



罗明珠, 章家恩, 胡九龙, 等. 福寿螺和田螺的纤维素酶反应体系对不同 pH 和温度的响应[J]. 华南农业大学学报, 2015, 36(4): 55-58.

福寿螺和田螺的纤维素酶反应体系对 不同 pH 和温度的响应

罗明珠^{1,2}, 章家恩², 胡九龙³, 赵本良², 邓智心²

(1 华南农业大学 农学院, 广东 广州 510642; 2 华南农业大学 热带亚热带生态研究所, 广东 广州 510642; 3 华南农业大学 兽医学院, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】探讨福寿螺 *Pomacea canaliculata* Lamarck 和本地中国圆田螺 *Cipangopaludina chinensis* Gray 纤维素酶活性反应体系对不同 pH 和温度响应的差异.【方法】采用酶学分析法(羧甲基纤维素法)测定不同反应温度和 pH 对福寿螺和田螺肝脏与胃纤维素酶活性的影响.【结果和结论】福寿螺肝脏和胃纤维素酶的活性在不同 pH 和温度条件下均显著高于田螺, 其中, 不同 pH(3.6~7.2)条件下福寿螺肝脏和胃纤维素酶活性分别是田螺的 1.51~3.14 和 1.30~1.90 倍; 不同温度(30~60℃)条件下福寿螺肝脏和胃纤维素酶活性分别是田螺的 1.16~1.56 和 1.32~1.77 倍. 在 pH3.6~7.2、温度 30~60℃ 的范围内, 福寿螺和田螺肝脏、胃纤维素酶活性都呈先上升后降低的变化趋势, 不同温度条件下福寿螺纤维素酶活性的变化幅度大于田螺, 但 2 种螺纤维素酶活性随 pH 的变化差异不显著. 福寿螺肝脏和胃纤维素酶适宜的 pH 范围分别为 5.4~6.6 和 4.8~6.6, 适宜的温度范围均为 40~55℃; 田螺肝脏和胃纤维素酶适宜的 pH 范围分别为 5.4~6.0 和 4.8~6.6, 适宜的温度范围均为 40~50℃. 福寿螺对外界环境的适应性更强.

关键词: 福寿螺; 田螺; 纤维素酶; 反应体系; pH; 温度; 胃; 肝脏

中图分类号: S954.3; Q959.1406

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2015)04-0055-04

Responses of cellulase reaction systems of *Pomacea canaliculata* and *Cipangopaludina chinensis* to different pH and temperature

LUO Mingzhu^{1,2}, ZHANG Jiaen², HU Jiulong³, ZHAO Benliang², DENG Zhixin²

(1 College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2 Institute of Tropical and Subtropical Ecology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

3 College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract:【Objective】To investigate the effects of pH and temperature on cellulase enzyme activities of *Pomacea canaliculata* Lamarck and *Cipangopaludina chinensis* Gray. 【Method】The enzymatic analysis method (Carboxymethyl cellulose method) was used to research the influences of different reaction temperatures and pH values on cellulase enzyme activities in liver and stomach of *P. canaliculata* and *C. chinensis*. 【Result and conclusion】The cellulase enzyme activities in liver and stomach of *P. canaliculata* were significantly higher than those of *C. chinensis* under different pH and temperature. The cellulase enzyme activities in liver and stomach of *P. canaliculata* at different pH values (3.6–7.2) were 1.51–3.14 and 1.30–1.90 times higher than those of *C. chinensis*, respectively. At different temperatures (30–60℃), the cellulase enzyme activities were 1.16–1.56 and 1.32–1.77 times higher than those

收稿日期: 2014-12-21 优先出版时间: 2015-06-10

优先出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20150610.1547.005.html>

作者简介: 罗明珠(1970—), 女, 讲师, 在职博士研究生, E-mail: lmzhd2701@scau.edu.cn; 通信作者: 章家恩(1968—), 男, 教授, 博士, E-mail: jeanzh@scau.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金(U1131006, 30770403, 30900187); 广东省科技计划项目(2011B020309009); 广东省高等学校高层次人才项目(粤教师函[2010]79号); 广东省引进国(境)外高层次人才智力项目(粤外专[2010]51号)

