

· 综 述 ·

## 甲壳动物幼体消化酶研究进展

潘鲁青, 刘泓宇, 肖国强

(中国海洋大学 海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003)

**摘要:**通过研究近年来国内外学者关于甲壳动物幼体消化酶方面的研究现状,发现目前已测定出甲壳动物幼体消化酶的种类主要有:蛋白酶、胰蛋白酶、羧肽酶 A、羧肽酶 B、氨肽酶、胶原酶、弹性蛋白酶、胃蛋白酶、糜蛋白酶、酯酶、脂肪酶、淀粉酶、纤维素酶、几丁质酶、麦芽糖酶、蔗糖酶、昆布多糖酶等种类,初步归纳了甲壳动物幼体主要消化酶的分子量、最适 pH 和最适温度;分析了幼体发育过程中消化酶活力变化模式以及与食性的关系,并采用淀粉酶/蛋白酶活力(A/P)比值或淀粉酶/类胰蛋白酶(A/T)比值作为甲壳动物幼体的食性指标;观察了幼体消化器官的发育,阐明幼体消化酶的合成与分泌不仅由遗传控制,中肠腺发育程度等因子决定,而且还与饲料的营养水平有关,提出采用幼体消化酶对饲料组成的适应性研究幼体营养需求的新途径。[中国水产科学, 2006, 13(3): 492-501]

**关键词:**甲壳动物;幼体;消化酶

**中图分类号:**Q959.223 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-8737-(2006)03-0492-10

关于甲壳动物消化酶的研究已有 70 多年的历史,主要以桡足类、对虾、龙螯虾、蟹类等的成体作为研究对象,研究其消化酶的种类和性质以及消化酶在不同消化器官组织中的活性分布等<sup>[1-2]</sup>;而甲壳动物幼体消化酶的研究却比较少,主要集中于十足目类(Decapoda)如日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)、白滨对虾(*Litopenaeus setiferus*)、中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)、罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)、美洲龙螯虾(*Homarus americanus*)、互爱蟹(*Hyas araneus*)、锯缘青蟹(*Scylla serrata*)等甲壳动物幼体发育过程中几种消化酶活力变化规律的研究,并从消化酶活力变化分析幼体的营养需求<sup>[3-9]</sup>。随着甲壳动物养殖业的发展,人工培育种苗已能大量供应养殖需要,但是人工育苗饲料问题的矛盾却显得很突出。由于某些营养物质长期得不到补充,引起甲壳动物自身免疫力下降,常常发生幼体严重病害或不明原因的大量死亡,这也是目前甲壳动物人工苗种不健壮、抗病力差的重要原因。要研制适合不同发育阶段需求的高效人工饲料,必须搞清甲壳动物幼体发育过程中消化酶种类、性质和变化趋势及消化酶的合成与分泌机制等,这是目前甲壳动物人工育苗中急需解决的基础课题。

### 1 消化酶的种类和性质

#### 1.1 消化酶的种类

目前已测定出甲壳动物幼体消化酶的种类主要有:蛋白酶(Protease)、胰蛋白酶(Trypsin)、羧肽酶 A (Carboxypeptidase A)、羧肽酶 B (Carboxypeptidase B)、氨肽酶(Arylamidase)、胶原酶(Collagenase)、弹性蛋白酶(Elastase)、胃蛋白酶(Pepsin)、糜蛋白酶(Chymotrypsin)、酯酶(Esterase)、脂肪酶(Lipase)、淀粉酶(Amylase Amy)、纤维素酶(Cellulase)、几丁质酶(Chitinase)、麦芽糖酶(Maltase)、蔗糖酶(Sucrase)、昆布多糖酶(Laminarinase)等<sup>[5-10, 21-25]</sup>(见表 1)。

十足目对虾类中胰蛋白酶活力占蛋白水解酶活力的 40%~60%,在对虾幼体发育过程中类胰蛋白酶是一种最占优势的消化酶<sup>[2, 13]</sup>。这说明胰蛋白酶在对虾的蛋白质消化分解中占有重要的地位。作者分析了中国明对虾、日本囊对虾、三疣梭子蟹和中华绒螯蟹 4 种甲壳动物幼体的类胰蛋白酶和胃蛋白酶,结果表明,类胰蛋白酶比胃蛋白酶活力大,均为 1.2~2.8 倍<sup>[12]</sup>。因此,类胰蛋白酶和胃蛋白酶是甲壳动物幼体的 2 种主要蛋白水解酶。

收稿日期:2004-12-10; 修订日期:2005-10-31。

基金项目:国家自然科学基金项目(30100140);高等学校博士学科点专项科研基金资助项目(2000042303);山东省自然科学基金项目(Y98D15063)。

作者简介:潘鲁青(1966-),男,博士,教授,主要从事水产生物学研究。E-mail:panlq@ouc.edu.cn

表1 十足目甲壳动物幼体消化酶的测定情况  
Tab.1 Cases of digestive enzyme determined in the larvae of crustaceans

