

饲料糖脂比对吉富罗非鱼生长、血液指标和肝脏糖代谢关键酶活性及基因表达的影响

杨丽萍^{1,2,3}, 郑文佳^{2,3}, 秦超彬^{2,3}, 高风英¹, 谢帝芝^{2,3},
闫潇^{2,3}, 朱华平¹, 卢迈新^{1*}, 聂国兴^{2,3*}

(1. 农业部热带亚热带水产资源利用与养殖重点实验室, 广东广州 510380;

2. 河南师范大学水产学院, 河南新乡 453007;

3. 河南省水产动物养殖工程技术研究中心, 河南新乡 453007)

摘要: 为探讨糖脂比对吉富罗非鱼幼鱼生长性能、血液生化指标和肝脏糖代谢关键酶的影响, 本实验设计了5种不同糖脂比(1.5、2.3、3.9、7.0、16.5)的等氮等能饲料, 以吉富罗非鱼幼鱼为实验对象, 进行了为期8周的饲养实验。结果显示, 随饲料中糖脂比升高, 吉富罗非鱼特定生长率(SGR)、增重率(WGR)和蛋白质效率(PER)先升高后降低, 糖脂比为3.9和7.0时, WGR、SGR和PER最高。饵料系数(FCR)的变化趋势与此相反, 在糖脂比为3.9和7.0组显著低于其他组。随着饲料糖脂比的增加, 吉富罗非鱼全鱼粗脂肪含量逐渐下降, 在糖脂比为16.5时达到最低水平, 但仅与1.5组存在显著差异。血浆甘油三酯在糖脂比最高组也出现显著降低, 血浆胆固醇同样在糖脂比最高组显著低于3.9组。然而血糖的变化趋势相反, 当糖脂比为16.5时显著高于其他组。随着糖脂比的升高, 吉富罗非鱼幼鱼肝脏中丙酮酸激酶(PK)的活性及mRNA表达量逐渐升高, 而磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK)的活性及mRNA表达水平则逐渐下降。根据二次回归模型得出, 在等氮等能的饲料条件下, 吉富罗非鱼幼鱼最适宜的糖水平和脂肪水平分别为49.69%和9.53%, 其对应的糖脂比为8.4。

关键词: 吉富罗非鱼; 糖脂比; 生长; 血清学指标; PK; PEPCK

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)隶属鲈形目(Perciformes)、丽鱼科(Cichlidae)、褶唇丽鱼亚科(Pseudocrenilabrinae)、罗非鱼属(*Oreochromis*), 为典型热带暖水性鱼类。尼罗罗非鱼是当前淡水养殖业的重要养殖品种之一, 具有繁殖力强、生长速度快、杂食性、抗病力强等优点^[1]。随着全球性海洋捕捞渔业资源的衰退, 国际市场对水产养殖产品的需求越来越大, 其中罗非鱼以其肉质厚、骨刺少、便于加工保鲜、富含多种不饱和脂肪酸等优点被公认为健康食品,

已在国际淡水鱼贸易中跃居第3位, 仅次于鲑鱼[大西洋鲑(*Salmo salar*)、花羔红点鲑(*Salvelinus malma*)、褐鲑(*S. trutta*)等]和鳟鱼[虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)、马苏大麻哈鱼(*O. masou*)、细鳞大麻哈鱼(*O. gorbuscha*)等]。我国罗非鱼养殖业发展迅速, 近十年来, 产量以平均每年14.75%左右的速度递增, 稳居世界首位^[2]。

饲料配方的合理设计、饲料的科学制备是促进罗非鱼健康养殖、减少疾病发生的关键因素。糖类和脂类是鱼类体内重要的能源物质。

收稿日期: 2016-04-21 修回日期: 2016-06-06

资助项目: 农业部热带亚热带水产资源利用与养殖重点实验室开放基金; 河南省高校科技创新团队支持计划(14IRTSTHN013); 现代农业产业技术体系专项(CARS-49)

通信作者: 卢迈新, E-mail: mx-lu@163.com; 聂国兴, E-mail: niegx@htu.cn

饲料中的糖可为鱼类非必需氨基酸合成提供碳骨架,同时还可作为体脂合成提供重要原料,起到改善饲料蛋白质的利用、节约蛋白质的作用^[3]。饲料中添加适量糖类还可以增加饲料的粘结性,有利于饲料的制粒。但过量的糖类会使鱼类产生持续高血糖症状,并造成糖原的过度沉积,进而损伤其免疫机能^[4]。饲料中添加适量的脂肪可促进脂溶性维生素的吸收,提供类固醇激素和前列腺素的前体及必需脂肪酸,改善饲料的适口性,提高鱼体的生长速率和饲料的利用率^[5-6],脂肪摄入过多则会出现代谢紊乱,从而导致机体组织器官受损,影响生长^[7-8]。未来饲料将针对鱼类不同发育时期的营养需求,朝着更加具体化、精细化的方向发展。因此,饲料中适宜的糖脂比对鱼类的正常生长具有重要意义。

目前,关于罗非鱼脂肪需求及糖脂比比例(CHO:LIP)的研究已有一些报道,但不同学者的研究结果也存在差异。Winfree等^[9]报道初始体质量为2.5 g时,奥利亚罗非鱼(*Oreochromis aureus*)对脂肪的需求量为5.2%,当体质量增加至7.5 g时脂肪需求量升高至6%~8%。而韩光明等^[6]的研究结果表明,在初始体质量较小时[(2.63±0.16) g],吉富罗非鱼(GIFT *O. niloticus*)在饲料脂肪含量为7.67%的条件下生长效果最佳。Ali等^[10]对尼罗罗非鱼幼鱼(10.29±0.33) g进行了最适糖脂比研究,发现糖脂比为2.06~4.95时生长性能良好。但该实验设计的实验组糖脂比上限为4.95,因此结果不能准确反映尼罗罗非鱼的最适糖脂比。

吉富罗非鱼(GIFT *O. niloticus*)是由国际水生生物资源管理中心,通过4个非洲原产地(埃及、加纳、肯尼亚和塞内加尔)直接引进的尼罗罗非鱼品系和4个亚洲地区(以色列、新加坡、泰国和中国台湾)养殖较为广泛的尼罗罗非鱼品系经混合选育获得的优良品系^[11]。目前已在我国得到广泛推广。尽管关于尼罗罗非鱼脂肪含量、糖脂比有一些报道,但针对吉富品系的报道较少。本研究拟通过比较饲料中不同糖脂比例对吉富罗非鱼幼鱼的生长、血液指标、肝脏糖酵解和糖异生关键酶活性及其基因表达的影响,初步确定吉富罗非鱼幼鱼饲料中适宜的糖脂比例,旨在为吉富罗非鱼的营养需求和人工配合饲料的研制与生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验鱼