of *C. chinensis*, respectively. At the settled pH(3.6 – 7.2) and temperature (30 – 60 ℃) conditions, the curves of cellulase activities were all rising followed by reducing. At different temperatures, the variation ranges of cellulase activities in liver and stomach of *P. canaliculatas* were wider than those of *C. chinensis*, while there was no significant difference between *P. canaliculata* and *C. chinensis* at different pH values. The optimum pH range for cellulose enzyme activities in liver and stomach of *P. canaliculata* were 5.4 – 6.6 and 4.8 – 6.6, respectively; the optimum temperature range was from 40 ℃ to 55 ℃. Meanwhile, The optimum pH ranges for cellulose enzyme activities in liver and stomach of *C. chinensis* were 5.4 – 6.0 and 4.8 – 6.6, respectively; the optimum temperature ranged from 40 ℃ to 50 ℃. *P. canaliculata* has a better digestive ability and is more adaptive to the environment which may attribute to the easier invasion mechanism of *P. canaliculata*.

Key words:*Pomacea canaliculata*; *Cipangopaludina chinensis*; cellulase; reaction system; pH; temperature; stomach; liver

福寿螺 *Pomacea canaliculata*, 又名大瓶螺、苹果螺、金宝螺, 两栖淡水贝类, 隶属软体动物门腹足纲前鳃亚纲中腹足目瓶螺科瓶螺属, 原产于南美洲亚马逊河流域^[1]. 1981 年被引入我国大陆饲养, 因人们对该螺的生物学特性、营养价值、市场前景以及危害性认识不足, 盲目引进, 加上管理不严和不当, 最终导致福寿螺散逸至野外及农田. 由于其繁殖率高、适应性广、扩散较快, 迅速蔓延于河、沟、渠及其他水域附近, 加之其食量大、食性杂, 可危害水稻^[2]、蔬菜、莲藕^[3]等多种作物和水生植物, 破坏入侵水域的鱼类和贝类资源^[4], 给农业生产带来极大危害, 对农业生态系统^[5]、生物多样性造成严重破坏. 此外, 福寿螺还是引起人类嗜酸性脑膜炎的广州管圆线虫 *Angiostrongylus cantonensis* 的中间寄主^[6]. 2000 年福寿螺被列为世界 100 种恶性外来入侵物种之一, 2003 年国家环保局首批公布福寿螺为入侵我国的 16 种外来物种之一. 田螺(又称螺蛳)隶属于软体动物门腹足纲中腹足目田螺科圆田螺属, 包括中国圆田螺 *Cipangopaludina chinensis* 和中华圆田螺 *Cipangopaludina cathayensis*. 其肉嫩味鲜, 营养丰富, 药食俱佳, 但近年来, 因其生存环境遭受破坏, 其数量越来越少^[7]. 福寿螺作为一种入侵性物种, 具有适应能力强、繁殖能力强、食量大、生长迅速^[8]等特性. 福寿螺食性杂、食量大等生物学特性可能与其本身的消化能力存在一定的关系. 目前, 有关福寿螺消化的研究主要集中在纤溶酶的分离纯化及活性分析^[9]、基因的克隆和表达^[10]、纤维素酶的开发与应用^[11]等方面, 国内外关于田螺的研究主要集中于养殖技术^[12]、对其体内的寄生虫——管圆线虫的调查^[13], 而有关田螺消化酶的研究较少. 徐建荣等^[14]研究了福寿螺消化道纤维素酶的活性, 发现其活性较高. 段旭等^[15]研究表明, 松墨天牛和中国圆田螺体内均有将纤维素降解为单糖的完整纤维素酶系, 且松墨天牛体内

<http://xuebao.scau.edu.cn>

纤维素酶系中各组分的活性均较中国圆田螺高. 马力通等^[16]认为提取中华圆田螺纤维素酶工艺的最佳反应条件为缓冲液 pH 4.8、浸提时间 12 min、离心时间 24 min. 目前有关福寿螺和田螺纤维素酶的研究较少, 其反应体系的比较研究鲜见报道. 本文研究福寿螺和田螺肝脏和胃的纤维素酶在不同反应温度和 pH 条件下的变化规律, 以期从消化酶之一的纤维素酶反应体系的差异寻求其消化能力对环境条件适应性的差异, 进而为解释福寿螺食性强、入侵能力强提供必要的理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料

2013 年 9 月从广州郊区水沟、稻田和水库中采集 2 龄或 3 龄(螺厩上有 2 圈清晰的同心环纹定为 2 龄螺, 有 3 圈为 3 龄螺^[17])的福寿螺和田螺样本带回实验室, 挑选出大小均匀一致的个体作为试验材料. 其中, 福寿螺的螺高 (31.46 ± 2.47) mm, 湿质量 (5.10 ± 0.45) g; 田螺的螺高 (28.21 ± 1.02) mm, 湿质量 (4.05 ± 0.29) g.

