

高碳水化合物日粮对翘嘴红鲌生长、GK 及 GK mRNA 表达的影响

刘波 谢骏 苏永腾 俞菊华 唐永凯 戈贤平

(中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 农业部水生动物遗传育种和养殖生物学重点开放实验室, 无锡 214081)

摘要: 探讨不同碳水化合物(CHO)水平对翘嘴红鲌生长、葡萄糖激酶(GK)及 GK 基因表达的影响。选用 540 尾(40.73±0.44)g 翘嘴红鲌随机分为高 CHO 组、中 CHO 组、无 CHO 组, 每组设三个重复, 饲养 8 周, 测定鱼体生长、血液指标、GK 活性及 GK mRNA 水平等指标。结果显示, 随着 CHO 添加量的增加, 鱼体特定生长率与死亡率呈下降趋势, 饵料系数刚好相反。摄食后, 血糖先上升后趋于平缓, 其中高 CHO 组相对高, 无糖组低; 血浆甘油三酯先上升后下降再上升又下降, 其中高 CHO 组相对高, 中 CHO 组最低; 无 CHO 组血浆胆固醇、中 CHO 组 HK 活性、高 CHO 组 GDH 相对较低, 其他各组在投喂后都呈先上升后下降。GK 活性总体呈上升趋势, 各组在禁食时, 检测不到 GK 活性, 饲料 CHO 含量越高, GK 活性也越高, 但是 GK mRNA 的水平与 CHO 含量并不呈线性关系。血糖、GK 活性与 GK mRNA 的水平之间有一定的相关性, 摄食高 CHO 饲料可诱导 GK 酶活性及基因的表达, 造成持续高血糖, 这可能不利于生长。

关键词: 翘嘴红鲌 CHO; 葡萄糖激酶; 血液指标; 基因表达; 生长

中图分类号: S965.123 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2008)01-0047-07

翘嘴红鲌(*Erythroculter ilishaformis* Bleeker)俗称白条、太湖白鱼等, 隶属鲤形目、鲤科、鲌亚科, 是肉食性鱼类, 为我国四大淡水名贵鱼类之一, 主要生长在湖泊和水库, 近年来开始用饲料进行人工养殖。目前主要研究了翘嘴红鲌的生物学特性^[1], 而对其营养的需求的研究相对较少, 仅见蛋白质^[2]、脂肪^[3]的需要量等报道, 而对翘嘴红鲌碳水化合物(Carbohydrate, CHO)的需要及相关的研究还未见报道。

鱼类 CHO 代谢与畜禽动物相比, 表现为对 CHO 的较低利用能力, 特别是肉食性鱼类^[4], 对其机理的研究是国内外学者研究的热点^[5-7]。葡萄糖激酶(GK, EC 2.7.1.2)是糖酵解过程中调节血糖的关键酶。早期研究表明鱼类 GK 缺乏或活性很低^[8], 被认为是限制鱼体对 CHO 利用的原因之一。但是后来大量研究表明鱼类肝脏存在 GK, 日粮中 CHO 能诱导硬头鲂、虹鲂、鲤鱼等肝胰脏 GK 活性增加^[9-11], 并能增加硬头鲂、虹鲂和鲤鱼肝脏 GK 基因的表达^[12], 还进一步提出虹鲂对 CHO 利用能力低

是因为 GK 表达及活性升高的滞后^[13-14]。鉴于此, 研究不同 CHO 水平对其生长、血清生化指标和肝脏 GK 活性及 mRNA 水平的影响, 初步探讨翘嘴红鲌对 CHO 的利用能力, 为翘嘴红鲌配合饲料提供一些理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验鱼种及日粮 翘嘴红鲌鱼种购于浙江淡水水产研究所, 暂养于 14 个水泥池(规格为 800cm×200cm×100cm), 先投喂翘嘴红鲌孵化浮性饲料(上海大江饲料有限公司), 半个月后改投沉性鲫鱼饲料(无锡通威饲料有限公司), 驯化 30d 后对鱼体称重, 分组。试验选择健康、规格、重量基本一致鱼体 540 尾, 初重(40.73±0.44)g, 随机分为 I、II、III 组, 分别为无 CHO 组、中 CHO 组、高 CHO 组, 每组设 3 个重复, 共 9 个水泥池, 每个水泥池放 60 尾试验鱼。

试验日粮及水平(表 1)。各种原料粉碎后, 先把磷酸二氢钙、棒土、添加剂等混匀, 再加大料充分混匀, 后加鱼油、适量水混匀后喷洒在饲料上, 用小

收稿日期: 2006-11-29 修订日期: 2007-04-07

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划(2006BAD03B07); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(115024); 江苏省自然科学基金(BK2007027)资助

作者简介: 刘波(1978—), 男, 汉族, 重庆人; 硕士; 研究方向水产动物营养与免疫研究。Tel: 0510-85551442, E-mail: liub@ffrc.cn

通讯作者: 戈贤平(1963—), 男, 汉族, 江苏常州人; 研究员; 主要从事水产动物营养学研究。Tel: 0510-85557892 E-mail: gexp@ffrc.cn

