

文章编号: 1674-5566(2024)01-0086-13

DOI: 10.12024/jsou.20230504183

不同温度盐度下饵料对卤虫生长及体内类胡萝卜素积累的影响

舒 颢¹, 薛毓才¹, 黄旭雄^{1,2,3}

(1. 上海海洋大学 农业农村部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 上海市水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306; 3. 上海海洋大学 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306)

摘要: 以螺旋藻粉、酵母、酵母+ β -胡萝卜素为饵料, 分别在不同盐度(10、30、50、70和90)和不同温度(20、25和30 °C)下, 探究饵料对卤虫(*Artemia* sp.)生长及体内类胡萝卜素积累的影响。结果表明: 相同温度盐度条件下, 投喂螺旋藻粉组卤虫存活率和体长优于其它饵料组; 养殖第10天, 在温度25 °C下投喂螺旋藻粉组和酵母组卤虫均在盐度30时有最大平均体长(7.5 mm, 5.9 mm), 而投喂酵母+ β -胡萝卜素组卤虫在盐度10时平均体长最大(4.0 mm); 在盐度50下各饵料组卤虫平均体长在温度30 °C组均显著大于其他温度组($P < 0.05$)。养殖第15天, 在温度25 °C下投喂螺旋藻粉组卤虫在盐度30时存活率(93.7%)最高; 在盐度50下投喂螺旋藻粉组卤虫存活率在温度20 °C(94.0%)和25 °C(92.0%)均显著大于30 °C组($P < 0.05$)。投喂螺旋藻粉各组卤虫抱卵率显著大于其他饵料($P < 0.05$), 且随盐度或温度升高而逐步增大。对养殖15 d卤虫体内类胡萝卜素检测表明, 各饵料组卤虫均只检测到海胆酮和角黄素, 未检测出 β -胡萝卜素、 β -隐黄质、玉米黄质和虾青素。投喂螺旋藻粉组卤虫总类胡萝卜素含量显著高于其他组($P < 0.05$), 且随盐度升高呈下降趋势, 盐度10组最高(46.25 $\mu\text{g/g}$); 随温度升高呈先上升后下降趋势, 温度25 °C组最高(46.28 $\mu\text{g/g}$)。综上所述, 投喂螺旋藻粉的卤虫生长最好, 卤虫可以将 β -胡萝卜素转化成海胆酮和角黄素, 温度升高会降低卤虫存活率, 加快卤虫生长、性成熟及类胡萝卜素代谢; 盐度过高或过低会降低卤虫存活率和生长速度, 但是高盐可以促进卤虫性成熟, 且消耗体内类胡萝卜素。

关键词: 卤虫; 温度; 盐度; 饵料; 生长; 类胡萝卜素积累

中图分类号: S 963 **文献标志码:** A

卤虫(*Artemia* sp.)是一种广温、广盐的小型低等甲壳动物, 广泛分布在世界各地, 栖息于内陆盐湖, 沿海盐湖和盐田^[1]。卤虫是非选择性滤食动物, 可以通过滤食浮游植物、细菌和有机颗粒来降低水的浑浊度, 达到清洁水源的目的, 同时还能将有用的物质进行循环利用^[2-4]。卤虫体内富含蛋白质、脂肪、维生素、类胡萝卜素及多种矿物质^[5], 无节幼体可以作为鱼类、甲壳动物的开口饵料^[6], 成虫也可以作为某些水产经济动物特定阶段的适口饵料^[7]。此外, 卤虫因其易获得和在实验室中保存而被用作模式生物, 并广泛应用于生理学、发育生物学和生态学等诸多领域^[8-10]。

温度和盐度是影响卤虫生长发育的重要环

境因素。在适宜温度范围, 温度越高卤虫生长速度越快, 生殖前期越短^[11]。但是, 温度过高会导致卤虫生长速度变慢以及死亡率升高^[12-13]。卤虫具有高效的渗透压调节系统, 可以耐受的盐度范围为2.5 ~ 260^[14-15], 盐度过高或过低均会影响卤虫生长发育, 且不同产地的卤虫对盐度的适应范围不同^[16-18]。不同饵料颗粒形状、大小、可消化性以及蛋白质、脂肪、灰分、维生素、色素等营养成分组成不同对卤虫的生长繁殖会产生显著影响^[19-21]。

目前国内外已经有很多学者研究不同产地卤虫的适宜生长条件, 以及对它的营养组成的分析^[22-24]。而有关温度、盐度和饵料对卤虫生长性能及体内类胡萝卜素代谢积累的报道却不多。本研究探讨了不同盐度、温度及饵料对卤虫生长发

收稿日期: 2023-05-12 修回日期: 2023-05-25

基金项目: 沪科技兴农项目(2021-02-08-00-12-F00761)

作者简介: 舒 颢(1996—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail: 1551822986@qq.com

通信作者: 黄旭雄, E-mail: xxhuang@shou.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

育及体内类胡萝卜素积累的影响,为卤虫的养殖、营养价值评估及其在水产养殖行业的应用提供理论基础。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

实验用渤海湾(Bohai Sea Gulf)卤虫卵由山东滨州前华水产有限公司购得,在25 L白桶中加入20 L人工配置海水,将卤虫卵放入白桶内孵化,虫卵密度1.2 g/L,盐度30,水温27~28 °C,pH=8.3,持续光照充气,光照强度2 000 Lx,孵化24 h后用于实验。

实验所用 β -胡萝卜素(β -Carotene,纯度 $\geq 95\%$)标准品购于德国Sigma公司;酵母(Yeast)为安琪水产酵母,购自于安琪酵母股份有限公司;螺旋藻粉(Spirulina powder)购自上海光语生物科技有限公司,用上述饵料分别制备成对应悬浊液,浓度0.1 g干物质/mL,在4 °C冰箱保存。碳酸钙粉末购于上海凌峰化学试剂有限公司。

研究所需的6种类胡萝卜素标准储备液:虾青素(Astaxanthin,纯度 $\geq 97\%$)、玉米黄质(Zeaxanthin,纯度 $\geq 95\%$)、角黄素(Canthaxanthin,纯度 $\geq 95\%$)、海胆酮(Echinenone,纯度 $\geq 95\%$)、 β -隐黄质(β -Cryptoxanthin,纯度 $\geq 95\%$)和 β -胡萝卜素(β -Carotene,纯度 $\geq 95\%$)标准品购于德国Sigma公司,分别称取1.00 mg上述标准品,用正己烷定容成50 μ g/mL的5种类胡萝卜素标准储备液,低温避光保存;实验用分析纯丙酮、甲醇购于美国Collins公司;2,6-二叔丁基对甲酚(BHT,纯度 $\geq 97.0\%$)、色谱级甲醇、色谱级乙腈购于上海安谱实验科技股份有限公司。

1.2 实验设计

1.2.1 不同温度下饵料对卤虫生长性能及体内类胡萝卜素积累的影响

实验以螺旋藻粉、酵母、酵母+ β -胡萝卜素(m:m,9:1)为饵料,在温度20、25、30 °C条件下养殖15 d,期间控制水体盐度50,pH=8.3,光照强度1 000 Lx,光周期12:12,持续微充气。每组四个平行,其中一个平行为大水体养殖,用于实验过程期间采样测定体长以及实验结束测定类胡萝卜素含量。

1.2.2 不同盐度下饵料对卤虫生长性能及体内类胡萝卜素积累的影响

实验以螺旋藻粉、酵母、酵母+ β -胡萝卜素(m:m,9:1)为饵料,在盐度10、30、50、70、90条件下养殖15 d,期间控制水体温度25 °C,pH=8.3,自然光照,持续微充气。每组4个平行,其中1个平行为大水体养殖,用于实验过程期间采样测定体长以及实验结束测定类胡萝卜素含量。

1.3 养殖管理

存活率与性成熟实验在1 000 mL烧杯中进行,实际水体800 mL,实验开始时每个烧杯接入初孵无节幼体100个,开口后每个组投喂对应饵料,每天投喂3次,每次投喂含0.1 g干物质/mL的饵料悬浊液50~100 μ L,随卤虫生长调节投喂量。每天吸污换水,换水量为1/4,养殖第5、10、15天分别统计存活率,观察卤虫性成熟情况。

生长性能与色素测定实验在15 L白桶中进行,实际水体12 L,接入初孵无节幼体1 500个,养殖条件和管理操作同上,养殖第5、10、15天分别取10~20尾卤虫测定其体长。养殖结束后将卤虫转移至原条件海水,用碳酸钙悬浊液预处理6 h待肠道排空后,收集用去离子水冲洗干净,冷冻干燥后测定类胡萝卜素含量,每组3个平行。

