

文章编号: 1000-0615(2017)05-0723-11

DOI: 10.11964/jfc.20160610426

## 腹腔注射葡萄糖对大黄鱼血液生化指标及糖代谢关键酶表达量的影响

李弋<sup>1</sup>, 邱红<sup>1</sup>, 侯迎梅<sup>1</sup>, 陆游<sup>1</sup>, 申屠基康<sup>2</sup>, 周歧存<sup>1\*</sup>

(1. 宁波大学海洋学院, 鱼类营养研究室, 浙江宁波 315211;

2. 宁波市海洋与渔业研究院, 浙江宁波 315211)

**摘要:** 为研究大黄鱼对葡萄糖的耐受能力和相关糖代谢关键酶的表达量, 选取体质量约为100 g的大黄鱼禁食24 h, 随机分为3个实验组, 分别为对照组(0.9%的无菌生理盐水, CG组), 低剂量葡萄糖组(300 mg/kg体质量, LG组)和高剂量葡萄糖组(1500 mg/kg体质量, HG组)。结果显示, 大黄鱼在注射高剂量和低剂量葡萄糖后, 血糖均在3 h达到最高水平, 且HG组的峰值显著高于LG组, LG组在24 h恢复至正常水平, HG组在24 h仍然高于正常水平。HG组、LG组注射葡萄糖后, *HK*、*GK*基因相对表达量均显著上升, 其峰值出现在注射后9 h。HG组*PFK*基因相对表达量在注射后6 h达到峰值。HG组*PEPCK*基因相对表达量在注射葡萄糖后显著下降, 其中最低时间点为2 h。HG组*G6PD*基因相对表达量在注射后6 h显著高于其他各个时间点。研究表明, 注射高、低浓度葡萄糖后, 均会提高大黄鱼血糖水平, 且能维持较长时间。注射葡萄糖后糖酵解途径关键酶如*HK*、*GK*、*PFK*及糖异生途径关键酶*PEPCK*基因相对表达量受血糖调节, 但*G6Pase*、*FBPase*表达量并不因血糖升高而下降。导致注射葡萄糖后, 大黄鱼不断产生内源性葡萄糖, 这是大黄鱼表现为对高血糖不耐受的原因之一。

**关键词:** 大黄鱼; 腹腔注射; 糖耐量; 糖代谢关键酶; 基因表达

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

糖类是一类重要的营养物质, 不仅为水产动物的生理活动供能, 还参与体脂和非必需氨基酸的合成<sup>[1]</sup>, 在水产饲料中添加适量的可消化糖类对于减少蛋白质和脂肪作为能量消耗非常重要<sup>[2]</sup>, 并且饲料中适宜的碳水化合物水平有助于增强鱼类的抗病力<sup>[3]</sup>。但鱼类对糖的利用能力较低, 是先天性的“糖尿病患者”<sup>[4]</sup>。为探求鱼类对糖类的利用能力, Phillips<sup>[5]</sup>将诊断人类糖尿病的糖耐量实验运用在鱼类营养研究中, 此后很多研究运用糖耐量指标探讨鱼类对糖类的代谢能力。在经典的糖耐量实验中, 一般采用注射和口服法, 其中注射法敏感性高, 重复性好,

结果更加精确; 注射剂量目前并没有相应的规范, 一般选择为200~2000 mg/kg, 一般给糖量显著影响糖耐量实验中血糖浓度和高血糖持续时间, 剂量越高血糖越高, 高血糖持续时间越长<sup>[6]</sup>。研究表明, 鱼类特别是肉食性鱼类对糖的耐受能力较差<sup>[7]</sup>。与杂食性、草食性鱼类相比, 肉食性鱼类对葡萄糖的耐受能力较低, 血糖水平持续偏高。鱼类对糖类的耐受能力差异有很多假设: 肌肉中葡萄糖转运蛋白数目少<sup>[8]</sup>; 糖酵解、糖异生途径对体内葡萄糖调控不能相互呼应<sup>[9]</sup>等。

目前关于青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)<sup>[10]</sup>、

收稿日期: 2016-06-03 修回日期: 2016-10-09

资助项目: 国家自然科学基金(31272670); 宁波市农业科技攻关重大项目(2012C10025); 浙江省2011协同创新项目(201101503); 浙江省重中之重一级学科建设项目(20150108); 岱衢洋大黄鱼专用饲料集成应用与示范(2014GA701001)

通信作者: 周歧存, E-mail: zhouqicun@nbu.edu.cn

草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)<sup>[10]</sup>、鲤(*Cyprinus carpio*)<sup>[11]</sup>、异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)<sup>[12]</sup>、吉富罗非鱼(*GIFT Oreochromis niloticus*)<sup>[13]</sup>、暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*)<sup>[14]</sup>等的糖耐量研究已见报道,但有关大黄鱼(*Larimichthys crocea*)糖耐量的研究还未见报道。在糖代谢过程中,鱼体内糖代谢酶起了重要的作用<sup>[15-16]</sup>,众多研究从糖代谢关键酶活性探讨鱼类对糖耐受能力差异的原因,鲜有研究从糖代谢关键酶表达量的角度具体阐释鱼类对糖的利用能力。

大黄鱼隶属鲈形目(Perciformes),石首鱼科(Sciaenidae),属肉食性鱼类<sup>[17]</sup>,是我国四大海洋经济鱼类之一,也是我国最具地方特色的海洋经济鱼类。本研究以大黄鱼为实验对象,分别用低剂量、高剂量葡萄糖对大黄鱼进行腹腔注射,并在注射后不同时间进行取样,研究大黄鱼对高、低浓度葡萄糖的耐受能力,并从糖代谢关键酶表达量的角度具体阐释大黄鱼对糖的利用能力。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料与试剂

实验所用大黄鱼采购于浙江象山港湾水产种苗有限公司,在宁波市海洋与渔业科技创新基地暂养1周后,挑选健康、体质强壮、体质量约为100 g的大黄鱼作为实验用鱼。

实验所用针剂分别为0.9%生理盐水,以及浓度为30和150 mg/mL葡萄糖注射液。生理盐水由上海市国药集团生产的无水氯化钠粉末溶于无菌蒸馏水配制而成,葡萄糖注射液由Sigma公司提供的无水葡萄糖粉末溶于无菌蒸馏水配制而成。以上注射液配置完均经过高压蒸汽灭菌后,4 °C冷藏于冰箱中备用。

### 1.2 实验设计

将270尾大黄鱼随机分至6个玻璃钢桶中,每桶45尾。设3个处理组,分别为对照组(CG组)、低剂量葡萄糖处理组(LG组)、高剂量葡萄糖处理组(HG组)。每个处理组设2个重复,每个玻璃钢桶为1个重复。其中对照组注射0.9%生理盐水,低剂量葡萄糖组依照300 mg/kg体质量的剂量进行腹腔注射,高剂量葡萄糖组依照1500 mg/kg体质量的剂量进行腹腔注射。