1.2 样品的准备

试验在华南农业大学农学院实验室进行, 将福寿螺和田螺的外壳清洗干净后在室内水盆中饲养, 试验前让螺空腹 24 h. 试验时尽量将螺所携带水分吸干, 置于冰浴中, 解剖, 取出肝脏和胃, 剔除多余脂肪及内容物, 用滤纸吸干, 每处理 10 只螺, 重复 3 次, 共 30 只螺. 称取 (0.2 ± 0.005) g 的组织, 加入 9 倍质量的去离子水匀浆; 匀浆液离心 15 min ($10\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 4 ℃), 取上清液, 置于 4 ℃冰箱中保存待用(存放时间不超过 24 h).

1.3 酶活性和蛋白质含量的测定

纤维素酶活性的测定 采用羧甲基纤维素法 (CMC 法), 具体操作步骤及计算参见王琳^[18] 的方

法.已有研究表明,软体动物纤维素酶反应适宜的温度为45℃^[19]、适宜的pH为5.4^[20],反应时间为8min^[18].本试验设置:温度为45℃,反应时间为8min,pH为3.6~7.2(每0.6设1个梯度)共7个处理;pH5.4,反应时间为8min,温度为30~60℃(每5℃设1个梯度)共7个处理,用恒温水浴控制温度.酶比活力以一定温度和pH下,1min内从1mg组织蛋白中水解产生葡萄糖的量(μmol)表示.

采用考马斯亮蓝G-250法测定蛋白质含量.

1.4 数据分析

数据均以平均数±标准差表示.采用SPSS17.0软件进行统计分析,独立样本t检验分析差异显著性.

2 结果与分析

2.1 福寿螺和田螺消化系统的纤维素酶活性对pH的响应

由图1a可见,在相同的温度(45℃)处理下,福寿螺和田螺肝脏的纤维素酶活性随pH的升高(pH3.6~7.2)呈现先升后降的规律.pH3.6~7.2时,福寿螺肝脏的纤维素酶活性显著高于田螺($P<0.05$),是田螺的1.51~3.14倍.福寿螺肝脏的纤维素酶活性在pH4.8~6.6范围出现较高值,pH5.4时纤维素酶活性达到最高;田螺肝脏的纤维素酶活性随pH的变化较平稳,波动幅度小,pH适宜范围在5.4~6.0,pH5.4时达到最高.

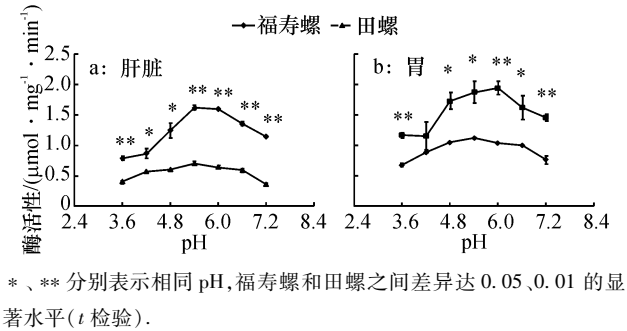
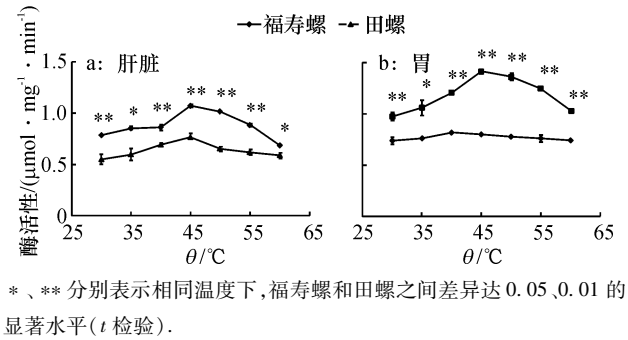


图1 福寿螺和田螺的纤维素酶活性对pH变化的响应
Fig. 1 The responses of cellulase activities of golden apple snail and local field snail to pH change

从图1b可以看出,在相同温度(45℃)处理下,福寿螺和田螺胃的纤维素酶活性随pH的升高呈现先升后降的规律.在pH3.6~7.2时,福寿螺胃纤维素酶活性显著高于田螺($P<0.01$),是田螺的1.30~1.90倍.福寿螺胃的纤维素酶活性在pH4.8~6.6范围内活性较高,pH6.0时纤维素酶活性达到最高;田螺胃的纤维素酶活性变化幅度不大,pH适宜范围在4.8~6.6,在pH5.4时出现最高值.

