

文章编号: 1000-0615(2019)02-0492-13

DOI: 10.11964/jfc.20171111054

饲料中n-3/n-6多不饱和脂肪酸水平对黄河鲤幼鱼生长性能及生长相关基因mRNA表达的影响

庞小磊, 田雪*, 王良炎, 李梦荣, 胡菊,
马晓, 刘慧芬, 李学军

(河南师范大学水产学院, 河南省水产动物养殖工程技术研究中心, 河南新乡 453007)

摘要: 为了分析饲料n-3/n-6多不饱和脂肪酸(PUFAs)水平对黄河鲤幼鱼生长性能和生长相关基因的影响, 实验以鱼油和混合植物油(花生油和紫苏籽油)为脂肪源配制5组等氮等能饲料。对照组(T1)以鱼油为唯一脂肪源, 18:3 n-3/18:2 n-6为0.97, 第二组(T2)以花生油为唯一脂肪源, 18:3 n-3/18:2 n-6为0.02, 其他3组实验饲料以花生油和紫苏籽油为脂肪源, 且n-3/n-6比值分别为0.46(T3)、1.09(T4)和1.53(T5)。10周养殖实验结束后, 分析各组鱼体的生长性能、血清中生长激素(GH)含量及不同部位肌肉中生长相关基因的表达水平。结果显示, 与对照组相比, n-3/n-6对鱼体的脏体比(VSI)、饲料系数(FCR)、摄食率(FI)无显著影响, 增重率(WGR)随n-3/n-6比值的增加先升后降, n-3/n-6比值等于1.09时, WGR达到峰值, 为 $218.53\% \pm 24.32\%$ 。T2组血清GH含量显著高于其他处理组, 随着n-3/n-6比值增大GH含量逐渐降低。背部肌肉中生长相关基因 gh 、 ghr 、 $igf-1$ 和 $myod$ 均表现为先升后降的趋势, $igf-1$ 为先降后升, $mstn$ 无显著差异。红肌中 gh 、 $myod$ 含量逐渐降低, ghr 、 $mstn$ 不存在显著差异, $igf-1$ 与背部肌肉相似, 先升后降, $igf-1r$ 先降后升。腹部肌肉中 gh 、 ghr 和 $igf-1$ 表达情况与背部肌肉一致, $igf-1r$ 和 $myod$ 的表达不存在显著差异。T2组和T4组背部肌肉肌纤维数目存在显著差异, 且T4组肌纤维较T2组粗。研究表明, n-3/n-6不仅在一定程度上提高鱼体的WGR, 且不同比例的n-3/n-6水平会影响血清GH的含量, 不同部位肌肉组织中GH/IGF轴生长相关基因的水平也受饲料中n-3/n-6比例的影响。

关键词: 黄河鲤; 多不饱和脂肪酸; GH/IGF轴; 生长性能

中图分类号: S 963.73

文献标志码: A

n-3/n-6多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFAs)在人和动物体内发挥着重要作用, 很多情况下2种不饱和脂肪酸在功能上相互协调制约, 共同调节生物体的生命活动, 包括脂类代谢、心血管功能调节、免疫调节、视力和脑的发育调控、骨质调控等多个方面^[1-3]。淡水鱼需要摄入一定水平的外源性PUFAs以维持高生长、机体健康及繁殖性能。要保证鱼类正常、快速地生长, 就必须在饵料中添加必需的必需脂肪酸^[4]。鱼油因含有丰富的必需脂肪酸,

适宜的n-3/n-6比值等优点被认为是水产饲料的优质脂肪源^[5-8]。近年来, 因水产养殖业的快速发展, 油脂类原料供不应求, 导致价格上涨较快, 因此, 选择适宜的脂肪源和比值成为热点^[9-10]。植物油因价格和产量优势, 在水产动物饲料中有很好的应用效果^[11]。尽管植物油被认为是淡水鱼类的优良替代油源, 但是添加比例和种类不适当, 会导致鱼类生长、免疫力和肉类品质的降低^[3, 11-14]。

为了减少植物油对鱼类生长的影响, 研究

收稿日期: 2017-11-16 修回日期: 2018-01-04

资助项目: 国家自然科学基金(31402294); 河南省教育厅重点科研项目(16B240001, 17A240002)

通信作者: 田雪, E-mail: tianxue_81@126.com

者采用多种脂肪源饲料策略提高鱼类的生长性能^[15]。已有研究证实,大豆油、亚麻油和菜籽油可提高虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[16]、异育银鲫(*Carassius auratus*)^[17]、草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)^[7]和莫桑比克口孵非鲫^[18-20](*Oreochromis mossambicus*)等的生长性能和肉质品质。尽管植物脂肪源对鱼类养殖有一定的积极效果,但是研究多集中在免疫调节及脂类代谢方面,关于生长相关的分子调控机制很少见报道^[21-22]。鱼类的生长主要由GH/IGF轴调控,该轴包括生长激素(growth hormone, *gh*)、生长激素受体(growth hormone receptor, *ghr*)、胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, *igf*)和胰岛素样生长因子受体(insulin-like growth factor receptor, *igfr*)等^[23]。

黄河鲤(*Cyprinus carpio haematopterus*),属鲤形目(Cypriniformes)、鲤科(Cyprinidae)、鲤属(*Cyprinus*),金鳞赤尾、肉质鲜美,是我国黄河流域长期自然形成的特有重要淡水经济鱼类。近年来,植物脂肪源在鲤配合饲料中的研究已有大量报道,但饲料中的适宜比相关研究较少,且多以脂肪代谢调控机制研究为主^[15, 24]。为了探讨饲料中n-3/n-6水平对黄河鲤生长及生长相关分子调控机制的作用,本研究以鱼油、花生油和紫苏籽油为脂肪源,分析不同n-3/n-6水平对黄河鲤生长和生长相关基因的影响,从分子水平解释PUFAs对鱼类生长的调控作用,为进一步理解PUFAs与机体生长代谢的关系提供理论依据,也为植物脂肪源在鱼类饲料中的应用提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 实验对象

实验所用黄河鲤购于河南聚丰科技有限公司。

1.2 实验设计及饲料的制备

选取300条平均体质量约8 g的幼鱼,随机分成5组,每组设3个重复,每个重复20尾。参考饲料配方(表1)制作5组等能等氮但脂肪源来源不同的饲料。各组饲料除脂肪源组成和配比不同外,其他原料一致。其中, T1组饲料中添加8%的鱼油, 18:3 n-3/18:2 n-6比值为0.97; T2组饲料中添加8%的花生油, 18:3 n-3/18:2 n-6比值为0.02; T3组饲料中添加6.13%的花生油和1.87%的

紫苏籽油, 18:3 n-3/18:2 n-6比值为0.46; T4组饲料中添加3.67%的花生油和4.33%的紫苏籽油, 18:3 n-3/18:2 n-6比值为1.09; T5组饲料中添加2.81%的花生油和5.19%的紫苏籽油, 18:3 n-3/18:2 n-6比值为1.53。将各种原料粉碎后过80目筛,添加不同比例的脂肪源后,采用逐级扩大法混合均匀,加水制成面团状,绞肉机挤压成直径为1 mm的面条状,阴凉处风干,将干燥后的条状饲料用物理法破碎至适宜颗粒大小(1~3 mm),4 °C密封保存待用。

