

两种微生态制剂对草鱼消化相关酶活性的影响

王 荻 李绍戊 尹家胜 卢彤岩

(中国水产科学研究院 黑龙江水产研究所 黑龙江 哈尔滨 150070)

摘要: 选用以枯草芽孢杆菌为主要成分的 I 制剂及混合菌的 II 制剂两种常用、商品化微生物制剂,对辽宁省池塘养殖草鱼进行投喂、泼洒和混合使用试验,并比较测定鱼肝脏、肠道组织中淀粉酶、蛋白酶及脂肪酶活性值。结果表明,以调节水质为主要作用的泼洒制剂 II 对草鱼体内消化相关酶活性影响不大,但以促进消化生长为主要作用的投喂制剂 I 对酶活性有较大促进作用,而制剂 I/II 混用在调节水质、帮助消化的同时能最大程度的促进草鱼体内消化相关酶活性提升,有助于促进草鱼生长及繁殖发育。因此,微生态制剂在草鱼池塘养殖中,对鱼快速健康生长有较好的促进作用。

关键词: 微生态制剂; 草鱼; 淀粉酶; 蛋白酶; 脂肪酶

中图分类号: S917 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2011)增刊-0219-05

Influence of Two Kinds of Microecologies on the Digestive Enzymes in Grass Carp

WANG Di, LI Shao-wu, YIN Jia-sheng, LU Tong-yan

(Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Harbin 150070, China)

Abstract: Two kinds of microecologies (named M-I and M-II), which were based on the *Bacillus subtilis* and had already been developed and applied in the practice, were selected to determine their influence on several digestive enzymes in grass carp. M-I was used to mix with the feeding and M-II was poured into the water of the ponds. Four groups were set in this study, including the control group, M-I group, M-II group and the combination group of these two microecologies. After the usage of microecologies for 3 months, the amylase, protease and lipase of the livers and intestines were determined and compared with each other. The results indicated that M-II preparations, which mainly functioned on regulating the water quality, did not affect the three digestive enzymes in grass carp, while M-I preparations, which could promote digestion and growth of fishes, were found to greatly improve the enzyme activities. In addition, the mix usage of M-I and M-II were proved to play a role in both regulating the water quality and promoting digestion, which would further promote the growth and reproduction of grass carp. Therefore, it could be concluded that microecologies were benefit for the rapid and healthy growth of grass carp farmed in the ponds.

Key words: Microecologies; Grass carp; Amylase; Protease; Lipase

微生态制剂(Microecologies)又称微生态调节剂(Microecological modulator)是一种天然、无毒、无副作用、无残留、安全可靠、不污染环境的水质改良及动物生长促进剂。它与治疗药物不同,具有有病治病、没病防病、无病保健的优点,克服了大量、长期使用抗生素造成的菌群失调、耐药性菌株增加、药物的副作用以及食品残留安全等问题,逐步被水产养殖业认同和推广^[1,2]。

微生态制剂的理论依据是动物微生态平衡理论。Nurimi 等^[3]于 1973 年研究证实不带沙门氏菌的成年鸡盲肠内容物厌氧培养后饲喂雏鸡可以预防沙门氏菌感染。这一发现后来完善成为竞争-排斥理论,证明了动物体内微生态的平衡作用。随之开展的一系列研究都验证和完善了这一理论,形成微生态制剂的发展依据^[4]。而后,微生态制剂被定义为在微生态理论指导下,利用对宿主有益的、活的正

收稿日期: 2011-10-27

基金项目: 农业公益性行业专项(200803013)

作者简介: 王 荻(1980-),女,辽宁人,助理研究员,硕士,主要从事鱼类病害研究。

通讯作者: 卢彤岩(1967-),女,黑龙江人,研究员,博士,主要从事鱼类病害研究。

常微生物或其促生长物质经特殊工艺制成的制剂^[5,6]。

Kozasa 等^[7]最初将微生态制剂应用于日本鳊的养殖,随着水产科技进步及相关研究的深入,微生态制剂正日益推进着我国水产养殖业的健康发展,其研究和应用展现出广阔的前景得到了迅速发展^[8]。目前,我国在微生态制剂对各种畜^[9]、禽^[10]动物及水产动物^[11,12]中的应用研究较多,也有关于微生态制剂对水产动物消化酶方面的研究报道^[13],但是关于微生态制剂对草鱼体内消化酶活性分布影响的报道至今未见。