1.4 构建UPC²检测6种类胡萝卜素方法及卤虫类胡萝卜素含量测定

卤虫类胡萝卜素测定样品前处理方法参考陈慧聪等^[25],焦叶磊等^[26]方法改进,采用0.1% BHT丙酮-甲醇(v/v,2:1)溶液提取,经真空干燥后用含0.1% BHT的乙腈溶液完全溶解,经0.22 μ m亲水滤膜过滤至进样瓶中备检。

移取1.1节中配置的6种类胡萝卜素标准储备液,真空干燥后用含0.1% BHT的乙腈溶液定容为5 μ g/mL的类胡萝卜素单一标准溶液及5.0 μ g/mL、4.0 μ g/mL、3.0 μ g/mL、2.0 μ g/mL和1.0 μ g/mL的5个浓度的类胡萝卜素混合标准溶液,经0.22 μ m亲水滤膜过滤至进样瓶中备检。采用Waters超高效合相色谱仪UPC²(Ultra Performance Convergence Chromatography)配用ACQUITY HSS C18 SB色谱柱(1.8 μ m, 2.1 mm \times 150 mm)用于类胡萝卜素的分离和测定。通过调节流动相比例及流速等参数,获得能有效分离6种类胡萝卜素的色谱条件。最优条件为流动相A:CO₂,流动相

B: 甲醇; 流速 0.6 mL/min; 进样量 5 μ L, 柱温 35 $^{\circ}$ C, 检测波长 450 nm; 梯度洗条件: 起始流动相, 90% A+10% B, 7.5 min 时切换流动相为 75% A+25% B。在此色谱条件下, 6 种类胡萝卜素分离效果如图 1 所示。计算得到标曲如下: 虾青素 (Astaxanthin, 0~5 μ g/mL): $y=0.000\ 4x$, $R^2=0.999\ 9$; β -隐黄质(β -Cryptoxanthin, 0~5 μ g/mL): $y=0.000\ 3x$, $R^2=0.999\ 8$; 玉米黄质 (Zeaxanthin, 0~5 μ g/mL): $y=0.000\ 8$, $R^2=0.998\ 8$; 角黄素 (Canthaxanthin, 0~5 μ g/mL): $y=0.000\ 5x$, $R^2=0.999\ 8$; 海胆酮 (Echinenone, 0~5 μ g/mL): $y=0.000\ 4x$, $R^2=0.999\ 7$; β -胡萝卜素(β -Carotene, 0~5 μ g/mL): $y=0.001\ 3x$, $R^2=0.999\ 8$ (y : 类胡萝卜素浓度, μ g/mL; x : 峰面积, μ V·s)。

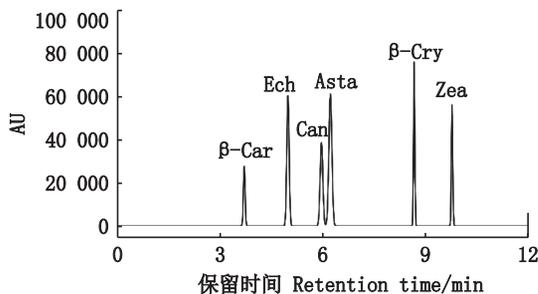


图 1 6 种类胡萝卜素混标峰图

Fig. 1 Peak curves of six carotenoids on UPC²

1.5 饵料营养成分测定

采用氯仿-甲醇法测定总脂含量^[27]。总糖含量采用苯酚-硫酸法测定^[28]。蛋白含量采用福林酚法测定^[29]。单一类胡萝卜素含量采用上述 UPC²法测定。总类胡萝卜素采用分光光度计法测定^[30]。饵料营养成分组成如表 1 所示。

1.6 卤虫生长、存活和性成熟指标测定及计算

从 15 L 桶中随机取 10~20 尾卤虫, 用 4% 甲醛溶液固定, 显微镜下测量卤虫体长。存活率为每个烧杯存活卤虫个数占起始卤虫个数的百分比; 抱卵率为抱卵雌性卤虫个数占雌性卤虫个数的百分比。

1.7 数据统计与分析

实验结果用平均值 \pm 标准误 (Mean \pm SE) 表示, 数据采用 SPSS 22.0 软件进行单因素方差分析 (One-way ANOVA), 采用 Duncan's 法进行多重比较检验, $P<0.05$ 表示差异显著, $P<0.01$ 表示差异极显著; 采用 Origin 2021 进行作图。

表 1 饵料的营养及类胡萝卜素组成

Tab. 1 Nutrition and carotenoid composition of feeds

营养成分 Nutrition	螺旋藻粉 Spirulina powder	
	酵母 Yeast	
总糖 Total carbohydrate/%	9.77 \pm 0.11	53.76 \pm 1.08
总脂 Total lipid/%	10.91 \pm 0.28	5.65 \pm 0.67
总蛋白 Total protein/%	58.27 \pm 0.43	29.46 \pm 0.21
β -胡萝卜素* β -Carotene/(μ g/g)	484.28 \pm 8.87	ND
玉米黄质* Zeaxanthin/(μ g/g)	166.62 \pm 3.95	ND
β -隐黄质* β -Cryptoxanthin/(μ g/g)	ND	ND
海胆酮* Echinenone/(μ g/g)	ND	ND
角黄素* Canthaxanthin/(μ g/g)	ND	ND
虾青素* Astaxanthin/(μ g/g)	ND	ND
总类胡萝卜素** Total Carotenoid/(μ g/g)	1 139.28 \pm 3.06	ND

注: *通过 UPC² 检测出螺旋藻粉中 β -胡萝卜素和玉米黄质, 未检测出 β -隐黄质、海胆酮、角黄素、虾青素, 此外还检测出 3 种其它未知类胡萝卜素。**总类胡萝卜素含量采用分光光度计法测定。Notes: * β -carotene and zeaxanthin in Spirulina powder were detected by UPC², and β -cryptoxanthin, echinenone, canthaxanthin and astaxanthin were not detected. In addition, 3 other unknown carotenoids were detected. **The total carotenoid content was determined by spectrophotometer.

