

doi: 10.7541/2018.029

## 亚麻籽油和豆油替代鱼油对大黄鱼肝脏和肌肉脂肪酸组成及 $\Delta 6\text{Fad}$ 基因表达的影响

李经奇 李学山 姬仁磊 徐玮 麦康森 艾庆辉

(中国海洋大学教育部海水养殖重点实验室, 农业部海水养殖重点实验室, 青岛 266003)

**摘要:** 为了研究亚麻籽油(LO)和豆油(SO)完全替代鱼油(FO)对大黄鱼(*Larimichthys crocea*)肝脏和肌肉脂肪酸组成及 $\Delta 6\text{Fad}$  ( $\Delta 6$  Fatty acid desaturase)基因表达的影响。实验用豆油和亚麻籽油替代鱼油制备了3种等氮等脂的精制饲料, 在海水浮动网箱中进行了为期10周的养殖实验。实验结果表明: (1)鱼油组的增重率、饲料效率和特定生长率均显著高于亚麻籽油组和豆油组( $P < 0.05$ ), 但对成活率, 肝体指数和脏体指数没有显著影响( $P > 0.05$ ); (2)亚麻籽油和豆油完全替代鱼油显著改变了鱼体肝脏和肌肉的脂肪酸组成, 降低了肝脏和肌肉LC-PUFA (Long chain-polyunsaturated fatty acid)的相对含量( $P < 0.05$ ), 在亚麻籽油组(LO)和豆油组(SO)中没有显著差异( $P > 0.05$ ), 在各处理组中, 肌肉的n-3LC-PUFA的相对含量显著高于肝脏( $P < 0.05$ ); (3)亚麻籽油和豆油显著上调了肌肉和肝脏中 $\Delta 6\text{Fad}$ 基因的表达量( $P < 0.05$ ), 其表达量在肝脏中分别升高了7.6和6.5倍, 在肌肉中分别上升了2.2和2.8倍。结果表明, 在实验条件下亚麻籽油和豆油完全替代鱼油对大黄鱼生长具有不利影响, 亚麻籽油和豆油替代鱼油降低了肝脏和肌肉中LC-PUFA的含量, 提高了 $\Delta 6\text{Fad}$ 基因的表达量。

**关键词:** 大黄鱼;  $\Delta 6\text{Fad}$ ; 脂肪酸; 亚麻籽油; 豆油

**中图分类号:** S965.3

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1000-3207(2018)02-0232-08

长链多不饱和脂肪酸(Long chain-polyunsaturated fatty acid; LC-PUFA)如DHA (22:3n-6)和EPA (20:3n-5)已被证实在神经系统发育、心脑血管疾病和抗炎等生理过程中发挥着重要的作用<sup>[1-7]</sup>, 目前脊椎动物获得LC-PUFA的途径有2种方式, 一是从直接从食物中摄取, 二是以18碳链的不饱和脂肪酸(如亚油酸18:2n-6和亚麻酸18:3n-3)为前体通过一系列去饱和及延长反应自身生物合成<sup>[6]</sup>。对于鱼类, 尤其是海水鱼类, 从食物中获取LC-PUFA是其满足自身生理需求的重要途径。鱼油中富含HUFA, 是水产饲料中重要的脂肪源, 但随着水产养殖业的迅猛发展和鱼油资源的短缺, 不平衡的供需关系导致产量高、价格相对低廉的植物油逐渐替代鱼油成为饲料中的主要脂肪源。与淡水鱼不同, 海水鱼需要从食物中获取外源LC-PUFA以满足其正常生长、存活和生理功能的需要<sup>[8, 9]</sup>, 表明了海水鱼类

合成LC-PUFA的能力较弱<sup>[10, 11]</sup>。由于植物油不含有EPA和DHA, 当植物油高比例替代鱼油, 会导致海水鱼无法获得足够的LC-PUFA, 而对其生长和代谢产生不利的影响。在这种情况下, 通过自身合成就成为海水鱼获得能够满足其生理需求的LC-PUFA的最重要的途径。

脊椎动物进行LC-PUFA生物合成过程是通过脂肪酸去饱和酶(Fads)和延长酶(Elovl)催化完成的, 经过连续的去饱和及延长反应, 将亚油酸(18:2n-6)和亚麻酸(18:3n-3)合成为DHA和EPA等高不饱和脂肪酸<sup>[12]</sup>。研究表明,  $\Delta 6\text{Fad}$ 是亚油酸(18:2n-6)和亚麻酸(18:3n-3)合成LC-PUFA过程中的限速酶<sup>[13]</sup>,  $\Delta 6\text{Fad}$ 的活性的高低决定了合成LC-PUFA能力的高低。大量的研究表明, 脂肪酸能够调控 $\Delta 6\text{Fad}$ 基因表达和活性。研究发现, 鲤(*Cyprinus carpio*)细胞培养过程中缺乏PUFA, 会促进PUFA的合成<sup>[14]</sup>, 植

收稿日期: 2017-03-29; 修订日期: 2017-06-25

基金项目: 国家杰出青年自然科学基金(31525024)资助 [Supported by the National Natural Science Fund for Distinguished Young Scholars (31525024)]

作者简介: 李经奇(1991—), 男, 河南商丘人; 硕士研究生; 研究方向为分子营养。E-mail: lijingqi91@163.com

通信作者: 艾庆辉(1972—), 教授, 博士生导师; E-mail: qhai@ouc.edu.cn

物油替代鱼油也会造成大西洋鲑(*Salmo salar*)肝脏和肠的 $\Delta 6\text{Fad}$ 基因的表达量上调,同时也增强了其自身合成LC-PUFA的能力<sup>[15-17]</sup>,董小敬<sup>[18]</sup>对大黄鱼、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)和鲈(*Lateolabrax japonicus*)的研究表明混合植物油逐渐替代鱼油上调了 $\Delta 6\text{Fad}$ 基因的表达量。

