

# 南美白对虾早期幼体消化酶活力的研究

朱春华 李广丽 文海翔

(湛江海洋大学水产学院 湛江 524025)

**提要** 以酶学分析方法对南美白对虾 (*Penaeus vannamei* Boone) 幼体及仔虾 4 种消化酶的活力进行了分析测定, 结果表明: 南美白对虾早期幼体消化酶活力表现差异, 类胰蛋白酶、胃蛋白酶的活力为无节幼体 (N) < 蚤状幼体 (Z) < 糠虾幼体 (M) < 仔虾 (P), 类胰蛋白酶的活力比胃蛋白酶高 2 倍左右; 淀粉酶的活力 Z-M 期表现较高, 以后随幼体发育淀粉酶活力明显降低; 脂肪酶活力在早期幼体发育阶段变化不大, 且活力较低。

**关键词** 南美白对虾 (*Penaeus vannamei* Boone), 幼体, 消化酶

**中图分类号** S917 **文献标识码** A **文章编号** 1000-3096(2003)05-0054-04

甲壳动物消化酶的研究, 多数集中于消化酶种类、性质、幼体发育不同阶段的酶活力变化以及饵料对消化酶活力的影响等方面<sup>[1]</sup>。有关幼体发育不同阶段的消化酶活力变化, 刘玉梅<sup>[2,3]</sup>先后两次对中国对虾消化酶进行了研究, 潘鲁青<sup>[4]</sup>对 4 种虾蟹类幼体消化酶活力进行了比较, Lovett<sup>[5]</sup>对白对虾消化酶变化情况进行了测定, 在南美白对虾消化酶的研究方面, Lee<sup>[6,7]</sup>等报道了食性、幼体大小、饵料蛋白源对其消化酶活力的影响, 但未涉及早期幼体发育阶段消化酶

活力问题。本研究对南美白对虾早期幼体不同发育阶段胃蛋白酶、类胰蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活力进行测定, 旨在为南美白对虾人工育苗的合理投饵和人工饵料的开发研制提供科学依据, 并可为甲壳动物的消

---

第一作者: 朱春华, 出生于 1967 年, 学士, 讲师, 研究方向为水产养殖学, E-mail: zhuch86@163.net

收稿日期: 2002-09-06; 修回日期: 2003-02-28

化生理、营养生理的研究奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

南美白对虾幼体根据虾苗生长发育期分为 5 个阶段取样:无节幼体(N期),溞状幼体(Z),糠虾幼体(M),仔虾期一至二期( $P_{1-2}$ ),仔虾期七至八期( $P_{7-8}$ ),各期样品饥饿 6 h 后取样,用充氧袋运回实验室后,以冰冻重蒸水冲洗并用滤纸吸干水分,称重后置于低温冰箱( $-78^{\circ}\text{C}$ )中保存备用。

### 1.2 样品的制备

分别取无节幼体(N)、溞状幼体(Z)、糠虾幼体(M)、仔虾(P)各 0.3 g 左右,放入在玻璃匀浆器中,加入 5 倍体积预冷的重蒸水,置于冰浴中匀浆。匀浆液于 4 000 r/min 冷冻离心机( $0\sim 4^{\circ}\text{C}$ )离心 15 min,取上清液作脂肪酶活力测定,其余上清液再于 9 000 r/min 离心 20 min,取上清液作胃蛋白酶、类胰蛋白酶及淀粉酶活力及蛋白含量测定。粗提物在  $0\sim 4^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存,并于 24 h 内测定完毕。

### 1.3 消化酶活力测定

胃蛋白酶、类胰蛋白酶和淀粉酶活力测定参考刘玉梅<sup>[2,3]</sup>的方法。脂肪酶的活力测定方法参照文献[8],酶液蛋白按凯氏定氮的酪蛋白作标准,以 Folin-酚试剂法测定蛋白质含量。

