



## 饲料脂肪酸碳链长度对团头鲂生长、肌纤维发育及肉质的影响

王曦, 肖康, 刘文斌, 戴永军, 郭慧星,  
汪茫茫, 李向飞, 张定东, 蒋广震\*

(南京农业大学动物科技学院, 江苏省水产营养重点实验室, 江苏南京 210095)

**摘要:** 饲料脂肪不仅影响养殖鱼类的生长与健康状况, 还会通过调控肌纤维特性影响肉质。为探究不同碳链长度脂肪酸对团头鲂生长、肌纤维发育及肉质的影响, 实验选取 108 尾初始平均体重为 (77.89±0.81) g 的健康团头鲂, 随机分为 4 组, 每组 3 重复, 分别饲喂基础饲料(对照组)以及替代 1.5% 豆油的丁酸(BA)、辛酸(OA)、棕榈酸(PA)组饲料 8 周。结果显示, 与对照组相比, 饲料添加不同碳链长度脂肪酸对团头鲂生长无显著影响, 然而可显著提升肌肉黏附性, 增加肌纤维数量、较小直径 (<20 μm) 肌纤维比例及肌节长度。在基因表达方面, OA 显著增加了肌源性因子 *myf5* 基因 mRNA 表达量。BA 能在下调抑肌基因 *mstnb* 的同时, 显著上调 *ampka2* 和 *sirt1* 基因的 mRNA 表达量。Ca<sup>2+</sup> 依赖的信号通路的关键基因 *camk* 表达量也随饲料中脂肪酸碳链长度的增加而显著提升。研究表明, 饲料添加不同碳链长度脂肪酸可以通过 AMPK 和 Ca<sup>2+</sup> 依赖的信号通路实现对团头鲂肌纤维发育及肉质的有效提升。本研究为营养素调控团头鲂鱼肉品质提供了基础数据和理论依据, 也为鱼类肌肉品质的营养强化提供了全新模式。

**关键词:** 团头鲂; 脂肪酸; 碳链长度; 肌纤维发育; 肉质

中图分类号: S 963.72

文献标志码: A

脂肪酸是鱼类重要的结构与能源物质, 同时还承担了机体内重要的生物学作用与生理学调控<sup>[1]</sup>。根据碳链长度, 可分为短链、中链和长链脂肪酸 3 类<sup>[2]</sup>。丁酸是极具代表性的短链脂肪酸之一, 对改善动物肠道微生物菌群及肠道组织结构具有重要意义<sup>[3]</sup>。辛酸在椰子油中含量丰富, 是较为理想的能源物质<sup>[4]</sup>, 在畜牧生产中常用作亲本培育, 以提高亲代成活率。棕榈酸分布广泛, 几乎在所有植物油和动物脂肪中均含有数量不等的组分, 适量棕榈酸能起到调控血清胆固醇含量的作用<sup>[5]</sup>。迄今, 不同脂肪酸类型对鱼类脂肪代

谢和肠道菌群的影响已有广泛研究, 然而脂肪酸碳链长度对鱼体肌纤维发育和肉质影响的研究仍较为缺乏<sup>[6]</sup>。

肌肉组织是鱼类的主要可食部分<sup>[7]</sup>, 占胴体重的 70%~80%。鱼肉品质包括质地特性和营养品质, 直接与消费者的接受程度挂钩<sup>[8]</sup>。其中, 鱼类肌纤维的生长特性直接影响鱼肉的质地特性。质地特性包括硬度、黏附性、弹性、咀嚼性等, 是通过模拟感官特性评价鱼肉口感的重要加工品质指标<sup>[9]</sup>, 由其内部成分及组织结构决定。同时, 鱼肉的营养品质与饲料营养密切相关, 通过饲料

收稿日期: 2022-03-09 修回日期: 2022-05-05

资助项目: 国家自然科学基金(32273146); 江苏省农业科技自主创新资金[CX(21)3161]; 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-45-12)

第一作者: 王曦(照片), 从事水产动物营养与品质研究, E-mail: 619055647@qq.com

通信作者: 蒋广震, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: jianggz@njau.edu.cn



原料比例的调节或微量营养素的添加, 可以针对性地调控鱼类肌纤维发育及营养组成<sup>[10]</sup>。研究表明, 不同脂肪源饲料可以显著影响鱼体成分<sup>[11]</sup>, 鱼肉中脂肪酸组成及含量与饲料脂肪酸组成紧密相关。

随着人们生活水平的提高和供给侧改革的推进, 消费者对水产品品质的关注日益重视。团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*) 隶属鲤科 (Cyprinidae) 鲂属 (*Megalobrama*)。因生长速率快、产肉率高、肉质风味好, 被作为一种较高经济价值鱼类在长江中下游水体中广泛养殖<sup>[12]</sup>。为此, 本实验旨在研究饲料脂肪酸类型对鱼体肌纤维生长发育的影响, 并探究饲料脂肪酸通过沉积调控团头鲂肉质品质的分子机制。以期为养殖鱼类品质调控提供理论依据, 也为鱼类肌肉品质的营养强化提供全新模式。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 实验设计及饲料配方

实验参照任阳<sup>[13]</sup>的方法, 设置对照、丁酸 (C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>, BA)、辛酸 (C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub>, OA) 及棕榈酸 (C<sub>16</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>, PA) 4 组, 每组饲料配方根据团头鲂基本营养需求设计为 31% 粗蛋白和 6% 粗脂肪, 3 个实验组饲料中分别以 BA、OA 及 PA 替代 1.5% 豆油, 其余饲料成分均保持一致。各原料均由江苏省泰州市海普瑞饲料有限公司提供, 经由充分粉碎、冷却、过 80 目筛后遵从“先小后大”原则逐级混匀, 参照表 1 所示具体配方挤压制粒 (粒径 2 mm, 长度 8 mm)。常温风干, 待完全干燥后密封贮藏于 -20 °C 备用。实验饲料脂肪酸组成见表 2。

### 1.2 实验动物及养殖条件

养殖全程在南京农业大学水产教学科研基地

表 1 团头鲂饲料配方表 (干物质)

Tab. 1 Formulation of the experimental diets of *M. amblycephala* (dry matter)

饲料配方 formulation	饲料 diets				%
	对照组 control	丁酸组 BA	辛酸组 OA	棕榈酸组 PA	
<b>原料 ingredients</b>					
鱼粉 fish meal <sup>1)</sup>	5.00	5.00	5.00	5.00	
豆粕 soybean meal <sup>1)</sup>	17.21	17.21	17.21	17.21	
棉粕 cottonseed meal <sup>1)</sup>	15.00	15.00	15.00	15.00	
菜粕 rapeseed meal <sup>1)</sup>	15.00	15.00	15.00	15.00	
次粉 middling <sup>1)</sup>	20.00	20.00	20.00	20.00	
麦麸 wheat bran <sup>1)</sup>	20.64	20.64	20.64	20.64	
豆油 soybean oil <sup>1)</sup>	3.86	2.36	2.36	2.36	
预混料 premix <sup>2)</sup>	1.00	1.00	1.00	1.00	
磷酸二氢钙 calcium biphosphate <sup>1)</sup>	1.80	1.80	1.80	1.80	
食盐 sodium chloride <sup>1)</sup>	0.50	0.50	0.50	0.50	
丁酸钠 sodium butyrate <sup>3)</sup>	0.00	1.50	0.00	0.00	
辛酸 octoic acid <sup>3)</sup>	0.00	0.00	1.50	0.00	
棕榈酸 palmitic acid <sup>3)</sup>	0.00	0.00	0.00	1.50	
<b>养分概略 proximate composition</b>					
粗蛋白 crude protein	32.76	32.58	33.14	32.39	
粗脂肪 crude lipid	6.82	6.71	6.96	6.88	
粗灰分 crude ash	7.33	7.23	7.17	7.54	
水分 moisture	10.32	10.09	9.83	10.15	

注: 1) 配方中基础饲料原料均购自江苏省泰州市海普瑞饲料有限公司。2) 预混料由以下矿物质 (g/kg 饲料) 及维生素 (IU 或 mg/kg 饲料) 组成, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 2.0 g; FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 25 g; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 22 g; MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O 7 g; Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 0.04 g; KI 0.026 g; CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.1 g; 维生素 A 900 000 IU; 维生素 D 200 000 IU; 维生素 E 4 500 mg; 维生素 K<sub>3</sub> 220 mg; 维生素 B<sub>1</sub> 320 mg; 维生素 B<sub>2</sub> 1 090 mg; 维生素 B<sub>5</sub> 2 000 mg; 维生素 B<sub>6</sub> 500 mg; 维生素 B<sub>12</sub> 1.6 mg; 维生素 C 5 000 mg; 泛酸盐 1 000 mg; 叶酸 165 mg; 胆碱 60 000 mg。3) 丁酸钠, 辛酸 (OA), 棕榈酸 (PA) 购自南京寿德生物科技有限公司, 其中丁酸 (BA) 以丁酸钠形式添加以防挥发, 纯度 99%; 辛酸 (OA) 纯度 ≥ 99%; 棕榈酸 (PA) 纯度 ≥ 99%。  
Notes: 1) the ingredients in the formula were purchased from Jiangsu Haipurui Feed Co., Ltd.. 2) premix supplied the following minerals (g/kg of diet) and vitamins (IU or mg/kg of diet): CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 2.0 g; FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 25 g; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 22 g; MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O 7 g; Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 0.04 g; KI 0.026 g; CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.1 g; vitamin A 900 000 IU; vitamin D 200 000 IU; vitamin E 4 500 mg; vitamin K<sub>3</sub> 220 mg; vitamin B<sub>1</sub> 320 mg; vitamin B<sub>2</sub> 1 090 mg; vitamin B<sub>5</sub> 2 000 mg; vitamin B<sub>6</sub> 500 mg; vitamin B<sub>12</sub> 1.6 mg; vitamin C 5 000 mg; pantothenate 1 000 mg; folic acid 165 mg; choline 60 000 mg. 3) sodium butyrate, octanoic acid (OA) and palmitic acid (PA) were all purchased from Nanjing Shoude Biotechnology Co., Ltd., butyric acid (BA) was added in the form of sodium butyrate to prevent volatilization content 99%; octanoic acid (OA) content ≥ 99%; palmitic acid (PA) content ≥ 99%.

