

不同养殖模式下尼罗罗非鱼消化酶活性的比较

林建升, 张秋平, 李文笙*

(中山大学生命科学学院, 有害生物控制与资源利用国家重点实验室,
广东省水生经济动物良种繁育重点实验室, 广东 广州 510275)

摘要: 以广东省3种较常见的罗非鱼养殖模式作为实验对象, 开展养殖模式对尼罗罗非鱼消化酶活性影响的研究, 旨在阐明养殖模式中水温、饲料成分等因素对消化酶活性的影响。实验中养殖模式分别为传统养殖模式(M1), 一年两造养殖模式(M2), 鱼虾混养养殖模式(M3)。养殖中定期进行水质测定, 4次取样并运用生化法测定消化酶活性。3种模式酶活性比较结果发现, M2的胃总蛋白酶活性最高, M1肠总蛋白酶活性最高; 3种养殖模式总蛋白酶活性趋势都是肠总蛋白酶 > 胃总蛋白酶 > 肝胰脏总蛋白酶。M2的肠总脂肪酶、肠总淀粉酶、肝胰脏总脂肪酶活性和肝胰脏总淀粉酶活性总体高于其他两种模式, 同时, 饲料系数总体低于其他两种模式。研究表明, 罗非鱼不同脏器的蛋白消化能力不同, 以肠道最强; 3种养殖模式总体蛋白消化酶活性无显著性差异; M2对脂肪及淀粉的消化能力较强, 可减少尼罗罗非鱼对蛋白的需求量, 降低饲料系数, 从而降低饲料成本达到增收的目的。

关键词: 尼罗罗非鱼; 养殖模式; 蛋白酶; 脂肪酶; 淀粉酶; 饲料成分

中图分类号: S 965

文献标志码: A

尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)因其适应性广、抗病力强、饵料要求低和繁殖快等优点成为世界性的主要养殖鱼类。消化酶是消化系统分泌的具有催化食物分解的一类酶, 它的催化作用易受外界环境因素的影响。影响鱼类消化酶活性的环境因素有很多, 在不同的养殖模式下由于养殖地域环境的差别及其养殖管理的不同, 其综合结果导致罗非鱼的日增重率以及饲料系数产生较大的差别。黎军胜^[1]、田宏杰^[2]等研究表明, 饲养水温的变化对消化酶活性具有显著的影响, 在一定温度范围内, 鱼类消化酶活性随环境温度的升高而升高。饵料是引起消化酶变化的另一个重要因素, 它不仅影响消化酶活性、种类、分布, 而且还影响酶的分泌, 鱼类能适应不同的饲料而调整消化酶的分泌。黄金凤等^[3]研究表明, 饲料中蛋白质含量不同会影响到各消化酶的活性, 同一水温下, 随饲料蛋白质水平的升高, 肠道蛋白酶、淀

粉酶和脂肪酶活性均呈现先升高后降低的变化趋势。高攀等^[4]研究表明, 饲料中脂肪含量的不同会影响到各消化酶的活性, 肠道和肝胰脏淀粉酶活性在饲料蛋白含量相同的情况下, 随着脂肪含量的升高呈现显著的下降趋势, 淀粉酶活性较稳定; 肠道和肝胰脏的脂肪酶活性随着脂肪含量的升高呈显著上升的趋势。消化酶活性的强弱直接影响到鱼类对于营养物质的消化吸收, 进而影响鱼体生长发育。在众多的研究中, 开展养殖模式对鱼类生长相关生理生化检测的研究较少, 因此开展类似的研究具有一定的意义。目前广东省较为常见的养殖模式主要有传统养殖模式, 一年两造养殖模式及鱼虾混养养殖模式。传统养殖模式即禽畜鱼立体养殖模式, 一年两造养殖模式是基于池塘精养罗非鱼养殖模式的进一步优化改造形成的, 在一年中可以养殖两次罗非鱼, 全程投喂颗粒或膨化饲料, 养殖效率高, 但养殖成本也相对较

收稿日期: 2014-08-15 修回日期: 2014-11-06

资助项目: 现代农业产业技术体系专项(CARS-49); 国家自然科学基金(31272639)

通信作者: 李文笙, E-mail: lsslws@mail.sysu.edu.cn

高。鱼虾混养模式,即将虾类如凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 同罗非鱼混养在一起,全程投喂饲料,是合理利用生态效益的高盈利罗非鱼养殖模式。通过检测3种养殖模式下罗非鱼消化酶活性,并结合罗非鱼生长情况,为提高饲料转化率,降低饲料成本,特别是能够为实际生产中各类养殖模式的选择提供科学的依据。

1 材料与方法

1.1 养殖环境与管理

实验对象均为尼罗罗非鱼。3种养殖模式选取的地点较为典型,分别为广州市番禺区的传统养殖模式(以下简称M1),广州市花都区的一年两造养殖模式(以下简称M2),和珠海市平沙镇的鱼虾混养养殖模式(以下简称M3)。实验用鱼

直接取自养殖池塘中,实验进行4个月,每两周进行水质测定,每个月进行1次取材,共4次。3种养殖模式投喂不同品牌的商品化饲料(表1)。

M1选取的3口鱼塘坐落于番禺郊区,是典型的畜禽鱼立体养殖模式。3口塘平均占地面积6667 m²,池塘平均水深1.7 m,无人工水源,水源主要来自雨水以及可能的地下水;无排水口,池塘边缘未用水泥加固,一年四季均有水,不进行干塘处理。池塘岸边绿色植物较多,塘边建有养猪棚、鸡舍,并在池塘边缘圈养鸭子,猪产生的粪便排入鱼塘。每口塘配备一台增氧机,一台自动投饵机。M1养殖初期主要靠畜禽粪便肥塘养鱼,同时辅助投喂自制的花生麸(每天8:00,16:00投喂)。一个月左右开始投喂商品化饲料,保持8:00,16:00用自动投料机投喂,记录每日投喂量。

