

大黄鱼发育进程中消化酶的活力变化

席峰, 林利民, 王志勇

(集美大学水产生物技术研究, 福建 厦门 361021)

摘要:不同发育阶段大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)样品体重30~500 g, 取自厦门海区网箱养殖区。以酶学分析方法测定大黄鱼发育进程中胃蛋白酶、胰蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶4种消化酶的活力。结果表明, 在大黄鱼发育进程中, 对蛋白的整体消化能力始终较强; 4种消化酶活力表现出2种变化模式, 其中胃蛋白酶和胰蛋白酶活力逐渐降低, 而淀粉酶和脂肪酶活力呈上升趋势。胃蛋白酶、胰蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶的比活力随鱼体重的变化分别遵循回归方程 $Y = 34.89/X + 0.050$; $Y = 53.36/X + 0.29$; $Y = -22.38/X + 1.13$ 和 $Y = -1.35/X + 0.13$ 。初步认为, 在大黄鱼发育过程中, 150 g体重为其生长发育的转折点, 这一阶段各种消化酶的变化可反映其食性的变化情况, 本研究旨在为大黄鱼配合饲料的研制与开发提供基础依据。

关键词:大黄鱼; 胃蛋白酶; 胰蛋白酶; 淀粉酶; 脂肪酶; 酶活力

中图分类号: S965.322; Q558.9

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2003)04-0301-04

大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)是我国海水养殖的主要种类, 其经济效益与社会效益显著^[1]。蛋白质、糖类和脂肪是鱼类必需的营养物质, 与之对应的消化酶活力则决定了饲料的消化率。因此, 研究鱼类消化酶的活力变化对实际生产具有现实的指导意义。有关鱼类消化酶的研究已有大量报道^[2-3], 然而大黄鱼消化酶方面的研究尚未见报道。本研究通过对大黄鱼消化酶的研究, 旨在探求其营养生理, 以期为研制大黄鱼不同发育阶段的配合饲料提供基础依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

不同发育阶段大黄鱼采自厦门海区网箱养殖区, 体重30~500 g(见表1)。将大黄鱼饥饿24 h后进行宰杀, 称重, 剖取胃、肠装入冻存管, 立即置于液氮罐中保存备用。

1.2 样品制备

取大黄鱼胃、肠置冰浴中, 分别加入3倍体积预

冷的pH 2.5乙酸酸化水, 在玻璃匀浆器中匀浆。匀浆液以日产TOMY-RD20Ⅲ型冷冻离心机于2℃、5 000 r/min离心20 min, 弃沉淀, 取上清液于1.5 mL离心管中, 暂时置低温冰箱2℃保存待测。

1.3 活力测定

1.3.1 胃蛋白酶活力测定 参考刘玉梅等^[4-6]所用方法: 取0.04 mol/L EDTA-Na₂ 0.25 mL, 0.2 mol/L柠檬酸缓冲液0.75 mL, 酶液1 mL, 0.5%干酪素2 mL, 混匀后置37℃水浴中, 反应15 min后加入10%三氯乙酸3 mL, 过滤, 取上清液1 mL, 加入0.55 mol/L的Na₂CO₃ 5 mL, 在37℃下显色10 min, 于波长680 nm处比色。胰蛋白酶活力的测定基本上同胃蛋白酶, 所用缓冲液改为0.05 mol/L硼砂-氢氧化钠缓冲液。

1.3.2 淀粉酶活力的测定 采用次亚碘酸法^[6]。取2%淀粉液2 mL, 0.1 mol/L醋酸缓冲液(pH 4.6)2 mL于37℃水浴中平衡, 加酶液0.1 mL, 在37℃水浴中保温10 min, 然后置于水浴中煮沸10 min, 终止反应。冷却后, 取1 mL反应液于碘量瓶中, 加入0.1 mol/L碘液1 mL, 滴加0.15 mol/L的NaOH 1 mL, 摇匀, 于20~30℃暗处静置15~30 min, 加入1.5 mol/L的H₂SO₄ 0.4 mL酸化, 以0.025 mol/L硫代硫酸钠滴定, 指示剂为2%淀粉, 终

收稿日期: 2002-09-19; 修订日期: 2002-12-25.

基金项目: 国家“八六三”高技术研究发展计划项目(2002AA603 021).

作者简介: 席峰(1972-), 男, 硕士, 讲师, 从事动物营养研究.

