

文章编号: 1674-5566(2016)01-0001-07

3种鳊鱼生长与摄食量、胃蛋白酶活性和胃蛋白酶原基因表达相关分析

李传阳¹, 许淼洋¹, THAMMARATSUNTORN Jeerawat¹, 赵金良¹, 钱叶洲²,
吴超², 钱德²

(1. 上海海洋大学 农业部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306; 2. 安徽省池州市秋浦特种水产开发有限公司, 安徽 池州 247104)

摘要: 为了解不同种类鳊鱼生长差异的生理基础与机制, 比较研究了鳊(*Siniperca chuatsi*)、斑鳊(*Siniperca scherzeri*)和杂交鳊(斑鳊♀×鳊♂)幼鱼30 d内的生长速率与日摄食量、胃蛋白酶活性和胃蛋白酶原(*PGA1*、*PGA2*、*PGC*)基因相对表达量间的关系。结果表明, 鳊、杂交鳊和斑鳊日增重率分别为(1.171±0.180) g/d、(1.019±0.104) g/d和(0.433±0.078) g/d, 生长速率快慢次序是鳊>杂交鳊>斑鳊。鳊、杂交鳊和斑鳊平均日摄食量分别为(6.1±0.31) g/d、(5.26±0.33) g/d、(4.24±0.23) g/d。胃蛋白酶比活力最高部位是胃, 实验前期, 3种鳊鱼胃蛋白酶比活力差异不显著; 后期, 鳊、杂交鳊和斑鳊胃蛋白酶比活力分别为(347.8±13.3) U/g、(303.4±12.1) U/g和(272.1±10.9) U/g。胃蛋白酶原基因表达量随生长阶段缓慢增加, *PGC*:*PGA1*:*PGA2*基因相对表达量比例是1.1:1.0:0.7; 鳊胃蛋白酶原基因的相对表达量均为最高, 杂交鳊相对表达量略高于斑鳊($P<0.05$)。结果表明, 3种鳊鱼的生长速率快慢与它们的摄食量大小之间呈正相关, 摄食量大小与其消化能力间也具有相对应的关系。

关键词: 鳊鱼; 生长; 日摄食量; 胃蛋白酶; 活性; 基因表达

中图分类号: S 917 **文献标志码:** A

鱼类的生长意味着蛋白质的合成和增加, 最直观体现在体长和体质量的增加^[1]。鱼类的生长问题一直都是鱼类生理学研究的热点话题。同种鱼的不同个体生长速率与其摄食量大小有直接关系, 生长较快的个体摄食量较大^[2-5]。由于不同种类的摄食习性、食物组成和消化酶多样性, 种间生长比较往往十分困难, 因此, 对不同种鱼生长差异机制的报道并不多。

鳊(*Siniperca chuatsi*)和斑鳊(*S. scherzeri*)是鳊鱼养殖的主要种类。它们摄食习性相同, 但是生长差异明显。在人工养殖条件下, 鳊达到商品规格需要6个月, 斑鳊却需要大约2年时间^[6]。通过人工授精获得的杂交鳊(斑鳊♀×鳊♂)生长性状介于两亲本之间^[7]。由于它们都只以活

饵为食^[8], 这为不同种类鳊鱼生长与摄食量间关系研究提供了基础与方便。

胃蛋白酶(pepsin)是肉食性鱼类胃消化能力的重要参数。实验室前期已克隆了鳊^[9-10]和斑鳊^[11-12]3种胃蛋白酶原基因(*PGA1*、*PGA2*、*PGC*)cDNA全序列。原位杂交表明, 鳊胃蛋白酶原、胃质子泵基因均在胃腺细胞中表达^[10], *PGA1*、*PGA2*和*PGC*基因不同发育表达模式暗示它们在胃内消化作用中的特殊性^[6]。在前期工作的基础上, 本研究目的是进一步探究不同种鳊鱼生长差异与其摄食量、胃蛋白酶活性和胃蛋白酶原基因表达间的内在联系, 旨在通过摄食量和消化水平对鳊鱼种间生长差异进行分析和比较, 为理解鱼类种间生长差异提供生理与分子基础。

收稿日期: 2015-04-04 修回日期: 2015-06-04

基金项目: 上海市科委基础研究重点项目(09JC1406900); 水产动物遗传育种中心上海市协同创新中心(ZF1206); 池州市秋浦特种水产开发有限公司专项资金(2012A01)

