

饲料中添加南极磷虾粉对凡纳滨对虾生长、体组分及体色的影响

李汶恒¹, 王海涛², 单洪伟¹, 高畅¹, 李吉清³

1. 海水养殖教育部重点实验室(中国海洋大学), 山东青岛 266003
2. 威海市文登区海洋发展事务中心, 山东威海 264400
3. 威海泰裕水产良种繁育有限公司, 山东威海 264400

摘要: 为探讨南极磷虾粉在对虾养殖中的应用效果, 在对虾全价配合饲料中分别添加5% (S5组)、10% (S10组)、15% (S15组) 和20% (S20组) 的南极磷虾粉, 配制成4种实验饲料, 以全价配合饲料为对照 (S0组), 饲养体质量为 (7.27±0.88) g 的凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 35 d, 研究了其对凡纳滨对虾生长、体组分及体色的影响。结果显示, 饲料中添加南极磷虾粉: 1) 可显著提高对虾成活率 ($P<0.05$), 添加比例为15%时, 终末体质量 (FBW)、体质量增长率 (WGR) 和特定生长率 (SGR) 均显著高于S0组 ($P<0.05$); 2) 逐渐提高粗脂肪含量, 且S10、S15和S20组显著高于S0组 ($P<0.05$), 而头胸甲亮度值 (L^*) 及身体处黄色值 (b^*) 逐渐降低, 均显著低于S0组 ($P<0.05$); 3) 显著提高肝胰腺和甲壳中虾青素的含量, 且与体色相关的LVPBP75基因的表达水平与南极磷虾粉添加比例呈正相关。研究结果初步表明, 饲料中添加南极磷虾粉能够促进对虾生长, 提高其体内虾青素含量和肝胰腺中LVPBP75的表达水平, 改善体色; 其中, 添加15%的南极磷虾粉效果更加明显。

关键词: 凡纳滨对虾; 南极磷虾粉; 体色; 虾青素; LVPBP75

中图分类号: S 963.73⁺5

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Effects of dietary supplementation with powder of Antarctic krill (*Euphausia superba*) on growth performance, body composition and color of *Litopenaeus vannamei*

LI Wenheng¹, WANG Haitao², SHAN Hongwei¹, GAO Chang¹, LI Jiqing³

1. Key Laboratory of Mariculture (Ocean University of China), Ministry of Education, Qingdao 266003, China
2. Weihai Wendeng District Marine Development Affairs Center, Weihai 264400, China
3. Weihai Taiyu Aquaculture Breeding Co., Ltd., Weihai 264400, China

Abstract: To determine the application effect of *Euphausia superba* powder (PE) in shrimp culture, we designed five groups [S0 group (No PE supplementation), S5 group, S10 group, S15 group, and S20 group (5%, 10%, 15% and 20% PE supplemented to the feed, respectively)] for a 35-day experiment on *Litopenaeus vannamei* [Body mass of (7.27±0.88) g]. The effect of dietary supplementation with PE on the growth performance, body composition and color of *L. vannamei* were evaluated. The results show that: 1) PE supplementation improved the survival rate (SR) of *L. vannamei* significantly ($P<0.05$), and the final body mass (FBW), weight gain rate (WGR) and specific growth rate (SGR) of *L. vannamei* in S15 group were significantly higher compared with the other groups ($P<0.05$). 2) With the increase of PE supplementation, the crude fat content of *L. vannamei* increased gradually, and those in S10 group, S15 group and S20 group were significantly higher than that in S0 group ($P<0.05$).

收稿日期: 2022-03-21; 修回日期: 2022-05-31

基金项目: 国家重点研发计划项目(2020YFD0900202); 文登产学研特聘专家项目(201902); 黄河三角洲产业领军人才计划项目(DYRC20200213)

作者简介: 李汶恒(1998—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产养殖生态学。E-mail: liwenheng@stu.ouc.edu.cn

通信作者: 单洪伟(1984—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为甲壳动物健康养殖。E-mail: shanhongwei@ouc.edu.cn

Additionally, the brightness (L^*) of the cephalothorax and the yellowness (b^*) of the carapace of *L. vannamei* decreased gradually, which were significantly lower than those in S0 group ($P<0.05$). 3) PE supplementation to the feed increased the astaxanthin content in the hepatopancreas and crustacean of *L. vannamei* significantly ($P<0.05$), and the effect was positively associated with PE supplementation. The expression level of the *LVPBP75* related to body color was also positively correlated with PE supplementation. The results indicate that dietary supplementation with PE, especially with 15% PE, can improve the growth, astaxanthin content, body color as well as expression level of *LVPBP75* of *L. vannamei*.

Keywords: *Litopenaeus vannamei*; *Euphausia superba* powder; Body color; Astaxanthin; *LVPBP75*

凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 原产于太平洋沿岸海域, 是目前世界上产量最高的对虾养殖品种之一^[1]。其体形与中国明对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 相似, 正常体色为青灰色, 具有个体大、生长快、环境适应能力强、抗病力强、对饵料要求低等优点, 可进行高密度、集约化养殖。2019年, 中国凡纳滨对虾养殖产量达到 181.6 万吨, 其中海水养殖产量达 114.4 万吨, 占中国海水养殖虾类总产量的 78.9%^[2]。然而, 随着对虾工厂化养殖的兴起, 养殖对虾体色异常, 体色变浅甚至发蓝的问题也随之暴露。由于消费者对于对虾颜色有一定的偏好, 导致颜色正常的对虾价格高于颜色异常的, 因此, 如何改善工厂化养殖对虾的体色, 提高其品质, 亟须深入研究^[3-4]。

