

几种环保型饲料添加剂对日本沼虾 生长、消化酶的影响

蔡永祥¹, 谢国骅², 边文冀¹, 刘文斌², 秦 钦¹

(1 江苏省淡水水产研究所, 江苏 南京 210017; 2 南京农业大学动物科技学院, 江苏 南京 210095)

[摘要] 在基础饲料中添加 0.08 g/kg 黄霉素为对照组饲料, 添加 15 g/kg 中草药 I、20 g/kg 中草药 II、0.2 g/kg 合生素、0.6 g/kg 复合酶作为试验组饲料, 用上述 5 种饲料在水泥池中饲养日本沼虾 40 d 测定日本沼虾胃、肝胰脏中的胃蛋白酶、类胰蛋白酶、淀粉酶及肠道中的蛋白酶和增重率。结果表明, 试验组添加剂对胃、肝胰脏消化酶(胃蛋白酶、类胰蛋白酶)及增重率有显著性影响($P < 0.05$), 但对肠蛋白酶、肝胰脏淀粉酶无显著影响($P > 0.05$); 除合生素组中胃组织的胃蛋白酶、中草药 II 组的胃组织类胰蛋白酶、胃淀粉酶要稍低于黄霉素组相应酶的活力外, 其余所测定的各消化酶活性及相对增重率都要高于黄霉素组相应结果。中草药 I、中草药 II、复合酶和合生素组的增重率较黄霉素组分别提高 13.10%、16.53%、22.07% 和 32.22%, 表明试验组的饲料养分消化利用更为充分。

[关键词] 日本沼虾, 环保添加剂, 消化酶, 增重率

[中图分类号] S963 [文献标识码] A [文章编号] 1001-4616(2008)03-0113-05

Effects of Several K inds of Eco-friendly Feed Additives on G row th and Digestive Enzym e A ctivities of *Macrobrachium N ipponense*

Cai Yongxiang¹, Xie Guoshi², Bian Wenji¹, Liu Wenbin², Qin Qin¹

(1 Freshwater Fisheries Research Institute of Jiangsu Province Nanjing 210017, China)

(2 College of Animal Science and Technology Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract Flavomycin as feed additive was mixed with basal feedstuff to form control group feedstuff and the added level was 0.08 g/kg. Four kinds of feed additive, which were Chinese herbal medicine I, Chinese herbal medicine II, synbiotics and compound enzymes, were mixed with basal feedstuff separately to form trial group feedstuffs. The added levels of them were 15 g/kg, 20 g/kg, 0.2 g/kg and 0.6 g/kg respectively. The experimental *Macrobrachium nipponense* individuals were cultured in concrete tank for 40 d, fed with the five kinds of feedstuffs. Then, the activities of amylase, trypsin and pepsin in the stomach and the hepatopancreas, as well as the activity of intestine protease and the relative weight gain rate were investigated. One-way ANOVA shown that feed additives of trial groups had significant effects on the activities of digestive enzymes in the stomach and the hepatopancreas (pepsin, trypsin) and on the relative weight gain rate ($P < 0.05$), however, no significant differences were found in activities of the intestine protease, as well as the hepatopancreas amylase ($P > 0.05$). The experiment shown that the relative weight gain rate and most of the digestive enzymes activity items of flavomycin group were significantly lower than that ones of other groups respectively, except pepsin in stomach of compound enzymes group, as well as trypsin and amylase in stomach of Chinese herbal medicine II group. The relative weight gain rates of Chinese herbal medicine I, Chinese herbal medicine II, compound enzymes and synbiotics group were higher than that one of flavomycin group by 13.10%, 16.53%, 22.07% and 32.22% respectively. So it was concluded that the feedstuffs of the four groups can be digested and absorbed more efficiently than the feedstuff of flavomycin group.