大黄鱼(*Larimichthys crocea*)是目前我国产量最大的海水养殖鱼类,具有较高的经济价值,但植物油高比例替代鱼油的配合饲料的使用导致了鱼体中的LC-PUFA含量下降,营养品质下降。本实验旨在探究用富含亚油酸的豆油和富含亚麻酸的亚麻籽油替代鱼油对大黄鱼肝脏和肌肉中脂肪酸组成和 $\Delta 6\text{Fad}$ 基因表达的影响,以期为提高海水鱼的LC-PUFA合成能力提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验饲料

以酪蛋白和明胶为主要蛋白源,亚麻籽油和豆油完全替代鱼油,制成3种等氮等脂的精制饲料,分别以FO、LO和SO表示(表1、表2)。原料粉碎后过80目筛,梯度混合均匀,混匀后与卵磷脂和油源充分混合,添加适量的水,混合并过40目筛,充分混匀后上机制粒,恒温风箱55℃烘干10h,待冷却后置于-20℃保存待用。

### 1.2 养殖实验和样品采集

养殖实验在福建省宁德市国家级大黄鱼良种场所属的海水浮动网箱(2 m×2 m×2.5 m)中进行,为期10周,实验开始前,实验用鱼被暂养(2周)在网箱(4 m×4 m×2.5 m)中,暂养期间投喂对照组饲料,每天饱食投喂两次(6:00和17:00),使之适应养殖环境和饲料。实验开始前,将鱼饥饿24h,然后用MS-222(100 mg/L)将鱼麻醉,选择规格均匀体表无损伤的鱼[平均体重(15.42±0.01) g],随机分配到12个网箱中,每个网箱放入大黄鱼120尾,每个处理4个重复,每天记录水温 and 水质指标以及死鱼的重量和数量。实验期间水温在24—28℃,盐度在26‰—29‰,pH 7.4—7.8,溶解氧在6—7 mg/L。

在样品采集前,所有实验用鱼饥饿24h,用MS-222(100 mg/L)将鱼麻醉,对每个网箱中的鱼进行称重计数,从每个网箱中随机挑选6尾鱼,静脉取血后于冰上解剖取出肝脏和肌肉样品放入1.5 mL的无RNA酶的离心管,并迅速放到液氮中,最后转移到-80℃冰箱保存,用于后续的实验。3尾鱼的组织样品用于 $\Delta 6\text{Fad}$  mRNA表达量的检测,另外3尾鱼的组织样品用于脂肪酸的检测。

### 1.3 脂肪酸的提取和分析

脂肪酸样品处理使用HCl-甲醇法,具体步骤参照李松林<sup>[20]</sup>:(1)取湿重1 g左右组织样品,剪碎并放入10 mL离心管中,于冷冻干燥机中冷冻干燥过夜;(2)配制1 N的KOH-甲醇溶液和3N的HCl-甲醇溶液。(3)取100 mg冷冻干燥后的组织样品放入10 mL的脂肪酸处理专用玻璃管中,加入3 mL KOH-甲醇溶液,密封,78℃水浴20min,冷却至室温,然后加入3 mL的HCl-甲醇溶液,密封,78℃水浴20min,冷却至室温,然后加入1 mL的色谱级正己烷,稍振荡,于暗处密封放置过夜。(4)加入1 mL的水使分层,小心取上清于2 mL进样瓶中,用于保存或直接用于检测。

脂肪酸的检测使用HP6890气相色谱仪(Ali-gents Technologies)进行检测,色谱柱为石英毛细管柱(Hewlett Packard, Palo Alto, CA),火焰电离检测器进行检测,按照如下程序升温;柱温首先升温至150℃,1min,然后以15℃/min升至200℃,之后以2℃/min升至250℃。

表1 实验饲料配方以及化学组成(%干物质)

Tab. 1 Formulation and chemical proximate composition of the experimental diets (% dry matter)

| 成分Ingredient   | 饲料Diet |        |        |
|--|--------|--------|--------|
|  | 鱼油组FO  | 亚麻籽油LO | 豆油组SO  |
| 酪蛋白Casein  | 36.80  | 36.80  | 36.80  |
| 明胶Gelatin  | 9.20   | 9.20   | 9.20   |
| 糊精Dextrin  | 28.00  | 28.00  | 28.00  |
| 微晶纤维素MCC   | 3.00   | 3.00   | 3.00   |
| $\alpha$ -淀粉 $\alpha$ -Starch                              | 6.35   | 6.35   | 6.35   |
| 卵磷脂Lecithin  | 2.00   | 2.00   | 2.00   |
| 维生素Vitamin premix <sup>1</sup>                             | 2.00   | 2.00   | 2.00   |
| 无机盐Mineral salt <sup>1</sup>                               | 2.00   | 2.00   | 2.00   |
| 抗氧化剂Antioxidant  | 0.05   | 0.05   | 0.05   |
| 诱食剂Attractant <sup>2</sup>                                 | 0.30   | 0.30   | 0.30   |
| 防霉剂Mold inhibitor <sup>3</sup>                             | 0.10   | 0.10   | 0.10   |
| 氯化胆碱Choline chloride                                       | 0.20   | 0.20   | 0.20   |
| 鱼油Fish oil   | 10.00  | 0.00   | 0.00   |
| 亚麻籽油Linseed oil  | 0.00   | 10.00  | 0.00   |
| 豆油Soybean oil  | 0.00   | 0.00   | 10.00  |
| 总计Total  | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| 营养成分组成(%干物质) Chemical proximate composition (% dry matter) |        |        |        |
| 粗蛋白Crude protein   | 43.38  | 43.95  | 42.57  |
| 粗脂肪Crude lipid   | 11.23  | 12.08  | 11.32  |

注: <sup>1</sup>维生素和无机盐混合物参考严晶<sup>[19]</sup>; <sup>2</sup>诱食剂为甘氨酸:甜菜碱=1:3; <sup>3</sup>防霉剂为富马酸:丙酸钙=1:1

Note: <sup>1</sup>Vitamin premix and Mineral salt according to Yan<sup>[19]</sup>; <sup>2</sup>Attractant compromise 25% Alicyne and 75% Betaine; <sup>3</sup>Mold inhibitor compromise 50% Calcium and 50% Fumaric acid

