饲料中添加壳聚糖和益生菌对暗纹东方鲀幼鱼生长及部分消化酶活性的影响

华雪铭　周洪琪　张宇峰　周　辉
(上海水产大学生命科学与技术学院, 上海　200090)

摘要: 在基础饲料中分别添加不同浓度的益生菌(0.1%、0.2%、0.4%)、壳聚糖(0.2%、0.5%、1.0%)、壳聚糖与益生菌混合物、甘露聚糖与益生菌混合物, 在室内水泥池(5.0m ×2.0m ×1.0m)中喂养暗纹东方鲀幼鱼(3.15 ±0.05g), 用基础饲料投喂暗纹东方鲀作为对照, 每组三个重复, 60d 后测定鱼体的生长、肌肉生化成分、肝胰脏、肠道蛋白酶和淀粉酶活性和白肌 RNA/DNA。结果显示, 对照组相对增重率为 476.4%, 饲料中添加 0.2%的壳聚糖、0.1%的益生菌对暗纹东方鲀的促生长作用最明显, 相对增重率显著提高。壳聚糖与益生菌混合物、甘露聚糖与益生菌混合物对生长无显著影响。对照组肌肉蛋白质和脂肪含量分别为 82.94%、11.21%, 壳聚糖、益生菌与甘露聚糖在饲料中的添加, 能够显著降低肌肉脂肪含量, 显著提高肌肉蛋白质含量, 也能在一定程度上降低肝体比。0.2%壳聚糖和 0.1%益生菌能使肠道淀粉酶活性显著增强($P < 0.05$), 白肌 RNA/DNA 显著增大($P < 0.05$), 说明肠道淀粉酶活性增强和蛋白质合成增加是壳聚糖和益生菌促进暗纹东方鲀生长的重要原因。

关键词: 暗纹东方鲀; 壳聚糖; 益生菌; 营养
中图分类号: S965.225　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1000-3207(2005)03-0299-07

暗纹东方鲀(*Fugu obscurus*)在分类上属于鲀形目、鲀科、东方鲀属, 该属是鲀形目中种类最多, 经济价值最高的。由于目前尚无专用于河鲀的配合饲料, 在河鲀的养殖过程中, 往往以成鳗饲料来代替。但是不同鱼种甚至同一鱼种的不同生长阶段对不同营养素的需求量不同, 而且从氨基酸的组成来看, 鳗鱼饲料也并不完全适合暗纹东方鲀的营养需要[1]。鱼类消化酶的研究一直是鱼类消化生理的重要研究内容。消化酶活性的提高, 可以促进鱼类对营养物质的消化吸收, 进而促进鱼类的生长, 因此鱼类消化酶的研究也是配合饲料研制的科学依据。影响鱼类消化酶活性的因素很多, 合适的饲料添加剂是影响鱼类消化酶活性的其中因素之一, 如微生物添加剂能提高鲤和异育银鲫的蛋白酶活性[2—4]。壳聚糖在食品、医疗等方面有着广泛的用途, 而在水产养殖上的研究, 主要以其能增强鱼虾的免疫功能而逐渐引起国内外水产工作者的关注, 而有关壳聚糖对水产动物有无直接的促生长作用, 研究很少, 就其在水产动物对饲料营养物质的利用及其促生长机理方面的研究还未涉及。因此, 本研究选用壳聚糖和益生菌作为暗纹东方鲀配合饲料添加剂, 研究益生菌和壳聚糖对暗纹东方鲀生长、肠道及肝胰脏的蛋白酶和淀粉酶活性、蛋白质合成以及肌肉成分的影响, 探讨它们的促生长机理, 为暗纹东方鲀配合饲料的研制提供依据。

1　材料与方法

1.1　材料　暗纹东方鲀购于上海水产研究所水产试验良种场。体重 3.15 ±0.05g, 体长 4.00 ±0.27cm。益生菌(由枯草杆菌 *Bacillus subtilis*、地衣芽孢杆菌 *Bacillus licheniformis* 和嗜热球状芽孢杆菌 *Bacillus thermosphaericus* 混合而成)由项目合作单位复旦大学遗传研究所提供; 壳聚糖由上海水产大学食品学院提供。

1.2　试验设计　以褐鱼粉、豆粕、玉米、菜粕、α-淀粉等为主要原料, 粉碎研磨过 40 目筛, 混合均匀, 制成基础饲料粉料(表 1)。用基础饲料投喂暗纹东方鲀

收稿日期: 2003-12-09; **修订日期**: 2004-11-10
基金项目: 上海市自然科学基金(00ZC14054); 上海市科技发展基金(013212101)资助
作者简介: 华雪铭(1974—), 女, 浙江慈溪人; 博士; 研究方向为水产动物营养与饲料; E-mail: xmhua@shfu.edu.cn
通讯作者: 周洪琪(1942—), 女, 上海市人; 博导; E-mail: hqzhou@shfu.edu.cn

