

文章编号: 1000-0615(2002)05-0448-05

微生物制剂对异育银鲫消化酶活性的影响

刘小刚, 周洪琪, 华雪铭, 邱小琼, 曹 丹, 张登沂

(上海水产大学渔业学院, 上海 200090)

摘要: 在基础饲料的基础上, 分别添加 0.1%、0.2%、0.4% 芽孢杆菌, 0.3%、0.6%、1.2% 硒酵母, 混合添加 0.2% 芽孢杆菌和 0.3%、0.6%、1.2% 硒酵母, 制成 9 种微生物制剂饲料, 以基础饲料为对照, 在水泥池中饲养异育银鲫 60d。然后, 对异育银鲫肠道和肝胰脏的蛋白酶、淀粉酶进行了测定。结果表明, 添加 0.2% 芽孢杆菌, 异育银鲫肠道、肝胰脏蛋白酶活性分别比对照组提高 466.2% 和 85.4%, 添加 0.1% 芽孢杆菌, 肠道肝胰脏淀粉酶活性分别比对照组提高 83.7% 和 129.5%; 添加硒酵母对肠道蛋白酶活性无显著影响, 但添加 0.6% 硒酵母能使肝胰脏蛋白酶活性比对照组提高 43.7%, 添加 0.3% 硒酵母能使肠道、肝胰脏淀粉酶活性分别比对照组提高 84.2% 和 163.9%; 同时添加 0.2% 芽孢杆菌和 0.3% 硒酵母能使肠道蛋白酶淀粉酶活性分别比对照组提高 395.5% 和 95.4%, 同时添加 0.2% 芽孢杆菌和 0.3%、0.6%、1.2% 硒酵母对肠、肝胰脏蛋白酶淀粉酶活性无显著影响。与单独添加 0.2% 芽孢杆菌相比, 同时添加 0.2% 芽孢杆菌和硒酵母肠道、肝胰脏蛋白酶活性随硒酵母添加量的增加而显著降低, 但淀粉酶活性两者之间差异不显著; 与单独添加硒酵母相比, 0.2% 芽孢杆菌和硒酵母同时添加对肠道、肝胰脏蛋白酶、淀粉酶活性促进作用并不显著。

关键词: 异育银鲫; 芽孢杆菌; 硒酵母; 蛋白酶; 淀粉酶

中图分类号: S963 文献标识码: A

Effects of dietary *Bacillus* sp. and selenoyeast on activities of digestive enzymes of allogynogenetic crucian carp

LIU Xiao-gang, ZHOU Hong-qi, HUA Xue-ming, QIU Xiao-cong, CAO Dan, ZHANG Deng-li

(Fisheries College, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract Allogynogenetic crucian carp (average initial weight, 4.2 ± 0.3 g) were fed with basal diet supplemented 0.1%, 0.2%, 0.4% *Bacillus* sp., 0.3%, 0.6%, 1.2% selenoyeast, complex of 0.2% *B.* sp. and 0.3%, 0.6%, 1.2% selenoyeast respectively for two months. Control group was fed with basal diet. Triplicate groups were made for each diet. The activities of protease and amylase in the intestine and hepatopancreas were determined. The activities of protease in the intestine and hepatopancreas fed with dietary 0.2% *B.* sp. were 466.2% and 85.4% higher respectively than those of the control group. The activities of amylase in the intestine and hepatopancreas fed with dietary 0.1% *B.* sp. were 83.7% and 129.5% higher respectively than those of the control group. The activities of protease in the intestine with three levels of selenoyeast were similar to those of the control group. The activity of protease in the hepatopancreas with dietary 0.6% selenoyeast was 43.7% higher than that of the control group, the activities of amylase in the intestine and hepatopancreas with dietary 0.3% selenoyeast increased by 84.2% and 163.9% respectively. The activities of

收稿日期: 2001-11-29

资助项目: 上海自然科学基金资助项目(00ZC14054)

