



饲料中 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾幼虾生长性能和抗氧化能力的影响

吕红雨¹, 周越¹, 舒甦¹, 王伟隆^{1,2,3}, 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: 为探讨饲料多不饱和脂肪酸 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾幼虾生长性能、虾体肌肉组成、抗氧化能力、血清生理指标以及消化能力的影响, 实验设计了 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值分别为 0.37 (D1)、0.59 (D2)、0.93 (D3)、1.51 (D4) 和 4.38 (D5) 的 5 种等氮等脂饲料饲喂罗氏沼虾幼虾 8 周, 每组设 4 重复, 每个重复 40 尾虾。结果显示, 饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾幼虾存活率 (SR) 无显著影响; 实验虾终末体重 (FW)、增重率 (WGR) 和特定生长率 (SGR) 随饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值增加先升后降, 均在 D3 组最高; 且 D3 组虾有最大的肝胰腺蛋白酶活性及脂肪酸合成酶活性。虾体肌肉粗蛋白质、水分和灰分含量不受饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值影响, 但总脂肪含量在 D3 组显著高于其他组; 各组虾体肌肉的 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值的趋势与饲料的 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值变化趋势呈正相关。随饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值增加, 实验虾血清和肝胰腺中超氧化物歧化酶 (SOD) 活性、总抗氧化能力 (T-AOC) 和血清铜蓝蛋白 (CP) 含量均呈现先升后降趋势, 并在 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值为 0.93~1.51 时达到最大, 但丙二醛 (MDA) 含量持续上升; D1 组血清总胆固醇 (T-CHO) 和甘油三酯 (TG) 含量显著高于其他组; 血清谷草转氨酶 (AST) 和谷丙转氨酶 (ALT) 活性先降后升, 且 D3 组最低。研究表明, 饲料适宜的 n-3 PUFA/n-6 PUFA 可显著提升罗氏沼虾生长性能和抗氧化能力, 对增重率和特定生长率进行折线回归, 建议罗氏沼虾幼虾饲料中最适 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值为 0.86~0.94。

关键词: 罗氏沼虾; 生长; 脂肪酸; n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值; 抗氧化能力

中图分类号: S 963.71

文献标志码: A

多不饱和脂肪酸 (PUFA) 是含有两个或多个双键的脂肪酸, 其中 n-3 PUFA 和 n-6 PUFA 是重要的 PUFA。虾体自身合成 n-3 PUFA 和 n-6 PUFA 的能力有限, 需从食物中获取来满足机体正常需求, 因此, n-3 PUFA 中的主要脂肪酸 (C18:3n-3、

C20:5n-3、C22:6n-3) 和 n-6 PUFA 中的主要脂肪酸 (C18:2n-6、C20:4n-6) 被认为是虾类重要的必需脂肪酸^[1-3]。n-3 PUFA 和 n-6 PUFA 具有高度的生物活性, 参与机体多种生理生化反应, 如信号转导、脂质代谢、炎症反应以及细胞分裂的调节

收稿日期: 2021-04-05 修回日期: 2021-10-17

资助项目: 上海市科技兴农项目 (2021-02-08-00-12-F00761)

第一作者: 吕红雨 (照片), 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: 1342331677@qq.com

通信作者: 黄旭雄, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: xxhuang@shou.edu.cn



等^[4-8]。研究发现, n-3 PUFA 和 n-6 PUFA 的合成与分解共用相同的酶系统, n-3 PUFA 的增加将导致 n-6 PUFA 的合成减少^[9]。然而, n-3 PUFA 和 n-6 PUFA 在生物病理炎症和受体信号调控中有着不同的作用^[10-13]。因此饲料中合适的 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比例对于养殖动物保持正常生长和生理状态尤为重要。在以混合油脂为脂肪源时, 饲料中花生四烯酸水平 (C20:4n-6) 影响凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 的生长性能和免疫相关基因表达, 但作用效果受饲料中 EPA 和 DHA 水平的影响^[14]。日本沼虾 (*Macrobrachium nipponense*) 生长性能在饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值为 1.04 时有最佳表现^[15]。类似的生长结果在大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*)^[16]、许氏平鲈 (*Sebastes schlegelii*)^[17] 和黄河鲤 (*Cyprinus carpio haematopterus*)^[18] 中均有发现。研究还发现, 饲料中较高的 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值会降低虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 抗 SAV-1 病毒的能力^[19]。

罗氏沼虾 (*M. rosenbergii*) 由于其生长迅速, 个体大、肉质好、味道鲜美, 是世界上热门的养殖水产品。研究表明, 当罗氏沼虾饲料中脂肪含量为 5%~9%, 可显著提高增重率和特定生长率^[20-21]。鱼油 (FO) 和大豆油 (SO) 是水产上常用的脂肪源, 随着环境保护和可持续发展的理念不断被接受, 以植物油全部或部分替代鱼油是饲料研发的重要内容。然而鱼油和大豆油分别富含 n-3 PUFA (如 C20:5n-3 和 C22:6n-3) 和 n-6 PUFA (如 C18:2n-6)^[22-23]。饲料中不同 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值是否影响及对罗氏沼虾生长性能的影响程度尚待进一步验证。本实验在保持油脂总量的基础上调整配方中豆油和鱼油的比例, 配制 5 组实验饲料, 以探究饲料中 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾生长性能、肌肉组分、血清生化等影响, 为罗氏沼虾饲料中合理使用脂肪源提供依据。

1 材料与与方法

1.1 实验设计与饲料制作

实验饲料配方及营养组成如表 1 所示, 通过改变配方中豆油和鱼油的比例调节饲料的 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值, 共配制 5 组等氮等脂饲料。饲料原料购自浙江粤海饲料有限公司。所有原料经破碎后, 过 80 目筛网, 按照饲料配方比例混匀后加水调成团块状, 采用绞肉机挤压成面条状,

于阴凉通风处晾干并制成不同规格的颗粒, 抽真空密封于-20 °C 冰箱保存待用。为降低饲料制作过程中 PUFA 的氧化, 油脂中添加抗氧化剂 (2, 6-二叔丁基-4-甲基苯酚, BHT), 同时以 α -淀粉为糖源, 以保证未经后熟化处理的实验饲料在水中有良好的稳定性。各组实验饲料的脂肪酸组成见表 2。D1~D5 组饲料的 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值分别为 0.37、0.59、0.93、1.51 和 4.38。

1.2 实验虾及养殖管理

养殖实验在上海海洋大学滨海养殖基地进行, 虾苗经 30 d 暂养后, 挑选规格整齐、健康的罗氏沼虾幼虾 [平均体重 (0.44±0.02) g] 800 尾, 随机分配到 20 个网箱 (1.0 m×1.0 m×1.0 m) 内, 每网箱内投放 40 尾幼虾。分别投喂 5 组饲料, 每组设 4 个平行。每天分别于 7:00、12:00 和 18:00 投喂, 日投喂量约占虾体重的 5%~8%, 并根据摄食情况及生长阶段进行微调。养殖实验持续 8 周, 养殖期间每周换水 2 次, 每次换水量 1/4。连续充气保持水体溶解氧含量>6 mg/L, pH 为 7.8~8.5, 氨氮含量<0.2 mg/L, 水温为 (30±2) °C, 水体盐度为 0。实验过程中操作人员严格遵守实验动物伦理规范, 并按照上海海洋大学动物伦理委员会制定的规章制度执行。

