



## 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼生长、脂代谢及健康的影响

肖芬芬<sup>1,2</sup>, 孙健<sup>1</sup>, 吉红<sup>1\*</sup>, 于海波<sup>1</sup>, 董武子<sup>1</sup>

(1. 西北农林科技大学动物科技学院, 陕西 杨凌 712100;

2. 陕西华秦农牧科技有限公司, 陕西 杨凌 712100)

**摘要:** 为探究裂殖壶藻渣作为饲料原料对多鳞白甲鱼的生长性能、脂代谢及健康状况的影响, 配制 5 种等氮等脂饲料, 分别添加 0(DS0)、30(DS3)、60(DS6)、90(DS9) 和 120 g/kg (DS12) 的裂殖壶藻渣, 饲喂养殖于室内循环水系统的 180 尾多鳞白甲鱼 [(9.00±0.55) g, 12 尾/缸], 共 56 d。结果显示: (1) 增重率 (WG)、特定生长率 (SGR) 及饲料系数 (FCR) 在各组间无显著差异; (2) DS9 组和 DS12 组的肥满度 (CF)、肝体比 (HSI)、腹脂指数 (IFI)、肝脏和腹脂甘油三脂 (TG) 含量均显著低于对照组; (3) DS6、DS9 和 DS12 组肌肉中 DHA 含量、 $\sum n-3$  LC PUFA (n-3 长链多不饱和脂肪酸) 含量、n-3/n-6 PUFA 比例、胆固醇血症指数 (h/H) 和血脂质量指数 (FLQ) 显著高于对照组, 而动脉粥样硬化指数 (AI) 和血栓形成指数 (TI) 均显著低于对照组; (4) 所有处理组肝脏的脂肪酸合成酶 (FAS) 和乙酰辅酶 A 羧化酶 1 (ACC1) 的 mRNA 表达水平显著低于对照组; DS6、DS9 和 DS12 组腹腔脂肪组织的乙酰辅酶 A 羧化酶 2 (ACC2) 和甘油三酯水解酶 (ATGL) 的 mRNA 表达水平显著高于对照组; (5) 所有处理组血清中超氧化物歧化酶 (SOD) 活性显著高于对照组, 丙二醛 (MDA) 含量显著低于对照组。研究表明, 日粮中添加 90 g/kg 的裂殖壶藻渣可通过影响脂代谢相关基因的表达降低多鳞白甲鱼腹腔脂肪和肝脏脂肪蓄积, 并提升其肌肉营养价值, 增强机体抗氧化能力。

**关键词:** 多鳞白甲鱼; 裂殖壶藻渣; DHA; 生长性能; 脂代谢; 营养价值; 抗氧化

**中图分类号:** S 963.4

**文献标志码:** A

裂殖壶藻是一种海洋微藻, 又称裂壶藻和裂殖壶菌 (*Schizochytrium*), 属卵菌纲 (Oomycetes) 水霉目 (Saprolegniales) 破囊壶菌科 (Thraustochytriaceae)<sup>[1]</sup>。裂殖壶藻含有大量油脂 (高达细胞干重的 55%), 其脂肪酸组成中的 DHA 约占总脂肪酸的 45%, 已被广泛用于商业化生产富含 DHA 的藻油和藻粉, 其相关产品主要作为营养添加剂应用于食品和饲料中<sup>[2]</sup>。裂殖壶藻的水分、灰分、蛋白质和碳水化合物含量分别约为 1.49%、79.00%、15.49% 和 29.26%, 并含有丰富的矿物质

元素、色素和角鲨烯等活性物质<sup>[3]</sup>。目前, 裂殖壶藻作为新型饲料原料已被用于金鲳 (*Trachinotus ovatus*)<sup>[4]</sup>、虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)<sup>[5]</sup>、凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*)<sup>[6]</sup> 和大西洋鲑 (*Salmo salar*)<sup>[7]</sup> 等的日粮中, 以促进动物生长, 提高饲料利用率, 改善体内脂肪酸组成, 提升肉质品质和健康状况。

裂殖壶藻渣作为工业化生产 DHA 藻油的副产物, 仍保留着一部分蛋白质、脂质和微量元素等有价值的营养物质, 该资源约有 60%~70% 被作

收稿日期: 2022-06-27 修回日期: 2022-08-11

资助项目: 蓝色粮仓科技创新重大专项 (2019YFD0900200)

第一作者: 肖芬芬 (照片), 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: 962367391@qq.com

通信作者: 吉红, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: jihong@nwsuaf.edu.cn



为废弃物。近年来, 已有大量研究表明, 微藻渣可用于凡纳滨对虾<sup>[8]</sup>、尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)<sup>[9]</sup> 和大西洋鲑<sup>[10]</sup> 等的日粮配制, 例如: 微拟球藻 (*Nannochloropsis*) 渣可以成功替代欧洲鲈 (*Dicentrarchus labrax*) 日粮中 15% 的鱼粉, 而不影响鱼的生长和前肠组织结构<sup>[11]</sup>; 在凡纳滨对虾日粮中添加 3% 雨生红球藻 (*Haematococcus pluvialis*) 渣可促进虾的生长和饲料利用率, 有效富集虾体内虾青素的含量, 改善肌肉品质<sup>[8]</sup>。当裂殖壶藻渣应用于框鳞镜鲤 (*Cyprinus carpio* var. *specularis*) 的日粮中, 可显著提高肌肉中 n-3 LC PUFA 的含量和机体的抗氧化能力<sup>[12]</sup>。李孟研等<sup>[13]</sup> 发现裂殖壶藻渣酶解肽可有效缓解草鱼肠道炎症, 维持肠道黏膜形态稳定性, 明显改善草鱼肠道损伤程度。因此, 评估裂殖壶藻渣在多鳞白甲鱼日粮中的应用具有一定的价值。

多鳞白甲鱼 (*Onychostoma macrolepis*) 俗称钱鱼或泉鱼, 隶属鲤形目 (Cypriniformes) 鲤科 (Cyprinidae) 鲃亚科 (Barbinae) 白甲鱼属 (*Onychostoma*), 是秦巴山区的名贵淡水经济鱼类, 被誉为“中国五大名鱼”之一<sup>[14]</sup>, 其肌肉富含 17 种氨基酸和多种多不饱和脂肪酸<sup>[15-16]</sup>, 具有很高的营养价值, 已被登记为国家农产品地理标志产品。另一方面, 作为土著特色鱼类, 多鳞白甲鱼被确定为国家二级重点保护野生动物 (仅限野外种群), 并被列入《中国脊椎动物红色名录》的易危 (VU) 鱼类<sup>[17]</sup>。迄今为止, 多鳞白甲鱼的研究主要集中在生态习性和生物学特性<sup>[18-19]</sup>、食性<sup>[20]</sup>、营养需求水平与来源<sup>[21]</sup>、资源保护及人工繁育<sup>[22]</sup> 等方面。目前尚无多鳞白甲鱼专用配合饲料, 生产中常用其他鱼类的商品饲料饲喂, 其专用饲料开发十分必要。多鳞白甲鱼具有刮食砾石表层的纺锤硅藻和异极硅藻等藻类为食<sup>[20]</sup> 的生物习性, 这为探究裂殖壶藻渣在多鳞白甲鱼日粮中的应用提供了参考。本实验拟评估裂殖壶藻渣作为饲料原料对多鳞白甲鱼的影响, 对其专用饲料开发、种质资源养护和产业化发展具有积极意义。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验饲料

基于多鳞白甲鱼营养需求 (蛋白 37.5%, 脂肪 9.68%) 配制了 5 组饲料。以鱼粉、肉骨粉、豆粕 (华秦农牧科技有限公司, 杨凌示范区, 陕西

省) 等为饲料蛋白源, 豆油为饲料脂质源 (菏泽鲁之元食品有限公司, 菏泽, 山东省)。裂殖壶藻渣 (下文简称为藻渣) 含粗蛋白 17.93%, 粗脂肪 8.45%, DHA 42.67% (山东省临沂市友康生物科技有限公司, 临沂市, 山东省)。将藻渣按 0、30、60、90 和 120 g/kg 添加到上述混合原料中, 配制对照组藻渣添加量为 0, 处理组添加量分别为 3% (DS3), 6% (DS6), 9% (DS9), 12% (DS12) 的 5 组饲料。所有原料需粉碎混匀, 加入豆油搓匀再添加 10% 的蒸馏水, 用制粒机制成直径 2 mm 的颗粒, 放置于室温阴凉处通风干燥 24 h, 在 -20 °C 保存待用。多鳞白甲鱼饲料配方、常规成分和脂肪酸组成分别见表 1, 表 2。

### 1.2 实验鱼及饲养管理

多鳞白甲鱼 1 龄幼鱼由西北农林科技大学安康水产试验示范站提供。将实验鱼在水泥池 (4.75 m × 1.65 m × 0.8 m) 中暂养 15 d。饥饿 24 h 后, 选取 180 尾同一规格的多鳞白甲鱼 [(9.00±0.55) g] 随机分至 15 个 (300 L) 循环水缸中, 将水缸随机分为 5 组, 每组 3 个重复, 正式实验前停食 24 h。饱食投喂 56 d, 投喂时间设定为每日 8:30, 12:30, 16:30。井水通过曝气注入培育池中, 增加氧泵保证充足的氧气, 缸底每两天排污一次。光照周期为 12 h : 12 h。每日监测水质, 并记录实验鱼死亡数量等。养殖过程中监测水温为 (21.5±1.5) °C, pH 7.4±0.30, 溶解氧 (7.90±0.50) mg/L, 氨氮 (0.05±0.02) mg/L, 亚硝酸 <0.005 mg/L, 硫化物 <0.01 mg/L。

### 1.3 样品采集

样品采集过程严格按照西北农林科技大学动物管理委员会的要求执行, 尊重动物福利与道德规范。将多鳞白甲鱼饥饿 24 h 后使用 MS-222 (50 mg/L) 麻醉, 每条鱼称重并测量体长。每缸取 2 尾鱼保存在 -20 °C 冰箱用于全鱼的指标检测。从每缸取 5 尾鱼解剖, 对其内脏、肾脏、肝脏、脾脏以及腹腔脂肪组织称重, 并测量其肠道长度。称量后肝脏、肠道迅速保存于 -20 °C 环境中。将其中的 2 尾鱼的肝脏、中肠和腹腔脂肪组织样品固定在 4% 多聚甲醛溶液中用于组织结构观察。剩余 5 尾鱼解剖后的肝脏、脂肪和肌肉组织保存于 -80 °C 用于组织基因表达和酶活性表达测定。

表 1 日粮中裂殖壶藻渣和日粮的营养成分 (风干基础, g/kg)

成分 components		组别 group					
		DS	DS0	DS3	DS6	DS9	DS12
鱼粉	fish meal		260	260	260	260	260
肉骨粉	meat and bone meal		110	110	110	110	110
豆粕	soybean meal		120	120	120	120	120
菜粕	rapeseed meal		60	60	60	60	60
棉粕	cottonseed meal		80	80	80	80	80
面粉	wheat flour		213	182	153	158	120
米糠	rice bran		81	86	88.5	64.6	66
裂殖壶藻渣	DS		0	30	60	90	120
豆油	soybean oil		31	27	23.5	22.4	19
Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>			20	20	20	20	20
膨润土	bentonite		15	15	15	15	15
预混料	premix <sup>1</sup>		10	10	10	10	10
总计	total		1000	1000	1000	1000	1000
<b>营养组成/% proximate composition</b>							
粗蛋白	crude protein (% N×6.25)	17.93	38.63	38.62	38.85	38.49	38.72
粗脂肪	crude lipid	8.45	9.68	9.68	9.68	9.68	9.68
灰分	ash	12.83	11.48	11.93	12.04	12.16	12.45
水分	moisture	24.57	10.12	10.10	10.07	10.08	10.06
粗纤维	cellulose	9.95	3.01	3.04	3.18	3.24	3.46

注: 1. 预混料(mg/100 g饲料)含硫酸铝钾 0.159, 碳酸钙 18.101, 氯化钴 0.07, 硫酸镁 5.216, 硫酸锰 0.007, 氯化钾 16.553, 碘化钾 0.014, 碳酸锌 0.192, 硒酸钠 0.006, 硫酸铜 0.075, 柠檬酸铁 1.338, 含硫胺素5, 核黄素5, 维生素A 25 00 IU, 维生素E 40 IU, 维生素D3 24 00 IU, 甲萘醌4, 盐酸吡哆醇 4, 氰钴胺0.01, 生物素 0.6, 泛酸钙 10, 叶酸 1.5, 烟酸 20, 肌醇200, 余量为石灰石载体  
Notes: 1. The premix contained (mg/100 g of diet): KAl(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 0.159; CaCO<sub>3</sub> 18.101; CaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 44.601; CoCl<sub>2</sub> 0.070; MgSO<sub>4</sub> 5.216; MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 0.007; KCl 16.553; KI 0.014; ZnCO<sub>3</sub> 0.192; Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 0.006; CuSO<sub>4</sub> 0.075; Ferric citrate 1.338; thiamine 5; riboflavin 5; vitamin A, 2500 IU; vitamin E, 40 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 2400 IU; menadione, 4; pyridoxine HCl, 4; cyanocobalamin, 0.01; biotin, 0.6; calcium pantothenate, 10; folic acid, 1.5; niacin, 20; inositol, 200; The remaining ingredients are limestone carriers

