

# 苜蓿草粉对禾花鲤蛋白酶和淀粉酶活性影响的研究

张春梅<sup>1</sup>, 施传信<sup>1</sup>, 王成章<sup>2</sup>, 何云<sup>3</sup>, 刘圈炜<sup>2</sup>

(1. 商丘师范学院生命科学系, 河南 商丘 476000; 2. 河南农业大学牧医工程学院, 河南 郑州 450002;

3. 河南科技学院动物科学学院, 河南 新乡 453003)

**摘要:**选取来源一致、规格整齐的2龄禾花鲤1200尾,采用单因子完全随机设计,分为5个处理,每处理3个重复,每重复80尾鱼,分置于15个试验池中。各处理苜蓿 *Medicago sativa* 草粉的添加量分别为0(对照组)、40(试验Ⅰ组)、80(试验Ⅱ组)、120(试验Ⅲ组)和160 g/kg(试验Ⅳ组),正试期50 d,观测苜蓿草粉对禾花鲤前、中、后肠及肝胰脏蛋白酶和淀粉酶活性的影响。结果表明:1)添加苜蓿草粉对前肠蛋白酶活性有显著影响( $P < 0.05$ ),其中试验Ⅱ组显著高于对照组和试验Ⅳ组,但和试验Ⅰ、Ⅲ组差异不显著( $P > 0.05$ )。添加苜蓿草粉对中、后肠及肝胰脏蛋白酶活性均无显著影响( $P > 0.05$ ),但它们有相同的变化趋势,即试验Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组鱼的蛋白酶活性均高于对照组。2)鲤鱼的前肠、中肠、后肠蛋白酶活性依次减弱,而肝胰脏的蛋白酶活性远低于肠道。3)添加苜蓿草粉前后肠及中肠淀粉酶活性比较,试验Ⅱ组显著高于对照组( $P < 0.05$ ),其余各组与对照组差异不显著( $P > 0.05$ ),后肠淀粉酶活性与对照组无显著差异( $P > 0.05$ )。添加苜蓿草粉能提高鲤鱼肝胰脏淀粉酶活性,其中试验Ⅱ组显著高于对照组( $P < 0.05$ ),其余试验组与对照组无显著差异( $P > 0.05$ )。4)禾花鲤前、中、后肠及肝胰脏4部分淀粉酶的活性有较大的不同,肝胰脏>后肠>中肠>前肠。

**关键词:**苜蓿草粉;禾花鲤;蛋白酶;淀粉酶

**中图分类号:** S816.32

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-0629(2009)05-0128-07

\*1 消化酶是生物体内催化各种生化反应的一类特殊的蛋白质,其主要作用是对生物体从外界所摄取的食物进行消化和分解,为其提供生长和发育所需的各种营养物质。鱼虾类消化酶的分泌根据食性不同虽各有规律,但在养殖中人工投喂饵料可以在一定程度上改变消化酶的分泌<sup>[1]</sup>。王子彦<sup>[2]</sup>用鱼微生物饲料添加剂饲喂鲤鱼后发现,鲤鱼肠道蛋白酶和淀粉酶显著高于对照组。黄耀桐等<sup>[3]</sup>对草鱼肝胰脏及肠道蛋白酶活性研究发现,随着饲料蛋白质水平升高,其肝胰脏蛋白酶活性显著增加。而消化酶活性的提高,可以促进鱼类对营养物质的消化吸收,进而促进鱼类的生长发育。

苜蓿 *Medicago sativa* 具有适口性好、营养丰富、易于消化等特点,素有“牧草之王”之称。苜蓿草粉富含蛋白质、矿物质、维生素和色素,且含异黄酮类物质及多种目前尚未被人们认识的生长

和繁殖因子<sup>[4]</sup>。苜蓿草粉添加于畜禽饲料后,具有促进生长提高饲料报酬<sup>[5-6]</sup>、改善畜禽产品品质提高商品性能<sup>[7-8]</sup>、提高母猪繁殖性能<sup>[9-10]</sup>等多种作用,但苜蓿草粉对消化酶活性影响的研究极少见报道。通过研究苜蓿草粉对禾花鲤消化酶活性的影响,初步探讨其作用机理,为生产实践提供理论依据。

## 1 材料与方法

试验在河南省水产引种育种中心进行,预试期15 d,正试期50 d。

### 1.1 试验材料

**1.1.1 苜蓿草粉来源** 所用苜蓿草粉来源于新密

收稿日期:2008-10-10

基金项目:国家农业科技成果转化资金项目;河南省科技厅重大科技攻关项目(0422010300)

