

饲料成分与环境温度对奥尼罗非鱼消化酶活性的影响

黎军胜¹, 李建林², 吴婷婷²

(1. 南京农业大学 食品科技学院, 江苏 南京 210095; 2. 中国水产科学研究院 淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081)

摘要:取相同生长阶段、体重均匀的雄性奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)为研究对象, 分别设置不同 P/E 饲料组与不同水温组进行暂养, 共 3 周。在最后一次投喂后 2 h 进行取样测定。结果表明, 饲料蛋白质水平在 20% ~ 40% 时, 肝脏脏和肠道蛋白酶活性变化差异不显著。胃蛋白酶活性随着饲料蛋白水平上升而减低了 22.2% 和 26.0% ($P < 0.05$)。碳水化合物水平由 34% 上升到 42% 和 50%, 肝脏脏淀粉酶活性分别上升了 107.1% 和 106.6% ($P < 0.01$), 肠道淀粉酶活性分别提高了 67.1% 和 39.8% ($P < 0.01$)。脂肪水平由 1.5% 升高 7%, 肠道脂肪酶活性没有变化, 脂肪水平升高到 12.5%, 肠道脂肪酶活性降低了 25.4% ($P < 0.01$)。在水温 17 ~ 32 °C 时, 罗非鱼消化酶活性均随环境温度的升高而提高。

关键词:饲料成分; 环境温度; 消化酶; 罗非鱼

中图分类号: S963.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8737-(2004)06-0585-04

鱼类消化酶的分泌受到多种因素的影响, 其中饲料的营养组成和饲养的环境温度是研究者比较关注的因子, 黄耀桐^[1]、李广丽等^[2]、张家国等^[3]研究了饲料不同营养水平对草鱼和鲤鱼消化酶的影响, Chuang 等^[4]、Peres 等^[5]、王红权等^[6]研究了不同原料对消化酶的影响, 陈品健^[7]研究了环境温度的变化对消化酶的分泌量影响。但有关奥尼罗非鱼消化酶活性与饲料成分、环境温度的关系尚缺乏资料, 本研究旨在为优化奥尼罗非鱼的养殖条件提供消化生理方面的依据。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

奥尼杂交罗非鱼由中国水产科学研究院无锡淡水渔业研究中心自繁培育, 取相同生长阶段体重均匀的雄性奥尼杂交罗非鱼 36 尾, 随机均分为 3 组, 用于实验 A。另取相同生长阶段体重均匀的雄性奥尼杂交罗非鱼 48 尾, 随机均分为 4 组用于实验 B, 规格与分组见表 1。

每组实验鱼分别饲养于体积为 0.4 m × 0.4 m × 0.8 m 水族箱, 24 小时曝气, 每日清污。实验 A 各组鱼分别饲喂 3 种不同 P/E 的饲料, 配方及营养组成见表 2。实验 B 各组鱼饲养水温分别为 17 °C、22 °C、27 °C、32 °C, 电子控温系统误差为 ± 0.5 °C, 投喂东海粮油饲料有限公司生产的成鱼料。日投喂饲料 2 次, 投喂率 3.5%, 预实验期 1 周, 正式实验期 2 周。最后一次投喂后 2 h 立即断脊处死取样, 每组分为 4 个重复, 每重复 3 尾鱼。于冰浴中仔细分离出胃、肝脏脏、

肠, 称重后分别在低温 (0 ~ 4 °C) 下以电动匀浆器匀浆 (10 000 r/min) 2 min, 匀浆液定容至 50 mL, -20 °C 保存待用。

表 1 实验鱼规格

Table 1 Size of experimental fish

组别 Group	样本个数 Samples	年龄/a Age	体重/g($\bar{X} \pm SE$) Body weight
A1	12	1	96.39 ± 8.25
A2	12	1	96.19 ± 9.45
A3	12	1	96.99 ± 10.07
B1	12	1	185.72 ± 20.70
B2	12	1	181.70 ± 19.03
B3	12	1	182.81 ± 19.62
B4	12	1	181.50 ± 20.93

表 2 饲料组成

Table 2 Composition of diet %

原料 Ingredients	组别 Group		
	A1	A2	A3
鱼粉 Fish meal	15.0	15.0	15.0
豆粕 Soybean meal - solvent	70.0	40.0	10.0
小麦粉 Wheat powder	14.0	39.0	64.0
油 Plant oil	0.0	5.0	10.0
预混料 Additives	1.0	1.0	1.0
蛋白质 Protein	40.3	30.1	20.6
碳水化合物 Carbohydrate	34.0	42.0	50.0
脂肪 Lipid	1.5	7.0	12.5

注: 预混料主要成分为多维和矿物质。

Note: Additives were composed of vitamins and minerals.