作为对照组,试验组则在基础饲料中分别添加不同浓度的壳聚糖(0.2 %、0.5 %、1.0 %)、益生菌(0.1 %、0.2 %、0.4 %)以及壳聚糖和益生菌的混合物或甘露聚糖和益生菌的混合物。

表 1 基础饲料配方及营养组成

Tab.1 Formulation and proximate composition of the basal diet

组成 Ingredients	含量 Content (%in wet weight)	组成 Ingredients	含量 Content (%in wet weight)
秘鲁鱼粉 Fish meal	48.0	鱼油 Fish oil	4.0
淀粉 a-starch	17.0	维生素 Vitamin mixture	0.3
豆粕(浸提) Soybean meal	11.0	矿物质 Mineral mixture	0.3
次粉 Wheat middling	7.0	氯化胆碱 Choline chloride	0.5
菜粕 Rapeseed meal	5.0	纤维素 cellulose	1.0
玉米粉 Corn meal	5.7	其他 others	0.2
营养组成 Proximate composition (%in wet weight)			
粗蛋白 Crude protein	39.1	灰分 Ash	9.9
粗脂肪 Crude lipid	8.2	水分 Moisture	11.7

1.3 试验鱼的饲养及日常管理 将各饲料原料均匀混合,采用逐级放大法分别将壳聚糖、益生菌或益生菌与多糖混合物均匀添加到饲料中,粉料在 4 ℃保存备用。将规格一致的暗纹东方鲀随机分到 27 个水泥池中(5.0m ×2.0 m ×1.0 m),每池 26 尾,随机分为 9 组,每组 3 个平行。先用基础饲料驯养,至摄食正常后,开始正式实验。在整个试验过程中,池水日曝气时间大于 8h,并不定期地吸污、换水,保证各池水质基本一致,DO > 7mg/L,NH_3-N < 0.5mg/L。饲养时间为 2002 年 6 月 13 日—2002 年 8 月 13 日。期间水温为室温,23—28 ℃。日投喂量按体重的相同百分比计算,并以 1h 内所投饲料全部吃完为准,根据水温、水质、摄食情况作适当调整。饲料放在食台上投喂,每天两次(8:30,16:00)。每次投喂时,在粉状料中加入适量水,搅拌成团,然后捏成薄饼状投喂。

1.4 体长、体重的测定 暗纹东方鲀摄食不同饲料 2 个月后,饥饿 1d,全部从水泥池中捞取,1/10000 的 MS222 麻醉后,分别用电子秤和量鱼板测量体重和体长,并根据以下公式计算相对增重率和相对增长率。

相对增重率(%) = (终重 - 初重)/初重 ×100

相对增长率(%) = (终长 - 初长)/初长 ×100

1.5 肝体比测定 生长试验结束后,每饲料组随机取暗纹东方鲀 10 尾,解剖,取肝胰脏,吸干表面水分后称重,并根据以下公式计算肝体比。

肝体比(%) = 肝胰脏重/鱼体重 ×100

1.6 肌肉常规营养成分测定 生长试验结束后,从各饲料组随机取暗纹东方鲀 5 尾,吸干鱼体外表的水分后,去皮去骨,将全鱼的肌肉剪成块,捣碎,混合均匀。水分测定用常压干燥法;蛋白质测定采用凯氏定氮法;脂肪测定采用索氏抽提法;灰分测定采用干灰化法。

1.7 消化酶测定 生长试验结束后,从每个饲料组中随机取暗纹东方鲀 10 尾,取出全肠和肝胰脏,并剔除附着的肠系膜,用去离子水清洗肠道内容物,以每尾鱼的全肠或部分肝胰脏作为一个样本。将全肠和肝胰脏称重,置于电子匀浆器中,加入 10 倍体积的高纯水匀浆,在 4 ℃冰箱中静置过夜,2000r/min 离心 10min,取上清液作为粗酶液,4 ℃保存,待测。在 24h 内测定完毕。蛋白酶活性:福林-酚试剂法[5]。1 个蛋白酶活力单位定义:pH 8.0,底物酪蛋白浓度为 20mg/mL,37 ℃条件下保温 10min,每克组织每分钟产生 1μg 酪氨酸的酶量。淀粉酶活性:淀粉-碘显色法[6]。1 个淀粉酶活力单位:pH 7.0,37 ℃条件下保温 30min,每克组织中的淀粉酶能完全水解 10mg 淀粉时的酶量。

