

文章编号: 1674 - 5566(2011)01 - 0056 - 07

条石鲷仔稚鱼发育过程中消化酶活性的变化

尹彦强¹, 傅荣兵², 黄旭雄¹, 温文¹, 施兆鸿³, 罗海忠², 严佳琦¹

(1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 浙江省舟山市水产研究所, 浙江 舟山 316000; 3. 中国水产科学研究院 东海水产研究所, 上海 200090)

摘要: 研究了条石鲷 (*Oplegnathus fasciatus*) 从初孵仔鱼到孵化后 33 日龄稚鱼期间的胰蛋白酶、酸性蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性变化。结果显示: 条石鲷初孵仔鱼体内可检测到胰蛋白酶、酸性蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性, 但胰蛋白酶、酸性蛋白酶和淀粉酶活力均很低。9 日龄仔鱼胰蛋白酶总活力 (U/larva) 有显著升高, 并随发育的进行逐渐升高。28 日龄稚鱼酸性蛋白酶和脂肪酶的总活力有显著增大, 33 日龄稚鱼的蛋白酶和脂肪酶总活力较 28 日龄稚鱼显著增大。9 日龄仔鱼的淀粉酶总活力显著升高, 并随发育的进行逐渐增大, 但进入稚鱼期后淀粉酶活力随稚鱼生长发育而显著降低。研究表明条石鲷仔稚鱼消化酶活性与其发育阶段及食性密切相关, 在早期仔鱼阶段, 胰蛋白酶和淀粉酶是起主要消化作用的内源性消化酶。

研究亮点: 首次对条石鲷仔鱼发育过程中的消化酶变化进行了分析, 发现稚鱼阶段条石鲷的食性有向肉食性偏转的趋势, 在仔鱼开口阶段和仔鱼后期饵料转换阶段, 仔鱼消化酶活性的降低, 也是影响饵料转换阶段仔鱼较高死亡率的原因之一。

关键词: 条石鲷; 仔稚鱼; 胰蛋白酶; 酸性蛋白酶; 脂肪酶; 淀粉酶

中图分类号: S 965.3

文献标识码: A

鱼类生长发育所需要的能量主要从摄取的食物中获得, 消化酶是决定消化吸收能力强弱的重要因素^[1]。海水仔鱼消化系统发育成熟一般需要几周时间。国内外对大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*)、尖吻鲈 (*Lates calcarifer*)、尖吻重牙鲷 (*Diplodus puntazzo*)、塞内加尔鲷 (*Solea senegalensis*)、金头鲷 (*Sparus aurata*) 等海水仔稚鱼发育过程中消化酶的分泌规律已有研究^[2-6]。研究海水仔稚鱼消化酶的分泌规律有助于了解其消化系统发育程度、营养需求特点及对饵料的消化能力, 甚至可用于辅助筛选鱼类幼体最适生长条件^[7-9]。

条石鲷 (*Oplegnathus fasciatus*) 隶属于鲈形目 (Perciformes)、鲈亚目 (Percoidei)、鲈总科 (Percoidea)、石鲷科 (Oplegnathidae), 是我国重要的海产经济鱼类之一^[10]。我国已开展条石鲷人

工育苗, 但是育苗过程中, 仔鱼从内源性营养向外源性营养转变及后期仔鱼饵料品种转换时, 往往会出现幼体高死亡率现象。饵料的营养缺陷 (如高不饱和脂肪酸组成不平衡, 不能满足幼体需求) 通常被认为是造成这种现象的主要原因。但在实际生产中, 摄食鱼油强化饵料的仔鱼在特定发育阶段仍然会表现出高的死亡率。因此, 强化饵料中的营养是否能被特定发育阶段的仔鱼所消化吸收需要进一步地考证。常抗美等^[11]和柳学周等^[12]分别描述了条石鲷胚胎和仔稚鱼发育特征, 但条石鲷仔稚鱼发育过程中的消化酶活性研究尚未见报道。本文检测了条石鲷仔稚鱼发育过程中胰蛋白酶、酸性蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶的分泌水平, 以期探讨条石鲷仔稚鱼发育过程中消化特性的变化情况, 并为条石鲷仔稚鱼培育过程中优化饵料转换策略提供理论依据。

