

## 植酸酶和非淀粉多糖酶对鲈鱼生长和消化酶活性的影响

张璐<sup>1,2</sup> 艾庆辉<sup>1</sup> 麦康森<sup>1</sup> 李静<sup>1</sup> 李会涛<sup>1</sup> 张春晓<sup>1</sup> 郑石轩<sup>2</sup>

(1. 中国海洋大学教育部海水养殖重点实验室, 青岛 266003; 2. 湛江粤海饲料有限公司, 湛江 524017)

**摘要:**以初始体重为(6.26 ± 0.10) g 鲈鱼 (*Lateolabrax japonicus* Cuvier) 为研究对象, 探讨饲料中添加植酸酶 (PY) 和非淀粉多糖酶 (WX 和 VP) (WX 为木聚糖酶和葡聚糖酶的复合酶制剂, VP 为纤维素酶、半纤维素酶、葡聚糖酶和果胶酶的复合酶制剂) 对鲈鱼生长、体组成以及胃和肠道消化酶活性的影响。以含 36.1% 鱼粉和 18.0% 复合蛋白 (豆粕: 肉骨粉: 花生粕: 菜籽粕 = 4: 3: 2: 1 并添加赖氨酸、蛋氨酸和异亮氨酸以模拟鱼粉必需氨基酸含量) 的饲料为基础饲料 (Diet 1), 分别向每千克基础饲料中添加 200mg PY (Diet 2) 和 400 mg VP + 800mg WX (Diet 3), 配制出 3 种等氮 (粗蛋白 43%) 等能 (20kJ/g) 的实验饲料。实验在 1.5m × 1.5m × 2.0m 的浮式海水网箱中进行, 每个处理设 3 个重复, 每个重复放养 60 尾鲈鱼。每天饱食投喂 2 次 (06:00 和 18:00)。实验期间水温为 27.5-29.5 °C, 盐度为 25‰-28‰, 溶解氧大于 7mg/L。实验结果表明饲料中添加外源酶对鲈鱼的成活率无显著影响 (92%-95%), 但却显著提高了鲈鱼的增重百分率 (从 859.3% 提高到 947.2% 和 905.2%) 和特定生长率 (从 4.0 提高到 4.2 和 4.1) ( $p < 0.01$ )。与基础饲料组相比, 饲料中添加非淀粉多糖酶对鲈鱼鱼体水分、粗蛋白、粗脂肪、灰分以及身体总能均无显著影响; 饲料中添加植酸酶对鲈鱼鱼体水分、粗脂肪含量以及身体总能也无显著影响, 但却显著提高了鱼体的粗蛋白和灰分含量 ( $p < 0.05$ )。饲料中添加植酸酶和非淀粉多糖酶后, 鲈鱼胃和肠道消化酶均有上升趋势。饲料中添加植酸酶对鲈鱼胃和肠道中的脂肪酶和淀粉酶的活性无显著影响, 但是显著提高了其胃和肠道中蛋白酶的活性 (分别从 0.74U/mg 提高到 1.02 U/mg 和 1.09U/mg 提高到 1.71U/mg) ( $p < 0.01$ )。而饲料中添加非淀粉多糖酶对鲈鱼胃和肠道中的蛋白酶和脂肪酶活性无显著影响, 但显著提高了其胃和肠道中淀粉酶的活性 (分别从 0.05U/mg 提高到 0.16U/mg 和 0.12U/mg 提高到 0.21U/mg) ( $p < 0.01$ )。

**关键词:** 鲈鱼; 植酸酶; 非淀粉多糖酶; 消化酶; 生长

**中图分类号:** S963.71      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-3207(2009)01-

鱼粉被公认为是水生动物饲料最好的蛋白源, 传统的水产饲料工业一直以鱼粉作为饲料中主要的蛋白质来源。随着集约化养殖的不断发展, 鱼粉的需求量也迅速攀升, 但是近年来鱼粉的产量却呈现下降的趋势, 正是这种供需不平衡导致鱼粉价格一路上扬, 从而影响了水产饲料行业的进一步发展。随着对饲料中鱼粉关注度的提高, 越来越多的研究开始尝试使用廉价的蛋白源来替代饲料中的鱼粉。大量结果表明, 利用植物蛋白可以部分甚至完全替代饲料中的鱼粉蛋白<sup>[1-4]</sup>, 但是植物中抗营养因子的存在限制了鱼类对植物蛋白的利用<sup>[5]</sup>。

