

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20231130001

http://www.yykxjz.cn/

徐菲, 刘志峰, 赵海池, 杨明超, 孙志宾, 徐荣静, 马爱军. 低盐度胁迫下不同脂肪含量饲料对大菱鲆幼鱼生长及脂质代谢相关基因表达的影响. 渔业科学进展, 2024, 45(5): 42-52

XU F, LIU Z F, ZHAO H C, YANG M C, SUN Z B, XU R J, MA A J. Effects of different dietary lipid levels under low salinity stresses on the growth performance and expression of lipid metabolism-related genes in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). Progress in Fishery Sciences, 2024, 45(5): 42-52

低盐度胁迫下不同脂肪含量饲料对大菱鲆幼鱼生长及脂质代谢相关基因表达的影响*

徐菲^{1,2,3} 刘志峰^{2,3} 赵海池^{2,3} 杨明超^{2,3}
孙志宾^{2,3} 徐荣静⁴ 马爱军^{2,3①}

(1. 浙江海洋大学 浙江 舟山 316022; 2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所

海水养殖生物育种与可持续产出全国重点实验室 山东省海洋渔业生物技术与遗传育种重点实验室
青岛市海水鱼类种子工程与生物技术重点实验室 山东 青岛 266071; 3. 青岛海洋科技中心海洋生物学
与生物技术功能实验室 山东 青岛 266071; 4. 烟台开发区天源水产有限公司 山东 烟台 264006)

摘要 为了研究脂肪水平是否对低盐胁迫导致的大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)脂质代谢紊乱具有缓解作用,本研究进行了低盐胁迫下不同脂肪含量饲料的投喂实验,以确定大菱鲆在应对低盐度时的最佳脂质需求量。本研究设置了3个盐度梯度(10、20和30),每个盐度组设置4个脂肪含量梯度(8%、12%、16%和20%),分析在不同盐度下不同脂肪含量饲料对大菱鲆幼鱼生长性能、脂质代谢及其相关基因表达的影响。结果显示,脂质含量为16%时,盐度20与盐度30组之间大菱鲆幼鱼的生长性能无显著差异,盐度10组的生长性能要低于盐度20和盐度30组;盐度为10时,大菱鲆幼鱼的生长性能随脂肪含量的增加而增加,最高值出现在20%组,且高于盐度30与盐度20下的20%组。脂质代谢相关基因表达方面,在盐度10和盐度20养殖条件下,与脂质合成相关的基因 *lxra*、*cyp7a1* 和 *srebp-1* 的表达量基本随脂肪含量升高呈先升高后降低的趋势,尤其在盐度为10时,12%组的表达量高于其他各组,20%组显著低于其他各组($P<0.05$)。此外,盐度为10时, *acc* 和 *fas* 基因的表达水平类似,在高脂肪20%组中均被抑制,在12%组的表达量较高。与脂质吸收相关的基因 *apoa-IV* 在盐度10下20%组的表达量远高于相同盐度条件下其他各组($P<0.05$),而且在脂肪含量20%条件下呈随盐度升高而降低的趋势,这与其他脂质组中的趋势完全相反。以上结果表明,低盐胁迫影响脂质代谢后,通过不同脂肪含量的饲料可以从脂质合成和脂质吸收的角度来缓解胁迫带来的不利影响,且这种缓解作用更多的体现在脂质吸收层面上,进而提高低盐胁迫下的生长表现。研究结果从盐度影响脂质代谢的角度探索鱼类对低盐的适应性,可为大菱鲆耐低盐良种选育提供理论和技术支撑。

关键词 盐度; 大菱鲆; 生长性能; 脂质代谢相关基因

中图分类号 S965 文献标识码 A 文章编号 2095-9869(2024)05-0042-11

* 国家自然科学基金(32002362)、国家重点研发计划(2022YFD2400403)、国家现代农业产业技术体系(CARS-47-01)和中国水产科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(2020TD25)共同资助。

徐菲, Email: olivia1109163@163.com

① 通信作者: 马爱军, 研究员, Email: maaj@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2023-11-30, 收修改稿日期: 2024-01-09

盐度是影响鱼类分布和生存的重要环境因子,能直接影响鱼类的生长、代谢和繁殖等生理过程(Bowden, 2008)。大多数鱼类具有一定的耐盐性,可通过渗透调节在一定的盐度范围内生存(Anni *et al.*, 2016),但当盐度变化超过鱼体自身的调节能力时,会破坏鱼体内环境稳态,造成机体渗透压失衡,引起鱼体的应激反应,导致生长减慢、免疫机能下降、器官损伤、代谢紊乱等,甚至会导致其死亡(Qiang *et al.*, 2013; Khairnar *et al.*, 2015; 黄岫等, 2022)。对鱼类抗逆选育来说,逆境下存活并不是唯一的关注点,逆境下正常生长才是更重要的目标,而生长与能量代谢息息相关。目前,关于盐度胁迫因子的研究大多集中在渗透调节方面(Li *et al.*, 2020; 刘龙龙等, 2020),现有关于盐度与能量代谢的研究仅通过检测酶活的变化来阐述二者的关联性(Abdel-Latif *et al.*, 2023; 张宇婷等, 2021)。本课题组前期研究发现,低盐胁迫下的大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)肝脏中大量脂质代谢相关基因参与了对低盐胁迫的响应,暗示脂质代谢调节可能是鱼类应对低盐胁迫的重要途径(Liu *et al.*, 2020)。

脂质代谢是维持机体正常基本生命活动的基础代谢,主要在肝脏中进行,涉及到多种物质的协同代谢,主要包括脂质的摄取、转运、合成和氧化分解,并涉及到具有关键酶和转录因子的几种生化途径(Cho *et al.*, 2015)。饲料中不同的脂质含量和组成会影响肝脏脂质代谢途径中的主要关键基因以及控制调节这些基因表达的主要转录因子及核受体的表达,对这些基因表达的研究结果能反映鱼体脂质代谢的稳态。有研究报道,饲料中脂质的含量和组成对鱼类的脂质代谢相关基因的表达有显著影响,例如,对半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)投喂高脂肪饲料(21.88%)显著抑制了 *acc-2* 和 *fas* 的相对表达(Yuan *et al.*, 2017);在大菱鲆中,随着饲料豆油水平的增加,其肝脏中 *fas*、*lpl*、*ppara* 和 *mtp* 基因的相对表达量显著增加,*cpt-1* 和 *lxr* 的相对表达量显著降低(Peng *et al.*, 2014);在大西洋鲑鱼(*Salmo salar*)中,饲料中的长链多不饱和脂肪酸水平显著降低了 *srebp-1* 的表达(Hixson *et al.*, 2017)。然而,关于不同脂肪含量饲料在不同盐度下对鱼类脂质代谢基因表达的影响还未见报道。

