

文章编号: 1000-0615(2019)10-2109-14

DOI: 10.11964/jfc.20190811929

饲料不同n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾生长、虾体组分、血清抗氧化及相关基因表达的影响

蒋振廷¹, 刘波^{1,2*}, 戈贤平^{1,2}, 周群兰², 孙存鑫²

(1. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081;

2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081)

摘要: 为探讨饲料中n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾生长性能、虾体肉质及血清抗氧化能力的影响, 设计了5种不同n-3/n-6脂肪酸比值(D1: 0.29、D2: 0.56、D3: 1.02、D4: 2.20、D5: 8.52)的等氮等脂饲料, 进行了8周养殖实验, 每组设4个重复, 每个重复45尾虾。结果显示, 饲料n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾的存活率(SR)无显著影响; 日本沼虾增重率(WGR)和特定生长率(SGR)随饲料脂肪酸比值的增加先升后降, D3组最高且显著高于D1组。饲料n-3/n-6脂肪酸比值对虾体粗脂肪(CF)和粗蛋白(CP)影响显著, D4组虾体粗脂肪显著高于其他各组; D3组虾体粗蛋白显著高于D2、D4和D5组。虾体肌肉脂肪酸比值受饲料脂肪酸比值的影响, 肌肉中n-3/n-6脂肪酸比值与饲料中n-3/n-6脂肪酸比值存在显著的正相关关系。血清超氧化物歧化酶(SOD)在D5组达到最高且显著高于D1、D2和D3组, 但与D4组差异不显著; D3组谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)最高且显著高于其他各组; D5组血清丙二醛(MDA)含量显著高于D1和D3组。饲料脂肪酸比值对日本沼虾肝胰腺抗氧化基因表达影响显著, D4组*Hsp60*表达量最高且显著高于D5组, 但与D1、D2和D3组差异不显著; D2组*Hsp70*和*Toll*表达量最高且显著高于其他各组; D5组*Myd88*表达量最高且显著高于其他各组。综上所述, 饲料中n-3/n-6脂肪酸比值为1.02~2.20, 可以显著提高日本沼虾的生长性能和非特异性免疫力。

关键词: 日本沼虾; n-3/n-6; 生长; 体组成; 血清抗氧化; 基因表达

中图分类号: S 963

文献标志码: A

饲料中的脂肪不仅可以为养殖动物提供重要的能量来源, 还能为机体提供必需脂肪酸(essential fatty acid, EFA)、磷脂、固醇类及脂溶性维生素, 帮助动物机体维持生物膜结构和生理功能^[1]。EFA是指维持动物存活生长所必需, 其本身不能合成或者合成量不能满足其生长需要, 必须由饲料提供的脂肪酸。Kanazawa等^[2]的研究发现, 对虾不能合成n-3和n-6系列脂肪酸及长链多不饱和脂肪酸(long chain polyunsaturated fatty acid, LC-PUFA)。但最近30年的研究发现, 对虾可以利用体内产生的乙酰辅酶A, 经过一系

列生化过程合成非必需脂肪酸, 主要是n-7、n-9和n-11系列脂肪酸, 合成n-3和n-6系列脂肪酸的能力较弱。因此, 甲壳动物需要从食物中获得这些脂肪酸, n-3和n-6系列脂肪酸被认为是水产动物必需脂肪酸。

在虾类的实际营养需求中, 确定饲料中n-3和n-6系列脂肪酸比例尤为重要, 因为n-3和n-6不饱和脂肪酸在动物体内存在代谢竞争的关系, 尤其是二十碳五烯酸(EPA)与花生四烯酸(ARA)均是合成二十碳脂肪酸衍生物的前体, 且均为环氧化酶(COX)和脂氧合酶(LOX)的底物^[3]。

收稿日期: 2019-08-30 修回日期: 2019-10-08

资助项目: 江苏省青虾产业技术体系(JFRS-02); 现代农业产业技术体系专项(CARS-48)

通信作者: 刘波, E-mail: liub@ffrc.cn

在饲料中n-3/n-6脂肪酸的比值过高或过低都会影响养殖动物的健康生长,如草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)^[4]日粮中n-3高不饱和脂肪酸(HUFA)含量为0~0.52%时,生长性能随饲料n-3 HUFA水平升高而上升,但当饲料n-3 HUFA水平达到0.83%和1.13%时,其生长性能显著下降。类似的结果在花鲈(*Labrax japonicus*)^[5]、中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)^[6]、锯缘青蟹(*Scylla serrata*)^[7]和三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)^[8]中均有发现。同样,庞小磊^[9]等在对黄河鲤(*Cyprinus carpio haematopterus*)的研究中也发现,饲料n-3/n-6脂肪酸比值不仅可以在一定程度上提高鱼体的增重率,且不同比例的n-3/n-6水平会影响血清生长激素(GH)的含量,不同部位肌肉组织中GH/胰岛素样生长因子(IGF)轴生长相关基因的水平也受饲料中n-3/n-6比例的影响。

日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)俗名青虾、河虾,属于节肢动物门(Arthropoda)、甲壳纲(Crustacea)、十足目(Decapoda)、长臂虾科(Palaemonidae)、沼虾属(*Macrobrachium*),广泛分布于我国及东南亚大部分地区,由于其肉质鲜美、营养丰富,是我国重要的淡水养殖虾种之一。近10年来,我国日本沼虾的养殖产量一直保持在稳定的水平^[10]。已有研究表明,饲料脂肪水平为5%~8%时,可提高日本沼虾的增重率、特定生长率和肝胰腺脂肪酶活性^[11],但饲料不同n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾生长、虾体组分、肉质、体脂肪酸组成及血清抗氧化指标等影响尚需要进一步研究。因此,本实验配制5组实验日粮,其中n-3/n-6脂肪酸比值分别为0.29、0.56、1.04、2.20和8.52,以探究饲料中不同n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾生长、虾体组分、肉质、体脂肪酸组成及血清抗氧化指标的影响,为日本沼虾合理的必需脂肪酸配比提供依据。

1 材料与方 法

1.1 实验设计与饲料制作

实验饲料以鱼粉、豆粕、大豆浓缩蛋白为主要蛋白源;豆油和鱼油为脂肪源; α -淀粉为糖源,其中豆油和鱼油均购自无锡通威饲料有限公司。通过改变饲料中豆油和鱼油的含量和比例来调节脂肪水平和n-3/n-6比值,配制5组等氮等能饲料(D1~D5),其中各组的n-3/n-6水平分别

为0.29(D1)、0.56(D2)、1.04(D3)、2.20(D4)、8.52(D5),饲料配方、营养组成见表1。所有实验饲料原料经粉碎,过60目筛,按照各个实验设计的饲料配方进行称料,维生素和矿物质等微量组成采用逐级扩大法进行混合均匀,再添加一定量按比例混合的鱼油和豆油以及15%左右的水混合均匀,然后用双螺杆挤条机制成粒径为1.0 mm的沉性颗粒料,晾干后于-20 °C冰箱保存备用。

1.2 实验虾及养殖管理

养殖实验用日本沼虾为中国水产科学研究院淡水渔业研究中心宜兴大浦养殖基地的杂交日本沼虾“太湖1号”。挑选体质健壮、规格基本一致的个体900尾,个体均重为0.15 g,随机分为5组,每组设置4个重复,每个重复45尾虾,共20个圆形桶,桶的直径为1.8 m,高为1 m,实验期间保持水位为45~50 cm。

