

# 饲料蛋白质水平对中国对虾生长 和消化酶活性的影响

吴 垠<sup>1</sup>, 孙建明<sup>2</sup>, 周遵春<sup>2</sup>, 桂远明<sup>1</sup>

(1. 大连水产学院 生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116023; 2. 辽宁省海洋水产研究所, 辽宁 大连 116023)

**摘要:**探讨了配合饲料中不同蛋白质的含量(质量分数为30%~60%)对中国对虾生长和消化酶活性的影响。结果表明:当饲料中蛋白质的质量分数为30%~50%时,中国对虾 *Penaeus chinensis* 蛋白酶、淀粉酶活性随蛋白质含量的增加而升高,当饲料中蛋白质的质量分数高于50%时,酶活性下降。饲料中不同蛋白质水平对脂肪酶活性影响不显著。对虾的生长效果显示,饲料中蛋白质质量分数为45%时,中国对虾具有最大生长率,为50%时,对虾具有最高成活率。另外,还对中国对虾蛋白酶和淀粉酶对所摄食饵料的适应性和适应速度进行了讨论。

**关键词:**中国对虾; 饲料; 生长; 消化酶; 消化酶活性

**中图分类号:** S963.16

**文献标识码:** A

中国对虾 *Penaeus chinensis* 是海水养殖的主要经济种类,随着对虾养殖业的发展,对配合饲料的研究工作日趋广泛和深入。目前,研究者多从营养需求入手,分析了蛋白质与必需氨基酸、脂肪与必需高度不饱和脂肪酸、糖类、纤维素等在饲料中的适宜含量<sup>[1-3]</sup>。但是对消化酶方面的报道较少,且主要集中在对中国对虾消化酶性质和幼体发育过程中消化酶活性方面的研究<sup>[4-6]</sup>。本文中作者分析了饲料中不同蛋白质水平对中国对虾主要消化器官消化酶活性的变化,并论述了消化酶与饲料及整个机体生长的关系,为对虾营养与消化生理学的研究提供一些理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验虾与饲养条件

试验虾系辽宁省瓦房店市炮台镇增殖站提供的越冬成虾,在辽宁省海洋水产研究所室内育苗池促熟,产卵孵化培育成的幼虾。初始平均体长3.88 cm,分成6组进行试验,每组设两个平行,试验池水体2 m<sup>3</sup>,每池养虾55尾,试验周期40 d。试验期间水温16~21℃,间断充气,溶解氧高于6 mg/L,盐度31, pH 7.9~8.1,氨氮小于0.2 mg/L,每日换水1次,总换水量为1/2。

饲料由鱼粉、玉米粉、鸡蛋和青虾组成。按不同比例配制成6组,各组饲料配方及营养成分见表1,其中青虾与鸡蛋为新鲜材料取湿重。每日投饵3次(9:00、12:00~13:00、17:00),日投饵量为对虾体重的5%~8%,每次投饵前吸底以清除残余饵料。

### 1.2 样本处理及酶液制备

饲养试验结束后,取出受试对虾用滤纸轻轻吸干表面水分,逐一测量体长和称重后,立即解剖取

收稿日期:2002-10-18

基金项目:农业部重点项目(91060309)

作者简介:吴垠(1962-),女,硕士,副教授。E-mail: wuyin@dlfu.edu.cn

出中国对虾消化系统的肝胰腺、胃、中肠组织样本,清洗胃、肠道内含物后称重,然后置于冰箱中(-20℃)保存。分析时将样品按其质量分别加入10倍的冰冻去离子水(4℃, pH 7.0),低温下使用玻璃匀浆器制成匀浆后,以4000 r/min 低温离心20 min,取上清液测定酶活性。

### 1.3 酶活性的测定

肝胰腺、胃、中肠的蛋白酶活性测定采用福林-酚试剂法<sup>[7]</sup>。胃蛋白酶活性测定参考刘玉梅<sup>[4]</sup>的方法稍作修改,采用0.2 mol/L的柠檬酸缓冲液(pH 3.0)配制酪蛋白溶液。

