

DOI:10.19663/j.issn2095-9869.20181211002

http://www.yykxjz.cn/

张正荣, 柳学周, 于毅, 史宝, 张言祥, 徐永江, 王滨, 姜燕, 孙冉冉. 黄条鲷仔稚鱼消化酶活性变化研究. 渔业科学进展, 2020, 41(2): 61-68

Zhang ZR, Liu XZ, Yu Y, Shi B, Zhang YX, Xu YJ, Wang B, Jiang Y, Sun RR. The variations of digestive enzymes in larval and juvenile *Seriola aureovittata*. Progress in Fishery Sciences, 2020, 41(2): 61-68

黄条鲷仔稚鱼消化酶活性变化研究*

张正荣^{1,2} 柳学周^{1,2①} 于毅³ 史宝² 张言祥³
徐永江² 王滨² 姜燕² 孙冉冉²

(1. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306; 2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所
农业农村部海洋渔业可持续发展重点实验室 青岛海洋科学与技术试点国家实验室海洋渔业科学与
食物产出过程功能实验室 青岛 266071; 3. 大连富谷水产有限公司 大连 116400)

摘要 为了解黄条鲷(*Seriola aureovittata*)早期发育阶段的消化生理特性,测定了黄条鲷胚胎、仔稚鱼阶段脂肪酶、淀粉酶、胰蛋白酶和碱性磷酸酶活性变化。结果显示,在黄条鲷仔鱼出膜前胚胎阶段,即能检测到脂肪酶、淀粉酶和碱性磷酸酶活性;初孵仔鱼体内(1 d)初次检测出胰蛋白酶的活性。脂肪酶和碱性磷酸酶比活力在仔鱼孵化后迅速增强($P<0.05$),在4 d开口时,2种酶比活力达最高值;淀粉酶比活力在7 d时达最大值;胰蛋白酶比活力在仔鱼阶段缓慢上升,15 d时比活力最大。稚鱼阶段内脏团中脂肪酶、碱性磷酸酶和胰蛋白酶活性基本维持稳定,幼鱼阶段内脏团脂肪酶、碱性磷酸酶和胰蛋白酶活性都呈现上升趋势;稚鱼和幼鱼阶段内脏团中淀粉酶活性下降并基本稳定于较低水平。研究表明,黄条鲷仔稚鱼发育过程中,各种消化酶活性变化明显,且与其发育阶段和食性密切相关。在尚未摄食饵料的早期仔鱼体内已存在消化酶,认为其是母源传递而来,不是由外源性饵料所致;幼鱼阶段内脏团脂肪酶、碱性磷酸酶和胰蛋白酶比活力明显提高,这反映出随苗种生长发育,其肠道结构和消化机能逐渐完善,并且对脂肪、蛋白质的需求逐渐增强。

关键词 黄条鲷; 胚胎; 仔稚鱼; 消化酶; 比活力

中图分类号 S965.399 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2020)02-0061-08

在鱼类规模化育苗生产中,鱼苗死亡率较高。Lauff等(1984)研究发现,消化酶是影响仔稚鱼死亡率的重要因素。消化酶活力高低直接影响鱼类的消化吸收,间接影响鱼类的生长发育。因此,对仔稚鱼消

化酶活性的研究利于了解其消化生理特征,也有利于探索早期发育中鱼苗大量死亡的原因。目前,研究的鱼类消化酶主要包括脂肪酶、淀粉酶、胰蛋白酶和碱性磷酸酶等,脂肪酶主要由鱼类的肝胰脏分泌,起分

* 中国水产科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(2018GH17; 2019GH15; 2019CY0204)、青岛市民生科技计划项目(17-3-3-61-nsh)、国家重点研发计划项目(2018YFD0901204; 2019YFD0900901)、青岛海洋科学与技术国家实验室海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室开放课题(2017-3A01)和现代农业产业技术体系专项经费(CARS-47)共同资助 [This work was supported by Special Scientific Research Funds for Central Non-Profit Institutes, Chinese Academy of Fishery Sciences (2018GH17; 2019GH15; 2019CY0204), Qingdao People's Livelihood Science and Technology Project(17-3-3-61-nsh), National Key Research and Development Program(2018YFD0901204; 2019YFD0900901), Opening Topic of Qingdao National Laboratory of Marine Science and Technology Functional Laboratory of Marine Fisheries Science and Food Output Process(2017-3A01), and China Agriculture Research System (CRAS-47)]. 张正荣, E-mail: 997197691@qq.com

① 通讯作者: 柳学周, 研究员, E-mail: liuxz@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2018-12-11, 收修改稿日期: 2019-02-14

解脂肪的作用；胰蛋白酶主要由胰脏分泌，鱼类早期发育蛋白消化主要靠胰蛋白酶完成；鱼类各消化器官都有淀粉酶存在，分解碳水化合物；碱性磷酸酶主要存在于鱼类肠道上皮细胞，与葡萄糖、Ca和P等的吸收有关，这些消化酶在鱼类早期发育过程的消化生理中起重要作用。目前，对仔稚幼鱼消化酶的研究日益增多，国内外学者对大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)、半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)、金头鲷(*Sparus aurata*)、古巴雀鲷(*Atractosteus tristoechus*)和日本黄姑鱼(*Nibea japonica*)等仔稚幼鱼消化酶的分泌规律已有研究(陈慕雁等, 2005; 常青等, 2005; Moyano *et al.*, 1996; Comabella *et al.*, 2006; 孙敏等, 2012)。