各种消化酶的比活力定义为每分钟每毫克蛋白所具有的活力单位数。

## 2 结果

测定南美白对虾 5 个幼体发育阶段(N、Z、M、 $P_{1-2}$ 、 $P_{7-8}$ )胃蛋白酶、类胰蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活力,结果(见表 1)显示:各期幼体 4 种消化酶在发育过程中出现 3 种变化模式:胃蛋白酶、类胰蛋白酶活力随幼体发育而逐渐增大,为无节幼体(N) < 溞状幼体(Z) < 糠虾幼体(M) < 仔虾(P),且类胰蛋白酶活力比胃蛋白酶高 2 倍左右(图 1);淀粉酶活力从 Z→M 期升高,而从 M→P 期活力下降,在糠虾幼体期淀粉酶活力最高(图 2);脂肪酶活力很低,且发育各期变化不大(图 3)。计算淀粉酶活力与类胰蛋白酶活力比值

表 1 南美白对虾各期幼体消化酶(活力单位/mg 蛋白)

Tab.1 The digestive enzymes activity in different stages of *Penaeus vannamei* Boone

| 发育期       | 胃蛋白酶              | 类胰蛋白酶             | 淀粉酶               | 脂肪酶               | A/T  |
|-----------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------|
| N         | $0.215 \pm 0.093$ | $0.505 \pm 0.062$ | $0.593 \pm 0.072$ | $0.050 \pm 0.005$ | 0.54 |
| Z         | $0.264 \pm 0.067$ | $0.557 \pm 0.016$ | $0.725 \pm 0.098$ | $0.052 \pm 0.012$ | 0.63 |
| M         | $0.353 \pm 0.063$ | $0.594 \pm 0.065$ | $0.818 \pm 0.076$ | $0.053 \pm 0.009$ | 0.69 |
| $P_{1-2}$ | $0.368 \pm 0.078$ | $0.665 \pm 0.047$ | $0.503 \pm 0.065$ | $0.055 \pm 0.014$ | 0.31 |
| $P_{7-8}$ | $0.415 \pm 0.056$ | $0.896 \pm 0.050$ | $0.332 \pm 0.048$ | $0.065 \pm 0.007$ | 0.17 |

注:酶的活力以比活力表示,即活力单位/mg 蛋白;A/T 为淀粉酶/类胰蛋白酶活力。表中数值为 3 次实验数据的平均值  $\pm$  标准差。

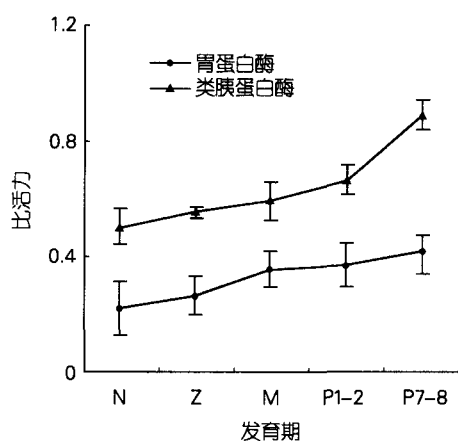


图 1 幼体发育期胃蛋白酶和类胰蛋白酶活力  
Fig.1 Activities of pepsin and trypsin during larva development

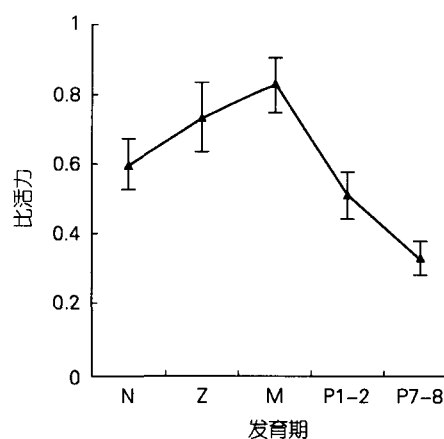


图 2 幼体发育期淀粉酶活力  
Fig.2 Activity of amylase during larval development

( $A/T$ ), 其变化趋势在  $N \rightarrow M$  期逐渐增大, 而在  $M \rightarrow P$  期明显减小(图 4)。

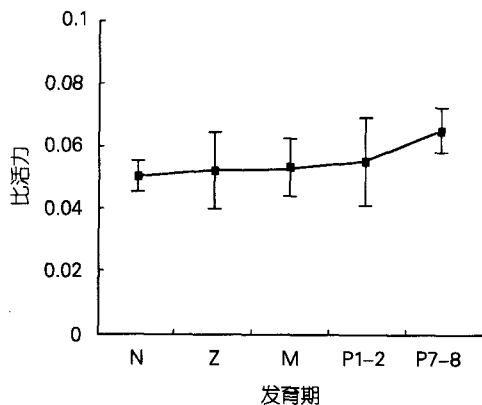


图 3 幼体发育期脂肪酶活力

Fig. 3 Activity of lipase during larval development

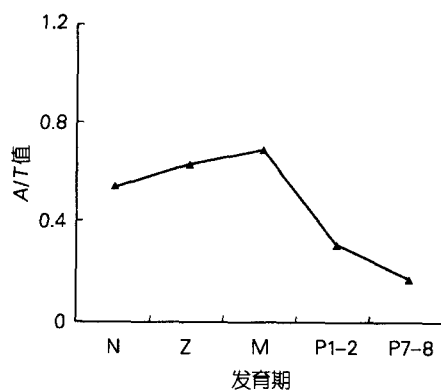


图 4 幼体发育时期  $A/T$  值变化

Fig. 4  $A/T$  ratio during larval development

### 3 讨论

在形态学方面, Dall<sup>[1]</sup>等认为, 虾类的无节幼体期和蟹类的胚胎发育期无完整口器和消化器官, 不摄食, 仅靠卵黄供给营养进行生长发育, 但其消化系统已初步分化出消化腺, 可消化蛋白质、淀粉和脂肪类物质; 南美白对虾幼体 5 个发育阶段 4 种消化酶的活力变化表明, 在南美白对虾的无节幼体期已经具备一定的胃蛋白酶、类胰蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活力。李少菁<sup>[9]</sup>在锯缘青蟹胚胎发育过程中也检测出蛋白酶、淀粉酶和纤维素酶的存在; 潘鲁青<sup>[4]</sup>在中国对虾和日本对虾无节幼体  $N_{54}$  期检测出较高活力的类胰蛋白

酶、胃蛋白酶、淀粉酶和纤维素酶。这说明对虾在无节幼体期消化腺的初步分化以及消化酶合成机制是相似的, 均可分泌消化酶来利用自身的卵黄物质, 并在生理生化方面为后期主动摄食做充分准备。

南美白对虾胃蛋白酶、类胰蛋白酶的活力随着幼体的发育而增强, 即仔虾期 > 糠虾幼体 > 溞状幼体 > 无节幼体, 且发育各期幼体类胰蛋白酶的活力比胃蛋白酶活力高 2 倍左右。上述蛋白酶的活力变化模式与刘玉梅<sup>[2]</sup>在中国对虾、潘鲁青<sup>[4]</sup>在中国对虾和日本对虾、Lovett<sup>[5]</sup>在白对虾中的变化模式相类似, 说明在虾类早期幼体发育阶段蛋白质的消化主要以类胰蛋白酶为主; 南美白对虾的脂肪酶活力很低, 且在发育各期变化不大, 这与日本学者黑木暲<sup>[10]</sup>在日本对虾稚虾和刘玉梅<sup>[3]</sup>在中国对虾成虾检测到脂肪酶活力很低的结论相同, 说明对虾无论是幼体还是成体对脂类物质的消化能力均较差; 南美白对虾幼体淀粉酶从  $Z \rightarrow M$  期稍有增大, 而从  $M \rightarrow P$  期明显减小, 在糠虾幼体期淀粉酶活力最高, 这种变化趋势与刘玉梅<sup>[2]</sup>的报道稍有差异。上述消化酶活力变化说明甲壳动物在分类地位相近的种类, 其消化酶活力的调控机制相似。同时也表明不同种类的甲壳动物其消化酶分泌有各自的调控系统, 这与于书坤<sup>[11]</sup>关于甲壳动物不同种类占有不同的生态位, 生活环境和食性各异, 因此不同种类之间消化酶活力和变化趋势有差别的观点相一致。

Kamarudin 等<sup>[12]</sup>认为, 虾类幼体不同发育期的消化酶活力变化与其食性是一致的。而幼体的消化酶活力的高低直接反映了对营养物质消化吸收的能力。在南美白对虾育苗生产中, 无节幼体期一般不投饵, 溞状幼体期以投喂单细胞藻类为主, 自糠虾幼体期开始投喂轮虫、丰年虫无节幼体等动物性活饵。从南美白对虾育苗的投饵情况来看, 南美白对虾幼体的消化酶活力变化与投饵是相关的。虾类随着幼体生长发育, 有着食性转换的过程。Biesiot 等<sup>[13]</sup>提出采用淀粉酶与类胰蛋白酶活力的比值 ( $A/T$ ) 可作为甲壳动物幼体的食性指标, 比值高则为植物食性或偏植物食性, 比值低则为动物食性或偏动物食性。南美白对虾的  $A/T$  比值从  $N \rightarrow M$  期增大, 而从  $M \rightarrow P$  期明显减小, 这与潘鲁青<sup>[4]</sup>对中国对虾、日本对虾的测定结果相似。这表明糠虾幼体期是南美白对虾食性转变的关键时期, 其幼体发育阶段有从偏植物性食性向偏动物性食性转换的过程。因此, 考虑南美白对虾幼体消化酶活力以及食性指标的变化, 选择合理的天然饵料或人工饲料

投喂幼体是人工育苗生产的关键所在。

#### 参考文献

- 1 Dall W, Smith D M 著,陈楠生,等译. 对虾生物学. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1992. 172-175
- 2 刘玉梅, 朱谨钊, 吴厚余, 等. 中国对虾幼体和仔虾消化酶活力及氨基酸组成的研究. 海洋与湖沼, 1991, 22(6): 571-575
- 3 刘玉梅, 朱谨钊. 对虾消化酶的研究. 海洋科学, 1984, 8(5): 46-50
- 4 潘鲁青. 四种虾蟹类幼体消化酶活力的比较研究. 青岛海洋大学学报, 1997, 27(3): 313-317
- 5 Lovett D L, Fider D L. Ontogenetic change in digestive enzyme activity of larval and postlarval white shrimp *Penaeus setiferus*. Biol Bull, 1990, 178(2): 144-159
- 6 Lee P G, Lawrence A L. A quantitative analysis of digestive enzymes in *Penaeid shrimp*, influences of diet, age and species. Physiologist, 1982, 25: 241
- 7 Lee P G, Smith L L, Lawrence A L. Digestive proteases of *Penaeus vannamei* Boone: relationship between enzyme activity and diet. Aquaculture, 1984, 42: 225-239
- 8 中山大学生物系生化微生物学研究室编. 生化技术导论. 北京: 人民教育出版社, 1979. 57-60
- 9 李少菁, 王桂忠, 汤鸿, 等. 锯缘青蟹胚胎发育过程中几种水解酶活力的比较研究. 厦门大学学报, 1995, 34(6): 970-974
- 10 黑木锡. 稚鱼的投喂与发育. 东京: 恒星社厚生阁, 1975. 30-44
- 11 于书坤. 中国对虾消化酶的研究 I: 消化酶的活力测定及性质的研究. 海洋科学集刊, 1987. 28: 5-96
- 12 Kamarudin M S, Jones D A, Le Vay L. Ontogenetic change in digestive enzyme activity during larval development of *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture, 1994. 123: 323-333
- 13 Biesiot P M, Capuzzo J M. Digestive protease, lipase and amylase activities in stage I larvae of the American Lobster, *Homarus americanus*. Comp Biochem Physiol, 1990. 95A(1): 47-54

## STUDIES ON DIGESTIVE ENZYMES DURING EARLY ONTOGENY OF *Penaeus vannamei* Boone

ZHU Chun-Hua   LI Guang-Li   WEN Hai-Xiang  
(Fisheries College of Zhanjiang Ocean University, Zhanjiang, 524025)

Received: Sep., 6, 2002

**Key Words:** *Penaeus vannamei* Boone, Larval, Digestive enzymes

### Abstract

The activities of digestive enzymes during early ontogeny of *Penaeus vannamei* Boone were conducted with the enzyme analytical method. The results indicated that the activities of trypsin-like enzyme and pepsin were different in different stages of *Penaeus vannamei* Boone: nauplius stage < zoea stage < mysis stage < post larval stage. The activities of trypsin-like enzyme were about 2 times higher than that of pepsin; The higher activity of amylase was found between zoea stage and mysis stage, and its activities decreased with growth in the post period. The activity of lipase was fairly low, and there was no obvious difference during larval development.

(本文编辑: 张培新)