大菱鲆自 1992 年引入我国后,逐渐成为沿海地区尤其是北方沿海的主要经济养殖品种(雷霖霖等, 1998)。大菱鲆盐度耐受范围较广,成鱼能在盐度 12~40 范围内较好地生长,甚至能在盐度 5 的环境下生存(雷霖霖等, 1998)。近年来,港口建设、深井海水过度开采等导致适宜大菱鲆养殖的水资源和区域不断减少,养殖区域向滩涂地区拓展,对大菱鲆的耐低

盐性状提出了更高的要求。因此,基于课题组前期关于低盐胁迫导致大菱鲆脂质代谢紊乱的研究结果,本研究以大菱鲆幼鱼为研究对象,设置 3 个盐度梯度、4 种脂肪含量饲料,探求在不同盐度环境下不同脂肪含量饲料对大菱鲆幼鱼生长性能、脂质代谢相关基因表达的影响。研究结果将从盐度影响脂质代谢的角度探索鱼类对低盐的适应性,旨在为大菱鲆耐低盐良种选育提供理论和技术支撑。

1 材料与方 法

1.1 实验饲料

以鱼粉、虾粉等为主要蛋白源,鱼油为脂肪源,通过调整饲料中鱼油的含量,配制 4 种不同脂肪含量的等蛋白饲料,送至青岛菲优特检测有限公司验证检测,脂肪含量分别为 8%、12%、16%和 20%,粗蛋白含量均为 43.02%,粗灰分含量均为 11.7%,水分含量均为 8%。实验基础饲料配方及成分见表 1。

表 1 实验饲料组成
Tab.1 Composition of the experimental diets

成分 Composition/%	脂肪含量 Lipid content/%			
	8	12	16	20
鱼粉 Fish powder	51.36	51.36	51.36	51.36
虾粉 Shrimp powder	10.27	10.27	10.27	10.27
面粉 Wheat flour	10.27	10.27	10.27	10.27
酵母 Yeast	3.90	3.90	3.90	3.90
鱿鱼粉 Squid powder	2.88	2.88	2.88	2.88
海带粉 Kelp powder	0.92	0.92	0.92	0.92
谷朊粉 Wheat gluten	4.83	4.83	4.83	4.83
多矿 Mineral premix	1.03	1.03	1.03	1.03
多维 Vitamin premix	1.03	1.03	1.03	1.03
鱼油 Fish oil	1.51	5.51	9.51	13.51
纤维素 Cellulose	12.00	8.00	4.00	0.00
总量 Total	100.00	100.00	100.00	100.00

1.2 饲养管理与实验设计

实验用大菱鲆幼鱼购自山东科合海洋高技术有限公司,选择 1 800 尾大菱鲆健康幼鱼,平均分配到 36 个循环水养殖桶(50 L)中暂养 7 d,养殖用水为天然海水,盐度为 30,水温为(14.0±0.5)℃,溶氧为(8.0±0.5) mg/L, pH 为 8.0±0.2,光照周期 12L:12D。暂养期间不进行投喂,每天测量 1 次温度、盐度、pH 及溶解氧等水质指标,保持养殖条件的稳定。

实验分为 12 个组,3 个盐度梯度(10、20 和 30),每个盐度对应 4 种脂肪含量(8%、12%、16%和 20%),

每组3个重复。盐度30组直接使用天然海水,盐度10和20组养殖用水由天然海水和淡水勾兑稀释而成,其他条件保持不变。实验开始前,测定初始体重、体长和全长,体重为(18.99±1.78)g,全长为(10.85±0.71)cm,体长为(8.91±0.59)cm,实验期间,每天投喂2次(08:00和18:00),投喂量从体重的1%逐渐增加到体重的2%。按时定期清理粪便和残渣,定期监测养殖条件,实验周期为60d。

1.3 样品采集与生长性状测定

养殖实验结束后,停食24h,称量记录终末体重、体长和全长。各组随机选9尾鱼,使用200mg/L的MS-222麻醉后,冰上迅速解剖取出肝脏,放入冻存管后立即在液氮中速冻,-80℃保存备用。每组再随机选取9尾鱼,MS-222麻醉后冰上迅速解剖取出肝脏并称重,计算肝体比(HSI),计算公式:

$$HSI = W_l / W_b \times 100\%$$

式中, W_l 为肝脏质量(g); W_b 为鱼体质量(g)。

1.4 总RNA提取与cDNA的合成

使用天根生化科技(北京)有限公司总RNA提取试剂盒提取肝脏组织总RNA,使用Thermo NanoDrop 2000/2000C超微量分光光度计检测RNA的浓度和纯度,用1%琼脂糖凝胶电泳检测RNA的完整性,RNA原液于-80℃保存。使用北京全式金生物技术股份有限公司(TransGen Biotech) TransScript一步法gDNA去除及cDNA合成试剂盒合成cDNA,-20℃保存备用。

1.5 实时荧光定量PCR

以反转录得到的cDNA为模板,使用天罗诊断集团TOROGreen qPCR Master Mix试剂盒,在Applied Biosystems StepOnePlus PCR仪上进行实时荧光定量PCR(qRT-PCR)。反应体系为20μL: Master Mix 10.0μL, RNase-Free ddH₂O 6.4μL,引物F和引物R各0.8μL, cDNA模板2.0μL。反应程序:95℃、60s; 95℃、10s; 60℃、30s,循环40次。以 β -actin基因为内参基因,脂质代谢相关基因(肝X受体 α , *lxra*; 脂肪酸合成酶, *fas*; 胆固醇7 α -羟化酶, *cyp7a1*; 载脂蛋白A-IV, *apoa-IV*; 乙酰辅酶A羧化酶, *acc*; 脂肪酸结合蛋白, *fabp*; 固醇调节元件结合蛋白1, *srebp-1*)引物序列引自Liu等(2020),引物序列见表2。引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因相对表达量。

1.6 数据处理

结果使用平均值±标准差(Mean±SD)表示,使用

表2 脂质代谢相关基因及内参基因引物序列
Tab.2 Primer sequences of lipid metabolism-related genes and β -actin gene

引物 Primer	序列 Sequence(5'~3')
<i>lxra</i> F	TACAACGTGTTGAGCTGCGAAGG
<i>lxra</i> R	GGCGACACTGCTGGCACTTG
<i>fas</i> F	GTCGCATTCCACGGCATCCTG
<i>fas</i> R	CTCCACCTGGTCCCTTCAAACAC
<i>cyp7a1</i> F	ACTGGGAGGTGGATGGTATCTTCG
<i>cyp7a1</i> R	GCCTGCCTCGCTTGACACTTATC
<i>apoa-IV</i> F	GGAAGTCAATGCCCGTCTGG
<i>apoa-IV</i> R	GTCACACGCTCTCTCAGCAC
<i>acc</i> F	GTTCCAACCAAGGCTCCGTATGAC
<i>acc</i> R	TCTGCCGACCACCACACTCTG
<i>fabp</i> F	GGCTGCTCACGACAACCTCAAG
<i>fabp</i> R	AACTCCAGGGTGCGGAAATTGC
<i>srebp-1</i> F	ATGTCAAGAACGAGCTGCCAACC
<i>srebp-1</i> R	CCTGCTGCCGAAGTGTTCCAAC
β -actin F	CATGTACGTTGCCATCCAAG
β -actin R	ACCAGAGGCATACAGGGACA

