

文章编号: 1674-5566(2015)03-0383-08

不同磷酸二氢钙含量饲料中添加植酸酶对建鲤生长、磷利用、体组成和消化酶活性的影响

秦巍仑¹, 杨毅^{1,2}, 冷向军^{1,3,4,5}, 吴江², 李小勤¹

(1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 通威股份有限公司四川水产工程技术研究中心, 四川 成都 610081; 3. 上海海洋大学 农业部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306; 4. 上海市水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306; 5. 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(ZF1206), 上海 201306)

摘要:以初始体重为(12.8±0.2)g的建鲤(*Cyprinus carpio* var. Jian)为研究对象,探讨了在不同磷酸二氢钙含量饲料中添加包被酸性植酸酶对建鲤生长性能、磷利用率、体组成和肠消化酶活性的影响。共设5组饲料,即磷酸二氢钙含量分别为2.5%、2.0%、1.6%的3组饲料,及在2.0%、1.6%磷酸二氢钙饲料中添加2 000 U/kg植酸酶的两组饲料。90 d的养殖实验结果表明:2.5%磷酸二氢钙组具有最高鱼体增重率,最低饲料系数和最低全鱼脂肪含量;1.6%磷酸二氢钙组的生长性能最低,全鱼脂肪含量最高;在2.0%磷酸二氢钙饲料中添加植酸酶,对生长、磷储积率和全鱼组成均没有显著影响,但提高了磷表观消化率和肠脂肪酶活性;在1.6%磷酸二氢钙饲料中添加植酸酶显著提高了鱼体增重率、磷表观消化率、磷储积率和全鱼粗蛋白、灰分含量($P < 0.05$),降低了饲料系数和全鱼粗脂肪含量($P < 0.05$),但对肠消化酶活性没有显著影响。上述结果表明:在含1.6%磷酸二氢钙饲料中添加包被酸性植酸酶可促进建鲤生长,降低鱼体粗脂肪含量,提高磷表观消化率和磷储积率。

研究亮点:植酸酶的应用是提高饲料磷利用率的重要手段,但常用植酸酶耐温性较差,影响了在水产饲料中的应用。本实验中,所采用的植酸酶是经包被处理后的酸性植酸酶,具有较高热稳定性,且实验饲料的制作与饲料工业化生产条件一致。研究结果表明了饲料中添加包被酸性植酸酶后,可减少饲料中磷酸二氢钙的添加量,这为植酸酶在水产饲料中的合理应用提供了依据。

关键词:植酸酶;建鲤;生长;磷;消化率;体组成;消化酶
中图分类号: S 963.73
文献标志码: A

植物性饲料原料中的磷大部分以植酸(肌醇六磷酸)及其盐的形式存在,因鱼体内缺乏分解植酸的酶而难以利用。为满足鱼体生长所需,必须在饲料中添加易于吸收的无机磷,如磷酸二氢钙等。大量未被吸收的植酸磷和无机磷酸盐随粪便排入水体,既浪费饲料资源,也污染水质。

植酸酶是催化植酸水解成肌醇与磷酸(或磷酸盐)一类酶的总称。研究表明,植酸酶能够提高鱼类生长性能及对植酸磷和其他营养物质的利用率,减少磷的排放^[1-6]。在饲料中添加植酸酶被认为是降低无机磷使用量的有效途径,但由

于常用的植酸酶耐温较差,一般不超过70℃^[7],而水产颗粒饲料调质、制粒温度多在90℃以上,这是目前植酸酶不能大量应用于生产的重要因素。包被是提高酶热稳定性的方法之一。对植酸酶进行包被处理,当温度超过60℃后,其热稳定性显著提高,酶活性显著高于未包被酶^[8]。目前,有关在生产条件下添加包被植酸酶对鱼类作用效果的研究很少。

建鲤(*Cyprinus carpio* var. Jian)是由中国水产科学研究院淡水渔业研究中心以荷包红鲤和沅江鲤为亲本,人工杂交、选育成的鲤鱼品种,具

收稿日期: 2014-12-29

修回日期: 2015-03-19

基金项目: 上海市重点学科建设项目(Y1101);通威水产工程技术中心开放课题(09-11)

作者简介: 秦巍仑(1982—),男,硕士研究生,研究方向为水产动物营养与饲料学。E-mail:2044782409@163.com

通信作者: 冷向军, E-mail:xjleng@shou.edu.cn

有生长快、含肉率高、适应性强等优点,现已成为我国主要的鲤鱼养殖品种。本实验以建鲤为实验对象,探讨了在生产条件下,在不同磷酸二氢钙含量饲料中添加包被酸性植酸酶对建鲤生长性能、磷利用率、体组成和肠消化酶活性的影响,可为植酸酶在水产饲料中的合理应用提供依据。

