



## 月桂酸单甘油酯对凡纳滨对虾生长、肌肉氨基酸、非特异性免疫及肠道菌群的影响

韦宏杰<sup>1,2</sup>, 李雪鹤<sup>1,2</sup>, 吴远彩<sup>1,2</sup>, 易远名<sup>1,2</sup>,  
朱东文君<sup>1,2</sup>, 杨奇慧<sup>1,2,3\*</sup>, 谭北平<sup>1,2,3</sup>

(1. 广东海洋大学水产学院, 水产经济动物营养与饲料实验室, 广东 湛江 524088;

2. 广东省水产动物精准营养与高效饲料工程技术研究中心, 广东 湛江 524088;

3. 广东省水产动物病害防控与健康养殖重点实验室, 广东 湛江 524088)

**摘要:** 为研究饲料中添加月桂酸单甘油酯(GML)对凡纳滨对虾幼体生长、免疫、肌肉氨基酸及肠道菌群的影响。实验设计分别含有0、500、1000、1500、2000和2500 mg/kg GML的6组等氮等脂实验饲料,对凡纳滨对虾幼体[体质量为(0.31±0.02)g]进行为期56 d的养殖实验。结果显示,①与对照组相比,添加2000 mg/kg GML能显著提高增重率和特定生长率并显著降低饲料系数。②饲料中添加GML对凡纳滨对虾体成分影响不显著。③各添加组凡纳滨对虾尾肌呈味氨基酸及总氨基酸含量显著高于对照组。④与对照组相比,各添加水平的血清总蛋白含量均显著上升,低密度蛋白胆固醇含量及谷草转氨酶活性均显著下降;500和1500 mg/kg组甘油三酯含量显著下降。⑤当GML添加水平为1500 mg/kg时,超氧化物歧化酶活性和过氧化氢酶表达量显著上调,GML添加水平超过2000 mg/kg时,IMD、Toll表达量以及溶菌酶活性显著上调,2000 mg/kg组酚氧化酶原表达量显著上调。⑥添加组Chao1指数和Ace指数显著上调,1500 mg/kg组和2500 mg/kg组Shannon指数显著下调,2500 mg/kg组Simpson指数显著下调。实验表明,添加适宜水平的GML可提高凡纳滨对虾幼体的生长性能、非特异性免疫效应,且GML可下调肠道有害菌的丰度,改善肠道菌群结构。以增重率为衡量指标,饲料中添加2142.99 mg/kg GML对凡纳滨对虾的生长效果最佳。

**关键词:** 凡纳滨对虾; 月桂酸单甘油酯; 生长; 非特异性免疫; 抗病性; 肠道菌群

**中图分类号:** S 963.7

**文献标志码:** A

随着人们对水产品的需求量逐年增加,对虾养殖业迅速发展。凡纳滨对虾是当今世界经济价值最高的三大养殖虾类之一<sup>[1]</sup>。近年来,高密度的养殖模式伴随而来的是环境恶化以及病害频发<sup>[2]</sup>,这给对虾养殖业带来了巨大的经济损失,严重限制了我国对虾养殖业的健康发展。因此,

现代集约化规模养殖迫切需要开发新型非抗生素免疫增强剂。

中链脂肪酸(medium-chain fatty acids, MCFAs)是一种天然抗菌剂,具有特殊的化学结构和生物学特性,调节动物肠道菌群,增强免疫功能并促进动物生长<sup>[3]</sup>。月桂酸单甘油酯(glycerol

收稿日期: 2022-05-03 修回日期: 2022-07-29

资助项目: 国家自然科学基金(31802316); 国家重点研发计划(2019YFD0900200); 广东省科技特派员项目(GDKTP2021048400)

第一作者: 韦宏杰(照片), 从事水产动物营养与饲料学研究, E-mail: 593965702@qq.com

通信作者: 杨奇慧, 从事水产动物营养生理与饲料安全评价方面研究, E-mail: qihuiyang03@163.com



monolaurate, GML) 属于中链脂肪酸单甘油酯中的一种, 具有很好的抗菌、抗病毒功效<sup>[1,4]</sup>。研究指出, GML 可以进入肠道深层<sup>[5-6]</sup>, 直接影响肠道菌群<sup>[7-8]</sup>, 使机体获得额外的能量并促进生长<sup>[9-10]</sup>。近年, 关于 GML 对动物促生长和维持肠道健康作用研究, 已在陆生动物上开展, 其作为仔猪的饲料添加剂可以显著提高生长性能, 降低肠道有害菌大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 和沙门氏菌 (*Salmonella*) 的丰度, 以此维持仔猪的肠道健康<sup>[10-11]</sup>; 在禽类方面, GML 可以显著提高饲料转化率、动物生长性能、血清生化 and 免疫指标<sup>[12-13]</sup>, 但在水产动物方面鲜有报道。因此, 本研究旨在探究 GML 作为饲料添加剂对凡纳滨对虾生长、肌肉品质、血清生化指标、非特异性免疫及肠道菌群的影响, 为 GML 在水产养殖中的广泛应用提供理论依据。

## 1 材料与与方法

### 1.1 实验饲料

实验饲料以红鱼粉等为主要蛋白质源, 鱼油等为主要脂肪源 (表 1)。GML (粉末状, 纯度为 85%, 广东省脂类科学与应用工程技术研究中心) 添加量分别为 0、500、1 000、1 500、2 000 及 2 500 mg/kg。饲料原料粉碎后过孔径为 0.18 mm 的筛网, 按照原料占比从大到小加入 V 型混合机摇匀, 加入豆油、鱼油与粉料揉匀, 最后加入纯净水用搅拌机 (M-256, 华南理工大学) 混匀, 用双螺杆挤条机 (F-75, 华南理工大学) 按照 1:2 的比例制作直径为 1.0 和 1.5 mm 的颗粒饲料, 经后熟化 (60 °C)、风干后 (水分低于 10%) 装入密封袋并置入 -20 °C 冰箱储存<sup>[14]</sup>。

### 1.2 实验设计与饲养管理

本实验于广东海洋大学东海岛海洋高新科技园进行。选取健康、规格整齐的凡纳滨对虾虾苗 1 200 尾 (0.3 g/尾) 随机分为 6 组放入 24 个玻璃纤维钢桶 (0.3 m<sup>3</sup>, 4 个重复, 每个重复 40 尾)。初次日投喂量为对虾幼体体质量的 10%, 投喂时间为 (7:00、11:00、17:00 和 21:00), 采用定量投喂并根据饲料实际消耗量调整。实验期间每天早上投料前换水 1/3, 维持养殖水体温度为 (30.5±0.8) °C, 溶解氧不低于 6 mg/L, 盐度为 29~31, 氨氮浓度不高于 0.02 mg/L, 亚硝酸盐浓度不高于 0.10 mg/L, pH 7.5~8.0。

表 1 基础饲料配方与营养水平 (干物质)

Tab. 1 Formula and nutrients levels of the basic diets (dry matter)

项目	items	含量/%	content
<b>原料 ingredients</b>			
红鱼粉	brown fish meal	20	
豆粕	soybean meal	15	
花生粕	peanut meal	10	
玉米蛋白粉	corn gluten meal	8	
酵母水解物	yeast hydrolyzate	5	
虾壳粉	shrimp shell meal	9	
面粉	wheat flour	20	
磷酸二氢钙	calcium dihydrogen phosphate	1.5	
维生素 C	vitamin C	0.03	
氯化胆碱	choline chloride	0.05	
大豆卵磷脂	soy lecithin	1.5	
豆油	soybean oil	1.4	
鱼油	fish oil	1.4	
维生素预混料 <sup>1</sup>	vitamin premix	0.3	
矿物质预混料 <sup>2</sup>	mineral premix	0.7	
微晶纤维素	microcrystalline cellulose	6.12	
<b>营养水平 nutrient level</b>			
粗蛋白质	crude protein	42.59	
粗脂肪	crude lipid	6.51	
粗灰分	crude ash	9.97	

注: 1. 维生素预混料为每千克饲料提供维生素 B 125.5 mg, 核黄素 25 mg, 吡哆醇 50 mg, 氰钴胺素 0.1 mg, 叶酸 6.25 mg, 泛酸钙 61 mg, 烟酸 201 mg, 生物素 2.5 mg, 维生素 A 10 mg, 维生素 D 120 mg, 维生素 E 99 mg, 维生素 K 10 mg, 纤维素 589.65 mg; 2. 矿物质预混料为每千克饲料提供 KIO<sub>4</sub> 0.06 mg, CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 8.14 mg, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 39.68 mg, 柠檬酸铁 27.42 mg, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 56.56 mg, MnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.24 mg, Ca(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 160 mg, MgSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 24.86 mg, KCl 30.66 mg, NaSeO<sub>3</sub> 4 mg, 沸石粉 1 648.38 mg

Notes: 1. Vitamin premix provides contain vitamin B 125.5 mg, riboflavin 25 mg, pyridoxine 50 mg, cyanocobalamin 0.1 mg, folic acid 6.25 mg, calcium pantothenate 61 mg, niacin 201 mg, biotin 2.5 mg, vitamin A 10 mg, vitamin D 120 mg, vitamin E 99 mg, vitamin K 10 mg, cellulose 589.65 mg per kg of feed; 2. mineral premixes provided: KIO<sub>4</sub> 0.06 mg, CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 8.14 mg, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 39.68 mg, ferric citrate 27.42 mg, ZnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 27.42 mg, 27.42 mg, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 56.56 mg, MnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.24 mg, Ca(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 160 mg, MgSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 24.86 mg, KCl 30.66 mg, NaSeO<sub>3</sub> 4 mg, zeolite powder 1 648.38 mg