作者简介: 刘小刚(1976-), 男, 湖北钟祥人, 1999 级硕士研究生, 专业方向为水产动物营养与饲料。E-mail: xgliu76@163.com

通讯作者: 周洪琪(1942-), 女, 上海市人, 教授, 主要从事水产动物营养与饲料的研究。E-mail: hqzhou@shfu.edu.cn

protease and amylase in the intestine fed with dietary 0.2% *B. sp.* and 0.3% selenoyeast complex were 395.5% and 95.4% higher respectively than those of the control group, while the activities of protease and amylase in the hepatopancreas fed with dietary 0.2% *B. sp.* and three levels of selenoyeast were not remarkably higher than those of the control group. Compared to dietary 0.2% *B. sp.* group, the activities of protease in the intestine and hepatopancreas fed with dietary 0.2% *B. sp.* and three levels of selenoyeast complex decreased drastically with the increasement of the level of dietary selenoyeast, while there were no remarkable difference in the activities of amylase between two groups. Compared to dietary selenoyeast group, the activities of protease and amylase in the intestine and hepatopancreas fed with dietary selenoyeast and 0.2% *B. sp.* complex were not changed remarkably.

Key words: allogynogenetic crucian carp; *Bacillus sp.*; selenoyeast; protease; amylase

微生态制剂是近年发展起来的新型绿色添加剂,不但能防病治病,提高饲料转化率和养殖动物生产性能,还能降低养殖动物产品中胆固醇的含量,并减少养殖环境及粪便中氨气、硫化氢、有机磷等有害物质的含量,明显减少畜禽业、水产业生产对周边环境造成的污染。同时,由于其具有无毒副作用、无耐药性、无残留、生产成本低、生产效果显著等诸多特点^[1-5],而得到广大养殖研究者的首肯。目前,有关微生态制剂对动物消化酶影响的研究仅见芽孢杆菌对对鲤鱼肠道蛋白酶和淀粉酶活性^[6]、有效微生态制剂对鲤肠道、肝胰脏蛋白酶^[7]活性的影响等,而微生态制剂对异育银鲫消化酶活性的影响未见报道。本试验的目的在于探讨添加芽孢杆菌、硒酵母对异育银鲫肠道、肝胰脏消化酶活性的影响。

1 材料和方法

1.1 试验材料

本试验在我校南汇养殖场进行,试验水泥池为 4.5m × 3.0m × 1.4m,试验用鱼为取自该场的健康的异育银鲫,每尾平均体重为 4.2 ± 0.3g。

1.2 试验分组及饲养管理

在基础饲料(表1)的基础上分别添加芽孢杆菌 0.1%、0.2%、0.4%,硒酵母 0.3%、0.6%、1.2%,添加 0.2% 芽孢杆菌的同时分别添加 0.3%、0.6%、1.2% 硒酵母,以粉料为载体共制成 9 种试验饲料,以基础饲料组为对照,每个试验组和对照组各设 3 个平行。每池随机投放 60 尾鱼。按池内鱼体重 5% 投喂基础饲料,驯养 2 周。每日投饵两次(上午 9:00 以及下午 17:00)。饲养实验共 60d。

试验结束时将试验鱼在池中饥饿 1d,以减少肠道中食物残渣对肠道消化酶活性的影响,然后将鱼放于 -18℃ 冰箱中保存,以备解剖提取酶样。

1.3 肝胰脏肠道蛋白酶、淀粉酶的制备和酶活性的测定

分离异育银鲫的肝胰脏和肠道,称重,匀浆,用 0.125mol·L⁻¹ 的稀硫酸提取蛋白酶、淀粉酶,在 -4℃ 冰箱中静置过夜。离心取上清液,用 0.125mol·L⁻¹ 硫酸将沉淀再抽提 2h,离心,合并上清液。采用福林酚试剂法测定蛋白酶活性,1 个蛋白酶活力单位为 pH7.0、酪蛋白浓度为 20mg·mL⁻¹、37℃ 下保温 10min,每分钟产生 1μg 酪氨酸的酶量。采用淀粉-碘显色法测定淀粉酶活性,1 个淀粉酶活力单位为 pH7.0、37℃ 下保温 30min,1g 组织中的淀粉酶能完全水解 10mg 淀粉时的酶量^[8]。

表 1 基础饲料组成

Tab. 1 The composition of basal diet		%
原料(ingredients)	%	
鱼粉(fish meal)	45	
麦粉(wheat powder)	24	
菜籽饼(rapeseed meal-exp)	20	
豆饼(soybean meal-solvent)	10	
混合无机盐(minerals)	0.5	
混合维生素(vitamins)	0.3	
氯化胆碱(choline chloride)	0.05	
三氧化二铬(Cr ₂ O ₃)	0.2	

