Wang Y B, Han J Z, Li W F, *et al.* Effect of different selenium source on growth performances, glutathione peroxidase activities, muscle composition and selenium concentration of allogynogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*)[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2007, 134(3-4): 243-251.
- [33] Lee S, Nambi R W, Won S, *et al.* Dietary selenium requirement and toxicity levels in juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*[J]. *Aquaculture*, 2016, 464: 153-158.
- [34] Abdel-Tawwab M, Mousa M A A, Abbass F E. Growth

- performance and physiological response of African catfish, *Clarias gariepinus* (B.) fed organic selenium prior to the exposure to environmental copper toxicity[J]. *Aquaculture*, 2007, 272(1-4): 335-345.
- [35] Hilton J W, Hodson P V. Effect of increased dietary carbohydrate on selenium metabolism and toxicity in rainbow trout (*Salmo gairdneri*)[J]. *The Journal of Nutrition*, 1983, 113(6): 1241-1248.
- [36] 王安利, 王维娜, 刘存岐, 等. 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.
- Wang A L, Wang W N, Liu C Q, *et al.* Effects of selenium concentrations in feed on the growth and selenium contents of *Penaeus chinensis*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1994, 18(3): 245-248 (in Chinese).
- [37] Wang L, Wang L, Zhang D F, *et al.* Effect of dietary selenium on postprandial protein deposition in the muscle of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *British Journal of Nutrition*, 2021, 125(7): 721-731.
- [38] 苏传福, 罗莉, 文华, 等. 硒对草鱼生长、营养组成和消化酶活性的影响[J]. 上海水产大学学报, 2007, 16(2): 124-129.
- Su C F, Luo L, Wen H, *et al.* Effects of dietary selenium on growth performance, quality and digestive enzyme activities of grass carp[J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2007, 16(2): 124-129 (in Chinese).
- [39] Tashjian D H, Teh S J, Sogomonyan A, *et al.* Bioaccumulation and chronic toxicity of dietary L-selenomethionine in juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*)[J]. *Aquatic Toxicology*, 2006, 79(4): 401-409.
- [40] De Riu N, Lee J W, Huang S S Y, *et al.* Effect of dietary selenomethionine on growth performance, tissue burden, and histopathology in green and white sturgeon[J]. *Aquatic Toxicology*, 2014, 148: 65-73.
- [41] 李雷, 吴伍涛, 许渊, 等. 不同硒源对鲫鱼生长性能、抗氧化酶活性、肌肉成分及硒沉积的影响[J]. *中国饲料*, 2020(4): 95-98.
- Li L, Wu W T, Xu Y, *et al.* Effects of different selenium sources on growth performance, antioxidant enzyme activity, muscle composition and selenium deposition of crucian[J]. *China Feed*, 2020(4): 95-98 (in Chinese).
- [42] Jovanovic A, Grubor-Lajsic G, Djukic N, *et al.* The effect of selenium on antioxidant system in erythrocytes and liver of the carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1997, 37(5): 443-448.
- [43] Rotruck J T, Pope A L, Ganther H E, *et al.* Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase[J]. *Science*, 1973, 179(4073): 588-590.
- [44] 马英英, 张磊. 钼对小鼠丙二醛含量的影响[J]. *饲料博览*, 2020(8): 27-29.
- Ma Y Y, Zhang L. Effect of molybdenum on malondialdehyde content in mice[J]. *Feed Review*, 2020(8): 27-29 (in Chinese).
- [45] Yu H B, Zhang C, Zhang X T, *et al.* Dietary nano-selenium enhances antioxidant capacity and hypoxia tolerance of grass carp *Ctenopharyngodon idella* fed with high-fat diet[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2020, 26(2): 545-557.
- [46] Lewis W M Jr, Morris D P. Toxicity of nitrite to fish: a review[J]. *Transactions of the American Fisheries Society*, 1986, 115(2): 183-195.
- [47] Jensen F B. Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology*, 2003, 135(1): 9-24.
- [48] Kroupova H, Machova J, Svobodova Z. Nitrite influence on fish: a review[J]. *Veterinarni Medicina*, 2005, 50(11): 461-471.
- [49] Aggergaard S, Jensen F B. Cardiovascular changes and physiological response during nitrite exposure in rainbow trout[J]. *Journal of Fish Biology*, 2001, 59(1): 13-27.
- [50] 赵艳飞, 宋志飞, 王贤丰, 等. 亚硝酸盐急性胁迫对拟穴青蟹相关免疫指标的影响[J]. *广西科学*, 2017, 24(4): 382-388.
- Zhao Y F, Song Z F, Wang X F, *et al.* Effects of acute nitrite exposure on immunity indicators in *Scylla paramamosain*[J]. *Guangxi Sciences*, 2017, 24(4): 382-388 (in Chinese).
- [51] 洗健安, 张秀霞, 郭慧, 等. 亚硝酸盐胁迫对罗氏沼虾血细胞及其抗氧化酶活力的影响[J]. *生物安全学报*, 2016, 25(4): 300-307.
- Xian J A, Zhang X X, Guo H, *et al.* Effects of nitrite on haemocyte and antioxidant enzyme activity in *Macrobrachium rosenbergii*[J]. *Journal of Biosafety*, 2016, 25(4): 300-307 (in Chinese).