型绞肉机制成粒径为 2.0mm 的湿颗粒饲料,并在 40℃烘 12h 至半干后密封保存备用。

表 1 翘嘴红鲌基础日粮与营养水平
Tab.1 The basic diet and nutrition levels of topmouth culer

原料成分 Ingredients (%)	I 组 I Group	II 组 II Group	III组 IIIGroup
酪蛋白 Casein	64	20	16
明胶 Isinglass	16	5	4
鱼粉 Fish meal	0	30	28
豆粕 Soybean meal	0	35	25
α-淀粉 α-starch	0	1.5	14
鱼油 Fish oil	8	6	7
维生素预混料 Vitamin premix	1	1	1
微量元素预混料 Mineral premix	1	1	1
沸石粉 Zeolite powder	3	0	2
棒土 Attapulgit	3.2	0	1.5
磷酸二氢钙 Calcium dihydrogen phosphate	1.8	0	0
食盐 Salt	0.5	0.5	0.5
石粉 Calcium bicarbonate	2	0	0
*营养水平 Nutrition levels			
干物质 Dry matter (%)	90.50	89.80	90.55
粗蛋白 Crude protein (%)	63.38	50.14	40.53
总能 Gross energy (kJ/g)	18.59	18.62	18.15
粗脂肪 Crude fat(%)	9.13	9.92	9.94
可消化 CHO (%)digestible carbohydrate	0	14.45	23.98
钙 Calcium (%)	1.23	1.33	1.20
总磷 Total phosphorous (%)	1.1	1.15	1.10

*: 营养水平中总能(GE) kJ/g: 按蛋白质 23.64kJ/g, 脂肪 39.54kJ/g 碳水化合物 17.15kJ/g 计算; 其他为实测值。添加剂含微量元素和维生素等由南京华牧动物研究所提供

Note:Gross energy (GE) kJ/g protein 23.64kJ/g, ether extract 39.54kJ/g, carbohydrate 17.15kJ/g; And the others are mensuration in the nutrition levels. Additive contain trace-minerals, vitamins, et al. Provided by Nanjing Huamu Animal Institute

1.2 饲养管理 翘嘴红鲌在淡水渔业研究中心宜兴养殖基地水泥池驯化 30d 后开始投喂试验日粮,以鱼体重的 2%—4% 投喂。每天投喂 2 次,在 8:00—9:00, 16:00—17:00 各投一次,每次投喂适量,0.5h 后观察吃食情况,估计采食量使鱼体饱食而无饲料剩余,并把多余饲料吸出。水源为地下水,早晚各吸污一次,15d 换水一次,每次换水 1/3,日夜连续充气增氧,饲养过程中每天 8:00 及 16:00 各测温一次,每周测一次水质,整个实验期间水质如下:饲养过程中水温(24.5±4.32)℃,溶氧>5mg/L,氨氮<0.01mg/L,硫化氢<0.05mg/L, pH 为 6.8—7.0 等。正式试验饲养 56d 后称重。

1.3 样本的采集 试验 56d 后,鱼体饥饿 48h,随后在投料的 0h、3h、6h、12h、24h 鱼体采血,采血时每个水泥池取 3 尾用 MS-222 (200mg/L)麻醉鱼体,尾静脉采血,血样用肝素抗凝,在 4℃、10 000r/min 离心 5min 制备血浆,上清液移入冻存管并冻存于液氮中。采完血后取肝胰脏冻存于液氮,一部分用于酶活性测定,另一部分用于分子生物学测定。

1.4 血液指标测定 血糖用葡萄糖氧化酶法(试剂

盒来源上海复旦张江生物医药股份有限公司);总胆固醇、甘油三酯采用酶法(试剂盒来源上海名典生物工程有限公司),在美国贝克曼 Cx-4 型自动生化分析仪上测定。

1.5 酶活性测定 肝胰脏样品解冻后加 10 倍的 4℃缓冲液冰浴匀浆,制成 10%左右匀浆液。缓冲液按照蔡春芳配置^[4],含 Tris 80nmol/L, EDTA 5nmol/L, KH₂PO₃ 1mmol/L, NaHCO₃ 2mmol/L, DTT 1.4nmol/L, pH 7.5。后在 4℃, 4000r/min 离心 10min,上清液用于酶活性测定,24h 测定完毕。肝胰脏蛋白浓度用福林酚法,标准蛋白为牛血清白蛋白,购于南京建成生物研究所。

GK、己糖激酶(HK, EC 2.7.1.1)、葡萄糖脱氢酶(GDH, EC 1.1.1.47)活性测定按照 Tranulis 等、Panserat 等方法测定^[5,9]。酶活性单位定义:在 30℃、pH8.2 下,每克组织蛋白在本反应体系中每分钟生成 1nmol/L 的 NADPH 为一个活性单位。

