

黄鳝脂肪酸去饱和酶及 延长酶基因 cDNA 的克隆与表达

周秋白¹ 朱长生¹ 郑宇¹ 江波¹ 罗晓燕²

(1. 江西农业大学 动物科学技术学院 江西 南昌 330045; 2. 江西省科学院 生物资源研究所 江西 南昌 330029)

摘要: 为了解黄鳝合成链多不饱和脂肪酸(LC-PUFA)的能力,利用 Trizol 提取黄鳝肝脏总 RNA,经 RT 获得 cDNA,基于脂肪酸去饱和酶(FAD)及延长酶(FAE)基因同源系列设计简并引物进行黄鳝 cDNA 的 PCR 扩增、测序,获得黄鳝 FAD 及 FAE 基因部分片段序列。然后分析黄鳝 FAD 及 FAE 的同源性和系统进化情况及黄鳝胚胎和胚后发育期仔鱼该两个基因的表达水平。结果表明:黄鳝 FAD 与军曹鱼的 $\Delta 6$ 去饱和酶同源性高达 85%,其次是大菱鲂(83%),FAE 与军曹鱼、线鳢、澳大利亚金枪鱼等的同源性高达 89%;但 FAD 和 FAE 在系统发育树中均自呈一支。FAD 和 FAE 基因在黄鳝胚胎和胚后发育阶段均有表达,以出膜后 2~4 d 表达量最高。提示黄鳝具有合成 LC-PUFA 的能力,但不同发育阶段合成能力不同。

关键词: 黄鳝;去饱和酶;延长酶;基因克隆与表达;LC-PUFAs

中图分类号: S966.4 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2012)01-0134-07

Cloning and Expression of Partial Sequences of the Fatty Acids Desaturase and Elongase cDNA of Rice Field Eel

ZHOU Qiu-bai¹, ZHU Chang-sheng¹, ZHENG Yu¹, JIANG Bo¹, LUO Xiao-yan²

(1. College of Animal Science and Technology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2. Institute of Bioresources, Jiangxi Academy of Sciences, Nanchang 330029, China)

Abstract: To understand the ability of ricefield eel (*Monopterus albus*) to synthesize long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA), trizol and RT technique were used to get total RNA and cDNAs from liver of rice field eel, respectively. The cDNAs were amplified by PCR with the degenerative primers designed based on GenBank homologous series of fatty acid desaturase gene and elongase gene sequences, respectively. The PCR products were cloned and sequenced to obtain partial sequences of fatty acid desaturase (FAD) and elongase (FAE) gene sequences of rice field eel. Then their genetic homology and phylogenetic relationship and their expression level during the embryonic and past-embryonic period were analyzed, respectively. These results show that the fatty acid desaturase of rice field eel showed a highest homology (85%) with *Rachycentron canadum* in homology tree, forward *Psetta maxima* (83%), *Channa striata* (79%), *Xiphophorus Helleri* (78%); Fatty acid elongase of rice field eel showed a high homology (89%) with *Rachycentron canadum*, *Channa striata* and *Thunnus maccoyii*. The fatty acid desaturase of rice field eel dominated one branch in phylogenetic tree, independently. Similarly, the fatty acid elongase. The FAD and FAE genes expression level could

收稿日期: 2011-10-10 修回日期: 2011-11-28

基金项目: 国家自然科学基金(30860217)、农业部淡水鱼类遗传育种和养殖生物学重点开放实验室开放基金(BM2007-10)、国家科技支撑计划(2008BAD96B04)和江西省自然科学基金(2008GZN0025)

作者简介: 周秋白(1965—)男,教授,博士,主要从事水生生物遗传与繁殖营养学研究 E-mail: zhouqiubai@163.com。

be detected during the embryonic and post-embryonic development stages and the peak appeared in the fry (2-4 d past hatching). This means that the rice field eel possesses the ability to synthesize LC-PUFA during the embryonic and post-embryonic development stages, but the ability is different in different development stages.

Key words: rice field eel; desaturase; elongase; gene cloning and expression; LC-PUFAs