1.3 样品采集

养殖实验结束后, 饥饿 24 h, 称重并统计存活数, 计算增重率 (WGR)、存活率 (SR)、特定生长率 (SGR) 以及饵料系数 (FCR)。每网箱随机取 8 尾虾, 用一次性注射器从围心腔抽取血淋巴置于 1.5 mL 离心管中, 用消毒的镊子取肝胰腺于 10 mL 离心管, 将抽过血和取过肝胰腺的虾剥壳取肌肉, 分别置于液氮罐和冰块中带回实验室, 血淋巴解冻后低温离心 (4 °C, 3 500 r/min, 10 min) 制备血清, 用于后续测定分析。各类生长指标计算方法:

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

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

$$\text{饵料系数 (FCR)} = W_d / (W_f - W_i)$$

$$\text{存活率 (SR, \%)} = N_f / N_i \times 100\%$$

$$\text{终末平均体重 (FW, g)} = W_f / N_f$$

式中, W_f 为实验结束后网箱中罗氏沼虾的总重量 (g); W_i 为实验开始时网箱中罗氏沼虾的总重量

表 1 实验饲料组成及营养水平 (干物质)
 Tab. 1 Ingredients and nutrient levels of the experimental diets (dry matter) %

原料 ingredient	组别 groups				
	D1	D2	D3	D4	D5
秘鲁鱼粉 Peru fish meal	27.00	27.00	27.00	27.00	27.00
血粉 spray dried blood powder	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
花生粕 peanut meal	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
豆粕 soybean meal	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
玉米蛋白粉 corn protein meal	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
啤酒酵母 beer yeast	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
α -淀粉 α -starch	27.69	27.69	27.69	27.69	27.69
鱼油 fish oil	0.00	1.25	2.50	3.75	5.00
豆油 soybean oil	5.00	3.75	2.50	1.25	0.00
大豆卵磷脂 soybean lecithin	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
虾多矿 mineral premix ¹⁾	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
虾多维 vitamin premix ²⁾	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
磷酸二氢钙 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
氯化胆碱(50%) choline chloride (50%)	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚 butylated hydroxytoluene	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
鱿鱼膏 squid paste	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
合计 total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
营养组成 nutritional composition					
粗蛋白 crude protein	37.03	37.29	37.55	37.33	37.61
粗脂肪 crude lipid	7.12	7.21	7.05	7.01	7.25
水分 moisture	11.03	11.12	11.33	10.94	11.27
灰分 ash	6.67	6.38	6.77	6.81	6.55

注: 1)每千克矿物盐预混料中含有Ca (CaCl_2) 10.5 g、K (KCl) 90 g、Mg ($\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 12 g、Fe (FeSO_4) 1.0 g、Cu (CuSO_4) 3.0 g、Zn (ZnSO_4) 10 g、Mn (MnSO_4) 3.8 g、Co (CoCl_2) 0.8 g、Se (Na_2SeO_3) 20 mg; 2)每千克维生素预混料中含有VA 8 000 000 IU、VD 2 000 000 IU、VE 50 g、VK 10 g、VB₁ 5 g、VB₂ 15 g、VB₆ 8 g、VB₁₂ 0.02 g、烟酰胺40 g、D-泛酸钙25 g、叶酸2.5 g、生物素0.08 g、肌醇100 g。
 Notes: 1) contained the following per kg of mineral premix, Ca (CaCl_2) 10.5 g, K (KCl) 90 g, Mg ($\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 12 g, Fe (FeSO_4) 1.0 g, Cu (CuSO_4) 3.0 g, Zn (ZnSO_4) 10 g, Mn (MnSO_4) 3.8 g, Co (CoCl_2) 0.8 g, Se (Na_2SeO_3) 20 mg; 2) contained the following per kg of vitamin premix, VA 8 000 000 IU, VD 2 000 000 IU, VE 50 g, VK 10 g, VB₁ 5 g, VB₂ 15 g, VB₆ 8 g, VB₁₂ 0.02 g, nicotinamide 40 g, D-calcium d-pantothenate 25 g, folic acid 2.5 g, D-biotin 0.08 g, inositol 100 g.

(g); N_f 为实验结束后网箱中罗氏沼虾存活的尾数; N_i 为实验开始时网箱中罗氏沼虾的尾数; W_d 为实验开始到实验结束网箱中所投喂饲料的干重 (g); t 为养殖周期 (d)。

1.4 样品检测分析

饲料和肌肉中的水分含量采用 105 °C 烘箱干燥恒重法检测 (GB/T 6435—2014); 总脂肪采用氯仿-甲醇法检测 (GB/T 6433—2006); 灰分采用 550 °C 马弗炉灼烧法检测 (GB/T 6438—2007); 粗蛋白质采用凯氏定氮法检测 (GB/T 6432—2018)。

虾体肌肉及饲料脂肪酸组成测定采用三氟化硼甲酯化法。将虾肌肉及饲料样品冷冻干燥后, 采用氯仿-甲醇 ($V:V=2:1$) 抽提总脂肪, 加入 1 mL

正己烷将所得总脂溶解, 加入 1 mL 未甲酯化的 C_{19} 作为内标, 真空干燥 4 h; 加入 2 mL 14% 三氟化硼甲醇溶液, 100 °C 水浴 25 min; 然后加入 2 mL 甲醇和 2 mL 苯, 100 °C 水浴 25 min; 再加入 1 mL 蒸馏水和 1 mL 正己烷, 振荡混匀后 3 500 r/min 离心 5~10 min, 取上清液, 使用气相-质谱联用仪分析。以脂肪酸标准品 (Sigma) 的保留时间和分析图谱对样品脂肪酸进行定性分析, 按内标法计算各脂肪酸的绝对含量:

$$C_x = C_{19} V_{19} M_x S_x / M_{19} S_{19} m$$

式中, C_x 表示某脂肪酸在样品中的含量 (mg/g); C_{19} 为内标物浓度 (mg/mL); V_{19} 为内标物加入的体积 (mL); M_{19} 为内标物甲酯分子量; S_{19} 为内标物的峰面积; M_x 为某脂肪酸甲酯的分子量; S_x 为

表 2 实验饲料脂肪酸组成(干物质)

