

野生及养殖黑龙江茴鱼消化酶活性分布的比较研究

赵吉伟, 李小龙

(中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 哈尔滨 150070)

摘要: 对我国珍稀濒危冷水性鱼类——黑龙江茴鱼的野生及养殖群体食道、胃、幽门盲囊及肠组织淀粉酶、胰蛋白酶及脂肪酶活性进行了测定。试验结果表明, 两群体 4 种组织中淀粉酶活性表现为幽门盲囊>肠道>胃>食道, 且野生群体在幽门盲囊及肠道中的酶活性高于养殖群体; 胰蛋白酶活性表现为肠>幽门盲囊>胃>食道, 且养殖群体幽门盲囊、胃及肠中的胰蛋白酶活性均高于野生群体相应组织; 而黑龙江茴鱼各消化器官均有一定的脂肪酶活性, 且幽门盲囊与胃中酶活性较高, 食道和肠较低, 且养殖茴鱼幽门盲囊及胃中脂肪酶活性高于野生群体。黑龙江茴鱼体内消化酶的活性及分布可能与其偏肉食性的食性有关, 而野生群体及养殖群体之间的差异, 推测是由于人工驯化投喂人工饵料中碳水化合物及蛋白含量与天然饵料的差异造成的。应继续探索野生及人工养殖状态下该鱼消化及营养需求的最佳平衡点, 以达到低耗高产, 健康养殖的目的, 并推动促进茴鱼养殖业的迅速、可持续性发展。

关键词: 黑龙江茴鱼; 野生; 养殖; 消化相关酶; 活性分布

中图分类号: S917

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2012)01-0026-05

Comparitive study on the distribution of digestive enzymes in wild and cultured *Thymallus grubii*

ZHAO Ji-wei, LI Xiao-long

(Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Harbin 150070)

Abstract: *Thymallus grubii* is a kind of rare and endangered cold water fish species. In this study, three kinds of digestive enzymes activities, including amylase, trypsin and lipase were measured in esophagus, stomach, pyloric caeca and intestine from wild and cultured *thymallus grubii*. The results showed that the amylase activity of pyloric caeca was highest in 4 kinds of tissues from two groups, and then was the intestine with the lowest in stomach and esophagus. In addition, the amylase activities in pyloric caeca and intestine were higher in wild group than that of cultured group. The trypsin showed the highest in the intestines, and then with the lowest in the stomach and esophagus. It was higher of the activity of trypsin from other three tissues in wild group than cultured group. The activities of lipase were in different degree in several digestive tissues, which were higher in pyloric caeca and stomach while lower in the esophagus and intestines. And the activities of lipase form pyloric caeca and stomach in cultured group were higher than wild group. The activities and distribution of digestive enzymes maybe subjected to the diet of the *thymallus grubii*, which was carnivorous. It was induced that the difference between wild and cultured group was due to the difference of carbohydrate and protein concentration in natural feed and artificial feed during acclimatization. It was pointed out that we should make a further investigation of the best balance on the digestive and nutritional requirements both under natural and artificial conditions, to obtain the best production with the least cost and to achieve the purpose of healthy culture. And this will promote the rapid and sustainable development of aquaculture industry of *thymallus grubii*.

Key words: *Thymallus grubii*; wild group; cultured group; digestive enzymes; distribution of the enzyme activities

黑龙江茴鱼 (*Thymallus grubii* Dybowski 1869) 属鲑形目 (*Salmoniformes*), 茴鱼科 (*Thymallidae*), 茴鱼属 (*Thymallus*), 俗称斑鱒子、红鳞鱼。在我国主要分布于黑龙江、嫩江、牡丹江、乌苏里江、松花江、绥芬河等水域, 为黑龙江水系特产冷水性鱼类^[1], 因其帆状背鳍, 体态优美, 颜色艳丽; 又兼具肉质鲜嫩, 营养价值高等优点, 具有极高的观赏、养殖及经济价值^[2]。

我国对黑龙江茴鱼的研究开始于本世纪初, 已有关于黑龙江茴鱼精子活力^[3], 胚胎的发育及仔、稚、幼鱼的生长情况^[4], 鱼卵^[5]及其肌肉营养成分^[6]分析等方面的初步探索性报道。马波等通过线粒体测序、微卫星序列比对等方法对黑龙江茴鱼的归属及种群遗传变异问题进行了探讨^[7-9]。

