

DOI: 10.12264/JFSC2021-0206

不同产地卤虫幼体对凡纳滨对虾仔虾生长、肌肉组分和抗胁迫能力的影响

邢明威, 邓洪刚, 高美荣, 谢雨珊, 崔子昂, 隋丽英

天津科技大学海洋与环境学院, 天津 300457

摘要: 卤虫(*Artemia*)是对虾苗种培育重要的生物饵料。本研究将产自美国大盐湖, 以及中国新疆艾比湖、西藏双湖和渤海湾盐田卤虫卵孵化的幼体投喂凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)仔虾, 研究不同产地卤虫幼体对凡纳滨对虾仔虾生长、存活、肌肉组分、抗氨氮能力和盐度耐受力的影响。凡纳滨对虾仔虾随机分为 4 组, 每组 3 个平行。单位水体 20 L, 仔虾密度为 50 尾/L。分别投喂以上 4 种卤虫幼体, 初始投喂量为 100 只卤虫/(尾·d), 投喂量每天增加 10%, 养殖周期为 15 d。结果表明, 不同产地卤虫卵和卤虫幼体的生物学测定值和营养组成等有较大差别, 其中双湖卤虫的卵径、无节幼体体长和个体干重最大, 粗蛋白、粗脂肪、高不饱和脂肪酸花生四烯酸(arachidonic acid, ARA)、二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)和二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)含量最高。投喂不同产地卤虫幼体的对虾存活率和体长、对虾肌肉蛋白质和粗脂肪含量没有显著差异($P>0.05$), 投喂双湖卤虫幼体的对虾肌肉 ARA、EPA 和 DHA 含量最高($P<0.05$), 投喂双湖卤虫幼体的对虾肝胰腺总超氧化物歧化酶(total superoxide dismutase, T-SOD)活性最高($P<0.05$), 投喂艾比湖卤虫幼体的对虾肝胰腺的酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)活性最高($P<0.05$), 碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)活性没有显著差异($P>0.05$)。结论认为, 投喂双湖和艾比湖卤虫幼体的对虾对盐度和氨氮胁迫的耐受力较强, 可能与对虾肌肉中较高的 DHA、EPA、ARA 和 T-SOD、ACP 水平有关。本研究为不同产地卤虫幼体在凡纳滨对虾苗种培育中的有效应用提供了借鉴。

关键词: 卤虫幼体; 凡纳滨对虾; 营养组成; 生长; 氨氮胁迫; 盐度胁迫; 酶活力

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2022)01-0070-09

卤虫(*Artemia*)广泛分布于盐湖和日晒盐场中, 是高盐水体中主要的浮游动物种群。卤虫幼体含有丰富的蛋白质、脂肪、不饱和脂肪酸和促进虾蟹苗种生长发育的蜕皮物质^[1], 是海水鱼和虾蟹苗种培育良好的生物饵料^[2]。卤虫在环境盐度和温度波动较大、饵料缺乏等不利条件下, 以卵生繁殖(ovoviviparity)方式产生休眠卵^[3]。卤虫卵便于贮存运输, 孵化使用方便。目前具有商业化开发规模的卤虫卵产地主要有美国大盐湖, 俄罗斯和哈萨克斯坦等国家盐湖, 中国的新疆、西藏和内蒙古等地盐湖以及渤海湾盐田, 全球卤虫卵成

品年产量达到 2000~3000 t^[4-5]。由于环境条件的差异, 不同种和产地来源的卤虫卵和卤虫幼体在大小、营养组成(尤其是海水鱼虾蟹苗种必需的高不饱和脂肪酸的含量)和孵化特性等方面差异较大^[6-7], 同一产地、不同年份和批次采收的卤虫卵也有所不同, 而卤虫的这些特性是其在水产育苗中有效应用的关键。

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)盐度耐受范围广, 具有生长快、对饵料蛋白需求低、出肉率高且肉味鲜美等特点^[8], 是主要的对虾养殖品种。2018 年全球对虾年产量为 700 多万 t, 其中凡

收稿日期: 2021-05-17; 修订日期: 2021-06-10.

基金项目: 天津市科技计划项目(21ZYCGSN00650); 西藏卤虫资源调查研究项目(125A0604).

作者简介: 邢明威(1995-), 男, 硕士研究生, 研究方向为海洋生物资源利用. E-mail: xingmingV@163.com

通信作者: 隋丽英, 教授, 研究方向为卤水生态与生物资源利用. E-mail: suily@tust.edu.cn

纳滨对虾占 60%以上^[9]。在我国, 70%的卤虫卵用于对虾苗种培育(信息源自中国水产流通与加工协会卤虫分会)。目前国内对虾育苗企业选择卤虫卵商品时对孵化率和价格因素考虑较多, 而忽略卤虫卵的营养和其品系特性对于对虾苗种质量的影响, 卤虫卵使用存在一定的盲目性。本研究针对卤虫产量较大且具有品系代表性的美国大盐湖, 以及中国新疆艾比湖、西藏双湖和渤海湾盐田卤虫卵及其无节幼体, 分析比较其生物学测定值及其营养组成, 将不同产地卤虫幼体投喂凡纳滨对虾仔虾(postlarvae, PL), 比较其对对虾生长、存活、肌肉组分、对氨氮和盐度耐受力等的影响, 为生物饵料卤虫在对虾苗种培育中的合理应用提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 卤虫幼体孵化

本研究所用卤虫卵为分别来自美国大盐湖, 以及中国新疆艾比湖、西藏双湖和渤海湾盐田的商品卵, 分别由国内的天津英伟水产有限公司、新疆博州博艾丰生物制品股份有限公司、西藏双湖先普若岗日生物科技有限公司、山东宝信水产科技有限公司提供。卤虫卵孵化条件: 水温 28 ℃, 盐度 30 的稀释卤水, 光照 2000 lx, 连续充气。孵化 24 h 后收集卤虫幼体, 用相同盐度稀释卤水反复冲洗后, 于 4 ℃下充气保存, 以维持卤虫幼体存活, 降低贮存过程中的营养损失。