黄条鲷(*Seriola aureovittata*)是大洋性全球分布的暖温性中上层大型洄游性鱼类，在我国黄海、渤海和东海都有分布，其具有生长快、养殖周期短、经济价值高等优点，是深海增殖的优良品种(柳学周等, 2017)。近年来，随着网箱养殖规模扩大，黄条鲷鱼苗需求也日益增加，许多国家都开展了黄条鲷人工繁殖和养殖技术研究，但一直存在仔稚鱼死亡率高的问题。目前，已有关于黄条鲷生殖生理学、人工繁殖技术、早期形态发育和能量代谢等研究(Poortenaar *et al.*, 2001; Moran *et al.*, 2007; Stuart *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2016a, b)，但是，国内尚未见黄条鲷早期发育消化酶活性变化的研究报道。本研究测定分析黄条鲷早期发育过程中各阶段的主要消化酶(脂肪酶、淀粉酶、胰蛋白酶和碱性磷酸酶)活性变化特征，可为阐明黄条鲷仔稚幼鱼消化机能特性、早期饵料系列研发及人工配合饲料的研制提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用的黄条鲷胚胎及仔稚幼鱼取自大连富谷水产有限公司。采集大连周边黄海海域野生4龄黄条鲷，挑选健康强壮的黄条鲷亲鱼放入到产卵池，进行水温、光周期调控和营养强化，使其自然产卵。采用溢水法收集受精卵，盐度法分离沉浮卵；受精卵在育苗车间水泥池的孵化网箱内，经72 h破膜完成孵化；孵化期间，连续充气、微流水。孵化后3 d开始投喂微藻强化的褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)，15 d开始投喂卤虫无节幼体。仔稚幼鱼培育条件：水温为(21.5±1.0)℃，盐度为29±1，pH为8.0±0.2，初孵仔鱼培育水位为60 cm，前4 d逐渐加满，以后每天换水，随着仔鱼生长，每隔1 d吸底，保持水质优良。鱼苗培育过程中饵料投喂系列为褶皱臂尾轮虫—

卤虫无节幼体—卤虫成体—鱼肉糜。

1.2 实验方法

1.2.1 样品采集与预处理 鱼苗培育期间，每天取样，观察仔稚幼鱼的生长发育情况。采集受精50 h的受精卵2份，每份1.5 g；孵化后第1、2、4、7、15和20天仔鱼，每个样品取2份(每份200~300尾)；第25、30、40、50和60天稚幼鱼，每个样品取2份(每份20~100尾)，随机取30尾仔稚幼鱼测量全长。为消除未消化饵料对消化酶的影响，每次在上午投喂前取样，取样后置于无饵料生物的海水中暂养3 h，保证样品鱼空腹。取样时，用双蒸水冲洗并用滤纸吸干表面水分，放入-80℃冰箱中冷冻保存。实验时，将样品于冰上解冻，20 d前的仔鱼较小，无法分离出内脏，故采取整体匀浆方法；20 d后的稚幼鱼解剖取其内脏团匀浆。每组3个平行，每个平行的取样量约为0.5 g，放入预冷的离心管中，按照 $w:v=1:9$ 的比例加入预冷的生理盐水，进行组织匀浆，在4℃、5000 r/min的条件下离心30 min，取上清液作为粗酶提取液，4℃保存，并于24 h内测试完毕。黄条鲷仔稚幼鱼发育阶段的判定依据参考Yang等(2016a)的方法。

1.2.2 消化酶活性测定 使用碧云天的BCA蛋白浓度测定试剂盒，测量酶液中的蛋白浓度。脂肪酶用南京建成的脂肪酶试剂盒测定，活力单位定义：在37℃条件下，每毫升酶液在反应体系中与底物反应1 min，消耗1 mmol底物为1个酶活力单位。淀粉酶用南京建成淀粉酶试剂盒测定，其活力单位定义：组织中每毫克蛋白37℃、pH 7.0条件下与底物作用30 min，水解10 mg淀粉定义为1个淀粉酶活力单位。胰蛋白酶用南京建成胰蛋白酶试剂盒测定，其活力单位定义：在37℃、pH 8.0条件下，每毫克蛋白中含有的胰蛋白酶，每分钟使吸光度变化0.003，即为1个酶活力单位。碱性磷酸酶用南京建成碱性磷酸酶试剂盒测定，其活力单位定义：在37℃条件下，每克组织蛋白与基质作用15 min产生1 mg酚为1个酶活力单位。

1.3 数据处理

采用SPSS 22.0软件对实验数据进行分析，运用单因子方差分析(One-way ANOVA)和Duncan氏检验法对各组数据进行显著性差异分析和多重比较，显著性水平为0.05，所有数值均采用平均值±标准差(Mean±SD)表示。

全长的平均日增长计算公式：

$$G_L=(L_2-L_1)/(t_2-t_1)$$

用指数函数分析全长和日龄的关系, 公式:

$$L=ae^{bt}$$

式中, L 为全长(mm), t 为日龄(d), a 、 b 为常数。

2 结果

2.1 黄条鲷仔稚鱼的全长

黄条鲷仔稚鱼全长随日龄的增长见图 1, 1~7 d 仔稚鱼全长的平均日增长速度为 0.11 mm/d; 10~15 d 的平均日增长速度为 0.20 mm/d; 20~25 d 的平均日增长速度为 0.23 mm/d; 30~35 d 的平均日增长速度为 0.49 mm/d; 40~60 d 的平均日增长速度高达 0.98 mm/d。黄条鲷初孵仔鱼全长为(4.26±0.15) mm, 60 d 时, 全长为(33.84±4.23) mm, 平均日增长 0.49 mm, 全长(L)与日龄(d)的变化符合指数方程:

$$L=3.95e^{0.0358t}, R^2=0.9788$$

孵化后 60 d 内的仔稚幼鱼全长随着日龄的增加而加快增长, 25 d 后全长大幅增加。

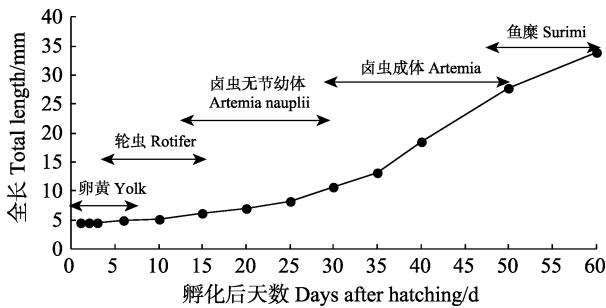


图 1 黄条鲷仔稚鱼生长曲线和饵料投喂
Fig.1 The growth curve and feeding of *S. aureovittata*

2.2 黄条鲷胚胎、仔鱼消化酶比活力变化

黄条鲷仔鱼脂肪酶比活力变化见图 2。从图 2 可以看出, 黄条鲷胚胎发育阶段脂肪酶比活力处于低水平, 仅为(1.14±0.16) U/mg。孵化后的仔鱼, 脂肪酶比活力保持稳定, 开口时(4 d)脂肪酶比活力达到最大值, 为(5.89±0.45) U/mg, 显著高于其他组($P<0.05$), 是初孵仔鱼(1 d)脂肪酶比活力的 6 倍。7 d 时, 仔鱼脂肪酶比活力低于受精卵, 并且达到整个仔鱼期的最低值, 为(0.97±0.14) U/mg。随后脂肪酶比活力整体呈上升趋势, 15 d 时, 上升为(3.43±0.64) U/mg, 20 d 时, 脂肪酶的比活力显著高于初孵仔鱼($P<0.05$)。

黄条鲷仔鱼淀粉酶比活力变化见图 3。从图 3 可以看出, 黄条鲷胚胎发育阶段就可以检测到淀粉酶活性, 比活力较低, 仅为(0.09±0.01) U/mg。孵化后, 仔鱼的比活力显著上升($P<0.05$), 2 d 时又下降至(0.22±0.01) U/mg。随后比活力呈先上升后下降趋势,

7 d 时淀粉酶比活力达最高值, 为(1.59±0.02) U/mg, 并且显著高于其他组($P<0.05$); 7~20 d 仔鱼淀粉酶比活力仍高于初孵仔鱼。

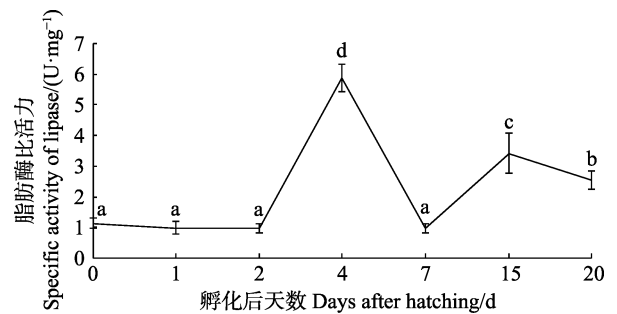


图 2 黄条鲷胚胎、仔鱼脂肪酶的比活力变化
Fig.2 Specific activities of lipase during embryo and larval development of *S. aureovittata*

胚胎阶段记为孵化后 0 d。不同小写字母表示消化酶比活力存在显著差异($P<0.05$, $n=3$), 下同
The embryonic stage is recorded as 0 d after hatching. Different lowercase letters mean significant differences in specific activities of digestive enzymes ($P<0.05$, $n=3$), the same as below

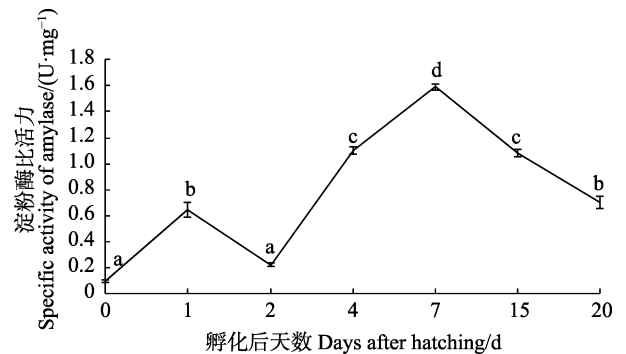


图 3 黄条鲷胚胎、仔鱼淀粉酶的比活力变化
Fig.3 Specific activities of amylase during embryo and larval development of *S. aureovittata*

在黄条鲷胚胎发育阶段未检测到胰蛋白酶活性, 而在初孵仔鱼时可以检测到胰蛋白酶活性, 但比活力较低, 仅为(94.00±8.54) U/mg。初孵仔鱼至 20 d 仔鱼, 随着生长发育, 其胰蛋白酶比活力逐渐提高, 各期仔鱼的胰蛋白酶比活力显著高于初孵仔鱼($P<0.05$); 在 15 d 时胰蛋白酶比活力达到最大值, 为(1098.67±24.03) U/mg (图 4)。

黄条鲷仔鱼的碱性磷酸酶比活力变化见图 5。从图 5 可以看出, 在胚胎发育阶段中, 可以检测到微弱活性, 其值显著低于其他组($P<0.05$)。孵化后碱性磷酸酶比活力上升, 4 d 达到最大值, 为(5.56±0.41) U/mg; 7~20 d 碱性磷酸酶比活力略有下降, 20 d 时, 碱性磷

