

KHẢO SÁT ĐẶC ĐIỂM CÁC ENZYME THỦY PHÂN PROTEIN Ở CÁC GIAI ĐOẠN ẤU TRÙNG VÀ HẬU ẤU TRÙNG CỦA BIỂN (*Scylla paramamosain*)

Trần Nguyễn Duy Khoa*, Lý Thị Yến Mi, Lê Quốc Việt, Cao Mỹ Án,
Đỗ Thị Thanh Hương, Trần Ngọc Hải

Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ

Email*: tndkhoa@ctu.edu.vn

Ngày gửi bài: 25.12.2017

Ngày chấp nhận: 09.05.2018

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm khảo sát hoạt tính các enzyme thủy phân protein của ấu trùng cua biển (*Scylla paramamosain*). Ấu trùng cua được cho ăn bằng thức ăn tươi sống (artemia) và thu mẫu ở các giai đoạn khác nhau từ Zoae-1 đến Cua-1. Hoạt tính của protease, trypsin, chymotrypsin và pepsin được phân tích trong quá trình phát triển của ấu trùng. Kết quả cho thấy hoạt tính enzyme protease và pepsin tăng dần (lần lượt từ 3,85 đến 19,1 U/mg protein và 1,69 đến 8,32 U/mg protein) trong tất cả các giai đoạn ấu trùng, trong khi hoạt tính trypsin và chymotrypsin từ Zoae-1 đến Zoae-5 rất thấp (0,92 - 0,99 và 1,15 - 0,85 U/mg protein), có sự thay đổi lớn ở các giai đoạn Zoae-5, Megalope và Cua. Các enzyme thủy phân protein (protease, trypsin, chymotrypsin và pepsin) có hoạt tính rất thấp ở giai đoạn đầu (Zoae-1 đến Zoae-3) và tăng đáng kể từ giai đoạn Zoae-5 khi hệ thống tiêu hóa của cua phát triển hoàn chỉnh. Những kết quả này chỉ ra sự thay đổi hoạt tính các enzyme thủy phân protein trong quá trình phát triển của ấu trùng cua biển.

Từ khóa: Enzyme thủy phân protein, *Scylla paramamosain*, sự phát triển ấu trùng.

Investigating the Characteristics of Proteolytic Enzymes of Mud Crab (*Scylla paramamosain*) Larvae and Crablet

ABSTRACT

This study aimed to investigate the proteolytic enzyme activity of mud crab (*Scylla paramamosain*) larvae. Samples of crab larvae fed live feed (artemia) were collected at various stages from Zoae-1 to Crab 1. Protease, trypsin, chymotrypsin and pepsin activity were analysed during larval development stages. The results showed that protease and pepsin activity increased regularly (at 3,85 - 19,1 U/mg protein and 1,69 - 8,32 U/mg protein, respectively) during larval stage while trypsin and chymotrypsin activity were low from Zoae-1 to Zoae-5, particularly strongly fluctuated at Zoae-5, Megalope, and Crab stage. The protein hydrolyzed enzymes (protease, trypsin, chymotrypsin and pepsin) started with very low activities at the early stages (Zoae-1 to Zoae-3) and increased significantly from Zoae-5 to crablet stage when the digestive system of mud crab completely developed. The findings indicated that the proteolytic enzyme activities of mud crab varied during the stages of larval development.

Keywords: Proteolytic enzymes, mud crab, *Scylla paramamosain*, larval development.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cua biển (*Scylla paramamosain*) là đối tượng nuôi quan trọng ở nước ta. Với đặc điểm tăng trưởng nhanh, giá trị dinh dưỡng cao, cua là loại thực phẩm có giá trị xuất khẩu và thị trường tiêu thụ rộng lớn, hiệu quả từ các mô

hình nuôi cua đã và đang mang lại thu nhập ổn định cho vùng ven biển. Theo quy hoạch của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2009), đến năm 2020 diện tích nuôi cua nước mặn, lợ của vùng Đồng bằng sông Cửu Long sẽ đạt 620.000 ha, kéo theo nhu cầu con giống để phục vụ nghề nuôi cua biển tại đây là 572 triệu con.

Khảo sát đặc điểm các enzyme thủy phân protein ở các giai đoạn ấu trùng và hậu ấu trùng của biển (*Scylla paramamosain*)

Diện tích nuôi ngày càng tăng lên, nhu cầu con giống ngày càng cao trong khi nguồn của giống từ tự nhiên đang có xu hướng giảm dần do đánh bắt quá mức. Nhằm cung cấp cho người nuôi nguồn của giống có chất lượng tốt và giảm áp lực cho việc khai thác từ tự nhiên, việc sản xuất giống của ngày càng được quan tâm và phát triển. Tuy nhiên, tỷ lệ sống trong việc sản xuất giống của nhân tạo vẫn còn ở mức thấp, 5 - 7% (Trần Ngọc Hải và Nguyễn Thanh Phương, 2009). Với kỹ thuật hiện tại, tỷ lệ ấu trùng chết ở các giai đoạn biến thái còn cao, đỉnh điểm là ở các giai đoạn Zoeae (Z1-Z3) và từ Zoeae-5 (Z5) đến Megalopa, là thách thức lớn đối với quá trình ương nuôi ấu trùng của biển (Serrano & Traifalgar, 2012).