SPSS 18.0软件对所得数据进行统计和分析,使用GraphPad Prism 6软件进行图片绘制,采用双因素方差分析法(two-way ANOVA)对生长性能及脂质代谢相关基因进行显著性检验,使用Levene检验方差齐性,使用Duncan多重比较进行事后检验, $P < 0.05$ 为显著水平。

2 结果

2.1 不同盐度和脂肪含量处理对大菱鲆幼鱼生长性能的影响

由表3可知,盐度水平对大菱鲆幼鱼生长性能无显著影响($P > 0.05$),但在特定脂肪含量下有显著影响,脂肪含量16%条件下,盐度30和20组的生长性能高于盐度10组的生长性能,且盐度30和20组的体重显著高于盐度10组的体重($P < 0.05$);脂肪含量水平对大菱鲆幼鱼生长性能的影响显著($P < 0.05$),随着脂肪含量的升高,大菱鲆体重呈先升高后降低的趋势($P < 0.05$);盐度和脂肪含量的交互作用对大菱鲆幼鱼生长性能的影响显著($P < 0.05$)。在盐度30和20条件下,随着脂肪含量的升高,大菱鲆幼鱼生长性能呈先升高后降低的趋势,最好的生长表现出现在16%组,且2个盐度之间生长性能差异不显著($P > 0.05$);在盐度10养殖条件下,随着脂肪含量的升高,大菱鲆幼鱼生长性能呈现升高的趋势,最好的生长表现出现在

20%组, 并且盐度 10 下的 20%组的生长性能高于盐度 20 及 30 下的 20%组。盐度水平与脂肪含量水平对大菱鲆幼鱼肝体比的影响均不显著($P>0.05$), 盐度和脂肪含量的交互作用对大菱鲆幼鱼肝体比的影响显

著($P<0.05$)。在盐度 10 下, 肝体比随脂肪含量的升高而升高, 20%组的肝体比最高($P<0.05$), 且盐度 10 下 20%组的肝体比显著高于盐度 30 和 20 下 20%组的肝体比($P<0.05$)。

表 3 不同盐度和脂肪含量处理下大菱鲆幼鱼生长性能

Tab.3 Growth performance of juvenile turbot under different salinities and lipid concentrations

组别 Groups		终末体重 Final weight/g	终末全长 Final total length/cm	终末体长 Final standard length/cm	肝体比 HSI/%
盐度 Salinity	10	42.71±0.91	13.91±0.10	11.01±0.08	0.96±0.04
	20	41.92±0.87	13.79±0.10	11.06±0.08	0.91±0.03
	30	41.70±0.89	13.73±0.10	10.93±0.08	0.98±0.04
脂肪含量 Lipid concentration	8%	34.97±1.15 ^a	12.94±0.13 ^a	10.31±0.11 ^a	0.88±0.04
	12%	41.71±1.10 ^b	13.59±0.13 ^b	10.85±0.10 ^b	0.96±0.04
	16%	47.62±0.95 ^c	14.51±0.11 ^c	11.54±0.09 ^c	0.98±0.04
	20%	44.13±0.87 ^b	14.19±0.10 ^c	11.30±0.08 ^c	0.99±0.04
盐度×脂肪含量 Salinity×Lipid concentration					
10	8%	35.42±2.23 ^a	13.07±0.26 ^a	10.34±0.21 ^a	0.77±0.07 ^a
	12%	44.28±1.82 ^b	13.91±0.21 ^b	11.01±0.17 ^b	0.87±0.07 ^{ab}
	16%	44.27±1.60 ^b	14.17±0.18 ^{bc}	11.23±0.15 ^{bc}	0.99±0.07 ^b
	20%	46.86±1.52 ^b	14.50±0.17 ^c	11.45±0.14 ^c	1.21±0.08 ^c
20	8%	34.05±1.82 ^a	12.82±0.21 ^a	10.25±0.17 ^a	0.87±0.07 ^{ab}
	12%	42.09±1.88 ^b	13.69±0.22 ^b	11.07±0.17 ^b	0.92±0.07 ^{ab}
	16%	49.67±1.76 ^c	14.69±0.20 ^c	11.74±0.16 ^c	1.07±0.07 ^b
	20%	41.84±1.45 ^b	13.95±0.17 ^b	11.20±0.13 ^b	0.78±0.07 ^a
30	8%	35.44±1.92 ^a	12.93±0.22 ^a	10.33±0.18 ^a	0.98±0.07 ^{ab}
	12%	38.77±2.03 ^{ab}	13.19±0.23 ^a	10.47±0.19 ^a	1.11±0.08 ^b
	16%	48.91±1.58 ^c	14.67±0.18 ^c	11.67±0.15 ^c	0.87±0.07 ^a
	20%	43.68±1.54 ^b	14.13±0.18 ^b	11.24±0.14 ^b	0.98±0.07 ^{ab}
P 值 Sig.					
	盐度 Salinity	0.706	0.450	0.485	0.332
	脂肪含量 Lipid concentration	<0.01	<0.01	<0.01	0.190
	盐度×脂肪含量 Salinity×Lipid concentration	0.015	0.021	0.024	<0.01

注: 表中不同字母表示不同盐度、不同脂肪含量水平下生长性能之间差异显著($P<0.05$), 无字母或字母相同表示差异不显著($P>0.05$)。

Note: The different letters in the table indicate significant difference in the growth performance under different salinities and different concentrations ($P<0.05$), no letter or the same letter indicate no significant difference ($P>0.05$).

2.2 不同盐度和脂肪含量处理对大菱鲆幼鱼脂质代谢相关基因表达的影响

不同盐度水平下, 不同脂肪含量水平对大菱鲆幼鱼脂质代谢相关基因表达的影响见表 4 和图 1。由表 4 可知, 盐度水平对 *acc* 和 *srebp-1* 基因的表达量影响不显著($P>0.05$), 对 *lxra* 基因的表达量存在显著影响($P<0.05$), 对 *fas*、*cyp7a1*、*fabp* 和 *apoa-IV* 基因的表

达量存在极显著影响($P<0.01$)。脂肪含量水平对 *fas* 和 *srebp-1* 基因的表达量存在显著影响($P<0.05$), 对 *acc*、*cyp7a1*、*lxra*、*fabp* 和 *apoa-IV* 基因的表达量存在极显著影响($P<0.01$)。盐度和脂肪含量的交互作用对 *cyp7a1*、*fabp*、*apoa-IV*、*srebp-1*、*acc* 和 *fas* 基因的表达量存在极显著影响($P<0.01$), 对 *lxra* 基因的表达量无显著影响($P>0.05$)。在最佳脂肪含量为 16%时, 盐度的降低抑制了 *cyp7a1*、*apoa-IV*、*lxra* 和 *srebp-1*