酸酶比活力为 (2.34 ± 0.08) U/mg。方差分析结果显示, 2~20 d 仔鱼碱性磷酸酶比活力显著高于初孵仔鱼 ($P < 0.05$)。

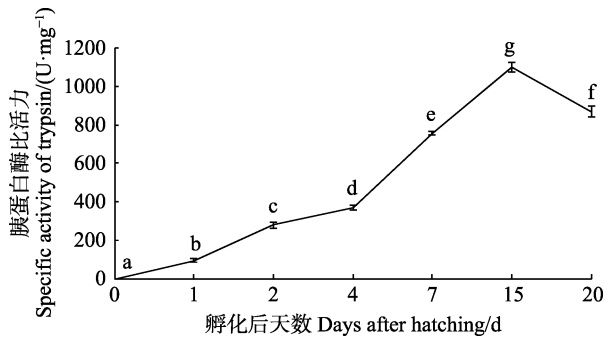


图4 黄条鲷胚胎、仔鱼胰蛋白酶的比活力变化

Fig.4 Specific activities of trypsin during embryo and larval development of *S. aureovittata*

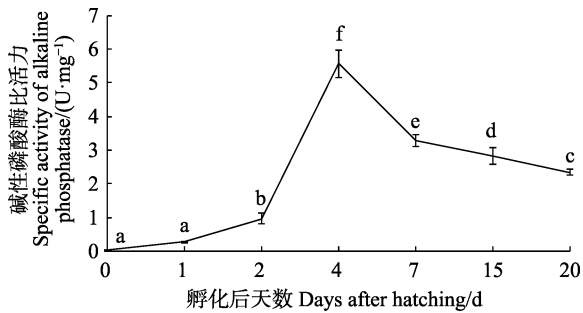


图5 黄条鲷胚胎、仔鱼碱性磷酸酶的比活力变化

Fig.5 Specific activities of alkaline phosphatase during embryo and larval development of *S. aureovittata*

2.3 黄条鲷稚幼鱼消化酶比活力变化

黄条鲷稚幼鱼内脏团的脂肪酶比活力的变化见图6。从图6可以看出, 25~60 d 黄条鲷稚幼鱼内脏团的脂肪酶比活力整体呈上升趋势。25 d 时, 内脏团脂肪酶比活力为 (1.19 ± 0.53) U/mg, 显著低于 60 d ($P < 0.05$); 30~50 d 脂肪酶比活力基本保持稳定, 60 d 时, 呈上升趋势, 比活力为 (2.80 ± 0.25) U/mg。

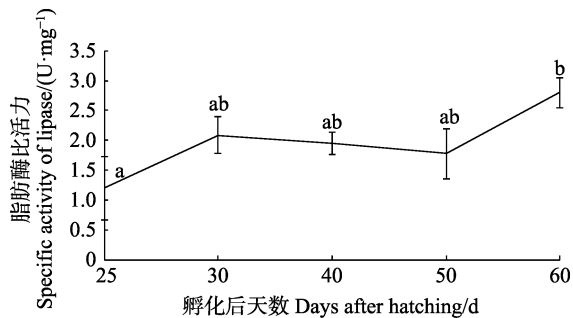


图6 黄条鲷稚幼鱼脂肪酶的比活力变化

Fig.6 Specific activities of lipase during juvenile development of *S. aureovittata*

黄条鲷稚幼鱼(25~60 d)内脏团中淀粉酶比活力的变化情况见图7。从图7可以看出, 在此期间, 淀粉酶比活力整体呈下降趋势。25 d 时, 黄条鲷内脏团淀粉酶比活力为 (0.59 ± 0.05) U/mg, 高于 30~60 d 的比活力值。其中, 30~60 d 稚幼鱼淀粉酶比活力都保持较低水平且差异不显著 ($P > 0.05$)。

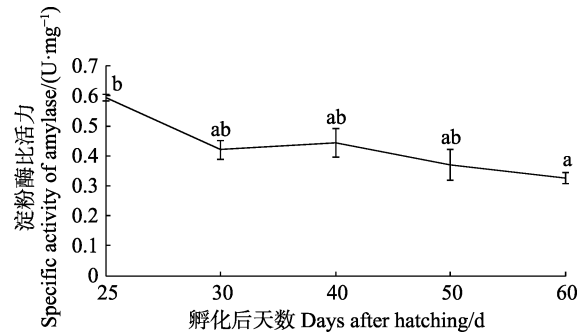


图7 黄条鲷稚幼鱼淀粉酶的比活力变化

Fig.7 Specific activities of amylase during juvenile development of *S. aureovittata*

黄条鲷稚幼鱼发育阶段的胰蛋白酶活性变化见图8。从图8可以看出, 25~60 d 黄条鲷稚幼鱼内脏团的胰蛋白酶比活力整体呈先下降后上升的趋势。30 d 时的胰蛋白酶比活力最高, 为 (534.33 ± 33.01) U/mg, 显著高于 40~60 d 的比活力值 ($P < 0.05$); 60 d 胰蛋白酶比活力略有上升。

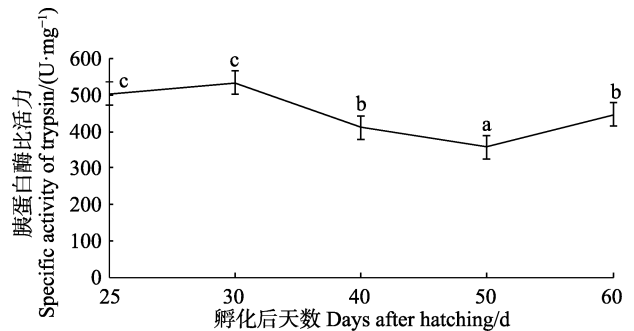


图8 黄条鲷稚幼鱼胰蛋白酶的比活力变化

Fig.8 Specific activities of trypsin during juvenile development of *S. aureovittata*

