



花生四烯酸 (ARA) 对凡纳对虾亲本繁殖、免疫及脂质代谢的影响

钟箫¹, 徐斌², 刘嘉欣², 王艺磊^{1*}

(1. 集美大学水产学院, 海水养殖生物育种全国重点实验室, 福建 厦门 361021;

2. 广东海兴农集团有限公司, 广东 广州 511400)

摘要: 为探究花生四烯酸 (ARA) 对凡纳对虾亲本繁殖、免疫及脂质代谢的影响, 实验根据实际亲虾培育与幼体生产模式, 选取 6 月龄, 大小规格一致的雄虾与单侧眼柄切除的雌虾, 随机分为 5 组, 雌雄分开养殖, 分别投喂含有不同含量 ARA (0.03%、2.70%、4.99%、10.63%) 的软颗粒饲料 (分别命名为 Z1~Z4 组) 与纯生物饵料 (沙蚕) 的生产组 (Z5)。结果显示, 摄食饲料的雌虾增重率 (WGR) 比生产组显著提升, 亲本肝胰腺指数 (HSI) 随着 ARA 含量的增加呈现先升后降的整体趋势, 在 4.99% ARA 影响下亲本肝胰腺发育良好, 孵化率最高, 幼体产量最多质量最好, 且卵巢发育相关基因 (*Vtg*、*VtgR*、*VASA* 与 *FAME12*) 表达最高; 4.99% ARA 添加量还可影响雌虾肝胰腺脂质代谢水平, 提高脂质利用与转运相关基因 (*PL*、*SREPB* 与 *FATB*) 表达, 进而影响受精卵中脂肪酸成分变化, 显著增加功能性脂肪酸 DHA 含量, 同时影响其中 $\sum n-3$ PUFA 与 $\sum n-6$ PUFA 含量及其之间比值。因繁殖与免疫的拮抗关系, 造成该 ARA 含量下抗氧化应激与非特异免疫水平下降。研究表明, 饲料中添加不同 ARA 能够影响凡纳对虾亲本生长与繁殖、免疫及脂质代谢能力, 在优先考虑繁殖性能下, 建议在亲虾饲料中保持 4.99% ARA 更能促进卵巢发育与幼体生产。

关键词: 凡纳对虾; 花生四烯酸; 繁殖; 免疫; 脂质代谢

中图分类号: S 963.72

文献标志码: A

凡纳对虾 (*Penaeus vannamei*) 因其具有生长周期短、海淡水可养、适温范围广、营养需求低、出肉率高等优点被广泛养殖, 其养殖产量不断提升。据《2023 年渔业统计年鉴》显示, 2022 年全国凡纳对虾养殖产量为 2 098 630 t, 占全国甲壳类养殖总产量的 30.64%。凡纳对虾亲本培育目前尚无商品化饲料, 常以鲜活鱿鱼、沙蚕等^[1] 作为日常投喂的生物饵料, 消化吸收后通过肝胰腺输送营养物质用于性腺发育与配子形成^[2-3]。当亲虾繁殖期间从外界获取的营养不足或者不合理时,

会造成性腺无法正常发育, 繁殖活动减弱^[4], 严重时会使卵巢进入重吸收阶段^[5]。且幼体体重也与亲虾在培育阶段的营养状况密切相关^[6]。目前, 研究普遍认为丰富的多不饱和脂肪酸组成、高含量的蛋白质与适宜的氨基酸及一些生物活性因子 (类胡萝卜素、维生素、矿物质等) 对亲虾的性腺发育至关重要^[7-9]。

花生四烯酸 (arachidonic acid, ARA) 又名二十碳四烯酸 (C20:4n-6), 主要以磷脂的形式存在于细胞膜上, 当机体受到外界刺激时, 在磷脂酶 A₂

收稿日期: 2023-12-26 修回日期: 2024-03-20

资助项目: 国家自然科学基金 (41676161); 中央引导地方科技发展专项 (2020L3011)

第一作者: 钟箫 (照片), 从事甲壳动物营养与饲料研究, E-mail: 1302152171@qq.com

通信作者: 王艺磊, 从事甲壳动物生殖生理学研究, E-mail: ylwang@jmu.edu.cn



与磷脂酶 C 作用下解离释放^[10], 再通过环加氧酶途径^[11]、脂加氧酶途径^[12]和环氧化酶途径^[13]转变为具有生物活性的代谢产物, 在机体内能够促进大脑发育^[14-15]、充当第二信使^[16]、护肝^[17]、提升机体抗氧化应激^[18]与免疫能力^[19]; 大量研究证实 ARA 能够促进甲壳类生长^[20]与繁殖^[21-23]。

目前, 国内凡纳对虾养殖过程中已出现苗种质量良莠不齐、病害严重等问题^[24], 在集约化、高密度与养殖规模不断扩大的背景下, 如何提升亲本质量与优质苗种稳定供应, 是我国对虾养殖业能否持续发展的核心问题。而天然生物饵料来源不一, 可能携带对虾多种致病源并通过垂直传播的途径感染虾苗^[25], 且天然饵料价格昂贵, 产量、质量与运输保鲜无法保障, 导致饵料成本飙升, 因此, 急需开发亲虾人工配合饲料。本研究旨在利用 ARA 能够促进繁殖的作用, 探究亲虾饲料中 ARA 的最适添加量, 为 ARA 在凡纳对虾亲

本繁殖期间的应用提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 饲料制作

亲虾 4 种软颗粒饲料 (Z1、Z2、Z3 和 Z4) 按照等能量原则设计, 以鱼粉、磷虾粉和面粉作为蛋白来源, 鱼油、大豆卵磷脂油、ARA/DHA-纯化油作为脂肪来源, 具体配方及理论近似成分见表 1, 具体脂肪酸组成见表 2。饲料原料粉碎后, 于 80 目中过两遍筛, 逐级混匀, 每组饲料总重一致 (1 kg), 以鱼油配平, Z1~Z4 组分别加入 0、10、20 和 40 g ARA 纯化油, 为了使油脂在饲料均匀分布, 采用逐级放大的方法将油脂与水形成的混合液加入粉料中搅拌成面团状, 于制粒机中制成亲虾软颗粒饲料, 于阴凉处风干至水分含量至约 27%, 4 °C 冷藏。

表 1 实验饲料组成 (干物质基础)

Tab. 1 Test feed composition (dry matter basis)

成分 ingredients	不同组别含量/(g/kg) content of different groups			
	Z1	Z2	Z3	Z4
鱼粉 fish meal	580	580	580	580
磷虾粉 krill powder	150	150	150	150
面粉 soybean meal	100	100	100	100
鱼油 fish oil	45	35	25	5
大豆卵磷脂油 soy lecithin oil	20	20	20	20
ARA-纯化油 arachidonic acid purified oil	0	10	20	40
DHA-纯化油 purified docosahexaenoic acid oil	10	10	10	10
维生素预混料 vitamin premix	10	10	10	10
矿物质预混料 mineral premix	10	10	10	10
黏合剂 adhesive	25	25	25	25
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	27.6	27.6	27.6	27.6
磷酸二氢钙 calcium dihydrogen phosphate	20	20	20	20
氯化胆碱 choline chloride	2	2	2	2
防霉剂 fungicide	0.2	0.2	0.2	0.2
乙氧基喹啉 ethoxyquin	0.2	0.2	0.2	0.2
营养成分 approximate composition				
粗蛋白/% crude protein	47.21	47.21	47.21	47.21
粗脂肪/% crude fat	14.48	14.48	14.48	14.48
粗灰分/% coarse ash	14.74	14.74	14.74	14.74
总能/(MJ/kg) total energy	26.65	26.65	26.65	26.65

注: 所有饲料原料均购自广东海大集团股份有限公司; ARA-纯化油含量40%; DHA-纯化油含量70%。近似成分、总能及蛋白能量比为理论值, 总能计算方法参照《水产动物营养与饲料学》^[26]。

Notes: All feed ingredients were purchased from Guangdong Haida Group Co., Ltd.; among them, ARA purified oil content is 40%; DHA purified oil content is 70%. The approximate composition, total energy, and protein energy ratio are theoretical values, and the calculation method for total energy refers to "Aquatic Animal Nutrition and Feed Science" ^[26].

表 2 四种饲料与沙蚕脂肪酸组成 (占总脂肪酸的百分比, %)

Tab. 2 Fatty acid composition of four types of feed and clam worms (percentage of total fatty acids,%)

脂肪酸 fatty acids	组别 groups					沙蚕
	Z1	Z2	Z3	Z4		
C12:0	0.099	0.058	0.078	0.088		NC
C14:0	5.360	6.260	4.250	4.700		0.400
C15:0	0.431	0.245	0.322	0.375		0.400
C16:0	11.300	14.600	11.900	17.900		22.667
C17:0	1.790	0.669	0.745	0.749		0.900
C18:0	3.480	4.610	4.040	3.820		4.133
C20:0	0.355	0.481	1.415	0.385		0.167
C22:0	0.175	0.800	0.511	0.351		0.200
C24:0	0.182	0.666	0.440	0.329		NC
ΣSFA	23.172	28.389	23.701	28.697		28.877
C14:1n9	0.057	0.000	0.052	0.052		NC
C16:1n7	5.140	17.730	5.800	4.400		2.733
C18:1n9	16.400	18.700	17.600	17.000		8.967
C20:1n9	2.540	2.230	2.380	2.400		3.533
C22:1n9	0.410	0.412	0.416	0.407		0.100
C24:1n9	0.388	0.329	0.341	0.353		NC
ΣMUFA	24.935	39.401	26.589	24.612		15.333
C18:2n6(LA)	9.140	9.360	9.140	9.110		13.400
C18:3n3(ALA)	1.380	1.220	3.310	1.400		1.600
C18:3n6	1.137	0.682	2.425	0.279		NC
C20:2n6	0.156	0.222	0.187	0.173		11.000
C20:3n3	0.096	0.199	0.154	0.122		0.400
C20:3n6	0.104	0.421	0.270	0.190		0.633
C20:4n6(ARA)	0.030	2.700	4.990	10.630		2.876
C20:5n3(EPA)	5.340	4.170	5.560	6.420		4.133
C22:6n3(DHA)	9.580	10.680	10.140	10.600		0.700
C22:2n6	NC	NC	NC	NC		0.267
ΣPUFA	26.963	29.624	36.176	38.924		35.009
Σn-6 PUFA	10.567	13.385	17.012	20.383		28.176
Σn-3 PUFA	16.396	16.269	19.164	18.542		6.833
Cn-6/Cn-3	0.644	0.823	0.888	1.099		4.123
DHA/EPA	1.794	2.561	1.824	1.651		0.169
ARA/(DHA/EPA)	0.170	1.054	2.736	6.439		17.018
ΣPUFA/ΣSFA	1.164	1.044	1.526	1.356		1.212
其他	17.300	11.800	14.200	15.400		20.800

注: 饲料脂肪酸由海大公司分析中心检测, 沙蚕由福建省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所检测, 采用国标GB 5009.168—2016; NC代表未检出。

Notes: Feed fatty acids were measured by the Analytical Center of Haida Company, while clam worms were tested by the Institute of Quality Standards & Testing Technology for Agro-products, Fujian Academy of Agricultural Sciences, using the national standard GB 5009.168-2016; NC represents undetected.