植酸和非淀粉性多糖是植物蛋白源中最主要的两种抗营养因子。植酸广泛存在于植物性饲料中,

容易与饲料中的磷结合形成植酸磷, 从而使鱼类无法吸收饲料中的磷, 导致大量的磷排入水体, 使水体富营养化<sup>[6]</sup>。另一方面, 植酸能与钙、铁、锰、锌等金属离子螯合, 形成不溶性络合物, 从而降低鱼类对这些元素的利用率<sup>[7]</sup>。此外, 植酸还能与蛋白质作用形成难溶的植酸-蛋白质络合物, 降低鱼类对蛋白质的消化利用率。非淀粉多糖是植物组织中除淀粉以外所有碳水化合物的总称。非淀粉多糖进入消化道后能结合大量水分, 使消化道内容物的粘度增加, 营养物质与消化道内源酶的作用降低, 降低营养物质 (尤其是蛋白质和脂肪) 的消化率, 从而影响动物的生长<sup>[8]</sup>。

鲈鱼 (*Lateolabrax japonicus* Cuvier) 是我国海水

收稿日期: 2006-11-27; 修订日期: 2008-01-19

基金项目: 国家“十五”科技攻关计划 (项目编号: 2001BA505B-06, 2004BA526B06) 资助

通讯作者: 张璐 (1979-), 男, 汉族, 河北唐山人; 博士; 粤海集团工程技术中心研发工程师; 主要从事水生动物营养和免疫学研究。Tel: 0759-2323626; E-mail: zhangluouc@163.com

养殖的主要种类之一。近年鲈鱼的海水网箱集约式养殖发展迅速,养殖技术日趋成熟。加上鲈鱼养殖周期短、肉味鲜美,经济效益高等特点,发展潜力很大。然而,尽管鲈鱼海水网箱养殖规模不断扩大、集约化程度不断提高,其配合饲料的开发工作却始终处于相对滞后状态,有关鲈鱼营养需求的研究仅有少量报道<sup>[9-11]</sup>。通过在饲料中添加外源酶制剂来提高鲈鱼对饲料中植物蛋白的利用率,从而促进其生长的研究还未见报道。本实验在已有研究的基础上,通过在饲料中添加植酸酶和非淀粉多糖酶,研究其对鲈鱼生长以及胃和肠道消化酶活性的影响,以期对鲈鱼高效配合饲料的开发奠定基础。

## 1 材料与方法

**1.1 实验鱼** 实验鲈鱼为山东烟台当年海捕的同一批鱼苗,正式实验前,于浮式海水网箱(3.0m × 3.0m × 3.0m)中暂养14 d,并以基础饲料(Diet 1)饱食投喂,使之逐渐适应实验饲料和养殖环境。

**1.2 实验饲料** 以鱼粉和复合蛋白(豆粕:肉骨粉:花生粕:菜籽粕=4:3:2:1(质量比)并添加0.77%赖氨酸、0.95%蛋氨酸和0.44%异亮氨酸模拟鱼粉必需氨基酸含量)为主要蛋白源,鱼油和豆油为主要脂肪源,并添加小麦粉、鲑鱼内脏粉、酵母粉、卵磷脂、褐藻酸钠、维生素和矿物质配制基础饲料(Diet 1)(表1)。分别在每千克基础饲料中添加200mg植酸酶(PY)(Diet 2)和400mg VP + 800mg WX(Diet 3)(VP为纤维素酶、半纤维素酶、葡聚糖酶和果胶酶的复合酶制剂,WX为木聚糖酶和葡聚糖酶的复合酶制剂,罗氏公司,中国上海)配制成实验饲料。

表1 实验基础饲料配方及营养组成(%干重)

Tab. 1 Formulation and proximate chemical composition of the basal diets (% dry matter)

原料 Ingredients	含量 Contents (%)
鱼粉 Fish meal	36.1
复合蛋白 Compound protein meal <sup>1</sup>	18.0
鲑鱼内脏粉 Squid viscera meal	5.0
酵母粉 Yeast meal	3.5
鱼油 Fish oil	2.0
大豆油 Soybean oil	3.0
卵磷脂 Lecithin	3.0
小麦粉 Wheat meal	24.4
褐藻酸钠 Sodium alginate	1.0
无机盐混合物 Mineral premix <sup>2</sup>	2.0

续表

原料 Ingredients	含量 Contents (%)
维生素混合物 Vitamin premix <sup>3</sup>	2.0
主要成分 Proximate chemical composition	
粗蛋白 Crude protein (% DM <sup>4</sup> )	43.2
粗脂肪 Crude lipid (% DM)	12.3
灰分 Ash (% DM)	11.9
水分 Moisture (%)	6.1
总能 Gross energy (kJ/g DM)	20.3

