

饲料碳水化合物水平及饥饿处理对 斜带石斑鱼生长及葡萄糖耐受能力的影响

毛义波, 刘泓宇, 谭北平*, 董晓慧, 杨奇慧, 迟淑艳, 章双
(广东海洋大学水产动物营养与饲料实验室, 广东 湛江 524088)

摘要:为揭示斜带石斑鱼对碳水化合物利用的特点,研究了3个碳水化合物水平及饥饿处理对其生长、血浆生化指标及肝/肌糖原的影响。实验选取300尾初重为(35±0.28)g的幼鱼,设置持续投喂高(35%, C_H)、中(21%, C_M)、低(7%, C_L)3个碳水化合物水平组,以及持续投喂组(C_M)、饥饿再投喂组(R,饥饿4周+投喂4周,投喂 C_M 组饲料)、饥饿组(S)3个投喂模式组。饲养8周后饥饿24h,以30mg/100g体质量腹腔注射葡萄糖研究其代谢反应。结果显示,增重率和特定生长率随饲料碳水化合物水平的增加而升高,但无显著差异,饲料系数以 C_L 组最高。不同碳水化合物水平下,各组注射葡萄糖后1~3h血糖水平达峰值,但 C_M 组在6h内迅速回到注射前水平;各组血浆胰岛素水平均先降后升,但 C_L 组在3h后急剧下降;各组肝糖原、血浆甘油三酯含量在注射后1h内均显著上升。饥饿处理下,持续投喂组(C_M)血糖水平在6h时迅速恢复至注射前水平; C_M 组和R组血浆胰岛素在1h内显著下降,但S组持续上升; C_M 组血浆甘油三酯含量在0~6h内显著高于其他两组。研究表明,饲喂中等水平碳水化合物(21%)比较符合斜带石斑鱼糖耐受能力,而饥饿处理下则以持续投喂组糖耐受能力最强。

关键词:斜带石斑鱼;碳水化合物;营养状态;葡萄糖;糖耐量

中图分类号:S 963.3

文献标志码:A

糖类是自然界中广泛分布的有机物,也是鱼类饲料中一种重要的廉价能源物质。适宜的饲料碳水化合物水平能起到节约饵料成本、减少蛋白质供能、提高蛋白质沉积并促进鱼类生长的作用^[1]。鱼类对碳水化合物利用能力较低,当饲料中碳水化合物水平超过一定水平时可导致持续的高血糖现象^[2],甚至会引发鱼类抗病力低、生长缓慢、死亡率高等症状^[3]。因此,在鱼类营养研究领域,鱼类对碳水化合物的利用和调控机制一直是当前研究的热点问题。

鱼类对碳水化合物利用能力的高低通常与葡萄糖耐受能力密切相关,且随种类和食性不同有着很大的差别。目前,许多学者对不同食性鱼类的葡萄糖耐受能力进行了深入研究,发现罗非鱼

(*Oreochromis niloticus*)^[4]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[5]、青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)和草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)^[6]血糖变化规律均与糖尿病患者相似,都表现出持久的高血糖现象。然而与哺乳类血糖升高可诱导胰岛素分泌增加的规律不同,不同种类及食性的鱼类相关研究结果相当不一致,其葡萄糖代谢机制也未阐明。有研究发现,饲料碳水化合物较为丰富时可以诱导机体胰岛素的分泌^[7],也有报道指出胰岛素的分泌与饲料碳水化合物无关^[8],甚至摄食高碳水化合物水平饲料后胰岛素含量反而下降^[9];还有研究发现氨基酸可比葡萄糖更为有效地刺激鱼类胰岛素分泌^[10]。许多鱼类都能够耐受较长时间的饥饿^[11],饥饿处理是常被用来评估鱼类葡萄糖中间

收稿日期:2013-11-26 修回日期:2014-01-07

资助项目:国家自然科学基金(31272673);公益性行业(农业)科研专项(201003020);广东省珠江学者基金(GDUPS 2011);广东省高等学校科技创新重点项目(2011);广东省自然科学基金(S2013010016511)

通信作者:谭北平, E-mail: bptan@126.com

代谢作用能力高低的有效研究手段,研究发现饥饿可降低鳟 (*Salmo trutta*)^[12]、异育银鲫 (*Carassius auratus gibelio* ♀ × *Cyprinus carpio* ♂)^[13]等对外源葡萄糖的消耗,并产生持续的高血糖症。因此,饥饿处理对鱼类葡萄糖的耐受能力具有重要的影响作用^[14]。

综合而言,肉食性鱼类葡萄糖耐受能力较草食性和杂食性鱼类弱^[4-6]。斜带石斑鱼是肉食性鱼类中经济价值较高的重要养殖鱼类,具有生长速度快、饲料系数低和肉质鲜美等优点,但目前有关石斑鱼糖利用及其代谢机制的研究较少,仅见 Shiau 等^[15]对点带石斑鱼 (*Epinephelus malabaricus*) 利用淀粉的研究以及杨伟等^[16]对斜带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*) 灌喂葡萄糖后代代谢反应的研究。在不同碳水化合物水平及不同营养状态下,斜带石斑鱼在急性血糖负荷后产生的代谢反应及葡萄糖耐受能力研究尚未见相关报道。本实验采用葡萄糖耐受实验法 (glucose tolerance test, GTT), 结合传统营养学研究手段, 探讨和比较了饲料中不同碳水化合物水平及营养状态下斜带石斑鱼的生长、血糖、血浆胰岛素、甘油三酯含量及肝糖原含量随时间的变化规律及差异, 旨在了解饲料碳水化合物水平及饥饿处理对斜带石斑鱼生长及葡萄糖耐受能力的影响。

1 材料与方 法

1.1 实验材料及饲养管理

斜带石斑鱼仔鱼购自广东湛江雷州覃斗镇后洪村养殖场, 养殖实验在广东海洋大学东海岛海洋生物研究基地内进行。在基地水泥池暂养 1 周后, 挑选个体健康、规格整齐、平均体质量为 35 g 左右的斜带石斑鱼作为实验用鱼, 放入室内 500 L 玻璃钢桶中进行流水养殖。实验期间水温控制在 28 ~ 30 °C, 盐度 26 ~ 28, pH 7.8 ~ 8.2, 溶解氧不低于 6.5 mg/L。