### 1.3 样品采集与分析

养殖实验结束后, 凡纳滨对虾饥饿处理 (24 h) 后采样。对各桶进行计数和称重以计算生长性能指标。每桶随机取 25 尾凡纳滨对虾进行采样, 取其中 5 尾用于全虾体成分分析, 即水分、粗蛋白质、粗脂肪和粗灰分含量测定; 取其中 5 尾凡纳滨对虾测定肌肉氨基酸含量; 取其中 10 尾凡纳滨对虾, 从围心腔采血, 室温下静置 4 h, 离心后 (3 500 r/min, 10 min) 取上层血清, 储存于 -80 °C

待用,用于血清生化 and 抗氧化指标测定<sup>[15]</sup>。饲料和全虾常规营养成分含量参照国标法检测,水分(moisture)测定使用 105 °C 常压干燥法(GB/T 6435—2006),杜马斯定氮仪测定粗蛋白(crude protein)含量,粗脂肪(ether extract)测定使用乙醚抽提法(GB/T 6432—2006),粗灰分(crude ash)测定使用 550 °C 灼烧法(GB/T 6438—2007)<sup>[16]</sup>;肌肉氨基酸含量委托四川威尔检测技术股份有限公司进行检测,采用全自动氨基酸分析仪测定肌肉氨基酸组成(日立 L-8800,日本)。

血清总蛋白(TP)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量以及谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶活(AST)、血清超氧化物歧化酶(SOD)与过氧化氢酶(CAT)活性采用商业试剂盒(南京建成生物工程研究所)并按照说明书步骤测定。

#### 1.4 指标计算

存活率(survival rate, SR, %) =  $N_m/N_c \times 100\%$ ;

增重率(weight gain rate, WGR, %) =  $[W_m - W_c]/W_c \times 100\%$ ;

特定生长率(specific growth rate, SGR, %/d) =  $[\ln W_m - \ln W_c]/N \times 100\%$ ;

饲料系数(feed conversion ratio, FCR) = 摄食饲料总量(g) /  $[W_m - W_c]$

式中,  $N_m$  和  $N_c$  分别表示实验终末对虾数量和实验初始对虾数量(尾);  $W_m$  和  $W_c$  分别表示凡纳滨对虾实验终末总体质量和实验初始总体质量(g);  $N$  代表实验天数(d)<sup>[33]</sup>。

#### 1.5 肠道菌群分析

随机取 4 尾凡纳滨对虾,用 75% 乙醇抹擦,无菌器械解剖并完整取出肠道,用 0.9% 无菌生理盐水清洗肠道外壁,装入防冻管,并放入液氮罐, -20 °C 保存。

基于细菌 16S *rDNA* V3~V4 高可变区片段进行引物设计。引物序列为 341F: CCTACGGGNGGCW GCAG, 806R: GGACTACHVGGGTATCTAAT。将纯化后的扩增产物等量混合并连接测序接头,构建测序文库。使用 Illumina PE250 平台对文库进行测序。所测序列聚类成分类操作单元(operational taxonomic units, OTU)(Uparse v7.0.1001)。根据 OTU 分类学统计结果进行  $\alpha$  多样性分析,该分

析通过 5 个指数来表现样品中的物种多样性,Chao1 和 Ace 指数评估菌群丰富度,Shannon 和 Simpson 指数评估菌群多样性,而 Good's coverage (Coverage) 则评估菌群的覆盖率<sup>[17]</sup>。

#### 1.6 RNA 提取、cDNA 合成及相关免疫基因表达量的定量检测

每个重复随机选取 5 尾健康凡纳滨对虾,取肝胰腺采用 TRIzol 试剂盒(Invitrogen, 美国)提取总 RNA。取 1  $\mu$ L RNA 在 1.5% 琼脂糖凝胶电泳中检测质量,使用 Nanodrop 2000 (Thermo Scientific, 美国)在 260 nm 处进行定量。采用 M-MLV 反转录试剂盒(Promega, 美国)将提取的 RNA 反转录成 cDNA。参照 NCBI(National Center for Biotechnology Information)数据库中的目标基因序列(表 2),以 18S *rRNA* 为内参基因,委托上海生物工程有限公司进行引物的设计与合成。根据 SYBR<sup>®</sup>Premix Ex *Taq*<sup>™</sup> II 试剂盒(TaKaRa, 日本)配置 20  $\mu$ L 反应体系: 0.8  $\mu$ L 正、反向引物, 2  $\mu$ L 稀释 8 倍的 cDNA, 10  $\mu$ L SYBR Premix Ex *Taq* II (Tli RNaseH Plus)(2 $\times$ ), 和 6.4  $\mu$ L DEPC 处理水,并在 Light-Cycler 480(Roche, 瑞士)上进行实时荧光定量(RT-qPCR)。反应程序: 95 °C 预变性 30 s, 95 °C 5 s, 60 °C 30 s, 40 个循环; 再在 95 °C 5 s, 60 °C 1 min, 95 °C 15 s 条件下进行 1 个循环。反应结束后,采用 SDS 软件在 LightCycler 480 系统上分析数据,使用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法分析基因相对表达量<sup>[18]</sup>。

表 2 本实验中用于基因表达分析的引物

Tab. 2 Primers used for gene expression analysis in this study

引物 primers	序列 sequences	长度/bp
18S <i>rRNA</i>	F: 5'-AACGCTCGTAGTTTGACTTCTGC-3' R: 5'-CACGACCATTCCGGGCTGTA-3'	202
proPO	F: 5'-TCCATTCCGTCCTGCTG-3' R: 5'-GGCTTCGCTCTGGTTAGG-3'	122
CAT	F: 5'-GGCTATGGTTCTCGTACTTCCAAGC-3' R: 5'-GCATTGTATAGGTCCCTTGTGCA-3'	164
IMD	F: 5'-GGAACGA GACAAGGTCGAGG-3' R: 5'-TGCCAGCGACTCATCATCTC-3'	153
Toll	F: 5'-GACCATCCCTTTTACACCAGACT-3' R: 5'-CCTCGCACATCCAGGACTTTTA-3'	268

#### 1.7 数据分析

数据采用统计软件 statistical package for the

social sciences (Version 20.0, IBM, 美国) 进行分析, 经过单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 和 Duncan's 多重检验, 以发现各处理间的显著差异 ( $P < 0.05$ ), 以平均值±标准差 (mean±SD) 表示。

## 2 结果

### 2.1 GML 对凡纳滨对虾生长性能的影响

随着饲料中月桂酸单甘油酯添加水平的提高, 添加组 WGR 和 SGR 呈先上升后下降的趋势, 在

添加量为 2 000 mg/kg 时二者达到最高水平, 且显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ); FCR 则在 2 000 mg/kg 组较对照组显著下降 ( $P < 0.05$ ) (表 3)。以增重率为判断依据, 根据折线模型得出, 其促进凡纳滨对虾生长最适添加量为 2 142.99 mg/kg (图 1)。

### 2.2 GML 对凡纳滨对虾体成分的影响

添加不同水平 GML 对凡纳滨对虾体成分 (水分、粗蛋白、粗脂肪和粗灰分) 含量均无显著影响 ( $P > 0.05$ ) (表 4)。

表 3 GML 对凡纳滨对虾生长性能的影响

Tab. 3 Effects of GML supplement in diet on growth performance of *L. vannamei* ( $n=4$ )

GML 添加量/(mg/kg) GML content	初始均重/(g/尾) initial weight	采食量/g feed intake	增重率/% WGR	特定增长率/% SGR	饲料系数 FCR	存活率/% SR
0	0.30±0.01	307.06±0.00	1 554.79±8.60 <sup>b</sup>	5.01±0.01 <sup>b</sup>	1.65±0.06 <sup>a</sup>	98.33±2.89 <sup>ab</sup>
500	0.31±0.02	305.54±0.00	1 553.93±7.71 <sup>b</sup>	5.01±0.01 <sup>b</sup>	1.58±0.03 <sup>ab</sup>	96.88±3.15 <sup>ab</sup>
1 000	0.31±0.02	307.31±0.00	1 651.23±18.80 <sup>ab</sup>	5.12±0.02 <sup>ab</sup>	1.56±0.09 <sup>ab</sup>	100±0.00 <sup>a</sup>
1 500	0.31±0.02	305.48±0.00	1 692.58±15.21 <sup>ab</sup>	5.15±0.01 <sup>ab</sup>	1.44±0.08 <sup>b</sup>	95.63±7.18 <sup>ab</sup>
2 000	0.31±0.02	308.25±0.00	1 882.36±224.90 <sup>a</sup>	5.33±0.21 <sup>a</sup>	1.40±0.13 <sup>b</sup>	95.63±4.27 <sup>ab</sup>
2 500	0.31±0.02	307.06±0.00	1 773.28±174.34 <sup>ab</sup>	5.23±0.17 <sup>ab</sup>	1.43±0.04 <sup>b</sup>	93.13±5.54 <sup>b</sup>

注: 不同小写字母表示同一指标之间差异显著; 下同

Notes: Different lowercase letters indicate significant differences in the same index; the same below

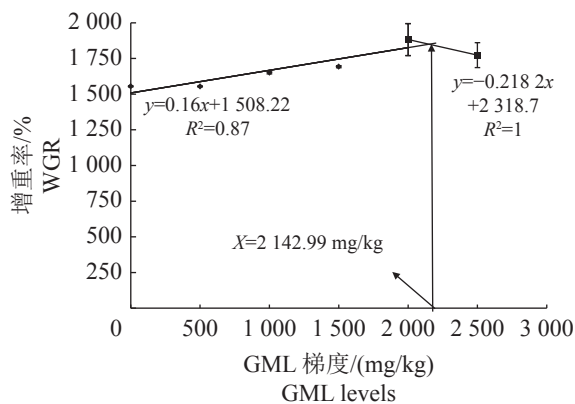


图 1 GML 添加量与凡纳滨对虾增重率关系模式图

Fig. 1 Relationship between GML supplement and WGR of *L. vannamei*

### 2.3 GML 对凡纳滨对虾肌肉氨基酸的影响

与对照组相比, 添加组总必需氨基酸、总氨基酸及呈味氨基酸含量均得到显著提升 ( $P < 0.05$ ); 呈味氨基酸中, 所有添加组甘氨酸 (Gly)、谷氨酸 (Glu) 均显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 2 500 mg/kg 组天冬氨酸 (Asp) 显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 必需氨基酸中, 所有添加组的赖氨酸 (Lys) 含量均显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 2 500 mg/kg 组苯丙氨酸 (Phe)、苏氨酸 (Thr) 显著高于对照组 ( $P < 0.05$ )。GML 添加组间总氨基酸和总鲜味氨基酸含量组间均无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。添加组精氨酸 (Arg) 含量呈先升后降的趋势, 500~1 500 mg/kg 组 Arg 含量显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ) (表 5)。