实验进行前,所有的大黄鱼统一投喂商业饲料后饥饿24 h。将玻璃钢桶中的鱼用MS-222进行麻醉后,进行腹腔注射,在注射后0、1、2、3、4、6、9、12和24 h分别进行取样。每个玻璃钢桶中每个时间点捞出5尾进行取样。首先用MS-222对大黄鱼进行麻醉,尾静脉取血注入离心管中,4 °C静置24 h后,3000 r/min离心取上清液作为血清样品。取完血的大黄鱼,立即解剖取肝脏,速冻于液氮中,作为肝脏样品待测。

### 1.3 引物设计

参照美国国立生物技术信息中心(NCBI)网站上的大黄鱼己糖激酶(HK)(XM\_010732353.1)、葡萄糖激酶(GK)(XM\_010735934.1)、6-磷酸果糖激酶(PFK)(XM\_010743225.1)、葡萄糖-6-磷酸酶(G6Pase)(XM\_010755750.1)、果糖-1,6-二磷酸酶(FBPase)(XM\_010747968.1)、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK)(XM\_010741613.1)、6-磷酸脱氢酶(G6PD)(XM\_010732353.1)cDNA序列,以Primer Premier 5.0 软件设计荧光定量PCR(real-time PCR, RT-PCR)扩增特异性引物,同时设计 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)引物作为内参,所有引物均由华大基因生物技术有限公司合成(表1)。

表1 RT-PCR引物序列

基因 genes	序列 sequences (5'-3')
<i>HK</i>	上游: GTTCATTGACTGTCTGGTGC 下游: GCCGTGGTTGATAAGATTAG
<i>GK</i>	上游: AATCTGAGGATGCTGGTG 下游: GTTGTTTCTGCTTCTTT
<i>PFK</i>	上游: CCATCAACATCCACGACC 下游: ATCAAAGGGAGAAGGTGC
<i>PEPCK</i>	上游: GGCACCTCGGATAAGACCAA 下游: AAGGCCCTCCCACCATCTC
<i>FBPase</i>	上游: ATCGCTCACCTTTATGGC 下游: CACTGGGCTCATCATCTGT
<i>G6Pase</i>	上游: GCAGGCGTCTACTACACCT 下游: GCTTCAGCCACAATCATACC
<i>G6PD</i>	上游: GAGCTGCGTAACATTGACT 下游: GTACATACCCTGACCATC
$\beta$ -actin	上游: CTACGAGGGTTATGCCCTGCC 下游: TGAAGGAGTAACCGCGCTCTGT

### 1.4 血清指标测定

血清生化指标及酶活使用日立7600-110型全自动生化分析仪进行检测。

### 1.5 总RNA提取及实时定量PCR

取出50 mg左右大黄鱼肝脏样品,采用TRIzol

Reagent (全式金, 中国)提取RNA, 提取的RNA质量及浓度分别使用1.2%琼脂糖凝胶电泳及微量分光光度计检测。使用全式金公司提供的cDNA反转试剂盒, 按照说明书采用一步法将RNA反转成cDNA。定量前使用DNase-free水将cDNA稀释3倍, 定量仪器为实时定量PCR仪(LightCycler\*96, F. Hoffmann-La Roche, Ltd., Swit), 实时定量PCR体系为20  $\mu$ L, 上下游模板各1.0  $\mu$ L, 10  $\mu$ L的2 $\times$ conc SYBR Green I Master (全式金, 中国), 2  $\mu$ L cDNA和 6  $\mu$ L DEPC水。实时定量PCR设定的程序: 95  $^{\circ}$ C 2 min, 95  $^{\circ}$ C持续10 s, 58  $^{\circ}$ C持续10 s, 最后72  $^{\circ}$ C维持20 s。所有基因的扩增效率大致相等, 范围从95%到102%。对每一个扩增的熔解曲线进行分析, 以确认只有1个PCR产物的存在。 $\beta$ -actin作为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 方法, 每组注射后0 h作为标准, 设该时间点基因表达量为1。

## 1.6 数据统计分析

所有数据采用SPSS version17.0软件进行统计分析, 实验结果以平均值 $\pm$ 标准差表示, 先对数据作单因素方差分析(One-Way ANOVA); 若统计结果有显著差异, 再作Tukey进行多重比较,  $P < 0.05$ 表示差异显著。

## 2 结果

### 2.1 注射葡萄糖对大黄鱼血清生化指标的影响

随着时间的增加, 3个处理组的血糖均先上升后下降(表2)。其中CG组血清的血糖变化并不显著( $P > 0.05$ ); LG组注射后, 血糖立即升高, 3~4 h血糖出现峰值, 为14~15 mmol/L, 6 h后血糖开始下降, 24 h时恢复到0 h的血糖水平; HG组变化与LG组相似, 其峰值出现在2~4 h, 为19 mmol/L左右, 6~24 h血糖开始下降, 但24 h血糖仍然高于0 h。

注射葡萄糖后, 3个组各个时间点大黄鱼血清中的总蛋白、白蛋白、总胆固醇、碱性磷酸酶、谷草转氨酶、甘油三酯均没有显著变化( $P > 0.05$ )。注射生理盐水及低剂量葡萄糖后, 球蛋白没有显著性差异( $P > 0.05$ ); 注射高剂量葡萄糖后, 球蛋白随注射后时间延长先上升后下降, 其中1 h时含量显著高于其他时间点( $P < 0.05$ )。

### 2.2 注射葡萄糖对大黄鱼糖代谢关键酶基因相对表达量的影响

注射葡萄糖对大黄鱼糖酵解途径关键酶基因相对表达量的影响 CG组的HK基因相对表达量表现为先上升后下降, 但是变化不显著( $P > 0.05$ ) (图1); LG组HK基因相对表达量随时间变化显著( $P < 0.05$ ), HK基因相对表达量在注射后1 h升高, 1~6 h各个时间点之间HK基因相对表达量没有差异, 9 h的HK基因相对表达量最高, 12 h的HK基因相对表达量较9 h下降, 24 h的HK基因相对表达量又有所升高; HG组HK基因相对表达量随时间变化显著( $P < 0.05$ ), 在注射后1 h升高, 1~6 h各个时间点之间HK基因相对表达量没有差异, 9 h的HK基因相对表达量最高, 12~24 h各时间点之间没有差异。

CG组各个时间点的GK基因相对表达量没有显著性差异( $P > 0.05$ )(图2); LG组GK基因相对表达量随时间变化差异显著( $P < 0.05$ ), 注射后1 h的GK基因相对表达量显著上升( $P < 0.05$ ), 之后保持不变, 24 h的GK基因相对表达量开始下降, 但高于0 h; HG组GK基因相对表达量随时间变化差异显著( $P < 0.05$ ), 注射后1 h的GK基因相对表达量显著上升( $P < 0.05$ ), 4 h出现下降, 6 h又开始升高, 9 h的GK基因相对表达量最高, 12 h开始下降, 24 h的GK基因相对表达量与0 h无显著性差异( $P > 0.05$ )。

