Zou Y Y, Liu H K, Chen J, *et al*. Different astaxanthin sources on growth performance, flesh color, antioxidant ability, and acute nitrite stress of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2026, 50(1): 012607. [邹羽羽, 刘昊昆, 陈鉴, 等. 饲料中添加不同来源的虾青素对虹鳟生长性能、肉色、抗氧化能力和抗急性亚硝酸盐胁迫的影响 [J]. 水生生物学报, 2026, 50(1): 012607.]

饲料中添加不同来源的虾青素对虹鳟生长性能、肉色、抗氧化能力和抗急性亚硝酸盐胁迫的影响

邹羽羽[1,2] 刘昊昆[1] 陈 鉴[1,2] 金俊琰[1] 韩 冬[1] 张志敏[1] 朱晓鸣[1]
杨云霞[1] 解绶启[1,3]

(1. 中国科学院水生生物研究所水产品种创制与高效养殖全国重点实验室, 武汉 430072; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 湖北省水产动物营养与饲料工程技术研究中心, 武汉 430072)

摘要: 研究以虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)为研究对象, 探究饲料中添加不同来源的虾青素对虹鳟的生长性能、肉色、抗氧化能力和抗急性亚硝酸盐胁迫的影响。实验配制4种饲料, 分别为不添加虾青素的基础饲料(CON)和在基础饲料中添加3.0 g/kg副球菌(PC)、2.4 g/kg雨生红球藻(HP)和0.6 g/kg加丽素粉红(CP)的实验饲料(折算虾青素含量均为60 mg/kg)。随机挑选480尾初始体重为(6.17±0.08) g的虹鳟, 平均分成4个处理组, 每组4个重复, 开展为期30d的养殖实验。实验结果显示: 与对照组相比, 虾青素类添加剂组虹鳟在生长性能上无显著性差异(P>0.05)。虾青素类添加剂组虹鳟肌肉的红度、黄度和虾青素含量显著高于对照组(P>0.05), 其中加丽素粉红添加组的肌肉虾青素含量最高。急性亚硝酸盐胁迫前后各虾青素添加处理组的肝脏超氧化物歧化酶活性、总抗氧化能力和过氧化氢酶活性均显著高于对照组, 并且丙二醛含量显著低于对照组(P<0.05)。在急性亚硝酸盐胁迫后, 虾青素添加剂组的血浆皮质醇、葡萄糖和乳酸含量显著低于对照组(P<0.05)。饲料中虾青素类添加处理显著提高肝脏*nrf2*和*sod*的表达水平, 并显著降低*bcl2*和*caspase9*的表达水平。综上, 饲料中添加3种不同来源的虾青素均可以改善虹鳟肉色和体色, 增强机体抗氧化和抗应激能力, 但是副球菌和加丽素粉红增强虹鳟的抗氧化能力强于雨生红球藻, 而缓解虹鳟细胞凋亡能力弱于雨生红球藻。

关键词: 虾青素; 肉色; 抗氧化能力; 亚硝酸盐胁迫; 虹鳟

中图分类号: S965.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2026)01-012607-12

doi: 10.3724/1000-3207.2025.2025.0130 CSTR: 32229.14.SSSWXB.2025.0130

随着单位水体水产养殖产量和养殖密度的增加, 养殖动物的健康和品质受到从业者和消费者越来越多的关注。在高强度饲料投喂下, 若养殖水处理系统或养殖环境中的硝化反应不够充分, 会导致亚硝酸盐积累, 对养殖鱼类的健康构成胁迫。养殖环境中高浓度的亚硝酸盐会严重损害鱼类健康, 甚至引发大规模死亡[1]。在亚硝酸盐暴露后, 水体中的亚硝酸盐会在鱼类的循环系统以及鳃、肝脏、脾脏、肌肉和大脑等组织中积累, 引起鱼类的血浆生化指标的变化[2]。鱼体的抗氧化系统会对养殖环境中较高的亚硝酸盐做出相应的反应: 例如通过增强机体超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)的活性来清除过量的活性氧(ROS)[3]。

虾青素属于类胡萝卜素, 是一种强效抗氧化剂,

收稿日期: 2025-04-14; **修订日期:** 2025-05-16

基金项目: 国家重点研发计划(2023YFD2400600); 国家自然科学基金(32473179和32202958); 水产品种创制与高效养殖全国重点实验室(2024BBSA09); 湖南省重点研发计划(2024WK2015)资助 [Supported by the National Key R & D Program of China (2023YFD2400600); National Natural Science Foundation of China (32473179 and 32202958); the Key Laboratory of Breeding Biotechnology and Sustainable Aquaculture (CAS) (2024BBSA09); Science and Technology Innovation Program of Hunan Province (2024WK2015)]

作者简介: 邹羽羽(1998—), 女, 硕士研究生; 主要从事鱼类营养与饲料学研究。E-mail: 2389891149@qq.com

通信作者: 刘昊昆(1984—), E-mail: liuhaokun@ihb.ac.cn

©The Author(s) 2026. This is an open access article under the CC-BY 4.0 License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

具有显著的抗氧化、抗应激和免疫调节作用[4]。饲料中添加抗氧化剂可有效地提高动物的抗氧化能力, Sheikhzadeh等[5]研究发现, 饲喂雨生红球藻饲料可提高总抗氧化能力(T-AOC), 并降低脂质过氧化产物MDA的含量来改善虹鳟的抗氧化能力, 同时研究表明, 饲喂合成虾青素或者雨生红球藻饲料的虹鳟肝脏结构清晰, 肝细胞完整且排列紧密, 肝脏SOD活性显著提高, MDA含量显著降低, 并且SOD和CAT的mRNA水平显著上调[6], 因此虾青素可以改善氧化应激。研究还表明, 虾青素能够清除活性氧(ROS), 减少脂质过氧化损伤, 从而提高机体的抗氧化能力。此外, 虾青素还能调节免疫因子的表达, 增强鱼类的免疫功能, 提高其对环境胁迫的耐受性。

副球菌(*Paracoccus carotinifaciens*)是一种富含红色类胡萝卜素的细菌, 干法灭菌后其产品含有约40 g/kg的总类胡萝卜素, 包括虾青素、肾上腺红素、角黄素和阿东黄素, 并含有一定量的海胆酮、β-胡萝卜素、紫红酮和3-羟基海胆酮等[7]。副球菌具有培养时间短、商业价值高和生产设备要求低等主要优点, 具有广阔的应用前景[8]。然而目前关于副球菌作为水产饲料添加剂的研究较少, 一些研究表明饲料中添加副球菌可以促进大西洋鲑(*Salmo salar*)和虹鳟肌肉中虾青素的沉积[9]。雨生红球藻(*Haematococcus pluvialis*)是一种淡水单胞绿藻, 该藻因富含虾青素而呈现红色。雨生红球藻作为水产饲料添加剂已在虹鳟[10]、大西洋鲑[11]和大黄鱼(*Pseudosciacna crocea*)[12]等养殖鱼类中进行相关报道。这些研究表明雨生红球藻可以提高鱼体生长性能、具有改善着色和增强抗氧化的性能。雨生红球藻中的虾青素通常以酯化物的形式存在, 构型为纯左旋结构(3S, 3'S), 是抗氧化活性最强的一种构型[13]。然而, 雨生红球藻具有较厚的细胞壁, 会阻碍鱼类对类胡萝卜素的吸收利用[14]。加丽素粉红(Carophyll pink)为一种化学合成的虾青素, 主要成分为10%全反式虾青素, 其中左旋、内消旋、右旋三种旋光异构体成分比例为1∶2∶1, 具有微囊结构和水溶性好的特点, 常用作水产饲料添加剂。研究表明加丽素粉红对养殖鱼类是安全的, 能增强鱼类、虾类和其他甲壳类动物的体色和抗氧化能力[15]。然而有研究表明合成虾青素的抗氧化效果低于藻类来源的天然虾青素[16]。

虾青素作为饲料添加剂可以提高鱼类和虾类的免疫力、存活率和抗病力, 也能促进鱼类(如鲑鳟类)和虾类肌肉中虾青素的沉积, 改善肌肉颜色, 提升品质。作为天然虾青素来源, 副球菌和雨生红球藻在色素沉着、抗氧化与抗应激方面发挥了重要作用[17, 18], 它们与合成虾青素相比较的报道较少, 而且不同来源虾青素可能具有不同的生理功能[19, 20]。因此, 本实验以虹鳟为研究对象, 在饲料中分别添加副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红, 研究不同来源的虾青素对虹鳟生长、体色、抗氧化酶活性及亚硝酸盐胁迫应激的影响, 为改善虹鳟健康和品质的营养调控策略提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　实验饲料

