

饲料中脂肪水平及脂肪源对 大菱鲆幼鱼生长和代谢的影响*

满铭叁, 隋仲敏, 周慧慧**, 王 旋, 徐 玮, 麦康森, 何 良

(中国海洋大学农业部水产动物营养与饲料重点实验室, 山东 青岛 266003)

摘 要: 本实验研究了饲料脂肪水平及脂肪来源对大菱鲆(*Scophthalmus maximus* L.)的生长、体组成及脂质代谢的影响。实验包括6组等氮实验饲料,分别以鱼油和豆油为主要脂肪源,设计3个脂肪水平(8%、12%和16%)的实验饲料(分别为F8组、F12组和F16组及S8组、S12组和S16组)。选取初始体质量为 (13.01 ± 0.01) g的大菱鲆幼鱼,随机分到18个养殖桶中,每桶30尾,采用定量投喂方式进行投喂,养殖周期56 d。研究显示:随着饲料中脂肪含量上升,饲喂鱼油饲料的鱼体终末体质量、增重率、特定生长率有增高趋势,F16组鱼体生长性能显著优于F8组;而饲料中添加过高剂量豆油(S16组)对鱼体生长有明显抑制现象。饲料中脂肪水平显著影响大菱鲆肝体比和脏体比指数,而鱼体肥满度则受脂肪源影响显著。实验饲料组成对大菱鲆鱼体水分含量和粗蛋白含量无影响,但显著影响鱼体粗脂肪含量,鱼体粗脂肪含量随着饲料脂肪水平升高而上升。饲料脂肪来源显著影响大菱鲆肝脏脂肪含量,豆油组肝脏脂肪含量显著高于鱼油组,且豆油组大菱鲆肝脏脂肪含量随着脂肪水平的升高而显著提高。进一步检测大菱鲆脂代谢相关基因发现,饲料脂肪水平及来源显著影响大菱鲆肝脏脂肪合成、氧化等基因表达。综上所述,大菱鲆幼鱼饲料中脂肪水平在12%~16%时鱼体呈现最佳生长性能,饲料中添加过多豆油显著影响鱼体生长及肝脏脂肪代谢。

关键词: 饲料; 大菱鲆; 脂肪水平; 鱼油; 豆油; 生长; 脂代谢

中图法分类号: S963.71

文献标志码: A

文章编号: 1672-5174(2020)10-026-11

DOI: 10.16441/j.cnki.hdxh.20190281

引用格式: 满铭叁, 隋仲敏, 周慧慧, 等. 饲料中脂肪水平及脂肪源对大菱鲆幼鱼生长和代谢的影响[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2020, 50(10): 26-36.

MAN Ming-San, SUI Zhong-Min, ZHOU Hui-Hui, et al. Effects of dietary lipid level and lipid source on the growth and metabolism of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.)[J]. Periodical of Ocean University of China, 2020, 50(10): 26-36.

众所周知,鱼粉和鱼油是水产饲料最主要的组成部分,因为两者的营养价值对于鱼类的生长来说是十分理想的^[1],但随着水产养殖业的迅速发展,鱼粉、鱼油资源变得日益短缺,致使养殖成本上升,严重抑制了水产养殖业的发展,因此如何合理有效地利用资源以及寻找其替代品就成为亟须解决的问题。

饲料中的脂质是鱼类所需要的重要营养物质,既是鱼体能量的主要来源又是机体的重要组成部分,能为机体提供必需脂肪酸、磷脂、固醇类和脂溶性维生素等重要营养物质以维持体内的各种生物学过程^[2-3],在鱼类的生长发育、新陈代谢等生命活动中起到了至关重要的作用。此外,脂肪还具有节约蛋白的作用,在一定范围内,饲料脂肪水平的升高可以提高饲料效率,并通过节约蛋白的作用促进生长。只有当饲料的脂肪水平

和脂肪酸组成适宜时,鱼类的生长、发育和繁殖等各项生命活动才能正常进行。由于脂肪的节约蛋白作用,促进了高脂饲料的应用,但是研究发现高脂饲料导致了鱼体肝脏和腹腔脂肪的沉积,造成了可食用面积减少、肉质下降等一系列问题。用植物油高度替代鱼油导致了同样的问题^[4-6]。因此,了解饲料中的脂肪水平和脂肪源替代如何影响生长和代谢以及两者之间有什么相互的影响将有利于促进饲料中鱼油的高效节约利用。

大菱鲆(*Scophthalmus maximus* L.)属鲽形目(Pleuronectiformes)菱鲆科(Scophthalmidae)菱鲆属(*Scophthalmus*),俗称“多宝鱼”,是一种低温经济鱼类,具有经济价值高、生长迅速、宜于集约化养殖等优点,其养殖产业已发展成为中国北方海水养殖支柱产业^[7]。然而,鱼油资源的短缺限制了其养殖业的发展,

* 基金项目:国家现代农业产业技术体系项目(CARS-47-G10)资助

Supported by the China Agriculture Research System(CARS-47-G10)

收稿日期:2019-08-02;修订日期:2019-10-21

作者简介:满铭叁(1992-),男,硕士生,研究方向为营养生理。E-mail: 1301586584@qq.com

** 通讯作者:E-mail: zhouhuihui@ouc.edu.cn

因此,寻找合理利用鱼油的方法以及寻找鱼油替代品就显得十分必要。本实验探讨了不同脂肪水平及脂肪源的饲料在生长、脂代谢相关基因表达等方面对大菱鲆幼鱼的影响,以期为大菱鲆饲料中鱼油的利用提供更多理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

以鱼粉、谷朊粉、大豆浓缩蛋白作为蛋白源,以鱼油、大豆卵磷脂为脂肪源,豆油作为 100% 替代脂肪源,

设计 6 种实验饲料,饲料干物质的粗蛋白含量为 50%,脂肪含量设为 8%、12% 和 16% 3 个梯度。所有实验饲料中添加晶体氨基酸以满足大菱鲆对必需氨基酸的需求。添加丙酸钙作为防霉剂;添加乙氧基喹啉作为抗氧化剂;添加海藻酸钠作为黏合剂;添加三氧化二钇作为测定表观消化率的指示剂。饲料配方见表 1。各实验组用到的饲料 F8、S8、F12、S12、F16、S16,字母 F 表示鱼油为脂肪源,字母 S 表示豆油为替代脂肪源,数字 8、12、16 表示饲料的脂肪含量为 8%、12%、16%。

表 1 实验饲料的组成及成分分析(干物质)

Table 1 Formulas and proximate composition of the experimental diets (dry matter)

/%

原料 Ingridients	F8	S8	F12	S12	F16	S16
鱼粉 Fish meal ^a	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00
大豆浓缩蛋白 Soybean protein concentrate ^a	17.94	17.94	17.94	17.94	17.94	17.94
小麦粉 Wheat flour ^a	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
谷朊粉 Wheat gluten meal ^a	10.40	10.40	10.40	10.40	10.40	10.40
纤维素 Cellulose	9.05	9.05	5.05	5.05	0.95	0.95
赖氨酸 Lysine	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
蛋氨酸 Methionine	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16
鱼油 Fish oil	3.20	0.00	7.20	0.00	11.30	0.00
豆油 Soybean oil	0.00	3.20	0.00	7.20	0.00	11.30
大豆卵磷脂 Soybean lecithin	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
氯化胆碱 Choline chloride	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
牛磺酸 Taurine	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
维生素预混料 Vitamin premix ^b	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
矿物质预混料 Mineral premix ^c	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
丙酸钙 Calcium propionate	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
乙氧基喹啉 Ethoxyquin	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
复合诱食剂 Attractant ^d	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
海藻酸钠 Sodium alginate	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
三氧化二钇 Y ₂ O ₃	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
饲料组分分析 Nutrient contents						
总能量 Gross energy	17.70	17.70	19.20	19.20	20.74	20.74
粗蛋白 Crude protein	50.04	50.04	50.04	50.04	50.04	50.04
粗脂肪 Crude lipid	8.03	8.03	11.99	11.99	16.05	16.05

