

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2017.16301

脂肪和蛋白质营养对工业化养殖大西洋鲑相关代谢酶和生长基因表达的影响

马骏^{1,2,3}, 柳阳^{1,2,3}, 李勇^{1,2,3}, 张静^{1,2,3}, 赵宁宁^{1,2,3}

1. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071;

2. 中国科学院大学, 北京 100049;

3. 中国科学院实验海洋生物学重点实验室, 海洋生态养殖技术国家地方联合工程实验室, 山东 青岛 266071

摘要: 为探究主要脂肪和蛋白质水平对工业化养殖大西洋鲑(*Salmo salar*)成鱼脂肪相关代谢酶和生长相关基因表达的影响, 本实验采用 3×2 双因素随机实验设计, 设置 3 个脂肪水平: 18%、21%、24% (分别以 F18、F21、F24 表示), 2 个蛋白质水平: 38%、48% (分别以 P38、P48 表示)。组合为 6 个实验处理组, 每组 3 个重复, 每重复 40 尾鱼。实验在室内封闭循环水养殖系统中进行, 实验鱼初始体重(650.0±45.50) g, 实验期 56 d。结果表明: (1)工业化养殖实验鱼的脂肪需求较国外深海网箱养殖明显降低, 蛋白质需求相近。P48F21 组增重率显著最佳, 较其他各组提高 22.23%~125.86% ($P<0.05$); P48F24 组饲料系数显著最低, 较其他各组降低 16.24%~30.00% ($P<0.05$)。 (2)单因素高脂肪显著提高肝体比($P<0.05$), 高蛋白极显著降低肥满度($P<0.01$); P48F24 组肝体比较其他各组显著提高 10.92%~28.16% ($P<0.05$), P48F18 组肥满度较其他各组显著降低 10.24%~12.31% ($P<0.05$); 并创新提出了 600~900 g 大西洋鲑形体营养调控初步方案。 (3)单因素高、中脂肪显著提高肝脂肪分解酶(HL、LPL 和总酯酶)活力, 高蛋白显著提高 LPL 和总酯酶活力; P48F21 和 P48F24 组饲粮显著提高肝脂肪分解酶活力, 其中 LPL 活力比 P38F18 组分别提高 46.51%、48.84% ($P<0.05$)。实验处理主要对肝脂肪分解酶产生作用, 显现了两组优良饲粮改善生长性能的脂肪生理代谢机制。 (4)单因素中脂肪极显著增加肌肉和肝 IGF-I 基因表达量($P<0.01$); 高蛋白极显著增加肌肉 GH、IGF-I 及肝 IGF-I 基因表达量($P<0.01$); GHR 基因表达量, 随脂肪或蛋白水平升高均有显著下降特征($P<0.05$)。P48F21 和 P48F24 组试鱼肌肉 GH、IGF-I 及肝 IGF-I 基因表达量显著提高($P<0.05$), 肌肉和肝 GHR 基因表达量显著降低($P<0.05$)。初步的新发现是, GH 和 IGF-I 与 GHR 存在相互制约的负相关内在调控关系, 以自身控制鱼类生长和生殖活动处于相对稳定和可控状态下。本研究初步确定, P48F21 和 P48F24 组是工业化养殖大西洋鲑成鱼的主要营养素优良组合饲粮, 其中以显著降低脂肪水平和饲料成本的 P48F21 组合饲粮更佳。

关键词: 脂肪; 蛋白质; 工业化循环水养殖; 大西洋鲑; 代谢酶; 生长相关基因表达

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2017)04-0669-12

脂肪相关代谢酶中的脂蛋白酯酶(lipoprotein lipase, LPL), 脂肪酸合成酶(fatty acid synthases, FAS), 葡萄糖激酶(glucokinase, GK)等在脂肪合成、分解和沉积等代谢过程中起着重要作用^[1-4], 研究表明, 营养因素影响鱼类脂肪相关代谢酶的水平,

从而影响脂肪和脂肪酸的代谢^[5-6]。鱼类的生长主要由下丘脑-垂体-肝生长轴即 GH/IGF 轴调控。该调控过程的重要因子包括生长激素(GH)、生长激素受体(GHR)、胰岛素样生长因子(IGF), 胰岛素样生长因子受体(IGFR)及其胰岛素样生长因子结

收稿日期: 2016-11-03; 修订日期: 2016-12-14.

基金项目: 国家科技支撑计划项目(201113AD13B07); 大西洋鲑循环清洁生产系统研发与产业化资助项目(Y12316101H); 中国科学院院地合作项目(Y12530101L).

作者简介: 马骏(1992-), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物营养与饲料科学. E-mail: mjqdio@163.com

通信作者: 李勇, 研究员, 博士生导师, 研究方向为水产动物营养与饲料科学. E-mail: liyong@qdio.ac.cn

合蛋白(IGFBP)^[7-8]。营养素对基因表达的调节是多重点、多水平的,但绝大多数发生在转录水平上。GH/IGF 轴的基因表达量不是一成不变的,受到各种因素的影响,其中包括食物的营养状况。研究资料显示,营养水平对动物 GH-IGF 轴功能有明显影响^[9-10]。因此通过营养水平的改变来调控鱼类脂肪代谢与生长十分重要。

大西洋鲑(*Salmo salar*)隶属于鲑科(Salmonidae)鲑属(*Salmon*)的冷水性鱼类,主要原产地为挪威。做为世界性养殖种类,其在日本、美国、加拿大、智利、澳大利亚、新西兰等国家均有引进^[11],2010年由山东东方海洋科技股份有限公司在中国大陆率先引进大西洋鲑,并进行工业化养殖。目前对大西洋鲑营养和饲料的研究主要集中在挪威等国的深海或网箱养殖模式^[12-13],对工业化循环水养殖条件下的营养和饲料研究甚少,亟待进行符合该养殖条件的大西洋鲑营养需求特点研究和专用配合饲料开发。

本研究以原产挪威的洄游型大西洋鲑为研究对象,设计不同脂肪和蛋白水平组合的6种颗粒配合饲料,在工业化循环水养殖模式下探讨饲料脂肪和蛋白质水平对大西洋鲑生长和形体指标、肝和肌肉中相关脂肪代谢酶、GH/IGF 轴相关生长基因表达的影响,旨在为国内工业化循环水养殖大西洋鲑营养需求特点探寻和配合饲料适宜设置提供生物学机理方面的依据。

1 材料与方法

1.1 实验设计与分组

在工业化循环水养殖条件下,进行3×2双因素随机动物实验,即3个脂肪水平:18%、21%、24%,分别以F18、F21、F24表示;2个蛋白质水平:38%、48%,分别以P38、P48表示,共组成6个处理,每处理3个重复。

实验用鱼由山东东方海洋烟台开发区分公司提供。在工业化生产车间养殖池的同源同批大西洋鲑早期成鱼中,挑选规格整齐、体格健壮、体重在(650.0±45.50)g的大西洋鲑720尾,随机分配到封闭循环水养殖实验车间的18个养殖桶(重复)中,每重复40尾鱼,各实验组鱼初始体重经

方差分析差异不显著($P>0.05$),达到同质要求。

1.2 实验饲料

大西洋鲑实验饲料原料组成及营养成分见表1。根据实验设计要求和同质优化方法,确定包含3个脂肪水平与2个蛋白质水平的6种实验饲料,其编号为:P38F18、P38F21、P38F24、P48F18、P48F21、P48F24。按照实验饲料配方组成,将相关原料超微粉碎、混合,经水产饲料专用双螺杆挤压膨化机(瑞士布勒公司)制成直径7mm缓沉型颗粒配合饲料,打包后待用。同时采集各处理组实验饲料样品待测定分析。