表1 三种罗非鱼养殖模式的商业饲料营养组成

养殖模式 farming mode	营养组成 nutritional composition					%
	粗蛋白 crude protein	粗脂肪 crude fat	粗纤维 crude fiber	粗灰分 crude ash	水分 water	
传统养殖模式 traditional farming	≥28	≥3	≤8	≤18	≤12	≥1.3
一年两造养殖模式 twice harvest a year	≥30	≥5	≤10	≤20	≤12	≥1.4
鱼虾混养养殖模式 polyculture farming	≥28	≥3	≤10	≤15	≤12.5	≥1.3

M2为池塘精养,选取的3口塘坐落于花都炭步,周围环境好,绿化面积大,无工厂。3口塘平均占地面积5000 m²,池塘平均水深2.0 m。周围均为养殖区,有小河流,具有充裕的水源。这3口塘处于一个良好的水流循环系统中。进水口开口于河流,设净化系统和滤网。专门建造了独立的出水口水渠,进行后续的养殖污水处理。每口塘配备一台增氧机,一台自动投饵机。养殖全程投喂商品化饲料,一天投喂2次,09:00,16:00自动投料,记录每日投喂量。

M3为罗非鱼混养凡纳滨对虾,选取的3口塘坐落于靠近海边的珠海平沙镇,总体养殖水质偏碱性,盐度4左右,周围均为养殖区。3口塘平均占地面积为4467 m²,池塘平均水深1.7 m。具有充足的水源,定期从外侧河流泵送水,经过滤网后进入池塘。每口塘配备一台增氧机,一台自动投饵机。5月份第一批虾苗先于罗非鱼入塘,投喂对虾饲料;罗非鱼下塘后,投喂商品化罗非鱼饲料,不再投喂虾料。每天08:00,16:00用自动投料机投喂,记录每日总投喂量。

1.2 实验用鱼与取样

实验用鱼直接取于池塘。共设置4次取样,取样时间为从投放标粗苗一个月后开始到成品鱼上市共4个月时间。

上午取样前罗非鱼正常投喂,待投喂后2 h,每个模式平行各3口塘,每口塘撒网随机捕捞12尾罗非鱼,共36条鱼。对罗非鱼进行了分组编号、称重、测量体长背高;断头处死罗非鱼,在冰上迅速分离出胃、肠和肝胰脏,清除胃、肠内容物,剔除脂肪和结缔组织,用4℃蒸馏水冲洗,滤纸吸干水分后分别称重,并装入已标记的管中,迅速放入干冰中。尽快将样品带回实验室,将样品从干冰中转移到-80℃冰箱冷冻保存。

1.3 酶液制备与消化酶活性测定

从-80℃冰箱中取出样品,再分别加20倍样品重量的4℃蒸馏水,冰浴条件下匀浆,匀浆液在4℃冰箱中静置1 h后,在4℃10000×g离心10 min,上清液置于4℃冰箱保存,用于酶活性测定,24 h内测定完毕。

蛋白酶活性测定 采用福林酚试剂法^[5],加

以改动;取 100 μL 酶液加入到 500 μL 已在 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴预热 5 min 的 0.65% 酪蛋白溶液(测定胃总蛋白酶所用酪蛋白溶液用 pH 2.2 的磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液配制;测定肠、肝胰脏总蛋白酶所用酪蛋白溶液用 50 mmol/L, pH 7.5 的磷酸钾缓冲液),37 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴涡旋反应 10 min 后加入 500 μL , 110 mmol/L 的三氯乙酸终止反应,继续在 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴涡旋反应 30 min,离心去除沉淀,再取上述反应液 100 μL ,再分别加入 500 μL 碳酸钠,100 μL 福林试剂,37 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴中显色 10 min,在波长 660 nm 处读 OD 值。酶活性定义:1 g 组织样品在上述测定条件下,蛋白酶每分钟水解 0.65% 酪蛋白产生 1 μmol 酪氨酸定义为 1 个酶活性单位(U)。

淀粉酶活性测定 采用 DNS 法,稍改动;向管中加入 200 μL 2% 淀粉(用 pH 7.6 柠檬酸-磷酸缓冲液配制),200 μL pH 7.6 柠檬酸-磷酸缓冲液,再加入 100 μL 酶液,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴 5 min,再加入 1.5 mL DNS 试剂煮沸 5 min,流水冷却;在 540 nm 处读取 OD 值。酶活性定义:1 g 组织样品在上述测定条件下,淀粉酶每分钟水解 2% 淀粉产生 1 μmol 麦芽糖定义为 1 个酶活性单位(U)。

脂肪酶活性测定 采用对硝基苯酚法^[6],

稍改动;往管中加入 135 μL 用异丙醇溶解的 16.5 mmol/L 对硝基苯酚棕榈酸酯(p-NPP), 1.215 mL 混合液(pH 8.0, 50 mmol/L Tris-HCl Buffer, 0.4% (w/v) Triton-X-100, 0.1% (w/v) 阿拉伯胶),在 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴孵育 5 min,再加入 150 μL 粗酶液,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 5 min,加入 500 μL 冰预冷的丙酮:乙醇(1:1),4 $^{\circ}\text{C}$, 12 000 $\times g$ 离心去除沉淀;测 405 nm 处吸光值;酶活性定义:1 g 组织样品在上述测定条件下,脂肪酶每分钟水解 p-NPP 产生 1 μmol 对硝基苯酚(p-NP)定义为 1 个酶活性单位(U)。

1.4 数据统计与分析

测定及实验所得各项数据均借助 SPSS 17.0 进行统计分析,所有数据用 mean \pm SE 来表示。各养殖模式消化酶活性大小用 One-Way ANOVA 分析,以 Duncan 检验显著性差异,当 $P < 0.05$ 认为差异显著($\alpha = 0.05$)。