2 结果

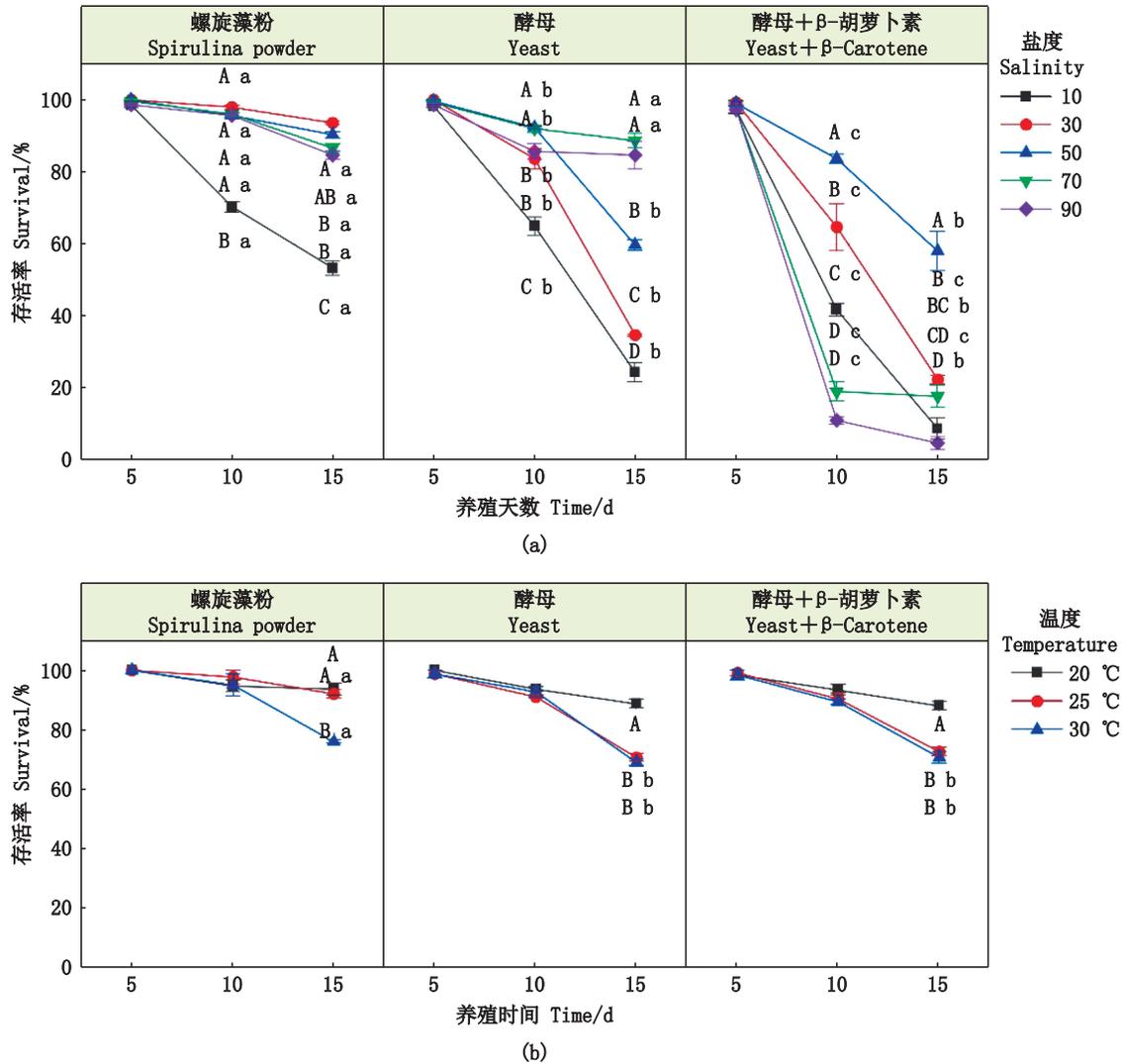
2.1 不同温度盐度下饵料对卤虫存活率的影响

如图 2 所示, 养殖第 5 天, 各组中卤虫成活率均在 90% 以上, 且随养殖时间延长, 各组间差异增大。养殖第 15 天, 在温度 25 $^{\circ}$ C 下投喂螺旋藻粉组和酵母组卤虫在盐度 70 和 90 时存活率无显著差异 ($P>0.05$), 但显著大于投喂酵母+ β -胡萝卜素组 ($P<0.05$); 在盐度 50 下投喂不同饵料卤虫存活率在 20 $^{\circ}$ C 组无显著差异 ($P>0.05$); 在其他温度盐度条件下, 投喂螺旋藻粉组卤虫存活率均显著大于投喂其它饵料组 ($P<0.05$)。

在不同盐度实验中, 养殖第 15 天, 随盐度升高, 各饵料组存活率呈先升高后降低趋势 (图 2 a)。投喂螺旋藻粉组卤虫在盐度 30 时存活率 (93.7%) 最高 ($P<0.05$); 投喂酵母组卤虫在盐度 70 和 90 时存活率 (88.7%, 84.7%) 无显著差异 ($P>0.05$) 但显著大于其他组 ($P<0.05$); 投喂酵母+ β -胡萝卜素组卤虫在盐度 50 时存活率 (58.0%) 最高 ($P<0.05$)。

在不同温度实验中, 养殖第 15 天, 随温度升高, 各饵料组存活率降低 (图 2 b)。投喂螺旋藻粉组卤虫存活率在温度 20 $^{\circ}$ C 组 (94.0%) 和 25 $^{\circ}$ C 组 (92.0%) 无显著差异 ($P>0.05$), 但显著大于

30 °C组(76.0%)($P<0.05$);投喂酵母与酵母+β-胡萝卜素(88.0%)显著大于其他温度组($P<0.05$)。萝卜素卤虫存活率在温度 20 °C组(89.0%,



大写字母为同一饵料中,不同温度或盐度间差异显著($P<0.05$),小写字母为同一温度或盐度中,不同饵料间差异显著($P<0.05$)。(a)为不同盐度(10~90,25 °C)下投喂不同饵料卤虫的存活率曲线;(b)为不同温度(20~30 °C,盐度50)下投喂不同饵料卤虫的存活率曲线。Capital letters indicate significant difference between different temperatures or salinities in the same feed ($P<0.05$), and lowercase letters indicate significant difference between different feeds at the same temperature or salinity ($P<0.05$). (a) shows the survival curves of *Artemia* fed with different feeds at different salinities (10–90, 25 °C). (b) shows the survival rate curves of *Artemia* fed with different feeds at different temperatures (20–30 °C, salinity 50).

图2 不同温度盐度下饵料对卤虫存活率的影响

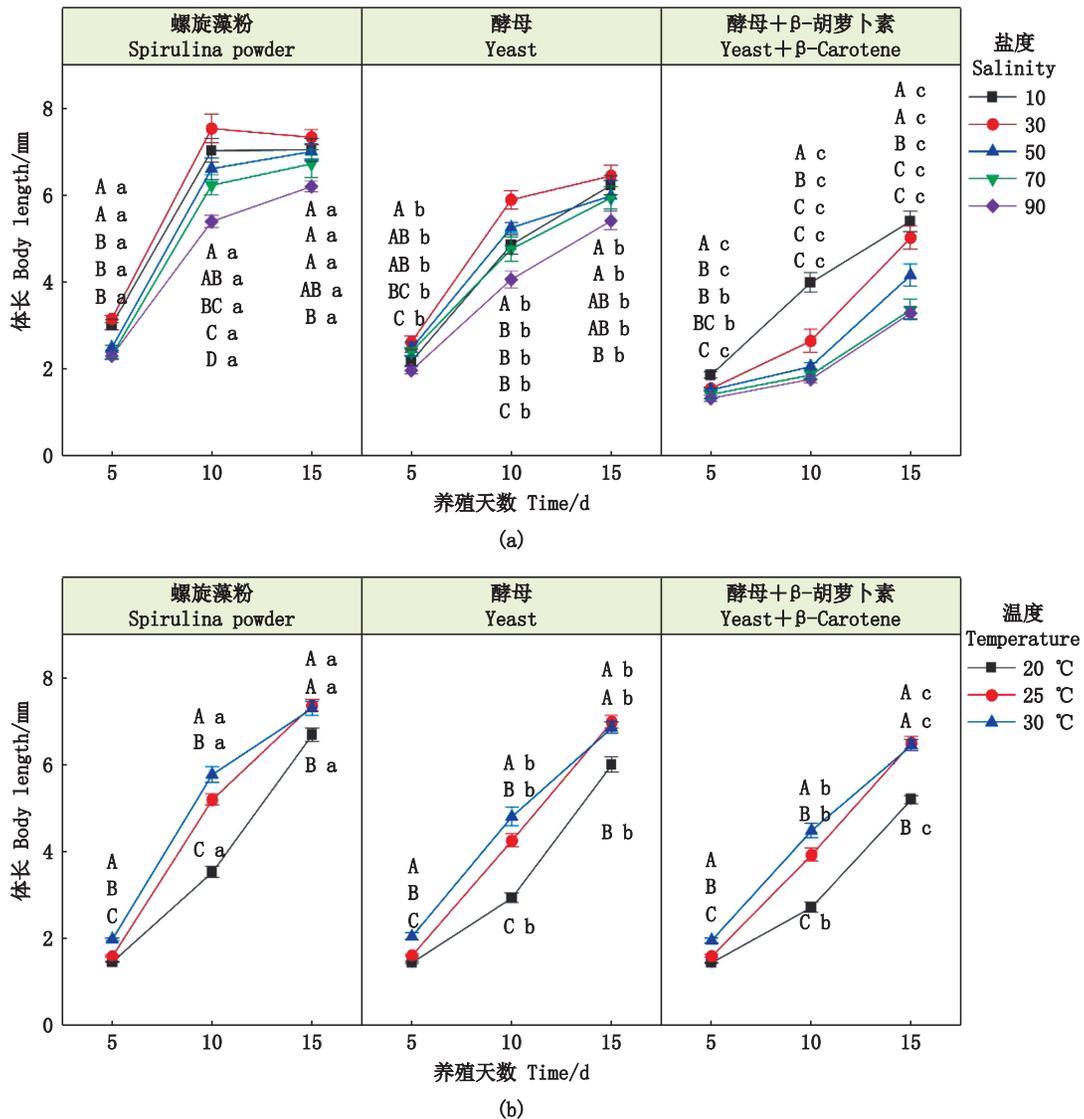
Fig. 2 Effects of feeds on survival rate of *Artemia* at different temperatures and salinities

2.2 不同温度盐度下饵料对卤虫体长的影响

如图3所示,养殖第5天,在温度25 °C下投喂螺旋藻粉组卤虫平均体长在各盐度组显著大于投喂其他饵料组($P<0.05$);在盐度50下投喂不同饵料组卤虫平均体长在各温度组中无显著差异($P>0.05$);随着养殖时间延长,养殖第10、15天时,投喂螺旋藻粉各组卤虫平均体长均显著大于其他饵料组($P<0.05$),且在养殖第10天各组间差

异最大。

在不同盐度实验中,养殖第10天,随盐度升高,投喂螺旋藻粉组和酵母组卤虫平均体长均呈先增大后减小趋势,酵母+β-胡萝卜素组卤虫平均体长呈降低趋势(图3a)。投喂螺旋藻粉组和酵母组卤虫平均体长在盐度30时(7.5 mm, 5.9 mm)最大;而投喂酵母+β-胡萝卜素组卤虫平均体长在盐度10时最大(4.0 mm)。



显著性标记同图2。(a)为不同盐度(10~90, 25 °C)下投喂不同饵料卤虫的体长曲线;(b)为不同温度(20~30 °C, 盐度50)下投喂不同饵料卤虫的体长曲线。Significance marks as fig. 2. (a) shows the body length curves of *Artemia* fed with different feeds at different salinities (10~90, 25 °C). (b) shows the body length curves of *Artemia* fed with different feeds at different temperatures (20~30 °C, salinity 50).

