

温度对中国对虾幼体生长发育 与消化酶活力的影响*

潘鲁青 马 姓 王克行

(青岛海洋大学, 266003)

摘 要 本文通过计数、称重和酶学分析的实验方法研究温度对中国对虾幼体生长发育与消化酶活力的影响。实验表明, 温度对中国对虾各期幼体的存活率、变态率和增重量及三种消化酶活力有明显的影响, 呈一个峰值变化。在实验温度范围内随着幼体发育, 温度对存活率的影响逐渐减弱, 对增重量影响逐渐增大。还表明温度对其各期幼体消化酶活力的影响与食性有关, 各期幼体的三种消化酶活力对环境温度有各自的适应性, 适温范围为 22—28℃, 而且在幼体发育过程中, 其适宜温度逐渐上升。

关键词 温度, 中国对虾, 幼体, 生长发育, 消化酶活力

随着中国对虾养殖业的发展, 对苗种质量的要求越来越高, 而在对虾育苗过程中, 对于生态调控技术方面存在着许多盲目性, 要培育出抗病力强的健壮虾苗, 必须合理调控幼体培育适宜的生态条件。国内外学者关于中国对虾幼体生长发育适宜温度的研究很多, 冈正雄^[6]以幼体在不同温度中两次蜕皮之间体长和体重的增长值为指标, 推断幼体生长的适温为 24—25℃; 张伟权等^[1]根据各期幼体在不同温度下每次蜕皮所需时间, 认为各期幼体的适温范围为 19—25℃。本文研究了温度对中国对虾幼体生长发育和消化酶活力的影响, 并探讨从消化酶活力角度确定中国对虾各期幼体培育适宜的生态条件, 为中国对虾的人工繁殖技术提供了有关温度控制范围的生理依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验于 1996 年 4—5 月在即墨市田横镇水产养殖公司进行。各组实验分别取刚变态的中国对虾 (*Penaeus chinensis*) 各期幼体: 无节幼体 V—VI 期 (N_{5-6})、溞状幼体 I 期 (Z_1)、溞状幼体 II 期 (Z_2)、溞状幼体 III 期 (Z_3)、糠虾幼体 I 期 (M_1)、糠虾幼体 II—III 期 (M_{2-3})。

1.2 实验方法

收稿日期: 1996—11—04。

* 国家攀登计划 B 资助项目, PDB6—2—2 号。

1.2.1 实验分组 分五组: $N_{5-6} \rightarrow Z_1$ 、 $Z_1 \rightarrow Z_2$ 、 $Z_2 \rightarrow Z_3$ 、 $Z_3 \rightarrow M_1$ 、 $M_2 \rightarrow M_3 \rightarrow$ 仔虾第 1 天(P_1)。实验容器为玻璃槽, 水体 6L, 连续充气, 前四组幼体培育密度为 10 万尾/ m^3 , 最后一组为 5 万尾/ m^3 。

1.2.2 温度设置和调节 温度设置为 19℃、22℃、25℃、28℃、31℃, 每个温度设三个平行组, 控温仪水浴控温。幼体放入前调整实验水温至幼体原水温, 幼体放入后, 调节温度升降 1–2℃/h, 至各温度梯度, 记录实验开始的时间。

1.2.3 日常管理 在实验过程中, 日换水 1/4, 并加入同温度的砂滤海水。饵料种类为: Z_{1-3} 投喂新月菱形藻和蛋黄, M_{1-3} 投喂蛋糕和轮虫, 各温度梯度投饵量相同, 均为过量。

1.2.4 实验指标 温度对幼体生长发育的影响和温度对幼体消化酶活力的影响按上述方法分别进行。前者实验 48 小时后计数成活率、变态率, 并取幼体总数的 10% 放入经煮沸、过滤和沉淀后的干净海水中, 幼体排净粪便(0.5–1h)后, 捞出, 吸干水分, 放入烘箱(105℃), 烘干至恒重, 用万分之一分析天平称重, 每个实验温度作三个平行组; 在实验前先按上述步骤称量放入幼体的干重; 计算单位时间每尾幼体的增重量。后者在实验过程中, 每隔 4–6 小时取样观察一次, 各温度梯度幼体变态率至 80% ± 3% 时, 清除残饵取样, 样品低温(–18℃)保存, 待用。