2 结果

2.1 水质参数及饲料系数

测定影响消化酶活性的 pH 值和水温,计算养殖过程鱼的饲料系数(表 2)。

表 2 养殖水质参数以及养殖生长指标

Tab. 2 Water quality parameters and growth indicators of aquaculture farming

	养殖模式 farming mode	养殖月数/月 breeding month			
		1	2	3	4
pH 值 pH value	M1	6.92 \pm 0.25 ^a	7.42 \pm 0.23 ^a	7.23 \pm 0.10 ^a	7.27 \pm 0.09 ^a
	M2	7.15 \pm 0.08 ^a	7.20 \pm 0.05 ^a	7.25 \pm 0.03 ^a	7.20 \pm 0.05 ^a
	M3	8.07 \pm 0.04 ^b	8.03 \pm 0.03 ^b	8.03 \pm 0.02 ^b	8.07 \pm 0.07 ^b
水温/ $^{\circ}\text{C}$ water temperature	M1	24.4 \pm 0.2 ^a	26.9 \pm 0.3 ^a	28.5 \pm 0.1 ^a	30.0 \pm 0.2 ^a
	M2	23.1 \pm 0.4 ^b	26.3 \pm 0.4 ^a	29.4 \pm 0.2 ^b	30.1 \pm 0.3 ^a
	M3	28.4 \pm 0.4 ^c	30.5 \pm 0.3 ^b	29.9 \pm 0.3 ^b	30.2 \pm 0.2 ^a
平均体质量/g average weight	M1	124.6 \pm 6.0 ^a	202.8 \pm 11.0 ^a	315.6 \pm 16.7 ^a	414.2 \pm 17.9 ^a
	M2	124.0 \pm 8.8 ^a	238.0 \pm 13.8 ^a	358.6 \pm 21.0 ^a	499.9 \pm 33.9 ^b
	M3	52.6 \pm 2.3 ^b	157.0 \pm 10.6 ^b	409.3 \pm 14.4 ^b	657.5 \pm 29.1 ^c
饲料系数 feed coefficient	M1		2.37 \pm 0.09 ^a	2.25 \pm 0.13 ^a	2.64 \pm 0.17 ^a
	M2		1.64 \pm 0.11 ^b	1.56 \pm 0.15 ^b	1.57 \pm 0.24 ^b
	M3		1.84 \pm 0.09 ^c	1.44 \pm 0.11 ^c	1.90 \pm 0.21 ^c

注:同列数值后不同上标字母表示差异显著($P < 0.05$)

Notes: The same row with different superscripts show significant difference($P < 0.05$)

M3 养殖水体的 pH 偏碱性,稳定在 8.0 附近,显著性高于 M1 和 M2。M1 的养殖水体初期 pH 变化幅度稍大,总体维持在 7.0 ~ 7.4。M2 水体 pH 变化幅度小,总体维持 7.2 附近。

养殖的第 1 个月, M3 的养殖水温 28.4 $^{\circ}\text{C}$ 显著大于 M1 和 M2 养殖水温($P < 0.05$), M1 水温(24.4 $^{\circ}\text{C}$)显著大于 M2 水温(23.1 $^{\circ}\text{C}$) ($P < 0.05$)。第 2 个月时, M3 的养殖水温超过 30 $^{\circ}\text{C}$

达到4个月中最大值,显著大于M1和M2($P < 0.05$);与M1相比,M2水温稍低,但无明显差异($P > 0.05$)。第3个月,M1水温最低;M3水温稍降,仍然接近30℃,显著高于M1($P < 0.05$);M2水温上升11.8%,显著高于M1水温($P < 0.05$)。第4个月,3种模式的养殖平均水温均达到了30℃,无显著性差异($P > 0.05$)。结果表明,M3养殖全程平均水温均在28℃以上,从第2个月到第4个月,水温都在30℃左右;且第1和第2个月的水温显著性高于M1和M2($P < 0.05$)。M1和M2养殖前2个月水温在28℃以下,第3和第4个月水温28℃以上。

从饲料转化率来看,M1的饲料系数均显著高于M2和M3($P < 0.05$),其饲料转化率最低;M2的第2个月和第4个月的饲料系数均显著低于M1和M3($P < 0.05$),M3的饲料系数在第3个月时显著低于M2($P < 0.05$)。结果表明,M2总体维持了较高的饲料转化率。

2.2 养殖模式对罗非鱼蛋白酶活性的影响

养殖的第1个月,胃总蛋白酶活性大小依次为M2 > M3 > M1,并且具有显著性差异($P < 0.05$);第2和第3个月M2,M3的胃总蛋白酶活性均显著性大于M1($P < 0.05$),M2和M3之间大小无显著性差异($P > 0.05$);到达第4个月时,3种模式的胃总蛋白酶活性大小无显著性差异($P > 0.05$)。从模式内变化趋势上看,M1的胃总蛋白酶活性大小基本维持稳定,变化不大;M2从第1个月的最大值迅速下降到一个较为稳定的水平,第4个月达到最小值。M3的变化趋势呈现一个波浪型,第1和第3个月较高,而第2和第4个月较低(图1)。

养殖全程第1~4个月M1的肠总蛋白酶活性始终最大,并且对M2均具有显著性差异($P < 0.05$),第1个月显著性大于M3($P < 0.05$);M3的肠总蛋白酶活性仅在第4个月显著大于M2($P < 0.05$),其他时间二者不具有显著性差异($P > 0.05$)(图2)。从模式内比较发现,M1的肠总蛋白酶活性呈现逐渐下降的趋势,第4个月的时候达到最小值;M2在前3个月的肠总蛋白酶活性基本维持稳定,但同样在第4个月的时候迅速下降到最小值;M3呈现先上升后下降的趋势,第4个月的酶活性与第1个月相当。

第1个月和第4个月M3的罗非鱼肝胰脏总

蛋白酶活性均大于M1和M2($P < 0.05$)。但是第2个月和第3个月罗非鱼肝胰脏总蛋白酶活性大小为M2 > M1 > M3,具显著性差异($P < 0.05$)。M2活力始终大于M1,除了第1个月外,其他月份均具有显著性差异($P < 0.05$)(图3)。从模式内部比较发现,M1和M2的酶活性变化类似,从第1个月到第3个月呈现上升的趋势,到第4个月下降到最低值;M3的酶活性从第1个月的最高值到第3个月之间逐渐下降,到第4个月恢复到第2个月的水平。

