

pH 影响真鲷仔、幼鱼蛋白酶活性的研究

陈品健 王重刚 黄崇能 顾 勇 陆 浩

(厦门大学生物系)

摘 要 真鲷仔、幼鱼蛋白酶活性的最适 pH 随生长发育而变化。仔鱼期蛋白酶比活力峰值和次峰值出现在 pH6.0 和 5.0; 幼鱼期胃蛋白酶最适 pH 在 2.2 以下, 肠和肝脏蛋白酶最适 pH 在 10.0 以上。真鲷仔幼鱼蛋白酶活性的变化与消化系统的发育和功能完善有关; 育苗过程中使用单一饵料导致仔幼鱼的不适应, 是育苗中仔稚鱼期死亡率高的原因之一。

关键词 真鲷 仔鱼 幼鱼 pH 蛋白酶活性

前 言

真鲷 (*Pagrosomus major*) 是重要的海产经济鱼类, 已广泛开展人工养殖, 但苗种生产不稳定, 育苗过程仔、稚、幼鱼死亡率高。为此, 一些学者进行了真鲷的育苗工艺、饵料种类、投饵技术等方面的研究^[1~7]。从国际联机检索资料看, 关于真鲷消化酶方面的研究至今报道甚少。消化酶活性与环境因素有密切关系, 其中 pH 是主要影响因素。我们对真鲷仔幼鱼消化酶进行了系列研究, 期望在真鲷育苗过程中对饵料选择、配合饵料的研制等方面有所帮助, 提高育苗成活率。本文报道 pH 影响真鲷仔、幼鱼蛋白酶活性的初步研究结果, 供有关方面参考。

1 材料与方 法

1.1 仔幼鱼及其分期

实验材料系厦门水产学院海水养殖场 1996 年 5 月同一批催产培育的真鲷仔幼鱼。仔幼鱼分期是根据张仁斋^[8]、李大勇^[9]等对鲷科鱼类的划分办法, 从卵孵出后 24h 之内为初孵仔鱼; 开口摄食时为开口期仔鱼; 孵化后 48~50 日龄为幼鱼。

本文于 1996 08 08 收到, 修改稿于 1996 10 20 收到。

* 福建省自然科学基金资助项目。

1.2 酶液制备

仔鱼整体匀浆, 幼鱼剪取从口至肛门的腹部或消化系统匀浆. 用4℃冰冻脱离子水将实验材料置研钵中研磨, 再以玻璃匀浆器匀浆. 匀浆液经4 000r/min 离心机离心30min, 取上清液(即粗酶液)于-4℃冰箱内保藏备用, 48h 内分析结束.

1.3 酶活性测定

蛋白酶活性和总蛋白含量的测定采用福林-酚试剂法(北京大学, 生物化学实验指导, 1980), 以722型分光光度计测定; pH4.5~9.0梯度缓冲液用磷酸缓冲液; pH2.2~4.0梯度缓冲液用醋酸-醋酸钠缓冲液; 胃、肠、肝胰脏蛋白酶活性测定用 Na_2HPO_4 -柠檬酸缓冲液配制1%的酪蛋白和酶液.

1.4 蛋白酶比活力定义

在37℃下粗酶液每毫克蛋白每分钟水解产生酪氨酸的微克数.

2 结果

2.1 仔鱼蛋白酶活性的最适 pH

2.1.1 初孵仔鱼蛋白酶活性的最适 pH

孵化后10h 仔鱼(体长 $2.0 \pm 0.2\text{mm}$)整体匀浆制备的酶液, 测定的蛋白酶活性结果如图1. 蛋白酶比活力与pH 关系曲线呈双峰型, 在pH6.0时出现明显峰值(比活力为4.95), 5.0时出现次峰值(比活力为2.04). 从整体看, pH5.0~7.0范围内, 蛋白酶活性较高; pH 大于7.0, 蛋白酶活性随pH 的升高而明显下降; pH 小于5.0, 蛋白酶活性也低. 以最大比活力为100%, 则最小比活力仅为2.8%.

2.1.2 开口期仔鱼蛋白酶活性的最适 pH

测定孵化后3天处于开口期仔鱼(体长 $2.5 \pm 0.2\text{mm}$)蛋白酶的活性, 结果如图2. pH5.0

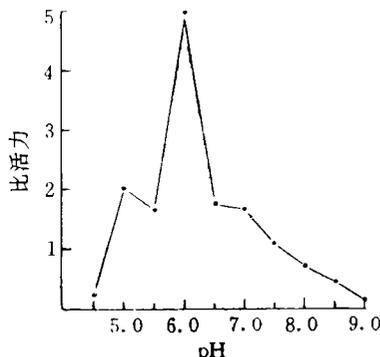


图1 初期仔鱼蛋白酶比活力的最适 pH

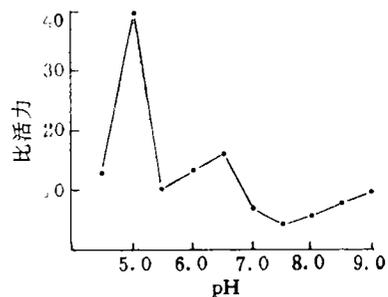


图2 开口期仔鱼蛋白酶比活力的最适 pH

时蛋白酶活性最高(比活力为40.0), pH6.5时出现次峰值(比活力为16.0), pH6.5~7.5时酶活性下降, 7.5时达最低值, 随后酶活性略有回升. 最大和最小比活力的比值为100%、10.0%.

