

文章编号:1005-8737(2000)02-0100-03

·研究简报·

黑斑口虾蛄消化酶的初步研究

Preliminary studies on digestive enzymes in *Oratosquilla kemp*

钱云霞, 蒋霞敏, 王春琳, 赵青松

(宁波大学 海洋与水产系, 浙江 宁波 315211)

QIAN Yun-xia, JIANG Xia-min, WANG Chun-lin, ZHAO Qing-song

(Ocean and Fisheries Department, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

关键词: 黑斑口虾蛄; 消化酶

Key words: *Oratosquilla kemp*; digestive enzyme

中图分类号: Q55

文献标识码: A

虾蟹等经济类甲壳动物的消化酶研究是甲壳动物消化生理研究的重要组成部分,也是人工育苗和养殖过程中投饵的理论依据。Kamarudin 等分别对斑节对虾和罗氏沼虾幼体消化酶进行过研究^[1,2],Rodriguez, 刘玉梅等,魏华等分别报道过日本对虾、中国对虾、罗氏沼虾幼体的消化酶的研究结果^[3-5]。

黑斑口虾蛄(*Oratosquilla kemp*)是浙江沿海常见的具有较高经济价值的虾蛄种类,其养殖和人工育苗已有研究^①,但关于其消化酶的研究尚未见报道。为此,本文对黑斑口虾蛄幼体及成体的消化酶进行研究,旨在为其养殖和人工育苗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

黑斑口虾蛄各期幼体取自象山日涂育苗场,各期分类方法按文献^[6]进行。第Ⅲ、Ⅴ、Ⅶ、Ⅸ各期幼体体长分别为3.8~4.4, 5.0~7.0, 9.4~9.6, 13.7~16.3 mm。成体捕自象山港,体长10~14 cm,体重28~39 g。

1.2 样品制备

取各期幼体2~3 g,用蒸馏水冲洗3遍后,放入玻璃匀浆器。成体取胃、肠和肝胰腺,加入约5倍体积预冷重蒸水,

在冰浴中匀浆。匀浆液置Eppendorf管,用TGL-16G高速台式冷冻离心机于4℃、14 000 r/min离心15 min,上清液置4℃冰箱,当天分析完成。每组设2个平行,结果取平均值。

1.3 酶活力测定

1.3.1 胃蛋白酶和胰蛋白酶测定 用酪蛋白为底物与酶作用,通过测酪氨酸生成量表示酶的活性^[4]。具体方法为:取0.5%酪蛋白2 ml, 0.04 mol/L Na₂-EDTA 0.1 ml,缓冲液0.9 ml(测胃蛋白酶用pH 3.6的0.05 mol/L醋酸缓冲液,测胰蛋白酶用pH 9.8的0.05 mol/L硼砂-氢氧化钠缓冲液),酶液1 ml,置30℃水浴中反应30 min取出,立即加10%三氯乙酸3 ml,静置15 min,过滤。作对照液时,先加酶液,然后再加三氯乙酸,其它同上。取样品和对照滤液各1 ml,加入0.55 mol/L Na₂CO₃溶液5 ml, Folin酚试剂乙1 ml。置30℃水浴中显色15 min。用721型分光光度计,680 nm测酪氨酸含量。

1.3.2 淀粉酶和纤维素酶活力测定 在魏华^[5]方法基础上略作修改,取pH 4.6的0.05 mol/L醋酸缓冲液2 ml, 0.5%淀粉溶液2 ml(测纤维素酶用0.5%羧甲基纤维素钠溶液2 ml),酶液1 ml,置30℃水浴中反应30 min。然后,加入3,5-二硝基水杨酸试剂1 ml,立即置沸水中5 min。流水冷却,520 nm测葡萄糖含量^[5]。作对照液时把酶液替换成蒸馏水,其它步骤同上。