实验分别设置持续投喂高 (35%, C_H)、中 (21%, C_M)、低 (7%, C_L) 3 个碳水化合物水平组, 以及持续投喂组 (C_M)、饥饿再投喂组 (R, 饥饿 4 周 + 投喂 4 周, 投喂 C_M 组饲料)、饥饿组 (S) 3 个投喂模式组。每个处理设 3 个重复, 每个重复 20 尾鱼。实验饲料以白鱼粉为蛋白源, 鱼油和大豆磷脂油为脂肪源, 糊精为碳水化合物源。其中 C_M 组脂肪含量 10%, 用脂肪调节 C_H 、 C_M 、 C_L 3 个处

理组等氮等能 (表 1)。饲料原料经超微粉碎过 60 目筛, 用 F-26 双螺杆挤压机 (华南理工大学, 广州) 制粒, 分别制成 3 ~ 4 mm 粒径。饲料晾干后用封口袋分装好于 -20 °C 冰柜中贮存待用。实验持续 8 周, 饲养采取人工饱食投喂, 每天投喂 2 次 (08:00 和 18:00)。

1.2 葡萄糖耐量实验

饲养实验结束后, 实验鱼饥饿 24 h 后进行葡萄糖耐量实验。每桶共取 14 尾鱼, 每 2 尾鱼作为一个实验样本, 从玻璃钢桶中逐条捞取实验鱼, 然后用丁香油酚轻度麻醉, 迅速称重, 并按活体重腹腔注射葡萄糖 (30 mg/100 g 体质量), 接着放入准备好的空桶中。注射时, 注射器吸满葡萄糖溶液, 小心将注射针沿着实验鱼腹部呈 45° 斜角斜插入鱼体内 (勿接触内脏器官), 然后缓慢注入相应体积的葡萄糖溶液。实验鱼在 120 min 内注射完毕。注射前从实验鱼中随机捞取 2 尾鱼依次注射相应体积的蒸馏水作为 0 时刻处理^[16-17]。

1.3 样品采集

采样时, 从每个玻璃钢桶逐尾捞取实验鱼, 麻醉后用经过 7% 肝素钠溶液润湿的 2 mL 注射器从尾部静脉抽血, 于注射前 (0 h) 以及注射后 1、3、6、12、24 和 48 h 分别取血液、肝脏和肌肉样品。全血样本以 4 000 r/min 离心 10 min, 收集血浆。每时刻点共取 2 尾鱼, 将每 2 尾鱼的血浆合并, 作为一个样本。所有血样在 1 min 之内完成, 采完血后将实验鱼解剖, 迅速剥离肝脏, 并同样以每 2 尾鱼的肝脏合并为一个样本, 放入液氮速冻, -80 °C 超低温保存待测^[16-17]。

1.4 指标测定

血糖、血浆甘油三酯采用全自动生化分析仪 (7020 型, Hitachi, 日本) 进行测定。血浆胰岛素委托广东医学院直接采用放射免疫法测定 (放射免疫技术仪: SN-684, 上海核所日环光电仪器有限公司), 试剂盒由天津九鼎医学生物工程有限公司生产。肝/肌糖原采用碱消化法测定, 试剂盒均由南京建成生物工程研究所生产 (货号: A043)。

1.5 相关指标计算及数据分析

成活率、增重率、特定生长率 (SGR) 及饲料系数 (FCR) 计算公式如下:

成活率 (%) = (实验终尾数 / 实验初尾数) × 100;

表 1 实验饲料配方(%干重)

Tab.1 Formulation and proximate composition of the experimental diets(% dry matter)

成分 ingredients	C _H (35%)	C _M (21%)	C _L (7%)	S
鱼粉 fish meal(CP:65%)	32	32	32	—
酪蛋白 casein	25	25	25	—
小麦谷朊粉 vital wheat gluten	5	5	5	—
糊精 dextrin	35	21	7	—
鱼油 fish oil	0.19	6.26	12.33	—
大豆磷脂油 soybean lecithin	1.5	1.5	1.5	—
维生素预混料 vitamin ¹	0.3	0.3	0.3	—
矿物元素预混料 minerals ²	0.7	0.7	0.7	—
维生素 C 磷酸酯 vitamin C	0.05	0.05	0.05	—
氯化胆碱 choline chloride	0.5	0.5	0.5	—
乙氧基喹啉 ethoxyquin	0.03	0.03	0.03	—
诱食剂 attractant	0.1	0.1	0.1	—
微晶纤维素 MCC	0.1	8	14.9	—
合计 total	100	100	100	—
营养成分 proximate composition				
粗蛋白/% crude protein	47.92	47.56	48.35	—
粗脂肪/% crude lipid	4.35	10.36	16.67	—
总能/(kJ/g) gross energy	22.05	21.69	21.35	—

注:1)每千克维生素预混料含有:维生素 A 10 g,维生素 D₃ 50 g,维生素 E 99 g,维生素 K 5.0 g,维生素 B₁ 25.50 g,维生素 B₂ 25 g,维生素 B₆ 50 g,维生素 B₁₂ 0.1 g,泛酸钙 61 g,烟酸 101 g,生物素 25 g,肌醇 153.06 g,叶酸 6.25 g,纤维素 389.09 g。2)每千克矿物质预混料含有:碘酸钾 0.03 g,氯化钴 4.07 g,硫酸铜 19.84 g,柠檬酸铁 13.71 g,硫酸锌 28.28 g,硫酸镁 0.12 g,磷酸二氢钙 80 g,硫酸镁 12.43 g,氯化钾 15.33 g,亚硒酸钠 2 g,沸石粉 824.19 g

Notes:1) vitamin premix(g/kg): Vitamin A 10 g, Vitamin D₃ 50 g, Vitamin E 99 g, Vitamin K 5.0 g, Vitamin B₁ 25.50 g, Vitamin B₂ 25 g, Vitamin B₆ 50 g, Vitamin B₁₂ 0.1 g, Ca-Pantothenate 61 g, Nicotinic acids 101 g, biotin 25 g, inositol 153.06 g, folic acid 6.25 g, cellulose 389.09 g。2) vitamin premix(g/kg): KIO₃ 0.03 g, CoCl₂·6H₂O 4.07 g, CuSO₄·5H₂O 19.84 g, ferric citrate 13.71 g, ZnSO₄·7H₂O 28.28 g, MgSO₄·7H₂O 0.12 g, Ca(H₂PO₄)₂·H₂O 80 g, MgSO₄·H₂O 12.43 g, KCl 15.33 g, Na₂SeO₃ 2 g, zeolite powder 824.19 g