Key words *Macrobrachium nipponense*, eco-friendly feed additive, digestive enzymes, weight gain rate

收稿日期: 2007-11-19

基金项目: 江苏省科技攻关基金 (BE2005343) 资助项目。

通讯联系人: 蔡永祥, 高级工程师, 研究方向: 淡水鱼虾养殖与生态学。E-mail: yx64@sina.com.cn

日本沼虾 (*Macrobrachium nipponense*) 是重要的淡水虾类养殖品种之一. 目前青虾养殖中, 黄霉素作为一种饲用抗生素添加剂被广泛使用. 近年来, 以中草药^[1]、合生素^[2 3]、复合酶^[4]作为环保型饲料添加剂, 研究其对鱼类、中国对虾、南美白对虾等水产动物生长及消化酶影响的文献已有少量报道. 邱小琼等^[1]设计中草药配方 I 和 II, 分别以 0. 5%、1%、2% 剂量添加到基础饲料中, 连续投喂异育银鲫 2 个月, 结果表明, 中草药添加剂能够极显著地影响异育银鲫的生长、肠道和肝胰脏的蛋白酶活性及蛋白质的消化吸收率 ($P < 0. 01$). 丁贤等^[2]在基础饲料中分别添加 0. 5%、1. 0%、3. 0%、5. 0% 芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 制剂为实验组. 实验结果显示, 凡纳对虾 (*Penaeus-vannam ei*) 生长的 2 个阶段, 实验组特殊生长率 γ_{SGR} 均大于对照组. 而研究上述环保型添加剂对日本沼虾饲料添加效果的文献未见报道. 本文以黄霉素添加饲料作为对照组, 探讨了 4 种环保型饲料添加剂 (中草药 I 中草药 II 合生素、复合酶) 对日本沼虾生长和消化酶活性的影响, 以期在日本沼虾饲料添加剂开发应用提供依据, 为虾类消化生理学和日本沼虾养殖提供必要的基础资料.

1 材料与方法

1. 1 试验材料

试验中所用黄霉素为比利时诺卫制药股份有限公司生产, 黄霉素含量 8%, 添加量为 0. 08 g/kg 复合酶中主要成分是蛋白酶、 α -淀粉酶和支链淀粉酶等 8 种酶, 由美国建明公司生产, 添加量为 0. 6 g/kg 中草药 I 为金银花等中草药乙醇提取的残剩物, 由南京华牧动物科技研究所提供, 添加量为 15 g/kg 中草药 II 为大黄、穿心莲、大青叶等中草药超微粉碎后的混合物, 由江苏省淡水水产研究所提供, 添加量为 20 g/kg 合生素主要成分是芽孢杆菌、低聚糖和多糖等, 由南京农业大学提供, 添加量为 0. 2 g/kg

试验用虾为捕自南京市高淳县固城湖健康的日本沼虾, 平均体重为 0. 60 \pm 0. 11 g

1. 2 试验分组与饲料配制

试验共分为 5 组, 每组设 3 个重复, 水泥池大小为 2. 4 \times 2. 4 \times 0. 35 m³. 试验饲料基础配方见表 1, 由饲料厂生产加工.

1. 3 饲养管理

试验共进行 47 d 2006 年 5 月 31 日至 2006 年 7 月 16 日, 其中驯化 7 d 正式试验 40 d 试验在江苏省淡水水产研究所试验基地 15 只水泥池中进行, 室外水泥池上架钢架, 盖遮阳网. 每个水泥池随机放入规格基本一致的虾苗 500 尾, 放置若干聚乙烯网片, 供青虾栖息、攀爬. 试验期间每天上午 8 00 和下午 4: 00 各投饵 1 次, 投喂量根据气温及天气情况调整, 每天喂前清除残剩饲料. 昼夜 24 h 充气, 用水取自同一池塘, 试验期间根据虾池水质情况进行不定期换水, 每次换水约 50%.

1. 4 指标测定

1. 4. 1 相对增重率的测定

实验开始前及结束时分别将虾饥饿 24 h 后, 用滤纸吸干虾体表面水分, 用万分之一电子天平称其体重. 生长指标为相对增重率, 其计算公式为: 增重率 = (终均重 - 初均重) / 初均重 \times 100%.

