

不同光源及光照时间对凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 游离虾青素含量 及生长的影响*

游奎 杨红生¹⁾ 刘鹰 刘石林 毛玉泽 俞立东

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071; 中国科学院研究生院 北京 100039)

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

提要 采用生态学方法,以黑暗条件为对照,研究了白炽灯、日光灯、金卤灯作为照明光源及不同光照时间对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)游离虾青素含量及生长的影响。实验对虾初始湿体重为(2.108±0.036)g,实验持续50天。结果表明,不同光照对于对虾体内游离虾青素含量和生长均存在显著的影响。具昼夜节律金卤灯照明及日光灯恒照处理组对虾体内游离虾青素含量显著较高($P < 0.05$),对虾体内游离虾青素的含量平均为(3.31±0.20)mg/kg。对虾的特定生长率在具昼夜节律的金卤灯照明时最快($P < 0.05$),连续日光灯照明组生长最慢($P < 0.05$)。对虾的生长率与其体内游离虾青素含量呈显著的负相关性($P < 0.05$),说明对虾在体内积累虾青素的主要目的不是为了促进生长,可能是为了避免强光照对机体的伤害。本研究表明,在金卤灯照明的条件下,对虾具有较高的虾青素含量并且生长较快,因此金卤灯较其他灯具更适宜作为对虾室内养殖的光源。

关键词 凡纳滨对虾,光源,光照时间,游离虾青素含量,生长

中图分类号 S968.3

光照对水生动物是一种重要的环境因素,人们对此进行了较多的研究,已发现光照的不同对水生动物的行为、摄食、生长有较大的影响(Blaxter, 1968),光照对水生动物卵巢的成熟、生长和繁殖也有明显的影响(Kelemec *et al.*, 1980; Fanjul-Moles *et al.*, 1988)。前人关于光照对水生动物的研究多采用冷光性的荧光灯等单一灯具作为光源(Wang *et al.*, 2003),在室内进行对虾养殖生产时,选择适宜的照明光源种类和照明方式是生产中的关键工艺之一,不同光源对对虾影响的研究比较少见。

虾类等甲壳动物的甲壳中含有虾青素,其煮熟或氧化后即成为红色的虾红素,对虾的体色主要

决定于其虾青素的含量(Stepnowski *et al.*, 2004)。鲑鱼鱼肉鲜艳的颜色决定于其虾青素含量已得到公认(Barbosa *et al.*, 1999),甚至成为评价鱼肉的一种标准(Christiansen *et al.*, 1995),本文中以对虾体内游离虾青素含量作为对虾体色的指标。虾青素有极强的淬灭单线态氧和清除自由基能力,因此虾青素具有良好的抗氧化性能力、抗肿瘤、增强免疫的作用(Cora-Hinojosa *et al.*, 2002; Stepnowski *et al.*, 2004)及着色作用(Velu *et al.*, 2003),促进生长(Cora-Hinojosa *et al.*, 2002)和促再生作用(Fanjul-Moles *et al.*, 1988)。虾青素是类胡萝卜素的一种,动物一般不能合成虾青素,只能在体内积累虾青素(Velu *et al.*, 2003)。在生态学中,由于

* 中国科学院知识创新工程重要方向项目“对虾高效健康养殖工程与关键技术”资助, ZKCX2-211号; 中国科学院海洋所知识创新工程领域前沿项目“对虾工程化养殖系统结构优化及重要营养元素收支”资助, L400223108号。游奎, 博士研究生, E-mail: ykmc@hotmai.com

1) 通讯作者: 杨红生, 研究员, 博士生导师, E-mail: hshyang@ms.qdio.ac.cn

收稿日期: 2004-03-12, 收修改稿日期: 2004-06-02

保护色及警戒色等作用, 动物的体色通常与环境条件密切相关。但关于对虾在体内积累虾青素的目的及光照环境因素对对虾虾青素含量(即对虾的体色)影响的研究比较少见。作者分析了不同光源及光照时间对凡纳滨对虾体色及生长的影响, 以期能够为室内对虾养殖光源的选择提供参考, 并探讨了对虾积累虾青素的目的。

1 材料与方 法

1.1 材料来源

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*) 购自青岛市郊养虾场, 体长 5—6cm, 虾体湿重为(2.108 ± 0.036) g。