1 材料与方 法

1.1 实验设计与实验饲料

设置磷酸二氢钙含量分别为 2.5% (正对照)、2.0%、1.6% 的 3 种饲料,另在磷酸二氢钙含量为 2.0%、1.6% 的饲料中添加植酸酶

0.02%,共 5 个处理组。各组饲料配方和营养水平见表 1。

实验饲料在通威四川公司用环模制粒机加工制作(温度 90 ℃ 左右)。实验所用的植酸酶是帝斯曼乐多仙 NP-(CT)包被(微丸型)植酸酶:每克产品中酶活单位含量 10 000 U/g,最适 pH 为 5.5,能耐 85 ℃ 以上高温。

养殖实验结束后,进行消化率实验。所用饲料由上述 5 组饲料粉碎后,添加 0.5% 三氧化二铬,加适量水,用小型绞肉机加工而成,在阴凉处风干后封口放置在阴凉避光处保存备用。

表 1 实验饲料组成和营养水平
Tab.1 Composition and nutrient levels of diets

原料 ingredients	2.5% MCP ¹	2.0% MCP	1.6% MCP	2.0% MCP + P ²	1.6% MCP + P
鱼粉 fish meal	5	5	5	5	5
DDGS	10	10	10	10	10
米糠 rice bran	10	10	10	10	10
豆粕 soybean cake	15	15	15	15	15
菜粕 rape seed cake	17	17	17	17	17
棉粕 cotton seed meal	20	20	20	20	20
大豆油 soybean oil	2	2	2	2	2
膨润土 bentonite	1	1	1	1	1
次粉 wheat middling	16.6	17.1	17.5	17.08	17.48
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	2.5	2.0	1.6	2.0	1.6
氯化胆碱 choline chloride	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
多维、多矿预混料 premix ³	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
植酸酶 phytase	-	-	-	0.02	0.02
营养水平 proximate composition					
水分 moisture	9.8	9.9	9.9	9.7	9.8
粗蛋白质 crude protein	33.6	33.9	32.4	32.5	33.1
粗脂肪 crude lipid	5.1	5.9	6.0	5.7	5.8
粗纤维 crude fiber	7.8	8.1	8.4	8.1	7.2
粗灰分 crude ash	8.7	8.3	7.8	8.6	8.1
磷 phosphorus	1.51	1.39	1.29	1.38	1.30

注:1. MCP(Monocalcium phosphate):磷酸二氢钙; 2. P (Phytase):植酸酶; 3. 通威无机盐和和维生素混合预混料。

Note:1. Monocalcium phosphate; 2. Phytase; 3. Premix was supplied by Tongwei Co. Ltd.

1.2 实验动物和饲养管理

实验鱼建鲤为当年春季鱼种,体重为(12.8 ± 0.2) g,购于四川德阳水产试验场。正式实验前在实验条件下暂养 15 d,进行消毒和驯化,使之适应实验饲料和养殖环境。

实验在流水网箱(1 m × 2 m × 1.5 m)中进行,采用单因素完全随机分组实验设计,共 5 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、规格一致的建鲤随机分组,每箱 108 尾,每种饲料随机投喂 3 个网箱的实验鱼。实验前半期每天投喂 5 次(8:30, 11:00, 13:30, 16:00, 18:30),实验后半期每天投喂 4 次(8:30, 11:30, 14:30, 17:30),投饲率为鱼体重的 3% ~ 5%,并根据天气和摄食情况作相应调整。实验期间水温为(27 ± 3) ℃,溶解氧 ≥ 6 mg/L, pH 为 7.5 ~ 8.5。养殖实验共持续 90 d。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 生长性能

饲养实验结束后,实验鱼饥饿24 h,以网箱为单位称重计数,计算增重率、饲料系数和蛋白质效率。

$$R_{\text{WG}} = (W_f - W_i) / W_i \times 100\% \quad (1)$$

$$R_{\text{FC}} = F_i / (W_f - W_i) \quad (2)$$

$$P_{\text{ER}} = (W_f - W_i) / (F_i \times C_p) \quad (3)$$

式中: R_{WG} 为增重率; R_{FC} 为饲料系数; P_{ER} 为蛋白质效率; W_i 为初均重(g); W_f 为末均重(g); t 为实验天数(d); F_i 为摄食量; C_p 为饲料蛋白质含量。