### 1.4 cDNA合成和实时荧光定量PCR

组织样品在液氮中研磨后,用Trizol法提取mRNA,用NanoDrop-2000光谱仪(Thermo SCIENTIFIC, USA)测定mRNA的浓度和质量,1.2%琼

表2 饲料脂肪酸组成(%总脂肪酸)

Tab. 2 Diet fatty acids composition (% total fatty acid)

| 脂肪酸Fatty acid | 饲料Diet |        |       |
|---------------|--------|--------|-------|
|               | 鱼油组FO  | 亚麻籽油LO | 豆油组SO |
| 14:0          | 5.44   | 0.46   | 0.60  |
| 16:0          | 21.30  | 9.26   | 13.00 |
| 18:0          | 4.54   | 4.82   | 4.54  |
| 20:0          | 0.61   | —      | 0.39  |
| ∑SFA          | 31.89  | 14.54  | 18.53 |
| 16:1n-7       | 5.85   | —      | 0.29  |
| 18:1n-9       | 16.56  | 21.07  | 26.44 |
| 18:1n-7       | 3.16   | —      | —     |
| 20:1n-9       | 2.53   | —      | 0.41  |
| ∑MUFA         | 28.10  | 21.07  | 27.14 |
| 18:2n-6       | 10.16  | 20.31  | 47.92 |
| 20:4n-6       | 0.83   | —      | —     |
| ∑n-6PUFA      | 10.99  | 20.31  | 47.92 |
| 18:3n-3       | 2.04   | 44.08  | 4.76  |
| 20:5n-3(EPA)  | 6.4    | —      | 0.16  |
| 22:6n-3(DHA)  | 8.64   | —      | —     |
| ∑n-3PUFA      | 17.08  | 4.92   | 44.08 |
| n-3/n-6PUFA   | 1.55   | 2.17   | 0.10  |
| ∑n-3LC-PUFA   | 15.04  | —      | 0.16  |
| DHA/EPA       | 1.35   | —      | —     |

注: 较低含量的脂肪酸表中未列出; SFA. 饱和脂肪酸; MUFA. 单不饱和脂肪酸; PUFA. 多不饱和脂肪酸; LC-PUFA. 长链多不饱和脂肪酸; “—”表示未检出

Note: The low level fatty acids are not list on. SFA. Saturated fatty acid; MUFA. Monounsaturated fatty acid; PUFA. Polyunsaturated fatty acid; LC-PUFA. Long chain-Polyunsaturated fatty acid; “—” means not detected

脂糖凝胶电泳检测mRNA的完整性。用Prime Script™ RT试剂盒(TaKaRa, Japan)将提取的mRNA转录成cDNA。其中: 12.5 μL 2×SYBR Premix Ex Taq™ II, 1 μL上游引物(F: TTCGCTTCCTCTGCTGCTATG)(10 μmol/L), 1 μL下游引物(R: CCAGT CACGGTGCTTCTCG)(10 μmol/L), 1 μL cDNA(稀释到80 ng/μL), 9.5 μL的双蒸水, PCR的反应条件为: 95℃ 2min, 1个循环; 95℃ 15s, 60℃ 15s, 72℃ 20s, 40个循环。PCR反应在Eppendorf Mastercycler gradient (Eppendorf, German)中进行。

### 1.5 数据处理分析

实时荧光定量PCR的数据处理采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行计算( $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{目的基因} - \Delta Ct_{内参基因}$ )。结果使用SPSS19.0统计软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA), 当结果达到显著差异( $P < 0.05$ )时, 采用Tukey's检验进行多重比较或t-test, 数据用平均值±标准误表示。

## 2 结果

### 2.1 亚麻籽油和豆油对大黄鱼生长和饲料效率的影响

实验结果表明, 亚麻籽油和豆油替代鱼油显著降低了大黄鱼的增重率、饲料效率和特定生长率( $P < 0.05$ ), 在亚麻籽油和豆油组之间差异不显著( $P > 0.05$ )。亚麻籽油和豆油全替代鱼油降低了大黄鱼的存活率, 豆油组的存活率显著低于鱼油组( $P < 0.05$ ), 亚麻籽油组与鱼油组和豆油组没有显著差异( $P > 0.05$ )。亚麻籽油和豆油替代鱼油造成肝体指数和脏体指数有上升的趋势, 但各组间差异不显著( $P > 0.05$ )(表3)。

### 2.2 大黄鱼肝脏和肌肉中脂肪酸组成

实验结果表明, 亚麻籽油和豆油替代鱼油显著

表3 饲料脂肪酸对大黄鱼生长和饲料利用的影响

Tab. 3 Effects of dietary lipids on growth and feed utilization of large yellow croaker

| 项目Item                  | 饲料脂肪源Dietary lipid source |                          |                          |
|-------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                         | 鱼油FO                      | 亚麻籽油LO                   | 豆油SO                     |
| 初体重Initial weight (g/尾) | 15.45±0.04                | 15.39±0.01               | 15.42±0.01               |
| 终末体重Final weight (g/尾)  | 40.51±0.43 <sup>b</sup>   | 37.86±0.6 <sup>a</sup>   | 37.01±0.59 <sup>a</sup>  |
| 增重率WGR (%)              | 162.29±3.36 <sup>b</sup>  | 146.04 <sup>a</sup> ±4.0 | 139.98±3.60 <sup>a</sup> |
| 饲料效率FER                 | 0.58±0.01 <sup>b</sup>    | 0.53±0.01 <sup>a</sup>   | 0.53±0.02 <sup>a</sup>   |
| 特定生长率SGR (%/d)          | 1.38±0.03 <sup>b</sup>    | 1.29±0.02 <sup>a</sup>   | 1.25±0.02 <sup>a</sup>   |
| 成活率Survival rate (%)    | 82.42±0.40 <sup>b</sup>   | 80.41±0.85 <sup>ab</sup> | 79.76±0.88 <sup>a</sup>  |
| 肝体指数HSI (%)             | 1.24±0.05                 | 1.36±0.21                | 1.78±0.38                |
| 脏体指数VSI (%)             | 6.47±0.28                 | 6.87±0.38                | 7.14±0.31                |

