

大弹涂鱼成鱼消化酶活性的研究

吴仁协, 戈薇, 洪万树, 张其永

(厦门大学 海洋与环境学院海洋系, 福建 厦门 361005)

摘要:采用酶学分析方法, 研究 pH 对成体大弹涂鱼(*Boleophthalmus pectinirostris*)胃的蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶以及肠道的蛋白酶、胰蛋白酶、糜蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶活性的影响, 检测了酸性蛋白酶、胰蛋白酶、糜蛋白酶、羧肽酶 A、氨基肽酶、 γ -谷氨酰转肽酶、脂肪酶、碱性磷酸酶、淀粉酶、纤维素酶、麦芽糖酶、蔗糖酶、乳糖酶、海藻糖酶和纤维二糖酶等 15 种消化酶活性在胃、肝脏和肠道中的分布。实验将鱼肠道从前部到后部切成 3 等份, 分别称为肠 I、肠 II、肠 III。结果表明: (1) 胃的蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶的最适 pH 值分别为 2.5~3.5、6.5 和 5.5, 肠道蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶的最适 pH 值分别为 9.5、7.5 和 6.0~7.5, 肠道的胰蛋白酶和糜蛋白酶的最适 pH 值分别为 7.5 和 8.0。 (2) 除胃的酸性蛋白酶和碱性磷酸酶外, 胃和肝脏的各种消化酶活性均显著低于肠道 ($P < 0.05$)。 (3) 肠 I 和肠 III 的胰蛋白酶和糜蛋白酶活性均显著高于肠 II ($P < 0.05$), 肠 I 的羧肽酶 A 活性显著高于肠 II 和肠 III ($P < 0.05$), 肠 III 的氨基肽酶、 γ -谷氨酰转肽酶和碱性磷酸酶等 3 种与营养物质吸收有关的消化酶活性均显著高于肠 I 和肠 II ($P < 0.05$), 3 段肠的脂肪酶活性无显著差异 ($P > 0.05$)。 (4) 肠 I 的淀粉酶和纤维素酶活性均显著高于肠 II 和肠 III ($P < 0.05$); 肠 II 的麦芽糖酶、蔗糖酶、乳糖酶、海藻糖酶和纤维二糖酶等 5 种二糖酶活性均显著高于肠 I 和肠 III ($P < 0.05$)。由此说明, (1) 成体大弹涂鱼胃在食物的消化过程中不起重要作用, 但胃具有吸收功能; (2) 肠 I 是消化吸收淀粉的主要部位, 肠 II 是二糖消化和吸收的主要部位, 肠 III 是蛋白质、脂类和无机盐等营养吸收的主要部位。 [中国水产科学, 2007, 14(1): 99—105]

关键词:大弹涂鱼; 蛋白酶; 脂肪酶; 碱性磷酸酶; 糖酶

中图分类号: Q48

文献标识码: A

文章编号: 1005—8737—(2007)01—0099—07

根据酶的特异性, 可以将蛋白酶分为肽链内切酶和肽链外切酶^[1]。肽链内切酶, 如胃蛋白酶、胰蛋白酶及糜蛋白酶等将蛋白质初步分解成肽和氨基酸的混合物; 而肽链外切酶, 如羧肽酶、氨基肽酶及肽酶等将肽类进一步分解成氨基酸和小肽, 从而被机体吸收^[1-2]。糖酶可分为多糖酶和糖苷酶。多糖酶可水解多糖类, 如淀粉酶和纤维素酶等; 糖苷酶可催化简单糖苷和二糖, 如 α -半乳糖苷酶和二糖酶等^[3]。国外学者对鱼类蛋白酶和糖酶种类的细化研究已有一些报道^[4-6], 而国内对于鱼类消化酶的研究通常仅见蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶等粗略分类^[7-9]。

大弹涂鱼(*Boleophthalmus pectinirostris*)隶属于鲈形目(Perciformes), 虎鱼亚目(Gobioidei), 弹涂鱼科(Periophthalmidae), 栖息于海洋潮间带滩涂, 营穴居生活, 在中国盛产于浙江、福建、广东、广

西和台湾沿海, 是中国东南沿海重要的经济养殖鱼类。有关鱼类消化酶的研究已有不少报道^[10], 然而对于海洋潮间带洞穴鱼类消化酶活性的研究, 迄今国内外未见报道。关于大弹涂鱼的摄食习性、消化器官的发育过程以及消化道组织结构等方面已有研究报道^[11-13]。因此, 本实验在这些研究结果的基础上, 探讨 pH 值对大弹涂鱼消化酶活性的影响以及各种消化酶活性在胃、肝脏、肠道的分布, 以期了解大弹涂鱼的消化生理特点, 为研制大弹涂鱼的人工配合饲料提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品制备

