

文章编号: 1674-5566(2018)05-0674-09

DOI:10.12024/jsou.20171202191

摄食不同饲料对大口黑鲈消化道指数和淀粉酶活性的影响

欧红霞^{1,2}, 王广军¹, 谢 骏¹, 余德光¹, 张 凯¹

(1. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 广东 广州 510380; 2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306)

摘 要: 为研究不同饲料对大口黑鲈(*Micropterus salmoides*) 消化道指数和淀粉酶活性的影响, 对摄食配合饲料(饲料组)和冰鲜鱼(冰鲜组)的大口黑鲈消化道指数和淀粉酶活性差异进行了比较分析。结果显示: 饲料组比肠质量、比肝胰脏质量、比内脏质量显著高于冰鲜组($P < 0.05$)。在各个消化器官中两组淀粉酶活性大小顺序均为: 肝胰脏 > 幽门盲囊 > 肠 > 胃, 而肝胰脏中淀粉酶活性均显著高于其它消化器官($P < 0.05$)。在胃、肝胰脏、幽门盲囊和肠 4 个部位中, 冰鲜组与饲料组淀粉酶的最适 pH 分别为 7.2 和 6.8, 6.4 和 6.8, 6.4 和 6.8, 6.8 和 6.8; 最适温度分别为 30 °C 和 30 °C, 35 °C 和 30 °C, 50 °C 和 55 °C, 60 °C 和 60 °C; 最适底物浓度分别为 8% 和 8%, 0.5% 和 2%, 8% 和 8%, 8% 和 8%。在相同温度和底物浓度下, 摄食人工配合饲料的大口黑鲈消化器官淀粉酶活性显著高于摄食冰鲜杂鱼($P < 0.05$)。研究结果为在人工饲料配制过程中添加相应的酶制剂、优化人工饲料配方提供参考。

关键词: 大口黑鲈; 冰鲜鱼; 人工配合饲料; 消化道指数; 淀粉酶活性

中图分类号: S 963.1 **文献标志码:** A

大口黑鲈(*Micropterus salmoides*) 是目前我国主要淡水养殖品种之一^[1], 由于其为肉食性鱼类, 对碳水化合物利用能力较弱^[2-3], 同时体内的淀粉酶活性就相对较弱, 所以大口黑鲈对配合饲料的利用效果不理想, 特别是含植物性饲料原料较高的饲料。鱼类消化酶的分泌量和活性不仅与食性、种类等因素相关, 还与长期摄食的饵料成分相适应^[4-5], 目前国内大口黑鲈主要投喂冰鲜鱼, 但近几年我国冰鲜鱼野生资源不断减少, 使养殖成本增加, 同时由于冰鲜鱼饲料转化率较低, 投喂冰鲜鱼对养殖水环境污染严重, 因此国内外学者对大口黑鲈营养需求和配合饲料研制工作做了大量研究。但目前关于大口黑鲈的营养、消化酶等方面研究, 还主要集中在室内研究, 研究个体相对较小, 对养殖成商品规格的大口黑鲈消化道中各种酶活性的研究还未见报道。为此, 本文研究投喂冰鲜鱼和配合饲料的大口黑鲈体内淀粉酶活性差异以及对消化道指数影响, 以期能为人工饲料配制过程中添加相应的

酶制剂, 弥补体内消化酶的不足提供数据支撑, 同时也为大口黑鲈的人工饲料开发提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

实验用鱼均采自佛山市南海区某养殖场, 养殖场采用同批孵化的大口黑鲈幼苗进行商品鱼养殖, 养殖时间约为 8 个月, 养殖条件除所投喂饲料不同外, 其他条件基本相同。养殖期间分别全程投喂冰鲜鱼(简称冰鲜组; 冰鲜鱼营养成分: 粗蛋白: 20.55%; 粗脂肪: 8.21%; 水分: 68.19%, 粗灰分: 3.05%) 和大口黑鲈某品牌配合饲料(简称饲料组; 配合饲料营养成分: 粗蛋白: 49.10%; 粗脂肪: 9.25%; 水分: 6.55%, 粗灰分: 7.41%)。实验所用的鱼均发育成熟, 达到商品上市规格。实验时冰鲜组与饲料组各取 5 尾, 冰鲜组平均体质量(361.04 ± 24.75) g, 平均体长为(25.28 ± 0.33) cm; 饲料组平均体质量(366.50 ± 13.41) g, 平均体长(25.74 ± 0.11) cm。实验鱼取回实验室

收稿日期: 2017-12-20 修回日期: 2018-05-25

基金项目: 中国水产科学研究院基本科研业务费专项(2016HY-JC02-04); 国家科技支撑计划(201BAD25B04)

作者简介: 欧红霞(1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向为水产动物健康养殖。E-mail: ouhongxia11@163.com

通信作者: 王广军, E-mail: wj5810@163.com

后饥饿 24 h 后对试验鱼进行测量、解剖并取样。

1.2 实验方法

1.2.1 样品的准备

用干净的纱布吸干鱼体表面水分,测量鱼体质量和体长,然后将实验鱼麻醉后于冰盘毁髓迅速处死,解剖取出内脏后,分离出胃、肝胰脏、幽门盲囊、肠并剔除消化道内容物后称重和测量肠长。用预冷的去离子水冲洗干净后剪碎组织,加入 9 倍样品重量的预冷去离子水,然后在高速组织匀浆机低温匀浆,再将制好的匀浆液在高速冷冻离心机中以 10 000 r/min、4 ℃ 离心 30 min,取上清液于 4 ℃ 冰箱储存,24 h 内分析完毕。

1.2.2 大口黑鲈消化道指数测定

参考尾崎久雄的方法^[6]进行消化道指数的测定:比肝胰脏质量(肝胰脏质量与体质量之比),比胃质量(胃质量与体质量之比),比幽门质量(幽门质量与体质量之比),比肠质量(肠质量与体质量之比),比内脏质量(内脏质量与体质量之比),比肠长(肠长与体长之比)。