注:^a鱼粉:(七好生物科技有限公司,山东,中国),粗蛋白 66.8%,粗脂肪 5.8%;大豆浓缩蛋白:(七好生物科技有限公司,山东,中国),粗蛋白 67.1%,粗脂肪 1.4%;小麦粉:(七好生物科技有限公司,山东,中国),粗蛋白 14.6%,粗脂肪 1.3%;谷朊粉:(七好生物科技有限公司,山东,中国),粗蛋白 80.3%,粗脂肪 1.0%;^b维生素预混料(mg/kg 饲料):维生素 A,32 mg;维生素 D,5 mg;维生素 E,240 mg;维生素 K,10 mg;维生素 B1,25 mg;维生素 B2,45 mg;维生素 B6,20 mg;维生素 B12,10 mg;泛酸钙,60 mg;烟酸,200 mg;叶酸,20 mg;生物素,60 mg;肌醇,800 mg;Vc 磷酸酯,2 000 mg;^c矿物质预混料(mg/kg 饲料):MgSO₄·7H₂O,1 200 mg;CuSO₄·5H₂O,10 mg;FeSO₄·H₂O,80 mg;ZnSO₄·H₂O,50 mg;MnSO₄·H₂O,45 mg;CoCl₂·6H₂O,50 mg;亚硒酸钠,20 mg;碘酸钙,60 mg;^d复合诱食剂:(甜菜碱:二甲基-丙酸噻亭:甘氨酸:丙氨酸:5-磷酸肌醇=4:2:2:1:1)。

Note:^aFish meal:(Great Seven Bio-tech, Shandong, China), with crude protein: 66.8%, crude lipid: 5.8%; Soybean protein concentrate:(Great Seven Bio-tech, Shandong, China), with crude protein: 67.1%, crude lipid: 1.4%; Wheat meal:(Great Seven Bio-tech, Shandong, China), with crude protein: 14.6%, crude lipid: 1.3%; Wheat gluten:(Great Seven Bio-tech, Shandong, China), with crude protein: 80.3%, crude lipid: 1.0%;^bVitamin premix (mg/kg diet): retinol acetate, 32 mg; cholecalciferol, 5 mg; tocopherol, 240 mg; vitamin K,10 mg; thiamin, 25 mg; riboflavin, 45 mg; pyridoxine-HCl, 20 mg; vitamin B12,10 mg; pantothenic acid, 60 mg; niacin acid,200 mg; folic acid,20 mg; biotin, 60 mg; inositol, 800 mg; ascorbic acid,2 000 mg;^c Mineral premix (mg/kg diet): MgSO₄·7H₂O, 1 200 mg; CuSO₄·5H₂O, 10 mg; FeSO₄·H₂O, 80 mg; ZnSO₄·H₂O, 50 mg; MnSO₄·H₂O, 45 mg; CoCl₂·6H₂O, 50 mg; sodium selenite, 20 mg; calcium iodine, 60 mg;^d Attractant: (Betaine: Dimethyl-propiothetin: glycine: alanine: 5-phosphate inosine= 4:2:2:1:1).

所有原料经粉碎机粉碎并过 80 目的网筛,然后将粉碎好的原料按照饲料配方从小量到大量逐步混合均匀,此后将大豆卵磷脂混入鱼油和豆油中,根据实验配方将预混料分别与相应量的鱼油或豆油混合均匀,然后将胆碱加入到 30% 饲料重量的水中混匀,再将水与饲料充分混匀。饲料颗粒(3 mm×4 mm)由制粒机制成,然后在 55 °C 的通风风箱中烘干 12 h。待饲料颗粒干燥冷却后用双层塑料袋装好并封口,保存在-20 °C 冰箱中待使用。

1.2 饲养管理

实验在青岛亿海丰水产品有限公司(山东青岛)进行。大菱鲆幼鱼从养殖厂购买,在实验开始前用商业饲料喂养 2 周,使鱼适应养殖环境。将初始体质量(13.01±0.01) g 的幼鱼挑选出来随机分到 18 个养殖箱中,每个养殖箱 30 尾鱼。实验所用海水经过砂滤器过滤后以 1.5 L/min 的速度注入养殖箱。每个处理组都被分成 3 个平行进行实验。每天 7:00 和 19:00 进行定量投喂(投喂量为鱼体质量的 1%),每 2 周称一次体质量并根据体质量调整投喂量。投喂后将粪便清理干净。养殖实验进行 56 d。

1.3 样品收集

养殖实验结束后饥饿处理 24h,记录每个养殖箱内鱼的数量,并称量每个养殖箱内鱼总体质量。每箱随机选出 4 尾鱼保存在-20 °C 冰箱中用以进行体成分分析。从每个养殖箱中取 4 尾鱼,取鱼体的肝、肠、肌肉并用液氮保存。每养殖箱中随机挑选 2 尾鱼测量体质量、体长、内脏团重量、肝脏重量。取肝脏样品保存在液氮中,再保存在-80 °C 冰箱中用于基因定量分析。

1.4 化学分析

将样品置于 105 °C 烘箱中烘至恒重以测定水分。粗蛋白的测定通过凯氏定氮法(Kjeltec TM 8400, FOSS, Sweden)。采用索氏提取法(Buchi 36680, Switzerland)用乙醚提取后测定粗脂肪。

1.5 肝脏脂肪含量及脂肪酸组成

检测肝脏中脂肪含量方法如下:将肝脏样品冷冻干燥,称取 100 mg 的样品于 10 mL 玻璃离心管中,记录下样品的质量 w_0 和对应的试管编号;每个离心管中加入氯仿-甲醇溶液(氯仿:甲醇=2:1,存放在棕色玻璃瓶中 4 mL,摇匀后盖好盖子,浸泡 24 h。75 °C 下烘干另外一批玻璃离心管至恒重,两次误差不得超过 0.001 g,记录下离心管质量 w_1 和对应的编号。将氯仿-甲醇溶液加至 6 mL,离心(3 000 g, 10 min),再将上清液转入第二批离心管;在沉淀中加入 2 mL 氯仿-甲醇溶液,静置 2 h 后离心(3 000 g, 10 min);上清液仍转入第二批离心管。在上清液中加入 1.2 mL 1.6% 的 CaCl_2 ,摇匀,盖上盖子静置过夜。过夜后用移液枪

小心弃去上层液,再将离心管置于 75 °C 烘箱中烘干至恒重,两次误差不得超过 0.001 g,记录下质量 w_2 。每个样品两个重复。得到肝脏脂肪含量= $(w_2-w_1)/w_0 \times 100\%$ 。

检测肝脏中脂肪酸含量方法如下:将肝脏样品冷冻干燥,在研钵中充分磨细,称取 100 mg 左右的样品于带盖的 10 mL 刻度试管,加入 1 mol/L 的 KOH-甲醇 3 mL,于 80 °C 的水浴中加热 20 min,放置冷却;再加入 2 mol/L HCl-甲醇溶液 3 mL,混匀,于 80 °C 的水浴中加热 20 min,放置冷却;加正己烷 1 mL,振荡萃取,静置过夜;过夜后取上清得到样品,使用气相色谱仪(Agilent Technologies Inc., Santa Clara, California, USA)分析样品脂肪酸组成,饲料脂肪酸组成见表 2。

表 2 饲料中脂肪酸的组成(总脂肪酸)