2.2 福寿螺和田螺消化系统的纤维素酶活性对温度的响应

从图2a可以看出,在pH5.4时处理下,福寿螺和田螺肝脏的纤维素酶活性随温度(30~60℃)的升高均呈现先升后降的规律,且福寿螺肝脏纤维素酶活性极显著高于田螺($P<0.01$),酶活性平均值为田螺的1.16~1.56倍.福寿螺肝脏的纤维素酶活性在40~55℃范围内活性较高,45℃时纤维素酶活性达到最高;田螺肝脏的纤维素酶活性变化幅度不大,其适宜温度范围为40~50℃,45℃时出现最高值.



*、** 分别表示相同温度下,福寿螺和田螺之间差异达0.05、0.01的显著水平(t检验).
图2 福寿螺和田螺的纤维素酶活性对温度变化的响应
Fig. 2 The responses of cellulase activities of golden apple snail and local field snail to temperature change

从图2b可以看出,在pH5.4时,福寿螺和田螺胃的纤维素酶活性随温度(30~60℃)的升高呈现先升后降的规律,且福寿螺胃纤维素酶活性极显著高于田螺($P<0.01$),酶活性平均值是田螺的1.32~1.77倍.福寿螺胃纤维素酶活性在40~55℃范围内活性较高,45℃时纤维素酶活性达到最高;田螺胃的纤维素酶活性变化幅度不大,适宜范围为40~50℃,在40℃时出现最高值.

3 讨论与结论

消化酶活性反映了动物摄食、营养条件、生理状况的优劣,其活性的高低直接影响了动物对营养物质的消化和利用程度,甚至影响动物生长发育的速度^[19].纤维素酶不仅能促进纤维素和半纤维素分解,还能破坏植物细胞的细胞壁,促使细胞内容物溶解,且在其他消化酶的配合下,缩短蛋白质、淀粉等大分子物质分解为易消化吸收的小分子物质的时间,增加其对食物的消化吸收.本研究结果表明,不同温度下,福寿螺肝脏的纤维素酶活性是田螺肝脏纤维素酶活性的1.16~1.56倍,福寿螺胃的纤维素酶活性是田螺胃的纤维素酶活性的1.32~1.77倍;不同pH下,福寿螺肝脏的纤维素酶活性是田螺肝脏的纤维素酶活性的1.51~3.14倍,福寿螺胃的纤维素酶活性是田螺胃的纤维素酶性的1.30~1.90倍.

Mcallister等^[21]研究表明在动物饲料中添加纤维素酶,能促进饲料的营养价值、提高饲料的消化利用率、增加动物的日增质量、加快动物的生长.福寿螺肝脏和胃的纤维素酶活性都显著高于田螺,这有利于消化和利用食物,使其生长发育比田螺快.

在一定的温度范围内,酶活性随温度的升高而加快,但超过一定范围后,酶活性反而随温度的升高而降低甚至变性失活.本研究结果表明,在30~60℃,福寿螺和田螺肝脏和胃的纤维素酶活性均随着温度的升高呈现先上升而后下降的规律.福寿螺肝脏和胃的纤维素酶活性适宜范围为40~55℃,而田螺肝脏和胃的纤维素酶活性适宜范围为40~50℃.一定的pH范围内酶催化活性最强,pH高于或低于最适值,酶活性都会下降.本研究结果表明,在pH 3.6~7.2时,福寿螺和田螺肝脏和胃的纤维素酶活性均随着pH的升高呈现先上升而后下降的规律.福寿螺肝脏和胃的纤维素酶活性pH适宜范围都为4.8~6.6,田螺肝脏和胃的纤维素酶活性变化不大,适宜酸碱度皆为pH4.8~6.0,这与缢蛏纤维素酶活性的最适pH为5.2^[20]、橄榄蚶纤维素酶活性的最适pH为6.0^[22]研究相似.可见,福寿螺纤维素酶的最适温度和pH范围较田螺宽,这也可能是它适应环境的温度和pH范围较宽的原因.在相同的气候条件下,福寿螺由于消化酶活力强、适宜的温度和pH范围宽等原因,比田螺有生存优势^[16].这样福寿螺入侵后与田螺竞争同一生态位时存在明显优势,能够迅速入侵成功.