相关生长及生物学性状指标计算公式如下:

增重率 (weight gain, WG, %) = (末重 - 初重) / 初重 × 100%;

成活率 (survival ratio, SR, %) = 实验结束鱼数量 / 实验初鱼数量 × 100%;

肠体比 (relative intestine length, RIL, %) = 肠长 / 体长 × 100%;

特定生长率 (specific growth rate, SGR, %/d) = [ln(鱼末均重) - ln(鱼初均重)] / 实验天数 × 100%

饲料转化率 (feed conversion ratio, FCR, g/g) = 投饲总量 / 体增重;

饱满度 (condition factor, CF, %) = 体质量 / 体长<sup>3</sup> × 100%;

肝脏指数 (hepatosomatic index, HSI, %) = 肝胰脏重 / 鱼体质量 × 100%;

腹腔脂肪指数 (intra-peritoneal fat body index, IFI, %) = 腹腔脂肪重 / 鱼体质量 × 100%

脾指数 (spleen index, SI, %) = 脾脏重 / 鱼体质量 × 100%;

肾指数 (kidney index, KI, %) = 肾脏重 / 鱼体质量 × 100%;

#### 1.4 常规成分分析

全鱼、饲料和肌肉的常规成分测定采用 AOAC 法<sup>[23]</sup>; 水分使用烘箱 (105 °C) 恒温干燥后计算; 粗蛋白 (N × 6.25) 含量使用凯氏定氮法测定; 粗脂肪含量使用石油醚完全抽提后进行计算 (索氏抽提法); 粗灰分通过马弗炉 550 °C 灰化 12 h 后恒重计算。

#### 1.5 甘油三酯 (TG) 含量和抗氧化指标测定

使用试剂盒检测 (南京建成生物工程研究所, 南京市, 江苏省, 中国) 检测肝脏、肌肉和腹脂的 TG 含量, 以及肝脏和血清中 SOD 活性和 MDA 含量。

表 2 裂殖壶藻渣和日粮脂肪酸组成 (% 总脂肪酸)

Tab. 2 Fatty acid composition of defatted *Schizochytrium* sp. and experimental diets (% of total fatty acids)

脂肪酸 fatty acids	组别 groups					
	DS	DS0	DS3	DS6	DS9	DS12
C14:0	2.57	1.36	1.93	1.36	2.84	2.01
C16:0	33.81	15.04	16.43	17.18	18.36	22.78
C17:0	—	1.49	1.12	1.78	1.08	1.60
C18:0	2.02	8.26	8.50	8.44	7.58	8.27
C20:0	—	0.82	0.67	0.60	0.70	0.38
∑SFA <sup>1</sup>	38.40	26.97	28.65	29.36	30.56	35.04
C16:1n-7	1.06	2.38	2.81	2.61	2.82	3.21
C18: 1n-9	1.89	18.59	17.78	17.85	17.16	15.17
∑MUFA <sup>2</sup>	3.44	20.97	20.59	20.46	19.98	18.38
C18:2n-6c	0.42	24.03	21.76	19.80	18.98	18.41
C18:3n-6	—	0.29	0.54	0.60	0.33	0.46
C20:4n-6	0.55	0.73	0.13	0.98	0.69	0.99
C20:3n-6	—	3.32	3.22	3.40	4.31	3.65
C22:4n-6	—	8.11	9.55	8.79	8.45	7.76
∑n-6 PUFA	0.97	36.48	35.2	33.57	32.76	31.27
C18:3n-3	0.21	3.51	3.05	2.82	2.61	0.38
C20:3n-3	—	1.45	0.73	1.19	1.13	1.13
C20:5n-3	0.1	1.14	1.32	1.43	1.28	1.17
C22:6n-3	42.67	9.44	10.46	11.17	11.68	12.61
∑n-3 PUFA	42.98	15.54	15.56	16.61	16.7	15.29
∑n-3 LC PUFA	42.77	12.03	12.51	13.79	14.09	14.91
n-3/n-6 PUFA	44.31	0.43	0.44	0.49	0.51	0.49
C20:5n-3	0.1	1.14	1.32	1.43	1.28	1.17
C22:6n-3	42.67	9.44	10.46	11.17	11.68	12.61
∑n-3 PUFA	42.98	15.54	15.56	16.61	16.7	15.29
∑n-3 LC PUFA	42.77	12.03	12.51	13.79	14.09	14.91
n-3/n-6 PUFA	44.31	0.43	0.44	0.49	0.51	0.49

注: 1. ∑SFA, 饱和脂肪酸; 2. ∑MUFA, 单不饱和脂肪酸; —. 未检测

Notes: 1. ∑SFA, saturated fatty acid; 2. ∑MUFA, monounsaturated fatty acid; —. no detection

## 1.6 脂肪酸组成及脂肪酸健康指数分析

称取 0.3~0.5 g 样品于 10 mL 离心管中, 加入甲醇: 氯仿 (1:2) 5 mL, 高速分散器 (XHF-D, SCIENIZ®, 宁波) 匀浆, 静置 1~2 h 后定量滤纸过滤, 加 4 mL 蒸馏水, 3000 r/min 离心 5 min, 去上清, 下层用水浴锅负压抽干 (40 °C) 后得到组织脂质。随后加入 1 mL 色谱纯正己烷将油脂溶解, 加 1 mL 0.4 mol/L, KOH-甲醇溶液静置 30 min 进行甲酯化, 之后加 2 mL 去离子水, 待分层后提取上层溶液在气相色谱仪 (安捷伦 7820a, 安捷伦科技, 美国) 上进行测定。每种脂肪酸与已知标品 (47015-U, Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, USA) 进行

比对鉴别。

**检测条件** 色谱柱: CP-sil 88 型毛细管色谱柱, 100 mm×0.25 mm×0.20 mm; 进样器温度: 250 °C; 检测器温度: 250 °C; 氢气流量 35 mL/min; 空气流量 350 mL/min; 尾吹气流量 45 mL/min。

**升温程序** 起始温度 70 °C, 保持 1 min, 以 5 °C/min 的速率升至 100 °C 保持 2 min, 再以 10 °C/min 的速率升至 175 °C, 保持 40 min, 再以 15 °C/min 的速率升至 225 °C, 保持 50 min。

实验结果按面积归一化法计算不同脂肪酸含量, 以总脂肪酸的百分比形式呈现。

动脉粥样硬化指数 (atherogenicity index, AI)



和血栓形成指数 (thrombogenicity index, TI) 的计算是根据 Ulbricht 等<sup>[24]</sup> 所述方法测定:

$$AI = [C_{12:0} + (4 \times C_{14:0}) + C_{16:0}] / [(n-3)PUFA + (n-6)PUFA + MUFA]$$

$$TI = (C_{14:0} + C_{16:0} + C_{18:0}) / \{ (0.5 \times MUFA) + [0.5 \times (n-6)PUFA] + [3 \times (n-3)PUFA] + [(n-3)PUFA / (n-6)PUFA] \}$$

胆固醇血症指数 (hypcholesterolemic/hypercholesterolemic FA ratio, h/H) 的计算是根据 Santos-Silva 等<sup>[25]</sup> 所述方法测定:

$$h/H = (C_{18:1n-9} + C_{18:2n-6} + C_{20:4n-6} + C_{18:3n-3} + C_{20:5n-3} + C_{22:5n-3} + C_{22:6n-3}) / (C_{14:0} + C_{16:0})$$

血脂质量 (blood lipid quality, FLQ) 的计算是根据 Abrami 等<sup>[26]</sup> 所述方法测定:

$$h/H = (C_{18:1n-9} + C_{18:2n-6} + C_{20:4n-6} + C_{18:3n-3} + C_{20:5n-3} + C_{22:5n-3} + C_{22:6n-3}) / (C_{14:0} + C_{16:0})$$

## 1.7 组织学观察

将固定的腹腔脂肪组织、肠道和肝脏样品在自来水中洗涤, 然后在分级系列的乙醇 (30%、50%、70%、80%、90%、95% 和 100%) 中进行 2 次常规

脱水<sup>[27]</sup>。按照标准方法, 将样品在二甲苯中浸润并包埋在石蜡中。包埋好的石蜡块用切片机 (RM2235, Leica, 德国) 将切片切成 5 μm 后安装在载玻片上, 用苏木精-伊红 (H.E) 染色。石蜡切片由西安依科生物科技有限公司制作。观察组织学样品并用正置显微镜 (Leica biosystems, Germany) 拍照。使用 Photoshop (Adobe, San Jose, USA) 对每个图像的平均脂肪细胞大小进行定量, 计算每组 3 个不重叠图像的平均值<sup>[28]</sup>。

## 1.8 基因表达分析

根据前述方法<sup>[29]</sup>, 完成组织 RNA 提取、浓度测定、cDNA 反转录和实时定量检测基因表达量。采用 CFX96 实时定量 PCR 检测系统。反应容量是 20 μL 包含 0.6 μL 引物, 1 μL 稀释的第一链 cDNA, 10 μL 2×SYBR® Premix Ex Taq™ II, 7.8 μL 双蒸水。qPCR 反应体系为, 初始激活步骤为 95 °C 30 s, 随后为 40 个循环的 95 °C 15 s, 60 °C 15 s。PCR 反应后采用扩增曲线获得目的基因与管家基因的 β-actin 的  $C_t$  值, 计算它们之间  $C_t$  值的差值记为  $\Delta C_t$ , 根据公式  $2^{-\Delta C_t}$  计算各组目的基因的表达量以制作相对定量的图表。基因引物 (杨凌奥科鼎盛生物科技有限公司, 杨凌示范区, 陕西省, 中国) 序列见表 3。

表 3 实时定量 PCR 的引物列表

Tab. 3 Primers used in real-time quantitative PCR

基因 genes	上游 forward (5'-3')	下游 reverse (5'-3')	登录序号 accession number
FAS	ATCCACAGAGCCACCATCTACC	CAAGTCCAGCATCTCCAAGACAC	MG735211.1
SREBP-1	GGCGACAAGAACCTCACTGATGG	GACAACCGACGACCACCACTTC	MG735210.1
ACC1	AGGTGGTACGGATGGCTGCTC	GACGGTGCTGGACGCTGTTG	MG735212.1
ACC2	CTGGCTGGCTGGATCACCTTATTG	GAGCACCGCATACCACACCTAAC	MG735213.1
ATGL	GCATCTGCCGTCTGTACC	GCTTCACTGTCTGCTCTCATCC	MH028390.1
CPT1	CTCAGACGGTGTTCAGTGCCATC	TCCAGCCGTGATAGGACAAGAGG	MH553647
PPAR $\alpha$	TGACATGGAGGTGCTGGAGGAC	TGCTGCTGTGCTGTTGCTCTG	MG735214.1
HSL	GCTTACCATCCAGACTGCTCAC	CTGGCTGCACTGACTGACAACCTC	MG735215.1
β-actin	TGACCCACACTGTACCCATC	CGGACAATTTCACTCTCGGC	JN254630.1

注: FAS. 脂肪酸合成酶; SREBP-1. 固醇调节元件结合蛋白-1; ACC1. 乙酰辅酶A羧化酶; ACC2. 乙酰辅酶A羧化酶; ATGL. 甘油三酯水解酶; CPT-1. 肉碱棕榈酰转移酶1; PPAR $\alpha$ . 过氧化物酶体增殖活化受体 $\alpha$ ; HSL. 激素敏感性脂肪酶

Notes: FAS. fatty acid synthase; SREBP-Notes: 1.sterol regulatory element-binding protein-1; ACC1.Acetyl-CoA 1; ACC2.Acetyl-CoA 1carboxylase 2; ATGL.adipose TAG lipase; CPT-1. carnitine palmitoyltransferase 1; PPAR $\alpha$ . peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$ ; HSL. hormone sensitive lipas

## 1.9 数据分析

采用 SPSS 18.0 软件 (Chicago, IL, USA) 对实验数据进行单因素方差分析和 Duncan 氏多重比较

分析。数据均表示为平均数±标准差 (mean±SD)。使用 SPSS 18.0 软件对日粮、肝脏、肌肉和腹腔脂肪组织的脂肪酸组成进行主成分分析 (PCA) 分析。

## 2 结果

### 2.1 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼生长性能和生物学性状的影响

各组间 WGR、SGR、SR、RIL、KI、SI 无显著差异 ( $P>0.05$ )。DS9 和 DS12 组 CF 及 DS6、DS9 和 DS12 组 HSI 和 IFI 显著低于对照组 ( $P<0.05$ ) (表 4)。

### 2.2 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼全鱼和肌肉常规成分的影响

DS3, DS6, DS9, DS12 肌肉中粗脂肪含量均显著低于对照组 ( $P<0.05$ ) (表 5)。

### 2.3 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼组织中甘油三脂 (TG) 含量的影响

DS9 和 DS12 组肝脏和腹脂中的 TG 含量显著低于对照组 ( $P<0.05$ ) (表 6)。

### 2.4 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼脂肪酸组成及健康指数的影响

日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼肌肉、肝脏和腹腔脂肪的脂肪酸组成影响 随着藻渣的添加, 肌肉和肝脏中  $\sum n-6$  PUFA 显著下降, DS6、DS9 和 DS12 组中 DHA,  $\sum n-3$  PUFA,  $n-3/n-$