表 2 饲料不同碳水化合物水平对石斑鱼生长的影响

Tab.2 Effect of different carbohydrate levels in diets on growth performance of grouper

组别 group	初重/g IBW	末重/g FBW	增重率/% WGR	特定增长率/(%/d) SGR	饲料系数 FCR	存活率/% survival rate
C _L	35.67 ± 0.85	70.64 ± 2.75	98.00 ± 10.58	1.14 ± 0.09	1.36 ± 0.01 ^b	93.33 ± 2.89
C _M	35.52 ± 0.10	72.39 ± 3.26	103.67 ± 9.07	1.19 ± 0.07	1.26 ± 0.02 ^a	96.67 ± 5.78
C _H	35.83 ± 0.52	77.28 ± 4.14	116.00 ± 12.12	1.28 ± 0.09	1.21 ± 0.01 ^a	95.00 ± 5.00

注:表中数值为平均值 ± 标准差(n=3);同一列数值肩标字母不同表示显著差异(P<0.05)

Notes: Values in the table are means ± SD(n=3); Values in the same row with different superscripts indicate significant difference(P<0.05)

增重率(%) = [(平均终体质量 - 平均初体质量)/平均初体质量] × 100;

饲料系数 = 摄入饲料量/体质量增加量;

特定增长率(%/d) = [(Ln 平均终体质量 - Ln 平均初体质量)/饲养时间] × 100;

实验数据均以平均值 ± 标准差(mean ± SD)表示,并用 SPSS 统计软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),Duncan 多重比较法进行差异显著性检验,P<0.05 为差异显著。

2 结果

2.1 饲料碳水化合物水平对石斑鱼生长的影响

8 周的生长实验显示饲料中添加不同水平碳水化合物对 3 个处理组成活率没有显著影响(P>0.05);饲料系数随饲料碳水化合物水平的升高呈现下降趋势,其中 C_L 组最高(P<0.05);增重率与特定增长率最高值均出现在 C_H 组中,但与其他各组没有明显差异(P>0.05)。

2.2 饲料碳水化合物水平对石斑鱼血浆生化指标及肝/肌糖原的影响

在 3 个碳水化合物水平下,C_H 组注射葡萄糖后的 1 h 血糖值迅速升高,达到最大值,随后迅速下降,至 12 h 恢复到注射前水平。C_M 组、C_L 组注射葡萄糖后的 1 h 血糖值迅速升高,3 h 达峰值,两组血糖峰值均低于 C_H 组,以 C_L 组最低,但 3 组无显著差异(P>0.05)。比较各组注射后相同时间点血糖值发现,除在第 6 h 外,C_H 组和 C_M 组均高于 C_L 组(图 1)。

在 3 个碳水化合物水平下,3 组石斑鱼在注射葡萄糖后血浆胰岛素含量变化均呈先下降后上升趋势,但变化幅度不同。C_H 组、C_M 组血浆胰岛素含量缓慢下降,分别在 3 h、6 h 降至最低点,随后回到注射前水平;而 C_L 组在注射葡萄糖后 1 h 内急剧下降(P<0.05),随后又急剧上升,至 3 h 达到最高点(图 2)。

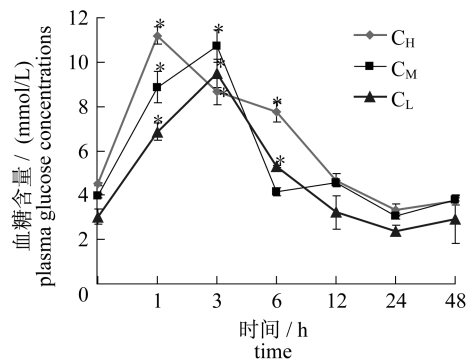


图1 3个饲料碳水化合物水平下石斑鱼注射葡萄糖后血糖的变化

Fig.1 The change of plasma glucose in the grouper after injection under three dietary carbohydrate levels

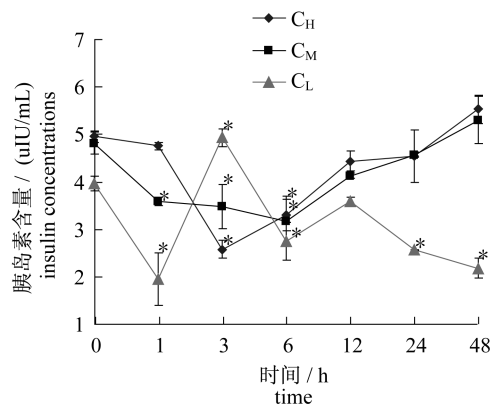


图2 3个饲料碳水化合物水平下石斑鱼注射葡萄糖后血浆胰岛素的变化

Fig.2 The change of plasma insulin in the grouper after injection under three dietary carbohydrate levels

在3个碳水化合物水平下,3组石斑鱼在注射葡萄糖后的12 h内肝糖原变化规律大致相似。在0~6 h, C_H 组总体高于 C_M 组和 C_L 组。随后各组在48 h均恢复至注射前水平。而对于肌糖原,3组石斑鱼在注射葡萄糖后肌糖原水平变化趋势大体一致(图3,图4)。

在3个碳水化合物水平下,注射葡萄糖后3组石斑鱼血浆甘油三酯均迅速上升,且最大峰值均出现在注射后的3 h。 C_H 组在12 h又出现一个峰值,而 C_M 组、 C_L 组在3 h后开始逐步回升到注射前水平(图5)。