作者简介: 李传阳(1990—), 男, 硕士研究生, 研究方向为动物遗传育种与繁殖。E-mail: lichuan yang123@126.com

通信作者: 赵金良, E-mail: jlzhao@shou.edu.cn

1 材料与方法

1.1 实验材料

幼鱼取自安徽省池州市秋浦特种水产开发有限公司, 鳊、斑鳊、杂交鳊(斑鳊♀ × 鳊♂) 为同批繁殖鱼, 每种鱼 120 尾, 体长 5~6 cm。运回之后, 分养在条件相同的 3 个循环水箱中, 水箱大小是 1.2 m × 0.7 m × 0.5 m。水箱所使用的循环水是提前准备好的曝气水, 并且加入适量的消毒液, 水体温度保持在 (27 ± 1) °C, pH 为 (7.4 ± 0.3), 水质较好。养殖期间, 每天上午 8:00 和下午 16:00 喂食充足的饵料鱼, 饵料鱼是规格相当的草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 苗, 小于鳊鱼体长的 1/3; 每次的投喂量是 160~180 尾, 定期清理粪残, 每周换水一次, 每次换水一半。

实验的当天, 早上 8 点投喂, 下午 6 点进行实验, 中间时间不投喂, 随机选择 6 尾个体。冰上解剖, 分别取全胃、肠道中段、幽门垂和部分肝脏, 剔除组织附属物, 4 °C 去离子水冲洗, 滤纸吸干。将胃平均分成左右两半, 一半用于测量胃蛋白酶比活力, 另一半用于分析胃蛋白酶原基因的表达。

1.2 实验方法

1.2.1 生长实验

3 种鳊分养在 3 个水箱, 每个水箱 80 尾, 每隔 10 d (0 d, 10 d, 20 d, 30 d) 测量一次, 每次每种鱼随机捞取 20 尾, 测量体长、体质量。然后按照如下公式, 分别计算日均增重率和日均增长率:

$$A_{CW} = (W_t - W_0) / D \quad (1)$$

$$A_{CL} = (L_t - L_0) / D \quad (2)$$

式中: A_{CW} 为日均增重率 (g/d); W_t 为称量的末体质量; W_0 为称量的初体质量; A_{CL} 为体长日均增加率 (cm/d); L_t 为称量的末体长; L_0 为称量的初体长; D 为实验的间隔天数。

1.2.2 日摄食量

摄食量参照 AGUADO 等^[13] 方法, 在每次生长实验的中间 3 天 (第 4 天, 第 5 天和第 6 天) 连续进行, 每天测量一次。上午投喂前, 清理全部剩余饵料鱼, 称重投喂饵料鱼, 记为 m_1 ; 下午投喂前称重饵料鱼, 记为 m_2 ; 第二天上午投喂前, 捞起剩余饵料鱼并称重, 记为 m_3 。日摄食量的计算公式为:

$$D_F(\text{g/f}) = (m_1 + m_2 - m_3) / n \quad (3)$$

式中: D_F 为平均日摄食量; m_1 、 m_2 、 m_3 分别为饵料鱼的质量; n 为实验鱼的数目。

1.2.3 胃蛋白酶比活力测定

每种组织 (胃、幽门垂、肠道、肝脏) 称量 0.1 g, 加入 1 mL 预冷的去离子水 (4 °C), 用组织匀浆器打碎, 冷冻离心机 8 000 r/min 离心 10 min。收集上清液, 即为酶液。酶液中胃蛋白酶浓度用 BCA 蛋白定量试剂盒 (美国 Thermo 公司) 测量, 按说明书计算出胃蛋白酶的浓度, 记为 C 。每个个体的酶液单独测量, 最后计算平均值。

胃蛋白酶比活力的测定参照 ANSON 等^[14] 的方法进行, 用 2% 牛血红蛋白作为消化底物, 用 Tris-HCl 调节反应液 pH 到 2。酶标仪 (Synergy H1 Bio-tek, 美国) 读出反应液在 280 nm 吸光值。

胃蛋白酶比活力的计算公式为:

$$SP = (A_{280\text{nmtest}} - A_{280\text{nmblank}}) / T \times C \times V \times 0.001 \quad (4)$$

式中: SP 为胃蛋白酶比活力; T 为孵育时间; C 为酶液浓度; V 为样品溶液体积; 0.001 为 280 nm 吸光度变化单位。

1.2.4 胃蛋白酶原基因表达

采用 Trizol 抽提法提取胃组织总 RNA, 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 质量, 分光光度计测量 RNA 浓度。cDNA 合成采用 PrimeScript[®] RT reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒进行, 取 1 μg 总 RNA 为模板, 42 °C 条件下反应。反应液放入 4 °C 冰箱里保存。