6 PUFA 含量显著高于对照组 ( $P<0.05$ ), 但肌肉中的 DHA 含量在 DS12 组不再升高 (表 7)。腹腔脂肪脂肪酸中饱和脂肪酸占很大比例, DS9 和 DS12 组 SFA 含量显著低于对照组, 且 DS9 和 DS12 组的 DHA 含量显著高于对照组 ( $P<0.05$ ) (表 8, 表 9)。相对地, 从 PCA 图可见, 位于图 1-b 第四象限的腹腔脂肪所对应图 1-a C16、C14、C20 和 C24 等饱和脂肪酸; 图 1-a  $n-3$  LC-PUFA, 例如 DHA 和 EPA 主要集中于第一象限, 该区域与图 1-b 中的肌肉组织相对应 (图 1)。

日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼肌肉脂肪酸健康指数的影响 所有处理组的 AI 和 TI 均显著低于对照组 ( $P<0.05$ )。DS9 和 DS12 组藻渣添加组的 h/H 和所有处理组的 FLQ 均显著高于对照组 ( $P<0.05$ ) (表 10)。

### 2.5 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼组织结构的影响

日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼肝脏细胞组织结构的影响 0% 组肝脏中的空泡面积最多, 随着藻渣的添加, 肝脏中的空泡数呈逐渐递减的现象, DS9 和 DS12 组单位面积内肝细胞数量显著高于对照组 ( $P<0.05$ ) (图版 I)。

表 4 裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼生长性能和生物学性状的影响

Tab. 4 Effects of defatted *Schizochytrium* sp. on growth performance and biological parameters of *O. macrolepis*

项目 items	组别 group					回归分析 regression analysis	
	DS0	DS3	DS6	DS9	DS12	$R^2$	$P$ -value
初重/g IBW	9.00±0.20	9.00±0.23	9.00±0.20	9.00±0.24	9.00±0.22		0.934
末重/g FBW	19.58±0.63	19.15±0.57	19.16±0.47	19.33±0.21	19.14±0.25		0.810
增重率/% WGR	117.52±10.34	112.82±7.46	112.8±10.75	114.75±2.35	113.53±3.70		0.803
体长/cm BL	10.8±0.17	10.68±0.18	10.70±0.21	10.77±0.14	10.78±0.24		0.762
存活率/% SR	100.00±0.00	100±0.00	100±0.00	100±0.00	100.00±0.00		1.000
肠体比/% RIL	284.51±10.53	285.19±3.52	290.35±8.14	281.15±5.82	285.5±9.13		0.941
特定增长率/(%/d) SGR	1.38±0.06	1.35±0.08	1.37±0.06	1.35±0.04	1.39±0.06		0.772
饲料系数/% FCR	1.65±0.04	1.62±0.04	1.63±0.02	1.67±0.02	1.68±0.03		0.325
肥满度/(g/cm <sup>3</sup> ) CF	1.57±0.02 <sup>a</sup>	1.57±0.03 <sup>a</sup>	1.57±0.02 <sup>ab</sup>	1.54±0.02 <sup>ab</sup>	1.51±0.03 <sup>b</sup>	0.732	<0.001
肝体比/% HSI	1.28±0.03 <sup>a</sup>	1.10±0.05 <sup>b</sup>	1.05±0.03 <sup>b</sup>	1.04±0.02 <sup>b</sup>	0.99±0.05 <sup>c</sup>	0.934	<0.001
脂肪指数/% IFI	3.22±0.10 <sup>a</sup>	3.17±0.18 <sup>ab</sup>	3.08±0.18 <sup>bc</sup>	2.93±0.03 <sup>bc</sup>	2.85±0.04 <sup>c</sup>	0.783	<0.001
肾脏指数/% SI	0.07±0.02	0.08±0.02	0.07±0.01	0.08±0.03	0.09±0.02		0.940
脾脏指数/% KI	0.39±0.04	0.39±0.02	0.38±0.03	0.40±0.04	0.39±0.03		0.370

注: 应用线性回归 ( $R^2$  = 调整后的 R 平方) 和单向方差分析 (同一行中具有不同上标字母的平均值); 数据表示为平均值 ± 标准差。同行上标不同表示差异显著 ( $P<0.05$ ), 下表同

Notes: Linear regression ( $R^2$  = adjusted R-squared) and one-way ANOVA (means with different superscript letters in the same row) were applied; Values are means ± SD, of three replicates. Values in the same line with different superscript letters are significantly different ( $P<0.05$ ), the same below

表5 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼全鱼和肌肉常规成分的影响

Tab. 5 Effects of defatted *Schizochytrium* sp. in diet on proximate composition of whole body and muscle of juvenile *O. macrolepis*

项目 items	组别/% group					回归分析 regression analysis	
	DS0	DS3	DS6	DS9	DS12	R <sup>2</sup>	P-value
<b>全鱼 whole-body</b>							
水分 moisture	68.63±0.33	68.95±0.59	68.27±0.30	68.46±0.72	67.31±0.38		0.090
粗蛋白 crude protein	17.23±0.33	17.32±0.59	17.00±0.30	17.17±0.72	17.44±0.38		0.318
粗脂肪 crude lipid	10.093±0.46	10.23±0.36	10.94±0.52	10.29±0.26	10.22±0.32		0.058
粗灰分 crude ash	3.21±0.12	3.12±0.09	3.09±0.13	3.14±0.12	3.28±0.10		0.407
<b>肌肉 muscle</b>							
水分 moisture	76.28±0.78	76.51±0.18	77.01±0.42	76.94±0.45	76.45±1.44		0.542
粗蛋白 crude protein	20.73±0.57	21.32±0.98	20.84±0.74	20.74±0.83	20.96±0.41		0.052
粗脂肪 crude lipid	2.19±0.03 <sup>a</sup>	2.12±0.02 <sup>b</sup>	1.98±0.04 <sup>c</sup>	1.98±0.04 <sup>c</sup>	1.97±0.04 <sup>c</sup>	0.811	<0.001
粗灰分 crude ash	1.26±0.04	1.33±0.05	1.27±0.03	1.37±0.04	1.41±0.05		0.328

表6 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼组织中 TG 含量的影响

Tab. 6 Effects of defatted *Schizochytrium* sp. in diet on the content of triglycerides in tissues of juvenile *O. macrolepis*

项目 items	组别 group					回归分析 regression analysis	
	DS0	DS3	DS6	DS9	DS12	R <sup>2</sup>	P-value
肝脏 mmol/L liver	0.51±0.14 <sup>a</sup>	0.34±0.05 <sup>ab</sup>	0.36±0.1 <sup>ab</sup>	0.32±0.06 <sup>b</sup>	0.31±0.06 <sup>b</sup>	0.657	<0.001
肌肉 mmol/L muscle	0.91±0.26	0.92±0.19	0.88±0.10	0.95±0.15	0.88±0.09	None	0.818
腹脂 mmol/L intraperitoneal fat	0.88±0.19 <sup>a</sup>	0.76±0.08 <sup>ab</sup>	0.77±0.08 <sup>ab</sup>	0.65±0.04 <sup>b</sup>	0.66±0.08 <sup>b</sup>	0.662	<0.001

日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼肠道组织结构的影响 0%组肠道绒毛部分破损,不完整,绒毛高度低,杯状细胞数量少,所有处理组肠道绒毛高度显著高于对照组 ( $P<0.05$ ),且绒毛形态清晰完整,杯状细胞的数量增多(图版II)。

日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼腹腔脂肪组织结构的影响 所有处理组单位面积内脂肪细胞的平均面积都显著小于对照组 ( $P<0.05$ )(图版III)。

## 2.6 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼肝脏和血清中抗氧化指标的影响

肝脏中,DS3、DS6和DS9组MDA含量显著低于对照组 ( $P<0.05$ )。所有处理组血清中的SOD活性显著高于对照组,MDA含量显著低于对照组 ( $P<0.05$ )(图2)。

## 2.7 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼肝脏和腹腔脂肪组织脂代谢相关基因的表达

肝脏中,所有处理组FAS,ACC1的mRNA表达水平显著高于对照组 ( $P<0.05$ ),SREPB-1在各组间的表达水平无显著差异 ( $P>0.05$ )。DS12

组ACC2,ATGL的mRNA表达水平显著高于对照组 ( $P<0.05$ );DS6、DS9和DS12组CPT1,PPAR $\alpha$ ,HSL的表达水平显著高于对照组 ( $P<0.05$ )。腹腔脂肪中,DS6、DS9和DS12组FAS,ACC1和SREBP-1的表达水平显著低于对照组 ( $P<0.05$ );DS9和DS12组ACC2,ATGL的表达水平显著高于对照组 ( $P<0.05$ )。DS6、DS9和DS12组CPT1,PPAR $\alpha$ ,HSL的表达水平显著高于对照组 ( $P<0.05$ )(图3)。

## 3 讨论

### 3.1 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼的生长性能和常规成分的影响

裂殖壶藻是一种海洋微藻,可改善饲料的适口性,提高水生动物的生长性能<sup>[30-31]</sup>。适量的裂殖壶藻饲喂尼罗罗非鱼<sup>[3]</sup>和大西洋鲑<sup>[32]</sup>均可提高鱼的生长。近年来,藻渣也广泛应用于水产养殖中,研究发现,雨生红球藻渣和拟绿球藻渣分别应用于凡纳滨对虾和欧洲鲈的日粮,均可显著提高动物的SGR<sup>[8,11]</sup>。但过量的微藻添加会对某些水生动物的生长造成负面影响<sup>[6,33]</sup>,Xiao等<sup>[12]</sup>发现

表 7 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼肌肉脂肪酸组成的影响

Tab. 7 Effects of defatted *Schizochytrium* sp. in diet on fatty acid composition of muscle of juvenile *O. macrolepis*

脂肪酸 fatty acids	组别/% group					回归分析 regression analysis	
	DS0	DS3	DS6	DS9	DS12	R <sup>2</sup>	P-value
C14:0	0.97±0.21	0.89±0.14	0.83±0.19	0.80±0.15	0.70±0.17		0.10
C16:0	20.78±0.49	20.36±0.78	20.42±1.50	20.21±1.48	18.39±2.25		0.607
C18:0	2.26±0.15	2.26±0.32	1.82±0.29	1.91±0.24	1.71±0.33		0.258
C21:0	0.25±0.03	0.34±0.07	0.29±0.05	0.31±0.03	0.32±0.06		0.314
C23:0	4.19±0.38	4.13±0.48	4.04±0.49	3.56±0.64	4.67±0.49		0.270
∑SFA	28.45±0.62	27.98±0.34	27.29±0.83	26.79±0.83	25.79±0.54		0.184
C16:1n-7	18.37±0.32	17.60±0.34	17.80±0.43	18.04±0.33	17.20±0.54		0.09
C17: 1n-7	2.91±0.65	2.45±0.58	2.27±0.21	2.57±0.31	2.70±0.32		0.186
C18:1n-9	8.50±0.54	8.78±0.97	8.58±0.52	8.74±0.47	8.90±0.78		0.641
∑MUFA	29.78±1.15	28.83±0.44	28.65±1.27	29.35±1.18	28.89±0.31		0.917
C18:2n-6	18.60±0.21 <sup>a</sup>	16.00±0.44 <sup>a</sup>	14.35±1.04 <sup>ab</sup>	13.21±1.34 <sup>b</sup>	12.12±0.69 <sup>b</sup>	0.78	<0.001
C20:3n-6	7.43±0.51	7.40±0.32	8.74±0.52	7.7±0.41	8.80±0.56		0.629
∑n-6 PUFA	26.03±0.78 <sup>a</sup>	23.40±1.81 <sup>a</sup>	23.09±1.04 <sup>ab</sup>	20.90±1.74 <sup>b</sup>	20.90±0.46 <sup>b</sup>	0.80	0.002
C18:3n-3	1.74±0.15	1.72±0.09	1.74±0.49	1.75±0.09	1.82±0.13		0.602
C20:5n-3	2.30±0.13	2.38±0.09	2.45±0.13	2.53±0.11	2.61±0.19		0.020
C22:6n-3	13.36±0.50 <sup>c</sup>	15.96±0.81 <sup>b</sup>	16.98±0.65 <sup>b</sup>	18.18±0.21 <sup>a</sup>	18.16±0.33 <sup>a</sup>	0.94	<0.001
∑n-3 PUFA	17.40±0.29 <sup>c</sup>	20.06±0.76 <sup>bc</sup>	20.77±1.14 <sup>b</sup>	22.46±0.14 <sup>a</sup>	22.59±0.20 <sup>a</sup>	0.92	<0.001
∑n-3 LC PUFA	15.66±0.42 <sup>d</sup>	18.34±0.83 <sup>c</sup>	19.43±0.71 <sup>b</sup>	20.71±0.10 <sup>a</sup>	20.77±0.20 <sup>a</sup>	0.95	<0.001
n-3/n-6 PUFA	0.66±0.01 <sup>b</sup>	0.85±0.04 <sup>b</sup>	0.89±0.03 <sup>b</sup>	1.07±0.03 <sup>a</sup>	1.08±0.01 <sup>a</sup>	0.88	<0.001