收稿日期: 2004-08-15; 修订日期: 2004-01-09。

基金项目: 中国水产科学研究院重点科研计划项目 (No. 2001-5-3); 南京农业大学青年创新基金 (Y200206)。

作者简介: 黎军胜 (1969-), 男, 讲师, 博士研究生, 专业方向为鱼类营养与生化。Tel: 025-84395618。

通讯作者: 吴婷婷。Tel: 0510-5554552。

1.2 酶活性测定方法^[8]

1.2.1 蛋白酶活性测定 采用 folin-酚法,取匀浆粗酶液 1 mL,加底物 1%酪蛋白溶液 2 mL(以 0.02 mol/L, pH 7.5 磷酸缓冲液配制,测定胃蛋白酶则以 0.2 mol/L 盐酸配制),于 37 ℃ 水浴中反应 30 min。然后加入 10%三氯乙酸 3 mL 过滤,取滤液 1 mL,加入 0.55 mol/L 碳酸钠 5 mL,再加入福林试剂 1 mL,于 37 ℃ 水浴中显色 20 min,在 680 nm 波长处比色。同时以 1 mL 已煮沸失活的酶液作空白对照。

1.2.2 淀粉酶活性测定 采用 DNS 还原糖法,取匀浆粗酶液 1 mL,加当天配制的 2% 淀粉溶液 4 mL(以 0.02 mol/L, pH 7.5 磷酸缓冲液配制),于 37 ℃ 水浴中糖化 30 min,取出后立即于沸水中煮沸 15 min 使淀粉酶失活,得到糖化液。取糖化液 1 mL,加 1 mL DNS 显色剂在沸水中煮沸显色 5 min,于 520 nm 比色。同时以 1 mL 已煮沸失活的酶液作空白对照。

1.2.3 脂肪酶活性测定 加 5 mL 0.025 mol/L pH 7.5 磷酸缓冲液和 4 mL 聚乙烯醇橄榄油乳液于 100 mL 锥形瓶中,置反应温度(37 ℃)水浴中预热 5~10 min,然后加入匀浆粗酶液 1 mL,准确反应 30 min 后,立即加入 95% 乙醇 15 mL,终止酶反应。加 1% 酚酞指示剂 3 滴,用 0.05 mol/L 标准氢氧化钠滴定至微红色,同时以 1 mL 已煮沸失活的酶液做空白对照。

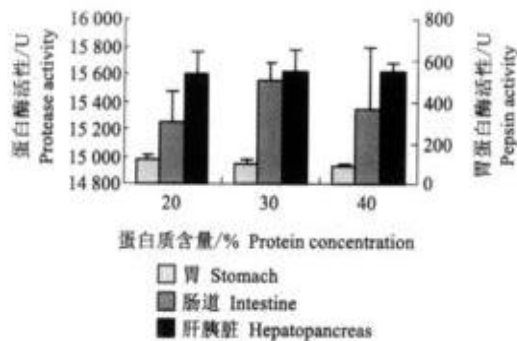


图1 饲料蛋白质水平对蛋白酶活性的影响

Fig.1 Effects of protein level on protease activity

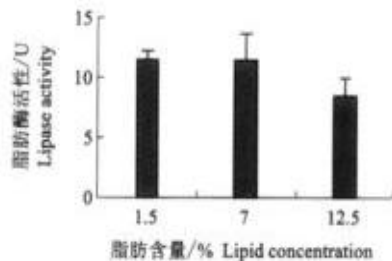


图3 饲料脂肪含量对肠道脂肪酶活性的影响

Fig.3 Effects of lipid concentration on activity of lipase

1.3 酶活性定义^[8]