1.2.3 淀粉酶活性测定

采取 3,5-二硝基水杨酸(3,5-Dinitrosalicylic acid,简称 DNS)还原糖法测定,参照黎军胜的方法^[7],将 0.5 mL 一定 pH、浓度的可溶性淀粉溶液(pH 为 7.5)与 1 mL 匀浆粗酶液(对照组先沸水失活)混合,后放入恒温(40 ℃)水浴中酶解反应 15 min,然后立即加入 2 mol/L 的 NaOH 溶液 1 mL 终止反应,再加入 1 mL DNS 显色剂,煮沸 5 min 后在冰浴中快速冷却,再加入 9 mL 蒸馏水,稀释混匀至 12.5 mL,然后用紫外分光光度计在 520 nm 下测定 OD 值。淀粉酶活性定义:以 1 g 鲜活组织中所含的淀粉酶每 15 min 水解淀粉酶产生 1 mg 麦芽糖为一个酶活性单位,用 U/g 表示^[8]。

1.3 酶活性适宜条件的研究

1.3.1 温度设定

参照王海英^[9]的方法,实验淀粉酶活性测定的温度范围设置为 25 ~ 70 ℃,共设 9 个梯度,梯幅为 5 ℃,底物可溶性淀粉溶液浓度为 2%,由 pH 7.5 的磷酸缓冲液配置。

1.3.2 pH 设定

参照王海英^[9]的方法,使用不同缓冲体系配置底物可溶性淀粉,梯幅为 0.4。胃淀粉酶活性测定 pH 范围为 5.2 ~ 8.0,共 8 个梯度(其中 pH

5.2 ~ 5.6 采用磷酸二氢钠 ~ 柠檬酸缓冲液,pH 6.0 ~ 8.0 采用磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液);肝淀粉酶活性测定范围为 6.0 ~ 8.0,共 6 个梯度,使用磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液;幽门盲囊淀粉酶活性范围为 5.6 ~ 8.8,共 9 个梯度(pH 5.2 ~ 5.6 采用磷酸二氢钠 ~ 柠檬酸缓冲液,pH 6.0 ~ 8.0 采用磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液,pH 8.4 ~ 8.8 采用甘氨酸-盐酸缓冲液);肠淀粉酶活性测定 pH 范围为 6.0 ~ 8.8,共 9 个梯度(pH 6.0 ~ 8.0 采用磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液,pH 8.4 ~ 8.8 采用甘氨酸-盐酸缓冲液)。酶解反应温度为 40 ℃,底物可溶性淀粉浓度为 2%。

1.3.3 底物浓度设定

参照关胜军^[8]的方法,将实验底物可溶性淀粉溶液设定 7 个浓度组,分别为 0.5%、0.8%、1%、2%、4%、8% 和 10% (酶解反应温度为 40 ℃,底物可溶性淀粉酶溶液由 pH 7.5 的磷酸缓冲液配置)。

1.4 数据分析

用 SPSS 18.0 软件处理数据,结果用平均值 ± 标准差(Mean ± SD)表示,用 t 检验判断两组饲料有无统计学意义上的差异, $P < 0.05$ 为差异显著, $P > 0.05$ 为差异不显著。

2 结果

2.1 不同饲料对大口黑鲈消化道指数的影响

不同饲料对大口黑鲈消化道指数的影响结果见表 1。由表 1 可知,饲料组比肠质量、比肝胰脏质量和比内脏显著高于冰鲜组($P < 0.05$),而比肠长、比幽门盲囊质量和比胃质量在两组之间没有显著性差异($P > 0.05$)。

表 1 不同处理组的消化道指数

Tab. 1 Digestive tube index in different treatments %

参数 Parameter	冰鲜组 Chilled group	饲料组 Feed group
比肠长 Ratio of intestine to BL	0.89 ± 0.058	0.83 ± 0.09
比肠质量 Ratio of intestine to BW	0.43 ± 0.08	0.54 ± 0.05 *
比肝胰脏质量 Ratio of hepatopancreas to BW	0.76 ± 0.15	1.42 ± 0.30 *
比幽门盲囊质量 Ratio of pyloric caecum to BW	0.40 ± 0.07	0.48 ± 0.13
比胃质量 Ratio of stomach to BW	1.38 ± 0.13	1.48 ± 0.13
比内脏质量 Ratio viscera to BW	2.94 ± 0.32	4.00 ± 0.51 *

注:BW 代表 Body weight;BL 代表 Body Length;* 表示同一行数据差异显著($P < 0.05$)

Notes: BW represents Body weight; BL represents Body Length; * indicates significant differences in the same line of data($P < 0.05$)

2.2 不同饲料对大口黑鲈淀粉酶活性分布的影响

如图1所示,冰鲜组与饲料组淀粉酶活性分布一致,均为肝胰脏>幽门盲囊>肠>胃。饲料组各消化器官淀粉酶活性分布差异显著($P < 0.05$),冰鲜组胃与肝胰脏、幽门盲囊的消化酶活性差异显著($P < 0.05$),但与肠消化酶活性则差异不显著($P > 0.05$)。

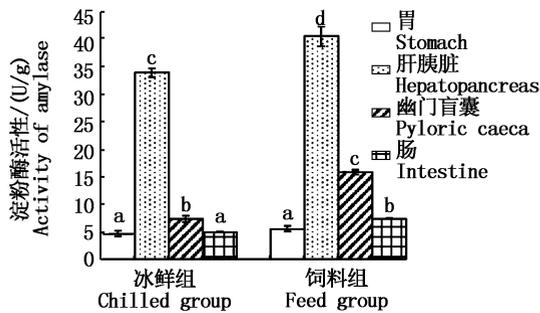


图1 不同饲料投喂的大口黑鲈淀粉酶活性分布

Fig.1 The distribution of amylase activity of largemouth bass fed with two kinds of feed

同组内同小写字母表示差异不显著($P > 0.05$),不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)

Values with same small letter superscripts means no significant difference($P > 0.05$), with different small letter superscripts means significant difference($P < 0.05$)

