

DOI: 10.12264/JFSC2025-0039

鳊幽门盲囊在糖类消化、吸收中的作用

高锦华^{1,2,3}, 赵亮亮^{1,2,3}, 姚晓丽^{1,2,3}, 宋银都^{1,2,3}, 马晨夕^{1,2,3}, 赵金良^{1,2,3*}

1. 上海海洋大学, 农业农村部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306;
2. 上海海洋大学, 水产动物遗传育种中心上海市协同创新中心, 上海 201306;
3. 上海海洋大学, 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306

摘要: 鳊(*Siniperca chuatsi*)是中国特有的淡水经济鱼类, 幽门盲囊是肉食性鱼类消化道的特有结构, 负责食物蛋白质和脂类的消化吸收, 但幽门盲囊对糖类的消化吸收作用尚不清晰。本研究通过鳊进食实验, 比较研究了餐后 0~16 h 血糖水平, 幽门盲囊、前肠和中肠中糖原含量, 淀粉酶活性与 *Amy* mRNA 表达, 葡萄糖转运蛋白基因 *Sglt1* 和 *Glut2* mRNA 表达变化。结果表明, 鳊进食后, 幽门盲囊、前肠和中肠中糖原含量, 淀粉酶活性, *Amy* mRNA 表达均呈先上升后下降的变化趋势, 在 6 h 达到峰值, 4~12 h 显著高于其他时段; 幽门盲囊中淀粉酶活性、*Amy* mRNA 表达与前肠间无显著差异($P>0.05$), 但显著高于中肠($P<0.05$)。进食后, 血糖水平变化与幽门盲囊、前肠和中肠中糖原含量变化趋势一致。由此推测, 当血糖水平升高时, 鳊 *Sglt1* 主要起到对葡萄糖的吸收作用, 糖类的转运作用主要由 *Glut2* 来介导。*Sglt1* mRNA 在幽门盲囊、前肠和中肠中表达峰值均在进食后 1 h。幽门盲囊 *Glut2* mRNA 表达量显著高于前肠, 极显著高于中肠, 且在 4~12 h 表达量显著高于其他时段。综上认为, 幽门盲囊是鳊主要的糖类消化部位之一, 也是糖类主要吸收及转运部位, 进食后 4~12 h 是糖类消化吸收的旺盛期。

关键词: 鳊; 幽门盲囊; 糖类; 淀粉酶; *Sglt1*; *Glut2*

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2025)08-1068-11

幽门盲囊是肉食性鱼类消化道的特有结构, 不同种类的幽门盲囊数量不同, 从几个到数百个不等^[1]。早期, 幽门盲囊被认为具有贮藏食物、发酵和消化吸收 3 种作用。随着 X 射线和放射性示踪技术的出现, 幽门盲囊贮藏食物和发酵作用在鱼类中被否认。Buddington 等^[2]首次通过喂食含不透明标记物饲料, 证明虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)幽门盲囊增加了肠道表面积, 在消化道中的主要作用是对营养物质的消化和吸收。Anastasia 等^[3]证明, 虹鳟饲料效率和整体的生长速度随幽门盲囊数量的增加相应有所提高。通过对小体鲟(*Acipenser ruthenus*)消化道进行蛋白酶、脂肪酶以及淀粉酶活性测定, 幽门盲囊内蛋白酶活性以及

脂肪酶活性最高, 淀粉酶活性仅次于中肠和胃^[4]。在高体鲷(*Seriola dumerili*)、黄条鲷(*S. lalandi*)和五条鲷(*S. quinqueradiata*)中, 幽门盲囊内淀粉酶活性、脂肪酶活性、碱性磷酸酶和酸性磷酸酶均高于消化道中其他组织(胃、前肠、中肠、后肠、肝脏)^[5]。综上研究表明, 幽门盲囊在蛋白和脂质的消化中具有重要作用。

鱼类主要利用蛋白质和脂质, 对糖的利用水平与哺乳动物相比较低^[6]。投喂无糖饲料时, 鱼类通过氧化分解蛋白质和脂质提供能量, 但这会引起蛋白质和脂质的消耗增加, 以至于鱼类生长发育速度减缓; 而高糖饲料会使鱼类持续高血糖, 甚至导致肝脏病变等症状^[7]。由此可见, 合理的

收稿日期: 2025-02-21; 修订日期: 2025-03-26.

基金项目: 现代农业产业技术体系专项基金资助项目(CARS-46)

作者简介: 高锦华(2000–), 女, 博士研究生, 研究方向为鱼类遗传育种. E-mail: qiqiG1031@163.com

通信作者: 赵金良, 教授, 研究方向为鱼类遗传育种. E-mail: jlzhao@shou.edu.cn

糖含量对鱼类生长是至关重要的。鱼类淀粉酶(amylase, Amy)是糖类消化中的主要酶, 淀粉酶主要由肝胰脏组织中的胰腺分泌, 可将淀粉、糖原等多糖分解为糊精、二糖或者单糖。经淀粉酶等糖酶消化后产生的葡萄糖等单糖, 需要肠道葡萄糖转运载体的介导, 才能完成转运^[8-9]。葡萄糖转运载体主要有两个家族, 即钠依赖的葡萄糖转运载体 Sglts (Na^+ /glucose transporters)和易化性葡萄糖转运载体 Gluts (glucose transporters), 两者转运方式不同, 具有组织特异性^[8-10]。机体能够通过调节转运载体的表达来调控糖吸收, 维持血糖稳态。Sgt1 一般位于肠上皮细胞的顶膜, 负责肠道细胞吸收葡萄糖的过程; Glut2 一般位于细胞基底膜, 负责葡萄糖从基底外侧膜进入血液的过程^[11]。有研究表明, Glut2 可进行双向运输, 在机体高糖刺激下, Glut2 会募集到顶端膜上, 并参与肠腔葡萄糖到细胞质中的吸收过程^[12]。

鳊(*Siniperca chuatsi*)是典型的肉食性鱼类, 自开口期起以活饵为食, 具有发达的幽门盲囊(200 以上)^[13]。目前鳊消化道内淀粉酶活性已有了部分研究。杨秀平等^[14]研究结果显示, 鳊肠道淀粉酶活性大于幽门盲囊。马燕梅等^[15]研究结果为

