

## 温度和 pH 对条石鲷幼鱼消化酶活力的影响

罗奇<sup>1,2</sup>, 区又君<sup>1</sup>, 艾丽<sup>1,2</sup>, 李加儿<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 中国水产科学研究院水产种质资源与养殖技术重点开放实验室, 广东 广州 510300; 2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

**摘要:** 研究了温度和 pH 对条石鲷 *Oplegnathus fasciatus* 幼鱼胃、肠、肝内 3 种主要消化酶(蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶)活力的影响。结果表明, 1) 肠和肝的蛋白酶最适温度均为 25℃, 而胃蛋白酶最适温度为 28℃; 胃和肝淀粉酶最适温度是 22℃, 肠淀粉酶的最适温度为 19℃; 各消化器官的脂肪酶在 16℃ 时活力最高。当温度在 16—28℃ 之间时, 条石鲷幼鱼的脂肪酶和蛋白酶活力较高, 淀粉酶活力较低。2) 胃蛋白酶最适 pH 为 3.2, 淀粉酶最适 pH 是 7.6, 脂肪酶最适 pH 为 4.2; 肠蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶最适 pH 分别是 8.6、6.6 和 6.6; 肝蛋白酶最适 pH 是 7.6, 肝淀粉酶和脂肪酶最适 pH 均为 6.6。

**关键词:** 条石鲷 *Oplegnathus fasciatus*; 幼鱼; 温度; pH; 消化酶; 活力

中图分类号: Q556; Q48 文献标识码: A 文章编号: 1009-5470(2010)05-0154-05

## Effects of temperature and pH on the digestive enzymes activities of juvenile striped beakperch *Oplegnathus fasciatus*

LUO Qi<sup>1,2</sup>, OU You-jun<sup>1</sup>, AI Li<sup>1,2</sup>, LI Jia-er<sup>1</sup>

(1. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; Key Laboratory of Fisheries Genetic Resources and Aquaculture, Chinese Academy of Fisheries Sciences; Guangzhou 510300, China; 2. College of Fisheries and Life, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** The effects of temperature and pH on digestive enzymes activities (stomach, intestine and liver) were investigated in juvenile striped beakperch *Oplegnathus fasciatus*. The results indicated that the optimum temperature for protease in intestine and liver was 25℃, and that in stomach was 28℃. The optimum temperature for amylase in stomach and liver was 22℃, and that in intestine was 19℃. The optimum temperature for lipase in three digestive organs was all 16℃. During 16℃ to 28℃, the protease and lipase both had relatively high activities, however, the amylase had a lower activity. The optimum pH values for protease, amylase and lipase were 3.2, 7.6 and 4.2 in stomach, and 8.6, 6.6 and 6.6 in intestine, respectively. The optimum pH in liver was 7.6 for protease, and 6.6 for amylase and lipase.

**Key words:** striped beakperch *Oplegnathus fasciatus*; juvenile; temperature; pH; digestive enzymes; activity

条石鲷 *Oplegnathus fasciatus*, 隶属于鲈形目(Perciformes), 石鲷科(Oplegnathidae), 石鲷属, 主要分布于我国的黄海、东海, 日本的北海道以南。条石鲷生存水温范围为 6—32℃, 适宜生长水温 18—28℃, 适宜生长盐度 10‰—33‰, 由于在食用和观赏方面具有较高的经济价值, 在我国的北方已

形成一定的养殖规模<sup>[1]</sup>。条石鲷适合于网箱养殖和池塘养殖, 特别适合于网箱养殖。关于水产经济动物消化酶研究已有较多报道<sup>[2–6]</sup>, 但是有关条石鲷消化酶的研究尚未见报道。本试验旨在探讨温度和 pH 对条石鲷幼鱼消化酶活性之间的关系, 为集约化养殖和人工配合饲料的研究提供科学依据。

收稿日期: 2008-10-15; 修订日期: 2009-02-23。刘学东编辑

基金项目: 中国水产科学研究院水产种质资源与养殖技术重点开放实验室开放基金(2007A014)

作者简介: 罗奇(1986—), 男, 江苏省宿迁市人, 硕士研究生, 主要从事鱼类繁殖生物学研究。E-mail: luqi198@163.com

通信作者: 区又君。E-mail: ouyoujun@126.com

## 1 材料与方法

### 1.1 试验用鱼及驯养

试验用的条石鲷幼鱼由本所海水鱼类试验基地人工繁殖所得, 实验开始前在室内驯养 2 天。选取健康幼鱼 150 尾, 体重 $(7.31 \pm 1.78)$ g, 投喂幼鱼膨化饲料, 每天 3 次, 日投饵量为鱼体质量的 3%。海水经沉淀和沙滤, 水温 25—26℃, 盐度 26‰—28‰, pH 7.5—8.5, 自然光照, 每天吸污 2 次, 早晨换水, 换水量为总水体的 30%, 换水温差不超过 1℃, 连续充气, 溶解氧 6—9 mg·L<sup>-1</sup>。

### 1.2 试验设计

#### 1.2.1 温度试验

温度设计参考条石鲷的生活适温, 设 5 个组, 分别是 16℃、19℃、22℃、25℃和 28℃。随机选取健康条石鲷幼鱼, 每组设 3 个平行, 每一平行 5 尾。用 DK-S22 温度控制器和恒温培养箱调节温度。由驯化期温度 $(25 \pm 1)$ ℃开始按每天 3℃的速度升/降温至实验温度, 在各个温度下饲养 7d 后取样测定。试验温差不得超过 1℃, 连续充气, 采用循环过滤装置控制水质, 降温后及时检测水质变化, 确保各组水质条件相同。测定酶活力时的酶反应 pH 为 7.5。

#### 1.2.2 pH 试验

参照预试验的结果, 胃蛋白酶和脂肪酶在 pH 值 2.2—8.0 范围内, 设 7 个梯度; 肠和肝消化酶以及胃淀粉酶在 pH 值 5.0—10.6 范围内, 设 7 个梯度; 分别在各 pH 值下测 3 种酶的活力。每组设 3 个平行, 取平均值。取样前由各组随机挑选两尾健康幼鱼, 使用精密 pH 试纸检测胃、肠和肝的 pH 值。

### 1.3 酶液制备

酶液的制备按付新华等<sup>[7]</sup>。采样前一天停食, 在进行生物学测定之后置于冰盘上解剖(解剖时处于空腹状态), 加入 10 倍体积的预冷重蒸水(0—4℃), 在冰浴中用玻璃匀浆器充分研磨匀浆(10—20min), 匀浆后在 4℃冰箱中静置 1 h, 再将组织匀浆液在 Sigma 高速冷冻离心机以 10000rpm 的转速离心 30min, 取上清液作为酶液, 并在 0—4℃低温下保存, 于 24h 内分析完毕。

### 1.4 酶活力测定

采用 0.2 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液 (2.2—8.0) 和 0.05 mol·L<sup>-1</sup> 甘氨酸-氢氧化钠缓冲液 (8.6—10.6) 调节 pH, 用恒温水浴锅调节反应温度。

#### 1.4.1 蛋白酶

采用福林-酚试剂法, 具体步骤参照文献<sup>[8]</sup>。在

一定的 pH 和底物酪蛋白质量浓度为 1.0 mg·mL<sup>-1</sup> 的条件下, 37℃水浴 20min, 以酶液 1min 内水解酪蛋白产生 1μg 酪氨酸作为一个酶活力单位(U)。

#### 1.4.2 淀粉酶

采用碘-比色法, 具体步骤参照文献<sup>[9]</sup>。在 40℃水浴和一定的 pH 值的条件下, 反应 7.5min, 以酶液 1min 内水解淀粉生成 1μg 葡萄糖作为一个淀粉酶活力单位(U)。

#### 1.4.3 脂肪酶

采用聚乙烯醇橄榄油乳化液水解法<sup>[8]</sup>。在一定的 pH 值和 30℃水浴条件下, 以酶液 1min 水解脂肪产生 1μg 脂肪酸作为一个酶活力单位(U)。

### 1.5 数据处理

所得数据采用 spss13.0 统计软件进行单因素方差分析, 用 Duncan 氏多重比较分析组间差异显著性。

## 2 结果

### 2.1 温度对条石鲷幼鱼消化酶活力的影响

#### 2.1.1 温度对蛋白酶活力的影响

温度对条石鲷的蛋白酶活力具有明显的影响(图 1)。随温度上升条石鲷消化酶活力呈上升趋势, 胃蛋白酶最适温度为 28℃; 肠、肝蛋白酶最适温度为 25℃。在不同消化器官中, 蛋白酶活力大小顺序为: 胃>肠>肝, 胃的酶活力显著高于其他消化器官( $P<0.01$ )。

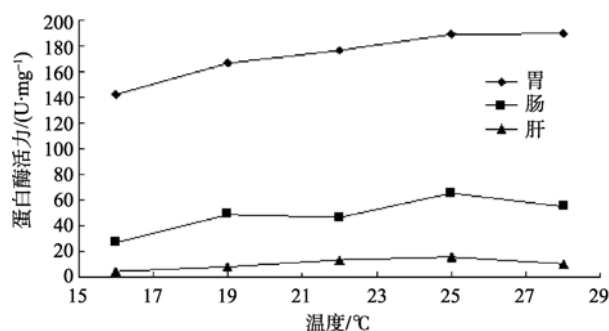


图 1 水温对条石鲷幼鱼蛋白酶活力的影响

Fig. 1 Effect of water temperature on protease activity

#### 2.1.2 温度对淀粉酶活力的影响

随温度上升条石鲷淀粉酶活力呈先上升后下降趋势(图 2), 胃、肝淀粉酶最适温度为 22℃; 肠淀粉酶最适温度为 19℃。在不同消化器官中, 淀粉酶活力大小顺序为: 肠>胃>肝, 肠的酶活力显著高于其他消化器官( $P<0.05$ )。

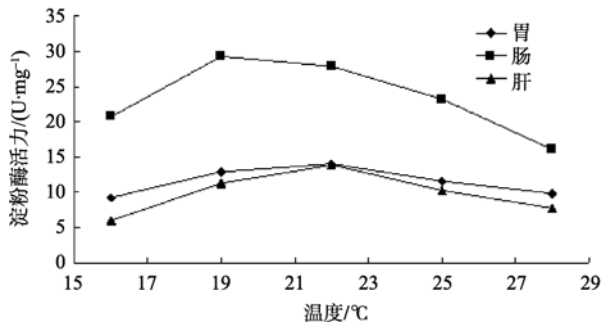


图2 温度对条石鲷幼鱼淀粉酶活力的影响  
Fig. 2 Effect of temperature on amylase activity

### 2.1.3 温度对脂肪酶活力的影响

随温度上升条石鲷脂肪酶活力呈下降趋势, 各消化器官脂肪酶最适温度为 16 (图 3)。在不同消化器官中, 脂肪酶活性大小顺序为: 肠>胃>肝, 肠的酶活力显著高于其他消化器官( $P<0.05$ )。

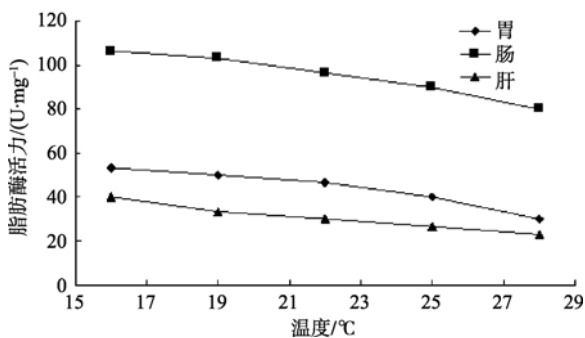


图3 温度对条石鲷幼鱼脂肪酶活力的影响  
Fig. 3 Effect of temperature on lipase activity

## 2.2 pH 对条石鲷幼鱼消化酶活力的影响

### 2.2.1 消化道内 pH 值

试验测得条石鲷幼鱼胃内 pH 范围为 2.6—3.4, 约 50% 的被检个体胃内 pH 为 3.0; 肠道内 pH 范围为 6.6—7.6, 约 25% 的被检个体肠道内 pH 为 7.2; 肝脏内的 pH 范围为 7.4—8.6, 约 25% 的被检个体肝脏内 pH 为 8.0。

### 2.2.2 pH 对蛋白酶活力的影响

在 pH 值为 2.2—8.0 范围内, 条石鲷胃蛋白酶活力总体上呈下降趋势(图 4), 最适 pH 值为 3.2; 在 pH 值为 5.0—10.6 范围内, 肠和肝的蛋白酶活力随着 pH 增高呈现先上升后下降的趋势, 肠、肝蛋白酶的最适 pH 值分别为 8.6、7.6; 消化器官中, 胃蛋白酶活力最强( $P<0.05$ ), 肝的蛋白酶活性最弱( $P<0.05$ )。

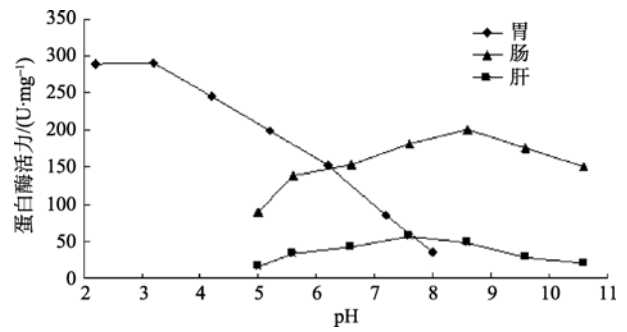


图4 pH 对条石鲷幼鱼蛋白酶活力的影响  
Fig. 4 Effect of pH on protease activity

### 2.2.3 pH 对淀粉酶活力的影响

条石鲷各消化器官的淀粉酶活力呈现先上升后下降的趋势(图 5)。肠、肝淀粉酶活力的最适 pH 值为 6.6, 胃淀粉酶的最适 pH 值为 7.6, 其中以肠的淀粉酶活力最强( $P<0.05$ ), 肝的淀粉酶活力最弱。

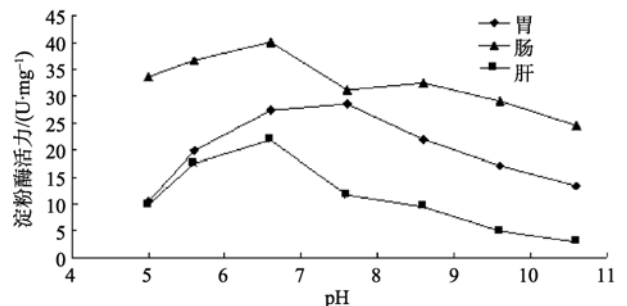


图5 pH 对条石鲷幼鱼淀粉酶活力的影响  
Fig. 5 Effect of pH on amylase activity

### 2.2.4 pH 对脂肪酶活力的影响

条石鲷各消化器官的脂肪酶活力呈现先上升后下降的趋势(图 6), 胃脂肪酶活力的最适 pH 值为 4.2; 肠、肝脂肪酶的最适 pH 值均为 6.6, 其中以肠的脂肪酶活力最强( $P<0.05$ ), 肝的脂肪酶活力最弱( $P<0.05$ )。

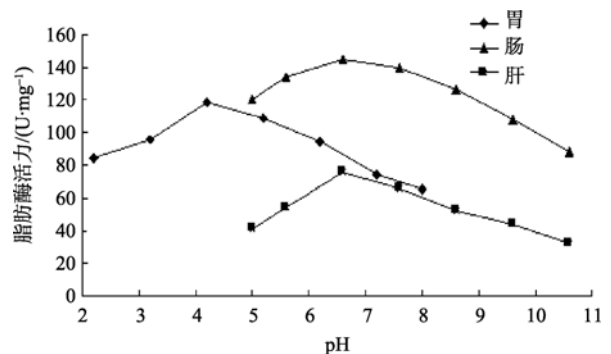


图6 pH 对条石鲷幼鱼脂肪酶活力的影响  
Fig. 6 Effect of pH on lipase activity

### 3 讨论

#### 3.1 条石鲷幼鱼消化酶的活力

本研究结果表明, 条石鲷幼鱼的蛋白酶和脂肪酶活力较高, 但是淀粉酶活力较低。这与陈品健等<sup>[5,10]</sup>对真鲷 *Pagrosomus major* 的研究结果相似。条石鲷幼鱼肝的蛋白酶、淀粉酶及脂肪酶活力都比胃和肠道要低, 原因可能是肝分泌各种消化酶原, 而这些消化酶原活力很低<sup>[11,12]</sup>。条石鲷幼鱼肠的蛋白酶、淀粉酶及脂肪酶活力都比较高, 说明肠在各种营养物质的消化过程中都起着重要作用。

#### 3.2 条石鲷幼鱼消化酶活力与温度的关系

鱼类是变温动物, 环境温度变化直接影响着鱼类机体内的生理生化过程, 也与其体内消化酶活力密切相关。消化酶活力高低决定着鱼体对营养物质消化吸收的能力, 从而决定鱼体生长发育的速度。这也与每一种鱼类只能在一定温度范围内生活相一致, 因为温度过高或过低, 鱼体内的淀粉酶、脂肪酶、蛋白酶活性降低, 导致鱼类对食物消化利用率低, 生长慢, 甚至于停止生长<sup>[13]</sup>。

试验结果表明, 当温度在 16—28 ℃ 时, 条石鲷幼鱼胃的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶的最适温度分别为 28 ℃、22 ℃ 和 16 ℃; 条石鲷幼鱼肠的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶的最适温度分别为 25 ℃、19 ℃ 和 16 ℃; 条石鲷幼鱼肝的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶的最适温度分别为 25 ℃、22 ℃ 和 16 ℃。本试验中, 仅有胃蛋白酶的最适温度在 28 ℃, 28 ℃ 以上的胃蛋白酶活力还有待检测; 随温度上升各消化器官的蛋白酶活力均呈现升高的趋势, 胃蛋白酶活力明显高于其他组织 ( $P < 0.01$ ), 肠蛋白酶活力次之, 肝蛋白酶活力最小 ( $P < 0.05$ )。可见, 在温度较高时, 条石鲷消化蛋白质的能力较强, 可适当增加饵料中蛋白质比例。

条石鲷幼鱼各消化器官的脂肪酶活力均以 16

℃ 时最高, 28 ℃ 时最低, 与施氏鲟 *Acipenser schrenckii*<sup>[14]</sup> 相似。肝的脂肪酶活力最低, 对脂肪的消化能力较弱, 它的主要作用应该是分泌脂肪酶原。在 16 ℃ 时, 条石鲷幼鱼消化脂肪的能力比较强, 建议在温度较低的情况下, 适当增加饵料脂肪酸比例; 在温度升高时, 可适当减少饵料中脂肪酸比例或投喂酶制剂。

本试验中, 条石鲷幼鱼肠淀粉酶的最适温度为 19 ℃, 而胃和肝的淀粉酶最适温度为 22 ℃。随温度上升各消化器官的淀粉酶活力均呈现先升高后下降的趋势。肠道的淀粉酶活力远高于其他部位, 而肝的淀粉酶活力很低。这与其他学者对施氏鲟<sup>[14]</sup>、鲤 *Cyprinus carpio*<sup>[15]</sup> 和鲑 *Sebastes mentella* 等<sup>[16]</sup> 研究结果相一致。

#### 3.3 条石鲷消化酶活力与 pH 的关系

本试验表明, 条石鲷胃的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶的最适 pH 值分别为 3.2, 7.6 和 4.2; 肠的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶的最适 pH 分别为 8.6, 6.6 和 6.6; 肝的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶的最适 pH 分别为 7.6, 6.6 和 7.6, 与沈文英等<sup>[17]</sup> 和李希国等<sup>[18]</sup> 的研究结果相近。pH 检测结果表明, 条石鲷幼鱼胃内呈强酸性, 肠内多为中性, 肝内多呈弱碱性。结合 pH 对蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活力的影响来看, 条石鲷幼鱼胃内生理环境适合对蛋白质的消化, 而对淀粉和脂肪的消化能力比较弱; 肠内生理环境有利于各种营养物质的消化; 肝对各种营养物质的消化能力均较弱。这与鱼类的消化系统生理机能一致。pH 值对鱼类生理活动的影响是多方面的, 酸碱度的作用一方面是对食物进行酸碱性消化, 二是为消化酶提供适宜的 pH 环境<sup>[19]</sup>。酶对催化反应的 pH 要求极为严格, 只有在一定的范围内, 才能够表现活性。在生产实践中, 适当的营养搭配可以调节鱼类的生理 pH 值, 提高饲料利用率, 增加条石鲷幼鱼的生长速度, 降低养殖成本, 从而减少水体污染。

### 参考文献

- [1] 牛化欣, 常杰, 马胜. 条石鲷的生物学及养殖生态学研究进展[J]. 水产科技情报, 2008, 1: 22–23.
- [2] 吴勇, 区又君, 李希国. 消化酶活力在千年笛鲷幼鱼不同消化器官中的比较研究[J]. 南方水产, 2006, 2 (2): 61–63.
- [3] FLOWERDEW M W, GROVE D J. Some observations of the effects of body weight, temperature, meal size and quality on gastric emptying time in turbot, *Scophthalmus maximus* (L.) using radiography [J]. J Fish Biol, 1979, 14: 229–238.
- [4] CHESLEY L C. The concentration of proteases, amylases, and lipase in certain marine fishes[J]. Biol Bull, 1934, 66(2): 133–144.

- [5] 陈品健, 王重刚, 黄崇能, 等. 真鲷仔、稚、幼鱼期消化酶活性的变化[J]. 台湾海峡, 1997, 16 (3): 245–248.
- [6] 区又君, 刘泽伟. 千年笛鲷幼鱼的饥饿和补偿生长[J]. 水产学报, 2007, 31(3): 323–328.
- [7] 付新华, 孙谧, 孙世春. 大菱鲆消化酶的活力[J]. 中国水产科学, 2005, 12 (1): 26–32.
- [8] 王富荣. 生物工程分析与检验[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005: 204–207.
- [9] 胡思玉, 白建梅. 昆明裂腹鱼淀粉酶活性研究[J]. 水产科学, 2007, 26(4): 234–236.
- [10] 陈品健, 王重刚, 郑森林. pH 影响真鲷仔、幼鱼蛋白酶活性的研究[J]. 海洋学报, 1997, 19 (3): 97–101.
- [11] 黄小燕, 吴天星, 李军, 等. 鲢鱼消化酶活性的研究[J]. 水利渔业, 2006, 24(4): 86–88.
- [12] 叶继丹, 卢彤岩, 刘洪柏, 等. 六种鲟鱼消化酶活力的比较研究[J]. 水生生物学报, 2003, 27 (6): 590–595.
- [13] 李希国, 李加儿, 区又君. 温度对黄鳍鲷主要消化酶活性的影响[J]. 南方水产, 2006, 2(1): 43–48.
- [14] 田宏杰, 庄平, 章龙珍, 等. 水温对施氏鲟幼鱼消化酶活力的影响[J]. 中国水产科学, 2007, 14(1): 126–131.
- [15] UGOLEV A M, EGOROVA V V, KUZMINA V V, et al. Comparative molecular characterization of membrane digestion in fish and mammals[J]. Comp Biochem Physiol, 1983, 76B: 627–635.
- [16] MUNILLA-MORAN R, SABORIDO-REY F. Digestive enzymes in marine species. II. Amylase activities in gut from seabream (*Sparus aurata*), turbot (*Scophthalmus maximus*) and redfish (*Sebastes mentella*) [J]. Comp Biochem Physiol, 1996, 113B (4): 827–834.
- [17] 沈文英, 祝尧荣, 钱科亮. 温度和 pH 对澳洲宝石鱼消化酶活性的影响[J]. 大连水产学院学报, 2006, 21(2): 189–192.
- [18] 李希国, 李加儿, 区又君. pH 对黄鳍鲷主要消化酶活性的影响[J]. 南方水产, 2005, 1(6): 18–22.
- [19] 尾崎久雄著, 吴尚忠译. 鱼类消化生理学[M]. 上海: 上海科技出版社, 1983: 104–105.