2.3 饥饿处理对石斑鱼血浆生化指标及肝/肌糖原的影响

在饥饿处理下,3组石斑鱼出现血糖峰值时间不同,其中以R组出现血糖峰值时间最短,S组最长。持续投喂(C_M)组在6 h恢复到注射前水平,

而其他两组则均在12 h恢复至注射前水平(图6)。

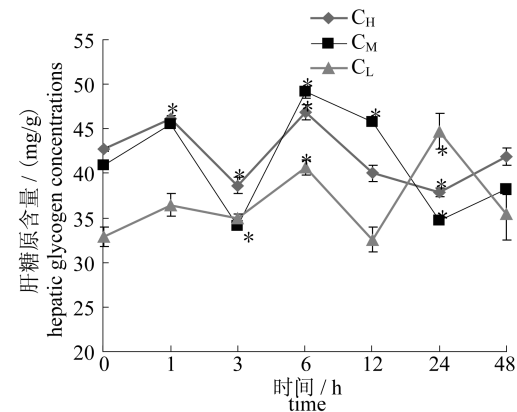


图3 3个饲料碳水化合物水平下石斑鱼注射葡萄糖后肝糖原的变化

Fig.3 The change of hepatic glycogen in the grouper after injection under three dietary carbohydrate levels

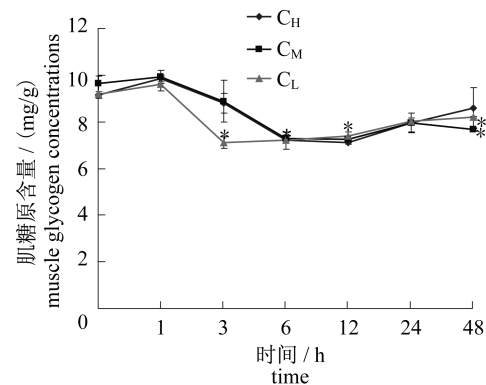


图4 3个饲料碳水化合物水平下石斑鱼注射葡萄糖后肌糖原的变化

Fig.4 The change of muscle glycogen in the grouper after injection under three dietary carbohydrate levels

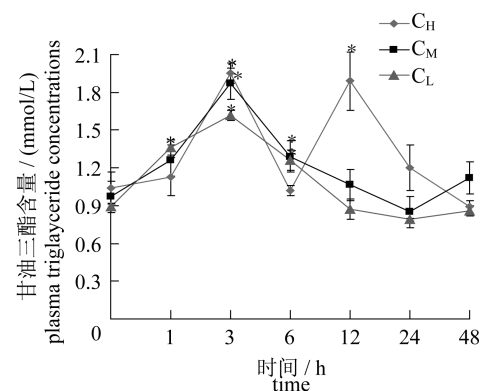


图5 3个饲料碳水化合物水平下石斑鱼注射葡萄糖后血浆甘油三酯的变化

Fig.5 The change of plasma triglyceride in the grouper after injection under three dietary carbohydrate levels

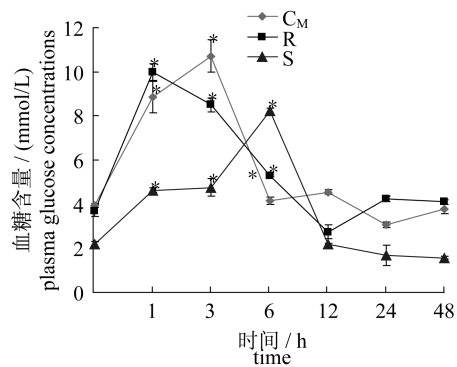


图6 饥饿处理下石斑鱼注射葡萄糖后血糖的变化
Fig.6 The change of plasma glucose in the grouper after injection under starvation

在饥饿处理下,R组血浆胰岛素水平在1 h后显著上升($P < 0.05$),至12 h达到峰值; C_M 组呈先下降后上升趋势,在6 h内缓慢下降,随后又缓慢上升;S组在注射葡萄糖后血浆胰岛素缓慢上升,分别在3 h、12 h出现峰值,12 h后恢复至注射前水平(图7)。

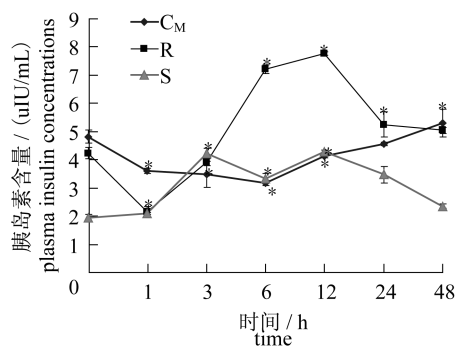


图7 饥饿处理下石斑鱼注射葡萄糖后血浆胰岛素的变化
Fig.7 The change of plasma insulin in the grouper after injection under starvation

在饥饿处理下,注射葡萄糖后3组石斑鱼肝糖原含量出现明显变化,其中R组与 C_M 组在0~48 h内均显著高于S组($P < 0.05$)。而3组石斑鱼在注射葡萄糖后肌糖原水平变化趋势大体一致(图8,图9)。

在饥饿处理下,注射葡萄糖后3组石斑鱼血浆甘油三酯变化趋势不同。 C_M 组在注射葡萄糖后急剧升高,而R组、S组呈先下降后上升趋势,且变化幅度不同;在0~6 h内, C_M 组甘油三酯水平显著高于其他两组($P < 0.05$)(图10)。

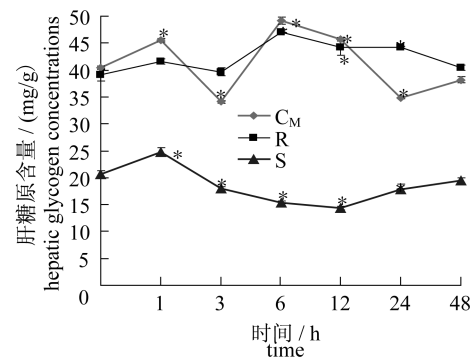


图8 饥饿处理下石斑鱼注射葡萄糖后肝糖原的变化
Fig.8 The change of hepatic glycogen in the grouper after injection under starvation

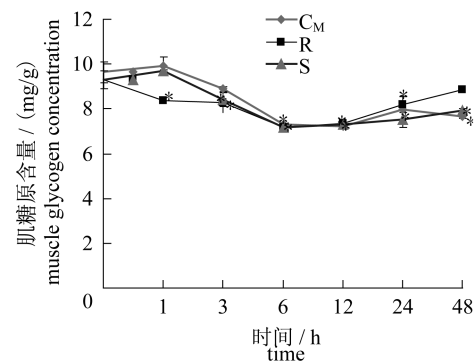


图9 饥饿处理下石斑鱼注射葡萄糖后肌糖原的变化
Fig.9 The change of muscle glycogen in the grouper after injection under starvation