黄条鲷稚幼鱼的碱性磷酸酶活性变化见图9。从图9可以看出, 25~60 d 黄条鲷稚幼鱼内脏团的碱性磷酸酶比活力呈基本平稳趋势。25 d 时, 内脏团的碱性磷酸酶比活力为 (2.11 ± 0.15) U/mg; 至 40 d 时趋于稳定, 差异不显著 ($P > 0.05$); 50 d 时, 幼鱼碱性磷酸酶比活力明显下降到 (1.89 ± 0.27) U/mg; 60 d 时, 又上升恢复到 25 d 的水平。

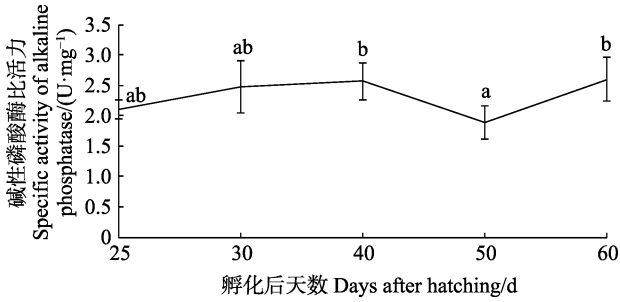


图 9 黄条鲷稚幼碱性磷酸酶的比活力变化

Fig.9 Specific activities of alkaline phosphatase during juvenile development of *S. aureovittata*

2.4 不同发育阶段 4 种消化酶比活力值的特征

黄条鲷早期发育阶段 4 种消化酶比活力变化见图 10。在黄条鲷初孵仔鱼阶段, 4 种消化酶比活力值大小依次为: 胰蛋白酶>脂肪酶>淀粉酶>碱性磷酸酶; 7 d 仔鱼摄食轮虫阶段, 4 种消化酶比活力值大小依次为: 胰蛋白酶>碱性磷酸酶>淀粉酶>脂肪酶; 20 d 仔鱼投喂卤虫无节幼体阶段, 4 种消化酶比活力值大小依次为胰蛋白酶>脂肪酶>碱性磷酸酶>淀粉酶; 30 d 稚鱼投喂卤虫成体阶段, 胰蛋白酶比活力最高, 碱性磷酸酶居于次位, 淀粉酶比活力最低; 50 d 幼鱼投喂鱼肉糜阶段, 胰蛋白酶比活力最高, 脂肪酶和碱性磷酸酶接近, 居于次位, 淀粉酶比活力最低。

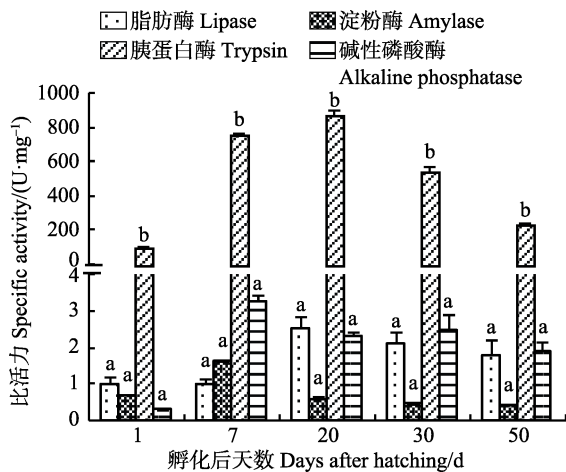


图 10 不同发育阶段黄条鲷仔稚鱼消化酶的比活力变化

Fig.10 Specific activities during different development stage of *S. aureovittata*

不同小写字母表示同一日龄不同消化酶存在差异显著
Different lowercase letters mean significant differences at same age in different digestive enzymes

3 讨论

鱼类早期发育过程中, 由于饵料转换和消化器官

的发育, 消化酶在不同发育阶段的活性不同, 消化酶的强弱是影响鱼类消化吸收能力强弱的重要因素, 因此, 消化酶是消化道中影响食物利用的重要因子, 反映了仔稚幼鱼的消化能力和营养需求, 与鱼类早期生长和存活也有很大关系(张云龙等, 2017)。本研究发现, 黄条鲷早期发育阶段消化酶的变化显著, 与其生长发育阶段和摄食的饵料密切相关。

3.1 早期阶段消化酶的出现

本研究在黄条鲷胚胎发育阶段可检测到脂肪酶、淀粉酶和碱性磷酸酶活性, 认为黄条鲷的消化酶不是外源性饵料诱导, 推定由母源亲本传递而来。关于日本黄姑鱼和匙吻鲟(*Polyodon spathula*)的研究发现, 在受精卵中就检测到脂肪酶、淀粉酶和碱性磷酸酶活性(孙敏等, 2012; 吉红等, 2012), 与本研究结果相似。不同鱼类脂肪酶最早出现时间不一样, Alvarez-González等(2008)研究表明, 斑带副鲈(*Paralabrax maculatofasciatus*)在 2 d 时, 检测出脂肪酶活性; 陈慕雁等(2005)研究表明, 大菱鲆在 15 d 才检测出脂肪酶活性。本研究在初孵仔鱼中第 1 次检测到胰蛋白酶活性, 而在胚胎期没有检测到, 可能是在胚胎期消化道还没形成, 而在孵化后的仔鱼已有了初始的消化道结构, 促使了胰蛋白酶的分泌。潘雷等(2013)研究表明, 胰蛋白酶主要由胰脏分泌, 但需要经过肠道的肠致活酶激活才能有活性, 而鱼类的肠黏膜可以分泌有活性的肠致活酶。在大龙六线鱼(*Hexagrammos otakii*)和细点牙鲷(*Dentex dentex*)初孵仔鱼也可以检测到胰蛋白酶活性(潘雷等, 2013; Gisbert *et al*, 2009), 与本研究结果相似。同时, 孵化后 1 d 仔鱼也检测到脂肪酶、淀粉酶和碱性磷酸酶活性, 此时, 可通过消化蛋白质、脂肪和碳水化合物等营养物质, 促进胚后发育。