收稿日期: 2010-04-18 修回日期: 2010-09-14

基金项目: 上海市重点学科建设项目 (Y1101); 浙江省重大科技专项重点项目 (2006C12005-2); 浙江省海洋与渔业局水产种子种苗项目 (200813215); 浙江省舟山市科技局重点攻关项目 (07337)

作者简介: 尹彦强 (1984-), 男, 硕士研究生, 专业方向为水产动物营养与饵料研究。E-mail: yinyan-qiang@163.com

通讯作者: 黄旭雄, Tel: 021-61900463, E-mail: xxhuang@shou.edu.cn

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验所用条石鲷仔稚鱼取自浙江省舟山市水产研究所养殖基地。条石鲷受精卵经孵化后获得初孵仔鱼,并在室内育苗池中进行培育。仔稚鱼培育期间,水温 21.4 ~ 22.8 °C,盐度 28 ~ 31,pH 为 8.0 ~ 8.4,每天加水或换水保持水质优良。鱼苗培育过程中饵料投喂组合如下:轮虫(3 ~ 17 日龄)、卤虫(15 ~ 30 日龄)、配合饲料(冰冻桡足类混合鳗鱼料)(29 日龄之后)。

鱼苗培养期间每天取样观察仔稚鱼的生长发育,并分别采集初孵仔鱼以及孵化后第 1、2、3、4、6、9、13、17 d 仔鱼及第 28、33 d 稚鱼,仔鱼期每 200 尾作为一个样品,稚鱼期每 30 尾为一个样品,每次采样设 3 个平行。每次采样时间设定为凌晨投饵前,以确保所采集幼体的消化道中没有食物。采集的样品用蒸馏水漂洗干净,吸取多余水份后,立即放入 -80 °C 冰箱冷冻保存待测。同时从培育池中另取样测定鱼苗全长。鱼苗培育期间生长和投饵策略见图 1。

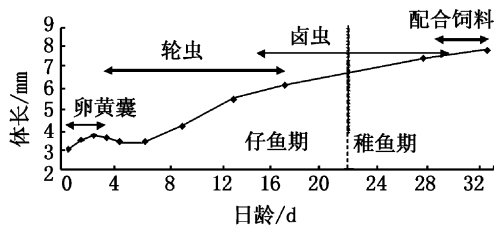


图 1 条石鲷仔稚鱼生长曲线和饵料投喂策略
Fig.1 Growth curve and feeding schedule on *Oplegnathus fasciatus*

1.2 样品分析

28 日龄前的鱼苗整体匀浆,第 28、33 日龄鱼苗参照吴仁协等^[13]的方法剪取胰腺部和肠部匀浆。样品中加入 2.5 mL 冰冷双蒸水,用电动匀浆器在冰水浴中 1 000 r/min 匀浆 5 min,匀浆液在 4 °C,10 000 r/min,离心 30 min,取上清液进行各消化酶的测定。

蛋白酶的测定采用福林-酚试剂法,参照刘玉梅^[14]的方法。酸性蛋白酶测定时采用 pH = 3.0 的柠檬酸缓冲液,胰蛋白酶测定时采用 pH = 10.0 的硼砂-氢氧化钠缓冲液。蛋白酶定义为在 37 °C 下,每毫升酶液每分钟水解酪蛋白生成 1 μg 酪氨酸为一个酶活力单位。

淀粉酶的测定采用淀粉-碘比色法^[15]。定义为在 37 °C 下,每毫升酶液 30 min 内完全水解 10 mg 淀粉为一个淀粉酶活力。

脂肪酶采用南京建成试剂盒检测。定义为在 37 °C 条件下,每毫升酶液在反应体系中与底物反应 1 min,每消耗 1 mmol 底物为一个酶活力单位。

为方便衡量幼体发育过程中各消化酶变化特点,各种酶活性均采用总活力(U/尾)表示。总活力是指每尾鱼体中所含有的酶活力单位数。各消化酶测定均设 3 个平行。

1.3 数据分析

实验数据采用平均值 ± 标准差表示,并用 SPSS 11.0 统计软件对结果数据进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果