1.3 饲养管理

动物实验于2012年6—8月进行,实验期56d。实验幼鱼养殖在直径2m、高1m的体积约2.7m³圆桶中,液氧充氧。封闭循环水养殖系统条件一致:养殖密度9.38~9.73 kg/m³,温度16.8~18℃、盐度23、pH 7.2~7.5、溶解氧含量11.4~12.7 mg/L、流速约3 m³/h,循环率24次/d。每天添加新水量约10%。

实验开始前和结束前,实验用鱼停食24h空腹称重。实验用鱼适应期为1周,适应期间投喂Skretting和实验饲料的混合料,1周后开始全部投喂实验饲料,日投饲量约为鱼初始体重的0.5%,投喂时间3次/d,时间点为8:00、14:00、20:00。投喂时密切观察鱼的摄食动态,根据其摄食情况及时调整投喂量。每次投喂后约半小时,将残饵用纱绢袋收集,计算残饵量,记录实际摄食量。养殖实验过程中若发现死鱼,及时捞出并称重记录。

1.4 样品采集与预处理

采组织样品前实验用鱼停食24h后,每处理组随机取3尾鱼,在用50×10⁻⁶MS-222麻醉后处死,在冰盘上解剖,取出全部消化器官,剔除脂肪,分别将肝和肌肉进行取样,用预冷重蒸水快速冲洗,并用脱脂棉小心擦干,将获得样品放入事先做好标签的封口袋中后放入-40℃冰箱保存。

实验开始前从备用的实验用鱼中随机抽取6尾经50×10⁻⁶的MS-222麻醉处理,依照GB/T5009.5-2003和GB/T5009.6-2003测定肌肉粗蛋白和粗脂肪含量^[14-15],方法和原理与饲料测定类似。生长实验结束前,实验鱼饥饿处理24h,每处理取9

表 1 大西洋鲑实验配合饲料原料组成及主要营养成分含量
Tab. 1 Main ingredients and chemical composition of trial diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*)

饲料原料 ingredients	实验组合 trial group					
	P38F18	P38F21	P38F24	P48F18	P48F21	P48F24
秘鲁鱼粉 Peruvian fish meal	33.00	33.00	33.00	45.00	45.00	45.00
优质鱼油 refined fish oil	10.70	13.80	16.90	9.70	12.80	15.90
大豆粕 soybean meal	11.00	11.90	12.90	8.30	9.40	10.60
玉米蛋白 corn gluten meal	5.00	5.00	5.00	10.00	10.00	10.00
美国肉骨 meat and bone meal	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
面粉 flour	24.50	20.30	16.10	8.80	4.40	0.00
磷脂粉 lecithin powder	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
血浆蛋白 corpuscle protein	0.00	0.00	0.00	2.00	2.00	2.00
黏合剂 binder	0.90	1.00	1.10	1.30	1.40	1.50
多维素 dompound vitamin	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
多矿素 compound mineral	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
合计 total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
营养成分/% nutrition level						
干物质含量 DM	91.65	91.32	91.63	91.43	91.75	92.10
粗蛋白 CP	38.31	38.39	38.27	48.10	47.91	48.32
钙 Ca	1.84	1.85	1.85	2.21	2.22	2.21
总磷 TP	1.42	1.41	1.41	1.73	1.72	1.71
粗纤维 CF	0.80	0.85	0.90	0.80	0.85	0.90
粗脂肪 EE	18.20	21.20	24.10	17.70	21.30	23.80
粗灰分 ash	8.31	8.29	8.22	9.75	9.67	9.71

注: 表中数值除粗纤维外均为实测值; 主要原料为进口优质秘鲁鱼粉、国产优质鱼油等; 多维主要成分为: 维生素 A、维生素 D3、维生素 K3、维生素 B1、维生素 B2、维生素 B6、维生素 B12、维生素 E、维生素 C、烟酰胺、泛酸钙、叶酸、生物素、肌醇、氯化胆碱; 多矿主要成分为: 铜、锌、锰、铁、碘、硒、钴、镁。

Note: Values in the table in addition to the crude fiber were measured; fish meal for imported high quality Peruvian fish meal, fish oil for domestic high quality fish oil; multi-dimensional main ingredients: vitamin A, vitamin D3, vitamin K3, vitamin B1, vitamin B2, vitamin B6, vitamin B12, vitamin E, vitamin C, niacin, calcium, folic acid, pantothenic acid, biotin, inositol, choline chloride; multi-minerals main ingredients: copper, zinc, manganese, iron, iodine, selenium, cobalt, magnesium.

尾(每重复 3 尾)称体重测量体长, 置于冰盘上解剖, 去皮去骨后取背部相同部位的肌肉后将肌肉样品放置于-80℃超低温冰箱中冷冻保存^[16-17], 并分别取小块肝和肌肉组织至于液氮速冻后转移至超低温冰箱-80℃保存用于基因表达的测试分析。

1.5 实验指标的测定

1.5.1 生长和形体指标 各参数依下列公式计算:

- (1) 日均采食量(average daily feed intake, ADFI)=(总投喂量-总残饵重)/实验天数/尾数
- (2) 增重率(weigh gain rate, WGR)=(尾均末体重-尾均初体重)/尾均初始体重×100%
- (3) 饲料系数(feed coefficient ration, FCR)=尾均摄食量/(尾均末体重-尾均初体重)
- (4) 肝体比(hepatosomatic index, HSI) = (肝重/

体重)×100%

(5) 肥满度(condition factor, CF)=(体重/体长³)×100%

1.5.2 脂肪相关代谢酶 总脂酶活性=脂蛋白脂酶活性+肝脂酶活性肝脂酶、脂蛋白脂酶测定: 酯酶测定采用比色法。将组织每毫克蛋白在反应系统中每小时所产生的 1 μmol 的游离脂肪酸 FFA 定义为 1 个酶活性单位[FFA μmol/(mgprot·h)]。

脂肪酸合成酶测定: 将每个重复中 3 条鱼的肝和肌肉组织分别混合成 1 组混合样, 每处理 3 组混合样, 即 3 个重复, 取等量组织(约 0.1 g), 置于玻璃匀浆器中, 加 2 mL 抽提溶液匀浆。匀浆后的悬液倒入 5 mL 离心管中, 进行冷冻离心 30 min (13000 r/min, 0~4℃), 取其上清液作为 FAS 粗提

液。采用购自南京建成生物工程研究所的 RD Fish acid synthase (FAS) Elisa 测定试剂盒。FAS 测定主要分以下步骤进行: 1) 先将试剂盒放置于室温约 40 min, 使用试剂盒前需轻轻摇匀; 2) 标准品液制备: 用标准品稀释液原液稀释成 0.5、1、2、4、8 nmol/L 标准品应用液; 3) 设定空白孔、待测样品孔、标准孔。待测样品孔依次加入 40 μ L 样本→10 μ L 抗-FAS 抗体→50 μ L 链酶亲和素-HRP, 标准孔加入各浓度的 50 μ L 标准品→50 μ L 链酶亲和素-HRP, 然后盖上封板膜后, 将其置于 37℃ 水浴锅中温育 60 min; 4) 用事先配置好的洗涤液洗涤每孔, 重复 5 次, 然后将其用吸水纸拍干; 5) 每孔先依次加入 50 μ L 显色剂 A→50 μ L 显色剂 B 后, 混匀后置于 37℃ 暗室反应 15 min; 6) 在每孔中加 50 μ L 终止剂终止反应; 7) 用 DG5033A 型号酶标仪, 在 450 nm 处测定 OD; 8) 将测定的 OD 值代入标准曲线中计算样本 FAS 的含量。