采用三氟化硼乙醚(48%, Acros Organics, USA)催化法进行脂肪酸甲酯化。脂肪酸的检测使用Agilent 7890B气相色谱仪进行分析(色谱柱: Agilent HP-88, 100 m×0.25 mm, 0.20 μm)。脂肪酸成分的鉴定根据Sigma公司的脂肪酸标准品,采用面积归一法计算各组脂肪酸所占的面积百分比(表2)。

1.3 实验鱼养殖管理

实验鱼在河南师范大学自动循环水系统中进行为期10周的养殖,日投喂量为鱼体质量的4%左右,早中晚各1次,每2天换1次水,换水量为总水量的1/3左右。养殖期间持续充氧,保持溶解氧大于5 mg/L。

1.4 实验样品采集

养殖实验结束后,统计每组实验鱼重量,每桶随机选取6尾黄河鲤样品,①采集血液,通过尾静脉取血的方法,用肝素钠润洗过的1 mL注射器收集血液,保存于1.5 mL EP管中,进行GH含量的测定。②采集背部肌肉、红肌和腹部肌肉3个部位的样品用于RNA的提取, RNA later (TaKaRa, 大连)保存于-80 °C冰箱备用。

1.5 血清GH含量的测定

采用酶联免疫吸附测定法,按照GH ELISA Kit(武汉科美生物科技有限公司,武汉)的说明书进行操作,用SPSS 20.0软件绘制标准曲线,并计算每个处理组血清GH含量的结果,用平均值±标准误(mean±SE)表示。

1.6 肌肉组织总生长相关基因的表达

总RNA的提取和RT-PCR的扩增 将-80 °C保存的不同部位的45个肌肉组织进行RNA的提

表 1 饲料配方及营养成分
Tab. 1 Ingredients and composition of experimental diets %

成分 contents	饲料组 dietary groups				
	T1	T2	T3	T4	T5
原料 ingredient					
豆粕 soybean meal	25	25	25	25	25
菜籽粕 rapeseed meal	25	25	25	25	25
棉籽粕 cottonseed meal	17	17	17	17	17
次粉 wheat middling	10	10	10	10	10
米糠 rice bran	13.2	13.2	13.2	13.2	13.2
混合维生素 vitamin mixture ¹	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
混合矿物质 mineral mixture ²	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
氯化胆碱 choline chlorlde	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
磷酸二氢钙 dicalcium phosphate	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
赖氨酸 L-lysine	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
蛋氨酸 DL-methionine	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
鱼油 fish oil	8	0	0	0	0
花生油 peanut oil	0	8	6.13	3.67	2.81
紫苏籽油 perilla oil	0	0	1.87	4.33	5.16
营养成分 nutritional composition					
干物质 dry matter	86.55	87.48	87.39	86.71	87.96
粗蛋白 crude protein	32.10	32.32	31.70	31.97	32.34
粗脂肪 crude lipids	8.13	8.02	7.97	8.11	8.03
灰分 ash	6.61	6.43	6.40	6.24	6.28

注: 1. 每千克混合矿物质中含有钾100 g, 镁30 g, 铁8 g, 铝1 g, 锌30 g, 锰2 g, 钴1 g, 碘500 mg, 硒40 mg; 2. 每千克混合维生素中含有维生素A₃×10⁴ IU, 维生素D₃ 3×10⁴ IU, 维生素E3×10³ IU, 维生素K₃ 20 mg, 维生素B 120 mg, B₂ 480 mg, B₆ 360 mg, B₁₂ 100 mg, 烟酸170 mg, 泛酸钙80 mg, 叶酸170 mg, 生物素10 mg, 肌醇8 g, 单磷脂10 g

Notes: 1. one kilogram of mineral mix containing the following: K 100 g, Mg 30 g, Fe 8 g, Mo 1 g, Zn 30 g, Mn 2 g, Co 1 g, I 500 mg, Se 40 mg; 2. one kilogram of vitamin mix containing the following: A₃×10⁴ IU, D₃ 3×10⁴ IU, E 3×10³ IU, K₃ 20 mg, B₁ 20 mg, B₂ 480 mg, B₆360 mg, B₁₂ 100 mg, nicotinic acid 170 mg, calcium pantothenate 80 mg, folic acid 170 mg, biotin 10 mg, inositol 8 g, C-monophospholipid 10 g

取, 1%琼脂糖凝胶电泳(北京六一生物科技有限公司, 北京)和ND-2000核酸蛋白仪(Thermo, 美国)检测RNA完整性、纯度和浓度。PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser T(TaKaRa, 大连)合成cDNA用于PCR扩增。

利用Prime Primer 5软件设计 gh 、 $igf-1$ 、 ghr 、 $igf-1r$ 、 $mstn$ 、 $myod$ 和 β - $actin$ 基因的定量引物, 由苏州金唯智生物公司合成(表3)。取适量cDNA为模板, 进行PCR扩增。PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳检测, 连接pMD-19T载体, 转化DH5 α 感受态细胞, 经蓝白斑筛选及双酶切验证的阳性克隆送苏州金唯智生物有限公司进行测序。

实时荧光定量 参照SYBR® Premix Ex Taq™ II(Tli RNaseH Plus) (TaKaRa, 大连)试剂盒说明书, 以45个肌肉样品cDNA为模板, 体系为10 μ L, 上下游引物各0.3 μ L, SYBR Premix II Taq™ TM(2 \times) 5 μ L, cDNA 1 μ L, RNase free H₂O 3.4 μ L。qRT-PCR反应条件: 95 °C预变性30 s, 95 °C变性5 s, 62 °C 20 s, 40个循环。反应结束分析熔解曲线和C_T值, 2^{- $\Delta\Delta$ CT}法计算不同处理组相同部位肌肉组织生长相关基因的相对表达水平。

1.7 肌肉组织H.E染色

取各处理组鱼背鳍下方、侧线上方的肌肉

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

脂肪酸 fatty acid	饲料组 diet groups				
	T1	T2	T3	T4	T5
C14:0	7.40	2.50	3.11	1.44	1.25
C16:0	17.04	18.54	15.77	16.84	15.62
C16:1	3.18	1.28	1.55	1.09	1.78
C18:0	3.17	3.14	3.54	3.61	3.57
C18:1	14.42	19.02	18.41	18.14	17.53
C18:2n6(LA)	4.07	34.71	30.85	23.34	19.42
C18:3n6	0.42	-	-	-	-
C20:3n6	0.37	-	-	-	-
C20:4n6(ARA)	1.31	-	-	-	-
C18:3n3(LNA)	3.95	0.54	14.07	25.44	29.8
C18:4n3	0.30	-	-	-	-
C20:4n3	0.43	-	-	-	-
20:5n3(EPA)	2.71	-	-	-	-
C22:5n3	0.52	-	-	-	-
C22:6n3(DHA)	7.31	-	-	-	-
SFA	28.31	28.31	22.54	22.44	21.54
MUFA	25.64	25.64	20.16	19.23	19.31
n-3 PUFA	11.34	0.54	14.07	35.44	23.24
n-6 PUFA	6.45	34.71	30.85	27.44	23.24
C18:3n3/C18:2n6	0.97	0.02	0.46	1.09	1.53