CG组、LG组各个时间点的PFK基因相对表达量没有显著性差异( $P > 0.05$ )(图3), HG组PFK基因相对表达量随时间变化差异显著( $P < 0.05$ ), 随着注射后时间的延长先升高后下降。PFK基因相对表达量在注射后1 h升高, 1~4 h各个时间点PFK基因相对表达量保持不变, 6 h的PFK基因相对表达量升高, 6 h后HK基因相对表达量下降, 但6 h后各个时间点之间PFK基因相对表达量与1~4 h相比均没有显著差异。

注射葡萄糖对大黄鱼糖异生途径关键酶基因相对表达量的影响 CG组与LG组PEPCK基因相对表达量随着注射后时间的延长没有显著差异( $P > 0.05$ )(图4)。LG组PEPCK基因相对表达量随着时间的延长先上升后下降; HG组在注射葡萄糖后1 h下降, 2 h时PEPCK基因相对表达量最低, 3 h后开始上升, 但在12 h小幅下降。3个组的G6Pase基因相对表达量随着注射后时间的延长均没有显著变化( $P > 0.05$ )(图5)。3个组的FBPase基因相对表达量随着注射后时间的延长均没有显著变化( $P > 0.05$ )(图6)。

表2 注射葡萄糖对大黄鱼血清生化指标的影响

Tab. 2 Effect of glucose injection on hematological characteristics of *L. crocea*

指标 index	注射后时间/h time after injection									
	0	1	2	3	4	6	9	12	24	
血糖/(mmol/L) Glu	对照组	9.96±1.73	10.39±1.33	10.79±0.77	10.18±1.54	9.79±1.67	9.68±1.10	9.29±1.54	9.18±1.48	9.12±2.05
	CG group									
	低剂量葡萄糖组	9.97±1.73 <sup>a</sup>	12.59±2.03 <sup>ab</sup>	14.35±2.16 <sup>ab</sup>	15.09±2.89 <sup>b</sup>	14.82±3.36 <sup>b</sup>	13.14±2.04 <sup>ab</sup>	12.51±2.97 <sup>ab</sup>	11.94±1.59 <sup>ab</sup>	10.04±1.62 <sup>a</sup>
	LG group									
总蛋白/(g/L) TP	对照组	26.48±3.93	27.45±4.16	27.24±1.42	25.37±0.78	27.42±4.73	25.98±4.65	24.12±3.78	23.50±3.36	24.06±2.99
	CG group									
	低剂量葡萄糖组	24.67±1.92	25.80±4.31	25.51±4.51	23.93±4.57	24.95±3.13	25.00±3.50	24.22±1.78	22.28±2.50	24.12±3.77
	LG group									
白蛋白/(g/L) ALB	对照组	6.80±1.12	6.92±0.92	6.83±0.81	6.18±1.02	6.77±0.88	5.68±1.13	6.05±0.67	6.15±0.86	6.15±0.66
	CG group									
	低剂量葡萄糖组	6.28±0.57	6.27±1.19	5.73±1.11	5.97±0.97	6.53±0.53	6.15±0.61	5.92±0.53	5.42±0.66	5.72±0.67
	LG group									
球蛋白/(g/L) GLOB	对照组	20.43±3.80	21.25±3.97	20.30±3.25	20.03±3.10	18.48±1.95	18.93±1.93	18.40±2.87	18.13±3.22	18.10±2.40
	CG group									
	低剂量葡萄糖组	18.38±1.35	19.53±3.21	19.80±3.44	17.97±3.68	22.75±2.75	18.85±3.03	18.30±1.41	18.57±1.12	18.40±3.17
	LG group									
白球比例 A/G	对照组	0.33±0.03	0.33±0.03	0.31±0.04	0.32±0.04	0.31±0.04	0.33±0.03	0.34±0.02	0.34±0.04	0.34±0.03
	CG group									
	低剂量葡萄糖组	0.35±0.01	0.32±0.03	0.34±0.05	0.34±0.03	0.29±0.02	0.33±0.03	0.32±0.02	0.33±0.02	0.32±0.03
	LG group									
谷草转氨酶/ (U/L) ALT	对照组	77.07±12.00	63.75±16.41	61.65±15.74	58.00±10.10	64.83±7.28	60.33±17.70	73.50±6.57	64.83±13.51	72.00±11.61
	CG group									
	低剂量葡萄糖组	67.50±27.56	74.50±20.01	71.83±12.77	70.67±19.12	65.67±16.92	65.33±27.23	71.17±28.76	68.50±23.99	67.33±18.05
	LG group									
碱性磷酸酶/ (U/L) ALP	对照组	12.83±1.72	12.50±2.59	12.50±1.38	12.17±1.72	11.83±3.97	12.17±1.60	12.67±3.33	12.17±1.72	11.00±2.53
	CG group									
	低剂量葡萄糖组	13.00±2.97	13.67±2.66	13.67±2.25	14.67±2.25	12.17±1.47	12.17±1.94	11.33±1.51	11.83±2.86	11.67±2.34
	LG group									
总胆固醇/ (mmol/L) CHOL	对照组	9.76±2.51	9.73±2.18	9.24±1.25	8.86±1.04	8.06±1.55	7.91±1.36	8.71±0.42	7.89±4.37	5.10±1.32
	CG group									
	低剂量葡萄糖组	9.43±1.19	8.50±2.06	8.20±1.24	9.63±3.62	8.62±2.26	8.63±3.44	7.54±2.22	7.22±3.21	8.83±2.72
	LG group									
甘油三酯/ (mmol/L) TG	对照组	17.61±1.45	17.51±2.47	17.44±2.70	18.32±1.95	17.10±2.70	17.09±2.59	17.55±4.56	16.68±3.48	14.60±3.38
	CG group									
	低剂量葡萄糖组	17.57±3.71	16.45±4.37	18.55±2.39	18.98±1.07	18.55±4.50	19.22±3.18	16.39±3.04	18.03±6.43	18.63±4.15
	LG group									
高剂量葡萄糖组 HG group	对照组	10.42±3.05 <sup>a</sup>	17.76±2.29 <sup>bc</sup>	19.13±2.91 <sup>c</sup>	19.49±3.25 <sup>c</sup>	19.15±2.90 <sup>c</sup>	16.86±2.31 <sup>abc</sup>	15.65±1.38 <sup>abc</sup>	14.84±2.22 <sup>abc</sup>	13.09±1.71 <sup>ab</sup>
	CG group									
	高剂量葡萄糖组	6.92±0.80	6.97±1.54	6.57±0.47	6.10±1.41	6.15±0.87	5.62±0.75	6.18±0.48	5.82±0.67	5.72±1.09
	HG group									
高剂量葡萄糖组 HG group	对照组	20.57±2.39 <sup>ab</sup>	22.56±1.75 <sup>b</sup>	20.00±2.03 <sup>ab</sup>	19.37±2.28 <sup>ab</sup>	19.36±2.49 <sup>ab</sup>	17.15±1.98 <sup>a</sup>	18.62±1.77 <sup>a</sup>	18.46±1.67 <sup>a</sup>	17.45±1.31 <sup>a</sup>
	CG group									
	高剂量葡萄糖组	0.34±0.02	0.32±0.05	0.32±0.03	0.35±0.03	0.34±0.04	0.35±0.01	0.34±0.02	0.34±0.03	0.36±0.02
	HG group									

