



胆汁酸对齐口裂腹鱼幼鱼脂肪沉积、脂肪代谢酶活性及相关基因表达的影响

向 泉^{1*}, 曾本和^{1,2}, 王 睿¹, 许耀升¹, 周兴华¹, 陈 建¹,
李代金¹, 朱成科¹, 林仕梅¹

(1. 西南大学水产学院, 淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室,

水产科学重庆市市级重点实验室, 重庆 402460;

2. 西藏自治区农牧科学院水产研究所, 西藏 拉萨 850000)

摘要: 为探讨胆汁酸对齐口裂腹鱼幼鱼生长、脂肪沉积、脂肪代谢及相关基因表达的影响; 实验以 360 尾初始体质量为 (12.74±0.14) g 的健康齐口裂腹鱼幼鱼为对象, 随机分为 4 组, 每组设 3 个重复组, 每个重复组放养 30 尾, 分别投喂胆汁酸含量为 0、75、150 和 300 mg/kg 的 4 种饲料, 养殖时间为 70 d。结果显示, 随着胆汁酸含量的升高, 齐口裂腹鱼的增重率 (WGR) 呈先升高后降低的变化趋势, 且在胆汁酸含量为 150 mg/kg 时达到最大, 为 226.63%; 其肠脂肪酶 (LPS)、肝酯酶 (HL)、脂蛋白脂酶 (LPL) 和总脂酶 (TL) 活性均呈先升高后趋于稳定的变化趋势; 而脂肪酸合成酶 (FAS) 活性则呈相反的变化趋势; 齐口裂腹鱼肝脏 LPL mRNA 表达量呈先上调后趋于稳定的变化趋势, FAS mRNA 表达量呈先下调后趋于稳定的变化趋势; 肝脏、肌肉及全鱼中粗脂肪含量均随胆汁酸含量的升高呈先降低后趋于稳定的变化趋势, 胆汁酸含量对实验鱼的成活率及脂肪沉积效率无显著性影响。研究表明, 本实验条件下, 添加适量的胆汁酸可有效上调齐口裂腹鱼 LPL mRNA 的表达量, 下调 FAS mRNA 的表达量, 增强脂肪代谢酶活性, 促进对饲料脂肪的消化和利用, 降低脂肪沉积, 保护肝脏健康。

关键词: 齐口裂腹鱼; 胆汁酸; 脂肪沉积; 脂肪代谢; 基因表达

中图分类号: S 963

文献标志码: A

脂肪是人和动物所需的重要营养素, 既能为人和动物提供能量, 又能提供其生长过程中所需要的必需脂肪酸, 同时脂肪可促进动物对各种脂溶性物质的吸收^[1]。在水产动物养殖中, 脂肪具有节约饲料蛋白质^[2]、减少氮的排泄量^[3]及改善养殖水环境的作用。饲料中脂肪含量不足时, 不能满足水产动物生长所需的能量, 水产动物则会利用体内的蛋白质作为能量来源, 从而降低其合成

代谢能力, 造成必需脂肪酸的缺乏, 影响其正常生长^[4], 甚至引发一些营养代谢性疾病。但饲料脂肪含量过高, 则将导致水产动物摄入脂肪过量, 腹腔、肝脏等部位脂肪沉积增多^[5], 造成肝脏损伤和代谢紊乱^[6], 降低鱼类的免疫能力^[7]和水产品的品质。胆汁酸是人和动物肝脏中胆固醇分解代谢产生的一类可溶于水的化合物, 可作为乳化剂, 有效地促进饲料中的脂类及脂溶性维生素的溶解、

收稿日期: 2021-07-22 修回日期: 2021-09-30

资助项目: 国家自然科学基金 (31672659); 重庆市基础与前沿研究计划 (cstc2013cyjA80033)

通信作者: 向泉, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: xiangx@126.com



消化和吸收^[8]。胆汁酸可以显著提高牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 消化道脂肪酶的活性^[9]；可通过激活 FXR 调节动物的脂类代谢^[10]，增强大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 胰脂肪酶和脂蛋白酯酶的活性^[11]。于漫涵等^[12]报道，胆汁酸与乳化胆汁酸都能有效提高花鲈 (*Lateolabrax maculatus*) 肝脏脂蛋白酯酶和肝脂酶的活性；促进鱼类的脂肪代谢，降低脂肪沉积，降低肌肉及肝脏中脂肪的含量^[13]，维持肝脏健康；改善肌肉中脂肪酸的组成^[14]。本实验旨在研究外源胆汁酸对齐口裂腹鱼 (*Schizothorax prenanti*) 幼鱼生长、脂肪沉积、脂肪代谢及 *FAS* mRNA 和 *LPL* mRNA 表达量的影响，以期丰富齐口裂腹鱼的营养生理，为胆汁酸在水产动物脂肪代谢调控中的应用提供参考。