成体大弹涂鱼于 2005 年秋季捕自福建省福宁湾自然海区潮间带滩涂, 活鱼运回实验室后, 在冰盘上逐尾解剖, 迅速取出内脏, 将胃、肝脏和肠道分离,

收稿日期: 2006—05—30; 修订日期: 2006—07—31。

基金项目: 国家自然科学基金项目(30170739, 40476056); 福建省重大科研项目(2003No. 26); 福建省科技重大专项(2004SZ01—02)。

作者简介: 吴仁协(1981—), 男, 硕士, 主要从事海洋鱼类生理学研究。E-mail: wurenxie@xmu.edu.cn

通讯作者: 洪万树。E-mail: wshong@xmu.edu.cn

取20尾消化道含有食物的大弹涂鱼用于实验研究。实验用鱼体长 (9.13 ± 0.86) cm, 体质量 (10.45 ± 1.09) g, 1⁺龄鱼。剖开胃、肠道, 并用pH微电极(Hanna, HI 1083P, 意大利)测定胃和整个肠道的pH值, 然后将肠道从前部到后部切成3等份, 分别称为肠Ⅰ、肠Ⅱ和肠Ⅲ。由每4尾鱼的同一部位组织合成1个样品, 每个样品设5个平行组。剔除各部位表面的脂肪组织, 并用4℃的双蒸水冲洗干净, 滤纸吸干各部位水分并称重。然后加入适量4℃的双蒸水, 高速组织匀浆机(Polytron, PT-MR 2100, 瑞士)匀浆, 离心30 min(2℃、9 000 g), 取其上清液, 置于-80℃冰箱中, 用于酶活力测定。

1.2 pH梯度设置

pH 1.0~2.5用甘氨酸-盐酸缓冲体系, pH 2.5~7.5用磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲体系, pH 7.5~9.5用Tris-HCl缓冲体系, pH 9.5~12.0用甘氨酸-氢氧化钠缓冲体系。胃蛋白酶设pH 1.0~9.0, 胃淀粉酶设pH 1.0~10.0, 胃脂肪酶设pH 3.0~9.0, 肠蛋白酶设pH 1.0~11.5, 肠胰蛋白酶和糜蛋白酶设pH 6.0~11.5, 肠淀粉酶设pH 1.0~11.5, 肠脂肪酶设pH 4.0~10.5, pH梯幅均为0.5。

1.3 消化酶活性测定

用Cary 50分光光度计测定各种消化酶活性, 测定方法参考文献[14—21], 测定项目: 蛋白酶和酸性蛋白酶^[14]、胰蛋白酶和糜蛋白酶^[15]、羧肽酶A^[16]、碱性磷酸酶^[17]、氨基肽酶和 γ -谷氨酰转肽酶^[18]、脂肪酶^[19]、淀粉酶和纤维素酶^[20]、麦芽糖酶、蔗糖酶、乳糖酶、海藻糖酶以及纤维二糖酶^[21]。胰

蛋白酶、糜蛋白酶和羧肽酶A的反应温度为25℃, 其余的消化酶为37℃。

γ -谷氨酰转肽酶以1 h水解产生1 μ mol产物为1个酶活性单位(U), 其余消化酶以1 min水解产生1 μ mol产物为1个酶活性单位(U)。组织中酶活性以1 g新鲜组织中所含酶活力单位数量(U/g tissue)计。

1.4 数据处理

实验数据以平均值±标准差($n=5$)表示, 采用SPSS 11.0统计软件进行单因素方差分析, 检验各实验组间数据的差异显著性, $P<0.05$ 为差异性显著。

2 结果与分析

2.1 消化道的pH值

大弹涂鱼在胃、肠含有食物时, 胃内pH值为 5.68 ± 0.41 , 范围为5.40~6.42; 肠道的pH值为 7.44 ± 0.76 , 范围为6.83~8.07。

2.2 pH对消化酶活性的影响

大弹涂鱼胃蛋白酶的最适pH值为2.5~3.5, 当pH>5.0时, 胃蛋白酶活性微弱甚至未检测到(图1)。肠蛋白酶活性在pH 1.0~12.0范围内, 有3个峰值, 分别是3.5、8.0和9.5, 但最适pH值为9.5。肠胰蛋白酶和糜蛋白酶最适pH值分别为7.5和8.0(图2)。胃、肠脂肪酶最适pH值分别为6.5和7.5, 二者曲线变化相似, 均呈典型的单峰形(图3)。胃淀粉酶的最适pH值为5.5, 肠淀粉酶的最适pH值范围较广, 为6.0~7.5(图4)。

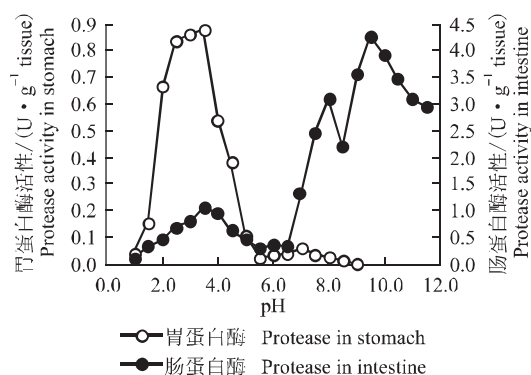


图1 pH对消化道蛋白酶活性的影响(37℃)

Fig. 1 Effects of pH on activities of protease in digestive tract(37℃)

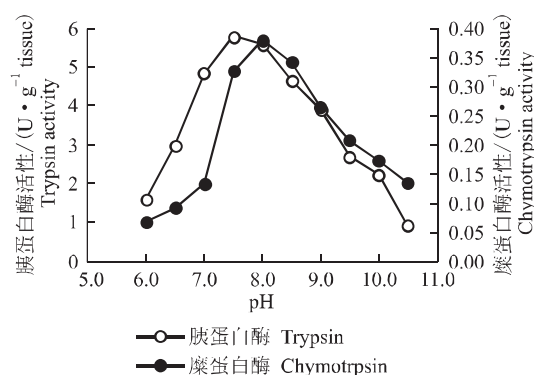


图2 pH对肠道胰蛋白酶和糜蛋白酶活性的影响(25℃)

Fig. 2 Effects of pH on activities of trypsin and chymotrypsin in intestinal tract(25℃)

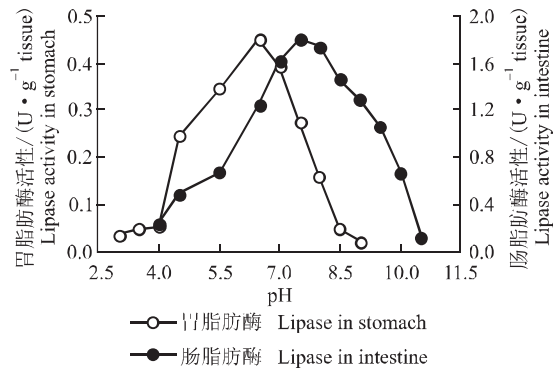


图 3 pH 对消化道脂肪酶活性的影响(37 °C)

Fig. 3 Effects of pH on activities of lipase in digestive tract(37 °C)

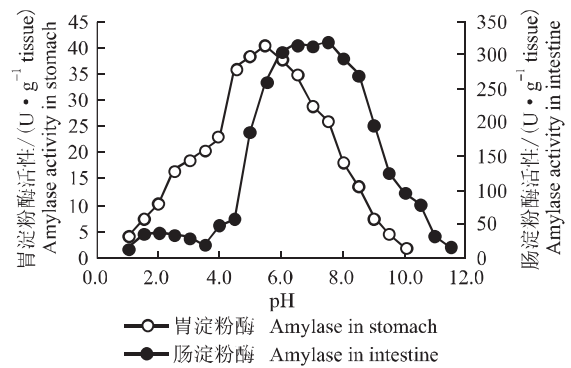


图 4 pH 对消化道淀粉酶活性的影响(37 °C)

Fig. 4 Effects of pH on activities of amylase in digestive tract(37 °C)

2.3 蛋白酶、脂肪酶和碱性磷酸酶的活性

在大弹涂鱼的胃部,只检测到酸性蛋白酶和氨基肽酶的活性,而检测不到胰蛋白酶、糜蛋白酶、羧肽酶 A 和 γ -谷氨酰转肽酶等其他蛋白酶类的活性(表 1)。胃的碱性磷酸酶活性显著高于肠 I 和肠 II ($P<0.05$),但与具有活性最高值的肠 III 无显著差异($P>0.05$)。肝脏虽可检测到所测定的各种蛋白酶、脂肪酶和碱性磷酸酶,但其活性均显著低于胃和

肠道($P<0.05$)。肠 I 和肠 II 的酸性蛋白酶活性与胃无显著差异($P>0.05$),肠 I 和肠 III 的胰蛋白酶和糜蛋白酶活性均显著高于肠 II ($P<0.05$),肠 I 的羧肽酶 A 活性显著高于肠 II 和肠 III ($P<0.05$),肠 III 的氨基肽酶、 γ -谷氨酰转肽酶和碱性磷酸酶活性均显著高于肠 I 和肠 II ($P<0.05$)。各段肠的脂肪酶活性大致相同,无显著差异($P>0.05$)。

表 1 大弹涂鱼不同消化器官蛋白酶、脂肪酶和碱性磷酸酶的活性

Tab. 1 Activities of proteases, lipase and alkaline phosphatase in different digestive organs of *B. pectinirostris*

$n=5; \bar{X} \pm SD; U/g \text{ tissue}$

组 织 Tissue	酸性蛋白酶 Acid protease	胰蛋白酶 Trypsin	糜蛋白酶 Chymotrypsin	羧肽酶 A Carboxy-peptidase A	氨基肽酶 Amino-peptidase	γ -谷氨酰转肽酶 γ -glutamyl-transpeptidase	脂肪酶 Lipase	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase
胃 Stomach	0.59 $\pm$ 0.10 ^a	—	—	—	4.08 $\pm$ 1.30 ^c	—	0.27 $\pm$ 0.09 ^b	19.61 $\pm$ 5.12 ^a
肝脏 Liver	0.10 $\pm$ 0.05 ^b	1.44 $\pm$ 0.40 ^c	0.17 $\pm$ 0.09 ^b	4.05 $\pm$ 1.97 ^c	0.84 $\pm$ 0.37 ^d	0.48 $\pm$ 0.28 ^d	0.08 $\pm$ 0.04 ^c	1.89 $\pm$ 0.54 ^c
肠 I Intestine I	0.54 $\pm$ 0.21 ^a	7.24 $\pm$ 1.00 ^a	0.39 $\pm$ 0.12 ^a	33.41 $\pm$ 9.76 ^a	11.10 $\pm$ 2.80 ^b	5.96 $\pm$ 1.11 ^c	1.71 $\pm$ 0.87 ^a	13.91 $\pm$ 1.24 ^b
肠 II Intestine II	0.64 $\pm$ 0.27 ^a	2.90 $\pm$ 0.59 ^b	0.21 $\pm$ 0.08 ^b	19.17 $\pm$ 5.47 ^b	10.69 $\pm$ 3.07 ^b	9.13 $\pm$ 1.03 ^b	1.41 $\pm$ 0.39 ^a	14.61 $\pm$ 4.26 ^b
肠 III Intestine III	0.21 $\pm$ 0.16 ^b	6.75 $\pm$ 0.72 ^a	0.33 $\pm$ 0.07 ^a	19.90 $\pm$ 7.13 ^b	17.91 $\pm$ 4.58 ^a	15.62 $\pm$ 4.72 ^a	1.56 $\pm$ 0.42 ^a	23.89 $\pm$ 5.10 ^a

注:“—”表示没有检测到酶活性,表中同一列右上角标有不同英文字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: “—” indicates that enzyme activities were undetected. Values with different superscript letters in the same column are significantly different($P<0.05$).

2.4 糖酶活性

从表 2 可看出,胃可检测到淀粉酶、纤维素酶、麦芽糖酶、蔗糖酶、乳糖酶、海藻糖酶和纤维二糖酶

等 7 种糖酶,但其活性均显著低于肠道($P<0.05$)。肝脏仅检测到较低的淀粉酶、乳糖酶和海藻糖酶活性。肠 I 的淀粉酶和纤维素酶活性均显著高于肠 II

和肠Ⅲ ($P<0.05$)。肠Ⅱ的麦芽糖酶、蔗糖酶、乳糖酶、海藻糖酶和纤维二糖酶等 5 种二糖酶活性均显著高于肠Ⅰ和肠Ⅲ ($P<0.05$)。总体上看,整个肠

道中 5 种二糖酶活性高低的顺序为麦芽糖酶、纤维二糖酶、海藻糖酶、乳糖酶、蔗糖酶。

表 2 大弹涂鱼不同消化器官糖酶的活性

Tab. 2 Activities of carbohydrases in different digestive organs of *B. pectinirostris*

组织 Tissue	$n=5; \bar{X} \pm SD; U/g \text{ tissue}$						
	淀粉酶 Amylase	纤维素酶 Cellulase	麦芽糖酶 Maltase	蔗糖酶 Sucrase	乳糖酶 Lactase	海藻糖酶 Trehalase	纤维二糖酶 Cellobiase
胃 Stomach	27.26 $\pm$ 5.92 ^d	0.12 $\pm$ 0.05 ^e	10.35 $\pm$ 3.29 ^e	5.80 $\pm$ 2.00 ^d	6.37 $\pm$ 1.84 ^d	7.57 $\pm$ 0.98 ^e	9.89 $\pm$ 2.77 ^d
肝脏 Liver	10.65 $\pm$ 1.20 ^e	—	—	—	1.07 $\pm$ 0.44 ^e	1.81 $\pm$ 0.47 ^d	—
肠Ⅰ IntestineⅠ	401.08 $\pm$ 59.87 ^a	0.74 $\pm$ 0.18 ^a	28.25 $\pm$ 4.59 ^b	9.16 $\pm$ 1.05 ^e	10.12 $\pm$ 2.05 ^e	19.05 $\pm$ 4.56 ^b	23.46 $\pm$ 4.19 ^b
肠Ⅱ IntestineⅡ	304.98 $\pm$ 48.63 ^b	0.31 $\pm$ 0.11 ^b	39.92 $\pm$ 3.38 ^a	24.72 $\pm$ 6.46 ^a	21.53 $\pm$ 4.93 ^a	27.72 $\pm$ 4.71 ^a	30.18 $\pm$ 4.30 ^a
肠Ⅲ IntestineⅢ	178.06 $\pm$ 40.09 ^c	0.26 $\pm$ 0.08 ^b	31.54 $\pm$ 3.07 ^b	14.92 $\pm$ 2.41 ^b	15.94 $\pm$ 2.45 ^b	16.51 $\pm$ 2.30 ^b	15.94 $\pm$ 3.03 ^c

注:“—”表示没有检测到酶活性,表中同一列右上角标有不同英文字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

Note: “—” indicates that enzyme activities were undetected. Values with different superscript letters in the same column are significantly different ($P<0.05$).

3 讨论

3.1 pH 值与消化酶活性

鱼类消化道内酸碱度的主要作用是对食物起酸化或碱化作用以及为消化酶提供适宜的 pH 值^[22]。大弹涂鱼胃蛋白酶的最适 pH 值为 2.5~3.5,当 pH>5.0 时,胃蛋白酶活性微弱甚至未检测到。而胃内有食物时 pH 为 5.40~6.42,这提示大弹涂鱼的胃液并不能提供给胃蛋白酶最适宜的 pH 值,这说明了大弹涂鱼的胃在蛋白质的消化过程中不起重要作用。朱友芳和张其永^[13]对大弹涂鱼消化道组织学的研究表明,大弹涂鱼的胃和胃腺均不发达,胃的主要功能是贮存食物,而消化功能弱。一些胃欠发达的鱼类,如锦䰾 (*Zoarcetes anguillar*) 和鲮鱼 (*Mugil cephalus*) 等,其胃内 pH 值较高,胃消化酶活性较弱,食物的消化主要集中在肠道^[10];而一些胃发达的肉食性鱼类,如鳊鱼 (*Siniperca chautsi*)^[7]、许氏平鲉 (*Sebastes schlegeli*)^[8] 和大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*)^[9] 等,胃蛋白酶活性较高,胃是蛋白质消化的主要器官。

大弹涂鱼肠蛋白酶活性在 pH 1.0~12.0 范围内出现 3 个峰值表明其消化蛋白质的多功能性,而

肠道可检测到 6 种主要蛋白酶则支持了这种推测。大弹涂鱼肠蛋白酶活性在 pH 3.5 出现峰值可能是由于胃液流入肠道所致,这与真鲷 (*Sparus aurata*) 肠蛋白酶的研究相类似^[23]。大多数硬骨鱼类的肠蛋白酶活性在中性—碱性范围内只有 1 个峰值^[24],而欧洲鲷 (*Solea solea*)^[5] 和遮目鱼 (*Chanos chanos*)^[25] 的肠蛋白酶活性在此范围内却有 2 个峰值,大弹涂鱼的肠蛋白酶活性也有类似的发现。大弹涂鱼肠胰蛋白酶和糜蛋白酶的最适 pH 值分别为 7.5 和 8.0,表明肠蛋白酶在 pH 8.0 的峰值主要是由胰蛋白酶和糜蛋白酶贡献的,而 pH 9.5 的峰值则可能是由羧肽酶、弹性蛋白酶以及胶原蛋白酶等一些碱性蛋白酶贡献的^[5]。

大弹涂鱼胃脂肪酶和淀粉酶的最适 pH 值分别为 6.5 和 5.5,与胃内的 pH 值相一致,但其活性均显著低于肠道 ($P<0.05$),这提示大弹涂鱼在胃内就开始消化淀粉和脂肪,但作用有限。大弹涂鱼肠脂肪酶和淀粉酶的最适 pH 值分别为 7.5 和 6.0~7.5,蛋白酶的最适 pH 值为 9.5,但在 pH 8.0 还有 1 个次峰值,而肠道内有食物 pH 为 6.83~8.07,说明大弹涂鱼肠道内的 pH 值基本上能满足这 3 种消化酶活性的发挥。大弹涂鱼肠道除酸性蛋白酶和碱

性磷酸酶外,其余所检测的各种消化酶活性均显著高于胃($P < 0.05$),表明大弹涂鱼的肠道是蛋白质、脂类和碳水化合物消化和吸收的主要场所。

3.2 消化酶活性与消化器官

胰脏是胰蛋白酶、糜蛋白酶、羧肽酶、脂肪酶和淀粉酶等酶类的中心生成器官^[26]。大弹涂鱼肝脏各种消化酶的活性均显著低于肠道($P < 0.05$),提示大弹涂鱼的肝脏可能相对游离于胰脏,但有待于解剖学和组织学的进一步证实。Benitez 等^[25]以及 Martinez 等^[24]分别在遮目鱼和欧洲鳊 (*Engraulis encrasicolus*) 肝脏消化酶活性的研究中也发现同样现象。

鱼类胃内除胃蛋白酶(酸性蛋白酶)之外的消化酶存在与否依种类而异^[10]。在大弹涂鱼的胃中,可以检测到 7 种糖酶活性,而蛋白酶类却仅能检测到酸性蛋白酶和氨基肽酶。这表明大弹涂鱼胃的蛋白酶类和糖酶存在互补现象,这与吴婷婷和朱晓鸣^[7]报道的几种无胃鱼肠道中的脂肪酶和淀粉酶活性高低之间存在互补现象的研究结果相似。碱性磷酸酶参与脂类、葡萄糖、钙和无机磷等营养的吸收和转运^[27],是营养物质吸收的标志酶^[28]。大弹涂鱼胃的碱性磷酸酶活性显著高于肠 I 和肠 II ($P < 0.05$),但与肠 III 无显著差异($P > 0.05$),这提示大弹涂鱼的胃具有吸收功能。有研究表明,长竿黄魮 (*Peristedion longispatha*) 的幽门胃和多鳞大麻哈鱼 (*Oncorhynchus tshawytscha*) 的胃上皮细胞均具有吸收功能^[29]。

酸性蛋白酶、胰蛋白酶、糜蛋白酶、羧肽酶、氨基肽酶以及 γ -谷氨酰转肽酶等 6 种主要的蛋白酶均存在于植食性、杂食性和肉食性鱼类中^[5-6,25,30]。大弹涂鱼的肠道可检测到上述 6 种主要的蛋白酶,表明大弹涂鱼虽然是植食性鱼类,但仍然能够广泛地利用各种蛋白源。氨基肽酶和 γ -谷氨酰转肽酶除消化功能外,均具有转运氨基酸的功能^[30-31]。大弹涂鱼肠 III 的氨基肽酶、 γ -谷氨酰转肽酶和碱性磷酸酶等 3 种消化酶活性均显著高于肠 I 和肠 II ($P < 0.05$),表明肠 III 是蛋白质、脂类和无机盐等营养吸收的主要部位。有学者认为大多数鱼类肠黏膜层分泌蛋白酶的能力由前向后逐渐减弱^[32]。但是,本实验和其他学者的研究结果则表明,鱼类蛋白酶的活性在肠道的分布并无规律性,而是因种类不同而异^[7,33-34]。

大弹涂鱼肠 I 的淀粉酶活性均显著高于肠 II 和肠 III ($P < 0.05$),表明肠 I 是消化淀粉的主要部位。

肠 II 的麦芽糖酶、蔗糖酶、乳糖酶、海藻糖酶和纤维二糖酶等 5 种二糖酶活性显著高于肠 I 和肠 III ($P < 0.05$),表明大弹涂鱼对二糖消化和吸收的主要部位是肠 II。鱼类的纤维素酶是内源性的或是由微生物产生的尚有争议^[34]。大弹涂鱼摄食的颗粒有机碎屑中含有大量的微球菌^[35],因此其消化道中的纤维素酶可能是由消化道内含物的微生物所产生。纤维二糖酶是将纤维素最后降解为葡萄糖的关键酶^[36]。大弹涂鱼的肠道可检测到一定程度的纤维二糖酶活性,这是否表明大弹涂鱼能够利用纤维素,还有待于进一步证实。海藻糖广泛存在于海藻和地衣等低等植物中^[37],因此大弹涂鱼的消化道和肝脏中的海藻糖酶与其主要摄食底栖硅藻的食性有关。这与植食性的遮目鱼因摄食藻类而在其肠道中检测到较高的海藻糖酶活性的研究结果相一致^[4]。大弹涂鱼整个肠道的 5 种二糖酶活性以麦芽糖酶最高,这与一些学者对鱼类二糖酶活性的研究结果相一致^[4,30,38-39],表明麦芽糖酶在鱼类糖类消化过程中的作用要比其他的二糖酶更为重要。

参考文献:

- [1] Hirji K N, Courtney W A M. Leucine aminopeptidase activity in the digestive tract of perch, *Perca fluviatilis* L[J]. *J Fish Biol*, 1982, 21: 615-622.
- [2] Sabapathy U, Teo L H. Some properties of the intestinal proteases of the rabbitfish, *Siganus canaliculatus* (Park)[J]. *Fish Physiol Biochem*, 1995, 14: 215-221.
- [3] 郑集, 陈钧辉. 普通生物化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1998.
- [4] Chiu Y N, Benitez L V. Studies on the carbohydrases in the digestive tract of the milkfish *Chanos chanos* [J]. *Mar Biol*, 1981, 61: 247-254.
- [5] Clark J, McNaughton J E, Stark J R. Metabolism in marine flatfish - II. Protein digestion in dover sole (*Solea solea* L.) [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1985, 81B: 217-222.
- [6] Sabapathy U, Teo L H. A quantitative study of some digestive enzymes in the rabbitfish, *Siganus canaliculatus* and the sea bass, *Lateolabrax niloticus* [J]. *J Fish Biol*, 1993, 42: 595-602.
- [7] 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.
- [8] 郑家声, 冯晓燕, 许氏平. 消化道中部分消化酶的研究[J]. *中国水产科学*, 2002, 9(4): 309-314.
- [9] 付新华, 孙谦, 孙世春. 大菱鲆消化酶的活力[J]. *中国水产科学*, 2005, 12(1): 26-32.
- [10] 尾崎久雄. 鱼类消化生理[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985.
- [11] 袁传宝. 弹涂鱼和大弹涂鱼消化道的比较解剖及其和食性的

- 关系[J]. 南京大学学报:生命科学版,1963,2:36—46.
- [12] 颜开强,张其永. 大弹涂鱼仔、稚、幼鱼消化系统的发育及其食性的研究[J]. 海洋学报,1991,13(2):240—246.
- [13] 朱友芳,张其永. 九龙江口潮间带大弹涂鱼食性及其消化管组织结构[J]. 台湾海峡,1993,12(3):225—232.
- [14] Walford J, Lam T J. Development of digestive tract and proteolytic enzyme activity in seabass (*Lates calcarifer*) larvae and juveniles[J]. Aquaculture, 1993, 109: 187—205.
- [15] Hummel B C W. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin, and thrombin[J]. Can J Biochem Physiol, 1959, 37: 1 393—1 399.
- [16] Folk J E, Schirmer E W. The porcine pancreatic carboxypeptidase A system[J]. J Biol Chem, 1963, 238: 3 884—3 894.
- [17] Bessey O A, Lowry O H, Brock M J. Rapid coloric method for determination of alkaline phosphatase in five cubic millimeters of serum[J]. J Biol Chem, 1946, 164: 321—329.
- [18] George S G, Kenny A J. Studies on the enzymology of purified preparation of brush border from rabbit kidney[J]. Biochem J, 1973, 134: 43—57.
- [19] Borlongan I G. Studies on the digestive lipases of milkfish, *Chanos chanos*[J]. Aquaculture, 1990, 89: 315—325.
- [20] 蒋传葵,金承德,吴仁龙. 工具酶活力的测定[M]. 上海: 上海科学出版社, 1982: 74—82.
- [21] Dahlquist A. Assay of intestinal disaccharidases[J]. Analyt Biochem, 1968, 22: 99—107.
- [22] 叶元土,林仕梅,罗莉,等. 温度、pH值对南方大口鲶、长吻鱼危蛋白酶和淀粉酶活力的影响[J]. 大连水产学院学报, 1998, 13(2): 17—23.
- [23] Munilla-Moran R, Saborido-Rey F. Digestive enzymes in marine species. I. proteinase activities in gut from redfish (*Sebastes mentella*), seabream (*Sparus aurata*) and turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. Comp Biochem Physiol, 1996, 113B: 395—402.
- [24] Martinez A, Serra J L. Proteolytic activities in the digestive tract of anchovy (*Engraulis encrasicolus*)[J]. Comp Biochem Physiol, 1989, 93B: 61—66.
- [25] Benitez L V, Tiro L B. Studies on the digestive proteases of the milkfish *Chanos chanos*[J]. Mar Biol, 1982, 71: 309—315.
- [26] Fange R, Grove D. Digestion[M]//Hoar W S, Randall D J, Brett J R. Fish physiology. Vol. 8. New York: Academic Press, 1979: 162—260.
- [27] Tengjaroenkul B, Smith B J, Caceci T, et al. Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L[J]. Aquaculture, 2000, 182: 317—327.
- [28] Cara J B, Moyano F J, Cardenas S, et al. Assesment of digestive enzyme activities during larval development of white bream[J]. J Fish Biol, 2003, 63: 48—58.
- [29] Kapoor B G, Smith H, Verighina I A. The alimentary canal and digestion in teleosts[M]//Russell FS, Yong M. Advances in marine Biology. Vol. 13. London: Academic Press. 1975: 109—211.
- [30] Harpaz S, Uni Z. Activity of intestinal mucosal brush border membrane enzymes in relation to the aquaculture fish species [J]. Comp Biochem Physiol, 1999, 124A: 155—160.
- [31] Zambonino-Infante J L, Cahu C L. Development and response to a diet change of some digestive enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae[J]. Fish Physiol Biochem, 1994, 12: 399—408.
- [32] 倪寿文,桂远明,刘焕亮. 草鱼、鲤、鲢、鳙和尼罗罗非鱼肝胰脏和肠道蛋白酶活性的初步探讨[J]. 动物学报, 1993, 39(2): 160—167.
- [33] Joans E, Ragyanszki M, Olan J, et al. Proteolytic digestive enzymes of carnivorous (*Silurus glanis* L.), herbivorous (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) and omnivorous (*Cyprinus carpio* L.) fishes[J]. Aquaculture, 1983, 30: 145—154.
- [34] Chakrabarti I, Gani M A, Chaki K K et al. Digestive enzymes in 11 freshwater teleost fish species in relation to food habit and niche segregation [J]. Comp Biochem Physiol, 1995, 112A: 167—177.
- [35] 张其永,洪万树,叶启旺,等. 土池育苗条件下大弹涂鱼早期仔鱼开口摄食的研究[J]. 海洋水产研究, 2005, 26(4): 38—44.
- [36] Persson I, Terneld F, Hahn-Hagerdal B. Fungal cellulolytic enzyme production; a review[J]. Process Biochem, 1991, 26: 65—74.
- [37] Duagan T T, Yan T M. Oligosaccharidases from *Macracanthorhynchus hirudinaceus* (Acanthocephala) from swine[J]. Comp Biochem Physiol, 1968, 26: 281—289.
- [38] Boge G, Balocco C, Roche H et al. The influence of calcium and magnesium in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) intestinal brush border membrane purification and activity[J]. Comp Biochem Physiol, 1993, 106A: 227—232.
- [39] Ugolev A M, Kuzmina V V. Fish enterocyte hydrolase. Nutrition adaptations[J]. Comp Biochem Physiol, 1994, 107A: 187—193.

Digestive enzymes of adult mudskipper, *Boleophthalmus pectinirostris*

WU Ren-xie, GE Wei, HONG Wan-shu, ZHANG Qi-yong

(Department of Oceanography, College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: By means of enzyme analysis, the effects of pH were studied on the activities of protease, lipase and amylase in the stomach of *Boleophthalmus pectinirostris* and the activities of protease, trypsin, chymotrypsin, lipase and amylase in the intestine. The distribution patterns of fifteen digestive enzymes (acid protease, trypsin, chymotrypsin, carboxypeptidase, aminopeptidase, γ -glutamyltranspeptidase, alkaline phosphatase, amylase, cellulase, maltase, sucrase, lactase, trehalase and cellobiase) in different digestive organs were analyzed in the adult mudskipper (*B. pectinirostris*). In this study, the intestine was divided into three equal sections from the anterior to the posterior end, which were intestine I, intestine II and intestine III. The results showed that the optimum pH for gastric protease, lipase and amylase were 2.5–3.5, 6.5 and 5.5; for intestinal protease, lipase and amylase, 9.5, 7.5 and 6.0–7.5, and for intestinal trypsin and chymotrypsin, 7.5 and 8.0, respectively. The activities of the fifteen digestive enzymes in stomach and liver were significantly lower than those in the intestine except acid protease and alkaline phosphatase in the stomach ($P < 0.05$). The activities of trypsin and chymotrypsin in both of intestine I and intestine III were significantly higher than those in intestine II ($P < 0.05$). The activities of carboxypeptidase A in intestine I were significantly higher than those in both of intestine II and intestine III ($P < 0.05$). And the activities of aminopeptidase, γ -glutamyltranspeptidase and alkaline phosphatase in intestine III were significantly higher than those in both intestine I and intestine II ($P < 0.05$). However, the activities of lipase were not significantly different among the three intestinal sections ($P > 0.05$). The activities of amylase and cellulase in intestine I were significantly higher than those in both intestine II and intestine III ($P < 0.05$). And the activities of the five disaccharidase (maltase, sucrase, lactase, trehalase and cellobiase) in intestine II were significantly higher than those in both intestine I and intestine III ($P < 0.05$). In conclusion, the stomach of adult mudskipper does not play an important role in food digestion, but it has absorptive function. The primary part for starch digestion and absorption is intestine I and for disaccharides is intestine II, and for absorption of protein, lipid and inorganic salt, etc., is intestine III, respectively. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(1): 99–105]

Key words: *Boleophthalmus pectinirostris*; protease; lipase; alkaline phosphatase; carbohydrase

Corresponding author: HONG Wan-shu. E-mail: wshong@xmu.edu.cn