

网络出版时间:2014-09-10 18:19

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.10.053

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.10.053.html>

温度和 pH 对黄金鲈消化酶活力的影响

杨 姘¹, 邢秀苹¹, 黄 权¹, 吴莉芳¹, 杨欢欢², 王洪鹤¹

(1 吉林农业大学 动物科技学院, 吉林 长春 130118; 2 厦门利洋水产科技有限公司, 福建 厦门 361012)

[摘 要] 【目的】研究温度和 pH 对黄金鲈消化酶活力的影响。【方法】采用酶学分析方法, 研究不同温度和 pH 对黄金鲈蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活力的影响。其中, 蛋白酶采用福林-酚法测定, 淀粉酶和脂肪酶分别采用淀粉酶试剂盒和脂肪酶试剂盒测定。【结果】在设定的温度和 pH 范围内, 黄金鲈各组织器官消化酶的活力均随着温度和 pH 的升高呈先升高后下降的变化趋势。其中, 胃和肝脏蛋白酶的最适温度为 40 ℃, 前肠、中肠和幽门盲囊蛋白酶的最适温度均为 50 ℃; 胃、中肠、肝脏淀粉酶的最适温度均为 35 ℃, 前肠和幽门盲囊的淀粉酶最适温度为 30 ℃; 各组织器官脂肪酶活力最适温度均为 40 ℃。黄金鲈胃、幽门盲囊、前肠、中肠和肝脏蛋白酶的最适 pH 分别为 2.5, 8.0, 9.0, 9.0 和 6.0, 淀粉酶的最适 pH 分别为 6.0, 6.0, 7.0, 7.0 和 6.0, 脂肪酶的最适 pH 分别为 6.0, 7.0, 7.0, 7.0 和 7.0。黄金鲈不同组织器官的消化酶活力不同。在最适温度下, 不同组织器官蛋白酶活力顺序为幽门盲囊>前肠>胃>中肠>肝脏, 淀粉酶的活力顺序为肝脏>前肠>中肠>幽门盲囊>胃, 脂肪酶的活力顺序为肝脏>胃>前肠>幽门盲囊>中肠。【结论】黄金鲈消化酶活力的最适温度均高于其生长的最适水温。胃蛋白酶在强酸性时活力较高, 肝脏蛋白酶活力在偏酸性条件下较高, 肠道和幽门盲囊蛋白酶活力在偏碱性时较高; 淀粉酶活力在中性偏酸性时较高; 脂肪酶在中性时活力较高。

[关键词] 黄金鲈; 消化酶活力; 温度; pH

[中图分类号] S965.211

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2014)10-0001-06

Effects of temperature and pH on activities of digestive enzymes in *Perca flavescens*

YANG Hua¹, XING Xiu-ping¹, HUANG Quan¹, WU Li-fang¹,
YANG Huan-huan², WANG Hong-he¹

(1 College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China;

2 Liyang Aquatic Technology Company Limited, Xiamen, Fujian 361012, China)

Abstract: 【Objective】The aim of the present study was to investigate the effects of temperature and pH on digestive enzymes of *Perca flavescens*. 【Method】Effects of temperature and pH on digestive enzymes of *Perca flavescens* were studied using enzymatic analysis methods. Forint phenol method was used to determine protease, while amylase and lipase were measured with amylase kit and lipase kit, respectively. 【Result】The activities of all digestive enzymes in each digestive organ of *Perca flavescens* increased at first and then decreased with the increase of temperature and pH within the designed ranges. In stomach and liver, the optimal temperature for protease was 40 ℃, whereas it was 50 ℃ in anterior intestine, middle intestine and pyloric caeca. The optimum temperature for amylase in stomach, middle intestine and liver was 35 ℃, while was 30 ℃ in other organs. The optimum temperature for lipase in different digestive or-

[收稿日期] 2013-07-08

[基金项目] 吉林省科技厅发展计划项目(20110233)