1.2 实验动物及养殖实验

实验所用凡纳对虾来源于广东海兴农集团有限公司培育的同一批次虾, 虾体健康, 活力良好,

6月龄, 前期未进行繁殖操作。雌虾初始体长与体重分别为 (14.16 ± 0.10) cm, (64.10 ± 0.35) g, 单侧眼柄切除; 雄虾初始体长与体重分别为 $(13.10 \pm$

0.14) cm, (49.30 ± 0.93) g。每组 15 对亲虾, 雌雄分开养殖于 2 m³ 蓝色纤维桶中, 养殖水体为 1 000 L, 孵化池为 1 m³ 水泥池, 孵化水体为 500 L, 亲本暂养 1 周后实验正式进行, 暂养期间生物饵料与 Z1 组配合饲料混合投喂。实验期间每天 6 餐, 每日实验组 (Z1~Z4) 软颗粒饲料投喂占比为虾体湿重 1%, 生产组 (Z5) 投喂等比例沙蚕, 其余投喂各组一致。养殖水温维持在 28~29 °C, 孵化水温维持在 30.5 °C, 溶解释氧 (DO) ≥ 5 mg/L, 总氨氮 < 0.5 mg/L, 亚硝酸盐 < 0.1 mg/L, pH 8.0~8.5。每天早晚换水 2 次, 每次换水 50%, 每天挑选性腺发育成熟的雌虾进行受精孵化, 每隔 3 天统计产卵与幼体数量, 待实验进行 12 d 时收集 1 次受精卵与无节幼体, 随后每隔 6 天采集 1 次。养殖实验在中国海南省文昌市海兴农翁田镇虾苗场 (110.96°E, 19.92°N) 进行, 为期 30 d。本研究获得了集美大学实验动物管理和使用伦理委员会批准 (科研 [2021] 4 号), 实验过程中操作人员严格遵守集美大学伦理规范, 并按照集美大学伦理委员会制定的规章制度执行。

1.3 样品收集

实验期间收集的受精卵与幼体直接存放于液氮中保存, 实验结束前停食 12 h 后检查每组存活数, 称量虾体湿重、肝胰腺重量, 采集部分卵巢与肝胰腺剪碎后保存于 RNA Wait 试剂中, -20 °C

保存, 用于 RNA 提取, 其余直接存放于液氮中, 用于生理指标检测。

1.4 实时荧光定量 PCR

按总 RNA 提取试剂盒 (Promega) 说明书提取卵巢与肝胰腺 RNA, 利用 1% 凝胶电泳检测完整性, 使用 ND-1000 分光光度计 [基因科技 (上海) 股份有限公司] 检测总 RNA 含量。按照逆转录试剂盒 (Biosharp) 要求加入 4 μL 5×Reaction、3 μL Supre Enzyme Mix 和适宜 RNA, 再用无核酸酶水补足至 25 μL, 充分混匀。PCR 反应程序为 25 °C, 10 min; 55 °C, 15 min; 85 °C, 5 min 终止反应合成 cDNA 模板, 按照需要量梯度稀释成 10×、100× cDNA 模板用于后续引物验证与实时荧光定量 PCR (qRT-PCR)。以 100×cDNA 为模板, *β-actin* 为内参基因, 反应体系为 10 μL (4.5 μL 100×cDNA、5 μL 2×Universal SYBR Qpcr Mix、浓度为 0.01 mol/L 的正反引物各 0.25 μL), PCR 反应条件为 95 °C 变性 10 min; 95 °C 15 s, 60 °C 1 min, 72 °C 30 s, 45 个循环, 检查扩增曲线和熔解曲线是否正常。根据 qRT-PCR 仪 [赛默飞世尔科技 (上海) 有限公司] 检测出 C_t 值计算基因的相对表达量 RQ 值 ($2^{-\Delta\Delta C_t}$, $\Delta C_t =$ 目的基因的 C_t 值 - 内参基因 C_t 值, $\Delta\Delta C_t =$ 每一个样品的 ΔC_t 值 - 基准样品的 ΔC_t 值), 具体引物序列见表 3。

表 3 qRT-PCR 引物序列

Tab. 3 Primers used for qRT-PCR

基因 gene	正向引物(5'→3') forward primer (5'→3')	反向引物(5'→3') reverse primer (5'→3')	基因库编号 GenBank no.
<i>β-actin</i>	AAGTAGCCGCCCTGGTTGT	GGATACCTCGCTTGCTCTGG	AF300705.2
<i>Vtg</i>	AAGTGCCTGGATTGTTTTGG	TTCTCGAAGTCGGTAGGGATG	AY283276.1
<i>VtgR</i>	TTTCCTTGGACCCCGTTAGC	CATGCTGCATTCTCTGTCGC	MN807241.1
<i>VASA</i>	GGGTGAGGGAAGTGAGGAAAA	CCTGATACATTGGCTGGAACG	DQ095772.2
<i>DMC1</i>	GGACCCGAAGAAACCGATTG	ATACCTCCTGCCGTGATAGC	HQ116385.1
<i>StAR</i>	ACAGTTGGAGCGTGAAGGG	GAGTTTACAGTCTCCAGGCT	XM027357307.1
<i>FAMeT2</i>	GTGGTGTGCTGTGAAGAGGA	CTCCCAACCTGTGCAGTAG	DQ067632.1
<i>MnSOD</i>	ACTGGTTCCGTTGCTTGCC	ACGCTCATTACGTTCTCC	DQ005531.1
<i>Cat</i>	AATGCGATTCAAGTGGCG	GTAATTCTTGGATTGCGGTCA	AY518322.1
<i>Ferritin</i>	CAAGTCCGCCAGAACTACCA	TCCAGACCAGTGCCCCATT	AY955373.1
<i>HIF-1α</i>	GTCATCCCAGAACAAACAGAG	CCGCACCCATAAGAAATCA	FJ807918.1
<i>FAS</i>	ATGAAGGCTCTGGGTGTTGG	TGGTCTTGAAGTGGTGGTTCG	HM535967.1
<i>SREPB</i>	TCTGGCGACACCGTAAACA	TGGAGGATCTGCCGAGTTAT	MG770374.1
<i>FATB</i>	GGCTTCGTGTCGGTGCTTT	GCGGCGTCTCCTTCTCTAA	KY271629.1
<i>PL</i>	CCGGCAATAAGGACAAGTCG	TACTCGTAGCCGCTCTCTG	KJ013599.1

注: 通过NCBI数据库获取目的基因CDS序列, 定量引物由生工生物(上海)股份有限公司合成。

Notes: The CDS of target genes was obtained through the NCBI database, and their quantitative primers were synthesized by Shanghai Sangong Biotechnology Company Limited.

1.5 生理指标与脂肪酸成分检测

严格按照南京建成生物工程研究所试剂盒说明测定凡纳对虾亲本肝胰腺和幼体抗氧化与非特异免疫指标, 具体使用试剂盒见表 4。脂肪酸成分检测采用国标 GB 5009.168—2016(食品安全国

家标准食品中脂肪酸的测定中第三法“归一法”)进行检测, 4 种软颗粒饲料委托广东海大集团股份有限公司检测中心检测, 每组受精卵与沙蚕委托福建省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所检测。

表 4 本研究所用生理指标检测试剂盒

Tab. 4 The physiological indicator detection kit used in this research institute

指标 index	方法 method	来源 product originates	货号 article no.
TB	微量酶标法	南京建成生物工程研究所	WO41-1-1
AKP	微量酶标法	南京建成生物工程研究所	A059-2
ACP	微量酶标法	南京建成生物工程研究所	A060-2
T-AOC	ABTS法	南京建成生物工程研究所	A015-2-1
GSH	微板法	南京建成生物工程研究所	A006-2-1
SOD	WST-1法	南京建成生物工程研究所	A001-3
MDA	TBA法	南京建成生物工程研究所	A001-3

注: TB. 总蛋白含量; AKP. 碱性磷酸酶; ACP. 酸性磷酸酶; T-AOC. 总抗氧化能力; GSH. 还原型谷胱甘肽; SOD. 超氧化物歧化酶; MDA. 丙二醛; 下同。

Notes: TB. total protein content; AKP. alkaline phosphatase; ACP. acid phosphatase; T-AOC. total antioxidant capacity; GSH. reduced glutathione; SOD. superoxide dismutase; MDA. malondialdehyde; the same below.

