

# 不同发育阶段草鱼消化酶活力的变化 及其昼夜节律

曹香林, 郭 蓓, 彭 墨, 闫金鹏, 董殊君, 陈军用, 聂国兴<sup>\*</sup>

(河南师范大学 生命科学学院 河南 新乡 453007)

**摘要:** 以草鱼为对象, 研究了不同发育阶段的消化酶活力及其昼夜变化规律。结果表明: 60d 组的草鱼肝胰脏及前、中、后肠消化酶活力高于 30d 组和 150d 组的; 肝胰脏及前、中、后肠蛋白酶活力的峰值分别出现在 17:00(1:00)、17:00、1:00、1:00; 淀粉酶活力的峰值分别出现在 13:00、17:00(5:00)、21:00、21:00(5:00); 脂肪酶活力的峰值分别出现在 17:00、17:00、17:00、17:00(1:00)。因此认为, 草鱼消化酶活力与草鱼生长发育阶段密切相关, 具有组织差异性, 且呈现明显的昼夜节律。

**关键词:** 草鱼; 消化酶; 发育期; 昼夜节律

**中图分类号:** S965 112 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2009)07-0120-04

## Circadian Rhythms of Digestive Enzyme Activities of *Ctenopharyngodon idella* of Different Developmental Stages

CAO Xiang-lin, GUO Bei, PENG Mo, YAN Jin-peng,

DONG Shu-jun, CHEN Jun-yong, NIE Guo-xing<sup>\*</sup>

(College of Life Sciences Henan Normal University, Xinxing 453007, China)

**Abstract:** In this paper, the circadian rhythms of digestive enzyme activities of *Ctenopharyngodon idella* of different developmental stages were detected. The results showed that the enzyme activities in hepatopancreas, foregut, midgut and hindgut of group II (60days) were higher than those of group I (30days) and III(150days). For the 100-day-old *Ctenopharyngodon idella*, the peak values of protease activity in hepatopancreas, foregut, midgut and hindgut were appeared at 17:00 (01:00), 17:00, 1:00 and 1:00 O'clock, respectively. The peak values of amylase activity were appeared at 13:00, 17:00 (5:00), 21:00 and 21:00 (5:00) O'clock, while the peak values of lipase activity were appeared at 17:00, 17:00, 17:00 and 17:00(1:00) O'clock, respectively. The results indicate that the digestive enzyme activity of *Ctenopharyngodon idella* correlates tightly to the developmental stage, and shows tissue variability and circadian rhythms.

**Key words:** *Ctenopharyngodon idella*; Digestive enzyme; Developmental stage; Circadian rhythms

随着水产业和鱼类营养学的发展, 作为鱼类消化生理的重要研究内容, 鱼类消化酶的相关研究日益受到重视。国外在这方面的研究工作开展的较早, Hsu 等研究了淡水鱼类的摄食行为与消化酶之

间的相互关系<sup>[1]</sup>。Jones 等研究了肉食性鱼类、杂食性鱼类和草食性鱼类的蛋白酶活性<sup>[2]</sup>。Kuzmina 研究了年龄对淡水鱼消化酶活力的影响<sup>[3]</sup>。Teng-jaroenkul 等建立了尼罗罗非鱼消化酶的分布模

收稿日期: 2009-02-04

基金项目: 河南省自然科学研究项目(200510476015); 河南省水产养殖学重点学科资助项目; 河南师范大学生命科学实验教学示范中心大学生科研创新项目资助

作者简介: 曹香林(1973-), 女, 内蒙古四子王旗人, 讲师, 硕士, 主要从事水产动物营养与饲料学研究。

通讯作者: 聂国兴(1971-), 男, 河南长垣人, 教授, 博士, 主要从事水产动物营养与饲料学研究。

型<sup>[4]</sup>。倪寿文等对草、鲤、鲢、鳙、尼罗罗非鱼蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶的活力及其在肠道内的分布进行了比较研究<sup>[5~7]</sup>。吴婷婷等研究了鳊、青、草、鲤、鲫和鲢的消化酶活力<sup>[8]</sup>。王重刚等对真鲷幼鱼消化酶活力的昼夜变化进行了研究<sup>[9]</sup>。但有关草鱼不同发育期消化酶活力变化及昼夜节律的研究未见报道。本试验通过研究草鱼不同发育阶段及昼夜24h内消化酶活力的变化,探讨消化酶活力在不同组织的分布,旨在阐明不同发育阶段草鱼消化酶活力的变化及其昼夜节律,丰富鱼类营养学基本理论,为草鱼的高效生产提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试鱼