1.2 养殖条件

凡纳滨对虾 PL 5 仔虾来源于青岛海壬水产种业科技有限公司。仔虾在(27±1) ℃, 盐度 20 稀释卤水中暂养 3 d, 暂养过程中投喂虾片。随机选出大小均匀且活力好的仔虾(平均体长 6 mm)分为 4 组, 每组 3 个平行缸。单位水体 20 L, 仔虾密度为 50 尾/L, 每个平行缸投放 1000 尾仔虾, 分别投喂以上 4 种卤虫幼体。卤虫幼体营养组成和含量见表 1。

养殖箱规格为 48 cm×26 cm×39 cm (长×宽×高), 单位养殖水体为 20 L, 每个养殖箱内投放仔虾 1000 尾。养殖水体盐度 20, 温度(27±1) ℃, 溶解氧 7.2~8.5 mg/L, 连续充气, 光照周期 16 L : 8 D。每天分别于 08: 00、12: 00、16: 00 和 20: 00 共 4 次投喂卤虫幼体。初始投喂量为 100 只卤虫/(尾·d),

投喂量每天增加 10%。每两天换水 1/2, 养殖周期 15 d。

表 1 不同产地卤虫水合卵径、无节幼体体长和干重
Tab. 1 Hydrated cyst diameter, boby length and dry weight of Instar I *Artemia* nauplii from different origins

卤虫卵产地 origin of <i>Artemia</i> cysts	水合卵径/ μm hydrated cyst diameter	卤虫无节幼 体体长/ μm body length of <i>Artemia</i> nauplii	卤虫无节幼体 个体干重/ μg dry weight of <i>Artemia</i> nauplii
大盐湖 Great Salt Lake	245.10±13.80 ^c	348.31±19.61 ^c	2.20±0.21 ^c
艾比湖 Aibi Lake	263.50±41.60 ^b	391.19±23.17 ^b	2.74±0.27 ^{ab}
双湖 Shuanghu Lake	281.00±18.90 ^a	407.60±25.69 ^a	2.87±0.17 ^a
渤海湾盐田 Bohai Bay saltponds	254.90±13.50 ^c	350.10±21.44 ^c	2.39±0.16 ^{bc}

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$).
Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

1.3 指标分析

1.3.1 I 期卤虫无节幼体体长、干重和营养组成测定 随机取 I 期卤虫无节幼体 100 只, 使用中国 SOPTOP 公司 SZX12 型体视显微镜测量体长(从头部顶端到尾部分叉端的距离为卤虫无节幼体体长), 最后计算平均体长。

准确计数 I 期无节幼体, 每次计数 1000 只, 每个品系数数 4 次, 总计 4000 只。在 60 ℃下烘干 24 h, 使用瑞士 METTLER TOLEDO 公司 New Classic MS105 型半微量天平称重, 计算卤虫无节幼体平均个体干重。

卤虫卵孵化 24 h 后收集幼体, 用无菌海水冲洗 3 次去除体表附着物, 使用德国 Marin Christ 公司 ALPHA 1-2 型冷冻干燥机进行冷冻干燥。称取冻干卤虫样品约 0.9 g, 参照 GB/T 6432-1994 《饲料中粗蛋白质测定方法》, 使用丹麦 FOOS 公司 Kjelttec-8400 型全自动凯氏定氮仪测定卤虫幼体粗蛋白含量。称取冻干卤虫样品约 2.0 g, 参照 GB/T 6433-2006 《饲料中粗脂肪的测定》, 采用索氏抽提法测定卤虫幼体粗脂肪含量。

称取冻干卤虫样品约 0.03 g, 精确加入 1 mg 脂肪酸内标(二十碳二烯酸, C_{20:2n-6}, NU-CHEK PREP, USA), 按照甲醇 : 甲苯=3 : 2 (V : V)、氯乙

酰:甲醇=1:20 (V:V)的比例现配混合有机试剂,样品中各加入 5 mL,充分匀浆后煮沸 1 h,用正己烷萃取脂肪酸甲酯并浓缩^[7]。使用日本 SHIMADZU 公司 GC-2014 型气相色谱仪进行脂肪酸组成和含量测定。

将卤虫卵水合后用卢戈氏液固定,使用德国 LEICA 公司 DM500 型显微镜测量 100 个卤虫卵的卵径,计算平均水合卵径。将卤虫卵在盐度 20 的稀释卤水中充分水合 3 h,用 NaClO 溶液(有效氯浓度 8%)进行脱壳处理后,收集脱壳卵用自来水反复冲洗,测定脱壳卵的粗蛋白、粗脂肪、脂肪酸组成和含量。方法同上。

1.3.2 对虾存活和体长测定 养殖 15 d 后,测定对虾存活率。从每个养殖箱内随机取 50 尾虾,测定并计算对虾体长,自对虾眼柄基部至尾节末端的距离为对虾体长。

1.3.3 对虾营养成分分析 收集对虾,用无菌海水冲洗 3 次去除体表附着物,获取对虾肌肉,冷冻干燥。样品处理及营养成分测定方法同 1.3.1。

1.3.4 对虾肝胰腺酶活力测定 收集对虾,用无菌海水冲洗 3 次去除体表附着物,在解剖镜下将肝胰腺取出,-80 ℃保存。用南京建成生物工程有限公司试剂盒测定对虾肝胰腺总超氧化物歧化酶(total superoxide dismutase, T-SOD)、酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)和碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)活力。

1.3.5 对虾盐度胁迫 从每个养殖箱中随机取 20 尾虾,室温下立即转入 100 mL 盐度 80 稀释卤水中,观察对虾行为并记录死亡时间。以对虾附肢无运动且对物理刺激无反应为死亡判定标准。