1.8 白肌核酸含量测定 将上述 10 尾鱼去皮,吸干体表水分,而后在每尾鱼的背鳍基部取白肌 0.5—1g 作为一个样品,并于 -20 ℃条件保存,待测。RNA 和 DNA 分析参考 Schmidt-Thannhauser 法[7]。

1.9 数据分析 所有数据用 Statistica Version5.0 软件进行统计。方差分析后(one-way-ANOVA)进行组间差异的多重比较(Duncan's procedure)。

2 结果

2.1 暗纹东方鲀摄取益生菌和壳聚糖后的体重、体长以及肝体比变化

60d 的饲养实验后,对照组的体长、体重分别是试验开始时的 1.87 和 5.82 倍。饲料中不同含量的

壳聚糖喂养暗纹东方鲀 60d(表 2),对暗纹东方鲀体重的增加有显著影响($P < 0.05$)。壳聚糖最低浓度组(0.2 %)的促生长效果明显,但随着添加量的增大,暗纹东方鲀的生长速度有不同程度的下降,甚至低于对照组水平。在试验范围内,试验鱼体长的增加速度随壳聚糖添加量的增大而减小,壳聚糖添加量增加到 1.0 %时,显著低于对照组($P < 0.05$)。

不同浓度的益生菌添加到饲料后喂养暗纹东方鲀 60d,其体重与体长变化趋势较为一致(表 2)。与对照组相比,最低浓度 0.1 %的添加量使暗纹东方鲀的体重增加明显($P < 0.05$),体长增加略有上升($P > 0.05$),但随着添加量的增加,试验组的体重、体长生长速度逐渐减慢,直至与对照组没有差异($P > 0.05$)。

将益生菌与壳聚糖或甘露聚糖同时添加到饲料中,暗纹东方鲀体长与体重的生长均未发生明显变化($P > 0.05$,表 2)。

在整个试验期间,对照组与各试验组的成活率均为 100 %。

饲料中添加不同浓度的壳聚糖,虽然在一定程度上降低暗纹东方鲀的肝比重(表 2),由对照组的 18.1 % 降至试验组的 17.1 %—16.2 %,但无统计学差异。将益生菌添加到饲料中,饲料中的肝体比也略有降低,降幅类似于壳聚糖组。如果将益生菌与壳聚糖或甘露聚糖同时添加到饲料中,试验鱼的肝体比降幅非常明显($P < 0.05$),肝比重分别为对照组的 81.2 %和 87.7 %。

表 2　暗纹东方鲀摄食不同饲料 60d 后的体重、体长以及肝体比变化(mean ±S.D.)

Tab.2　Varation of body weight, body length and hepatosomatic index of *F. obscurus* fed different diets for 60 days

组别 Group	体重 Body weight (g) Initial	体重 Body weight (g) Final	相对增重率 Weight gain (%)	体长 Body length (cm) Initial	体长 Body length (cm) Final	相对增长率 Length gain (%)	肝体化 Hepatosomatic index (%)
对照	3.15 ±0.15	18.33 ±0.18	476.37 ±28.78^{b}	4.00 ±0.27	7.49 ±0.10	87.3 ±2.6^{ab}	18.11 ±1.66^{a}
0.2 %壳聚糖	3.10 ±0.08	19.28 ±0.06	525.14 ±19.42^{a}	4.00 ±0.27	7.25 ±0.21	81.2 ±5.3^{bc}	16.19 ±1.85^{abc}
0.5 %壳聚糖	3.20 ±0.01	14.58 ±1.54	354.21 ±48.02^{d}	4.00 ±0.27	7.24 ±0.48	81.0 ±12.0^{bc}	16.39 ±2.21^{abc}
1.0 %壳聚糖	3.24 ±0.02	17.42 ±0.69	427.95 ±21.01^{c}	4.00 ±0.27	7.05 ±0.06	76.3 ±1.4^{c}	17.08 ±2.24^{ab}
0.1 %益生菌	3.11 ±0.12	20.52 ±0.85	559.06 ±1.69^{a}	4.00 ±0.27	7.63 ±0.19	90.8 ±4.6^{a}	16.04 ±1.54^{abc}
0.2 %益生菌	3.13 ±0.06	17.98 ±0.81	474.76 ±15.45^{b}	4.00 ±0.27	7.31 ±0.13	82.8 ±3.3^{abc}	17.31 ±3.05^{ab}
0.4 %益生菌	3.17 ±0.01	18.68 ±2.39	477.11 ±3.70^{b}	4.00 ±0.27	7.38 ±0.36	84.5 ±0.9^{abc}	16.53 ±1.90^{abc}
0.5 %甘露聚糖 +0.1 %益生菌	3.12 ±0.12	17.76 ±1.03	463.54 ±4.72^{bc}	4.00 ±0.27	7.14 ±0.01	78.4 ±0.2^{bc}	15.89 ±1.70^{bc}
0.5 %壳聚糖 +0.1 %益生菌	3.12 ±0.12	17.68 ±0.29	461.31 ±10.96^{bc}	4.00 ±0.27	7.29 ±0.06	82.2 ±1.4^{abc}	14.70 ±1.31^{c}

注:表中同列不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。Means in the same row with different superscripts indicate significant ($P < 0.05$).