我国对于黑龙江茴鱼人工繁育和人工养殖技术的摸索还处于起步阶段^[10], 虽然随着研究有一定进展^[11], 但还需要进一步的深入摸索完善。饵料的合理配比及鱼体的最佳消化吸收是野生黑龙江茴鱼驯化, 以及黑龙江茴鱼人工养殖的前提基础和必备条件, 而到目前为止, 仍未见关于黑龙江茴鱼体内各消化器官组织中相关酶活性及分布的报道。

为此, 作者对野生及养殖环境下黑龙江茴鱼食道、幽门盲囊、胃及肠道内的淀粉酶、胰蛋白酶和脂肪酶进行了测定并比较研究。旨在揭示黑龙江茴鱼在野生及养殖条件下体内 3 种消化相关酶在不同组织内的活性及变化趋势, 以期为保护和开发利用这一名贵冷水性鱼类提供科学数据, 为黑龙江茴鱼的健康人工养殖奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用黑龙江茴鱼养殖群体取自黑龙江水产研究所渤海冷水鱼试验站; 野生茴鱼群体捕获于牡丹江流域支流海林市长汀镇海浪河江段。

考马斯亮兰总蛋白试剂盒、标准蛋白; 淀粉酶、胰蛋白酶及脂肪酶测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所; 其他试剂为实验室常规分析纯试剂。

1.2 试验方法

1.2.1 样品采集 随机选取健康野生及养殖茴鱼个体各 6 尾, 平均体重(30±0.5) g, 于淡水鱼水族箱 (0.5 m × 0.5 m × 0.9 m) 中暂养 7 d, 每天按照鱼体重 2% 投喂饲料。待暂养结束实验鱼表现稳定后, 于冰盘上解剖。取出鱼的食道、幽门盲囊、胃及肠道组织, 用生理盐水冲洗干净并用滤纸吸干, 称重, 各组织用预冷的生理盐水制备成 (1:9) 的匀浆液, 匀浆过程在冰浴中进行。

1.2.2 酶活测定 淀粉酶单位定义: 在 37℃, pH 为 7.5 条件下, 每分钟水解 1 μg 淀粉的酶量为 1 个酶活力单位 (U·g⁻¹)。

胰蛋白酶单位定义: 在 pH 8.0, 37℃ 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 即为一个酶活力单位 (U·g⁻¹)。

脂肪酶单位定义: 在 37℃ 条件下, 每克组织蛋白在本反应体系中与底物反应 1min, 每消耗 1 μmol 底物为一个酶活力单位 (U·g⁻¹)。

1.2.3 数据处理 用 Microsoft Excel 2003 和 SPSS 17 软件对试验数据进行统计分析, 结果以平均数±标准差 (mean ± SD) 表示。其中, 差异显著为 $P < 0.05$, 差异极显著为 $P < 0.01$ 。

2 结果与分析

2.1 四种组织中淀粉酶的活性

野生群体与养殖群体茴鱼食道、幽门盲囊、胃及肠道 4 种组织中的淀粉酶活性测定值见表 1。由此表可见, 养殖群体及野生群体食道和胃组织中, 淀粉酶活性无显著差异; 而幽门盲囊和肠道组织中呈极显著差异。且淀粉酶在两群体 4 种组织中活性分布均为幽门盲囊>肠>胃>食道。

表 1 养殖及野生群体各组织中淀粉酶活性分布
Table 1 Distribution of amylase activities in four tissues of cultured and wild groups

群体 Groups	淀粉酶活性/U·g ⁻¹ Activity of amylase (prot)			
	食道 Esophagus	幽门盲囊 Pyloric caeca	胃 Stomach	肠 Intestine
养殖群体 Cultured group	0.06±0.010 5 ^a	2.34±0.204 4 ^a	0.08±0.006 1 ^a	0.29±0.011 5 ^a
野生群体 Wild group	0.06±0.005 6 ^a	3.50±0.178 0 ^c	0.08±0.009 2 ^a	0.44±0.005 3 ^c

注: 同一列数值上标相邻字母表示差异显著 ($P < 0.05$); 相间字母表示差异极显著 ($P < 0.01$)。下同。

Note: Values in the same column with adjacent superscripts are significantly different ($P < 0.05$), with interval superscripts are extremely significantly different ($P < 0.01$). The same below.