1.6 计算及统计学分析

增重率 (WGR, %) = $(W_t - W_0) / W_0 \times 100\%$;

肝胰腺指数 (HSI, %) = $W_H / W_t \times 100\%$;

月受精成功数 (NMF, 尾/月) = $\sum_{F=1}^n F_1 +$

$F_2 + \dots + F_n$

总产卵量 (TEP, 枚) = $\sum_{E=1}^n E_1 + E_2 + \dots +$

E_n

总幼体量 (TNN, 只) = $\sum_{N=1}^n N_1 + N_2 + \dots +$

N_n

平均产卵量 (AAE, 枚/尾) = TEP / NMF ;

平均幼体量 (AAN, 只/尾) = TNN / NMF ;

孵化率 (HR, %) = $TNN / TEP \times 100\%$;

式中, W_t 代表终末体重, W_0 代表平均初始体重, W_H 代表肝胰腺湿重, F_n 代表实验期间每日受精成功数, E_n 代表实验期间统计的受精卵数量, N_n 代表实验期间统计的幼体数量。本次实验采用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计分析, 经单因素方差分析, 若差异显著则再进行 Duncan 多重比较, 数据全部用平均值 \pm 标准差 (mean \pm SD) 表示, 显著水平设为 $P < 0.05$; 采用 GraphPad Prism.v8.0 软件作图。

2 结果

2.1 养殖指标与饲料脂肪酸

脂肪酸检测结果显示, Z1 ~ Z4 组 ARA 含量

分别为 0.03%、2.70%、4.99% 和 10.63%, 沙蚕 ARA 含量与 Z2 组相近, 为 2.876%(表 5)。各实验组雌虾个体增重率 (WRG) 比 Z5 组显著提升 ($P < 0.05$); 亲本肝胰腺指数 (HSI) 随着 ARA 添加比例的递增呈现先升后降的总体趋势, 雌虾 Z3 组 HSI 最高, 而雄虾在 Z2、Z3 组下与 Z5 组无显著差异, 但 Z1 组比 Z5 组显著降低 ($P < 0.05$)(表 5)。同时发现月受精成功数 (NMF) Z2 组最高, Z1 组最低; 平均产卵量 (AAE) 与平均幼体数量 (ANN) 随着 ARA 添加比例的增加呈现不断上升的趋势, AAE 最高组为 Z4 组, 而 Z3、Z4 组 ANN 比生产组高; HR 随着 ARA 添加比例的增加呈现先升后降的总体趋势, 于 Z3 组最高, Z1 组最低 (表 6)。

2.2 花生四烯酸 (ARA) 对凡纳对虾亲本肝胰腺与无节幼体生理生化的影响

各组亲虾总抗氧化能力 (T-AOC) 无显著差异。实验组中雌虾还原型谷胱甘肽 (GSH) 在 Z2 组最高, 只与 Z5 组无显著差异, 而雄虾 Z4 组最高, 与其他各组具有显著差异 ($P < 0.05$), 其次为 Z2 组, 只与 Z5 组无显著差异。雌虾 Z1 组超氧化物歧化酶 (SOD) 活性最高, 其次为 Z2 组, Z1 组 SOD 酶活只与 Z2 组无显著差异, Z2 组 SOD 酶活与 Z5 组无显著差异, 丙二醛 (MDA) 含量变化则相反 (表 7); 雄虾 SOD 酶活同样 Z1 组最高, 与 Z5 组和 Z3 组具有显著差异 ($P < 0.05$), MDA 含量变化

表 5 不同 ARA 添加含量对凡纳对虾亲本生长性能的影响

Tab. 5 Effect of different ARA content on the growth performance of *P. vannamei* parents %

组别 groups	WGR		HSI	
	雌虾 female shrimp	雄虾 male shrimp	雌虾 female shrimp	雄虾 male shrimp
Z1	32.14±13.90 ^b	34.80±8.02 ^a	2.72±0.10 ^{bc}	2.45±0.27 ^a
Z2	38.36±11.82 ^b	27.29±7.94 ^a	2.60±0.21 ^{ab}	2.93±0.18 ^b
Z3	30.67±14.77 ^b	29.02±10.41 ^a	3.17±0.55 ^d	2.89±0.17 ^b
Z4	35.12±9.88 ^b	30.84±5.95 ^a	2.26±0.24 ^a	2.66±0.08 ^{ab}
Z5	14.51±7.08 ^a	33.10±12.65 ^a	3.13±0.10 ^{cd}	2.97±0.22 ^b

注: 同列数据标注不同小写字母代表有显著性差异($P<0.05$), 下同。

Notes: Different lowercase letters in the same column of data indicate significant differences ($P<0.05$), the same below.

表 6 不同 ARA 添加含量对凡纳对虾亲本繁殖性能的影响

Tab. 6 Effect of different ARA addition levels on the reproductive performance of *P. vannamei* parents

组别 groups	NMF/(尾/月)	AAE/(枚/尾)	ANN/(只/尾)	HR/%
Z1	38	413 465.61	185 396.83	44.84
Z2	70	434 787.44	212 340.58	48.84
Z3	56	389 277.78	261 055.56	67.06
Z4	52	492 056.48	286 452.31	58.22
Z5	63	438 576.92	214 070.51	48.81

表 7 不同 ARA 添加量对雌性凡纳对虾肝胰腺抗氧化指标的影响

Tab. 7 Effect of different ARA addition levels on antioxidant index of hepatopancreas in female *P. vannamei*

组别 group	指标 indicator			
	T-AOC/ (mmol/L)	GSH/ ($\mu\text{mol/g prot}$)	SOD/ (U/mg prot)	MDA (nmol/mg prot)
Z1	4.93±0.55 ^a	14.73±1.73 ^b	7.81±0.67 ^d	1.27±0.32 ^a
Z2	4.50±0.53 ^a	22.60±3.38 ^c	7.62±1.13 ^{cd}	1.04±0.67 ^a
Z3	4.77±0.06 ^a	7.67±0.32 ^a	4.31±0.43 ^a	3.68±0.81 ^b
Z4	4.54±0.22 ^a	11.02±1.15 ^{ab}	5.46±0.70 ^b	3.04±0.33 ^b
Z5	4.59±0.41 ^a	20.09±3.04 ^c	6.58±0.67 ^c	1.30±0.79 ^a

与之相反(表 8)。亲虾肝胰腺中酸性磷酸酶(ACP)与碱性磷酸酶(AKP)活性在 Z2 组最高, 除 Z2 组雌虾 ACP 活性与 Z1 组相比无显著差异外, ACP 与 AKP 活性与其他组相比显著提升($P<0.05$); 幼体 ACP 与 AKP 活性随着 ARA 添加剂量的增加分别呈现不断升高与先升后降的总体趋势, 分别在 Z4 组与 Z3 组活性最高, 其中 Z4 组 ACP 活性只与 Z3 组无显著差异, Z3 组 AKP 与其他各组相比显著提升($P<0.05$)(表 9)。而 Z3 组亲虾生理指标表现出现一致性, 肝胰腺中 GSH 含量、SOD、ACP 与 AKP 活性较低, MDA 含量显著提升($P<0.05$)(表 7~表 9)。

2.3 花生四烯酸 (ARA) 对凡纳对虾受精卵脂肪酸成分的影响

各组受精卵 ΣSFA 、 ΣMUFA 、 ΣPUFA 与 $\Sigma\text{PUFA}/\Sigma\text{SFA}$ 无显著差异, $\Sigma\text{n-3 PUFA}$ 、DHA/EPA 与 Cn-3/Cn-6 随着 ARA 添加比例的增加呈现不断下降的趋势, 而 $\Sigma\text{n-6 PUFA}$ 呈现不断上升的趋势。其中与生产组相比 Z4 组脂肪酸 C17: 0、C18: 0、C18:3n3(ALA)、C20:3n6 与 C20:4n6(ARA) 显著提升($P<0.05$), C16: 0 显著降低($P<0.05$); Z1~Z3 组 C22:6n3(DHA) 显著提升($P<0.05$), Z1 与 Z3 组 C18:2n6(LA) 和 Z2 组 C16:1n7 显著降低($P<0.05$)(表 10)。

表 8 不同 ARA 添加量对雄性凡纳对虾肝胰腺抗氧化指标的影响

Tab. 8 Effect of different ARA addition levels on antioxidant index of hepatopancreas in male *P. vannamei*

组别 group	指标 indicator			
	T-AOC/ (mmol/L)	GSH/ ($\mu\text{mol/g prot}$)	SOD/ (U/mg prot)	MDA/ (nmol/mg prot)
Z1	4.61 \pm 0.38 ^a	8.08 \pm 1.15 ^a	10.21 \pm 1.45 ^c	1.86 \pm 0.71 ^a
Z2	4.43 \pm 0.84 ^a	20.00 \pm 6.15 ^b	8.71 \pm 1.09 ^{bc}	2.53 \pm 0.73 ^{ab}
Z3	4.61 \pm 0.59 ^a	4.50 \pm 0.59 ^a	5.70 \pm 0.52 ^a	6.68 \pm 2.09 ^c
Z4	4.99 \pm 0.22 ^a	39.21 \pm 5.07 ^c	9.28 \pm 1.15 ^c	1.65 \pm 0.87 ^a
Z5	4.43 \pm 0.48 ^a	23.57 \pm 2.86 ^b	7.42 \pm 0.86 ^b	4.31 \pm 0.85

表 9 不同 ARA 添加量对凡纳对虾亲本肝胰腺与幼体非特异性免疫指标的影响

Tab. 9 Effects of different ARA addition levels on non-specific immune indicators of the hepatopancreas and nauplius of *P. vannamei* parents