注: 值用平均数±标准误表示, 上标相同字母表示差异不显著( $P > 0.05$ ); 下同

Note: Values represent means ± SEM, the same superscript lowercase letter indicated no significant difference ( $P > 0.05$ ); the same applies below

改变了大黄鱼肝脏和肌肉中的脂肪酸组成。在大黄鱼的肝脏中, 植物油替代鱼油显著降低了饱和脂肪酸(SFA)、20:4n-6(ARA)和n-3LC-PUFA的相对含量( $P<0.05$ ), 但在植物油替代组中没有出现显著差异( $P>0.05$ )。在亚麻籽油替代组(LO)中, 18:3n-3(LNA)的相对含量显著高于鱼油组(FO)和豆油组(SO)( $P<0.05$ ), 而FO组和SO组之间差异不显著( $P>0.05$ )。18:2n-6(LA)和n-6PUFA的相对含量在豆油(SO)组中显著高于FO组和LO组( $P<0.05$ ), FO组显著低于LO组( $P<0.05$ )。单不饱和脂肪酸在各组间没有显著差异( $P>0.05$ )。在大黄鱼肌肉中, LO组和SO组的SFA和n-3LC-PUFA显著低于FO组( $P<0.05$ ), ARA相对含量在SO组显著低于FO组( $P<0.05$ ), LO组和其他2组没有显著差异( $P>0.05$ )。18:2n-6和n-6PUFA在不同处理的肌肉中的相对含量在豆油(SO)组中显著高于FO组和LO组( $P<0.05$ ), FO组显著低于LO组( $P<0.05$ )。18:3n-3的相对含量在FO组中显著低于豆油组和亚麻籽油组( $P<0.05$ ), 豆油组显著低于亚麻籽油组( $P<0.05$ )(表 4)。

对相同处理组中的肝脏和肌肉PUFA相对含量进行分析发现, 在各处理组中, 肌肉中的ARA、

EPA和DHA的相对含量显著高于肝脏( $P<0.05$ )。在鱼油组中, 肌肉的LNA和LA的相对含量要高于肝脏( $P>0.05$ ), 但在亚麻籽油组和豆油组中, 肌肉中的LNA和LA的相对含量要低于肝脏( $P>0.05$ )(图 1)。

### 2.3 亚麻籽油和豆油替代鱼油对 $\Delta 6\text{Fad}$ 基因表达量的影响

亚麻籽油和豆油显著上调了大黄鱼肝脏和肌肉中 $\Delta 6\text{Fad}$ 的基因表达量( $P<0.05$ ), 其表达量在肝脏中分别升高了7.6和6.5倍, 在肌肉中分别上升了2.2和2.8倍。在亚麻籽油和豆油组中没有显著差异( $P>0.05$ )(图 2)。

## 3 讨论

本实验结果显示, 经过10周的养殖实验后, 亚麻籽油组和豆油组的大黄鱼的增重率和特定生长率显著降低, 这表明当亚麻籽油和豆油完全替代鱼油后, 大黄鱼不能很好的利用亚麻籽油和豆油, 从而对其生长产生了不利影响。这与在泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)的研究结果<sup>[21]</sup>不同。高坚等<sup>[21]</sup>的研究结果表明, 当用鱼油、大豆油、玉米油、花生油和棕榈油饲料饲喂泥鳅40d后, 其生长

表 4 饲料脂肪源对大黄鱼肝脏和肌肉脂肪酸组成的影响(%总脂肪酸)

Tab. 4 Effect of dietary lipids on liver and muscle fatty acid composition of large yellow croaker (% total fatty acid)

