

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2018.17344

饲料中花生四烯酸含量对刺参生长性能、抗氧化能力及脂肪酸代谢的影响

王成强¹, 王际英¹, 李宝山¹, 孙永智¹, 宋志东¹, 王晓艳¹, 韩秀杰², 王丽丽²

1. 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;

2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306

摘要: 为探究饲料中添加花生四烯酸(arachidonic acid, ARA)对刺参(*Apostichopus japonicus*)生长性能、抗氧化能力及脂肪酸代谢的影响, 选用初始体重为(10.78±0.06) g 的刺参为研究对象, 以鱼粉和发酵豆粕为主要蛋白质源, 小麦粉为主要糖源制作基础饲料, 通过在基础饲料中添加不同比例的 ARA-纯化油, 制成 ARA 含量分别为 0.02% (对照组)、0.17%、0.36%、0.51%、0.59%和 0.98% (占饲料干重)的 6 组等氮等脂的实验饲料, 在室内循环水养殖系统进行为期 56 d 的养殖实验。结果表明, 随着饲料中 ARA 含量的升高, 刺参增重率(weight gain rate, WGR)呈先上升后降低的趋势, 0.36%和 0.51% ARA 饲料组刺参 WGR 显著高于其他处理组($P<0.05$), 刺参的特定生长率(specific growth rate, SGR)和饲料效率(feed efficiency, FE)与 WGR 具有相同的变化趋势; 刺参体壁粗脂肪含量随饲料 ARA 含量升高呈先降低后升高的趋势, 在 0.51% ARA 饲料组含量最低, 且显著低于对照组与 0.98% ARA 饲料组($P<0.05$); 同时, 随饲料中 ARA 含量的提高, 刺参体壁中 ARA 和 n-6 多不饱和脂肪酸(n-6 polyunsaturated fatty acids, n-6 PUFA)含量呈显著上升趋势, 而二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)、二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)和 n-3 多不饱和脂肪酸(n-3 polyunsaturated fatty acids, n-3 PUFA)含量显著降低($P<0.05$); 抗氧化能力方面, 0.36%和 0.51%ARA 饲料组刺参肠道中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和总抗氧化能力酶(total antioxidant capacity enzyme, T-AOC)活性均显著高于对照组与 0.98% ARA 饲料组($P<0.05$), 而肠道丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量呈相反的变化趋势($P<0.05$); 刺参肠道中脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)和乙酰辅酶 A 羧化酶(acetyl-CoA carboxylase, ACC)活性随饲料 ARA 含量的升高呈显著降低趋势($P<0.05$); 刺参肠道中肉毒碱棕榈酰转移酶-1(carnitine palmitoyltransferase-1, CPT-1)活性随饲料 ARA 含量升高呈先升高后降低的趋势($P>0.05$)。研究表明, 在本实验条件下, 饲料中添加适量 ARA (0.36%~0.51%)能够对刺参生长、抗氧化能力起到一定的促进作用, 同时结果显示, 饲料 ARA 含量会对刺参肠道内脂肪酸代谢产生一定的影响。

关键词: 刺参; 花生四烯酸; 生长; 抗氧化能力; 脂肪酸代谢

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2018)03-0555-12

近几年来, n-6 高不饱和脂肪酸(n-6 highly unsaturated fatty acid, n-6 HUFA), 尤其是花生四烯酸(20: 4n-6, arachidonic acid, ARA)在海洋动物中的作用得到了越来越多的关注。已经证实 ARA 是多种生物活性化合物的前体, 统称为类二十烷酸, 主要包括前列腺素(prostaglandins, PGs)、血栓

素(thromboxane, TX)和白三烯(leukotrienes, LTs)^[1]。这些生物活性物质在动物体内具有重要的作用, 能够调节一系列重要的生理代谢。同时, ARA 不仅对海洋动物的生长、存活、抗应激及免疫能力等起到重要的调节功能^[2-4], 对脂质代谢及性类固醇合成也具有一定的调控作用^[5-6]。

收稿日期: 2017-09-21; 修订日期: 2017-11-27.

基金项目: 山东省科技发展计划项目(2016GSF115005); 山东省现代农业产业技术体系项目(SDAIT-22-06).

作者简介: 王成强(1988-), 男, 研究实习员, 主要从事水产动物营养与饲料研究. E-mail: chengqiangwang@126.com

通信作者: 王际英(1965-), 研究员. E-mail: ytwjy@126.com

刺参(*Apostichopus japonicus*)属于典型的温带物种,是我国重要的海水养殖经济品种。当前,对刺参饲料脂类营养的研究尚处于起步阶段,关于脂肪酸营养的研究报道更少见,而相关报道也主要集中于对 n-3 高不饱和脂肪酸(n-3 highly unsaturated fatty acid, HUFA)的研究。朱伟等^[7]研究表明,刺参稚参饲料中粗脂肪的适宜添加量为 3%~5%;廖明玲^[8]通过养殖实验确定,饲喂 n-3 HUFA 水平为 0.22%~0.38%的饲料能够使刺参具有最佳的生长性能和更高的营养价值;同时,左然涛等^[9]研究报道,饲料中添加 0.60%的 DHA 时,刺参成参的生长速率最快。而 ARA 作为一种海水鱼类的必需脂肪酸,也已被证实对其他海水动物生长有一定影响,但在海参中尚未见相关报道。因此,本实验通过研究饲料 ARA 含量对刺参生长、抗氧化及脂肪酸代谢的影响,旨在探究 ARA

在刺参饲料中的适宜添加水平,初步阐述 ARA 对刺参脂肪酸代谢的影响,不仅可以更好地完善刺参营养学参数数据库,同时也为研究刺参脂肪酸代谢提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

基础饲料以鱼粉和发酵豆粕为主要蛋白质源,小麦粉为主要糖源。通过在基础饲料中分别添加 0、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%和 2.5%的 ARA-纯化油(ARA 含量约占总脂肪酸的 48.70%),用硬脂酸甘油三酯进行调平,制成 6 组等氮等脂的饲料(表 1)。经过气相色谱分析,各饲料中 ARA 的含量分别为:0.02%(对照组)、0.17%、0.36%、0.51%、0.59%和 0.98% (饲料干重),饲料脂肪酸组成见表 2。

表 1 实验饲料的配方和营养组成
Tab. 1 Formulation and nutrient compositions of the experimental diets

原料 ingredient	饲料花生四烯酸含量/% dietary arachidonic acid level					
	0.02	0.17	0.36	0.51	0.59	0.98
鱼粉 fish meal	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
发酵豆粕 fermented soybean meal	17.00	17.00	17.00	17.00	17.00	17.00
小麦粉 wheat meal	14.00	14.00	14.00	14.00	14.00	14.00
藻粉 algae powder	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
海泥 sea mud	35.50	35.50	35.50	35.50	35.50	35.50
预混料 premix ^a	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
大豆卵磷脂 soy lecithin	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
ARA 纯化油 ^b ARA-enrich oil	0	0.50	1.00	1.50	2.00	2.50
硬脂酸甘油三酯 tristearin	2.50	2.00	1.50	1.00	0.50	0
合计 total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
成分分析 proximate analysis						
粗蛋白/% crude protein	19.90	20.18	19.70	19.94	19.87	19.69
粗脂肪/% ether extract	4.93	4.95	4.97	4.98	5.01	5.02
灰分/% ash	45.92	45.90	45.71	45.60	45.63	45.38
花生四烯酸/% ARA	0.02	0.17	0.36	0.51	0.59	0.98

