

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

林小植 罗毅平 谢小军

(西南师范大学生命科学学院, 重庆 400715)

摘要: 配制含 0%、15% 和 30% 糊化玉米淀粉的等能饲料分别作为对照、中水平和高水平碳水化合物 (CHO) 饲料, 以体重为 50.5 ± 0.6 g 的南方鲇幼鱼为实验对象, 在水温 27.5 ± 0.5 的条件下以对照饲料驯化 15d 后, 分别测定了以三种饲料投喂的南方鲇在餐后 3、6、12、24 和 48h 的己糖激酶 (HK)、葡萄糖激酶 (GK) 和磷酸果糖激酶 (PFK-1) 的活性和血糖水平。结果发现, 中、高水平 CHO 组 HK 活性在餐后 24h 时显著高于对照组 ($P < 0.05$), 其余时间点各组间无显著差异; GK 活性随 CHO 水平增加而增加, 但其活性的绝对值远低于 HK; PFK-1 活性在各组间及同组内各时间点均无显著差异。通过分析认为, 南方鲇体内葡萄糖磷酸化主要由 HK 催化, 但其活性受饲料 CHO 水平的影响不明显; GK 活性受饲料 CHO 的诱导而增高, 使葡萄糖磷酸化加速, 但最大增幅不超过 30%; 此外, 催化果糖 - 6 - 磷酸进一步转化为果糖 - 1, 6 - 二磷酸的 PFK-1 活性不受饲料 CHO 水平的影响, 因此糖酵解过程的这两个代谢环节均不能在鱼体吸收高糖营养后有效地加速, 这应当是该肉食性鱼类在高水平 CHO 营养条件下产生高血糖积累的重要原因。实验结果表明, 血糖变化呈现先升高后降低的趋势, 中水平和高水平 CHO 组的血糖峰值均出现在餐后 12h, 这作为在该类研究中设定血液取样时间的实验依据。

关键词: 南方鲇; 饲料碳水化合物; 糖酵解; 关键酶; 血糖

中图分类号: S963 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2006)03-0304-07

碳水化合物 (CHO) 是鱼类人工配合饲料中的廉价能量物质。在适宜水平范围内, CHO 可以提高鱼类的特定生长率及蛋白质效率, 有蛋白质节约效应^[1-3]; 但饲料中 CHO 含量超过一定限度会导致鱼体血糖过高、肝糖原累积、免疫力变化、生长停滞等症状^[1, 4-7], 因此有研究者提出: 鱼类 (特别是肉食性鱼类) 是先天性的糖尿病患者, 对 CHO 利用能力较低^[8], 但产生这种现象的糖代谢机制尚在争议之中^[9-12]。

南方鲇 (*Silurus meridionalis* Chen) 是典型的专性肉食性鱼类, 广泛分布于长江流域及其以南地区。南方鲇的天然食物中缺乏 CHO, 因此, 长期的适应进化会造成该种肉食性鱼类体内糖酵解通路阻滞, 某些糖酵解关键酶活性低, 且不能随 CHO 增加而适应性上调。本实验室已进行了有关饲料中 CHO 水平对南方鲇摄食、消化、生长及能量代谢影响的研究, 发现以高水平的 CHO 饲料 (CHO 含量大于

18%) 喂养至 8 周时, 血糖浓度持续升高, 肝糖原含量增加, 造成了一定的营养胁迫 (Nutrition stress), 导致其特定生长率及饲料效率降低^[13-16]。

本研究测定了南方鲇摄食不同水平 CHO 饲料后鱼体的血糖及相关的 3 种糖酵解关键酶, 即己糖激酶 (HK)、葡萄糖激酶 (GK) 和磷酸果糖激酶 (PFK-1) 活性的变化, 旨在为阐明高 CHO 水平饲料对肉食性鱼类产生营养胁迫的生理机制提供基础资料; 同时, 本研究还测定了南方鲇餐后 48h 内血糖水平的变化, 探讨了血糖峰值出现的时间特征, 为完善检测鱼体餐后血糖的实验方法提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验饲料 以白鱼粉为蛋白源, 玉米油为脂肪源, 熟化玉米淀粉 (120 预煮 15min) 为 CHO 源, 配制了能量密度相等的对照饲料 (0%CHO)、中 CHO 饲料 (15%CHO) 和高 CHO 饲料 (30%CHO) (表 1)。

