

DOI: 10.3724/SP.J.1035.2012.00057

植酸酶对斑点叉尾鲟生长性能及磷当量的研究

刘行彪 黄可付 熊吴晗冰 杨雨虹

(东北农业大学动物科学技术学院水产养殖系, 哈尔滨 150030)

摘要: 试验旨在研究饲料中添加植酸酶对斑点叉尾鲟[初始平均体重(1.70±0.04) g]生长性能及植酸磷利用的影响, 确定植酸酶的磷当量。试验采用单因素试验设计, 以 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ 提供外源无机磷, 同时添加不同浓度植酸酶, 试验设计为 10 个处理组, 分别为 1 个对照试验组、4 个无机磷试验组(0.3%、0.5%、0.8%、1.2%)和 5 个植酸酶试验组(300、500、1000、1500、2000 U/kg), 每个处理 3 个重复, 每个重复 30 尾鱼。通过折线模型确定植酸酶的最佳添加量; 通过回归分析, 建立响应指标(特定生长率、椎骨磷)与外源磷添加量之间的线性关系, 进而确定植酸酶的磷当量值。结果表明: (1)添加植酸酶的处理组与对照组相比, 增重率、特定生长率、蛋白质效率、肥满度均有显著提高($P<0.05$), 饲料系数、肝体比、脏体比均有下降($P<0.05$), 成活率各处理组没有显著差别($P>0.05$); 鱼体粗蛋白、粗灰分、钙、磷及椎骨粗灰分、钙、磷均有显著提高($P<0.05$), 鱼体粗脂肪含量有所下降。(2)无机磷添加水平与响应指标之间线性关系如下: $Y_1=0.2714X+2.294$ (X -无机磷, Y_1 -特定生长率, $R^2=0.9238$), 300、500、1000、1500 和 2000 U/kg 植酸酶分别可替代 1 kg 饲料中 0.13%、0.57%、0.76%、1.46% 和 1.35% 的磷酸二氢钙, 等效于添加了 0.03%、0.14%、0.19%、0.36% 和 0.33% 的有效磷; $Y_2=0.8737X+5.1028$ (X -无机磷, Y_2 -椎骨磷, $R^2=0.9638$), 300、500、1000、1500 和 2000 U/kg 植酸酶分别可替代 1 kg 饲料中 0.47%、1.11%、1.18%、1.38% 和 1.41% 的磷酸二氢钙, 等效于添加了 0.12%、0.27%、0.29%、0.34% 和 0.35% 的有效磷。在试验条件下, 添加 1000—2000 U/kg 植酸酶能有效改善斑点叉尾鲟生长性能, 有利于营养物质在鱼体中的沉积, 促进骨骼矿化。以特定生长率为响应指标, 植酸酶最佳添加量为 1435 U/kg 等效于添加了 0.37% 的有效磷; 以椎骨磷为响应指标, 植酸酶最佳添加量为 1226 U/kg 等效于添加了 0.33% 的有效磷。

关键词: 斑点叉尾鲟; 植酸酶; 生长性能; 磷当量

中图分类号: S963.73 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2012)01-0057-09

磷作为一种必需矿物元素, 在动物营养中发挥着重要作用^[1]。而畜禽及水产动物所用的植物性饲料中磷大部分以植酸及植酸盐的形式存在, 难以被机体利用。因此, 必须在饲料中添加无机磷酸盐, 这样不仅提高了饲料的成本, 而且饲料中未被利用的植酸磷排出体外, 造成了环境的污染^[2]。植酸酶可催化植酸盐的水解, 使磷以磷酸根的形式游离出来从而被动物吸收利用, 在饲料中添加植酸酶对提高植酸磷及其他养分的利用率, 促进动物生长性能具有良好的效果^[3, 4]。目前, 植酸酶在水产动物营养中的

研究主要集中在理化性质和应用效果等方面, 对植酸酶在改善鱼类的生产性能、骨磷沉积、消化酶活性及磷代谢等方面的作用已有了较为深入的了解^[5, 6]。但有关植酸酶与无机磷在替换过程中当量关系(植酸酶的磷当量)的研究较少且尚有较大差异, 国内学者主要集中在异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)^[7]、花鲈(*Lateolabrax japonicus*)^[8]、奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*)^[9]、尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[10]和鲤(*Cyprinus carpio*)^[11]等水产动物上, 有关植酸酶对斑点叉尾鲟(*Ictalurus*

收稿日期: 2010-10-14; 修订日期: 2011-08-12

基金项目: 黑龙江省自然科学基金(C2007-29)资助

作者简介: 刘行彪(1984—), 男, 湖北仙桃人; 硕士; 主要从事水产动物营养与饲料的研究。E-mail: boat2071531@126.com

通讯作者: 杨雨虹, 副教授; 主要从事水产动物营养与饲料的研究。E-mail: yangyuhong_68@yahoo.com.cn

punctatus)生长性能和磷当量的系统研究还未见报道。因此,本试验在研究植酸酶对斑点叉尾鲷生长性能的基础上,通过建立响应指标与无机磷之间的回归方程,进一步探讨植酸酶与无机磷之间的当量关系,以期为植酸酶在养殖和饲料生产中的应用提供试验依据和科学指导。

