

文章编号: 1000-0615(2018)05-0754-12

DOI: 10.11964/jfc.20170110698

## 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

谭青<sup>1,2</sup>, 王际英<sup>2</sup>, 李宝山<sup>2</sup>, 李学丽<sup>1,2</sup>,  
郝甜甜<sup>2</sup>, 张利民<sup>2\*</sup>

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 山东省海洋资源与环境研究院, 山东省海洋生态修复重点实验室, 山东烟台 264006)

**摘要:** 为探讨饲料中不同n-3/n-6高不饱和脂肪酸(HUFA)对大菱鲆幼鱼生长性能、全鱼脂肪酸组成和血液生化指标的影响, 配制了6种不同n-3/n-6 HUFA(D1: 29.54, D2: 23.04, D3: 18.97, D4: 9.06, D5: 6.86, D6: 3.87)的实验饲料。以大菱鲆幼鱼(12.18±0.01)g为研究对象, 在循环水养殖系统中开展了为期8周的养殖实验。实验共分6组, 每组3个重复, 每个重复35尾鱼。结果显示: 饲料中n-3/n-6 HUFA对大菱鲆幼鱼的成活率(SR)无显著影响; 增重率(WGR)、特定生长率(SGR)和蛋白质效率(PER)呈先上升后下降趋势且D6组的显著低于其他各组, D2组蛋白质效率显著高于其他各组。全鱼粗蛋白和灰分均呈先上升后下降趋势; D6组肌肉粗蛋白和灰分显著低于其他各组。全鱼ARA含量随着n-3/n-6 HUFA的下降呈上升趋势; 全鱼中EPA、DHA、n-3/n-6多不饱和脂肪酸(PUFA)和n-3/n-6 HUFA均随着饲料中n-3/n-6 HUFA的下降呈下降趋势。血清中酸性磷酸酶(ACP)和超氧化物歧化酶(SOD)随着n-3/n-6 HUFA的变化呈上升趋势; 溶菌酶(LZM)和总抗氧化能力(T-AOC)呈先上升后下降的趋势, 溶菌酶在D2组达到最大值, 总抗氧化能力在D3组达到最大值。综上所述, 饲料中n-3/n-6 HUFA在适宜范围(18.97~23.04)显著提高了实验鱼的生长性能和非特异性免疫力, 改变了鱼体组织的常规成分和脂肪酸组成。

**关键词:** 大菱鲆; n-3/n-6 HUFA; 生长; 脂肪酸; 血清生化指标

中图分类号: S 963.73

文献标志码: A

饲料脂肪不仅是养殖动物重要的能量来源, 还能为机体提供必需脂肪酸(essential fatty acid, EFA)、磷脂、固醇类和脂溶性维生素用以维持生物膜结构和生理功能<sup>[1-2]</sup>。EFA是指鱼类存活生长所必需, 其本身不能合成或者合成量不能满足其生长需要, 必须由饲料直接提供的脂肪酸。鱼类可合成n-7和n-9系列不饱和脂肪酸, 对n-3和n-6系列不饱和脂肪酸的合成能力有限, 因此, n-3和n-6不饱和脂肪酸为鱼体的必需脂肪酸。n-3/n-6不饱和脂肪酸配比及其代谢产物的相

对平衡, 是维持机体健康的根本因素。但n-3和n-6不饱和脂肪酸存在代谢竞争, 尤其是EPA与ARA均是合成二十碳脂肪酸衍生物的前体, 且均为环氧化酶和脂氧合酶的底物<sup>[3]</sup>。

在鱼类的实际营养需求中, 不仅要确定DHA、EPA和ARA的绝对含量, 其相对比例对于鱼类免疫调节也具有重要意义。海水鱼配合饲料中, EPA与DHA含量较丰富, 但ARA含量较少, 饲料中缺乏ARA会降低仔稚鱼的抗应激能力, 从而抑制免疫系统发育<sup>[4]</sup>。因此, 在富含EPA和DHA

收稿日期: 2017-01-22 修回日期: 2017-03-31

资助项目: 国家海洋生物产业-水生动物营养与饲料研发创新示范平台(201701002); 山东省重点研发计划(2016GSF115005); 山东省自然科学基金(ZR2015CQ023)

通信作者: 张利民, E-mail: zhanglimin@126.com

的饲料中, 适量添加ARA会提高鱼的健康状况<sup>[5]</sup>。此外, 有研究报道, 饲料中高浓度的ARA会对免疫产生抑制作用<sup>[6]</sup>。类似的结果在花鲈(*Lateolabrax japonicus*)<sup>[5]</sup>、金头鲷(*Sparus aurata*)<sup>[7]</sup>和中华绒蟹(*Eriocheir sinensis*)<sup>[8]</sup>均有发现。

大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)为我国北方重要的养殖鱼类, 目前尚无n-3/n-6高不饱和脂肪酸(HUFA)对其生长及生理生化的影响。刘兴旺<sup>[9]</sup>研究发现, 饲料蛋脂比为(50%/12%)即满足大菱鲂生长需要。因此, 本研究在此基础上添加花生四烯酸油脂, 配成n-3/n-6 HUFA为29.54、23.04、18.97、9.06、6.86、3.87的饲料, 探究其对大菱鲂幼鱼摄食、生长、脂肪酸组成和血液生化指标的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验设计与饲料制作

以鱼粉、大豆浓缩蛋白为主要蛋白源, 鱼油为主要脂肪源配制基础饲料, 在基础饲料中分别添加质量分数为0、0.5、1.5、4.5、6.5、12.5 g/kg的花生四烯酸油脂, 配成n-3/n-6 HUFA为29.54(D1)、23.04(D2)、18.97(D3)、9.06(D4)、6.86(D5)、3.87(D6)6种等氮等能实验饲料。饲料配方、营养组成及脂肪酸组成分别见表1和表2。

鱼粉等饲料原料粉碎过80目筛, 按配方从小到大逐级定量均匀混合, 将鱼油和花生四烯酸油脂用超声波震荡仪充分混匀后加入提前混匀的粉料, 然后再加适量水混匀。经螺旋挤压机加工成直径为3 mm左右的饲料颗粒, 60 °C烘干后放置-20 °C冰箱保存备用。

### 1.2 饲养管理及样品采集

养殖实验在山东省海洋资源与环境研究院循环水养殖实验室进行, 为期8周。实验所用大菱鲂幼鱼购自蓬莱市宗哲养殖有限公司。实验鱼放养于养殖系统中驯养2周, 驯养期间投喂基础饲料。正式实验开始之前, 控食24 h, 挑选体质健壮、规格相同、初始体质量为(12.18±0.01)g的630尾大菱鲂幼鱼随机分到18个圆柱塑料养殖桶(高80 cm、直径70 cm、水深50 cm)中, 每桶35尾。每种饲料随机投喂3个桶。每天定时饱食投喂2次(8:30, 16:30), 投喂结束30 min后排残饵并记录残饵量。实验期间, 控制水中溶氧>5 mg/L, 水温在(17±1) °C, 盐度28~32, pH 7.6~8.2, 氨氮