实验设置4组等氮等脂的饲料, 以鱼粉、小麦浓缩蛋白和大豆浓缩蛋白为蛋白源, 木薯淀粉为碳水化合物来源, 鱼油和豆油为脂肪源。4种饲料包括不添加虾青素的基础饲料(CON)和在基础饲料中添加副球菌(PC)、雨生红球藻(HP)和加丽素粉红(CP)的实验饲料, 实验组饲料中虾青素的含量分别为50.47、49.68和55.50 mg/kg。实验饲料配方和化学成分如表 1所示。

1.2　实验鱼及养殖管理

本实验所需虹鳟购于昆明晓光渔业有限公司。实验前, 所有虹鳟在1500 L的圆缸中暂养两周进行驯化, 暂养期间投喂暂养饲料。虹鳟禁食24h后, 随机选取480尾健康、规格一致的初始体重为(6.17±0.08) g的鱼, 放入16个圆形养殖缸(水体积200 L)中。共计4个实验组, 每组设置4个重复, 每缸30尾鱼。养殖实验持续30d, 每天9:00和16:00进行2次表观饱食投喂。实验期间, 每个鱼缸24h用充气头连续充气增氧, 水温(15±2)℃, 每周监测水体溶氧、亚硝态氮和氨氮, pH在7.0—8.0, 亚硝态氮和氨氮<0.1 mg/L, 溶解氧>6.8 mg/L。

1.3　样品采集

在养殖实验结束后, 将所有的鱼禁食24h, 统计每缸总数和终末重量。每缸中随机选取9尾鱼用MS-222 (60 mg/kg, Sigma, USA)麻醉后进行取样。其中3尾鱼称重记录后保存在–20℃冰箱, 用于后续体成分分析; 3尾鱼测量体长、体重、内脏重和肝脏重量, 同时测定这3尾鱼的体表和背肌色度; 另外3尾鱼进行血液、肝脏组织、肌肉组织和鳃组织的取样。使用肝素钠(浓度0.2%)抗凝润过注射器从尾静脉抽血, 放入抗凝离心管中, 用离心机在4℃ 3500 r/min的条件下离心10min分离血浆[21], 血浆样品储存于–80℃的冰箱保存, 用于相关血液学指标测定。随后将鱼置于冰上解剖, 采集肝脏组织、鳃组织及肌肉样品, 组织切片的样品置于4%的多聚甲醛中进行固定, 测定酶活性和mRNA相对表达量的样品在液氮中速冻, 随后保存于–80℃冰箱用于后续分析。

1.4 色度和色素的测定

使用色差计(CR400, 柯尼卡−美能达, 日本)测定鱼体背鳍下部皮肤、腹部皮肤和背鳍下侧肌肉的颜色(图 1), 用L*表示亮度, +a*表示红色, –a*表示绿色, +b*表示黄色, –b*表示蓝色[22], 用数码单反相机(D5100, 尼康)对整条鱼及鱼的肌肉拍摄。饲料和肌肉中的虾青素含量依据美国药典进行虾青素的提取和测定[23]。

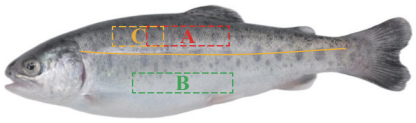


图 1 色度仪检测部位

Fig. 1 The detection site of colourimeter

背部Lab值为A区域; 腹部Lab值为B区域; 背肌Lab值为C区去皮后测定部位

Region A. dorsal Lab values; Region B. the belly Lab value; region C, muscle Lab value

表 1 实验饲料配方和化学组成

Tab. 1 Formulation and chemical composition of the experimental diets

原料(g/kg 干物质) Ingredient (g/kg dry matter)	饲料Diet			
	CON	PC	HP	CP
鱼粉Fish meal	450.0	450.0	450.0	450.0
大豆浓缩蛋白Soybean protein concentrated	100.0	100.0	100.0	100.0
小麦浓缩蛋白Wheat protein concentrated	100.0	100.0	100.0	100.0
鱼油Fish oil	55.0	55.0	55.0	55.0
豆油Soybean oil	55.0	55.0	55.0	55.0
副球菌*Paracoccus carotinifaciens*	0	3.0	0	0
雨生红球藻 *Haematococcus pluvialis*	0	0	2.4	0
加丽素粉红Carophyll Pink	0	0	0	0.6
木薯淀粉Cassava starch	120.0	120.0	120.0	120.0
磷酸二氢钙Monocalcium phosphate	15.0	15.0	15.0	15.0
氯化胆碱Choline chloride	4.0	4.0	4.0	4.0
多维多矿添加剂Vitamin and mineral additives[1]	20.0	20.0	20.0	20.0
微晶纤维素Microcrystalline cellulose	81.0	78.0	78.6	80.4
化学组成Chemical composition				
粗蛋白Crude protein	46.2	47.3	46.9	47.2
粗脂肪Crude lipid	15.30	15.5	15.5	15.2
灰分Ash	11.3	11.2	11.5	11.3
水分Moisture	10.86	9.64	10.43	8.79
虾青素含量Astaxanthin (mg/kg)	0	50.47	49.68	55.50

注: [1]多维多矿添加剂[维生素(IU or mg/kg of diet)和矿物质(mg/kg of diet)]: 维生素 A, 1.00 IU; 维生素 D_3, 0.30 IU; 维生素 E, 150.00 mg; 维生素 K_3, 12. 17 mg; 维生素 B_1, 20.00 mg; 维生素 B_2, 20.00 mg; 维生素 B_6, 22.00 mg; 维生素 B_{12}, 0.15 mg; 生物素, 0.60 mg; 叶酸, 8.00 mg; 烟酸, 150.00 mg; 泛酸钙, 108.70 mg; 肌醇, 500.00 mg; 维生素C, 700.00 mg; 硫酸镁, 180.00; 硫酸铜, 3.00; 硫酸亚铁, 63.00; 硫酸锌, 89.00; 硫酸锰, 11.45; 硫酸钴, 0.60; 碘酸钙-I, 1.50; 亚硒酸钠, 0.24

Note: [1]Vitamin and mineral premix [Premix supplied the following vitamins (IU or mg/kg of diet) and minerals (mg/kg of diet)]: Vitamin A, 1.00 IU; vitamin D_3, 0.30 IU; vitamin E, 150.00 mg; vitamin K_3, 12.17 mg; vitamin B_1, 20.00 mg; vitamin B2, 20.00 mg; vitamin B_6, 22.00 mg; vitamin B_{12}, 0.15 mg; vitamin C, 700.00 mg; D-calcium pantothenate, 108.70 mg; niacinamide, 150.00 mg; folic acid, 8.00 mg; D-biotin, 0.60 mg; inositol, 500.00 mg; $MgSO_4$, 180.00; $CuSO_4$, 3.00; $FeSO_4$, 63.00; $ZnSO_4$, 89.00; $MnSO_4$, 11.45; $CoSO_4$, 0.60; $Ca(IO_3)_2$, 1.50; Na_2SeO_3, 0.24

1.5 生化分析

饲料样品的基本组分测定根据AOAC[24]描述的方法进行分析, 水分在105℃条件下烘干恒重测定, 粗蛋白采用凯氏定氮仪测定(FOSS Tecator, Haganas, Sweden)、粗脂肪用索氏抽提法测定(SOXTEC2005, FOSS Tecator, Haganas, Sweden), 灰分在马弗炉中550℃处理 12h后称重测定。血浆中的葡萄糖(Glucose: A154-1-1)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST: C010-2-1)、丙氨酸氨基转移酶(ALT: C009-2-1)、碱性磷酸酶(AKP: A059-2-2)、乳酸(LD: A019-2-1)和皮质醇(H094-1-2)均采用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒进行检测。肝脏中过氧化氢酶(CAT: A007-1-1)、肝脏超氧化物歧化酶(SOD: A001-3-2)活性和丙二醛(MDA: A003-1-1)含量也采用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行检测。肝脏中的ROS采用默沙克科生物的试剂盒(KT86537)进行测定。

1.6 急性亚硝酸盐胁迫

采用亚硝酸钠($NaNO_2$)配制亚硝酸盐胁迫实验溶液。根据Kroupova等[25]描述的方法进行半致死浓度的检测。预实验结果表明亚硝酸盐48h急性胁迫的半致死浓度为160 mg/L。因此, 正式实验亚硝酸盐急性胁迫浓度设定为160 mg/L, 暴露时间为48h。每个实验缸中随机选取10尾虹鳟进行胁迫实验, 对照添加组、副球菌添加组、雨生红球藻添加组、加丽素粉红添加组在亚硝酸盐胁迫后分别对应NCON、NPC、NHP和NCP组。胁迫实验用与养殖实验同样的圆形养殖缸(水体积200 L), 亚硝酸盐胁迫时水体积设置为100 L。实验期间亚硝酸盐浓度每12h测定1次, 浓度为160 mg/L。在胁迫实验期间, 水体氨氮低于0.1 mg/L, pH在7.0—8.0, 溶氧量大于6.8 g/L, 实验期间保持禁食。