1.3.2 表观消化率测定

养殖实验结束后,把实验鱼转入集约化养殖车间,分别饲养于15口自动充气循环水族箱中,先用含三氧化二铬饲料驯养一周,然后进行粪便收集,采用捞网法,用镊子选择新鲜、外表带有包膜的完整粪便,60℃烘干,-20℃冻存,测定粪便和饲料水分、磷、铬含量。水分采用105℃烘干法,磷采用分光光度法,铬采用原子吸收光谱法。磷的表观消化率按公式(4)计算:

$$A_{\text{DC}}(\%) = [1 - (A_1/A \times B/B_1)] \times 100 \quad (4)$$

式中: A_{DC} 为表观消化率; A 为饲料中磷含量(%); A_1 为粪便中磷含量(%); B 为饲料中指示剂的含量; B_1 为粪便中指示剂的含量。

1.3.3 全鱼成分分析及磷储积率计算

实验鱼饥饿24 h,每网箱取3条鱼,-20℃冰箱中冻存,用作全鱼常规成分分析。水分采用105℃烘干法,粗蛋白采用凯氏定氮法,粗脂肪采用索氏抽提法,灰分采用550℃灼烧法,钙采用乙二胺四乙酸二钠滴定法,磷采用分光光度法。

总磷摄入量、磷储积量和磷储积率按公式(5)~(7)计算:

$$I_{\text{TP}} = F_i \times C_{\text{TP}} \quad (5)$$

$$R_{\text{TP}} = C_{\text{FTP}} - C_{\text{ITP}} \quad (6)$$

$$R_{\text{TP}}(\%) = R_{\text{TP}} / I_{\text{TP}} \times 100 \quad (7)$$

式中: I_{TP} 为磷摄入量(g/fish); R_{TP} 为磷储积量; $R_{\text{TP}}(\%)$ 为磷储积率; F_i 为摄食量; C_{TP} 为饲料磷含量P(%); C_{FTP} 为实验结束时鱼体磷含量(g/尾); C_{ITP} 为实验开始时鱼体磷含量(g/尾)。

1.3.4 肠道消化酶活性测定

实验鱼饥饿24 h,每网箱取4条鱼,于冰盘上解剖,取出肠道前段约1/3的组织,剔除脂肪组织,用4℃冷却去离子水冲洗,滤纸吸干水分,放

入-20℃冰箱中冻存;测定时按1:9(w/v)加入4℃生理盐水,匀浆(0~4℃),用冷冻离心机3000 r/min离心15 min,取上清液测定蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶活性(南京建成科技有限公司提供的试剂盒)。

脂肪酶单位定义:在37℃条件下,每克组织蛋白在本反应体系中与底物反应1 min,每消耗1 μmol底物为一个酶活力单位(U/g)。

蛋白酶单位定义:在pH 8.0,37℃条件下,每毫克蛋白中含有的胰蛋白酶每分钟使吸光度变化0.003即为一个酶活力单位(U/mg)。

淀粉酶单位定义:组织中每毫克蛋白在37℃与底物作用30 min,水解10 mg淀粉为1个淀粉酶活力单位(U/mg)。

1.4 数据统计与分析

数据用平均值±标准差表示,采用SPSS 17.0进行单因素方差分析,差异显著者进行Duncan氏多重比较,显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 生长性能

经90 d养殖后,各组鱼体生长性能见表2。2.5%磷酸二氢钙组具有最高增重率和最低饲料系数;在2.0%磷酸二氢钙饲料中添加植酸酶,在数值上提高了鱼体增重率和蛋白质效率($P > 0.05$),降低了饲料系数($P > 0.05$),达到与2.5%磷酸二氢钙组基本一致的水平;在1.6%磷酸二氢钙饲料中添加植酸酶,提高了鱼体增重率(+21.1%)和蛋白质效率($P < 0.05$),显著降低了饲料系数($P < 0.05$)。

2.2 全鱼成分

由表3可见,各处理组在全鱼水分含量上无显著差异,但1.6%磷酸二氢钙组在数值上具有最低的水分含量;随磷酸二氢钙添加量的增加,鱼体粗蛋白、粗灰分、钙、磷含量增加,而粗脂肪含量降低;在2.0%磷酸二氢钙饲料中添加植酸酶,对鱼体粗蛋白、粗脂肪、粗灰分、钙、磷含量没有显著影响($P > 0.05$);在1.6%磷酸二氢钙饲料添加植酸酶显著提高了鱼体粗蛋白、粗灰分、磷含量($P < 0.05$),降低了鱼体脂肪含量($P < 0.05$),但对鱼体钙含量没有显著影响($P > 0.05$)。

表 2 植酸酶对生长性能的影响

Tab. 2 Effects of supplemental phytase on growth performance

组别 group	初重/g initial weight	末重/g final weight	增重率% weight gain	饲料系数 FCR	蛋白质效率 protein efficiency ratio
2.5% MCP	12.8 ± 0.1	149.5 ± 1.6 ^a	1068.8 ± 22.2 ^a	1.26 ± 0.01 ^c	2.36 ± 0.06 ^a
2.0% MCP	12.8 ± 0.2	141.6 ± 4.2 ^{bc}	1007.5 ± 32.3 ^{bc}	1.30 ± 0.03 ^c	2.27 ± 0.05 ^{ab}
1.6% MCP	12.8 ± 0.1	111.1 ± 3.8 ^d	768.5 ± 33.2 ^d	1.54 ± 0.04 ^a	2.01 ± 0.05 ^c
2.0% MCP + P	12.8 ± 0.1	147.6 ± 4.1 ^{ab}	1054.8 ± 37.1 ^{ab}	1.26 ± 0.01 ^c	2.40 ± 0.08 ^a
1.6% MCP + P	12.8 ± 0.2	132.9 ± 4.3 ^c	938.3 ± 39.4 ^c	1.37 ± 0.05 ^b	2.21 ± 0.07 ^b

注: 同列肩标不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同。

Note: Values in the column with different letters mean significant difference ($P < 0.05$), the same as following tables.