2.3 外界因子对消化酶的影响

2.3.1 温度对两种饲料饲喂的大口黑鲈淀粉酶活性影响

由表2可知,饲料组胃淀粉酶活性在25~55℃范围内明显高于冰鲜组($P < 0.05$),其它阶段差异不显著($P > 0.05$);冰鲜组和饲料组胃淀粉酶变化趋势较一致,均从25℃开始增大至30℃时达到最大活性,而后随着温度升高开始缓慢减小,此外冰鲜组胃淀粉酶活性在45℃后有阶段性增大趋势。饲料组的肝胰脏淀粉酶活性在各温度下始终显著高于冰鲜组($P < 0.05$);冰鲜组和饲料组肝胰脏淀粉酶活性分别在35、30℃达到最大,之后均随着温度升高逐渐减小,冰鲜组肝胰脏酶活性在45℃后有阶段性增大,且均在70℃时活性最小。冰鲜组和饲料组的幽门盲囊淀粉酶活性在各个温度下均有显著差异($P < 0.05$),各个温度下均为饲料组大于冰鲜组。幽门盲囊淀粉酶活性的变化在冰鲜组和饲料组较为一致,均呈现先增大后减小的趋势,且分别在

50、55℃达到最大。饲料组肠淀粉酶活性在25~60℃就明显高于冰鲜组;且活性变化趋势较为接近,均从25℃开始呈逐渐增大趋势,在60℃达到最大活性后迅速减小($P < 0.05$)。

2.3.2 pH对两种饲料饲喂的大口黑鲈淀粉酶活性影响

由表3所示,两个组的胃淀粉酶活性均先增大然后逐渐减小,两个组活性变化趋势比较一致,冰鲜组活性较高于饲料组活性,但在各个pH条件下无显著差异($P > 0.05$)。冰鲜组在pH为7.2达最大值,然后缓慢减小。饲料组在pH 6.0~6.4缓慢增加,在pH为6.8活性最大,后逐渐减小。冰鲜组和饲料组肝胰脏淀粉酶活性在各个pH下均无显著差异($P > 0.05$),最适pH分别为pH 6.4、pH 6.8;饲料组在最大值后逐渐减小,之后趋于平稳,冰鲜组在最大值后先减小后增大,之后趋于平稳。幽门盲囊淀粉酶的活性变化在冰鲜组和饲料组较为一致,最适pH分别为pH 6.4、pH 6.8;两组在pH 7.2之前均先增大后减小,在pH 7.2后,冰鲜组中间有阶段性增加,最后逐渐减小,饲料组则一直减小。两组大口黑鲈的肠淀粉酶最适pH相同均为pH 6.8,均开始从pH 5.2不断增大,达到最适值后逐渐减小。

2.3.3 底物浓度对两种饲料饲喂的大口黑鲈淀粉酶活性影响

表4所示,两组的胃淀粉酶活性变化无显著差异($P > 0.05$),均随着底物浓度的升高逐渐增大,且在底物浓度8%时达到最大活性,之后随着底物浓度增大,胃淀粉酶活性逐渐减小。两组的肝胰脏淀粉酶活性有一定的差异,饲料组活性开始随着浓度的增加而增大,在浓度为2%时淀粉酶活性达到最大,且浓度为2%时差异显著($P < 0.05$),之后呈缓慢下降趋势;冰鲜组酶活性最大值出现在底物浓度为0.5%,之后随着反应底物浓度增大而逐渐减小。饲料组幽门盲囊淀粉酶活性在不同底物浓度下始终显著高于冰鲜组($P < 0.05$),且两组活性变化趋势较一致。两组均在底物浓度为8%达到最大活性,并存在显著差异($P < 0.05$),随后活性减小。两组肠淀粉酶活性在各底物浓度下变化较为一致,冰鲜组和饲料组大口黑鲈有相同的最适底物浓度(浓度为8%),与幽门盲囊淀粉酶活性一样,饲料组酶活性始终高于冰鲜组($P < 0.05$)。

表 2 温度对两种饲料饲喂的大口黑鲈淀粉酶活性影响

Tab.2 Effect of temperature on amylase activity of largemouth bass fed with two kinds of feed