在水温 21.4 ~ 22.8 °C 下,条石鲷初孵仔鱼在孵化后 3 日龄时绝大部分个体消化道打通,并开始摄食轮虫。5 日龄时仔鱼卵黄囊基本消失,肠道出现弯曲,运动能力明显增强。22 日龄时鳍条发育完整,鳞片开始形成,由仔鱼期转入稚鱼期。

2.1 不同发育阶段条石鲷仔稚鱼胰蛋白酶活性

条石鲷仔稚鱼发育过程中,胰蛋白酶的活性总体上随生长发育而增大。开口前的初孵仔鱼体内几乎检测到不到胰蛋白酶活力。孵化后第 3 天,胰蛋白酶总活力略有上升,但差异仍不显著。而 4 ~ 6 日龄仔鱼及 13 日龄仔鱼的胰蛋白酶总活力较前后的发育日龄略低。进入稚鱼期后,胰蛋白酶总活力显著提高,试验期间胰蛋白酶总活力最大值出现在孵化后第 33 天稚鱼(图 2)。

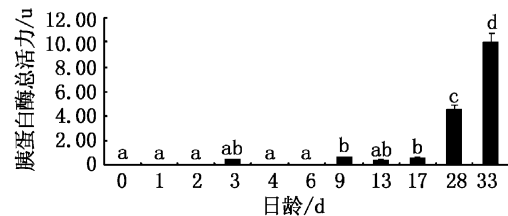


图 2 不同发育阶段条石鲷仔稚鱼胰蛋白酶活性变化
Fig.2 The variations of trypsinase activity during the development of *Oplegnathus fasciatus* larvae

图上所标不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),以下各图同。

2.2 不同发育阶段条石鲷仔稚鱼酸性蛋白酶活性

条石鲷初孵仔鱼即可检测到酸性蛋白酶活性,但随后降低,至4日龄后略有升高。孵化17日龄之前仔鱼体内的酸性蛋白酶总活力始终处于较低水平,且无显著性变化。进入稚鱼期后,酸性蛋白酶总活力才显著升高。且33日龄稚鱼的酸性蛋白酶总活力显著高于28日龄稚鱼的酸性蛋白酶总活力(图3)。

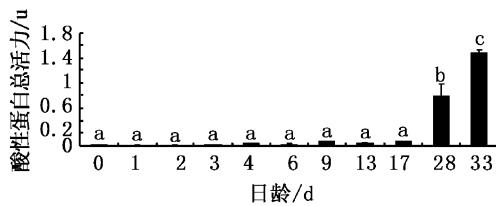


图3 不同发育阶段条石鲷仔稚鱼酸性蛋白酶活性变化

Fig. 3 The variations of acid protease activity during the development of *Oplegnathus fasciatus* larvae

2.3 不同发育阶段条石鲷仔稚鱼淀粉酶活性

在仔鱼阶段,条石鲷的淀粉酶总活力随个体生长发育而逐步增强,6日龄和13日龄仔鱼的淀粉酶活性分别较其前后日龄的仔鱼的淀粉酶活性低。进入稚鱼期后,33日龄稚鱼的淀粉酶总活力显著低于28日龄稚鱼的淀粉酶活力(图4)。

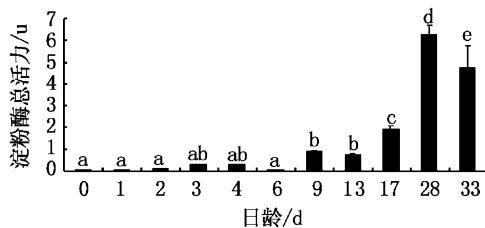


图4 不同发育阶段条石鲷仔稚鱼淀粉酶活性变化
Fig. 4 The variations of amylase activity during the development of *Oplegnathus fasciatus* larvae