注: ^a 预混料包括 1% 矿物质预混料和 1% 维生素预混料,均购自山东升索渔用饲料研究中心。矿物质预混料(mg/kg 饲料): 锌 35.00 mg; 锰 21.00 mg; 铜 8.30 mg; 铁 23.00 mg; 钴 1.20 mg; 碘 1.00 mg; 硒 0.30 mg。维生素预混料(mg/kg or IU/kg 饲料): 维生素 A 7500.00 IU; 维生素 D 1500.00 IU; 维生素 E 60.00 mg; 维生素 K₃ 18.00 mg; 维生素 B₁ 12.00 mg; 维生素 B₂ 12.00 mg; 维生素 B₁₂ 0.10 mg; 泛酸 48.00 mg; 烟酰胺 90.00 mg; 叶酸 3.70 mg; D-生物素 0.20 mg; 吡哆醇 60.00 mg; 维生素 C 310.00 mg。 ^b ARA 纯化油: ARA 占总脂肪酸的比例为 48.70%, 嘉必优生物技术(武汉)股份有限公司。

Note: ^a Premix includes 1% mineral premix and 1% vitamin premix which are purchased from Shandong Fishery Feed Research Center. Mineral premix (mg/kg diet): Zn 35.00 mg, Mn 21.00 mg, Cu 8.30 mg, Fe 23.00 mg, Co 1.20 mg, I 1.00 mg, Se 0.30 mg. Vitamin premix (mg/kg or IU/kg diet): Vitamin A 7500.00 IU, vitamin D 1500.00 IU, vitamin E 60.00 mg, vitamin K₃ 18.00 mg, vitamin B₁ 12.00 mg; vitamin B₂ 12.00 mg, vitamin B₁₂ 0.10 mg, pantothenate acid 48.00 mg, niacin 90.00 mg, folic acid 3.70 mg, D-biotin 0.20 mg, pyridoxine 60.00 mg, vitamin C 310.00 mg. ^b ARA-enriched oil: ARA content, 48%; Cabio Biotech (Wuhan) Co. Ltd.

表 2 实验饲料主要脂肪酸组成
Tab. 2 The key fatty acid compositions of the experimental diets

%

脂肪酸 fatty acid	ARA 纯化油 ARA-enriched oil	饲料花生四烯酸含量/% dietary arachidonic acid level					
		0.02	0.17	0.36	0.51	0.59	0.98
C _{18:2n-6}	6.80	12.69	14.18	15.98	17.27	16.28	20.17
C _{20:4n-6}	48.70	0.36	4.07	8.69	12.98	17.12	24.33
C _{18:3n-3}	—	1.35	1.37	1.52	1.51	1.39	1.68
C _{20:5n-3}	—	0.99	1.01	1.04	1.11	1.01	1.20
C _{22:5n-3}	—	0.26	0.28	0.32	0.42	0.34	0.50
C _{22:6n-3}	—	0.97	1.01	1.03	1.03	0.95	1.12

首先将所有原料粉碎过筛, 之后将各种原料均匀混合, 再将 ARA-纯化油与混合好的原料充分混匀, 然后加入适量的水制成面团, 再用自动制粒机进行制粒, 制好的饲料放置于 45℃ 左右的烘箱中烘干, 之后保存于阴凉干燥处, 备用。

1.2 养殖管理

实验地点是山东省海洋资源与环境研究院东营实验基地, 养殖周期为 56 d, 养殖方式为循环水养殖, 实验刺参为该基地当年繁育的同一批参苗。首先将所有实验用参放置于养殖桶中, 用基础饲料暂养 15 d, 使其适应实验饲料与养殖条件。暂养结束后, 挑选体色健康、大小均一的刺参[初始重为(10.78±0.06) g]随机分到 18 个养殖桶(直径 75 cm, 深度 80 cm)中, 每个养殖桶放置 40 头刺参, 每个实验组 3 个重复, 每个桶内放置 2 个布满波纹板的海参专用筐, 控制水深为 50 cm。实验每天在规定时间内(07:00)投喂, 投喂量为刺参体重的 2%, 具体投喂量要根据刺参的摄食情况进行调整。实验期间, 水温控制在 17~19℃, 盐度为 24~26, 溶解氧>7 mg/L, 氨氮和亚硝酸氮均<0.05 mg/L, 每 2 天换水 1 次, 同时进行吸污。

1.3 样品采集与分析

56 d 的养殖实验结束时, 将实验刺参禁食 48 h, 然后对每个养殖桶内的刺参进行计数和称重。之后, 从每个养殖桶中随机取出 10 头刺参, 置于冰盘上进行解剖取样, 分别取体腔液、肠道及体壁, 将肠道和体壁样品及时保存于-80℃超低温冰箱中, 同时对体腔液进行离心(3000 r/min, 4℃, 10 min), 取上清液分装在离心管中, 之后也将其保存于-80℃超低温冰箱中。

1.4 样品常规及生化分析

实验饲料和刺参体壁的水分采用 105℃ 烘干恒重法测定(GB/T 6435-2006); 粗蛋白采用凯氏定氮法测定(GB/T 6432-2006); 饲料的粗脂肪采用超声辅助索氏抽提法测定, 组织样品的粗脂肪采用索氏抽提法测定(GB/T 6433-2006); 粗灰分采用马弗炉 550℃ 失重法测定(GB/T 6438-2007); 饲料和刺参体壁脂肪酸含量测定方法参考 Mourente 等^[10]的气相色谱法, 并稍作修改。取 100 mg 左右冷冻干燥后磨碎的样品, 置于 15 mL 的顶空进样玻璃瓶中, 加入 1N KOH-甲醇溶液 3 mL, 放在 75℃ 水浴中加热 20 min, 冷却至室温后, 加入 2N HCL-甲醇溶液 3 mL, 放在 75℃ 水浴中加热 20 min, 冷却之后加入 1.5 mL 正己烷(色谱级), 震荡萃取, 静置分层。小心吸取上层正己烷和脂肪酸甲酯的混合物, 用微量进样器吸取 1 μL 注入气象色谱仪(HP5890II, 美国)中, 采用火焰电离检测器。最后, 根据标准脂肪酸出峰时间确定样品中脂肪酸种类, 通过峰面积归一法进行测定。

肠道中总抗氧化能力酶(total antioxidant capacity enzyme, T-AOC)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量、脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)、肉毒碱棕榈酰转移酶-1(carnitine palmitoyltransferase-1, CPT-1)及乙酰辅酶 A 羧化酶(acetyl-CoA carboxylase, ACC)均利用南京建成生物工程研究所生产的相应试剂盒测得。

1.5 计算公式及统计分析

增重率(weight gain rate, WGR, %)=100×

(刺参末体重-刺参初体重)/刺参初体重
 特定生长率(specific growth rate, SGR, %/d)=100×
 $[\ln(\text{刺参末体重})-\ln(\text{刺参初体重})]/\text{实验天数}$
 存活率(survival rate, SR, %)=100×
 $\text{刺参末数量}/\text{刺参初数量}$
 饲料效率(feed efficiency, FE, %)=100×
 $(\text{刺参末体重}-\text{刺参初体重})/\text{摄食饲料干重}$
 实验数据用平均值±标准误($\bar{x} \pm \text{SE}$)来表示,
 用 SPSS19.0 分析软件进行单因素方差分析(One-
 Way ANOVA), 另外用 Tukey's 法进行多重比较,
 当 $P < 0.05$ 时表示具有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 饲料中 ARA 含量对刺参生长性能的影响