1 材料与方法

1.1 试验鱼来源及饲养管理

试验用斑点叉尾鲷购自四川省绵阳市金城水产养殖场,正式试验前,用基础饲料对斑点叉尾鲷驯养 2 周,使其逐渐适应试验饲料,然后挑选出体格健壮、体重均匀(1.70 ± 0.035) g 的鱼进行分组试验。采用单因素完全随机分组设计,900 尾斑点叉尾鲷,随机分为 10 个组,每组 3 个重复,每个重复放养 30 尾鱼。

采用室内循环流水养殖,每个试验缸容积 280 L,水流量控制在 2.5 L/min,水温(24 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,溶氧 > 8.0 mg/L, pH 为 7.5—8.0,氨氮 < 0.10 mg/L。试验期间每天投喂 2 次(08:00 和 16:00),每次投喂时间约 30 min,投饲率为 4.0%—5.0%,根据摄食情况作相应调整,以达到表现饱食,无剩余残饵。定期对试验缸进行清洗,每 10 天对重复组的全部样品进行称重,

试验期持续 90 d,具体时间段为 2009.10.12—2010.1.12。

1.2 基础饲料的配制

以豆粕、玉米蛋白粉、棉粕、菜粕、鱼油、次粉等组成基础饲料,维生素及矿物质预混料参照 NRC 标准配制^[12]。饲料在实验室制备,原料粉碎过 60 目筛,按配方准确称量均匀混合,然后加水 and 脂肪,再次混合均匀,用小型颗粒机压制成粒径为 1.5 mm,风干成含 8%—10% 水分的颗粒饲料,封口袋包装后放入 -18°C 冰箱冷冻保藏、备用。基础饲料配方及营养成分(表 1)。

1.3 试验设计

试验设计为 10 个处理,基础饲料为对照组(D0 组),在此基础饲料表面采用喷涂法添加 300、500、1000、1500、2000 U/kg 不同浓度的植酸酶制成 5 个加酶试验组,依次为 D1、D2、D3、D4、D5 组;另外,在基础饲料中分别添加 0.3%、0.5%、0.8%、1.2% 的磷酸二氢钙构成 4 个加磷试验组,依次为 D6、D7、D8、D9 组,改变石粉的添加比例,使试验饲料的钙水平与基础饲料一致。

植酸酶选用德国巴斯夫(Germany, BASF)颗粒状微生物植酸酶,活性 5000 U/g。植酸酶的活性采用霍启光^[1]的方法测定,实测活性:5160 U/g。

表 1 基础饲料配方及成分分析
Tab. 1 Formulation and proximate analysis of the basal diet

配方 Formulation	%	营养水平 Nutrient levels***	%
豆粕 Soybean meal	48.55	总能 GE (MJ/kg)	16.26
棉粕 Cottonseed meal	10.00	粗蛋白 Crude protein	37.96
菜粕 Rapeseed Meal	10.00	粗脂肪 Crude fat	3.43
玉米蛋白粉 Zein meal	5.00	水分 Water	9.87
次粉 Wheat middlings	20.80	灰分 Ash	10.91
石粉 Limestone	1.00	总磷 Total phosphorus (TP)	0.79
鱼油 Fish oil	2.00	植酸磷 Phytate	0.45
氯化胆碱 Choline chloride	0.30	钙 Calcium	0.91
维生素 C vitamin C	0.10	铜 (mg/kg)	5.72
维生素预混料(无 V _C)C-free Vitamin premix*	0.15	锰 (mg/kg)	26.40
矿物质预混料 Mineral premix**	0.10	锌 (mg/kg)	89.46
纤维素 Cellulose	2.00	铁 (mg/kg)	43.58
合计 Total	100		

注: *每千克饲料中含维生素 Vitamin premix supplied the diet with: VA 0.8 mg, VD 0.03 mg, VE 48.55 mg, VK 4.4 mg, VB₁ 6.15 mg, VB₂ 13.20 mg, VB₆ 13.35 mg, VB₁₂ 0.01 mg, 烟酸 nicotinic acid 22 mg, 泛酸钙 D-Ca pantothenate 38.20 mg, 叶酸 folic acid 2.2 mg, 稻壳粉 powdered rice hulls 1351.11 mg; **每千克饲料中含矿物元素 Mineral premix consisted of: 氯化钴 CoCl₂·6H₂O 0.2 mg, 硫酸铁 FeSO₄·7H₂O 149.03 mg, 硫酸锌 ZnSO₄·7H₂O 388.55 mg, 硫酸铜 CuSO₄·5H₂O 19.61 mg, 硫酸锰 MnSO₄·H₂O 68.72 mg, 碘化钾 KI 3.14 mg, 亚硒酸钠 Na₂SeO₃ 0.22 mg, 石粉 limestone 370.53 mg; ***总能根据原料组成计算所得[GE (MJ/kg) = 23.64 MJ/kg × CP + 39.54 MJ/kg × CF + 17.15 MJ/kg × CHO], 其余均为实测值***GE was calculated value, other nutrient levels were measured values

喷涂参考 Jackson, *et al.*^[13]的方法, 按实验设计浓度, 准确称取植酸酶溶于柠檬酸盐缓冲液中, 按质量(kg)体积(L)比为 20 : 1 将植酸酶缓冲溶液均匀地喷涂到基础饲料表面, 并用鱼油包裹, 放入干燥箱中 37℃ 烘干, 取出后室温下放置 24h, 使其水分保持在 8%—10% 左右, 封口袋包装后放入 -18℃ 冰箱冷冻保藏、备用。各试验饲料配方(表 2)。