注:混合无机盐、混合维生素均为市售

Notes: minerals and vitamins were bought from the market

1.4 数据分析方法

应用单因素方差分析处理试验数据, Q 检验法对平均数进行多重比较。

2 结果

2.1 芽孢杆菌对异育银鲫消化酶活性的影响

添加 0.2% 芽孢杆菌能极显著提高肠道蛋白酶活性($P < 0.01$, 图 1), 添加 0.4% 芽孢杆菌能显著提高肠道蛋白酶活性($P < 0.05$)。添加 0.1%、0.2% 芽孢杆菌能显著提高肝胰脏蛋白酶活性($P < 0.05$)。添加 0.1% 芽孢杆菌能极显著提高肠道和肝胰脏淀粉酶活性($P < 0.01$), 添加 0.2%、0.4% 芽孢杆菌对肠道和肝胰脏淀粉酶活性没有显著影响($P > 0.05$)。

2.2 硒酵母对异育银鲫消化酶活性的影响

添加硒酵母对肠道蛋白酶活性无显著影响($P > 0.05$, 图 2)。添加 0.6% 硒酵母能显著提高肝胰脏蛋白酶活性($P < 0.05$), 添加 0.3%、1.2% 硒酵母对肝胰脏蛋白酶活性无显著影响($P > 0.05$)。添加不同水平的硒酵母均能极显著提高肠道淀粉酶活性($P < 0.01$), 添加 0.3% 硒酵母能极显著提高肝胰脏淀粉酶活性($P > 0.05$), 其它水平的添加则没有显著性影响($P < 0.05$)。

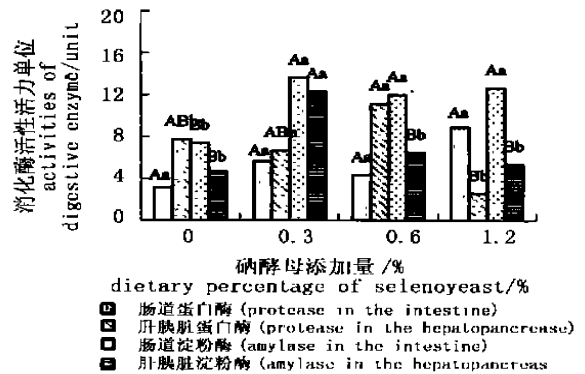
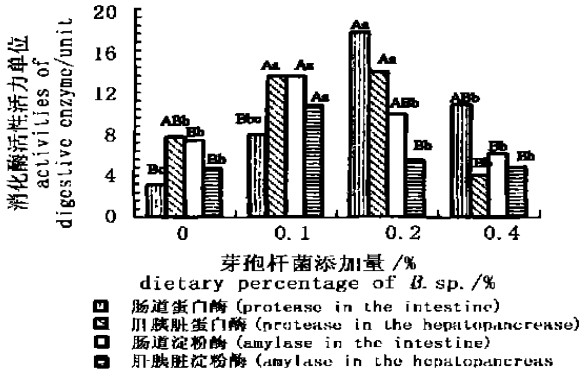


图 1 添加芽孢杆菌对异育银鲫消化酶活性的影响

Fig. 1 Effects of dietary *B. sp.* on activities of protease and amylase of allogynogenetic crucian carp

注: 图中小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$), 大写字母不同表示差异极显著 ($P < 0.01$), 下同

Notes: the letters indicate difference ($P < 0.05$), and the capital letters indicate extremely difference ($P < 0.01$). The senses of the letters in other figures are as the same as those in Fig. 1

图 2 添加硒酵母对异育银鲫消化酶活性的影响

Fig. 2 Effects of dietary seleno yeast on activities of protease and amylase of allogynogenetic crucian carp

2.3 芽孢杆菌和硒酵母混合添加对异育银鲫消化酶活性的影响

0.2% 芽孢杆菌和 0.3% 硒酵母同时添加, 能极显著提高肠道蛋白酶和淀粉酶的活性($P < 0.01$, 图 3), 0.2% 芽孢杆菌和 0.6% 硒酵母同时添加, 能显著提高肠道淀粉酶活性($P < 0.05$), 0.2% 芽孢杆菌分别和 0.6%、1.2% 硒酵母同时添加, 对肠道蛋白酶活性没有显著影响($P > 0.05$)。0.2% 芽孢杆菌分别和 3 个水平的硒酵母同时添加, 对肝胰脏蛋白酶和淀粉酶活性均无显著影响($P > 0.05$)。