表 4 饲料 GML 添加量对凡纳滨对虾体成分的影响 (干物质基础)

Tab. 4 Effects of GML supplement on body composition of *L. vannamei* (dry matter basis) ( $n=4$ )

项目 items	GML 含量/(mg/kg) GML content						%
	0	500	1 000	1 500	2 000	2 500	
水分 moisture	75.12±2.21	74.68±0.56	74.32±0.66	74.17±0.59	76.77±4.80	75.66±0.56	
粗蛋白 CP	69.16±1.54	69.11±0.44	68.32±2.66	68.65±1.82	70.63±0.41	69.12±0.43	
粗脂肪 EE	9.89±0.58	10.17±1.19	10.21±1.38	10.26±1.22	10.12±0.98	10.04±1.71	
灰分 ash	12.94±0.43	12.82±0.28	13.19±0.58	12.74±0.22	12.76±0.35	13.17±0.54	

表 5 饲料 GML 添加量对凡纳滨对虾肌肉氨基酸的影响  
 Tab. 5 Effects of GML supplement on muscle amino acid profile of *L. vannamei* (n=4)

项目 items	0	500	1 000	1 500	2 000	2 500	%
天冬氨酸 Asp <sup>1</sup>	2.01±0.04 <sup>b</sup>	2.08±0.03 <sup>ab</sup>	2.08±0.02 <sup>ab</sup>	2.07±0.01 <sup>ab</sup>	2.06±0.03 <sup>ab</sup>	2.09±0.02 <sup>a</sup>	
苏氨酸 Thr <sup>2</sup>	0.74±0.01 <sup>b</sup>	0.75±0.01 <sup>b</sup>	0.75±0.01 <sup>ab</sup>	0.76±0.00 <sup>ab</sup>	0.77±0.01 <sup>ab</sup>	0.82±0.06 <sup>a</sup>	
丝氨酸 Ser	0.71±0.01 <sup>c</sup>	0.75±0.00 <sup>bc</sup>	0.76±0.01 <sup>ab</sup>	0.76±0.01 <sup>a</sup>	0.73±0.00 <sup>a</sup>	0.76±0.01 <sup>a</sup>	
谷氨酸 Glu <sup>1</sup>	3.26±0.00 <sup>b</sup>	3.45±0.04 <sup>a</sup>	3.43±0.04 <sup>a</sup>	3.48±0.00 <sup>a</sup>	3.41±0.04 <sup>a</sup>	3.51±0.14 <sup>a</sup>	
甘氨酸 Gly <sup>1</sup>	1.94±0.01 <sup>b</sup>	2.05±0.01 <sup>a</sup>	2.04±0.00 <sup>a</sup>	2.06±0.05 <sup>a</sup>	2.05±0.01 <sup>a</sup>	2.03±0.03 <sup>a</sup>	
丙氨酸 Ala <sup>1</sup>	1.38±0.01	1.34±0.04	1.37±0.01	1.34±0.06	1.34±0.04	1.36±0.01	
缬氨酸 Val <sup>2</sup>	0.84±0.01	0.85±0.01	0.83±0.01	0.85±0.01	0.83±0.01	0.85±0.01	
蛋氨酸 Met <sup>2</sup>	0.57±0.00	0.60±0.01	0.59±0.01	0.59±0.01	0.58±0.01	0.59±0.01	
异亮氨酸 Ile <sup>2</sup>	0.82±0.00	0.83±0.01	0.81±0.01	0.82±0.03	0.83±0.02	0.83±0.00	
亮氨酸 Leu <sup>2</sup>	1.51±0.01	1.54±0.04	1.53±0.03	1.52±0.00	1.53±0.03	1.56±0.01	
酪氨酸 Tyr	0.74±0.01 <sup>c</sup>	0.79±0.02 <sup>ab</sup>	0.79±0.01 <sup>ab</sup>	0.80±0.01 <sup>a</sup>	0.77±0.01 <sup>b</sup>	0.78±0.01 <sup>ab</sup>	
苯丙氨酸 Phe <sup>2</sup>	0.85±0.00 <sup>b</sup>	0.87±0.01 <sup>ab</sup>	0.87±0.01 <sup>a</sup>	0.87±0.01 <sup>ab</sup>	0.86±0.00 <sup>ab</sup>	0.88±0.01 <sup>a</sup>	
赖氨酸 Lys <sup>2</sup>	1.63±0.03 <sup>b</sup>	1.70±0.04 <sup>a</sup>	1.69±0.02 <sup>a</sup>	1.69±0.01 <sup>a</sup>	1.67±0.01 <sup>a</sup>	1.70±0.02 <sup>a</sup>	
组氨酸 His	0.43±0.01 <sup>b</sup>	0.42±0.00 <sup>bc</sup>	0.41±0.00 <sup>c</sup>	0.42±0.01 <sup>bc</sup>	0.43±0.01 <sup>bc</sup>	0.45±0.00 <sup>a</sup>	
精氨酸 Arg	1.83±0.00 <sup>c</sup>	2.03±0.01 <sup>a</sup>	2.03±0.06 <sup>a</sup>	1.99±0.01 <sup>ab</sup>	1.94±0.10 <sup>abc</sup>	1.90±0.01 <sup>bc</sup>	
脯氨酸 Pro	1.44±0.02	1.52±0.13	1.52±0.10	1.56±0.08	1.52±0.18	1.61±0.01	
总呈味氨基酸 total flavor amino acids	8.58±0.04 <sup>b</sup>	8.92±0.09 <sup>a</sup>	8.92±0.08 <sup>a</sup>	8.94±0.10 <sup>a</sup>	8.85±0.07 <sup>a</sup>	8.99±0.21 <sup>a</sup>	
总必需氨基酸 total essential amino acids	6.95±0.01 <sup>b</sup>	7.12±0.11 <sup>ab</sup>	7.08±0.11 <sup>ab</sup>	7.08±0.05 <sup>ab</sup>	7.04±0.08 <sup>ab</sup>	7.20±0.04 <sup>a</sup>	
总氨基酸 total amino acids	20.67±0.08 <sup>b</sup>	21.53±0.37 <sup>a</sup>	21.50±0.36 <sup>a</sup>	21.53±0.21 <sup>a</sup>	21.27±0.28 <sup>a</sup>	21.68±0.15 <sup>a</sup>	

注: 1. 鲜味氨基酸; 2. 必需氨基酸

Notes: 1. delicious amino acids; 2. essential amino acids

#### 2.4 GML 对凡纳滨对虾血清生化指标的影响

饲料中添加 GML 对血清生化指标有显著影响 ( $P<0.05$ )。添加组血清 TP 均显著高于对照组 ( $P<0.05$ )，在添加水平为 2 000 mg/kg 时达到最大值；添加水平为 500 和 1 500 mg/kg 时，血清 TG 与对照组相比显著下降 ( $P<0.05$ )，添加组间血清 TG 含量无显著性差异 ( $P>0.05$ )；添加组 LDL-C 含量显著低于对照组 ( $P<0.05$ )，在添加水平为 2 500 mg/kg 时达到最低值；添加组 HDL-C 含量明显高于对照组；ALT 活性随着添加水平提高而显著降低 ( $P<0.05$ )，在添加水平 2 500 mg/kg 时达到最低值；添加组 AST 活性显著低于对照组 ( $P<0.05$ )，在添加水平为 2 000 mg/kg 时达到最低值 (表 6)。

#### 2.5 GML 对凡纳滨对虾肝胰腺非特异性免疫酶活性的影响

凡纳滨对虾肝胰腺中 SOD 活性在添加水平为 500~1 500 mg/kg 时有上升趋势，超过 1 500 mg/kg

后呈下降趋势，1 500 mg/kg 组显著高于对照组和 2 500 mg/kg 组 ( $P<0.05$ ) (图 2-a)；LZM 活性在添加水平为 500~2 500 mg/kg 时呈上升趋势，2 000 mg/kg 组与 2 500 mg/kg 组显著高于对照组 ( $P<0.05$ )，添加组间无显著性差异 ( $P>0.05$ ) (图 2-b)。

#### 2.6 GML 对凡纳滨对虾肝胰腺免疫基因表达的影响

酚氧化酶原 (proPO)、CAT 和 Toll 基因表达量在添加水平为 500~2 000 mg/kg 时均呈先上升趋势，超过 2 000 mg/kg 后呈下降的趋势，三者均在添加量为 2 000 mg/kg 时达到最大值且显著高于对照组 ( $P<0.05$ ) (图 3-a, c, d)；添加水平为 500~1 500 mg/kg 时，添加组 IMD 基因表达量与对照组无显著性差异 ( $P>0.05$ )，添加水平超过 2 000 mg/kg 后 IMD 表达量显著提高 ( $P<0.05$ )，且在 2 000 mg/kg 组达到最大值 (图 3-b)。