表 2 试验饲料配方
Tab. 2 The test diet Formulation (%)

试验饲料 Test diet	处理 Treatment	总磷 TP	植酸磷 Phytate
D0	Basal diet	0.79	0.45
D1	Basal diet + 300 U/kg phytase	0.81	0.47
D2	Basal diet + 500 U/kg phytase	0.79	0.44
D3	Basal diet + 1000 U/kg phytase	0.80	0.45
D4	Basal diet + 1500 U/kg phytase	0.81	0.48
D5	Basal diet + 2000 U/kg phytase	0.78	0.43
D6	Basal diet + 0.3% Ca(H ₂ PO ₄) ₂	0.86	0.42
D7	Basal diet + 0.5% Ca(H ₂ PO ₄) ₂	0.91	0.46
D8	Basal diet + 0.8% Ca(H ₂ PO ₄) ₂	0.99	0.44
D9	Basal diet + 1.2% Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.09	0.45

注: 饲料用磷酸二氢钙中磷含量为 24.60%, 钙含量为 15.87%

Note: The phosphorus and calcium content were 24.60% and 15.87% of monocalcium phosphate

1.4 样品采集及分析方法

试验结束前 24h 停止投喂, 以重复组为单位, 对全部样品进行称重, 并在每一重复组中随机取出 8—10 尾鱼, 先测量体长和体重, 取肝脏和内脏后测量空壳重, 计算肝体比、脏体比和肥满度等指标; 从鱼体两侧取出肌肉, 用封口袋包装后放入冰箱中冷冻保藏以备测定体成分用; 将剔除内脏及两侧肌肉的鱼体微波煮熟 5min, 去掉头骨, 将脊椎骨剥离干净, 于 65℃ 烘箱内烘 24h, 制备成椎骨风干样后测定椎骨磷和灰分含量。

饲料和肌肉中粗蛋白、粗脂肪、水分以及钙、磷含量的分析均采用 AOAC 国际标准方法^[14]。将样品在 105℃ 下烘至恒重测定水分含量, 采用凯氏定氮法(总氮×6.25)测定粗蛋白质含量(2300 型自动凯氏定氮仪, 美国福斯特-卡托公司), 采用索氏提取法(以乙醚为溶剂)测定粗脂肪含量, 在马福炉中灼烧(550℃)24h 测定灰分含量; 微量元素的分析采用原子吸收分析法(HPLC, Hewlett Packard 1090, USA); 钙、磷含量的测定采用容量分析法; 饲料中植酸磷

的含量采用王永真等^[15]的方法测定。试验指标的计算公式如下:

$$\text{增重率}(\%) = 100 \times (\text{终体重} - \text{初始体重}) / \text{初始体重}$$

$$\text{成活率}(\%) = 100 \times (\text{实验结束时尾数}) / (\text{实验开始时尾数})$$

$$\text{饲料系数} = \text{实验期间投料量 (g, DW)} / \text{鱼净增重(g)}$$

$$\text{特定生长率}(\%) = 100 \times (\ln \text{终末体重} - \ln \text{初始体重}) / \text{实验天数}$$

$$\text{蛋白质效率} = \text{鱼净增重(g)} / \text{蛋白质摄入量(g)}$$

$$\text{肥满度}(\%) = 100 \times (\text{体重, g}) / (\text{体长, cm})^3$$

$$\text{肝体比}(\%) = 100 \times (\text{肝重}) / (\text{体重})$$

$$\text{脏体比}(\%) = 100 \times (\text{内脏重}) / (\text{体重})$$

1.5 数据处理及统计分析

采用“SAS9.2 统计软件”对数据进行统计学分析, 平均数及标准差以 ($\bar{X} \pm \text{SE}$) 表示, 先对数据作单因素方差分析(ANOVA), 处理间若有显著差异, 再作 Duncan's 多重比较, $P < 0.05$ 表示差异显著; 用 SAS 统计软件 PROC ANOVA 方法建立回归方程, 计算植酸酶的磷当量, 先以饲料磷酸二氢钙添加水平为 X , 响应指标为 Y (特定生长率为 Y_1 、椎骨磷含量为 Y_2), 分别建立特定生长率和椎骨磷含量的回归方程 $Y = a + bX$, 再将各植酸酶处理组的特定生长率和椎骨磷含量代入相应的回归方程, 计算对应的磷当量; 采用折线模型拟合分析植酸酶与特定生长率和椎骨磷的相关关系。

2 结果

2.1 植酸酶对斑点叉尾鲷生长性能的影响

由表 3 可知, 添加植酸酶的各处理组较对照组增重率、特定生长率、蛋白质效率、肥满度均有提高 ($P < 0.05$); 饲料系数、肝体比、脏体比均有下降 ($P < 0.05$); 成活率各处理组没有显著差别 ($P > 0.05$)。这一结果表明: 植酸酶在一定添加浓度范围内与斑点叉尾鲷的生长性能呈正相关, 与饲料系数呈负相关。在所有处理组中, D4 组增重率、特定生长率、蛋白质效率表现最大, 较 D0 组相比分别提高了 33.02%、19.03%、18.27%, 饲料系数最低, 比 D0 组降低了 14.96%; D3 组肝体比表现最低, 肥满度表现最高。根据植酸酶和特定生长率的关系, 采用折线模型拟合分析可得, 植酸酶的最佳添加量为 1435 U/kg, 此时特定生长率为 2.70%, 较 D0 组相比提高了 19.47%(图 1)。