1.3.6 对虾氨氮胁迫 从每个养殖箱中随机取 20 尾虾,室温下放入 500 mL 盐度 20 的稀释卤水中。加入 NH₄Cl 溶液,使水体中 NH₄⁺-N 浓度达到 30 mg/L,非离子氨浓度达到 0.8 mg/L^[10-11]。分别在 24 h 和 48 h 测定对虾存活率。测试期间不投喂任何饵料。

1.4 数据统计学分析

利用 SPSS 25.0 统计分析软件对数据进行 ANOVA 单因素分析和 Duncan's 多重比较分析, $P<0.05$ 为显著水平, $P<0.01$ 为极显著水平,数据值以平均值±标准差($\bar{x}\pm SD$)表示。

2 结果与分析

2.1 I 期卤虫卵和无节幼体规格和营养组成

双湖卤虫卵径为(281.00±18.90) μm,极显著大于其他组卤虫卵($P<0.01$);其次为艾比湖卤虫卵径(263.50±41.60) μm;渤海湾盐田和大盐湖卤虫卵径最小,分别是(254.90±13.50) μm 和(245.10±13.80) μm。

双湖卤虫 I 期无节幼体体长(407.60±25.69) μm,极显著大于其他无节幼体($P<0.01$);其次为艾比湖卤虫无节幼体(391.19±23.17) μm;大盐湖和渤海湾盐田卤虫无节幼体体长较小,分别是(348.31±19.61) μm 和(350.10±21.44) μm。

双湖卤虫 I 期无节幼体个体干重最大,为(2.87±0.17) μg,其次为艾比湖卤虫无节幼体个体干重(2.74±0.27) μg,显著高于渤海湾盐田和大盐湖卤虫无节幼体个体干重($P<0.05$)(表 1)。

双湖卤虫卵、卤虫幼体和渤海湾盐田卤虫幼体粗蛋白含量显著较高,分别为 56.38% DW(干重, dry weight)、57.34% DW 和 57.23% DW;其次为大盐湖卤虫卵、渤海湾盐田卤虫卵和艾比湖卤虫幼体,分别为 52.70% DW、52.48% DW 和 52.04% DW;艾比湖卤虫卵和大盐湖卤虫幼体粗蛋白含量最低,分别为 50.03% DW 和 50.48% DW。

双湖卤虫卵、卤虫幼体和艾比湖卤虫幼体粗脂肪显著较高,分别为 21.30% DW、18.06% DW 和 18.36% DW;其次为大盐湖卤虫卵、卤虫幼体和渤海湾盐田卤虫幼体,分别为 11.70% DW、17.15% DW 和 11.90% DW;艾比湖卤虫卵和渤海湾盐田卤虫卵粗脂肪含量最低,分别为 8.07% DW 和 3.79% DW(表 2)。

双湖卤虫卵总脂肪酸含量最高(206.83 mg/g DW),其次为艾比湖和大盐湖卤虫卵总脂肪酸含量(分别为 176.33 mg/g DW 和 168.77 mg/g DW);渤海湾盐田卤虫卵总脂肪酸含量最低(136.06 mg/g DW),双湖卤虫卵高不饱和脂肪酸 ARA(花生四烯酸)、EPA(二十碳五烯酸)和 DHA(二十二碳六烯酸)含量最高(分别为 3.14 mg/g DW、27.67 mg/g DW 和 2.72 mg/g DW)。

艾比湖和双湖卤虫幼体总脂肪酸含量最高,分别为 190.06 mg/g DW 和 179.65 mg/g DW;其

表 2 不同产地卤虫卵和卤虫幼体粗蛋白含量和粗脂肪含量

		Tab. 2 Crude protein content and crude fat content of <i>Artemia</i> cyst and <i>Artemia</i> nauplii from different origins			% DW
		卤虫卵产地	粗蛋白	粗脂肪	
		origin of <i>Artemia</i> cysts	crude protein	crude fat	
卤虫卵 <i>Artemia</i> cyst	大盐湖	Great Salt Lake	52.70	11.70	
	艾比湖	Aibi Lake	50.03	8.07	
	双湖	Shuanghu Lake	56.38	21.30	
	渤海湾盐田	Bohai Bay saltponds	52.48	3.79	
卤虫幼体 <i>Artemia</i> nauplii	大盐湖	Great Salt Lake	50.58	17.15	
	艾比湖	Aibi Lake	52.04	18.36	
	双湖	Shuanghu Lake	57.34	18.06	
	渤海湾盐田	Bohai Bay saltponds	57.23	11.90	

次为大盐湖卤虫幼体总脂肪酸含量(144.60 mg/g DW), 渤海湾盐田卤虫幼体总脂肪酸含量最低(110.11 mg/g DW)。双湖卤虫幼体 ARA、EPA 和 DHA 含量最高, 分别为 2.77 mg/g DW、25.06 mg/g DW 和 0.47 mg/g DW (表 3)。

2.2 凡纳滨对虾存活和生长

将 4 个产地卤虫幼体投喂对虾 15 d, 对虾存活率均在 75%以上, 各组均无显著性差异($P>0.05$) (表 4)。其中投喂双湖卤虫的对虾存活率最高且组间差异小, 存活率为(85.73±0.50)%, 其次为投喂艾比湖卤虫幼体和渤海湾卤虫幼体的对虾, 存活率分别是(84.77±5.53)%和(82.67±6.12)%, 投喂大盐湖卤虫幼体的对虾存活率最低, 存活率为(78.10±3.54)%。