本试验选取两种不同组分、不同作用、不同使用方法的微生态制剂,对辽宁省池塘养殖草鱼进行投喂、泼洒或混合使用,并对使用后鱼肝脏及肠道内消化相关酶进行了比较研究,以期掌握微生态制剂对草鱼体内消化相关酶的影响与作用,为微生态制剂在其养殖生产过程中的应用提供一定的技术支持和

理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

1.1.1 微生态制剂的选取 选取两种常见、商品化的微生态制剂,分别编码为 I 制剂和 II 制剂。其中, I 制剂为口服制剂,以枯草芽孢杆菌为主,其主要功能是促进消化、加快生长、增强保健、优化水质、提高食欲、改善肉质。而 II 制剂为泼洒制剂,其主要成分为乳酸菌群、酵母菌群、放线菌群、光合菌群、芽孢杆菌群、多种生物酶的混合微生态制剂,其主要功能是调节水环境因子及改善底质。

1.1.2 检测试剂盒的选取 试验用考马斯亮兰总蛋白试剂盒、标准蛋白;淀粉酶、胰蛋白酶及脂肪酶测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;其他试剂为实验室常规分析纯试剂。

表 1 试验渔池的基本信息

Tab. 1 The basic information of fishing ponds in Liaoning Province

池塘编号 Pond No.	养殖面积/亩 Culture area	养殖品种 Species	初始投放量/kg Initial analyses	微生态制剂种类 The kinds of microecologies
L-1	8	草鱼	1 175.5	对照
L-2	10	草鱼	1 371.5	I 制剂
L-3	12	草鱼	1 500.0	II 制剂
L-4	15	草鱼	1 528.5	I 制剂 + II 制剂

1.1.3 试验渔场的选取 本试验选取辽宁省营口市大石桥市某淡水鱼养殖场(主养品种为草鱼,套养鲤鱼)进行微生态制剂投喂、泼洒及混合使用试验。渔场试验选取池塘的具体养殖面积、主养品种、投放量及微生态制剂施用种类信息见表 1。

1.2 试验方法

1.2.1 微生态制剂投放方法 在试验渔场中随机选取 4 个水面大小、养殖密度、养殖品种大致相同池塘作为试验用池塘;在 5-6 月份开池投喂后,同期开始进行微生态制剂的投喂及泼洒。同时,设置 1 号池塘为空白对照池塘;2 号池塘将 I 制剂添加到饲料中投喂,每公斤饲料添加 2~3 g,持续使用;3 号池塘将用水稀释后全池泼洒,300~400 g/m 水深每亩用量(每瓶 5~6 亩),水质较差时连用或隔天再用 1 次。每 15~20 d 全池均匀泼洒 1 次(严重缺氧时停用);4 号池塘将 I 制剂口服和 II 制剂全池泼洒搭配使用,方法同上。

1.2.2 试验样品的采集 在辽宁省淡水鱼的主要养殖期 7-9 月份,每月于各试验池塘随机选取 6 尾草鱼于冰盘上解剖。取出鱼的肝脏及肠道组织,用生理盐水冲洗干净并用滤纸吸干,称重,各组织用预

冷的生理盐水制备成(1:9)的匀浆液,匀浆过程在冰浴中进行。

1.2.3 酶活测定 淀粉酶单位定义:在 37℃,pH 为 7.5 条件下,每分钟水解 1 μg 淀粉的酶量为 1 个酶活力单位(U/mg)。

胰蛋白酶单位定义:在 37℃ 条件下,pH 8.0,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)。

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)。

1.2.4 数据处理 用 Microsoft Excel 2003 和 SPSS 17 软件对实验数据进行统计分析,结果以平均数 ± 标准差(Mean ± SD)表示。

2 结果与分析

2.1 两种微生态制剂对鱼体内淀粉酶活性的影响

对辽宁淡水养殖池塘草鱼进行 I 制剂和 II 制剂的投喂、泼洒或混合使用后,于其主要的养殖季节 7-9 月份分别采样,测定鱼肝脏及肠道内淀粉酶活性变化,测得数据整理后成图 1 和 2。

