

研究简报

长江、瓯江、辽河中华绒螯蟹消化酶的初步研究

PRELIMINARY STUDY ON DIGESTIVE ENZYMES OF MITTEN CRAB, *ERIOCHEIR SINENSIS* IN CHANGJIANG, OUJIANG AND LIAOHE RIVERS

李广丽

(湛江水产学院, 524025)

Li Guang-li

(Zhanjiang Fisheries College, 524025)

李思发

(上海水产大学, 200090)

Li Si-fa

(Shanghai Fisheries University, 200090)

关键词 中华绒螯蟹, 淀粉酶, 蛋白酶, 消化酶比活

KEYWORDS mitten crab, *Eriocheir sinensis*, amylase, proteolytic enzyme, activity of digestive enzymes

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*), 俗名河蟹, 是一种珍贵的水产品, 肉味鲜美, 营养丰富。由于对河蟹的捕捞滥放, 河蟹产量逐年下降, 资源遭受严重破坏。为了增殖这种珍贵的水产资源, 从七十年代起对河蟹进行人工放流, 除从长江口捞取蟹苗外, 着手开发辽河和瓯江的蟹苗资源, 但后两水系河蟹个体较小, 放流效益较差[徐兴川, 1991]。关于中华绒螯蟹消化生理的研究目前尚不多见。陈立侨等[1993]研究了河蟹对蛋白质和脂肪的消化能力, 但未涉及其与消化酶的关系。徐生俊等[1993]研究了河蟹肝脏、胃、肠蛋白酶活性及其最适 pH 值, 而对淀粉酶未加探讨。本文着重研究河蟹肝脏、胃、肠道蛋白酶、淀粉酶活性, 测试淀粉酶最适 pH 值, 并对长江、瓯江、辽河三水系河蟹消化酶活性进行比较, 探讨三水系河蟹的种质差异, 为进一步研究河蟹人工配合饲料, 促进养蟹业发展提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 样品制备

中华绒螯蟹于1995年10—11月间分别取自长江、瓯江和辽河, 每水系取十只, 雌雄各半, 体重范围分别为: 长江110.4—216.9 g, 瓯江38.4—66.1 g, 辽河83.2—147.3 g。活体解剖河蟹, 取肝脏、胃及肠, 以冰冻去离子水冲去胃、肠内容物。按各部分样品重量的一定倍数加入冰冻去离子水, 在匀浆器中以3000转/分速度进行匀

1995 12 18收到。

浆,后在冰冻离心机中以10,000转/分速度离心15分钟,肝脏离心两次,取上清液,4℃冰箱中保存备用,使用时稀释至一定倍数,24小时内测定完毕。

1.2 消化酶活性测定

1.2.1 蛋白酶活性测定

蛋白酶活性测定采用修改后的 Folin-酚试剂法[中山大学生物系,1978],用721型分光光度计测定680nm 波长下的光密度。

蛋白酶活性定义:在 pH7.4,底物酪蛋白浓度为2mg/ml 的条件下,37℃保温15分钟,以每分钟水解酪蛋白产生1 μg 酪氨酸作为一个活性单位。

蛋白酶比活力定义:每克蛋白每分钟的蛋白酶活性单位数(单位/克蛋白/分钟)。

1.2.2 淀粉酶活性测定

淀粉酶活性测定采用修改后的 Bernfeld[1955]方法,用721型分光光度计测定540mm 波长下的光密度。

淀粉酶活性定义:在 pH6.9,底物淀粉浓度0.1%的条件下,37℃保温30分钟,以每分钟催化分解底物产生1μg 葡萄糖为一个活性单位。

淀粉酶比活力定义:每毫克蛋白每分钟的淀粉酶活性单位数(单位/毫克蛋白/分钟)。

1.3 蛋白质含量测定

蛋白质含量采用 Folin-酚法测定。

2 结果与讨论

2.1 不同 pH 值对河蟹淀粉酶活性的影响

在 pH5.4-7.8 范围内,对长江河蟹肝脏、胃、肠内淀粉酶活性进行测定,结果(图1)表明:肝脏和胃淀粉酶活性在 pH5.8和6.9 出现两个高峰,肠淀粉酶活性则在 pH6.2和6.9 出现两个高峰,表明河蟹淀粉酶在偏酸性情况下活性最高。