3.2 黄条鲷仔稚鱼 4 种消化酶活力的变化

脂肪酶主要是由鱼类的肝胰脏分泌的, 在海水仔稚鱼的消化生理中占据很重要的地位。在不同鱼类中, 脂肪酶变化趋势不同, Martínez 等(1999)研究表明, 塞内加尔舌鲷(*Solea senegalensis*)孵化后第 10 天脂肪酶比活力最高。陈慕雁等(2005)研究表明, 大菱鲆在 15 d 才检测出脂肪酶活性。Alvarez-González 等(2008)研究表明, 斑带副鲈中脂肪酶比活力随着生长发育而增加。本研究发现, 黄条鲷 0~4 d 仔鱼体内的脂肪酶逐渐提高, 在仔鱼开口(4 d)时比活力最高, 随后下降。这可能是内源性营养向外源性营养转化时, 仔鱼在摄取食物前为了积累游泳及摄食行为所需能量, 做出提高自身的消化能力的准备, 增强消化酶的

活性是有效途径。Oozeki等(1995)研究表明,早期仔鱼体内存在2种脂肪酶,1种是磷脂酶A2,用于卵黄囊的吸收;另1种是脂酶,主要用于外源性脂肪的消化,7d黄条鲮仔鱼脂肪比活力下降,可能因为2种脂肪酶转换不稳定。稚鱼期,随着生长发育,黄条鲮内脏团中脂肪酶比活力上升并趋于稳定;幼鱼期,黄条鲮脂肪酶比活力上升,说明黄条鲮脂肪代谢系统趋于完善,对食物中脂肪消化能力增强。

本研究结果显示,黄条鲮体内淀粉酶比活力在7d达到最大值,表明在早期仔鱼具备消化碳水化合物的能力。这变化趋势和白鲮(*Diplodus sargus*)、菊黄东方鲀(*Takifugu flavidus*)、中华倒刺鲃(*Spinibarbus snensis*)等的研究结果相似,即仔鱼淀粉酶比活力较高具有普遍性(Cara *et al.*, 2003; 刘永士等, 2014; 李芹等, 2010)。Moyano等(1996)研究发现,金头鲷淀粉酶比活力在早期发育阶段不高,随着生长发育,淀粉酶比活力逐渐提高,这与本研究结果不一致,猜测金头鲷杂食性的食性是主要原因。稚鱼期和幼鱼期黄条鲮淀粉酶比活力下降,可能是随着黄条鲮生长发育,其加强对脂肪和蛋白的利用而减少对糖分的需求,这可能与黄条鲮肉食食性有关,可以考虑在此期间投喂低碳水化合物水平的饲料。

本研究表明,仔鱼阶段胰蛋白酶比活力逐渐升高,稚幼鱼阶段也保持较高水平,说明整个发育阶段其对蛋白质的需求强烈。细点牙鲷胰蛋白酶比活力变化趋势和黄条鲮胰蛋白酶比活力变化趋势相似(Gisbert *et al.*, 2009)。潘雷等(2013)研究表明,大龙六线鱼中胰蛋白酶活力随生长发育而增强,在100d时,胰蛋白酶比活力最高,变化趋势和黄条鲮不同,从大龙六线鱼的研究方法看,整个实验过程的样本均采用整体鱼体匀浆的方法,而本实验20d前,仔鱼整体研磨,20d后,稚幼鱼为了更精确测得消化酶数值,采用分离黄条鲮内脏团匀浆进行测量,样品的取样部位不同导致实验结果不同。

碱性磷酸酶是一种膜结合金属酶,主要存在于鱼类前肠上皮细胞的浅部和纹状缘,一般认为对脂类、葡萄糖、Ca和P的吸收有促进作用(Tengjaroenkul *et al.*, 2000)。本研究结果显示,在仔鱼期黄条鲮碱性磷酸酶比活力逐渐增高,在4~7d最高,随后略有下降。陈慕雁等(2005)研究表明,大菱鲆碱性磷酸酶比活力总体呈增加趋势,在70d到达顶峰。Babaei等(2011)研究表明,波斯鲟(*Acipenser persicus*)碱性磷酸酶比活力在19d最高,随后下降。黄条鲮稚幼鱼期内脏团中碱性磷酸酶活性保持稳定的较高水平,推测其消化组织器官的消化功能不断发育完善,加强了对饵料的