脂肪酸 fatty acid	组别 groups				mg/g
	D1	D2	D3	D4	
C14:0	1.05	1.03	1.28	1.64	2.37
C16:0	5.36	5.89	6.44	7.36	7.29
C18:0	2.50	2.56	2.80	2.96	3.78
C22:0	0.15	0.18	0.14	0.15	0.14
ΣSFA	9.06	9.67	10.66	12.12	13.58
C16:1n7	3.08	3.13	3.35	3.83	4.94
C18: 1n7	3.17	3.07	3.19	3.64	4.67
C18:1n9	3.23	3.06	3.30	3.94	5.03
C22:1n9	0.55	0.66	0.51	1.04	1.33
ΣMUFA	10.03	9.91	10.35	12.46	15.97
C18:2n6	15.98	10.01	7.85	5.93	2.35
C18:3n3	2.22	1.07	0.61	0.58	0.37
C18:4n3	0.40	0.39	0.38	0.82	1.38
C20:4n6	0.22	0.36	0.38	0.62	0.98
C20:4n3	0.16	0.15	0.15	0.32	0.50
C20:5n3	1.36	1.76	2.19	2.72	4.45
C22:5n3	0.65	0.75	0.84	0.92	1.38
C22:6n3	1.27	1.96	3.45	4.53	6.54
PUFA	22.26	16.45	15.85	16.44	17.95
C18-PUFA	18.60	11.47	8.84	7.33	4.10
C20-PUFA	3.66	4.98	7.01	9.11	13.85
Σn-3	6.06	6.09	7.62	9.89	14.62
Σn-6	16.20	10.37	8.23	6.55	3.33
n-3/n-6	0.37	0.59	0.93	1.51	4.38

注: 含量较少的脂肪酸(如C20:2n-9、C18:3n-6)未列入表中, SFA. 饱和脂肪酸, MUFA. 单不饱和脂肪酸, PUFA. 多不饱和脂肪酸, Σn-3=C18:3n3+C20:5n3+C22:5n3+C22:6n3, Σn-6=C18:2n6+C20:2n6+C20:4n6。

Notes: The contents are minor or trace amount (such as C20:2n-9, C18:3n-6) were not listed in the table; SFA. saturated fatty acid, MUFA. monounsaturated fatty acid, PUFA. polyunsaturated fatty acid, Σn-3=C18:3n3+C20:5n3+C22:5n3+C22:6n3, Σn-6=C18:2n6+C20:2n6+C20:4n6.

表 3 饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾幼虾生长性能的影响

Tab. 3 Effect of dietary n-3 PUFA/n-6 PUFA ratio on the growth performance of juvenile *M. rosenbergii*

项目 items	组别 groups				
	D1	D2	D3	D4	D5
存活率/% SR	90.62±3.15	92.50±3.54	89.38±2.39	93.13±2.39	93.75±5.20
终末均重/g FW	5.75±0.28 ^b	5.89±0.29 ^b	6.50±0.25 ^a	6.11±0.31 ^{ab}	5.82±0.22 ^b
增重率/% WGR	1176.83±62.85 ^b	1208.40±63.75 ^b	1344.00±55.96 ^a	1256.50±68.11 ^{ab}	1193.29±81.93 ^b
特定增长率/% SGR	2.97±0.10 ^b	3.02±0.10 ^b	3.22±0.07 ^a	3.09±0.11 ^{ab}	3.00±0.11 ^b
饲料系数 FCR	1.21±0.07 ^{ab}	1.28±0.07 ^a	1.18±0.04 ^b	1.19±0.06 ^{ab}	1.21±0.06 ^{ab}

注: 同一行中的不同字母表示差异显著($P<0.05$), 下同。

Notes: Means in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$), the same below.

某脂肪酸的峰面积; m 为样品重量 (g)。

血清及肝胰腺生化指标采用试剂盒测定(南京建成生物工程研究所)。将肝胰腺在冰水浴中用生理盐水按 1:9 (重量比) 匀浆, 匀浆液于 3 500 r/min、4 °C 离心 10 min, 取上清液。并按照试剂盒的说明书测定超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、总抗氧化能力(T-AOC)、血清铜蓝蛋白、谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(T-CHO)、总蛋白(TP)、葡萄糖(GLU)、蛋白酶、脂肪酶、 α -淀粉酶等生理指标。

1.5 数据分析

实验结果用平均值±标准差(mean±SD)的方式表示, 使用 SPSS 25.0 软件中的单因素方差分析(One-Way ANOVA)分析数据的差异, 当差异显著时进一步用 Duncan 氏方法比较各处理之间的差异, $P<0.05$ 表示差异显著。脂肪酸的相关性分析采用双变量相关分析(Bivariate Correlations)。

2 结果

2.1 饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾生长性能的影响

随饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值的升高, 罗氏沼虾 FW、WGR 和 SGR 均先升后降, 其中 D3 组最高, 且显著高于 D1、D2 和 D5 组($P<0.05$)。D3 组的 FCR 显著低于 D2 ($P<0.05$), 但与其他组没有显著差异($P>0.05$)。饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾存活率无显著影响($P>0.05$) (表 3)。采用折线模型回归分析, 罗氏沼虾幼虾 WGR 在饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值为 0.94 时最大, 而罗氏沼虾幼虾 SGR 在饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值为 0.86 时最大 (图 1)。

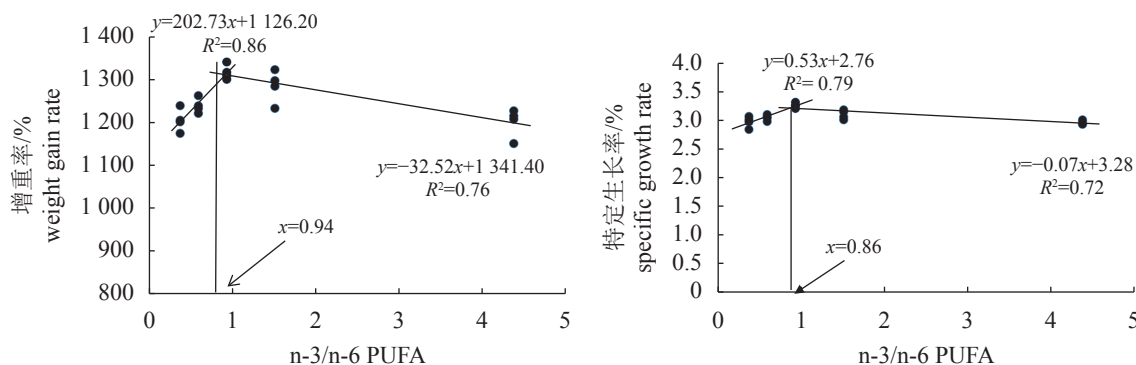


图 1 饲料中 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值与罗氏沼虾幼虾增重率 (a) 和特定生长率 (b) 的回归分析

Fig. 1 Regression analysis of n-3 PUFA/n-6 PUFA ratio and the WGR (a) / SGR (b) of juvenile *M. rosenbergii*

2.2 饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾肌肉组分的影响

饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对虾体肌肉水分、粗蛋白质和灰分含量均无显著影响 ($P>0.05$);

肌肉总脂肪含量随饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值的增加先升后降, 在 D3 组达到最高, 且显著高于其他组 ($P<0.05$) (表 4)。

