

饥饿和再投喂期间尼罗罗非鱼生长、血清生化指标和肝胰脏生长激素、类胰岛素生长因子- I 和胰岛素 mRNA 表达丰度的变化

田 娟, 涂 玮, 曾令兵, 文 华*, 蒋 明, 吴 凡, 刘 伟, 杨长庚

(中国水产科学研究院长江水产研究所, 农业部淡水生物多样性保护与利用重点开放实验室,
湖北 武汉 430223)

摘要: 在室内可控条件下, 对尼罗罗非鱼[初始体质量(62.50±3.44) g]进行饥饿 28 d 和随后再投喂 21 d 的处理, 于饥饿第 0、7、14、21、28 天和再投喂第 14、21 天进行采样分析, 研究饥饿和再投喂期间尼罗罗非鱼生长、血清生化指标和肝胰脏生长激素(GH)、类胰岛素生长因子- I (IGF- I)和胰岛素(IN) mRNA 表达丰度的变化。结果显示, 与饥饿第 0 天相比, 饥饿超过 7 d 鱼体体质量显著降低($P < 0.05$), 再投喂 21 d 显著增加($P < 0.05$); 肝体比随饥饿时间延长显著降低($P < 0.05$), 恢复投喂后较饥饿时升高, 但显著低于饥饿前水平($P < 0.05$)。在血清指标上, 甘油三酯、血糖、碱性磷酸酶、谷草转氨酶和谷丙转氨酶均随饥饿时间延长而逐渐降低, 恢复投喂后均有不同程度提高, 但转氨酶活性显著低于饥饿前水平($P < 0.05$); 饥饿和再投喂对血清总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇无显著影响($P > 0.05$)。在激素方面, 与饥饿第 0 天相比, 饥饿使血清 GH 含量及其肝胰脏 mRNA 表达丰度显著升高, 血清 IGF- I 及其肝胰脏 mRNA 表达丰度降低, 恢复投喂后两者均显著升高($P < 0.05$); IN mRNA 表达丰度在饥饿 7~21 d 显著升高($P < 0.05$), 饥饿第 28 天时无显著差异($P > 0.05$), 再投喂后显著降低($P < 0.05$)。

关键词: 尼罗罗非鱼; 饥饿; 再投喂; 生长激素; 类胰岛素生长因子- I; 胰岛素

中图分类号: S 965.125; S 917

文献标志码: A

由于温度变化、季节更替、繁殖行为、疾病或食物在空间分布不均匀等原因, 鱼类经常面临饥饿, 为适应外界饥饿胁迫, 鱼类的代谢机能会发生相应改变, 并通过消耗自身体内的贮存物质来提供能量^[1]。饥饿后再投喂, 鱼类普遍出现异于正常生长的生理特征^[2-3]。近年来关于鱼类饥饿状态下生理生化变化和饥饿后补偿生长效果的研究成为鱼类营养研究上一个引人注目的领域, 目前有关此方面的研究内容主要涉及补偿生长^[2-5]、组织形态变化^[6-7]、营养成分^[8-11]、血清生化生理指标^[1,12-13], 有关饥饿胁迫对鱼类内分泌系统的影响的研究目前主要集中在生长激素(GH)、类胰岛素生长因子- I

(IGF- I)和甲状腺素^[14-17], 而关于饥饿对胰岛素的影响及饥饿状态下激素调节的机制研究较少。

在我国南方罗非鱼被广泛养殖, 其以植物性饵料为主, 食性广, 摄食量大。在人工高密度养殖条件下, 因饵料不足或疾病, 常常造成缺食或停止摄食。此外由于罗非鱼摄食水温一般在 16~38 °C, 因此在我国除海南省外, 在冬季至少有一个月处于长期饥饿胁迫状态。目前国内已有关于饥饿影响罗非鱼生长、生物学指标和部分生理生化指标的报道^[18-19], 国外报道了饥饿对莫桑比克罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*)血液 GH、IGF- I 水平的影响^[20-21]。本实验对尼罗罗非鱼(*O. niloticus*)进行饥饿和再投

收稿日期: 2011-06-02 修回日期: 2011-12-10

资助项目: 国家罗非鱼产业技术体系(CARS-49); 农业部 2010 年公益性行业科研专项经费(201003020); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(2011JBFA21)

通讯作者: 文 华, E-mail: wenhua.hb@163.com

http://www.scxuebao.cn

喂处理,测定其生长、血清生化指标,并分析尼罗罗非鱼肝胰脏 GH 和 IGF- I mRNA 表达丰度与其血清含量的关系,且通过肝胰脏 IN mRNA 表达丰度的变化来推测胰岛素对血糖的调节机制,研究了饥饿对尼罗罗非鱼的影响,以期鱼类应对饥饿胁迫的调节机制提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验设计与材料