虾青素是类胡萝卜素的一种, 与甲壳类动物体色密切相关, 约占对虾体内类胡萝卜素含量的 65%~98%^[5]。因为自身无法合成虾青素, 必须从自然界中摄取虾青素或其前体物质, 所以甲壳类动物体内的虾青素主要来源于食物^[6-7]。已有研究表明, 用缺乏虾青素的人工饲料喂养斑节对虾 (*Penaeus monodon*), 会造成其体色由绿褐色转为淡蓝色^[8]。当为其补充适量角黄素与虾青素后, 对虾体色变深, 蓝色消失^[9]。甲壳类动物从食物中摄入虾青素后, 色素通过消化系统被运输到表皮, 储存于表皮下的色素细胞内^[5,10]。除了表皮色素细胞之外, 甲壳类动物的外骨骼中也发现了虾青素的存在, 并且体色很大程度上取决于外骨骼与表皮层中色素 (主要是虾青素) 的含量^[4,11-12]。对虾工厂化养殖过程中, 食物来源单一, 颜色变浅或发蓝可能是由于缺少虾青素^[13]。

南极磷虾 (*Euphausia superba*) 隶属于磷虾目、磷虾科、磷虾属, 是磷虾科中体型较大的一种。据估计, 南极磷虾的资源蕴藏量在 (6.5~100) 亿吨之间, 年可捕量高达 1 亿吨^[14]。南极磷虾不仅资源丰富, 而且营养也较为均衡; 由于含有 10 种必需氨

基酸 (EAA) 和 8 种非必需氨基酸 (NEAA), 被认为是可以与鱼粉媲美的优质蛋白质原料^[15]。已有研究表明, 饲料中添加南极磷虾粉能够提高大黄鱼 (*Larimichthys crocea*)^[16]、三倍体虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)^[17]、圆斑星鲽 (*Verasper variegatus*)^[18] 的生长性能。此外, 磷虾中含有丰富的虾青素, 凡纳滨对虾饲料中添加磷虾粉能够提高其肝胰腺中虾青素的含量^[19]。目前, 关于凡纳滨对虾体色调控的研究较少, 本实验在对虾配合饲料中添加南极磷虾粉, 在探讨其对凡纳滨对虾生长、体组分影响的基础上, 进一步研究饲喂南极磷虾粉对凡纳滨对虾体色的影响及其机制, 以期对凡纳滨对虾的体色调控研究提供参考, 并为改善工厂化养殖凡纳滨对虾的体色提供可行性方案。

1 材料与方法

1.1 饲料制备

本实验所用南极磷虾购自中水集团远洋股份有限公司, 体长为 (2.45±0.13) cm。磷虾解冻、沥干, 用鱼肉采肉机进行脱壳处理, 然后放入真空冷冻干燥机冻干后, 用粉碎机粉碎成磷虾粉, 其营养成分 (质量分数) 为粗蛋白 (65.41±0.28)%、粗脂肪 (13.27±0.00)%、灰分 (11.86±0.03)%。以对虾配合饲料 (正大集团南美白对虾配合饲料 9061) 为基础, 分别制成含有南极磷虾粉 5%、10%、15% 和 20% 的 4 种实验饲料。实验饲料配制方法如下: 对虾配合饲料粉碎后, 按照相应比例添加南极磷虾粉, 然后加入水和海藻酸钠 (饲料质量的 0.5%) 揉成面团, 进制粒机压制成粒径约 2 mm 的颗粒饲料, 55 °C 烘箱中烘干至水分低于 10% 后, 将实验饲料封装, 常温干燥保存。所配置的实验饲料营养成分分析见表 1。

1.2 实验设计与日常管理

实验于室内循环水养殖系统中完成, 该系统由玻璃水缸 (50 cm×35 cm×35 cm, 50 L)、沙滤罐、紫

表1 实验饲料营养水平分析 (风干质量)
Table 1 Nutritional composition of experimental diets (Air-dry mass)

项目 Item	南极磷虾粉质量分数 Mass fraction of <i>E. superba</i> powder/%				
	0	5	10	15	20
粗蛋白质量分数 Crude protein mass fraction/%	44.68	44.17	45.32	45.36	45.37
粗脂肪质量分数 Crude fat mass fraction/%	8.54	8.55	8.77	9.14	9.78
灰分质量分数 Ash mass fraction/%	12.25	11.86	12.03	11.78	12.00
水分质量分数 Moisture mass fraction/%	5.43	8.80	7.95	10.09	9.09
虾青素质量分数 Astaxanthin mass fraction/ (mg·kg ⁻¹)	1.19	1.68	2.05	2.66	2.96

外灭菌装置和泡沫分离器组成。实验所用凡纳滨对虾体质量为 (7.27±0.88) g, 运抵实验室后, 先在系统中暂养 7 d, 挑选健康、规格相当的对虾 450 尾用于实验。设置 5 个实验组, 分别投喂含南极磷虾粉 0% (S0 组)、5% (S5 组)、10% (S10 组)、15% (S15 组) 和 20% (S20 组) 的配合饲料。每个实验组设置 6 个重复, 每个重复 15 尾, 每个玻璃水缸为 1 个实验重复, 其中 3 个重复用于样品采集, 另外 3 个用于计算对虾的生长和成活率。实验对虾每天于 07:00、12:00、17:30、21:30 投喂, 根据残饵量相应调整下次的投喂量, 每次投喂 1 h 后虹吸出水体中的粪便残饵。养殖实验持续 35 d, 养殖期间系统内水温 26~28 °C, 盐度 (29±0.5)‰, 氨氮质量浓度 <0.3 mg·L⁻¹, pH 7.7~7.9, 溶解氧质量浓度 > 6 mg·L⁻¹。

1.3 对虾样品采集与分析

1.3.1 样品的采集

分别于实验第 0、第 7、第 14、第 21、第 28 和第 35 天随机从各组取 6 尾对虾, 取其肝胰腺、肌肉和甲壳, 经液氮快速冷冻后放入 -80 °C 超低温冰箱保存待测。测定指标包括肝胰腺及甲壳 (腹部) 虾青素含量, 肝胰腺中 *LVPBP75* 基因表达水平。第 35 天, 随机从各组取 3 尾对虾, 测定全虾体成分, 另取 6 尾测量体色。