[作者简介] 杨 姘(1990—), 女, 黑龙江七台河人, 在读硕士, 主要从事水产动物营养与饲料科学研究。E-mail: yh5079@yeah.net

[通信作者] 吴莉芳(1970—), 女, 吉林农安人, 教授, 博士, 主要从事水产动物营养与饲料科学研究。E-mail: wulifang2915@126.com

gans of *Perca flavescens* was 40 °C. The optimum pH for protease in stomach, pyloric caeca, anterior intestine, middle intestine and liver were 2.5, 8.0, 9.0, 9.0 and 6.0, respectively. The optimum pH for amylase in stomach, pyloric caeca, anterior intestine, middle intestine and liver were 6.0, 6.0, 7.0, 7.0 and 6.0, respectively. The optimum pH for lipase in stomach was 6.0 while in others were 7.0. The activities of digestive enzymes in *Perca flavescens* had organ specificity. Under optimum temperature, the activity of protease in different organs was in the order of pyloric caeca > anterior intestine > stomach > middle intestine > liver, the activity of amylase was in the order of liver > anterior intestine > middle intestine > pyloric caeca > stomach, and the activity of lipase was in the order of liver > stomach > anterior intestine > pyloric caeca > middle. 【Conclusion】 The optimum temperature for digestive enzymes of *Perca flavescens* was higher than its optimum growth temperature. Pepsin activity was higher in strong acidic conditions, liver protease activity was higher in acidic conditions, and intestinal and pyloric caeca protease activity was higher in alkaline conditions. Amylase activity was higher in slightly acidic conditions and the activity of lipase was higher in neutral conditions.

Key words: *Perca flavescens*; activity of digestive enzymes; temperature; pH

消化酶是由消化系统和消化腺分泌的起营养和消化作用的酶类。鱼类的消化酶按照种类可以分为蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶 3 种。影响鱼类消化酶活力的因素很多,主要包括食性、生长阶段、外界环境等,其中外界环境主要包括温度、盐度、pH 等。随着鱼类营养生理学、消化生理学以及渔业生产的发展,对鱼类消化酶的研究已经有了大量的报道,国内外学者先后对大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)^[1]、黑鲡(*Miichthys miiuy*)^[2]、月鳢(*Channa asiatica*)^[3]、美国红鱼(*Sciaenops ocellatus*)^[4]、金枪鱼(*Thunnus albacores*)^[5]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)和鲫鱼(*Carassius cuvieri*)^[6]等鱼类消化酶活力的最适温度、pH 或消化酶活力的分布特点等进行了研究。黄金鲈(*Perca flavescens*)又名丝绸鲈,属于鲈形目(Perciformes)鲈科(Perch),是美国最著名的温、冷水性淡水游钓鱼类之一。它不仅体形优美,而且具有肉质细嫩、味道鲜美、生长速度快、适温范围广、适应性强、病害少、商品价值高等特点,是池塘、网箱、工业化等养殖的主要对象,也是广大养殖户的理想养殖品种之一,具有广阔的养殖发展前景。目前对于黄金鲈的研究主要集中在人工繁殖、苗种培育、成鱼养殖等方面,而对其消化酶活力的研究尚未见系统报道。本试验以黄金鲈为对象,研究不同温度、pH 条件下黄金鲈胃、前肠、中肠、肝脏和幽门盲囊 5 个不同组织部位中蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活力的变化及分布特性,确定消化道不同部位消化酶活力的最适温度及 pH,以丰富鱼类消化生理的基础研究,同时为相关配合饲料的研制提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所用黄金鲈购自江苏省镇江市扬中市娱乐园,鱼体健康、无病无伤,平均体长为(18.96±0.19) cm,平均体质量为(142.29±4.31) g,试验鱼购回后在实验室鱼缸中暂养。

1.2 仪器设备与主要试剂

主要仪器包括 722N 分光光度计(YK1204837)、高速低温冷冻离心机(Eppendorf,德国)、恒温水浴锅(DK-98-11A)、玻璃匀浆器、比色皿、pH 测定仪。

主要试剂有福林酚试剂、酪氨酸、酪蛋白、无水碳酸钠、氢氧化钠、氯化钠、三氯乙酸、盐酸、淀粉酶试剂盒、脂肪酶试剂盒、醋酸-醋酸钠缓冲液、磷酸盐缓冲液和甘氨酸-氢氧化钠缓冲液。

