

植酸酶对草鱼和新吉富罗非鱼消化酶活性的影响

华雪铭 陈瑶琴 王世忠 钟国防* 周洪琪

上海海洋大学农业部淡水水产种质资源重点实验室, 上海市水产养殖工程技术研究中心 上海 201306

摘要: 植酸酶能水解植酸络合物, 释放被植酸束缚的各种营养因子, 因此能有效解除植酸与内源性消化酶的结合, 促进消化酶的作用。本实验在全植物性饲料中添加植酸酶, 研究其对草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 和新吉富罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 淀粉酶及蛋白酶比活力的影响。以全植物性饲料为阴性对照组, 添加磷酸氢钙 (dibasic calcium phosphate, DCP) 实验组为阳性对照组, 另设 4 个不同梯度的植酸酶实验组 (250 U/kg、500 U/kg、1 000 U/kg 和 2 000 U/kg)。实验选取健壮、规格齐整平均体质量为 (12.59 ± 0.09) g 的草鱼和平均体质量为 (9.59 ± 0.12) g 的新吉富罗非鱼, 分别随机分为 6 个组, 每组 5 个平行, 每个平行 20 尾鱼。养殖 8 周后, 草鱼平均体质量 (18.29 ± 0.63) g, 新吉富罗非鱼平均体质量为 (24.68 ± 1.34) g, 抽样取出胃、肠和肝胰脏用来分析淀粉酶和蛋白酶比活力。结果表明, 植酸酶对无胃鱼草鱼和有胃鱼罗非鱼淀粉酶及蛋白酶比活力都有显著的促进作用。相比较而言, 植酸酶对罗非鱼的应用效果较明显, 低剂量就能显著提高其淀粉酶及蛋白酶比活力 ($P < 0.05$)。当植酸酶添加量达到 1 000 U/kg 时, 草鱼和罗非鱼淀粉酶及蛋白酶比活力均达到峰值, 此时, 罗非鱼淀粉酶和蛋白酶比活力与阳性对照组无显著差异 ($P > 0.05$), 而草鱼肝胰脏蛋白酶比活力显著高于阳性对照组 ($P < 0.05$)。植酸酶 2 000 U/kg 实验组, 罗非鱼淀粉酶和蛋白酶比活力与 1 000 U/kg 植酸酶实验组无显著差异 ($P > 0.05$), 但草鱼肝胰脏蛋白酶比活力显著低于 1 000 U/kg 植酸酶实验组 ($P < 0.05$)。因此, 本实验条件下, 植酸酶在草鱼和新吉富罗非鱼全植物性蛋白质配合饲料中的适宜添加量均为 1 000 U/kg, 生产实践中可通过添加植酸酶部分替代无机磷源。

关键词: 植酸酶; 草鱼; 新吉富罗非鱼; 蛋白酶; 淀粉酶

中图分类号: Q955 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2013)04-562-07

Effect of Plant-Based Diets Supplemented with Phytase on Digestive Enzyme Activities in Grass Carp and NEW GIFT Nile Tilapia

HUA Xue-Ming CHEN Yao-Qin WANG Shi-Zhong ZHONG Guo-Fang* ZHOU Hong-Qi

Key Laboratory of Freshwater Fishery Germplasm Resources, Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai 201306, China

Abstract: Phytase could enhance the activity of digestive enzymes because it could hydrolyze the salts of phytic acid to release nutritional factors chelated by phytic acid, and eliminate the combination of phytic acid and endogenous digestive enzymes. The experiments were conducted to evaluate the effects of phytase on protease and amylase activities in Grass Carp (*Ctenopharyngodon idellus*) and NEW GIFT Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) by feeding

基金项目 上海海洋大学博士启动基金项目 (No. B-8812-10-0001-0190), 上海市教委科研创新项目 (No. 11YZ153), 上海市浦东新区科技发展基金创新资金项目 (No. PKJ2012-N15), 上海海洋大学研究生科研基金项目, 上海高校知识服务平台上海海洋大学水产动物遗传育种中心 (No. ZF1206);

* 通讯作者, E-mail: gfzhong@shou.edu.cn;