Bên cạnh bệnh do *Vibrio* gây ra, tỷ lệ sống thấp trong sản xuất giống của biển đã được quy cho công nghệ sản xuất giống không phù hợp do thiếu hiểu biết về phát triển của ấu trùng và sinh lý tiêu hóa. Pullin & Eknath (1991) đã nhấn mạnh rằng sinh lý học tiêu hóa của ấu trùng, bao gồm cả ấu trùng giáp xác chưa được nghiên cứu nhiều. Động vật giáp xác thường thiếu các enzyme cần thiết cho sự thủy phân thức ăn. Một số tác giả đã chỉ ra tầm quan trọng của thức ăn tươi sống như thức ăn ngoài đầu tiên của ấu trùng cá và nhuyễn thể, sử dụng các enzyme trong thức ăn để cải thiện tiêu hóa cho đến khi hệ thống tiêu hóa trở nên phát triển hoàn chỉnh (Dabrowski & Glogowski, 1977; Kolkovski *et al.*, 1993).

Để phát triển thành công công nghệ sản xuất giống của biển đòi hỏi một sự hiểu biết toàn diện về quá trình tiêu hóa của ấu trùng. Kiến thức về quá trình phát triển enzyme tiêu hóa là điều cần thiết trong sinh lý dinh dưỡng và xây dựng các loại thức ăn thích hợp và chế độ cho ăn cần thiết để đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng của ấu trùng của (Serrano & Traifalgar, 2012). Tuy nhiên các nghiên cứu về đặc điểm các enzyme tiêu hóa của ấu trùng của biển *Scylla paramamosain* còn rất hạn chế. Nghiên cứu này mô tả đặc điểm của một số enzyme thủy phân protein (trypsin, chymotrypsin, pepsin, protease) làm cơ sở cho việc xây dựng các khẩu

phần dinh dưỡng hợp lý trong ương nuôi ấu trùng, góp phần cải thiện tỷ lệ sống của ấu trùng của biển.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Bố trí thí nghiệm

Nghiên cứu được thực hiện tại Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ từ tháng 8/2017 đến tháng 12/2017. Cua trứng có nguồn gốc từ Cà Mau cho ấp nở tại Trại thực nghiệm nước lợ và thu ấu trùng để tiến hành thí nghiệm. Ấu trùng khỏe mạnh được thu và xử lý qua formol 200 ppm trong 30 giây trước khi bố trí vào 3 bể ương, thể tích 0,5 m³, độ mặn 30‰, mật độ ương là 400 ấu trùng/lít.

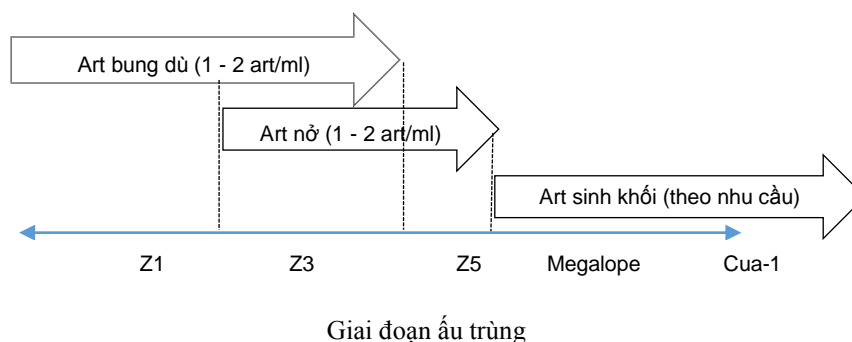
2.2. Chăm sóc và quản lý

Ấu trùng của được cho ăn bằng *Artemia* Vĩnh Châu (Art) với 6 lần/ngày theo sơ đồ sau: Bể nuôi được siphone đáy và thay nước định kỳ 3 ngày/lần, mỗi lần thay 25% lượng nước ương. Kiểm tra và duy trì hàm lượng kiềm ở mức 100 - 120 ppm bằng NaHCO₃. Các chỉ tiêu độ kiềm, TAN (total ammonia nitrogen), nồng độ Nitrit cũng được kiểm tra định kỳ 3 ngày/lần bằng bộ kiểm tra Sera. Khi ấu trùng chuyển hoàn toàn sang Zoeae-4 thì tiến hành thu và chuyển sang bể composite 2 m³, bố trí ở mật độ thưa khoảng 50 - 70 ấu trùng/lít. Khi ấu trùng chuyển sang Megalope, tiến hành đặt giá thể bằng lưới nylon cho ấu trùng bám và hạn chế ăn nhau.