参考文献:

- [1] ESTEBENET A L, MARTIN P R. *Pomacea canaliculata* (Gastropod: Ampullariidae): Life-history traits and their plasticity[J]. *Biocell*, 2002, 26(1): 83-89.
- [2] YUSA Y, SUGIURA N, ICHINOSE K. Predation on the apple snail, *Pomacea canaliculata* (Ampullariidae), by the Norway rat, *Rattus norvegicus*, in the field[J]. *Veliger*, 2000, 43(4): 349-353.
- [3] BAKER P, ZIMMANCK F, BAKER S M. Feeding rates of an introduced freshwater gastropod *Pomacea insularum* on native and nonindigenous aquatic plants in Florida[J]. *J Mol Stud*, 2010, 76(8): 138-143.
- [4] 周卫川. 外来入侵生物福寿螺的风险分析[J]. *检验检疫科学*, 2004, 14(6): 37-39.
- [5] CARLSSON N O L, BRÖNMARK C, HANSSON L. Invading herbivory: The golden apple snail alters ecosystem functioning in Asian wetlands[J]. *Ecology*, 2004, 85(6): 1575-1580.
- [6] LÜ S, ZHANG Y, STEINMANN P, et al. The emergence of angiostrongyliasis in the People's Republic of China:

The interplay between invasive snails, climate change and transmission dynamics [J]. *Freshwater Biol*, 2011, 56(4): 717-734.

- [7] 张爱良. 田螺的利用及养殖要点[J]. *特种经济动植物*, 2004(7): 12.
- [8] MORRISON W E, HAY M E. Feeding and growth of native, invasive and non-invasive alien apple snails (Ampullariidae) in the United States: Invasives eat more and grow more[J]. *Biol Invasions*, 2011, 13(4): 945-955.
- [9] 毛孙忠, 雷康福, 严哲. 福寿螺纤溶酶的分离纯化及其性质研究[J]. *温州医学院学报*, 2005, 35(6): 461-463.
- [10] IMJONGJIRAK C, AMPARYUP P, SITTIPRANEED S. Cloning, genomic organization and expression of two glycosyl hydrolase family 10 (GHF10) genes from golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) [J]. *DNA Seq*, 2008, 19(3): 224-236.
- [11] 庄总来, 周兴旺, 唐志军, 等. 福寿螺纤维素酶的开发与应用[J]. *台湾海峡*, 2000, 19(1): 6-10.
- [12] 王明宝, 陈斌. 中华圆田螺特征特性及池塘人工养殖技术[J]. *现代农业科技*, 2012(9): 343-347.
- [13] DENG Z H, ZHANG Q M, HNANG S Y, et al. First provincial survey of *Angiostrongylus cantonensis* in Guangdong Province, China[J]. *Trop Med & Int Health*, 2012, 17(1): 119-122.
- [14] 徐建荣, 程东成, 李波. 福寿螺消化酶的活力测定研究及其酶解效果分析[J]. *水产养殖*, 2007, 28(3): 3-5.
- [15] 段旭, 张晶晶, 朱静, 等. 松墨天牛和中国圆田螺体内纤维素酶系的比较研究[J]. *云南农业大学学报: 自然科学版*, 2009, 24(4): 545-551.
- [16] 马力通, 李瑶, 刘佼. 中华圆田螺纤维素酶提取及纯化工艺的优化[J]. *湖北农业科学*, 2012, 51(13): 2812-2814.
- [17] HASKIN H H. Age determination in molluscs[J]. *Trans New York Acad Sci*, 1954, 16(6): 300-304.
- [18] 王琳. DNS法测定纤维素酶活力最适条件研究[J]. *河南师范大学学报: 自然科学版*, 1998, 26(3): 66-69.
- [19] 倪小英, 张永普, 贾守菊, 等. pH和温度对小菱蛭淀粉酶和纤维素酶活性的影响[J]. *海洋湖沼通报*, 2009(1): 151-154.
- [20] 范德朋, 潘鲁青, 肖国强, 等. 温度、pH对缢蛏(*Sinonovacula constricta*)消化酶活力的影响[J]. *海洋湖沼通报*, 2003(4): 69-73.
- [21] MCALLISTER T A, OOSTING S J, POPP J D, et al. Effect of exogenous enzyme on digestibility of barley silage and growth performance of feedlot cattle[J]. *Can J Anim Sci*, 1999, 79(3): 353-360.
- [22] 吴爱春, 张永普, 贾守菊, 等. 温度和pH对橄榄蚶消化酶活性的影响[J]. *生物技术通报*, 2008(Z1): 397-400.

【责任编辑 周志红】