注: -脂肪酸未检测
Notes: - the fatty acid is not detected

(去鳞、去皮), 样品大小1 cm×1 cm×0.5 cm, 平放入4%多聚甲醛中固定, 采用石蜡包埋切片, 厚度为8 μm, 切面与肌肉纤维方向垂直和水平, 苏木素—伊红染色(H. E), 常规封片, 每个样品3张, 在光学显微镜下进行观察。

1.8 数据分析

鱼体存活率、增重率、特定生长率、脏体比、饲料系数、摄食率等指标参照以下公式计算:

$$\text{存活率(survival rate, SR)} = 100\% \times N_t / N_0$$

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

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

$$\text{脏体比(viscerosomatic index, VSI)} =$$

$$100\% \times W_v / W$$

$$\text{饲料系数(feed coefficient, FCR)} = 100\% \times (W_t - W_0) / W_a$$

$$\text{摄食率(feed intake, FI)} = 100\% \times W_a / [0.5 \times (W_t + W_0) \times t]$$

式中, N_t 为终末尾数, N_0 为初始尾数, W_a 为投喂饲料总质量(g), W_t 为终末体质量(g), W_0 为初始体质量(g), t 为实验天数(d), W_v 为鱼内脏重(g), W 为鱼体质量(g)。

利用SPSS 20.0分析实验数据, 在单因素方差分析(One-Way ANOVA)基础上采用Duncan氏多重比较法检验组间差异($P=0.05$), 结果用mean±SE表示。

表3 实验用qRT-PCR引物及序列

引物名称 primers	核苷酸序列(5'-3') sequence(5'-3')
<i>gh F</i>	TCAAGGGATGTCTCGATGGT
<i>gh R</i>	CTACAGGGTGCACTTGGAAAT
<i>igf-1F</i>	GGGCCTAGTTCAAGACGG
<i>igf-1R</i>	AGTGGCTTTGTCCAGGTAA
<i>ghr F</i>	ACAACCTGAACAGCTCTCCGG
<i>ghr R</i>	GAGAAGATACGGCGTCTGGG
<i>igf-1r F</i>	GCTTCCTCAAGAGCCTGCGAT
<i>igf-1r R</i>	TACGCGCATCATCTCTTCC
<i>mstn F</i>	GCAGCTGTTACCCAAAGCAC
<i>mstn R</i>	CCATAGCTGCGCTCTTACGA
<i>myod F</i>	CCACCATGAGGGAGAGGAGA
<i>myod R</i>	GATCTCGGACTGGAGGCATC
<i>β-actin F</i>	TGCAAAGCCGGATTCGCTGG
<i>β-actin R</i>	AGTTGGTGACAATACCGTGC

2 结果

2.1 饲料中n-3/n-6 PUFAs水平对黄河鲤幼鱼生长性能及体成分的影响

5个处理组中幼鱼的存活率都为100%，表明n-3/n-6 PUFAs对于幼鱼的存活率没有影响(表4)。T1、T2和T3处理组在增重率上不存在显著性差异($P>0.05$)，T4处理组增重率显著高于T1、T2和T3处理组($P<0.05$)，与T5处理组之间不存在显著性差异($P>0.05$)，T4处理组增重率最高，为 $218.53\% \pm 24.32\%$ 。n-3/n-6 PUFAs对于各处理组之间的VSI、FCR、FI不存在显著性的差异($P>0.05$)。对于各组的特定生长率的影响，T4与其他4个处理组之间存在显著性差异($P<0.05$)，其他4个处理组之间不存在显著性差异($P>0.05$)。黄河鲤幼鱼体成分分析表明，各组间鱼体水分、粗蛋白、粗脂肪、灰分等指标的差异不显著($P>0.05$)(表5)。

2.2 饲料中n-3/n-6 PUFAs水平对黄河鲤幼鱼血清GH含量的影响

5个处理组血清平均GH含量分别为886.8、1 039.9、815.8、635.5和563.0 pg/mL(图1)。相较于对照组T1，T2处理组血清GH含量显著提高

表4 不同处理组黄河鲤幼鱼生长性能

Tab. 4 Growth performance of juvenile *C. carpio haematopterus* fed experimental diets

组别 groups	存活率/% SR	初始体质量/g IW	终末体质量/g FW	增重率/% WGR	脏体比/% VSI	饲料系数/% FCR	摄食率%/d FI	特定生长率%/d SGR
T1	100	8.11 \pm 0.03	22.94 \pm 1.18 ^{abc}	182.77 \pm 15.42 ^{ab}	0.82 \pm 0.085	1.63 \pm 0.01	2.22	1.49 \pm 0.44 ^a
T2	100	8.16 \pm 0.07	20.71 \pm 1.79 ^a	153.67 \pm 18.12 ^a	0.80 \pm 0.117	1.62 \pm 0.05	2.01	1.33 \pm 0.27 ^a
T3	100	7.97 \pm 0.14	21.83 \pm 1.08 ^{ab}	173.73 \pm 9.01 ^{ab}	0.84 \pm 0.018	1.62 \pm 0.02	2.15	1.44 \pm 0.18 ^a
T4	100	8.04 \pm 0.04	25.60 \pm 1.13 ^c	218.53 \pm 24.32 ^c	0.82 \pm 0.023	1.61 \pm 0.07	2.29	1.65 \pm 0.83 ^b
T5	100	8.20 \pm 0.15	24.43 \pm 2.25 ^{bc}	198.11 \pm 28.19 ^{bc}	0.83 \pm 0.015	1.61 \pm 0.06	2.40	1.56 \pm 0.28 ^a

注：同行数据标有不同小写字母表示组间差异显著($P<0.05$)，下同

Notes: values within the same row with different letters are significantly different ($P<0.05$), the same below

表5 不同处理组黄河鲤幼鱼体成分组成

Tab. 5 Proximate composition of juvenile *C. carpio haematopterus* at different treatments

体成分 proximate composition	饲料组 dietary groups				
	T1	T2	T3	T4	T5
水分 moisture	71.25 \pm 0.83	70.32 \pm 1.93	69.58 \pm 0.13	68.52 \pm 2.28	70.02 \pm 1.50
粗蛋白 crude protein	17.60 \pm 0.56	16.97 \pm 1.08	16.34 \pm 1.71	17.96 \pm 1.34	17.36 \pm 0.35
粗脂肪 crude lipids	7.95 \pm 0.26	8.58 \pm 0.92	7.87 \pm 0.37	7.93 \pm 1.87	7.96 \pm 1.20
灰分 ash	3.18 \pm 0.33	3.93 \pm 0.58	3.54 \pm 0.63	3.56 \pm 0.33	3.58 \pm 0.23

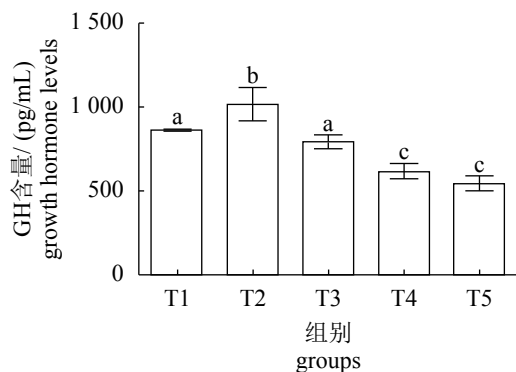


图1 不同处理组血清中生长激素含量
柱子上方不同字母代表不同组间存在显著性差异($P<0.05$), 下同

Fig. 1 Serum growth hormone levels at different treatment

Different letters on the columns show significant differences between different groups ($P<0.05$), the same below