1.3 消化酶粗提液的制备

随机取黄金鲈 10 尾,置于冰盘上活体解剖,解剖后取出肝脏、胃、幽门盲囊和肠道组织,剔除内容物、表面脂肪及肠系膜,用去离子水冲洗干净,在 4 °C 条件下用剪刀剪碎,称其质量。按质量(g):体积(mL)=1:9 的比例加入生理盐水,冰水浴条件下机械匀浆,将组织悬液在低温下 5 000 r/min 离心 10 min,所得上清液即为酶粗提液。

1.4 不同温度和 pH 条件下消化酶活力的测定

用恒温水浴锅控制反应温度,反应温度设置在 20~55 °C,每 5 °C 为一个梯度,共 8 个温度梯度,于 pH 为 7.5 的条件下测定各温度下的酶活力(胃蛋白酶 pH 设置在 2.5),每个温度梯度做 3 个重复,结

果取平均值。

本试验将蛋白酶 pH 设置在 5.0~10.0,淀粉酶 pH 设置在 4.0~9.0,脂肪酶 pH 设置在 5.0~9.0,每 1.0 为一个梯度,其中胃蛋白酶的 pH 范围设置在 2.0~4.0,每 0.5 为一个梯度,共 5 个梯度。在温度为(37±1)℃条件下,测定不同 pH 下消化酶的活力。每个梯度下 3 个重复,结果取平均值。

蛋白酶活力采用福林-酚法测定,淀粉酶、脂肪酶活力分别采用淀粉酶试剂盒、脂肪酶试剂盒(均购自南京建成科技有限公司)测定。蛋白酶单位定义:在 37℃条件下,每 min 每克水解酪素产生 1 μg 酪氨酸为一个酶活力单位(U);淀粉酶单位定义:在 37℃条件下,每毫克蛋白与底物反应 30 min,水解 10