表 3 显示了饲料中 ARA 含量对刺参生长性能

的影响。实验结果表明, 刺参的存活率不同处理
 组间无显著性差异($P > 0.05$), 均在 87.50%~94.17%
 之间; 当饲料中 ARA 含量提高时, 刺参 WGR 呈
 先上升后降低的趋势, 0.36%和 0.51% ARA 饲料
 组刺参 WGR 显著高于其他各处理组($P < 0.05$), 且
 这两组间无显著性差异($P > 0.05$)。刺参的 SGR 与
 WGR 具有相同的变化趋势。当 ARA 含量从 0.02%
 增加到 0.51%时, 刺参饲料效率(FE)从 57.93%升
 高到 111.64%, 在 0.51%ARA 饲料组出现最高值,
 且显著高于其他各组($P < 0.05$), 随着 ARA 含量的
 进一步升高, FE 呈现显著下降的趋势($P < 0.05$)。通
 过对刺参的 WGR(Y)和 ARA 含量(X)进行二次回
 归分析(图 1), 得到二次曲线方程 $Y = -71.831X^2 +$
 $73.387X + 30.194$ ($R^2 = 0.6968$), 刺参 WGR 最高时
 对应的 ARA 含量为 0.51%。

表 3 饲料不同花生四烯酸含量对刺参生长性能的影响

Tab. 3 Effects of different dietary arachidonic acid levels on growth performance of *Apostichopus japonicus*

$n=3; \bar{x} \pm \text{SE}$

指标 parameter	饲料花生四烯酸含量/% dietary arachidonic acid level					
	0.02	0.17	0.36	0.51	0.59	0.98
初始体重/g initial body weigh	10.78±0.07	10.78±0.13	10.79±0.08	10.79±0.09	10.81±0.05	10.79±0.05
终末体重/g final body weigh	14.03±0.07 ^c	15.24±0.21 ^b	16.11±0.17 ^a	16.76±0.20 ^a	15.06±0.17 ^b	14.50±0.16 ^{bc}
存活率/% survival	89.17±2.20	89.17±0.83	94.17±3.63	93.33±1.67	87.50±1.44	90.83±1.44
增重率/% WGR	30.16±1.45 ^c	41.37±0.66 ^b	49.40±2.42 ^a	55.39±2.15 ^a	39.39±1.55 ^b	34.37±0.98 ^{bc}
特定生长率(/%/d) SGR	0.47±0.02 ^c	0.62±0.01 ^b	0.72±0.03 ^a	0.79±0.02 ^a	0.59±0.02 ^b	0.53±0.02 ^{bc}
饲料效率/% FE	57.93±2.56 ^d	79.58±2.42 ^c	100.48±7.03 ^b	111.64±5.67 ^a	74.42±2.08 ^c	67.39±2.33 ^d

注: 同一行数据中上标不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Note: Values with different superscripts in the same row are significantly different ($P < 0.05$).

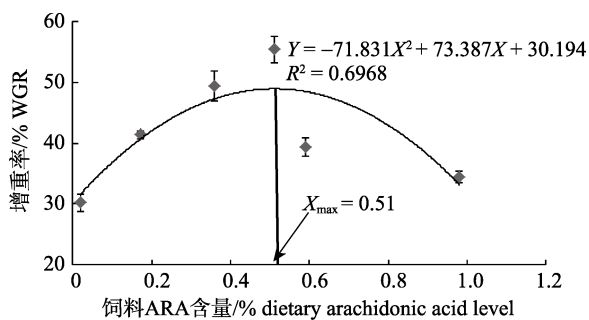


图 1 饲料中不同花生四烯酸含量与刺参增重率的回归分析

Fig. 1 Regression analysis between dietary ARA level and weight gain rate (WGR) of *Apostichopus japonicus*

2.2 饲料中 ARA 含量对刺参体壁化学组成的影响

由表 4 可见, 饲料中 ARA 含量对刺参体壁的

水分、粗蛋白质以及灰分含量均无显著性影响($P >$
 0.05), 其中刺参体壁中粗蛋白质含量为 46.15%~
 46.89%(干重), 灰分含量为 31.06%~32.46%; 随
 着饲料中 ARA 含量的升高, 刺参体壁中粗脂肪含
 量呈先降低后升高的趋势, 在 0.51%ARA 饲料组
 达到最低值(含量为 3.71%), 且显著低于对照组、
 0.17%和 0.98%ARA 饲料组($P < 0.05$), 与 0.36%和
 0.59%ARA 饲料组无显著性差异($P > 0.05$)。

2.3 饲料中 ARA 含量对刺参体壁脂肪酸组成的影响

表 5 显示了饲料中 ARA 对刺参体壁脂肪酸组
 成的影响。实验结果表明, 随着饲料中 ARA 含量

表 4 饲料不同花生四烯酸含量对刺参体壁化学组成的影响

Tab. 4 Effects of different dietary arachidonic acid levels on body wall chemical composition of *Apostichopus japonicus*n=3; $\bar{x} \pm SE$; %干重(DW)

指标 parameter	饲料花生四烯酸含量/% dietary arachidonic acid level					
	0.02	0.17	0.36	0.51	0.59	0.98
水分/% moisture	90.69±0.17	90.94±0.06	91.02±0.10	91.07±0.23	90.88±0.21	90.58±0.40
粗蛋白质/% crude protein	46.67±0.52	46.83±0.62	46.89±0.68	46.65±0.63	46.15±0.92	46.59±1.24
粗脂肪/% ether extract	4.66±0.10 ^{ab}	4.61±0.15 ^{ab}	3.99±0.15 ^{bc}	3.71±0.14 ^c	4.29±0.26 ^{abc}	4.88±0.11 ^a
灰分/% ash	31.37±0.67	31.77±0.30	32.46±0.22	32.34±0.41	32.04±0.48	31.06±0.73

注: 同一行数据中上标不同字母表示差异显著($P<0.05$)。Note: Values with different superscripts in the same row are significantly different ($P<0.05$).