消化和吸收。

3.3 不同发育阶段4种消化酶比活力值特征分析

黄条鲮初孵仔鱼在未开口摄食阶段为内源性营养阶段,其生长发育所需能量主要来源于自身的卵黄、油球中的蛋白质和脂肪,故胰蛋白酶和脂肪酶比活力高,有利于消化吸收卵黄囊和油球中的蛋白质和脂肪,促进生长发育。研究发现,在7d时,黄条鲮淀粉酶比活力升高,随后又下降,可能与投喂的饵料有关。Kim等(2001)认为,淀粉酶比活力提高是摄食轮虫所致,若不投喂轮虫,其淀粉酶比活力显著降低。20日龄以后的各阶段,黄条鲮胰蛋白酶比活力最高,碱性磷酸酶和脂肪酶比活力也保持较高水平而居次位,淀粉酶基本处于较低水平。黄条鲮仔稚鱼阶段主要是肌肉和骨骼的生长发育,同时,其游泳、摄食等行为也不断消耗能量。因此,需要从食物中消化吸收大量的蛋白质、脂肪和Ca、P等灰分物质。此时,碱性磷酸酶比活力快速升高,也表明其骨骼的生长发育对Ca、P等的需求增强。淀粉酶比活力不高,认为稚幼鱼发育阶段碳水化合物只作为能量消耗而进行补充,不是主要营养所需。另外,从投喂的饵料营养成分来看,轮虫和卤虫的粗蛋白含量高达60%~65%,粗脂肪含量为20%~24%,灰分为8%~10%(童圣英等, 1988),有利于黄条鲮仔稚幼鱼大量吸收蛋白质、脂肪及矿物质,以保证其肌肉和骨骼生长发育,4种消化酶在各阶段的比活力值的高低也验证了对各种营养物质的需求。因此,在黄条鲮育苗生产中,可根据其营养需求和不同阶段消化酶变化特点调整饵料种类,提高对仔稚幼鱼对饵料的消化吸收,以提高鱼苗的生长速度和存活率。

参 考 文 献

- Alvarez-González CA, Moyano-López FJ, Civera-Cerecedo R, *et al.* Development of digestive enzyme activity in larvae of spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus*. 1. Biochemical analysis. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2008, 34(4): 373-384
- Babaei SS, Kenari AA, Nazari R, *et al.* Developmental changes of digestive enzymes in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) during larval ontogeny. *Aquaculture*, 2011, 318 (1-2): 138-144
- Cara JB, Moyano FJ, Cárdenas S, *et al.* Assessment of digestive enzyme activities during larval development of white bream. *Journal of Fish Biology*, 2003, 63(1): 48-58
- Chang Q, Zhang XM, Chen SQ, *et al.* Variations in digestive enzymes activities in Tongue fish *Cynoglossus semilaevus* larvae and juveniles. *Advances in Marine Science*, 2005,

- 23(4): 472–476 [常青, 张秀梅, 陈四清, 等. 半滑舌鲷仔稚鱼消化酶活性的变化. 海洋科学进展, 2005, 23(4): 472–476]
- Chen MY, Zhang XM, Lian JH. Development of some digestive enzymes and alkaline phosphatase activities in turbot *Scophthalmus maximus* larvae and juveniles. Periodical of Ocean University of China (Natural Sciences), 2005, 35(3): 483–486 [陈慕雁, 张秀梅, 连建华. 大菱鲆仔稚鱼期消化酶及碱性磷酸酶活性的变化. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2005, 35(3): 483–486]
- Comabella Y, Mendoza R, Aguilera C, et al. Digestive enzyme activity during early larval development of the Cuban gar *Atractosteus tristoechus*. Fish Physiology and Biochemistry, 2006, 32(2): 147–157
- Gisbert E, Giménez G, Fernández I, et al. Development of digestive enzymes in common dentex *Dentex dentex* during early ontogeny. Aquaculture, 2009, 287(3–4): 381–387
- Ji H, Sun HT, Tian JJ, et al. Digestive enzymes activities during early larval development of the paddlefish *Polyodon spathula*. Acta Hydrobiologica Sinica, 2012, 36(3): 457–465 [吉红, 孙海涛, 田晶晶, 等. 匙吻鲟仔稚鱼消化酶发育的研究. 水生生物学报, 2012, 36(3): 457–465]
- Kim BG, Divakaran S, Brown CL, et al. Comparative digestive enzyme ontogeny in two marine larval fishes: Pacific threadfin (*Polydactylus sexfilis*) and bluefin trevally (*Caranx melampygus*). Fish Physiology and Biochemistry, 2001, 24(3): 225–241
- Lauff M, Hofer R. Proteolytic enzymes in fish development and the importance of dietary enzymes. Aquaculture, 1984, 37(4): 335–346
- Li Q, Tang HY. Development of some digestive enzymes and alkaline phosphatase activities in *Spinibarbus snensis* larvae and juveniles. Journal of Hydroecology, 2010, 3(5): 82–85 [李芹, 唐洪玉. 中华倒刺鲃仔稚鱼期消化酶及碱性磷酸酶活性变化的研究. 水生生态学杂志, 2010, 3(5): 82–85]
- Liu XZ, Xu YJ, Li R, et al. Analysis and evaluation of nutritional composition of the muscle of yellowtail kingfish (*Seriola aureovittata*). Progress in Fishery Sciences, 2017, 38(1): 128–135 [柳学周, 徐永江, 李荣, 等. 黄条鲷(*Seriola aureovittata*)肌肉营养组成分析与评价. 渔业科学进展, 2017, 38(1): 128–135]
- Liu YS, Shi YH, Zhang GY, et al. Growth, digestive enzyme and antioxidant enzyme activities of tawny puffer (*Takifugu flavidus*) larvae. Journal of Zhejiang University(Agricultural and Life Science), 2014, 40(6): 688–696 [刘永士, 施永海, 张根玉, 等. 菊黄东方鲀仔稚鱼生长及其消化酶与抗氧化酶活性. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2014, 40(6): 688–696]
- Martínez I, Moyano FJ, Fernández-Díaz C, et al. Digestive enzyme activity during larval development of the Senegal sole (*Solea senegalensis*). Fish Physiology and Biochemistry, 1999, 21(4): 317–323
- Moran D, Gara B, Wells RMG. Energetics and metabolism of yellowtail kingfish (*Seriola lalandi* Valenciennes 1833) during embryogenesis. Aquaculture, 2007, 265(1–4): 359–369
- Moyano FJ, Díaz M, Alarcón FJ, et al. Characterization of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). Fish Physiology and Biochemistry, 1996, 15(2): 121–130
- Oozeki Y, Bailey KM. Ontogenetic development of digestive enzyme activities in larval walleye pollock, *Theragra chalcogramma*. Marine Biology, 1995, 122(2): 177–186
- Pan L, Fang H, Zhang SC, et al. The variation of digestive enzymes in larval and juvenile *Hexagrammos otakii*. Progress in Fishery Sciences, 2013, 34(3): 54–60 [潘雷, 房慧, 张少春, 等. 大泷六线鱼仔、稚、幼鱼期消化酶活力的变化. 渔业科学进展, 2013, 34(3): 54–60]
- Poortenaar CW, Hooker SH, Sharp N. Assessment of yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) reproductive physiology, as a basis for aquaculture development. Aquaculture, 2001, 201(3–4): 271–286
- Stuart KR, Drawbridge MA. Captive spawning and larval rearing of California yellowtail (*Seriola lalandi*). Aquaculture Research, 2013, 44(5): 728–737
- Sun M, Chai XJ, Xu YJ, et al. Assessment of digestive enzymes activities during the early development of *Nibea japonica*. Journal of Shanghai Ocean University, 2012, 21(6): 965–970 [孙敏, 柴学军, 许源剑, 等. 日本黄姑鱼早期发育过程中消化酶活性变化研究. 上海海洋大学学报, 2012, 21(6): 965–970]
- Tengjaroenkul B, Smith BJ, Caceci T, et al. Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. Aquaculture, 2000, 182(3): 317–327
- Tong SY, Ling CH, Wang XT. Appraisalment and analysis of nutrient compositions for *Moina mongolica* Daday. Journal of Dalian Fisheries College, 1988(3、4): 29–33 [童圣英, 林成辉, 王雪涛. 蒙古裸腹溞营养成分分析与评价. 大连水产学院学报, 1988(3、4): 29–33]
- Yang SG, Hur SW, Ji SC, et al. Morphological development of embryo, larvae and juvenile in yellowtail kingfish, *Seriola lalandi*. Development and Reproduction, 2016a, 20(2): 131–140
- Yang SG, Ji SC, Lim SG, et al. Management of sexual maturation and natural spawning of captive-reared yellowtail kingfish, *Seriola lalandi*, in an indoor rearing tank. Development & Reproduction, 2016b, 20(2): 141–147
- Zhang YL, Zhang HL, Wang LY, et al. Allometric growth and ontogenetic changes in nucleic acids and digestive enzymes during the early life stage in fish species: A review. Journal of Fishery Sciences of China, 2017, 24(3): 648–656 [张云龙, 张海龙, 王凌宇, 等. 鱼类早期发育阶段异速生长及核酸、消化酶变化的研究进展. 中国水产科学, 2017, 24(3): 648–656]