作者简介:张春梅(1976-),女,河南商丘人,讲师,博士,主要从事动物营养与饲料科学。

E-mail:zcm304@163.com

通信作者:王成章 E-mail:wangchengzhang@263.net

市苜蓿生产基地,初花期刈割,经自然干燥、80目粉碎加工而成。经分析该苜蓿草粉所含营养成分为:干物质 875.6 g/kg,粗蛋白 195.5 g/kg,粗脂肪 23.6 g/kg,粗纤维 228.2 g/kg,粗灰分 78.0 g/kg,无氮浸出物 348.3 g/kg,钙 18.7 g/kg,磷 4.8 g/kg。

**1.1.2 试验动物** 在同一个鱼塘中选用规格整齐一致、体质健康的 2 龄禾花鲤鱼种,经消毒处理后分别放养于 15 个试验池中,每 5 个试验池为一组,由专人负责。经半个月的驯化后正式开始试验。

**1.1.3 试验鱼池** 试验池为面积 10 m<sup>2</sup>、水深 1 m 的方形水泥池,在同一侧装有进水管和排水口,可以调节水质和水温。水泥池上方搭有透光率为 40% 的遮阳篷,遮住大棚 2/3 面积,以防太阳光直射,两侧用以通风。每个池子均有 3~5 个气石,气泵充气供氧。试验前 1 周放水约 10 cm,用“鱼用杀菌星”浸泡过夜消毒池底,然后放满水全池消毒,曝气。

**1.2 试验设计** 试验采用单因子完全随机设计,共设 5 个处理,苜蓿草粉的添加水平依次为:0 (对照组)、40 (试验 I 组)、80 (试验 II 组)、120 (试验 III 组) 和 160 g/kg (试验 IV 组)。每个处理 3 个重复,每个重复 80 尾鱼,共 1 200 尾鱼。

**1.3 饲料配方及营养水平** 试验饲料参照国家标准,并根据河南省当地情况自行设计配制,配方见表 1,均制成直径为 2.0 mm 的颗粒饲料。各处理组营养成分基本相同(表 2),每千克预混料中含:维生素 A 5 500 IU;维生素 D<sub>3</sub> 1 050 IU;

表 1 不同处理组饲料配方 g/kg

原料	CK	I 组	II 组	III 组	IV 组
全脂大豆	30.0	30.0	30.0	35.0	40.0
豆粕	230.0	245.0	255.0	265.0	265.0
菜籽粕	99.5	97.5	63.0	53.5	35.0
菜籽饼	135.0	100.0	90.0	70.0	44.0
鱼粉	115.0	120.0	125.0	125.0	130.0
次粉	122.7	103.8	84.4	67.5	68.3
米糠	120.0	110.0	100.0	80.0	55.0
玉米酒精糟	15.0	15.0	20.0	20.0	20.0
玉米蛋白粉	40.0	40.0	45.0	45.0	50.0
苜蓿草粉	0.0	40.0	80.0	120.0	160.0
芝麻饼	30.0	30.0	35.0	40.0	50.0
豆油	2.5	10.0	14.5	21.5	26.0
磷酸二氢钙	23.5	22.0	21.5	21.0	20.0
胆碱	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
L-赖氨酸盐	0.8	0.5	0.2	0.0	0.0
蛋氨酸	1.1	1.3	1.5	1.6	1.8
食盐	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9
膨润土	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
1.2% 预混料	12.0	12.0	12.0	12.0	12.0

表 2 不同处理组饲料营养成分

营养水平	CK	I 组	II 组	III 组	IV 组
消化能(MJ/kg)	12.47	12.47	12.46	12.47	12.47
粗脂肪(g/kg)	59.40	72.00	67.40	71.40	72.80
粗纤维(g/kg)	54.00	58.80	63.30	68.70	72.40
粗蛋白质(g/kg)	343.80	344.20	342.60	343.50	342.90
钙(g/kg)	111.60	11.90	12.50	12.90	13.50
总磷(g/kg)	15.50	15.00	14.80	14.30	13.80
有效磷(g/kg)	10.50	10.40	10.50	10.50	10.50
赖氨酸(g/kg)	18.40	18.40	18.40	18.40	18.40
蛋氨酸(g/kg)	7.30	7.50	7.70	7.70	7.90
蛋+胱(g/kg)	12.90	12.90	12.90	12.90	12.90
苏氨酸(g/kg)	13.50	13.60	13.60	13.60	13.60
色氨酸(g/kg)	4.20	4.30	4.40	4.50	4.50
食盐(g/kg)	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90