表 5 饲料花生四烯酸含量对刺参体壁脂肪酸组成的影响(%总脂肪酸)

Tab.5 Effects of different dietary arachidonic acid levels on body wall fatty acid composition of

Apostichopus japonicus (% total fatty acids)n=3; $\bar{x} \pm SE$

脂肪酸组成 fatty acid composition	饲料花生四烯酸含量/% dietary arachidonic acid level					
	0.02	0.17	0.36	0.51	0.59	0.98
C _{14:0}	1.10±0.04	1.06±0.03	1.09±0.03	1.08±0.08	1.06±0.08	0.95±0.01
C _{16:0}	7.11±0.51	6.19±0.12	6.52±0.21	6.08±0.10	6.45±0.34	6.86±0.49
C _{18:0}	4.19±0.12	4.20±0.04	4.30±0.02	4.44±0.14	4.28±0.03	4.52±0.15
C _{20:0}	1.30±0.05	1.35±0.04	1.32±0.03	1.39±0.02	1.32±0.02	1.40±0.01
ΣSFA ^a	13.70±0.63	12.80±0.19	13.23±0.27	13.00±0.16	13.11±0.38	13.73±0.66
C _{16:1n-7}	3.17±0.06 ^c	3.09±0.04 ^c	3.33±0.02 ^{bc}	3.49±0.11 ^{ab}	3.31±0.02 ^{bc}	3.69±0.10 ^a
C _{18:1n-9}	6.43±0.21 ^a	5.31±0.26 ^b	5.51±0.22 ^{ab}	4.89±0.16 ^b	5.50±0.24 ^{ab}	4.98±0.12 ^b
C _{18:1n-7}	4.45±0.21 ^a	3.95±0.04 ^{ab}	3.88±0.11 ^{ab}	3.81±0.06 ^b	3.82±0.10 ^b	3.91±0.18 ^{ab}
C _{20:1n-7}	3.04±0.14 ^a	2.89±0.04 ^{ab}	2.79±0.06 ^{ab}	2.56±0.15 ^b	2.75±0.07 ^{ab}	2.68±0.08 ^{ab}
ΣMUFA ^b	17.09±0.41 ^a	15.25±0.28 ^b	15.50±0.06 ^b	14.74±0.33 ^b	15.38±0.29 ^b	15.26±0.24 ^b
C _{18:2n-6}	8.23±0.37 ^a	6.84±0.35 ^{ab}	5.73±0.26 ^{bc}	5.10±0.19 ^{cd}	5.47±0.40 ^{bcd}	4.07±0.19 ^d
C _{18:3n-6}	3.50±0.17	3.49±0.05	3.34±0.04	3.69±0.27	3.16±0.14	3.24±0.04
C _{20:4n-6}	12.00±0.26 ^c	17.60±0.15 ^d	19.51±0.31 ^c	20.05±0.45 ^{bc}	21.05±0.35 ^{ab}	21.70±0.25 ^a
Σn-6 PUFA ^c	23.73±0.22 ^b	27.92±0.29 ^a	28.58±0.55 ^a	28.84±0.38 ^a	29.68±0.55 ^a	29.01±0.46 ^a
C _{18:3n-3}	1.43±0.06 ^a	1.28±0.02 ^{ab}	1.22±0.01 ^b	1.22±0.01 ^b	1.15±0.02 ^b	1.21±0.05 ^b
C _{20:5n-3}	4.61±0.16 ^a	3.43±0.10 ^b	3.42±0.12 ^b	3.44±0.13 ^b	3.10±0.03 ^b	3.23±0.13 ^b
C _{22:5n-3}	2.31±0.11	2.43±0.02	2.32±0.04	2.40±0.06	2.15±0.06	2.18±0.09
C _{22:6n-3}	3.00±0.02 ^a	2.57±0.04 ^b	2.55±0.07 ^b	2.53±0.10 ^b	2.17±0.08 ^c	2.37±0.03 ^{bc}
Σn-3 PUFA ^d	11.35±0.20 ^a	9.72±0.18 ^b	9.51±0.19 ^b	9.59±0.20 ^b	8.57±0.17 ^c	8.99±0.12 ^{bc}
ΣPUFA	35.08±0.40 ^b	37.64±0.12 ^a	38.09±0.56 ^a	38.43±0.18 ^a	38.26±0.71 ^a	38.00±0.39 ^a
ΣSFA/ΣPUFA	0.39±0.02	0.34±0.01	0.35±0.01	0.34±0.01	0.34±0.02	0.36±0.02
Σn-3/Σn-6	0.48±0.01 ^a	0.35±0.01 ^b	0.33±0.01 ^b	0.33±0.01 ^b	0.29±0.01 ^c	0.31±0.01 ^{bc}

注: ^a 饱和脂肪酸; ^b 单不饱和脂肪酸; ^c n-6 系列多不饱和脂肪酸; ^d n-3 系列多不饱和脂肪酸。同一行数据中上标不同字母表示差异显著($P<0.05$)。Note: ^a saturated fatty acids, SFA; ^b mono-unsaturated fatty acids, MUFA; ^c n-6 poly-unsaturated fatty acids, n-6PUFA; ^d n-3 poly-unsaturated fatty acid, n-3 PUFA. Values with different superscripts in the same row are significantly different ($P<0.05$).

的升高, 刺参体壁中 ARA 和 n-6 PUFA 含量呈显著上升趋势, 而 EPA、DHA 和 n-3 PUFA 含量显著降低($P<0.05$); 同时, 当饲料 ARA 含量提高时, 刺参体壁中 PUFA 含量从 35.08%显著升高至 38.00%, 而 Σn-3/Σn-6 却从 0.48 显著降低至 0.31

($P<0.05$)。

另外, 随着 ARA 添加量的增加, 刺参体壁中 MUFA 和 C_{18:2n-6} 呈现降低趋势($P<0.05$)。当饲料中 ARA 的含量从 0.02%升至 0.98%时, 刺参体壁中 MUFA 和 C_{18:2n-6} 的含量分别从 17.09%降至

15.26%和从 8.23%降至 4.07%($P<0.05$)。而不同实验组间刺参体壁中 SFA ($C_{14:0}$ 、 $C_{16:0}$ 、 $C_{18:0}$ 和 $C_{20:0}$) 含量并无显著性差异($P>0.05$)。

2.4 饲料中 ARA 含量对刺参肠道抗氧化能力的影响

表 6 显示, 随着饲料中 ARA 含量的升高, 刺参肠道中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性呈现先升高后降低的趋势, 在 0.51% ARA 饲料组达到最大值, 且显著高于对照组、0.17%及 0.98%ARA 饲料组($P<0.05$), 同 0.36%和 0.59%ARA 饲料组无显著性差异($P>0.05$); 刺参肠道中总抗氧化能力酶(total antioxidant capacity enzyme, T-AOC)活性和过氧化氢酶(catalase, CAT)活性呈现同 SOD 相似的变化趋势; 同时, 当饲料中 ARA 含量从 0.02%提升到 0.51%时, 刺参肠道中 MDA 含量无显著性变化($P>0.05$), 而当 ARA 含量进一步升高至 0.98%时, 肠道中丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量呈显著上升趋势, 且在 0.98%ARA 饲料组达到最大值, 显著高于前 4 个

处理组(0.02%、0.17%、0.36%和 0.51%ARA 饲料组)($P<0.05$), 同 0.59%ARA 饲料组无显著性差异($P>0.05$)。

2.5 饲料中 ARA 含量对刺参肠道 FAS、ACC 和 CPT-1 活性的影响

由表 7 可见, 当饲料中 ARA 含量从 0.02%提高到 0.59%时, 刺参肠道中脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)活性在各处理组间无显著性差异($P>0.05$), 而当饲料中 ARA 含量进一步提高至 0.98%时, 肠道 FAS 活性显著下降, 显著低于其他各处理组($P<0.05$); 刺参肠道中乙酰辅酶 A 羧化酶(acetyl-CoA carboxylase, ACC)活性随 ARA 含量变化呈现同 FAS 相似的变化趋势; 另外, 刺参肠道中肉毒碱棕榈酰转移酶-1(carnitine palmitoyltransferase-1, CPT-1)活性随饲料 ARA 含量升高呈先升高后降低的趋势, 0.36%、0.51%和 0.59% ARA 饲料组 CPT-1 活性显著高于对照组、0.17%和 0.98%ARA 饲料组($P<0.05$), 且这三组间无显著性差异, 同时对照组、0.17%和 0.98% ARA 饲