1.7 组织学分析

新鲜的肝脏和鳃组织经4%多聚甲醛固定过夜, 用梯度乙醇脱水, 石蜡包埋于5.0 m, 切成5 μm厚度

的切片。使用苏木精−伊红(HE)染色, 封片后在显微镜下观察肝脏组织和鳃组织的病理情况。

肝脏切片TUNEL染色的过程: 肝脏的石蜡切片样品在65℃烘箱中烘烤2h, 使用一系列的二甲苯和乙醇脱蜡水化后, 使用蛋白酶K和Triton-X-100溶液对石蜡切片进行抗原修复和细胞渗透。利用TUNEL试剂盒(C1091, 碧云天生物技术有限公司)进行染色, 染色后在倒置荧光显微镜下观察并采集图像。使用Image-Pro Plus 6.0 (Media Cybernetics, USA)进行量化分析。

1.8　实时荧光定量PCR分析

虹鳟在亚硝酸盐胁迫后肝脏基因表达分析按照何林岳等[26]所实描述的方法进行。总RNA提取利用TRIzol试剂盒(ET111, 北京全式金生物技术有限公司)进行提取。在RNA提取结束后, 取2 μL用1%的琼脂糖凝胶电泳评估RNA的完整性。RNA的浓度使用NanoDrop®ND-2000 (NanoDrop Technologies, USA)进行测定, 并保存样品于–80℃冰箱以备后期使用。然后使用逆转录试剂盒FastKing一步法除基因组cDNA第一链合成预混试剂(KR118, 天根生化科技有限公司)进行cDNA的合成, 采用荧光定量PCR试剂盒TransStar Top Green qPCR SuperMix (AQ131, 北京全式金生物技术有限公司)进行基因定量。以*rpl7*作为内参基因进行肝脏基因相对表达量的检测。基因相对表达量采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$的方法进行计算。基因定量使用的引物见表 2。

1.9　数据分析

所有的实验数据使用SPSS 25.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, United States)软件进行单因素方差分析(ANOVA), 方差齐性检验后, 使用Duncan检验进行均值差异检验。研究中的所有数据均以均值±标准误(SE)表示。当P<0.05时, 表明处理间有统计学差异性。采用GraphPad Prism 8.4.3 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA)软件进行作图。

2　结果

2.1　生长、饲料利用和形体指标

如表 3所示, 饲料中添加不同来源虾青素添加剂组与对照组相比, 终末体重、增重率、特定生长率和饲料效率均无显著性差异(P>0.05)。与对照组相比, 饲料中添加雨生红球藻组的肥满度和肝体比显著上升(P<0.05), 添加加丽素粉红组的肝体比显著低于对照组(P<0.05)。

2.2　体色、肉色和肌肉虾青素分析

如图 2所示, 饲料中添加虾青素降低了虹鳟肌肉的亮度, 其中副球菌和加丽素粉红处理组的肌肉亮度(L*)显著低于对照组(P<0.05), 3种虾青素添加剂处理组的肌肉红度(a*)和黄度(b*)均显著高于对照A1组(P<0.05; 图 2A)。液相色谱的分析结果表明各虾青素添加剂处理组肌肉中的虾青素显著高于对照组(P<0.05), 且加丽素粉红添加处理组的肌肉虾青素含量最高(P<0.05; 图 2B)。虹鳟背部皮肤的亮度、红度和黄度在各组间无显著性差异(P>0.05; 图 2C)。加丽素粉红添加处理组腹部皮肤的亮度(L*)显著高于对照组(P<0.05), 3种虾青素添加剂处理组的腹部皮肤的黄度(b*)显著高于对照组(P<0.05; 图 2D)。

2.3　肝脏抗氧化指标

如图 3所示, 各虾青素添加剂处理组的肝脏超氧化物歧化酶活性均高于对照组, 而只有副球菌添加处理组的超氧化物歧化酶的活性显著高于对照处理组(P<0.05; 图 3A)。3种虾青素添加剂处理组的总抗氧化能力和过氧化氢酶活性均显著高于对照组(P<0.05; 图 3B和3C), 同时3种虾青素添加剂处理组的肝脏组织丙二醛含量均显著低于对照处理组(P<0.05; 图 3D)。

2.4　急性亚硝酸盐胁迫后虹鳟的血浆生化指标

如图 4所示, 在亚硝酸胁迫后, 虾青素添加剂组

表 2　荧光定量PCR引物序列

Tab. 2　Primers used in quantitative Real-time PCR

基因名称 Gene name	引物序列 Primer sequence (5′—3′)	产物长度 Product length (bp)
rpl7	ACCGACGTTTCGTGTCTGTA	192
	CCTTGTCTAGGCGCTCATCT	
hsp70a	AGGCCCAACCATTGAAGAGA	167
	GCAATGTCCAGCAATGCAATA	
hsp90	CAACGACTGGGAGGAACA	106
	AAAGAGGTCAAAGGGTGC	
keap1	TGGGCAGGCTGATAGAGTT	136
	TGCGTAACCAGGAAGTCG	
nrf2	CACCTCAATCAGATGACCCTA	147
	GGAGTTACCTCCATTTCCTT	
sod	GACCCACTGATGCTGTTCG	181
	TCCTCGTTGCCTCCTTTT	
bcl2	AAGTGGACGGACTGACGG	174
	CTGAAGGCACGGGTGTAG	
bax	TTTAAGAGGGTATGTCATAGAG	100
	GTGGTCCTGTTGTTCGTT	
caspase3	AAAGGCTCCTGGTTCGTG	166
	CAATGCAAGGGATCTGCT	
caspase9	GTCAGAACTGTCTTTCCCTA	131
	GTCACCTGTTCCTCCAAT	

皮质醇、葡萄糖和乳酸含量显著低于对照组(图 4A—C)。雨生红球藻添加剂处理组的碱性磷酸酶和谷丙转氨酶活性显著低于对照组(P<0.05; 图 4D和4E)。各虾青素添加剂组的谷丙转氨酶水平较对照组均出现降低, 且雨生红球藻添加剂处理组显著低于对照组(P<0.05; 图 4F)。

2.5 急性亚硝酸盐胁迫后虹鳟的组织学分析

如图 5所示, 急性亚硝酸盐胁迫使对照组鳃组织损伤最为严重, 导致了鳃小片上皮细胞的脱落和水肿(图 5A), 饲料中添加3种虾青素处理组缓解了这一现象。肝脏组织HE切片分析表明, 对照组肝细胞出现了明显的空泡化和炎性细胞浸润的情况(图 5B), 虾青素添加剂处理组肝脏细胞的空泡化和炎性细胞浸润得到了有效的改善(图 5)。

表 3 饲料中添加副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红对虹鳟生长性能、饲料利用和形体指标的影响

Tab. 3 Effects of dietary *Paracoccus carotinifaciens*, *Haematococcus pluvialis*, and Carophyll Pink inclusion on growth, feed utilization, and morphological of rainbow trout

项目 Item	处理组Group			
	CON	PC	HP	CP
初始体重IBW[1] (g)	6.19±0.03	6.18±0.01	6.15±0.03	6.16±0.02
终末体重FBW[2] (g)	26.92±0.46	27.13±0.51	26.68±0.47	27.23±0.96
增重率WG[3] (%)	335.3±6.5	339.0±7.81	333.8±8.29	341.8±14.72
特定生长率SGR[4] (%/d)	4.90±0.05	4.93±0.06	4.89±0.06	4.95±0.11
饲料效率FE[5] (%)	138.8±1.29	133.4±3.31	132.2±2.35	128.6±7.02
摄食率FR[6] (%BW/d)	3.00±0.02^{b}	3.13±0.05^{ab}	3.14±0.03^{ab}	3.27±0.14^{a}
肥满度CF[7] (g/cm^3)	1.56±0.05^{b}	1.59±0.03^{ab}	1.68±0.05^{a}	1.55±0.03^{b}
脏体比VSI[8]	15.31±0.54^{b}	16.84±0.49^{ab}	18.42±1.04^{a}	17.47±0.88^{ab}
肝体比HSI[9]	2.26±0.13^{a}	2.01±0.12^{ab}	1.98±0.10^{ab}	1.90±0.07^{b}

