

饲料中高浓度N-羧基谷氨酸对罗非鱼脂肪代谢的影响

李薇 黄坤明 何焕榕 江彪 刘春 黄燕华 苏友禄

HIGH DIETARY N-CARBAMYLGLUTAMATE CONTENTS ON LIPID METABOLISM

LI Wei, HUANG Kun-Ming, HE Huan-Rong, JIANG Biao, LIU Chun, HUANG Yan-Hua, SU You-Lu

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7541/2025.2024.0142>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

饲料中添加N-羧基谷氨酸或牛磺酸对杂交鳢生长性能、肠道黏膜形态及肠道菌群的影响

DIETARY N-CARBAMOYL GLUTAMIC ACID OR TAURINE ON GROWTH PERFORMANCE, INTESTINAL MUCOSAL MORPHOLOGY AND INTESTINAL MICROFLORA OF HYBRID SNAKEHEAD *CHANNA MACULATA* ♀ × *C. ARGUS* ♂
水生生物学报. 2024, 48(4): 579–591 <https://doi.org/10.7541/2024.2023.0197>

饲料中添加刺五加对吉富罗非鱼脂质沉积、抗氧化能力及肠道消化酶和微生物的影响

FAT DEPOSITION, ANTIOXIDANT CAPACITY, DIGESTIVE ENZYMES AND GUT MICROBIOME ASSOCIATED WITH DIETS CONTAINING *SIBERIAN GINSENG* IN GENETICALLY IMPROVED FARMED TILAPIA (GIFT, *OREOCHROMIS NILOTICUS*)
水生生物学报. 2023, 47(9): 1396–1407 <https://doi.org/10.7541/2023.2022.0281>

谷氨酸和 α -酮戊二酸对鳊生长、脱氨及糖代谢的影响

GLUTAMATE AND α -KETOGLUTARATE ON THE GROWTH, DEAMINATION, AND GLUCOSE METABOLISM OF CHINESE PERCH (*SINIPERCA CHUATSI*)
水生生物学报. 2024, 48(3): 384–392 <https://doi.org/10.7541/2024.2023.0194>

环境相关四环素长期暴露对吉富罗非鱼生长性能、肝脏脂肪代谢和抗氧化反应的影响

LONG-TERM ENVIRONMENTAL-RELATED TETRACYCLINE EXPOSURE ON GROWTH PERFORMANCE, HEPATIC LIPID METABOLISM AND ANTIOXIDANT RESPONSES IN GIFT TILAPIA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)
水生生物学报. 2022, 46(11): 1642–1648 <https://doi.org/10.7541/2022.2021.0251>

黄颡鱼母本的肠系膜脂肪沉积对繁育性能的影响

THE EFFECT OF MESENTERIC FAT DEPOSITION ON REPRODUCTION PERFORMANCE OF FEMALE PARENT FISH (*PELTEOBAGRUS FULVIDRACO*)
水生生物学报. 2021, 45(6): 1181–1189 <https://doi.org/10.7541/2021.2020.222>

饲料蛋白质和脂肪水平对丝尾幼鱼生长、血清生化指标及肝脏抗氧化能力的影响

DIETARY PROTEIN AND LIPID LEVEL ON GROWTH, SERUM BIOCHEMICAL INDEX AND LIVER ANTIOXIDANT CAPACITY OF JUVENILE ASIAN RED-TAILED CATFISH (*HEMIBAGRUS WYCKIODES*)
水生生物学报. 2024, 48(6): 968–978 <https://doi.org/10.7541/2024.2023.0348>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

doi: 10.7541/2025.2024.0142

CSTR: 32229.14.SSSWXB.2024.0142

饲料中高浓度N-氨甲酰谷氨酸对罗非鱼脂肪代谢的影响

李薇 黄坤明 何焕榕 江颺 刘春 黄燕华 苏友禄

(仲恺农业工程学院动物科技学院, 健康养殖创新研究院, 广州 510225)

摘要: 实验旨在研究饲料中添加高浓度N-氨甲酰谷氨酸(NCG)对罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)鱼体脂肪含量、血清生化指标、肝脏脂肪沉积、脂肪代谢基因表达的影响。选取360尾平均体质量为 (32.56 ± 1.12) g的罗非鱼, 随机分为3组, 每组设置3个重复, 每个重复40尾鱼。以不添加NCG组的基础饲料作为对照, 另外设置添加高浓度2000和5000 mg/kg NCG的2种实验饲料作为实验组(NCG I 和NCG II)。每天按体重4%定量投喂2次, 共饲养8周。研究结果表明, 高浓度NCG添加水平升高了罗非鱼的肝体指数, NCG II组的肝体指数显著增加($P < 0.05$)。NCG I 和NCG II组罗非鱼血清甘油三酯和胆固醇含量显著高于对照组($P < 0.05$), 且NCG II组罗非鱼血清的谷丙转氨酶和谷草转氨酶的活性显著升高($P < 0.05$)。高浓度NCG的添加显著提高罗非鱼内脏脂肪含量, 并显著减少内脏蛋白质含量($P < 0.05$)。肝脏HE染色和油红O染色结果显示, 高浓度NCG添加组的肝脏细胞出现了空泡化变性和明显的脂滴富集现象, 且NCG II组比NCG I组的罗非鱼肝脏中的空泡更大, 脂滴更大更集中。在进食高浓度NCG后, 罗非鱼肝脏中脂肪氧化分解相关基因肉碱棕榈酰转移酶1基因(Carnitine palmitoyl transferase 1)、基因过氧化物酶体增殖物激活受体 α 基因(Peroxisome proliferator activated receptor alpha)和解偶联蛋白1基因(Uncoupling protein 1)的表达量显著降低($P < 0.05$)。综上, 高浓度NCG的添加会造成罗非鱼的脂肪代谢异常, 使得血脂升高, 并诱导出严重脂肪肝症状和内脏脂肪蓄积, 这可能是高浓度NCG降低了肝脏脂肪 β -氧化相关基因的表达所导致。