表 6 饲料不同花生四烯酸含量对刺参肠道抗氧化能力的影响

Tab. 6 Effects of different dietary arachidonic acid levels on antioxidant capacity in intestinal tract of *Apostichopus japonicus* $n=3$; $\bar{x} \pm SE$

指标 parameter	饲料花生四烯酸含量/% dietary arachidonic acid level					
	0.02	0.17	0.36	0.51	0.59	0.98
超氧化物歧化酶/(U/mL) SOD	46.64±0.56 ^c	50.46±1.55 ^{bc}	55.18±0.70 ^a	55.23±1.17 ^a	51.55±0.93 ^{ab}	49.44±0.47 ^{bc}
丙二醛/[nmol/mg(prot)] MDA	3.28±0.07 ^b	3.49±0.09 ^b	3.37±0.09 ^b	3.22±0.07 ^b	5.43±0.16 ^a	5.56±0.23 ^a
总抗氧化能力酶/[U/mg(prot)] T-AOC	1.14±0.04 ^d	1.34±0.08 ^{cd}	1.77±0.04 ^{ab}	1.86±0.05 ^a	1.58±0.09 ^{abc}	1.52±0.06 ^{bc}
过氧化氢酶/[U/mg(prot)] CAT	89.34±1.91 ^{cd}	98.35±3.35 ^{bcd}	109.52±3.56 ^{ab}	115.60±4.75 ^a	103.16±3.76 ^{abc}	85.94±3.71 ^d

注: 同一行数据中上标不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: Values with different superscripts in the same row are significantly different ($P<0.05$).

表 7 饲料不同花生四烯酸含量对刺参肠道 3 种脂肪酸代谢酶活力的影响

Tab. 7 Effects of different dietary arachidonic acid levels on activities of FAS, ACC and CPT-1 in intestinal tract of *Apostichopus japonicus* $n=3$; $\bar{x} \pm SE$

指标 parameter	饲料花生四烯酸含量/% dietary arachidonic acid level					
	0.02	0.17	0.36	0.51	0.59	0.98
脂肪酸合成酶/(ng/mL) fatty acid synthase, FAS	4.32±0.05 ^a	4.38±0.05 ^a	4.64±0.11 ^a	4.31±0.09 ^a	4.53±0.08 ^a	2.94±0.07 ^b
乙酰辅酶 A 羧化酶/(ng/mL) acetyl-CoA carboxylase, ACC	25.34±0.07 ^a	24.58±0.31 ^{ab}	25.37±0.61 ^a	25.51±0.69 ^a	25.45±0.51 ^a	23.15±0.25 ^b
肉毒碱棕榈酰转移酶-1/(ng/mL) carnitine palmitoyltransferase-1, CPT-1	22.23±0.11 ^b	22.72±0.33 ^b	25.32±0.37 ^a	25.00±0.19 ^a	24.61±0.23 ^a	23.01±0.20 ^b

注: 同一行数据中上标不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: Values with different superscripts in the same row are significantly different ($P<0.05$).

料组的 CPT-1 活性也无显著性差异($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 饲料中 ARA 含量对刺参生长性能的影响

近年来随着对 ARA 研究的深入, 众多研究已表明 ARA 对海水动物的生长和存活具有重要的作用。当饲料中的 ARA 含量为 0.5%~1.0%(干物质)时, 大菱鲂(*Scophthalmus maximus* L.)幼鱼具有较好的生长效率和存活率^[11]; 在鲈(*Lateolabrax japonicus*)的研究中报道, 基于生长性能分析, 大规格鲈对 ARA 的最适需求量为 0.37%^[3]; 同样, 在牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)^[12]、大黄鱼(*Lar-michthys crocea*)^[13]等研究中均表明适量的 ARA 对其生长与存活具有一定的促进作用。同时, 也有研究报道当饲料中 ARA 含量过高时会抑制鱼类的生长。Xu 等^[14]在鲈幼鱼饲料中添加过量的 ARA (0.56%~2.12%, 干物质)时, 严重抑制其生长, 并引发相关炎症; Ishizaki 等^[15]在黄尾鱼(*Xenocypris davidi*)幼鱼的研究中表明, 当用 4%ARA 水平饲料饲喂黄尾鱼幼鱼时, 对其生长有负面影响。本研究结果显示, 刺参的增重率和饲料效率均随饲料 ARA 含量变化呈现一定的变化趋势, 以增重率为评定指标, 刺参饲料中 ARA 的最适添加量为 0.51%(饲料干物质), 这表明适量的 ARA 对刺参的生长性能具有一定的促进作用。同时研究也表明, 当饲料中 ARA 含量高于 0.51%(饲料干物质)时, 刺参的增重率与饲料效率均受到抑制, 这与在海水鱼中的研究结果一致。产生这种生长抑制的主要原因有以下两点: 一是由于 ARA 和 EPA 的代谢产物有竞争作用, 当饲料中 ARA 含量较高时, 抑制了体内 EPA 的生物转化^[16], 影响了动物体的生长; 二是较高含量的 ARA 会导致机体产生炎症反应^[17], 机体的免疫系统受到影响, 对生长产生抑制作用。另外, 也有研究证实, ARA 对部分海水动物的生长性能无显著影响^[18]。造成这种差异的原因, 可能是养殖种类、饲养环境与养殖方式不同造成的。

相关研究已经证实, ARA 是多种生物活性化合物的前体, 统称为类二十烷酸, 其响应激素刺激和炎症反应而从磷脂释放^[19]。这些生物活性物

质在动物体内具有重要的作用, 能够调节一系列重要的生理代谢, 包括脂质蛋白的代谢、心血管系统、白细胞功能、血小板激活、生殖功能和神经系统的控制等^[20-21]。这说明 ARA 之所以能够对海水动物生长和存活起到一定的调控作用, 主要是因为其衍生物的存在。同时也解释了 ARA 增强生物体抗应激能力的原因, 已有研究报道, 在饲料中添加适量 ARA 能够显著提高海水稚稚幼鱼的存活率^[13, 22]。而本研究表明, 刺参的存活率并未随 ARA 含量的变化发生变化, 均维持在 87.50%~94.17%之间, 不同处理组间无显著性差异($P>0.05$), 这与在鱼类中的研究结果类似^[3, 23]。造成这一差异的原因可能是因为幼体阶段自身免疫系统较弱, 故需要较高含量的 ARA 来增强其抗应激能力; 而当发育完成之后, 由于其自身具有较强的抗应激能力, 故 ARA 作用较小。结合本实验结果可以推测, 刺参本身可能具有一定的抗应激性能, 故不同含量的 ARA 饲料对其存活率无显著性影响, 其相关调控机理有待于深入研究。