黄鳍 (*Monopterus albus* Zuiew) 是我国重要经济鱼类, 由于野生黄鳍资源量的减少, 人工养殖黄鳍成为商品黄鳍的主要组成部分。然而其规模化人工育苗至今仍未有效解决, 黄鳍养殖业仍依赖于捕捞天然鳍苗, 这极大地限制了该产业的发展。目前黄鳍养殖使用的饲料主要是野杂鱼和配合饲料, 在制作黄鳍配合饲料的过程中, 通常添加大量的鱼粉、鱼油以满足黄鳍生长的需要。由于鱼类自然资源的衰退, 鱼粉、鱼油已成为水产业发展制约因子之一^[1], 水产饲料生产中使用适当的脂肪源替代鱼油是必然趋势。植物油丰富而且价廉, 是最有潜力的鱼油替代品^[1-2]。常见的植物油具有丰富的 18 碳多不饱和脂肪酸, 但缺乏鱼油中具有长链多不饱和脂肪酸 (long chain polyunsaturated fatty acids, LC-PUFA)。LC-PUFAs 是鱼类正常生长发育的重要脂肪酸, 其种类和数量对鱼类繁殖特别是受精卵孵化和仔鱼成活尤为重要, 在海水鱼育苗中常使用强化 LC-PUFA 的生物饵料培育鱼苗^[3-5]。许多鱼不能合成 LC-PUFA, 因此应用植物油替代鱼油常常会影响鱼类的生长和繁殖性能^[6-8]。研究表明鱼类合成 LC-PUFAs 的能力主要受机体的脂肪酸去饱和酶 (fatty acid desaturase, FAD) 和延长酶 (fatty acid elongase, FAE) 的限制^[9]。特别是海水鱼多数缺乏 FAD 和 FAE, 因而自身不能合成 LC-PUFA。部分海水鱼如军曹鱼 (*Rachycentron canadum*) 和多数淡水鱼如虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)、罗非鱼 (*Tilapia nilotica*) 和鲤 (*Cyprinus carpio*) 具有 FAD 和 FAE; 因此这些鱼类能利用亚油酸或亚麻酸等通过去饱和及延长碳链作用合成 LC-PUFA; 还有部分鱼类合成 LC-PUFAs 的能力较弱需要外源补充, 如大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*)、斑马鱼 (*Danio rerio*)^[10-12]。另外, 饲料中添加的 LC-PUFA 数量过多或种类配比不当均会引起不良反应影响鱼类正常生长发育^[13-15]。因此通过研究鱼类是否具有 FAD 和 FAE 基因及其表达情况, 可以初步了解合成 LC-PUFAs 的能力。至今, 国内外尚缺乏对黄鳍脂肪酸代谢的研究, 黄鳍是否具有 FAD 和 FAE 及合成 LC-PUFAs 的能力尚不清楚。

本文采用 RT-PCR 技术克隆黄鳍去饱和酶和延长酶基因部分片段序列及该两个基因的表达情况, 了解黄鳍是否具有合成 LC-PUFAs 的能力。为配制黄鳍饲料寻找适宜替代鱼油的脂肪源及提高黄鳍受精卵孵化率和仔鱼成活率提供参考。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

试验用黄鳍及受精卵和仔鱼取自于江西农业大学黄鳍繁殖基地。FAD、FAE 及 β -肌动蛋白引物由上海生物工程有限公司合成。RNA 提取试剂 Trizol 购自天根生化科技(北京)有限公司。RT-PCR 试剂盒、Taq 酶、dNTP 为北京全式金生物技术有限公司产品。DL-2000 为大连宝生生物公司(TaKaRa)产品。琼脂糖为 Biowest 产品。Tris 为 Sigma 产品, 紫外纯。其余为国产分析纯试剂。

1.2 取样方法

基因克隆取样使用人工饲养体质量约 50 g 的黄鳍肝脏。黄鳍饥饿 1 d 后, 静脉放血剖开腹部暴露肝脏剪取肝组织约 50~100 mg, 立即装入经焦碳酸二乙酯 (DEPC) 处理、高压灭菌后的 1.5 mL 离心管内, 投入液氮速冻, -70 °C 冰箱保存备用。

基因表达取样使用的黄鳍胚胎为卵裂期、原肠胚期、眼囊期胚胎, 黄鳍仔鱼分别为出膜第 0、2、4、6、8 d 仔鱼。每次取 4 个重复样, 分别为同一时间产卵的 4 尾亲鳍的后代, 取样后立即提取 RNA 用于分析基因表达情况。

1.3 RNA 提取与反转录

1.3.1 RNA 提取 RNA 的提取根据 Trizol Reagent 说明书操作。用变性琼脂糖凝胶电泳溴化乙啶染色显示 28 s 和 18 s, 检测 RNA 的完整性。用紫外/可见光分光光度计测定 RNA 的 OD 值和 RNA 浓度。测定 $A_{260\text{nm}}$ 和 $A_{280\text{nm}}$ 值, 计算 A_{260}/A_{280} 比值, 比值不在 1.8~2.0 范围的重新提取。最后将所得的总 RNA 样品加无水乙醇于 -70 °C 冻存或直接反转录。

1.3.2 反转录 反转录按 Reverse Aid TMM-MuLVRT 操作手册进行。取 5 μg 总 RNA 进行反转录,反应总体系为 20 μL 加入 1 μL 随机引物(NNNNNC),然后补无 RNA 酶水至 12 μL 混匀,离心 3~5 s。在 70 °C 中温育 5 min,冰上冷却,加入 4 μL 5 × 缓冲液,1 μL RNA 酶抑制剂(20 U/μL),2 μL 10 mmol/L dNTP 混匀,离心 3~5 s。在 25 °C 室温育 5 min,加入 1 μL Revert Aid M-MULV 反转录酶(200 U/μL, Promaga),放入 PCR 仪(eppendorf mastercycler 5333),条件为: 25 °C 10 min,42 °C 60 min,70 °C 10 min,反应完成后冰上迅速冷却。反转录产物 -20 °C 冰箱中保存备用。