1.6 肝脏 GK mRNA测定

引物设计与合成 根据已分离出的翘嘴红鲌 GK cDNA 全序列^[15],设计 GK 引物 P1: 5'-GAA TAC

GAC CGC GTT GTT GA-3'; P2: 5'-CTG AGG CTT CGC CGT TAA AC-3'。根据鱼类β-actin 保守序列, 设计翘嘴红鲌β-actin 引物 P3: 5'-ACT TCG AGC AGG AGA T-3'; P4: 5'-ACA GTG TTG GCA TAC AG-3'。所有引物均由上海申能博彩生物有限公司合成, 扩增的片段为 100—150bp。

RNA 的抽提 取肝脏 50—100mg, 参照 Trizol Reagent (Invitrogen 公司) 说明书操作, 抽提总 RNA。使用紫外分光光度计测定 RNA 的浓度, 并根据 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 值判断 RNA 的质量, 一般为 1.8—2.0。

RT-PCR 根据 SYBR ExScript™ RT-PCR Kit (大连 Takara 公司) 进行 RT 反应, 后采用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行 Real Time PCR 扩增反应, 反转录反应液: 500ng RNA、2μL 5× Buffer、0.5μL dNTP Mixture (ea. 10mmol/L)、0.25μL RNase Inhibitor (40U/μL)、0.5μL dT-AP Primer (50mmol/L)、0.25μL ExScript™ RTase (200U/μL), 加 DEPC H₂O 到 10μL。反应条件: 42℃ 40min, 90℃ 2min, 4℃ 保温至关机。荧光定量 PCR 反应液组成: 12.5μL SYBR® premix Ex Taq™ (2×)、0.5μL PCR Forward Primer (10μmol/L)、0.5μL PCR Reverse Primer (10μmol/L)、2.0μL 模板(cDNA 溶液)、9.5μL dH₂O。反应条件: 95℃ 3min; 95℃ 10s, 60℃ 20s, 45 个循环(读板记录荧光量); 72℃ 3min; 溶解的反应条件为 65℃ to 90℃, 每升高 0.2℃ 保持 0.02s 读板记录荧光量。

1.7 数据统计与分析 数据用 SPSS (Ver. 11.5) 软件统计单因子方差分析 (One-way ANOVA), 多重比较用 Duncan's 进行差异显著性检验, 结果用平均值 ± 标准误 (x̄ ± SE) 表示。GK mRNA 水平以翘嘴红鲌 β-actin 为内参, 以无 CHO 组禁食时 GK 基因表达量为基准, 应用 2^{-ΔΔCT} 确定不同样品的 mRNA 的相对含量^[16]。

2 结果与分析

2.1 不同 CHO 日粮对翘嘴红鲌增重的影响

随着 CHO 添加量的增加, 鱼体特定生长率呈现下降趋势, 饵料系数呈现增加趋势, 三者之间饵料系数与死亡率没有显著影响 (图 1)。与无 CHO 组相比, 高 CHO 组显著 ($p < 0.05$) 降低了特定生长率, 中 CHO 组特定生长率没有显著影响。

2.2 不同 CHO 日粮对翘嘴红鲌血液指标的影响

无 CHO 组、中 CHO 组、高 CHO 组从禁食 48h 后到投喂饲料后 3—24h, 血糖水平呈先上升后趋于平缓, 高 CHO 组最大, 无 CHO 组最低; 与禁食相比, 各

组 6—24h 都显著性 ($p < 0.05$) 提高了血糖水平 (除了中 CHO 组 12h 外, 图 2)。

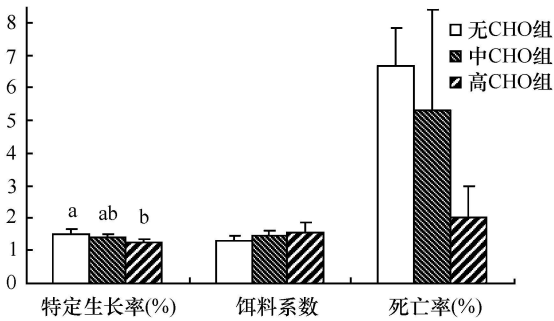


图 1 不同 CHO 日粮对翘嘴红鲌特定生长率、饵料系数与死亡率的影响

Fig 1 Effect of different carbohydrate levels dietary on specific growth rates, feed conversion rate and mortality rate of topmouth culter

图中值为平均值 ± 标准误 (n=3); 不同字母表示同一指标各组之间差异显著 ($p < 0.05$)。特定生长率 (%) = $100 \times (\ln \text{ 试验末鱼体均重} - \ln \text{ 试验初鱼体均重}) / \text{ 试验天数}$; 饵料系数 = 饲料消耗量 / 鱼体增重量; 死亡率 (%) = $100 \times (\text{ 试验初鱼尾数} - \text{ 试验末鱼尾数}) / \text{ 试验初鱼尾数}$

Values are means ± SE (n=3); Diverse letters indicate significant differences ($p < 0.05$) in the same index of different groups. Specific growth rate (%) = $100 \times (\ln (\text{Final average weight}) - \ln (\text{Initial average weight})) / \text{Experiment days}$; Feed conversion rate = Feed consumption / Weight gain; Mortality rate (%) = $100 \times (\text{Initial fish number} - \text{Final fish number}) / \text{Initial fish number}$