据报道,大多数甲壳类动物许多消化酶的最适 pH 值通常都在 pH5-7 范围内。徐生俊等[1993]对中华绒螯蟹蛋白酶最适 pH 研究发现,河蟹蛋白酶最适 pH 为 5.4-5.8,7.2-7.6。于书坤[1987]报导中国对虾淀粉酶最适 pH 为 5-6。本实验的结果进一步证实了中华绒螯蟹消化酶最适 pH 为偏酸性。

由图1可见,若把 pH7.8 时的最小比活力定为 100%,则肝脏、胃、肠道在 pH6.9 时最大比活力分别为 138%、152%、155%,表明肝脏、胃、肠道比活力随 pH 改变而引起的变化不大,其中肠受酸碱度影响相对大一些。由此表明河蟹三种组织淀粉酶具有比较大的酸碱度适应范围。由本实验结果可知,河蟹在 pH5.8(肠在 pH6.2)时淀粉酶活性最大,结合徐生俊等的研究结果,我们认为,在配制河蟹人工配合饲料时,最好使饲料为弱酸性,以发挥淀粉酶、蛋白酶的消化能力,充分利用饲料。

2.2 中华绒螯蟹消化酶活性组织差异性

对中华绒螯蟹肝脏、胃、肠道三种组织里的蛋白酶、淀粉酶活性的测定分析表明,蛋白酶、淀粉酶比活在肝脏中最高,胃中次之,而肠道中最低(表1),这是与其生理特性分不开的。中华绒螯蟹消化系统的重要特点是

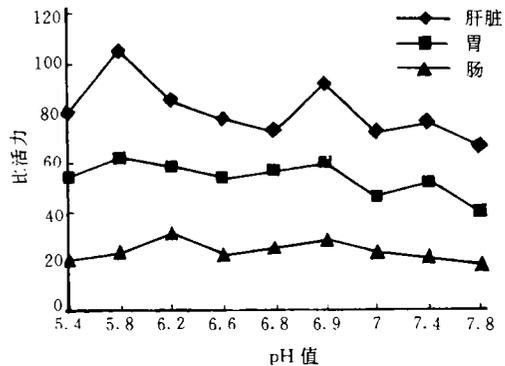


图1 河蟹肝脏、胃、肠道淀粉酶活性与 pH 关系
Fig.1 The relationship of the activities of amylase and pH in liver, stomach and intestine of mitten crab

只有一个消化腺,即肝脏,它分泌含有各种消化酶的消化液通过肝管进入中肠,再经腹滤沟进入贲门胃。因而,对河蟹而言,肝脏是最重要的消化器官。河蟹的胃比较特殊,内有构造特殊的胃磨,主要进行机械性消化,并起到将食糜与消化液混合的作用,而肠的主要作用是吸收。除了肝脏分泌的消化酶外,在胃壁和肠壁还有少量的特殊细胞是合成含有水解酶的初级溶酶体的场所,这些溶酶体起着消化与防御作用[陈炳良、堵南山,1992],但它们分泌的量是有限的,因而不论蛋白酶还是淀粉酶,它们的活性顺序均是肝脏>胃>肠,这与刘玉梅和朱谨钊[1984]在中国对虾淀粉酶、徐生俊等[1993]在河蟹蛋白酶上所得出的结论相一致。

2.3 中华绒螯蟹消化酶活性性别差异

对生殖洄游前长江、瓯江、辽河三水系河蟹肝脏消化酶活性测定的结果(表2)表明:在肝脏内,不论蛋白酶还是淀粉酶,消化酶活性雌雄间无明显差异($P>0.05$)。众所周知,河蟹在生殖洄游之前大量摄食以促进肝脏向性腺转化,而雌雄间消化酶活性无显著差异,表明雌雄个体对动物性饵料和植物性饵料的消化能力是没有差别的,亦即雌雄个体大小的差异与消化酶活性无关。

