

蔡东森,蒋广震,张定东,等. 添加甘草次酸的饲料对团头鲂幼鱼肠道消化吸收酶活性和胴体组成的影响[J]. 江苏农业科学,2015,43(6):212-214.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.06.070

添加甘草次酸的饲料对团头鲂幼鱼肠道消化吸收酶活性和胴体组成的影响

蔡东森,蒋广震,张定东,鲁康乐,钱 妤,徐 超,刘文斌

(南京农业大学动物科技学院/江苏省水产动物营养重点实验室,江苏南京 210095)

摘要:在等氮等能的基础饲料中添加水平分别为 0、0.15、0.30、0.45、0.60 g/kg 的甘草次酸,共 5 个处理组,每组 3 个重复,选取质量为 (15.63 ± 0.04) g 的团头鲂幼鱼饲喂 56 d,研究甘草次酸对团头鲂幼鱼肠道消化酶活性和胴体组成的影响。结果表明,饲料添加甘草次酸可以显著提高团头鲂幼鱼肠道蛋白酶活性,其中 0.30、0.45 和 0.60 g/kg 添加组活性显著高于对照组 ($P < 0.05$)。肠道脂肪酶活性随着甘草次酸添加量的升高而显著上升 ($P < 0.05$)。添加甘草次酸对肠道淀粉酶活性无显著影响 ($P > 0.05$)。0.3 g/kg 甘草次酸组肠道碱性磷酸酶活性显著高于对照组及其他各组 ($P < 0.05$)。添加甘草次酸对肠道 Na^+ 、 K^+ -ATP 酶和 γ -谷氨酰转肽酶活性无显著影响 ($P > 0.05$)。胴体粗脂肪含量随着甘草次酸添加量的升高呈先下降后上升趋势,其中 0.45 g/kg 添加组含量显著低于对照组 ($P < 0.05$)。甘草次酸对团头鲂幼鱼胴体其他组成无显著影响 ($P > 0.05$)。综上所述,饲料中添加甘草次酸显著提高了团头鲂肠道消化吸收酶活性,促进了其对营养物质的消化吸收;饲料中添加甘草次酸也可促进体蛋白合成,减少体脂沉积,改善鱼体组成分布。

关键词:团头鲂;甘草次酸;肠道消化吸收酶;胴体组成

中图分类号:S963.73 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)06-0212-03

随着水产养殖业的迅速发展,人们对水产品的品质日益重视,对饲料的质量要求也是如此。目前,人工合成添加药剂如抗生素等的使用和滥用,导致其在动物体内残留,对人体健康产生危害。天然中草药为天然植物产品,具有高效、绿色、毒副作用低等特点,作为环保型饲料添加剂,其在水产养殖中也是研究应用的热点^[1]。甘草是最常见的中草药,有“十方九草”之说^[2-3],其主要有效成分为甘草次酸^[4]。目前中草药的研究较多为复合中草药添加剂,其对动物消化吸收酶的影响已有一些报道。丁贤等研究发现,复合中草药可提高凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 的消化酶活性,尤其是蛋白酶的活性^[5]。邱小琮等在异育银鲫 (*Allogynogenetic crucian carp*) 的研究中也发现,中草药能提高鱼体蛋白酶活力、促进蛋白质的消化吸收^[1]。陈度煌等研究发现,含甘草的中草药可显著促进欧洲鳗鲡 (*Anguilla anguilla*) 消化酶的分泌并提高其活性^[6]。何子双等研究发现,甘草次酸可以促进仔猪小肠发育,增强其消化吸收功能^[7]。团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*),俗称武昌鱼,原产于湖北鄂州梁子湖,现主要分布于长江中下游的静水湖泊和河流之中,是我国具有较大

经济价值和市场前景的鱼类之一^[8-9]。目前甘草次酸对鱼类的研究报道甚少,且将甘草次酸作为单味中草药产品应用并涉及鱼类消化吸收的研究更是鲜有报道。本试验旨在探讨饲料中添加甘草次酸对团头鲂幼鱼肠道消化吸收酶活性及胴体组成的影响,以期从饲料营养物质的消化吸收角度研究甘草次酸对鱼类生长影响的机理,也为甘草次酸在水产饲料中的合理使用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验饲料