供试草鱼取自新乡市水产养殖基地,系同一批孵化鱼苗,初始体重为 $(25.33 \pm 2.17)\text{g}$ 。将其饲养于5只 $1\text{m} \times 1\text{m} \times 1.3\text{m}$ 的池塘浮式网箱中,随机分组,每只网箱放养30尾。试验采用饱食方式,每天投喂4次(8:30、11:30、14:30、17:30)。试验时间为2008年5月15日至10月12日,共计150d。

根据生长时间,将试验鱼分为30d[I组, $(78.73 \pm 17.21)\text{g}$ ]、60d[II组, $(151.00 \pm 14.33)\text{g}$ ]和150d组[III组, $(957.67 \pm 24.58)\text{g}$ ]共3组,用于不同发育期消化酶活力研究。

生长100d的试验鱼用于消化酶活力昼夜变化研究,体重为 $(245.20 \pm 56.92)\text{g}$ ,11:30正常投喂后,暂养于 $2\text{m} \times 2\text{m} \times 11.5\text{m}$ 的网箱中,水温 $(29.32 \pm 2.56)^\circ\text{C}$ ,每4h取样1次,共取样6次,时间分别为13:00、17:00、21:00、1:00、5:00、9:00。

### 1.2 粗酶液的制备

分别于第30天、60天、100天、150天,从每只网箱取3尾鱼,置于冰盘上解剖,取出肝胰脏和肠道(前肠、中肠和后肠),剔除脂肪组织,用 $4^\circ\text{C}$ 、0.65%生理盐水反复冲洗,彻底清除肠道内容物,用吸水纸吸干水分。随机将每3尾鱼的肝胰脏和前、中、后肠分别合并为1个样品,称重后于冰箱内 $-20^\circ\text{C}$ 冷冻保存。酶活力测定前,将样品从冰箱中取出,融化,剪碎,加适量的冷冻生理盐水匀浆。匀浆液冲洗至离心管中,所用生理盐水的总量为样品质量的2.5倍, $4^\circ\text{C}$ 、4000r/min离心30min。取上清液置于 $4^\circ\text{C}$ 冰箱中保存,24h内测定完毕。

### 1.3 活力测定

在 $30^\circ\text{C}$ 条件下测定消化酶活力。肠和肝胰脏消化酶活力测定体系的pH值分别为7.5和10.0。

蛋白酶活力测定采用福林—酚试剂(Folin—phenol)法。每克组织每分钟水解酪蛋白产生 $1\mu\text{g}$ 酪氨酸,定义为1个酶活力单位。

淀粉酶活力测定采用碘—淀粉比色法。每克组织每小时酶促生成 $1\text{mg}$ 葡萄糖定义为1个酶活力单位。

脂肪酶活力测定采用聚乙烯醇橄榄油法。每克组织每分钟水解脂肪产生 $1\mu\text{m}$ 分子脂肪酸为1个酶活力单位。

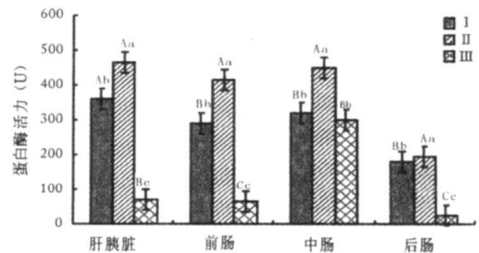
### 1.4 数据处理

采用SPSS11.5 for windows对数据进行 one—way ANOVA 分析和 LSD 比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同发育期消化酶活力变化

2.1.1 蛋白酶 3个发育阶段相比,II组肝胰脏、前肠、中肠、后肠蛋白酶活力较高。统计分析表明:II组肝胰脏、前肠、中肠、后肠蛋白酶活力分别为71.26U、64.49U、300.8U、28.43U(图1),极显著低于II组( $P < 0.01$ ),II组肝胰脏蛋白酶活力显著高于I组( $P < 0.05$ ),前肠、中肠、后肠蛋白酶活力极显著高于I组( $P < 0.01$ )。