维生素 E 20 IU; 维生素 K<sub>3</sub> 3.0 mg; 维生素 B<sub>2</sub> 6.0 mg; 维生素 B<sub>6</sub> 8.0 mg; 泛酸钙 20.0 mg; 烟酸 16.0 mg; Fe 35.0 mg; Cu 2.8 mg; Mn 15.0 mg; Zn 35.0 mg。

**1.4 饲养管理** 按常规流水养鱼管理模式“四定”投喂法, 每天于 8:00、11:00、14:00、17:00 分 4 次投喂, 人工撒饵。日投饵量为鱼体总质量的 2%~4%, 每次投喂 0.5~1.0 h, 视鱼的摄食情况、体增量及水温变化作适当调整。

**1.5 水质调节** 试验期间, 每日 10:00 测定水温, 并对鱼的精神状态、抢食情况进行认真记录; 每 10 d 在晴天时用聚维铜碘消毒 1 次, 每周测 1 次水质(分别在不同池水面下 30 cm 处取水测量)。经测定, 试验期水温为(24.76±3.48) °C, NH<sub>3</sub>-N 为 0.93~1.46 mg/L, 溶氧为 8~12 mg/L, H<sub>2</sub>S 为 0.010.1 mg/L, 水体透明度 50~60 cm, pH 值 6.8~7.5, 符合国家渔业水质标准。每 10 d 换水 1/3, 并虹吸排污 1 次。

## 1.6 消化酶活性测定

**1.6.1 样本处理** 样本鱼处理前饥饿 16 h 以上。将活鱼置冰盘内解剖, 取出全部肝胰脏和肠道, 剔除肠道脂肪, 剖开去掉内容物, 然后用冰冻去离子水清洗干净, 用滤纸吸干, 分为前、中、后肠 3 段, 前肠为第一个弯折处之前, 后肠为最后一个弯折处之后, 中间段为中肠, 分别称量。每个样品均为 2 条鱼的合并, 立即放入样品袋中液氮速冻, -30 °C 冰箱保存。

**1.6.2 酶液制取** 测定酶活性前, 取出待测样品室温解冻, 按样品质量的 5 倍分次加入冰冻去离子水, 在低温下用组织匀浆机(IKA R T18 basic)匀浆, 然后用 Sigma 公司生产的 3K30 台式低温离心机在 4 °C、13 000 r/min 下离心 30 min, 取上清液置于 4 °C 冰箱中待用, 并于 12 h 内分析完毕。

### 1.6.3 酶活力测定

1) 蛋白酶活力测定: 参照中山大学<sup>[11]</sup>和周景祥等<sup>[12]</sup>的福林-酚法进行。用上海精密科学仪器有限公司生产的 UV755B 型分光光度计测定。

蛋白酶活力单位定义: 在 pH 值 7.0 和 40 °C

温度条件下, 每克鲜样组织的蛋白酶每分钟水解酪蛋白产生 1 μg 酪氨酸定义为 1 个蛋白酶活力单位[μg/(g·min)]。

$$\text{蛋白酶比活性} = (A \times 4 \times N) / (10 \times m)$$

式中, A 为对照标准曲线得出的酪氨酸释放量; 4 表示 4 mL 反应液取出 1 mL; N 表示酶的稀释倍数; 10 表示反应时间为 10 min; m 为肉样质量。

2) 淀粉酶活力测定: 采用南京建成生物工程有限公司生产的淀粉酶测定试剂盒, 用分光光度计(同蛋白酶)比色测定。

淀粉酶活力单位定义: 以 pH 值 7.0 和 37 °C 水浴保温 30 min 时, 每克鲜样组织中的淀粉酶水解 10 mg 淀粉定义为 1 个酶活性单位[mg/(g·min)]。

$$\text{淀粉酶比活性} = (A_B - A_U) / A_B \times 800 \times N / m$$

式中, A<sub>B</sub> 表示空白管吸光值; A<sub>U</sub> 表示测试管吸光值; N 为酶的稀释倍数; m 为肉样质量。800 为采用南京建成试剂盒测定方法的系数。

**1.7 数据处理** 试验数据以重复为统计单位, 所有数据以平均值±标准差来表示, 均采用 SAS (Ver. 6.12) 软件中最小变异二乘法检验各处理平均数间的差异显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 苜蓿草粉对禾花鲤蛋白酶活性的影响

