

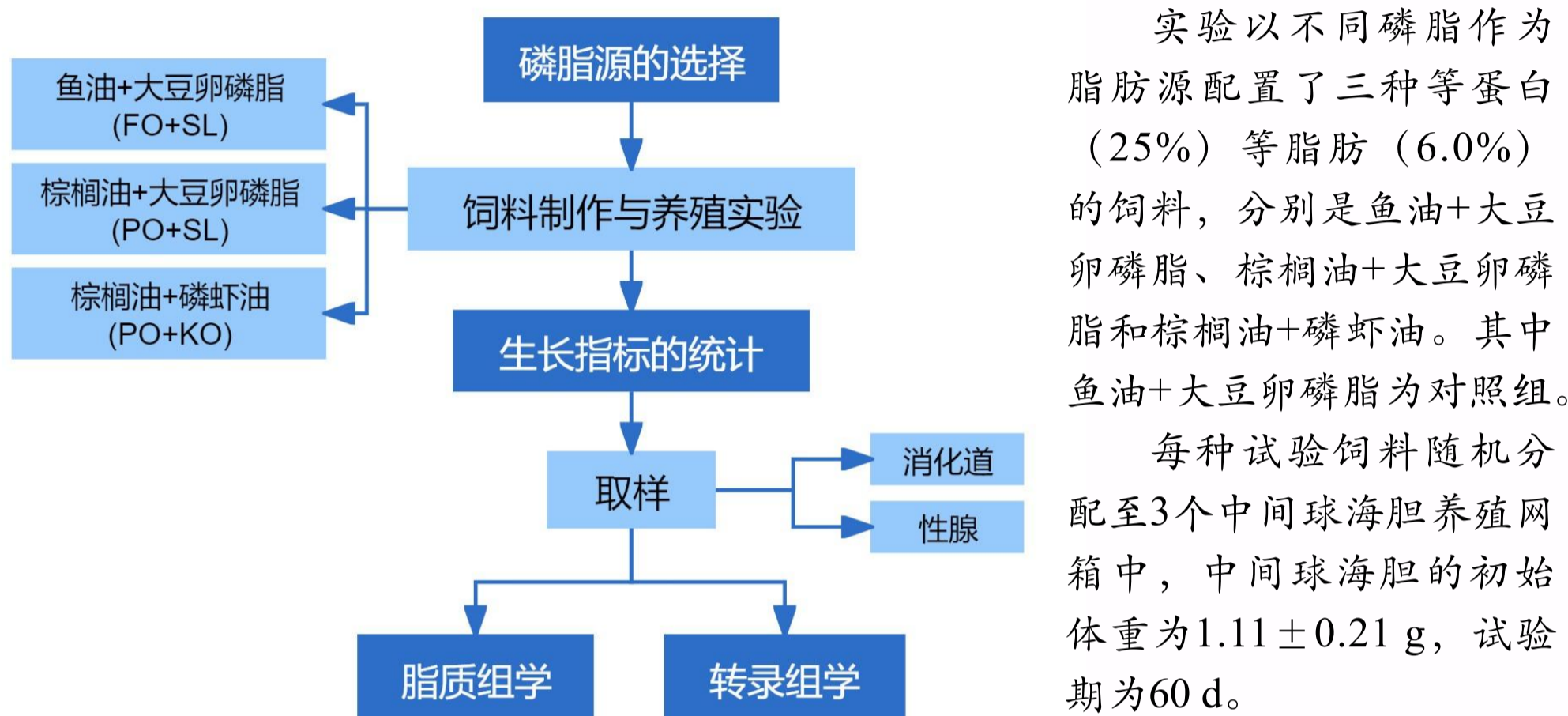


### 研究背景

海胆作为一种珍贵的美食, 以其独特的口感、靓丽的颜色和丰富的营养受到全球消费者的青睐。性腺是海胆唯一可食用的部位, 含有丰富的长链多不饱和脂肪酸(LC-PUFAs), 是重要的必需脂肪酸的膳食来源。

近几十年来, 随着养殖技术的不断进步和发展, 中间球海胆已成为中国北方沿海地区最重要的经济养殖品种之一。多项研究表明, 即使在饲料中不添加LC-PUFAs, 中间球海胆的性腺中仍会检测到一定量的LC-PUFAs, 此外近有研究发现, 饲料中添加1.6%大豆卵磷脂会使中间球海胆LC-PUFAs含量增加及其合成相关基因表达升高。而目前, 关于海胆性腺独特的脂质积累和代谢机制的研究未见报道。因此, 阐明中间球海胆的脂质积累和代谢机制, 对于探索中间球海胆的精确营养需求和深入了解海胆的促性腺激素生成具有重要意义。