表 3 植酸酶对全鱼成分的影响

Tab. 3 Effects of supplemental phytase on whole body composition

组别 group	水分 moisture	粗蛋白* crude protein	粗脂肪* crude lipid	粗灰分* crude ash	钙* Ca	磷* P
2.5% MCP	77.6 ± 0.5	63.3 ± 1.1 ^a	11.9 ± 0.8 ^c	13.5 ± 0.3 ^a	3.8 ± 0.1 ^a	2.4 ± 0.2 ^a
2.0% MCP	78.1 ± 1.1	62.9 ± 1.4 ^a	15.4 ± 0.3 ^b	12.0 ± 0.5 ^b	3.2 ± 0.2 ^b	2.2 ± 0.1 ^{ab}
1.6% MCP	76.6 ± 0.5	57.2 ± 1.5 ^b	18.7 ± 0.3 ^a	9.4 ± 0.3 ^d	2.6 ± 0.2 ^c	1.6 ± 0.1 ^c
2.0% MCP + P	77.7 ± 1.8	61.9 ± 0.8 ^a	14.7 ± 0.5 ^{bc}	12.2 ± 0.2 ^b	3.4 ± 0.2 ^b	2.1 ± 0.2 ^{ab}
1.6% MCP + P	76.9 ± 1.0	60.9 ± 1.2 ^a	16.0 ± 0.8 ^b	10.4 ± 0.3 ^c	2.8 ± 0.1 ^c	1.9 ± 0.2 ^b

注: * 均指占干物质重的百分比。

Note: * based on dry matter.

2.3 磷储积率和磷表观消化率

由表 4 可知, 磷储积量和磷表观消化率随着磷酸二氢钙添加量的增加而增加; 2.5% 磷酸二氢钙组具有最高的磷储积量、磷储积率和磷表观消化率, 而这 3 个指标在 1.6% 磷酸二氢钙组均为最低。

在 2.0% 磷酸二氢钙饲料中补充植酸酶, 对磷储积量、磷储积率没有显著影响, 但显著提高了磷表观消化率 (+10.8%) ($P < 0.05$); 在 1.6% 磷酸二氢钙饲料中补充植酸酶, 显著提高了磷储积量 (+20.6%)、磷储积率 (+10.0%) 和磷表观消化率 (+17.6%) ($P < 0.05$)。

表 4 植酸酶对磷储积率和表观消化率的影响

Tab. 4 Effects of supplemental phytase on deposition and apparent digestibility of P

组别 group	磷摄入量/(g/尾) P intake/(g/fish)	磷储积量/(g/尾) P deposition/(g/fish)	磷储积率/% P deposition	磷表观消化率/% P apparent digestibility
2.5% MCP	2.62 ± 0.05 ^a	0.88 ± 0.03 ^a	33.5 ± 0.3 ^a	57.0 ± 0.6 ^a
2.0% MCP	2.32 ± 0.06 ^b	0.78 ± 0.03 ^b	33.6 ± 0.4 ^a	50.9 ± 0.8 ^b
1.6% MCP	1.95 ± 0.05 ^d	0.58 ± 0.04 ^d	30.0 ± 0.9 ^b	40.5 ± 1.9 ^c
2.0% MCP + P	2.37 ± 0.04 ^b	0.81 ± 0.02 ^b	34.2 ± 0.6 ^a	56.4 ± 1.4 ^a
1.6% MCP + P	2.12 ± 0.08 ^c	0.70 ± 0.03 ^c	33.0 ± 0.5 ^a	47.7 ± 1.6 ^b

2.4 肠道消化酶活性

由表 5 可知, 肠道淀粉酶、脂肪酶和蛋白酶活性均表现出随磷酸二氢钙添加量增加而降低的趋势; 在 2.0% 磷酸二氢钙饲料中添加植酸酶, 显著提高了脂肪酶活性 ($P < 0.05$), 对淀粉酶、蛋白酶活性无显著影响 ($P > 0.05$); 在 1.6% 磷酸二氢钙饲料中添加植酸酶, 对淀粉酶、脂肪酶、蛋白酶活性均无显著影响 ($P > 0.05$)。