正式实验共进行 49 d,先饥饿 28 d,随后再饱食投喂 21 d,分别在饥饿的第 0、7、14、21 和 28 天(分别记为 F0, F7, F14, F21 和 F28)和再投喂的第 14、21 天采样(记为 RF14 和 RF21,因长期饥饿后体质较弱且生长不明显,故投喂第 7 天未采样;投喂 21 d 后各项指标较饥饿阶段均有不同程度恢复,故停止采样),对采样鱼生长、血清生化指标和肝胰脏 GH、IGF- I 和 IN mRNA 表达丰度进行分析。试验用尼罗罗非鱼由长江水产研究所罗非鱼保种基地提供,其原种由长江水产研究所 2002 年从苏丹引进。试验中所投喂饲料为本实验室根据尼罗罗非鱼营养需要自制的纯化饲料,主要原料为酪蛋白、明胶、糊精和鱼油,其中粗蛋白水平 30.01%,粗脂肪水平 6.11%。

1.2 饲养管理

正式试验开始前对尼罗罗非鱼进行为期 2 周的驯养,投饲率为 3%左右;正式试验时取 80 尾体质健壮体质量(62.50±3.44) g 的尼罗罗非鱼,随机分配于 4 个 400 L 的养殖桶中,每桶 20 尾。饥饿期间无人干扰,投喂期间每 2 天通过虹吸清理桶内污物。试验期间连续充气,采用流水式养殖,保持水流量为 0.4~0.6 L/min,饲养试验期间水温 24~30 °C,溶氧>5 mg/L, pH 6.9~7.6。试验于 2010 年 8—10 月在长江水产研究所养殖基地进行。

1.3 样品制备与指标测定

每次采样每桶均采鱼 2 尾,共计 8 尾。采样鱼经 MS-222 麻醉后,测量体长,称体质量后,从尾静脉采血,血液在 4 °C 冰箱中静置 4 h 后,3 000 r/min 离心 10 min,制得血清并置 -80 °C 冰箱以备分析血清生化指标。然后对鱼体进行 75%酒精擦拭消毒,用经高压灭菌的剪刀和镊子将其剪开,迅速取出

约 0.1 g 肝胰脏,立即装入冻存管中置于液氮中暂存,再转移至 -80 °C 冰箱中保存,以备提取肝胰脏中的总 RNA。最后分离内脏和肝胰脏,并称量计算脏体比和肝体比。

1.4 指标测定

血清生化指标 血清甘油三酯(TG)、血糖(GLU)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的含量和谷丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)、碱性磷酸酶(AKP)的活性由全自动生化分析仪(日本 Sysmex Biomix-800)测定,所用试剂均购自 Sysmex 公司。

血清 GH 和 IGF- I 含量 血清 GH 和 IGF- I 含量分别用 hGH-RIACT 和 IGF- I-RIACT 分析试剂盒测定,试剂盒由法国 CISBIO 公司提供,具体操作依其说明书进行。

肝胰脏 GH、IGF- I 和 IN mRNA 表达丰度 根据已公布的尼罗罗非鱼 GH(NCBI 登录号: M26916)、IGF- I (NCBI 登录号: EU272149)和 IN(NCBI 登录号: AF038123) cDNA 部分序列,并以 β -actin 作为内参(NCBI 登录号: AY116536),设计上下游引物(表 1),引物由生工生物工程(上海)有限公司合成。

用 TRIzol Reagent 提取总 RNA 后,选择 OD 比值在 1.8~2.0,3 条电泳条带完整清晰的 RNA 进行反转录(每个样本取 4 μ g 总 RNA),以 cDNA 为模板进行荧光定量 PCR 检测。实时荧光定量 PCR 的反应体系:在 25 μ L 的 Quantitative real-time PCR 反应混合液中含模板 2 μ L,上游和下游引物各 2.5 μ mol。反应条件:95 °C 10 min 预变性,然后 95 °C 10 s,60/62 °C 15 s,72 °C 10 s,40 个循环,在 75~95 °C 进行熔解曲线检测。反应在 QIAGEN Rotor-Gene Q 6000 实时荧光定量 PCR 仪上进行。每次采样检测 6 个样本,每个样本 3 个重复。试验所涉及的试剂盒均购自大连 TaKaRa 公司。

1.5 数据统计

目的基因 mRNA 相对表达丰度采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法进行数据分析^[22],以罗非鱼 β -actin 为内参,对得到的各样品 C_T 值进行均一化处理,以饥饿第 0 天时的目的基因 mRNA 丰度为基准。试验结果用平均数±标准差(mean ± SD)表示,采用 Duncan 氏多重比较法分析试验结果平均数的差异显著性,差异显著水平为 $P < 0.05$,所有数据均采用 SPSS 16.0 软件分析。

表1 荧光定量PCR检测所用引物
Tab. 1 Nucleotide sequences of primers and cycling conditions used for PCR amplification

| 引物名称 primer | 引物序列(5'-3') primer sequence | 产物长度/bp length of PCR product | 退火温度/°C annealing temperature |
|------------------|--------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| GH-F | ACAGCCAGCGTTTGTCTCCAT | 250 | 62 |
| GH-R | GGAAACTCCCAGGACTCAACCA | | |
| IGF- I -F | TGCGATGTGCTGTATCTCCTG | 178 | 60 |
| IGF- I -R | GCCATAGCCTGTTGGTTATTG | | |
| IN-F | CCTTCTCCCTGCTCGTCTTA | 149 | 60 |
| IN-R | CACATCTCTCCTGGGGTTGT | | |
| β -actin-F | TGGTGGGTATGGGTCAGAAAG | 216 | 60-62 |
| β -actin-R | CTGTTGGCTTTGGGGTTCA | | |