收稿日期: 2005-11-18; 修订日期: 2006-02-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, 项目编号: 30371121

作者简介: 林小植 (1980—), 男, 广东揭西县人; 硕士生, 水生生物学专业, 主要从事鱼类营养学研究, E-mail: xiaozhilinok@sina.com

通讯作者: 谢小军, E-mail: xjxie@swu.edu.cn

表 1 实验饲料配方及成分含量表(%干重)
Tab.1 The formulation and proximate composition of the experiment diets (%dry weight)

	对照饲料 Control diet	中水平 CHO 饲料 Middle CHO diet	高水平 CHO 饲料 High CHO diet
配方 Formulation			
鱼粉 Fish meal	65. 26	51. 20	37. 13
碳水化合物 α -Starch	0. 00	15. 00	30. 00
微精纤维素 MCC	18. 90	16. 30	13. 77
玉米油 Corn oil	4. 34	6. 00	7. 60
维生素预混剂 Vitamin premix ¹	2. 00	2. 00	2. 00
无机盐预混剂 Mineral premix ²	2. 00	2. 00	2. 00
羧甲基纤维素 CMC	1. 50	1. 50	1. 50
牛肝 Ox liver	5. 00	5. 00	5. 00
三氧化二铬 Cr ₂ O ₃	1. 00	1. 00	1. 00
成分分析 Proximate analysis(%) ³			
碳水化合物 Carbohydrate	1. 68	14. 88	30. 36
蛋白质 Protein	48. 98	39. 32	30. 33
脂肪 Lipid	10. 05	9. 54	9. 62
灰分 Ash	11. 54	9. 63	7. 93
能值 Energy kJ/ g	15. 82	15. 61	16. 18

1 维生素 Vitamin premix (mg or IU/ kg diet) : B₁ ,20mg; B₂ ,40mg; B₆ , 20mg; B₁₂ , 0. 1mg; K₃ ,10mg; inositol ,1000mg; pantothenic acid ,60mg; niacin acid ,200mg; H , 1. 23mg; A ,25000IU;D ,2500IU;E ,1200mg;C ,2112mg;choline chloride ,2500mg.

2 无机盐 Mineral premix (mg/ kg diet) :NaF ,2mg; KI ,0. 08mg;CoCl₂ ·6H₂O ,1mg;CuSO₄ ·5H₂O ,10mg;FeSO₄ ·H₂O ,74mg;ZnSO₄ ·H₂O ,50mg; MnSO₄ ·H₂O ,60mg;MgSO₄ ·7H₂O ,1000mg; K₂HPO₃ ·3H₂O ,6000mg;NaH₂PO₃ ·2H₂O ,5000mg;NaCl ,100mg;CaCO₃ ,4g.

3 饲料能量蛋白质以 23. 6kJ/ g ,脂肪以 39. 5kJ/ g ,淀粉以 17. 2kJ/ g 计算。The dietary energy was calculated as protein :23. 6 ,lipid :39. 5 ,starch : 17. 2kJ/ g.

1.2 实验鱼的来源与驯养 采用本实验室当年人工孵化的同批南方鲇幼鱼,饲养于西南师范大学水产科学研究所的室内循环水养殖系统。选取体格健壮,体重接近(50.5 ±0.6g)的南方鲇幼鱼 89 尾于驯化笼中单尾驯化。以对照饲料为驯化饲料,日粮水平为 3 %BW/ d ,每天投喂 1 次(18:00 —18:30)。实验水源为曝气自来水,水温为 27.5 ±0.5 ,溶氧 >5mg/ L ,光制为 14L :10D。实验鱼经过 15d 的驯化后开始实验。

1.3 实验操作程序 将经过驯化 15d 后的实验鱼禁食 48h ,先取 5 尾作为摄食前对照,测定各项指标。其余实验鱼随机分成三组,分别以对照饲料、中 CHO 饲料和高 CHO 饲料投喂一次。南方鲇具有对食物团整体吞食的习性,将饲料准确称量并捏成一团后再进行投喂,避免了摄食后存在残饵。投喂后 15min 检查摄食情况,选取已摄食的实验鱼作为取样对象,分别在 3、6、12、24 和 48h 取样测定,每组每次取样 5 尾。