和亚硝酸≤0.1 mg/L。

养殖实验结束后, 控食24 h。记录每桶鱼的数量并称量, 计算存活率和增重率, 每桶随机取15尾实验鱼, 测量体质量、体长, 计算肥满度。随机选取5尾实验鱼用于全鱼体组成常规分析及脂肪酸分析。剩下10尾经MS-222(120 mg/kg)麻醉后进行尾静脉取血, 血样在4 °C冰箱静置6 h, 离心分离(4 000 r/m, 10 min), 取上清液存于-80 °C冰箱中, 用于测定血清生理生化指标; 取血后的实验鱼脊柱处死之后分离其内脏、肝脏和背肌, 并分别称重, 计算脏体比、肝体比, 背肌-20 °C保存, 用于常规分析。

### 1.3 样品分析

实验饲料及其他组织样品常规成分分析均参照AOAC<sup>[10]</sup>方法进行。

脂肪酸分析中油脂提取参照Folch等<sup>[11]</sup>的方法。脂肪酸测定参照Metcalf等<sup>[12]</sup>的方法并略作改进: 称取100 mg左右的样品于50 mL消化管中, 加入正己烷2 mL, 甲酰氯3 mL, 密封后轻微振荡, 80 °C金属浴甲酯化2 h后冷却至室温, 再加入5 mL 6% K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 2 mL正己烷, 充分振荡, 取上液即为甲酯化的脂肪酸, 脂肪酸组成分析使用岛津GC-2010高效气象色谱分析仪, 采用氢火焰检测器(FID)。色谱柱为SP-2560气相色谱柱(100 mm×0.25 mm×0.2 mm)。柱温在140 °C维持5 min后, 以4 °C/min速度升温, 升至240 °C稳定30 min左右; 分析时每次进样量为1 μL。

血清中溶菌酶(lysozyme, LZM)、酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)、总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的测定均采用南京建成生物工程研究所试剂盒进行测定。

### 1.4 测定指标

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

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

摄食率(daily feed intake, DFI,%)= $F / [(W_t + W_0) / 2 \times d] \times 100$

特定生长率(specific growth rate, SGR,%/d)= $(\ln W_t - \ln W_0) / d \times 100$

饲料系数(feed conversion ratio, FCR)= $F / (W_t - W_0)$

蛋白质效率(protein efficiency ratio, PER)=( $W_t - W_0$ )/( $F \times P$ )

肥满度(condition factor, CF,  $\text{g}/\text{cm}^3$ )= $W_t/L^3 \times 100$

肝体比(hepatosomatic index, HSI,%)= $M_l/W_t \times 100$

脏体比(viscerosomatic index, VSI,%)= $M_v/W_t \times 100$

式中,  $N_0$ 为养殖实验开始前实验鱼数量,  $N_t$ 为养殖实验结束后实验鱼数量,  $W_0$ 为实验鱼初始体质量(g),  $W_t$ 为实验结束时鱼体质量(g),  $F$ 为摄食

干饲料质量(g),  $d$ 为养殖天数,  $P$ 为饲料粗蛋白含量(%),  $L$ 为实验结束时鱼体长(cm),  $M_l$ 为实验结束时实验鱼肝脏质量(g),  $M_v$ 为实验结束时实验鱼内脏团质量(g)。

### 1.5 数据统计分析

采用SPSS17.0软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA), 差异显著时( $P < 0.05$ )采用Duncan氏检验进行多重比较分析<sup>[8]</sup>。统计结果以平均值±标准差(mean±SD)的形式表示。

表 1 饲料配方及营养组成(干物质基础)

Tab. 1 Composition and nutrient levels of the experimental diets (dry matter basis)

项目 items	组别 diets					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
<b>原料/(g/kg diets) ingredients</b>						
白鱼粉 white fish meal	450.00	450.00	450.00	450.00	450.00	450.00
大豆浓缩蛋白 soy protein concentrate	250.00	250.00	250.00	250.00	250.00	250.00
$\alpha$ -淀粉 $\alpha$ -starch	120.00	120.00	120.00	120.00	120.00	120.00
鱼油 fish oil	100.00	99.50	98.50	95.50	93.50	87.50
花生四烯酸油脂 arachidonic acid oil <sup>a</sup>	0.00	0.50	1.50	4.50	6.50	12.50
维生素预混料 vitamins premix <sup>b</sup>	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
矿物质预混料 minerals premix <sup>c</sup>	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
磷酸二氢钙 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
抗氧化剂 antioxidant	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
氯化胆碱 choline chloride	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
羧甲基纤维素钠 CMC	49.50	49.50	49.50	49.50	49.50	49.50
合计 total	1 000.00	1 000.00	1 000.00	1 000.00	1 000.00	1 000.00
<b>营养组成(干物质)% nutrient composition (dry matter)</b>						
粗蛋白 crude protein	48.35	48.49	48.16	47.97	47.89	48.00
粗脂肪 crude lipid	12.57	12.86	13.18	13.35	12.80	13.04
灰分 ash	16.11	15.45	15.32	15.30	15.00	15.11
总能(kJ/g) gross energy	19.59	19.86	20.10	20.12	19.96	20.03

注: a. 花生四烯酸油脂购自嘉必优生物工程(武汉)有限公司, 成分为ARA 51.69%, C16:0 6.56%, C18:0 5.59%, C18:1n-9 5.62%, C18:2n-6 9.50%, C24:0 8.02%; b. 维生素预混料(mg/kg饲料): 维生素A 38.0 mg, 维生素D<sub>3</sub> 13.2 mg, 维生素K<sub>3</sub> 10.0 mg, 硫胺素 115.0 mg, 核黄素 380.0 mg, 盐酸吡哆醇 88.0 mg, 泛酸 368.0 mg, 烟酸 1 030.0 mg, 生物素 10.0 mg, 叶酸 20.0 mg, 维生素B<sub>12</sub> 1.3 mg, 肌醇 4 000.0 mg, 抗坏血酸 500.0 mg; c. 矿物质预混料(mg/kg饲料): NaCl 100.0 mg, KCl 3 020.5 mg, KAl(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 11.3 mg, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 363.0 mg, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 8.0 mg, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 3 568.0 mg, MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O 65.1 mg, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 2.3 mg, CoCl<sub>2</sub> 28.0 mg, KI 7.5 mg, NaF 4.0 mg, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 25 558.0 mg, Ca-lactate 15 978.0 mg, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>Fe·5H<sub>2</sub>O 1 523.0 mg

Notes: a. arachidonic acid oil were purchased from CABIO Bioengineering (Wuhan) Co., Ltd, the concentration of ARA 51.69%, C16:0 6.56%, C18:0 5.59%, C18:1n-9 5.62%, C18:2n-6 9.50%, C24:0 8.02%; b. vitamin mixture (mg/kg diet): retinol acetate 38.0 mg, cholecalciferol 13.2 mg, vitamin K<sub>3</sub> 10.0 mg, thiamin 115.0 mg, riboflavin 380.0 mg, pyridoxine HCl 88.0 mg, pantothenic acid 368.0 mg, niacin acid 1 030.0 mg, biotin 10.0 mg, folic acid 20.0 mg, vitamin B<sub>12</sub> 1.3 mg, inositol 4 000.0 mg, ascorbic acid 500.0 mg; c. mineral mixture (mg/kg diet): NaCl 100.0 mg, KCl 3 020.5 mg, KAl(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 11.3 mg, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 363.0 mg, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 8.0 mg, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 3 568.0 mg, MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O 65.1 mg, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 2.3 mg, CoCl<sub>2</sub> 28.0 mg, KI 7.5 mg, NaF 4.0 mg, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 25 558.0 mg, Ca-lactate 15 978.0 mg, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>Fe·5H<sub>2</sub>O 1 523.0 mg