1.5.3 mRNA 定量方法 将每个重复中 3 条鱼的肝和肌肉组织分别混合成 1 组混合样, 每处理 3 组混合样, 即 3 个重复, 液氮研磨, 取等量组织 (约 0.1 g) 于去 RNA 酶的离心管中, Trizol 法提取各组织总 RNA。提取组织总 RNA 后采用 TaKaRa 公司的 Recombinant DNase I、RNase-free 消化去除 DNA 杂质, 期间使用 Invitrogen 公司的 Ribonuclease Inhibitor 抑制 RNase 活性。然后用 Promega 公司的 M-MLV Reverse Transcriptase、RNase H 和 TaKaRa 公司的 Oligo d(T)₁₈ Primers、dNTP Mixture 进行反转录, 期间使用 Invitrogen 公司的 Ribonuclease Inhibitor 抑制 RNase 活性。将反转录好的 cDNA 使用 SYBR[®] Green I 嵌合荧光法, 采用 TaKaRa 公司的 SYBR[®] Premix Ex Taq[™] (Perfect Real Time) 试剂在 Effendof 荧光定量 PCR 仪中进行。定量数据以第 I 处理组作为参照, 采用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法分析, 其中 $\Delta C_t = C_{t(Lyz)} - C_{t(\beta\text{-actin})}$; $\Delta\Delta C_t = \Delta C_{t(\text{处理})} - \Delta C_{t(\text{参照})}$ 。

RT-PCR 引物序列如下:

根据 NCBI GenBank 中大西洋鲑 GH、IGF-I、GHR 基因序列及管家基因 β -actin 序列, 通过 Primer 3 Online 进行设计, 引物序列见表 2。

表 2 RT-PCR 引物序列
Tab. 2 Primers of real-time PCR

引物名称 primers	序列(5'→3') sequence (5'→3')
GH-for	tgtttctgctgatgccagtc
GH-rev	ttcagctgtctgcgttcac
IGF-I-for	cgtggtattgtggacgagtg
IGF-I-rev	ctgtgctgtcctacgctctg
GHR-for	agctgctgtgaccctgatct
GHR-rev	ttcctctgctcctcaggtgt
β -actin for	ggactttgagcaggagatgg
β -actin rev	agcactgtgttgccgtacag

1.6 统计分析

实验数据用 SPSS 19.0 统计分析软件进行双因素方差分析(multivariate), 多重比较采用 Duncan 检验, 结果用平均值±标准误(mean±SE)表示。

2 结果与分析

2.1 生长和形体指标

由表 3 可见, 脂肪对日均摄食量和增重率有显著影响($P<0.05$), 对饲料系数无显著影响($P>0.05$)。饲料蛋白对增重率和饲料系数有极显著影响($P<0.01$), 对日均摄食量无显著影响($P>0.05$)。两因素互作效应分析中, 蛋白和脂肪水平对增重率和饲料系数有显著互作效应($P<0.05$), 对摄食量影响不显著($P>0.05$)。日均摄食量和增重率的最大值都出现在 P48F21 组, 分别达 5.78 g 和 37.56%, P48F24 组饲料系数最低, 为 0.98。

脂肪对大西洋鲑的肝体比有显著影响, 肝体比有随脂肪水平的增加而增加的趋势, 高脂肪水平比低脂肪提高 10.81%($P<0.05$)。脂肪对肥满度无显著影响($P>0.05$), 肥满度在中脂肪有最大值。蛋白对肥满度有极显著性影响($P<0.01$), 低蛋白水平极显著提高 9.40%($P<0.01$)。脂肪和蛋白双因素对两指标有显著性互作效应($P<0.05$), P48F24 组有最大肝体比, P38F21 组有最大肥满度。

2.2 脂肪相关代谢酶

由表 4 可见, 脂肪对肝酯酶(HL)、脂蛋白酯酶(LPL)和总酯酶活性有显著影响($P<0.05$); 三指标随脂肪水平增加而增加, 高脂肪增加不明显, 在中脂肪有较高的活性, 分别比低脂肪水平显著提高 28.57%、18.87%、16.19%($P<0.05$)。虽然脂

表 3 脂肪和蛋白质水平对大西洋鲑鱼生长和形体指标的影响
Tab. 3 Effects of fat and protein levels on growth and body shape indicators of Atlantic salmon (*Salmo salar*)
n = 40; $\bar{x} \pm SE$

指标 index	蛋白水平 PL	脂肪水平 FL			平均值 mean
		F18	F21	F24	
日均摄食量/ (g·ind ⁻¹ ·d ⁻¹) DAFI	P38	3.50±0.31 ^a	3.98±0.33 ^a	4.70±0.38 ^a	4.06±0.49 ^a
	P48	4.05±0.49 ^a	5.78±0.24 ^a	4.68±0.44 ^a	4.84±0.71 ^a
	平均值 mean	3.77±0.39 ^b	4.88±1.27 ^a	4.69±0.01 ^a	
增重率/% WGR	P38	16.63±2.63 ^c	21.10±1.15 ^{de}	25.47±1.45 ^c	21.07±3.61 ^c
	P48	23.36±1.62 ^d	37.56±1.04 ^a	30.73±2.86 ^{bc}	30.55±5.80 ^a
	平均值 mean	19.99±4.76 ^c	29.33±11.64 ^a	28.10±3.72 ^a	
饲料系数 FCR	P38	1.40±0.09 ^a	1.17±0.10 ^{bc}	1.21±0.02 ^{bc}	1.26±0.10 ^a
	P48	1.04±0.01 ^{cd}	0.99±0.10 ^d	0.98±0.04 ^d	1.00±0.03 ^c
	平均值 mean	1.22±0.25 ^a	1.08±0.13 ^a	1.10±0.16 ^a	
肝体比 HSI	P38	1.03±0.03 ^c	1.19±0.06 ^b	1.14±0.07 ^{bc}	1.12±0.07 ^a
	P48	1.18±0.05 ^b	1.18±0.06 ^b	1.32±0.15 ^a	1.23±0.07 ^a
	平均值 mean	1.11±0.11 ^b	1.19±0.01 ^a	1.23±0.13 ^a	
肥满度 CF	P38	1.27±0.03 ^{ab}	1.30±0.05 ^a	1.27±0.04 ^{ab}	1.28±0.01 ^a
	P48	1.14±0.01 ^c	1.20±0.02 ^{bc}	1.17±0.03 ^c	1.17±0.02 ^c
	平均值 mean	1.20±0.09 ^a	1.25±0.07 ^a	1.22±0.07 ^a	
双因素方差分析结果(P 值) results of two-way analysis of variance (P value)					
影响因素 factor	日均摄食 DFI	增重率 WGR	饲料系数 FCR	肝体比 HSI	肥满度 CF
蛋白水平 PL	0.061	0.000	0.000	0.090	0.000
脂肪水平 FL	0.032	0.001	0.068	0.027	0.444
蛋白×脂肪 PL×FL	0.066	0.026	0.032	0.032	0.041

注: 同栏数据右上角的相同字母表示差异不显著($P>0.05$), 相邻字母表示差异显著($P<0.05$), 相间字母表示差异极显著($P<0.01$).
Note: In the same column, values with the same letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$), while with adjacent letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), and with interphase letter superscripts mean significant difference ($P<0.01$).

