

DOI: 10.12264/JFSC2023-0158

短期高脂应激对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长性能、肝脏健康和脂代谢基因的影响

廖春燕^{1,2}, 高文浩^{1,2}, 李嘉辉^{1,2}, 迟淑艳^{1,2}

1. 广东海洋大学水产学院, 广东 湛江 524088;

2. 广东海洋大学水产动物营养与饲料实验室, 广东 湛江 524088

摘要: 本研究旨在探讨短期饲喂高脂饲料对珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus* ♀×*Epinephelus lanceolatus* ♂) 生长性能和抗氧化能力所产生的影响, 以便于预估高脂饲料对石斑鱼生长可能产生的负面影响。在粗蛋白水平为 48% 的基础上分别配制脂肪水平为 8% (EE8)、10% (EE10)、12% (EE12)、14% (EE14)、16% (EE16)、18% (EE18) 和 20% (EE20) 的 7 组等氮饲料, 饲喂初均重为 (13.70±0.01) g 的珍珠龙胆石斑鱼 4 周。实验结果表明, 随着饲料粗脂肪水平的提升, 增重率(WGR)和存活率(SR)无显著性变化($P>0.05$), EE14~EE20 组饲料系数(FCR)显著降低($P<0.05$), 而脏体比(VSI)显著增大($P<0.05$), 饲料粗脂肪超过 16% 后蛋白质效率(PER)显著上升($P<0.05$)。EE14~EE20 组腹脂粗脂肪(AMEEC)显著升高($P<0.05$), EE16~EE20 组的肝体比(HSI)显著增大($P<0.05$)。与 EE12 组相比, EE8、EE10、EE18 和 EE20 组的总胆固醇(T-CHO)显著升高($P<0.05$), EE16~EE20 组谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)活性显著下降($P<0.05$), EE20 组丙二醛(MDA)含量显著上升($P<0.05$), EE8、EE16~EE20 组的肝脏细胞空泡化面积和脂滴量显著增加($P<0.05$)。脂肪合成基因 *g6pd*、*6gpd* 和 *me* 的相对表达量在 EE20 组显著上升($P<0.05$), 脂肪分解基因 *cpt-1*、*ppara* 相对表达量在 EE16~EE20 组显著上升($P<0.05$)。研究结果表明, 饲料粗脂肪超过 16.77% 时, 会造成珍珠龙胆鱼肝脏脂肪沉积, 降低肝脏抗氧化能力, 使肝脏健康受损。

关键词: 珍珠龙胆石斑鱼; 高脂饲料; 生长性能; 抗氧化能力; 脂质代谢

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2023)09-1080-13

脂质是机体生长所必需的营养物质, 不仅可以为鱼类提供必需脂肪酸、促进脂溶性维生素的吸收, 还可以提供能量。适当增加其在饲料中的含量有利于提高饲料蛋白质利用率, 起到节约蛋白质的作用, 减少氮污染^[1-3]。因此, 用脂质实现“蛋白质节约效应”, 可优化鱼类饲养成本^[4-5]。

石斑鱼为暖水性的大中型海产鱼类, 2021 年养殖产量已突破 20 万 t^[6]。珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus* ♀×*Epinephelus lanceolatus* ♂)肉质鲜美, 是石斑鱼养殖的主要品种之一^[7-8]。有研究表明珍珠龙胆石斑鱼饲料脂质需要量在 10%~13%

时, 其生长和饲料利用效率最佳, 当珍珠龙胆石斑鱼饲料中的脂肪含量达到 15% 以上时, 会出现肝脏和腹部脂质积累^[9-10], 造成脂质代谢紊乱、氧化应激、免疫系统障碍、肝脏损伤, 生长速度下降, 如果是在高温季节还会造成大规模死亡^[11-13]。肝脏是鱼类参与脂肪代谢的第一线器官。然而, 长期摄食高脂饲料会导致肝脏脂肪沉积易诱发机体代谢紊乱, 加剧内质网应激^[14]、氧化应激^[15]和炎症^[16], 肝功能下降及衰竭, 对鱼类的生长产生抑制作用^[5,17-18]。上述症状是在 7~8 周的养殖周期发现的, 肝脏的病变可能出现得更早。若早期进

收稿日期: 2023-07-17; 修订日期: 2023-08-11.

基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金项目(2021A1515010634).

作者简介: 廖春燕(1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向为水产动物营养与饲料. E-mail: 2223586398@qq.com

通信作者: 迟淑艳, 教授, 研究方向为水产动物营养与饲料. E-mail: chishuyan77@163.com

行干预和改善,可以降低养殖损失。因此,本实验探究短期高脂饲料对珍珠龙胆石斑鱼生长、体组成、血清生化指标和肝脏健康以及肝脏脂代谢基因的影响,评估短期内高脂饲料对珍珠龙胆石斑鱼机体的影响,以期为珍珠龙胆石斑鱼养殖提供参考数据。

1 材料和方法

1.1 实验饲料

配制 7 组脂肪水平分别为 8% (EE8)、10%

(EE10)、12% (EE12)、14% (EE14)、16% (EE16)、18% (EE18)和 20% (EE20),粗蛋白为 48%的等氮饲料,饲料成分见表 1。饲料原料粉碎后按照配方称重,逐级扩大混匀(JS-14S 型混合机,浙江正泰电器股份有限公司),添加油脂和水进行二次混合(B50 型搅拌机,广东恒联食品机械有限公司),物料混合均匀后经膨化机(TSE65S),制成膨化料(模板孔径为 3 mm),置于室内 25 ℃风干 48 h,储存在-20 ℃冰柜中备用。

表 1 实验日粮的配方和近似成分(干重)
Tab. 1 Formulation and proximate composition of the test diets (dry weight)

原料 ingredient	组别 diet group							%
	EE8	EE10	EE12	EE14	EE16	EE18	EE20	
红鱼粉 brown fish meal	44	44	44	44	44	44	44	
鸡肉粉 chicken meal	3	3	3	3	3	3	3	
血浆蛋白粉 plasma protein powder	10	10	10	10	10	10	10	
小麦谷朊粉 wheat gluten powder	8	8	8	8	8	8	8	
面粉 flour	16	16	16	16	16	16	16	
大豆卵磷脂 soybean lecithin	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	
鱼油 fish oil	1	2	3	4	5	6	7	
豆油 soybean oil	1	2	3	4	5	6	7	
多维多矿 vitamin and mineral premix	1	1	1	1	1	1	1	
胆碱 choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
磷酸二氢钙 CaH ₂ (PO ₄) ₂	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	
甜菜碱 betaine	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
乙氧基喹啉 ethoxyquin	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	12	10	8	6	4	2	0	
DL-蛋氨酸 DL-Met	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	
总计 total	100	100	100	100	100	100	100	
近似成分 proximate composition								
水分 moisture	12.43	12.64	12.41	11.12	11.75	10.09	10.20	
粗脂肪 ether extract	8.07	9.45	12.81	14.15	16.77	18.07	20.65	
粗蛋白 crude protein	48.76	47.80	48.24	48.36	48.83	49.48	47.93	
灰分 ash	11.75	11.67	11.67	11.11	11.00	10.93	11.15	

1.2 养殖实验管理

养殖实验在湛江海洋高新科技园进行。鱼苗(鸿运苗厂,湛江)购回后在室内水泥池(5 m×4 m×2 m)暂养 1 周,持续供氧。挑选活力好,体表无损伤的初始体重(13.70±0.01) g 的珍珠龙胆石斑鱼随机分成 7 组,每组 3 个重复,每个重复放养 30 尾

(300 L 玻璃钢桶)。养殖期间,分别在 8:00 和 17:00 投喂实验饲料至表观饱食,水温 26 ℃,盐度 28.5~30,溶氧>6 mg/L,养殖周期为 4 周。