| 脂肪酸Fatty acid            | 肝脏Liver                 |                         |                          | 肌肉Muscle                |                          |                         |
|--------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
|                          | FO                      | LO                      | SO                       | FO                      | LO                       | SO                      |
| 14:0                     | 2.84±0.14 <sup>b</sup>  | 0.81±0.11 <sup>a</sup>  | 0.85±0.12 <sup>a</sup>   | 3.30±0.16 <sup>b</sup>  | 2.10±0.03 <sup>a</sup>   | 1.94±0.13 <sup>a</sup>  |
| 16:0                     | 24.00±0.51 <sup>b</sup> | 8.97±0.25 <sup>a</sup>  | 10.56±1.57 <sup>a</sup>  | 24.13±0.44 <sup>b</sup> | 18.17±0.03 <sup>a</sup>  | 17.63±0.10 <sup>a</sup> |
| 18:0                     | 8.00±0.49               | 8.24±1.49               | 8.03±1.30                | 6.65±0.26 <sup>ab</sup> | 7.34±0.28 <sup>b</sup>   | 6.35±0.21 <sup>a</sup>  |
| 20:0                     | 0.24±0.01 <sup>b</sup>  | 0.18±0.02 <sup>a</sup>  | 0.23±0.02 <sup>ab</sup>  | 0.42±0.02 <sup>b</sup>  | 0.39±0.02 <sup>ab</sup>  | 0.35±0.02 <sup>a</sup>  |
| ∑SFA <sup>2</sup>        | 35.09±0.26 <sup>b</sup> | 18.21±1.69 <sup>a</sup> | 19.68±2.18 <sup>a</sup>  | 34.50±0.58 <sup>c</sup> | 28.00±0.29 <sup>b</sup>  | 26.26±0.10 <sup>a</sup> |
| 16:1n-7                  | 9.47±0.16 <sup>b</sup>  | 3.64±0.56 <sup>a</sup>  | 3.02±0.60 <sup>a</sup>   | 6.88±0.21 <sup>b</sup>  | 3.83±0.17 <sup>a</sup>   | 3.66±0.18 <sup>a</sup>  |
| 18:1n-9                  | 28.46±0.94 <sup>a</sup> | 37.68±2.86 <sup>b</sup> | 34.79±1.09 <sup>ab</sup> | 22.21±0.45 <sup>a</sup> | 24.31±0.82 <sup>ab</sup> | 26.90±0.99 <sup>b</sup> |
| 18:1n-7                  | 2.74±0.02 <sup>c</sup>  | 1.37±0.05 <sup>a</sup>  | 1.62±0.01 <sup>b</sup>   | 2.79±0.08               | —                        | —                       |
| 20:1n-9                  | 2.00±0.01 <sup>b</sup>  | 0.98±0.06 <sup>a</sup>  | 0.80±0.08 <sup>a</sup>   | 2.25±0.09 <sup>c</sup>  | 1.69±0.02 <sup>b</sup>   | 1.32±0.08 <sup>a</sup>  |
| ∑MUFA <sup>3</sup>       | 42.67±1.00              | 43.67±3.48              | 40.23±1.63               | 34.13±0.55 <sup>b</sup> | 30.54±0.77 <sup>a</sup>  | 32.59±0.16 <sup>b</sup> |
| 18:2n-6(LA)              | 7.16±0.76 <sup>a</sup>  | 14.63±1.59 <sup>b</sup> | 34.25±1.89 <sup>c</sup>  | 7.80±0.23 <sup>a</sup>  | 13.21±0.28 <sup>b</sup>  | 28.09±0.58 <sup>c</sup> |
| 20:4n-6(ARA)             | 0.47±0.05 <sup>b</sup>  | 0.11±0.02 <sup>a</sup>  | 0.13±0.03 <sup>a</sup>   | 0.76±0.09 <sup>b</sup>  | 0.67±0.08 <sup>ab</sup>  | 0.45±0.06 <sup>a</sup>  |
| ∑n-6PUFA <sup>4</sup>    | 7.63±0.78 <sup>a</sup>  | 14.75±1.61 <sup>b</sup> | 34.39±1.93 <sup>c</sup>  | 8.56±0.23 <sup>a</sup>  | 13.87±0.35 <sup>b</sup>  | 28.54±0.53 <sup>c</sup> |
| 18:3n-3(LNA)             | 1.18±0.09 <sup>a</sup>  | 19.25±1.62 <sup>b</sup> | 2.43±0.27 <sup>a</sup>   | 1.34±0.08 <sup>a</sup>  | 14.90±0.42 <sup>c</sup>  | 2.40±0.08 <sup>b</sup>  |
| 20:5n-3(EPA)             | 2.03±0.13 <sup>b</sup>  | 0.16±0.03 <sup>a</sup>  | 0.14±0.02 <sup>a</sup>   | 3.92±0.09 <sup>b</sup>  | 1.60±0.07 <sup>a</sup>   | 1.34±0.09 <sup>a</sup>  |
| 22:6n-3(DHA)             | 2.89±0.37 <sup>b</sup>  | 0.26±0.08 <sup>a</sup>  | 0.16±0.01 <sup>a</sup>   | 6.85±0.46 <sup>b</sup>  | 3.99±0.26 <sup>a</sup>   | 3.01±0.35 <sup>a</sup>  |
| ∑n-3PUFA                 | 6.10±0.53 <sup>a</sup>  | 19.67±1.65 <sup>b</sup> | 2.86±0.12 <sup>a</sup>   | 12.11±0.39 <sup>b</sup> | 20.48±0.34 <sup>c</sup>  | 6.75±0.37 <sup>a</sup>  |
| n-3/n-6PUFA              | 0.81±0.09 <sup>b</sup>  | 1.37±0.18 <sup>c</sup>  | 0.08±0.01 <sup>a</sup>   | 1.42±0.06 <sup>b</sup>  | 1.48±0.04 <sup>b</sup>   | 0.24±0.02 <sup>a</sup>  |
| ∑n-3LC-PUFA <sup>5</sup> | 4.92±0.49 <sup>b</sup>  | 0.41±0.08 <sup>a</sup>  | 0.43±0.15 <sup>a</sup>   | 10.77±0.46 <sup>b</sup> | 5.58±0.31 <sup>a</sup>   | 4.35±0.44 <sup>a</sup>  |
| DHA/EPA                  | 1.41±0.11               | 1.68±0.11               | 1.91±0.66                | 1.75±0.12 <sup>a</sup>  | 2.50±0.13 <sup>b</sup>   | 2.24±0.11 <sup>b</sup>  |

注: “—”表示未检出

Note: “—”means not detected

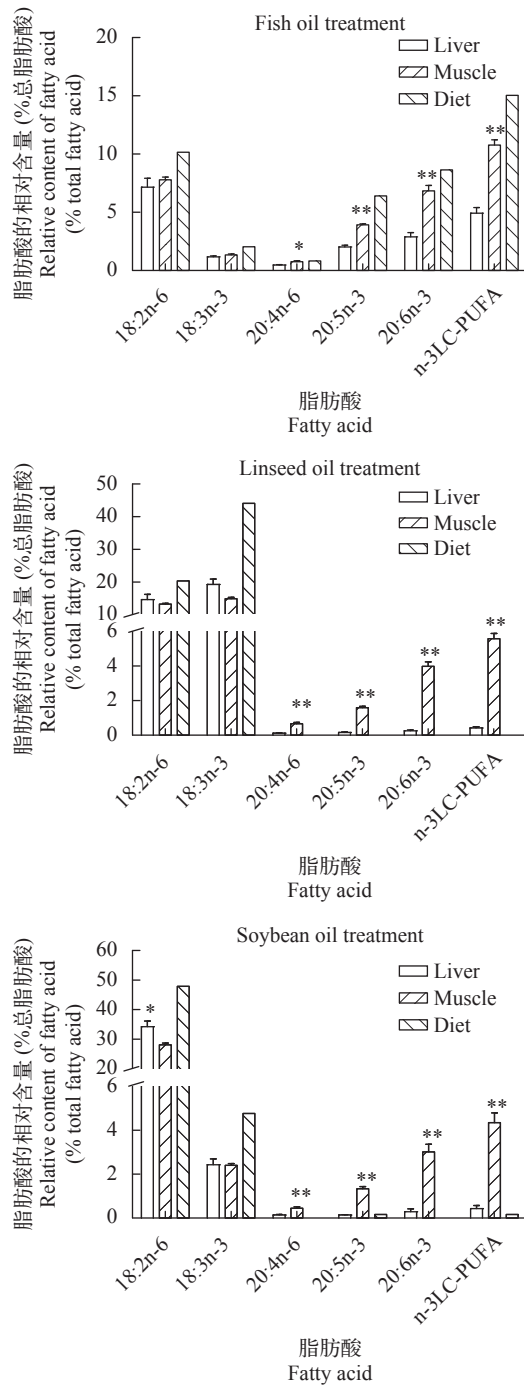


图1 相同处理组中大黄鱼肝脏、肌肉及饲料的脂肪酸组成(%总脂肪酸)