3.2 饲料中 ARA 含量对刺参体壁生化组成及脂肪酸组成的影响

众多研究表明, 饲料中 ARA 含量会影响动物体的常规生化组成, 这可能是由于不同含量的 ARA 能够对体内相关代谢酶活性产生不同的影响。本研究结果显示, 随着饲料 ARA 含量升高, 刺参体壁粗脂肪含量呈先降低后升高的趋势, 在 0.51% ARA 饲料组中含量最低(脂肪: 8.71%干重), 而当 ARA 含量为 0.02%或 0.98%时, 其粗脂肪含量均显著高于 0.51% ARA 饲料组, 这表明适量的 ARA 可能促进刺参体内脂肪细胞的活化, 促进脂肪代谢, 进而降低刺参体壁脂肪水平。而高含量的 ARA 导致饲料中脂肪酸营养不平衡或饲料中有机酸过高, 使得机体不能很好地摄取与吸收脂肪酸, 从而在体壁中造成了沉积, 导致体壁脂肪含量较高。这同 Xu 等^[14]、王成强等^[3]的研究结果类似。而在大菱鲂幼鱼中的研究表明, 饲料中高含量的 ARA 导致鱼体和肌肉中粗脂肪的含量显著降低, 这可能是因为 ARA 通过抑制载脂蛋白 B-100 分子分泌从而抑制极低密度脂蛋白胆固醇的组装来调控肝脏脂肪转运, 同时由于高含量的 ARA 能

够抑制 *FAS* 基因表达, 进而影响脂肪在鱼体和肌肉中的沉积^[24]。导致这种差异的原因可能是因为饲料中 ARA 的实际含量存在较大差异, 以及不同实验对象对 ARA 的需求及利用能力不同造成的。

在海水鱼的研究中表明, 饲料脂肪酸组成能够显著影响鱼体和组织脂肪酸组成^[25-26]。本研究中, 随饲料中 ARA 含量的升高, 体壁中 ARA 含量也呈显著增加的趋势($P < 0.05$), 两者呈正相关关系, 另外值得注意的是, 不同处理组中刺参体壁的 ARA 含量均是该组中含量最高的脂肪酸, 这也暗示 ARA 在刺参体壁中具有极强的富集能力, 这与 Yu 等^[27]、Wen 等^[28]在刺参中的研究结果相一致。而体壁中的 EPA 含量却同饲料 ARA 含量呈负相关关系, 这可能是由于 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, 这在其他研究中也得到了相一致的结果^[16]。另外研究发现, 虽然饲料中的 $C_{16:0}$ 、 $C_{18:0}$ 和饱和脂肪酸(saturated fatty acid, SFA)含量呈现降趋势, 但是刺参体壁中三者的含量却基本保持恒定, 同时饲料中 $C_{18:2n-6}$ 含量与体壁中 ARA 含量变化趋势相一致, 这可能是因为刺参本身具有潜在的高不饱和脂肪酸生物合成通路。Yu 等^[27]在刺参中研究也表明, 随着饲料中鼠尾藻(ARA 含量 12%干物质)被玉米粉和豆粕替代比例增加, 体壁中 ARA 含量并未大幅度降低, 因此推测刺参体内可能存在合成 n-6 HUFA 的潜在通路, 其能够将 $C_{18:2n-6}$ 经过延伸和去饱和作用生成 ARA, 同时该研究组还推测刺参也可能具有 ALA 合成 EPA 的潜在能力。Hasegawa 等^[29]在研究中也得出了类似的结论。

多不饱和脂肪酸的合成过程涉及多种酶类, 其中 $\Delta 6$ 脂肪酸去饱和酶($\Delta 6$ fatty acid desaturase, $\Delta 6$ FAD)和脂肪酸延伸酶 5 (fatty acid elongase, ELOVL5)是脂肪酸合成过程中关键的两种酶。Liu 等^[30]通过同源克隆和 RACE 技术获得刺参的 $\Delta 6$ FAD 基因, 并测定了该基因在刺参不同组织中的表达, 结果显示 $\Delta 6$ FAD 在刺参的肠道、精巢、体壁、呼吸树中均有表达, 且肠道中表达量最高, 同时研究得出刺参具有将 LA 和 ALA 合成 GLA 和 STA 的能力, 但是进一步合成 EPA、ARA 和

DHA 的能力可能受到一定的限制。同时, Li 等^[31]克隆获得海参中多不饱和脂肪酸延伸酶 5 基因, 并测得其在海参的体壁、性腺、呼吸树、肠道中均有表达。同时, 经过酵母培养基的细胞实验证明, ELOVL5 具有将 $18:3n-6$ 和 $20:5n-3$ 分别延伸为 $20:3n-6$ 和 $22:5n-3$ 的延伸能力, 证明了刺参具有合成多不饱和脂肪酸的能力, 同时, 研究也表明刺参的延伸能力随着碳链的增长而减弱, 其高不饱和脂肪酸的合成能力可能受饲料中不饱和脂肪酸组成的影响, 这其中的原因有待于进一步研究^[31]。本研究中, 刺参体壁中 ALA 与 EPA、DHA 含量呈相同的变化趋势, 从而也进一步暗示刺参具有合成高不饱和脂肪酸的能力, 但是其合成能力的强弱还有待进一步论证阐述。

3.3 饲料中 ARA 含量对刺参肠道抗氧化能力的影响

机体在代谢过程中会产生大量的活性氧(active oxygen, ROS), 如超氧化物阴离子(superoxide anion, O_2^-)和过氧化氢(hydrogen peroxide, H_2O_2), ROS 会对动物机体产生一系列的负面影响, 如机体的氧化应激反应, 代谢相关酶的失活, 甚至会破坏细胞的完整性^[32]。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和总抗氧化能力酶(carnitine palmitoyltransferase-1, T-AOC)是机体内主要的抗氧化酶, 可以清除内部 ROS, 以避免脂肪酸氧化的发生, 减轻 ROS 的毒性作用, 从而能够保护生物免受氧化损伤, 在机体的抗氧化中起着关键作用^[33-34]。因此, SOD、CAT 和 T-AOC 活性可以反映机体抵抗氧化应激的能力, 并间接体现水生动物免疫力水平。在本实验中, 0.36%和 0.51%ARA 饲料组刺参肠道 SOD、T-AOC 和 CAT 活性均显著高于对照组($P < 0.05$), 当饲料 ARA 含量进一步提高到与 0.98%时, 三者的活力均呈现下降趋势, 这表明在饲料中添加适宜的 ARA 能够提高抗氧化酶的活性和提高海参的抗氧化能力。这些结果同之前的研究结果相似。Xu 等^[14]发现, 当饲料中 ARA 含量为 0.56%时, 鲈幼鱼血清中 SOD 活性显著高于对照组; 同时在大规格鲈中的研究结果也表明, 当饲料中 ARA 含量为 0.37%~0.60%时, 实验鱼的血清和肝脏中 SOD

活性得到显著提高, 鱼体具有较强的抗氧化能力^[3]; 另外, 在牡蛎(*Ostrea gigas thunberg*)^[35]、大菱鲆^[36]的相关研究中也得到了类似的结论。

丙二醛(malondialdehyde, MDA)是自由基引发脂质过氧化反应后得到的最终分解产物, 其含量可能间接反映水生动物的损伤程度和抗氧化能力, 其含量越高说明机体受到的损害越严重^[37]。同时研究指出, 脂质过氧化的发生同其不饱和脂肪水平有密切的关系。在本研究中, 饲料中ARA含量高于0.59%时, 刺参肠道MDA含量明显高于其他各处理组($P < 0.05$), 这说明当ARA含量过高时, 刺参的脂质过氧化反应较强, 机体的抗氧化能力受到损害。从而也进一步说明当饲料中HUFA含量过高时容易引起脂质过氧化反应, 从而导致机体抗氧化系统遭到破坏。这同Wen等在刺参^[28]、Zuo等在大黄鱼^[26]、Xu等在鲈^[14]中的研究结果相类似。