U/g

项目 Item	胃 Stomach	肠 Intestine	肝胰脏 Hepatopancreas	幽门盲囊 Pyloric caeca
冰鲜组 Chilled group				
25℃	3.42 ± 0.23 ^{ab}	3.78 ± 0.61 ^e	25.08 ± 0.73 ^a	4.82 ± 0.11 ^c
30℃	3.78 ± 0.47 ^a	4.24 ± 0.01 ^{de}	26.70 ± 2.48 ^a	5.43 ± 0.71 ^c
35℃	3.70 ± 0.76 ^{ab}	4.37 ± 0.14 ^{de}	26.82 ± 3.28 ^a	6.43 ± 0.78 ^b
40℃	3.55 ± 0.44 ^{ab}	4.81 ± 0.43 ^{cd}	25.73 ± 1.26 ^a	7.15 ± 0.93 ^b
45℃	3.32 ± 0.43 ^{ab}	5.30 ± 0.40 ^{abc}	24.59 ± 2.25 ^a	8.47 ± 0.57 ^a
50℃	3.51 ± 0.52 ^{ab}	5.53 ± 0.50 ^{ab}	26.07 ± 2.61 ^a	9.29 ± 0.69 ^a
55℃	3.37 ± 0.49 ^{ab}	5.68 ± 0.19 ^a	24.90 ± 3.19 ^a	9.27 ± 0.37 ^a
60℃	3.61 ± 0.56 ^{ab}	5.75 ± 0.30 ^a	25.67 ± 2.46 ^a	9.50 ± 0.45 ^a
65℃	3.22 ± 0.55 ^{ab}	4.92 ± 0.47 ^{bcd}	25.64 ± 2.41 ^a	7.09 ± 0.14 ^b
70℃	2.75 ± 0.32 ^b	3.11 ± 0.28 ^f	22.17 ± 3.90 ^a	3.79 ± 0.19 ^d
饲料组 Feed group				
25℃	4.93 ± 0.2 ^{bc*}	5.08 ± 0.43 ^{de}	36.67 ± 0.84 ^{a**}	10.08 ± 0.92 ^{d*}
30℃	5.35 ± 0.1 ^{a*}	5.49 ± 0.19 ^{cd*}	38.28 ± 0.97 ^{a**}	12.51 ± 0.60 ^{cd*}
35℃	5.14 ± 0.1 ^{ab*}	5.88 ± 0.77 ^{bcd*}	37.85 ± 0.74 ^{a*}	13.12 ± 0.18 ^{bc*}
40℃	4.65 ± 0.1 ^{cd*}	6.18 ± 0.15 ^{bc}	37.37 ± 0.86 ^{a**}	13.63 ± 0.30 ^{abc*}
45℃	4.59 ± 0.2 ^{cde*}	6.71 ± 0.24 ^b	37.31 ± 1.28 ^{a**}	14.48 ± 1.16 ^{abc*}
50℃	4.46 ± 0.1 ^{de*}	8.00 ± 1.21 ^{a*}	36.70 ± 0.76 ^{abc*}	15.75 ± 1.77 ^{ab*}
55℃	4.24 ± 0.1 ^{e*}	7.80 ± 0.34 ^{a*}	35.99 ± 0.54 ^{bc*}	16.36 ± 1.88 ^{a*}
60℃	4.25 ± 0.19 ^e	8.15 ± 0.52 ^{a*}	35.92 ± 0.60 ^{bc*}	16.05 ± 1.71 ^{a*}
65℃	3.42 ± 0.03 ^f	4.56 ± 0.53 ^e	35.44 ± 0.78 ^{c*}	11.78 ± 3.18 ^{cd*}
70℃	3.41 ± 0.65 ^f	3.71 ± 0.24 ^f	34.97 ± 1.34 ^{c*}	6.95 ± 0.23 ^{e*}

注: * 表示同一消化器官在相同温度条件下两组间具有显著性差异($P < 0.05$)。同组内同列数据肩标有相同小写字母表示差异不显著($P > 0.05$),有不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同

Notes: * represents the same digestive organs in the same temperature donate significant differences between treatments($P < 0.05$). Values with the same small letter superscripts and the same precedence mean no significant difference($P > 0.05$), with different small letter superscripts mean significant difference($P < 0.05$). The same below

表 3 pH 对两种饲料饲喂的大口黑鲈淀粉酶活性影响

Tab.3 Effect of pH on amylase activity of largemouth bass fed with two kinds of feed

U/g

项目 Item	胃 Stomach	肠 Intestine	肝胰脏 Hepatopancreas	幽门盲囊 Pyloric caeca
冰鲜组 Chilled group				
pH5.2	3.26 ± 0.23 ^d			
pH5.6	3.50 ± 0.59 ^d			6.12 ± 0.40 ^d
pH6.0	4.14 ± 0.26 ^c	3.91 ± 0.63 ^{ef}	35.50 ± 0.20 ^c	7.49 ± 0.21 ^c
pH6.4	5.40 ± 0.50 ^{ab}	4.61 ± 0.06 ^d	35.29 ± 0.13 ^c	9.67 ± 0.52 ^a
pH6.8	5.64 ± 0.13 ^a	6.29 ± 0.17 ^a	30.95 ± 1.09 ^a	9.53 ± 0.31 ^a
pH7.2	5.70 ± 0.74 ^a	5.75 ± 0.13 ^{ab}	34.77 ± 0.56 ^{bc}	9.32 ± 0.10 ^a
pH7.6	5.43 ± 0.40 ^{ab}	5.32 ± 0.13 ^{bc}	34.74 ± 0.60 ^{bc}	8.59 ± 0.02 ^b
pH8.0	5.08 ± 0.23 ^b	4.81 ± 0.11 ^{cd}	33.66 ± 0.87 ^b	8.06 ± 0.35 ^{bc}
pH8.4		4.31 ± 0.11 ^{de}		6.39 ± 0.48 ^d
pH8.8		3.36 ± 0.54 ^f		4.88 ± 0.19 ^e
饲料组 Feed group				
pH5.2	2.86 ± 0.13 ^e			
pH5.6	3.12 ± 0 ^{de}			12.32 ± 0.79 ^{ab}
pH6.0	4.01 ± 0.04 ^{cd}	4.89 ± 0.52 ^b	36.87 ± 0.43 ^{ab}	14.65 ± 0.33 ^a
pH6.4	4.08 ± 1.32 ^{bcd}	6.26 ± 0.45 ^a	37.84 ± 0.48 ^{ab}	15.34 ± 2.67 ^a
pH6.8	5.55 ± 0.93 ^a	6.66 ± 0.67 ^a	40.58 ± 0.45 ^a	14.58 ± 1.51 ^a
pH7.2	5.33 ± 0.03 ^a	6.63 ± 0.02 ^a	38.21 ± 0.94 ^{ab}	14.85 ± 1.26 ^a
pH7.6	4.95 ± 0.07 ^{abc}	5.82 ± 0.33 ^{ba}	34.05 ± 6.35 ^b	13.78 ± 0.25 ^{a*}
pH8.0	5.01 ± 0.05 ^{ab}	5.79 ± 0.31 ^{ba}	35.06 ± 4.71 ^{ab}	15.17 ± 1.85 ^{a*}
pH8.4		5.03 ± 0.84 ^c		10.43 ± 1.79 ^b
pH8.8		3.82 ± 0.50 ^c		9.33 ± 0.90 ^b

注:胃淀粉酶活性测定的 pH 范围为 5.2~8.0,共 8 个梯度;肝胰脏淀粉酶活性为 6.0~8.0,共 6 个梯度;幽门盲囊淀粉酶活性为 5.6~8.8,共 9 个梯度;肠淀粉酶活性为 6.0~8.8,共 9 个梯度