第一作者介绍 华雪铭, 女, 副教授; 研究方向: 水产动物营养与饲料学; E-mail: xmhua@shou.edu.cn。

收稿日期: 2013-01-24, 修回日期: 2013-04-03

with plant-based diets supplemented with graded levels of phytase. Six isonitrogenous and isocaloric diets were formulated: two control diets (negative control diet: plant-based without calcium phosphate dibasic (DCP) and phytase added, and positive control diet with DCP added but without phytase), and the other four experimental diets with graded levels of phytase (250, 500, 1 000, 2 000 U/kg). Grass Carp of robust and uniform size with body weight 12.59 ± 0.09 g and NEW GIFT Nile Tilapia with body weight 9.59 ± 0.12 g were randomly divided into six groups respectively, 5 replicates per treatment with 20 fish. After 56 days breeding experiments, body weight of Grass Carp and NEW GIFT Nile Tilapia reached 18.29 ± 0.63 g and 24.68 ± 1.34 g, respectively. The stomach, hepatopancreas and intestine were randomly taken for analysis of endogenous protease and amylase activities. The results showed that in no-stomach fish like Grass Carp and gastric fish like Tilapia, endogenous protease and amylase activities were significantly enhanced by dietary phytase. By comparison, the sound effect of phytase in tilapia was more obvious, for the protease and amylase activities were improved remarkably by phytase at a low level of 250 U/kg for tilapia ($P < 0.05$). Activities of these two digestive enzymes in Grass Carp and Tilapia tissues reached the maximum value at the level of 1 000 U/kg, while in Tilapia the enzyme activity values were not markedly different from those of the positive control ($P > 0.05$). The protease activity in hepatopancreas of Grass Carp in 1 000 U/kg phytase group was significantly higher than that of positive control ($P < 0.05$). In addition, the protease and amylase activities of Tilapia in 2 000 U/kg group was not significantly different from that of 1 000 U/kg group, while the protease activity of hepatopancreas in Grass Carp was significantly declined ($P < 0.05$). Consequently, the optimum phytase amount in manufactured feed was 1 000 U/kg not only for NEW GIFT Nile Tilapia but also for Grass Carp under the condition of this experiment. The phytase could be used to replace partly inorganic phosphorus sources in the fish feeding.

Key words: Phytase; Grass Carp (*Ctenopharyngodon idellus*); New GIFT Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*); Protease; Amylase

植酸(环己六醇六磷酸酯)是植物性原料中一种主要的抗营养因子,具有很强的螯合能力,除螯合磷外,还能螯合锌、铜、蛋白等一些重要的营养物质(Selle et al. 2009a),影响动物的消化能力(Denstadli et al. 2006)。植酸与盐结合形成植酸盐,是植物组织中磷存在的最重要形式,如种子中大约有 75% 的磷以植酸磷的形式存在(李光霞等 2009)。五磷酸盐(pentaphosphate, IP5)、四磷酸盐(tetraphosphate, IP4)和三磷酸盐(triple phosphate, IP3)都称为植酸盐(Kumar et al. 2010)。研究认为植酸盐很难被单胃动物利用,容易引起磷污染(Selle et al. 2009b),是当前植物蛋白源替代鱼粉研究中需要解决的重要问题之一。

植酸酶可依次切下植酸分子上的磷酸基团,水解为肌醇和无机磷酸。因此在饲料中添加植酸酶可有效分解植酸盐,提高植物性饲料营养物质的利用率(Raboy 2009)。植酸酶通过水解植酸络合物,释放出被植酸束缚的各种营

养因子(包括蛋白质),解除植酸与内源性淀粉酶、蛋白酶的结合,提高淀粉酶和蛋白酶的活性(付石军等 2005, 牛纪锋 2008)。植酸酶在水生动物上的研究表明,添加方式(Cao et al. 2007, 陈京华等 2010)、基础饲料组成(Cheng et al. 2003)和植酸酶来源(Liebert et al. 2005, 2007)都会影响植酸酶效用(Sajjadi et al. 2004);进入动物体内的植酸酶活力也容易受到消化道 pH 的影响,无胃鱼如草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)肠道 pH 为 6 左右,不利于外源植酸酶的利用(Nwanna et al. 2007),而有胃鱼因为胃酸的分泌,能使外源性植酸酶在较低的 pH 条件下有效溶解(Campbell et al. 1992)。本实验以草鱼和新吉富罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)为研究对象,在全植物蛋白源配合饲料中添加植酸酶,研究植酸酶对草鱼和新吉富罗非鱼消化酶比活力的影响,为植酸酶在无胃鱼和有胃鱼间的作用比较提供第一手资料,为开发环境友好型饲料提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 实验饲料 以大豆粕、次粉、米糠等配制全植物性基础饲料(阴性对照组),在基础饲料中添加 2% 磷酸氢钙(dibasic calcium phosphate, DCP)作为阳性对照组。饲料原料购自上海农好饲料有限公司,植酸酶活力为 5 000 U/g(Danisco 公司,所用植酸酶适宜 pH

