

# 无鱼粉无鱼油饲料喂养下大黄鱼幼鱼个体间生长及相关基因表达差异

刘灵婕<sup>1,2</sup>, 林晓煜<sup>1,2</sup>, 王秋荣<sup>1,2</sup>, 叶坤<sup>1,2</sup>, 王志勇<sup>1,2</sup>

(1. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021; 2. 农业农村部东海海水健康养殖重点实验室, 福建 厦门 361021)

**[摘要]** 为了解大黄鱼个体间对无鱼粉无鱼油饲料的适应性差异, 配制了无鱼粉无鱼油配合饲料对大黄鱼幼鱼(体重 1.75~5.75 g)进行为期 70 d 左右的饲养, 测定不同个体的生长状况、体组织脂肪酸组成, 并用 qRT-PCR 技术检测高度不饱和脂肪酸(highly unsaturated fatty acids, HUFA)合成相关基因表达情况。结果表明: 投喂无鱼粉无鱼油饲料饲养的大黄鱼幼鱼个体生长差异显著, 各组最大个体体重是其同组最小个体的 3~4 倍; 生长快个体肌肉中 EPA 含量较生长慢个体高, 而 DHA 含量则相反( $P < 0.05$ ), 但两者之间  $\Sigma$ HUFA 差异不显著; *Elovl1*、*Elovl5*、*Elovl6* 和  $\Delta 6$ -*Fad* 4 个基因在大黄鱼脑中表达量最高, 其次是肝脏, 在肌肉中表达量则最低; 投喂无鱼粉无鱼油饲料饲养的生长快个体的脑中 *Elovl1* 和  $\Delta 6$ -*Fad*, 肝中 *Elovl5*、 $\Delta 6$ -*Fad* 和 *Elovl1*, 以及胃和肠中 *Elovl1* 的表达量均极显著( $P < 0.01$ )或显著( $P < 0.05$ )高于生长慢个体。这说明大黄鱼不同个体之间营养需求或饲料选择性存在显著差异, 因此, 可通过遗传选育培育出对鱼粉鱼油需求量低的养殖品种。

**[关键词]** 大黄鱼; 鱼粉; 鱼油; 脂肪酸; 生长差异; HUFA 合成基因

**[中图分类号]** S 917.4; Q 785

## Variations in Individual Growth and Related Genes Expression of Juvenile *Larimichthys crocea* Fed with Fish Meal and Fish Oil Free Diet

LIU Lingjie<sup>1,2</sup>, LIN Xiaoyu<sup>1,2</sup>, WANG Qiurong<sup>1,2</sup>, YE Kun<sup>1,2</sup>, WANG Zhiyong<sup>1,2</sup>

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. Key Laboratory of Healthy Mariculture for the East China Sea of Ministry of Agriculture(Jimei University), Xiamen 361021, China)

**Abstract:** This study was conducted to investigate the effect of fish meal and fish oil free formulated diet (FMFOFD) to different individuals on the growth, fatty acid compositions and highly unsaturated fatty acids (HUFA) synthesis related genes expression of juvenile *Larimichthys crocea*. The tested fish(initial weight were 1.75-5.75 g) were divided into six groups by body weight and fed with FMFOFD for 70 d. The results showed that there was a significant difference in the growth of the surviving juvenile fish in each group. The body weight of the maximum individual was 3-4 times of the smallest one, confirming that there was significant difference in nutritional requirements among different individuals. The HUFA content in the muscle of fish fed with

**[收稿日期]** 2020-01-14

**[基金项目]** 海水鱼类产业技术体系专项资金资助项目(CARS-47-G04); 国家科技基础条件平台水产种质资源平台项目(2019DKA30470); 福建省自然科学基金项目(2018J01450); 福建省教育厅中青年教师招聘教育科研项目(JAT170302)

**[作者简介]** 刘灵婕(1996—), 女, 硕士生, 从事鱼类遗传育种研究。通信作者: 王志勇(1963—), 男, 教授, 博导, 研究方向为水产动物遗传育种。E-mail:zywang@jmu.edu.cn

<http://xuebaobangong.jmu.edu.cn/zkb>

FMFOFD was lower than those fed with commercial diet (CMD). In the FMFOFD feeding groups, compared with the slow-growing group, the fast-growing group had higher EPA content and lower DHA content ( $P < 0.05$ ), but there was no significant difference in the  $\Sigma$ HUFA content between the two groups. qRT-PCR was used to compare the expression of several genes related to HUFA synthesis in the brain, liver, stomach, intestine and muscle in fish fed with CMD and FMFOFD. *Elovl1*, *Elovl5*, *Elovl6* and  $\Delta 6$ -*Fad* were expressed the highest in the brain, followed by the liver, and have the lowest expression level in the muscle. Compared with CMD fish, fast-growing individuals fed FMFOFD expressed higher *Elovl1* and  $\Delta 6$ -*Fad* level in the brain, higher *Elovl5* and *Elovl1* in the liver, higher *Elovl1* in the stomach and intestine than slow-growing individuals, suggesting that the growth performance of juvenile large yellow croaker fed with FMFOFD may be related to the differential expression of those genes. The results of this study showed that there were significant differences in nutritional requirements or feed selectivity among different individuals of large yellow croaker. Therefore, it is promising to develop breeding varieties with low demand for fish meal and fish oil through genetic selection.

**Keywords:** *Larimichthys crocea*; fish meal; fish oil; fatty acid; growth variation; HUFA synthesizes related genes

## 0 引言

鱼粉因其蛋白质含量高,氨基酸配比较为均衡,且具适口性好、易于消化吸收等优点,一直以来是鱼类饲料中的优质蛋白原料;鱼油则因富含其他油脂所缺乏的高度不饱和脂肪酸(HUFA),是海水养殖鱼类摄入必需脂肪酸的重要来源。二者在水产养殖产业发展中扮演着重要角色。近年来,随着水产养殖业的迅速发展,传统海水鱼类饲料中高比例鱼油和鱼粉的添加量使得饲料成本大幅提升,直接导致了养殖经济效益的缩减。为了应对鱼粉、鱼油短缺局面以及节约饲料成本,摆脱水产饲料对鱼油、鱼粉的过度依赖,国内外营养学者进行了大量有关鱼类饲料中鱼油鱼粉替代的研究<sup>[1-6]</sup>。