1.3.1 蛋白酶 在一定反应条件下,1 min 水解酪蛋白产生 1 μg 酪氨酸的酶量定为一个酶活力单位(U)。

1.3.2 淀粉酶 在一定反应条件下,1 min 催化淀粉水解生成 1 μg 葡萄糖的酶量定为一个活力单位(U)。

1.3.3 脂肪酶 在一定反应条件下,1 min 催化脂肪水解产生 1 μmol 脂肪酸的酶量定为一个活力单位(U)。

1.4 数据统计处理

采用 SPSS 统计软件包处理数据,结果以 $\bar{x} \pm SE$ 表示。

2 结果

2.1 饲料成分对消化酶活性的影响

由图 1、2、3 可知,饲料蛋白质水平为 20%~40% 时,肝脏和肠道蛋白酶活性随饲料蛋白水平变化表现出小幅度波动,但差异不显著($P > 0.05$)。胃蛋白酶活性随着饲料蛋白水平上升分别降低了 22.2% 和 26.0% ($P < 0.05$)。碳水化合物水平由 34% 上升到 42% 和 50%,肝脏淀粉酶活性分别上升了 107.1% 和 106.6% ($P < 0.01$),肠道淀粉酶活性提高了 67.1% 和 39.8% ($P < 0.01$)。脂肪水平由 1.5% 升高 7%,肠道脂肪酶活性无显著差异($P > 0.05$),脂肪水平升高到 12.5%,肠道脂肪酶活性降低了 25.4% ($P < 0.01$)。

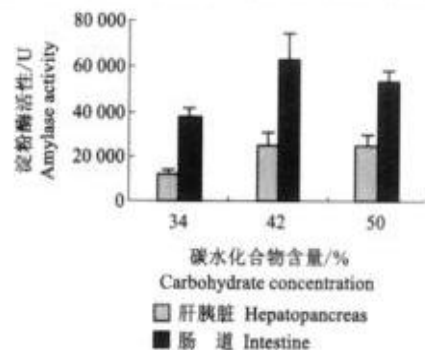


图2 饲料碳水化合物含量对淀粉酶活性的影响

Fig.2 Effects of carbohydrate concentration on amylase activity

2.2 环境温度对消化酶活性的影响

由图 4~6 可知,水温为 17~32 ℃ 时,罗非鱼消化酶活性均随温度的升高而提高。在水温 22 ℃、27 ℃、32 ℃ 时,胃蛋白酶活性比水温 17 ℃ 时分别提高了 19.3%、70.7%、84.8% ($P < 0.05$),肝脏蛋白酶活性分别提高了 46.3%、77.9% 和 99.6% ($P < 0.01$),肠道蛋白酶活性分别提高了 88.0%、156.4% 和 305.0% ($P < 0.01$),肝脏淀粉酶活性分别提高了 53.6%、254.6% 和 321.6% ($P < 0.01$),肠道淀粉酶活性分别提高了 27.7%、69.2% 和 112.6% ($P < 0.01$),肠道脂肪酶活性分别提高了 53.7%、151.8% 和 196.3% ($P < 0.01$)。