注:1. 豆粕:肉骨粉:花生粕:菜籽粕=4:3:2:1(质量比)并添加0.77%赖氨酸、0.95%蛋氨酸和0.44%异亮氨酸模拟鱼粉必需氨基酸含量;2. 无机盐配方参考文献[11];3. 维生素配方参考文献[11];4. 干物质

Note:1. Soybean meal: meat and bone meal: groundnut meal: rapeseed meal (4:3:2:1 in weight), adding crystalline L-methionine (0.77%), L-lysine (0.95%) and L-isoleucine (0.44%) to simulate the essential amino acid profile of fish meal; 2. Mineral premix refers to Ai, *et al* [11]; 3. Vitamin premix refers to Ai, *et al* [11]; 4. Dry matter

各种饲料原料分别粉碎后过60目的筛网,将各种原料混合均匀再与水、大豆油及鱼油充分混匀,用双螺杆挤条机(华南理工大学,F-26(II)型)加工成型,制得的饲料在45℃烘箱中烘干12h。烘干的饲料破碎过筛后分别得到两种颗粒大小不同的饲料(1.5mm(5.0mm和2.5mm(8.0mm)),将这两种颗粒饲料分别密封进塑料袋,储存在-15℃备用。

**1.3 实验过程** 实验在海水网箱中进行,共3个处理,每个处理设3个重复。实验鱼驯养结束后,挑选出体格健壮、规格一致的鲈鱼((6.26 ± 0.10)g)随机分组,放养于浮式海水网箱(1.5m × 1.5m × 2.0m)中,放养密度为60尾/箱。每种饲料随机投喂3网箱实验鱼,以基础饲料投喂的鲈鱼作为对照组。实验期间,每天饱食投喂实验饲料2次(06:00和18:00)。其中,1-4周投喂1.5mm × 5.0mm的饲料,5-8周投喂2.5mm × 8.0mm的饲料。实验期间,水温为27.5-29.5℃,盐度为25‰-28‰,溶解氧在7mg/L以上。投喂8周后饥饿24h,对各组实验鱼进行称重并计数,每网箱取20尾鲈鱼保存于-80℃冰箱中,准备用于鱼体常规成份分析。

**1.4 样品分析测定方法** 饲料原料、饲料和鱼体常规成份测定采用AOAC<sup>[12]</sup>的方法。其中水分是在105℃烘箱中烘至恒重,粗蛋白采用半微量凯氏定氮法(总氮 × 6.25),粗脂肪采用索氏抽提法(乙醚为溶剂),灰分是在马福炉中(600℃)灼烧12h后测定。饲料和鱼体的总能使用氧弹仪(Parr 1281, USA)测得。酶液蛋白浓度是以牛血清白蛋白为标

准,用双缩脲法测得<sup>[13]</sup>。实验每个样品均测 3 个重复,数据表示为 3 个重复的平均值 ± 标准误。

**1.4.1 消化酶样品制备** 实验鱼饥饿 24h 后,每网箱取 5 条鱼,解剖取出胃和肠道,剔除脂肪。剖开胃和肠道,用冷却的去离子水冲洗干净并用滤纸吸干,合并后称重,然后按 1:5 (*w/v*) 加入 0-4℃ 的双蒸水,在组织匀浆器中匀浆(0-4℃)。用冷冻离心机 3000 r/min 离心 30min 后,取出上清液于 0-4℃ 冰箱中保存备用,24h 内分析完毕。

**1.4.2 蛋白酶活性** 参照文献[14]方法,用酪蛋白为底物与酶作用,通过测定酪氨酸生成量来表示酶的活性。取 1% 的酪蛋白和酶液各 0.5mL,加入到 0.5mL 磷酸盐缓冲液中(胃蛋白酶在 pH 2.2 测得,肠道蛋白酶在 pH 7.5 测得)。在 30℃ 水浴中反应 60min 后取出,立即加 20% 的三氯乙酸 0.5mL 中止反应,静置 15min 后,离心 5min (13000r/min)。记录 366nm 处的吸光值。作对照液时,先加酶液,再加三氯乙酸,其他与上述方法相同。在 30℃ 条件下,每分钟每毫克蛋白使吸光值下降的数值为一个酶活力单位(U / mg)。

**1.4.3 脂肪酶活性** 按文献[15]方法。在 37℃ 水浴中,将空白瓶和样品瓶分别加入磷酸缓冲液(pH 7.5) 5mL、聚乙烯醇底物溶液 4mL、20% 牛磺胆酸钠溶液 0.4mL 以及酶液 0.1mL。其中,空白瓶中再加入 95% 的乙醇 15mL,空白瓶和样品瓶各反应 10min 后,样品瓶立即加入 95% 乙醇 15mL,再加入 1% 酚酞溶液 0.1mL,用氢氧化钠标准溶液滴定测脂肪酸含量。在 37℃ 条件下,每分钟每毫克蛋白催化产生 1μmol 脂肪酸作为一个酶活力单位(U/mg)。