1. 4. 2 酶活性的制备与测定

(1) 酶液的制备: 取各组虾置于冰盘内, 分组取出肝胰腺、胃、肠, 肝胰腺、胃称重后加入 5 倍体积 (W / V) 的 4℃ 的去离子水, 肠称重后加 10 倍体积 (W / V) 的 4℃ 的去离子水, 玻璃匀浆器 (冰浴) 内匀浆.

匀浆液用冷冻离心机 9 000 r/min 离心 30 min (4℃) 取上清液, 供消化酶的测定.

(2) 胃蛋白酶、类胰蛋白酶活力测定: 胃蛋白酶活力测定参照刘玉梅等的方法, 以每分水解释干酪素所产生的 1 μ g 酪氨酸作为一个活力单位. 类胰蛋白酶活力测定过程基本与胃蛋白酶活力测定一致, 只是所用缓冲液改为 0. 05 mol/L 硼砂 - 氢氧化钠缓冲液 (pH = 9. 8).

(3) 肠道蛋白酶活性的测定: 福林-酚试剂法测定蛋白酶活性. 蛋白酶活性的定义为: 在 37℃, pH 7. 0 的条件下, 每分水解释酪蛋白产生 1 μ g 酪氨酸的酶量为 1 个蛋白酶活力单位.

表 1 试验饲料的基础日粮配方

Table 1 The fomulation of basal feedstuff

成分	质量分数 %	成分	质量分数 %
鱼粉	12	预混料	1
豆粕	20	磷脂	3
菜粕	12	磷酸二氢钙	2. 2
棉粕	10	食盐	0. 3
花生粕	12	酵母粉	3
次粉	16	虾壳粉	3
麸皮	3. 4	沸石粉	1. 6
黏结剂	0. 5		

(4) 淀粉酶活性的测定: 采用试剂盒 (购自南京建成生物研究所) 测定. 淀粉酶单位定义为组织中每 mg 蛋白在 37 ℃与底物作用 30 min 水解 10 mg 淀粉时定义为 1 个活力单位.

(5) 酶液蛋白浓度的测定: 采用考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒 (购自南京建成生物研究所) 测定.

1.5 统计分析

试验数据用 SPSS (Ver 11.5) 统计软件包进行单因素方差分析 (One-way ANOVA) 进行显著性检验, 并进行组间多重比较, 试验数据用平均数 ± 标准误表示.

2 结果

各酶活的测定及增重率的计算结果如表 2 表 3 图 1 图 2 及表 4

表 2 不同添加剂对日本沼虾胃组织消化酶的影响 (n = 3)

添加剂酶	黄霉素	中草药 I	中草药 II	合生素	复合酶
胃蛋白酶	3.49 ± 0.39 ^{a b}	3.79 ± 0.26 ^b	4.62 ± 0.42 ^b	2.45 ± 0.41 ^a	4.81 ± 0.42 ^b
类胰蛋白酶	3.86 ± 0.04 ^a	4.10 ± 0.24 ^a	3.47 ± 0.28 ^a	5.18 ± 0.23 ^b	5.02 ± 0.02 ^b
淀粉酶	0.69 ± 0.02 ^a	0.87 ± 0.06 ^b	0.62 ± 0.08 ^a	0.69 ± 0.06 ^a	0.69 ± 0.00 ^a

注: 同一行中 a b 不同, 表示差异显著 (P < 0.05). 酶的活力以比活力表示, 各蛋白酶酶活单位为 U / (min · mg), 淀粉酶酶活单位为 U / mg

表 3 不同添加剂对日本沼虾肝胰腺消化酶的影响 (n = 3)

添加剂酶	黄霉素	中草药 I	中草药 II	合生素	复合酶
胃蛋白酶	1.70 ± 0.21 ^a	2.83 ± 0.47 ^{a b}	3.72 ± 0.60 ^b	4.09 ± 0.26 ^b	2.09 ± 0.15 ^a
类胰蛋白酶	2.72 ± 0.09 ^a	3.66 ± 0.11 ^{a b}	4.50 ± 0.13 ^b	4.28 ± 0.41 ^b	4.45 ± 0.13 ^b
淀粉酶	0.59 ± 0.10 ^a	0.80 ± 0.13 ^a	0.77 ± 0.15 ^a	0.70 ± 0.11 ^a	0.81 ± 0.07 ^a