#### 2.7 GML 对凡纳滨对虾肠道菌群的影响

$\alpha$  多样性分析结果显示，与对照组相比，添

表 6 饲料 GML 添加量对凡纳滨对虾血清生化指标的影响

Tab. 6 Effects of GML supplement on serum biochemical indexes of *L. vannamei* (n=4)

GML 含量/(mg/kg) GML content	总蛋白/ (mmol/L) TP	总胆固醇/ (mmol/L) TC	甘油三酯/ (mmol/L) TG	高密度脂蛋白/ (mmol/L) HDL-C	低密度脂蛋白/ (mmol/L) LDL-C	谷丙转氨酶/ (U/L) ALT	谷草转氨酶/ (U/L) AST
0	69.39±1.32 <sup>c</sup>	2.89±0.37 <sup>ab</sup>	6.18±1.28 <sup>a</sup>	0.51±0.01	1.26±0.02 <sup>a</sup>	90.39±5.81 <sup>bc</sup>	256.67±58.07 <sup>a</sup>
500	94.29±6.07 <sup>b</sup>	3.04±0.18 <sup>a</sup>	4.64±0.25 <sup>b</sup>	0.55±0.04	0.54±0.00 <sup>c</sup>	126.48±2.62 <sup>a</sup>	99.18±11.92 <sup>b</sup>
1 000	102.15±8.39 <sup>b</sup>	3.05±0.17 <sup>a</sup>	4.82±0.17 <sup>ab</sup>	0.66±0.01	0.66±0.05 <sup>b</sup>	112.81±4.87 <sup>ab</sup>	89.08±5.07 <sup>b</sup>
1 500	91.00±13.57 <sup>b</sup>	2.75±0.11 <sup>ab</sup>	4.15±0.06 <sup>b</sup>	0.71±0.01	0.54±0.02 <sup>c</sup>	98.74±13.43 <sup>bc</sup>	76.19±18.89 <sup>b</sup>
2 000	120.76±3.73 <sup>a</sup>	2.93±0.55 <sup>ab</sup>	4.85±0.04 <sup>ab</sup>	0.91±0.50	0.49±0.03 <sup>c</sup>	96.22±15.42 <sup>bc</sup>	74.63±7.10 <sup>b</sup>
2 500	103.63±11.17 <sup>b</sup>	2.35±0.09 <sup>b</sup>	5.96±0.06 <sup>ab</sup>	0.74±0.21	0.39±0.01 <sup>d</sup>	78.26±1.95 <sup>c</sup>	85.74±11.28 <sup>b</sup>

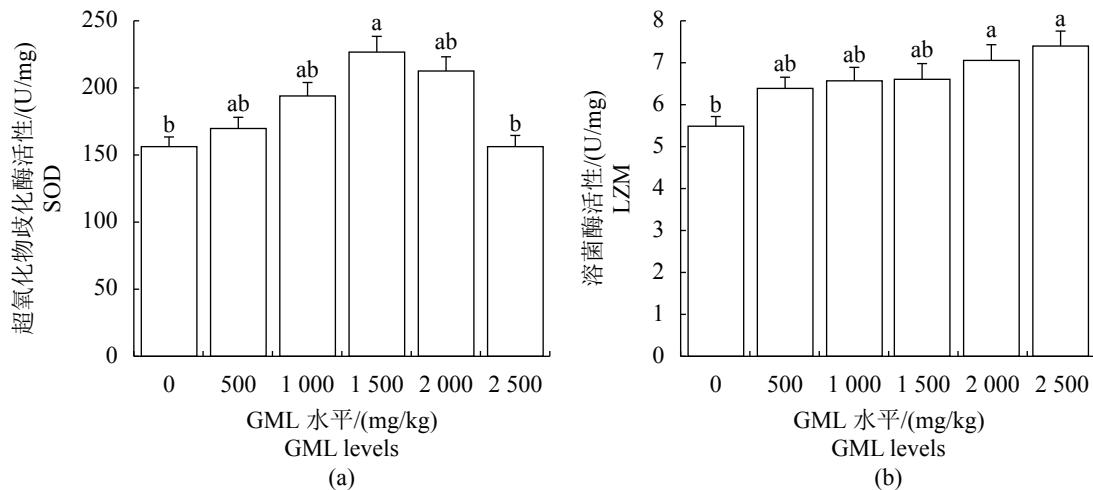


图 2 饲料 GML 添加量对凡纳滨对虾肝胰腺免疫酶活性的影响

(a) SOD 活性, (b) LZM 活性; 不同字母表示组间具有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 下同

Fig. 2 Effects of GML supplement on hepatopancreas immune enzymes activity of *L. vannamei*

(a) SOD activity, (b) LZM activity; different letters indicating significant differences ( $P < 0.05$ ) among the groups, the same below

加 500~2 500 mg/kg 的 GML 均对 Ace 指数和 Chao1 有显著提升 ( $P < 0.05$ ); 与对照组相比, 添加水平为 2 500 mg/kg 时 Simpson 指数显著下降 ( $P < 0.05$ ), 其余添加组与对照组无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 添加水平为 1 500 和 2 500 mg/kg 时 Shannon 指数显著下降 ( $P < 0.05$ ), 其余添加组与对照组无显著性差异 ( $P > 0.05$ ) (表 7)。

本实验凡纳滨对虾肠道菌群主要由变形菌门 (Proteobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、厚壁菌门 (Firmicutes)、放线菌门 (Actinobacteria) 以及酸杆菌门 (Acidobacteria) 等组成 (图 4-a)。对照组和添加组的群落组成基本一致, 但优势菌群有一定差异。随着 GML 添加水平提高, 变形菌门相对丰富度有上升的趋势, 拟杆菌门则相反, 2 500 mg/kg 组变形菌门相对丰富度显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 拟杆菌门相对丰富度显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ) (图 4-c, d); 2 000 mg/kg 组厚壁菌门相对丰富

度与对照组相比明显上升; 添加组放线菌门相对丰富度与对照组相比明显下降。在科水平上, 随着梯度提高, 红杆菌科 (Rhodobacteraceae) 以及黄杆菌科 (Flavobacteriaceae) 丰度呈现先上升后下降的趋势, 而弧菌科 (Vibrionaceae) 则呈现先下降后上升的趋势 (图 4-b)。

### 3 讨论

#### 3.1 GML 对凡纳滨对虾生长的影响

在饲料中添加 GML 对凡纳滨对虾幼体的生长性能产生显著影响, 增重率和特定生长率随着添加量呈现先上升后下降的趋势, 且添加 2 000 mg/kg GML 可以显著提高凡纳滨对虾的生长性能。以往的研究表明, 在饲料中添加中短链脂肪酸单甘油酯可以显著提高实验对象的生长性能<sup>[19-22]</sup>。GML 是中链脂肪酸单甘油酯中的一种, 其分子结

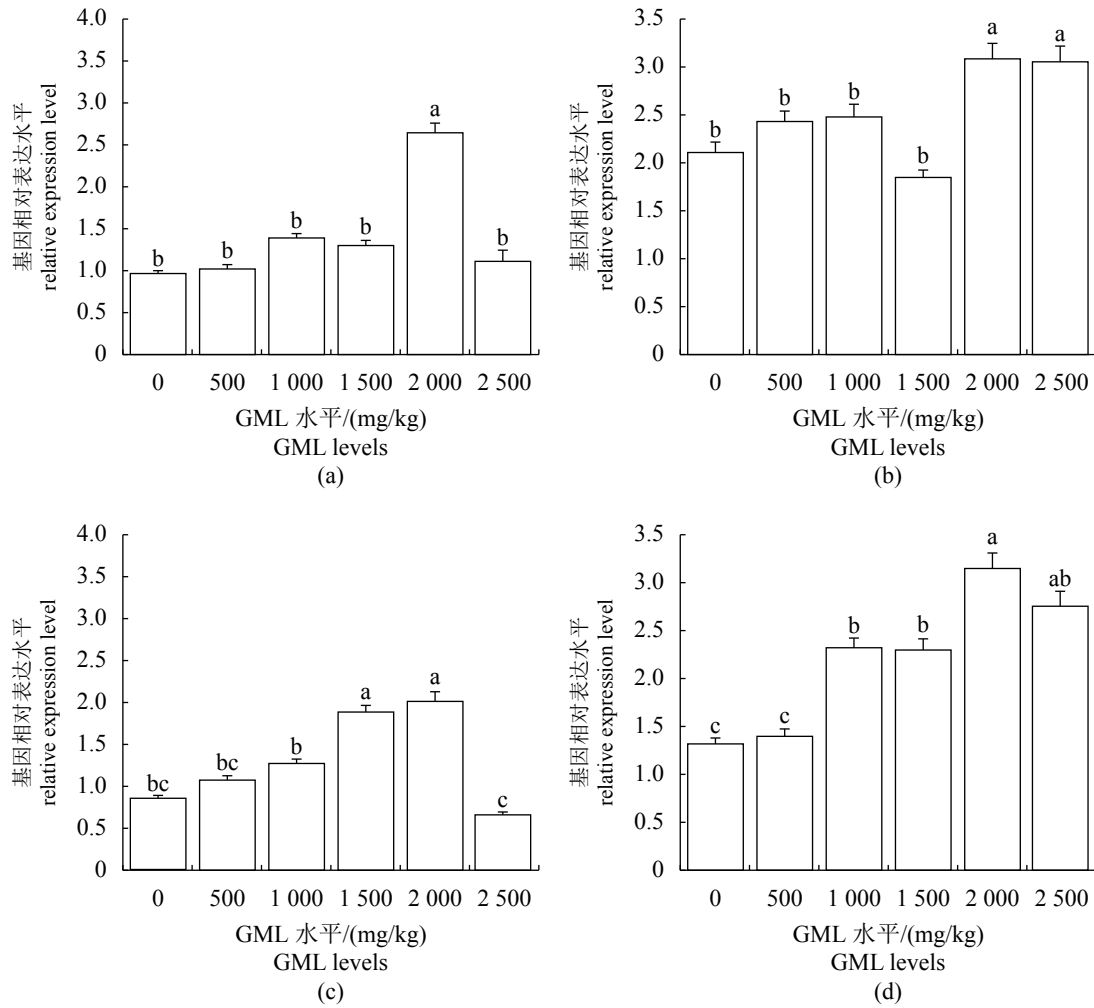


图 3 饲料 GML 添加量对凡纳滨对虾肝胰腺 proPO (a)、IMD (b)、CAT (c) 和 Toll (d) 基因表达量的影响

Fig. 3 Effects of GML supplement on proPO (a), IMD (b), CAT (c) and Toll (d) gene expression levels in hepatopancreas of *L. vannamei*