3.4 饲料中ARA含量对刺参肠道FAS、ACC和CPT-1活性的影响

乙酰辅酶A羧化酶(acetyl-CoA carboxylase, ACC)是脂肪酸合成起始过程中乙酰-CoA转化为丙二酰-CoA的关键酶。脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)能够催化丙二酰-CoA进行反复延伸形成16和18碳饱和脂肪酸, 继而在软脂酰-ACP硫酯酶作用下产生软脂酸。由此可知, FAS和ACC是脂肪酸合成过程中的关键酶, 其活性的大小会直接影响脂肪酸合成的进度。近年来相关研究报道, 饲料中多不饱和脂肪酸能够在一定程度上调控脂肪酸合成和氧化过程中相关酶的活性与表达。王成强^[38]发现, 随着饲料中ARA水平升高, 鲈肝脏FAS活性与表达水平呈现显著下降趋势; 左然涛^[39]研究表明, 大黄鱼肝脏、肌肉、肾脏中FAS的活性均随着亚麻酸/亚油酸(ALA/LA)比例的增加而减低; 同时, 时皎皎等^[40]研究也指出日粮中多不饱和脂肪酸较高时会抑制小鼠肝脏中FAS和ACC活性。这可能是因为多不饱和脂肪酸可以在一定水平上抑制6-磷酸脱氢酶和苹果酸酶的活性, 限制了还原型辅酶II(triphosphopyridine nucleotide, NADPH)的生成, 从而使得FAS

活性受到抑制。因此可以说明饲料中多不饱和脂肪酸能够抑制机体内脂肪酸的合成, 同时n-3 PUFA的抑制效果要高于n-6 PUFA。本实验结果显示, 刺参肠道中FAS和ACC活性均随着饲料中ARA含量的增减而显著降低, 从而进一步说明饲料中脂肪酸组成(特别是HUFA)能够对机体的脂肪酸合成代谢起到一定的调控作用, HUFA含量较高时会抑制脂肪酸合成相关酶活性。

肉碱棕榈酰转移酶I(carnitine palmitoyltransferase-1, CPT-I)是调节线粒体 β 氧化的关键点, 其活性高低可以影响脂肪酸的氧化分解速率。同时本实验结果显示, 当饲料中ARA含量提高时, 刺参肠道内CPT-1活性呈先升高后降低的趋势, 过高或过低的ARA含量均对CPT-1活性起到抑制作用。相似结果在鲈的实验中也有报道, 鲈肝脏中CPT-1基因表达随着饲料ARA含量升高也呈先升高后降低趋势, 高含量的ARA对CPT-1活性起到一定的抑制作用^[38]; 同时在大黄鱼的研究中也表明, 共轭亚油酸能够对其肝脏中CPT-1活性产生一定的影响^[39]。这可能暗示, PPAR- α 基因的激活可能脂肪酸组成和含量的不同而有差异, 过高或过低的PUFA含量都会使得激活作用较弱或起到抑制作用, 同时有研究表明饲料中不同脂肪酸组成会对过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR- α)活性产生不同影响, 而CPT-I又是PPAR- α 的一个靶基因, 故其活性会受到饲料脂肪酸组成的影响。

4 结论

综上所述, 本研究证明了饲料中适量ARA对刺参的生长具有一定的促进作用。基于生长与抗氧化能力指标分析, 当饲料中ARA含量为0.36%~0.51%时, 刺参具有较佳的生长性能和机体抗氧化能力, 对增重率和ARA含量的回归分析表明, 刺参饲料中ARA最适含量为0.51%。同时, 研究也表明, 饲料中ARA的含量也会对刺参肠道中脂肪酸组成及脂质代谢造成一定的影响, 相关代谢机制有待于进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Johnson M, Carey F, McMillan R M. Alternative pathways of arachidonate metabolism: prostaglandins, thromboxane and leukotrienes[J]. *Essays in Biochemistry*, 1983, 19: 140-141.
- [2] Atalah E, Hernández-Cruz C M, Benítez-Santana T, et al. Importance of the relative levels of dietary arachidonic acid and eicosapentaenoic acid for culture performance of gilt-head seabream (*Sparus aurata*) larvae[J]. *Aquaculture Research*, 2011, 42(9): 1279-1288.
- [3] 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. [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.]
- [4] 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.
- [5] Luo Z, Tan X Y, Li X D, et al. Effect of dietary arachidonic acid levels on growth performance, hepatic fatty acid profile, intermediary metabolism and antioxidant responses for juvenile *Synechogobius hasta*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2012, 18(3): 340-348.
- [6] 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. [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.]
- [7] Zhu W, Mai K S, Zhang B G, et al. Study on dietary protein and lipid requirement for sea cucumber, *Stichopus japonicus*[J]. *Marine Sciences*, 2005, 29(3): 54-58. [朱伟, 麦康森, 张百刚, 等. 刺参稚参对蛋白质和脂肪需求量的初步研究[J]. *海洋科学*, 2005, 29(3): 54-58.]
- [8] Liao M L. The research of requirement of dietary lipid and n-3 HUFA for sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) juveniles[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2014. [廖明玲. 刺参幼参脂肪及 n-3 系列高度不饱和脂肪酸需求的研究[D]. 大连: 大连海洋大学, 2014.]
- [9] Zuo R T, Li M, Qin Y B, et al. Effects of dietary docosahexaenoic acid (DHA) content on growth performance and nutrient composition in body wall of adult sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2017, 32(2): 172-177. [左然涛, 李敏, 秦宇博, 等. 饲料中 DHA 含量对刺参成参生长及其体壁营养成分的影响[J]. *大连海洋大学学报*, 2017, 32(2): 172-177.]
- [10] Mourente G, Tocher D R, Diaz-Salvago E, et al. Study of the n-3 highly unsaturated fatty acids requirement and antioxidant status of *Dentex dentex* larvae at the *Artemia* feeding stage[J]. *Aquaculture*, 1999, 179(1-4): 291-307.
- [11] Castell J D, Bell J G, Tocher D R, et al. Effects of purified diets containing different combinations of arachidonic and docosahexaenoic acid on survival, growth and fatty acid composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. *Aquaculture*, 1994, 128(3-4): 315-333.
- [12] Liu J K, Chen X L, Li K R, et al. Effects of different contents of arachidonic acid in experimental microdiets on growth and survival of larval Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2005, 36(5): 418-422. [刘镜恪, 陈晓琳, 李岿然, 等. 实验微粒饲料中花生四烯酸含量对牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)仔稚鱼生长、存活的影响[J]. *海洋与湖沼*, 2005, 36(5): 418-422.]
- [13] Xie F J. Studies on nutritional physiology of amino acid and fatty acid for large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) larvae abstract[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2011. [谢奉军. 大黄鱼仔稚鱼氨基酸及脂肪酸营养生理的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.]
- [14] 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.
- [15] Ishizaki Y, Takeuchi T, Watanabe T, et al. A preliminary experiment on the effect of *Artemia* enriched with arachidonic acid on survival and growth of yellowtail[J]. *Fisheries Science*, 1998, 64(2): 295-299.
- [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] 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. [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.]