表 2 饲料脂肪酸组成分析  
Tab. 2 Fatty acid composition of  
the experimental diets

脂肪酸 fatty acids	饲料 diets			
	对照组 control	丁酸组 BA	辛酸组 OA	棕榈酸组 PA
C4:0	0.010	0.495	0.012	0.017
C6:0	0.025	0.027	0.019	0.016
C8:0	0.033	0.263	5.145	0.062
C12:0	0.013	0.012	0.015	0.016
C13:0	0.022	0.020	0.025	0.020
C14:0	0.301	0.252	0.274	0.254
C15:0	0.049	0.042	0.046	0.047
C16:0	5.935	4.780	5.225	12.694
C16:1	0.393	0.333	0.357	0.308
C17:0	0.080	0.064	0.069	0.066
C17:1	0.025	0.021	0.014	0.012
C18:0	1.763	1.260	1.351	1.143
C18:1n9t	0.028	0.024	0.028	0.018
C18:1n9c	12.014	8.862	9.550	7.740
C18:2n6t	0.019	0.016	0.019	0.015
C18:2n6c	25.769	19.518	20.984	17.057
C20:0	0.374	0.263	0.281	0.226
C18:3n6	0.088	0.059	0.062	0.053
C18:3n3	2.503	1.839	1.980	1.618
C20:1	0.021	0.019	0.020	0.018
C21:0	0.113	0.088	0.103	0.084
C20:2	0.047	0.036	0.041	0.033
C22:0	0.358	0.232	0.259	0.203
C20:3n3	0.049	0.035	0.039	0.040
C22:1n9	0.020	0.019	0.019	0.022
C23:0	0.023	0.019	0.023	0.018
C22:2n6	0.415	0.367	0.442	0.250
C20:5n3	0.073	0.067	0.092	0.059
C24:0	0.200	0.178	0.244	0.180
C24:1n9	0.039	0.034	0.037	0.032
C22:6n3	0.484	0.425	0.487	0.422
总量 total	51.284	39.671	47.298	42.844

的开阔池塘中展开, 确保模拟团头鲂正常的生态环境。实验用鱼均由中国水产科学研究院淡水渔业研究中心提供, 取 108 尾体质健康、规格相近的个体 [平均初始体重 (77.89±0.81) g], 随机分配于 12 个尺寸为 2 m×1 m×1 m (长×宽×高) 的悬浮网箱。每组饲料设置 3 个平行, 每网箱 9 尾。

历经 2 周暂养, 在此期间所有实验用鱼以商

业饲料 (无锡通威饲料集团有限公司) 进行初始驯化, 使其更好地适应饲养环境, 同时培养其定时定点上浮采食的习惯。正式实验期间, 以团头鲂自由采食达到饱腹状态为准, 具体投饵量视天气、水温、进食情况等因素而定, 一日 3 次定时定点手动投喂 (8:00, 12:00, 16:00)。养殖全程水体环境 pH 值为 7.4~7.6, 溶解氧含量为 5.0 mg/L, 水温 28~34 °C, 氨氮浓度低于 0.2 mg/L。本实验所有操作严格遵守实验动物福利伦理和动物实验安全审查规范, 并按照水产动物实验伦理审查委员会制定的规章制度执行。

### 1.3 样品采集

实验为期 57 d。养殖结束, 停饲 24 h 后对各网箱中团头鲂尾数和总重量进行统计。每网箱随机选取 3 尾体格相当的团头鲂, 通过注射 MS-222 (100 mg/L, Sigma, 美国) 麻醉。解剖取内脏团称重, 以便胴体率和脏体比指标的计算。紧接着刮去侧线上方鳞片且剥取鱼皮, 采集背肌样品于液氮速冻, 用于基因表达分析; 另取 3 块背肌组织, 1 块 (0.5 cm×0.5 cm×2 cm) 固定于 4% 多聚甲醛溶液用于组织形态分析, 1 块 (1 mm×2 mm×3 mm) 固定于 2.5% 戊二醛溶液用于超微结构分析, 1 块 (1 cm<sup>3</sup>) 立方体鲜样 4 °C 保鲜用于 24 h 内质构分析。

### 1.4 测定指标

生长指标 相关指标测定见以下公式。

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

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

饲料系数 (FCR) = 摄食量 /  $(W_t - W_0)$

平均日采食量 (AFI, g/尾) = 日总采食量 / 总条数

胴体率 (DP, %) =  $(W_t - W_i) / W \times 100\%$

脏体比 (VSI, %) =  $W_i / W \times 100\%$

式中,  $W_t$  代表终末体重 (g),  $W_0$  代表初始体重 (g),  $W_i$  代表终末鱼体内脏团重 (g),  $W$  代表全鱼体重 (g),  $t$  代表实验天数 (d)。

饲料成分测定 参照 AOAC 方法<sup>[14]</sup> 检测并分析了饲料常规成分。水分测定采用 105 °C 烘干法; 粗脂肪测定采用乙醚索式提取法; 粗蛋白测定采用凯氏定氮法; 粗灰分测定采用 550 °C 灼烧法。

### 1.5 肌肉质构

引入一系列肌肉在变形、分解、流动等方面的物理特性对鱼肉口感、组织状态进行准确评估。参考 Hixson 等<sup>[15]</sup> 对肌肉品质测定参数的设定, 将

采集样品置于 50 mm 铝板, 通过质构仪 (TA.XT Plus, Stable Micro Systems, 英国) 以 5 mm/s 预测试速度、1 mm/L 测试速度和 5 mm/s 后测试速度, 肌肉厚度 50% 回弹, 作用时长 60 s 进行全质构分析。

### 1.6 肌肉成分及饲料含量分析

**样品脂肪酸提取** 分别称取饲料及肌肉样品 1 g, 采用氯仿-甲醇 (2 : 1, 体积比) 法提取样品油脂。通过 NaOH 甲醇酯化法制备脂肪酸甲酯混合物, 待分析检测。

**标准曲线建立** 正己烷稀释 37 种脂肪酸甲酯化混标 (10 mg/mL, Sigma, 美国) 为 0.16、0.31、0.63、1.25、2.50 mg/mL 5 个浓度梯度, 通过气相色谱仪 (8890 GC, Agilent Technologies Inc., 美国) 测定各已知脂肪酸组分含量, 拟合标准曲线。

**样品脂肪酸含量测定** 取样品 200  $\mu$ L 上机检测, 通过统计色谱出峰面积计算每种脂肪酸的绝对含量。其中色谱柱 (Agilent Technologies Inc., USA) 型号为 HP-88 (100 m, 0.25 mm ID, 0.2  $\mu$ m), 选择后进样口流路进样, 设定采集方法后, SS 进样口、色谱柱#1、后检测器 FID 温度分别为 270、100 和 280  $^{\circ}$ C。

### 1.7 肌肉组织形态分析

将采样时固定于 4% 多聚甲醛的肌肉样品依次置入乙醇梯度脱水 (75%、85%、95%、100%) 处理。修整样品尺寸 (3 mm $\times$ 3 mm $\times$ 5 mm), 通过二甲苯透明、石蜡浸透后, 包埋成正方体蜡块。用切片机 (Leica, 德国) 制成厚度为 6  $\mu$ m 的石蜡切片, 经过苏木精和伊红 (H.E) 染色, 最终树脂封片, 实现对肌肉组织学结构的呈现。通过虚拟显微镜 (Nikon, 日本) 观察, 于 200 倍摄像捕捉 (Nikon, DS-U2, 日本) 成像拍摄。每张切片选取 3 个不同视野, 利用 Image Pro Plus 图像软件 (media cybernetics, 美国) 统计分析肌纤维特性。

### 1.8 肌肉超微结构分析

采集样品经由 2.5% 戊二醛溶液 24 h 固定处理, 由磷酸盐缓冲液 (PBS) 冲洗 3 次, 置于 1% 锇酸中固定。历经乙醇梯度 (50%、70%、80%、90%) 脱水处理, 通过丙酮浸透作用后完成包埋操作。最终制成厚度为 70 nm 的超薄切片, 经由铀和铅双染处理。电镜放大倍数为 8000 倍, 借助 ATM 摄像系统 (HATICHA, 日本) 进行成像拍摄。每张切片选取 3 个不同视野, 每个视野读取 3 次,

利用 Image Pro Plus 图像软件 (media cybernetics, 美国) 统计并分析肌节长度 (SL)。

### 1.9 基因表达

使用 TRIzol 试剂 (Invitrogen, 美国) 提取肌肉组织中总 RNA, 通过 RQ1 RNase-free DNase (Promega, 美国) 消除提取过程中可能存在的基因组 DNA 降解。使用 ExScript<sup>TM</sup> RT-PCR 试剂盒将 RNA 反转录为 cDNA。目的 cDNA 采用 SYBR 稀释扩增, 使用 Green II 荧光试剂盒 (TaKaRa, 日本) 进行后续实时定量 PCR 测定。以延伸系数 1 $\alpha$  (*ef1 $\alpha$* ) 作为目的基因转录水平相对量化参照<sup>[16]</sup>。引物序列由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成 (表 3)。参照 Livak 等<sup>[17]</sup> 的方法, 运用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  计算目的基因 mRNA 的相对表达量。

### 1.10 数据分析

所有实验数据均由 Kolmogorov-Smirnov 和 Levene 检验评价正态性和同质性。通过 SPSS 16.0 软件 (SPSS, 美国) 进行单因素方差 (One-Way ANOVA) 分析。数据的组间差异由 Tukey 氏多程检验确定, 显著性水平为  $P < 0.05$ 。所有实验结果均采用 3 重复 ( $n=3$ ) 的平均值 $\pm$ 标准误 (mean $\pm$ SE) 表示。