| 消化酶种类<br>Digestive enzyme                   | 底物<br>Substrate | 酶活力存在与否(+/-)<br>Existing or inexisting<br>enzyme activities | 文献<br>Reference |
|---------------------------------------------|-----------------|-------------------------------------------------------------|-----------------|
| 蛋白酶(Protease)                               |                 |                                                             |                 |
| 斑节对虾( <i>Penaeus monodon</i> )              | Azocoll         | +                                                           | [10]            |
| 美洲龙螯虾( <i>Homarus americanus</i> )          | Azocoll         | +                                                           | [7]             |
| 锯缘青蟹( <i>Scylla serrata</i> )               | 干酪素             | +                                                           | [9]             |
| 胰蛋白酶(Trypsin)                               |                 |                                                             |                 |
| 中国明对虾( <i>Fenneropenaeus chinensis</i> )    | 酪蛋白             | +                                                           | [5]             |
| 印度明对虾( <i>Fenneropenaeus indicus</i> )      | TAME            | +                                                           | [11]            |
| 日本囊对虾( <i>Marsupenaeus japonicus</i> )      | 酪蛋白             | +                                                           | [12]            |
| 斑节对虾( <i>Penaeus monodon</i> )              | BAFNA           | +                                                           | [13]            |
| 凡纳滨对虾( <i>Litopenaeus vannamei</i> )        | BNPNA           | +                                                           | [14]            |
| 罗氏沼虾( <i>Macrobrachium rosenbergii</i> )    | TAME            | +                                                           | [6]             |
| 中华绒螯蟹( <i>Eriocheir sinensis</i> )          | 酪蛋白             | +                                                           | [12]            |
| 三疣梭子蟹( <i>Portunus trituberculatus</i> )    | 酪蛋白             | +                                                           | [12]            |
| 羧肽酶A (Carboxypeptidase A)                   |                 |                                                             |                 |
| 日本囊对虾( <i>Marsupenaeus japonicus</i> )      | FALPP           | +                                                           | [13]            |
| 长毛明对虾( <i>Fenneropenaeus penicillatus</i> ) | FALPP           | +                                                           | [13]            |
| 凡纳滨对虾( <i>Litopenaeus vannamei</i> )        | BZGPA           | +                                                           | [14]            |
| 羧肽酶B (Carboxypeptidase B)                   |                 |                                                             |                 |
| 长毛明对虾( <i>Fenneropenaeus penicillatus</i> ) | BZGA            | +                                                           | [13]            |
| 凡纳滨对虾( <i>Litopenaeus vannamei</i> )        | BZGA            | +                                                           | [14]            |
| 氨肽酶(Arylamidase)                            |                 |                                                             |                 |
| 欧洲沟对虾( <i>Melicerus kerathurus</i> )        | LPNA            | +                                                           | [15]            |
| 白滨对虾( <i>Litopenaeus setiferus</i> )        | LA              | +                                                           | [14]            |
| 胶原酶(Collagenase)                            |                 |                                                             |                 |
| 欧洲沟对虾( <i>Melicerus kerathurus</i> )        | 胶原蛋白            | +                                                           | [15]            |
| 凡纳滨对虾( <i>Litopenaeus vannamei</i> )        | 胶原蛋白            | +                                                           | [16]            |
| 弹性蛋白酶(Elastase)                             |                 |                                                             |                 |
| 凡纳滨对虾( <i>Litopenaeus vannamei</i> )        | 弹性蛋白            | +                                                           | [16]            |
| 胃蛋白酶(Pepsin)                                |                 |                                                             |                 |
| 中国明对虾( <i>Fenneropenaeus chinensis</i> )    | 酪蛋白             | +                                                           | [5]             |
|                                             | 酪蛋白             | +                                                           | [12]            |
| 凡纳滨对虾( <i>Litopenaeus vannamei</i> )        | APAIT           | -                                                           | [14]            |
| 罗氏沼虾( <i>Macrobrachium rosenbergii</i> )    | 酪蛋白             | +                                                           | [17]            |
| 中华绒螯蟹( <i>Eriocheir sinensis</i> )          | 酪蛋白             | +                                                           | [12]            |
| 三疣梭子蟹( <i>Portunus trituberculatus</i> )    | 酪蛋白             | +                                                           | [12]            |
| 胰凝乳蛋白酶(Chymotrypsin)                        |                 |                                                             |                 |
| 日本囊对虾( <i>Marsupenaeus japonicus</i> )      | BPANA           | -                                                           | [14]            |
|                                             | SAAPPNA         | +                                                           | [13]            |
| 斑节对虾( <i>Penaeus monodon</i> )              | BTEE            | +                                                           | [13]            |
| 白滨对虾( <i>Litopenaeus setiferus</i> )        | GPANA           | -                                                           | [14]            |
| 酯酶(Esterase)                                |                 |                                                             |                 |
| 日本囊对虾( <i>Marsupenaeus japonicus</i> )      | BRTI            | +                                                           | [18]            |
| 斑节对虾( <i>Penaeus monodon</i> )              | BRTI            | +                                                           | [18]            |

续表

| 消化酶种类<br>Digestive enzyme                | 底物<br>Substrate | 酶活力存在与否(+/-)<br>Existing or inexisting<br>enzyme activities | 文献<br>Reference |
|------------------------------------------|-----------------|-------------------------------------------------------------|-----------------|
| <b>酯酶(Esterase)</b>                      |                 |                                                             |                 |
| 凡纳滨对虾( <i>Litopenaeus vannamei</i> )     | $\alpha$ -萘酚    | +                                                           | [14]            |
| 罗氏沼虾( <i>Macrobrachium rosenbergii</i> ) | BRTI            | +                                                           | [6]             |
| <b>脂肪酶(Lipase)</b>                       |                 |                                                             |                 |
| 中国明对虾( <i>Fenneropenaeus chinensis</i> ) | 橄榄油             | +                                                           | [5]             |
| 日本囊对虾( <i>Macrobrachium japonicus</i> )  | 橄榄油             | +                                                           | [12]            |
| 白滨对虾( <i>Litopenaeus setiferus</i> )     | 丁酸甘油酯           | +                                                           | [14]            |
|                                          | $\beta$ -萘酚硬脂酸  | -                                                           | [4]             |
| 凡纳滨对虾( <i>Litopenaeus vannamei</i> )     | 丁酸甘油酯           | +                                                           | [13]            |
| 美洲龙螯虾( <i>Homarus americanus</i> )       | 三油酸甘油酯          | +                                                           | [7]             |
| 中华绒螯蟹( <i>Eriocheir sinensis</i> )       | 橄榄油             | +                                                           | [12]            |
| 三疣梭子蟹( <i>Portunus trituberculatus</i> ) | 橄榄油             | +                                                           | [12]            |
| 锯缘青蟹( <i>Scylla serrata</i> )            | 橄榄油             | +                                                           | [9]             |
| <b>淀粉酶(Amylase)</b>                      |                 |                                                             |                 |
| 中国明对虾( <i>Fenneropenaeus chinensis</i> ) | 淀粉              | +                                                           | [5]             |
| 斑节对虾( <i>Penaeus monodon</i> )           | 淀粉              | +                                                           | [10]            |
| 凡纳滨对虾( <i>Litopenaeus vannamei</i> )     | 淀粉              | +                                                           | [14]            |
| 罗氏沼虾( <i>Macrobrachium rosenbergii</i> ) | 淀粉              | +                                                           | [6]             |
| 美洲龙螯虾( <i>Homarus americanus</i> )       | 淀粉              | +                                                           | [7]             |
| 中华绒螯蟹( <i>Eriocheir sinensis</i> )       | 淀粉              | +                                                           | [13]            |
| 互受蟹( <i>Hyas araneus</i> )               | 淀粉              | +                                                           | [8]             |
| 三疣梭子蟹( <i>Portunus trituberculatus</i> ) | 淀粉              | +                                                           | [12]            |
| 锯缘青蟹( <i>Scylla serrata</i> )            | 淀粉              | +                                                           | [9]             |
| <b>纤维素酶(Cellulase)</b>                   |                 |                                                             |                 |
| 中国明对虾( <i>Fenneropenaeus chinensis</i> ) | CYCN            | +                                                           | [5]             |
| 日本囊对虾( <i>Macrobrachium japonicus</i> )  | CYCN            | +                                                           | [12]            |
| 罗氏沼虾( <i>Macrobrachium rosenbergii</i> ) | 纤维素             | +                                                           | [17]            |
| 中华绒螯蟹( <i>Eriocheir sinensis</i> )       | CYCN            | +                                                           | [12]            |
| 三疣梭子蟹( <i>Portunus trituberculatus</i> ) | CYCN            | +                                                           | [12]            |
| 锯缘青蟹( <i>Scylla serrata</i> )            | CYCN            | +                                                           | [9]             |
| <b>几丁质酶(Chitinase)</b>                   |                 |                                                             |                 |
| 褐美对虾( <i>Farfantepenaeus aztecus</i> )   | 壳多糖             | +                                                           | [14]            |
| 凡纳滨对虾( <i>Litopenaeus vannamei</i> )     | 壳多糖             | +                                                           | [14]            |
| <b>麦芽糖酶(Maltase)</b>                     |                 |                                                             |                 |
| 日本囊对虾( <i>Penaeus japonicus</i> )        | 麦芽糖             | +                                                           | [19]            |
| <b>蔗糖酶(Sucrase)</b>                      |                 |                                                             |                 |
| 日本囊对虾( <i>Penaeus japonicus</i> )        | 蔗糖              | +                                                           | [19]            |
| <b>昆布多糖酶(Laminarinase)</b>               |                 |                                                             |                 |
| 凡纳滨对虾( <i>Litopenaeus vannamei</i> )     | 昆布多糖            | +                                                           | [16]            |