表 7 饲料 GML 添加量对凡纳滨对虾肠道物种多样性的影响

Tab. 7 Effects of GML supplement on gut species diversity of *L. vannamei* (n=4)

GML添加量/(mg/kg) GML content	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	Chao1 指数 Chao1 index	Ace 指数 Ace index	Coverage 指数 Coverage index
0	6.83±0.68 <sup>c</sup>	0.96±0.03 <sup>b</sup>	818.86±11.31 <sup>a</sup>	816.80±38.03 <sup>a</sup>	1
500	6.12±0.09 <sup>bc</sup>	0.92±0.01 <sup>ab</sup>	921.94±61.03 <sup>b</sup>	876.65±2.80 <sup>b</sup>	1
1 000	6.18±0.45 <sup>bc</sup>	0.92±0.00 <sup>ab</sup>	968.95±36.94 <sup>b</sup>	932.93±38.02 <sup>b</sup>	1
1 500	4.82±0.07 <sup>a</sup>	0.91±0.00 <sup>ab</sup>	888.55±11.25 <sup>b</sup>	879.63±2.34 <sup>b</sup>	1
2 000	6.81±0.63 <sup>c</sup>	0.96±0.02 <sup>b</sup>	899.91±40.15 <sup>b</sup>	879.19±17.50 <sup>b</sup>	1
2 500	5.59±0.50 <sup>ab</sup>	0.90±0.03 <sup>a</sup>	912.90±6.95 <sup>b</sup>	880.20±0.13 <sup>b</sup>	1

构能轻易透过细胞膜，使得动物能将其消化并为机体快速供能，因此其具有一定的促生长作用<sup>[23]</sup>。此外，据 Mo 等<sup>[19]</sup> 研究报道，GML 具有浓度依赖效应，添加高剂量 (1 600 mg/kg) GML 促进小鼠 (*Mus musculus*) 的生长，提高增重率，本实验研究结果与其一致。原因可能与高剂量 GML 提高肠

道有益菌的丰度有关，在添加组中可以观察到红杆菌科以及黄杆菌科丰度的上升，红杆菌科作为益生菌已经得到了广泛应用<sup>[24-25]</sup>，而黄杆菌科在对虾肠道中可以抑制致病菌种的生长<sup>[26]</sup>。同样，Rimoldi 等<sup>[21]</sup> 报道，饲料中添加中短链脂肪酸单甘酯提高乳酸杆菌属 (*Lactobacillus*) 等肠道有益菌的

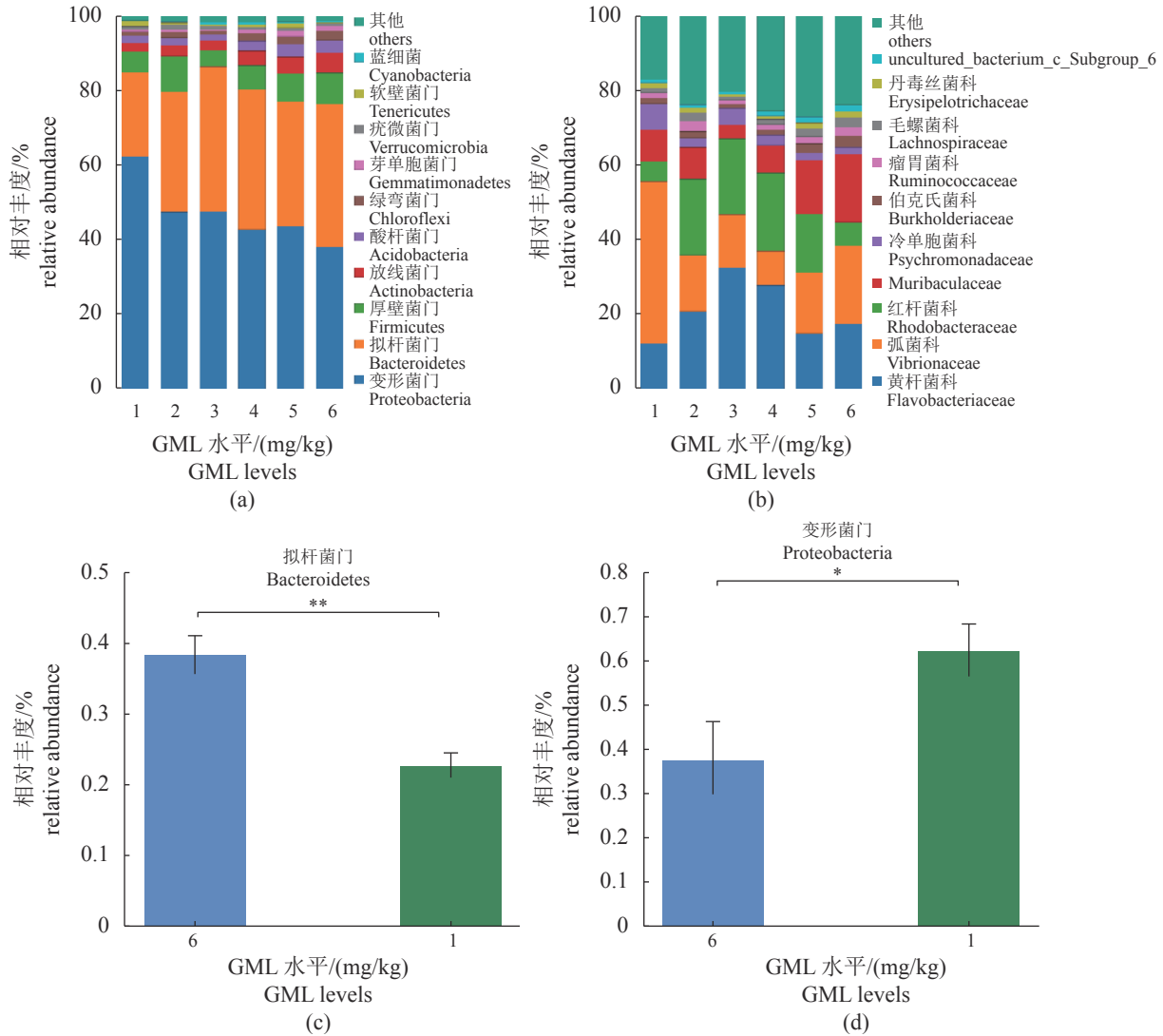


图 4 凡纳滨对虾肠道中门 (a) 以及科 (b) 水平细菌种群及含量, 以及门水平上的差异菌群分析 (c, d)

1. 2 500 mg/kg, 2. 2 000 mg/kg, 3. 1 500 mg/kg, 4. 1 000 mg/kg, 5. 500 mg/kg, 6. 0 mg/kg; \*表示  $P<0.05$ , \*\*表示  $P<0.01$

Fig. 4 Communities and relative content of bacteria at the levels of phylum (a) and family (b) in intestine of *L. vannamei*, with intestinal differential flora analysis at phylum level (c, d)

1. 2 500 mg/kg, 2. 2 000 mg/kg, 3. 1 500 mg/kg, 4. 1 000 mg/kg, 5. 500 mg/kg, 6. 0 mg/kg; \* indicates  $P<0.05$ , \*\* indicates  $P<0.01$

数量, 显著提高金头鲷 (*Sparus aurata*) 的饲料效率; Hanczakowska 等<sup>[22]</sup> 研究报道, 中链脂肪酸有效降低仔猪肠道病菌的丰度, 并显著提高增重率。

广泛研究均表明, GML 对大多数动物都具有促生长及改善肠道菌群结构的作用。本实验以增重率为基础, 通过二项式模型拟合, 得出凡纳滨对虾幼体饲料中 GML 最适添加量为 2 142.99 mg/kg。

### 3.2 GML 对凡纳滨对虾体成分和肌肉氨基酸含量的影响

在凡纳滨对虾体成分分析中, GML 添加水平对水分、粗蛋白、粗脂肪和粗灰分含量均无显

著性影响。已有研究表明, 高剂量 GML 可能会增加动物脂肪堆积情况<sup>[27]</sup>, Huang 等人<sup>[28]</sup> 研究指出, 作为中链脂肪酸受体之一的 zGpr84 会参与细胞脂滴的积累。本实验结果与前人不一致, 其原因可能与 GML 促进了体内脂质代谢有关, 在本研究中血清中 LDL-C 与 TG 含量显著下降缓解了脂肪积累, 与一项关于大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 的研究相同, 即饲料中添加 GML 不会对大黄鱼背肌水分、粗灰分以及粗蛋白产生明显影响<sup>[29]</sup>。

