

# 饲料中添加虾青素对锦鲤生长、体色、抗氧化能力和免疫力的影响

王军辉 熊建利 张东洋 任洪涛 张春暖\*

(河南科技大学动物科技学院, 洛阳 471003)

**摘要:** 本试验旨在研究不同添加量的虾青素对锦鲤生长、体色、抗氧化能力和免疫力的影响。将 540 尾红白锦鲤随机分为 6 组(每组 3 个重复,每个重复放 30 尾鱼),分别投喂虾青素添加量为 0(对照)、200、400、600、800 和 1 000 mg/kg 的饲料 8 周。结果显示:随着虾青素添加量的增加,锦鲤增重率和特定生长率先升高后降低,饲料系数先降低后升高,在 400 mg/kg 组饲料系数最低,增重率和特定生长率最高,与对照组差异显著( $P<0.05$ );200 和 400 mg/kg 组体色中的红度( $a^*$ )值显著高于对照组和 800 mg/kg 组( $P<0.05$ ),其他添加组与对照组并无显著差异( $P>0.05$ );体色中的黄度( $b^*$ )值和皮肤中类胡萝卜素含量随着虾青素添加量的增加呈先升高后降低的趋势,在 400 mg/kg 组达到最大,且显著高于对照组( $P<0.05$ );体色中的亮度( $L^*$ )值各组之间无显著差异( $P>0.05$ );400 mg/kg 组肝脏中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)活性以及血清中溶菌酶(LZM)、酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)活性以及补体 3(C3)、补体 4(C4)含量均最高,且显著高于对照组和 1 000 mg/kg 组(除 ACP 活性)( $P<0.05$ );400 和 600 mg/kg 组肝脏总抗氧化能力(T-AOC)显著高于对照组以及 800 和 1 000 mg/kg 组( $P<0.05$ );肝脏丙二醛(MDA)含量则在 400 mg/kg 组最低,且 200、400、600 mg/kg 组显著低于对照组( $P<0.05$ )。由此得出,在饲料中添加适量的虾青素可提高锦鲤的生长性能,有效改善体色,增强肝脏抗氧化能力和机体免疫力;综合分析各指标,推荐锦鲤饲料中虾青素的添加量为 400 mg/kg。

**关键词:** 虾青素;锦鲤;体色;免疫;抗氧化

**中图分类号:** S963

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1006-267X(2019)09-4144-08

锦鲤(*Cyprinus carpio* L.)体色鲜艳,体态变幻多姿,是一种观赏价值较高的鱼类,被誉为“水中活宝石”,并具备适应性强、易饲养、抗应激和抗病力强、喜欢与人亲近等优点,受到人们的青睐。目前的人工养殖条件下,锦鲤饲料中的类胡萝卜素含量不足,体色鲜艳度有待提高;另外,大规模、高密度养殖,使其抗病力有所下降。因此如何提高锦鲤体色和健康状况是研究者有待解决的问题之一。

虾青素(astaxanthin)又名虾黄质或虾黄素,是脂溶性红色素(类胡萝卜素着色剂)的一种,有改善水产动物体色的作用<sup>[1-4]</sup>,在鱼类<sup>[5]</sup>、虾<sup>[6]</sup>和蟹<sup>[7]</sup>方面都有相关的报道。虾青素在藻类、水生动物、酵母和细菌等生物群体中广泛存在,还具有促生长、抗氧化、清除自由基、提高机体免疫和抗肿瘤的功能<sup>[8-9]</sup>,因此虾青素在水产养殖中有广阔的应用前景。但虾青素价格昂贵,因此,合理利用虾青素,改善养殖动物体色和健康状况是目前研

收稿日期:2019-02-14

基金项目:河南科技大学大学生研究训练计划(SRTP)项目(2019401);河南省教育厅高校重点项目(17020014)

作者简介:王军辉(1986—),男,河南周口人,硕士研究生,从事水产动物营养与饲料的研究。E-mail: 657509149@qq.com

\* 通信作者:张春暖,讲师,E-mail: zhangchunnuan12@163.com

究者关注的焦点。

体色是体现观赏鱼品质的一个重要方面,基因是决定鱼类体色的主要因素,另外,黑色素(黑色)、鸟嘌呤(白色)、类胡萝卜素(红或黄色)和喋呤(黄色)等物质在神经和激素的调控下对体色也有重要的调控作用<sup>[10]</sup>。其中,类胡萝卜素作为体色的主要色素群,是目前研究的主要对象。然而,鱼类本身无法合成类胡萝卜素,只能从食物中吸收或转化获得。目前,用添加着色剂的方法来改善观赏鱼体色已得到人们的认同,这也是有效可行的方法<sup>[11]</sup>。本试验以锦鲤为研究对象,在饲料中添加不同水平的虾青素,检测其对锦鲤生长、体色、抗氧化能力和免疫力的影响,为虾青素在观赏鱼饲料中的合理应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验饲料

