

不同脂肪含量饲料对吉富罗非鱼鱼种生长性能、脂蛋白脂酶活性及其基因表达的影响

王爱民 杨文平 於叶兵 吕富 吴文静 封功能 王资生

盐城工学院海洋技术系/江苏省沿海池塘养殖生态重点实验室/江苏省沿海养殖鱼类饲料工程技术研究中心,盐城 224051

摘要 试验选用均质量(2.63±0.16 g)的吉富罗非鱼鱼种 315 尾,随机分成 3 组,每组 3 个重复,每个重复 35 尾,分别饲喂 3.7%、7.7%和 16.6%的低、中、高脂肪水平的等氮饲料,探讨不同脂肪含量饲料对吉富罗非鱼鱼种生长、肝体指数、脂肪沉积、脂蛋白脂酶(lipoprotein lipase, LPL)活性及其基因表达的影响,并初步探讨 LPL 基因表达与脂肪沉积的关联规律,试验周期 90 d。结果显示:(1)饲喂高脂饲料的试验鱼肝体指数、脏体指数显著升高,肥满度无显著变化,肝脏与肌肉脂肪含量显著升高;(2)饲喂高脂肪饲料试验鱼的增重率显著下降、饲料系数下降显著;(3)LPL 基因在吉富罗非鱼鱼种肝脏和肌肉中均有表达,但肝脏中 LPL mRNA 表达丰度显著高于肌肉;(4)在再投喂 48 h 内,在第 6 小时时,高脂肪试验组鱼肝脏 LPL 活性显著高于中、低脂肪试验组,但随后显著降低,显著低于 3.7%试验组;7.7%和 3.7%试验组鱼肝脏 LPL 活性呈现先升高后下降的趋势;(5)饲喂高脂饲料的试验鱼肝脏中 LPL mRNA 表达丰度最高,显著高于 3.7%低脂试验组;(6)吉富罗非鱼肝体指数、肝脏和肌肉脂肪含量与肝脏 LPL 表达具有显著的线性正相关。结果表明,LPL mRNA 在吉富罗非鱼肝脏和肌肉中表达具有组织特异性;高脂饲料显著抑制了吉富罗非鱼鱼种增重;高脂饲料显著促进了吉富罗非鱼肝脏 LPL 的分泌,诱导了其肝脏中 LPL 基因表达,促进肝脏与肌肉脂肪沉积;LPL 基因参与调节吉富罗非鱼脂肪沉积。

关键词 脂蛋白脂酶(LPL);饲料脂肪水平;LPL 基因表达;脂肪沉积;吉富罗非鱼

中图分类号 S 963 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2014)02-0096-07

脂蛋白脂酶(lipoprotein lipase, LPL)是脂肪细胞、心肌细胞、骨骼肌细胞等实质细胞合成和分泌的一种糖蛋白,分子质量为 60 ku,含 3%~8%碳水化合物,能催化乳糜微粒和极低密度脂蛋白中甘油三酯的水解,产生甘油并释放出游离脂肪酸以供贮脂器官贮存,或诸如肌肉等其他器官氧化^[1]。LPL 通过调控其在脂肪组织与其他组织器官表达水平的变化,而对机体脂质蓄积状况产生决定性影响。

近年来,对鱼类脂蛋白脂酶的体内分布及饥饿对鱼类 LPL 基因表达已有相关报道^[2-5],但有关饲料脂肪水平对鱼类 LPL 活性与基因表达影响,并从 LPL 表达进一步探讨其与脂肪沉积的关联规律研究很少,仅郑珂珂等^[6]探讨了饲料脂肪水平对瓦氏黄颡鱼肝脏中 LPL 基因表达的影响。研究高脂饲料胁迫下鱼类 LPL mRNA 与脂肪沉积的关联度,可为进一步探讨研究鱼类体脂沉积分子机制,预防鱼类营养性脂肪肝提供科学依据。

吉富罗非鱼(genetic improvement of garmed tilapia strain of nile tilapia, GIFT, *Oreochromis niloticus*)是遗传性状改良后的尼罗罗非鱼,现已成为我国新兴的主要养殖品种之一^[7]。随着高密度精养模式的发展,长期投喂低蛋白、高脂肪、高能量的饲料,加重罗非鱼肝脏代谢负担,增加其营养性脂肪肝暴发。本文研究不同脂肪含量饲料对吉富罗非鱼鱼种生长性能、体脂沉积、LPL 活性及其基因表达的影响,为深入研究鱼类脂肪沉积调控机制,预防营养性脂肪肝,开发吉富罗非鱼高效、安全、环保饲料提供试验参考。