1 材料与与方法

1.1 实验饲料

以鱼粉、豆粕、菜粕为蛋白源，大豆油为脂肪源， α -淀粉和次粉为糖源设计齐口裂腹鱼的基础饲料配方。在基础饲料中分别添加 0、75、150、300 mg/kg 的胆汁酸 (由广州市信豚水产技术有限公司提供，其有效成分为猪去氧胆酸，其有效成分的质量分数为 15%)，配制成 4 种等氮 (蛋白质含量为 38.96%) 等脂 (脂肪含量为 7.04%) 饲料。各原料均粉碎过 60 目筛，依据饲料配方，称重后混匀，采用逐级扩大法混合均匀，用小型绞肉机工成 1.0 mm 的颗粒饲料，自然风干后密封保存于 -4°C 条件下冰箱备用。基础饲料配方和营养组成见表 1。

1.2 实验鱼及饲养管理

实验用齐口裂腹鱼购自雅安冷水渔养殖场，为同一批繁殖的幼鱼。购回后先用 4% 的食盐水消毒后放入暂养池，以基础饲料饱食投喂，使其逐渐适应实验饲料及养殖环境。暂养 7 d 后，选择个体大小均匀，健康、无伤病，体质量为 (12.74 ± 0.14) g 的齐口裂腹鱼 360 尾。随机分为 4 组，每组 3 个重复，每个重复组投放 30 尾鱼，以重复为单位随机放入 12 个实验水族箱 ($1.06 \text{ m} \times 0.41 \text{ m} \times 0.38 \text{ m}$) 中，分别投喂 4 种不同胆汁酸水平的实验饲料，养殖时间 70 d。日投饲量为体质量的 3%~5%，每天 08:00、13:00、17:00 各投喂 1 次，待实验鱼摄食结束后，收集残饵，烘干并称重；实验期间保持微流水，每天水体的交换量为 30%。每日监测水温、水质、实验鱼的摄食行为和死亡

表 1 基础饲料配方及营养组成 (% 风干基础)

Tab. 1 Composition and nutrient levels of basal diets (% air-dry basis)

原料 ingredients	含量 contents
鱼粉 fish meal	42.00
豆粕 soybean meal	20.00
菜粕 rapeseed meal	10.00
α -淀粉 α -starch	14.00
次粉 wheat middling	4.00
大豆油 soybean oil	5.00
复合预混料 ¹ premix	1.00
氯化胆碱 choline chloride	1.00
磷酸二氢钙 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	1.00
DL-蛋氨酸 DL-Met	1.00
L-赖氨酸 L-Lys	1.00
营养成分² nutrient levels	
粗蛋白 crude protein	38.96
粗脂肪 crude lipid	7.04
水分 moisture	10.57
灰分 ash	10.02

注: 1. 预混料为每 1 kg 日粮提供的维生素和微量元素, VA 30 000 IU, VC 200mg, VD₃ 25 000 IU, VE 600 mg, VK 100 mg, VB₁ 5 mg, 烟酸 100 mg, 泛酸钙 120 mg, VB₆ 40 mg, VB₁₂ 0.2 mg, 生物素 7 mg, 叶酸 20 mg, 肌醇 250 mg. 微量元素 FeSO₄·7H₂O 121.83 mg, CuSO₄·5H₂O 7.20 mg, MnSO₄·H₂O 5.16 mg, ZnSO₄·7H₂O 15.56 mg, KI 6.58 mg, NaSeO₃ 2.10 mg. 2. 饲料营养成分为实测值
Notes: 1. compound premix provides vitamin and mineral for a kilogram of diets: VA 30 000IU, VC 200 mg, VD₃ 25 000 IU, VE 600 mg, VK 100 mg, VB₁ 5 mg, nicotinic acid 100 mg, calcium pantothenate 120 mg, VB₆ 40 mg, VB₁₂ 0.2 mg, biotin 7 mg, folic acid 20 mg, inositol 250 mg, FeSO₄·7H₂O 121.83 mg, CuSO₄·5H₂O 7.20 mg, MnSO₄·H₂O 5.16 mg, ZnSO₄·7H₂O 15.56 mg, KI 6.58 mg, NaSeO₃ 2.10 mg. 2. The feed nutrient content were measured values

数量等。水温维持在 15~20 $^{\circ}\text{C}$ ，溶氧高于 6.0 mg/L，pH 7.0~7.5。氨氮含量低于 0.10 mg/L，亚硝酸盐氮含量低于 0.01 mg/L。

1.3 样品采集

实验结束后对实验鱼饥饿 24 h 并用 MS-222 (50 mg/L) 麻醉，然后对每个重复组进行计数、称重。从每个组中随机取 10 尾鱼，放在冰盘上先切取其背部肌肉，用于测定实验鱼肌肉脂肪的含量。再迅速解剖鱼类并取出肝脏脏和肠道，用 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的生理盐水冲洗，然后用滤纸吸干，取部分肝脏脏装入样品袋用于提取 RNA，肠道及剩余的肝脏脏则参照叶元土等^[14]的方法制作肝脏脏和肠道粗酶液，用于测定脂肪代谢酶活性。将所有样品迅速在液氮中冷冻后置于 -80°C 冰箱中备用。增重率 (WGR)、脂肪沉积率 (LR)、成活率 (SR) 根

据以下的公式计算:

增重率 (weight gain rate, WGR, %)=(终末体质量-初始体质量)/初始体质量×100;

成活率 (survival rate, SR, %)=实验结束后实验鱼数量/实验开始前实验鱼数量×100;

脂肪沉积率 (lipid deposition rate, LDR, %)=(终末体质量×实验结束后鱼体中粗脂肪含量-初始体质量×实验开始前鱼体中粗脂肪含量)/摄入饲料粗脂肪含量。

1.4 鱼体脂肪含量的测定

实验鱼的背部肌肉、肝脏、全鱼脂肪组织粗脂肪采用索氏抽提法(GB 5009. 6-2010)测定。

1.5 脂肪代谢酶活性的测定

肠道脂肪酶(LPS)、脂肪酸合成酶(FAS)、脂蛋白脂酶(LPL)及肝酯酶(HL)活性均采用南京生物工程研究所试剂盒方法测定。

1.6 基因表达分析

用 Trizol 试剂盒 (Invitrogen, USA) 提取肝脏总 RNA, 用 Nanodrop 分光光度计测 RNA 浓度, 利用 Promega GoScript 反转录试剂盒合成 cDNA, 并置于-20 °C 待用。采用定量 ABI7900 实时定量 PCR 检测系统。qPCR 反应体系: 50 °C 2 min; 95 °C 10 min; 95 °C 15 s; 40 个循环。随后 60 °C 1 min, 95 °C 30 s。PCR 反应后采用扩增曲线获得目的基因与管家基因 β -actin 的 C_t 值, 计算它们之间 C_t 值的差值记为 ΔC_t , 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法对齐口裂腹鱼的基因 mRNA 表达量进行差异分析, 计算目的基因相对表达量^[14], 引物由华大基因有限公司合成(表 2)。

1.7 数据分析

数据先采用 SPSS 19.0 统计软件中 One-Way ANOVA 进行单因子方差分析, 若差异显著, 则采用 Duncan 氏进行多重比较, 显著性水平设为 0.05。实验结果采用“平均值±标准差”表示。

2 结果

2.1 胆汁酸对齐口裂腹鱼幼鱼增重率、体脂肪含量及脂肪利用率的影响

齐口裂腹鱼的终末体质量(FBW)、增重率(WGR)均随着胆汁酸含量的增加呈现升高后降低的变化趋势, 均在胆汁酸含量为 150 mg/kg 时达

表 2 实时定量 PCR 引物序列

基因 genes	引物序列 primer sequence(5'-3')	登录号 GenBank accession number
LPL	F: GCAACAACACTACCCTACATC	KF738266
	R: GGTGAGAAGACCAGCAAT	
FAS	F: CAGTTGTGAAGACTCGGC	KF738265
	R: CCTCTGTCCAGTAGTGTATG	
β -actin	F: GATTCGCTGGAGATGATGCT	JQ013000
	R: CGTTGTAGAAGGTGTGATGCC	

到最大, 且 FBW 显著高于其余各实验组 ($P<0.05$), 但在胆汁酸含量为 75 与 300 mg/kg 时差异不显著 ($P>0.05$); WGR 则在胆汁酸含量大于 75 mg/kg 时差异不显著 ($P>0.05$), 但均显著高于对照组 ($P<0.05$)(表 3)。随着胆汁酸含量的升高, 实验鱼肝脏、肌肉、全鱼粗脂肪含量均呈先降低后趋于稳定的变化趋势, 均在胆汁酸含量为 150 mg/kg 时达到最低; 在胆汁酸含量在 75 和 300 mg/kg 时无显著性差异 ($P>0.05$), 均显著低于对照组 ($P<0.05$); 胆汁酸含量对成活率和脂肪沉积率无显著性影响 ($P>0.05$)。

2.2 胆汁酸对齐口裂腹鱼幼鱼脂肪代谢酶活性的影响

随胆汁酸含量升高, 齐口裂腹鱼幼鱼肠脂肪酶(LPS)、肝酯酶(HL)、脂蛋白脂酶(LPL)和总脂酶(TL)的活性均呈先升高后趋于稳定的变化趋势(表 4)。LPS、LPL 及 TL 活性均在胆汁酸含量大于 150 mg/kg 时无显著性差异 ($P>0.05$), 但均显著高于对照组 ($P<0.05$); HL 活性则在胆汁酸含量为 75 和 300 mg/kg 时无显著性差异 ($P>0.05$), 但显著高于对照组 ($P<0.05$)。脂肪酸合成酶(FAS)活性随胆汁酸含量的升高呈降低的变化趋势, 但各实验组无显著性差异 ($P>0.05$)。

2.3 胆汁酸对齐口裂腹鱼幼鱼 LPL mRNA、FAS mRNA 表达量的影响

随饲料中胆汁酸含量增加, 齐口裂腹鱼幼鱼肝脏 LPL mRNA 相对表达量呈先升高后趋于稳定的变化趋势(图 1), 在胆汁酸含量为 150 和 300 mg/kg 时无显著性差异 ($P>0.05$), 但显著高于 0 和 75 mg/kg 胆汁酸组 ($P<0.05$); 肝脏 FAS mRNA 相对表达量则随着饲料胆汁酸含量的增加呈先降低后趋于稳