表 5 植酸酶对肠道消化酶活性的影响

Tab. 5 Effects of supplemental phytase on digestive enzyme activity in intestine

组别 group	淀粉酶/ (U/mg) amylase	脂肪酶/ (U/g) lipase	蛋白酶/ (U/mg) protease
2.5% MCP	5.8 ± 0.9 ^c	13.5 ± 1.8 ^d	13.5 ± 1.2 ^b
2.0% MCP	10.3 ± 0.5 ^{ab}	22.5 ± 3.5 ^c	16.1 ± 0.7 ^a
1.6% MCP	12.1 ± 0.7 ^a	30.0 ± 2.8 ^b	16.2 ± 0.8 ^a
2.0% MCP + P	9.2 ± 1.8 ^b	37.7 ± 2.7 ^a	15.8 ± 1.9 ^{ab}
1.6% MCP + P	10.0 ± 1.5 ^{ab}	31.5 ± 1.8 ^b	14.5 ± 1.8 ^{ab}

3 讨论

3.1 植酸酶对建鲤生长性能的影响和对磷酸二氢钙的节约效应

目前,已有较多关于植酸酶改善鱼体生长性能的报道。对斑点叉尾鲴的研究表明^[5],在总磷含量0.79%,植酸磷为0.45%的基础饲料中添加500~2000 U/kg,可使鱼体增重率从772.27%,提高为833.68%~1027.25% ($P < 0.05$),饲料系数则从1.27降为1.17~1.08 ($P < 0.05$);在全植物蛋白(无磷酸二氢钙)的草鱼饲料中添加1000 U/kg植酸酶,显著提高了鱼体特定生长率和蛋白质效率,降低了饲料系数^[9];张璐等^[10]发现,添加200 mg/kg植酸酶可使鲈鱼增重率从859.3%提高到947.2%;杨雨虹等^[2]在饲料中添加3000 U/kg、1500 U/kg植酸酶,显著提高了鲤鱼增重率,降低了饲料系数。类似报道也见于虹鳟^[1],花鲈^[11]、红鳍东方鲀^[12]等。本实验在含磷酸二氢钙添加量为1.6%的基础饲料中添加2000 U/kg植酸酶,提高了鱼体增重率21.17% ($P < 0.05$),降低饲料系数11.04% ($P < 0.05$),与上述报道基本一致,表明添加酸性植酸酶可以提高鲤鱼生长性能。

以增重率为指标,在总磷为0.59%的鲤鱼饲料中添加1500 U/kg、3000 U/kg植酸酶,其作用效果分别相当于添加0.69%和0.8%磷酸二氢钙^[2];在斑点叉尾鲴饲料中添加300、500、1000、1500和2000 U/kg植酸酶,可分别替代饲料中0.47%、1.11%、1.18%、1.38%和1.41%的磷酸二氢钙^[5];在含20%鱼粉、32%豆粕和12%菜粕的黑鲟饲料中添加植酸酶200 mg/kg,其作用效果相当于添加1%磷酸二氢钙^[3]。本实验中,在1.6%磷酸二氢钙饲料中添加植酸酶后,建鲤增重率与2.0%磷酸二氢钙组已无显著差异,表明2000 U/kg包被酸性植酸酶相当于0.4%磷酸二氢钙的作用效果。本实验所用植酸酶为酸性植酸酶,适宜pH为5.5。我国主养鲤科鱼类多属于无胃鱼,消化道多呈中性。一般认为酸性植酸酶适合有胃鱼,在无胃鱼中应用会降低植酸酶的活性。从本实验结果来看,添加植酸酶后可以显著提高建鲤生长性能,表明酸性植酸酶具有广谱性,对无胃鱼和有胃鱼均有应用价值。此外,本实验所用饲料系在生产条件下通过大机组(温度

90℃左右)加工而成,表明了包被植酸酶应用于实际生产的可行性。

3.2 植酸酶对建鲤磷储积率和表观消化率的影响

在斑点叉尾鲴饲料中添加300~2000 U/kg的植酸酶,可使磷的表观消化率由60.95%提高到77.35%~89.17%,并且显著降低了磷排泄量和单位增重的粪磷排泄量^[13];鲤摄食添加4000 U/kg植酸酶的饲料后,磷表观消化率从12.8% (对照组,无磷酸盐添加)提高到32.8%^[14];在黑鲟的研究中也发现,饲料中添加植酸酶有利于提高磷的表观消化率^[12],类似的报道也见于花鲈^[11]、大西洋鲑^[15]、真鲷^[16]、虹鳟^[17-18]。本次研究在磷酸二氢钙添加量为2.0%、1.6%饲料中添加2000 U/kg植酸酶,总磷表观消化率分别提高10.8%、17.6% ($P < 0.05$),与上述结果基本一致。