本试验以鱼粉、豆粕、棉粕、菜粕、鱼油、豆油、面粉、复合预混料以及磷酸二氢钙配制等氮等能的基础饲料(表1)。分别在基础饲料中添加 0(对照组)、0.15、0.30、0.45、0.60 g/kg 甘草次酸(甘草次酸购于南京泽朗医药科技有限公司)。将各个原料按照配方粉碎、称质量,逐级混匀后用小型颗粒机制成粒径为 2 mm 左右的沉性颗粒料,常温晾干后置于 -20 ℃ 冰箱保存备用。

1.2 试验鱼及养殖管理

本试验在南京农业大学浦口试验基地进行,试验开始前将团头鲂幼鱼暂养于大塘网箱内,其间用商品饲料进行驯化。1 周后,挑选外表健康、活力稳定、规格整齐、质量为 (15.63 ± 0.04) g 的团头鲂幼鱼 420 尾,随机分成 5 组,每组 3 个重复,每个重复 28 尾。试验在 15 个网箱(规格为 1.0 m × 1.0 m × 1.0 m)中进行,每日投喂 3 次(07:30、12:00、16:30),按各网箱全部鱼体质量 4% 投喂饲料(每 2 周称质量 1 次,调整投饵量),养殖期为 8 周。定期测定网箱内水温、溶氧量及 pH 值。保持池塘内微流水,并定期清洁网箱

收稿日期:2014-07-21

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2013BAD20B05);江苏省自然科学基金基础研究计划(编号:BK20130687);国家大宗淡水鱼类产业技术体系项目(编号:CARS-46-20)。

作者简介:蔡东森(1990—),男,江苏大丰人,硕士研究生,主要从事水产动物营养与饲料研究。E-mail: 2012105051@njau.edu.cn。

通信作者:刘文斌,教授,博士生导师,主要从事水产动物生理与营养学研究。E-mail: wblu@njau.edu.cn。

表 1 基础饲料配方及营养组成

原料	含量 (%)	饲料营养	组成 (%)
鱼粉	6.00	粗蛋白	32.44
棉粕	18.00	粗脂肪	7.00
菜粕	16.83	能量	16.09
豆粕	26.64		
鱼油	2.76		
豆油	2.76		
面粉	24.00		
复合预混料	1.20		
磷酸二氢钙	1.80		

注:1 kg 复合预混料含有 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 2.0 g、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 25 g、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 22 g、 $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 7 g、 Na_2SeO_3 0.04 g、KI 0.026 g、 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g、维生素 A 900 000 IU、维生素 D 200 000 IU、维生素 E 4.5 g、维生素 K_3 220 mg、维生素 B_1 320 mg、维生素 B_2 1.09 g、烟酸 2 g、维生素 B_6 500 mg、维生素 B_{12} 1.6 mg、维生素 C 5 g、泛酸 1 g、叶酸 165 mg、胆碱 60 g、肌醇 1 g、生物素 1.2 mg。

以确保网箱内外水质良好。养殖期间,水温为 $(27 \pm 2)^\circ\text{C}$,溶氧量大于 3.8 mg/L, pH 值为 7.2 ~ 7.5。

1.3 样品制备

饲养 56 d 以后,停喂 24 h,取样均在冰袋上进行。每箱随机取 4 尾鱼进行解剖,分离头部和内脏团,除去各个器官附着的脂肪和结缔组织后,用 4 $^\circ\text{C}$ 预冷的生理盐水冲洗肠道,并用滤纸吸干水分,得到肠道和胴体后置于 -20 $^\circ\text{C}$ 冰箱中保存,供测定消化吸收酶活性和胴体组成。

1.4 指标测定及方法

1.4.1 常规营养成分的测定 饲料、胴体粗蛋白含量采用半定量凯氏定氮仪 (FOSS KT260,瑞士) 测定,水分含量采用 105 $^\circ\text{C}$ 烘干法测定,粗脂肪含量采用索氏提取法测定,粗灰分含量采用 550 $^\circ\text{C}$ 灼烧法测定,粗纤维含量采用纤维分析仪 (ANKOM A2000i,美国) 测定;总能采用氧弹测热仪 (Parr 1281,美国) 测定。