1.3.3 酶液蛋白浓度测定 以牛血清蛋白作标准,用Folin酚试剂法测定^[5]。

在30℃时,每毫克酶蛋白在每分钟水解底物产生1 μg产物为比活力[μg/(min·mg)],蛋白酶的产物为酪氨酸,淀粉酶和纤维素酶的产物为葡萄糖。

收稿日期:1999-10-25

基金项目:浙江省科委攻关项目(981102042);宁波市科委项目(9800003)资助

作者简介:钱云霞(1965-),女,浙江萧山人,宁波大学讲师,硕士,从事水产动物营养与病害研究。

①由本课题组完成,已于1999年8月通过验收。

2 结果

2.1 黑斑口虾蛄幼体消化酶活力的变化

黑斑口虾蛄幼体不同发育期胃蛋白酶和类胰蛋白酶活力见图1。由图1可见,随着个体发育,胃蛋白酶活力增加,在第Ⅶ期出现最高峰,第Ⅸ期略有下降。类胰蛋白酶活力也随个体发育而增加,在第Ⅴ、Ⅶ期均有较大幅度增加,除第Ⅲ期外,都是类胰蛋白酶活力大于胃蛋白酶活力。淀粉酶活力在各幼体阶段无大的变化,纤维素酶在第Ⅲ期约为淀粉酶活力的1/2,第Ⅴ期出现明显下降,以后则维持在很低水平,见图2。

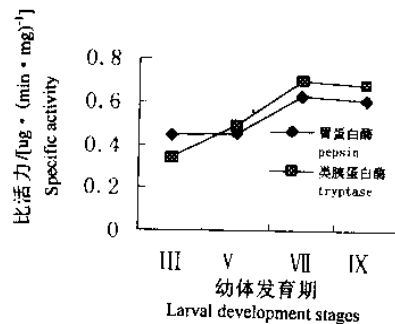


图1 幼体不同发育期胃蛋白酶和类胰蛋白酶活力

Fig.1 Activity of pepsin and trypsin at different larval stages

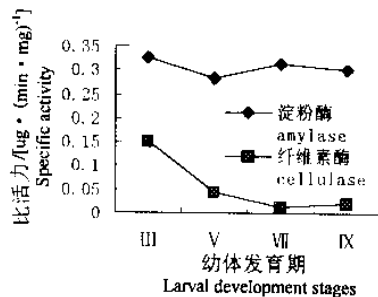


图2 幼体不同发育期淀粉酶和纤维素酶活力

Fig.2 Activity of amylase and cellulase at different larval stages

2.2 黑斑口虾蛄成体各消化器官中消化酶活力的分布

由图3可知,黑斑口虾蛄成体的胃、肠和肝胰腺中均是类胰蛋白酶活力大于胃蛋白酶活力,胃蛋白酶的活力为肠>肝胰腺>胃,而类胰蛋白酶的活力则是肝胰腺>肠>胃。淀粉酶活力为胃>肠>肝胰腺,纤维素酶活性为胃和肠相当,均大于肝胰腺。在3种器官中淀粉酶活力均大于纤维素酶活力,见图4。