Notes: The range of pH for amylase activity in stomach is 5.2-8.0, 8 gradients. The range of pH for amylase activity in hepatopancreas is 6.0-8.0, 6 gradients. The range of pH for amylase activity in pyloric caeca is 5.6-8.8, 9 gradients. The range of pH for amylase activity in intestine is 6.0-8.8, 9 gradients

表 4 底物浓度对两种饲料饲喂的大口黑鲈淀粉酶活性影响

Tab.4 Effect of concentration of substrate on amylase activity of largemouth bass fed with two kinds of feed U/g

项目 Item	胃 Stomach	肠 Intestine	肝胰脏 Hepatopancreas	幽门盲囊 Pyloric caeca
冰鲜组 Chilled group				
底物浓度 Concentration of substrate				
0.5%	4.09 ± 0.02 ^b	3.87 ± 0.19 ^f	34.19 ± 0.74 ^a	4.96 ± 0.50 ^c
0.8%	4.64 ± 0.80 ^b	3.92 ± 0.04 ^{ef}	34.07 ± 0.67 ^a	6.16 ± 0.63 ^d
1.0%	4.64 ± 0.12 ^b	4.16 ± 0.05 ^e	33.12 ± 0.70 ^a	6.64 ± 0.10 ^{cd}
2.0%	4.66 ± 0.50 ^b	4.97 ± 0.08 ^d	33.21 ± 0.17 ^a	7.38 ± 0.60 ^c
4.0%	5.55 ± 0.63 ^b	6.00 ± 0.06 ^c	33.38 ± 0.27 ^a	8.85 ± 0.38 ^b
8.0%	10.06 ± 2.99 ^a	8.07 ± 0.12 ^a	33.70 ± 0.62 ^a	10.29 ± 1.07 ^a
10.0%	6.37 ± 0.83 ^a	6.75 ± 0.29 ^b	28.99 ± 0.67 ^b	6.52 ± 0.34 ^{cd}
饲料组 Feed group				
底物浓度 Concentration of substrate				
0.5%	4.55 ± 0.19 ^c	5.47 ± 0.04 ^{e*}	34.81 ± 2.61 ^b	12.88 ± 0.62 ^{d*}
0.8%	4.69 ± 0.35 ^c	6.00 ± 0.33 ^{e*}	38.28 ± 0.41 ^{a*}	13.98 ± 0.98 ^{cd*}
1.0%	4.74 ± 0.36 ^c	6.34 ± 0.10 ^{e*}	38.22 ± 1.59 ^a	14.44 ± 0.86 ^{e*}
2.0%	5.56 ± 0.48 ^c	7.42 ± 0.07 ^{d*}	40.52 ± 1.82 ^{a*}	15.90 ± 0.42 ^{b*}
4.0%	6.66 ± 0.70 ^b	8.75 ± 0.41 ^{c*}	40.12 ± 2.28 ^a	16.81 ± 0.67 ^{a*}
8.0%	7.85 ± 0.82 ^a	10.72 ± 0.24 ^{a*}	39.49 ± 1.78 ^a	18.96 ± 1.13 ^{a*}
10.0%	7.48 ± 0.80 ^{ab}	9.83 ± 0.77 ^{b*}	37.69 ± 0.22 ^{ab*}	17.14 ± 0.47 ^{a*}

3 讨论

3.1 投喂两种不同饲料后大口黑鲈消化道指数比较

本次研究结果表明,饲料组比肠质量、比肝胰脏质量、比内脏质量均显著高于冰鲜组,说明不同饲料对大口黑鲈消化器官会造成了一定的影响。大量研究发现肝体指数与日粮中碳水化合物的水平密切相关^[10-13]。目前对大口黑鲈研究表明:不仅饲料中的碳水化合物水平会对大口黑鲈肝脏组织结构、肝体指数产生显著影响,其来源也会对肝体指数产生显著影响。本研究中两种饲料具有不同的碳水化合物来源和水平,因此两组比肝胰脏质量差异显著。肠是营养物质消化的主要场所,实验结果显示两组比肠质量、比内脏质量差异显著,一方面可能与日粮中纤维含量有关,有研究表明越高纤维含量的饲料会使动物的采食量代偿性增强,使动物消化道体积增加,并且高纤维含量的饲料不但使肠厚度增加,还对肠表面积、肠绒毛等产生影响^[14]。本研究的大口黑鲈配合饲料中粗纤维含量高于冰鲜鱼,推测可能是大口黑鲈为了适应高纤维饲料,消化器官发生了相应的改变。

3.2 投喂两种不同饲料后大口黑鲈淀粉酶活性分布比较

鱼的消化组织和种类对淀粉酶活性影响明显^[15]。实验结果显示,冰鲜组和饲料组淀粉酶在各器官活性分布一致,肝胰脏淀粉酶活性最高,胃淀粉酶活性则最低,说明不同饲料对大口黑鲈淀粉酶活性分布影响较小。肝胰脏淀粉酶活性最高,说明淀粉酶的分布主要集中在肝胰脏,肝胰脏是大口黑鲈淀粉酶的主要分泌器官。张弢等^[16]认为淀粉酶会因鱼的种类不同而存在数量上差异,但淀粉酶分泌的主要器官为肝胰脏和肠,与本实验结果相一致。不同鱼类淀粉酶的分布规律有一定差异,而一般硬骨鱼类胃淀粉酶活性较低^[15,17]。王海英等^[9]研究了大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)淀粉酶活性分布,结果显示幽门盲囊 > 肠 > 胃,李军等^[7]研究美国红鱼(*Sciaenops ocellatus*)各个消化器官淀粉酶活性分布,表明淀粉酶活性大小为肝胰脏 > 前肠 > 幽门盲囊 > 后肠 > 胃。本实验中胃淀粉酶活性最低,与上述结果一致。一般硬骨鱼类淀粉酶的最适 pH 范围在 7.0 ~ 8.0,鱼胃内淀粉酶最适 pH 为 5.0 ~ 7.0,为弱酸性或中性,而鱼胃内 pH 则呈强酸性,一定程度抑制了淀粉酶的活性,因而胃淀粉酶活性一般较低。