### 研究方法



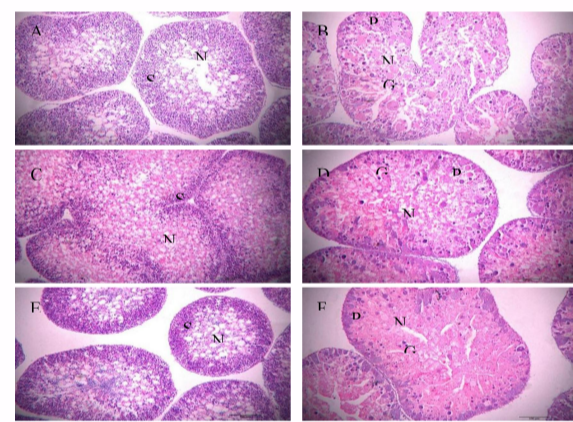
实验以不同磷脂作为脂肪源配置了三种等蛋白(25%)等脂肪(6.0%)的饲料, 分别是鱼油+大豆卵磷脂、棕榈油+大豆卵磷脂和棕榈油+磷虾油。其中鱼油+大豆卵磷脂为对照组。每种试验饲料随机分配至3个中间球海胆养殖网箱中, 中间球海胆的初始体重为 $1.11 \pm 0.21$  g, 试验期为60 d。

### 研究结果

● 研究表明, 不同配方饲料中海胆的存活率、增重率、性腺重、性腺指数、消化道重、消化道指数和饲料系数均无显著差异( $P > 0.05$ )。

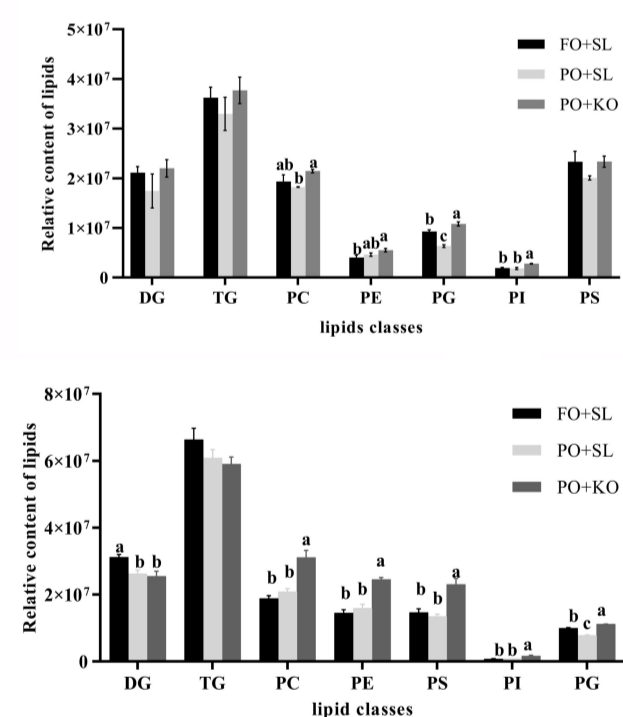
#### 性腺切片观察

投喂饲料的海胆性腺发育速度相当, 但雌雄个体之间性腺发育不同步, 雌性性腺仅发育到I期, 然而雄性性腺均发育到II期, 其中PO+KO组和FO+SL组雄性性腺中精母细胞层相比于PO+SL更厚更致密。