1 材料与方法

1.1 试验鱼

试验鱼为购买于淡水渔业研究中心吉富罗非鱼苗种基地的吉富罗非鱼鱼种,体质量 2.6 g 左右,运回后用 5%的食盐水进行消毒,在正式饲养试验前

收稿日期:2012-12-31

基金项目:江苏省省属高校自然科学基金基础研究项目(08KJD240003)和江苏省第四期“333 高层次人才培养工程”第三层次培养对象资助项目

王爱民,博士,副教授。研究方向:沿涂滩水产动物营养与饲料。E-mail: bluesewam@ycit.cn

驯养 20 d。

1.2 试验饲料

研究显示，吉富罗非鱼鱼种对饲料中脂肪适宜需求量为 7.7%~9.3%^[8]，因此，在本研究中，选择 7.7% 的脂肪水平为中脂肪饲料组，根据罗非鱼配合饲料行业标准 (SC/T 1025-2004)，选用鱼粉、豆粕、菜粕、花生粕等为蛋白源，优质鱼油为脂肪源，设计吉富罗非鱼鱼种饲料配方，饲料原料均过孔径 250 μm 筛，预混料为每千克饲料含以下主要成分：VE 60 mg；VK 5 mg；VA 15 000 IU；VD₃ 3 000 IU；VB₁ 15 mg；VB₂ 30 mg；VB₆ 15 mg；VB₁₂ 0.5 mg；烟酸 175 mg；叶酸 5 mg；肌醇 1 000 mg；生物素 2.5 mg；泛酸钙 50 mg；铁 25 mg；铜 3 mg；锰 15 mg；碘 0.6 mg；镁 0.7 g。试验鱼油添加量分别为 2%、6% 和 15%，配制成脂肪含量 3.7%、7.7% 和 16.6% 的 3 组低、中、高脂等氮饲料 (粗蛋白含量为 30.4%)，其中低脂肪组 (脂肪含量 3.7%) 为对照组，试验饲料配方及营养成分见表 1，饲料原料均来自盐城市殷氏饲料公司，原料经粉碎机粉碎后，均过孔径为 0.25 mm 筛网并用逐级扩大法混匀后制成直径为 1.0 mm 的颗粒饲料，统一自然风干后，放置于 4℃ 冰箱中保存备用。

表 1 试验饲料配方及其主要营养成分 (风干物质)

Table 1 Formulation and nutritional ingredient of the experimental diets

项目 Items	饲料脂肪水平 Dietary lipid levels		
	低 Low	中 Middle	高 High
原料 Ingredients			
鱼粉 Fish meal	8.0	8.0	8.0
豆粕 Soybean meal	25.0	25.0	25.0
花生粕 Peanut meal	10.0	10.0	10.0
菜籽粕 Rapeseed meal	18.0	18.0	18.0
次粉 Wheat-middlings	14.0	14.0	14.0
玉米淀粉 Corn starch ¹⁾	18.0	14.0	5.0
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.5	1.5	1.5
鱼油 Fish oil	2.0	6.0	15.0
食盐 Salt	0.2	0.2	0.2
氯化胆碱 Choline chloride	0.3	0.3	0.3
预混料 Feed premix	3.0	3.0	3.0
总量 Total quantity	100.0	100.0	100.0
主要营养成分/% Main nutrients			
水分 Moisture	10.8	10.4	9.8
粗蛋白 Crude protein	30.4	30.4	30.4
粗脂肪 Crude fat	3.7	7.7	16.6

1) 玉米淀粉成分参照 GB-T 8885-2008 一级品标准 Corn starch ingredient refers GB-T 8885-2008 standard of first rank standard.

1.3 试验设计与饲养管理

正式分组前，挑选无病无伤、规格均一的 315 尾吉富罗非鱼鱼种 (体质量 2.63 ± 0.16 g)，随机分到 9 个水族箱 (100 cm × 80 cm × 60 cm) 中，然后将 9 个水族箱随机分为 3 组，每组设置 3 个重复，投喂脂肪含量分别为 3.7%、7.7% 和 16.6% 的 3 种等氮饲料，饲养 90 d，试验采用流水循环控温养殖系统，流水速度约为 5 L/min，每天投饲率为 10%~15%，根据吃食情况进行适度调整，每天投喂 3 次，投喂时间分别为 06:30、12:30、18:30，投喂之前吸除粪便。试验用水为曝过气的自来水，每 5 d 换水 1 次，试验期间全天充气，水温 22~27℃，溶氧 > 5.0 mg/L，pH 值 6.8~8.0。