表 4 饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾幼虾肌肉常规组分的影响

Tab. 4 Effect of n-3 PUFA/n-6 PUFA ratio on the muscular composition of juvenile *M. rosenbergii* %

项目 items	组别 groups				
	D1	D2	D3	D4	D5
水分 moisture	77.78±1.25	78.51±1.39	78.19±1.84	79.92±1.54	78.33±2.21
粗蛋白 crude protein	85.58±1.44	85.02±0.86	86.28±1.06	85.59±1.34	86.52±0.64
总脂肪 total lipid	4.58±0.20 ^b	4.46±0.39 ^b	5.07±0.12 ^a	4.54±0.15 ^b	3.72±0.26 ^c
灰分 ash	5.35±0.27	5.48±0.30	5.45±0.38	5.47±0.21	5.50±0.30

饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾肌肉脂肪酸含量有显著影响 ($P<0.05$) (表 5)。D5 组 SFA 含量最高, 并显著高于其他组 ($P<0.05$); D4 组 MUFA 含量最高, 并显著高于 D1 和 D2 组 ($P<0.05$); 随饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值的增加, 罗氏沼虾肌肉 n-3 PUFA 含量上升, 在 D5 组达到最高, 并显著高于其他组 ($P<0.05$); 而 n-6 PUFA 含量显著下降 ($P<0.05$), 在 D5 组降到最低; 肌肉 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值随饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值的升高而上升, 在 D5 组达到最高, 并显著高于其他组 ($P<0.05$)。

随饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值的上升, 虾体肌肉中脂肪酸与饲料中对应脂肪酸多数呈正相关, 只有 C16:1n7 和 Σ PUFA 呈负相关。在正相关中的相关程度也有不同, 其中 Σ SFA、C18:3n3 和 C20:5n3 呈显著相关 ($P<0.05$), C18:2n6、C22:5n3、 Σ n-6PUFA 和 n-3/n-6 呈极显著相关 ($P<0.01$) (表 6)。

2.3 饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾抗氧化能力的影响

随饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值的上升, 罗氏沼虾血清 T-SOD 活性、T-AOC 和血清 CP 含量均先升后降, 其中 T-SOD 活性和 T-AOC 在 D3 组达到最大, 血清 CP 含量在 D4 组达到最大, 与 D3 组没有显著差异 ($P>0.05$), 但显著高于 D1、D2 和 D5 组 ($P<0.05$)。血清 MDA 含量随饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值上升而增加, 在 D5 组达到最大, 并显著高于 D1、D2 和 D3 组 ($P<0.05$)。对罗氏沼虾肝胰腺抗氧化能力的分析表明, T-SOD 活性和 T-AOC 分别在 D4 和 D3 组达到最大。MDA 含量在 D5 组达到最大 (表 7)。

2.4 饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾血清生化指标的影响

饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾血清 TP 和 GLU 含量无显著影响 ($P>0.05$); 罗氏沼

表 5 饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾幼虾肌肉脂肪酸组成的影响 (干物质)

Tab. 5 Effect of dietary n-3 PUFA/n-6 PUFA ratio on muscular fatty acid profiles of juvenile *M. rosenbergii* (dry matter)

脂肪酸 fatty acid	组别 groups					mg/g
	D1	D2	D3	D4	D5	
C14:0	0.85±0.12	0.82±0.26	0.84±0.23	0.96±0.26	0.90±0.23	
C16:0	7.48±0.55 ^{bc}	7.17±0.61 ^c	7.81±0.27 ^{bc}	8.05±0.17 ^b	8.85±0.45 ^a	
C18:0	2.08±0.33	1.78±0.64	1.73±0.23	1.65±0.35	2.39±0.29	
C20:0	0.62±0.09	0.56±0.05	0.61±0.03	0.54±0.03	0.60±0.04	
ΣSFA	9.04±0.57 ^b	10.34±1.15 ^b	11.01±0.49 ^b	11.19±0.61 ^b	12.74±0.64 ^a	
C16:1n7	4.02±1.06	3.25±1.74	2.87±2.02	2.77±1.54	2.45±1.35	
C18:1n7	2.93±0.13 ^d	3.21±0.16 ^{cd}	3.51±0.14 ^{bc}	3.82±0.31 ^{ab}	4.13±0.46 ^a	
C18:1n9	6.22±0.63 ^b	6.06±0.55 ^b	6.82±0.19 ^{ab}	8.16±0.65 ^a	7.40±1.60 ^{ab}	
ΣMUFA	12.95±0.68 ^b	12.51±0.57 ^b	13.21±0.15 ^{ab}	14.75±0.46 ^a	13.99±0.47 ^a	
C18:2n6	9.38±0.27 ^a	7.31±0.35 ^b	6.40±0.17 ^c	5.63±0.13 ^d	2.21±0.58 ^c	
C18:3n3	5.59±0.75 ^a	4.18±0.51 ^b	3.04±0.86 ^c	2.73±0.31 ^c	1.37±0.54 ^d	
C20:2n6	1.57±0.34 ^a	0.74±0.06 ^b	0.83±0.34 ^b	0.37±0.11 ^b	0.77±0.58 ^b	
C20:4n6	0.79±0.32 ^c	1.21±0.34 ^{bc}	1.91±0.49 ^{ab}	1.72±0.54 ^{ab}	2.05±0.36 ^a	
C20:5n3	5.99±0.41 ^c	8.76±0.84 ^b	9.74±0.86 ^b	10.45±1.12 ^b	12.65±0.41 ^a	
C22:5n3	0.72±0.05 ^c	0.80±0.03 ^b	0.81±0.07 ^b	0.87±0.02 ^b	0.99±0.05 ^a	
C22:6n3	2.33±0.35 ^c	3.40±0.25 ^d	4.44±0.29 ^c	5.54±0.21 ^b	6.94±0.51 ^a	
ΣPUFA	25.77±0.68 ^b	27.40±0.48 ^{ab}	28.12±0.55 ^a	27.21±0.64 ^{ab}	26.98±0.74 ^{ab}	
Σn-3	14.13±0.18 ^c	17.14±1.57 ^b	18.44±0.56 ^b	19.49±0.88 ^b	21.95±0.43 ^a	
Σn-6	11.64±0.43 ^a	10.26±0.31 ^b	9.18±0.55 ^c	7.22±0.31 ^d	5.04±0.75 ^c	
n-3/n-6	1.21±0.07 ^d	1.67±0.35 ^c	1.90±0.43 ^{bc}	2.52±0.27 ^b	4.36±0.45 ^a	

虾血清 AST 和 ALT 活性均在 D3 组降到最低, 与 D4 组无显著差异 ($P>0.05$), 但显著低于其他组 ($P<0.05$); 罗氏沼虾血清 TG 和 T-CHO 含量在 D1 组达到最大, 并显著高于其他组 ($P<0.05$) (表 8)。