大黄鱼(*Larimichthys crocea*)是我国当前育苗量和养殖量最大的海水经济鱼类,有我国“海水国鱼”之称,研究者也在大黄鱼养殖实验中做了诸多尝试。相关结果表明,利用豆粕、小麦蛋白粉等植物蛋白源,或肉骨粉、血粉等动物蛋白源均可以替代大黄鱼饲料中的部分鱼粉,但替代超过一定水平则会对大黄鱼的生长与健康状态造成较严重的不良影响<sup>[7-11]</sup>。在鱼粉含量不低于45%(基础饲料中鱼粉所占比)的情况下,使用植物油部分替代大黄鱼饲料中的鱼油对大黄鱼生长无显著影响,但会显著影响大黄鱼肌肉脂肪酸组成<sup>[12-13]</sup>。而目前已证实的鱼类HUFA生物合成关键酶主要有 $\Delta 6$ -*Fad*、 $\Delta 5$ -*Fad*、*Elovl5*、*Elovl4*、*Elovl2*等<sup>[14-15]</sup>,推测上述关键酶活力低下或基因表达的缺失可能是造成鱼类自身合成HUFA能力不足的原因。为了解大黄鱼对低鱼粉低鱼油饲料的耐受性和适应程度,本研究利用无鱼油无鱼粉饲料(fish meal and fish oil free diet, FMFOFD)饲养大黄鱼幼鱼,观察和测定了不同个体间生长差异情况、体组织脂肪酸组成,生长差异个体中HUFA合成相关基因表达水平,以期选育出饲料转化率高且节省饲料中鱼油鱼粉用量的大黄鱼品系提供依据和参考资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究饲料的制备

本研究用的无鱼粉无鱼油饲料(配方见表1)是以酪蛋白为蛋白源(河南明瑞化工有限公司,纯度:92%~95%),以大豆油(益海嘉里(安徽)粮油工业有限公司)、亚麻籽油(内蒙古锡林郭勒盟红井源油脂有限责任公司)、猪油(精炼食用猪油,厦门禾昌晟生物科技有限公司)为脂质源配制而成的。所有饲料原料经粉碎后过60目筛,按原料量由少到多逐级混合均匀,待与油脂充分混合后再加水搅拌,使其充分浸透,然后用双螺杆挤条机制作成直径约为2 mm的颗粒饲料,经60℃烘箱烘干1 h,

再待自然风干后封口保存于-20℃冰箱中备用。另外, 对照组采用福建天马科技集团股份有限公司生产的健马牌大黄鱼配合饲料 (commercial diet, CMD, 粗蛋白质量分数为43.38%, 粗脂肪为11.23%) 饲养。

1.2 实验鱼处理

实验用的大黄鱼幼鱼由宁德市金玲水产科技有限公司提供。实验开始前, 先将大黄鱼幼鱼从海上网箱移入室内水泥池 (3 m×3 m×1.5 m) 中暂养1周, 期间投喂健马牌大黄鱼配合饲料进行驯化, 直至能完全摄食配合饲料。按体重大小将幼鱼分成6个不同的实验组后, 移入2 m×1 m×1 m (水深0.8 m) 的小池中进行无鱼粉无鱼油饲料饲养实验; 余下 (未作分选) 的幼鱼作为对照组继续用商品饲料CMD喂养。

1.3 饲养管理和饲养条件

幼鱼暂养驯化和正式实验期间均每天投喂两次 (8:30、15:30), 饲料颗粒大小根据鱼体大小进行调整, 投喂至幼鱼不再摄食则停止投饵。实验期间, 海水的温度为 (25±2)℃, 盐度为30~35, 溶解氧维持在5 mg/L以上, 每天吸污 (换水量为100%)。

1.4 样品采集和处理

饲养实验结束时, 先对实验鱼饥饿处理24 h, 再用丁香酚进行麻醉后才分别测量鱼体重和体长。剪取每尾大黄鱼的胸鳍, 置于95%的酒精中, -20℃保存, 用于DNA的提取; 解剖鱼体取脑、肝脏、胃、肠和肌肉组织, 置于RNA保护液中, -80℃保存, 用于RNA的提取; 取内脏团、肌肉和肝脏组织, 分别用锡箔纸包好后用自封袋封装, -20℃保存, 用于日后营养成分分析。

1.5 样品测定及数据分析

样品的粗蛋白含量采用凯氏定氮法测定, 粗脂肪采用Folch 氯仿-甲醇法<sup>[16]</sup>测定。组织样品中脂肪酸含量的测定方法为: 将提取的总脂肪, 采用三氟化硼进行脂肪酸甲酯化, 然后用安捷伦7850气相色谱仪对脂肪酸进行分析。仪器条件设置为: 前进样口250℃; 柱箱250℃; 柱流量1.25 mL/min; 进样量1 μL; 分流比为50:1。梯度升温程序为: 50℃, 2 min; 再5℃/min, 从50℃上升到270℃; 270℃, 2 min。采用面积归一法进行脂肪酸含量的定量分析。

1.6 荧光定量PCR

无鱼粉无鱼油饲料喂养的实验组生长快个体、生长慢个体和以普通饲料喂养的对照组大黄鱼各10尾, 分别取其脑、肝、肌肉、胃、肠组织样品进行分析。

1) RNA的提取。RNA提取试剂盒购买自北京全式金生物技术有限公司。取50 mg左右组织进行总RNA的提取, 1%琼脂糖凝胶电泳检测其完整性后用超微量分光光度计测定RNA最终浓度及纯度。

2) qRT-PCR反应。用DNase I对提取的大黄鱼RNA样品进行处理后, 用逆转录试剂盒GoScript™ Reverse Transcription System (Promega, USA) 进行下一步的处理。PCR反应程序为: 25℃, 5 min; 42℃, 90 min; 70℃, 15 min。反应结束后置于-80℃保存备用。

3) 引物设计与合成。根据已经发表的大黄鱼基因序列, 设计特异性引物, 以β-actin为内参基因。所有引物 (见表2) 均由北京华大基因有限公司合成。

表1 饲料配方与营养组成		
Tab.1 Formulation and proximate compositions of experimental diet for large yellow croaker		
饲料成分 Ingredients		质量分数 Mass fraction/%
酪蛋白 Casein protein		40.0
小麦粉 Wheat flour		20.0
明胶 Gelatin		10.0
预糊化淀粉 Pregelatinized strach		8.5
猪油 Lard oil		6.0
亚麻籽油 Linseed oil		4.0
大豆油 Soybean oil		2.0
多维 Multivitamin		2.0
多矿 Multimineral		2.0
磷酸二氢钙 Monocalcium phosphate		2.0
氯化胆碱 Choline chloride		2.0
硫代甜菜碱 Dimethylpropiothetin		0.5
牛磺酸 Taurine		1.0
粗蛋白 Crude protein		46.16
粗脂肪 Crude fat		13.81
粗灰分 Crude ash		5.60