2.2　益生菌和壳聚糖对暗纹东方鲀肌肉成分的影响

对照组暗纹东方鲀肌肉水分含量为 79.0 %。当益生菌与壳聚糖混合添加时,可引起肌肉水分的显著减少($P < 0.05$,表 3)。益生菌或壳聚糖单独添加,对肌肉水分含量无显著影响($P > 0.05$)。

对照组暗纹东方鲀肌肉蛋白质含量为 82.9 %。饲料中添加益生菌和壳聚糖对暗纹东方鲀肌肉蛋白质含量有显著影响($P < 0.05$,表 3),除 0.4 %益生菌组外,其余各饲料组的肌肉蛋白质含量均不同程度地高于对照组,但只有 1.0 %壳聚糖、0.1 %益生菌、0.2 %益生菌及壳聚糖与益生菌、甘露聚糖与益生菌混合添加组的肌肉蛋白质含量显著高于对照组($P < 0.05$)。

对照组暗纹东方鲀肌肉脂肪含量为 11.2 %。饲料中添加益生菌和壳聚糖能显著降低暗纹东方鲀肌肉脂肪含量($P < 0.05$,表 3),各试验组比对照组降低 11.0 %—52.9 %,壳聚糖与益生菌、甘露聚糖与益生菌混合添加组肌肉脂肪含量的降幅最为明显。暗纹东方鲀肌肉脂肪含量在不同壳聚糖水平组之间有差异($P < 0.05$);在不同益生菌水平组之间无明显差异($P > 0.05$)。

对照组暗纹东方鲀肌肉灰分含量为 5.9 %。除了甘露聚糖与益生菌混合添加组的肌肉灰分含量显著高于对照组和其余各试验组之外($P < 0.05$),其余各试验组与对照组无显著差异($P > 0.05$,表 3)。

表 3 益生菌和壳聚糖对暗纹东方鲀肌肉成分的影响(mean ±S. D.)

Tab. 3 Effect of probiotics and chitosan on nutrient ingredients in the muscle of *F. obscurus*

	水分 Moisture(%)	蛋白质 Protein(%)	脂肪 Lipid(%)	灰分 Crude ash(%)
对照	78. 97 ±0. 88^{ab}	82. 94 ±0. 95^{ef}	11. 21 ±0. 83^{a}	5. 90 ±0. 34^{b}
0. 2 %壳聚糖	78. 77 ±0. 65^{ab}	83. 93 ±1. 27^{de}	9. 98 ±0. 54^{b}	5. 86 ±0. 21^{b}
0. 5 %壳聚糖	78. 86 ±0. 84^{ab}	82. 95 ±0. 69^{ef}	6. 85 ±1. 23^{d}	5. 76 ±0. 36^{b}
1. 0 %壳聚糖	79. 14 ±0. 43^{a}	84. 57 ±0. 67^{cd}	8. 19 ±0. 24^{c}	5. 89 ±0. 18^{b}
0. 1 %益生菌	77. 96 ±0. 45^{bc}	85. 87 ±0. 72^{b}	8. 52 ±0. 40^{c}	5. 93 ±0. 43^{b}
0. 2 %益生菌	79. 05 ±0. 91^{ab}	85. 71 ±0. 67^{bc}	8. 69 ±0. 70^{c}	5. 40 ±0. 06^{b}
0. 4 %益生菌	79. 77 ±0. 93^{a}	82. 50 ±0. 65^{f}	8. 53 ±0. 59^{c}	5. 59 ±0. 26^{b}
0. 5 %甘露聚糖 + 0. 1 %益生菌	77. 60 ±0. 95^{c}	87. 27 ±0. 62^{a}	5. 28 ±1. 70^{e}	6. 41 ±0. 28^{a}
0. 5 %壳聚糖 + 0. 1 %益生菌	76. 93 ±1. 04^{c}	87. 51 ±0. 97^{a}	6. 51 ±0. 30^{d}	5. 54 ±0. 18^{b}

注:蛋白质、脂肪和灰分为干物质中含量;同列不同字母表示差异显著($P < 0.05$) 。Contents of protein ,lipid and ash were determined in dry matter. Means in the same row with different superscripts indicate significant($P < 0.05$) .