## 2 结果

### 2.1 生长性能

与对照组相比, 饲料中不同碳链长度脂肪酸的添加对团头鲂终末体重、特定生长率、增重率、饲料系数、平均日采食量、胴体率及脏体比指标均无显著影响 ( $P > 0.05$ ) (表 4)。

### 2.2 肌肉品质测定

PA 组团头鲂肌肉硬度较对照组显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与对照组相比, BA 和 OA 组也呈上升趋势, 尽管这种差异并不显著 ( $P > 0.05$ )。对照组肌肉黏附性显著高于 BA、OA 和 PA 组 ( $P < 0.05$ )。咀嚼性、胶黏性、内聚性、弹性及回复性各物理指标检测结果显示, 各组团头鲂肌肉均无显著差异 ( $P > 0.05$ ) (表 5)。

### 2.3 肌肉脂肪酸组成

由于饲料中不同类型脂肪酸的添加, 使得团头鲂肌肉中脂肪酸含量存在一定的差异性 (表 6)。与对照组相比, PA 组团头鲂肌肉 C16:0、C18:0

表 3 实时定量 PCR 引物的核苷酸序列

Tab. 3 Nucleotide sequences of the primers for real-time quantitative PCR

目的基因 target gene	上游(5'-3') forwards (5'-3')	下游(3'-5') reverse (3'-5')	登录号 accession number
<i>ef1a</i>	CTTCTCAGGCTGACTGTGC	CCGCTAGCATTACCTCC	X77689.1
<i>ampka1</i>	AGTTGGACGAGAAGGAG	AGGCATACAAAATCAC	KX061840.1
<i>ampka2</i>	ACAGCCCTAAGGCACGATG	TGGGTCGGGTAGTGTGAG	KX061841.1
<i>sirt1</i>	TCGGTTCATTGAGCAGCACA	ATGATGATCTGCCACAGCGT	MT518159.1
<i>myod</i>	TTTGGGCAGCCTCTGGTTC	TGCTTACCACCCACGACA	KF601795.1
<i>myog</i>	TGGACAGCATTACAGGAACA	TGTTATGGTCGGTGAAAGG	KF577718.1
<i>myf5</i>	CTGTTGCAGTCAACCATGCT	AGGAACGCCATCCAGTACA	KF636496.1
<i>myf4</i>	GGCAGCCTCTGGTTCGGAT	GCGGAGAGGAGCACGTCCT	KF781549.1
<i>mstna</i>	AAGACAACCGAGACCAAC	ATAGCGTTTCGGAGCAATA	JQ065336.1
<i>mstnb</i>	GATTTTCGGACTGAAGGAGA	TTCTGGGGGATGACAGTAAG	JQ065337.1
<i>camk</i>	TGGTGCAGGATGTGTGAAA	GAGTAGGCGACAGATTCGGG	XM_026234245.1
<i>can</i>	ACCTGGATAACTCGGGCTCT	AAGCTCGCCGTTGGATATGT	XM_034101443.1

注: *ef1a*. 伸长因子1; *ampka1*. AMP活化蛋白激酶 $\alpha$ 1; *ampka2*. AMP活化蛋白激酶 $\alpha$ 2; *sirt1*. sirtuin-1; *myod*. 成肌细胞测定蛋白; *myog*. 肌生成素; *myf5*. 肌源性因子5; *myf4*. 肌源性调节因子4; *mstna*. 肌生长抑制素a; *mstnb*. 肌生长抑制素b; *camk*.  $Ca^{2+}$ /钙调蛋白依赖性蛋白激酶; *can*. 钙调神经磷酸酶。

Notes: *ef1a*. elongation factor 1; *ampka1*. AMP-activated protein kinase  $\alpha$ 1; *ampka2*. AMP-activated protein kinase  $\alpha$ 2; *sirt1*. sirtuin 1; *myod*. myoblast determination protein; *myog*. myogenin; *myf5*. myogenic factor 5; *myf4*. myogenic regulatory factor 4; *mstna*. myostatin a; *mstnb*. myostatin b; *camk*. calcium/calmodulin-dependent protein kinase; *can*. calcineurin.

表 4 饲料不同碳链长度脂肪酸对团头鲂生长的影响

Tab. 4 Effects of dietary fatty acids with different carbon-chain lengths on the growth of *M. amblycephala*

生长性能 growth performance	饲料 diets			
	对照组 control	丁酸组 BA	辛酸组 OA	棕榈酸组 PA
终末体重/g FBW	161.67±0.95	152.60±10.72	163.26±12.03	168.39±3.39
特定生长率/(%/d) SGR	1.33±0.04	1.17±0.09	1.25±0.11	1.33±0.02
增重率/% WGR	112.94±5.13	95.70±10.38	105.19±13.19	112.95±2.89
饲料系数 FCR	1.75±0.43	1.41±0.11	1.30±0.19	2.11±0.89
平均日采食量/(g/尾) AFI	107.11±2.67	118.48±7.85	102.52±6.35	105.06±4.50
胴体率/% DP	0.90±0.01	0.91±0.01	0.89±0.01	0.90±0.01
脏体比/% VSI	0.10±0.01	0.09±0.01	0.12±0.01	0.10±0.01

表 5 饲喂实验饲料对团头鲂肌肉质构的影响

Tab. 5 Effects of experimental diets on white muscle texture of *M. amblycephala*

质构 texture	饲料 diets			
	对照组 control	丁酸组 BA	辛酸组 OA	棕榈酸组 PA
硬度/g hardness	1 280.93±69.13 <sup>b</sup>	1 434.08±97.88 <sup>ab</sup>	1 535.44±81.20 <sup>ab</sup>	1 634.15±84.24 <sup>a</sup>
咀嚼性/g chewiness	150.86±8.69	160.32±10.67	183.20±23.62	178.45±11.18
胶黏性 gumminess	364.08±15.99	379.38±26.70	375.11±29.97	389.45±19.85
黏附性/(g·s) adhesiveness	-20.67±1.78 <sup>a</sup>	-8.94±1.37 <sup>b</sup>	-8.94±1.20 <sup>b</sup>	-12.05±1.65 <sup>b</sup>
内聚性 cohesiveness	0.29±0.01	0.28±0.01	0.29±0.01	0.30±0.01
弹性 springiness	0.42±0.02	0.41±0.01	0.40±0.02	0.43±0.01
回复性 resilience	0.12±0.01	0.12±0.01	0.13±0.01	0.13±0.00

注: 表格中同行肩标不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ), 下同。

Notes: In the same row, values with different lowercases indicate significant differences ( $P<0.05$ ), the same below.

及 C20:3n3 含量显著升高 ( $P<0.05$ )。与此同时, BA、OA 及 PA 组 C16:1 含量显著高于对照组 ( $P<0.05$ ), C18:1n9 含量也呈现出相似趋势。OA 及 PA 组 C20:2 含量显著高于对照组及 BA 组 ( $P<0.05$ ),

C22:6n3 含量最高值出现在 PA 组, 且显著高于对照组及 BA 组 ( $P<0.05$ )。各实验组团头鲂肌肉中其余脂肪酸含量间均无显著差异 ( $P>0.05$ )。

表 6 饲喂实验饲料对团头鲂肌肉脂肪酸组成的影响

Tab. 6 Effects of experimental diets on muscle fatty acid composition of *M. amblycephala*

g/kg

脂肪酸 fatty acids	饲料 diets			
	对照组 control	丁酸组 BA	辛酸组 OA	棕榈酸组 PA
C13:0	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00
C14:0	0.01±0.02	0.02±0.01	0.03±0.00	0.02±0.01
C15:0	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00
C16:0	0.30±0.06 <sup>b</sup>	0.51±0.04 <sup>ab</sup>	0.51±0.04 <sup>ab</sup>	0.57±0.06 <sup>a</sup>
C16:1	0.03±0.00 <sup>b</sup>	0.08±0.00 <sup>a</sup>	0.07±0.00 <sup>a</sup>	0.06±0.01 <sup>a</sup>
C17:0	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00
C18:0	0.17±0.02 <sup>b</sup>	0.20±0.03 <sup>ab</sup>	0.26±0.03 <sup>ab</sup>	0.28±0.03 <sup>a</sup>
C18:1n9	0.07±0.00 <sup>b</sup>	0.12±0.01 <sup>a</sup>	0.11±0.01 <sup>a</sup>	0.11±0.00 <sup>a</sup>
C18:2n6	0.81±0.05	0.88±0.11	0.87±0.03	1.06±0.02
C20:0	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00
C18:3n3	0.06±0.00	0.06±0.01	0.10±0.02	0.09±0.00
C20:1	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00
C20:2	0.02±0.00 <sup>b</sup>	0.02±0.00 <sup>b</sup>	0.03±0.00 <sup>a</sup>	0.03±0.00 <sup>a</sup>
C22:0	0.11±0.01	0.12±0.02	0.14±0.01	0.14±0.02
C20:3n3	0.11±0.02 <sup>b</sup>	0.15±0.01 <sup>ab</sup>	0.16±0.01 <sup>ab</sup>	0.17±0.01 <sup>a</sup>
C22:2n6	0.03±0.00	0.04±0.00	0.05±0.00	0.04±0.00
C24:1n9	0.16±0.04	0.12±0.03	0.15±0.03	0.14±0.01
C22:6n3	0.28±0.00 <sup>b</sup>	0.29±0.02 <sup>b</sup>	0.35±0.00 <sup>ab</sup>	0.37±0.01 <sup>a</sup>
总量 total	2.39±0.12	2.68±0.51	2.88±0.22	3.07±0.19