1.3.2 虾青素的测定

根据 Yi 等^[20] 的方法, 用分光光度计测定对虾肝胰腺、甲壳及饲料中虾青素含量。取 0.2 g 组织样品或 0.8 g 饲料样品于试管中, 加入 8 mL 乙酸乙酯+乙醇混合液 (体积比 1:1) 匀浆, 4 000×g 离心 5 min 后移取上清液, 将上述沉淀用 4

mL 乙酸乙酯和 8 mL 正己烷分别提取 1 次, 最后将三者上清液集中后用高纯氮吹干。将吹干后的色素溶于 4 mL 色谱纯丙酮 (含质量分数为 0.05% BHT) 中, 混匀, 10 000×g 离心 5 min。虾青素对应的吸收峰在 474 nm 处, 其在丙酮中 474 nm 处消光系数为 $E_{(1\%,1\text{ cm})}$, 1 cm=1 900。虾青素质量分数 (mg·kg⁻¹)=10 000V×A/W/ $E_{(1\%,1\text{ cm})}$ ×1%, V 为提取液的体积 (mL); A 为吸光度值; W 为样品质量 (g)。

1.3.3 基因表达水平测定

LVPBP75 基因表达水平测定使用的引物如表 2 所示, β -ACTIN 为内参基因。测定方法如下: 肝胰腺总 RNA 的提取采用 RNAiso-Plus (TaKaRa, 日本) 试剂盒进行, 根据说明书所示步骤进行操作。RNA 浓度和纯度的检测使用 Nanodrop2000, 完整性检测使用琼脂糖凝胶电泳完成。使用 Prime ScriptTM RT reagent Kit 试剂盒 (TaKaRa, 日本) 处理以合成第一链 cDNA。参照 SYBR[®] Premix Ex TaqTM II (TaKaRa, 日本) 的说明书, 在 RT-PCR 扩增仪 (BIO-RAD CFX96, 美国) 中进行实时 PCR。扩增体系为 20 μ L: 10 μ L TB GreenPremix Ex Taq II (2×) (Tli RNaseH Plus), Bulk, 0.8 μ L 正向引物 (10 μ mol·L⁻¹), 0.8 μ L 反向引物 (10 μ mol·L⁻¹), 0.4 μ L ROX Reference Dye (50×), 2 μ L cDNA, 6 μ L ddH₂O。其程序设定为: 95 °C 预变性 10 s, 95 °C 运行 10 s, 60 °C 复性 30 s, 共 40 个循环, 反应结束时进行熔解曲线分析, 检测反应特异性。以各取样点的 S0 组作为标准, 使用 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 方法计算相对基因表达水平。

表2 本研究中使用的引物序列
Table 2 Real-time PCR primer sequences used in present study

引物 Primer	引物序列 (5'—3') Primer sequence (5'—3')
<i>LVPBP75</i> -F	TGGGCATCCTTTGTGCGGAATG
<i>LVPBP75</i> -R	CATAGAGGGGAGGGAGCACCAC
β -ACTIN-F	ACCACCGCTGCTTCCTCCTC
β -ACTIN-R	CGGATGTCCACGTCGCACTTC

1.3.4 体组成测定

全虾样品在 105 °C 烘干至恒质量测定水分, 粗蛋白质采用全自动凯氏定氮仪测定, 粗脂肪采用氯仿甲醇法测定, 粗灰分采用 550 °C 马弗炉灼烧

法测定。

1.3.5 体色测定

将虾放入冰水桶中直至死亡，而后使用 NR-200 型色差仪 (三恩时, 中国) 分别测量头胸甲和甲壳 (腹部 2~3 节) 处的体色。将测量完的虾放入 100 °C 水中煮 4 min 后采用同样方法测量对虾体色。对虾体色采用国际发光照明委员会 (CIE) 的标准由 L^* (亮度值)、 a^* (红色值)、 b^* (黄色值) 表示^[21-22]。

1.4 生长等相关指标的计算

对虾的成活率 (SR)、体质量增长率 (WGR) 和特定生长率 (SGR) 的计算公式如下:

$$SR = N_t/N_0 \times 100\% \quad (1)$$

$$WGR = [(W_t - W_0)/W_0] \times 100\% \quad (2)$$

$$SGR = [(\ln W_t - \ln W_0)/t] \times 100\% \quad (3)$$

式中: N_0 表示凡纳滨对虾的放养数量; N_t 表示凡纳滨对虾终末数量; W_0 表示凡纳滨对虾初始体质量 (g); W_t 表示凡纳滨对虾终末体质量 (g); t 表示实验时间 (d)。

1.5 数据分析

数据以“平均值±标准差 ($\bar{X} \pm SD$)”表示, 所有

数据分别采用 Shapiro-Wilk 测试和 Levene 测试检验其正态性和方差齐性, 对不满足的数据进行 lg 转换并再次检验其正态性与方差齐性, 若通过检测则采用单因素方差 (One-way ANOVA, LSD) 分析和 Turkey's 多重比较进行显著性分析, 否则采用 Kruskal-Wallis 测试进行非参检验, 以 $P < 0.05$ 作为差异显著水平。所有数据分析使用 SPSS 25.0 软件完成。

2 结果

2.1 对虾的生长和存活

饲料中添加南极磷虾粉对对虾生长和存活的影响见表 3。添加南极磷虾粉的各组对虾终末体质量 (FBW)、WGR 和 SPR 均高于 S0 组, 且随着添加量的增加呈先升高后降低的趋势; 其中, S15 组的 FBW、WGR、SGR 显著高于 S0 组 ($P < 0.05$)。饲料中添加南极磷虾粉能够提高对虾的成活率, 各实验组较 S0 组提高了 10%~20%, 其中 S10 组对虾成活率显著高于 S0 组 ($P < 0.05$)。