表 3 胆汁酸水平对齐口裂腹鱼生长及脂肪沉积的影响

Tab. 3 Effects of bile acid supplemental level on growth and lipid deposition of juvenile *S. prenanti*

项目 items	胆汁酸含量/(mg/kg) bile acid levels			
	0	75	150	300
初始体质量/g IBW	12.77±0.13	12.86±0.09	12.74±0.19	12.59±0.09
终末体质量/g FBW	35.04±0.75 ^a	39.04±2.06 ^b	41.60±2.10 ^c	38.89±1.82 ^b
增重率/% WG	174.40±5.15 ^a	203.76±17.31 ^b	226.63±18.41 ^b	208.76±12.56 ^b
成活率/% SR	90.23±2.67	89.18±3.05	92.46±2.42	90.84±3.38
肌肉粗脂肪/% crude lipid in muscle	5.47±0.06 ^b	4.78±0.14 ^a	4.77±0.10 ^a	4.79±0.03 ^a
肝脏粗脂肪/% crude lipid in hepatopancreas	10.92±0.43 ^c	9.39±0.74 ^b	8.23±1.03 ^a	8.35±1.77 ^a
全鱼粗脂肪/% crude lipid in whole body	8.17±0.47 ^{bc}	7.72±0.14 ^{abc}	7.35±0.39 ^a	7.43±0.49 ^a
脂肪沉积率/% lipid deposition rate	70.67±6.43	69.01±8.37	64.08±9.14	65.25±3.46

注：表中同行数据肩标相同小写字母或无字母表示差异不显著($P>0.05$)，不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下表同

Notes: In the same row, values with the same small letter superscripts or no letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$), while with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$). The same as below

表 4 胆汁酸水平对齐口裂腹鱼幼鱼脂肪代谢酶活性的影响

Tab. 4 Effects of bile acid supplemental level on fat metabolism enzyme activities of juvenile *S. prenanti*

项目 items	胆汁酸含量/(mg/kg) bile acid levels			
	0	75	150	300
脂肪酶/(U/g) LPS	2335.43±20.14 ^a	2574.85±63.03 ^b	2702.46±18.33 ^c	2708.33±10.02 ^c
脂肪酸合成酶/(U/g) FAS	245.32±19.84	232.41±16.33	209.33±10.14	201.89±26.91
肝酯酶/(U/mg pro) HL	2.66±0.12 ^a	3.37±0.15 ^b	3.72±0.03 ^b	3.72±0.11 ^b
脂蛋白酯酶/(U/mg pro) LPL	4.33±0.06 ^a	4.82±0.06 ^b	5.13±0.07 ^c	5.21±0.15 ^c
总脂酶/(U/mg pro) TL	6.99±0.19 ^a	8.19±0.09 ^b	8.85±0.10 ^c	8.94±0.14 ^c

定的变化趋势，胆汁酸含量为 75 和 300 mg/kg 时无显著性差异 ($P>0.05$)，但 150 和 300 mg/kg 胆汁酸组显著低于对照组 ($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 胆汁酸对齐口裂腹鱼幼体生长及脂肪沉积的影响

胆汁酸作为一种天然的乳化剂，可有效地将脂质乳化成为脂滴或乳糜微粒，增大脂肪与酶的接触面积，同时胆汁酸与脂肪消化后的产物形成复合物容易被上皮细胞所识别，促进饲料脂肪的消化吸收^[8]，促进动物的生长，降低脂肪的沉积。研究发现，适量的胆汁酸能提高草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 生长性能，促进其脂肪代谢，降低机体脂肪沉积^[15]，乳化胆汁酸可显著提高花鲈的增重率，提高其对饲料脂肪的分解能力，降低肌肉中粗脂肪含量，减少脂肪沉积，维持其肝脏健康^[12]；毕清竹等^[14]发现，饲料中添加适量的胆

汁酸可降低红鳍东方鲀 (*Takifugu rubripes*) 组织中一系列长链脂肪酸的含量；胆汁酸可显著降低军曹鱼 (*Rachycentron canadum*)^[13]、欧洲鳗鲡 (*Anguilla anguilla*)^[16]、大菱鲆^[17]、罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*)^[18] 等肌肉及肝脏中粗脂肪含量。本实验中，胆汁酸能有效地提高齐口裂腹鱼的增重率，降低其全鱼、肌肉及肝脏中粗脂肪含量。与上述研究基本一致。分析原因，可能是胆汁酸乳化了饲料中的脂肪及脂肪酸，使脂肪酶结合到甘油三酯的脂滴表面，提高脂肪酶活性^[11]，提高了动物对饲料脂肪及干物质的消化率。而且，胆汁酸具有杀菌抑菌的作用^[19]，可改善动物肠道健康，提高肠道蛋白酶的数量和活性，促进各种营养物质的消化吸收。研究表明，胆汁酸可提高牛蛙 (*Rana catesbeiana*) 对饲料干物质、粗脂肪及粗蛋白质的表观消化率^[20]；促进大菱鲆幼鱼对玉米蛋白粉中干物质、粗蛋白质、总氨基酸、总能的表观消化率^[21]，促进脂肪及脂肪酸氧化^[22]，为养殖动物的生命活动提供能量，促进动物的生长，