1.4 样品采集

90 d 饲养结束后，禁食 24 h，每个水族箱随机取试验鱼 3 尾，置于 200 mg/L 的 MS-222 溶液中麻醉，测定吉富罗非鱼鱼种增重率、饲料系数，肝体指数、脏体指数、肥满度，取肝脏和肌肉样品测定脂肪含量及 LPL mRNA 丰度，再禁食 24 h 再投喂后第 6、12、24、48 小时，每次从每个水族箱取 3 尾鱼，解剖取肝脏，测定 LPL 酶活性，此外，从对照组中随机取 3 尾试验鱼的肝脏和肌肉样品测定 LPL mRNA 丰度，比较肝脏与肌肉中 LPL 基因表达分布，样品存于 -80℃ 超低温冰箱留作分子生物学分析。

1.5 指标及其测定方法

1) 形体指标。肝体指数 (hepatosomatic index, HSI)、脏体指数 (viscerosomatic index, VSI)、肥满度 (condition factor, CF)、具体计算公式参照文献 [9]。

2) 生长指标。饲养试验开始与结束时，对各组的试验鱼称质量，计算增重率 (weight gain, WG) 和饲料系数 (feed conversion ratio, FCR)，具体计算公式参照文献 [10]，日摄食量计算公式如下：

$$\text{日摄食量 DFI (daily feed intake, g/d)} = \frac{[\text{投饵量} - \text{残饵量 (干质量)}]}{[\text{试验末体质量} + \text{试验初体质量}] \times \text{饲养天数} / 2}$$

肝脏与肌肉中脂肪含量测定采取索氏提取法测定 [11]。

3) LPL 酶活性测定。匀浆液的制备参照南京建成生物工程研究所提供的试剂盒说明书：准确称取一定量的组织，用 0.68% 的生理盐水按质量体积

比 1 : 9 进行匀浆, 2 500 r/min 离心 10 min, 取上清液, 即为酶液, 用铜试剂测定生成游离脂肪酸的量即可计算出 LPL 酶活性, 检测方法见南京建成生物工程研究所试剂盒说明书。

$$\text{LPL} = \frac{\text{LPL 管 } D \text{ 值} - \text{空白管 } D \text{ 值}}{\text{标准管 } D \text{ 值} - \text{空白管 } D \text{ 值}} \times \text{标准管 FFA 浓度} (500 \mu\text{mol/L}) \times \text{样品测试前稀释倍数} \times 3 / 1\ 000 \div \text{匀浆蛋白含量} (\text{mg/mL})$$

4) *LPL* 基因表达。根据吉富罗非鱼 *LPL* cDNA 序列 (GenBank: GU433189) 设计引物, F1: 5'-AGAG-CACACTGTCCC GAGGCGAT-3'; 5'-AAGGTGC-CTCCGTTGGGGTAAAT -3'。根据吉富罗非鱼 β actin 序列 (GenBank: F026001) 设计引物 F2: 5'-CCTGAGCGTAAATACTC CGTCTG-3'; 5'-AAG-CACCTTGCCTGGACGAT -3'。所有引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成。

取 100 mg 左右吉富罗非鱼新鲜的肝脏, 根据 Trizol Reagen (Invitrogen 公司) 说明提取总 RNA, 一般用分光光度计测定 D_{260}/D_{280} 为 1.8~2.0。以 500 ng 总 RNA, 反应总体积为 10 μ L, 参照大连 TaKaRa 公司反转录试剂盒进行反转录获得 cDNA。根据大连 TaKaRa 公司 SYBR green I 嵌合荧光法进行 real time PCR 扩增反应 (Mini Option Real-Time 仪器, BIO-RAD, USA)。荧光定量获得的扩增产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检验产物的特异性。

1.6 数据处理

结果以平均值 \pm 标准误表示 (Means \pm SE) 表示, 用 SAS9.0 软件进行 One-ANOVA 单因素方差分析, 并用 Duncan's 进行多重比较分析, 差异显著性水平 $P < 0.05$ 。以吉富罗非鱼 β actin 内参基因对各样品数据 C 值进行均一化处理, 以 3.7% 对照组禁食时 *LPL* 基因的 mRNA 水平为基准, 应用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法^[12] 确定不同样品 mRNA 的相对含量。通过线性回归分析, 用一次直线模型模拟吉富罗非鱼的 *LPL* 基因表达与饲料脂肪含量、肝体指数、肝脏与肌肉中脂肪含量的相关性。