在 3 左右)。另设 4 个不同植酸酶浓度梯度的实验组,即在基础饲料中分别添加 50、100、200 和 400 mg/kg 的植酸酶,其他原料用量保持不变,使各实验组饲料中的植酸酶活力分别为 250 U/kg、500 U/kg、1 000 U/kg 和 2 000 U/kg。两种鱼的对照组饲料配方见表 1 和表 2。所有原料粉碎后,过 60 目筛,用小型颗粒机制作成直径 1.5 mm 的沉性饲料,风干密封备用。

表 1 草鱼对照组饲料配方(%)

Table 1 Formulae and nutrient compositions of trial diets in control group of *Ctenopharyngodon idellus*

| 原料 Ingredients | 阴性对照组 | 阳性对照组 |
|--|----------------------------|----------------------------|
| | The negative control group | The positive control group |
| 大豆粕 Soybean meal | 44.40 | 45.10 |
| 菜籽粕 Rape seed meal | 5.80 | 5.80 |
| 玉米酒糟蛋白 Distillers dried grain with solubles DDGS | 2.20 | 2.00 |
| 面粉 Wheat flour | 8.00 | 5.50 |
| 次粉 Wheat-middlings | 13.90 | 13.90 |
| 花生粕 Peanut meal | 5.50 | 5.50 |
| 米糠 Rice bran | 16.00 | 16.00 |
| 大豆油 Soybean oil | 1.00 | 1.00 |
| 复合多维 Vitamins premix | 0.50 | 0.50 |
| 复合多矿 Minerals premix | 0.50 | 0.50 |
| 瓜尔豆胶 Guar gum | 0.50 | 0.50 |
| 赖氨酸 L-Lysine | 0.20 | 0.20 |
| 蛋氨酸 DL-Methionine | 1.40 | 1.40 |
| 三氧化二铬 Chromic oxide Cr ₂ O ₃ | 0.10 | 0.10 |
| 磷酸氢钙 Dibasic calcium phosphate DCP | 0.00 | 2.00 |
| 营养成分实测值(干样) Nutrient ingredients (dry samples) | | |
| 蛋白 Crude protein | 32.72 | 32.64 |
| 脂肪 Crude lipid | 7.09 | 7.14 |
| 总能 Gross energy (MJ/kg) | 17.35 | 17.15 |

表 2 罗非鱼对照组饲料配方(%)

Table 2 Formulae and nutrient compositions of trial diets in control group of *Oreochromis niloticus*

| 原料 Ingredients | 阴性对照组 | 阳性对照组 |
|--|----------------------------|----------------------------|
| | The negative control group | The positive control group |
| 大豆粕 Soybean meal | 49.00 | 49.50 |
| 菜籽粕 Rape seed meal | 5.00 | 5.00 |
| 玉米酒糟蛋白 Distillers dried grain with solubles DDGS | 2.40 | 2.00 |
| 面粉 Wheat flour | 7.00 | 5.00 |
| 次粉 Wheat-middlings | 14.10 | 14.00 |
| 米糠 Rice bran | 16.30 | 16.30 |
| 大豆油 soybean oil | 3.00 | 3.00 |
| 复合多维 Vitamins premix | 0.50 | 0.50 |
| 复合多矿 Minerals premix | 0.50 | 0.50 |
| 瓜尔豆胶 Guar gum | 0.50 | 0.50 |
| 赖氨酸 L-Lysine | 0.20 | 0.20 |
| 蛋氨酸 DL-Methionine | 1.40 | 1.40 |
| 三氧化二铬 Chromic oxide Cr ₂ O ₃ | 0.10 | 0.10 |
| 磷酸氢钙 Dibasic calcium phosphate DCP | 0.00 | 2.00 |
| 营养成分实测值(干样) Nutrient ingredients (dry samples) | | |
| 蛋白 Crude protein | 33.31 | 33.35 |
| 脂肪 Crude lipid | 8.58 | 8.43 |
| 总能 Gross energy (MJ/kg) | 18.37 | 18.34 |