表 2 本研究使用的 qRT-PCR 引物序列和退火温度  
Tab.2 Sequence and annealing temperature of the primes for qRT-PCR

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence	退火温度 Annealing temperature
<i>Fad6-F</i>	5'- TTCGCTTCCTCTGCTGCTATG-3'	58 ℃
<i>Fad6-R</i>	5'- CCAGTCACGGTGCTTCTCG-3'	
<i>Elovl1-F</i>	5'- GTCTCCATTACATCAGCCAGT-3'	60 ℃
<i>Elovl1-R</i>	5'- GCACATTCCTCCAGGT-3'	
<i>Elovl5-E</i>	5'- ATCACCTTCCTTCACATCTATCACC-3'	59 ℃
<i>Elovl5-R</i>	5'- GAGGCACCGAAGTACGAATGG-3'	
<i>Elovl6-F</i>	5'-TCACCGTGCTGCTCTACTCCT -3'	60 ℃
<i>Elovl6-R</i>	5'-TGGACAGCGCACCTCATGCATC -3'	

PCR 反应体系共包含正向引物（10 μmol/L）0.5 μL，反向引物（10 μmol/L）0.5 μL，大黄鱼 cDNA 模板 4 μL，SYBR Green Realtime PCR Master Mix I Gene 10 μL，SYBR Green Realtime PCR Master Mix II H2O Grade 5 μL。反应条件为：95 ℃ 10 min；95 ℃ 20 s，各基因退火温度 20 s，72 ℃ 25 s（45 个循环）；81 ℃ 荧光采集 5 s。熔解曲线的反应条件为：95 ℃ 15 s，60 ℃ 1 min，95 ℃ 15 s。反应结束后，由罗氏定量 PCR 仪系统自带软件绘制基因的溶解曲线和计算扩增效率，分析获得各个样品的  $C_p$  值，并采用  $2 - \Delta\Delta C_T$  法以  $\beta$ -actin 的表达量来对样品进行标准化数据处理。基因表达水平等于各组织表达平均值  $\pm$  各组织表达标准误差平均值（mean  $\pm$  mean of standard error,  $M \pm SEM$ ）。

1.7 数据分析

数据采用 SPSS 17.0 进行统计处理，结果用平均值  $\pm$  标准差（Means  $\pm$  SD）表示。对数据进行单因素方差分析（one-way ANOVA），显著性水平为 0.05，若差异显著用 LSD 法进行多重比较。

2 结果

2.1 无鱼粉无鱼油饲料饲养的大黄鱼的生长与存活率

用无鱼粉无鱼油饲料喂养的大黄鱼的生长和存活情况见表 3。其中第 2 组（初始体重为 2.00 ~ 2.25 g）由于在实验期间受到病害感染，在实验开始的第 40 天出现大量死亡，至第 42 天全部死亡。由表 3 可见，用无鱼粉无鱼油饲料喂养的大黄鱼幼鱼仍有部分个体能够正常存活并以较快的速度生长。各组内幼鱼的初始体重差异不大，最大个体与最小个体体重差别不超过 10%，但结束时则体重差异很大，当时间超过 60 d 后，各组最大个体体重均达到最小个体的 3 倍以上，其中 1、3、6 三组最大个体体重均达到最小个体的 4.2 倍以上（见表 3）。

除实验组 2 之外的其他实验组均有观察到部分实验鱼因不能适应实验饲料而陆续死亡，这些死亡个体并未发现被病原体感染的症状，解剖可以观察到其肝脏与正常肝脏组织相比颜色较白且易碎。实验结束时对部分鱼进行解剖，发现生长快的个体外部形态与内部构造都正常，与用普通商品饲料喂养的个体无异，但生长最慢（尤其是第 6 组中最终体重比初始体重还小）的个体，尽管外部形态看不到明显异常，但其肝脏也出现明显的发白、易碎症状。

2.2 无鱼粉无鱼油饲料饲养的大黄鱼的肌肉脂肪酸组成

实验组 4（初始体重 4.25 ~ 4.75 g）中生长速度不同的 3 类个体的肌肉脂肪酸组成与含量见表 4。从表 4 中可见，用商品饲料饲养的大黄鱼的肌肉中  $\Sigma SFA$  和  $HUFA$  的含量显著高于用无鱼粉无鱼油饲料饲养的大黄鱼（ $P < 0.05$ ），而  $\Sigma PUFA$  含量则显著低于无鱼粉无鱼油组（ $P < 0.05$ ）。用无鱼粉无鱼油饲料饲养的大黄鱼生长快个体肌肉中， $\Sigma MUFA$ 、 $HUFA$  含量和  $DHA/EPA$  比例低于生长慢及中等个体； $DHA$  含量显著低于生长慢及中等个体（ $P < 0.05$ ）；而  $\Sigma PUFA$  含量则较高，其中  $EPA$  含量显著高于生长慢个体（ $P < 0.05$ ）。



表 3 大黄鱼幼鱼生长与存活结果

Tab.3 Growth and survival rate of large yellow croaker fed with fish meal and fish oil free diet