2.5 饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾肝胰腺消化酶活性的影响

随饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值的增大, 罗氏沼虾肝胰腺蛋白酶活性和脂肪酸合成酶活性均先升后降, 在 D3 组达到最大, 并显著高于其他组 ($P<0.05$); 脂肪酶活性在 D5 组达到最大, 并显著高于 D1、D2 和 D3 组 ($P<0.05$), 但与 D4 组没有显著差异 ($P>0.05$); 淀粉酶活性先降后升, 在 D3 组降到最低, 且显著低于 D1、D4 和 D5 组 ($P<0.05$) (表 9)。

3 讨论

3.1 饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾生长性能的影响

在本研究中, 饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾存活率无显著影响, 但摄食 D3 组饲

料 (n-3 PUFA/n-6 PUFA=0.93) 的罗氏沼虾表现出最大的增重率和最小的饲料系数。折线回归分析表明, 饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值为 0.94 或 0.86 时罗氏沼虾表现出最大的增重率或特定生长率, 表明饲料中适宜的 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值有利于罗氏沼虾的生长。Teshima 等^[24]发现饲料中 C18:3n-3 与 C18:2n-6 比值为 0.083 时能显著提高罗氏沼虾增重率。对日本沼虾^[15]和黄河鲤^[18]的研究也表明, 饲料中保持适宜的 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值 (1.04 和 1.09) 也可促进其生长, 提高增重率。适宜饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值的实验组虾体生长性能的提高可能与脂质代谢运转的改善有关。摄食 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值为 0.93 (D3 组) 饲料的罗氏沼虾肝胰腺中蛋白酶和脂肪酸合成酶表现出最大的活性, 表明饲料中适宜的 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值会促进罗氏沼虾对食物中蛋白质的消化和脂肪的有效沉积, 而过高或过低均会使虾体消化能力和脂肪沉积能力变弱。谭青等^[16]证实大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 幼鱼饲料中保持适宜 n-3/n-6 LC-PUFA 比例也可显著提高蛋白酶和脂肪酸合成酶活性。大量研究表明, 饲料中

表 6 饲料脂肪酸与肌肉脂肪酸的相关性分析结果

Tab. 6 Correlation analysis results of fatty acids in feed and corresponding fatty acids in muscle

脂肪酸 fatty acid	相关性系数 correlation coefficient
C14:0	0.387
C16:0	0.655
C18:0	0.401
ΣSFA	0.897*
C16:1n7	-0.592
C18:1n7	0.738
C18:1n9	0.437
ΣMUFA	0.446
C18:2n6	0.925**
C18:3n3	0.875*
C20:4n6	0.583
C20:5n3	0.852*
C22:5n3	0.950**
C22:6n3	0.987**
ΣPUFA	-0.900**
Σn-3	0.796
Σn-6	0.900**
n-3/n-6	0.981**

注：“*”表示在0.05水平(双尾检测)显著相关，“**”表示在0.01水平(双尾检测)极显著相关，下同。

Notes: “*” represented significant correlation at the 0.05 level (bilateral), “**” represented extremely significant correlation at the 0.01 level (bilateral), the same below.

适宜的必需脂肪酸 (C18:3n-3、C20:5n-3、C22:6n-3、C18:2n-6 和 C20:4n-6) 可促进水产动物对营养物质的吸收利用，从而达到促生长作用^[1-2, 14]。而在本研究中，饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值的变化实际上是由饲料中所有脂肪酸的变化所产生

的。因此，推测在适宜的 n-3 PUFA/n-6 PUFA 添加量下，实验组虾体脂质代谢运转的改善可能与该组饲料满足了虾体对必需脂肪酸 (C18:3n-3、C20:5n-3、C22:6n-3、C18:2n-6 和 C20:4n-6) 的需要量有关。低 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值组的罗氏沼虾生长较差，一方面与这些实验组虾体消化能力和脂肪沉积能力变弱有关，另一方面，推测与低 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值的饲料处理组虾体没有摄入足够的 C \geq 20PUFA 有关。低 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值饲料组 (D1 和 D2) 中含有高量 C18 PUFA (18.6 和 11.47 mg/g) 和较少的 C20-PUFA，高 n-3 PUFA/n-6 PUFA (D5) 比值饲料组中含有高量 C20-PUFA (13.85 mg/g) 和较少的 C18-PUFA，而淡水虾由 C18-PUFA 向 C20-PUFA 的转化能力较弱。C20-PUFA 是细胞膜重要的组成部分，饲料 C20-PUFA 的缺乏影响虾体达到最大生长速率^[25]。过高 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值组罗氏沼虾生长下降，除了高 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值组罗氏沼虾对食物中蛋白质消化和脂肪沉积变弱有关外，推测还与食物中的 n-3 PUFA 与 n-6 PUFA 竞争酶系统有关。在生物体内缺乏 Δ 3 脱氢酶，n-3 和 n-6 不饱和脂肪酸不能相互转化，且代谢是相互竞争的^[9, 26]，而高水平的 n-3 或 n-6 会抑制对方的正常代谢，影响生长性能。

饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值为 0.93 时 (D3 组) 可促进罗氏沼虾肌肉粗脂肪有效沉积，比值过高或过低均会对罗氏沼虾肌肉粗脂肪有效沉积有明显的抑制作用，这一现象在其他养殖动物上也得到了验证^[6, 15-16, 18, 27]。本研究中 D3 组罗氏沼虾肝胰腺脂肪酸合成酶活性显著高于其他组，也进一步证实饲料中适宜的 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值可促进罗氏沼虾肌肉粗脂肪有效沉积。同时，

表 7 饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾抗氧化能力的影响

Tab. 7 Effect of n-3 PUFA/n-6 PUFA ratio on antioxidant capacities of juvenile *M. rosenbergii*

组织 tissue	抗氧化能力 antioxidant capacity	组别 groups				
		D1	D2	D3	D4	D5
血清 serum	总超氧化物歧化酶/(U/mL) T-SOD	18.24±0.61 ^{bc}	15.56±1.03 ^d	23.07±1.10 ^a	20.05±0.82 ^b	16.25±1.94 ^{cd}
	丙二醛/(nmol/mL) MDA	20.00±1.33 ^c	24.36±1.17 ^b	24.10±1.60 ^b	26.92±0.77 ^a	27.69±1.54 ^a
	总抗氧化能力/(U/mL) T-AOC	36.91±1.25 ^b	37.46±2.63 ^b	44.29±2.45 ^a	43.29±1.67 ^a	38.28±1.70 ^b
	血清铜蓝蛋白/(U/L) CP	320.15±4.19 ^c	360.24±14.35 ^b	419.14±8.87 ^a	435.04±5.53 ^a	357.88±12.36 ^b
肝胰腺 hepatopancreas	总超氧化物歧化酶/(U/mL) T-SOD	15.51±1.38 ^b	17.26±0.88 ^{ab}	18.20±1.43 ^a	18.70±1.58 ^a	15.72±0.83 ^b
	丙二醛/(nmol/mL) MDA	15.06±0.35 ^{bc}	12.60±2.52 ^c	13.50±1.29 ^c	17.65±0.73 ^{ab}	19.48±1.43 ^a
	总抗氧化能力/(mmol/g prot) T-AOC	28.64±0.64 ^d	32.91±2.08 ^c	39.83±1.23 ^a	37.00±1.40 ^b	30.27±1.78 ^{cd}