表 3 植酸酶对斑点叉尾鲟增重率、特定生长率、饲料系数、成活率、蛋白质效率、肝体比、脏体比及肥满度的影响
Tab. 3 Effect of phytase on *WGR*, *SGR*, *FCR*, *SR*, *PER*, *HSI*, *VSI* and *CF* of Channel catfish

Treatment	D0	D1	D2	D3	D4	D5
<i>IWG</i> (g)	52.11±0.01 ^a	53.03±0.86 ^a	52.56±0.25 ^a	52.63±0.10 ^a	53.01±0.63 ^a	52.64±0.84 ^a
<i>FWG</i> (g)	454.54±5.77 ^{cd}	476.74±5.25 ^c	490.76±6.38 ^{bc}	523.93±7.95 ^b	597.56±9.23 ^a	576.81±6.04 ^a
<i>WGR</i> (%)	772.27±5.52 ^c	798.97±5.31 ^{bc}	833.68±11.23 ^b	895.54±27.58 ^b	1027.25±32.24 ^a	995.74±6.35 ^a
<i>SGR</i> (%)	2.26±0.01 ^d	2.34±0.02 ^c	2.46±0.01 ^b	2.51±0.05 ^b	2.69±0.03 ^a	2.66±0.01 ^a
<i>FCR</i>	1.27±0.02 ^a	1.24±0.01 ^a	1.17±0.02 ^b	1.12±0.01 ^{bc}	1.08±0.01 ^c	1.11±0.15 ^{bc}
Survival (%)	100	98.34	100	98.34	100	100
<i>PER</i>	2.08±0.04 ^d	2.12±0.01 ^d	2.25±0.01 ^c	2.37±0.01 ^b	2.46±0.01 ^a	2.39±0.02 ^{ab}
<i>HSI</i> (%)	1.80±0.03 ^a	1.72±0.22 ^{ab}	1.25±0.06 ^b	1.22±0.33 ^b	1.48±0.13 ^{ab}	1.40±0.11 ^{ab}
<i>VSI</i> (%)	10.35±0.05 ^a	10.23±0.18 ^{ab}	10.01±0.18 ^{ab}	9.84±0.20 ^b	8.86±0.06 ^c	9.05±0.06 ^c
<i>CF</i> (%)	1.40±0.01 ^{cd}	1.44±0.03 ^{bc}	1.39±0.02 ^d	1.56±0.03 ^a	1.46±0.01 ^b	1.42±0.01 ^{bcd}

注：初始总体重(g): Initial weight (*IWG*), 终末总体重(g): Final weight (*FWG*), 增重率(%): Growth rate (*WGR*), 特定生长率(%): Specific growth rate (*SGR*), 饲料系数: Feed coefficient (*FCR*), 成活率(%): Survival, 蛋白质效率: Protein efficiency ratio (*PER*), 肝体比(%): Hepatopancreas somatic indices (*HSI*), 脏体比(%): Viscera somatic indices (*VSI*), 肥满度(%): Condition fatness (*CF*); 同行肩标相同小写字母或无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

Note: In the same row, values with same small letter superscripts or no letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$), different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$). The same as below

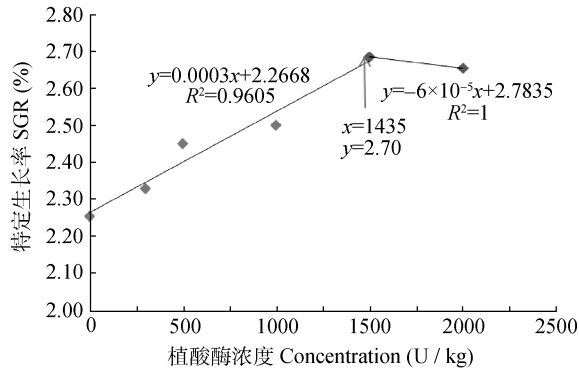


图 1 植酸酶对斑点叉尾鲟特定生长率的影响
Fig. 1 Effect of phytase on *SGR* of channel catfish

2.2 植酸酶对斑点叉尾鲟体成分及椎骨性能的影响
由表 4 可知, 添加植酸酶的处理组较对照组鱼体粗蛋白、粗灰分、磷、钙及椎骨粗灰分、磷、钙

均有显著提高, 鱼体粗脂肪含量有所下降。鱼体粗蛋白、粗灰分、钙、磷含量, D4 组表现最高, 较 D0 组分别提高了 13.92%、21.49%、49.48%和 32.58%, 与 D0 组相比, D2- D5 组粗灰分、钙、磷均具显著差异 ($P<0.05$); 粗脂肪含量, D4、D5 组下降显著, 较 D0 组分别降低了 23.94%和 25.38%, D1- D3 组与 D0 组差异均不显著($P>0.05$)。椎骨粗灰分和钙含量, D4 组表现最高, 较 D0 组分别提高了 20.93%和 19.45%, 除 D1 组外, 其他各处理组与 D0 组均具显著差异 ($P<0.05$); 椎骨磷含量, D5 组表现最高, 较 D0 组提高了 24.31%, 其他各处理组与 D0 组均具显著差异 ($P<0.05$)。通过植酸酶对椎骨磷含量的折线模型拟合分析可得, 植酸酶的最佳添加量为 1226 U/kg, 此时椎骨磷含量为 6.29%, 较 D0 组提高了 23.33%(图 2)。