1.3 样品采集

养殖实验结束后,珍珠龙胆石斑鱼禁食 24 h,丁香酚麻醉后称重,并计算每个重复(桶)的鱼体

数量。每个桶随机选取 3 尾鱼,称体重,量体长,剥离内脏团、肝脏、肠系膜脂肪并分别称重。肝脏用生理盐水清洗后置于冻存管,立即放入液氮中冻存,取样结束之后再转移至-80℃冰箱保存。

各实验组每桶随机选取 3 尾珍珠龙胆石斑鱼和腹肌置于-20℃保存,用于测定常规养分。取饲料原料和实验饲料样品,粉碎后 4℃保存备测饲料常规养分和氨基酸。

每个桶随机选取 6 尾鱼,用一次性无菌注射器尾静脉取血,置于 1.5 mL 离心管中,4℃静置 12 h 后,4℃,3500 r/min 离心 10 min,取上清置于-80℃保存。

1.4 样本分析

水分、粗蛋白、粗脂肪和粗灰分含量的测定参考 AOAC 法^[19]。样本放置于 105℃的烘箱(GZX-9146MBE 干燥箱,上海)中直至恒重,计算饲料和全鱼的水分;使用杜马斯定氮法(PrimacsSN-100 杜马斯定氮仪,荷兰)测定粗蛋白含量;用索氏抽提法测定粗脂肪含量;马弗炉(SX2-4-10N 马弗炉,上海)550℃灼烧至恒重测得粗灰分。氨基酸含量采用 GB/T 15399-2018 法检测(四川威尔检测技术股份有限公司)。

血清甘油三酯(TG)、总胆固醇(T-CHO)、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)、谷草转氨酶(AST)和谷丙转氨酶(ALT)活性,肝脏谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)活性、丙二醛(MDA)含量和总抗氧化力(T-AOC)使用试剂盒测定(南京建成生物工程研究所有限公司)。

肝脏活性氧(ROS)采用 Elisa 试剂盒(上海酶联生物技术有限公司)测定。

脂代谢相关基因相对表达量测定:采用 Trizol (北京全式金生物技术有限公司)法提取石斑鱼肝脏总 RNA,Prime ScriptTMRT 逆转录试剂盒获得 cDNA,SYBR[®] Green Master Mix 对目标基因进行实时荧光定量 PCR (LightCycler480)。反应程序:95℃变性步骤 30 s,40 个扩增循环,95℃变性 5 s,60℃退火 30 s,然后进行熔融曲线分析,冷却至 4℃。以 β -actin 为内参基因,目的基因的 mRNA 相对表达水平按公式 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算,基因引物序列见表 2。

表 2 基因引物序列
Tab. 2 Gene primer sequences

基因 gene	引物序列(5'-3') primer sequence (5'-3')
脂肪酸合成酶 <i>fas</i>	F: GCGGGCATTGTAGGCATTA
	R: CAATCAAAGTGTAGCCTCGGTAG
过氧化物增值酶体 <i>appara</i>	F: TGCTCGCCTCCAGTATGAA
	R: GTCCAGCTCCAGCGTGTTA
肉碱酯酰转移酶-1 <i>cpt-1</i>	F: TGCTCCACGGAAAGTGCTAC
	R: GCAGTGACCCTCCTCAGTGTAT
葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 <i>g6pd</i>	F: GCTTCACATCCTTGTATCTGCTC
	R: GCGTTCCTTTCAATCTCCG
6-磷酸葡萄糖脱氢酶 <i>6gpd</i>	F: AGGCTGCATCATCCGAAGTGT
	R: CAGCATACCGTGTCTGTAACCA
固醇类调节蛋白-1 <i>srebp-1</i>	F: TGGAGTTTGAGGACTGTTTG
	R: AAGATGAGGGTGGAGTTGGA
脂蛋白酶 <i>lpl</i>	F: CCACCTGTTTCATCGACTCCC
	R: TCGGACGGACCTTGTTGAT
苹果酸脱氢酶 <i>me</i>	F: GAAGTTGTCTACCGCTTGCTG
	R: AGAGTCCTCGTGGTCTCCTGA
载脂蛋白-100 <i>apob-100</i>	F: ACCACATCCTCATTCCTTCT
	R: CATCTTTATCCTGGACAACACTCT
β -actin	F: GGCTACTCCTTCACCACCACA
	R: TCTGGGCAACGGAACCTCT

生长性能指标计算公式如下:

增重率(weight gain rate, WGR, %)=100×(末均重-初均重)/初均重;

特定生长率(specific growth rate, SGR, %d)=100×(ln 末均重-ln 初均重)/饲养天数;

蛋白质效率(protein efficiency ratio, PER, %)=100×(终末体重-初始体重)/(饲料摄食量×蛋白质含量);

脂肪效率(lipid efficiency ratio, LER, %)=100×(终末体重-初始体重)/(饲料摄食量×脂肪含量);

脂肪沉积率(lipid deposition rates, LDR, %)=(末均重×全鱼脂肪-初均重×初始鱼脂肪)/平均每尾鱼总摄食量×饲料脂肪含量;

饲料系数(feed conversion ratio, FCR)=摄食饲料干重/(终末体重-初始体重);

摄食率(feed intake, FI, %d)=100×总饲料摄入量/[(初始鱼体重+终末鱼体重)/2×养殖天数];

成活率(survival rate, SR, %)=100×实验结束时鱼尾数/实验开始时鱼尾数;

肝体比(hepatosomatic index, HSI, %)=100×肝
脏重量/体重;

脏体比(viscerosomatic index, VSI, %)=100×
内脏团重量/体重;

肥满度(condition factor, CF, g/cm³)=100×末
重/体长³;

肠脂比(mesenteric fat index, MFI, %)=100×肠
系膜脂肪重/体重;

腹肌粗脂肪含量(abdominal muscle ether extract
content, AMEEC, %)=100×肌肉中脂肪含量/肌肉
质量。

1.5 数据统计

实验数据均以平均值±标准误($\bar{x}\pm\text{SE}$)表示,
用 SPSS 26.0 分析软件进行单因素方差分析
(one-way ANOVA, LSD), 若存在显著差异, 则
采用 Turkey 法进行多重比较, $P<0.05$ 表示差异
显著。

2 结果与分析

2.1 珍珠龙胆石斑鱼生长性能变化

由表 3 可知, 随着饲料粗脂肪水平的逐渐升
高, 各组间的 WGR 和 SR 无显著变化($P>0.05$)。
与 EE8~EE12 组相比, EE16~EE20 组 FI 显著降低($P<$
 0.05), FCR 在 EE14~EE20 组显著性降低($P<0.05$)。

2.2 珍珠龙胆石斑鱼形态学变化

由表 4 可知, HSI、AMEEC 随饲料粗脂肪的
提升呈现先降低后升高趋势, 与 EE12 组相比,
EE10、EE14~EE20 组 AMEEC 显著升高($P<0.05$),
EE8 组无显著性差异($P>0.05$); EE16~EE20 组 HSI
显著升高 ($P<0.05$), 与其他组无显著性差异
($P>0.05$)。VSI 和 MFI 随着饲料粗脂肪水平升高
而增大, 与 EE8~EE12 组相比, EE14~EE20 组 VSI
显著增大($P<0.05$), EE16~EE20 组 MFI 显著增大
($P<0.05$)。各组 CF 无显著性差异($P>0.05$)。

表 3 珍珠龙胆石斑鱼生长性能变化

Tab. 3 Changes in growth performance and fish morphology of *Epinephelus fuscoguttatus* ♀×*Epinephelus lanceolatus* ♂

$n=3; \bar{x}\pm\text{SE}$

组别 group	末重/g FBW	增重率/% WGR	存活率/% SR	摄食率(%/d) FI	饲料系数 FCR
EE8	51.14±1.88	272.92±13.76	98.89±1.11	1.12±0.03 ^a	0.98±0.02 ^a
EE10	50.21±0.83	266.02±6.09	97.78±2.22	1.03±0.01 ^{ab}	0.92±0.02 ^{ab}
EE12	50.00±1.81	264.75±13.32	100.00±0.00	1.03±0.03 ^{ab}	0.91±0.01 ^b
EE14	50.40±1.21	267.56±8.95	100.00±0.00	0.98±0.01 ^{bc}	0.86±0.00 ^{bc}
EE16	47.00±1.86	242.84±13.49	97.78±1.11	0.91±0.02 ^c	0.85±0.02 ^{bc}
EE18	51.53±0.49	275.92±3.59	98.89±1.11	0.93±0.01 ^c	0.81±0.01 ^d
EE20	49.31±0.60	259.70±4.40	100.00±0.00	0.90±0.02 ^c	0.80±0.01 ^d