1.4.2 肠道消化吸收酶活性的测定 总蛋白酶活性采用福林-酚法^[10]测定,其活性单位定义为:在 28 $^\circ\text{C}$ 条件下,1 min 水解酪素产生 1 μg 酪氨酸所需的酶量定义为 1 个酶活性单位;淀粉酶的活性单位定义为:组织中 1 mg 蛋白在 28 $^\circ\text{C}$ 与底物作用 30 min,水解 10 mg 淀粉定义为 1 个淀粉酶活性单位;脂肪酶的活性单位定义为:在 28 $^\circ\text{C}$ 条件下,1 g 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 1 个酶活性单位。肠道匀浆液的制备参照南京建成生物工程研究所的试剂盒说明书:准确称取适量的样品,制成 10% 匀浆液,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液,即为粗酶液。采用考马斯亮蓝法测定肠道蛋白含量。肠道吸收酶为碱性磷酸酶 (AKP 酶)、 Na^+ 、 K^+ - ATP 酶和 γ - 谷氨酰转肽酶 (γ - GT 酶),其活性均采用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定。以上具体测定步骤参见试剂盒说明书。

1.5 数据处理

试验结果用“平均值 \pm 标准误差”表示,数据用 Excel 2010 作初步处理后,用 SPSS Statistics 17.0 软件进行单因素方差分析 (One - Way ANOVA),并用 Duncan's 多重比较法分

析结果的差异显著性,差异显著水平为 0.05。

2 结果与分析

2.1 甘草次酸对团头鲂幼鱼肠道消化酶活性的影响

由表 2 可知,在饲料中添加甘草次酸后,团头鲂幼鱼肠道蛋白酶活性随着添加量的增加而增强,其中 0.30、0.45 g/kg 甘草次酸组显著强于对照组 ($P < 0.05$),各添加组之间差异不显著 ($P > 0.05$);肠道脂肪酶活性在添加甘草次酸后显著增强 ($P < 0.05$),各添加组之间差异不显著 ($P > 0.05$);添加甘草次酸后对肠道淀粉酶活性影响不显著 ($P > 0.05$),其中各添加组活性均略强于对照组,但差异不显著。

表 2 甘草次酸对团头鲂幼鱼肠道消化酶活性的影响

甘草次酸添加量 (g/kg)	蛋白酶活性 (U/mg)	脂肪酶活性 (U/g)	淀粉酶活性 (U/g)
0	82.36 \pm 6.34a	3.58 \pm 0.11a	796.51 \pm 53.25
0.15	103.75 \pm 2.26ab	5.99 \pm 0.42b	799.32 \pm 54.26
0.30	107.49 \pm 9.98b	6.02 \pm 0.32b	877.38 \pm 55.14
0.45	108.08 \pm 8.73b	6.38 \pm 0.25b	875.71 \pm 63.59
0.60	108.24 \pm 5.67b	6.88 \pm 0.20b	809.05 \pm 12.07

注:同列数据后相同小写字母表示差异不显著 ($P > 0.05$),不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下表同。

2.2 甘草次酸对团头鲂幼鱼肠道吸收酶活性的影响

由表 3 可知,在饲料中添加甘草次酸后,团头鲂幼鱼肠道 AKP 酶活性呈先增强后减弱的趋势,其中 0.30 g/kg 甘草次酸组活性显著强于对照组和其他添加组 ($P < 0.05$);肠道 γ - GT 酶活性在添加甘草次酸后均略高于对照组,但各组之间差异均不显著 ($P > 0.05$);肠道 Na^+ 、 K^+ - ATP 酶活性在添加甘草次酸后也呈先增强后减弱的趋势,且各添加组活性均强于对照组,但各组之间均差异不显著 ($P > 0.05$)。

表 3 甘草次酸对团头鲂幼鱼肠道吸收酶活性的影响

甘草次酸添加量 (g/kg)	AKP 酶活性 (U/mg)	γ - GT 酶活性 (U/g)	Na^+ 、 K^+ - ATP 酶活性 (U/g)
0	15.88 \pm 0.55a	32.46 \pm 0.70a	20.86 \pm 0.61a
0.15	17.05 \pm 0.67a	34.59 \pm 0.84a	21.29 \pm 0.63a
0.30	19.84 \pm 0.54b	33.79 \pm 0.84a	22.55 \pm 0.39a
0.45	16.53 \pm 0.36a	34.30 \pm 0.55a	23.14 \pm 0.95a
0.60	15.93 \pm 0.60a	33.28 \pm 0.49a	23.13 \pm 0.87a