采血方法参照 Ackerman 等^[17]的工作。根据本实验室已有的研究资料,在 1min 内完成断尾取血不

会造成鱼体血液指标发生变化,据此本研究中取血操作均在 30s 内完成。

1.4 饲料的化学成分分析和肝脏各项指标的测定 饲料的生化分析样品均在 70 烘干,求得干物质含量,然后进行生化分析测定^[18]。

己糖激酶(HK)和葡萄糖激酶(GK)的活性采用 Kirchner 等^[19]的方法测定:取 0.5g 肝脏,在 4 条件下,加入 10 倍体积缓冲液匀浆,于 10000r/ min 离心 30min ,取上清液,30 下在酶标仪 (SPECTRA MAX190 ,Molecular Devices) 340nm 波长 30min 内完成测定。

磷酸果糖激酶(PFK-1)的活性采用 Meton 等^[9]的方法测定,在 4 条件下取 0.5g 肝脏加入 10 倍体积缓冲液匀浆,20000r/ min 离心 30min ,取上清液,30 下,波长 340nm 测定。

组织上清液蛋白质含量用牛血清蛋白为标准蛋白,采用 Bradford^[20]的方法测定。

酶的活性表示为:在 30 条件下,每毫克蛋白每分钟水解 1 μ mol 底物为一个活力单位(U)。

肝指数 = 肝脏重/ 体重 ×100 %

肝糖原采用蒽酮试剂法^[21]测定。血清葡萄糖浓度采用葡萄糖氧化酶法^[12]测定。

1.5 数据统计与分析方法 采用 Excel (2003) 和 SPSS(11.5) 软件进行数据的整理及统计分析。

2 结果

2.1 糖酵解酶活性的变化(表 2)

HK:在实验鱼摄食后的 48h 过程中对照组和中

表 2 摄食不同水平碳水化合物饲料后南方鲇的己糖激酶、葡萄糖激酶和磷酸果糖激酶的活性

Tab. 2 Specific activities of hepatic enzymes of GK, HK and PFK-1 in the southern catfish after feeding three different CHO level diets

饲料 Diet	时间 Time (h)					
	0	3	6	12	24	48
HK 活性 Specific activity of HK(U)						
Control	0.537 ±0.058 ^b	0.884 ±0.081 ^a	0.719 ±0.051 ^{ab}	0.910 ±0.073 ^a	0.751 ±0.080 ^{ab y}	0.817 ±0.158 ^a
Middle CHO	0.537 ±0.058 ^b	0.938 ±0.211 ^a	0.866 ±0.045 ^a	0.891 ±0.096 ^a	1.073 ±0.089 ^{a x}	0.751 ±0.088 ^a
High CHO	0.537 ±0.058 ^b	0.665 ±0.109 ^{ab}	0.769 ±0.100 ^{ab}	0.878 ±0.142 ^a	0.823 ±0.084 ^{a xy}	0.848 ±0.057 ^a
GK 活性 Specific activity of GK(U)						
Control	—	0.126 ±0.050	—	—	—	—
Middle CHO	—	0.136 ±0.086	0.117 ±0.066	0.172 ±0.084	—	—
High CHO	—	0.148 ±0.084	0.222 ±0.097	0.238 ±0.170	0.172 ±0.168	0.032 ±0.019
PFK-1 活性 Specific activity of PFK-1(U)						
Control	0.133 ±0.043	0.157 ±0.037	0.146 ±0.027	0.173 ±0.025	0.114 ±0.014	0.180 ±0.019
Middle CHO	0.133 ±0.043	0.141 ±0.026	0.167 ±0.028	0.137 ±0.020	0.159 ±0.035	0.164 ±0.020
High CHO	0.133 ±0.043	0.188 ±0.051	0.206 ±0.047	0.159 ±0.025	0.200 ±0.037	0.187 ±0.042

数据用平均值 ±标准误差表示(mean ±S. E, n = 5) ;a,b,c,d:相同行中带不同上标字母的表示差异显著 (P < 0.05) ;x,y,z:相同列中带不同上标字母的表示差异显著 (P < 0.05) 。

The datas were expressed as mean ±S. E, n = 5;a,b,c,d:different superscripts in each row indicate significant differences among dietary treatments (P < 0.05) ;x,y,z:different superscripts in each column indicate significant differences among dietary treatments (P < 0.05)