试验用基础饲料组成及营养水平见表1。分别在基础饲料中加入0、200、400、600、800和1 000 mg/kg虾青素(虾青素购自云南爱尔发生物技术有限公司),配制成6种试验饲料。首先将大宗饲料原料充分混合,然后将虾青素采取逐级扩大法加入到充分混合的饲料中,再加入鱼油、豆油和足够的水分,在制粒机上制成粒径为2 mm的颗粒饲料,保存于4℃冰箱备用。

表1 基础饲料组成及营养水平

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet

项目 Items	含量 Content
%	
原料(风干基础)Ingredients (air-dry basis)	
鱼粉 Fish meal	6.0
豆粕 Soybean meal	32.0
棉籽粕 Cottonseed meal	16.0
菜籽粕 Rapeseed meal	16.0
豆油 Soybean oil	2.0
鱼油 Fish oil	2.0
麸皮 Wheat bran	5.0
面粉 Wheat flour	18.0
磷酸二氢钙 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	1.8
预混料 Premix	1.0
食盐 NaCl	0.2
合计 Total	100.0

续表1

项目 Items	含量 Content
营养水平(干物质基础) Nutrient levels (DM basis)	
粗蛋白质 CP	32.48
粗脂肪 EE	6.72
粗灰分 Ash	4.73

每千克预混料含有 Contained the following per kilogram of the premix:  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  2.0 g,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  25 g,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  22 g,  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  7 g,  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  0.04 g, KI 0.026 g,  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.1 g, VA 900 000 IU, VD 200 000 IU, VE 45 00 g,  $\text{VK}_3$  220 mg,  $\text{VB}_1$  320 mg,  $\text{VB}_2$  1 090 mg,  $\text{VB}_3$  2 000 mg,  $\text{VB}_6$  500 mg,  $\text{VB}_{12}$  1.6 mg, VC 5 000 mg, 泛酸 pantothenate 1 000 mg, 叶酸 folic acid 165 mg, 胆碱 choline 60 000 mg。

### 1.2 饲养管理

试验用红白锦鲤由洛阳李楼镇一养殖场提供。选择体格健壮的锦鲤540尾,初重为(10.2±0.3)g,实验室条件下暂养2周,暂养期间投喂基础饲料,驯化2周后,将试验鱼随机分为6组,每组3个重复,每个重复放养30尾鱼,以重复为单位放养于玻璃缸(长×宽×高:60 cm×35 cm×40 cm)中。6组试验鱼分别投喂虾青素添加量为0(对照)、200、400、600、800和1 000 mg/kg的试验饲料,持续投喂8周。试验用水是经曝气的自来水,水中溶氧浓度>5 mg/L, pH 7.3±0.3,氨氮和亚硝酸盐含量均小于1 mg/L,按14 h:10 h(光照:黑暗)的周期提供光照,每天投喂2次(08:00、17:00),日投喂量为鱼体重的3%~5%,根据具体摄食情况进行调节,每天换水1次,换水量为总水量的1/4,饲养期间保持水温(25±1)℃。

### 1.3 样品采集

养殖试验结束后,试验鱼饥饿24 h后用浓度为100 mg/L的MS-222进行麻醉处理,数出每个缸中鱼的总数并称其总重,计算其生长性能;随机从每缸中取6尾鱼,尾静脉抽血,放入用肝素钠润过的离心管中,静止4 h后用离心机在4℃、3 000×g下离心10 min,吸取上清液于-80℃保存,备测血清免疫指标;采完血后,快速分离6尾鱼的皮肤和肝脏,充分清洗干净后,用滤纸吸干,于-80℃保存。

### 1.4 指标测定

#### 1.4.1 饲料营养成分分析

饲料中水分含量采用105℃烘干恒重法测

定,粗蛋白质含量采用凯氏定氮仪(Foss,瑞士)测定,粗脂肪含量采用索氏抽提器(Buchi公司,瑞士)测定,粗灰分含量采用马弗炉550℃灼烧法测定。

#### 1.4.2 生长性能

$$\text{增重率}(\text{weight gain rate, WGR, \%}) = 100 \times (W_f - W_i) / W_i;$$

$$\text{特定生长率}(\text{specific growth rate, SGR, \% / d}) = 100 \times (\ln W_f - \ln W_i) / t;$$

$$\text{饲料系数}(\text{feed conversion ratio, FCR}) = F / (W_f - W_i);$$

$$\text{成活率}(\text{survival rate, SR \%}) = 100 \times N_f / N_i。$$

式中: $W_f$ 为末重(g); $W_i$ 为初重(g); $t$ 为试验天数(d); $F$ 为摄食量(g); $N_f$ 为试验结束时每缸鱼的总数; $N_i$ 为试验开始时每缸鱼的总数。