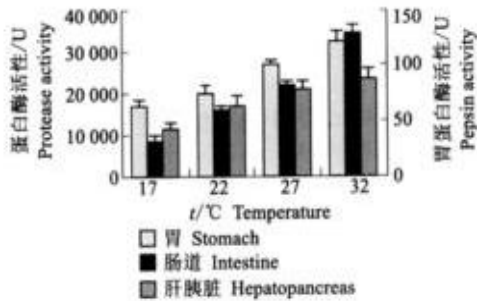


图4 饲养温度对蛋白酶活性的影响

Fig.4 Effects of water temperature on protease activity

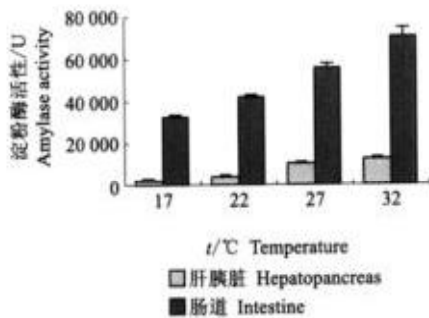


图5 饲养温度对淀粉酶活性的影响

Fig.5 Effects of water temperature on amylase activity

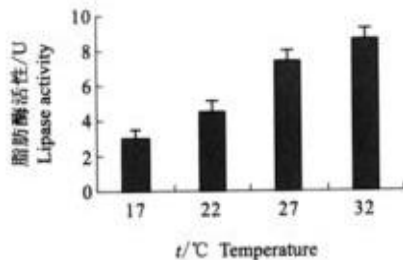


图6 饲养温度对肠道脂肪酶活性的影响

Fig.6 Effects of water temperature on lipase activity in intestine

3 讨论

张家国等^[3]报道,饲料P/E比值水平显著影响草鱼肠道中的蛋白酶淀粉酶活力,而对肝胰脏内蛋白酶、肠道脂肪酶的活性无影响。李广丽等^[2]发现,随饲料蛋白质水平升高,草鱼、鲤鱼肝胰脏中胰蛋白酶活性显著升高,而总肠变化不显著。更多资料显示^[4-6],饲料成分对消化酶活性的影响效应在不同的实验研究中表现出很大的差异,蛋白质含量的变化不仅对蛋白酶活性产生影响,还可能改变淀粉酶和脂肪酶的活性,同样,饲料中其他成分的变化,也有可能影响到与其消化无关的消化酶活性,说明鱼类消化酶活性受饲料成分影响机制的复杂性和效应的多样性。本研究结果表明,以不同蛋白能量(P/E比值)水平

的饲料饲喂奥尼罗非鱼两周后,肝胰脏和肠道蛋白酶活性的变化差异不显著,淀粉酶和脂肪酶活性会随饲料成分产生显著变化。蛋白酶活性不受蛋白水平变化诱导,可能是鱼类为了保证作为能量和物质代谢的主要营养来源的蛋白质的最大限度的吸收,在摄食后分泌足量的蛋白酶以提高消化效能,蛋白质水平在本研究所设定的范围内变化所产生的化学刺激,可能并不足以诱导蛋白酶分泌量的改变,蛋白质水平升高到何种水平才能启动蛋白酶分泌的增加,值得进一步研究。

作为变温动物,温度对于鱼类的生理活动的影响是多方面的。作为长期进化的结果,不同种类的鱼具有各自的最佳生活温度,罗非鱼最适生长温度范围为24~32℃^[13],环境温度偏离最佳生活温度对鱼类生理代谢的影响要远大于恒温动物。本研究表明,罗非鱼消化酶的活性与生活温度关系密切,在17~32℃时,消化酶活性随着水温的升高而上升。分析其原因,一方面,水温升高能够提高罗非鱼的各种生理代谢强度,与之相适应,消化系统的代谢强度也增强^[10],消化酶的基础分泌增加;另一方面,罗非鱼的摄食量会随着环境温度上升而增加,根据资料^[11-12],鱼类消化酶的分泌活性与饱食程度有关。在实际生产中,罗非鱼的生长速度会随着环境温度升高而加快,罗非鱼消化酶分泌的温度特性与其生长的温度特性是相一致的。可以推断,在不同的生活温度下,由于消化酶活性的变化,罗非鱼对饲料的消化能力也会随之发生改变。因此在实际生产中,应该根据不同地区不同季节的环境温度变化的特点,有针对性的及时调整饲料配方,防止饲料营养过剩或者不足,以取得最佳的养殖效益。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 李广丽, 王义强. 草鱼、鲤鱼肠道、肝胰脏消化酶活性的初步研究[J]. 湛江水产学院学报, 1994, 14(1): 34-40.
- [3] 张家国, 王义强, 邹哲哲. 不同蛋白质能量比饲料与夏花草鱼消化酶的关系[J]. 上海水产大学学报, 1997, 6(1): 54-58.
- [4] Chuang J C, Shiau S Y. Intestinal disaccharidase activity, plasma glucose level, body composition and growth of Tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* fed different carbohydrates[J]. Aquac Absts, 1994, 11(3): 41.
- [5] Peres A. Dietary regulation of activities and mRNA levels of trypsin and amylase in Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae[J]. Fish Physiol Biochem, 1998, 19(2): 145-152.
- [6] 王红权. 异育银鲫摄食5种不同动物蛋白源饲料后消化酶活性变动比较[J]. 内陆水产, 2000, (2): 9-11.
- [7] 陈品健. 真鲷幼鱼消化酶活性与温度的关系[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 1998, 37(6): 931-935.
- [8] 中山大学生物系生化微生物教研室. 生化技术导论[M]. 北京: 人民教育出版社, 1978. 52-88.
- [9] 陈守良. 动物生理学[M]. 第2版. 北京: 北京大学出版社, 1996.
- [10] 尾崎久雄. 鱼类消化生理[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985.