2 结果

2.1 饥饿和再投喂期间尼罗罗非鱼生长指标的变化

结果经统计分析后见表 2, 与饥饿第 0 天相比, 体质量从饥饿第 14 天开始出现显著下降, 第 14、21 和 28 天分别显著下降了 14.77%、14.76%、20.93% ($P < 0.05$), 再投喂 21 d 后体质量增加 20.00% ($P < 0.05$); 脏体比在饥饿第 7~21 天显著下降 ($P < 0.05$), 饥饿第 28 天无显著差异 ($P > 0.05$), 再投喂后显著增加 ($P < 0.05$); 肝体比随饥饿时间的延长显著降低 ($P < 0.05$), 在饥饿第 7、14 和 21 和 28 天分别降低了 32.18%、53.96%、52.48% 和 56.44%, 再投喂后肝体比有所增长, 但没有恢复到初始水平; 整个饥饿阶段肥满度 K 显著降低 ($P < 0.05$), 投喂后肥满度 K 恢复到初始水平。试验期间无死亡损失。

2.2 饥饿和再投喂期间尼罗罗非鱼血清生化指标的变化

在血脂和血糖方面, 血清 TG 和 GLU 随饥饿时间延长显著降低 ($P < 0.05$), 饥饿第 28 天的含量分别为饥饿第 0 天的 29.33% 和 15.79%, 再投喂后 TG 和 GLU 含量迅速升高并恢复到初始水平, 投喂第 21 天 GLU 含量较饥饿第 0 天提高 25.86% ($P < 0.05$)。饥饿和再投喂对血清 TC、HDL-C 和 LDL-C 含量无影响 ($P > 0.05$)。

在酶活方面, AKP、GOT 和 GPT 活性在饥饿阶段显著降低 ($P < 0.05$); 在投喂阶段, 与饥饿第 0 天相比, AKP 活性再投喂 14 d 时依然显著降低 ($P < 0.05$), 再投喂 21 d 后才恢复到初始水平, GOT、GPT 活性较饥饿阶段显著升高 ($P < 0.05$), 但依然显著低于初始水平 ($P < 0.05$)。

表2 饥饿和再投喂期间尼罗罗非鱼生长指标的变化
Tab. 2 Change in growth indices of *O. niloticus* during fasting and re-feeding

| 指标 indices | F0 | F7 | F14 | F21 | F28 | RF14 | RF21 |
|--|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
| 体质量/g body weight | 62.50±3.44 ^{cd} | 58.69±3.46 ^c | 53.27±2.43 ^{ab} | 53.80±3.37 ^{ab} | 49.42±2.49 ^a | 55.67±2.75 ^{bc} | 75.00±3.12 ^e |
| 脏体比/% ¹ visceral | 7.18±0.42 ^b | 6.10±0.50 ^a | 5.61±0.29 ^a | 5.67±0.28 ^a | 7.47±0.60 ^b | 9.37±0.63 ^c | 10.75±0.62 ^d |
| 肝体比/% ² hepatosomatic index | 2.02±0.13 ^a | 1.37±0.10 ^c | 0.93±0.05 ^d | 0.96±0.07 ^d | 0.88±0.04 ^e | 1.44±0.10 ^c | 1.86±0.06 ^b |
| 肥满度 K ³ condition factor K | 3.34±0.16 ^a | 2.97±0.13 ^c | 3.04±0.26 ^{bc} | 3.05±0.14 ^{bc} | 2.88±0.10 ^c | 3.22±0.10 ^{ab} | 3.31±0.10 ^a |

注: 1. 脏体比(VSI %)=内脏重(g)/个体质量(g)×100; 2. 肝体比(HSI %)=肝胰脏重(g)/个体质量(g)×100; 3. 肥满度 K = 个体质量(g)/体长³×100 (cm); 4. 同行上标小写字母不同表示显著差异 ($P < 0.05$), 以下各图表同。

Notes: 1. visceral index (%) = 100 × visceral weight/body weight; 2. hepatosomatic index (%) = 100 × liver weight/body weight; 3. condition factor K = 100 × final mean weight/(body length)³; 4. Different letters of superscript in the same row indicated significant difference ($P < 0.05$), the same as following tables and figures.

2.3 饥饿和再投喂期间尼罗罗非鱼血清激素含量及其肝胰脏 mRNA 表达丰度的变化

在血清激素含量方面, 与饥饿第 0 天相比, 血清 GH 水平在饥饿和再投喂阶段均显著升高($P < 0.05$); 血清 IGF-I 的水平随饥饿时间的延长而逐渐降低, 饥饿第 7 天无显著变化($P > 0.05$), 饥饿第 14, 21 和 28 天分别显著降低 21.62%、23.96%、42.21% ($P < 0.05$), 再投喂的第 14 天显著降低 39.66% ($P < 0.05$), 再投喂第 21 天达到初始水平($P > 0.05$) (图 1)。