## 2.4 肌肉组织形态分析

图版 I 为饲喂实验饲料团头鲂肌肉横截面, 其中肌纤维横截面呈不规则多边形, 白色间质为肌内膜, 是包裹在每条肌纤维外的疏松结缔组织。相较于对照组, 饲料中添加不同碳链长度脂肪酸的 3 组肌纤维数目明显增多, 肌纤维间空隙减少, 肌纤维平均直径减小 (图版 I)。从具体数据统计结果来看 (表 7), PA 组团头鲂肌纤维平均横截面积显著低于对照、BA 和 OA 组 ( $P<0.05$ )。BA、OA 和 PA 组肌纤维数量、密度较对照组显著增加 ( $P<0.05$ ), 且 PA 组显著高于其余两种脂肪酸添加组 ( $P<0.05$ )。与此同时, 按照肌纤维直径的比例划分, 发现随着饲料添加的脂肪酸碳链长度的增加, 较小直径 ( $<20\ \mu\text{m}$ ) 肌纤维出现比例显著增加 ( $P<0.05$ ); 较大直径 ( $>50\ \mu\text{m}$ ) 肌纤维的最高比例出现在对照组, 且显著高于其他 3 个脂肪酸添加

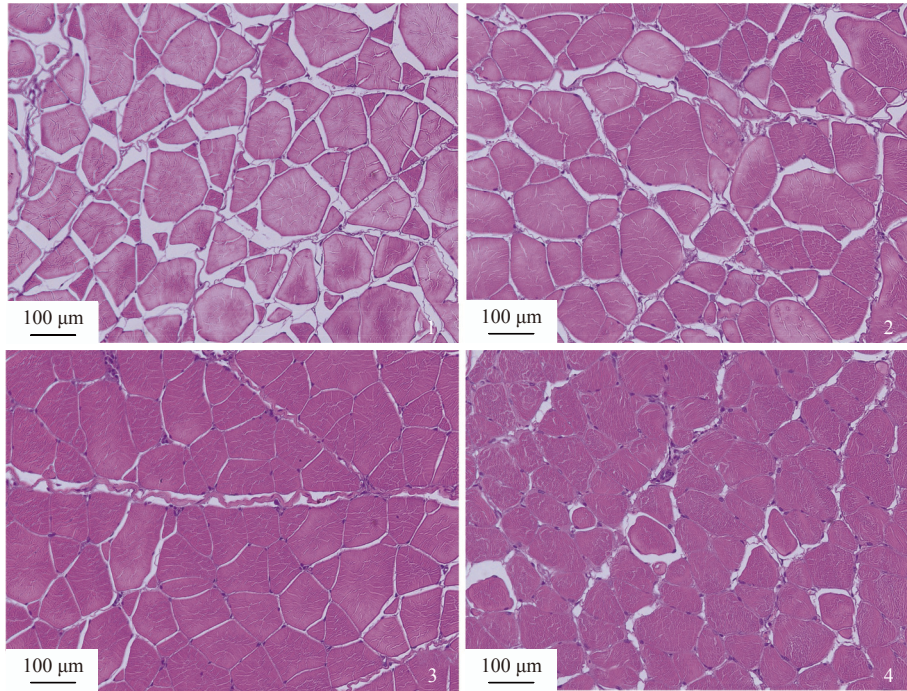
组 ( $P<0.05$ )。此外, BA 和 OA 组肌纤维直径分布在  $20\sim 50\ \mu\text{m}$  的比例显著高于其他两组 ( $P<0.05$ )。

## 2.5 肌肉超微结构分析

两条相邻 Z 线之间的一段肌原纤维称为肌节, 每个肌节由 1/2 明带+暗带+1/2 明带组成, 是骨骼肌纤维结构与功能的基本单位。图版 II 中肌节长度 (SL) 由双向箭头间的距离标出。与对照组相比, BA、OA 和 PA 组 SL 长度显著增加 ( $P<0.05$ ), 且随着脂肪酸碳链长度的增加, SL 长度也呈现出同步上升趋势 ( $P<0.05$ ) (表 7)。

## 2.6 肌肉中的基因表达

饲喂不同脂肪酸类型饲料对团头鲂肌肉中 *ampka1* 基因表达量无显著影响 ( $P>0.05$ ) (图 1-a)。*ampka2* 基因 mRNA 表达量受 BA 显著上调 ( $P<0.05$ ), 与此同时, OA 和 PA 组也较对照组呈现升



图版 I 饲喂实验饲料团头鲂肌肉横截面

1-4 分别为对照组、丁酸组 (BA)、辛酸组 (OA) 及棕榈酸组 (PA), 图 2 同, 虚拟显微镜放大倍数为 200 倍。

Plate I Transversal sections of white muscle in *M. amblycephala* fed experimental diets

1-4. control group, butyric acid group (BA), octanoic acid group (OA), and palmitic acid group (PA), the same as Fig.2. The magnification of the virtual microscope is 200 times.

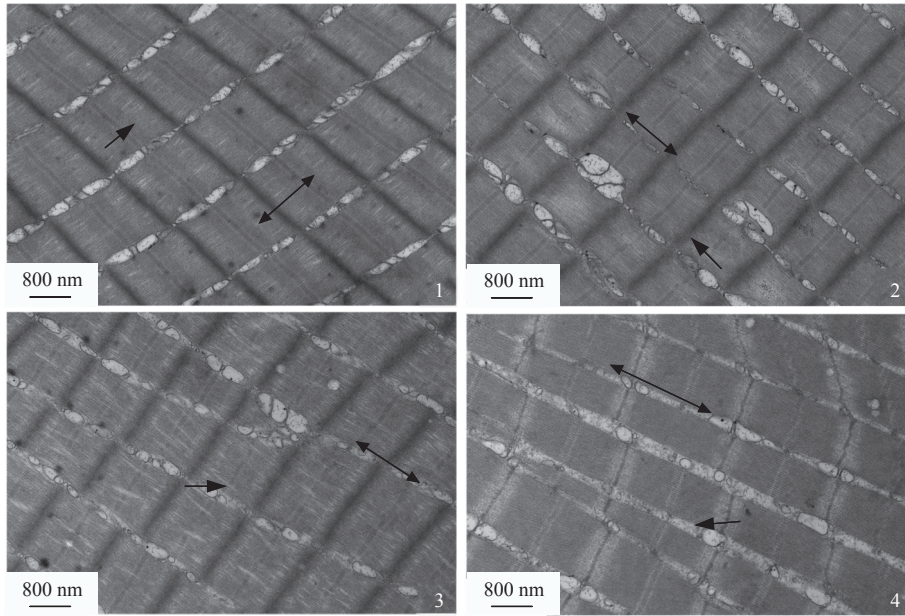
表 7 饲喂实验饲料团头鲂肌纤维结构及肌节长度

Tab. 7 Muscle cellularity and sarcomere length of *M. amblycephala* fed experimental diets

肌纤维特性 muscle fiber characteristic	饲料 diets				
	对照组 control	丁酸组 BA	辛酸组 OA	棕榈酸组 PA	
平均肌纤维横截面积/(mm <sup>2</sup> /个) average fiber area	0.005 8±0.00 <sup>a</sup>	0.005 6±0.00 <sup>a</sup>	0.005 7±0.00 <sup>a</sup>	0.004 7±0.00 <sup>b</sup>	
肌纤维数量/个 fiber quantity	72.56±0.83 <sup>c</sup>	79.63±1.83 <sup>b</sup>	85.35±0.87 <sup>b</sup>	104.13±1.77 <sup>a</sup>	
肌纤维密度/(个/mm <sup>2</sup> ) fiber density	123.45±1.25 <sup>c</sup>	130.40±2.87 <sup>b</sup>	144.90±1.44 <sup>b</sup>	181.96±2.74 <sup>a</sup>	
百分比/% percentage	<20 μm	18.08±0.33 <sup>d</sup>	20.91±0.50 <sup>c</sup>	26.02±0.48 <sup>b</sup>	33.22±0.70 <sup>a</sup>
	20~50 μm	34.89±1.10 <sup>b</sup>	42.07±1.05 <sup>a</sup>	41.98±0.40 <sup>a</sup>	38.14±0.96 <sup>b</sup>
	>50 μm	43.76±1.02 <sup>a</sup>	32.56±0.88 <sup>b</sup>	31.39±0.70 <sup>b</sup>	29.66±0.69 <sup>b</sup>
肌节长度/μm sarcomere length	1.71±0.01 <sup>d</sup>	1.75±0.01 <sup>c</sup>	1.85±0.01 <sup>b</sup>	1.93±0.01 <sup>a</sup>	

高趋势 ( $P>0.05$ ) (图 1-b)。BA 组 *sirt1* 基因的表达量显著高于其他实验组 ( $P<0.05$ ), 然而其表达不受饲料中 OA 和 PA 添加作用的影响 (图 1-c)。不同碳链长度脂肪酸添加组团头鲂肌肉中 *mstnb* 基因 mRNA 表达量均有不同程度的降低, 其中 BA

组显著低于对照组 ( $P<0.05$ ), 而在 *mstna* 基因上没有观察到类似结果 ( $P>0.05$ ) (图 1-d~e)。此外, 肌肉中 *myod*、*myog* 和 *mrf4* 基因 mRNA 表达量不受饲料中不同碳链长度脂肪酸添加的影响 ( $P>0.05$ ) (图 1-f-h), 而 OA 组 *myf5* 表达量显著高于对照组