基因的表达量,上调了 *fabp* 和 *acc* 基因的表达量;在低脂肪(8%和 12%)时,盐度的降低抑制了 *cyp7a1*、*apoa-IV* 和 *srebp-1* 基因的表达量,上调了 *fas* 和 *acc* 基因的表达量;在高脂肪 20%下,盐度的降低上调了 *fabp* 和 *apoa-IV* 基因的表达量,抑制了 *lxra*、*acc* 和 *cyp7a1* 基因的表达量。

在盐度 30 下, *lxra*、*fas*、*srebp-1* 和 *cyp7a1* 基因的表达量随脂肪含量的升高呈先升高后降低的趋势;16%组 *srebp-1* 和 *cyp7a1* 基因的表达量显著高于其他组($P<0.05$), *lxra* 和 *fas* 基因的表达量高于其他组($P>0.05$);20%组 *acc* 基因的表达量显著高于其他组($P<0.05$);*apoa-IV* 和 *fabp* 基因表达量随脂肪含量的升高呈下降的趋势,其中,8%组显著高于其他各组($P<0.05$)。

在盐度 20 时, *lxra* 和 *srebp-1* 基因的表达量随脂肪含量的升高呈先升高后降低的趋势,12%组表达量最高,显著高于 20%组($P<0.05$);*acc* 基因的表达量随着脂肪含量的升高呈先降低后升高的趋势,20%组显著高于其他组($P<0.05$);*fabp* 基因的表达量随脂肪含量的升高呈先下降后升高再下降的趋势($P<0.05$);*apoa-IV* 基因的表达量在 20%组最高,显著高于其他各组($P<0.05$);*fas* 基因的表达量随脂肪含量的升高呈下降的趋势,8%组的表达量显著高于其他各组($P<0.05$)。

在盐度 10 时, *lxra*、*srebp-1*、*cyp7a1* 和 *acc* 基因的表达量随脂肪含量的升高呈先升高后降低的趋势;12%组 *acc* 基因的表达量显著高于其他组($P<0.05$), *lxra*、*srebp-1* 和 *cyp7a1* 基因的表达量高于其他组($P>0.05$);*fabp* 基因的表达量随脂肪含量的升高呈先下降后升高再下降的趋势,20%组表达量最低,显著低于其他各组($P<0.05$);*fas* 基因的表达量随脂肪含量的升高呈下降的趋势,20%组表达量最低,显著低于其他各组($P<0.05$);*apoa-IV* 基因的表达量随脂肪含量的升高呈升高的趋势,20%组的表达量最高,显著高于其他各组($P<0.05$)。

3 讨论

盐度作为水生生物重要的环境因子,盐度胁迫直接影响鱼类的生长、存活以及生理活动等(Wu *et al.*, 2017),并且鱼类需要消耗更多的能量来维持内环境稳态。因此,在应对胁迫的过程中离不开能量代谢,脂质代谢是鱼类能量代谢中重要的组成部分。饲料中脂质的添加水平会直接影响水生生物的生长性能、脂质代谢以及消化酶活性等,在应对盐度胁迫的过程中至关重要(Li *et al.*, 2022)。本研究通过不同盐度条件下

不同脂肪含量饲料的双因素实验设计,探讨了不同脂肪含量对低盐胁迫下大菱鲂幼鱼的生长性能及脂质代谢相关基因表达的影响。

在本研究中,在盐度 30 与 20 时,随着脂肪含量的升高,大菱鲂幼鱼的生长呈先升高后降低的趋势,最好的生长表现出现在脂肪含量 16%组,超过 16%生长性能随之下降。这与刘迎隆等(2019)、向泉等(2013)、董晓慧等(2015)在军曹鱼(*Rachycentron canadum* L.)、白甲鱼(*Onychostoma simus*)、斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)的结果一致,鱼类对饲料脂质水平的利用有一定的限制,超过该水平可能会导致饲料利用率下降从而抑制生长(卢正义等, 2021)。另外,盐度 20 与 30 下的大菱鲂幼鱼的生长性能无显著差异,尤其是在最佳脂肪含量(16%)的养殖条件下。说明盐度 20 对大菱鲂养殖来说并不会产生生长胁迫,可以进行正常养殖。在最佳脂肪含量(16%)时,盐度 10 组的大菱鲂幼鱼的生长性能要低于盐度 20 和 30 组,说明在此盐度下会给大菱鲂幼鱼产生一定的胁迫。然而,从盐度整体看来,各组生长表现无显著差异。这与盐度 10 条件下脂肪含量 20%组的生长表现有关,在盐度 10 下大菱鲂幼鱼的生长性能随脂肪含量的增加而增加,最好的生长表现出现在 20%组,且高于盐度 30 与 20 下的 20%组,说明高脂肪在一定程度上缓解了低盐环境造成的生长胁迫。HSI 是鱼类比短期和长期营养方式都很敏感的指标(张慧晶等, 2009),许多研究表明,HSI 与饲料中的脂质水平密切相关(Luo *et al.*, 2005; López *et al.*, 2006),在一定范围内,肝体比增加则说明机体代谢旺盛,鱼体生长情况良好(朱莉等, 2014),但也表明肝脏脂质沉积的增多,肝功能负担加剧。本研究发现,在盐度 10 的养殖条件下,肝体比随脂肪含量的增高而增高,且 20%组的肝体比显著高于其他组,说明高脂肪在一定程度上缓解了低盐胁迫造成的不利影响,同时,也从侧面反映脂质累积增加,这也与本研究结果中脂质转运相关基因表达的结果相一致。

肝脏是脂质代谢发生的重要场所(廖春燕等, 2023),肝脏可通过改变脂质代谢来应对不利环境(Lai *et al.*, 2021)。肝 X 受体(*lxrs*)是调节肝脏脂质代谢过程的关键基因,主要包括 *lxra* 和 *lxrβ* 两种亚型, *lxrβ* 没有表达特异性, *lxra* 在肝脏的表达量最高; *lxra* 在胆固醇转运、胆汁酸和脂肪酸合成等过程中发挥作用,维持胆固醇代谢的平衡,调控脂质稳态(韩汶润等, 2021)。CYP7A1 是肝脏胆汁酸合成的重要限速酶(Li *et al.*, 2009), *srebp-1* 是调节肝脏脂质代谢过程的

表 4 不同盐度和脂肪含量处理下脂质代谢基因表达量的方差分析

Tab.4 ANOVA for expression of lipid metabolism-related genes of turbot under different salinities and lipid concentrations