将所得数据绘制成图 1。由图 1 可见: 在无显著差异的食道及胃组织中, 两群体淀粉酶活性基本相同;

而呈差异极显著的幽门盲囊及肠道组织中, 野生群体的酶活性明显高于养殖群体, 且其活性差值 1.16

$U \cdot g^{-1}$ (幽门盲囊) $> 0.15 U \cdot g^{-1}$ (肠)。

2.2 四种组织中胰蛋白酶的活性

两群体4种组织中的胰蛋白酶活性测定值见表2。由此表可见, 养殖群体及野生群体幽门盲囊和胃组织中, 胰蛋白酶活性无显著差异; 而食道和肠道组织中呈极显著差异。且胰蛋白酶在两群体4种组织中活性分布均为肠>幽门盲囊>胃>食道。

4种组织胰蛋白酶活性变化见图2。胰蛋白酶活性在食道、幽门盲囊及胃组织中差值极小; 而在肠组织中, 两群体胰蛋白酶活性差别极大, 野生群体肠组织中胰蛋白酶活性仅为养殖群体1/3左右。

表2 养殖及野生群体各组织中胰蛋白酶活性分布

Table 2 Distribution of trypsin activities in four tissues of cultured and wild groups

群体 Group	胰蛋白酶活性/ $U \cdot g^{-1}$ Activity of trypsin (prot)			
	食道 Esophagus	幽门盲囊 Pyloric caeca	胃 Stomach	肠 Intestine
养殖群体 Cultured group	117.76±19.963 4 ^a	3 141.16±297.091 9 ^a	608.20±13.506 3 ^a	9 342.23±266.087 8 ^a
野生群体 Wild group	307.73±14.457 6 ^c	2 937.47±169.652 7 ^a	594.82±16.256 6 ^a	3 306.97±1 534.41 ^c

2.3 四种组织中脂肪酶的活性测定

两群体4种组织中的脂肪酶活性测定值见表3。由此表可见, 养殖群体及野生群体幽门盲囊中, 脂肪酶活性无显著差异; 两群体肠组织中脂肪酶活性呈显著差异; 而食道和胃组织中呈极显著差异。且脂肪酶在两群体4种组织中活性分布均为胃>幽门盲囊>肠>食道。

由图3可见, 2个群体中, 4种组织脂肪酶活性变化差异较大。野生群体脂肪酶活性最大值出现在幽门盲囊, 而养殖群体出现在胃组织中; 且养殖群体幽门盲囊及胃组织中, 脂肪酶活性高于野生群体, 而食道和肠中则较低, 且两群体在胃组织中脂肪酶

表3 养殖及野生群体各组织中脂肪酶活性分布

Table 3 Distribution of lipase activities in four tissues of cultured and wild groups

群体 Group	脂肪酶活性/ $U \cdot g^{-1}$ Activity of lipase (prot)			
	食道 Esophagus	幽门盲囊 Pyloric caeca	胃 Stomach	肠 Intestine
养殖 Cultured	49.92±0.497 8 ^a	327.45±13.881 1 ^a	442.91±17.185 0 ^a	96.53±5.795 3 ^a
野生 Wild	132.70±6.234 3 ^c	323.33±23.821 6 ^a	239.72±17.162 7 ^c	123.90±9.627 4 ^b

3 讨论

消化酶活性是反映鱼类消化生理机能的一项重要指标, 其高低及分布关系到鱼类对营养物质消化吸收的能力, 从而影响鱼类生长、发育乃至繁殖的速度^[12]。有报道指出, pH、温度、盐度、饵料等对消化酶均有不同程度的影响^[13-17], 但是关于野生群