组 别 Group	1	2	3	4	5	6
初始体重 $W_i$ (均重 $W_{IA} \pm$ 标准差)/g Initial weight (average weight $\pm$ SD)	1.75 ~ 2.00 (1.88 $\pm$ 0.053)	2.00 ~ 2.25 (2.12 $\pm$ 0.003)	2.25 ~ 2.50 (2.37 $\pm$ 0.003)	4.25 ~ 4.75 (4.49 $\pm$ 0.014)	4.75 ~ 5.25 (5.03 $\pm$ 0.062)	5.25 ~ 5.75 (5.51 $\pm$ 0.012)
实验起始日期 Experimental start date	20170518	20170518	20170518	20170504	20170504	20170504
实验结束日期 Experimental end date	20170727	20170628	20170728	20170708	20170706	20170707
实验持续时间 $D$ Duration of experiment/d	70	42	71	65	63	64
初始尾数 $N_i$ /尾 Starting nuber/ind	400	650	400	164	145	166
存活尾数 $N_s$ /尾 Survival number/ind	329	76	227	127	54	63
存活率 $R_s$ Survival percent/%	82.30	11.70	56.75	77.44	37.24	37.95
终末体重 $W_E$ Ending weight range/g	1.90 ~ 8.87	1.78 ~ 3.24	2.61 ~ 11.64	4.32 ~ 14.15	4.87 ~ 13.65	3.84 ~ 16.45
终末均重 $W_{EA}$ Ending average weight /g	4.11 $\pm$ 0.48	2.35 $\pm$ 0.17	5.58 $\pm$ 0.16	8.04 $\pm$ 0.60	7.98 $\pm$ 0.98	8.10 $\pm$ 0.68
特定生长率 $R_{SG}$ Specific growth rate /(% $\cdot$ d <sup>-1</sup> )	1.11	0.25	1.21	0.89	0.73	0.60

说明 Note:  $R_{SG} = (\ln W_{EA} - \ln W_{IA}) / D \times 100\%$ 。

表 4 大黄鱼肌肉脂肪酸组成

Tab.4 Fatty acid composition in the muscle of large yellow croaker fed with experimental diets

脂肪酸 Fatty acid	无鱼粉鱼油饲料 FMFOFD	商品饲料组大黄鱼 Large yellow croaker fed with CMD	无鱼粉鱼油组大黄鱼 Large yellow croaker fed with FMFOFD		
			生长快个体 Maximal individual	生长慢个体 Minimal individual	中等体重个体 Intermediate individual
C14:0	0.46 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	2.75 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>	2.07 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	2.30 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	2.19 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
C16:0	14.06 $\pm$ 0.39 <sup>c</sup>	21.16 $\pm$ 1.43 <sup>a</sup>	17.05 $\pm$ 0.20 <sup>b</sup>	17.12 $\pm$ 0.35 <sup>b</sup>	17.89 $\pm$ 0.23 <sup>b</sup>
C18:0	6.73 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	5.16 $\pm$ 0.16 <sup>c</sup>	5.52 $\pm$ 0.29 <sup>b</sup>	5.90 $\pm$ 0.35 <sup>ab</sup>	6.47 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>
$\Sigma$ SFA	22.67 $\pm$ 0.86 <sup>d</sup>	29.14 $\pm$ 1.36 <sup>a</sup>	24.65 $\pm$ 0.41 <sup>c</sup>	25.32 $\pm$ 0.27 <sup>c</sup>	26.54 $\pm$ 0.24 <sup>b</sup>
C16:1	0.44 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	6.02 $\pm$ 1.47 <sup>a</sup>	4.63 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	5.72 $\pm$ 0.23 <sup>ab</sup>	5.13 $\pm$ 0.33 <sup>ab</sup>
C18:1	2.68 $\pm$ 0.35	2.44 $\pm$ 0.13	1.82 $\pm$ 0.36	2.20 $\pm$ 0.19	3.25 $\pm$ 0.96
C20:1	0.52 $\pm$ 0.20 <sup>c</sup>	1.57 $\pm$ 0.10 <sup>d</sup>	2.05 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	2.45 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	2.13 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>
C24:1	0.04 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	0.59 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	0.76 $\pm$ 0.03 <sup>bc</sup>	1.10 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	0.87 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>
$\Sigma$ MUFA	3.69 $\pm$ 0.31 <sup>c</sup>	10.62 $\pm$ 1.34 <sup>ab</sup>	8.65 $\pm$ 0.29 <sup>b</sup>	11.02 $\pm$ 0.45 <sup>ab</sup>	11.38 $\pm$ 1.02 <sup>a</sup>
C18:2n-6	17.11 $\pm$ 1.81 <sup>a</sup>	7.20 $\pm$ 3.16 <sup>c</sup>	17.15 $\pm$ 0.47 <sup>a</sup>	14.03 $\pm$ 1.54 <sup>b</sup>	14.00 $\pm$ 2.56 <sup>b</sup>
C18:3n-3	32.64 $\pm$ 3.36 <sup>a</sup>	16.47 $\pm$ 0.99 <sup>c</sup>	27.36 $\pm$ 0.54 <sup>b</sup>	26.01 $\pm$ 0.68 <sup>b</sup>	24.61 $\pm$ 1.18 <sup>b</sup>
C20:4n-6	4.97 $\pm$ 1.35 <sup>a</sup>	2.15 $\pm$ 0.37 <sup>b</sup>	1.25 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup>	1.39 $\pm$ 0.44 <sup>b</sup>	1.53 $\pm$ 0.75 <sup>b</sup>
C20:5n-3 (EPA)	0.15 $\pm$ 0.06 <sup>d</sup>	4.57 $\pm$ 0.28 <sup>a</sup>	3.27 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	2.86 $\pm$ 0.11 <sup>c</sup>	3.25 $\pm$ 0.30 <sup>b</sup>
C22:6n-3 (DHA)	0.21 $\pm$ 0.05 <sup>d</sup>	12.90 $\pm$ 0.93 <sup>a</sup>	5.78 $\pm$ 0.12 <sup>c</sup>	6.49 $\pm$ 0.17 <sup>b</sup>	6.70 $\pm$ 0.36 <sup>b</sup>
C22:5n-3	0.04 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	1.43 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	0.76 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	0.92 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.90 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>
$\Sigma$ PUFA	55.12 $\pm$ 3.80 <sup>a</sup>	44.71 $\pm$ 2.07 <sup>b</sup>	55.57 $\pm$ 0.64 <sup>a</sup>	50.84 $\pm$ 0.84 <sup>a</sup>	50.56 $\pm$ 1.86 <sup>a</sup>
$\Sigma$ n-3	33.69 $\pm$ 3.13	31.09 $\pm$ 0.94	33.90 $\pm$ 0.64	31.02 $\pm$ 8.62	33.08 $\pm$ 1.56
HUFA	5.36 $\pm$ 1.37 <sup>d</sup>	21.04 $\pm$ 1.52 <sup>a</sup>	11.06 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	11.94 $\pm$ 0.24 <sup>bc</sup>	12.33 $\pm$ 0.30 <sup>b</sup>
DHA/EPA	1.91 $\pm$ 1.47 <sup>b</sup>	2.83 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	1.78 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	2.30 $\pm$ 0.11 <sup>ab</sup>	2.16 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>
DHA + EPA	0.36 $\pm$ 0.06 <sup>d</sup>	17.46 $\pm$ 1.06 <sup>a</sup>	9.05 $\pm$ 0.57 <sup>c</sup>	9.19 $\pm$ 0.61 <sup>bc</sup>	9.95 $\pm$ 0.58 <sup>b</sup>