**1.4.4 淀粉酶活性** 参照文献[14]方法,将用磷酸盐缓冲液(pH 6.9)配置的 1% 的淀粉溶液 0.5mL

与酶液 0.5mL 混匀,于 25℃ 水浴中反应 3min。加入 3,5-二硝基水杨酸指示剂溶液 0.5mL,置于沸水中水浴 5min 后,取出流水冷却。测定 540nm 处的吸光值。在 25℃ 条件下,每分钟每毫克蛋白催化淀粉生成 1μmol 麦芽糖作为一个酶活力单位(U / mg)。

## 1.5 计算及统计方法

存活率(%) (Survival %) =  $(N_0 - N_t) / N_0 \times 100\%$

增重率(%) (Weight gain, WG %) =  $(W_t - W_0) / W_0 \times 100\%$

特定生长率(% / d) (Specific growth rate, SGR) =  $(\ln W_t - \ln W_0) \times 100 / t$

其中, $N_0$  和  $N_t$  分别为每网箱初始和死亡的鲈鱼尾数, $W_0$  和  $W_t$  分别为鲈鱼的初始体重和终末体重(g), $t$  为实验天数(d)。

采用 SPSS 11.5 for Windows 对所得数据进行方差分析,若差异显著,则进行 Tukey 多重比较,显著性水平为  $p < 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 饲料中添加植酸酶和非淀粉多糖酶对鲈鱼生长和存活的影响

每千克基础饲料中分别添加 200 mg PY 和 400 mg VP + 800 mg WX 对鲈鱼的成活率均无显著影响(92.8.0%-94.4%),但却显著影响了鲈鱼的生长。添加酶制剂组的鲈鱼的增重率(947.2% 和 905.2%)和特定生长率(4.2%/d 和 4.1%/d)均显著高于基础饲料组(859.3%/d 和 4.0%/d) ( $p < 0.01$ ),但是增重率和特定生长率在两个外源酶添加组之间差异不显著(表 2)。

表 2 饲料中添加植酸酶(PY)和非淀粉多糖酶(WX 和 VP)对鲈鱼增重率、存活率和特定生长率的影响<sup>1</sup>

Tab. 2 Weight gain (WG), survival rate and specific growth rate (SGR) of Japanese seabass fed experimental diets supplemented with phytase (PY) and non-starch polysaccharide enzymes (WX and VP)

鲈鱼 Japanese seabass	增重率 Weight gain (%)	存活率 Survival rate (%)	特定生长率 <sup>2</sup> SGR (% / d)
Diet 1 (Control)	859.3 ± 14.90 <sup>a</sup>	92.8 ± 2.45	4.0 ± 0.03 <sup>a</sup>
Diet 2 (200 mg/kg PY)	947.2 ± 4.68 <sup>b</sup>	94.4 ± 1.80	4.2 ± 0.01 <sup>b</sup>
Diet 3 (400 mg/kg VP + 800 mg/kg WX)	905.2 ± 14.15 <sup>b</sup>	93.3 ± 1.18	4.1 ± 0.03 <sup>b</sup>
ANOVA <sup>3</sup>			
<i>p</i> 值	0.002	0.769	0.003
<i>F</i> 值	19.524	0.274	18.640

注:1. 表中所给数据为平均数及 3 个重复的标准误。以下同; 2. 平均数后具有相同上标的字母表示差异不显著 ( $p > 0.05$ )。以下同; 3. ANOVA: 单因素方差分析。以下同

Note: 1. Values are means and standard errors of three replicates. The same below; 2. Means with same superscripts show no significant differences ( $p > 0.05$ ). The same below; 3. ANOVA: One-way analysis of variance. The same below

## 2.2 饲料中添加植酸酶和非淀粉多糖酶对鲈鱼体成分的影响

与基础饲料组相比,饲料中添加非淀粉多糖酶对鲈鱼鱼体粗蛋白、粗脂肪、水分、灰分和总能均没

有显著影响;饲料中添加植酸酶对鲈鱼鱼体粗脂肪、水分和总能也没有显著影响,但却显著提高了鲈鱼鱼体的粗蛋白和灰分含量(分别从 16.9% 提高到 17.3%,4.1% 提高到 4.4%)( $p < 0.05$ )(表 3)。

表 3 饲料中添加植酸酶(PY)和非淀粉多糖酶(WX和VP)对鲈鱼体成分及身体总能的影响<sup>1</sup>

Tab. 3 Carcass compositions and gross energy of Japanese seabass fed different experimental diets supplemented with phytase (PY) and non-starch polysaccharide enzymes (WX and VP)