注:表中 APAIT, BAEE, BAPNA, BPANA, BTET, BRTI, BZGA, BZGPA, CYCN, FALFP, GPANA, LA, LPNA, SAAPPNA, TAME 分别表示乙酰苯丙氨酸酯酶、苯甲酸精氨酸酯酶、苯甲酸精氨酸硝基苯胺、苯甲酰苯丙氨酸酰胺、苯甲酰精氨酸乙酯、丁酰硫代胆碱氯化物、马尿酸精氨酸、马尿酸基苯丙氨酸、羧甲基纤维素钠、N-2-furylacryloyl-L-苯丙氨酸-苯丙氨酸、芳基苯丙氨酸硝基苯胺、亮氨酸氨基氧化合物、亮氨酸硝基苯胺、琥珀酸二丙氨酸二苯丙氨酸和对甲苯磺酰精氨酸甲酯。

Berner 和 Hammond<sup>[20]</sup>研究发现,在测试的许多无脊椎动物中,只有一半的种类具有脂肪酶活力,但全部具有酯酶活力。Jones 等<sup>[21]</sup>认为,所有的甲壳动物幼体都具有酯酶活力,而很多测不出脂肪酶活性或活性很低,这可能与脂肪酶的分析方法有关。Lovett 和 Filder<sup>[4]</sup>利用  $\beta$ -萘酚硬脂酸为底物只测到白滨对虾有酯酶,而无脂肪酶;而 Moullae 等<sup>[16]</sup>利用甲基吲哚酚乙酸酯为底物测到凡纳滨对虾各期幼体具有脂肪酶活力;潘鲁青<sup>[12]</sup>测定了4种虾蟹类脂肪酶活力很低,这与一些学者在其他甲壳动物中得到的结果一致。一般认为脂肪酶和酯酶的真正界限难以划分,脂肪酶的适宜底物为长链脂肪酸甘油酯,而且底物呈乳化状态而非水溶液。

许多学者的研究发现,草食性和杂食性甲壳动物比肉食性甲壳动物具有更高  $\alpha$ -淀粉酶活力<sup>[22]</sup>,而且某些肉食性甲壳动物也表现出较高的淀粉酶活力<sup>[5-6,8]</sup>,Hirche 等<sup>[8]</sup>认为这不是对食物生化组成的反应,而可能是其祖先部分草食性消化系统的残留。甲壳动物能否产生纤维素酶,目前还有争议。据于书坤等<sup>[1]</sup>报道,纤维素酶在滤食性和杂食性动物中完全由肠道内的微生物产生,而肉食性甲壳动物中,纤维素酶是退化的痕迹,毫无功能。作者测定四种虾蟹类幼体的纤维素酶活力很低<sup>[12]</sup>,而汤鸿等<sup>[9]</sup>和魏华等<sup>[17]</sup>分别测定锯缘青蟹、罗氏沼虾的幼体具有较高的纤维素酶活力。纤维酶在一些草食鱼类如草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 和非洲鲫鱼 (*Tilapia mossambica*) 中也不存在。因而,甲壳动物幼体是否存在纤维素酶,还有待于进一步证实。

甲壳动物有同类相残或食自身蜕的甲壳的习性,它们能分泌几丁质酶是很自然的,同时几丁质酶对于甲壳动物幼体消化桡足类的外骨骼和浮游生物具有重要的作用<sup>[8]</sup>。关于甲壳动物幼体能分泌几丁质酶,其自身的几丁质如何抵抗几丁质酶的作用尚不清楚。

目前有关甲壳动物幼体消化酶种类报道比较混乱,对于某一种类有的学者测定出某种消化酶活性,有的未发现其活性。这主要是因为不同学者测定幼体消化酶的方法不同所致。Jones 等<sup>[21]</sup>认为,由于不同作者测定幼体消化酶的底物、实验条件等不同,不同作者的结果很难比较。因此关于甲壳动物幼体消化酶的种类,还有待于进一步研究。

### 1.2 消化酶的性质

目前有关甲壳动物消化酶性质的研究,主要是

测定消化酶的分子量、最适 pH 和最适温度以及抑制剂、激活剂和底物对酶活力的影响,而对于消化酶动力学变化和催化作用机制的研究尚未见报道。关于甲壳动物幼体消化酶性质的研究甚少,仅在少数几个种类限于测定主要消化酶的最适 pH 和最适温度。