蛋白酶活性定义为:在pH 7.5(胃蛋白酶活性在pH 3.0)条件下酪蛋白浓度为5 mg/L,在37℃条件下保温15 min,以每分钟水解酪蛋白产生1 μg 酪氨酸为一个酶活力单位(U)。

脂肪酶活性测定用聚乙烯醇橄榄油为底物,用NaOH滴定底物水解产生的脂肪酸<sup>[7]</sup>。脂肪酶活性定义为:在37℃条件下,脂肪酶水解脂肪每分钟产生1 μg 分子脂肪酸的酶量,定为一个脂肪酶活力单位(U)。

淀粉酶活性测定用淀粉-碘显色法<sup>[8]</sup>。淀粉酶活性定义为:在pH 7.0和37℃条件下,30 min内1 mL 酶液完全水解10 mg 淀粉定为一个淀粉酶活力单位(U)。

### 1.4 数据分析

采用SPSS软件进行统计分析。

## 2 结果

### 2.1 用不同的饲料饲喂中国对虾后消化酶活性的变化

为了研究中国对虾对于试验饲料消化能力的差异,将中国对虾分为6组,饲喂以不同蛋白质含量配制的饲料,40 d后取各组对虾的肝胰腺、胃、中肠标本,测定其中3种消化酶的活性。结果表明,各组对虾消化器官组织中的消化酶活性呈现不同的变化规律。

随着饲料中蛋白质含量的增加,中国对虾蛋白酶活性(图1)呈现先升高后下降的变化趋势。各组间比较,肝胰腺蛋白酶活性以4组最高,1组、6组最低(与其它组相比差异显著,  $P < 0.05$ );中肠蛋白酶活性是3组最高,1组最低,组间活性具有3组 > 4组 > 5组、2组 > 6组 > 1组的变化趋势;而胃内的蛋白酶活性3组明显高于其它几组( $P < 0.05$ )。因此,可以认为3种组织中蛋白酶活性以3组、4组为较高组群,1组、6组活性较低。

各试验组对虾淀粉酶活性随着饲料中蛋白质水平的变化而有差异(图2),表现为高蛋白饲料组(4~6组)酶活性高于低蛋白饲料组(1~3组)( $P < 0.05$ )。其中肝胰腺

表1 试验饲料的组成和营养成分

Tab. 1 The ingredients and nutrient composition of the experimental feed

试验组	饲料组成/g				营养成分(干重) w/%		
	鱼粉	玉米粉	青虾	鸡蛋	蛋白质	淀粉	脂肪
1组	90	310	277.2	162.8	30	45.0	7.8
2组	175	225	277.2	162.8	40	34.0	7.7
3组	220	180	277.2	162.8	45	28.0	7.7
4组	270	130	277.2	162.8	50	21.6	7.6
5组	310	90	277.2	162.8	55	16.4	7.6
6组	350	50	277.2	162.8	60	11.2	7.5

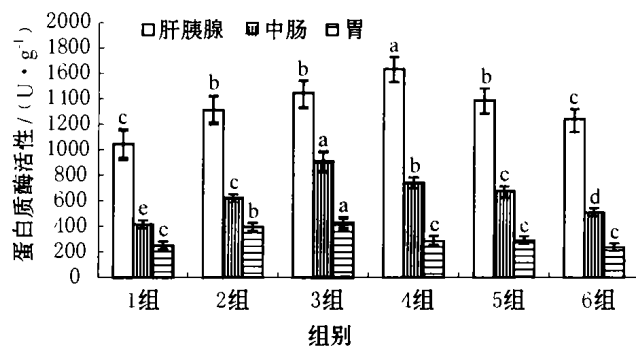


图1 不同饲料对中国对虾蛋白酶活性的影响

Fig. 1 The effect of different diets on protease activities in the shrimp

注:图中小写字母不同者表示差异显著( $P < 0.05$ )。

淀粉酶活性以 4 组最高、1 组最低；胃淀粉酶活性为 4~6 组 > 2、3 组 > 1 组；中肠的淀粉酶活性依次为 5 组 > 4、6 组 > 1~3 组。中国对虾脂肪酶活性较低（图 3），肝胰腺脂肪酶活性以 4、5 组明显高于 1~3 组（ $P < 0.05$ ），而胃和中肠的脂肪酶活性组间差异不大。

