



饲料磷水平对吉富罗非鱼肠道磷和脂肪酸转运及甘油三酯沉积的影响

刘香元, 赵 涛, 郭雨诗, 何 杨, 刘光辉, 罗 智*

(华中农业大学水产学院, 湖北 武汉 430070)

摘要: 为了探究饲料中不同磷水平对吉富罗非鱼肠道磷和脂肪酸转运及甘油三酯沉积的影响, 实验配制了 3 组不同磷水平的饲料 [1.21% (LPD)、1.75% (MPD) 和 2.66% (HPD)], 投喂吉富罗非鱼 10 周。结果显示, 与 LPD 组相比, HPD 组显著增加吉富罗非鱼肠道钠磷协同转运体 SLC34A2 基因 (95.7%) 和蛋白 (200.1%) 的表达, 增加肠道组织总磷含量 (79.2%); HPD 组上调脂肪酸吸收基因 *cd36*、*fabp1*、*fabp2* 和 *fatp1* 及甘油三酯合成基因 *dgat1* 的表达 (11.2%~54.0%), 下调脂肪酸转运基因 *apob-100* 的表达 (37.7%), 增加游离脂肪酸 (NEFA) 的含量 (241.1%)。与 LPD 组相比, HPD 组显著增加吉富罗非鱼肠道组织甘油三酯 (TG) 的含量 (42.9%)。研究表明, 饲料中高磷水平可增加肠道组织 TG 的含量, 上调脂肪酸吸收途径和抑制脂肪酸排出途径。

关键词: 吉富罗非鱼; 磷; 脂肪酸转运; 甘油三酯; 磷转运

中图分类号: S 963.73

文献标志码: A

磷 (P) 是动物体内重要的一种常量矿物元素, 通常以无机磷酸盐的形式存在于体内, 也是骨骼、磷脂、核蛋白和核酸的重要成分之一。在哺乳动物中, 磷稳态需要肠道、肾、骨骼和软组织的共同调节。小肠是磷主要的吸收器官, 骨骼是磷的储存场所, 肾脏通过调控尿磷的排泄与吸收来维持体内磷的平衡^[1-2]。鱼类对饲料磷的吸收以肠道和肾脏为主。研究表明肠道对无机磷的吸收主要依靠 Na⁺ 依赖的磷酸盐协同转运载体 (NaPi-IIb)^[3], 该转运载体蛋白由基因 *slc34a2* 编码^[4]。其转运机理为: 在小肠细胞膜上存在钠钾泵的载体蛋白, 钠钾泵会将 2 个 Na⁺ 输入细胞内, 同时将 3 个 K⁺ 排出细胞外, 这个过程会产生电化学梯度, 钠磷协同转运就依靠这种化学梯度进行^[3]。根据对基因的定位发现, 小肠基底膜和肠上皮细胞是磷酸

盐的主要吸收部位^[4]。

脂肪酸是由碳、氢、氧等 3 种元素组成的一类化合物, 它能为机体提供和储存能量、帮助脂溶性维生素吸收。肠上皮细胞吸收脂肪酸的机制有: 被动扩散、蛋白介导转运, 或者二者兼有。较为主流的观点是肠道中的脂肪酸是通过肠上皮细胞顶膜上蛋白质介导的转运途径完成吸收。脂肪酸转运相关的载体蛋白有脂肪酸转位酶 CD36、质膜相关脂肪酸结合蛋白 FABPpm、脂肪酸转运蛋白家族 FATP 等^[5]。FABP 能够特异性的结合脂肪酸, 被称为脂质伴侣^[6]。少数脂肪酸由 FATP 运输, 他们存在于质膜和细胞器中^[7]。CD36 在肠道、心脏和骨骼肌等高表达, 对脂肪酸亲和力较高, 主要定位在肠绒毛膜上。研究表明当 CD36 过表达时可以促进脂肪沉积^[8-10]。脂肪酸被以上几种转

收稿日期: 2022-07-01 修回日期: 2022-08-01

资助项目: 蓝色粮仓科技创新专项 (2018YFD0900400)