表 3 不同产地卤虫卵和卤虫幼体脂肪酸组成及含量

		Tab. 3 Fatty acid profile of <i>Artemia</i> cysts and <i>Artemia</i> nauplii from different origins								mg/g DW
		卤虫卵 <i>Artemia</i> cyst				卤虫幼体 <i>Artemia</i> nauplii				
脂肪酸		大盐湖	艾比湖	双湖	渤海湾盐田	大盐湖	艾比湖	双湖	渤海湾盐田	
fatty acid		Great Salt Lake	Aibi Lake	Shuanghu Lake	Bohai Bay saltponds	Great Salt Lake	Aibi Lake	Shuanghu Lake	Bohai Bay saltponds	
C _{14:0}		1.12	1.55	2.71	1.82	0.88	1.49	2.65	1.26	
C _{14:1n-5}		1.70	1.24	1.40	1.22	1.51	1.28	1.32	0.81	
C _{15:0}		0.31	0.64	0.45	0.65	0.19	0.64	0.36	0.46	
C _{15:1n-5}		0.73	0.69	0.54	0.44	0.63	0.72	0.38	0.33	
C _{16:0}		18.83	23.16	17.47	16.73	16.33	23.66	16.70	13.42	
C _{16:1n-7}		5.60	10.40	13.91	19.55	3.65	10.72	12.32	15.42	
C _{17:0}		1.14	0.17	1.63	1.31	0.71	1.31	1.01	1.01	
C _{17:1n-7}		2.99	1.25	3.78	3.24	2.11	3.56	2.27	2.42	
C _{18:0}		8.26	3.45	7.61	5.37	6.72	6.67	5.66	4.80	
C _{18:1n-9}		33.90	6.07	50.03	24.71	28.76	63.22	63.24	20.33	
C _{18:1n-7}		9.83	58.76	12.44	12.75	6.92	—	—	12.27	
C _{18:2n-6}		11.42	13.50	14.98	10.12	10.76	14.77	15.05	5.86	
C _{18:3n-6}		50.69	37.23	23.00	13.18	49.58	40.54	18.53	11.25	
C _{18:3n-3}		10.32	6.54	13.40	3.47	9.27	7.01	8.20	2.49	
C _{20:0}		2.71	0.35	0.67	0.56	0.39	0.18	0.31	0.33	
C _{20:1n-9}		1.93	0.83	2.52	0.95	0.86	1.16	1.29	0.70	
C _{21:0}		0.43	0.38	1.22	1.07	0.19	0.44	0.43	0.37	
C _{20:4n-6}		0.76	1.15	3.41	2.13	0.46	1.43	2.77	1.74	
C _{20:3n-3}		1.74	0.19	3.14	0.52	1.54	0.34	0.16	0.34	
C _{20:5n-3}		2.27	7.62	27.67	14.96	1.63	9.34	25.06	13.55	
C _{22:0}		0.33	0.08	0.32	0.18	0.06	0.22	0.12	0.09	
C _{22:1}		0.90	0.74	0.98	0.76	0.65	0.96	0.82	0.55	
C _{22:2}		—	0.02	0.25	0.06	—	0.02	0.16	0.05	
C _{23:0}		0.08	0.04	0.04	0.04	0.03	0.03	0.06	0.03	
C _{22:6n-3}		0.24	0.07	2.72	0.04	0.03	0.07	0.47	0.03	
C _{24:0}		0.55	0.20	0.57	0.24	0.27	0.29	0.31	0.19	
总脂肪酸										
total fatty acids		168.77	176.33	206.83	136.06	144.16	190.06	179.65	110.11	

注: 表格中“—”表示未检出。
Note: “—” indicates data are undetectable.

表 4 投喂不同产地卤虫幼体的凡纳滨对虾仔
虾存活率和体长

Tab. 4 Survival rate and body length of *Litopenaeus vannamei* postlarvae fed *Artemia* nauplii from different origins
 $n=3$; $\bar{X} \pm SD$

卤虫卵产地 origin of <i>Artemia</i> cysts	存活率/% survival rate	体长/mm body length
大盐湖 Great Salt Lake	78.10±3.54	12.20±0.01
艾比湖 Aibi Lake	84.77±5.53	13.28±0.84
双湖 Shuanghu Lake	85.73±0.50	12.60±0.06
渤海湾盐田 Bohai Bay saltponds	82.67±6.12	11.93±0.03

经过 15 d 养殖, 各组对虾体长无显著差异 ($P>0.05$)。投喂艾比湖卤虫幼体和双湖卤虫幼体的对虾个体体长最高, 分别为(13.28±0.84) mm 和 (12.60±0.06) mm; 其次为投喂大盐湖卤虫幼体的对虾, 体长为(12.20±0.01) mm; 投喂渤海湾卤虫幼体的对虾个体体长最低, 体长为(11.93±0.03) mm (表 4)。

2.3 凡纳滨对虾营养组成及含量

投喂 4 个产地卤虫幼体的对虾粗蛋白质含量相近, 在 68.14%~69.84% DW 之间; 粗脂肪含量在 4.52%~5.51% DW (表 5)。投喂双湖卤虫幼体对虾的 ARA、EPA 和 DHA 含量最高, 分别为 (1.08±0.04) mg/g DW、(8.19±0.15) mg/g DW 和 (0.56±0.01) mg/g DW, 与双湖卤虫卵和卤虫幼体较高的 ARA、EPA 和 DHA 含量相对应(表 6)。

2.4 凡纳滨对虾肝胰腺酶活力

投喂 4 个产地卤虫幼体对虾肝胰腺 AKP 活力无显著性差异($P>0.05$)。其中投喂双湖卤虫幼体的

表 5 投喂不同产地卤虫幼体的凡纳滨对虾仔虾粗蛋白
含量和粗脂肪含量

Tab. 5 Crude protein content and crude fat content of *Litopenaeus vannamei* postlarvae fed *Artemia* nauplii from different origins
% DW

卤虫卵产地 origin of <i>Artemia</i> cysts	粗蛋白 crude protein	粗脂肪 crude fat
大盐湖 Great Salt Lake	69.09	5.51
艾比湖 Aibi Lake	68.14	5.35
双湖 Shuanghu Lake	69.84	5.21
渤海湾盐田 Bohai Bay saltponds	69.71	4.52

表 6 投喂不同产地卤虫幼体的凡纳滨对虾仔
虾脂肪酸组成及含量

Tab. 6 Fatty acid profile of *Litopenaeus vannamei* postlarvae fed *Artemia* nauplii from different origins
 $n=3$; $\bar{X} \pm SD$; mg/g DW