根据鳊胃蛋白酶原基因 (GenBank 登录号为 *PGA1*: EU807930.1, *PGA2*: FJ463155.1, *PGC*: EU807929.1) 保守区序列设计, 用 Primer5 软件分别设计特异性引物 (表 1)。 β -actin 基因 (GenBank 登录号: AY885683.1) 用作内参基因。经标准曲线筛选之后, 保证引物扩增效率在 95% 以上。

荧光定量 PCR 采用 SYBR Premix Ex Taq[™] 试剂盒进行。反应体系是 25 μL, 反应条件为: 95 °C 30 s 预变性, 95 °C 5 s, 59.4~60.5 °C 30 s, 65 °C 10 s, 40 个循环, 95 °C 5 min 延伸。每个样品做 3 个重复, 内参基因也做 3 个重复。*PGA1*、*PGA2*、*PGC* 基因的相对表达量按 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算^[21]。

表 1 鳊鱼胃蛋白酶原基因 qPCR 分析特异性引物和退火温度

Tab. 1 Gene-specific primers of PGs and annealing temperature for qPCR analysis for *Siniperca* species

| 引物 primer | 序列(5'-3') sequence (5'-3') | 退火温度 annealing temperature | 登录号 accession number |
|--------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------|
| PGA1-F | CCAGAACGGAGACTATGT | 59.4 | EU807930.1 |
| PGA1-R | GTATTGAGACTGACGGAC | 59.4 | EU807930.1 |
| PGA2-F | GAGAACCACAGGAGATTC | 60.5 | FJ463155.1 |
| PGA2-R | CCTCAACAGTGTCAATGG | 60.5 | FJ463155.1 |
| PGC-F | CTACGCTGATACCACCTA | 59.4 | EU807929.1 |
| PGC-R | GTACAGTAGACGGAGTC | 59.4 | EU807929.1 |
| act-F | GCGTGACATCAAGGAGAA | 59.4 | AY885683.1 |
| act-R | CATACCGAGGAAGGAAGG | 59.4 | AY885683.1 |

1.3 数据处理

所有的实验数据都记为平均值 \pm 标准差 (SD), 所用软件为 SPSS (Statistical Product and Service Solutions) 10.0。多组对照的数据采用多因素进行显著性分析, 显著性水平为 $P < 0.05$ 。数据作图均采用 Sigma Plot 10.0 软件 (Sigma-Plot® 10.0, USA)。

2 实验结果

2.1 生长

实验起始, 3 种鳊鱼的平均体质量、体长差异

不显著; 实验后期, 3 种鱼的平均体质量、体长差异显著。鳊和杂交鳊体质量的日增加率分别是 (1.171 ± 0.180) g/d 和 (1.019 ± 0.104) g/d, 鳊和杂交鳊之间差异不显著, 斑鳊的日增重率 (0.433 ± 0.078) g/d 明显低于鳊与杂交鳊 ($P < 0.05$, 图 1a); 鳊、杂交鳊和斑鳊体长的日增加率分别是 (0.196 ± 0.033) cm/d、 (0.172 ± 0.028) cm/d 和 (0.121 ± 0.021) cm/d (图 1b)。体重与体长结果一致表明, 鳊生长最快, 杂交鳊次之, 斑鳊最慢。

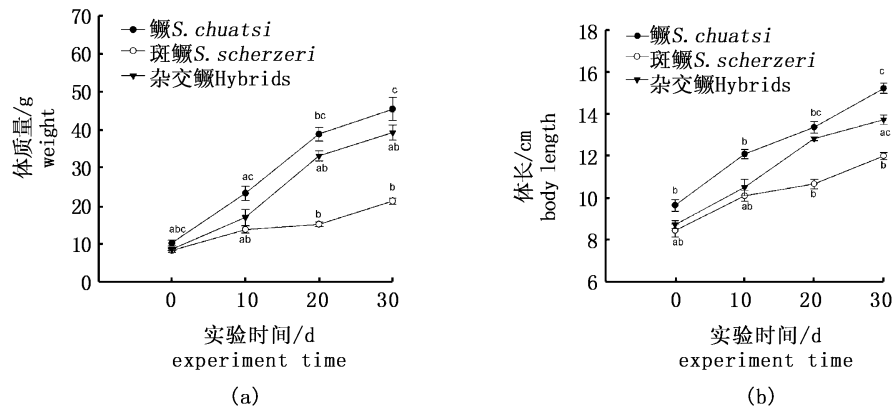


图 1 鳊、斑鳊和杂交鳊幼鱼体重 (a)、体长 (b) 生长比较

Fig. 1 Growth comparison of body weight and body length among *S. chuatsi*, *S. scherzeri* and their hybrid F₁

不同的字母代表不同种鱼之间的差异显著性 ($P < 0.05$), 下同。

Different letters denote significant differences between different species ($P < 0.05$), the same in below.

