

DOI: 10.12264/JFSC2022-0268

高脂饲料添加地黄或山药对黄河鲤生长、血清生化指标和脂代谢的调节作用

王俊丽¹, 苑婷婷¹, 刘欣欣², 贾金伦¹, 秦超彬², 聂国兴²

1. 河南师范大学生命科学学院, 河南 新乡 453002;

2. 河南师范大学水产学院, 河南 新乡 453002

摘要: 在黄河鲤(*Cyprinus carpio haematopterus*)高脂饲料中添加地黄粉或山药粉, 旨在探讨两种添加物能否改善高脂对鲤生长、生理和脂代谢的不利影响。分别配制基础饲料、高脂饲料(脂肪含量 14%)、高脂饲料+4%地黄粉、高脂饲料+2%山药粉 4 种实验饲料。将 360 尾初始体重为(79.97±9.86) g 的健康黄河鲤随机分为 4 组: 对照组(NC)、高脂组(HLD)、地黄添加组(HLD+R)和山药添加组(HLD+Y), 并分别饲喂上述饲料。养殖实验共进行 12 周, 其中前 3 周饱食投喂, 之后改为等量投喂。分别在第 3 周、第 7 周和第 12 周末进行取样, 检测生长和血清生化指标、肝胰脏脂肪含量和脂代谢相关基因的表达量。结果表明: 高脂饲料显著降低了黄河鲤的生长速度, 而在高脂饲料中添加地黄粉或山药粉可在一定程度上改善这种作用。高脂饲料可引起黄河鲤血清谷丙转氨酶(ALT)和碱性磷酸酶(ALP)活性显著升高($P<0.05$), 地黄或山药均可显著降低血清 ALT 活性, 而对 ALP 活性无影响; 在前三周饱食投喂的情况下, HLD 组和 HLD+R 组的乳酸脱氢酶(LDH)活性显著低于 NC 组($P<0.05$), 之后各组间不再有显著差异。高脂饲料对黄河鲤血脂和肝脂含量均有升高作用, 而地黄或山药对血脂、尤其是血清甘油三酯含量均有显著的降低作用。肝胰脏脂代谢相关基因的表达在前 3 周各组间均无显著差异, 之后 *Fas*、*Acc1* 和 *Ppar- α* 基因的表达量在 HLD 组显著升高($P<0.05$), 地黄或山药对高脂引起的 *Fas* 的 *Acc1* 的表达升高有显著抑制作用($P<0.05$), 但对 *Ppar- α* 表达的抑制作用不显著; HLD 组的 *Cpt-1* 和 *Lpl* 基因的表达量在第 7 周时显著低于 NC 组($P<0.05$), 而第 12 周时又高于 NC 组, 地黄或山药均可显著上调这两个基因的表达($P<0.05$)。因此, 饲料中脂肪含量过高会抑制黄河鲤的生长和改变部分血清酶活性, 并可能通过影响肝胰脏部分脂代谢相关基因的表达导致血脂升高和肝脂肪蓄积, 而添加地黄或山药可在一定程度上抵消高脂饲料引起的这些不利影响。

关键词: 黄河鲤; 高脂饲料; 地黄; 山药; 生长; 脂代谢

中图分类号: S961

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2023)01-0048-12

脂肪是鱼类重要的能量来源, 它不仅可以为鱼体提供能量, 还可为细胞的正常结构和生理功能提供必需脂肪酸、磷脂、胆固醇和脂溶性维生素等^[1]。在一定范围内, 增加饲料中的脂肪含量, 不仅可以节约成本较高的蛋白原料, 还可增加蛋白质效率, 促进鱼体生长, 并减少水体的氮、磷污染^[2-4]。因此, 高脂饲料在鱼类养殖中使用得越来

越普遍。但在实际养殖过程中, 高脂饲料对鱼类生长、代谢和生理功能等方面的负作用逐渐显现, 尤其是会引起脂代谢紊乱, 导致内脏脂肪含量增加、肝脂肪变性, 甚至导致脂肪肝等疾病, 并最终影响鱼体健康和鱼肉品质。高脂饲料的这些负面作用在大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)^[5]、团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)^[6]、草鱼(*Ctenopharyngodon*

收稿日期: 2022-07-21; 修订日期: 2022-10-25.

基金项目: 河南省现代农业产业技术体系专项(HARS-22-16-G2); 河南师范大学优秀科技创新团队专项(2020TD02).

作者简介: 王俊丽(1971-), 女, 副教授, 硕士生导师, 主要从事动物营养与免疫研究. E-mail: wangjunli1971@126.com

通信作者: 聂国兴. 教授, 从事动物营养与免疫研究. E-mail: niegx@htu.cn

idella)^[7]、尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[8]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[9]、青鳉(*Oryzias latipes*)^[10]等多种养殖鱼类中得到证实。高脂影响鱼类脂代谢的机制目前尚不完全明确。Ka 等^[11]通过比较高脂饲喂后的斑马鱼(*Danio rerio*)与小鼠的肝脏特异性转录组谱,发现二者共有参与脂代谢的多数转录子,且多数与人高血脂相关调节因子同源的基因随着高脂喂养在二者均表现出表达上调的趋势,说明变温动物与恒温动物在脂代谢调节方面具有进化上的保守性,人类用于改善和治疗脂代谢紊乱相关疾病的手段和方法也可适用于鱼类。基于此,研究者们尝试了将多种降脂药物应用于鱼类的高脂饲料中,以改善高脂饲料引起的鱼类脂代谢紊乱,其中中草药及其提取物因原料易得、成本低、副作用小等优点而广受青睐,如:甜菜碱在团头鲂^[12]、异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)^[13]和黑鲮(*Acanthopagrus schlegelii*)^[14]、垂盆草提取物在尼罗罗非鱼^[15-16]、金银花提取物和水飞蓟素在草鱼^[17-18]、甘草次酸在斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)^[19]等养殖鱼中的应用,均起到了很好的促进生长、调节脂代谢、降低脂肪在鱼体内蓄积的作用。

地黄(*Rehmannia glutinosa*)和山药(*Dioscorea opposita*)是传统中药中的重要成员,具有降血糖和血脂的作用。以这 2 种中药为主药的六味地黄丸可显著降低 II 型糖尿病模型大鼠血清总甘油三酯、总胆固醇和游离脂肪酸含量,减少脂肪在皮下、肝脏等部位的蓄积,降低肝脏部分脂代谢相关基因的表达,改善糖尿病导致的脂代谢紊乱^[20-21]。给小鼠高脂日粮中添加山药粉,可抑制高脂引起的肝脏炎症反应,减少肝脏胆固醇的合成,并增加胆固醇的分解代谢和脂肪氧化^[22]。本课题组在之前的研究中发现,在鲤(*Cyprinus carpio*)基础饲料中添加 4% 的地黄粉可显著提高生长性能、改善免疫力和提高抗病能力^[23];添加 2% 的山药粉可通过调节肠道菌群,提高肠道的防御屏障功能^[24]。而在鲤高脂饲料中添加地黄和山药的作用效果尚有待评估。黄河鲤是黄河流域长期自然形成的一种特有的经济鲤,是目前河南沿黄区域主要的养殖品种。关于高脂饲料对黄河鲤生长、生理的影