#### 1.4.3 体色

先用吸水纸吸干鱼体表面的水分,将色差计(GEB-104 Pantone Color-Cue)的探头紧贴试验鱼体表的红斑处,测定各组中每尾鱼体表的亮度( $L^*$ )、红度( $a^*$ )、黄度( $b^*$ )值,其中 $L^*$ 值决定了颜色的明亮度, $a^*$ 、 $b^*$ 值表示鱼体颜色的状态<sup>[12]</sup>。

#### 1.4.4 皮肤类胡萝卜素含量

皮肤中类胡萝卜素含量的测定参考陈晓明等<sup>[11]</sup>的方法,具体如下:准确称取新鲜皮肤0.1g,用剪刀剪碎,加丙酮至5mL,放入超声波清洗机中振荡40min后取出,放入离心机4000r/min离心10min,将离心液在4℃冰箱中放置24h,将所得的含有色素的萃取液置于1cm的比色皿中,以丙酮为空白对照管,在紫外-可见分光光度计的200~800nm波长范围内进行扫描,找出最大吸收峰所处的波长,在该波长下测定各组色素萃取液的吸光度值。

$$\text{类胡萝卜素含量}(\text{mg/kg}) = (A \times K \times V) / (E \times G)。$$

式中: $A$ 为吸光度值; $K$ 为常数( $10^4$ ); $V$ 为提取液体积(mL); $E$ 为摩尔消光系数(2500); $G$ 为样品重量(g)。

#### 1.4.5 肝脏抗氧化指标

称取大约0.2g肝脏,以0.85%冰生理盐水按1:4(重量:体积)的比例制成20%的组织匀浆液,3000×g离心10min,取上清液-20℃保存备用。

肝脏中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)、过氧化氢酶(CAT)活性及总抗氧化能力(T-AOC)和丙二醛(MDA)含量均采用南京建成生物研究所生产的试剂盒测定,具体操作步骤详见说明书。肝脏中蛋白质含量采用考马斯亮蓝试剂盒进行测定。

#### 1.4.6 血清免疫指标测定

血清溶菌酶(LZM)活性采用浊度比色法测定,酸性磷酸酶(ACP)和碱性磷酸酶(AKP)活性采用对硝基酚磷酸钠法测定,补体3(C3)和补体4(C4)含量采用酶联免疫吸附测定法测定,以上指标测定所用试剂盒均购自南京建成生物工程研究所,详细操作步骤见说明书。

### 1.5 统计分析

试验数据用平均值±标准差(mean±SE)表示。使用SPSS 17.0软件进行统计分析,采用单因素方差分析(one-way ANOVA)和Duncan氏法检验组间差异显著性,以 $P < 0.05$ 表示差异显著。

## 2 结果

### 2.1 不同添加量的虾青素对锦鲤生长性能的影响

由表2可知,饲养8周后,投喂添加不同水平的虾青素的饲料,末重、增重率和特定生长率均随着虾青素添加量的增加呈先升高后降低的趋势,且均在虾青素添加量为400mg/kg组达到最大值,且该组显著高于对照组( $P < 0.05$ ),而其他虾青素添加组则与对照组差异不显著( $P > 0.05$ );400mg/kg组饲料系数显著低于对照组( $P < 0.05$ ),而其他虾青素添加组则与对照组差异不显著( $P > 0.05$ );成活率各组间差异不显著( $P > 0.05$ )。

### 2.2 不同添加量的虾青素对锦鲤体色和皮肤中类胡萝卜素含量的影响

由表3可知,饲养8周后,各组皮肤 $L^*$ 值无显著差异( $P > 0.05$ );200和400mg/kg组皮肤 $a^*$ 值显著高于对照组和800mg/kg组( $P < 0.05$ ),其他虾青素添加组与对照组并无显著差异( $P > 0.05$ );皮肤 $b^*$ 值和类胡萝卜素含量随着虾青素添加量的增加呈先升高后降低的趋势,在400mg/kg组达到最大,且显著高于对照组( $P < 0.05$ ),其他虾青素添加组与对照组并无显著差异( $P > 0.05$ )。

表 2 不同添加量的虾青素对锦鲤生长性能的影响

Table 2 Effects of different supplemental levels of astaxanthin on growth performance of koi carp