点呈无色。

表1 大黄鱼样品基本参数

Table 1 Data on fish sample $\bar{X} \pm SD$

编号 No.	体重/g Body weight	体长/cm Body length	胃重/g Stomach weight	肠重/g Intestine weight
1	32.2±1.7	12.9±0.4	0.4±0.1	0.2±0.1
2	38.1±1.5	13.7±0.5	0.4±0.1	0.2±0.1
3	44.2±1.2	14.2±0.4	0.4±0.1	0.3±0.0
4	51.0±1.0	15.1±0.4	0.4±0.1	0.4±0.1
5	57.5±3.4	15.4±0.4	0.6±0.1	0.4±0.1
6	78.4±2.6	17.2±0.2	0.7±0.1	0.5±0.1
7	82.9±2.1	17.8±0.4	0.7±0.1	0.5±0.2
8	86.5±0.6	17.9±0.4	0.7±0.1	0.4±0.1
9	90.8±0.9	17.7±0.2	0.7±0.1	0.6±0.4
10	95.5±4.0	18.5±0.4	0.7±0.2	0.5±0.2
11	105.6±2.7	19.2±0.4	0.8±0.1	0.7±0.1
12	116.2±3.7	19.5±0.1	1.1±0.1	0.7±0.1
13	125.3±4.6	19.7±0.4	1.1±0.1	1.0±0.1
14	136.7±3.0	20.7±0.3	1.2±0.2	0.9±0.3
15	147.5±2.1	21.4±0.9	1.1±0.1	0.9±0.2
16	158.3±2.0	21.8±0.6	1.6±0.1	1.0±0.2
17	168.3±2.3	22.2±0.5	1.6±0.1	0.9±0.3
18	174.2±1.9	22.5±0.7	1.8±0.2	1.0±0.2
19	187.4±4.8	22.7±1.0	1.7±0.2	1.2±0.1
20	203.8±2.9	23.3±0.3	1.8±0.3	1.3±0.2
21	246.0±8.2	25.4±1.2	2.2±0.3	1.3±0.1
22	280.2±10.7	25.8±1.0	2.3±0.2	1.5±0.5
23	307.6±5.6	26.5±0.4	2.0±0.5	1.9±0.5
24	330.1±7.1	27.5±0.8	2.9±0.5	1.8±0.5
25	362.4±1.8	28.2±0.6	3.6±0.6	1.8±0.1
26	374.9±4.7	28.6±1.1	2.7±0.2	2.2±0.4
27	409.5±5.7	29.4±0.9	2.4±0.2	2.2±0.3
28	433.8±5.4	29.5±0.7	3.6±0.4	2.6±0.4
29	489.0±20.1	30.3±0.6	3.9±0.3	2.2±0.3

注:每个编号含5尾大黄鱼。

Note: For each number, $n=5$.

1.3.3 脂肪酶活力测定方法^[6] 向三角烧瓶中加入0.025 mol/L磷酸缓冲液(pH 7.5)5 mL,4%聚乙烯醇橄榄油乳化液4 mL,置于37℃水浴中预热10 min,然后加入1 mL酶液,37℃温浴15 min后立即加入95%乙醇15 mL,终止酶反应,再加入1%酚酞指示剂3滴,以0.05 mol/L的NaOH标准液滴定脂肪酶含量。

每个样品同时作3个平行,1个对照。以37℃下,每分钟生成1 μg酪氨酸(葡萄糖、脂肪酸)的酶量作为胃蛋白酶、类胰蛋白酶(淀粉酶、脂肪酶)的1个活力单位(U)。

1.4 比活力定义

胃蛋白酶比活力定义为每mg胃的酶活力单位

数(U/mg);类胰蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶的比活力定义为每mg肠的酶活力单位数(U/mg)。

1.5 统计分析

对所获数据应用SPSS软件进行统计分析。

2 结果

2.1 消化酶活力和比活力变化

胃蛋白酶活力在整个发育过程中变化不甚明显(见图1),而其比活力则随着体重的增长呈明显下降趋势,在体重150 g时,胃蛋白酶比活力下降渐缓,并逐渐趋于稳定(见图2)。类胰蛋白酶活力变化波动较大(见图3),而其比活力变化趋势类似于胃蛋白酶,即在体重150 g时,下降趋于平缓(见图4)。随着发育的进行,大黄鱼淀粉酶活力呈上升趋势(见图5),而比活力变化与胃蛋白酶、类胰蛋白酶相反(见图6),即体重150 g以前呈上升趋势,150 g以后渐趋平稳并达到最高。大黄鱼脂肪酶活力和比活力变化与淀粉酶相似,即随着大黄鱼发育的进行而递增(见图7、8)。