肪水平对肌肉、肝脂肪酸合成酶(FAS)均无显著性影响, 但随脂肪水平的增加有先增加后降低的趋势, 中脂肪分别比高脂肪提高 3.03%、10.00% ($P>0.05$)。

蛋白对 HL 活性无显著性影响, 对 LPL、总酯酶和肌肉、肝 FAS 均有显著影响, 高蛋白组 LPL 和总酯酶比低蛋白组分别提高 8.92%、4.35% ($P<0.05$), 低蛋白组肌肉、肝中 FAS 活性比高蛋白组分别提高 12.90%、21.05% ($P<0.05$)。

脂肪和蛋白对 LPL 和总酯酶活性有显著互作效应($P<0.05$), 对其他酶无显著互作效应($P>0.05$)。其中 LPL、HL 和总酯酶活性的最大值均出现在 P48F24 组, 最小值均出现在 P38F18 组。肌肉、肝 FAS 活性最大值均出现在 P38F21 组, P48F18 组肌肉 FAS 活性最低, P48F24 组肝 FAS 活性最低。

2.3 生长相关基因表达

由表 5 可见, 脂肪水平对 GH 影响不显著, 对

IGF-I、GHR 影响显著, 中脂肪水平更有利于增加 IGF-I 基因的相对表达量, 其中肌肉和肝中 IGF-I mRNA 丰度分别是低、高脂肪组的 4.59、2.18 倍和 2.37、1.05 倍; GHR 随脂肪水平的升高而降低, 低脂肪更利于增加 GHR 基因的相对表达量, 在肌肉和肝中 GHR mRNA 丰度是中、高脂肪组的 1.47、1.58 倍和 1.18、2.2 倍。

高蛋白水平能够显著提高大西洋鲑肌肉中 GH 和 IGF-I 基因相对表达量, 其中高蛋白组肌肉 GH、肌肉 IGF-I 及肝 IGF-ImRNA 丰度分别是低蛋白组的 5、3.26 及 5.54 倍; 随着蛋白水平的升高, GHR 基因相对表达量显著降低, 低蛋白组在肌肉和肝中的 GHR mRNA 丰度是高蛋白组的 1.58 和 2.19 倍。

脂肪和蛋白对 GH、IGF-I 和 GHR 基因互作效应显著。P48F24 组肌肉 GH、肌肉 IGF-I 和肝

表 4 脂肪和蛋白质水平对大西洋鲑不同组织中脂肪相关代谢酶的影响
Tab. 4 Effects of fat and protein levels on related synthetic metabolism enzyme activity of Atlantic salmon (*Salmo salar*)

$n = 40; \bar{x} \pm SE$

指标 index	蛋白水平 PL	脂肪水平 FL			平均值 mean
		F18	F21	F24	
肝脂蛋白酯酶/ (U·mL ⁻¹) LPL	P38	0.43±0.04 ^c	0.62±0.02 ^a	0.63±0.03 ^a	0.56±0.10 ^c
	P48	0.55±0.03 ^b	0.63±0.01 ^a	0.64±0.05 ^a	0.61±0.05 ^a
	平均值 mean	0.49±0.07 ^c	0.63±0.02 ^a	0.63±0.08 ^a	
肝酯酶/ (U·mL ⁻¹) HL	P38	0.52±0.03 ^a	0.63±0.02 ^a	0.63±0.02 ^a	0.60±0.05 ^a
	P48	0.52±0.01 ^a	0.63±0.03 ^a	0.65±0.01 ^a	0.61±0.06 ^a
	平均值 mean	0.53±0.03 ^c	0.63±0.02 ^a	0.64±0.02 ^a	
肝总酯酶活力/ (U·mL ⁻¹)	P38	0.96±0.05 ^c	1.24±0.03 ^a	1.26±0.04 ^a	1.15±0.15 ^c
	P48	1.07±0.02 ^b	1.26±0.04 ^a	1.27±0.02 ^a	1.20±0.10 ^a
	平均值 mean	1.05±0.01 ^c	1.22±0.01 ^a	1.24±0.03 ^a	
肌肉脂肪酸合成酶/ (mmol·gprot ⁻¹) FAS	P38	0.36±0.02 ^a	0.36±0.01 ^a	0.34±0.01 ^a	0.35±0.01 ^a
	P48	0.29±0.01 ^a	0.33±0.01 ^a	0.32±0.02 ^a	0.31±0.02 ^c
	平均值 mean	0.33±0.05 ^a	0.34±0.02 ^a	0.33±0.01 ^a	
肝脂肪酸合成酶/ (mmol·gprot ⁻¹) FAS	P38	0.22±0.02 ^a	0.24±0.01 ^a	0.23±0.01 ^a	0.23±0.01 ^a
	P48	0.21±0.02 ^a	0.20±0.01 ^a	0.17±0.01 ^a	0.19±0.02 ^c
	平均值 mean	0.21±0.01 ^a	0.22±0.03 ^a	0.20±0.04 ^a	
双因素方差分析结果(P 值) results of two-way analysis of variance (P value)					
指标 index	肝 LPL	肝 HL	肝总酯酶	肌肉 FAS	肝 FAS
蛋白 PL	0.001	0.920	0.009	0.000	0.002
脂肪 FL	0.000	0.000	0.000	0.255	0.280
蛋白×脂肪 PL×FL	0.002	0.821	0.049	0.063	0.213

注：同栏数据右上角的相同字母表示差异不显著($P>0.05$)，相邻字母表示差异显著($P<0.05$)，相间字母表示差异极显著($P<0.01$)。
Note: In the same column, values with the same letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$), while with adjacent letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), and with interphase letter superscripts mean significant difference ($P<0.01$).

IGF-I mRNA 丰度最高，肌肉 GHR 和肝 GHR mRNA 丰度的最大值分别出现在 P38F18 组和 P38F21 组。

3 讨论

3.1 脂肪和蛋白质营养对大西洋鲑生长性能和形体指标的影响

3.1.1 对生长性能的影响 本实验方差分析表明，由单因素低脂肪水平到中脂肪，促进试鱼生长，而高脂肪水平未显著促进生长。该结果与国外网箱养殖大西洋鲑高脂肪水平促进生长的结果基本一致^[18-19]，也与其他研究者指出过高脂肪水平对大西洋鲑生长不利的结果相近^[20-21]。饲粮高蛋白水平显著提高试鱼增重率和饲料利用率，与蛋白水平增加促进大西洋鲑生长和提高饲料利用率的报道一致^[22-23]。

国外研究报道显示，大西洋鲑饲料蛋白含量为 34%~50%，脂肪含量为 20%~47%^[24-25]。本实

验结果表明，双因素 P48F2 组为试鱼生长性能最佳组合，高蛋白高脂肪组(P48F24)次之，与单因素高蛋白、中脂肪促进试鱼生长的结果相一致，即试鱼脂肪需求比国外网箱养殖降低，而蛋白质需求基本未降低。说明工业化养殖大西洋鲑过程中，不能照搬或套用国外网箱养殖模式下的营养需求参数。原因可能是，大西洋鲑在工业化养殖条件下，运动范围和游泳阻力较小，能量需求较低，无需较高脂肪供能；特别是在蛋白质营养充足条件下，过多脂肪反而加重代谢负担，不利于生长。