幽门盲囊淀粉酶活性远远大于肠道。李玲等^[16]研究显示, 鳊前、中、后肠淀粉酶活性依次递减, 幽门盲囊淀粉酶活性居于中肠和后肠之间。以上研究虽已暗示鳊幽门盲囊可参与糖类的消化作用, 但目前仍无法准确表明鳊幽门盲囊是否是消化的主要部位, 幽门盲囊对糖类吸收作用尚不清楚。本研究通过比较鳊进食后消化生理过程中, 幽门盲囊、前肠和中肠的淀粉酶活性及基因表达变化, 葡萄糖转运载体的基因表达, 探究鳊幽门盲囊是否参与糖类的消化吸收过程以及其生理作用, 这有助于进一步了解鳊幽门盲囊的生理功能, 还为鳊人工饲料碳水化合物的利用等提供参考。

1 材料和方法

1.1 实验材料

鳊来自池州市秋浦特种水产开发有限公司, 体长(14.42 ± 1.35) cm, 体重(42.83 ± 13.00) g, 投喂鳊(*Cirrhinus molitorella*)鱼苗, 在河道网箱中暂养。适应 1 周后饥饿 24 h, 选择体质健壮、活性较强的个体进行实验。

将饥饿 24 h 的 120 尾鳊随机放入 3 个网箱($1 \text{ m} \times 1 \text{ m} \times 1 \text{ m}$)中, 每个网箱 40 尾, (8 ± 1) °C。正



图 1 鳊餐后不同时间胃内容物消化过程

Fig. 1 Digestion of postprandial gastric contents in mandarin fish at different time points after feeding

常投喂饵料鱼, 进食 20 min 后, 将剩余饵料鱼捞出。根据前期解剖观察胃内容物变化(图 1), 分别在进食前 0 h 以及进食后 1 h、2 h、4 h、6 h、12 h 和 16 h 随机采集 5 尾鱼。用 MS-222 迅速麻醉, 尾静脉取血后离心 20 min (2000 r/min, 4 °C), 吸取上清液, 放入-80 °C 冰箱中保存。解剖后, 取幽门盲囊、前肠和中肠, 并放入-80 °C 冰箱中保存。

1.2 实验方法

1.2.1 Sglt1、Glut2 生物信息学分析 利用 NCBI 中大黄鱼(*Larimichthys crocea*) *Sglt1* 和 *Glut2* 核酸序列在本实验室鳊转录组数据库(PRJNA496427)中查找 *Sglt1* 和 *Glut2* cDNA 序列, 并与其他鱼类同源性在 80%~92%。基因结构通过基于硬骨鱼模型构建的 Softberry 程序(<http://linux1.softberry.com/>)预测, 开放阅读框由 ORF finder(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>)识别。

通过在线翻译工具(<https://web.expasy.org/translate/>)推导出蛋白质序列。氨基酸组成、分子量(MW)和理论等电点(pI)等使用 ProtParam 在线工具(<https://web.expasy.org/protparam/>)进行表征。蛋白质的结构域、功能位点使用 ExPASy Prosite (<https://prosite.expasy.org/>)分析。使用 TMHMMServer 2.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>)预测跨膜区。使用 NetPhos 3.1 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/NetPhos-3.1/>)预测磷酸化位点。选取硬骨鱼类 *Sglt1* 和 *Glut2* 氨基酸序列分别使用 Clustal Omega (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>)工具进行多序列比对, 并用 MEGA 5.0 软件的邻接法构建系统进化树(Neighbor-joining tree), Bootstrap 值设定为 1000。

1.2.2 生化检测 血清葡萄糖含量使用上海酶联生物公司葡萄糖试剂盒(ml076790)进行测定。按照试剂供应商的说明, 将 20 μ L 血清与 180 μ L 试剂充分混合后, 置于酶标仪(Synergy H1, BioTek, USA)中测定(505 nm)。

幽门盲囊、前肠、中肠的糖原含量使用上海酶联生物公司糖原试剂盒(ml076786)进行测定。按照试剂供应商的说明, 称取 0.1 g 组织, 加入 0.75 mL 提取液充分匀浆后, 95 °C 水浴 20 min。

待冷却后, 用蒸馏水定容到 5 mL, 离心 10 min (8500 r/min, 25 °C), 取上清液待测。取 60 μ L 上清液与 240 μ L 试剂充分混合后, 置于酶标仪(Synergy H1, BioTek, USA)中测定(620 nm)。

幽门盲囊、前肠、中肠的淀粉酶活性使用上海酶联生物公司淀粉酶试剂盒(ml076677)进行测定。按照试剂供应商的说明, 称取 0.1 g 样本与 1 mL 蒸馏水充分匀浆后, 离心 10 min (1000 r/min, 25 °C), 吸取上清液并且加蒸馏水定容至 10 mL, 摇匀, 即为淀粉酶原液。取 75 μ L 原液与 225 μ L 试剂充分混合后, 置于酶标仪(Synergy H1, BioTek, USA)中测定(540 nm)。

1.2.3 组织学观察 将 30 日龄鳊(去头去尾) 5 尾固定在 4%多聚甲醛中以进行组织学分析, 经 80%~100%(体积分数)乙醇脱水, 二甲苯透明后, 石蜡包埋。使用 Leica RM 2016 型切片机进行连续切片。随后, 常规 HE 染色法进行染色, 中性树胶封片, 显微镜(ECLIPSE 80i, Nikon, Japan)观察、拍照。

1.2.4 基因表达量检测 使用 TRIzol 法提取前肠、中肠和幽门盲囊总 RNA, 测定质量和浓度, 使用艾科瑞反转录试剂盒(AG11728)将 RNA 逆转录为 cDNA。制备获得的 cDNA 产物用于随后的实时定量 PCR (qPCR)实验。根据基因 cDNA 序列, 利用 Primer 3 设计特异性引物(引物序列见表 1)。荧光定量 PCR 在定量热循环仪(BioRed, USA)中进行, 以 β -actin 为内参基因, 扩增体系为: 10 μ L 2 $\times$ SYBR[®]Green Prc Taq HS Premix、1 μ L cDNA 模板、上下游引物各 1 μ L、RNase-free 水 7 μ L。扩增的条件为: 94 °C 30 s; 94 °C 5 s, 60 °C 34 s, 45 个循环; 95 °C 30 s, 60 °C 1 min, 95 °C 5 s; 40 °C 冷却。获取的 C_t 值(循环阈值)用于数据结果的处理和分析, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法测定各基因的相对表达量。