Table 2 Fatty acid composition (total fatty acids) of the experimental diets /%

脂肪酸 Fatty acid	处理组 Treatments					
	F8	S8	F12	S12	F16	S16
14:0	4.38	0.78	5.42	0.64	6.23	0.45
16:0	18.21	14.73	18.97	13.58	19.47	13.03
18:0	4.70	4.51	4.55	4.72	4.68	4.79
20:0	0.45	0.43	0.50	0.41	0.50	0.42
ΣSFA	27.74	20.45	29.43	19.35	30.87	18.70
16:1	5.68	1.42	7.55	1.02	8.43	0.83
18:1	12.67	18.24	12.41	20.49	12.27	20.75
ΣMUFA	18.35	19.66	19.96	21.51	20.70	21.58
18:2n-6	14.66	34.35	10.81	38.71	8.37	41.22
20:4n-6	0.89	0.46	1.03	0.35	1.06	0.26
Σn-6 PUFA	15.55	34.81	11.84	39.06	9.42	41.48
18:3n-3	1.57	4.03	1.36	4.77	1.17	5.23
20:5n-3	5.56	1.61	7.47	1.21	8.28	0.91
22:6n-3	5.43	3.19	6.20	2.17	6.32	1.68
Σn-3 PUFA	12.56	8.83	15.04	8.15	15.78	7.81
ΣSFA/ΣPUFA	0.99	0.47	1.10	0.41	1.22	0.30
n-3/n-6 PUFA	0.81	0.25	1.27	0.21	1.67	0.19

1.6 RNA 提取和实时定量 PCR

肝脏总 RNA 参照 Trizol 试剂盒(Invitrogen, USA)提取,提取肝脏样品中的总 RNA。然后利用 PrimeScript™ 反转录试剂盒将提取的 RNA 反转录为 cDNA。反转录后检测 cDNA 的浓度并用 DEPC 水稀

释至 80 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 分装后置于一 20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。利用已有目的基因过氧化物酶体增殖物激活受体 α (*Peroxisome proliferator-activated receptor alpha*, *PPAR α*)、肉毒碱棕榈酰转移酶 I (*Carnitine palmitoyltransferase I*, *CPT1*)、磷脂酸磷酸化酶 1 (*Lipin 1*)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (*Peroxisome proliferator-activated receptor gamma*, *PPAR γ*)、脂蛋白脂酶 (*Lipoprotein Lipase*, *LPL*)、肝 X 受体 (*Liver X receptors*, *LXR*)、延伸因子 1 α (*Elongation Factor -1 α* , *EF1 α*) 的

引物序列合成引物, 引物序列如表 3 所示。定量 PCR 的体系为 25 μL , 其中 12.5 μL SYBR. Premix Ex TaqTM、0.5 μL 上下游引物 (10 $\mu\text{mol}/\text{L}$)、3 μL cDNA 和 9.5 μL 的 DEPC 水。定量仪器为实时定量 PCR 仪 (Mastercycler ep realplex, Eppendorf, Germany)。实时定量 PCR 的程序为 95 $^{\circ}\text{C}$ 持续 2 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 持续 15 s, 退火温度持续 15 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 持续 20 s, 共计 40 个循环。得到各基因的 CT 值, 并根据 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 方法测定目的基因的表达量^[8]。

表 3 大菱鲆脂肪代谢相关基因的实时定量 PCR 引物

Table 3 Real-time quantitative PCR primers for fatty metabolism related genes of turbot (*Scophthalmus maximus* L.)

目的基因 Target gene	正向引物 Forward(5'—3')	反向引物 Reverse(5'—3')	长度 Size/bp
<i>PPARα</i>	CGATCAGGTGACCCTGTTAA	TGGAACCTGGGCTCCATC	171
<i>CPT1</i>	GCCTTTTCAGTTCACCATCACA	ATGCGGCTGACTCGTTTCTT	113
<i>Lipin1</i>	AGGACGCTGGTGGTTCTCG	CTGTCCGCTGAGGTCATAGTG	113
<i>PPARγ</i>	AAGTGACGGAGTTCGCCAAGA	GTTCATCAGAGGTGCCATCA	121
<i>LPL</i>	CTCCACGAACGCTCTAT	GCGGACCTTGTTGATGTT	166
<i>LXR</i>	GCGTCATCAAGAGTGCCC	ATCTGATTTGCTCCTCCGAG	153
<i>EF1α</i>	TCATTGGCCATGTCGACTCC	ACGTAGTACTTGGCGGTCTC	226

1.7 计算与统计分析

大菱鲆摄食率、特定生长率、肥满度等参照以下公式计算:

存活率 (Survival rate, SR) = (最终鱼数量/初始鱼数量) $\times 100\%$;

增重率 (Weight gain rate, WGR) = (终体质量 - 初始体质量) / 初始体质量 $\times 100\%$;

特定生长率 (Specific growth rate, SGR) = (ln 终体质量 - ln 始体质量) / 实验天数 $\times 100\%$;

肥满度 (Condition factor, CF) = 终体质量 (g) / 体长³ (cm) $\times 100\%$;

肝体比 (Hepatosomatic index, HSI) = 肝脏重 (g) / 体质量 (g) $\times 100\%$;

脏体比 (Viscerosomatic index, VSI) = 内脏重 (g) / 体质量 (g) $\times 100\%$ 。

数据统计分析使用 SPSS 19.0。数据采用双因素方差分析 (ANOVA) 再进行 Tukey 检验。当 $P < 0.05$ 时视作有显著性差异。数据以平均值 $\pm$ 标准误差表示。

2 结果

2.1 饲料中不同脂肪水平和脂肪源对大菱鲆生长参数影响

实验各组的生长数据如表 4 所示。随着饲料脂肪

水平的升高以及脂肪源的替代, 大菱鲆幼鱼的存活率 (SR) 没有显著差异 ($P > 0.05$), 但是终末体质量 (FBW)、增重率 (WGR) 和特定生长率 (SGR) 出现了显著差异 ($P < 0.05$)。FBW、WGR 和 SGR 均随饲料脂肪水平的上升而上升, 只有 S16 组下降, 而用豆油替代了饲料中的鱼油后 FBW、WGR 和 SGR 全部下降 ($P < 0.05$), 在所有的处理组中, F16 组的 FBW、WGR 和 SGR 高于其他各组, S16 组最低, 但与 F8、S8 组相比没有显著差异 ($P < 0.05$), F8、S8、F12 和 S12 组之间没有显著差异 ($P > 0.05$), 但 F8、S8 组与 F16 组有显著差异 ($P < 0.05$), F12 和 S12 组则没有显著差异 ($P > 0.05$)。

实验各组肥满度 (CF)、脏体比指数 (VSI) 和肝体比指数 (HSI) 结果如表 5 所示, 随着饲料脂肪水平的增加大菱鲆脏体比指数 (VSI) 和肝体比指数 (HSI) 均有所上升并且产生了显著差异 ($P < 0.05$), 但肥满度 (CF) 没有受到显著影响 ($P > 0.05$); 而在用豆油替代饲料中的鱼油后, 脏体比指数 (VSI) 和肝体比指数 (HSI) 没有受到影响 ($P > 0.05$), 但肥满度 (CF) 出现了显著差异 ($P < 0.05$)。

2.2 饲料中不同脂肪水平和脂肪源对大菱鲆体组成变化的影响

对各处理组的大菱鲆的体组成进行了分析, 包括鱼体的水分、粗蛋白和粗脂肪, 结果如图 1 所示。随着

表4 饲料脂肪水平和豆油替代对大菱鲆生长的影响

Table 4 Effect of dietary lipid level and fish oil replaced by soybean oil on growth parameters of juvenile turbot

处理组 Treatments	初始体质量 Initial body weight/g	终末体质量 Final body weight/g	增重率 Weight gain rate/%	特定增长率 Specific growth rate/% · d ⁻¹	存活率 Survival rate/%
F8	13.01±0.01	60.80±0.33 ^b	367.72±2.50 ^b	2.76±0.01 ^b	93.33±3.33
S8	13.01±0.01	58.82±0.63 ^{ab}	352.09±5.01 ^{ab}	2.70±0.02 ^{ab}	98.89±1.11
F12	13.01±0.01	61.84±0.86 ^{bc}	375.67±6.57 ^{bc}	2.79±0.03 ^{bc}	100.00±0.00
S12	13.01±0.01	61.82±0.98 ^{bc}	375.57±7.53 ^{bc}	2.78±0.03 ^{bc}	98.89±1.11
F16	13.01±0.01	64.84±0.35 ^c	398.77±4.65 ^c	2.87±0.01 ^c	96.67±3.33
S16	13.01±0.01	56.87±0.72 ^a	337.62±5.62 ^a	2.64±0.02 ^a	100.00±0.00

注:表的同一列中不同小写字母表示组间差异显著($P<0.05$)。

Note: Significant differences are indicated by different superscript alphabets in each column ($P<0.05$).