3.1.2 对形体指标(肝体比、肥满度)的影响 本实验结果表明，单因素高脂肪较中、低脂肪分别明显或显著提高肝体比 3.36%、10.81%，即实验鱼肝体比与饲料脂肪水平呈正相关。与大西洋鳕(*Gadus morhua*)、欧鲈(*Dicentrarchus labrax*)、黑线鳕(*Melanogrammus aeglefinus*)肝体比随饲料脂肪含量增加而增加的研究结果一致^[26-31]。本研究

表 5 饲料中不同脂肪和蛋白含量对大西洋鲑基因表达的影响
Tab. 5 Effects of different feed fat and protein contents on gene expression of Atlantic salmon (*Salmo salar*)
n = 40; $\bar{x} \pm SE$

指标 index	蛋白水平 PL	脂肪水平 FL			平均值 mean
		F18	F21	F24	
肌肉 GH	P38	1.00±0.08 ^c	3.05±0.19 ^b	3.10±0.50 ^b	2.38±1.20 ^c
	P48	11.87±1.19 ^a	12.39±0.82 ^a	11.84±0.59 ^a	11.91±0.31 ^a
	平均值 mean	6.44±7.69 ^a	7.72±6.60 ^a	7.29±6.60 ^a	
肌肉 IGF-I	P38	1.00±0.18 ^f	7.91±1.03 ^c	2.88±0.24 ^{df}	3.93±3.57 ^c
	P48	5.53±0.62 ^{cd}	22.11±2.12 ^a	10.85±0.49 ^{bc}	12.83±8.47 ^a
	平均值 mean	3.27±3.20 ^c	15.01±10.04 ^a	6.87±10.04 ^c	
肝 IGF-I	P38	1.00±0.20 ^g	3.73±0.46 ^f	6.24±0.99 ^e	3.66±2.62 ^c
	P48	11.27±0.93 ^e	26.47±2.99 ^a	22.58±1.40 ^c	20.26±7.90 ^a
	平均值 mean	6.36±7.26 ^c	15.10±16.08 ^a	14.41±16.08 ^a	
肌肉 GHR	P38	1.00±0.05 ^a	0.89±0.10 ^{ab}	0.56±0.04 ^{ce}	0.82±0.23 ^a
	P48	0.73±0.04 ^{abc}	0.30±0.05 ^c	0.54±0.05 ^{cc}	0.52±0.22 ^c
	平均值 mean	0.87±0.19 ^a	0.59±0.42 ^b	0.55±0.42 ^{bc}	
肝 GHR	P38	1.00±0.03 ^a	1.08±0.06 ^a	0.36±0.06 ^{cd}	0.81±0.39 ^a
	P48	0.54±0.04 ^c	0.22±0.05 ^d	0.34±0.03 ^{cd}	0.37±0.16 ^c
	平均值 mean	0.77±0.33 ^a	0.65±0.61 ^{ab}	0.35±0.61 ^c	
双因素方差分析结果(<i>P</i> 值) results of two-way analysis of variance (<i>P</i> value)					
影响因素 factor	肌肉 GH	肌肉 IGF-I	肝 IGF-I	肌肉 GHR	肝 GHR
蛋白水平 PL	0.000	0.000	0.000	0.003	0.000
脂肪水平 FL	0.191	0.000	0.000	0.012	0.004
蛋白×脂肪 PL×FL	0.021	0.001	0.000	0.038	0.006

注: 同栏数据右上角的相同字母表示差异不显著($P>0.05$), 相邻字母表示差异显著($P<0.05$), 相间字母表示差异极显著($P<0.01$).
Note: In the same column, values with the same letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$), while with adjacent letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), and with interphase letter superscripts mean significant difference ($P<0.01$).

蛋白单因素对试鱼肝体比无显著影响, 进一步表明脂肪是影响肝体比的主要因素。其原因可能是随饲料脂肪含量增加, 脂类在肝体等部位沉积, 导致肝体质量增加。

本实验双因素 P48F24 组试鱼肝体比显著最高, P18F18 组显著最低, 这与本实验肝体比与脂肪单因素水平呈正相关的结果对应一致, 也与陈建明等^[32]研究高营养条件下青鱼肝体比较高的结果相似。另外, Olli 等^[33]发现饲料中脂肪含量在 18.2%~20.5%时, 网箱养殖大西洋鲑的肝体比均值为 1.48, 而本研究饲料脂肪含量在 18%~24%时, 肝体比均值为 1.18, 比值较低, 说明网箱养殖大西洋鲑的肝比例较大。分析其原因, 可能是工业化养殖条件下, 大西洋鲑运动和应激较少, 营养水平较适宜, 从而使肝代谢水平较低, 不需太大体积, 脂肪在肝等器官沉积较少。

本实验结果表明, 单因素高蛋白水平显著降低试鱼肥满度, 即有利于体型变得瘦长, 与红姑鱼(*Sciaenops ocellatus*)、彭泽鲫(*Carassius auratus* var. *pengze*)肥满度随蛋白含量增加而降低的研究结果一致^[34-35]。蛋白质影响肥满度的原因, 可能是蛋白质营养与鱼体生长和发育关系密切, 高蛋白有助于改善体长和发育水平。脂肪单因素对肥满度无显著影响, 进一步表明蛋白是影响肥满度的主要因素。有关脂肪对鱼类肥满度影响的报道甚少, 本实验结果-脂肪单因素对肥满度无显著影响, 其内在机制需要进一步探寻。

双因素 P48F18 组肥满度显著最低, P38F21 肥满度显著最高, 这与单因素高蛋白使试鱼体型变瘦的结果一致。Hemer 等^[36]在 35%蛋白水平下, 研究不同淀粉含量对大西洋鲑肥满度的影响, 测得肥满度为 1.3~1.5, 本研究表明, 蛋白含量在

38%~48%水平下, 肥满度为 1.17~1.28, 较 Hemer 等的结果低, 从侧面反映出高蛋白水平可以降低大西洋鲑肥满度, 使其体型变瘦。

综合以上讨论分析, 本研究提出在本实验条件下 600~900 g 大西洋鲑形体营养调控的初步方案如下: (1) 可通过适当提高鱼的蛋白营养或采用高蛋白低脂肪(P48F18)组饲料来降低肥满度; 通过适当降低鱼的蛋白营养或采用低蛋白中脂肪(P38F21)组饲料来增加肥满度; (2) 可通过适当降低鱼的脂肪营养或采用低蛋白低脂肪(P38F18)组饲料来降低肝体比; 通过适当提高鱼的脂肪营养或采用高蛋白高脂肪(P48F24)组饲料来提高肝体比。

3.2 脂肪和蛋白质营养对大西洋鲑脂肪相关代谢酶的影响

3.2.1 对肝 HL 和 LPL 的影响 肝酯酶(HL)和脂蛋白酯酶(LPL)是鱼类肝中脂肪分解代谢的两个关键酶, 对鱼类脂类代谢承担重要作用。

本实验研究表明, HL 和 LPL 活力随单因素脂肪水平增加呈先显著增加后平稳的趋势, 与前人研究高脂肪水平可诱导瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)、真鲷(*Pagrosomus major*)等肝分泌大量脂蛋白酯酶, 进而促进脂肪酸消化吸收^[37-39]的结果部分相似。但本实验饲料脂肪含量进一步增加, 并未引起 HL、LPL 活力进一步提高, 其原因可能是摄入大量脂肪后, 不需要提高脂肪分解酶活力, 即可满足正常生长和代谢需要。该结果与试鱼增重率和饲料系数特征基本相符, 进而从微观层次说明生长性能与脂肪代谢的内在联系机制。本实验单因素高蛋白显著增加 LPL 活力, 而对 HL 活力影响不显著。可能与 LPL 在增加脂肪分解供能的同时还可提高蛋白质利用效率有关。目前尚未见有蛋白营养对鱼类肝 LPL 和 HL 影响的相关研究报道。