图3 不同温度盐度下饵料对卤虫体长的影响

Fig. 3 Effects of feeds on body length of *Artemia* at different temperatures and salinities

在不同温度实验中,养殖第10天,随温度升高,各饵料组卤虫体长增大(图3 b)。在温度30 °C下卤虫体长(螺旋藻粉组,5.8 mm;酵母组,4.8 mm;酵母+β-胡萝卜素组,4.5 mm)均显著大于其他温度组($P < 0.05$)。

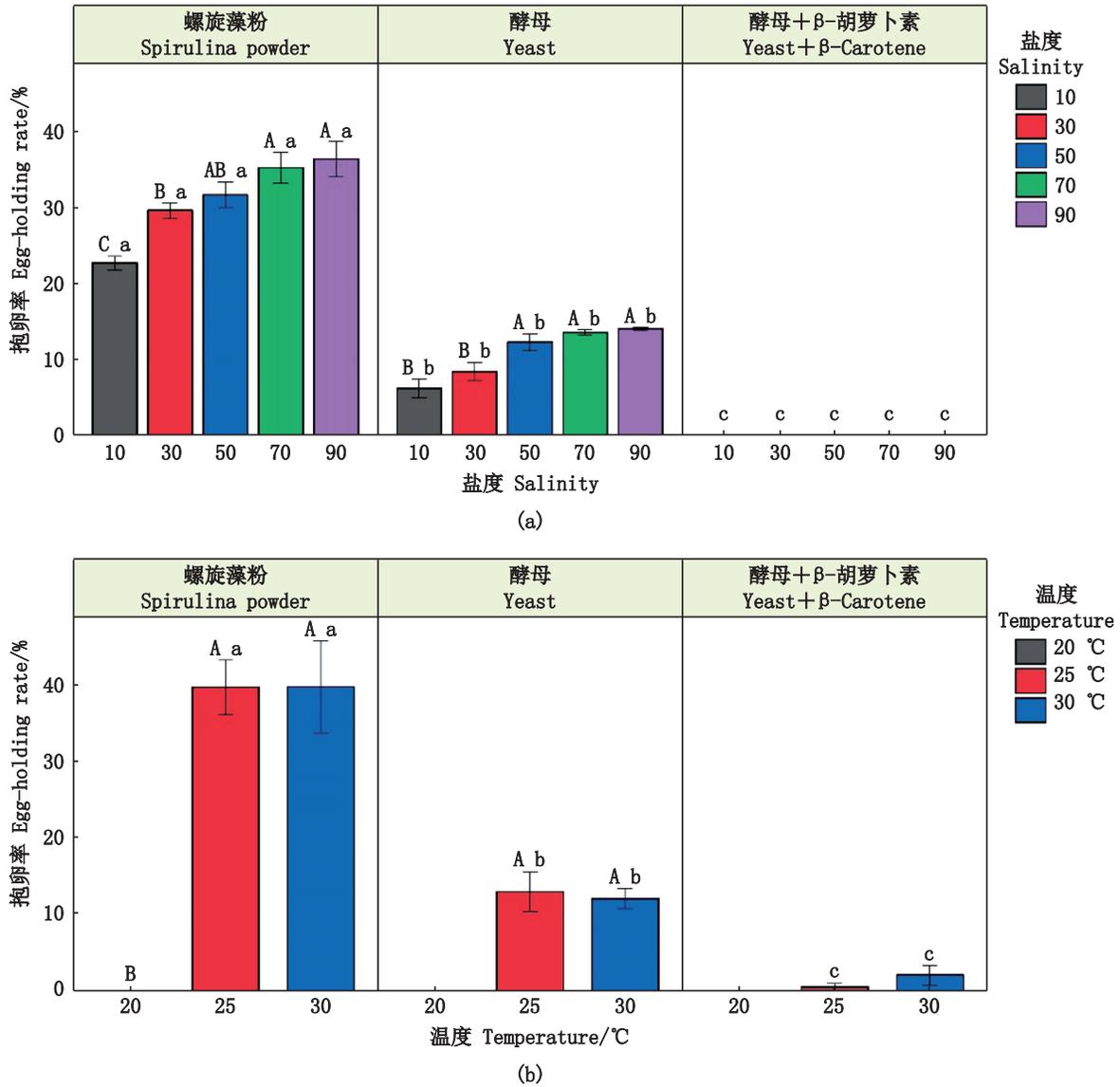
2.3 不同温度盐度下饵料对卤虫抱卵率的影响

如图4所示,养殖结束时,在温度20 °C下,各饵料组中未见抱卵卤虫;在其他温度盐度条件下,投喂螺旋藻粉组卤虫抱卵率均显著大于其他饵料组($P < 0.05$)。随温度盐度升高,卤虫抱卵率逐步增大;在不同盐度实验中,投喂酵母+β-胡萝卜素组中未见抱卵卤虫;投喂螺旋藻粉组卤虫抱

卵率在盐度70和90时显著大于盐度10和30($P < 0.05$),投喂酵母组卤虫抱卵率在盐度50、70和90时显著大于盐度10和30($P < 0.05$)。在不同温度实验中,各饵料组卤虫抱卵率在温度25 °C和30 °C组均无显著差异($P > 0.05$)。

2.4 不同温度盐度下饵料对卤虫体内类胡萝卜素含量的影响

如表2、3所示,卤虫体内主要积累的色素为海胆酮、角黄素,而β-胡萝卜素、β-隐黄质、玉米黄质和虾青素未在卤虫样品中检出。其中,投喂螺旋藻粉组卤虫体内积累的总类胡萝卜素含量显著高于投喂其他饵料组($P < 0.05$)。



显著性标记同图 2。(a)为不同盐度(10~90, 25 °C)下投喂不同饵料卤虫的抱卵率; (b)为不同温度(20~30 °C, 盐度 50)下投喂不同饵料卤虫的抱卵率。Significance marks as fig. 2. (a) shows egg-holding rate of *Artemia* fed with different feeds at different salinities (10-90, 25 °C); (b) shows egg-holding rate of *Artemia* fed with different feeds at different temperatures (20-30 °C, salinity 50).

图 4 不同温度盐度下饵料对卤虫抱卵率的影响

Fig. 4 Effects of feeds on egg-holding rate of *Artemia* at different temperatures and salinities

在不同盐度实验中,投喂螺旋藻粉组卤虫海胆酮、角黄素及总类胡萝卜素含量随盐度升高呈下降趋势,盐度 10 组(8.50 $\mu\text{g/g}$, 37.75 $\mu\text{g/g}$, 46.25 $\mu\text{g/g}$)含量最高;投喂酵母组卤虫仅在盐度 10 组中检测出角黄素,含量为 3.78 $\mu\text{g/g}$;投喂酵母+ β -类胡萝卜素组卤虫由于死亡率过高导致样品量不满足检测最低需求(表 2)。

在不同温度实验中,各饵料组卤虫总类胡萝卜素、角黄素含量随温度升高呈先上升后下降趋势,海胆酮呈现下降趋势;在温度 25°C 下,各饵料

组卤虫角黄素含量(螺旋藻粉组, 36.99 $\mu\text{g/g}$;酵母组, 9.04 $\mu\text{g/g}$;酵母+ β -胡萝卜素组, 18.21 $\mu\text{g/g}$)显著高于其他温度组($P < 0.05$),且总类胡萝卜素含量(螺旋藻粉组, 46.28 $\mu\text{g/g}$;酵母组, 9.04 $\mu\text{g/g}$;酵母+ β -胡萝卜素组, 26.18 $\mu\text{g/g}$)显著最高;在温度 20 °C 下,投喂螺旋藻粉组和酵母+ β -胡萝卜素组卤虫海胆酮含量(10.28 $\mu\text{g/g}$, 9.69 $\mu\text{g/g}$)显著高于其他温度组($P < 0.05$),而在酵母组中均未检出(表 3)。

表2 不同盐度下饵料对卤虫体内类胡萝卜素含量的影响
Tab. 2 Effects of feeds on carotenoid content in *Artemia* at different salinities