表3 各组对虾生长性能和成活率

Table 3 Growth performance and survival rate of shrimps in each group

项目 Item	组别 Group				
	S0	S5	S10	S15	S20
终末体质量 Final body mass/g	22.14±1.78 ^b	23.62±3.02 ^{ab}	25.10±3.76 ^{ab}	26.35±2.56 ^a	25.09±3.18 ^{ab}
体质量增长率 Weight gain rate/%	204.41±24.53 ^b	224.78±41.57 ^{ab}	245.16±51.72 ^{ab}	262.35±35.15 ^a	245.03±43.78 ^{ab}
特定生长率 Specific growth rate/(%·d ⁻¹)	3.17±0.24 ^b	3.35±0.36 ^{ab}	3.51±0.41 ^{ab}	3.67±0.27 ^a	3.52±0.35 ^{ab}
成活率 Survival rate/%	46.67±0.00 ^b	66.67±0.00 ^{ab}	77.78±16.78 ^a	66.67±0.00 ^{ab}	57.78±10.18 ^{ab}

注: 同行数据不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$); 下表同此。

Note: Values with different lowercase letters within the same row indicate significant difference ($P < 0.05$). The same case in the following tables.

2.2 对虾肝胰腺和甲壳中虾青素含量

饲料中添加南极磷虾粉对对虾肝胰腺中虾青素含量的影响见图 1。实验过程中, 各组对虾肝胰腺中的虾青素含量呈上升趋势。S5 组肝胰腺虾青素含量低于 S0 组, 且在第 7、第 28 天时达到显著水平 ($P < 0.05$)。整体上, S10 组肝胰腺中虾青素含量与 S0 组无显著性差异, 而 S15 和 S20 组肝胰腺中虾青素含量高于 S0 组, 且在第 7、第 14、第 21、和第 28 天时具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

饲料中添加南极磷虾粉对对虾甲壳中虾青素含量的影响见图 2。实验过程中, S15 和 S20 组甲壳中虾青素的含量显著高于 S0 组 ($P < 0.05$)。整体

上, S10 组甲壳中虾青素含量与 S0 组差异不显著, 而 S5 组甲壳中虾青素含量低于 S0 组, 且在一些时间点上具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.3 对虾的体成分

饲料中添加南极磷虾粉对对虾体成分的影响见表 4。各组的灰分、粗蛋白质、水分差异不显著 ($P > 0.05$)。饲料中添加南极磷虾粉的各组粗脂肪含量高于 S0 组, 且随着添加量的增加呈现逐渐升高的趋势; 其中, S10、S15 和 S20 组的粗脂肪含量显著高于 S0 组 ($P < 0.05$)。

2.4 对虾肝胰腺中 LVPBP75 基因表达水平

饲料中添加南极磷虾粉对对虾肝胰腺中 LVP-

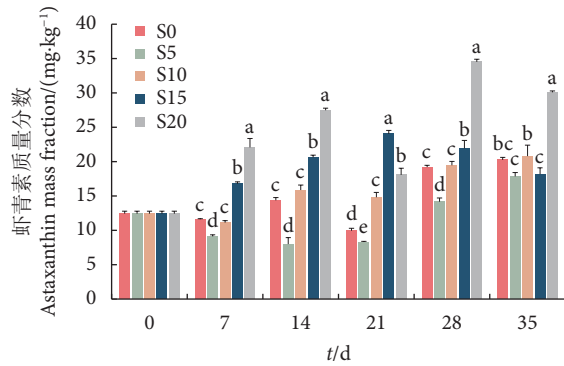


图1 各组对虾肝胰腺中虾青素质量分数的变化

注: 同组数据上标不同字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$); 后图同此。

Fig. 1 Variation of astaxanthin mass fraction in hepatopancreas of shrimps in each group

Note: Different letters within the same group indicate significant difference among the groups ($P < 0.05$). The same case in the following figures.

BP75 基因表达水平的影响见图 3。前 21 d, S5 组 *LVPBP75* 基因表达水平低于 S0 组, 且在第 7 和第 21 天时有显著性差异 ($P < 0.05$)。21 d 后, S5 组

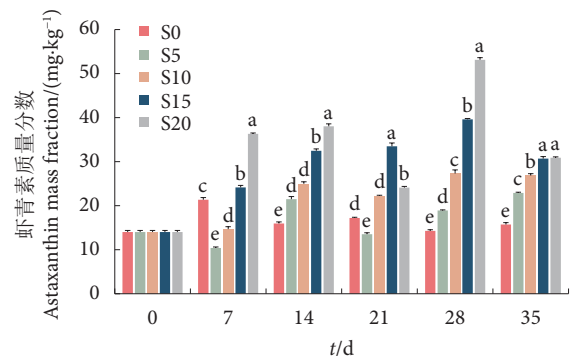


图2 各组对虾甲壳虾青素质量分数的变化

Fig. 2 Variation of astaxanthin mass fraction in carapace of shrimps in each group

LVPBP75 基因表达水平高于 S0 组, 但差异不显著。21 d 后, S10 组 *LVPBP75* 基因表达水平显著高于 S0 组 ($P < 0.05$)。整个实验过程中, S15 和 S20 组肝胰腺中 *LVPBP75* 基因表达水平显著高于 S0 组 ($P < 0.05$)。

表4 各组对虾体组分

Table 4 Body composition of shrimps in each group

%

项目 Item	组别 Group				
	S0	S5	S10	S15	S20
粗蛋白质 Crude protein	74.49±0.81 ^a	73.03±1.16 ^a	73.51±1.30 ^a	75.53±1.16 ^a	74.66±1.63 ^a
粗脂肪 Crude fat	10.42±0.73 ^{de}	11.57±0.50 ^{cd}	12.34±0.75 ^{bc}	13.18±0.21 ^{ab}	14.46±0.32 ^a
粗灰分 Ash	11.10±0.07	10.50±0.17	11.53±0.38	11.16±0.18	10.39±0.99
水分 Moisture	74.16±0.10	75.69±2.02	73.44±0.69	74.53±1.69	74.63±0.92

注: 除水分数据是湿质量测量外, 其他成分均为干质量测量。

Note: The crude protein, crude fat and ash are dry mass measurement, while the moisture is wet mass measurement.