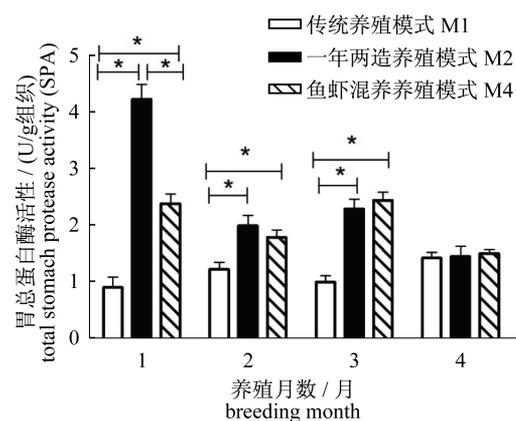


图1 3种养殖模式罗非鱼胃总蛋白酶活性比较
柱状图数值以平均值±标准误表示($n=3$),数据之间具有显著性差异用“*”表示($P < 0.05$)。以下注释同此

Fig. 1 Comparison of total stomach protease activity of tilapia among three farming modes

The data of histogram are presented as means ± SE ($n=3$), the “*” indicates significant difference between the data. The same as the following

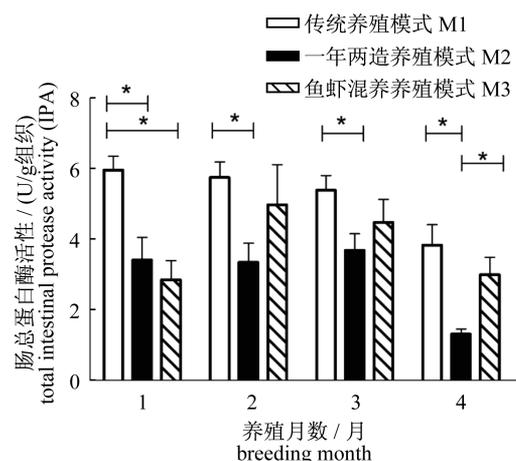


图2 3种养殖模式罗非鱼肠总蛋白酶活性比较
Fig. 2 Comparison of total intestinal protease activity of tilapia among three farming modes

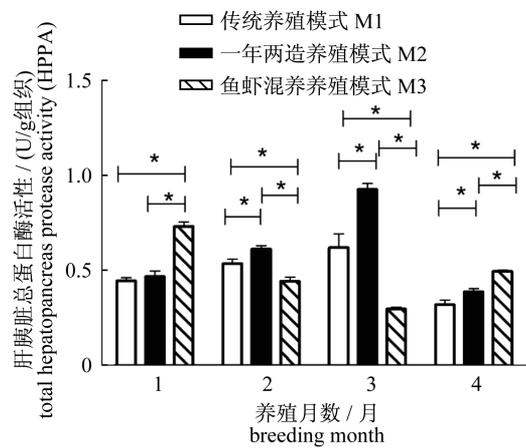


图3 3种养殖模式罗非鱼肝胰脏总蛋白酶活性比较

Fig.3 Comparison of total hepatopancreas protease activity of tilapia among three farming modes

2.3 养殖模式对罗非鱼脂肪酶活性的影响

养殖的第1个月, M3的肠总脂肪酶活性最高, 显著性大于M1和M2 ($P < 0.05$); 第2个月时, 3种模式的酶活性相对第1个月都上升了, 但之间没有显著性差异 ($P > 0.05$); 第3个月时, M1和M3的酶活性相对第2个月下降了, M3下降最多, 而M2的酶活性反而上升, 因此, 3种模式酶活性大小依次为 $M2 > M1 > M3$, 并具有显著性差异 ($P < 0.05$); 第4个月M2的肠总脂肪酶活性进一步上升, 而M1和M3维持在原来水平, 酶活性大小排序与第3个月一样(图4)。模式内变化趋势是, M1和M3的肠总脂肪酶活性在第2个月达到最大, 接着不断下降; 而M2肠总脂肪酶活性呈现不断增大的趋势。

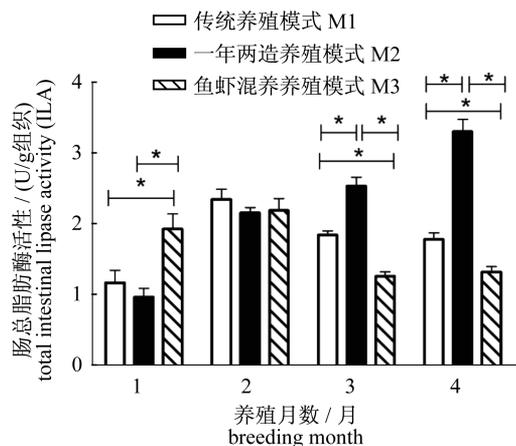


图4 3种养殖模式罗非鱼肠总脂肪酶活性比较

Fig.4 Comparison of total intestinal lipase activity of tilapia among three farming modes

养殖的第1个月, M2的肝胰脏总脂肪酶活性显著低于M1和M3 ($P < 0.05$); 第2个月, M2的酶活性比第1个月升高, 而M3的酶活性反而下降了, M2酶活性显著大于M3 ($P < 0.05$); 第3个月, M2的酶活性基本不变, M3相对第2个月上升, 而M1相对第2个月下降了, M3的酶活性显著性大于M1 ($P < 0.05$); 第4个月, M1和M2的酶活性都有升高, 而M3的酶活性反而降低, 因此, M1和M2的酶活性显著大于M3 ($P < 0.05$), M1和M2之间无显著性差异 ($P > 0.05$)。模式内变化趋势是, M1和M3肝胰脏总脂肪酶活性呈现波浪线交替上升与降低的趋势, 而M2肝胰脏总脂肪酶活性呈现不断增加的趋势(图5)。

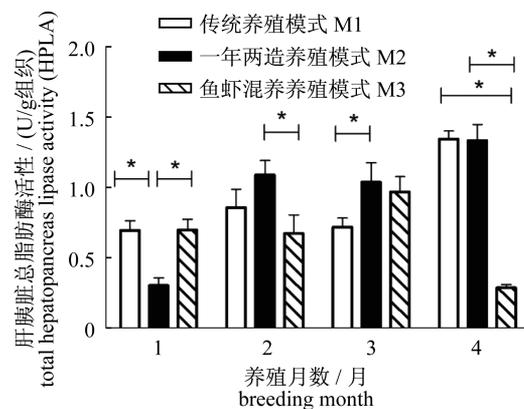


图5 3种养殖模式罗非鱼肝胰脏总脂肪酶活性比较

Fig.5 Comparison of total hepatopancreas lipase activity of tilapia among three farming modes