实验期间,圆形桶中放置尼龙绿叶子作为隐蔽物,持续供氧,保持池水溶解氧5 mg/L以上,氨氮小于0.2 mg/L,控制养殖水体温度为25~28 °C, pH为7.0~8.5。日本沼虾在蓄养池驯化1周后正式开始投喂实验饲料,每天早中晚投喂3次,分别在7:30—8:00; 11:30—12:00; 16:30—17:00各投喂1次,投饵率大约为体质量的2%~5%,并根据摄食和生长情况作适当调整,定期吸污和换水。养殖为期8周。

实验开始后1周内若有死虾,及时捞出称重,并补回同样重量的虾;1周后若再有死虾,则捞出称重并做好记录。

1.3 样品采集

养殖实验结束后,饥饿24 h,称重并记录尾数,计算增重率(WG)、特定生长率(SGR)、存活率(SR)和饵料系数(FCR)。每组取20尾虾(每组4个桶,每桶随机抽取5尾虾)于冻存管内,并放置-20 °C冰箱保存,用于体成分分析。每组取24尾虾(每组4个桶,每桶抽取6尾虾),放在碎冰上操作取样。用吸入0.2 mL抗凝剂的一次性注射器从围心腔(第3步足基部)抽取大约0.2 mL的血淋巴,放于抗凝管内,血样在4 °C冰箱静置1~2 h后,在4 °C、3 000 r/min离心10 min制备血清,血清移入抗凝管置于-80 °C保存。保证每组4管血样,用于测定血清内相关抗氧化酶活性。

表 1 实验饲料配方及主要营养物质
Tab. 1 Formulation and nutritional components of the experimental diet

原料 ingredients	组别 diets				
	D1	D2	D3	D4	D5
鱼粉 fish meal	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00
豆粕 soybean meal	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
大豆浓缩蛋白 soy protein concentrate	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00
乌贼膏 squid paste	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
α -淀粉 α -starch	21.30	21.30	21.30	21.30	21.30
豆油 soybean oil	6.00	4.50	3.00	1.50	0.00
鱼油 fish oil	0.00	1.50	3.00	4.50	6.00
磷酸二氢钙 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
蜕壳素 ecdysone	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
维生素预混料 ¹ vitamin premix	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
矿物质预混料 ² mineral premix	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
50%氯化胆碱 50% choline chloride	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
维生素C vitamin c	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
胆固醇 cholesterol	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
营养成分 nutrient composition					
粗蛋白 crude protein	39.77	39.77	39.77	39.77	39.77
粗脂肪 crude lipid	8.77	8.77	8.77	8.77	8.77
粗灰分 crude ash	6.91	6.91	6.91	6.91	6.91
碳水化合物 carbohydrate	31.63	31.63	31.63	31.63	31.63
赖氨酸 Lys	2.61	2.61	2.61	2.61	2.61
蛋氨酸 Met	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74
n-3 PUFA	0.95	1.41	1.88	2.35	2.81
n-6 PUFA	3.28	2.54	1.81	1.07	0.33
n-3/n-6	0.29	0.56	1.04	2.20	8.52

注: ¹维生素预混料和²矿物质预混料由无锡华诺威动物保健品有限公司提供

Notes: ¹vitamin and ²mineral additives were provided by Wuxi Hanove Animal Health Products Co., Ltd.

每组虾采血后, 取肝胰腺于冻存管中, 再放入液氮中, 24 h后置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱内保存。用于测定肝胰腺相关的抗氧化酶的基因表达等。

1.4 样品分析

虾体及饲料常规成分测定 饲料、肌肉、肝胰腺常规成分测定参考(AOAC)测定方法^[12], 将待测饲料样品于 $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温烘箱中进行烘干以检测其水分含量, 样品中粗蛋白含量采用凯氏定氮法进行测定; 粗脂肪的含量采用索氏抽提

法进行测定; 粗灰分含量采用马弗炉 $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灼烧法进行测定。饲料粗纤维含量测定方法参考GB/T 6434-2006; 饲料中无氮浸出物含量计算公式为无氮浸出物($\%$)= $100\%-(\text{水分}+\text{粗蛋白}+\text{粗脂肪}+\text{粗灰分}+\text{粗纤维})\%$ 。全虾体组分分析, 先吸干表面水分称重记录(W_1), 在电热鼓风干燥箱中 $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘干4 h后称重记录(W_2)。水分($\%$)= $(W_1-W_2)/W_1\times 100\%$, 虾体用粉碎机粉碎, 经SOX 500脂肪测定仪测定全虾干物质脂肪含量。用浓硫酸消解后在K1100F全自动凯氏定氮仪上测定

蛋白质含量。将虾粉置于坩埚上,在电炉上灼烧至不冒烟,再置于马弗炉中高温560℃灼烧过夜,测定粗灰分含量。

虾体肌肉及饲料脂肪酸组成测定 采用面积归一化法^[13]确定饲料及虾体肌肉脂肪酸组成及相对含量,取部分已制备好的虾体肌肉及饲料样品用于脂肪酸分析,总脂肪酸的测定采用氯仿:甲醇:H₂O=2:2:1抽提总脂肪,分别用1 mol/L KOH-甲醇和0.5 mol/L硫酸甲醇溶液使脂肪酸甲酯化,再用正庚烷萃取脂肪酸甲酯。样品皂化甲酯化后,直接上气相色谱—质谱仪进行分析。气相色谱—质谱分析条件:分析仪器为Trace DSQ GC/MS气质联用仪;色谱柱为HP-5MS, 30 m×0.25 mm×0.25 μm。气相色谱操作条件:气化室温度250℃;传输线温度280℃。色谱柱升温程序:初温50℃,以10 min/℃升至280℃并保持10 min。进样方式:分流进样,分流比为10:1。进样量:1 μL。质谱:EI离子源。信增器电压:1 200 V。离子源温度:230℃。四极杆温度:150℃,全扫描(SCAN)质量范围:45~500 mau。检索NIST质谱图库,比较样品质谱图与图库中标准质谱图,即可确定样品中脂肪酸种类。

免疫指标测定 血清抗氧化酶活性测定, SOD、MDA、GSH-Px均采用相关试剂盒,并按照试剂盒的说明方法进行测定,试剂盒均购于南京建成生物工程研究所有限公司。

抗氧化相关基因表达分析 日本沼虾Toll样受体(*Toll*)、Dorsal蛋白(*Dorsal*)、Relish蛋白(*Relish*)、髓样分化因子88(*Myd88*)、热休克蛋白60(*Hsp60*)和热休克蛋白70(*Hsp70*)基因的特异性引物(表2)根据日本沼虾基因数据获得的目的基因核苷酸序列进行设计,内参基因选用β-actin。日本沼虾组织总RNA根据Trizol法进行提取。使用TaKaRa公司PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser(Perfect Real Time)试剂盒(Cat#RR047A)去除总RNA中的DNA,调整总RNA浓度,并反转录合成cDNA。利用Primer Premier 5.0在线数据库设计荧光定量特异性引物,引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成。使用TaKaRa公司TB Green™ Premix Ex Taq™ II(Tli RNaseH Plus)两步法试剂盒(Cat# RR820A),仪器使用CFX96 Real-Time PCR Detection System,

qRT-PCR反应体系为20 μL。荧光定量程序:95℃条件下5 s, 60℃条件下34 s(循环数为40), 95℃15 s, 60℃1 min, 95℃30 s, 60℃15 s。基因mRNA相对表达量用2^{-ΔΔCT}进行分析^[14]。

表2 日本沼虾抗氧化相关基因RT-PCR引物序列

Tab. 2 Primer sequences of antioxidant related genes in *M. nipponense* used in the study