第一作者: 刘香元 (照片), 从事水产动物分子营养研究, E-mail: xiangyuanliu@webmail.hzau.edu.cn

通信作者: 罗智, 从事水产动物分子营养研究, E-mail: luozhi99@mail.hzau.edu.cn



运体转入细胞后参与多种代谢过程, 如以脂滴形式储存、调控脂质代谢、参与内质网活动和线粒体 β 氧化等^[6,11]。其中, 在内质网中, 脂肪酸在单酰基甘油酰基转移酶 (MGAT) 和二酰基甘油酰基转移酶 (DGAT) 作用下重新合成甘油三酯, 甘油三酯与 ApoB48 形成前乳糜微粒和极低密度脂蛋白, 随后在 ApoA-IV 参与下被转运囊泡 PCTV 转运到高尔基体, 在 ApoA-I 作用下成熟^[12-13]。

近年来, 由于食品中含磷添加剂的广泛使用, 导致人们摄食的磷含量普遍较高, 约为正常水平的 2~3 倍^[14]。在哺乳动物中的研究发现, 高磷饲料会通过减少肝脏氨基酸分解代谢和脂肪生成相关基因的表达, 进而促进脂肪的分解^[15-16], 但在鱼类肠道组织中关于饲料磷对肠道磷含量、脂肪酸转运及甘油三酯沉积的研究目前鲜见报道。

吉富罗非鱼 (GIFT *Oreochromis niloticus*) 具有优良的生长性能, 较强的环境耐受性, 是世界范围内一种重要的经济鱼类和理想的实验模型^[17]。近年来因高脂饲料的大量使用, 导致了鱼类脂肪的过度沉积^[18], 这有可能诱发鱼类脂肪肝的发生。本研究以吉富罗非鱼为实验模型, 探讨饲料中不同磷水平对吉富罗非鱼肠道组织饲料磷和脂肪酸的转运及脂质沉积的影响。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

饲料配方和营养成分参照已有的文献^[19], 饲料中添加 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 制成磷含量不同的 3 组饲料。饲料简要制作方法: 将各种原料粉碎并过 200 目筛, 充分混合 20 min, 加入水, 再次混合, 直到呈面团状。最后制粒, 使饲料直径大小为 2.0 mm, 再烘干, 使得水分在 10% 左右, 最后粉碎, -20°C 保存。用分光光度法测得饲料中总磷含量分别 1.21%(LPD 组)、1.75%(MPD 组) 和 2.66%(HPD 组)。

1.2 实验试剂

RNA 提取 (TRIzol) 试剂购自 Invitrogen 公司 (美国), 逆转录试剂盒、qRT-PCR 荧光定量试剂盒购自 TaKaRa 公司 (北京), qRT-PCR 引物由武汉擎科生物有限公司合成。总蛋白质 (TP) 测定试剂盒 (考马斯亮蓝法)、甘油三酯 (TG) 测定试剂盒 (GPO-PAP 法) 和游离脂肪酸 (NEFA) 测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所。蛋白抗体均购自

ABclonal 公司 (中国)。化学试剂均为分析纯, 购自上海国药。

1.3 实验鱼与饲养管理

实验用鱼购买于湖北省赤壁市一养殖场, 选用 225 尾健康、规格均一的吉富罗非鱼 [(8.89 ± 0.01) g] 为实验对象, 放入 9 个玻璃纤维缸中, 每缸 25 尾, 每组 3 个重复。采用静水养殖模式, 向缸内充气以充分满足水体溶解氧, 使其保持饱和和状态。每天两次饱食投喂实验鱼, 投喂时间为 8:00 和 16:00, 投喂前进行吸污与换水, 投喂 30 min 后吸出残饵。进行 10 周养殖后, 对实验鱼饥饿 24 h, 用 MS-222 (10 mg/L) 麻醉实验鱼, 解剖获得其肠道, 用于甘油三酯 (Triglyceride, TG) 和游离脂肪酸含量测定、磷转运蛋白 SLC34A2 测定、脂肪酸转运相关基因和肠道组织总磷含量等实验指标测定。

1.4 肠道 TG 含量、游离脂肪酸 (NEFA) 和组织总磷含量测定

根据南京建成生物工程研究所试剂盒说明书测定 TG 含量 (A110-1-1, 南京建成生物工程研究所, 南京, 中国) 和 NEFA 含量 (A042-1-1, 南京建成生物工程研究所, 南京, 中国)。参照已有的文献^[20], 采用钼钒酸盐法 (分光光度法) 测定肠道组织的总磷含量。