**2.1.1 苜蓿草粉对第 25 天禾花鲤蛋白酶活性的影响** 由表 3 可见, 添加苜蓿草粉后第 25 天对前肠蛋白酶活性有影响, 其中试验 I、II、III 组高于对照组, 试验 IV 组低于对照组。统计分析表明试验 II 组显著高于对照组和试验 IV 组 ( $P < 0.05$ ); 也高于试验 I、III 组, 但 3 个组之间差异不显著 ( $P > 0.05$ )。各处理组中肠的蛋白酶活性均与对照组差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 然而不同草粉组之间有随草粉添加量的升高蛋白酶活性降低的趋势, 其中试验 I、II 组与试验 IV 组达显著差异 ( $P < 0.05$ )。添加苜蓿草粉和鲜草对后肠总蛋白酶活性和前肠有相同的变化趋势, 但各组之间差异均不显著 ( $P > 0.05$ )。试验 I、II 组的肝胰脏总蛋白酶活性高于对照组, 其余 3 个试验组低于对照组, 均差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

表3 苜蓿草粉对第25天禾花鲤蛋白酶活性的影响

 $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{min})$ 

处理	前肠	中肠	后肠	肝胰脏
CK	260.62 <sup>a</sup> ± 32.55	246.34 <sup>ab</sup> ± 17.89	206.08 ± 16.98	2.60 ± 1.13
I	285.64 <sup>ab</sup> ± 10.70	254.32 <sup>b</sup> ± 4.22	230.52 ± 15.01	2.79 ± 0.47
II	295.67 <sup>b</sup> ± 9.34	252.43 <sup>b</sup> ± 18.83	234.40 ± 4.45	3.11 ± 0.66
III	268.25 <sup>ab</sup> ± 11.73	238.90 <sup>ab</sup> ± 5.57	218.63 ± 18.71	2.22 ± 0.42
IV	253.84 <sup>a</sup> ± 12.15	217.92 <sup>a</sup> ± 17.63	209.59 ± 21.25	2.13 ± 0.67

注:不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

**2.1.2 苜蓿草粉对第50天禾花鲤蛋白酶活性的影响** 由表4可知,试验进行至50d,与第25天相比,各组鱼肠道中蛋白酶活性均下降。其中第50天的前肠、中肠和后肠的蛋白酶活性趋势及差

异显著性与第25天基本一致。各试验组肝胰脏的蛋白酶活性与第25天时有相同趋势,惟试验II组与试验IV组之间差异显著( $P < 0.05$ )。

表4 苜蓿草粉对第50天禾花鲤蛋白酶活性的影响

 $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{min})$ 

项目	前肠	中肠	后肠	肝胰脏
CK	62.88 <sup>ab</sup> ± 1.04	49.54 <sup>ab</sup> ± 2.66	33.04 ± 6.51	2.03 <sup>ab</sup> ± 0.09
I	67.31 <sup>ab</sup> ± 8.57	56.32 <sup>b</sup> ± 2.35	37.07 ± 4.07	2.15 <sup>ab</sup> ± 0.20
II	72.08 <sup>b</sup> ± 6.82	56.99 <sup>b</sup> ± 6.88	38.09 ± 7.68	2.29 <sup>b</sup> ± 0.18
III	65.52 <sup>ab</sup> ± 4.90	52.18 <sup>ab</sup> ± 2.45	35.47 ± 4.48	1.95 <sup>ab</sup> ± 0.25
IV	58.04 <sup>a</sup> ± 6.32	47.64 <sup>a</sup> ± 5.35	30.69 ± 6.20	1.79 <sup>a</sup> ± 0.22

**2.2 苜蓿草粉对禾花鲤淀粉酶活性的影响**

**2.2.1 苜蓿草粉对禾花鲤第25天淀粉酶活性的影响** 由表5可知,添加苜蓿草粉后前肠淀粉酶活性试验I、II和III组分别比对照组高了4.00%、6.42%和2.09%,其中试验II组显著高于对照组( $P < 0.05$ ),极显著高于试验IV组( $P < 0.01$ )。苜蓿草粉对中肠淀粉酶活性的影响与前肠的变化趋

势基本一致。添加苜蓿草粉后和对照组相比,未能显著改善其后肠的淀粉酶活性( $P > 0.05$ ),但不同草粉添加量之间有显著差异,其中试验I、II组显著高于试验IV组;试验I、II、III组肝胰脏中淀粉酶活性比对照组提高,试验IV组降低,均与对照组差异不显著( $P > 0.05$ ),但试验I、II、III组的淀粉酶活性均高于试验IV组( $P < 0.05$ )。

