

文章编号: 1000-0615(2006)06-0733-07

大弹涂鱼仔稚鱼和早期幼鱼的消化酶活性

吴仁协, 洪万树, 张其永, 陈仕玺, 王琼

(厦门大学海洋与环境学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 采用酶学分析的方法, 研究了大弹涂鱼前期仔鱼、后期仔鱼、稚鱼和早期幼鱼发育过程中胰腺酶、肠酶和胃蛋白酶活性的变化。结果表明, (1) 4种胰腺酶(淀粉酶、胰蛋白酶、糜蛋白酶和羧肽酶A)和8种肠酶(麦芽糖酶、蔗糖酶、乳糖酶、海藻糖酶、纤维二糖酶、碱性磷酸酶、氨基肽酶和 γ -谷氨酰转肽酶)的比活力均在仔鱼期较高, 稚鱼期降至最低, 早期幼鱼则急剧上升, 而每尾鱼酶的总活力却随着幼体的发育而逐渐增加; (2) 胃蛋白酶活性在后期仔鱼才开始检测到, 此后一直呈显著上升趋势; (3) 早期幼鱼肠部位的4种胰腺酶活性分别占其酶总活性的百分比均显著高于稚鱼期; (4) 稚鱼期仅3种肠酶(麦芽糖酶、纤维二糖酶和 γ -谷氨酰转肽酶)高度富集在肠刷状缘膜上, 而早期幼鱼除蔗糖酶外的7种肠酶在肠刷状缘膜上的富集系数均大于5.1。由此得出结论, (1) 在仔鱼期, 蛋白质的消化是依靠胰腺酶进行的, 进入稚鱼期, 胃蛋白酶开始对蛋白质的消化起重要作用; (2) 在早期幼鱼, 胰腺分泌机制及肠细胞已完全成熟, 标志着成鱼的消化模式的形成。

关键词: 大弹涂鱼; 仔鱼; 稚鱼; 早期幼鱼; 胃蛋白酶; 胰腺酶; 肠酶; 肠刷状缘膜

中图分类号: S 917 **文献标识码:** A

Digestive enzyme activities in larval, juvenile and early young fish of *Boleophthalmus pectinirostris*

WU Ren-xie, HONG Wan-shu, ZHANG Qi-yong, CHEN Shi-xi, WANG Qiong

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

Abstract: The mudskipper *Boleophthalmus pectinirostris* is a commercially important fish in China. At present, this species is widely famed in the southeastern coastal waters of China. Studies have been focused on early development and larval rearing. Early larval feeding habits have been documented. However, little is known about the digestive enzymes at the early stage of *Boleophthalmus pectinirostris*. The purpose of this study was to investigate the digestive enzyme activities of this species in order to know its nutritional requirements and establish the feeding protocols for optimizing larval mass rearing production. Changes of pancreatic, intestinal enzymes and pepsin activities in prelarva, postlarva, juvenile and early young fish of *Boleophthalmus pectinirostris* were investigated by means of enzyme analyses. In order to obtain pancreatic segment (PS) and intestinal segment (IS), juvenile and early young fish were cut into four parts: head, PS, IS and tail. The intestinal segments were homogenized to purify intestinal brush border membranes (BBM). The secretion levels of pancreatic enzymes were expressed as percentages of the segmental activity in the IS related to total activity (PS + IS). The establishment of an efficient intestinal BBM digestion represents the adult mode of digestion by enterocytes. And the degree of purified intestinal BBM was estimated by the enrichment factors and the activities of the intestinal enzymes. The results of this study show that the specific activities of four pancreatic enzymes (amylase, trypsin, chymotrypsin and carboxypeptidaseA) and eight intestinal enzymes (maltase, sucrase, lactase, trehalase, cellobiase, alkaline phosphatase, aminopeptidase and γ -glutamyltranspeptidase) are higher in the larval stage, decrease to the lowest levels in the juvenile stage, and increase rapidly in the early young stage. However, the total enzyme activities of individual increase with the development of larvae. Pepsin is initially detected in the postlarval stage, and then it continuously increases rapidly. The percentages of four pancreatic

收稿日期: 2006-03-31

资助项目: 国家自然科学基金资助项目(40476056); 福建省重大科技项目(2003No. 26); 福建省科技重大专项(2004SZ01-02)

作者简介: 吴仁协(1981-), 男, 福建莆田人, 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, Tel: 0592-2186495 E-mail: wshong@xmu.edu.cn

enzymes activities accounting for the total activities are significantly higher in the early young fish than in the juvenile in the intestinal segment. Only three enzymes (maltase, cellobiase and γ -glutamyltranspeptidase) are highly enriched in the intestinal brush border membranes in the juvenile. However, enrichment factors of seven intestinal enzymes in intestinal brush border membranes of the early young fish are all above 5.1 except for sucrase. In conclusion, in the larval stage, protein digestion depends on pancreatic enzymes; and when the larvae develop into the juvenile stage, pepsin plays an important role in protein digestion. The complete achievement of the secretion mechanisms of pancreas and maturation of enterocytes in the early young fish indicate the formation of an adult fish mode of digestion.

Key words: *Boleophthalmus pectinirostris*; larva; juvenile; young fish; pepsin; pancreatic enzyme; intestinal enzyme; intestinal brush border membrane

有关海水鱼类早期发育过程中消化酶的活性以及外源性饵料对仔稚鱼消化酶的影响, 在一些种类中已有研究报道, 如条纹石斑 (*Morone saxatilis*)、舌齿鲈 (*Dicentrarchus labrax*)、塞内加尔鲷 (*Solea senegalensis*)、狭鳕 (*Theragra chalcogramma*)、金头鲷 (*Spanus aurata*) 和大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*) 等^[1-6]。海水鱼类早期发育过程中消化酶活性变化的研究有助于了解不同发育阶段幼体的营养需求以及幼体消化系统的成熟时间。由于大多数海水鱼类在仔稚鱼期胃还未充分发挥其功用, 因此从胰腺酶和肠刷状缘(肠粘膜上皮的微绒毛)膜酶活性的变化可以确定幼体消化系统的成熟时间^[7,8], 这在许多海水鱼类中已得到应用, 如舌齿鲈、塞内加尔鲷和大黄鱼等^[2,3,9]。

大弹涂鱼 (*Boleophthalmus pectinirostris*) 隶属于鲈形目 (Perciformes), 虎鱼亚目 (Gobioidei), 弹涂鱼科 (Periophthalmidae), 为海洋潮间带洞穴鱼类, 我国盛产于浙江、福建、广东、广西和台湾沿海。关于大弹涂鱼仔鱼的摄食以及仔、稚、幼鱼食性与消化器官的发育过程已有系统的研究^[9-11]。因此, 本实验在这些研究结果的基础上, 对不同发育阶段的大弹涂鱼消化酶活性的变化进行研究探讨, 并从胰腺酶和肠刷状缘膜酶活性的变化, 来确定幼体消化系统的成熟时期, 为大弹涂鱼人工育苗的科学投饵和提高仔稚鱼的成活率提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验材料采自福建省霞浦县松港水产育苗场育苗土池中同一孵化批次的大弹涂鱼前期仔鱼、后期仔鱼、稚鱼和早期幼鱼, 其中前期仔鱼尚未开口摄食。土池中仔稚鱼和早期幼鱼的培育方法见张其永等^[12]。仔稚鱼和早期幼鱼的分期是根据洪万树等^[13]和张其永等^[14]对大弹涂鱼早期发育

的划分法。前期仔鱼、后期仔鱼、稚鱼和早期幼鱼分别采集 1500 尾、1000 尾、250 尾和 60 尾为一个样品, 每个样品设 6 个平行组。将所采样品立即放入液氮中, 然后置于 -80°C 超低温冰箱中保存。

1.2 样品制备

仔鱼取整体, 稚鱼和早期幼鱼参照文献^[2]在 $0\sim4^{\circ}\text{C}$ 于解剖镜下将其切成 4 部分: 头部(H)、胰腺部(PS)、肠部(IS)和尾部(T) (图 1), 去除头部和尾部, 保留胰腺部和肠部。分别向仔鱼整体和稚鱼及早期幼鱼的胰腺部加适量 4°C 冰冷双蒸水, 高速组织匀浆机 (Polytron, PT-MR 2100) 匀浆, 离心 10 min (2°C , $3\ 300\times g$), 取上清液用于酶活力测定。

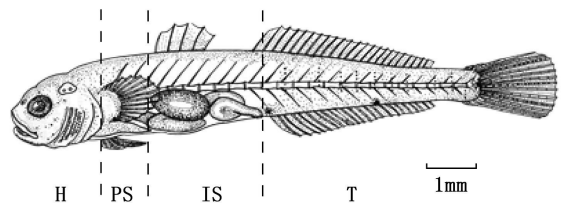


图 1 大弹涂鱼稚鱼切成头部(H)、胰腺部(PS)、肠部(IS)和尾部(T) 4 部分示意图

Fig. 1 Dissection of the head (H), pancreatic segment (PS), intestinal segment (IS) and tail (T) in the juvenile of *Boleophthalmus pectinirostris*

分别向稚鱼和早期幼鱼的肠部加适量浓度为 $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的冰冷甘露醇溶液 ($2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl 缓冲液配制, pH 7.1) 进行匀浆, 离心 10 min (2°C , $3\ 300\times g$), 取上清液, 即肠粗酶液, 用于酶活力测定和制备肠刷状缘膜。用 CaCl_2 沉淀方法制备肠刷状缘膜^[15]: 向部分肠粗酶液中加入 CaCl_2 , 使终溶液中 Ca^{2+} 浓度达到 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ \rightarrow 冰浴中静置 15 min, 离心 10 min (2°C , $9\ 000\times g$) \rightarrow 弃沉淀物, 收集上清液 \rightarrow 离心 20 min (2°C , $43\ 000$

×g), 弃上清液, 收集沉淀物→将沉淀物悬浮于 50 mmol·L⁻¹的甘露醇溶液(2 mmol·L⁻¹ Tris-HCl 缓冲液配制, pH 7.1)中→离心 20 min (2 °C, 43 000 ×g), 弃上清液, 收集沉淀物)→悬浮于甘露醇溶液中, 即为肠刷状缘膜, 并保存于-80 °C冰箱中, 用于酶活力和蛋白质含量测定。

1.3 酶活性测定和酶活性定义

用 Cary-50 分光光度计测定各种消化酶活性: 胃蛋白酶^[16]、胰蛋白酶和糜蛋白酶^[17]、羧肽酶 A^[18]、碱性磷酸酶^[19]、氨基肽酶和 γ-谷氨酰转肽酶^[20]、淀粉酶^[21]以及麦芽糖酶、蔗糖酶、乳糖酶、海藻糖酶和纤维二糖酶^[22]。胰蛋白酶、糜蛋白酶和羧肽酶 A 的反应温度为 25 °C, 其余的消化酶为 37 °C。酶液中蛋白质含量的测定采用考马斯亮蓝染色法^[23]。

酶活力单位定义为酶液每分钟水解产生 1 μmol 产物所需的酶量为 1 个活力单位(U)。参照 Cahu 和 Zambonino Infante^[2, 24], 酶活性分别以酶比活力[即每毫克酶蛋白所具有的活力单位(U·mg⁻¹ protein)]和酶总活力[即每尾鱼酶的总活力(total U·ind⁻¹), 或每尾鱼胰腺部或肠部酶的总活力(total U·segment⁻¹)]表示。

二糖酶(麦芽糖酶、蔗糖酶、乳糖酶、海藻糖酶和纤维二糖酶)、碱性磷酸酶、氨基肽酶和 γ-谷氨酰转肽酶等肠酶是肠刷状缘膜的标志酶, 因此, 根据这些酶的富集系数可以评价所制备的肠刷状缘膜的纯度^[15]。富集系数是指肠刷状缘膜中各种肠酶的比活力与肠粗酶液中相应肠酶的比活力的

比值^[15]。

1.4 数据分析

实验数据用平均值±标准差(n=6)表示, 采用 SPSS 11.0 统计软件进行单因素方差分析, 检验各取样组间数据的差异显著性, 当 P<0.05 时为差异显著。

2 结果

2.1 胰腺酶和胃蛋白酶

大弹涂鱼前期仔鱼可检测到淀粉酶、胰蛋白酶、糜蛋白酶和羧肽酶 A 等 4 种胰腺酶的活性, 而检测不到胃蛋白酶的活性(表 1, 表 2)。4 种胰腺酶的比活力从前期仔鱼到后期仔鱼显著增加, 稚鱼期降至最低值, 早期幼鱼又显著上升(表 1)。其中淀粉酶比活力最大值是在早期幼鱼, 而其余 3 种胰腺酶比活力最大值均出现在后期仔鱼。当酶活性以每尾鱼酶的总活力表示时, 4 种胰腺酶活性均随着幼体的发育而逐渐增加, 与早期幼鱼相比, 仔鱼期 4 种胰腺酶和胃蛋白酶的活性显得较为微弱(表 2)。在后期仔鱼才检测到微弱的胃蛋白酶活性, 而后一直呈显著上升趋势(表 1, 表 2)。从后期仔鱼到稚鱼, 胃蛋白酶比活力显著增加的同时, 伴随着胰腺酶比活力的显著下降(表 1)。图 2 表明早期幼鱼肠部的淀粉酶、胰蛋白酶、糜蛋白酶和羧肽酶 A 等 4 种胰腺酶活性分别占其酶总活性(胰腺部+肠部)的百分比均显著高于稚鱼期(P<0.05)。

表 1 大弹涂鱼仔稚鱼、早期幼鱼胰腺酶和胃蛋白酶的比活力

Tab. 1 The specific activities of pancreatic enzymes and pepsin of *Boleophthalmus pectinirostris*

	at different developmental stages				mU·mg ⁻¹ protein	
	淀粉酶 amylase	胰蛋白酶 trypsin	糜蛋白酶 chymotrysin	羧肽酶 A carboxy-peptidase A	胃蛋白酶 pepsin	
前期仔鱼 prelarvae	171.7±9.5 ^c	16.4±2.5 ^b	54.9±7.4 ^b	68.7±5.1 ^c	—	
后期仔鱼 postlarvae	360.1±26.5 ^b	27.3±0.7 ^a	79.3±7.6 ^a	95.5±7.1 ^a	1.9±0.2 ^c	
稚鱼 juvenile	90.0±4.0 ^c	10.8±1.8 ^c	28.8±1.7 ^c	55.8±4.2 ^d	11.2±1.0 ^b	
早期幼鱼 early young fish	2 563.6±197.9 ^a	19.2±1.2 ^b	51.3±3.3 ^b	81.7±3.0 ^b	25.8±0.7 ^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的表示差异显著(P<0.05, mU=10⁻³U)

Notes: — indicates that enzyme activities were undetected. Values with different superscript letters in the same column mean significant differences (P<0.05, mU=10⁻³U)

表 2 大弹涂鱼仔稚鱼和早期幼鱼每尾鱼胰腺酶和胃蛋白酶的总活力

Tab. 2 The total activities of pancreatic enzymes and pepsin per individual of *Boleophthalmus pectinirostris* at different developmental stages

	淀粉酶 amylase	胰蛋白酶 trypsin	糜蛋白酶 chymotrypsin	羧肽酶 A carboxy-peptidase A	胃蛋白酶 pepsin
前期仔鱼 prelarvae	0.05±0.01 ^b	3.0±0.2 ^c	16.2±2.2 ^c	20.3±1.5 ^c	—
后期仔鱼 postlarvae	0.15±0.01 ^b	11.3±0.2 ^c	31.2±2.9 ^c	43.2±3.0 ^c	0.006±0.001 ^c
稚鱼 juvenile	1.40±0.06 ^b	246.9±9.2 ^b	446.2±27.6 ^b	846.4±67.7 ^b	0.18±0.01 ^b
早期幼鱼 early young fish	46.91±3.13 ^a	772.9±62.8 ^a	684.7±138.3 ^a	2719.2±188.1 ^a	1.33±0.06 ^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的表示差异显著 ($P < 0.05$, $mU = 10^{-3}U$)

Notes: — indicates that enzyme activities were undetected. Values with different superscript letters in the same column mean significant differences ($P < 0.05$, $mU = 10^{-3}U$)

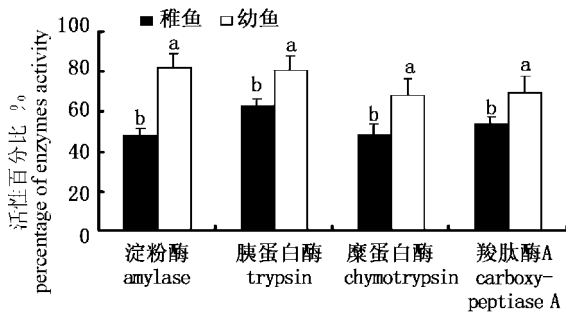


图 2 大弹涂鱼稚、早期幼鱼肠部位 4 种胰腺酶活性分别占其酶总活性(胰腺部+肠部位)的百分比

Fig. 2 Percent age of four pancreatic enzymes activities in intestinal segment (IS) account for the total enzyme activity (PS+IS) respectively in the juvenile and early young fish of *Boleophthalmus pectinirostris*

酶活性以每尾鱼胰腺部或肠部酶的总活力表示, 图中数值标有不同英文字母的表示差异显著 ($P < 0.05$)

Enzyme activities were expressed as total activity per fish in intestinal or pancreatic segment ($total\ U \cdot segment^{-1}$), values with different superscript letters in the same group column mean significant differences ($P < 0.05$)

2.2 肠酶

大弹涂鱼前期仔鱼可检测到麦芽糖酶、蔗糖酶、乳糖酶、海藻糖酶、纤维二糖酶、碱性磷酸酶、氨基肽酶和 γ -谷氨酰转肽酶等 8 种肠酶的活性(表 3)。与胰腺酶的变化模式相似, 8 种肠酶的比活力在仔鱼期较高, 而稚鱼期降至最低值, 早期幼鱼又急剧上升至最大值(表 3)。当酶活性以每尾鱼酶的总活力表示时, 各种肠酶的活性均随着幼体的发育而逐渐增加, 与早期幼鱼相比, 仔鱼期 8 种肠酶的活性显得较为微弱(表 4)。稚鱼和早期幼鱼的肠刷状缘膜均检测不到乳糖酶活性(表 5)。除乳糖酶外, 早期幼鱼 7 种肠酶在肠刷状缘膜上的比活力均显著高于稚鱼 ($P < 0.05$)。稚鱼除麦芽糖酶、纤维二糖酶和 γ -谷氨酰转肽酶等 3 种肠酶在肠刷状缘膜上的富积系数大于 5.6 外, 其余 5 种肠酶的富积系数均小于 4.0; 而早期幼鱼除蔗糖酶外, 其余 7 种肠酶在肠刷状缘膜上的富积系数均大于 5.1(表 5)。

表 3 大弹涂鱼仔稚鱼和早期幼鱼肠酶的比活力

Tab. 3 The specific activities of intestinal enzymes of *Boleophthalmus pectinirostris* at different developmental stages

	麦芽糖酶 maltase	蔗糖酶 sucrase	乳糖酶 lactase	海藻糖酶 trehalase	纤维二糖酶 cellobiase	碱性磷酸酶 alkaline phosphatase	氨基肽酶 amino-peptidase	γ -谷氨酰转肽酶 γ -glutamyl-transpeptidase
前期仔鱼 prelarvae	56.9±5.2 ^a	13.3±1.8 ^b	5.2±0.4 ^b	15.4±1.4 ^c	10.3±1.3 ^b	80.3±5.1 ^a	30.3±1.4 ^b	2.5±0.3 ^b
后期仔鱼 postlarvae	54.2±7.0 ^a	9.6±1.7 ^b	2.3±0.4 ^c	21.4±3.8 ^b	2.2±0.5 ^c	82.6±4.6 ^a	43.8±2.9 ^a	3.8±0.3 ^a
稚鱼 juvenile	22.8±3.5 ^b	6.9±1.0 ^c	1.8±0.5 ^c	14.0±2.4 ^c	1.4±0.3 ^c	21.7±1.9 ^b	16.7±0.8 ^c	1.1±0.1 ^c
早期幼鱼 early young fish	59.0±6.5 ^a	52.1±6.8 ^a	18.5±2.2 ^a	66.8±2.0 ^a	138.0±6.2 ^a	87.0±4.0 ^a	45.1±1.7 ^a	4.0±0.4 ^a

注: 表中同一列右上角标有不同英文字母的表示有显著差异 ($P < 0.05$, $mU = 10^{-3}U$)

Notes: Values with different superscript letters in the same column mean significant differences ($P < 0.05$, $mU = 10^{-3}U$)

表4 大弹涂鱼仔稚鱼和早期幼鱼每尾鱼肠酶的总活力

Tab. 4 The total activities of intestinal enzymes per individual of *Boleophthalmus pectinirostris* at different developmental stages

	total $10^{-3} \times \text{mU} \cdot \text{ind}^{-1}$							
	麦芽糖酶 maltase	蔗糖酶 sucrase	乳糖酶 lactase	海藻糖酶 trehalase	纤维二糖酶 cellobiase	碱性磷酸酶 alkaline phosphatase	氨基肽酶 amino- peptidase	γ -谷氨酰转肽酶 γ -glutamyl- transpeptidase
前期仔鱼 prelarvae	18.6 \pm 1.5 ^c	4.0 \pm 0.5 ^c	2.0 \pm 0.2 ^c	4.9 \pm 0.3 ^c	3.2 \pm 0.3 ^c	23.4 \pm 1.2 ^c	6.6 \pm 0.3 ^c	0.8 \pm 0.1 ^c
后期仔鱼 postlarvae	33.0 \pm 4.4 ^f	4.8 \pm 0.1 ^c	3.5 \pm 0.2 ^c	11.5 \pm 2.0 ^f	4.4 \pm 0.3 ^c	36.9 \pm 1.8 ^f	16.8 \pm 3.5 ^f	2.8 \pm 1.0 ^f
稚鱼 juvenile	233.2 \pm 44.5 ^b	83.6 \pm 12.6 ^b	22.9 \pm 5.8 ^b	179.9 \pm 31.8 ^b	17.7 \pm 4.0 ^b	279.6 \pm 23.4 ^b	215.3 \pm 10.2 ^b	14.6 \pm 1.8 ^b
早期幼鱼 early young fish	83.2 \pm 10.2 ^g	75.7 \pm 10.7 ^f	294.5 \pm 34.7 ^a	1061.3 \pm 31.5 ^a	2034.6 \pm 99.0 ^a	139.6 \pm 63.1 ^a	632.5 \pm 27.2 ^a	30.4 \pm 3.0 ^a

注:表中同一列右上角标有不同英文字母的表示有显著差异($P < 0.05$, $\text{mU} = 10^{-3}\text{U}$)

Notes: Values with different superscript letters in the same column mean significant differences ($P < 0.05$, $\text{mU} = 10^{-3}\text{U}$)

表5 大弹涂鱼稚鱼和早期幼鱼的肠酶在肠刷状缘膜上的比活力和富集系数

Tab. 5 Specific activities and enrichment factors of intestinal enzymes in the intestinal brush border membranes of juvenile and early young fish of *Boleophthalmus pectinirostris*

	麦芽糖酶 maltase	蔗糖酶 sucrase	乳糖酶 lactase	海藻糖酶 trehalase	纤维二糖酶 cellobiase	碱性磷酸酶 alkaline phosphatase	氨基肽酶 amino- peptidase	γ -谷氨酰转肽酶 γ -glutamyl- transpeptidase
稚鱼 juvenile	123.5 \pm 12.7 ^b (5.7)	4.4 \pm 0.7 ^b (0.6)	—	13.7 \pm 1.0 ^b (1.0)	12.7 \pm 0.6 ^b (9.5)	31.7 \pm 4.7 ^b (2.3)	64.2 \pm 2.4 ^b (3.8)	10.8 \pm 1.0 ^b (9.2)
早期幼鱼 early young fish	531.0 \pm 49.9 ^a (9.0)	94.2 \pm 4.8 ^a (1.9)	—	211.7 \pm 17.9 ^a (5.2)	611.5 \pm 32.6 ^a (5.2)	592.7 \pm 70.5 ^a (7.1)	466.5 \pm 35.9 ^a (11.4)	20.7 \pm 3.7 ^a (10.8)

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的表示有显著差异($P < 0.05$),圆括号内的数字为各种肠酶的富集系数, $\text{mU} = 10^{-3}\text{U}$

Notes: — indicates that enzyme activities were undetected. Values with different superscript letters in the same column mean significant differences ($P < 0.05$). The values in parentheses represent the enrichment factor for each enzyme, $\text{mU} = 10^{-3}\text{U}$

3 讨论

大弹涂鱼在前期仔鱼尚未开口摄食已检测到除胃蛋白酶之外的各种消化酶活性,但每尾鱼酶的总活力远低于早期幼鱼。这表明前期仔鱼这些酶的活性并非是外源性饵料所致,但此时仔鱼的消化能力还很弱。许多鱼类的仔鱼在初次摄食时就拥有主要的消化酶,如淡水的尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)、河口区的鲟鱼(*Aipenser sturio*)以及海水的条纹石斑、塞内加尔鲷和金头鲷等^[1, 3, 5, 25, 26]。

大弹涂鱼胰腺酶和肠酶比活力的变化模式相似,在仔鱼期较高,稚鱼期降至最低值,早期幼鱼则急剧上升。而每尾鱼酶的总活力却是随着幼体的发育而逐渐增加。这表明酶比活力的降低并不是由于酶合成能力的下降所致。事实上,大多数海水仔稚鱼的发育过程中酶的总活力是随着日龄

的增长而不断升高的,但由于组织蛋白含量的同步增加,所以酶比活力(每毫克组织蛋白的酶活力)在某一特定阶段会随生长发育呈下降趋势^[7]。在大弹涂鱼的后期仔鱼才检测到微弱的胃蛋白酶活性,但从后期仔鱼到稚鱼,胰腺酶和肠酶比活力快速下降的同时伴随着胃蛋白酶比活力的迅速增加,这表明在大弹涂鱼的仔鱼期,蛋白质的消化是依靠胰腺酶进行的。进入稚鱼期,胃蛋白酶机能显著增强,这对蛋白质的消化起到了重要的作用。Walford和Lam^[16]研究报道了尖吻鲈(*Lates calcarifer*)仔鱼在胃完全形成前,胃酸分泌弱,胃蛋白酶活性低,而类胰蛋白酶活性高;进入稚鱼期,胃腺明显地发达起来,胃酸分泌能力增强,胃蛋白酶活性增加,而类胰蛋白酶活性迅速下降。

海水鱼类幼体消化功能的成熟须经历两个重要的步骤:第一,胰腺分泌功能的成熟;第二,肠刷状缘膜酶的形成^[9]。肠刷状缘膜上含有大量水解

酶和转运系统,而高度富积在肠刷状缘膜上的水解酶,即肠刷状缘膜酶,是各种养分最终消化的承担者^[27,28]。因此在鱼类的发育过程中,有效的肠刷状缘膜消化的建立即代表着成鱼的肠细胞消化模式的形成^[7,8]。肠部的胰腺酶活性与其酶总活性(胰腺部+肠部)的比率可以反映出胰腺的分泌水平^[2,29,30]。大弹涂鱼稚鱼4种胰腺酶的这种比率均显著低于早期幼鱼,这提示了稚鱼期的胰腺分泌机制尚未成熟,胰腺酶的分泌能力尚未达到成鱼的水平。稚鱼和早期幼鱼的肠刷状缘膜均检测不到乳糖酶活性,且蔗糖酶的富积系数均小于2.0,这提示了乳糖酶和蔗糖酶对大弹涂鱼幼体糖类的消化贡献甚微。在稚鱼期,仅部分酶高度富积在肠刷状缘膜上,这表明大弹涂鱼的稚鱼尚未形成有效的肠刷状缘膜酶和完整的肠细胞消化模式。而早期幼鱼除蔗糖酶外,其它肠酶的富积系数为5.2~11.4,与其它鱼类的肠刷状缘膜酶相似^[6,15],表明大弹涂鱼早期幼鱼所提纯到的肠刷状缘膜是有效的。这说明早期幼鱼已建立有效的肠刷状缘膜消化机制,标示着成鱼消化模式的形成。

在土池育苗条件下,大弹涂鱼前期仔鱼从孵化后2d至4d(混合营养期),除了依靠吸收卵黄囊和油球内源营养外,还摄食含有拟铃虫的颗粒有机碎屑以及桡足类无节幼体^[12],稚鱼主要摄食桡足类幼体和成体^[10],进入幼鱼期后,则以底栖硅藻和颗粒有机碎屑为主食^[11]。大弹涂鱼由前期仔鱼到后期仔鱼的转变期,系由混合性营养到外源性营养的转换期,也是仔鱼的死亡率最高期(即仔鱼的危险期或临界期)^[9],此时每尾仔鱼酶的总活力低可能是导致该时期仔鱼高死亡率的原因之一,随着胃蛋白酶的出现及其活性的不断增强,稚鱼的成活率提高,生长速度也加快。而大弹涂鱼由稚鱼到早期幼鱼的转变期,则是由摄食小型浮游动物转向底栖硅藻的时期,此时早期幼鱼每尾鱼酶的总活力远高于其他发育期,而胰腺分泌机制及肠细胞的成熟促使了成鱼消化模式的形成。Cahu和Zambonino Infante^[2]对舌齿鲈、Ribeiro等^[3]对塞内加尔鲷以及Pedersen等^[31]对大西洋鲱(*Clupea harengus*)消化酶的研究结果表明胰腺酶的合成过程并不是由摄食所引起的,而是与日龄有关。本实验对大弹涂鱼仔稚鱼和早期幼鱼胰蛋白酶、糜蛋白酶和羧肽酶A等3种胰腺酶活性的

研究结果也证实了该观点。一些学者认为鱼类糖酶与其食性的关系比蛋白酶的更为密切^[32-33]。大弹涂鱼仔稚鱼和早期幼鱼糖酶活性的变化大致与其食性相符,这是否是因为食性转变所引起的还是受基因所控制的,还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] Baragi V, Lovell R T. Digestive enzyme activities in striped bass from first feeding through larvae development[J]. Trans Am Fish Soc, 1986, 115: 478-484.
- [2] Cahu C L, Zambonino Infante J L. Early weaning of sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae with a compound diet: effect on digestive enzymes [J]. Comp Biochem Physiol, 1994, 109A: 213-222.
- [3] Ribeiro L, Zambonino Infante J L, Cahu C L, et al. Development of digestive enzymes in larvae of *Solea senegalensis* (Kaup 1858)[J]. Aquaculture, 1999, 179: 465-473.
- [4] Oozeki Y, Baily K M. Ontogenetic development of digestive enzyme activities in larval walleye pollock, *Theragra chalcogramma*[J]. Marine Biology, 1995, 122: 177-186.
- [5] Moyano F J, Diaz M, Alarcon F J, et al. Characterization of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*)[J]. Fish Physiol Biochem, 1996, 15: 121-130.
- [6] Ma H M, Cahu C L, Zambonino Infante J L, et al. Activities of selected digestive enzymes during larval development of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*)[J]. Aquaculture, 2005, 245: 239-248.
- [7] Zambonino Infante J L, Cahu C L. Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae [J]. Comp Biochem Physiol, 2001, 130C: 477-487.
- [8] Cahu C L, Zambonino Infante J L. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae [J]. Aquaculture, 2001, 200: 161-180.
- [9] 张其永, 张杰. 大弹涂鱼仔鱼的摄食、生长和成活的研究[J]. 水产学报, 1988, 12(3): 203-211.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] 洪万树, 戴庆年, 张其永, 等. 大弹涂鱼的早期发育研究[J]. 热带海洋, 1988, (2): 1-8.
- [14] 张其永, 洪万树, 戴庆年, 等. 大弹涂鱼人工繁殖和仔稚鱼培育研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 1987, 26(3): 366-373.
- [15] Crane R K, Boge G, Rigal A. Isolation of brush border membranes in vesicular form from the intestinal spiral valve of the small dogfish *Squalorhinus amniala* [J]. Biochim Biophys Acta, 1979, 554: 264-267.
- [16] 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.
- [17] Hummel B C W. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin, and thrombin [J]. Canadian Journal of

- Biochemistry and Physiology 1959, 37: 1393-1399.
- [18] Folk J E, Schirmer E W. The porcine pancreatic carboxypeptidase A system [J]. Journal of Biological Chemistry, 1963, 238: 3884-3894.
- [19] 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.
- [20] George S G, Kenny A J. Studies on the enzymology of purified preparation of brush border from rabbit kidney [J]. Biochemical Journal, 1973, 134: 43-57.
- [21] 蒋传葵 金承德, 吴仁龙. 工具酶活力的测定 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1982. 74-76.
- [22] Dahlquist A. Assay of intestinal disaccharidases [J]. Analytical Biochemistry, 1968, 22: 99-107.
- [23] Bradford M M. A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248-254.
- [24] Cahu C L, Zambonino Infante J L. Maturation of the pancreatic and intestinal digestive functions in sea bass (*Dicentrarchus labrax*): effect of weaning with different protein sources [J]. Fish Physiol Biochem, 1995, 14: 431-437.
- [25] Tengjaroenkul B, Bonnie J, Smith B, et al. Ontogenic development of the intestinal enzymes of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. [J]. Aquaculture, 2001, 211: 241-251.
- [26] Gawlicka A, The S J, Hung S S, et al. Histological and histochemical changes in the digestive tract of white sturgeon larvae during ontogeny [J]. Fish Physiol Biochem, 1995, 14: 357-371.
- [27] 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.
- [28] Proulx P. Structure-function relationships in intestinal brush border membranes [J]. Biochim Biophys Acta, 1991, 1071: 255-271.
- [29] Cahu C L, Zambonino Infante J L. Effect of the molecular form of dietary nitrogen supply in sea bass larvae: response of pancreatic enzymes and intestinal peptidases [J]. Fish Physiol Biochem, 1995, 14: 209-214.
- [30] Zambonino Infante J L, Cahu C L, Peres A, et al. Sea bass *Dicentrarchus labrax* fed different Artemia rations: growth, pancreas enzymatic response and development of digestive functions [J]. Aquaculture, 1996, 139: 129-138.
- [31] Pedersen B H, Niksen E M, Hjeldman K. Variations in the content of trypsin and trypsinogen in larval herring *Clupea harengus* digesting copepod nauplii [J]. Mar Biol, 1987, 94: 171-181.
- [32] Hidalgo M C, Urea E, Sanz A. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities [J]. Aquaculture, 1999, 170: 267-283.
- [33] Kapoor B G, Smith H, Verighina I A. The alimentary canal and digestion in teleosts [J]. Advances in Marine Biology, 1975, 13: 109-211.

欢迎订阅 2007 年《中国组织工程研究与临床康复》杂志

经新出报刊[2006] 288号批准,《中国临床康复》更名为《中国组织工程研究与临床康复》,变更后国内统一连续出版物号为 CN11-5516/R。更名后的《中国组织工程研究与临床康复》2007年出版 53期;每月第1周出版:种子细胞研究(全年12期);每月第2周出版:组织构建研究(全年12期);每月第3周出版:生物材料研究(全年12期);每月第4周出版:临床应用研究(全年12期);每月第5周出版:康复工程研究(全年5期)。本刊诚邀组织工程及其相关领域各类资金资助课题论文,博士后、博士、硕士优秀答辩论文,上述项目的开题综述类稿件!诚邀院士指导项目论文,“长江学者”课题论文,国际合作项目课题论文以及前瞻性、多中心、开放式课题的论文!诚邀新、老作者以及中、英文体例投稿,尤其欢迎中医药方面的相关研究论文及其学术探讨!

本刊“绿色特快通道”承诺修回稿件3个月内出版,一般稿件修回后6个月出版。设有咨询电话:szb100@zglckf.com;电话:024-23389106,024-23384352。

国内订阅邮发代号:8-584;本社订阅:辽宁省沈阳1200邮政信箱;邮编:110004;咨询电话:024-23389106,024-23384352;传真:024-23381085;投稿电邮:kf23385083@sina.comkf22838105@sina.com,更多信息详见www.zglckf.com