将单独添加 0.2% 芽孢杆菌与 0.2% 芽孢杆菌和硒酵母混合添加相比较(图 4), 0.2% 芽孢杆菌和 0.6%、1.2% 硒酵母混合添加组异育银鲫肠道蛋白酶活性均极显著低于仅添加 0.2% 芽孢杆菌组($P < 0.01$), 0.2% 芽孢杆菌和 0.3%、0.6% 硒酵母混合添加组异育银鲫肝胰脏蛋白酶活性均显著低于仅添加 0.2% 芽孢杆菌组($P < 0.05$), 0.2% 芽孢杆菌和 1.2% 硒酵母混合添加组异育银鲫肝胰脏蛋白酶活性极显著低于仅添加 0.2% 芽孢杆菌组($P < 0.01$)。

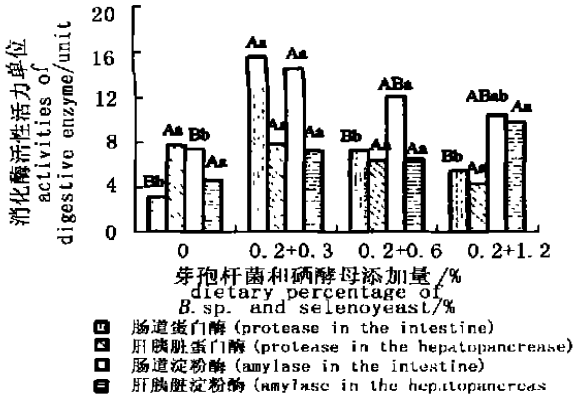


图3 同时添加芽孢杆菌和硒酵母对异育银鲫消化酶活性的影响

Fig. 3 Effects of dietary *B. sp.* and seleno yeast complex on activities of protease and amylase of allogynogenetic crucian carp

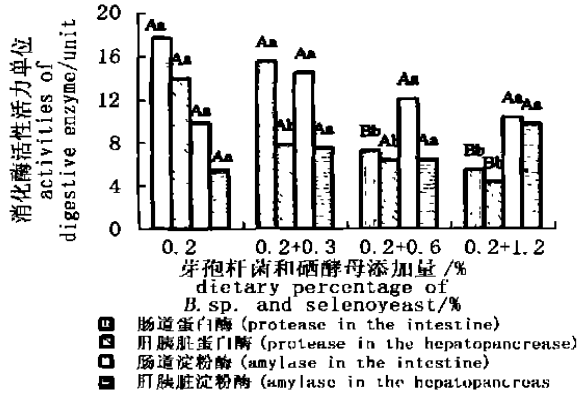


图4 在添加芽孢杆菌的基础上添加硒酵母对异育银鲫消化酶活性的影响

Fig. 4 Comparison of activities of protease and amylase of allogynogenetic crucian carp among 0.2% *B. sp.* and its complex groups

0.2% 芽孢杆菌分别和3个水平的硒酵母混合添加, 异育银鲫肠道和肝胰脏的淀粉酶活性的影响不显著($P > 0.05$)。与单独添加0.3% 硒酵母相比, 0.2% 芽孢杆菌和0.3% 硒酵母混合添加(图5)能极显著提高异育银鲫肠道蛋白酶活性($P < 0.05$), 却显著降低肝胰脏淀粉酶活性($P < 0.05$), 对肝胰脏蛋白酶、肠道淀粉酶活性均无显著影响($P > 0.05$)。与单独添加0.6% 硒酵母相比, 0.2% 芽孢杆菌和0.6% 硒酵母混合添加(图6)对异育银鲫肠道和肝胰脏的消化酶活性无显著影响($P > 0.05$)。与单独添加1.2% 硒酵母相比, 0.2% 芽孢杆菌和1.2% 硒酵母混合添加(图7)能显著提高异育银鲫肝胰脏淀粉酶活性($P < 0.05$), 却显著降低肠道蛋白酶活性($P < 0.05$), 对肠道淀粉酶和肝胰脏蛋白酶活性无显著影响($P > 0.05$)。