表5 饲料脂肪水平和豆油替代对大菱鲆肝体比、脏体比及肥满度的影响

Table 5 Effect of dietary lipid level and fish oil replaced by soybean oil on hepatosomatic index (HSI), viscerosomatic index (VSI) and condition factor (CF) of juvenile turbot /%

处理组 Treatments	肝体比 Hepatosomatic index	脏体比 Viscerosomatic index	肥满度 Condition factor
F8	0.90±0.06 ^a	4.07±0.09 ^a	4.60±0.07 ^a
S8	1.02±0.08 ^a	3.85±0.22 ^a	5.19±0.16 ^b
F12	1.08±0.08 ^a	4.14±0.11 ^a	4.77±0.15 ^a
S12	0.97±0.12 ^a	4.54±0.15 ^b	4.92±0.15 ^{ab}
F16	1.27±0.07 ^b	4.80±0.09 ^b	4.84±0.12 ^a
S16	1.28±0.09 ^b	4.59±0.18 ^b	4.97±0.17 ^b

注:表的同一列中不同小写字母表示组间差异显著($P<0.05$)。

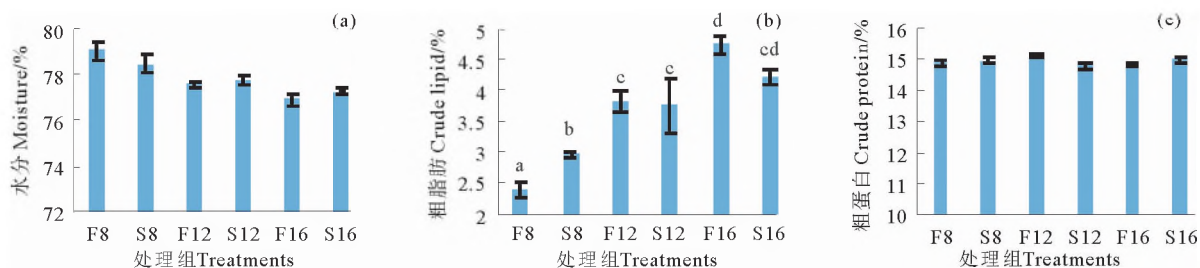
Note: Significant differences are indicated by different superscript alphabets in each column ($P<0.05$).

饲料脂肪水平的上升,鱼体水分含量下降但没有显著差异($P>0.05$),脂肪含量上升($P<0.05$),蛋白含量

没有明显的差异($P>0.05$);当用豆油替代鱼油后,鱼体的水分、粗蛋白和粗脂肪含量均有所下降,但没有显著的差异($P>0.05$)。在所有处理组中,F8组的水分含量最高,F16组的水分含量最低,但各组间没有显著差异($P>0.05$);F16组的脂肪含量最高,与S16组相比没有显著差异($P>0.05$),但显著高于其他处理组($P<0.05$),F8组的脂肪含量最低,显著低于其他处理组($P<0.05$),S8组的脂肪含量仅高于F8组,显著低于其他组($P<0.05$),F12、S12和S16组的脂肪含量差异不大($P>0.05$);F12组的蛋白含量最高,S12组的蛋白含量最低,但各组间没有显著差异($P>0.05$)。

2.3 饲料中不同脂肪水平和脂肪源对大菱鲆肝脏脂肪含量和脂肪酸组成的影响

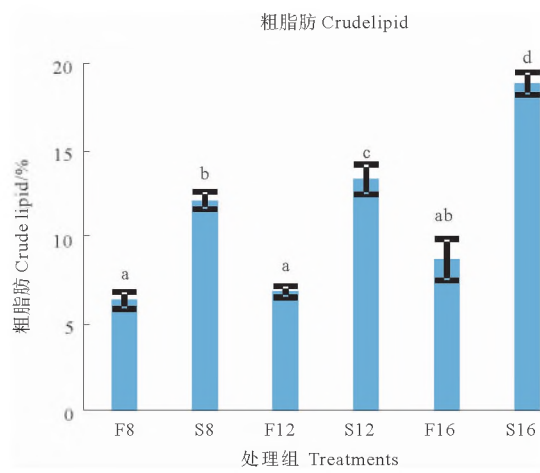
实验各组肝脏脂肪含量如图2所示。大菱鲆肝脏脂肪含量随着饲料脂肪水平的升高而显著上升($P<0.05$),同时豆油的替代也引起了肝脏脂肪含量显著的上升($P<0.05$),S16组的肝脏脂肪含量最高,显著高于其他处理组($P<0.05$);其次是S12组,显著高于剩余4组($P<0.05$),S8和F16组差异不显著($P>0.05$),但显著高于F8和F12组($P<0.05$)。



(同一图中不同小写字母表示组间差异显著($P<0.05$). Significant differences are indicated by different superscript alphabets in each chart($P<0.05$).)

图1 饲料脂肪水平和豆油替代对大菱鲆体组成的影响

Fig.1 Effect of dietary lipid level and fish oil replaced by soybean oil on whole body composition of juvenile turbot



(同一图中不同小写字母表示组间差异显著($P<0.05$)。Significant differences are indicated by different superscript alphabets in each chart ($P<0.05$).)

图 2 饲料脂肪水平和豆油替代对大菱鲃肝脏脂肪含量的影响

Fig.2 Effect of dietary lipid level and fish oil replaced by soybean oil on the lipid content of the liver in juvenile turbot

大菱鲃肝脏的脂肪酸组成如表 6 所示。肝脏中饱和脂肪酸(Saturated fatty acid, SFA)的含量随着饲料

脂肪水平的上升和豆油的替代而出现了下降($P<0.05$),n-6 系列的多不饱和脂肪酸(n-6 Polyunsaturated fatty acids,n-6 PUFA)的含量受到了饲料脂肪水平和豆油替代的共同影响,在没有豆油替代的 3 组中, Σ n-6 PUFA 的含量随脂肪水平的升高而下降($P<0.05$),而用豆油替代后, Σ n-6 PUFA 的含量变化趋势则相反($P<0.05$)。二十碳五烯酸(Eicosapentaenoic acid, EPA)和二十二碳六烯酸(Docosahexaenoic acid, DHA)没有受到饲料脂肪水平的显著影响($P>0.05$),但在用豆油替代后 EPA 和 DHA 含量显著下降($P<0.05$)。