- [11] Infante J L I, Cahu C L. Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae fed different Artemia rations: growth, pancreas enzymatic response and development of digestive function[J]. *Aquaculture*, 1996, 139 (1/2): 129 - 138.
- [12] Kohla U, Saint-Paul U, Friebe J. Growth, digestive enzyme activities and hepatic glycogen levels in juvenile *Colosoma macropomum* Cuvier from South America during feeding, starvation and refeeding[J]. *Nutr Abst Rev (Series B)*, 1993, 63(6): 3 130.
- [13] 李思发. 中国淡水主要养殖鱼类种质研究[M]. 上海: 上海科技出版社, 1998. 169 - 174.

Effects of feed composition and environmental temperature on activities of digestive enzyme of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)

LI Jun-sheng¹, LI Jian-lin², WU Ting-ting²

(1. Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China)

Abstract: Two experiments were carried out to investigate the effects of feed composition and environmental temperature on activities of digestive enzyme of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). The results showed that there were no remarkable difference in activities of protease in hepatopancreas and intestine when the level of feed protein increased from 20% to 30% and 40%, and activities of stomach protease decreased by 22.2% and 26.0% respectively. The level of feed carbohydrate increased from 34% to 42% and 50%, the activities of amylase in hepatopancreas and intestine increased by 107.1% and 106.6%, 67.1% and 39.8% respectively. The level of feed lipid increased from 1.5% to 7%; the activities of intestinal lipase had no remarkable change, and the level of feed lipid increased to 12%, activities of intestinal lipase decreased by 25.4%. At the range of 17 - 32 °C, activities of digestive enzyme of tilapia increased with environmental temperature increasing.

Key words: feed composition; environmental temperature; digestive enzyme; tilapia

Corresponding author: WU Ting-ting.

(接 592 页 Page 592 continued)

Community composition of zoobenthos in Qindeli Reservoir of Heilongjiang River

JIANG Zuo-fa¹, TANG Fu-jiang¹, DONG Chong-zhi¹, LIANG Hong-jun², XU Ping², HE Zhen², ZHANG Cai-hong²

(1. Heilongjiang Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China; 2. Qindeli Sturgeons Reproducing Station of Heilongjiang Province, Tongjiang 156429, China)

Abstract: The experiment was conducted from May to September 2003 in Qindeli Reservoir of Heilongjiang River. The results show that there are 13 species or genera of benthos belonging to 5 families in the reservoir, the majorities of which are *Tubifex* sp., larvae *Ch. gr. plumosus* and *Pelopia* sp., *Limnodrilus hof fmeisteri* and three species or genera of Oligochaeta belonging to one family. *Ch. gr. plumosus* larvae and *Pelopia* sp. exist all around the year, dominating the benthos communities, although there are some differences in the three seasons. The main species are *Tubifex* sp., larvae of *Pelopia* sp. and *Limnodrilus hof fmeisteri* in spring, while larvae of *Pelopia* sp. and *Ch. gr. plumosus* dominate the communities in summer, and the dominant species are *Pelopia* sp. and *Ch. gr. plumosus* in autumn. The indexes of biodiversity (H'), evenness (E) and abundance (d_{mn}) are all relatively low, which are 0.261 3, 0.256 0 and 2.472 5 respectively, with few difference in horizon. As the main diet of sturgeon, *Tendipes* larvae and Oligochaeta, 26 685.3 kg per year in total, can be calculated into potential fish product of 4 536.1 kg. Therefore, some fish sharing the similar diet to sturgeon should not be stocked, such as carp, crucian carp and bream etc. but planktivorous fish is welcome.

Key words: zoobenthos; community composition; biomass; resource proliferation; Heilongjiang River