许多学者认为甲壳动物前肠偏弱酸性,pH 值为 5~7,许多消化酶的最适 pH 值通常在此范围内,而胰蛋白酶最适 pH 值在碱性范围内,MacDonald 等<sup>[23]</sup>也认为大多数甲壳动物幼体的蛋白酶最适 pH 为碱性范围 7~9。据 Bonnie 等<sup>[24]</sup>报道卤虫 (*Artemia salina*) 幼体蛋白酶最适 pH 为 9.0~9.5,胰蛋白酶和糜蛋白酶为 7.0~7.5,而胰凝乳蛋白酶 A 和胰凝乳蛋白酶 B 分别为 4.0、4.5;Biesiot 等<sup>[7]</sup>的研究表明,美洲龙螯虾幼体蛋白酶最适 pH 为 5.3、6.4,淀粉酶和脂肪酶的最适 pH 值分别为 6.5 和 5.5;Hirche 等<sup>[8]</sup>测定的互爱蟹幼体胰蛋白酶的最适 pH 值为 8~8.5。消化酶的最适 pH 不仅取决于酶活性中心的性质,而且与反应介质的组成有关,因此,在一定实验条件下,测定某种消化酶的最适 pH 未必能与此酶发挥作用的体内 pH 值相一致。一般认为,在摄食期间消化液的 pH 可能在中性范围内波动,所有消化酶在这个 pH 范围内都有充分的活性,都能发挥有效的消化作用。

温度是影响酶活力的重要因素,当反应时间、pH 等恒定时,酶反应就有一个最适温度,此时酶的活力最大。

Hirche 等<sup>[8]</sup>测得互爱蟹幼体胰蛋白酶的最适温度为 45℃;Bonnie 等<sup>[24]</sup>研究认为,卤虫幼体蛋白酶的最适温度为 45℃;Biesiot 等<sup>[7]</sup>测定美洲龙螯虾幼体蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶的最适温度为 45~50℃。由此看出,甲壳动物幼体主要消化酶的最适温度均高于栖息环境的适宜温度。作者认为,在正常生活条件下,消化酶在生物体内作用的时间是相当长的,而在实验条件下,由于酶的最适温度受实验反应时间的影响,随着作用时间的延长,最适温度值有可能会下降,所以最适温度值只在一定条件下有意义,但也在一定程度上反映了消化酶的耐热性。

### 1.3 消化酶的测定方法

迄今为止,有关甲壳动物幼体消化酶的研究着重于粗酶提液和非专一性分析。在生物体系中,由于酶的含量很少,主要根据酶活力的大小来判断酶的含量。酶活力的测定实质上是一个被催化的化学

反应速度问题,在适当条件下,酶的催化反应速度正比于酶的含量;同时酶活力的测定也是研究酶性质的重要方法。因此,酶活力的测定反映了幼体消化酶的种类和含量。国内外学者主要采用酶学分析的方法测定甲壳动物幼体的消化酶活力,在一定温度下,加入适量缓冲液(pH 恒定)及相关溶液,将酶液与底物混合,反应一定时间后,终止反应,加入显色剂,比色测定酶活力。Galgani 等<sup>[3]</sup>曾采用放射免疫测定方法研究日本囊对虾幼体胰蛋白酶的含量和性质;Lovett 等<sup>[4]</sup>认为,测定甲壳动物幼体消化酶是很困难的,这主要是由于实验材料量少和非特异性分析造成的。作者在实验中发现,粗酶液制备、提取技术如冷冻研磨法和高速匀浆法(时间)、超声波破碎法(功率)以及高速冷冻离心(转速)等与幼体消化酶活力的测定结果有很大的相关性。目前关于幼体消化酶活力的测定由于不同学者所用底物、反应条件(时间、温度和 pH)和反应介质组成等不同,而且酶活力单位的使用也比较混乱,有的采用样品单位湿重或干重含有多少酶活力单位来表示酶含量,有的采用样品中所含蛋白质的单位重量含有多少酶活力单位来表示等,由此造成测定结果难以比较的现象。因此,应对甲壳动物幼体消化酶测定方法和酶活力单位等加以规范和改进,选择准确性强、灵敏度高的专一性底物和显色剂及反应条件,建立适合于甲壳动物幼体各种消化酶活力的专一性分析测定方法。

## 2 在幼体发育过程中消化酶活力变化与食性的关系

### 2.1 消化酶活力的变化模式

目前对甲壳动物幼体消化酶活力的变化规律尚无定论。据汤鸿等<sup>[9]</sup>报道,锯缘青蟹在幼体发育过程中,蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶和脂肪酶活力表现出3种变化模式,与其他学者在白滨对虾、美洲龙螯虾得到的结果类似<sup>[4,7]</sup>。作者<sup>[12]</sup>的研究结果表明,在4种虾蟹类幼体发育过程中类胰蛋白酶、胃蛋白酶、淀粉酶和纤维素酶表现出3种变化模式,但是4种虾蟹类幼体消化酶活力的变化模式有所不同;其中虾类和蟹类幼体消化酶活力的变化模式有各自的相似性,如2种虾类幼体的胃蛋白酶、类胰蛋白酶和纤维素酶活力的变化模式与刘玉梅等<sup>[25]</sup>在中国明对虾中得到的结果类似,淀粉酶活力的变化趋势与 Lovett 等<sup>[4]</sup>在白滨对虾中的测定结果类似,而2种蟹类幼体的胃蛋白酶、类胰蛋白酶和淀粉酶活力与

其他学者在白滨对虾、锯缘青蟹中的测定结果相近<sup>[2,9]</sup>。由此说明甲壳动物在分类位置上相近的种类,其幼体消化酶活力的变化规律相似,这表明在幼体发育过程中消化酶活力的调节机制相似,同时也表明不同甲壳动物幼体消化酶有各自的调节系统,这与于书坤等<sup>[1]</sup>关于甲壳动物不同种类由于占有不同的生态位、生活环境和食性各异,因此不同种类之间消化酶活力和变化趋势可能差别很大的观点一致。