2.3. Thu mẫu và phương pháp phân tích enzyme

Việc thu mẫu ấu trùng được tiến hành vào buổi sáng sau khi cho ăn 2 h. Mẫu ấu trùng sẽ được thu 7 lần theo mỗi giai đoạn biến thái cho đến khi ấu trùng đạt đến giai đoạn Cua-1 thì kết thúc. Thu ngẫu nhiên mỗi bể 300 mg, rửa lại bằng nước sạch, thấm hết nước rồi cho vào ống tube 1,5 ml trữ ở nhiệt độ âm 20°C đến khi bắt đầu phân tích.

Ly trích enzyme: Mẫu ấu trùng của biển (100 mg/mẫu) sẽ được nghiên trong ống nghiệm Eppendorf tuyệt trùng, sau đó ly tâm 10.000 vòng/



Hình 1. Khẩu phần ăn cho ấu trùng cua theo giai đoạn phát triển

phút trong 10 phút, dùng pipet hút dịch nổi chuyển sang ống nghiệm khác, loại bỏ phần xác và tiến hành đo hoạt tính của từng loại enzyme (Pavasovic *et al.*, 2004)

Xác định hoạt tính protease: trong ấu trùng của từ Z1 đến C1: Chuẩn bị dung dịch đệm gồm 0,3 ml 1% Casein, 0,5 ml 0,1 M Tris-HCl pH 7,0 - 9,0 buffer và 0,3 ml enzyme ly trích rồi ủ 1 h ở nhiệt độ 37°C. Sau đó thêm 0,5 ml Trichloroacetic acid TCA, 12% w/v để dừng các phản ứng của enzyme, giữ mẫu ở 37°C trong 48 h, sau đó ly tâm 8.000 vòng/phút trong 15 phút, cuối cùng đem mẫu đo ở bước sóng 280 nm (Alexander *et al.*, 2002).

Xác định hoạt tính trypsin: Trypsine được đo theo phương pháp của Tseng *et al.* (1982). Dung dịch đệm pH 8,2: Tris HCl: 50 mL và CaCl₂ 20 mM BAPNA 0,1 M (Na-Benzoyl-D_L Arginine P-nitroanilide (B4875)): 10,87 mg/250 µL DMSO. Dung dịch BAPNA được ủ ở 25°C trong suốt quá trình phân tích mẫu.

Xác định hoạt tính chymotrypsin: theo phương pháp của Hummel (1959), hỗn hợp gồm 1,4 ml benzoyl-L-tyrosine ethyl ester (BTEE) 1,07 mM hòa tan trong 50% (w/w) methanol, 1,0 ml 80 mM Tris- HCl buffer (pH 7,8) có 0,1 M CaCl₂, và 0,3 ml enzyme ly trích trong thể tích tổng là 2,7 ml. Dừng phản ứng bằng cách thêm 0,3 ml acetic acid 30% rồi đo ở bước sóng 256 nm.

Xác định hoạt tính pepsin: Pepsin được đo theo phương pháp của Worthington (1982) và (Suzer *et al.*, 2007). Dùng ống nghiệm Eppendorf lấy 100 µL dung dịch ly trích ủ ở 37°C với 500 µL haemoglobin làm chất đệm,

(2% w/v haemoglobin trong 0,06 HCl). Sau 10 phút, dừng phản ứng bằng cách thêm 1 µL trichloroacetic acid (TCA) 5%. Đo mẫu ở bước sóng 280 nm, mẫu đối chứng là dung dịch ly trích ủ sau 10 phút và thêm TCA, mẫu đo là dung dịch ly trích sau khi ủ, thêm TCA rồi đem ly tâm ở 4.000 vòng/phút trong vòng 6 phút.