血浆甘油三酯含量呈先上升后下降再上升又下降, 投料后的 3h、12h 相对较高, 其中高 CHO 组最高, 中 CHO 组最低。与禁食相比, 无 CHO 组、中 CHO 组仅在投喂饲料后 12h 以及高 CHO 组投喂饲料后 3h、12h 分别显著 ($p < 0.05$) 提高了血浆甘油三酯含量 (图 2)。

血浆胆固醇浓度除了无 CHO 组变化不明显, 而且是最的外, 其他各组都呈先上升后下降, 在投喂饲料后 3—6h 有最大值。与禁食相比, 无 CHO 组仅有投喂饲料后 24h; 中 CHO 组仅有投料后 3h、6h; 以及高 CHO 组投料后 3h、6h、12h 都分别显著 ($p < 0.05$) 提高了血浆胆固醇 (图 2)。

2.3 不同 CHO 日粮对翘嘴红鲌肝脏代谢酶的影响

无 CHO 组、中 CHO 组、高 CHO 组从禁食 48h 到投喂饲料后 3—24h, HK 活性在中 CHO 组无太大变化, 而且最低, 其他两组都呈先上升后下降, 再又轻微上升趋势, 在 3—6h 有最大值。与禁食相比, 仅有无 CHO 组投料后 3h 显著 ($p < 0.05$) 提高了肝脏 HK 活性 (图 3)。

GDH 活性各组呈先上升后下降, 在 3h 最大。无 CHO 组最大、高 CHO 组最低。与禁食相比, 各组

投料后 3h、24h 显著 ($p < 0.05$) 提高了肝脏 GDH 活性,除了高 CHO 组投料 24h 外(图 3)。

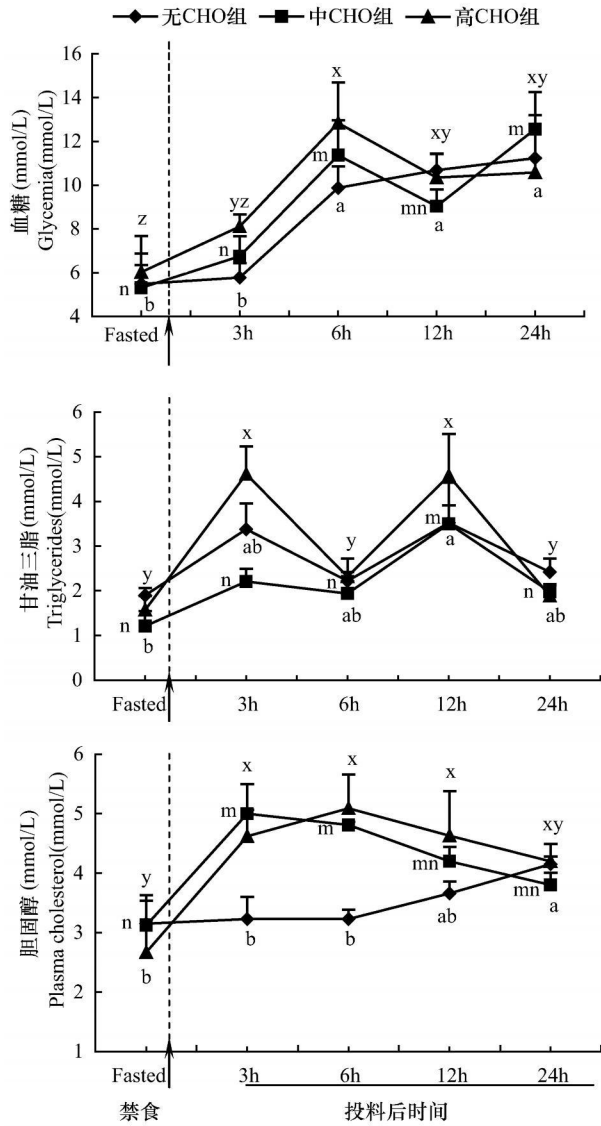


图2 禁食与投喂不同碳水化合物含量日粮后翘嘴红鲌血糖、胆固醇与甘油三酯的变化

Fig. 2 Fasted and postprandial plasma glucose triglycerides and cholestrin in changes of topmouth culter (*Erythroculter ilishaeformis* Bleeker) fed with different carbohydrate levels of diets

图中值为平均值±标准误, n=9。不同字母表示同组不同时间段 Duncan's 多重比较差异显著 ($p < 0.05$), 其中无 CHO 组字母 (a b) 标注在下方, 中 CHO 组字母 (m, n) 标注在左边, 高 CHO 组字母 (x, y, z) 标注在上方, 下同

Values are means±SE, n=9. Diverse letters show significant differences ($p < 0.05$) in different time of the same group in, of which small letters (a b) of the below is no carbohydrate groups, small letters (m, n) of the left is middle carbohydrate group, small letters (x, y, z) of the above is high carbohydrate group