1.2 实验设计

本研究中作者采用了 15W 白炽灯、200W 白

炽灯、日光灯、金卤灯作为光源进行照明, 前三种光源分别采取了 24h 连续光照和模拟昼夜节律(L:D=14h:10h) 两种光照方式, 并以黑暗条件作为对照, 共计 8 个处理, 每个处理 3 个重复。同时以市场购得自然条件下池塘养殖的凡纳滨对虾(9# 处理组) 游离虾青素含量作为参照。各处理采用规格为 25cm × 35cm × 45cm 玻璃缸中养殖实验对虾, 玻璃缸置于规格为 50cm × 150cm × 135cm 木箱暗室中, 暗室顶部安装照明光源, 各处理条件见表 1。光照强度采用上海学联仪器厂生产的 ZDS-10 型水下照度计测定, 通过调整光源及实验缸位置, 尽可能地使各重复的光照强度相同。实验于 2003 年 7 月 7 日—8 月 25 日在中国科学院海洋研究所海洋生态与环境科学重点实验室进行, 共计 50 天。

表 1 实验设计
Tab. 1 Experimental design

项目	光照方式	光源个数	光源功率(W)	照度(lx)	处理组代号
白炽灯	昼夜节律	2	15	18	1
白炽灯	恒照	2	15	18	2
金卤灯	昼夜节律	1	200	2500	3
黑暗对照	/	/	/	/	4
白炽灯	昼夜节律	2	200	450	5
白炽灯	恒照	2	200	450	6
日光灯	昼夜节律	1	40	210	7
日光灯	恒照	1	40	210	8
自然条件下池塘养殖对虾					9

1.3 实验管理

对虾运回后, 自然光条件下驯化 10 天。采用千分之一电子天平(上海精密科学仪器有限公司, JA2003N) 测量对虾体重, 随机地分配到各实验缸中。对虾初始湿体重为(2.108 ± 0.036) g, 每个实验缸放养凡纳滨对虾 6 尾, 连续充气增氧。每天早晨 6:00 和下午 18:00 投喂, 实验用的饲料为市场销售的海跃牌高密度系列对虾配合饲料中虾二号。每次投喂 3h 后, 将残饵、粪便吸出, 并加以分离, 65℃下烘干保存。发现对虾蜕皮后, 及时将蜕皮捞出, 烘干保存。每 2 天全部换水一次。实验用水为沉淀砂滤自然海水, 盐度为 29—32, 水温随季节有所变化(21—30℃)。实验期间常规水质指标符合渔业水质标准, 溶解氧含量大于 6mg/L,

铵态氮小于 0.2mg/L, 亚硝态氮小于 0.7mg/L, pH 变化在 7.8—8.5 之间。

1.4 数据的测定及处理

虾青素的提取及测定参考 Torrissen(1986)、Christiansen 等(1995) 及 Boonyaratpalin 等(2001) 的方法, 并略有改进。

(1) 取 2 尾对虾冷冻干燥磨碎, 称取一定量的虾粉; 置于预先加入过量的无水 Na₂SO₄(脱水) 和少量丙酮的离心管中, 混匀。

(2) 加入丙酮, 3h 后, 3500r/min 条件下离心 8min, 将上清液转入比色管中。

(3) 重复步骤 2, 至提取液无色为止。

(4) 用丙酮定容至比色管刻度线, 此溶液为虾青素提出液。

(5) 采用高效液相色谱 (HPLC) 法 (Waters, 2010 型) 测定虾青素提出液中游离虾青素含量, 以 98% 纯度的虾青素 (Sigma, Germany) 丙酮溶液作为标准。

(6) 以下列公式计算游离虾青素含量:

$$A = (\lambda \times E \times V \times 1000 \times 1000) / G \text{ (mg/kg)}$$

式中, V 表示提取液体积 (ml), E 为峰面积, λ 表示标准曲线方程斜率, G 表示取样虾粉的质量 (g)。

以特定生长率 (SGR) 作为对虾生长的指标, 特定生长率按下列公式计算:

$$SGR (\% / d) = 100 \times (\ln W_2 - \ln W_1) / t$$

式中: W_2 、 W_1 是结束和初始时对虾的湿体重, t 为实验持续的时间。

所得数据经方差齐性检验后, 采用 SPSS 统计软件单因子方差分析及 Duncan 多重比较进行分析处理, 以 $P < 0.05$ 作为差异显著水平。

2 结果

2.1 不同光源照明下凡纳滨对虾的生长率

各处理组特定生长率的差异见图 1。从图 1 中可以看出, 实验中对虾的特定生长率波动在 1.30%—2.43%, 各处理组特定生长率的大小顺序依次为: 3 > 6 > 5 > 7 > 4 > 2 > 1 > 8, 各处理组的代号见表 1。经统计检验, 凡纳滨对虾在金卤灯照明的条件下生长最快 ($P < 0.05$), 在日光灯的连续照明下生长最慢 ($P < 0.05$), 在其他的光照条件下与黑暗对照的情况下其生长没有显著差异 ($P > 0.05$)。200W 白炽灯照明时, 对虾的生长稍快于黑暗对照组, 但其差异并不显著, 延长光照也不能显著提高对虾的生长。金卤灯照明条件下凡纳滨对虾的特定生长率比日光灯连续照明时要快 55.89%。

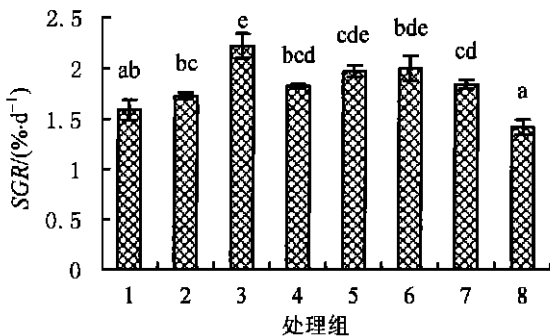


图 1 特定生长率的差异

Fig. 1 Specific growth rates of *L. vannamei*

以各处理组平均值作图, 以标准误为误差限, 图示上方

标有不同字母的两处理组之间差异显著 ($P < 0.05$)

2.2 不同光源照明条件下凡纳滨对虾的游离虾青素含量的差异

各处理组实验结束后凡纳滨对虾体内游离虾青素含量差异见图 2。各处理组对虾游离虾青素含量变动在 2.06—5.52 mg/kg 之间, 平均为 (3.31 ± 0.20) mg/kg。各处理组对虾体内游离虾青素含量多少顺序依次为: 4 < 5 < 2 < 1 < 7 < 6 < 3 < 8。各处理组对虾体内游离虾青素含量均低于室外池塘养殖凡纳滨对虾体内游离虾青素含量, 除食物原因外, 室外养殖光照强度 (有阳光时不低于 10000lx) 远高于本实验的光照条件 (最高 2500lx) 也可能是其原因之一。与已有的报道相比较, 对虾体内游离虾青素含量与鲑、鳟鱼体内游离虾青素含量相近 (Torrisen, 1986; Christiansen *et al.*, 1995), 但显著低于采用分光光度法测定的对虾体内总色素 (包括虾青素、虾青素的酯类化合物、β-胡萝卜素及其他各种色素) 的含量 (Boonyaratpalin *et al.*, 2001)。从图 2 中可以看出, 金卤灯处理组及日光灯恒照组游离虾青素含量显著高于其他各处理组 ($P < 0.05$), 其他各处理组之间无显著差异 ($P > 0.05$), 加强光照可以改善对虾的体色。

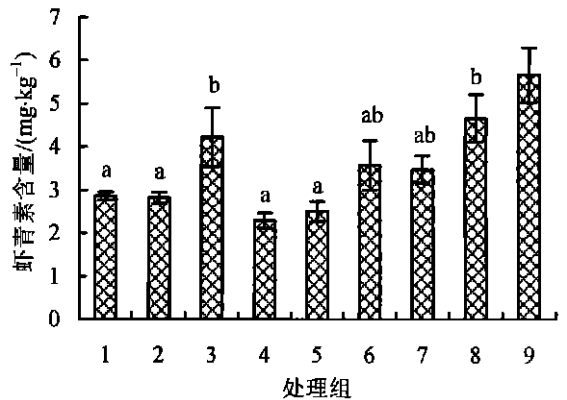


图 2 各处理组游离虾青素的含量

Fig. 2 Concentration of free astaxanthin in

L. vannamei under different treatments

9 号组为购于市场的池塘养殖对虾。以各处理组平均值作图, 以标准误为误差限, 图示上方标有不同字母的两处理之间差异显著 ($P < 0.05$)