动物消化酶活力的高低直接反映了动物对营养物质吸收利用的能力。分析幼体发育过程中消化酶活力的变化规律,有助于了解各期幼体的营养需求。甲壳动物幼体消化酶活力的变化与幼体生长发育不同阶段的新陈代谢水平相关,虾类的无节幼体期和蟹类的胚胎发育期,无完整口器和消化器官,不摄食,靠卵黄供给营养进行生长发育,但是在如何利用营养物质方面报道很少。潘鲁青<sup>[12]</sup>测定的两种虾类在 N<sub>5</sub>-6 期类胰蛋白酶、胃蛋白酶、淀粉酶和纤维素酶活力均较高。Hirche 等<sup>[8]</sup>、李少菁等<sup>[26]</sup>和田华梅<sup>[27]</sup>分别报道在互爱蟹、锯缘青蟹和中华绒螯蟹胚胎发育过程中具有蛋白酶、淀粉酶和纤维素酶3种消化酶活力。由此说明在虾类无节幼体期和蟹类胚胎发育期中肠腺已有了初步分化,一方面分泌消化酶更好地利用卵黄物质,促进生长发育;另一方面在生理生化上为变态后摄食作充分准备。Kamarudin 等<sup>[6]</sup>认为虾类幼体不同发育期消化酶活性变化与虾的食性相一致;据 Van Wormhoudt<sup>[28]</sup>报道,当锯缘长臂虾食性由浮游植物向浮游动物转化时蛋白酶活力明显上升。国内外学者主要研究了日本囊对虾、白滨对虾、中国明对虾、罗氏沼虾、互爱蟹和美洲龙螯虾等幼体发育过程中消化酶活力的变化规律,并分析了各期幼体的食性变化<sup>[3-8]</sup>。

### 2.2 甲壳动物幼体的食性指标

在甲壳动物幼体发育过程中,幼体消化酶活力变化复杂,许多学者试图建立酶活力与饵料之间的某种关系作为幼体的营养状态指标来指导投饵。Jones 等<sup>[21]</sup>认为,甲壳动物幼体主要由中肠腺分泌的消化酶确定能消化的营养物质种类和食性;Biesiot 等<sup>[7]</sup>提出采用淀粉酶/蛋白酶活力(A/P)比值或淀粉酶/类胰蛋白酶(A/T)比值作为甲壳动物幼体的食性指标,比值高则为植物食性或偏植物食性,比值低则为肉食性或偏肉食性。国内外研究者

报道了几种甲壳动物幼体发育过程中 A/P 或 A/T 比值、脂肪酶/酯酶比值的变化情况<sup>[2-4,6,12,29-30]</sup> (表2)。目前由于甲壳动物幼体消化酶尚缺乏专一性分析测定方法,不同作者的结果难以比较,但 A/P 或 A/T 比值可反映某一种类幼体发育过程中的食

性变化。作者认为,采用 A/T 比值可以作为甲壳动物幼体的食性指标,但据汤鸿等<sup>[9]</sup>报道在锯缘青蟹幼体发育过程中, A/P 比值有较大波动,与其食性不符。因此,采用 A/P 或 A/T 比值作为海洋甲壳动物幼体的食性指标尚需进一步验证。

表2 几种甲壳动物幼体发育过程中 A/P 或 A/T 比值以及脂肪酶/酯酶的变化

Tab.2 Changes of ratios on A/P, A/T and lipase/esterase during larval development in several crustacean

| 种 类<br>Species                           | 发育期<br>Developmental stage     | A/P 或 A/T<br>A/P or A/T | 脂肪酶/酯酶<br>Lipase/esterase | 参考文献<br>Reference |
|------------------------------------------|--------------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------|
| 中国明对虾<br><i>Penaeus chinensis</i>        | Z <sub>1</sub>                 | 1.92                    |                           | [12]              |
|                                          | Z <sub>2</sub>                 | 2.16                    |                           |                   |
|                                          | Z <sub>3</sub>                 | 2.51                    |                           |                   |
|                                          | M <sub>1-3</sub>               | 0.95                    |                           |                   |
|                                          | P <sub>1</sub>                 | 0.44                    |                           |                   |
| 日本囊对虾<br><i>Marupenaeus japonicus</i>    | Z <sub>1</sub>                 | 1.92                    |                           | [12]              |
|                                          | Z <sub>2</sub>                 | 1.58                    |                           |                   |
|                                          | Z <sub>3</sub>                 | 2.00                    |                           |                   |
|                                          | M <sub>1-3</sub>               | 0.58                    |                           |                   |
|                                          | P <sub>1</sub>                 | 0.27                    |                           |                   |
| 斑节对虾<br><i>Penaeus monodon</i>           | Z <sub>1</sub> →M <sub>1</sub> | 0.03*                   | 2.0                       | [30]              |
|                                          | M <sub>2-3</sub>               | 0.10*                   | 1.0                       |                   |
|                                          | P <sub>1</sub>                 | 0.19*                   | 6.3                       |                   |
| 白滨对虾<br><i>Litopenaeus setiferus</i>     | Z                              | 0.08*                   | 0.6                       | [4]               |
|                                          | M                              | 0.34*                   | 0.1                       |                   |
|                                          | P <sub>1-4</sub>               | 0.40*                   | 4.3                       |                   |
| 罗氏沼虾<br><i>Macrobrachium rosenbergii</i> | Z <sub>1-4</sub>               | 0.07*                   | 20.8                      | [6]               |
|                                          | Z <sub>5-11</sub>              | 0.38*                   | 11.1                      |                   |
|                                          | P <sub>1</sub>                 | 0.41*                   | 8.5                       |                   |
| 美洲龙螯虾<br><i>Homarus americanus</i>       | Z <sub>1-3</sub>               | 7.71*                   | 0.6                       | [7]               |
|                                          | Z <sub>4</sub>                 | 4.6*                    | 0.3                       |                   |
|                                          | Z <sub>5</sub>                 | 13.6*                   | 0.3                       |                   |
| 三叶真蟹<br><i>Carcinus maenas</i>           | Z <sub>1-3</sub>               | 0.58*                   |                           | [29]              |
|                                          | Z <sub>4</sub>                 | 0.82*                   |                           |                   |
|                                          | M                              | 0.84*                   |                           |                   |
| 中华绒螯蟹<br><i>Eriocheir sinensis</i>       | Z <sub>4</sub>                 | 1.30                    |                           | [12]              |
|                                          | Z <sub>2</sub>                 | 1.40                    |                           |                   |
|                                          | Z <sub>3-5</sub>               | 0.82                    |                           |                   |
|                                          | M <sub>1</sub>                 | 0.82                    |                           |                   |
|                                          | M <sub>5</sub>                 | 0.73                    |                           |                   |
| 三疣梭子蟹<br><i>Portunus trituberculatus</i> | Z <sub>1-3</sub>               | 1.06                    |                           | [12]              |
|                                          | Z <sub>4-5</sub>               | 0.80                    |                           |                   |
|                                          | M                              | 0.78                    |                           |                   |
|                                          | C <sub>1</sub>                 | 0.43                    |                           |                   |