GK 活性各组呈上升, 高 CHO 组最大, 无 CHO 组最低, 各组在禁食后, 没有检测到 GK 活性, 无

CHO 组在投料后 3h 也没有检测到 GK 活性, 这说明高 CHO 可能诱导了 GK 活性。与禁食相比, 高 CHO 组在投料后 12—24h 中 CHO 组仅在投料后 24h; 以及无 CHO 组在投料后 6h、24h 分别显著 ($p < 0.05$) 提高了肝脏 GK 活性(图 3)。

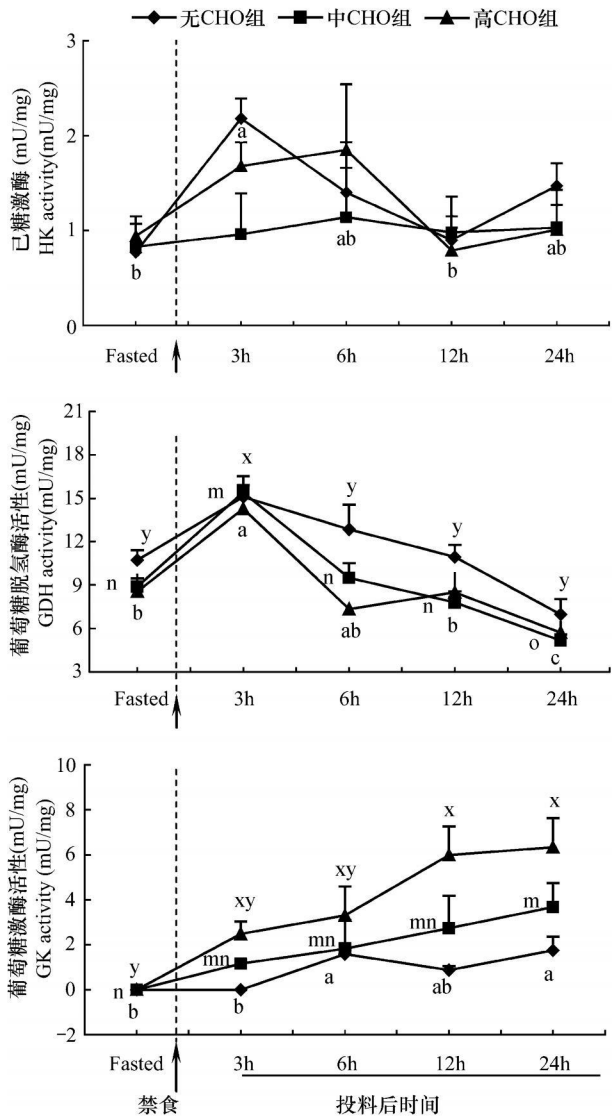


图3 禁食与投喂不同碳水化合物含量日粮后翘嘴红鲌肝脏 HK、GDH、GK 活性的变化

Fig. 3 Fasted and postprandial hepatic HK, GDH, GK activity cholestrin changes of topmouth culter (*Erythroculter ilishaeformis* Bleeker) fed with different carbohydrate and lipid levels of diets

2.4 不同 CHO 日粮对 GK 基因表达的影响

无 CHO 组、中 CHO 组、高 CHO 组从禁食 48h 到投料后 24h, 总体趋势是高 CHO 组 GK mRNA 最大, 其次是无 CHO 组, 最低是中 CHO 组。高 CHO 组呈现先上升后下降趋势, 无 CHO 组与中 CHO 组一直都比较低, 且变化不明显; 与禁食组比, 高 CHO 组在投料后 6h 显著增加了 GK mRNA 水平(图 4)。

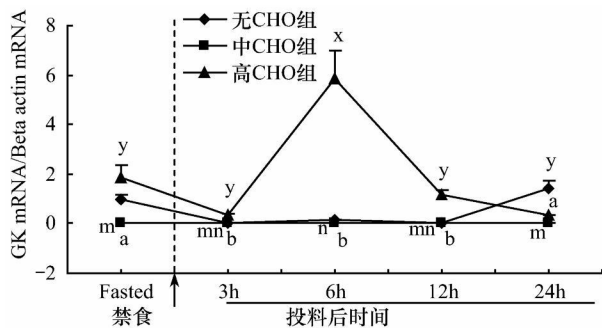


图4 禁食与投喂不同碳水化合物含量日粮对翘嘴红鲌肝脏 GK 基因表达的影响

Fig. 4 Effect of Fast and different carbohydrate levels of diets on GK mRNA of topmouth culter (*Erythroculter ilishaeformis*)