关键词: N-氨甲酰谷氨酸; 脂肪含量; 血清生化指标; 脂肪沉积; 脂肪代谢; 罗非鱼

中图分类号: S965.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2025)03-032509-08



精氨酸是鱼类的必需氨基酸, 参与鱼体的生长代谢、免疫调节等生命活动。N-氨甲酰谷氨酸(N-carbamylglutamate, NCG)是精氨酸内源合成限速酶-氨甲酰磷酸合酶-1的激活剂类似物, 可以有效激活精氨酸合成途径中氨甲酰磷酸合酶-1, 进而促进动物体内精氨酸的合成^[1]。NCG相比于直接添加精氨酸, 有成本低、吸收率高、代谢稳定等优势, 因此, 很多研究尝试将NCG作为饲料添加剂, 以期替代精氨酸, 降低饲料成本和提升养殖效益。

目前, 关于NCG在水产动物中的研究, 主要集中于对水产动物的生长性能、抗氧化和增强免疫力等方面的研究。研究表明, 适量添加NCG有助于水产动物的生长性能和健康水平^[2-4]。大菱鲆饲料

中NCG的适宜添加量为227 mg/kg, 添加后能显著提高大菱鲆的增重率、特定生长率和蛋白质效率^[5]; 另外, 在黄颡鱼幼鱼饲料中, NCG的最适添加浓度为213 mg/kg^[6]; 鲤饲料中NCG的适宜添加量为1200 mg/kg^[7]。由此可见, 不同种类的鱼需要的NCG的最适浓度可能不同。

然而, 随着饲料中NCG添加量的升高, 表现出一定的对水产动物的负面作用。赵红霞等^[6]还发现, 与不添加NCG组相比, NCG添加量达到2000 mg/kg时黄颡鱼饲料系数显著升高($P < 0.05$), 存活率显著下降($P < 0.05$), 且血清中甘油三酯含量急剧升高。在我们前期研究中也发现, 将5000 mg/kg的NCG添加至饲料时, 罗非鱼的增重率会呈现下降趋势。另

收稿日期: 2024-04-08; 修订日期: 2024-05-22

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(32102809) 资助 [Supported by Youth Fund of the National Natural Science Foundation of China (32102809)]

作者简介: 李薇(1989—), 女, 博士; 主要研究方向为水产动物健康养殖。E-mail: liwei@zhku.edu.cn

通信作者: 苏友禄(1982—), 男, 博士, 教授; E-mail: youlusu@zhku.edu.cn

外,在分离血清过程中,常见罗非鱼血清呈果冻状,推测是血脂过高引起^[8]。

因此,本文推测高浓度NCG添加会对脂肪代谢造成影响,从而影响鱼体正常生长。本实验拟配制高浓度NCG添加饲料投喂罗非鱼,探究高浓度NCG对罗非鱼血清生化指标、脂肪沉积、脂肪代谢的影响。该研究将为后续NCG在水产动物饲料中适量合理地添加应用提供重要的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

饲料配方及营养组成如表1所示。饲料原料经粉碎后全部过40目筛,原料混匀后加入0 (Control)、

表1 实验饲料组成和成分分析

Tab. 1 Ingredient and composition of experimental diet

| 实验饲料Diet | Ctrl | NCG I | NCG II |
|-----------------------------------|-------|-------|--------|
| 原料Ingredient (g/kg) | | | |
| 鱼粉Fish meal ¹ | 140 | 140 | 140 |
| 豆粕Soybean meal ¹ | 345 | 345 | 345 |
| 高筋面粉High-gluten flour | 230 | 228 | 225 |
| 菜籽粕Rapeseed meal | 230 | 230 | 230 |
| 大豆油Soybean oil | 20 | 20 | 20 |
| 磷酸二氢钙Calcium dihydrogen phosphate | 25 | 25 | 25 |
| 矿物质预混料Mineral premix ² | 5 | 5 | 5 |
| 维生素预混料Vitamin premix ³ | 5 | 5 | 5 |
| N-氨甲酰谷氨酸NCG | 0 | 2 | 5 |
| 化学组成Chemical composition | | | |
| 干物质Dry matter (DM, g/100 g) | 88.67 | 87.99 | 88.52 |
| 粗蛋白Crude protein (g/100 g DM) | 33.93 | 33.86 | 34.04 |
| 粗脂肪Crude fat (g/100 g DM) | 9.32 | 9.33 | 9.40 |
| 灰分Ash (g/100 g DM) | 7.23 | 7.12 | 7.02 |

注:¹所有饲料原料均来自广东碧德生物有限公司。饲料配方、复合维生素和复合矿物质配方参照之前研究^[8]。²维生素预混料由下列成分组成(g/kg预混料):维生素A 1100000 IU, 维生素B₁ 2.64 g, 维生素B₂ 1.10 g, 维生素B₆ 1.32 g, 维生素B₁₂ 0.011 g, 肌醇22 g, 叶酸0.44 g, 生物素0.013 g, 烟酸7.55 g, D-泛酸钙4.41 g, 维生素C磷酸酯110 g, 维生素D₃ 440,000 IU, 维生素E 8.8 g, 维生素K₃ 1.1 g。³矿物质预混料由下列成分组成(g/kg预混料):一水硫酸亚铁3.81 g, 七水硫酸锌6.58 g, 七水硫酸镁25.67 g, 五水硫酸铜0.33 g, 一水硫酸锰2.43 g, 硫酸钴0.019 g, 碘酸钙0.439 g, 亚硒酸钠0.19 g

Note: ¹All feed ingredients come from Guangdong Bide Biotechnology Co., Ltd. Formulation of the basal diet, vitamin premix, and mineral premix are referenced to a previous study^[8].