响尚未见报道。本研究拟采用黄河鲤为实验对象,研究高脂饲料中添加地黄或山药对其生长、生理和脂代谢的调节作用。

1 材料与方法

1.1 饲料配制

配制 4 种鲤鱼等氮饲料(粗蛋白质质量分数设计为 34%,实测值见表 1):基础饲料(NC)、高脂饲料(HLD)、高脂饲料+4% 地黄粉(HLD+R)和高脂饲料+2% 山药粉(HLD+Y),其中 NC 的脂肪含量约 5%,其余 3 种饲料的脂肪含量约 15%。饲料原料由河南通威有限公司提供。地黄粉和山药粉产自河南省武陟县。各种原料粉碎后过 40 目筛,按照配方准确称取每种原料,逐级放大法混匀,最后加入适量水分充分搅拌以保证造粒均匀。采用 F-26 型双螺杆挤条机(广州华工光电科技有限公司)制成直径约 2.5 mm 的颗粒饲料,阴凉通风处凉干,装入密封袋中-20 °C 储藏备用。实验饲料配方和营养组成见表 1。

1.2 实验设计及饲养管理

饲养实验在河南师范大学水产基地完成。黄河鲤购自河南省延津县渔场,运回实验基地后,先在小型水泥池中暂养 2 周,期间投喂商品饲料(河南通威饲料有限公司)。正式实验在流水养殖系统中进行。挑选 360 尾鱼(初始体重 79.97 g±9.86 g),按体重随机放入 12 个养殖桶中(每桶 30 尾)。养殖桶体积 130 L,直径 52 cm,高 62 cm。将 12 桶鱼随机分成 4 组(每组 3 个重复):对照组、高脂组、地黄添加组和山药添加组,分别饲喂饲料 NC、HLD、HLD+R 和 HLD+Y。养殖 12 周,每天投喂 3 次(8:30、12:30 和 16:30),前 3 周饱食投喂,3 周后根据增重情况和吃食情况进行调整,按吃食最差的养殖桶内实验鱼平均体重的 2% 作为日投喂量,即每个养殖桶内都是等量投喂(饲料干物质重量),然后每 2 周称重 1 次,以调整投喂量。水流速度 6 L/min,采用气石提供氧气。养殖期间,每天光暗分别为 12 h;每日换水 1 次,换水量为养殖水体积的 1/3;水温(26.3±1) °C;pH 6.5~7.8,溶氧量 6~8 mg/L。

表 1 饲料配方及营养组成
Tab. 1 Formulation and proximate composition
of the test diets % (干物质 dry matter)

项目 item	饲料 diet			
	NC	HLD	HLD+R	HLD+Y
原料 ingredient				
豆粕 soybean meal	13	13	13	13
鱼粉 fish meal	8	8	8	8
菜籽粕 rapeseed meal	14	14	14	14
棉籽粕 cottonseed meal	20	20	20	20
小麦粉 wheat flour	16	16	16	16
肉骨粉 meat and bone meal	5	5	5	5
大豆油 soybean oil	3	13	13	13
地黄粉 rehmannia powder	0	0	4	0
山药粉 yam powder	0	0	0	2
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	2	2	2	2
预混料 premix	2.8	2.8	2.8	2.8
抗氧化剂 antioxidant	0.05	0.05	0.05	0.05
膨润土 bentonite	2	2	2	2
纤维素 cellulose	14.15	4.15	0.15	2.15
总计 total	100	100	100	100
营养组成 proximate composition				
粗蛋白 crude protein	34.20	33.88	33.35	33.62
粗脂肪 crude lipid	5.14	14.90	14.84	14.88
粗纤维 crude fibre	6.31	6.11	6.04	6.08
灰分 ash	7.24	7.09	7.02	7.06
无氮浸出物 nitrogen free extract	29.90	22.97	20.21	21.59

注：每千克预混料含以下维生素和矿物质：维生素 A 800000 IU，维生素 D₃ 160000 IU，维生素 E 15 g，维生素 K 3325 mg，维生素 B₁ 1500 mg，维生素 B₂ 1 250 mg，维生素 B₆ 1100 mg，维生素 B₁₂ 4 mg，维生素 C 2.5 g，肌酸 5.5 g，叶酸 70 mg，生物素 125 mg，烟酸 4 mg，泛酸钙 4.5 g，磷 105 g，钙 330 g，镁 45 g，铁 15 g，碘 50 mg，硒 9 mg，铜 0.35 g，锌 3 g，锰 1.5 g，钴 11 mg。无氮浸出物为理论计算值。

Note: Each kilogram of premix contains the following vitamins and minerals: vitamin A 800000 IU, vitamin D₃ 160000 IU, vitamin E 15 g, vitamin K 3325 mg, vitamin B₁ 1 500 mg, vitamin B₂ 1250 mg, vitamin B₆ 1100 mg, vitamin B₁₂ 4 mg, vitamin C 2.5 g, creatine 5.5 g, folic acid 70 mg, biotin 125 mg, nicotinic acid 4 mg, calcium pantothenate 4.5 g, phosphorus 105 g, calcium 330 g, magnesium 45 g, iron 15 g, iodine 50 mg, selenium 9 mg, copper 0.35 g, zinc 3 g, manganese 1.5 g, cobalt 11 mg.

1.3 样品采集与处理

分别于养殖第 3 周、第 7 周和第 12 周末各采集一次样品。取样前，实验鱼禁食 24 h，每桶随机选取 4 尾，MS-222 (100 mg/L)溶液进行麻醉后称重；然后尾静脉抽血，用于血清生化指标的检测；最后无菌条件下解剖，分离肝胰脏，称重，用于

计算肝胰脏指数(hepatopancreas somatic indices, HSI)，然后取一部分，液氮速冻后于-80 ℃保存，用于甘油三酯(triacylglycerol, TG)和总胆固醇(total cholesterol, TC)含量及脂代谢相关基因表达量的检测。最后一次采集样品时对所有鱼进行称重，根据每桶内鱼的初始体重、每个时间点所取鱼的总重量和总摄食量，计算饲料系数(feed coefficient, FC)。

肝胰脏指数(HSI,%)=(肝胰脏质量/体重)×100

饲料系数(FC)=总摄食量/(每个时间点所取鱼的总重量-初始鱼的总重量)

1.4 血清生化指标的检测

将抽取的尾静脉血置于 1.5 mL 离心管中，4 ℃放置过夜后 3500 r/min 离心 15 min，吸取上清液(即血清)。采用全自动生化分析仪(AU-5800, BECK-MAN)检测以下血清生化指标：乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)的活性，以及血清甘油三酯(TG)和总胆固醇(TC)含量。

1.5 肝胰脏脂代谢相关基因表达量的检测

根据已公布的鲤鱼相关基因序列，设计了过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferators-activated receptors, *Ppar*)-α、脂蛋白脂肪酶(lipoprotein lipase, *Lpl*)、肉毒碱棕榈酰基转移酶(carnitine palmitoyltransferase, *Cpt*)-1、固醇调节元件结合蛋白(sterol regulatory element binding protein, *Srebp*)-1c、乙酰辅酶 A 羧化酶(acetyl CoA carboxylase, *Acc*)-1 和脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, *Fas*)等脂代谢相关基因的荧光定量引物(表 2)，以鲤鱼 18S rRNA 为内参基因，检测肝胰脏中的基因表达量。

采用 RNAiso Plus (TaKaRa)提取肝胰脏总 RNA，1.0%琼脂糖凝胶电泳检查 RNA 的完整性，Nanodrop 2000 (Thermo)测定 RNA 浓度。按照 PrimeScript RT reagent kit with gDNA Eraser (TaKaRa)试剂盒说明书进行反转录，合成 cDNA (RNA 模板量 1 μg)，稀释 10 倍后作为荧光定量 PCR 模板，在 LightCycler 480 II (Roche)上进行荧光定量 PCR 反应。反应体系：2×SYBR Green