不同大写字母代表差异极显著( $P < 0.01$ ),不同小写字母代表差异显著( $P < 0.05$ )。下同

图1 不同发育阶段对蛋白酶活力的影响

2.1.2 淀粉酶 不同发育阶段对肝胰脏淀粉酶活力无显著影响( $P < 0.05$ )。II组前肠、中肠、后肠淀粉酶活力为26.24U、18.91U和17.31U(图2),分别高于I组35.40%( $P > 0.05$ )、31.87%( $P > 0.05$ )

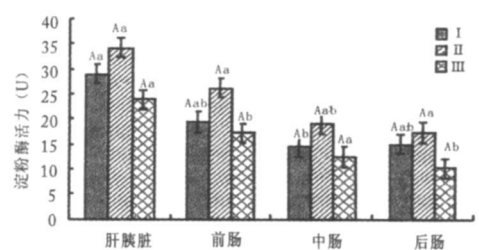


图2 不同发育阶段对淀粉酶活力的影响

和 16.10% ( $P>0.05$ ); 分别高于 II 组 52.29% ( $P<0.05$ )、53.37% ( $P>0.05$ ) 和 71.22% ( $P<0.05$ )。

2.1.3 脂肪酶 不同发育阶段比较, II 组肝胰脏、前肠、中肠、后肠脂肪酶活力均高于 I 组和 III 组(图 3)。其中, II 组肝胰脏和 I 组、II 组前肠脂肪酶活力极显著高于 III 组 ( $P<0.01$ ), II 组中肠脂肪酶的活力显著高于 I 组 ( $P<0.05$ )。

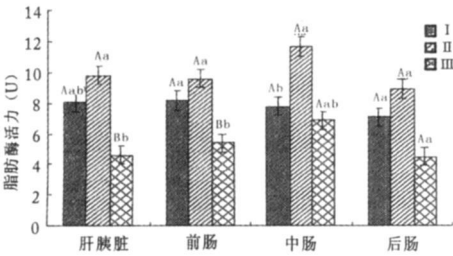


图 3 不同发育阶段对脂肪酶活力的影响

2.2 消化酶活力的 昼夜变化

2.2.1 蛋白酶 由图 4 可见, 在 13:00 至次晨 9:00, 肝胰脏出现了 2 个酶活力峰。17:00 蛋白酶活力达到第 1 个峰值, 21:00 酶活力处于全天最低值, 以后逐渐升高, 并于 1:00 达到第 2 个峰值。前肠蛋白酶活力在 17:00 有 1 个峰值。之后逐渐下降, 并保持稳定至次日 9:00; 中肠、后肠酶活力均为 13:00 最低, 之后处于上升趋势, 1:00 达到峰值后开始微降。

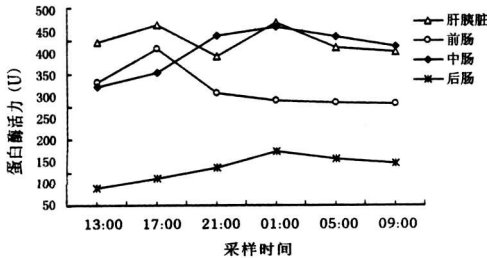


图 4 蛋白酶活力昼夜节律

2.2.2 淀粉酶 由图 5 可见, 13:00 酶活力最高, 以后缓慢下降, 5:00 时降到最低。24h 中, 前肠淀粉酶活力出现 2 次峰值, 17:00 和 5:00。1:00 时淀