2.3 甘草次酸对团头鲂幼鱼胴体组成的影响

由表 4 可知,胴体粗脂肪含量随着甘草次酸添加量的增加呈先下降后上升趋势,其中 0.45 g/kg 甘草次酸添加组显著低于对照组和 0.6 g/kg 添加组 ($P < 0.05$),其余各添加组之间差异不显著 ($P > 0.05$);添加甘草次酸后,幼鱼胴体粗蛋白、水分和粗灰分含量均略高于对照组 ($P > 0.05$)。

3 讨论

3.1 甘草次酸对团头鲂幼鱼肠道消化吸收酶的影响

肠道是鱼类消化和吸收的主要器官,肠道消化吸收酶活性则是反映鱼类消化机能的重要指标。要想保证鱼类健康快速地生长,促进鱼类对饲料营养物质的消化吸收显得至关重要。甘草为传统的中草药,其健脾益气的作用运用广泛^[7]。而甘草次酸作为甘草的主要活性物质发挥了主要作用^[4]。

表 4 甘草次酸对团头鲂幼鱼胴体组成的影响

甘草次酸添加量 (g/kg)	胴体组成含量(%)			
	水分	粗蛋白	粗脂肪	粗灰分
0	68.87±0.27a	18.50±0.43a	7.43±0.28a	2.09±0.03a
0.15	69.23±0.25a	19.03±0.25a	7.07±0.22ab	2.16±0.14a
0.3	69.17±0.25a	18.85±0.16a	7.03±0.18ab	2.32±0.15a
0.45	69.70±0.58a	18.76±0.57a	6.71±0.14b	2.29±0.05a
0.6	69.18±0.50a	18.65±0.65a	7.37±0.14a	2.42±0.18a

目前已有很多报道表明,适宜添加量的中草药可以增强鱼类的消化酶活性,改善鱼体的生长。刘慧吉等发现,在花鲈(*Lateolabrax japonicus*)饲料中添加复方中草药可显著增强肠道蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶活性^[11]。叶建生等研究发现,中草药可增强凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)的消化酶活性^[12]。吉红等则在泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)上也得到了相同的结果^[13]。本试验结果表明,在饲料中添加甘草次酸后,团头鲂幼鱼肠道蛋白酶和脂肪酶活性显著增强,消化能力也提高了,这与何子双等在仔猪上的研究结果^[7]一致。目前关于甘草次酸对鱼体肠道吸收酶的影响未见报道,本试验结果表明,添加适量的甘草次酸可以显著增强 AKP 酶、Na⁺, K⁺ - ATP 酶和 γ - GT 酶的活性,从而提高肠道的吸收能力。甘草的主要活性物质甘草酸在体内通过肝肠循环转运分解为甘草次酸被鱼体吸收利用。已有报道表明,甘草次酸可以影响 Caco - 2 细胞膜 P 糖蛋白(P - gp)的表达,是由于甘草次酸能够抑制蛋白 ATP 酶的活性,从而抑制 P - gp 的外排功能^[14 - 16]。因此,甘草次酸能增强团头鲂幼鱼肠道消化吸收酶的活性可能是由于其抑制了 P - gp 的外排,从而增加了饲料营养物质的利用度。

3.2 甘草次酸对团头鲂幼鱼胴体组成的影响

中草药中的很多生物活性物质对机体具有降低血脂和调节蛋白代谢的作用^[17]。现代研究表明,甘草次酸具有一定的降脂作用,其作用机制可能与抑制 11 β - 羟基类固醇脱氢酶 I 型的活性有关^[18]。目前,甘草次酸在鱼类上的研究较多的是关于降低内脏团的脂肪含量,对全鱼和胴体的影响不显著的研究^[19 - 20]。本试验结果表明,饲料中添加甘草次酸达到 0.45 g/kg 时胴体脂肪含量显著低于对照组和 0.60 g/kg 添加组,其余添加组之间差异不显著,这表明适量添加甘草次酸可以加强脂肪分解,降低鱼体脂肪沉积。此外,胴体蛋白水平比对照组也有所提高,这可能是由于甘草次酸调节蛋白代谢,减少了蛋白分解供能导致的。