目的基因 target gene	引物序列 primer sequences (5'-3')	长度/bp length
Toll	CGACCTCCACGACAACAAGA	20
	AAAGTTCCTGCACCAATGCG	20
Dorsal	TACGACCAACGACAAGAGC	20
	CGCATTGTGTGTTCCCA	20
Relish	CGGGAAAGTTTGACGGCATA	20
	TCGTTTAAGGCTGTCTGGCA	20
Myd88	ACAGCTTGAACAGAAGCGG	20
	CACATCGCTCAAGCTGACAC	20
Hsp60	GCCTTGCTTCGTTGTATGCC	20
	GCATTCACACTGCATTGGT	20
Hsp70	CTTTGAGGTGGCTGGATGGAA	21
	GCAGTTCCTGAATTTGGCA	21
β-actin	GTGCCATCTACGAGGGTTA	20
	CGTCAGGGAGCTCGTAAGAC	20

1.5 测定指标

存活率(survival rate, SR, %)= $N_t/N_0 \times 100\%$

增重率(weight gain rate, WGR, %)= $(W_2-W_1)/W_1 \times 100\%$

特定生长率(specific growth rate, SGR, %)= $(\ln W_2 - \ln W_1)/T \times 100\%$

饵料系数(feed conversion ratio, FCR)= $W_3/(W_2-W_1)$

式中, N_0 为虾初数量(只), N_t 为虾末数量(只), W_1 为虾初均体质量(g), W_2 为虾末均体质量(g), T 为饲养时间(d), W_3 为每尾虾吃食量均重(g)。

1.6 数据分析

数据用SPSS 25.0软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),当差异显著时($P < 0.05$),采用Duncan氏法对各组进行显著性多重比较,所有的结果均以平均值±标准误表示。

2 结果

2.1 饲料不同n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾生长性能的影响

饲料中不同n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾存活率无显著影响($P>0.05$)。随着饲料中n-3/n-6脂

肪酸比值的升高, 各组间日本沼虾末均体质量(FBW)、WGR、SGR呈先上升后下降的趋势, 其中D3组的虾SGR和WGR最高, 且显著高于D1组($P<0.05$), 但与其他饲料组的差异不显著($P>0.05$) (表3)。与其他饲料组相比, D3、D4、D5组的FCR显著低于D1组($P<0.05$)。

表 3 饲料n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾生长性能的影响

Tab. 3 Effect of dietary n-3/n-6 fatty acid ratio on growth performance of *M. nipponensis*

项目 items	组别 groups				
	D1	D2	D3	D4	D5
存活率/% SR	65.19±6.58	72.59±1.48	61.48±1.48	74.07±5.93	74.07±3.23
初均体质量/g IBW	0.15±0.00	0.15±0.00	0.15±0.00	0.15±0.00	0.15±0.00
末均体质量/g FBW	0.83±0.04 ^c	0.89±0.05 ^{bc}	1.05±0.07 ^a	1.03±0.01 ^{ab}	0.91±0.04 ^{abc}
增重率/% WGR	468.81±26.46 ^b	511.25±32.17 ^{ab}	616.58±49.40 ^a	605.64±4.74 ^a	521.62±26.88 ^{ab}
特定生长率/% SGR	2.76±0.08 ^b	2.87±0.08 ^{ab}	3.12±0.11 ^a	3.10±0.01 ^a	2.90±0.07 ^{ab}
饵料系数/% FCR	1.74±0.17 ^a	1.43±0.10 ^{ab}	1.31±0.09 ^b	1.20±0.10 ^b	1.33±0.12 ^b

注: 同一行中的不同字母表示差异显著($P<0.05$)。下同

Notes: different superscripts in the same row mean significantly different($P<0.05$). The same below

2.2 饲料不同n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾全虾体组分的影响

随着饲料不同n-3/n-6脂肪酸比值的增加, D4组虾体水分最高, D1组虾体粗灰分含量最高, 但与其他各组差异不显著($P>0.05$); 随着饲料n-3/n-6脂肪酸比值的增加, 虾体粗脂肪呈现先

升高后降低的趋势, D4组虾体粗脂肪含量显著高于其他各组($P<0.05$), 但D3与D5组、D1与D2组虾体粗脂肪含量无显著差异。D3组虾体粗蛋白含量最高, 显著高于D2、D4和D5组, 但与D1组差异不显著(表4)。

表 4 饲料中n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾全虾体组分的影响

Tab. 4 Effect of dietary n-3/n-6 fatty acid ratio on the body composition of *M. nipponensis*

项目 items	组别 group					%
	D1	D2	D3	D4	D5	
水分 moisture	73.17±0.95	72.38±4.81	73.32±0.88	76.43±6.55	74.21±1.04	
粗脂肪 crude lipid	12.64±0.60 ^c	12.91±1.45 ^c	15.82±0.39 ^b	19.02±0.18 ^a	16.36±0.38 ^b	
粗蛋白 crude protein	63.26±0.41 ^{ab}	61.93±0.35 ^b	64.68±0.83 ^a	61.71±0.27 ^b	62.78±0.26 ^b	
粗灰分 crude ash	24.99±0.11	24.25±1.56	22.99±0.42	24.86±0.01	23.11±0.45	

2.3 饲料不同n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾肌肉脂肪酸组成的影响

饲喂不同n-3/n-6脂肪酸比值的饲料对日本沼虾肌肉脂肪酸组成的影响显著($P<0.05$) (表5)。虾体肌肉饱和脂肪酸(SFA)含量约占虾体肌肉总脂肪酸的1/3, 各组间饱和脂肪酸含量差异显著, D2组饱和脂肪酸含量最高, 显著高于其他各

组, D3组饱和脂肪酸含量最低, 但D4组和D5组饱和脂肪酸含量差异不显著($P>0.05$); 各组间虾体肌肉单不饱和脂肪酸(MUFA)含量差异显著, D5组虾体肌肉单不饱和脂肪酸含量最高(36.90%±0.07%), 显著高于其他各组($P<0.05$), 其次为D3组, D2组单不饱和脂肪酸最低(21.22%±0.24%), 显著低于其他各组; 各组间肌肉n-3系列脂肪酸含量随着饲料n-3/n-6脂肪酸比值的升高, 呈现先

上升后下降的趋势, 各组间n-3系列脂肪酸含量差异显著($P<0.05$), D4组最高(26.39%±0.28%), 其次为D3组(22.16%±0.06%), D5组含量最低, 为18.86%±0.12%; 各组间肌肉n-6系列脂肪酸含量随着饲料n-3/n-6脂肪酸比值的升高, 呈现下降的趋势, 且各组间差异显著($P<0.05$), D1组虾体肌

肉n-6系列脂肪酸含量最高, 为27.53%±0.20%, D5组最低, 为9.68%±0.01%; 随着饲料n-3/n-6脂肪酸比值的升高, 虾体肌肉n-3/n-6脂肪酸比值呈现升高的趋势, D1组n-3/n-6脂肪酸比值最低, 为0.67%±0.01%, D5组最高, 为1.95%±0.01%, 各组间差异显著, D5组显著高于其他各组($P<0.05$)。

表5 饲料中n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾肌肉脂肪酸组成的影响

Tab. 5 Effect of dietary n-3/n-6 fatty acid ratio on muscle fatty acid composition of *M. nipponensis*