表2 实验饲料脂肪酸组成(总脂肪酸)  
Tab. 2 Fatty acid composition of experimental diets (total fatty acid) %

脂肪酸 fatty acid	组别 diets					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
C14:0	6.01	5.98	5.99	5.74	5.78	5.30
C16:0	19.57	19.73	19.67	19.49	19.46	18.09
C18:0	3.73	3.83	3.88	4.08	4.06	4.08
ΣSFA	30.23	30.37	30.39	30.32	30.44	28.68
C16:1n-7	6.21	6.27	6.28	6.23	6.24	6.16
C18:1n-9	10.57	10.52	10.50	10.42	10.43	10.42
C18:1n-7	3.34	3.28	3.34	3.20	3.49	3.20
C22:1n-9	5.42	5.35	5.30	5.27	5.20	5.09
ΣMUFA	30.50	30.24	30.05	29.67	32.00	29.02
C18:2n-6	2.72	2.72	2.79	2.93	3.32	3.45
C18:3n-3	1.47	1.44	1.41	1.41	1.40	1.30
C20:2n-6	2.47	2.42	2.44	2.36	2.30	2.25
ARA	0.78	1.00	1.21	2.40	3.04	5.37
EPA	9.08	9.28	9.13	8.60	8.29	8.22
DHA	12.99	12.86	12.82	12.29	11.82	11.79
ΣPUFA	30.35	30.62	30.74	30.90	30.94	33.19
n-3/n-6 PUFA	4.09	3.98	3.78	3.02	2.57	2.00
EPA/DHA	0.70	0.72	0.71	0.70	0.70	0.70
n-3HUFA	22.92	23.04	22.89	21.80	20.88	20.83
n-3/n-6 HUFA	29.54	23.04	18.97	9.06	6.86	3.87

注: 含量较少的脂肪酸(如C20:0、C22:0、C24:0、C20:1n-9、C20:1n-7、C22:5n-3未列入表中); SFA. 饱和脂肪酸, MUFA. 单不饱和脂肪酸, ARA. 花生四烯酸, EPA. 二十碳五烯酸, DHA. 二十二碳六烯酸, PUFA. 多不饱和脂肪酸, HUFA. 高不饱和脂肪酸。下同

Notes: some fatty acids, of which the contents are minor, trace amount or not detected (such as C20:0, C22:0, C24:0, C20:1n-9, C20:1n-7, C22:5n-3 were not listed in the table); SFA. saturated fatty acid, MUFA. monounsaturated fatty acid, ARA. arachidonic acid, EPA. eicosapentaenoic acid, DHA. docosahexaenoic acid, PUFA. polyunsaturated fatty acids, HUFA. highly unsaturated fatty acid. the same below

## 2 结果

### 2.1 n-3/n-6 HUFA对大菱鲂幼鱼生长性能及饲料利用的影响

n-3/n-6 HUFA对大菱鲂幼鱼的成活率(SR)无显著影响( $P>0.05$ )(表3); 增重率(WGR)、特定生长率(SGR)和蛋白质效率(PER)随着n-3/n-6 HUFA的降低呈先上升后下降趋势, D6组显著低于其他各组( $P<0.05$ ), D2组蛋白质效率显著高于其他各组( $P<0.05$ ); 摄食率(DFI)和饲料系数(FCR)随着n-3/n-6 HUFA的变化呈先下降后上升趋势, D2组显著低于其他各组, D6组显著高于其他各

组( $P<0.05$ ); D5和D6组的肥满度(CF)显著高于D4组( $P<0.05$ ); 各组间脏体比(VSI)和肝体比(HSI)均无显著性差异( $P>0.05$ )。

n-3/n-6 HUFA对大菱鲂幼鱼体成分的影响见表4。全鱼体组成中, 水分含量在77.98%~78.67%, 且各组无显著性差异( $P>0.05$ ); 粗蛋白呈先上升后下降趋势且在D2组达到最大值( $P<0.05$ ); 随着n-3/n-6 HUFA逐步降低, 粗脂肪呈显著下降趋势( $P<0.05$ ); 灰分随着n-3/n-6 HUFA的下降呈逐渐增高的趋势, D5和D6组显著高于其他各组( $P<0.05$ ), 分别为3.93%和3.96%。肌肉组织中, 水分含量为79.04%~80.01%, D6组的水分含量是80.01%且显

著高于D1和D2组( $P<0.05$ );粗蛋白呈先平行后下降的趋势, D6组为17.52, 显著低于其他各组( $P<0.05$ ), 其他各组无显著差异( $P>0.05$ );粗脂肪随着饲料的变化呈先上升后下降的趋势, D2组粗脂肪为2.07, 显著高于其他各组, D6组为1.36, 显著低于其他各组( $P<0.05$ );肌肉中的灰分无显著差异( $P>0.05$ )。

## 2.2 n-3/n-6 HUFA对大菱鲂幼鱼全鱼脂肪酸的影响

随着ARA添加量的变化, C16:0、C18:0、C16:1n-7、C18:1n-9、C18:1n-7、 $\Sigma$ SFA和 $\Sigma$ PUFA均无显著差异( $P>0.05$ )(表5);ARA随着n-3/n-6 HUFA的下降呈上升趋势, 在D6组达到最大并且显著大于其他各组( $P<0.05$ );EPA、DHA、

表3 n-3/n-6 HUFA对大菱鲂幼鱼生长性能、饲料利用及形体指标的影响

Tab. 3 Effects of dietary n-3/n-6 HUFA ratios on growth performance, feed utilization and morphometric index of juvenile turbot (*S.maximus*)