2.4 养殖模式对罗非鱼淀粉酶活性的影响

M2在第1个月到第3个月间的肠总淀粉酶活性最大, 在第1个月时显著性大于M1和M3 ($P < 0.05$), 第3个月时显著性大于M3 ($P < 0.05$); 第4个月, M2的酶活性下降, 而M1和M3酶活性升高, M2的酶活性显著低于M1和M3 ($P < 0.05$)。模式内变化趋势是, M1和M3肠总淀粉酶活性在前三个月变化不大, 而在第4个月时达到最大值; M2的肠总淀粉酶活性在前三个月基本不变, 而在第4个月时降到最低值(图6)。

养殖的第1个月, M1和M2肝胰脏总淀粉酶活性相近, 且显著性大于M3 ($P < 0.05$); 第2个月, M1和M3的酶活性相对第1个月升高, M1的酶活性显著大于M2和M3 ($P < 0.05$), M2和M3之间无显著性差异 ($P > 0.05$); 第3个月和第4个月的情况类似, M1和M2酶活性相近, 同时显

著大于 M3 的酶活性 ($P < 0.05$); 总体 M1 和 M2 肝胰脏总淀粉酶活性显著大于 M3 ($P < 0.05$), 而二者之间仅在第 2 个月有显著性差异 ($P < 0.05$)。模式内变化趋势是, M1 和 M3 肝胰脏总淀粉酶活性呈现交替上升或下降的变化趋势, 在第 4 个月时达到最大值; M2 肝胰脏总淀粉酶活性呈现不断上升的变化趋势, 在第 4 个月时达到最大值 (图 7)。

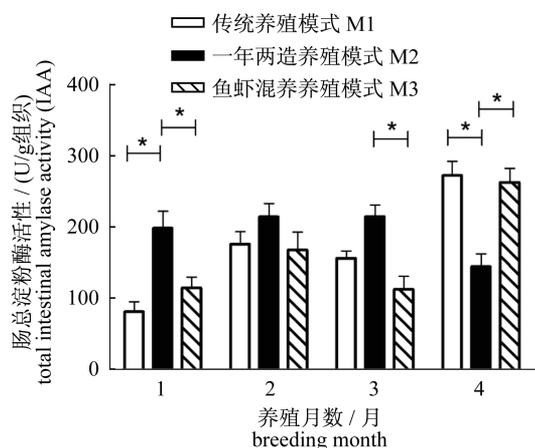


图 6 3 种养殖模式罗非鱼肠总淀粉酶活性比较
Fig. 6 Comparison of total intestinal amylase activity of tilapia among three farming modes

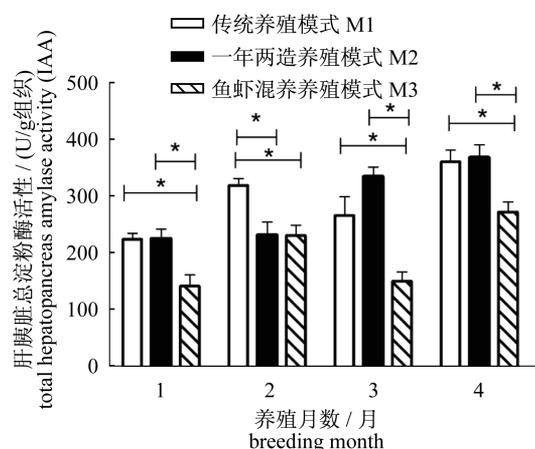


图 7 3 种养殖模式罗非鱼肝胰脏总淀粉酶活性比较
Fig. 7 Comparison of total hepatopancreas amylase activity of tilapia among three farming modes

3 讨论

不同养殖模式的消化酶活性存在明显的差异, 同一养殖模式, 不同月份的消化酶活性也发生变化, 结合以往的研究发现, 养殖模式消化酶活性不同主要受到水环境温度以及饲料中各营养物质

水平的影响。

从结果中可以看出, M3 的水温普遍高于其他两种模式, 而 M3 胃总蛋白酶活性基本上高于其他两种模式; 特别是每个月都高于 M1, 前三个月达到显著性差异 (前三个月比 M3 的水温分别低 4.0 °C、3.6 °C、1.4 °C)。3 种模式的肠总蛋白酶活性在 26 °C 之后均呈逐渐下降的趋势, 而 M1 的肠总蛋白酶活性始终高于其他模式并且其水温均低于其他模式, 这说明罗非鱼肠总蛋白酶活性在 26 °C 后随温度升高而降低, M1 养殖模式有利于尼罗罗非鱼蛋白在肠道中降解。黄金凤等^[3]对松浦镜鲤 (*Songpu mirror carp*) 的研究发现, 不同水温 (18、23、28 °C) 对鱼肠道蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性均有显著或极显著影响。叶继丹等^[7]对杂交鲟 (*Huso huso* × *Acipenser ruthenus*) 胃中消化酶的研究发现, 在 20 ~ 40 °C 范围内, 蛋白酶活性随温度的升高而增加, 淀粉酶、脂肪酶分别在 35 °C 和 25 °C 处达最大酶活性。本研究中肝胰脏总蛋白酶活性最大值时的水温在 28.4 ~ 29.4 °C, 肝胰脏总淀粉酶活性最大值时的水温也达到 4 个月中的最高值 (30 °C)。方之平等^[8]研究了彭泽鲫 (*Carassius auratus Pengze*) 的蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶活性, 3 种酶的最适温度依次为 35、30、25 °C。Hofer 等^[9]研究了拟鲤 (*Myxobolus rutilus*)、红眼鱼 (*Scardinius erythrophthalmus*) 的蛋白酶、淀粉酶的季节变化, 发现季节变化的主要原因是由环境温度和天然饵料组成的不同造成的。