表 2 实时荧光定量 PCR 引物序列
Tab. 2 Quantitative real-time PCR primers

基因 gene	上游引物 (5'-3') forward primer (5'-3')	下游引物 (5'-3') reverse primer (5'-3')
18S	GAGACTCCGGCTTGCTAAAT	CAGACCTGTTATTGCTCCATCT
<i>Fas</i>	GACAGGCCGCTATTGCTATT	TGCCGTAAGCTGAGGAAATC
<i>Ppar-α</i>	GTCACTGGCGTATGAGGATATT	TCCACCTGTATGGTTCTTTGG
<i>Acc1</i>	GTCACTGGCGTATGAGGATATT	TCCACCTGTATGGTTCTTTGG
<i>Srebp-1c</i>	CGTCTGCTTCACCTCACTACTC	GGACCAGTCTTCATCCACAAA
<i>Cpt1</i>	CAGATGGAAGTGTGCTAATGAC	TGTGTAGAAGTTGCTGTTGACCA
<i>Lpl</i>	CGTCCATTACCTGTTCAT	GCTGAGACACATGCCCTTATT

(Toyobo) 5 μL, 上、下游引物各 0.25 μL, cDNA 模板 1 μL, ddH₂O 3.5 μL。反应程序: 95 ℃ 预变性 3 min, 95 ℃ 15 s, 56 ℃ 15 s, 72 ℃ 30 s, 共 40 个循环。每个样品测 3 个重复, 目的基因的相对表达量用 2^{-ΔΔC_t} 方法计算。

1.6 肝胰脏甘油三酯(TG)和总胆固醇(TC)含量测定

采用 TG 和 TC 测试盒(南京建成)检测肝胰脏组织中相应脂质的含量。基本操作程序: 按 1(g): 9(mL)的比例, 将肝胰脏组织加入无水乙醇, 冰浴条件下高速匀浆, 离心后取上清; 按说明书加入各反应液, 37℃ 孵育 10 min, 酶标仪检测 510 nm 下的吸光度值, 并计算 TG 和 TC 含量(mmol/g)。

1.7 数据处理

数据以平均值±标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示, SPSS 20.0 软件进行单因素方差分析和 Duncan's 多重比较, $P < 0.05$ 表示数据差异显著。

2 结果与分析

2.1 生长指标

本研究中的养殖试验共持续 12 周, 前 3 周饱

食投喂, 3 周后改为等量投喂。饱食投喂期间, 对照组(NC)实验鱼每次的摄食量明显高于其他组。NC 组的平均体重在饲喂 3 周、7 周和 12 周后均高于其他组, 且在第 7 周和第 12 周存在显著性差异 ($P < 0.05$)。虽然地黄添加组(HLD+R)和山药添加组(HLD+Y)的体重在各时期与高脂组(HLD)无显著性差异, 但它们在每个时期均高于 HLD 组(表 3)。

2.2 血清生化指标

由图 1 可以看出, 除谷草转氨酶(AST)活性在整个养殖期间各组间无明显差异外, 其他血清指标均发生了显著变化。

谷丙转氨酶(ALT)活性在前 3 周各组间无明显差异, 之后高脂组(HLD)开始高于其他组, 并分别在第 7 周和第 12 周时与地黄添加组(HLD+R)和山药添加组(HLD+Y)有显著性差异; 乳酸脱氢酶(LDH)活性在前 3 周对照组(NC)高于其他组, 且与 HLD 组和 HLD+R 组有显著性差异, 之后各组间不再有明显差异; 碱性磷酸酶(ALP)活性在 3 个时期各高脂组均高于 NC 组, 且在第 3 周和第 7 周时有显著性差异 ($P < 0.05$)。

表 3 饲喂 3 周、7 周和 12 周后各实验组黄河鲤生长指标
Tab. 3 Growth indexes of *Cyprinus carpio haematopterus* in each group after 3, 7 and 12 weeks of feeding, respectively

组别 group	体重/g body weight				总摄食量 total intaking	饲料系数 diet index
	初始 initiation	3 周 week	7 周 week	12 周 week		
NC	80.49 ± 9.59	110.73 ± 15.22	146.08 ± 13.91 ^a	210.63 ± 18.30 ^a	4668.37 ± 63.45 ^a	1.55 ± 0.14 ^a
HLD	78.49 ± 10.43	104.16 ± 15.18	121.80 ± 18.52 ^b	148.21 ± 13.07 ^b	4208.12 ± 78.97 ^b	2.43 ± 0.23 ^c
HLD+R	81.22 ± 9.48	99.73 ± 10.61	128.67 ± 17.02 ^b	166.39 ± 13.10 ^b	4134.47 ± 72.94 ^b	2.05 ± 0.21 ^b
HLD+Y	79.67 ± 9.94	101.72 ± 11.54	122.67 ± 14.57 ^b	164.01 ± 19.71 ^b	4158 ± 44.86 ^b	2.06 ± 0.19 ^b

注: 同列数据上标字母不同表示组间存在显著性差异 ($P < 0.05$)。
Note: Values in the same column with different superscript letters are significantly different in Duncan's test ($P < 0.05$).

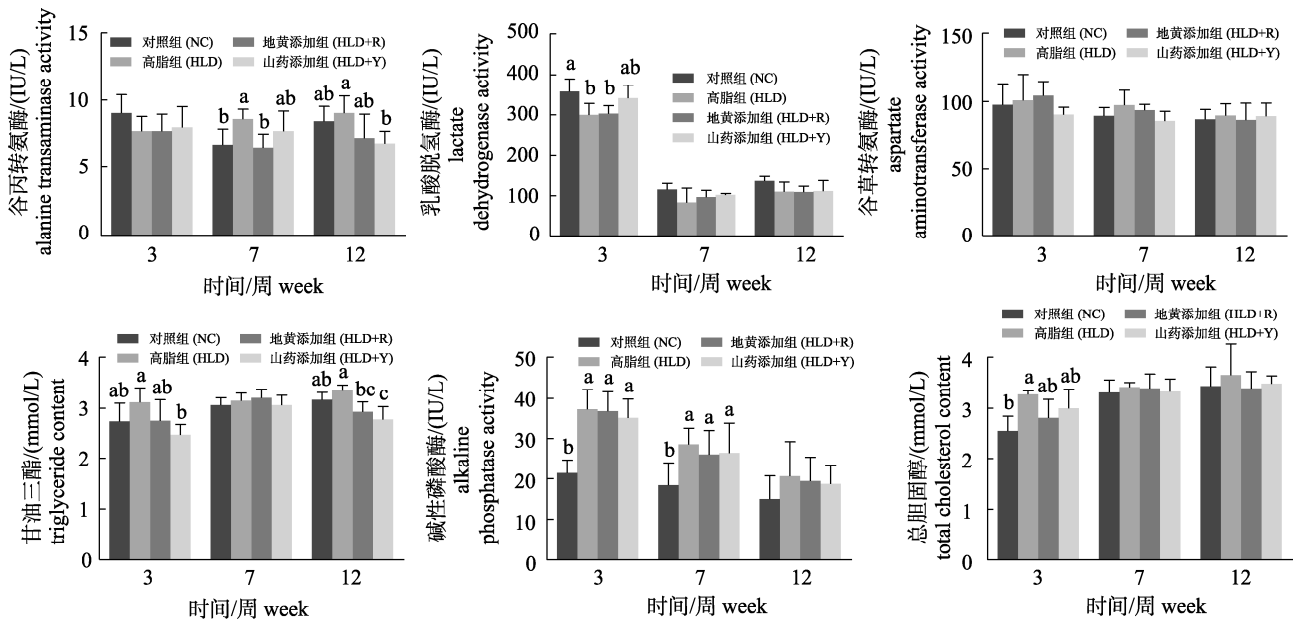


图 1 饲喂 3 周、7 周和 12 周后各实验组黄河鲤血清生化指标 ($n=12$, $\bar{x} \pm SD$)