脂肪酸 fatty acids	组别 groups				
	D1	D2	D3	D4	D5
C14:0	-	-	-	-	2.09
C16:0	21.80±0.11 ^d	23.83±0.03 ^b	21.58±0.25 ^d	23.27±0.01 ^c	28.47±0.01 ^a
C18:0	9.90±0.12 ^b	12.44±0.03 ^a	6.94±0.03 ^d	9.46±0.08 ^c	4.01±0.05 ^c
SFA	31.69±0.24 ^c	36.27±0.06 ^a	28.52±0.28 ^d	32.73±0.09 ^b	32.48±0.04 ^b
C16:1	-	-	1.86	-	-
C18:1c	22.47±0.32 ^d	21.22±0.24 ^c	26.77±0.16 ^b	24.98±0.12 ^c	36.90±0.07 ^a
MUFA	22.47±0.32 ^d	21.22±0.24 ^c	28.63±0.18 ^b	24.98±0.12 ^c	36.90±0.07 ^a
C18:3n3α	-	-	1.51	-	-
EPA	13.42±0.18 ^d	14.79±0.06 ^{bc}	14.49±0.13 ^c	19.97±0.26 ^a	15.25±0.11 ^b
DHA	4.90±0.07 ^c	4.24±0.00 ^d	6.17±0.08 ^b	6.42±0.02 ^a	3.62±0.01 ^c
∑n-3	18.32±0.12 ^d	19.02±0.06 ^c	22.16±0.06 ^b	26.39±0.28 ^a	18.86±0.12 ^c
C18:2	18.59±0.12 ^a	15.14±0.16 ^b	14.93±0.15 ^b	9.68±0.02 ^c	5.04±0.04 ^d
C20:2	-	-	1.42	-	-
C18:3n6γ	3.43±0.02 ^b	3.97±0.05 ^a	1.29±0.81 ^c	1.76±0.02 ^c	1.00±0.01 ^c
C20:3n6	5.51±0.06 ^a	4.38±0.03 ^b	4.30±0.22 ^b	4.46±0.07 ^b	3.64±0.05 ^c
∑n-6	27.53±0.20 ^a	23.48±0.23 ^b	21.93±1.02 ^c	15.90±0.07 ^d	9.68±0.01 ^c
n-3/n-6	0.67±0.01 ^c	0.81±0.01 ^d	1.01±0.05 ^c	1.66±0.02 ^b	1.95±0.01 ^a

注: SFA. 饱和脂肪酸, MUFA. 单不饱和脂肪酸, EPA. 二十碳五烯酸, DHA. 二十二碳六烯酸, -. 未检出, 下同

Notes: SFA. saturated fatty acid, MUFA. monounsaturated fatty acid, EPA. eicosapentaenoic acid, DHA. docosahexaenoic acid, -. not detected, the same below

2.4 饲料不同n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾血清抗氧化酶活性的影响

随着饲料n-3/n-6脂肪酸比值的上升, 超氧化物歧化酶(SOD)呈现先下降后上升的趋势, 各组间差异显著, 在D5组达到最大值, 与D4组无显著差异($P>0.05$), 且D5组SOD显著高于其他各组($P<0.05$), D2组最低, 显著低于D4和D5组($P<0.05$), 但与D1和D3组差异不显著($P>0.05$); 饲料n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾血清丙二醛(MDA)含量影响显著($P<0.05$), D5组虾血清MDA

含量显著高于其他各组($P<0.05$), 但与D4组差异不显著; 随着饲料中n-3/n-6脂肪酸比值的上升, 血清谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)呈先上升后下降的趋势, 在D3组虾中发现最大值, 且显著高于其他各组($P<0.05$)(表6)。

2.5 饲料n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾血清抗氧化相关基因表达的影响

日本沼虾抗氧化应激相关基因Hsp60、Hsp70、Toll和Myd88相对表达量受饲料脂肪酸比值影响显著, 随着饲料脂肪酸比值的升高, Hsp60、

表 6 饲料中n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾血清抗氧化酶活性的影响

Tab. 6 Effect of dietary n-3/n-6 fatty acid ratio on serum antioxidant enzyme activity of *M. nipponensis*

抗氧化酶 antioxidant enzyme	组别 groups				
	D1	D2	D3	D4	D5
超氧化物歧化酶/(U/mL) SOD	14.62±2.10 ^{bc}	11.55±0.20 ^c	14.15±0.54 ^{bc}	17.62±0.61 ^{ab}	20.34±1.65 ^a
丙二醛/(nmol/mL) MDA	6.87±0.68 ^c	9.86±0.81 ^b	13.12±0.81 ^a	10.22±0.73 ^b	19.13±2.41 ^b
谷胱甘肽过氧化物酶/(nmol/mL) GSH-Px	239.88±12.03 ^c	389.29±2.06 ^b	446.43±18.56 ^a	350.00±20.62 ^b	32.14±6.19 ^d

*Hsp70*和*Toll*表达量呈先升后降的趋势, *Hsp60*在D4组表达量最高, 显著高于D5组($P<0.05$), 但与D1、D2和D3组差异不显著; *Hsp70*和*Toll*表达量在D2组达到最高值且显著高于其他各组($P<0.05$); *Myd88*相对表达量受饲料脂肪酸比值的影响显

著, 各组差异明显, 在D5组表达量最高且显著高于其他各组($P<0.05$); 饲料脂肪酸比值对*Dorsal*和*Relish*的相对表达量影响不显著($P>0.05$); *Relish*的相对表达量在D1组最高, D5组最低; *Dorsal*相对表达量在D5组最高(图1)。

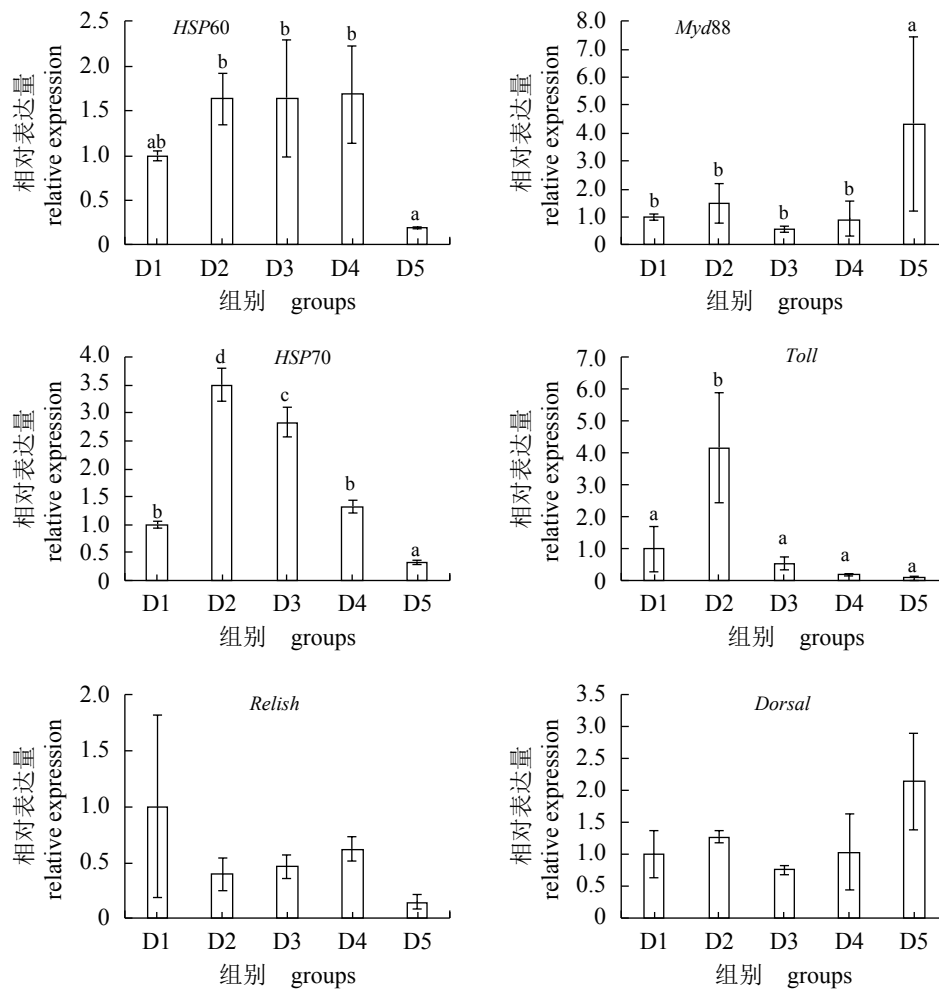


图 1 饲料n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾血清抗氧化相关基因表达的影响

不同字母表示不同组之间差异显著($P<0.05$)