mg 淀粉为一个酶活力单位(U);脂肪酶单位定义:在 37℃条件下,每克组织蛋白与底物反应 1 min,每消耗 1 μmol 底物为一个酶活力单位(U)。

1.5 数据分析与处理

数据采用 SPSS(17.0)软件中的 Linear Mode 模块进行方差分析,若方差分析显著,进一步进行 LSD 和 Duncan’s 多重比较。

2 结果与分析

2.1 温度对黄金鲈蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶活力的影响

温度对黄金鲈蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶活力的影响见图 1。

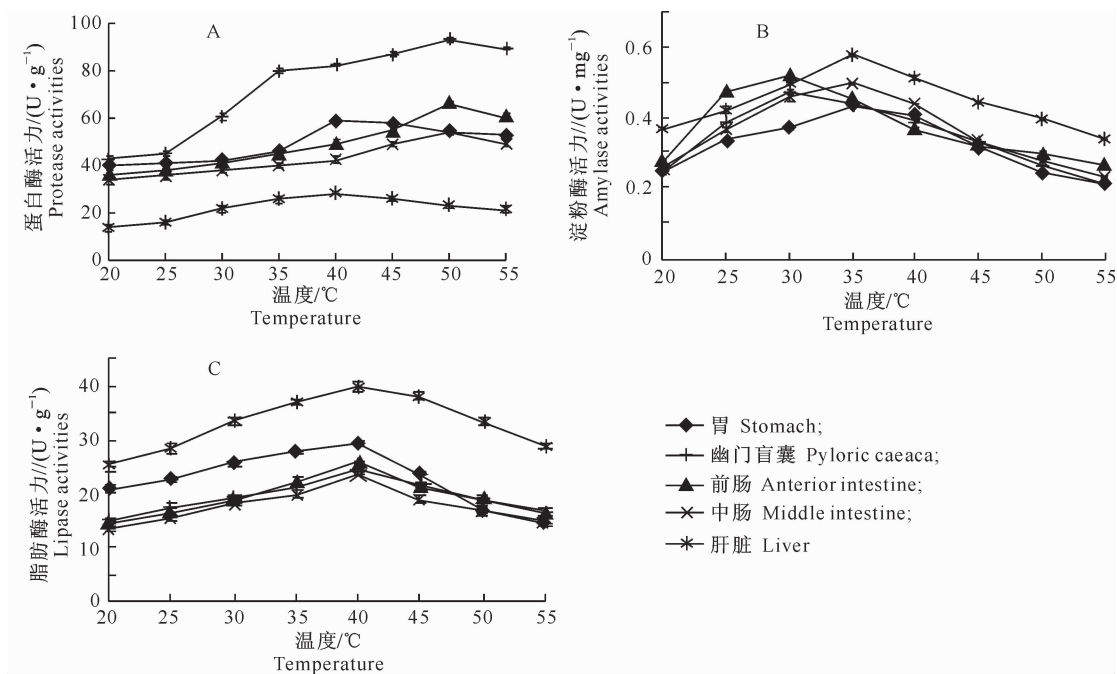


图 1 温度对黄金鲈蛋白酶(A)、淀粉酶(B)和脂肪酶活力(C)的影响

Fig. 1 Effects of temperature on protease activities (A), amylase activities (B) and lipase activities (C) of *Perca flavescens*

根据单因素方差分析,温度对胃、肝脏、前肠、中肠和幽门盲囊中的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活力均有显著影响($P<0.05$),进一步进行 LSD 和 Duncan’s 多重比较。由图 1 可知,在 20~55℃,3 种酶活力均呈现先上升后下降的趋势,同一组织器官在不同温度下 3 种消化酶的活力均具有显著差异,同一温度不同组织器官 3 种消化酶的活力也均具有显著差异($P<0.05$)。其中,胃、肝脏蛋白酶的最适温度为 40℃,前肠、中肠和幽门盲囊蛋白酶的最适温度均为 50℃(图 1-A),胃、中肠、肝脏淀粉酶的最适温度均为 35℃,前肠和幽门盲囊的淀粉酶最适温度

为 30℃(图 1-B),各组织器官脂肪酶活力最适温度均为 40℃(图 1-C)。在最适温度下,蛋白酶活力顺序为幽门盲囊>前肠>胃>中肠>肝脏,淀粉酶的活力顺序为肝脏>前肠>中肠>幽门盲囊>胃,脂肪酶的活力顺序为肝脏>胃>前肠>幽门盲囊>中肠,在最适温度下,各部位 3 种消化酶活力差异达显著水平($P<0.05$)。