1.2.5 数据分析结果 使用 GraphPad Prism 9.5 绘制柱状图。采用 SPSS 26.0 软件进行单因素方差分析显著性差异, 若达到显著水平, 则进行 LSD 和 Tukey 氏多重比较。所有数据均以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm SD$)表示, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为极显著。

表 1 用于本实验的引物
Tab. 1 Primers used in this study

基因名称 gene	引物名称 primer name	引物序列(5'-3') primer sequence (5'-3')	退火温度/℃ annealing temperature
Amy	Amy-F	AATGGAACGGCGAGAAGC	58.6
	Amy-R	CGTACTCTCTAGATGTGATG	
Sglt1	Sglt1-F	TCGCAATAACTAATAGACGAAACG	58.6
	Sglt1-R	ACCAGGCTCTTGGGCTGAATA	
Glut2	Glut2-F	TCGAGCCTCTTGATCCTTGCC	59.6
	Glut2-R	GGACTGCTGATGGGTCTTTGC	
β-actin	β-actin-F	GCGTGACATCAAGGAGAA	
	β-actin-R	CATACCGAGGAAGGAAGG	

2 结果与分析

2.1 Sglt1、Glut2 基因鉴定及蛋白结构预测

鳊 *Sglt1* 基因的全长 cDNA 序列由 1635 个核苷酸组成, 编码 544 个氨基酸, 分子量和等电点为 61329.20 Da/6.37(图 2)。分子式组成为 C₂₈₀₈H₄₃₄₇N₆₉₇O₇₅₅S₄₃, 其中具有 38 个正电荷残基(Arg + Lys), 41 个负电荷残基(Asp + Glu), 不稳定系数为 39.26(< 40), 属稳定蛋白。*Sglt1* 蛋白具有 10 个跨膜结构, 含有 26 个丝氨酸、10 个苏氨酸和 14 个酪氨酸的潜在磷酸化位点。通过构建系统发育进化树表明, 鳊与棘头梅童鱼(*Collichthys lucidus*)、日本尖吻鲈(*Lates japonicus*)、青花鱼(*Scomber scombrus*)和大黄鱼等鱼类的亲缘关系相对较远。

鳊 *Glut2* 基因 cDNA 序列, 由 1527 个核苷酸组成, 编码 408 个氨基酸, 分子量和等电点为 55579.29 Da/7.94(图 3)。分子式组成为 C₂₅₄₅H₃₉₈₂N₆₃₂O₆₉₇S₃₁, 其中具有 41 个正电荷残基(Arg + Lys), 39 个负电荷残基(Asp + Glu), 不稳定系数为 35.56 (<40), 属稳定蛋白。*Glut2* 蛋白具有 11 个跨膜结构, 含有 24 个丝氨酸、9 个苏氨酸和 6 个酪氨酸的潜在磷酸化位点。通过构建系统发育进化树表明, 鳊与欧洲鲈(*Dicentrarchus labrax*)、大黄鱼、花鲈(*Lateolabrax maculatus*)的亲缘关系相对较近, 同花鲈亲缘关系最近。

2.2 进食对鳊血糖水平影响

进食后 16 h 内, 鳊血糖含量随时间呈现先增加后降低至正常水平。进食后 2 h 内, 血糖水平无

明显变化; 进食后 4 h, 血糖显著上升, 6 h 达到峰值, 较 0 h 上升 1.54 倍($P<0.01$); 12 h 时, 血糖开始下降, 与 0 h 无显著差异($P>0.05$), 血糖水平恢复正常状态(图 4a)。

2.3 进食后鳊幽门盲囊、前肠和中肠糖原含量的变化

进食后, 鳊幽门盲囊、前肠和中肠中糖原含量均呈先增加后降低的趋势。进食后 4 h, 糖原含量开始显著上升($P<0.05$), 6 h 达到峰值后开始下降(图 4b~4d)。6 h 前, 消化道内糖原输入量大于糖原消化量, 前肠和中肠的糖原净变化量大于幽门盲囊; 6 h 后, 消化道内的糖原含量下降, 幽门盲囊内的糖原含量变化大于前肠和中肠(图 4e)。

2.4 进食后鳊幽门盲囊、前肠和中肠淀粉酶活性和基因表达

进食后, 鳊幽门盲囊、前肠、中肠淀粉酶活性皆在 4 h 开始显著上升, 在 6 h 淀粉酶活性最高, 在 12 h 幽门盲囊和前肠淀粉酶活性与 0 h 无显著差异($P>0.05$), 中肠在 16 h 才基本恢复进食前水平。除 4 h 和 6 h 外, 其余时间段幽门盲囊和前肠淀粉酶活性都显著高于中肠($P<0.05$), 幽门盲囊和前肠在各时间段都无显著差异($P>0.05$)(图 5a)。幽门盲囊、前肠、中肠 *Amy* mRNA 表达与淀粉酶活性变化趋势基本一致, *Amy* mRNA 表达在 2 h 开始显著上升($P<0.05$), 6 h 表达最高。前肠、幽门盲囊的 *Amy* mRNA 表达高于中肠(图 5b)。

2.5 胰脏组织学观察

鳊胰脏呈颗粒状, 以散布致密型分布, 集中分布在幽门盲囊周围和前肠之间的肠系膜上(图 6)。

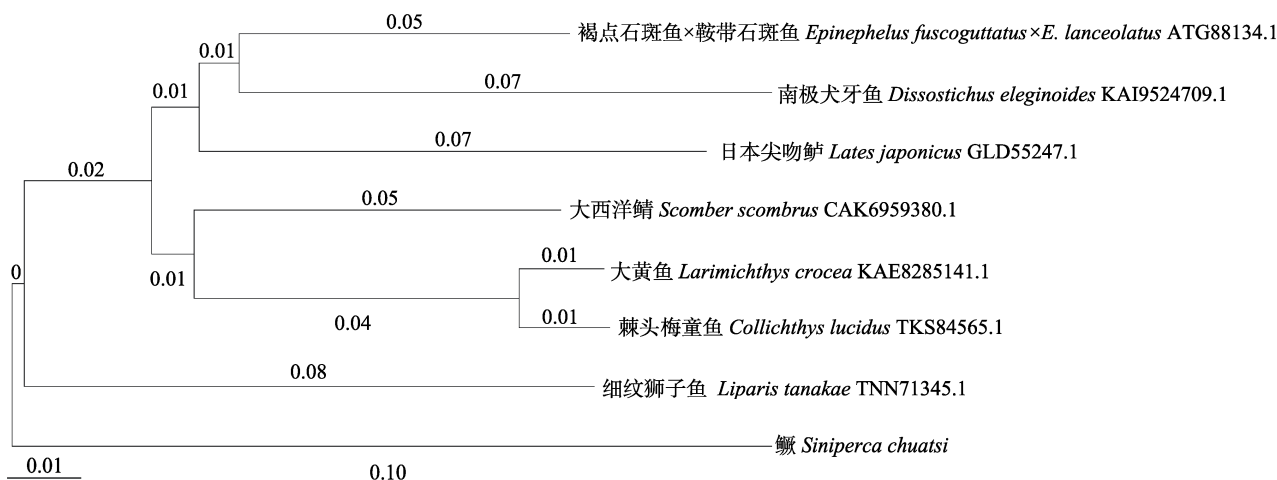
[illegible]