表 4 植酸酶对斑点叉尾鲟体成分及椎骨中钙、磷含量的影响
Tab. 4 Effect of phytase on body content, vertebra Ca, vertebra P and Ash of channel catfish (%)

Treatment	D0	D1	D2	D3	D4	D5
肌肉 Muscle						
粗蛋白 CP	57.63±0.13 ^b	58.22±0.25 ^{ab}	62.74±0.21 ^{ab}	62.28±0.66 ^{ab}	65.65±0.45 ^a	64.09±0.13 ^{ab}
粗脂肪 CF	28.45±0.30 ^a	27.20±0.12 ^{ab}	23.86±0.08 ^{ab}	23.02±0.21 ^{ab}	21.64±0.16 ^b	21.23±0.14 ^b
粗灰分 Ash	9.82±0.03 ^c	10.25±0.04 ^c	10.88±0.10 ^b	11.25±0.09 ^b	11.93±0.17 ^a	11.29±0.11 ^b
钙 Ca	0.97±0.06 ^d	1.17±0.05 ^{cd}	1.21±0.04 ^{bc}	1.31±0.07 ^b	1.45±0.02 ^a	1.44±0.01 ^a
磷 P	0.89±0.04 ^{cd}	0.95±0.02 ^c	1.06±0.04 ^b	1.10±0.03 ^b	1.18±0.02 ^a	1.17±0.02 ^a
椎骨 Vertebra						
粗灰分 Ash	29.76±1.84 ^{cd}	31.94±0.61 ^c	34.43±0.97 ^b	35.36±0.53 ^{ab}	35.99±0.64 ^a	35.98±1.34 ^a
钙 Ca	10.50±0.18 ^d	10.58±0.078 ^d	11.05±0.11 ^c	11.75±0.08 ^b	12.50±0.07 ^a	12.48±0.14 ^a
磷 P	5.10±0.06 ^d	5.51±0.08 ^c	6.08±0.08 ^b	6.13±0.13 ^b	6.31±0.06 ^a	6.34±0.05 ^a

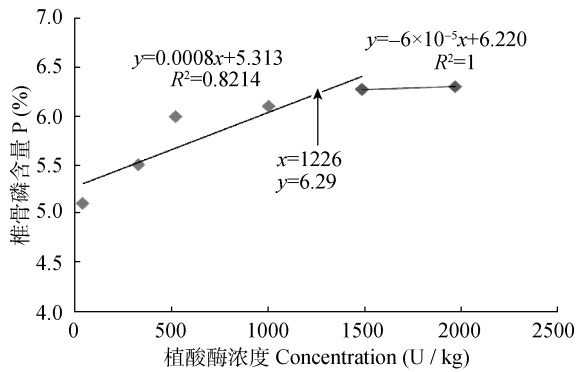


图2 植酸酶对斑点叉尾鲷椎骨磷含量的影响

Fig. 2 Effect of phytase on vertebra P of Channel catfish

2.3 斑点叉尾鲷饲料中植酸酶磷当量的研究

以鱼体特定生长率为响应指标,测定不同浓度植酸酶的磷当量。在斑点叉尾鲷基础饲料中添加不同浓度磷酸二氢钙对鱼体特定生长率的结果(表5)。以饲料磷酸二氢钙添加水平为 X ,特定生长率为 Y_1 ,建立回归方程 $Y_1=7.8316+135.94X(R^2=0.9453)$ 。将各植酸酶处理组(D1-D5组)的特定生长率代入回归方程 Y_1 中,计算出相应的磷当量值(磷酸二氢钙),分别为0.13%、0.57%、0.76%、1.46%和1.35%。可以看出,随植酸酶添加量的递增,其磷当量显著升高($P<0.05$),所有处理组中,D4组磷当量最大。由图1植酸酶对特定生长率的折线模型拟合分析可得,以特定生长率为评价指标,植酸酶的最佳添加量为1435 U/kg时,其磷当量值(磷酸二氢钙)为1.50%。

以鱼体椎骨磷为响应指标,测定不同浓度植酸酶的磷当量。在斑点叉尾鲷基础饲料中添加不同浓度磷酸二氢钙对鱼体椎骨磷的结果(表6)。以饲料磷酸二氢钙添加水平为 X ,椎骨磷为 Y_2 ,建立回归方程 $Y_2=5.1028+0.8737X(R^2=0.9638)$ 。将各植酸酶处理组(D1-D5组)椎骨磷的含量代入回归方程 Y_2 中,计算出相应的磷当量值(磷酸二氢钙),分别为0.47%、1.11%、1.18%、1.38%和1.41%,可以看出,随植酸酶添加量的递增,其磷当量显著升高($P<0.05$),添加量达到1500 U/kg时,磷当量上升趋于稳定。由图2植酸酶对椎骨磷的折线模型拟合分析可得,以椎骨磷为评价指标,植酸酶的最佳添加量为1226 U/kg时,其磷当量值(磷酸二氢钙)为1.36%。