图版 II 饲喂实验饲料团头鲂肌肉透射电镜

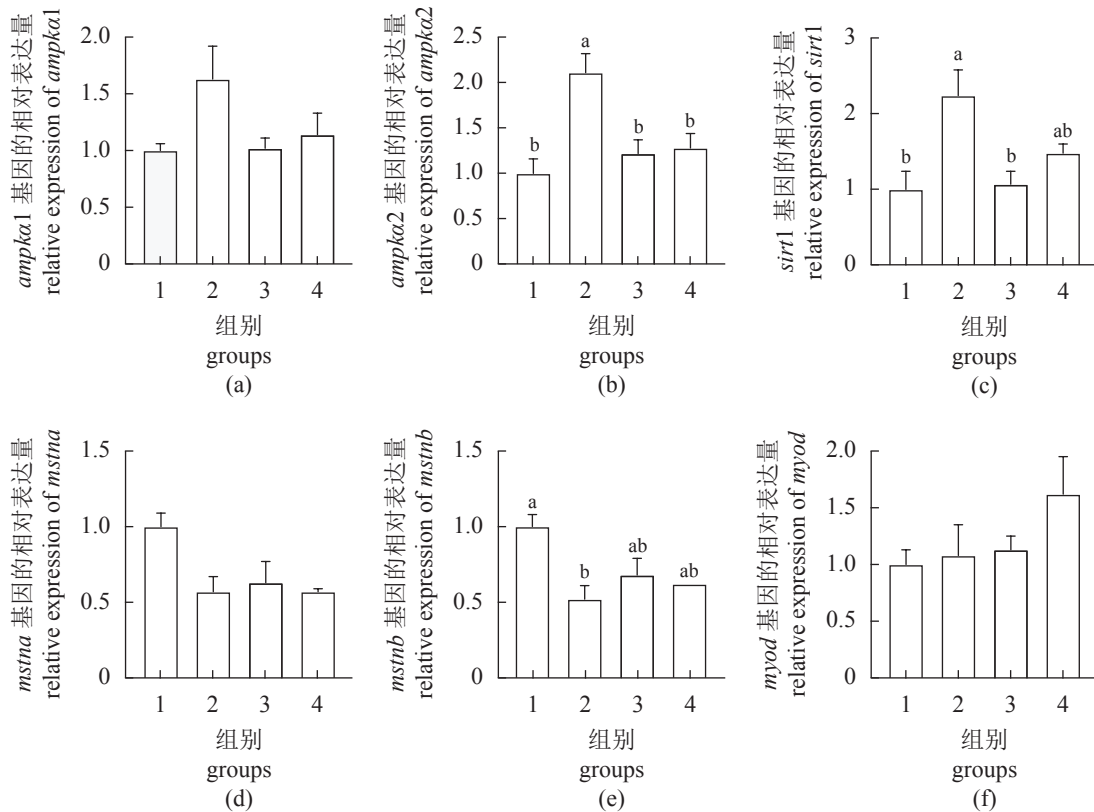
双向箭头表示肌节长度, 单向箭头所指的是 Z 线, 电子显微镜放大倍数为 8 000 倍。

**Plate II Transmission electron microscope of white muscle in *M. amblycephala* fed experimental diets**

The black distance between the two-way arrows indicates the sarcomere lengths (SL), the black line pointed by the one-way arrow is the Z disk. The magnification of the electron microscope is 8 000 times.

( $P < 0.05$ ) (图 1-i)。饲料中 BA、OA 和 PA 显著上调了肌肉中 *camk* 基因的表达量 ( $P < 0.05$ ), 所有实

验组鱼肉中 *can* 基因 mRNA 表达量无显著差异 ( $P > 0.05$ ) (图 1-j~k)。



(图 1 Fig. 1)



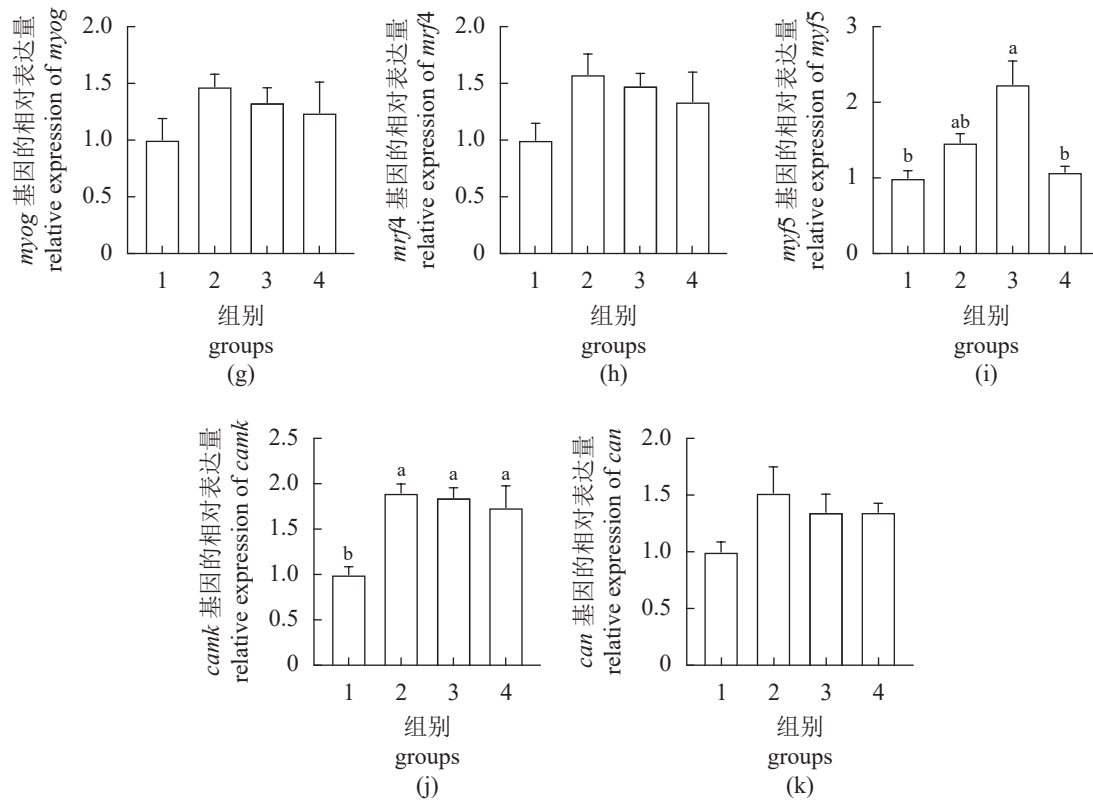


图 1 团头鲂肌肉能量感知通路及肌纤维发育相关基因的相对表达量

1. 对照组, 2. 丁酸组 (BA), 3. 辛酸组 (OA), 4. 棕榈酸组 (PA)。图片中不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

**Fig. 1 Relative expressions of genes involved in energy-sensing pathway and muscle fiber development in white muscle of *M. amblycephala***

1. control group; 2. butyric acid group (BA); 3. octanoic acid group (OA); 4. palmitic acid group (PA). Values with different lowercases indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

### 3 讨论

#### 3.1 饲料中不同碳链长度脂肪酸的添加对团头鲂生长的影响

在本研究中, 3 种不同碳链长度的脂肪酸添加对团头鲂的生长均无显著影响。晏生芳等<sup>[18]</sup>发现, 丁酸钠的浓度或剂型的改变对草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 幼鱼生长均无显著影响, 这些与本研究结果一致。然而, Robles 等<sup>[19]</sup>对金头鲷 (*Sparus aurata*) 的研究表明, 丁酸钠可显著提升其平均增重。另一项研究显示, 饲料中添加 0.15% 的丁酸钠在显著提升大菱鲂 (*Scophthalmus maximus*) 幼鱼增重率的同时, 也提升了表观消化率<sup>[20]</sup>。导致这一不同结果的可能原因: ①丁酸钠对鱼类生长的影响具有剂量效应, 即饲料中丁酸钠添加剂量的过多或过少均无法引起生长的响应<sup>[21]</sup>。②丁酸钠主要通过促进肠道发育和改善肠道健康状况而影响生长, 但这种促进作用因动物品种、日龄、肠道状态而异<sup>[22]</sup>。由于碳链较长链脂肪酸短, 因

此中链脂肪酸具有更好的消化吸收特性, 在机体内主要履行供能作用<sup>[23]</sup>。目前, 关于中链脂肪酸对动物生产性能的影响结果仍存在争议, 有实验表明了其对动物生产性能的积极作用, 但也有降低增重的反例出现<sup>[24]</sup>。联系到以辛酸为代表的中链脂肪酸在机体内的作用机制, 其可以通过采食量、肠道免疫和 Ghrelin 分泌等多种途径影响动物的生长, 因此猜测辛酸的添加剂量可能是关键性因素。棕榈酸常通过内生途径, 在碳链延长酶和去饱和酶的协同作用下生成链多不饱和脂肪酸<sup>[25]</sup>, 并未发现棕榈酸添加对斑马鱼 (*Danio rerio*) 雌鱼体重与体长的显著影响<sup>[3]</sup>。

#### 3.2 饲料中不同碳链长度脂肪酸的添加对团头鲂肌肉脂肪酸组成的影响

饲料脂肪酸是影响养殖鱼类肉质的重要因素。众所周知, 脂肪酸在肌肉中的沉积受饲料脂肪酸类型的直接影响<sup>[26-27]</sup>。通过饲料中脂肪酸种类的调节, 可以改进鱼肉营养组成, 实现对肉质的调

控。本研究中, 团头鲂肌肉并未检测出十二碳以下脂肪酸含量, 原因可能是短、中链脂肪酸对脂质代谢的调节增强了机体脂肪酸的利用; 也可能是其链长较短, 在机体中更容易被消化水解造成的<sup>[28]</sup>, 截至目前, 关于丁酸和辛酸对鱼类肌肉成分的作用尚未见报道, 具体原因仍有待进一步研究。棕榈酸可以显著提升团头鲂肌肉中的 C16:0 含量, 李新等<sup>[29]</sup> 在尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 上的相关研究也得到了类似结果。然而, Mata-Sotres 等<sup>[30]</sup> 发现, 幼年加州黄尾鲷 (*Seriola lalandi*) 饲料中脂肪酸类型均按比例沉积, 除 SFA (主要是 16:0) 以外, 肌肉组织在很大程度上反映了饲料的脂肪酸组成。这与实验结果不一致, 其原因可能与实验动物的品种和生理阶段等有关。通常认为, 鱼类具有内源性合成并利用 C16:0 和 C18:0 的能力, 并且在去饱和酶  $\Delta 9$  的催化下可进一步合成 C16:1 及 C18:1n9 等脂肪酸类型<sup>[31]</sup>。在本研究中, 添加丁酸、辛酸、棕榈酸显著提升了团头鲂肌肉中 C16:1 和 C18:1n9 含量, 这可能是不同碳链长度脂肪酸的补充通过机体内源性代谢的结果。鱼体脂肪酸组成取决于饲料摄入和内源性代谢的共同作用, 同时伴随消化与吸收, 最终以另一种脂肪酸或脂肪酸衍生物形式积累<sup>[29]</sup>。值得注意的是, 肌肉中 C20:2、C20:3n3 及 C22:6n3 的沉积量也在棕榈酸作用下显著提升。饲料中饱和脂肪酸的添加增加了鱼肉中不饱和脂肪酸的总量, 与此同时, C22:6n3 (DHA) 还是对人体有益的脂肪酸类型, 因此用不同碳链长度脂肪酸饲喂可以有效调控鱼肉脂肪酸组成和含量, 满足人类对养殖鱼类的品质需求。目前, 不同碳链长度脂肪酸在动物生产中的应用尚不广泛, 不同碳链长度脂肪酸在鱼类肌肉中的沉积作用及提升肌肉营养品质的相关机制仍有待进一步探究。