图2 鳊 *Sglt1* cDNA 序列、编码氨基酸序列分析及 *Sglt1* 蛋白和其他鱼类的系统发育关系
结构域用下划线标出, S 代表丝氨酸, T 代表苏氨酸, Y 代表酪氨酸.

Fig. 2 Mandarin fish *Sglt1* cDNA sequence, deduced amino acid sequence analysis and the phylogenetic relationships between Sglt1 protein in mandarin fish and other fish species

The structural domain is marked with underline, S represents serine, T represents threonine, and Y represents tyrosine.

[illegible]

(待续 to be continued)

(续图 3 Fig. 3 continued)

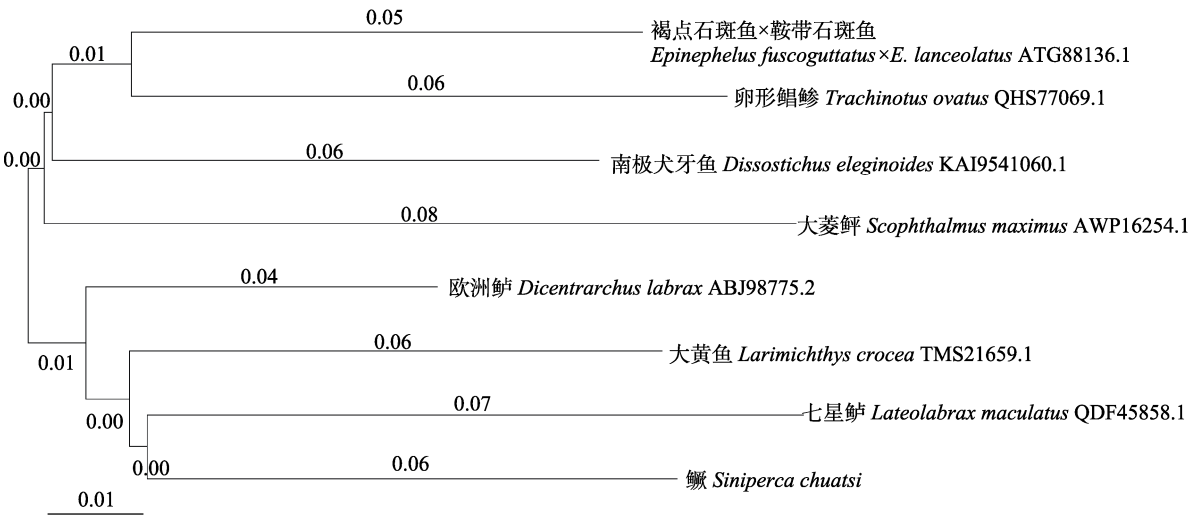


图 3 鳊 *Glut2* cDNA 序列、编码氨基酸序列分析及 *Glut2* 蛋白和其他鱼类的系统发育关系
结构域用下划线标出, S 代表丝氨酸, T 代表苏氨酸, Y 代表酪氨酸。
Fig. 3 Mandarin fish *Glut2* cDNA sequence, deduced amino acid sequence analysis and the phylogenetic relationships between *Glut2* protein in mandarin fish and other fish species
The structural domain is marked with underline, S represents serine, T represents threonine, and Y represents tyrosine.

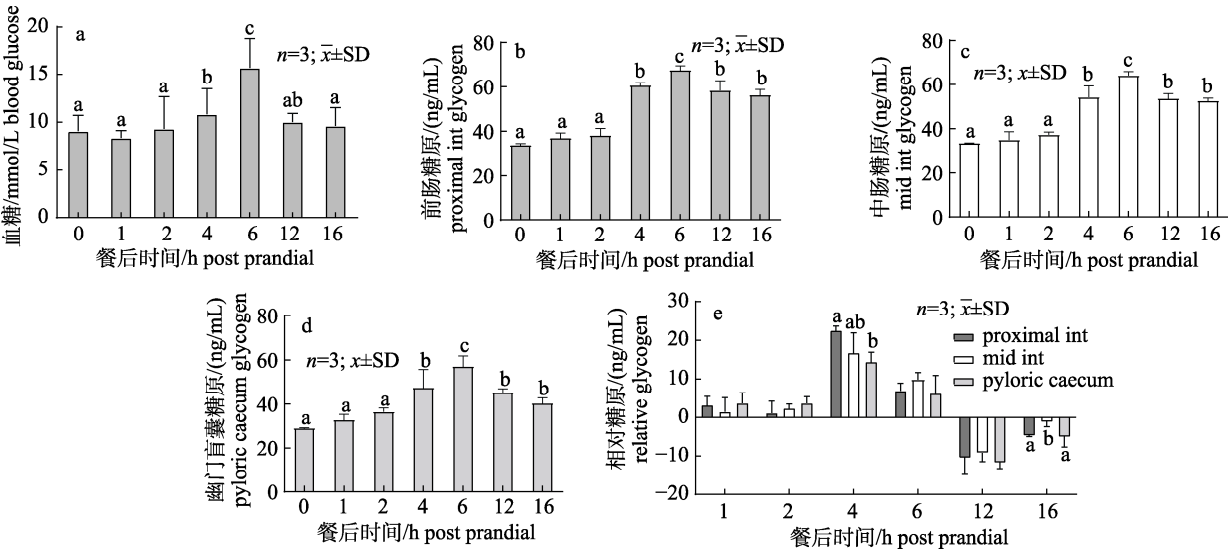


图 4 进食对鳊血糖和糖原水平变化的影响
不同小写字母表示不同时间差异显著($P<0.05$).
Fig. 4 Effect of feeding on blood glucose and glycogen level changes of mandarin fish
Different lowercase letters indicate significant difference among different time ($P<0.05$)