Số liệu được so sánh thống kê bằng phần mềm SPSS 24.0 ở mức trung bình 5% (p < 0,05).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Các yếu tố môi trường nước

Trong quá trình ương, các yếu tố môi trường nước đều nằm trong khoảng thích hợp (nhiệt độ từ 26,5 - 29,5°C; pH 7,2-7,8), hàm lượng TAN trung bình dao động trong khoảng 0,5 - 2mg/L và hàm lượng nitrite dao động từ 0,3-1mg/L. Theo Boyd (1998), hàm lượng TAN thích hợp cho nuôi trồng thủy sản là 0,2 -2 mg/L và hàm lượng nitrite cho phép trong ao nuôi thủy sản không vượt quá 10 mg/L (tốt nhất nhỏ hơn 2 mg/L). Như vậy, trong suốt quá trình ương hàm lượng TAN và nitrite nằm trong khoảng thích hợp cho sự phát triển phát triển của ấu trùng của biển. Lý Văn Khánh và cs. (2015) cho rằng trong ương ấu trùng của biển hàm lượng kiềm cho phép từ 80 - 120 mg CaCO₃/L. Trong nghiên cứu này, hàm lượng kiềm dao động từ 107,4 - 125,3 mg CaCO₃/L. Như vậy, điều kiện môi trường trong suốt quá trình ương nằm trong khoảng cho phép và phù hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của ấu trùng của biển.

3.2. Hoạt tính các enzyme

Hoạt tính các loại enzyme qua các giai đoạn trong thời gian ương được trình bày ở bảng 1 và hình 2. Kết quả cho thấy từ giai đoạn Zoa-1 đến Cua 1, enzyme protease tăng dần hoạt tính theo các giai đoạn phát triển (3,85 U/mg protein ở Z1 đạt đến 19,1 U/mg protein khi chuyển sang cua) và cùng chung hướng phát triển tăng dần là enzyme pepsin (từ 1,69 đạt 8,32 U/mg protein). Ngược lại, enzyme trypsin và chymotrypsin có sự biến đổi lớn, tăng mạnh từ Z1 đến Z2 (từ 0,92 lên 2,43 U/mg protein đối với trypsin và 1,15 lên 3,21 U/mg protein đối với chymotrypsin), nhưng giảm xuống mức thấp ở giai đoạn Z3 đến Z5 (lần lượt đạt 0,99 và 0,85 U/mg protein ở Z5). Khi ấu trùng chuyển sang Megalope và Cua-1 thì hoạt tính enzyme trypsin phục hồi ở mức cao (2,45 và 3,94 U/mg

protein) trong khi chymotrypsin tiếp tục biến động mạnh trong giai đoạn này (Z5 đạt 2,3 U/mg protein nhưng lại giảm mạnh về 0,76 U/mg protein khi ấu trùng chuyển sang cua).

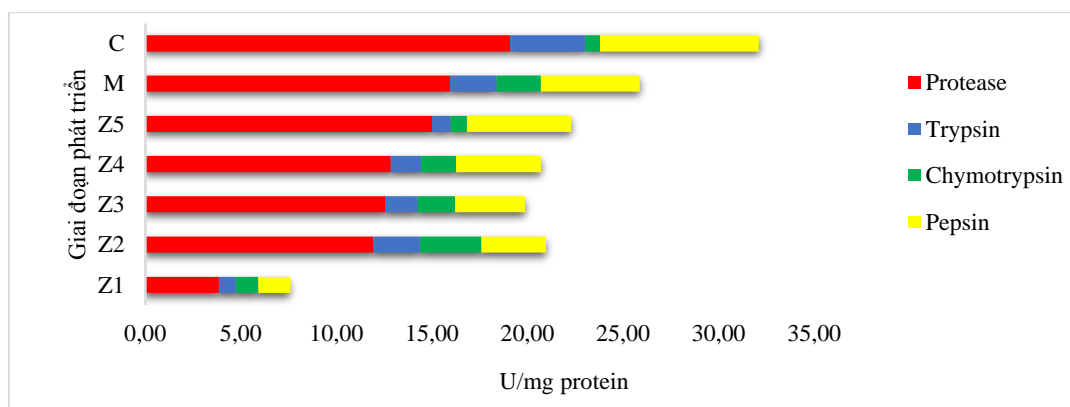
3.2.1. Trypsin

Theo kết quả ở hình 3, hoạt tính của enzyme trypsin khác nhau ở các giai đoạn trong quá trình ương: từ Zoa-1 đến Zoa-2 trypsin tăng từ 0,92 - 2,43 U/mg protein; từ giai đoạn Zoa-2 đến Zoa-5 trypsin liên tục giảm (lần lượt là 2,43; 1,71; 1,59 và 0,99 U/mg protein); Khi chuyển sang giai đoạn Megalopa và Cua-1 trypsin liên tục tăng lên mức tối đa đạt lần lượt là 2,45 và 3,94 U/mg protein. Các kết quả tương tự đã được báo cáo ở các loài decapoda khác, như tôm *H. americanus* và *P. elegans* (Wormhoudt *et al.*, 1980; Biesiot & Capuzzo, 1990). Sự gia tăng