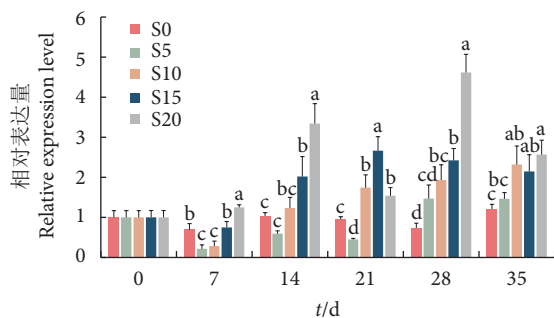


图3 各组对虾肝胰腺中*LVPBP75*表达水平

Fig. 3 Expression level of *LVPBP75* in hepatopancreas of shrimps in each group

2.5 对虾的体色

随着南极磷虾粉添加量的升高, 对虾生虾头胸甲和腹部甲壳的 L^* 值呈下降趋势, 且显著低于 S0 组 ($P < 0.05$)。各组对虾头胸甲和腹部甲壳 a^* 无

显著性差异。随着南极磷虾粉添加量的升高, 对虾头胸甲和腹部甲壳的 b^* 值呈下降趋势, S20 组头胸甲 b^* 值及 S10、S15 和 S120 组腹部甲壳 b^* 值显著低于 S0 组 ($P < 0.05$, 表 5)。随着饲料中南极磷虾粉添加量的不断提高, 生虾青灰色呈逐渐变深的趋势, S15 与 S20 组变深较明显 (图 4-a)。

随着南极磷虾粉添加量的不断升高, 对虾熟虾头胸甲 L^* 值呈升高趋势, 且显著高于 S0 组 ($P < 0.05$), 而腹部甲壳的 L^* 值则呈相反的变化趋势。整体上, 随着南极磷虾粉添加量的不断升高, 对虾头胸甲和腹部甲壳 a^* 和 b^* 值呈升高趋势 (表 5)。随着饲料中南极磷虾粉添加量的不断提高, 熟虾橙红色呈逐渐变深的趋势, S15 与 S20 组变深较明显 (图 4-b)。

表5 各组对虾甲壳亮度值、红色值和黄色值
Table 5 L^* , a^* and b^* of shrimp exoskeleton in each group

	头胸甲 Cephalothorax			腹部甲壳 Carapace		
	亮度值 L^*	红色值 a^*	黄色值 b^*	亮度值 L^*	红色值 a^*	黄色值 b^*
生虾 Raw shrimp						
S0	44.69±2.07 ^a	0.16±0.88	5.57±0.28 ^a	36.55±1.83 ^a	0.20±1.01	5.52±0.63 ^a
S5	39.43±2.61 ^b	0.53±1.53	5.18±0.63 ^{ab}	33.28±1.71 ^{bc}	0.70±0.79	4.65±0.71 ^a
S10	34.53±1.31 ^c	-0.17±1.36	4.24±0.78 ^{bc}	34.19±1.77 ^b	-0.11±0.28	2.09±0.66 ^b
S15	32.14±1.12 ^d	0.70±1.05	4.53±0.74 ^{ab}	31.46±1.96 ^c	-0.89±0.70	-1.26±1.25 ^c
S20	31.80±1.06 ^d	-0.38±0.62	3.54±0.56 ^c	32.71±0.92 ^{bc}	0.27±0.47	1.31±0.38 ^b
熟虾 Cooked shrimp						
S0	43.62±0.98 ^d	9.39±0.60 ^b	11.24±1.16 ^c	76.45±0.22 ^a	9.94±0.35 ^{bc}	16.06±0.78 ^b
S5	61.19±0.82 ^b	9.23±0.33 ^b	18.85±0.33 ^b	71.48±0.28 ^b	9.45±0.35 ^c	13.22±0.29 ^c
S10	66.63±2.31 ^a	9.28±2.13 ^b	24.25±0.23 ^a	69.08±0.48 ^c	11.21±0.36 ^b	16.42±1.00 ^{ab}
S15	56.43±2.64 ^c	10.36±0.16 ^{ab}	18.71±1.11 ^b	65.25±0.20 ^d	18.44±1.30 ^a	15.95±0.24 ^b
S20	61.06±0.66 ^b	13.69±1.65 ^a	23.13±0.80 ^a	62.88±0.73 ^e	20.36±0.89 ^a	17.71±0.35 ^a

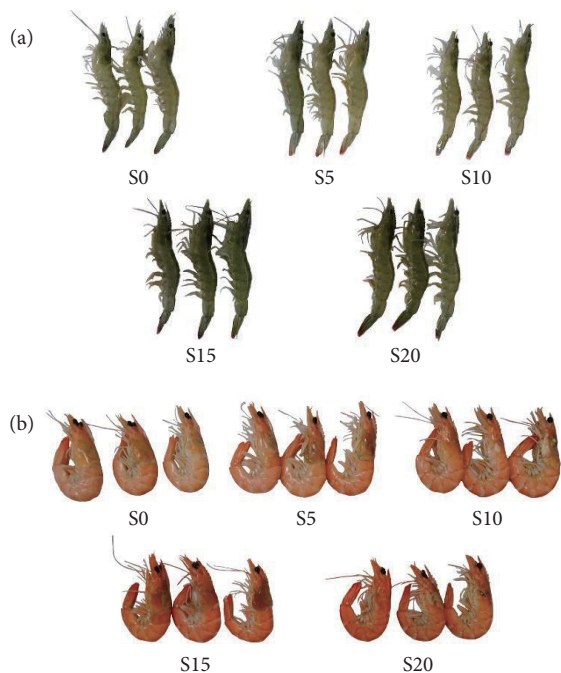


图4 实验结束时各组对虾生虾 (a) 和熟虾 (b) 的体色
Fig. 4 Color of raw shrimps (a) and cooked shrimps (b) in each group at end of experiment