组别 group	指标 indicator					
	ACP/(金氏单位/g prot)			AKP/(金氏单位/g prot)		
	雌虾 female shrimp	雄虾 male shrimp	幼体 nauplius	雌虾 female shrimp	雄虾 male shrimp	幼体 nauplius
Z1	24.36 \pm 2.69 ^{cd}	30.37 \pm 1.42 ^b	8.92 \pm 0.50 ^a	27.82 \pm 4.39 ^{bc}	32.91 \pm 3.43 ^a	6.19 \pm 0.58 ^a
Z2	25.03 \pm 2.27 ^d	50.32 \pm 6.29 ^d	15.73 \pm 1.70 ^b	35.39 \pm 6.72 ^d	61.24 \pm 3.42 ^d	10.14 \pm 0.30 ^c
Z3	17.36 \pm 1.82 ^a	24.30 \pm 1.57 ^a	18.17 \pm 1.18 ^c	19.31 \pm 2.99 ^a	37.70 \pm 5.14 ^{ab}	12.75 \pm 1.40 ^d
Z4	21.42 \pm 2.06 ^{bc}	40.43 \pm 6.61 ^c	18.76 \pm 0.47 ^c	31.41 \pm 5.88 ^{cd}	41.22 \pm 4.77 ^c	7.68 \pm 0.85 ^b
Z5	19.23 \pm 2.01 ^{ab}	30.67 \pm 1.62 ^b	14.94 \pm 0.59 ^b	22.17 \pm 2.35 ^{ab}	36.95 \pm 3.12 ^{ab}	8.65 \pm 0.59 ^b

2.4 花生四烯酸 (ARA) 对凡纳对虾相关基因的影响

随着 ARA 添加量的上升, 卵巢中 *Vtg*、*VtgR*、*VASA*、*FAMeT2* 的表达呈现先升后降的整体趋势, Z3 组 *Vtg*、*VASA*、*FAMeT2* 表达最高, *VtgR* 表达较高, 同时 *Dmc1* 与 *StAR* 表达也与 Z5 组无显著差异。雄虾 *Ferritin* 表达各组无显著差异, Z3 组 *MnSOD*、*Cat*、*HIF-1a* 表达出现显著下降, 雌虾 *HIF-1a* 表达各组间无显著差异, Z1~Z3 组 *Cat* 与 *Ferritin* 表达比 Z5 组显著提高 ($P < 0.05$), *MnSOD* 表达与 Z5 组无显著差异。Z3 组雌虾肝胰腺中 *SREPB*、*FATB* 和 *PL* 表达最高, 其中 *SREPB* 和 *PL* 表达比各组显著提高 ($P < 0.05$), *FATB* 表达比 Z4~Z5 组显著提升 ($P < 0.05$), 同时发现只有 Z3 组 *FAS* 表达与 Z5 组无显著差异 (图 1)。

3 讨论

3.1 花生四烯酸 (ARA) 对凡纳对虾亲本繁殖及生长的影响

亲本培育本质上是机体营养不断累积的过程,

机体通过不断积累营养物质用于保障性腺发育、受精产卵和幼体质量^[2-3, 6], 但营养不足或不合理时可能会使卵巢发生重吸收, 减弱繁殖活动^[5]。ARA 作为凡纳对虾必需脂肪酸之一^[27], 对机体生理机能发挥重要作用, Furuita 等^[28] 在牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 亲鱼中发现 ARA 可提升受精卵孵化率与幼体成活率, 而在本研究中同样发现 Z3 组孵化率最高, 且平均幼体量比生产组提高, 这与张玉玲^[29] 在凡纳对虾中发现 ARA 能够促进孵化率与幼体量结果相同, 而得出不同添加量的原因可能在于亲本来源和发育阶段不同, 饲料成分与养殖方式不同等。前人研究发现加强 HUFA 供应有助提升幼体质量^[4], 而本研究同样发现幼体 ACP 与 AKP 酶在 4.99% ARA 添加组活性较好, 可见在饲料中保持 4.99% ARA 能够在一定程度上提升幼体产量与非特异免疫能力。

基因表达高低能够间接反映机体生理变化, 在饲料中添加 4.99% ARA 可提高卵巢中 *Vtg* (卵黄蛋白原) 和 *VtgR* (卵黄原蛋白受体) 基因的表达, 但 10.63% ARA 的添加却降低 *Vtg* 和 *VtgR* 的表达, *Vtg* 是所有卵生动物卵黄蛋白的前体^[30], 其合成

表 10 各组受精卵脂肪酸组成 (占总脂肪酸的百分比, %)

Tab. 10 Fatty acid composition of fertilized eggs in each group (percentage of total fatty acids, %)

脂肪酸 fatty acids	组别 groups				
	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5
C14:0	1.62±0.23 ^a	1.55±0.05 ^a	1.73±0.06 ^{ab}	1.93±0.06 ^b	1.73±0.09 ^{ab}
C15:0	0.43±0.04 ^a	0.46±0.01 ^a	0.45±0.03 ^a	0.53±0.06 ^b	0.47±0.01 ^{ab}
C16:0	26.02±0.33 ^b	25.77±0.08 ^b	25.79±0.24 ^b	24.87±0.45 ^a	26.26±0.52 ^b
C17:0	0.63±0.05 ^a	0.67±0.01 ^a	0.65±0.02 ^a	0.77±0.06 ^b	0.67±0.02 ^a
C18:0	3.08±0.08 ^a	3.05±0.17 ^a	2.96±0.14 ^a	3.73±0.40 ^b	3.19±0.16 ^a
C20:0	0.50±0.09 ^a	0.44±0.03 ^a	0.46±0.01 ^a	0.50±0.00 ^a	0.49±0.05 ^a
ΣSFA	32.27±0.71 ^a	31.93±0.01 ^a	32.03±0.33 ^a	32.33±0.90 ^a	32.81±0.68 ^a
C16:1n7	4.89±0.53 ^{ab}	4.39±0.40 ^a	4.85±0.36 ^{ab}	4.63±0.21 ^{ab}	5.34±0.23 ^b
C18:1n9	18.53±0.76 ^a	18.36±0.68 ^a	18.34±0.86 ^a	17.93±0.67 ^a	18.24±0.84 ^a
C20:1n9	1.05±0.05 ^a	0.97±0.02 ^a	0.99±0.03 ^a	1.03±0.06 ^a	0.97±0.10 ^a
ΣMUFA	24.47±1.06 ^a	23.71±0.99 ^a	24.18±1.09 ^a	23.60±0.66 ^a	24.55±1.01 ^a
C18:2n6(LA)	9.42±0.42 ^a	10.13±0.20 ^{bc}	9.68±0.11 ^{ab}	10.00±0.10 ^{bc}	10.30±0.46 ^c
C18:3n3(ALA)	0.49±0.06 ^a	0.51±0.02 ^a	0.50±0.03 ^a	0.60±0.00 ^b	0.51±0.03 ^a
C18:3n6	0.08±0.02 ^a	0.07±0.00 ^a	0.07±0.00 ^a	0.10±0.00 ^b	0.07±0.01 ^a
C20:2n6	3.46±0.32 ^a	3.71±0.06 ^a	3.61±0.22 ^a	3.53±0.23 ^a	3.87±0.10 ^a
C20:3n3	0.19±0.01 ^a	0.20±0.01 ^a	0.20±0.01 ^a	0.20±0.00 ^a	0.20±0.01 ^a
C20:3n6	0.36±0.03 ^a	0.38±0.02 ^a	0.39±0.02 ^a	0.47±0.06 ^b	0.40±0.01 ^a
C20:4n6(ARA)	2.36±0.34 ^a	2.70±0.20 ^a	2.75±0.33 ^a	3.50±0.10 ^b	2.54±0.34 ^a
C20:5n3(EPA)	6.88±0.34 ^a	7.29±0.39 ^a	7.00±0.69 ^a	6.77±0.32 ^a	6.65±0.75 ^a
C22:6n3(DHA)	10.00±0.65 ^b	9.50±0.48 ^b	9.61±0.44 ^b	8.27±0.58 ^a	7.93±0.87 ^a
ΣPUFA	33.23±1.76 ^a	34.47±1.14 ^a	33.81±1.15 ^a	33.43±0.45 ^a	32.47±1.62 ^a
Σn-6 PUFA	15.67±1.02 ^a	16.98±0.31 ^b	16.50±0.32 ^{ab}	17.60±0.10 ^b	17.18±0.64 ^b
Σn-3 PUFA	17.56±0.76 ^b	17.49±0.87 ^b	17.31±1.14 ^b	15.83±0.55 ^{ab}	15.28±1.54 ^a
Cn-3/Cn-6	1.12±0.03 ^b	1.03±0.04 ^b	1.05±0.07 ^b	0.90±0.04 ^a	0.89±0.10 ^a
DHA/EPA	1.46±0.12 ^c	1.30±0.01 ^{abc}	1.38±0.08 ^{bc}	1.22±0.12 ^{ab}	1.19±0.09 ^a
ΣPUFA/ΣSFA	1.03±0.08 ^a	1.08±0.04 ^a	1.06±0.03 ^a	1.03±0.03 ^a	0.99±0.07 ^a
其他 other	10.03±0.43 ^a	10.03±0.16 ^a	10.03±0.24 ^a	10.03±0.15 ^a	10.03±0.18 ^a

部位可分为内源性与外源性^[31], 外源性合成的 Vtg 会通过 VtgR 介导的内吞作用被吸收到卵母细胞中^[32], 因此, Vtg 与 VtgR 的表达水平对卵生动物卵巢发育起到至关重要的作用。在甲壳动物中, 甲基法尼酸 (MF) 同样能够促进卵黄积累, 卵巢成熟, 而法尼酸甲基转移酶 (FAMeT) 作为催化法尼酸 (FA) 甲基化为 MF 的关键限速酶^[33], 对卵巢成熟起着重要作用。VASA 影响生殖细胞的分化和迁移^[34], 在中国明对虾中发现 VASA 定位在配子的细胞质中, 推断 VASA 与配子发生密切相关^[35]。从定量结果可知, 4.99% ARA 添加组中卵巢的 FAMeT2 与 VASA 表达最高, 10.63% ARA 添加组其表达显著降低, 可见 4.99% ARA 添加量能够促进凡纳对虾卵巢卵黄积累, 但高剂量 ARA 反而抑制。Dmcl 属于 RecA/Rad51 超家族, 对减数分裂