2.4 中华绒螯蟹消化酶活性水系间差异

对三水系河蟹肝脏内蛋白酶和淀粉酶活性测定的结果(表3)表明:长江、瓯江、辽河虽然在地理位置上差异很大,但三水系河蟹蛋白酶和淀粉酶比活性之间并无明显差异($P>0.05$)。

长江、瓯江、辽河三水系是中华绒螯蟹的主要产地,长江蟹具有个体大,生长快,口味品质好等优良性状,在我国和世界各地水产品市场享有盛誉,而瓯江、辽河河蟹在以上方面稍逊于江长河蟹。本实验证明,三水系河蟹在消化能力上是相同的。尽管三水系河蟹生活于不同的生态环境下,且瓯江、辽河河蟹缺少饵料资源丰富的附属湖泊作为生长环境,但由于河蟹是一种食性广泛的杂食性甲壳动物,可摄食植物、小杂鱼、虾贝类、水生昆虫和蠕虫[陈炳良等,1989],因而,当地的生态环境能基本满足其生长发育需要,所以辽河河蟹也可长到三两左右,瓯江河蟹可长到二两左右,但群体大小和亲蟹规格无疑要受到饵料资源的制约。瓯江、辽河河蟹移植到长江流域湖泊中养成后个体较小,产量较低的原因,并非由于消化能力的差异,而可能是不同水系河蟹在遗传性状上固有的差异所致。

表1 中华绒螯蟹肝脏、胃、肠消化酶活性

Tab. 1 The activities of digestive enzymes in liver, stomach and intestine of mitten crab

脏器	消化酶比活力(单位/克蛋白/分钟)	
	蛋白酶	淀粉酶
肝脏	1140±28	70.7±2.9
胃	287±7	49.0±1.6
肠	34±1	23.1±0.7

表2 中华绒螯蟹不同性别肝脏消化酶活性

Tab. 2 The activities of digestive enzymes in liver of male and female mitten crab

性别	消化酶比活力(单位/克蛋白/分钟)	
	蛋白酶	淀粉酶
♀	1139±29	71.5±0.8
♂	1115±31	71.3±1.8

表3 长江、瓯江、辽河中华绒螯蟹肝脏消化酶活性

Tab. 3 The activities of digestive enzymes in liver of mitten crab from Changjiang Oujiang and Liaohe river

水系	消化酶(单位/克蛋白/分钟)	
	蛋白酶	淀粉酶
长江	1143±28	70.7±2.9
瓯江	1143±30	70.5±3.6
辽河	1085±37	73.0±3.4

参 考 文 献

[1] 中山大学生物系生化微生物教研室,1978.生化技术导论,53.人民教育出版社(京)。
 [2] 于书坤,1987.中国对虾消化酶的研究, I. 消化酶的活力测定及性质的研究.海洋科学集刊,(28):85-91。

- [3] 刘玉梅,朱谨钊,1984.对虾消化酶的研究.海洋科学,(5):46—50。
- [4] 陈立侨等,1993.中华绒螯蟹对蛋白质和脂肪消化率的初步研究.水产养殖,(6):15—18。
- [5] 陈炳良,堵南山,1992.中华绒螯蟹幼体中肠的超微结构.海洋与湖沼,23(5):533—536。
- [6] 陈炳良等,1989.中华绒螯蟹的食性分析.水产科技情报,16(1):2—5。
- [7] 徐生俊等,1993.中华绒螯蟹胃、肠及肝、胰脏蛋白酶初探.水产科技情报,20(5):196—199。
- [8] 徐兴川,1991.关于长江水系中华绒螯蟹品质保存问题的初探.现代渔业信息,6(4):15—17,32。
- [9] Bernfeld, P., 1955. Methods in Enzymol. Academic Press, N. Y., 1—149。