Fig. 1 Fatty acid composition in liver, muscle of large yellow croaker under each diet (% total fatty acid)

数据表示为平均值±标准误( $n=3$ ), “\*”表示差异显著( $P<0.05$ ), “\*\*”表示差异极显著( $P<0.01$ )

Values represent means  $\pm$  SEM ( $n=3$ ), \* indicated significant difference ( $P<0.05$ ), \*\* indicated extremely significant difference ( $P<0.01$ )

性能没有显著差异。彭墨等<sup>[22]</sup>的研究表明,当菜籽油全替代鱼油后,经过92d饲喂,大菱鲂(*Scophthal-*

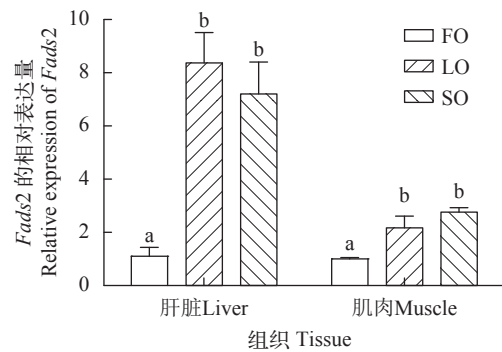


图2 大黄鱼肝脏和肌肉的 $\Delta 6$ Fad基因的表达量

Fig. 2 The gene expression of  $\Delta 6$ Fad of large yellow croaker

上标相同字母表示差异不显著( $P>0.05$ )

Bars with same letters means no significant difference

*mus maximus* L.)幼鱼的终末体重和特定生长率显著降低。出现这种结果的原因可能是因为泥鳅是淡水鱼类,大黄鱼是海水鱼类,而淡水鱼类利用植物油的能力要强于海水鱼类<sup>[23]</sup>。

植物油替代鱼油会影响鱼体脂肪酸组成<sup>[24]</sup>,进而影响鱼体的品质<sup>[25]</sup>和相关代谢。植物油由于不含LC-PUFA,当植物油替代鱼油时会造成鱼体LC-PUFA的含量下降和LC-PUFA相关代谢基因的变化<sup>[26]</sup>。对大黄鱼、虹鳟和鲈的研究表明<sup>[18]</sup>,随着植物油替代鱼油的比例升高,其DHA和EPA的相对含量显著下降。对尖吻鲷(*Diplodus puntazzo*)<sup>[27]</sup>的研究表明,大豆油和亚麻籽油替代鱼油导致了肝脏中LC-PUFA相对含量的下降,对大菱鲂<sup>[22]</sup>、赤点石斑鱼(*Epinephelus akaara*)<sup>[28]</sup>和大西洋鲑(*Salmo salar*)<sup>[29]</sup>的研究也具有同样的结果。本研究通过使用亚麻籽油和豆油完全替代鱼油制备的精制饲料饲喂大黄鱼,结果发现,亚麻籽油和豆油替代鱼油降低了大黄鱼肝脏和肌肉的ARA、EPA和DHA的相对含量,LNA和LA相对含量升高,组织脂肪酸组成反映了饲料脂肪酸组成,与在尖吻鲷<sup>[27]</sup>、虹鳟<sup>[30]</sup>和大黄鱼<sup>[19]</sup>的结果一致。

对肝脏和肌肉在相同处理组中的脂肪酸组成进行分析发现,在所有处理组中,ARA、EPA和DHA在肌肉中的相对含量均显著高于肝脏,但在亚麻籽油组和豆油组中肌肉的LA和LNA的相对含量均低于肝脏,这与鲈的研究结果相一致<sup>[23]</sup>。造成这种现象的原因可能是,一方面,肝脏合成的LC-PUFA可能通过脂肪酸转运途径转运至肌肉中;一方面,肌肉可能利用LNA和LA来合成LC-PUFA;另一方面,肌肉组织是氧化供能的主要组织,而LNA被证明主要被用来进行 $\beta$ 氧化供能<sup>[31]</sup>。

鱼类由于缺乏 $\Delta 12$ 和 $\Delta 15$ 去饱和酶,所以无法

从头合成LC-PUFA, 只能通过摄食饲料中的亚麻酸和亚油酸进行体内合成LC-PUFA,  $\Delta 6\text{Fad}$ 是LC-PUFA合成过程中的关键酶, 饲料中脂肪酸的组成变化会对其基因表达产生影响, 鱼油富含LC-PUFA, 如DHA和EPA, LC-PUFA会抑制 $\Delta 6\text{Fad}$ 基因的表达<sup>[32]</sup>, 相应的, 用不含LC-PUFA的植物油替代鱼油会导致饲料中LC-PUFA含量下降, 则会上调 $\Delta 6\text{Fad}$ 基因的表达<sup>[16-18, 26]</sup>。本研究发现大黄鱼肝脏和肌肉的 $\Delta 6\text{Fad}$ 基因的表达量在豆油组和亚麻籽油组显著升高, 这结果与金头鲷(*Sparus aurata*)<sup>[33]</sup>和大西洋鲑<sup>[26, 34]</sup>的结果相同, 发现随着植物油替代鱼油会上调 $\Delta 6\text{Fad}$ 基因。这表明了饲料脂肪酸的组成的变化会影响机体合成LC-PUFA的能力。对大黄鱼的肝脏和肌肉的 $\Delta 6\text{Fad}$ 基因表达量进行分析发现, 植物油替代鱼油后, 肝脏中 $\Delta 6\text{Fad}$ 基因转录水平的变化较肌肉更为显著, 表明了与肌肉相比, 肝脏能够更敏感地响应饲料脂肪酸, 可能是更为重要的LC-PUFA合成的部位。