本实验中,磷酸二氢钙添加量为2.5%、2.0%组,以及在2.0%磷酸二氢钙饲料中添加植酸酶组,其磷储积率基本一致,这表明,饲料中2.0%磷酸二氢钙已基本满足了建鲤对磷的需求,故在此基础上无论是进一步提高磷酸二氢钙添加量(2.5%),还是添加植酸酶,对磷储积率的提高不显著;但在含1.6%磷酸二氢钙饲料基础上补充植酸酶后,磷储积率显著提高,这表明了在磷缺乏的饲料中补充植酸酶的必要性和有效性。磷是造成水体富营养化的重要因素之一,因此降低养殖鱼类磷的排放量,是减少水环境污染的重要途径^[19]。本实验在饲料中添加植酸酶提高了磷表观消化率和磷储积率,降低了磷排泄量,对于降低水体污染具有重要意义。

3.3 植酸酶对建鲤鱼体成分的影响

草鱼摄食不含磷酸二氢钙的缺磷饲料后,全鱼粗脂肪含量较1.5%磷酸二氢钙组显著增加,而水分含量显著降低^[9];本实验中也发现,随磷酸二氢钙添加量降低,建鲤全鱼粗脂肪含量显著增加,而灰分含量则显著降低。这可能是因为当饲料中磷缺乏时,脂肪的氧化过程受到抑制,导致更多脂肪存积于体内^[19]。当通过补充磷酸盐或添加植酸酶,满足了鱼体对磷的需求后,鱼体脂肪水平就会表现出下降,这也是在罗非鱼^[20]、大黄鱼^[21]、草鱼^[22]饲料中补充植酸酶,以及本次实验在含磷酸二氢钙1.6%饲料中补充植酸酶后

观察到鱼体脂肪含量下降的原因。此外,在草鱼的研究中还发现,在饲料中添加 1 000 ~ 1 500 U/kg 植酸酶,显著增加了全鱼和骨骼中的灰分、钙、磷、锌含量,但对鱼体粗蛋白含量无显著影响^[22]。