在框鲤日粮中添加 120 g/kg 的裂殖壶藻渣可显著降低其 SGR。本实验中 SGR 和 FCR 在各组之间无显著差异, 这可能是由多鳞白甲鱼自身生长特点造成的, 相比与其他一些常见的鲤科鱼类, 秦巴山区多鳞白甲鱼的生长寿命相对较短, 生长拐点为 2.44 年龄, 通常 2 年龄的鱼体质量才达 120 g 以上<sup>[34]</sup>。本实验使用的是 1 龄鱼, 生长速度较缓, 各组之间的 SGR 和 FCR 差异不显著。肥满度常被用作衡量鱼体营养状况、丰满程度和环境条件的指标, 也是检测鱼体对外界环境的适应能力和饲料饲喂效果的重要方法<sup>[35]</sup>。鱼类肥满度变化还和水温及鱼的体长生长加快有关。齐口裂腹鱼的最适生长温度为 17.2~23.9 °C, 水温高于 23.9 °C, 其肥满度呈降低趋势<sup>[36]</sup>。本实验中, 循环水系统的水温控制在 (21.5±1.5) °C, 且鱼体体长在各组之间无显著差异, 这说明日粮中过量 (12%) 的藻渣会降低多鳞白甲鱼的生长性能。秦巴山区野生多鳞白甲鱼的水分、灰分、粗蛋白和粗脂肪平均含量分别为 79.58%±3.58%, 1.29%±0.07%, 17.37%±1.39% 和 1.76%±0.12%<sup>[16]</sup>。所有处理组肌肉中粗脂肪含量更接近于自然环境中的野生白甲鱼。

### 3.2 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼脂代谢的影响

研究表明, 饲料中添加微藻对水产动物脂代谢的调节有积极影响<sup>[37]</sup>。日粮中高水平 (完全替代鱼油) 的裂殖壶藻可改善尼罗罗非鱼对脂质的消化率<sup>[31]</sup>。同样, Kumar 等<sup>[6]</sup>发现在日粮中添加裂殖壶藻可提高凡纳滨对虾肝脏中脂肪酶活性。处理组 (DS6、DS9、DS12) 多鳞白甲鱼的 HSI 降低可能是因肝脏中脂质沉积减少。在日粮中添加 10% 或 15% 的红藻 (*Porphyra dioica*) 饲喂虹鳟 12 周, 可显著降低其 HSI<sup>[38]</sup>。脊椎动物中, 脂肪主要以甘油三酯 (triglyceride, TG) 的形式储存于白色脂肪组织的脂滴中, TG 是衡量机体健康状况的重要指标<sup>[39]</sup>。本研究中造成部分处理组肝脏和腹腔脂肪中 TG 含量降低的原因可能是藻渣中含有丰富 DHA。Todorčević 等<sup>[40]</sup>发现在日粮中添加 DHA 饲喂大西洋鲑 21 周后可显著降低其脂肪组织中 TG 含量。这是由于 DHA 对动物脂代谢的调控作用主要通过 2 种方式实现, 一是激活磷酸腺苷激活蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 通路,



表 8 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼肝脏脂肪酸组成的影响

Tab. 8 Effects of defatted *Schizochytrium* sp. in diet on fatty acid composition of liver of juvenile *O. macrolepis*

脂肪酸 fatty acids	组别/% group					回归分析 regression analysis	
	DS0	DS3	DS6	DS9	DS12	$R^2$	$P$ -value
C14:0	2.75±0.52	2.30±0.59	2.32±0.39	2.45±0.07	1.95±0.41		0.232
C16:0	26.91±2.00	24.91±1.24	24.34±1.56	26.76±0.77	22.50±2.27		0.213
C18:0	7.52±1.04	9.20±1.67	10.02±1.56	7.85±0.85	8.47±0.56		0.241
C21:0	1.89±0.29	1.69±0.58	2.30±0.17	1.48±0.64	2.97±0.90		0.165
C23:0	4.17±0.35	3.84±0.42	4.53±0.69	4.84±1.02	4.80±1.04		0.205
∑SFA	43.23±1.45	41.94±0.65	43.51±2.49	44.16±1.85	41.79±0.97		0.681
C16:1n-7	5.71±0.40	5.03±0.54	4.79±1.01	3.97±0.39	3.63±0.57	0.698	<0.001
C17: 1n-7	0.67±0.14	1.36±1.05	0.69±0.23	0.29±0.07	0.90±0.07		0.854
C18: 1n-9	6.38±0.47	5.71±0.14	5.83±0.37	5.49±0.19	5.68±1.27	0.760	<0.001
∑MUFA	12.76±0.74	12.10±0.86	11.31±0.87	9.75±0.29	9.21±0.99	0.725	<0.001
C18:2n-6	37.37±1.84	36.34±0.76	34.61±1.42	31.36±1.38	30.98±0.81	0.89	<0.001
C20:3n-6	2.26±0.24	2.58±0.46	2.28±0.28	2.30±0.26	2.13±0.32		0.267
∑n-6 PUFA	39.63±1.88	38.92±0.38	36.89±1.60	33.66±1.14	30.98±1.01	0.89	<0.001
C18:3n-3	0.89±0.17	1.13±0.33	1.34±0.54	1.86±0.31	1.21±0.49		0.193
C20:5n-3	0.37±0.08 <sup>b</sup>	0.37±0.04 <sup>b</sup>	0.40±0.03 <sup>b</sup>	0.55±0.03 <sup>a</sup>	0.83±0.05 <sup>a</sup>	0.87	<0.001
C22:6n-3	5.49±0.19 <sup>d</sup>	5.90±0.41 <sup>d</sup>	7.95±0.37 <sup>c</sup>	9.55±0.21 <sup>b</sup>	12.81±1.02 <sup>a</sup>	0.98	<0.001
∑n-3 PUFA	6.38±0.03 <sup>e</sup>	7.02±0.10 <sup>c</sup>	9.29±0.28 <sup>b</sup>	10.42±0.52 <sup>b</sup>	15.02±1.49 <sup>a</sup>	0.97	<0.001
∑n-3 LC PUFA	5.49±0.19 <sup>d</sup>	5.90±0.41 <sup>d</sup>	7.95±0.37 <sup>c</sup>	9.55±0.21 <sup>b</sup>	12.81±1.02 <sup>a</sup>	0.98	<0.001
n-3/n-6 PUFA	0.17±0.01 <sup>e</sup>	0.18±0.16 <sup>c</sup>	0.26±0.02 <sup>b</sup>	0.31±0.04 <sup>b</sup>	0.49±0.06 <sup>a</sup>	0.73	<0.001

降低乙酰辅酶 A 羧化酶 (acetyl CoA carboxylase, ACC)、脂肪酸合成酶 (fatty acid synthetase, FAS) 等脂肪合成酶活性, 减少脂肪沉积; 二是上调脂解酶表达水平, 抑制载脂蛋白合成, 加速 TG 的清除, 促进脂肪分解<sup>[41]</sup>。机体脂肪组织的蓄积主要表现为脂肪细胞的大小和数量, 通过对多鳞白甲鱼腹腔脂肪组织结构分析可得, 所有处理组单位面积内脂肪细胞的平均面积均显著小于对照组 ( $P<0.05$ )。相反地, 所有处理组单位面积 ( $375\ 000\ \mu\text{m}^2$ ) 内肝细胞数量显著高于对照组, 空泡面积逐渐递减。众所周知, 肝脏是鱼类脂代谢的重要器官, 肝细胞空泡化与脂质积累密切相关, 当日粮中的脂质或能量超过肝细胞氧化脂肪酸的能力时, 过多的 TG 会沉积在细胞内形成空泡<sup>[42]</sup>。多鳞白甲鱼腹腔脂肪和肝脏组织结构的观察结果证实了上述 TG 的测定结果, 这说明裂殖壶藻渣可显著降低肝脏和腹腔组织的脂肪蓄积。

通常, 调控脂质蓄积有三大途径, 分别为促进脂质分解、抑制脂质合成及诱导脂肪细胞凋亡, 相关的脂合成和脂代谢酶的转录因子参与这一过程<sup>[43]</sup>。本实验中, 肝脏和腹腔脂肪中调控脂合成

相关基因的表达水平显著下降, 调控脂肪分解的相关基因的表达水平显著上升, 可能与 DS 富含 DHA 有关。在大西洋鲑的研究中发现, DHA 可抑制 PPAR $\beta$  和 FATP (脂肪酸转化蛋白) 的表达<sup>[44]</sup>。此外, 微藻中可能含有促进脂肪酸  $\beta$  氧化的物质, 例如: 使用 1% 的小球藻可促进香鱼 (*Plecoglossus altivelis*) 的脂代谢, 降低肌肉中脂肪含量和蛋白质的消耗<sup>[1]</sup>。

### 3.3 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼的脂肪酸组成和肌肉脂肪酸健康指数的影响

日粮的脂肪酸组成影响鱼体内的脂肪酸组成<sup>[45]</sup>。相比于其他淡水鱼类, 多鳞白甲鱼自身就含有较高的 DHA<sup>[46]</sup>, 在实验中, 日粮中未添加藻渣的对照组肌肉中的 DHA 含量高达 13.36%, 这可能与天生好食藻类的习性有关。研究发现, 随着日粮中藻渣添加水平的提升, 多鳞白甲鱼肌肉、肝脏和腹腔脂肪中的 DHA 显著升高, 说明藻渣中的 n-3 LC PUFA 有效地蓄积在多鳞白甲鱼体内, 为 DS 可作为多鳞白甲鱼饲料中 n-3LC PUFA 的高效供应源提供了科学依据。有研究发现, 裂

表 9 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼腹腔脂肪组织脂肪酸组成的影响

Tab. 9 Effects of defatted *Schizochytrium* sp. in diet on fatty acid composition of intraperitoneal fat of juvenile *O. macrolepis*

脂肪酸 fatty acids	组别/% group					回归分析 regression analysis	
	DS0	DS3	DS6	DS9	DS12	R <sup>2</sup>	P-value
C14:0	3.37±0.46	2.82±0.30	3.16±0.38	2.99±0.21	3.17±0.20		0.421
C16:0	27.68±1.03	25.49±1.08	30.62±2.19	25.97±1.64	24.46±2.70		0.795
C18:0	19.40±0.66	17.08±2.31	19.80±1.24	17.60±1.93	15.04±0.56		0.80
C21:0	1.68±0.17 <sup>e</sup>	2.91±0.22 <sup>a</sup>	2.64±0.26 <sup>a</sup>	2.33±0.22 <sup>b</sup>	2.08±0.21 <sup>b</sup>	0.71	<0.001
C23:0	2.07±0.21	2.14±0.73	1.88±0.16	1.63±0.08	1.94±0.16		0.72
∑SFA	54.19±0.66 <sup>a</sup>	50.45±0.54 <sup>a</sup>	48.11±3.79 <sup>b</sup>	45.53±1.43 <sup>b</sup>	40.61±0.45 <sup>c</sup>	0.824	<0.001
C16:1n-7	7.32±1.24	5.54±0.57	8.46±0.78	6.80±0.16	6.21±0.29		0.668
C17:1n-7	0.44±0.09	0.54±0.12	0.35±0.37	0.36±0.31	0.57±0.08		0.675
C18:1n-9	0.35±0.09	1.35±0.11	0.62±0.3	0.63±0.11	0.58±0.11		0.250
∑MUFA	8.11±1.19	7.43±0.79	9.42±0.26	7.79±0.46	7.36±0.22		0.284
C18:2n-6	30.95±1.19	34.71±0.99	25.1±3.3	34.52±1.79	32.10±2.68		0.750
C20:3n-6	0.47±0.07	1.31±0.33	0.32±0.13	0.25±0.06	0.14±0.09		0.05
∑n-6 PUFA	31.42±1.18	36.01±1.22	35.42±2.28	34.77±1.75	32.24±2.62		0.843
C18:3n-3	2.48±0.30	2.64±0.18	2.81±0.62	2.45±0.30	2.61±0.17		0.347
C20:5n-3	0.27±0.03 <sup>b</sup>	0.29±0.06 <sup>b</sup>	0.37±0.04 <sup>b</sup>	0.47±0.07 <sup>a</sup>	0.53±0.03 <sup>a</sup>	0.674	<0.001
C22:6n-3	3.80±0.35 <sup>c</sup>	4.45±0.43 <sup>c</sup>	4.84±0.26 <sup>c</sup>	5.45±0.29 <sup>b</sup>	6.09±0.09 <sup>a</sup>	0.98	<0.001
∑n-3 PUFA	6.28±0.43 <sup>c</sup>	7.10±0.22 <sup>b</sup>	7.65±0.21 <sup>a</sup>	7.91±0.13 <sup>a</sup>	8.71±0.08 <sup>a</sup>	0.98	<0.001
∑n-3 LC PUFA	3.80±0.35 <sup>d</sup>	4.45±0.43 <sup>c</sup>	4.84±0.26 <sup>c</sup>	5.45±0.29 <sup>b</sup>	6.09±0.09 <sup>a</sup>	0.98	<0.001
n-3/n-6 PUFA	0.19±0.02	0.20±0.02	0.22±0.03	0.23±0.01	0.27±0.02		0.082