双因素互作对 LPL 活力有显著影响, 对 HL 无显著影响。其中 P48F24 组 LPL 活力显著最高, P38F18 组显著最低, HL 活力随营养水平提高有升高的趋势, 与两个单因素的效应结果基本一致。从生理生化角度分析原因, 可能是高蛋白高脂肪饲料为试鱼提供大量甘油三酯和蛋白质, 试鱼自我调节, 主要通过提高 LPL 活力来调控代谢

而非 HL, 这样不仅加快脂肪转运离开肝、增加分解代谢、减少脂肪沉积, 而且增加蛋白质与脂肪结合形成脂蛋白, 提高蛋白质的利用效率。

3.2.2 对肌肉和肝脂肪酸合成酶的影响 脂肪酸合成酶(FAS)作为脂肪酸合成的重要限制酶, 存在于肝、肌肉等组织中, 在体内催化丙二酰辅酶 A 连续缩合成长链脂肪酸, 其活性高低直接控制着体脂合成能力进而影响体脂含量^[40]。

本实验研究表明, 单因素低蛋白水平极显著提高肌肉和肝 FAS 活力, 这与大西洋鲑肌肉 $\Sigma\omega$ -3PUFA、 $\Sigma\omega$ -6PUFA、 Σ HUFA、EPA 和 DHA 等不饱和脂肪酸含量与蛋白质水平呈负相关^[41]的研究结果相近。单因素脂肪水平对肌肉和肝 FAS 活力无显著影响, 这与 Clarke 等^[42]研究表明饲料高脂肪会降低大西洋鲑肝 FAS 活力的结果有所不同, 可能与本研究设置的脂肪水平较低、梯度较小^[24-25]有关。

本实验双因素处理对肝和肌肉 FAS 活力均无显著影响, 与单因素脂肪水平对 FAS 活力无显著影响的结果一致。但从趋势看, P38F21 组 FAS 活力最高, P38F24 组次高, 且在肌肉中接近差异显著水平, 即低蛋白的作用显现, 与单因素蛋白低水平显著提高 FAS 活力的结果趋于一致, 目前尚无相关研究报道。说明在本实验较低脂肪水平梯度条件下, 试鱼体内脂肪合成主要与蛋白营养有关, 而脂肪营养对其影响不大, 可能是鲑鳟鱼类肌肉不饱和脂肪酸含量与蛋白质水平呈负相关^[41]所致。至于其内在机制仍需今后进一步研究探寻。

3.3 脂肪和蛋白质营养对大西洋鲑生长相关基因表达的影响

目前蛋白或脂肪营养对大西洋鲑肌肉或肝生长激素(GH)、胰岛素样生长因子(IGF)、生长激素受体(GHR)的作用效应研究尚未见有文献报道。本实验研究表明, 单因素高蛋白显著提高实验鱼肌肉 GH 和 IGF-I 及肝 IGF-I 基因的 mRNA 丰度, 与试鱼增重率和饲料系数结果对应一致。单因素脂肪水平对肌肉 GH 基因影响不显著, 而肝和肌肉 IGF-I 基因随脂肪水平升高呈先显著升高后降低的趋势, 该结果与生长性能特征、脂肪分解酶特征基本一致。可以与 Thissen 等^[43]适宜脂肪水

平促进小鼠肝 IGF-I 表达和生长,高脂肪水平不利于生长的研究结果相借鉴。单因素低蛋白或低脂肪使试鱼肌肉及肝中 GHR 基因 mRNA 表达丰度显著提高,即蛋白或脂肪水平与 GHR 基因表达成负相关。由此可知,在较低蛋白或脂肪营养水平下,GHR 基因表达处于较高水平。其原因可能与饲料低蛋白或脂肪营养时,试鱼肌肉和肝的 GH 基因 mRNA 表达丰度较低,机体自我调节,通过提高 GHR 表达做弥补,减少对生长的影响。

本实验双因素互作对肌肉 GH、IGF-I 和 GHR 及肝 IGF-I 和 GHR 基因表达均有显著影响。P48F21 组肌肉 GH 和 IGF-I 及肝 IGF-I 基因的 mRNA 丰度显著最高,这与该组生长性能增重率最佳的结果完全一致;也是该组促进脂肪分解供能、提高生长性能的基因表达效应和分子营养机制显示。同时,该组肌肉和肝 GHR 基因表达水平显著最低,分析原因可能是 GH 和 IGF-I 基因表达与 GHR 基因表达存在相互制约的负相关内在调控关系,以自我控制鱼类生长和生殖活动处在一个相对稳定和可控状态下。该结果与 Brameld 等^[44]关于饲料高营养水平提高猪肝 IGF-I 基因表达,降低肌肉 GHR 基因表达的研究结果相似,这也许是本研究发现的生命活动处于稳态的主要机制之一,其相关研究尚属空白,需进一步研究探寻。P38F18 组具有显著较低的肌肉 GH 和 IGF-I 及肝 IGF-I 基因表达和显著较高的 GHR 基因表达,与其增重率显著最低结果对应一致,进一步说明 GH 和 IGF-I 基因表达与 GHR 基因表达的负相关关系。

4 小结

(1)本实验研究结果初步表明,工业化循环水养殖大西洋鲑的脂肪需求较国外深海网箱养殖有所降低,蛋白质需求相近。单因素脂肪水平从低到中级显著促进试鱼生长,而高水平不显著;高蛋白极显著提高试鱼增重率和饲料利用率。双因素 P48F21 组饲料增重率显著最佳,饲料利用率显著较高;P48F24 组饲料增重率显著较高,饲料利用率显著最高。

(2)根据形体分析结果,提出 600~900 g 大西洋鲑形体营养调控初步方案:适当提高或降低蛋

白营养和采用 P48F18 或 P38F21 组饲料,可分别降低和增加鱼肥满度;适当降低或提高脂肪营养和采用 P38F18 或 P48F24 组饲料,可分别降低和提高鱼肝体比。

(3)脂肪相关代谢酶测析表明,肝脂肪分解酶(HL、LPL 和总酯酶)随单因素脂肪水平增加有先增加后平稳特征,高脂肪更适宜;高蛋白显著提高 LPL 和总酯酶活力。双因素 P48F21 和 P48F24 组饲料显著提高肝脂肪分解酶活力。单因素蛋白水平与肌肉和肝 FAS 活力呈显著负相关,而双因素对其作用不显著。可见,实验处理饲料主要对肝脂肪分解酶产生作用,从而促进机体脂肪代谢和分解供能、提高生长性能,可谓此两组饲料改善生长性能的脂肪生理代谢机制显现。

(4)生长相关基因表达测析表明,单因素中脂肪水平极显著增加肌肉和肝 IGF-I 基因 mRNA 表达量;高蛋白促进肌肉 GH、IGF-I 及肝 IGF-I 基因 mRNA 表达量极显著增加;肌肉和肝 GHR 基因 mRNA 表达量,随脂肪或蛋白水平升高均有显著或极显著下降特征。双因素 P48F21 和 P48F24 组试鱼肌肉 GH、IGF-I 及肝 IGF-I 基因 mRNA 表达量显著提高,肌肉和肝 GHR 基因 mRNA 表达量显著降低。初步的新发现是, GH 和 IGF-I 与 GHR 存在相互制约的负相关内在调控关系,以自身控制鱼类生长和生殖活动处相对稳定和可控状态下。这与该两组试鱼生长性能佳、脂肪分解酶活力较强的结果完全一致,也是其促进生长性能提高的基因表达效应和分子营养机制显现,为工业化养殖大西洋鲑成鱼的营养调控和专用饲料研制,提供了分子营养学的重要依据。