2.2 pH 对黄金鲈蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶活力的影响

在(37±1)℃的条件下,测定不同 pH 对黄金鲈各组织器官消化酶活力的影响,结果见图 2。

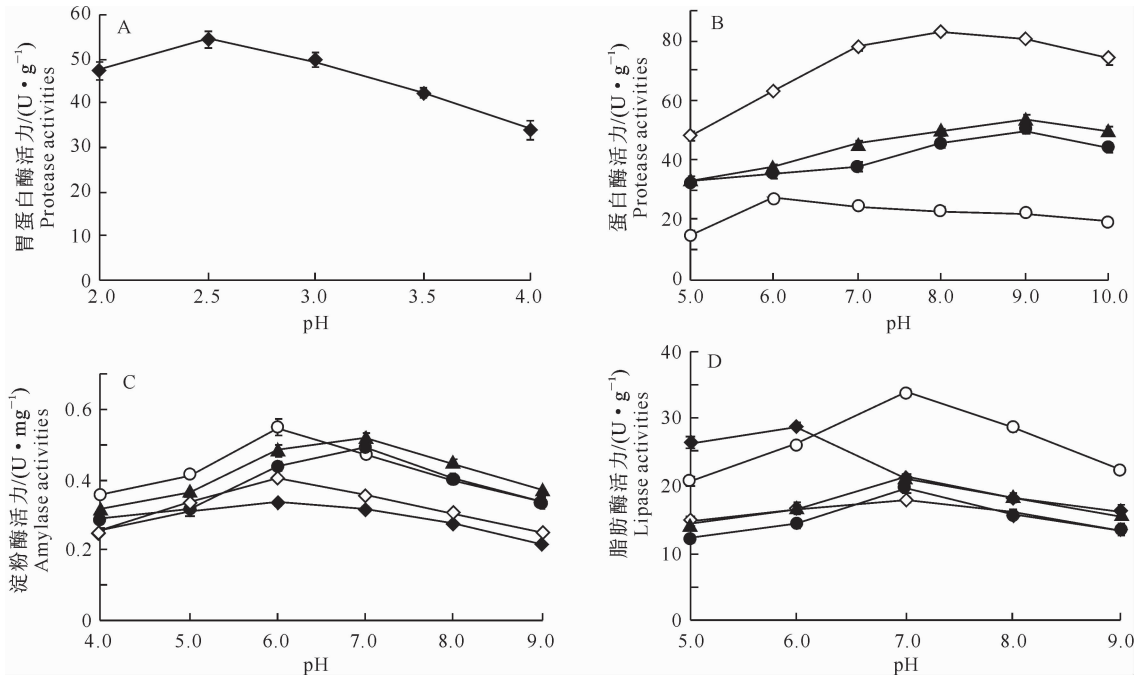


图 2 pH 对黄金鲈蛋白酶(A、B)、淀粉酶(C)和脂肪酶活力(D)的影响

—◆—胃;—◇—幽门盲囊;—▲—前肠;—●—中肠;—○—肝脏

Fig. 2 Effects of pH on protease activities (A,B), amylase activities (C) and lipase activities (D) of *Perca flavescens*

—◆—Stomach;—◇—Pyloric caeca;—▲—Anterior intestine;—●—Middle intestine;—○—Liver

由图 2 可知,在一定 pH 范围内,不同组织器官的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶的活力均呈先上升后下降的趋势;不同组织器官的同一种消化酶的最适 pH 不同,同时不同组织器官的同一消化酶活力也存在显著差异($P < 0.05$)。黄金鲈胃蛋白酶的最适 pH 为 2.5 (图 2-A),幽门盲囊、前肠、中肠和肝脏蛋白酶的最适 pH 分别为 8.0, 9.0, 9.0 和 6.0 (图 2-B);黄金鲈胃、幽门盲囊、前肠、中肠和肝脏淀粉酶的最适 pH 分别为 6.0, 6.0, 7.0, 7.0 和 6.0 (图 2-C);黄金鲈胃、幽门盲囊、前肠、中肠和肝脏脂肪酶的最适 pH 分别为 6.0, 7.0, 7.0, 7.0 和 7.0 (图 2-D)。这说明胃蛋白酶在强酸性时活力较高,肝脏蛋白酶活力在偏酸性条件下较高,肠道和幽门盲囊蛋白酶活力在偏碱性时较高,淀粉酶活力在中性偏酸性时较高,脂肪酶在中性时活力较高。

3 讨论

3.1 温度对黄金鲈蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶活力的影响

温度是酶活力的重要影响因素之一,酶的最适温度不是酶的特征物理常数,因为一种酶的最高活力温度不是固定的,它受酶的纯度、底物、激活剂、抑制剂以及酶促反应时间等因素的影响。酶在最适温度范围内,活力最强,酶促反应速度最大。不同生物

体组织器官酶的最适反应温度不同。John^[7]研究发现,鱼类消化酶的最适反应温度一般是在 30~50 °C。袁玉仁^[8]研究不同温度对花鲈(*Lateolabrax japonicus*)蛋白酶活力的影响,结果表明,花鲈胃蛋白酶活力在 41 °C 时最高,前肠、中肠、后肠、肝胰脏和幽门盲囊蛋白酶活力均在 49 °C 最高;其淀粉酶活力均在 33 °C 最高。王海英^[9]报道,大菱鲆胃、前肠、中肠、后肠、肝胰脏和幽门盲囊淀粉酶活力最适温度均为 40 °C。韩庆等^[10]对洞庭鲂(*Silurus asotus*)的消化酶活力进行研究,发现洞庭鲂胃中脂肪酶活力在 35 °C 时活力最高,前肠、中肠、后肠和肝胰脏脂肪酶最适温度均为 30 °C。本试验结果表明,胃、肝脏蛋白酶的最适温度均为 40 °C,前肠、中肠和幽门盲囊蛋白酶的最适温度均为 50 °C;胃、中肠、肝脏淀粉酶的最适温度均为 35 °C,前肠和幽门盲囊的淀粉酶最适温度为 30 °C;黄金鲈各组织器官脂肪酶活力最适温度均为 40 °C。

本研究结果与上述结论相一致。黄金鲈淀粉酶活力在消化道前、后段(胃和中肠)最适温度较高,中间段(前肠和幽门盲囊)最适温度较低,这一点与大多数鱼类不同,这可能与不同种类鱼、组织器官以及消化酶对温度的适应性不同有关,例如,美国红鱼(*Sciaenops ocellatus*)胃和肠道蛋白酶活力最适温度为 25 °C,幽门盲囊为 40 °C,表现为消化道前、后段(胃和肠