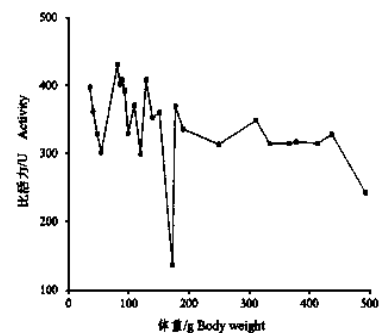


图1 胃蛋白酶活力变化

Fig.1 Variation of pepsin activity

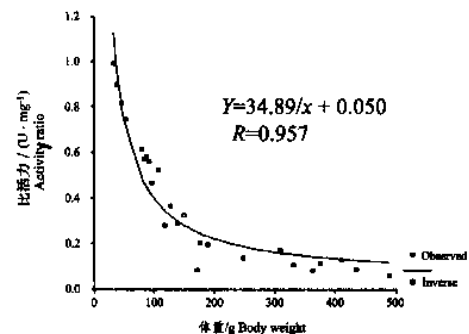


图2 胃蛋白酶比活力变化

Fig.2 Variation of activity ratio of pepsin

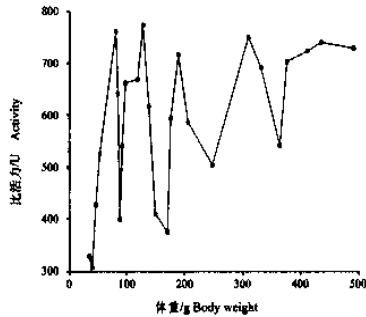


图3 类胰蛋白酶活力变化

Fig.3 Variation of trypsin activity

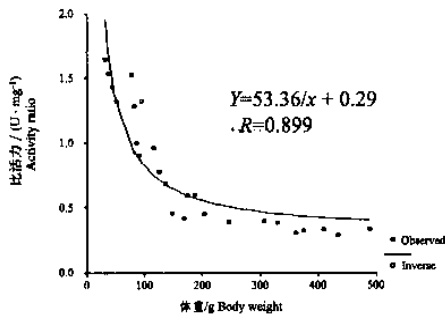


图4 类胰蛋白酶比活力变化

Fig.4 Variation of activity ratio of trypsin

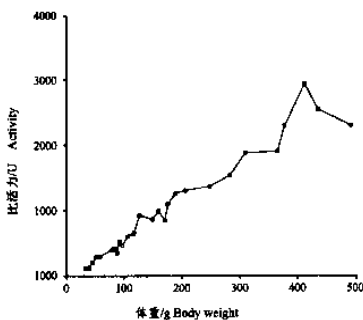


图5 淀粉酶活力变化

Fig.5 Variation of amylase activity

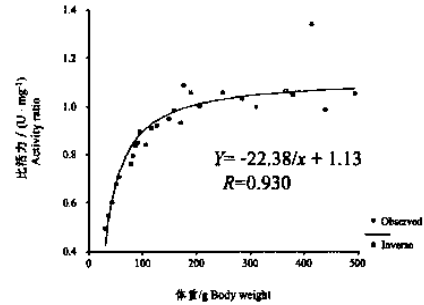


图6 淀粉酶比活力变化

Fig.6 Variation of activity ratio of amylase

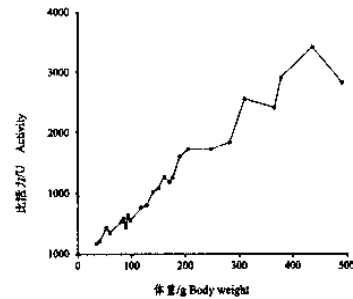


图7 脂肪酶活力变化

Fig.7 Variation of lipase activity

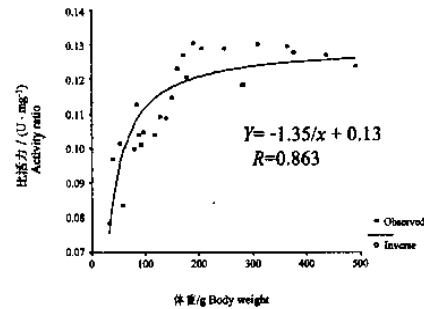


图8 脂肪酶比活力变化

Fig.8 Variation of activity ratio of lipase

3 讨论

3.1 消化酶活力与比活力

本实验的结果表明,各种消化酶的活力变化波动较大,而其比活力变化却呈现出明显的函数关系。这说明,采用比活力作为指标表征消化酶活性的变化更能反映动物的内在生理规律。

3.2 消化酶的变化规律

回归分析表明,大黄鱼在150 g前其胃蛋白酶和类胰蛋白酶比活力随着体重的增加而下降,而其渐趋平稳,说明150 g前为大黄鱼发育较快的阶段。这也可从大黄鱼体重与体长的变化(见表1)得到证实。因而此阶段可能是大黄鱼骨骼发育和相应骨骼肌沉积较为迅速的时期。与蛋白酶比活力变化趋势相应,淀粉酶和脂肪酶比活力则是随着体重的

增加而升高,在150 g后趋于平稳。这说明体重在150 g之前,蛋白质不仅提供大黄鱼生长发育所需的氮源,而且还是其主要能源。这与 Teshima 等^[7]和 Lemos 等^[8]研究对虾饵料时的结论相似。