Fig. 1 Effect of dietary n-3/n-6 fatty acid ratio on serum antioxidant stress-related gene expression in *M. nipponensis*

Different superscripts mean significantly different in different groups ($P<0.05$)

3 讨论

3.1 饲料不同n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾生长及肉质的影响

在本次实验中,日本沼虾存活率不受饲料中n-3/n-6脂肪酸比值的影响,这与胡水鑫等^[15]在三疣梭子蟹、谭青等^[16]在大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)上的研究结果一致。研究表明,饲料中添加一定量的n-3HUFA可促进水产动物生长,但摄食过量的n-3HUFA对生长不仅无促进作用,反而有抑制作用^[17]。与这一结果类似,本实验结果也发现,随着饲料n-3/n-6脂肪酸比值的升高,日本沼虾的增重率和特定生长率呈现先上升后下降的趋势,当饲料中n-3/n-6脂肪酸比值为0.29~1.04时,日本沼虾的增重率和特定生长率呈现上升趋势,当饲料中n-3/n-6脂肪酸比值超过1.04时,其特定生长率和增重率有下降趋势,此结果与罗娜等^[18]的研究结果一致,类似的结果在中华绒螯蟹^[6]、锯缘青蟹^[19]和三疣梭子蟹^[7]中也有发现,表明饲料中n-3/n-6脂肪酸过高会对日本沼虾生长有抑制作用,产生这种抑制作用的原因可能是n-6系列脂肪酸过多,抑制了动物体内EPA的生物转化^[20];也有可能是摄食过量的n-6系列脂肪酸导致虾体产生一定的炎症反应^[21],虾体长期处于免疫应激状态,对虾体的生长产生抑制作用。本次结果表明,各组饵料系数随着饲料n-3/n-6脂肪酸比值的增加呈先下降后上升的趋势,在D1组显著高于其他各组,D4组最低,表明适量的n-3/n-6脂肪酸比值,有利于实验动物的生长和饲料利用,这与徐后国^[22]的研究结果一致。

本研究表明,饲料中n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾全虾水分和粗灰分无显著影响,类似的结果在大菱鲆^[23]、花鲈^[24]、斑川鲈(*Platichthys stellatus*)^[25]中也有发现,说明不同的脂肪源对全虾水分、粗灰分无显著影响。虾体粗蛋白含量在D3组达到最大值,说明饲料中适当的n-3/n-6脂肪酸比值有利于机体蛋白质的储存,此结果与徐后国^[22]的研究结果一致。随着饲料n-3/n-6脂肪酸比值的升高,虾体粗脂肪含量呈先上升后下降的趋势,这与薛敏等^[26]的研究结果类似,其研究表明,饲料中EPA和DHA的存在使得鱼体肌肉脂肪含量有所增加,基本上随着饲料EPA和DHA含量的增加而增加,但更高水平的EPA和DHA并没有进一步增加牙鲆鱼体粗脂肪含量。

本实验结果表明随着饲料n-3/n-6脂肪酸比值的升高,在D4组时虾体粗脂肪含量达到最高,显著高于其他各组,说明饲料中n-3/n-6脂肪酸比值可以影响日本沼虾机体脂肪代谢,适当的饲料脂肪酸比值可以促进虾体粗脂肪的有效沉积,具体的影响机制有待进一步研究。

3.2 饲料不同n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾肌肉脂肪酸组成的影响

目前的研究结果表明,饲料中不同的脂肪酸组成或者不同的脂肪酸比值均会对虾体^[27]、鱼体^[28]脂肪酸组成产生影响。黄凯等^[29]在凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)上的研究结果也表明,饲料中脂肪酸组成不仅显著影响凡纳滨对虾脂肪酸组成,还对对虾的生长产生一定的影响。在本实验中,随着饲料n-3/n-6脂肪酸比值的增加,虾体肌肉n-3/n-6脂肪酸比值也随之增加。此外,日本沼虾肌肉中DHA和EPA的含量随着饲料n-3/n-6脂肪酸比值的增加呈先上升后下降的趋势,这可能与适宜的n-3/n-6脂肪酸比值可以增强脂肪酸去饱和酶和延长酶的活性有关^[30]。随着饲料n-3/n-6脂肪酸比值的增加,日本沼虾肌肉n-3系列脂肪酸含量呈先升后降的趋势,在D5组时虾体肌肉n-3系列脂肪酸含量较低,这可能与饲料中n-3系列脂肪酸含量较高有关,Karalazos等^[31]研究表明,饲料中某种脂肪酸含量过高时,往往会被优先代谢利用。

3.3 饲料不同n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾血清抗氧化能力的影响

在水产动物的机体免疫过程中,非特异性免疫起着不可替代的作用,因为特异性免疫需要时间产生抗体和激活细胞^[32],且特异性免疫系统不够完善,需要非特异性免疫系统协同帮助。SOD是清除体内氧自由基的重要酶类,也是机体内以氧自由基为反应底物的酶,其作用是通过催化氧自由基歧化为过氧化氢和O₂,维持细胞内的氧自由基处于低量无害状态^[33]。而GPx则是机体抵抗氧化应激的第一道屏障^[34],其主要分布在细胞胞浆内,能及时清除细胞内过量的氧自由基,维持细胞内氧化还原的稳态,且对水生动物天然非特异性免疫具有重要的作用^[35]。Li^[36]等的研究表明,瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)非特异性免疫酶活性随饲料亚麻酸

(LNA)含量的增加而增强,然而,当LNA含量超过一定比例时,黄颡鱼非特异性免疫酶活性显著下降。与该结果类似,本实验结果显示,随着饲料n-3/n-6脂肪酸比值的升高,日本沼虾血清SOD活性基本呈现上升趋势,在D2组时SOD活性最低,但与D3组无显著差异,而D1组和D5组虾血清SOD活性较高,表明饲料n-3/n-6脂肪酸比值过高或者过低都会对虾体产生损伤。在本次研究中,日本沼虾血清GPx活性随着饲料n-3/n-6脂肪酸比值的上升,呈现先上升后下降的趋势,在D3组达到最大值,而D1组和D5组的GPx活性则较低,此结果与Jin等^[37]的研究结果类似,可能是因为GPx和SOD的功能相似,均可清除体内多余的氧自由基,维持机体氧化还原的稳定,由于SOD活性在D1和D5组表达较高,清除了足够的氧自由基,因此导致GPx在D1和D5组的相对活性较低。而SOD在D3组活性较低,因此GPx的活性在D3组达到最高。