由图 1 可见,未使用任何微生态制剂的编号为 L-1 的对照池塘内,草鱼肝脏内淀粉酶随着养殖期的增长,其活性稳步增长,由 7 月份的 100.92 U/mg 到 9 月份的 151.14 U/mg; L-3 池塘内草鱼肝脏中淀粉酶活性的大小与变化趋势与 L-1 基本一致;而 L-2 和 L-4 池塘的变化趋势相对一致,其 7 月份草鱼肝脏内的淀粉酶活性均低于 L-1 池塘,而后的 8、9 月份酶活性升高较多,特别是 8 月份涨幅程度较大,酶活性的最大值(9 月份)也高于 L-1 池塘。4 个池塘在酶活性最高的 9 月份其大小分别为: L-4(180.13 U/mg) > L-2(168.36 U/mg) > L-3(153.27 U/mg) > L-1(151.14 U/mg)。

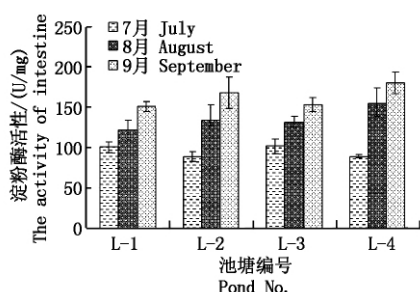


图 1 草鱼肝脏内淀粉酶活性变化

Fig. 1 The change of the amylase activities in the liver of grass carp

图 2 显示的是 7-9 月微生态制剂调解下,草鱼肠道内淀粉酶的活性变化情况。L-1 池塘内草鱼肠道内淀粉酶活性表现为 8 月份明显高于 7 月份,而 9 月份略高于 8 月份; L-3 池塘 3 个月酶活性呈缓慢稳步增长; L-2 与 L-4 池塘草鱼肠道内淀粉酶活性变换情况较相似,均为 8、9 月份明显高于 7 月份,而 8、9 月份之间差距极小,同时, L-4 所有月份测得的酶活性值均略高于 L-2 池塘。4 个池塘在酶活性最高的 9 月份其大小分别为: L-4(63.46 U/mg) > L-2(58.36 U/mg) > L-1(57.81 U/mg) > L-3(56.61 U/mg)。

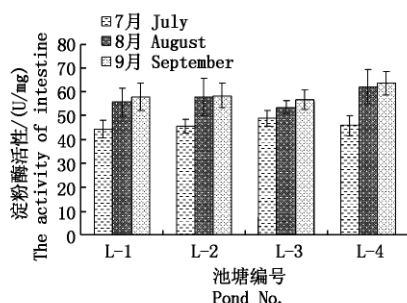


图 2 草鱼肠道内淀粉酶活性变化

Fig. 2 The change of the amylase activities in the intestine of grass carp

2.2 两种微生态制剂对鱼体内蛋白酶活性的影响
对辽宁淡水养殖池塘草鱼进行 I 制剂和 II 制剂

的投喂、泼洒或混合使用后,于其主要的养殖季节 7-9 月份分别采样,测定鱼肝脏及肠道内蛋白酶活性变化,测得数据整理后成图 3 和 4。

由图 3 可见,未使用任何微生态制剂的编号为 L-1 的对照池塘内,草鱼肝脏内蛋白酶活性 9 月份(375.47 U/mg) > 7 月份(341.00 U/mg) > 8 月份(335.94 U/mg); 其余 3 个池塘内酶活性变化趋势相同,均为随着养殖期增长逐渐增大,区别在于 L-3 池塘 3 个月之间酶活性变化较小, L-2 池塘变化略大,而 L-4 池塘 7、8 月份之间酶活性差距较大。4 个池塘在酶活性最高的 9 月份其大小分别为: L-4(393.24 U/mg) > L-2(381.05 U/mg) > L-3(376.84 U/mg) > L-1(375.47 U/mg)。