#### 消化道的脂质组成

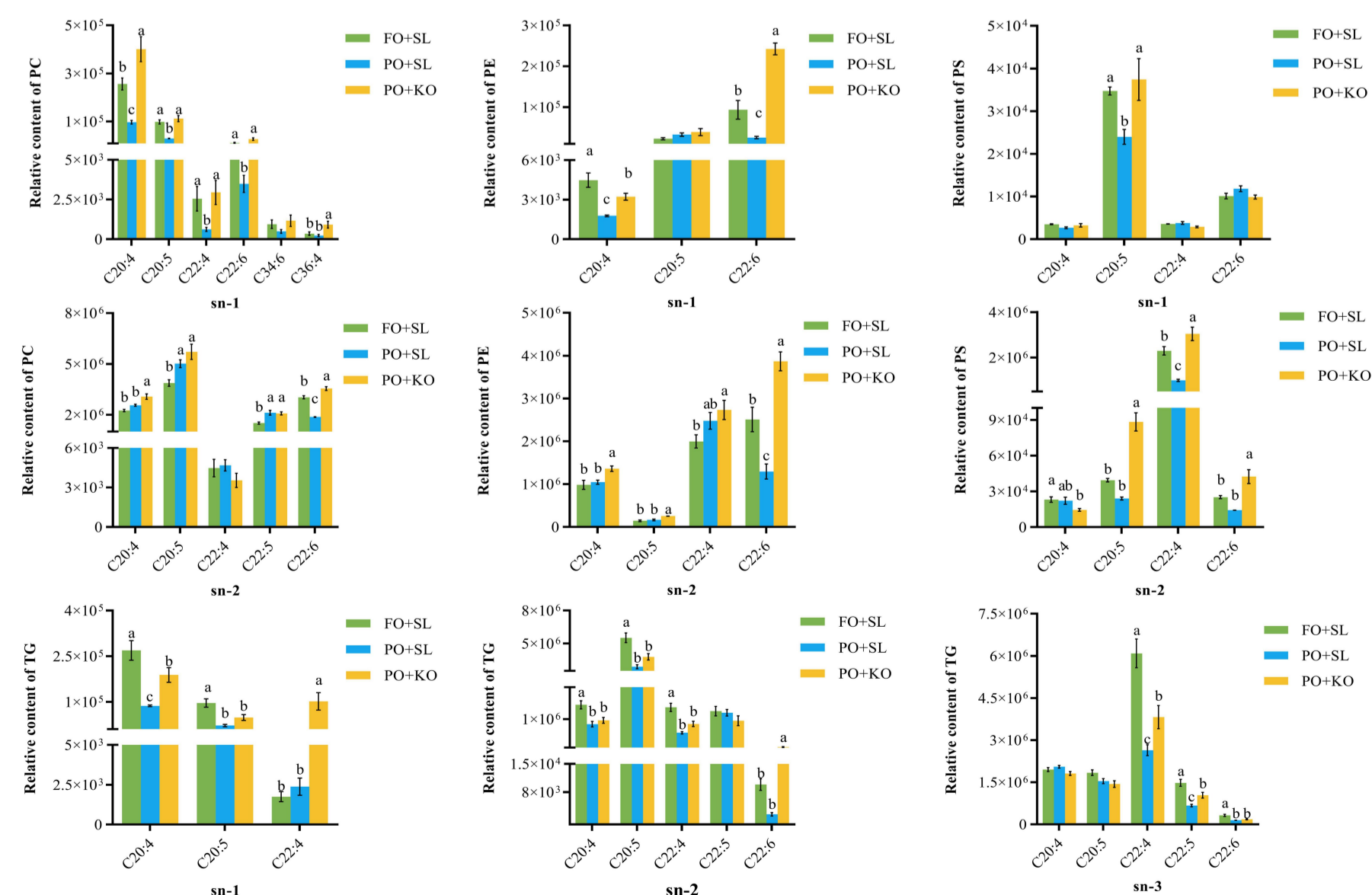
PO+KO组PC、PE、PG及PI的相对含量显著高于PO+SL组和FO+SL组( $P < 0.05$ )。FO+SL组PG的相对含量显著高于PO+SL( $P < 0.05$ )。



#### 性腺的脂质组成

PO+KO组PC、PE、PS、PI、PG相对含量均显著高于PO+SL组和FO+SL组( $P < 0.05$ )。

在所有脂质类别中, PC、PE、PS、PI、PG和TG是三种配合饲料组中主要的脂质类别。海胆性腺以甘油酯和甘油磷脂为主, 其中磷脂以磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰乙醇胺(PE)和磷脂酰丝氨酸(PS)为主。无论投喂哪种饲料, 主要脂质中的每个位置上的脂肪酸的分配都是相似的。