3 讨论

大量研究表明鱼类肝脏存在 GK, 日粮中 CHO 能诱导硬头鲂、虹鲂、鲤鱼、青鱼、鲫鱼、欧洲舌齿鲈、南方鲇等肝胰脏 GK 活性增加^[6, 9-11, 17], 并能增加硬头鲂、虹鲂和鲤鱼肝脏 GK 基因的表达^[13]。本试验也表明投喂高 CHO 饲料后显著地提高 GK 活性, 并且无 CHO 组最低, 这也印证了摄食后 3—12h, 日粮 CHO 水平越高, 血糖相对较高, 高 CHO 组 GK 基因的表达量也始终高于无 CHO 组, 并且在摄食后 6h 血糖有一个波峰, 相应的高 CHO 组 GK 基因的表达量也达最大值。但在摄食后 24h 时, 无 CHO 组的血糖含量高于高 CHO 组, 这一点也印证了投料后 24h 无 CHO 组 GK 基因的表达量反而比高 CHO 组高, 这可能是无 CHO 组肝脏 PEPCK 等糖异生作用加强的结果^[15, 18, 19], 以上说明 GK 基因的表达、GK 活性和血糖的高低可能有一定的相关性。

试验也表明各组在禁食后, 没有检测到 GK 活性, 相对应的 GK 的 mRNA 也是比较低的, 这可能与动物的摄食性有关, 禁食时的 GK 活性与 GK 的 mRNA 的水平都是比较低的, 这与 Panserat 等对硬头鲂、金头鲂、鲤鱼^[13], Caseras 等对硬头鲂、金头鲂^[14], 林小植等对南方鲇^[17] 投喂不同含 CHO 饲料的报道是一致的。本试验的无 CHO 组, 饲喂低碳水化合物/高蛋白日粮在禁食 3h 没有检测到 GK 活性, 相对应的 GK 的 mRNA 也是比较低, 这与 Panserat 等对硬头鲂^[13]、Caseras 等对金头鲂^[20] 的报道是一致的。本试验发现不同含 CHO 饲料对 HK 没有多大影响, 这与 Tranulis 等、Panserat 等对虹鲂日粮的报道是一致的^[9, 13]。本试验也表明在禁食、投料后 6—24h 无 CHO 组的 GDH 活性最高, 投喂无 CHO 饲

料更能诱导 GDH, 这与 Enes 等^[7] 对欧洲舌齿鲈、Tranulis 等对虹鲂^[9] 投喂不同的含 CHO 饲料的报道是一致的。

值得一提的是由于荧光定量 PCR 的灵敏性, 本试验观察到一个特别的现象, 检测到中 CHO 组 GK 的 mRNA, 各个时间段没有显著的影响, 但高糖组 GK 基因的表达量几乎是它的 500—1000 倍。这与中 CHO 组的血糖及酶活性是不一致的, 这可能与日粮中单一日粮成分过高有关, 尚待进一步研究。本试验也表明从投喂饲料后 12—24h, 各组血糖在增加, 相应的 GK 活性也在增加并达最大值, 但是其表达量并没有呈现一致的趋势, 高 CHO 组在投料后 6—12h GK 的 mRNA 水平已达较高值, 这说明 GK 活性和血糖、GK 基因表达之间存在滞后现象, 这与在虹鲂中发现 GK 表达及活性升高的滞后有点相似^[13, 14], 这种摄食后 GK 基因表达靠前, 酶活性有延后现象可能是由于鱼类对糖利用能力低的原因, 这有待进一步研究。

试验各组从禁食 2d 后到投料后 24h, 血浆甘油三酯呈先上升后下降, 投料后的 3h 有最高值。这与 Panserat 等在虹鲂^[21] 中、蔡春芳等在异育银鲫^[22] 中发现投喂高糖, 或者口服葡萄糖后鱼体血浆甘油三酯都先增加后降低趋势是一致的。但是也发现在投料后 12h 也出现了一个小的波峰, 这与上述报道又不一致, 这可能是因为动物的品种、饲养状况、年龄、性别、日粮的组成等影响血浆甘油三酯的组成和水平^[23]。同时大量摄食高能量的食物还会增加胆固醇的合成^[23], 本实验也表明在日粮能量一致条件下, 投喂营养成分比较均一的高糖日粮提高了血浆中的胆固醇, 无糖饲料虽然也含有高蛋白, 但是血浆胆固醇变化不明显, 而且是最低, 这可能与营养成分单一有关, 这有待进一步研究。

从现有鱼类糖耐量试验结果看, 几乎所有鱼类在口服葡萄糖后会出现持久的高血糖^[12, 17, 24], 摄食饲料糖的种类对高血糖反应也有影响^[25]。本试验也表明随着 CHO 含量的增加, 血糖也有增加的趋势。各组随着投料时间的延长, 在投料 24h 鱼体仍有持续高血糖效应。机体为了消除高血糖的应激危害, 势必通过提高鱼体肝脏 GK 活性等来消除这种危害, 这与 Panserat 等对虹鲂^[5, 12] 的报道是一致的。但是本试验也发现无 CHO 组血糖也有持续高血糖效应, 这与 Panserat 报道虹鲂摄食无糖后血糖没有变化是不一致的^[13], 这可能是高蛋白饲料(低糖)比高糖饲料更能促进鱼体肝脏 PEPCK 等糖异生酶活