Fig. 1 Levels of serum biochemical indexes of *Cyprinus carpio haematopterus* in each group after 3, 7 and 12 weeks of feeding, respectively ($n=12$, $\bar{x} \pm SD$)

HLD 组血清甘油三酯(TG)含量在 3 个时期均高于其他组, HLD+R 组在 12 周时显著低于 HLD 组, HLD+Y 组在第 3 周和第 12 周均显著低于 HLD 组($P<0.05$)。血清总胆固醇(TC)含量除在第 3 周时 HLD 组显著高于 NC 组($P<0.05$)外, 其他时期各组间均无显著性差异。

2.3 肝胰脏指数和甘油三酯、总胆固醇含量

各高脂组肝胰脏的甘油三酯(TG)和总胆固醇(TC)含量总体上高于 NC 组, 且在第 12 周时, HLD 组的 TG 含量与 NC 组有显著性差异。前 3 周饱食投喂的情况下, NC 组的肝胰脏指数(HSI)高于其他组, 且与 HLD+R 组有显著性差异; 而改为等量投喂后, NC 组的 HSI 很快下降至低于 HLD 组的水平(表 4)。

2.4 肝胰脏脂代谢相关基因的表达

在前 3 周饱食投喂的情况下, 所有基因的表达量在各实验组间均无显著差异, 但改为等量投喂后, 除 *Srebp-1c* 外其它基因的表达量均发生了显著变化。其中 *Acc1*、*Fas* 和 *Ppar-α* 的表达量在 7 周和 12 周时, 各高脂组均高于 NC 组, 且 HLD 组与 NC 组有显著性差异($P<0.05$); 高脂饲料中添加地黄粉或山药粉可显著下调 *Acc1* 和 *Fas* 的表达, 但对 *Ppar-α* 的表达无影响。各高脂组 *Cpt-1* 和 *Lpl*

的表达量在第 7 周时均低于 NC 组, 而 12 周时又都高于 NC 组, 其中 *Cpt-1* 的表达量在第 7 周时各高脂组均显著低于 NC 组($P<0.05$), 12 周时 HLD+R 组显著高于 NC 组, HLD+Y 组显著高于其他组($P<0.05$); 在第 7 周时 HLD 组和 HLD+R 组 *Lpl* 的表达量显著低于 NC 组和 HLD+Y 组, 12 周时 HLD+R 组中该基因表达水平显著高于 NC 组, HLD+Y 组显著高于 NC 组和 HLD 组(图 2)。

3 讨论

3.1 高脂饲料对黄河鲤食欲、生长性能和肝脂含量的影响

在前 3 周饱食投喂下, 对照组(NC)的摄食量明显多于各高脂组, 这与 Du 等^[2]在草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)、Boujard 等^[3]在舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)和 Li 等^[25]在大口黑鲈的研究结果一致。高脂可能通过降低实验鱼的食欲从而减少摄食量。Libran-Perez 等^[26]采用脂肪含量分别为 6%和 19%的饲料饲喂初始体重 34 g 左右的虹鳟, 4 周后高脂组鱼下丘脑的食欲减退相关肽 POMC 和 CART 的基因表达量明显高于低脂组, 而促进食欲的相关肽 NPY 的基因表达量明显低于低脂组。但该研究并未发现两组鱼的摄食量

表 4 饲喂 3 周、7 周和 12 周后各实验组黄河鲤肝胰脏指数和甘油三酯、总胆固醇含量
Tab. 4 HSI and contents of triacylglycerol and total cholesterol in the hepatopancreas of *Cyprinus carpio haematopterus* in each group after 3, 7 and 12 weeks of feeding, respectively $n=12$; $\bar{x} \pm SD$

指标 index	组别 group	3 周	7 周	12 周
甘油三酯/(mmol/g) TG	NC	16.11 $\pm$ 3.51	18.21 $\pm$ 4.00	15.13 $\pm$ 3.56 ^b
	HLD	22.55 $\pm$ 3.80	21.18 $\pm$ 1.85	26.42 $\pm$ 5.46 ^a
	HLD+R	22.46 $\pm$ 1.15	24.44 $\pm$ 2.76	23.84 $\pm$ 3.39 ^{ab}
	HLD+Y	24.47 $\pm$ 7.11	21.86 $\pm$ 2.38	17.08 $\pm$ 1.62 ^{ab}
总胆固醇/(mmol/g) TC	NC	13.97 $\pm$ 0.98	8.92 $\pm$ 2.20	14.49 $\pm$ 4.29
	HLD	17.32 $\pm$ 4.41	8.67 $\pm$ 1.39	20.95 $\pm$ 3.35
	HLD+R	16.98 $\pm$ 5.30	11.86 $\pm$ 2.38	19.28 $\pm$ 3.86
	HLD+Y	18.72 $\pm$ 0.85	9.77 $\pm$ 2.82	15.63 $\pm$ 0.86
肝胰脏指数/% HSI	NC	2.06 $\pm$ 0.44 ^a	1.46 $\pm$ 0.29	1.63 $\pm$ 0.33
	HLD	1.91 $\pm$ 0.35 ^{ab}	1.47 $\pm$ 0.25	1.75 $\pm$ 0.23
	HLD+R	1.71 $\pm$ 0.30 ^{bc}	1.49 $\pm$ 0.35	1.51 $\pm$ 0.33
	HLD+Y	1.44 $\pm$ 0.22 ^c	1.37 $\pm$ 0.28	1.59 $\pm$ 0.28

注: 同列数据上标字母不同表示组间存在显著差异($P<0.05$).
Note: The data in the same column with different superscript letters are significantly different in Duncan's test ($P<0.05$).