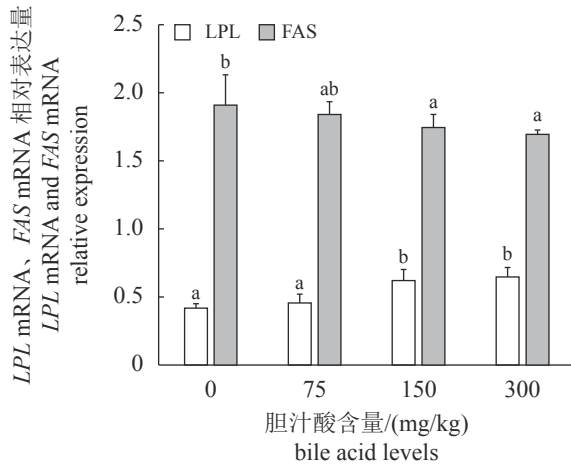


图1 胆汁酸对齐口裂腹鱼幼鱼 *LPL* mRNA 和 *FAS* mRNA 相对表达量的影响

不同添加量中相同基因表达数据柱间具有不同上标字母表示存在显著性差异 ($P < 0.05$)

Fig. 1 Effects of bile acid supplemental level on *LPL* mRNA and *FAS* mRNA relative expression of juvenile *S. prenanti*

Different superscript letters between the same gene expression data columns in different supplemental levels indicated significant different ($P < 0.05$)

减少脂肪的沉积; 同时, 胆汁酸可激活动物褐色脂肪细胞表面 G 蛋白偶联胆汁酸受体 (TGR5), 提高胞内环腺苷酸 (cAMP) 和甲状腺激素水平, 加快机体的基础代谢速度, 从而提高脂肪组织的代谢速度^[23], 改善脂肪在动物体内的转运, 降低动物体组织中粗脂肪的含量。因此胆汁酸可有效地促进鱼类生长, 减少脂肪沉积。

3.2 胆汁酸对齐口裂腹鱼幼鱼脂肪代谢及相关基因表达的影响

LPS 是脂肪吸收的关键酶, 胆汁酸能将小肠内脂肪酶原激活为有活性的 LPS 而发挥作用, 并能增强其活性, 促进脂肪消化^[24], 提高大菱鲂肠道 LPS 的活性^[11]; Alam 等^[9]认为胆汁酸可以显著提高牙鲆 LPS 活性, 促进脂肪代谢。本实验中, 齐口裂腹鱼肠道 LPS 活性随着胆汁酸添加水平的升高呈先升高后趋于稳定的趋势, 与上述研究结果基本一致, 说明适量的胆汁酸可有效提高 LPS 的活性, 增强对饲料脂肪的分解代谢, 减少脂肪在鱼体中的沉积。

在水产动物的脂肪合成和沉积过程中 HL、LPL 是调节机体脂肪沉积和脂质代谢的关键因子^[25]。LPL 可将血液中的乳糜颗粒和 VLDL 携带的 TG

水解成甘油和脂肪酸^[26], 控制其在组织的含量, 决定摄入脂类的代谢途径^[27]。HL 则在肝细胞中合成, 可作为配体促进 LDL 和乳糜颗粒残粒进入肝细胞, 并直接参与 HDL-C 的逆转和 HDL 残粒的分解^[28]。胆汁酸均可显著提高大菱鲂幼鱼 LPL、HL 和 TL 的活性^[11]; *LPL* mRNA 表达水平的高低决定了动物各组织器官中脂质底物配额的相对量, 间接决定了从食物中摄入脂类的代谢途径, 并最终对机体脂质蓄积状况产生决定性影响^[26]。本实验中, 添加胆汁酸可显著上调齐口裂腹鱼 *LPL* mRNA 的表达量, 提高其肝脏中 LPL、HL 和 TL 活性。与上述研究结果基本一致。可能是因为胆汁酸促进了鱼类对饲料脂肪的分解, 提高了肠道中短链脂肪酸浓度, 进而调控齐口裂腹鱼肝脏中 *LPL* mRNA 的表达量, 影响肝脏 LPL 活性, 加速了胆固醇转运与代谢, 降低肝脏脂肪含量; 另一方面, 胆汁酸能上调载脂蛋白 A-V 和 C-II 的表达, 激活 LPL, 并通过将脂肪乳化成乳糜颗粒, 促进肝细胞 HL 分泌, 调节 TG 的代谢^[29]; 同时胆汁酸能够激活 FXR- α , 通过诱导 SHP 表达来调节与 HDL 代谢密切相关的转运载体^[30], 降低血浆 HDL 浓度。因此胆汁酸可上调 *LPL* mRNA 的表达, 增强 HL、LPL 的活性, 提高齐口裂腹鱼对饲料脂肪的利用能力。