注: 同行肩注不同英文字母表示有显著差异( $P<0.05$ )Notes: values in same row with different superscripts are statistically different at  $P<0.05$

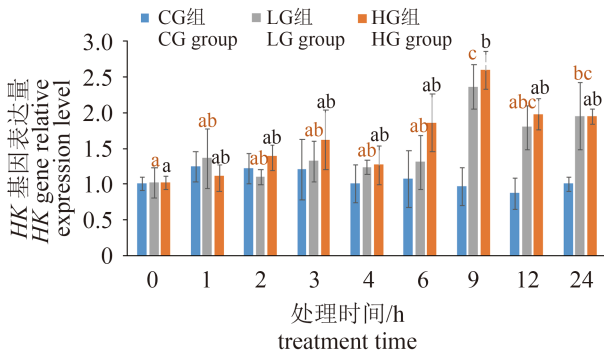


图1 注射葡萄糖对大黄鱼HK基因相对表达量的影响  
图中标注不同英文字母, 表示为同一组内的不同处理时间有显著差异( $P<0.05$ ), 下同

Fig. 1 Effects of glucose injection on the expression of *HK* in *L. crocea*

Values in same color bar with different superscripts are statistically different at  $P<0.05$ , the same below

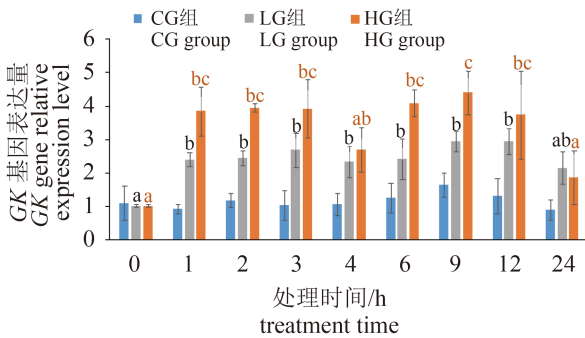


图2 注射葡萄糖对大黄鱼GK基因相对表达量的影响

Fig. 2 Effects of glucose injection on the expression of *GK* in *L. crocea*

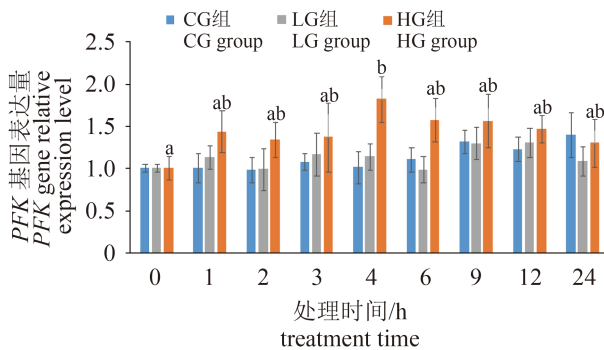


图3 注射葡萄糖对大黄鱼PFK基因相对表达量的影响

Fig. 3 Effects of glucose injection on the expression of *PFK* in *L. crocea*

注射葡萄糖对大黄鱼磷酸戊糖途径关键酶基因相对表达量的影响 CG组与LG组G6PD基因相对表达量随着注射后时间的延长没有显著差异( $P>0.05$ )(图7)。HG组G6PD基因相对表达量在注射葡萄糖后4h内没有变化, 6h的G6PD基因相