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$)。

Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

表 4 珍珠龙胆石斑鱼形态学变化

Tab. 4 Variation in growth performance of *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂

$n=3; \bar{x}\pm\text{SE}$

组别 group	肝体比/% HSI	脏体比/% VSI	肥满度 CF	肠脂比/% MFI	腹肌粗脂肪/% AMEEC
EE8	3.03±0.12 ^{bc}	9.81±0.23 ^c	3.14±0.08	0.77±0.06 ^c	8.35±0.18 ^{de}
EE10	3.07±0.32 ^{bc}	9.31±0.34 ^c	3.14±0.08	0.77±0.06 ^c	9.53±0.21 ^d
EE12	2.84±0.22 ^c	9.80±0.26 ^c	3.27±0.13	1.02±0.06 ^c	7.20±0.09 ^e
EE14	3.50±0.23 ^{abc}	11.61±0.28 ^b	3.22±0.17	1.43±0.07 ^b	11.42±0.26 ^b
EE16	3.93±0.23 ^{ab}	11.66±0.32 ^b	3.20±0.13	1.72±0.04 ^{ab}	11.14±0.27 ^{bc}
EE18	4.04±0.18 ^{ab}	12.44±0.40 ^{ab}	2.94±0.08	1.86±0.15 ^a	13.38±0.25 ^a
EE20	4.28±0.34 ^a	13.64±0.47 ^a	2.80±0.13	1.94±0.10 ^a	14.71±0.47 ^a

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$)。

Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

2.3 珍珠龙胆石斑鱼营养物质效率和沉积率变化

由表 5 可知, 各组 LDR 无显著性差异($P>0.05$)。与 EE8~EE12 组相比, LER 在 EE16~EE20

表 5 珍珠龙胆石斑鱼营养物质效率和沉积率变化

Tab. 5 Variation in nutrient efficiency and sedimentation rates in *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂

$n=3; \bar{x} \pm SE$

组别 group	脂肪沉积率/% LDR	脂肪效率/% LER	蛋白质效率/% PER
EE8	64.91±1.86	12.61±0.26 ^a	2.09±0.04 ^d
EE10	71.66±2.97	11.47±0.26 ^b	2.27±0.05 ^c
EE12	59.13±0.44	8.59±0.10 ^c	2.28±0.03 ^c
EE14	72.47±4.76	8.25±0.03 ^c	2.41±0.01 ^{bc}
EE16	64.43±3.59	6.98±0.13 ^d	2.40±0.04 ^{bc}
EE18	69.05±3.21	6.81±0.06 ^{dc}	2.49±0.02 ^{ab}
EE20	66.08±2.04	6.09±0.11 ^e	2.62±0.05 ^a

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$)。
Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

组显著降低($P<0.05$); EE18、EE20 组 PER 显著升高($P<0.05$)。

2.4 珍珠龙胆石斑鱼血清生理生化指标

由表 6 可知, 随着饲料粗脂肪的提高, 各组的 TG、ALT 和 HDL-C 无显著性差异($P>0.05$)。呈现先降低后升高趋势, 与 EE12 组相比, EE8、EE10、EE18 和 EE20 组的 T-CHO 显著升高($P<0.05$)。EE12 组的 LDL-C 显著低于 EE18 组($P<0.05$), 与其他组无显著性差异($P>0.05$)。EE20 组的 AST 显著高于其他各组($P<0.05$)。

2.5 珍珠龙胆石斑鱼肝脏抗氧化能力

由表 7 可知, 随着饲料粗脂肪的提高, 各组 T-AOC 和 ROS 无显著性差异($P>0.05$)。与 EE12 组相比, EE16~EE20 组的 GSH-PX 酶活性显著性降低($P<0.05$), 其他组无显著性差异($P>0.05$)。EE12 组 MDA 含量显著低于 EE20 组($P<0.05$), 与其他组无显著性差异($P>0.05$)。

表 6 珍珠龙胆石斑鱼血清生理生化指标变化

Tab. 6 Serum physiological and biochemical index changes in *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂

$n=3; \bar{x} \pm SE$

组别 group	甘油三酯/ (mmol/L) TG	总胆固醇/ (mmol/L) T-CHO	高密度脂蛋白胆固醇/ (mmol/L) HDL-C	低密度脂蛋白胆固醇/ (mmol/L) LDL-C	天门冬氨酸氨基转移酶 (U/L) AST	丙氨酸氨基转移酶/ (U/L) ALT
EE8	0.99±0.03	7.52±0.39 ^b	3.08±0.30	6.15±0.48 ^{ab}	13.75±1.59 ^b	153.77±3.28
EE10	0.97±0.05	5.76±0.56 ^{bc}	3.53±0.28	4.14±0.30 ^b	14.29±1.91 ^b	169.23±11.21
EE12	1.09±0.04	3.67±0.23 ^d	2.59±0.19	4.63±0.47 ^b	14.71±0.98 ^b	152.25±1.53
EE14	1.14±0.08	3.64±0.20 ^d	2.71±0.17	5.41±0.58 ^{ab}	9.45±0.63 ^b	158.08±5.68
EE16	0.84±0.05	4.04±0.19 ^{cd}	2.96±0.22	6.03±0.90 ^{ab}	12.99±0.67 ^b	142.87±6.57
EE18	0.89±0.09	5.69±0.83 ^{bc}	3.60±0.40	8.04±1.23 ^a	14.51±0.73 ^b	149.84±13.02
EE20	0.81±0.16	11.26±0.32 ^a	3.76±0.26	3.90±0.70 ^b	24.91±4.20 ^a	142.50±2.02

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$)。
Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

表 7 珍珠龙胆石斑鱼肝脏抗氧化能力

Tab. 7 Liver antioxidant capacity of *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂

$n=3; \bar{x} \pm SE$

组别 group	总抗氧化能力/(mmol/gprot) T-AOC	谷胱甘肽过氧化物酶/(U/mg) GSH-PX	丙二醛/(nmol/mgprot) MDA	活性氧/(IU/mL) ROS
EE8	0.21±0.01	57.48±1.85 ^a	7.45±0.24 ^{ab}	1023.19±55.69
EE10	0.22±0.00	50.99±8.29 ^{ab}	7.47±0.34 ^{ab}	1027.71±33.56
EE12	0.23±0.00	53.60±3.03 ^a	6.71±0.27 ^b	974.58±41.43
EE14	0.23±0.00	50.36±7.88 ^{ab}	7.15±0.54 ^b	1017.29±40.82
EE16	0.21±0.01	24.61±5.29 ^{bc}	8.48±0.54 ^{ab}	1158.26±67.65
EE18	0.22±0.00	20.82±1.54 ^c	7.30±0.17 ^{ab}	1025.97±31.65
EE20	0.22±0.00	26.02±2.90 ^{bc}	9.38±0.57 ^a	1134.31±77.53

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$)。
Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

2.6 珍珠龙胆石斑鱼肝脏组织学

图 1 是肝脏 H&E 染色切片图(1a)和采用 image Pro plus 6.0 对 H&E 染色进行量化统计分析后的柱形图(1b), 从图中可以看出, 与 EE12 组相比, EE8、EE10、EE14~EE20 组饲料都会使珍珠龙胆石斑鱼的肝脏细胞肿大, 细胞核向细胞边缘移动,

同背景下的细胞数量减少, 且无核细胞增多, 细胞出现更多的空泡化, 由图 1a 可知, EE12 组的空泡化面积显著低于 EE8、EE16~EE20 组($P<0.05$), 与 EE10 和 EE14 组无显著性差异($P>0.05$)。采用 image Pro plus 6.0 对油红 O 染色切片进行量化统计(图 2)分析表明, 随着饲料粗脂肪的升高, 肝脏