2.3 大黄鱼 HUFA 合成相关基因的表达水平

用实时荧光定量 PCR 技术检测了无鱼粉无鱼油饲料喂养的第 4 组（4.25 ~ 4.75 g）中极大（生长快）、极小（生长慢）个体和以普通饲料喂养的对照组大黄鱼脑、肝、肠、胃和肌肉中 $\Delta$ -6*Fad*、*Elovl1*、*Elovl5*、*Elovl6* 四个与 HUFA 合成相关基因的表达情况。

2.3.1  $\Delta$ 6-*Fad* 基因

大黄鱼  $\Delta$ 6-*Fad* 各组织表达结果如图 1 所示。其主要在脑和肝脏中表达，而以脑中表达量较多，在肠中也有痕量表达，在胃与肌肉中未检测到其表达。与商品饲料饲养的大黄鱼（对照组）相比，无鱼粉无鱼油饲料饲养的大黄鱼幼鱼，生长快个体的  $\Delta$ 6-*Fad* 的表达量显著升高，尤其是在脑中表达量约为对照组的 5.5 倍（ $P < 0.05$ ），肝脏中  $\Delta$ 6-*Fad* 的表达量约为对照组的 1.8 倍（ $P > 0.05$ ）；生长慢的个体  $\Delta$ 6-*Fad* 的表达量也比对照组高，但在脑和肠中的表达水平与对照组差异不显著（ $P > 0.05$ ），在肝脏中的表达水平与对照组差异显著（ $P < 0.05$ ）。无鱼粉无鱼油饲料饲养的大黄鱼幼鱼生长快与生长慢的个体相比，前者脑中  $\Delta$ 6-*Fad* 的表达量约为后者的 3.3 倍，差异显著（ $P < 0.05$ ）；在肝中的表达量生长快的则略低于生长慢的个体，但差异不显著（ $P > 0.05$ ）。

2.3.2 *Elovl5* 基因

大黄鱼各组织 *Elovl5* 的表达量如图 2 所示。其在脑、肝脏、胃、肠和肌肉中都有表达。商品饲料饲养的大黄鱼以脑中表达量较高，其次是肝、胃、肠，肌肉中表达量最少。与对照组大黄鱼相比，无鱼粉无鱼油饲料饲养的大黄鱼幼鱼，生长快的个体肝脏与肌肉中 *Elovl5* 的表达量都显著升高（提高到 2 倍以上， $P < 0.05$ ），胃与肠中的表达量也有升高但差异不显著（ $P > 0.05$ ），脑中 *Elovl5* 的表达量则与对照组基本一致，其表达量大小顺序是：肝 > 脑 > 胃 > 肠 > 肌肉；而生长慢的个体检测的 5 个组织中 *Elovl5* 的表达量都高于对照组，其中以胃中升高最显著（ $P < 0.01$ ），肝和肌肉中升高的幅度也达到显著水平（ $P < 0.01$ ），脑和肠中的表达水平虽比对照组高但差异不显著（ $P > 0.05$ ），其表达量大小顺序是：脑 > 肝 > 胃 > 肌肉 > 肠。无鱼粉无鱼油饲料饲养的大黄鱼幼鱼生长快与生长慢的个体相比，前者以肝脏中表达量最高且两者之间差异显著（ $P < 0.05$ ），后者则是脑中的表达量最高。

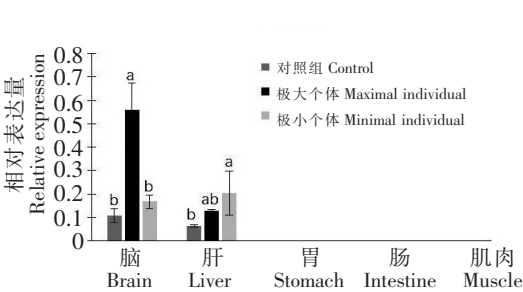


图 1 无鱼粉无鱼油饲料饲养的大黄鱼极大与极小个体  $\Delta$ 6-*Fad* 基因的相对表达量

Fig.1 Tissue expression of  $\Delta$ 6-*Fad* in large yellow croaker minimax individual fed with FMFOFD

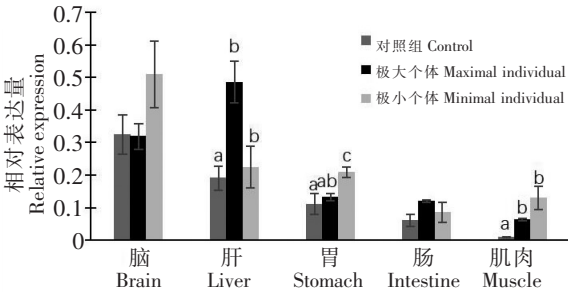


图 2 无鱼粉无鱼油饲料饲养的大黄鱼极大与极小个体 *Elovl5* 基因的相对表达量

Fig.2 Tissue expression of *Elovl5* in large yellow croaker minimax individual fed with FMFOFD

2.3.3 *Elovl6* 基因

大黄鱼各组织 *Elovl6* 基因的表达量见图 3。其在脑、肝脏、胃、肠和肌肉中都有表达，但表达量都很低。与对照组相比，无鱼粉无鱼油饲料饲养的大黄鱼幼鱼各组织中 *Elovl6* 基因的表达量均显著升高（ $P < 0.05$ ），除肌肉组织外，其他各组织中的升高幅度都达到 20 倍以上，特别是在脑和肝脏中的表达量很高。尤其是生长快的个体，肝脏与脑中 *Elovl6* 的表达量均高于生长慢个体，其中肝脏中两者之间的差异显著（ $P < 0.05$ ）。生长快个体 *Elovl6* 的表达量大小顺序是：肝 > 脑 > 胃 ≈ 肠 > 肌肉，以肝脏表达量最高；而生长慢的个体 *Elovl6* 表达量大小顺序则是：脑 > 肝 > 胃 ≈ 肠 > 肌肉，以脑中表达量最高。