养殖模式中饲料投喂作为一个重要因素对消化酶水平有影响, 其中, 饲料中蛋白水平对消化酶影响较大。徐奇友等^[10]认为, 饲料蛋白质水平对肠蛋白酶以及前肠淀粉酶活性有显著或极显著影响; 同一水温下, 随饲料蛋白质水平的升高, 肠道蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性均呈现先升高后降低的变化趋势; 同一饲料蛋白质水平下, 肠道蛋白酶和淀粉酶活性随水温升高而升高, 而脂肪酶活性则随水温的升高而降低。在本研究中, M2 的 30% 粗蛋白水平大于其他两种模式 28% 粗蛋白水平, 且一年两造模式的淀粉酶活性、脂肪酶活性多数月份高于其他两种模式, 说明 30% 粗蛋白水平提高罗非鱼淀粉酶和脂肪酶活性; 同时本研究结果表明, 同一饲料蛋白质水平下, 模式内随着水温的升高, 肠道总蛋白酶活性逐渐降低, 淀粉酶活

性总体上升的趋势,肝胰脏总脂肪酶总体升高,一年两造模式肠总脂肪酶活性升高而其他两种模式肠总脂肪酶活性下降。

胡国成等^[11]对吉富罗非鱼(*GIFT Oreochromis niloticus*)的幼鱼实验表明,饲料蛋白质含量从23.1%上升到47.9%,组间平均日增重增加,饲料系数下降,都具有显著性差异。黎军胜等^[1]对奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)消化酶的研究表明,饵料蛋白质水平在20%、30%、40%时,肝胰脏和肠道蛋白酶活性变化差异不显著;胃蛋白酶活性随着饵料蛋白水平上升反而降低了22.2%和26.0%,并具有显著差异。本研究中M2的30%粗蛋白水平高于其他两种模式的28%粗蛋白水平,但M2胃总蛋白酶活性仅在第1和第2个月大于其他模式,因此,三者胃总蛋白酶活性大小与粗蛋白水平没有明显相关性,粗蛋白水平的微量变化对胃总蛋白酶活性影响不显著,而对胃总蛋白酶活性影响最大的应该是水温变化。高攀等^[4]对草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)幼鱼消化酶的研究结果显示,肠道蛋白酶的活性随着饲料蛋白含量的升高而显著升高,饲料蛋白水平为20%~30%时,饲料中的脂肪水平对蛋白酶活性影响不显著。邵庆均等^[12]对宝石鲈(*Scortum bacoo*)的研究指出,随着饲料蛋白水平的增加,饲料转化效率不断提高,但差异不显著。随着蛋白水平的上升,胃蛋白酶和肠蛋白酶的活性增加。饲料蛋白水平对胃和肠道中的脂肪酶和淀粉酶活性的影响均不显著。李贵峰等^[13]对建鲤(*Cyprinus carpio* var. *jian*)幼鱼消化酶研究发现,建鲤幼鱼肠道蛋白酶活性随饲料蛋白质水平的升高显著升高,而脂肪酶和淀粉酶活性受饲料组成的影响则不显著。强俊等^[14]对奥尼罗非鱼仔、稚鱼的研究表明,胃蛋白酶和胰蛋白酶活性随盐度升高而降低,均在盐度0时活力最高,盐度10时最低;脂肪酶和淀粉酶活性在盐度4时达到最高,盐度10时最低。

本实验结果表明,M2对淀粉和脂肪类的消化能力较强同时其饲料系数也较低,这反映了消化酶活性与饲料系数的呈负相关的关系。在对蛋白利用能力相当的情况下,对淀粉和脂肪类消化能力的增强在很大程度上提高了罗非鱼对糖类以及脂类的利用能力,从而将更多的摄入蛋白转移到鱼体的合成代谢中。张加润等^[15]研究了6种

不同品牌饲料对斑节对虾(*Penaeus monodon*)生长的影响发现,斑节对虾对饲料中的蛋白质和脂肪的表观消化率较高的组别,对虾生长也较好。王爱民等^[16]在吉富罗非鱼的研究中发现,饲料脂肪水平增加显著提高了粗脂肪和磷的表观消化率。本研究中,M2的饲料成分中粗脂肪的含量为5%,大于含量为3%的其他两种模式,M2的肠总脂肪酶和肝胰脏总脂肪酶活性均大于其他两种模式。M2脂肪酶活性大于其他两种模式结果说明,提高饲料中粗脂肪含量能够提高脂肪酶活性,同时降低饲料系数,从各方面的研究数据表明,在实际生产中应该继续提高罗非鱼饲料中脂肪配比。涂玮等^[17]研究指出,尼罗罗非鱼幼鱼饲料适宜的脂肪需要量为8.30%~9.75%。彭爱明^[18]认为,罗非鱼饲料中脂肪的最适含量应在12.5%左右。高攀等^[19]结果显示,肠道和肝胰脏的脂肪酶活性在饲料蛋白含量相同的情况下,随着脂肪含量的升高,呈显著上升的趋势。饲料中脂肪含量不足或缺乏,可导致鱼类代谢紊乱,饲料蛋白质利用率下降,同时还可并发脂溶性维生素和必需脂肪酸缺乏症;饲料中的脂肪水平能够影响鱼类的生长、饲料的消化吸收。

肝胰脏是淀粉酶生成的中心器官,它分泌机能的强弱直接影响鱼类对食物中淀粉的消化能力。本实验中,M2的肝胰脏总淀粉酶活性最强,其次是M1和M3。黎军胜等^[1]在尼罗罗非鱼中发现,碳水化合物水平由34%上升到42%和50%,肝胰脏淀粉酶活性分别上升了107.1%和106.6%,肠道淀粉酶活性分别提高了67.1%和39.8%。虽然本研究中饲料成分表中没有淀粉的配比,但是,从结果中初步推断,M2的饲料中碳水化合物的含量要高于其他两种模式。另外,饲料中的赖氨酸含量也会影响到罗非鱼对饲料的消化吸收,特别是对蛋白质的利用,最终反映到饲料系数上。姚志通等^[20]发现,与基础日粮组相比,添加L-赖氨酸硫酸盐使罗非鱼日增重、特定生长率、蛋白质效率和粗蛋白消化率分别提高了20.93%、7.14%、21.43%和4.78%。金胜洁等^[21]对罗非鱼的研究表明,当饲料蛋白水平从34%降低至28%时,通过补足必需氨基酸,不会对罗非鱼的生长性能和饲料利用造成负面影响。叶金云等^[22]对中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)的研究表明,随着赖氨酸含量的提高,增重率和特定