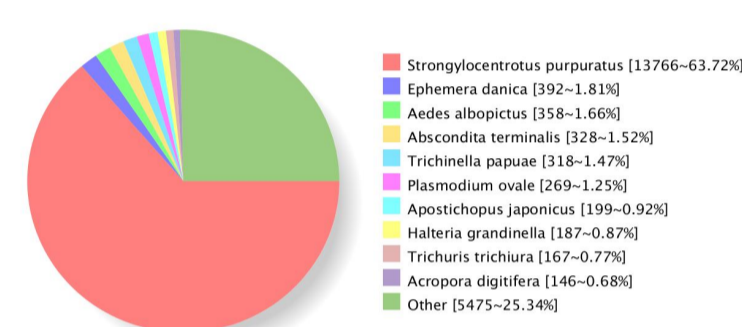
### 研究结果

#### LC-PUFA结合位点在各脂质中的分配

以海胆性腺中PC、PE、PS及TG的脂肪酸结合点位为例。在PC的sn-1位中, PO+KO组中C20: 4n-6、C20: 5n-6、C22: 4n-6和C22: 6n-3的相对含量最高, 显著高于PO+SL组( $P < 0.05$ )。sn-2位中, PO+KO组中C20: 4n-6、C20: 5n-6、C22: 4n-6和C22: 6n-3的相对含量最高, 且显著高于FO+SL组( $P < 0.05$ )。在PE的sn-1位中, PO+KO组C20: 4n-6显著低于FO+SL组, 而显著高于PO+SL组( $P < 0.05$ ), PO+KO组C22: 6n-3显著高于FO+SL组和PO+SL组( $P < 0.05$ )。sn-2位中, PO+KO组中C20: 4n-6、C20: 5n-6、C22: 4n-6和C22: 6n-3均显著高于FO+SL组和PO+SL组( $P < 0.05$ )。在TG的sn-1位中, PO+KO组C20: 4n-6和C20: 5n-6显著低于FO+SL组, 而C22: 4n-6显著高于FO+SL组和PO+SL组( $P < 0.05$ )。sn-2位中, PO+KO组与sn-1中LC-PUFA有相同的趋势。PO+KO组C22: 6n-3显著高于FO+SL组和PO+SL组( $P < 0.05$ )。sn-3位中, PO+KO组C22: 4n-6、C22: 5n-6和C22: 6n-3显著低于FO+SL组( $P < 0.05$ )。

利用Illumina高通量测序平台对cDNA文库进行转录组测序, 生成大量的raw reads。测序质量控制后, 得到113.94 Gb的clean reads。每个样品的clean reads达到5.73 Gb, Q30碱基的百分比达到92.83%以上。选取BLAST参数e值不大于 $1e-5$ 和HMMER参数e值不大于 $1e-10$ 的基因进行功能标注, 共有31482个基因被注释。

Nr Homologous Species Distribution



#### ● 同源性

在与其他物种的同源性方面, BLASTx与紫海胆(*Strongylocentrotus purpuratus*)的同源性最高, 达63.72%, 而其他物种的同源性均低于2%。

#### ● 差异基因注释

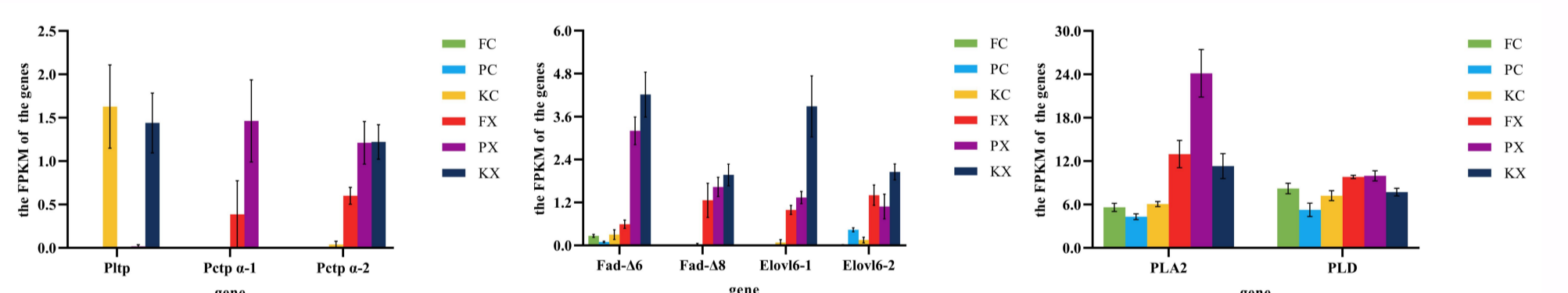
在消化道中, DEGs在FO + SL组与PO + KO组间显著富集在“溶血磷脂转运体活性”、“溶血磷脂转运”等。在性腺中, DEGs在“脂质结合”显著富集。FO + SL组和PO + SL组间DEGs在“磷脂转运体活性”显著富集。在FO + SL组和PO + KO组间, DEGs在“脂质转运活性”、“脂质分解代谢过程”显著富集。而PO + SL组与PO + KO组间, DEGs在“脂质分解代谢过程”中显著富集。