($P<0.05$), 且随着比值的不断增加, 血清GH的含量逐渐减少, 呈下降趋势。T4和T5处理组之间不存在显著差异($P>0.05$), 但显著低于前3个处理组($P<0.05$)。T2处理组显著高于T1和T3处理组($P<0.05$), T1和T3处理组之间不存在显著差异($P>0.05$)。

2.3 饲料中n-3/n-6 PUFAs水平对不同部位肌肉生长相关基因表达的影响

饲料中n-3/n-6 PUFAs水平对不同部位肌肉中gh表达的影响 通过qRT-PCR检测不同部位肌肉gh表达水平。gh在背肌、腹肌和红肌3个部位中的表达趋势不同。随着饲料中n-3/n-6比值增加, gh在背部肌肉中的表达量显著提高, T3、T4和T5处理组是T1和T2的15倍左右($P<0.05$) (图2)。T2处理组红肌中gh表达量最高, 为 14.58 ± 2.19 , 与T3不存在显著差异($P>0.05$), 但显著高于其他3个处理组($P<0.05$)。gh在腹部肌肉中的表达趋势与背部肌肉相似, 当饲料中n-3/n-6比值达到1.09时, gh表达量最高, 为 38.29 ± 12.38 ($P<0.05$)。

饲料中n-3/n-6 PUFAs水平对不同部位肌肉ghr表达的影响 5个实验组鱼体背部肌肉ghr表达量不存在显著性差异($P>0.05$), 但表现为先升高后降低的趋势, 在T3中表达量最高(图3)。不同处理组红肌中ghr表达趋势与背部肌肉相反, T3处理组表达量为 0.48 ± 0.02 , 显著低于T1组($P<0.05$), 与其他组之间不存在显著差异($P>0.05$)。腹部肌肉ghr表达趋势与背部肌肉基本一致, T3组

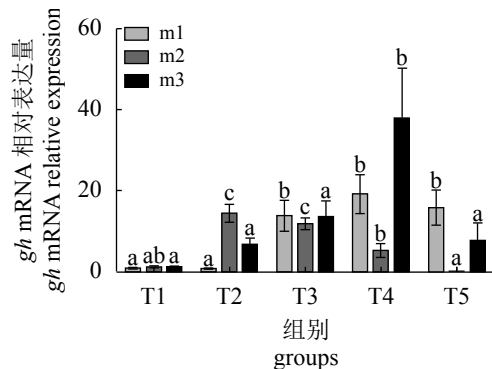


图2 不同处理组肌肉组织中gh mRNA相对表达量
m1.背部肌肉; m2.红肌; m3.腹部肌肉, 下同

Fig. 2 mRNA expression of gh relative to β -actin in muscle at different treatments

m1. dorsa muscle; m2. red muscle; m3. abdominal muscle, the same below

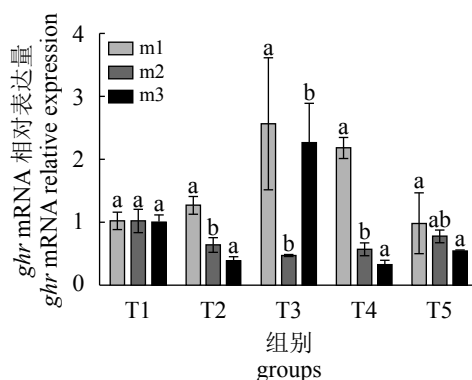


图3 不同处理组肌肉组织中ghr mRNA相对表达量
Fig. 3 mRNA expression of ghr relative to β -actin in muscle at different treatments

ghr表达量最高($P<0.05$), 其他处理组间不存在显著差异($P>0.05$)。

饲料中n-3/n-6 PUFAs水平对不同部位肌肉igf-1表达的影响 背部肌肉igf-1含量随n-3/n-6比值增大先升后降, T4组与T1组不存在显著差异($P>0.05$), T2、T3和T5组显著低于T1组($P<0.05$) (图4)。T4组红肌igf-1表达量显著低于T1和T3处理组($P<0.05$), 与T2和T5处理组之间不存在显著差异($P>0.05$)。igf-1在腹部肌肉中表达量逐渐降低, T1组表达量最高, 为 1.02 ± 0.13 ($P<0.05$)。

饲料中n-3/n-6 PUFAs水平对不同部位肌肉igf-1r表达的影响 背部肌肉igf-1r表达量表现为先降低后升高的趋势, T3处理组显著低于T1处理组($P<0.05$), 与其他处理组之间不存在显

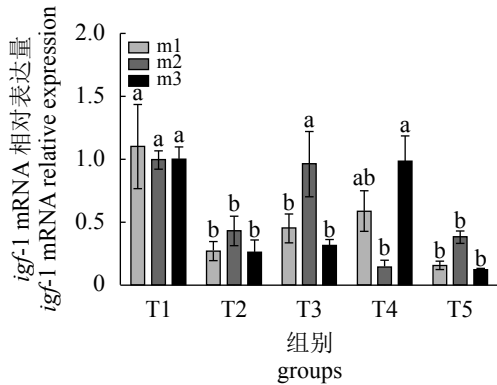


图4 不同处理组肌肉组织*igf-1* mRNA相对表达量
Fig. 4 mRNA expression of *igf-1* relative to β -actin in muscle at different treatments

著差异($P>0.05$)。红肌*igf-1r*表达趋势与背部肌肉基本一致, T1和T5之间无显著差异($P>0.05$), 但显著高于其他3个处理组($P<0.05$)。腹部肌肉*igf-1r*基因的表达趋势同背部肌肉, T2表达量最低(图5)。

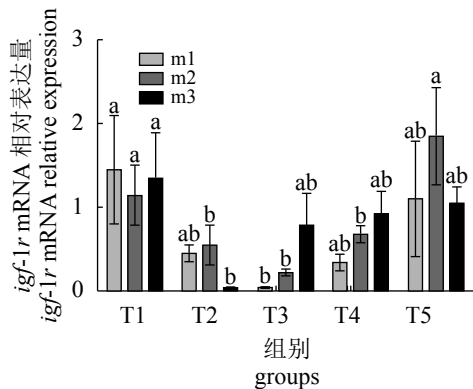


图5 不同处理组肌肉组织*igf-1r* mRNA相对表达量
Fig. 5 mRNA expression of *igf-1r* relative to β -actin in muscle at different treatments

饲料中n-3/n-6 PUFAs水平对不同部位肌肉*mstn*表达的影响 背部肌肉和红肌*mstn*表达趋势一致, T1处理组表达量最高, 分别为 1.05 ± 0.25 、 1.87 ± 1.25 , 其他处理组之间不存在显著差异($P>0.05$)(图6)。T3和T5组腹部肌肉*mstn*表达量显著高于其他处理组($P<0.05$), 其他处理组间不存在显著差异($P>0.05$)。

饲料中n-3/n-6 PUFAs水平对不同部位肌肉*myod*表达的影响 *myod*基因在背部肌肉中的含量表现为先升后降的趋势, T4组达到峰值 1.89 ± 0.51 , 显著高于其他处理组($P<0.05$)。红肌