3.4 植酸酶对建鲤消化酶活性的影响

理论上,植酸酶可解除植酸与内源性蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶的结合,提高营养物质消化利用率。在饲料中添加 1 000 U/kg 植酸酶,可显著提高草鱼和罗非鱼的肝胰腺、肠道蛋白酶、淀粉酶活性^[23];用植酸酶处理大豆粉饲喂罗非鱼可提高内源蛋白酶活性^[24]。饲料中添加 1 g/kg 植酸酶对奥尼罗非鱼肝胰脏和肠道蛋白酶活性、肠道脂肪酶活性无影响,但可提高肝胰脏和肠道淀粉酶活性^[25]。在大口黑鲈饲料中添加植酸酶,对肠蛋白酶、淀粉酶活性也无显著影响,但能显著提高胃、幽门盲囊的蛋白酶活性^[26]。本实验中,在含磷酸二氢钙 2.0% 饲料中添加植酸酶,提高了肠脂肪酶活性($P < 0.05$),而对蛋白酶、淀粉酶活性没有显著影响。可见,植酸酶对消化酶活性影响的报道并不一致,其原因可能是植酸与消化酶的结合与 pH 有关,不同鱼体消化道,同一鱼体消化道不同部位,或同一部位在有、无食物时其 pH 均不同;此外,还与植酸酶来源、实验鱼生长阶段、饲料组成和采样时间等有关。有关植酸酶在鱼体内的作用机制,特别是对消化酶活性的影响,还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] VANDENBERG G W, SCOTTL S L, SARKER P K, et al. Encapsulation of microbial phytase: Effects on phosphorus bioavailability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2011, 169: 230 - 243.
- [2] 杨雨虹, 郭庆, 祖立闯, 等. 植酸酶对鲤鱼生长及磷利用率的影响[J]. *淡水渔业*, 2006, 36(5): 20 - 23.
YANG Y H, GUO Q, ZHU L C, et al. Effects of dietary phytase on growth performance and phosphorus availability for juvenile carp [J]. *Freshwater Fisheries*, 2006, 36(5): 20 - 23.
- [3] 徐树德, 王树启, 游翠红, 等. 中性植酸酶替代磷酸二氢钙对黑鲷生长和磷利用的影响[J]. *中国水产科学*, 2014, 21(3): 522 - 530.
XU S D, WANG S Q, YOU C H, et al. Effects of replacing monocalcium phosphate with phytase on growth and phosphorus utilization in black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2014, 21(3): 522 - 530.
- [4] 华雪铭, 王世忠, 陈瑶琴, 等. 植酸酶对斑点叉尾鲷脊椎形态和非特异性免疫相关酶活性的影响[J]. *浙江大学学报: 农业与生命科学版*, 2014, 40(1): 90 - 102.
HUA X M, WANG S Z, CHEN Y Q, et al. Effects of phytase on vertebral shapes and non-specific immune related enzymes activities in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. *Journal of Zhejiang University: Agric. & Life Sci.*, 2014, 40(1): 90 - 102.
- [5] 刘行彪, 黄可, 付熊, 等. 植酸酶对斑点叉尾鲷生长性能及磷当量的研究[J]. *水生生物学报*, 2012, 36(1): 57 - 65.
LIU X B, HUANG K, FU X, et al. Study on growth performance and phosphorus equivalent of phytase in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2012, 36(1): 57 - 65.
- [6] 王爱民, 封功能, 殷玉岗. 植酸酶对异育银鲫生产性能及鱼体成分的影响[J]. *淡水渔业*, 2007, 37(2): 19 - 23.
WANG A M, FENG G N, YING Y G, et al. Effects of phytase on production performance and body composition of *Carassius auratus gibelio* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2007, 37(2): 19 - 23.
- [7] CAO L, WANG W M. Application of microbial phytase in fish feed [M]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2007: 497 - 507.
- [8] 尹清强, 张书锋, 冯华, 等. 植酸酶包埋后酶活和热稳定性的变化规律研究[J]. *饲料研究*, 2006(11): 4 - 6.
YIN Q Q, ZHANG S F, FENG H, et al. Changes of activity and heat stability of coated phytase [J]. *Feed Research*, 2006(11): 4 - 6.
- [9] 马恒甲, 叶金云, 郭建林, 等. 饲料中添加植酸酶对草鱼生长、体组成及各组织磷含量的影响[J]. *上海海洋大学学报*, 2011, 20(6): 845 - 852.
MA H J, YE J Y, GUO J L, et al. Effect of phytase on growth, body composition and phosphorus content in tissues of juvenile grass carp (*Ctenopharygodon idellus*) fed plant protein based diet [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2011, 20(6): 845 - 852.
- [10] 张璐, 艾庆辉, 麦康森, 等. 植酸酶和非淀粉多糖酶对鲈鱼生长和消化酶活性的影响[J]. *水生生物学报*, 2009, 33(1): 82 - 87.
ZHANG L, AI Q H, MAI K S, et al. Effect of phytase and non starch polysaccharide enzyme supplementation in diets on growth and digestive enzyme activity for Japanese seabass *Lateolabrax japonicus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2009, 33(1): 82 - 87.
- [11] 罗琳, 吴秀峰, 薛敏, 等. 中性植酸酶在豆粕型饲料中替代磷酸二氢钙对花鲈生长及磷代谢的影响[J]. *动物营养学报*, 2007, 19(1): 33 - 39.
LUO L, WU X F, XU E M, et al. Effect of replacement calcium phosphate monobasic with neutral phytase on growth and phosphorus metabolism of Japanese sea bass [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2007, 19(1): 33 - 39.
- [12] 孟祥科, 孙阳, 屈菲, 等. 植酸酶对红鳍东方鲀幼鱼生长、