2.2 幼鱼蛋白酶活性的最适 pH

孵化后48日龄幼鱼(体长 27 ± 3 mm)腹部匀浆制备的粗酶液, 其蛋白酶比活力测定结果如图3. 可以看出, 在pH2.2~6.0时, 酶活性随pH的升高而下降, pH6.5时出现一小峰值; pH7.0时酶活性最低; pH7.0~10.0时, 酶活性随pH的上升而增大. pH2.2和10.0时, 酶活力均最高(比活力分别为1.29和1.40). 以最高比活力(pH10.0)为100%, 则最低比活力(pH7.0)仅14.8%.

2.3 幼鱼胃、肠、肝胰脏蛋白酶活性的最适 pH

取孵化后50日龄幼鱼(体长 30 ± 2 mm)的胃、肠和肝胰脏匀浆分别测定其蛋白酶活性, 结果见图4. 胃蛋白酶活性的最适pH在2.2以下; 肠和肝胰脏蛋白酶活性的最适pH在10.0以上. 胃蛋白酶比活力随pH升高而急剧下降, pH大于等于7.0时无活性. 肠蛋白酶当pH小于6.0时无活性; pH6.0~8.0时活性迅速增高; pH8.0~10.0时, 活性增高速度下降. 肝胰脏蛋白酶活性较低, pH小于6.0时无活性, pH7.0~10.0时活性增高, 但增高速度平缓.

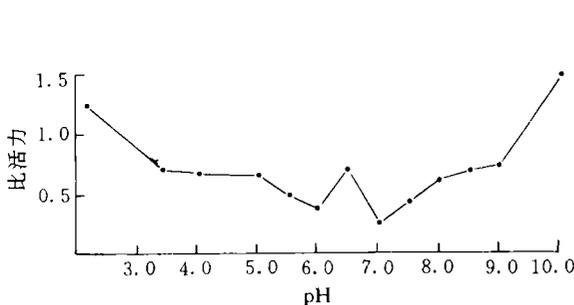


图3 幼鱼(18日龄)蛋白酶比活力的最适 pH

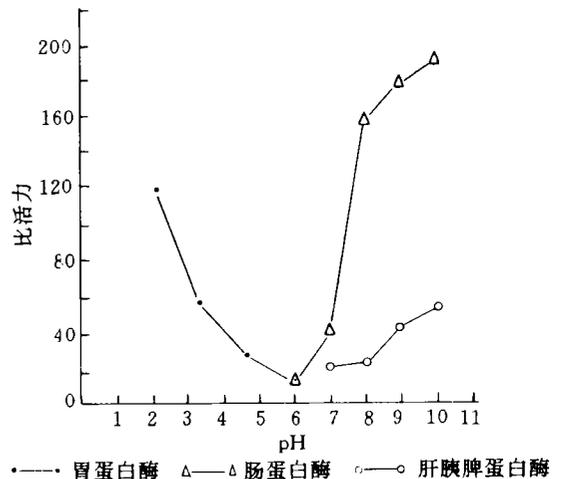


图4 真鲷幼鱼胃、肠、肝胰脏蛋白酶比活力的最适 pH

真鲷幼鱼消化系统胃、肠、肝胰脏3部位蛋白酶活性适应的pH范围均较小, 酶活力差异明显. 在各自最适的pH时三者活力大小依序为肠蛋白酶>胃蛋白酶>肝胰脏蛋白酶; 以此时肠蛋白酶比活力为100%, 胃蛋白酶比活力为61.8%, 肝胰脏蛋白酶比活力为28.1%.