2.6 鳊幽门盲囊、前肠和中肠 *Sglt1* mRNA、*Glut2* mRNA 表达

进食后, *Sglt1* mRNA 表达呈先升高后下降再升高的动态趋势(图 7a)。进食后 1 h, *Sglt1* mRNA 表达显著上升, 随后下降, 6 h 达到最低, 之后 *Sglt1* mRNA 表达升高, 12 h 恢复进食前水平

($P>0.05$)。幽门盲囊 *Sglt1* mRNA 表达水平显著高于前肠和中肠($P<0.05$)。

进食后, *Glut2* mRNA 表达呈先上升后下降的趋势, 2 h 明显上升($P<0.05$), 6 h 达到峰值, 16 h 基本恢复(图 7b)。幽门盲囊 *Glut2* mRNA 表达水平显著高于前肠和中肠($P<0.05$)。

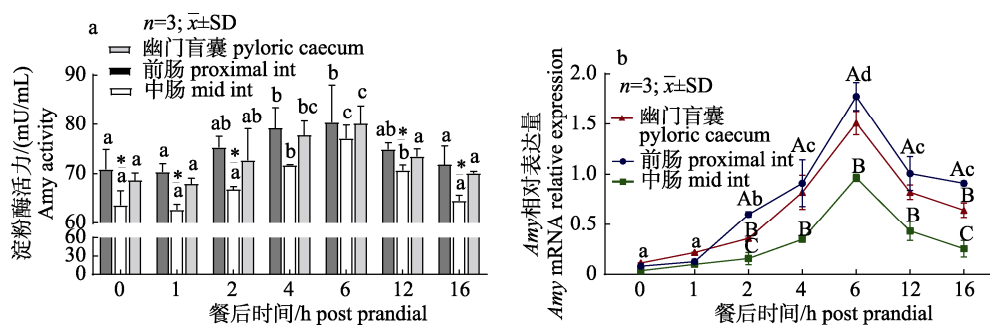


图 5 餐后鳊淀粉酶活性及 *Amy* mRNA 表达

不同小写字母表示不同时间表达量差异显著 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示不同部位间表达差异显著 ($P < 0.05$)

Fig. 5 Postprandial amylase activity and *Amy* mRNA expression in mandarin fish

Different lowercase letters indicate significant difference among different times ($P < 0.05$). Different capital letters indicate significant difference between tissues ($P < 0.05$).

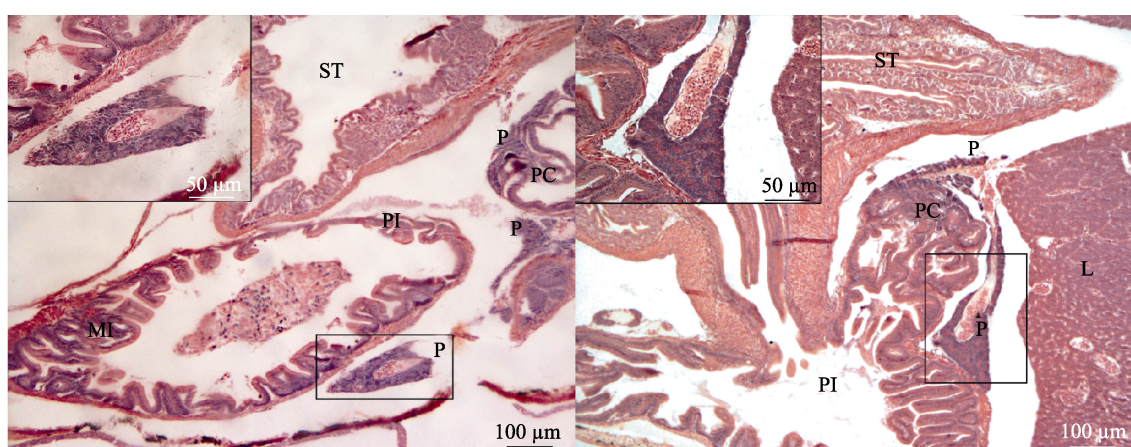


图 6 鳊胰脏组织学观察

ST: 胃; PC: 幽门盲囊; PI: 前肠; MI: 中肠; L: 肝脏; P: 胰脏.

Fig. 6 Histological observation of the mandarin fish pancreas

ST: stomach; PC: pyloric caecum; PI: proximal intestine; MI: mid intestine; L: liver; P: pancreas.

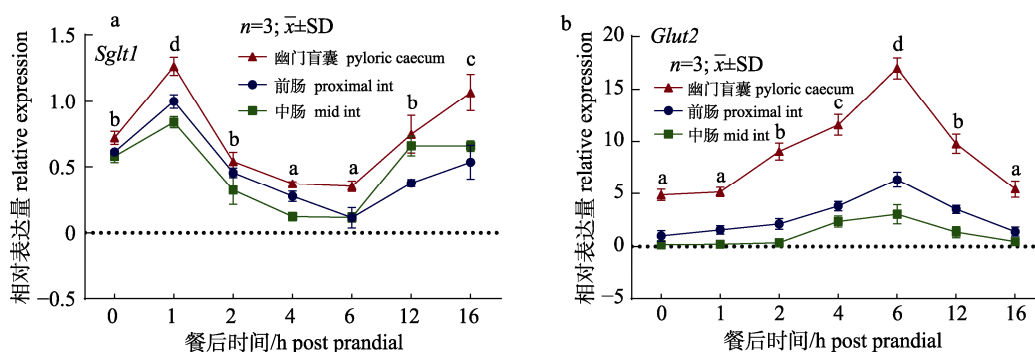


图 7 鳊餐后幽门盲囊、前肠和中肠 *Sglt1*、*Glut2* mRNA 表达

Fig. 7 *Sglt1* and *Glut2* mRNA expression in postprandial pyloric caecum, proximal intestine and mid intestine in mandarin fish

3 讨论

本次研究中, 鳊进食 2 h 后, 解剖发现胃中饵料鱼开始有部分消化分解, 4 h 后消化分解较充分,

6 h 后肌肉大部分被完全分解, 12 h 食物已变为食糜状态, 16 h 胃排空, 表明鳊胃对食物消化分解最旺盛的阶段在进食后 4~6 h。同时, 鳊消化道(幽门盲囊、肠道)内糖原含量在进食后 4 h 开始显著