(5)本实验研究初步确定,P48F21 和 P48F24 组是工业化养殖大西洋鲑成鱼的主要营养素优良组合饲料。其增重率、饲料利用率显著提高,脂肪分解代谢旺盛,生长相关基因表达显著改善;其中以显著降低脂肪水平和饲料成本的 P48F21 组饲料更佳。本研究结果为工业化循环水养殖大西洋鲑成鱼专用配合饲料开发提供了重要理论依据和应用指导。

参考文献:

- [1] Wei X, Yang Z, Rey F E, et al. Fatty acid synthase modulates

- intestinal barrier function through palmitoylation of mucin 2[J]. *Cell Host Microbe*, 2012, 11(2): 140–152.
- [2] Jensen-Urstad A P L, Semenkovich C F. Fatty acid synthase and liver triglyceride metabolism: housekeeper or messenger[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1821(5): 747–753.
- [3] Vyncke K, Dumont J, Dallongeville J, et al. Diet and physical activity interact with the 514C/T polymorphism in hepatic lipase gene on serum lipid and fatty acid concentrations[C]. 20th International Congress of Nutrition, 2013, 63(1): 349–349.
- [4] Kersten S. Physiological regulation of lipoprotein lipase[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1841(7): 919–933.
- [5] Hansen J Ø, Berge G M, Hillestad 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(1): 159–166.
- [6] Altundag M S, Tiril S U, Ozdemir A. Effects of safflower oil supplementation in diet on growth performance and body fatty acid composition of turbot (*Psetta maxima*)[J]. *Aquacult Int*, 2014, 22(2): 597–605.
- [7] Fox B K, Breves J P, Davis L K, et al. Tissue-specific regulation of the growth hormone/insulin-like growth factor axis during fasting and re-feeding: importance of muscle expression of IGF-I and IGF-II mRNA in the tilapia[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2010, 166(3): 573–580.
- [8] Johnston I A, Bower N I, Macqueen D J. Growth and the regulation of myotomal muscle mass in teleost fish[J]. *J Exp Biol*, 2011, 214(10): 1617–1628.
- [9] Zhang Z Y, Xue M, Wang J, et al. Cloning and sequence analysis of full length cDNAs of growth hormone/insulin-like growth factor-I axis relative genes of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) and Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, 27(4): 1278–1292. [张志勇, 薛敏, 王嘉, 等. 花鲈和西伯利亚鲟生长激素/类胰岛素样生长因子-I 轴相关基因全长 cDNA 的克隆和序列分析[J]. *动物营养学报*, 2015, 27(4): 1278–1292.]
- [10] Zheng K, Liang M, Yao H, et al. Effect of dietary fish protein hydrolysate on growth, feed utilization and IGF-I levels of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. *Aquacult Nutr*, 2012, 18(3): 297–303.
- [11] Folmar L C, Dickhoff W W. The parr—Smolt transformation (smoltification) and seawater adaptation in salmonids: A review of selected literature[J]. *Aquaculture*, 1980, 21(1): 1–37.
- [12] Naylor R, Hindar K, Fleming I A, et al. Fugitive salmon: assessing the risks of escaped fish from net-pen aquaculture[J]. *Bioscience*, 2005, 55(5): 427–437.
- [13] Dempster T, Juell J E, Fosseidengen J E, et al. Behaviour and growth of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) subjected to short-term submergence in commercial scale sea-cages[J]. *Aquaculture*, 2008, 276(1): 103–111.
- [14] GB/T 5009.5-2003. Determination of Protein in Foods[S]. [GB/T 5009.5-2003, 食品中蛋白质的测定[S].]
- [15] GB/T 5009.6-2003. Determination of Lipids in Foods[S]. [GB/T 5009.6-2003, 食品中脂肪的测定[S].]
- [16] Shi P S. Cloning and expression of fatty acid synthase gene of and comparison on growth, muscle quality of *Polyodon spathula* and *Aristichthys nobilis*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2013: 35–36. [施培松. 匙吻鲟和鳙的生长、肌肉品质比较及 FAS 基因克隆与表达[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013: 35–36.]
- [17] Wang A M, Han G M, Feng G N, et al. Effects of dietary lipid levels on growth performance, nutrient digestibility and blood biochemical indices of Gift tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2011, 35(1): 80–87. [王爱民, 韩光明, 封功能, 等. 饲料脂肪水平对吉富罗非鱼生产性能、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.]
- [18] Solberg C. Influence of dietary oil content on the growth and chemical composition of Atlantic salmon (*Salmo salar*)[J]. *Aquacult Nutr*, 2004, 10(1): 31–37.
- [19] Torstensen B E, Espe M, Stubhaug I, et al. Dietary plant proteins and vegetable oil blends increase adiposity and plasma lipids in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)[J]. *Br J Nutr*, 2011, 106(5): 633–647.
- [20] Karalazos V, Bendiksen E Å, Dick J R, et al. Effects of dietary protein, and fat level and rapeseed oil on growth and tissue fatty acid composition and metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) reared at low water temperatures[J]. *Aquacult Nutr*, 2007, 13(4): 256–265.
- [21] Sveier H, Wathne E, Lied E. Growth, feed and nutrient utilisation and gastrointestinal evacuation time in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): the effect of dietary fish meal particle size and protein concentration[J]. *Aquaculture*, 1999, 180(3): 265–282.
- [22] Karalazos V, Bendiksen E Å, Bell J G. Interactive effects of dietary protein/lipid level and oil source on growth, feed utilisation and nutrient and fatty acid digestibility of Atlantic salmon[J]. *Aquaculture*, 2011, 311(1): 193–200.
- [23] Helland S J, Hatlen B, Grisdale-Helland B. Energy, protein and amino acid requirements for maintenance and efficiency of utilization for growth of Atlantic salmon post-smolts determined using increasing ration levels[J]. *Aquaculture*, 2010, 305(1): 150–158.