1.2 实验用鱼 实验用草鱼幼鱼为规格相近的当年同批鱼种,取自上海海洋大学南汇滨海养殖基地,新吉富罗非鱼购自海南宝路水产科技有限公司,两种鱼在上海海洋大学滨海养殖基地暂养 1 周后开始正式实验。

1.3 饲养管理 挑选健壮、规格整齐、平均体质量为 (12.59 ± 0.09) g 的草鱼和平均体质量为 (9.59 ± 0.12) g 的新吉富罗非鱼随机分入 200 L 的塑料圆桶中,每种鱼分 6 个组,每组设置 5 个重复,每个重复 20 尾鱼。用上述对照饲料和实验饲料饱食投喂草鱼和罗非鱼,每天投喂 2 次(07:30 时、17:30 时),投喂量为体重的 3%~5%,随鱼体重量、天气及摄食情况加以调整。养殖周期为 8 周,养殖期间,水温 25~30℃, $\text{NH}_4^+-\text{N} < 0.4$ mg/L,溶解氧(dissolved oxygen, DO) > 5 mg/L。

1.4 样品的采集与处理 养殖实验结束前饥饿 1 d 后取样,每个重复随机取 3 尾鱼,每 3 尾鱼合并成一个样本,取肝脏、肠(去除内容物)、胃(罗非鱼,去除内容物)分别装入 1.5 ml 离心管中,置于 -20℃ 保存。酶活测定时, pH 7.2 的磷酸盐缓冲液与所取内脏样品以 9:1 [体积(ml):重量(g)] 移入匀浆管,按 2 000 r/min 的速度在匀浆机上匀浆,4 000 r/min 4℃ 离心 10 min,取上清,置于 4℃ 保存备测,24 h 内测完。

1.5 消化酶比活力的测定 蛋白酶活力采用福林-酚法测定,总蛋白试剂盒(双缩脲法)购自迈瑞公司。蛋白酶比活力定义:在 pH = 7.2 (胃蛋白酶为 pH = 2.5) 40℃ 条件下,组织中每克蛋白 1 min 水解酪素产生 1 μg 酪氨酸定为一个蛋白酶比活力单位(U/g prot)。

淀粉酶比活力采用碘-淀粉比色法测定,试剂盒购自南京建成生物工程研究所。淀粉酶比活力定义:组织中每克蛋白在 pH = 7.2 温度 37℃ 条件下与底物作用 30 min,水解 10 mg 淀粉定义为一个淀粉酶比活力单位(U/g prot)。

1.6 数据处理 实验数据用平均值 ± 标准差表示。用 SPSS 17.0 软件进行统计,先进行单因素方差分析(one-way analysis, ANOVA),影响显著者再进行 Duncan's 多重比较, $P < 0.05$

表示差异显著。

2 结果

2.1 植酸酶对草鱼和罗非鱼淀粉酶比活力的影响 表 3 显示,草鱼肠淀粉酶比活力各组之间无显著差异($P > 0.05$)。草鱼阳性对照组肝胰脏淀粉酶比活力显著高于阴性对照组($P < 0.05$),但与 1 000 U/kg 和 2 000 U/kg 植酸酶实验组差异不显著($P > 0.05$);肝胰脏淀粉酶比活力 1 000 U/kg 植酸酶实验组比阴性对照组、250 U/kg 和 500 U/kg 植酸酶实验组分别提高 57.85%、37.28% 和 50.22% ($P < 0.05$);2 000 U/kg 与 1 000 U/kg 植酸酶实验组肝胰脏淀粉酶比活力差异不显著($P > 0.05$);250 U/kg 和 500 U/kg 植酸酶实验组肝胰脏淀粉酶比活力比阴性对照组略有升高,但差异不显著($P > 0.05$)。

罗非鱼肠淀粉酶比活力阴性对照组显著低于阳性对照组($P < 0.05$);250 U/kg 和 500 U/kg 植酸酶实验组比阴性对照组略有升高,但差异不显著($P > 0.05$);1 000 U/kg 和 2 000 U/kg 植酸酶实验组淀粉酶比活力比阴性对照组分别提高了 53.37% 和 51.17% ($P < 0.05$)。肝胰脏淀粉酶比活力各组之间差异不显著($P > 0.05$)。胃淀粉酶比活力,植酸酶实验组与阳性对照组差异不显著,但均显著高于阴性对照组,250 U/kg、500 U/kg、1 000 U/kg 和 2 000 U/kg 植酸酶实验组比阴性对照组分别升高 27.15%、37.22%、39.48% 和 26.54% ($P < 0.05$) (表 3)。

