

研究简报

## 罗氏沼虾幼体及成虾消化酶活性

### THE ACTIVITIES OF DIGESTIVE ENZYMES OF LARVAE AND ADULT IN *MACROBRACHIUM ROSENBERGII*

魏 华 赵维信

(上海水产大学, 上海 200090)

Wei Hua and Zhao Weixin

(Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090)

**关键词** 罗氏沼虾, 幼体, 消化酶

**KEYWORDS** *Macrobrachium rosenbergii*, larva, digestive enzymes

罗氏沼虾是我国正在养殖的名特水产品之一, 但是苗种供应和成虾产量仍不稳定, 成为该虾养殖的一个制约因素, 一些基础性研究工作也鲜有人报道。本文测定了罗氏沼虾幼体和成虾的消化酶活性, 试图从消化酶角度探讨罗氏沼虾的营养需求以及育苗与养成的关系, 并与其它虾类作比较, 为提高苗种和成虾产量提供一定依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 取样

幼体于1993年3月至6月取自上海东海水产养殖公司罗氏沼虾育苗厂, 分别取II、V~VI、VII~VIII和X~XI各期幼体及仔虾。成虾于1993年5月取自上海水产研究所罗氏沼虾育苗厂, 均为雌虾, 体长11~14厘米, 体重50~60克。

### 1.2 样品制备

分别取幼体、仔虾整体及成虾肝胰脏、胃、肠置于冰浴中, 加其5倍体积预冷重蒸水, 在玻璃匀浆器中匀浆, 匀浆液用Backman L8-70M超速真空离心机于4℃、9000r/min离心30分钟, 取上清液用预冷重蒸水稀释至一定体积用作活力测定。

### 1.3 活力测定

#### 1.3.1 胃蛋白酶和类胰蛋白酶

在刘玉梅[1991]方法基础上略作修改。以酪蛋白酶为底物与酶作用, 通过测定酪氨酸生成量表示酶活

性。测胃蛋白酶活性时,加入酶液 0.5ml、0.1N HCl 0.9ml、0.04M EDTA 0.1ml 重蒸水 0.5ml 和 0.5% 酪蛋白 2ml, 混匀, 30℃ 水浴 30 分钟, 然后加入 30% 三氯醋酸 1ml, 4000r/min 离心 10 分钟, 取上清液 1ml 倒入试管, 加入 0.55M 碳酸钠溶液 5ml 和福林酚试剂乙 1ml, 混匀置于 30℃ 水浴 15 分钟, 680nm 测酪氨酸含量。

在 30℃ 条件下, 每分钟水解酪蛋白产生 1 微克酪氨酸定义为 1 个酶活性单位(1 $\mu$ g/min)。

测类胰蛋白酶活性时, 只须把 0.1N HCl 换成 0.05M 硼砂—氢氧化钠缓冲液(pH9.8), 并取 0.4ml, 不足部分用重蒸水补足。

### 1.3.2 淀粉酶和纤维素酶

淀粉酶和纤维素酶分别作用于淀粉和纤维素时最终产生葡萄糖, 通过葡萄糖生成量表示酶活性。测定淀粉酶活性时, 加入 0.2M 醋酸—醋酸钠缓冲液(pH4.6) 2ml、2% 淀粉溶液 5ml、重蒸水 3.5ml 和酶液 0.5ml, 30℃ 水浴 30 分钟, 然后加入 3,5-二硝基水杨酸 1ml, 立即煮沸 5 分钟, 流水冷却, 波长 520nm 测糖含量。

在 30℃ 时, 每分钟催化水解淀粉生成 1 微克葡萄糖定义为 1 个酶活性单位(1 $\mu$ g/min)。

测纤维素酶活性时, 将底物换成纤维素即可。

### 1.3.3 酶液蛋白浓度。

以牛血清作为标准, 用福林酚试剂法测定[朱 俭等, 1981]。加入酶液 0.3ml、重蒸水 0.7ml 和福林酚试剂甲 5ml, 混匀, 室温放置 10 分钟, 再加福林酚试剂乙 0.5ml, 30℃ 水浴 30 分钟, 波长 500nm 测蛋白含量。

## 2 结果

### 2.1 幼体不同发育阶段和成虾不同消化器官酶活性(表 1)

表 1 罗氏沼虾消化酶活性

Table 1 Activity of digestive enzymes of *Macrobrachium rosenbergii*

发育期	器官	胃蛋白酶	类胰蛋白酶	淀粉酶	纤维素酶
II		0.19±0.03	0.21±0.09	0.96±0.04	0.30±0.11
V-VI	整 体	0.17±0.04	0.47±0.08	1.33±0.20	0.18±0.08
VII-VIII		0.14±0.05	0.62±0.23	1.93±0.53	1.50±0.40
X-XI		0.41±0.08	0.22±0.03	1.33±0.31	0.34±0.28
仔 虾		0.24±0.09	0.24±0.22	0.48±0.36	0.28±0.14
成 虾	肝胰脏	0.32±0.09	4.74±0.43	0.66±0.15	0.72±0.11
	胃	1.44±0.12	7.40±4.30	1.14±0.71	0.78±0.37
	肠	1.36±0.53	1.31±0.32	1.41±1.28	1.00±0.81

注: 酶活性用比活力表示; 胃蛋白酶和类胰蛋白酶用每分钟每毫克蛋白产生的酪氨酸微克数表示( $\mu$ g/min·mg); 淀粉酶和纤维素酶用每分钟每毫克蛋白产生的葡萄糖微克数表示( $\mu$ g/min·mg)。

图 1 表明胃蛋白酶活性从出苗后到 VII~VIII 期并不呈上升趋势, 而是在 X~XI 期时出现一个峰值; 类胰蛋白酶活性从出苗开始逐步上升, 到 VII~VIII 期时达到最大值, 然后下降, 又基本处于前期水平。

由图 2 可知, 淀粉酶和纤维素酶活性出苗后呈上升趋势, 在 VII~VIII 期达到一个高峰, 随后又恢复至前期水平, 形成一个峰。无论在什么期, 淀粉酶活性均高于纤维素酶。

### 2.2 成虾不同器官消化酶活性

图 3 可见, 胃和肝胰脏中的类胰蛋白酶活性较胃蛋白酶活性大, 在肠中两种酶活性没有差异。胃中的类胰蛋白酶活性较肝胰脏和肠中的大。

## 3 讨论

在罗氏沼虾幼体发育过程中, 类胰蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶活性在中期最高, 而在发育早期和后期较

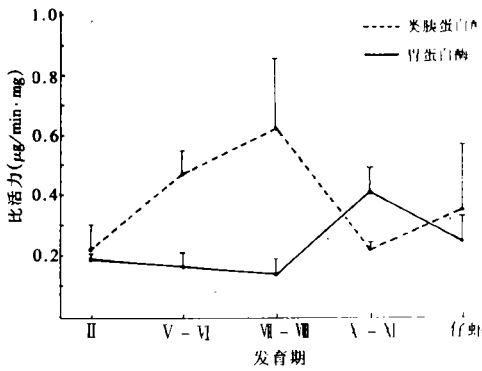


图 1 幼体不同发育期胃蛋白酶的类胰蛋白酶活性

Fig.1 Activity of pepsin and trypsin in different stages of larvae

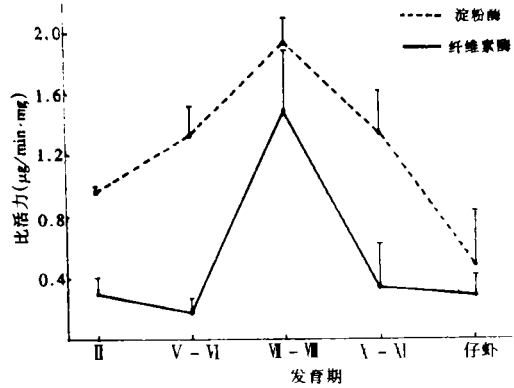


图 2 幼体不同发育期淀粉酶的纤维素酶活性

Fig.2 Activity of amylase and cellulase in different stages of larvae

低(图 1, 图 2), 胃蛋白酶活性在发育后期较高。这种消化酶的变化形式与对虾随着幼体发育消化酶而上升有所不同[刘玉梅等, 1991]。

Kamarudin 等[1994] 认为, 在虾幼体发育的不同期消化酶活性的变化是与虾的食性相一致的。Van Womboudt[1973] 报道, 当 *Palaemon serratus* 食性由浮游植物向浮游动物转化时, 其蛋白酶活性明显上升。由上述罗氏沼虾幼体在 VII ~ VIII 期淀粉酶和纤维素酶活性明显升高提示: 该期对碳水化合物的需求量较大。在目前的育苗过程中, 从孵出幼体开始就投喂卤虫, 到 V 期后再适当加投鸡蛋, 在这个过程中饵料内碳水化合物含量没有太大变化, 按照这种育苗方式在幼体发育至 VII ~ VIII 期时, 经常出现不明原因的较大量死亡。虽然导致这种死亡的原因很复杂, 但从以上结果提示, 在 VII ~ VIII 期时没有加大饵料中的碳水化合物含量有可能是影响成活率的一个因素。建议该期可适当投喂含碳水化合物多的饵料。

幼体的发育过程中胰蛋白酶活性要高于胃蛋白酶活性, 这与对虾的情形相似[刘玉梅等, 1991], 而且两种酶呈现一种互补性变化, 当一种酶活性升高时, 另一种酶活性却下降(图 1), 因此, 从总体上看幼体对蛋白质消化能力没有明显变化, 这与当前幼体培育过程中从一开始就喂卤虫直至仔虾为止的方式是相一致的。但幼体在变态前的 X ~ XI 期经常出现不明原因的大量死亡。一般认为, 变态前幼体的生理状况会出现一系列较大变化, 胃蛋白酶活性上升和胰蛋白酶活性下降有可能是这种生理反应的一种表现, 至于这种表现与幼体的死亡以及投饵是何种关系有待于进一步研究。

与对虾相比, 罗氏沼虾幼体和成虾的纤维素酶活性均较高[刘玉梅等, 1991], Law 等[1990] 认为罗氏沼虾幼体和成虾对椰子饼的消化能力要优于虾粉和鱼粉, 椰子饼含蛋白质较低, 碳水化合物较多, 特别是纤维素较多, 笔者和 Law 等[1990] 的结果都表明罗氏沼虾消化碳水化合物能力较强。罗氏沼虾幼体和成虾的胰蛋白酶活性总体上都高于胃蛋白酶(图 1, 图 3), 这与对虾[刘玉梅等, 1991] 和虹鲟[川合真一郎, 1975] 的结果

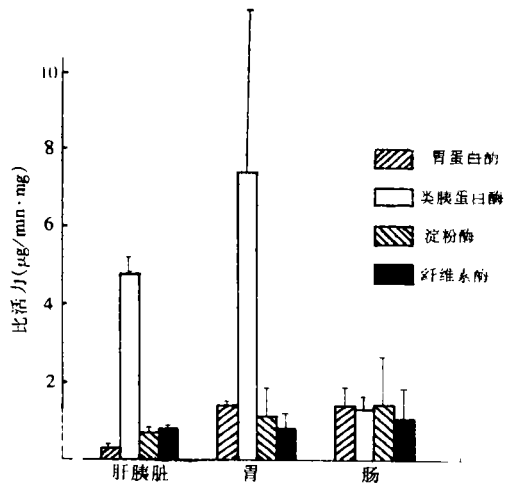


图 3 成虾不同消化器官消化酶活性

Fig.3 Activity of digestive enzymes in different digestive organs

相似,而且成虾胃中的酶活性要高于肠中,这提示罗氏沼虾类胰蛋白酶起着主要消化作用,胃是主要消化场所。

类胰蛋白酶只有在碱性时才有活性,脊椎动物胃呈酸性,所以类胰蛋白酶在脊椎动物胃中是没有活性的。于书坤[1986]认为甲壳动物维持消化酶活性和稳定性的条件可能完全不同于脊椎动物,徐生俊[1993]的研究结果也表明河蟹消化道蛋白酶的最适 pH 为弱酸偏碱。我们测出罗氏沼虾胃中类胰蛋白酶活性最高,示意罗氏沼虾的胃有可能不象脊椎动物那样是一个酸性环境而是一个偏碱性环境。

### 参 考 文 献

- [1] 于书坤,1986. 虾类及甲壳动物消化酶研究现状. 海洋科学,10(2):60~65.
- [2] 刘玉梅等,1991. 中国对虾幼体及仔虾消化酶活力及氨基酸组成. 海洋与湖沼,22(6):571~575.
- [3] 朱 俭等,1981. 生物化学实验,64~66. 上海科学技术出版社.
- [4] 徐生俊,1993. 中华绒螯蟹胃、肠、胰脏蛋白酶初探. 水产科技情报,20(5):196~199.
- [5] 川合眞一郎,1975. 水産学シリーズ(8)稚魚の攝餌と發育,33~44. 日本水産學會編. 恆星社厚閣,東京.
- [6] Law A.T., et al., 1990. Digestibility of low cost ingredient in pelleted feeds by *Macrobrachium rosenbergii*. The Second Asian Forum, Tokyo, Japan, P.333.
- [7] Kamarudin M. S., et al., 1994. Ontogenetic change in digestive enzyme activity during larval development of *Macrobrachium rosenbergii* Aquaculture. 123:323~333.
- [8] Van Wormhoudt, A., 1973. Activite des proteases, des amylases et des proteines solubles au cours du developement larvaire chez *Palaemon serratus*. Mar. Biol., 19:245~248.