3 讨论

3.1 植酸酶对斑点叉尾鲷生长性能和体成分的影响

磷是鱼类生长的必需矿物元素,它不仅是鱼体的重要组成成分,而且还是鱼体内许多酶的重要组成部分,参与三大营养物质的代谢。植物性饲料中磷主要以植酸磷形式存在,而鱼及单胃动物消化道中缺乏水解植酸的植酸酶^[12],因此,有效磷的降低会影响斑点叉尾鲷的生长及饲料利用。很多研究表明,植酸酶的添加能将植酸磷降解为可以利用的无机磷,有效改善动物生产性能^[16, 17]。Papatryphon, *et al.*^[18]

表5 斑点叉尾鲷鱼体特定生长率对磷酸二氢钙的回归分析

Tab. 5 Analysis of Channel catfish SGR vs. monocalcium phosphate supplement concentration

处理 Treatment	磷酸二氢钙 Ca (H ₂ PO ₄) ₂ (%)	初始总体重 Initial weight (g)	终末总体重 Final weight (g)	特定生长率 SGR (%)	回归分析 Regression analysis
D0	0	52.11±0.01 ^a	454.54±5.77 ^d	2.26±0.01 ^d	$Y_1=0.2714X+2.294$ $R^2=0.9238$
D6	0.3	52.61±0.07 ^a	479.48±1.20 ^c	2.38±0.03 ^c	
D7	0.5	52.20±0.21 ^a	507.38±3.02 ^b	2.46±0.02 ^b	
D8	0.8	52.29±0.31 ^a	534.27±3.25 ^a	2.55±0.03 ^a	
D9	1.2	52.57±0.73 ^a	538.42±1.68 ^{ab}	2.58±0.02 ^a	

表6 斑点叉尾鲷鱼体椎骨磷对磷酸二氢钙的回归分析

Tab. 6 Analysis of Channel catfish vertebra bone phosphorus vs monocalcium phosphate supplement

处理 Treatment	磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂ (%)	椎骨磷 Vertebra bone phosphorus (%)	回归分析 Regression analysis
D0	0	5.10±0.06 ^c	$Y_2=0.8737X+5.1028$ $R^2=0.9638$
D6	0.3	5.40±0.04 ^b	
D7	0.5	5.42±0.09 ^b	
D8	0.8	5.94±0.07 ^a	
D9	1.2	6.10±0.06 ^a	

报道,在条纹鲈饲料中采用喷涂法添加 1000 U/kg 的植酸酶,可以提高其生长、食物转化率和矿物质的利用率,提高骨骼和鳞片中的灰分含量。高春生等^[19]在植酸酶对草鱼生长性能及植酸磷代谢的研究中发现,饲料中添加植酸酶 1000 U/kg 可以显著地提高草鱼的平均日增重、平均日采食量,降低饵料系数。此外, Jackson, *et al.*^[13]对斑点叉尾鲷以及郑涛等对奥尼罗非鱼^[9]的研究也得到了相似的结论。在本研究中,添加 1000—2000 U/kg 的植酸酶,鱼体增重率有显著提高,饲料系数有显著降低,通过特定生长率的折线模型拟合分析可得,植酸酶的最佳添加量为 1435 U/kg。这与上述研究结论相一致,表明在斑点叉尾鲷饲料中添加一定量的植酸酶有助于提高其生长性能和饲料利用。

肝脏是营养物质重要的代谢和储存器官,胰腺分泌的消化酶能促进消化道对营养物质的消化吸收,所以肝胰腺的生长发育在养分的代谢中起着重要作用,而饲料中的营养素尤其是蛋白质、脂肪和碳水化合物通常会对鱼类的形体指标产生影响^[20, 21],饲料中有效磷的不足也会引起了动物机体代谢障碍,从而使得肝脏出现代偿性增大^[22]。有关植酸酶对鱼类肝体指数的研究较少,牛纪锋等^[23]报道,在大口黑鲈饲料的中添加植酸酶,能降低其肝体指数,取样发现,添加植酸酶的试验组鱼体肝脏正常,而对照组个别试验鱼出现了肝脏肿大问题,认为植酸酶的添加能降解植酸产生环己六醇,促进肝脏及其他组织中脂肪的新陈代谢,阻止了肝脏中脂肪的存积,从而降低了肝体指数,预防肝脏肿大。在本研究中,添加植酸酶的各处理组较对照组的肝体比和脏体比指数有所下降,但试验结束取样时,各组鱼体肝脏颜色正常,并未发现肝脏肿大现象,可能是由于饲养周期较短,植酸酶能有效促进鱼体的增重,而对照组植酸的抗营养作用对肝胰腺生长发育的影响并没有完全体现出来,关于饲料中添加植酸酶对鱼类肝胰腺生长发育的影响还有待进一步研究。