1.5 实时荧光定量 PCR (qPCR) 检测基因表达

根据已有的文献^[21], 使用 Trizol 法分离罗非鱼肠道总 RNA, 使用 TaKaRa 的逆转录试剂盒, 按照说明书合成第一链 cDNA, 保存于 -20°C , 用于测定相关基因表达。荧光定量引物见表 1, 从 7 个管家基因 (*b2m*, *rpl7*, *hprt*, *β -actin*, *ubce*, *18s rRNA* 和 *tuba*) 中通过 (<https://genorm.cmgg.be/>) geNorm 分析, 得到 *rpl7* 和 *β -actin* 的表达水平最稳定, 所以选用双内参 *rpl7* 和 *β -actin* 对基因进行标准化, 通过 $2^{-\Delta\Delta C}$ 方法计算基因的相对变化。

1.6 蛋白质免疫印迹分析

根据文献^[22]方法, 用 RIPA 裂解液 (G3424, 广州捷倍斯生物科技有限公司, 中国) 裂解罗非鱼肠道组织, 制备细胞裂解液。沸水浴加热使蛋白充分变性, 室温冷却后, 将 40 μg 蛋白上样到 SDS-PAGE 胶加样孔内 120 V 电泳, 直至溴酚蓝跑出。使用 PVDF 膜, 270 mA 转膜 120 min, 放

表 1 实时荧光定量 PCR 所用的引物序列

Tab. 1 Primers used for quantitative real-time PCR

基因名称 gene	正向引物(5'—3') forward primer (5'—3')	反向引物(5'—3') reverse primer (5'—3')	NCBI参考序列 NCBI RefSeq
<i>slc34a2</i>	ACCAGACTTGACCCAGATG	GCACCTTCTTGATCAGCACA	EU647752.1
<i>dgat1</i>	TCAATGAAACCGTTCCAGG	ATGTGACAGTCTCAGAGTTCCAC	XM_003444020.5
<i>dgat2</i>	CTAGATGGAGCCAGAAGGACTTC	TCGTAGAACTCCTTCACTTTCGG	XM_003458972.5
<i>mgat2</i>	GTATGGAGCTCATCTGGTACCAG	GAGGAAGAGAGACACCCATGATC	XM_025910896.1
<i>cd36</i>	GGTATTGAGTCTACCGCTACAG	GAGATGAAGACTGGTCTACCGTC	XM_003452029.5
<i>fabp1</i>	AGCCCAGTGAAGTGTATCTGAAG	TGCTACAGATAGACATCCACTGC	XM_003450322.5
<i>fabp2</i>	GGAGTTAACATGGTGAAGAGG	ACCTGATAGTTCTGTTCCGCTG	XM_003452249.4
<i>fatp1</i>	GGAAAAAGGGGTAGTCAGG	TGTTGAACTCTGGTCTCTTAGCC	XM_003442099.2
<i>apob-100</i>	GGAGGCTATTGTTGAGAAATCGC	CCTCCATAGTGAAGGCAGAGATC	XM_019345512.2
<i>mtp</i>	AATGATGTGTCTGGGAGGTGTAC	GTGAACACTGTAACAGAAGTGGC	XM_005458713.4
<i>rpl7</i>	TGCCCTCACAGACAATGCTT	GTCTTCTTGTTTCATGCCGCC	XM_003443469.4
<i>β-actin</i>	GTGTGATGGTGGGTATGGGT	CTGTTGGCTTTGGGGTTCAG	XM_003443127.5

在甲醇中预冷后, 在脱脂奶粉中室温封闭 2 h。TBST 洗涤, 用 1 : 1 000 比例稀释的 SLC34A2 (A9460, ABclonal, 中国) 4 °C 摇床上孵育过夜。后 TBST 洗涤, 加入 1 : 1 0000 稀释的 GAPDH (#2118, Cell Signaling Technology, 美国) 25 °C 摇床孵育 1 h, TBST 洗涤, 使用 Li-COR Bioscience 奥德赛红外荧光成像系统 (Lincoln, USA) 成像, Image-Pro Plus 6.0 软件进行灰度分析。

1.7 数据分析

使用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计和分析, 采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 检验各组间的显著性, 当数据之间差异显著时, 利用 Duncan 氏法对数据进行多重比较。数据以平均值 ± 标准误 (mean ± SE) 表示。

2 结果

2.1 不同饲料磷水平对罗非鱼磷酸盐转运体和肠道磷含量的影响

相较于 LPD 组, 罗非鱼肠道组织钠磷协同转运体 SLC34A2 的基因与蛋白表达水平在 HPD 组显著升高 (基因 95.7%; 蛋白 202.1%) (图 1-a~c), 且 HPD 组肠道组织总磷含量也显著上升 (79.2%) (图 1-d)。结果说明, 饲料磷水平升高能提高肠道组织对磷酸盐的转运效率。