2.4 不同发育阶段条石鲷仔稚鱼脂肪酶活性

条石鲷脂肪酶总活力变化趋势同酸性蛋白酶总活力变化趋势相似。在整个仔鱼阶段,脂肪酶总活力始终处于较低水平,没有显著性变化,28日龄稚鱼的脂肪酶活性较仔鱼期显著升高。33日龄稚鱼脂肪酶总活力显著高于28日龄的稚鱼脂肪酶总活力(图5)。

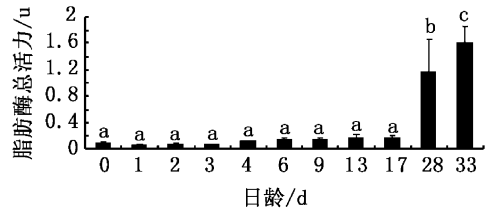
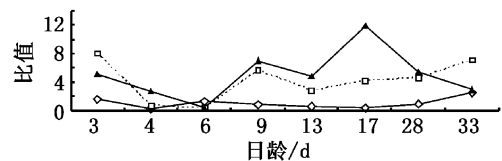


图5 不同发育阶段条石鲷仔稚鱼脂肪酶活性变化
Fig. 5 The variations of lipase activity during the development of *Oplegnathus fasciatus* larvae

2.5 不同发育阶段条石鲷仔稚鱼各种消化酶的相对变化

图6所示为不同发育阶段条石鲷仔稚鱼体内各种消化酶的相对变化。从图中可知,仔鱼阶段,蛋白酶/脂肪酶和淀粉酶/脂肪酶的比值相对较大(除4、6日龄仔鱼外),而蛋白酶/淀粉酶的比值相对较小。进入稚鱼后,蛋白酶/脂肪酶和蛋白酶/淀粉酶的比值上升,而淀粉酶/脂肪酶的比值下降。



—○— 蛋白酶/淀粉酶 —□— 蛋白酶/脂肪酶 —▲— 淀粉酶/脂肪酶

图6 不同发育阶段条石鲷仔稚鱼消化酶活性相对变化

Fig. 6 The relative variations of digestive enzyme activities during the development of *Oplegnathus fasciatus* larvae

3 讨论

鱼类的消化是指依靠胃、胰脏、肠道等消化器官分泌的不同类型的酶,将蛋白酶、脂肪、淀粉等大分子物质酶解成氨基酸、脂肪酸、单糖等简单的物质,从而便于吸收及运输^[16]。初孵仔鱼消化系统的分化程度因种而异,一般由粘性卵(如鲤鱼的卵)孵化的仔鱼初孵时消化系统已大致形成;而大多数海水浮性卵(如黑鲷的卵)孵化的仔鱼在孵化时消化系统几乎没有分化。条石鲷属于典型的产浮性卵的海水鱼,其初孵仔鱼阶段的消化系统尚处于发育的雏形。

仔稚鱼生长过程中,消化系统的发育主要分为3个步骤:首先是胰腺分泌功能的成熟,接着

是肠道的成熟,第三步是胃分泌功能的形成^[1]。海水鱼类胰腺器官一般在初孵仔鱼体内就可发现,而其外分泌腺细胞一般在开口后才开始分化,分泌管道雏形此时也开始形成,相应可检测到胰蛋白酶活性^[17-18]。

成鱼消化酶活性的检测通常只取其消化道匀浆后测定,并采用比活力(U/mg prot.)的方式进行比较。而在仔鱼阶段因个体较小,消化酶的测定通常采用整体匀浆后测定^[1-6]。随着仔稚鱼的发育,鱼体组织蛋白会有很大的增加,因此在比较不同发育阶段仔稚鱼整体匀浆测定消化酶活性变化时采用比活力(U/mg prot.)形式并不是一种合理的选择。因此,本研究中幼体的消化酶活性采用总活力(U/larva)形式表述。