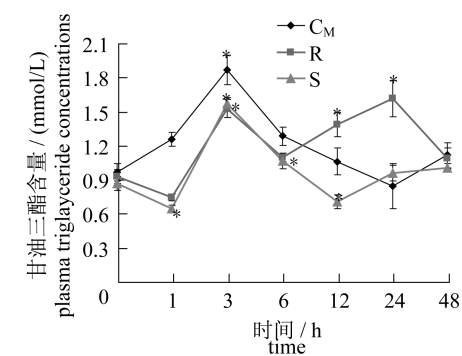


图10 饥饿处理下石斑鱼注射葡萄糖后血浆甘油三酯的变化
Fig.10 The change of plasma triglyceride in the grouper after injection under starvation

3 讨论

与哺乳动物和鸟类相比,鱼类特别是肉食性鱼类对碳水化合物利用能力较低。对大西洋鲑(*Salmo salar*)^[18]和长吻鲷(*Leiocassis longirostris*)

Guather)^[19]的研究表明,低水平碳水化合物饲料可较好地促进生长。Furuichi等^[20]用可消化碳水化合物代替部分蛋白质后发现对鱼的生长有一定的影响,甚至影响机体免疫。Bergot^[21]和 Brauge等^[22]报道,投喂等氮等能的碳水化合物饲料,结果表明高碳水化合物饲料对鱼体的生长没有显著影响。本实验也发现随着饲料碳水化合物水平的增加,WGR和SGR呈逐渐上升趋势,但无显著性差异,这说明饲料碳水化合物水平在一定范围内对石斑鱼生长并没有显著影响。FCR变化呈现相反的趋势,表明斜带石斑鱼可以在一定程度上利用糊精形式的碳水化合物。

血糖(葡萄糖)是糖类在体内的主要运输形式^[23]。血糖水平是反映动物糖代谢和全身组织细胞功能状态以及内分泌机能的一个重要指标,可以反映饵料和营养是否适当、肝脏机能是否良好^[24]。哺乳动物摄食碳水化合物后血糖在1~2h内即可恢复至正常水平^[25],而鱼类(尤其是肉食性鱼类)对糖的耐受能力较差,摄食碳水化合物饲料后血糖水平通常持续偏高^[14,26],且血糖水平随饲料碳水化合物水平增高而上升^[27]。本研究也发现,斜带石斑鱼血糖水平随饲料碳水化合物水平增高而上升;同时在3个碳水化合物水平下,斜带石斑鱼在注射高浓度葡萄糖后均出现高血糖持续现象,这和其他鱼类在口服或注射葡萄糖后血糖持续升高的结果一致^[17,28]。C_H组和C_L组达血糖峰值后下降明显慢于C_M组,到6h时C_M组已恢复到注射前水平,而C_H组和C_L组血糖水平则直至12h后恢复到注射前水平,这说明饲料中碳水化合物水平过高或者过低,都会对鱼类葡萄糖耐受能力产生影响。许多鱼类可忍受较长时间的饥饿,在饥饿状态下鱼类的代谢机能发生改变以适应不同的营养状况,同时利用鱼体自身的储存物质提供能量^[11]。褐鳟、异育银鲫等在禁食后通常会减少外源葡萄糖的消耗,从而产生持续的高血糖症,降低鱼类对葡萄糖的耐受能力^[12-13]。本研究发现在饥饿处理下,注射葡萄糖后3组石斑鱼出现血糖峰值时间不同,其中以R组出现血糖峰值时间最短,S组最长;然而持续投喂组(C_M)在6h就恢复到注射前水平,其他两组均在12h恢复至注射前水平。这说明在饥饿和再投喂状态下,斜带石斑鱼对葡萄糖耐受能力降低。

胰岛素被认为是哺乳动物调节和维持血糖平衡最为重要的调节因子^[29]。在哺乳动物的糖代谢中,胰岛素可促进糖酵解、糖原合成及脂肪合成,并抑制糖异生从而降低血糖水平;而在鱼类糖代谢研究中,胰岛素含量不足曾被认为是导致鱼类耐糖机能低下的主要原因^[30]。但越来越多的研究结果表明,鱼类对糖的耐受能力低下并不主要是胰岛素分泌不足^[31-32],甚至某些鱼类血浆胰岛素水平要比哺乳动物高^[33]。在对真鲷(*Pagrosomus major*)^[34]、大鳞大麻哈鱼(*Oncorhynchus tshawytscha*)^[35]以及罗非鱼^[34]进行葡萄糖耐量实验后发现,血浆胰岛素含量随血糖含量升高而升高。本实验结果表明,在注射葡萄糖后3组石斑鱼血浆胰岛素含量并没有随血糖含量升高而升高,反而均出现明显下降。这与Harmon等^[5]用葡萄糖腹腔注射虹鳟后所观察到的结果一致,推测出现这样的结果可能与生长抑素的分泌有关。Sheridan等^[36]认为鱼类生长抑素的大量分泌抑制了胰岛素的分泌,从而导致胰岛素含量处于较低的水平。Ronner等^[37]在对虹鳟肝胰腺进行离体试验时发现,胰岛D细胞对葡萄糖浓度升高比B细胞敏感,生长激素抑制素浓度的升高会抑制胰岛素的分泌,从而使鱼类表现出持久的高血糖。此外,鱼的种类、采样的时间和季节都会对胰岛素的分泌和调节产生不同程度的影响^[38-39]。同时,动物的营养状态与血浆胰岛素的含量也有着密切的联系,大量研究发现,在对鲤(*Cyprinus carpio*)^[40]、虹鳟^[41]、金鱼(*Carassius auratus*)^[42]、大西洋鲑^[43]、大西洋鳕(*Gadus morhua*)^[44]、舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)^[45]禁食几周后,血浆胰岛素水平显著下降。本实验中,S组及R组血浆胰岛素水平均低于持续投喂组,表明在间断或持续饥饿严重影响了鱼类的胰岛素分泌。进一步对饥饿处理下的斜带石斑鱼进行糖耐量实验后发现,C_M组与R组在注射葡萄糖后血浆胰岛素含量迅速下降,随后缓慢升高;S组在注射葡萄糖后血浆胰岛素含量逐步上升。初步推测,可能是由于在长时间的饥饿胁迫下,石斑鱼体内与糖代谢有关的器官和组织功能减退所致。