2.2 不同饲料磷水平对罗非鱼肠道脂肪酸转运与游离脂肪酸 (NEFA) 含量的影响

与 LPD 组相比, HPD 组显著上调甘油三酯合

成基因 *dgat1* 的表达 (29.8%), 及脂肪酸吸收基因 *cd36*, *fabp1*, *fabp2*, *fatp1* 的表达 (11.2%~54.0%), 下调脂肪酸转运基因 *apob-100* 的表达 (37.7%) (图 2-a)。同时, 肠道组织中游离脂肪酸水平也显著上升 (241.1%) (图 2-b)。结果显示, 饲料中磷水平升高可以促进肠道脂肪酸吸收基因和甘油三酯合成基因的表达, 抑制脂肪酸转运基因的表达, 增加肠道组织 NEFA 的含量。

2.3 不同饲料磷水平对罗非鱼肠道组织 TG 含量的影响

TG 含量随着饲料磷水平的增加而增加 (图 3)。相较于 LPD 组, HPD 组能增加肠道组织 TG 含量 (42.9%)。

3 讨论

在哺乳动物中有 3 种钠磷协同转运载体, 分别是 I 型 (Na/Pi-I)、II 型 (Na/Pi-II) 和 III 型 (Na/Pi-III)^[3]。目前对鱼类钠磷协同转运载体的研究较少, 研究表明鱼类肠道和肾脏的钠磷转运载体蛋白均为 Na/Pi-IIb 型, 其由基因 *slc34a2* 编码^[23]。本研究表明, 饲料磷水平升高显著上调罗非鱼肠道组织中钠磷协同转运载体 SLC34A2 的基因和蛋白表达水平。相似地, Jin 等^[24]研究了小鼠肺对磷的响应机制, 表明高磷饲料喂养 4 周显著提升小鼠肺中 SLC34A2 的蛋白表达。在鲫的十二指肠中, 喂养 10 d 时, 低磷饲料能显著提高 NaPi mRNA 基因的表达, 但在喂养 60 d 时, 高磷饲料上调 NaPi mRNA 的基因表达, 且喂养罗非鱼 7 和 60 d 时, 高磷饲