根据凡纳滨对虾肌肉氨基酸含量分析, 与对照组相比, 添加 500~2 500 mg/kg 的 GML 能显著提高肌肉中总鲜味氨基酸、总必需氨基酸和总氨



氨基酸的含量,凡纳滨对虾肌肉中总必需氨基酸占总氨基酸的比例随着添加比例提高,更接近于世界卫生组织(WHO)/联合国粮农组织(FAO)推荐的人类理想蛋白质模式,表明GML可明显提高凡纳滨对虾的肌肉品质和口感风味,这与汪愈超等<sup>[20]</sup>的研究结果相似。同样,有研究报道GML能提高鸡肉<sup>[30]</sup>和大黄鱼肌肉<sup>[29]</sup>中总呈味氨基酸与总氨基酸的含量,以上研究均表明GML有改善动物肉质和营养价值的功能。此外,添加组凡纳滨对虾肌肉中赖氨酸、苏氨酸等必需氨基酸含量显著上升,膳食必需氨基酸缺乏会导致发育迟缓、免疫力下降等一系列问题<sup>[31-32]</sup>,可见添加GML的凡纳滨对虾其营养更为均衡,具有更高的保健及经济价值。

### 3.3 GML对凡纳滨对虾血清生化指标的影响

血液在维持机体内环境方面发挥着重要作用,虾类血清生化指标与机体营养吸收、物质代谢水平和病理变化密切联系,可用来衡量动物的健康水平<sup>[33]</sup>。血清TP在营养物质代谢方面发挥重要作用,其含量与机体对蛋白质的代谢能力相关联<sup>[34]</sup>。本实验中,GML添加组血清TP较对照组显著上升,表明GML增强了机体对饲料中蛋白质的利用能力,促进生长。脂质在体内的运转主要依靠血液,因此血清TC和TG的浓度可体现脂质在体内的代谢程度<sup>[35-36]</sup>。脂质运输时,主要以HDL-C和LDL-C等脂蛋白为载体在肝脏和血液之间转运<sup>[37]</sup>,血清HDL-C的降低和LDL-C的升高都会影响肝脏的脂质代谢功能<sup>[38]</sup>。本实验中GML添加组血清TC和LDL-C随着添加水平提高而下降,HDL-C则升高,表明GML对凡纳滨对虾的脂质转运过程产生了一定程度的影响,通过LDL-C浓度进而降低血清TG和TC的浓度。这与汪愈超等<sup>[20]</sup>、刘梦芸等<sup>[30]</sup>的研究结果一致,但也有研究表明,动物饲料中添加GML对实验动物血清HDL-C和LDL-C浓度均无显著影响<sup>[39]</sup>。研究结果不一致可能与物种及添加的浓度不同有关。蒋增良等<sup>[40]</sup>研究表明,低剂量的GML提高了小鼠血清TG和LDL-C浓度并显著降低HDL-C浓度,进而造成腹部脂肪积累,而高剂量GML可缓解这种不良效应。谷草转氨酶和谷丙转氨酶在氨基酸分解代谢中发挥重要作用,是评价对虾肝胰腺受损程度的重要指标<sup>[41]</sup>。本实验中ALT随着饲料GML水平提高而逐步下降,添加组AST活性与对照组相比显著下降,表明饲料中添加GML可降低肝胰腺受损风险。

### 3.4 GML对凡纳滨对虾非特异性免疫指标及免疫因子的影响

CAT与SOD相互关联,二者均是动物体内发挥重要作用的抗氧化酶,可以清除机体内产生的有害物质 $O^2$ ,从而避免细胞受其损伤,其活性直接影响生物免疫水平<sup>[42]</sup>。本实验中1500 mg/kg组和2000 mg/kg组的SOD活性和CAT表达量均高于对照组,这与Han等<sup>[43]</sup>研究一致,表明适量的GML可提高动物的抗氧化能力。黑色素和抗菌肽(AMPs)是对虾最有效的2种非特异性免疫因子<sup>[44]</sup>,proPO是酚氧化酶(PO)在对虾体内的存在形式,当病原体入侵时,丝氨酸蛋白酶将proPO转变成PO,而PO在一系列生化反应下形成黑色素,黑色素把病原体包裹起来避免宿主与其接触而达到免疫效果<sup>[45]</sup>。在本研究中,2000 mg/kg组的proPO基因表达量显著增强,表明饲料中添加GML可活化凡纳滨对虾的酚氧化酶系统并增强凡纳滨对虾的非特异性免疫;此外,对虾体内主要依靠Toll和IMD免疫信号传导系统来调节非特异性免疫,两者响应不同病菌的入侵,Toll途径应对革兰氏阳细菌和真菌,IMD途径则应对革兰氏阴性菌,并诱导AMPs的上调<sup>[46]</sup>。在本实验中,2000 mg/kg组和2500 mg/kg组Toll和IMD基因表达量显著增加,表明添加GML可显著提升凡纳滨对虾的抗菌能力。

### 3.5 GML对凡纳滨对虾肠道菌群结构的影响

肠道微生物在维持宿主健康中发挥重要作用<sup>[47]</sup>,其组成和结构影响宿主的营养代谢、能量平衡和免疫功能<sup>[48-49]</sup>,与宿主之间存在相互依赖、相互制约的关系。饲料是影响肠道菌群结构的重要因素,通过对比不同剂量GML下小鼠肠道菌群的结构,发现GML对肠道菌群的调节作用具有剂量依赖效应<sup>[40,50]</sup>,高剂量GML显著促进益生菌的生长,改善小鼠的肠道菌群结构<sup>[40]</sup>,并且会导致菌群多样性显著下降<sup>[51]</sup>。在本实验中,添加组Chao1指数和Ace指数与对照组相比显著上升,2500 mg/kg组Shannon指数和Simpson指数与显著下降,与前人研究结果一致。菌群多样性下降可能与其抑菌活性有关,研究表明,GML具有优良的抑菌性能,抑菌物质通常会导致菌群多样性下降,儿茶素(多酚类化合物)具有良好的抑菌性能,可改善机体的脂质代谢功能,但也会造成肠道菌群多样性显著下降<sup>[52]</sup>。

本实验表明,在门水平上,各组的菌群种类

基本一致, 但组成比例有明显差异。进一步分析发现, 其中变形菌门, 拟杆菌门及厚壁菌门占据了菌群丰度 80% 以上, 是凡纳滨对虾肠道的优势菌群, 这与 Zhou 等<sup>[53]</sup> 研究结果相似。患病凡纳滨对虾肠道中拟杆菌门细菌丰富度会显著提高<sup>[47]</sup>, 此外, 益生菌制剂会提高凡纳滨对虾肠道中变形菌门的丰度, 并有效提高凡纳滨对虾的非特异性免疫功能<sup>[54]</sup>, 在本实验中, 2 500 mg/kg 组较对照组变形菌门细菌丰度显著上调, 而拟杆菌门细菌丰度显著下调, 表明 GML 可以有效改善凡纳滨对虾肠道菌群结构, 维持机体健康。

在科水平上, 红杆菌科以及黄杆菌科丰度呈现先上升后下降的趋势, 而弧菌科则呈现先下降后上升的趋势, 在健康凡纳滨对虾肠道菌群中的研究表明, 黄杆菌科丰度与弧菌科丰度呈负相关<sup>[26]</sup>, 本研究结果与其一致。黄杆菌科广泛分布于海洋生态系统中, 在降解复杂碳水化合物和蛋白质方面发挥重要作用<sup>[55]</sup>, 最新研究表明, 在黄杆菌科发现了其他可能编码产生具有已知抗菌、抗氧化和抗癌特性的化合物所需的蛋白质的 BGCs<sup>[56]</sup>, 因此推测本研究中 GML 提高凡纳滨对虾抗菌及抗氧化性能的机制与黄杆菌科丰度的提高有关。红杆菌科的次生代谢物 tropodithietic acid (TDA) 是一种广谱抗菌化合物, 将生产 TDA 的 *Phaeobacter inhibens* DSM17395 添加到欧洲平牡蛎 (*Ostrea edulis*) 中时, 可以有效降低弧菌科的相对丰度<sup>[57]</sup>, 这可能是本研究中弧菌科的丰度变化的原因。

#### 4 结论

综上所述, 适量 GML 作为凡纳滨对虾幼体饲料的添加剂能显著提高其生长, 非特异免疫效应, 改善肌肉品质并有效促进肠道菌群分布。以增重率为依据, 根据其二项式模型得出, 凡纳滨对虾幼体饲料中, GML 最适添加量为 2 142.99 mg/kg。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

#### 参考文献 (References):

[1] Effendi I, Suprayudi M A, Surawidjaja E H, *et al.* Production performance of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under sea floating net cages with biofloc and

periphyton juvenile[J]. *AACL Bioflux*, 2016, 9(4): 823-832.

[2] 杨运楷. 复合益生菌在凡纳滨对虾养殖中的应用及评价 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2019, doi: 10.27314/d.cnki.gsscu.2019.000219.

Yang Y K. Application and evaluation of compound probiotics in the culture of *Litopenaeus vannamei*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2019, doi: 10.27314/d.cnki.gsscu.2019.000219 (in Chinese).

[3] 陈倩倩, 王金荣, 王朋, 等. 中链脂肪酸的生物学功能及其在动物生产中的应用研究进展[J]. *中国畜牧杂志*, 2022, 58(2): 41-47.

Chen Q Q, Wang J R, Wang P, *et al.* Research progress on biological functions of medium chain fatty acids and its applications in animal production[J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2022, 58(2): 41-47 (in Chinese).

[4] Schlievert P M, Peterson M L. Glycerol monolaurate antibacterial activity in broth and biofilm cultures[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e40350.

[5] Dierick N A, Decuyper J A, Degeyter I. The combined use of whole *Cuphea* seeds containing medium chain fatty acids and an exogenous lipase in piglet nutrition[J]. *Archives of Animal Nutrition*, 2003, 57(1): 49-63.

[6] Kabara J J, Swieczkowski D M, Conley A J, *et al.* Fatty acids and derivatives as antimicrobial agents[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1972, 2(1): 23-28.

[7] Jiang Z L, Zhao M J, Zhang H, *et al.* Antimicrobial emulsifier-glycerol monolaurate induces metabolic syndrome, gut microbiota dysbiosis, and systemic low-grade inflammation in low-fat diet fed mice[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2018, 62(3): 1700547.