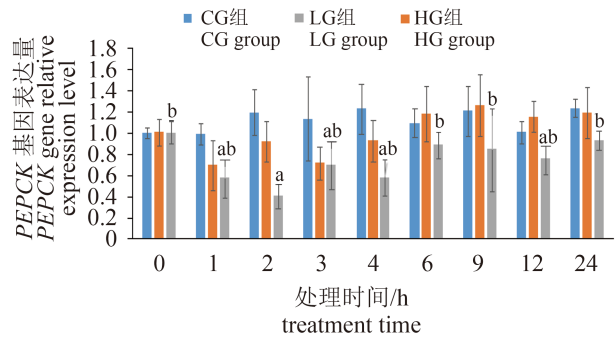


图4 注射葡萄糖对大黄鱼PEPCK基因相对表达量的影响

Fig. 4 Effects of glucose injection on the expression of *PEPCK* in *L. crocea*

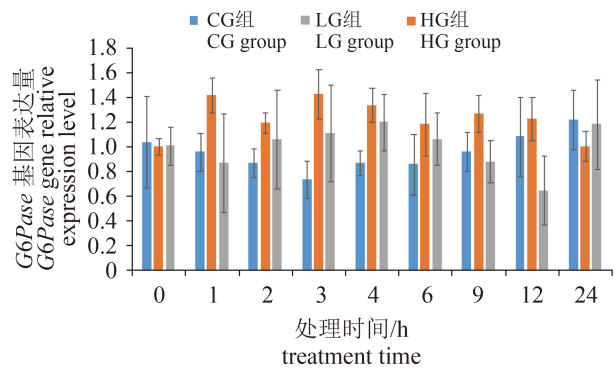


图5 注射葡萄糖对大黄鱼G6Pase基因相对表达量的影响

Fig. 5 Effects of glucose injection on the expression of *G6Pase* in *L. crocea*

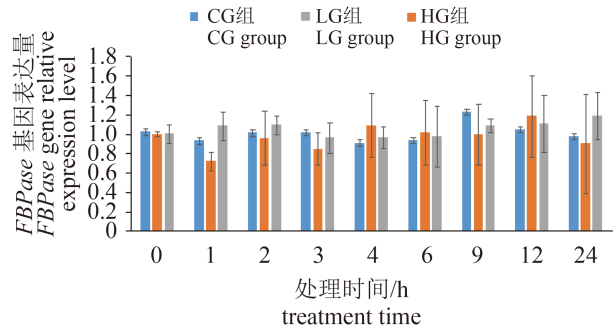


图6 注射葡萄糖对大黄鱼FBPase基因相对表达量的影响

Fig. 6 Effects of glucose injection on the expression of *FBPase* in *L. crocea*

对表达量显著高于其他各个时间段( $P<0.05$ )。

### 3 讨论

#### 3.1 注射葡萄糖对大黄鱼血清生化指标的影响

研究表明, 大黄鱼注射300 mg/kg葡萄糖

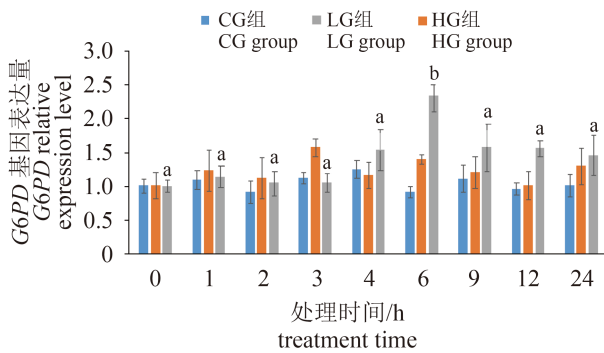


图7 注射葡萄糖对大黄鱼G6PD基因相对表达量的影响

Fig. 7 Effects of glucose injection on the expression of G6PD in *L. crocea*

后, 高血糖持续24 h; 注射1500 mg/kg葡萄糖后, 高血糖持续24 h以上。银锯眶鲷(*Bidyanus bidyanus*)在腹腔注射1000及2000 mg/kg葡萄糖后, 高血糖分别持续12及24 h; 罗非鱼在腹腔注射2000 mg/kg葡萄糖后, 高血糖持续6 h以上<sup>[8]</sup>; 虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)在腹腔注射1000及300 mg/kg葡萄糖后, 高血糖分别持续24及18 h<sup>[18-19]</sup>; 大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)在腹腔注射1000 mg/kg葡萄糖后, 高血糖持续24 h<sup>[20]</sup>; 暗纹东方鲀在腹腔注射1000 mg/kg葡萄糖后, 高血糖持续9 h<sup>[14]</sup>; 沙重牙鲷(*Diplodus sargus*)在腹腔注射1000 mg/kg葡萄糖后, 高血糖持续9 h<sup>[21]</sup>; 以上研究表明, 鱼类, 特别是肉食性鱼类, 高血糖持续时间较长, 与本实验结果相近。本实验低剂量葡萄糖组血糖峰值为14~15 mmol/L, 高剂量葡萄糖组血糖峰值在19 mmol/L左右。这与一些研究中血糖峰值为14~25 mmol/L<sup>[8, 18, 20]</sup>的结果相近。本研究表明, 大黄鱼注射高、低剂量葡萄糖后, 2~4 h血糖达到峰值。沙重牙鲷在腹腔注射1000 mg/kg葡萄糖后2 h血糖达到峰值<sup>[21]</sup>; 大西洋鲑(*Salmo salar*)在腹腔注射1 g/kg葡萄糖后3 h血糖达到峰值<sup>[22]</sup>; 金赤鲷(*Pagrus auratus*) 在腹腔注射1 g/kg葡萄糖后3 h血糖达到峰值<sup>[23]</sup>; 大菱鲆在腹腔注射0.1 g/kg葡萄糖后3 h血糖达到峰值<sup>[20]</sup>, 以上研究表明这些鱼类在注射葡萄糖后3 h左右达到血糖峰值, 与本实验的结果相近, 但舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)、尖吻鲈(*Lates calcarifer*)在腹腔注射1 g/kg葡萄糖后分别在6和8 h血糖才达到峰值<sup>[24]</sup>, 时间高于本研究结果; 高首鲟(*Acipenser transmontanus*)经口摄食0.1 g/kg葡萄糖后6 h才达到峰值<sup>[25]</sup>, 血糖达到最高值的时间高于本实验结果, 这与

不同给糖类方式与剂量有关。刘含亮等<sup>[13]</sup>研究表明, 给吉富罗非鱼注射30 mg/kg葡萄糖后, 1 h血糖即达到峰值, 3 h已经恢复至正常水平。血糖达到峰值的时间及高血糖持续时间均低于本研究结果, 这是由于杂食性鱼类对血糖的清除能力比肉食性鱼类强。由此可知, 与其他鱼相比, 大黄鱼与大多数肉食性鱼类一样, 对血液中葡萄糖的清除能力较差, 表现为持续的高血糖。

### 3.2 注射葡萄糖对大黄鱼糖酵解关键酶基因相对表达量的影响

和其他动物一样, 糖酵解也是鱼类最主要的葡萄糖代谢途径。注射<sup>14</sup>C葡萄糖实验表明, 鱼类摄食的葡萄糖多数被分解<sup>[20, 26]</sup>, 但实验期间鱼体的葡萄糖氧化速率很慢, 这可能是由于鱼类代谢率较低所致<sup>[16]</sup>。Kamalam等<sup>[27]</sup>认为, 缺乏相关关键酶调控和糖分解速率慢是一些鱼类不能更好地利用葡萄糖的原因。

GK是重点研究的糖代谢酶类, 因为它在肝脏代谢、葡萄糖平衡中发挥了重要的角色。以往的研究认为鱼类体内缺少GK或活性很低是导致鱼类不能有效利用糖类的原因<sup>[15]</sup>, 但是之后大量研究表明GK在鱼体内是存在的。本实验中, 2个葡萄糖处理组GK基因在注射完葡萄糖后均呈现先上升后下降, 与血糖的变化趋势一致。Kamalam等<sup>[27]</sup>研究表明, 肉食性鱼类不能很好利用碳水化合物并不是由于GK基因表达量少。Viegas等<sup>[28]</sup>研究表明虽不能确定GK有维持血糖平衡的能力, 但可以证实在肉食性鱼类中GK基因表达对高碳水化合物有适应性反应。蔡春芳<sup>[29]</sup>和林小植等<sup>[30]</sup>的研究都得出随着碳水化合物的增加, 鱼类的GK活性提高的结论。在虹鳟的实验中, 无论长期还是短期投喂含糖类的饲料都会增加肝脏中GK基因的表达<sup>[31]</sup>; 刘波等<sup>[32]</sup>在对翘嘴红鲌(*Erythroculter ilishaeformis*)研究中发现, 高CHO组投料6 h后显著增加了GK mRNA水平; Panserat等<sup>[33]</sup>研究表明银大麻哈鱼(*O. kisutch*)在注射250 mg/kg葡萄糖后, 其肝脏GK基因在6 h时升高; 以上结果表明, 碳水化合物可以诱导GK基因的表达, 并且GK的活性及表达量与血糖变化趋势有相关性。本实验结果与上述结果一致, 说明在大黄鱼肝脏内GK基因的表达会随血糖的增加而上升, 可见GK并不是限制大黄鱼有效利用葡萄糖的因素。

*PFK*是限制大黄鱼糖酵解又一个关键酶, 本实验中LG组随着注射后时间的延长, *PFK*基因的相对表达量没有显著变化, 但HG组随着注射时间的延长变化显著, 先上升后下降, 其峰时与血糖的峰时几乎一致。林小植等<sup>[30]</sup>发现投喂含中、高水平糖类饲料, 南方鲇(*Silurus meridionalis*)幼鱼的*PFK*活性不随血糖变化; 但Shiau等<sup>[34]</sup>研究表明随着罗非鱼血糖升高, 鱼体内的*PFK*活性增强。Panserat等<sup>[33]</sup>研究表明银大麻哈鱼在注射250 mg/kg葡萄糖后, 其肝脏*PFK*基因没有显著性变化。可以得出, *PFK*也不是限制大黄鱼有效利用葡萄糖的因素。另外*PFK*基因表达量的差异与注射葡萄糖的浓度有关, 其具体机理需要进一步研究。

