

## 不同投饵率对团头鲂幼鱼血脂水平及 脂肪代谢相关基因表达的影响

徐超, 李向飞, 田红艳, 周嫚, 蔡万存, 刘文斌\*

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

**摘要:** 为了探究不同投饵率对团头鲂幼鱼脂肪代谢机能的影响, 选取840尾平均体质量为(23.74±0.09) g的团头鲂幼鱼, 随机分为6组, 每组4重复, 每重复35尾鱼, 分别对应6种投饵率: 2%、3%、4%、5%、6%和7%(日投喂量占鱼体质量的比例), 饲养60 d后, 测定其血脂水平及脂肪代谢相关基因表达的指标。结果发现, 随着投饵率的升高, 血浆甘油三酯和总胆固醇含量先升高后降低, 且各组间差异显著; 6%投饵率组血浆高密度脂蛋白和5%投饵率组的低密度脂蛋白含量显著高于2%组, 但与其他组无显著差异; 而血浆极低密度脂蛋白含量在投饵率为4%时最高。此外, 不同投饵率对脂肪代谢相关基因的表达量也有显著影响。当投饵率由2%升高至4%时, 肝脏酰基肉碱转移酶I和II、脂酰辅酶A氧化酶、载脂蛋白B、脂肪酸结合蛋白、过氧化物酶体增殖物激活受体等的mRNA表达量显著升高; 当投饵率进一步升高时, 载脂蛋白B、脂酰辅酶A氧化酶、脂肪酸结合蛋白和过氧化物酶体增殖物激活受体 $\beta$ 呈现下降趋势, 但差异不显著; 投饵率3%和6%组的脂蛋白酯酶的mRNA表达量显著高于其他组, 而肝X受体和脂肪酸转运蛋白的表达量则随着投饵率的升高呈先上升后下降的趋势, 并分别在投饵率为3%和5%时达到最高值。研究表明, 不同投饵率显著影响了团头鲂幼鱼的血脂含量和肝脏脂质代谢相关基因的表达水平; 投饵率为2%~3%时, 脂肪酸转运和氧化的程度较低; 投饵率为5%~7%时, 将导致血脂含量和脂肪沉积相关基因的表达量降低; 投饵率为4%~5%时能够维持团头鲂幼鱼脂肪代谢的平衡。

**关键词:** 团头鲂; 投饵率; 血脂水平; 脂质代谢; 基因表达

**中图分类号:** S 965.1

**文献标志码:** A

近年来, 世界水产养殖业迅猛发展, 其规模化和集约化程度不断提高。然而, 在获取丰厚经济利益的同时, 一系列负面问题也随之而来。其中, 鱼体脂肪过度沉积和脂肪代谢障碍等问题尤为突出。研究表明, 饲料营养成分不均衡、投喂策略不合理以及水体污染因素等均会导致鱼体脂肪代谢紊乱, 造成其生长速度缓慢、饲料系数上升、抗应激能力下降、进而影响鱼类的正常生理功能和免疫能力, 严重时甚

至引起鱼类死亡, 给生产造成巨大损失<sup>[1-2]</sup>。因此, 考虑到经济等方面的因素, 有必要探究鱼类脂肪代谢的机理及其影响因素。早期学者们的研究发现, 鱼体脂肪沉积很大程度上取决于鱼体规格、年龄、投喂策略和饲料营养成分等因素<sup>[3-4]</sup>。其中, 营养水平如蛋白质、脂肪、糖类及维生素等对鱼体脂肪代谢的影响已有较多报道<sup>[5]</sup>, 但投喂策略和鱼体脂肪代谢之间的相互关系还知之甚少。投喂策略中, 投饵率与鱼类

收稿日期: 2015-10-12 修回日期: 2016-08-01

资助项目: 国家大宗淡水鱼类产业技术体系(CARS-46-20); 长三角现代农业区大学农业科技服务模式关键技术集成与示范(2013BAD20B05)

通信作者: 刘文斌, E-mail: wbliu@njau.edu.cn

的生长性能和体脂含量之间的关系最为密切, 因为其影响了鱼类对各种营养素尤其是能量的摄入量, 而能量的收支会显著影响鱼体的脂肪含量, 进而影响鱼体的脂肪代谢机能。鉴于此, 研究不同投饵率对鱼体脂肪代谢机能的影响具有重要意义。

团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)是我国著名的淡水草食性鱼类, 主要分布于长江中下游地区。由于其具有生长速度快、抗病力强等优点, 目前已经在我国广泛养殖<sup>[5]</sup>。前期, 关于投饵率对团头鲂幼鱼生长性能、肠道酶活性及内分泌功能影响的研究中发现, 投饵率为4%~5%时能够显著提高团头鲂幼鱼的生长性能、饲料转化率、肠道酶活性及生长相关基因的表达水平, 且根据投饵率与特定生长率的折线回归模型得到最适宜的投饵率为4.57%<sup>[6]</sup>。与此同时, 研究发现投饵率还会显著影响鱼体脂肪含量, 但其潜在的作用机制尚不明确。因此, 本实验旨在以团头鲂幼鱼为研究对象, 分析不同投饵率对其血脂含量和脂肪代谢相关基因表达量的影响, 以期揭示投饵率影响鱼体脂肪代谢机能的机理, 并通过改变投喂策略来改善团头鲂养殖过程中出现的体脂过度沉积和脂肪代谢障碍等问题。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验鱼和实验设计

实验用鱼购自江苏省扬州市国家良种场。在开始实验前将团头鲂幼鱼暂养于南京农业大学浦口试验基地的大塘网箱内2周, 期间用商品饲料进行驯化。待其适应环境后, 挑选出外表健康、规格整齐、均体质量为(23.74±0.09) g的团头鲂840尾, 随机分成6组, 每组4个重复, 每个重复35尾。

养殖实验在室外24个网箱(规格: 1.0 m×1.0 m×1.2 m)中进行, 每个网箱随机设置对应一个投饵率, 实验共包含6个投饵率即2%、3%、4%、5%、6%和7%(日投喂量占实验鱼体质量的比例)。为了确定团头鲂幼鱼的最大投饵率, 在实验正式开始前做预试验, 试验期为一周。期间, 设置8个投饵率即2%~9%, 结果表明当投饵率为8%和9%时, 实验鱼摄食后有剩料现象出现, 表明团头鲂幼鱼的最大摄食率在7%左右。实验所用日

粮购自南京帅丰饲料有限公司, 其概略养分组成如表1所示。养殖周期为60 d, 每日投喂3次(6:30、11:30和16:30), 每次持续半个小时。每隔10天将鱼捞出称取总重, 根据体质量变化调整投喂量。实验期间, 水温为(27±2) °C, 溶解氧大于3.8 mg/L, pH为7.2~7.5。

表1 实验饲料营养组成(% , 以风干样为基础)

Tab. 1 Proximate composition of the experimental diet

营养组成 composition	含量 contents
水分% moisture	7.1
粗蛋白% crude protein	33.4
粗脂肪% crude lipid	7.2
粗灰分% crude ash	8.4
能量/(MJ/kg) energy	15.6

### 1.2 样品采集

养殖实验结束后, 禁食24 h, 以网箱为单位称取总重。每个网箱随机取6尾鱼, 用浓度为100 mg/L的MS-222(Sigma, 美国)对鱼体进行麻醉, 然后用1%肝素钠处理过的针管从尾静脉采血, 采集后的血液放置于2 mL的抗凝管中, 4 °C下3000 r/min离心10 min, 然后将血浆置于-20 °C冰箱中保存备用。采血后, 将鱼迅速解剖并取出肝脏, 然后液氮速冻之后于-70 °C冷冻备用。

### 1.3 样品测定

血浆中甘油三酯(TG)、总胆固醇(CHO)、高密度脂蛋白(HDL)和低密度脂蛋白(LDL)含量均采用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒进行测定, 试剂盒编号分别为A110-1、A111-1、A112-1、A113-1, 详细测定原理和步骤参见试剂盒说明书。极低密度脂蛋白(VLDL)水平采用Sigma公司生产的酶联免疫吸附测定试剂盒进行分析测定, 试剂盒编号为H249, 详细测定方法参见试剂盒说明书。

**总RNA提取、反转录** 按照TaKaRa公司的RNAiso Plus试剂盒说明书提取肝脏总RNA, 通过电泳检测RNA的完整性, Eppendorf核酸分析仪检测其纯度。最后, 采用Takara Prime Script® RT reagent Kit反转录试剂盒合成cDNA, 并置于-20 °C待用。

**定量PCR** (1)引物设计: 根据GenBank数

数据库中的序列, 利用Primer 5.0软件设计内参基因 $\beta$ -actin(登录号: AY170122)、酰基肉碱转移酶I (carnitine palmityl transferase I, CPT I)(登录号: KJ141198)、过氧化物酶体增殖物激活受体 $\alpha$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ , PPAR $\alpha$ )(登录号: HM140628)、过氧化物酶体增殖物激活受体 $\beta$  (peroxisome proliferator-activated

receptor  $\beta$ , PPAR $\beta$ )(登录号: HM140629)、脂蛋白酯酶 (lipoprotein lipase, LPL)(登录号: KF114279), 其他引物的设计则参照前期通过高通量基因测序技术获得的序列<sup>[7]</sup>。引物由上海Invitrogen公司合成, 序列参见表2。(2)使用Takara公司生产的SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq TM II试剂盒进行定量PCR, 具体步骤参见说明书。

表2 定量PCR引物序列

Tab. 2 Nucleotide sequences of the primers used to assay gene expression by real-time PCR

名称 target gene	正义链序列 forward(5'-3')	反义链序列 reverse(5'-3')
脂蛋白酯酶 LPL	TGTGAAGGACGTCGACAAAG	TGAGAAGCTGCATGTTTTGG
酰基肉碱转移酶I CPT I	TACTTCCAAGCGGTGAG	AGAGGTATGTCCGAGCC
过氧化物酶体增殖物激活受体 $\alpha$ PPAR $\alpha$	GTGCCAATACTGTGCTTTCAG	CCGCCTTAAACCTCAGCTTCT
过氧化物酶体增殖物激活受体 $\beta$ PPAR $\beta$	CATCCTCACGGGCAAGAC	CACTGGCAGCGGTAGAAG
脂酰辅酶A氧化酶 ACO	GCTCAACCCTGGCATACT	CTGGCTCAGCTTACACG
载脂蛋白B Apo B	GAGCCCGTGCTTCTGTAT	ACTCCTTTGCTGTAGCCTTT
脂肪酸结合蛋白 FABP	GCTTTCCTCCCTCCAGT	AAACCGTCACTAACACCTT
酰基肉碱转移酶II CPT II	CCATAGCCCACTCCGAAAC	TGCCGCCATAAACCCACAA
肝X受体 LXR	ACGCCCTCCACTTTACA	GCGGGAGTTTCTGTCTT
脂肪酸转运蛋白 FATP	CTTCTTCTGGTGGCATCCT	TGGGTCAACAGTCGCATTCT
$\beta$ -actin	CGGACAGGTCATCACCATTG	CGCAAGACTCCATACCCAAGA

Notes: LPL. lipoprotein lipase; CPT I. carnitine palmityl transferase I; PPAR $\alpha$ . peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ ; PPAR $\beta$ . peroxisome proliferator-activated receptor  $\beta$ ; ACO. acetyl-CoA oxidase; Apo B. apolipoprotein B; FABP. fatty acid binding protein; CPT II. carnitine palmityl transferase II; LXR. Liver X receptor; FATP. fatty acid transport protein

## 1.4 数据处理

数据用SPSS 19.0软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA), 并用Tukey氏 HSD多重比较法分析实验结果的差异显著性, 差异显著水平为 $P < 0.05$ 。所有实验结果以 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 表示, 每组4个重复。

## 2 结果

### 2.1 不同投饵率对血脂水平的影响

不同投饵率对团头鲂幼鱼血脂水平有显著影响, 当投饵率由2%升高至4%时, 血浆中总胆固醇、甘油三酯和极低密度脂蛋白含量均显著升高( $P < 0.05$ ); 当投饵率升高至7%时, 其含量均有所降低。投饵率5%组的高密度脂蛋白含量最高, 其与7%投饵率组之间无显著差异( $P > 0.05$ ), 但显著高于其他组( $P < 0.05$ )。当投饵率由2%升高

至5%时, 低密度脂蛋白含量显著升高( $P < 0.05$ ); 当投饵率升高至7%时, 其含量显著降低( $P < 0.05$ ) (表3)。

### 2.2 不同投饵率对脂肪代谢相关基因表达的影响

不同投饵率对肝脏脂肪代谢相关基因的表达量有显著的影响。在脂肪转运相关基因表达中, 当投饵率由2%升高至5%时, 脂肪酸转运蛋白的表达量显著升高( $P < 0.05$ ); 但当投饵率增加至7%, 其表达量则显著下降( $P < 0.05$ )。当投饵率由3%升高到5%时, 载脂蛋白B和脂肪酸结合蛋白的表达量均表现出先升高后下降的趋势, 而脂蛋白酯酶表达量的变化趋势却与之相反(图1)。当投饵率从2%升高到4%时, 酰基肉碱转移酶I(除2%组)、酰基肉碱转移酶II、脂酰辅酶A氧化酶和过氧化物酶体增殖物激活受体 $\alpha$ 与 $\beta$ 的表达量

表 3 不同投饵率对团头鲂幼鱼血脂水平的影响 mmol/L  
Tab. 3 Effects of different feeding rates on plasma lipid profiles of juvenile blunt snout bream mmol/L

	投饵率/% feeding rate					
	2	3	4	5	6	7
总胆固醇 CHO	4.72±0.05 <sup>c</sup>	6.72±0.05 <sup>d</sup>	9.92±0.09 <sup>a</sup>	7.24±0.18 <sup>c</sup>	8.98±0.10 <sup>b</sup>	7.38±0.03 <sup>c</sup>
甘油三酯 TG	1.17±0.06 <sup>d</sup>	1.70±0.04 <sup>c</sup>	2.48±0.01 <sup>a</sup>	2.18±0.03 <sup>b</sup>	2.01±0.05 <sup>b</sup>	2.01±0.01 <sup>b</sup>
高密度脂蛋白 HDL	5.60±0.09 <sup>d</sup>	7.62±0.11 <sup>c</sup>	7.48±0.03 <sup>c</sup>	9.45±0.20 <sup>b</sup>	10.54±0.02 <sup>a</sup>	9.44±0.18 <sup>b</sup>
低密度脂蛋白 LDL	0.81±0.09 <sup>d</sup>	0.86±0.01 <sup>d</sup>	1.29±0.05 <sup>c</sup>	1.96±0.08 <sup>a</sup>	1.64±0.08 <sup>b</sup>	1.21±0.04 <sup>c</sup>
极低密度脂蛋白 VLDL	0.84±0.01 <sup>b</sup>	0.89±0.01 <sup>a</sup>	0.90±0.01 <sup>a</sup>	0.76±0.004 <sup>c</sup>	0.70±0.01 <sup>d</sup>	0.67±0.003 <sup>d</sup>

注: 同行肩标不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )

Notes: mean values in the same line with different superscripts were significantly different ( $P < 0.05$ )

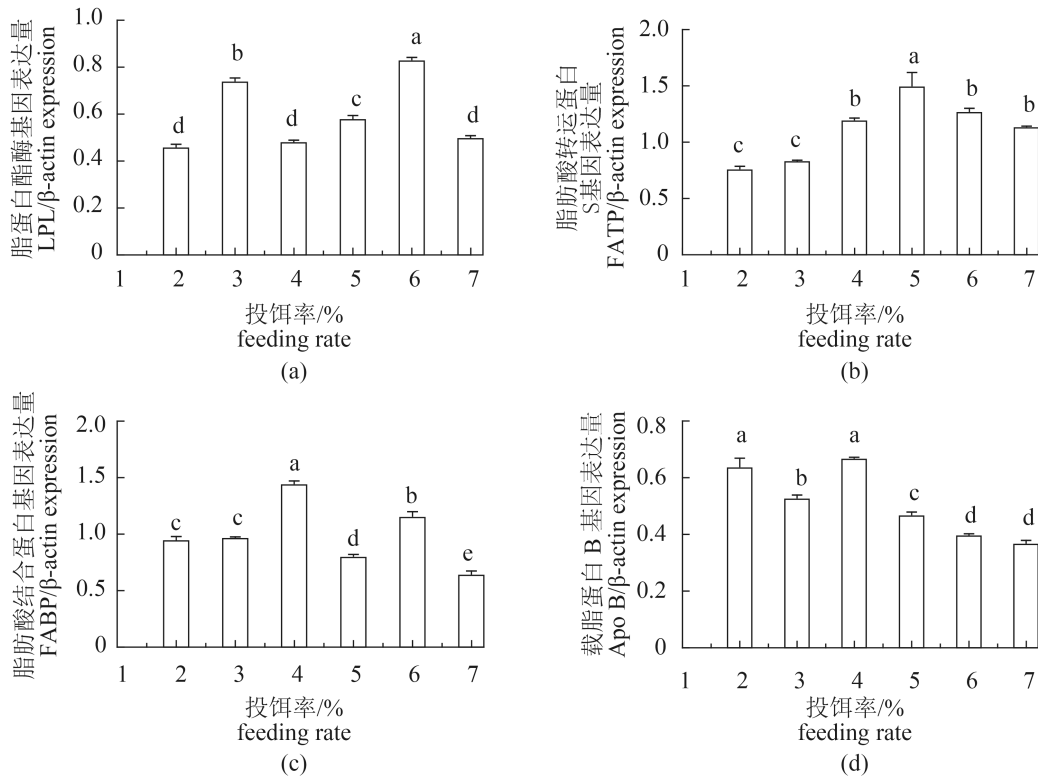


图 1 不同投饵率对团头鲂幼鱼肝脏脂肪转运相关基因表达量的影响

字母不同代表存在显著差异 ( $P < 0.05$ ), 下同

Fig. 1 Relative mRNA expressions of genes related to lipid transportation in the liver of juvenile blunt snout bream subjected to different feeding rates

different superscripts mean significant difference ( $P < 0.05$ ), the same below

均显著升高 ( $P < 0.05$ ); 但随着投饵率的增加, 脂酰辅酶A氧化酶和过氧化物酶体增殖物激活受体 $\beta$ 的表达量则显著下降 ( $P < 0.05$ ) (图2与图3)。肝X受体的变化趋势与其相似, 但在投饵率为3%时达到峰值, 而后显著下降 ( $P < 0.05$ ) (图3)。

### 3 讨论

脂肪代谢包括脂肪的吸收、合成、分泌、运输和氧化等过程<sup>[8]</sup>。正常情况下, 鱼体内的脂肪代谢处于一个动态平衡的过程。然而, 当鱼体吸收或自身合成的脂肪大于排出体外或者被

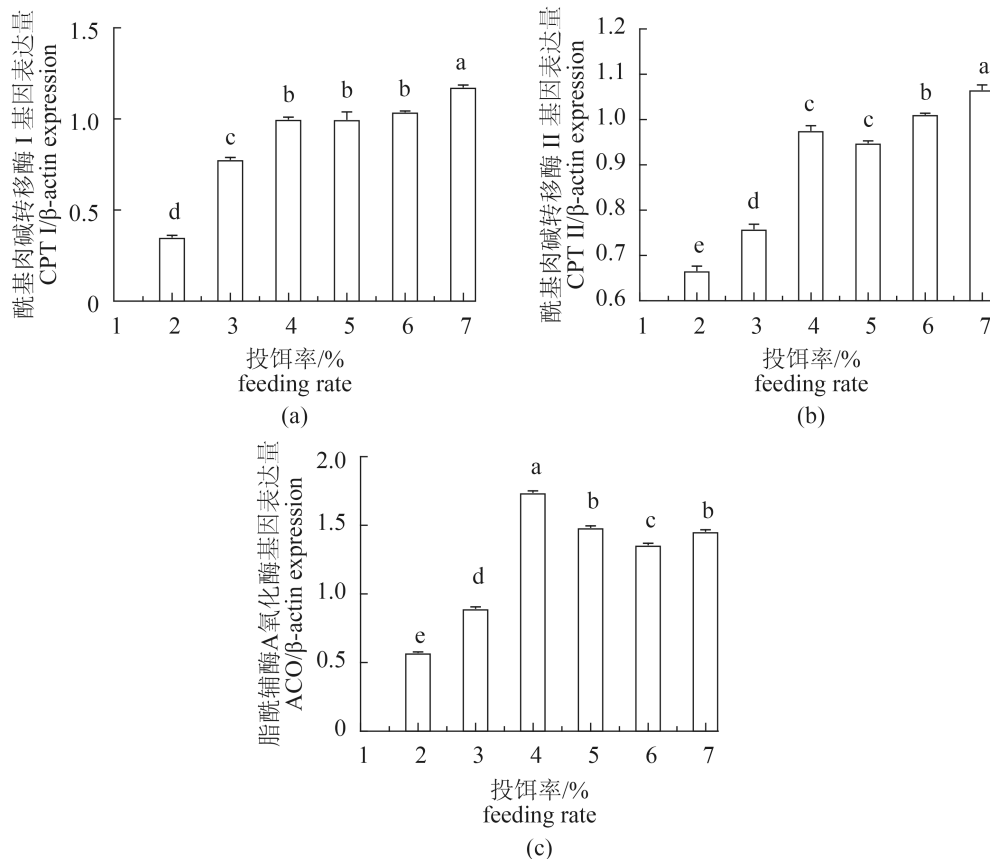


图2 不同投饵率对团头鲂幼鱼肝脏脂肪分解相关基因表达量的影响

Fig. 2 Relative mRNA expressions of genes related to lipolysis in the liver of juvenile blunt snout bream subjected to different feeding rates

氧化的脂肪时, 鱼体脂肪代谢的“稳态”就会被打破<sup>[9]</sup>。前期的研究表明, 当投饵率由2%升高至4%时, 全鱼脂肪含量显著升高; 而当投饵率升高至7%时, 体脂含量则呈下降趋势<sup>[6]</sup>, 这表明, 投饵率影响了鱼体脂肪代谢的“稳态”。为了探究潜在的机制, 本研究从以下两个方面进行阐述, 以期部分揭示投饵率影响鱼体脂肪代谢机理的机理。

### 3.1 投饵率对血脂水平的影响

血液是机体内运输营养物质与代谢废物的载体, 血脂水平在一定程度上反映了机体内脂肪的代谢情况<sup>[10]</sup>。本实验中, 当投饵率由2%升高到4%时, 血浆CHO和TG含量均显著升高, 且4%组的VLDL含量也显著高于其他实验组, 表明适宜的投饵率促进了鱼体肝脏内脂肪的转运。这是因为, VLDL是运输内源性TG的主要形式<sup>[11]</sup>, 其含量升高时机体内脂肪转运程度相应增强。随着投饵率的进一步增加, 血浆TG、CHO和

VLDL含量均有所降低, HDL和LDL含量的变化趋势与之相似。原因主要有以下两点: ①HDL是CHO由外周组织转运至肝脏进行分泌、降解或重复利用的载体<sup>[12]</sup>。当投饵率过高时, 鱼体摄入的脂肪含量显著增加, 其血浆脂质水平也相应升高。血浆中过高的CHO水平触发了HDL的合成, 以便降低血液和组织中CHO的含量, 进而维持正常的脂肪代谢稳态。②当血液中CHO和VLDL的含量降低时, 为了达到脂肪代谢的平衡, LDL的含量也随之下降, 因为LDL是CHO从肝脏运输到外周组织细胞中进行代谢转变的重要载体, 它的形成受到VLDL的制约<sup>[13]</sup>。本次实验结果与张春暖等<sup>[10]</sup>在梭鱼(*Chelon haematocheilus*)上及杜震宇<sup>[14]</sup>等在草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)上的研究报道相似。

### 3.2 投饵率对脂肪代谢相关基因表达的影响

肝脏是机体重要的器官之一, 其通常被用于确定鱼体营养和生理状态<sup>[15]</sup>。同时, 它还参与

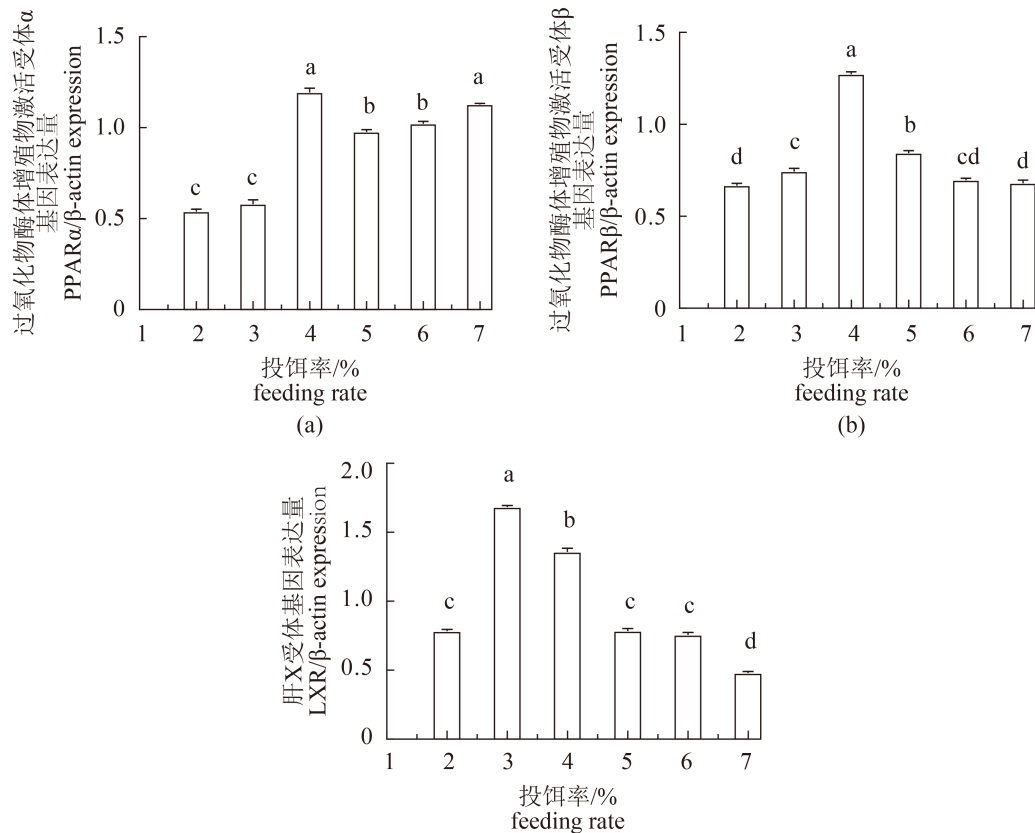


图 3 不同投饵率对团头鲂幼鱼肝脏脂肪转录调控因子相关基因表达量的影响

Fig. 3 Relative mRNA expressions of several transcription factors in the liver of juvenile blunt snout bream subjected to different feeding rates

脂肪的吸收、分泌、氧化和运输过程<sup>[16]</sup>。因此,测定鱼类肝脏中脂肪代谢相关基因的表达量可以有效地反映鱼体脂肪代谢的情况。研究发现,脂蛋白运载着脂肪经体内循环系统到达全身各组织后,在LPL的作用下断开其酯键,形成脂肪酸后进入细胞进行氧化分解或者脂肪合成<sup>[17]</sup>。因此,LPL对脂肪酸的吸收及脂肪的储积有较大影响。本试验中,4%投饵率组的鱼体肝脏中LPL的表达量低于其他各组(除2%投饵率组外),表明适宜的投饵率能够降低LPL的表达量,进而增加鱼体脂肪的含量。这是因为较低LPL表达量表明鱼体有着较弱的将内源或外源性脂肪水解成脂肪酸的形式被外周组织吸收利用的能力<sup>[17]</sup>。因此,低LPL表达量对应着高鱼体脂肪含量,这与先前的研究结果一致<sup>[6]</sup>。此外,本实验结果表明,随着投饵率的增加FATP的表达量呈现出先增加后降低的趋势,这与鱼体脂肪及血脂含量的变化结果相似<sup>[6]</sup>,表明FATP表达的升高能够促进鱼体脂肪的沉积,这与Richards等<sup>[18]</sup>在大鼠上

的研究结果一致。这是因为在脂肪酸进入细胞的过程中,FATP负责将脂肪酸从细胞膜外运输到细胞膜内<sup>[19]</sup>,从而促进了鱼体脂肪的沉积。此外,随着投饵率的增加,FABP表达量也呈现出先增加后降低的趋势,这与脂肪酸氧化相关的指标呈现出一致性的特点。这是因为脂肪酸在细胞内的运输主要由FABP负责,它将脂肪酸输送到特定的亚细胞部分(如:过氧化物酶、线粒体、内质网等)进行氧化供能<sup>[20]</sup>,进而降低鱼体脂肪含量。

脂肪酸通过运载蛋白进入亚细胞部分后,主要进行的是线粒体的β-氧化。本实验结果表明,当投饵率由2%升高至4%时,团头鲂肝脏中CPT I、CPT II和ACO的表达量均显著升高;当投饵率进一步升高时,仅ACO的表达量有所下降,这表明不同的投饵率能够显著影响线粒体对脂肪酸的β-氧化作用。研究表明,CPT I、CPT II和ACO是脂肪酸β-氧化过程中限速酶,其表达量的高低与脂肪酸氧化分解的程度密切相关<sup>[21]</sup>,这与

Morais等<sup>[22]</sup>研究报道一致。在本实验中,投饵率由2%升高至4%时所引起的血脂含量升高,可能对脂肪酸 $\beta$ -氧化相关基因表达量的上调起到了一定的反馈调节作用;同时,随着投饵率的进一步增加,鱼体的血脂含量有所下降但并不显著,而脂肪酸 $\beta$ -氧化相关基因(即:CPT I和CPT II)的表达量却显著上升,可能是由于鱼体摄入过多脂肪后,诱导了它们的表达,从而加速脂肪的分解。同时,这也更加明确了投饵率能够影响线粒体对脂肪酸的 $\beta$ -氧化这一事实。在脂肪运输系统中,VLDL具有重要的调节作用,它的合成受到Apo B表达量的制约。本实验中,随投饵率的增加,Apo B和VLDL表达量均在4%组达到最大值,且随着投饵率的进一步增加,二者又表现出了下降的趋势。究其原因,可能是由于过高的投饵率促进胰岛素的分泌,而胰岛素会抑制Apo B的表达,进而导致了VLDL含量的降低。

研究表明,一些重要的脂肪代谢调控因子在鱼体脂肪代谢中也发挥着至关重要的作用。其中,最重要的是过氧化物酶体增殖物激活受体(PPARs)。在鱼类中,它存在三种亚型即PPAR $\alpha$ 、PPAR $\beta$ 和PPAR $\gamma$ ,三者鱼体脂肪代谢中起着不同作用。本研究中,随投饵率的增加PPAR $\alpha$ 的表达量也表现出增加的趋势,这也表明投饵率可以影响鱼体脂肪酸的分解。因为PPAR $\alpha$ 能够诱导LPL、ACO、FATP、FABP和CPT I等基因的表达,促进组织对脂肪酸的摄取<sup>[23-25]</sup>,进而增强对肝脏脂肪酸的 $\beta$ -氧化能力<sup>[24]</sup>。此外,当投饵率由5%升高至7%时,PPAR $\beta$ 的表达量呈现出下降的趋势,这与血脂含量的变化相似,表明过高的投饵率能够引起鱼体脂肪含量的下降。先前的研究表明,PPAR $\beta$ 主要参与机体内脂肪的合成和循环等过程<sup>[26]</sup>,其表达量的降低表明机体脂肪合成能力下降。除PPARs外,LXR对鱼体脂肪代谢也起着关键性的作用。LXR是细胞核超家族的成员之一,可以调节脂质代谢相关基因的表达及调控胆固醇的运输过程<sup>[27]</sup>。本实验中,随投饵率的增加LXR表达量先升高后降低,鱼体脂肪含量也有相似的变化趋势<sup>[6]</sup>,说明不同投饵率影响了LXR的表达,进而调节鱼体脂肪的沉积。王强等<sup>[28]</sup>在老鼠的研究上发现,LXR能够上调脂代谢基因的表达,进而促进脂肪的积累,本研究结果与其相符。值得一提的是,在本实验中投饵率由2%升高至4%时显著增加了鱼体脂肪及血脂

含量,这一结果进而表现为上调了LPL、LXR、FATP和PPAR $\beta$ 等脂肪合成相关基因的表达量。同时,当鱼体内血脂含量及脂肪沉积增多时,可能会进一步诱导CPT I、CPT II、FABP和PPAR $\alpha$ 等脂肪酸 $\beta$ -氧化相关基因的表达,促进脂肪的分解。此外,随投饵率的进一步增加鱼体脂肪及血脂含量均有所下降,这可能是由于过高的投饵率加速了脂肪的转化和分解。因为当鱼体摄入过多能量后,为了维持机体的代谢平衡会将其转化为其他所需的物质(例如:蛋白质),这与王朝明等<sup>[29]</sup>对胭脂鱼(*Myxocyprinus asiaticus*)的研究报道一致。同时,这一物质转化过程也需要消耗一部分脂肪酸 $\beta$ -氧化供给的能量,进而有助于促进脂肪的分解。

## 4 结论

综上所述,不同投饵率显著影响团头鲂幼鱼的血脂含量和肝脏中与脂肪代谢相关基因的表达量。2%~3%投饵率组会使鱼类脂肪摄入量不足,从而导致脂肪沉积相关基因的表达量升高,促进脂肪在鱼体的蓄积;5%~7%投饵率组会导致鱼体脂肪分解相关基因的表达量升高,进而造成鱼体脂肪的沉积量下降;4%~5%投饵率组能够维持鱼体脂肪代谢的平衡。这表明,在实际生产中可以通过调整投饵率来调控鱼体脂肪含量。

## 参考文献:

- [1] Kiron V. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2012, 173(1-2): 111-133.
- [2] Li X F, Liu W B, Lu K L, et al. Dietary carbohydrate/lipid ratios affect stress, oxidative status and non-specific immune responses of fingerling blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2012, 33(2): 316-323.
- [3] Li X F, Jiang G Z, Qian Y, et al. Molecular characterization of lipoprotein lipase from blunt snout bream *Megalobrama amblycephala* and the regulation of its activity and expression by dietary lipid levels[J]. *Aquaculture*, 2013, 416-417(2): 23-32.
- [4] Velázquez M, Zamora S, Martínez F J. Effect of different feeding strategies on gilthead sea bream (*Sparus aurata*) demand-feeding behaviour and nutritional utilization of the diet[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2006, 12(6): 403-409.

- [5] 蔡东森, 蒋广震, 王丽娜, 等. 甘草次酸对团头鲂生长、脂肪沉积与抗氧化功能的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(9): 1514-1521.  
Cai D S, Jiang G Z, Wang L N, *et al.* Effects of dietary glycyrrhetic acid levels on growth performance, lipid deposition and antioxidant capacity of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(9): 1514-1521 (in Chinese).
- [6] Xu C, Li X F, Tian H Y, *et al.* Feeding rates affect growth, intestinal digestive and absorptive capabilities and endocrine functions of juvenile blunt snout bream *Megalobrama amblycephala*[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2016, 42(2): 689-700.
- [7] Zhang D D, Lu K L, Dong Z J, *et al.* The effect of exposure to a high-fat diet on microRNA expression in the liver of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. Plosone, 2014, 9(5): e96132.
- [8] Chim L, Lemaire P, Delaporte M, *et al.* Could a diet enriched with n-3 highly unsaturated fatty acids be considered a promising way to enhance the immune defences and the resistance of Penaeid prawns to environmental stress[J]. Aquaculture Research, 2001, 32(2): 91-94.
- [9] Kanazawa A. Essential fatty acid and lipid requirement of fish[M] //Cowey C B, Mackie A M, Bell J G. Nutrition and Feeding in Fish. London: Academic Press, 1985: 281-298.
- [10] 张春暖, 王爱民, 刘文斌, 等. 饲料脂肪水平对梭鱼脂肪沉积、脂肪代谢酶及抗氧化酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2013, 20(1): 108-115.  
Zhang C N, Wang A M, Liu W B, *et al.* Effects of dietary lipid levels on fat deposition, lipid metabolize enzyme and antioxidant activities of *Chelon haematocheilus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(1): 108-115 (in Chinese).
- [11] Sheridan M A. Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, 1988, 90(4): 679-690.
- [12] 北京医学院. 生物化学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1981: 145.  
Beijing medical college. Biochemistry[M]. Beijing: people's medical publishing house, 1981: 145 (in Chinese).
- [13] Gjøen T, Berg T. Hepatic uptake and intracellular processing of LDL in rainbow trout [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism, 1169(3): 225-230.
- [14] 杜震宇, 刘永坚, 田丽霞, 等. 草鱼摄食高脂饲料后血脂变化的初步研究[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2004, 43(S): 77-79.  
Du Z Y, Liu Y J, Tian L X, *et al.* The change of blood lipid indexes after fed high-fat diet in grass carp[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2004, 43(S): 77-79 (in Chinese).
- [15] Segner H, Juario J V. Histological observations on the rearing of milkfish, *Chanos chanos*, fry using different diets[J]. Journal of Applied Ichthyology, 1986, 2(4): 162-172.
- [16] Kjær M A, Vegusdal A, Gjoen T, *et al.* Effect of rapeseed oil and dietary n-3 fatty acids on triacylglycerol synthesis and secretion in Atlantic salmon hepatocytes[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids, 2008, 1781(3): 112-122.
- [17] Richard N, Kaushik S, Larroquet L, *et al.* Replacing dietary fish oil by vegetable oils has little effect on lipogenesis, lipid transport and tissue lipid uptake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. British Journal of Nutrition, 2006, 96(2): 299-309.
- [18] Richards M R, Listenberger L L, Kelly A A, *et al.* Oligomerization of the murine fatty acid transport protein 1[J]. Journal of Biological Chemistry, 2003, 278(12): 10477-10483.
- [19] Schaffer J E, Lodish H F. Expression cloning and characterization of a novel adipocyte long chain fatty acid transport protein[J]. Cell, 1994, 79(3): 427-436.
- [20] Zimmerman A W, Veerkamp J H. New insights into the structure and function of fatty acid-binding proteins[J]. Cellular and Molecular Life Sciences CMLS, 2002, 59(7): 1096-1116.
- [21] Denstadli V, Vegusdal A, Krogdahl Å, *et al.* Lipid absorption in different segments of the gastrointestinal tract of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)[J]. Aquaculture, 2004, 240(1-4): 385-398.
- [22] Morais S, Knoll-Gellida A, André M, *et al.* Conserved expression of alternative splicing variants of peroxisomal acyl-CoA oxidase 1 in vertebrates and developmental



- and nutritional regulation in fish[J]. *Physiological Genomics*, 2007, 28(3): 239-252.
- [23] Cha B S, Ciaraldi T P, Carter L, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)  $\gamma$  and retinoid X receptor (RXR) agonists have complementary effects on glucose and lipid metabolism in human skeletal muscle[J]. *Diabetologia*, 2001, 44(4): 444-452.
- [24] Palmer C N A, Hsu M H, Griffin K J, *et al.* Peroxisome proliferator activated receptor- $\alpha$  expression in human liver[J]. *Molecular Pharmacology*, 1998, 53(1): 14-22.
- [25] Mandrup S, Lane M D. Regulating adipogenesis[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272(9): 5367-5370.
- [26] Desvergne B, Whali W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism[J]. *Endocrine Reviews*, 1999, 20(5): 649-688.
- [27] 叶航羊, 王菲, 刘小花, 等. LXR对胆固醇稳态影响的研究进展[J]. *现代生物医学进展*, 2013, 13(18): 3584-3586.
- Ye H Y, Wang F, Liu X H, *et al.* Recent advance of LXR affect on cholesterol homeostasis[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2013, (18): 3584-3586 (in Chinese).
- [28] 王强, 江渝. 肝X受体的研究进展[J]. *生理科学进展*, 2009, 40(2): 147-150.
- Wang Q, Jiang Y. Recent advances on Liver X receptors[J]. *Progress in Physiological Sciences*, 2009, 40(2): 147-150 (in Chinese).
- [29] 王朝明, 罗莉, 张桂众, 等. 饲料脂肪水平对胭脂鱼幼鱼生长、体组成和抗氧化能力的影响[J]. *淡水渔业*, 2010, 40(5): 47-53.
- Wang C M, Luo L, Zhang G Z, *et al.* Effect of dietary lipid level on growth performance, body composition and antioxidant capacity of juvenile Chinese sucker (*Myxocyprinus asiaticus*)[J]. *Freshwater Fisheries*, 2010, 40(5): 47-53 (in Chinese).

## Effects of feeding rates on plasma lipid profiles and the mRNA expressions of genes related to lipid metabolism in juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)

XU Chao, LI Xiangfei, TIAN Hongyan, ZHOU Man, CAI Wancun, LIU Wenbin\*

(College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** This study aimed to investigate the effects of feeding rates on plasma lipid profiles and the mRNA expressions of genes related to lipid metabolism in juvenile blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala* (average initial weight: 23.74±0.09 g). A total of 840 fish were randomly distributed into 24 cages and fed with a commercial feed at six feeding rates ranging from 2% to 7% body weight (BW)/day for 60 days. The results indicated that plasma triglyceride and total cholesterol levels increased first, then decreased as feeding rates increased with significant differences observed between treatments ( $P<0.05$ ). The highest high density lipoprotein and low density lipoprotein concentrations were observed in fish group fed 6% and 5% BW/day respectively. They were significantly higher than those of fish fed 2% BW/day ( $P<0.05$ ), but showed no statistical difference with those of the other treatments ( $P>0.05$ ). Very-low-density lipoprotein was the highest in fish offered a feeding rate of 4% BW/day. In addition, feeding rates had a significant effect on the expressions of genes related to lipid metabolism ( $P<0.05$ ). The mRNA expressions of carnitine palmitoyl transferase-I and II, Acyl-CoA oxidase, apolipoprotein B, fatty acid binding protein and peroxisome proliferators activated receptors all increased significantly ( $P<0.05$ ) as feeding rates increased from 2% to 4% BW/day, but Acyl-CoA oxidase, fatty acid binding protein and peroxisome proliferator-activated receptor  $\beta$  mRNA expressions are decreased with further increasing ration levels ( $P>0.05$ ). Lipoprotein lipase expressions of fish fed 3% and 6% BW/day were significantly ( $P<0.05$ ) higher than that of the other treatments. Liver X receptor and fatty acid transporter protein expressions increased first, then decreased as feeding rates increased with the highest value observed in fish fed 3% and 5% BW/day, respectively. In summary, our results suggest that different feeding rates significantly affect plasma lipid profiles and the mRNA expressions of genes related to lipid metabolism in juvenile blunt snout bream. Low feeding rate (2–3% BW/day) leads to the lower fatty acid transport and oxidation. Higher feeding rate (5–7% BW/day) will result in decreased plasma lipid profiles and the mRNA expressions of genes related to fat deposition. The optimal feeding rate (4–5% BW/day) can maintain fat metabolism balance of juvenile blunt snout bream.

**Key words:** *Megalobrama amblycephala*; feeding rate; plasma lipid profiles; lipid metabolism; gene expressions

**Corresponding author:** LIU Wenbin. E-mail: wbliu@njau.edu.cn

**Funding projects:** National Technology System for Conventional Freshwater Fish Industries of China (CARS-46-20); Demonstration of Key Technigue Integration in University-based Agri-tech Extension Service in the Yangtze River Delta Region of Modern Agriculture(2013BAD20B05)