生长率呈现逐渐上升的趋势。本实验中, M2 饲料中的赖氨酸含量略高于其他两种模式, 这在一定程度上对降低其饲料系数, 提高生长率有帮助。

王志铮等^[23]对3种养殖模式下日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*) 养成品脏器官消化酶的研究表明, 随机选取池塘专养、日本沼虾 (*Macrobrachium nipponense*) 套养以及水库放养等3种模式养殖日本鳗鲡, 肝脏蛋白酶、胃蛋白酶、胰脏脂肪酶均具有显著差异, 且池塘专养 > 日本沼虾套养 > 水库放养; 本实验的养殖模式与其有类似之处, 其中 M2 即池塘专养模式, M3 的鱼虾混养类似于日本沼虾套养, M1 的混养模式类似于水库放养; M2 的胰脏总蛋白酶、胃总蛋白酶、肠总脂肪酶、胰脏总脂肪酶、肠总淀粉酶、胰脏总淀粉酶总体高于其他两种养殖模式。

综合研究表明, 一年两造养殖模式具有较高的日增长率和较低的饲料系数, 在很大程度上获益于适宜的水体温度以及良好的饲料消化能力, 特别是脂肪酶活性和淀粉酶活性都高于其他两种模式, 不仅减轻罗非鱼对蛋白的需求量, 同时降低饲料系数, 从而可降低饲料成本达到增收的目的。

特别感谢广东省渔业种质保护中心、番禺罗非鱼良种场、珠海平沙镇罗非鱼养殖基地、广州陆仕水产企业有限公司及广州市番禺区农业局等单位 and 同行为取样所提供的帮助。感谢实验室孙彩云老师、秦超彬博士、王滨博士、李波硕士、张聪、贾计荣、王东方、吴阿敏等同学在实验中给予的帮助。

参考文献:

- [1] Li J S, Li J L, Wu T T. Effects of feed composition and environmental temperature on activities of digestive enzyme of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2004, 11 (6): 585 - 588. [黎军胜, 李建林, 吴婷婷. 饲料成分与环境温度对奥尼罗非鱼消化酶活性的影响. 中国水产科学, 2004, 11 (6): 585 - 588.]
- [2] Tian H J, Zhuang P, Gao L J, et al. Advances on the studies of the effect of ecological factors on activities of digestive enzymes of fish [J]. Marine Fisheries, 2006, 28 (2): 158 - 162. [田宏杰, 庄平, 高露姣, 等. 生态因子对鱼类消化酶活力影响的研究进展. 海洋渔业, 2006, 28 (2): 158 - 162.]
- [3] Huang J F, Zhao Z G, Luo L, et al. Effects of water temperature and dietary protein level on intestinal digestive enzyme activities of juvenile Songpu Mirror Carp (*Cyprinus specularis* Songpu) [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2013, 25 (3): 651 - 660. [黄金凤, 赵志刚, 罗亮, 等. 水温和饲料蛋白质水平对松浦镜鲤幼鱼肠道消化酶活性的影响. 动物营养学报, 2013, 25 (3): 651 - 660.]
- [4] Gao P, Jiang M, Wen H, et al. Effect of dietary protein-energy ratio on digestive enzyme activities of juvenile *Ctenopharyngodon idellus* [J]. Freshwater Fisheries, 2009, 39 (6): 54 - 58. [高攀, 蒋明, 文华, 等. 不同蛋白能量比饲料对草鱼幼鱼消化酶活性的影响. 淡水渔业, 2009, 39 (6): 54 - 58.]
- [5] Cupp-Enyard C. Sigma' s Non-specific protease activity assay-casein as a substrate [J]. Journal of Visualized Experiments, 2008 (19): 1 - 2.
- [6] Pencreac H G, Baratti J C. Hydrolysis of p-nitrophenyl palmitate in n-heptane by the *Pseudomonas cepacia* lipase: A simple test for the determination of lipase activity in organic media [J]. Enzyme and Microbial Technology, 1996, 18: 417 - 422.
- [7] Ye J D, Lu T Y, Tian L, et al. Effects of pH and temperature on digestive enzyme activities in stomach of hybrid sturgeon (*Huso huso* × *A. ruthenus*) [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2003, 10 (1): 79 - 81. [叶继丹, 卢彤岩, 田雷, 等. 不同 pH 和温度条件下杂交鲟胃中消化酶活性的变化. 中国水产科学, 2003, 10 (1): 79 - 81.]
- [8] Fan Z P, Pan Q S, He R G, et al. The effect of temperature on the main digestive enzyme activities of *Carassius auratus* Pengze [J]. Reservoir Fisheries, 1998 (2): 15 - 17. [方之平, 潘黔生, 何瑞国, 等. 温度对彭泽鲫主要消化酶活力的影响. 水利渔业, 1998 (2): 15 - 17.]
- [9] Hofer R, Schiemer F. Proteolytic activity in the digestive tract of several species [J]. Oecologia, 1981, 48: 342 - 345.
- [10] Xu Q Y, Huang J F. Effect of environmental temperature and protein level on growth and metabolism of fish [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2011, 42 (12): 1 - 8. [徐奇友, 黄金凤. 环境温度和蛋白质水平对鱼类生长和代谢的影响. 东北农业大学学报, 2011, 42 (12): 1 - 8.]
- [11] Hu G C, Li S F, He X J, et al. The effects of varying dietary protein level on the growth and body composition of juvenile of GIFT strain *Oreochromis*