的重组起重要作用^[36], 而类固醇激素能够在动物的性别分化、性腺发育中起到关键作用^[37], StAR 基因编码的类固醇急性调节蛋白专一性地负责将底物胆固醇从线粒体外膜转运至内膜, 该过程是类固醇激素合成的限速步骤, 如果卵巢缺失 StAR, 会造成卵巢中胆固醇的持续积累最终损害黄体酮的合成并导致排卵障碍^[38]。定量结果表明, 0.03% ARA 添加组 Dmcl 与 StAR 的表达最高, 而 2.70%~10.63% ARA 添加量下 Dmcl 与 StAR 的表达与生产组 (Z5) 无显著差异, 可见在饲料中添加 2.70%~10.63% ARA 可稳定卵巢中 Dmcl 与 StAR 的表达, 但从孵化率, 幼体产量与质量, 其他性腺发育相关基因来看, 0.03% ARA 组繁殖指标并不好, 可见 Dmcl 与 StAR 表达过高可能对凡纳对虾繁殖性能起不到促进作用。也有研究发现在甲

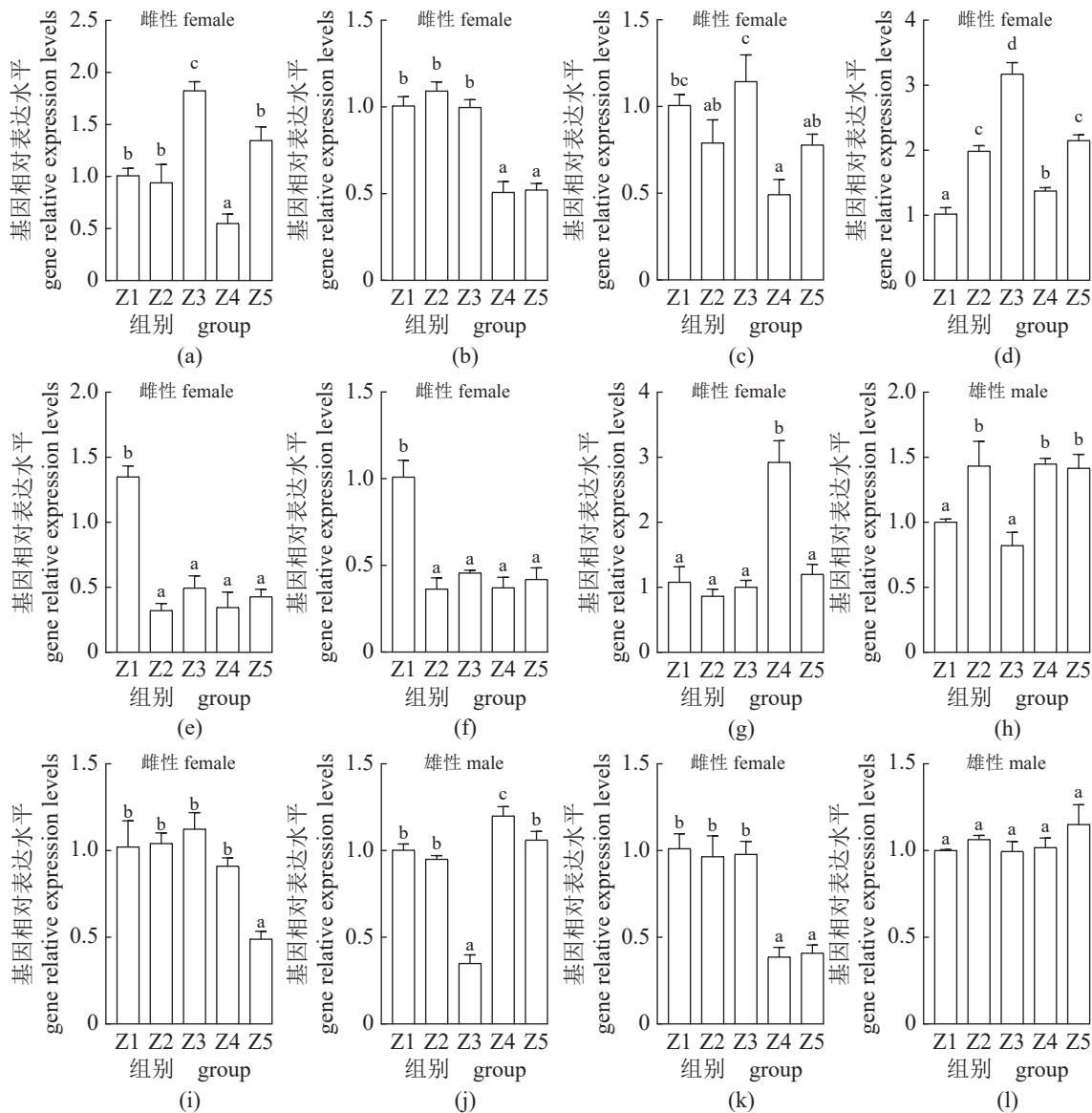
壳动物中 *Dmc1* 基因对精巢的作用更为重要, 对卵巢影响相对并不主要^[39], 但也可能是机体在 ARA 的影响下发生其他生理生化反应或其他基因的补偿作用造成了 0.03% ARA 下高表达的原因, 具体机制仍需深入研究。

ARA 能够促进甲壳类生长^[20, 40], 本次实验发现, 雌虾增重率各实验组比生产组显著提高, 推测配合饲料与生物饵料混合投喂能够更加满足亲虾繁殖所需营养需求, 在克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 中同样也发现配合饲料与生物饵料混合投喂更为有利^[41], 在凡纳对虾中也发现相似的结果^[29]。而对虾产卵量、无节幼体量、产卵频率与体重之间呈现正相关^[42-44], 可见本次实验所用 4 种软颗粒饲料均能在一定程度上保障亲本在繁殖

期间的营养与能量需求, 也从侧面说明本次制作的配合饲料的营养配比较为合理。

3.2 花生四烯酸 (ARA) 对凡纳对虾免疫水平的影 响

肝胰腺是对虾重要的代谢和免疫器官, 而肝胰腺指数 (HSI) 是机体健康状况的重要指标^[45]。雌虾 HSI 在 4.99% ARA 影响下最高, 而雄虾 HSI 在 2.70% 与 4.99% ARA 影响下较高, 都与生产组无显著差异, 可见在饲料中添加 4.99% ARA 能够满足亲虾肝胰腺发育, 但添加过低或过高剂量 ARA 都会影响肝胰腺发育。氧自由基过度累积会造成蛋白变性、脂质过氧化和 DNA 损伤, 这与诸多疾病发病机理密切相关, 并最终导致氧化损



(图 1 Fig. 1)

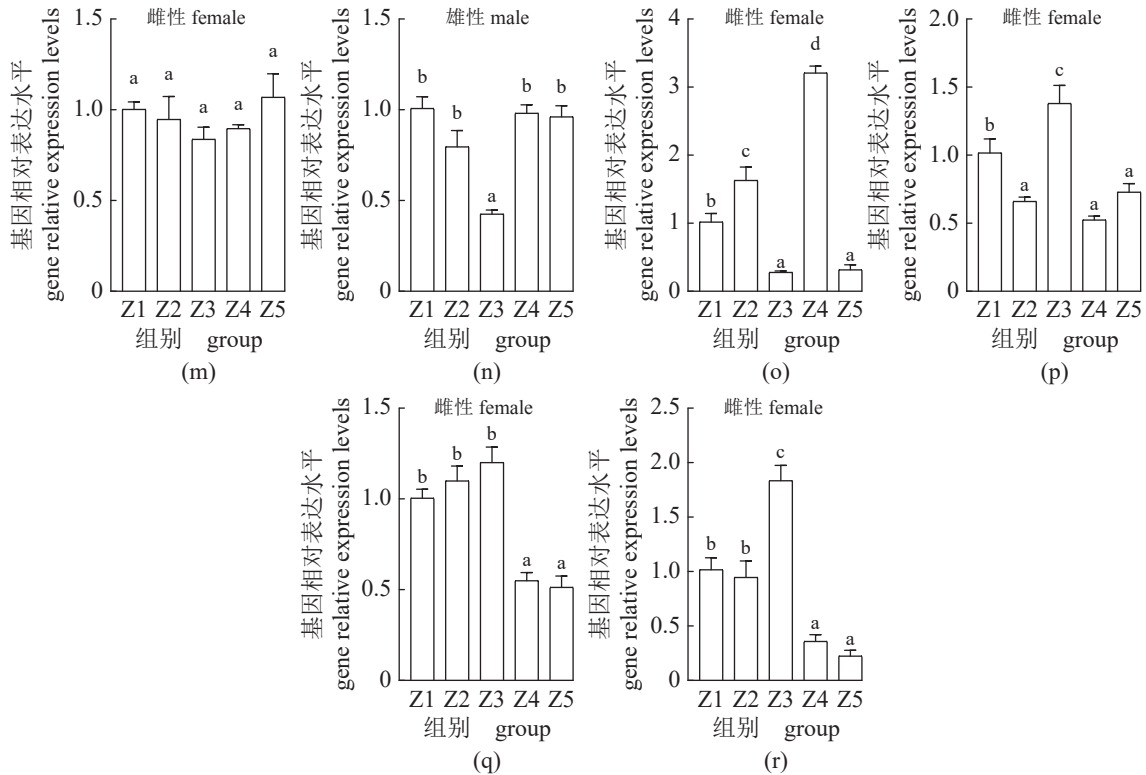


图 1 ARA 对凡纳对虾性腺发育、氧化应激及脂质代谢相关基因的影响

(a) *Vtg*; (b) *VtgR*; (c) *VASA*; (d) *FAMeT2*; (e) *Dmcl*; (f) *StAR*; (g) 和 (h) *MnSOD*; (i) 和 (j) *Cat*; (k) 和 (l) *Ferritin*; (m) 和 (n) *HIF-1a*; (o) *FAS*; (p) *SREPB*; (q) *FATB*; (r) *PL*。柱状图中标注不同小写字母代表有显著性差异 ($P < 0.05$)。

Fig. 1 Effects of ARA on genes related to gonadal development, oxidative stress and lipid metabolism in the *P. vannamei*

(a) *Vtg*; (b) *VtgR*; (c) *VASA*; (d) *FAMeT2*; (e) *Dmcl*; (f) *StAR*; (g) and (h) *MnSOD*; (i) and (j) *Cat*; (k) and (l) *Ferritin*; (m) and (n) *HIF-1a*; (o) *FAS*; (p) *SREPB*; (q) *FATB*; (r) *PL*. Different lowercase letters in the bar chart represent significant differences ($P < 0.05$).