增加, 6 h 糖原含量最高(图 3); 6 h 内消化道内糖原净含量增加, 6 h 后消化道内糖原净含量降低。据此, 笔者认为鳊进食后 6 h 后, 胃中饵料鱼肌肉以被分解, 没有多余的糖原转入幽门盲囊和肠内。进食后 4~12 h 期间, 消化道内糖原变化量显著大于其他时间段。淀粉酶主要由胰腺分泌, 糖原需经淀粉酶消化。有学者先后对鳊消化道淀粉酶活性做了研究, 但不同学者研究结果并非一致^[14-16]。杨秀平等^[14]研究表明, 鳊(18~27 cm)胃中未检测到淀粉酶活性, 肠内容物、胰脏、肠黏膜、幽门盲囊中淀粉酶活性依次降低。马燕梅等^[15]研究发现, 在温度为(37±1) °C, pH 为 5 的条件下, 鳊[(26.2~27.7) cm]淀粉酶活性在肝脏、幽门盲囊、胃、肠中的活性逐渐降低。李玲等^[16]研究表明, 鳊[(30.5±1.5) cm]淀粉酶的最适 pH 为 6.6~7.0, 在最适 pH 条件下, 淀粉酶活性大小为: 肝胰脏>胃>前肠>中肠>幽门盲囊>后肠。本实验结果表明, 鳊进食后, 前肠以及幽门盲囊中的淀粉酶活性要显著高于中肠, 前肠与幽门盲囊间无显著差异, 即前肠与幽门盲囊均参与食物碳水化合物的消化作用。不同研究中各消化道中淀粉酶活性存在差异, 可能是实验鱼规格、摄食状况、实验条件(温度)、测试技术存在差异引起的, 但都表明, 幽门盲囊含有淀粉酶活性, 支持幽门盲囊参与糖类的消化作用。并且, 淀粉酶活性受个体发育控制, 摄食习惯和食性也会影响淀粉酶活性^[17-19]。鳊淀粉酶活性在进食后 4 h 开始显著上升, 6 h 达到峰值; *Amy* mRNA 表达量在 2 h 开始显著上升, 6 h 达到峰值, 变化趋势与淀粉酶活性一致, 并且二者与消化道内糖原含量变化基本一致。淀粉酶主要由胰脏分泌, 组织学分析表明, 鳊胰脏分布在幽门盲囊和前肠肠系膜内, 这也证明前肠和幽门盲囊淀粉酶活性和 *Amy* mRNA 表达量显著高于中肠的原因。餐后 4~12 h 期间淀粉酶活性要高于其他时间点, 说明鳊幽门盲囊和肠道对糖原消化时间主要集中在餐后 4~12 h, 并且此时对糖消化作用显著。因此, 笔者认为, 鳊对糖类的消化作用主要在幽门盲囊和前肠。

葡萄糖吸收是通过消化道上皮 *Sgt1* 与 *Glut2*

联合作用实现, 其转录水平表达影响转运蛋白的合成, 进而影响机体对糖的转运能力^[20]。在泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)肠道中检测到 *Sgt* 的葡萄糖转运活性, 并参与了葡萄糖的转运吸收^[21]。对虹鳟投喂高糖饲料, 肠道中 *Sgt1* 表达量显著升高^[22]。在鲤(*Cyprinus Carpio* L.)前、中、后肠中, *Sgt1* mRNA 表达量随饲料中糖添加量的增加而呈显著增加^[23]。武昌鱼(*Megalobrama amblycephala*)肠道 *Sgt1* mRNA 水平随膳食淀粉水平的增加而升高^[24]。草鱼 *Sgt1* 和 *Sgt2* 基因在葡萄糖吸收过程中发挥作用, 维持血糖稳态^[9]。本研究从鳊 17 个组织的转录组数据库^[25]中, 鉴定并分析了 *Sgt1*、*Glut2* 基因, 并推测出氨基酸序列。本研究表明, 鳊进食后 1 h, *Sgt1* mRNA 表达显著升高, 随后下降, 6 h 下降至最低点, 在 12 h 和 16 h 显著上升, 但仍显著低于 1 h, 但与初始水平无显著差异。值得注意的是, 血糖水平在 6 h 最高, *Sgt1* mRNA 的表达与血糖水平呈相反趋势。这可能由于鳊是肉食性鱼类, 对糖不耐受有关(Zhang 等^[26]通过对鳊喂食 5 种不同水平的碳水化合物饲料表明, 饲料中高水平的碳水化合物会导致鳊血糖升高以及肝脏脂质沉积过多; 饲料中碳水化合物比例的添加实验表明, 鳊对高膳食碳水化合物无法合理利用, 对糖的耐受性较差^[27])。餐后 6 h 血糖水平已达到峰值, 鳊对血浆葡萄糖的清除速率慢, 因此 *Sgt1* mRNA 的表达下降, 以此来抑制葡萄糖向细胞内的吸收。

值得注意的是, *Glut2* mRNA 表达与 *Sgt1* mRNA 表达完全不同, 在幽门盲囊、前肠和中肠 *Sgt1* mRNA 在 6 h 表达呈最低值, *Glut2* mRNA 表达为峰值。 *Glut2* mRNA 表达呈先升高后下降的趋势, 在 6 h 达到峰值, 16 h 基本回到餐前水平。花鲈进食后 1 h, *Glut2* mRNA 表达显著升高随后下降^[28]。军曹鱼(*Rachycentron canadum*)注射葡萄糖后, 肠 *Glut2* mRNA 表达量显著上升^[29]。鳊 *Glut2* mRNA 表达变化趋势与血糖基本一致, 呈正比关系。大西洋鲑肝脏中的 *Glut2* 的表达量和血浆葡萄糖含量表现出一样的变化趋势, 饲喂状态下的表达量明显高于饥饿状态下^[30]。 *Glut2* 在

某些释放葡萄糖的组织中相对丰富,如肝脏和肠道^[31]。对斑马鱼禁食后复投,肠道中 *Glut2* mRNA 水平改变,表明 *Glut2* 在肠中的表达可能受营养状况的调控^[32]。