4 结论

综上所述,饲料中添加甘草次酸可增强团头鲂幼鱼肠道消化吸收酶活性,促进其对营养物质的消化吸收,加强鱼体消化吸收能力,改善鱼体生长。适量的甘草次酸也可调节脂肪和蛋白代谢,减少体脂沉积,改善鱼体组成分布。

参考文献:

[1] 邱小琼,周洪琪. 中草药添加剂对异育银鲫生长和蛋白质消化吸收的影响[J]. 水产学报,2002,26(6):551 - 555.
[2] 崔淑芬,林焕冰, Lee F S C, et al. 微乳薄层色谱法鉴别甘草的研究[J]. 中草药,2007,38(4):540 - 542.
[3] 季宇彬,姜 薇,范玉玲,等. 甘草黄酮的研究进展[J]. 中草药,

2004,35(9):5 - 6.
[4] 袁琼英,刘厚钰,周 康,等. 甘草甜素脂质体和甘草甜素的药动学比较[J]. 中国新药杂志,2005,14(7):903 - 905.
[5] 丁 贤,李卓佳,陈永青,等. 复合中草药对凡纳滨对虾生长和消化酶活力的影响[J]. 广东海洋大学学报,2007,27(1):22 - 26.
[6] 陈度煌,林建斌,朱庆国,等. 几种环保型饲料添加剂对欧洲鳊鲷消化酶活性的影响[J]. 饲料与畜牧:新饲料,2011(4):10 - 12.
[7] 何子双,胡元亮,印遇龙,等. 甘草次酸对早期断奶仔猪内脏器官发育的影响[J]. 畜牧兽医学报,2008,39(7):989 - 993.
[8] 曹文宣. 梁子湖的团头鲂与三角鲂[J]. 水生生物学集刊,1960,1:57 - 78.
[9] Li X F, Liu W B, Jiang Y Y, et al. Effects of dietary protein and lipid levels in practical diets on growth performance and body composition of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fingerlings[J]. Aquaculture,2010,303:65 - 70.
[10] Lowry O P, Rosebrough N J, Farr A L et al. Protein measurement with the folin - phenol reagent [J]. The Journal of Biological Chemistry,1951,193(1):265 - 275.
[11] 刘慧吉,刘 刚,李 耕,等. 复方中草药添加剂对花鲈幼鱼生长和消化酶活性的影响[J]. 饲料工业,2008,29(6):4 - 7.
[12] 叶建生,马 牲,王兴强,等. 中草药制剂对凡纳滨对虾生长和消化酶活性的影响[J]. 中国海洋大学学报:自然科学版,2007,37(4):151 - 154.
[13] 吉 红,陈苏维,朱文东,等. 中草药添加剂对泥鳅消化酶活性影响的研究[J]. 中国饲料,2009(17):24 - 26.
[14] 刘艳文. 甘草酸对中毒剂量下马钱子碱代谢动力学影响及解毒机制研究[D]. 长沙:中南大学,2010.
[15] 何 丹. 甘草提取物及其三种主要有效成分对 Caco - 2 细胞膜上 P - pg 功能和表达的影响[D]. 长沙:中南大学,2010.
[16] Nabekura T, Yamaki T, Ueno K, et al. Inhibition of P - glycoprotein and multidrug resistance protein 1 by dietary phytochemicals[J]. Cancer Chemother Pharmacol,2008,62(5):867 - 873.
[17] 李金龙,胡 毅,邹志利,等. 复方中草药对黄鳝生长,非特异性免疫及肠道消化酶活性的影响[J]. 饲料工业,2013,34(16):26 - 30.
[18] Armanini D, Nacamulli D, Francini P F, et al. Glycyrrhetic acid, the active principle of licorice, can reduce the thickness of subcutaneous thigh fat through topical application[J]. Steroids,2005,70:538 - 542.
[19] Jiang G Z, Liu W B, Zhang C N, et al. Influence of dietary glycyrrhetic acid combined with different levels of lipid on growth, body composition, and cortisol of juvenile channel catfish, *Ictalurus punctatus* [J]. Journal of the World Aquaculture Society,2012,43(4):538 - 547.
[20] Jiang G Z, Liu W B, Li G F, et al. Effects of different dietary glycyrrhetic acid (GA) levels on growth, body composition and plasma biochemical index of juvenile channel catfish, *Ictalurus punctatus* [J]. Aquaculture,2012,338:167 - 171.