1.3 酶活力测定

1.3.1 样品制备 各期幼体分别取 200–400mg 置于冰浴中, 加入 10 倍体积(W/V)预冷重蒸水, 在玻璃匀浆器中匀浆, 以 TGL–16G 型冷冻离心机于 0–1℃、9 000–10 000r/min 离心 30min, 上清液作酶活力测定。

1.3.2 胃蛋白酶和类胰蛋白酶活力测定 按刘玉梅等^[2]的方法。测胃蛋白酶时, 加入 0.5% 干酪素溶液 2ml, 0.04M EDTA–Na₂ 0.1ml, 0.2M 柠檬酸缓冲液(pH3.0) 0.4ml, 酶液 0.4ml, 加入重蒸水使总体积为 3.5ml, 混匀; 置于 37℃ 水浴中, 反应 15min; 然后加入 30% 三氯醋酸 1ml, 离心, 取上清液, 用福林–酚试剂测酪氨酸生成。在 37℃ 下, 每分钟水解干酪素产生 1μg 酪氨酸作为一个酶活力单位(μg/min)。

类胰蛋白酶活力的测定基本上同胃蛋白酶, 所用缓冲液改为 0.05M 硼砂–氢氧化钠缓冲液(pH9.8)。

1.3.3 淀粉酶活力测定 加入 0.067M 磷酸缓冲液(pH6.9)配制的 1% 淀粉溶液 0.5ml, 酶液 0.5ml, 摇匀; 置于 25℃ 水浴中, 保温 3min; 然后加入 3,5–二硝基水杨酸指示剂溶液 2ml, 置于沸水浴 5min 后, 取出流水冷却, 定容至 10ml, 490nm 处比色测麦芽糖的含量。在 25℃ 下, 每分钟催化淀粉生成 1μg 麦芽糖作为一个酶活力单位(μg/min)。

1.3.4 酶液蛋白浓度测定 以牛血清白蛋白作标准, 用双缩脲法测定^[3]。

1.4 数据的分析与整理

幼体的存活率以存活的未变态和变态幼体数占放入幼体总数的百分率表示。幼体的变态率是指已变态存活的幼体数占放入幼体总数的百分率。各实验组的存活率、变态率和增重量先进行方差分析, 若显性($P < 0.05$), 再求最佳温度下存活率、变态率和增重量的点估计和置信度为 95% 的置信区间。消化酶活力以三次实验数据的标准差表示。

2 实验结果

2.1 温度对中国对虾幼体存活和生长发育的影响

由表 1 可看出, 在不同温度下中国对虾各期幼体的存活率、变态率和增重量出现明显的

峰值变化,而且变化趋势基本一致,如 $Z_3 - M_1$ 实验组在 25°C 时,存活率、变态率和增重量都达最大值,各组数据的方差分析均呈显性,表明温度对幼体的存活率、变态率和增重量有显著影响,由此计算出最佳温度下幼体存活率、变态度和增重量的置信区间(表 3),即在最佳温度下幼体存活率、变态率和增重量的变化范围。在实验温度范围内随着中国对虾幼体发育,温度对存活率影响逐渐减弱,对增重量影响逐渐增大,而对变态率在 $N_{5-6} \rightarrow Z_1$ 和 $M_{2-3} \rightarrow P_1$ 两实验组影响较大,其它实验组影响较小,同时温度对变态率的影响比对存活率的影响大,说明中国对虾在整个幼体发育过程中对温度的适应范围逐渐增高,而幼体的生长受温度的作用也逐渐变大。

表 1 温度对中国对虾幼体存活率、变态率和增重量的影响

Table 1 Effects of temperature to the larvae of *Penaeus chinensis* on survival rates, metamorphosis rates and weight increments