- [52] 裘正元, 洪美玲, 张豪, 等. 急性亚硝酸盐胁迫对红耳龟和中华条颈龟幼体抗氧化能力的比较研究[J]. *生态科学*, 2015, 34(4): 99-104.
Qiu Z Y, Hong M L, Zhang H, *et al.* A comparative study of anti-oxidative ability between *Trachemys scripta elegans* and *Mauremys sinensis* under acute nitrite stress[J]. *Ecological Science*, 2015, 34(4): 99-104 (in Chinese).
- [53] 刘莎, 黄小丽, 李良玉, 等. 氨氮、亚硝酸盐胁迫对小龙虾的影响[J]. *水产养殖*, 2021, 42(1): 56-57.
Liu S, Huang X L, Li L Y, *et al.* Effects of ammonia nitrogen and nitrite stress on *Procambarus clarkii*[J]. *Journal of Aquaculture*, 2021, 42(1): 56-57 (in Chinese).
- [54] Chen J C, Lee Y. Effects of nitrite on mortality, ion regulation and acid-base balance of *Macrobrachium rosenbergii* at different external chloride concentrations[J]. *Aquatic Toxicology*, 1997, 39(3-4): 291-305.
- [55] Wang W N, Wang A L, Zhang Y J, *et al.* Effects of nitrite on lethal and immune response of *Macrobrachium nipponense*[J]. *Aquaculture*, 2004, 232(1-4): 679-686.
- [56] Wang W N, Wang A L, Zhang Y J. Effect of dietary higher level of selenium and nitrite concentration on the cellular defense response of *Penaeus vannamei*[J]. *Aquaculture*, 2006, 256(1-4): 558-563.
- [57] Camargo J A, Alonso Á. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment[J]. *Environment International*, 2006, 32(6): 831-849.
- [58] 刘海侠, 孙海涛, 刘晓强, 等. 亚硝酸盐中毒鲤的血液和组织病理学研究[J]. *淡水渔业*, 2010, 40(3): 67-71.
Liu H X, Sun H T, Liu X Q, *et al.* Study on hematology and histopathology of acute toxicity test of nitrite in *Cyprinus carpio*[J]. *Freshwater Fisheries*, 2010, 40(3): 67-71 (in Chinese).
- [59] 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.
Liang M Q, Wang J L, Chang Q, *et al.* Effects of dietary Se on growth performance and activities of related enzymes in juvenile Japanese seabass *Lateolabrax japonicus*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2006, 13(6): 1017-1022 (in Chinese).
- [60] 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.
Luo H, Zhou X Q. The relationship between selenium and aquatic immune function[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2006, 18(S1): 378-382 (in Chinese).
- [61] Bell J G, Cowey C B, Adron J W, *et al.* Some effects of vitamin E and selenium deprivation on tissue enzyme levels and indices of tissue peroxidation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*)[J]. *British Journal of Nutrition*, 1985, 53(1): 149-157.
- [62] Wang C, Lovell R T, Klesius P H. Response to *Edwardsiella ictaluri* challenge by channel catfish fed organic and inorganic sources of selenium[J]. *Journal of Aquatic Animal Health*, 1997, 9(3): 172-179.