FAS 是脂肪合成的关键酶, 能催化乙酰辅-A 和丙二酸单酰辅酶-A 合成长链饱和脂肪酸, 在动物体脂生成及沉积中发挥重要的作用。PUFA 是 *FAS* mRNA 的强抑制剂。添加 1% 的 PUFA 使大鼠肝脏中 *FAS* mRNA 表达水平下调 75%^[31]。而添加胆汁酸可促进水产动物对饲料脂肪的消化、吸收、分解和利用, 产生大量的 PUFA^[32], 进而抑制 *FAS* mRNA 的表达。同时, 胆汁酸是 FXR 受体的天然配体, 能显著下调小鼠的 *SREBF1*、*FAS* mRNA 表达水平, 实现对其肝脏脂质代谢的调节, 并减少肝脏的脂质积聚^[33]。本实验中, 随着胆汁酸添加量的增加, 齐口裂腹鱼 *FAS* mRNA 表达量呈逐渐下调的变化趋势。与上述研究基本一致。说明胆汁酸可以在调控 *FAS* mRNA 的表达, 最终使其翻译水平下降, 降低体脂的合成水平, 减少脂肪沉积。

4 结论

胆汁酸能有效促进齐口裂腹鱼生长, 上调 *LPL* mRNA 的表达量, 下调 *FAS* mRNA 的表达量,

提高其血清 LPS、HL、LPL 和 TL 活性, 促进对饲料脂肪的消化和利用, 降低其肝脏、肌肉和全鱼粗脂肪含量, 减少脂肪在肝脏和腹腔中的沉积, 保护肝脏健康。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Leaver M J, Bautista J M, Björnsson B T, *et al.* Towards fish lipid nutrigenomics: Current state and prospects for fin-fish aquaculture[J]. *Reviews in Fisheries Science*, 2008, 16(S1): 73-94.
- [2] Vergara J M, López-Calero G, Robaina L, *et al.* Growth, feed utilization and body lipid content of gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed increasing lipid levels and fish meals of different quality[J]. *Aquaculture*, 1999, 179(1-4): 35-44.
- [3] Takeuchi T, Watanabe T, Ogino C. Optimum ratio of protein to lipid in diets of rainbow trout[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1978, 44(6): 683-688.
- [4] Huang C H, Lin W Y, Chu J H. Dietary lipid level influences fatty acid profiles, tissue composition, and lipid peroxidation of soft-shelled turtle, *Pelodiscus sinensis*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2005, 142(3): 383-388.
- [5] 曾本和, 向泉, 周兴华, 等. 高脂饲料中胆汁酸水平对齐口裂腹鱼肠道组织结构及脂肪代谢酶活性的影响[J]. *水产学报*, 2016, 40(9): 1340-1348.
- Zeng B H, Xiang X, Zhou X H, *et al.* Effect of bile acid level in high lipid diet on the intestinal structure and lipid metabolic enzymes activities of juvenile *Schizothorax prenanti*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2016, 40(9): 1340-1348 (in Chinese).
- [6] Bonvini E, Parma L, Mandrioli L, *et al.* Feeding common sole (*Solea solea*) juveniles with increasing dietary lipid levels affects growth, feed utilization and gut health[J]. *Aquaculture*, 2015, 449: 87-93.
- [7] 李灏, 姜颖, 贺福初. 胆汁酸功能及其与肠道细菌相互关系[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2007, 23(10): 817-822.
- Li H, Jiang Y, He F C. Bile acids function and their interaction with gut bacteria[J]. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2007, 23(10): 817-822 (in Chinese).
- [8] Romański K W. The role and mechanism of action of bile acids within the digestive system-bile acids in the liver and bile[J]. *Advances in Clinical & Experimental Medicine*, 2007, 16(6): 793-799.
- [9] Alam M S, Teshima S, Ishikawa M, *et al.* Methionine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* estimated by the oxidation of radioactive methionine[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2001, 7(3): 201-209.
- [10] Hanniman E A, Lambert G, McCarthy T C, *et al.* Loss of functional farnesoid X receptor increases atherosclerotic lesions in apolipoprotein E-deficient mice[J]. *Journal of Lipid Research*, 2005, 46(12): 2595-2604.
- [11] 孙建珍, 王际英, 马晶晶, 等. 不同脂肪水平下添加胆汁酸对大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)幼鱼生长、体组成和脂肪代谢的影响[J]. *海洋与湖沼*, 2014, 45(3): 617-625.
- Sun J Z, Wang J Y, Ma J J, *et al.* Effects of dietary bile acids on growth, body composition and lipid metabolism of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) at different lipid levels[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2014, 45(3): 617-625 (in Chinese).
- [12] 于漫涵, 董衍邹, 赖州文, 等. 不同胆汁酸对花鲈生长性能、血清生化指标及脂肪代谢的影响[J]. *饲料工业*, 2021, 42(2): 55-59.
- Yu M H, Dong Y Z, Lai Z W, *et al.* Effects of different bile acids on growth performance, serum biochemical indexes and lipid metabolic indexes of spotted seabass (*Lateolabrax maculatus*) [J]. *Feed Industry*, 2021, 42(2): 55-59 (in Chinese).
- [13] 周书耘, 刘永坚, 梁海鸥, 等. 饲料中添加胆汁酸对军曹鱼生长及体组成的影响[J]. *南方水产科学*, 2010, 6(4): 20-25.
- Zhou S Y, Liu Y J, Liang H O, *et al.* Effect of bile acids on growth and body composition of cobia (*Rachycentron canadum*) [J]. *South China Fisheries Science*, 2010, 6(4): 20-25 (in Chinese).
- [14] 毕清竹, 梁萌青, 廖章斌, 等. 饲料中胆汁酸对红鳍东方鲀脂肪酸组成及抗氧化能力的影响[J]. *上海海洋大学学报*, 2020, 29(6): 829-839.
- Bi Q Z, Liang M Q, Liao Z B, *et al.* Effect of dietary bile acid supplementation on fatty acid composition and antioxidative capacity of tiger puffer *Takifugu rubripes* [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2020, 29(6): 829-839 (in Chinese).
- [15] 曾本和, 廖增艳, 向泉, 等. 胆汁酸对草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)的生长性能、肌肉营养成分及消化酶活