注: 表中的结果均以平均值±标准误(n=4), 表中同一行数字上标字母不同表示差异显著性(P<0.05); [1]初始体重(g); [2]终末体重(g); [3]增重率(%) =100×(终末体重－初始体重)/初始体重; [4]饲料效率(%)=100×体增重(湿重)/摄食量(干重) [5]特定生长率(%/d)=100×[ln (终末体重)–ln(初始体重)]/实验天数 [6]摄食率(%BW/d)=100×干物质摄食量/[天数×(初始体重+终末体重)/2]; [7]肥满度(g/cm^3) = 100×体重/体长^3; [8]脏体比= 100×内脏团重/体重; [9]肝体比=100×肝脏重/体重

Note: The results are presented as means±S.E; Values in the same column with different superscripts are significantly different (P<0.05); [3] Weight gain rate (WGR, %)=100×(final body weight–initial body weight)/initial body weight; [4]Feed efficiency (FE, %)=100×body weight gain/dry feed consumed; [5] Specific growth rate (SGR, %/d)=100×[Ln FBW–Ln IBW]/days; [6] Feeding ratio (FR, %BW/d)=100×feed intake in dry matter/[days×(initial body weight+final body weight)/2]; [7]Condition factor (CF, g/cm^3)=100×final body weight/(body length)^3; [8]Viscerosomatic index (VSI)=100×viscera weight/whole body weight; [9]Hepatosomatic index (HSI)=100×liver weight/whole body weight

2.6 急性亚硝酸盐胁迫后虹鳟肝脏抗氧化和应激相关基因表达分析

如图 6所示, 与对照组相比, 虾青素添加剂处理组均显著提高了亚硝酸盐胁迫后肝脏超氧化物歧化酶活性、总抗氧化能力和过氧化氢酶活性(图 6A—C; P<0.05), 同时副球菌添加处理组和雨生红球藻添加处理组显著降低了肝脏中丙二醛的含量(P< 0.05; 图 6D)。肝脏中活性氧水平表明, 各虾青素添加剂处理组均显著降低了活性氧的水平(P<0.05; 图 6E)。雨生红球藻和加丽素粉红添加组的肝脏的*keap1*基因的表达水平显著低于对照组, *nrf2*和*sod*基因的表达水平均显著高于对照组。在抗应激方面, 副球菌和加丽素粉红添加处理组*hsp70a*和*hsp90*的表达水平显著低于对照组(P< 0.05; 图 6F)。

2.7 不同来源虾青素添加剂对虹鳟亚硝酸盐胁迫后肝细胞凋亡及相关基因分析

如图 7所示, 通过肝脏TUNEL染色分析发现, 对照组的细胞凋亡信号明显高于其他各实验组(图 7A)。对肝脏组织细胞凋亡相关基因表达的研究表明, 饲料中添加不同来源虾青素能显著降低虹鳟肝脏中凋亡相关基因*bcl2*和*caspase9*的表达, 同时雨生红球藻添加处理组和加丽素粉红处理组的*bax*的表达显著低于对照组(P<0.05; 图 7B)。

3 讨论

3.1 不同来源虾青素添加剂对虹鳟生长性能的影响

在本研究中, 饲料中添加副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红对虹鳟的生长无显著影响。在鲶(*Lophiosilurus alexandri*)上的研究结果与本研究相似, 饲料中添加虾青素对机体的生长没有显著性影响[27]。在大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)饲喂含虾青素的饲料的研究中发现, 添加虾青素能够提高大口黑鲈生长性能与饲料效率[28]。饲料中添加加丽素粉红相较其他两种虾青素能够有效的提高虹鳟的摄食率。因此, 这表明虾青素的来源不同可能会对虾青素的摄食产生不同的作用影响。

3.2 不同来源虾青素添加剂对虹鳟体色的影响

虾青素对虹鳟、大西洋鲑和甲壳类养殖动物肉色和体色的改善具有重要作用[17, 18]。研究表明, 补充虾青素能够让多种鱼类的皮肤和肌肉颜色的黄度和红度增强。在本实验中, 饲料中添加副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红对虹鳟肌肉中虾青素的含量有显著提高作用, 同时增强了虹鳟的红度和黄度和提高了体表皮肤的亮度。在南美白对虾(*Litopenaeus vannamei*)的研究中也发现副球菌能够提高机体的虾青素含量, 同时增强南美白对虾皮肤

的红度和黄度[10]。Chatzifotis等[29]发现, 饲料中添加雨生红球藻后, 能够让赤鲷(*Pagrus pagrus*)的体色与野生种相似。例如, 饲料中添加游离虾青素可以显著影响澳洲鲷(*Pagrus auratus*)的红度和黄度[30]、添加类胡萝卜素、合成虾青素可以使大西洋鲑的体色增强[31]和添加类胡萝卜素可以显著提高斑点叉尾鮰(*Ictalurus punctatus*)体表的黄度[32]等, 在本研究中, 加丽素粉红添加组对虹鳟的着色效果最好, 其次是副球菌, 最后是雨生红球藻。与之相似, 一项虹鳟的研究中与饲喂天然虾青素来源相比, 合成虾青素添加组具有更好的红度和黄度[33], 因此不同来源的虾青素可能会影响鱼体的着色。

3.3　不同来源虾青素添加剂对虹鳟抗氧化能力的影响

抗氧化能力常用来指示水生动物的健康状态[34], 虾青素作为一种高活性的抗氧化剂, 能有效地缓解应激对鱼体的不良反应。研究表明饲料中添加虾青素可以提高大鳞副泥鳅(*Paramisgurnus dabryanus*)机体的抗氧化水平[35]。本研究在亚硝酸盐胁迫前, 饲料中添加副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红均能显著提高肝脏T-AOC和CAT的活性, 同时显著降低MDA的含量, 饲料中添加副球菌还能显著提高鱼体肝脏的SOD活性, 说明这3种虾青素在实验过程中都发挥了抗氧化性作用。与虹鳟的研究结果一致[36], 饲料中添加4种不同比例的反式(All-trans)和顺式(Cis)虾青素可以显著降低肝脏MDA含量。此外, 在斑节对虾中添加虾青素后也能显著提高机体的抗氧化能力[37]。在亚硝酸盐胁迫后, 副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红均显著提高了肝脏SOD、T-AOC和CAT的活性, 副球菌和加丽素粉红显著降低了肝脏MDA的含量, 说明饲料中添加虾青素可以提高鱼体清除自由基的能力。这与虾青素在雄性小鼠氧化应激中的研究结果一致, 饲料中添加虾青素添加能有效缓解超氧化物歧化酶、过

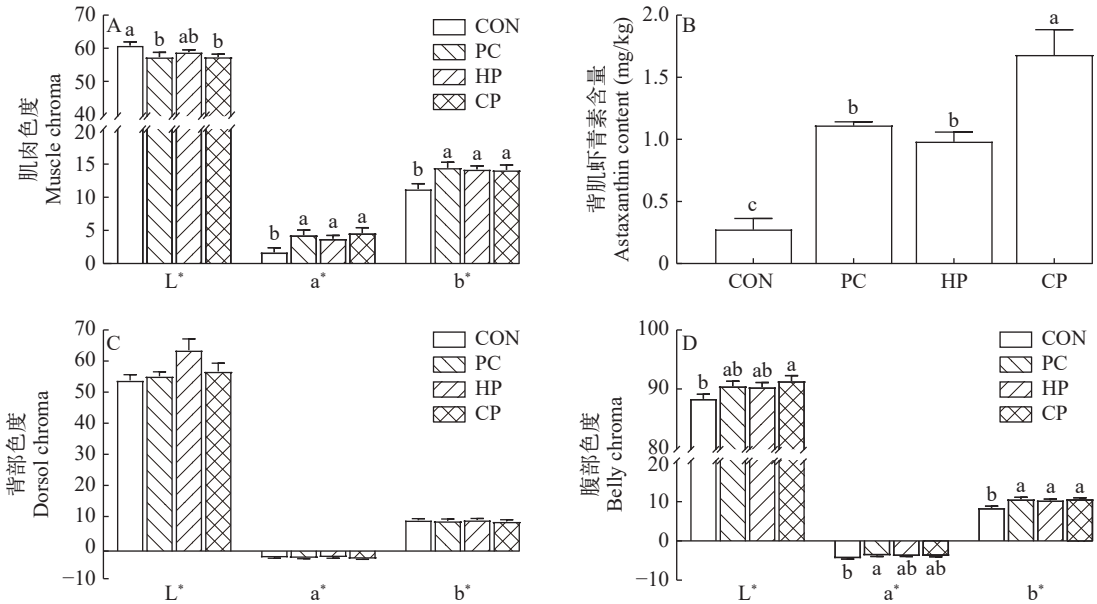


图 2　饲料中添加副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红对虹鳟体色、肉色和肌肉虾青素含量的影响

Fig. 2　Effects of dietary *Paracoccus carotinifaciens*, *Haematococcus pluvialis*, and Carophyll Pink inclusion on muscle and skin color and muscle astaxanthin of rainbow trout