²The amounts of following vitamins in per kg of premix are: A 1100000 IU, B₁ 2.64 g, B₂ 1.10 g, B₆ 1.32 g, B₁₂ 0.011 g, inositol 22 g, folic acid 0.44 g, biotin 0.013 g, nicotinic acid 7.55 g, D-calcium pantothenate 4.41 g, Vitamin C phosphating fat 110 g, D₃ 440,000 IU, E 8.8 g, K₃ 1.1 g. ³The amounts of following minerals in per kg of premix are: FeSO₄·H₂O 3.81 g, ZnSO₄·7H₂O 6.58 g, MgSO₄·7H₂O 25.67 g, CuSO₄·5H₂O 0.33 g, MnSO₄·H₂O 2.43 g, CoSO₄ 0.019 g, Ca (IO₃)₂ 0.439 g, Na₂SeO₃ 0.19 g

2000 (NCG I)和5000 mg/kg (NCG II)三个不同浓度的N-氨甲酰谷氨酸。随后加入适量水通过挤压机,制成直径约3 mm颗粒。在45℃快速风干后,置于-20℃冰箱中保存备用。

1.2 实验鱼与饲养管理

实验用奥尼罗非鱼购自广东省罗非鱼良种场,正式实验前养于暂养缸驯化两周。挑选360尾无伤、规格均一、平均体质量为(32.56±1.12) g的罗非鱼幼鱼,随机分到9个圆形玻璃纤维养殖缸(300 L),每组设置3个重复,每个缸40尾。实验用水为曝过气的自来水,实验期间全天充气,水温28—30℃。实验鱼日投喂率为体重的4%,每周饲料投喂量根据罗非鱼上周进食量估算出的实时体重进行适当调整。每日投喂2次,投喂时间分别为8:30和17:30。饲喂半小时后,用虹吸管吸污并且换水,换水量约为总体积四分之一。每日对天气和水温等情况进行记录,养殖实验进行8周。

1.3 样品采集和指标测定

在正式实验结束后,禁食24h开始采样。先测量每缸鱼总质量,随后每缸随机捞取3尾,测量体质量。解剖取内脏、肝脏、肌肉等,称量内脏和肝脏质量,用于计算肝体指数(HSI)和脏体指数(VSI)。保留内脏和肝脏样品,用于后续内脏、肝脏、肌肉粗蛋白、粗脂肪、水分和灰分测定。每缸随机取3尾鱼,用于全鱼的粗蛋白、粗脂肪、水分和灰分测定。

每缸随机取6尾罗非鱼,用MS-222对鱼体进行麻醉。将湿毛巾覆盖鱼体,用注射器从尾静脉采血。静置待血清析出后,将采集的血液以4000 r/min离心5min,吸取上层血清。保留其中3尾鱼,解剖分离罗非鱼肝脏,肝脏用剪刀剪开,一部分肝脏立即放入Bouins液进行固定,用于HE染色;另外一部分肝脏用包埋剂固定,用于油红O染色。另外3尾鱼,解剖取肝脏和肌肉,-80℃保存待测,用于脂肪代谢相关基因的测定。

1.4 生长指标

使用以下公式,对增重率、特定生长率、饲料转化效率进行计算。

增重率(Weight gain rate, WGR, %)=100×(终末均重-初始均重)/初始均重

特定生长率(Specific growth rate, SGR, %)=100×(ln 终末均重-ln 初始均重)/养殖天数

饲料转化率(Feed conversion ratio, FCR)=饲料摄食量/鱼体增重

1.5 血浆生化指标测定

生化指标采用日立7600-110型全自动生化分析仪测定,测定罗非鱼血清甘油三酯(TG)、胆固醇

(TC)、总蛋白(TP)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)、葡萄糖(GLU)、谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)。

1.6 饲料和鱼体营养成分测定

采用105℃烘干法测定饲料和鱼体水分(GB 5009.3-2003);采用马福炉560℃灼烧法(GB5009.4-2003)测定粗灰分含量;采用微量凯氏定氮法(GB 5009.5-2003)测定粗蛋白质含量;根据GB5009.6-2003标准中脂肪检测方法测定饲料和全鱼粗脂肪含量^[9];以氯仿/甲醇(2:1, v/v)方法提取肝脏和肌肉脂肪并测定其含量^[10]。

1.7 肝脏组织切片观察

从每桶随机取3尾鱼,解剖分离罗非鱼肝脏,肝脏用剪刀剪开,一部分肝脏立即放入Bouins液进行固定。肝脏组织经固定、脱水,用二甲苯透明浸蜡及石蜡包埋,切片厚度6 μm,用作HE染色,中性树脂胶封片。另外一部分肝脏,用冷冻包埋剂OCT (Sakura)包埋后,迅速置于Leica冷冻切片进行冷冻并切片,随后进行油红O染色。在光学显微镜(奥林巴斯CX43)下观察并拍照。

1.8 基因表达分析

用TRIzol试剂盒(Invitrogen)提取肝脏和肌肉总RNA,用Nanodrop分光光度计测RNA浓度,利用abm 5×All-In-One RT Master Mix反转录试剂盒合成cDNA,置于-20℃待用。RT-PCR按照Applied Biosystems™ SYBR™ Green PCR Master Mix说明书进行操作,引物序列见表2。脂肪代谢相关目的基因,包括肝脏肉碱棕榈酰转移酶1基因(*cpt1*)、基因过氧化物酶体增殖物激活受体α基因(*ppara*)、解偶联蛋白1基因(*ucpl*)、亚精胺/亚精胺N1乙酰转移酶(*ssat1*)、脂肪酸合成酶(*fasn*)、固醇调节元件结合转录因子(*srebp1*)、乙酰辅酶A羧化酶β(*accβ*)、脂肪酸结合蛋白(*fabp1*)。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法^[11],以β-actin基因的表达量作为对照,计算目的基因的相对表达量。

1.9 统计分析

采用Graphpad Prism 7.0软件对组间数据进行单因子方差分析(One-way ANOVA),采用t检验进行两两比较。实验结果以平均值±标准误表示,差异显著性水平设为 $P<0.05$ 。