伤^[46-47]。而在机体内的酶类化合物在较低浓度即能显著延缓或者阻止氧化物的氧化作用^[48], 超氧化物歧化酶 (SOD) 作为氧化应激产物解毒的第一道防线^[49], 发挥着重要作用, 而丙二醛 (MDA) 是脂质过氧化物的产物之一, 通过检测 MDA 含量可反映机体脂质过氧化程度^[50], 两者一般同时检测, 通过生理检测结果可知, 亲本肝胰腺中总抗氧化能力 (T-AOC) 各组间无显著差异, 但 Z1、Z2 组 SOD 酶活较高, 同时 MDA 含量也低。而还原型谷胱甘肽 (GSH) 作为谷胱甘肽在生物体内的主要活性状态, 能够保护细胞膜中含巯基的蛋白质和含巯基酶不被破坏, 同时还可对抗自由基对重要脏器的损害^[51], 有研究证明其能够促进凡纳对虾存活、生长、抗氧化与非特异免疫能力^[52], 通过检测该指标同样可反映机体的抗氧化能力, 本研究结果显示, 雌虾 GSH 在 Z2 与 Z4 组含量较高, 但雄虾 Z2 组 GSH 含量与生产组相比并没有显著降低, 可见亲虾摄食适宜 ARA 可提升或维持机

体抗氧化能力, 这在无脊椎动物中已有相关报道^[53-55], 同时, 也发现 Z2 与 Z4 组亲本肝胰腺中的 ACP、AKP 酶活较高, 这与 GSH 含量变化结果相似, 说明适宜 ARA 同样能够提高机体的非特异免疫能力。但有趣的是, Z3 组众多生理指标检测结果出现显著降低, 在基因水平上也发现 Z3 组雄虾肝胰腺中 *MnSOD*、*Cat*、*HIF-1a* 表达出现显著降低, 而雌虾肝胰腺中 *Ferritin*、*Cat* 表达在 ARA 高添加量下降低, 与 *MnSOD* 表达呈现相反结果。在日本沼虾 (*Macrobrachium nipponense*) 中也发现肝胰腺中 MDA 含量随着 ARA 添加剂量的增加而增加^[56], 这可能与 ARA 在生物体内的复杂作用有关^[57]。有趣的是, 通过本次实验发现 Z3 组氧化应激相关生理指标或基因表达水平发生显著降低, 这可能由于机体免疫能力与繁殖性能互为拮抗^[58-59], 在 4.99% ARA 影响下亲虾优先将能量与营养供应繁殖需求, 机体免疫相关性分配到能量降低, 造成机体抗氧化能力与非特异免疫

能力的下降。

3.3 花生四烯酸 (ARA) 对凡纳对虾脂质代谢的影响

ARA 是卵母细胞中主要卵黄成分的前体^[60], 对水产动物繁殖和脂质代谢具有重要影响。从宏观层面看, 各组受精卵中 Σ SFA、 Σ MUFA、 Σ PUFA 无显著差异, 可见本实验下各组受精卵脂肪酸水平可维持相对稳定状态, 但也发现 ARA 会对受精卵中的具体脂肪酸产生一定影响, 随着 ARA 添加剂量的增加, Z4 组 C15:0、C17:0 与 C18:0 含量比其他实验组增加, 但 C16:0 含量显著降低, 互相补充, 使 Σ SFA 无显著变化; 反观多不饱和脂肪酸, 可以发现, 随着 ARA 添加剂量的增加, 受精卵中 ALA、C18:3n6、C20:3n6 与 ARA 含量也随之增加, 但 DHA 含量与 Z1-Z3 组相比显著减低, 造成的直接影响为受精卵中 Σ n-3 PUFA 与 Σ n-6 PUFA 含量变化随着 ARA 添加剂量的增长分别呈现增长与降低的总体趋势, 也使他们之间的比值产生变化。适量 ARA 对水产生物有利, 但过量 ARA 同样会造成消极后果, 在虾蟹类^[23, 53, 61-62] 发现过量 ARA 会影响生长、繁殖、免疫和脂质代谢等能力, 而本次实验结果也同样发现饲料中添加高剂量 ARA(Z4 组) 会影响肝胰腺发育, 降低孵化率与幼体非特异免疫酶活。功能性脂肪酸中 DHA 相比于 EPA 对幼虫的作用更加重要^[63-65], 而本研究发现受精卵中 DHA 含量在 Z4 组发生显著降低, 可见过量 ARA 同样会影响受精卵中功能性脂肪酸含量。可能因为 ARA 促进了凡纳对虾亲本的脂质代谢能力, 受精卵营养物质直接来源于卵巢, 肝胰腺作为对虾营养储存与转运中心^[66], 在繁殖期间负责输送大量脂质及其他营养物质至卵巢, 固醇调节元件结合蛋白 (SREPB) 是调控胆固醇、脂肪酸和甘油三酯及细胞脂质稳态的关键因子^[67], 而脂肪酸转运蛋白 (FATB) 能够促进脂肪酸转运与细胞对长链脂肪酸的吸收^[68], 实时荧光定量 PCR 结果发现雌虾肝胰腺 *SREPB*、*FATB* 与 *PL* 表达都在 Z3 组最高, 表明 4.99% ARA 添加量不但促进了肝胰腺的脂质稳定与转运能力, 也促进脂肪的消化与吸收^[69]。脂肪酸合成酶 (FAS) 是一种关于脂肪酸再生起重要作用的限速酶, 也是机体从头合成脂肪酸的关键酶, 但过度表达会造成体内脂肪沉积^[70], Z3 组 *FAS* 表达与生产组无显著差异, 但其他组别比生产组显著提升, 这从侧面说明雌虾在其他含量 ARA 影响下肝胰腺对脂质利用

率下降, 可见饲料中 4.99% ARA 添加量能够促进雌虾肝胰腺脂质代谢水平。

4 结论

综上所述, 本研究比较四种不同含量 ARA (0.03%、2.70%、4.99%、10.63%) 软颗粒饲料与纯生物饵料 (沙蚕) 对凡纳对虾亲本生长、繁殖、免疫与脂质代谢影响, 发现投喂饲料能够显著提升雌虾增重率, 4.99% ARA 添加量能够保障肝胰腺发育, 提高孵化率和幼体产量与质量, 促进性腺发育相关基因表达, 增强肝胰腺对脂质的利用与转运能力, 但因免疫能力与繁殖性能互为拮抗, 造成在该添加量下免疫相关性降低。以繁殖性能作为优先考虑对象, 在充足营养供应下, 建议饲料中保持 4.99% ARA 添加量更有利于凡纳对虾亲本性腺发育与幼体生产。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] 舒海华. 南美白对虾亲虾的培育与管理 [J]. *产业与科技论坛*, 2017, 16(20): 48-49.
Shu H H. Cultivation and management of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) parents [J]. *Industrial & Science Tribune*, 2017, 16(20): 48-49 (in Chinese).
- [2] 陈泳先, 陈晓汉, 蒋伟明, 等. 饵料营养对亲虾繁殖性能及幼体质量影响研究进展 [J]. *南方农业学报*, 2011, 42(6): 676-679.
Chen Y X, Chen X H, Jiang W M, et al. Advances in effects of dietary bait nutrition on reproductive performance of broodstock and larva quality [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2011, 42(6): 676-679 (in Chinese).
- [3] Mourente G, Rodriguez A. Variation in the lipid content of wild-caught females of the marine shrimp *Penaeus kerathurus* during sexual maturation [J]. *Marine Biology*, 1991, 110(1): 21-28.
- [4] Wouters R, Molina C, Lavens P, et al. Lipid composition and vitamin content of wild female *Litopenaeus vannamei* in different stages of sexual maturation [J]. *Aquaculture*, 2001, 198(3-4): 307-323.
- [5] Palacios E, Ibarra A M, Racotta I S. Tissue biochemical composition in relation to multiple spawning in wild and pond-reared *Penaeus vannamei* broodstock [J]. *Aquacul-*