2.4 饲料中不同脂肪水平和脂肪源对大菱鲃肝脏脂肪代谢相关基因表达的影响

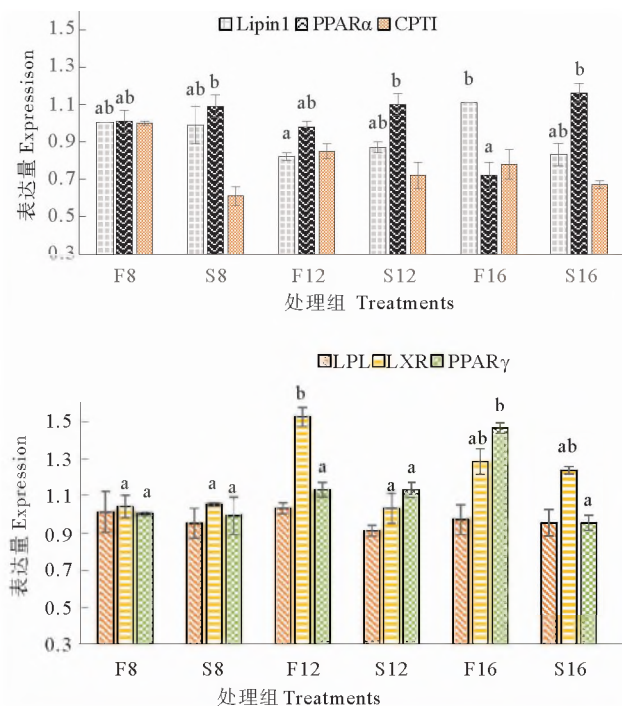
各处理组间肝脏脂肪代谢相关基因的相对表达量如图 3 所示。*Lipin1* 和 *LPL* 的表达量没有随着饲料脂肪水平和豆油替代的变化而发生显著的差异($P>0.05$),但是当有豆油替代时两者的表达量均有下降的趋势。*Lipin1* 表达量最高出现在 F16 组,最低出现在 F12 组;F12 组 *LPL* 表达量最高,S12 组表达量最低,

表 6 饲料脂肪水平和豆油替代对大菱鲃肝脏脂肪酸组成(总脂肪酸)的影响
Table 6 Effect of dietary lipid level and fish oil replaced by soybean oil on the fatty acid composition (total fatty acids) in the liver of the juvenile turbot

脂肪酸 Fatty acid	F8	S8	F12	S12	F16	S16
14:00	4.69±0.11 ^c	2.42±0.34 ^b	5.82±0.14 ^d	1.44±0.24 ^{ab}	4.87±0.32 ^{cd}	0.80±0.05 ^a
16:00	17.32±0.21 ^{cd}	15.24±0.50 ^{abc}	19.68±0.41 ^d	14.01±0.30 ^{ab}	16.05±1.04 ^{bc}	12.53±0.13 ^a
18:00	4.07±0.02	3.33±0.12	4.36±0.05	3.52±0.19	3.57±0.43	3.36±0.11
20:00	0.24±0.00	0.17±0.01	—	0.16±0.03	0.32±0.00	0.19±0.02
ΣSFA	26.09±0.04	21.16±0.74	29.72±0.41	19.07±0.64	24.59±1.88	16.89±0.16
16:01	5.88±0.20 ^c	2.47±0.25 ^b	7.23±0.20 ^d	1.72±0.12 ^{ab}	7.71±0.19 ^d	1.23±0.03 ^a
18:01	16.07±0.08	20.80±0.46	13.49±0.07	19.56±0.96	16.46±0.21	21.29±0.59
ΣMUFA	21.79±0.27	23.27±0.30	20.72±0.13	21.18±1.08	23.96±0.14	22.52±0.60
18:2n-6	14.58±0.91 ^b	34.80±1.78 ^c	10.94±0.67 ^{ab}	36.72±1.35 ^{cd}	6.34±0.86 ^a	41.04±0.74 ^d
20:4n-6	1.58±0.09	0.36±0.06	1.54±0.07	0.29±0.01	1.22±0.11	0.18±0.01
Σn-6 PUFA	16.34±1.63 ^b	35.18±1.68 ^c	11.95±0.43 ^{ab}	38.34±0.39 ^{cd}	7.57±0.60 ^a	41.21±0.73 ^d
18:3n-3	0.95±0.02 ^b	3.05±0.11 ^c	0.71±0.05 ^{ab}	2.96±0.04 ^c	0.67±0.00 ^a	3.65±0.07 ^d
20:5n-3	3.36±0.18	0.70±0.14	4.23±0.05	0.52±0.05	3.60±0.40	0.40±0.01
22:6n-3	6.06±0.48	2.73±0.35	7.29±0.08	1.70±0.13	5.54±0.80	1.08±0.05
Σn-3 PUFA	10.37±0.66	5.99±0.31	12.26±0.19	5.20±0.23	9.52±1.39	5.13±0.06
ΣSFA/ΣPUFA	1.04±0.02 ^c	0.61±0.07 ^b	1.24±0.07 ^{cd}	0.43±0.02 ^{ab}	1.46±0.06 ^d	0.37±0.01 ^a
n-3/n-6 PUFA	0.68±0.06 ^b	0.20±0.01 ^a	1.04±0.05 ^c	0.13±0.01 ^a	1.25±0.09 ^c	0.12±0.00 ^a

注:表的同一行中不同小写字母表示组间差异显著($P<0.05$)。
Note:Significant differences are indicated by different superscript alphabets in each horizontal row($P<0.05$).

但各组间没有显著性差异($P>0.05$)。PPAR α 的表达量受饲料脂肪水平和豆油替代的共同影响,豆油替代上调了 PPAR α 的表达量($P<0.05$),而没有豆油替代时,PPAR α 的表达量随饲料脂肪水平的升高而降低,豆油替代鱼油后其表达量升高,S16 组 PPAR α 的表达量最高,显著高于 F16 组($P<0.05$),但与其他组相比没有显著差异($P>0.05$)。豆油替代降低了 CPT I 的表达量,在豆油替代的情况下,CPT I 的表达量随着脂肪水平的升高而有所上升,非替代组的变化趋势与此相反。F12 组 LXR 的表达量最高,与 F16 和 S16 组没有显著差异($P>0.05$),S12 组表达量最低,但只与 F12 组有显著差异($P<0.05$)。F16 组 PPAR γ 的表达量最高,显著高于其他各组($P<0.05$),其余各组没有显著性差异($P>0.05$)。



(同一图中不同小写字母表示组间差异显著($P<0.05$)。Significant differences are indicated by different superscript alphabets in each gene ($P<0.05$.)

图3 饲料脂肪水平和豆油替代对大菱鲆肝脏脂肪代谢相关基因表达的影响

Fig.3 Effect of dietary lipid level and fish oil replaced by soybean oil on the lipid metabolism related gene expression in the liver of the juvenile turbot

3 讨论

在本次实验中,用6种不同的饲料喂养大菱鲆幼鱼,实验进行56 d。大菱鲆幼鱼的存活率(SR)没有随着饲料脂肪水平的提高以及脂肪源的替代而出现显著的差异($P>0.05$),但是终末体质量(FBW)、增重率

(WGR)和特定生长率(SGR)出现了显著差异($P<0.05$)。从结果可以看出,F16组的FBW、WGR和SGR最高,生长最好;而S16组的生长最差,其余4组的生长没有显著差异($P>0.05$)。虽然没有出现显著差异,但是除S16组外的5组FBW、WGR和SGR均随饲料脂肪水平的上升而出现了上升趋势,这是由于当鱼体摄食的饲料脂肪不充足时,鱼体摄入的能量就会不足,就会引起生长的下降,此外,饲料中的脂肪有节约蛋白的作用,当摄入的脂肪充足时,鱼体就可以减少用于产生能量的蛋白质分解,进而提高生长。生长结果表明,当用豆油替代饲料中鱼油时,鱼体的FBW、WGR和SGR均出现了下降,说明用豆油100%替代鱼油会对大菱鲆的生长产生抑制,这与之前的研究相一致^[9]。而且从生长结果可以发现,当饲料脂肪水平为8%和12%时,豆油替代虽然抑制了大菱鲆的生长,但是没有出现显著差异($P>0.05$),这可能说明当饲料脂肪水平为8%~12%时,在相同的摄食量下,100%的豆油替代不会对大菱鲆的生长造成太大的影响;而当饲料脂肪水平达到16%时,生长出现了显著的下降($P<0.05$),这与之前的研究报道相一致^[10],这说明当饲料中豆油含量上升时,其抑制鱼体生长的作用就会越明显,进而表现为生长上的差异。之前的研究表明^[9],12%脂肪水平下100%的豆油替代会显著抑制大菱鲆的生长,同时也会抑制大菱鲆的摄食率,而在本实验中,在定量投喂的情况下,12%脂肪水平的鱼油组和豆油组生长差异不大,这可能说明豆油替代饲料的适口性是影响大菱鲆生长的原因之一,因此可以考虑提高豆油替代饲料的适口性来增加豆油的利用性。

随着饲料脂肪水平的增加,大菱鲆脏体比指数(VSI)和肝体比指数(HSI)均有所上升并出现了显著差异($P<0.05$),这说明了肝脏是大菱鲆体内沉积脂肪的主要器官;而在用豆油替代鱼油后,VSI和HSI均没有出现显著差异($P>0.05$),这与在大菱鲆^[10]、篮子鱼(*Siganus canaliculatus*)^[11]、军曹鱼(*Rachycentron canadum*)^[12]、欧洲鲈鱼(*Dicentrarchus labrax*)和虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[13]上的研究结果相一致。另外,肥满度(CF)没有受到饲料脂肪水平影响($P>0.05$),但当用豆油替代鱼油后,鱼体的CF出现了显著差异($P<0.05$)。

实验分析了包括鱼体水分、粗蛋白和粗脂肪在内的各项体组分,结果显示鱼体水分受饲料脂肪水平的影响($P<0.05$),随着饲料脂肪水平的上升,鱼体水分含量下降;而豆油替代则没有影响鱼体的水分含量($P>0.05$)。大菱鲆鱼体的粗脂肪含量随饲料脂肪含量升高而显著升高($P<0.05$),这与大菱鲆^[14]、欧洲鲈鱼^[15]、金头鲷(*Sparus aurata*)^[16]、异育银鲫(*Caras-*

sius auratusgibelio)、长吻鲈 (*Leiocassis longirostris* Günther)^[17]。等研究结果相一致; 而豆油替代对鱼体粗脂肪的含量没有造成显著的差异 ($P > 0.05$), 这与先前的研究结果相一致^[10,19-21]。鱼体粗蛋白含量没有受到饲料脂肪水平和豆油替代的显著影响 ($P > 0.05$), 这与先前的研究结果相一致^[10,19-21], 这说明饲料脂肪水平和豆油替代不会显著影响蛋白质在大菱鲆体内的沉积。

饲料的脂肪水平和豆油替代情况显著影响了大菱鲆肝脏脂肪含量 ($P < 0.05$): 随着饲料脂肪水平的升高, 大菱鲆肝脏脂肪含量发生了显著的上升 ($P < 0.05$), 其结果与 Gélinau 等^[22]的研究结果相一致; 同时豆油的替代也影响了其肝脏脂肪含量, 引起了脂肪含量的显著上升 ($P < 0.05$), 这也与 Bell 等^[23]在大菱鲆上的研究结果相一致, 这可能是与豆油替代后饲料中的 n3/n6 比值变化有关。n3-PUFA 与 n6-PUFA 之间的不平衡会造成肝脏脂肪含量的增加^[24], 而在本实验中, 当饲料中的鱼油被豆油替代后, n3/n6 的比值均出现了下降。本实验中的大菱鲆肝脏脂肪酸组成验证了之前的一些研究结果^[11-12,21,25-27], 反映了饲料中的脂肪酸组成。LC-PUFA 的合成是通过 $\Delta 6$ 去饱和酶、延长酶和 $\Delta 5$ 去饱和酶催化 C18 底物, 如 C18:2n-6 和 C18:3n-3 等来完成的, 但大菱鲆将 C18:3n-3 转化为 EPA 和 DHA 的能力有限, 所以肝脏中 EPA 和 DHA 的含量变化并没有与饲料中 C18:3n-3 含量的变化相一致, 甚至表现出完全相反的变化趋势, 但与饲料中 EPA 和 DHA 的含量变化趋势相近。其结果与 Regost 等^[10]在大菱鲆上的研究一致。这也说明大菱鲆获得 EPA 和 DHA 主要靠外界摄食而不是自身合成。

肝脏脂肪的沉积受脂肪的合成与分解两方面的影响。肝脏脂肪沉积的增加不仅与脂肪合成相关基因的表达上调有关, 同时与脂肪分解相关基因的表达下调有关。饲料脂肪水平和豆油替代影响了脂肪代谢相关基因的表达, 最终会影响肝脏的脂肪沉积。饲料在鱼体肠细胞中形成乳糜微粒后进入血液循环, 进而被 LPL 水解成乳糜残粒 (Chylomicron remnants, CMR), LPL 可以结合乳糜残粒并将其转运到肝细胞, 这是饲料中的脂肪酸进入肝脏的方式^[28]。脂肪酸进入细胞后, 在 CPT I 的作用下进入线粒体进行 β 氧化供能, 在氧化供能过程中会生成乙酰辅酶 A。此外, 饲料中 n-3 多不饱和脂肪酸会刺激 CPT I 的活性, 进而增加线粒体内的脂肪酸氧化和提高 β 氧化能力^[29]。PPAR α 可以通过与多不饱和脂肪酸和类视黄醇 X 受体 (Retinoid X receptor, RXR) 结合来诱导脂肪酸氧化和线粒体氧化。此外, 脂肪酸可以调节 PPAR α 的表达并进一步调节其靶基因的表达, 包括 LPL 和 CPT^[30]。Lipin 1 可

以通过诱导 PPAR α 的表达来激活脂肪酸氧化和线粒体氧化, 同时可以抑制脂肪合成并降低循环脂质水平^[31]。LXR 是一种转录因子, 可以与配体结合形成二聚体, 形成的二聚体与 DNA 结合, 可促进脂肪的生成, 而被激活的 PPAR α 则会促进脂肪酸的氧化^[32]。PPAR γ 是脂肪酸摄取和脂肪生成的关键调控因子^[33]。

当大菱鲆摄入的能量不足时, 体内 AMP/ATP 的比值就会上升, 进而激活 AMPK 磷酸化, 诱导 Lipin1 的基因表达, 进而诱导 PPAR α 的基因表达, 从而上调 CPT I 和 LPL 的基因表达^[34], 这样提高了肝脏的脂肪分解能力; 同时抑制 LXR 结合到应答元件上, 从而抑制 LXR 靶基因的转录水平^[35-36], 抑制脂肪的合成。而随着饲料脂肪水平的上升, 鱼体摄入能量逐渐升高, Lipin1、PPAR α 、CPT I 和 LPL 基因表达量均发生了下降; LXR 和 PPAR γ 的基因表达量上升。而豆油中富含亚油酸 (18:2n-6), 豆油替代对肝脏脂肪代谢相关基因的影响主要原因是饲料中脂肪酸组成的不同。有研究发现饲料中高水平的 n-3 LC-PUFA 可能会促进脂肪酸氧化相关基因的表达^[37-38], 饲料中的 n-3 PUFA 可以通过刺激 CPT I 的酶活力促进线粒体膜的流动性, 进而增加线粒体脂肪酸氧化^[29]。因此饲料中较高含量的 n-3 PUFA 会诱导脂肪分解相关基因的表达, 进而导致 β 氧化能力增加, 降低肝脏的脂肪沉积。当用豆油替代饲料中的鱼油时, 饲料中 n-3 PUFA 的含量明显下降, 而 n-6 PUFA 的含量上升, 这就可能引起豆油替代组内脂肪氧化的降低, 进而导致肝脏脂肪水平的上升。