1.4 去饱和酶及延长酶基因 cDNA 部分片段的克隆与同源性分析

1.4.1 黄鳍去饱和酶及延长酶基因 cDNA 部分片段的克隆 基于 Genbank(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) 登录的脊椎动物相关的基因序列,利用 Primer 5 软件设计扩增黄鳍 FAD 和 FAE 基因的简并引物。FAD 的简并引物,依据斑马鱼、鲤鱼、剑尾鱼、虹鳟和大西洋鲑等设计:正向(F) 5′- agcaygact-weggycaetgtc-3′;反向(R) 5′- gtsaccchacaaaccagt-3′; FAE 的简并引物,依据斑马鱼、虹鳟、罗非鱼、大菱鲂、太平洋鲑鱼和非洲鲶鱼等的系列设计:正向(F) 5′- cmtggatggdcmagagat-3′,反向(R) 5′- ag-scrtartavgartacat-3′。

PCR 体系:反应总体系 25 μL。具体如下: 10 × 缓冲液 3.2 μL,2.5 mmol/L dNTP 1.6 μL,上下游引物(4 μmol/L) 各 0.3 μL, Taq 酶(5 U/μL Easy Taq DNARase) 0.3 μL, cDNA 0.5 μL, 补水至 25 μL。

1.4.2 黄鳍去饱和酶及延长酶基因同源性分析 PCR 产物通过构建质粒克隆测序,所获系列登录 Genbank。利用 BLAST 软件在线比对获取同源系列,经 DANMAN 程序分析构建同源树、系统发育树分析黄鳍 FAD 和 FAE 同源性和系统进化情况。

1.5 黄鳍胚胎及胚后发育阶段去饱和酶及延长酶基因表达分析

根据上述 FAD 和 FAE 的测序结果和已知 β-肌动蛋白序列(Genbank 登录号 AY 647143) [16],用 primer 5 设计出三对特异引物 FAD: 正向(F) 5′- tccagcateacgctaraacc-3′,反向(R) 5′- ccaragccataccaccagt-3′,目标片段大小为 242 bp。FAE: 正向(F) 5′- gacaractaccaccgacctt-3′,反向(R) 5′- gacgcc-cagattgtagagca-3′,目标片段大小为 129 bp。β-肌动蛋白: 正向(F) 5′- atcgccgcaectgtgtt-3′,反向(R) 5′- tctccctgttgcttgg-3′,目标片段大小为 340 bp。反应体系同 1.4.1,扩增后的产物 1% 的琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像系统成像系统 fine-do ×3 中观察并拍照。分析黄鳍胚胎及胚后发育阶段 FAD 及 FAE 基因表达。

1.6 数据分析

用 BIO-RAD 公司开发的 Quantity one 软件计算目的条带与 β-肌动蛋白光密度值,结果用平均数 ± 标准误表示,并用 Excel 作图,统计分析采用 SPSS 13.0,在单因素方差分析基础上采用 Duncan's 多重比较法,显著水平取值 P < 0.05。

2 结果与分析

2.1 总 RNA 的提取

所提取的总 RNA 经 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测,可观察到 28 SrRNA 和 18 SrRNA 两条明亮的带(图 1),所提取的总 RNA 质量符合实验要求。

2.2 黄鳍 FAD 基因 cDNA 部分片段序列及其同源性和系统进化

采用 FAD 同源系列设计的简并引物,通过 PCR 扩增黄鳍 cDNA 得到 478 bp 的目标片段,通过测序获得该片段的序列见图 2。该序列登录 NCBI 利用 BLAST 软件