2.3 凡纳滨对虾生长率与游离虾青素含量的关系

特定生长率和游离虾青素含量的关系见图 3。从图 3 中可以看出, 本实验条件下, 对虾的生长率与其体内游离虾青素含量呈显著的负相关关系。

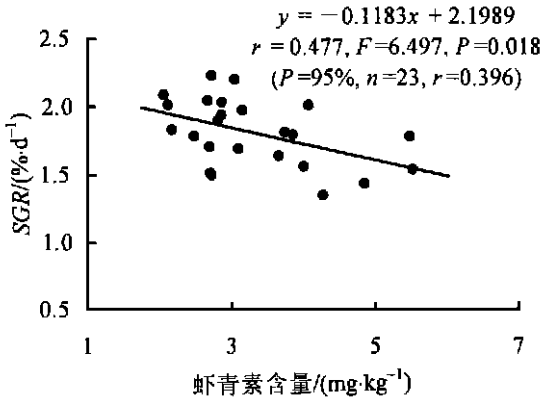


图3 虾青素含量与生长率的相关性

Fig. 3 Relationship between specific growth rates and free astaxanthin concentration

3 讨论

3.1 金卤灯有助于对虾的生长

Lakshmi等(1976)认为昼夜节律的改变会引起对虾体色的变化。斑节对虾在室内弱光照条件下养殖时体色会变淡(Tseng *et al.*, 1998)。从图2可以看出加强光照可以增加对虾体内游离虾青素含量,改善对虾体色。采用白炽灯照明时,对虾的体色与生长情况与黑暗对照组相比较无显著差异,增加白炽灯功率加强光照或延长光照时间也不能显著地改善这种状况。采用日光灯作为照明光源时,具昼夜节律的条件下对虾的体色及生长与黑暗对照组无显著差异,而延长日光灯照明时间后虽显著地提高了对虾体内游离虾青素含量,但对虾的生长却明显地降低了,为各处理中最低组。当采用金卤灯作为照明光源时,与黑暗对照相比较,不延长光照时间就能显著提高对虾体内虾青素的含量,改善其体色,并且对虾的生长速度显著高于其他各处理组;因此金卤灯较适宜作为对虾室内养殖时的光源。

出现上述情况可能与作为光源的各种灯具的光谱范围、光色、光强等属性有关。日光灯的光谱通常包含有紫外线的成分(Griffith *et al.*, 2002),可能是对虾生长较慢的原因之一。Wang等(2003)也发现高强度的日光灯照射会延缓中国对虾幼虾的生长。白炽灯光谱范围较宽,但其光电转化效能较差,在脱硫细菌培养中采用金卤灯比较适宜(An *et al.*, 2000)。金卤灯的光谱含有较多近红外线成分(Richards *et al.*, 2003),可能较适宜于生物的生长。不同灯具照明对对虾生长与体色产生显

著影响的更深层次机理,例如对对虾神经内分泌等生理机制的影响需要进一步地研究。

3.2 对虾积累虾青素的目的是为了抵抗强光照对机体的伤害

虾青素有极强的淬灭单线态氧和清除自由基能力,其具有良好的抗氧化性能力、抗肿瘤、增强免疫的作用,通常认为增加动物体内虾青素含量时有益于健康,甚至是有助于生长,这种观点在大麻哈鱼养殖中得到多次证实(Cora-Hinostroza *et al.*, 2002; Stepnowski *et al.*, 2004),在对虾养殖中也有过相同的报道(Christiansen *et al.*, 1995; Boorayarathpalin *et al.*, 2001)。在饲料中添加虾青素以增加对虾体内虾青素含量可以增加对虾对环境的抗逆性(Pan *et al.*, 2003; Chien *et al.*, 2003; Cora-Hinostroza *et al.*, 2002)。虽然虾青素具有上述诸多的优点,但它并不属于维生素类,也不是动物所必需的,尚无证据表明对虾等生物积累虾青素的目的就是为了促进生长或增进体质健康。本文中,金卤灯照明组及日光灯恒照组对虾体内含有较高的虾青素,该组对虾的健康程度是否优于其他处理组,本实验中并未进行检测,尚不得而知。本实验中对虾生长与其体内游离虾青素含量呈显著地负相关的结论似乎与上述报道相矛盾。但本实验与上述报道一个很大的差别在于饲料中没有添加虾青素,即没有人为地改变对虾体内游离虾青素含量,这就相当于在自然条件下,虾青素含量高时,对虾生长并不一定快。