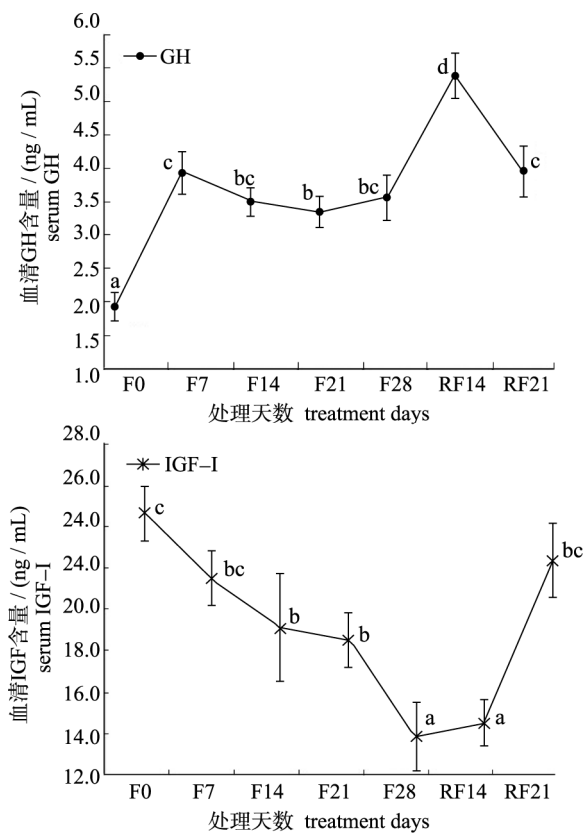


图1 饥饿和再投喂期间尼罗罗非鱼血清 GH 和 IGF-I 含量的变化

Fig. 1 Change in serum GH and IGF-I of *O. niloticus* during fasting and re-feeding

在肝胰脏 GH、IGF-I 和 IN mRNA 表达丰度方面, 与饥饿第 0 天相比, 饥饿使肝胰脏 GH mRNA 表达丰度显著升高 ($P < 0.05$), 肝胰脏 IGF-I mRNA 表达丰度显著降低 ($P < 0.05$); IN mRNA 表达丰度在饥饿 7~21 d 显著升高 ($P < 0.05$), 饥饿第 28

天时无显著差异 ($P > 0.05$)。再投喂后, 与饥饿第 0 天相比, 肝胰脏 GH mRNA 表达丰度显著升高 ($P < 0.05$), IN mRNA 表达丰度显著降低 ($P < 0.05$), IGF-I mRNA 表达丰度在投喂第 14 天显著降低 ($P < 0.05$), 投喂第 21 天无显著差异 ($P > 0.05$) (图 2)。

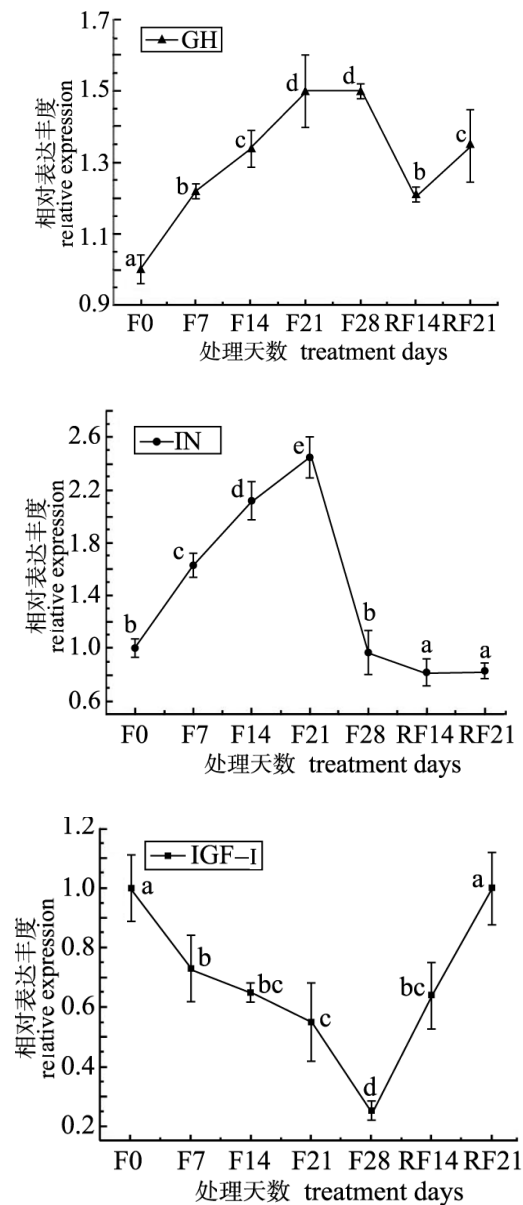


图2 饥饿和再投喂期间尼罗罗非鱼肝脏 GH、IGF-I 和 IN mRNA 表达丰度的变化

Fig. 2 Change in expression abundance of GH, IGF-I and IN mRNA of *O. niloticus* during fasting and re-feeding