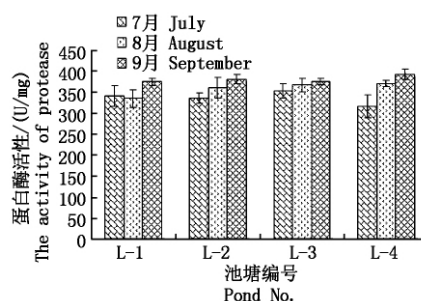


图 3 草鱼肝脏内蛋白酶活性变化

Fig. 3 The change of the protease activities in the liver of grass carp

图 4 显示的是 7-9 月微生态制剂调解下,草鱼肠道内蛋白酶的活性变化情况。L-1 池塘内草鱼肠道内淀粉酶活性表现为小幅度逐渐增高; L-2 池塘与 L-3 池塘变化趋势较一致,均为酶活性逐渐增大,且 8、9 月份明显高于 7 月份,而 8 月份与 9 月份活性值基本相同; L-4 池塘的酶活性 9 月份略高于 8 月份,而 8 月份远远高于 7 月份。4 个池塘在酶活性最高的 9 月份其大小分别为: L-4(7 229.79 U/mg) > L-2(7 043.38 U/mg) > L-1(6 081.48 U/mg) > L-3(6 048.32 U/mg)。

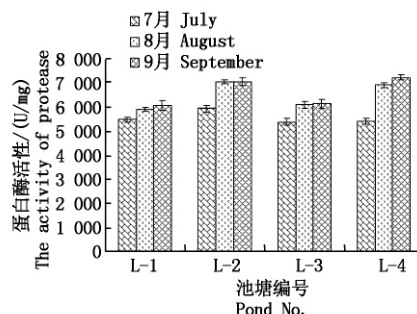


图 4 草鱼肠道内蛋白酶活性变化

Fig. 4 The change of the protease activities in the intestine of grass carp

2.3 两种微生态制剂对鱼体内脂肪酶活性的影响
对辽宁淡水养殖池塘草鱼进行 I 制剂和 II 制剂

的投喂、泼洒或混合使用后,于其主要的养殖季节 7-9 月份分别采样,测定鱼肝脏及肠道内脂肪酶活性变化,测得数据整理后成图 5 和 6。

由图 5 可见,未使用任何微生态制剂的编号为 L-1 的对照池塘内,草鱼肝脏内脂肪酶活性呈逐渐升高趋势;L-3 池塘虽然也成升高趋势,但是变化幅度较小,8、9 月份更是基本持平;L-2 和 L-4 池塘内酶活性呈逐渐升高趋势,且 9 月份略高于 8 月份,而 8 月份显著高于 7 月份。4 个池塘在酶活性最高的 9 月份其大小分别为: L-4 (37.25 U/g) > L-2 (36.31 U/g) > L-3 (33.53 U/g) > L-1 (33.37 U/g)。

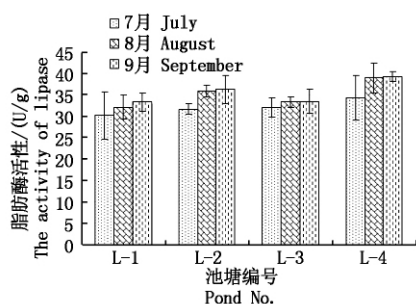


图 5 草鱼肝脏内脂肪酶活性变化

Fig. 5 The change of the lipase activities in the liver of grass carp

图 6 显示的是 7-9 月微生态制剂调解下,草鱼肠道内脂肪酶的活性变化情况。4 个池塘内草鱼肠道内脂肪酶活性变化一致,均为逐渐升高,且 8 月份略高于 7 月份,而 9 月份显著高于 8 月份活性值。4 个池塘在酶活性最高的 9 月份其大小分别为: L-4 (14.79 U/g) > L-3 (13.64 U/g) > L-2 (13.47 U/g) > L-1 (12.03 U/g)。

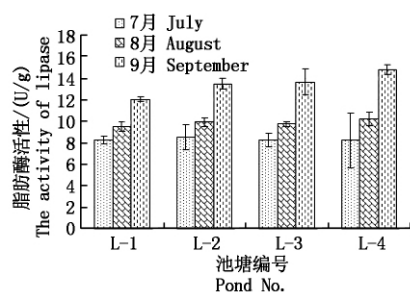


图 6 草鱼肠道内脂肪酶活性变化

Fig. 6 The change of the lipase activities in the intestine of grass carp

3 讨论

消化酶活性是反映鱼类消化生理机能的一项重要指标,其高低及分布关系到鱼类对营养物质消化吸收的能力,从而影响鱼类生长、发育乃至繁殖的速度^[14]。因此,研究微生态制剂对草鱼消化相关酶活性分布的影响,对探讨其对草鱼生长促进及繁殖发