2 结果与分析

2.1 不同脂肪含量饲料对吉富罗非鱼鱼种形体指标的影响

试验结果见表 2, 经方差分析可知, 与 3.7% 试

LPL 酶活性的定义: 每毫克组织蛋白每小时在反应系统中所产生的 1 μ mol 的游离脂肪酸 FFA 为 1 个酶活性单位 (FFA μ mol/(mg \cdot h))。

计算公式为:

验组比较, 饲喂高脂肪饲料的试验鱼肝体指数显著升高, 脏体指数显著高于对照组, 但与中脂肪组差异不显著, 各组试验鱼之间肥满度变化不显著。

表 2 不同脂肪含量饲料对吉富罗非鱼鱼种形体指标的影响¹⁾

Table 2 Effect of dietary lipid levels on body shape indicators of juvenile GIFT tilapia

形体指标 Shape indicators	饲料脂肪水平 Dietary lipid levels		
	低 Low	中 Middle	高 High
肝体指数 HSI	0.42 \pm 0.08 c	0.75 \pm 0.12 b	1.26 \pm 0.22 a
脏体指数 VSI	8.33 \pm 0.16 b	10.28 \pm 0.47 ab	12.08 \pm 0.93 a
肥满度 CF	3.27 \pm 0.15 a	3.66 \pm 0.18 a	3.55 \pm 0.12 a

1) 同行不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同。Mean values in row with different superscripts were significantly different ($P < 0.05$). The same as below.

2.2 不同脂肪含量饲料对吉富罗非鱼鱼种生长性能及脂肪含量的影响

吉富罗非鱼鱼种生产性能指标见表 3, 分析可知, 中脂肪试验组中鱼体的增重率最高, 显著高于高、低脂肪试验组, 而高脂肪试验组饲料系数显著低于低脂肪试验组和中脂肪试验组, 但低脂肪试验组和中脂肪试验组之间饲料系数差异不显著。此外, 摄食高脂肪饲料的试验组日摄食量显著下降。

经方差分析可知, 吉富罗非鱼鱼种肝脏和肌肉中脂肪含量随着饲料中脂肪水平的增加而显著升高, 且肝脏脂肪含量高于肌肉脂肪含量。

2.3 吉富罗非鱼肝脏与肌肉中 *LPL* mRNA 丰度比较

试验结束后, 禁食 48 h, 进行荧光定量 PCR 测定 *LPL* mRNA 表达丰度, 在低脂肪组吉富罗非鱼鱼种肝脏和肌肉中均能检测到 *LPL* mRNA, 分别为 1.41 \pm 0.40 和 0.42 \pm 0.25 (*LPL* mRNA/ β actin mRNA), 但吉富罗非鱼鱼种肝脏中 *LPL* 基因表达丰度是其肌肉中 3 倍多, 差异显著。

2.4 不同脂肪含量饲料和再投喂对吉富罗非鱼鱼种 *LPL* 活性的影响

不同脂肪含量饲料和再投喂对吉富罗非鱼鱼种

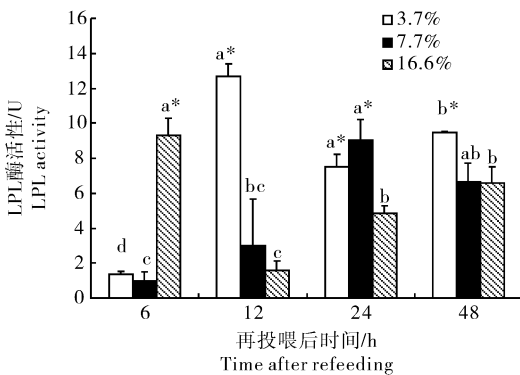
LPL 活性的影响结果见图 1, 经方差分析可知, 再投喂后 48 h 内, 低脂肪试验组肝脏 LPL 酶活性先上升后下降, 到最后又上升, 中脂肪试验组肝脏 LPL 活性先上升, 到最后略微下降, 而饲喂高脂肪饲料的试验组鱼肝脏 LPL 酶活性呈现先下降

后上升的变化趋势, 总体上, 不同脂肪含量试验组鱼 LPL 酶活性呈现上升的趋势。高脂试验组 LPL 活性在第 6 小时显著高于低脂肪试验组和中脂肪试验组, 但在第 12、24、48 小时显著低于低脂肪试验组。

表 3 不同脂肪含量饲料对吉富罗非鱼生长性能及脂肪含量的影响

Table 3 Effect of dietary lipid levels on growth performance and lipid content in the liver and muscle of GIFT tilapia