性及其表达的提高^[15, 18, 19], 糖原异生的加强提供了更多的葡萄糖, 这有待进一步研究。这种持续高血糖效应对鱼体可能会产生营养胁迫, 可能对机体的免疫有一定的影响^[26], 影响鱼体的生长^[7, 12]。本试验也表明随着 CHO 添加量的增加, 鱼体增重率呈现下降趋势, 摄入高糖饲料后影响了鱼体生长, 但翘嘴红鲌对 CHO 的最适需要量有待于进一步研究。

4 结 论

用保持能量一致的高、中、低 CHO 水平三种日粮投喂翘嘴红鲌可表明血糖、GK 活性与 GK mRNA 的水平之间有一定的相关性, 摄食高 CHO 日粮后可造成翘嘴红鲌持续高血糖现象, 可能存在高 CHO 日粮胁迫, 并诱导 GK 酶活性及基因的表达, 这可能不利于生长。

参考文献:

- [1] Hou G J, Li H Y, Jiang Y L. Study the biology characteristic and resource application on *Erythroculter ilishaefomis* [J]. *Journal of Anhui Agriculture Science*, 2004, **32**(4): 754—755 [侯冠军, 李海洋, 蒋业林. 翘嘴红鲌生物学特性及其资源利用的探讨. 安徽农业科学, 2004, **32**(4): 754—755]
- [2] Wang G Q, Zhou H Q, Dong Y L, et al. Studies on the optimum protein requirement of fingerling Topmouth culter [J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2004, **26**(5): 556—560 [王桂芹, 周洪琪, 董永利, 等. 翘嘴红鲌幼鱼最适蛋白需求量的研究. 吉林农业大学学报, 2004, **26**(5): 556—560]
- [3] Chen J M, Ye J Y, Pan Q, et al. Primary study of dietary ether extract requirement on *Erythroculter ilishaefomis* juvenile [J]. *Journal of Aquaculture*, 2005, **26**(2): 18—19 [陈建明, 叶金云, 潘茜, 等. 翘嘴红鲌种饲料中脂肪适宜水平的初步研究. 水产养殖, 2005, **26**(2): 18—19]
- [4] Wilson R P. Utilization of dietary carbohydrate by fish [J]. *Aquaculture*, 1994, **124**: 67—80
- [5] Panerat S, Capilla E, Gutierrez, et al. Glucokinase is highly induced and glucose-6-phosphatase poorly repressed in liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by a single meal with glucose [J]. *Comp. Biochem. and Physiol.*, 2001, **128B**: 275—283
- [6] Cai C F. Study on the utilization of dietary carbohydrate by *Mylopharyngodon piceus* Richardson and *Carassius auratus* and their mechanism of metabolism [D]. Doctoral Dissertation. Shanghai: East China Normal University, 2004 [蔡春芳. 青鱼和鲫鱼对饲料糖的利用及其代谢机制的研究. 博士论文. 上海: 华东师范大学, 2004]
- [7] Enes P, Panerat S, Kaushik S, et al. Effect of normal and waxy maize starch on growth, food utilization and hepatic glucose metabolism in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2006, **143**(1)b: 89—96
- [8] Moon T W, Foster G D. Tissue carbohydrate metabolism, gluconeogenesis and hormonal and environmental influences [M]. In: Hochachka P W, Mommsen T P (Eds.), *Biochemistry and molecular biology of fishes*. Amsterdam: Elsevier Science, 1995, 65—100]
- [9] Tranulis M A, Dregni O, Christophersen B, et al. A glucokinase-like enzyme in the liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1996, **114B**(1): 35—39
- [10] Blin C, Panerat S, Médale F, Gomes E, et al. Teleost liver hexokinase and glucokinase like enzymes; partial cDNA cloning and phylogenetic studies in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), common carp (*Cyprinus carpio*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*) [J]. *Fish Physiol. Biochem.*, 1999, **21**: 93—102
- [11] Capilla E, Médale F, Navarro I, et al. Muscle insulin binding and plasma levels in relation to liver glucokinase activity, glucose metabolism and dietary carbohydrates in rainbow trout [J]. *Regulatory Peptides*, 2003, **110**(2): 123—132
- [12] Panerat S, Médale F, Blin C, et al. Hepatic glucokinase is induced by dietary carbohydrates in rainbow trout, gilthead seabream, and common carp [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2000, **278**(5): 1164—1170
- [13] Panerat S, Médale F, Bègue J, et al. Lack of significant long-term effect of dietary carbohydrates on hepatic glucose-6-phosphatase expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2000b, **11**(1): 22—29
- [14] Caseras A, Meñón L, Fernández F, et al. Glucokinase gene expression is nutritionally regulated in liver of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 2000, **1493**(1/2): 135—141
- [15] Ge X P. Topmouth Culter (*Erythroculter ilishaefomis* Bleeker) [D]: Doctoral dissertation. Nanjing: Nanjing Agriculture University, 2006 [戈贤平. 不同糖、脂含量日粮对翘嘴红鲌相关糖代谢酶的调节研究. 博士论文. 南京: 南京农业大学博士论文, 2006]
- [16] Livak K J, Thomas T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. *Methods*, 2001, **25**: 402—408
- [17] Lin X Z, Luo T P, Xie X J. Effects of dietary Carbohydrate level on glycolytic enzymes and serum glucose concentrations in the juvenile southern catfish after feeding [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2006, **30**(3): 304—310 [林小植, 罗毅平, 谢小军. 饲料碳水化合物水平对南方鲇幼鱼餐后糖酵解酶活性及血糖浓度的影响. 水生生物学报, 2006, **30**(3): 304—310]
- [18] Christiansen D C, Klungsoyr L. Metabolic utilization of nutrients and the effects of insulin in fish [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1987, **88**(3) B: 701—711
- [19] Kirchner S, Kaushik S, Panerat S. Effect of partial substitution of dietary protein by a single gluconeogenic dispensable amino acid on hepatic glucosemabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Comp. Biochem. and Physiol.*, 2003, **134A**: 337—347
- [20] Caseras A, Meñón I, Vive C, et al. Nutritional regulation of glucose-6-phosphatase gene expression in liver of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*) [J]. *Br. J. Nutr.*, 2002, **88**: 607—614
- [21] Panerat S, Perrin A, Kaushik S. High dietary lipids induce liver glucose-6-phosphatase expression in rainbow trout (*Oncorhynchus*