虾青素添加量 Astaxanthin supplemental levels/(mg/kg)	初重 IBW/g	末重 FBW/g	增重率 WGR/%	特定生长率 SGR/(%/d)	饲料系数 FCR	成活率 SR/%
0	7.07±0.28	14.87±0.88 <sup>b</sup>	109.92±13.45 <sup>b</sup>	1.32±0.12 <sup>b</sup>	2.21±0.29 <sup>a</sup>	95.56±2.94
200	7.06±0.10	17.46±0.69 <sup>ab</sup>	147.51±12.15 <sup>ab</sup>	1.61±0.09 <sup>ab</sup>	1.62±0.13 <sup>ab</sup>	98.89±1.11
400	7.03±0.12	19.24±0.65 <sup>a</sup>	173.49±6.76 <sup>a</sup>	1.79±0.04 <sup>a</sup>	1.37±0.07 <sup>b</sup>	100.00±0.00
600	7.14±0.39	17.01±1.17 <sup>ab</sup>	139.71±21.99 <sup>ab</sup>	1.55±0.16 <sup>ab</sup>	1.74±0.21 <sup>ab</sup>	98.89±1.11
800	7.18±0.21	16.46±1.44 <sup>ab</sup>	130.79±26.90 <sup>ab</sup>	1.47±0.21 <sup>ab</sup>	1.91±0.34 <sup>ab</sup>	96.67±1.92
1 000	7.09±0.10	15.14±0.60 <sup>b</sup>	115.25±14.44 <sup>ab</sup>	1.36±0.12 <sup>ab</sup>	2.11±0.22 <sup>ab</sup>	96.67±1.92

同列数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著 ( $P>0.05$ ), 不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。下表同。

Values in the same column with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference ( $P>0.05$ ), while with different small letter superscripts mean significant difference ( $P<0.05$ ). The same as below.

表 3 不同添加量的虾青素对锦鲤体色和皮肤中类胡萝卜素含量的影响

Table 3 Effects of different supplemental levels of astaxanthin on body color and carotenoid content in skin of koi carp

虾青素添加量 Astaxanthin supplemental levels/(mg/kg)	亮度 L*	红度 a*	黄度 b*	类胡萝卜素 Carotenoid
0	39.98±2.24	17.38±1.01 <sup>b</sup>	52.33±3.11 <sup>b</sup>	44.03±1.05 <sup>b</sup>
200	41.72±1.58	21.90±0.76 <sup>a</sup>	59.52±2.06 <sup>ab</sup>	47.20±1.99 <sup>ab</sup>
400	42.11±0.89	21.94±1.69 <sup>a</sup>	66.27±2.52 <sup>a</sup>	56.29±3.41 <sup>a</sup>
600	40.44±2.48	19.34±0.98 <sup>ab</sup>	57.74±2.41 <sup>ab</sup>	48.81±4.96 <sup>ab</sup>
800	40.47±2.17	17.47±1.04 <sup>b</sup>	54.15±6.80 <sup>ab</sup>	47.94±3.56 <sup>ab</sup>
1 000	41.58±2.97	17.85±1.79 <sup>ab</sup>	58.50±4.38 <sup>ab</sup>	48.76±2.14 <sup>ab</sup>

### 2.3 不同添加量的虾青素对锦鲤肝脏抗氧化指标的影响

由表 4 可知, 肝脏中 SOD、CAT 和 GPx 活性在 400 mg/kg 组最高, 显著高于对照组以及 200、800、1 000 mg/kg 组 ( $P<0.05$ ), 而上述指标在后面这几组之间差异并不显著 ( $P>0.05$ ); 肝脏 T-AOC 随着虾青素添加量的增加呈先升高后降低的趋势, 且在 400 mg/kg 组达到最大, 400 和 600 mg/kg 组显著高于对照组以及 800、1 000 mg/kg 组 ( $P<0.05$ ), 对照组以及 800、1 000 mg/kg 组之间并无显著差异 ( $P>0.05$ ); 肝脏中 MDA 含量随着虾青素添加量的增加呈先下降后上升的趋势, 在 400 mg/kg 组达到最低, 200、400、600 mg/kg 组显著低于对照组 ( $P<0.05$ ), 800、1 000 mg/kg 组与对照组无显著差异 ( $P>0.05$ )。

### 2.4 不同添加量的虾青素对锦鲤血清免疫指标的影响

由表 5 可知, 血清 LZM、ACP、AKP 活性以及

C3、C4 含量均随着虾青素添加量的增加呈先升高后降低的趋势, 并均在虾青素添加量为 400 mg/kg 时有最大值, 且该组显著高于对照组和 1 000 mg/kg 组 (除 ACP 活性) ( $P<0.05$ )。

## 3 讨论

已有研究报道了虾青素对鱼类的促生长作用。对虹鳟<sup>[2]</sup>和大西洋鲑 (*Salmo salar*)<sup>[13]</sup> 的研究得出, 饲料中加入适量的虾青素能显著提高试验鱼的生长性能。Zařková 等<sup>[14]</sup> 报道, 瓯鲶 (*Silurus glanis*) 摄食富含虾青素的微藻饲料后, 其特定生长率能提高 11%~58%。温为庚等<sup>[15]</sup> 报道, 在斑节对虾饲料中添加适量虾青素能显著提高增重率和特定生长率。虾青素能促生长的原因可能是因为虾青素能够促进机体维生素 A 的蓄积<sup>[13]</sup>, 而维生素 A 作为鱼类生长发育和正常生理功能必不可缺少的微量元素之一<sup>[16]</sup>, 对鱼类生长有促进作用。本试验结果表明, 饲料中添加一定量的虾青素对