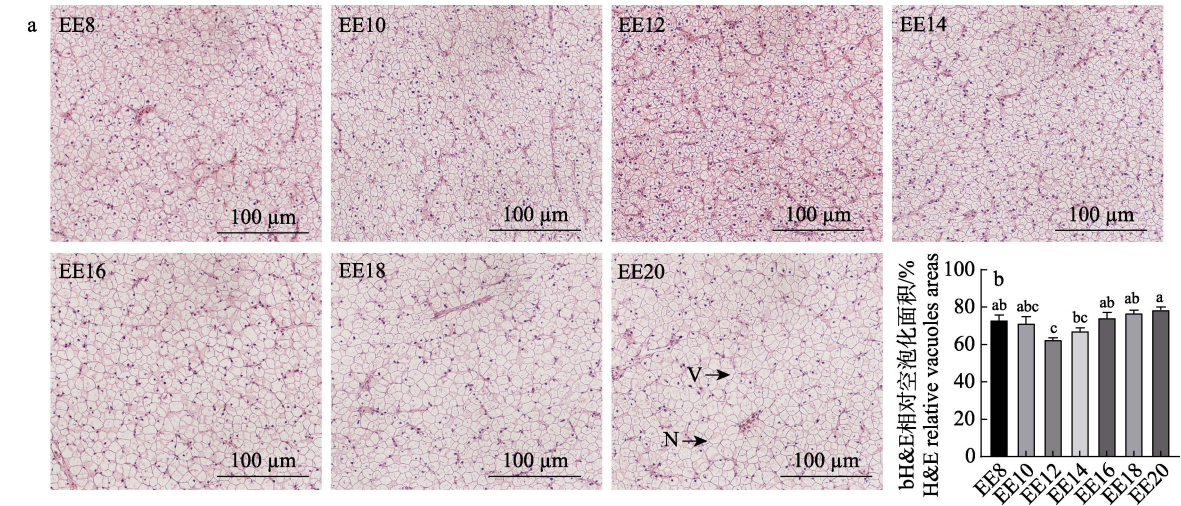


图 1 饲料粗脂肪对珍珠龙胆石斑鱼肝脏形态的影响

a. 肝脏 H&E 染色切片; b. 肝脏 H&E 染色中的空泡化面积。

N: 细胞核; V: 空泡化。柱图字母上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$)。

Fig. 1 Influence of dietary crude fat on liver morphology of *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂
a. Liver H&E stained section; b. Area of vacuolisation in liver H&E staining.

N: nuclei; V: vacuolisation. Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

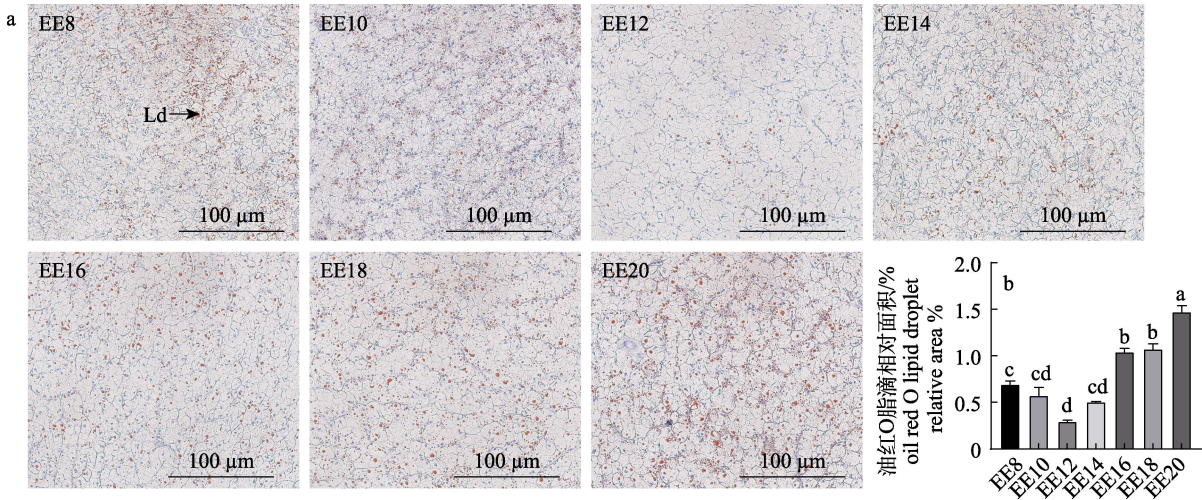


图 2 饲料粗脂肪对珍珠龙胆石斑鱼肝脏脂滴累积的影响

a. 油红 O 染色切片; b. 油红 O 染色中的脂滴相对面积。

放大倍数 200×, Ld: 脂滴。柱图字母上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$)。

Fig. 2 Effect of dietary crude fat on accumulation of lipid droplets in the liver of *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂
a. Oil red O stained section; b. Relative area of lipid droplets in oil red O staining.

Magnification 200×, Ld: lipid droplets. Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

脂滴量呈现先下降后上升趋势, EE12 组肝脏细胞脂滴量显著低于 EE8、EE16~EE20 组($P<0.05$), 与 EE10 和 EE14 组无显著性差异($P>0.05$)。

2.7 珍珠龙胆石斑鱼肝脏脂代谢基因表达量的变化

由图 3 可知, 随着饲料粗脂肪的升高, *g6pd*、*6gpd*、*me*、*cpt-1* 和 *ppara* 相对表达量呈现升高趋势, EE18 和 EE20 组的 *me* 和 *cpt-1* 相对表达量显著高于其他组($P<0.05$); EE20 组的 *g6pd* 的相对表达量显著高于 EE8~EE16 组($P<0.05$), 与 EE18 组无显著性差异($P>0.05$); EE20 组的 *6gpd* 的相对表

达量显著高于 EE8 和 EE10 组($P<0.05$), 与 EE12~EE18 组无显著性差异($P>0.05$); EE20 组的 *ppara* 的相对表达量显著高于 EE8~EE14 组($P<0.05$), 与 EE16 和 EE18 组无显著性差异($P>0.05$)。EE8 和 EE12 组的 *fas* 相对表达量显著高于其他组($P<0.05$)。 *srebp-1* 和 *apob-100* 的相对表达量随着饲料粗脂肪的升高呈现下调的趋势, EE8 组的 *srebp-1* 相对表达量显著高于 EE18 和 EE20 组($P<0.05$), 与 EE10~EE16 组无显著性差异($P>0.05$); EE8 组 *apob-100* 的相对表达量显著高于 EE12~EE20 组($P<0.05$), 与 EE10 组无显著性差异