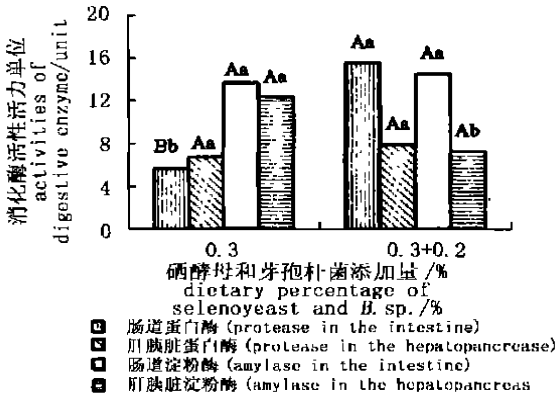


图5 在添加硒酵母的基础上添加芽孢杆菌对异育银鲫消化酶活性的影响

Fig. 5 Comparison of activities of protease and amylase of allogynogenetic crucian carp among 0.3% seleno yeast and its complex group

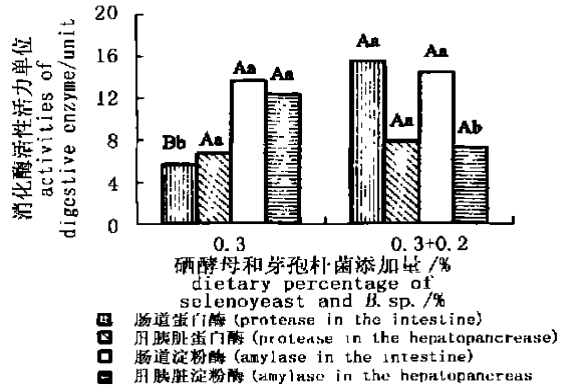


图6 在添加硒酵母的基础上添加芽孢杆菌对异育银鲫消化酶活性的影响

Fig. 6 Comparison of activities of protease and amylase of allogynogenetic crucian carp among 0.6% seleno yeast and its complex group

3 讨论

实验结果表明, 添加0.2% 芽孢杆菌的异育银鲫肠、肝胰脏蛋白酶活性分别比对照组提高466.2%和85.4%。添加0.1% 芽孢杆菌的异育银鲫肠肝胰脏淀粉酶活性分别比对照组提高83.7%和129.5%;

添加 0.3% 的硒酵母组的异育银鲫肠、肝胰脏淀粉酶活性分别比对照组提高 84.2% 和 95.4%，潘康成等^[6] 给鲤鱼投喂芽孢杆菌，鲤鱼肠道蛋白酶和淀粉酶活性比对照组分别提高 20.54% 和 61.95% ($P < 0.05$)，黄永春等^[7] 在建鲤饲料中添加 6% 有效微生物制剂 (EM)，建鲤肠道和肝胰脏蛋白酶活性比对照组分别提高 17.70% 和 5.78%。这些研究结果均有有力的说明，芽孢杆菌、硒酵母等微生物制剂的适量添加能提高养殖动物肠道、肝胰脏消化酶活性，这是微生物制剂促进养殖动物生长的重要因素之一。

Sogard 等^[8] 报道，枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌具有较强的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性；酵母菌和霉菌均能产生多种酶类如蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶、纤维素酶等，可提高蛋白质和能量利用率。国内许多研究者也认为微生物制剂具有消化酶活性^[2-5]。然而本试验的芽孢杆菌、硒酵母无论是单独添加还是混合添加，异育银鲫肠道和肝胰脏中蛋白酶、淀粉酶活性均未随着添加剂添加量的增加而提高，鱼肠道、肝胰脏淀粉酶的活性甚至随着芽孢杆菌添加量的增加反而降低，这可能是由于不同的菌种而造成的。本试验中异育银鲫肠道蛋白酶和淀粉酶活性的提高可能是由于所添加的微生物刺激肠道或是由于长期食用含所添加的微生物引起肠道的适应性分泌而致使的，而异育银鲫肝胰脏中蛋白酶和淀粉酶的活性的提高则是由于长期食用所添加的微生物引起肝胰脏的适应性分泌而致使的。