基因 Gene	变异源 Source of variation	Sum of squares	df	Mean square	F	P 值
<i>cyp7a1</i>	脂肪含量 Lipid concentration	1.314	3	0.438	11.755	<0.01
	盐度 Salinity	0.970	2	0.485	13.010	<0.01
	盐度×脂肪含量 Salinity×Lipid concentration	1.261	6	0.210	5.639	<0.01
	误差 Error	1.006	27	0.037		
	总变异 Corrected total	13.012	39			
<i>acc</i>	脂肪含量 Lipid concentration	807.729	3	269.243	33.500	<0.01
	盐度 Salinity	53.371	2	26.686	3.320	0.051
	盐度×脂肪含量 Salinity×Lipid concentration	1 568.425	6	261.404	32.525	<0.01
	误差 Error	217.001	27	8.037		
	总变异 Corrected total	5 810.466	39			
<i>fabp</i>	脂肪含量 Lipid concentration	166.639	3	55.546	114.587	<0.01
	盐度 Salinity	72.400	2	36.200	74.678	<0.01
	盐度×脂肪含量 Salinity×Lipid concentration	59.897	6	9.983	20.594	<0.01
	误差 Error	12.604	26	0.485		
	总变异 Corrected total	1 187.434	38			
<i>lxra</i>	脂肪含量 Lipid concentration	1.004	3	0.335	5.115	<0.01
	盐度 Salinity	0.523	2	0.262	3.997	<0.05
	盐度×脂肪含量 Salinity×Lipid concentration	0.893	6	0.149	2.273	0.066
	误差 Error	1.767	27	0.065		
	总变异 Corrected total	25.247	39			
<i>apoA-IV</i>	脂肪含量 Lipid concentration	63.919	3	21.306	19.149	<0.01
	盐度 Salinity	22.402	2	11.201	10.067	<0.01
	盐度×脂肪含量 Salinity×Lipid concentration	97.141	6	16.190	14.551	<0.01
	误差 Error	25.591	23	1.113		
	总变异 Corrected total	535.336	35			
<i>fas</i>	脂肪含量 Lipid concentration	2.934	3	0.978	3.943	<0.05
	盐度 Salinity	18.63	2	9.315	37.562	<0.01
	盐度×脂肪含量 Salinity×Lipid concentration	7.158	6	1.193	4.811	<0.01
	误差 Error	7.192	29	0.248		
	总变异 Corrected total	103.632	41			
<i>srebp-1</i>	脂肪含量 Lipid concentration	2.391	3	0.797	4.172	<0.05
	盐度 Salinity	1.295	2	0.647	3.389	0.051
	盐度×脂肪含量 Salinity×Lipid concentration	4.886	6	0.814	4.263	<0.01
	误差 Error	4.393	23	0.191		
	总变异 Corrected total	19.012	35			

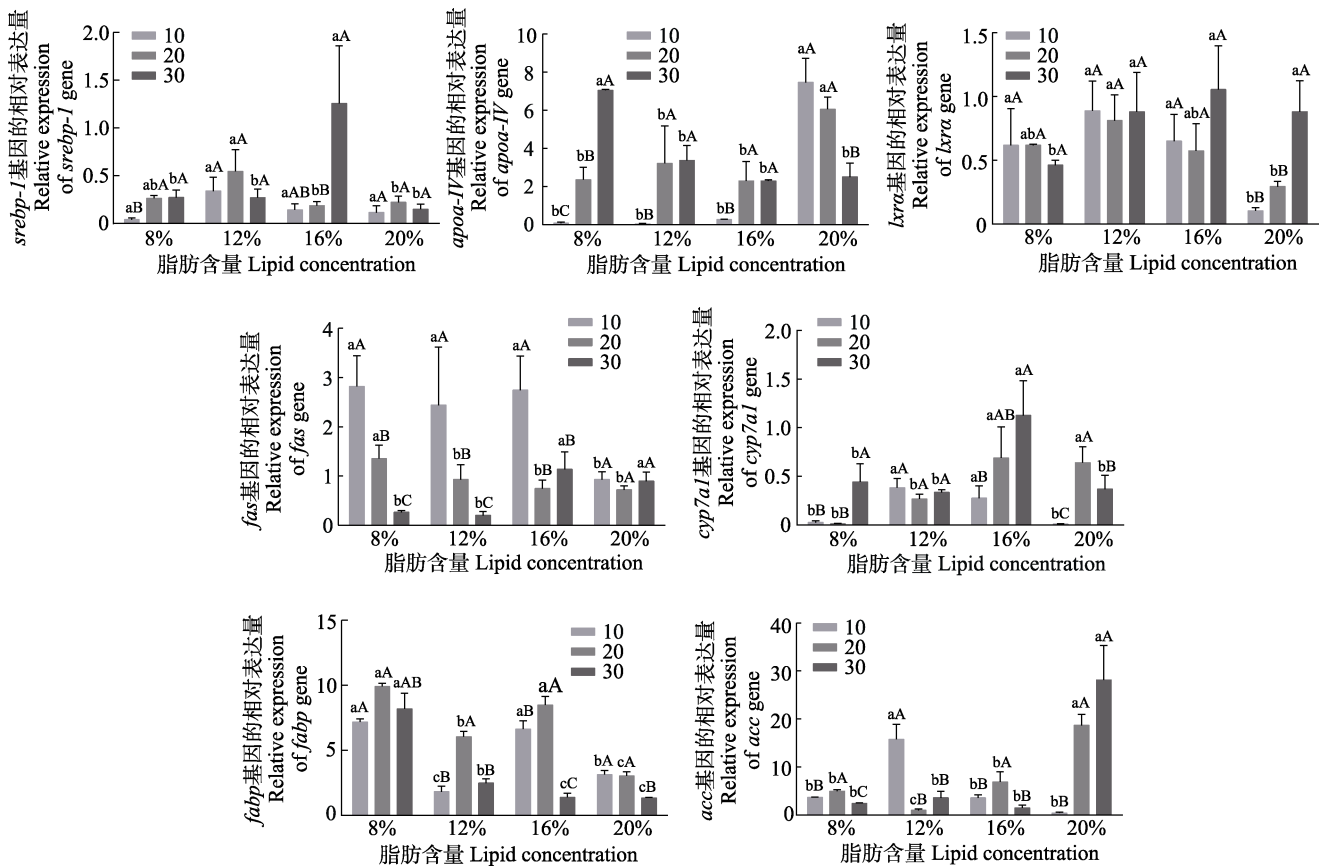


图1 不同盐度和脂肪含量下脂质代谢相关基因表达量

Fig.1 Expression of lipid metabolism-related genes of turbot under different salinities and lipid concentrations

不同小写字母表示相同盐度、不同脂肪含量下脂质代谢相关基因表达量之间差异显著($P<0.05$);

不同大写字母表示相同脂肪含量、不同盐度下脂质代谢相关基因表达量之间差异显著($P<0.05$)。

The different lowercase letters in the figure indicate significant difference in the expression levels of lipid metabolism-related genes under different lipid concentrations and same salinity ($P<0.05$). The different capital letters indicate significant difference in the expression levels of lipid metabolism-related genes at different salinities and same lipid concentration ($P<0.05$).