表3 饥饿和再投喂期间尼罗罗非鱼血清生化指标的变化
Tab. 3 Change in serum biochemical indices of *O. niloticus* during fasting and re-feeding

| 指标 indices | F0 | F7 | F14 | F21 | F28 | RF14 | RF21 |
|------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 甘油三酯/(mmol/L) TG | 1.50±0.12 ^{de} | 0.69±0.10 ^{bc} | 0.76±0.12 ^c | 0.56±0.08 ^{ab} | 0.44±0.06 ^a | 1.37±0.16 ^d | 1.65±0.14 ^{de} |
| 总胆固醇/(mmol/L) TC | 3.20±0.32 ^{ab} | 2.93±0.31 ^a | 3.07±0.26 ^a | 2.92±0.20 ^a | 3.07±0.21 ^{ab} | 3.21±0.21 ^b | 3.16±0.18 ^b |
| 高密度脂蛋白胆固醇/ (mmol/L) HDL-C | 2.33±0.12 ^a | 2.30±0.09 ^a | 2.06±0.12 ^a | 2.11±0.16 ^a | 2.35±0.13 ^a | 2.43±0.16 ^a | 2.57±0.09 ^a |
| 低密度脂蛋白胆固醇/ (mmol/L) LDL-C | 0.62±0.09 ^a | 0.55±0.11 ^a | 0.62±0.12 ^a | 0.64±0.07 ^a | 0.51±0.07 ^a | 0.70±0.15 ^a | 0.65±0.03 ^a |
| 血糖/(mmol/L) GLU | 4.37±0.36 ^c | 2.03±0.33 ^b | 1.99±0.28 ^b | 1.53±0.35 ^b | 0.69±0.09 ^a | 5.22±0.62 ^{cd} | 5.50±0.42 ^d |
| 碱性磷酸酶/(U/L) AKP | 27.50±1.37 ^a | 20.14±1.34 ^c | 23.71±1.79 ^b | 23.40±2.30 ^b | 21.33±2.08 ^c | 23.75±2.22 ^b | 26.50±2.28 ^a |
| 谷草转氨酶/(U/L) GOT | 131.25±8.05 ^a | 116.50±7.72 ^b | 95.33±8.12 ^{cd} | 85.75±3.59 ^{de} | 74.67±3.05 ^e | 103.00±10.73 ^c | 117.75±10.62 ^c |
| 谷丙转氨酶/(U/L) GPT | 47.33±4.96 ^a | 9.33±1.36 ^d | 6.85±0.89 ^d | 5.20±0.33 ^e | 4.66±0.57 ^e | 17.75±1.25 ^c | 25.75±2.77 ^b |

3 讨论

3.1 饥饿和再投喂期间尼罗罗非鱼生长指标的变化

本研究结果表明,尼罗罗非鱼能忍受较长时间的饥饿,恢复投喂后表现出较快的生长,但在遭遇饥饿胁迫时,需要较多的消耗自身贮存的营养物质来维持生存。这与 8.25 g 美国红鱼(*Sciaenops ocellatus*)饥饿 15 d 后体质量损失 18.80%,再投喂 15 d 体质量增加 58.43%^[4],以及牙鲆(*Paralichthys olivaceus* L.)^[2]和南方鲇(*Silurus meridionalis*)^[5]等结果相似。本试验结果也显示脏体比、肝体比、饱满度等指标,随着饥饿时间的延长而下降,但肝体比下降才是其饥饿最明显的标志,在饥饿第 28 天时下降 56.44%,这可能与饥饿状态下罗非鱼优先利用肝胰脏中贮存的脂肪和糖原作为能源有关,从而导致肝胰脏的体积和质量减小,肝体比下降。类似结果在瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)^[6]、南方鲇^[7]等的试验中亦得到证实。

3.2 饥饿和再投喂期间尼罗罗非鱼血脂、血糖和部分酶的变化

本研究发现,长时间饥饿后,鱼体重新进食时能量代谢旺盛,可能是将 TG 或 GLU 运至贮脂组织中重新合成脂类。同样的结论在花羔红点鲑(*Salvelinus malma*)^[1]、哲罗鱼(*Hucho taimen*)^[23]和鲇(*Silurus asotus*)^[24]等鱼类上得以证实。在本试验中饥饿和再投喂对血清 TC、HDL-C 和 LDL-C 含量反而无影响,与在吉富罗非鱼^[18]、哲罗鱼^[23]的研究结果相似,表明 TC 的代谢可能不受饥饿胁迫的影响,在机体内处于相对稳定水平,其机理有待进一步研究。

在正常情况下,血清中 GPT、GOT 和 AKP 活性较稳定,当组织发生病变或损伤时,特别是肝损伤时,其血清中酶活迅速升高,因此它们被用作判断肝功能是否正常的指标^[25],而同时也有研究发现血清转氨酶活性降低与维生素 B₆ 缺乏有关,而碱性磷酸酶降低与锌缺乏有关^[26]。在对鱼类饥饿的研究中发现,饥饿使哲罗鱼^[23]、南方鲇^[12]和鲈(*Lateolabrax japonica*)^[27]的这 3 种酶活显著降低,与本试验的研究结果一致。亦有与本试验结果不同的研究,如饥饿对太平洋鲑鱼血浆 GOT 活性无影响^[13],饥饿对鲇血清 AKP 活性无影响^[24]。这说明饥饿对不同鱼类转氨酶和磷酸酶的影响不同,可能与鱼类自身蓄积的营养物质和承受饥饿胁迫的能力有关。