注: 同一行中 a b 不同, 表示差异显著 (P < 0.05). 酶的活力以比活力表示, 各蛋白酶酶活单位为 U / (min · mg), 淀粉酶酶活单位为 μg / mg

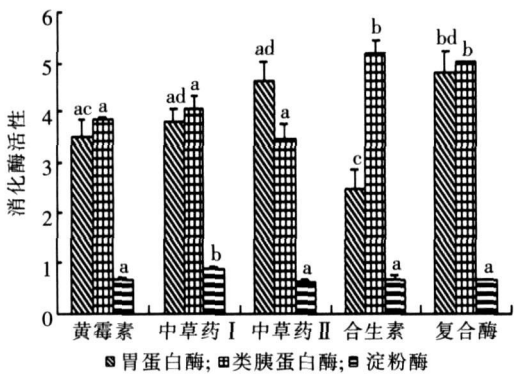


图 1 不同添加剂对日本沼虾胃组织消化酶的影响

Fig.1 The effect of feed additives on the digestive enzymes in the stomach of Macrobrachium nipponense

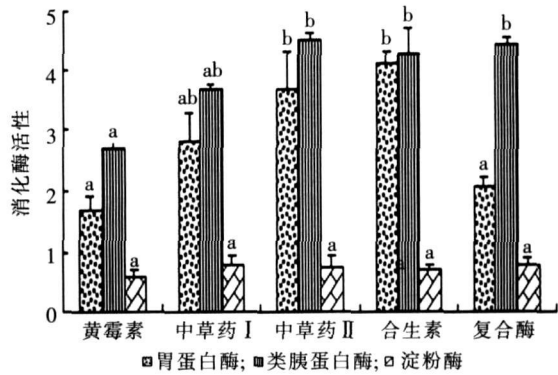


图 2 不同添加剂对日本沼虾肝胰腺消化酶的影响

Fig.2 The effect of feed additives on the digestive enzymes in the hepatopancreas of Macrobrachium nipponense (n=3)

2.1 蛋白酶

从表 2 可见, 胃组织中胃蛋白酶酶活的高低顺序依次为复合酶组 > 中草药 II 组 > 中草药 I 组 > 黄霉素组 > 合生素组. 胃组织中类胰蛋白酶活力, 复合酶组和合生素组类胰蛋白酶活显著高于其余各组 (P < 0.05). 酶活的高低顺序依次为合生素组 > 复合酶组 > 中草药 I 组 > 黄霉素组 > 中草药 II 组.

从表 3 可见, 肝胰腺组织中胃蛋白酶活力, 合生素组和中草药 II 组酶活显著高于黄霉素组 (P < 0.05). 酶活的高低顺序依次为合生素组 > 中草药 II 组 > 中草药 I 组 > 复合酶组 > 黄霉素组. 肝胰腺组织中类胰蛋白酶活力合生素组、复合酶组、中草药 II 组酶活显著高于黄霉素组 (P < 0.05). 酶活的高低顺序依次为中草药 II 组 > 复合酶组 > 合生素组 > 中草药 I 组 > 黄霉素组.

表 4 不同添加剂对日本沼虾肠蛋白酶及增重率的影响 (n=3)

添加剂指标	黄霉素	中草药 I	中草药 II	合生素	复合酶
平均初重 /g	0.61±0.03	0.62±0.02	0.61±0.03	0.60±0.02	0.62±0.01
平均末重 /g	0.94±0.03	0.99±0.04	1.00±0.02	1.05±0.03	1.02±0.03
平均增重 /g	0.34±0.03	0.36±0.04	0.4±0.02	0.45±0.03	0.42±0.03
肠蛋白酶	0.44±0.08 ^a	0.48±0.04 ^a	0.51±0.03 ^a	0.63±0.04 ^a	0.54±0.05 ^a
相对增重率 /%	56.73±1.38 ^c	64.16±1.58 ^{b c}	66.11±3.48 ^{a b c}	75.01±3.18 ^a	69.25±2.06 ^{a b}

注: 同一行中 a b c 不同, 表示差异显著 (P<0.05). 酶的活力以比活力表示, 酶活单位为 U/(m in·mg).