项目 items	组别 diets					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
初始体重/g IBM	12.23±0.10	12.19±0.10	12.14±0.07	12.18±0.06	12.18±0.06	12.21±0.05
终末体重/g FBW	29.85±0.22 <sup>c</sup>	30.00±0.40 <sup>c</sup>	29.60±0.28 <sup>c</sup>	29.57±0.25 <sup>c</sup>	28.83±0.21 <sup>b</sup>	27.65±0.21 <sup>a</sup>
增重率/% WGR	144.17±1.83 <sup>c</sup>	146.16±3.43 <sup>c</sup>	143.85±0.91 <sup>c</sup>	142.77±3.05 <sup>c</sup>	136.66±1.21 <sup>b</sup>	126.40±0.78 <sup>a</sup>
摄食率/(%/d) DFI	1.33±0.00 <sup>b</sup>	1.29±0.00 <sup>a</sup>	1.34±0.01 <sup>b</sup>	1.5±0.01 <sup>c</sup>	1.52±0.00 <sup>d</sup>	1.58±0.01 <sup>c</sup>
特定增长率/(%/d) SGR	1.59±0.01 <sup>c</sup>	1.61±0.02 <sup>c</sup>	1.59±0.01 <sup>c</sup>	1.58±0.02 <sup>c</sup>	1.54±0.01 <sup>b</sup>	1.46±0.01 <sup>a</sup>
饲料系数 FCR	0.89±0.01 <sup>b</sup>	0.86±0.01 <sup>a</sup>	0.9±0.01 <sup>b</sup>	1.01±0.01 <sup>c</sup>	1.05±0.01 <sup>d</sup>	1.14±0.00 <sup>c</sup>
蛋白质效率 PER	2.33±0.02 <sup>d</sup>	2.41±0.04 <sup>c</sup>	2.32±0.03 <sup>d</sup>	2.07±0.02 <sup>c</sup>	1.99±0.02 <sup>b</sup>	1.83±0.01 <sup>a</sup>
肥满度/(g/cm <sup>3</sup> ) CF	3.94±0.10 <sup>ab</sup>	3.86±0.18 <sup>ab</sup>	3.94±0.07 <sup>ab</sup>	3.72±0.14 <sup>a</sup>	4.06±0.05 <sup>b</sup>	4.11±0.24 <sup>b</sup>
脏体比/% VSI	5.99±0.34	6.22±0.59	6.53±0.05	6.21±0.54	6.08±0.17	5.90±0.11
肝体比/% HSI	1.08±0.11	1.15±0.14	1.24±0.04	1.17±0.16	1.22±0.02	1.15±0.10
成活率/% SR	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	99.05±1.65	100.00±0.00	100.00±0.00

注: 同行数值不同上标字母表示差异显著( $P<0.05$ ), 下同

Notes: values in the same row with different superscripts show significant difference ( $P<0.05$ ), the same below

表4 n-3/n-6 HUFA对大菱鲂幼鱼体成分的影响

Tab. 4 Effects of dietary n-3/n-6 HUFA ratios on tissue proximate composition of juvenile turbot (*S. maximus*) %

	组别 diets					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
<b>全鱼 whole body</b>						
水分 moisture	78.13±0.37	78.02±0.18	78.66±0.94	77.98±0.47	78.21±0.60	78.67±0.32
粗蛋白 crude protein	14.74±0.18 <sup>ab</sup>	15.55±0.07 <sup>c</sup>	15.05±0.35 <sup>bc</sup>	14.59±0.02 <sup>ab</sup>	14.7±0.25 <sup>ab</sup>	14.45±0.23 <sup>a</sup>
粗脂肪 crude lipid	3.11±0.10 <sup>c</sup>	3.07±0.26 <sup>c</sup>	2.82±0.11 <sup>bc</sup>	2.74±0.12 <sup>ab</sup>	2.74±0.20 <sup>ab</sup>	2.46±0.18 <sup>a</sup>
灰分 ash	3.79±0.03 <sup>ab</sup>	3.77±0.01 <sup>a</sup>	3.84±0.04 <sup>b</sup>	3.84±0.01 <sup>b</sup>	3.93±0.05 <sup>c</sup>	3.96±0.03 <sup>c</sup>
<b>肌肉 muscle</b>						
水分 moisture	79.12±0.39 <sup>ab</sup>	79.04±0.42 <sup>a</sup>	79.41±0.41 <sup>abc</sup>	79.79±0.39 <sup>bc</sup>	79.58±0.45 <sup>abc</sup>	80.01±0.12 <sup>c</sup>
粗蛋白 crude protein	18.27±0.04 <sup>b</sup>	18.32±0.06 <sup>b</sup>	18.21±0.00 <sup>b</sup>	18.14±0.55 <sup>ab</sup>	18.11±0.09 <sup>ab</sup>	17.52±0.32 <sup>a</sup>
粗脂肪 crude lipid	1.71±0.04 <sup>b</sup>	2.07±0.07 <sup>d</sup>	1.92±0.09 <sup>c</sup>	1.69±0.04 <sup>b</sup>	1.63±0.03 <sup>b</sup>	1.36±0.11 <sup>a</sup>
灰分 ash	1.40±0.04	1.53±0.02	1.34±0.03	1.35±0.02	1.47±0.12	1.37±0.01

n-3/n-6 PUFA和n-3/n-6 HUFA均随着n-3/n-6 HUFA的下降呈下降趋势且在D6组达到最小; D3组EPA/DHA为0.47, 显著低于D1、D2、D4、D5组( $P<0.05$ ), 但与D6组差异不显著( $P>0.05$ )。

### 2.3 n-3/n-6 HUFA对大菱鲂幼鱼血清生化指标的影响

溶菌酶随着n-3/n-6 HUFA的下降呈先上升后下降的趋势, D2组达到最高水平(1 750.58 U/mL), D6组显著低于其他各组( $P<0.05$ )(表6); 酸性磷酸酶呈上升趋势且在D6组达到最大值(2.55 U/mL) ( $P<0.05$ ); 总抗氧化能力呈先上升后下降的趋势且在D3组达到最大值(21.71 U/mL) ( $P<0.05$ ); SOD随着n-3/n-6 HUFA的降低呈上升趋势, 在D6组达到最大值(134.57 U/mg) ( $P<0.05$ )。

## 3 讨论

### 3.1 n-3/n-6 HUFA对大菱鲂幼鱼生长性能及饲料利用的影响

本实验中, 大菱鲂幼鱼成活率(SR)不受n-3/n-6 HUFA的影响, 与李思萌等<sup>[13]</sup>研究结果一致, 但与金头鲷<sup>[14]</sup>幼鱼上的研究结果不一致, 造成如此差异的原因可能是本实验鱼相对较大, 同时也可能与鱼的品种及研究方法差异有关。本研究发现饲料中n-3/n-6 HUFA变化对大菱鲂幼鱼生长的影响呈剂量效应反应, 类似的结果在花鲈<sup>[15]</sup>的研究中发现过, 表明饲料中n-3/n-6 HUFA过低会对大菱鲂幼鱼生长有抑制作用。产生这种生长抑制有以下原因: 一是饲料中ARA

表5 n-3/n-6 HUFA对大菱鲂幼鱼全鱼脂肪酸组成的影响(总脂肪酸)

Tab. 5 Effects of dietary n-3/n-6 HUFA ratios on fatty acid composition of whole fish in juvenile turbot (*S. maximus*)(total fatty acid)