育等方面有重要的意义。

3.1 两种微生态制剂对草鱼体内淀粉酶活性分布的影响

几乎所有的鱼类消化器官都有淀粉酶的存在,即使是肉食性的鱼类也不例外^[15]。只不过其酶活性大小和分布因鱼的种类和食性等不同存在一定的差异^[16-18]。本研究结果表明,草鱼肝脏内淀粉酶活性明显高于肠道中,这可能是与肝脏是分泌淀粉酶原的主要器官,而肠道内酶活性需要肠激活酶进一步激活才有活力有关^[19]。

通过对投喂 I 制剂、泼洒 II 制剂或混合使用 I、II 制剂的养殖池塘内草鱼肝脏及肠道内淀粉酶活性测定,并与对照池塘相应组织样品内酶活性比较研究表明: I 号微生态制剂的混饲投喂在初始的第一个月份(7 月)促使酶活性略低于对照池塘,而后期的 8、9 月份均有一定促进提高的作用;而 II 制剂的泼洒对鱼体内酶活性的提高无明显效果,基本与对照池塘内相同;在 I 和 II 制剂混合使用池塘效果最好,肝脏及肠道内酶活性均有较大提高,明显高于对照池塘内相应组织酶活性,且肠道内淀粉酶活性在 8、9 月份差值不大。这样的结果说明,两种微生态制剂混合使用一段时间后,酶活性趋于稳定,并能持续维持在一个较高的水平上。

鱼体内淀粉酶活性的提高,能促进其对碳水化合物消化能力,提高对此类食物的吸收转化、利用率,极大的减小饵料系数。尽早促进鱼体内淀粉酶活性提升并最终维持在一个较高的水平上,对鱼生长发育有较好的促进作用,并对鱼体快速健康生长有重要意义。

3.2 两种微生态制剂对草鱼体内蛋白酶活性分布的影响

辽宁淡水养殖池塘草鱼肝脏及肠道内蛋白酶测定结果表明,其肠道内蛋白酶活性远远高于肝脏内,这可能是由于肝脏分泌蛋白酶原的蛋白酶活性较低,而草鱼肠道是其蛋白质消化吸收的主要组织并含有大量肠激酶,因此酶活性大幅度提升。

通过对投喂 I 制剂、泼洒 II 制剂或混合使用 I、II 制剂的养殖池塘内草鱼肝脏及肠道内蛋白酶活性测定,并与对照池塘相应组织样品内酶活性比较研究表明: 微生态制剂的使用对肝脏内蛋白酶活性的影响不大,虽然也有一定提高,但是幅度较小。而其对肠道内蛋白酶活性则影响较大,与微生态制剂对淀粉酶活性提升趋势相同,同样为 II 制剂的泼洒对鱼体内酶活性的提高无明显效果,基本与对照池塘内相同;而在 I 制剂混饲投喂和 I/II 制剂混合使用

池塘效果较好好,肠道内酶活性均有较大提高,明显高于对照池塘内相应组织酶活性,且混合使用池塘在9月份酶活性又有小幅度提升,导致其略高于I制剂使用的池塘。这样的结果说明,两种微生态制剂混合使用一段时间后,酶活性趋于稳定,并能持续维持在一个较高的水平上。

鱼体内蛋白酶活性的提高并最终维持在一个较高的水平上,能有效提高鱼对蛋白性食物的吸收转化和利用率,对鱼快速生长有重要意义。

3.3 两种微生态制剂对草鱼体内脂肪酶活性分布的影响

关于鱼体内脂肪酶活性分布的报道较多,有报道指出,草鱼和鲤的肝胰脏脂肪酶活性明显比肠的高,这与本研究所得的数据相符。

通过对投喂I制剂、泼洒II制剂或混合使用I、II制剂的养殖池塘内草鱼肝脏及肠道内蛋白酶活性测定,并与对照池塘相应组织样品内酶活性比较研究表明:两种微生态制剂的使用对草鱼肝脏及肠道内脂肪酶活性均有较好的促进作用,能有效提高其酶活性。而肝脏内酶活性的提高较小,肠道内较大,特别是在使用一段时间后,9月份酶活性的提升尤为明显,而效果最好的依然是I/II制剂混合使用的池塘。且肝脏内酶活性在8、9月份进入了稳定持续期,而肠道内仍呈现高增长趋势,推测随着微生态制剂的使用,也许其内酶活性还有提升的可能和空间。