[8] Bäckhed F, Ding H, Wang T, *et al.* The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(44): 15718-15723.

[9] Turnbaugh P J, Ley R E, Mahowald M A, *et al.* An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest[J]. *Nature*, 2006, 444(7122): 1027-1031.

[10] 李涛, 王春维, 万志友, 等. 椰子油和单月桂酸甘油酯对断奶仔猪生产性能及粪便微生物的影响[J]. *粮食与饲料工业*, 2013(6): 54-57.

Li T, Wang C W, Wan Z Y, *et al.* Effect of coconut oil and glycerol monolaurate on growth performance, fecal

- microorganism in early-weaned piglets[J]. *Cereal & Feed Industry*, 2013(6): 54-57 (in Chinese).
- [11] 郭锡钦.  $\alpha$ -单月桂酸甘油酯对仔猪免疫功能及猪繁殖与呼吸综合征病毒的影响研究[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2019.
- Guo X Q. Effects of  $\alpha$ -glyceryl monolaurate on immune function and reproductive and respiratory syndrome virus in piglets[D]. Hangzhou: Zhejiang A&F University, 2019 (in Chinese).
- [12] 刘梦芸, 王建莉, 冯凤琴. 饲料添加单月桂酸甘油酯对蛋鸡生产性能、蛋品质、血清生化指标、免疫器官指数和腹脂形态的影响[J]. *中国家禽*, 2017, 39(17): 24-30.
- Liu M Y, Wang J L, Feng F Q. Effects of glycerol monolaurate on production performance, egg quality, serum parameters, immune organ index and abdominal fat morphology of laying hens[J]. *China Poultry*, 2017, 39(17): 24-30 (in Chinese).
- [13] Mustafa N G. Biochemical trails associated with different doses of alpha-monolaurin in chicks[J]. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 2019, 7(3): 187-192.
- [14] 王铨静, 杨奇慧, 谭北平, 等. 大豆酶解蛋白对凡纳滨对虾幼虾生长性能、血清生化指标、非特异性免疫力和抗病力的影响[J]. *广东海洋大学学报*, 2018, 38(1): 14-21.
- Wang A J, Yang Q H, Tan B P, *et al.* Effects of enzymolytic soybean meal on growth performance, serum biochemical indices, non-specific immunity and disease resistance of juvenile *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2018, 38(1): 14-21 (in Chinese).
- [15] 李维康, 李立贤, 刘泓宇, 等. 低鱼粉饲料添加丁酸梭菌对凡纳滨对虾生长、抗氧化能力和非特异性免疫的影响[J]. *广东海洋大学学报*, 2022, 42(2): 29-37.
- Li W K, Li L X, Liu H Y, *et al.* Effects of clostridium butyricum on growth, antioxidant capacity and non-specific immunology of *Litopenaeus vannamei* fed with concentrated cottonseed protein replacement of fishmeal[J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2022, 42(2): 29-37 (in Chinese).
- [16] 吴远彩, 李日美, 申光荣, 等. 小肽对凡纳滨对虾生长、抗氧化能力、非特异性免疫及肠道菌群结构的影响[J]. *广东海洋大学学报*, 2021, 41(5): 1-9.
- Wu Y C, Li R M, Shen G R, *et al.* Effects of dietary small peptides on growth, antioxidant capacity, non-specific immunity and ingut microflora structure of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2021, 41(5): 1-9 (in Chinese).
- [17] 黄钦成, 谭北平, 董晓慧, 等. 饲料中添加壳寡糖和霉菌毒素吸附剂对凡纳滨对虾肠道黏膜形态及菌群结构的影响[J]. *中国水产科学*, 2018, 25(2): 373-383.
- Huang Q C, Tan B P, Dong X H, *et al.* Effect of chitosan oligosaccharide and mycotoxin adsorbents on intestinal mucosa structure and gut flora of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2018, 25(2): 373-383 (in Chinese).
- [18] Mu H, Shen H H, Liu J H, *et al.* High level of dietary soybean oil depresses the growth and anti-oxidative capacity and induces inflammatory response in large yellow croaker *Larimichthys crocea*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 77: 465-473.
- [19] Mo Q F, Fu A K, Deng L L, *et al.* High-dose glycerol monolaurate up-regulated beneficial indigenous microbiota without inducing metabolic dysfunction and systemic inflammation: New insights into its antimicrobial potential[J]. *Nutrients*, 2019, 11(9): 1981.
- [20] 汪愈超, 杜鹃, 李阳, 等. 月桂酸单甘油酯对中华鳖生长、健康及营养品质的影响[J]. *动物营养学报*, 2019, 31(1): 428-436.
- Wang Y C, Du J, Li Y, *et al.* Effects of glycerol monolaurate on growth, health and nutritional quality of Chinese soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(1): 428-436 (in Chinese).
- [21] Rimoldi S, Gliozheni E, Ascione C, *et al.* Effect of a specific composition of short- and medium-chain fatty acid 1-Monoglycerides on growth performances and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*)[J]. *PeerJ*, 2018, 6: e5355.
- [22] Hanczakowska E, Świątkiewicz M, Hanczakowski P, *et al.* Medium-chain fatty acids as feed supplements for weaned piglets[J]. *Medycyna Weterynaryjna*, 2010, 66(5): 331-334.
- [23] 吴胜, 彭艳. 月桂酸单甘油酯在畜禽生产中的应用效果及其机制的研究进展[J]. *饲料研究*, 2019, 42(8): 109-112.
- Wu S, Peng Y. Research progress on application effect and mechanism of glycerol monolaurate in livestock and

- poultry production[J]. *Feed Research*, 2019, 42(8): 109-112 (in Chinese).
- [24] Newaj-Fyzul A, Al-Harbi A H, Austin B. Review: developments in the use of probiotics for disease control in aquaculture[J]. *Aquaculture*, 2014, 431: 1-11.
- [25] Xiong J B, Zhu J L, Zhang D M. The application of bacterial indicator phylotypes to predict shrimp health status[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(19): 8291-8299.
- [26] Dai W F, Yu W N, Xuan L X, *et al.* Integrating molecular and ecological approaches to identify potential polymicrobial pathogens over a shrimp disease progression[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(8): 3755-3764.
- [27] Wang Y C, Abdullah, Zhang C, *et al.* Effects of dietary glycerol monolaurate on the growth performance, digestive enzymes, body composition and non-specific immune response of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. *Aquaculture Reports*, 2020, 18: 100535.
- [28] Huang Q Y, Feng D, Liu K, *et al.* A medium-chain fatty acid receptor Gpr84 in zebrafish: expression pattern and roles in immune regulation[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2014, 45(2): 252-258.
- [29] 蒋慧琪. 月桂酸单甘油酯对养殖大黄鱼生长、健康及食用品质的影响 [D]. 杭州: 浙江大学, 2021, doi: 10.27461/d.cnki.gzjdx.2021.001476.
- Jiang H Q. The effect of glycerol monolaurate on growth, health and food quality of cultured large yellow croaker[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2021, doi: 10.27461/d.cnki.gzjdx.2021.001476 (in Chinese).
- [30] 刘梦芸, 陈晓倩, 赵豪斌, 等. 饲料中添加单月桂酸甘油酯对肉鸡生长性能、消化能力及鸡肉营养品质的影响[J]. *食品科学*, 2018, 39(15): 67-71.
- Liu M Y, Chen X Q, Zhao H B, *et al.* Effect of dietary supplementation with glycerol monolaurate on growth performance, digestive ability and chicken nutritional components of broilers[J]. *Food Science*, 2018, 39(15): 67-71 (in Chinese).
- [31] 田颖, 彭景, 陈玉. 人体赖氨酸需要量的研究进展[J]. *现代预防医学*, 2014, 41(1): 22-24, 27.
- Tian Y, Peng J, Chen Y. Research progress of human lysine requirement[J]. *Modern Preventive Medicine*, 2014, 41(1): 22-24, 27 (in Chinese).
- [32] 李仁德, 李光玉, 王凯英. 苏氨酸对动物的生物学作用研究进展[J]. *饲料工业*, 2017, 38(8): 36-39.
- Li R D, Li G Y, Wang K Y. Research advances on biological function of threonine for animal[J]. *Feed Industry*, 2017, 38(8): 36-39 (in Chinese).
- [33] 何树青, 李日美, 杨奇慧, 等. 锌对凡纳滨对虾生长、非特异性免疫指标、抗病力及肠道菌群结构的影响[J]. *水产学报*, 2021, 45(10): 1726-1739.
- He S Q, Li R M, Yang Q H, *et al.* Effects of dietary zinc on growth, serum non-specific immune indexes, disease resistance and intestinal flora structure in juvenile *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, 45(10): 1726-1739 (in Chinese).
- [34] 蒋明, 黄凤, 文华, 等. 饲料锌对团头鲂幼鱼生长性能、血清生化指标和抗氧化功能的影响[J]. *中国水产科学*, 2015, 22(6): 1167-1176.
- Jiang M, Huang F, Wen H, *et al.* Effects of dietary zinc on growth, serum biochemical indices, and antioxidant responses in juvenile blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2015, 22(6): 1167-1176 (in Chinese).
- [35] 谭连杰, 林黑着, 黄忠, 等. 当归多糖对卵形鲳鲹生长性能、抗氧化能力、血清免疫和血清生化指标的影响[J]. *南方水产科学*, 2018, 14(4): 72-79.
- Tan L J, Lin H Z, Huang Z, *et al.* Effect of dietary angelica polysaccharide (AP) on growth performance, antioxidant capacity, serum immune and serum biochemical indices of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*)[J]. *South China Fisheries Science*, 2018, 14(4): 72-79 (in Chinese).
- [36] 温静. 磷对中期草鱼生长性能、肌肉品质、抗氧化能力和免疫功能的影响 [D]. 成都: 四川农业大学, 2013: 35-37.
- Wen J. Effects of dietary phosphorus on growth performance, meat quality antioxidative ability and immune function of young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2013: 35-37 (in Chinese).
- [37] Lin S M, Luo L. Effects of different levels of soybean meal inclusion in replacement for fish meal on growth, digestive enzymes and transaminase activities in practical diets for juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2011, 168(1-2): 80-87.
- [38] 吴凡, 蒋明, 文华, 等. 饲料碳水化合物与脂肪比例对