- ture, 2000, 185(3-4): 353-371.
- [6] Wang Y T, Wang K, Huang L, *et al.* Fine-scale succession patterns and assembly mechanisms of bacterial community of *Litopenaeus vannamei* larvae across the developmental cycle[J]. *Microbiome*, 2020, 8(1): 106.
- [7] 张玉玲, 罗坤, 孔杰, 等. 饲料中添加南极磷虾粉对凡纳滨对虾亲虾生长、性腺发育及脂肪酸积累的影响[J]. *中国水产科学*, 2017, 24(2): 306-316.
- Zhang Y L, Luo K, Kong J, *et al.* A comparative study on growth and gonadal development of *Litopenaeus vannamei* broodstock fed different formulated feeds[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2017, 24(2): 306-316 (in Chinese).
- [8] Cahu C, Guillaume J C, Stéphan G, *et al.* Influence of phospholipid and highly unsaturated fatty acids on spawning rate and egg and tissue composition in *Penaeus vannamei* fed semi-purified diets[J]. *Aquaculture*, 1994, 126(1-2): 159-170.
- [9] 艾春香, 李少菁, 王桂忠, 等. 虾蟹类亲体生殖营养需求研究的进展[J]. *台湾海峡*, 2003, 22(2): 254-261.
- Ai C X, Li S J, Wang G Z, *et al.* Research advancement on requirements of broodstock nutrition for shrimps and crabs[J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 2003, 22(2): 254-261 (in Chinese).
- [10] 袁成凌, 姚建铭, 余增亮. 花生四烯酸及其代谢物的生物学作用[J]. *中国药物化学杂志*, 2000, 10(1): 75-78.
- Yuan C L, Yao J M, Yu Z L. Biological effects of arachidonic acid and its metabolites[J]. *Chinese Journal of Medicinal Chemistry*, 2000, 10(1): 75-78 (in Chinese).
- [11] 张炜煜, 朱兴族. 环加氧酶及其药理学研究进展[J]. *生命科学*, 2005, 17(3): 231-235.
- Zhang W Y, Zhu X Z. Advances in the pharmacology of cyclooxygenase[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2005, 17(3): 231-235 (in Chinese).
- [12] 王嘉. 磷脂酶 C γ -2 参与的花生四烯酸的脂加氧酶-12 代谢通路及喉鳞状细胞癌的关系及临床意义[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2013.
- Wang J. The relation of 12-LOX in arachidonic acid metabolism passway induced by phospholipase C γ -2 with laryngeal squamous cell carcinoma and its clinical indication[D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2013 (in Chinese).
- [13] Capdevila J H, Falck J R, Harris R C. Cytochrome P450 and arachidonic acid bioactivation: molecular and functional properties of the arachidonate monooxygenase[J]. *Journal of Lipid Research*, 2000, 41(2): 163-181.
- [14] 陈超刚, 苏宜香, 谭炳炎, 等. 多烯脂肪酸对海马神经元细胞脂肪酸构成和生长的作用[J]. *营养学报*, 2002, 24(3): 265-268.
- Chen C G, Su Y X, Tan B Y, *et al.* Effects of polyene fatty acid on fatty acid composition, growth and development of hippocampal neurons[J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2002, 24(3): 265-268 (in Chinese).
- [15] Hatanaka E, Harauma A, Yasuda H, *et al.* Essentiality of arachidonic acid intake in murine early development[J]. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 2016, 108: 51-57.
- [16] Di Marzo V. Arachidonic acid and eicosanoids as targets and effectors in second messenger interactions[J]. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 1995, 53(4): 239-254.
- [17] 钟杰. 花生四烯酸 (ARA) 对黄鳝生长及保肝机制的研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2018.
- Zhong J. Effects of arachidonic acid (ARA) on the growth and hepatoprotective of *Monopterus albus*[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2018 (in Chinese).
- [18] Van Anholt R D, Koven W M, Lutzky S, *et al.* Dietary supplementation with arachidonic acid alters the stress response of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae[J]. *Aquaculture*, 2004, 238(1-4): 369-383.
- [19] Delaporte M, Soudant P, Moal J, *et al.* Impact of 20: 4n-6 supplementation on the fatty acid composition and hemocyte parameters of the pacific oyster *crassostrea gigas*[J]. *Lipids*, 2006, 41(6): 567-576.
- [20] Nghia T T, Wille M, Sorgeloos P. Influence of the content and ratio of essential HUFA's in the live food on larviculture success of the mud crab (*Scylla paramamosain*)[J]. *EAS Special Publication*, 2001, 30: 430-433.
- [21] 杨印蹊. 饲料中添加花生四烯酸对三疣梭子蟹卵巢发育及成蟹品质的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2013.
- Yang Y P. The effects of dietary supplement of Arachidonic acid on ovary development and nutritional quality of swimming crab, *Portunus trituberculatus*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2013 (in Chinese).

- [22] Xu H G, Zhang Y L, Luo K, *et al.* Arachidonic acid in diets for early maturation stages enhances the final reproductive performances of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. *Aquaculture*, 2017, 479: 556-563.
- [23] Fang F, Yuan Y, Jin M, *et al.* Dietary arachidonic acid supplementation promotes the growth, steroidogenesis and ovarian development in mud crab *Scylla paramamosain*[J]. *Aquaculture Reports*, 2023, 29: 101526.
- [24] 陈锦豪, 郑锦滨, 王攀攀, 等. 凡纳滨对虾养殖亲本群体遗传多样性分析 [J]. *渔业研究*, 2019, 41(1): 1-10.
Chen J H, Zheng J B, Wang P P, *et al.* Analysis for genetic diversity of broodstock populations of breeding *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Fisheries Research*, 2019, 41(1): 1-10 (in Chinese).
- [25] 杜少波, 胡超群, 沈琪. 亲虾营养需求研究进展 [J]. *热带海洋学报*, 2002, 21(4): 80-91.
Du S B, Hu C Q, Shen Q. A review of dietary requirement of shrimp broodstock[J]. *Journal of Tropical Oceanography*, 2002, 21(4): 80-91 (in Chinese).
- [26] 麦康森. 水产动物营养与饲料学 [M]. 第2版. 北京: 中国农业出版社, 2011.
Mai K S. Nutrition and feed for aquatic animals[M]. 2nd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2011 (in Chinese).
- [27] 王克行. 虾蟹类增养殖学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1997.
Wang K X. Enhancement of shrimp and crab culture[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1997 (in Chinese).
- [28] 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.
- [29] 张玉玲. 磷虾粉和花生四烯酸对凡纳滨对虾亲虾性腺发育及繁殖性能的影响 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2017.
Zhang Y L. Effects of krill meal and arachidonic acid on gonadal development and reproductive performance of *Litopenaeus vannamei* parent shrimp[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2017 (in Chinese).
- [30] 张士瑾, 孙旭彤, 李红岩. 卵黄蛋白原研究及其进展 [J]. *海洋科学*, 2002, 26(7): 32-35.
Zhang S C, Sun X T, Li H Y. Review on vitellogenin[J]. *Marine Sciences*, 2002, 26(7): 32-35 (in Chinese).
- [31] Chen T, Ren C H, Jiang X, *et al.* Mechanisms for type-II vitellogenesis-inhibiting hormone suppression of vitellogenin transcription in shrimp hepatopancreas: crosstalk of GC/cGMP pathway with different MAPK-dependent cascades[J]. *PLoS One*, 2018, 13(3): e0194459.
- [32] Li Y H, Cam J, Bu G J. Low-density lipoprotein receptor family: endocytosis and signal transduction[J]. *Molecular Neurobiology*, 2001, 23(1): 53-67.
- [33] Jayasankar V, Tomy S, Wilder M N. Insights on molecular mechanisms of ovarian development in decapod crustacea: focus on vitellogenesis-stimulating factors and pathways[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2020, 11: 577925.
- [34] Styhler S, Nakamura A, Swan A, *et al.* *vasa* is required for GURKEN accumulation in the oocyte, and is involved in oocyte differentiation and germline cyst development[J]. *Development*, 1998, 125(9): 1569-1578.
- [35] Zhou Q R, Shao M Y, Qin Z K, *et al.* Cloning, characterization, and expression analysis of the DEAD-box family genes, *Fc-vasa* and *Fc-PL10a*, in Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*)[J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2010, 28(1): 37-45.
- [36] Kagawa W, Kurumizaka H. From meiosis to postmeiotic events: uncovering the molecular roles of the meiosis-specific recombinase *Dmc1*[J]. *The FEBS Journal*, 2010, 277(3): 590-598.
- [37] 郑诚, 薛程, 赵倩倩, 等. 日本沼虾 *StAR* 基因克隆及其低氧胁迫下表达分析 [J]. *水产学报*, 2024, 48(3): 039106.
Zheng C, Xue C, Zhao Q Q, *et al.* Molecular cloning and expression analysis of *StAR* gene from oriental river pawn (*Macrobrachium nipponense*) in response to hypoxia[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2024, 48(3): 039106 (in Chinese).
- [38] Fujieda K, Tajima T, Nakae J, *et al.* Spontaneous puberty in 46, XX subjects with congenital lipoid adrenal hyperplasia - Ovarian steroidogenesis is spared to some extent despite inactivating mutations in the steroidogenic acute regulatory protein (StAR) gene[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 1997, 99(6): 1265-1271.
- [39] 叶满. 凡纳滨对虾性腺抑制激素定位及激素对性腺发育基因表达的影响 [D]. 湛江: 广东海洋大学, 2014.
Ye M. Localization of gonad-inhibiting hormone in the eyestalk and effects of hormones on gonad development