- niloticus [J]. Feed Industry, 2006, 27 (6): 24 - 27. [胡国成, 李思发, 何学军, 等. 不同饲料蛋白质水平对吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼生长和鱼体组成的影响. 饲料工业, 2006, 27 (6): 24 - 27.]
- [12] Shao Q J, Su X F, Xu Z R. Effects of dietary protein levels on growth performance and digestive enzyme activities of jadep perch *Scortum bacoo* [J]. Journal of Zhejiang University, 2004, 30 (5): 553 - 556. [邵庆均, 苏小凤, 许梓荣. 饲料蛋白水平对宝石鲈增重和胃肠道消化酶活性影响. 浙江大学学报, 2004, 30 (5): 553 - 556.]
- [13] Li G F, Jiang G Z, Liu W B, et al. Effects of dietary protein and energy levels on growth performance, body composition and digestive enzyme activities of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. *jian*) [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2012, 21 (2): 225 - 232. [李贵锋, 蒋广震, 刘文斌, 等. 不同蛋白质和能量水平对建鲤幼鱼生长性能、体组成和消化酶活性的影响. 上海海洋大学学报, 2012, 21 (2): 225 - 232.]
- [14] Qiang J, Wang H, Li R W, et al. Effects of salinities on growth, survival and digestive enzymes activity of larval hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) [J]. South China Fisheries Science, 2009, 5 (5): 8 - 14. [强俊, 王辉, 李瑞伟, 等. 盐度对奥尼罗非鱼仔稚鱼生长存活及其消化酶活力的影响. 南方水产, 2009, 5 (5): 8 - 14.]
- [15] Zhang J R, Jiang S G, Lin H Z, et al. Effects of different brands of feeds on growth of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and water quality [J]. South China Fisheries Science, 2013, 9 (6): 20 - 26. [张加润, 江世贵, 林黑着, 等. 不同品牌饲料对斑节对虾生长及水质影响的研究. 南方水产科学, 2013, 9 (6): 20 - 26.]
- [16] Wang A M, Han G M, Feng G N, et al. Effects of dietary lipid levels on growth performance, nutrient digestibility and blood biochemical indices of gift tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2011, 35 (1): 80 - 86. [王爱民, 韩光明, 封功能, 等. 饲料脂肪水平对吉富罗非鱼生产性能、营养物质消化及血液生化指标的影响. 水生生物学报, 2011, 35 (1): 80 - 86.]
- [17] Tu W, Tian J, Wen H, et al. Optimal dietary lipid requirement of advanced juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2012, 19 (3): 436 - 444. [涂玮, 田娟, 文华, 等. 尼罗罗非鱼幼鱼饲料的适宜脂肪需要量. 中国水产科学, 2012, 19 (3): 436 - 444.]
- [18] Peng A M. Nutritional needs of tilapia [J]. China Feed, 1996 (21): 25 - 28. [彭爱明. 罗非鱼的营养需求. 中国饲料, 1996 (21): 25 - 28.]
- [19] Gao P, Jiang M, Wen H, et al. Effect of dietary protein-energy ratio on digestive enzyme activities of juvenile *Ctenopharyngodon idellus* [J]. Freshwater Fisheries, 2009, 39 (6): 54 - 58. [高攀, 蒋明, 文华, 等. 不同蛋白能量比饲料对草鱼幼鱼消化酶活性的影响. 淡水渔业, 2009, 39 (6): 54 - 58.]
- [20] Yao Z T, Cai Y J, Du K Y, et al. Effects of Lys · H₂SO₄ on growth performance and apparent digestibility of Nile tilapia [J]. Feed Industry, 2006, 27 (18): 29 - 31. [姚志通, 蔡亚军, 杜克镛, 等. L-赖氨酸硫酸盐对尼罗罗非鱼生长和消化的影响. 饲料工业, 2006, 27 (18): 29 - 31.]
- [21] Jin S J, Liu Y J, Tian L X, et al. Evaluation of protein reduction and amino acids supplementation of practical diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34 (9): 1429 - 1438. [金胜洁, 刘永坚, 田丽霞, 等. 不同蛋白水平下添加晶体氨基酸对罗非鱼生长和饲料利用的影响. 水产学报, 2010, 34 (9): 1429 - 1438.]
- [22] Ye J Y, Wang Y C, Guo J L, et al. Lysine, methionine and arginine requirements of juvenile Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34 (10): 1541 - 1548. [叶金云, 王友慧, 郭建林, 等. 中华绒螯蟹对赖氨酸、蛋氨酸和精氨酸的需要量. 水产学报, 2010, 34 (10): 1541 - 1548.]
- [23] Wang Z Z, Zhao J, Yang L, et al. Variations of serum biochemical indices, viscera digestive enzymes activity and antioxidant enzyme activity of three cultured population of *anguilla japonica* [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013, 44 (2): 403 - 408. [王志铮, 赵晶, 杨磊, 等. 三种养殖模式下日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*) 养成品血清生化指标和脏器消化酶、抗氧化酶活力的差异. 海洋与湖沼, 2013, 44 (2): 403 - 408.]

Comparison of the digestive enzyme activity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in different farming modes

LIN Jiansheng, ZHANG Qiuping, LI Wensheng*

(State Key Laboratory of Biocontrol, Institute of Aquatic Economic Animals and Guangzhou Provincial Key Laboratory for Aquatic Economic Animals, School of Life Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: To understand the impact of farming mode on digestive enzyme activity of tilapia, we selected three familiar breeding patterns in Guangdong province, i. e. traditional farming mode (M1), twice harvest a year farming mode (M2) and polyculture of fish and shrimp farming mode (M3). We performed water quality monitoring and digestive enzyme activity detection through the four months observation. M2 model showed the highest stomach protease activity (SPA) in both 1st and 2nd months. M1 mode displayed the highest intestinal protease activity (IPA) during the whole observation period. For the hepatopancreas protease activity (HPPA), M2 mode was rather high in the 2nd month as well as the 3rd month, while M3 model showed the highest level in both 1st and 4th months. In terms of each model, the protease activity displayed in the order of IPA > SPA > HPPA. Lipase activity and amylase activity of intestine and hepatopancreas were overall highest in M2 mode. The ability of protein digestion of tilapia in different organs is different, but no significant difference for total protein digestion ability among the three breeding patterns. On the other hand, M2 mode showed advantage in digestion of fat and starch which would reduce the demand of protein in feed composition and further improve the feed conversion ratio and cut down the cost of feed.

Key words: *Oreochromis niloticus*; farming mode; protease; lipase; amylase; feed conversion ratio

Corresponding author: LI Wensheng. E-mail: lsslws@mail.sysu.edu.cn