关键基因,几乎参与所有肝脏脂肪酸和甘油三酯合成的相关基因的表达调控(Shao *et al*, 2012), *lxra* 可通过调节 *cyp7a1*、*srebp-1* 参与调控脂质代谢(Wa *et al*, 2019; On *et al*, 2019; Jun *et al*, 2011)。本研究中,在正常养殖条件盐度 30 时, *lxra*、*fas*、*cyp7a1* 和 *srebp-1* 基因的表达量随饲料中脂肪含量的升高呈先升高后下降的趋势,超过最佳脂肪含量 16% 后,表达量下降,说明在正常养殖环境下高脂肪会抑制脂质代谢,这与 Yin 等(2021)在大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)中的结果相似。课题组前期研究发现,低盐胁迫能够抑制脂质代谢(Liu *et al*, 2020),在本研究中也得到了验证,在低盐度(10 和 20)养殖环境下,大部分脂质代谢相关基因(*lxra*、*cyp7a1*、*srebp-1* 和 *apoA-IV*)在最佳脂肪含量 16% 时的表达水平低于正常养殖环境盐度 30 下的表达水平,且盐度 10 的养殖环境对脂质代谢基因的抑制作用高于盐度 20 的养殖环境。

另外,结果还发现,在低盐度(10 和 20)养殖环境时,与脂质合成相关的基因 *lxra*、*cyp7a1* 和 *srebp-1* 的表达量基本随脂肪含量升高呈先升高后降低的趋势,尤其在盐度 10 条件下,12% 组的表达量高于其他各组,20% 组显著低于其他各组, *acc* 和 *fas* 基因的表达水平也表现出类似的情况,在高脂肪(20%)时均被抑制,在 12% 组的表达量最高。 *fas* 和 *acc* 是肝脏脂质合成的关键基因(蔡润佳等, 2021), FAS 是脂肪酸从头合成的关键酶(孙志鹏等, 2017), ACC 是脂肪酸合成第一步反应的限速酶(严媛等, 2018), *lxra* 还可通过 *srebp-1* 调控 *acc* 和 *fas* 的表达(On *et al*, 2019; Jun *et al*, 2011)。以上结果表明,在低盐胁迫下,脂质合成受到抑制,而低脂肪饲料能够在一定程度上刺激脂质的合成。因此,从脂质合成来看,低脂肪对低盐胁迫导致的脂代谢抑制有一定的缓解作用,但从本研究的生长相关数据来看,这种缓解作用并未直接体现在

生长上。一般来说,高脂肪含量的饲料会造成肝脏中脂质的累积。Zhang 等(2022)在大菱鲆中发现,饲料中过量的脂质可能通过抑制肝脏脂质分解的基因表达,同时增强肝脏脂质生成的基因表达,导致大菱鲆中的脂质沉积。在尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)中, *acc* 和 *fas* 基因在高脂肪饲料饲喂下呈现高表达水平(He *et al.*, 2015)。在本研究中, *fas* 和 *acc* 基因在高脂肪下的表达量,尤其是 *acc* 基因,显著高于其他脂肪含量组,说明这二者的高表达可能是导致大菱鲆肝脏脂质沉积的主要因素。

FABP 是重要的脂肪酸转运蛋白,在脂质摄取、转运和整体脂质稳态中起着至关重要的作用(Glatz *et al.*, 1996)。有研究报道,在罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)(Liu *et al.*, 2022)、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)(Meng *et al.*, 2022)中发现,高脂肪饲料能够上调 *fabp* 的表达,这与本研究的结果并不一致。本研究发现,在正常盐度下,随着脂肪含量的升高,其表达量呈现下降的趋势,低盐胁迫下 *fabp* 基因的表达量随脂肪含量呈先降低后升高再降低的趋势,12%组表达量最低,从盐度方向来看,低盐组的表达量要高于盐度 30 组,在调整脂肪含量后并未出现明显的规律,因此, *fabp* 基因不是低盐胁迫下不同脂肪含量饲料影响大菱鲆肝脏脂质吸收的主要因素。APOA-IV 是一种脂蛋白,参与调节脂质转运、脂质吸收和胆固醇外排等脂质代谢途径(Qi *et al.*, 2023)。本研究发现,低盐胁迫严重抑制了脂肪含量 16%组 *apoa-IV* 基因的表达,这种抑制作用在 2 个低盐组中更加明显。然而,在盐度 10 时,20%组的表达量远高于相同盐度条件下其他各组,而且在 20%条件下呈随盐度升高而降低的趋势,这与其他脂质组中的趋势完全相反。结果表明, *apoa-IV* 基因是低盐胁迫下不同脂肪含量饲料影响大菱鲆肝脏脂质吸收的主要因素。这种表达模式也与上面提到的与脂质合成的基因表达模式不同,结合盐度 10 下 20%脂肪含量组的生长表现,表明低盐胁迫影响脂质代谢后,通过不同脂肪含量的饲料可以从脂质合成和脂质吸收的角度来缓解胁迫带来的不利影响,且这种缓解作用更多的体现在 *apoa-IV* 基因主导的脂质吸收层面上。

参 考 文 献

- ABDEL-LATIF H M R, AHMED H A, SHUKRY M, *et al.* Growth performance, physiological responses, and histoarchitectural changes in juvenile *Pangasianodon hypophthalmus* under different environmental salinities. *Fishes*, 2023, 8(6): 282
- ANNI I S A, BIANCHINI A, BARCAROLLI I F, *et al.* Salinity influence on growth, osmoregulation and energy turnover in juvenile pompano *Trachinotus marginatus* Cuvier 1832. *Aquaculture*, 2016, 455: 63–72
- BOWDEN T J. Modulation of the immune system of fish by their environment. *Fish and Shellfish Immunology*, 2008, 25(4): 373–383
- CAI R J, ZHANG J, HUANG J S, *et al.* Effects of low temperature stress on the expression of genes related to lipid metabolism of juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. *Acta Oceanologica Sinica*, 2021, 43(11): 116–122 [蔡润佳, 张静, 黄建盛, 等. 低温胁迫对军曹鱼幼鱼脂代谢相关基因表达的影响. *海洋学报*, 2021, 43(11): 116–122]
- CHO S H, KIM H S, MYUNG S H, *et al.* Optimum dietary protein and lipid levels for juvenile rockfish (*Sebastes schlegelii*, Hilgendorf 1880). *Aquaculture Research*, 46(12): 2954–2961
- DONG X H, YANG J J, TAN B P, *et al.* Dietary lipid requirements of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) in juvenile and grow out stages. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, 27(1): 133–146 [董晓慧, 杨俊江, 谭北平, 等. 幼鱼和养成阶段斜带石斑鱼对饲料中脂肪的需要量. *动物营养学报*, 2015, 27(1): 133–146]
- GLATZ J F, VUSSE G J V D. Cellular fatty acid-binding proteins: Their function and physiological significance. *Progress in Lipid Research*, 1996, 35(3): 243–282
- HAN W R, ZHANG D D, ZHU Y, *et al.* Research progress in regulation of lipid metabolism by liver X receptors. *Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2021, 35(5): 391–400 [韩汶润, 张丹丹, 朱彦, 等. 肝 X 受体调控脂代谢研究进展. *中国药理学与毒理学杂志*, 2021, 35(5): 391–400]
- HE A Y, NING L J, CHEN L Q, *et al.* Systemic adaptation of lipid metabolism in response to low- and high-fat diet in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Physiological Reports*, 2015, 3(8): 12485
- HIXSON S M, PARRISH C C, XUE X, *et al.* Growth performance, tissue composition, and gene expression responses in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed varying levels of different lipid sources. *Aquaculture*, 2017, 467: 76–88
- HUANG S, LI C Z, LI Z X, *et al.* Effects of different salinities on growth and osmotic regulation gene expression of *Gymnocypris przewalskii*. *Fisheries Science*, 2022, 41(4): 527–536 [黄岫, 李长忠, 李梓瑄, 等. 盐度对青海湖裸鲤生长及渗透调节基因的影响. *水产科学*, 2022, 41(4): 527–536]
- JUN I, KOHEI Y, EMINA I, *et al.* Identification of MIG12 as a mediator for stimulation of lipogenesis by LXR activation. *Molecular Endocrinology*, 2011, 25(6): 995–1005
- KHAIRNAR S O, TIAN X L, FANG Z H, *et al.* Effects of the