但是本研究结果也同时表明，0.2% 芽孢杆菌和 3 个水平的硒酵母混合添加与单独添加 0.2% 芽孢杆菌相比，对异育银鲫肠道、肝胰脏淀粉酶活性的提高并无显著效果，而肠道、肝胰脏蛋白酶活性与单独添加 0.2% 芽孢杆菌相比，随硒酵母添加量的增加，蛋白酶活性显著降低，而 0.2% 芽孢杆菌与硒酵母同时添加与相应硒酵母单独添加相比，肠道和肝胰脏、蛋白酶、淀粉酶活性绝大多数无显著差异，表明本试验的微生物相互之间表现出非协同作用，因此，有益菌种的选配及添加比例还有待于进一步研究。

参考文献:

[1] Liu X J. Application of feed microbe in the produce of animal[J]. Foreign Livestock Farming-Feed, 1998, 4:32- 33, 27. [刘学剑. 饲料微生物在动物生产中的应用[J]. 国外畜牧学- 饲料, 1998, 4: 32- 33, 27.]

[2] Pan K C, Yang H B. Progress in study of machanism of *Baillus* [J]. Feed Industry, 1997, 18(9): 32- 34. [潘康成, 杨汉博. 饲用芽孢杆菌作用机理的研究进展[J]. 饲料工业, 1997, 18(9): 32- 34.]

[3] Cai H Y, Huo Q G. Progress in study application of microbial feed additive[J]. Feed Industry, 1993, 14(4): 7- 12. [蔡辉益, 霍启光. 饲用微生物添加剂研究与应用进展[J]. 饲料工业, 1993, 14(4): 7- 12.]

[4] Li G J, Zhang J L. Progress in study of animal microbial agents[J]. Feed Industry, 2000, 21(11): 16- 18. [李桂杰, 张钧利. 动物微生物制剂的研究进展[J]. 饲料工业, 2000, 21(11): 16- 18.]

[5] Hu D X, Pan K C. Microbial agents and its machanism[J]. Feed in China, 2001(3): 14- 16. [胡东兴, 潘康成. 微生物制剂及其作用机理[J]. 中国饲料, 2001(3): 14- 16.]

[6] Pan K C, He M Q, Liu K L. Effects of microbial additive on growth and activities of digestive enzyme of common carp [J]. Feed Industry, 1997, 18(10): 41- 42. [潘康成, 何明清, 刘克琳. 微生物添加剂对鲤鱼生长和消化酶活性的影响研究[J]. 饲料工业, 1997, 18(9): 41- 42.]

[7] Huang Y C, Wang S L, Yang Z C, et al. Effects of effective microorganisms on bacterial population in the intestine and activities of protease in the intestine and hepatopancreas of Jian carp [J]. Fishery in Fujian Province, 1999(1): 24- 29. [黄永春, 王盛伦, 阳振川, 等. 有效微生物制剂 (EM) 对建鲤肠道菌群及其蛋白酶和肝胰脏蛋白酶活性的影响[J]. 福建水产, 1999(1): 24- 29.]

[8] Edited by Biological Department of Zhongshan University. Directions of Biochemistry Technology [M]. Beijing: People's Education Press, 1979: 57- 62. [中山大学生物系编. 生化技术导论 [M]. 北京: 人民教育出版社, 1979. 57- 62.]

[9] Sogard D H, Denmark T S. Microbials for feed beyond lactic acid bacteria [J]. Feed Inter, 1990, 11(4): 32- 37.

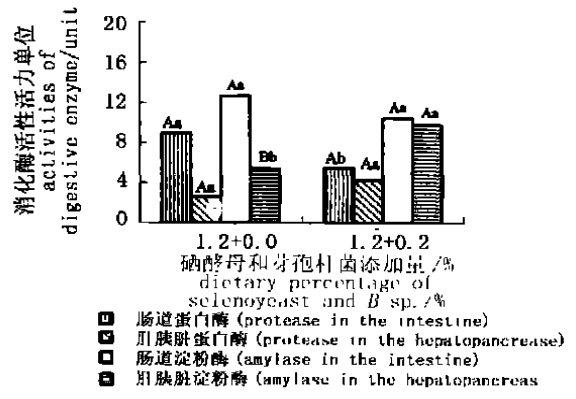


图7 在添加硒酵母的基础上添加芽孢杆菌对异育银鲫消化酶活性的影响
Fig. 7 Comparison of activities of protease and amylase of allogynogenetic crucian carp among 1.2% seleno yeast and its complex group