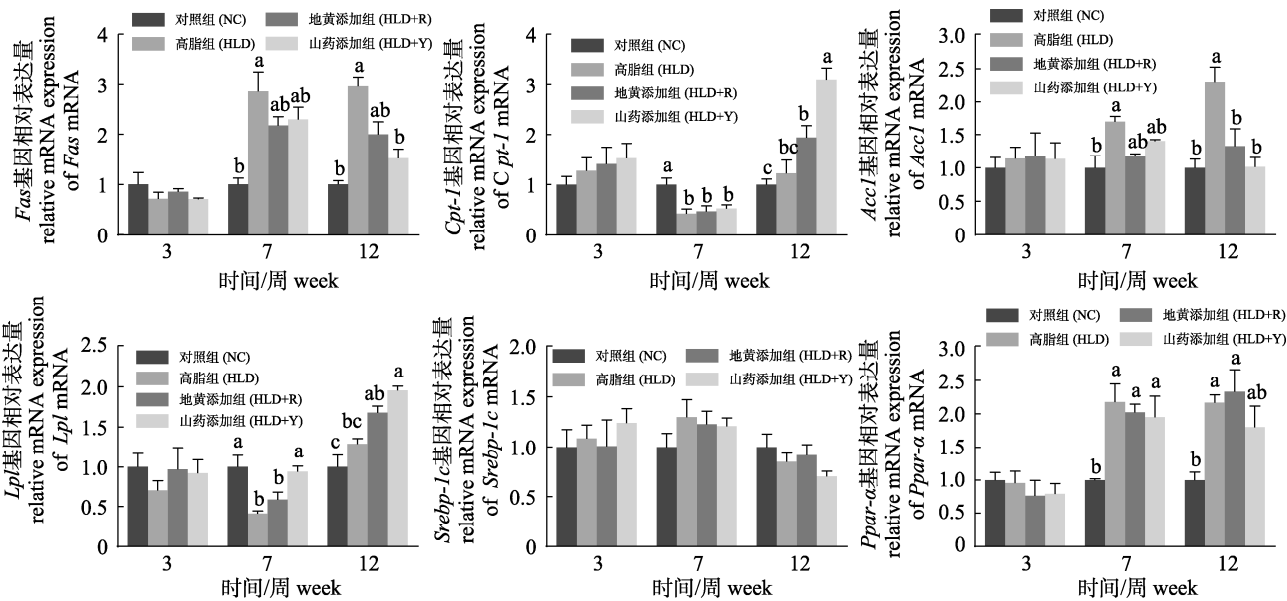


图 2 饲喂 3 周、7 周和 12 周后各实验组黄河鲤肝胰脏脂代谢相关基因的相对表达量 ($n=6$, $\bar{x} \pm SD$)
Fig. 2 The relative expression levels of lipid metabolism-related genes in the hepatopancreas of *Cyprinus carpio haematopterus* in each group after 3, 7 and 12 weeks of feeding, respectively ($n=6$, $\bar{x} \pm SD$)

存在差异, 且高脂组的生长性能优于低脂组。因此, 高脂引起黄河鲤摄食量下降的原因需进一步探讨。从生长性能来看, 无论是饱食投喂(前 3 周), 还是等量投喂(3 周后), 各高脂组鱼的体重均明显低于对照组, 饲料系数显著高于对照组, 说明饲料中过高的脂肪含量会降低黄河鲤的饲料利用效率和生长性能, 这与 Li 等对团头鲂的研究结果一

致, 他们比较了脂肪含量分别为 5%和 15%的饲料对团头鲂生长、生理的影响, 结果高脂饲料会显著降低实验鱼的生长和饲料利用效率^[27]。Abasubong 等^[28]将饲料脂肪含量从 4% 左右增加到 9.5%左右时, 鲤鱼的生长性能无明显变化, 但饲料利用效率显著降低。从肝胰脏指数(HSI)和脂肪含量来看, 前 3 周饱食喂养后, NC 组的 HSI 显

著高于各高脂组,但肝内甘油三酯(TG)和总胆固醇(TC)的含量却低于各高脂组,说明导致此时期 NC 组 HSI 升高的主要因素并不是脂肪蓄积,而是其他营养素引起,如糖原储存量的增加。改为等量投喂后,NC 组和各高脂组的 HSI 趋于一致,而肝 TG 和 TC 依然低于各高脂组,说明高脂饲料更易引起黄河鲤肝脂肪蓄积,而对 HSI 并无显著影响。这与 Li 等^[25]对大口黑鲈的研究结果一致,即导致 HSI 升高的主要因素是饲料中淀粉含量的增加,而高脂饲料主要引起肝胰脏脂肪含量升高。Zhou 等^[5]对大口黑鲈的研究也表明,饲料中脂肪含量过高会显著影响幼鱼的生长性能和增加肝胰脏的脂肪含量。

3.2 高脂饲料对黄河鲤血清指标的影响

鱼类血清酶活性水平常受环境因素的影响,如:白鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)、鲤暴露于除草剂^[29-30]、尖齿胡鲶(*Clarias gariepinus*)暴露于二氧化硅微粒^[31]后血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)和乳酸脱氢酶(LDH)活性水平均升高;微囊藻毒素也可引起白鲢血清 ALT 和 AST 活性升高^[32]。因此,血清酶活性常被用于反映水生生物受环境因素影响的敏感生物学指标,血清中这些酶活性水平的升高,意味着肝、肾和/或鳃可能受到了损伤^[31]。近年来,血清酶活性对高脂饲料的敏感性也开始引起研究者的注意。Zhou 等^[5]发现,给大口黑鲈饲喂 20% 的高脂饲料后,血清 ALT、AST 和 ALP 含量均升高。ALT 和 AST 主要是由肝脏产生的氨基转移酶,分别催化 L-丙氨酸和天冬氨酸的氨基向 α -酮戊二酸转移。在人类研究中,血清 AST 值常常是恒定的,而 ALT 水平通常与血脂水平和肝脂肪含量呈正相关,其活性是衡量肝细胞损伤或肝脏疾病的首要指标^[33-34]。我们的研究结果与此相吻合:AST 在整个养殖周期各实验组间无差异;而 ALT 在第 7 周和 12 周时 HLD 组均高于 NC 组,且在 7 周时具有显著性差异,血清和肝脏的甘油三酯和总胆固醇含量虽然在各时期的检测结果不完全一样,但 HLD 组均高于 NC 组的规律是一致的。说明同人类一样,鱼类的血清 ALT 活性水平与血脂和肝脂肪含量可能也具有正相关性,其水平升高也可

作为反映肝细胞受损的特异性指标。ALP 属于胞外核苷酸酶,水解 AMP 后形成的腺苷可作为细胞信号分子,参与脂肪细胞和成骨细胞的分化与成熟^[35],生理情况下,血清 ALP 主要来源于肝脏和骨骼,而高脂饮食会增加血清 ALP 的活性^[36]。在本研究中,血清 ALP 活性在 3 个时期 HLD 组均高于 NC 组,且其差异在 3 周和 7 周末时呈显著性,说明食物中的脂肪含量对血清 ALP 活性水平的影响在人和鱼中是一致的。LDH 是参与碳水化合物代谢的关键酶,其血清活性的升高在判断肝脏和肌肉受损方面也有一定的价值^[37]。我们的研究结果表明,LDH 活性在 3 周时,各高脂组均低于 NC 组,且 HLD 组和 HLD+R 组均与 NC 组有显著性差异,之后各组间不再有明显差异。这可能是因为前 3 周饱食投喂的情况下,对照组的摄食量显著高于各高脂组,因而摄入的碳水化合物也较高的缘故。

3.3 高脂饲料对黄河鲤肝胰脏脂代谢相关基因表达的影响

人们通过对哺乳动物的研究认为,高脂饮食可在转录和翻译水平上影响关键组织(如下丘脑、脂肪组织、肝脏和肌肉)脂代谢相关基因的表达^[38]。近年来,关于高脂饲料调节鱼类脂代谢相关基因表达的研究也取得了一定进展,但在不同鱼类间的研究结果存在矛盾。SREBP-1 是启动肝脏脂肪酸从头合成的转录因子,在碳水化合物充足的情况下,血浆胰岛素激活 SREBP-1,上调脂肪酸合成相关酶的基因表达(如 *Acc*、*Fas* 等),启动脂肪酸的合成^[39]。Tang 等^[7]对草鱼、Desouky 等^[19]对斑点叉尾鲴的研究表明,高脂饲料引起肝脏 *Srebp1* 基因的表达显著升高;而 He 等^[40]却发现高脂可显著降低尼罗罗非鱼肝脏 *Srebp1* 的表达水平;Landgraf^[41]对斑马鱼的研究结果与我们的一致,即高脂饲料未能引起肝脏 *Srebp1* 表达水平发生显著变化。ACC 和 FAS 是参与脂肪酸合成的关键酶。ACC 催化乙酰-CoA 羧化为丙二酰-CoA,而 FAS 将丙二酰-CoA 转化为棕榈酸,最后棕榈酸被酯化成甘油三酯^[42]。高脂饲料显著上调斑马鱼肝脏 *Acc*、*Fas* 基因的表达^[43],对斑点叉尾鲴肝脏 *Fas* 的表达也起上调作用^[19],这与我们在黄河鲤