由图1、3、5、7可以看出,胃蛋白酶和胰蛋白酶的活力虽然受各种因素的影响而变异较大,但总体都维持在较高的水平。这说明,在整个发育进程中,大黄鱼对蛋白的整体消化能力始终较强;而淀粉酶和脂肪酶活力则是逐渐升高的,说明其对淀粉和脂肪的消化力是逐渐提高的。当大黄鱼发育至体重150 g时,它对各类营养物质的消化能力已趋于成熟。因此150 g前后应为大黄鱼营养需求的重要的转折期。至于30 g以前大黄鱼的消化酶活性状况,本实验因养殖场的实际条件限制并未进行,今后将在育苗场采样进行相关实验。

另外,本实验所测大黄鱼消化道内的脂肪酶活力和比活力均处于较低水平,这可能因为在养殖过程中,大黄鱼饵料主要是脂肪含量很低的小杂鱼等鲜活饵料和部分配合饲料所致。脂肪酶是一种可诱导的胞外酶^[9],因而本实验中大黄鱼脂肪酶变化可能不能如实反映其对脂肪的利用状况,需要大黄鱼各发育阶段的饵料中添加与不添加脂肪以进行对比实验,方可进一步说明问题。配合饲料中含有部分 α -淀粉,因而淀粉酶的活性较高,这与王重刚等^[10]对真鲷稚鱼消化酶研究的结果类似。

综上所述,在大黄鱼发育进程中,体重150 g左右这一时期为其生长发育的重要转折点,这一阶段

各种消化酶的变化反映了其食性的变化情况与营养需求状况^[2-3,11],它可作为大黄鱼配合饲料分阶段研制的基础。

参考文献:

- [1] 洪万树,张其永. 我国海水鱼类养殖的现状、问题与对策[J]. 科学养鱼,2001(9):12-17.
- [2] 杨惠萍,童圣英,王子臣. 国内外关于水产动物消化酶研究的概况[J]. 大连水产学院学报,1998,13(3):64-71.
- [3] 周景祥,陈勇,黄权,等. 鱼类消化酶的活性及环境条件的影响[J]. 华北大学学报(自然科学版),2001,2(1):70-74.
- [4] 刘玉梅,朱谨钊,吴厚余,等. 中国对虾幼体和仔虾消化酶活力及氨基酸组成的研究[J]. 海洋与湖泊,1991,22(6):572-575.
- [5] 张龙翔,张庭芳,李令媛,等. 生化实验方法和技术[M]. 北京:人民教育出版社,1981. 170-172.
- [6] 中山大学生物系生化微生物学教研室. 生化技术导论[M]. 北京:人民教育出版社,1979. 57-59.
- [7] Teshima S, Kanazawa A, Yamashita M. Dietary value of several proteins and supplemental amino acids for larvae of the prawn *Penaeus japonicus*[J]. Aqu, 1986, 51:225-235.
- [8] Lemos D, Ezquerro J M, Garcia-Carren F L. Protein digestion in penaeid shrimp: digestive proteinase inhibitors and feed digestibility[J]. Aqu, 2000, 186:89-105.
- [9] 尾崎久雄. 鱼类消化生理(上、下册)[M]. 上海:上海科学技术出版社,1983. 296-328.
- [10] 王重刚,陈品健,顾勇,等. 不同饵料对真鲷稚鱼消化酶活性的影响[J]. 海洋学报,1998,20(4):103-106.
- [11] 吴婷婷,朱晓鸣. 鳊鱼、青鱼、草鱼、鲤、鲫、鲢消化酶活性的研究[J]. 中国水产科学,1994,1(2):10-17.

Activities of digestive enzymes during development period in *Pseudosciaena crocea*

XI Feng, LIN Li-min, WANG Zhi-yong

(Aquiculture Biological Technique Institute, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: The *Pseudosciaena crocea* were collected from the cage culture area in Xiamen sea area. The samples were at different development stages with body weight 30-500 g. After 24 h starvation, the analysis was conducted. The results showed that during the whole development, the digestive activity in *P. crocea* were high for protein, and the activities of the four digestive enzymes showed two different patterns in variation that the activities of pepsin and trypsin decreased along with the growth of *P. crocea*, while the activities of amylase and lipase increased with that. The variation of activity ratio(Y) with body weight(X) of pepsin, trypsin, amylase and lipase followed the equation $Y = 34.89/X + 0.050$, $Y = 53.36/X + 0.29$, $Y = -22.38/X + 1.13$, and $Y = -1.35/X + 0.13$, respectively. When the body weight is about 150 g, the variation curves of the activity for the four digestive enzymes perform smoothly. So, this stage is the changing point for development and feed characters of *P. crocea*.

Key words: *Pseudosciaena crocea*; pepsin; trypsin; amylase; lipase; enzyme activity