2.2 日摄食量

鳊、斑鳊和杂交鳊日摄食量随鱼体生长不断增加, 平均日摄食量为鳊 (6.1 ± 0.31) g/d, 斑鳊 (4.24 ± 0.23) g/d, 杂交鳊 (5.26 ± 0.33) g/d (图 2)。实验初期, 3 种鳊鱼平均日摄食量差异

不显著 ($P > 0.05$), 中、后期阶段, 鳊与杂交鳊、斑鳊间差异显著。

2.3 消化道胃蛋白酶比活力

在 4 种消化道组织中, 胃蛋白酶比活力从高到低的顺序是: 胃 > 幽门垂 > 肠 > 肝脏 (图 3)。

结果显示,3种鳊鱼实验个体之间的胃蛋白酶比活力差异不显著($P > 0.05$),种间差异较显著($P < 0.05$)。实验期间,3种鳊鱼胃中胃蛋白酶比活力都呈增加趋势。实验后期,鳊、斑鳊和杂交鳊胃中胃蛋白酶比活力分别是(347.8 ± 13.3) U/g、(272.1 ± 10.9) U/g和(303.4 ± 12.1) U/g。鳊与杂交鳊、斑鳊间差异显著($P < 0.05$)。

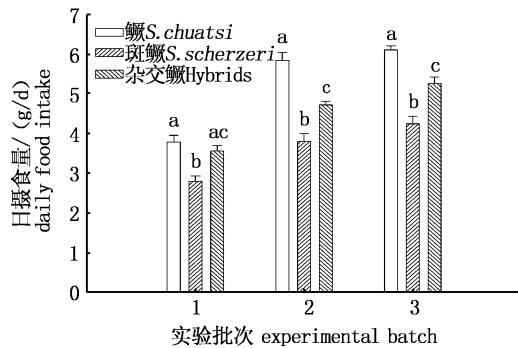


图2 鳊、斑鳊和杂交鳊的平均日摄食量比较
Fig.2 Comparison of average amount of daily food intake among *S. chuatsi*, *S. scherzeri* and F_1

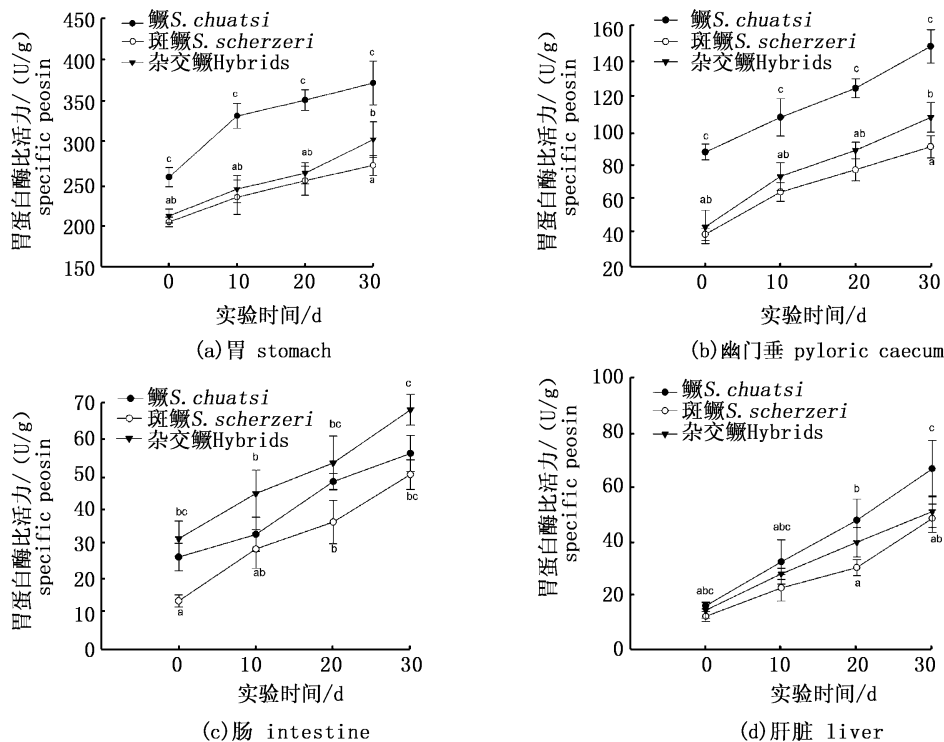


图3 3种鳊鱼胃(a)、幽门垂(b)、肠(c)和肝脏(d)中胃蛋白酶比活力比较($n=6$)
Fig.3 Specific activity of pepsin in stomach(a), pyloric caeca(b), intestine(c) and liver(d) of *S. chuatsi*, *S. scherzeri* and F_1 ($n=6$)