从表 4 可见, 不同添加剂肠蛋白酶活均高于黄霉素组, 但差异不显著 (P>0.05). 酶活的高低顺序依次为合生素组>复合酶组>中草药 II 组>中草药 I 组>黄霉素组.

2.2 淀粉酶

从表 2 可见, 胃组织中淀粉酶活性的中草药 I 组显著高于其余各组 (P<0.05), 其它各组差异不明显. 酶活的高低顺序依次为中草药 I 组>黄霉素组>合生素组>复合酶组>中草药 II 组.

从表 3 中可见, 肝、胰腺组织中淀粉酶活性各组间无明显差异, 酶活的高低顺序依次为复合酶组>中草药 I 组>中草药 II 组>合生素组>黄霉素组.

2.3 增重率

从表 4 可见, 不同试验组的增重率均高于黄霉素组, 其中合生素组、复合酶组的增重率显著高于黄霉素组 (P<0.05), 增重率高低顺序依次为合生素组>复合酶组>中草药 2 组>中草药 1 组>黄霉素组, 分别比黄霉素组提高 32.22%、22.07%、16.53%、13.10%.

3 讨论

3.1 中草药对日本沼虾消化酶的影响

试验中中草药 I 组所测定的胃、肝胰腺组织中的胃蛋白酶、类胰蛋白酶都高于黄霉素组. 中草药 II 组肝胰腺中各消化酶活性都高于黄霉素组, 胃组织中的胃蛋白酶活性亦高于黄霉素组. 试验结果表明两中草药组较黄霉素组可提高淀粉酶、肠蛋白酶酶活和增重率.

中草药 II 组胃组织类胰蛋白酶活性低于胃蛋白酶, 这可能是因为该草药中含有主要成份大黄有关, 大黄素可抑制胰蛋白酶的释放. 中草药 II 组 2 个组织中淀粉酶的活性低于中草药 I 组, 其它各消化酶及增重率均要高于中草药 I 组, 这提示在饲料中添加中草药时可根据中草药成分的不同作用, 对中草药原料的配伍进行选择优化, 更好发挥中草药添加剂的促生长作用.

3.2 复合酶对日本沼虾消化酶的影响

本试验中复合酶组蛋白酶活都高于黄霉素组, 其中胃和肝胰腺中类胰蛋白酶和增重率都显著高于黄霉素组 (P<0.05), 增重率提高了 22.07%. 试验表明复合酶添加剂可促进生长, 这与一些报道是一致的, 如仲军使用加酶饲料喂对虾生产和大水面养虾, 生产试验结果表明, 添加质量分数 0.1% 饲料酶, 虾个体增重率提高 12.13%, 单产提高 13.87%, 饲料系数降低 12.02%, 经济效益提高 23.06%. 本试验表明: 外源性复合消化酶的添加, 可显著提高蛋白酶的酶活, 而对淀粉酶酶活影响较小.

3.3 合生素对日本沼虾消化酶影响

本次试验结果表明合生素组较黄霉素组显著提高了胃组织类胰蛋白酶、肝胰腺中的胃蛋白酶和类胰蛋白酶及增重率 (P<0.05), 其肠蛋白酶活在各组中最高, 较黄霉素组提高了 43.18%, 增重率提高了 32.22%. 原因可能是试验中所用合生素成分为芽孢杆菌与低聚糖等, 而芽孢杆菌可产生多种酶类, 如蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶等, 且一些酶是动物体本身不具有的酶^[5], 可有效提高水生动物的饲料利用率. 低聚糖有利于芽孢杆菌在日本沼虾消化道中尽快的萌发、繁殖, 形成优势菌群, 进而提高对饲料的利用效率, 促进其对营养物质的消化吸收, 同时改善了日本沼虾的肠道微生态, 促进健康生长.

本试验结果显示, 合生素组和黄霉素组比较对蛋白酶活性的影响较明显, 而对淀粉酶活性影响较小, 这与丁贤^[2]等对南美白对虾的研究结果相一致.