综上所述,试验选取的两种不同主要成分,不同投喂方式,不同作用的微生态制剂对池塘养殖草鱼肝脏及肠道中消化相关淀粉酶、蛋白酶及脂肪酶活性均有一定促进增强作用。其中,混饲投喂的以枯草芽孢杆菌为主要成分的制剂I较泼洒用混合菌的制剂II对消化酶活性影响更明显,不过,效果最好的还是投喂与泼洒混合进行。结果证明通过微生态制剂对池塘养殖草鱼体内消化相关酶的促进及其养殖水质的调节,对草鱼健康快速生长有较好的促进作用。

参考文献:

- [1] Corre Jr V L, Janeo R, Caipang C M, et al. Use of probiotics and reservoirs with "green water" and other tips for a successful shrimp culture [J]. Aquac Asia, 2000, 34: 38.
- [2] Gatesoupe F J. The use of probiotics in aquaculture [J]. Aquaculture, 1999, 180(1-2): 147-165.
- [3] Rantala M, Nurmi E. Prevention of the growth of *Salmonella infantis* in chicks by the flora of the alimentary tract of chickens [J]. Br Poult Sci, 1973, 14(6): 627-30.
- [4] 蒲红宇, 胡兆群, 王福强. 微生态制剂及其在水产养殖中的应用研究现状 [J]. 海洋水产研究, 2003, 24(4): 80-83.
- [5] 何清明. 动物微生物学 [M]. 北京: 农业出版社, 1994.
- [6] 胡东兴, 潘康成. 微生态制剂及其作用机制 [J]. 中国饲料, 2001, 3: 14-17.
- [7] 孙德文, 詹勇, 许梓荣. 微生态制剂在水产养殖中的应用 [J]. 淡水渔业, 2002, 32(3): 54-57.
- [8] 侯颖, 孙军德. 微生态制剂在水产养殖中的作用 [J]. 微生物学杂志, 2004, 24(4): 49-52.
- [9] 张进荣, 李飞, 田军德, 等. 微生态制剂促进生长机理及其在畜牧生产上的应用 [J]. 畜牧兽医杂志, 2009, 28(6): 21-23.
- [10] 石峰, 王涛, 牛钟相. 乳酸菌微生态制剂对肉鸡生产性能及免疫机能的影响 [J]. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2011, 42(1): 79-83.
- [11] 张锦华, 倪学勤, 何后军, 等. 不同微生态制剂对鲤鱼促生长和肠道菌群的影响 [C]. 中国畜牧兽医学会动物微生物学会分会第三届第七次学术研讨会论文集, 2004: 147-149.
- [12] 温俊. 符合益生菌与酵母培养物对牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 生长、免疫及抗病力的影响 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007.
- [13] 付天玺, 许国焕, 吴月嫦, 等. 凝结芽孢杆菌对奥尼罗非鱼消化酶活性、消化率及生长性能的影响 [J]. 淡水渔业, 2008, 38(4): 30-35.
- [14] 高春生, 肖传斌, 王艳玲, 等. 淇河鲫与普通鲫鱼消化酶活性研究 [J]. 广东农业科学, 2006, 4: 72-74.
- [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.
- [16] 吴婷婷, 朱晓鸣. 鳊鱼、青鱼、草鱼、鲤、鲫、鲢消化酶活性的研究 [J]. 中国水产科学, 1994, 1(2): 10-17.
- [16] 周景祥, 陈勇, 黄权, 等. 鱼类消化酶的活性及环境条件的影响 [J]. 北华大学学报, 2001, 2(1): 70-73.
- [17] 倪寿文, 桂远明, 刘焕亮. 草鱼、鲤、鲢、鳙和尼罗罗非鱼淀粉酶活性的比较研究 [J]. 大连水产学院学报, 1992, 7(1): 24-31.
- [18] 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.
- [19] 倪寿文, 桂远明, 刘焕亮. 草鱼、鲤、鲢、鳙和尼罗罗非鱼淀粉酶活性的比较研究 [J]. 大连水产学院学报, 1992, 7(1): 24-31.