- 消化酶及消化率的影响[J]. 大连海洋大学学报,2013,28(40):323-328.
- MENG X K, SHUN Y, QU F, et al. Effects of phytase on growth, digestive enzyme activity and digestibility of juvenile redfin puffer *Takifugu rubripes* [J]. Journal of Dalian Ocean University,2013,28(40):323-328.
- [13] 杨雨虹,刘行彪,黄可,等. 植酸酶对斑点叉尾鲷生长性能、营养物质表观消化率及氮、磷排泄的影响[J]. 动物营养学报,2012,23(12):2149-2156.
- YANG Y H, LIU X B, HUANG K, et al. Influence of phytase on growth performance, apparent digestibility of nutrients, excretion of nitrogen and phosphorus in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition,2012,23(12):2149-2156.
- [14] LAWRENCE C N, FRIEDER J S. Effect of supplemental phytase on growth, phosphorus digestibility and bone mineralization of common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. Aquaculture Research,2007,38:1037-1044.
- [15] BAEVERFJORD G, ASGARD T, SHEARER K D. Development and detection of phosphorus deficiency in Atlantic salmon, *Salmo salar* L, parr and post-smolts [J]. Aquaculture Nutrition,1998,4(1):1-11.
- [16] LAI NING A, ISHIKAWA M, KOSHIO S. Dietary inorganic phosphorus or neutral phytase addition improves growth, nutrient utilization and phosphorus mineralization of juvenile red sea bream, *Pagrus major*, fed soybean-based diets [J]. Aquaculture Nutrition,2012,18:502-511.
- [17] RICHE M, BROWN P B. Availability of phosphorus from feedstuffs fed to rainbow trout [J]. Aquaculture, 1996,142(1/4):269-282.
- [18] SATOH S, PORN-NGAM, TAKEUCHI T, et al. Influence of dietary phosphorus levels of growth and mineral availability in rainbow trout [J]. Fish Science,1996,62:483-487.
- [19] SKONBERG D I, YOGEV L, HARDY R W, et al. Metabolic response to dietary phosphorus intake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Aquaculture,1997,157:15-24.
- [20] 郑涛,潘庆,李桂峰,等. 无鱼粉饲料添加磷和植酸酶对奥尼罗非鱼生长性能及体成分的影响[J]. 中国水产科学,2006,13(1):112-118.
- ZHENG T, PAN Q, LI G F, et al. Effects of phosphorus and phytase supplements on growth performance and body composition in juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* fed fishmeal-free diet [J]. Journal of Fishery Sciences of China,2006,13(1):112-118.
- [21] 张璐,麦康森,艾庆辉,等. 饲料中添加植酸酶和非淀粉多糖酶对大黄鱼生长和消化酶活性的影响[J]. 中国海洋大学学报,2006,36(6):923-928.
- ZHANG L, MAI K S, AI Q H, et al. Effect of phytase and non starch polysaccharide enzyme supplementation in diets on growth and digestive enzyme activity in Large Yellow Croaker, *Pseudosciaena crocea* R [J]. Journal of Ocean University of China,2006,36(6):923-928.
- [22] LIU L W, ZHOU Y, WU J J, et al. Supplemental graded levels of neutral phytase using pretreatment and spraying methods in the diet of grass carp, *Ctenopharyngodon idellus* [J]. Aquaculture Research,2014,45:1932-1941.
- [23] 华雪铭,陈瑶琴,王世忠,等. 植酸酶对草鱼和新吉富罗非鱼消化酶活性的影响[J]. 动物学杂志,2013,48(4):562-568.
- HUA X M, CHEN Y Q, WANG S Z, et al. Effect of plant-based diets supplemented with phytase on digestive enzyme activities in grass carp and new GIFT Nile tilapia [J]. Chinese Journal of Zoology,2013,48(4):562-568.
- [24] ELSAYED A F, NMARTINEZ I, MOYANO F J. Assessment of the effect of plant inhibitors on digestive proteases on Nile tilapia using vitro assay [J]. Aquaculture,2000,189:403-415.
- [25] 黎军胜,李建林,吴婷婷. 外源酶和柠檬酸对奥尼罗非鱼内源消化酶活性的影响[J]. 南京农业大学学报,2005,28(3):97-101.
- LI J S, LI J L, WU T T. Effects of exogenous enzyme and citric acid on activities of endogenous digestive enzyme of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) [J]. Journal of Nanjing Agricultural University,2005,28(3):97-101.
- [26] 牛纪锋,吴锐全,谢骏,等. 饲料中添加植酸酶对大口黑鲈生长和消化酶活性的影响[J]. 大连水产学院学报,2010,25(2):132-136.
- NIU J F, WU R Q, XIE J, et al. Effects of phytase on growth and digestive enzyme activities in largemouth bass *Micropterus salmoides* [J]. Journal of Dalian Fisheries University,2010,25(2):132-136.

Effects of supplementation of phytase in diets with various monocalcium phosphate levels on growth, phosphorus utilization, body composition and digestive enzyme activity of Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)

QIN Weilun¹, YANG Yi^{1,2}, LENG Xiangjun^{1,3,4,5}, WU Jiang², LI Xiaoqin¹

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Sichuan Aquaculture Engineering and Technology Research Center, Tongwei Co. Ltd., Chengdu 610081, Sichuan, China; 3. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai 201306, China; 4. Aquatic Animal Breeding Center, Shanghai Ocean University (ZF1206), Shanghai University Knowledge Service Platform, Shanghai 201306, China)

Abstract: The present study was conducted to evaluate the effects of supplementation of coated acid phytase in diets with various monocalcium phosphate levels on the growth performances, phosphorus (P) utilization, body composition and digestive enzyme activity of Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) with initial body weight of (12.8 ± 0.2) g. Five diets were prepared as diets supplemented with 2.5%, 2.0%, or 1.6% $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, and diets with 2 000 U/kg phytase supplementation in 2.0% or 1.6% $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ diet. After 90 days feeding, the fish fed 2.5% $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ diet had the highest weight gain (WG), the lowest feed conversion ratio (FCR) and body lipid content, and the fish fed 1.6% $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ diet had the lowest growth and the highest body lipid content. The supplementation of phytase in 2.0% $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ diet did not significantly affect the growth, P deposition and body composition, but improved P apparent digestibility and intestinal lipase activity. The supplementation of phytase in 1.6% $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ diet significantly improved the growth, contents of body protein and ash, P deposition, and P apparent digestibility, and decreased FCR and body lipid content, but had no effects on intestinal digestive enzyme activity. Results above showed that the supplementation of phytase in 1.6% $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ diet could improve the growth and P utilization, and decrease the body lipid content of Jian carp.

Key words: phytase; Jian carp; growth; phosphorus; digestibility; body composition; digestive enzyme