MDA是氧自由基引发脂质过氧化作用形成的最终产物,MDA含量的高低往往可以反映机体内脂质过氧化的程度,间接反映机体细胞受到氧自由基攻击后的受损程度,其含量越高说明机体损伤越严重^[38]。在本次实验中,随着饲料n-3/n-6脂肪酸比值的增加,日本沼虾血清MDA含量大致呈现上升的趋势,这与Jin等^[37]的研究结果一致。随着饲料脂肪比值的增加,日本沼虾血清MDA含量随之增加,在D5组(8.52)MDA含量最高,与D4组无显著差异,说明饲料中n-3系列脂肪酸较高可能导致虾体氧化应激,同样的结果在团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)^[39-41]中也有发现。Song等^[42]也认为高含量DHA饲料可能会通过提高细胞膜脂质过氧化的敏感性和破坏抗氧化系统,从而对肝脏组织的抗氧化能力产生影响。但与吉红等^[43]在草鱼和鲤^[44]中的研究结果不同,这可能与物种的不同或养殖条件不同有关。

3.4 饲料n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾血清抗氧化相关基因表达的影响

近年来,越来越多的研究表明,动物应激和免疫的关系密切相关,已有研究表明,若机体长期处于应激状态下,机体免疫器官会受到一定程度的损伤,进而导致机体免疫力下降^[45]。史晏如^[46]认为罗氏沼虾(*M. rosenbergii*)*Toll*表达量

与罗氏沼虾先天免疫应答有关。*Toll*基因在增强非特异性免疫的同时,也参与炎症反应过程,在本研究结果中,*Toll*相对表达量随着饲料脂肪酸比值的变化呈先升后降的趋势,在D2组达到最大值,在D5组表达量最低,这与Zuo等^[47]在大黄鱼(*Larimichthys crocea*)中的研究结果类似,这表明高n-3/n-6脂肪酸比值可能通过降低*Toll*表达以应对机体严重的炎症反应。Sharp等^[48]的研究结果表明,*Myd88*的表达量与细胞内ROS的产生呈正相关,在本实验中*Myd88*的表达量在D5组达到最高值,显著高于其他各组,表明可能D5组虾体损伤严重。

*Hsp60*被认为可以在应激状态下保护细胞免受损伤,其可通过激活单核白细胞、巨噬细胞、树状细胞等多种免疫细胞,并诱导激活多种免疫因子,参与免疫反应^[49]。在本次实验中,*Hsp60*表达量在D4组最高,说明虾体的免疫反应较为活跃,有助于增强虾体抵抗应激的能力,促进虾体生长。应激条件下,*HSP70*参与免疫应答反应,当机体处于应激反应时,组织中*HSP70*的表达量会显著升高^[50]。在本次实验中,*HSP70*的表达量在D2组达到最高,*HSP70*基因大量转录表达,说明虾体正采取积极的应答方式以应对饲料中不适合的脂肪酸比值对机体造成的损伤。这些基因的表达结果表明,饲料n-3/n-6脂肪酸不适当的比值会导致日本沼虾产生应激。

4 结论

综上所述,本次实验结果证明了饲料中n-3/n-6脂肪酸比值在1.02~2.20内,可以显著提高日本沼虾的生长性能和非特异性免疫性能,并改变虾体的常规组分和机体脂肪酸组成。

参考文献:

- [1] 张圆琴,徐后国,曹林,等.饲料中花生四烯酸对发育前期大菱鲆亲鱼性类固醇激素合成的影响[J].水产学报,2017,41(4):588-601.
Zhang Y Q, Xu H G, Cao L, et al. Effects of dietary arachidonic acid on the sex steroid hormone synthesis in turbot broodstock before maturation[J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(4): 588-601(in Chinese).
- [2] Kanazawa A, Toliva S, Kayama M, et al. Essential fatty acids in the diet of prawn: I. Effect of linoleic and

- linolenic acids on growth[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1977, 43(9): 1111-1114.
- [3] Lands W E M, Byrnes M J. The influence of ambient peroxides on the conversion of 5,8,11,14,17-icosapentaenoic acid to prostaglandins[J]. *Progress in Lipid Research*, 1981, 20: 287-290.
- [4] Ji H, Li J, Liu P. Regulation of growth performance and lipid metabolism by dietary n-3 highly unsaturated fatty acids in juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2011, 159(1): 49-56.
- [5] Xu H G, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Effects of dietary arachidonic acid on growth performance, survival, immune response and tissue fatty acid composition of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*[J]. *Aquaculture*, 2010, 307(1-2): 75-82.
- [6] 温小波, 陈立侨. 磷脂和胆固醇在虾蟹类营养中的研究进展[J]. *淡水渔业*, 2000, 30(5): 25-27.
Wen X B, Chen L Q. Progress on researches of phosphatide and cholesterol in nutrition of shrimps and crabs[J]. *Freshwater Fisheries*, 2000, 30(5): 25-27(in Chinese).
- [7] 翁幼竹, 李少菁, 王桂忠. 从锯缘青蟹幼体及其饲料的含脂情况探讨其脂营养需求[J]. *海洋学报*, 2003, 25(S2): 88-94.
Weng Y Z, Li S J, Wang G Z. Nutritional requirement for lipid in larvae of mud crab, *Scylla serrata*[J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2003, 25(S2): 88-94(in Chinese).
- [8] 张稳, 谢奉军, 金敏, 等. 饲料中n-3高不饱和脂肪酸含量对三疣梭子蟹幼蟹生长性能及脂肪酸组成的影响[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(5): 1254-1264.
Zhang W, Xie F J, Jin M, *et al.* Effects of dietary n-3 highly unsaturated fatty acid content on growth performance and fatty acid composition of juvenile swimming crab (*Portunus trituberculatus*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26(5): 1254-1264(in Chinese).
- [9] 庞小磊, 田雪, 王良炎, 等. 饲料中n-3/n-6多不饱和脂肪酸水平对黄河鲤鱼生长性能及生长相关基因mRNA表达的影响[J]. *水产学报*, 2019, 43(2): 492-504.
Pang X L, Tian X, Wang L Y, *et al.* Effects of dietary n-3/n-6 polyunsaturated fatty acids ratio on growth performance and growth-related genes mRNA expression in common carp (*Cyprinus carpio haematopterus*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(2): 492-504(in Chinese).
- [10] Fu H T, Jiang S F, Xiong Y W. Current status and prospects of farming the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) and the oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*) in China[J]. *Aquaculture Research*, 2012, 43(7): 993-998.
- [11] 斯烈钢, 邹李昶, 申屠基康, 等. 饲料添加不同脂肪及蛋白质水平对日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)生长性能、体成分及消化酶活力的影响[J]. *海洋与湖沼*, 2014, 45(2): 400-408.
Si L G, Zou L C, Shengtu J K, *et al.* Effect on different dietary lipid and protein level on growth performance, body composition and digestive enzymes activities of freshwater shrimp *Macrobrachium nipponense*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2014, 45(2): 400-408(in Chinese).
- [12] AOAC. Official methods of analysis of AOAC international[M]. 17th ed. Gaithersburg, MD, USA: Association of Analytical Communities, 2002.
- [13] 冯大伟, 李八方, 赵雪, 等. 鲤鱼、鲑鱼和鳕鱼皮中脂肪酸的气相色谱-质谱(GC/MS)分析与比较[J]. *水利渔业*, 2006, 26(5): 21-23.
Feng D W, Li B F, Zhao X, *et al.* Analysis and comparison of fatty acids in carp squid and cod skins by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS)[J]. *Reservoir Fisheries*, 2006, 26(5): 21-23(in Chinese).
- [14] 赵姣姣, 陶震, 周素明, 等. 三疣梭子蟹NF- κ B家族基因Relish和Dorsal的克隆及表达特征[J]. *水生生物学报*, 2019, 43(2): 298-304.
Zhao J J, Tao Z, Zhou S M, *et al.* Cloning and expression of NF- κ B family genes in *Portunus trituberculatus*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, 43(2): 298-304(in Chinese).
- [15] 胡水鑫, 王骥腾, 韩涛, 等. 饲料n-3 HUFA水平对三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)幼蟹生长、饲料利用和组织脂肪酸组成影响的研究[J]. *饲料工业*, 2015, 36(8): 18-25.
Hu S X, Wang J T, Han T, *et al.* Effects of dietary n-3 HUFA levels on growth performance, feed utilization and tissue fatty acid composition of juvenile swimming crab (*Portunus trituberculatus*)[J]. *Feed Industry*, 2015, 36(8): 18-25(in Chinese).