道)最适温度较低,中间段(幽门盲囊)最适温度较高^[11]。此外,由于许多鱼类没有幽门盲囊,所以没有对其进行研究,亦没有总结出温度的变化规律。从鱼类消化酶的最适反应温度与其栖息温度比较来看,水体环境的温度一般都低于消化酶所需要的最适温度。虽然黄金鲈最佳生长水温是 20~25 ℃,但从本研究结果可知,黄金鲈 5 种不同组织器官消化酶的最适反应温度均高于其最佳生长温度。

本试验中,黄金鲈消化酶活力是在离体条件下进行测定的,消化酶活力最适温度均高于其生活的水温。在实际生产中,水温对鱼类的生长发育具有显著影响。一般而言,水体在适宜的温度范围内,水温越高,饲料消化率越高,鱼类的摄食量也随之增加。本研究中,在一定温度范围内,随着温度的升高,黄金鲈的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活力均呈现先上升后下降的趋势。

3.2 pH 对黄金鲈蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶活力的影响

酶促反应都是在一定的 pH 条件下进行的,酶的化学本质是蛋白质,所以 pH 过大或过小都能引起酶变性失活,并且 pH 的改变能影响酶与底物的结合。当反应 pH 大于或小于最适 pH 时,酶活力均会降低。本研究结果表明,pH 对黄金鲈 3 种消化酶的活力均具有显著影响,在设定的 pH 范围内,均呈现先上升后下降的趋势。当温度、反应时间以及底物等反应条件相同时,存在一个最适 pH,在该 pH 条件下酶活力最高。周景祥等^[12]报道,硬骨鱼类胃蛋白酶的最适 pH 在 2~3,肝胰脏和肠道蛋白酶的最适 pH 分别在 7.0~8.7 和 6.5~9.5;而胃、肝胰脏和肠道淀粉酶的最适 pH 分别是 5.0~7.0, 6.8~7.0 和 5.0~8.0。

鱼类蛋白酶在不同组织器官的最适 pH 不同,不同鱼类同一组织器官蛋白酶的最适 pH 也不同。本研究中,黄金鲈胃、前肠、中肠、幽门盲囊和肝脏蛋白酶的最适 pH 分别为 2.5,9.0,9.0,8.0 和 6.0,这说明鱼类蛋白酶在不同组织器官的最适 pH 不同。大量研究表明,有胃的鱼类胃中均含有胃蛋白酶,并且胃蛋白酶活力均在强酸性条件下最高,一般最适 pH 在 2.0~3.0。Vys 等^[13]的研究表明,胃中的蛋白酶只有在强酸中才能有效地分解蛋白质。本试验中,黄金鲈胃蛋白酶活力在 pH 2.5 时活力最高。付新华^[1]也报道了大菱鲆胃蛋白酶活力最适 pH 为 2.0;李军^[14]对美国红鱼胃蛋白酶活力的最适 pH 进行研究,发现其胃蛋白酶最适 pH 在 1.4~2.2,这都与本研究结果相似。但李昌达^[2]对黑鲡的胃蛋白

酶活力进行研究,结果表明,当 pH 为 7.2 时,胃蛋白酶活力较高。这表明,不同鱼类胃蛋白酶活力的最适 pH 不同。这可能是因为鱼的种类及其食性不同,胃蛋白酶活力可能会发生改变,所以最适 pH 也有可能不同。

本研究中,黄金鲈胃、幽门盲囊、肝脏淀粉酶的活力在 pH 为 6.0 时最高,在 pH 为 7.0 时前肠和中肠淀粉酶活力最高,这与周景祥等^[12]报道的硬骨鱼类、叶元土等^[15]报道的大口鲶(*Silurus meridionalis*)、长吻鲢(*Leiocassis longirostris*)不同组织的淀粉酶最适 pH 表现相似。

大量研究表明,脂肪酶在 pH 为中性时活力最高。如泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)脂肪酶最适 pH 为 7.4^[16],月鳢脂肪酶最适 pH 为 6.6~7.4^[3],军曹鱼(*Rachycentron canadum*)脂肪酶最适 pH 为 6.0~7.0^[17]。本研究中,黄金鲈脂肪酶最适 pH 为 6.0~7.0,与以上鱼类相类似。脂肪酶在中性时活力最高,这可能与其适宜生长在中性的水环境有关。