Effects of hydroxyl methionine selenium supplementation in low-fishmeal diet on growth, antioxidant ability and nitrite tolerance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

LI Jing, LI Xiaoli, WANG Ling, LU Kangle, SONG Kai, ZHANG Chunxiao*
(Fisheries College of Jimei University, Xiamen Key Laboratory for Feed Quality Testing and Safety Evaluation, Xiamen 361021, China)

Abstract: Selenium is one of the important trace elements in aquatic animals, which plays an important role in animal growth and antioxidant ability. Compared with inorganic Se, organic Se is better absorbed and has higher bioavailability and tissue accumulation in many aquatic animals. The present study was performed to investigate the effects of hydroxyl methionine selenium (HMSe) supplementation in low-fishmeal diet on growth performance, antioxidant ability and nitrite tolerance of *Litopenaeus vannamei*. In this experiment, *L. vannamei* with an initial body weight of 0.90 ± 0.05 g was fed with low-fishmeal diets (15% fishmeal) supplemented with 0.000, 0.375, 0.750, 1.500 and 2.250 mg/kg HMSe respectively, named HMSe0, HMSe1, HMSe2, HMSe3 and HMSe4. Each group had 3 replicates with 50 shrimp in each tank (500 L). The shrimp was fed to visual satiation three times daily at 08:00, 14:00 and 19:00 h for 8 weeks. After the feeding trial, 12 h nitrite stress test was conducted. The results showed as follows: The final body weight (FBW, 15.03-16.11 g), weight gain (WG, 1570.1-1689.8%) and feed efficiency (FE, 1.10-1.33) of *L. vannamei* increased firstly and then decreased with the increase of dietary HMSe level in the diet, and reached the maximum value in the HMSe2 group. With the increase of the dietary HMSe level, the feeding intake (FI) decreased firstly and then increased. There was no significant difference in protein efficiency ratio (PER) and survival rate (SR) in all groups. With the increase of dietary HMSe level, the contents of selenium in whole body and muscle both increased significantly, while the contents of crude protein and crude fat in *L. vannamei* increased firstly and then decreased, and reached the maximum in the HMSe2 group and HMSe1 group, respectively. The contents of moisture and ash showed no significant effects in all groups. The activities of serum glutathione peroxidase (GSH-Px) and hepatopancreas catalase (CAT) in the HMSe4 group were significantly higher than those in the HMSe0 group. With the increase of the dietary HMSe level, the activities of total superoxide dismutase (T-SOD) and glutathione S-transferase (GST) in hepatopancreas were increased firstly and then decreased. Nitrite stress for 12 h significantly decreased the survival rate of *L. vannamei*. The survival rate in the HMSe2 group was significantly higher than that in the HMSe0 group. After nitrite stress, the content of MDA in hepatopancreas increased, but the activities of GST, CAT and T-SOD in hepatopancreas decreased. Meanwhile, these negative effects could be relieved with appropriate HMSe supplementation. The optimal supplementation of HMSe for *L. vannamei* was 1.35 mg/kg based on survival rate under nitrite stress using the quadratic polynomial regression analysis. In conclusion, supplementing 0.75-1.35 mg/kg HMSe in low-fishmeal diet could improve the growth performance, feed utilization, antioxidant ability and nitrite tolerance of *L. vannamei*.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; hydroxyl methionine selenium; survival rate; antioxidant ability; nitrite; stress

Corresponding author: ZHANG Chunxiao. E-mail: cxzhang@jmu.edu.cn

Funding projects: Aquatic Seed Innovation and Industrialization Project of Fujian (2017FJSCZY02); Special Fund for Agroscientific Research in the Public Interest (201303053)