水平 CHO 组鱼体的 HK 活性均出现先上升后下降的趋势。对照组的峰值出现在摄食后 12h,中水平 CHO 组的峰值出现在 24h。而高水平 CHO 组的峰值出现在 12h,而其后一直保持在高位水平,到 48h 也未出现明显的下降趋势。24h 时中水平 CHO 组 HK 活性显著高于对照组 (P < 0.05) ,但在其余各时间点各组间差异不显著 (P > 0.05) 。

GK:对照组鱼体仅在摄食后 3h 检测出 GK 活性;中水平 CHO 组在摄食后 3、6 和 12h 检测出 GK 活性;高水平 CHO 组在摄食后 3、6、12、24 和 48h 均

检测出了 GK 活性,其 GK 活性持续时间最长。中水平 CHO 组和高水平 CHO 组的 GK 活性峰值都出现在 12h,其中高水平 CHO 组峰值(0.238 ±0.170U) 高于中水平 CHO 组 (0.172 ±0.084U) ,但是差异不显著 (P > 0.05) 。比较各组各时间点的 HK 和 GK 活性发现,前者活性远大于后者。

PFK-1:鱼体的 PFK-1 活性在各组间,以及同组内摄食后各时间点间均无显著差异 (P > 0.05) 。

2.2 肝指数、肝糖原和血糖的变化(表 3)

肝指数:对照组和中水平 CHO 组鱼体的肝指数

表 3 摄食不同水平碳水化合物饲料后南方鲇肝指数、血糖浓度和肝糖原含量的变化

Tab. 3 The variations of hepatosomatic indexes, serum glucose and liver glycogen in the southern catfish after feeding three different CHO level diets

饲料 Diet	时间 Time (h)					
	0	3	6	12	24	48
肝指数 Hepatosomatic indexes(%)						
Control	1.44 ±0.10	1.50 ±0.06	1.34 ±0.05	1.42 ±0.05	1.45 ±0.08	1.32 ±0.03 ^y
Middle CHO	1.44 ±0.10 ^b	1.53 ±0.04 ^{ab}	1.46 ±0.11 ^{ab}	1.54 ±0.03 ^{ab}	1.54 ±0.06 ^{ab}	1.72 ±0.14 ^{a x}
High CHO	1.44 ±0.10 ^{ab}	1.40 ±0.09 ^{ab}	1.26 ±0.05 ^b	1.59 ±0.07 ^a	1.62 ±0.07 ^a	1.59 ±0.07 ^{a xy}

续表

饲料 Diet	时间 Time (h)					
	0	3	6	12	24	48
肝糖原含量 Liver glycogen concentrations(mg/ g)						
Control	62.70 ±8.75 ^a	42.62 ±4.47 ^{ab}	36.75 ±3.24 ^{by}	48.57 ±5.22 ^{aby}	47.78 ±9.98 ^{aby}	33.03 ±7.21 ^{by}
Middle CHO	62.70 ±8.75 ^b	53.87 ±3.64 ^b	59.63 ±9.04 ^{bx}	65.79 ±3.46 ^{bx}	87.18 ±3.66 ^{ax}	85.44 ±5.48 ^{ax}
High CHO	62.70 ±8.75 ^{cd}	46.50 ±8.27 ^d	49.60 ±7.97 ^{cdy}	68.29 ±2.89 ^{bcx}	87.74 ±2.58 ^{abx}	97.08 ±9.70 ^{ax}
血糖浓度 Serum glucose concentrations(mg/ mL)						
Control	0.53 ±0.02 ^a	0.41 ±0.04 ^b	0.39 ±0.02 ^{by}	0.39 ±0.02 ^{by}	0.41 ±0.04 ^{bz}	0.47 ±0.04 ^{ab}
Middle CHO	0.53 ±0.02 ^{bc}	0.43 ±0.01 ^c	0.61 ±0.06 ^{bx}	0.84 ±0.06 ^{ax}	0.57 ±0.03 ^{by}	0.51 ±0.05 ^{bc}
High CHO	0.53 ±0.02 ^c	0.44 ±0.03 ^c	0.63 ±0.03 ^{bcx}	0.91 ±0.14 ^{ax}	0.80 ±0.07 ^{abx}	0.50 ±0.04 ^c