实验鱼为吉富罗非鱼同一批孵化水花,由中国水产科学研究院珠江水产研究所种苗基地提供,经过5%食盐水消毒后,用普通商品饲料饲养2个月后备用。驯化结束后,选择健康无伤病的幼鱼450尾,初始体质量为(6.77±0.14) g。随机分配至15个养殖单元中,每个养殖单元30尾,然后将15个养殖单元随机分为5组,每组3个重复,分别投喂不同糖脂比水平的实验饲料,饲养8周。

1.2 实验饲料

本实验采用单因子设计,以饲料不同糖脂比作为影响因素,配制5组等氮等能(粗蛋白质为26.74%,能量为18.64 kJ/g)饲料,对应的糖脂比分别为1.5、2.3、3.9、7.0和16.5。参照罗非鱼配合饲料水产行业标准(SC/T 1025-2004)设计配方,以优质进口鱼粉(深圳康达尔孟州饲料有限公司)、酪蛋白(甘肃华羚酪蛋白股份有限公司)为蛋白质源。以豆油和鱼油为脂肪源并按照1:1的比例添加来调节脂肪的变化,以糊精为糖源辅助调节无氮浸出物的含量,以微晶纤维素作为填充物,使各组饲料的可利用能量保持一致,以羧甲基纤维素钠为粘结剂。饲料原料均过60目筛,经充分混合后加工成粒径为2 mm的颗粒饲料,自然风干后分装,保存于4℃冰箱备用。饲料组成及营养成分见表1。

1.3 饲养管理

实验采用循环水控温养殖系统(养殖单元:100 cm×80 cm×60 cm),每3天换1次水,新加入水量为总水量的40%。每天投饲3次,时间分别为9:00、13:00和17:00,投饲率为10%,投喂之前吸除粪便,饲料投喂20 min后,计算残饵。实验用水为曝气后的自来水,用增氧机昼夜持续增氧。水温(27±2)℃,pH 6.8~8.0,溶解氧>5 mg/L。

1.4 样品采集

养殖结束后,实验鱼禁食24 h,对每尾鱼进行称重,并测量体长。用MS-222麻醉鱼体,每一养殖单元随机取3尾鱼,每组9尾进行抽血,用一次性注射器尾静脉采血,然后3000 r/min离心10 min,吸取上清液并保存待测。另从每个养殖

表 1 饲料配方组成和营养成分
Tab. 1 Ingredients and proximate composition of the experimental diets

项目 items	糖脂比 dietary (CHO: LIP) ratios				
	1.5	2.3	3.9	7.0	16.5
原料 ingredients					
鱼粉 fish meal	29	29	29	29	29
酪蛋白 casein	11	11	11	11	11
糊精 dextrin	9	18	27	36	45
豆油 soybean oil	9.85	7.9	5.9	3.95	1.95
鱼油 fish oil	9.85	7.9	5.9	3.95	1.95
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	26.5	21.4	16.4	11.3	6.3
氯化胆碱 choline chloride	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
矿物质预混料 mineral premix	1	1	1	1	1
维生素预混料 vitamin premix	1	1	1	1	1
羧甲基纤维素钠 sodium methoxycellulose	1	1	1	1	1
营养组分 nutrition component					
粗蛋白质 crude protein	26.74	26.74	26.74	26.74	26.74
粗脂肪 crude lipid	18.47	15.48	11.56	7.74	3.82
粗纤维 crude fiber	26.65	21.55	16.55	11.45	6.45
灰分 ash	0.10	0.08	0.06	0.04	0.02
无氮浸出物 nitrogen-free extract	28.04	36.15	45.09	54.03	62.97

注:1.预混料为每1 kg饲料提供: VD₃ 160 000 IU, V_E 15 g, VB₁₂ 4 mg, VC 2.5 g, VB₁1500 mg, VB₂ 1250 mg, VA 800 000 IU, VK₃ 325 mg, VB₆ 1100 mg, 磷 105 g, 钙 330 g, 镁 45 g, 铁 15 g, 肌醇 5.5 g, 叶酸 70 mg, 生物素 125 mg, 烟酸 4 g, 泛酸 4.5 g, 胆碱 150 g, 碘 50 mg, 硒 9 mg, 铜 0.35 g, 锌 3 g, 锰 1.5 g, 钴 11 mg; 2. 饲料总能根据蛋白质、脂肪和碳水化合物的能量(23.6, 39.5和17.2 kJ/g)来计算; 3. 无氮浸出物(%)=100(%)–粗蛋白质(%)–粗脂肪(%)–粗纤维(%)–灰分(%); 4.糖脂比=无氮浸出物/粗脂肪^[10]

Notes: 1. The compound premix provides vitamin and mineral (per kg of diet): VD₃ 160 000 IU; V_E 15 g; VB₁₂ 4 mg; VC 2.5 g; VB₁ 1500 mg; VB₂ 1250 mg; VA 800 000 IU; VK₃ 325 mg; VB₆ 1100 mg; P 105 g; Ca 330 g; Mg 45 g; Fe 15 g; inositol 5.5 g; folic acid 70 mg; biotin 125 mg; nicotinic acid 4 g; pantothenate 4.5 g; choline 150 g; I 50 mg; Se 9 mg; Cu 0.35 g; Zn 3 g; Mn 1.5 g; Co 11 mg; 2. Calculated values based on 23.6, 39.5 and 17.2 kJ/g for protein, lipid and carbohydrate, respectively; 3. nitrogen-free extract: calculated as (%)=100(%)–crude protein(%)–crude lipid (%)–crude fiber (%)–ash (%); 4. CHO: LIP=nitrogen free extract /crude lipid^[10]