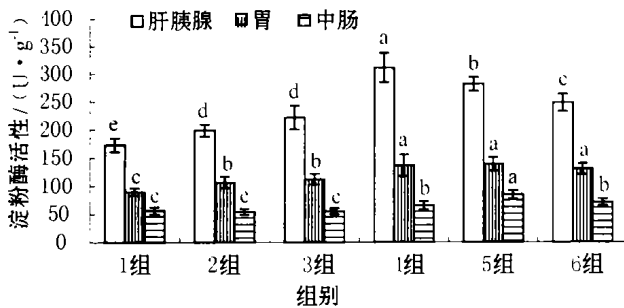


图 2 不同饲料对中国对虾淀粉酶活性的影响

Fig. 2 The effect of different diets on amylase activities in the shrimp

注：图中小写字母不同者表示差异显著（ $P < 0.05$ ）。

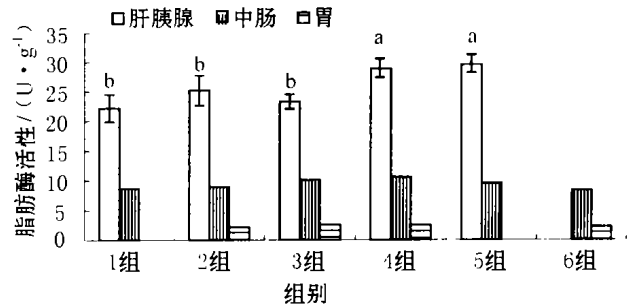


图 3 不同饲料对中国对虾脂肪酶活性的影响

Fig. 3 The effect of different diets on lipase activities in the shrimp

## 2.2 中国对虾消化酶活性随饲养时间的变化

投喂饲料后的 40 d 内，定时分析了中国对虾肝胰腺蛋白酶和淀粉酶活性的动态变化。依据饲料的蛋白质含量分别选择试验 1 组、2 组、4 组和 6 组，投喂饲料中蛋白质的质量分数分别为 30%、40%、50% 和 60%。结果表明，不同试验组的对虾蛋白酶活性随时间变化模式不同（图 4）。40 d 饲养期分为 2 个阶段，第一阶段为前 20 d，随着培养时间延长，各试验组蛋白酶活性均有不同程度增加，表现为上升型曲线；20 d 时测得结果显示，试验 6 组酶活性最高，依次为 6 组 > 4 组 > 2 组 > 1 组。后 20 d 结果显示，试验 1 组、2 组、4 组饲养至 30 d 时，消化酶活性仍有上升，然后呈平稳状态。试验 6 组饲养 20 d 以后，蛋白酶活性急剧下降，表明机体内蛋白酶活性变化并未与饲料中蛋白质含量呈现完全一致的消长关系。