2.3.4 *Elov1* 基因

大黄鱼各组织 *Elov1* 基因表达量如图 4 所示,其在脑、肝脏、胃、肠和肌肉中都有表达。对照组大黄鱼 *Elov1* 基因以脑中表达量最高,其次是肝脏、肠、肌肉,胃中表达量最低。与对照组相比,无鱼粉无鱼油饲料饲养的大黄鱼幼鱼除了肌肉以外其余 4 种组织中 *Elov1* 基因的表达量都有不同程度的升高:生长快的个体脑中 *Elov1* 的表达量升高到 3 倍以上,胃中的表达量升高 20 倍以上,肠中表达量升高的幅度也达到显著性差异水平 ( $P < 0.05$ ),肝脏的表达量也有明显升高但与对照组差异不显著;生长慢个体各组织(肌肉除外) *Elov1* 的表达量虽有升高,但与对照组比较差异都不显著 ( $P > 0.05$ )。

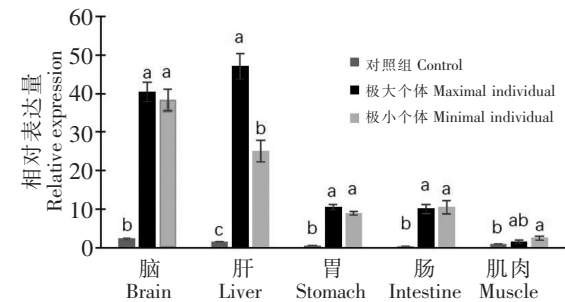


图 3 无鱼粉无鱼油饲料饲养的大黄鱼极大与极小个体 *Elov6* 基因的相对表达量

Fig.3 Tissue expression of *Elov6* in large yellow croaker minmax individual fed with FMFOFD

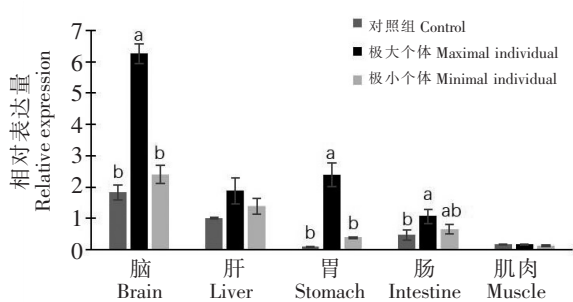


图 4 无鱼粉无鱼油饲料饲养的大黄鱼极大与极小个体 *Elov1* 基因的相对表达量

Fig.4 Tissue expression of *Elov1* in large yellow croaker minmax individual fed with FMFOFD

3 讨论

3.1 无鱼油无鱼粉饲料对不同大黄鱼幼鱼生长和存活的影响

本研究对体重介于 1.75 ~ 5.75 g 的 1925 尾大黄鱼幼鱼,进行了无鱼粉无鱼油饲料喂养实验,其中第 2 组 (2.00 ~ 2.25 g) 幼鱼在饲养至第 6 周时突然暴发严重的细菌性疾病而大量死亡,至第 42 天存活个体只剩下 11.7% 且活力明显不佳,因而提前中断该组实验。其余各组经过 9 ~ 10 周实验,都得到了相似的结果,即:各组都有部分幼鱼因为不能适应所用的饲料而死亡,死亡的个体肝脏普遍发生了明显的病变;各组存活的个体变得大小差异很大,各组最大个体体重是同组最小个体的 2.8 倍至 4.6 倍 (见表 3);有些个体几乎完全没有生长,甚至实验结束时体重比实验初始时还小,这些生长慢或没生长甚至负生长的个体肝脏也呈贫血状,色淡、易碎,产生了异常,而生长快的个体则肝脏形态和颜色都表现正常。即使是中途中断了实验的第 2 组,第 42 天时仍存活的个体之间大小也出现显著的差异,最大最小个体间体重差别 (极差) 已由实验起始时的 0.25 g 扩大为 1.46 g,最大与最小个体间的体重比由 1.125 (2.25 g/2.00 g) 上升为 1.82 (3.24 g/1.78 g)。

上述结果说明,同样的饲料对不同的个体饲养的效果是不一样的,大黄鱼不同个体之间对无鱼粉无鱼油饲料的适应性差异是非常大的。造成这种差异的原因,可能与不同个体间的营养感知<sup>[16]</sup>、对特定饲料的消化吸收能力 (即饲料转化率),以及长链多不饱和脂肪酸和高不饱和脂肪酸的合成能力等因素有关,也与个体间食物偏好性和营养需求差异有关<sup>[17]</sup>。鱼粉和鱼油是构成大黄鱼配合饲料成本的主要部分,随着养殖业发展,鱼粉和鱼油供应不足在未来可能成为制约肉食性海洋水产动物养殖规模进一步扩大的因素。从本研究的结果看,利用养殖对象个体之间的遗传差异,选育出对鱼粉鱼油需求量低,甚至完全不需要添加鱼粉鱼油的“耐粗饲”品系,从而降低养殖成本,减少对鱼油鱼粉的需求,这是完全可能的,并具有巨大的意义,值得引起充分重视。本研究也提示鱼类 (及其他肉食性水产动物) 营养与饲料研究者,在进行营养与饲料的相关研究时,需要充分考虑研究对象群体及个体之间的遗传差异。

### 3.2 无鱼粉无鱼油饲料对大黄鱼幼鱼肌肉脂肪酸组成的影响

与对照组大黄鱼脂肪酸组成相比较,可以发现摄食无鱼粉无鱼油饲料大黄鱼肌肉的  $\Sigma$ SFA、 $\Sigma$ HUFA、DHA、EPA、AA 含量明显较低,  $\Sigma$ PUFA 含量较高,但  $\Sigma$ MUFA 含量变化不明显。这与李经奇等<sup>[12]</sup>用亚麻籽油和豆油替代鱼油对大黄鱼肌肉脂肪酸组成影响的研究结果一致。一般鱼体的脂肪酸组成与饲料的脂肪酸组成正相关,摄食无鱼粉无鱼油饲料大黄鱼幼鱼鱼体中 PUFA 含量高的原因与饲料中使用亚麻籽油和大豆油替代鱼油有关。亚麻籽油中含有丰富的 LA、ARA、ALA,导致实验鱼体中的 LA、ARA 含量明显升高,这在大菱鲆<sup>[18]</sup>的亚麻籽油替代鱼油的实验中也得到证实。