鱼类摄入饲料糖后有一部分以糖原的形式储存起来。储存糖原的主要部位是肝脏和肌肉。许多研究发现,鱼类摄食碳水化合物后会致肝糖原含量增加^[25,27,46],且随着饲料中糖类含量的增

加而上升^[47-48]。本实验也发现随着饲料碳水化合物水平的升高,石斑鱼肝糖原含量也随之上升。这说明鱼类也可以通过合成肝糖原来降低血糖负荷,调节血糖平衡。葡萄糖耐量实验显示,C_H组和C_M组肝糖原含量均在6 h时达到最高峰值,C_M组在24 h才出现峰值,且峰值浓度较C_H组、C_L组低,说明C_L组血糖合成肝糖原的速度较慢,导致C_L组长时间持续高血糖;注射葡萄糖后的48 h内肌糖原变化趋势一致,并没有引起肌糖原含量显著增加,本研究结果与刘含亮等^[36]对罗非鱼的研究相一致。

碳水化合物代谢与脂类代谢之间存在着密切的联系。在糖代谢的过程中,糖酵解产物丙酮酸在有氧条件下先氧化脱羧生成乙酰辅酶A,进而合成碳水化合物和甘油三酯。本实验中,随着饲料中碳水化合物水平的升高,斜带石斑鱼血浆中甘油三酯含量也相应升高。这与对翘嘴红鲌(*Erythroculter ilishaeformis*)^[49]、奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂)^[50]的研究结果类似,表明饲料碳水化合物水平的升高造成了脂肪合成代谢能力增强。在3个碳水化合物水平下对斜带石斑鱼注射葡萄糖后发现,在0~3 h内各组石斑鱼血浆甘油三酯的合成明显增强,且C_H组更加显著。这可能是由于斜带石斑鱼本身是以高水平糖饲料投喂,而进一步注射葡萄糖后,短时间内产生持续的高血糖,脂肪合成速度加快,因此血浆甘油三酯含量显著上升,提示石斑鱼可能在一定程度上依靠脂肪合成代谢来降低高血糖负荷。在不同营养状态下,注射葡萄糖后S组斜带石斑鱼血浆甘油三酯含量显著低于C_M组($P < 0.05$),该结果与陈晓耘^[51]对南方鲇(*Silurus meridionalis*)幼鱼的研究相一致。蔡春芳等^[13]在给异育银鲫饥饿4周后进行葡萄糖耐量实验,发现血浆甘油三酯含量在3 h内显著上升。本实验研究显示,R组、S组在注射葡萄糖后,血浆甘油三酯含量在1 h内不升反降,提示石斑鱼在饥饿状态和再投喂状态下注射葡萄糖后,由于长时间饥饿胁迫导致胰岛素分泌不足从而不能有效地分解糖类合成甘油三酯,而能量此时则主要来自脂肪分解代谢以减轻高血糖负荷,当然种属和食性的差异也可能是导致鱼类糖分解代谢机制不同的一个非常重要的因素^[26]。

在本实验条件下,斜带石斑鱼增重率和特定

生长率随饲料碳水化合物水平的增加而升高,但没有显著差异;饲料碳水化合物水平对石斑鱼葡萄糖耐受能力具有显著的时间-剂量效应,其中饲喂中等水平碳水化合物(21%)比较符合石斑鱼葡萄糖耐受能力;在饥饿处理下,则以持续投喂组石斑鱼对葡萄糖耐受能力最强。综上所述,斜带石斑鱼对高糖负荷的胁迫应答能力随饲料碳水化合物水平以及饥饿处理不同而存在明显差异。

参考文献:

- [1] Beamish F W H, Hilton J W, Niimi E, et al. Dietary carbohydrate and growth, body composition and heat increment in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. *Fish Physiology Biochemistry*, 1986, 1(2): 85-91.
- [2] Wilson R P, Poe W E. Apparent inability of channel catfish to utilize dietary mono and disaccharides as energy source [J]. *The Journal of Nutrition*, 1987, 117(2): 280-285.
- [3] Dixon D G, Hilton J W. Influence of available dietary carbohydrate content on tolerance of waterborne copper by rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson [J]. *Journal of Fish Biology*, 1981, 19(5): 509-517.
- [4] Liu H L, Sun M M, Wang H W, et al. Effects of glucose injection on biochemical parameters, insulin, and glycolytic enzymes in GIFT (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2012(5): 813-820. [刘含亮, 孙敏敏, 王红卫, 等. 注射葡萄糖对吉富罗非鱼血浆生化指标、胰岛素和糖酵解关键酶的影响. *中国水产科学*, 2012, 19(5): 813-820.]
- [5] Harmon J S, Eilertson C D, Sheridan M A, et al. Insulin suppression is associated with hypersomatostatinemia and hyperglucagonemia in glucose-injected rainbow trout [J]. *Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 1991, 261(3): 609-613.
- [6] Huang H Z, Ding L, Song X H, et al. Comparative research on glucose tolerance between black carp *Mylopharyngodon piceus* and grass carp *Ctenopharyngodon idellus* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2005, 12(4): 496-500. [黄鹤忠, 丁磊, 宋学宏, 等. 青鱼和草鱼葡萄糖耐量的比较研究. *中国水产科学*, 2005, 4(12): 496-499.]
- [7] Parrizas M, Planas J, Plisetskaya E M, et al. Insulin binding and receptor tyrosin kinase activity in skeletal muscle of carnivorous and omnivorous fish [J].

- Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 1994, 266(6):1944 - 1950.
- [8] Capilla E, Mdale 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.
- [9] Novoa M D S, Capilla E, Rojas P. *et al.* Glucagon and insulin response to dietary carbohydrate in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. General and Comparative Endocrinology, 2004, 139 (1): 48 - 54.
- [10] Mommsen T, Plisetskaya E M. Insulin in fishes and agnathans history, structure and metabolic regulation [J]. Reviews in Aquatic Sciences, 1991, 2 (4): 225 - 259.
- [11] Machado C R, Garofalo M A R, Miglioroni R H. Effects of starvation refeeding and insulin on energy linked metabolic process in catfish *Rhamdio hilarii* adapted to a carbohydrate rich diet [J]. General and Comparative Endocrinology, 1988, 71 (3): 429 - 437.
- [12] Blasco J, Fernandez-Borras J, Marimon I, *et al.* Plasma glucose kinetics and tissue uptake in brown trout in vivo: effect of an intravascular glucose load [J]. Journal of Comparative Physiology, 1996, 165 (7): 534 - 541.
- [13] Cai C F, Chen L Q, Song X H, *et al.* The change of plasma glucose, plasma triglyceride and liver glycogen after oral glucose administration in allogynogenetic silver crucian carp [J]. Journal of Fisheries of China, 2002, 26 (3): 237 - 241. [蔡春芳, 陈立侨, 宋学宏, 等. 异育银鲫口服葡萄糖后血糖、血脂和肝糖原的变化. 水产学报, 2002, 3(26): 237 - 241.]
- [14] Hemre G I, Mommsen T P, Krogdahl A. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes [J]. Aquaculture Nutrition, 2002, 3(8):175 - 194.
- [15] Shiau S, Lin Y H. Carbohydrate utilization and its protein sparing effect in diets for grouper (*Epinephelus malabaricus*) [J]. Animal Science, 2001, 73: 299 - 304.
- [16] Yang W, Ye J D, Wang K, *et al.* Glucose tolerance in grouper (*Epinephelus coloides*) [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2012, 36 (3): 563 - 568. [杨伟, 叶继丹, 王琨, 等. 斜带石斑鱼经葡萄糖灌喂后的代谢反应. 水生生物学报, 2012, 36 (3): 563 - 568.]
- [17] Peres H, Gongalves P, Oliva-Teles A. Glucose tolerance in gilthead seabream (*Sparus aurata*) and European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. Aquaculture, 1999, 179(1 - 4):415 - 423.
- [18] Hemre G I, Sandnes K, Torrissen O. Carbohydrate nutrition in Atlantic salmon, *Salmo salar* L, growth and feed utilization [J]. Aquaculture Nutrition, 1995, 26(3):149 - 154.
- [19] Pei Z H, Xie S Q, Lei W, *et al.* Comparative study on the effect of dietary corn starch content on growth, feed utilization and body composition of Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris* Günther) and gibel carp (*Carassius auratus* Gibelio) [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2005, 29 (3): 239 - 247. [裴之华, 解缓启, 雷武, 等. 长吻鲈和异育银鲫对玉米淀粉利用差异的比较研究. 水生生物学报, 2005, 29(3):239 - 247.]
- [20] Furuichi M, Yone Y. Effect of dietary dextrin levels on growth and feed efficiency, the chemical composition of liver and dorsal muscle, and the absorption of dietary protein and dextrin in fishes [J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1980, 46(2):225 - 229.
- [21] Bergot E. Carbohydrate in rainbow trout diets: effects of the level and source of carbohydrate and the number of meals on growth and body composition [J]. Aquaculture, 1979, 18(2):157 - 167.
- [22] Brauge C, Medale F, Corraze G. Effect of dietary carbohydrate levels on growth, body composition and glycaemia in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, reared in seawater [J], Aquaculture, 1994, 123 (1): 109 - 120.
- [23] Li A J. Aquatic animal nutrition and feed science [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1996. [李爱杰. 水产动物营养与饲料科学. 北京: 农业出版社, 1996.]
- [24] Zhao W P, Liu Y J, Pan Q, *et al.* Changes of blood sugar and liver glycogen levels after feeding in grass carp [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni; Natural Science, 2002, 41 (3): 64 - 67. [赵万鹏, 刘永坚, 潘庆, 等. 草鱼摄食后血糖和肝糖原质量分数的变化. 中山大学学报: 自然科学版, 2002, 41(3):64 - 67.]
- [25] Moon T W. Glucose intolerance in teleost fish: fact or fiction? [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part B, 2001, 129(2):243 - 249.
- [26] Furuichi M, Yone Y. Availability of carbohydrate in

- nutrition of carp and seabream [J]. Bulletin of the Japan-ese Society of Scientific Fisheries, 1982, 48: 94 - 948.
- [27] Suarez M D, Sanz A, Bazoco J, *et al.* Metabolic effects of changes in the dietary Protein:carbohydrate ratio in eel (*Angilla anguilla*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Aquaculture, 2002, 10: 143 - 156.
- [28] 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 Biochemistry, 2000, 23: 127 - 132.
- [29] Viegas I, Rito J, Gonzalez J D, *et al.* Effects of food-deprivation and refeeding on the regulation and sources of blood glucose appearance in European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 2013, 166 (3): 399 - 405.
- [30] Poitout V, Hagman D, Stein R, *et al.* Regulation of the insulin gene by glucose and fatty acids [J]. Journal of Nutrition, 2006, 136(4) :873 - 876.
- [31] Legate N J, Bonen A, Moon T W. Glucose tolerance and peripheral glucose utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), American eel (*Anguilla rostrata*), and black bullhead catfish (*Ameiurus melas*) [J]. General and Comparative Endocrinology, 2001, 122(1) :48 - 59.
- [32] Thorpe A, Ince B W. Plasma insulin levels in teleosts determined by a charcoal-separation radioimmunoassay technique [J]. General and Comparative Endocrinology, 1976, 30(3) :332 - 339.
- [33] Mommsen T P, Plisetskaya, E M. Insulin in fishes and agnathans: history, structure, and metabolic regulation [J]. Reviews in Aquatic Sciences, 1991, 4: 225 - 259.
- [34] Furuichi M, Yone Y Change of blood sugar and plasma insulin levels of fishes in glucose tolerance test [J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1981, 47:761 - 764.
- [35] Mazur C N, Higgs D A, Plisetskaya E, *et al.* Utilization of dietary starch and glucose tolerance in juvenile Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) of different strains in seawater [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 1992, 10 (4): 303 - 313.
- [36] Sheridan M A, Eilertson C D, Plisetskaya E M. Radioimmunoassay for salmon pancreatic somatostatin-25 [J]. General and Comparative Endocrinology, 1991, 81(3) :365 - 372.
- [37] Ronner P, Scarpa A. Difference in glucose dependency of insulin and somatostatin release [J]. Endocrinology and Metabolism, 1984, 246 (6): E506 - E509.
- [38] Gutierrez J, Carrillo M, Zanuy S, *et al.* Daily rhythms of insulin and glucose levels in the plasma of sea bass *Dicentrarchus labrax* after experimental feeding [J]. General and Comparative Endocrinology, 1984, 55(3) :393 - 397.
- [39] Gutierrez J, Fernandez J, Carrillo M, *et al.* Annual cycle of plasma insulin and glucose of sea bass. *Dicentrarchus labrax*, L [J]. Philology and Biochemistry, 1987, 4(3) :137 - 141.
- [40] Blasco J, Fernandez J, Gutierrez J. Variations in tissue reserves, plasma metabolites and pancreatic hormones during fasting in immature carp (*Cyprinus carpio*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A, 1992, 103(2) :357 - 363.
- [41] Navarro I, Gutierrez J, Planas J. Changes in plasma-glucagon, insulin and tissue metabolites associated with prolonged fasting in brown trout (*Salmo truttafarior*) during two different seasons of the year [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A, 1992, 102(2) :401 - 407.
- [42] Patent G J, Foa P P. Radioimmunoassay of insulin fishes, experiments in vivo and in vitro [J]. General and Comparative Endocrinology, 1971, 16 (1): 41 - 46.
- [43] Thorpe A, Ince B W. Plasma insulin levels in teleosts determined by a charcoal-separation radioimmunoassay technique [J]. General and Comparative Endocrinology, 1976, 30(3) :332 - 339.
- [44] Hemre G I, Lie O, Albertson G, *et al.* Dietary carbohydrate utilization in cod (*Gadus morhua*), hormonal response of insulin, glucagon and glucagonlike-peptide to diet and starvation [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A, 1990, 97(1) :41 - 44.
- [45] Gutierrez J, Asgard T, Fabbri E, *et al.* Insulin-receptor binding in skeletal muscle of trout [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 1991, 4 (9): 351 - 360.
- [46] Wilson R P. Utilization of dietary carbohydrate by fish [J]. Aquaculture, 1994, 124(1) :67 - 80.
- [47] Fu S J, Xie X J. Effect of dietary carbohydrate levels on growth performance in *Silurus meridionalis* Chen