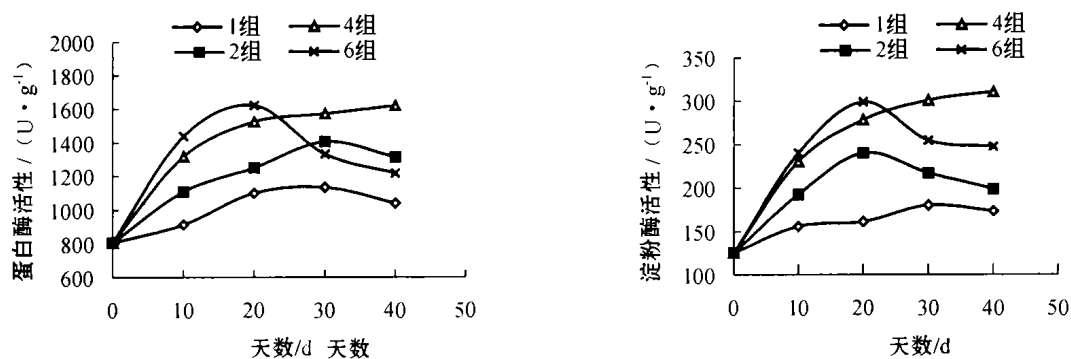


图 4 中国对虾蛋白酶、淀粉酶活性随时间的变化规律

Fig. 4 The changes in protease and amylase activities during the experiment

淀粉酶活性随时间变化过程与蛋白酶相似（图 4），前 20 d 各组的淀粉酶活性随饲养时间延长均呈现上升趋势，但 20 d 以后试验 1 组、4 组淀粉酶活性仍在升高，其它 2 组的淀粉酶活性呈下降趋势；在整个反应过程中 1、2 组酶活性均显著低于 4、6 组。

## 2.3 饲料蛋白质水平对中国对虾生长的影响

表 2 表明，中国对虾的生长率、成活率随着蛋白质含量的增加均呈现先增加后降低的变化趋势，3 组的生长率和 4 组的成活率最高。各组日生长率依次为 3 组 > 4 组 > 2 组 > 5 组 > 6 组 > 1 组，成活率为 4 组 > 1 组 > 2 组 > 3 组 > 5 组 > 6 组。

表2 不同饲料组成对中国对虾生长的影响

Tab.2 Effect of different diets on the shrimp growth

试验组(饲料中 蛋白质质量分数)	入池体长 /cm	出池体长 /cm	日增重率 /%	入池均重 /(g·尾 <sup>-1</sup> )	出池均重 /(g·尾 <sup>-1</sup> )	日增长率 /%	成活率 /%
1组(30%)	3.88±0.39	5.68±0.53	1.16	0.669	1.64	3.63	85.6
2组(40%)	3.88±0.39	5.97±0.69	1.35	0.669	1.78	4.15	85.0
3组(45%)	3.88±0.39	6.12±0.61	1.44	0.669	2.01	5.03	81.8
4组(50%)	3.88±0.39	6.01±0.51	1.37	0.669	1.97	4.86	94.5
5组(55%)	3.88±0.39	5.91±0.69	1.31	0.669	1.72	3.93	78.2
6组(60%)	3.88±0.39	5.57±0.85	1.09	0.669	1.69	3.81	63.6

### 3 讨论

#### 3.1 饲料蛋白质水平对中国对虾蛋白酶活性的影响

试验结果表明,随着饲料中蛋白质含量的升高,中国对虾肝胰腺、中肠和胃的蛋白酶活性均呈现先升高后下降的变化趋势。其中肝胰腺酶活性以4组最高,中肠和胃蛋白酶活性以3组最高。当蛋白质的质量分数高于45%~50%时,消化酶活性反而下降。这一结果与 Mukhopadhyay<sup>[9]</sup>对两栖胡子鲇肠道蛋白酶活性研究报道相一致,即胡子鲇肠道内蛋白质水解酶活性随着饲料蛋白质的质量分数由25%增至50%而显著升高,但蛋白质的质量分数再增加至75%,蛋白酶活性并不随之增高。Lee等<sup>[10]</sup>在对南美白对虾消化蛋白酶的研究中也指出,饲料蛋白质的质量分数为30%时,试验虾的蛋白酶活性最高,大于或小于此蛋白质含量时,消化酶活性均降低。所以,蛋白酶活性因饲料蛋白质性质和水平而有差异,而这种差异可以衡量对虾蛋白质的利用率。从本试验结果来看,饲料中蛋白质的质量分数45%~50%应为中国对虾能够消化的最高阈值。超过该阈值,将由于消化系统蛋白酶活性的下降,而降低蛋白质的消化吸收率,使其不能被充分利用,导致高投入低产出的结果。