组 别 Groups	温度($^{\circ}\text{C}$) Temperature	存活率(%) Survival rates	变态率(%) Metamorphosis rates	增重量 [$\mu\text{g}/\text{ind}\cdot\text{d}$] Weight increments
N_{5-6} ↓ Z_1	19	82.11	75.28	1.99
	22	84.33	84.17	2.72
	25	80.61	80.22	2.43
	28	64.83	64.83	1.81
	31	59.78	59.78	1.06
Z_1 ↓ Z_2	19	84.78	74.94	2.17
	22	88.39	83.89	3.39
	25	85.33	81.72	2.67
	28	76.78	73.44	2.33
	31	72.94	70.72	1.39
Z_2 ↓ Z_3	19	81.22	68.44	2.54
	22	88.50	81.39	3.28
	25	88.83	86.56	4.42
	28	83.61	80.22	3.83
	31	74.33	73.29	1.94
Z_3 ↓ M_1	19	87.17	67.83	3.78
	22	88.61	79.28	6.56
	25	92.89	87.67	7.39
	28	84.56	77.61	6.78
	31	75.28	74.50	5.22
M_{2-3} ↓ P_1	19	88.22	53.89	5.28
	22	90.11	61.56	6.74
	25	90.61	83.56	9.56
	28	93.28	88.33	9.17
	31	80.33	79.83	7.11

2.2 温度对中国对虾幼体消化酶活力的影响

实验结果表明,温度对中国对虾幼体三种消化酶活力有明显影响,呈现一个峰值变化(表 2),温度对淀粉酶活力的影响比对胃蛋白酶和类胰蛋白酶活力影响更为显著,而且温度对中国对虾各期幼体胃蛋白酶、类胰蛋白酶和淀粉酶活力变化趋势的影响相近,如 $Z_1 \rightarrow Z_2$ 实验组在 22°C 时,胃蛋白酶、类胰蛋白酶和淀粉酶活力均达最大值。实验还表明温度对幼体变态发育影响较为明显,温度越高,变态时间越短,说明温度是影响幼体生长发育重要的

环境因子。

由此可见,在实验温度范围内温度对中国对虾幼体的存活率、变态率和增重量及三种消化酶活力有明显影响,以存活率、变态率、增重量和三种消化酶活力作指标可得出中国对虾各期幼体培育的适宜温度(表3)。

表2 温度对中国对虾幼体消化酶活力的影响

Table 2 Effects of temperature to the larvae of *Penaeus chinensis* on digestive enzyme activities

组别 Groups	温度(℃) Temperature	变态时间(h) Metamorphosis Periods	胃蛋白酶 Pepsin	胰蛋白酶 Trypsin	淀粉酶 Amylase
N ₅₋₆ ↓	19	62	0.06 ± 0.01	0.23 ± 0.05	0.29 ± 0
	22	49	0.13 ± 0.04	0.38 ± 0.08	0.58 ± 0.05
	25	42	0.11 ± 0	0.42 ± 0.01	0.38 ± 0.01
Z ₁	28	34	0.08 ± 0.02	0.16 ± 0.06	0.41 ± 0.08
	31	29	0.03 ± 0.01	0.22 ± 0.02	0.17 ± 0.03
Z ₁ ↓	19	54	0.08 ± 0.02	0.33 ± 0.03	0.31 ± 0.04
	22	46	0.15 ± 0.04	0.46 ± 0.08	0.72 ± 0.04
	25	42	0.09 ± 0.05	0.42 ± 0.01	0.65 ± 0.03
Z ₂	28	32	0.05 ± 0.01	0.31 ± 0	0.37 ± 0.01
	31	27	0.04 ± 0.02	0.26 ± 0.04	0.24 ± 0.07
Z ₂ ↓	19	63	0.02 ± 0.01	0.19 ± 0	0.25 ± 0.03
	22	50	0.09 ± 0.02	0.37 ± 0.05	0.43 ± 0.14
	25	43	0.10 ± 0.04	0.40 ± 0.03	0.48 ± 0.08
Z ₃	28	36	0.04 ± 0.01	0.31 ± 0.12	0.39 ± 0.02
	31	31	0.03 ± 0	0.27 ± 0.06	0.35 ± 0.06
Z ₃ ↓	19	67	0.05 ± 0.03	0.17 ± 0.02	0.21 ± 0.02
	22	59	0.12 ± 0.04	0.35 ± 0.04	0.32 ± 0.08
	25	48	0.19 ± 0.08	0.45 ± 0.06	0.55 ± 0.03
M ₁	28	41	0.15 ± 0.05	0.36 ± 0.01	0.47 ± 0.01
	31	36	0.07 ± 0.01	0.22 ± 0.08	0.25 ± 0.07
M ₂₋₃ ↓	19	68	0.20 ± 0.04	0.32 ± 0.05	0.15 ± 0.06
	22	60	0.26 ± 0.05	0.41 ± 0.02	0.12 ± 0.04
	25	55	0.34 ± 0.01	0.62 ± 0.03	0.34 ± 0.01
P ₁	28	45	0.39 ± 0.14	0.75 ± 0.08	0.36 ± 0.05
	31	39	0.35 ± 0.11	0.65 ± 0.03	0.31 ± 0.03

注:酶的活力以比活力表示,即活力单位/mg 蛋白

Note: The numerical value in the table expresses specific activities of digestive enzyme (U/mg protein).