单元中取出3尾鱼, 解剖取其肝脏组织至离心管内, 液氮速冻后转移至–80 °C超低温冰箱中, 待做酶活及基因表达分析。

1.5 生长指标计算

生产性能的计算公式如下:

$$\text{增重率 (weight gain rate, WGR, \%)} = (W_t - W_0) \times 100 / W_0$$

$$\text{特定生长率 (specific growth rate, SGR, \% / d)} = [\ln W_t - \ln W_0] \times 100 / t$$

$$\text{饲料系数 (feed conversion ratio, FCR)} = F / (W_t - W_0)$$

$$\text{蛋白质效率比 (protein efficiency ratio, PER)} = (W_t - W_0) / (F \times CP)$$

式中, W_0 为鱼体初始体质量(g); W_t 为鱼体终末体质量(g); F 为摄食量(g); CP 为饲料中粗蛋白质含量(%); t 为饲养天数(d)。

1.6 全鱼体成分的测定

每一养殖单元随机取3尾鱼, 分别检测水分、粗蛋白质、粗脂肪和灰分含量。其中, 水分测定依照GB5009.3-85法进行, 于105 °C条件下烘干后称重。粗蛋白质检测按照全量凯氏定氮法(GB5009.5-85), 使用K2300全自动定氮仪(FOSS Co. 瑞典)测

定; 粗脂肪采用GB5009.6-85法, 通过FOSS索氏脂肪测定仪检测, 灰分检测参考GB/T5009.4, 使用马弗炉 550 °C高温灼烧法进行。

1.7 相关血液指标的测定

运用AU-640全自动生化分析仪对离心后的鱼血上清液进行测定。测定的血液指标包括葡萄糖(GLU)、总胆固醇(CHOL)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL)和低密度脂蛋白(LDL)。

1.8 酶活性测定方法

称取新鲜肝脏样品(1 g)按质量体积比(W/V, 1/10)加入预冷生理盐水(4 °C, 0.65% NaCl), 用高速组织匀浆机在冰浴中匀浆, 并以2500×g, 4 °C离心20 min, 取上清液用于测定肝脏丙酮酸激酶(pyruvate kinase, PK)的活性。同时取等量样品, 按质量体积比(W/V, 1/10)加入预冷提取液, 离心方法同上, 取上清液用于测定肝脏磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK)活性。上清液蛋白质含量采用考马斯亮蓝G-250法测定, 以牛血清蛋白为标准蛋白。酶活性测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。酶活性表示为在37 °C条件下, 每毫克蛋白质每分钟水解1 μmol底物为1个活力单位U。

1.9 基因表达检测方法

称取肝脏样品, 采用Trizol RNA isolation reagent (TaKaRa, Dalian, China)试剂提取总RNA。超微量分光光度计检测总RNA的浓度和纯度, 1%琼脂凝胶电泳检测RNA的完整性。每个样品均使用1 μg的总RNA, 采用PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time) (TaKaRa, Dalian, China)试剂盒, 进行逆转录反应合成cDNA。取2 μL cDNA作为模板, 加至20 μL反应体系, 采用SYBR® Premix Ex Taq™ (Tli RNaseH Plus)(TaKaRa, Dalian, China)试剂盒在LightCycler®96 system进行定量分析。荧光定量的引物设计基于GenBank中尼罗罗非鱼PK、PEPCK和内参基因(18S) cDNA序列, 用Primer 5.0 软件设计引物(表2)。PCR程序采用两步法: 95 °C 30 s; 95 °C 5 s、60 °C 34 s, 共40个循环。反应结束后进行熔解曲线分析, 以验证产物特异性。每个样品3个平行, 反应结束后进行数值分析。目的基因相对表达效率采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算^[12]。

1.10 数据统计与分析

数据处理采用SPSS 20.0中的单因子方差分

表2 吉富罗非鱼基因表达分析所用荧光定量PCR引物

Tab. 2 Primers used for quantitative realtime PCR in GIFT *O. niloticus* analysis

基因名称	片段长度/bp	序列(5'~3')	登录号
gene name	product length	sequence	accession numbers
PEPCK	105	FW ggtgcccaagctcctaagat	XM_003448375
		RV ccagtcagatgcggatatt	
PK	102	FW gcactcctcagctggttaat	XM_013273518
		RV gacagcactagacgaggatt	
18s rRNA	103	FW gacagattgatagctctttatcgattct	JF698683
		RV ggagctcgttcgttatcggaaata	

析(One-Way ANOVA)进行LSD法多重比较。显著水平为 $P < 0.05$, 所有数据用平均值±标准误(mean±SE)表示。以日粮糖脂比(CHO: LIP)为横坐标, 吉富罗非鱼幼鱼特定生长率(SGR)为纵坐标进行回归分析。

2 结果

2.1 不同糖脂比饲料对吉富罗非鱼幼鱼生长性能和饲料利用的影响

饲料糖脂比对吉富罗非鱼WGR、SGR、FCR和PER均有显著影响($P < 0.05$)(表3)。糖脂比为3.9时, 增重率与7.0组无显著性差异, 但是显著高于1.5、2.3和16.5组($P < 0.05$); 特定生长率在3.9和7.0组也显著高于其他组($P < 0.05$); FCR在3.9和7.0组显著低于2.3和16.5组($P < 0.05$); PER在3.9和7.0组显著高于2.3和16.5组($P < 0.05$)。统计分析表明(图1), SGR(y)和糖脂比(x)的二次曲线回归方程为 $y = -0.01164x^2 + 0.1957x + 3.4654$, $R^2 = 0.90044$ 。对其进行求解, 得出吉富罗非鱼幼鱼的适宜糖脂比为8.4, 此时可获得最大生长速度(图1)。

2.2 不同糖脂比饲料对吉富罗非鱼幼鱼体成分的影响

饲料糖脂比对吉富罗非鱼幼鱼体成分影响主要反应于粗脂肪含量。随着糖脂比升高, 吉富罗非鱼体中粗脂肪含量逐渐下降, 糖脂比为1.5时全鱼粗脂肪含量达到最高(1.35%±0.09%), 显著高于7.0组和16.5组($P < 0.05$)(表4)。全鱼水分、粗蛋白质及灰分含量在各处理组间无显著差异($P > 0.05$)。

2.3 不同糖脂比饲料对吉富罗非鱼幼鱼血浆生化指标的影响

不同糖脂比对吉富罗非鱼幼鱼血糖、甘油

表 3 不同糖脂比饲料对吉富罗非鱼生长性能和饲料利用率的影响

Tab. 3 Growth performance and feed utilization of GIFT *O. niloticus* fed diets with different CHO: LIP ratios