3 讨论

胃蛋白酶和类胰蛋白酶活力均随着黑斑口虾蛄幼体发

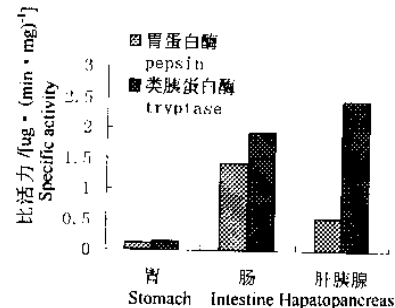


图3 黑斑口虾蛄成体胃蛋白酶和类胰蛋白酶分布

Fig.3 The distribution of pepsin and trypsin in adult *O. kempyi*

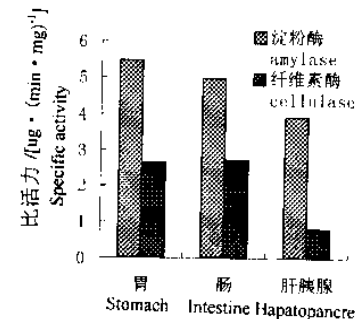


图4 黑斑口虾蛄成体淀粉酶和纤维素酶分布

Fig.4 The distribution of amylase and cellulase in adult *O. kempyi*

育逐步增大,其中类胰蛋白酶活力略大于胃蛋白酶活力。这种变化趋势和中国对虾的情况类似^[4],不同于罗氏沼虾在发育后期出现类胰蛋白酶活力的下降和胃蛋白酶活力的上升^[5]。由于各种原因,仔虾蛄的消化酶活力未能测得,尚未搞清其变化趋势。Kamarudin 认为肉食性虾类幼体胰蛋白酶活力的增高跟幼体靠配合饵料生存的能力是一致的^[2]。本研究结果表明,黑斑口虾蛄在第Ⅴ期和第Ⅶ期,类胰蛋白酶活力均有明显上升,胃蛋白酶活力在第Ⅶ期也有很大的增加。另外,在育苗过程中也发现,在第Ⅴ期加入一定比例的2号斑节对虾配饵和虾皮粉对存活率并无影响,但在第Ⅲ期和第Ⅳ期则死亡率明显增加(拟另文发表)。因而认为在第Ⅴ期和第Ⅶ期胃蛋白酶和类胰蛋白酶活力的增加对于增加黑斑口虾蛄幼体对配饵的消化能力是一致的,但黑斑口虾蛄是否在第Ⅴ期或第Ⅶ期能单独靠配合饵料生存尚待进一步研究。

黑斑口虾蛄淀粉酶活力在幼体发育过程中无大的变化,但纤维素酶活力有明显的下降,该结果和刘玉梅报道的中国对虾幼体中的结果类似^[4]。Jones 认为虽然遗传因子、消化道形态等因素影响酶活力对饵料的反应,但至少幼体阶

段, 饵料可以操纵酶活力^[1]。本研究结果也证明了这一点, 在第Ⅲ期, 黑斑口虾蛄尚未摄食时, 它具有一定的淀粉酶活力和纤维素酶活力, 但在第Ⅲ期后开口至第Ⅴ期, 所投饵料为卤虫无节幼体, 少量桡足类等几乎没有纤维素和淀粉含量较少的动物性活饵料, 而其纤维素酶和淀粉酶活力也相应发生变化。

从实验结果可知, 成体黑斑口虾蛄的胃、肠和肝胰腺均有胃蛋白酶、类胰蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶存在, 且都有一定的活力, 说明它对蛋白质、淀粉和纤维素均有一定的消化能力。类胰蛋白酶活力总体大于胃蛋白酶活力, 类胰蛋白酶活力为肝胰腺>肠>胃, 这和罗氏沼虾、中国对虾的研究结果相一致^[4,5]。在胃、肠和肝胰腺消化器官中淀粉酶活力均略大于纤维素酶活力, 和幼体中纤维素酶活力很低的情况不同, 这可能跟其食性有关, 成体虾蛄具较广的食谱, 其食物组成除小型鱼类、小型甲壳类等动物性饵料外还摄食藻类等含纤维素的植物性饵料^[7]。

参考文献:

[1] Jones D A, Kumlu M, Vay L Le, et al. The digestive physiology

of herbivorous, omnivorous and carnivorous crustacean larvae; a review[J]. Aquaculture, 1997, 155:285-295.

[2] Kamarudin M S, Jones D A, Le Vay L, et al. Ontogenetic change in digestive enzyme activity during larvae development of *Macrabrachium rosenbergii* [J]. Aquaculture, 1994, 123:323-333.

[3] 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 carnivorous feeding[J]. Mar Biol, 1994, 118:45-51.

[4] 刘玉梅, 等. 中国对虾幼体及成虾消化酶活力及氨基酸组成[J]. 海洋与湖沼, 1991, 22(6):571-575.

[5] 魏 华, 等. 罗氏沼虾幼体及成虾消化酶活性[J]. 水产学报, 1996, 20(1):61-64.

[6] 王 波, 等. 口虾蛄的生物学特征及其人工苗种生产技术[J]. 黄渤海海洋, 1998, 16(2):64-73.

[7] 王春琳, 等. 浙江沿海虾蛄生物学及其开发利用研究专辑[J]. 浙江水产学院学报, 1996, 15(1):60-62.