3.3 饥饿和再投喂期间尼罗罗非鱼激素含量及其 mRNA 表达丰度的变化

GH 对脊椎动物具有促进生长、加快能量代谢和提高性腺发育等多种生理作用^[28],GH 的促生长作用需要通过其他激素介导,而 IGF- I 是其介导因子的核心成员之一,同时 IGF- I 的合成主要又受到 GH 的调控^[29]。通过半定量检测发现尼罗罗非鱼 GH 主要在脑垂体中表达^[30],在本试验中通过 RT-PCR 检测 GH,发现在肝脏中也有表达,但相对脑垂体表达量很低。在其他动物的垂体外组织中也发现有 GH 的表达,并认为这些在垂体外组织表达的 GH 是以旁分泌或自分泌的方式在行使其重要的生理作用^[31],而 IGF- I 在尼罗罗非鱼多个组织中表达,在肝脏中表达丰度最高^[32]。

鱼类在受到饥饿胁迫时 GH 和 IGF- I 迅速进行反馈调节^[14-17]。已有研究发现,饥饿使莫桑比克

罗非鱼血浆 GH 水平显著升高, IGF- I 水平显著降低^[20-21], 在斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)^[33]、红点鲑(*Salvelinus alpinus*)^[34]、斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*)^[35]上也得到类似结果, 本试验研究结果与之一致, 暗示鱼类在饥饿过程中血液 GH 水平升高、IGF- I 水平下降可能是一种较为普遍的现象。在黑鲷(*Acanthopagrus schlegeli*)研究中发现, 饥饿 30 d 后血清 GH 显著升高, IGF- I 水平显著降低, 而肝生长激素受体(GHR)水平仅只有投喂对照组的 20%^[36], 类似的结果在日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)^[14]、银大马哈鱼(*Oncorhynchus kisutch*)^[37]中也得到证实, 这提示由于 GH 水平升高引起了肝 GHR 下调, 导致 GHR 结合 GH 的能力下降, 从而调控肝组织合成 IGF- I 能力下降, 最终使释放到血清中的 IGF- I 含量下降, 这说明鱼类也可能普遍存在 GH/GHR/IGF- I 轴。

尼罗罗非鱼肝胰脏 GH、IGF- I mRNA 表达丰度结果表明, 饥饿胁迫下肝胰脏 GH 和 IGF- I mRNA 表达丰度与其血清含量出现同步变化, 揭示饥饿对尼罗罗非鱼 GH、IGF- I 表达的调节主要发生在翻译水平, 其基因转录水平的变化可能是决定血清中激素含量的最主要原因。

正常生理状态下, 胰岛是调节机体血糖水平的重要内分泌腺, 胰岛素和胰高血糖素的协调作用使血糖含量保持相对稳定的水平。饥饿状态下, 鱼体血糖降低到一定水平后保持相对稳定的浓度, 以维持正常生命活动^[18, 27]。与之类似, 本试验中尼罗罗非鱼饥饿 7 d 时血清血糖含量显著降低, 然后在饥饿 7~21 d 稳定于较低水平, 直至饥饿 28 d 又较第 7 天显著下降。在此过程中胰岛素是否仍如正常生理状态下一样维持其调节功能, 在鱼类目前还未见报道。在哺乳动物中一般认为饥饿时血清中胰岛素的水平显著下降^[38-39], 但此时血清中胰岛素水平的下降是缘于胰岛内胰岛素合成的减少还是其释放减少呢? 本试验对血清中胰岛素进行了测定, 除饥饿第 0 天结果显示为 2 ng/mL 外, 饥饿期间的含量均低于测定的下限, 这表明饥饿胁迫下, 尼罗罗非鱼可能通过降低血液中胰岛素的含量来维持必要的血糖浓度。于是随后测定了肝胰脏中胰岛素 mRNA 表达丰度(胰岛素主要由胰岛

分泌, 尼罗罗非鱼的胰腺散布在肝脏内, 胰岛分散在胰腺的外分泌组织中^[40]), 其结果为饥饿 7~21 d 时显著升高, 与初始水平相比, 饥饿 21 d 时为 2.45 倍, 饥饿 28 d 时与其相当, 这表明尼罗罗非鱼胰岛素的合成在饥饿时呈上升趋势, 长期饥饿使其合成达到阈值后恢复到正常水平, 血清中胰岛素水平的下降可能缘于胰岛释放胰岛素的减少。

参考文献:

- [1] 黄权, 高峰, 孟繁伊, 等. 饥饿和再投喂对花羔红点鲑肌肉组分和血液指标的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2009, 31(4): 460-466, 475.
- [2] Hwoan C S, Lee S M, Hee P B, *et al.* Compensatory growth of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus* L., and changes in proximate composition and body condition indexes during fasting and after re-feeding in summer season [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2006, 37(2): 168-174.
- [3] Oh S Y, Noh C H, Kang R S, *et al.* Compensatory growth and body composition of juvenile black rockfish *Sebastes schlegeli* following feed deprivation [J]. Fisheries Science, 2008, 74: 846-852.
- [4] 姜志强, 贾泽梅, 韩延波, 等. 美国红鱼继饥饿后的补偿生长及机制[J]. 水产学报, 2002, 26(1): 67-72.
- [5] 邓利, 张波, 谢小军. 南方鲷饥饿后的恢复生长[J]. 水生生物学报, 1999, 23(2): 63-167.
- [6] 马旭洲, 王武, 甘炼, 等. 延迟投饵对瓦氏黄颡鱼仔鱼存活、摄食和生长的影响[J]. 水产学报, 2006, 30(3): 323-327.
- [7] 宋昭彬, 何学福. 饥饿对南方鲷仔稚鱼消化系统的形态和组织学影响[J]. 水生生物学报, 2000, 24(2): 155-160.
- [8] Nakamura Y N, Ando M, Seoka M, *et al.* Effect of fasting on physical/chemical properties of ordinary muscles in full-cycle cultured Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* during chilled storage[J]. Fisheries Science, 2006, 72: 1079-1085.
- [9] Zhang X D, Zhu Y F, Cai L S, *et al.* Effects of fasting on the meat quality and antioxidant defenses of market-size farmed large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) [J]. Aquaculture, 2008, 280:136-139.
- [10] Grigorakis K, Alexis M N. Effects of fasting on the meat quality and fat deposition of commercial-size farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) fed different dietary regimes [J]. Aquaculture Nutrition, 2005, 11: 341-344.
- [11] Rueda F M, Martinez F J, Zamora S, *et al.* Effect of fasting and re-feeding on growth composition of red porgy, *Pagrus pagrus* L.[J]. Aquaculture Research, 1998, 29: 447-452.

- [12] 陈晓耘. 饥饿对南方鲶幼鱼血液的影响[J]. 西南农业大学学报, 2000, 22(2):167-169.
- [13] 罗波, 冯健, 蒋步国, 等. 饥饿对太平洋鲑生长、机体组成及血浆相关指标变化研究[J]. 水生生物学报, 2010, 34(3): 541-546.
- [14] Mori I, Sakamoto T, Hirano T. Growth hormone (GH)-dependent hepatic GH receptors in the Japanese eel, *Anguilla japonica*: effects of hypophysectomy and GH injection [J]. General and Comparative Endocrinology [J]. 1992, 85:385-391.
- [15] 邓利, 张为民, 林浩然. 饥饿对黑鲟血清生长激素、甲状腺激素以及白肌和肝胰脏脂肪、蛋白质含量的影响[J]. 动物学研究, 2003, 24(2): 94-98.
- [16] Sumpter J P, Lebaill P Y, Pickering A D, et al. The effect of starvation on growth and plasma growth hormone concentration of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. General Comparative Endocrinology, 1991, 83(1): 94-102.
- [17] Leatherland J F, Farbridge K J. Chronic fasting reduces the response of the thyroid to growth hormone and TSH, and alters the growth hormone related changes in hepatic 5-monodeiodinase activity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. General Comparative Endocrinology, 1992, 87 (3): 342-353.
- [18] 刘波, 何庆国, 唐永凯, 等. 饥饿胁迫对吉富罗非鱼生长及生理生化指标的影响[J]. 中国水产科学, 2009, 16(2): 230-237.
- [19] 王爱民, 韩光明, 韦信键, 等. 吉富罗非鱼 FAS 基因的克隆及再投喂和饲料脂肪水平对其表达的影响[J]. 水产学报, 2010, 34(7): 1113-1120.
- [20] Uchida K, Kajimura S, Riley L G, et al. Effects of fasting on growth hormone insulin-like growth factor I axis in the tilapia, *Oreochromis mossambicus* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2003, 134: 429-439.
- [21] Fox B K, Breves J P, Hirano T, et al. Effects of short- and long-term fasting on plasma and stomach ghrelin, and the growth hormone/insulin-like growth factor I axis in the tilapia, *Oreochromis mossambicus* [J]. Domestic Animal Endocrinology, 2009, 37:1-11.
- [22] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ Method [J]. Methods, 2001, 25: 402-408.
- [23] 杨成辉, 蔡勋, 刘霞, 等. 饥饿和再投喂对哲罗鱼幼鱼血液生理指标的影响[J]. 淡水渔业, 2009, 39(1): 36-40.
- [24] 乔志刚, 张建平, 牛景彦. 饥饿和再投喂对鲑血液生理指标的影响[J]. 水生生物学报, 2008, 32(5): 631-635.
- [25] 刘翥, 王伟, 刘宓, 等. 常规肝功能指标在转移性肝癌临床诊断中的价值探讨[J]. 实验与检验医学, 2010, 28(40): 368-370.
- [26] Waner T, Nyska A. The toxicological significance of decreased activities of blood alanine and aspartate aminotransferase [J]. Veterinary Research Communications, 1991, 15: 73-78.
- [27] 钱云霞, 陈惠群, 孙江飞. 饥饿对养殖鲈鱼血液生理指标的影响[J]. 中国水产科学, 2002, 9(2):133-137.
- [28] Leroith D, Bondy C, Yakar S, et al. The somatomedin hypothesis: 2001[J]. Endocrine Reviews, 2001, 22(1): 53-74.
- [29] Mauras N, Haymond M W. Are the metabolic effects of GH and IGF- I separable? [J]. Growth Hormone IGF Research, 2005, 15:19-27.
- [30] 马细兰, 张勇, 黄卫人, 等. 尼罗罗非鱼生长激素及其受体的 cDNA 克隆与 mRNA 表达的雌雄差异分析[J]. 动物学报, 2006, 52(5): 924-933.
- [31] Harvey S, Hull K L. Growth hormone: a paracrine growth factor? [J]. Endocrine, 1997, 7(3): 267-279.
- [32] Wang D S, Jiao B W, Hu C J, et al. Discovery of a gonad-specific IGF subtype in teleost [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2008, 367: 336-341.
- [33] Pedrosoa F L, de Jesus-Ayson E G T, Cortado H H, et al. Changes in mRNA expression of grouper (*Epinephelus coioides*) growth hormone and insulin-like growth factor I in response to nutritional status [J]. General and Comparative Endocrinology, 2006, 145:237-246.
- [34] Frantzen M, Damsgard B, Tveiten H, et al. Effects of fasting on temporal changes in plasma concentrations of sex steroids, growth hormone and insulin-like growth factor I, and reproductive investment in Arctic charr [J]. Journal of Fish Biology, 2004, 65:1526-1542.
- [35] Small B C, Peterson B C. Establishment of a time-resolved fluoroimmunoassay for measuring plasma insulin-like growth factor I (IGF- I) in fish: effect of fasting on plasma concentrations and tissue mRNA expression of IGF- I and growth hormone (GH) in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. Domestic Animal Endocrinology, 2005, 28:202-215.
- [36] Deng L, Zhang W M, Lin H R, et al. Effects of food deprivation on expression of growth hormone receptor and proximate composition in liver of black seabream *Acanthopagrus schlegelii* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry & Molecular Biology, 2004, 137:421-432.
- [37] Gray E S, Kelley K M, Law S, et al. Regulation of hepatic growth hormone receptors in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) [J]. General and Comparative Endocrinology, 1992, 88(2):243-252.
- [38] Buonomo F C, Baile C A. Influence of nutritional deprivation on insulin-like growth factor, somatotropin, and metabolic hormones in swine [J]. Journal of Animal Science, 1991, 69: 755-760.
- [39] Inoue H, Watanuki M, Myint T, et al. Effects of fasting and re-feeding on plasma concentrations of leptin, ghrelin, insulin, growth hormone and metabolites in swine [J]. Animal Science Journal, 2005, 76:367-374.
- [40] 王晓丽, 房慧伶, 曾文宗. 尼罗罗非鱼胰岛的显微和亚显微结构[J]. 广西农业生物科学, 2004, 23(1): 47-51.

