

动物科学

# 饥饿和再投喂对鲈鱼稚鱼蛋白酶活力的影响\*

韩强<sup>1</sup>, 胡先成<sup>1,2</sup>, 王艳<sup>1</sup>

(1. 重庆师范大学 生命科学学院; 2. 重庆师范大学 重庆市动物生物学重点实验室, 重庆 400047)

**摘要** 采用生物化学方法,对饥饿和再投喂的鲈鱼(*Lateolabrax japonicus*)稚鱼的胃蛋白酶和胰蛋白酶在15.00的盐度条件下进行测定和分析。结果表明,饥饿3 d、饥饿6 d、再投喂3 d的鲈鱼稚鱼,其胃蛋白酶的活力比摄食组高,胰蛋白酶的活力比摄食组低,而再投喂10 d和再投喂17 d的鲈鱼稚鱼,其胃蛋白酶的活力比摄食组低,胰蛋白酶的活力比摄食组高。饥饿组和摄食组的鲈鱼稚鱼,其蛋白酶活力差异显著。由此认为,短期饥饿可能导致鲈鱼稚鱼出现补偿性生长。

**关键词** 鲈鱼 稚鱼 饥饿 再投喂 蛋白酶 补偿生长

中图分类号: Q959.483

文献标识码: A

文章编号: 1672-6693(2008)04-0012-04

鱼类在自然环境或养殖条件下,经常会面临食物的短缺而遭受饥饿的胁迫。某些鱼类在饥饿后的恢复摄食过程中会出现补偿生长的现象<sup>[1]</sup>。饥饿对鱼类生理生态影响的研究已日渐受到国内外学者的高度关注。当前对饥饿鱼类研究已拓展到各个领域<sup>[2-3]</sup>,其中对鱼类饥饿过程中消化酶活力的研究却不多<sup>[4-6]</sup>。鲈鱼(*Lateolabrax japonicus*)分布于中国、日本和朝鲜沿海,在我国沿海各海区为深受人们喜爱的大型名贵经济鱼类。目前有关鲈鱼的研究大多集中在饥饿对鲈鱼成鱼的形态及生化组成的影响<sup>[7-11]</sup>,在饥饿状态下鲈鱼稚鱼消化酶活力的研究未见报道。本试验中对鲈鱼稚鱼在饥饿和再投喂状态下的蛋白酶活力进行了研究,旨在丰富鱼类饥饿生理生态研究资料,同时对鲈鱼的养殖实践具有重要的指导意义。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与分组处理

试验所用鲈鱼稚鱼于2006年3月4日购于厦门,平均体重为(0.0949±0.0094)g,平均体长为(1.9340±0.1027)cm,饲养于盛有用海盐配制的、盐度为15.00的人工海水大型水族箱中,水泵充气,期间投喂摇蚊幼虫。短期驯化之后进行饥饿试验,设两个平行组,分饥饿组和摄食组(对照组),每组

投放150尾稚鱼。试验期间,使饥饿组稚鱼饥饿6 d后开始再投喂冰冻的摇蚊幼虫,摄食组稚鱼从试验开始就一直投喂冰冻的摇蚊幼虫,两组都是每天投喂两次,保证稚鱼饱食;每天吸污两次,保持水质清洁,溶氧保持在4.5 mg/L以上,水温为10.8~16.8℃,水体大小为15 L。饥饿组于饥饿0 d、饥饿3 d、饥饿6 d、再投喂3 d、再投喂10 d、再投喂17 d时进行取样,对照组于试验的0 d、3 d、6 d、9 d、16 d、23 d时取样。随机抽取10尾稚鱼,摄食和再投喂的稚鱼在每次取样前都让其禁食6 h,滤纸吸干稚鱼体表水分,电子天平称重(精确至0.1 mg),样品于-70℃保存待测。