3 讨论

3.1 饲料中添加南极磷虾粉对对虾生长及存活的影响

本实验中, 饲料中添加南极磷虾粉促进了对虾生长并提高了成活率。Nunes 等^[23] 研究发现, 使用南极磷虾粉替代凡纳滨对虾饲料中的鱼粉可以提

高对虾的生长性能与成活率。此外, Shan 等^[19] 研究发现饲料中添加南极磷虾粉可以提高对虾的体质量增长率与特定生长率。南极磷虾营养丰富, 含有丰富的磷虾油, 磷虾油具有促进对虾摄食与生长的作用^[15,24]。饲料中添加南极磷虾粉能够促进对虾的生长可能与引入的磷虾油有关。另一方面, 对虾的生长受饲料粗脂肪水平影响^[25], 向饲料中添加南极磷虾粉显著提高了饲料中的粗脂肪含量, 对对虾的生长可能起到促进作用。

对虾的成活率受到多种因素影响, 其中, 增加饲料中虾青素的含量可以提高凡纳滨对虾的成活率^[26]。温为庚等^[27] 发现斑节对虾的成活率同样受饲料中虾青素含量的影响。本实验通过向饲料中添加南极磷虾粉显著提高了饲料中的虾青素含量, 这可能是对虾成活率提高的主要原因; 但由于全价配合饲料中含有一定量的虾青素, 使得实验效果不显著, 可以通过调整饲料配方, 使用不含虾青素的饲料为对照组, 探明通过向饲料中添加南极磷虾粉提高饲料中虾青素含量对对虾成活率的影响。

3.2 饲料中添加南极磷虾粉对对虾体成分的影响

本研究发现, 饲料中添加南极磷虾粉可显著提高对虾体内的粗脂肪含量。已有研究表明, 随着饲料中粗脂肪含量的提高, 凡纳滨对虾体内的粗脂肪含量也随之增加^[28-29]。本研究中, 随着南极磷虾粉添加比例的不提高, 实验饲料中粗脂肪含量也不

断增加, 这可能是对虾体内粗脂肪含量提高的主要原因。王猛强等^[25]发现, 虾体中粗脂肪的含量会随饲料粗脂肪水平的上升而增加, 与本研究结果一致。此外, 南极磷虾油中二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)等n-3长链多不饱和脂肪酸多以磷脂的形式存在, 具有更好的生物利用度和生理活性, 南极磷虾油还具有调节动物肝脏脂质代谢相关基因表达的作用^[30-31]。对虾体内粗脂肪含量的提高可能与饲料中添加磷虾粉从而提高了饲料中的南极磷虾油含量有关。然而, 一些研究表明饲料中添加南极磷虾粉对养殖生物的某些体成分不会产生显著影响, 将其添加到珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus* ♀×*E. lanceolatus* ♂)饲料中不会对幼鱼粗蛋白、粗灰分产生显著影响^[32]; 不同水平南极磷虾粉的添加对大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)水分、粗蛋白、粗灰分含量无显著影响^[33]。本实验中, 饲料中添加南极磷虾粉并未对对虾全虾水分、灰分、粗蛋白质含量产生显著影响, 可能与南极磷虾粉添加之后并未对饲料中粗蛋白含量产生显著影响有关。

3.3 饲料中添加南极磷虾粉对对虾组织中虾青素含量的影响

本研究发现, 当饲料中南极磷虾粉添加比例高于10%时, 对虾组织中虾青素的含量显著提高。对虾自身无法直接合成虾青素, 从食物中摄取的虾青素通过消化系统运输到体内^[5,7,10]。南极磷虾粉中含有丰富的虾青素^[34], 因此向饲料中添加南极磷虾粉是提高对虾体内虾青素含量的有效措施。有研究表明, 饲料中添加含虾青素物质能够提高对虾甲壳及肝胰腺中虾青素的含量^[35-36], 与本研究结果一致。当饲料中南极磷虾粉添加比例为5%时, 对虾肝胰腺中虾青素含量显著下降; 这意味着, 饲料中虾青素的含量与其在对虾体内的沉积量并非直接的线性关系, 摄入更多的虾青素可能不利于其积累, 在对中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)与红罗非鱼(*Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*)的研究中也发现了此现象^[37-38]。此外, 崔广同等^[39]发现饲料中磷脂含量能够影响甲壳动物外源虾青素的积累和内源虾青素的调用。本研究中, 南极磷虾粉的添加不仅改变了饲料中粗脂肪的含量, 还可能会改变饲料中的脂类组成, 进而影响虾青素在对虾体内的积累与调用。综上, 饲料中添加适量的南极磷虾粉

不仅可以通过提高虾青素的摄入来促进凡纳滨对虾体内虾青素的沉积, 还可通过改变饲料中脂类组成来影响其对虾青素的积累与调用。

3.4 饲料中添加南极磷虾粉对对虾体色的影响

研究表明, 饲料缺乏虾青素会导致斑节对虾体色呈浅蓝色, 当向饲料中添加虾青素, 对虾体色又可恢复为健康的棕绿色^[8]; 饲料中添加虾青素也可增强中华绒螯蟹体色^[37,40]。由此可见, 虾青素是影响甲壳动物体色的重要因素。本研究中, 随着南极磷虾粉添加比例的不提高, 饲料中虾青素的含量也逐渐升高。对虾体色的增强正是南极磷虾粉的添加使饲料中虾青素含量提升的结果。 $L^*a^*b^*$ 颜色体系中, L^* 越小, 颜色越深; a^* 越大, 颜色越倾向于红色; b^* 越小, 颜色越倾向于蓝色。从生虾的体色来看, 随着南极磷虾粉添加比例的提高, 其 L^* 逐渐降低, 体色变深; 从熟对虾的体色来看, 随着南极磷虾粉添加比例的不提高, a^* 逐渐增大, 对虾体色越红。有研究表明, 向凡纳滨对虾饲料中添加虾青素能够显著提高熟对虾的 a^* ^[41], 与本结果一致。综上, 饲料中添加南极磷虾粉是增强对虾体色的有效方法。