2 结果

2.1 高浓度NCG添加对罗非鱼肝体比和脏体比的影响

在等量投喂情况下,高浓度NCG的添加对罗非鱼增重率、特定生长率、饲料转化效率均无显著

影响(表3)。

2.2 高浓度NCG添加对罗非鱼肝体比和脏体比的影响

高浓度NCG的添加显著增加NCG II组罗非鱼的肝体指数($P<0.05$),且随着NCG添加浓度的增加而增加(图1)。高浓度NCG添加使得脏体指数有增加的趋势,但差异不显著。

2.3 高浓度NCG对血清生化指标的影响

饲料添加NCG对罗非鱼血清生化指标的影响见表4。相较于对照组而言,NCG I和NCG II组罗非鱼血清甘油三酯和胆固醇含量显著高于对照组($P<0.05$)。另外,NCG I和NCG II组罗非鱼血清的谷丙转氨酶和谷草转氨酶的活性有上升趋势,且NCG II组的谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性显著升高($P<0.05$)。饲料中添加高浓度NCG对罗非鱼血清总蛋白、高密度脂蛋白、血清低密度脂蛋白、葡萄糖含量无显著影响。

2.4 高浓度NCG对罗非鱼全鱼、肌肉和内脏脂肪蛋白质含量的影响

高浓度NCG的添加显著提高罗非鱼内脏脂肪

表2 定量PCR的特异性引物

| 基因名称 Gene name | 引物序列Primer sequence (5'—3') | 产物长度 Product size (bp) | GenBank登录号 Accession No. |
|-------------------|--|------------------------------|-----------------------------|
| <i>β-actin</i> | CTGAGCGTAAATA CTCCGTCTG AGTTGTTGGGCGT TTGGTTG | 176 | XM_003443127.3 |
| <i>cpt1</i> | ATTCTTCCTTAC CGCCGCA CAGGAATGCGTGT GGTGTG | 194 | GQ_395695.1 |
| <i>ppara</i> | AAGGCTATGCCG GGTTTCCA ATGGTCGGCGGA GACTCTTG | 178 | NM_001290066.1 |
| <i>ucpl</i> | TTCGGACCACAAT CCAGTAGG GGCTATACAGGCT GCTGCTC | 106 | XM_003452255.4 |
| <i>ssat</i> | CCTTGAGGATGGC TTCGGTG CCCAGCCCTCTGT ACTCATC | 186 | XM_003456244.2 |
| <i>fasn</i> | TGCCCAAGGGGA CTTTGTCAT CTGGTGCCATCG CCGGTTA | 196 | XM_013276808.2 |
| <i>srebp1</i> | GCTGACTCATGGG GCTGGAT TCTCCATACACCA GCAGCCG | 107 | XM_005457771.3 |
| <i>accβ</i> | GCTGGCGAGGCA CTGTCTAT ACCTCCACACCAC TCGGAAC | 136 | XM_019365909.1 |
| <i>fabp1</i> | CAACCGGCTCAA ATGCCATC GTTTGCATCCACC AGTTCCG | 164 | XM_003446092.3 |

含量,并显著减少内脏蛋白质含量($P<0.05$)。高浓度NCG的添加对罗非鱼全鱼和肌肉的水分、蛋白质、脂肪和灰分含量无显著影响(表5)。

2.5 高浓度NCG对肝脏脂肪沉积的影响

肝脏HE染色结果显示(图2),相较于对照组罗非鱼肝脏而言,高浓度NCG添加组的肝脏细胞质中出现了空泡化变性,且NCG II组比NCG I组的罗非鱼肝脏中的空泡更大。肝脏油红O染色结果显示(图2),高浓度NCG添加组的肝脏细胞中出现明显的脂滴富集现象,且NCG II组比NCG I组的罗非鱼肝脏中的脂滴更大更集中。

2.6 高浓度NCG对肝脏脂肪代谢相关基因表达的影响

在进食高浓度NCG后,罗非鱼肝脏中脂肪氧化分解相关基因的变化见图3A。相较于对照组而言,罗非鱼肝脏肉碱棕榈酰转移酶1基因(*cpt1*)、基因过氧化物酶体增殖物激活受体 α 基因(*ppara*)和解偶联蛋白1基因(*ucpl*)的表达量显著降低($P<0.05$)。肝脏中亚精胺/亚精胺N1乙酰转移酶(*ssat1*)的表达量不受NCG添加的影响。

罗非鱼肝脏中脂肪酸合成相关基因的变化见图3B。在进食高浓度NCG后,罗非鱼肝脏乙酰辅酶A羧化酶 β 基因(*acc β*)的表达水平显著下降。脂

表3 高浓度NCG添加对罗非鱼生长指标的影响

Tab. 3 Effect of high dietary NCG contents on growth performance of tilapia

| 指标 Parameter | 对照组Ctrl | NCG I | NCG II |
|----------------|--------------|--------------|--------------|
| 初体重IBW (g) | 32.60±2.22 | 32.28±2.02 | 32.80±2.22 |
| 终体重FBW (g) | 117.18±2.64 | 115.32±2.93 | 113.38±2.23 |
| 增重率WGR (%) | 264.55±19.44 | 260.69±14.28 | 249.84±17.49 |
| 特定生长率SGR (%/d) | 2.30±0.09 | 2.29±0.07 | 2.23±0.09 |
| 饲料转化效率FCR | 1.10±0.02 | 1.12±0.02 | 1.16±0.02 |

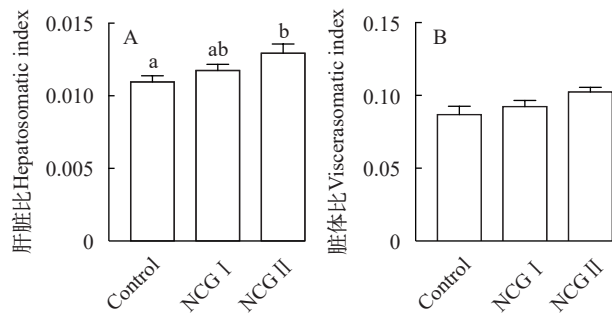


图1 高浓度NCG对肝体比(a)和脏体比(b)的影响

Fig. 1 Effects of high dietary NCG contents on hepatosomatic index (A) and viscerasomatic index (B)