注:表中 Z 表示蚤状幼体期, M 表示糠虾幼体期或大眼幼体期, P 表示仔虾或后期幼体, C 表示幼蟹。A/P 或 A/T 栏中,数据上带\*者为 A/P 比值,不带的为 A/T 比值。

### 3 幼体消化酶的合成与分泌

甲壳动物中肠腺的主要功能是分泌消化酶和吸收营养物质,关于中肠腺细胞的构成、种类、功能和细胞的分化模式一直是研究的热点。据 Al-Mohanna<sup>[31]</sup>报道短沟对虾(*Penaeus semisulcatus*)中肠腺的盲囊小管由 E-细胞、R-细胞、F-细胞、B-细胞、M 细胞(保儒细胞)组成;而有的学者认为在甲壳动物的中肠腺中只有前 4 种细胞<sup>[31-32]</sup>,M 细胞可能与甲壳动物的发育时期不同有关,只存在于蜕皮间期<sup>[32-33]</sup>。目前大多数学者认为中肠腺由 E 细胞开始的 2 个独立的细胞分化路线 R→E→F→B 所形成。甲壳动物幼体消化酶的合成与分泌主要由中肠腺的 4 种细胞完成,其中 E-细胞是胚性细胞,分裂能力较强;F-细胞被认为能合成消化酶,并以酶厚颗粒形式存在;B-细胞内具大型液泡,也存在酶厚颗粒,但比起 F-细胞数量少得多,对于 B-细胞的作用争论较多,Barker 等认为 F-细胞产生的消化酶转移到 B-细胞中进行分泌<sup>[34]</sup>,而 Al-Mohanna<sup>[32]</sup>和 Hopken<sup>[35]</sup>则指出 B-细胞的主要作用是吸收营养物质和排泄,R-细胞可吸收和贮存营养物质以及代谢脂肪和糖原,钙质体的存在说明 R-细胞可储存钙,Vogt 提出中肠腺可作为斑节对虾饵料营养价值的监测器官,因为 R-细胞对不同的饵料很敏感,其超微结构的变化反映食物营养价值的高低<sup>[36]</sup>;而李富花等<sup>[37]</sup>认为,R-细胞的超微结构较易受幼体的生理状态、蜕皮周期和营养状态的影响,因而比较不同幼体期 R-细胞超微结构的变化,必须在同一幼体期的早期、中期或晚期。

甲壳动物在胚胎发育早期,中肠腺由中肠分化而来,为简单的两囊状结构,随着幼体发育,逐渐分化形成许多管状小室的两叶状致密器官,每一管状小室具一简单皮细胞层壁,外由薄的结缔组织和精肌肉纤维与相邻小室隔开;内为许多微绒毛状突起的腔,管状小室端部有未分化的胚胎细胞(E-细胞)。中肠腺管的数量和长度在甲壳动物幼体发育过程中具有明显变化,相应地细胞的数目、体积也随幼体的发育而增加<sup>[33,38-40]</sup>。潘鲁青<sup>[12]</sup>研究认为中国明对虾在整个幼体发育过程中,胃蛋白酶和类胰蛋白酶活力逐渐增大,至 Z<sub>3</sub>后明显上升,而中华绒螯蟹、三疣梭子蟹幼体的胃蛋白酶和类胰蛋白酶活力在 Z<sub>3</sub>时出现明显跃升,淀粉酶活力分别在 Z<sub>2</sub>和

Z<sub>3</sub>时出现一个峰值,以后呈下降趋势,这与王海林等<sup>[33]</sup>、堵南山等<sup>[39]</sup>和朱丽岩等<sup>[40]</sup>对 3 种甲壳动物幼体消化系统发育的研究结果相吻合。由此表明甲壳动物幼体消化酶活力与中肠腺发育程度密切相关。

据 Rodriguez 等<sup>[41]</sup>报道,在日本囊对虾、三叶真蟹(*Carcinus maenas*)幼体培养过程中只投喂单细胞藻类饵料,在前期糠虾幼体期和后期的蚤状幼体四期蛋白水解酶活力仍出现最大值。Jones 等<sup>[24]</sup>报道在斑节对虾、白滨对虾、日本囊对虾、罗氏沼虾等幼体培养中,只投喂卤虫作为饵料,结果 A/P 比值仍出现变化。这表明甲壳动物幼体消化酶的变化不仅与饵料有关,更重要的是受遗传发育控制;有许多实验还证明,处于饥饿状态下的甲壳动物幼体仍能测出消化酶活力<sup>[5]</sup>。因此,幼体消化酶的合成受遗传发育控制,取决于中肠腺的分化程度,同时在幼体不同发育阶段消化酶的调节机制不同,从而使各期幼体出现食性变化。

### 4 幼体消化酶对饲料组成的适应性

大量的研究证明甲壳动物幼体消化酶的合成与分泌不仅由遗传控制、中肠腺发育程度等因子决定,而且还与饲料的营养水平有关<sup>[42-48]</sup>。Lee 等<sup>[43]</sup>研究发现,饲料中不同蛋白质含量和组成对凡纳滨对虾幼体各个时期消化酶活力均有较大的影响;据 Rodriguez 等<sup>[41]</sup>和 Harms 等<sup>[46]</sup>报道,当用卤虫幼体替代单细胞藻类时,日本囊对虾糠虾幼体和互爱蟹大眼幼体的胰蛋白酶活力明显上升;据汤鸿等<sup>[9]</sup>报道锯缘青蟹刚孵化的蚤状幼体用轮虫喂养 1 d 后,其蛋白酶和脂肪酶活力均提高,而淀粉酶、纤维素酶活力下降;潘鲁青等<sup>[5]</sup>研究表明,刚变态的中国明对虾蚤状幼体在投喂单细胞藻类 24 h 后,淀粉酶活力升高,胃蛋白酶和类胰蛋白酶活力下降,而投喂虾粉的与之相反,胃蛋白酶和类胰蛋白酶活力上升,淀粉酶活力下降。这说明甲壳动物幼体消化酶活力受饲料中生化成分的影响和诱导,而且幼体消化酶活力的高低与饲料组成具有一定的相关性。