虾青素的规模化生产主要是从雨生红球藻及法夫酵母等微生物中提取(Stepnowski *et al.*, 2004)。培养微生物提取虾青素的研究发现,强光照有助于上述微生物产生虾青素(Gerber *et al.*, 1994; Barbosa *et al.*, 1999),一种比较流行的观点认为微生物需要合成积累虾青素而避免强光照的伤害(Gerber *et al.*, 1994; Barbosa *et al.*, 1999)。作者认为这种观点同样也适用于对虾,甲壳类动物是一种不具内骨骼而外骨骼比较透明的动物,光线很容易透过其甲壳而进入其体内,从而造成对甲壳动物的机体组织的伤害。为了避免这种情形发生,甲壳动物在进化的历程中选择了在体内积累虾青素以避免光线伤害的这对策。从进化的角度上讲,如同DNA、蛋白质等生物大分子的出现不是偶然地一样,虾青素这种复杂的有机分子在进化的历程中被微生物及植物制造出来用以抵抗强光线的伤害,出于同样的目的虾青素也被对

虾等动物所选择吸收和积累。本文中加强光照能够提高对虾体内游离虾青素含量,但并不一定同时促进对虾生长,这种现象就能够很好地印证上述观点。当然,还需要更多的证据进行验证。

很多报道表明,人为地增加对虾体内虾青素含量能够促进虾体健康及对虾的生长(Pan *et al.*, 2003; Chien *et al.*, 2003); 本文的结果与此并不矛盾,只是本文中对虾生长与游离虾青素含量呈显著地负相关表明,自然条件下对虾积累虾青素并不是为了促进健康和生长,而是为了避免强光照的伤害,即自然条件下对虾体内积累较多的虾青素时可能表明其处于光照强度比较高的环境条件下,这种环境条件也许对对虾是不利的。对虾的生长与虾青素含量之间的相关关系可能依据环境的条件不同而不同。

致谢 本实验由大连水产学院水产养殖系庄百兵、张锦友协助完成,谨致谢忱。

参 考 文 献

- An J-Y, Kim B-W, 2000. Biological desulfurization in an optical-fiber photobioreactor using an automatic sunlight collection system. *Journal of Biotechnology*, 80: 35—44
- Barbosa M J, Morais R, Choubert G, 1999. Effect of carotenoid source and dietary lipid content on blood astaxanthin concentration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 176: 331—341
- Blaxter J H S, 1968. Light intensity, vision, and feeding in young plaice. *J Experimental Marine Biology and Ecology*, 2(3): 293—307
- Boonyaratpalin M, Thongrod S, Supamattaya K *et al.*, 2001. Effects of β -carotene source, *Dunaliella salina*, and astaxanthin on pigmentation, growth, survival and health of *Penaeus monodon*. *Aquaculture Research*, 32: 182—190
- Chien Y-H, Pan G-H, Hunter B, 2003. The resistance to physical stresses by *Penaeus monodon* juveniles fed diets supplemented with astaxanthin. *Aquaculture*, 216: 177—191
- Christiansen R, Lie J, Torrissen O J, 1995. Growth and survival of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed different dietary levels of astaxanthin. First feeding fry. *Aquaculture Nutrition*, 1: 189—198
- Coral-Hinojosa G N, Bjerkeng B, 2002. Astaxanthin from the red crab langostilla (*Pleuroncodes planipes*): optical R/S isomers and fatty acid moieties of astaxanthin esters. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 133: 437—444
- Fanjul-Moles M L, Fuentes-Pardo B, 1988. Spectral sensitivity in the course of the ontogeny of the crayfish *Procambarus clarkii*. *Comp Biochem Physiol*, 91A: 61—66
- Gerber S Hader, Donat P, 1994. Effects of enhanced UV-B irradiation on the red coloured freshwater flagellate *Euglena sanguinea*. *FEMS Microbiology Ecology*, 13(3): 177—184
- Griff P, Ront G, Sage E, 2002. A computational study of physical and biological characterization of common UV sources and filters, and their relevance for substituting sunlight. *Journal of Photochemistry and Photobiology B (Biology)*, 68: 53—59
- Kelemec J A, Smith I R, 1980. Induced ovarian development and pawning of *Penaeus plebejus* in a recirculating laboratory tank after unilateral eyestalk enucleation. *Aquaculture*, 21: 55—62
- Lakshmi G J, Venkataamiah A, Gunter G, 1976. Effects of salinity and photoperiod on the burying behavior of brown shrimp *Penaeus aztecus* Ives. *Aquaculture*, 8(4): 327—336
- Pan G-H, Chien Y-H, Hunter B, 2003. The resistance to ammonia stress of *Penaeus monodon* Fabricius juvenile fed diets supplemented with astaxanthin. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 297: 107—118
- Richards J T, Schuerg A C, Capelle G *et al.*, 2003. Laser induced fluorescence spectroscopy of dark- and light-adapted bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) plants grown under three irradiance levels and subjected to fluctuating lighting conditions. *Remote Sensing of Environment*, 84: 323—341
- Stepnowski P, Jafsson G, Helgason H *et al.*, 2004. Preliminary study on chemical and physical, principles of astaxanthin sorption to fish scales towards applicability in fisheries waste management. *Aquaculture*, 232: 293—303
- Torrissen O J, 1986. Pigmentation of salmonids—a comparison of astaxanthin and canthaxanthin as pigment sources for rainbow trout. *Aquaculture*, 53: 271—278
- Tseng K F, Su H-M, Su M-S, 1998. Culture of *Penaeus monodon* in a recirculating system. *Aquacultural Engineering*, 17: 138—147
- Velu C S, Czczuga B, Munuswamy N, 2003. Carotenoprotein complexes in entomostacan crustaceans (*Streptocephalus dichotomus* and *Moina micrura*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 135: 35—42
- Wang F, Dong S L, Dong S S *et al.*, 2003. The effect of light intensity on the growth of Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*. *Aquaculture*, 234: 475—483