试验中合生素组的胃组织中胃蛋白酶要显著低于黄霉素组 (P<0.05), 分析其原因可能与芽孢杆菌

可在胃中产生乳酸、丙酸、乙酸等物质从而影响胃中的酸碱度有关。

3.4 消化酶活性及增重率的关系

消化酶的活性在一定程度上反映出机体对饲料养分的消化利用程度。试验结果表明除合生素中胃组织的胃蛋白酶、中草药 II 组的胃组织的类胰蛋白酶、淀粉酶要低于黄霉素组相应酶的活力外, 其余所测定的各消化酶活性及相对增重率都要高于黄霉素组相应结果。表明中草药 I、中草药 II、复合酶和合生素通过提高消化酶的活性, 使饲料养分消化利用得更为充分。

日本沼虾是以动物性食物为主, 胃蛋白酶和类胰蛋白酶是主要的消化酶, 这两种酶活力的高低可以看出沼虾对动物性食物的摄食消化情况。各组的胃蛋白酶与类胰蛋白酶的比较中, 除中草药 II 组胃组织中类胰蛋白酶活性低于胃蛋白酶外, 其余各试验组的类胰蛋白酶都要相应高于胃蛋白酶, 是体内的主要消化酶。这一结果与王维娜对日本沼虾消化酶^[6]的研究一致, 中国对虾、南美白对虾^[7-9]、日本对虾试验结果相一致, 说明日本沼虾的类胰蛋白酶与胃蛋白酶相比在分解蛋白质的过程中更为重要。

中草药主要作为免疫增强剂使用, 但中草药内含多种营养成分, 已被证实有促进生长作用。本次试验发现, 所饲喂的中草药饲料能够促进日本沼虾的生长。但与黄霉素组比较差异不显著, 这可能与黄霉素对虾类具有促生长作用有关。

消化酶中肠蛋白酶表现与增重率存在一定的正向关系, 即表现出增重率随肠蛋白酶活的增大而增大, 中草药 I、中草药 II、复合酶和合生素组的肠蛋白酶活分别较黄霉素组提高 8.33%、15.91%、22.73% 和 43.18%, 增重率分别提高 13.10%、16.53%、22.07% 和 32.22%, 提示肠蛋白酶在日本沼虾的生长中可能起着更为重要的作用。

[参考文献]

- [1] 邱小琼, 周洪琪, 刘小刚, 等. 中草药添加剂对异育银鲫生长和蛋白质消化吸收的影响 [J]. 水产学报, 2002, 26(6): 551-555.
- [2] 丁贤, 李卓佳, 陈永青. 芽孢杆菌对凡纳对虾生长和消化酶活性的影响 [J]. 中国水产科学, 2004, 11(6): 580-584.
- [3] 刘小刚, 周洪琪, 华雪铭. 微生态制剂对异育银鲫消化酶活性的影响 [J]. 水产学报, 2002, 5(26): 448-452.
- [4] 刘文斌, 周岩民. 饵料中添加酶制剂对异育银鲫消化和增重的影响 [J]. 南京农业大学学报, 1999, 22(3): 57-60.
- [5] Sogard H. Beyond lactic acid bacteria [J]. Feed International 1990, 11(4): 32-38.
- [6] 王维娜, 王安利, 孙儒泳. 水环境中的铜锌铁钴离子对日本沼虾消化酶和碱性磷酸酶的影响 [J]. 动物学报, 2001, 47(专集): 72-77.
- [7] 许培玉, 周洪琪. 小肽制品对凡纳滨对虾蛋白酶和淀粉酶活力的影响 [J]. 上海水产大学学报, 2005, 14(2): 133-137.
- [8] 杨奇慧, 周歧存, 马丽莎. 凡纳滨对虾幼体胃蛋白酶和类胰蛋白酶活力的研究 [J]. 海洋科学, 2005, 29(5): 6-9.
- [9] 王淑红, 陈昌生, 刘志勇, 等. 南美白对虾幼体消化酶活力的初步研究 [J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2004, 43(3): 389-392.

[责任编辑: 孙德泉]