柱形图上方字母不同表示差异显著($P<0.05$)

Values in the same column with different superscript small letters mean significant difference ($P<0.05$)

肪酸合成酶(*fasn*)、固醇调节元件结合转录因子基因(*streb1*)、脂肪酸结合蛋白(*fabp1*)的表达均未受NCG的影响。

2.7 高浓度NCG对肌肉脂肪代谢相关基因表达的影响

进食高浓度NCG后,罗非鱼肌肉中脂肪氧化分解相关基因的变化见图3C。相较于对照组而言,过氧化物酶体增殖物激活受体 α 基因(*ppara*)的表达量显著升高($P<0.05$)。肌肉中肉碱棕榈酰转移酶1基因(*cpt1*)和亚精胺/亚精胺N1乙酰转移酶(*ssat1*)

表4 饲料添加高浓度NCG对罗非鱼血清生化指标的影响

Tab. 4 Effects of high dietary NCG contents on serum biochemical indices of tilapia

| 项目Item | 对照Control | NCG I | NCG II |
|--------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 甘油三酯TG (mmol/L) | 1.77±0.15 ^a | 2.83±0.17 ^b | 4.16±0.31 ^c |
| 总胆固醇TC (mmol/L) | 2.43±0.13 ^a | 2.89±0.12 ^b | 3.32±0.26 ^b |
| 总蛋白TP (g/L) | 24.06±0.94 | 24.95±1.77 | 25.26±0.63 |
| 高密度脂蛋白HDL (mmol/L) | 1.64±0.11 | 1.69±0.12 | 1.82±0.15 |
| 低密度脂蛋白LDL (mmol/L) | 0.32±0.06 | 0.29±0.04 | 0.34±0.04 |
| 葡萄糖GLU (mmol/L) | 8.65±0.43 | 7.79±0.36 | 7.60±0.33 |
| 谷丙转氨酶ALT (U/L) | 31.47±2.02 ^a | 35.25±2.37 ^a | 46.30±2.78 ^b |
| 谷草转氨酶AST (U/L) | 68.09±2.24 ^a | 73.80±2.71 ^a | 82.83±3.26 ^b |

注:表中所有数据为平均数和标准误($n=9$);同一行中上标字母不同表示差异显著($P<0.05$)

Note: Values show mean±standard error ($n=9$); Different superscripted letters in the same row indicate significant differences ($P<0.05$)

表5 高浓度NCG对罗非鱼全鱼、肌肉和内脏的营养组成的影响(占湿重比例)

Tab. 5 Effect of high dietary NCG contents on nutrition composition of tilapia whole body, muscle, and visceral (% wet weight)

| 营养组成 | | 对照Control | NCG I | NCG II |
|-----------------------------|------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Nutritional composition (%) | | | | |
| 全鱼 Whole fish | 水分Moisture | 73.07±0.62 | 73.69±0.23 | 73.98±0.50 |
| | 粗蛋白Crude protein | 14.77±0.26 | 14.79±0.24 | 14.49±0.07 |
| | 粗脂肪Crude lipid | 4.94±0.29 | 5.30±0.45 | 5.11±0.30 |
| | 粗灰分Ash | 4.44±0.08 | 4.32±0.21 | 4.36±0.19 |
| 肌肉 Muscle | 水分Moisture | 79.24±0.93 | 79.4±1.02 | 78.96±0.76 |
| | 粗蛋白Crude protein | 18.27±0.06 | 18.20±0.08 | 18.98±0.40 |
| | 粗脂肪Crude lipid | 1.35±0.22 | 1.34±0.13 | 1.35±0.21 |
| | 粗灰分Ash | 1.41±0.12 | 1.40±0.21 | 1.40±0.16 |
| 内脏 Viscera | 水分Moisture | 82.06±1.27 | 82.5±0.86 | 82.58±1.09 |
| | 粗蛋白Crude protein | 5.67±0.02 ^a | 5.43±0.04 ^b | 5.28±0.12 ^b |
| | 粗脂肪Crude lipid | 6.90±0.15 ^b | 7.46±0.12 ^a | 7.53±0.09 ^a |
| | 粗灰分Ash | 0.76±0.02 | 0.80±0.01 | 0.79±0.02 |

的表达量未受NCG添加的影响。解偶联蛋白1基因(*ucpl*)在肌肉中表达量较低, 未检测到。

罗非鱼肌肉中脂肪酸合成相关基因的变化见图3D。在进食高浓度NCG后, 肌肉乙酰辅酶A羧化酶 β 基因(*acc β*)的表达量显著降低。脂肪酸合成酶(*fasn*)、固醇调节元件结合转录因子基因(*srebp1*)、脂肪酸结合蛋白(*fabp1*)不受NCG添加的影响。

3 讨论

3.1 高浓度NCG添加对罗非鱼肝脏脂肪沉积的影响

前期研究表明, NCG添加量达到2000 mg/kg时, 黄颡鱼饲料系数显著升高, 存活率显著下降, 且黄

颡鱼血清中葡萄糖、甘油三酯和高密度脂蛋白含量显著升高^[6], 说明2000 mg/kg NCG添加量已经相对较高, 影响到黄颡鱼的脂肪代谢。因此本实验拟开展两个高浓度, 即2000和5000 mg/kg NCG, 对罗非鱼血清生化指标、脂肪沉积和脂肪代谢的影响。

肝脏作为鱼类营养物质的代谢中心, 其健康状况对于鱼类正常代谢有重要影响^[12]。本研究发现, 罗非鱼在进食高浓度NCG添加的饲料后, 显著增加了鱼体的肝体比, 并增加了肝脏中的脂肪沉积。肝脏是罗非鱼脂肪沉积的主要器官, 本研究采用了肝脏组织HE染色和油红O染色评估肝脏脂质积聚。用油红O染色时, 肝脏中的脂滴呈红色^[13]。HE染色