表5 苜蓿草粉对第25天禾花鲤淀粉酶的影响

 $\text{mg}/(\text{g} \cdot \text{min})$ 

项目	前肠	中肠	后肠	肝胰脏
CK	453.99 <sup>ABab</sup> ± 15.52	779.87 <sup>ABab</sup> ± 15.05	973.52 <sup>ab</sup> ± 14.38	1012.33 <sup>ab</sup> ± 9.07
I	472.13 <sup>ABbc</sup> ± 9.10	793.46 <sup>ABbc</sup> ± 9.72	990.96 <sup>b</sup> ± 4.71	1026.88 <sup>b</sup> ± 4.42
II	483.14 <sup>Bc</sup> ± 9.06	810.22 <sup>Bc</sup> ± 6.58	998.02 <sup>b</sup> ± 5.71	1028.21 <sup>b</sup> ± 8.35
III	463.48 <sup>ABbc</sup> ± 22.38	788.95 <sup>ABbc</sup> ± 6.69	984.57 <sup>ab</sup> ± 15.17	1021.03 <sup>b</sup> ± 11.75
IV	437.11 <sup>Aa</sup> ± 8.19	767.37 <sup>Aa</sup> ± 9.04	960.99 <sup>a</sup> ± 18.09	997.38 <sup>a</sup> ± 8.65

**2.2.2 苜蓿草粉对第50天禾花鲤淀粉酶活性的影响** 从表6可以看出,无论是前肠、中肠、后肠还是肝胰脏,均以试验II组淀粉酶活性最强,其次为试验I、III组,它们都程度不同地高于对照组。尽管只有试验II组与对照组差异显著(中肠、肝胰

脏)或极显著(前肠),但试验IV组与对照组接近,差异不显著( $P > 0.05$ )。

表5和表6数据显示,禾花鲤肝胰脏及前、中、后肠4部分淀粉酶的活性有较大的不同,肝胰脏 > 后肠 > 中肠 > 前肠。

表 6 苜蓿草粉对第 50 天禾花鲤淀粉酶的影响

 $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{min})$ 

项目	前肠	中肠	后肠	肝胰脏
CK	174.95 <sup>ABab</sup> ± 8.14	421.38 <sup>ABCab</sup> ± 16.72	483.11 <sup>ab</sup> ± 11.09	667.19 <sup>ABab</sup> ± 11.20
I	194.79 <sup>BCcd</sup> ± 7.36	433.95 <sup>BCbc</sup> ± 6.42	504.23 <sup>b</sup> ± 7.97	684.65 <sup>Bbc</sup> ± 10.76
II	205.32 <sup>Cd</sup> ± 8.26	447.90 <sup>Cc</sup> ± 5.83	505.27 <sup>b</sup> ± 6.12	692.95 <sup>Bc</sup> ± 11.29
III	182.96 <sup>ABCbc</sup> ± 9.62	427.63 <sup>ABCb</sup> ± 10.35	495.32 <sup>ab</sup> ± 5.97	675.94 <sup>ABbc</sup> ± 13.67
IV	161.73 <sup>Aa</sup> ± 6.04	403.82 <sup>Aa</sup> ± 9.16	475.84 <sup>3a</sup> ± 11.3	651.19 <sup>Aa</sup> ± 5.28

### 3 讨论和结论

#### 3.1 苜蓿草粉对消化酶活性的影响

Low<sup>[13]</sup>报道,日粮纤维对于消化酶的活性和产量都会产生不同的影响,提高日粮中的纤维含量,能够促进唾液、胃液、胃酸和胃蛋白酶的分泌,提高胰液的分泌量。Vahouny 等<sup>[14]</sup>在体外试验中发现,日粮纤维有提高胰脏消化酶活性的作用。Calvert 等<sup>[15]</sup>研究发现,日粮纤维的来源不同,其对消化酶活性的影响也有所不同。在小白鼠日粮中分别添加瓜尔胶、苜蓿草粉、纤维素和果胶作为纤维源,发现苜蓿草粉极显著提高了胰脂肪酶的活性和胰蛋白酶的活性( $P < 0.01$ ),而其他纤维源却没有这方面的作用。何云等<sup>[16]</sup>在团头鲂饵料中添加苜蓿草粉显著提高了后肠的蛋白酶活性和肝胰脏的淀粉酶活性。