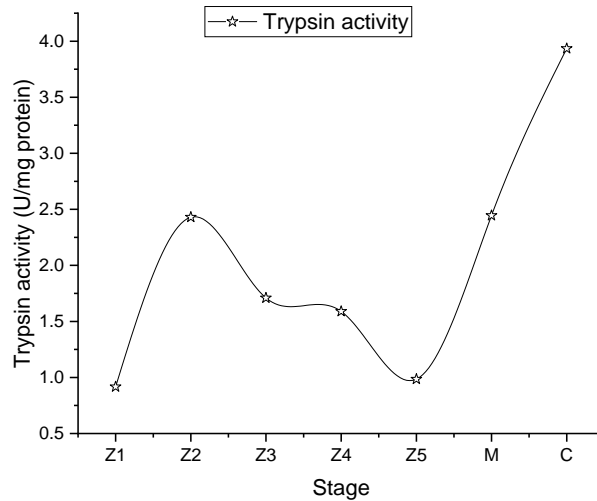
Bảng 1. Hoạt tính các loại enzyme qua từng giai đoạn (U/mg protein)

Giai đoạn	Protease	Pepsin	Trypsin	Chymotrypsin
Z1	3,85 ± 0,92 ^a	1,69 ± 0,09 ^a	0,92 ± 0,05 ^a	1,15 ± 0,02 ^b
Z2	11,95 ± 0,21 ^b	3,39 ± 0,05 ^b	2,43 ± 0,57 ^c	3,21 ± 0,04 ^e
Z3	12,55 ± 0,35 ^b	3,67 ± 0,04 ^b	1,71 ± 0,42 ^b	1,95 ± 0,03 ^c
Z4	12,85 ± 0,92 ^b	4,45 ± 0,11 ^c	1,59 ± 0,42 ^b	1,83 ± 0,06 ^c
Z5	15,00 ± 0,71 ^c	5,46 ± 0,20 ^d	0,99 ± 0,49 ^a	0,85 ± 0,12 ^a
Megalope	15,95 ± 0,35 ^c	5,18 ± 0,08 ^d	2,45 ± 0,35 ^c	2,30 ± 0,10 ^d
Cua-1	19,10 ± 0,75 ^d	8,32 ± 0,26 ^e	3,94 ± 0,06 ^d	0,76 ± 0,05 ^a

Ghi chú: Các số liệu biểu thị giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của 3 lần lặp lại trong phân tích. Trong cùng 1 cột, các giá trị mang số mũ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).



Hình 2. Sự thay đổi hoạt tính của các loại enzyme thủy phân protein qua từng giai đoạn phát triển của ấu trùng cua biển



Hình 3. Hoạt tính enzyme trypsin qua các giai đoạn phát triển của ấu trùng cua biển

hoạt tính của trypsin trong giai đoạn Megalope phù hợp với tính chất bất môi chủ động của ấu trùng ở giai đoạn này. Hơn nữa, sự gia tăng mạnh trong hoạt tính của trypsin là do sự hoàn thiện của sự phát triển của bộ máy tiêu hóa với đồng thời tăng kích thước tuyến tụy (Serrano, 2012).

Sự biến động hoạt tính của các loại enzyme qua các giai đoạn ấu trùng và hậu ấu trùng của biển được thể hiện ở hình 2. Kết quả cho thấy, trong suốt quá trình ương hoạt tính của enzyme thủy phân protein tăng dần theo giai đoạn phát triển cùng với sự hoàn thiện về hình thái bên ngoài với cấu trúc hệ tiêu hóa.

3.2.2. Chymotrypsin

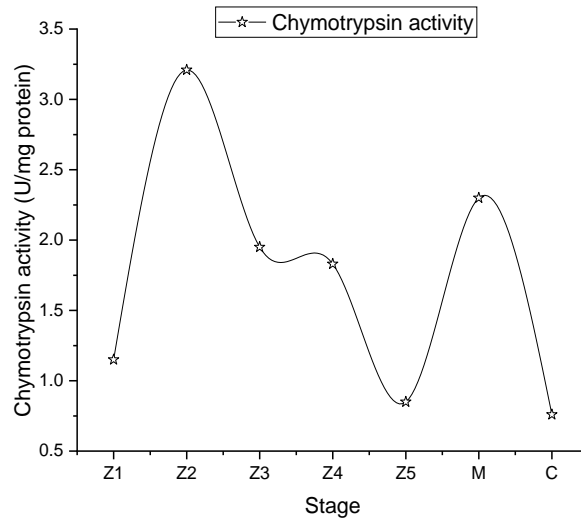
Hoạt tính của chymotrypsin có xu hướng biến động tương tự như trypsin từ giai đoạn Z1 đến Z5, ban đầu ở Z1 được ghi nhận ở mức thấp, tăng mạnh khi chuyển sang Z2 (1,15 lên 3,21 U/mg protein). Từ Z2 đến Z5 liên tục giảm mạnh (3,21 giảm xuống 0,85 U/mg protein ở Z5). Khi ấu trùng chuyển sang megalope, hoạt tính tăng lên 2,3 U/mg protein nhưng lại giảm về mức thấp 0,76 U/mg protein khi hoàn tất quá trình biến thái sang cua (Hình 4). Sự gia tăng mạnh chymotrypsin và trypsin ở giai đoạn Z2 khác với các loài giáp xác thịt ăn thịt như tôm *M. rosenbergii* và *Palaemon elegans*, trong đó hoạt