3.3 温度对两种饲料饲喂的大口黑鲈淀粉酶活性影响

消化酶对温度的波动很敏感^[18],有研究表明鱼类主要消化酶在一定范围内,催化反应速度随着温度升高而增快,催化反应速度最大时的温度为消化酶的最适温度,当反应温度过高时,消化酶开始变性,且活性下降^[19],实验结果表明冰鲜组和饲料组淀粉酶活性变化均符合这个规律。目前对鱼类消化酶研究表明,消化酶反应适宜温度为 25~60℃。本实验结果表明冰鲜组和饲料组胃淀粉酶最适温度均为 30℃,肝胰脏最适温度分别为 35、30℃,幽门盲囊和肠的最适温度均为 50~60℃,符合一般鱼类消化酶适宜温度。大多数鱼类消化酶尤其是淀粉酶是依赖食物组成而发生变化的。本实验结果表明冰鲜组和饲料组淀粉酶的最适温度较一致,但酶活性差异较大,说明大口黑鲈摄食不同饲料对各消化器官淀粉酶的最适温度影响不大,但对淀粉酶活性影响较大,可能是人工配合饲料和冰鲜鱼中淀粉的含量不同导致的,同时也从另一个方面说明,人工配合饲料养殖效果目前虽已趋近于冰鲜鱼,但还需要改进。

3.4 pH 对两种饲料饲喂的大口黑鲈淀粉酶活性影响

pH 是影响消化酶活性的重要理化因子^[20],同时消化酶活性对 pH 的变化十分敏感^[18],有研究表明,一方面 pH 能改变酶活性中心及其与之相关的基因团的解离状态,影响酶与底物的结合导致酶活性的改变;另一方面,当 pH 超出一定范围时会导致酶构象改变而失活^[21]。本研究结果显示冰鲜组和饲料组胃最适 pH 分别为 7.2、6.8,肝胰脏最适 pH 分别为 6.4、6.8,幽门盲囊最适 pH 分别为 6.4、6.8,肠最适 pH 均为 6.8。说明摄食两种饲料后各消化器官淀粉酶最适 pH 相接近。而组内各不同消化器官之间最适 pH 均有差异,推测可能是淀粉酶在消化道分布的位置不同,导致淀粉酶结构或者酶活性中心可能存在差异,从而淀粉酶表现出适宜的 pH 范围不相同。而在相同 pH 下,冰鲜组和饲料组淀粉酶活性无显著性差异($P > 0.05$)。因此 pH 对两种饲料饲喂的大口黑鲈无显著影响。

3.5 底物浓度对两种饲料饲喂的大口黑鲈淀粉酶活性影响

酶量一定而底物浓度变化时,反应速度和底物浓度一般是成正比,底物浓度增至某一浓度以上时,反应速度趋向恒定,而超过以上浓度,反应速度反而会降低^[6],冰鲜组和饲料组各消化器官淀粉酶活性与底物浓度的关系基本符合上述酶学规律。在一定的条件下,最适底物浓度能反应淀粉酶的性质,但会随着反应条件的变化而改变^[23]。本研究表明冰鲜组胃、肝胰脏、幽门盲囊、肠淀粉酶活性最大时底物浓度分别为 8%、0.5%、8%、8%,饲料组分别为 8%、2%、8%、8%。两组肝胰脏最适浓度与尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[23]、奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)^[7]、丁鱥(*Tinca tinca Lionaeus*)^[24]等接近,肝胰脏底物最适浓度波动范围较小,且适宜淀粉酶浓度比较低^[25-28]。而胃、肠则与其结果有较大差别。两组除了肝胰脏最适底物浓度有差别,其它器官最适底物浓度一致,同时结果表明不同底物浓度下饲料组肝胰脏淀粉酶活性显著高于冰鲜组,因此可以认为不同底物浓度下两种饲料对肝胰脏影响较大,对其它消化器官影响相对较小。结果表明投喂人工饲料的大口黑鲈肝胰脏对淀粉的消化性能强于饲冰鲜杂鱼,可能是由于消化酶的活性,特别是淀粉酶活性在很大程度上依赖于食物的类型成分^[29],并且认为消化酶分泌量受饲料成分含量变化诱导^[30],且通常认为饵料中碳水化合物含量越高,鱼的消化器官的淀粉酶活性就越大,从而提高对饵料的消化吸收^[31-32]。本试验结果表明两组淀粉酶随着淀粉水平的增大而增大,过量将受到抑制,这与团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)^[33]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[34]、黄鳝(*Monopterus albus*)^[31]研究结果相一致。另一方面本实验中人工饲料中淀粉含量高于冰鲜鱼,各个底物浓度下饲料组肝胰脏淀粉酶活性高于冰鲜组,究其原因可能是投喂人工饲料的大口黑鲈肝胰脏对淀粉的消化性能强于饲冰鲜组。

参考文献:

- [1] 李胜杰,刘海涌,白俊杰,等. 大口黑鲈“优鲈 1 号”池塘高产高效养殖模式[J]. 水产养殖, 2015(5):1-3.
LI S J, LIU H Y, BAI J J, et al. Model of high yield and