类胡萝卜素 Carotenoid content/($\mu\text{g/g}$)	螺旋藻粉 Spirulina powder					酵母 Yeast					酵母+ β -胡萝卜素 Yeast+ β -Carotene				
	10	30	50	70	90	10	30	50	70	90	10	30	50	70	90
β -胡萝卜素 β -Carotene	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	-
海胆酮 Echinenone	8.50 \pm 0.08 ^A	5.36 \pm 0.09 ^B	3.72 \pm 0.11 ^{CD}	3.68 \pm 0.06 ^D	4.06 \pm 0.18 ^C	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	-
角黄素 Canthaxanthin	37.75 \pm 1.02 ^A	22.95 \pm 0.28 ^B	21.44 \pm 0.22 ^{BC}	20.23 \pm 0.27 ^C	21.19 \pm 0.37 ^C	3.78 \pm 0.07	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	-
β -隐黄质 β -Cryptoxanthin	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	-
玉米黄质 Zeaxanthin	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	-
虾青素 Astaxanthin	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	-
总类胡萝卜素* Total Carotenoid	46.25 \pm 1.07 ^A	28.31 \pm 0.31 ^B	25.16 \pm 0.25 ^C	23.91 \pm 0.28 ^D	25.25 \pm 0.41 ^C	3.78 \pm 0.07	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	-

注: *卤虫体内仅检测出海胆酮和角黄素,总类胡萝卜素为海胆酮和角黄素总和。“ND”表示未检出;“-”表示样品量过少不满足检测。大写字母为同一饵料中,不同盐度间差异显著($P<0.05$)。

Notes: * Only echinenone and canthaxanthin were detected in *Artemia*, and the total carotenoid were the sum of echinenone and canthaxanthin. “ND” means not detected; “-” means the sample quantity is insufficient for detection. Capital letters indicate significant difference between different salinity in the same feed ($P<0.05$).

表3 不同温度下饵料对卤虫体内类胡萝卜素含量的影响
Tab. 3 Effects of feeds on carotenoid content in *Artemia* at different temperatures

类胡萝卜素 Carotenoid content/($\mu\text{g/g}$)	螺旋藻粉 Spirulina powder			酵母 Yeast			酵母+ β -胡萝卜素 Yeast+ β -Carotene		
	20 °C	25 °C	30 °C	20 °C	25 °C	30 °C	20 °C	25 °C	30 °C
β -胡萝卜素 β -Carotene	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
海胆酮 Echinenone	10.28 \pm 0.17 ^{Aa}	9.29 \pm 0.25 ^{Ba}	5.43 \pm 0.11 ^{Cb}	ND	ND	ND	9.69 \pm 0.11 ^{Ab}	7.97 \pm 0.15 ^{Bb}	6.75 \pm 0.25 ^{Ca}
角黄素 Canthaxanthin	26.28 \pm 0.84 ^{Ca}	36.99 \pm 0.50 ^{Aa}	34.17 \pm 0.57 ^{Ba}	3.25 \pm 0.21 ^{Cc}	9.04 \pm 0.38 ^{Ac}	3.87 \pm 0.08 ^{Bc}	12.00 \pm 0.41 ^{Bb}	18.21 \pm 0.10 ^{Ab}	12.10 \pm 0.55 ^{Bb}
β -隐黄质 β -cryptoxanthin	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
玉米黄质 Zeaxanthin	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
虾青素 Astaxanthin	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
总类胡萝卜素* Total Carotenoid	36.56 \pm 0.96 ^{Ca}	46.28 \pm 0.6 ^{Aa}	39.6 \pm 0.57 ^{Ba}	3.25 \pm 0.21 ^{Cc}	9.04 \pm 0.38 ^{Ac}	3.87 \pm 0.08 ^{Bc}	21.69 \pm 0.46 ^{Bb}	26.18 \pm 0.25 ^{Ab}	18.85 \pm 0.70 ^{Cb}

注: *卤虫体内仅检测出海胆酮和角黄素,总类胡萝卜素为海胆酮和角黄素总和。“ND”表示未检出;大写字母为同一饵料中,不同温度间差异显著($P<0.05$);小写字母为同一温度中,不同饵料间差异显著($P<0.05$)。

Notes: * Only echinenone and canthaxanthin were detected in *Artemia*, and the total carotenoid were the sum of echinenone and canthaxanthin. “ND” means not detected. Capital letters indicate significant difference between different temperature in the same feed ($P<0.05$), and lowercase letters indicate significant difference between different feeds at the same temperature ($P<0.05$).

3 讨论

3.1 饵料对卤虫生长、存活、抱卵率的影响

饵料对卤虫生长发育的有较大影响^[6,20,31]。卤虫在生长发育过程分为无节幼体期、后无节幼

体期、拟成虫期和成虫期^[32],且每个时期卤虫主要所需的营养不同。无节幼体期卤虫对营养物质需求较低,其淀粉酶活性较高而蛋白酶脂肪酶较低^[33],糖类是其主要需求的营养物质^[34]。本研究,在各种温度盐度条件下,养殖前期螺旋藻

粉组和酵母组卤虫生长大多无显著差异($P>0.05$),且存活率在90%以上,实验所用螺旋藻粉总糖含量7.99%,酵母总糖含量53.76%,表明螺旋藻粉与酵母的营养能够满足卤虫在无节幼体期的需求。在养殖后期,各条件下螺旋藻粉组卤虫均表现出更佳的生长性能,其体长、生长速率、存活率均显著高于酵母组($P<0.05$),在本实验中螺旋藻粉的总蛋白质和总脂肪含量是酵母的两倍,螺旋藻粉的营养较酵母更全面,更能满足卤虫在整个养殖过程中的营养需求,与黄旭雄等^[19]和茹文红等^[34]研究结果一致。有研究表明类胡萝卜素可以提高水产动物免疫力及生长繁殖性能^[35],螺旋藻粉与酵母相比富含更多的类胡萝卜素等生物活性物质。在本研究中,螺旋藻粉组卤虫与酵母组相比其体内类胡萝卜素含量更高,在除生长、成活外,性成熟方面也表现出更佳性能,养殖结束时雌性卤虫抱卵率也显著增加($P<0.05$)。甲壳动物在性腺发育时期对蛋白质的需求大大提高^[36],螺旋藻粉蛋白质含量比酵母高20%~30%左右,推测螺旋藻粉卤虫抱卵率更高还可能与此有关。此外,在本研究中酵母+ β -胡萝卜素组卤虫,尽管在酵母中额外补充了 β -胡萝卜素但并未表现出更佳的生长、繁殖性能,甚至其体长、存活率、抱卵率等指标均低于酵母组。这可能是由于该组中添加的 β -胡萝卜素含量(10%)过高,导致卤虫摄入蛋白质、脂肪等主要营养元素减少,不能满足卤虫正常生长、存活的营养需求。

3.2 温度盐度对卤虫生长、存活、抱卵率的影响

温度盐度对卤虫生长、存活、性成熟有着重要的影响^[14,18,37]。卤虫对于温度、盐度有着较强的适应性,有研究报道卤虫在温度12~34℃^[11-13,38]、盐度2.5-260^[14-15]的范围内均能存活。尽管卤虫在高盐环境中能够存活,并非因为高盐环境适宜卤虫生长,而是因为需要躲避低盐环境中敌害^[39]。当盐度升高和降低时,甲壳动物机为适应盐度变化,提高其体内离子转运、抗应激过程能量供应^[40],促使机体代谢速率加快,氧化应激加强^[37],导致机体抗逆性降低,存活率下降。GEORGE等^[18]研究发现塘沽卤虫存活率随盐度升高呈先升高后降低趋势,在盐度60条件下存活率最大,本文结果与其相似,渤海湾卤虫在盐度30~70存活率最大。然而,也有研究表明卤虫在

盐度90存活率可达到90%以上^[41],这可能是由于不同品系卤虫对盐度适应范围不同造成的。现有研究指出,在高盐、低盐环境中,卤虫会消耗更多能量去维持体内渗透压平衡^[42],在适宜盐度范围(5~120)内,卤虫体长随盐度升高呈先升高后降低趋势。在本研究中,盐度30条件下,卤虫表现出了最佳生长性能。推测盐度30是卤虫生长的最适盐度,在此盐度下,卤虫可以将更多能量用于生长。此外,盐度对卤虫性成熟也有影响,适当提高盐度可以缩短卤虫生殖前期^[43],但过高的盐度会抑制其性成熟^[14]。GEORGE等^[18]研究报道,在盐度35~100范围内,雌性卤虫性成熟比例随盐度升高而增加;在WEAR等^[14]研究指出,在盐度超过200时,卤虫生殖前期延长。不同卤虫适宜的性成熟盐度范围略有差异^[18],在本研究中,渤海湾卤虫在养殖结束时卤虫抱卵率随盐度升高而显著升高($P<0.05$),这可能与试验最高盐度只有90仍在其适宜性成熟盐度范围内有关。