2.2 植酸酶对草鱼和罗非鱼蛋白酶比活力的影响 表 4 显示,草鱼肠蛋白酶比活力 250 U/kg 和 500 U/kg 植酸酶实验组与阴性对照组差异不显著;1 000 U/kg 和 2 000 U/kg 植酸酶实验组比阴性对照组分别提高了 15.33% 和 16.69% ($P < 0.05$),且与阳性对照组无显著性差异($P > 0.05$)。草鱼肝胰脏蛋白酶比活力 250 U/kg 植酸酶实验组比阴性对照组提高 7.91% ($P > 0.05$);500 U/kg、1 000 U/kg 和 2 000 U/kg 植酸酶实验组比阴性对照组分别提高 40.08%、134.64% 和 58.21% ($P < 0.05$);

表 3 不同植酸酶水平对草鱼和罗非鱼淀粉酶比活力的影响

Table 3 Amylase activity in *Ctenopharyngodon idellus* and *Oreochromis niloticus* fed with plant-based diets with graded levels of phytase

| 分组 Group | 淀粉酶比活力 Amylase specific activity (U/g prot) | | | | |
|---|---|---------------------------|----------------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| | 草鱼 <i>Ctenopharyngodon idellus</i> | | 罗非鱼 <i>Oreochromis niloticus</i> | | |
| | 肠 Intestine | 肝胰脏 Hepatopancreas | 肠 Intestine | 肝胰脏 Hepatopancreas | 胃 Stomach |
| 阴性对照组 The negative control group | 75.42 ± 3.88 | 41.71 ± 9.10 ^a | 37.25 ± 10.30 ^a | 35.03 ± 10.68 | 57.34 ± 10.69 ^a |
| 阳性对照组 The positive control group | 78.95 ± 6.03 | 61.60 ± 4.08 ^b | 53.27 ± 6.92 ^{bc} | 37.64 ± 7.10 | 75.72 ± 13.49 ^b |
| 植酸酶实验组 the experimental groups of phytase | 250 U/kg | 69.24 ± 10.28 | 47.96 ± 9.53 ^a | 51.16 ± 8.10 ^{abc} | 72.91 ± 10.14 ^b |
| | 500 U/kg | 70.90 ± 2.93 | 43.83 ± 0.50 ^a | 41.66 ± 9.25 ^{ab} | 78.68 ± 8.23 ^b |
| | 1 000 U/kg | 72.16 ± 9.19 | 65.84 ± 7.21 ^b | 57.13 ± 9.17 ^c | 79.98 ± 5.59 ^b |
| | 2 000 U/kg | 79.19 ± 9.47 | 54.75 ± 9.95 ^{ab} | 56.31 ± 12.08 ^{bc} | 72.56 ± 5.83 ^b |

表中同列数据上标注不同字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$)。

Means with different letters in the same row indicated significant difference at $P < 0.05$.

表 4 不同植酸酶水平对草鱼和罗非鱼蛋白酶比活力的影响

Table 4 Protease activity in *Ctenopharyngodon idellus* and *Oreochromis niloticus* fed with plant-based diets with graded levels of phytase

| 分组 Group | 蛋白酶比活力 Protease specific activity (U/g prot) | | | | |
|---|--|--------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| | 草鱼 <i>Ctenopharyngodon idellus</i> | | 罗非鱼 <i>Oreochromis niloticus</i> | | |
| | 肠 Intestine | 肝胰脏 Hepatopancreas | 肠 Intestine | 肝胰脏 Hepatopancreas | 胃 Stomach |
| 阴性对照组 The negative control group | 3688.93 ± 359.90 ^a | 2115.33 ± 160.06 ^a | 1362.56 ± 86.62 | 3319.75 ± 210.80 ^a | 1484.16 ± 202.23 ^a |
| 阳性对照组 The positive control group | 4563.86 ± 363.60 ^c | 3089.66 ± 281.07 ^b | 1506.18 ± 30.45 | 4153.15 ± 101.80 ^b | 2230.46 ± 392.10 ^b |
| 植酸酶实验组 The experimental groups of phytase | 250 U/kg | 3512.13 ± 303.04 ^a | 2282.68 ± 232.06 ^a | 1430.87 ± 185.07 | 1783.47 ± 293.87 ^{ab} |
| | 500 U/kg | 4015.20 ± 366.96 ^{ab} | 2963.06 ± 376.37 ^b | 1410.32 ± 111.79 | 1888.97 ± 444.98 ^{ab} |
| | 1 000 U/kg | 4254.54 ± 372.29 ^{bc} | 4963.38 ± 330.84 ^c | 1568.00 ± 145.39 | 2051.24 ± 105.80 ^b |
| | 2 000 U/kg | 4304.60 ± 372.29 ^{bc} | 3346.71 ± 445.55 ^b | 1315.75 ± 127.72 | 2094.45 ± 301.24 ^b |