tính enzyme thủy phân tăng mạnh ở giai đoạn Megalope có liên quan đến sự phát triển của ruột và sự phát triển nhanh chóng của gan tụy (Nguồn: Kumlu & Jones, 1995; Serrano, 2015).

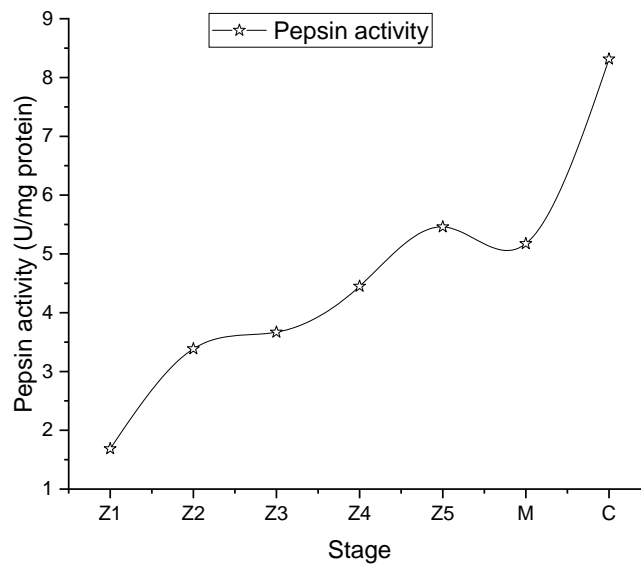
3.2.3. Pepsin

Trong giai đoạn ấu trùng và hậu ấu trùng của biển, hoạt tính enzyme pepsin có xu hướng tăng lên liên tục, dao động từ 1,69 - 8,32 U/mg protein (Hình 5). Cao nhất là ở giai đoạn Cua-1 ($8,32 \pm 0,26$ U/mg protein), thấp nhất ở Zoa-1 ($1,69 \pm 0,09$ U/mg protein). Vai trò của enzyme pepsin trong giai đoạn ấu trùng giáp xác vẫn chưa được chứng minh rõ ràng (Andrés *et al.*, 2010), một số nghiên cứu cho rằng pepsin đóng góp vào sự tiêu hóa protein ở pH thấp (Amemiya & Gomez-Chiarri, 2006) và đóng vai trò tiêu hóa chất dinh dưỡng từ noãn hoàng (ở cá) (Saborowski *et al.*, 2006). Vì ấu trùng giáp xác, cụ thể là *S. paramamosain*, được coi là có tính sinh vật phù du nên hoạt tính của pepsin trong suốt quá trình bắt đầu ăn thức ăn ngoài được xem là một phần của nhóm enzyme phân giải protein. Pepsin được sản sinh chủ yếu từ dạ dày nên càng về cuối giai đoạn hậu ấu trùng hoạt tính của pepsin càng có xu hướng tăng cao do sự hình thành các bộ phận trong cơ thể ngày càng hoàn chỉnh, đặc biệt là dạ dày (Serrano, 2012).

Khảo sát đặc điểm các enzyme thủy phân protein ở các giai đoạn ấu trùng và hậu ấu trùng của biển (*Scylla paramamosain*)



Hình 4. Hoạt tính chymotrypsin qua các giai đoạn phát triển của ấu trùng cua biển



Hình 5. Hoạt tính enzyme pepsin qua các giai đoạn phát triển của ấu trùng cua biển

3.2.4. Protease tổng

Hoạt tính enzyme protease tăng lên trong suốt quá trình ương, từ Zoa-1 đến Zoa-3 hoạt tính enzyme tăng mạnh từ 3,85 lên 12,55 U/mg protein (Hình 6). Sau đó giảm nhẹ khi sang giai đoạn Zoa-4. Đến giai đoạn Zoa-5 hoạt tính enzyme có xu hướng tăng trở lại đến giai đoạn Megalope (từ 15 - 15,95 U/mg protein). Khi chuyển sang giai đoạn Cua-1, mức độ hoạt động

của enzyme có xu hướng tăng mạnh (từ 15,95 - 19,1 U/mg protein).