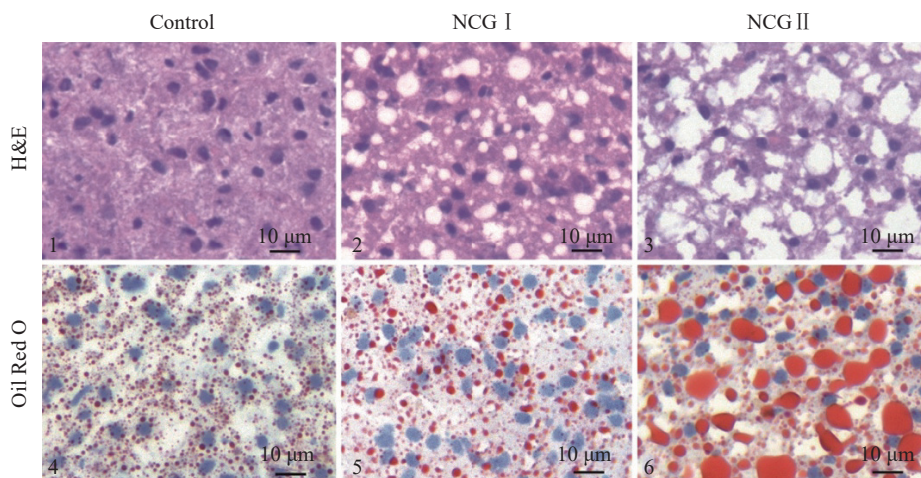


图2 高浓度NCG添加对罗非鱼肝脏组织化学特征的影响

Fig. 2 Effect of high dietary NCG contents on liver histochemistry in tilapia

肝脏切片HE染色(1、2、3)和油红O染色(4、5、6), 组织切片刻度尺为10 μ m

Liver sections are stained with HE (1, 2, 3), and oil red O (4, 5, 6), with a tissue section scale of 10 μ m

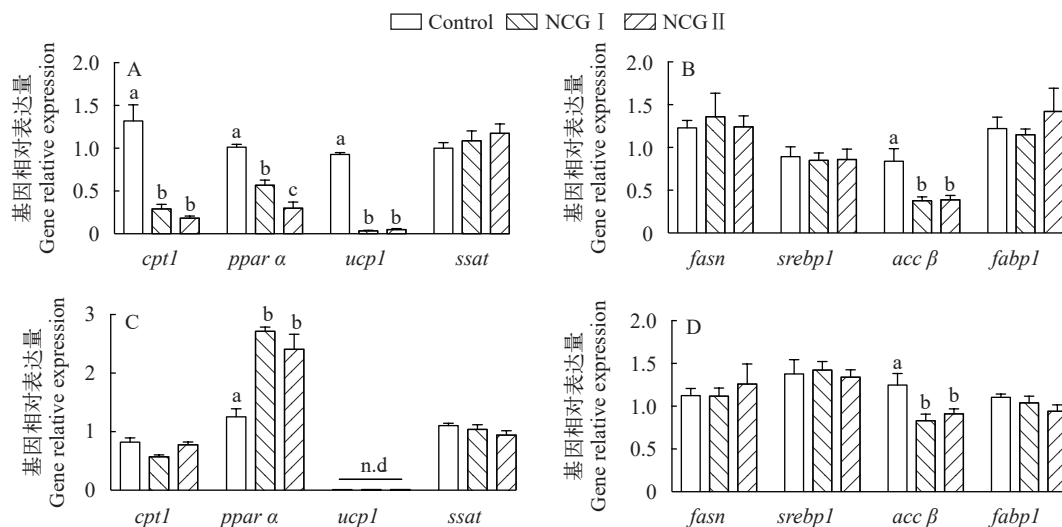


图3 高浓度NCG对肝脏和肌肉脂质代谢相关基因表达量的影响

Fig. 3 Effect of high dietary NCG contents on the expression of lipid metabolism-related genes

a. 肝脏脂质分解相关基因; b. 肝脏脂质合成相关基因; c. 肌肉脂质分解相关基因; d. 肌肉脂质合成相关基因

a. Liver fatty acid oxidation genes; b. Liver lipogenesis related genes; c. Muscle fatty acid oxidation genes; d. Muscle lipogenesis related genes

和油红O染色显示,高浓度NCG的添加使得罗非鱼肝脏细胞产生明显的气球样变和严重的脂滴聚集,且随着浓度越高,脂肪积聚越加明显。这说明罗非鱼在进食高浓度NCG添加的饲料后,显著增加了肝脏中的脂肪沉积,且进食浓度越高,肝脏脂肪沉积越严重。

3.2 高浓度NCG对血清生化指标的影响

高浓度NCG饲喂的罗非鱼血清中表现出更高的TG和TC含量,这意味着高浓度NCG添加会增加血清中相关脂代谢指标的升高。谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)是肝细胞中重要的氨基转移酶,参与蛋白质和氨基酸代谢。当鱼体肝脏发生病变后,会增加肝脏细胞通透性,使得转氨酶转移到血液中,因此血清中的谷草转氨酶和谷丙转氨酶活力上升,表明肝脏可能发生了病变^[14]。虽然,NCG I组的罗非鱼肝脏已经有了轻微的脂肪沉积的症状,但是该组罗非鱼血清中谷草转氨酶和谷丙转氨酶活力与正常组相比有一个增加的趋势,但差异不显著。然而在NCG II组的血清中,ALT和AST活力显著升高。在前期研究中,高浓度NCG (3600 mg/kg)的添加造成ALT和AST的显著升高,且HE切片也看到了肝脏明显的气球样变性^[15]。其结果表明高浓度NCG引发严重脂肪肝后,会进一步造成肝脏的代谢功能异常和组织损伤。