在斑点叉尾鲷体成分及椎骨性能的研究中发现,添加 1000—2000 U/kg 植酸酶可以显著提高鱼体粗灰分含量,促进肌肉和椎骨中钙、磷的沉积,通过椎骨磷含量的折线模型拟合分析可得,植酸酶的最佳添加量为 1226 U/kg。植酸酶能改善鱼体体成分,促进骨骼矿化的事实在 Wei & Robert 对斑点叉尾鲷^[24]、Jouni 对虹鳟^[25]、郑涛等对奥尼罗非鱼^[9]及余丰年等

对异育银鲫^[7]的研究中也得到了证实。因为,植酸酶在降解植酸释放无机磷的同时,也可以将原本螯合的蛋白质、矿物元素及内源性消化酶释放出来,促进了鱼体对营养物质的消化吸收,从而改善了鱼体体成分,促进了椎骨中矿物元素的沉积^[17, 25, 26]。

3.2 斑点叉尾鲷饲料中植酸酶磷当量的研究

Yi, *et al.*^[27]提出植酸酶的磷当量是指在特定条件下,针对某一评价指标,一定量植酸酶所能取代的外源无机磷添加量。这一概念的核心是在植酸酶与无机磷之间针对某一指标建立的数学关系式,根据这一关系式可以确定特定条件下所需添加的植酸酶量或可以取代的无机磷量。从植酸酶磷当量的定义可以看出,它的大小实质上是植酸酶活性高低的间接体现^[28]。因此,所有影响植酸酶活性的因素都会对植酸酶磷当量值的大小产生影响。植酸酶磷当量值的确定除了与日粮结构、食糜的酸碱度、动物年龄及生理状态等因素有关外,响应指标的选择对其影响较大^[29, 30]。多项研究结果表明,平均日增重、骨磷含量、血磷含量、骨强度及骨灰分含量是评价日粮中磷利用率的敏感指标^[16, 31],尤其是平均日增重和骨磷含量。因此,现在有关植酸酶磷当量的研究大多以这些指标为基础。本试验依据特定生长率和椎骨磷为响应指标,确定植酸酶的磷当量时,得出的响应指标(Y)与外源磷水平(X)之间回归方程的 R^2 值分别是 0.9237 和 0.9638,由此可见,在本试验条件下采用特定生长率和椎骨磷为响应指标评价植酸酶的磷当量都具有很高的置信度。

目前,关于水产动物植酸酶的磷当量研究较少。以鱼体增重率为评价指标, Soares^[32]在条纹鲈饲料中添加 2400 U/kg 的酸性植酸酶(不添加无机磷),其生长与添加 1.3%的磷酸二氢钙鱼的生长没有差异,其作用相当于替代了 0.31%的有效磷; Schaefer, *et al.*^[33]在鲤鱼饲料中添加 1000 U/kg 植酸酶,其生长与添加 0.82%的磷酸二氢钙相当,等效于替代了 0.20%的有效磷;余丰年等^[7]在异育银鲫饲料中预处理添加 500—1000 U/kg 植酸酶(不添加无机磷),其生长与添加 0.9%的磷酸二氢钙鱼的生长没有差异,其作用相当于替代了 0.22%的有效磷;罗琳等^[8]在花鲈豆粕型饲料中添加 1000 U/kg 和 1500 U/kg 的中性植酸酶,其生长与添加 0.9%—1.5%的磷酸二氢钙组鱼的生长没有差异,其作用相当于替代了 0.22%—0.36%的有效磷。在本研究中,以特定生长

率为指标,植酸酶的最佳添加量为 1435 U/kg,其磷当量值(磷酸二氢钙)为 1.50%,相当于添加了 0.37% 的有效磷;以椎骨磷为指标,植酸酶的最佳添加量为 1226 U/kg,其磷当量值(磷酸二氢钙)为 1.36%,相当于添加了 0.33% 的有效磷。上述不同研究结果之间存在着一定差异,这可能与鱼的种类和规格、饲料结构组成和饲料磷来源、植酸磷底物浓度和植酸酶添加量以及评价指标的选择等不同有关。饲料中不同来源磷的生物学利用率不同,鱼类对酪蛋白、酵母中的磷利用率高,而对鱼粉中的骨磷和植物性饲料中的植酸磷利用率较低^[12],同时,不同鱼类以及不同生长阶段对不同来源磷的消化吸收能力也有很大差异^[34],这都可能成为植酸酶合理有效应用的影响因素。本试验研究表明,在以豆粕、次粉、菜粕和棉粕为主要磷源的斑点叉尾鲷饲料中(饲料中总磷和植酸磷含量分别为 0.79%和 0.45%左右、养殖水温 24℃左右、初始体重为 1.70 g 左右),以特定生长率为响应指标,添加 1435 U/kg 植酸酶效果最佳等效于添加了 0.37% 的有效磷,以椎骨磷为响应指标,添加 1226 U/kg 植酸酶效果最佳等效于添加了 0.33% 的有效磷。

4 结论

在本试验条件下,添加 1000—2000 U/kg 植酸酶能有效改善斑点叉尾鲷生长性能,有利于营养物质在鱼体中的沉积,促进骨骼矿化。以特定生长率和椎骨磷为评价指标,植酸酶的最佳添加量分别为 1435 U/kg 和 1226 U/kg。