脂肪酸 fatty acid	大盐湖 Great Salt Lake	艾比湖 Aibi Lake	双湖 Shuanghu Lake	渤海湾盐田 Bohai Bay saltponds
C _{14:0}	0.12±0.02	0.17±0.06	0.25±0.06	0.18±0.06
C _{14:1n-5}	0.15±0.02 ^a	0.1±0.02 ^b	0.11±0.0 ^{ab}	0.1±0.01 ^b
C _{15:0}	0.1±0.02 ^b	0.16±0.02 ^{ab}	0.13±0.02 ^{ab}	0.22±0.06 ^a
C _{15:1n-5}	0.14±0.01	0.13±0.02	0.1±0.02	0.12±0.03
C _{16:0}	5.87±0.32 ^b	6.48±0.14 ^a	5.84±0.13 ^b	5.91±0.16 ^b
C _{16:1n-7}	0.72±0.12 ^c	1.27±0.08 ^b	1.21±0.01 ^b	2±0.25 ^a
C _{17:0}	0.41±0.05 ^b	0.45±0.0 ^b	0.46±0.01 ^b	0.62±0.05 ^a
C _{17:1n-7}	0.24±0.01 ^c	0.34±0.01 ^b	0.25±0.0 ^c	0.37±0.01 ^a
C _{18:0}	3.99±0.1 ^a	3.64±0.03 ^b	3.28±0.02 ^c	3.75±0.12 ^b
C _{18:1n-9}	6.3±0.28 ^c	8.25±0.06 ^a	7.37±0.27 ^b	6.03±0.28 ^c
C _{18:1n-7}	2±0.05 ^c	1.96±0.02 ^c	2.64±0.03 ^b	3.58±0.11 ^a
C _{18:2n-6}	2.18±0.05 ^b	2.66±0.04 ^a	2.34±0.03 ^{ab}	2.33±0.28 ^{ab}
C _{18:3n-6}	8.83±0.49 ^a	5.29±0.13 ^b	2.08±0.04 ^d	3.25±0.15 ^c
C _{18:3n-3}	0.87±0.27 ^a	0.37±0.01 ^b	0.29±0.01 ^b	0.42±0.14 ^b
C _{20:0}	0.19±0.01 ^b	0.15±0.01 ^b	0.15±0.01 ^b	0.42±0.13 ^a
C _{20:1n-9}	0.45±0.19	0.33±0.03	0.34±0.01	0.54±0.07
C _{21:0}	0.13±0.005	0.11±0.0	0.09±0.01	0.16±0.02
C _{20:4n-6}	0.57±0.02 ^c	0.89±0.04 ^b	1.08±0.04 ^a	1.06±0.05 ^a
C _{20:3n-3}	0.96±0.04 ^a	0.52±0.02 ^b	0.26±0.02 ^d	0.41±0.05 ^c
C _{20:5n-3}	3.01±0.11 ^c	5.87±0.26 ^b	8.19±0.15 ^a	7.76±0.28 ^a
C _{22:0}	0.03±0.01	0.07±0.03	0.06±0.01	0.15±0.13
C _{22:1}	0.21±0.11	0.19±0.06	0.13±0.05	0.31±0.13
C _{22:2}	0.01±0.00 ^b	0.02±0.01 ^{ab}	0.06±0.0 ^a	0.05±0.03 ^a
C _{23:0}	0.12±0.05	0.13±0.03	0.17±0.01	0.15±0.02
C _{22:6n-3}	0.23±0.01 ^c	0.23±0.02 ^c	0.56±0.01 ^a	0.29±0.02 ^b
C _{24:0}	0.13±0.07	0.07±0.02	0.06±0.0	0.2±0.09
总脂肪酸 total fatty acids	38.31±2.93	39.81±1.17	37.52±0.97	40.37±2.76

注: 同行数据上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$)。
Note: Values in the same line with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

对虾肝胰腺 T-SOD 活性最高, 显著高于其他 3 组 ($P<0.05$)。投喂艾比湖卤虫幼体的对虾肝胰腺 ACP 活性最高, 显著高于其他 3 组($P<0.05$)(表 7)。

2.5 凡纳滨对虾对盐度和氨氮胁迫的耐受力

养殖结束后, 将对虾从养殖水体盐度 20 立即转移到盐度 80 高盐水体中, 投喂双湖卤虫幼体和

艾比湖卤虫幼体的对虾对高盐胁迫的耐受力优于其他两组, 对虾全部死亡时间延长 10 min (图 1)。

表 7 投喂不同卤虫幼体的凡纳滨对虾仔虾肝胰腺的总超氧化物歧化酶(T-SOD)、酸性磷酸酶(ACP)和碱性磷酸酶(AKP)酶活力

Tab. 7 T-SOD, ACP and AKP activity in hepatopancreas of *Litopenaeus vannamei* postlarvae fed *Artemia* nauplii from different origins

指标 item	卤虫卵产地 origin of <i>Artemia</i> cysts			
	大盐湖 Great Salt Lake	艾比湖 Aibi Lake	双湖 Shuanghu Lake	渤海湾盐田 Bohai Bay saltponds
T-SOD/[U/mg(prot)]	11.78±0.95 ^{ab}	9.45±3.09 ^b	15.62±2.83 ^a	9.38±1.51 ^b
ACP/[U/mg(prot)]	0.49±0.10 ^b	0.72±0.02 ^a	0.52±0.10 ^{ab}	0.53±0.09 ^{ab}
AKP/[U/mg(prot)]	0.33±0.06	0.42±0.02	0.35±0.08	0.38±0.06

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异(P<0.05).
Note: Values in each column with different superscripts are significantly different (P<0.05).