综上, 大黄鱼相关糖酵解关键酶的表达量随血糖的升高而相应升高, 因此可以排除大黄鱼持续高血糖是由于糖酵解关键酶不受血糖浓度调节的假设, 但是否由于糖酵解代谢速率慢导致大黄鱼不能更好地利用糖类则需要进一步研究证实。

### 3.3 注射葡萄糖对大黄鱼糖异生关键酶基因相对表达量的影响

研究证实鱼类有非常有效的糖异生途径<sup>[35]</sup>, 通过此途径, 鱼类可以利用 $\alpha$ -酮酸、乳酸、甘油等合成葡萄糖, 鱼类糖异生途径主要集中在肝脏、肾脏及肠中。而肝脏是葡萄糖代谢的主要部位, 因此, 糖代谢途径的酶表达及活性的研究都集中于肝胰脏<sup>[36]</sup>。杂食性鱼类糖异生途径酶类的表达和高等脊椎动物近似, 而肉食性鱼类的糖异生途径似乎不受碳水化合物的调节<sup>[27]</sup>。

*PEPCK*催化草酰乙酸生成磷酸烯醇式丙酮酸, 是糖异生途径的第一个限速酶<sup>[37]</sup>。Panserat等<sup>[38]</sup>发现鲤在摄食含糖饲料后*PEPCK*表达没有差异; 俞菊华等<sup>[39]</sup>发现在脂肪水平一致时, 高糖和中糖饲料组翘嘴红鲌*PEPCK*的表达除了在0、3 h时高糖组显著较高外, 在6、12、24 h无显著性差异, 但12、24 h高糖组*PEPCK*表达量相对较低。本实验中大黄鱼注射高剂量葡萄糖后, 肝脏的*PEPCK*基因的相对表达量显著下降。可以得出, 糖异生途径的第一个限速酶*PEPCK*表达会被高糖抑制。

Enes等<sup>[40]</sup>给舌齿鲈投喂高碳水化合物组饲料, 发现其*FBPase*活性并不受影响; 聂琴等<sup>[41]</sup>发

现大菱鲆*FBPase*不随糖的种类变化而变化; Panserat等<sup>[38]</sup>发现鲤的*FBPase*基因表达量无论投喂饲料中有无糖类都没有变化; Enes<sup>[42]</sup>关于金赤鲷的研究发现*FBPase*活性不受饲料中糖的影响。本研究表明, *FBPase*基因的相对表达量随着注射后时间延长均没有显著变化。可以得出, 糖异生途径的限速酶*FBPase*不受葡萄糖的调节。

*G6Pase*通过催化使葡萄糖-6-磷酸去磷酸化变为葡萄糖, 在维持血糖稳定中扮演重要角色<sup>[43]</sup>。Panserat等<sup>[44]</sup>研究表明葡萄糖并不能抑制虹鳟*G6Pase*的表达, 并且认为虹鳟对糖类利用率低与其肝脏糖异生调控较差有关。本研究表明, *G6Pase*基因的相对表达量随着注射后时间延长均没有显著变化。可以得出, 糖异生途径的限速酶*G6Pase*不受葡萄糖的调节。

其他研究表明, 鱼类不能抑制*G6Pase*活性和表达量以及餐后*GK*活性和表达量的增加导致了鱼类在食用碳水化合物后持续的高血糖<sup>[31, 45]</sup>。Kamalam等<sup>[27]</sup>认为肉食性鱼类肝脏中通过糖异生产生内源性葡萄糖不受控制, 最终导致了糖类利用率的低下。结合本研究可以得出, 糖异生途径的关键酶*FBPase*、*G6Pase*表达不会随着血糖升高而受到抑制, 这有可能导致内源性葡萄糖不断被合成, 而使大黄鱼血糖持续偏高。但*FBPase*、*G6Pase*不被抑制的具体机理以及与*PEPCK*之间的相互联系需要进一步研究。

### 3.4 注射葡萄糖对大黄鱼磷酸戊糖途径关键酶基因相对表达量的影响

磷酸戊糖途径有非常重要的生物学意义, 它是细胞产生还原力(NADPH)的主要途径, 并且是细胞内不同结构糖分子的重要来源, 为各种单糖的相互转换提供条件<sup>[46]</sup>。Hemre等<sup>[47]</sup>认为在脂肪合成中, 可消化糖的作用主要是胞质还原性糖, 而并非提供了碳原子骨架。磷酸戊糖途径曾被认为在糖代谢中作用较小, 但最近的研究表明, 磷酸戊糖途径可能是鱼类降解葡萄糖的主要途径<sup>[48]</sup>。

任鸣春<sup>[49]</sup>研究表明虹鳟摄食含碳水化合物饲料后5 h的*G6PD*表达量显著高于24 h, 并且发现*G6PD*表达量与*GK*表达量呈很好的正相关性, 这暗示着经由*GK*催化形成的葡萄糖-6-磷酸, 大部分可能经由磷酸戊糖途径代谢或者形成了糖原储存, 而不是继续进行糖酵解。本研究中, 注

射高剂量葡萄糖组后6 h, *G6PD*表达量显著高于其他各时间点, 可见磷酸戊糖途径也受血糖调节。

#### 4 结论

大黄鱼对葡萄糖的耐受能力差, 与大多数肉食性鱼类相似, 注射葡萄糖后血糖3 h达到峰值, 高血糖状态持续24 h以上。根据对大黄鱼糖酵解、糖异生途径关键酶表达量的分析可得, 糖酵解途径关键酶表达量会随葡萄糖的注射而升高, 糖异生途径的关键酶*PEPCK*表达被高浓度葡萄糖抑制, 但是糖异生途径关键酶*G6Pase*、*FBPase*却没有被抑制, 这导致内源性葡萄糖不断被合成而使大黄鱼血糖持续偏高。