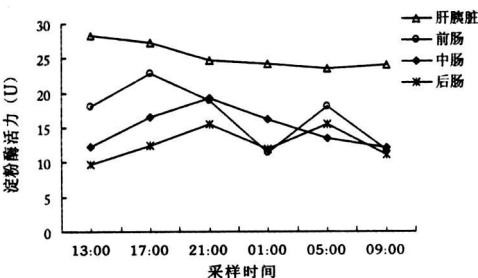


图 5 淀粉酶活力昼夜节律

粉酶活力降到最低; 中肠淀粉酶活力 21:00 时最高, 之后逐渐降低; 后肠淀粉酶活力分别于 21:00 和 5:00 出现 2 个峰值。

2.2.3 脂肪酶 由图 6 可见, 肝胰脏脂肪酶活力 17:00 达到 12.29U, 为全天最高值; 21:00 降为 9.18U, 为全天最低值。前肠脂肪酶活力在 21:00 至 9:00 稳定在较低水平, 9:00 之后开始上升, 并于 17:00 达到峰值。17:00 时中肠和后肠脂肪酶活力同时出现峰值, 后肠的第 2 个峰值出现在 1:00。

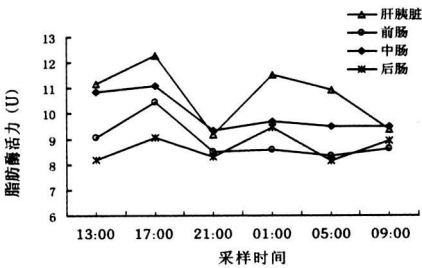


图 6 脂肪酶活力昼夜节律

3 结论与讨论

动物内源性消化酶的影响因素很多, 国内外研究者对此做了大量研究工作。研究表明: 食性<sup>[2,8]</sup>、温度<sup>[10]</sup>、pH 值<sup>[11~13]</sup>、盐度<sup>[14]</sup>、饲料成分<sup>[15~17]</sup>、驯饲方式<sup>[18]</sup>、鱼类健康状况<sup>[19]</sup> 等都会影响到鱼类内源消化酶活力。本研究结果表明: 不同发育期及昼夜变化对草鱼消化酶活力存在显著影响, 且消化酶活力存在组织差异。

3.1 鱼类不同发育期消化酶活力的变化

研究中发现, 草鱼消化酶活力与生长发育阶段密切相关。原因是, 幼龄草鱼(I 组)消化系统发育不完善, 肝胰脏及肠道消化酶活力均低于 II 组。II 组草鱼处于迅速生长期, 消化系统的结构与功能不断完善, 消化器官相对增大, 分泌机能增强, 新陈代谢强度提高, 消化酶活力相应提高。到成鱼阶段(III 组), 鱼体相对生长速度放慢, 消化酶活力随之降低, 肝胰脏及肠道消化酶活力均呈下降趋势。

3.2 鱼类消化酶活力的组织间差异

研究表明, 消化酶在鱼类胃、肠、肝胰脏等消化器官中的活力分布随着鱼类种类的不同, 呈现出很大的差异。分析原因, 主要是由于鱼类的食性、生长阶段不同所致; 另外, 饲料成分对消化酶分布也有显著影响。本试验中发现, 由于发育阶段、组织结构与功能不同, 草鱼肝胰脏和肠道消化酶活力存在明显的组织差异。同一发育阶段, 肝胰脏蛋白酶活力水

平和前肠、中肠蛋白酶活力水平基本一致,后肠蛋白酶活力最低;肝胰脏淀粉酶活力高于肠道淀粉酶活力,而前、中、后肠的淀粉酶活力水平相当;肠道脂肪酶活力稍高于肝胰脏脂肪酶活力。中肠的蛋白酶活力和脂肪酶活力均高于同一发育阶段草鱼的前肠和后肠,提示中肠是草鱼蛋白质和脂肪的主要消化部位。

### 3.3 鱼类消化酶活力的昼夜变化

研究中发现,在 24h 内,草鱼消化酶活力具有明显的昼夜节律,前肠于 17:00 同时出现蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活力峰值,中肠、后肠于 17:00、21:00、1:00 依次出现脂肪酶活力峰、淀粉酶活力峰和蛋白酶活力峰。上述现象可作如下解释:首先,被草鱼摄食的营养素存在消化时序,消化酶活力与之相适应,出现节律性。其次,光照度的昼夜变化,可能作为一种信号刺激,影响鱼的神经内分泌系统,促其产生食欲,建立日摄食节律。第三,水温、溶氧的变化可直接或间接影响鱼类的摄食强度,进而影响消化酶活力的昼夜节律。第四,饲料成分亦可影响消化酶活力的昼夜节律。水体中天然饵料的种类和数量存在昼夜变化,而饵料是引起消化酶活力变化的重要因素,它不仅影响鱼类体内消化酶的活力、种类及分布,而且还可影响消化酶的分泌。

### 参考文献:

[1] Hsu Y L, Wu J L. The relationship between feeding habits and digestive proteases of some fresh water fishes[J]. Bull Inst Zool Acad Sin, 1979, 18(1): 45—53.