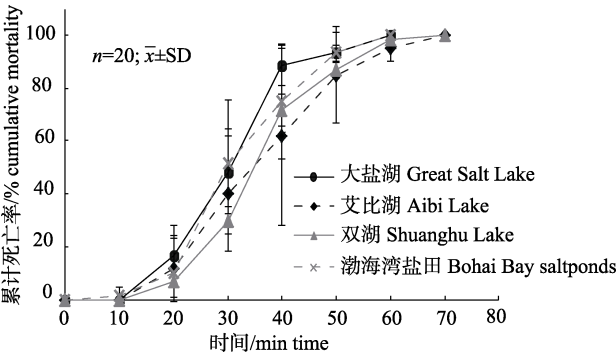


图 1 投喂不同产地卤虫幼体的凡纳滨对虾仔虾在高盐度胁迫下的累计死亡率

Fig.1 Cumulative mortality of *Litopenaeus vannamei* postlarvae fed *Artemia* nauplii from different origins when being exposed to high salinity stress

将对虾暴露于NH₄⁺-N浓度为30 mg/L的卤水中, 24 h后投喂双湖卤虫幼体的对虾存活率最高(85.0%), 显著高于投喂大盐湖卤虫幼体的对虾(48.3%) (P<0.05); 48 h后投喂双湖卤虫幼体的对虾存活率高于其他3组, 但无显著性差异(P>0.05, 图 2)。

3 讨论

3.1 不同产地卤虫品系特性的差异

水产经济动物苗种对卤虫幼体的大小、营养和活力等的需求不同。种质和环境因素(如盐度、

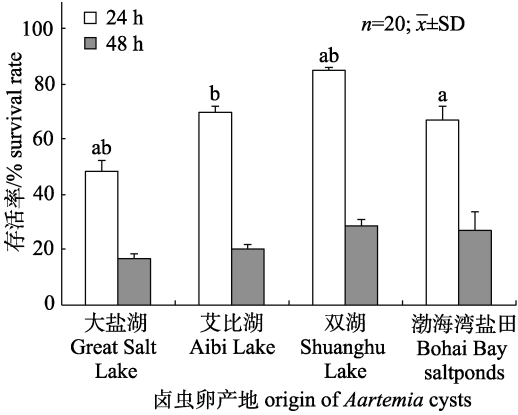


图 2 投喂不同产地卤虫幼体的凡纳滨对虾仔虾在氨氮胁迫下的存活率

柱形数据上标不同表示组间存在显著差异(P<0.05).
Fig. 2 Survival rate of *Litopenaeus vannamei* postlarvae fed *Artemia* nauplii from different origins when being exposed to ammonia-nitrogen stress
Values in each column with different superscripts are significantly different (P<0.05).

温度和饵料等)造成不同产地(品系)卤虫卵的大小、孵化特性和营养组成等的差异^[12], 使其在水产育苗中的应用效果有所不同。卤虫卵和卤虫幼体的脂肪酸组成及含量(尤其是EPA和DHA)与该品系卤虫所处的水环境因子、浮游植物和细菌的脂肪酸组成密切相关^[13]。西藏双湖海拔4660 m, 夏季表层最高水温16.5℃, 年均气温-2℃, pH10.2, 为碳酸盐型盐湖^[14]。本研究中西藏双湖卤虫卵和卤虫幼体中ARA、EPA和DHA显著高于其他产地卤虫幼体, 可能与强烈的紫外线照射、极低的水温和水体中浮游植物和微生物较高的EPA和DHA有关。西藏盐湖(包括双湖和拉果错)卤虫卵是迄今发现的EPA含量最高的野生盐湖卤虫卵(信息来源于天津科技大学亚洲区域卤虫参考中心)。西藏卤虫幼体不仅EPA含量丰富, 而且还含有其他产地卤虫所缺乏的DHA, 表明其更能满足海水鱼和甲壳动物苗种对高不饱和脂肪酸的营养需求。

3.2 卤虫幼体高不饱和脂肪酸促进凡纳滨对虾苗种生长和存活

卤虫幼体是对虾苗种培育的重要生物饵料, 在对虾育苗过程中适当投喂卤虫幼体和成虫可显著提高苗种的活力^[15]。Klein-MacPhee等^[16-17]比较投喂8种不同产地卤虫幼体的美洲拟鲈

(*Pseudopleuronectes americanus*), 发现其生长和不饱和脂肪酸组成及含量存在差异。Léger 等^[18]发现, 将 1976—1980 年期间收获的 11 个批次的旧金山湾卤虫幼体投喂凡纳滨对虾糠虾, 其不饱和脂肪酸组成有所不同, 且糠虾存活率与 EPA 含量有关。本研究中投喂 4 个产地卤虫幼体的对虾存活率均高于 75%, 表明这些卤虫幼体能够满足对虾仔虾的营养需求, 但各组对虾的存活和营养组成有差异。本研究中双湖、渤海湾盐田和艾比湖卤虫幼体的 EPA 较高(分别是 25.06 mg/g DW、13.55 mg/g DW 和 9.34 mg/g DW), 与之对应的对虾存活率较高(分别是 85.73%、84.77%和 82.67%); 而大盐湖卤虫幼体 EPA 含量最低(1.63 mg/g DW), 虾苗存活率也最低(78.1%), 说明饵料中 EPA 含量在一定程度上对凡纳滨对虾的存活率具有促进作用。

3.3 卤虫幼体高不饱和脂肪酸提高凡纳滨对虾苗种对氨氮和盐度胁迫的耐受性

养殖水体中过高的氨氮浓度对具有开放循环系统的水产经济甲壳动物的生理和健康的影响尤为显著^[19]。氨氮胁迫导致对虾的高死亡率、氧化应激、免疫抑制和病原体高易感性^[20-22]。Lu 等^[23]研究发现抗氧化酶在对虾防御体系中起到了重要的作用, 养殖水体中氨氮浓度的升高会导致水生动物体内活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生, 进而引发细胞膜功能紊乱和细胞凋亡。Liang 等^[24]发现, 氨氮胁迫后凡纳滨对虾抗氧化酶活性显著降低, 氧化与抗氧化平衡受到破坏。为了维持体内平衡, 机体利用抗氧化防御系统清除活性氧以对抗氧化应激, 防止氧化损伤。本研究中氨氮胁迫 24 h 和 48 h 后投喂双湖卤虫幼体的对虾存活率均最高, 从投喂双湖卤虫幼体的对虾较高的 T-SOD 和 ACP 活力看, 对虾对氨氮胁迫较强的耐受力可能与其肝胰腺较高的抗氧化酶和免疫相关酶类的活力有关^[21,25], 但其机理有待深入研究。