温度对甲壳动物的生长、发育、性成熟有着重要的调控作用。在适宜的温度范围内,温度升高,提高甲壳动物消化酶活性、机体代谢水平,有利于甲壳动物对营养物质的消化吸收利用,促进其生长发育^[44-45]。一般认为卤虫适应的生长温度范围是12~34℃^[12-13,38]。本研究结果与其相似,在25~30℃范围内,卤虫表现出最佳的生长性能,但在30℃时其存活率显著低于20~25℃($P<0.05$)。温度升高会导致甲壳动物体内氧化应激加强,ROS积累,诱导细胞凋亡发生^[46-47]。有研究报道指出,温度升高还会导致甲壳动物免疫酶活性降低,导致机体免疫力下降,抗逆性能力降低^[48-49]。此外,甲壳动物的性成熟与有效积温相关^[50],适当的升高温度能够缩短生殖前期,刺激雌性个体提前性成熟^[22]。在本研究中,养殖结束,20℃下未出现抱卵卤虫,25和30℃各组卤虫抱卵率无显著差异($P>0.05$)均在30%以上。同时,还有学者认为这是卤虫对高温的适应的表现,高温下卤虫生命周期缩短,需要在短期内繁殖大量后代,保证种群稳定^[11]。由此可见,25和30℃是卤虫生长繁殖的适宜温度。

3.3 类胡萝卜素在卤虫体内的积累

甲壳动物不能从头合成类胡萝卜素,只能从食物中获取,并经过简单的转化储存在体内^[51]。现有研究报道,甲壳动物中积累的主要类胡萝卜

素为 β -胡萝卜素、海胆酮、角黄素、玉米黄质、虾青素等^[52]。这些甲壳动物体内的类胡萝卜素具有相似的结构,仅在中央多聚链两侧 β -紫罗酮环上的3,3'和4,4'端结合的羟基和酮基数量不同^[53]。因此,大部分学者认为甲壳动物体内具备将 β -胡萝卜素通过羟基化和酮基化作用转化为虾青素的能力^[54]。焦叶磊等^[26]对不同产地的卤虫去壳卵和无节幼体体内色素检测,发现卤虫幼体中有来自母体的内源性类胡萝卜素,其主要种类为海胆酮和角黄素。在本研究中,养殖结束时,在各酵母组中,仅在部分卤虫体内检测出少量角黄素,其余各组并未检出任何类胡萝卜素,推测此时酵母组中卤虫体内内源性的色素基本已被完全代谢。而无论是在投喂螺旋藻粉还是酵母+ β -类胡萝卜素的各组中,卤虫体内检测出的主要类胡萝卜素为海胆酮和角黄素,但并未检测到 β -隐黄质、玉米黄质和虾青素,表明卤虫具备将 β -胡萝卜素转化成角黄素的能力,但与凡纳滨对虾等高等甲壳动物不同,无法进一步合成虾青素,这与陈慧聪^[55]结果一致;同时,此结果也显示卤虫从食物中摄取的玉米黄质仅被代谢消耗,既不能积累也无法插入酮基将其转化成虾青素,这与HSU等^[51]结果一致。此外,各组中亦未检出 β -胡萝卜素,这可能是因为在本文中卤虫在检测类胡萝卜素前经过6 h肠道排空,饵料中未消化吸收的类胡萝卜素已完全被排出体外;而体内吸收的 β -胡萝卜素可能已被完全代谢转化,最终以海胆酮与角黄素形式储存于体内^[51]。由此可见,卤虫不能直接合成类胡萝卜素,但体内可能存在 β -胡萝卜素 \rightarrow 海胆酮 \rightarrow 角黄素的转化途径,并主要以海胆酮和角黄素的形式存在于体内。在雨生红球藻(*Haematococcus Pluvialis*)中,其细胞内有4,4'-酮化酶(4,4'-ketolase, CRT0/BKT),能够催化 β -胡萝卜素在紫罗酮环4,4'处插入酮基,经过两次酮基化,先后合成海胆酮和角黄素^[56]。然而,卤虫体内海胆酮和角黄素是如何合成的尚无研究报道,其体内是否存在 β -胡萝卜素酮化酶有待进一步探究。

3.4 温度盐度对卤虫体内类胡萝卜素积累的影响

类胡萝卜素是一类天然抗氧化剂,在机体内各种抗氧化因子共同组成抗氧化系统^[57]。在本研究中,卤虫体内总类胡萝卜素含量随盐度升高呈现下降趋势,角黄素与海胆酮变化趋势与其一

致。这可能是由于随着盐度升高,机体氧化应激增强^[58],体内ROS积累^[59],体内类胡萝卜素作为自由基淬灭剂清除ROS而大量消耗^[60]。有趣的是,随着温度的升高,卤虫体内总类胡萝卜素含量呈现先升高后降低的趋势,角黄素变化与其一致,但海胆酮呈现下降趋势。推测在20~25℃时,随着温度的增加卤虫体内代谢加快,生长旺盛,其对类胡萝卜素的转化代谢速率加快,这与生长性能表征一致;而在30℃时,卤虫可能受到的氧化应激增强,为抵御氧化应激产生的ROS,更多的类胡萝卜素被消耗,导致最终在体内积累的类胡萝卜素含量降低,这与高温环境中卤虫存活率下降现象一致。海胆酮作为合成角黄素的中间产物^[25],其在卤虫体内的含量随温度升高而降低,可能是由于温度升高更有利用体内海胆酮向角黄素代谢转化,导致体内海胆酮的含量降低。

综上所述,饵料显著影响卤虫生长和体内胡萝卜素积累,投喂螺旋藻粉的卤虫生长最好。温度升高,卤虫存活率降低,加快卤虫生长、性成熟以及体内类胡萝卜素代谢;盐度过高或过低会降低卤虫存活率和生长速度,但是高盐可以加快卤虫性成熟以及消耗体内类胡萝卜素。卤虫体内主要积累的类胡萝卜素种类为海胆酮和角黄素,推测卤虫体内可能存在 β -胡萝卜素 \rightarrow 海胆酮 \rightarrow 角黄素的代谢途径。

参考文献:

- [1] VANHAECKE P, TACKAERT W, SORGELOOS P. The biogeography of *Artemia*: an updated review [M]// SORGELOOS P, BENGTON D A, DECLEIR W, et al. *Artemia Research and its Applications*. Wetteren: Universa Press, 1987: 129-155.
- [2] LENZ P H, BROWNE R A. Ecology of *Artemia* [M]// BROWNE R A. *Artemia Biology*. Browne: Browne, 1991: 237-254.
- [3] SCHMIDT R, TANTOYOTAI P, FAKRA S C, et al. Selenium biotransformations in an engineered aquatic ecosystem for bioremediation of agricultural wastewater via brine shrimp production [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(10): 5057-5065.
- [4] 古倩怡, 岑黔鸿, 李袁源, 等. 用卤虫与小球藻联合培养法净化养殖废水的研究[J]. *大连海洋大学学报*, 2018, 33(6): 749-754.
GU Q Y, CEN Q H, LI Y Y, et al. Effects of zooplankton-phytoplankton combined culture on treatment of