- amplitude and frequency of salinity fluctuation on the body composition and energy budget of juvenile tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). *Journal of Ocean University of China*, 2015, 14(1): 127–134
- LAI W, XU D, LI J, *et al.* Dietary polystyrene nanoplastics exposure alters liver lipid metabolism and muscle nutritional quality in carnivorous marine fish large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 419: 126454
- LEI J L, LIU X F, MA A J. The introduction and domestication of turbot in China. *China Zoological Society*, 1998, 408–413 [雷霖霖, 刘新富, 马爱军. 大菱鲆的引进与驯养实验. 中国动物学会编, 1998, 408–413]
- LI J, XUE L, CAO M, *et al.* Gill transcriptomes reveal expression changes of genes related with immune and ion transport under salinity stress in silvery pomfret (*Pampus argenteus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 2020, 46(4): 1255–1277
- LI T, CHIANG J Y L. Regulation of bile acid and cholesterol metabolism by PPARs. *PPAR Research*, 2009: 501739
- LI X, SHEN Y, BAO Y, *et al.* Physiological responses and adaptive strategies to acute low-salinity environmental stress of the euryhaline marine fish black seabream (*Acanthopagrus schlegelii*). *Aquaculture*, 2022, 554: 738117
- LIAO C Y, GAO W H, LI J H, *et al.* Effects of short-term high-fat stress on growth performance, liver health and lipid metabolism genes in *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2023, 30(9): 1080–1092 [廖春燕, 高文浩, 李嘉辉, 等. 短期高脂应激对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长性能、肝脏健康和脂代谢基因的影响. *中国水产科学*, 2023, 30(9): 1080–1092]
- LIU L L, LUO M, CHEN F X, *et al.* Influence of salinity on osmoregulation and oxygen consumption rate in juvenile hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀). *Journal of Fishery Sciences of China*, 2020, 27(6): 692–700 [刘龙龙, 罗鸣, 陈傅晓, 等. 盐度对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼渗透调节与耗氧率的影响. *中国水产科学*, 2020, 27(6): 692–700]
- LIU Y K, ZHOU X X, LIU B, *et al.* Effects of high fat in the diet on growth, antioxidant, immunity and fat deposition of *Macrobrachium rosenbergii* post-larvae. *Fish and Shellfish Immunology*, 2022, 129: 13–21
- LIU Y L, MAI K S, XU W, *et al.* The effect of different lipid levels on the growth performance, body composition and plasma biochemical indices in cobia (*Rachycentron canadum* L.) at two different sizes. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, 43(2): 233–242 [刘迎隆, 麦康森, 徐玮, 等. 饲料脂肪含量对两种规格的军曹鱼生长、体组成和血清生化指标的影响. *水生生物学报*, 2019, 43(2): 233–242]
- LIU Z F, MA A J, YUAN C H, *et al.* Transcriptome analysis of liver lipid metabolism disorders of the turbot *Scophthalmus maximus* in response to low salinity stress. *Aquaculture*, 2020, 534: 736273
- LU Z Y, ZHANG Y Y, CUI P, *et al.* Effect of dietary lutein with different levels of lipid on growth performance and body color of *Yamabaki ogon*. *Feed Research*, 2021, 44(20): 27–32 [卢正义, 张媛媛, 崔培, 等. 不同脂肪水平的叶黄素饲料对黄金锦鲤生长性能和体色的影响. *饲料研究*, 2021, 44(20): 27–32]
- LUO Z, LIU Y J, MAI K S, *et al.* Effect of dietary lipid level on growth performance, feed utilization and body composition of grouper *Epinephelus coioides* juveniles fed isonitrogenous diets in floating netcages. *Aquaculture International*, 2005, 13(3): 257–269
- LÓPEZ L, TORRES A, DURAZO E, *et al.* Effects of lipid on growth and feed utilization of white seabass (*Atractoscion nobilis*) fingerlings. *Aquaculture*, 2006, 253(1/2/3/4): 557–563
- MENG Y Q, TIAN H N, HU X M, *et al.* Effects of dietary lipid levels on the lipid deposition and metabolism of subadult triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 2022(12): 1–12
- ON S, KIM H Y, KIM H S, *et al.* Involvement of G-protein-coupled receptor 40 in the inhibitory effects of docosahexaenoic acid on SREBP1-mediated lipogenic enzyme expression in primary hepatocytes. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(11): 2625
- PENG M, XU W, MAI K, *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. *Aquaculture*, 2014, 433: 442–449
- QI Z, JONATHAN W, MINQIAN S, *et al.* Apolipoprotein a-iv enhances fatty acid uptake by adipose tissues of male mice via sympathetic activation. *Endocrinology*, 2023, 161(4): 4
- QIANG J, WANG H, KPUNDEH M D, *et al.* Effect of water temperature, salinity, and their interaction on growth, plasma osmolality, and gill Na⁺, K⁺-ATPase activity in juvenile GIFT tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). *Journal of Thermal Biology*, 2013, 38(6): 331–338
- SHAO W, ESPENSHADE P J. Expanding roles for SREBP in metabolism. *Cell Metabolism*, 2012, 16(4): 414–419
- SUN Z P, LÜ W H, KUANG Y Y, *et al.* Cloning and expression of fatty acid synthase gene in common carp *Cyprinus carpio*. *Chinese Journal of Fisheries*, 2017, 30(4): 1–6 [孙志鹏, 吕伟华, 匡友谊, 等. 鲤脂肪酸合成酶基因的克隆与表达分析. *水产学杂志*, 2017, 30(4): 1–6]
- WA Y, YIN B, HE Y, *et al.* Effects of single probiotic- and combined probiotic-fermented milk on lipid metabolism in hyperlipidemic rats. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1312
- WU H, LIU J, LU Z, *et al.* Metabolite and gene expression responses in juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*

- exposed to reduced salinities. *Fish and Shellfish Immunology*, 2017, 63: 417–423
- XIANG X, ZHOU X H, CHEN J, *et al.* Effects of dietary lipid level on growth performance, body composition and serum biochemical indices of juvenile *Onychostoma sima*. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2013, 25(8): 1805–1816 [向泉, 周兴华, 陈建, 等. 饲料脂肪水平对白甲鱼幼鱼生长性能、体组成和血清生化指标的影响. *动物营养学报*, 2013, 25(8): 1805–1816]
- YAN Y, CHENG H L, XU J H, *et al.* Molecular cloning of acetyl-CoA carboxylase β full-length cDNA from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) and expression analysis. *Chinese Journal of Animal nutrition*, 2018, 30(5): 1827–1836 [严媛, 程汉良, 许建和, 等. 草鱼乙酰辅酶 A 羧化酶 β 基因全长 cDNA 分子克隆与表达分析. *动物营养学报*, 2018, 30(5): 1827–1836]
- YIN P, XIE S W, ZHUANG Z X, *et al.* Dietary supplementation of bile acid attenuate adverse effects of high-fat diet on growth performance, antioxidant ability, lipid accumulation and intestinal health in juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture*, 2021, 531(1): 735864
- YUAN Y, LI S, ZHANG L, *et al.* Influence of dietary lipid on growth performance and some lipogenesis-related gene expression of tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) larvae. *Aquaculture Research*, 2017, 48(3): 767–779
- ZHANG H J, GUO S D. Tests on the growth characteristics of three kinds of growth promoters on tilapia. *Feed Research* 2009(8): 1–3 [张慧晶, 过世东. 3 种促生长剂对罗非鱼生长特性的试验. *饲料研究*, 2009(8): 1–3]
- ZHANG W C, DAN Z J, ZHUANG Y W, *et al.* Effects of dietary lipid levels on growth, digestive enzyme activities, antioxidant capacity, and lipid metabolism in Turbot (*Scophthalmus maximus* L.) at three different stages. *Aquaculture Nutrition*, 2022, 28: 1–18
- ZHANG Y T, YANG J, GENG L W, *et al.* Effects of salinity stress on antioxidant enzymes and serum cortisol in *Luciobarbus capito*. *Progress in Fishery Sciences*, 2021, 42(1): 56–62 [张宇婷, 杨建, 耿龙武, 等. 盐度胁迫对大鳞鲆抗氧化酶和血清皮质醇的影响. *渔业科学进展*, 2021, 42(1): 56–62]
- ZHU L, LIU P, YIN S S, *et al.* Effects of Chinese herbal medicine on the growth and antioxidant function of tilapia. *China Feed*, 2014(23): 38–41 [朱莉, 刘磐, 银杉杉, 等. 中草药对罗非鱼生长性能和抗氧化指标的影响. *中国饲料*, 2014(23): 38–41]

(编辑 冯小花)

Effects of Different Dietary Lipid Levels Under Low Salinity Stresses on the Growth Performance and Expression of Lipid Metabolism-Related Genes in Juvenile Turbot (*Scophthalmus maximus*)

XU Fei^{1,2,3}, LIU Zhifeng^{2,3}, ZHAO Haichi^{2,3}, YANG Mingchao^{2,3},
SUN Zhibin^{2,3}, XU Rongjing⁴, MA Aijun^{2,3①}

(1. Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China;

2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, State Key Laboratory of Mariculture Biobreeding and Sustainable Goods, Shandong Provincial Key Laboratory of Marine Fisheries Biotechnology and Genetic Breeding, Qingdao Key Laboratory of Marine Fish Seed Engineering and Biotechnology, Qingdao 266071, China;

3. Laboratory for Marine Biology and Biotechnology, Qingdao Marine Science and Technology Center, Qingdao 266071, China;

4. Yantai Development Zone Tianyuan Aquatic Products Co., Ltd., Yantai 264006, China)

Abstract Turbot (*Scophthalmus maximus*) is one of the most economically important fish in the northern coastal areas of China. Recently, low salinity stress is an important factor influencing the development of the turbot industry. Lately, the industry has faced challenges posed by low salinity stress, a key factor influencing turbot development. Salinity fluctuations represent a crucial environmental stressor in aquaculture, impacting osmotic pressure and inducing abnormal energy metabolism. Our preliminary research had identified that low salinity stress contributes to lipid metabolism disorders in

① Corresponding author: MA Aijun, Email: maaj@ysfri.ac.cn

turbot. This study aims to investigate the impact of varying lipid concentration levels on the lipid metabolism disorders induced by low salinity stress. To achieve this, feeding experiments were conducted with different lipid concentration levels under low salinity stress conditions, determining the optimal lipid requirement for turbot to cope with reduced salinity. Three salinity gradients (10, 20, and 30) were employed, with four lipid concentration gradients (8%, 12%, 16%, and 20%) for each salinity group. The results revealed that at a lipid concentration of 16%, no significant difference in the growth performance of juvenile turbot was observed between the salinities of 20 and 30. However, the growth performance under a salinity of 10 was lower than that under salinities of 20 and 30. Notably, under a salinity of 10, the growth performance of juvenile turbot increased with higher lipid concentrations, reaching its peak at 20%, surpassing values under the salinities of 20 and 30. Regarding the expression of genes related to lipid metabolism, under the salinities of 10 and 20, the expression levels of genes related to lipid synthesis, *lxra*, *cyp7a1*, and *srebp-1*, showed a trend of first increasing and then decreasing with increasing lipid concentration, particularly under the salinity of 10. The expression level of the 12% lipid group was higher than that of other groups and the expression level of the 20% lipid group was significantly lower than that of other groups ($P < 0.05$). In addition, under a salinity of 10, the expression levels of *acc* and *fas* also showed a similar situation. They were both suppressed in the 20% lipid group, and the expression levels were higher in the 12% lipid group. The expression level of the gene *apoa-IV* related to lipid absorption in the 20% lipid group under a salinity of 10 was markedly higher than that in other groups under the same salinity conditions ($P < 0.05$) and it showed a change with salt under the condition of 20% lipid concentration. The increasing and decreasing trends were contrary to the trends in other lipid groups. The aforementioned results show that after low-salt stress affects lipid metabolism, feeds with different lipid concentrations can alleviate the adverse effects of the stress from the perspectives of lipid synthesis and lipid absorption, and this mitigation effect is more reflected at the level of lipid absorption, thereby improving growth performance under low salt stress. The results reveal the adaptability of fish to low salt from the perspective of salinity affecting lipid metabolism, enrich the concentration of fish stress physiology, and provide theoretical and technical support for the breeding of low-salt tolerant turbot varieties.

Key words Salinity; *Scophthalmus maximus*; Growth performance; Lipid metabolism-related genes