2. 3 壳聚糖与益生菌对暗纹东方鲀白肌 RNA/ DNA 的影响

对照组暗纹东方鲀 RNA/ DNA 为 1. 86 ,饲料中分别添加 0. 2 %壳聚糖、0. 1 %益生菌、甘露聚糖和益生菌混合物或壳聚糖与益生菌混合物 ,可以显著提高暗纹东方鲀 RNA/ DNA 比($P < 0.05$,表 4) ,但各试验组之间无显著差异($P > 0.05$) 。

2. 4 壳聚糖和益生菌对暗纹东方鲀肠道、肝胰脏蛋白酶活性的影响

对照组暗纹东方鲀肠道和肝胰脏的蛋白酶活性分别为 223. 63u、143. 92u(表 4) 。饲料中添加 0. 2 %壳聚糖对暗纹东方鲀肠道和肝胰脏蛋白酶活性无显著影响;饲料中添加 0. 1 %益生菌对暗纹东方鲀肠道和肝胰脏蛋白酶活性也无显著影响($P > 0.05$) 。将壳聚糖与益生菌同时添加到饲料中饲喂暗纹东方鲀 ,与对照组相比 ,肠道蛋白酶活性无显著变化 ,肝胰脏蛋白酶活性显著降低($P < 0.05$) ,若将其中的壳聚糖用甘露聚糖代替 ,肝胰脏蛋白酶活性虽然仍降低 ,但与对照组差异不显著($P > 0.05$) 。

2. 5 壳聚糖与益生菌对暗纹东方鲀肠道、肝胰脏淀粉酶活性的影响

对照组暗纹东方鲀肠道和肝胰脏的淀粉酶活性分别为 58. 10u、14. 95u(表 4) 。饲料中添加 0. 2 %壳聚糖显著提高暗纹东方鲀肠道淀粉酶活力($P < 0.05$) ,比对照组提高 16. 08 % ,肝胰脏淀粉酶活性受壳聚糖的影响较小($P > 0.05$) 。

饲料中添加 0. 1 %益生菌能极显著提高肠道淀粉酶活性($P < 0.05$) ,对肝胰脏淀粉酶活性无显著影响($P > 0.05$) 。

若将益生菌与壳聚糖同时添加到饲料中 ,只能使肠道和肝胰脏的淀粉酶活性发生微小的变化($P > 0.05$) 。壳聚糖用甘露聚糖替代时 ,虽然肠道淀粉酶活性没有发生明显改变 ,但肝胰脏淀粉酶活性可提高 66. 56 % ,由对照组的 14. 95u 提高到 24. 90u。

表 4 试验鱼肠道和肝胰脏的蛋白酶活性和淀粉酶活性以及白肌 RNA/ DNA(mean ±S. D.)

Tab. 4 Protease activity ,amylase activity in intestine and hepatopancreas and RNA/ DNA in white muscle of the tested fish

组别 Group	蛋白酶活性 Protease activity/ u		淀粉酶活性 Amylase activity/ u		RNA/ DNA
	肠道 Intestine	肝胰脏 Hepatopancreas	肠道 Intestine	肝胰脏 Hepatopancreas	
对照	223. 63 ±44. 43^{a}	143. 92 ±12. 35^{ab}	58. 10 ±3. 00^{b}	14. 95 ±1. 77^{b}	1. 86 ±0. 20^{a}
0. 2 %壳聚糖	237. 78 ±30. 80^{a}	162. 87 ±17. 12^{a}	67. 88 ±3. 50^{a}	16. 74 ±1. 93^{b}	2. 27 ±0. 21^{b}
0. 1 %益生菌	240. 18 ±24. 42^{a}	129. 23 ±18. 81^{bc}	67. 61 ±4. 64^{a}	16. 00 ±1. 90^{b}	2. 22 ±0. 36^{b}
0. 5 %甘露聚糖 + 0. 1 %益生菌	217. 31 ±24. 40^{a}	127. 42 ±22. 44^{bc}	63. 63 ±7. 04^{ab}	24. 90 ±4. 27^{a}	2. 07 ±0. 19^{b}
0. 5 %壳聚糖 + 0. 1 %益生菌	237. 84 ±53. 84^{a}	120. 35 ±17. 14^{c}	62. 51 ±7. 87^{ab}	15. 44 ±2. 46^{b}	2. 2 ±90. 27^{b}

注:表中同列不同字母表示差异显著($P < 0.05$) 。Means in a row with different superscripts indicate significant($P < 0.05$) .