表 8 饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾幼虾血清生化参数的影响

Tab. 8 Effect of n-3 PUFA/n-6 PUFA ratio on serum biochemical indicators of juvenile *M. rosenbergii*

项目 item	组别 groups				
	D1	D2	D3	D4	D5
谷草转氨酶/(U/L) AST	20.84±1.45 ^a	19.31±1.81 ^a	16.37±1.01 ^b	16.50±1.17 ^b	21.22±0.96 ^a
谷丙转氨酶/(U/L) ALT	37.5±2.80 ^a	40.49±1.45 ^a	26.93±1.77 ^b	29.70±3.09 ^b	39.64±1.61 ^a
甘油三酯/(mmol/L) TG	7.08±0.20 ^a	4.70±0.64 ^b	4.88±0.43 ^b	5.07±0.28 ^b	4.71±0.53 ^b
总胆固醇/(mmol/L) T-CHO	2.6±0.18 ^a	2.3±0.11 ^b	1.85±0.08 ^c	1.88±0.08 ^c	1.89±0.10 ^c
总蛋白/(g prot/L) TP	3.30±0.10	3.31±0.08	3.34±0.11	3.30±0.05	3.24±0.20
葡萄糖/(mmol/L) GLU	4.70±0.25	4.99±0.31	4.95±0.74	4.97±0.71	5.20±0.66

表 9 饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾幼虾肝胰腺消化酶活性的影响

Tab. 9 Effect of n-3 PUFA/n-6 PUFA ratio on hepatopancreas digestive enzyme activities of juvenile *M. rosenbergii*

消化酶 enzyme activities	组别 groups				
	D1	D2	D3	D4	D5
蛋白酶活性/(U/mg prot) protease	58.84±2.94 ^c	73.91±2.24 ^b	78.59±1.99 ^a	73.84±1.38 ^b	72.87±1.97 ^b
脂肪酶活性/(U/mg prot) lipase	17.14±1.43 ^b	17.09±0.76 ^b	17.06±0.62 ^b	21.95±1.92 ^a	22.18±1.12 ^a
淀粉酶活性/(U/mg prot) amylase	0.98±0.03 ^a	0.73±0.04 ^{bc}	0.69±0.03 ^c	0.77±0.04 ^b	0.93±0.05 ^a
脂肪酸合成酶/(ng/mL) FAS	1.98±0.11 ^c	2.26±0.20 ^c	4.00±0.35 ^a	3.50±0.20 ^b	2.45±0.35 ^c

不同组罗氏沼虾肌肉中绝大多数脂肪酸的变化与其摄食饲料对应脂肪酸变化呈正相关, 其中 n-3 PUFA、EPA、DHA、C18:2n6 和 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值呈显著正相关, 说明虾体肌肉脂肪酸组成受饲料中脂肪酸组成的影响, 这在凡纳滨对虾^[28]、虹鳟^[29]和大西洋鲑 (*Salmo salar*)^[30] 等养殖品种中都得到了证实。

3.2 饲料中不同 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾抗氧化能力的影响

过量的氧自由基诱导产生的 MDA 是判断细胞氧化损伤程度的指标。Jin 等^[5] 发现黑棘鲷 (*Acanthopagrus schlegelii*) 摄食高水平的 n-3 PUFA 饲料会显著提高其肝脏中 MDA 的浓度。相比高水平的 n-6 PUFA, 高水平的 n-3 PUFA 更容易使细胞膜脂质过氧化的敏感性提高^[31]。本研究中, 高水平的 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值饲料组 (D5) 含有高水平的 n-3 PUFA (14.62 mg/g), 低水平的 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值饲料组 (D1) 含有高水平的 n-6 PUFA (16.20 mg/g), 罗氏沼虾血清和肝胰腺中 MDA 含量随饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值的增加而上升, 表明摄食高 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值的饲料加深了虾体内氧化损伤。SOD 是内源性抗氧化防御系统的关键酶, 可以保护细胞和组织免受氧化损伤^[32]。T-AOC 是指机体可以清除体内产生

各种氧自由基的能力^[33]。血清铜蓝蛋白也具有清除体内过氧化自由基的作用^[34]。在本研究中, 饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值为 0.93~1.51 时肝胰腺和血清 SOD 活性、T-AOC 以及血清 CP 含量均达到最大。表明饲料中适宜 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值会提升罗氏沼虾抗氧化能力, 过高或过低都会产生不利的影响。摄食高水平 (D5) 和低水平 (D1 和 D2) n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值饲料组的罗氏沼虾抗氧化能力下降, 推测可能与高水平的 n-3 PUFA 或 n-6 PUFA 及其比例不平衡导致的氧化应激引起的炎症反应有关。有研究表明, 长期摄入过量的 n-3 PUFA 或 n-6 PUFA 会使虾体出现过度的炎症反应^[16], 引起机体氧化应激, 使细胞过氧化物酶和体脂肪氧化相关基因表达量升高, 并伴随炎症水平的升高, 而炎症会危害机体包括免疫和抗氧化机能的正常发挥^[35]。

3.3 饲料中不同 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值对罗氏沼虾血清生化指标的影响

AST 和 ALT 是机体内重要的转氨酶, 参与机体内氨基转运, 肝脏中较多, 但当肝脏组织发生病变造成细胞膜通透性增强时会进入到血液中^[36-37]。在本研究中, 饲料 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值为 0.93 时, 罗氏沼虾血清中 AST 和 ALT 酶含量最低, 表明饲料不适宜的 n-3 PUFA/n-6 PUFA

比值会增加肝胰腺细胞的损伤。Jin 等^[38]在黑棘鲷中也发现, 饲料中适宜的 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值会明显降低血清中 AST 和 ALT 的含量。摄食过高或过低 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值饲料的罗氏沼虾肝胰腺细胞损伤与脂代谢运转有关。饲料中适宜的脂肪酸比例会促进脂质代谢的运转^[16], 减少肝胰腺中脂肪的过度沉积, 进而减少罗氏沼虾肝胰腺中细胞的损伤。

此外, 当肝脏受外界因素影响发生病理或生理变化时, 血清 T-CHO 和 TG 浓度会迅速增加^[38], 因此血清中 T-CHO 和 TG 浓度可反映出肝脏的健康状况。在大西洋鲑^[39]和大菱鲆^[40]饲料中保持低水平的 n-3 LC-PUFA 时, 其血清中极低密度脂蛋白和甘油三酯含量显著升高。本研究也得到类似结果, 低 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值组 (D1) 的沼虾血清 T-CHO 和 TG 含量显著高于其他组, 说明饲料低 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值会影响罗氏沼虾肝胰腺的健康。摄食低 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值饲料的罗氏沼虾血清 T-CHO 和 TG 升高的原因可能是虾体没有摄入足够的 n-3 PUFA。高含量的 n-3 LC-PUFA 摄入可减少肝脏中极低密度脂蛋白和甘油三酯的分泌, 促进血浆中极低密度脂蛋白和甘油三酯的清除, 进而降低血清中甘油三酯和极低密度脂蛋白浓度^[41]。