试验中,在饲料中添加 40、80 和 120 g/kg 的苜蓿草粉都不同程度地提高了鲤鱼肠道和肝胰脏蛋白酶和淀粉酶的活性,但高含量的苜蓿草粉(160 g/kg 组)降低了其活性,这可能是因为添加 40 120 g/kg 的苜蓿草粉于鱼的饲料中,其纤维含量适度,促进了鲤鱼消化酶的分泌,但 160 g/kg 高含量的苜蓿草粉导致日粮纤维水平升高,反而降低了消化酶的活性<sup>[17]</sup>。从本试验各组饲料的粗纤维含量推测,鲤鱼饲料苜蓿纤维以 58.868.7 g/kg 为宜,超过 70.0 g/kg 即对酶活有不良作用。

#### 3.2 鲤鱼肠道和肝胰脏蛋白酶活性分布

许多学者报道了鱼类肠蛋白酶活性在肠道中不同部位的差异。关于梭鱼<sup>[18]</sup>、银鲫<sup>[19]</sup>的肠蛋白酶活性和尖齿鲮<sup>[20]</sup>、鲢、鳙<sup>[21]</sup>、拟鲤、莫桑比克罗非鱼<sup>[22]</sup>、草鱼、鲤、鲢、鳙、尼罗罗非鱼<sup>[23]</sup>和鲤鱼<sup>[24]</sup>的肠蛋白酶活性由前肠向后肠逐渐下降。这与本试验鲤鱼相似。说明大多数鱼类肠黏膜层分泌蛋白酶的能力由前向后逐渐减弱,但其幅度有一定

差异。黄耀桐等<sup>[12]</sup>认为草鱼肠道蛋白酶活性以后肠最高,前、中肠次之,但差异不明显,特别是前、后肠差异很小。这与本文结果不一致,其原因尚不清楚。

鲤鱼蛋白酶主要为肝胰脏分泌的无活性胰蛋白酶原,在进入肠道后,被肠激酶或胰蛋白酶所激活而发挥其功能<sup>[25]</sup>。Jany<sup>[19]</sup>发现银鲫肝胰脏蛋白酶活性很弱,但经肠液激活后,酶活性明显提高,高于肠蛋白酶活性。他认为银鲫肠道主要分泌肠致活酶,以激活肝胰脏分泌的蛋白酶原。吴婷婷<sup>[26]</sup>与叶元土<sup>[27]</sup>的报道与本试验结果一致,即鲤鱼肝胰脏蛋白酶活性低于肠道。而倪寿文<sup>[23]</sup>的报道则相反,认为鲤鱼肝胰脏的蛋白酶活性高于肠道。邹师哲<sup>[24]</sup>报道肝胰脏蛋白酶活性比前、中肠低,而与后肠接近。

#### 3.3 鲤鱼肠道和肝胰脏淀粉酶活性分布

由表 5 和表 6 可知,鲤鱼肝胰脏淀粉酶活性高于肠道,而在肠道中,淀粉酶活性从前向后依次增强,即前肠最低,中肠次之,后肠活性最强,且前肠与中后肠差异较大。这与倪寿文<sup>[28-29]</sup>、吴婷婷<sup>[26]</sup>、邹师哲<sup>[24]</sup>、周景祥等<sup>[30]</sup>报道一致。鲤鱼的淀粉酶是由肝胰脏一种器官分泌的,鲤鱼肠壁虽无分泌消化酶的能力,但对淀粉酶有较强的吸附作用。鲤鱼肠道较短,食物在消化道内移动的速度较快,而有研究表明,愈往后,肠内含物在肠道移动的速度愈慢,这样,内含物与肠壁接触的时间就愈长。因此,似乎可以这样认为,鲤鱼肠内含物愈往后移动,肠壁所吸附的淀粉酶就愈多,其比酶活就愈大。即是说,肠壁对淀粉酶吸附强度的差异是造成淀粉酶比酶活不均一分布的主要原因<sup>[31]</sup>。当然,从鱼类消化生理来看,消化酶的这种不均一分布似乎不利于鱼体对饲料的消化和吸收,对此,还需做进一步的研究。

另外,随着 2 次取样鲤鱼体质量的增加,肠道

及肝胰脏蛋白酶及淀粉酶活性均呈下降趋势。这与白东清<sup>[32]</sup>关于鲤鱼在42~199 g前肠蛋白酶活性迅速降低,25~42 g中肠蛋白酶活性下降迅速的报道一致,但后肠和肝胰脏结果与其不同,可能是由于添加苜蓿草粉影响了鲤鱼蛋白酶的分泌。鲤鱼肠道及肝胰脏淀粉酶活性是否随着体质量增加而下降,因报道较少,本次试验取样次数也不够多,尚需进一步研究。