鲈鱼 Japanese seabass	粗蛋白 Protein (%)	粗脂肪 Lipid (%)	灰分 Ash (%)	水分 Moisture (%)	总能 Gross energy (kJ/g DM)
Diet 1 (Control)	16.9 ± 0.15 <sup>a</sup>	7.3 ± 0.11	4.1 ± 0.04 <sup>a</sup>	70.9 ± 0.11	7.1 ± 0.03
Diet 2 (200 mg/kg PY)	17.3 ± 0.12 <sup>b</sup>	7.4 ± 0.11	4.4 ± 0.04 <sup>b</sup>	70.5 ± 0.29	7.1 ± 0.02
Diet 3 (400 mg/kg VP + 800 mg/kg WX)	17.2 ± 0.07 <sup>ab</sup>	7.4 ± 0.04	4.1 ± 0.04 <sup>a</sup>	70.4 ± 0.27	7.1 ± 0.03
ANOVA					
<i>p</i> 值	0.043	0.648	0.002	0.257	0.590
<i>F</i> 值	5.560	0.467	22.333	1.716	0.577

1. 湿重 Wet weight

## 2.3 饲料中添加植酸酶和非淀粉多糖酶对鲈鱼消化酶活性的影响

饲料中添加酶制剂后鲈鱼胃和肠道消化酶活性均有上升趋势,并且当每千克饲料中添加 200mg PY 时能显著提高鲈鱼胃和肠道蛋白酶的活性(分别从 0.74U/mg 提高到 1.02U/mg, 1.09U/mg 提高到

1.71U/mg)( $p < 0.05$ ),每千克饲料中添加 400mg VP + 800mg WX 时能显著提高鲈鱼胃和肠道淀粉酶的活性(分别从 0.05U/mg 提高到 0.16U/mg, 0.12U/mg 提高到 0.21U/mg)( $p < 0.05$ )。然而,鲈鱼胃和肠道脂肪酶的活性并没有受到两种酶制剂的显著影响。(表 4 和表 5)。

表 4 饲料中添加植酸酶(PY)和非淀粉多糖酶(WX和VP)对鲈鱼胃中蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶含量的影响<sup>1</sup>

Tab. 4 Protease, lipase and amylase activity in stomach of Japanese seabass fed different experimental diets supplemented with phytase (PY) and non-starch polysaccharide enzymes (WX and VP)

鲈鱼 Japanese seabass	蛋白酶 Protease activity (U/mg)	脂肪酶 Lipase activity (U/mg)	淀粉酶 Amylase activity (U/mg)
Diet 1 (Control)	0.74 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.03 ± 0.01	0.05 ± 0.00 <sup>a</sup>
Diet 2 (200mg/kg PY)	1.02 ± 0.07 <sup>b</sup>	0.04 ± 0.00	0.06 ± 0.01 <sup>a</sup>
Diet 3 (400mg/kg VP + 800mg/kg WX)	0.80 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.04 ± 0.01	0.16 ± 0.02 <sup>b</sup>
ANOVA			
<i>P</i> 值	0.006	0.586	0.001
<i>F</i> 值	13.136	0.585	28.379

表 5 饲料中添加植酸酶(PY)和非淀粉多糖酶(WX和VP)对鲈鱼肠道中蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶含量的影响<sup>1</sup>

Tab. 5 Protease, lipase and amylase activity in intestines of Japanese seabass fed different experimental diets supplemented with phytase (PY) and non-starch polysaccharide enzymes (WX and VP)

鲈鱼 Japanese seabass	蛋白酶 Protease activity (U/mg)	脂肪酶 Lipase activity (U/mg)	淀粉酶 Amylase activity (U/mg)
Diet 1 (Control)	1.09 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.08 ± 0.01	0.12 ± 0.00 <sup>a</sup>
Diet 2 (200mg/kg PY)	1.71 ± 0.14 <sup>b</sup>	0.10 ± 0.01	0.13 ± 0.01 <sup>a</sup>
Diet 3 (400mg/kg VP + 800mg/kg WX)	1.14 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.11 ± 0.01	0.21 ± 0.05 <sup>b</sup>
ANOVA			
<i>p</i> 值	0.002	0.102	0.023
<i>F</i> 值	21.090	3.418	7.555