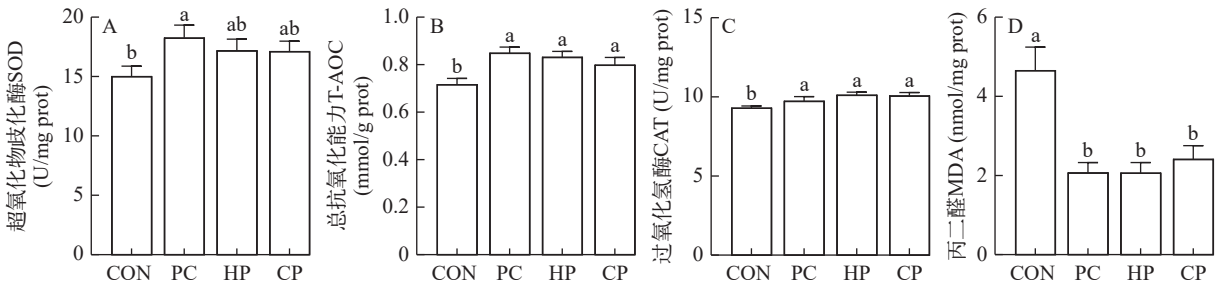


图 3　饲料中添加副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红对虹鳟的肝脏抗氧化指标的影响

Fig. 3　Effects of dietary *Paracoccus carotinifaciens*, *Haematococcus pluvialis*, and Carophyll Pink inclusion on liver antioxidant indicators in rainbow trout

氧化氢酶和丙二醛等氧化损伤指标的变化[38]。总的来说, 虹鳟饲料中添加副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红可以有效地改善机体的抗氧化性能。

进一步的研究发现, 在亚硝酸盐胁迫后, 饲料

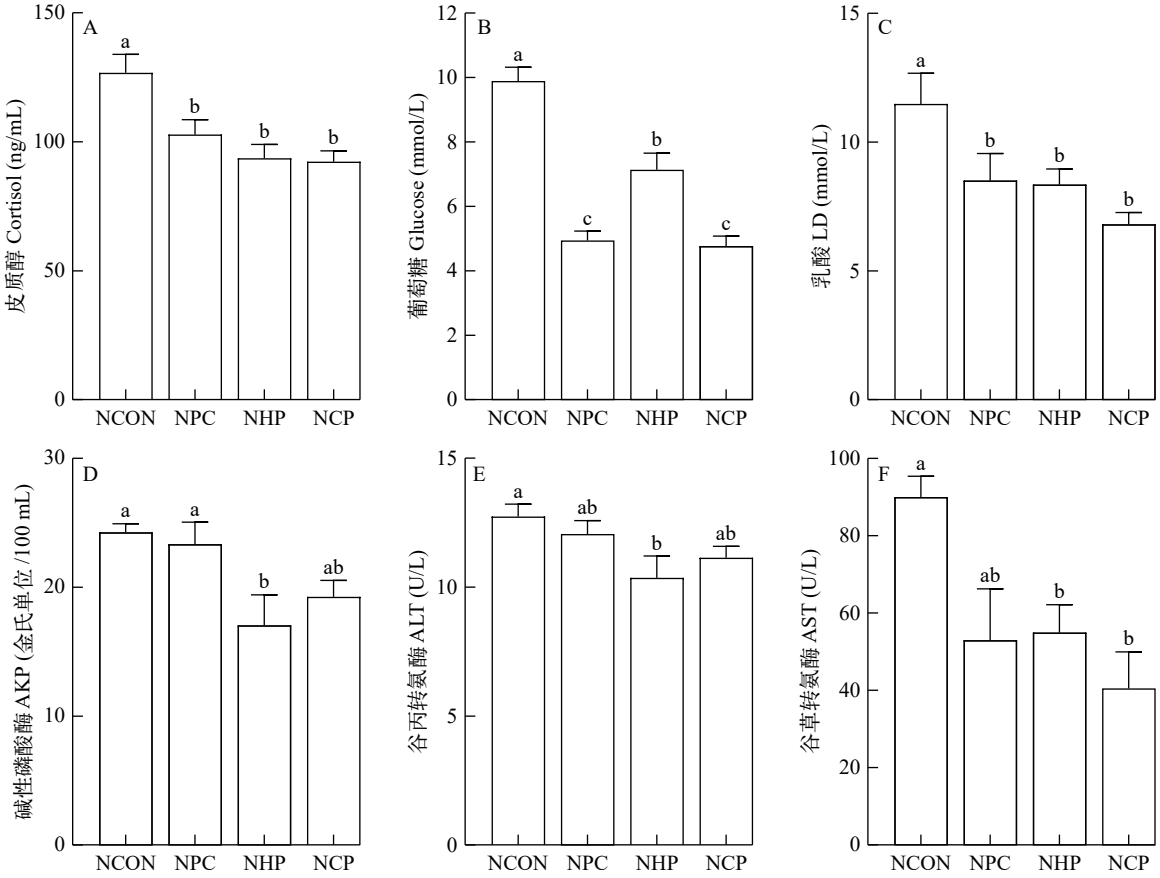


图 4 饲料中添加副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红对急性亚硝酸盐胁迫后虹鳟的血浆生化指标的影响

Fig. 4 Effects of dietary *Paracoccus carotinifaciens*, *Haematococcus pluvialis*, and Carophyll Pink inclusion on plasma biochemistry in rainbow trout following acute nitrite challenge

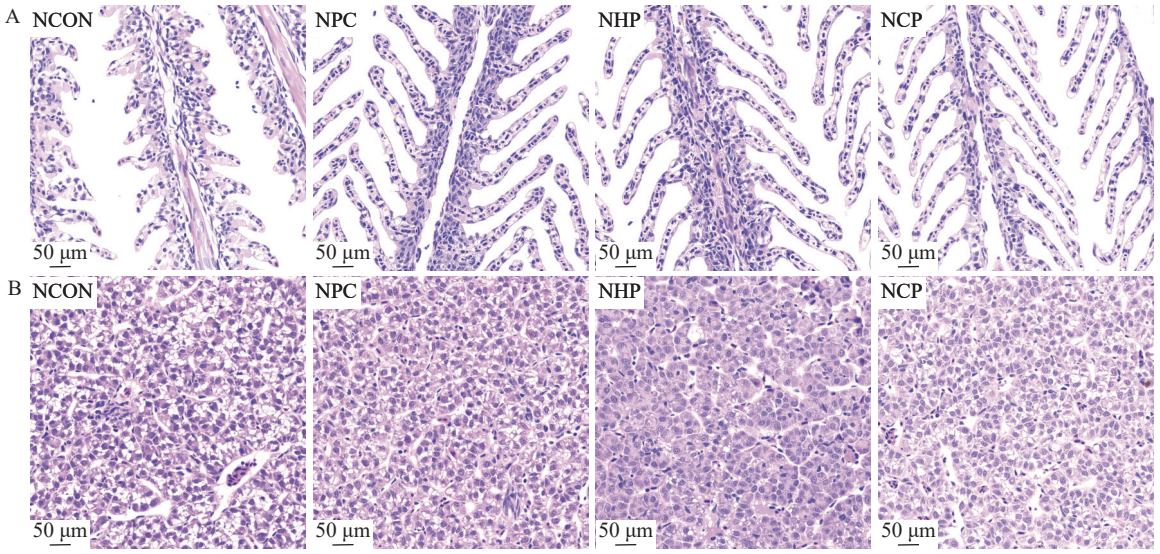


图 5 饲料中添加副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红对急性亚硝酸盐胁迫后虹鳟的鳃和肝脏组织病理的影响

Fig. 5 Effects of dietary *Paracoccus carotinifaciens*, *Haematococcus pluvialis*, and Carophyll Pink inclusion on gill and liver lesion H&E staining in rainbow trout following acute nitrite challenge

A. 鳃组织HE染色分析(400×); B. 肝脏组织HE染色分析(400×); 标尺=50 μm

A. Gill HE staining (400×); B. Liver HE staining (400×); Scale bar=50 μm

中添加副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红3种来源的虾青素均上调了虹鳟肝脏中Keap1-Nrf2抗氧化信号通路中相关基因的表达, 激活机体的抗氧化能力。有研究表明, Nrf2通过激活和调节抗氧化基因的表达, 在抗氧化应激反应中发挥着关键作用[39]。本研究发现饲料中不同来源的虾青素可以显著降低亚硝酸盐胁迫后肝脏应激产生的活性氧(ROS)的水平。与本研究结果一致的是, 在氧化应激情况下, 小鼠饲喂虾青素能够有效抑制ROS产生, 减轻氧化应激[40]。这一结果表明虾青素类添加剂可以有效缓解亚硝酸盐胁迫带来的氧化应激。先前的研究表明, 虾青素中含有大量的抗氧化物质, 这些抗氧化物质可以通过调节Nrf2来介导抗氧化反应, 增强机体的抗氧化能力[41]。在本实验中发现饲料中添加副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红可以使虹鳟肝脏受亚硝酸盐胁迫后ROS水平的显著降低, 且Keap1-Nrf2信号通路相关基因及抗氧化基因表达上调, 这些结果表明Keap1-Nrf2信号通路可能参与亚硝酸盐胁迫下虾青素类添加剂的抗氧化作用。