- aquaculture wastewater [J]. Journal of Dalian Ocean University, 2018, 33(6): 749-754.
- [5] 黄旭雄. 卤虫的营养[J]. 水产科学, 2007, 26(11): 628-631.
- HUANG X X. Nutrition in Brine Shrimp *Artemia* [J]. Fisheries Science, 2007, 26(11): 628-631.
- [6] KISHIDA M, JOHANNING K M, BENGTSON D A, et al. Intestinal uptake of lipovitellin from brine shrimp (*Artemia franciscana*) by larval inland silversides (*Menidia beryllina*) and striped bass (*Morone saxatilis*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 1998, 119(1): 415-421.
- [7] BENGTSON D A, LÉGER P, SORGELOOS P. Use of *Artemia* as a food source for aquaculture[M]//BROWNE R A. *Artemia* Biology. Browne: Browne, 1991: 255-286.
- [8] JIANG L J, HOU L, ZOU X Y, et al. Cloning and expression analysis of *p26* gene in *Artemia sinica* [J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2010, 39(5): 351-358.
- [9] SUGUMAR V, MUNUSWAMY N. Physical, biochemical and functional characterization of haemoglobin from three strains of *Artemia* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2007, 146(2): 291-298.
- [10] ZHOU Q, WU C G, DONG B, et al. The encysted dormant embryo proteome of *Artemia sinica* [J]. Marine Biotechnology, 2008, 10(4): 438-446.
- [11] ABATZOPOULOS T J, EL-BERMAWI N, VASDEKIS C, et al. Effects of salinity and temperature on reproductive and life span characteristics of clonal *Artemia*. (International study on *Artemia*. LXVI) [J]. Hydrobiologia, 2003, 492(1/3): 191-199.
- [12] SAYGI Y B, DEMIRKALP F Y. Effects of temperature on survival and growth of *Artemia* from Tuz Lake, Turkey [J]. The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh, 2002, 54(3): 125-133.
- [13] 张春丹, 李明云. 影响卤虫培育的环境因子[J]. 水生生态学杂志, 2005, 25(5): 59-60.
- ZHANG C D, LI M Y. Environmental factors affecting the rearing of *Artemia* [J]. Journal of Hydroecology, 2005, 25(5): 59-60.
- [14] WEAR R G, HASLETT S J, ALEXANDER N L. Effects of temperature and salinity on the biology of *Artemia franciscana* Kellogg from Lake Grassmere, New Zealand. 2. Maturation, fecundity, and generation times [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1986, 98(1/2): 167-183.
- [15] 陈新旦, 张海燕, 范艳雯, 等. 温度和盐度对卤虫生长及存活的影响[J]. 华东师范大学学报(自然科学版), 1999: 49-53.
- CHEN X D, ZHANG H Y, FAN Y W, et al. Effects of temperature and salinity on growth and survival of *Artemia* sp. [J]. Journal of East China Normal University (Natural Science), 1999: 49-53.
- [16] 李景, 徐永健. 光强、温度和盐度对卤虫幼体生长的影响[J]. 水产养殖, 2013, 34(10): 13-17.
- LI J, XU Y J. The effect of light intensity, temperature and salinity on the growth of *Artemia* larvae [J]. Journal of Aquaculture, 2013, 34(10): 13-17.
- [17] 马婷, 权可心, 张紫嫣, 等. 不同环境因子对渤海湾卤虫生长及抗氧化酶活性的影响[J]. 水产科技情报, 2020, 47(6): 337-345, 349.
- MA T, QUAN K X, ZHANG Z Y, et al. Effects of different environmental factors on the growth and antioxidant enzyme activities of BHB *Artemia* [J]. Fisheries Science & Technology Information, 2020, 47(6): 337-345, 349.
- [18] TRIANTAPHYLIDIS G V, POULOPOULOU K, ABATZOPOULOS T J, et al. International study on *Artemia* XLIX. Salinity effects on survival, maturity, growth, biometrics, reproductive and lifespan characteristics of a bisexual and a parthenogenetic population of *Artemia* [J]. Hydrobiologia, 1995, 302(3): 215-227.
- [19] 黄旭雄, 陈马康, 魏文志. 几种植物浆养殖卤虫的饵料效果[J]. 水产学报, 2000, 24(3): 254-258.
- HUANG X X, CHEN M K, WEI W Z. The effect of some plant pulps for cultivating *Artemia* [J]. Journal of Fisheries of China, 2000, 24(3): 254-258.
- [20] 陈姝含, 邓高威, 江海仪, 等. 不同饵料对卤虫生长性能以及消化酶和非特异性免疫酶活性的影响[J]. 江苏海洋大学学报(自然科学版), 2021, 30(2): 10-15.
- CHEN S H, DENG G W, JIANG H Y, et al. Effects of different diets on the growth performance of *Artemia* and the activities of digestive enzymes and non-specific immune enzymes [J]. Journal of Jiangsu Ocean University (Natural Science Edition), 2021, 30(2): 10-15.
- [21] 马婷, 柴英辉, 贾旭颖, 等. 不同微藻饵料对卤虫生长及水环境变化的影响[J]. 天津农学院学报, 2020, 27(4): 62-67.
- MA T, CHAI Y H, JIA X Y, et al. Effects of three kinds of feed on relative growth rate and survival rate of *Artemia parthenogenetica* [J]. Journal of Tianjin Agricultural University, 2020, 27(4): 62-67.
- [22] BROWNE R A, WANIGASEKERA G. Combined effects of salinity and temperature on survival and reproduction of five species of *Artemia* [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2000, 244(1): 29-44.
- [23] 魏文志. 温度、盐度及饵料对卤虫生长、氨基酸组成的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 1999.
- WEI W Z. Effects of temperature, salinity and feeds on the growth and amino acid composition of *Artemia* [D].

- Shanghai: Shanghai Ocean University, 1999.
- [24] 马婷, 韩朝婕, 柴英辉, 等. 环境因子对卤虫生长、体脂肪酸及抗氧化能力的影响[J]. 西南农业学报, 2020, 33(10): 2370-2377.
- MA T, HAN C J, CHAI Y H, et al. Effects of environmental factors on growth, body fatty acids and antioxidant capacity of *Artemia parthenogenetic* [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2020, 33(10): 2370-2377.
- [25] 陈慧聪, 焦焯磊, 王伟隆, 等. 基于UPLC对卤虫体内类胡萝卜素检测方法的建立[J]. 天津科技大学学报, 2022, 37(6): 9-17.
- CHEN H C, JIAO Y L, WANG W L, et al. Establishment of a method for carotenoid determination in *Artemia* sp. using UPLC[J]. Journal of Tianjin University of Science & Technology, 2022, 37(6): 9-17.
- [26] 焦焯磊, 陈慧聪, 黄旭雄, 等. 三产地卤虫卵及无节幼体类胡萝卜素含量的比较[J/OL]. 水产学杂志, 2023: 1-7 [2023-05-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/23.1363.S.20230215.1708.002.html>.
- JIAO Y L, CHEN H C, HUANG X X, et al. Comparison of carotenoid content in brine shrimp *Artemia* decapsulated cysts and nauplius from three locations [J]. Chinese Journal of Fisheries, 2023: 1-7 [2023-03-14]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/23.1363.S.20230215.1708.002.html>.
- [27] PRUVOST J, VAN VOOREN G, LE GOUIC B, et al. Systematic investigation of biomass and lipid productivity by microalgae in photobioreactors for biodiesel application [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(1): 150-158.
- [28] DUBOIS M, GILLES K A, HAMILTON J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. Analytical Chemistry, 1956, 28(3): 350-356.
- [29] LOWRY O, ROSEBROUGH N, FARR A L, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent[J]. Journal of Biological Chemistry, 1951, 193(1): 265-275.
- [30] 赵陆敏. 基于绿球藻、大型溞的猪场沼液净化及资源化利用的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2018.
- ZHAO L M. Study on purification and resource utilization of piggery biogas slurry based on *Chlorococcum* sp. and *Daphnia magna* Straus [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2018.
- [31] 张登浙, 刘其根. 饵料对卤虫生长和生殖的影响[J]. 上海水产大学学报, 2000, 9(2): 93-96.
- ZHANG D L, LIU Q G. Effects of the diets on growth and reproduction of *Artemia* sp. [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2000, 9(2): 93-96.
- [32] 徐恭昭, 郑澄伟, 宋立清. 卤虫的生态习性及其在养殖业上的应用前景[J]. 国外水产, 1979(3): 13-22.
- XU G Z, ZHENG C W, SONG L Q. The ecological habits of *Artemia* and its application prospect in aquaculture [J]. Foreign Aquatic, 1979(3): 13-22.
- [33] 柳光宇, 黄成. 卤虫幼体发育过程中消化酶的活性研究[J]. 大连水产学院学报, 2002(4): 331-335.
- LIU G Y, HUANG C. Digestive enzyme activities during larval development of *Artemia sinica* [J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2002(4): 331-335.
- [34] 茹文红. 饵料对卤虫生长及消化性能的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2018.
- RU W H. Effect of diets on growth and digestive performance of *Artemia parthenogenetica* [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2018.
- [35] 王照欣, 梁萌青, 卫育良, 等. 虾青素对凡纳滨对虾亲虾繁殖性能、抗氧化能力和免疫功能的影响[J]. 动物营养学报, 2023, 35(2): 1195-1205.
- WANG Z X, LIANG M Q, WEI Y L, et al. Effects of astaxanthin on reproductive performance, antioxidant capacity and immune function of *Litopenaeus vannamei* broodstock [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2023, 35(2): 1195-1205.
- [36] 申玉春, 陈作洲, 刘丽, 等. 盐度和营养对凡纳滨对虾蜕壳和生长的影响[J]. 水产学报, 2012, 36(2): 290-299.
- SHEN Y C, CHEN Z Z, LIU L, et al. The effects of salinity and nutrition on molt and growth of *Litopenaeus vannamei* [J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(2): 290-299.
- [37] THANGAL S H, NIVETHA M, MUTTHARASI C, et al. Effects of acidified seawater on biological and physiological responses of *Artemia Franciscana* [J]. Marine Pollution Bulletin, 2021, 169: 112476.
- [38] 贾沁贤, 庄玲, 周望舒, 等. 温度对中国卤虫(*Artemia sinica*)种群的影响[J]. 生态学报, 1995, 15(3): 312-318.
- JIA Q X, ZHUANG L, ZHOU W S, et al. Effects of temperature on the population of *Artemia sinica* [J]. Acta Ecologica Sinica, 1995, 15(3): 312-318.
- [39] 李亚南. 卤虫养殖技术的研究——提高渤海卤虫卵产量技术的初步研究及其用于水产养殖的营养评价[D]. 天津: 天津科技大学, 2004.
- LI Y N. Research on technology of *Artemia* culture——preliminary research on technology of improving production of Bohai *Artemia* cysts and evaluation of its nutritional value for aquaculture [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2004.
- [40] 周双林, 姜乃澄, 卢建平, 等. 甲壳动物渗透压调节的研究进展 I. 鳃的结构与功能及其影响因素[J]. 东海海洋, 2001, 19(1): 44-51.
- ZHOU S L, JIANG N C, LU J P, et al. Progress of the study on osmotic regulation in crustaceans I. The gill's structure and function and its' concerned factors [J].