- high efficiency culture in ponds on Largemouth Bass, *Micropterus salmoides*, 'Youlu No. 1' [J]. Journal of Aquaculture, 2015(5):1-3.
- [2] BUDDINGTON R K, CHEN J W, DIAMOND J. Genetic and phenotypic adaptation of intestinal nutrient transport to diet in fish[J]. Journal of Physiology, 1987, 393(1):261-281.
- [3] 倪寿文, 桂远明, 刘焕亮. 草鱼、鲤、鲢、鳙和尼罗非鲫淀粉酶的比较研究[J]. 大连水产大学学报, 1992, 7(1):24-31.
- NI S W, GUI M Y, LIU H L. A comparative research on amylase activities among grass carp, common carp, silver carp, bighead carp, tilapia nilotica [J]. Journal of Dalian Fisheries University, 1992, 7(1):24-31.
- [4] 李军. 美国红鱼消化酶活性及饲料原料体外消化率相关性研究[D]. 杭州:浙江大学, 2006.
- LI J. Study on digestive enzyme activities of *Sciaenopsocellatus* and digestibility coefficients on feedstuff in vitro [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2006.
- [5] BORLONGAN I G. Studies on the digestive lipases of milkfish, *Chanoschanos* [J]. Aquaculture, 1990, 89(3):315-325.
- [6] 尾崎久雄. 鱼类消化生理(上、下册)[M]. 上海科学技术出版社, 上海, 1983:22-38.
- KUXIONG OZAKI. Fish digestive physiology (upper and lower). Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1983:22-38.
- [7] 黎军胜, 李建林, 吴婷婷. 奥尼罗非鱼淀粉酶、脂肪酶的分布与特性[J]. 中国水产科学, 2004, 11(5):473-477.
- LI J S, LI J L, WU T T. Distribution and properties of amylase and lipase in alimentary tract of tilapia *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2004, 11(5):473-477.
- [8] 关胜军, 吴锐全, 谢骏, 等. 摄食对大口黑鲈消化器官蛋白酶和淀粉酶活力的影响[J]. 海洋渔业, 2006, 28(3):190-194.
- GUAN S J, WU R Q, XIE J, et al. Effect of feeding on the activity of protease and amylase in the digestive organs of largemouth bass [J]. Marine Fisheries, 2006, 28(3):190-194.
- [9] 王海英. 大菱鲆主要消化酶—蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶的研究[D]. 青岛:中国海洋大学, 2004.
- WANG H Y. Digestive enzyme in turbot [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2004.
- [10] 任鸣春. 军曹鱼和虹鳟糖类营养生理研究[D]. 青岛:中国海洋大学, 2012.
- REN M C. Studies on nutritional physiology of carbohydrate for cobia and rainbow trout [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012.
- [11] RAWLES S, LOCHMANN R. Effects of Amylopectin/Amylose Starch Ratio on Growth, Body Composition and Glycemic Response of Sunshine Bass *Moronechrysops* × *M. saxatilis* [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2010, 34(3):278-288.
- [12] HUTCHINS C G, RAWLES S D, DMIII G. Effects of dietary carbohydrate kind and level on growth, body composition and glycemic response of juvenile sunshine bass (*Moronechrysops* female × *M. saxatilis* male). [J]. Aquaculture, 1998, 161(1/4):187-199.
- [13] VENO B, ALEXIS M N, FOUNTOLAKI E, et al. Effect of extrusion of wheat and corn on gilthead sea bream (*Sparusaurata*) growth, nutrient utilization efficiency, rates of gastric evacuation and digestive enzyme activities [J]. Aquaculture, 2003, 225(1/4):207-223.
- [14] 杨玉芬, 卢德勋, 许梓荣, 等. 日粮纤维对肥育猪消化道发育和消化酶活性的影响[J]. 福建农业学报, 2003, 18(1):34-37.
- YAN Y F, LU D X, XU Z R, et al. Effects of dietary fiber on development of digestive tract and activity enzyme in finishing pigs [J]. Fujian Journal of Agricultural Science, 2003, 18(1):34-37.
- [15] 杨金海, 章龙珍, 庄平, 等. 人工养殖长鳍篮子鱼消化道指数及3种消化酶活性分布[J]. 海洋科学, 2009, 33(7):43-50.
- YAN J H, ZHANG L Z, ZHUANG P, et al. The digestive tube index and the activity distribution of three kinds of digestive enzymes in the digestive organs of cultured *Siganuscanaliculatus* [J]. Marine Sciences, 2009, 33(7):43-50.
- [16] 张弢, 蔡生性, 晨曦. 温度和 pH 对公子小丑鱼幼鱼消化酶活性的影响[J]. 广东农业科学, 2014, 41(3):131-135.
- ZHANG T, CAI S X, CHEN X. Effects of temperature and pH on activity of digestive enzymes in *Amphiprionocellaris juvenile* [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2014, 41(3):131-135.
- [17] 曹崇海. 乌鳢饲喂冰鲜鱼和配合饲料消化道组织及消化酶差异的研究[D]. 杭州:浙江大学, 2011.
- CAO C H. Research on the differences in gastrointestinal tissue and digestive enzymes between ice fish feeding and formula feeding in snakehead [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011.
- [18] GOLOVANOV I L, GOLOVANOV V K, SMIRNOV A K, et al. Effect of ambient temperature increase on intestinal mucosa amylolytic activity in freshwater fish [J]. Fish PhysiolBiochem, 2013, 39(6):1497-1504.
- [19] 桂远明, 吴垠, 刘焕亮, 等. 温度对草鱼、鲤、鲢、鳙主要消化酶活性的影响[J]. 大连水产大学学报, 1992, 7(4):1-8.
- GUI M Y, WU Y, LIU H L, et al. The effect of temperature on the main digestive enzyme activities of grass carp, common silver carp and bighead carp [J]. Journal of Dalian Fisheries University, 1992, 7(4):1-8.
- [20] 阮国良, 代勤, 严安生, 等. pH 对月鳢蛋白酶活性的影响[J]. 湖北农学院学报, 2003, 23(4):261-263.
- RUAN G L, DAI Q, YAN A S, et al. Effect of pH on