脂肪酸 fatty acid	组别 diets						%
	D1	D2	D3	D4	D5	D6	
C14:0	5.06±0.02 <sup>ab</sup>	4.87±0.12 <sup>a</sup>	5.03±0.02 <sup>ab</sup>	5.13±0.11 <sup>b</sup>	5.06±0.20 <sup>ab</sup>	4.85±0.16 <sup>a</sup>	
C16:0	16.61±0.96	15.78±0.22	15.83±0.80	15.41±0.39	15.68±0.85	15.51±0.55	
C18:0	3.64±0.48	3.35±0.14	3.58±0.39	3.24±0.12	3.46±0.18	3.6±0.22	
ΣSFA	25.74±1.46	24.41±0.24	24.93±1.26	24.39±0.64	24.82±1.25	24.72±0.96	
C16:1n-7	6.37±0.09	6.17±0.18	6.32±0.09	6.44±0.11	6.80±0.74	6.23±0.42	
C18:1n-9	13.1±0.26	13.05±0.10	12.94±0.13	13.22±0.32	13.32±0.53	13.45±0.33	
C18:1n-7	3.95±0.27	3.60±0.02	3.77±0.19	3.73±0.12	3.73±0.21	3.63±0.13	
C22:1n-9	2.5±0.07 <sup>a</sup>	2.44±0.05 <sup>a</sup>	2.49±0.07 <sup>a</sup>	2.87±0.08 <sup>c</sup>	2.86±0.04 <sup>c</sup>	2.70±0.13 <sup>b</sup>	
ΣMUFA	29.37±0.09 <sup>ab</sup>	28.62±0.28 <sup>a</sup>	29.02±0.43 <sup>ab</sup>	29.95±0.68 <sup>ab</sup>	30.38±1.58 <sup>b</sup>	29.49±1.13 <sup>ab</sup>	
C18:2n-6	5.55±0.23 <sup>a</sup>	6.32±0.30 <sup>b</sup>	6.25±0.25 <sup>b</sup>	6.62±0.11 <sup>b</sup>	6.46±0.19 <sup>b</sup>	7.55±0.12 <sup>c</sup>	
C18:3n-3	1.34±0.12 <sup>a</sup>	1.40±0.00 <sup>ab</sup>	1.35±0.12 <sup>a</sup>	1.51±0.01 <sup>b</sup>	1.43±0.07 <sup>ab</sup>	1.34±0.05 <sup>a</sup>	
C20:2n-6	2.43±0.12 <sup>ab</sup>	2.51±0.08 <sup>b</sup>	2.49±0.19 <sup>b</sup>	2.47±0.07 <sup>b</sup>	2.41±0.13 <sup>ab</sup>	2.22±0.07 <sup>a</sup>	
ARA	1.50±0.05 <sup>a</sup>	1.57±0.06 <sup>ab</sup>	1.80±0.08 <sup>b</sup>	2.48±0.06 <sup>c</sup>	3.07±0.26 <sup>d</sup>	4.44±0.17 <sup>e</sup>	
EPA	7.85±0.39 <sup>cd</sup>	8.22±0.24 <sup>d</sup>	7.35±0.75 <sup>bcd</sup>	7.06±0.25 <sup>bc</sup>	6.82±0.56 <sup>ab</sup>	6.05±0.55 <sup>a</sup>	
DHA	14.82±0.45 <sup>bcd</sup>	15.86±0.31 <sup>d</sup>	15.46±0.68 <sup>cd</sup>	13.61±0.93 <sup>abc</sup>	12.9±1.81 <sup>ab</sup>	12.31±1.26 <sup>a</sup>	
ΣPUFA	35.91±1.26	38.32±0.20	37.27±1.94	35.03±2.32	34.55±3.34	35.75±1.64	
n-3/n-6 PUFA	2.79±0.00 <sup>d</sup>	2.69±0.08 <sup>c</sup>	2.53±0.06 <sup>c</sup>	2.02±0.14 <sup>b</sup>	1.89±0.23 <sup>b</sup>	1.51±0.09 <sup>a</sup>	
EPA/DHA	0.53±0.01 <sup>b</sup>	0.52±0.03 <sup>b</sup>	0.47±0.03 <sup>a</sup>	0.52±0.02 <sup>b</sup>	0.53±0.03 <sup>b</sup>	0.49±0.01 <sup>ab</sup>	
n-3 HUFA	25.1±0.81 <sup>bc</sup>	26.52±0.10 <sup>c</sup>	25.37±1.45 <sup>c</sup>	21.95±2.08 <sup>ab</sup>	21.18±3.21 <sup>a</sup>	20.19±1.47 <sup>a</sup>	
n-3/n-6 HUFA	16.77±0.84 <sup>c</sup>	16.87±0.70 <sup>c</sup>	14.12±1.36 <sup>d</sup>	8.85±0.63 <sup>c</sup>	6.88±0.44 <sup>b</sup>	4.55±0.16 <sup>a</sup>	

表6 n-3/n-6 HUFA对大菱鲆幼鱼血清生化指标的影响

Tab. 6 Effects of dietary n-3/n-6 HUFA ratios on serum biochemical indices of juvenile turbot (*S. maximus*)

		组别 diets					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6
溶菌酶/(U/mL)	LZM	1 578.7±81.67 <sup>b</sup>	1 750.58±37.35 <sup>c</sup>	1 650.24±92.73 <sup>bc</sup>	1 679.63±56.03 <sup>bc</sup>	1 671.77±45.7 <sup>bc</sup>	1 133.12±29.44 <sup>a</sup>
酸性磷酸酶/(U/mL)	ACP	1.66±0.07 <sup>a</sup>	1.92±0.18 <sup>b</sup>	2.12±0.07 <sup>bc</sup>	2.29±0.03 <sup>c</sup>	2.57±0.17 <sup>d</sup>	2.55±0.14 <sup>d</sup>
总抗氧化能力/(U/mL)	T-AOC	11.10±0.99 <sup>a</sup>	14.02±2.96 <sup>ab</sup>	21.71±2.35 <sup>c</sup>	16.44±1.64 <sup>b</sup>	10.87±0.75 <sup>a</sup>	11.18±0.51 <sup>a</sup>
超氧化物歧化酶/(U/mg)	SOD	116.01±1.83 <sup>a</sup>	119.48±7.73 <sup>a</sup>	123.70±4.64 <sup>ab</sup>	121.59±4.64 <sup>ab</sup>	131.25±5.43 <sup>bc</sup>	134.57±5.53 <sup>c</sup>

含量过多, ARA和EPA的代谢产物有竞争作用进而抑制了体内EPA的生物转化<sup>[16]</sup>; 二是过量的ARA会对鱼体产生一定的炎症反应<sup>[17]</sup>, 鱼体长期处于免疫应激状态, 对鱼体生长产生抑制作用, 在金头鲷的研究中表明, 改变体内类花生四烯酸的生成能够增加炎症相关基因的表达<sup>[18]</sup>。摄食率(DFI)和饲料系数(FCR)随着n-3/n-6 HUFA的下降呈上升趋势且D2组显著低于其他各组, D6组显著高于其他各组, 表明适量添加ARA调节n-3/n-6 HUFA的比值, 有利于实验鱼的生长和饲料的利用, 这与徐后国<sup>[15]</sup>的研究结果一致。然而, 饲料中添加过多的ARA, 可能会造成饲料中有机酸含量过高导致pH降低, 而影响鱼的摄食。本实验中, D2组蛋白质效率最高, 证明适量添加ARA会提高饲料蛋白质的利用率。本实验中, 随着n-3/n-6 HUFA的变化, 鱼体肝体比(HSI)和脏体比(VSI)无显著变化, 这一实验结果与王成强等<sup>[19]</sup>在花鲈上的研究结果相似, 表明n-3/n-6 HUFA的变化没有影响到大菱鲆幼鱼的内脏发育, 但徐后国<sup>[15]</sup>的实验研究表明, ARA缺乏组的肝体比显著高于ARA添加组, 与本实验结果不一致, 这可能与基础饲料中ARA的含量有关。