盐度是对虾养殖中重要的环境因子之一, 养殖对虾对于环境盐度胁迫的耐受能力是评价对虾健康和营养情况的重要指标。多不饱和脂肪酸在维持细胞膜的流动性方面起重要作用。大多数生物的常规代谢功能需要脂肪酸的参与, 特别是 n-3 高级不饱和脂肪酸, 其为细胞膜的组成部分

和类花生酸的前体^[26-27]。Xu 等^[28]指出, 添加适量不饱和脂肪酸可促进凡纳滨对虾在盐度胁迫下的生长。Chen 等^[29]指出, 在盐度胁迫下, 不饱和脂肪酸能改善对虾的渗透压调节能力。Martins 等^[30]研究显示不饱和脂肪酸有着对渗透压的调节作用。本研究中对虾肌肉中 EPA 和 DHA 含量与其摄食的卤虫幼体的脂肪酸水平相对应, 表明饵料中较高的脂肪酸含量可提升对虾肌肉的脂肪酸水平。将对虾从盐度 20 g/L 的养殖水体立即转移至盐度 80 g/L 的高盐水体中, 胁迫 60 min 时投喂大盐湖和渤海湾盐田卤虫幼体的对虾全部死亡, 部分投喂双湖和艾比湖卤虫幼体的对虾则延长至 70 min 全部死亡, 说明双湖和艾比湖卤虫幼体及其投喂的对虾中较高的高不饱和脂肪酸(ARA、EPA 和 DHA 等)起到了渗透压调节作用。

4 结论

不同产地卤虫在卵径、无节幼体体长和个体干重、营养组成方面有较大差别, 其中西藏双湖卤虫卵卵径、无节幼体体长和个体干重较大, 且粗蛋白、粗脂肪、高不饱和脂肪酸 ARA、EPA 和 DHA 含量显著高于其他 3 个产地的卤虫幼体。投喂双湖卤虫幼体和艾比湖卤虫幼体对虾存活率最高, 耐受氨氮和盐度胁迫能力较强, 这可能与生物饵料卤虫幼体和对虾肌肉中较高的 ARA、EPA 和 DHA 含量, 以及对虾肝胰腺抗氧化酶 T-SOD 和免疫酶 ACP 较高的活性有关。

参考文献

- [1] Lavens P, Sorgeloos P. The history, present status and prospects of the availability of *Artemia* cysts for aquaculture[J]. Aquaculture, 2000, 181(3-4): 397-403.
- [2] Van Stappen G, Sui L Y, Van Hoa N, et al. Review on integrated production of the brine shrimp *Artemia* in solar salt ponds[J]. Reviews in Aquaculture, 2020, 12(2): 1054-1071.
- [3] Iryani M T M, Sorgeloos P, Danish-Daniel M, et al. Cyst viability and stress tolerance upon heat shock protein 70 knockdown in the brine shrimp *Artemia franciscana*[J]. Cell Stress and Chaperones, 2020, 25(6): 1099-1103.
- [4] Baert P, Ngoc Anh N T, Burch A, et al. The use of *Artemia* biomass sampling to predict cyst yields in culture ponds[J]. Hydrobiologia, 2002, 477(1-3): 149-153.
- [5] Van Stappen G, Litvinenko L I, Litvinenko A I, et al. A