### 3 讨论

本研究表明,饲料中添加 200 mg/kg 植酸酶能够显著提高鲈鱼的生长速度,这与以前的一些研究相类似<sup>[16-18]</sup>。有关植酸酶促进鱼类生长多数报道集中在添加植酸酶提高鱼类对钙、磷等营养物质的利用率上,而从消化酶角度探讨植酸酶对鱼类生长影响的报道尚不多见。白东清<sup>[6]</sup>研究表明饲料中添加植酸酶能提高鲤鱼肝胰脏蛋白酶的活性,从而提高蛋白质的利用率。本实验也证实,饲料中添加适量植酸酶能显著提高鲈鱼胃和肠道中蛋白酶的活性,从而提高鲈鱼对蛋白质的消化吸收率,达到促进生长的目的。添加植酸酶组鲈鱼的鱼体粗蛋白含量显著高于对照组,这与鲈鱼胃和肠道蛋白酶的变化情况是一致的。

单胃动物以植物蛋白为主要能量来源时,大量的可溶性非淀粉多糖进入消化道后使肠道内容物粘度升高。非淀粉多糖酶的添加,一方面摧毁了结构致密的细胞壁,将其中丰富的养分及消化酶(淀粉酶等)释放出来,提高了消化酶(主要是淀粉酶)的活性;另一方面可使非淀粉多糖中的木聚糖和 $\beta$ -葡聚糖部分水解为低聚糖,从而降低消化道内容物的粘度,提高了内源消化酶与营养成分的结合率和混合速度,能够最大限度地发挥其消化作用<sup>[8]</sup>。徐建雄等<sup>[19]</sup>指出,非淀粉多糖可能与消化酶或消化酶活性必需的其他成分(如胆汁酸或无机离子等)结合而影响消化酶的活性。本实验证明,在鲈鱼饲料中添加适量的非淀粉多糖酶能显著提高鲈鱼胃和肠道中淀粉酶的活性,这与对猪的消化酶的研究结果是一致的<sup>[20]</sup>。实验基础饲料中含有较多的豆粕、花生粕、菜籽粕和小麦粉,淀粉酶活性的提高有助于鲈鱼更好地消化植物饲料中的碳水化合物,促进鲈鱼生长。

Vielma, *et al.*<sup>[21]</sup> 和 Jackson, *et al.*<sup>[22]</sup> 证明,饲料中添加植酸酶能显著提高虹鳟和斑点叉尾鱼回骨骼灰分含量。本实验中,饲料中添加植酸酶显著提高了鲈鱼鱼体灰分含量。这说明,饲料中添加植酸酶在一定程度上提高了鲈鱼对矿物质元素(主要是磷)的生物利用率,从而导致鱼体灰分的升高。

鲈鱼饲料中添加外源酶制剂后,其胃和肠道中蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶含量均有上升的趋势。这与 Bakine<sup>[23]</sup> 的发现是一致的, Bakine 认为几种消化酶的浓度经常保持着平行的关系,当一种消化酶活性提高时,其他消化酶的活性也会随之提高;当一种

消化酶活性减弱时,其他消化酶的活性也随之减弱。田丽霞和林鼎<sup>[24]</sup>对草鱼的研究也得到相同的结论。

鱼类的食性与消化器官组织结构和消化机能是相适应的,消化器官的组织结构不同,所承担的消化机能不同,消化酶的活性也会呈现明显的差异<sup>[25]</sup>。通常,肉食性鱼类消化道短,蛋白酶活性高;植食性鱼类消化道长,淀粉酶活性高;杂食性鱼类消化道长度和消化酶活性均介于两者之间<sup>[26]</sup>。鲈鱼是典型的肉食性鱼类,其胃和肠道中有较强的蛋白酶的活性,而脂肪酶和淀粉酶的活性相对较低,这与李谨等<sup>[27]</sup>对中华鲟的研究结果基本一致。