指标 Indicators	饲料脂肪水平 Dietary lipid levels		
	低 Low	中 Middle	高 High
末均质量/(g/尾) Final weight	46.29±2.16 ab	52.00±0.31 a	44.64±1.87 b
增重率/% WG	1 588.55±103.69 ab	1 860.18±44.76 a	1 348.27±93.73 b
饲料系数 FCR	2.00±0.01 a	1.85±0.01 a	1.59±0.04 b
日摄食量/(g/d) DFI	1.34±0.02 a	1.29±0.02 a	0.94±0.04 b
肌肉脂肪含量/% Lipid content in muscle	2.3±0.2 c	3.3±0.3 b	4.3±0.3 a
肝脏脂肪含量/% Lipid content in liver	7.9±0.9 c	9.9±0.1 b	12.7±1.3 a



数值用平均值±标准误差表示, n=9, 不同小写字母表示同一组在不同时间内 LSD 多重比较差异显著 (P<0.05); “*”表示同一时间内各组之间独立样本 t-检验差异显著 (P<0.05)。Values are means ± SE, n=9). LSD multiple range test; different lower case letter are significant different among different times of the same group (P<0.05); independent-samples t-test; asterisks above the bars showed significant difference among different groups of the same time (P<0.05).

图 1 不同脂肪含量饲料和再投喂对吉富罗非鱼鱼种肝脏中 LPL 活性的影响

Fig.1 Effect of dietary lipid levels and refeeding on LPL activity in liver of juvenile GIFT tilapia

2.5 不同脂肪含量饲料对吉富罗非鱼鱼种肝脏中 LPL 基因表达的影响

饲料脂肪水平 3.7%、7.7%和 16.6%的 3 个试验组的 LPL 基因表达水平分别为 0.477 3±0.19、1.120 2±0.40、2.014 4±0.45。由此可知, 随着饲料中脂肪含量增加, 吉富罗非鱼肝脏中 LPL

mRNA 表达丰度随着升高。其中高脂肪试验组 LPL mRNA 表达量显著高于低脂肪试验组, 但与中脂肪试验组差异不显著, 中脂肪试验组与低脂肪试验组之间无显著差异。

2.6 LPL mRNA 表达丰度与吉富罗非鱼鱼种肝体指数、脂肪含量的关联分析

关联分析结果发现, LPL mRNA 表达丰度与饲料脂肪水平之间呈直线正相关 (P<0.05), 方程为 $y=11.3750x+0.1383$, $R^2=0.9898$; 吉富罗非鱼肝体指数与肝脏 LPL mRNA 表达丰度之间呈直线正相关 (P<0.05), 方程为 $y=0.5605x+0.1374$, $R^2=0.9999$; 吉富罗非鱼肌肉脂肪含量与肝脏 LPL mRNA 表达丰度之间呈直线正相关 (P<0.05), 方程为 $y=1.3158x+1.7211$, $R^2=0.9868$; 吉富罗非鱼肝脏脂肪含量与肝脏 LPL mRNA 表达丰度之间呈直线正相关 (P<0.05), 方程为 $y=3.1930x+6.3351$, $R^2=0.9996$ 。

3 讨论

3.1 不同脂肪含量饲料对吉富罗非鱼鱼种肝体指数等形体指标的影响

本研究结果表明, 高脂肪饲料导致吉富罗非鱼鱼种肝脏和脏体显著增大, 说明高脂肪组试验鱼肝脏已经出现病理上的一定变化, 可能原因是肝脏分解脂肪的代谢负担加重导致组织增大。这一研究结果与其他一些相关报道一致, 如冯健^[13]的研究结果

表明,饲喂不同脂肪水平饲料红鲷(*Sciaenops ocellatus*)可能出现营养性脂肪肝病;李坚明等^[14]认为日粮超过 4%脂肪会对奥尼罗非鱼(*O. niloticus*×*O. aureus*)肝脏组织结构有一定影响。本试验研究结果也表明,随着饲料脂肪含量升高,吉富罗非鱼鱼种肥满度呈现先升高后降低的趋势,高脂肪饲料对吉富罗非鱼肥满度无显著影响,鱼类的肥满度随饵料条件以及鱼体自身因素和生长阶段而变化,也与性腺的发育有关。

3.2 不同脂肪含量饲料对吉富罗非鱼鱼种生长性能及体脂沉积的影响

本研究结果表明,高脂肪饲料显著抑制了吉富罗非鱼鱼种的生长,这一研究结果与异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)^[15]、大西洋鳕(*Gadus morhua*)^[16]等报道基本一致,可能的原因:一方面高脂肪饲料降低了饲料的适口性,影响吉富罗非鱼鱼种摄食,进而影响其生长;另一方面高脂肪饲料导致鱼类肝脏病变,影响肝脏正常的生理营养功能,从而影响鱼类对脂肪的消化利用,最终导致其生长下降^[17]。本研究也发现摄食高脂肪饲料的试验鱼饲料系数显著降低,在本试验中发现高脂肪试验组日摄食量显著低于中、低脂肪试验组的日摄食量,进一步证明了摄食高脂肪的吉富罗非鱼鱼种增重下降与日摄食量下降有直接关系。