试验结果表明,在饲料中添加40、80和120 g/kg的苜蓿草粉都程度不同地提高了鲤鱼肠道和肝胰脏蛋白酶和淀粉酶的活性,但高含量的苜蓿草粉(160 g/kg组)降低了其活性。

鲤鱼前肠、中肠、后肠和肝胰脏蛋白酶和淀粉酶活性显著不同,蛋白酶活性顺序为:前肠>中肠>后肠>肝胰脏;淀粉酶活性顺序为:肝胰脏>后肠>中肠>前肠。

## 参考文献

- [1] 王义强,黄世蕉,赵为信,等.鱼类生理学[M].上海:上海科学技术出版社,1990.
- [2] 王子彦,廖玉辉,何明清.鱼微生物饲料添加剂饲喂鲤鱼后对消化酶活性影响的研究[J].四川农业大学学报,1994(增刊):662-663.
- [3] 黄耀桐.草鱼肠道、肝胰脏蛋白酶活性初步研究[J].水生生物学报,1988,12(4):328-333.
- [4] 王成章,齐胜利,史莹华.不同苜蓿品种比较试验[J].华中农业大学学报,2002,21(1):44-46.
- [5] 王成章,李德锋,严学兵,等.肥育猪饲料中添加苜蓿草粉对其生产性能、消化率及血清指标的影响[J].草业学报,2008,17(6):71-77.
- [6] 杨玲玲,王成章.苜蓿产品在食品及饲料工业中的应用[J].草业科学,2008,25(3):85-89.
- [7] 何欣,王晓霞,薛双全.苜蓿草粉对蛋鸡产蛋性能及蛋品质的影响[J].当代畜牧,2001(2):33-39.
- [8] 杨雨鑫,王成章,廉红霞,等.紫花苜蓿草粉对产蛋鸡生产性能、蛋品质及蛋黄颜色的影响[J].华中农业大学学报,2004,23(3):314-319.
- [9] 廉红霞,王成章,杨雨鑫,等.不同苜蓿草粉添加水平对妊娠母猪及其仔猪生产性能的影响[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2004,32(6):35-40.
- [10] 臧为民,廉红霞,王成章,等.不同水平苜蓿草粉对哺乳母猪及其仔猪生产性能及血清指标的影响

- [J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2005,33(2):59-64.
- [11] 中山大学生物系.生化技术导论[M].北京:科学出版社,1991:53-60.
- [12] 周景祥,王桂芹,余涛.蛋白酶和淀粉酶活性检测方法探讨[J].中国饲料,2001(11):23-24.
- [13] Low A G. The role of dietary fiber in digestion, absorption and metabolism[J]. Proceedings of the 3rd International Seminar on Digestive Physiology in the Pig,1985,80:157-179.
- [14] Vahouny G V, Cassidy M M, Marie M. Dietary fibers and absorption of nutrients[J]. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1985,80:432-446.
- [15] Calvert R, Schneeman B O, Satchithanandam S. Dietary fiber and intestinal adaptation: effects on intestinal and pancreatic digestive enzyme activities [J]. American Journal of Clinical Nutrition, 1985, 41:1249-1256.
- [16] 何云,王成章,胡喜峰,等.紫花苜蓿对团头鲂生长性能及消化酶活性影响的研究[J].草业科学,2008,25(10):107-114
- [17] 王进波,潘翔,刘建新.日粮纤维对单胃动物消化生理功能的影响[J].饲料研究,2000(4):19-21.
- [18] Das K M, Ghosh A. Ghosh. Studies on the comparative activity of some digestive enzymes in fry and adult of a mullet, *Liza parsia* (Harn)[J]. Journal of Aquaculture in the Tropics, 1987(2):9-15.
- [19] Jany K O. Studies on the Digestive Enzymes of the Stomachles Bony Fish, *Carassius auratus* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 1976, 536: 31-38.
- [20] Uys W, Hecht T. Assays on the digestive enzymes of sharptooth catfish, *Clarias gariepinus* (Plsces, Clarilidae)[J]. Aquaculture, 1987, 53:301-313.
- [21] Bitterlich G. Digestive enzyme pattern of two stomachless filter feeders silvercarp, *Hypophthalmichthys molitrix* Val, and bighead carp, *Aristichthys nobilis* [J]. Journal of Fish Biology, 1987, 27:103-112.
- [22] Hofer R. The adaptation of digestive enzymes to temperature, seasons and diet in roach, *Rutilus rutilus* and Rudd *Scardinius erythrophthalmus* L.: Amylase [J]. Journal of Fish Biology, 1978, 14:565-572.
- [23] 倪寿文.草鱼、鲤、鲢、鳙和尼罗非鲫肝胰脏和肠道