- [16] 谭青, 王际英, 李宝山, 等. n-3/n-6 HUFA对大菱鲆幼鱼生长性能、全鱼脂肪酸组成和血清生化指标的影响[J]. 水产学报, 2018, 42(5): 133-144.
Tan Q, Wang J Y, Li B S, *et al.* Effect of dietary n-3/n-6 HUFA on growth performance, fatty acid composition of whole fish and serum biochemical indices in turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2018, 42(5): 133-144(in Chinese).
- [17] Chen C Y, Sun B L, Guan W T, *et al.* N-3 essential fatty acids in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: effects of linolenic acid on non-specific immunity and anti-inflammatory responses in juvenile fish[J]. *Aquaculture*, 2016, 450: 250-257.
- [18] 罗娜, 丁志丽, 张易祥, 等. 饲料亚麻酸含量对日本沼虾生长、抗氧化能力、非特异性免疫性能及抗氨氮胁迫能力的影响[J]. 动物营养学报, 2017, 29(1): 134-146.
Luo N, Ding Z L, Zhang Y X, *et al.* Effects of dietary linolenic acid content on growth, antioxidant capacity, non-specific immunity and anti-ammonia-nitrite stress ability of oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, 29(1): 134-146(in Chinese).
- [19] 张稳. 三疣梭子蟹对n-3系列高度不饱和脂肪酸、维生素C和维生素E需求量的研究[D]. 宁波: 宁波大学, 2014.
Zhang W. Study on the requirements of n-3 series highly unsaturated fatty acids, vitamin C and vitamin E for the swimming crab, *Portunus trituberculatus*[D]. Ningbo: Ningbo University, 2014(in Chinese).
- [20] Furuita H, Yamamoto T, Shima T, *et al.* Effect of arachidonic acid levels in broodstock diet on larval and egg quality of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*[J]. *Aquaculture*, 2003, 220(1-4): 725-735.
- [21] 左然涛, 麦康森, 徐玮, 等. 脂肪酸对鱼类免疫系统的影响及调控机制研究进展[J]. 水产学报, 2015, 39(7): 1079-1088.
Zuo R T, Mai K S, Xu W, *et al.* Advance of studies on the effects of fatty acids on immune responses and nutritional regulation mechanism in fish species[J]. Journal of Fisheries of China, 2015, 39(7): 1079-1088(in Chinese).
- [22] 徐后国. 饲料脂肪酸对鲈鱼幼鱼生长、健康及脂肪和脂肪酸累积的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
Xu H G. Effects of dietary fatty acids on growth performance, health and accumulation of lipids and fatty acids in juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013(in Chinese).
- [23] 李思萌, 吴立新, 姜志强, 等. 饲料脂肪源对大菱鲆幼鱼生长性能和肌肉脂肪酸组成的影响[J]. 动物营养学报, 2015, 27(5): 1421-1430.
Li S M, Wu L X, Jiang Z Q, *et al.* Effects of dietary lipid source on growth performance and muscle fatty acid composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, 27(5): 1421-1430(in Chinese).
- [24] 王成强, 梁萌青, 徐后国, 等. 大规模鲈鱼(*Lateolabrax japonicus*)对饲料中花生四烯酸的需求量[J]. 渔业科学进展, 2016, 37(5): 46-55.
Wang C Q, Liang M Q, Xu H G, *et al.* Requirement of arachidonic acid in adult Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2016, 37(5): 46-55(in Chinese).
- [25] 马晶晶, 王际英, 孙建珍, 等. 饲料中DHA/EPA值对星斑川鲷幼鱼生长、体组成及血清生理指标的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(2): 244-256.
Ma J J, Wang J Y, Sun J Z, *et al.* Effect of dietary DHA to EPA ratios on growth performance, body composition and serum physiological parameters in juvenile *Platichthys stellatus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(2): 244-256(in Chinese).
- [26] 薛敏. 牙鲆幼鱼对EPA和DHA的营养需求[J]. 水产学报, 2004, 28(3): 285-291.
Xue M. Nutrient requirements for EPA and DHA by juvenile *Paralichthys olivaceus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2004, 28(3): 285-291(in Chinese).
- [27] Lim C, Ako H, Brown C L, *et al.* Growth response and fatty acid composition of juvenile *Penaeus vannamei* fed different sources of dietary lipid[J]. *Aquaculture*, 1997, 151(1-4): 143-153.
- [28] 周秋白, 朱长生, 吴华东, 等. 饲料中不同脂肪源对黄鳝生长和组织中脂肪酸含量的影响[J]. 水生生物学报, 2011, 35(2): 246-255.
Zhou Q B, Zhu C S, Wu H D, *et al.* Effects of dietary lipid sources on tissue fatty acids profile and growth performance in female rice field eel *Monopterus Albus*, *Zuiew*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2011, 35(2): 246-