锦鲤有一定的促生长作用,但是添加过量的虾青素后,锦鲤的生长性能并无显著增加,这可能是由于过量的虾青素会导致鱼体代谢增强,从而把多

余的营养物质排出体外,额外耗费鱼体体能,导致虾青素添加量过多并不能有效地促进锦鲤生长。

表 4 不同添加量的虾青素对锦鲤肝脏抗氧化指标的影响

Table 4 Effects of different supplemental levels of astaxanthin on liver antioxidant indexes of koi carp

虾青素添加量 Astaxanthin supplemental levels/(mg/kg)	超氧化物歧化酶 SOD/ (U/mg prot)	过氧化物酶 CAT/ (U/mg prot)	谷胱甘肽 过氧化物酶 GPx/(U/mg prot)	总抗氧化能力 T-AOC/ (U/mg prot)	丙二醛 MDA/ (nmol/mg prot)
0	62.70±1.25 <sup>c</sup>	9.95±0.19 <sup>b</sup>	27.14±0.54 <sup>c</sup>	21.42±0.58 <sup>c</sup>	8.10±0.49 <sup>a</sup>
200	72.28±1.10 <sup>bc</sup>	10.80±0.51 <sup>b</sup>	30.96±1.15 <sup>bc</sup>	24.58±0.70 <sup>ab</sup>	6.54±0.66 <sup>bc</sup>
400	83.94±2.30 <sup>a</sup>	13.32±0.37 <sup>a</sup>	36.34±1.00 <sup>a</sup>	27.11±0.75 <sup>a</sup>	5.16±0.45 <sup>c</sup>
600	81.04±5.05 <sup>ab</sup>	12.86±0.80 <sup>a</sup>	35.42±1.91 <sup>ab</sup>	26.82±1.67 <sup>a</sup>	6.25±0.21 <sup>bc</sup>
800	63.54±4.35 <sup>c</sup>	11.08±0.59 <sup>b</sup>	30.84±2.11 <sup>bc</sup>	22.69±0.57 <sup>bc</sup>	7.17±0.23 <sup>ab</sup>
1 000	61.59±3.73 <sup>c</sup>	10.11±0.35 <sup>b</sup>	30.00±2.11 <sup>c</sup>	22.05±0.88 <sup>bc</sup>	7.34±0.59 <sup>ab</sup>

表 5 不同添加量的虾青素对锦鲤血清免疫指标的影响

Table 5 Effects of different supplemental levels of astaxanthin on serum immune indexes of koi carp

虾青素添加量 Astaxanthin supplemental levels/(mg/kg)	溶菌酶 LZM/(U/mL)	补体 3 C3/(μg/mL)	补体 4 C4/(μg/mL)	酸性磷酸酶 ACP/(U/L)	碱性磷酸酶 AKP/(U/L)
0	78.78±5.41 <sup>b</sup>	25.20±1.19 <sup>b</sup>	12.42±0.49 <sup>b</sup>	20.42±1.84 <sup>b</sup>	16.06±1.26 <sup>b</sup>
200	83.26±3.21 <sup>b</sup>	27.60±1.10 <sup>b</sup>	14.61±1.2 <sup>ab</sup>	25.03±1.38 <sup>ab</sup>	19.77±0.98 <sup>ab</sup>
400	99.93±3.96 <sup>a</sup>	32.12±2.23 <sup>a</sup>	18.19±0.33 <sup>a</sup>	27.85±0.69 <sup>a</sup>	22.32±0.93 <sup>a</sup>
600	86.32±3.19 <sup>ab</sup>	28.88±0.79 <sup>ab</sup>	13.84±2.18 <sup>ab</sup>	23.98±2.53 <sup>ab</sup>	19.14±1.67 <sup>ab</sup>
800	80.26±5.31 <sup>b</sup>	27.99±1.45 <sup>ab</sup>	14.29±1.79 <sup>ab</sup>	22.78±3.22 <sup>ab</sup>	18.34±2.05 <sup>ab</sup>
1 000	78.84±5.32 <sup>b</sup>	26.22±0.91 <sup>b</sup>	10.89±1.33 <sup>b</sup>	21.10±1.92 <sup>ab</sup>	16.46±0.86 <sup>b</sup>