指标 parameters	糖脂比 dietary (CHO: LIP) ratios				
	1.5	2.3	3.9	7.0	16.5
初始体质量/g IW	6.82±0.18	6.76±0.19	6.51±0.16	6.60±0.189	6.59±0.18
终末体质量/g FW	59.62±2.96 ^{bc}	56.47±3.18 ^{ab}	67.15±3.79 ^{cd}	70.24±3.31 ^d	50.01±2.48 ^a
增重率/% WGR	723.69±50.42 ^a	817.31±70.34 ^{ab}	1034.42±86.46 ^c	1012.88±84.95 ^{bc}	654.22±45.65 ^a
特定生长率/(%/d) SGR	3.69±0.11 ^a	3.81±0.14 ^a	4.21±0.14 ^b	4.18±0.13 ^b	3.53±0.10 ^a
饵料系数/% FCR	1.38±0.09 ^{ab}	1.51±0.11 ^a	1.25±0.12 ^{bc}	1.14±0.07 ^c	1.67±0.10 ^a
蛋白质效率/% PER	2.93±0.17 ^{ab}	2.80±0.18 ^a	3.42±0.21 ^{bc}	3.56±0.19 ^c	2.42±0.14 ^a

注: 同一行数据右上角不同上标字母表示有显著差异($P<0.05$), 下同

Notes: In the same row, different superscripts indicate significant difference ($P<0.05$), the same below

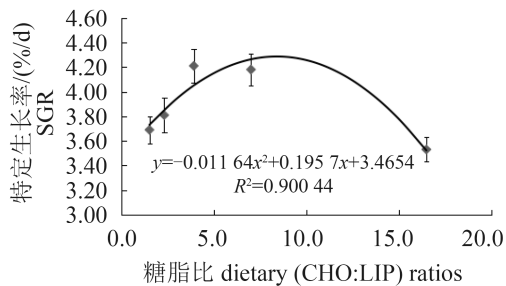


图 1 吉富罗非鱼幼鱼的特定生长率与饲料中糖脂比的回归关系

Fig. 1 Relationship between specific growth rate and dietary CHO: LIP ratios of GIFT *O. niloticus*

三酯和胆固醇含量造成显著影响, 但对高密度脂蛋白和低密度脂蛋白含量影响均不显著($P>0.05$)(表5)。随糖脂比的增大, 血糖值呈现上升趋势, 但仅糖脂比为16.5时血糖水平显著高于其他组($P<0.05$)。与血糖结果相反, 血浆甘油三酯含量在糖脂比最高组(16.5)显著低于饲料糖脂比为1.5、2.3和3.9组的值($P<0.05$)。血浆胆固醇的

表 4 不同糖脂比饲料对吉富罗非鱼体成分(占湿重比例)的影响

Tab. 4 Effect of different CHO: LIP ratios on the body composition (wet weight) of GIFT *O. niloticus* %

糖脂比 dietary (CHO: LIP) ratios	水分 moisture	粗蛋白质 crude protein	粗脂肪 crude lipid	灰分 ash
1.5	78.76±0.29	18.16±0.21	1.35±0.09 ^b	1.28±0.10
2.3	78.92±0.38	18.34±0.38	1.10±0.06 ^{ab}	1.15±0.08
3.9	79.03±0.56	18.44±0.16	1.03±0.08 ^{ab}	1.02±0.12
7.0	79.13±0.35	18.32±0.26	0.89±0.03 ^a	1.19±0.09
16.5	79.07±0.23	18.52±0.18	0.86±0.04 ^a	1.09±0.11

含量在16.5组显著低于3.9时的值($P<0.05$)。

2.4 不同糖脂比饲料对吉富罗非鱼肝脏糖酵解关键酶PK活性及mRNA表达的影响

吉富罗非鱼幼鱼肝脏丙酮酸激酶(PK)的活性随着饲料糖脂比的增加而逐渐升高, 在1.5组显著低于其他组($P<0.05$), 而在7.0和16.5组PK活

表 5 不同糖脂比对吉富罗非鱼幼鱼肝脏酶活和血浆生化指标的影响

Tab. 5 Plasma biochemical parameters of GIFT *O. niloticus* juvenile fed with diets different in CHO: LIP ratios

指标 parameters	糖脂比 dietary (CHO: LIP) ratios				
	1.5	2.3	3.9	7.0	16.5
血糖/(mmol/L) serum glucose	2.74±0.55 ^b	2.68±0.24 ^b	3.03±0.33 ^b	3.27±0.50 ^b	5.18±0.97 ^a
高密度脂蛋白/(mmol/L) high density lipoprotein	4.39±0.58	4.79±0.66	4.69±0.63	3.40±0.35	3.36±0.31
低密度脂蛋白/(mmol/L) low density lipoprotein	1.87±0.23	1.55±0.21	1.76±0.18	1.83±0.23	1.56±0.12
甘油三酯/(mmol/L) triglyceride	16.10±2.14 ^a	14.50±2.39 ^a	17.15±2.34 ^a	13.25±2.29 ^{ab}	7.59±2.06 ^b
总胆固醇/(mmol/L) total cholesterol	10.75±1.07 ^{ab}	9.93±1.10 ^{ab}	11.73±1.67 ^a	9.90±1.08 ^{ab}	8.26±0.26 ^b

性显著高于其他处理组($P<0.05$)(图2)。与PK活性结果类似, PK mRNA的表达水平也随着糖脂比的增加而升高(图3)。当糖脂比为7.0和16.5时, PK mRNA的表达量显著高于其他组($P<0.05$), 当糖脂比分别为1.5、2.3和3.9时, PK mRNA的表达没有显著性差异($P>0.05$)。

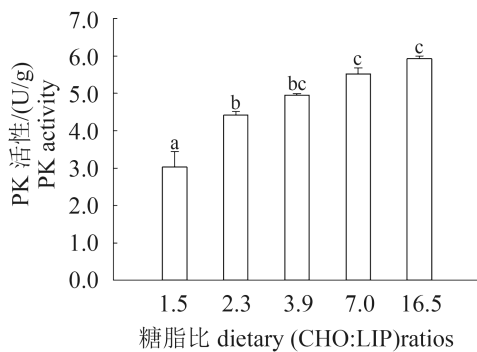


图2 不同糖脂比对吉富罗非鱼肝脏中丙酮酸激酶活性的影响

不同上标字母表示有显著差异($P<0.05$), 下同

Fig. 2 Pyruvate kinase activity in liver of GIFT *O. niloticus* fed diets with different CHO: LIP ratios

Significant differences within the diets are indicated by different letters ($P<0.05$), the same below