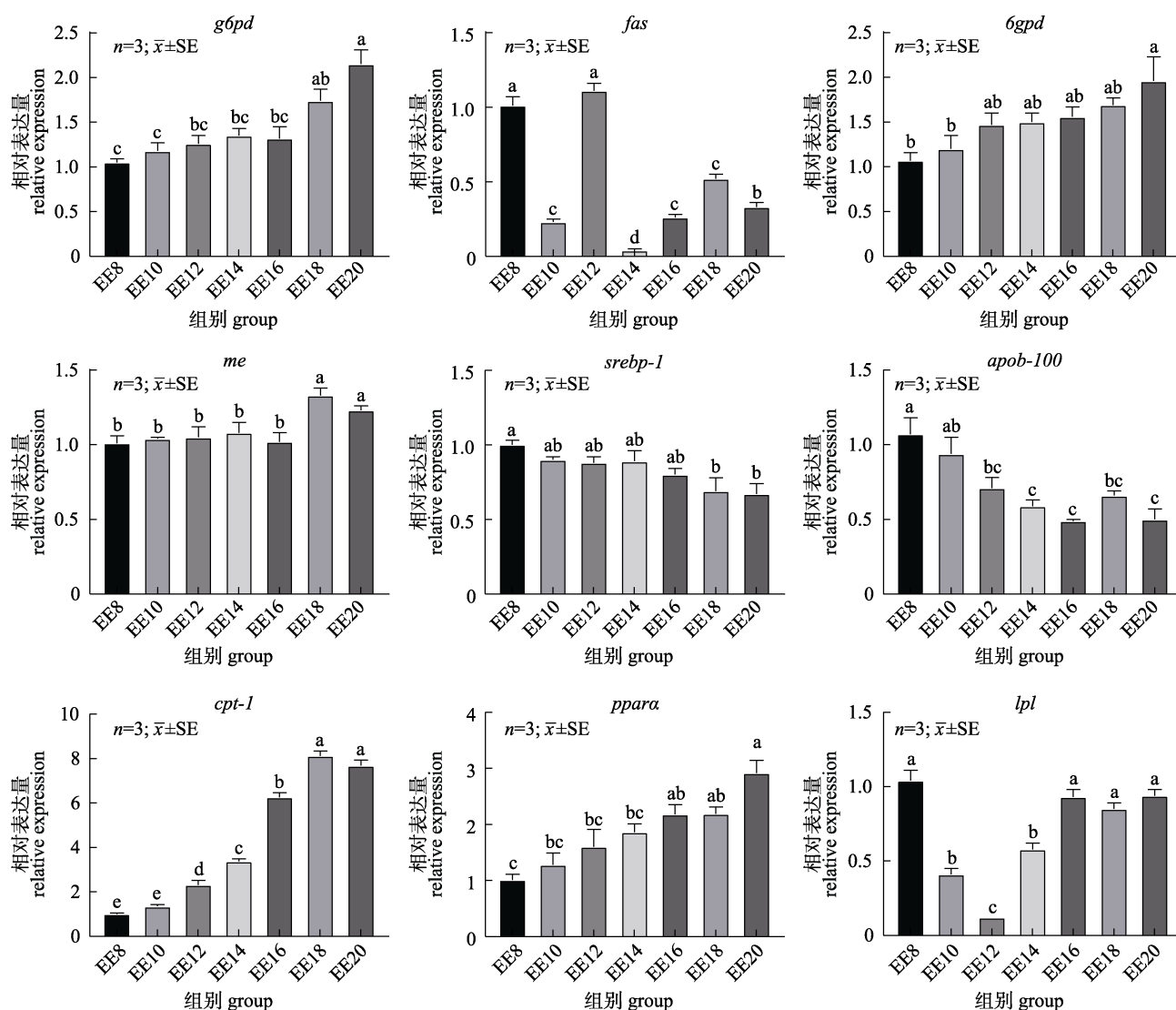


图 3 肝脏相关脂代谢基因的表达

数据上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$)。

Fig. 3 Expression of liver-associated lipid metabolism genes
Values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

($P>0.05$)。lpl 的相对表达量随着饲料粗蛋白的提升呈现先下降后上升趋势, EE12 组的相对表达量显著低于其他各组($P<0.05$)。

3 讨论

脂肪是动物维持生命活动的必需营养和主要物质, 是饲料中不可或缺的营养成分, 饲料脂肪含量不足或过多均会影响动物的生长, 如斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)^[20]、黄金锦鲤(*Yamabaki ogon*)^[21]、乌苏里拟鲮(*Pseudobagrus ussuriensis*)^[22]和军曹鱼(*Rachycentron canadum* L.)^[23]等鱼类生长因为饲料粗脂肪水平过高而下降。饲料粗脂肪的逐渐升高对本实验各组石斑鱼 SR 和 WGR 未产生显著影响, 这可能因为在短期内珍珠龙胆石斑鱼对高脂肪饲料具有一定的耐受性。当鱼体摄入饲料脂肪含量不足时, 鱼体摄入能量不足, 可能会刺激鱼类食欲, 与 EE12 组相比, EE14~EE20 组的 FI 和 FCR 均降低了 5%~13%, EE8 组的 FI 和 FCR 分别上升 8%和 7%。饲料粗脂肪升高, 可以降低蛋白质作为能源的消耗量, 有利于提高 PER 和降低 LER, 起到节约蛋白质的作用, 与在大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)^[24]和大鳞副泥鳅(*Paramisgurnus dabryanus*)^[25]的研究结果一致。过高或过低的脂肪水平都会影响机体形态学指标, 进而反映鱼体生理生化或营养状况的异常^[26], LDR、AMEEC 含量和 HSI 在 EE12 组最低, MFI 随着饲料粗脂肪的升高而升高, 说明饲料粗脂肪含量过高和过低会增加珍珠龙胆石斑鱼肝脏重量, 珍珠龙胆石斑鱼鱼体的脂肪沉积部位可能是腹部。

LDL-C 的作用主要是将肝脏中过多的脂肪转运到外周组织, HDL-C 的作用主要是将外周组织的 CHOL 转运到肝脏^[27], LDL-C 的升高可能预示肝功能异常或其他代谢问题^[28], 在血鸚鵡鱼(*Vieja synspila*♀×*Amphilophus citrinellus*♂)^[1]、军曹鱼^[23]、额尔齐斯河银鲫(*Carassius auratus gibelio* Block)^[29]研究中发现, 血清中 LDL-C 含量随着饲料脂肪水平的升高而升高, 而在芙蓉鲤鲫(*Furong carp* ♀×*red crucian carp* ♂)^[30]和尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[31]研究中发现血清中

LDL-C 含量随着饲料粗脂肪水平上升而下降。本研究表明, 随着饲料粗脂肪的提升, 血清中的 LDL-C 呈现先下降后上升再下降趋势, 在 EE10、EE12 和 EE20 组值最低, 在饲料粗脂肪最高组 LDL-C 的下降可能预示鱼体肝脏功能受损或出现其他问题^[30]。T-CHO 在 EE12 和 EE14 组的含量是最低的, 过高和过低饲料粗脂肪都会升高血清中的 T-CHO。高脂肪饲料组血清中 T-CHO 升高是因为饲料粗脂肪高, 而低饲料粗脂肪组血清中的升高可能饲料摄食多和从肝脏转运出来的脂肪多, 血清中 T-CHO 含量增加, 提示肝脏中的脂质积累可能有所增加。高脂饲料会损伤黄姑鱼(*Nibea albiflora*)^[32]幼鱼肝脏, 使血清中的 ALT 和 AST 升高, 这与本研究结果相似, 随着饲料粗脂肪的提高, AST 在 EE20 组显著升高。

肝脏是鱼类脂肪代谢的一个重要器官, 当饲料粗脂肪升高时, 鱼类从饲料中消化吸收的脂肪含量也增加, 肝脏脂肪代谢负担加重, 导致肝脏中脂肪细胞数量增多, 体积增大, 以容纳更多的脂肪, 进而增加肝和内脏的重量, 肝脏粗脂肪增多^[33], 在美国红鱼(*Sciaemops ocellatus*)^[34]和吉富罗非鱼(Genetic improvement of farmed tilapia, GIFT, *Oreochromis niloticus*)^[35]幼鱼研究中发现, 高脂饲料会使肝细胞发生肿胀变形, 脂滴空泡化增大增多, 细胞核偏移等现象。在本研究中发现, 与 EE12 组相比, EE8、EE10、EE16~EE20 组的 H&E 切片的结果可以明显看到肝脏细胞体积明显肿大, 细胞核偏移、丢失, 空泡化加剧, 饲料粗脂肪越高, 显著性越大, 与油红 O 染色切片结果变化一致, 这说明高摄食量和高饲料粗脂肪含量会导致珍珠龙胆石斑鱼肝脏产生脂肪病变。

正常情况下, 体内抗氧化系统会把机体代谢产生的 ROS 进行中和, 保持机体的正常工作, MDA 是一种脂质过氧化物, 其水平间接反映了对细胞^[36]的损伤程度。当饲料中脂肪水平过高时, 鱼体会发生氧化应激, 增加机体炎症反应的风险^[37], 在大黄鱼(*Larimichthys crocea*)^[36]、吉富罗非鱼^[38]和虹鳟鱼(*Oncorhynchus mykiss*)^[39]等的研究中发现, 高脂饲料会降低鱼体的抗氧化能力, 与本实验肝脏 GSH-PX 酶活性变化一致。T-AOC 和