虾青素作为鱼虾体色中红色系的主要色素,饲料中添加虾青素对鱼类可以起到增色效果,另外,它作为胡萝卜素合成的终点,能够与肌红蛋白结合,从而改善鱼类体色。Yi 等<sup>[17]</sup>对大黄鱼的研究得出,在饲料中添加 90 mg/kg 虾青素,皮肤中类胡萝卜素的含量显著增加,有效地改善了大黄鱼的体色。王锐等<sup>[18]</sup>研究报道,红剑尾鱼、丽鱼和金鱼摄食添加量为 30 mg/kg 虾青素的饲料,鱼体色素沉积量显著增加,观赏价值得到提高。崔培等<sup>[19]</sup>报道,在锦鲤饲料中添加虾青素可改变其体色。本试验结果表明,饲料中添加一定量的虾青素对锦鲤具有着色效果,体色鲜艳程度在一定范围内和饲料中虾青素添加量呈正相关,当添加量为 400 mg/kg 时,锦鲤皮肤的增色效果最好,超过一定的添加量后,体色中的 a\* 和 b\* 值以及皮肤中胡萝卜素含量均降低。虾青素在饲料中的添加量过低时,类胡萝卜素很有可能在消化吸收过程中

代谢掉,达不到着色功能,当鱼体吸收的类胡萝卜素超标时,脂蛋白载体或其受体可能会被饱和而受到抑制,因此,只有在饲料中添加适量的类胡萝卜素才能达到较好的着色效果。有研究报道指出,血鸚鵡皮肤中类胡萝卜素的沉积量随着饲料中虾青素添加量的增加在一定范围内呈显著增加,但是虾青素添加量达到 500 mg/kg 后,胡萝卜素沉积量的变化不再显著<sup>[4]</sup>。冷向军等<sup>[20]</sup>研究表明饲料中的虾青素可以直接贮存于体内,因此在饲料中添加适量的虾青素使得皮肤中类胡萝卜素的含量升高。但是鱼体色素的沉积量并非与饲料中色素添加量成正比,当达到一定的限度后,鱼体色素的沉积量反而会与饲料中色素添加量成反比例下降;另外,养殖品种、鱼体大小以及养殖环境均会影响虾青素的在饲料中的添加量,本试验条件下,建议锦鲤饲料中虾青素的添加量为 400 mg/kg。

正常状态下,机体的抗氧化系统本身具有清除氧自由基的能力,鱼体内的抗氧化酶主要包括SOD、CAT和GPx等。其中SOD能够催化超氧阴离子自由基生成过氧化氢,从而清除超氧阴离子自由基,而CAT可以催化过氧化氢生成水和氧气。虾青素作为一种消除超氧阴离子自由基的物质,这与它独特的分子结构有关,其抗氧化能力比 $\beta$ -类胡萝卜素和维生素E更强、更有效。已有很多研究报道了虾青素的抗氧化功能。崔惟东等<sup>[21]</sup>研究指出,在虹鳟饲料中添加适量的虾青素和角黄素均能提高其肝脏T-AOC。Wang等<sup>[22]</sup>研究指出,脂鲤摄食添加一定量虾青素的饲料后血清中抗氧化酶的活性有显著升高。李建光等<sup>[23]</sup>研究发现,饲料中添加虾青素能够增强锦鲤的肝脏T-AOC。本研究结果显示,饲料中添加一定量的虾青素可以显著提高金立肝脏中SOD、CAT、GPx活性和T-AOC,并降低MDA的含量。MDA是脂质过氧化的反应产物,其在机体中的积累程度可以反映机体过氧化受损状况。本研究结果表明虾青素有较高的抗氧化功能,能清除氧自由基,防止机体受损。这是由于虾青素中具有不饱和酮基、较长共轭双键和羟基,这些结构使其具有清除自由基的能力,从而阻止机体免受自由基地损伤。Lee等<sup>[24]</sup>研究表明虾青素的抗氧化功能与其结构中的共轭键数目成正比。

大量研究表明虾青素有增强机体免疫力的功效。血清LZM活性是反映机体体液免疫的重要指标,其存在鱼类的皮肤、血清和各个组织器官中,对于对抗各种病原体的入侵具有重要意义<sup>[25]</sup>。ACP和AKP是机体内重要的磷酸酶,在参与机体的代谢和免疫方面发挥着重要作用<sup>[26]</sup>。C3、C4对机体的免疫调节也起到重要作用。本试验结果得出,饲料中添加适量的虾青素能够提高锦鲤血清LZM、ACP、AKP活性以及C3、C4含量,进而增强机体的免疫力。已有研究得出,在饲料中添加适量的万寿菊粉和虾青素后,狮子头金鱼的各项免疫指标均有所提升<sup>[27]</sup>。温为庚等<sup>[15]</sup>研究指出,饲料中添加虾青素能显著提高斑节对虾的免疫指标。对中华原螯蟹的研究得出,虾青素显著提高了其血液中ACP和AKP的活性<sup>[28]</sup>。虾青素能够增强机体免疫的原因可能有:1)类胡萝卜素能增强免疫细胞比如B细胞的活力,从而增强机体消灭外源病原体侵袭的能力;2)类胡萝卜素能增加