#### 参考文献:

- [1] 邢淑娟, 张文兵. 鱼类糖营养生理的研究进展[J]. 河北渔业, 2015(8): 63-71.  
Xing S J, Zhang W B. Progress in carbohydrate nutrition physiology studies in fish[J]. Hebei Fisheries, 2015(8): 63-71(in Chinese).
- [2] 蔡春芳, 陈立侨. 鱼类对糖的利用评述[J]. 水生生物学报, 2006, 30(5): 608-613.  
Cai C F, Chen L Q. Comment on the utilization of dietary carbohydrates in fish[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2006, 30(5): 608-613(in Chinese).
- [3] 艾庆辉, 麦康森. 鱼类营养免疫研究进展[J]. 水生生物学报, 2007, 31(3): 425-430.  
Ai Q H, Mai K S. Advance on nutritional immunity of fish[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2007, 31(3): 425-430(in Chinese).
- [4] Wilson R P, Poe W E. Apparent inability of channel catfish to utilize dietary mono- and disaccharides as energy sources[J]. The Journal of Nutrition, 1987, 117(2): 280-285.
- [5] Phillips A M. The Utilization of Carbohydrates by Trout: Fisheries research bulletin[M]. New York: New York State Conservation Department, Bureau of Fish Culture, 1948.
- [6] 牛思佳, 郭金龙, 杨振才, 等. 鱼类葡萄糖耐量研究进展[J]. 水产科学, 2015, 34(7): 459-463.  
Niu S J, Guo J L, Yang Z C, et al. A review: research advances in glucose tolerance in fish[J]. Fisheries Science, 2015, 34(7): 459-463(in Chinese).
- [7] Furuichi M, Yone Y. Availability of carbohydrate in nutrition of carp and red sea bream[J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1982, 48(7): 945-948.
- [8] Wright J R Jr, O'Hali W, Yang H, et al. GLUT-4 deficiency and severe peripheral resistance to insulin in the teleost fish tilapia[J]. General and Comparative Endocrinology, 1998, 111(1): 20-27.
- [9] Panserat S, Capilla 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: Biochemistry and Molecular Biology, 2001, 128(2): 275-283.
- [10] 黄鹤忠, 丁磊, 宋学宏, 等. 青鱼和草鱼葡萄糖耐量的比较研究[J]. 中国水产科学, 2005, 12(4): 496-500.  
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(in Chinese).
- [11] 吕春双, 范泽, 程镇燕, 等. 鲤鱼经葡萄糖注射后的糖代谢反应[C]// 中国水产学会. 2015年中国水产学会学术年会论文摘要集. 杭州: 中国水产学会, 2015.  
Lü C S, Fan Z, Cheng Z Y, et al. Glucose tolerance in common carp (*Cyprinus carpio*)[C]// China Fisheries Association. Academic annual Conference of China Fisheries Association. Beijing: China Fisheries Association, 2015(in Chinese).
- [12] 蔡春芳, 刘影, 陈立侨, 等. 异育银鲫口服不同剂量葡萄糖后的代谢反应[J]. 水生生物学报, 2003, 27(6): 602-606.  
Cai C F, Liu Y, Chen L Q, et al. Metabolic responses of allogynogenetic gibelcarp after oral administration of different doses of glucose[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2003, 27(6): 602-606(in Chinese).
- [13] 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[J]. 中国水产科学, 2012, 19(5): 813-820.  
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, 19(5): 813-820(in Chinese).
- [14] 刘襄河, 王安利, 叶超霞, 等. 腹腔注射葡萄糖对暗纹东方鲀血浆生化指标、胰岛素和糖酵解关键酶的影响[C]//中国水产学会. 第九届世界华人鱼虾营养学术研讨会论文集. 厦门: 中国水产学会, 2013.



- Liu X H, Wang A L, Ye C X, *et al.* Plasma metabolites, insulin responses and hepatic glycolytic enzyme in obscure puffer after intraperitoneal administration of different doses of glucose[C]// China Fisheries Association. The 9th Symposium of World'S Chinese Scientists on Nutrition and Feeding of Fish and Shellfish. Xiamen: China Fisheries Association, 2013 (in Chinese).
- [15] 王广宇, 刘波, 谢骏, 等. 鱼类糖代谢几种关键酶的研究进展[J]. 上海水产大学学报, 2008, 17(3): 377-383.
- Wang G Y, Liu B, Xie J, *et al.* Research progress of several carbohydrate metabolic key enzymes in fish[J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2008, 17(3): 377-383(in Chinese).
- [16] USA, Committee on the Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp[M]. Washington D C: National Academies Press, 2011.
- [17] 郑严, 杨纪明. 浙江近海大黄鱼仔、稚、幼鱼的食性[J]. 海洋与湖沼, 1965, 7(4): 355-372.
- Zheng Y, Yang J M. The feeding habits of large yellow croaker near Zhejiang offshore[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1965, 7(4): 355-372(in Chinese).
- [18] 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.
- [19] 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]. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 1991, 261(3): R609-R613.
- [20] Garcia-Riera M P, Hemre G I. Glucose tolerance in turbot, *Scophthalmus maximus* (L. ) [J]. Aquaculture Nutrition, 1996, 2(2): 117-120.
- [21] Enes P, Peres H, Pousão-Ferreira P, *et al.* Glycemic and insulin responses in white sea bream *Diplodus sargus*, after intraperitoneal administration of glucose[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2012, 38(3): 645-652.
- [22] Hemre G I, Torrissen O, Krogdahl Å, *et al.* Glucose tolerance in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., dependence on adaption to dietary starch and water temperature[J]. Aquaculture Nutrition, 1995, 1(2): 69-75.
- [23] Peres H, Gonçalves P, Oliva-Teles A. Glucose tolerance in gilthead seabream (*Sparus aurata*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*)[J]. Aquaculture, 1999, 179(1-4): 415-423.
- [24] Stone D A J. Dietary carbohydrate utilization by fish[J]. Reviews in Fisheries Science, 2003, 11(4): 337-369.
- [25] Deng D F, Refstie S, Hung S S O. Glycemic and glycosuric responses in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) after oral administration of simple and complex carbohydrates[J]. Aquaculture, 2001, 199(1-2): 107-117.
- [26] Brauge C, Corraze G, Médale F. Effects of dietary levels of carbohydrate and lipid on glucose oxidation and lipogenesis from glucose in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, reared in freshwater or in seawater[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, 1995, 111(1): 117-124.
- [27] Kamalam B S, Medale F, Panserat S. Utilisation of dietary carbohydrates in farmed fishes: new insights on influencing factors, biological limitations and future strategies[J]. Aquaculture, 2016, doi: 10.1016/j.aquaculture.2016.02.007. (inPress)
- [28] Viegas I, Rito J, González 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 Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2013, 166(3): 399-405.
- [29] 蔡春芳. 青鱼(*Mylopharyngodon pices* Richardson)和鲫(*Carassius auratus*)对饲料糖的利用及其代谢机制的研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2004.
- Cai C F. Study on the utilization of dietary carbohydrate by *Mylopharyngodon pices* Richardson and *Carassius auratus* and their mechanism of metabolism[D]. Shanghai: East China Normal University, 2004 (in Chinese).
- [30] 林小植, 罗毅平, 谢小军. 饲料碳水化合物水平对南方鲇幼鱼餐后糖酵解酶活性及血糖浓度的影响[J]. 水生生物学报, 2006, 30(3): 304-310.
- Lin X Z, Luo Y P, Xie X J. Effects of dietary carbohydrate level on glycolytic enzymes and serum glucose concentrations in the juvenile southern catfish after feeding[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2006, 30(3): 304-310(in Chinese).
- [31] Kamalam B S, Medale F, Kaushik S, *et al.* Regulation of metabolism by dietary carbohydrates in two lines of rainbow trout divergently selected for muscle fat