本实验结果显示, n-3/n-6 HUFA对大菱鲆幼鱼全鱼水分无显著影响, 这与李思萌<sup>[13]</sup>、王成强等<sup>[19]</sup>、马晶晶等<sup>[20]</sup>研究结果相似, 说明不同的脂肪源对全鱼水分无显著影响。粗蛋白呈先上升后下降趋势且在D2组达到最大值, 说明在饲料中适量添加ARA有利于蛋白质的储存, 这与王成强等<sup>[19]</sup>的研究结果一致。随着n-3/n-6 HUFA的下降, 全鱼粗脂肪呈下降趋势而灰分呈上升趋势, 导致这一结果的原因是ARA添加量过高时, 造成饲料脂肪酸不平衡, 导致饲料脂肪利用效率降低。当ARA含量过多时, 外源饲料营养无法完全满足其需要时, 只有通过动用自身

的蛋白质、脂肪等储能物质以维持正常的生长需要, 因此引起了大菱鲆幼鱼全鱼粗脂肪含量不同程度下降, 同时灰分含量增加。肌肉的组成中也有类似的现象。D6组中肌肉水分增加, 鱼体通过增加水分含量的策略以弥补肌肉的粗蛋白、粗脂肪含量的降低, 这与刘亮<sup>[21]</sup>的研究结果一致。本实验结果表明, 适量添加ARA会增加肌肉中粗脂肪的含量, 过量添加则会导致肌肉中粗脂肪的含量显著降低, ARA通过抑制apoB100分子分泌从而抑制VLDL的组装来调控肝脏脂肪转运, 进而影响脂肪在肌肉中的有效沉积<sup>[22]</sup>。在n-3/n-6 HUFA为23.04时, 肌肉中粗脂肪含量最大, 证明饲料中添加适量的ARA, 可以促进肌肉中粗脂肪的有效沉积。

### 3.2 n-3/n-6 HUFA对大菱鲆幼鱼体组织脂肪酸的影响

鱼体脂肪酸组成和饲料中脂肪酸的组成有一定关系, 但是特殊的脂肪酸会被优先利用或保留<sup>[23]</sup>。以往研究表明, 鱼体可优先消化吸收SFA和MUFA, 而PUFA倾向于富集在体内<sup>[24]</sup>。Karalazos等<sup>[25]</sup>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。本实验中, 鱼体SFA、EPA的含量要小于饲料中的含量, 而ARA、DHA、PUFA、n-6 PUFA与之相反, 但是MUFA基本持平。这说明饲料中SFA、EPA可能已经满足了大菱鲆幼鱼的生长需要, 但是也可能是因为EPA与ARA的竞争关系, 没能得到更好的利用; 鱼体中DHA、PUFA及n-6 PUFA的含量高于饲料, 说明机体中优先富集这些脂肪酸, 这与袁禹惠<sup>[26]</sup>关于半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)稚鱼研究相似; MUFA在饲料中的含量基本与大菱鲆幼鱼需求量相持平。同时也观察到鱼体n-3/n-6 HUFA及DHA/EPA的比值要高于饲料

中含量,反映出n-3 HUFA优先n-6 HUFA保存在鱼体内,而n-3 HUFA中,DHA优先EPA保存,与袁禹惠<sup>[26]</sup>研究结果相似。随着饲喂n-3/n-6 HUFA水平的降低,大菱鲂幼鱼鱼体ARA含量也表现出相应的增加,这与半滑舌鳎<sup>[26]</sup>、条纹婢鲷(*Latris lineata*)<sup>[27]</sup>和塞内加尔鲷(*Solea senegalensis*)<sup>[28]</sup>的研究结果类似,同时全鱼中的ARA大于饲料中含量,说明ARA产生类花生四烯酸的同时还有大量蓄积在体内。

全鱼脂肪酸中,C16:0、C18:0、C16:1n-7、C18:1n-9、C18:1n-7、SFA和PUFA均无显著差异,说明n-3/n-6 HUFA的变化基本对鱼体饱和脂肪酸以及不饱和脂肪酸的总量没有影响。随着饲料中n-3 HUFA含量的升高,金头鲷<sup>[29]</sup>肝脏中C18:1n-9/n-3 HUFA比例降低,当含量完全满足时,组织中C18:1n-9/n-3 HUFA比例小于1,因此C18:1n-9曾被建议作为EFA缺乏的指示物<sup>[30]</sup>。在本实验中C18:1n-9/n-3 HUFA比例小于1,并且C18:1n-9含量无显著差异,所以C18:1n-9不能作为大菱鲂EFA缺乏的指示物。实验鱼及饲料脂肪酸组成的差异都可能对实验结果造成不同的影响,相关问题有待进一步研究。鱼体内EPA和ARA的含量存在负相关关系,EPA与ARA均产生二十碳衍生物,同时代谢途径又相同,所产生的衍生物互为代谢酶的竞争性抑制底物<sup>[31]</sup>,EPA和ARA在吸收和代谢过程中的竞争导致鱼体内ARA含量增加、EPA含量减少,与袁禹惠<sup>[26]</sup>的研究结果相同,因此饲料中ARA比EPA更能富集在鱼体中。

鱼体内脂肪酸的代谢竞争主要发生在n-3和n-6系列不饱和脂肪酸之间,海水鱼脂肪酸代谢竞争主要发生在ARA和EPA之间。目前认为,类二十烷酸是应激反应的产物,具有多种生理功能。由ARA产生的类二十烷酸的生理活性较强,而由EPA生成的类二十烷酸的活性较弱,相互产生竞争性抑制。ARA/EPA比例高,可增加类二十烷酸的活性,加强炎症反应;反之,则会抑制类二十烷酸的作用,减弱炎症反应<sup>[31]</sup>。因此,机体内类花生四烯酸的活动由ARA/EPA的比例决定。当组织中ARA/EPA比值高时,类花生四烯酸在凝血等心血管功能和炎症反应等方面的活动增强;而当组织中的ARA/EPA比值低时,就会抑制类花生四烯酸的活动<sup>[32]</sup>。因此,海水鱼饲料中ARA的添加量需适量,过量添加

ARA会对鱼体本身造成免疫应激。

### 3.3 n-3/n-6 HUFA对大菱鲂幼鱼血清免疫的影响

鱼类的免疫过程中,非特异性免疫起着重要的作用,因为特异性免疫需要时间产生抗体和细胞激活<sup>[33]</sup>且特异性免疫系统不完善。溶菌酶(LZM)作为鱼类非特异性免疫系统的重要组成部分具有不可替代的作用,通过溶解细胞壁吞噬细菌来完成自身的免疫反应<sup>[20]</sup>。不同鱼类的各种器官组织中溶菌酶含量不同,溶菌酶随着血液在鱼体内的循环流动作用,使那些自身不能产生免疫细胞的组织同样含有溶菌酶<sup>[34]</sup>。本实验中溶菌酶呈先上升后下降的趋势,在D2组达到最大值,D6组达到最小值,这表明饲料中ARA的含量过高会对鱼类溶菌酶的免疫功能产生抑制作用。