笔者研究也发现,吉富罗非鱼肌肉脂肪含量范围为 2.3%~4.3%,肝脏为 7.9%~12.7%,高脂肪试验组肌肉和肝脏的脂肪含量显著高于低、中脂肪试验组,且肝脏中脂肪含量显著高于肌肉脂肪含量,表明高脂肪饲料促进吉富罗非鱼肝脏与肌肉脂肪沉积,且肝脏比肌肉更容易蓄积脂肪。类似研究也表明,当饲料中脂肪含量增加,鱼体组织中的脂肪含量也随之增加而出现脂肪蓄积的情形^[18-19]。高脂肪饲料能提供更多的能量,导致鱼体脂肪过多在肝脏细胞中沉积,从而可能产生营养性脂肪肝。

3.3 不同脂肪含量饲料和再投喂对吉富罗非鱼鱼种 LPL 活性的影响

肝脏是鱼类脂肪蓄积的主要调节性贮脂器官^[20],早期对虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)、真鲷(*Pagrus major*)等研究表明成鱼肝脏脂肪含量高,并检测到 LPL 的酶活性^[21-22]。本试验结果表明,高脂肪饲料在再投喂后第 6 小时后显著促进了吉富罗非鱼肝脏中 LPL 活性分泌,禁食诱导了吉富罗非鱼肝

脏 LPL 分泌,但不显著。在本试验中,禁食 48 h 后再投喂,在此后 6 h 内,因高脂肪饲料为吉富罗非鱼体内脂肪代谢提供大量的甘油三酯,需要大量 LPL 分解甘油三酯,因而可能促进了肝脏 LPL 分泌,而在再投喂 12 h、尤其 24 h 后,试验鱼处于不同程度的饥饿状态,迫使吉富罗非鱼取分解体内脂肪来适应饥饿应激,从而导致其鱼体肝脏中 LPL 活性升高。高脂肪促进吉富罗非鱼 LPL 活性分泌的具体机制目前不是很清楚,有待今后深入开展研究。

3.4 不同脂肪含量饲料对吉富罗非鱼鱼种肝脏 LPL 基因表达的影响

本试验研究结果表明,高脂肪饲料诱导吉富罗非鱼肝脏 LPL mRNA 表达。吉红等^[23]研究草鱼及郑珂珂等^[6]研究瓦氏黄颡鱼的结果表明,摄食高脂肪饲料后,其肝脏 LPL 基因水平显著升高,本研究结果与其报道一致,进一步说明高脂肪饲料对鱼类肝脏 LPL mRNA 表达有诱导调控作用。Liang 等^[24]研究也表明饲喂高脂肪饲料诱导真鲷产生大量 LPL,可能分解甘油三酯为肝脏提供了游离脂肪酸,导致肝脏有可能出现营养性脂肪肝。

本研究初步探讨了吉富罗非鱼 LPL 基因表达与饲料脂肪水平,吉富罗非鱼肝体指数、肝脏与肌肉脂肪含量与 LPL 基因表达的关联规律,研究结果表明,吉富罗非鱼 LPL mRNA 表达与饲料脂肪水平呈线性正相关($R^2=0.9898$),肝体指数、肝脏与肌肉脂肪含量与 LPL mRNA 基因表达也呈线性正相关(相关系数分别为 $R^2=0.9999$ 、 $R^2=0.9868$ 、 $R^2=0.9996$),相关度显著($P<0.05$),进一步说明饲料脂肪水平显著促进吉富罗非鱼 LPL 基因表达,而 LPL 基因表达促进了饲料脂肪在鱼类肝脏与肌肉中的沉积。这可能跟 LPL 的生理功能有关,即饲喂高脂肪饲料后,LPL 主要催化乳糜微粒和极低密度脂蛋白中的甘油三酯水解,以供肝脏、肌肉等脂肪组织氧化供能,合成体内脂肪组织,促进脂肪在肝脏、肌肉等组织中沉积。肝脏 LPL 基因参与调节吉富罗非鱼脂肪沉积,其具体作用机制有待深入研究。