饲料适宜的 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值可显著提升罗氏沼虾生长性能和抗氧化能力, 对增重率和特定生长率进行折线回归, 建议罗氏沼虾幼虾饲料中最适 n-3 PUFA/n-6 PUFA 比值为 0.86~0.94。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Deering M J, Fielder D R, Hewitt D R. Growth and fatty acid composition of juvenile leader prawns, *Penaeus monodon*, fed different lipids[J]. *Aquaculture*, 1997, 151(1-4): 131-141.
- [2] González-Félix M L, Lawrence A L, Gatlin III D M, *et al.* Nutritional evaluation of fatty acids for the open thelycum shrimp, *Litopenaeus vannamei*: I. Effect of dietary linoleic and linolenic acids at different concentrations and ratios on juvenile shrimp growth, survival and fatty acid composition[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2003, 9(2): 105-113.
- [3] Kanazawa A, Teshima S I, Sakamoto M. Effects of dietary lipids, fatty acids, and phospholipids on growth and survival of prawn (*Penaeus japonicus*) larvae[J]. *Aquaculture*, 1985, 50(1-2): 39-49.
- [4] Benítez-Santana T, Masuda R, Juárez Carrillo E, *et al.* Dietary n-3 HUFA deficiency induces a reduced visual response in gilthead seabream *Sparus aurata* larvae[J]. *Aquaculture*, 2007, 264(1-4): 408-417.
- [5] 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.
- [6] Ma J J, Shao Q J, Xu Z R, *et al.* Effect of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids on growth, body composition and fatty acid profiles of juvenile black seabream, *Acanthopagrus schlegelii* (Bleeker)[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2013, 44(3): 311-325.
- [7] Zuo R T, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Effects of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids 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]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2012, 32(2): 249-258.
- [8] Tian J J, Ji H, Oku H, *et al.* Effects of dietary arachidonic acid (ARA) on lipid metabolism and health status of juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*[J]. *Aquaculture*, 2014, 430: 57-65.
- [9] Castro L F C, Tocher D R, Monroig O. Long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis in chordates: insights into the evolution of fads and elovl gene repertoire[J]. *Progress in Lipid Research*, 2016, 62: 25-40.
- [10] Bagga D, Wang L, Farias-Eisner R, *et al.* Differential effects of prostaglandin derived from ω -6 and ω -3 polyunsaturated fatty acids on COX-2 expression and IL-6 secretion[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100(4): 1751-1756.
- [11] Robinson J G, Stone N J. Antiatherosclerotic and antithrombotic effects of omega-3 fatty acids[J]. *The American Journal of Cardiology*, 2006, 98(4S1): 39-49.
- [12] Pitman M C, Grossfield A, Suits F, *et al.* Role of cholesterol and polyunsaturated chains in lipid-protein interactions