条石鲷孵化之后就能检测到胰蛋白酶,开口之后活力略有上升,说明条石鲷在依靠内源性营养的时候就具有一定的消化酶分泌能力,同时也说明消化酶最初分泌不是由摄食所诱导的,而是受基因表达控制的^[19-20]。3日龄时,胰蛋白酶总活力上升明显,表明胰蛋白酶对于开口仔鱼存活的重要性,这与对眼斑拟石首鱼(*Sciaenops ocellatus*)的研究相似^[21]。在卵黄囊仔鱼阶段,鱼苗发育所需能量主要来自蛋白质和氨基酸,因此蛋白酶活力在该阶段显得格外重要^[22]。不同海水鱼类胰蛋白酶最早出现时间不一致,如塞内加尔鲷^[23]在孵化后第二天就检测到酶的活力,而舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)^[24]直到孵化后第5天才检测到胰蛋白酶活力。胰蛋白酶在不同鱼类幼体中出现时间的不同与鱼苗的种类及鱼苗培育的环境条件(光照、盐度、pH等)有关^[4]。而3日龄开口仔鱼胰蛋白酶总活力明显升高,还与饵料刺激消化酶分泌有关。

海水鱼类消化酶活性在由内源性营养向外源性营养转换时,往往发生一定的变化。条石鲷仔鱼在4日及6日龄时,胰蛋白酶活力较3日龄时降低,推测与该时期仔鱼由内源性营养向外源性营养转化有关,营养供给方式的转换导致该阶段仔鱼消化能力降低。生产上4~6日龄往往也是仔鱼第一个死亡高峰期。对塞内加尔鲷^[25]、大菱鲆^[2]、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)^[26]以及尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[27]的研究也发现此种趋势。9日龄后,胰蛋白酶总活力显著升高,此后一直处于较高的酶活力水平,与此相应的是仔

鱼成活率提高。

进入稚鱼期后,随着消化系统的发育逐渐成熟,胰蛋白酶总活力显著升高。胰蛋白酶的分泌量受胆囊收缩素分泌水平影响,而胆囊收缩素又受饲料中蛋白水平和肽链长度的影响,在适宜蛋白范围之内,随着蛋白含量的增加,胰蛋白酶的分泌量会升高,一般仔稚鱼饵料中最适蛋白含量为50%~60%^[28]。条石鲷在稚鱼阶段饵料由卤虫转为冰冻挠足类和配合饲料,饲料中蛋白含量相应提高了,从而胰蛋白酶的分泌量也会增加。

条石鲷仔鱼阶段,体内酸性蛋白酶总活力一直处于较低水平,28日龄稚鱼期,酸性蛋白酶的总活力显著提高,酸性蛋白酶除了胃蛋白酶外,还包括体内的其他一些酶,如溶酶体中的一些酶^[29]。从仔稚鱼消化器官的发育规律看,稚鱼期条石鲷胃腺发育逐渐完善,胃腺已经具有分泌酸性蛋白酶的能力。因此稚鱼期胃的消化功能和胃蛋白酶的消化作用得到加强。目前酸性蛋白酶活性也用来作为一个划分仔稚鱼发育阶段的指标^[28]。有文献报道,瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)^[30],眼斑拟石首鱼^[21]直到22日龄才检测到酸性蛋白酶活性,而海水性鱼类胃腺成熟一般在孵化后25d左右^[9]。