幽门垂中,鳊、斑鳊和杂交鳊胃蛋白酶比活力分别是(157.1 ± 5.2) U/g、(78.9 ± 3.4) U/g和(93.3 ± 3.7) U/g,鳊胃蛋白酶比活力最高,种间差异显著($P < 0.05$)。在肠道和肝脏也检测到了胃蛋白酶的比活力,但是,与胃和幽门盲囊的比活力相比,要低很多。

2.4 胃蛋白酶原基因相对表达量

实验结果表明3种鳊鱼的种内个体之间的胃蛋白酶原基因表达量差异均不显著($P > 0.05$)。3种鳊鱼 *PGA1*、*PGA2* 和 *PGC* 的相对表达量均随生长阶段缓慢增加(图4)。*PGC*: *PGA1*: *PGA2* 基因相对表达量比例是 1.1:1.0:0.7。*PGC* 与 *PGA1* 相对表达量间差异不显著,*PGA2* 相对表达量明显较 *PGA1* 和 *PGC* 低($P < 0.05$)。

相比之下,鳊3种基因(*PGA1*、*PGA2* 和 *PGC*)相对表达量均较杂交鳊、斑鳊高;3种鳊鱼基因表达量从高到低的顺序是:鳊 > 杂交鳊 > 斑鳊。实验后期,3种鱼基因相对表达量的差异较显著($P < 0.05$)。

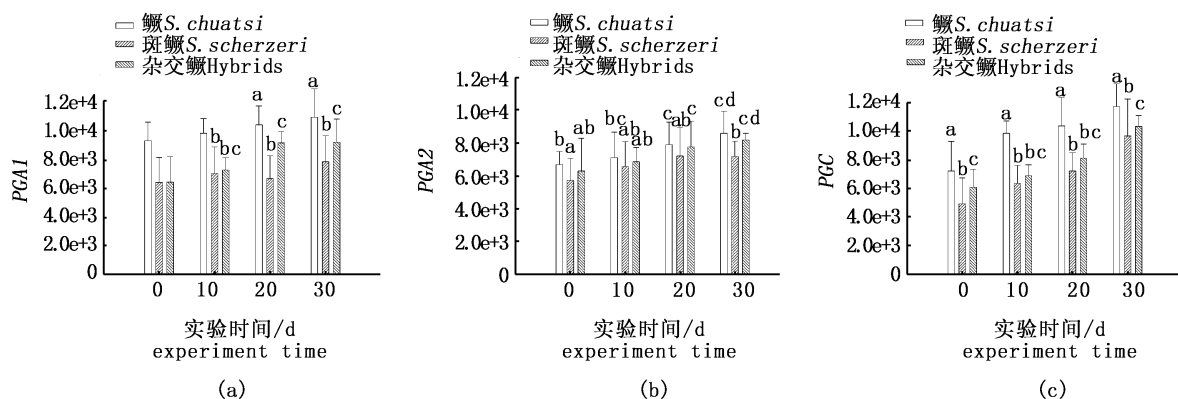


图4 3种鳊鱼胃中胃蛋白酶原基因 *PGAI* (a), *PGA2* (b), *PGC* (c) 相对表达

Fig. 4 mRNA expression of *PGAI* (a), *PGA2* (b), *PGC* (c) in stomach of *S. chuatsi*, *S. scherzeri* and F₁

3 讨论

本研究中的3种鳊鱼为同批繁殖鱼苗培育而来。实验期间,饲养环境条件相同,鱼种放养密度一致,饵料鱼投放足量、适口,结果表明,3种鳊鱼体质量、体长的生长速率高低次序均为:鳊 > 杂交鳊 > 斑鳊。在野外或人工养殖条件下,鳊生长速率明显快于杂交鳊、斑鳊^[15]。因此,室内生长实验结果与野外实验结果一致,基本反映了不同鳊鱼种间生长快慢特征。