### 3.3 饲料中不同碳链长度脂肪酸的添加对团头鲂肌肉特性的影响

鱼类骨骼肌是人类食物的重要蛋白来源<sup>[32]</sup>。然而, 鱼肉品质的评估并非一项简单工作。鱼肉品质由内在因素(质地、化学组成、颜色和脂肪含量等)决定<sup>[33]</sup>, 其中质地直接影响消费者对鱼肉的感官特性<sup>[8]</sup>。Choi 等<sup>[34]</sup> 发现, 鱼肉质地与肌纤维特性密切相关, 因此分析肌纤维密度、横截面积及直径变化等是探究肌纤维发育的重要方法<sup>[35]</sup>。

肌纤维密度包含了肌纤维数量和肌纤维大小等信息, 与硬度和咀嚼性特征呈正相关; 平均肌纤维横截面积/直径与硬度呈负相关性, 即较小平均肌纤维横截面积/直径的鱼肉具有较大的感官硬度<sup>[36]</sup>。本研究中, 饲料中棕榈酸的添加显著提升了鱼肉硬度, 这可能是棕榈酸通过提升团头鲂肌纤维数量和密度、降低平均肌纤维横截面积的共同作用, 实现了对鱼肉质地的改善。Johnston 等<sup>[37]</sup> 在对比大西洋鲑 (*Salmo salar*) 两个不同品系时发现, 高肌纤维密度的鱼肉具有更好的质地特性。Hurling 等<sup>[38]</sup> 认为平均肌纤维横截面积越小, 鱼肉越容易获得较高感官硬度, 这些都与本实验结果一致。与此同时, 根据脊椎动物骨骼肌生长发育特点, 常以直径  $<20 \mu\text{m}$  肌纤维的比例决定肌肉的生长状态<sup>[35]</sup>。本研究中, 饲料不同碳链长度脂肪酸的添加显著提升了直径  $<20 \mu\text{m}$  肌纤维的比例, 代表肌纤维处于较为活跃的生长模式<sup>[39]</sup>。与哺乳动物不同, 鱼类骨骼肌可以同时实现肌纤维的肥大和增生<sup>[40]</sup>。因此, 不同碳链长度脂肪酸显著促进了团头鲂肌肉的增殖, 展现了肌肉对肌纤维较强的募集作用。

肌节是肌纤维收缩的基本功能单位。有研究表明, 肌节长度与肌肉嫩度呈正相关, 即肌节长度越长, 肌肉品质越嫩。Herring 等<sup>[41]</sup> 对比了约束和自由状态下牛肉的肌节长度后发现, 肌节越长肉片嫩度也越高。曾勇庆等<sup>[42]</sup> 在探究莱芜猪不同部位肌肉超微结构与肉质的关系时也得到了相同结论。这与在鸟类<sup>[43]</sup> 和其他哺乳类动物<sup>[44]</sup> 上的研究结果一致。本研究中, 肌节长度在丁酸、辛酸及棕榈酸的作用下显著增加, 鱼肉也更加柔嫩, 可能的解释是脂肪酸促进了肌节高度有序的装配过程, 从而使肌节长度变长; 也有可能是脂肪酸提升了细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度, 加速了肌钙蛋白和  $\text{Ca}^{2+}$  结合的效率。值得注意的是, 与追求哺乳动物肉片的柔嫩质地相反, 消费者在选择鱼肉制品时总是更倾向于鱼肉的紧凑质地<sup>[45]</sup>。因此, 不同碳链长度脂肪酸对团头鲂鱼肉品质的改善是两方面的, 既包括硬度的提升, 又包括嫩度的改善。不同碳链长度脂肪酸对肌纤维发育的综合影响对改善鱼肉质具有积极作用, 但是具体的机制仍有待进一步探究。

### 3.4 饲料中不同脂肪酸添加对团头鲂肌纤维发育相关基因 mRNA 的影响

肌源性调节因子 (MRFs) 包括 *myod*、*myog*、

*mrf4* 和 *myf5*<sup>[46]</sup>, 自胚胎阶段开始协同调控骨骼肌的生长和发育过程<sup>[47]</sup>, 与鱼肉品质密切相关。然而家族各成员的时空表达具有特异性, *myod* 和 *myf5* 在肌肉发育早期扮演生肌决定因子的角色<sup>[48]</sup>; 后期由 *myog* 和 *mrf4* 共同承担成肌细胞的融合与分化功能<sup>[49]</sup>。尽管如此, 决定 MRFs 基因活化与表达与否并非易事, 除了个体发育、细胞生长状态等内部因素的作用外, 也可能受营养水平等外界因素调控<sup>[50]</sup>。Huang 等<sup>[51]</sup>发现高脂饲料通过上调团头鲂肌肉中 *myog*、*mrf4* 和 *myf5* 表达量促进团头鲂肌纤维发育。黄河鲤 (*Cyprinus carpio*) 饲料中 n-3/n-6 脂肪酸比例的变化直接影响肌肉中的 *myod* 表达量<sup>[52]</sup>。本研究中, 辛酸通过调控转录因子 *myf5* 参与团头鲂肌纤维发育的增殖过程, 而 *myod* 的相对表达量没有受到不同碳链长度脂肪酸的影响, 可能是因为在功能上存在重叠区域, 可以协同启动鱼类肌源细胞的分化功能<sup>[53]</sup>。当 *myod* 表达受阻时, *myf5* 出现了代偿性表达, 因此并不影响团头鲂肌肉的发育状况<sup>[54]</sup>。与此同时, 饲料中不同碳链长度脂肪酸的添加提高了 *myog* 和 *mrf4* 基因的相对表达量, 尽管差异并不显著, 这可能与团头鲂肌纤维发育尚未到达成熟期, 甚至大部分仍处于成肌细胞增殖阶段有关。当肌纤维发育处于分化/融合期时, *myf5* 与 *myod* 尚且具有互补能力, 同时 *myog* 和 *mrf4* 的高表达阶段还未达到, 具体肌纤维发育所处阶段仍需进一步探讨。此外, 肌肉生长抑制素 (*mstn*) 是重要的负调节因子, 起到抑制超弹性骨骼肌的生长作用。目前利用多技术手段证实, *mstn* 的降调在斑马鱼发育过程中对肌纤维具有增生或肥大的作用<sup>[55]</sup>。本研究中, 丁酸组 *mstna* 基因表达降低, 这与该组肌纤维密度和较小直径 (<20 μm) 肌纤维比例的增加结果相符。以上这些结果都表明了不同碳链长度脂肪酸在肌纤维持续补充和肥大过程中的促进作用。

### 3.5 饲料中不同脂肪酸添加对能量感知通路相关 AMPK/Ca<sup>2+</sup>基因 mRNA 的影响

AMP 依赖的蛋白激酶 (AMPK) 作为机体的能量传感器, 具有在细胞水平平衡能量进出的重要功能。通过运动或能量等外部条件的激活作用, AMPK 获得磷酸化实现对下游靶向通路的调节, 其中就包括骨骼肌组织<sup>[56]</sup>。Sirt1 是 AMPK 信号通路中重要的下游受体, 已有研究表明, Sirt1 对营

养的可用性和能量的增减均能做出敏捷反应<sup>[57-58]</sup>。Wang 等<sup>[59]</sup>发现 DHA 可以通过 AMPK/Sirt1 途径调节 MRFs 的表达进而影响肌纤维的增殖与分化; 暴露在高脂环境的团头鲂原代肝细胞中 AMPK 及 Sirt1 蛋白水平显著增加<sup>[51]</sup>。这也就意味着, 脂肪酸的摄入可以通过 AMPK 上调细胞中 NAD<sup>+</sup> 的离子水平, 进一步激活下游沉默信息调节器 (Sirt1)<sup>[60]</sup>。CAM 激酶家族成员在骨骼肌功能中起重要作用, 更有多功能激酶可以实现肌肉塑形<sup>[61]</sup>。钙调素依赖性蛋白激酶 (CAMK) 和钙调神经磷酸酶 (CaN) 通过动作电位灵敏感知细胞中的 Ca<sup>2+</sup> 浓度变化<sup>[62]</sup>, 与此同时, 这种变化使得 CAMK 激活 CaN 进而显著促进调控肌肉发育基因的表达<sup>[61]</sup>。AMPK 和 Ca<sup>2+</sup> 依赖的信号通路是影响哺乳动物肌纤维类型转化的重要途径<sup>[63]</sup>。本研究中, 饲料丁酸的添加提升了 *ampka2* 和 *sirt1* 基因 mRNA 的表达量, 暗示其激活了 AMPK/Sirt1 通路; 同时不同碳链长度脂肪酸的添加显著上调了 *camk* 基因的相对表达量, Ca<sup>2+</sup> 依赖的信号通路也呈现激活状态。总之, 饲料中不同碳链长度脂肪酸的添加促进了团头鲂肌肉的增生和肥大过程, 这一调控机制可能通过 AMPK 及 Ca<sup>2+</sup> 依赖的信号通路共同实现。目前, AMPK 及 Ca<sup>2+</sup> 依赖的信号通路在鱼类肌纤维发育上的研究较少, 不同类型脂肪酸对鱼类肌纤维发育机制的影响仍有待补充完善。