### 1.2 酶液的制备

将稚鱼整体样本剪碎后加入10倍体积的预冷重蒸水,冰浴匀浆2 min。9000 r/min冷冻离心30 min,取中间水相层再次离心后取上清液进行酶活力的测定。酶液置4℃保存备用,在24 h内分析完毕。

### 1.3 测定方法

可溶性蛋白含量的测定以干酪素为标准,用Folin-酚试剂法测定,重复测定3次。

胃蛋白酶活性的测定采用南京建成生物研究所生产的试剂盒,方法和酶的活力单位均参照说明书进行。

\* 收稿日期 2008-04-09 修回日期 2008-06-13

资助项目:重庆市科委自然科学基金(No. 7877),重庆市教委科学技术研究项目(No. 040807),重庆师范大学科研基金重点项目(No. 08XLZ002)

作者简介:韩强(1984-)男,硕士研究生,研究方向为水生动物发育生物学。通讯作者:胡先成, E-mail: hwxw@cqnu.edu.cn.

胰蛋白酶活性的测定采用 Folin-酚试剂法。加入 0.5% 干酪素溶液 2.0 mL、0.04 mol/L 的 EDTA- $\text{Na}_2$  溶液 0.1 mL、0.05 mol/L 的硼砂氢氧化钠缓冲液(pH 9.8) 0.4 mL、酶液 0.4 mL(对照组用重蒸水代替)、重蒸水 0.6 mL,使总体积为 3.5 mL 混匀,置于 37 °C 水浴中 15 min,加入 30% 三氯乙酸中止反应,3000 r/min 离心 10 min 后取上清液 0.5 mL,加入 Folin-酚试剂甲 2.5 mL,混匀,于 25 °C 水浴中放置 10 min,加入 Folin-酚试剂乙 0.25 mL,立即摇匀震荡,于 25 °C 水浴中放置 30 min 后进行显色反应,UV-1800 分光光度计检测样品 680 nm 的 OD 值<sup>[12]</sup>。定义在 37 °C 下每分钟水解干酪素产生 1  $\mu\text{g}$  酪氨酸的酶量为一个酶活力单位(U)。比活力单位用 U/mg 表示,其中单位分母指样品蛋白的 mg 数。

#### 1.4 数据分析

用 SPSS11.5 软件对相应的数据进行方差分析。文中描述性统计值用平均值  $\pm$  标准差(Mean  $\pm$  SD)表示,显著性水平设置为  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 饥饿和再投喂对胃蛋白酶活力的影响

鲈鱼稚鱼饥饿和再投喂过程中胃蛋白酶活力的变化如图 1。饥饿组稚鱼的胃蛋白酶活力从饥饿初就开始逐步下降,活力最低时是在再投喂 3 d(试验第 9 d),再投喂 3 d 之后,饥饿组稚鱼的胃蛋白酶活力急剧升高。摄食组稚鱼表现出相似的趋势,其活力最低时是在试验开始的第 9 d。饥饿组稚鱼在饥饿 3 d、饥饿 6 d、再投喂 3 d 时表现出的胃蛋白酶活力均比摄食组高,而在再投喂 10 d(试验第 16 d)和再投喂 17 d(试验第 23 d)时,饥饿组稚鱼的胃蛋白酶活力比摄食组低。饥饿组和摄食组稚鱼胃蛋白酶活力的差异显著( $p < 0.05$ )。

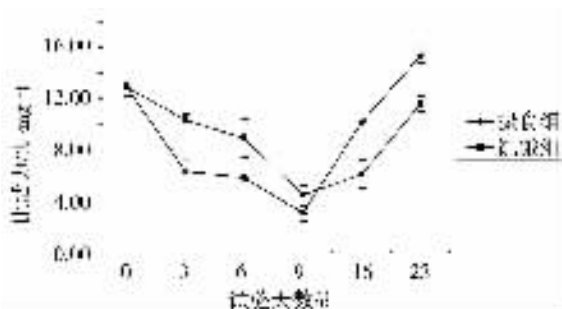


图 1 饥饿和再投喂对鲈鱼稚鱼胃蛋白酶活力变化的影响  
Fig. 1 Effects of the starvation and refeeding on the pepsin activity of juvenile *Lateolabrax japonicus*