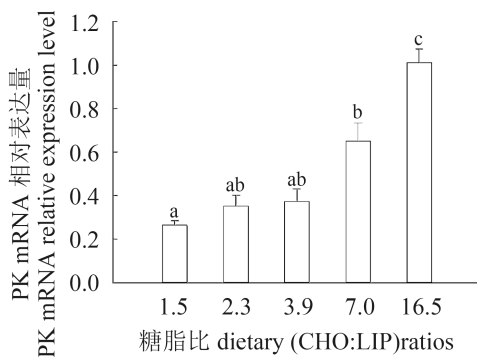


图3 不同糖脂比对吉富罗非鱼肝脏丙酮酸激酶mRNA相对表达量的影响

Fig. 3 Expression analysis of pyruvate kinase (PK) mRNA in liver of GIFT *O. niloticus* fed diets with different CHO: LIP ratios

2.5 不同糖脂比饲料对吉富罗非鱼肝脏糖异生关键酶PEPCK活性及mRNA基因表达的影响

吉富罗非鱼幼鱼肝脏磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK)的活性随着饲料糖脂比的增加而降

低(图4)。当糖脂比为1.5时, PEPCK的活性最高($P<0.05$)。当糖脂比为2.3、3.9和7.0时, PEPCK活性下降, 显著低于1.5组的活性($P<0.05$)。在糖脂比达到16.5时, PEPCK活性最低($P<0.05$)。

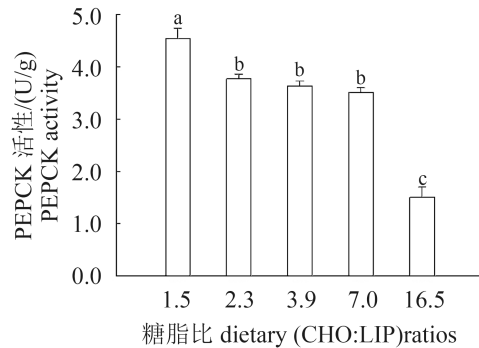


图4 不同糖脂比对吉富罗非鱼肝脏磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶活性的影响

Fig. 4 Phosphoenolpyruvate carboxykinase activity in liver of GIFT *O. niloticus* fed diets with different CHO: LIP ratios

PEPCK mRNA的表达结果与活性结果相似, 糖脂比为1.5时最高, 显著高于3.9、7.0和16.5组($P<0.05$)。在糖脂比达到16.5时, PEPCK mRNA表达量显著低于其他饲料组($P<0.05$)(图5)。

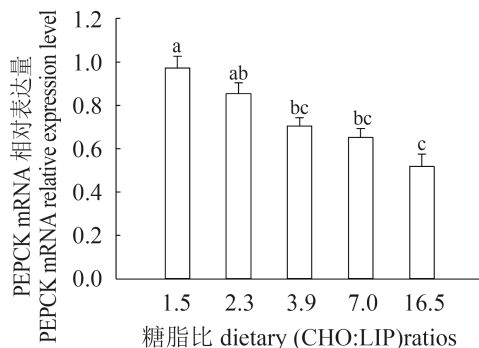


图5 不同糖脂比对吉富罗非鱼肝脏磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶mRNA相对表达量的影响

Fig. 5 Expression analysis of phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) mRNA in liver of GIFT *O. niloticus* fed diets with different CHO: LIP ratios

3 讨论

大量研究证明, 饲料中添加适量的糖或脂肪可减少饲料蛋白质参与能量代谢, 起到节约蛋白质的作用。本研究SGR随着糖脂比的增加先

升高后降低, 3.9和7.0组显著高于其他组。同时, FCR和PER参数也在3.9和7.0组表现较好, 即较低的饲料系数和较高的蛋白利用率。这表明在等氮等能饲料中, 糖和脂肪维持一定比例, 能充分发挥鱼类利用脂肪和糖类的协同效应。在本研究中, 糖脂比1.5和2.3组吉富罗非鱼SGR较低, 究其原因, 除受到糖脂比影响外, 还可能受到饲料粗纤维含量的影响。这两组饲料中微晶纤维素含量较高。微晶纤维素作为主要的粗纤维成分通常作为填充物或载体添加入饲料。鱼类消化道不分泌消化纤维素的酶, 部分鱼类依靠肠道微生物产生纤维素酶, 仅能利用少量纤维素^[13]。因此, 纤维素对鱼类的营养作用有限。在大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)中也有类似报道, 当饲料中纤维素含量由2.5%增加到4.5%时, 其生长率几乎呈直线下降^[14]。

本实验对SGR进行二元回归综合分析, 得到糖脂比为8.4(糖水平和脂肪水平分别为49.69%和9.53%)时, 其增重率、特定生长率和蛋白质效率达到最佳水平。这与其他杂食性鱼类最适糖脂比接近, 例如建鲤(*Cyprinus carpio var. jian*)糖脂比为7.7^[15]; 短盖巨脂鲤(*Piaractus brachypomus*)为7.0^[16], 胭脂鱼(*Myxocyprinus asiaticus*)为5.46^[17]。这些结果均高于肉食性鱼类最适糖脂比, 如暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*)适宜范围为2.01~2.16^[18], 长吻鲉(*Leiocassis longirostris*)为1.98^[19]。但在偏肉食的杂食性鱼类中, 最适糖脂比介于杂食性和肉食性鱼类中间, 例如瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)为3.55^[20], 蟾胡鲇(*Clarias batrachus*)为3.38^[21]。而典型的草食性鱼类团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)和草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)的糖脂比分别为3.58和4.7^[22-23], 也位于中等水平。

杂食性鱼类与草食性鱼类适应在饲料中添加一定水平的碳水化合物。而肉食性鱼类普遍存在对糖的耐受不强的特征^[24], 这也是造成肉食性鱼类饲料糖脂比较低的部分原因。本研究所用吉富罗非鱼是典型的杂食性鱼类, 且可适应高达50%碳水化合物水平的饲料。尽管早期研究显示, 尼罗罗非鱼幼鱼的最适糖脂比位于2.06~4.95^[10], 然而Ali^[10]的实验中糖脂比上限设为4.95, 因此结果不能准确反映尼罗罗非鱼的最适糖脂比。本研究的结果进一步补充完善了罗非鱼的糖脂比的需求。

文献资料显示, 当蛋白质含量在29.1%、脂类10%即可满足罗非鱼营养需求^[17-18]。而本研究中, 当饲料蛋白质水平为26.74%、糖水平为49.69%、脂肪水平为9.53%时, 吉富罗非鱼幼鱼有最佳的生长条件。并且, 吉富罗非鱼对糖的利用能力要强于对脂肪的利用, 起到了节约蛋白质的作用。在低糖高脂组和高糖低脂组均有较低的增重率、特定生长率和蛋白质效率, 并且具有较大的饵料系数。究其原因, 可能是由于过高的脂肪或可消化糖含量会降低饲料的适口性, 进而降低了鱼类的摄食量, 减少其他营养物质的摄入量, 最终导致其生长速度缓慢^[19]。饲料中糖脂比例变化对鱼体成分的影响已在草鱼、蟾胡鲇和眼斑拟石首鱼(*Sciaenops ocellatus*)等相关文献中有报道^[21, 23, 25]。随着饲料糖脂比的增加, 体脂肪含量逐渐下降, 这与本研究吉富罗非鱼粗脂肪含量随糖脂比增加的变化规律一致。尽管饲料总能不变, 饲料中糖脂比的含量可影响到罗非鱼体内脂肪的累积。