表中同列数据上标注不同字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$)。

Means with different letters in the same row indicated significant difference at $P < 0.05$.

1 000 U/kg植酸酶实验组比阳性对照组提高 60.64% ($P < 0.05$)。

罗非鱼肠蛋白酶比活力各实验组之间均无显著性差异 ($P > 0.05$)。罗非鱼肝胰脏蛋白酶比活力各植酸酶添加组与阴性对照组相比均无显著性差异 ($P > 0.05$)；1 000 U/kg 和 2 000 U/kg 植酸酶实验组可以达到阳性对照组水平 ($P > 0.05$)。罗非鱼胃蛋白酶比活力 250 U/kg、500 U/kg植酸酶实验组略高于阴性对照组 ($P > 0.05$)；1 000 U/kg 和 2 000 U/kg 植酸酶实验组显著高于阴性对照组 38.21% 和 41.12% ($P < 0.05$)，但与阳性对照组差异不显著 ($P > 0.05$)，4 个植酸酶实验组之间差异不

显著 ($P < 0.05$) (表 4)。

3 讨论

植酸是植物细胞壁的组成成分，植酸酶的添加能破解细胞壁，水解植酸，消除其对消化酶的抑制作用，促进消化酶和底物的作用 (祁艳霞等 2004)；植酸酶作为外源酶，适量添加能够促进内源酶的分泌 (黎军胜等 2005)；同时植酸酶添加前后磷的吸收量变化也会因鱼体内的能量代谢影响鱼类消化酶的代谢过程。酸、碱、重金属等是蛋白质立体结构的破坏体，二价金属离子如 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 等对消化酶具有抑制作用 (吴尚忠 1983)。但不同的金属离子对肝胰脏淀粉

酶的影响不同(辛碧芬等 2009),同一金属离子对不同部位消化酶的影响也不同(黎军胜 2004)。随着植酸酶添加量的增加,原被螯合的金属离子和重金属离子被释放,且浓度越来越高,成为抑制剂或激活剂(辛碧芬等 2009)。本研究发现,植酸酶对草鱼和罗非鱼的消化酶比活力的影响随着酶量和消化系统部位的变化而变化,如淀粉酶比活力在草鱼肝胰脏中和罗非鱼肠中变化显著;而蛋白酶比活力除在罗非鱼肠中变化不显著外,在罗非鱼的肝胰脏、胃以及草鱼的肠、肝胰脏变化显著,可能是植酸酶释放了被植酸络合的金属离子,这些金属离子对草鱼和罗非鱼各部位消化酶的影响不同所致。当植酸酶超过一定量后,消化酶比活力并不随着植酸酶添加量的增加而继续升高,这可能是消化酶在金属离子作为抑制剂和激活剂双重作用下表现出不同活性的结果。

3.1 植酸酶对草鱼和罗非鱼淀粉酶比活力的影响 本实验中,草鱼肠淀粉酶比活力各组之间无显著性差异,而马恒甲等(2011)认为当植酸酶添加量达到 1 000 U/kg 时,肠淀粉酶活力显著高于阴性对照组,这种差异可能是两者植酸酶品种或草鱼规格不同所致。本实验中,草鱼肝胰脏淀粉酶比活力 1 000 U/kg 植酸酶实验组最高,与阳性对照组的效果相近,说明植酸酶在草鱼中可部分替代磷酸氢钙,用于生产饲料中不会影响淀粉酶比活力。植酸酶添加量到达 2 000 U/kg 时,草鱼肠道和肝胰脏淀粉酶比活力与 1 000 U/kg 植酸酶实验组比无显著变化,说明草鱼的淀粉酶比活力对高水平植酸酶有一定的适应性。