3 讨论

真鲷仔、幼鱼蛋白酶活性的最适 pH 是不同的。仔鱼蛋白酶比活力的峰值和次峰值出现在 pH5.0~6.5 范围;即弱酸性环境活力强。幼鱼蛋白酶比活力峰值在 pH2.2 以下和 10.0 以上。可见,随着生长发育,蛋白酶活性的最适 pH 随之变化。初期仔鱼消化系统的结构和功能尚不完善,消化酶的分泌量少,酶活力也不高;幼鱼期随着消化器官的进一步分化和完善,胃体形成,肠管加长,肝胰脏发育完善,各部位消化酶的分泌量加大,酶活力也增高。这种消化能力的提高与真鲷个体生长发育加速、食量增大、耗能增多是相适应的。仔鱼期蛋白酶活性低,对蛋白质的消化力不高,投喂高蛋白食物势必造成饵料浪费。随着仔幼鱼的生长发育,蛋白酶活性增高,对蛋白质食物的消化利用率也提高了。因此,逐步提高饵料的蛋白质含量是必要的。

消化系统不同部位蛋白酶活性的最适 pH 不同。胃蛋白酶在 pH2.2 以下活性最强,在中性环境 (pH7.0) 则失活,这一结果与美国国立研究会^[10]、尾崎久雄^[11]等的报道是一致的。肠蛋白酶活性最适 pH 为 10.0 以上,与许多有胃鱼,如鲑鱼^[12]、虹鳟^[13]的最适 pH9.0~9.5 相近;而在酸性环境中则失活。肝胰脏蛋白酶活性最适 pH,在几种淡水鱼类为 7.0~8.7^[14,15],而真鲷为 10.0,高于淡水鱼类,估计与真鲷为海水鱼类有关。由图 4 看出,当 pH 为 8.0 时,真鲷幼鱼肝胰脏蛋白酶活性已明显提高,这一趋势与上述报道的结果并不相悖。

鱼的胃内为强酸环境,饱食后肠内多呈碱性。消化道不同部位的特定环境,是导致真鲷幼鱼胃、肠、肝胰脏蛋白酶活性最适 pH 差异和适应 pH 范围较窄的原因,也是有胃鱼的共同特点。

由试验结果可看出,真鲷仔、稚、幼鱼蛋白酶活性的最适 pH 处于变化的过程。因此,育苗实践中使用单一饵料是不适宜的,尤其在仔稚鱼转变期,蛋白酶活性的最适 pH 变化较大,亦即食性转变期,若仍投喂同一种饵料,或未能及时改变饵料种类,则造成消化和营养的不适应。这可能是育苗中该期死亡率高的主要原因之一。幼鱼期的饵料适应力提高了,故稚、幼鱼期和幼鱼期的死亡率明显下降。育苗生产应尽可能提供多种多样的适口饵料,在不同发育期及时更换饵料种类,是提高仔稚鱼成活率的关键之一。

4 结论

仔、稚、幼鱼消化酶活性研究,对于鱼类人工育苗具有重要意义,至今这方面研究报道甚少。真鲷仔、幼鱼蛋白酶活性的最适 pH 随生长发育而变化;幼鱼期随着生长发育的逐步完善,消化系统不同部位蛋白酶最适 pH 差异很大,胃内为强酸环境,肠内为碱性环境,这是有胃鱼类的共同特点。真鲷仔、幼鱼期蛋白酶活性的变化,反映了对单一饵料的不适应。因此,育苗生产中提供多种适口饵料是提高育苗效果的关键一环。

参考文献

- 2 Foscarini R: A review. Intensive farming procedure for red sea bream (*Pagrus major*) in Japan. *Aquaculture*, 1988, **72**, 191~246
- 3 孙光. 真鲷仔稚鱼对饵料生物的选择性. *水产学报*, 1992, **16**(1): 67~70
- 4 孙光, 柳志会. 用天然浮游动物培养真鲷仔稚鱼的试验. *海洋通报*, 1992, **10**(4): 43~46
- 5 孙光等. 天然浮游动物在真鲷育苗中应用技术的研究. *海洋科学*, 1992, (3): 29~33
- 6 孙灵毅, 曲维功. 真鲷人工育苗的初步研究. *水产科学*, 1991, **10**(3): 31~32
- 7 郑微云等. 真鲷幼鱼摄食及其影响因素. *海洋科学*, 1993, (2): 39~44
- 8 张仁斋等. 中国近海鱼卵与仔鱼. 上海: 上海科学技术出版社, 1985
- 9 李大勇等. 光照对真鲷仔、稚、幼鱼摄食的影响. *台湾海峡*, 1994, **13**(1): 26~31
- 10 National Research Council. *Nutrient Requirement of Warmwater Fish and Shellfish*. Washington, D. C., 1983, 39~40
- 11 尾崎久雄. 鱼类消化生理. 上册(吴尚忠译), 1983; 下册(李爱杰、沈宗武译). 1985, 上海: 上海科学技术出版社
- 12 桥本芳郎著, 蔡完其译. 养鱼饲料学. 北京: 农业出版社, 1980, 27~43
- 13 Agrawal V P, K V Sastery and S K Kaushab. Digestive enzymes of three teleost fishes. *Acta. Physiol. Hung.*, 1975, **46**, 93~98
- 14 黄耀桐, 刘永坚. 草鱼肠道肝胰脏蛋白酶活性初步研究. *水生生物学报*, 1993, **12**(4): 328~333
- 15 倪寿文等. 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. *动物学报*, 1993, **39**(2): 160~168