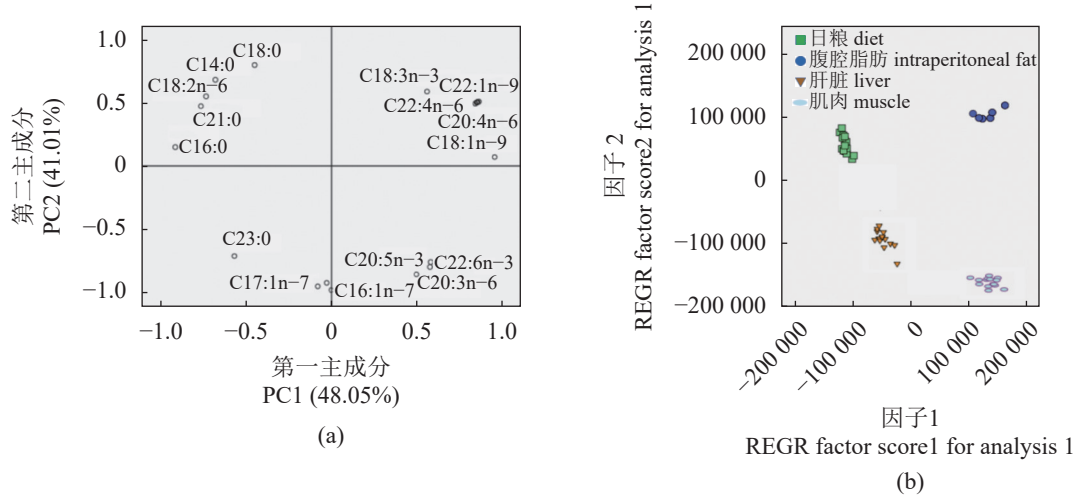


图 1 多鳞白甲鱼的肌肉、肝脏、腹腔脂肪及饲料中脂肪酸 (占总脂肪酸的百分比) 的主成分分析 (PCA)

(a) 主成分 1(PC1) 和主成分 2(PC2) 的因子载荷图; (b) 因子得分图

Fig. 1 Principal component analysis (PCA) of fatty acids (% of total fatty acids) from muscle, liver, intraperitoneal fat of *O. macrolepis* and its diet

(a) Factor loading plot for principal component 1 (PC1) and principal component 2 (PC2); (b) Factor score plot

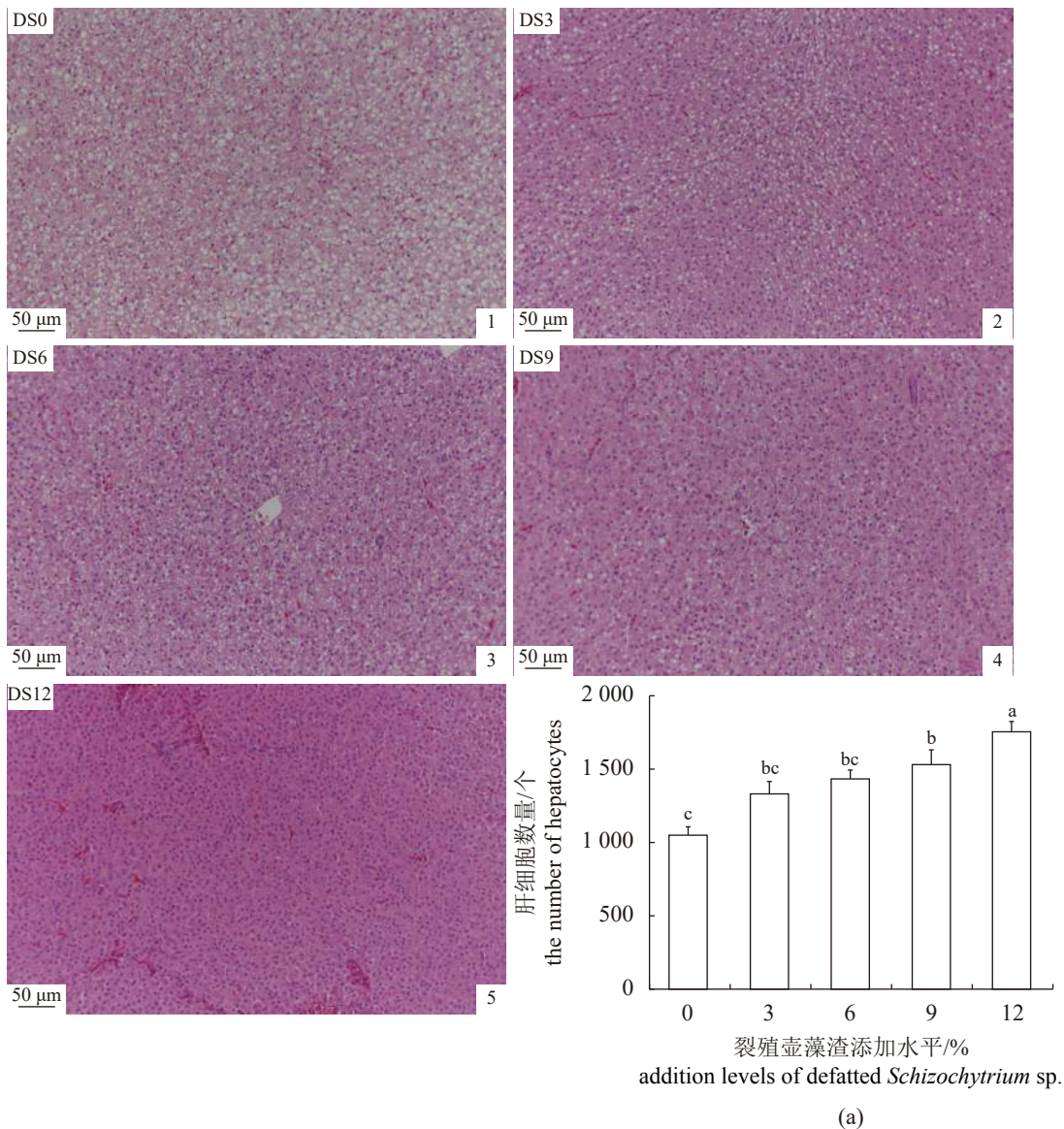
殖壶藻可以提高虾尾部肌肉<sup>[47]</sup>和斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*) 肌肉中的 n-3 LC-PUFA<sup>[48]</sup>。

另有研究表明, 鱼体内 ∑SFA 含量的下降, 可能是由于日粮中微藻会使鱼体内脂肪酶活性下降所

表 10 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼肌肉脂肪酸健康指数的影响

Tab. 10 Effects of defatted *Schizochytrium* sp. in diet on health index of fatty acid in muscle of *O. macrolepis*

项目 indexs	组别 group					回归分析 regression analysis	
	DS0	DS3	DS6	DS9	DS12	R <sup>2</sup>	P-value
动脉粥样硬化指数 AI	0.34±0.01 <sup>a</sup>	0.32±0.01 <sup>ab</sup>	0.31±0.01 <sup>bc</sup>	0.31±0.01 <sup>bc</sup>	0.29±0.01 <sup>c</sup>	0.684	<0.001
血栓形成指数 TI	0.30±0.08 <sup>a</sup>	0.27±0.02 <sup>b</sup>	0.25±0.02 <sup>b</sup>	0.24±0.02 <sup>c</sup>	0.22±0.02 <sup>c</sup>	0.916	<0.001
胆固醇血症指数 h/H	2.06±0.03 <sup>c</sup>	2.07±0.02 <sup>c</sup>	2.08±0.02 <sup>c</sup>	2.13±0.03 <sup>b</sup>	2.26±0.04 <sup>a</sup>	0.930	<0.001
血脂质量 FLQ	0.15±0.01 <sup>c</sup>	0.18±0.01 <sup>b</sup>	0.19±0.01 <sup>ab</sup>	0.21±0.02 <sup>a</sup>	0.21±0.01 <sup>a</sup>	0.826	<0.001



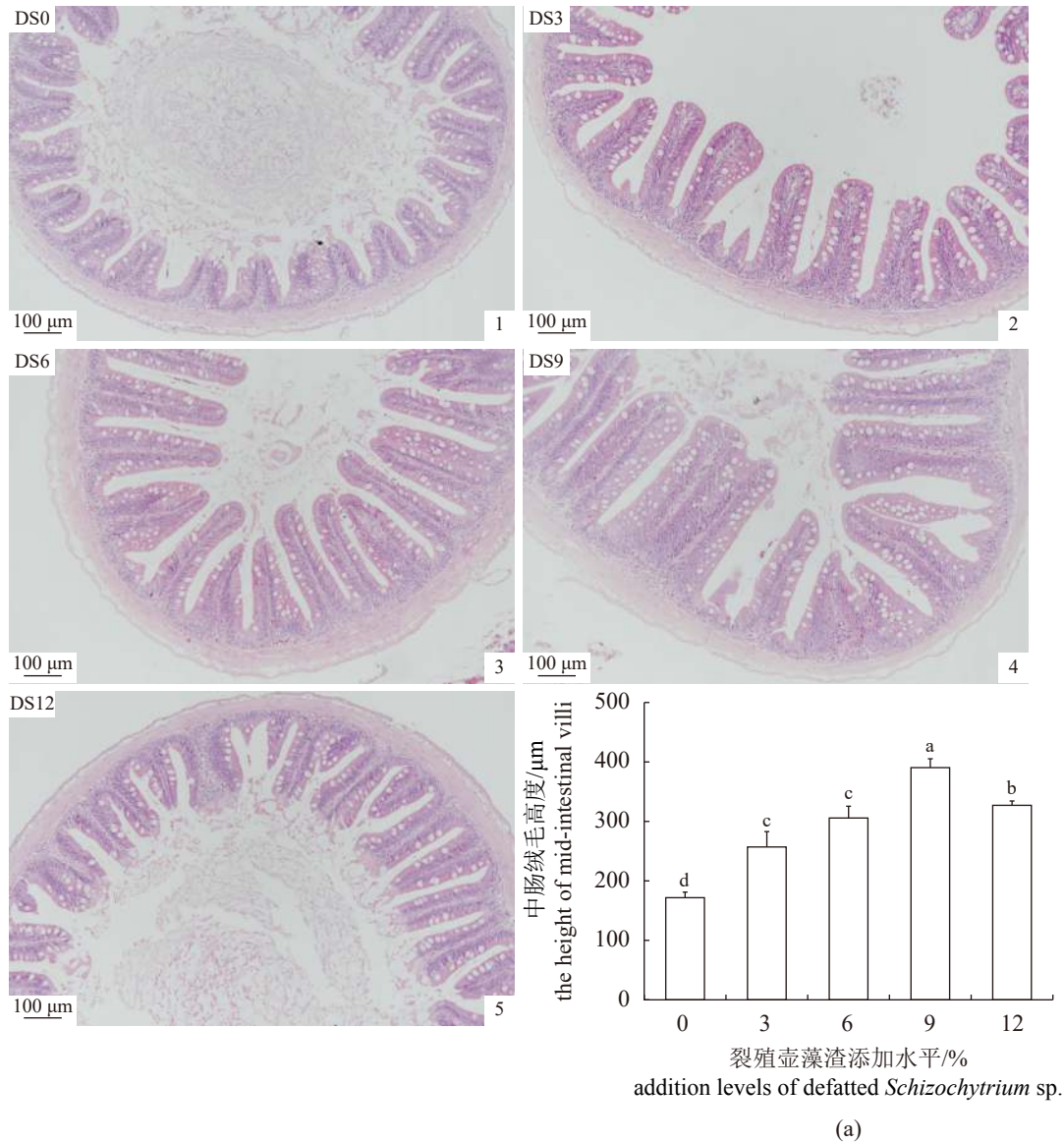
图版 I 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼肝脏细胞组织结构的影响

1~5. 肝脏细胞结构 (n=3); (a) 单位面积 (375 000 μm<sup>2</sup>) 内肝细胞的数量 (n=3)。所有数据以平均值±标准差显示, 组间不同字母表示差异显著 (P < 0.05), 下同

Plate I Effects of defatted *Schizochytrium* sp. in diet on the histology of liver cell in *O. macrolepis*

1-5. The histology of liver cells (n=3); (a) The number of hepatocytes per unit area (375 000 μm<sup>2</sup>)(n=3). All data are shown as mean ± standard deviation. Different letters between groups indicate significant differences (P < 0.05), the same below





图版 II 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼肠道组织结构的影响

1-5. 中肠组织结构 (n=3); (a) 中肠绒毛高度 (n=3)

Plate II Effect of defatted Schizochytrium sp. on the histology of mid-intestine in O. macrolepis in diet