group	GO items	enrich factor	P value	Contained
PCvsKC	lysophospholipid transport	84.16	0.01	up
	lipid transport across blood brain barrier	84.16	0.01	up
	C-terminal protein lipidation	42.08	0.02	up
	phospholipid transport	6.47	0.04	up&down
FXvsPX	lysophospholipid transporter activity	87.14	0.01	up
	phospholipid transporter activity	6.7	0.04	up&down
	phospholipid transporter activity	20.11	0	up
FXvsKX	lipid binding	7.84	0.01	up&down
	phospholipid binding	8.71	0.02	up&down
	lipid catabolic process	3.74	0.01	up&down
PXvsKX	lipid transporter activity	4.4	0	up
	lipid binding	2.73	0.01	up&down
	intermembrane lipid transfer	54.17	0.02	up
	lipid binding	4.53	0.03	up&down

#### ● 差异基因富集通路

在消化道中, PO + SL组与PO + KO组间DEGs主要富集在“类固醇激素生物合成”通路。在性腺中, FO + SL组与PO + SL组间的DEGs和FO + SL组与PO + KO组间的DEGs显著富集在“鞘脂代谢”通路, 还显著富集了“花生四烯酸代谢”、“不饱和脂肪酸生物合成”等途径。

group	Pathway	enrich factor	pvalue	Contained
PCvsKC	Steroid hormone biosynthesis	9.04	0.02	up
FXvsPX	Sphingolipid metabolism	6.59	0.01	up&down
	Arachidonic acid metabolism	3.49	0.00	up&down
	Biosynthesis of unsaturated fatty acids	5.19	0.00	up
FXvsKX	alpha-Linolenic acid metabolism	6.15	0.00	up
	Glycerophospholipid metabolism	2.85	0.02	up
	Linoleic acid metabolism	3.15	0.02	up&down
	Sphingolipid metabolism	2.53	0.03	up&down



#### ● 差异表达基因表达分析

从磷脂转运、LC-PUFAs合成和磷脂重塑三个方面挖掘中间球海胆转录组中差异表达基因。PO+KO组消化道和性腺中Pltp的表达显著高于FO+SL组和PO+SL组( $P < 0.05$ )。相反, PO+KO组Pctpa-1表达显著高于PO+SL组( $P < 0.05$ )。PO+KO组性腺中Fad-6的表达与PO+SL组相当( $P > 0.05$ ), 且显著高于FO+SL组( $P < 0.05$ )。PO+KO组性腺中Elovl6-1和Elovl6-2的表达显著高于FO+SL组和PO+SL组( $P < 0.05$ ), 而PO+SL组和PO+KO组消化道中Elovl6-1显著低于PO+SL组( $P < 0.05$ )。PO+KO组消化道中PIA2表达量与FO+SL组相当( $P > 0.05$ ), 但显著低于PO+SL组( $P < 0.05$ )。PO+SL组性腺中PIA2表达量显著高于FO+SL组和PO+KO组( $P < 0.05$ )。PO+KO组消化道中PID的表达量显著低于FO+SL组和PO+SL组( $P > 0.05$ ), FO+SL组和PO+KO组性腺中PID的表达量显著高于PO+SL组( $P < 0.05$ )。

### 结论

综上所述, SL和KO对中间球海胆的增重率、性腺指数和性腺发育均无显著影响。基于脂质组学分析发现, PO+KO组海胆的性腺含有大量的PL-LC-PUFA, 而FO+SL组的海胆生殖腺含有大量的TG-LC-PUFA。基于转录组学分析发现, 不同磷脂源饲料投喂下中间球海胆消化道和生殖腺中的DEGs及其富集通路不尽相同, 磷脂转运、LC-PUFAs合成及磷脂重塑相关基因也表现出不同趋势。研究表明, 不同磷脂对海胆的性腺发育和脂质代谢有显著的影响, 在磷脂转运、LC-PUFAs合成及磷脂重塑方面对中间球海胆的脂质代谢起到不同调节作用, 其中KO显著提高了海胆极性脂质中LC-PUFAs的合成、转运及磷脂重塑, 而SL则显著提高了海胆中性脂质中LC-PUFAs的转运和磷脂重塑。

致谢: 本实验由国家自然科学基金(41606180); 中国科协青年人才托举工程(YESS20150157)及大连市杰出青年科技人才项目(2022RJ14)资助。