综上所述, 豆油和亚麻籽油替代鱼油对鱼类的生长产生了不利影响, 改变了鱼体肌肉和肝脏脂肪酸组成, 降低了LC-PUFA的含量, 但显著上调了 $\Delta 6\text{Fad}$ 基因的表达, 与肌肉组织相比, 肝脏中 $\Delta 6\text{Fad}$ 基因能够更显著的响应组织中脂肪酸的变化。

#### 参考文献:

- [1] Norman S J, Burton L, Hee-Yong K, *et al.* Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system [J]. *Lipids*, 2001, **36**(9): 945—959
- [2] Ans E, Saskia O, Peter L Z, *et al.* Effects of n-3 long chain polyunsaturated fatty acid supplementation on visual and cognitive development throughout childhood: a review of human studies [J]. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2007, **76**: 189—203
- [3] Torrejon C, Jung U J, Deckelbaum R. n-3 fatty acids and cardiovascular disease: actions and molecular mechanisms [J]. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2007, **77**: 319—326
- [4] A Leaf, Kang J X. Prevention of cardiac sudden death by N-3 fatty acids: a review of the evidence [J]. *Journal of Internal Medicine*, 1996, **240**(1): 5—12
- [5] Rebecca W, R Paul R, Gerald F F. Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids [J]. *Nutrition Reviews*, 2010, **68**(5): 280—289
- [6] Philip C C. Immunomodulation by omega-3 fatty acids [J]. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2007, **77**(5-6): 327—335
- [7] Turchini G M, Torstensen B E, Ng W K. Fish oil replacement in finfish nutrition [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2009, **1**(1): 10—57
- [8] Izquierdo M S, Watanabe T, Takeuchi T, *et al.* Requirement of larval red seabream *Pagrus major* for essential fatty acids [J]. *Nippon suisan Gakkaishi*, 1989, **55**(5): 859—867
- [9] Lee S M, Cho S. Influences of dietary fatty acid profile on growth, body composition and blood chemistry in juvenile fat cod (*Hexagrammos otakii* Jordan *et* Starks) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2009, **15**(1): 19—28
- [10] Kanazawa A, Teshima S I, Ono K. Relationship between essential fatty acid requirements of aquatic animals and the capacity for bioconversion of linolenic acid to highly unsaturated fatty acids [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 1979, **63**: 295—298
- [11] Tocher D R, Bell J G, McGhee F, *et al.* Effects of dietary lipid level and vegetable oil on fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) over the whole production cycle [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2003, **29**(3): 193—209
- [12] Li S L, Monroig Ó, Navarro J C, *et al.* Molecular cloning and functional characterization of a putative Elovl4 gene and its expression in response to dietary fatty acid profiles in orange-spotted grouper *Epinephelus coioides* [J]. *Aquaculture Research*, 2015: 1—16002E
- [13] Takayuki Y N, He W S, Tang C R, *et al.* The E-box like sterol regulatory element mediates the suppression of human D-6 desaturase gene by highly unsaturated fatty acids [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2002, **296**: 111—117
- [14] Tocher D R, Dick J R. Polyunsaturated fatty acid metabolism in a cell culture model of essential fatty acid deficiency in a freshwater fish, carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1999, **21**(3): 257—267
- [15] Tocher D R, Bell J G, MacGlaughlin P, *et al.* Hepatocyte fatty acid desaturation and polyunsaturated fatty acid composition of liver in salmonids: effects of dietary vegetable oil [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2001, **130**(2): 257—270
- [16] Leaver M J, Villeneuve L AN, Obach A, *et al.* Functional genomics reveals increases in cholesterol biosynthetic genes and highly unsaturated fatty acid biosynthesis after dietary substitution of fish oil with vegetable oils in Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *BMC Genomics*, 2008, **9**(1): 1
- [17] Zheng X Z, Tocher D R, Dickson C A, *et al.* Highly un-