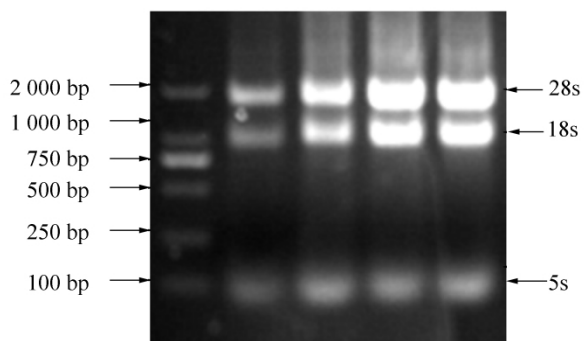


图 1 总 RNA 电泳图
Fig. 1 RNA electrophoresis

1	agcatgactt	cggtcatctg	tctgtctgta	agacatcccg	ctggaatcac	ttggtgcaca
61	agtttgcata	cggtagtta	aaggagactt	ctgccaactg	gtggaatcat	cgacatttcc
121	agcaltcacgc	taaacceaac	atcttccgta	aggaccctga	taltaacatg	ttggacatgt
181	ttgtacttgg	aaccactcaa	ccggtagagt	gtggcattaa	aaagatcgaa	cgttttccct
241	ataatgcaca	acaccagtac	ttctttcttg	tggcgcacc	gctgctcatt	ccagttttct
301	acaactatca	tataatgtac	accatgatca	cccgcgcga	ctgggtggat	atggcttggg
361	ccttgacatt	ttatctcgc	tacttctggt	gltatgtacc	cctgtatggt	ctgcttggcg
421	cattggcact	catggccttt	ttcaggtttc	tggggagtca	ctggtttgta	tgggtgac

图 2 黄鳍 FAD 基因部分序列片段

Fig. 2 Partial sequence of polyunsaturated fatty acid desaturase gene of rice field eel

在线比对获得大量同源系列,经 DANMAN 程序分析构建同源树、系统发育树见图 3 和图 4。分析结果表明,该序列与军曹鱼(*Rachycentron canadum*) 具有高的同源性(85%),其次是大菱鲆(*Scophthalmus maximus*) (83%),线鳢(*Channa striata*, $\Delta 6$ 去饱和酶) (79%),剑尾鱼(*Xiphophorus helleri*) (78%)。系统发育则自呈一支与金头鲷、真鲷、军曹鱼、大菱鲆等处于一大类;与斑马鱼、剑尾鱼等较远。所获系列递交 Genbank 登录号为: GQ258116。

2.3 黄鳍脂肪酸延长酶基因 cDNA 部分片段序列及其同源性和系统进化

利用延长酶同源系列设计的简并引物,通过 PCR 扩增黄鳍 cDNA 得到 517 bp 的目标片段,通过测序获得该片段的序列见图 5。该序列登录 NCBI,利用 BLAST 软件在线比对获得大量同源系列,经 DANMAN 程序分析构建同源树、系统发育树见图 6 和图 7。延长酶基因与军曹鱼(*Rachycentron canadum*)、线鳢(*Channa striata*)、澳大利亚金枪鱼(*Thunnus maccoyii*) 具有高的同源性(89%)。系统发育树则自呈一支,与线鳢、澳大利亚金枪鱼、军曹鱼、大菱鲆在一大支。所获黄鳍延长酶基因系列递交 Genbank 登录号为: GQ258117。

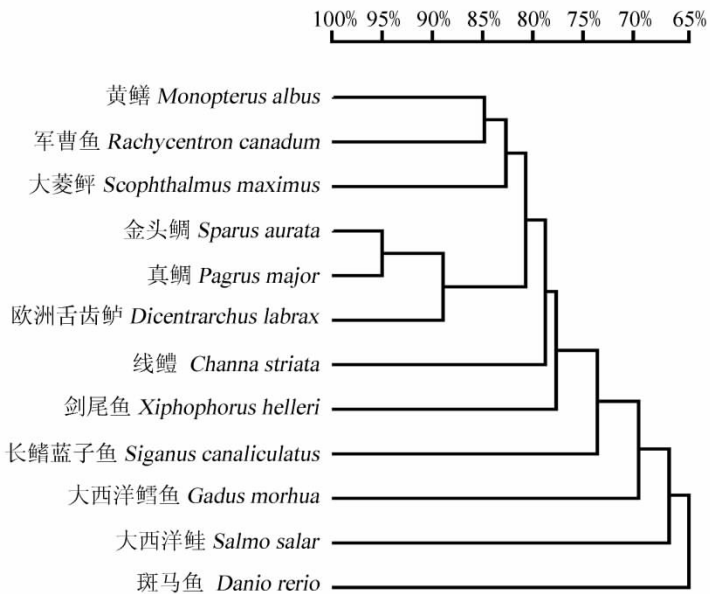


图 3 黄鳍 FAD 基因同源树

Fig. 3 Homology tree of fatty acid desaturase gene of rice field eel

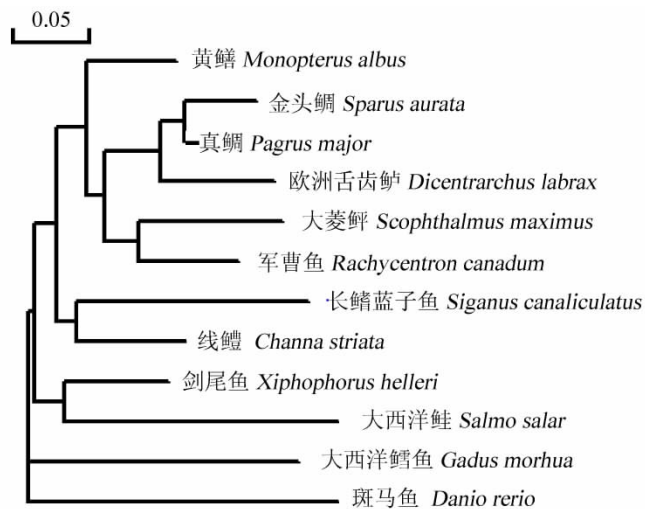


图 4 黄鳍 FAD 基因系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree of fatty acid desaturase gene of rice field eel