数据用平均值 ±标准误差表示(mean ±S. E, n = 5);a,b,c,d:相同行中带不同上标字母的表示差异显著 (P < 0.05);x,y,z:相同列中带不同上标字母的表示差异显著 (P < 0.05)。

The data were expressed as mean ±S. E, n = 5;a,b,c,d: different superscripts in each row indicate significant differences among dietary treatments (P < 0.05);x,y,z: different superscripts in each column indicate significant differences among dietary treatments (P < 0.05)

在摄食后 48h 内均无显著变化;高水平 CHO 组 6h 的肝脂数显著低于该组在 12、24 和 48h 的值。

肝糖原:对照组肝糖原含量在摄食后 48h 内均无显著变化;中水平 CHO 组在 24h 和 48h 的肝糖原含量显著高于其余各时间点;高水平 CHO 组肝糖原含量表现出从摄食后 3h 至 48h 显著上升的趋势。

血糖:对照组 0h 时血糖水平显著高于 3、6、12 和 24h (P < 0.05),与 48h 无显著差异;中水平 CHO 和高水平 CHO 组摄食后血糖均呈现先升高,12h 时达峰值,然后逐渐降低的趋势,中水平 CHO 组在 12h 时的血糖显著高于该组其余各时点;高水平 CHO 组 12h 时的血糖与 24h 时差异不显著,均显著高于其余各时间点 (P < 0.05)。比较摄食后相同时间点各组间血糖发现,在 6、12 和 24h,中水平 CHO 和高水平 CHO 组的血糖均显著高于对照组 (P < 0.05),而在其余时间点,三组间差异不显著。

3 讨论

3.1 饲料中 CHO 对葡萄糖磷酸化的影响

HK 和 GK 均催化葡萄糖转化为葡萄糖 - 6 - 磷酸,从而完成葡萄糖进入糖酵解过程的第一步生化反应,它们的活性对维持动物体血糖动态平衡,增加对糖的利用有重要意义^[12,22]。

早期研究认为鱼体缺乏可诱导的 GK^[8];但 Panserat 等^[11,12] 和 Caseras 等^[10,23] 对虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)、乌颊海鲷 (*Sparus aurata*) 和鲤 (*Cyprinus carpio*) 的研究发现:饲料中添加 CHO 可诱导鱼体产生 GK。本研究测定了南方鲇肝脏中 GK 活性(表 2),发现随着 CHO 水平的增加,可测出的

GK 活性的持续时间增加,对照组仅在 3h 时能测出较低 GK 活性,中水平 CHO 组在 3、6 和 12h 能测出 GK 活性,高水平 CHO 组在 3 到 48h 间均能测出 GK 活性;高水平 CHO 组在 24h 的 GK 活性为对照组在 3h 的活性的 2 倍以上。随 CHO 的摄入水平增加,南方鲇适应性地增强了 GK 的活性,因此,本文的实验结果支持 Panserat 等和 Caseras 等的观点。

在已有的关于 CHO 饲料诱导 GK 产生的研究中,均以含 CHO 饲料将实验鱼驯养了较长时期,因此认为诱导鱼体产生糖代谢酶需要 20d 以上的时间^[24,25]。但 Panserat 等发现鱼体摄食含 CHO 饲料 24h 后的 GK 表达下降到了摄食前水平,认为 GK 仅与摄食周期有关,由此推论鱼类摄食一次 CHO 饲料即能诱导出 GK,不必进行长期的驯养,但没有进一步的实验验证。本研究发现各组南方鲇摄食后 3h 均能迅速地产生 GK(表 2),从而在这种鱼上验证了 Panserat 的推论,鱼体 GK 的表达可能是一种快速的应激反应。

比较表 2 和表 3 的结果可以发现,中水平 CHO 组血糖从摄食后 3h 升高,至 12h 达峰值,而 GK 活性也随之升高至峰值,然后血糖显著降低至摄食前水平,而 GK 活性随之消失;高水平 CHO 组血糖从摄食后 3h 升高,至 12h 时达峰值后继续维持在较高水平,直到 48h 才降低至摄食前水平,相应地 GK 活性也随之在 12h 时达最高值,在 24h 时还维持在较高水平,而到 48h 时则也降低至极低的水平。已有的研究也发现 GK 活性的峰值随血糖峰值出现而出现,GK 主要在血糖水平较高时起催化作用^[11,26],当血糖下降到摄食前水平时,GK 也降到摄食前水