真骨鱼类胃中发现有微弱淀粉酶活性,很可能是因为唾液淀粉酶随食物进入胃中,刚摄入食物时,胃内容物的 pH 接近中性,随着唾液淀粉酶继续发挥作用,一直到胃内容物的 pH 变为 4.5,唾液淀粉酶失活(孟庆闻等 1987)。胃内低 pH 环境不利于淀粉酶起作用,因此,自然条件下罗非鱼等有胃鱼主要依靠肝胰腺和肠的淀粉酶对糖类起消化作用。罗非鱼饲料中添加 250 U/kg 植酸酶,肠淀粉酶比活力显著提

高,添加量达到 1 000 U/kg 时,肠淀粉酶比活力已经略超过阳性对照组,比直接添加无机磷源的效果更好,说明就淀粉酶比活力而言,在罗非鱼饲料中用植酸酶全部替代磷酸氢钙是可行的。研究认为植酸酶添加量在 1 000 U/kg 时,奥尼罗非鱼前肠淀粉酶活性最高(姚瑞清等 2008),这与本研究结果类似,但 1 500 U/kg 和 2 000 U/kg 植酸酶剂量组的前肠淀粉酶活力显著下降,这与本实验肠淀粉酶活力在 2 000 U/kg 时维持稳定的结果不一致,可能是因为消化酶在全肠中呈不均匀分布,前肠的消化酶活力并不能代表全肠(朱爱意等 2010)。

3.2 植酸酶对草鱼和罗非鱼蛋白酶比活力的影响 本实验中,草鱼蛋白酶比活力肠 > 肝胰脏。1 000 U/kg 组为最佳添加组,其肝胰脏蛋白酶比活力显著高于阳性对照组,比直接添加无机磷源的效果更好,此结果和马恒甲等(2011)在草鱼中的研究结果一致。罗非鱼蛋白酶比活力肝胰脏 > 胃 > 肠,肠蛋白酶和肝胰脏蛋白酶比活力在各植酸酶实验组和阴性对照组之间没有显著差异,说明植酸酶对罗非鱼的肠蛋白酶和肝胰脏蛋白酶最敏感,并可能已作为底物被这两种蛋白酶部分分解而造成植酸酶和蛋白酶活性的削弱(付石军等 2005),抑或植酸酶经过胃时,在胃中发挥作用的同时作为底物被胃蛋白酶部分分解。胃是进行消化作用的重要场所,胃内壁具有胃腺,主要功能是分泌胃蛋白酶。本实验中罗非鱼胃蛋白酶比活力在 1 000 U/kg 和 2 000 U/kg 植酸酶实验组中得到显著提高,说明植酸酶对罗非鱼蛋白酶比活力的影响主要发生在胃且对胃蛋白酶有很强的抵抗力,没有或者很少被胃蛋白酶分解,此结果和前肠蛋白酶比活力在植酸酶 1 000 U/kg 时达到最大(姚瑞清等 2008)的结果有一定差异,其原因可能与对淀粉酶的影响相似,即前肠的消化酶活力并不代表全肠。

3.3 鱼类食性对植酸酶作用效果的影响 食物消化时间在不同食性鱼类中长短不一,常会影响外源酶的消化作用。草鱼是典型的草食性无胃鱼类,草食性鱼类比杂食性鱼类的比肠值大,

食物在其肠中的停留时间相对较长,且肠绒毛发达,吸收能力强(毕冰等 2011),因此在草鱼消化道呈碱性的情况下,植酸酶在单位时间内发挥作用小,但随着作用时间的积累,或能有效影响消化酶比活力。罗非鱼是典型的杂食性有胃鱼类,食物停留在胃内的时间较长,其胃排空时间为 9 h(孙晓锋等 2011),所以消化时间较长,有利于植酸酶的作用。消化酶的活性强弱与鱼的食性密切相关,草鱼的消化道中淀粉酶活性较高,罗非鱼消化道中蛋白酶活性较草鱼高。