- Journal of Marine Sciences, 2001, 19(1): 44-51.
- [41] VANHAECKE P, SIDDALL S E, SORGELOOS P. International study on *Artemia*. XXXII. Combined effects of temperature and salinity on the survival of *Artemia* of various geographical origin [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1984, 80(3): 259-275.
- [42] CROGHAN P C. The osmotic and ionic regulation of *Artemia salina* (L.) [J]. Journal of Experimental Biology, 1958, 35(1): 219-233.
- [43] MEDINA G R, GOENAGA J, HONTORIA F, et al. Effects of temperature and salinity on prereproductive life span and reproductive traits of two species of *Artemia* (Branchiopoda, Anostraca) from Argentina: *Artemia franciscana* and *A. persimilis* [J]. Hydrobiologia, 2007, 579(1): 41-53.
- [44] 黄东科, 梁华芳, 张志, 等. 温度对波纹龙虾存活、摄食、蜕壳和生长的影响[J]. 生态学报, 2017, 37(18): 5973-5980.
- HUANG D K, LIANG H F, ZHANG Z, et al. The effect of temperature on the survival, food intake, molting, and growth of *Panulirus homarus* [J]. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(18): 5973-5980.
- [45] WYBAN J, WALSH W A, GODIN D M. Temperature effects on growth, feeding rate and feed conversion of the Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) [J]. Aquaculture, 1995, 138(1/4): 267-279.
- [46] 周泽湘, 范文浩, 方刘, 等. 温度对克氏原螯虾幼虫生长、摄食及消化酶活性的影响[J]. 湖北农业科学, 2021, 60(20): 127-130.
- ZHOU Z X, FAN W H, FANG L, et al. Effects of temperature on the growth, feeding, and digestive enzyme activity of the juvenile red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2021, 60(20): 127-130.
- [47] 李笑, 曲艺, 张倩倩, 等. 海水酸化和热应激对日本鼓虾氧化应激和能量代谢的影响[J]. 海洋与湖沼, 2020, 51(6): 1412-1421.
- LI X, QU Y, ZHANG Q Q, et al. Effects of seawater acidification and thermal stress on the antioxidant responses and energy metabolism of *Alpheus japonicus* miers [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2020, 51(6): 1412-1421.
- [48] CHENG W, WANG L U, CHEN J C. Effect of water temperature on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* to *Vibrio alginolyticus* [J]. Aquaculture, 2005, 250(3/4): 592-601.
- [49] WANG F I, CHEN J C. Effect of salinity on the immune response of tiger shrimp *Penaeus monodon* and its susceptibility to *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2006, 20(5): 671-681.
- [50] 洪万树, 刘昌欣. 斑节对虾幼体发育的有效积温、生物学零度和耐温实验研究[J]. 福建水产, 1997(3): 1-6.
- HONG W S, LIU C X. Study on the effective accumulative temperature, biological zero degree and tolerance of temperature of the larva in the *Penaeus monodon* [J]. Journal of Fujian Fisheries, 1997(3): 1-6.
- [51] HSU W J, CHICHESTER C O, DAVIES B H. The metabolism of β -carotene and other carotenoids in the brine shrimp, *Artemia Salina* L. (Crustacea: Branchiopoda) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 1970, 32(1): 69-79.
- [52] WADE N M, GABAUDAN J, GLENCROSS B D. A review of carotenoid utilisation and function in crustacean aquaculture [J]. Reviews in Aquaculture, 2017, 9(2): 141-156.
- [53] CHEESMAN D F, LEE W L, ZAGALSKY P F. Carotenoproteins in invertebrates [J]. Biological Reviews, 1967, 42(1): 131-160.
- [54] DAVIES B H, HSU W, CHICHESTER C. The metabolism of carotenoids in the brine shrimp *Artemia salina* [J]. Biochemical Journal, 1965, 7(94): 26.
- [55] 陈慧聪. 卤虫体内 β -胡萝卜素代谢转化途径研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2022.
- CHEN H C. Study on the metabolic conversion pathway of β -carotene in *Artemia* sp. [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2022.
- [56] 姜思, 佟少明. 雨生红球藻虾青素合成研究进展[J]. 生物工程学报, 2019, 35(6): 988-997.
- JIANG S, TONG S M. Advances in astaxanthin biosynthesis in *Haematococcus pluvialis* [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2019, 35(6): 988-997.
- [57] 靳青, 毕宇霖, 刘晓牧, 等. 类胡萝卜素代谢及功能研究进展[J]. 动物营养学报, 2014, 26(12): 3561-3571.
- JIN Q, BI Y L, LIU X M, et al. Recent advances on research of carotenoid metabolism and functions [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2014, 26(12): 3561-3571.
- [58] PAITAL B, CHAINY G B N. Effects of salinity on O_2 consumption, ROS generation and oxidative stress status of gill mitochondria of the mud crab *Scylla serrata* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2012, 155(2): 228-237.
- [59] WANG X D, WANG S L, LI C, et al. Molecular pathway and gene responses of the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* to acute low salinity stress [J]. Journal of Shellfish Research, 2015, 34(3): 1037-1048.
- [60] WALRAND S, FARGES M C, DEHAESE O, et al. In vivo and in vitro evidences that carotenoids could modulate the neutrophil respiratory burst during dietary manipulation [J]. European Journal of Nutrition, 2005, 44(2): 114-120.

Effects of feeds on growth and carotenoids accumulation in *Artemia* at different temperatures and salinities

SHU Huang¹, XUE Yucui¹, HUANG Xuxiong^{1,2,3}

(1. Centre for Research on Environmental Ecology and Fish Nutrition (CREEFN) of the Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: In this paper, Spirulina powder, Yeast, Yeast + β -Carotene were used as feed to explore the effects of feed on the growth and carotenoids accumulation of *Artemia* at different temperatures (20°C, 25°C, 30°C) and salinities (10, 30, 50, 70, 90). The results showed that the survival rate and body length of *Artemia* fed with spirulina powder were better than those of other feed at the same temperature and salinity. On the 10th day, at 25°C, *Artemia* fed with spirulina powder and yeast had maximum average body length at salinity 30 (7.52 mm, 5.88 mm) ($P < 0.05$), while *Artemia* fed with yeast + β -carotene had the largest average body length (4.0 mm) at salinity 10 ($P < 0.05$). The average body length of *Artemia* in the 30°C group was significantly longer than that in the other temperature groups at salinity 50 ($P < 0.05$). On the 15th day, at 25°C, *Artemia* fed spirulina powder had the highest survival rate (93.7%) at salinity 30. At salinity 50, the survival rate of *Artemia* fed with spirulina powder in the 20°C group (94.0%) and 25°C group (92.0%) was significantly higher than that in the 30°C group ($P < 0.05$). The egg-holding rate of *Artemia* in each group fed with spirulina powder was significantly higher than that of other feed ($P < 0.05$), and gradually increased with the increases of salinity or temperature. After 15 days, the detection of carotenoids of *Artemia* showed that only echinenone and canthaxanthin were detected in each feed group, and β -carotene, β -cryptoxanthin, zeaxanthin and astaxanthin were not detected. The total carotenoid content of *Artemia* fed with spirulina powder was significantly higher than that of other groups ($P < 0.05$), and decreased with the increase of salinity, and the salinity 10 group was the highest (46.25 $\mu\text{g/g}$). With the increase of temperature, it first increased and then decreased, and 25°C group was the highest (46.28 $\mu\text{g/g}$). In conclusion, *Artemia* fed with Spirulina powder grew best, *Artemia* could convert β -carotene to echinenone and canthaxanthin, with the increase of temperature, the survival rate of *Artemia* decreases, which accelerates *Artemia* growth, sexual maturity and carotenoid metabolism. If the salinity is too high or too low, the survival rate and growth rate of *Artemia* will be reduced, but high salt can promote sexual maturity and deplete carotenoids in *Artemia*.

Key words: *Artemia* sp. ; temperature; salinity; feed; growth; carotenoids accumulation