3.4　不同来源虾青素添加剂对虹鳟抗应激能力的影响

亚硝酸盐胁迫往往会导致生物机体发生强烈

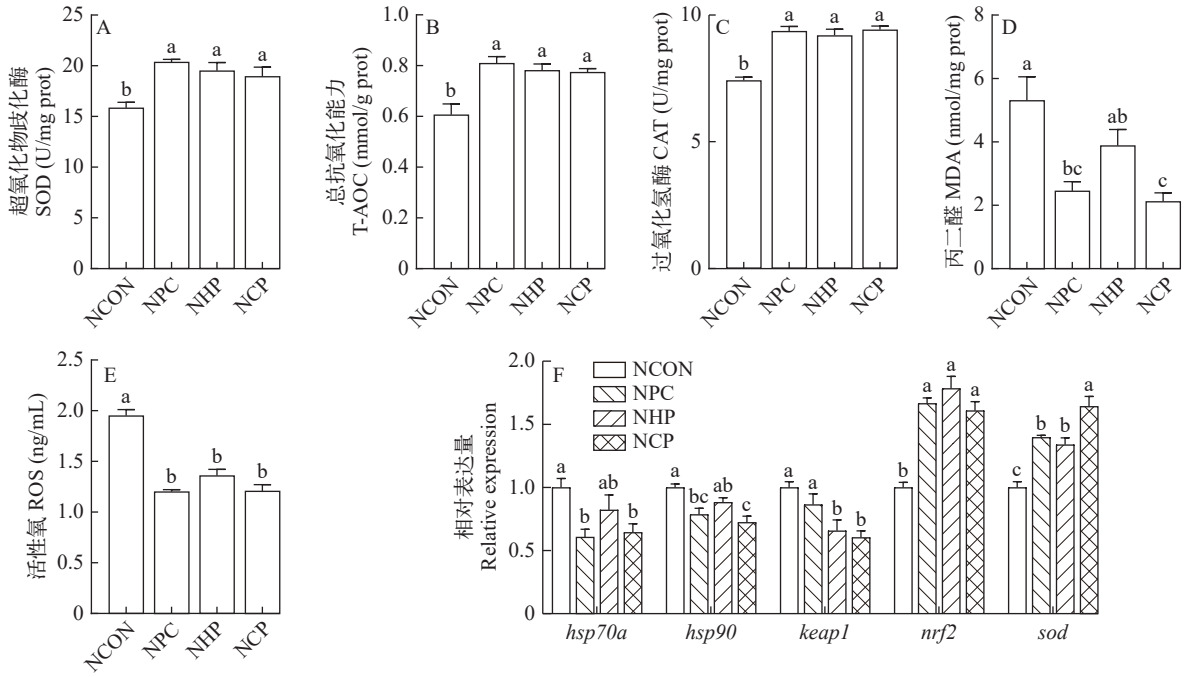


图 6　饲料中添加副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红对亚硝酸盐胁迫后虹鳟肝脏抗氧化和应激相关基因表达的影响

Fig. 6　Effects of dietary *Paracoccus carotinifaciens*, *Haematococcus pluvialis*, and Carophyll Pink inclusion on liver antioxidant indicator and stress related genes expression in rainbow trout following acute nitrite challenge

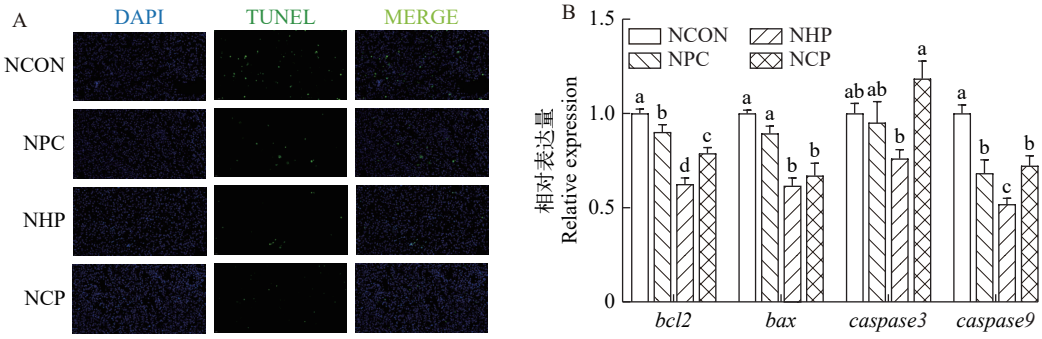


图 7　饲料中添加副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红对亚硝酸盐胁迫后虹鳟肝脏细胞凋亡的影响

Fig. 7　Effects of dietary *Paracoccus carotinifaciens*, *Haematococcus pluvialis*, and Carophyll Pink inclusion on acute nitrite challenge induced-apoptosis in the liver of rainbow trout

A. 肝脏组织TUNEL切片分析, 绿色点表示TUNEL信号, 标尺=20 μm; B. 肝脏细胞凋亡相关基因相对表达量

A. TUNEL (green) staining analysis of liver sections (arrows indicate TUNEL signal, bar=20 μm); B. Relative expression level of liver apoptosis genes

的应激反应。热应激蛋白(Heat Shock Proteins, HSPs)是应激的标志物, 在保护细胞免受应激和凋亡方面发挥着关键作用[42]。本研究发现, 3种不同来源的虾青素类添加剂可以有效地下调亚硝酸盐胁迫导致的热应激基因*hsp70a*和*hsp90*基因的高表达。这些结果表明在虹鳟饲料中添加虾青素类添加剂可以有效地缓解亚硝酸盐胁迫导致的应激。皮质醇是鱼类中重要的生理应激反应指标[43], 研究表明大西洋鲑血糖和乳酸含量在应激反应中会增加[44], 同时在尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)中谷草转氨酶和谷丙转氨酶在应激后也会增加[45]。本研究发现, 虹鳟饲料中添加副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红后, 在亚硝酸盐胁迫后血浆中的皮质醇、血糖和乳酸水平均显著下降, 碱性磷酸酶、谷草转氨酶和谷丙转氨酶同时也显著降低, 说明饲料中添加虾青素能够调节血浆中皮质醇、乳酸和血糖的水平有效缓解亚硝酸盐胁迫造成的应激。这与先前在虹鳟和银汉鱼(*Melanotaenia parva Allen*)中的研究结果一致。在虹鳟中的研究结果表明, 应激条件下血浆的皮质醇和血糖能够随着螺旋藻的增加而显著降低[46], 在银汉鱼中的研究也表明, 饲料中添加类胡萝卜素也能够缓解应激反应[47]。综合肝脏中应激相关基因表达和酶活的水平分析发现, 从肝脏应激基因表达层面, 副球菌添加组和加丽粉红素添加组相较于雨生红球藻添加组表现更优; 从肝脏应激酶活层面, 副球菌添加组和加丽粉红素添加组的相关抗氧化酶活高于雨生红球藻添加组, 这些结果表明了副球菌和加丽粉红素可以更有效地激活虹鳟机体抗应激能力。

应激会促进机体细胞的凋亡进程的发生。细胞凋亡是一种程序性细胞死亡过程, 是细胞更新的重要机制, 但过度的细胞凋亡会导致组织的损伤[48], 本研究中的TUNEL染色分析表明饲料中添加不同来源的虾青素类添加剂导致肝脏组织细胞凋亡信号显著降低。在草鱼亚硝酸盐胁迫的研究中也表明, 急性的亚硝酸盐胁迫会导致肝脏细胞严重的凋亡现象[49]; 另外在大鼠的亚硝酸盐胁迫的研究中发现, 亚硝酸钠会引起大鼠肾组织损伤同时使肾组织发生细胞凋亡因此[50], 本研究的结果表明, 饲料中副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红的添加可以有效地缓解亚硝酸盐胁迫导致的虹鳟细胞凋亡, 从而降低肝脏细胞的损伤, 改善胁迫条件下虹鳟机体的健康状况。进一步的研究发现, 饲料中添加副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红下调了肝脏中*caspase3*和*caspase9*的表达, 并下调了*bcl2*和*bax*的表达, 表明虾青素可以降低亚硝酸盐胁迫诱导的细胞凋亡相关基因的表达。与本研究结果相似, 在斑马鱼饲料中添加虾青素可以下调*caspase-3*和*caspase-9*的表达水平来应对铁应激[51]。综合以上表明, 天然虾青素和合成虾青素均可以通过激活Keap1-Nrf2通路来增强虹鳟的抗氧化能力(表现为ROS清除和抗氧化基因上调), 并通过降低HSPs表达减轻应激反应, 从而改善肝脏细胞凋亡导致的肝细胞损伤。这表明副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红这些虾青素类功能性的饲料添加剂有益于胁迫养殖环境中虹鳟的健康和生长。