The Variations of Digestive Enzymes in Larval and Juvenile *Seriola aureovittata*

ZHANG Zhengrong^{1,2}, LIU Xuezhou^{1,2①}, YU Yi³, SHI Bao², ZHANG Yanxiang³,
XU Yongjiang², WANG Bin², JIANG Yan², SUN Ranran²

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306;

2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266071;

3. Dalian Fugu Fishery Co., Ltd., Dalian 116400)

Abstract To clarify the digestive and physiological characteristics in the early developmental stage of *Seriola aureovittata*, the activity of different digestive enzymes (lipase, amylase, trypsin, and alkaline phosphatase) were studied. Fertilized eggs and 1- to 60-day-old larvae and juveniles of *S. aureovittata* were selected as the research objects. The relationship between total length and days after hatching was also studied. The results indicated that the total length of larvae and juveniles increased with age within 60 days after hatching and increased significantly after 25 days. Lipase, amylase, and alkaline phosphatase were detectable during the embryonic stage while trypsin was detected in newly hatched larvae, which indicated that *S. aureovittata* can digest lipid, carbohydrate, and proteins before feeding. The specific activities of lipase and alkaline phosphatase increased rapidly after hatching ($P<0.05$), reached a peak at (5.88 ± 0.45) and (5.56 ± 0.41) U/mg, respectively at first feeding. The amylase activity reached its peak at (1.59 ± 0.02) U/mg on day 7. The specific activity of trypsin increased slowly after hatching, and reached the highest value $((1098.67\pm 24.03)$ U/mg on day 15 ($P<0.05$). Lipase, alkaline phosphatase, and trypsin were basically stable in the visceral mass of juvenile fish. However, the activity of lipase, alkaline phosphatase, and trypsin increased with the development of *S. aureovittata*. The amylase activity in the visceral mass of juvenile fish showed a downward trend and was basically stable at a lower specific activity level. The results of this study showed significant changes in various digestive enzyme activities during the development of larvae and juveniles, which were closely related to the development stage and feeding habits. The digestive enzymes were detected in early larvae that had not yet eaten food which was considered that the digestive enzymes were maternal in origin and not from exogenous food. The lipase, alkaline phosphatase, and trypsin activities in juveniles significantly increased, which reflect the improvement of intestinal structure and digestive function and the increasing demand for fat and protein.

Key words *Seriola aureovittata*; Embryo; Larvae and juvenile; Digestive enzymes; Specific activities

① Corresponding author: LIU Xuezhou, E-mail: liuxz@ysfri.ac.cn