- 蛋白酶活性的初步探讨[J]. 动物学报, 1993, 39(2):160-168.
- [24] 邹师哲, 王义强, 张家国. 饲料中蛋白质、脂肪、碳水化合物对鲤消化酶的影响[J]. 上海水产大学学报, 1998, 7(1):69-74.
- [25] 尾崎久雄. 鱼类消化生理(下册)[M]. 吴尚忠. 上海: 上海科学技术出版社, 1985:390-392.
- [26] 吴婷婷. 鳊、青鱼、草鱼、鲤、鲫、鲢消化酶活性的研究[J]. 中国水产科学, 1994, 1(2):10-16.
- [27] 叶元土. 鲤鱼肝胰脏和肠道蛋白酶活性的研究[J]. 西南农业大学学报, 1990, 12(4):425-426.
- [28] 倪寿文, 桂远明, 刘焕亮. a: 草鱼、鲤、鲢、鳊和尼罗非鲫脂肪酶活性的比较研究[J]. 大连水产学院学报, 1990, 5(3,4):19-24.
- [29] 倪寿文, 桂远明, 刘焕亮. b: 草鱼、鲤、鲢、鳊和尼罗非鲫淀粉酶活性的比较研究[J]. 大连水产学院学报, 1992, 7(1):24-31.
- [30] 周景祥, 余涛, 黄权, 等. 鲤鱼、黄颡鱼和大眼狮鲈消化酶活性的比较研究[J]. 长春渔业, 2000(2):11-15.
- [31] 叶元土. 鲤鱼肝胰脏和肠道淀粉酶活性的研究[J]. 水产科学, 1992, 11(10):14-16.
- [32] 白东清, 乔秀婷, 刘刚, 等. 不同生长阶段鲤肠肝胰脏蛋白酶活性的研究[J]. 水利渔业, 1999, 19(3):4-6.

### Effects of alfalfa meal on protease and amylase activities of common carps

ZHANG Chun-mei<sup>1</sup>, SHI Chuan-xin<sup>1</sup>, WANG Cheng-zhang<sup>2</sup>, HE Yun<sup>3</sup>, LIU Quan-wei<sup>2</sup>

(1. Department of Life Science, Shangqiu Normal University, Shangqiu 476000, China;

2. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Henan Agriculture University,

Zhengzhou 450002, China; 3. College of Animal Science, Henan Institute of Science

and Technology, Xinxiang 453003, China)

**Abstract:** An experiment was conducted using 1 200 carps to study the effects of alfalfa meal on the activity of digestive enzymes. Carps were randomly divided into five treatments according to a random factorial arrangement, each treatment represented by three replicates of 80 carps each. Carps were fed with diet containing 0(control), 40, 80, 120 and 160 g/kg (group 1,2,3,4, respectively) alfalfa meal during the period of 50 days, and activity of protease and amylase in carp's foregut, midgut, hindgut and hepatopancreas were investigated. The results showed that: 1) Protease activity in foregut of carps fed with 80 g/kg alfalfa meal was significantly enhanced compared to the control and group 4 ( $P < 0.05$ ), but there was no significant difference between group 1 and group 3 ( $P > 0.05$ ). Protease activity in midgut, hindgut and hepatopancreas of carps had no significant difference compared to the control ( $P > 0.05$ ), but they had the same trend: the activity of protease of group 1, 2 and 3 were higher than the control group. 2) Activity of protease in carp's foregut, midgut and hindgut were gradually lowered, And activity of protease in hepatopancreas were far lower than that in guts. 3) Activity of amylase in foregut and midgut of carps fed with 80 g/kg alfalfa meal were significantly enhanced ( $P < 0.05$ ). There were no significant difference between the other groups and the control ( $P > 0.05$ ). Amylase activity in hindgut had no significant difference compared to the control ( $P > 0.05$ ). But alfalfa meal enhanced the activity of amylase in hepatopancreas, group 2 was significantly higher than control ( $P < 0.05$ ). The other groups had no significant difference compared to the control ( $P > 0.05$ ). 4) There was great difference between activity of amylase in foregut, midgut, hindgut and hepatopancreas. Among the four parts, the activity of amylase ranged from high to low: hepatopancreas  $>$  hindgut  $>$  midgut  $>$  foregut. In summary, appropriate alfalfa meal significantly improved the activities of protease and amylase of common carps, and the activities of protease and amylase were different in different parts of carps.

**Key words:** alfalfa; common carp; protease; amylase