平^[10,12]。因此作者认为,GK活性是受进入体液的食物糖分所诱导而激活,当血糖维持在基础水平以上(本研究中,中水平 CHO 组 6—12h,高水平 CHO 组 6—24h)时,GK活性较高,当血糖降至摄食前的基础水平时,GK活性也降至极低水平而难以测出。

由表 2 可以看出,HK的活性在摄食后一直保持较高水平,随时间变化不明显,并且其促进鱼体的葡萄糖磷酸化的效应总量大大高于 GK的作用。尽管饲料 CHO 诱导了鱼体 GK活性的增加,但各组的 GK活性仍远低于 HK,仅为 HK活性的 0%—29%(表 2)。综上所述,可以得出两个结论(1)南方鲇体内葡萄糖的磷酸化过程主要由 HK催化,而其活性相对稳定;(2)食物中 CHO 水平的升高可以诱导 GK活力的上升而使葡萄糖磷酸化作用加速,但加速的效力有限,最大增幅不超过 30%。该种鱼糖代谢的这两个特征应当是肉食性鱼类只能有限地利用食物中的 CHO,而在高水平 CHO 条件下,会产生高血糖特征的重要原因。

3.2 饲料中 CHO 水平对鱼体肝糖原积累的影响

葡萄糖-6-磷酸也是肝糖原合成的前体底物,许多研究发现鱼类摄食 CHO 后会导致肝糖原含量增加^[8,27,28]。本研究中,摄食不含 CHO(对照组)的实验鱼的肝糖原水平呈现下降趋势,而摄食中、高水平 CHO 饲料的实验鱼在 24h 后肝糖原含量均增加至显著高于对照组水平(表 3)。而我们同时还观测到鱼体在摄食后其 GK活性增强而 PFK-1 活性无明显升高(表 2),因而可导致葡萄糖-6-磷酸的生成量大于消耗量,促使其转化为糖原在肝脏中不断累积。

在糖酵解途径中,经 GK和 HK磷酸化产生的葡萄糖-6-磷酸转化为果糖-6-磷酸后,进一步被 PFK-1 催化为果糖 1,6 二磷酸继续进行酵解过程。已有的研究发现,PFK-1 非常保守,其活性不受食物 CHO 的诱导^[29],本研究中,南方鲇摄食后 0—48h 过程中,高水平 CHO 组和中水平 CHO 组的 PFK-1 活性与对照组均无显著差异,PFK-1 活性不能随饲料 CHO 水平及鱼体血糖水平的升高而升高,且远低于 HK+GK活性,因此可以认为 PFK-1 限制了南方鲇摄食 CHO 后糖酵解速率的提高,从而成为鱼体在摄入高 CHO 水平饲料后形成高血糖积累的又一机制,这可能是对南方鲇利用 CHO 的另一个重要限制性因素。

3.3 鱼体血糖峰值的出现时间

有关鱼类血糖的研究表明,摄食 CHO 饲料后血

糖浓度会升高,达到某个峰值,然后下降到初始水平;峰值的高低与饲料中 CHO 水平在一定范围内呈正相关关系,CHO 水平越高,峰值越高^[26]。本研究中实验鱼体的血糖峰值与其饲料 CHO 水平也存在这种正相关关系(表 3)。

鱼类的食性、CHO 的构型和剂量会影响摄食 CHO 后鱼体血糖峰值出现的时间和持续时间^[6,8,26],许多鱼类摄食 CHO 饲料后,血糖峰值出现的时间在 2—8h^[1,3,30]。本实验室曾对经过 CHO 饲料驯养 8 周的南方鲇进行了餐后血糖浓度研究,结果发现血糖峰值出现在餐后 6h 时^[16];而本研究中未经过含 CHO 饲料驯养的南方鲇,初次摄食 CHO 饲料后血糖峰值出现在 12h 时(表 3),这表明:在一定的 CHO 水平饲料条件下,随着驯养时间越长,鱼体血糖峰值出现的时间将会提前。本研究还发现,高水平 CHO 组血糖达峰值后下降明显慢于中水平 CHO 组,到 24h 时,高水平 CHO 组的血糖与峰值相比仍未显著降低,而中水平 CHO 组已显著降低($P < 0.05$),即饲料 CHO 水平越高,血糖达峰值后维持高水平的时间越长。鱼类餐后血糖的峰值水平应当对于相关实验处理的反应更为敏感,因而前述讨论所提出的南方鲇血糖峰值出现时间的变化规律,可以为确定血液取样时间提供依据:建议在检测该种鱼餐后血糖时,将取样时间定为餐后 12h 为宜。