鱼类血清学指标可受到多种因素影响, 包括应激、采样时间、饲料成分等^[26]。当改变饲料中的糖、脂肪含量后, 血糖、血浆中胆固醇(CHOL)和甘油三酯(TG)含量出现变化。其中, 血糖含量在16.5比例组显著升高。有文献报道, 当饲料糖水平增加时, 可导致糖的转运载体活性及mRNA表达量增加, 从而使得糖的吸收加强, 血糖升高^[27]。本研究高糖脂比组出现此现象, 可能是随着饲料糖供给的增加, 血糖随之升高。本研究血浆胆固醇(CHOL)和甘油三酯(TG)含量在糖脂比最高组(16.5)显著降低。这可能是由于饲料中脂肪含量降低导致鱼体吸收并转化的游离脂肪酸不断减少, 使肝脏合成并转运出去的CHOL和TG也不断减少, 导致了血浆CHOL和TG含量降低。这与在暗纹东方鲀^[18]、黄鳍鲷(*Sparus latus*)^[28]中的研究结果一致。

糖酵解及糖异生是鱼类体内糖代谢的2个重要途径。PK是催化糖酵解最后一步的关键酶, 其催化磷酸烯醇式丙酮酸转变为丙酮酸。而PEPCK是糖异生途径的关键限速酶, 能催化草酰乙酸生成磷酸烯醇式丙酮酸。PK和PEPCK参与的糖酵解及糖异生途径在维持动物血糖稳态中发挥关键作用^[29]。饲料中营养素水平的变化可影响糖代谢关键酶活性及转录水平的表达^[24]。当饲料糖脂比发生变化后, 即使能量水平不变, 糖

酵解及糖异生关键酶也会发生变化。本研究探讨了饲料糖脂比变化对PK和PEPCK活性及mRNA表达的变化。

本实验发现随着饲料糖脂比的增加,吉富罗非鱼幼鱼肝脏丙酮酸激酶活性及mRNA表达均逐渐升高,表明饲料糖脂比可增强罗非鱼肝脏PK活性及转录水平的表达,使得糖酵解途径得到加强。在高糖脂比组饲料中,糖类添加量占49.69%,糖酵解能力的增强也反映了罗非鱼对糖类的代谢能力得到强化,显示罗非鱼对高糖具有较强的耐受力。随着糖脂比的增加,血糖在最高处理组(16.5)显著升高。此时,糖酵解关键酶PK活性及mRNA表达均得到加强,提示机体通过增加糖酵解途径来维系鱼体内葡萄糖的动态平衡。高糖可诱导PK活性增加的现象在肉食性鱼类,例如暗纹东方鲀^[18]、舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)^[30]、金头鲷(*Sparus aurata*)^[31]均有报道,此外在草食性鱼类(草鱼)中也有报道^[23]。而高糖对PK mRNA的诱导作用在草食性及肉食性鱼类中的结果存在不同。Yuan等^[32]在草鱼中也证实高糖可诱导PK mRNA的表达($P<0.05$)。而Panserat等^[33]在虹鳟中的研究发现,喂食与不喂食碳水化合物的鱼群在进食6 h和24 h后其PK mRNA水平相似。糖对杂食性、草食性鱼类PK诱导作用明显,而对肉食性鱼类作用较弱,这也可能是造成肉食性鱼类对糖利用低下的一方面原因。

在本实验中,随着糖脂比升高,PEPCK活性及mRNA表达均受到强烈抑制。推测饲料糖比例增加可抑制罗非鱼肝脏糖异生途径,使得糖的生成减少。尽管在高糖脂比处理组中血糖水平显著高于其他组,机体可通过抑制糖异生途径,减少糖的生成来调节体内的葡萄糖稳态。这一现象在杂食性鲤(*Cyprinus carpio*)中同样存在:高糖组降低了其PEPCK活性和mRNA的表达水平^[34]。近期关于温和肉食性鱼卵形鲳鲆(*Trachinotus ovatus*)和凶猛肉食性军曹鱼(*Rachycentron canadum*)报道也支持这一结论,即在高糖处理组PEPCK活性和mRNA表达均受到抑制^[35]。PEPCK存在2种类型,细胞质型PEPCK(PEPCK-C)和线粒体型PEPCK(PEPCK-M)^[36],其中PEPCK-C的表达受到营养素、激素的调控,而PEPCK-M的表达则不受调控。本研究设计荧光定量引物时参考了尼罗罗非鱼PEPCK胞质型序列,因此,其活性及mRNA水平都受到饲料糖脂比例变化的影响。

但是,Panserat等^[37]在肉食性鱼类虹鳟中发现,饲料中糖的添加不会抑制PEPCK基因的表达。因此,饲料糖水平对肉食性鱼类PEPCK的影响在不同物种间存在差异。

4 结论

在等氮等能的条件下,当日粮中糖脂比为8.4时,吉富罗非鱼幼鱼达到最佳生长水平。随糖脂比的增大,血糖值呈现上升趋势。与血糖结果相反,血浆甘油三酯和血浆胆固醇含量在糖脂比最高组显著降低。糖酵解途径关键酶PK活性及mRNA随着糖脂比例的升高而显著升高。糖异生途径关键酶PEPCK活性及mRNA表达随着糖脂比例的升高而显著降低。

参考文献:

- [1] 陈胜军,李来好,杨贤庆,等.我国罗非鱼产业现状分析及提高罗非鱼出口竞争力的措施[J].南方水产,2007,3(1):75-80.
Chen S J, Li L H, Yang X Q, et al. Present situation of tilapia industry and measures of improving export competition power[J]. South China Fisheries Science, 2007, 3(1): 75-80(in Chinese).
- [2] 朱华平,卢迈新,黄樟翰,等.低温对罗非鱼基因组DNA甲基化的影响[J].水产学报,2013,37(10):1460-1467.
Zhu H P, Lu M X, Huang Z H, et al. Effect of low temperature on genomic DNA methylation in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(10): 1460-1467(in Chinese).
- [3] 叶元土,蔡春芳.鱼类营养与饲料配制[M].北京:化学工业出版社,2013.
Ye Y T, Cai C F. Fish Nutrition and Feed Preparation[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2013(in Chinese).
- [4] Wilson R P. Utilization of dietary carbohydrate by fish[J]. Aquaculture, 1994, 124(1-4): 67-80.
- [5] 甘晖,李坚明,冯广朋,等.饲料脂肪水平对奥尼罗非鱼幼鱼生长和血浆生化指标的影响[J].上海海洋大学学报,2009,18(1):35-41.
Gan H, Li J M, Feng G P, et al. Effects of different lipid levels on growth and haematological biochemistry in juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*×*Oreochromis*

- aureus*)[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2009, 18(1): 35-41(in Chinese).
- [6] 韩光明, 王爱民, 徐跑, 等. 饲料脂肪水平对吉富罗非鱼体脂沉积及脂肪酸组成的影响[J]. 中国水产科学, 2011, 18(2): 338-349.
- Han G M, Wang A M, Xu P, *et al.* Effects of dietary lipid levels on fat deposition and fatty acid profiles of GIFT *Oreochromis niloticus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(2): 338-349(in Chinese).
- [7] 池作授, 耿旭, 郭云学, 等. 奥尼罗非鱼仔稚鱼饲料中适宜脂肪水平的研究[J]. 中国饲料, 2010(20): 32-36.
- Chi Z S, Geng X, Guo Y X, *et al.* Study on the optimum dietary lipid level in tilapia larvae[J]. China Feed, 2010(20): 32-36(in Chinese).
- [8] 李坚明, 甘晖, 冯广朋, 等. 饲料脂肪含量与奥尼罗非鱼幼鱼肝脏形态结构特征的相关性[J]. 南方水产, 2008, 4(5): 37-43.
- Li J M, Gan H, Feng G P, *et al.* Correlation between lipid levels of feed and liver morphology characters of juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*×*O. Aureus*)[J]. South China Fisheries Science, 2008, 4(5): 37-43(in Chinese).
- [9] Winfree R A, Stickney R R. Effects of dietary protein and energy on growth, feed conversion efficiency and body composition of *Tilapia aurea*[J]. The Journal of Nutrition, 1981, 111(6): 1001-1012.
- [10] Ali A, Al-Asgah N A. Effect of feeding different carbohydrate to lipid ratios on the growth performance and body composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings[J]. Animal Research, 2001, 50(1): 91-100.
- [11] 李思发, 李家乐. 养殖新品种简介——吉富品系尼罗罗非鱼[J]. 中国水产, 1998, (4): 36.
- Li S F, Li J L. The introduction of new breeding species-GIFT, Nile tilapia[J]. China Fisheries, 1998, (4):36(in Chinese).
- [12] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [13] 获野珍吉. 鱼类的营养和饲料[M]. 陈国铭, 黄小秋, 译. 北京: 海洋出版社, 1987.
- Ogino C. Nutrition and feeding in fish.[M]. Chen G M, Huang X Q, Trans. Beijing: Ocean Press, 1987(in Chinese).
- [14] 钱国英. 饵料中不同蛋白质、纤维素、脂肪水平对加州鲈鱼生长的影响[J]. 动物营养学报, 2000, 12(2): 48-52.
- Qian G Y. Effects of dietary protein, fibre and fat on the growth of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. Acta Zoonutrimenta Sinica, 2000, 12(2): 48-52(in Chinese).
- [15] 王菲, 李向飞, 李贵锋, 等. 不同糖脂比对建鲤幼鱼生长、体组成、消化及糖酵解能力的影响[J]. 水产学报, 2015, 39(9): 1386-1394.
- Wang F, Li X F, Li G F, *et al.* Effects of dietary carbohydrate-to-lipid ratios on growth, body composition, digestion and glycolysis of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. *Jian*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2015, 39(9): 1386-1394(in Chinese).
- [16] Vásquez-Torres W, Arias-Castellanos J A. Effect of dietary carbohydrates and lipids on growth in cachama (*Piaractus brachypomus*)[J]. Aquaculture Research, 2013, 44(11): 1768-1776.
- [17] 张颂, 蒋明, 文华, 等. 饲料碳、脂比例对胭脂鱼幼鱼生长及糖代谢的影响[J]. 华南农业大学学报, 2014, 35(3): 1-7, 23.
- Zhang S, Jiang M, Wen H, *et al.* Effects of dietary carbohydrate to lipid levels on growth performance and carbohydrate metabolism of juvenile Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*[J]. Journal of South China Agricultural University, 2014, 35(3): 1-7, 23(in Chinese).
- [18] 刘襄河, 叶超霞, 沈碧端, 等. 饲料中糖/脂肪比对暗纹东方鲀幼鱼生长、血液指标、肝代谢酶活性及PEPCK基因表达的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(8): 1149-1158.
- Liu X H, Ye C X, Shen B D, *et al.* Effect of dietary carbohydrate-to-lipid ratio on growth, blood biochemical indices, hepatic metabolic enzymes and PEPCK gene expression of juvenile obscure puffer (*Takifugu obscurus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(8): 1149-1158(in Chinese).
- [19] Tan Q, Xie S, Zhu X, *et al.* Effect of dietary carbohydrate-to-lipid ratios on growth and feed utilization in Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris* Günther)[J]. Journal of Applied Ichthyology, 2007, 23(5): 605-610.
- [20] 张世亮, 艾庆辉, 徐玮, 等. 饲料中糖/脂肪比例对瓦氏