The changes in growth, serum biochemical indices and GH/IGF- I /IN mRNA expression abundance of *Oreochromis niloticus* during fasting and re-feeding

TIAN Juan, TU Wei, ZENG Ling-bing, WEN Hua*, JIANG Ming, WU Fan, LIU Wei,
YANG Chang-geng

(Key Laboratory of Freshwater Biodiversity Conservation and Utilization, Ministry of Agriculture, Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223)

Abstract: Studies were conducted to reveal the changes in growth, serum biochemical indices and growth hormone (GH), insulin-like growth factor (IGF-) and insulin (IN) mRNA expression abundance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) during fasting and re-feeding. Nile tilapia with initial body weight (62.50 ± 3.44) g were starved for 28 d and then fed for 21 d under controllable indoor environment. Fish were sampled at 0, 7, 14, 21 and 28 d during fasting and at 14 and 21 d during re-feeding, respectively. The results indicated that the body weight was significantly decreased when fasting over 7 d ($P < 0.05$), and significantly increased when re-feeding for 21 d ($P < 0.05$). The hepatosomatic index was significantly decreased throughout the experiment ($P < 0.05$). Significant reduction was observed in the content of triglyceride and glucose, and in the activities of alkaline phosphatase, glutamic oxaloacetic transaminase and glutamic pyruvic transaminase after fasting ($P < 0.05$); After re-feeding, the value of these indices increased in varying degrees, but the activity of transaminase was significantly lower than initial value ($P < 0.05$). There was no change in total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol or low density lipoprotein cholesterol during the experiment ($P > 0.05$). Serum GH and liver GH mRNA levels showed significantly up-regulation, whereas significant down-regulation was observed in serum IGF- and liver IGF- mRNA levels after fasting, and after re-feeding both of them increased ($P < 0.05$). IN mRNA level was significantly increased during fasting for 7–21 d ($P < 0.05$), but its level was not obviously changed when fasting for 28 d ($P > 0.05$), then was significantly decreased after re-feeding ($P < 0.05$). The present study revealed that fasting could restrain the growth of *O. niloticus*, promote serum triglyceride and glucose breakdown, and decrease the activity of transaminase. Serum GH/ IGF- and liver GH/ IGF- mRNA expression abundance displayed synchronous changes and the liver IN mRNA expression abundance was significantly increased when fasting for 7–21 d and then decreased to normal level when fasting for 28 d. It suggests that the level of GH / IGF- gene transcription of *O. niloticus* may be the most important factor in determining the levels of hormone in serum, while down-regulation of serum insulin may be due to its release reduction in islet when fasting.

Key words: *Oreochromis niloticus*; fasting; re-feeding; growth hormone; insulin-like growth factor ; insulin

Corresponding author: WEN Hua. E-mail: wenhua.hb@163.com