参考文献:

- [1] Hutchins C G, Rawles S D, Gatlin D M. Effects of dietary carbohydrate kind and level on growth, body composition and glycemic response of juvenile sunshine bass [J]. *Aquaculture*, 1998, **161**:187—199
- [2] Shiau S Y. Utilization of carbohydrates in warmwater fish—with particular reference to tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* [J]. *Aquaculture*, 1997, **151**:79—96
- [3] Lee S M, Lee J H. Effect of dietary glucose, dextrin and starch on growth and body composition of juvenile starry flounder *Platichthys stellatus* [J]. *Fisheries Science*, 2004, **70**:53—58
- [4] Page G I, Hayworth K M, Wade R R, et al. Non-specific immunity parameters and the formation of advanced glycosylation end-products (AGE) in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), fed high levels of dietary carbohydrates [J]. *Aquaculture Research*, 1999, **30**(4):287—297
- [5] Nordrum S, Bakke-McKellep A M, Krogdahl A, et al. Effects of soybean meal and salinity on intestinal transport of nutrients in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, 2000, **125**(3):317—325

- [6] Deng D F, Refstie S, Hung S S S. Glycemic and glycosuric responses in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) after oral administration of simple and complex carbohydrates [J]. *Aquaculture*, 2001, **199**:107—117
- [7] Kumar S, Sahu N P, Pal A K, et al. Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in *L. rohita* juveniles [J]. *Fish & Shellish Immunology*, 2005, **19**: 331—344
- [8] Wilson R P. Utilization of dietary carbohydrate by fish [J], *Aquaculture*, 1994, **124**:67—80
- [9] Metcalfe I, Mediavilla D, Caseras A, et al. Effect of diet composition and ration size on key enzyme activities of glycolysis-gluconeogenesis, the pentose phosphate pathway and amino acid metabolism in liver of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) [J]. *British Journal of Nutrition*, 1999, **82**:223—232
- [10] Caseras A, Metcalfe I, Fernandez F, et al. Glucokinase gene expression is nutritionally regulated in liver of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2000, **1493**:135—141
- [11] Panserat S, Médale F, Blin C, et al. Hepatic glucokinase is induced by dietary carbohydrates in rainbow trout, gilthead seabream, and common carp [J]. *American Journal Physiology Regulatory Integrative Comparative Physiology*, 2000, **278**:1164—1170
- [12] Panserat S, Capill E, Gutierrez J, 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]. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 2001, **128**:275—283
- [13] Fu S J, Xie X J. Nutritional homeostasis in carnivorous southern catfish (*Silurus meridionalis*): is there a mechanism for increased energy expenditure during carbohydrate overfeeding? [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 2004, **139**:359—363
- [14] Luo Y P, Xie X J. Effects of dietary starch on the Serum glucose concentrations in *Silurus meridionalis* Chen. (wait for express) [罗毅平, 谢小军. 饲料碳水化合物对南方鲇血糖水平的影响. 2005, (待发表)]
- [15] Fu S J, Xie X J. Effect of dietary carbohydrate levels on growth performance in *Silurus meridionalis* Chen [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, **29**(3):82—86 [付世建, 谢小军. 饲料碳水化合物水平对南方鲇生长的影响. 水生生物学报, 2005, **29**(3):82—86]
- [16] Fu S J, Xie X J. The kinetic function of blood glucose in southern catfish fed with diets with different dietary carbohydrate levels. (in press) [付世建, 谢小军. 2005b, 南方鲇摄食碳水化合物后的血糖动力学方程(待发表)]
- [17] Ackerman P A, Forsyth R B, Mazur C F and Iwama G K. Stress hormones and the cellular stress response in salmonids. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2000, **23**:327—336
- [18] Xie X J, Long T C, Zhang Y G, et al. Reproductive investment in the *Silurus meridionalis* [J]. *Journal of Fish Biology*, 1998, **53**: 259—271
- [19] Kirchner S, Kaushik S, Panserat S. Effect of partial substitution of dietary protein by a single gluconeogenic dispensable amino acid on hepatic glucose metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 2003, **134**: 337—347
- [20] Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle dye binding [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, **72**:248—254
- [21] Seifter S, Dayton S, Novic B, et al. The estimation of glycogen with the anthrone reagent [J]. *Arch. Biochem. Biophys*, 1950, **50**:191—200
- [22] Werve V d, Lange G, Newgard A, et al. New lessons in the regulation of glucose metabolism taught by the glucose-6-phosphatase system [J]. *European Journal of Biochemistry*, 2000, **267**:1533—1549
- [23] Caseras A, Metcalfe I, Vives C, et al. Nutritional regulation of glucose-6-phosphatase gene expression in liver of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*) [J]. *British Journal of Nutrition*, 2002, **88**:607—614
- [24] Whiting S J, Wiggs A J. Effect of nutritional factors and cortisol on tyrosine aminotransferase activity in liver of brook trout, *Salvelinus fontinalis mitchill* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1977, **58B**:189—193
- [25] Shimeno S, Takeda M, Takayama S, et al. Adaptation of hepatopancreatic enzymes to dietary carbohydrate in carp [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1981, **47**:71—77
- [26] Moon T W. Glucose intolerance in teleost fish: fact or fiction [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 2001, **129**:243—249
- [27] Peres H, Gonçalves P, Oliva-Teres A. Glucose tolerance in gilthead seabream (*Sparus aurata*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. *Aquaculture*, 1999, **179**:415—423
- [28] Hemre G I, Mørmmesen T P, Krogdahl A. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes [J]. *Aquacult. Nutrition*, 2002, **8**:175—194
- [29] Lin J H, Shiau S Y. Hepatic enzyme adaptation to different dietary carbohydrates in juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) [J]. *Fish Physiology Biochemistry*, 1995, **14**:165—170
- [30] Lin S C, Liou C-H, Shiau S-Y. Renal threshold for urinary glucose excretion by tilapia in response to orally administered carbohydrates and injected glucose [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2000, **3**: 127—132