## 4 结论

综上所述, 饲料中丁酸、辛酸、棕榈酸的添加可能通过 AMPK 和 Ca<sup>2+</sup> 依赖的信号通路提升团头鲂肌肉质地、肌纤维密度以及较小直径肌纤维 (<20 μm) 比例, 从而实现对团头鲂肌肉品质的改善。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

### 参考文献 (References):

- [1] 母昌考, 王春琳. 鱼类必需脂肪酸营养研究现状[J]. 饲料工业, 2003, 24(6): 44-46.  
Mu C K, Wang C L. Nutrition research situation of necessary fatty acid of fish[J]. *Feed Industry*, 2003, 24(6): 44-46 (in Chinese).
- [2] 唐传核, 徐建祥, 彭志英. 脂肪酸营养与功能的最新研究[J]. 中国油脂, 2000, 25(6): 20-23.  
Tang C H, Xu J X, Peng Z Y. Recent study on nutrition

- and function of fatty acids[J]. *China Oils and Fats*, 2000, 25(6): 20-23 (in Chinese).
- [ 3 ] 郭盼. 日粮中不同链长脂肪酸对两种鲤科鱼类生长、健康及繁殖的影响 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.
- Guo P. Influence of fatty acids with different chain length on growth performance, health and reproduction performance in two species of Cyprinidae fish[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2017 (in Chinese).
- [ 4 ] Jiang Y, Zhang W H, Gao F, *et al.* Effect of sodium butyrate on intestinal inflammatory response to lipopolysaccharide in broiler chickens[J]. *Canadian Journal of Animal Science*, 2015, 95(3): 389-395.
- [ 5 ] Sundram K, Hayes K C, Siru O H. Dietary palmitic acid results in lower serum cholesterol than does a lauric-myristic acid combination in normolipemic humans[J]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1994, 59(4): 841-846.
- [ 6 ] Alami-Durante H, Cluzeaud M, Duval C, *et al.* Early decrease in dietary protein: energy ratio by fat addition and ontogenetic changes in muscle growth mechanisms of rainbow trout: short- and long-term effects[J]. *British Journal of Nutrition*, 2014, 112(5): 674-687.
- [ 7 ] Veggetti A, Mascarello F, Scapolo P A, *et al.* Hyperplastic and hypertrophic growth of lateral muscle in *Dicentrarchus labrax* (L.)[J]. *Anatomy and Embryology*, 1990, 182(1): 1-10.
- [ 8 ] Jeltema M, Beckley J, Vahalik J. Food texture assessment and preference based on mouth behavior[J]. *Food Quality and Preference*, 2016, 52: 160-171.
- [ 9 ] Xu H G, Dong X J, Zuo R T, *et al.* Response of juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) to different dietary fatty acid profiles: growth performance, tissue lipid accumulation, liver histology and flesh texture[J]. *Aquaculture*, 2016, 461: 40-47.
- [10] 刘婧懿, 赵前程, 程少峰, 等. 鱼肉质构的影响因素及测定方法研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(9): 3035-3043.
- Liu J Y, Zhao Q C, Cheng S F, *et al.* Research progress on the influencing factors and determination methods of fish muscle texture[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2020, 11(9): 3035-3043 (in Chinese).
- [11] 邓士秋, 段青源, 申屠基康. 饲料脂质对养殖鱼类品质的影响[J]. *水产科学*, 2011, 30(5): 301-306.
- Deng S Q, Duan Q Y, Shen T J K. Effect of dietary lipids on flesh quality in farmed fish[J]. *Fisheries Science*, 2011, 30(5): 301-306 (in Chinese).
- [12] Zhou Z, Ren Z, Zeng H, *et al.* Apparent digestibility of various feedstuffs for bluntnose black bream *Megalobrama amblycephala* Yih[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2008, 14(2): 153-165.
- [13] 任阳. 饱和与不饱和脂肪酸对猪肌纤维组成的影响及其 AMPK 途径研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- Ren Y. Effect of saturated and unsaturated fatty acids on porcine muscle fiber composition and AMPK expression[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014 (in Chinese).
- [14] AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official Methods of Analysis[M]. 15th ed. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists, 1990.
- [15] Hixson S M, Parrish C C, Anderson D M. Full substitution of fish oil with camelina (*Camelina sativa*) oil, with partial substitution of fish meal with camelina meal, in diets for farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) and its effect on tissue lipids and sensory quality[J]. *Food Chemistry*, 2014, 157: 51-61.
- [16] Gross S R, Kinzy T G. Translation elongation factor 1A is essential for regulation of the actin cytoskeleton and cell morphology[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2005, 12(9): 772-778.
- [17] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [18] 晏显芳, 张明, 郭盼, 等. 饲料中丁酸钠添加水平对草鱼生长、脂代谢及健康的影响[J]. *畜牧兽医杂志*, 2021, 40(6): 1-10,13.
- Yan X F, Zhang M, Guo P, *et al.* Effects of dietary sodium butyrate supplemental level on growth, lipid metabolism and health of *Ctenopharyngodon idella*[J]. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2021, 40(6): 1-10,13 (in Chinese).
- [19] Robles R, Lozano A B, Sevilla A, *et al.* Effect of partially protected butyrate used as feed additive on growth and intestinal metabolism in sea bream (*Sparus aurata*)[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2013, 39(6): 1567-1580.
- [20] 魏朝青, 周慧慧, 王旋, 等. 高植物蛋白质饲料中添加

- 丁酸钠对大菱鲂幼鱼生长性能、营养物质表观消化率及肝脏抗氧化功能的影响[J]. *动物营养学报*, 2017, 29(9): 3392-3402.
- Wei C Q, Zhou H H, Wang X, *et al.* Effects of adding different levels of sodium butyrate in high plant protein diets on growth performance, nutrient apparent digestibility coefficients and liver antioxidant function of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.)(J). *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, 29(9): 3392-3402 (in Chinese).
- [21] Liu M M, Guo W, Wu F, *et al.* Dietary supplementation of sodium butyrate may benefit growth performance and intestinal function in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)(J). *Aquaculture Research*, 2017, 48(8): 4102-4111.
- [22] 潘加红, 彭艳, 谢飞. 丁酸钠对水生动物的促生长作用及其机理研究进展[J]. *饲料博览*, 2017(6): 33-37.
- Pan J H, Peng Y, Xie F. The effect of sodium butyrate on the growth performance and related mechanisms in aquatic animal[J]. *Feed Review*, 2017(6): 33-37 (in Chinese).
- [23] Molquentin J. Occurrence and biochemical characteristics of natural bioactive substances in bovine milk lipids[J]. *British Journal of Nutrition*, 2000, 84(S1): 47-53.
- [24] 耿春银, 孟庆翔, 张敏, 等. 中链脂肪酸对动物生长性能的影响及可能机制[J]. *饲料工业*, 2014, 35(17): 27-31.
- Geng C Y, Meng Q X, Zhang M, *et al.* Effects of medium chain fatty acid on animal growth performance and the possible mechanism[J]. *Feed Industry*, 2014, 35(17): 27-31 (in Chinese).
- [25] 陈银基, 鞠兴荣, 周光宏. 饱和脂肪酸分类与生理功能[J]. *中国油脂*, 2008, 33(3): 35-39.
- Chen Y J, Ju X R, Zhou G H. Classification and physiological function of saturated fatty acids[J]. *China Oils and Fats*, 2008, 33(3): 35-39 (in Chinese).
- [26] Bell J G, Henderson R J, Tocher D R, *et al.* Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism[J]. *The Journal of Nutrition*, 2002, 132(2): 222-230.
- [27] Sargent J, Bell G, McEvoy L, *et al.* Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish[J]. *Aquaculture*, 1999, 177(1-4): 191-199.
- [28] 何健. 中链甘油三酯在动物体内的代谢及应用研究[J]. *中国油脂*, 2004, 29(1): 14-18.
- He J. Metabolism in animal body and application of medium-chain triglycerides[J]. *China Oils and Fats*, 2004, 29(1): 14-18 (in Chinese).
- [29] 李新, 杨瑞斌, 钱雪桥, 等. 不同植物脂肪源对吉富罗非鱼生长性能、肌肉脂肪酸和生理生化指标的影响[J]. *水生生物学报*, 2016, 40(4): 672-680.
- Li X, Yang R B, Qian X Q, *et al.* Effect of dietary vegetable oils when fed to genetically improved farmed tilapia strain of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*(J). *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2016, 40(4): 672-680 (in Chinese).
- [30] Mata-Sotres J A, Marques V H, Barba D, *et al.* Increasing dietary SFA: MUFA ratio with low levels of LC-PUFA affected lipid metabolism, tissue fatty acid profile and growth of juvenile California yellowtail (*Seriola dorsalis*)(J). *Aquaculture*, 2021, 543: 737011.
- [31] 吉红, 田晶晶. 高不饱和脂肪酸(HUFAs)在淡水鱼类中的营养作用研究进展[J]. *水产学报*, 2014, 38(9): 1650-1665.
- Ji H, Tian J J. Research progresses of the nutritional effects of highly unsaturated fatty acids (HUFAs) in the freshwater fish[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, 38(9): 1650-1665 (in Chinese).
- [32] 石军, 褚武英, 张建社. 鱼类肌肉生长分化与基因表达调控[J]. *水生生物学报*, 2013, 37(6): 1145-1152.
- Shi J, Chu W Y, Zhang J S. Muscle growth, differentiation and gene expression regulation in fish[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2013, 37(6): 1145-1152 (in Chinese).
- [33] Fauconneau B, Alami-Durante H, Laroche M, *et al.* Growth and meat quality relations in carp[J]. *Aquaculture*, 1995, 129(1-4): 265-297.
- [34] Choi Y M, Kim B C. Muscle fiber characteristics, myofibrillar protein isoforms, and meat quality[J]. *Live-stock Science*, 2009, 122(2-3): 105-118.
- [35] Rowlerson A, Veggetti A. Cellular mechanisms of post-embryonic muscle growth in aquaculture species[J]. *Fish Physiology*, 2001, 18: 103-140.
- [36] 尹丽卿, 苏琳, 靳焯. 肌纤维特性与鱼肉品质的关系及其调控技术的研究进展[J]. *食品工业*, 2015, 36(2): 231-234.
- Yin L Q, Su L, Jin Y. Relationship between fish muscle