- tions: molecular dynamics simulation of rhodopsin in a realistic membrane environment[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2005, 127(13): 4576-4577.
- [13] Eldho N V, Feller S E, Tristram-Nagle S, *et al.* Polyunsaturated docosahexaenoic vs docosapentaenoic acid-differences in lipid matrix properties from the loss of one double bond[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2003, 125(21): 6409-6421.
- [14] 赵利斌, 王鑫磊, 黄旭雄, 等. 饲料中花生四烯酸水平对凡纳滨对虾免疫相关基因表达及抗菌能力的影响[J]. *水产学报*, 2016, 40(5): 763-775.
- Zhao L B, Wang X L, Huang X X, *et al.* Effects of dietary arachidonic acid on the immune-related gene expressions and vibrio-resistant ability in *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2016, 40(5): 763-775 (in Chinese).
- [15] 蒋振廷, 刘波, 戈贤平, 等. 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[J]. *水产学报*, 2019, 43(10): 2109-2122.
- Jiang Z T, Liu B, Ge X P, *et al.* 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*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(10): 2109-2122 (in Chinese).
- [16] 谭青, 韩秀杰, 王际英, 等. n-3/n-6长链多不饱和脂肪酸对大菱鲂幼鱼脂肪沉积、脂肪吸收及代谢相关酶活性和血清生化指标的影响[J]. *渔业科学进展*, 2018, 39(4): 66-73.
- Tan Q, Han X J, Wang J Y, *et al.* Effects of n-3/n-6 LC-PUFA on fat deposition, digestion, and lipid metabolism in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2018, 39(4): 66-73 (in Chinese).
- [17] 马长兴, 王际英, 李宝山, 等. n-3/n-6 HUFA 对许氏平鲷幼鱼生长、体组成及组织脂肪酸组成的影响 [J]. *水产学报*, 2019, 43(10): 2138-2153.
- Ma C X, Wang J Y, Li B S, *et al.* Effects of dietary n-3/n-6 HUFA on growth, body composition and fatty acid composition of tissue in juvenile rockfish (*Sebastes schlegelii*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(10): 2138-2153 (in Chinese).
- [18] 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幼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).
- [19] Lopez-Jimena B, Lyons P, Herath T, *et al.* The effect of dietary n-3/n-6 polyunsaturated fatty acid ratio on salmonid alphavirus subtype 1 (SAV-1) replication in tissues of experimentally infected rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Veterinary Microbiology*, 2015, 178(1-2): 19-30.
- [20] 吴锐全, 黄樟翰, 肖学铮, 等. 罗氏沼虾饲料脂肪的最适含量[J]. *上海水产大学学报*, 2000, 9(1): 31-34.
- Wu R Q, Huang Z H, Xiao X Z, *et al.* The optimal lipid content of feed for *Macrobrachium rosenbergii*[J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2000, 9(1): 31-34 (in Chinese).
- [21] 李爱杰, 徐玮, 郑述河, 等. 罗氏沼虾对饲料中豆油和鱼油的适宜需求量[J]. *饲料工业*, 1996, 17(4): 1-3.
- Li A J, Xu W, Zheng S H, *et al.* Appropriate demand for soybean oil and fish oil in feed for *Macrobrachium rosenbergii*[J]. *Feed Industry*, 1996, 17(4): 1-3 (in Chinese).
- [22] Nasopoulou C, Zabetakis I. Benefits of fish oil replacement by plant originated oils in compounded fish feeds. A review[J]. *LWT*, 2012, 47(2): 217-224.
- [23] Peng M, Xu W, Mai K S, *et al.* Growth performance, lipid deposition and hepatic lipid metabolism related gene expression in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) fed diets with various fish oil substitution levels by soybean oil[J]. *Aquaculture*, 2014, 433: 442-449.
- [24] Teshima S, Koshio S, Kanazawa A, *et al.* Essential fatty acids of the prawn *Macrobrachium rosenbergii*[C]//Proceedings of the 3rd Asian Fisheries Society Forum. Asian Fisheries Society, 1992: 26-30.
- [25] Merican Z O, Shim K F. Qualitative requirements of essential fatty acids for juvenile *Penaeus monodon*[J]. *Aquaculture*, 1996, 147(3-4): 275-291.
- [26] Lands W E M, Byrnes M J. The influence of ambient peroxides on the conversion of 5, 8, 11, 14, 17-eicosapentaenoic acid to prostaglandins[J]. *Progress in Lipid Research*, 1981, 20: 287-290.
- [27] 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).
- [28] An W Q, He H L, Dong X H, *et al.* Regulation of growth, fatty acid profiles, hematological characteristics and hepatopancreatic histology by different dietary n-3 highly unsaturated fatty acids levels in the first stages of juvenile Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. *Aquaculture Reports*, 2020, 17: 100321.
- [29] Fonseca-Madrigal J, Karalazos V, Campbell P J, *et al.* Influence of dietary palm oil on growth, tissue fatty acid compositions, and fatty acid metabolism in liver and intestine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2005, 11(4): 241-250.
- [30] Higgs D A, Balfry S K, Oakes J D, *et al.* Efficacy of an equal blend of canola oil and poultry fat as an alternate dietary lipid source for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in sea water. I: Effects on growth performance, and whole body and fillet proximate and lipid composition[J]. *Aquaculture Research*, 2006, 37(2): 180-191.
- [31] 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.
- [32] Martínez-Álvarez R M, Morales A E, Sanz A. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors[J]. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2005, 15(1-2): 75-88.
- [33] Duan Y F, Zhang J S, Dong H B, *et al.* Oxidative stress response of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* to *Vibrio parahaemolyticus* challenge[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 46(2): 354-365.
- [34] Lee M H, Shiau S Y. Dietary copper requirement of juvenile grass shrimp, *Penaeus monodon*, and effects on non-specific immune responses[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2002, 13(4): 259-270.
- [35] Yang J H. Perfluorooctanoic acid induces peroxisomal fatty acid oxidation and cytokine expression in the liver of male Japanese medaka (*Oryzias latipes*)[J]. *Chemosphere*, 2010, 81(4): 548-552.
- [36] Zhou Q C, Jin M, Elmada Z C, *et al.* Growth, immune response and resistance to *Aeromonas hydrophila* of juvenile yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*, fed diets with different arginine levels[J]. *Aquaculture*, 2015, 437: 84-91.
- [37] Kew M C. Serum aminotransferase concentration as evidence of hepatocellular damage[J]. *The Lancet*, 2000, 355(9204): 591-592.
- [38] Jin M, Lu Y, Pan T T, *et al.* Effects of dietary n-3 LC-PUFA/n-6 C₁₈ PUFA ratio on growth, feed utilization, fatty acid composition and lipid metabolism related gene expression in black seabream, *Acanthopagrus schlegelii*[J]. *Aquaculture*, 2019, 500: 521-531.
- [39] Kjær M A, Todorčević M, Torstensen B E, *et al.* Dietary n-3 HUFA affects mitochondrial fatty acid β -oxidation capacity and susceptibility to oxidative stress in atlantic salmon[J]. *Lipids*, 2008, 43(9): 813-827.
- [40] Peng M, Xu W, Tan P, *et al.* Effect of dietary fatty acid composition on growth, fatty acids composition and hepatic lipid metabolism in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) fed diets with required n3 LC-PUFAs[J]. *Aquaculture*, 2017, 479: 591-600.
- [41] Shearer G C, Savinova O V, Harris W S. Fish oil — How does it reduce plasma triglycerides?[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2012, 1821(5): 843-851.

Effects of dietary different n-3/n-6 fatty acid ratio on the growth performance and antioxidant capacity of juvenile freshwater giant prawn (*Macrobrachium rosenbergii*)

LÜ Hongyu¹, ZHOU Yue¹, SHU Huang¹, WANG Weilong^{1,2,3}, HUANG Xuxiong^{1,2,3*}

(1. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Germplasm Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Shanghai Aquaculture Engineering Technology Research Center, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. National Fishery Science Experimental Teaching Demonstration Center, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: An 8-week feeding experiment was conducted to investigate the effects of dietary n-3/n-6 fatty acid ratios on the growth performance, muscle quality, antioxidant capacity, serum physiological indicators and digestibility of *Macrobrachium rosenbergii*. Five iso-nitrogenous and iso-lipidic diets were formulated with graded levels of n-3/n-6 PUFA (D1: 0.37, D2: 0.59, D3: 0.93, D4: 1.51, D5: 4.38), with four replicates, 40 shrimps each. The results showed that the dietary n-3 PUFA/n-6 PUFA ratio did not significantly affect survival rate (SR). The final weight (FW), weight gain rate (WGR) and specific growth rate (SGR) of the shrimp first increased and then declined with the increase of dietary n-3 PUFA/n-6 PUFA ratio, with the D3 group displaying the highest values. The D3 group also displayed the highest hepatopancreas protease and fatty acid synthetase (FAS) activities. Dietary n-3 PUFA/n-6 PUFA ratio had no significant effect on the muscular crude protein content, moisture and ash content of the shrimp, but the D3 group showed the highest muscular total lipid content which was significantly higher than those of other groups. The variation trend of muscular n-3 PUFA/n-6 PUFA ratio in shrimp was positively correlated with the variation trend of dietary n-3 PUFA/n-6 PUFA ratio. The superoxide dismutase (SOD) activity and total antioxidant capacity (T-AOC) in hepatopancreas and serum as well as the ceruloplasmin (CP) content in serum first increased and then decreased with the increase of dietary n-3 PUFA/n-6 PUFA ratio and peaked in D3 (0.93) group and D4 (1.51) group, but the content of malondialdehyde (MDA) rose continuously. The content of total cholesterol and triglycerides in the serum of D1 group were significantly higher than those of other group as the dietary n-3 PUFA/n-6 PUFA ratio increased. The activities of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) in the serum of the shrimp first declined and then increased and the D3 group had the lowest values. It is therefore suggested that an appropriate dietary n-3 PUFA/n-6 PUFA ratio significantly improves the growth performance and antioxidant capacity the juvenile prawn *M. rosenbergii*. Based on Broken-line regression analysis of WGR and SGR, the optimal dietary n-3 PUFA/n-6 PUFA ratio, for growth performance of juvenile freshwater giant prawn *M. rosenbergii* is 0.86-0.94.

Key words: *Macrobrachium rosenbergii*; growth; fatty acids; n-3 PUFA/n-6 PUFA ratio; antioxidant capacity

Corresponding author: HUANG Xuxiong. E-mail: xxhuang@shou.edu.cn

Funding projects: The Project of Shanghai Municipal Agricultural Commission (2021-02-08-00-12-F00761)