ROS 无显著性变化,可能是养殖周期短,变化不明显。MDA 呈现先下降后升高趋势,在 EE12 组达到一个最低值,与卵形鲳鲹 (*Trachinotus ovatus*)^[40]研究结果一致,说明适宜的脂肪水平可以增加鱼体抗氧化能力,降低 MDA 含量,过高脂肪水平的饲料有可能引发珍珠龙胆石斑鱼氧化应激。增加养殖时间可能使这种危害暴露得更明显,打破机体抗氧化系统和 ROS 的平衡^[41],损伤鱼体肝脏。

g6pd 和 *6gpd* 在脂肪生成中扮演至关重要的角色,它们通过提供 NADPH 帮助合成脂肪酸^[42],实验结果表明,随着饲料粗脂肪含量的提高,*me*、*g6pd* 和 *6gpd* 的相对表达量也随之增加,这与之前的研究结果一致^[12],说明饲料粗脂肪的升高加强了脂肪生成。CPT-1 是长链脂肪酸氧化的主要调节酶^[43],而 *ppara* 则是能量代谢和脂质氧化的关键因素,具有促进脂肪酸的氧化和减少脂肪酸和 TG 合成等作用^[44],转录因子 *srebp* 是脂肪稳态的主要调节因子,它能够通过调节内源性磷脂和胆固醇的合成来调节脂肪代谢^[45],研究结果表明,饲料含粗脂肪的提高会导致机体肝脏中 *cpt-1* 和 *ppara* mRNA 的表达量增加^[46-48],而 *srebp-1* 的相对表达量则会下降。这暗示了高脂水平下,机体开始通过激活 *ppara* 来促进脂肪氧化,以平衡组织内高脂饲料所引起的潜在脂肪水平升高;此外,肝脏中 *fas* 的表达受到饲料脂肪含量的影响。饲料脂肪含量越高,*fas* 活性和基因表达越低。这是因为动物体内的脂肪沉积来源于内源性合成和外源性饲料的直接吸收,两者之间存在动态平衡。外源性脂肪摄取增加会减少内源性合成,降低 *fas* 对相关内源性合成的需求,从而导致 *fas* mRNA 表达和活性下降。在本实验中,EE14~EE20 组的肝脏 *fas* 基因表达显著下调,可能是因为肝脏脂肪沉积过多而产生的负反馈调节。这与团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*)^[49]和大黄鱼^[50]的研究结果一致。当饲料脂肪水平较低时,肝脏中的 *fas* 表达会上调,目前尚未知其原理,在大黄鱼^[51]的研究中也得出类似结果。随着饲料脂质水平的增加,*lpl* 的表达量也会增加,这说明脂肪摄入量的增加会导致肝脏分泌大量的 LPL 水解 CM 和

VLDL。饲料蛋白质含量的提高会降低 *apob-100* 的表达量,这是因为 *apob-100* 作为 VLDL 的主要蛋白质部分,能够调控 VLDL 的合成和分泌速率,为富含 TG 颗粒的合成和分泌所必需^[52],此外,高脂饲料会抑制 *apob-100* 的表达,减少 VLDL 的生成,而 VLDL 是 LDL 的前体,最终表达是减少肝脏 TG 的运输到周围组织,从而增加肝脏的脂肪沉积。

4 结论

在本实验条件下,短期内饲料粗脂肪从 8% 提高到 20%,并不会对珍珠龙胆石斑鱼的生长表型产生影响。但如果饲料粗脂肪含量低于或高于 12.87%,都会导致鱼体和肝脏脂肪沉积,当饲料粗脂肪含量高达 16.77% 以上时,肝脏脂肪累积和空泡化增加,出现机体氧化应激,延长养殖期,会增加肝脏病变的风险,更有可能影响鱼体存活。因此,为了保护珍珠龙胆石斑鱼的健康生长,建议适当调整饲料配方,将饲料粗脂肪含量控制在适宜水平,或者在短期养殖后添加一些具有降脂功效的物质(维生素 C、蛋氨酸、肉碱、胆汁酸、牛磺酸、磷脂和胆碱等),调节珍珠龙胆石斑鱼脂质代谢。

参考文献:

- [1] Wu G Q, Wang X J, Mu X D, et al. Effects of dietary lipid level on astaxanthin absorption, growth performance and serum biochemical indices of *Vieja synspila* ♀ × *Amphiprion citrinellus* ♂[J]. Marine Fisheries, 2022, 44(1): 67-77. [郭国强, 汪学杰, 牟希东, 等. 饲料脂肪水平对血鸚鵡鱼吸收虾青素效果、生长性能和血清生化指标的影响[J]. 海洋渔业, 2022, 44(1): 67-77.]
- [2] Chen C Y, Chen J S, Wang S Q, et al. Effects of different dietary ratios of linolenic to linoleic acids or docosahexaenoic to eicosapentaenoic acids on the growth and immune indices in grouper, *Epinephelus coioides*[J]. Aquaculture, 2017, 473: 153-160.
- [3] Zhang H H, Yang Y H, Nan W X, et al. Effects of dietary protein and fat levels on growth performance, nutrient digestibility and nitrogen metabolism of female minks during growing period[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2016, 28(9): 2902-2910. [张海华, 杨雅涵, 南韦肖, 等. 饲料蛋白质和脂肪水平对育成期雌性水貂生长性能、营养物质