[2] Jonas E, Ragyanszki M, Olah J, et al. Proteolytic digestive enzymes of carnivorous (*Silurus glanis* L.), herbivorous (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) and omnivorous (*Cyprinus carpio* L.) fishes[J]. Aquaculture, 1983, 30(1—4): 145—154.

[3] Kuzmina V V. Influence of age on digestive enzyme activity in some freshwater teleosts[J]. Aquaculture, 1996, 148(1): 25—37.

[4] Tengjaroenkul B, Smith B J, Caceci T, et al. Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured *Nile tilapia*, *Oreochromis niloticus*

L. [J]. Aquaculture, 2000, 182(3—4): 317—327.

[5] 倪寿文, 桂远明, 刘焕亮. 草鱼、鲤、鲢、鳙和尼罗非鲫脂肪酶活性的比较研究[J]. 大连水产学院学报, 1990, 5(3—4): 19—24.

[6] 倪寿文, 桂远明, 刘焕亮. 草鱼、鲤、鲢、鳙和尼罗非鲫淀粉酶的比较研究[J]. 大连水产学院学报, 1992, 7(1): 24—31.

[7] 倪寿文, 桂远明, 刘焕亮. 草鱼、鲤、鲢、鳙和尼罗非鲫肝胰脏和肠道蛋白酶活性的初步探讨[J]. 动物学报, 1993, 39(2): 160—168.

[8] 吴婷婷, 朱晓鸣. 鳊鱼、青鱼、草鱼、鲤、鲫、鲢消化酶活性的研究[J]. 中国水产科学, 1994, 1(2): 10—17.

[9] 王重刚, 陈品健, 郑森林. 真鲷幼鱼消化酶活性的昼夜变化[J]. 水产学报, 1999, 23(2): 199—201.

[10] 方之平, 何瑞国, 聂秀云. 温度对彭泽鲫消化酶活性的影响[J]. 水利渔业, 1998(2): 15—17.

[11] 叶元士, 林仕梅, 罗莉, 等. 温度、pH 值对南方大口鲶、长吻鲈蛋白酶活力和淀粉酶活力的影响[J]. 大连水产学院学报, 1998, 13(2): 17—23.

[12] 沈文英, 寿建昕, 祝尧荣. 银鲫消化酶活性与 pH 值的关系[J]. 水产科学, 2002, 21(6): 10—12.

[13] 伍莉, 陈鹏飞. pH 值对黄鳝肠道和肝胰脏主要消化酶活力的影响[J]. 饲料工业, 2002, 23(8): 40—41.

[14] 陈品健, 王重刚. 真鲷稚幼鱼消化酶活性的研究[J]. 台湾海峡, 1998, 17(增刊): 23—28.

[15] 王红权, 孙桂芳, 赵玉蓉. 异育银鲫摄食 5 种不同动物蛋白源饲料后消化酶活性变动比较[J]. 内陆水产, 2000(2): 9—11.

[16] 田丽霞, 林鼎. 草鱼摄食两种蛋白质饲料后消化酶活性变动比较[J]. 水生生物学报, 1993, 17(1): 58—65.

[17] 张家国, 王义强, 邹师哲. 不同蛋白质能量比饲料与夏花草鱼消化酶的关系[J]. 上海水产大学学报, 1997, 6(1): 54—58.

[18] 钱国英. 不同驯食方式对鳊鱼胃肠道消化酶活性的影响[J]. 浙江农业大学学报, 1998, 24(2): 207—210.

[19] 陈章宝, 何利君, 冉蓉, 等. 患肠炎病草鱼消化酶活性的研究[J]. 四川畜牧兽医学院学报, 2001, 15(1): 7—12.

[20] Das K M, Tripathi S D. Studies on the digestive enzymes of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.) [J]. Aquaculture, 1991, 92(1—2): 21—30.