3.3 高浓度NCG对罗非鱼肝脏和肌肉脂肪代谢相关基因表达的影响

肝脏脂质积聚是脂肪合成和脂解之间的不平衡,由肝脏细胞脂肪合成和降解过程中的几种酶或转录因子调节^[16,17]。进食高浓度NCG的罗非鱼肝脏中脂肪酸分解相关基因*cpt1*、*ppara*、*ucp1*均显著下调。肉碱棕榈酰转移酶1 (Cpt1)是肝脏细胞中长链脂肪酸 β -氧化的主要调节因子^[18],蛋白过氧化物酶体增殖物激活受体(*Ppara*)是控制脂肪酸 β -氧化的关键转录因子^[19],高浓度NCG使得脂肪酸 β -氧化过程的关键基因*cpt1*和关键转录因子*ppara*均被显著抑制,说明高浓度NCG显著降低了肝脏脂肪酸 β 氧化过程。*Ucp1*是解偶联蛋白1,已经被证实与肝脏脂肪酸分解相关^[20]。*ucp1*基因表达下降了数十倍,说明肝脏中脂肪酸的降解过程被显著抑制。

脂质合成主要是依赖于脂肪合成酶表达和活性高低,脂肪酸合酶(*Fasn*)是脂肪酸从头合成的限速酶,在脂肪从头合成的过程中发挥主导作用^[21]。乙酰辅酶A羧化酶(*Acc*)是除*Fasn*之外的另一个脂肪合成的限速酶^[22]。脂肪酸合成中的限速酶*Acc*和*Fasn*的表达,与调节其表达的转录因子的表达平行。另外,脂肪合成酶基因表达主要是由转录因子

固醇反应元件结合蛋白(*Srebp*)调控,是脂肪合成基因的主要调节因子^[23]。脂肪酸结合蛋白(*Fabp1*)是参与调节脂质代谢的重要成员之一,大量研究表明*Fabp1*调节脂肪酸的运输和分配,在脂肪性肝病、高脂血症等疾病的患者血浆中的水平异常升高^[24]。本实验发现,高浓度NCG的添加并未影响脂肪合成相关基因*fasn*、*strebf*、*fabp1*的转录水平,仅对*acc β* 有下调作用。这表明高浓度NCG可能对罗非鱼脂肪合成能力的影响不大。另外,与高度活跃的肝脏脂肪代谢相关基因不同,高浓度NCG的添加对肌肉脂肪代谢相关基因的影响稍弱。高浓度NCG对肌肉脂肪氧化相关基因*ppara*有上调作用,对脂肪合成相关基因*acc β* 有轻微下调作用,即肌肉中脂肪代谢的趋势是朝着脂肪分解的方向去的。然而,在肌肉营养组成的分析中,未见肌肉脂肪显著下降,说明高浓度NCG对肌肉脂肪代谢影响有限。

4 结论

综上,高浓度NCG的添加会造成罗非鱼的脂肪代谢异常,使得血脂升高,并诱导出严重脂肪肝症状和内脏脂肪蓄积。其原因可能是由于高浓度NCG通过抑制肝脏和内脏脂肪酸的降解,从而增加血液、肝脏和内脏的脂质聚积。因此,NCG在水产动物饲料中的添加浓度需要摸索探究,进行适量添加。(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Wu X, Yin Y L, Liu Y Q, et al. Effect of dietary arginine and N-carbamoylglutamate supplementation on reproduction and gene expression of eNOS, VEGFA and PIGF1 in placenta in late pregnancy of sows [J]. *Animal Reproduction Science*, 2012, **132**(3-4): 187-192.
- [2] Zhao H X, Qiao G X, Li P J, et al. Effects of dietary L-arginine or N-carbamylglutamate on growth performance, intestinal function, serum biochemical indexes and anti-ammonia-nitrogen stress ability of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, **33**(11): 6330-6339. [赵红霞, 乔国贤, 李培佳, 等. 饲料添加L-精氨酸或N-羧甲酰谷氨酸对黄颡鱼生长、肠道功能、血清生化指标和抗氨氮应激能力的影响 [J]. 动物营养学报, 2021, **33**(11): 6330-6339.]
- [3] Li J N, Zhang Y Z, Fan Z, et al. Effects of arginine and/or N-carbamylglutamate supplementation on growth, biochemical composition and expression of growth-regulating factors of hybrid sturgeon (*Acipenser schrenckii* ♀ × *A. baerii* ♂) juveniles fed an arginine-deficient diet [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2022, **285**(4): 115246.
- [4] Zhao H X, Qiao G Q, Cao J M, et al. Dietary supplement-