3　讨论

3.1　生长

本实验所用的壳聚糖利用虾、蟹壳生产,当该物质适量添加到饲料中饲喂暗纹东方鲀 60d,其促生长作用主要通过增加体重来体现。壳聚糖在饲料中的最适添加量为 0.2 %,添加量增加不利于暗纹东方鲀的生长。Vinod[8] 对斑节对虾、Shiau 和 Yu 对罗非鱼[9]、Kono 等对真鲷、日本鳗和五条鲀[10]、Kolman 等[11]对鲟鱼幼体的研究都得出类似结论。究其原因可能是因为壳聚糖具有很强的吸附离子或蛋白质的能力,过量添加时吸附了鱼类生长所必需的营养物质而导致鱼消化吸收能力的下降[9,10]。而 0.5 %壳聚糖组的生长比 1.0 %壳聚糖组差,可能是未知环境因素影响的结果。

作为微生态制剂使用的芽孢杆菌属于芽孢杆菌中的不致病菌,以内孢子的形式零星存在于动物肠道的微生态群落中[12,13]。本试验选用的 3 种芽孢杆菌作为饲料添加剂使用时,暗纹东方鲀的体重增加,0.1 %添加组效果最好,0.2 %与 0.4 %组与对照组无显著差异;体长增幅与对照组无显著性差异。说明芽孢杆菌对暗纹东方鲀的促生长作用也主要通过增加体重来体现。益生菌种类多,对鱼类的促生长作用有不同的效果。江萍等[14]对网箱养鲤的研究发现,饲料中添加 0.2 %芽孢杆菌的饲喂效果与对照组相比,增重率和饵料利用率都下降;而潘康成则认为,在饲料中添加 0.1 %的芽孢杆菌就能对鲤起到明显的促生长作用[2];华雪铭也确定了芽孢杆菌对异育银鲫起到最佳促生长效果的添加剂量为 0.2 %[15]。因此,芽孢杆菌在饲料中的最适添加量因鱼种而异,也可能与芽孢杆菌的种类有关。

3.2　消化酶及蛋白质合成过程

暗纹东方鲀的肠道和肝胰脏在消化过程中都发挥着重要的作用,而且肠道蛋白酶活性远高于肝胰脏蛋白酶活性。殷宁等认为[16],暗纹东方鲀肠道无分泌蛋白酶的能力,但肝胰脏蛋白酶活性比肠蛋白酶低,这可能是由于肝胰脏所分泌的蛋白酶是不具活性的酶原,它可在肠中被肠致活酶及已具活性的蛋白酶所激活,成为具有活性的蛋白酶,再加上肠壁对蛋白酶有较强的吸附能力造成的。东方鲀肠道淀粉酶活性远远超过肝胰脏,说明暗纹东方鲀的肠道是其最主要的淀粉酶分泌器官。

作为偏肉食性鱼类,通常对碳水化合物的消化能力较弱,暗纹东方　可能也不例外,但本研究发现,壳聚糖、益生菌、甘露聚糖和益生菌混合物或壳聚糖与益生菌混合物对肠道蛋白酶活性无显著影响,而壳聚糖显著提高肠道淀粉酶活性,可能原因是壳聚糖被试验鱼摄取后,经口腔、胃、再进入肠道,调节肠道微生态平衡[17,18],推测肠内的有益菌群在良好的微环境中更能发挥分泌淀粉酶的作用,对碳水化合物的利用率提高,从而使壳聚糖起到间接提高消化酶活性、节约蛋白质的作用。

益生菌使肠道淀粉酶活性明显提高,可能是由于益生菌富含淀粉酶,而暗纹东方鲀作为偏肉食性鱼类,其肠道淀粉酶活性不高,因此,即使益生菌不能在肠道良好定居,在其进入肠道后也足以影响肠道淀粉酶的活性。益生菌刺激肠道和肝胰脏分泌消化酶[3]也可能引起暗纹东方鲀的消化酶活性发生改变。

因此,本试验中肠道淀粉酶活性的提高是适量添加壳聚糖和益生菌促进暗纹东方鲀生长的主要原因之一。壳聚糖、益生菌、甘露聚糖和益生菌混合物或壳聚糖与益生菌混合物组暗纹东方鲀的白肌 RNA/DNA 均高于对照组,说明以上四种添加剂均可以通过影响蛋白质的合成调节鱼体的生长。由于对整个机体的生长而言,蛋白质的合成与降解过程是有机统一的[19]。因此,壳聚糖和/或益生菌可能通过改变蛋白质在体内的合成、降解与贮留等过程综合影响暗纹东方鲀的生长,至于它们对蛋白质周转的影响,还有待进一步研究。