- saturated fatty acid synthesis in vertebrates: New Insights with the Cloning and Characterization of a  $\Delta 6$  Desaturase of Atlantic Salmon [J]. *Lipids*, 2005, **40**(1): 13—24
- [18] Dong X J. Comparison study on regulation of  $\Delta 6$  fatty acyl desaturase among rainbow trout, Japanese seabass and large yellow croaker [D]. Thesis for Doctor of Science. Ocean University of China, Qingdao. 2015 [董小敬. 虹鳟、花鲈和大黄鱼 $\Delta 6$ 脂肪酸去饱和酶调控差异的研究. 博士学位论文, 中国海洋大学, 青岛. 2015]
- [19] Yan J. Effects of dietary lipid levels and types of fatty acids on lipid deposition in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [D]. Thesis for Doctor of Science. Ocean University of China, Qingdao. 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. 博士学位论文, 中国海洋大学, 青岛. 2015]
- [20] Li S L. The regulation of n-3LC-PUFA on lipid deposition and the expression of fatty acid elongases of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [D]. Thesis for Doctor of Science. Ocean University of China, Qingdao. 2016 [李松林. n-3 LC-PUFA对大黄鱼肝脂沉积及脂肪酸延长酶表达的调控. 博士学位论文, 中国海洋大学, 青岛. 2016]
- [21] Gao J, Li Y, Ye W Z, *et al.* The growth performance and the fatty acid composition of dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus* fry fed with different lipid sources [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2016, **40**(1): 1—9 [高坚, 李洋, 叶伟钊, 等. 不同脂肪源对泥鳅的生长性能及脂肪酸组成的影响. 水生生物学报, 2016, **40**(1): 1—9]
- [22] Peng M, Xu W, Mai K S, *et al.* Growth, fatty acid composition and lipid deposition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) fed diets with fish oil replacement by rapeseed oil [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, **27**(3): 756—765 [菜籽油替代鱼油对大菱鲆幼鱼生长、脂肪酸组成及脂沉积的影响. 动物营养学报, 2015, **27**(3): 756—765]
- [23] Luo L, Xing We, Li T L, *et al.* Growth performance, fatty acid composition, and lipid metabolism in juvenile hybrid sturgeon (*Acipenser schrenck* II brandt♀ $\times$ A. Baeri brandt♂) fed diets of fish oil substituted by various levels of linseed oil [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2017, **41**(5): 1010—1019 [罗琳, 邢薇, 李铁梁, 等. 亚麻油替代鱼油对杂交鲟生长、脂肪酸组成及脂肪代谢的影响. 水生生物学报, 2017, **41**(5): 1010—1019]
- [24] Xu H G, Dong X J, Ai Q H, *et al.* Regulation of tissue LC-PUFA contents,  $\Delta 6$  fatty acyl desaturase (FADS2) gene expression and the methylation of the putative FADS2 gene promoter by different dietary fatty acid profiles in Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) [J]. *PLoS One*, 2014, **9**(1): e87726
- [25] Meng Y Q, Miao X, Sun R J, *et al.* Potential risks of high level replacement of dietary fish meal by canola meal on large yellow croaker *Larimichthys crocea* (RICHARDSON, 1846): growth, health and nutritional values as a food fish [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2017, **41**(1): 127—138 [孟玉琼, 苗新, 孙瑞健, 等. 双低菜粕高水平替代饲料鱼粉对大黄鱼潜在风险的评估: 生长、健康和营养价值. 水生生物学报, 2017, **41**(1): 127—138]
- [26] Zheng X Z, Torstensen B D, Dick J, *et al.* Environmental and dietary influences on highly unsaturated fatty acid biosynthesis and expression of fatty acyl desaturase and elongase genes in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 2005, **1734**(1734): 13—24
- [27] Piedecausa M A, Mazón M J, García B G, *et al.* Effects of total replacement of fish oil by vegetable oils in the diets of sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*) [J]. *Aquaculture*, 2007, **263**(1—4): 211—219
- [28] Wang J T, Jiang Y D, Yang Y X, *et al.* Effects of dietary fish oil replacement by soybean oil on growth performance, body composition and body fatty acid composition of red spotted grouper *Epinephelus akaara* [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2016, **47**(3): 640—646 [王骥腾, 姜宇栋, 杨云霞, 等. 豆油替代鱼油对赤点石斑鱼(*Epinephelus akaara*)生长、体组成及体脂肪酸组成的影响. 海洋与湖沼, 2016, **47**(3): 640—646]
- [29] Bell J G, Tocher D R, Henderson R J, *et al.* Altered fatty acid compositions in atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing linseed and rapeseed oils can be partially restored by a subsequent fish oil finishing diet [J]. *The Journal of Nutrition*, 2003, **133**(9): 2793—2801
- [30] Turchini G M, Francis D S. Fatty acid metabolism (desaturation, elongation and beta-oxidation) in rainbow trout fed fish oil- or linseed oil-based diets [J]. *British Journal of Nutrition*, 2009, **102**(1): 69—81
- [31] Tocher D R, Fonseca-Madrigal J, Bell J G, *et al.* Effects of diets containing linseed oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes in Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *Fish Physiology & Biochemistry*, 2002, **26**(2): 157—170
- [32] Zuo R T. Preliminary study about regulation of dietary fatty acid on immunity and fatty acid metabolism in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [D]. Thesis for Doctor of Science. Ocean University of China, Qingdao. 2013 [左然涛. 饲料脂肪酸调控大黄鱼免疫力和脂肪代谢的初步研究. 博士学位论文, 中国海洋大学, 青岛. 2013]
- [33] Izquierdo M S, Robaina L, Juárez-Carrillo E, *et al.* Regulation of growth, fatty acid composition and delta 6 desatu-

rase expression by dietary lipids in gilthead seabream larvae (*Sparus aurata*) [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2008, **34**(2): 117—127

[34] Kennedy S R, Leaver, M J, Campbell P J, *et al.* Influence

of dietary oil content and conjugated linoleic acid (CLA) on lipid metabolism enzyme activities and gene expression in tissues of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J]. *Lipids*, 2006, **41**(5): 423—436

## THE EFFECTS OF LINSEED OIL AND SOYBEAN OIL ON FATTY ACID COMPOSITION AND $\Delta 6$ FAD GENE EXPRESSION IN LIVER AND MUSCLE OF LARGE YELLOW CROAKER (*LARIMICHTHYS CROCEA*)

LI Jing-Qi, LI Xue-Shan, JI Ren-Lei, XU Wei, MAI Kang-Sen and AI Qing-Hui

(The Key Laboratory of Aquaculture Nutrition and Feed (Ministry of Agriculture) and Key Laboratory of Mariculture (Ministry of Education), Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

**Abstract:** To investigate the effects of linseed oil and soybean oil on fatty acid composition and  $\Delta 6$ Fad gene expression in liver and muscle of large yellow croaker, three defined diets were made with fish oil (FO), soybean oil (SO) and linseed oil (LO) as fat sources for a 10 weeks experiment on floating cages. Results indicated that the weight gain rate, feed efficiency ratio and specific growth rate of FO group was significantly higher than LO group and SO group ( $P < 0.05$ ), and no significant difference in survival rate, *HSI* and *VSI* ( $P > 0.05$ ) were observed among groups. The fatty acid was changed and the relative content of LC-PUFA (Long chain-polyunsaturated fatty acid) reduced significantly ( $P < 0.05$ ) in liver and muscle when fish oil was replaced by linseed oil and soybean oil, but there was no significant difference between linseed oil treatment and soybean oil treatment ( $P > 0.05$ ). The relative content of n-3 LC-PUFA in muscle was more than that of liver ( $P < 0.05$ ). SO and LO induced the  $\Delta 6$ Fad expression 7.6 and 6.5 times in liver and 2.2 and 2.8 times in muscle respectively. Results suggest that the replacement of fish oil by linseed oil and soybean oil had negative effect on fish performance possibly via lipids metabolism.

**Key words:** Large yellow croaker;  $\Delta 6$ Fad; Fatty acid; Linseed oil; Soybean oil