- related genes expression in *Litopenaeus vannamei*[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2014 (in Chinese).
- [40] Xu J, Xu X R, Hu J T, *et al.* Effects of dietary arachidonic acid on the growth performance, feed utilization and fatty acid metabolism of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)[J]. *Aquaculture Reports*, 2022, 24: 101170.
- [41] 董超, 郑友, 黄成. 配合饲料和鱼肉“间隔—轮转”投喂对克氏原螯虾生长的影响 [J]. *水产科学*, 2016, 35(1): 72-76.
- Dong C, Zheng Y, Huang C. Influence of feeding rotation between formulated feed and fish flesh on growth of red swamp crayfish *Procambarus clarkii*[J]. *Fisheries Science*, 2016, 35(1): 72-76 (in Chinese).
- [42] Ren S J, Mather P B, Prentis P, *et al.* Quantitative genetic assessment of female reproductive traits in a domesticated pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) line in China[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 7840.
- [43] Coman G J, Arnold S J, Wood A T, *et al.* Evaluation of egg and nauplii production parameters of a single stock of domesticated *Penaeus monodon* (Giant Tiger Shrimp) across generations[J]. *Aquaculture*, 2013, 400-401: 125-128.
- [44] Marsden G, Richardson N, Mather P, *et al.* Reproductive behavioural differences between wild-caught and pond-reared *Penaeus monodon* prawn broodstock[J]. *Aquaculture*, 2013, 402-403: 141-145.
- [45] Manan H, Zhong J M H, Othman F, *et al.* Histopathology of the hepatopancreas of pacific white shrimp, *Penaeus vannamei* from none early mortality syndrome (EMS) shrimp ponds[J]. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 2015, 10(6): 562-568.
- [46] 马小媛, 钱卫平. 抗氧化能力评价方法 [J]. *化学进展*, 2011, 23(8): 1737-1746.
- Ma X Y, Qian W P. Methods to determine antioxidant capacity[J]. *Progress in Chemistry*, 2011, 23(8): 1737-1746 (in Chinese).
- [47] Valko M, Rhodes C J, Moncol J, *et al.* Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2006, 160(1): 1-40.
- [48] Darley-Usmar V, Halliwell B. Blood radicals: reactive nitrogen species, reactive oxygen species, transition metal ions, and the vascular system[J]. *Pharmaceutical Research*, 1996, 13(5): 649-662.
- [49] Johnson F, Giulivi C. Superoxide dismutases and their impact upon human health[J]. *Molecular Aspects of Medicine*, 2005, 26(4-5): 340-352.
- [50] 陈贵, 胡文玉, 谢甫缙, 等. 提取植物体内 MDA 的溶剂及 MDA 作为衰老指标的探讨 [J]. *植物生理学通讯*, 1991, 27(1): 44-46.
- Chen G, Hu W Y, Xie P T, *et al.* Solvent for extracting malondialdehyde in plant as an index of senescence[J]. *Plant Physiology Communications*, 1991, 27(1): 44-46 (in Chinese).
- [51] 舒红. 还原型谷胱甘肽的临床应用 [J]. *黑龙江医学*, 2007, 31(11): 840-841.
- Shu H. Clinical application of reduced glutathione[J]. *Heilongjiang Medical Journal*, 2007, 31(11): 840-841 (in Chinese).
- [52] 刘晓华. 谷胱甘肽对凡纳滨对虾抗氧化防御的调控机理 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.
- Liu X H. Antioxidative defence mechanism of glutathione on *Litopenaeus vannamei*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2010 (in Chinese).
- [53] Bian P, Xu H Y, Weng X Z, *et al.* The influence of dietary arachidonic acid on growth performance, fatty acid composition and antioxidant capacity on postlarva of mud crab *Scylla paramamosain*[J]. *Aquaculture Reports*, 2022, 25: 101226.
- [54] Lei K K, Cui Z Y, Liu C, *et al.* Dietary arachidonic acid affects the growth performance, fatty acid profile, immunity and resistance to heat stress in juvenile abalone *Haliotis discus hannai* Ino[J]. *Aquaculture*, 2023, 575: 739776.
- [55] Qi H Q, Liu Y, Jian F J, *et al.* Effects of dietary arachidonic acid (ARA) on immunity, growth and fatty acids of *Apostichopus japonicus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2022, 127: 901-909.
- [56] Ding Z L, Zhou J B, Kong Y Q, *et al.* Dietary arachidonic acid promotes growth, improves immunity, and regulates the expression of immune-related signaling molecules in *Macrobrachium nipponense* (De Haan)[J]. *Aquaculture*, 2018, 484: 112-119.
- [57] Xu H G, Meng X X, Wei Y L, *et al.* Arachidonic acid matters[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2022, 14(4): 1912-1944.

- [58] Segner H, Verburg-van Kemenade B M L, Chadzinska M. The immunomodulatory role of the hypothalamus-pituitary-gonad axis: proximate mechanism for reproduction-immune trade offs?[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2017, 66: 43-60.
- [59] Valero Y, Cuesta A, Cammarata M, *et al.* Immune-endocrine interactions in the fish gonad during infection: an open door to vertical transmission[J]. *Fishes*, 2018, 3(2): 24.
- [60] Masoudi Asil S, Abedian Kenari A, Rahimi Miyanji G, *et al.* The influence of dietary arachidonic acid on growth, reproductive performance, and fatty acid composition of ovary, egg and larvae in an anabantid model fish, blue gourami (*Trichopodus trichopterus*; Pallas, 1770)[J]. *Aquaculture*, 2017, 476: 8-18.
- [61] 胡俊涛. 花生四烯酸在中华绒螯蟹配合饲料中的功能研究与应用 [D]. 扬州: 扬州大学, 2022.
- Hu J T. Study on the application of arachidonic acid in the compound feed of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2022 (in Chinese).
- [62] 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).
- [63] Watanabe T, Arakawa T, Takeuchi T, *et al.* Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in terms of essential fatty acid efficiency in juvenile striped jack *Pseudocaranx dentex*[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1989, 55(11): 1989-1995.
- [64] Takeuchi T, Toyota M, Satoh S, *et al.* Requirement of juvenile red seabream *Pagrus major* for eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1990, 56(8): 1263-1269.
- [65] Koven W M, Tandler A, Sklan D, *et al.* The association of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in the main phospholipids of different-age *Sparus aurata* larvae with growth[J]. *Aquaculture*, 1993, 116(1): 71-82.
- [66] 刘立鹤, 汤菊芬, 郑石轩. 甲壳动物亲体营养、能量特点及其脂质营养综述 [J]. *饲料广角*, 2003(13): 40-42.
- Liu L H, Tang J F, Zheng S X. Overview of shellfish's parent nutritive, energy characteristic and lipide nutritive[J]. *Feed China*, 2003(13): 40-42 (in Chinese).
- [67] 郑晓宇. 凡纳滨对虾 SREBP 基因克隆及其在免疫/代谢网络中的作用研究 [D]. 汕头: 汕头大学, 2020.
- Zheng X Y. Characterization of the SREBP gene in *Penaeus vannamei* in terms of immune-metabolic modulation[D]. Shantou: Shantou University, 2020 (in Chinese).
- [68] 齐仁立, 黄金秀, 杨飞云, 等. 脂肪酸转运蛋白家族及其介导的脂肪酸跨膜转运 [J]. *动物营养学报*, 2013, 25(5): 905-911.
- Qi R L, Huang J X, Yang F Y, *et al.* Fatty acid transport protein family and their mediation in transmembrane transportation of fatty acids[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2013, 25(5): 905-911 (in Chinese).
- [69] 张雪芹. 凡纳滨对虾与斑节对虾脂肪代谢胰脂酶 (*Pancreatic lipase*) 基因的克隆及其表达分析 [D]. 湛江: 广东海洋大学, 2014.
- Zhang X Q. Cloning and expression analysis of *Pancreatic lipase* gene from *Litopenaeus vannamei* and *Penaeus monodon*[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2014 (in Chinese).
- [70] 张芮, 陈斯钰. 脂肪酸合成酶 (FAS) 的研究综述 [J]. *农村经济与科技*, 2018, 29(13): 103-105.
- Zhang R, Chen S Y. A review of research on fatty acid synthase (FAS)[J]. *Rural Economy and Science-Technology*, 2018, 29(13): 103-105 (in Chinese).

Effects of arachidonic acid (ARA) on reproduction, immunity, and lipid metabolism of *Penaeus vannamei* broodstocks

ZHONG Xiao¹, XU Bin², LIU Jiabin², WANG Yilei^{1*}

(1. State Key Laboratory of Mariculture Breeding, Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. Guangdong Hisenor Group Co., Ltd, Guangzhou 511400, China)

Abstract: Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) is a staple in aquaculture due to its rapid growth cycle, adaptability to both freshwater and saltwater, broad temperature tolerance, minimal nutritional needs, and high meat yield. It is recognized the Chinese shrimp (*P. chinensis*) and black tiger shrimp (*P. monodon*), as one of the three most important shrimp species for global aquaculture. The industry's sustainable growth hinges on the development of superior feed, breeding of high-quality stocks, and the provision of premium seedlings to enhance the reproductive performance and quality of the Pacific white shrimp's offspring. The research investigates the impact of arachidonic acid (ARA) on the reproduction, immunity, and lipid metabolism of the Pacific white shrimp's broodstock, offering insights for selective breeding and feed formulation. Males at six months of age and unilaterally eyestalk-ablated female shrimps were selected to reflect actual breeding practices. They were randomly assigned to five groups, with females and males reared separately. The groups were fed with different levels of ARA (0.03%, 2.70%, 4.99%, 10.63%) in pelleted feed (designated as Z1-Z4) and a control group with natural feed (clam worms) (designated as Z5). Findings indicate that the weight gain rate (WG) of female shrimps on the pelleted feed was significantly superior to the control. The hepatopancreatic index (HSI) of the broodstock showed an initial increase followed by a decrease with escalating ARA concentrations. At an ARA concentration 4.99%, optimal hepatopancreatic development, peak hatching rate, and superior larval yield and quality were observed, along with heightened expression of genes pivotal to ovarian development (*Vtg*, *VtgR*, *VASA*, and *FAMeT2*). This ARA level also modulated lipid metabolism in the female hepatopancreas, enhancing the expression of genes associated with lipid processing and transport (*PL*, *SREBP* and *FATB*), thereby influencing the fatty acid profile of fertilized eggs. Notably, it elevated the functional fatty acid DHA content and adjusted the ratios of $\sum n-3$ and $\sum n-6$ polyunsaturated fatty acids (PUFA). Due to the antagonistic relationship between reproduction and immunity, this ARA concentration led to a reduction in oxidant stress and non-specific immune responses. In conclusion, different ARA levels in feed significantly influence the growth, reproductive success, immune function, and lipid metabolism of the Pacific white shrimp's broodstock. To prioritize reproductive performance, an ARA content of 4.99% in the broodstock feed is recommended for its positive effects on ovary development and larval production, offering valuable guidance for the ARA application during the breeding phase of the Pacific white shrimp.

Key words: *Penaeus vannamei*; arachidonic acid; reproduction; immunity; lipid metabolism

Corresponding author: WANG Yilei. E-mail: ylwang@jmu.edu.cn

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (41676161); the Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China to Guide the Development of Science and Technology in Fujian Province (2020L3011)