- survey of *Artemia* resources of southwest Siberia (Russian Federation)[J]. Reviews in Fisheries Science, 2009, 17(1): 116-148.
- [6] Seixas P, Rey-Méndez M, Valente L M P, et al. Producing juvenile *Artemia* as prey for *Octopus vulgaris* paralarvae with different microalgal species of controlled biochemical composition[J]. Aquaculture, 2008, 283(1-4): 83-91.
- [7] Anh N T N, Van Hoa N, Van Stappen G, et al. Effect of different supplemental feeds on proximate composition and *Artemia* biomass production in salt ponds[J]. Aquaculture, 2009, 286(3-4): 217-225.
- [8] Jin M, Xiong J, Zhou Q C, et al. Dietary yeast hydrolysate and brewer's yeast supplementation could enhance growth performance, innate immunity capacity and ammonia nitrogen stress resistance ability of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2018, 82: 121-129.
- [9] Food and Agriculture Organization of the United Nations. The state of world fisheries and aquaculture 2020[R]. Rome: Fisheries and Aquaculture Technical Paper, 2020.
- [10] Warren K S. Ammonia toxicity and pH[J]. Nature, 1962, 195(4836): 47-49.
- [11] Emerson K, Russo R C, Lund R E, et al. Aqueous ammonia equilibrium calculations: Effect of pH and temperature[J]. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 1975, 32(12): 2379-2383.
- [12] Lavens P, Sorgeloos P. Manual on the production and use of live food for aquaculture[R]. Rome: FAO Technical Report, 1996.
- [13] Baert P, Anh N T N, Quynh V D, et al. Increasing cyst yields in *Artemia* culture ponds in Vietnam: The multi-cycle system[J]. Aquaculture Research, 1997, 28(10): 809-814.
- [14] Zheng X Y, Zhang M G, Xu C, et al. Salt Lakes in China[M]. Beijing: Science Press, 2002. [郑喜玉, 张明刚, 徐昶, 等. 中国盐湖志[M]. 北京: 科学出版社, 2002.]
- [15] Sorgeloos P, Dhert P, Candreva P. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture[J]. Aquaculture, 2001, 200(1-2): 147-159.
- [16] Klein-MacPhee G, Howell W, Beck A D. Nutritional value of five geographical strains of *Artemia* to winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* larvae[M]//The Brine Shrimp *Artemia*: Ecology, Culturing, Use in Aquaculture, 1980, 3: 306-312.
- [17] Klein-MacPhee G, Howell W H, Beck A D. Comparison of a reference strain and four geographical strains of *Artemia* as food for winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) larvae[J]. Aquaculture, 1982, 29(3-4): 279-288.
- [18] Léger P, Sorgeloos P, Millamena O M, et al. International study on *Artemia*. XXV. Factors determining the nutritional effectiveness of *Artemia*: The relative impact of chlorinated hydrocarbons and essential fatty acids in San Francisco Bay and San Pablo Bay *Artemia*[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1985, 93(1-2): 71-82.
- [19] de Lourdes Cobo M, Sonnenholzner S, Wille M, et al. Ammonia tolerance of *Litopenaeus vannamei* (Boone) larvae[J]. Aquaculture Research, 2014, 45(3): 470-475.
- [20] Cheng W, Chen J C. The virulence of *Enterococcus* to freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* and its immune resistance under ammonia stress[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2002, 12(2): 97-109.
- [21] Jiang G J, Yu R C, Zhou M J. Modulatory effects of ammonia-N on the immune system of *Penaeus japonicus* to virulence of white spot syndrome virus[J]. Aquaculture, 2004, 241(1-4): 61-75.
- [22] Liu C H, Chen J C. Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2004, 16(3): 321-334.
- [23] Lu X, Luan S, Dai P, et al. iTRAQ-based comparative proteome analysis for molecular mechanism of defense against acute ammonia toxicity in Pacific White shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2018, 74: 52-61.
- [24] Liang Z X, Liu R, Zhao D P, et al. Ammonia exposure induces oxidative stress, endoplasmic reticulum stress and apoptosis in hepatopancreas of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2016, 54: 523-528.
- [25] Lu X, Kong J, Luan S, et al. Transcriptome analysis of the hepatopancreas in the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under acute ammonia stress[J]. PLoS One, 2016, 11(10): e0164396.
- [26] Hurtado M A, Racotta I S, Civera R, et al. Effect of hypo- and hypersaline conditions on osmolality and Na^+/K^+ -ATPase activity in juvenile shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed low- and high-HUFA diets[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2007, 147(3): 703-710.
- [27] Palacios E, Bonilla A, Pérez A, et al. Influence of highly unsaturated fatty acids on the responses of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae to low salinity[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2004, 299(2): 201-215.
- [28] Xu C, Li E C, Liu Y, et al. Comparative proteome analysis of the hepatopancreas from the Pacific white shrimp *Litopenaeus*

- vannamei* under long-term low salinity stress[J]. Journal of Proteomics, 2017, 162: 1-10.
- [29] Chen K, Li E C, Xu C, et al. Growth and metabolomic responses of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to different dietary fatty acid sources and salinity levels[J]. Aquaculture, 2019, 499: 329-340.
- [30] Martins T G, Cavalli R O, Martino R C, et al. Larviculture output and stress tolerance of *Farfantepenaeus paulensis* postlarvae fed *Artemia* containing different fatty acids[J]. Aquaculture, 2006, 252(2-4): 525-533.

Effects of *Artemia* from different origins on growth, muscle composition, and stress resistance of *Litopenaeus vannamei* postlarvae

XING Mingwei, DENG Honggang, GAO Meirong, XIE Yushan, CUI Zi'ang, SUI Liying

College of Marine and Environmental Sciences, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China.

Abstract: *Artemia* is an important live feed in shrimp larviculture. In this study, *Artemia* nauplii hatched from commercial *Artemia* cyst products originating from the Great Salt Lake in the USA, Aibi Lake in Xinjiang, China, Shuanghu Lake in Tibet, China, and Bohai Bay salt ponds in China were fed to *Litopenaeus vannamei* postlarvae (PLs) to evaluate the effects of *Artemia* feeding on growth, muscle composition, and resistance to ammonia nitrogen and salinity stress on the shrimps. *L. vannamei* PL5 were randomly divided into four groups. Each group contained three replicate tanks in which 1000 PLs were stocked at a density of 50 PLs/L. The PLs were fed newly hatched *Artemia* nauplii from different origins. The initial feeding ratio was 100 *Artemia*/(PL·d), which increased by 10% per day during the 15-day culture period. The results showed a significant difference in biometrics and nutritional composition of *Artemia* cysts and nauplii from different origins. Those from Shuanghu had the largest cyst diameter, Instar I nauplii length, individual dry weight, and the greatest crude protein and crude fat content. Additionally, they had the greatest arachidonic acid (ARA), eicosapentaenoic acid (EPA), and docosahexaenoic acid (DHA) content in shrimp muscles. Although feeding *Artemia* nauplii from different origins did not result in a significant difference in survival rates, body length, muscle crude protein, or crude fat content of the PLs ($P>0.05$), significantly higher ARA, EPA, and DHA content was observed in the muscles of shrimp that were fed with Shuanghu *Artemia* nauplii ($P<0.05$). Furthermore, the highest total superoxide dismutase (T-SOD) activity was obtained in the hepatopancreas of shrimp that were fed with Shuanghu *Artemia* nauplii, whereas the highest acid phosphatase (ACP) activity was observed when feeding Aibi *Artemia* ($P<0.05$). There was no significant difference in alkaline phosphatase activity among the groups ($P>0.05$). Moreover, the shrimps that were fed with Shuanghu and Aibi *Artemia* had better resistance to high salinity and ammonia nitrogen stress, which may be related to the higher DHA and EPA content and higher T-SOD and ACP levels in the shrimps. The outcome of this study provided evidence for the effective application of *Artemia* with different origins in *L. vannamei* larviculture.

Key words: *Artemia*; *Litopenaeus vannamei*; nutritional composition; growth; ammonia nitrogen stress; salinity stress; enzyme activity

Corresponding author: SUI Liying. E-mail: suily@tust.edu.cn