3.3　肌肉生化组成

一般来讲,鱼肉水分含量高,则粗蛋白、粗脂肪含量将会减少,鱼肉品质就差,反之,鱼肉水分含量低,则粗蛋白、粗脂肪含量就高,鱼肉品质就好。本试验中仅有壳聚糖与益生菌、甘露聚糖与益生菌混合添加组水分含量下降,而各试验组的蛋白质含量普遍升高,脂肪含量普遍降低。饲料中适量添加壳聚糖或益生菌,RNA/DNA 升高,蛋白质合成增加,因此可能引起肌肉蛋白质含量的升高。一种食品的营养价值可用多项指标来衡量,蛋白质和氨基酸含量是重要指标之一,因此,根据蛋白质含量的多少,认为饲料中适量添加壳聚糖、益生菌、壳聚糖与益生菌、甘露聚糖与益生菌混合物,在维持或促进暗纹东方鲀生长的同时,也可以提高暗纹东方鲀的营养价值。

饲料中添加壳聚糖能显著降低肝体比,是因为壳聚糖成分中的聚葡铵链带有 4 价铵离子,具有较高的阴离子交换性能而能黏合胆汁酸,阻止胆汁酸循环,降低脂肪吸收[20],从而相应地减少肝胰脏解毒的负荷,避免暗纹东方　的肝胰脏出现补偿性增生。脂肪

吸收量减少,使得肌肉脂肪含量也有不同程度的下降。饲料中添加益生菌同样能够降低暗纹东方鲀的肝体比,减轻肝脏负荷。当益生菌与壳聚糖、甘露聚糖同添加时,效果尤为显著,具体原因有待研究。据有关研究表明,肌间脂肪含量需达 3.5 %—4.5 %,肌肉方具有良好的适口性 ,在此范围内,肌肉脂肪的含量与肉品的风味呈正相关,即风味随肌肉脂肪含量的增加而持续改善 。饲料中添加壳聚糖、益生菌、壳聚糖与益生菌、甘露聚糖与益生菌混合物,虽然肌肉脂肪含量下降,但因为均大于 4.5 %,即不影响暗纹东方鲀肌肉的基本风味。

参考文献:

[1] Shen M F. Yin Y, Wu B Y, *et al*. Analysis of crude protein and amino acid of cultured *Fugu obscurus* [J]. *Feed Research*, 2000, **8**: 5—7 [沈美芳, 殷悦, 吴蓓琦, 等. 养殖暗纹东方鲀体粗蛋白与氨基酸的分析研究. 饲料研究, 2000, **8**: 5—7]

[2] 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. 饲料工业, 1997, **18** (10): 41—42]

[3] Liu X G, Zhou H Q, Hua X M, *et al* Effects of dietary *Bacillus* sp. and selenoyeast on activities of digestive enzymes of allogynogenetic crucian carp [J]. *J Fisheries China*, 2002, **26** (5): 448—453 [刘小刚, 周洪琪, 华雪铭, 等. 微生态制剂对异育银鲫消化酶活性的影响. 水产学报, 2002, **26** (5): 448—453]

[4] Huang Y C, Wang S L, Yang Z C, *et al* Effects of effective microorganisms (EM) on bacterial population in the intestine and activities of protease in the intestine and hepatopancreas of Jian carp [J]. *J Fujian Fisheries*, 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. 福建水产, 1999, **1**: 24—29]

[5] Edited by Biological Department of Zhongshan University. Directions of Biochemistry Technology [M]. Beijing: People's Education Press, 1979, 53—54 [中山大学生物系. 生化技术导论. 北京: 人民教育出版社, 1979, 53—54]

[6] Edited by Medicinal assay institution of Shanghai. Clinal Biochemistry Test (first volume) [M]. Shanghai: Science and Technology Press of Shanghai. 1979, 366—368 [上海市医学化验所. 临床生化检验 (上册). 上海: 上海科学技术出版社. 1979, 366—368]

[7] Schmidt G, Thannhauser S. A method for the determination of deso xyribonucleic acid, ribonucleic acid and phosphoproteins in animal tissues [J]. *J Biol chem*, 1995, **161**: 83—89

[8] Vinod M P, Jose S. Response of *Penaeus mondon* (Fabricius) to growth promoters [R]. Advances and priorities in fisheries technology, 1998, 79—83

[9] Shiau S Y, Yu L P. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* [J]. *Aquac*, 1999, **179**: 439—446

[10] Kono M, Matsui T, Shimizu C. Effect of chitin, chitosan and cellulose as diet supplements on the growth of cultured fish [J]. *Bull Japan Soc Scient Fish*, 1987, **53** (1): 125—129

[11] Kolman R, Kolman H, Siwichi A K. The effect of some immunomodulators on the growth rate of sturgeon fry (*Acipenseridae*) [J]. *Arch Pol Fish*, 1998, **6** (2): 383—390

[12] Wang H N, He M Q, Liu P. *et al*. Study on the intestinal microflora of carp in freshwater culture ponds [J]. *Acta Hydrobiological sinica*, 1994, **18** (4): 354—359 [王红宁, 何明清, 柳苹, 等. 鲤鱼肠道正常菌群的研究. 水生生物学报, 1994, **18** (4): 354—359]