开口前的条石鲷仔鱼,就可以检测到低的淀粉酶活力,表明淀粉酶的最初分泌不是受食物刺激诱导的,而是由发育过程中基因的程序表达所调解。同样的现象在其他海水鱼中也有报道^[6,9,31]。3日龄开口之后,条石鲷体内淀粉酶比活力显著增加,这与RIBEIRO等^[5]对塞内加尔鲷的研究相似。而对细点牙鲷(*Dentex dentex*)^[1]、鳊鱼(*Parabramis pekinensis*)^[32]的研究却发现,孵化后第一天淀粉酶比活性水平就较高。这种差异或许与鱼的种类及食性倾向有关。当内源性营养消耗完全后,6日龄仔鱼淀粉酶活力又降到一个极低值点,这与营养转化不适应、体内淀粉酶mRNA转录水平下降有关^[33-34]。而稚鱼期,33日龄淀粉酶活力显著低于28日龄,这是与条石鲷成鱼偏肉食性摄食习惯有关,同时也反应了鱼类在不同发育阶段不同的营养需求^[35]。

早期仔鱼体内存在两种脂肪酶,即脂酶和磷脂酶A₂。在卵黄囊仔鱼阶段,主要依靠磷脂酶A₂来消化脂肪,而开始摄食外源性营养之后,就主要依靠脂酶起到消化脂肪的作用,脂酶的活性

与饵料中脂肪含量有很大关系^[36]。近期有学者研究发现脂肪酶的分泌受脂肪类型的调节,如碳链的长度以及饱和度的影响,而不是脂肪含量的调节,与甘油三酯比起来,仔稚鱼更容易利用磷脂^[28,37-38]。此外,研究还表明,仔鱼的肠上皮在摄食后会出现脂肪粒子,表明仔鱼对食物中的部分脂肪有一定的直接吸收能力^[39]。进入稚鱼期,条石鲷对脂肪的消化能力才显著提高。

海水仔稚鱼发育过程中,存在3个死亡高峰期,分别是仔鱼前期的开口阶段、仔鱼后期的饵料转换阶段和稚鱼期的鳞片生长阶段^[40],条石鲷在这3个阶段也存在死亡率较高的现象。本实验发现在仔鱼开口阶段和仔鱼后期饵料转换阶段,条石鲷体内的主要消化酶活性往往都呈下降趋势,因此,消化酶活性的降低,也是影响饵料转换阶段仔鱼较高死亡率的原因之一。

从条石鲷仔稚鱼不同发育阶段各消化酶活力的相对比值可以看出,进入稚鱼后,蛋白酶/脂肪酶和蛋白酶/淀粉酶的比值上升,而淀粉酶/脂肪酶的比值下降。表明稚鱼阶段条石鲷的食性有向肉食性偏转的趋势。

参考文献:

- [1] GIBBERT E, GIMÉNEZ G, FERNÁNDEZ I, *et al.* Development of digestive enzymes in common dentex *Dentex dentex* during early ontogeny[J]. *Aquaculture*, 2009, 287(3-4): 381-387.
- [2] 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[J]. *中国海洋大学学报*, 2005, 35(3): 483-486.
- [3] WALFORD J, LAM T J. Development of digestive tract and proteolytic enzyme activity in seabass (*Lates calcarifer*) larvae and juveniles[J]. *Aquaculture*, 1993, 109(2): 187-205.
- [4] CÜNEYT S, SEVİM A, DENİZ C, *et al.* Digestive enzyme activities in larvae of sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2007, 148(2): 470-477.
- [5] RIBEIRO L, ZAMBONINO-INFANTE J L, CAHU C, *et al.* Development of digestive enzymes in larvae of *Solea senegalensis*, Kaup 1858[J]. *Aquaculture*, 1999, 179(1-4): 465-473.
- [6] MOYANO F J, DIAZ M, ALARCON F J, *et al.* Characterisation of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*) [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1996, 15(2): 121-130.
- [7] UEBERSCHÄR B. The use of tryptic enzyme activity measurement as a nutritional condition index: laboratory calibration data and field application [J]. *ICES Marine Science Symposia*, 1995, 201(2): 119-129.
- [8] DIAZ M, MOYANO F J, GARCIA-CARRENO F L, *et al.* Substrate SDS-PAGE determination of protease activity through larval development in sea bream [J]. *Aquaculture International*, 1997, 5(5): 461-471.
- [9] ZAMBONINO I J L, CAHU C L. Ontogeny of the gas-trointestinal tract of marine fish larvae[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2001, 130(4): 477-487.
- [10] 朱元鼎. 东海鱼类志[M]. 北京: 科学出版社, 1963: 350-352.
- [11] 柳学周, 徐永江, 王妍妍, 等. 条石鲷的早期生长发育特征[J]. *动物学报*, 2008, 54(2): 332-341.
- [12] 常抗美, 毛建平, 吴剑锋, 等. 条石鲷胚胎及仔稚鱼的发育[J]. *上海水产大学学报*, 2005, 14(4): 401-405.
- [13] 吴仁协, 洪万树, 张其永, 等. 大弹涂鱼仔稚鱼和早期幼鱼的消化酶活性[J]. *水产学报*, 2006, 30(6): 733-739.
- [14] 刘玉梅. 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*, 1991, 22(6): 571-575.
- [15] 中山大学生物系生化微生物教研室. 生化技术导论[M]. 北京: 科学出版社, 1979: 57-59.
- [16] 楼允东. 组织胚胎学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999: 95-113.
- [17] BECCARIA C, DIAZ J P, CONNES R, *et al.* Organogenesis of the exocrine pancreas in the sea bass *Dicentrarchus labrax*, reared extensively and intensively [J]. *Aquaculture*, 1991, 99(3-4): 339-354.
- [18] KOLKOVSKI S. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles-implications and applications to formulated diets [J]. *Aquaculture*, 2001, 200(1-2): 181-201.
- [19] MUNILLA-MORAN R, STARK J R, BARBOUR A. The role of exogenous enzymes in digestion in cultured turbot *Scophthalmus maximus* larvae [J]. *Aquaculture*, 1990, 88(3-4): 337-350.
- [20] BUDDINGTON R K, DIAMOND J M. Ontogenic development of intestinal nutrients transporters [J]. *Annual Review of Physiology*, 1989, 51: 601-619.
- [21] LAZO J P, MENDOZA R, HOLT G J, *et al.* Characterization of digestive enzymes during larval development of red drum (*Sciaenops ocellatus*) [J]. *Aquaculture*, 2007, 265(1-4): 194-205.
- [22] MOURENTE G, RODRÍGUEZ A, GRAU A, *et al.* Utilization of lipids by *Dentex dentex* L. (Osteichthyes, Sparidae) larvae during lecithotrophy and subsequent starvation [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1999, 21(1): 45-58.
- [23] MARTÍNEZ I, MOYANO F J, FERNÁNDEZ-DIAZ C, *et al.* Digestive enzyme activity during larval development of the Senegal sole (*Solea senegalensis*) [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1999, 21(4): 317-323.
- [24] ZAMBONINO INFANTE J L, CAHU C. Development and response to a diet change of some digestive enzymes in sea

- bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1994, 12(5): 399-408.
- [25] RIBEIRO L, SARASQUETE C, DINIS M T. Histological and histo-chemical development of the digestive system of *Solea senegalensis* larvae[J]. *Aquaculture*, 1999, 191(3-4): 293-308.
- [26] TANAKA M, KAWAI S, SEIKAI T, *et al.* Development of the digestive organ system in Japanese flounder in relation to metamorphosis and settlement[J]. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 1996, 28(1-2): 19-31.
- [27] DROSSOU A, UEBERSCHÄR B, ROSENTHAL H, *et al.* Ontogenetic development of the proteolytic digestion activities in larvae of *Oreochromis niloticus* fed with different diets[J]. *Aquaculture*, 2006, 256(1-4): 479-488.
- [28] ZAMBONINO INFANTE J L, CAHU C L. Dietary modulation of some digestive enzymes and metabolic processes in developing marine fish: applications to diet formulation[J]. *Aquaculture*, 2007, 268(1-4): 98-105.
- [29] PEREZ-CASANOVA J C, MURRAY H M, GALLANT J W. Development of the digestive capacity in larvae of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*) [J]. *Aquaculture*, 2006, 251(2-4): 377-401.
- [30] 李芹, 龙勇, 屈波, 等. 瓦氏黄颡鱼仔稚鱼发育过程中消化酶活性变化研究[J]. *中国水产科学*, 2008, 15(1): 73-78.
- [31] PÉRES A, ZAMBONINO INFANTE J L, CAHU C. Dietary regulation of activities and mRNA levels of trypsin and amylase in sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1998, 19(2): 145-152.
- [32] CARA J B, MOYNAO F J, CÁRDNAS S, *et al.* Assessment of digestive enzyme activities during larval development of white bream[J]. *Journal of Fish Biology*, 2003, 63(1): 48-58.
- [33] DOUGLAS S E, MANDLA S, GALLANT J W. Molecular analysis of the amylase gene and its expression during the development in the winter flounder, *Pleuronectes americanus* [J]. *Aquaculture*, 2000, 190(3-4): 247-260.
- [34] MA P, SIVALOGANATHAN B, REDDY P K, *et al.* Ontogeny of α -amylase gene expression in sea bass larvae (*Lates calcarifer*) [J]. *Marine Biotechnology*, 2001, 3(5): 463-469.
- [35] WATANBE Y, SAWADA N. Larval development of digestive organs and intestinal absorptive functions in the freshwater goby *Chaenogobius annularis* [J]. *Bulletin of Tohoku Regional Fisheries Research Laboratory*, 1985, 47: 1-10.
- [36] OOXEKI Y, BAILY K M. Ontogenetic development of digestive enzyme activities in larval walleye pollock, *Theragra chalcogramma* [J]. *Marine Biology*, 1995, 122(2): 177-186.
- [37] CAHU C L, ZAMBONINO INFANTE J L, BARBOSA V. Effect of dietary phospholipid level and phospholipid: neutral lipid value on the development of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae fed a compound diet [J]. *British Journal of Nutrition*, 2003, 90: 21-28.
- [38] MORAIS S, CAHU C, ZAMBONINO INFANTE J L, *et al.* Dietary TAG source and level affect performance and lipase expression in larval Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. *Lipids*, 2004, 39(5): 449-458.
- [39] 日本水产学会. 稚鱼的摄饵和发育[M]. 蔡完其, 李思发, 译. 上海: 上海科学技术出版社, 1979: 1-14.
- [40] 朱振乐. 大黄鱼人工育苗技术[J]. *上海水产大学学报*, 2000, 9(2): 163-165.

The variations of digestive enzyme activities during the development of *Oplegnathus fasciatus* larvae

YIN Yan-qiang¹, FU Rong-bing², HUANG Xu-xiong¹, WEN Wen¹, SHI Zhao-hong³, LUO Hai-zhong², YAN Jia-qi¹

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Fisheries Institute of Zhoushan City, Zhejiang Province, Zhoushan 316000, China; 3. East China Sea Fisheries Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China)

Abstract: This paper investigated the trypsinase, acid protease, amylase and lipase activities of the *Oplegnathus fasciatus* larvae cultured in indoor pond from hatching to post hatching day (phd) 33rd. The results indicated that trypsinase, acid protease, amylase and lipase could be detected in newly hatched larvae, although the activities of trypsinase, acid protease and amylase were very low. The total activity of trypsinase (U/larva) of the larvae increased significantly on phd 9th and increased gradually with the development. The total activities of acid prolease and lipase of the larvae increased significantly on phd 28th. The total activities of acid prolease and lipase of the larvae on phd 33rd were significant higher than those on phd 28th respectively. The total activity of amylase of the larvae increased significantly on phd 9th and also increased gradually with the development. While the larvae developed at juvenile stage (> phd 22nd), the total activity of amylase decreased significantly with the development. It is suggested that the activities of digestive enzyme of the *Oplegnathus fasciatus* larvae closely correspond to the development stage and feeding habit. The trypsinase and amylase were the very important endogenous enzymes at the early stage of the larva development.

Key words: *Oplegnathus fasciatus*; larvae; trypsinase; acid protease; amylase; lipase