中的研究结果是一致的; 但草鱼^[44]和尼罗罗非鱼^[40]摄入高脂饲料会显著降低肝脏 *Acc* 和 *Fas* 的基因表达。PPRA- α 是启动肝脏脂肪酸氧化分解的转录因子, 激活后可上调参与脂肪酸运输和氧化相关基因如 *Cpt1* 的表达, 导致脂肪酸氧化、酮体生成和糖异生; 激活的 PPAR- α 还可上调脂蛋白脂酶 (LPL) 的活性, 促进血浆脂蛋白中甘油三酯的分解^[45]。Abasubong 等^[28]在鲤、Yu 等^[16]在罗非鱼、Desouky 等^[19]在斑点叉尾鲴的研究发现, 高脂饲料引起肝脏 *Ppar- α* 表达下调; 而 Li 等^[44]在草鱼的研究得出了与我们相同的结论, 即: 过量的脂质摄入增加肝脏 *Ppar- α* 基因的表达。此外, He 等^[40]认为高脂饲料对尼罗罗非鱼肝脏 *Ppar- α* 基因的表达无影响。CPT1 是参与脂质分解代谢的关键酶。在 PPAR- α 介导下, CPT1 催化脂酰 CoA 转化为脂酰肉碱, 从而启动长链脂肪酸在线粒体进行 β 氧化^[46]。Lu 等利用 15% 的高脂饲料饲喂团头鲂, 导致肝脏 CPT1 的基因表达量、酶活性和底物亲和力均显著下降^[47]; 高脂饲料对斑点叉尾鲴^[19]和鲤鱼^[28]肝脏的 *Cpt1* 表达水平也具有下调作用; 但斑马鱼摄入高脂后肝脏 *Cpt1* 的表达显著上调^[43]。LPL 的主要作用是水解血浆脂蛋白(如乳糜微粒、极低密度脂蛋白等)中的甘油三酯, 产生甘油和游离脂肪酸, 供组织细胞摄取和利用^[48]。目前关于高脂饲料对鱼类肝脏 *Lpl* 基因表达的影响, 多数研究认为是起上调作用, 如在鲤^[28]、斑马鱼^[43]、瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachellii*)^[49]和罗非鱼^[8]的研究均支持这一结论, 但在另一项关于斑马鱼的研究中, 未观察到高脂对肝脏 *Lpl* 表达的影响^[41]。我们对黄河鲤的研究结果表明, 高脂引起肝脏 *Cpt-1* 和 *Lpl* 表达水平呈先降后升的趋势。

综上所述, 关于高脂饲料对鱼类脂代谢相关基因表达的影响, 不同研究可能得出完全相反的结果。这种差异和矛盾可能与鱼的种类和发育阶段、饲料中的脂肪来源以及环境条件等因素不同有关。如 Qiang 等发现温度与饲料脂肪水平交互作用, 影响 LPL 的 mRNA 表达, 当脂质水平为 2%~10% 时, 高温刺激 LPL mRNA 的表达; 而在高脂水平(14%~17%)时, 高温抑制 LPL mRNA 表达, 低温促进 LPL mRNA 表达^[50]。近年来对哺乳

动物的研究也表明, 高脂饲料对脂代谢的具体作用还取决于饮食中脂肪的含量和组成, 且在不同的动物模型中有特定的影响^[38]。

3.4 高脂饲料中添加地黄或山药对黄河鲤生长、生理的调节作用

地黄和山药是传统的降糖、降脂中药, 其对脂代谢的调节作用在人和哺乳动物中已得到广泛研究。Qin 等^[51]利用地黄粉水提物饲喂高脂饮食诱导的糖尿病 KK-Ay 小鼠, 可显著降低糖尿病小鼠的空腹血糖水平, 改善葡萄糖耐受性, 恢复血清总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇水平。给链脲霉素诱导的糖尿病大鼠模型服用山药粉, 可降低血糖、血脂和肝脏胆固醇水平^[52-53]。在大鼠高胆固醇饮食中添加山药粉或其活性成分皂苷元(diosgenin), 可减少体内脂肪蓄积、改善胆固醇代谢, 并通过改善脂质结构和调节氧化应激来控制高胆固醇血症^[54-55]。本研究证实地黄和山药对鱼类脂代谢也有一定的调节作用。在高脂饲料中添加 4% 地黄粉或 2% 山药粉可降低黄河鲤血清和肝脏的甘油三酯和总胆固醇水平, 下调 *Acc1*、*Fas* 基因表达和上调 *Cpt-1*、*Lpl* 基因表达, 还可降低血清谷丙转氨酶活性和肝脏脏指数, 对黄河鲤的摄食和生长也有一定的改善作用, 并显著降低饲料系数, 提高黄河鲤对高脂饲料的利用效率。因此, 利用地黄或山药等中草药可以改善高脂饲料对养殖鱼的不利影响, 而且地黄粉和山药粉制备简单、廉价易得, 适量添加在高脂饲料中并不会增加养殖成本, 为解决当前在水产养殖中采用高脂饲料替代鱼粉过程中存在的问题有重要意义。

4 结论

饲料中脂肪含量过高会对黄河鲤造成以下影响: 降低食欲和生长性能; 增加肝脏脂肪蓄积和血脂含量; 影响血清酶活性和肝脏脂代谢相关基因的表达。高脂饲料中添加地黄或山药可显著改善高脂对黄河鲤生长、生理的不利影响。

参考文献:

- [1] Sargent J, Bell G, McEvoy L, et al. Recent developments in

- the essential fatty acid nutrition of fish[J]. *Aquaculture*, 1999, 177(1-4): 191-199.
- [2] 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.
- [3] Boujard T, G  lineau A, Cov  s D, et al. Regulation of feed intake, growth, nutrient and energy utilisation in European Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed high fat diets[J]. *Aquaculture*, 2004, 231(1-4): 529-545.
- [4] G  lineau 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.
- [5] Zhou Y L, Guo J L, Tang R J, et al. High dietary lipid level alters the growth, hepatic metabolism enzyme, and anti-oxidative capacity in juvenile largemouth bass *Micropterus salmoides*[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2020, 46(1): 125-134.
- [6] Cao X F, Dai Y J, Liu M Y, et al. High-fat diet induces aberrant hepatic lipid secretion in blunt snout bream by activating endoplasmic reticulum stress-associated IRE1/XBP₁ pathway[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2019, 1864(3): 213-223.
- [7] Tang T, Hu Y, Peng M, et al. Effects of high-fat diet on growth performance, lipid accumulation and lipid metabolism-related microRNA/gene expression in the liver of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2019, 234: 34-40.
- [8] Tian J, Wu F, Yang C G, et al. Dietary lipid levels impact lipoprotein lipase, hormone-sensitive lipase, and fatty acid synthetase gene expression in three tissues of adult GIFT strain of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2015, 41(1): 1-18.
- [9] Figueiredo-Silva A C, Panseerat S, Kaushik S, et al. High levels of dietary fat impair glucose homeostasis in rainbow trout[J]. *The Journal of Experimental Biology*, 2012, 215(Pt 1): 169-178.
- [10] Fujisawa K, Takami T, Matsuzaki A, et al. Evaluation of the effects of L-carnitine on medaka (*Oryzias latipes*) fatty liver[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 2749.
- [11] Ka J, Pak B, Han O, et al. Comparison of transcriptomic changes between zebrafish and mice upon high fat diet reveals evolutionary convergence in lipid metabolism[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2020, 530(4): 638-643.
- [12] Adjoumani J J Y, Wang K Z, Zhou M, et al. Effect of dietary betaine on growth performance, antioxidant capacity and lipid metabolism in blunt snout bream fed a high-fat diet[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2017, 43(6): 1733-1745.
- [13] Dong X J, Xue W, Hua J, et al. Effects of dietary betaine in allogynogenetic gibel carp (*Carassius auratus gibelio*): Enhanced growth, reduced lipid deposition and depressed lipogenic gene expression[J]. *Aquaculture Research*, 2018, 49(5): 1967-1972.
- [14] Jin M, Shen Y D, Pan T T, et al. Dietary betaine mitigates hepatic steatosis and inflammation induced by a high-fat-diet by modulating the Sirt1/srebp-1/ppar α pathway in juvenile black seabream (*Acanthopagrus schlegelii*)[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 694720.
- [15] Huang L D, Cheng Y, Huang K, et al. Ameliorative effect of *Sedum sarmentosum* Bunge extract on *Tilapia* fatty liver via the PPAR and P53 signaling pathway[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 8456.
- [16] Yu K, Huang K, Tang Z Y, et al. Metabolism and antioxidation regulation of total flavanones from *Sedum sarmentosum* Bunge against high-fat diet-induced fatty liver disease in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2021, 47(4): 1149-1164.
- [17] Meng X L, Zhu Z X, Lu R H, et al. Regulation of growth performance and lipid metabolism in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) with honeysuckle (*Lonicera japonica*) extract[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2019, 45(5): 1563-1573.
- [18] Xiao P Z, Ji H, Ye Y T, et al. Dietary silymarin supplementation promotes growth performance and improves lipid metabolism and health status in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fed diets with elevated lipid levels[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2017, 43(1): 245-263.
- [19] Desouky H E, Jiang G Z, Zhang D D, et al. Influences of glycyrrhetic acid (GA) dietary supplementation on growth, feed utilization, and expression of lipid metabolism genes in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed a high-fat diet[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2020, 46(2): 653-663.
- [20] Li J, Xue Y M, Zhu B, et al. Effects of Liuwei Dihuang Pills on lipid metabolism and the liver structure in spontaneously diabetic OLETF rats[J]. *Journal of Jinan University (Natural Science & Medicine Edition)*, 2018, 39(2): 162-168. [李佳, 薛耀明, 朱波, 等. 从改善“脂毒性”看六味地黄丸对自发性糖尿病 OLETF 大鼠肝脏的保护[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2018, 39(2): 162-168.]
- [21] Du H, Xue Y M, Zhu B, et al. The effect of Liuwei Dihuang

- pills on the expression of SREBP and ACC genes in the liver of type 2 diabetic rats[J]. The Journal of Practical Medicine, 2013, 29(11): 1741-1743. [杜华, 薛耀明, 朱波, 等. 六味地黄丸影响 2 型糖尿病大鼠肝脏 SREBP-1 和 ACC 表达的实验研究[J]. 实用医学杂志, 2013, 29(11): 1741-1743.]
- [22] Shinozaki F, Kamei A, Watanabe Y, et al. Propagule Powder of Japanese yam (*Dioscorea japonica*) reduces high-fat diet-induced metabolic stress in mice through the regulation of hepatic gene expression[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2020, 64(17): 2000284.
- [23] Wang J L, Meng X L, Lu R H, et al. Effects of *Rehmannia glutinosa* on growth performance, immunological parameters and disease resistance to *Aeromonas hydrophila* in common carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. Aquaculture, 2015, 435: 293-300.
- [24] Meng X L, Hu W P, Wu S K, et al. Chinese yam peel enhances the immunity of the common carp (*Cyprinus carpio* L.) by improving the gut defence barrier and modulating the intestinal microflora[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2019, 95: 528-537.
- [25] Li X Y, Zheng S X, Ma X K, et al. Effects of dietary starch and lipid levels on the protein retention and growth of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. Amino Acids, 2020, 52(6): 999-1016.
- [26] Librán-Pérez M, Geurden I, Dias K, et al. Feeding rainbow trout with a lipid-enriched diet: Effects on fatty acid sensing, regulation of food intake and cellular signaling pathways[J]. The Journal of Experimental Biology, 2015, 218(Pt 16): 2610-2619.
- [27] Li J Y, Li X F, Xu W N, et al. Effects of dietary choline supplementation on growth performance, lipid deposition and intestinal enzyme activities of blunt snout bream *Megalobrama amblycephal* fed high-lipid diet[J]. Aquaculture Nutrition, 2016, 22:181-190.
- [28] Abasubong K P, Li X F, Zhang D D, et al. Dietary supplementation of xylooligosaccharides benefits the growth performance and lipid metabolism of common carp (*Cyprinus carpio*) fed high-fat diets[J]. Aquaculture Nutrition, 2018, 24(5): 1416-1424.
- [29] Ma J G, Li X X, Cui M K, et al. Negative impact of the imidazolium-based ionic liquid[C₈mim]Br on silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*): Long-term and low-level exposure[J]. Chemosphere, 2018, 213: 358-367.
- [30] Ma J G, Li Y Y, Wu M L, et al. Serum immune responses in common carp (*Cyprinus carpio* L.) to paraquat exposure: The traditional parameters and circulating microRNAs[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2018, 76: 133-142.
- [31] Tunçsoy M. Impacts of titanium dioxide nanoparticles on serum parameters and enzyme activities of *Clarias gariepinus*[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2021, 106(4): 629-636.
- [32] Li X Y, Li J, Meng F X, et al. Hepatotoxicity and immunotoxicity of MC-LR on silver carp[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 169: 28-32.
- [33] Senior J R. Alanine aminotransferase: A clinical and regulatory tool for detecting liver injury-past, present, and future[J]. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 2012, 92(3): 332-339.
- [34] Kolahdoozan S, Mirminachi B, Sepanlou S G, et al. Upper normal limits of serum alanine aminotransferase in healthy population: A systematic review[J]. Middle East Journal of Digestive Diseases, 2020, 12(3): 194-205.
- [35] Zaher D M, El-Gamal M I, Omar H A, et al. Recent advances with alkaline phosphatase isoenzymes and their inhibitors[J]. Archiv Der Pharmazie, 2020, 353(5): e2000011.
- [36] Poupon R. Liver alkaline phosphatase: A missing link between cholestasis and biliary inflammation[J]. Hepatology, 2015, 61(6): 2080-2090.
- [37] Ferriero R, Nusco E, de Cegli R, et al. Pyruvate dehydrogenase complex and lactate dehydrogenase are targets for therapy of acute liver failure[J]. Journal of Hepatology, 2018, 69(2): 325-335.
- [38] ReynÃs B R, Palou M, Palou A. Gene expression modulation of lipid and central energetic metabolism related genes by high-fat diet intake in the main homeostatic tissues[J]. Food & Function, 2017, 8(2): 629-650.
- [39] Alves-Bezerra M and Cohen D E. Triglyceride metabolism in the liver[J]. Comprehensive Physiology, 2017, 8(1):1-8.
- [40] He A Y, Ning L J, Chen L Q, et al. Systemic adaptation of lipid metabolism in response to low- and high-fat diet in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Physiological Reports, 2015, 3(8): e12485.
- [41] Landgraf K, Schuster S, Meusel A, et al. Short-term overfeeding of zebrafish with normal or high-fat diet as a model for the development of metabolically healthy versus unhealthy obesity[J]. BMC Physiology, 2017, 17(1): 4.
- [42] Wu X, Huang T H. Recent development in acetyl-CoA carboxylase inhibitors and their potential as novel drugs[J]. Future Medicinal Chemistry, 2020, 12(6): 533-561.
- [43] Huang C C, Sun J, Ji H, et al. Systemic effect of dietary lipid levels and α -lipoic acid supplementation on nutritional metabolism in zebrafish (*Danio rerio*): Focusing on the transcriptional level[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2020, 46(5): 1631-1644.