- Protease activities in *Channa asiatica* [J]. Journal of Hubei Agricultural College, 2003, 23(4):261-263.
- [21] 姜令绪, 杨宁, 李建, 等. 温度和 pH 对刺参 (*Apostichopus japonicus*) 消化酶活性的影响 [J]. 海洋与湖沼, 2007, 38(5):476-480.
- JIANG N X, YANG L, LI J, et al. Effects of temperature and Ph on activities of digestive enzymes in *Apostichopus Japonicus* [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2007, 38(5):476-480.
- [22] 谢进金, 蔡炳炎, 实攀, 等. 金鱼淀粉酶性质的初步研究 [J]. 泉州师范学院学报, 2008, 26(6):81-85.
- XIE J J, CAI B Y, SHI P, et al. Primary study on properties of amylase from goldfish (*Carassius Auratus*) [J]. Journal of Quanzhou Normal University, 2008, 26(6):81-85.
- [23] 谢进金, 蒋娜红, 洪绿萍, 等. 尼罗罗非鱼淀粉酶性质的初步研究 [J]. 淡水渔业, 2007, 37(2):34-37.
- XIE J J, JIANG N H, HONG L P, et al. Prmiary study on properties of amylase from Nile Tilapia (*Oreochrom is niloticus*) [J]. Freshwater Fisheries, 2007, 37(2):34-37.
- [24] 马诚, 朱敏, 李英文. 养殖丁鲷肝脏淀粉酶活性的初步研究 [J]. 安徽农业科学, 2012(7):4013-4016.
- MA C, ZHU M, LI Y W. Study on amylase activities of the hepatopancreas in cultured *Tinca tinca* [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012(7):4013-4016.
- [25] 张金洲. 鳊鱼消化酶的初步研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2000.
- ZHANG J Z. Studies on digestive enzymes of *Siniperca chuatsi* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2000.
- [26] 崔青曼. 团头鲂消化酶的初步研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 1989.
- CUI Q M. The primary studies on the digestive enzymes of *Megalobrama amblycephala* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 1989.
- [27] 黄峰. 鲢鱼和鳊鱼消化酶的初步研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 1993.
- HUANG F. The primary studies on the digestive enzymes of *Hypophthalmichthys molitrix* and *Aristichthys nobilis* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 1993.
- [28] 徐祥泰, 陈乃松, 刘子科, 等. 饲料中不同淀粉源及水平对大口黑鲈肝脏组织学的影响 [J]. 上海海洋大学学报, 2016, 25(1):61-70.
- XU X T, CHEN N S, LIU Z K, et al. Effects of dietary starch sources and levels on liver histology in largemouth bass, *Micropterus salmoides* [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2016, 25(1):61-70.
- [29] UGOLEV A M, EGOROVA V V, KUZ' MINA V V, et al. Comparative-molecular characterization of membrane digestion in fish and mammals. [J]. Comparative Biochemistry & Physiology B Comparative Biochemistry, 1983, 76(3):627-635.
- [30] 黎军胜. 外源因子对罗非鱼消化酶活性和胰蛋白酶 mRNA 表达的影响 [D]. 南京: 南京农业大学, 2004.
- LI J S. Effects of exogenous factors on activities of digestive enzyme and trypsin mRNA expression in tilapia [D]. Nanjing: Agricultural University Of Nanjing, 2004.
- [31] 李瑾, 何瑞国, 张世萍, 等. 不同饵料对幼鳊消化系统内淀粉酶活性的影响 [J]. 饲料工业, 2002, 23(12):48-50.
- LI J, HE R G, ZHANG S P, et al. Effects of different diets on the amylase activity in the digestive system of *Monopterus albus* juveniles [J]. Feed Industry, 2002, 23(12):48-50.
- [32] 高梅. 饲料碳水化合物对南方鲇 (*Silurus meridionalis Chen*) 幼鱼消化酶及相关生理指标的影响 [D]. 重庆: 西南大学, 2006.
- GAO M. Effect of dietary carbohydrate on digestive enzyme activities and related physiological indexes in the southern catfish (*Silurus meridionalis Chen*) juveniles [D]. Chongqing: Southwest University, 2006.
- [33] 任鸣春, 贾文锦, 戈贤平, 等. 饲料不同淀粉水平对团头鲂成鱼生长性能、消化酶活性及肌肉成分的影响 [J]. 水产学报, 2014, 38(9):1494-1502.
- REN M C, JIA W J, GE X P, et al. Effects of dietary starch levels on growth performance, digestive enzyme activities and muscle composition of adult blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(9):1494-1502.
- [34] BERGOT F. Carbohydrate in rainbow trout diets: Effects of the level and source of carbohydrate and the number of meals on growth and body composition [J]. Aquaculture, 1979, 18(2):157-167.

Effects of different feed on digestive tract index and amylase activity of *Micropterus salmoides*

OU Hongxia^{1,2}, WANG Guangjun¹, XIE Jun¹, YU Deguang¹, ZHANG Kai¹

(1. Pearl River Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Guangzhou 510380, Guangdong, China;
2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: To study the effect of different diets on digestive tract index and amylase activity of largemouth bass, digestive tract index and amylase activity of largemouth bass fed the formulated feed (feed group) and the ice fish (chilled group) were analyzed comparatively. The results indicated that the intestinal weight/body weight, hepatopancreas weight/body weight, splanchnic weight/body weight of feed group were significantly higher than those of the chilled group ($P < 0.05$). The amylase activities in different organs were sequenced as follows: hepatopancreas > pyloric caeca > intestine > stomach in two groups. The amylase activities in hepatopancreas were significantly higher than those in other organs ($P < 0.05$). For the amylase activities of chilled group and feed group, the optimum pH were 7.2 and 6.8, 6.4 and 6.8, 6.4 and 6.8, 6.8 and 6.8 in stomach, hepatopancreas, pyloric caeca and intestine, respectively. The optimum temperature were 30 °C and 30 °C, 35 °C and 30 °C, 50 °C and 55 °C, 60 °C and 60 °C, respectively. The concentration of starch were 8% and 8%, 0.5% and 2%, 8% and 8%, 8% and 8%, respectively. The amylase activity of digestive organs in the feed group was significantly higher than that of the chilled group at same temperature and concentration of starch ($P < 0.05$). The results would provide some reference for adding enzyme preparations and optimizing artificial feed formulation in the process of artificial feed preparation.

Key words: *Micropterus salmoides*; ice fish; formulated feed; digestive tract index; amylase activity