- 黄颡鱼生长、饲料利用、血糖水平和肝脏糖酵解酶活力的影响[J]. 水生生物学报, 2012, 36(3): 466-473.
- Zhang S L, Ai Q H, Xu W, *et al.* Effects of dietary carbohydrate to lipid ratio on growth, feed utilization, plasma glucose and glycolytic enzyme activities of juvenile darkbarbel catfish, *Pelteobagrus vachelli*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2012, 36(3): 466-473(in Chinese).
- [21] Erfanullah, Jafri A K. Effect of dietary carbohydrate-to-lipid ratio on growth and body composition of walking catfish (*Clarias batrachus*)[J]. Aquaculture, 1998, 161(1-4): 159-168.
- [22] Li X F, Liu W B, Lu K L, *et al.* Dietary carbohydrate/lipid ratios affect stress, oxidative status and non-specific immune responses of fingerling blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2012, 33(2): 316-323.
- [23] Gao W, Liu Y J, Tian L X, *et al.* Effect of dietary carbohydrate-to-lipid ratios on growth performance, body composition, nutrient utilization and hepatic enzymes activities of herbivorous grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. Aquaculture Nutrition, 2010, 16(3): 327-333.
- [24] 杨丽萍, 秦超彬, 郑文佳, 等. 鱼类的葡萄糖感知与糖代谢调节研究进展[J]. 水产学报, 2014, 38(9): 1639-1649.
- Yang L P, Qin C B, Zheng W J, *et al.* Progress in research on the regulation of glucose sensing and carbohydrate metabolism in fish[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(9): 1639-1649(in Chinese).
- [25] Ellis S C, Reigh R C. Effects of dietary lipid and carbohydrate levels on growth and body composition of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*[J]. Aquaculture, 1991, 97(4): 383-394.
- [26] Kaushik S J, Cravedi J P, Lalles J P, *et al.* Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*[J]. Aquaculture, 1995, 133(3-4): 257-274.
- [27] Solberg D H, Diamond J M. Comparison of different dietary sugars as inducers of intestinal sugar transporters[J]. The American Journal of Physiology, 1987, 252(4): G574-584.
- [28] Hu Y H, Liu Y J, Tian L X, *et al.* Optimal dietary carbohydrate to lipid ratio for juvenile yellowfin seabream (*Sparus latus*)[J]. Aquaculture Nutrition, 2007, 13(4): 291-297.
- [29] Matte A, Tari L W, Goldie H, *et al.* Structure and mechanism of phosphoenolpyruvate carboxykinase[J]. Journal of Biological Chemistry, 1997, 272(13): 8105-8108.
- [30] Enes P, Panserat 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-Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2006, 143(1): 89-96.
- [31] Fernández F, Miquel A G, Córdoba M, *et al.* Effects of diets with distinct protein-to-carbohydrate ratios on nutrient digestibility, growth performance, body composition and liver intermediary enzyme activities in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) fingerlings[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2007, 343(1): 1-10.
- [32] Yuan X C, Zhou Y, Liang X F, *et al.* Molecular cloning, expression and activity of pyruvate kinase in grass carp *Ctenopharyngodon idella*: effects of dietary carbohydrate level[J]. Aquaculture, 2013, 410-411: 32-40.
- [33] Panserat S, Plagnes-Juan E, Kaushik S. Nutritional regulation and tissue specificity of gene expression for proteins involved in hepatic glucose metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Journal of Experimental Biology, 2001, 204(13): 2351-2360.
- [34] Panserat S, Plagnes-Juan E, Kaushik S. Gluconeogenic enzyme gene expression is decreased by dietary carbohydrates in common carp (*Cyprinus carpio*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*)[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression, 2002, 1579(1): 35-42.
- [35] 李淑云, 刘泓宇, 谭北平, 等. 饲料中糖水平对不同食性海水鱼类PEPCK基因表达和酶活性的影响[J]. 水生生物学报, 2015, 39(1): 80-89.
- Li S Y, Liu H Y, Tan B P, *et al.* Effects of dietary carbohydrate levels on the gene expression and the activity of PEPCK in marine fishes with different food habits[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2015, 39(1): 80-89(in Chinese).

- [36] Hanson R W, Reshef L. Regulation of phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP) gene expression[J]. Annual Review of Biochemistry, 1997, 66: 581-611. phosphoenolpyruvate carboxykinase gene expression is not repressed by dietary carbohydrates in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Journal of Experimental Biology, 2001, 204(2): 359-365.
- [37] Panserat S, Plagnes-Juan E, Brèque J, *et al.* Hepatic

Effects of dietary carbohydrate-to-lipid ratios on growth, blood biochemical indices, key enzymes activity and gene expression of hepatic glucose metabolism of juvenile GIFT *Oreochromis niloticus*

YANG Liping^{1,2,3}, ZHENG Wenjia^{2,3}, QIN Chaobin^{2,3}, GAO Fengying¹, XIE Dizhi^{2,3}, YAN Xiao^{2,3}, ZHU Huaping¹, LU Maixin^{1*}, NIE Guoxing^{2,3*}

(1. Key Laboratory of Tropical & Subtropical Fishery Resource Application and Cultivation,

Ministry of Agriculture, Guangzhou 510380, China;

2. College of Fisheries, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China;

3. Engineering Technology Research Center of Henan Province for Aquatic Animal Cultivation,

Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: The purpose of this study was to evaluate the effects of dietary carbohydrate-to-lipid (CHO: LIP) ratios on growth performance, plasma biochemical indexes, pyruvate kinase (PK) and phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) activity and mRNA expression in liver of juvenile GIFT *Oreochromis niloticus*. Five isonitrogenous and isoenergetic diets were formulated to contain various CHO: LIP ratios ranging from 1.5 to 16.5. Each diet was tested in three replicates of fish [initial weight: (6.77±0.14) g] for 8 weeks in the recirculating aquacultural system. The results indicated that specific growth rate (SGR), weight gain rate (WGR), protein efficiency ratio (PER) increased significantly as dietary CHO: LIP varied from 3.9 to 7.0, while feed conversion ratio (FCR) showed the opposite variation trend. Crude lipid content of whole body decreased as dietary CHO: LIP ratios increased, and was at the lowest level in 16.5 group, which was significantly decreased only compared with 1.5 group. Plasma concentrations of triglycerides and total cholesterol also significantly decreased in 16.5 group. However, serum glucose increased significantly as CHO: LIP ratios increased. High dietary carbohydrate significantly enhanced the activities and mRNA expression of liver PK, while the effects of high carbohydrate on the activity and mRNA level of liver PEPCK were in a contrary tendency. Based on the second-order polynomial regression analysis of SGR, the optimal dietary carbohydrate and lipid contents for fingerling GIFT *O. niloticus* were 49.69% and 9.53%, respectively, with a corresponding dietary CHO:LIP ratio of 8.4.

Key words: GIFT *Oreochromis niloticus*; Carbohydrate-to-lipid ratio; growth; serum indices; PK; PEPCK

Corresponding author: LU Maixin. E-mail: mx-lu@163.com; NIE Guoxing. E-mail: niegx@htu.cn

Funding projects: Opening Foundation of Key Laboratory of Tropical & Subtropical Fishery Resource Application and Cultivation, Ministry of Agriculture in China; Supporting Plan of the Science and Technology Innovation Team in Universities in Henan Province (14IRTSTHN013); China Agriculture Research System(CARS-49)