目前许多学者以消化酶活力为指标研究配合饲料部分或全部代替活饵料饲喂甲壳动物幼体的可行性以及评价饲料组成对甲壳动物幼体的营养价值,如 Le Vay 等<sup>[47]</sup>和 Kumlu 等<sup>[11]</sup>曾分别研究了天然饵料和人工饲料对日本囊对虾、印度对虾幼体生长

和胰蛋白酶活力的影响,从消化酶活力变化分析人工饲料代替天然饵料的效果;Sheen 等<sup>[46]</sup>以蛋白酶和淀粉酶活力为指标,评价不同蛋白质含量和组成的饲料对斑节对虾各期幼体的营养价值;Jones 等<sup>[24]</sup>认为对虾和蟹类后期幼体消化酶活力对饲料组成具有较高的适应性。由此说明甲壳动物幼体摄食不同含量的饲料后,为了更好地消化、吸收和利用饲料中的营养物质,幼体消化酶分泌量出现差异,表现出对饲料组成的明显适应性。值得注意的是幼体消化酶对不同饲料组成的变化,并不能准确反映幼体对饲料中营养物质的消化吸收能力。据 Le Vay 等<sup>[47]</sup>报道在日本囊对虾的糠虾幼体期投喂人工饲料类胰蛋白酶活力很高,而投喂卤虫无节幼体类胰蛋白酶活力很低,这主要是因为人工饲料中含有不易消化的蛋白质引起的。因此,利用甲壳动物幼体消化酶对饲料组成的适应性,不仅可以评估人工饲料代替天然饵料的可行性,还可以推测人工饲料配方的合理性,进一步研究幼体的营养需求,为幼体人工饲料的开发研制创立一种新的技术方法。

#### 参考文献:

- [1] 于书坤,张树荣. 虾类及甲壳动物消化酶研究的现状[J]. 海洋科学, 1986, 10(2): 60-63.
- [2] Dall W, David G W, Moriarty. Functional aspects of nutrition and digestion In The Biology of Crustacea (Ed. by L H Mantel) [M]. New York: Academic Press, 1982, 5: 231-241.
- [3] Gulgani F. Radioimmunoassay of shrimp trypsin: application to the larval development of *Penaeus japonicus* Bate [J]. Mar Biol Ecol, 1985, 87: 145-151.
- [4] Lovett D L, Elder D L. Ontogenetic change in digestive enzyme activity of larval and postlarval white shrimp *Penaeus setiferus* [J]. Biol Bull, 1990, 178(2): 144-159.
- [5] 潘鲁青,王克行. 中国对虾幼体消化酶活力的实验研究[J]. 水产学报, 1997, 21(1): 26-31.
- [6] Kamarudin M S, Jones D A, Le Vay, et al. Ontogenetic change in digestive enzyme activity during larval development of *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Aquaculture, 1994, 123: 323-333.
- [7] Bionot P M, Capuzzo J M. Change in digestive enzyme activities during early development of the american lobster *Homarus americanus* [J]. Mar Biol Ecol, 1990, 136(2): 107-122.
- [8] Hünch H J, Anger K. Digestive enzyme activities during larval development of *Hyas araneus* [J]. Comp Biochem Physiol, 1987, 87B(2): 297-302.
- [9] 汤 鸥,李少青,王桂忠,等. 锯缘青蟹幼体消化酶活力[J]. 厦门大学学报, 1995, 34(1): 88-93.
- [10] Fang Lee-Shing, Lee Bon-Ning. Ontogenic change of digestive enzymes in *Penaeus monodon* [J]. Comp Biochem Physiol, 1992, 103B(4): 1 033-1 037.
- [11] Kumlu M, Jones D A. The effect of live and artificial diets on growth, survival, and trypsin activity in larvae of *Penaeus indicus* [J]. J World Aquacult Soc, 1995, 26(2): 406-415.
- [12] 潘鲁青. 四种虾蟹类幼体消化酶活力的比较研究[J]. 青岛海洋大学学报, 1997, 27(3): 313-318.
- [13] Tsai I H, Chuang K L, Chuang J L. Chymotrypsin in digestive tracts of crustacean decapods (shrimps) [J]. Comp Biochem Physiol, 1986, 85: 235-240.
- [14] Lee P G. Digestive enzymes of penaeid shrimp: A descriptive and quantitative examination of the relationships of enzyme activity with growth, age and diet [D]. Galveston Texas A & M University, 1984. 154.
- [15] Cecchi H J, F Gulgani, Y Benyamini, et al. Variations des activités digestives en fonction des facteurs du milieu chez les Crustacés [J]. Res Comm Ecom Biol, Aquac Montpellier, 1983, 83: 30-31.
- [16] Le Moullac G, Roy P, Van Wormhoudt A. Effects of trophic prophylactic factors on some digestive enzymatic activities of *Penaeus setiferus* larvae [A]. In: Calderon J and Sandoval V. (Eds.), Memorias Primer Congreso Ecuatoriano de Acuicultura [M]. San Pedro de Manglaquito, Ecuador, CENAIM, 1992. 81-86.
- [17] 魏 华,赵维信. 罗氏沼虾幼体及成虾消化酶活性[J]. 水产学报, 1996, 20(1): 61-64.
- [18] Jones D A, M Kumlu, L Le Vay, et al. The digestive physiology of herbivorous, omnivorous and carnivorous crustacean larvae: a review [J]. Aquaculture, 1997, 155: 285-295.
- [19] Mangle P D, Deshimaru O, Katayama T, et al. Characteristics of amylase and protease of the shrimp *Penaeus japonicus* [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1982, 48: 1753-1757.
- [20] Berner D L, Hammond E G. Phylogeny of lipase specificity [J]. Lipids, 1970, 5: 558-562.
- [21] Jones D A, M Kumlu, L Le Vay, et al. The digestive physiology of herbivorous, omnivorous and carnivorous crustacean larvae: a review [J]. Aquaculture, 1997, 155: 285-295.
- [22] Johnston D J, Yellowlees D. Relationship between dietary preferences and digestive enzyme complement of the slipper lobster *Thelus orientalis* [J]. J Crust Biol, 1998, 18(4): 656-665.
- [23] MacDonald N L, Stark J R, Keith M. Digestion and nutrition of prawn *Penaeus monodon* [J]. J World Aquacult Soc, 1989, 53A: 20.
- [24] Bonnie S P, Chan C, Hung T Y. Changes in composition and proteolytic enzyme activities of *Artemia* during early development [J]. Comp Biochem Physiol, 1991, 100A(3): 725-730.
- [25] 刘玉梅,朱源钊. 中国对虾幼体和仔虾消化酶活力及氨基酸组成的研究[J]. 海洋与湖沼, 1991, 22(6): 571-575.
- [26] 李少青,王桂忠. 锯缘青蟹胚胎发育过程中几种水解酶活力的比较研究[J]. 厦门大学学报, 1995, 34(6): 970-974.
- [27] 田华梅,王 群,赵云龙,等. 中华绒螯蟹胚胎发育过程中的消化酶活力及氨基酸组成[J]. 中国水产科学, 2003, 10(5):