参 考 文 献

- Campbell G L, Bedford M R. 1992. Enzyme applications for monogastric feeds; a review. *Canadian Journal of Animal Science*, 72(3): 449–466.
- Cao L, Wang W M, Yang C T, et al. 2007. Application of microbial phytase in fish feed. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(4): 497–507.
- Cheng Z J, Hardy R W. 2003. Effects of extrusion and expelling processing, and microbial phytase supplementation on apparent digestibility coefficients of nutrients in full-fat soybeans for Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 218(1/4): 501–514.
- Denstadli V, Skrede A, Krogdahl Å, et al. 2006. Feed intake, growth, feed conversion, digestibility, enzyme activities and intestinal structure in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed graded levels of phytic acid. *Aquaculture*, 256(1): 365–376.
- Liebert F, Portz L. 2005. Nutrient utilization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed plant based low phosphorus diets supplemented with graded levels of different sources of microbial phytase. *Aquaculture*, 248(1/4): 111–119.
- Liebert F, Portz L. 2007. Different sources of microbial phytase in plant based low phosphorus diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) may provide different effects on phytate degradation. *Aquaculture*, 267(1/4): 292–299.
- Nwana L, Eisenreich R, Schwarz F. 2007. Effect of wet-incubation of dietary plant feedstuffs with phytases on growth and mineral digestibility by Common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*, 271(1/4): 461–468.
- Kumar V, Sinha A K, Makkar H P S, et al. 2010. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chemistry*, 120(4): 945–959.
- Raboy V. 2009. Approaches and challenges to engineering seed phytate and total phosphorus. *Plant Science*, 177(4): 281–296.
- Sajjadi M, Carter C. 2004. Dietary phytase supplementation and the utilisation of phosphorus by Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed a canola-meal-based diet. *Aquaculture*, 240(1): 417–431.
- Selle P H, Cowieson A J, Ravindran V. 2009a. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. *Livestock Science*, 124(1/3): 126–141.
- Selle P H, Ravindran V, Partridge G. 2009b. Beneficial effects of xylanase and/or phytase inclusions on ileal amino acid digestibility, energy utilisation, mineral retention and growth performance in wheat-based broiler diets. *Animal Feed Science and Technology*, 153(3/4): 303–313.
- 毕冰, 孙中武, 毛天强, 等. 2011. 鲤, 鲢, 鳙, 草鱼消化道结构与食性的研究. *水产学杂志*, 24(1): 26–29.
- 陈京华, 麦康森. 2010. 不同添加方式植酸酶处理豆粕对牙鲆生长和饲料利用率的影响. *水生生物学报*, 34(3): 481–487.
- 付石军, 孙建义. 2005. 中性植酸酶在水产中的应用. *中国饲料*, (2): 25–27.
- 李光霞, 李宗伟. 2009. 植酸酶的应用及研究进展. *畜牧与饲料科学*, 30(3): 61–63.
- 黎军胜. 2004. 外源因子对罗非鱼消化酶活性和胰蛋白酶 mRNA 表达的影响. 南京: 南京农业大学博士学位论文, 6–68.
- 黎军胜, 李建林, 吴婷婷. 2005. 外源酶和柠檬酸对奥尼罗非鱼内源消化酶活性的影响. *南京农业大学学报*, 28(3): 97–100.
- 马恒甲, 叶金云, 郭建林, 等. 2011. 全植物蛋白饲料中添加植酸酶对草鱼生长, 非特异性免疫及消化酶活力的影响. *浙江海洋学院学报: 自然科学版*, 30(2): 119–125.
- 孟庆闻, 苏锦祥, 李婉端. 1987. 鱼类比较解剖. 北京: 科学出版社, 152–193.
- 牛纪锋. 2008. 植酸酶对大口黑鲈生长、消化酶活性和营养物质表观消化率的影响. 湛江: 广东海洋大学硕士学位论文, 19–24.
- 祁艳霞, 陈玉林. 2004. 植酸酶的作用机理及影响植酸酶活性的因素. *饲料博览*, (7): 10–12.
- 孙晓锋, 冯健, 陈江虹, 等. 2011. 投喂频率对尼罗系吉富罗非鱼幼鱼胃排空, 生长性能和体组成的影响. *水产学报*, 35(11): 1677–1683.
- 吴尚忠. 1983. 鱼类消化生理: 下. 上海: 海科技出版社, 548–551, 390–393.
- 辛碧芬, 谢进金, 庄巧阳. 2009. 几种金属离子对鲢肝胰脏淀粉酶的影响. *水生态学杂志*, 2(3): 91–95.
- 姚瑞清, 刘波, 吴婷婷, 等. 2008. 植酸酶对奥尼罗非鱼生长、表观消化率与消化酶活性的影响. *中国饲料*, (17): 30–32.
- 朱爱意, 谢佳彦, 江丽华. 2010. pH 和温度对黄姑鱼主要消化酶活力的影响. *浙江海洋学院学报: 自然科学版*, 29(6): 532–536.