在脊椎动物中 HUFA 的生物合成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 LA 和 ALA 合成为 DHA 和 EPA 等高度不饱和脂肪酸<sup>[19]</sup>。海水鱼类的高不饱和脂肪酸合成调控机制与大多数脊椎动物一致。但不同鱼类的 HUFA 合成能力差异明显,一般认为淡水鱼类和溯河洄游的鲑鳟鱼类能够依靠自身的作用将 LA 和 ALA 转化为 HUFA,而在对海水鱼类如真鲷、大菱鲆等 HUFA 合成机制的研究中发现,由于关键性的去饱和酶活性较低或极低,使其将 LA 和 ALA 转化为 HUFA 的效率极低而不能满足自身需要<sup>[20-21]</sup>。另外,海水鱼的天然食物中富含 HUFA,不需要自身额外合成,导致相关 HUFA 合成基因的表达量降低、功能退化甚至消失<sup>[22-23]</sup>,推测这是导致摄食无鱼粉无鱼油饲料大黄鱼鱼体 EPA、DHA 等 HUFA 明显低于对照组的原因。同时对 4.25~4.75 g 组内大黄鱼体重极端大和极端小的个体脂肪酸含量的相互比较也可以发现,大黄鱼生长较快的个体中 ALA、ARA 和 PUFA 含量均明显高于生长较慢个体,提示脂肪酸的吸收利用效率与大黄鱼的生长密切相关,但饲料中缺乏 HUFA 的情况是否在一定程度上激发了大黄鱼自身的 HUFA 合成能力,还需要结合大黄鱼 HUFA 合成相关基因的表达情况作进一步探讨。

### 3.3 无鱼粉无鱼油饲料对生长差异大黄鱼幼鱼 HUFA 合成相关基因表达的影响

本研究采用荧光定量 PCR 方法,对摄食无鱼粉无鱼油饲料生长快和生长慢的大黄鱼,以及摄食商品饲料大黄鱼组织中的 4 种脂肪酸合成酶基因表达情况进行了比较分析,结果显示 4 个基因在摄食无鱼粉无鱼油饲料大黄鱼幼鱼特定组织中的表达量都有不同程度的提高,特别是生长快的个体其  $\Delta 6$ -Fad 和 Elovl5 表达水平的升高较显著,这与李经奇等<sup>[12]</sup>的研究结果一致。在有关海水鱼类  $\Delta 6$ -Fad 的营养调控研究<sup>[24]</sup>中发现,金头鲷 (*Sparus aurata*)  $\Delta 6$ -Fad 的两种转录本都被富含 HUFA 的饲料所抑制;相反,用菜籽油和豆油完全替代鱼油饲喂金头鲷幼鱼,不仅显著提高了鱼体的 18:2n-9 和 18:3n-6 含量,而且  $\Delta 6$ -Fad mRNA 的表达量也提高了 6 倍。在对大西洋鲑 (*Salmo salar*) 的研究<sup>[25]</sup>中发现,大豆油组鱼肝细胞  $\Delta 5$ -Fad 和  $\Delta 6$ -Fad 基因的相对表达量均显著高于鱼油组<sup>[31]</sup>, $\Delta 6$ -Fad 是鱼类 HUFA 生物合成的第一限速酶<sup>[26]</sup>,提示富含十八碳脂肪酸的植物油可能比富含 DHA 和 EPA 的鱼油更能促进鱼体对特定脂肪酸如 HUFA 的去饱和过程。

Elovl5 碳链延长酶基因在海水鱼类中广泛存在,在从 C18 至 C20 PUFA 合成中碳链的延长酶发挥重要作用,且一般认为海水鱼中 Elovl5 的活性较高。有研究<sup>[27]</sup>表明 n-3HUFA 对大黄鱼 Elovl5 和 Elovl4 基因的表达有抑制作用。本研究的商品饲料中由于添加了大量鱼粉和鱼油,含有充足的 HUFA 可供直接吸收利用,不需要鱼类自身合成,因此对照组中这些基因的表达量较低,而实验组中 HUFA 合成相关基因的表达量上升也证实了大黄鱼自身具有一定的 HUFA 合成能力,且相关基因受外界营养条件的影响和调控。

此外,本研究的结果显示摄食无鱼粉无鱼油饲料大黄鱼幼鱼组织中 Elovl1 和 Elovl6 的表达量也显著上升。目前海水鱼类研究较多的是 Elovl5、Elovl2 等延长酶基因,关于 Elovl1 和 Elovl6 的报道甚少。Elovl1 主要催化形成 C12:0、C14:0、C16:0<sup>[28]</sup>,Elovl6 在 C18:0 和 C18:1 的催化生成中起重要作用<sup>[29]</sup>。本研究在无鱼粉无鱼油饲料中延长酶的作用底物充足,因此 Elovl1 和 Elovl6 基因表达量显著增加,进一步证实了营养条件会影响 HUFA 合成基因的表达,相关基因的表达又促进了鱼类对特定脂肪酸的吸收利用。上述基因表达模式的差异可能与实验鱼个体出现的生长差异密切相关,但是否是



引起鱼体生长差异的主要原因以及其作用机理如何,后续需要利用基因组学结合分子生物学手段加以深入研究。

## 4 结论

本研究以混合油脂( $m$ (大豆油): $m$ (亚麻籽油): $m$ (猪油)=2:1:1)替代鱼油,明胶和酪蛋白替代鱼粉制成的无鱼粉无鱼油配合饲料,对大黄鱼幼鱼进行为期70 d的养殖。结果表明:摄食无鱼粉无鱼油饲料的大黄鱼幼鱼能够正常存活,但不同个体之间的生长差异显著; $\Sigma$ HUFA、DHA、EPA、AA含量明显较低, $\Sigma$ PUFA含量较高;生长快与生长慢个体的 $\Delta 6$ -Fad、Elovl5、Elovl6和Elovl1的表达模式即组织表达谱均存在明显的差异,生长快个体脑中 $\Delta 6$ -Fad和Elovl1、肝中Elovl5和Elovl6的表达量显著高于生长慢个体。这说明大黄鱼幼鱼早期营养调控可以有效调节鱼体HUFA合成能力以及对饲料中营养物质的利用率。本研究结果为今后改善大黄鱼幼鱼饲料配方,降低饲料成本,提高养殖效益具有重要的意义。