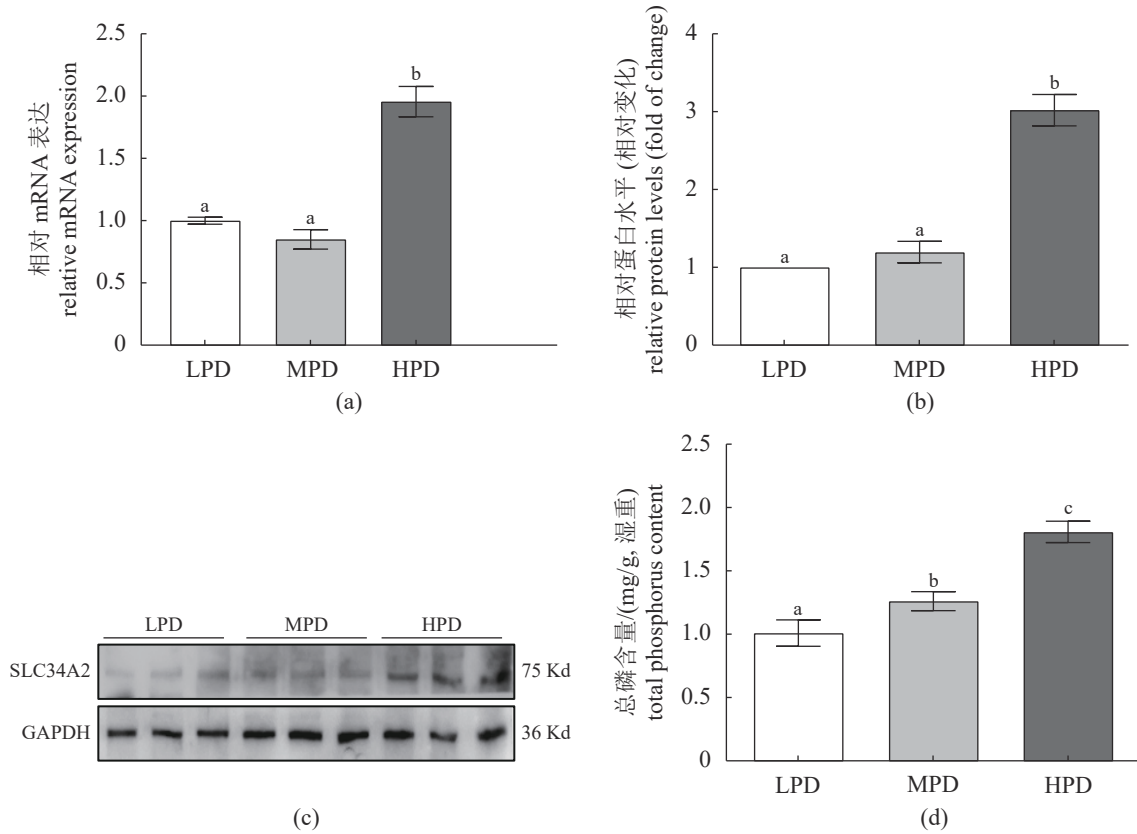


图 1 不同饲料磷水平对吉富罗非鱼肠道组织钠磷协同转运体 (SLC34A2) 和总磷含量的影响

(a) *slc34a2* 的基因表达水平。(b)(c-) SLC34A2 的蛋白表达水平。(d) 总磷含量。不同字母的条形图表示不同组之间存在显著性差异 ($P \leq 0.05$)

Fig. 1 Effect of different dietary phosphorus levels on SLC34A2 in the intestine of GIFT tilapia

(a) Relative mRNA expression of *slc34a2*. (b,c) Relative protein expression of SLC34A2. (d) Total phosphorus content. Bars that do not share a common letter mean significant difference among different groups ($P \leq 0.05$)

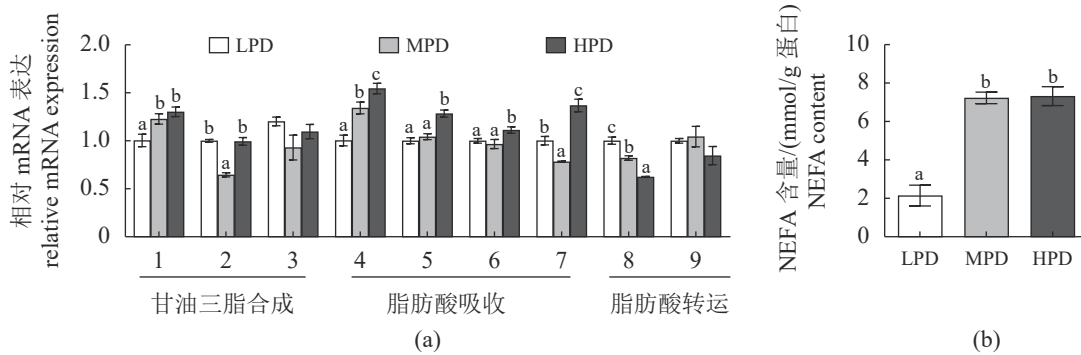


图 2 不同饲料磷水平对吉富罗非鱼肠道组织脂肪酸转运基因和 NEFA 含量的影响

(a) 脂肪酸转运相关基因表达水平。(b) NEFA 含量。不同字母表示不同组之间存在显著差异性 ($P \leq 0.05$), 1. 二酰基甘油 O-酰基转移酶 1(dgat1); 2. 二酰基甘油 O-酰基转移酶 2(dgat2); 3. α -1, 6-甘露糖基-糖蛋白 2- β -N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 (mgat2); 4. 脂肪酸移位酶 CD36(CD36); 5. 脂肪酸结合蛋白 1(fabp1); 6. 脂肪酸结合蛋白 2(fabp2); 7. 脂肪酸转运蛋白 1(fatp1); 8. 载脂蛋白 B-100(apob-100); 9. 微粒体甘油三酯转移蛋白 (mttp)

Fig. 2 Effect of different dietary phosphorus levels on fatty acid transport genes and NEFA in the intestine of GIFT tilapia

(a) Relative mRNA expression of fatty acid transport genes. (b) NEFA content. Bars that do not share a common letter mean significant difference among different groups ($P \leq 0.05$). 1: *dgat1*; 2: *dgat2*; 3: *mgat2*; 4: *CD36*; 5: *fabp1*; 6: *fabp2*; 7: *fatp1*; 8: *apob-100*; 9: *mttp*