- 质消化率及氮代谢的影响[J]. 动物营养学报, 2016, 28(9): 2902-2910.]
- [4] Francis D S, Turchini G M. Retro-engineering the protein sparing effect to preserve n-3 LC-PUFA from catabolism and optimise fish oil utilisation: A preliminary case study on juvenile Atlantic salmon[J]. Aquaculture, 2017, 468: 184-192.
- [5] Dong X H, Yang J J, Tan B P, et al. Dietary lipid requirement of grow-out grouper (*Epinephelus coioides*)[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2015, 24(1): 85-93. [董晓慧, 杨俊江, 谭北平, 等. 养成期斜带石斑鱼对饲料脂肪的需要量[J]. 上海海洋大学学报, 2015, 24(1): 85-93.]
- [6] Fisheries and Fishery Administration, Ministry of Agriculture. 2022 China Fisheries Statistical Yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2022: 22.[农业部渔业渔政管理局. 2022 中国渔业统计年鉴[M]. 中国农业出版社, 2022: 22.]
- [7] Li S L, Li Z Q, Sang C Y, et al. Glucose transporters in pearl gentian grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂): Molecular cloning, characterization, tissue distribution and their expressions in response to dietary carbohydrate level[J]. Aquaculture Research, 2018, 49(1): 253-264.
- [8] Zhang Z, Yang Z W, Ding N, et al. Effects of temperature on the survival, feeding, and growth of pearl gentian grouper (female *Epinephelus fuscoguttatus* × male *Epinephelus lanceolatus*)[J]. Fisheries Science, 2018, 84(2): 399-404.
- [9] Jiang S T, Wu X Y, Luo Y A, et al. Optimal dietary protein level and protein to energy ratio for hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂) juveniles[J]. Aquaculture, 2016, 465: 28-36.
- [10] Li S L, Li Z Q, Chen N S, et al. Dietary lipid and carbohydrate interactions: Implications on growth performance, feed utilization and non-specific immunity in hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)[J]. Aquaculture, 2019, 498: 568-577.
- [11] Zou C Y, Fang Y K, Lin N Y, et al. Polysaccharide extract from pomelo fruitlet ameliorates diet-induced nonalcoholic fatty liver disease in hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2021, 119: 114-127.
- [12] Zou C Y, Su N N, Wu J H, et al. Dietary radix bupleuri extracts improves hepatic lipid accumulation and immune response of hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2019, 88: 496-507.
- [13] Zou C Y, Du L K, Wu J H, et al. Saikosaponin alleviates high-fat-diet induced hepatic steatosis in hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀) by targeting AMPK/PPAR α pathway[J]. Aquaculture, 2022, 553: 738088.
- [14] Zhang K Z, Wang S Y, Malhotra J, et al. The unfolded protein response transducer IRE1 α prevents ER stress-induced hepatic steatosis[J]. The EMBO Journal, 2011, 30(7): 1357-1375.
- [15] Wu Z X, Chen Z L, Yu J H, et al. Effects of dietary lipid and lipase levels on growth performance, serum biochemical indices, and liver antioxidant activity of *Brachymystax lenok* [J]. Progress in Fishery Sciences, 2023, 44(1): 115-124. [武之绚, 陈钟玲, 于建华, 等. 饲料不同脂肪和脂肪酶水平对细鳞鲑生长性能、血清生化指标和肝脏抗氧化性能的影响[J]. 渔业科学进展, 2023, 44(1): 115-124.]
- [16] Dai Y J, Cao X F, Zhang D D, et al. Chronic inflammation is a key to inducing liver injury in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fed with high-fat diet[J]. Developmental and Comparative Immunology, 2019, 97: 28-37.
- [17] Li Y, Jia Z, Liang X, et al. Growth performance, fatty-acid composition, lipid deposition and hepatic-lipid metabolism-related gene expression in juvenile pond loach *Misgurnus anguillicaudatus* fed diets with different dietary soybean oil levels[J]. Journal of Fish Biology, 2018, 92(1): 17-33.
- [18] Gao B W, Yang H, He M, et al. A study on the proper protein and lipid levels in the diet of *Salmo trutta* juveniles [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2020, 44(3): 470-478. [高攀为, 杨航, 何明, 等. 亚东鲑幼鱼饲料蛋白和脂肪适宜水平的研究[J]. 水生生物学报, 2020, 44(3): 470-478.]
- [19] AOAC. Association of official analytical chemists[J]. Official Methods of Analysis, 1990, 1: 684-710.
- [20] Dong X H, Yang J J, Tan B P, et al. Dietary lipid requirements of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) in juvenile and grow out stages[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2015, 27(1): 133-146. [董晓慧, 杨俊江, 谭北平, 等. 幼鱼和养成阶段斜带石斑鱼对饲料中脂肪的需要量[J]. 动物营养学报, 2015, 27(1): 133-146.]
- [21] Lu Z Y, Zhang Y Y, Cui P, et al. Effect of dietary lutein with different levels of lipid on growth performance and body color of *Yamabaki ogon*[J]. Feed Research, 2021, 44(20): 27-32. [卢正义, 张媛媛, 崔培, 等. 不同脂肪水平的叶黄素饲料对黄金锦鲤生长性能和体色的影响[J]. 饲料研究, 2021, 44(20): 27-32.]
- [22] Wang Y Y, Yang Y H, Ma G J, et al. Effects of dietary protein and lipid levels on growth, feed utilization and body composition in *Pseudobagrus ussuriensis* fingerlings[J]. China Feed, 2015(7): 27-31, 37. [王裕玉, 杨雨虹, 马国军, 等. 饲料不同蛋白质、脂肪水平对乌苏里拟鲿生长、饲料利用及体成分的影响[J]. 中国饲料, 2015(7): 27-31, 37.]

- [23] Liu Y L, Mai K S, Xu W, et al. The effect of different lipid levels on the growth performance, body composition and plasma biochemical indices in cobia (*Rachycentron canadum* L.) at two different sizes[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2019, 43(2): 233-242. [刘迎隆, 麦康森, 徐玮, 等. 饲料脂肪含量对两种规格的军曹鱼生长、体组成和血清生化指标的影响[J]. 水生生物学报, 2019, 43(2): 233-242.]
- [24] Man M S, Sui Z M, Zhou H H, 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. [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.]
- [25] Zeng B H, Liao Z Y, Wu S, et al. Effects of dietary lipid level on growth performance, digestive enzyme activities and antioxidant ability of juvenile *Paramisgurnus dabryanus*[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2016, 28(4): 1105-1113. [曾本和, 廖增艳, 吴双, 等. 饲料脂肪水平对大鳞副泥鳅幼鱼生长性能、消化酶活性及抗氧化能力的影响[J]. 动物营养学报, 2016, 28(4): 1105-1113.]
- [26] Fan Z, Li J N, Zhang Y Y, et al. Effects of dietary protein levels on weight loss, body composition and lipid metabolism gene expression of large-size Songpu mirror carp (*Cyprinus carpio* Songpu) before and after overwintering[J]. China Feed, 2022(1): 64-70. [范泽, 李晋南, 张圆圆, 等. 饲料脂肪水平对大规格松浦镜鲤越冬前后体质量损失、体成分及脂代谢基因表达的影响[J]. 中国饲料, 2022(1): 64-70.]
- [27] Lewis G F, Rader D J. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport[J]. Circulation Research, 2005, 96(12): 1221-1232.
- [28] Wu Y J, Yu H, Qin X W, et al. Small dense low-density lipoprotein in different type of hyperlipidemia: Effect of lipid-lowering therapy[J]. Chinese Circulation Journal, 2002, 17(6): 430-433. [吴永健, 俞虹, 秦学文, 等. 不同类型高脂血症小而密低密度脂蛋白的水平及调血脂治疗对其影响[J]. 中国循环杂志, 2002, 17(6): 430-433.]
- [29] Gao P, Jiao F, Liu J, et al. Effects of dietary lipid level on growth performance, feed utilization, body composition and serum biochemical indices of large size gibel carp (*Carassius auratus gibelio* Block) from Irtysh River[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2021, 33(4): 2178-2186. [高攀, 焦飞, 刘晶, 等. 饲料脂肪水平对大规格额尔齐斯河银鲫生长性能、饲料利用、体成分及血清生化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2021, 33(4): 2178-2186.]
- [30] He Z G, Wang J L, Wu Y A, et al. Effect of dietary lipid levels on serum biochemical indices, immune responses and antioxidant capability of juvenile Furong crucian carp (Furong carp ♀ × red crucian carp ♂)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2016, 40(4): 655-662. [何志刚, 王金龙, 伍远安, 等. 饲料脂肪水平对芙蓉鲤鲫幼鱼血清生化指标、免疫反应及抗氧化能力的影响[J]. 水生生物学报, 2016, 40(4): 655-662.]
- [31] 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.
- [32] Ye K, Wang Q R, Xie Y J, et al. Effects of dietary lipid level on growth performance, muscle composition and plasma biochemical indices of juvenile *Nibeia albiflora*[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2017, 29(4): 1418-1426. [叶坤, 王秋荣, 谢仰杰, 等. 饲料脂肪水平对黄姑鱼幼鱼生长性能、肌肉组成和血浆生化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2017, 29(4): 1418-1426.]
- [33] Gao M, Wang Z R, Zhou Q B, et al. Effects of dietary lipid levels on growth performance, fatty acid composition and liver histology of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*)[J]. Feed Industry, 2021, 42(10): 6-15. [高森, 王自蕊, 周秋白, 等. 饲料脂肪水平对泥鳅生长性能、脂肪酸组成和肝脏组织学的影响[J]. 饲料工业, 2021, 42(10): 6-15.]
- [34] Li X F, Tian L X, Niu J, et al. Effects of dietary lipid level on growth performance, body composition and liver histological structure of red drum (*Sciaenops ocellatus*)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2015, 27(11): 3448-3456. [李雪菲, 田丽霞, 牛津, 等. 饲料脂肪水平对美国红鱼生长性能、体组成和肝脏组织结构的影响[J]. 动物营养学报, 2015, 27(11): 3448-3456.]
- [35] Liu Y Q. Effect of different dietary lipid levels on the growth performance, antioxidant, immunity, fatty acid metabolism and related gene expression in juvenile gifi Tilapia[D]. Nanning: Guangxi University, 2021. [刘永强. 梯度脂质对吉富罗非鱼幼鱼生长、抗氧化、免疫、脂肪酸代谢及相关基因表达的影响[D]. 南宁: 广西大学, 2021.]
- [36] Ding T, Xu N, Liu Y T, et al. Effect of dietary bile acid (BA) on the growth performance, body composition, antioxidant responses and expression of lipid metabolism-related genes of juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) fed high-lipid diets[J]. Aquaculture, 2020, 518: 734768.
- [37] Xing W, Yu H H, Yu F X, et al. Effects of dietary lipid levels on growth performance, feed digestibility, antioxidant status and fillet fatty acid compositions of juvenile hybrid sturgeon[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2021, 45(2): 250-258. [邢薇, 郁欢欢, 于凤祥, 等. 饲料脂肪水平对杂