### 2.2 饥饿和再投喂对胰蛋白酶活力的影响

鲈鱼稚鱼饥饿和再投喂过程中胰蛋白酶活力的变化如图 2。在整个试验过程中,饥饿组胰蛋白酶活力的变化趋势是先降低后升高,活力最低点也是在再投喂 3 d 时(试验第 9 d)。从饥饿 3 d 时开始,饥饿组胰蛋白酶活力都处于较低的水平,从再投喂 3 d 时开始,饥饿组胰蛋白酶活力明显回升。在试验开始 3 d 时,摄食组胰蛋白酶活力明显下降,但在试验开始 6 d 时显著回升,之后又明显下降,一直到试验 23 d 时,摄食组胰蛋白酶活力都处于较低水平。在饥饿 3 d、饥饿 6 d、再投喂 3 d 时,饥饿组的胰蛋白酶活力均比摄食组低,而在再投喂 10 d(试验第 16 d)和再投喂 17 d(试验第 23 d)时,饥饿组的胰蛋白酶活力比摄食组高,这与胃蛋白酶比活力的变化趋势不同。饥饿组和摄食组胰蛋白酶活力的差异显著( $p < 0.05$ )。

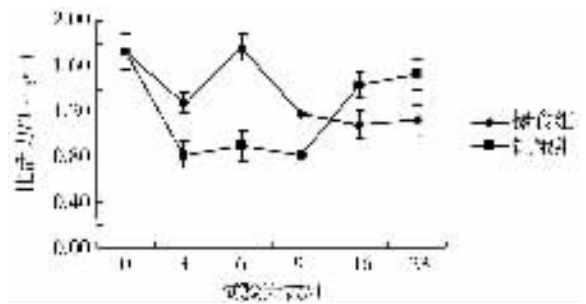


图 2 饥饿和再投喂对鲈鱼稚鱼胰蛋白酶活力变化的影响  
Fig. 2 Effects of the starvation and refeeding on the trypsin activity of juvenile *Lateolabrax japonicus*

## 3 讨论

影响消化酶分泌的因素很多,如温度、盐度、食物等,其中最主要的因素是食物<sup>[13]</sup>。在饥饿过程中,消化酶的活力随消化酶种类的不同而有变化<sup>[14]</sup>。关胜军等对大口黑鲈的研究发现,大口黑鲈在饥饿期间,胃蛋白酶活力在第 3~10 d 呈上升趋势,从第 10 d 开始下降<sup>[15]</sup>。本试验结果表明,饥饿 3 d 和饥饿 6 d 的鲈鱼稚鱼,其胃蛋白酶的活力高于对照组(摄食组),这可能是由于本试验的鲈鱼处于稚鱼期,正是生长发育的重要阶段,短期的饥饿胁迫导致稚鱼体重下降,其总可溶性蛋白含量降低,因而短期饥饿的稚鱼,其胃蛋白酶的比活力反而比摄食稚鱼高。另外,本次试验过程中,鲈鱼稚鱼的饥饿时间比大口黑鲈的饥饿时间要短,如果延长饥饿时间,饥饿的鲈鱼稚鱼,其胃蛋白酶的活力可能会下降,这还有待于进一步研究。而在饥饿 3 d、饥饿 6 d 时,