- mykiss) [J]. *J. Nutr.*, 2002a, **132**: 137—141
- [22] Cai C F, Wang D Z. Toleration test of Albogynogenetic crucian Carp after oral administration of different doses of glucose [J]. *J. Shanghai Fish. Univ.*, 1998 Supplement: 63—66 [蔡春芳, 王道尊. 异育银鲫口服葡萄糖耐量试验. 上海水产大学学报, 1998, 增刊: 63—66]
- [23] Zhou S W. Animal biochemistry [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1999, 134—144 [周顺伍. 动物生物化学. 北京: 中国农业出版社, 1999, 134—144]
- [24] Gardá Riera M P, Hemre G L. Glucose tolerance in turbot, *Scophthalmus maximus* (L.) [J]. *Aquacult. Nutr.*, 1996 **2**(2): 117—120
- [25] Hemre G L, Hansen T. Utilization of different dietary starch sources and tolerance to glucose loading in Atlantic salmon (*Salmo salar*), during part-smolt transformation [J]. *Aquaculture*, 1998, **161**: 145—157
- [26] Vielma J, Koskela J, Ruohonen K, *et al.* Optimal diet composition for European whitefish (*Coregonus lavaretus*): carbohydrate stress and immune parameter responses [J]. *Aquaculture*, 2003, **225** (1—4): 3—16

EFFECT OF HIGH CARBOHYDRATE LEVELS OF DIETARY ON GROWTH, GK ACTIVITIES AND GK mRNA LEVELS IN TOPMOUTH CULTER (*ERYTHROCULTER ILISHAEFORMIS* BLEEKER)

LIU Bo, XIE Jun, SU Yong-Teng, YU Ju-Hua, TANG Yong-Kai and GE Xian-Ping

(Chinese Academy of Fishery Sciences Freshwater Fisheries Research Center, Key Open Laboratory for Genetic Breeding of Aquatic Animals and Aquaculture Biology, Ministry of Agriculture, Wuxi 214081)

Abstract: Effect of different carbohydrate levels of dietary on growth, glucokinase (GK) activities and GK mRNA levels in topmouth culter. 540 topmouth culter (average weight (40.73 ± 0.44) g) were allotted into 3 groups randomly for 8 weeks, triplication of every group were fed with the diets containing high carbohydrate level, middle carbohydrate level, and low carbohydrate level, respectively. Growth of fish, plasma biochemical indices and GK and GK mRNA levels were determined. The results showed specific growth rate and mortality rates were decreasing and feed coefficient is on the contrary with the increasing of carbohydrate levels. After diet intake, the general trend of plasma glucose were appeared increasing before becoming smooth, the higher relatively in the high-carbohydrate group, and the lower in no carbohydrate group. Plasma concentrations of triglycerides were increasing before decreasing, and decreasing of which high-carbohydrate group was the higher relatively and middle-carbohydrate group was the lower relatively. There were relatively lower in plasma concentrations of cholesterol of carbohydrate-free group, hexokinase activities of middle-carbohydrate group and glucose dehydrogenase activities of high-carbohydrate group. And the others showed the trend increasing before decreasing. GK activities after diet intake generally appeared increase while no GK activities were measured out for the fasting of various group. With the increase of dietary carbohydrate level, GK activities were improving, but GK mRNA levels did not correlate with different carbohydrate levels of dietary. Ingestion of the high-carbohydrate dietary may bring out plasma glycemia in topmouth culter and induce GK activities and GK mRNA, however, it may be negative effects of fish growth.

Key words: Topmouth culter; Carbohydrate; Glucokinase; Plasma biochemical indices; Gene expression; Growth