在本试验条件下,以特定生长率为响应指标,300、500、1000、1500 和 2000 U/kg 植酸酶分别可替代 1 kg 日粮中 0.13%、0.57%、0.76%、1.46%和 1.35%的磷酸二氢钙,等效于添加了 0.03%、0.14%、0.19%、0.36%和 0.33%的有效磷,通过折线模型分析可得,添加 1435 U/kg 植酸酶效果最佳,等效于添加了 0.37% 的有效磷;以椎骨磷为响应指标,300、500、1000、1500 和 2000 U/kg 植酸酶分别可替代 1 kg 日粮中 0.47%、1.11%、1.18%、1.38%和 1.41%的磷酸二氢钙,等效于添加了 0.12%、0.27%、0.29%、0.34%和 0.35%的有效磷,通过折线模型分析可得,添加 1226 U/kg 植酸酶效果最佳,等效于添加了 0.33% 的有效磷。

参考文献:

- [1] Huo Q G. Phosphorus Nutrition and Source of Animal [M]. Beijing: Agricultural Science and Technology of China Press. 2002, 1 [霍启光. 动物磷营养与磷源. 北京: 中国农业科学技术出版社. 2002, 1]
- [2] Guo L Y. Study on the application of replacement mono-calcium phosphate with micro-acidic phytase in the diets of the gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) [D]. Thesis for Master of Science. Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing. 2009 [郭利亚. 酸性植酸酶在异育银鲫饲料中替代磷酸二氢钙的应用研究. 硕士学位论文, 中国农业科学院, 北京. 2009]
- [3] He J H. Recent advances in phytate and phytase studies [J]. *Acta Zoonutrimenta Sinica*, 2005, 17(1): 1—6 [贺建华. 植酸磷和植酸酶研究进展. 动物营养学报, 2005, 17(1): 1—6]
- [4] Maenz D D, Classen H L. Phytase activity in the small intestinal brush border membrane of the chicken [J]. *Poultry Science*, 1998, 77(4): 557—563
- [5] Zhang L, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Effects of phytase and non-starch polysaccharide enzyme supplementation in diets on growth and digestive enzyme activity for Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2009, 33(1): 82—88 [张璐, 艾庆辉, 麦康森, 等. 植酸酶和非淀粉多糖酶对鲈鱼生长和消化酶活性的影响. 水生生物学报, 2009, 33(1): 82—88]
- [6] Chen J H, Mai K S. Effects of different supplemental methods of phytase to soybean meal on growth and feed utilization of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2010, 34(3): 481—487 [陈京华, 麦康森. 不同添加方式植酸酶处理豆粕对牙鲆生长和饲料利用率的影响. 水生生物学报, 2010, 34(3): 481—487]
- [7] Yu F N, Wang D Z. Effects of microbial phytase on growth and utilization of phosphorus in *Carssiu auratus gibelio* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2000, 7(2): 106—109 [余丰年, 王道尊. 植酸酶对异育银鲫生长及饲料中磷利用率的影响. 中国水产科学, 2000, 7(2): 106—109]
- [8] Luo L, Wu X F, Xue M, *et al.* Effect of replacement calcium phosphate monobasic with neutral phytase on growth and phosphorous metabolism of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2007, 19(1): 33—39 [罗琳, 吴秀峰, 薛敏, 等. 中性植酸酶在豆粕型饲料中替代磷酸二氢钙对花鲈生长及磷代谢的影响. 动物营养学报, 2007, 19(1): 33—39]
- [9] Zheng T, Pan Q, Li G F, *et al.* Effects of phosphorus and phytase supplements on growth performance and body composition in juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* fed fishmeal-free diet [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2006, 13(1): 112—118 [郑涛, 潘庆, 李桂峰, 等. 无鱼粉饲料中添加磷和植酸酶对奥尼罗非鱼生长性能及体成分的影响. 中国水产科学, 2006, 13(1): 112—118]
- [10] Cao L. Effects of pretreatment with microbial phytase on

- growth performance and phosphorous utilization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [D]. Thesis for Master of Science. Huazhong Agricultural University, Wuhan. 2007 [曹玲. 植酸酶预处理对尼罗罗非鱼生长及磷代谢的影响. 硕士学位论文, 华中农业大学, 武汉. 2007]
- [11] Yang Y H, Guo Q, Zu L C, *et al.* Effects of dietary phytase on growth performance and phosphorus availability for juvenile carp [J]. *Freshwater Fisheries*, 2006, **36**(5): 20—23 [杨雨虹, 郭庆, 祖立闯, 等. 植酸酶对鲤鱼生长及磷利用率的影响. 淡水渔业, 2006, **36**(5): 20—23]
- [12] NRC (National Research Council). Nutrient requirements of fish, National Academy of Sciences. Committee on Animal Nutrition, Washington D.C. 1993
- [13] Jackson L S, Li M H, Robinson E H. Use of microbial phytase in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) diets to improve utilization of phytate phosphorus [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 1996, **27**: 309—313
- [14] AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th Edition [M]. AOAC International, Arlington, VA. 1995, 1094
- [15] Wang Y Z, Cui S W, Wu X Q, *et al.* Study on measuring method of phytic acid in feed and grain [J]. *China Feed*, 1991, **6**: 28—31 [王永真, 崔淑文, 吴秀琴, 等. 饲料和谷物中植酸磷测定方法研究. 中国饲料, 1991, **6**: 28—31]
- [16] Mroz Z, Jongbloed A W, