

大泷六线鱼仔、稚、幼鱼期消化酶活力的变化

潘雷 房慧 张少春 王雪 菅玉霞 胡发文 高凤祥 郭文*

(山东省海水养殖研究所, 青岛 266002)

摘要 以大泷六线鱼为研究对象, 研究了其从初孵仔鱼到幼鱼(0~100d)4种消化酶活力的变化。结果表明, 大泷六线鱼的早期生长发育阶段4种消化酶呈现不同的变化趋势, 随着鱼苗的生长发育, 胃蛋白酶活力逐渐增大; 胰蛋白酶整体呈现逐渐上升的趋势, 0~30d内于20d时达到峰值后下降, 40d后胰蛋白酶活力再次增大, 并于60d时达到最大值; 淀粉酶活力于20d时达到最大值后下降并呈现较平稳的变化; 脂肪酶活力于5d达到最小值, 40d后脂肪酶活力逐渐升高。

关键词 大泷六线鱼 生长发育 消化酶

中图分类号 S917.4 **文献识别码** A **文章编号** 1000-7075(2013)03-0054-07

The variation of digestive enzymes in larval and juvenile *Hexagrammos otakii*

PAN Lei FANG Hui ZHANG Shao-chun WANG Xue JIAN Yu-xia
HU Fa-wen GAO Feng-xiang GUO Wen*

(Mariculture Institute of Shandong Province, Qingdao 266002)

ABSTRACT The activity of four digestive enzymes in larval and juvenile *Hexagrammos otakii* (0~100d) was studied. Different trends of variation were observed for the four digestive enzymes during the early developmental stages. The activity of pepsin gradually increased with growth and development of the fry; the activity of trypsin initially showed a gradual upward trend, though declined after reaching its peak at 20d, and then increased again after 40d and reached its maximum at 60d. The activity of amylase decreased after reaching the maximum at 20d and maintained smooth change. The activity of lipase reached a minimum at 5d and gradually increased after 40d.

KEY WORDS *Hexagrammos otakii* Growth Digestive enzyme

大泷六线鱼 *Hexagrammos otakii* 隶属于鲉形目 Scorpaeiformes、六线鱼科 Hexagrammidate、六线鱼属 *Hexagrammos*, 又名欧氏六线鱼、六线鱼, 俗称黄鱼, 为黄、渤海地区常见的一种冷温性近海底层经济鱼类。大泷六线鱼主要分布于我国山东和辽宁近海多岩礁海区(成庆泰 1962), 朝鲜、日本和俄罗斯远东诸海也有分布, 此鱼耐低温, 最适生长水温16~21℃(刘婵鑫 1987)。由于大泷六线鱼肉质细嫩、味道鲜美、营养价值高,

山东省科技发展计划项目(2011GHY11502)资助

* 通讯作者。E-mail:yzszsjd@126.com

收稿日期: 2012-06-23; 接受日期: 2013-01-10

作者简介: 潘雷(1978-), 男, 硕士, 工程师, 主要从事海水鱼类繁育研究。E-mail: panlei7799@126.com, Tel: (0532)86513001

是北方网箱养殖的优良品种,素有“北方石斑”之称,深受广大消费者喜爱,目前已开展了人工养殖。

鱼类消化酶是消化腺细胞和消化系统分泌的酶类,是反映鱼类消化能力强弱的一项重要指标,其活力大小会受到多种因素的影响而直接影响鱼类对营养物质的消化吸收,并间接地影响鱼类的生长发育过程。蛋白质、糖类和脂肪等大分子物质是鱼类生长发育过程中必需的营养物质,鱼类摄入的食物经过消化器官的分解作用,成为可以被吸收的小分子物质,这些小分子物质再经过鱼类循环系统运输到各组织,供组织细胞利用,从而获得物质和能量来维持其生长发育和繁殖等生命活动(陈进树 2009)。随着水产养殖业和鱼类营养学的发展,鱼类消化酶的研究日益受到重视,对鱼类在仔、稚、幼鱼期的消化酶活力进行研究,不仅对深入了解鱼类的生长发育、摄食、消化等生理功能具有重要意义,也对鱼类早期发育过程中大量死亡原因的探索、苗种培育等具有重要意义。关于鱼类消化酶的研究已有大量报道(李希国等 2005、2006; Hsu *et al.* 1979; Jonas *et al.* 1983; Kuzmina 1996),但对大泷六线鱼在早期生长发育阶段不同消化酶活力变化的研究尚未见报道。鉴于目前大泷六线鱼在大规模养殖过程中鱼苗成活率低、鱼苗大量死亡等问题,而市场对其苗种需求量大,亟需规模化人工苗种的繁育生产。因此,研究大泷六线鱼消化酶活力的变化机制,掌握仔、稚、幼鱼消化机能的特异性对饵料转换适应能力的基础,有助于了解鱼苗各阶段的营养需求及饵料利用情况,为提高大泷六线鱼鱼苗成活率及其相应的饵料供应提供有力依据,进一步推动其人工养殖及产业化。

1 材料与方法

1.1 实验材料及管理

实验所用大泷六线鱼取自山东省海水养殖研究所青岛即墨鳌山卫中试基地。培养条件为:室内苗种培育池为长方形抹角水泥池(规格 4 m×3 m×1 m),仔鱼的布池密度为 0.5~0.8×10⁴ ind./m³,根据苗种的生长情况及时分池稀疏密度。光照强度控制在 500~1 000 lx,避免阳光直射,阴天和夜晚可以使用人工光源,水温 16~17°C,盐度 29~31,pH 7.8~8.1,溶解氧 5 mg/L 以上, NH₄⁺-N 含量≤0.1 mg/L。仔鱼刚孵出时水量为培育池体积的 3/5,前 5d 采取逐渐加水至满,以后采取网箱换水方式,每天换水两次,随着鱼苗的生长逐渐加大换水量,20 日龄前换水量为 60%,40 日龄前为 100%,60 日龄前为 150%,60 日龄后采取流水方式,随着鱼苗的生长和摄食量的增加,换水量逐渐增大到 200%~400%。人工培育的轮虫投喂前要经富含 EPA、DHA 的营养强化剂强化 12 h;卤虫无节幼体投喂前要经富含 EPA、DHA 的营养强化剂强化 6 h。仔鱼孵出后已经开口,第 5 天即开始投喂轮虫,每天 2~3 次,投喂密度为 4~6 ind./ml,第 10 天开始投喂卤虫无节幼体,每天 2~3 次,投喂密度为 0.2~1.0 ind./ml,第 50 天开始投喂配合饲料,30 日龄前每日向培育池中添加小球藻保持池内浓度为 30×10⁴~50×10⁴ cell/ml。

1.2 实验方法

1.2.1 样品制备

实验于 2011 年 11 月 17 日仔鱼孵出后开始取样。由于刚孵出的仔鱼个体较小无法单独取出各种组织,同时为了保证实验的一致性,整个实验过程均采用整体取样的方法。取样时间为 0、5、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100 d,为尽量消除实验误差,每个取样时间均设置 3 个平行。

每天清晨饲喂前从养殖池中捞出实验用鱼,每个时期大致的取样量为:0~20 d(500~600 尾)、30~50 d(300~400 尾)、60~80 d(100~200 尾)、90~100 d(50~100 尾),将取出的鱼用纱布滤过放在吸水纸上吸干体表水分,迅速将鱼放入用液氮预冷的研钵中,加入液氮整体研磨。每管称取 200 mg 粉末于 5 ml 离心管中,置于-80°C 冰箱中保存备用。

1.2.2 酶液制备

取上述离心管,每管分别加入 2 ml 预冷的生理盐水进行匀浆,匀浆液于 4°C 下离心 30 min(5 000 r/min),取上清液即粗酶提取液进行酶活力的测定。

1.3 消化酶活力测定

试剂盒均购自南京建成生物科技有限公司,实验所有指标的测定方法均按照试剂盒中方法进行。

1.3.1 胃蛋白酶活力测定

样品及试剂在实验前前提前从冰箱拿出,均要平衡至室温。在测定管和测定空白管中各加入 0.04 ml 样本,放入 37℃ 中水浴 2 min。向测定空白管中加入 0.4 ml 试剂一。分别向测定管和测定空白管中加入 0.2 ml 试剂二,充分混匀后 37℃ 水浴 10 min。再向测定管中加入 0.4 ml 试剂一,充分混匀后 37℃ 水浴 10 min,3 500 r/min 离心 10 min,取上清液进行显色反应。标准管中加入 0.3 ml 50 μg/ml 标准应用液,标准空白管中加入 0.3 ml 标准品稀释液,测定管和测定空白管中分别加入 0.3 ml 上清液。向上述各管中加入 1.5 ml 试剂三和 0.3 ml 试剂四。充分混匀后 37℃ 水浴 20 min,于 660 nm 处比色。

胃蛋白酶活力计算公式:

$$\text{胃蛋白酶活力}(U) = \frac{\text{测定管 OD 值} - \text{测定空白 OD 值}}{\text{标准管 OD 值} - \text{标准空白管 OD 值}} \times 50 \mu\text{g}/\text{ml} \div 10 \text{ min} \times \frac{\text{反应液总体积}(0.64 \text{ ml})}{\text{取样量}(0.04 \text{ ml})}$$

1.3.2 胰蛋白酶活力测定

分别向空白管和测定管中加入 1.5 ml 胰蛋白酶底物应用液,于 37℃ 水浴中预温 5 min。向测定管中加入 0.015 ml 样本,向空白管中加入 0.015 ml 样本匀浆介质。加入上述样本的同时开始计时,充分混匀后于 253 nm 处记下 30 s 时的吸光度 OD 值 A_1 。将上一步中的反应液放入 37℃ 水浴锅中准确水浴 20 min,于 20 min 30 s 时记录吸光度 OD 值 A_2 。

胰蛋白酶活力计算公式:

$$\text{胰蛋白酶活性}(U/\text{mg prot}) = \frac{\text{测定}(A_2 - A_1) - \text{空白}(A_2 - A_1)}{20 \text{ min} \times 0.003} \times \frac{\text{反应总体积}(1.5 + 0.015)}{\text{样本取样量}(0.015)} \div \text{样本中蛋白浓度} \times \text{样本取样量}$$

1.3.3 淀粉酶(AMS)活力测定

将底物缓冲液于 37℃ 水浴锅中预温 5 min。向测定管和空白管中各加入 0.5 ml 已预温的底物缓冲液。向测定管中加入待测样本 0.1 ml,混匀后于 37℃ 水浴 7.5 min。向测定管和空白管中各加入碘应用液 0.5 ml 和蒸馏水 3.1 ml。充分混匀后于 660 nm 处测各管吸光度。

淀粉酶活力计算公式:

$$\text{AMS 活力}(U/\text{mg prot}) = \frac{\text{空白管吸光度} - \text{测定管吸光度}}{\text{空白管吸光度}} \times \frac{0.4 \times 0.5}{10} \times \frac{30 \text{ min}}{7.5 \text{ min}} \div (\text{取样量} \times \text{待测样本蛋白浓度})$$

1.3.4 脂肪酶(LPS)活力测定

将底物缓冲液于 37℃ 水浴锅中预温 5 min 以上。向试管中依次加入 25 μl 组织匀浆离心后的上清液、25 μl 试剂四,再加入 2 ml 已预温好的底物缓冲液,充分混匀,同时开始计时。30 s 时于 420 nm 处读取吸光度 OD 值 A_1 。将上述反应液倒回原试管中于 37℃ 准确水浴 10 min,于 10 min 30 s 时读取吸光度 OD 值 A_2 。求出两次吸光度差值($\Delta A = A_1 - A_2$)。

脂肪酶活力计算公式:

$$\text{组织 LPS 活力}(U/\text{g prot}) = \frac{A_1 - A_2}{\text{AS}} \times 454 \mu\text{mol/L} \times$$

$$\frac{\text{底物液量}(2 \text{ ml}) + \text{试剂四量}(0.025 \text{ ml}) + \text{样本取样量}(0.025 \text{ ml})}{\text{样本取样量}(0.025 \text{ ml})} \div 10 \text{ min} \div \text{待测匀浆液蛋白浓度}$$

1.3.5 组织中蛋白含量测定

酶蛋白含量参考 Bradford(1976)方法测定,以牛血清白蛋白为标准,采用考马斯亮蓝法测定。

1.4 数据处理与分析

所有实验数据均以 3 个平行组数据的平均值±标准差(Mean±S. D.)表示,采用 SPSS 软件进行相关分析。

2 结果

2.1 大泷六线鱼仔、稚、幼鱼期胃蛋白酶活力的变化

从图1可以看出,随着大泷六线鱼的生长发育,胃蛋白酶活力呈现逐渐增加的趋势。大泷六线鱼在0~30 d内消化酶活力逐渐上升,于20 d时达到最大值,并显著高于0、5 d时的活力值($P<0.05$)。40 d后大泷六线鱼的消化酶活力逐渐升高,于100 d时达到峰值并显著高于仔鱼期($P<0.05$)。

2.2 大泷六线鱼仔、稚、幼鱼期胰蛋白酶活力的变化

从图2可以看出,在0~30 d内,大泷六线鱼的胰蛋白酶活力整体呈现逐渐上升的趋势,并于20 d时达到峰值且显著高于0、5 d时的活力值($P<0.05$)。随着大泷六线鱼的生长发育,40 d后胰蛋白酶活力逐渐升高,并于60 d时达到最大值且显著高于仔鱼期时的活力值($P<0.05$)。

2.3 大泷六线鱼仔、稚、幼鱼期淀粉酶活力的变化

从图3可以看出,在0~30 d内,大泷六线鱼的淀粉酶活力逐渐升高,并于20 d时达到最大值且显著高于0、5 d时的活力值($P<0.05$)。30 d后淀粉酶活力突然下降后并呈现较平稳的变化,于50 d时达到峰值且显著小于仔鱼期时的活力值($P<0.05$)。

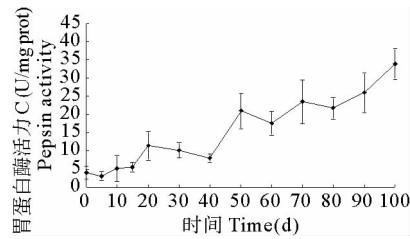


图1 大泷六线鱼仔、稚、幼鱼期

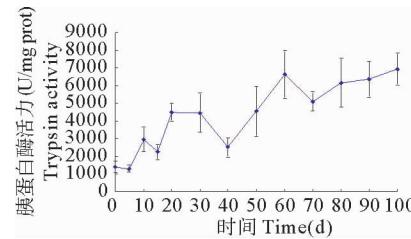


图2 大泷六线鱼仔、稚、幼鱼期

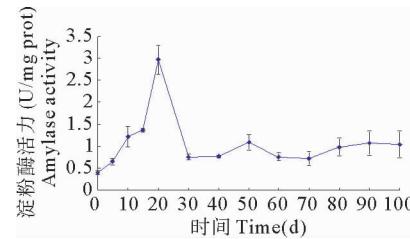


图3 大泷六线鱼仔、稚、幼鱼

Fig. 1 The variation of pepsin activity in larval and juvenile *H. otakii*

Fig. 2 The variation of trypsin activity in larval and juvenile *H. otakii*

Fig. 3 The variation of amylase activity in larval and juvenile *H. otakii*

2.4 大泷六线鱼仔、稚、幼鱼期脂肪酶活力的变化

从图4可以看出,大泷六线鱼的脂肪酶活力随着鱼体的生长发育变化不显著($P>0.05$)。在0~30 d内,脂肪酶活力分别于5、10 d达到最小值和最大值。40 d后脂肪酶活力逐渐升高,但与30 d时相比差异不显著($P>0.05$)。

3 讨论

由于鱼类的种类有很多,鱼类的消化酶在不同的器官中分布也不相同。对于同一种消化酶,在鱼类生长发育过程中的不同阶段,其活性的大小也会有所差别。鱼类早期个体发育过程中,从内源性营养转变为外源性营养是一个非常关键的时期,尤其是消化道的发育,不同于其他器官的逐次发育,消化道在这一时期将发生急剧的变化,由直的、管状的简单结构发育为具有功能分区的复杂结构(Govoni *et al.* 1986)。Farris(1959)将仔鱼的生长发育划分为3个时期:初孵时的快速生长期、卵黄囊消失前后的慢速生长期和摄食外源物质后的稳定生长期。大泷六线鱼仔鱼生长情况与之基本相符。另外,在鱼类生长发育的不同阶段,所需要的营养成分也不相同,并且随着机体消化器官逐渐发育和完善,其内分泌功能不断增强,消化酶活力也会随之产生变化。Hofer等(1985)研究了拟鲤 *Rutilus rutilus* 在各生长发育阶段胰蛋白

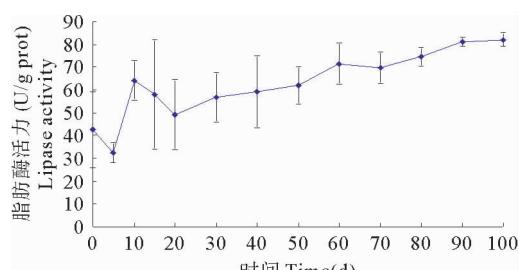


图4 大泷六线鱼仔、稚、幼鱼期脂肪酶活力的变化

Fig. 4 The variation of lipase activity in larval and juvenile *H. otakii*

酶和淀粉酶的活性,结果表明,随着拟鲤肠道的发育,消化酶的种类和活力大小也随之发生了变化;马爱军等(2006)对半滑舌鳎 *Cynoglossus semilaevis* 仔稚幼鱼体内消化酶活性的研究也获得了类似的结果。

3.1 大泷六线鱼仔、稚、幼鱼期胃蛋白酶活力变化

仔鱼胃的分化对其营养生理具有重要的影响,其功能的完善可以提高蛋白质的消化效率(Martínez *et al.* 1999; Segner *et al.* 1994)。大泷六线鱼的生长初孵仔鱼从孵出便已经开口但不摄食,胃蛋白酶属于酸性蛋白酶。从本研究的结果可以看出,在大泷六线鱼的生长发育早期就可以检测出胃蛋白酶活力,但活力较小,随着大泷六线鱼的生长发育其活力逐渐增加,在其他种类如长嘴硬鱗鱼 *Atractosteus tristoechus* (Comabella *et al.* 2006)、高首鲟 *Acipenser transmontanus* (Gawlicka *et al.* 1995)、鸭嘴鯇 *Pseudoplatystoma corruscans* (Lundstedt *et al.* 2004)等也有相似的结果。在有胃鱼类中,胃蛋白酶的消化活性最强,它先是以无活性的酶原颗粒的形式贮存在细胞中,在盐酸或相关的已具有活性的蛋白酶的作用下才转变为具有活性的胃蛋白酶(周景样等 2001)。在有胃鱼类的发育早期,胃在形态和功能上并没有发育成熟且一开始并不具备分泌酸性物质和胃蛋白酶的功能,但饵料中含有一些外源消化酶可以在鱼类发育早期起到辅助消化的作用,随着鱼苗的不断生长发育和胃功能的完善,逐渐开始分泌有活性的胃蛋白酶。对真鲷仔鱼早期生长发育阶段胃蛋白酶活性的研究发现,真鲷仔鱼从开口到 23d 内,其胃蛋白酶活性都处于一个较低的水平,此时的仔鱼死亡率较高,在进入稚鱼期以后,胃腺逐渐形成,胃蛋白酶活性增大,死亡率下降,生长加快(陈品健等 1997)。这与本研究的结果类似,在大泷六线鱼鱼苗培育过程中,5d 开始投喂轮虫,10d 开始投喂卤虫无节幼体,轮虫和卤虫等饵料中的蛋白质含量丰富,这时体内胃蛋白酶的活力虽然不高,但体内的丝氨酸蛋白酶等酶类同样可以消化蛋白质(Govoni *et al.* 1986),在 10 d 左右时,仔鱼的卵黄囊吸收完毕并开始摄食建立外源性营养,胃蛋白酶活力开始有增大的趋势,且随着鱼体的生长发育,胃功能不断完善,酸性的胃蛋白酶分泌增多,所以 40 d 后胃蛋白酶的活力开始显著增大,并且在 50 d 时开始投喂配合饲料,在饵料转换的这个阶段,胃蛋白酶活力有一个显著增大的过程,这可能是因为随着鱼体的生长,饵料摄入量逐渐增大,同时也可能因为饵料中蛋白质含量丰富,能够刺激大泷六线鱼胃蛋白酶基因大量表达,分泌更多的胃蛋白酶来进行消化作用,将分解的物质供自身充分利用。由此可以推测大泷六线鱼胃蛋白酶活力不仅与鱼类的生长发育阶段有关,且与投喂的饵料有关。依据这个结果可以在鱼苗早期的生长阶段,卵黄囊还未完全吸收完毕时进行适当的混合投喂。考虑到这一时期的胃蛋白酶活力较低,可用水解蛋白作为蛋白源或者在饲料中适当添加一些酶添加剂来进行投喂。

3.2 大泷六线鱼仔、稚、幼鱼期胰蛋白酶活力变化

在鱼类的早期发育阶段,蛋白质的消化主要靠碱性蛋白酶完成(Zambonino Infante *et al.* 2001)。胰脏是鱼类分泌蛋白酶的主要器官,胰蛋白酶属于碱性蛋白酶,它需要经过肠致活酶激活才能成为有活性的蛋白酶,而鱼类的肠黏膜可以分泌有活性的蛋白酶和肠致活酶。此外,肝胰脏和幽门垂等器官分泌的胰蛋白酶可以进入到肠内。在本研究中,胰蛋白酶在大泷六线鱼生长发育的早期即检测出活力,这与斑带副鲈 *Paralabrax maculatus fasciatus* (Alvarez-González *et al.* 2008)、似石首鱼 *Sciaenops ocellatus* (Lazo *et al.* 2007)、细点牙鲷 *Dentex dentex* (Gisbert *et al.* 2009)等的研究结果相似。在 5~10 d 时胰蛋白酶活力有所增大,在这一时期大泷六线鱼主要吸收自身卵黄囊中的营养,相对整个时期来说这一时期的胰蛋白酶活力不算太高,对蛋白质的消化能力还较弱,主要依靠仔鱼肠黏膜上皮细胞的胞饮作用进行胞内消化。在 10 d 时,仔鱼的卵黄囊逐渐吸收完毕开始建立外源性营养,在这一时期仔鱼会有一个短暂的饥饿期,所以在这几天胰蛋白酶活力有个短暂的降低,之后仔鱼开始摄食饵料,胰蛋白酶活力开始增大,30 d 时又有所下降,从 40 d 开始,胰蛋白酶的活力开始增大,并于 60d 时达到最大值后逐渐趋于稳定。从这可以看出在饵料转换的关键时期,大泷六线鱼的胰蛋白酶活力总是先下降后增大,有一个适应的过程,但从整个结果来看,胰蛋白酶的活性逐渐增大,饵料的消化效率也随之增大。大部分的研究认为,随着鱼类的胃功能逐渐发育完善,蛋白质的消化主要依赖于胃的酸性消化,碱性蛋白酶的作用将逐渐降低(Comabella *et al.* 2006)。然而从本研究结果可以看出,随着日龄的增大,胰蛋白酶活力整体呈现逐渐增大的趋势。在对厚颌鲂 *Megalobrama pellegrini* 仔稚鱼消化酶活性变化的研究发现,其胰蛋白酶活力从 15 日龄开始便急速下降后维持在较低水平,这与本研究的结果不一致(李 荆等

2012),但与匙吻鲟 *Polyodon spathula* 仔稚鱼发育过程中胰蛋白酶活性的变化的研究结果一致(吉红等 2012)。由此可推测,在不同种类的鱼类发育过程中,其某种消化酶活性的变化并不是完全一致的,这与鱼类的食性、养殖温度、盐度、pH、投喂饵料种类等都有关系。本研究说明在大泷六线鱼的胃功能逐渐发育完善后,碱性蛋白酶在蛋白质的消化过程中仍然发挥着重要的作用。

3.3 大泷六线鱼仔、稚、幼鱼期淀粉酶活力变化

在鱼类的各种消化器官中均有淀粉酶存在,且由于鱼的种类和消化器官的不同其淀粉酶活性也存在差异。研究表明,许多海水鱼类在仔稚鱼时期其淀粉酶的活力维持在一个较高的水平,随着鱼类进一步生长发育,其淀粉酶比活力会随之降低(Zambonino Infante *et al.* 1994; Ribeiro *et al.* 1999)。大泷六线鱼是典型的肉食性鱼类,从本研究可以看出,在其内源性营养阶段,体内的淀粉酶具有较高的活性,随着生长发育,在开口摄食以后,其活力逐渐下降趋于稳定,这一变化模式与瓦氏黄颡鱼 *Peltebagrus vachelli*(李芹等 2008)、石斑鱼 *Epinephelus* spp(Cahu *et al.* 1995)等肉食性鱼类的变化模式类似。仔鱼在生长发育早期具有较高的淀粉酶活性这一特征在鱼类中具有普遍性,这与卵黄囊中含有较多的糖原有较大的关系。有研究表明,在仔鱼的个体发育过程中,其 α -淀粉酶活力的变化与所喂食物中碳水化合物的含量有关,高水平糖原含量能刺激淀粉酶的合成和分泌,而配合饲料中糖原含量水平较低则会降低淀粉酶活力(Ma *et al.* 2005)。从本研究的结果看出,在 20d 时淀粉酶活性达到峰值,50 d 投喂配合饲料后淀粉酶活性稍有下降后逐渐趋于稳定,这一现象与上述的研究结果吻合,说明淀粉酶活性不仅与鱼类的生长发育有关,且与饵料的成分也有一定的关系。

3.4 大泷六线鱼仔、稚、幼鱼期脂肪酶活力变化

脂肪酶主要是鱼类的肝胰脏分泌的。现有研究表明,在鱼类所有的消化组织器官中几乎都存在脂肪酶,且其活性的大小与鱼类摄食的食物中脂肪的含量呈正相关。从本研究的结果可以看出,与另外 3 种消化酶一样,从大泷六线鱼初孵仔鱼就能检测到脂肪酶的活性,这在许多鱼类的研究中也得到了类似的结果,如黄尾 *Seriola lalandi* (Chen *et al.* 2006)、少带重牙鲷 *Diplodus asrgus* L. (Cara *et al.* 2003) 等。在大泷六线鱼的内源性营养阶段,脂肪酶具有较高的活性,Oozeki 等(1995)研究认为,鱼类发育早期仔鱼体内存在两种类型的脂肪酶,一种是磷脂酶 A2,其活性可被磷脂激活,而仔鱼的卵黄囊中磷脂含量丰富,这与大泷六线鱼在卵黄囊期就能检测出脂肪酶活性有关;另一种是脂酶,它能够被三酸甘油脂激活,其活性与外源饲料中脂肪的含量有着很大的关系,在仔鱼开口摄食转为外源性营养后,所检测到的脂肪酶活性可能是脂酶的活性。在本研究中,随着大泷六线鱼的生长发育,脂肪酶活性逐渐增大,反应出大泷六线鱼胰腺的发育、脂肪代谢系统的逐渐完善和对食物中脂肪消化能力的增强,同时也可根据脂肪酶活性的变化来考虑在饲料中合理添加脂肪。

总之,从本研究的结果可以看出,在大泷六线鱼的早期生长发育过程中,几种主要的消化酶在初孵时便可检测出活性,且其活性随着仔鱼消化系统的发育和完善而产生变化,从前人的研究以及本研究的结果来看,可以得出结论,在大泷六线鱼仔、稚、幼鱼期,不同的消化酶活性的变化趋势不相同,且这几种酶的活性与鱼类的营养来源、饵料种类以及处于不同的生长阶段都有关,从 4 种酶总体的变化趋势看,可以推出大泷六线鱼的消化机能逐渐发育完善。但在具体养殖的过程中也要注意其他因素对鱼类消化酶活性的影响,比如温度(田宏杰等 2006; 刘颖等 2009; 刘洋等 2011)、光照(邱丽华等 1999; Skiftesvik *et al.* 1990; 何大仁等 1983; Batty 1988) 等。对大泷六线鱼仔、稚、幼鱼期的消化酶活性进行研究,对了解大泷六线鱼苗种培育期鱼苗的消化能力具有实际意义,能为大泷六线鱼规模化苗种培育、人工饲料配制提供借鉴,通过分析苗种不同时期的营养需求,改善饵料营养,准确把握不同饵料的投喂时机,提高苗种成活率,为大泷六线鱼的规模化苗种培育提供理论依据。

参 考 文 献

- 马爱军,柳学周,吴莹莹,徐永江. 2006. 消化酶在半滑舌鳎成鱼体内的分布及仔稚幼鱼期的活性变化. 海洋水产研究, 27 (2): 43-48
 田宏杰,庄平,高露姣. 2006. 生态因子对鱼类消化酶活力影响的研究进展. 海洋渔业, 28(2):158-162
 刘婵鑫. 1987. 辽宁动物志(鱼类). 沈阳:辽宁科学技术出版社, 393-396
 刘颖,万军利. 2009. 温度对大泷六线鱼(*Hexagrammos otakii*)消化酶活力的影响. 现代渔业信息, 24(10):5-8
 刘洋,牟振波,徐革峰,李永发. 2011. 水温对细鳞鱼幼鱼消化酶活性的影响. 水产学杂志, 24(3):6-9

- 成庆泰. 1962. 中国经济动物志(海产鱼类). 北京:科学出版社,135-137
- 邱丽华,秦克静,吴立新,何志辉. 1999. 光照对大泷六线鱼仔鱼摄食量的影响. 动物学杂志,34(5):4-8
- 吉红,孙海涛,田晶晶,邱立疆. 2012. 魁吻鲟仔稚鱼消化酶发育的研究. 水生生物学报,36(3):457-465
- 李希国,李加儿,区又君. 2005. pH值对黄鳍鲷主要消化酶活性的影响. 南方水产,1(6):18-22
- 李希国,李加儿,区又君. 2006. 温度对黄鳍鲷主要消化酶活性的影响. 南方水产,2(1):43-48
- 李芹,唐洪玉. 2012. 厚颌鲂仔稚鱼消化酶活性变化研究. 淡水渔业,42(4):9-13
- 李芹,龙勇,屈波,罗莉,刁晓明. 2008. 瓦氏黄颡鱼仔稚鱼发育过程中消化酶活性变化研究. 中国水产科学,15(1):73-78
- 陈进树. 2009. 鱼类消化酶研究进展. 生物学教学,34(12):4-5
- 陈品健,王重刚,黄崇能,顾勇,陆浩. 1997. 真鲷仔、稚、幼鱼期消化酶活性的变化. 台湾海峡,16(3):245-24
- 何大仁,罗会明,郑美丽. 1983. 不同照度下鲻鱼幼鱼摄食强度及其动力学. 鱼类学论文集(第四辑):北京:科学出版社,21-27
- 周景祥,陈勇,黄权,孙云农. 2001. 鱼类消化酶的活性及环境条件的影响. 北华大学学报(自然科学版),2(1):70-73,81
- Alvarez-González CA, Moyano-López FJ, Civera-Cerecedo R and 3 others. 2008. Development of digestive enzyme activity in larvae of spotted sand bass *Paralabrax maculatus fasciatus*. 1. Biochemical analysis. Fish Physiology Biochemistry 34(4):373-384
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Anal Biochem 72:248-254
- Batty RS. 1988. Responses of marine fish larvae to visual stimuli. Rapp P. v. Renu. Ciem 191:484
- Comabella Y, Mendoza R, Aguilera C and 3 others. 2006. Digestive enzyme activity during early larval development of the Cuban gar *Atractosteus tristoechus*. Fish Physiology Biochemistry 32(2):147-157
- Cahu CL, Zambonino Infante JL. 1995. Effect of the molecular form of dietary nitrogen supply in sea bass larvae: Response of pancreatic enzymes and intestinal peptidases. Fish Biochem Physiol 14(3):209-214
- Chen BN, Qin JG, Kumar MS and 2 others. 2006. Ontogenetic development of digestive enzymes in yellowtail kingfish *Seriola lalandi* larvae. Aquaculture 260(1-4):264-271
- Cara JB, Moyano FJ, Cárdenas S. 2003. Assessment of digestive enzymes activities during larval development of white bream. J Fish Biol 63(1):48-60
- Farris DA. 1959. A change in the early growth rate of four larval marine fishes. Limnol Oceanogr 4:29-36
- Govoni JJ, Boehlert GW, Watanabe Y. 1986. The physiology of digestion in fish larvae. Environmental Biology of Fishes 16(1-3):59-77
- Gawlicka A, Teh SJ, Hung SSO and 2 others. 1995. Histological and histochemical changes in the digestive tract of white sturgeon larvae during ontogeny. Fish Physiology Biochemistry 14(5):357-371
- Gisbert E, Giménez G, Fernández I and 2 others. 2009. Development of digestive enzymes in common dentex *Dentex dentex* during early ontogeny. Aquaculture 287(3-4):381-387
- Hofer R, Udd NNA. 1985. Digestive processes during the development of the roach. J Fish Biol 26(6):683-693
- Hsu YL, Wu JL. 1979. The relationship between feeding habits and digestive proteases of some fresh water fishes. Bull Inst Zool Acad Sim 18(1):45-53
- Jonas E, Ragy anszki M, Olah J, Boross L. 1983. Proteolytic digestive enzymes of carnivorous (*Silurus glanis* L.), herbivorous (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) and omnivorous (*Cyprinus carpio* L.) fishes. Aquaculture 30(1-4):145-154
- Kuzmina VV. 1996. Influence of age on digestive enzyme activity in some freshwater teleosts. Aquaculture 148(1):25-37
- Kolodzeiskaya MV, Verebka SV. 1990. Chromatography of trypsin and chymotrypsin-like salmon proteases on sawdust. Appl Biochem Microbiol 25(5): 528-531
- Lundstedt LM, Bibiano JF, Moraes G. 2004. Digestive enzymes and metabolic profile of *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Siluriformes) in response to diet composition. Comparative Biochemistry Physiology 137(3):331-339
- Lazo JP, Mendoza R, Holt GJ and 2 others. 2007. Characterization of digestive enzymes during larval development of red drum (*Sciaenops ocellatus*). Aquaculture 265(1-4):194-205
- Moyano FJ, Sarasquete MC. 1993. A screening on some digestive enzyme activities of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. Oostende Belgium European Aquaculture Soc (4): 41-63
- Martínez I, Moyano FJ, Fernández-Díaz C, Yúfera M. 1999. Digestive enzyme activity during larval development of the Senegal sole (*Solea senegalensis*). Fish Physiology Biochemistry 21(4):317-323
- Ma H, Cahu CL, Zambonino Infante JL and 4 others. 2005. Activities of selected digestive enzymes during larval development of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Aquaculture 245(1):239-248
- Oozeki Y, Bailey KM. 1995. Ontogenetic development of digestive enzyme activities in larval walleye pollock, *Theragra chalcogramma*. Marine Biology 122(2):177-186
- Ribeiro L, Sarasquete MC, Dinism MT. 1999. Histological and histochemical development of the digestive system of *Solea senegalensis*. Fish Physiol Biochem 171(3-4):293-308
- Skiftesvik AB, Opstad I, Berghø and 2 others. 1990. Effects of light on the development, activity and mortality of halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) yolk sac larvae. Mariculture Comm. Publ by: ICES Copenhagen 16
- Segner H, Storch V, Reinecke M and 2 others. 1994. The development of functional digestive and metabolic organs in turbot, *Scophthalmus maximus*. Marine Biology 119(3):471-486
- Zambonino Infante JL, Cahu C. 1994. Development and response to a diet change of some digestive enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Fish Physiol Biochem 12(5):399-408
- Zambonino Infante JL, Cahu C. 2001. Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. Comp Biochem Physiol 130(4):477-487