Trong các giai đoạn phát triển ban đầu ở các loài giáp xác, sự thay đổi không chỉ ở lượng enzyme mà còn ở dạng enzyme có trong hệ thống tiêu hóa của ấu trùng (Saborowski *et al.*, 2006). Kết quả từ nghiên cứu này chỉ ra rằng hoạt tính protease của ấu trùng cua tăng qua các giai đoạn từ Zoa-1 đến Megalope, giảm nhẹ khi chuyển

sang cua. Điều này chứng tỏ sự hoàn thiện dần của cấu trúc ống tiêu hóa, cụ thể là dạ dày (Serrano, 2012). Hoạt tính protease giảm nhẹ khi chuyển sang cua được giải thích là do ấu trùng biến thái và chuyển tập tính sang ăn tạp, điều này cũng được ghi nhận trên ấu trùng các loài tôm he (Jones *et al.*, 1993; Serrano, 2012).

Một số báo cáo cho rằng sự thay đổi hoạt tính protease lên mức tối đa ở giai đoạn từ Zoae-3 đến Megalope là do sự thay đổi trong cấu trúc ống tiêu hóa. Kết quả này đã được chứng minh ở ấu trùng cua *S. serrata*, khi ấu trùng lột xác chuyển từ Zoae-3 sang Zoae-4, số lượng các đốt bụng tăng từ 5 lên 6 đốt (Serrano, 2012) chức năng dạ dày phát triển (Alberts-Hubatsch *et al.*, 2016) và tuyệt tụy hoàn thiện chức năng hơn (Li & Li, 1998).

Nhìn chung, trong giai đoạn ấu trùng của biển, hoạt tính các loại enzyme thiết yếu để thủy phân protein ở mức thấp và thức ăn tự nhiên đóng vai trò cung cấp enzyme để cải thiện tiêu hóa của ấu trùng cho đến khi chúng hoàn chỉnh hệ thống tiêu hóa. Xây dựng khẩu phần ăn cho ấu trùng theo từng giai đoạn phát triển là rất quan trọng để cải thiện tỷ lệ sống của ấu trùng của biển.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

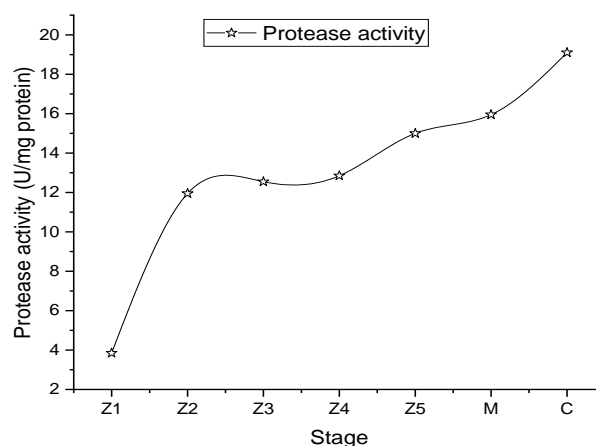
Trong giai đoạn phát triển ấu trùng, hoạt tính của enzyme thủy phân protein của cua biển có sự thay đổi lớn theo từng giai đoạn, trong đó

protease và pepsin tăng liên tục và đạt cao nhất ở giai đoạn cua, trypsin và chymotrypsin tăng ở Z2 nhưng giảm mạnh từ Z3 đến Z5.

Ở giai đoạn Zoae-1 đến Zoae-5 cho thấy hoạt tính thấp của các enzyme thủy phân protein, đến giai đoạn Zoae-5, megalope thì các hoạt tính enzyme tương đối hoàn thiện, đến giai đoạn Megalope và biến thái sang cua, các enzyme có sự thay đổi lớn về hoạt tính hoàn thiện theo sự thay đổi hình thái và tính ăn của cua biển.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Alberts-Hubatsch H., Lee S. Y., Meynecke J. O., Diele K., Nordhaus I., and Wolff M. (2016). Life-history, movement, and habitat use of *Scylla serrata* (Decapoda, Portunidae): current knowledge and future challenges. *Hydrobiologia*, 763(1): 5-21.
- Amemiya C. T. and Gomez-Chiarri M. (2006). Comparative genomics in vertebrate evolution and development. *Journal of Experimental Zoology*, 305(9): 672-82.
- Andrés M., Gisbert E., Díaz M., Moyano F. J., Estévez A. and Rotllant G. (2010). Ontogenetic changes in digestive enzymatic capacities of the spider crab, *Maja brachydactyla* (Decapoda: Majidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 389(1-2): 75-84.
- Biesiot P. M. and Capuzzo J. M. (1990). Changes in digestive enzyme activities during early development of the American lobster (*Homarus americanus*, Milne Edwards). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 136: 107-122.