实验期间,3种鳊鱼的日摄食量间存在明显差异:鳊 > 杂交鳊 > 斑鳊。鱼类的日摄食量一般是由消化器官结构、摄食习性共同决定的。研究表明,鳊和斑鳊的口裂/体长比值差异不显著,且3种鳊鱼的胃重/体质量比也无明显差异^[16];但在摄食节律方面,鳊摄食频率相对较高,斑鳊摄食频率较低^[17]。初步认为,不同鳊鱼日摄食量差异主要是由于摄食习性差异所致。鉴于3种鳊鱼的生长速率次序与其摄食量大小次序一致,推测不同鳊鱼的生长速率与其摄食量大小间存在正相关。这是因为食物摄取是鱼类生长发育的重要物质基础,摄食量大,同化作用较强,营养物质积累多,生长速率快;摄食量小,同化作用较弱,生长速率慢。这与同一种鱼不同品系生长速率的差异与其摄食水平间关联的结果相类似,如鲶 (*Silurus asotus*)^[18]、虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)^[19],生长较快的品系一般摄食量大,而生长较慢的品系则摄食量较小。

胃是肉食性鱼类初始消化的主要器官,胃蛋白酶是食物蛋白质的主要消化酶。在选取的4种消化道组织中,胃蛋白酶比活力最高的部位是

胃,这与前期对鳊主要消化酶的组织分布研究结果一致^[20-21]。3种鳊鱼胃中胃蛋白酶比活力高低顺序是:鳊 > 杂交鳊 > 斑鳊。由于胃蛋白酶原分泌后需要胃酸激活,不同鳊鱼的胃酸分泌特征与激活途径尚不清楚。最近研究表明,鳊、杂交鳊胃粘膜层相对厚度较斑鳊厚,且胃酸酶原细胞密度也较斑鳊大,因此,鳊、杂交鳊胃蛋白酶的分泌水平可能高于斑鳊。另一方面,伴随摄入食物量增大,食物消化对消化酶(胃蛋白酶)需求也随之增加^[22]。与分泌水平相比,高活性的胃蛋白酶可以明显提高消化效率,完成食物消化的作用,促进胃排空。本研究中,3种鳊鱼取样时均保持胃排空的状态,测定胃蛋白酶比活力的温度和pH是相同的,这就使得3种鳊鱼的胃蛋白酶比活力具有可比性,且都是胃排空状态时的活力。鳊胃蛋白酶比活力高与其摄食量大、消化生理需求高间有一定关联,消化能力强也是摄食频率高形成的重要生理基础。

本研究中,幽门垂和肠道中也检测到了胃蛋白酶活性,由于前期研究未检测到胃蛋白酶原基因和质子泵基因的表达^[7-12],推测这些部位的胃蛋白酶可能来自胃腔的食物残渣,伴随胃排空,胃蛋白酶和食物残渣混合物进入幽门垂、肠道引起,而到了肠道,胃蛋白酶的活性要比幽门垂的胃蛋白酶活性还低。因此,幽门垂仍担负部分消化作用。肝脏中缺乏酸性环境,也检测到有胃蛋白酶活性,这些活性是在体外的酸性环境作用(激活胃蛋白酶原)后检测出来的,并非肝脏中直接分泌后激活形成。推测肝脏中的胃蛋白酶原不是用于食物消化,可能是维持肝脏中其他生理功能。DENG等^[11]在鳊鱼的肝脏中检测到胃蛋

白酶原的表达,本文的研究更支持了肝脏中有未被激活的胃蛋白酶原,而胃蛋白酶原并不发挥消化的作用。

本实验中,3种鳊鱼胃中 *PGA1*、*PGA2* 和 *PGC* 相对表达量均随个体生长不断增加,这与其胃组织结构的发育过程一致。3种鳊鱼胃中 *PGA1*、*PGA2*、*PGC* 相对表达量高低次序为鳊 > 杂交鳊 > 斑鳊,这一次序和其胃蛋白酶比活力次序也是对应的。胃蛋白酶原基因表达量高低可直接影响胃蛋白酶原的合成水平。在其他鱼类中,也观察到胃蛋白酶原基因表达水平与胃蛋白酶活性同步变化的现象,如美洲拟鲈 (*Pseudopleuronectes americanus*)^[23]、牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*)^[24] 等。尽管目前尚难鉴定引起胃蛋白酶比活力增加的确切酶原类型,但胃蛋白酶原基因相对表达水平也可作为鳊鱼消化生理能力判别的一项重要指标。

参考文献:

- [1] CARTER C G, HE Z Y, HOULIHAN D F, et al. Effect of feeding on tissue free amino acid concentrations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*) [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1995, 14(2): 153 - 164.
- [2] CHRISTIANSEN J S, JOBLING M. The behaviour and the relationship between food intake and growth of juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L., subjected to sustained exercise [J]. *Canadian Journal of Zoology*, 1990, 68(10): 2185 - 2191.
- [3] LAMBERT M, DUTIL J D. Food intake and growth of adult Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) reared under different conditions of stocking density, feeding frequency and size-grading [J]. *Aquaculture*, 2001, 192 (2/4): 233 - 247.
- [4] MANDIKI S N M, BLANCHARD G, MELARD C, et al. Effects of geographic origin on growth and food intake in Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.) juveniles under intensive culture conditions [J]. *Aquaculture*, 2004, 229(1/4): 117 - 128.
- [5] NEELY K G, MYERS J M, HARD J J, et al. Comparison of growth, feed intake, and nutrient efficiency in a selected strain of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and its source stock [J]. *Aquaculture*, 2008, 283(1/4): 134 - 140.
- [6] XUE Y, ZHAO J L, DENG Y F, et al. Cloning and spatiotemporal expression of pepsinogen and gastric proton pump genes from mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) during early ontogeny [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2013, 39(4): 881 - 893.
- [7] HE S, LIANG X F, SUN J, et al. Insights into food preference in hybrid F₁ of *Siniperca chuatsi* (♀) × *Siniperca scherzeri* (♂) mandarin fish through transcriptome analysis [J]. *BMC Genomics*, 2013, 14(1): 601 - 608.
- [8] CHIANG I K. On the biology of mandarin fish, *Siniperca chuatsi* of Liang-Tze Lake [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1959, (3): 375 - 385.
- [9] 吴雪峰, 赵金良. 鳊胃蛋白酶原基因 cDNA 全长的克隆与序列分析 [J]. *水产学报*, 2008, 32(6): 971 - 976.
WU X F, ZHAO J L. Cloning and sequencing of the full-length cDNA of pepsinogen gene from the mandarin fish, *Siniperca chuatsi* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2008, 32(6): 971 - 976.
- [10] 薛洋, 赵金良, 邓燕飞, 等. 鳊胃蛋白酶原 A、胃质子泵基因 cDNA 全长的克隆与细胞表达定位 [J]. *水产学报*, 2011, 35(7): 992 - 1000.
XUE Y, ZHAO J L, DENG Y F, et al. Full-length cDNA cloning and cellular expression of the pepsinogen A and gastric proton pump genes of mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(7): 992 - 1000.
- [11] DENG Y F, ZHAO J L, LU G Q, et al. Cloning, characterization and expression of the pepsinogen C from the golden mandarin fish *Siniperca scherzeri* (Teleostei: Perciformes) [J]. *Fisheries Science*, 2010, 76(5): 819 - 826.
- [12] 邓燕飞, 薛洋, 赵金良, 等. 斑鳊 (*Siniperca scherzeri*) 胃蛋白酶原 A、胃质子泵基因的克隆与组织表达分析 [J]. *海洋与湖沼*, 2013, 44(3): 618 - 625.
DENG Y F, XUE Y, ZHAO J L, et al. Cloning and tissue expression analysis of the pepsinogen A and gastric proton pump genes from *Siniperca scherzeri* [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2013, 44(3): 618 - 625.
- [13] GIMENEZ F A, GARCIA B G. Growth and food intake models in *Octopus vulgaris* Cuvier (1797): Influence of body weight, temperature, sex and diet [J]. *Aquaculture International*, 2002, 10(5): 361 - 377.
- [14] ANSON M L. The estimation of pepsin, trypsin, papain, and cathepsin with hemoglobin [J]. *The Journal of General Physiology*, 1938, 22(1): 79 - 89.
- [15] 许建红, 劳顺健. 斑鳊人工养殖技术初探 [J]. *科学养鱼*, 2002(7): 26.
XU J H, LAO S J. First exploration of artificial cultivation of *Siniperca scherzeri* [J]. *Scientific Fish Farming*, 2002(7): 26.
- [16] 韩德举, 胡菊香, 洪峰. 陆水水库鳊属鱼类食性及消化器官的比较研究 [J]. *水产学报*, 1996, 20(2): 97 - 103.
HAN D J, HU J X, HONG F. Comparative studies on the feeding habit and digestive organs of *Siniperca* fishes of Lushui reservoir [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1996, 20(2): 97 - 103.
- [17] 高少波, 朱志荣. 网箱中鳊鱼摄食行为的初步观察 [J]. *水利渔业*, 1994(1): 12 - 14.
GAO S B, ZHU Z R. Preliminary observation of feeding behavior of *Siniperca chuatsi* in cage [J]. *Reservoir Fisheries*, 1994(1): 12 - 14.