- tation of N-carbamylglutamate and effects on growth, intestinal enzyme activities, immunological and antioxidant abilities of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2019, **25**(6): 1250-1260.
- [5] Shang X D, Chen C X, Jia L, *et al.* Effect of N-carbamoylglutamic acid on the growth performance of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. *Feed Research*, 2017(3): 35-38. [尚晓迪, 陈春秀, 贾磊, 等. N-氨甲酰谷氨酸对大菱鲂幼鱼生长性能的影响 [J]. 饲料研究, 2017(3): 35-38.]
- [6] Zhao H X, Qiao G X, Huang Y H, *et al.* Effects of Dietary N-carbamylglutamate on growth performance, body composition, serum biochemical indices and ammonia-nitrogen stress ability of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, **31**(12): 5625-5634. [赵红霞, 乔国贤, 黄燕华, 等. 饲料添加N-氨甲酰谷氨酸对黄颡鱼幼鱼生长性能、体成分、血清生化指标和抗氨氮应激能力的影响 [J]. 动物营养学报, 2019, **31**(12): 5625-5634.]
- [7] Wang L S, Li J N, Wang C G, *et al.* Effect of N-carbamoylglutamate supplementation on the growth performance, antioxidant status and immune response of mirror carp (*Cyprinus carpio*) fed an arginine-deficient diet [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019(84): 280-289.
- [8] Li W, Liu B D, Liu A, *et al.* Dietary supplementation of N-carbamylglutamate promotes growth performance by modulating the homeostasis of gut microbiota in tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Aquaculture Reports*, 2021(20): 100750.
- [9] Xu L, Wen H B, Sun G X, *et al.* Effects of dietary fish oil levels on growth, lipid metabolism and blood physiology of red drum *Sciaenops ocellatus* [J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2020, **35**(1): 39-46. [徐良, 闻海波, 孙光兴, 等. 鱼油添加量对眼斑拟石首鱼生长、脂肪代谢与血液生理的影响 [J]. 大连海洋大学学报, 2020, **35**(1): 39-46.]
- [10] Peng M, Xu W, Mai K S, *et al.* Growth performance, lipid deposition and hepatic lipid metabolism related gene expression in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) fed diets with various fish oil substitution levels by soybean oil [J]. *Aquaculture*, 2014, **433**(3): 442-449.
- [11] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. *Methods*, 2001, **25**(4): 402-408.
- [12] Bruslé J, González G A. The structure and function of fish liver [J]. *Fish Morphology*, 2017(11): 77-93.
- [13] Tao T, Yi H, Mo P, *et al.* Effects of high-fat diet on growth performance, lipid accumulation and lipid metabolism-related MicroRNA/gene expression in the liver of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2019, **234**(263): 34-40.
- [14] Bojarski B, Witeska M. Blood biomarkers of herbicide, insecticide, and fungicide toxicity to fish—a review [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, **27**(16): 19236-19250.
- [15] Huang H Y, Chen P, Liang X F, *et al.* Dietary N-Carbamylglutamate (NCG) alleviates liver metabolic disease and hepatocyte apoptosis by suppressing ERK1/2-mTOR-S6K1 signal pathway via promoting endogenous arginine synthesis in Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019(90): 338-348.
- [16] Ayisi C L, Cheng Y M, Zhao J L. Genes, transcription factors and enzymes involved in lipid metabolism in fin fish [J]. *Agri Gene*, 2018(7): 7-14.
- [17] Wang Z, Xu W, Mai K S, *et al.* The effects of valine level on plasma biochemical indexes, lipid content and gene expression involved in lipid metabolism in cobia (*Rachycentron canadum*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2016, **40**(4): 744-751. [王震, 徐玮, 麦康森, 等. 饲料缬氨酸水平对军曹鱼鱼体脂肪含量、血浆生化指标和肝脏脂肪代谢基因表达的影响 [J]. 水生生物学报, 2016, **40**(4): 744-751.]
- [18] Xie D Z, Yang L P, Yu R M, *et al.* Effects of dietary carbohydrate and lipid levels on growth and hepatic lipid deposition of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. *Aquaculture*, 2017, **479**(1): 696-703.
- [19] Ning L J, He A Y, Li J M, *et al.* Mechanisms and metabolic regulation of PPAR α activation in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2016, **1861**(9): 1036-1048.
- [20] Qin C J, Wen Z Y, Wang J, *et al.* Uncoupling protein 1 in snakehead (*Channa argus*): Cloning, tissue distribution, and its expression in response to fasting and refeeding [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A, Molecular & Integrative Physiology*, 2018(225): 1-6.
- [21] 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.
- [22] Lin J, Zhang J, Dai W W, *et al.* Low phosphorus increases hepatic lipid deposition, oxidative stress and inflammatory response via acetyl-CoA carboxylase-dependent manner in zebrafish liver cells [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2024(146): 109387.
- [23] Xu Y H, Tan X Y, Xu Y C, *et al.* Novel insights for SREBP-1 as a key transcription factor in regulating lipogenesis in a freshwater teleost, grass carp *Ctenopharyngodon idella* [J]. *The British Journal of Nutrition*, 2019, **122**(11): 1201-1211.
- [24] Xu H G, Zhang Y, Wang C, *et al.* Cloning and characterization of fatty acid-binding proteins (fabps) from Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) liver, and their

gene expressions in response to dietary arachidonic acid
(ARA) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*

Part B, Biochemistry & Molecular Biology, 2017(204):
27-34.

HIGH DIETARY N-CARBAMYLGLUTAMATE CONTENTS ON LIPID METABOLISM

LI Wei, HUANG Kun-Ming, HE Huan-Rong, JIANG Biao, LIU Chun, HUANG Yan-Hua and SU You-Lu
(*Innovative Institute of Animal Healthy Breeding, College of Animal Science and Technology, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China*)

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of high dietary N-carbamylglutamate (NCG) contents on serum biochemical indicators, liver fat deposition, body fat content, and fat metabolism genes expression in tilapia (*Oreochromis niloticus*). Tilapia of 360 with an average body mass of (36.56±1.12) g were divided into 3 groups, each with 3 replicates containing 40 fish per replicate. The control group received basic feed without the addition of NCG, while two experimental groups received feed supplemented with high concentrations of 2000 and 5000 mg/kg NCG, respectively. The tilapia were fed twice daily at a rate of 4% body weight. After 8 weeks, the addition of high dietary NCG contents increased the hepatosomatic index of tilapia, with the hepatosomatic index of the NCG II group significantly increased ($P<0.05$). Liver histological analysis using HE-staining and oil red O-staining showed vacuolar degeneration and significant lipid droplet accumulation in liver cells of the high concentration NCG addition group. Moreover, the tilapia liver in the NCG II group exhibited larger vacuoles and more concentrated lipid droplets compared to the NCG I group. High concentration NCG addition significantly increased the visceral fat content of tilapia while significantly reducing visceral protein content ($P<0.05$). Serum triglycerides and cholesterol levels in the NCG I and NCG II groups were significantly higher than those in control group ($P<0.05$). Furthermore, the activities of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase in tilapia serum were significantly increased in the NCG II group ($P<0.05$). Consumption of high concentrations of NCG led to a significant decrease in the expression levels of genes related to lipid oxidation and decomposition in tilapia liver ($P<0.05$), including carnitine palmitoyltransferase 1 (*cpt1*), peroxisome proliferator activated receptor a (*ppara*), and uncoupling protein 1 (*ucp1*). In summary, the addition of high dietary NCG contents caused abnormal fat metabolism in tilapia, leading to elevated serum triglycerides and inducing severe symptoms of fatty liver. This effect may be attributed to the decrease in gene expression related to liver fatty acid β -oxidation caused by high dietary NCG contents.

Key words: N-carbamylglutamate; Fat content; Serum biochemical indicators; Fat deposition; Fat metabolism; *Oreochromis niloticus*