Hình 6. Hoạt tính enzyme protease qua các giai đoạn phát triển của ấu trùng cua biển

- Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2009). Quy hoạch phát triển nuôi trồng thủy sản vùng Đồng bằng sông Cửu Long đến năm 2015, định hướng đến năm 2020. 226 trang.
- Boyd C.E. (1998). Pond water aeration systems Aquaculture Engineering, 18: 9-40.
- Dabrowski K. and Glogowski J. (1977). Studies on the role of exogenous proteolytic enzymes in digestion processes in fish. Hydrobiologia, 54(2): 129-134.
- Hummel B. (1959). A modified spectrophotometric determination of Chymotrypsin, Trypsin, and Thrombin. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 37(2): 1393-1399.
- Jones D. A., Kamarudin M. S. and Vay L. Le. (1993). The Potential for Replacement of Live Feeds in Larval Culture. Journal of the World Aquaculture Society, 24(2): 199-210.
- Kolkovski S., Tandler A., Kissil G. W. and Gertler A. (1993). The effect of dietary exogenous digestive enzymes on ingestion, assimilation, growth and survival of gilthead seabream (*Sparus aurata*, Sparidae, Linnaeus) larvae. Fish Physiology and Biochemistry, 12(3): 203-209.
- Kumlu M. and Jones D. A. (1995). The effect of live and artificial diets on growth, survival, and trypsin activity in larvae of *Penaeus indicus*. Journal of the World Aquaculture Society, 26(4): 406-415.
- Li F. and Li S. (1998). Studies on the hepatopancreas of larval *Scylla serrata*. Oceanol. Limnol. Sin/Haiyang Yu Huzhao, 29: 29-34.
- Lý Văn Khánh, Võ Nam Sơn, Châu Tài Tảo và Trần Ngọc Hải (2015). Ảnh hưởng của độ kiềm đến tỷ lệ biến thái và tỷ lệ sống của ấu trùng cua (*Scylla paramamosain*). Tạp chí Khoa học, Trường đại học Cần Thơ. Phần Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ sinh học, 38: 61-65.
- Saborowski R., Thatje S., Calcagno J. A., Lovrich G. A., and Anger K. (2006). Digestive enzymes in the ontogenetic stages of the southern king crab, *Lithodes santolla*. Marine Biology, 149(4): 865-873.
- Serrano A. E. (2012). Ontogeny of endogenous and exogenous amylase and total protease activities in mud crab, *Scylla serrata* larvae fed live food, 2(5): 1578-1584.
- Serrano A. E. (2015). Properties of chymotrypsin-like enzyme in the mudcrab *Scylla serrata*, brine shrimp *Artemia salina* and rotifer *Brachionus plicatilis*, 7(9): 66-73.
- Serrano A. E., and Traifalgar R. F. (2012). Ontogeny and induction of digestive enzymes in *Scylla serrata* larvae fed live or artificial feeds or their combination. AACL Bioflux, 5(3): 101-111.
- Suzer C., Kamaci H. O., Coban D., Saka S., Firat K., Ozkara B. and Ozkara A. (2007). Digestive enzyme activity of the red porgy (*Pagrus pagrus* L.) during larval development under culture conditions. Aquaculture Research, 38(16): 1778-1785.
- Pavasovic M., Richardson N. A., Anderson A. J., Mann D. and Mather P. B. (2004). Effect of pH, temperature and diet on digestive enzyme profiles in the mud crab, *Scylla serrata*. Aquaculture, 242(1-4): 641-654.
- Pullin R. S. V., Eknath A. (1991). Biotechnology in aquaculture. Proc Sec Asia-Pacific Biotechnology Congress. Ilag L. L., Raymundo A. K. (Eds.), The Phil Soc Microbiol, pp. 19-27.
- Trần Ngọc Hải và Nguyễn Thanh Phương (2009). Hiện trạng kỹ thuật và hiệu quả kinh tế của các trại sản xuất giống cua biển ở Đồng bằng sông Cửu Long. Tạp chí Khoa học, Trường đại học Cần Thơ, 12: 279-288.
- Tseng S. C. G., Jarvinen M. J., Nelson W. G., Huang J-W, Woodcock-Mitchell J., and Sun T.-T. (1982). Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. Cell, 30: 361-372.
- Wormhoudt A. Van, Ceccaldi H. J. and Martin M. (France). Station Marine d'Endoume, B. J. (Ecole P. des H. E. (1980). Adaptation of the level of hepatopancreatic digestive enzymes in *Palaemon serratus* (Crustacea, Decapoda) to the composition of experimental diets. Aquaculture (Netherlands), 59: 23-34.
- Worthington T.M. (1982). Enzyme and Related Biochemicals. Biochemical Products Division, Worthington Diagnostic System, Freehold, NJ, USA, pp. 215-226.