- 255(in Chinese).
- [29] 黄凯, 吴宏玉, 朱定贵, 等. 饲料脂肪水平对凡纳滨对虾生长、肌肉和肝胰腺脂肪酸组成的影响[J]. *水产科学*, 2011, 30(5): 249-255.
- Huang K, Wu H Y, Zhu D G, *et al.* Effects of dietary lipid levels on growth and fatty acid composition in Hepatopancreas and muscle of pacific white leg shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. *Fisheries Science*, 2011, 30(5): 249-255(in Chinese).
- [30] Kartikasari L R, Hughes R J, Geier M S, *et al.* Dietary alpha-linolenic acid enhances omega-3 long chain polyunsaturated fatty acid levels in chicken tissues[J]. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 2012, 87(4-5): 103-109.
- [31] Karalazos V, Bendiksen E Å, Dick J R, *et al.* Effects of dietary protein, and fat level and rapeseed oil on growth and tissue fatty acid composition and metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) reared at low water temperatures[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2007, 13(4): 256-265.
- [32] Anderson D P. Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture[J]. *Annual Review of Fish Diseases*, 1992, 2: 281-307.
- [33] 张亚娟. 几种化合物对虾类抗氧化酶系统的影响与毒性作用[D]. 保定: 河北大学, 2003.
- Zhang Y J. Effects of several compounds on the shrimps and enzymic antioxidant system[D]. Baoding: Hebei University, 2003(in Chinese).
- [34] 吕昆仑, 刘丹丹, 张红绪, 等. 水生动物体内谷胱甘肽过氧化物酶的功能及对环境胁迫的响应[J]. *水产科学*, 2015, 34(6): 399-404.
- Liu D D, Zhang H X, *et al.* Function and response to environmental stresses of glutathione peroxidase in aquatic animals[J]. *Fisheries Science*, 2015, 34(6): 399-404(in Chinese).
- [35] Margis R, Dunand C, Teixeira F K, *et al.* Glutathione peroxidase family – an evolutionary overview[J]. *The FEBS Journal*, 2008, 275(15): 3959-3970.
- [36] Li M, Chen L, Qin J G, *et al.* Growth, immune response and resistance to *Aeromonas hydrophila* of darkbarbel catfish *Pelteobagrus vachelli* fed diets with different linolenic acids, vitamins C and E levels[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2016, 22(3): 664-674.
- [37] Jin M, Lu Y, Yuan Y, *et al.* Regulation of growth, antioxidant capacity, fatty acid profiles, hematological characteristics and expression of lipid related genes by different dietary n-3 highly unsaturated fatty acids in juvenile black seabream (*Acanthopagrus schlegelii*)[J]. *Aquaculture*, 2017, 471: 55-65.
- [38] 王成强, 徐后国, 梁萌青, 等. 饲料亚麻酸含量对大规模鲈鱼生长性能、抗氧化指标和血清生化指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2016, 28(10): 3123-3133.
- Wang C Q, Xu H G, Liang M Q, *et al.* Effects of dietary α -linolenic acid content on growth performance, antioxidant indices and serum biochemical indices of large size Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2016, 28(10): 3123-3133(in Chinese).
- [39] Qian Y, Li X F, Zhang D D, *et al.* Effects of dietary pantothenic acid on growth, intestinal function, antioxidative status and fatty acids synthesis of juvenile blunt snout bream *Megalobrama amblycephala*[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0119518.
- [40] Lu K L, Xu W N, Li X F, *et al.* Hepatic triacylglycerol secretion, lipid transport and tissue lipid uptake in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fed high-fat diet[J]. *Aquaculture*, 2013, 408-409: 160-168.
- [41] Lu K L, Xu W N, Wang L N, *et al.* Hepatic β -oxidation and regulation of carnitine palmitoyltransferase (CPT) I in blunt snout bream *Megalobrama amblycephala* fed a high fat diet[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e93135.
- [42] Song J H, Fujimoto K, Miyazawa T. Polyunsaturated (n-3) fatty acids susceptible to peroxidation are increased in plasma and tissue lipids of rats fed docosahexaenoic acid-containing oils[J]. *The Journal of Nutrition*, 2000, 130(12): 3028-3033.
- [43] 吉红, 曹艳姿, 刘品, 等. 饲料中HUFA影响草鱼脂质代谢的研究[J]. *水生生物学报*, 2009, 33(5): 881-889.
- Ji H, Cao Y Z, Liu P, *et al.* Effect of dietary HUFA on the lipid metabolism in grass carp *Ctenopharyngodon idellus*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2009, 33(5): 881-889(in Chinese).
- [44] 吉红, 周继术, 曹福余, 等. DHA对鲤抗氧化能力影响的初步研究[J]. *上海海洋大学学报*, 2009, 18(2): 142-149.
- Ji H, Zhou J S, Cao F Y, *et al.* Effect of DHA on anti-oxidation capacity in common carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2009,

- 18(2): 142-149(in Chinese).
- [45] Tahmasebi-Kohyani A, Keyvanshokoh S, Nematollahi A, *et al.* Effects of dietary nucleotides supplementation on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) performance and acute stress response[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2012, 38(2): 431-440.
- [46] 史晏如. 罗氏沼虾IMD信号通路关键基因(Relish、IMD)的克隆和功能研究[D]. 南京: 南京师范大学, 2016.
- Shi Y R. Roche spermatogenesis IMD (Relish, IMD) signaling pathway key genes cloning and function studies[D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2016(in Chinese).
- [47] Zuo R T, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Effects of dietary docosahexaenoic to eicosapentaenoic acid ratio (DHA/EPA) on growth, nonspecific immunity, expression of some immune related genes and disease resistance of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) following natural infestation of parasites (*Cryptocaryon irritans*)[J]. *Aquaculture*, 2012, 334-337: 101-109.
- [48] Sharp G J E, Secombes C J. The role of reactive oxygen species in the killing of the bacterial fish pathogen *Aeromonas salmonicida* by rainbow trout macrophages[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 1993, 3(2): 119-129.
- [49] 杨明金. 热休克蛋白60和免疫反应[J]. 国外医学免疫学分册, 2004, 27(5): 249-252.
- Yang M J. Heat shock protein 60 and immune response[J]. *Foreign Medical Sciences Section of Immunology*, 2004, 27(5): 249-252(in Chinese).
- [50] Kagawa N, Mugiya Y. Brain HSP70 mRNA expression is linked with plasma cortisol levels in goldfish (*Carassius auratus*) exposed to a potential predator[J]. *Zoological Science*, 2002, 19(7): 735-740.

Effects of dietary n-3/n-6 fatty acid ratio on growth performance, body composition, serum antioxidant capacity and related genes expression of oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*)

JIANG Zhenting¹, LIU Bo^{1,2*}, GE Xianping^{1,2}, ZHOU Qunlan², SUN Cunxin²

(1. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China;

2. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China)

Abstract: An 8-week feeding trial was conducted to study the effect of dietary n-3/n-6 fatty acid ratios on growth performance, body composition and serum antioxidant capacity of oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*). Five isonitrogenous and isolipid diets with different n-3/n-6 fatty acid ratios (D1: 0.29, D2: 0.56, D3: 1.02, D4: 2.20, D5: 8.52) were formulated to feed five groups of shrimps, respectively. Each diet was fed 4 tanks (4 replicates) with 45 prawns per tank. The results showed as follows: the survival rate of *M. nipponensis* was not significantly affected by n-3/n-6 fatty acid ratio in diet. The WGR and SGR of the prawns increased first and then decreased with the increasing dietary fatty acid ratios, and the WGR and SGR in D3 group was the highest and significantly higher than those of D1 group. The dietary n-3/n-6 fatty acid ratio had significant influence on the crude fat (CF) and crude protein (CP) of the whole body, and the crude fat reached the maximum value in D4 group, which was significantly higher than those in other groups. The crude protein of whole body in D3 group was significantly higher than those in D2, D4 and D5 groups. The n-3/n-6 fatty acid ratio in muscle was significantly positively correlated with the dietary n-3/n-6 fatty acid ratio. The serum superoxide dismutase (SOD) in D5 group was the highest, which was significantly higher than those in groups D1, D2 and D3, and not significantly different from that in group D4. Glutathione peroxidase (GSH-Px) reached its highest in D3 group, significantly higher than those in other groups. Serum malondialdehyde (MDA) was the highest in D5 group, which was significantly higher than those in D1 and D3 groups. The *Hsp60* expression was the highest in group D4 and significantly higher than that in group D5, but not significantly different from groups D1, D2 and D3. The highest expression levels of *Hsp70* and *Toll* in D2 group were significantly higher than those in other groups. *Myd88* expression was the highest in D5 group and significantly higher than those in other groups. In conclusion, the dietary n-3/n-6 fatty acid ratio 1.02-2.20 can significantly improve the growth performance and non-specific immunity of *M. nipponensis*, and change the normal components and fatty acid composition of the prawn whole body.

Key words: *Macrobrachium nipponense*; n-3/n-6; growth performance; body composition; serum antioxidant capacity; gene expression

Corresponding author: LIU Bo. E-mail: liub@ffrc.cn

Funding projects: Jiangsu Fisheries Research System (JFRS-02); National Technical System of Shrimp and Crab Industry (CARS-48)