4 结论

本研究探究饲料中添加含有60 mg/kg虾青素的副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红对虹鳟生长、体色, 抗氧化和抗应激能力的影响。总的来说, 饲料中添加副球菌、雨生红球藻和加丽素粉红均可以增强虹鳟的体色和肉色, 加丽素粉红增强体色效果更明显, 肌肉中沉积的虾青素含量更高。饲料中添加3种不同来源的虾青素都能在亚硝酸盐胁迫前后增强虹鳟抗氧化酶的活性, 并且有效的缓解亚硝酸胁迫带来的氧化应激。在不同来源的虾青素添加后, 虹鳟应对亚硝酸盐胁迫的反应有所不同, 副球菌和加丽素粉红在增强虹鳟的抗氧化能力方面发挥了更好的效果, 而雨生红球藻减缓了虹鳟的细胞凋亡。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

[1] Lu J, Zhang Y, Wu J, *et al*. Nitrogen removal in recirculating aquaculture water with high dissolved oxygen conditions using the simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification system [J]. *Bioresource Technology*, 2020(305): 123037.

[2] Yang Y J, Chen J, Huang L, *et al*. Effects of ammonia-n and nitrite stress on antioxidant enzyme activity and related gene expression in juvenile Micropterus salmoides [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2025, **49**(8): 082506. [杨艳杰, 陈静, 黄雷, 等. 氨氮和亚硝酸盐胁迫对大口黑鲈幼鱼抗氧化酶活性及相关基因表达的影响 [J]. 水生生物学报, 2025, **49**(8): 082506.]

[3] Cheng C H, Yang F F, Ling R Z, *et al*. Effects of ammonia exposure on apoptosis, oxidative stress and immune response in pufferfish (*Takifugu obscurus*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2015(164): 61-71.

[4] Zheng X, Shao C, Zhu J, *et al*. Study of the antioxidant capacity of astaxanthin in cells against radiation-induced strong oxidative stress [J]. *Aquaculture International*, 2023, **31**(5): 2705-2725.

[5] Sheikhzadeh N, Tayefi-Nasrabadi H, Khani Oushani A, *et al*. Effects of *Haematococcus pluvialis* supplementation on antioxidant system and metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2012, **38**(2): 413-419.

[6] Zhao W, Wei H L, Chen M D, *et al*. Effects of synthetic astaxanthin and *Haematococcus pluvialis* on growth, antioxidant capacity, immune response, and hepato-morphology of *Oncorhynchus mykiss* under cage culture with flowing freshwater [J]. *Aquaculture*, 2023(562): 738860.

[7] Honda M, Kawashima Y, Hirasawa K, *et al*. Possibility of using astaxanthin-rich dried cell powder from *Paracoccus carotinifaciens* to improve egg yolk pigmentation of laying hens [J]. *Symmetry*, 2020, **12**(6): 923.

[8] Mussagy C U, Pereira J F B, Dufossé L. Astaxanthin production using Paracoccus carotinifaciens: a way forward [J]? *Trends in Biotechnology*, 2023, **41**(8): 996-999.

[9] European Food Safety Authority Opinion of the Scientific Panel on additives and products or substances used in animal feed (FEEDAP) on Safety and efficacy of Panaferd-AX (red carotenoid-rich bacterium Paracoccus carotinifaciens) as feed additive for salmon and trout [J]. *EFSA Journal*, 2007, 5(10): 546.

[10] Huang F, Xue D, Li Z, *et al*. Evaluation of dietary *Haematococcus pluvialis* in pilot-scale farming of *Litopenaeus vannamei*: Effects on production performance, physiological health, bacterial communities, and eukaryotic plankton [J]. *Aquaculture*, 2023(563): 738858.

[11] Tolasa S, Cakli S, Ostermeyer U. Determination of astaxanthin and canthaxanthin in salmonid [J]. *European Food Research and Technology*, 2005, **221**(6): 787-791.

[12] Li M, Wu W, Zhou P, *et al*. Comparison effect of dietary astaxanthin and *Haematococcus pluvialis* on growth performance, antioxidant status and immune response of large yellow croaker *Pseudosciaena crocea* [J]. *Aquaculture*, 2014(434): 227-232.

[13] Hussein G, Sankawa U, Goto H, *et al*. Astaxanthin, a carotenoid with potential in human health and nutrition [J]. *Journal of Natural Products*, 2006, **69**(3): 443-449.

[14] Oslan S N H, Shoparwe N F, Yusoff A H, *et al*. A review on *Haematococcus pluvialis* bioprocess optimization of green and red stage culture conditions for the production of natural astaxanthin [J]. *Biomolecules*, 2021, **11**(2): 256.

[15] Zhao W, Guo Y C, Huai M Y, *et al*. Comparison of the Retention rates of synthetic and natural astaxanthin in feeds and their effects on pigmentation, growth, and health in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Antioxidants*, 2022, **11**(12): 2473.

[16] Capelli B, Bagchi D, Cysewski G R. Synthetic astaxanthin is significantly inferior to algal-based astaxanthin as an antioxidant and may not be suitable as a human nutraceutical supplement [J]. *Nutrafoods*, 2013, **12**(4): 145-152.

[17] Nuntapong N, Phromkunthong W, Suanyuk N, *et al*. Natural pigment from *Paracoccus carotinifaciens* (Panaferd®-AX) enhanced colour and immune system of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Aquaculture Research*, 2022, **53**(17): 5925-5936.

[18] Wang L, Long X, Li Y, *et al*. Effects of three sources of astaxanthin on the growth, coloration, and antioxidant capacity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during long-term feeding [J]. *Fishes*, 2024, **9**(5): 174.

[19] Liu X, Luo Q, Rakariyatham K, *et al*. Antioxidation and anti-ageing activities of different stereoisomeric astaxanthin in vitro and in vivo [J]. *Journal of Functional Foods*, 2016(25): 50-61.

[20] Rao A R, Sindhuja H N, Dharmesh S M, *et al*. Effective inhibition of skin cancer, tyrosinase, and antioxidative properties by astaxanthin and astaxanthin esters from the green alga *Haematococcus pluvialis* [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, **61**(16): 3842-3851.

[21] Yang W Y, Wu L Y, Zhang Y X, *et al*. Dietary supplementation with glutamate on growth, antioxidant capacity, and muscle quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2024, **48**(9): 1509-1518. [杨婉愉, 巫丽云, 张月星, 等. 饲料添加谷氨酸对草鱼生长、抗氧化能力和肌肉品质性状的影响 [J]. 水生生物学报, 2024, **48**(9): 1509-1518.]

[22] CIE recommendations on uniform color spaces, color-difference equations, and metric color terms [J]. *Color Research & Application*, 1977, 2(1): 5-6.

[23] Todorović B, Grujić V J, Krajnc A U, *et al*. Identification and content of astaxanthin and its esters from microalgae *Haematococcus pluvialis* by HPLC-DAD and LC-QTOF-MS after extraction with various solvents [J]. *Plants*, 2021, **10**(11): 2413.

[24] AOAC. Association of official analytical chemist [J]. *Official methods of analysis*, 2006(16): 0066-0961X.

[25] Zusková E, Máchová J, Velíšek J, *et al*. Recovery of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after subchronic nitrite exposure [J]. *Acta Veterinaria Brno*, 2013, **82**(1): 73-79.

[26] He L Y, Liu H K, Han D, *et al*. Low-protein diets supplemented with essential amino acids on growth, amino acid transporters and gene expression of the mtor signaling pathway in gibel carp (*Carassius gibelio*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2024, **48**(1): 1-9. [何林岳, 刘昊昆, 韩冬, 等. 低蛋白饲料补充必需氨基酸对异育银鲫生长、氨基酸转运和mTOR信号通路相关基因的影响 [J]. 水生生物学报, 2024, **48**(1): 1-9.]

[27] DA Costa D P D, Silva M J S, Geraldi R M, *et al*. Effects of the use of synthetic astaxanthin in the feeding of *Lophiosilurus alexandri*, a neotropical siluriform fish [J]. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 2022, 94(suppl 4): e20210434.