- [18] SILVERSTEIN J T, WOLTERS W R, HOLLAND M. Differences in growth and food intake regulation in different genetic strains of channel catfish [J]. *Journal of Fish Biology*, 1999, 54 (3): 607–615.
- [19] VALENTE L M P, FAUCONNEAU B, GOMES E F S, et al. Feed intake and growth of fast and slow growing strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed by automatic feeders or by self-feeders[J]. *Aquaculture*, 2001, 195(1/2): 121–131.
- [20] 庆宁, 吕凤义, 陈曼娜, 等. 不同 pH 条件下鳊鱼消化道蛋白酶活性研究[J]. *华南师范大学学报(自然科学版)*, 2003, (4): 89–92.
- QING N, LV F Y, CHEN M N, et al. Study on protease activities in digestive tube of *Siniperca chuatsi* at different pH [J]. *Journal of South China Normal University (Natural Science Edition)*, 2003, (4): 89–92.
- [21] 马燕梅, 梅景良, 林树根. 鳊鱼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.
- MA Y M, MEI J L, LIN S G. Studies on the main digestive enzyme activities in stomach intestine and liver of *Siniperca chuatsi* [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2004, 26(4): 584–588.
- [22] CARTER C, HOULIHAN D, KIESSLING A, et al. Physiological effects of feeding [M]//HOULIHAN D, BOUJARD T, JOBLING M, eds. *Food Intake in Fish*. Oxford: Blackwell Science, 2001: 297–331.
- [23] DOUGLAS S E, GAWLICKA A, MANDLA S, et al. Ontogeny of the stomach in winter flounder: characterization and expression of the pepsinogen and proton pump genes and determination of pepsin activity[J]. *Journal of Fish Biology*, 1999, 55(5): 897–915.
- [24] SRIVASTAVA A S, KUROKAWA T, SUZUKI T. mRNA expression of pancreatic enzyme precursors and estimation of protein digestibility in first feeding larvae of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2002, 132(3): 629–635.

Comparison of growth, food intake, pepsin activity and pepsinogen genes expression among *Siniperca* species

LI Chuanyang¹, XU Miaoyang¹, THAMMARATSUNTORN Jeerawat¹, ZHAO Jinliang¹, QIAN Yezhou², WU Chao², QIAN De²

(1. *Laboratory of Freshwater Fisheries Germplasm Resources, Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China*; 2. *Chizhou Qiupu Special Aquaculture Development Company Limited, Chizhou 247104, Anhui, China*)

Abstract: To further understand the physiological mechanism of growth of different mandarin fish, the relationship between growth rates and daily food intake, pepsin activities, relative expression of pepsinogen *PGAI*, *PGA2*, *PGC* in stomach of juveniles of *S. chuatsi*, *S. scherzeri* and their hybrids (*S. scherzeri* ♀ × *S. chuatsi* ♂ F₁) were compared and analyzed during 30 days' experiment. Results showed that average growth weight (AGW) of three species was (1.171 ± 0.180) g/d of *S. chuatsi*, (1.019 ± 0.104) g/d of hybrids, (0.433 ± 0.078) g/d of *S. scherzeri*, respectively, and their growth rates ranked as *S. chuatsi* > F₁ > *S. scherzeri*. Daily food intake of the three species was (6.1 ± 0.31) g/d of *S. chuatsi*, (4.24 ± 0.23) g/d of *S. scherzeri* and (5.26 ± 0.33) g/d of hybrids, respectively, *S. chuatsi* was higher than hybrids and *S. scherzeri*. The maximum specific pepsin activity was found in stomach, specific pepsin of the three species was (347.8 ± 13.3) U/g of *S. chuatsi*, (272.1 ± 10.9) U/g of *S. scherzeri* (303.4 ± 12.1) U/g of hybrids during later periods. Among the three species, pepsin activities ranked as *S. chuatsi* > F₁ > *S. scherzeri*. Gastric PGs mRNA expression of three species all increased during the experiment. Proportion of *PGC*: *PGAI*:*PGA2* was 1.1:1.0:0.7. The highest expression level of PGs was observed in *S. chuatsi*, PGs expression of F₁ was slightly higher than *S. scherzeri* (*P* < 0.05). Growth rate was in direct correlation with amount of food intake of the three *Siniperca* species, and there was a corresponding relationship between amount of food intake and digestive capacity.

Key words: *Siniperca* species; growth rate; food intake; pepsin; activity; gene expression