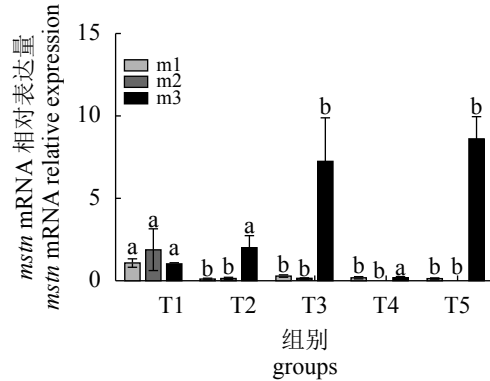


图6 不同处理组肌肉组织*mstn* mRNA相对表达量
Fig. 6 mRNA expression of *mstn* relative to β -actin in muscle at different treatments

中*myod*在T2组最高($P<0.05$), 随着n-3/n-6比例增加而逐渐降低。腹部肌肉中*myod*表达量T1组显著高于其他处理组($P<0.05$), 植物油添加组之间不存在显著差异($P>0.05$), 表达趋势与背部肌肉一致(图7)。

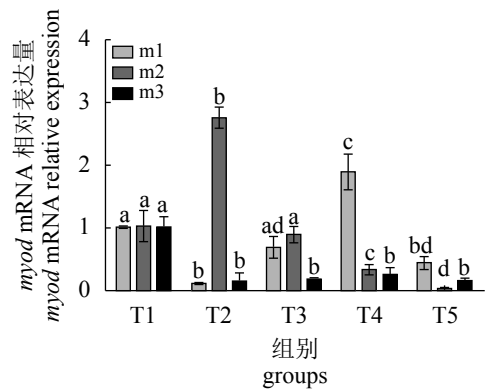


图7 不同处理组肌肉组织*myod* mRNA相对表达量
Fig. 7 mRNA expression of *myod* relative to β -actin in muscle at different treatments

2.4 肌肉组织H.E染色

2组背部肌肉纵切肌纤维纹理较清楚, 且较细, 排列较紧密, 横切肌肉肌纤维横切面多为不规则多边形。T4组背部纵切肌肉肌纤维纹理较清晰, 且较T2组粗, 排列也较紧密, 横切肌肉肌纤维横切面呈现椭圆形和多边形(图8)。

3 讨论

n-3和n-6PUFAs在生物体内均发挥较重要的作用。淡水鱼可将18 C n-3和n-6 PUFAs合成具有重

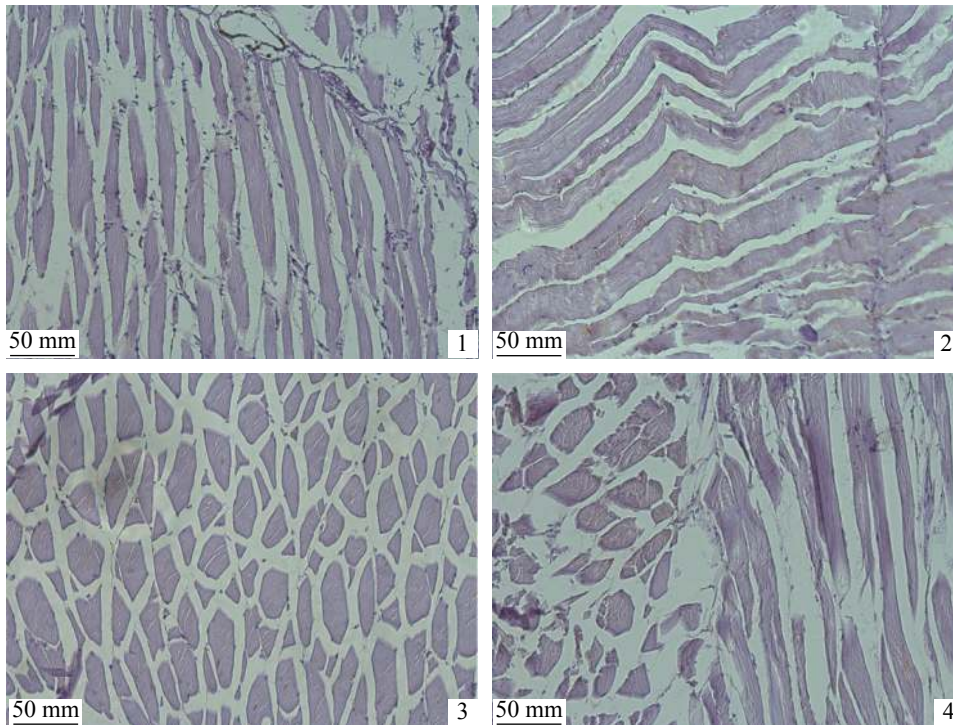


图8 T2和T4处理组背部肌肉纵横切

1, 3分别为T2组背部肌肉纵切、横切; 2, 4分别为T4组背部肌肉纵切、横切

Fig. 8 Dorsal muscle longitudinal and transverse sections of T2 and T4 treatment groups

1 and 3 belong to T2 group, respectively dorsal muscle longitudinal and transverse sections; 2 and 4 belong to T4 group, respectively dorsal muscle longitudinal and transverse sections

要生理功能的长链多不饱和脂肪酸LC-PUFAs^[25]。因此, 富含18 C PUFAs的植物油可以满足淡水鱼对必需脂肪酸(essential fatty acids, EFA)的需求。整个养殖过程中, 未出现实验鱼死亡的现象, 存活率为100%。据报道, 摄食植物油饲料的草鱼^[7]、异育银鲫^[17]的生长性能更佳。本研究也证实, 植物油替代鱼油能够促进鲤幼鱼生长, n-3/n-6为0.02时, WGR和SGR呈现降低的趋势, 随着n-3/n-6比值逐渐增大, 达到1.09时显著提高WGR和SGR。进一步说明鲤对n-3和n-6 PUFAs的需求是必需的, 单一添加n-6不饱和脂肪酸无法满足鲤幼鱼的生长需要^[26]。研究报道饲料中n-3/n-6比值影响鱼类生长和健康状况, 因此在饲料配比过程中应调整好n-3/n-6的比例。Tan等^[12]报道, 当18:3n-3/18:2n-6比值为1.17和2.12时, 黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)的生长效果最佳, 低于或高于此范围, 均导致生长效果下降。Francis等^[27]发现18:3n-3/18:2n-6为1:1时, 鳕(*Gadus murray*)生长效果最佳。本实验中, n-3/n-6比值位于1.09~1.53, 更有利于鲤幼鱼的生长, 这与Blanchard

等^[28]的报道结果一致。相较于对照组, 饲料中n-3/n-6 PUFAs的比值对VSI、FCR及FI没有显著影响。

鱼体生长主要由GH/IGF-I轴调控, 垂体分泌的GH经血液运输到靶器官, 与靶细胞GHR结合启动信号传导, 促进组织细胞的分化和生长^[29]。为了解析植物油n-3/n-6水平对鲤幼鱼的生长调控作用, 本研究首先对5个实验组血清中GH含量进行测定。其中, T2组GH含量最高, T4和T5组显著低于对照组。尽管T2组GH含量最高, 但WGR显著低于T1组。T4、T5组GH含量较低, 但T4组WGR和SGR显著高于T1组。实验结果同以前的报道一致, 饲料中适量添加GH能够刺激鱼类的生长, 但过量GH会加重消化系统的负担, 反而影响鱼类正常生长^[30]。禁食期的银大麻哈鱼(*Oncorhynchus kisutch*)血清GH水平提高, 其生长受到抑制^[31]。因此, 认为n-3/n-6比例不平衡导致营养限制, 使血清中GH水平提高, 但营养限制引起的较高水平GH无法促进鱼类生长。T4组GH含量较低, 但WGR显著高于对照组, 也进一步证实