3.5 饲料中添加南极磷虾粉对对虾体内LVPBP75表达水平的影响

本实验中, 随着饲料中南极磷虾粉添加比例的不提高, 对虾肝胰腺中LVPBP75基因表达水平逐渐增强。LVPBP75是凡纳滨对虾体内一种调控基因, 在肝胰腺中表达最高, 其表达的色素结合蛋白可与虾青素结合^[42]。常温状态下, 该色素结合蛋白与虾青素结合呈青色, 其含量越高, 对虾体色越深; 加热后与其结合的虾青素释放出来, LVPBP75基因表达越强, 释放出来的虾青素越多, 对虾体色越红。因而, LVPBP75基因的表达量与体色有直接关系。目前, 关于LVPBP75基因的调控机制尚不明确。本实验中, 随着对虾体内虾青素含量的不提高, 肝胰腺中LVPBP75基因表达逐渐增强, 表明在凡纳滨对虾体内, LVPBP75基因的表达受体体内虾青素含量的影响, 且与虾青素的含量呈正相关。

4 结论

向凡纳滨对虾饲料中添加南极磷虾粉能够提高其终末体质量、体质量增长率和特定生长率, 当添加比例为15%时效果显著。随着南极磷虾粉添加

比例的不断提高, 凡纳滨对虾体成分中粗脂肪与虾青素含量呈逐渐上升的趋势, 与体色相关的 *LVPBP75* 基因的表达呈逐渐增强的趋势, 对虾体色变深。因此, 饲料中添加南极磷虾粉能够促进对虾生长, 提高其体内虾青素的含量和 *LVPBP75* 基因的表达水平, 改善体色。

致谢: 感谢卢丹、陈通、司健男三位同学在投喂及取样过程中提供的帮助。

参考文献:

- [1] 王兴强, 马钰, 董双林. 凡纳滨对虾生物学及养殖生态学研究进展 [J]. 海洋湖沼通报, 2004(4): 94-100.
- [2] 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. 2020 中国渔业统计年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2020: 22-23.
- [3] PARISENTI J, BEIRÃO L H, TRAMONTE V L, et al. Preference ranking of colour in raw and cooked shrimps[J]. Int J Food Sci Technol, 2011, 46(12): 2558-2561.
- [4] TUME R K, SIKES A L, TABRETT S, et al. Effect of background colour on the distribution of astaxanthin in black tiger prawn (*Penaeus monodon*): effective method for improvement of cooked colour[J]. Aquaculture, 2009, 296(1/2): 129-135.
- [5] LATSCHA T. The role of astaxanthin in shrimp pigmentation [C]//French Research Institute for the Exploitation of the Sea. Advances in tropical aquaculture: workshop at Tahiti. Tahiti French Polynesia, Tahiti: IFREMER, 1989: 319-325.
- [6] WADE N M, CHEERS S, BOURNE N, et al. Dietary astaxanthin levels affect colour, growth, carotenoid digestibility and the accumulation of specific carotenoid esters in the giant tiger shrimp, *Penaeus monodon*[J]. Aquac Res, 2017, 48(2): 395-406.
- [7] ESTERMANN R. Biological functions of carotenoids[J]. Aquaculture, 1994, 124(1/2/3/4): 219.
- [8] MENASVETA P, WORAWATTANAMATEEKUL W, LATSCHA T, et al. Correction of black tiger prawn (*Penaeus monodon* Fabricius) coloration by astaxanthin[J]. Aquac Eng, 1993, 12(4): 203-213.
- [9] BOONYARATPALIN M, WANNAGOWAT J, BORISUT C, et al. Effect of various dietary canthaxanthin and astaxanthin levels on pigmentation of giant tiger shrimp[J]. Natl Inst Coast Aquac Techn Pap, 1994(18): 11.
- [10] TLUSTY M F, METZLER A, HUCKABONE S, et al. Morphological colour change in the American lobster (*Homarus americanus*) in response to background colour and UV light[J]. New Zeal J Mar Freshw Res, 2009, 43(1): 247-255.
- [11] ERTL N G, ELIZUR A, BROOKS P, et al. Molecular characterisation of colour formation in the prawn *Fenneropenaeus merguensis*[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e56920.
- [12] WADE N M, TOLLENAERE A, HALL M R, et al. Evolution of a novel carotenoid-binding protein responsible for crustacean shell color[J]. Mol Biol Evol, 2009, 26(8): 1851-1864.
- [13] QUINTANA-LÓPEZ A, HURTADO-OLIVA M A, MANZANO-SARABIA M, et al. Effect of rearing conditions on astaxanthin accumulation in the white shrimp *Penaeus vannamei* (Boone, 1931)[J]. Lat Am J Aquat Res, 2019, 47(2): 303-309.
- [14] 刘永新, 李梦龙, 方辉, 等. 南极磷虾的资源概况与生态系统功能 [J]. 水产学杂志, 2019, 32(1): 55-60.
- [15] 麦康森, 魏玉婷, 王嘉, 等. 南极磷虾的主要营养组成及其在水产饲料中的应用 [J]. 中国海洋大学学报 (自然科学版), 2016, 46(11): 1-15.
- [16] WEI Y T, SHEN H H, XU Q S, et al. Replacement of dietary fishmeal by Antarctic krill meal on growth performance, intestinal morphology, body composition and organoleptic quality of large yellow croaker *Larimichthys crocea*[J]. Aquaculture, 2019, 512: 734281.
- [17] WEI Y T, CHEN H, JIA M X, et al. Effects of dietary Antarctic krill *Euphausia superba* meal on growth performance and muscle quality of triploid rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* farmed in sea water[J]. Aquaculture, 2019, 509: 72-84.
- [18] YAN J L, CHANG Q, CHEN S Q, et al. Effect of dietary Antarctic krill meal on growth performance, muscle proximate composition, and antioxidative capacity of juvenile spotted halibut, *Verasper variegatus*[J]. J World Aquac Soc, 2017, 49(4): 761-769.
- [19] SHAN H W, ZHAO X Y, ZHOU Y G, et al. Effects of freeze-dried powder of the Antarctic krill *Euphausia superba* on the growth performance, molting and fatty acid composition of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. Aquac Res, 2019, 50(10): 2867-2878.
- [20] YI X, XU W, ZHOU H, et al. Effects of dietary astaxanthin and xanthophylls on the growth and skin pigmentation of large yellow croaker *Larimichthys crocea*[J]. Aquaculture, 2014, 433: 377-383.
- [21] PARISENTI J, BEIRAO L H, MOURINO J L, et al. Effect of background color on shrimp pigmentation[J]. Bol Inst Pesca, 2011, 37(2): 177-182.
- [22] MCLAREN K. Xiii: the development of the CIE 1976 ($L^*a^*b^*$) uniform colour space and colour-difference formula[J]. J Soc Dye Colour, 1976, 92(9): 338-341.
- [23] NUNES A, SÁ M, SABRY-NETO H. Growth performance of the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed on practical diets with increasing levels of the Antarctic krill meal, *Euphausia superba*, reared in clear-versus green-water culture tanks[J]. Aquac Nutr, 2011, 17(2): e511-e520.
- [24] RUFINO L A, PINHEIRO S S, BURRI L, et al. Dietary supplementation of astaxanthin krill oil enhances the growth performance of juvenile *Litopenaeus vannamei* raised intensively in enclosed and exposed tank systems under salinity stress[J]. J Appl Aquac, 2020: 1-16.
- [25] 王猛强, 郑昌区, 金敏, 等. 粗脂肪水平对 2 种规格凡纳滨对虾生长性能, 饲料利用和非特异性免疫的影响 [J]. 动物营养学报,