各组 Lipin1 的基因表达量的变化趋势如图 3 所示, 当饲料中没有豆油替代时, Lipin1 的表达量随着饲料脂肪水平的上升先下降然后上升, 在 16% 脂肪水平处上升的原因很可能是鱼体摄入的能量和 n-3 PUFA 已经超过鱼体需求, 这会激活脂肪分解相关基因 (如 Lipin1) 的表达, 提高肝脏脂肪分解的能力, 避免脂肪过多沉积; 而豆油替代组中 Lipin1 表达量虽然没有出现显著的差异 ($P > 0.05$), 但有降低的趋势, 这可能说明饲料中的 n-6 PUFA 会抑制 Lipin1 的基因表达。PPAR α 的表达也受到了脂肪水平和豆油替代的影响, 在鱼油组中 PPAR α 的表达量随着饲料脂肪水平的上升而下降; 当有豆油替代时, 各脂肪水平下 PPAR α 的表达量均出现了上升, 这与之前的研究结果相一致^[9], 也有研究显示亚油酸可以增加大鼠 β 细胞的胰岛素分泌^[39], 而胰岛素会调节大鼠体内 PPAR α 的转录活性^[40], 可上调 PPAR α 基因表达。由此可见, 饲料脂肪水平和豆油中的亚油酸都可上调 PPAR α 的基因表达量。CPT I 和 LPL 的表达量在非替代组中, 均随饲料脂肪水平的上升而下降; 在各脂肪水平下, 豆油的替代

抑制了 *CPT I* 和 *LPL* 的基因表达,而在豆油替代的情况下,随着脂肪水平的上升,两者的表达量没有出现显著的变化,这可能说明饲料中 n-3 PUFA 的含量会影响 *CPT I* 和 *LPL* 的基因表达。*LXR* 的表达量随着饲料脂肪水平的上升而上升,随着豆油的替代而下降,该结果与之前的研究结果一致,其研究结果被解释为饲料中 n3 LC-PUFA 含量的下降会导致 *LXR* 表达的下调^[41-42],本次的实验结果印证了这一现象,说明 n3 LC-PUFA 可能会促进 *LXR* 的表达,而饲料脂肪水平的上升会促进 *LXR* 的表达,进而增加脂肪的合成。*PPAR γ* 被认为是脂肪合成和肝脏脂质变性的的重要调控因子^[43-46]。饲料脂肪水平的上升促进了 *PPAR γ* 的表达,豆油替代则抑制了其表达,与之前的研究相一致^[47],说明亚油酸会抑制 *PPAR γ* 的表达,而在豆油替代的情况下,随着脂肪水平的上升,*PPAR γ* 的表达量没有出现显著的变化,这也可能说明饲料中 n-3 PUFA 的含量会影响 *PPAR γ* 的表达量,即 *PPAR γ* 的表达受饲料脂肪水平、n-3 PUFA 的含量和亚油酸含量的共同影响。

总体来说,当鱼体摄入能量不足时,鱼体摄入的脂肪主要用于脂肪分解,此时脂肪分解相关基因表达上升,同时,脂肪合成相关基因表达下降,脂肪合成能力下降。当鱼体摄入能量充足时,脂肪分解相关基因表达就会下降,脂肪合成相关基因表达上升,达到稳定的状态。而在用豆油替代后,各脂肪代谢相关的基因表达就会受到饲料脂肪酸组成变化的影响而表现出不同的变化趋势。

4 结语

当饲料主要脂肪源为鱼油时,鱼体生长性能随饲料脂肪水平升高而具有升高趋势。当饲料中脂肪水平为 12%~16% 时,获得最优的鱼体生长性能。当饲料主要脂肪源为豆油时,大于 16% 的豆油会抑制鱼体生长。大菱鲆脂肪代谢显著受饲料脂肪水平和脂肪来源的影响。本研究为大菱鲆饲料中脂肪水平及脂肪源的合理选择提供了一定的理论依据。

参考文献:

- [1] Watanabe T. Strategies for further development of aquatic feeds [J]. *Fisheries Science*, 2002, 68(2): 242-252.
- [2] Watanabe Y G. An organ culture study on the site of determination of ACTH and LH cells in the rat adenohypophysis [J]. *Cell and Tissue Research*, 1982, 227(2): 267-275.
- [3] Turchini G M, Torstensen B E, Ng W, et al. Fish oil replacement in finfish nutrition [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2009, 1(1): 10-57.
- [4] Ghioni C, Tocher D R, Bell M V, et al. Low C 18 to C 20 fatty acid elongase activity and limited conversion of stearidonic acid,

- 18: 4 (n-3), to eicosapentaenoic acid, 20: 5 (n-3), in a cell line from the turbot, *Scophthalmus maximus* [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1999, 1437(2): 170-181.
- [5] Sargent J R, Tacon A G J. Development of farmed fish: A nutritionally necessary alternative to meat [J]. *Proceedings of the Nutrition Society*, 1999, 58(2): 377-383.
- [6] Torstensen B E, Bell J G, Rosenlund G, et al. Tailoring of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) flesh lipid composition and sensory quality by replacing fish oil with a vegetable oil blend [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(26): 10166-10178.
- [7] 刘兴旺, 艾庆辉, 麦康森. 大豆浓缩蛋白替代鱼粉对大菱鲆摄食, 生长及体组成的影响 [J]. *水产学报*, 2015, 38(1): 91.
Liu Xing-Wang, Ai Qing-Hui, Mai Kang-Sen. Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate on feed intake and growth of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, 38(1): 91.
- [8] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [9] Peng M, Xu W, Mai K, et al. Growth performance, lipid deposition and hepatic lipid metabolism related gene expression in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) fed diets with various fish oil substitution levels by soybean oil [J]. *Aquaculture*, 2014, 433: 442-449.
- [10] Regost C, Arzel J, Robin J, et al. Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in turbot (*Psetta maxima*): 1. Growth performance, flesh fatty acid profile, and lipid metabolism [J]. *Aquaculture*, 2003, 217(1): 465-482.
- [11] Xu S, Wang S, Zhang L, et al. Effects of replacement of dietary fish oil with soybean oil on growth performance and tissue fatty acid composition in marine herbivorous teleost *Siganus canaliculatus* [J]. *Aquaculture Research*, 2012, 43(9): 1276-1286.
- [12] Trushenski J, Schwarz M, Lewis H, et al. Effect of replacing dietary fish oil with soybean oil on production performance and fillet lipid and fatty acid composition of juvenile cobia *Rachycentron canadum* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2011, 17(2): e437-e447.
- [13] Figueiredo - Silva A, Rocha E, Dias J, et al. Partial replacement of fish oil by soybean oil on lipid distribution and liver histology in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2005, 11(2): 147-155.
- [14] Regost C, Arzel J, Cardinal M, et al. Dietary lipid level, hepatic lipogenesis and flesh quality in turbot (*Psetta maxima*) [J]. *Aquaculture*, 2001, 193(3): 291-309.
- [15] Peres H, Oliva-Teles A. Effect of dietary lipid level on growth performance and feed utilization by European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*) [J]. *Aquaculture*, 1999, 179(1): 325-334.
- [16] Vergara J M, Robainà L, Izquierdo M, et al. Protein sparing effect of lipids in diets for fingerlings of gilthead sea bream [J]. *Fisheries Science*, 1996, 62(4): 624-628.
- [17] Pei Z, Xie S, Lei W, et al. Comparative study on the effect of dietary lipid level on growth and feed utilization for gibel carp (*Carrasius auratus gibelio*) and Chinese longsnout catfish (*Leiocassis-*