- 性的影响[J]. *渔业科学进展*, 2017, 38(2): 99-106.
- Zeng B H, Liao Z Y, Xiang X, *et al.* Effects of bile acids on growth performance, muscle composition and digestive enzyme activities of *Ctenopharyngodon idellus*[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(2): 99-106 (in Chinese).
- [16] 赵盼月. 饲料中添加胆汁酸对欧洲鳗鲡幼鱼生长、血清生化指标、肠道菌群及肝脏代谢的影响[D]. 厦门: 集美大学, 2019.
- Zhao P Y. Effects of dietary bile acid supplementation on growth performance, serum biochemical parameters, intestinal flora and liver metabolism of juvenile European eel (*Anguilla anguilla*)[D]. Xiamen: Jimei University, 2019 (in Chinese).
- [17] 黄炳山, 李宝山, 张利民, 等. 胆汁酸对大菱鲆幼鱼生长、脂肪代谢酶及血清生化的影响[J]. *上海海洋大学学报*, 2015, 24(5): 737-744.
- Huang B S, Li B S, Zhang L M, *et al.* Effects of dietary bile acid on growth performance, fatty enzymatic activities and biochemical indices of turbot *Scophthalmus maximus* L. juveniles[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2015, 24(5): 737-744 (in Chinese).
- [18] 王恒. 不同脂肪源及胆汁酸对罗氏沼虾生长性能及脂肪酸组成的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2010.
- Wang H. Effect of different lipid sources and bile acid on growth performance and fatty acid composition in *Macrobrachium rosenbergii*[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2010 (in Chinese).
- [19] Rodriguez E V A, Zuñiga E, Montes C L, *et al.* Interleukin-4 biases differentiation of B cells from *Trypanosoma cruzi*-infected mice and restrains their fratricide: Role of Fas ligand down-regulation and MHC class II-transactivator up-regulation[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2003, 73(1): 127-136.
- [20] 胡田恩, 王玲, 张春晓, 等. 饲料中添加胆汁酸对牛蛙生长性能、体组成和营养物质表观消化率的影响[J]. *水生生物学报*, 2015, 39(4): 677-685.
- Hu T E, Wang L, Zhang C X, *et al.* Effects of dietary bile acid supplementation on the growth, whole-body composition and apparent nutrient digestibility of bullfrog (*Rana Catesbeiana*)[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2015, 39(4): 677-685 (in Chinese).
- [21] 田莹, 何良, 周慧慧, 等. 大菱鲆幼鱼对玉米蛋白粉中营养物质的表观消化率及添加胆汁酸和酶制剂对其产生的影响[J]. *动物营养学报*, 2017, 29(9): 3211-3219.
- Tian Y, He G, Zhou H H, *et al.* Nutrient apparent digestibility coefficients of corn gluten meal for juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) and effects of adding bile acid and enzyme preparation on them[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, 29(9): 3211-3219 (in Chinese).
- [22] 陈昊杰, 田晶晶, 周继术, 等. 高脂日粮添加胆汁酸对草鱼组织脂肪酸组成的影响[J]. *西北农业学报*, 2017, 26(1): 14-24.
- Chen H J, Tian J J, Zhou J S, *et al.* High-lipid diet supplemented with bile acids affects the tissue fatty acid profile in grass carp, *Ctenopharyngodon idella*[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2017, 26(1): 14-24 (in Chinese).
- [23] Watanabe M, Houten S M, Matak C, *et al.* Bile acids induce energy expenditure by promoting intracellular thyroid hormone activation[J]. *Nature*, 2006, 439(7075): 484-489.
- [24] 刘敬盛, 杨玉芝, 王君荣, 等. 胆汁酸营养功能及作用机制的研究进展[J]. *中国饲料*, 2010(6): 35-37,43.
- Liu J S, Yang Y Z, Wang J R, *et al.* Research advance on the nutritional functions and mechanism of bile acid[J]. *China Feed*, 2010(6): 35-37,43 (in Chinese).
- [25] Goldberg I J. Lipoprotein lipase and lipolysis: Central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis[J]. *Journal of Lipid Research*, 1996, 37(4): 693-707.
- [26] Zechner R. The tissue-specific expression of lipoprotein lipase: Implications for energy and lipoprotein metabolism[J]. *Current Opinion in Lipidology*, 1997, 8(2): 77-88.
- [27] Choi S Y, Goldberg I J, Curtiss L K, *et al.* Interaction between ApoB and hepatic lipase mediates the uptake of ApoB-containing lipoproteins[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1998, 273(32): 20456-20462.
- [28] 倪燕君, 刘厚钰, 张顺财, 等. 肝脂酶、脂蛋白脂肪酶在脂肪肝发病中的作用[J]. *中华消化杂志*, 1999, 19(5): 324-327.
- Ni Y J, Liu H Y, Zhang S C, *et al.* The role of hepatic lipase and lipoprotein lipase in the pathogenesis of fatty liver[J]. *Chinese Journal of Digestion*, 1999, 19(5): 324-327 (in Chinese).
- [29] Sirvent A, Claudel T, Martin G, *et al.* The farnesoid X receptor induces very low density lipoprotein receptor gene expression[J]. *FEBS Letters*, 2004, 566(1-3): 173-177.
- [30] Boulias K, Katrakili N, Bamberg K, *et al.* Regulation of hepatic metabolic pathways by the orphan nuclear