料上调 NaPi mRNA 的基因表达, 但结果不显著^[25]。但也有研究表明, 低磷饲料可以提高虹鳟 (*Onco-*

rhynchus mykiss) 肠道中 NaPi mRNA 的基因表达^[26], 这表明不同饲料磷水平下, 不同动物组织

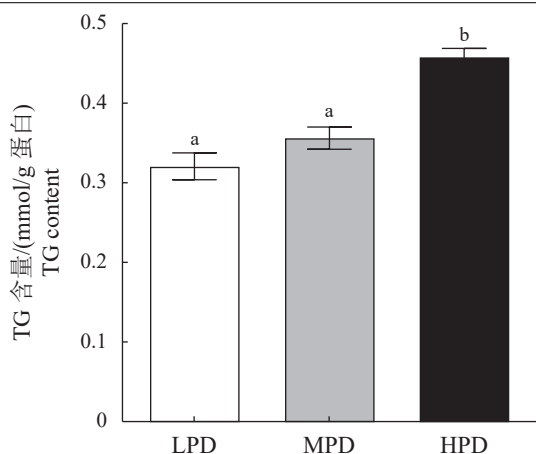


图3 不同饲料磷水平对罗非鱼肠道组织TG含量的影响

不同字母表示不同组间存在显著性差异 ($P \leq 0.05$)

Fig. 3 Effect of different dietary phosphorus levels on triglyceride content of intestine

Bars that do not share a common letter mean significant difference among different groups ($P \leq 0.05$)

对钠磷转运载体的响应存在区别。此外, 本研究发现, 与LPD组相比, HPD增加罗非鱼肠道组织总磷含量, 这与黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 的研究结果相似^[27]。Avila等^[28]研究也表明, 虹鳟肠道组织中的磷酸盐浓度随饲料中磷浓度的增加而增加。总之, 本研究表明, 高磷饲料对罗非鱼肠道组织钠磷协同转运载体SLC34A2的表达有促进作用。

在本研究中, 高磷饲料显著增加罗非鱼肠道组织的甘油三酯含量。在哺乳动物中也有研究表明, 高磷饲料可以降低肝脏、棕色脂肪组织中脂质的含量^[15-16]。但饲料磷水平对鱼类肠道组织脂质含量的影响目前没有文献报道。我们进一步研究发现, 饲料磷水平升高会增加肠道组织游离脂肪酸含量。最近的研究表明甘油三酯合成相关基因 *mgat2* 和 *dgat1* 在脂质代谢中起着关键作用^[29-30]。*dgat1* 能促进大鼠肝星状细胞甘油三酯的合成, 使用 *dgat1* 的特异性抑制剂 T863 后, 甘油三酯合成过程受阻, 其含量下降^[30]。这说明 *dgat1* 基因对甘油三酯合成有正向调控作用。本研究也表明, 高磷饲料促进了 *dgat1* 的基因表达和甘油三酯合成。在小鼠小肠中, 抑制 *mgat2* 基因同样会减少甘油三酯的含量^[29], 但高磷饲料对罗非鱼肠道组织 *mgat2* 基因没有显著影响。本研究还表明, 高磷饲料促进罗非鱼肠道组织脂肪酸吸收相关基因 (*cd36*、*fabp1*、*fabp2*、*fatp1*) 的表达, 抑制脂肪酸排出相关基因 (*apob-100*) 的表达, 从而增加肠道

组织 NEFA 的含量。目前有关饲料磷水平与鱼类脂肪酸转运方面的研究非常有限, 为数不多的研究指出, 高磷饲料会显著降低黄颡鱼肠道组织甘油三酯的含量, 是通过下调脂肪酸吸收基因 *fatp1*、*fabp2* 和 *cd36* 的表达, 上调脂肪酸排出基因 *mtp* 和 *apob* 的结果^[31]。总之, 这些结果表明高磷饲料能够通过促进罗非鱼肠道组织脂肪酸的吸收和抑制脂肪酸排出, 增加肠道组织中甘油三酯含量。