- 404-408.
- [28] Van Wormhoudt A. Activité des protéase, des amylase et des protéines solubles au cours du développement larvaire chez *Palaeomon serratus* [J]. Mar Biol, 1973, 19: 245-248.
- [29] Harms J, Meyer-Harms B, Dawirs R R, et al. Growth and physiology of *Carcinus maenas* (Decapoda: Portunidae) larvae in the field and in laboratory experiments [J]. Mar Ecol Prog Ser, 1994, 108: 107-118.
- [30] Karamadın M S. Studies on the digestive physiology of crustacean larvae [D]. Bangor: University of Wales, 1992.
- [31] Al-Mohanna. Functional cytology of the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda) during the moult cycle [J]. Mar Biol, 1989, 101: 535-544.
- [32] AL-Mohanna. M-"Midget" cells and moult cycle in *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda) [J]. J Mar Biol Ass U K, 1987, 67: 803-813.
- [33] 王海林, 廖承义, 张志峰, 等. 中国对虾消化系统发生的研究 [J]. 青岛海洋大学学报, 1997, 27(3): 339-346.
- [34] Barker P L, Gibson R. Observations on the feeding mechanism, structure of the gut, and digestive physiology of European lobster *Homarus gammarus* (L.) (Decapoda: Nephropidae) [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1977, 26: 297-324.
- [35] Hopkin S P, Nott J A. Studies on the digestive cycle of the shore crab *Carcinus maenas* (L.) with special reference to the B-cells in the hepatopancreas [J]. J Mar Biol Ass U K, 1980, 60: 891-907.
- [36] Vogt G. Midgut gland as monitor organ for the nutritional value of diet in *Penaeus monodon* [J]. Aquaculture, 1985, 48: 1-12.
- [37] 李富花, 李少青. 锯缘青蟹幼体肝胰腺的观察研究 [J]. 海洋与湖泊, 1998, 29(1): 29-34.
- [38] Hirsch G C, Jacobs W. Der Arbeitsrhythmus der Mitte Leberdrüse von *Astacus lepto dactylus* [J]. Vergleich Physiol, 1930, 12: 524-527.
- [39] 靖南山, 陈炳良, 赖伟. 中华绒螯蟹幼体消化系统发育的研究 [J]. 海洋与湖泊, 1992, 23(1): 79-82.
- [40] 朱丽岩, 郑家声, 王海林, 等. 三疣梭子蟹幼体中肝胰腺发育的组织学和细胞学研究 [J]. 青岛海洋大学学报, 2000, 30(4): 631-636.
- [41] Rodriguez A, Le Vay L, Mourente G, et al. Biochemical composition and digestive enzyme activity in larvae and postlarvae of *Penaeus japonicus* during herbivorous and omnivorous feeding [J]. Mar Biol, 1994, 118: 45-51.
- [42] Le Moullac G, Klein B, Sellos D, et al. Adaptation of trypsin, chymotrypsin and alpha-amylase to casein level and protein source in *Penaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda) [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1996, 208(1-2): 107-125.
- [43] Brito R, Ronas C, Chimal M E, et al. Effect of different diets on growth and digestive enzyme activity in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) early postlarval development [J]. Aquacult Res, 2001, 32, 118: 257-266.
- [44] Puello-Cruz A C, Singha R S, Jones D A, et al. Trypsin enzyme activity during larval development of *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed on live feeds [J]. Aquaculture Research, 2002, 33: 333-338.
- [45] Lee P G, Smith L L, Lawrence A L. Digestive proteases of *Penaeus Vannamei* Boone: relationship between enzyme activity, size and diet [J]. Aquaculture, 1998, 42: 225-239.
- [46] Harms J A, Anger K, Klaus S, et al. Nutritional effects on ingestion rate, digestive activity, growth and biochemical composition of *Hyas araneus* [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1991, 145: 233-265.
- [47] Le Vay L, Rodriguez A, Karamadın M S, et al. Influence of live and artificial diets on tissue composition and trypsin activity in *Penaeus japonicus* larvae [J]. Aquaculture, 1993, 118: 287-297.
- [48] Shen S S, Huang H T. The effects of different protein sources on the survival of grass shrimp, *Penaeus indicus* (Fabricius, 1798) larvae from zoea to postlarvae (Decapoda: Natantia) [J]. Crustaceana, 1998, 71(8): 909-924.

## A review on digestive enzyme of crustacean larvae

PAN Lu-qing, LIU Hong-yu, XIAO Guo-qiang

(The Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

**Abstract:** The advances in research of basal theory and application of digestive enzyme of crustacean larvae were reviewed from following aspects: 1) Classification and characterization. The primary sorts identified are Protease, Trypsin, Carboxypeptidase A, Carboxypeptidase B, Arylamidase, Collagenase, Elastase, Pepsin, Chymotrypsin, Esterase, Lipase, AmylaseAmy, Cellulase, Chitinase, Maltase, Sucrase, Laminarinase etc., and the molecular weight, optimum pH and temperature of larvae digestive enzyme were narrated. 2) The relation between the changes of digestive enzyme activity and feeding habit of larvae. The ratios of AmylaseAmy/ Protease (A/P) and AmylaseAmy/Trypsi (A/T) maybe appropriate indexes to feeding habit of larvae. 3) Synthesis and secretion of digestive enzyme. The development of digestive organs of larvae were synthesized and the conclusion indicated that the synthesis and secretion of digestive enzyme were not only controlled by inheritance and developmental stage of midgut gland, but also by the composition of diets. The mensuration of digestive enzyme of crustacean larvae and indexes to the feeding habit of larvae were discussed, and the new approach to study the nutritional requirement of crustacean larvae from the adaptability of digestive enzyme to the composition of diets. [Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(3): 492 – 501]

**Key words:** crustacean; larvae; digestive enzyme