饥饿组稚鱼的胰蛋白酶活力均比摄食组低。这与大口黑鲈<sup>[15]</sup>、黄鳝<sup>[16]</sup>和施氏鲟幼鱼<sup>[17]</sup>胰蛋白酶活力随着饥饿时间延长而下降的结果相似。饥饿引起鲈鱼稚鱼胰蛋白酶活力下降的原因可能是:首先,食物能通过嗅觉等外周感觉器官影响中枢神经系统对消化腺分泌的调控<sup>[18]</sup>,饥饿状态下的鱼没有受到视觉和嗅觉等感觉器官的刺激作用,其胰蛋白酶的分泌也就相应减少;其次,在饥饿状态下,鱼的消化道没有受到食物蠕动的机械刺激,因而胰蛋白酶的分泌量明显下降<sup>[1]</sup>;另外,饥饿可能会造成稚鱼胰脏组织结构的变化,导致胰蛋白酶分泌量降低。付世建等研究发现,南方鲈幼鱼经过长期的饥饿后,其消化器官的实质性变化必将导致这些器官的消化酶分泌量降低<sup>[19]</sup>。Yufera等也提出了类似的推论,即饥饿后仔鱼呈现出广泛的组织学衰退,特别是消化道和附属腺体<sup>[20]</sup>。

再投喂3 d时,饥饿组鲈鱼稚鱼胃蛋白酶活力接近于对照组水平,再投喂10 d和再投喂17 d的鲈鱼稚鱼,胃蛋白酶活力明显升高,但总体上仍低于同步取样的摄食组稚鱼,这与区又君等对千年笛鲷幼鱼的研究结果一致<sup>[21]</sup>。主要原因是食物刺激促使蛋白酶分泌,胃的组织结构也有所恢复,从而导致胃蛋白酶活力的提高。另外,本次试验的对象为处于早期发育过程中的鲈鱼稚鱼,其耐饥饿的能力较差,因而短期内胃蛋白酶活力难以恢复到摄食组稚鱼的水平。再投喂10 d和再投喂17 d的鲈鱼稚鱼,其胰蛋白酶活力不仅明显回升,还高于摄食组。其原因在于:食物刺激以及肝胰脏和肠的组织结构有所恢复,导致胰蛋白酶活力提高;另外,可能也跟补偿性摄食和消化有关。

在试验后期的再投喂明显使饥饿组稚鱼的蛋白酶活力升高,因此认为短期饥饿可能导致鲈鱼稚鱼出现补偿性生长。而对于进行多长时间的饥饿以后,再对鲈鱼稚鱼进行投喂,其达到的最佳补偿生长更利于养殖实践过程中提高产量还有待于进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 谢小军,邓利,张波. 饥饿对鱼类生理生态学影响的研究进展[J]. 水生生物学报,1998,22(2):181-188.
- [2] 宋昭彬,何学福. 鱼类饥饿研究现状[J]. 动物学杂志,1998,33(1):48-52.
- [3] 汤洪芬,曹振东,付世建. 饥饿对鲈鱼幼鱼静止代谢率的影响[J]. 重庆师范大学学报(自然科学版),2007,24(1):72-75.
- [4] 陈慕雁,张秀梅. 海水鱼类仔稚鱼消化生理学研究进展[J]. 海洋水产研究,2004,25(3):81-88.
- [5] 周景祥,陈勇,黄权,等. 鱼类消化酶的活性及环境条件的影响[J]. 北华大学学报(自然科学版),2001,2(1):70-83.
- [6] 杨蕙萍,董圣英,王子臣. 国内外关于水产动物消化酶研究的概况[J]. 大连水产学院学报,1998,13(3):64-71.
- [7] 王艳,胡先成,罗颖. 盐度对鲈鱼稚鱼的生长及脂肪酸组成的影响[J]. 重庆师范大学学报(自然科学版),2007,24(2):62-66.
- [8] 钱云霞. 饥饿对养殖鲈酶活力的影响[J]. 水产科学,2002,21(3):6-7.
- [9] 朱芝峰,林霞,关文静,等. 花鲈在短期周期性饥饿下的补偿生长[J]. 水产科学,2007,26(11):597-600.
- [10] 杜震宇,刘永坚,田丽霞,等. 饥饿对于鲈肌肉、肝脏和血清主要生化组成的影响[J]. 动物学报,2003,49(4):458-465.
- [11] 朱芝峰,林霞,吴望星,等. 周期性饥饿下花鲈的形态变化与饥饿状态的相对判别分析[J]. 中国水产科学,2006,13(1):45-51.
- [12] 北京大学生物系生物化学教研室. 生物化学实验指导[M]. 北京:人民教育出版社,1980.
- [13] MACHADO C R, GAROFALO M A R, MIGLIORINI R H. Effects of starvation, re-feeding and insulin on energy-linked metabolic process in catfish (*Rhamdohilarii*) adapted to a carbohydrate-rich die[J]. Gen Comp Endocrinol,1988,71:429-437.
- [14] SHIMENO S D, KEYGALI M, TAKED A. Metabolic adaptation to prolonged starvation in carp [J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1990, 56(1):35-41.
- [15] 关胜军,吴锐全,谢骏,等. 饥饿对大口黑鲈消化器官、蛋白酶和淀粉酶活力的影响[J]. 南方水产,2007,3(2):25-29.
- [16] 杨代勤,陈芳,阮国良,等. 饥饿对黄鳝消化酶活性的影响[J]. 应用生态学报,2007,18(5):1169-1172.
- [17] 高露姣,陈立侨,赵晓勤,等. 施氏鲟幼鱼的饥饿和补偿生长研究——对消化器官结构和酶活性的影响[J]. 中国水产科学,2004,11(5):413-418.
- [18] BISHAL G A, BENGTSON D A. Description of the starving condition in summer flounder, *Paralichthys dentatus*, early life history stages [J]. Fish Bull, 1995, 93:217-230.
- [19] 付世建,邓利,张文兵. 南方鲈幼鱼胃和肝脏的组织结构及其在饥饿过程中的变化[J]. 西南师范大学学报,1999,24(3):336-342.