- 2014(9): 2687-2697.
- [26] 裴素蕊, 管越强, 马云婷. 饲料中添加虾青素对凡纳滨对虾生长、存活和抗氧化能力的影响 [J]. 水产科学, 2009, 28(3): 126-129.
- [27] 温为庚, 林黑着, 吴开畅, 等. 饲料中添加虾青素对斑节对虾生长和免疫指标的影响 [J]. 中山大学学报 (自然科学版), 2011, 50(3): 144-146.
- [28] ZHANG S P, LI J F, WU X C, et al. Effects of different dietary lipid level on the growth, survival and immune-relating genes expression in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. Fish Shellfish Immunol, 2013, 34(5): 1131-1138.
- [29] XIE S, WEI D, FANG W, et al. Optimal dietary lipid requirement of postlarval white shrimp, *Litopenaeus vannamei* in relation to growth performance, stress tolerance and immune response[J]. Aquac Nutr, 2019, 25(6): 1231-1240.
- [30] QI X, QIN R, XIANG T, et al. Krill oil protects PC12 cells against methamphetamine-induced neurotoxicity by inhibiting apoptotic response and oxidative stress[J]. Nutr Res, 2018, 58: 84-94.
- [31] LENA B, KJETIL B, KARIN W, et al. Differential effects of krill oil and fish oil on the hepatic transcriptome in mice[J]. Front Genet, 2011, 2(45): 1-8.
- [32] 魏佳丽, 王际英, 宋志东, 等. 酶解磷虾粉替代鱼粉对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长性能、体组成及血清生化的影响 [J]. 渔业科学进展, 2016, 37(1): 100-110.
- [33] 朱旺明, 谭永刚, 马卉佳, 等. 不同水平南极磷虾粉等量替代鱼粉对大口黑鲈生长性能及部分生理生化指标的影响 [J]. 中国饲料, 2019(15): 85-92.
- [34] FULLER I D, CUMMING A H, CARD A, et al. Free fatty acids in commercial krill oils: concentrations, compositions, and implications for oxidative stability[J]. J Am Oil Chem Soc, 2020, 97(8): 889-900.
- [35] WANG Y, WANG B, LIU M, et al. Comparative transcriptome analysis reveals the potential influencing mechanism of dietary astaxanthin on growth and metabolism in *Litopenaeus vannamei*[J]. Aquac Rep, 2020, 16: 100259.
- [36] ZHANG J, LIU Y J, TIAN L X, et al. Effects of dietary astaxanthin on growth, antioxidant capacity and gene expression in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. Aquac Nutr, 2013, 19(6): 917-927.
- [37] 麻楠, 龙晓文, 赵磊, 等. 饲料中添加合成虾青素对中华绒螯蟹成体雌蟹性腺发育、色泽和抗氧化能力的影响 [J]. 水生生物学学报, 2017, 41(4): 755-765.
- [38] 公翠萍, 朱文彬, 刘浩亮, 等. 饲料中添加虾青素对红罗非鱼各组织类胡萝卜素含量和沉积率的影响 [J]. 上海海洋大学学报, 2014, 23(3): 417-422.
- [39] 崔广同, 邱小亮, 任胜杰, 等. 磷脂对日本沼虾虾青素沉积和利用的影响 [J]. 动物营养学报, 2019, 31(11): 5133-5141.
- [40] WANG Z, CAI C F, CAO X M, et al. Supplementation of dietary astaxanthin alleviated oxidative damage induced by chronic high pH stress, and enhanced carapace astaxanthin concentration of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*[J]. Aquaculture, 2018, 483: 230-237.
- [41] JU Z Y, DENG D F, DOMINY W G, et al. Pigmentation of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by dietary astaxanthin extracted from *Haematococcus pluvialis*[J]. J World Aquac Soc, 2011, 42(5): 633-644.
- [42] PAN C, ISHIZAKI S, NAGASHIMA Y, et al. Functional and structural properties of red color-related pigment-binding protein from the shell of *Litopenaeus vannamei*[J]. J Sci Food Agric, 2019, 99(4): 1719-1727.