自然杀伤细胞的数目,增强机体消除被感染的细胞的能力;3)类胡萝卜素能提高免疫系统中某些组分的活性,并协助细胞产生抗体。Okai等<sup>[29]</sup>研究指出,虾青素能够提高小鼠血液中免疫球蛋白的含量,增强小鼠的免疫力,但是过量的虾青素并未起到免疫增强的效果,这可能是因为在饲料中过量的虾青素可能会导致体内维生素A的合成过多,从而对机体产生毒性作用,类似的研究报道在中华绒螯蟹<sup>[28]</sup>、大鼠<sup>[30]</sup>上都有研究,本研究也得到相似结论。

## 4 结论

在本试验条件下,饲料中添加适量的虾青素可提高锦鲤的生长性能,改善体色和皮肤中类胡萝卜素的含量,增强肝脏抗氧化能力和机体免疫力,推荐锦鲤饲料中虾青素的添加量为400 mg/kg。

## 参考文献:

- [1] 崔培,姜志强,王雪,等.不同蛋白水平的虾青素饲料对锦鲤体色、生长及免疫的影响[J].上海海洋大学学报,2012,21(3):382-388.
- [2] PAGE G, DAVIES S. Tissue astaxanthin and canthaxanthin distribution in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2006, 143(1): 125-132.
- [3] 朱艺峰,麦康森.鱼饲料着色剂类胡萝卜素研究进展[J].水生生物学报,2003,27(2):196-200.
- [4] 张晓红,吴锐全,王海英,等.虾青素与螺旋藻对血鸚鵡体色的影响[J].大连水产学院学报,2009,24(1):79-82.
- [5] BOONYAPAKDEE A, POOTANGON Y, LAUDADIO V, et al. Astaxanthin extraction from golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) eggs to enhance colours in fancy carp (*Cyprinus carpio*) [J]. Journal of Applied Animal Research, 2015, 43(3): 291-294.
- [6] WANG W L, ISHIKAWA M, KOSHIO S, et al. Effects of dietary astaxanthin and vitamin E and their interactions on the growth performance, pigmentation, digestive enzyme activity of kuruma shrimp (*Marsupenaeus japonicus*) [J]. Aquaculture Research, 2019, 50(4): 1186-1197.
- [7] HAN T, LI X Y, WANG J T, et al. Effects of dietary

- astaxanthin (AX) supplementation on pigmentation, antioxidant capacity and nutritional value of swimming crab, *Portunus trituberculatus* [J]. *Aquaculture*, 2018, 490:169-177.
- [ 8 ] 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.
- [ 9 ] YI X W, XU W, ZHOU H H, et al. Effects of dietary astaxanthin and xanthophylls on the growth and skin pigmentation of large yellow croaker *Larimichthys croceus* [J]. *Aquaculture*, 2014, 433:377-383.
- [ 10 ] 张春兰,赵文,徐立蒲,等.微生物制剂和着色剂对锦鲤体色的影响[J].大连海洋大学学报,2011,26(4):328-332.
- [ 11 ] 陈晓明,徐学明,金征宇.富含虾青素的法夫酵母对金鱼体色的影响[J].中国水产科学,2004,11(1):70-73.
- [ 12 ] AGATSUMA Y. Aquaculture of the sea urchin (*Strongylocentrotus nudus*) transplanted from coral-line flats in Hokkaido, Japan [J]. *Journal of Shellfish Research*, 1998, 17(5):1541-1547.
- [ 13 ] CHRISTIANSEN R, TORRISSEN O J. Growth and survival of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. fed different dietary levels of astaxanthin. Juveniles [J]. *Aquaculture Nutrition*, 1996, 2(1):55-62.
- [ 14 ] ZAŤKOVÁ I, SERGEJEVOVÁ M, URBAN J, et al. Carotenoid-enriched microalgal biomass as feed supplement for freshwater ornamentals: albinic form of wels catfish (*Silurus glanis*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2011, 17(3):278-286.
- [ 15 ] 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.
- [ 16 ] 罗刚.鱼类维生素营养研究概况[J].贵州畜牧兽医,2009,33(2):18-19.
- [ 17 ] YI X, SHEN H, LI J, et al. Effects of dietary vitamin E and astaxanthin on growth, skin colour and antioxidative capacity of large yellow croaker *Larimichthys crocea* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2018, 24(1):472-480.
- [ 18 ] 王锐,费小红.四种增色剂在观赏鱼中应用的研究[J].北京水产,2005(4):37-38.
- [ 19 ] 崔培,周文礼,刘芳,等.虾青素对红白锦鲤体色、生长的影响[J].水产科技情报,2013,40(1):37-40.
- [ 20 ] 冷向军,李小勤.水产动物着色的研究进展[J].水产学报,2006,30(1):138-143.
- [ 21 ] 崔惟东,冷向军,李小勤,等.虾青素和角黄素对虹鳟肌肉着色和肝脏总抗氧化能力的影响[J].水产学报,2009,33(6):987-995.
- [ 22 ] WANG Y J, CHEN Y H, PAN C H. Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hypessobrycon callistus* [J]. *Aquaculture*, 2006, 261(2):641-648.
- [ 23 ] 李建光,胡世然,刘霆,等.四种增色剂对锦鲤的生长、形体、体色和抗氧化能力的影响[J].中国饲料,2009(16):33-36,40.
- [ 24 ] LEE S H, MIN D B. Effects, quenching mechanisms, and kinetics of carotenoids in chlorophyll-sensitized photooxidation of soybean oil [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1990, 38(8):1630-1634.
- [ 25 ] GRINDE B, LIE Ø, POPPE T, et al. Species and individual variation in lysozyme activity in fish of interest in aquaculture [J]. *Aquaculture*, 1988, 68(4):299-304.
- [ 26 ] 崔培,刘芳,杨广,等.虾青素对锦鲤血液及抗氧化指标的影响[J].东北农业大学学报,2013,44(3):89-94.
- [ 27 ] 曲木,张宝龙,于恩浩,等.虾青素、万寿菊粉对狮子头金鱼生长、血液指标及免疫力的影响[J].生物化工,2018,4(5):45-50.
- [ 28 ] 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].水生生物学报,2017,41(4):755-765.
- [ 29 ] OKAI Y, HIGASHI-OKAI K. Possible immunomodulating activities of carotenoids in *in vitro* cell culture experiments [J]. *International Journal of Immunopharmacology*, 1996, 18(12):753-758.
- [ 30 ] HILLGARTNER F B, MORIN D, HANSEN R J. Effect of excessive vitamin A intake on muscle protein turnover in the rat [J]. *The Biochemical Journal*, 1982, 202(2):499-508.