- receptor SHP[J]. *The EMBO Journal*, 2005, 24(14): 2624-2633.
- [31] Sessler A M, Kaur N, Palta J P, *et al.* Regulation of stearyl-CoA desaturase 1 mRNA stability by polyunsaturated fatty acids in 3T3-L1 adipocytes[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271(47): 29854-29858.
- [32] 曾端, 李力, 王群初, 等. 胆汁酸在动物营养研究中的应用[J]. *饲料研究*, 2002(5): 19-20.
- Zeng D, Li L, Wang Q C, *et al.* Application of bile acid in animal nutrition[J]. *Feed Research*, 2002(5): 19-20 (in Chinese).
- [33] Claudel T, Staels B, Kuipers F. The Farnesoid X receptor: a molecular link between bile acid and lipid and glucose metabolism[J]. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2005, 25(10): 2020-2030.

Effects of dietary bile acid on lipid deposition, lipid metabolism enzyme activities and related gene expression to juvenile *Schizothorax prenanti*

XIANG Xiao^{1*}, ZENG Benhe^{1,2}, WANG Rui¹, XU Yaosheng¹, ZHOU Xinghua¹,
CHEN Jian¹, LI Daijin¹, ZHU Chengke¹, LIN Shimei¹

(1. Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development, Ministry of Education, Key Laboratory of Aquatic Science of Chongqing, College of Fisheries, Southwest University, Chongqing 402460, China;
2. Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Fisheries Research Institute, Lhasa 850000, China)

Abstract: This experiment was conducted to investigate the effects of dietary bile acid levels on growth, lipid deposition, lipid metabolism enzyme activities and related gene expression of juvenile *Schizothorax prenanti*. A total of 360 juvenile *S. prenanti* with an average body weight of (12.74±0.14) g were randomly divided into 4 groups with 3 replicates per group and 30 fish per replicate. The diets with different bile acid supplemental levels (0, 75, 150 and 300 mg/kg) were fed to juvenile *S. prenanti* for 70 days. The results showed that: with bile acid supplemental level raising, the weight gain rate(WGR) had a trend of increasing first and decreasing later ($P < 0.05$). The WGR was the highest (226.63%) when the bile acid supplemental level was 150 mg/kg. At the same time, the activities of intestinal lipase (*LPS*), hepatopancreas hepatic lipase (*HL*), lipoprotein lipase (*LPL*) and total lipase (*TL*) were all increased at first and then leveled off ($P < 0.05$), conversely, the activities of fatty acid synthase (*FAS*) were decreased at first and then leveled off ($P < 0.05$) with dietary bile acid levels raising. Meanwhile, with dietary bile acid levels raising, the liver *LPL* mRNA expression of *S. prenanti* increased first and then tended to stabilization ($P < 0.05$), *FAS* mRNA expression decreased first and then tended to level off ($P < 0.05$). The lipid content of liver, muscle and whole fish were all trended to level off with dietary bile acid levels raising ($P < 0.05$). As well as the survival rate and lipid deposition rate were not significantly different of *S. prenanti* ($P > 0.05$). Collectively, the results of above indicate that the suitable dietary bile acid levels can upregulate *LPL* mRNA expression and downregulate *FAS* mRNA expression of *S. prenanti*, enhance the activities of fat metabolism enzymes, promote the digestion and utilization of feed fat, reduce lipid deposition and protect liver health effectively.

Key words: *Schizothorax prenanti*; bile acid; lipid deposition; lipid metabolism; gene expression

Corresponding author: XIANG Xiao. E-mail: xiangx@126.com

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31672659); Basic and Advanced Research Projects in Chongqing (cstc2013jcyjA80033)