- [24] Solberg C. Influence of dietary oil content on the growth and chemical composition of Atlantic salmon (*Salmo salar*)[J]. Aquacult Nutr, 2004, 10(1): 31–37.
- [25] Hillestad M, Austreng E, Johnsen F, et al. Long-term effects of dietary fat level and feeding rate on growth, feed utilization and carcass quality of Atlantic salmon[J]. Aquacult Nutr, 1998, 4(2): 89–98.
- [26] Nanton D A, Lall S P, McNiven M A. Effects of dietary lipid level on liver and muscle lipid deposition in juvenile haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L[J]. Aquac Res, 2001, 32(s1): 225–234.
- [27] Lanari D, D'agaro E, Turri C. Use of nonlinear regression to evaluate the effects of phytase enzyme treatment of plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Aquaculture, 1998, 161(1): 345–356.
- [28] Hansen J Ø, Berge G M, Hillestad 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(1): 159–166.
- [29] Lie Ø, Lied E, Lambertsen G. Liver retention of fat and of fatty acids in cod (*Gadus morhua*) fed different oils[J]. Aquaculture, 1986, 59(3–4): 187–196.
- [30] Jobling M, Andreassen B, Larsen A V, et al. Fat dynamics of Atlantic salmon *Salmo salar* L. smolt during early seawater growth[J]. Aquac Res, 2002, 33(10): 739–745.
- [31] Morais S, Bell J G, Robertson D A, et al. Protein/lipid ratios in extruded diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.): effects on growth, feed utilisation, muscle composition and liver histology[J]. Aquaculture, 2001, 203(1): 101–119.
- [32] Chen J M, Shen B Q, Pan Q, et al. Effects of dietary protein and lipid on growth performance and body composition of advanced fingerling Black carp (*Mylopharyngodon piceus*)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2014, 38(4): 699–705. [陈建明, 沈斌乾, 潘茜, 等. 饲料蛋白和脂肪水平对青鱼大规模鱼种生长和体组成的影响[J]. 水生生物学报, 2014, 38(4): 699–705.]
- [33] Olli J J, Krogdahl Å, van den Ingh T S, et al. Nutritive value of four soybean products in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)[J]. Acta Agr Scand A-An, 1994, 44(1): 50–60.
- [34] Liu Y J, Liu D H, Tian L X, et al. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile *Sciaenops ocellatus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2002, 26(3): 242–246. [刘永坚, 刘栋辉, 田丽霞, 等. 饲料蛋白质和能量水平对红姑鱼生长和鱼体组成的影响[J]. 水产学报, 2002, 26(3): 242–246.]
- [35] Liu Y. Long-term effects of dietary protein levels and protein quality on growth performance on crucian carp (*Carassius auratus* var. Pengze): two-year study[D]. Beijing: Chinese academy of agricultural sciences, 2008: 32–38. [刘颖. 饲料蛋白水平及蛋白质质量对彭泽鲫养殖全期生长的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2008: 32–38.]
- [36] Hemer G I, Waagbø R, Hjeltne B, et al. Effect of gelatinized wheat and maize in diets for large Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) on glycogen retention, plasma glucose and fish health[J]. Aquacult Nutr, 1996, 2(1): 33–39.
- [37] Zheng K K, Zhu X M, Han D, et al. Effects of dietary lipid level on growth and lipoprotein lipase gene expression in *Pelteobagrus vachelli*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2010, 34(4): 815–821. [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.]
- [38] Oku H, Tokuda M, Okumura T, et al. Effects of insulin, triiodothyronine and fat soluble vitamins on adipocyte differentiation and LPL gene expression in the stromal-vascular cells of red sea bream, *Pagrus major*[J]. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol, 2006, 144(3): 326–333.
- [39] Liang X F, Oku H, Ogata H Y, et al. The cDNA sequence and tissue expression of lipoprotein lipase gene of a marine fish, red sea bream (*Pagrus major*)[J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2002, 18(6): 712–719. [梁旭方, Oku H, Ogata H Y, 等. 海水鱼真鲷脂蛋白脂肪酶基因 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.]
- [40] Dorn C, Riener M O, Kirovski G, et al. Expression of fatty acid synthase in nonalcoholic fatty liver[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2010, 3(5): 505–514.
- [41] Liu Y, Li Y, Gao T T, et al. The effects of dietary protein and fat on growth and flesh quality of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in the recirculating aquaculture system[J]. Marine Sciences, 2013, 37(6): 47–59. [柳阳, 李勇, 高婷婷, 等. 脂肪和蛋白质营养对封闭循环水养殖大西洋鲑生长和肌肉品质的效应[J]. 海洋科学, 2013, 37(6): 47–59.]
- [42] Clarke S D, Armstrong M K, Jump D B. Nutritional control of rat liver fatty acid synthase and S14 mRNA abundance[J]. J Nutr, 1990, 120(2): 218–224.
- [43] Thissen J P, Davenport M L, Pucilowska J B, et al. Increased serum clearance and degradation of 125I-labeled IGF-I in protein-restricted rats[J]. Am J Physiol, 1992, 262(4): E406–E411.
- [44] Brameld J M, Atkinson J L, Saunders J C, et al. Effects of growth hormone administration and dietary protein intake on insulin-like growth factor I and growth hormone receptor mRNA expression in porcine liver, skeletal muscle, and adipose tissue[J]. J Anim Sci, 1996, 74(8): 1832–1841.

Effects of dietary fat and protein nutrition on fat metabolic enzymes and growth-associated gene expression of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in the recirculating aquaculture system

MA Jun^{1,2,3}, LIU Yang^{1,2,3}, LI Yong^{1,2,3}, ZHANG Jing^{1,2,3}, ZHAO Ningning^{1,2,3}

1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China;

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

3. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences Key Laboratory of Experimental Marine Biology, National & Local Joint Engineering Laboratory for Ecological Mariculture, Qingdao 266071, China.

Abstract: *Salmo salar* is one of the most important aquaculture species in the world, cultured in a cage culture system, which was introduced to China in 2010 and in recirculating aquaculture system (RAS). In order to investigate the effects of dietary fat and protein levels on fat metabolic enzymes and growth associated gene expression of *S. salar* in RAS, a 3×2 (three fat levels: 18%, 21%, and 24%; two protein levels: 38% and 48%, represented by F18, F21, F24, P38, and P48, respectively) random two-factor animal trial was conducted for 56 days. The trial included six treatments with triplicate groups of 40 trial fishes (650.00±45.50) g. Results showed that: (1) The fat requirement of *S. salar* was lower in RAS than in cage culture system, and the requirement of protein was equal between the two systems. The weight gain rate (WGR) was significantly higher in P48F21, by 22.23%–125.86%, than that in other groups ($P<0.05$), while the feed conversion rate (FCR) was significantly lower in P48F24, by 16.24%–30.00% than that in other groups ($P<0.05$). (2) High fat level significantly increased hepatosomatic index (HSI) ($P<0.05$), while high protein level decreased condition factor (CF) very significantly ($P<0.01$). The HSI was significantly higher in P48F24 group than in other groups, by 10.92%–28.16% ($P<0.05$), while the CF was significantly lower than that in other groups, by 10.24%–12.31%. The study proposed the primary nutrition project that can control the shape of *S. salar* to 600–900 g by weight. (3) High and medium fat levels significantly ($P<0.05$) increased the activity of lipoprotein lipase (LPL), hepatic lipase (HL), and total esterase, while high protein level significantly ($P<0.05$) increased the activity of LPL and total esterase. The activities of LPL, HL, and total esterase in P48F21 and P48F24 groups were significantly higher than those in other groups ($P<0.05$), and especially the activity of LPL in the two groups was higher than that in the P38F18 group, in which the activity of LPL was the lowest ($P<0.05$). We also found a significant negative correlation between protein level and the activity of fatty acid synthase (FAS) ($P<0.05$). (4) Medium fat level increased the expression of IGF-I gene in muscle and liver extremely significantly ($P<0.01$), while high protein level increased the expression of GH and IGF-I genes in muscle and IGF-I gene in liver extremely significantly ($P<0.01$). The expression of GHR decreased significantly with the increase in fat or protein level ($P<0.05$). The expressions of GH and IGF-I genes in muscle and IGF-I gene in liver in P48F21 and P48F24 groups were significantly higher than those in other groups ($P<0.05$), while the expression of GHR in muscle and liver was lower than that in other groups ($P<0.05$). We found negative correlations among GH, IGF-I, and GHR, which could control the growth and reproductive activities in appropriate ranges. In conclusion, P48F21 and P48F24 groups had obvious promoting effects on growth performance and growth-associated gene expression in *S. salar*, while P48F21 group was better in the use of fat and saving of costs.

Key words: fat; protein; recirculating aquaculture systems (RAS); *Salmo salar*; fat metabolic enzymes; growth associated gene expression

Corresponding author: LI Yong. E-mail: liyong@qdio.ac.cn