EFFECTS OF DIETARY CARBOHYDRATE LEVEL ON GLYCOLYTIC ENZYMES AND SERUM GLUCOSE CONCENTRATIONS IN THE JUVENILE SOUTHERN CATFISH AFTER FEEDING

LIN Xiao-Zhi , LUO Yi-Ping and XIE Xiao-Jun

(School of Life Sciences , Southwest China Normal University , Chongqing 400715)

Abstract : Three isoenergetic diets containing 0 % , 15 % and 30 % gelatinized corn starch were formulated as control , middle level and high level carbohydrate (CHO) diets , respectively. The juvenile southern catfish , *Silurus meridionalis* Chen (50.5 ± 0.6g) were acclimated with control diet for 15d at 27.5 ± 0.5 °C. Activities of glycolytic key enzymes (HK, GK and PFK-1) and the serum glucose concentrations in the southern catfish respectively fed with the three diets were examined , at 3 , 6 , 12 , 24 and 48h after feeding. The results showed that HK activity in the middle and high CHO groups were significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$) at 24h , but no significant difference was found at other time ; GK activity was related positively with CHO level , and the absolute measurement of its activity was much lower than that of HK; PFK-1 activity was not significantly different among the three treatments at each measuring time. The results suggested that the glucose phosphorylation in the fish is catalyzed mainly by HK, but its activity could not be significantly induced by dietary CHO level ; GK activity was induced by dietary CHO level so that glucose phosphorylation was promoted , but efficiency of the promotion was not more than 30 % . In addition , activity of PFK-1 which would catalyze fructose-6-phosphate into fructose 1 , 6-bisphosphate did not change at different CHO levels , therefore both metabolic mechanisms in glycolysis could not significantly accelerate with the serum glucose concentrations increasing , which might explain the hyperglycemia in the carnivorous fish with nutrition condition of high dietary CHO level. Serum glucose concentration in either the middle or the high CHO groups primarily increased gradually to its peak at 12h after feeding , and then decreased to the basic level , which could provide experimental basis for designing blood sampling time in this kind of research.

Key words : *Silurus meridionalis* Chen ; Dietary carbohydrates ; Glycolysis ; Key enzymes ; Serum glucose