- [44] Li A X, Yuan X C, Liang X F, et al. Adaptations of lipid metabolism and food intake in response to low and high fat diets in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)[J]. Aquaculture, 2016, 457: 43-49.
- [45] Goto T. A review of the studies on food-derived factors which regulate energy metabolism via the modulation of lipid-sensing nuclear receptors[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2019, 83(4): 579-588.
- [46] Schlaepfer I R, Joshi M. CPT1A-mediated fat oxidation, mechanisms, and therapeutic potential[J]. Endocrinology, 2020, 161(2): bqz046.
- [47] Lu K L, Xu W N, Wang L N, et al. Hepatic β -oxidation and regulation of carnitine palmitoyltransferase (CPT) I in blunt snout bream *Megalobrama amblycephala* fed a high fat diet[J]. PLoS ONE, 2014, 9(3): e93135.
- [48] Basu D, Goldberg I J. Regulation of lipoprotein lipase-mediated lipolysis of triglycerides[J]. Current Opinion in Lipidology, 2020, 31(3): 154-160.
- [49] Zheng K K, Zhu X M, Han D, et al. Effects of dietary lipid levels on growth, survival and lipid metabolism during early ontogeny of *Pelteobagrus vachelli* larvae[J]. Aquaculture, 2010, 299(1-4): 121-127.
- [50] Qiang J, Tao Y F, He J, et al. Influences of dietary lipid and temperature on growth, fat deposition and lipoprotein lipase expression in darkbarbel catfish (*Pelteobagrus vachelli*)[J]. Journal of Thermal Biology, 2017, 69: 191-198.
- [51] Qin Z X, Wang W, Liao D Q, et al. UPLC-Q/TOF-MS-based serum metabolomics reveals hypoglycemic effects of *Rehmannia glutinosa*, *Coptis chinensis* and their combination on high-fat-diet-induced diabetes in KK-ay mice[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(12): 3984.
- [52] Go H K, Rahman M M, Kim G B, et al. Antidiabetic effects of yam (*Dioscorea batatas*) and its active constituent, allantoin, in a rat model of streptozotocin-induced diabetes[J]. Nutrients, 2015, 7(10): 8532-8544.
- [53] Rozeno Pessoa L, Rêgo T, Asht L, et al. Serum and liver lipids distributions in streptozotocin induced diabetic rat treated with diet containing yam (*Dioscorea bulbifera*) flour[J]. Nutricion Hospitalaria, 2015, 31(4): 1647-1653.
- [54] Kusano Y, Tsujihara N, Masui H, et al. Consumption of Japanese yam improves lipid metabolism in high-cholesterol diet-fed rats[J]. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, 2016, 62(5): 350-360.
- [55] Son I S, Kim J H, Sohn H Y, et al. Antioxidative and hypolipidemic effects of diosgenin, a steroidal saponin of yam (*Dioscorea* spp.), on high-cholesterol fed rats[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2007, 71(12): 3063-3071.

Regulatory effects of high-fat diet supplemented with rehmannia or yam on the growth, blood index, and lipid metabolism of *Cyprinus carpio haematopterus*

WANG Junli¹, YUAN Tingting¹, LIU Xinxin², JIA Jinlun¹, QIN Chaobin², NIE Guoxing²

1. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China

2. College of Fisheries, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China

Abstract: By adding rehmannia powder or Chinese yam powder into the high-lipid diets of *Cyprinus carpio haematopterus*, this study was conducted to investigate whether Chinese herbal medicine additives could improve the adverse effects of a high lipid diet on the growth and physiology and lipid metabolism of fish. A total of 360 healthy *Cyprinus carpio haematopterus* with an initial body mass of (79.97±9.86) g were randomly divided into 4 groups: the control group (NC), high lipid group (HLD), rehmannia added group (HLD+R), and yam added group (HLD+Y). The fish were fed with a basal diet, high fat diet (fat content 14%), high fat diet + 4% rehmannia powder and high fat diet + 2% yam powder, respectively. A 12-week feeding trial was performed, and all the fish were fed to satiety during the first 3 weeks. Then, the fish were fed at the same feeding rate during the subsequent breeding period. Samples were taken at the end of 3, 7, and 12 weeks to detect growth and serum biochemical parameters, hepatopancreas fat content, and lipid metabolism-related gene expression levels. The results showed that the growth rate of *C. carpio haematopterus* was decreased by the HLD diet, and this effect had a significant effect at the end of the 7th week ($P<0.05$). In contrast, the addition of rehmannia powder or Chinese yam powder in the HLD diet could inhibit this effect. Serum activities of alanine aminotransferase (ALT) and alkaline phosphatase (ALP) were significantly increased by the HLD diet ($P<0.05$), and the activities of ALT in serum were significantly decreased by rehmannia powder or Chinese yam powder, but had no effect on ALP activity ($P>0.05$); the activity of lactate dehydrogenase (LDH) in the HLD group and HLD + R group was significantly lower than that in the NC group after the first 3 weeks of full feeding ($P<0.05$), after which there was no significant difference between groups. HLD diet increased blood lipid and liver lipid content, while rehmannia or yam can significantly decrease blood lipid, especially serum triglyceride content. There was no significant difference in the expression of lipid metabolism related genes in the hepatopancreas among the four groups in the first 3 weeks. After that, the expression of *Fas*, *Acc1* and *Ppar-α* genes increased significantly in the HLD group ($P<0.05$). The addition of rehmannia powder or yam powder significantly inhibited the increase of *Acc1* and *Fas* levels induced by the HLD diet ($P<0.05$), however, their inhibitory effect on *Ppar-α* expression was not significant; and the expression levels of *Cpt-1* and *Lpl* genes in the HLD group were significantly lower than those in the NC group at the end of the 7th week ($P<0.05$), and higher than that in the NC group at the end of the 12th week. The expression of these two genes was significantly up-regulated by adding rehmannia powder or yam powder in the HLD diet ($P<0.05$). Therefore, high dietary lipid level can inhibit the growth of *C. carpio haematopterus* and affect the activity of serum enzymes and may lead to elevation of blood lipid and liver fat accumulation by affecting the expression of lipid metabolism related genes in the hepatopancreas; the addition of rehmannia or yam can counteract the adverse effects caused by an HLD diet.

Key words: *Cyprinus carpio haematopterus*; high-lipid diet; rehmannia; Chinese yam; growth; lipid metabolism

Corresponding author: NIE Guoxing. E-mail: niegx@htu.cn