- fiber characteristics and meat quality and its regulation technology[J]. *The Food Industry*, 2015, 36(2): 231-234 (in Chinese).
- [37] Johnston I A, Alderson R, Sandham C, *et al.* Muscle fibre density in relation to the colour and texture of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)[J]. *Aquaculture*, 2000, 189(3-4): 335-349.
- [38] Hurling R, Rodell J B, Hunt H D. Fiber diameter and fish texture[J]. *Journal of Texture Studies*, 1996, 27(6): 679-685.
- [39] De Almeida F L, Carvalho R F, Pinhal D, *et al.* Differential expression of myogenic regulatory factor MyoD in pacu skeletal muscle (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei) during juvenile and adult growth phases[J]. *Micron*, 2008, 39(8): 1306-1311.
- [40] Overturf K, Barrows F T, Hardy R W, *et al.* Energy composition of diet affects muscle fiber recruitment, body composition, and growth trajectory in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture*, 2016, 457: 1-14.
- [41] Herring H K, Cassens R G, Riskey E J. Further studies on bovine muscle tenderness as influenced by carcass position, sarcomere length, and fiber diameter[J]. *Journal of Food Science*, 1965, 30(6): 1049-1054.
- [42] 曾勇庆, 孙玉民, 张万福, 等. 莱芜猪肌肉组织学特性与肉质关系的研究[J]. *畜牧兽医学报*, 1998, 29(6): 486-492.
- Zeng Y Q, Sun Y M, Zhang W F, *et al.* Studies on relationship of muscle histological characteristics to meat quality of Laiwu swine[J]. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 1998, 29(6): 486-492 (in Chinese).
- [43] 王春青, 李侠, 张春晖, 等. 肌原纤维特性与鸡肉原料肉品质的关系[J]. *中国农业科学*, 2014, 47(10): 2003-2012.
- Wang C Q, Li X, Zhang C H, *et al.* Study on relationship between myofibril characteristics and meat quality of chicken raw meat[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(10): 2003-2012 (in Chinese).
- [44] Cross H R, Smith G C, Carpenter Z L. Palatability of individual muscles from ovine leg steaks as related to chemical and histological traits[J]. *Journal of Food Science*, 1972, 37(2): 282-285.
- [45] Valente L M P, Cornet J, Donnay-Moreno C, *et al.* Quality differences of gilthead sea bream from distinct production systems in Southern Europe: intensive, integrated, semi-intensive or extensive systems[J]. *Food Control*, 2011, 22(5): 708-717.
- [46] Watabe S. Myogenic regulatory factors and muscle differentiation during ontogeny in fish[J]. *Journal of Fish Biology*, 1999, 55(sA): 1-18.
- [47] Valente L M P, Cabral E M, Sousa V, *et al.* Plant protein blends in diets for Senegalese sole affect skeletal muscle growth, flesh texture and the expression of related genes[J]. *Aquaculture*, 2016, 453: 77-85.
- [48] Johansen K A, Overturf K. Quantitative expression analysis of genes affecting muscle growth during development of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Marine Biotechnology*, 2005, 7(6): 576-587.
- [49] Yun K, Wold B. Skeletal muscle determination and differentiation: story of a core regulatory network and its context[J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 1996, 8(6): 877-889.
- [50] 刘宁, 邓雪娟, 王建平, 等. 生肌调节因子及肌生成调控因素研究进展[J]. *中国畜牧兽医*, 2015, 42(10): 2644-2649.
- Liu N, Deng X J, Wang J P, *et al.* Research progress on regulation factors of myogenic regulatory factors and myogenesis[J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2015, 42(10): 2644-2649 (in Chinese).
- [51] Huang Y Y, Jiang G Z, Abasubong K P, *et al.* High lipid and high carbohydrate diets affect muscle growth of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) through different signaling pathways[J]. *Aquaculture*, 2022, 548: 737495.
- [52] 庞小磊, 田雪, 王良炎, 等. 饲料中n-3/n-6多不饱和脂肪酸水平对黄河鲤鱼幼鱼生长性能及生长相关基因mRNA表达的影响[J]. *水产学报*, 2019, 43(2): 492-504.
- Pang X L, Tian X, Wang L Y, *et al.* Effects of dietary n-3/n-6 polyunsaturated fatty acids ratio on growth performance and growth-related genes mRNA expression in common carp (*Cyprinus carpio haematopterus*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(2): 492-504 (in Chinese).
- [53] Coutelle O, Blagden C S, Hampson R, *et al.* Hedgehog signalling is required for maintenance of *myf5* and *myoD* expression and timely terminal differentiation in

- zebrafish adaxial myogenesis[J]. *Developmental Biology*, 2001, 236(1): 136-150.
- [54] Gayraud-Morel B, Chrétien F, Flamant P, *et al.* A role for the myogenic determination gene *Myf5* in adult regenerative myogenesis[J]. *Developmental Biology*, 2007, 312(1): 13-28.
- [55] Xu C, Wu G, Zohar Y, *et al.* Analysis of *myostatin* gene structure, expression and function in zebrafish[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2003, 206(22): 4067-4079.
- [56] Suwa M, Nakano H, Kumagai S. Effects of chronic AICAR treatment on fiber composition, enzyme activity, UCP3, and PGC-1 in rat muscles[J]. *Journal of Applied Physiology*, 2003, 95(3): 960-968.
- [57] Cantó C, Gerhart-Hines Z, Feige J N, *et al.* AMPK regulates energy expenditure by modulating  $\text{NAD}^+$  metabolism and SIRT1 activity[J]. *Nature*, 2009, 458(7241): 1056-1060.
- [58] Suwa M, Nakano H, Radak Z, *et al.* Endurance exercise increases the SIRT1 and peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$  protein expressions in rat skeletal muscle[J]. *Metabolism*, 2008, 57(7): 986-998.
- [59] Wang C C, Liu W B, Huang Y Y, *et al.* Dietary DHA affects muscle fiber development by activating *AMPK/Sirt1* pathway in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. *Aquaculture*, 2020, 518: 734835.
- [60] Cantó C, Jiang L Q, Deshmukh A S, *et al.* Interdependence of AMPK and SIRT1 for metabolic adaptation to fasting and exercise in skeletal muscle[J]. *Cell Metabolism*, 2010, 11(3): 213-219.
- [61] Chin E R. Role of  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulin-dependent kinases in skeletal muscle plasticity[J]. *Journal of Applied Physiology*, 2005, 99(2): 414-423.
- [62] McCullagh K J A, Calabria E, Pallafacchina G, *et al.* NFAT is a nerve activity sensor in skeletal muscle and controls activity-dependent myosin switching[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(29): 10590-10595.
- [63] Hoppeler H. Molecular networks in skeletal muscle plasticity[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2016, 219(2): 205-213.

## Effects of dietary fatty acids carbon-chain lengths on growth, muscle fiber development and meat quality of *Megalobrama amblycephala*

WANG Xi, XIAO Kang, LIU Wenbin, DAI Yongjun, GUO Huixing,  
WANG Mangmang, LI Xiangfei, ZHANG Dingdong, JIANG Guangzhen \*

(Key Laboratory of Aquatic Nutrition of Jiangsu Province, College of Animal Science and Technology,  
Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** Dietary fat is an essential nutrient for fish growth. The appropriate sources and levels of fat in diets can not only meet the normal energy metabolism and physiological needs of culture fish, but also regulate its growth, immune, and reproductive performance. At present, a large number of studies on the utilization of fat sources in diets indicate that the demand for different fat sources in fish is essentially the demand for different types of fatty acids. Fatty acids are diverse and widely distributed in nature, and the absorption and utilization of dietary fatty acids by fish often vary depending on the length of the carbon chain. Previous studies have shown that the effects of fatty acids with different carbon chain lengths on fish are mostly concentrated on growth and development, gut microbiota, and lipid metabolism. However, there is little research on the effects of muscle fiber development and meat quality. Therefore, it is necessary to explore the mechanism of action of different fatty acid lengths on muscle fiber development. Therefore, 108 healthy *Megalobrama amblycephala* with an initial average weight of (77.89±0.81) g were selected and randomly divided into 4 groups with 3 replicates each, and were fed with basal diet (control group) and butyric acid (BA), octanoic acid (OA) and palmitic acid (PA) instead of 1.5% soybean oil for 8 weeks. The results showed that the addition of fatty acids with different carbon-chain lengths had no significant effect on growth, nevertheless, it could significantly improve the adhesiveness of muscle, the number of muscle fibers, the proportion of smaller muscle fibers (<20 μm) and sarcomere length compared to the control group. In terms of gene expression, OA significantly increased the mRNA expression of the myogenic factor *myf5*. BA can up-regulate the mRNA expression of *ampka2* and *sirt1* significantly, while down-regulating the myo-suppressor gene *mstnb*. *Camk*, the key gene of Ca<sup>2+</sup>-dependent signaling pathway, was also significantly elevated with the increase of the carbon-chain lengths of fatty acids in feed. This study showed that the dietary fatty acids with different carbon-chain lengths can effectively achieve the enhancement of muscle fibers development and meat quality of *M. amblycephala* through AMPK and Ca<sup>2+</sup>-dependent signaling pathways. This experiment provides basic data and theoretical basis for nutrient regulation of fish meat quality, and also a new pattern for nutritional enhancement of fish meat quality.

**Key words:** *Megalobrama amblycephala*; fatty acid; carbon-chain length; muscle fiber development; meat quality

**Corresponding author:** JIANG Guangzhen. E-mail: jianggz@njau.edu.cn

**Funding projects:** National Natural Science Foundation of China (32273146); Jiangsu Agricultural Science and Technology Innovation Fund [CX(21)3161]; China Agriculture Research System (CARS-45-12)