当异物被吞入细胞后,首先与溶酶体融合,然后被水解酶消化分解,酸性磷酸酶(ACP)是其中比较重要的水解酶。ACP作为巨噬细胞溶酶体的标志酶,对机体代谢起着十分重要的作用。它能通过催化水解磷蛋白中的磷酸键,直接参与磷酸基团的转移和代谢<sup>[35-36]</sup>,这说明巨噬细胞的细胞膜至关重要。在大西洋鲑(*Salmo salar*)饲料中添加适量的ARA对于机体细胞膜的流动性及抗渗透压都有益<sup>[37]</sup>,同时会增加细胞膜的流动性及抗渗透压,ARA还可以作为第二信使刺激巨噬细胞进行呼吸爆发<sup>[17]</sup>。这也是酸性磷酸酶随着n-3/n-6 HUFA的下降而上升的原因。

机体的抗氧化能力是水生动物健康状况评价的一个重要指标<sup>[38]</sup>,而抗氧化酶如总抗氧化能力(T-AOC)、超氧化物歧化酶(SOD)等活性在一定程度上能够反映机体抵抗氧化应激的能力,从而可以间接反映鱼体免疫力的好坏<sup>[39]</sup>。SOD酶可以防止体内多余的自由基对生物有机体的损伤。近年来的研究表明,SOD酶活性与生物的免疫水平也密切相关,其活性变化可作为机体非特异性免疫指标<sup>[8]</sup>。其活力的变化反映了机体抵制自由基损伤的能力。本实验结果表明,SOD呈上升趋势,过量的ARA在体内的代谢产物产生了多余的自由基同时造成了SOD的上升。总抗氧化能力作为机体抗氧化总体能力的体现<sup>[40]</sup>,呈先上升后下降的趋势,这说明过量的ARA对机体免疫有负作用,同时验证了ARA对免疫的影响也遵循剂量效应规律。脂肪含量过高或饲料脂



肪酸组成不平衡通常会引引起机体细胞过氧化物酶体脂肪氧化相关基因表达量升高, 细胞内脂肪过氧化而导致氧化应激, 通常会伴随炎症水平的升高, 而炎症水平过高会严重危害鱼体正常免疫性能的发挥<sup>[41]</sup>。

#### 4 结论

综上所述, 本研究结果证实了饲料中n-3/n-6 HUFA在适宜范围(18.97~23.04)显著提高了实验鱼的生长性能和免疫性能, 改变了鱼体组织的常规成分和脂肪酸组成。而且ARA的作用遵循剂量效应原则, 所以, 饲料中ARA的添加及n-3/n-6 HUFA需要小心调控。

#### 参考文献:

- [1] Watanabe Y G. An organ culture study on the site of determination of ACTH and LH cells in the rat adenohypophysis[J]. Cell and Tissue Research, 1982, 227(2): 267-275.
- [2] 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).
- [3] 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.
- [4] Harel M, Gavasso S, Leshin J, et al. The effect of tissue docosahexaenoic and arachidonic acids levels on hypersaline tolerance and leucocyte composition in striped bass (*Morone saxatilis*) larvae[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2001, 24(2): 113-123.
- [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] Koven W, van Anholt R, Lutzky S, et al. The effect of dietary arachidonic acid on growth, survival, and cortisol levels in different-age gilthead seabream larvae (*Sparus auratus*) exposed to handling or daily salinity change[J]. Aquaculture, 2003, 228(1-4): 307-320.
- [7] Van Anholt R D, Spanings F A T, Koven W M, et al. Arachidonic acid reduces the stress response of gilthead seabream *Sparus aurata* L.[J]. The Journal of Experimental Biology, 2004, 207(19): 3419-3430.
- [8] 邱仁杰. 脂肪酸营养对中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)免疫及耐低氧能力的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2011.  
Qiu R J. Effect of dietary fatty acid nutrition on the immunological ability and resistance to hypoxia in Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2011 (in Chinese).
- [9] 刘兴旺. 大菱鲆及半滑舌鳎蛋白质营养生理研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.  
Liu X W. The study on protein nutrition physiology of Turbot *Scophthalmus maximus* Linnaeus and Half-Smooth Tongue-Sole, *Cynoglossus semilaevis* Gunther[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010 (in Chinese).
- [10] AOAC. International Official Methods of Analysis of AOAC International[M]. 17th ed. Gaithersburg, MD, USA: Association of Analytical Communities, 2002.
- [11] Folch J, Lees M, Stanley G H S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues[J]. Journal of Biological Chemistry, 1957, 226(1): 497-509.
- [12] Metcalfe L D, Schmitz A A, Pelka J R. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis[J]. Analytical Chemistry, 1966, 38(3): 514-515.
- [13] 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).
- [14] Bessonart M, Izquierdo M S, Salhi M, et al. Effect of dietary arachidonic acid levels on growth and survival of gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) larvae[J]. Aquaculture, 1999, 179(1-4): 265-275.
- [15] 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).
- [16] 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.
- [17] 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).
- [18] Montero D, Mathlouthi F, Tort L, *et al.* Replacement of dietary fish oil by vegetable oils affects humoral immunity and expression of pro-inflammatory cytokines genes in gilthead sea bream *Sparus aurata*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 29(6): 1073-1081.
- [19] 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).
- [20] 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).
- [21] 刘亮. 军曹鱼幼鱼对花生四烯酸的需求与调控[D]. 汕头: 汕头大学, 2008.
- Liu L. Requirement and regulation of arachidonic acid in young cobia (*Rachycentron canadum*)[D]. Shantou: Shantou University, 2008 (in Chinese).
- [22] 艾庆辉, 严晶, 麦康森. 鱼类脂肪与脂肪酸的转运及调控研究进展[J]. *水生生物学报*, 2016, 40(4): 859-868.
- Ai Q H, Yan J, Mai K S. Research progresses of lipids and fatty acids transport in fish[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2016, 40(4): 859-868(in Chinese).
- [23] 王骥腾, 韩涛, 田丽霞, 等. 3种植物油源对军曹鱼生长、体组成和脂肪酸组成的影响[J]. *浙江海洋学院学报(自然科学版)*, 2007, 26(3): 237-245.
- Wang J T, Han T, Tian L X, *et al.* Impact of three vegetable oil sources on growth, body composition and tissue fatty acid composition of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*)[J]. *Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science)*, 2007, 26(3): 237-245(in Chinese).
- [24] Rainuzzo J R, Reitan K I, Jørgensen L, *et al.* Lipid composition in turbot larvae fed live feed cultured by emulsions of different lipid classes[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Physiology*, 1994, 107(4): 699-710.
- [25] 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.
- [26] 袁禹惠. 饲料中脂肪及花生四烯酸水平对半滑舌鲷(*Cynoglossus semilaevis*)稚鱼生长、脂肪酸组成及代谢相关基因表达的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
- Yuan Y X. Effects of dietary lipid and arachidonic level on growth performance, fatty acid composition and genes expression of metabolism related enzymes of larval half-smooth tongue sole, *Cynoglossus semilaevis*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015 (in Chinese).
- [27] Bransden M P, Cobcroft J M, Battaglene S C, *et al.* Dietary arachidonic acid alters tissue fatty acid profile, whole body eicosanoid production and resistance to hyper-saline challenge in larvae of the temperate marine fish, striped trumpeter (*Latris lineata*)[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2004, 30(3-4): 241-256.
- [28] Villalta M, Estévez A, Bransden M P. Arachidonic acid enriched live prey induces albinism in Senegal sole (*Solea senegalensis*) larvae[J]. *Aquaculture*, 2005, 245(1-4): 193-209.
- [29] Kalogeropoulos N, Alexis M N, Henderson R J. Effects of dietary soybean and cod-liver oil levels on growth and body composition of gilthead bream (*Sparus aurata*)[J].