综上所述, 本研究以吉富罗非鱼为实验模型, 评估了饲料中不同饲料磷水平对罗非鱼肠道组织的饲料磷吸收、脂肪酸转运以及甘油三酯沉积的影响。研究发现高磷饲料促进罗非鱼肠道组织对磷的吸收、提高脂肪酸转运效率, 从而增加罗非鱼肠道组织中甘油三酯的含量。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Hernando N, Wagner C A. Mechanisms and regulation of intestinal phosphate absorption[J]. *Comprehensive Physiology*, 2011, 8(3): 1065-1090.
- [2] Michigami T, Kawai M, Yamazaki M, et al. Phosphate as a signaling molecule and its sensing mechanism[J]. *Physiological Reviews*, 2018, 98(4): 2317-2348.
- [3] Werner A, Dehmelt L, Nalbant P. Na⁺-Dependent phosphate cotransporters: the NaPi protein families[J]. *Journal of Experimental Biology*, 1998, 201(23): 3135-3142.
- [4] Verri T, Werner A. Type II Na⁺-phosphate cotransporters and phosphate balance in teleost fish[J]. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 2019, 471(1): 193-212.
- [5] Bradbury M W, Berk P D. Lipid metabolism in hepatic steatosis[J]. *Clinics in Liver Disease*, 2004, 8(3): 639-671.
- [6] Furuhashi M, Hotamisligil G S. Fatty acid-binding proteins: Role in metabolic diseases and potential as drug targets[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2008, 7(6): 489-503.
- [7] Glatz J F C, Luiken J J F P, Bonen A. Membrane fatty acid transporters as regulators of lipid metabolism: implications for metabolic disease[J]. *Physiological Reviews*, 2010, 90(1): 367-417.
- [8] Kennedy D J, Chen Y L, Huang W X, et al. CD36 and Na/K-ATPase- α 1 form a proinflammatory signaling loop in kidney[J]. *Hypertension*, 2013, 61(1): 216-224.

- [9] Herman-Edelstein M, Scherzer P, Tobar A, *et al.* Altered renal lipid metabolism and renal lipid accumulation in human diabetic nephropathy[J]. *Journal of Lipid Research*, 2014, 55(3): 561-572.
- [10] Gai Z B, Wang T Q, Visentin M, *et al.* Lipid accumulation and chronic kidney disease[J]. *Nutrients*, 2019, 11(4): 722.
- [11] Huang L P, Tepasorndech S, Kirschke C P, *et al.* Aberrant fatty acid metabolism in skeletal muscle contributes to insulin resistance in zinc transporter 7 (*Znt7*)-knockout mice[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2018, 293(20): 7549-7563.
- [12] Jaschke A, Chung B, Hesse D, *et al.* The GTPase ARFRP1 controls the lipidation of chylomicrons in the Golgi of the intestinal epithelium[J]. *Human Molecular Genetics*, 2012, 21(14): 3128-3142.
- [13] Cifarelli V, Abumrad N A. Intestinal CD36 and other key proteins of lipid utilization: role in absorption and gut homeostasis[J]. *Comprehensive Physiology*, 2018, 8(2): 493-507.
- [14] Kemi V E, Rita H J, Kärkkäinen M U, *et al.* Habitual high phosphorus intakes and foods with phosphate additives negatively affect serum parathyroid hormone concentration: a cross-sectional study on healthy premenopausal women[J]. *Public Health Nutrition*, 2009, 12(10): 1885-1892.
- [15] Chun S, Bamba T, Suyama T, *et al.* A high phosphorus diet affects lipid metabolism in rat liver: a DNA microarray analysis[J]. *PLoS One*, 2016, 11(5): e0155386.
- [16] Imi Y, Yabiki N, Abuduli M, *et al.* High phosphate diet suppresses lipogenesis in white adipose tissue[J]. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 2018, 63(3): 181-191.
- [17] Guyon R, Rakotomanga M, Azzouzi N, *et al.* A high-resolution map of the Nile tilapia genome: a resource for studying cichlids and other percomorphs[J]. *BMC Genomics*, 2012, 13: 222.
- [18] Ling S C, Wu K, Zhang D G, *et al.* Endoplasmic reticulum stress-mediated autophagy and apoptosis alleviate dietary fat-induced triglyceride accumulation in the intestine and in isolated intestinal epithelial cells of yellow catfish[J]. *The Journal of Nutrition*, 2019, 149(10): 1732-1741.
- [19] Liu X Y, Zhao T, Wei X L, *et al.* Dietary phosphorus reduced hepatic lipid deposition by activating AMPK pathway and Beclin1 phosphorylation levels to activate lipophagy in tilapia *Oreochromis niloticus*[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 841187.
- [20] Tausky H H, Shorr E, Kurzmann G. A microcolorimetric method for the determination of inorganic phosphorus[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1953, 202(2): 675-685.
- [21] Wei X L, Hogstrand C, Chen G H, *et al.* Zn induces lipophagy via the deacetylation of beclin1 and alleviates Cu-induced lipotoxicity at their environmentally relevant concentrations[J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(8): 4943-4953.
- [22] Xu Y C, Xu Y H, Zhao T, *et al.* Waterborne Cu exposure increased lipid deposition and lipogenesis by affecting Wnt/ β -catenin pathway and the β -catenin acetylation levels of grass carp *Ctenopharyngodon idella*[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 263: 114420.
- [23] Werner A, Kinne R K H. Evolution of the Na-P₁ cotransport systems[J]. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2001, 280(2): R301-R312.
- [24] Jin H, Xu C X, Lim H T, *et al.* High dietary inorganic phosphate increases lung tumorigenesis and alters Akt signaling[J]. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2009, 179(1): 59-68.
- [25] Sugiura S. Identification of intestinal phosphate transporters in fishes and shellfishes[J]. *Fisheries Science*, 2009, 75(1): 99-108.
- [26] Sugiura S H, Kelsey K, Ferraris R P. Molecular and conventional responses of large rainbow trout to dietary phosphorus restriction[J]. *Journal of Comparative Physiology B*, 2007, 177(4): 461-472.
- [27] Luo Z, Tan X Y, Liu X, *et al.* Dietary total phosphorus requirement of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. *Aquaculture International*, 2010, 18(5): 897-908.
- [28] Avila E M, Tu H, Basantes S, *et al.* Dietary phosphorus regulates intestinal transport and plasma concentrations of phosphate in rainbow trout[J]. *Journal of Comparative Physiology B*, 2000, 170(3): 201-209.
- [29] Tsuchida T, Fukuda S, Aoyama H, *et al.* MGAT2 deficiency ameliorates high-fat diet-induced obesity and insulin resistance by inhibiting intestinal fat absorption in mice[J]. *Lipids in Health and Disease*, 2012, 11: 75.
- [30] Tuohetahuntala M, Molenaar M R, Spee B, *et al.* ATGL