- 吉富罗非鱼成鱼生长、体成分和血清生化指标的影响[J]. *南方水产科学*, 2019, 15(4): 53-60.
- Wu F, Jiang M, Wen H, *et al.* Effects of dietary carbohydrate to lipid ratio on growth performance, body composition and serum biochemical indices of adult GIFT *Oreochromis niloticus*[J]. *South China Fisheries Science*, 2019, 15(4): 53-60 (in Chinese).
- [39] Liu T, Tang J, Feng F Q. Glycerol monolaurate improves performance, intestinal development, and muscle amino acids in yellow-feathered broilers via manipulating gut microbiota[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104(23): 10279-10291.
- [40] 蒋增良, 张辉, 杜鹃, 等. 月桂酸单甘油酯抑菌机理、影响因素及其复配体系的抑菌特性[J]. *中国食品学报*, 2016, 16(3): 146-151.
- Jiang Z L, Zhang H, Du J, *et al.* Antibacterial mechanism and influence factors of glycerol monolaurate and antibacterial properties of its combinations[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2016, 16(3): 146-151 (in Chinese).
- [41] 郭旭, 戴习林, 华雪铭, 等. 发酵豆粕部分替代鱼粉后凡纳滨对虾对赖氨酸的需求量[J]. *水产学报*, 2021, 45(6): 910-919.
- Guo X, Dai X L, Hua X M, *et al.* Optimum lysine requirement of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* when fermented soybean meal partially replacing fish meal in the feed[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, 45(6): 910-919 (in Chinese).
- [42] 王芸, 李健, 刘淇, 等. 5种中草药对凡纳滨对虾生长及非特异性免疫功能的影响[J]. *安徽农业科学*, 2007, 35(26): 8236-8239.
- Wang Y, Li J, Liu Q, *et al.* Effect of five species of herbs on nonspecific immune activity of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2007, 35(26): 8236-8239 (in Chinese).
- [43] Han Y S, Tang C H, Zhao Q Y, *et al.* Effects of dietary supplementation with combinations of organic and medium chain fatty acids as replacements for chlortetracycline on growth performance, serum immunity, and fecal microbiota of weaned piglets[J]. *Livestock Science*, 2018, 216: 210-218.
- [44] Tassanakajon A, Rimphanitchayakit V, Visetnan S, *et al.* Shrimp humoral responses against pathogens: antimicrobial peptides and melanization[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2018, 80: 81-93.
- [45] 高宏伟. 中国明对虾病原检测新方法及酚氧化酶通路相关基因的研究 [D]. 青岛: 中国科学院研究生院 (海洋研究所), 2008.
- Gao H W. Research on novel detection methods for pathogen and phenoloxidase pathway genes in *Fenneropenaeus chinensis*[D]. Qingdao: The Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2008 (in Chinese).
- [46] 许森. L型凝集素和 Toll、IMD 信号通路关键因子在日本对虾先天免疫中的功能研究 [D]. 济南: 山东大学, 2014.
- Xu S. Functions of L type lectin and key components of Toll and IMID signaling pathways in innate immunity of kuruma shrimp (*Marsupenaeus japonicas*)[D]. Ji 'nan: Shandong University, 2014 (in Chinese).
- [47] 郁维娜, 戴文芳, 陶震, 等. 健康与患病凡纳滨对虾肠道菌群结构及功能差异研究[J]. *水产学报*, 2018, 42(3): 399-409.
- Yu W N, Dai W F, Tao Z, *et al.* Characterizing the compositional and functional structures of intestinal microflora between healthy and diseased *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2018, 42(3): 399-409 (in Chinese).
- [48] Sommer F, Bäckhed F. The gut microbiota-masters of host development and physiology[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2013, 11(4): 227-238.
- [49] 赵敏洁. 基于多组学策略研究月桂酸单甘油酯对高脂膳食饲喂小鼠脂代谢的调节作用及机制 [D]. 杭州: 浙江大学, 2019.
- Zhao M J. A multi omics analysis of modulation in lipid metabolism by glycerol monolaurate in high-fat diet-fed mice[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2019 (in Chinese).
- [50] Harrison L M, Balan K V, Babu U S. Dietary fatty acids and immune response to food-borne bacterial infections[J]. *Nutrients*, 2013, 5(5): 1801-1822.
- [51] 莫秋芬, 邓伶俐, 李杨, 等. 月桂酸单甘油酯对小鼠肠道菌群调节作用的时间依赖效应[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(5): 96-107.
- Mo Q F, Deng L L, Li Y, *et al.* The time-dependent influence of glycerol monolaurate on the gut microbiota in C57BL/6 mice[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2021, 21(5): 96-107 (in Chinese).

- [52] Huang J C, Lin X H, Xue B, *et al.* Impact of polyphenols combined with high-fat diet on rats' gut microbiota[J]. *Journal of Functional Foods*, 2016, 26: 763-771.
- [53] Zhou L, Li H F, Qin J G, *et al.* Dietary prebiotic inulin benefits on growth performance, antioxidant capacity, immune response and intestinal microbiota in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) at low salinity[J]. *Aquaculture*, 2020, 518: 734847.
- [54] 樊英, 王晓璐, 王友红, 等. 益生菌制剂和抗生素对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)非特异性免疫及肠道微生物的影响比较[J]. *中国农学通报*, 2020, 36(33): 138-146.
- Fan Y, Wang X L, Wang Y H, *et al.* Probiotics and antibiotic: effects on non-specific immune and intestinal microbe in *Litopenaeus vannamei*[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2020, 36(33): 138-146 (in Chinese).
- [55] Fernández-Gómez B, Richter M, Schüller M, *et al.* Ecology of marine Bacteroidetes: a comparative genomics approach[J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(5): 1026-1037.
- [56] Gavriilidou A, Gutleben J, Versluis D, *et al.* Comparative genomic analysis of *Flavobacteriaceae*: insights into carbohydrate metabolism, gliding motility and secondary metabolite biosynthesis[J]. *BMC Genomics*, 2020, 21(1): 569.
- [57] Henriksen N N S E, Lindqvist L L, Wibowo M, *et al.* Role is in the eye of the beholder—the multiple functions of the antibacterial compound tropodithietic acid produced by marine *Rhodobacteraceae*[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2022, 46(3): fuac007.

## Effects of glycerol monolaurate on growth performance, muscle amino acids, non-specific immunity and intestinal flora of *Litopenaeus vannamei*

WEI Hongjie<sup>1,2</sup>, LI Xuehe<sup>1,2</sup>, WU Yuancai<sup>1,2</sup>, YI Yuanming<sup>1,2</sup>,  
ZHU Dongwenjun<sup>1,2</sup>, YANG Qihui<sup>1,2,3\*</sup>, TAN Beiping<sup>1,2,3</sup>

(1. Laboratory of Aquatic Nutrition and Feed, College of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;

2. Aquatic Animals Precision Nutrition and High-efficiency Feed Engineering Research Centre of Guangdong Province, Zhanjiang 524088, China;

3. Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Animal Disease Control and Healthy Culture, Zhanjiang 524088, China)

**Abstract:** A feed trial was conducted in *Litopenaeus vannamei* to evaluate the effects of glycerol monolaurate (GML) supplement on growth, muscle amino acids, non-specific immunity, disease resistance, and intestinal flora structure. Juvenile *L. vannamei* [body weight = (0.31±0.02) g] were fed for 56 days with six iso-nitrogenous and isoenergetic experimental diets containing 0 (control group), 500, 1 000, 1 500, 2 000 and 2 500 mg/kg GML, respectively. The results showed that, ① 2 000 mg/kg GML significantly increased the weight gain rate and specific growth rate and significantly reduced the feed coefficient compared to the control group. ② Feeding *L. vannamei* with GML diet had no significant effect on the body composition of the fish. ③ *L. vannamei* fed with GML diet had significantly higher content of flavor amino acids and total amino acids. ④ Serum total protein content was significantly higher, LDL cholesterol content and glutathione transaminase activity were significantly lower in all addition groups; triglyceride content was significantly lower in those fed with 500 mg/kg and 1 500 mg/kg GML. ⑤ Superoxide dismutase activity and catalase expression were significantly up-regulated in those fed with 1 500 mg/kg GML, and IMD, Toll expressions, and lysozyme activity were significantly up-regulated in those fed with 2 000 and 2 500 mg/kg GML, and phenol oxidase pro expression was significantly up-regulated in those fed with 2 000 mg/kg GML. ⑥ All addition groups had significantly increased Chao1 and Ace indexes, *L. vannamei* fed with 1 500 and 2 500 mg/kg GML had significantly decreased Shannon index, and Simpson index was significantly decreased in those fed with 2 500 mg/kg. In summary, the results of the present study emphasized the favorable effects of adequate dietary GML on growth performance and non-specific immunity and intestinal flora. Dietary GML at 2 142.99 mg/kg GML was recommended to maintain optimal growth performance of *L. vannamei*.

**Key words:** *Litopenaeus vannamei*; glycerol monolaurate; growth; non-specific immunity; disease resistance; intestinal flora

**Corresponding author:** YANG Qihui. E-mail: qihuiyang03@163.com

**Funding projects:** National Natural Science Foundation of China (31802316); National Key Research & Development Program of China (2019YFD0900200); Science and Technology Specialists Project of Guangdong Provincial Science and Technology Department (GDKTP2021048400)