[ 20 ] YUFERA M , PASCUAL E , POLO A , et al. Effect of starvation on the feeding ability of gilthead seabream ( *Sparus aurata L.* ) larvae at first feeding[ J ]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology ,1993 ,169( 2 ) :

259-272.

[ 21 ] 区又君,刘泽伟. 饥饿和再投喂对千年笛鲷幼鱼消化酶活性的影响[ J ]. 海洋学报,2007,29( 1 ): 86-91.

## Effects of the Starvation and Refeeding on the Proteinc Enzyme Activities of Juvenile *Lateolabrax japonicus*

HAN Qiang<sup>1</sup> , HU Xian-cheng<sup>1,2</sup> , WANG Yan<sup>1</sup>

( 1. College of Life Science , Chongqing Normal University , Chongqing 400047 ;

2. Key Laboratory of Animal Biology , Chongqing Normal University , Chongqing 400047 , China )

**Abstract** : At the salinity of 15.00 , the activities of the pepsin and trypsin of juvenile *Lateolabrax japonicus* are examined during starvation and refeeding. The tested juvenile *Lateolabrax japonicus* are domesticated in a short time , and then the hunger experimentation is started. The tested juvenile *Lateolabrax japonicus* are divided into two groups ( the starved group and the feeding group ). The course of starvation lasts for 6 days. During the experiment , the juvenile of the starved group are starved 6 days , and then feed the frozen larval chironomid to them. At the same time , the juvenile of the feeding group are fed by the frozen larval chironomid from beginning to end. The results show that the activities of the pepsin of the juvenile *Lateolabrax japonicus* that are starved 3 , 6 days and are refed 3 days higher than the feeding group. The activities of the trypsin are lower than the feeding group ; but the activities of the pepsin of the juvenile *Lateolabrax japonicus* that are refed 10 , 17 days are lower than the feeding group , and the activities of the trypsin are higher than the feeding group. It indicates that the two proteinc enzymes of the starved group are significantly different from the feeding group. According to the results above , it is considered that a short-term starvation can make juvenile *Lateolabrax japonicus* grow supplementarily.

**Key words** : *Lateolabrax japonicus* ; juvenile fish ; starvation ; refeeding ; protease ; supplementary growth

( 责任编辑 李若溪 )