EFFECT OF DIFFERENT LIGHT SOURCE AND LIGHT APPLICATION TIME ON FREE ASTAXANTHIN CONCENTRATIONS AND GROWTH OF SHRIMP *LITOPENAEUS VANNAMEI*

YOU Kui, YANG Hong-Sheng^{*}, LIU Ying^{*}, LIU Shi-Lin^{*},

MAO Yi-Ze^{*}, YU Li-Dong^{*}

(*Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071;*

Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100039)

^{*}(*Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071)*

Abstract The effect of different light sources (incandescent lamp, IL; fluorescent lamp, FL; metal halide lamp, MHL; Control no lamp) and light application time (daytime only, DT; day and night, DN) on the concentration of free astaxanthin and growth of shrimp *Litopenaeus vannamei* were measured in 50-day experiment under laboratory conditions. Each treatment, shaded from each other, was conducted in triplicate aquarium (containing 6 individuals each) inside well-ventilated separate wooden rooms. The experiment lasted from July 7 to August 25, 2003 in the Laboratory of Marine Ecology and Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences. Free concentration of astaxanthin (FAC) in shrimp was used as an indicator for shrimp body color. The growth of *L. vannamei* was measured by specific growth rates (SGR). Initial weights of the shrimp are (2.108 ± 0.036) g (mean \pm SE). FAC are measured by HPLC against external standards. The results are as follows.

Mean FAC of the shrimp was (3.31 ± 0.20) mg/kg similar to that of salmon and shrimp reported, but lower than the total carotenoid concentrations of shrimp measured by spectrophotometer. When shrimp in DN by FL and DT scheme by MHL, the FAC was significantly higher than the others ($P < 0.05$), and there was no obvious difference among the others ($P > 0.05$). FAC in wild shrimp was higher than that of other samples. So increasing light can improve shrimp body color. The SGR of shrimp is the highest in the group of DT by MHL ($P < 0.05$), and the lowest in DN by FL ($P < 0.05$). The former is about 1.5 times of the latter. No obvious difference among the others ($P > 0.05$).

This result could be related to the character of different light sources. Commonly, FL spectrum contains ultraviolet and MHL's have infrared ray. So infrared ray is favorable for shrimp growing but ultraviolet. Researches have shown that fish or shrimps would grow faster when astaxanthin was added to their diet than those with astaxanthin-free in the control.

SGR of shrimp was in significant negative correlation to their FAC ($P < 0.05$), which is unexpected result. In other words, when the FAC increase, shrimp would not always grow. It is widely understood that shrimp are easily damaged by excess light, especially ultraviolet light, because of their transparent bodies. Purpose of accumulating astaxanthin in their body is not for fast growing but protects themselves from being harmed by intense light. Under MHL however, *L. vannamei* would have not only bright body color due to high FAC inside their body but also grow fast. In conclusion, MHL is an appropriate light source for shrimp indoor culture.

Key words *Litopenaeus vannamei*, Light source, Light application time, Concentrations of free astaxanthin, Growth