#### 3.2 饲料营养组成对淀粉酶、脂肪酶活性的影响

中国对虾淀粉酶活性随着饲料中蛋白质含量的增加(淀粉含量减少)也呈现先升高后下降的变化趋势,且低淀粉组中国对虾酶活性大于高淀粉组。饲料中淀粉的质量分数为21.6%时,肝胰腺的淀粉酶活性最高;当淀粉的质量分数为16.4%时,胃和肠的淀粉酶活性最高。说明对虾淀粉酶活性对饵料中淀粉含量的适应程度较低。这一结果与董云伟<sup>[11]</sup>报道的罗氏沼虾淀粉酶活力与饵料关系的研究结果相似。中国对虾属肉食性种类,天然状态下以文蛤、泥蚶、沙蚕等小型无脊椎动物为食,这些食物属高蛋白、低碳水化合物类,因此,在长期的生活和进化过程中获得了自身的酶系统,产生了对天然食物的适应性。国内学者<sup>[12]</sup>在对中国对虾营养需求的研究中也指出,中国对虾饲料中最适淀粉的质量分数为20%~26%,其机理可能是淀粉酶的分泌和活性制约了对高淀粉的消化和吸收。

在测定甲壳动物脂肪酶时,由于采用的方法不同,对底物选择的差异会产生不同的试验结果。Bernier和Hammond<sup>[13]</sup>发现在测试的许多无脊椎动物中,只有一半的种类具有脂肪酶活力,但全部具有酯酶活力。Lee等<sup>[14]</sup>发现南美白对虾具有酯酶和脂肪酶,但是活性很低。作者在对中国对虾消化酶活性测定时,发现有脂肪酶活性,但活力较低,且在胃和中肠各组间没有明显变化,这与饲料中脂肪的含量比较一致。

#### 3.3 中国对虾消化酶活性与饲养时间的关系

试验结果表明,在饲养周期内,前20d每组对虾消化酶活性变化幅度较大,30d以后基本趋于稳定。分析这种现象,笔者认为,投喂饲料初期,对虾体内酶活性的急剧变化与饲料改变后导致消化系统活动的应激作用有关。随着饲养时间的延长,机体内消化酶的分泌量受其神经内分泌因素的调控,与机体的新陈代谢水平逐渐相适应。Maugle<sup>[15]</sup>等证明影响消化酶分泌的外部因素,如温度、光照变化和饲料的质与量将通过神经内分泌因素控制。本试验结果说明,消化酶分泌量与活性的大小不仅与消化系统自身相关,而且与机体的整体代谢调控水平相适应。

### 3.4 饲料组成与生长、消化酶活性的相关性

据已往报道, 中国对虾饲料中最适蛋白质的质量分数为 40% ~ 50%, 最适蛋白质量的差异可能是由于不同饵料蛋白源和消化能力不同所致<sup>[1,3]</sup>。本试验表明, 当饲料中蛋白质的质量分数为 45% 时, 中国对虾生长率最大; 当蛋白质的质量分数为 50% 时, 对虾成活率最高。对消化酶活性的研究也发现, 饲料中蛋白质的质量分数为 45% 和 50% 的试验组, 中国对虾的消化酶活性最高, 可以认为这种消化能力差异将会影响营养物在体内的吸收和转化, 进而影响机体的生长速度。Van Wormhoudt<sup>[6]</sup> 证明, 锯齿长臂虾当可利用淀粉和蛋白质的质量分数分别为 2.8% 和 45% 时, 其特有淀粉酶和蛋白酶活性则达到最高水平, 而这种消化能力的提高可以促进肝胰腺一般合成能力, 同时减少蜕皮间隔时间和促进生长。本试验结果也表明了这一点。