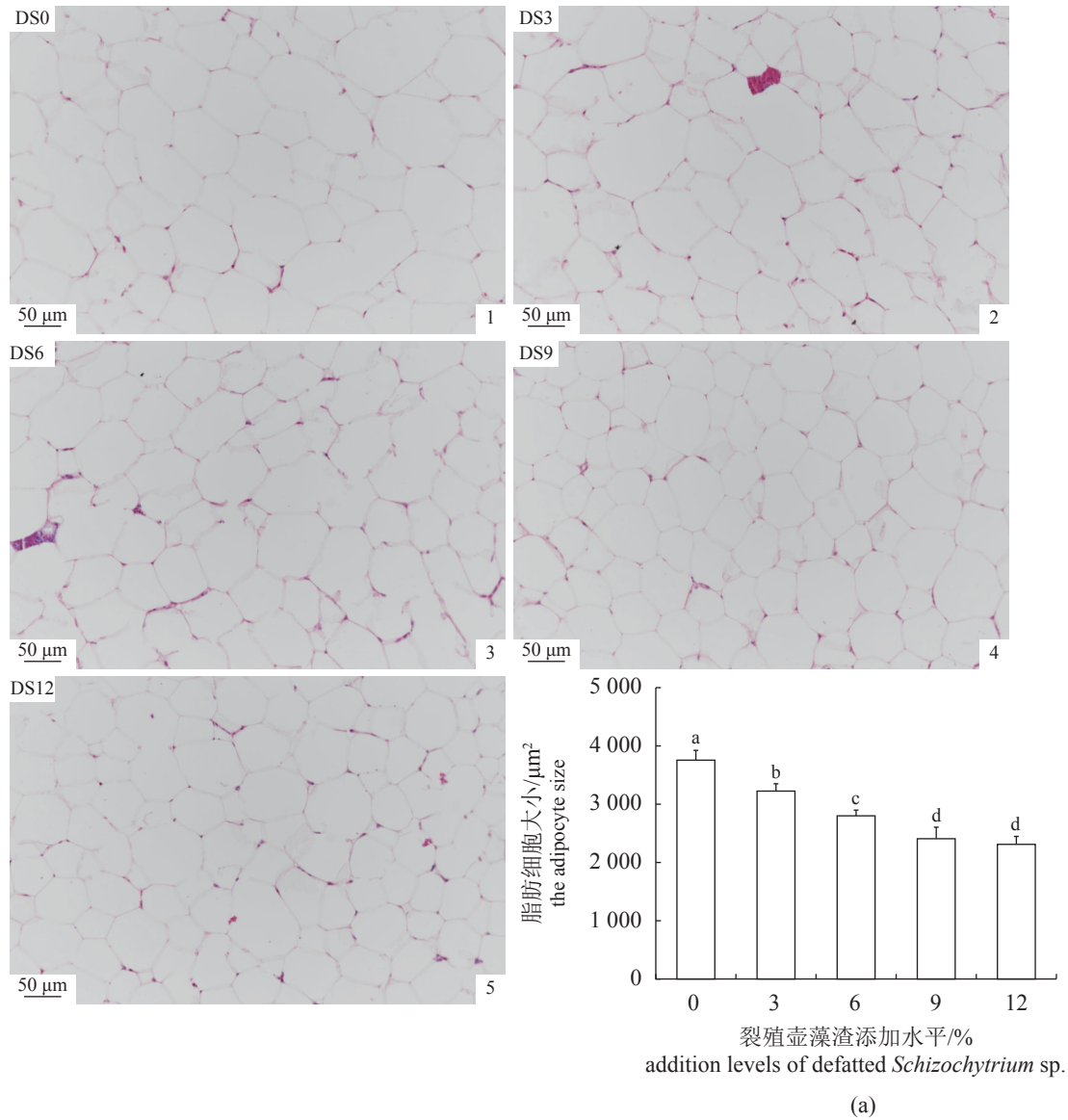
1-5. The histology of mid-intestine (n=3); (a) The height of mid-intestinal villus (n=3)

造成<sup>[49]</sup>。DS9 和 DS12 组肌肉中的 DHA 和 n-3LC PUFA 之间无显著差异, 证明多鳞白甲鱼肌肉中蓄积 DHA 的能力有限。在黑鲷 (*Acanthopagrus schlegelii*) 的研究中发现, 随着日粮中 DHA 比例的升高, 黑鲷的延长酶和去饱和酶呈下调趋势, 抑制了鱼体 DHA 含量的持续增加<sup>[50]</sup>, 相似的结果也出现在虹鳟的研究中<sup>[51]</sup>。结合 PCA 分析发现, 腹腔脂肪中饱和脂肪酸的贡献率最大, 主要为鱼体提供能量。肌肉组织中主要以 n-3 LC PUFA 为主, 说明肌肉中 n-3 LC PUFA 受日粮脂肪酸组成影响显著。有趣的是, 因子评分图中, 肌肉和饲

料并未聚集在一起, 这可能是由于多鳞白甲鱼自身具有高含量的 DHA, 饲料中的藻渣虽一定程度上可提升肌肉中的 DHA 含量, 但贡献较小。

肌肉中脂肪酸的含量和对饮食的反应差异决定了脂质营养指数的差异。研究表明, n-3/n-6>1 的比值对人体健康有益<sup>[52]</sup>, 这一结果与本实验一致。AI 与动脉硬化有关, 代表血栓形成的趋势, TI 指血栓形成和抗血栓脂肪酸之间的关系<sup>[24]</sup>。较低水平的 AI 和 TI 值对人类健康有益<sup>[53]</sup>。通常, 肌肉中的 h/H 和 FLQ 值越大, 对人类的心血管健康越有益<sup>[54]</sup>。处理组肌肉中低比例 AI 和 TI, 高比





图版III 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼腹腔脂肪组织结构的影响

1-5. 腹腔脂肪组织结构 (n=3); (a) 腹腔脂肪组织的脂肪细胞大小 (n=3)

Plate III Effects of defatted Schizochytrium sp. in diet on the histology of intraperitoneal fat in the O. macrolepis

1-5. The histology of intraperitoneal fat (n=3). (a) The adipocyte size of intraperitoneal fat (n=3)

例 h/H 和 FLQ 的脂质结构组成更有利于人类心脑血管健康。这可能与处理组多鳞白甲鱼中含有较多高不饱和脂肪酸有关。研究表明,用裂殖壶藻渣饲喂多鳞白甲鱼的价值更高,食用会改善人类心脑血管健康。

3.4 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼健康状况的影响

头肾和脾脏是鱼类重要的免疫器官,免疫器官的正常生长发育是鱼类发挥正常免疫功能的重要保障,也是反应鱼类健康状况的重要指标[55]。本实验≤12%DS 添加量不会造成多鳞白甲鱼免疫

器官肿大的病变现象。鱼类的肠道状态在其生长、免疫、消化和吸收方面起着重要作用,肠道绒毛的排布规律、高度和良好的完整性有利于充分地吸收和利用营养物质,改善肠道健康[56]。中肠是食物消化吸收的重要场所。微藻的营养成分可能影响鱼类肠道结构的变化[57]。添加了藻渣的处理组,多鳞白甲鱼的肠道肠绒毛和肠上皮细胞排列整齐、紧凑、形态清晰完整,肠道绒毛高度显著高于对照组,且杯状细胞的数量增多。杯状细胞亦称杯细胞,是混在黏膜上皮中的黏液分泌细胞,充满黏原颗粒,调节肠道免疫和功能等作用,

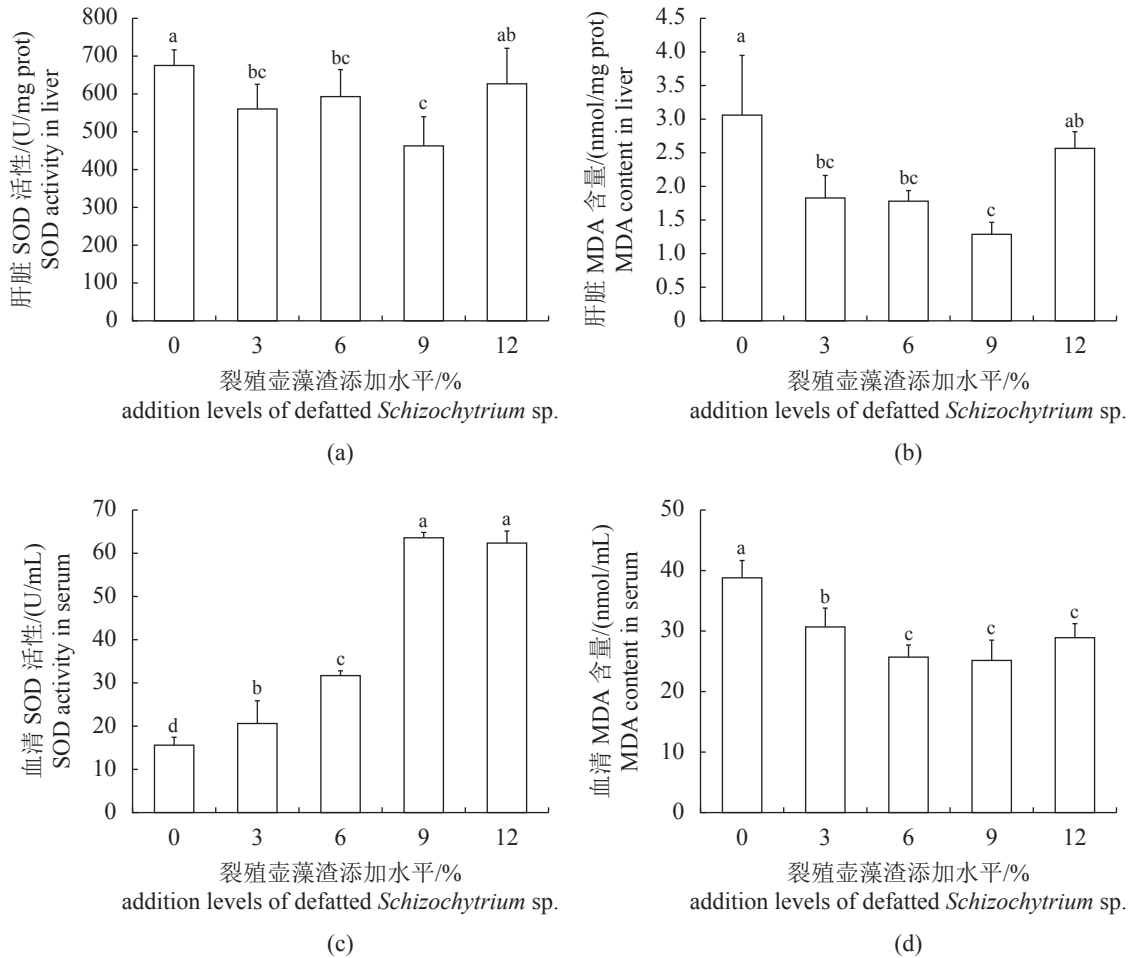


图 2 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼肝脏和血清抗氧化指标的影响

(a) 肝脏超氧化物歧化酶(SOD)活性; (b) 肝脏丙二醛(MDA)含量; (c) 血清超氧化物歧化酶(SOD)活性; (d) 血清丙二醛(MDA)含量

Fig. 2 Effects of defatted *Schizochytrium* sp. on antioxidant indexes in the liver and serum of *O. macrolepis*

(a) superoxide dismutase (SOD) activity in liver ; (b) malondialdehyde (MDA) content in liver; (c) superoxide dismutase (SOD) activity in serum; (d) malondialdehyde (MDA) content in serum

H.E 染色后黏原颗粒被染料溶解, 呈空泡状<sup>[58]</sup>。因此, DS 具有改善多鳞白甲鱼肠道结构健康的显著功能。同时, DS3 和 DS6 组鱼体内 DHA 含量显著高于对照组。Oxley 等<sup>[59]</sup>发现肠细胞可以主动摄取脂质消化中的 LC-PUFA。肠上皮细胞含有许多富含 n-3 LC-PUFA 的磷脂, 包括 DHA, 它们在鱼类肠上皮细胞膜的物理性质, 生理过程和适应性反应发挥重要作用<sup>[60]</sup>。微藻的细胞壁中含有多种多糖, 例如甘露寡糖, 其通过与肠绒毛免疫细胞表面蛋白质受体相互作用, 对病原微生物进行识别、黏附和排除, 进行免疫调节, 改善肠道结构与健康<sup>[61]</sup>。推测提油后的裂殖壶藻渣细胞壁中也可能有类似功能的多糖, 这有待进一步证实。

n-3 LC PUFA 自身丰富的不饱和双链结构, 使其成为氧自由基攻击的对象, 危害机体健康<sup>[62]</sup>。

由于鱼类组织中含有大量多不饱和脂肪酸用以维持细胞膜的必须功能, 所以鱼类极易受到自由基攻击引起脂质过氧化, 高 n-3 LC PUFA 含量的多鳞白甲鱼更是如此。因此, 探究富含 DHA 的 DS 对多鳞白甲鱼抗氧化状态很有必要。所有处理组肝脏中的 SOD 活性显著低于对照组, DS3、DS6 和 DS9 组的 MDA 含量显著低于对照组和 DS12 组, 这可能是适量(3%~9%)的藻渣可增强多鳞白甲鱼肝脏抵抗外界的氧化能力。而过量添加藻渣可能引起肝脏的抗氧化应激, 体内过多的 n-3 LC PUFA 遭到氧自由基的攻击, 生成大量脂质过氧化物, 造成 MDA 含量升高。Du 等<sup>[63]</sup>发现过量的 n-3 LC PUFA 会引起养殖鱼类肝脏中 MDA 含量显著上升。3%~9%的裂殖壶藻渣可以增加多鳞白甲鱼的抗氧化能力, 降低脂质过氧化对鱼体造成的危害。