- Aquaculture, 1992, 104(3-4): 293-308.
- [30] Rodriguez C, Perez J A, Izquierdo M S, *et al.* Essential fatty acid requirements of larval gilthead sea bream, *Sparus aurata* (L.)[J]. Aquaculture Research, 1994, 25(3): 295-304.
- [31] 张海柱. 不同比例的DHA/EPA对军曹鱼稚鱼的生长和脂肪酸影响[D]. 汕头: 汕头大学, 2007.  
Zhang H Z. Effects of different ratios of DHA/EPA on the growth and fatty acids of cobia (*Rachycentron canadum*) juvenile[D]. Shantou: Shantou University, 2007 (in Chinese).
- [32] Sargent J R, Bell J G, Bell M V, *et al.* Requirement criteria for essential fatty acids[J]. Journal of Applied Ichthyology, 1995, 11(3-4): 183-198.
- [33] Anderson D P. Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture[J]. Annual Review of Fish Diseases, 1992, 2: 281-307.
- [34] 龙华. 水生动物10种非特异性免疫分子的研究进展[J]. 长江大学学报(自科版), 2005, 2(11): 67-72.  
Long H. Research advances on 10 nonspecific immune molecules of aquatic animals[J]. Journal of Yangtze University (Natural Science Edition), 2005, 2(11): 67-72(in Chinese).
- [35] 刘树青, 江晓路, 牟海津, 等. 免疫多糖对中国对虾血清溶菌酶、磷酸酶和过氧化物酶的作用[J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(3): 278-283.  
Liu S Q, Jiang X L, Mou H J, *et al.* Effects of immunopoiysaccharide on LSZ, ALP, ACP and POD activities of *Penaeus chinensis* serum[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1999, 30(3): 278-283(in Chinese).
- [36] 牟海津, 江晓路, 刘树青, 等. 免疫多糖对栉孔扇贝酸性磷酸酶、碱性磷酸酶和超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 青岛海洋大学学报, 1999, 29(3): 463-468.  
Mu H J, Jiang X L, Liu S Q, *et al.* Effects of immuno-
- polysaccharide on the activities of acid phosphatase, alkaline phosphatase and superoxide dismutase in *Chlamys farreri*[J]. Journal of Ocean University of Qingdao, 1999, 29(3): 463-468(in Chinese).
- [37] Bell J G, Tocher D R, Farnedale B M, *et al.* The effect of dietary lipid on polyunsaturated fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*) undergoing parr-smolt transformation[J]. Lipids, 1997, 32(5): 515-525.
- [38] 刘晓华, 曹俊明, 吴建开, 等. 饲料中添加谷胱甘肽对凡纳滨对虾肝胰腺抗氧化指标和脂质过氧化物含量的影响[J]. 水产学报, 2007, 31(2): 235-240.  
Liu X H, Cao J M, Wu J K, *et al.* Effects of dietary glutathione level on growth performance, antioxidant indexes and lipid peroxide content of hepatopancreas in *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Fisheries of China, 2007, 31(2): 235-240(in Chinese).
- [39] 左然涛. 饲料脂肪酸调控大黄鱼免疫力和脂肪酸代谢的初步研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.  
Zuo R T. Preliminary study about regulation of dietary fatty acid on immunity and fatty acid metabolism in large yellow croaker (*Larmichthys crocea*)[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013 (in Chinese).
- [40] 冯广朋, 庄平, 章龙珍, 等. 温度对中华鲟幼鱼代谢酶和抗氧化酶活性的影响[J]. 水生生物学报, 2012, 36(1): 137-142.  
Feng G P, Zhuang P, Zhang L Z, *et al.* Effects of water temperature on metabolic enzyme and antioxidase activities in Juvenile Chinese Sturgeon (*Acipenser sinensis*)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2012, 36(1): 137-142(in Chinese).
- [41] 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.

## 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*)

TAN Qing<sup>1,2</sup>, WANG Jiying<sup>2</sup>, LI Baoshan<sup>2</sup>, LI Xueli<sup>1,2</sup>, HAO Tiantian<sup>2</sup>, ZHANG Limin<sup>2\*</sup>

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Shandong Key Laboratory of Marine Ecological Restoration, Shandong Marine Resource and Environment Research Institute, Yantai 264006, China)

**Abstract:** An 8-week feeding trial was conducted in a recirculated system to study the effect of dietary n-3/n-6 HUFA (D1: 29.54, D2: 23.04, D3: 18.97, D4: 9.06, D5: 6.86, D6: 3.87) on growth performance, the fatty acid composition of whole body and serum biochemical indices in turbot (*Scophthalmus maximus*). Six diets were formulated to feed six groups of juvenile turbot [mean initial weight (12.18±0.01) g], respectively. Each diet was randomly fed to triplicate groups of 35 fish per tank. Results showed that dietary n-3/n-6 HUFA had no significant effect on the survival rate (SR) of turbot. With the decreasing of the dietary n-3/n-6 fatty acid ratios, the weight gain rate (WGR), protein efficiency ratio (PER) and specific growth rate (SGR) increased first, then decreased. And WGR, PER and SGR of D6 group was significantly lower than other groups. PER of D2 group was significantly higher than other groups. Crude protein and ash of whole body increased at the beginning and then decreased. Crude protein and ash of muscle of D6 group was remarkably lower than the others. The fatty acid composition analysis showed that the concentration of ARA increased with decreasing of dietary n-3/n-6 HUFA, while EPA, DHA, n-3/n-6 PUFA and n-3/n-6 HUFA content followed the opposite pattern. Acid phosphatase (ACP) and superoxide dismutase (SOD) were increased among dietary treatments. Serum lysozyme (LZM) activity increased with reducing dietary n-3/n-6 HUFA from 29.54 to 23.04, and decreased with further decrease of n-3/n-6 HUFA from 23.04 to 3.87. Total antioxidant capacity (T-AOC) showed a similar trend with serum lysozyme activity with the highest value in the ratio of 18.97, significantly higher than that in the control and ratio of 3.87 groups. These results suggested that dietary n-3/n-6 HUFA, especially moderate n-3/n-6 HUFA (18.97~23.04), enhanced growth and immune response and modified the chemical composition of whole body and muscle of juvenile turbot.

**Key words:** *Scophthalmus maximus*; n-3/n-6 HUFA; growth; fatty acid; serum biochemical indices

**Corresponding author:** ZHANG Limin. E-mail: zhanglimin@126.com

**Funding projects:** Marine Bio-industry Innovation and Development Regional Demonstration Service Platform (201701002), Shandong Province Key Research and Development Program, China (2016GSF115005), Shandong Provincial Natural Science Foundation, China (ZR2015CQ023)