- [18] Salini M J, Wade N M, Araújo B C, et al. Eicosapentaenoic acid, arachidonic acid and eicosanoid metabolism in juvenile barramundi *Lates calcarifer*[J]. *Lipids*, 2016, 51(8): 973-988.
- [19] Carrier III J K, Watanabe W O, Harel M, et al. Effects of dietary arachidonic acid on larval performance, fatty acid profiles, stress resistance, and expression of Na⁺/K⁺ ATPase mRNA in black sea bass *Centropristis striata*[J]. *Aquaculture*, 2011, 319(1-2): 111-121.
- [20] 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.
- [21] Tang D G, Chen Y Q, Honn K V. Arachidonate lipoxygenases as essential regulators of cell survival and apoptosis[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1996, 93(11): 5241-5246.
- [22] Lund I, Steenfeldt S J, Hansen B W. Effect of dietary arachidonic acid, eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on survival, growth and pigmentation in larvae of common sole (*Solea solea* L.)[J]. *Aquaculture*, 2007, 273(4): 532-544.
- [23] 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.
- [24] Ai Q H, Yan J, Mai K S. Reserch progresses of lipids and fatty acids transport in fish[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2016, 40(4): 859-868. [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.]
- [25] Trushenski J, Schwarz M, Lewis H, et al. Effect of replacing dietary fish oil with soybean oil on production performance and fillet lipid and fatty acid composition of juvenile cobia *Rachycentron canadum*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2011, 17(2): e437-e447.
- [26] 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(3): 249-258.
- [27] Yu H B, Gao Q F, Dong S L, et al. Changes in fatty acid profiles of sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) induced by terrestrial plants in diets[J]. *Aquaculture*, 2015, 442: 119-124.
- [28] Wen B, Gao Q F, Dong S L, et al. Effects of different feed ingredients on growth, fatty acid profiles, lipid peroxidation and aminotransferases activities of sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka)[J]. *Aquaculture*, 2016, 454: 176-183.
- [29] Hasegawa N, Sawaguchi S, Tokuda M, et al. Fatty acid composition in sea cucumber *Apostichopus japonicus* fed with microbially degraded dietary sources[J]. *Aquaculture Research*, 2014, 45(12): 2021-2031.
- [30] Liu X Y, Wang L, Feng Z F, et al. Molecular cloning and functional characterization of the fatty acid delta 6 desaturase (*FAD6*) gene in the sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(9): 4991-5003.
- [31] Li W X, Feng Z F, Song X J, et al. Cloning, expression and functional characterization of the polyunsaturated fatty acid elongase (*ELOVL5*) gene from sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) [J]. *Gene*, 2016, 593(1): 217-224.
- [32] Winston G W, Di Giulio R T. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms[J]. *Aquatic Toxicology*, 1991, 19(2): 137-161.
- [33] Pörtner H O. Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeography: systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in animals[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2002, 132(4): 739-761.
- [34] Bagnyukova T V, Storey K B, Lushchak V I. Induction of oxidative stress in *Rana ridibunda* during recovery from winter hibernation[J]. *Journal of Thermal Biology*, 2003, 28(1): 21-28.
- [35] Hurtado M A, Reza M, Ibarra A M, et al. Arachidonic acid (20:4n-6) effect on reproduction, immunology, and prostaglandin E₂ levels in *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951)[J]. *Aquaculture*, 2009, 294(3-4): 300-305.
- [36] Tan Q. Effect of dietary n-3/n-6 HUFA on growth performance, body composition, fatty acid composition and immune in turbot (*Scophthalmus maximus*) [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2017. [谭青. n-3/n-6 HUFA 对大菱鲆幼鱼生长、体组成、脂肪酸成分及免疫的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017.]
- [37] Martínez-Álvarez R M, Hidalgo M C, Domezain A, et al. Physiological changes of sturgeon *Acipenser naccarii* caused by increasing environmental salinity[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2002, 205: 3699-3706.
- [38] Wang C Q. The effects of dietary arachidonic acid, α -linolenic acid levels and ratio of α -linolenic acid to linoleic

- acid on growth performance, fatty acid composition and lipid accumulation of large size Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2016. [王成强. 饲料花生四烯酸、亚麻酸含量及亚麻酸/亚油酸比值对大规格鲈鱼生长性能、脂肪酸组成和脂肪沉积的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.]
- [39] Zuo R T. Preliminary study about the regulation of dietary fatty acid on immunity and fatty acid metabolism in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013. [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.]
- [40] Shi J J, Mi M T, Wei N, et al. Effect of fatty acids composition in different diets on expression of lipid metabolism related genes in rat liver[J]. Chongqing Medicine, 2012, 41(13): 1252-1254. [时皎皎, 糜漫天, 韦娜, 等. 不同膳食脂肪酸构成对大鼠肝脏脂代谢相关基因表达的影响[J]. 重庆医学, 2012, 41(13): 1252-1254.]

Effects of dietary arachidonic acid on the growth performance, antioxidant capacity, and fatty acid metabolism of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*)

WANG Chengqiang¹, WANG Jiying¹, LI Baoshan¹, SUN Yongzhi¹, SONG Zhidong¹, WANG Xiaoyan¹, HAN Xiujie², WANG Lili²

1. Shandong Provincial Key Laboratory of Restoration for Marine Ecology, Shandong Marine Resource and Environment Research Institute, Yantai 264006, China;
2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: A 56-d feeding experiment in an indoor flowing-through water system was conducted to evaluate the effects of arachidonic acid (ARA) in diets on the growth performance, antioxidant capacity, and body wall fatty acid composition of sea cucumbers (*Apostichopus japonicas*) with initial weights of (10.78 ± 0.06) g. Six isonitrogenous and isoenergetic diets with varying levels of dietary ARA [0.02% (control group), 0.17%, 0.36%, 0.51%, 0.59%, and 0.98%] were formulated. The ARA content had no significant effect on survival rate (87.50%–94.17%; $P > 0.05$). However, both growth rate (WGR) and feed efficiency (FE) increased with increasing ARA content until reaching peak levels at 0.51% dietary ARA, but decreased thereafter ($P < 0.05$). Body wall composition analysis indicated that the whole-body lipid content initially decreased but then increased with increasing dietary ARA, whereas the whole-body protein, ash, and moisture contents were unaffected. Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and total antioxidant capacity enzyme (T-AOC) activities in the intestinal tract initially increased with increasing ARA content but then decreased ($P < 0.05$), whereas the malondialdehyde (MDA) content of the intestinal tract exhibited a contrasting pattern ($P < 0.05$). Fatty acid synthase (FAS) and acetyl-CoA carboxylase (ACC) activities in the intestinal tract were unaffected when dietary ARA content decreased from 0.02% to 0.59% but decreased significantly when the dietary ARA content increased from 0.59% to 0.98% ($P < 0.05$). The ARA and n-6 PUFA contents of the body wall increased with increasing dietary ARA, whereas the EPA and DHA content of the body wall decreased. Therefore, dietary ARA contents of 0.36%–0.51% could be used to promote the growth performance and intestinal antioxidant capacity of sea cucumbers under experimental conditions. The effects of ARA level in diet on the activities of fatty acid synthase, acetyl-CoA carboxylase, and carnitine palmitoyltransferase-1 in the intestinal tract of sea cucumber were also observed in the study.

Key words: *Apostichopus japonicus*; arachidonic acid; growth performance; antioxidant capacity; fatty acid metabolism

Corresponding author: WANG Jiying. E-mail: ytwjy@126.com