大量有关酶的试验结果表明,不同生物种类、不同组织器官内相同的酶具有不同的最适 pH^[18-19]。最适 pH 的高低对鱼类生理活动的影响是多方面的。因此,为了促进黄金鲈对食物的消化吸收,促进鱼体生长发育,可以考虑在饲料中添加一定量的酸化剂和外源性酶制剂,从而提高饲料利用率,同时也有利于减少对水体的污染。

3.3 食性与消化酶活力的关系

鱼类的食性分为肉食性、杂食性和草食性 3 种,其与鱼消化器官的组织结构以及消化机能相适应,不同器官组织结构不同,其所承担的消化机能也有差异,因而消化酶的含量也存在一定差异。Agrawal^[20]、Hidalgo 等^[6]比较不同食性鱼类蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活力的差异,结果表明,肉食性鱼类蛋白酶活力高于杂食性鱼类,草食性鱼类淀粉酶活力相对较高,而肉食性鱼类的脂肪酶活力高于草食性和杂食性鱼类。本研究测定的黄金鲈蛋白酶活力高于杂食性鲤鱼(*Cyprinus carpio*)和草食性草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)^[21],表明其对蛋白质具有较高的消化能力,为温和肉食性鱼类,天然条件下主要摄食水生无脊椎动物。因此,在黄金鲈的人工养殖过程中,应以动物性饲料和蛋白质含量较高的饲料为主。

[参考文献]

- [1] 付新华. 大菱鲆消化酶的性质研究 [D]. 山东青岛:中国海洋大学,2004.