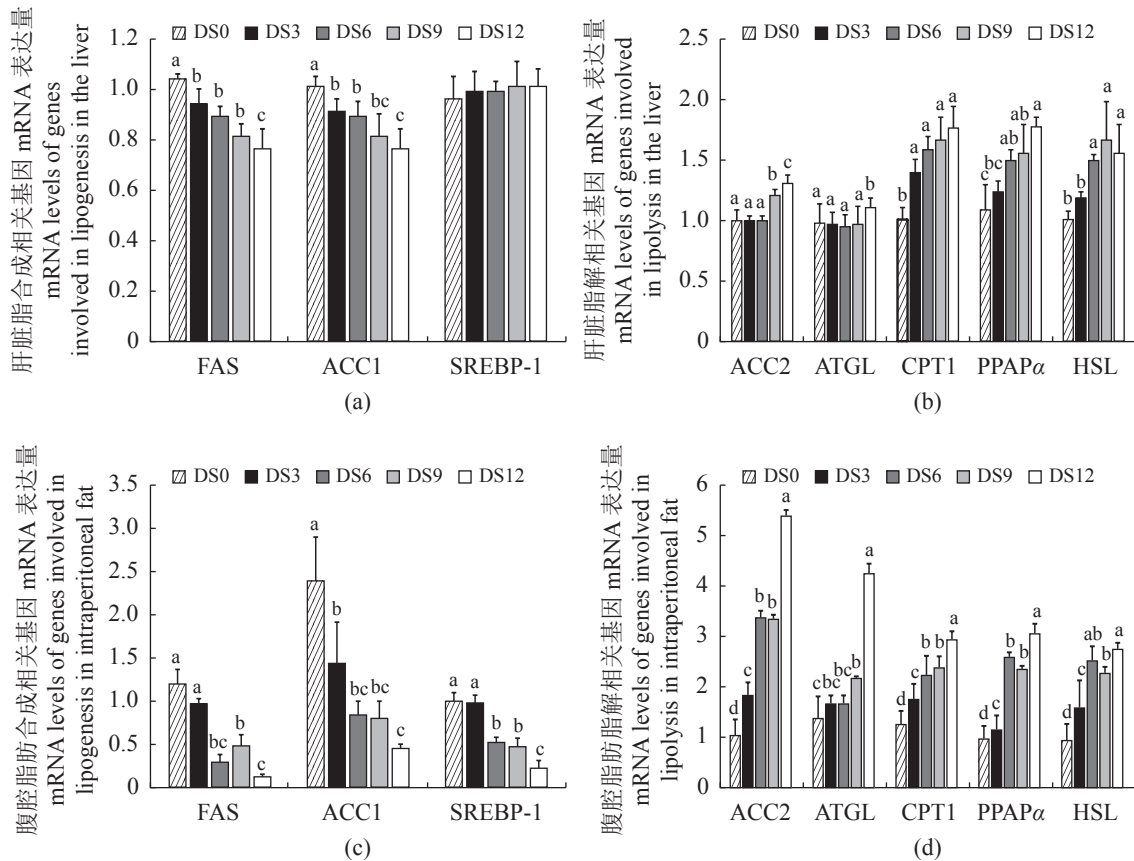


图3 日粮中裂殖壶藻渣对多鳞白甲鱼肝脏和腹腔脂肪组织的脂肪合成和脂肪分解相关基因 mRNA 表达水平的影响 (a) 肝脏脂合成相关基因 mRNA 表达水平; (b) 肝脏脂解相关基因 mRNA 表达水平; (c) 腹腔脂肪脂合成相关基因 mRNA 表达水平; (d) 腹腔脂肪脂解相关基因 mRNA 表达水平

Fig. 3 Effects of detatted *Schizochytrium* sp. on the mRNA levels of genes involving in lipogenesis and lipolysis in the liver and intraperitoneal fat of *O. macrolepis*

(a) mRNA levels of genes involved in lipogenesis in the liver. (b) mRNA levels of genes involved in lipolysis in the liver. (c) mRNA levels of genes involved in lipogenesis in the intraperitoneal fat. (d) mRNA levels of genes involved in lipolysis in the intraperitoneal fat

### 4 结论

本实验条件下, 日粮中裂殖壶藻渣添加水平为 90 g/ kg 时, 裂殖壶藻渣可通过影响脂代谢相关基因的表达显著降低多鳞白甲鱼腹腔脂肪和肝脏脂肪蓄积, 提升其肌肉营养价值, 增强机体抗氧化能力。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

### 参考文献 (References):

[ 1 ] Nakagawa H, Kasahara S, Uno E, *et al.* Effect of *Chlorella*-extract supplement on blood properties and body composition of ayu[J]. *Aquaculture Science*, 1983, 30(4): 192-201.

[ 2 ] Cheng R B, Lin X Z, Wang Z K, *et al.* Establishment of <https://www.china-fishery.cn>

a transgene expression system for the marine microalga *Schizochytrium* by 18S rDNA-targeted homologous recombination[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2011, 27(3): 737-41.

[ 3 ] 宋泽, 彭雍博, 宋悦凡, 等. 裂殖壶菌营养成分及其多糖特征分析[J]. *大连海洋大学学报*, 2019, 34(2): 247-251.

Song Z, Peng Y B, Song Y F, *et al.* Analysis of nutrient composition and polysaccharide characteristics of fungus *Schizochytrium* sp.[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2019, 34(2): 247-251 (in Chinese).

[ 4 ] Seong T, Kitagima R, Haga Y, *et al.* Non-fish meal, non-fish oil diet development for red sea bream, *Pagrus major*, with plant protein and graded levels of *Schizochytrium* sp. : effect on growth and fatty acid composition[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2020, 26(4): 1173-

- 1185.
- [5] Xie J J, Fang H F, Liao S Y, *et al.* Study on *Schizochytrium* sp. improving the growth performance and non-specific immunity of golden pompano (*Trachinotus ovatus*) while not affecting the antioxidant capacity[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 95: 617-623.
- [6] Kumar V, Habte-Tsion H M, Allen K M, *et al.* Replacement of fish oil with *Schizochytrium* meal and its impacts on the growth and lipid metabolism of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2018, 24(6): 1769-1781.
- [7] Sprague M, Betancor M B, Tocher D R. Microbial and genetically engineered oils as replacements for fish oil in aquaculture feeds[J]. *Biotechnology Letters*, 2017, 39(11): 1599-1609.
- [8] Ju Z Y, Deng D F, Dominy W. A defatted microalgae (*Haematococcus pluvialis*) meal as a protein ingredient to partially replace fishmeal in diets of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931)[J]. *Aquaculture*, 2012, 354-355: 50-55.
- [9] Hussein E E S, Dabrowski K, El-Saidy D M S D, *et al.* Enhancing the growth of Nile tilapia larvae/juveniles by replacing plant (gluten) protein with algae protein[J]. *Aquaculture Research*, 2013, 44(6): 937-949.
- [10] Sørensen M, Gong Y Y, Bjarnason F, *et al.* *Nannochloropsis* oceanica-derived defatted meal as an alternative to fishmeal in Atlantic salmon feeds[J]. *PLoS One*, 2017, 12(7): e0179907.
- [11] Valente L M P, Custódio M, Batista S, *et al.* Defatted microalgae (*Nannochloropsis* sp.) from biorefinery as a potential feed protein source to replace fishmeal in European sea bass diets[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2019, 45(3): 1067-1081.
- [12] Xiao F F, Xing J X, Li H D, *et al.* Effects of the defatted *Schizochytrium* sp. on growth performance, fatty acid composition, histomorphology and antioxidant status of juvenile mirror carp (*Cyprinus carpio* var. *specularis*)[J]. *Aquaculture Research*, 2021, 52(7): 3062-3076.
- [13] 李孟研, 柴力彬, 张延杰, 等. 微藻裂殖壶藻菌藻粕酶解肽抑制水产鱼类肠道炎症的功效研究[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(8): 56-64.
- Li M Y, Chai L B, Zhang Y J, *et al.* Studies on the effect of microalgae *Schizochytrium* sp. algal meal enzymatic hydrolysis peptide on inhibiting intestinal inflammation of aquatic fish[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(8): 56-64 (in Chinese).
- [14] 张安才, 陈红菊, 邹兰柱, 等. 泰山赤鳞鱼肌肉营养成分分析与评价[J]. *齐鲁渔业*, 2010, 27(9): 1-3.
- Zhang A C, Chen H J, Zou L Z, *et al.* Analysis of nutritional components of muscle in *Varicorhinus* sp.[J]. *Shandong Fisheries*, 2010, 27(9): 1-3 (in Chinese).
- [15] 李正伟, 郑曙明. 多鳞铲颌鱼肌肉氨基酸含量测定及营养分析[J]. *饲料工业*, 2014, 35(20): 65-68.
- Li Z W, Zheng S M. Determination and nutrient analysis of amino acids in the muscle of *Onychostoma macrolepis*[J]. *Feed Industry*, 2014, 35(20): 65-68 (in Chinese).
- [16] 陈苏维, 陈胤元, 屈国胜. 秦巴山区野生多鳞白甲鱼的营养成分分析与评价[J]. *生物资源*, 2019, 41(2): 112-118.
- Chen S W, Chen Y Y, Qu G S. Analysis and evaluation of nutritional composition of *Onychostoma macrolepis* in Qinling-Bashan Mountain area[J]. *Biotic Resources*, 2019, 41(2): 112-118 (in Chinese).
- [17] 刘飞, 张富斌, 常涛, 等. 汉江支流任河上游鱼类多样性现状与保护对策[J]. *长江流域资源与环境*, 2021, 30(11): 2651-2658.
- Liu F, Zhang F B, Chang T, *et al.* Species diversity and conservation strategies of fish in the upper Renhe river[J]. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 2021, 30(11): 2651-2658 (in Chinese).
- [18] 陈锤. 多鳞白甲鱼的生态习性与开发利用[J]. *齐鲁渔业*, 2007, 24(1): 39.
- Chen C. Ecological habits and development and utilization of *Onychostoma macrolepis*[J]. *Qilu Fisheries*, 2007, 24(1): 39 (in Chinese).
- [19] 陈苏维. 陕西紫阳任河野生多鳞白甲鱼的生物学特性研究[J]. *陕西农业科学*, 2019, 65(6): 63-66.
- Chen S W. Study on Biological characteristic of wild *Onychostoma macrolepis* in Renhe river of Ziyang in Shaanxi[J]. *Shaanxi Journal of Agricultural Sciences*, 2019, 65(6): 63-66 (in Chinese).
- [20] 苟妮娜, 王开锋, 边坤. 秦巴山区多鳞白甲鱼食性的初步研究[J]. *西北农业学报*, 2020, 29(8): 1141-1147.
- Gou N N, Wang K F, Bian K. Primary research of feeding habits of *Onychostoma macrolepis* in Qinling-bashan