表3 中国对虾各期幼体培育的适宜温度及存活率、变态率和增重量的置信区间

Table 3 The suitable temperature for the breeding larvae of *Penaeus chinensis* and the believable region of survival rates, metamorphosis rates and weight increments

发育期 Development period	温度(℃) Temperature	存活率(%) Survival rates	变态率(%) Metamorphosis rates	增重量[μg/(ind·d)] Weight increments
N ₅₋₆ →Z ₁	22	82.09 - 86.58	80.04 - 88.31	2.36 - 3.08
Z ₁ →Z ₂	22	83.17 - 93.61	80.44 - 87.34	2.94 - 3.18
Z ₂ →Z ₃	22 - 25	82.64 - 95.02	83.82 - 89.30	3.75 - 5.09
Z ₃ →M ₁	25	90.43 - 95.35	84.09 - 91.25	6.82 - 7.96
M ₂₋₃ →P ₁	25 - 28	90.15 - 96.41	82.52 - 94.14	8.16 - 10.08

3 讨论

3.1 中国对虾幼体的适温范围

实验表明,中国对虾各期幼体对温度的适应逐渐增高,适宜温度由 22℃ 逐渐增至 28℃,这一范围似乎与对虾主群分布的海区温度不符,也与冈正雄报道^[6]中国对虾幼体生长的适温范围为 24–25℃,张伟权等^[1]认为中国对虾各期幼体的适温范围为 19–25℃ 的观点略有不同。但是考虑到中国对虾起源于暖海区^[4],因而具有这种耐高温的特性也就不难理解。实验还表明在实验温度范围内,中国对虾幼体的生长发育速度在 $N_5-6 \rightarrow Z_3$ 时,低温要比高温快;在 $Z_3 \rightarrow P_1$ 时,高温比低温要快,这在对虾育苗中应予以注意。

在对虾养殖过程中,虾苗的质量和成活率的高低是至关重要的。据吴琴瑟报道^[5]台湾省在斑节对虾苗种生产过程中,为快出苗提高出苗量,盲目升高幼体培育温度,由 28℃ 左右升至 35℃ 左右,以加速幼体变态发育速度,出苗虽可缩短 7 天左右,但不利于虾苗健康,以致养殖成活率较低,这也是对虾养殖过程中疾病泛滥,产量下降的一个重要原因。在中国对虾育苗过程中,这种现象也普遍存在,尤其是近年来中国对虾养殖遭受了严重的传染性病毒病的危害,给对虾养殖业造成巨大损失,这与虾苗的质量差和抗病力下降有一定的关系。作者认为环境温度不仅直接影响着幼体新陈代谢速度,决定着幼体生长发育的快慢,也决定着幼体成活率的高低。实验结果表明,中国对虾各期幼体要求的适宜温度有所不同,温度越高,幼体变态发育速度越快,而幼体的存活率、变态率和增重量及消化酶活力降低,从而影响了幼体的健康和抗病力。因此,在中国对虾苗种生产过程中,应合理调控各期幼体的培育温度,提高幼体的生长发育速度,生产出健壮抗病力强的虾苗。

3.2 温度对幼体消化酶活力的影响

中国对虾属变温动物,环境温度变化直接影响对虾机体内的生理生化过程,也与其幼体消化酶活力密切相关。消化酶活力高低决定着幼体对营养物质消化吸收能力,从而决定幼体生长发育速度。实验表明,不同温度下中国对虾各期幼体三种消化酶活力有明显变化。在一定温度范围内,胃蛋白酶、类胰蛋白酶和淀粉酶活力较高,表明幼体生长发育所需的适宜温度。因此从消化酶活力角度确定中国对虾各期幼体培育温度的方法是可行的。

实验还表明,随着中国对虾幼体的发育,温度对胃蛋白酶和类胰蛋白酶活力影响逐渐增强,而对淀粉酶活力影响逐渐减弱,而且温度对各期幼体淀粉酶活力影响比胃蛋白酶和类胰蛋白酶活力影响更为显著,说明温度对中国对虾幼体三种消化酶活力影响程度与幼体食性有关,因此可以与食性相关的消化酶活力做为确定各期幼体培育温度主要指标。也说明了中国对虾各期幼体三种消化酶活力对环境温度有各自的适应性,这可能与中肠腺分化程度以及幼体不同发育阶段消化酶调节机制不同有关。在一定温度下,随着幼体发育胃蛋白酶和类胰蛋白酶活力逐渐增大,淀粉酶活力呈下降趋势,表明消化酶活力受中肠腺发育程度的影响。这与王海林* 认为在中国对虾蚤状幼体期具有两对中肠腺盲囊,第一对中肠腺盲囊在突出处缢缩,并分化出吸收细胞,第二对中肠腺盲囊由突起逐渐分枝形成初级中肠腺小管,在糠虾幼体期第一对中肠腺盲囊相对缩小至退化消失,第二对中肠腺盲囊分枝增多,内壁出现皱褶,仔虾期进一步分化为密集的指状中肠腺盲管,最终形成中肠腺的观点相吻合。

综上所述,温度对中国对虾幼体生长发育和三种消化酶活力均有很大影响,因此在对虾

* 王海林,1996。中国对虾消化系统发生的研究。青岛海洋大学硕士论文。

育苗生产中必须综合考虑这几方面因素,合理调节各期幼体的培育温度,在保证对虾幼体健康的前提下,力求加快幼体的生长发育速度以缩短培育周期,减少人力、物力的消耗。根据这一原则,我们认为中国对虾幼体培育中最佳温度选择为:无节幼体期为 22℃,蚤状幼体期为 22-25℃,糠虾幼体期和仔虾为 25-28℃。我们还应看到影响对虾幼体的环境因子很多,它们的作用既有联系又有制约,对于其它环境因子对其幼体生长发育和消化酶活力的影响还有待于进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 张伟权等,1980。影响对虾幼虫存活原因的初步商榷。海洋湖沼通报,(2):41-49。
- [2] 刘玉梅等,1991。中国对虾幼体和仔虾消化酶活力及氨基酸组成的研究。海洋与湖沼,22(6):571-575。
- [3] 北京大学生物系生物化学教研室编,1980。生物化学实验指导,71-72。人民教育出版社。
- [4] 沈嘉瑞等,1976。我国的虾蟹,22-25。科学出版社。
- [5] 吴琴瑟,1992。虾蟹养殖高产技术,68-73。农业出版社。
- [6] 冈正雄,1970。ユウライエビの采苗かう養殖まび。养殖,7(2):34-40。

EFFECTS OF TEMPERATURE ON GROWTH DEVELOPMENT AND DIGESTIVE ENZYME ACTIVITIES OF THE LARVAE OF *PENAEUS CHINENSIS*

Pan Luqing Ma Sheng Wang Kexing
(Ocean University of Qindao, 266003)

ABSTRACT In this paper, the effects of temperature on growth development and digestive enzyme activities of the larvae of *Penaeus chinensis* are studied by means of counting, weighing and enzyme analysing. The experimental results indicate that temperature has a distinct effect on larval survival rates, metamorphosis rates, weight increments and three digestive enzyme activities of prawn, and the character shows a peak value change. In the range of experimental temperatures, the effects of temperature on survival rates decrease and on weight increments increase with the larval growth, but the speed of growth development is low temperature is faster than in high temperature from nauplius (V - VI) to zoea (III) and faster in high temperature than in low temperature from zoea (III) to postlarva (first day). This should be paid attention to during the seed breeding of prawn. Meanwhile, the effects of temperature on larval digestive enzyme activities of prawn have something to do with its feeding habits. In addition, three digestive activities of the larvae adapt themselves respectively to the environmental temperatures. In a certain temperature, the activities of pepsin enzyme and trypsinase increase with the larval growth and the activities of amylase enzyme decrease. It is concluded that the suitable temperature is 22-28℃ for breeding larvae and it increases gradually with larval growth.

KEYWORDS Temperature, *Penaeus chinensis*, Larvae, Growth development, Digestive enzyme activities