- and DGAT1 are involved in the turnover of newly synthesized triacylglycerols in hepatic stellate cells[J]. *Journal of Lipid Research*, 2016, 57(7): 1162-1174.
- [31] Chen G H, Luo Z, Hogstrand C, *et al.* SREBP1, PPARG and AMPK pathways mediated the Cu-induced change in intestinal lipogenesis and lipid transport of yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. *Food Chemistry*, 2018, 269: 595-602.

Effects of dietary phosphorus levels on phosphorus and fatty acid transport and triglyceride deposition in the intestine of GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*)

LIU Xiangyuan, ZHAO Tao, GUO Yushi, HE Yang, LIU Guanghui, LUO Zhi*
(Laboratory of Molecular Nutrition, Fishery College, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Phosphorus is an important mineral element in animals, and it is an essential component of bone, phospholipids, nucleoproteins and nucleic acids. However, there are few studies on effects of dietary phosphorus on phosphorus content, fatty acid transport and lipid deposition in the intestines. The present study was conducted to explore the effect of dietary phosphorus levels on phosphorus and fatty acid transport, and lipid metabolism in the intestines of GIFT tilapia. Three diets were formulated with phosphorus at the levels of 1.21% (LPD), 1.75% (MPD), 2.66% (HPD). The diets were fed to juvenile GIFT tilapia for 10 weeks. Compared with the LPD group, HPD group significantly increased gene (95.7%) and protein expression (200.1%) of the SLC34A2 and total phosphorus content (79.2%) of the intestine. Compared with the LPD group, the HPD group up-regulated the expression of the fatty acid absorption-related genes *cd36*, *fabp1*, *fabp2*, and *fatp1* and the TG synthesis-related genes *dgat1* (by 11.2% to 54.0%), down-regulated the expression of the fatty acid transport-related genes *apob-100* (37.7%), and increased the content of non-esterified fatty acid (NEFA) (241.1%) in the intestine. HPD also increased TG content (42.9%). In conclusion, our study showed that high dietary phosphorus increased intestinal TG content by inhibiting the fatty acid export and up-regulating the fatty acid absorption. Our study may provide a basis for the further elucidation into the mechanism of dietary phosphorus influencing phosphorus and lipid metabolism in fish.

Key words: GIFT *Oreochromis niloticus*; phosphorus; fatty acid transport; lipid metabolism; phosphorus transport

Corresponding author: LUO Zhi. E-mail: luozhi99@mail.hzau.edu.cn

Funding projects: National Key R&D Program of China (2018YFD0900400)