- longirostris* Günther)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2004, 10(4): 209-216.
- [18] Wang J T, Liu Y J, Tian L X, et al. Effect of dietary lipid level on growth performance, lipid deposition, hepatic lipogenesis in juvenile cobia (*Rachycentron canadum*)[J]. *Aquaculture*, 2005, 249(1): 439-447.
- [19] Hardy R W, Scott T M, Harrell L W. Replacement of herring oil with menhaden oil, soybean oil, or tallow in the diets of Atlantic salmon raised in marine net-pens[J]. *Aquaculture*, 1987, 65(3): 267-277.
- [20] Greene D H S, Selivonchick D P. Effects of dietary vegetable, animal and marine lipids on muscle lipid and hematology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture*, 1990, 89(2): 165-182.
- [21] Arzel J, Lopez F X M, Métailler R, et al. Effect of dietary lipid on growth performance and body composition of brown trout (*Salmo trutta*) reared in seawater[J]. *Aquaculture*, 1994, 123(3-4): 361-375.
- [22] Gélineau A, Corraze G, Boujard T, et al. Relation between dietary lipid level and voluntary feed intake, growth, nutrient gain, lipid deposition and hepatic lipogenesis in rainbow trout[J]. *Reproduction Nutrition Development*, 2001, 41(6): 487-503.
- [23] Bell J G, Tocher D R, MacDonald F M, et al. Effects of diets rich in linoleic (18: 2n-6) and α -linolenic (18: 3n-3) acids on the growth, lipid class and fatty acid compositions and eicosanoid production in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.)[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1994, 13(2): 105-118.
- [24] Takeuchi T, Watanabe T. Effect of excess amounts of essential fatty acids on growth of rainbow trout[J]. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1979, 45(12): 1517-1519.
- [25] Tocher D R, Bell J G, Dick J R, et al. Effects of dietary vegetable oil on Atlantic salmon hepatocyte fatty acid desaturation and liver fatty acid compositions[J]. *Lipids*, 2003, 38(7): 723-732.
- [26] Sun S, Ye J, Chen J, et al. Effect of dietary fish oil replacement by rapeseed oil on the growth, fatty acid composition and serum non-specific immunity response of fingerling black carp, *Mylopharyngodon piceus* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2011, 17(4): 441-450.
- [27] Benítez-Dorta V, Caballero M J, Izquierdo M, et al. Total substitution of fish oil by vegetable oils in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) diets: effects on fish performance, biochemical composition, and expression of some glucocorticoid receptor-related genes[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2013, 39(2): 335-349.
- [28] Saxena U, Klein M G, Vanni T M, et al. Lipoprotein lipase increases low density lipoprotein retention by subendothelial cell matrix[J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 1992, 89(2): 373-380.
- [29] Madsen L, Rustan A C, Vaagenes H, et al. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid affect mitochondrial and peroxisomal fatty acid oxidation in relation to substrate preference[J]. *Lipids*, 1999, 34(9): 951-963.
- [30] Petrescu A D, Huang H, Martin G G, et al. Impact of L-FABP and glucose on polyunsaturated fatty acid Induction of PPAR α -regulated β -oxidative enzymes[J]. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2013, 304(3): 241-256.
- [31] Finck B N, Kelly D P. PGC-1 coactivators: Inducible regulators of energy metabolism in health and disease[J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2006, 116(3): 615-622.
- [32] Goto T, Lee J Y, Teraminami A, et al. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- α stimulates both differentiation and fatty acid oxidation in adipocytes[J]. *Journal of Lipid Research*, 2011, 52(5): 873-884.
- [33] 彭墨. 饲料脂肪水平和脂肪酸组成对大菱鲆幼鱼脂沉积的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014.
- Peng Mo. The effects of dietary lipid level and fatty acids composition on lipid deposition in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.)[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2014.
- [34] Zechner R. The tissue-specific expression of lipoprotein lipase: implications for energy and lipoprotein metabolism[J]. *Current Opinion In lipidology*, 1997, 8(2): 77-88.
- [35] Sampath H, Ntambi J M. Polyunsaturated fatty acid regulation of genes of lipid metabolism[J]. *Annual Review of Nutrition*, 2005, 25(1): 317-340.
- [36] Schlegel A, Stainier D Y R. Microsomal triglyceride transfer protein is required for yolk lipid utilization and absorption of dietary lipids in zebrafish larvae[J]. *Biochemistry*, 2006, 45(51): 15179-15187.
- [37] Jump D B, Clarke S D, Thelen A, et al. Dietary polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription[J]. *Progress in Lipid Research*, 1996, 35(3): 227-241.
- [38] Jump D B. Fatty acid regulation of gene transcription[J]. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 2004, 41(1): 41-78.
- [39] Zhou Y, Song Y, Zhou H, et al. Linoleic acid activates GPR40/FFA1 and phospholipase C to increase $[Ca^{2+}]_i$ release and insulin secretion in islet beta-cells[J]. *Chinese Medical Sciences Journal*, 2012, 27(1): 18-23.
- [40] Shalev A, Siegrist-Kaiser C A, Yen P M, et al. The peroxisome proliferator-activated receptor α is a phosphoprotein: Regulation by insulin[J]. *Endocrinology*, 1996, 137(10): 4499-4502.
- [41] Cruz-Garcia L, Minghetti M, Navarro I, et al. Molecular cloning, tissue expression and regulation of liver X receptor (LXR) transcription factors of Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2009, 153(1): 81-88.
- [42] Cruz-Garcia L, Sánchez-Gurmaches J, Gutiérrez J, et al. Regulation of LXR by fatty acids, insulin, growth hormone and tumor necrosis factor- α in rainbow trout myocytes[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2011, 160(2): 125-136.
- [43] Yu Y, Correll P H, Heuvel J P V. Conjugated linoleic acid decreases production of pro-inflammatory products in macrophages: Evidence for a PPAR γ -dependent mechanism[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2002, 1581(3): 89-99.
- [44] Schadinger S E, Bucher N L R, Schreiber B M, et al. PPAR γ 2 regulates lipogenesis and lipid accumulation in steatotic hepatocytes[J]. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Me-*

- tabolism, 2005, 288(6): 1195-1205.
- [45] Matsusue K, Kusakabe T, Noguchi T, et al. Hepatic steatosis in leptin-deficient mice is promoted by the PPAR γ target gene Fsp27[J]. Cell Metabolism, 2008, 7(4): 302-311.
- [46] Morán-Salvador E, López-Parra M, García-Alonso V, et al. Role for PPAR γ in obesity-induced hepatic steatosis as determined by hepatocyte-and macrophage-specific conditional knockouts [J]. The FASEB Journal, 2011, 25(8): 2538-2550.
- [47] Escobar E L O, Gomes - Marcondes M C C, Carvalho H F. Dietary fatty acid quality affects AR and PPAR γ levels and prostate growth[J]. The Prostate, 2009, 69(5): 548-558.

Effects of Dietary Lipid Level and Lipid Source on the Growth and Metabolism of Juvenile Turbot (*Scophthalmus maximus* L.)

MAN Ming-San, SUI Zhong-Min, ZHOU Hui-Hui, WANG Xuan, XU Wei, MAI Kang-Sen, HE Gen
(The Key Laboratory of Aquaculture Nutrition and Feed of Ministry of Agriculture, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: The present study was carried out to explore the effects of dietary lipid levels and lipid source on the growth and metabolism of turbot. A 56 days feeding trial was carried out in juvenile turbot ((13.01 ± 0.01) g). Six isonitrogenous experimental diets were designed using two lipid sources, fish oil (FO) and soybean oil (SO), and three lipid levels, 8%, 12% and 16%. The fish growth performance increased with the increase of lipid level in FO groups and a significant difference was observed between F16 and F8. However, in the SO groups, dietary S16 significantly inhibited the fish growth. The hepatosomatic and viscerosomatic indices of turbot were highly affected by dietary lipid level while the condition factor was highly affected by lipid source. There was no effect of the diets on moisture and crude protein levels of turbot. The crude lipid level of whole body and liver were highly affected by the diet. The liver lipid content in SO groups was significantly higher than that of FO groups. Furthermore, the expressions of genes relating to lipid metabolism were also highly affected by the dietary lipid level and lipid source. The optimal fish growth performance was obtained when the dietary lipid levels varied between 12% and 16%. Over substitution soybean oil in the diet disturbed the lipid metabolism of turbot and inhibited the fish growth performance.

Key words: dietary; turbot; lipid level; fish oil; soybean oil; growth; lipid metabolism

责任编辑 朱宝象