[28] Zhao X, Li L, Li C, *et al*. Heat stress-induced endoplasmic reticulum stress promotes liver apoptosis in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Aquaculture*, 2022(546): 737401.

[29] Chatzifotis S, Pavlidis M, Jimeno C D, *et al*. The effect of different carotenoid sources on skin coloration of cultured red porgy (*Pagrus pagrus*) [J]. *Aquaculture Research*, 2005, **36**(15): 1517-1525.

[30] Doolan B J, Booth M A, Allan G L, *et al*. Effects of dietary astaxanthin concentration and feeding period on the skin pigmentation of Australian snapper *Pagrus auratus* (Bloch & Schneider, 1801) [J]. *Aquaculture Research*, 2008, **40**(1): 60-68.

[31] Vo T T M, Tran T D, Amoroso G, *et al*. Analysis of carotenoids and fatty acid compositions in Atlantic salmon exposed to elevated temperatures and displaying flesh color loss [J]. *Food Chemistry*, 2023(417): 135867.

[32] Yi X, Xu W, Zhou H, *et al*. Effects of dietary astaxanthin and xanthophylls on the growth and skin pigmentation of large yellow croaker *Larimichthys croceus* [J]. *Aquaculture*, 2014(433): 377-383.

[33] Meng X, Yang F, Zhu L, *et al*. Effects of different astaxanthin sources on fillet coloration and energy deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2024, **2024**(1): 1664203.

[34] Yang X, He Y, Lin S, *et al*. Saccharomyces cerevisiae extracts improved the effects of a low fishmeal, complex plant protein diet in the orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides* [J]. *Aquaculture Reports*, 2021(19): 100574.

[35] Chen X M, Gao C S, Du X Y, *et al*. Effects of dietary astaxanthin on the growth, innate immunity and antioxidant defence system of *Paramisgurnus dabryanus* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2020, **26**(5): 1453-1462.

[36] Zhao X, Hu J, Zhang X, *et al*. Effects of E/Z isomers and coating materials of astaxanthin products on the pigmentation and antioxidation of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2016, **47**(3): 341-351.

[37] Pan C H, Chien Y H, Hunter B. The resistance to ammonia stress of *Penaeus monodon Fabricius* juvenile fed diets supplemented with astaxanthin [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2003, **297**(1): 107-118.

[38] Heidari H H, Fakhri S, Parvardeh S, *et al*. Astaxanthin prevents the methotrexate-induced reproductive toxicity by targeting oxidative stress in male mice [J]. *Toxin Reviews*, 2019, **38**(3): 248-254.

[39] Liu C C, Chu C C, Chen S Y, *et al*. Attenuation of blue light-induced photo-oxidative stress through inhibition of NF-κB and MAPK signaling pathways, and activation of Nrf2 signaling pathway by djulis and its bioactive compounds [J]. *Journal of Functional Foods*, 2023(109): 105797.

[40] Zhang S S, Wu M, Zhang X Y, *et al*. Effects of astaxanthin on oxidative stress response in primary mouse hepatocytes [J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2017, **38**(6): 14-19. [张珊珊, 吴旻, 张晓音, 等. 虾青素对小鼠肝脏原代细胞氧化应激的影响 [J]. 华南农业大学学报, 2017, **38**(6): 14-19.]

[41] Xie J, Fang H, He X, *et al*. Study on mechanism of synthetic astaxanthin and *Haematococcus pluvialis* improving the growth performance and antioxidant capacity under acute hypoxia stress of golden pompano (*Trachinotus ovatus*) and enhancing anti-inflammatory by activating Nrf2-ARE pathway to antagonize the NF-κB pathway [J]. *Aquaculture*, 2020(518): 734657.

[42] Hagymasi A T, Dempsey J P, Srivastava P K. Heat-shock proteins [J]. *Current Protocols*, 2022, **2**(11): e592.

[43] Das C, Thraya M, Vijayan M M. Nongenomic Cortisol signaling in fish [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2018(265): 121-127.

[44] Lai F, Royan M R, Gomes A S, *et al*. The stress response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): identification and functional characterization of the corticotropin-releasing factor (*crf*) paralogs [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2021(313): 113894.

[45] Dawood M A O, Zommara M, Eweedah N M, *et al*. The evaluation of growth performance, blood health, oxidative status and immune-related gene expression in Nile *Tilapia* (*Oreochromis niloticus*) fed dietary nanoselenium spheres produced by lactic acid bacteria [J]. *Aquaculture*, 2020(515): 734571.

[46] Yeganeh S, Teimouri M, Amirkolaie A K. Dietary effects of Spirulina platensis on hematological and serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Research in Veterinary Science*, 2015(101): 84-88.

[47] Meilisza N, Suprayudi M, Jusadi D, *et al*. Effect of type and dosage of carotenoid in feed on plasma cortisol and glucose of Kurumoi rainbowfish (*Melanotaenia parva* Allen) due to transportation stress [J]. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studites*, 2018, **6**(5): 272-277.

[48] Pinho S S, Reis C A. Glycosylation in cancer: mechanisms and clinical implications [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2015, **15**(9): 540-555.

[49] Xie L, Chen S, Yao C, *et al*. Nitrite induces endoplasmic reticulum stress and associates apoptosis of liver cells in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Aquaculture*, 2019(507): 275-281.

[50] Al-Gayyar M M H, Hassan H M, Alyoussef A, *et al*. Nigella sativa oil attenuates chronic nephrotoxicity induced by oral sodium nitrite: Effects on tissue fibrosis and apoptosis [J]. *Redox Report*, 2016, **21**(2): 50-60.

[51] Zhang Q, Luo C, Li Z, *et al*. Astaxanthin activates the

Nrf2/Keap1/HO-1 pathway to inhibit oxidative stress and ferroptosis, reducing triphenyl phosphate (TPhP)-induced neuro developmental toxicity [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2024(271): 115960.

DIFFERENT ASTAXANTHIN SOURCES ON GROWTH PERFORMANCE, FLESH COLOR, ANTIOXIDANT ABILITY, AND ACUTE NITRITE STRESS OF RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

ZOU Yu-Yu[1, 2], LIU Hao-Kun[1], CHEN Jian[1, 2], JIN Jun-Yan[1], HAN Dong[1], ZHANG Zhi-Min[1], ZHU Xiao-Ming[1], YANG Yun-Xia[1] and XIE Shou-Qi[1, 3]

(1. *State Key Laboratory of Breeding Biotechnology and Sustainable Aquaculture*, *Institute of Hydrobiology*, *Chinese Academy of Sciences*, *Wuhan* 430072, *China*; 2. *University of Chinese Academy of Sciences*, *Beijing* 100049, *China*; 3. *Hubei Engineering Research Center for Aquatic Animal Nutrition and Feed*, *Wuhan* 430072, *China*)

Abstract: The present study investigated the effects of dietary supplementation with astaxanthin from different sources on growth performance, flesh pigmentation, antioxidant capacity, and acute nitrite stress response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Four diets were designed as the control diet and three astaxanthin inclusion diets, including 3.0 g/kg *Paracoccus carotinifaciens* (PC), 2.4 g/kg *Haematococcus pluvialis* (HP), and 0.6 g/kg Carophyll Pink (CP), each providing 60 mg/kg astaxanthin. A total of 480 rainbow trout with an initial body weight of (6.17±0.08) g were randomly assigned to four groups with four replicates each, followed by a 30-day feeding trial. Results showed that there were no significant differences in growth performance between astaxanthin-supplemented groups and the control group (P>0.05). Muscle redness and yellowness values, as well as astaxanthin content, were significantly higher in all astaxanthin-supplemented groups than that in the control group (P<0.05), with the CP group showing the highest astaxanthin deposition in muscle. Antioxidant capacity was enhanced in all astaxanthin-treated groups, as evidenced by significantly elevated hepatic activities of superoxide dismutase (SOD), total antioxidant capacity (T-AOC), and catalase (CAT), along with reduced malondialdehyde (MDA) levels before and after acute nitrite exposure (P<0.05). Following nitrite challenge, plasma cortisol, glucose, and lactate levels were significantly lower in astaxanthin-fed groups compared to the control (P<0.05). Furthermore, astaxanthin supplementation significantly upregulated hepatic *nrf2* and *sod* gene expression and downregulated *bcl2* and *caspase9* expression. In conclusion, dietary astaxanthin from three different sources improved the flesh color, pigmentation, antioxidant capacity, and anti-stress capacities in rainbow trout. However, PC and CP showed stronger effects in enhancing antioxidant capacity compared to HP, while HP exhibited a greater ability to alleviate cell apoptosis in rainbow trout.

Key words: Astaxanthin; Flesh color; Antioxidant capacity; Nitrite stress; *Oncorhynchus mykiss*