- Fu X H. Studies on the characters of digestive enzymes in *Scophthalmus maximus* [D]. Qingdao, Shandong: Ocean University of China, 2004. (in Chinese)
- [2] 李昌达. 黑鲷消化酶活力研究 [D]. 山东青岛: 中国海洋大学, 2006.
- Li C D. Research on digestive enzymes of *Miichthys miiuy* [D]. Qingdao, Shandong: Ocean University of China, 2006. (in Chinese)
- [3] 阮国良, 杨代勤, 严安生. 不同 pH 值对月鳢淀粉酶和脂肪酶活性的影响 [J]. 饲料工业, 2009, 30(10): 33-34.
- Ruan G L, Yang D Q, Yan A S. Effects of various pH on amylase and lipase activities in *Channa asiatica* [J]. Feed Industry, 2009, 30(10): 33-34. (in Chinese)
- [4] Lazo J P, Mendoza R, Holt G J, et al. Characterization of digestive enzymes during larval development of reddrum [J]. Aquaculture, 2007, 265(1/2/3/4): 194-205.
- [5] Alejandro Buenteello J, Camilo, Daniel, et al. A preliminary study of digestive enzyme activities and amino acid composition of early juvenile yellowfin tuna [J]. Aquaculture, 2011, 312(1/2/3/4): 205-211.
- [6] Hidalgo M C, Urea E, Sanz A. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits: Proteolytic and amylase activities [J]. Aquaculture, 1999, 170: 267-283.
- [7] John E H. Fish nutrition [M]. California: Academic Press Inc, 1987: 332-423.
- [8] 袁玉仁. 野生和养殖花鲈消化酶活性比较及碱度对花鲈幼鱼消化酶活性的影响 [D]. 山东青岛: 中国海洋大学, 2011.
- Yuan Y R. Comparisons of the digestive enzyme activities between wild and cultivated *Lateolabrax japonicus* and effects of alkalinity on the digestive enzyme activities of *Lateolabrax japonicus* juveniles [D]. Qingdao, Shandong: Ocean University of China, 2011. (in Chinese)
- [9] 王海英. 大菱鲆主要消化酶: 蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶的研究 [D]. 山东青岛: 中国海洋大学, 2004.
- Wang H Y. Digestive enzyme in turbot *Scophthalmus maximus* L. [D]. Qingdao, Shandong: Ocean University of China, 2004. (in Chinese)
- [10] 韩庆, 刘良国, 张建平, 等. 温度和 pH 对洞庭鲢鱼消化酶活性的影响 [J]. 水生生物学报, 2011, 35(1): 22-29.
- Han Q, Liu L G, Zhang J P, et al. The effects of temperature and pH on activities of digestive enzymes in catfish (*Silurus asotus* Linnaeus) in Dongting Lake Area [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2011, 35(1): 22-29. (in Chinese)
- [11] 陈国伟, 许曹鲁, 叶海滨, 等. 温度和 pH 对美国红鱼蛋白酶和淀粉酶活力的影响 [J]. 现代渔业信息, 2011, 26(2): 13-16.
- Chen G W, Xu C L, Ye H B, et al. Effects of temperature and pH value on activities of protease and amylase in *Sciaenops ocellatus* [J]. Modern Fisheries Information, 2011, 26(2): 13-16. (in Chinese)
- [12] 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): 70-73.
- Zhou J X, Chen Y, Huang Q, et al. On activity of digestive ferment of fish and its change affected by circumstance [J]. Journal of Beihua University: Natural Science, 2001, 2(1): 70-73. (in Chinese)
- [13] Vys W, Hecht T. Assays on the digestive enzymes of sharp tooth catfish *Clarias gariepinus* (Pisces: clariidae) [J]. Aquaculture, 1987, 63: 301-310.
- [14] 李军. 美国红鱼消化酶活性及饲料原料体外消化率相关性研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2006.
- Li J. Study on digestive enzyme activities of *Sciaenops ocellatus* and digestibility coefficients on feedstuff *in vitro* [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2006. (in Chinese)
- [15] 叶元土, 林仕梅, 罗莉, 等. 温度、pH 值对南方大口鲶、长吻鲇蛋白酶和淀粉酶活力的影响 [J]. 大连水产学院学报, 1998, 13(2): 17-23.
- Ye Y T, Lin S M, Luo L, et al. The effect of temperature and pH value on activities of proteases and amylases from *Silurus meridionalis* and *Leiocassis longirostris* [J]. Journal of Dalian Fisheries University, 1998, 13(2): 17-23. (in Chinese)
- [16] 董孝国. 不同 pH 和温度对泥鳅消化道淀粉酶活性的影响 [J]. 商丘师范学院学报, 2008, 24(12): 102-105.
- Dong X G. Effect of different pH and temperature on digestive tract amylase activities of *Misgurnus anguillicaudatus* [J]. Journal of Shangqiu Normal College, 2008, 24(12): 102-105. (in Chinese)
- [17] 宋波澜, 陈刚, 叶富良, 等. 军曹鱼幼鱼脂肪酶的活力与环境因子的关系 [J]. 暨南大学学报: 自然科学版, 2007, 28(5): 531-536.
- Song B L, Chen G, Ye F L, et al. Relation between lipase activities and environmental factors in the young fish of *Rachycentron canadum* [J]. Journal of Jinan University: Natural Science, 2007, 28(5): 531-536. (in Chinese)
- [18] 毕冰, 孙中武, 肖晓文, 等. 鲤、鲢、鳙、草鱼消化道消化酶种类和活性的比较研究 [J]. 水产学杂志, 2011, 24(2): 17-20.
- Bi B, Sun Z W, Xiao X W, et al. Active comparison of digestive enzymes in digestive tracts in common carp *Cyprinus carpio*, silver carp *Hypophthalmichthys molitrix*, grass carp *Ctenopharyngodon idellus* and bighead carp *Aristichthys mobilis* [J]. Chinese Journal Fisheries, 2011, 24(2): 17-20. (in Chinese)
- [19] 倪寿文, 桂远明, 刘焕亮. 草鱼、鲤、鲢、鳙和尼罗罗非鱼肝胰脏和肠道蛋白酶活性的初步探讨 [J]. 动物学报, 1993, 39(2): 160-166.
- Ni S W, Gui Y M, Liu H L. Investigation on the comparison of protease activities in grass carp, common carp, silver carp, bighead carp and Tilapia Nilotica [J]. Acta Zoologica Sinica, 1993, 39(2): 160-166. (in Chinese)
- [20] Agrawal V P. Digestive enzymes of three teleost fishes [J]. Acta Physiologica Hungarica, 1975, 46: 93-98.
- [21] 吴莉芳. 大豆蛋白源对不同食性鱼类的影响 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2008.
- Wu L F. Effects of soybean protein sources on fishes with different feeding habits [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2008. (in Chinese)