在本研究中,餐后 1 h, *Sglt1* mRNA 表达最高,表明此时食物经幽门盲囊或前肠淀粉酶消化分解后的葡萄糖被迅速吸收,开始进入体内细胞, *Sglt1* 快速启动机体葡萄糖吸收作用。随着食物充分消化,血糖 6 h 到达高峰,而 *Sglt1* mRNA 表达显著下降,这可能缘于肉食性鱼类肠道短、糖吸收能力有限,或是肉食性鱼类避免高糖吸收的保护性反应。*Glut2* mRNA 表达水平反应葡萄糖转运能力,餐后 4~12 h, *Glut2* mRNA 表达高于其他时段,6 h 达到高峰,且 *Glut2* mRNA 表达与血糖水平变化一致,说明该时段是葡萄糖吸收进入体内后的高效转运时段。由于幽门盲囊中 *Sglt1* 和 *Glut2* mRNA 表达量显著高于前肠和中肠,这表明,幽门盲囊对糖的吸收转运能力要大于前肠和中肠,即幽门盲囊是鳊葡萄糖消化、吸收与转运的主要部位。

4 结论

基于对鳊进食后,餐后胃内容物变化观察表明,餐后 4~6 h 期间胃消化最为旺盛。由消化道糖原含量变化、淀粉酶活性及其 mRNA 表达变化证明,鳊对糖类的消化时间主要在餐后 4~12 h,幽门盲囊和前肠是糖类消化作用的主要部位。并且,由葡萄糖转运蛋白基因表达和血糖变化表明,鳊幽门盲囊是吸收与转运葡萄糖的主要部位。本文有助于进一步了解鳊幽门盲囊的生理功能,并可为鳊人工饲料碳水化合物利用研究提供参考。

参考文献:

- [1] Xu G F, Chen X J, Du J, et al. Fish digestive system: It's structure, function and the distributions and characteristics of digestive enzymes[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2009, 22(4): 49-55. [徐革锋, 陈侠君, 杜佳, 等. 鱼类消化系统的结构、功能及消化酶的分布与特性[J]. 水产学杂志, 2009, 22(4): 49-55.]
- [2] Buddington R K, Diamond J M. Aristotle revisited: The function of pyloric caeca in fish[J]. PNAS, 1986, 83(20): 8012-8014.
- [3] Zimmerman A M, Wheeler P A, Ristow S S, et al. Composite interval mapping reveals three QTL associated with pyloric caeca number in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*[J]. Aquaculture, 2005, 247(1-4): 85-95.
- [4] Xu A, Liu X Y, Zhang Y, et al. Activities of digestive enzymes at different developmental stages in sterlet *Acipenser ruthenus* Linnaeus[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2014, 29(5): 476-480. [徐翱, 刘晓勇, 张颖, 等. 小体鲟雌性亲鱼性腺不同发育时期消化酶分布及其活性的研究[J]. 大连海洋大学学报, 2014, 29(5): 476-480.]
- [5] Cui A J, Xu Y J, Liu X Z, et al. Comparative analysis of digestive enzyme activities among three *Seriola* species[J]. Progress in Fishery Sciences, 2022, 43(6): 102-110. [崔爱君, 徐永江, 柳学周, 等. 3 种养殖鱼消化相关酶活性的比较分析[J]. 渔业科学进展, 2022, 43(6): 102-110.]
- [6] NRC. Nutrient requirements of fish and shrimp[M]. Washington, DC: National Academy Press, 2011.
- [7] Hilton J W, Atkinson J L. Response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to increased levels of available carbohydrate in practical trout diets[J]. The British Journal of Nutrition, 1982, 47(3): 597-607.
- [8] Pan L, Shen J F, Liu H Y, et al. Molecular cloning and characterization of *GLUT2* from pompano (*Trachinotus ovatus*), and its gene expression in response to exogenous enzymes supplementation in high carbohydrate diet[J]. Aquaculture Reports, 2022, 22: 100999.
- [9] Tang W Y, Yang G K, Zhao W L, et al. Cloning of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) *SGLT1/2* genes and effect of glucose on its mRNA expression[J]. Journal of Fisheries of China, 2021, 45(1): 10-22. [唐文斌, 杨国坤, 赵文丽, 等. 草鱼 *SGLT1/2* 基因克隆及葡萄糖处理对其 mRNA 表达的影响[J]. 水产学报, 2021, 45(1): 10-22.]
- [10] Syakuri H, Adamek M, Jung-Schroers V, et al. Glucose uptake in the intestine of the common carp *Cyprinus carpio*: Indications for the involvement of the sodium-dependent glucose cotransporter 1 and its modulation under pathogen infection[J]. Aquaculture, 2019, 501: 169-177. [LinkOut]
- [11] Röder P V, Geillinger K E, Zietek T S, et al. The role of SGLT1 and GLUT2 in intestinal glucose transport and sensing[J]. PLoS One, 2014, 9(2): e89977.
- [12] Chaudhry R M, Scow J S, Madhavan S, et al. Acute enterocyte adaptation to luminal glucose: A posttranslational mechanism for rapid apical recruitment of the transporter GLUT2[J]. Journal of Gastrointestinal Surgery, 2012, 16(2): 312-319.
- [13] Zhao L L, Shi L L, Zhao J L, et al. Histological features of