- mountains[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2020, 29(8): 1141-1147 (in Chinese).
- [21] 刘勇, 周继术, 吉红, 等. 饲料蛋白水平对多鳞白甲鱼亲鱼生长、体组成与性腺的影响[J]. *饲料工业*, 2016, 37(16): 20-26.
- Liu Y, Zhou J S, Ji H, *et al.* Effects of dietary protein levels on growth, body composition and gonad of *Vari-corhinus macrolepis* broodstock[J]. *Feed Industry*, 2016, 37(16): 20-26 (in Chinese).
- [22] 苟妮娜, 王开锋. 多鳞白甲鱼生物学与繁育技术研究进展[J]. *水产学杂志*, 2021, 34(1): 88-93.
- Gou N N, Wang K F. A review: research on biology and artificial breeding techniques in largescale shoveljaw fish *Onychostoma macrolepis*[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2021, 34(1): 88-93 (in Chinese).
- [23] AOAC. Official Methods of Analysis 16th Ed. Association of Official Analytical Chemists[M]. Washington: AOAC, 1995.
- [24] Ulbricht T L V, Southgate D A T. Coronary heart disease: seven dietary factors[J]. *The Lancet*, 1991, 338(8773): 985-992.
- [25] Santos-Silva J, Bessa R J B, Santos-Silva F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs: II. fatty acid composition of meat[J]. *Livestock Production Science*, 2002, 77(2-3): 187-194.
- [26] Abrami G, Natiello F, Bronzi P, *et al.* A comparison of highly unsaturated fatty acid levels in wild and farmed eels (*Anguilla anguilla*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 1992, 101(1-2): 79-81.
- [27] Liu P, Ji H, Li C, *et al.* Ontogenetic development of adipose tissue in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2015, 41(4): 867-878.
- [28] Osman O S, Selway J L, Kępczyńska M A, *et al.* A novel automated image analysis method for accurate adipocyte quantification[J]. *Adipocyte*, 2013, 2(3): 160-164.
- [29] Shi X C, Jin A, Sun J, *et al.*  $\alpha$ -lipoic acid ameliorates n-3 highly-unsaturated fatty acids induced lipid peroxidation via regulating antioxidant defenses in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 67: 359-367.
- [30] 吕小义, 尹佳, 付杰, 等. 裂壶藻营养特性及其积累DHA的研究[J]. *食品工业*, 2016, 37(1): 222-225.
- Lv X Y, Yin J, Fu J, *et al.* Study on nutrient characteristics of *Schizochytrium* and accumulation of DHA[J]. *The Food Industry*, 2016, 37(1): 222-225 (in Chinese).
- [31] Sarker P K, Kapuscinski A R, Lanois A J, *et al.* Towards sustainable aquafeeds: complete substitution of fish oil with marine microalga *Schizochytrium* sp. improves growth and fatty acid deposition in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *PLoS One*, 2016, 11(6): e0156684.
- [32] Kousoulaki K, Østbye T K K, Krasnov A, *et al.* Metabolism, health and fillet nutritional quality in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing n-3-rich microalgae[J]. *Journal of Nutritional Science*, 2015, 4: e24.
- [33] Wang Y Y, Li M Z, Filer K, *et al.* Evaluation of *Schizochytrium* meal in microdiets of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae[J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(5): 2328-2336.
- [34] 陈苏维. 秦巴山区多鳞白甲鱼的年龄和生长研究[J]. *江苏农业科学*, 2020, 48(8): 179-184.
- Chen S W. Study on age and growth characteristics of *Onychostoma macrolepis* from Qinba mountain area[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2020, 48(8): 179-184 (in Chinese).
- [35] 雷宇杰, 刘开放, 黄荣静, 等. 茶多酚对马口鱼生长性能、免疫性能和抗病力的影响[J]. *畜牧与兽医*, 2020, 52(7): 64-68.
- Lei Y J, Liu K F, Huang R J, *et al.* Effects of tea polyphenol on growth performance, immune performance and disease resistance of opariichthys bidens[J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2020, 52(7): 64-68 (in Chinese).
- [36] 张建明, 姜华, 田甜, 等. 齐口裂腹鱼苗种培育及其苗种生长特性分析[J]. *南方农业学报*, 2019, 50(9): 2102-2110.
- Zhang J M, Jiang H, Tian T, *et al.* Larvae culture and larvae growth characteristics of *Schizothorax prenanti*[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2019, 50(9): 2102-2110 (in Chinese).
- [37] D'Orazio N, Gemello E, Gammone M A, *et al.* Fucoxanthin: a treasure from the sea[J]. *Marine Drugs*, 2012, 10(3): 604-616.

- [38] Soler-Vila A, Coughlan S, Guiry M D, *et al.* The red alga *Porphyra dioica* as a fish-feed ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on growth, feed efficiency, and carcass composition[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2009, 21(5): 617-624.
- [39] Henry S L, Bensley J G, Wood-Bradley R J, *et al.* White adipocytes: More than just fat depots[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2012, 44(3): 435-440.
- [40] Todorčević M, Kjær M A, Djaković N, *et al.* N-3 HUFAs affect fat deposition, susceptibility to oxidative stress, and apoptosis in Atlantic salmon visceral adipose tissue[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2009, 152(2): 135-143.
- [41] 黄超勇, 张海波, 张进明, 等. DHA对动物脂代谢的调控作用及其在畜牧生产中的应用研究进展[J]. *中国畜牧杂志*, 2021, 57(10): 7-13.  
Huang C Y, Zhang H B, Zhang J M, *et al.* Advances in the regulation of docosahexaenic acid on lipid metabolism and its application in animal production[J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2021, 57(10): 7-13 (in Chinese).
- [42] Spisni E, Tugnoli M, Ponticelli A, *et al.* Hepatic steatosis in artificially fed marine teleosts[J]. *Journal of Fish Diseases*, 1998, 21(3): 177-184.
- [43] 陈殊贤, 郑晓辉. 微藻油和鱼油中DHA的特性及应用研究进展[J]. *食品科学*, 2013, 34(21): 439-444.  
Chen S X, Zheng X H. Research progress in characteristics and applications of DHA in microalga oil and fish oil[J]. *Food Science*, 2013, 34(21): 439-444 (in Chinese).
- [44] Huang T S, Todorčević M, Ruyter B, *et al.* Altered expression of CCAAT/enhancer binding protein and FABP11 genes during adipogenesis *in vitro* in Atlantic salmon (*Salmo salar*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2010, 16(1): 72-80.
- [45] Van Hoestenbergh S, Roelants I, Vermeulen D, *et al.* Total replacement of fish oil with vegetable oils in the diet of juvenile Jade perch *Scortum barcoo* reared in recirculating aquaculture systems[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology B*, 2013, 3(5): 385-398.
- [46] 岳永生, 李全阳, 张庆朝, 等. 泰山赤鳞鱼肌肉品质的研究[J]. *山东农业大学学报*, 1994, 25(2): 141-146.  
Yue Y S, Li Q Y, Zhang Q C, *et al.* Studies on the muscle quality of Taishan Chi-Lin fish[J]. *Journal of Shandong Agricultural University*, 1994, 25(2): 141-146 (in Chinese).
- [47] Allen K M, Habte-Tsion H M, Thompson K R, *et al.* Freshwater microalgae (*Schizochytrium sp.*) as a substitute to fish oil for shrimp feed[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 6178.
- [48] Li M H, Robinson E H, Tucker C S, *et al.* Effects of dried algae *Schizochytrium sp.*, a rich source of docosahexaenoic acid, on growth, fatty acid composition, and sensory quality of channel catfish *Ictalurus punctatus*[J]. *Aquaculture*, 2009, 292(3-4): 232-236.
- [49] Peixoto M J, Salas-Leitón E, Pereira L F, *et al.* Role of dietary seaweed supplementation on growth performance, digestive capacity and immune and stress responsiveness in European seabass (*Dicentrarchus labrax*)[J]. *Aquaculture Report*, 2016, 3: 189-197.
- [50] Jin M, Monroig Ó, Lu Y, *et al.* Dietary DHA/EPA ratio affected tissue fatty acid profiles, antioxidant capacity, hematological characteristics and expression of lipid-related genes but not growth in juvenile black seabream (*Acanthopagrus schlegelii*)[J]. *PLoS One*, 2017, 12(4): e0176216.
- [51] Bell M V, Dick J R, Porter A E A. Tissue deposition of n-3 FA pathway intermediates in the synthesis of DHA in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Lipids*, 2003, 38(9): 925-931.
- [52] Bell J G, Tocher D R, Henderson R J, *et al.* Altered fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing linseed and rapeseed oils can be partially restored by a subsequent fish oil finishing diet[J]. *The Journal of Nutrition*, 2003, 133(9): 2793-2801.
- [53] Monge-Ortiz R, Tomás-Vidal A, Rodríguez-Barreto D, *et al.* Replacement of fish oil with vegetable oil blends in feeds for greater amberjack (*Seriola dumerili*) juveniles: effect on growth performance, feed efficiency, tissue fatty acid composition and flesh nutritional value[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2018, 24(1): 605-615.
- [54] Yu J H, Li S G, Chang J, *et al.* Effect of variation in the dietary ratio of linseed oil to fish oil on growth, body composition, tissues fatty acid composition, flesh nutritional value and immune indices in Manchurian trout, *Brachymystax lenok*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2019, 25(2): 377-387.

- [55] 周小秋. B族维生素与鱼类消化吸收、免疫和抗氧化防御能力的关系研究进展 [C]//中国畜牧兽医学会2009学术年会论文集(上册). 石家庄: 中国畜牧兽医学会, 2009: 135-150.
- Zhou X Q. Research progress on the relationship between B vitamins and fish digestion and absorption, immunity and antioxidant defense[C]//Proceedings of the 2009 Academic Annual Conference of the Chinese Society of Animal Husbandry and Veterinary Medicine (Volume 1). Shijiazhuang: Chinese Association of Animal Science and Veterinary Medicine, 135-150 (in Chinese).
- [56] Tang L, Wang G X, Jiang J, *et al.* Effect of methionine on intestinal enzymes activities, microflora and humoral immune of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2009, 15(5): 477-483.
- [57] Ringø E, Zhou Z, Vecino J L G, *et al.* Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals. A never-ending story?[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2016, 22(2): 219-282.
- [58] 刘玥宏, 丁悦, 徐敬东. 肠道杯状细胞及其功能研究进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2017, 25(14): 1279-1286.
- Liu Y H, Ding Y, Xu J D. Goblet cells and their functions[J]. *World Chinese Journal of Digestology*, 2017, 25(14): 1279-1286 (in Chinese).
- [59] Oxley A, Tocher D R, Torstensen B E, *et al.* Fatty acid utilisation and metabolism in caecal enterocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed dietary fish or copepod oil[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2005, 1737(2-3): 119-129.
- [60] Díaz M, Dópido R, Gómez T, *et al.* Membrane lipid microenvironment modulates thermodynamic properties of the Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase in branchial and intestinal epithelia in euryhaline fish *in vivo*[J]. *Frontiers in Physiology*, 2016, 7: 589.
- [61] 陈小兵, 丁宏标, 乔宇. 甘露寡糖的益生作用、免疫机制与应用技术[J]. *中国畜牧兽医*, 2005, 32(8): 6-8.
- Chen X B, Ding H B, Qiao Y. Prebiotic effect of manose oligosaccharide, immune mechanism and application technology[J]. *China Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2005, 32(8): 6-8 (in Chinese).
- [62] Yin H Y, Xu L B, Porter N A. Free radical lipid peroxidation: Mechanisms and analysis[J]. *Chemical Reviews*, 2011, 111(10): 5944-5972.
- [63] Du Z Y, Liu Y J, Tian L X, *et al.* Effect of dietary lipid level on growth, feed utilization and body composition by juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2005, 11(2): 139-146.

## Effects of defatted *Schizochytrium* sp. in diet on the growth, lipid metabolism and health of *Onychostoma macrolepis*

XIAO Fenfen<sup>1,2</sup>, SUN Jian<sup>1</sup>, JI Hong<sup>1\*</sup>, YU Haibo<sup>1</sup>, DONG Wuzi<sup>1</sup>

(1. School of Animal Science and Technology, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling 712100, China;

2. Shaanxi Huaqin Agriculture and Animal Husbandry Technology Co., Ltd., Yangling 712100, China)

**Abstract:** The purpose of this study was to investigate the effects of defatted *Schizochytrium* sp. as a feed ingredient on the growth performance, lipid metabolism and health status of the indigenous fish, *Onychostoma macrolepis*. 0 g/kg (DS0), 30 g/kg (DS3), 60 g/kg (DS6), 90 g/kg (DS9) and 120 g/kg (DS12) of defatted *Schizochytrium* sp. were added to the five isonitrogenous and isolipid feeds, respectively. 180 *Onychostoma macrolepis* (9.00 g±0.25 g/ind., 12/tank) were fed and cultured in an indoor circulating water system for 56 days. The results showed that: 1) There were no significant differences in weight gain rate (WG), specific growth rate (SGR) and feed conversion ratio (FCR) among the groups ( $P>0.05$ ); 2) The condition factor (CF), hepatosomatic index (HSI), intraperitoneal fat body index (IFI), and triglyceride (TG) content of liver and intraperitoneal fat in DS9 and DS12 groups were significantly lower than those in the control group ( $P<0.05$ ); 3) The DHA content,  $\sum$ n-3 LC PUFA (n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid) content, n-3/n-6 PUFA ratio, cholesterolemia index (h/H) and lipid quality index (FLQ) were significantly higher than those in the control group, while the atherosclerosis index (AI) and thrombosis index (TI) were significantly lower than those in the control group ( $P<0.05$ ); 4) The mRNA expression levels of fatty acid synthase (FAS) and acetyl-CoA carboxylase 1 (ACC1) in the liver of all treatment groups were significantly lower than those in the control group ( $P<0.05$ ); The mRNA expression levels of acetyl-CoA carboxylase 2 (ACC2) and triglyceride hydrolase (ATGL) were significantly higher than those in the control group ( $P<0.05$ ); 5) The activity of superoxide dismutase (SOD) in the serum of all treatment groups was significantly higher than that of the control group, and the content of malondialdehyde (MDA) was significantly lower than that of the control group ( $P<0.05$ ). Studies have shown that adding 90 g/kg of defatted *Schizochytrium* sp. to the diet may significantly reduce the accumulation of abdominal fat and liver fat in *Onychostoma macrolepis* by affecting the expression of genes related to lipid metabolism, and improve its muscle nutritional value and enhance the body's antioxidant capacity.

**Key words:** *Onychostoma macrolepis*; *Schizochytrium*; DHA; growth performance; lipid metabolism; nutritional value; antioxidant

**Corresponding author:** JI Hong. E-mail: jihong@nwsuaf.edu.cn

**Funding projects:** Blue Granary Technology Innovation Project (2019YFD0900200)