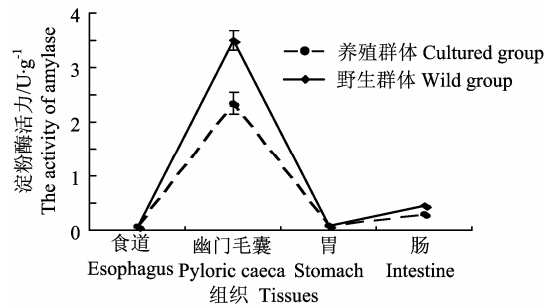


图1 两群体4种组织中淀粉酶活性变化

Figure 1 Changes of amylase activities in four tissues of two groups

活性差别极大。

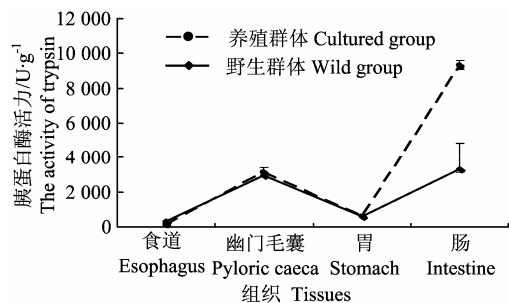


图2 两群体4种组织中胰蛋白酶活性变化

Figure 2 Changes of trypsin activities in four tissues of two populations

体与养殖群体各组织之间酶活性比较研究的报道仍较少见^[18-20]。

3.1 淀粉酶在两群体各消化器官的活性分布

几乎所有的鱼类消化器官都有淀粉酶的存在, 即使是肉食性的鱼类也不例外^[21]。只不过其酶活性大小和分布因鱼的种类和食性等不同存在一定的差异^[22-24]。

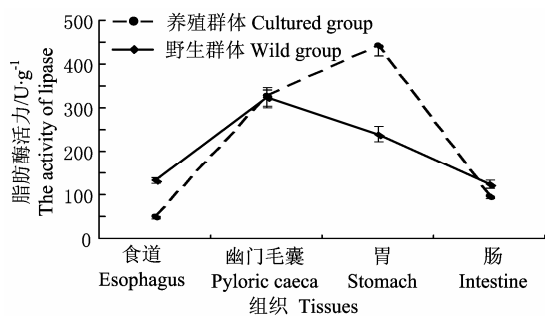


图 3 两群体 4 种组织中脂肪酶活性变化

Figure 3 Changes of lipase activities in four tissues of two groups

本研究结果表明, 茴鱼消化器官中淀粉酶活性幽门盲囊最高, 肠道次之, 胃和食道都较低。这可能是由于肝脏主要分泌淀粉酶原, 需要肠道中的肠激活酶进一步激活才有活力^[17, 20], 而幽门盲囊的组织结构与肠壁组织相似, 一般认为它的作用是用来扩充肠子的吸收面积, 同时又能分泌与肠壁相同的分泌物, 因此, 淀粉酶原可能在进入茴鱼幽门盲囊的时候就开始受到肠激活酶而迅速被激活, 促使其活性快速达到最大值。而食道和胃内淀粉酶未被激活, 所以活性极低。

试验结果进一步显示, 野生群体在淀粉酶活性较高的幽门盲囊及肠道中的酶活均极显著高于养殖群体, 这样的结果表明, 野生群体对于碳水化合物具有更好的消化能力, 对此类食物有更大的吸收、利用率。这可能与人工养殖茴鱼饲料中蛋白含量较高, 而碳水化合物含量低于野生茴鱼自然摄取量有关, 导致养殖茴鱼体内淀粉酶分泌量降低。

3.2 胰蛋白酶在两群体各消化器官的活性分布

鱼体消化道中不同部位蛋白酶活性是不同的^[25-26]。而本试验结果表明, 茴鱼体内肠组织中胰蛋白酶活性最大, 其次为幽门盲囊, 然后是胃及食道。肠道中胰蛋白酶活性最高, 表明茴鱼肠道对食物中蛋白质的消化起主要作用。各组织酶活性的差别可能是由于肝脏主要分泌蛋白酶原, 而这种酶原的蛋白酶活性微弱, 需要进入肠道后受到肠激活酶的激活才有较强活性。而幽门盲囊是鱼类特有的消化器官, 其组织学构造与酶含量等都与附近的肠道相似, 起着消化和吸收的作用, 所以其内胰蛋白酶活性也较高。

而除去酶活性极低的食道不做讨论以外, 养殖群体茴鱼幽门盲囊、胃及肠中的胰蛋白酶活性均高于野生群体相应组织, 且食道和肠组织中呈极显著性差异, 可能是由于人工投喂饵料中蛋白含量高于