### 参考文献:

- [1] 徐新章, 李爱杰. 中国对虾饲料中蛋白质、糖、纤维素、脂肪的适宜含量及日需量研究[J]. 海洋科学, 1986, 6: 1-6.
- [2] 任泽林, 李爱杰. 中国对虾对必需脂肪酸的营养需求[J]. 青岛海洋大学学报, 1994, 24(1): 24-32.
- [3] 梁亚全, 季文娟. 对虾不同发育阶段对饲料蛋白质的需要量[J]. 海洋水产研究, 1986, 7: 79-88.
- [4] 刘玉梅, 朱谨钊. 中国对虾幼体和仔虾消化酶活力及氨基酸组成的研究[J]. 海洋与湖沼, 1990, 22(6): 571-575.
- [5] 潘鲁青, 王克行. 中国对虾幼体消化酶活力的实验研究[J]. 水产学报, 1997, 21(1): 26.
- [6] 吴垠, 孙建明, 周遵春. 温度对中国对虾、日本对虾主要消化酶活性的影响[J]. 大连水产学院学报, 1997, 12(2): 15-21.
- [7] 中山大学生物系生化微生物教研室编. 生化技术导论[M]. 北京: 科学出版社, 1979.
- [8] 上海市医学化验所. 临床生化检验[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979. 366-368.
- [9] MUKHOPADHYAY P K. Studies on intestinal protease: Isolation, purification and effect of dietary protein on alkaline protease activity of the air-breathing fish, *Clarias batrachus* (Linn)[J]. Hydrobiologia, 1978, 57(1): 11-15.
- [10] LEE P G, SMITH L L, LAWRENCE A L. Digestive protease of *Penaeus vannamei* Boone: relationship between enzyme activity, size and diet[J]. Aquacu, 1984, 42: 225-239.
- [11] 董云伟, 牛翠娟, 杜丽. 饲料蛋白水平对罗氏沼虾生长和消化酶活性的影响[J]. 北京师范大学学报, 2001, 37(1): 96-99.
- [12] 李爱杰主编. 水产动物营养与饲料学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996. 74-75.
- [13] BERNER D L, HAMMOND E G. Phylogeny of lipase specificity[J]. Lipids, 1970, 5: 558-562.
- [14] LEE P G, LAWRENCE A L. A quantitative analysis of digestive enzymes in penaeid shrimp; influences of diet, age and species[J]. Physiologist, 1982, 25: 241-247.
- [15] MAUGLE P D, OSAMU D. Effect of microencapsulated amylase and bovine trypsin dietary supplements on growth and metabolism of shrimp[J]. Bull Japan Soc Sci Fish, 1983, 49(9): 1421-1427.
- [16] VAN WORMHOUDT A. Variation of the level of the digestive enzymes during the intermoult cycle of *Palaemon serratus*: Influence of the season and effect of eyestalk ablation[J]. Comp Biochem Physiol, 1974, 49A: 707-715.

## The effects of dietary protein levels on the growth and activities of digestive enzymes in shrimp, *Penaeus chinensis*

WU Yin<sup>1</sup>, SUN Jian-ming<sup>2</sup>, ZHOU Zun-chun<sup>2</sup>, GUI Yuan-ming<sup>1</sup>

(1. School of Life Science and Technology, Dalian Fisheries Univ., Dalian 116023, China;

2. Marine Fisheries Research Institute of Liaoning Province, Dalian 116023, China)

**Abstract:** The effects of dietary protein levels (crude protein 30% to 60%) on the growth and digestive enzyme activities in *Penaeus chinensis* were studied. The 40-day feeding experiment showed that protease and amylase activities in the shrimp increased with the increase in dietary protein levels when dietary protein levels increased from 30% to 50%, and decreased as the dietary protein level was above 50%. However, there was no significant difference in the activities of lipase among the treatments. The shrimp fed the diet containing dietary protein of 45% had the highest growth rate and the shrimp fed the diet containing dietary protein of 50% had the highest survival rate. The mechanism of influence of dietary protein levels on digestive enzymes is discussed.

**Key words:** *Penaeus chinensis*; dietary protein level; growth; digestive enzyme; digestive enzyme activity