[13] Zhao Q X. An analysis of intestinal microflora of cyprinidae [J]. *J Microbiology*, 2001, **21** (2): 18—20 [赵庆新. 鲤科 (Cyprinidate) 鱼肠道菌群分析. 微生物学杂志, 2001, **21** (2): 18—20]

[14] Jiang P, Xia X L, Zhou B J. Effects of two probiotics on intenstive feeding of carp [J]. *Chinese J Microecology*, 1997, **9** (3): 26—28 [江萍, 夏先林, 周碧君. 两种微生态调节剂对网箱鲤鱼生产效果的影响. 中国微生态学杂志, 1997, **9** (3): 26—28]

[15] Hua X M, Zhou H Q, Qiu X C, *et al*. Effects of dietary *Bacillus* sp. and selenoyeast on growth and disease resistance of allogynogenetic crucian carp [J]. *J Fisheries China*, 2001, **25** (5): 448—453 [华雪铭, 周洪琪, 邱小琮, 等. 饲料中添加芽孢杆菌和硒酵母对异育银鲫的生长及抗病力的影响. 水产学报, 2001, **25** (5): 448—453]

[16] Yin N, Zhao Q, Li Z H, *et al*. Preliminary studies on protease activities in *Fugu obscurus* cultured in fishery [J]. *J Nanjing Normal University* (Natural science), 2001, **24** (1): 101—104 [殷宁, 赵强, 李朝晖, 等. 暗纹东方鲀蛋白酶活性的研究 [J]. 南京师范大学学报 (自然科学版), 2001, **24** (1): 101—104]

[17] Mitsuaki K. Properties and uses of oligosaccharides from chitin and chitosan [J]. *J Appl Glycoscience*, 1998. 45: 415—419

[18] Hirano S, Iwata M. Uses and functions chitin and chitosan oligosaccharide [J]. *New Food Industry*, 1998, 40: 17—22

[19] Carter C G Houlihan D F, Owen S F. Protein synthesis, nitrogen excretion and long-term growth of juvenile *Pleuronectes flesus* [J]. *J Fish Biol*, 1998, 53: 272—284

[20] Wei T, Tang F F, Gao Z L, *et al*. Effects of chitosan on lowing hyperlipemia and hyperglycemia and enhancing immunity [J]. *Food Science*, 2000, **21** (4): 48—52 [魏涛, 唐粉芳, 高兆兰, 等。壳聚糖降血脂、降血糖及增强免疫作用的研究. 食品科学, 2000, **21** (4): 48—52]

EFFECT OF DIETARY SUPPLEMENTAL CHITOSAN AND PROBIOTICS ON GROWTH AND SOME DIGESTIVE ENZYME ACTIVITIES IN JUVENILE FUGU OBSCURUS

HUA Xue-Ming, ZHOU Hong-Qi, ZHANG Yu-Feng and ZHOU Hui

(College of Aqua-life science and technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090)

Abstract: In order to examine the effect of supplementing chitosan and probiotics in the diet on the growth of juvenile fish-*Fugu obscurus* (initial weigh of 3.15 ±0.05g and initial length of 4.00 ±0.27cm), different levels of chitosan (0.0 %, 0.2 %, 0.5 %, 1.0 %), probiotics (0.0 %, 0.1 %, 0.2 %, 0.4 %), the complex of chitosan and probiotics, mannan oligosaccharide and probiotics were tested in a 8-week trial. Each diet was fed to triplicate groups twice daily. Body weight, body length, hepatomatic index, protease and amylase in the intestine and hepatopancreas, RNA/DNA ratio in white muscle were measured. The results showed that weight gain rate (WGR) of the control group was 476.4 %and the length gain rate (LGR) was 87.3 %. The WGRs of fish fed with chitosan at level of 0.2 %or probiotics at level of 0.1 %in the diet were significantly higher than those in other groups. No significant difference was observed on LGR in all supplementation groups. The contents of protein and lipid in the white muscle of the control were 82.94 %and 11.21 %, respectively. All the tested additives supplemented to the basal diet could markedly reduce lipid content and increase protein content in the white muscle, decrease the weight of hepatomatic index. The study also indicated no significant difference on protease activity in the intestine and hepatopancreas while significant higher amylase activity in the intestine in both 0.2 %chitosan and 0.1 % probiotics supplementation groups, as well as RNA/DNA ratio in white muscle ($P < 0.05$). It can be concluded that chitosan or probiotics could promote growth of the fish by enhancing intestine amylase and protein synthesis.

Key words: *Fugu obscurus*; Chitosan; Probiotics; Nutrition