鱼类生长是多因子的调控模式, 仅从GH水平不足以解释n-3/n-6对鱼类生长的作用。

目前已发现与生长相关的候选基因主要包括: ①与GH/IGF轴及其调控相关的基因; ②参与肌肉组织发生和分化过程的基因^[32]。肌肉的分化、生长和发育是动物生长发育的重要环节和过程, 且在不同层次受多种因素的影响^[33-34]。鱼类肌肉在肌原发生调节因子的作用下, 将各体节进一步分化成为不同类型肌纤维或肌肉组织, 位于躯干深层的白色肌肉为快肌, 位于表皮下的红色肌肉为慢肌^[35]。根据肌肉分布的位置以及其他特点将肌肉分为背部肌肉、腹部肌肉以及红肌^[36]。鱼类个体大小受肌肉增长的制约和影响, 肌肉组织的分化发育由多个基因调控。本研究利用qRT-PCR方法分析了GH/IGF轴主要调控因子在不同类型肌肉中的表达情况。结果显示, T4组背肌和腹肌 gh 和 ghr 高于T1组, $igf-1$ 与T1组无显著差异, 但随着n-3/n-6比例增加, gh 和 $igf-1$ 逐步增加, 变化趋势一致。因T4组血清中GH水平较低, 背部和腹部肌肉中 gh 表达量较高, 推测白肌中较高的 gh 可弥补血清中较低的 gh 水平, 与 ghr 产生结合, 作用于 $igf-1$ 促进肌肉的生长, 与尼罗口孵非鲫(*Oreochromis niloticus*)^[37]、草鱼^[38]和鲤^[39]等实验结果一致。骨骼肌类型不同, 其生化和生理作用存在较大差异, 红肌富含线粒体和肌红蛋白, 主要用于缓慢游泳和平衡^[40]。此外, 慢肌在鱼类生长中可能存在阶段性增生, 虹鳟发育至34 cm时, 慢肌纤维数目停止增加。红肌中 gh 和 ghr 表达水平低于快肌, 且红肌中 gh 、 $igf-1$ 与血清GH变化趋势相同, 表明红肌在鱼体生长过程中的作用有限, 且更容易受血清GH水平的影响。影响肌肉生长的另一重要因素为肌细胞分化和生长, 其主要由正向和负向调控因子双向调节。肌肉生长抑制素(myostatin, $mstn$)是转化生长因子 β 超家族成员, 是肌肉生长的负调控因子^[41-42]。T4组肌肉中 $mstn$ 的表达量最低, 与WGR的趋势大体上呈负相关, 进一步证实了 $mstn$ 在生长中的负调控作用。Galt等^[43]用高脂饲料投喂虹鳟, 高脂组虹鳟白肌 $mstn$ 显著低于低脂组, 推测 $mstn$ 参与脂代谢。Mareco等^[44]利用转录组测序技术发现红肌较白肌具有更多参与脂肪代谢的基因, 本实验中T4组红肌 $mstn$ 表达量低于白肌, 可能与红肌较高的脂代谢作用相关。 $myod$ 是生肌调节因子家族成员之一, 在骨骼肌细胞

的特化和分化过程中起关键作用, 与成肌细胞增殖和肌肉增生有关, 能促进多种类型细胞转化为成肌细胞, 并促使成肌细胞进一步融合分化为成熟的肌纤维, $myod$ 是肌肉生长的正向调控因子, T4组背部肌肉 $myod$ 表达量显著高于T1组, 植物油添加组腹部肌肉 $myod$ 含量均低于鱼油组, 红肌中T2组 $myod$ 含量最高, 随后依次降低, 这可能与不同肌肉类型相关。安大略鳟(*Salmo Salar*)肌细胞中添加IGF-1可提高 $myod$ 的含量^[45], 但在金头鲷(*Sparus aurata*)肌细胞中 $igf-1$ 对 $myod$ 没有影响^[46], 在虹鳟肌细胞中使 $myod$ 表达量降低^[47]。本实验中背部肌肉 $igf-1$ 与 $myod$ 变化趋势相似, $igf-1$ 可能促进 $myod$ 表达, 加快背肌生长, 植物油添加组腹部肌肉 $myod$ 含量无明显差异, $igf-1$ 可能没有促进或抑制作用, 红肌中 $igf-1$ 水平与 $myod$ 变化趋势一致, $igf-1$ 抑制 $myod$ 表达, 阻碍红肌的生长。除GH/IGF轴之外, 一些内分泌因子也参与肌肉生长^[48]。因此, 还需从多角度入手, 进一步解析饲料n-3/n-6水平对鲤幼鱼的促生长作用。

4 结论

鲤幼鱼生长性能随着饲料中n-3/n-6 PUFAs比值增加呈先升后降的趋势, n-3/n-6 PUFAs比值为1.09时, 生长效果最好。n-3/n-6 PUFAs比值为0.02时, 生长激素水平最高, 可能由营养不均衡导致。通过对不同部位肌肉中GH/IGF轴生长相关基因的表达分析, n-3/n-6 PUFAs为1.09时, 背部肌肉 gh 可作用于 $igf-1$ 促进鱼体的生长。不同部位的肌肉在鱼体生长中的作用不同, 还需要结合内分泌因子等因素解释不同类型肌肉中生长调控的分子机理。

参考文献:

- [1] Trépanier M O, Hopperton K E, Orr S K, et al. N-3 polyunsaturated fatty acids in animal models with neuroinflammation: an update[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2016, 785: 187-206.
- [2] 周继术, 吉红, 王建华, 等. 鱼油对鲤生长及脂质代谢的影响[J]. 中国海洋大学学报, 2008, 38(2): 275-280.
Zhou J S, Ji H, Wang J H, et al. Influence of fish oil on growth and lipid metabolism in common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. *Periodical of Ocean University of China*,