- 交鲷幼鱼生长、饲料消化率、抗氧化水平和肌肉脂肪酸组成的影响[J]. 水生生物学报, 2021, 45(2): 250-258.]
- [38] Zhang X D, Zhang X, Tao L L, et al. Effects of fish oil replacement by rubber seed oil on growth performance, digestive enzyme activity, lipoprotein content and antioxidant capacity of juvenile genetically improved farmed Tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2018, 30(3): 1007-1018. [张新党, 张曦, 陶琳丽, 等. 橡胶籽油替代鱼油对吉富罗非鱼幼鱼生长性能、消化酶活性、脂蛋白含量和抗氧化功能的影响[J]. 动物营养学报, 2018, 30(3): 1007-1018.]
- [39] Liu Z L, Zhao W, Hu W S, et al. Lipid metabolism, growth performance, antioxidant ability and intestinal morphology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under cage culture with flowing water were affected by dietary lipid levels[J]. Aquaculture Reports, 2021, 19: 100593.
- [40] Zhong W Q, Yu J, Li Y X, et al. Effects of dietary fat levels on muscle quality, antioxidant capacity and expression of related genes of golden pompano (*Trachinotus ovatus*)[J]. Feed Industry, 2023, 44(4): 98-106. [钟宛清, 余杰, 李苡萱, 等. 饲料脂肪水平对卵形鲳鲹肌肉品质、抗氧化能力及相关基因表达的影响[J]. 饲料工业, 2023, 44(4): 98-106.]
- [41] Song Z H, Cheng K, Zheng X C, et al. Effects of dietary supplementation with enzymatically treated *Artemisia annua* on growth performance, intestinal morphology, digestive enzyme activities, immunity, and antioxidant capacity of heat-stressed broilers[J]. Poultry Science, 2018, 97(2): 430-437.
- [42] Song Y F, Wu K, Tan X Y, et al. Effects of recombinant human leptin administration on hepatic lipid metabolism in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*: *in vivo* and *in vitro* studies[J]. General and Comparative Endocrinology, 2015, 212: 92-99.
- [43] Xu J A, Xie S W, Chi S Y, et al. Short-term dietary antibiotics altered the intestinal microbiota and improved the lipid metabolism in hybrid grouper fed medium and high-lipid diets[J]. Aquaculture, 2022, 547: 737453.
- [44] Guo X Z, Liang X F, Fang L, et al. Effects of lipid-lowering pharmaceutical clofibrate on lipid and lipoprotein metabolism of grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val.) fed with the high non-protein energy diets[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2015, 41(2): 331-343.
- [45] Eberlé D, Hegarty B, Bossard P, et al. SREBP transcription factors: Master regulators of lipid homeostasis[J]. Biochimie, 2004, 86(11): 839-848.
- [46] Yang W P. Cloning of lipid metabolism related genes from redlip mullet *Liza haematocheila* and effects of dietary nutrients on mullet's lipid deposition and metabolism[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2017. [杨文平. 梭鱼脂代谢相关基因的克隆及饲料营养水平对其脂肪蓄积和代谢的影响研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2017.]
- [47] An W Q. Effects of lipid sources, n-3 HUFA levels and DHA/EPA ratios on growth performance and lipid metabolism of juvenile hybrid grouper(♀ *Epinephelus fuscoguttatus* × ♂ *Epinephelus lanceolatus*)[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2020. [安文强. 脂肪源、n-3 HUFA 水平及 DHA/EPA 比值对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长性能和脂肪代谢的影响[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2020.]
- [48] Gou N N, Chang Z G, Deng W, et al. Effects of dietary lipid levels on growth, fatty acid composition, antioxidant status and lipid metabolism in juvenile *Onychostoma macrolepis*[J]. Aquaculture Research, 2019, 50(11): 3369-3381.
- [49] 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.
- [50] Wang X X, Li Y J, Hou C L, et al. Physiological and molecular changes in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R.) with high-fat diet-induced fatty liver disease[J]. Aquaculture Research, 2015, 46(2): 272-282.
- [51] Yan J. Effects of dietary lipid levels and types of fatty acids on lipid deposition in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015. [严晶. 饲料脂肪水平和脂肪酸种类对大黄鱼脂肪沉积的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.]
- [52] Fan W W, Wang S, Gao C H, et al. Effect of ApoB100 on synthesis and secretion of hepatic VLDL and its research progress in veterinary clinic[J]. Modern Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2022(7): 89-93. [范文文, 王爽, 高畅鸿, 等. ApoB100 对肝脏 VLDL 合成分泌的影响及其在兽医临床中的研究进展[J]. 现代畜牧兽医, 2022(7): 89-93.]

Effects of short-term high-fat stress on growth performance, liver health, and lipid metabolism genes in *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂

LIAO Chunyan^{1,2}, GAO Wenhao^{1,2}, LI Jiahui^{1,2}, CHI Shuyan^{1,2}

1. School of Aquatic Sciences, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;

2. Laboratory of Aquatic Animal Nutrition and Feed, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China

Abstract: The aim of this experiment was to investigate the effects of high-fat diets on the short-term growth performance and antioxidant capacity of pearl grouper to help formulators and farmers anticipate the possible negative effects of high-fat diets on grouper growth and take effective measures in the formulation and feeding schedule of high-fat diets. Seven groups of isonitrogenous diets with fat levels of 8% (EE8), 10% (EE10), 12% (EE12), 14% (EE14), 16% (EE16), 18% (EE18), and 20% (EE20) were fed to pearl grouper (initial mean weight: 13.70±0.01g) for 4 weeks with a crude protein level of 48%. The experimental results showed no significant change in weight gain rate (WGR) and survival rate (SR) as the level of dietary ether extract increased ($P>0.05$), while the feed intake was significantly lower in the EE14-EE20 group ($P<0.05$); further, the viscerosomatic index (VSI) and protein efficiency ratio (PER) increased significantly ($P<0.05$) after the dietary ether extract exceeded 16%. The EE14-EE20 group had a significantly higher abdominal muscle ether extract (AMEEC) ($P<0.05$), and the EE16-EE20 group had a significantly greater hepatosomatic index (HSI) ($P<0.05$). Compared to the EE12 group, total cholesterol (T-CHO) was significantly higher in the EE8, EE10, EE18, and EE20 groups ($P<0.05$); glutathione peroxidase (GSH-PX) activity was significantly lower in the EE16-EE20 group ($P<0.05$); malondialdehyde (MDA) content was significantly higher in the EE20 group ($P<0.05$); and vacuolated area and hepatocytes in the EE8 and EE16-EE20 groups' lipid droplet amount were significantly increased ($P<0.05$). The relative expression of the lipid synthesis genes *g6pd*, *6gpd*, and *me* was significantly increased in the EE20 group ($P<0.05$), and the lipolytic genes *cpt-1* and *ppara* were significantly increased in the EE16-EE20 group ($P<0.05$). The results have shown that dietary ether extract above 16.77% causes fatty deposits in the liver of pearl amberjack, reducing the liver's antioxidant capacity and impairing liver health.

Key words: *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂; high-fat diet; growth performance; antioxidant capacity; Lipid metabolism

Corresponding author: CHI Shuyan. E-mail: chishuyan77@163.com