1	catggatggg	gccaaagat	cagcgggtgc	aggggtggcc	tctgctgac	aaclaccac
61	cgaccttgc	actgacagtc	atgtaccttc	tgattgtgtg	gatggggccc	aagtacatga
121	aacacagcca	gcctactct	tgacagggcc	tcctgggtct	ctacaatctg	ggcgtcacgt
181	tggtgtctt	ctacatgttc	tatgagcttc	ttactgtctg	gtggcacagc	agctacaact
241	tctactgtca	gaacactcac	agtgcacagg	aagtgataa	caaggtcatg	aacgtcctgt
301	ggtgtacta	cttctcaag	ctcatcgagt	tcatggacac	ctttctctc	atactacgaa
361	agaataatca	cctaatcaact	ttcttcaca	tctaccacca	cactageatg	ctgaacatct
421	ggtggttgt	catgaactgg	atccctgcg	gccactcgta	ctttggcgcc	tcataaaca
481	gctttgtcca	cgtggtgatg	tattcttatt	acgggct		

图 5 黄鳝 FAE 基因部分序列片段

Fig. 5 Partial sequence of polyunsaturated fatty acid elongase mRNA of rice field eel

2.4 黄鳝胚胎及胚后发育期

FAD 和 FAE 基因表达情况

黄鳝胚胎及胚后发育过程中 FAD 与 β -肌动蛋白基因的相对表达量的变化幅度为 0 ~ 2.17, 卵裂期检测不到 FAD 表达水平, 原肠胚到出膜均可检测到 FAD 的表达水平; 出膜前 6 d 表达, 到第 8 天检测不到表达水平(图 8A)。FAD 表现为随着胚胎和胚后发育的进行表达量先升高后降低现象。仔鱼孵化出膜后第 2 ~ 4 天达到高峰, 显著高于胚胎发育期, 然后不断下降到第 6 天达到显著差异, 第 8 天检测不到表达水平。FAE 相对表达量变幅为 0.78 ~ 2.89, 从卵裂开始一直具有较高的表达水平, 仔鱼孵化出膜前后较高与孵化出膜后第 8 天具有显著差异(图 8B)。

3 讨论

黄鳝 FAD 在系统发育树自呈一支, 与金头鲷和真鲷亲缘关系较近, 与斑马鱼亲缘关系较远, FAE 的进化关系也自呈一支, 显示黄鳝 FAD 和 FAE 的系统进化具有特殊性。这可能与黄鳝特殊的分类地位和其特殊的生态习性有一定关联, 黄鳝分类上属于合鳃目、合鳃科形态与生活习性与常规鲤形目、鲤科鱼类差异很大, 具有一些特异功能^[17]。虽然本研究未克隆 FAD 和 FAE 基因全长, 但黄鳝 FAD 与军曹鱼 $\Delta 6$ 去饱和酶具有高的同源性^[14], 其次是大菱鲆、线鳢、剑尾鱼等, 说明黄鳝的 FAD 可能具有 $\Delta 6$ 去饱和酶的功能; FAE 与军曹鱼、线鳢 (*Channa striata*)、澳大利亚金枪鱼 (*Thunnus maccoyii*) 的同源性高达 89%^[14, 18], 说明黄鳝的 FAE 可能具有延长碳链的功能。不同五种之间同源性较高说明该两种酶在进化上还是较保