- 2008, 38(2): 275-280(in Chinese).
- [3] 潘瑜, 毛述宏, 关勇, 等. 饲料中不同脂肪源对鲤鱼生长性能、脂质代谢和抗氧化能力的影响[J]. *动物营养学报*, 2012, 24(7): 1368-1375.
- Pan Y, Mao S H, Guan Y, *et al.* Effects of different lipid sources in diets on growth performance, lipid metabolism and antioxidant ability of common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(7): 1368-1375(in Chinese).
- [4] Bell M V, Henderson R J, Sargent J R. The role of polyunsaturated fatty acids in fish[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Comparative Biochemistry*, 1986, 83(4): 711-719.
- [5] Turchini G M, Torstensen B E, Ng W K. Fish oil replacement in finfish nutrition[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2010, 1(1): 10-57.
- [6] 王道尊, 潘兆龙, 梅志平. 不同脂肪源饲料对青鱼生长的影响[J]. *水产学报*, 1989, 13(4): 370-374.
- Wang D Z, Pan Z L, Mei Z P. Effect of diets containing different lipid sources on growth of black carp (*Mylopharyngodon piceus*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1989, 13(4): 370-374(in Chinese).
- [7] 刘玮, 徐萍, 任本根, 等. 不同脂肪源饲料对草鱼稚鱼生长的影响[J]. *水产学报*, 1995, 19(4): 362-365.
- Liu W, Xu P, Ren B G, *et al.* Effects of diets containing different lipids on growth of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1995, 19(4): 362-365(in Chinese).
- [8] 卓丽欣, 赵红霞, 黄燕华, 等. 氧化鱼油对黄颡鱼幼鱼肠道健康的影响及精氨酸的干预作用[J]. *水产学报*, 2018, 42(1): 100-111.
- Zhuo L X, Zhao H X, Huang Y H, *et al.* Influence of oxidized fish oil on the intestinal health of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) and the use of arginine as an intervention measure [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2018, 42(1): 100-111(in Chinese).
- [9] Yu T C, Sinnhuber R O. Effect of dietary ω 3 and ω 6 fatty acids on growth and feed conversion efficiency of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*)[J]. *Aquaculture*, 1979, 16(1): 31-38.
- [10] Glencross B D, Smith D M, Thomas M R, *et al.* The effect of dietary n-3 and n-6 fatty acid balance on the growth of the prawn *Penaeus monodon*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2002, 8(1): 43-51.
- [11] Izquierdo M S, Obach A, Arantzamendi L, *et al.* Dietary lipid sources for seabream and seabass: growth performance, tissue composition and flesh quality[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2003, 9(6): 397-407.
- [12] Tan X Y, Luo Z, Xie P, *et al.* Effect of dietary linolenic acid/linoleic acid ratio on growth performance, hepatic fatty acid profiles and intermediary metabolism of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. *Aquaculture*, 2009, 296(1-2): 96-101.
- [13] Caballero M J, Obach A, Rosenlund G, *et al.* Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*[J]. *Aquaculture*, 2002, 214(1-4): 253-271.
- [14] Grisdale Helland B, Ruyter B, Rosenlund G, *et al.* Influence of high contents of dietary soybean oil on growth, feed utilization, tissue fatty acid composition, heart histology and standard oxygen consumption of Atlantic salmon (*Salmo salar*) raised at two temperatures[J]. *Aquaculture*, 2002, 207(3-4): 311-329.
- [15] Takeuchi T. Essential fatty acid requirements in carp[J]. *Archiv Für Tierernährung*, 1996, 49(1): 23-32.
- [16] Kennish J M, Sharp-Dahl J L, Chambers K A, *et al.* The effect of a herring diet on lipid composition, fatty acid composition, and cholesterol levels in the muscle tissue of pen-reared chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*)[J]. *Aquaculture*, 1992, 108(3-4): 309-322.
- [17] 张媛媛, 刘波, 戈贤平, 等. 不同脂肪源对异育银鲫生长性能、机体成分、血清生化指标、体组织脂肪酸组成及脂质代谢的影响[J]. *水产学报*, 2012, 36(7): 1111-1118.
- Zhang Y Y, Liu B, Ge X P, *et al.* Effect of dietary oil sources on growth performance, body composition, the serum biochemical indices, fatty acids composition and lipid metabolism of *Carassius auratus gibelio*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(7): 1111-1118(in Chinese).
- [18] 李新, 谭晓晨, 张健, 等. 不同植物油对大规格吉富罗非鱼生长性能、组织脂肪酸组成的影响[J]. *动物营养学报*, 2016, 28(10): 3327-3336.
- Li X, Tan X C, Zhang J, *et al.* Effects of different vegetable oils on growth performance and tissue fatty acid composition of large size genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Chinese*

- Journal of Animal Nutrition*, 2016, 28(10): 3327-3336(in Chinese).
- [19] 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).
- [20] 彭祥和, 李法见, 林仕梅, 等. 亚麻籽油对罗非鱼生长性能及肉品质的影响[J]. *动物营养学报*, 2015, 27(1): 147-153.
Peng X H, Li F J, Lin S M, *et al.* Effects of linseed oil on growth performance and meat quality of tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, 27(1): 147-153(in Chinese).
- [21] 左然涛, 麦康森, 徐玮, 等. 脂肪酸对鱼类免疫系统的影响及调控机制研究进展[J]. *水产学报*, 2015, 39(7): 1079-1088.
Zuo R T, Mai K S, Xu W, *et al.* Advance of studies on the effects of fatty acids on immune responses and nutritional regulation mechanism in fish species[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, 39(7): 1079-1088(in Chinese).
- [22] 张洪涛, 单雷, 毕玉平. n-6和n-3多不饱和脂肪酸在人和动物体内的功能关系[J]. *山东农业科学*, 2006(2): 115-120.
Zhang H T, Shan L, Bi Y P. Functional relationship between n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids in the bodies of human and animal[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2006(2): 115-120(in Chinese).
- [23] Hu W, Zhu Z Y. Integration mechanisms of transgenes and population fitness of GH transgenic fish[J]. *Science China Life Sciences*, 2010, 53(4): 401-408.
- [24] 谢帝芝, 于若梦, 陈芳, 等. 饲料LNA/LA比对鲤幼鱼生长性能、肝脏脂肪酸组成及 $\Delta 6fad$, $elov15$ mRNA表达的影响[J]. *水产学报*, 2017, 41(5): 757-765.
Xie D Z, Yu R M, Chen F, *et al.* Effects of dietary LNA/LA ratio on growth, hepatic fatty acid profiles and $\Delta 6fad$, $elov15$ mRNA expression in common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, 41(5): 757-765(in Chinese).
- [25] Sargent J R, Tocher D R, Bell J G. The lipids[M]//Halver J E, Hardy R W. *Fish Nutrition*. 3rd ed. San Diego, California: Elsevier, 2002: 181-257.
- [26] Olsen R E, Henderson R J, McAndrew B J. The conversion of linoleic acid and linolenic acid to longer chain polyunsaturated fatty acids by tilapia (*Oreochromis nilotica*) *in vivo*[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1990, 8(3): 261-270.
- [27] Francis D S, Peters D J, Turchini G M. Apparent *in vivo* Δ -6 desaturase activity, efficiency, and affinity are affected by total dietary C₁₈ PUFA in the freshwater fish murray cod[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(10): 4381-4190.
- [28] Blanchard G, Makombu J G, Kestemont P. Influence of different dietary 18:3n-3/18:2n-6 ratio on growth performance, fatty acid composition and hepatic ultrastructure in Eurasian perch, *Perca fluviatilis*[J]. *Aquaculture*, 2008, 284(1-4): 144-150.
- [29] Biga P R, Cain K D, Hardy R W, *et al.* Growth hormone differentially regulates muscle myostatin1 and -2 and increases circulating cortisol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2004, 138(1): 32-41.
- [30] 李晶, 沙长青, 杨成辉. 重组鲑鱼生长激素基因酵母对鲤鱼苗促生长作用研究[J]. *中国饲料*, 2004(18): 30-33.
Li J, Sha C Q, Yang C H. Recombinant salmon growth hormone gene yeast to study the growth effect of carp seedling[J]. *China Feed*, 2004(18): 30-33(in Chinese).
- [31] Moriyama S, Swanson P, Nishii M, *et al.* Development of a homologous radioimmunoassay for coho salmon insulin-like growth factor-I[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 1994, 96(1): 149-161.
- [32] 刘月星, 马洪雨, 马春艳, 等. 水产动物重要经济性状相关功能基因的研究进展[J]. *生物技术通报*, 2014(2): 30-40.
Liu Y X, Ma H Y, Ma C Y, *et al.* Research progress of functional genes related with important economic traits for aquatic animals[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2014(2): 30-40(in Chinese).
- [33] 代向燕, 张玮, 卓子见, 等. 鱼类生长的神经内分泌调控[J]. *中国科学: 生命科学*, 2015, 58(2): 137-147.
Dai X Y, Zhang W, Zhuo Z J, *et al.* Neuroendocrine regulation of somatic growth in fishes[J]. *Science China Life Sciences*, 2015, 58(2): 137-147.
- [34] De-Santis C, Jerry D R. Candidate growth genes in