## Effects of Astaxanthin Supplementation on Growth, Body Color, Antioxidant Capability and Immunity of Kio Carp (*Cyprinus carpio* L.)

WANG Junhui XIONG Jianli ZHANG Dongyang REN Hongtao ZHANG Chunnuan\*

(College of Animal Science and Technology, Henan University of Scientific and Technology, Luoyang 471003, China)

**Abstract:** The aim of the present study was to investigate the effects of different supplemental levels of astaxanthin on growth, body color, antioxidant capability and immunity of kio carp (*Cyprinus carpio* L.). A total of 540 red-white koi carp were randomly distributed into 6 groups with 3 replicates per group and 30 fish per replicate. Fish in the six groups were fed diets containing 0 (control), 200, 400, 600, 800 and 1 000 mg/kg astaxanthin for 8 weeks, respectively. The results showed that the weight gain rate (WGR) and specific growth rate (SGR) increased firstly and then decreased with the supplemental level of astaxanthin increasing, while the feed conversion rate (FCR) showed the opposite trend. Fish fed the diet containing 400 mg/kg astaxanthin showed the lowest FCR and highest WGR and SGR, which were significantly higher than those in control group ( $P < 0.05$ ). The redness ( $a^*$ ) value of body color in 200 and 400 mg/kg groups was significantly higher than that in control group and 800 mg/kg group ( $P < 0.05$ ). However, there was no significant difference between control group and other supplementation groups ( $P > 0.05$ ). The yellowness ( $b^*$ ) value of body color and the content of carotenoid in skin were firstly increased and then decreased with the supplemental level of astaxanthin increasing, the 400 mg/kg group showed the highest value and it was significantly higher than that in control group ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in the lightness ( $L^*$ ) value of body color among groups ( $P > 0.05$ ). Fish fed 400 mg/kg astaxanthin had the highest values of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) activities in liver and lysozyme (LZM), acid phosphatase (ACP), alkaline phosphatase (AKP) activities and complement 3 (C3), complement 4 (C4) contents in serum, which were significantly higher than those in control group and 1 000 mg/kg group (except of ACP activity) ( $P < 0.05$ ). Liver total antioxidant capacity (T-AOC) in 400 and 600 mg/kg groups was significantly higher than that in control group and 800, 1 000 mg/kg groups ( $P < 0.05$ ). However, the liver malondialdehyde (MDA) content showed the lowest value in 400 mg/kg group, and it in 200, 400 and 600 mg/kg groups was significantly lower than that in control group ( $P < 0.05$ ). Those results demonstrate that the diet supplemented with appropriate amount of astaxanthin can increase the growth performance, effectively improve the body color, and enhance the liver antioxidant capability and immunity of kio carp. By comprehensive comparison, the astaxanthin supplemental level of 400 mg/kg is recommended in the diet of kio carp. [Chinese Journal of Animal Nutrition, 2019, 31(9):4144-4151]

**Key words:** astaxanthin; kio carp (*Cyprinus carpio* L.); body color; immune; antioxidant