- organogenesis of the pyloric *Caecum* of *Siniperca chuatsi*[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2021, 30(4): 684-690. [赵亮亮, 施琳澜, 赵金良, 等. 鳊幽门盲囊早期发育的组织学特征[J]. 上海海洋大学学报, 2021, 30(4): 684-690.]
- [14] Yang X P, Zhang J Z, Zeng K W, et al. Studies on the digestive enzymes in the mandarin fish *Siniperca chuatsi*[J]. Reservoir Fisheries, 2003, 23(3): 1-4. [杨秀平, 张金洲, 曾可为, 等. 不同饲喂条件对鳊淀粉酶活性的影响[J]. 水利渔业, 2003, 23(3): 1-4.]
- [15] Ma Y M, Mei J L, Lin S G. Studies on the main digestive enzyme activities in StomachIntestine and liver of *Siniperca chuatsi*[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2004, 26(4): 584-588. [马燕梅, 梅景良, 林树根. 鳊胃肠道和肝脏主要消化酶活性的研究[J]. 江西农业大学学报, 2004, 26(4): 584-588.]
- [16] Li L, Chu G S. The study for the activity of the digestive enzyme of Mandarin fish[J]. Jilin Water Resources, 2010(1): 50-52, 64. [李玲, 楚国生. 鳊鱼消化酶活性的研究[J]. 吉林水利, 2010(1): 50-52, 64.]
- [17] Chan A S, Horn M H, Dickson K A, et al. Digestive enzyme activities in carnivores and herbivores: Comparisons among four closely related prickleback fishes (Teleostei: Stichaeidae) from a California rocky intertidal habitat[J]. Journal of Fish Biology, 2004, 65(3): 848-858.
- [18] German D P, Horn M H, Gawlicka A. Digestive enzyme activities in herbivorous and carnivorous prickleback fishes (Teleostei: Stichaeidae): Ontogenetic, dietary, and phylogenetic effects[J]. Physiological and Biochemical Zoology, 2004, 77(5): 789-804.
- [19] López-Vásquez K, Castro-Pérez C A, Val A L. Digestive enzymes of eight Amazonian teleosts with different feeding habits[J]. Journal of Fish Biology, 2009, 74(7): 1620-1628.
- [20] Blanco A M, Bertucci J I, Ramesh N, et al. Ghrelin facilitates GLUT2-, SGLT1- and SGLT2-mediated intestinal glucose transport in goldfish (*Carassius auratus*)[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 45024.
- [21] Gonçalves A F, Castro L F C, Pereira-Wilson C, et al. Is there a compromise between nutrient uptake and gas exchange in the gut of *Misgurnus anguillicaudatus*, an intestinal air-breathing fish?[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics, 2007, 2(4): 345-355.
- [22] Kirchner S, Panerat S, Lim P L, et al. The role of hepatic, renal and intestinal gluconeogenic enzymes in glucose homeostasis of juvenile rainbow trout[J]. Journal of Comparative Physiology B, 2008, 178(3): 429-438.
- [23] Qin C B, Yang L P, Zheng W J, et al. Effects of dietary glucose and sodium chloride on intestinal glucose absorption of common carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2018, 495(2): 1948-1955.
- [24] Liang H L, Ge X P, Ren M C, et al. Molecular characterization and nutritional regulation of sodium-dependent glucose cotransporter 1 (Sgt1) in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. Scientific Reports, 2021, 11: 13962.
- [25] Shen Y W, Cao M, Tang S J, et al. Genomic and functional characterization of the *lect2* gene from *Siniperca chuatsi*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2020, 107: 146-155.
- [26] Zhang Q W, Zhang Y P, Feng H X, et al. Adaptation of Chinese perch (*Siniperca chuatsi*) to different levels of dietary carbohydrates[J]. Aquaculture Reports, 2024, 36: 102044.
- [27] Zhang Y P, Liang X F, He S, et al. Metabolic responses of Chinese perch (*Siniperca chuatsi*) to different levels of dietary carbohydrate[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2021, 47(5): 1449-1465.
- [28] Fan H Y, Zhou Y Y, Wen H S, et al. Genome-wide identification and characterization of glucose transporter (*glut*) genes in spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) and their regulated hepatic expression during short-term starvation[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics, 2019, 30: 217-229.
- [29] Ye G L, Zhang W C, Dong X H, et al. Effects of acute hyperglycaemia stress on indices of glucose metabolism and glucose transporter genes expression in cobia (*Rachycentron canadum*)[J]. Aquaculture Research, 2020, 51(2): 584-594.
- [30] Hall J R, Short C E, Driedzic W R. Sequence of Atlantic cod (*Gadus morhua*) GLUT4, GLUT2 and GPDH: Developmental stage expression, tissue expression and relationship to starvation-induced changes in blood glucose[J]. The Journal of Experimental Biology, 2006, 209(Pt 22): 4490-4502.
- [31] Li S L, Li Z Q, Sang C Y, et al. Glucose transporters in pearl gentian grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂): Molecular cloning, characterization, tissue distribution and their expressions in response to dietary carbohydrate level[J]. Aquaculture Research, 2018, 49(1): 253-264.
- [32] Castillo J, Crespo D, Capilla E, et al. Evolutionary structural and functional conservation of an ortholog of the *GLUT2* glucose transporter gene (*SLC2A2*) in zebrafish[J]. American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 2009, 297(5): R1570-R1581.

Role of pyloric caecum in the digestion and absorption of sugars in mandarin fish (*Siniperca chuatsi*)

GAO Jinhua^{1,2,3}, ZHAO Liangliang^{1,2,3}, YAO Xiaoli^{1,2,3}, SONG Yindu^{1,2,3}, MA Chenxi^{1,2,3}, ZHAO Jinliang^{1,2,3*}

1. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
3. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: Mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) is a highly valuable freshwater carnivorous fish species that is extensively cultured in China. The pyloric caecum is a unique structure in the digestive tract of carnivorous fish that plays a crucial role in the digestion and absorption of food proteins and lipids. However, the effects of the pyloric caecum on digestion and absorption remain unclear. In this study, we aimed to investigate the role of the pyloric caecum in the digestion and absorption of sugars in mandarin fish. Through a feeding experiment with mandarin fish, we compared and analyzed the blood glucose level, glycogen content, amylase activity, and *amylase (Amy)* mRNA, Na^+ /glucose transporters 1 (*Sglt1*) mRNA and glucose transporter 2 (*Glut2*) mRNA expression in the pyloric caecum, proximal intestine, and mid-intestine after feeding for 0 to 16 h. The results indicated that following feeding, the trends in glycogen content, amylase activity, and *Amy* mRNA expression were consistent, with all showing an increasing and then decreasing trend and a peak at 6 h. Moreover, the values were significantly higher from 4 to 12 h compared to the other time periods. During other periods, amylase activity and *Amy* mRNA expression did not significantly differ between the pyloric caecum and proximal intestine; however, both were significantly higher than those observed in the mid-intestine. The changes in blood glucose levels were consistent with the glycogen content trends in the pyloric caecum, proximal intestine, and mid-intestine after feeding for 0 to 16 h. When blood glucose levels increased, *Sglt1* may mainly play a key role in glucose absorption, while the transport of sugars may be mediated by *Glut2*. The expression of *Sglt1* mRNA peaked at 1 h after feeding in the pyloric caecum, proximal intestine, and mid-intestine. The expression of *Glut2* mRNA in the pyloric caecum was significantly higher than that in the proximal intestine and very significantly higher than that in the mid-intestine. Additionally, the *Glut2* mRNA expression levels were significantly greater at 4 h to 12 h compared to the other time intervals. In conclusion, the pyloric caecum of mandarin fish is one of the main digestive and absorptive tissues, and the peak period for sugar digestion and absorption was between 4 h and 12 h after feeding.

Key words: *Siniperca chuatsi*; pyloric caecum; sugar; amylase; *Sglt1*; *Glut2*

Corresponding author: ZHAO Jinliang. E-mail: jlzhao@shou.edu.cn