此外,本试验测定发现吉富罗非鱼肝脏和肌肉中 LPL mRNA 表达丰度,LPL 基因在肝脏中表达显著高于肌肉中表达,说明 LPL 基因在肝脏、肌肉中均有表达,肝脏是吉富罗非鱼 LPL 表达的主要器官之一,Cheng 等^[25]研究表明,LPL mRNA 在建鲤(*Cyprinus carpio* var. *Jian*)组织中均有表达,但

以肝脏最高，对虹鳟^[5]和金头鲷^[4]的研究也发现 *LPL* 基因主要在肝脏中表达，本试验结果与其报道一致，但不同于哺乳动物肝脏中 *LPL* 低表达的结果^[26]，其可能的原因是鱼类缺乏皮下脂肪组织、腹腔肠系膜脂肪组织，肝脏及肌肉是鱼类体脂蓄积的主要部位，而肝脏可能是 *LPL* 产生、表达的主要场所之一。

参 考 文 献

- [1] AUWERX J, LEROY P, SCHOONJANS K. Lipoprotein lipase: recent contributions from molecular biology[J]. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 1992, 29: 243-268.
- [2] 姚煜, 梁旭方, 李光照, 等. 鳕脂蛋白脂酶和肝脂酶基因结构与组织表达[J]. *中国水产科学*, 2009, 169(4): 506-517.
- [3] OKU H, KOIZUMI N, OKUMURA T, et al. Molecular characterization of lipoprotein lipase, hepatic lipase and pancreatic lipase genes; effects of fasting and refeeding on their gene expression in red sea bream *Pagrus major* [J]. *Comp Biochem Physiol B*, 2006, 145: 168-178.
- [4] SAERA-VILA A, CALDUCH-GINER J A, GÓMEZ-REQUENI P, et al. Molecular characterization of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) lipoprotein lipase. Transcriptional regulation by season and nutritional condition in skeletal muscle and fat storage tissues [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2005, 142: 224-232.
- [5] AMAYA A, SÁNCHEZ-GURMACHES J, GUTIERREZ J, et al. Regulation of lipoprotein lipase activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) tissues [J]. *Gen Comp Endocrin*, 2006, 146(3): 226-235.
- [6] 郑珂珂, 朱晓鸣, 韩冬, 等. 饲料脂肪水平对瓦氏黄颡鱼生长及脂蛋白脂酶基因表达的影响[J]. *水生生物学报*, 2010, 34(4): 815-821.
- [7] DEY M M, PARAGUAS F J, BIMBAO G B, et al. Socioeconomics of tilapia culture in Asia: an introduction[J]. *Aquaculture Economics & Management*, 2000, 4: 1-2.
- [8] 王爱民, 韩光明, 封功能, 等. 饲料脂肪水平对吉富罗非鱼生长、营养物质消化及血液生化指标的影响[J]. *水生生物学报*, 2011, 35(1): 80-87.
- [9] 潘望城, 龚世园, 田罡. 不同植物蛋白源饲料对黄鳝生长及肉质的影响[J]. *华中农业大学学报*, 2013, 32(5): 84-88.
- [10] 赵巧娥, 朱邦科, 沈凡, 等. 饲料脂肪水平对鳃幼鱼生长、体成分及血清生化指标的影响[J]. *华中农业大学学报*, 2012, 31(3): 357-363.
- [11] JEE M H. Official and standardized methods of analysis[M]. 3rd ed. Washington DC, USA: Elsevier, 1995: 382-383.
- [12] 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: 402-408.
- [13] 冯健. 4 种不同脂肪源对太平洋鲑生长和体组成的影响[J]. *水生生物学报*, 2006, 30(3): 256-260.
- [14] 李坚明, 甘晖, 冯广朋, 等. 饲料脂肪含量与奥尼罗非鱼幼鱼肝脏形态结构特征的相关性[J]. *南方水产*, 2008(10): 37-43.
- [15] 王爱民, 吕富, 杨文平, 等. 饲料脂肪水平对异育银鲫生长性能、体脂沉积、肌肉成分及消化酶活性的影响[J]. *动物营养学报*, 2010, 22(3): 625-633.
- [16] HANSEN J Ø, BERGE G M, HILJESTAD M, et al. Apparent digestion and apparent retention of lipid and fatty acids in Atlantic cod (*Gadus morhua*) fed increasing dietary lipid levels [J]. *Aquaculture*, 2008, 284: 159-166.
- [17] XU J H, QIN J, YAN B L, et al. Effects of dietary lipid levels on growth performance, feed utilization and fatty acid composition of juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) reared in sea water [J]. *Aquaculture International*, 2011, 19: 79-89.
- [18] 宋理平, 韩勃, 冒树泉, 等. 脂肪水平对厚唇弱棘鲷生长及肠道脂肪酶活性的影响[J]. *广东海洋大学学报*, 2010, 30(1): 13-17.
- [19] GAYLORD T G, GATLIN A M. Dietary lipid level but not L-carnitine affects growth performance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) [J]. *Aquaculture*, 2000, 190(3): 237-246.
- [20] ANDO S, MORI Y. Characteristics of serum lipoprotein features associated with lipid levels of muscle and liver from five species of fish [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1993, 59: 1565-1571.
- [21] 梁旭方, OKU H, OGATA H Y, 等. 海水鱼真鲷脂蛋白脂酶基因 cDNA 序列与组织表达[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2002, 18(6): 712-719.
- [22] LINDBERG A, OLIVECRONA G. Lipoprotein lipase from rainbow trout differs in several respects from the enzyme in mammals [J]. *Gene*, 2002, 292: 213-223.
- [23] 吉红, 苏尚顺, 刘茜, 等. 草鱼 *LPL* 基因的表达及饥饿和再投喂对其影响[J]. *水产学报*, 2009, 33(6): 980-986.
- [24] LIANG X F, OKU H, OGATA H Y. The effects of feeding condition and dietary lipid level on lipoprotein lipase gene expression in liver and visceral adipose tissue of red sea bream *Pagrus major* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 2002, 131: 335-342.
- [25] CHENG H L, SUN S P, PENG Y X, et al. cDNA sequence and tissues expression analysis of lipoprotein lipase from common carp (*Cyprinus carpio* var. *Jian*) [J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37: 2665-2673.
- [26] COOPER D A, STEIN J C, STRIELEMAN P J, et al. Avian adipose lipoprotein lipase: cDNA sequence and reciprocal regulation of mRNA levels in adipose and heart [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1989, 1008(1): 92-101.