- content[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2012, 215(15): 2567-2578.
- [32] 刘波, 谢骏, 苏永腾, 等. 高碳水化合物日粮对翘嘴红鲌生长、GK及GK mRNA表达的影响[J]. *水生生物学报*, 2008, 32(1): 47-53.  
Liu B, Xie J, Su Y T, *et al.* Effect of high carbohydrate levels of dietary on growth, GK activities and GK mRNA levels in topmouth culter (*Erythroculter ilishaeformis* Bleeker)[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2008, 32(1): 47-53(in Chinese).
- [33] Panserat S, Kamalam B S, Fournier J, *et al.* Glucose metabolic gene expression in growth hormone transgenic coho salmon[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2014, 170: 38-45.
- [34] Shiau S Y, Liang H S. Carbohydrate utilization and digestibility by tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*, are affected by chromic oxide inclusion in the diet[J]. *The Journal of Nutrition*, 1995, 125(4): 976-982.
- [35] Walton M J, Cowey C B. Aspects of intermediary metabolism in salmonid fish[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 1982, 73(1): 59-79.
- [36] 蔡春芳, 陈立桥. 鱼类对糖的代谢[J]. *水生生物学报*, 2008, 32(4): 592-597.  
Cai C F, Chen L Q. The metabolism of dietary carbohydrate by fish[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2008, 32(4): 592-597(in Chinese).
- [37] 钱云霞, 杨孙孝, 童丽娟, 等. 低盐度可诱导鲈鱼胞浆型PEPCK基因表达[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2010, 26(7): 651-658.  
Qian Y X, Yang S X, Tong L J, *et al.* Low salinity induces cytosolic PEPCK expression in sea perch (*Lateolabrax japonicus*)[J]. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2010, 26(7): 651-658(in Chinese).
- [38] 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-Genes and Expression)*, 2002, 1579(1): 35-42.
- [39] 俞菊华, 戈贤平, 唐永凯, 等. 碳水化合物、脂肪对翘嘴红鲌PEPCK基因表达的影响[J]. *水产学报*, 2007, 31(3): 369-373.  
Yu J H, Ge X P, Tang Y K, *et al.* Effects of carbohydrate, lipid in diets on the PEPCK gene expression of *Erythroculter ilishaeformis*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2007, 31(3): 369-373(in Chinese).
- [40] 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 seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2006, 143(1): 89-96.
- [41] 聂琴, 苗惠君, 苗淑彦, 等. 不同糖源及糖水平对大菱鲆糖代谢酶活性的影响[J]. *水生生物学报*, 2013, 37(3): 425-433.  
Nie Q, Miao H J, Miao S Y, *et al.* Effects of dietary carbohydrate sources and levels on the activities of carbohydrate metabolic enzymes in turbot[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2013, 37(3): 425-433(in Chinese).
- [42] Enes P, Panserat S, Kaushik S, *et al.* Growth performance and metabolic utilization of diets with native and waxy maize starch by gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles[J]. *Aquaculture*, 2008, 274(1): 101-108.
- [43] Enes P, Panserat S, Kaushik S, *et al.* Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2009, 35(3): 519-539.
- [44] Panserat S, Médale F, Brèque J, *et al.* Lack of significant long-term effect of dietary carbohydrates on hepatic glucose-6-phosphatase expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2000, 11(1): 22-29.
- [45] Skiba-Cassy S, Panserat S, Larquier M, *et al.* Apparent low ability of liver and muscle to adapt to variation of dietary carbohydrate: protein ratio in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *British Journal of Nutrition*, 2013, 109(8): 1359-1372.
- [46] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. *生物化学教程*[M]. 北京: 高等教育出版社, 2008.  
Wang J Y, Zhu S G, Xu C F. *Essential Biochemistry*[M]. Beijing: Higher Education Press, 2008 (in Chinese).
- [47] Hemre G I, Mommsen T P, Krogdahl Å. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2002, 8(3): 175-194.
- [48] 谭肖英, 罗智, 刘永坚. 鱼类对饲料中糖的利用研究进展[J]. *中国饲料*, 2007(6): 19-23.

- Tan X Y, Luo Z, Liu Y J. Review of carbohydrate utilization in fish feed[J]. *China Feed*, 2007(6): 19-23(in Chinese).
- [49] 任鸣春. 军曹鱼和虹鳟糖类营养生理研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
- Ren M C. Studies on nutritional physiology of carbohydrate for cobia and rainbow trout[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012 (in Chinese).

## Effects of glucose injection on serum indices and gene expression of carbohydrate metabolic enzymes in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)

LI Yi<sup>1</sup>, QIU Hong<sup>1</sup>, HOU Yingmei<sup>1</sup>, LU You<sup>1</sup>, SHENTU Jikang<sup>2</sup>, ZHOU Qicun<sup>1\*</sup>

(1. Laboratory of Fish Nutrition, School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

2. Ningbo Ocean and Fishery Research Institute, Ningbo 315211, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to evaluate the effects of intraperitoneal glucose injection on serum indices, hepatic glycolysis and gluconeogenic key enzyme expression levels of intraperitoneal glucose injection of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). Fish [n=270, mean weight=(100±5) g] were randomly assigned to three groups, a control group that was injected with sterile 0.9% normal saline, the low dosage group that was injected with glucose (300 mg/kg wet weight, LG) and the high dosage group with glucose (1500 mg/kg wet weight, HG). The results showed that the plasma glucose level reached a peak at 3 h after both dose glucose injections, and returned to base level at the time of 24 h after injection of low dosage glucose, and it was still higher than base level after 24 h after high dosage glucose relatively. The trend of relative expression of *HK* gene after both dose glucose injections was increased first, then decreased, and reached the peak at 9 h. The relative expression of *GK* gene trend was to rise first and then remained unchanged and finally fell after both dose glucose injections, and it reached the peak at 9 h, but it was decreased at 4 h after high dosage glucose. The relative expression of *PFK* gene presented the trend of first increasing and then decreasing, and it reached the highest at 9 h after high dosage glucose. The trend of relative expression of *PEPCK* gene decreased first and then increased, and it reached the minimum at 2 h after high dosage glucose. It was significantly higher at 6 h than at any other time point, after high dosage glucose. These results indicate that the plasma glucose level of large yellow croaker increased, and maintained for a long time. The absence of inhibition in the expression of the gluconeogenic enzyme of *G6Pase*, *FBPase* concurrent with increased postprandial expression of *GK* led to postprandial hyperglycaemia in large yellow croaker.

**Key words:** *Larimichthys crocea*; intraperitoneal injection; glucose tolerance; carbohydrate metabolic enzymes; gene expression

**Corresponding author:** ZHOU Qicun. E-mail: zhouqicun@nbu.edu.cn

**Funding projects:** National Natural Science Foundation of China (31272670); Agricultural Research Projects in the Ningbo Science and Technology Department (2012C10025); 2011 Cooperative Innovation Center of Zhejiang Province (201101503); The Construction of the Most Important Subjects in Zhejiang Province (20150108); Daiqiyang Large Yellow Croaker Special Feed Integrated Application and Demonstration (2014GA701001)