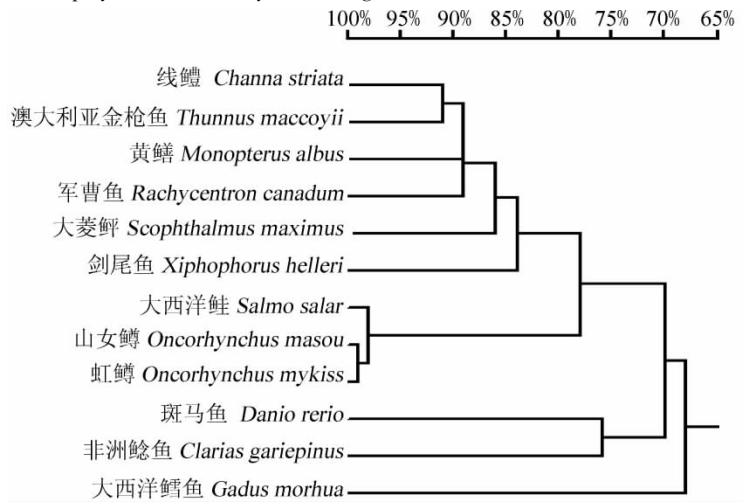


图 6 黄鳝 FAE 基因同源树

Fig. 6 Homology tree of fatty acid elongase gene of rice field eel

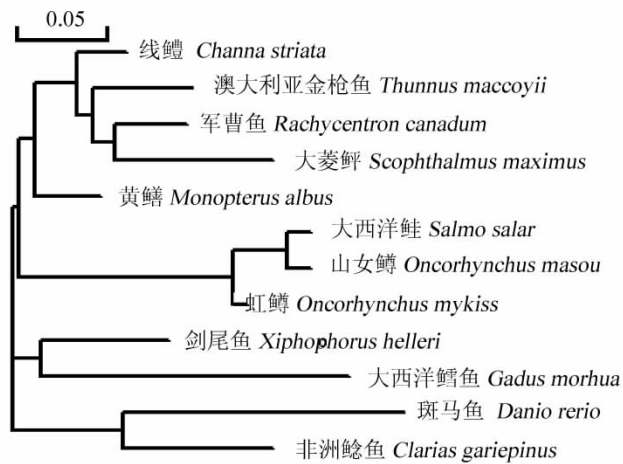
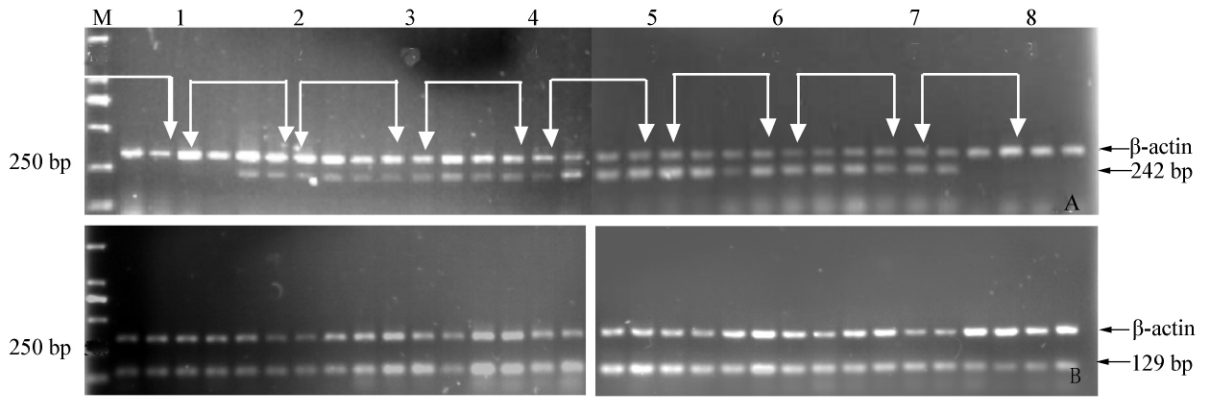


图 7 黄鳝 FAE 基因系统发育树

Fig. 7 Phylogenetic tree of fatty acid elongase gene of rice field eel

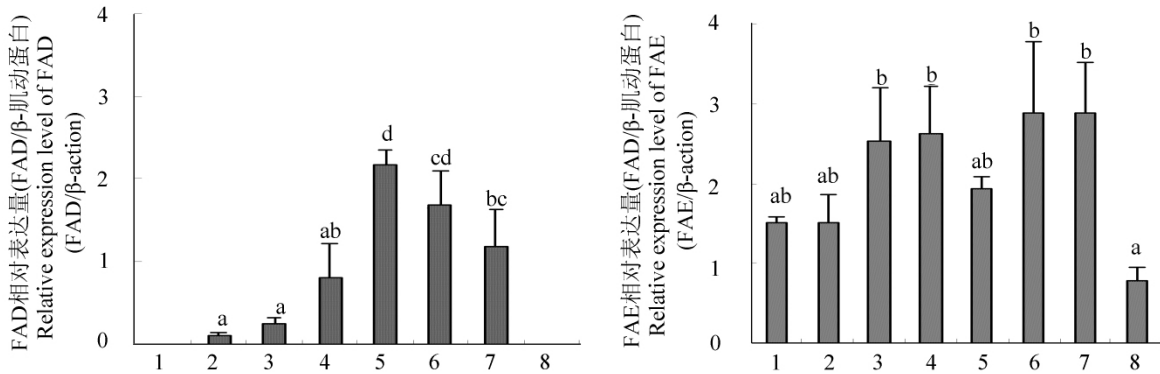


A. FAD B. FAE ;M: DL 2000; 1: 卵裂期; 2: 原肠胚期; 3: 眼囊期; 4: 出膜期; 5: 出膜 2 d; 6: 出膜 4 d; 7: 出膜 6 d; 8: 出膜 8 d。

M: DL 2000; 1: blastodisc formation stage; 2: gastrula stage; 3: stage of eye sac formation; 4: 0 days post-hatching; 5: 2d past hatching; 6: 4 d past hatching; 7: 6 d past hatching; 8: 8 d past hatching.