Effects of dietary lipid levels on growth performance, activity and gene expression of lipoprotein lipase in GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile

WANG Ai-min YANG Wen-ping YU Ye-bing LYU Fu WU Wen-jing
FENG Gong-neng WANG Zi-sheng

*Department of Ocean Technology, Yancheng Institute of Technology/
Key Laboratory for Aquaculture and Ecology of Coastal Pool of Jiangsu Province/
Jiangsu Province Coastal Aquaculture Fish Feed Engineering Technology Research Center,
Yancheng 224051, China*

Abstract A 90-day study was conducted to investigate effects of dietary lipid levels on performance, fat deposition, activity and expression of lipoprotein lipase (LPL) in GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile, and to explore the correlation between *LPL* gene expression and fat deposition. 315 GIFT tilapia juveniles (average weight 2.63 ± 0.16 g) were randomly divided into three groups with three replications, and fed with isonitrogenous diets with different lipid levels of 3.7% (low-lipid group), 7.7% (middle-lipid group) and 16.6% (high-lipid group) by supplementing with 2%, 6% and 15% fish oil as lipid source, respectively. The results showed: (1) the hepatosomatic index (HSI), viscerosomatic index (VSI) and lipid contents in liver and muscle increased with increasing dietary lipid level ($P < 0.05$), but there was a trends for condition factor (CF) with first increased then decreased ($P > 0.05$); (2) with increasing dietary lipid levels, the weight gain (WG) first increased, then decreased, and feed conversion ratio (FCR) decreased ($P < 0.05$); (3) *LPL* gene was expressed in liver and muscle of GIFT tilapia, while the expression level in liver was significantly higher than that in muscle ($P < 0.05$); (4) during the 48 h post-refeeding period, liver LPL activity in high-lipid group was significantly higher than that in low-lipid and middle-lipid group at 6 h, but significantly lower than that in low-lipid group at the 12 h, 24 h and 48 h. There was a trend in low-lipid and middle-lipid group that liver LPL activity increased first and then decreased; (5) the expression of *LPL* was significantly higher in high-lipid group than that in low-lipid group ($P < 0.05$); (6) there were a significant linear positive correlation between HSI, lipid contents in liver and muscle, and liver *LPL* expression in GIFT tilapia juvenile. The results indicated that *LPL* expression in GIFT tilapia was in a tissue specific pattern and liver was the main organ for secretion and expression of *LPL*; high dietary lipid level could inhibit growth of GIFT tilapia juvenile, decrease feed conversion ratio, induce the expression of *LPL* in liver, and promote fat deposition in liver and muscle; liver *LPL* expression was involved in fat deposition of GIFT tilapia juvenile.

Key words lipoprotein lipase (LPL); dietary lipid level; *LPL* gene expression; fat deposition; GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*)

(责任编辑:边书京)