野生条件下茴鱼天然饵料量, 长时间人工驯化饲养导致养殖茴鱼体内相应的蛋白酶分泌量增多, 活性增大。而肠作为吸收的主要组织器官, 其内酶活性得到显著提高。

3.3 脂肪酶在两群体各消化器官的活性分布

Mankura^[27]发现在研究的 7 种海水鱼中, 脂肪酶活性都以幽门盲囊中最高。倪寿文等^[20]研究发现草鱼和鲤的肝胰脏脂肪酶活性明显比肠的高, 而鲢和鳙的肝胰脏脂肪酶的活性则比肠的低。其原因可能是不同的鱼脂肪酶分泌的部位不同所致。

而本研究中茴鱼两群体 4 个组织中脂肪酶的活性差异较大。养殖群体中, 其活性大小为胃>幽门盲囊>肠>食道, 而野生群体为幽门盲囊>胃>食道>肠; 且养殖群体在脂肪酶活性较高的幽门盲囊及胃组织中酶活均高于野生群体, 而在脂肪酶活性较低的食道及肠组织中, 酶活低于野生群体。

茴鱼各消化器官均有脂肪酶活性可能与其食性有关, 有报道指出脂肪酶活性与鱼的食物脂肪含量呈正相关关系。在野生条件下, 茴鱼以水生昆虫及软体动物等为主, 养殖条件下其食物中脂肪含量也不低。因此, 在茴鱼漫长的进化变异过程中, 形成与其消化机能相适应的消化酶, 因此消化器官所分泌的脂肪酶较多。

3.4 食性与消化酶

鱼类的食性一般分为肉食性、草食性和杂食性, 而其本身的消化酶组成总是与食性密切相关^[22]。Agrawal 等^[28]与倪寿文^[24]都比较了草食性鱼类、杂食性鱼类和肉食性鱼类肠道内的淀粉酶活性, 认为其中草食性鱼类和杂食性鱼类肠道内淀粉酶活性高于肉食性鱼类。吴婷婷^[18]等研究指出肉食性鱼的蛋白酶活性明显高于杂食性和草食性鱼。一般肉食性鱼类的消化道短, 蛋白酶活力强; 草食性则正相反。同时, Biesiot^[29]也指出, A/P 值 (淀粉酶比活力/蛋白酶比活力) 是一个可用于衡量鱼类摄食食性和营养状况的重要指标, $A/P > 1$ 时鱼的食性为植食性或偏植物食性; $A/P < 1$ 时, 鱼的食性则为肉食性或偏肉食性。

而本研究表明黑龙江茴鱼各消化器官中, 淀粉酶活性较低, 远远低于同等条件下蛋白酶活性, 其食道、幽门盲囊、胃和肠的 A/P 值均小于 1, 表明茴鱼是以肉食性为主的鱼类。且养殖群体 A/P 值远远小于野生群体, 则可就此推测在养殖状态下, 茴鱼群体食物含量中的蛋白含量高于野生状态下, 其体内消化酶的分泌随之发生了一定变化。

综上所述, 野生状态下茴鱼是以肉食性为主的

杂食性鱼类,其各消化器官对蛋白有较好的消化吸收能力,但随着人工驯化养殖的逐渐完善推广,人工饵料中蛋白及脂肪含量的增高,导致其体内相应消化酶的分泌及活性也逐渐增大。作为一个优质的养殖品种,应注意寻找野生及人工养殖状态下该鱼消化及营养需求的最佳平衡点,以达到低耗高产,健康养殖的目的,并推动促进茴鱼养殖业的迅速、可持续性发展。

参考文献:

- [1] 董崇智. 中国淡水冷水性鱼类[M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 2001: 63-65.
- [2] 韩英, 张澜澜. 养殖价值极高的冷水性经济鱼类——黑龙江茴鱼[J]. 农村百事通, 2008(7): 45.
- [3] 韩英, 张澜澜, 徐革锋, 等. 黑龙江茴鱼精子活力的观察[J]. 水产学杂志, 2008, 21(1): 9-14.
- [4] 韩英, 张澜澜, 赵吉伟, 等. 黑龙江茴鱼胚胎的发育及仔、稚、幼鱼的生长[J]. 淡水渔业, 2009(4): 17-21.
- [5] 索力, 赵吉伟, 张颖, 等. 黑龙江茴鱼卵的营养成分分析[J]. 水产学杂志, 2010, 23(2): 34-36.
- [6] 谷伟, 王炳谦, 赵吉伟, 等. 人工养殖黑龙江茴鱼肌肉营养成分的分析. 东北农业大学学报, 2009, 40(11): 86-90.
- [7] 马波, 霍堂斌, 姜作发. 中国黑龙江水系茴鱼属一新纪录种(鲑形目、茴鱼科) [J]. 动物分类学报, 2007, 32(4): 986-988.
- [8] 马波, 霍堂斌, 姜作发. 线粒体 DNA 序列变异显示鸭绿江茴鱼为黑龙江茴鱼同物异名[J]. 动物分类学报, 2008, 33(2): 414-419.
- [9] 马波, 霍堂斌, 姜作发. 下游黑龙江茴鱼种群遗传变异及地理分化的微卫星分析[J]. 中国水产科学, 2009, 16(5): 678-688.
- [10] 徐革锋, 梁双, 孙冬梅, 等. 黑龙江茴鱼的人工繁殖技术研究初报[J]. 水产学杂志, 2006, 19(2): 51-53.
- [11] 韩英, 张澜澜, 牟震波, 等. 黑龙江茴鱼的人工繁殖[J]. 科学养鱼, 2008(1): 6-7.
- [12] 高春生, 肖传斌, 王艳玲, 等. 淇河鲫与普通鲫鱼消化酶活性研究[J]. 广东农业科学, 2006(4): 72-74.
- [13] Santigosa E, Sanchez J, Medale F, et al. Modifications of digestive enzymes in trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sea bream (*Sparus aurata*) in response to dietary fish meal replacement by plant protein sources [J]. Aquaculture, 2008, 282(1/4): 68-74.
- [14] 叶继丹. 不同 pH 和温度条件下杂交鲟胃中消化酶活性的变化[J]. 中国水产科学, 2003, 10(1): 79-81.
- [15] 陈品健. 盐度影响真鲷幼鱼消化酶活力的研究[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 1998, 37(5): 754-756.
- [16] Bitterlich G. Digestive enzyme pattern of two stomachless filter feeders, silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix* Va1, and big head carp, *Aristichthys nobilis* (Rich)[J]. Fish Bio1, 1985, 27: 103-112.
- [17] Abi-Ayad A, Kestemont P. Comparison of the nutritional status of goldfish (*Carassius auratus*) larva fed with live, mixed or dry diet [J]. Aquaculture, 1994, 128(1/2): 163-176.
- [18] 于娜, 李加儿, 区又君, 等. 野生和养殖鲮消化酶活性的比较研究[J]. 中国水产科学, 2011, 18(1): 127-135.
- [19] 万军利. 野生与养殖许氏平鲈消化酶活力的比较[J]. 生态学杂志, 2010(5): 1035-1038.
- [20] 顾岩, 孙仲武, 尹洪斌, 等. 野生与养殖哲罗鱼消化系统及消化酶的比较研究[J]. 中国水产科学, 2008, 15(2): 330-336.
- [21] 杨金海, 章龙珍, 庄平, 等. 人工养殖长鳍篮子鱼消化道指数及 3 种消化酶活性分布[J]. 海洋科学, 2009, 33(7): 43-50.
- [22] 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.
- [23] 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, 2001, 2(1): 70-73.
- [24] 倪寿文, 桂远明, 刘焕亮. 草鱼、鲤、鲢、鳊和尼罗罗非鱼淀粉酶活性的比较研究[J]. 大连水产学院学报, 1992, 7(1): 24-31.
- [25] 朱爱意, 褚学林. 大黄鱼消化道不同部位两种消化酶的活力分布及其受温度、pH 的影响[J]. 海洋与湖沼, 2006, 37(6): 561-567.
- [26] Kawai S, Ikeda S. Effects of dietary changes on the activities of digestive enzymes in carp intestine [J]. Bull Japan Soc Science Fish, 1992, 38(3): 265-269.
- [27] Mankura M, Kayama M, Saito S. Ester hydrolysis by lipolytic enzymes in pyloric caeca of various fishes [J]. Bull Japan Soc Science Fish, 1984, 50(12): 2127-2131.
- [28] Agrawal V P, Sastry K V, Kausbab S K. Digestive enzymes of there teleost fishes [J]. Acta Physical Hunq, 1975, 46: 93-98.
- [29] Biesiot P M, Capuzzo J M. Change in digestive enzyme activities during early development of the American lobster *Homarus americanus* [J]. Mar Bio Ecol, 1990, 136(2): 107-122.