图 8 黄鳍胚胎及胚后发育期 FAD 和 FAE 基因表达电泳结果

Fig. 8 Gel electrophoretogram of FAD and FAE gene in rice field eel



1. 卵裂期; 2. 原肠胚期; 3. 眼囊期; 4. 出膜期; 5. 出膜 2 d; 6. 出膜 4 d; 7. 出膜 6 d; 8. 出膜 8 d。

1. blastodisc formation stage; 2. gastrula stage; 3. stage of eye sac formation; 4. 0 days post-hatching; 5. 2d past hatching; 6. 4 d past hatching; 7. 6 d past hatching; 8. 8 d past hatching.

图 9 黄鳍胚胎及胚后发育期 FAD 和 FAE 基因相对表达量 (n=4)

Fig. 9 Relative expression analysis of FAD and FAE gene in rice field eel (n=4)

守的。综合其特殊性和保守性 推测黄鳍为适应特殊的生态环境可能具有特殊的合成 LC-PUFA 的能力。

黄鳍胚胎和胚后发育阶段 FAD 基因表达量不同,分析可能受发育的程序调控。黄鳍受精卵卵裂阶段 FAD 基因不表达也可能是黄鳍不同发育阶段对 LC-PUFA 需求量不同,黄鳍卵中已存在的 LC-PUFA 量可能可以满足卵裂阶段的需求,而在器官形成阶段通常需要较多的 LC-PUFA,同时在器官形成阶段通过去饱和途径及时合成 LC-PUFA 满足发育需要一定程度上比在卵裂期开始即合成 LC-PUFA 积累于细胞中可减轻细胞抗氧化负担。研究发现添加大量鱼油的饲料培育的黄鳍亲本繁殖性能并不佳也为此提供了间接证据^[19-20]。黄鳍仔鱼通常开口摄食时间为出膜后 5~8 d,这个阶段黄鳍仔鱼卵黄囊吸收基本完成,是仔鱼由内源性营养过渡到外源性营养阶段。黄鳍出膜后第 8 天 FAD 不表达,分析其原因可能是仔鱼孵出后没有投喂饵料,一方面仔鱼卵黄中营养已完全利用又缺乏外源营养补充没有了相应的底物;另一方面可能黄鳍组织器官发育基本完成对 LC-PUFA 需求量下降,因而 FAD 基因表达也就缺乏意义。

黄鳍胚胎和胚后发育阶段 FAE 基因均表达,说明碳链延长贯彻整个黄鳍胚胎和胚后发育阶段,胚胎和胚后发育阶段均具有一定的延长碳链的能力。从图 8 可以看出 FAD 与 FAE 基因表达水平并不完全一致,仅孵化后第 2 天的仔鱼 FAD 基因表达水平与 FAE 基因表达水平接近,其它时期 FAE 基因表达水平均较高,延长碳链合成的饱和脂肪酸不完全转化为 LC-PUFA,而是维持在饱和状态,说明饱和脂肪酸对于黄鳍胚胎及胚后发育具有重要的作用。一般认为饱和脂肪酸是一类“坏”的脂肪酸,水生动物的

研究多集中在对 LC-PUFA 的研究,而对饱和脂肪酸的研究报道较少,近来对奶牛研究表明添加饱和脂肪酸可减低奶牛的热应激^[21],而 LC-PUFA 具有高度不饱和性,容易受到过氧化;与不饱和脂肪酸相比,饱和脂肪酸熔点更高、硬度更大,且不易氧化^[22],因此,对维持高温条件下细胞膜结构稳定性具有一定优势。自然中黄鳝繁殖盛期在 5—8 月^[21],黄鳝受精卵大且在高温天气浮于水表面泡沫中孵化^[23-24],推测上述情况可减少胚胎发育期热应激更有利于黄鳝胚胎发育。黄鳝受精卵卵裂阶段 FAD 基因不表达也可能是该原因。

综上所述,黄鳝胚胎和胚后发育期具有合成 LC-PUFA 的能力,黄鳝繁养殖生产中可用植物油替代部分鱼油,减少黄鳝繁养殖饲料中鱼油的使用量。这对于既降低黄鳝繁养殖饲料成本,又保障黄鳝亲本质量,提高受精卵孵化率、仔鱼成活率实现黄鳝规模化繁育具有重要的意义。

参考文献:

- [1] Barlow S. Fishmeal and fish oil: sustainable feed ingredients for aqua feeds [J]. *Global Aquaculture Advocate* 2000(4): 85-88.
- [2] Tidwell J, Allan G. Fish as food: aquaculture's contribution [J]. *World Aquacult*, 2002, 33: 44-48.
- [3] 梁旭方. 日本鳊人工育苗及仔鱼饲料研究 [J]. *水产科学* 2005, 24(4): 24-26.
- [4] Watanabe T. Lipid nutrition in fish [J]. *Comp Biochem Physiol B*, 1982, 130: 83-93.
- [5] Sargent J, McEvoy L, Estevez A, et al. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions [J]. *Aquaculture*, 1999, 179: 217-229.
- [6] Ostlund R. Phytosterols and cholesterol metabolism [J]. *Current Opinion in Lipidology* 2004, 15: 37-41.
- [7] Geurden I, Jutfelt F, Olsen R E, et al. A vegetable oil feeding history affects digestibility and intestinal fatty acid uptake in juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Comp Biochem Physiol A*, 2009, 152: 552-559.
- [8] 许友卿, 李伟峰, 丁兆坤. 多不饱和脂肪酸对鱼类免疫与成活的影响及机理 [J]. *动物营养学报*, 2010, 22(3): 551-556.
- [9] 白义春, 康相涛, 孙桂荣, 等. $\Delta 6$ -脂肪酸脱氢酶研究进展 [J]. *河南农业科学* 2008(2): 9-13.
- [10] Sargent J R, Tocher D R, Bell J G. The lipids [M]. Halver J E, Hardy R W, *Fish Nutrition*. 3rd ed, Academic Press: San Diego 2002: 181-257.
- [11] Zheng X Z, Tocher D R, Dickson C A, et al. Highly unsaturated fatty acid synthesis in vertebrates: New insights with the cloning and characterisation of a $\Delta 6$ desaturase of Atlantic salmon [J]. *Lipids* 2005, 40: 13-24.
- [12] Jaya-Ram A, Kuah M K, Lim P S et al. Influence of dietary HUFA levels on reproductive performance, tissue fatty acid profile and desaturase and elongase mRNAs expression in female zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Aquaculture*, 2008, 277: 275-281.
- [13] Du Z Y, Clouet P, Huang L M, et al. Utilization of different dietary lipid sources at high level in herbivorous grass carp (*Ctenopharyngodon idella*): mechanism related to hepatic fatty acid oxidation [J]. *Aquacult Nutr* 2008, 14: 77-92.
- [14] 许友卿, 郑一民, 丁兆坤. 军曹鱼 $\Delta 6$ 脂肪酸去饱和酶的 cDNA 序列克隆与基因表达 [J]. *中国水产科学*, 2010, 17(6): 1183-1191.
- [15] Ling S, Kuah M K, Tengku Muhammad T S, et al. Effect of dietary HUFA on reproductive performance, tissue fatty acid profile and desaturase and elongase mRNAs in female swordtail *Xiphophorus helleri* [J]. *Aquaculture* 2006: 261, 204-214.
- [16] 李建林, 俞菊华, 唐永凯, 等. 黄鳝 β -肌动蛋白基因的克隆及序列分析 [J]. *中国水产科学* 2005, 12(2): 188-197.
- [17] Chew S F, Gan J, Ip Y K. Nitrogen metabolism and excretion in the swamp eel, *Monopterus albus*, during 6 or 40 days of estivation in mud [J]. *Physiol Biochem Zool* 2005, 78: 620-629.
- [18] 许友卿, 郑一民, 丁兆坤. 合成高度不饱和脂肪酸 $\Delta 6$ 去饱和酶研究的回顾营养研究与前瞻 [J]. *饲料工业* 2008, 29(14): 41-45.
- [19] 张燕萍, 谢宪兵. 添加不同水平的鱼油对黄鳝生长及繁殖性能的影响 [J]. *江西水产科技* 2007(3): 2-5.
- [20] Zhou Qiu-Bai, Wu Hua-Dong, Zhu Chang-Sheng, et al. Effects of dietary lipids on tissue fatty acids profile, growth and reproductive performance of female rice field eel (*Monopterus albus*) [J]. *Fish Physiol Biochem* 2011, 37: 433-445.
- [21] 王建平, 王加启, 李发弟, 等. 饱和脂肪酸对泌乳中期热应激奶牛产奶性能、采食量和能量代谢的影响 [J]. *中国粮油学报*, 2010, 25(2): 101-106.
- [22] Song J H, Miyazawa T. Enhanced level of n-3 fatty acid in membrane phospholipids induces lipid peroxidation in rats fed dietary docosahexaenoic acid oil [J]. *Atherosclerosis* 2001, 155(1): 9-18.
- [23] 徐宏发, 朱大军. 黄鳝的生殖习性和人工繁殖 [J]. *水产科技情报*, 1987(6): 14-15.
- [24] 尹邵武, 周工健, 刘筠. 不同生态因子对黄鳝受精卵孵化率的影响 [J]. *应用生态学报* 2004, 15(4): 734-736.
- [25] 周秋白, 吴华东, 吴红翔, 等. 黄鳝的胚胎及胚后发育 [J]. *水产学报* 2003, 27: 505-512.