## [参考文献]

- [1] TORSTENSEN B E, ESPE M, SANDEN M, et al. Novel production of Atlantic salmon (*Salmo salar*) protein based on combined replacement of fish meal and fish oil with plant meal and vegetable oil blends [J]. Aquaculture, 2008, 285: 193-200.
- [2] GARCÍA-ORTEGA A, KISSINGER K R, TRUSHENSKI J T. Evaluation of fish meal and fish oil replacement by soybean protein and algal meal from *Schizochytrium limacinum* in diets for giant grouper *Epinephelus lanceolatus* [J]. Aquaculture, 2016, 452: 1-8.
- [3] AOKI H, SANADA Y, FURUICHI M, et al. Partial or complete replacement of fish meal by alternate protein sources in diets for yellowtail and red sea bream [J]. Suisanzoshoku, 2000, 48: 53-63.
- [4] BISWAS A, ARAKI H, SAKATA T, et al. Fish meal replacement by soy protein from soymilk in the diets of red sea bream (*Pagrus major*) [J]. Aquaculture Nutrition, 2017, 23: 1379-1389.
- [5] CHENG Z, AI Q, MAI K, et al. Effects of dietary canola meal on growth performance, digestion and metabolism of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* [J]. Aquaculture, 2010, 305: 102-108.
- [6] GATLIN D M, BARROWS F T, BROWN P, et al. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review [J]. Aquaculture Research, 2007, 38: 551-579.
- [7] LU Z, MAI K, AI Q, et al. Use of a compound protein source as a replacement for fish meal in diets of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2010, 39(1): 83-90.
- [8] 何娇娇,王萍,冯建,等. 发酵豆粕对大黄鱼生长、肠道结构及肠道微生物菌群的研究 [J]. 水生生物学报, 2018, 42(5): 919-928.
- [9] 王萍,姜宇栋,冯建,等. 小麦蛋白粉替代鱼粉对大黄鱼幼鱼生长、血清生化指标及抗氧化能力的影响 [J]. 水产学报, 2018, 42(5): 733-743.
- [10] 冯建,王萍,何娇娇,等. 大豆浓缩蛋白替代鱼粉对大黄鱼幼鱼生长、体成分、血清生化指标及肝组织学的影响 [J]. 中国水产科学, 2017, 24(2): 268-277.
- [11] AI Q, MAI K, TAN B, et al. Replacement of fish meal by meat and bone meal in diets for large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* [J]. Aquaculture, 2006, 260: 255-263.
- [12] 李经奇,李学山,姬仁磊,等. 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 $\Delta 6$ -Fad基因表达的影响 [J]. 水生生物学报, 2018(2): 232-239.
- [13] 李桑,陈春燕,黄旭雄,等. 植物油部分替代饲料中鱼油对大黄鱼脂肪及脂肪酸的影响 [J]. 上海海洋大学学报, 2015, 24(5): 726-736.
- [14] 李远友,谢帝芝,陈芳,等. 鱼类长链多不饱和脂肪酸合成代谢调控机制研究进展 [C] //全国第二届海洋与陆地多糖多肽及天然创新药物研发学术会议论文集. 漠河, 2015: 164-170.
- [15] 杨志刚,郭子好,姚琴琴,等. 脂肪酸去饱和酶基因的研究进展 [J]. 生物技术通报, 2013, 20(12): 21-26.

- [16] 许丹丹. 大菱鲆幼鱼对不同蛋白源营养感知与应答机制的初步研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014.
- [17] 何志刚, 艾庆辉, 麦康森. 大黄鱼营养需求研究进展 [J]. 饲料工业, 2010, 31(24): 56-59.
- [18] 彭墨, 徐玮, 麦康森, 等. 亚麻籽油替代鱼油对大菱鲆幼鱼生长、脂肪酸组成及脂肪沉积的影响 [J]. 水产学报, 2014, 38(8): 1131-1139.
- [19] LI S L, MONROIG O'SCAR, 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, 2017, 48(2): 537-552.
- [20] HUANG S S Y, OO A N, HIGGS D A, et al. Effect of dietary canola oil level on the growth performance and fatty acid composition of juvenile red sea bream, *Pagrus major* [J]. Aquaculture, 2007, 271: 420-431.
- [21] 李明珠, 马洪明. 海水鱼类必需脂肪酸的合成能力 [J]. 中国海洋大学学报, 2010, 40(增刊 1): 59-64.
- [22] GHIONI C, TOCHER D R, BELL M V, et al. Low C18 to C20 fatty acid elongase activity and limited conversion of stearidonic acid, 18: 4n-3, to eicosapentaenoic acid, 20: 5 (n-3), in a cell line from the turbot, *Scophthalmus maximus* [J]. Biochimical Biophysical Acta, 1999, 1437(2): 170-181.
- [23] MOURENTE G, DÍAZ-SALVAGO E, TOCHER D R, et al. Effects of dietary polyunsaturated fatty acid/vitamin E (PUFA/tocopherol) ratio on antioxidant defence mechanisms of juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata* L. Osteichthyes, Sparidae) [J]. Fish Physiology & Biochemistry, 2000, 23(4): 337-351.
- [24] IZQUIERDO M S, ROBAINA L, JUÁREZ-CARRILLO E, et al. Regulation of growth, fatty acid composition and delta 6 desaturase expression by dietary lipids in gilthead seabream larvae (*Sparus aurata*) [J]. Fish Physiology & Biochemistry, 2008, 34 (2): 117-127.
- [25] 周继术, ELISABETH T B, INGUNN S, 等. 饲料中大豆油替代鱼油对大西洋鲑肝细胞脂肪酸代谢的影响 [J]. 动物营养学报, 2013, 25 (11): 2623-2632.
- [26] TOCHER D R, FONSECA-MADRIGAL J, DICK J R, et al. Effects of water temperature and diets containing palm oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Comparative Biochemistry and physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2004, 137(1): 49-63.
- [27] LI S, MONROIG ÓSCAR, WANG T J, et al. Functional characterization and differential nutritional regulation of putative *Elovl5* and *Elovl4* elongases in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 2303.
- [28] OHNO Y, SUTO S, YAMANAKA M, et al. ELOVL1 production of C24 acyl-CoAs is linked to C24 sphingolipid synthesis [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(43): 18439-18444.
- [29] 施秋燕, 杨志刚, 姚琴琴, 等. 中华绒螯蟹 *ELOVL6*cDNA 全长克隆及其表达分析 [J]. 水产学报, 2016, 40(6): 844-855.

(责任编辑 朱雪莲 英文审校 黄力行)