- [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, 29 (4): 393 - 398. [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 (4): 393 - 397.]
- [48] Cai C F, Chen L Q, Wu P, *et al.* Effects of types and levels of dietary carbohydrate on liver glycogen metabolism of allogynogenetic dilver crucian carp [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2003, 10 (1): 55 - 59. [蔡春芳, 陈立侨, 吴萍, 等. 饲料糖种类和水平对异育银鲫肝糖原代谢的影响. *中国水产科学*, 2003, 10(1): 55 - 59.]
- [49] Ge X P, Liu B, Xie J, *et al.* Effect of different carbohydrate levels of dietary on growth, plasma biochemical indices and hepaticpancreas carbohydrate metabolic enzymes in topmouth culter (*Erythroculter ilishaeformis* Bleeker) [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2007, 30(3): 88 - 93. [戈贤平, 刘波, 谢骏, 等. 饲料中不同碳水化合物水平对翘嘴红鲌生长及血液指标和糖代谢酶的影响. *南京农业大学学报*, 2007, 30(3): 88 - 93.]
- [50] Wu F, Wen H, Jiang M, *et al.* Effects of different dietary carbohydrate levels on growth performance, body composition and serum biochemical indices of juvenile hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂) [J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2011, 32 (4): 91 - 95. [吴凡, 文华, 蒋明, 等. 饲料碳水化合物水平对奥尼罗非鱼幼鱼生长、体成分和血清生化指标的影响. *华南农业大学学报*, 2011, 32(4): 91 - 95.]
- [51] Chen X Y. Effects of starvation on the blood of southern catfish (*Silurus meridionalis* Chen) [J]. *Journal of Southwest Agricultural University*, 2000, 22(2): 167 - 169, 176. [陈晓耘. 饥饿对南方鲶幼鱼血液的影响. *西南农业大学学报*, 2000, 22(2): 167 - 176.]

Effects of different dietary carbohydrate levels and starvation on growth and glucose tolerance ability in grouper (*Epinephelus coioides*)

MAO Yibo, LIU Hongyu, TAN Beiping*, DONG Xiaohui, YANG Qihui,
CHI Shuyan, ZHANG Shuang

(Laboratory of Aquatic Animal Nutrition and Feed, College of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: The experiment was conducted to determine the effect of dietary carbohydrate levels (CBH) and starvation on the growth performance, biochemical indices in plasma and liver/muscle glycogen content of the grouper. Total 300 fish were randomly distributed into 5 treatments with triplicate groups of 20 fish (initial weight: 35 ± 0.28 g) in each treatment. Three isonitrogenous and isoenergetic diets were formulated containing three carbohydrate levels (35% C_H , 21% C_M , 7% C_L), combined with starvation group (S) and refeeding group (R, starving 4W + refeeding 4W, 21% carbohydrate in the diet). Experiment lasted 8W. 14 fish in each treatment were selected and injected with 300 mg glucose per 100 g body weight for glucose tolerance test (GTT) after the end of experiment and blood sampling at 0, 1, 3, 6, 12, 24, 48 h. The results showed that the weight gain and specific growth rate increased with dietary carbohydrate level increase but no significant difference ($P > 0.05$), and the feed coefficient rate of C_L group was the highest ($P < 0.05$). Plasma glucose levels significantly increased in 1–3 h and then decreased in C_H , C_M and C_L ($P < 0.05$). Plasma glucose levels in C_M returned to the initial values within 6 h after being injected and initial level of plasma glucose content in C_H and C_L were obtained within 12 h. Plasma insulin content in C_H , C_M and C_L decreased at 1 h and then increased, but insulin level of C_L group significantly decreased at 3 h ($P < 0.05$). Glycogen content in liver and plasma triglyceride levels were significantly increased in C_H , C_M and C_L within 1 h after injection ($P < 0.05$). C_M , S and R groups presented persistent hyperglycemia after being injected and C_M restored initial level quickly within 6 h. Plasma insulin levels of C_M and R groups significantly decreased within 1 h ($P < 0.05$), but that of R group continued to rise within 12 h. Plasma triglyceride levels of C_M were higher than those of S and R groups within 0 to 6 h ($P < 0.05$). The results of GTT indicate that proper carbohydrate level in diet (21%) and continuous feeding can significantly improve glucose tolerance of the grouper.

Key words: *Epinephelus coioides*; carbohydrate; nutrition status; glucose; glucose tolerance test

Corresponding author: TAN Beiping. E-mail: bptan@126.com