- finfish - where should we be looking?[J]. *Aquaculture*, 2007, 272(1-4): 22-38.
- [35] Tan X G, Rotllant J, Li H Q, *et al.* SmyD1, a histone methyltransferase, is required for myofibril organization and muscle contraction in zebrafish embryos[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(8): 2713-2718.
- [36] Johnston I A. Environment and plasticity of myogenesis in teleost fish[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2006, 209(12): 2249-2264.
- [37] Eppler E, Berishvili G, Mazel P, *et al.* Distinct organ-specific up- and down-regulation of IGF-I and IGF-II mRNA in various organs of a GH-overexpressing transgenic Nile tilapia[J]. *Transgenic Research*, 2010, 19(2): 231-240.
- [38] Yuan X N, Jiang X Y, Pu J W, *et al.* Functional conservation and divergence of duplicated insulin-like growth factor 2 genes in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)[J]. *Gene*, 2011, 470(1-2): 46-52.
- [39] Vong Q P, Chan K M, Cheng C H. Quantification of common carp (*Cyprinus carpio*) IGF-I and IGF-II mRNA by real-time PCR: differential regulation of expression by GH[J]. *Journal of Endocrinology*, 2003, 178(3): 513-521.
- [40] Sännger A M, Stoiber W. 7-Muscle fiber diversity and plasticity[J]. *Fish Physiology*, 2001, 18: 187-250.
- [41] 赵浩斌, 彭扣, 王玉凤, 等. 鱼类肌肉生长抑制素研究进展[J]. *水生生物学报*, 2006, 30(2): 227-231.
- Zhao H B, Peng K, Wang Y F, *et al.* Progress of studies on myostatin of fish[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2006, 30(2): 227-231(in Chinese).
- [42] 成嘉, 褚武英, 张建社. 鱼类肌肉组织发生和分化相关基因的研究进展[J]. *生命科学研究*, 2010, 14(4): 355-362.
- Cheng J, Chu W Y, Zhang J S. Progresses and perspectives of the studies on fish muscle-related genes and their expression[J]. *Life Science Research*, 2010, 14(4): 355-362(in Chinese).
- [43] Galt N J, Froehlich J M, Meyer B M, *et al.* High-fat diet reduces local *myostatin*-1, paralog expression and alters skeletal muscle lipid content in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2014, 40(3): 875-886.
- [44] Mareco E A, de la Serrana D G, Johnston I A, *et al.* Characterization of the transcriptome of fast and slow muscle myotomal fibres in the pacu (*Piaractus mesopotamicus*)[J]. *BMC Genomics*, 2015, 16(1): 182.
- [45] Bower N I, Johnston I A. Transcriptional regulation of the IGF signaling pathway by amino acids and insulin-like growth factors during myogenesis in Atlantic salmon[J]. *PLoS One*, 2010, 5(6): e11100.
- [46] Vélez E J, Lutfi E, Jiménez-Amilburu V, *et al.* IGF-I and amino acids effects through TOR signaling on proliferation and differentiation of gilthead sea bream cultured myocytes[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2014, 205: 296-304.
- [47] Azizi S, Nematollahi M A, Mojazi A B, *et al.* IGF-I and IGF-II effects on local IGF system and signaling pathways in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) cultured myocytes[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2016, 232: 7-16.
- [48] Duarte-Guterman P, Navarro-Martín L, Trudeau V L. Mechanisms of crosstalk between endocrine systems: regulation of sex steroid hormone synthesis and action by thyroid hormones[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2014, 203: 69-85.

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*)

PANG Xiaolei, TIAN Xue*, WANG Liangyan, LI Mengrong, HU Ju, MA Xiao, LIU Huifen, LI Xuejun

(Engineering Technology Research Center of Henan Province for Aquatic Animal Cultivation, College of Fisheries, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: To analyze the influence of n-3/n-6 PUFAs levels on the growth performance and growth-related genes mRNA expression in common carp, five isonitrogenous and isoenergetic experimental diets based on fish oil and mixed vegetable oil were fed to the *Cyprinus carpio haematopterus* for 10 weeks. The control diet (T1) was only supplemented with fish oil as lipid source, n-3/n-6 ratio was 0.97. The second group (T2) was only supplemented with peanut oil, n-3/n-6 ratio was 0.02. n-3/n-6 ratio of the other three experiments groups were 0.46(T3), 1.09 (T4) and 1.53 (T5) with peanut oil and perilla seed oil as feed source. After 10 weeks cultivation experiments, we checked each group for fish growth performance, serum growth hormone and growth-related gene expression level in different parts of muscle tissue. The results indicated that there were no significant differences in the viscerosomatic index (VSI), feed coefficient (FCR), feed intake(FI) among the five tested groups. Weight gain rate of the fish (WGR) was raised first and subsequently declined with the increase of the n-3/n-6 ratio. WGR climbed the peak at T4 group. The serum GH levels of T2 group were significantly higher than those of others, and the level of GH in serum gradually reduced with the increase of n-3/n-6 ratio. The expression levels of growth-related genes in the dorsal muscles showed that *gh*, *ghr*, *igf-1* and *myod* were enhanced first and subsequently declined. However, *igf-1r* displayed the opposite expressive trend, while there were no significant differences in *mstn* level among the five treated groups. In red muscle, the expression levels of *gh* and *myod* were gradually decreased with the increase of n-3/n-6 ratio, and the expressions of *ghr* and *mstn* exhibited no significant differences in five groups. Besides, the expressive trends of *igf-1* and *igf-1r* were similar to that of dorsal muscles. Interestingly, the expressions of *gh*, *ghr* and *igf-1* in the abdominal muscles were consistent with the dorsal muscles. But, the levels of *igf-1r* and *myod* manifested no significant difference in five tested groups. There were significant differences in the number of muscle fibers in the T2 group and T4 group, and the muscle fibers in T4 group were thicker than those of T2. This study showed that vegetable oil contributed to improve the WGR of the fish and the n-3/n-6 ratio of the diets not only affected the serum GH level, but also influenced the growth related genes of GH/IGF axis in different parts of the muscle tissues.

Key words: *Cyprinus carpio haematopterus*; PUFAs; GH/IGF axis; growth performance

Corresponding author: TIAN Xue. E-mail: tianxue_81@126.com

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31402294); Foundation of Henan Educational Committee (16B240001, 17A240002)