### 参考文献:

- [1] Arndt R E, Hardy R W, Sugiura S H, *et al.* Effects of heat treatment and substitution level on palatability and nutritional value of soy defatted flour in feeds for coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* [J]. *Aquaculture*, 1999, **180**:129—145
- [2] Webster C D, Goodgame L S, Tidwell J H. Total replacement of fish meal, with various percentage of supplemental l-methionine, in diets for blue catfish, *Ictalurus furcatus* (Lesueur) [J]. *Aqua. Res.*, 1995, **26**:299—306
- [3] Lee S M. Apparent digestibility coefficients of various feed ingredients for juvenile and grower rockfish (*Sebaste schlegeli*) [J]. *Aquaculture*, 2002, **207**: 79—95
- [4] Ai Q H, Xie X J. Effects of replacement of fish meal by soybean meal and supplementation of methionine in fish meal/soybean meal-based diets on growth performance of the southern catfish *Silurus meridionalis* [J]. *J. World Aqua. Soc.*, 2005, **36**: 498—507
- [5] Tacon A G J, Jackson A. Utilization of conventional and unconventional protein sources in practical fish feeds [A]. In: Cowey C B, Mackie A M M, Bell J G (Eds.), *Nutrition and Feeding in fish* [C]. London: Academic Press. 1985, 211—264
- [6] Bai D Q, Qiao X T, Wei D, *et al.* Effect of phytase on utilization ratio of nutrient composition (Calcium, Phosphorus etc.) of carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Journal of Tianjin Agriculture College*, 2003, **10**: 6—10 [白冬清, 乔秀亭, 魏东, 等. 植酸酶对鲤钙磷等营养物质利用率的影响. 天津农学院学报, 2003, **10**:6—10]
- [7] NRC (National Research Council). *Nutrient requirements of Fish* [M]. Washington D. C.: National Academy Press. 1993, 14
- [8] Bedford M B, Classen H I. Reduction of interstitial viscosity through manipulation of dietary reye and pentosanase concentration is effected through changes in carcarbohydrate: composition of the aqueous phase and results in improved growth rate and food conversion efficiency in chicks [J]. *J Nutr.*, 1991, **122**: 560—569
- [9] Zhang C X, Mai K S, Ai Q H, *et al.* Dietary phosphorus requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*

- [J]. *Aquaculture*, 2006, **258**:535—542
- [10] Ai Q H, Mai K S, Zhang C X, *et al.* Effects of dietary vitamin C on growth and immune response of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* [J]. *Aquaculture*, 2004, **242**:489—500
- [11] Ai Q H, Mai K S, Li H T, *et al.* Effects of dietary protein to energy ratios on growth and body composition of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* [J]. *Aquaculture*, 2005, **230**:507—516
- [12] AOAC, Official methods of Analysis of AOAC International [M]. Vol. I. Agriculture Chemical; Contaminants, Drug. 16th edn. AOAC International, Arlington, VA. 1995
- [13] Pan J X. Technical research of Protein chemical [M]. Beijing: Science Publishing Company. 1962 [潘家秀. 蛋白质化学研究技术. 北京: 科学出版社. 1962]
- [14] Yetty N, Roshada H, Ahyaudin A, *et al.* Characterization of digestive enzymes in a carnivorous ornamental fish, the Asian bony tongue *Scleropages formosus* (Osteoglossidae) [J]. *Aquaculture*, 2004, **233**:305—320
- [15] Pan L Q, Wang K X. The experimental study on activity of digestive enzyme in the larvae *Penaeus Chinensis* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1997, **21**(1): 26—31 [潘鲁青, 王克行. 中国对虾幼体消化酶活力的实验研究. 水产学报, 1997, **21**(1):26—31]
- [16] Lanari D E, Agaro D, Turri C. Use of nonlinear regression to evaluate the effects of phytase enzyme treatment of plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture*, 1998, **161**:345—356
- [17] Oliva-Teles A, Pereira J P, Gouveia A, *et al.* Utilization of diets supplemented with microbial phytase by seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles [J]. *Aquat Liv. Resour*, 1998, **11**(4):255—259
- [18] Kenneth Cain K D, Donald Garling D C. Pretreatment of soybean meal phytase for salmonid diets to reduce phosphorus concentrations in effluents [J]. *Prog. Fish Cult*, 1995, **57**(1): 114—119
- [19] Xu J X, Cui L, Chen L Y. The effect of NPS enzyme supplemented to corn-soybean diet on growth and digestibility of weanling pigs [J]. *Journal of Shanghai university (agriculture science)*, 2001, **19**(1): 9—12 [徐建雄, 崔立, 陈鲁勇. 玉米-豆粕型日粮添加非淀粉多糖酶对仔猪早期生长和消化性能的影响. 上海交通大学学报, 2001, **19**(1):9—12]
- [20] Xu X R, Lu J J. Effect of exogenous enzymes (Xylanase,  $\beta$ -glucanase and cellulose) on structure and Function of digestive tract in growing pig fed paddy-based diets [J]. *Scientia Agriculture Sinica*, 2003, **36**(2):201—207 [许辛荣, 卢建军. 稻谷型日粮添加非淀粉多糖酶对生长猪消化道结构和功能的作用研究. 中国农业科学, 2003, **36**(2):201—207]
- [21] Vielma J, Ruohonen K, Peisker M. Dephytinization of two soy proteins increases phosphorus and protein utilization by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Aquaculture*, 2002, **204**:145—156
- [22] Jackson L S, Li M H, Robinson E H. Use of microbial phytase in channel catfish *Ictalurus punctatus* diets to improve utilization of phytate phosphorus [J]. *J. World Aqua. Soc.*, 1996, **27**:309—313
- [23] Babkin B P. Secretary mechanism of the digest glands [M], New York, Paul, B, Hoeber, Inc., 1963, 54
- [24] Tian L X, Lin D. Changes in digestive enzyme activities of grass carp *Ctrnpharyngodon Idellus* after feeding on two test diets [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1993, **17**(1): 58—65 [田立夏, 林鼎. 草鱼摄食两种蛋白质饲料后消化酶活性变动比较. 水生生物学报, 1993, **17**(1):58—65]
- [25] 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—74 [周景祥, 陈勇, 黄权, 等. 鱼类消化酶的活性及环境条件的影响. 北华大学学报(自然科学版), 2001, **2**(1):70—74]
- [26] Lin H R. Fish physiology [M]. High Education Publishing Company of Guangdong. 1999 [林浩然. 鱼类生理学. 广东高等教育出版社. 1999]
- [27] Li J, He R G, Wang X D. Digestive enzyme activity distribution in digestive system of Chinese sturgeon [J]. *China Feed*, 2002, **21**:18—20 [李谨, 何瑞国, 王学东. 中华鲟消化系统内消化酶活性分布. 中国饲料, 2002, **21**:18-20]

## EFFECTS OF PHYTASE AND NON-STARCH POLYSACCHARIDE ENZYME SUPPLEMENTATION IN DIETS ON GROWTH AND DIGESTIVE ENZYME ACTIVITY FOR JAPANESE SEABASS, *LATEOLABRAX JAPONICUS* C.

ZHANG Lu<sup>1,2</sup>, AI Qing-Hui<sup>1</sup>, MAI Kang-Sen<sup>1</sup>, LI Jing<sup>1</sup>, LI Hui-Tao<sup>1</sup>, ZHANG Chun-Xiao<sup>1</sup> and ZHENG Shi-Xuan<sup>2</sup>

(1. The Key Laboratory of Mariculture (Education Ministry of China), Ocean University of China, Qingdao 266003; 2. Zhanjiang Yuehai Feed Co. Ltd., Zhanjiang 524017)

**Abstract:** A feeding experiment was conducted to investigate the effects of dietary exogenous enzymes (Phytase, non-starch polysaccharide enzymes: WX and VP) on growth, body composition and digestive enzymes activities of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* C. (initial weight (6.26 ± 0.10) g). A basal diet was used as the control (Diet 1),

which contained 36.1% fish meal and 18.0% compound protein source (soybean meal; meat and bone meal; peanut meal; rapeseed meal = 4:3:2:1, and crystalline lysine, methionine and isoleucine were supplemented to simulate the essential amino acid profile of fish meal). Two other diets were supplemented with 200 mg phytase and the combination of 800 mg WX and 400 mg VP per kilogram diet, respectively. Each diet was fed to triplicate groups of fish in seawater floating cages (1.5 m × 1.5 m × 2.0 m), and each cage was stocked with 60 fish. Fish were fed twice daily (06:00 and 18:00) to apparent satiation for 8 weeks. The water temperature fluctuated from 27.5°C to 29.5°C, the salinity from 25 to 28‰ and dissolved oxygen content was above 7 mg/L during the experimental period. Results showed that exogenous enzymes supplementation did not significantly influence the survival of Japanese seabass (92%-95%), but significantly improved the growth (weight gain (WG) increasing from 859.3% to 947.2% and 905.2%, specific growth rate (SGR) from 4.0 to 4.2 and 4.1%/d) ( $p < 0.01$ ). Dietary non-starch polysaccharide enzymes did not significantly affect the carcass moisture, crude protein, crude lipid, ash and gross energy of Japanese seabass. Dietary phytase also had no influence on the carcass moisture, crude lipid and gross energy of Japanese seabass, but significant influence on the carcass crude protein and ash ( $p < 0.05$ ). The digestive enzymes activities in stomach and intestine of fish supplemented with exogenous enzymes showed increasing trend when supplied with exogenous enzymes compared with the control group (Diet 1). The amylase activity of stomach and intestine significantly increasing from 0.05 to 0.16 U/mg and 0.12 to 0.21 U/mg respectively by the supplementation of non-starch polysaccharide enzyme ( $p < 0.01$ ), but no significant differences in protease and lipase were observed. Similarly, dietary supplementation of phytase significantly increased the protease activity of stomach and intestine from 0.74 to 1.02 U/mg and 1.09 to 1.71 U/mg respectively ( $p < 0.01$ ), but no significant differences in lipase and amylase were observed.

**Key words:** *Lateolabrax japonicus* C.; Phytase; Non-starch polysaccharide enzymes; Digestive enzyme; Growth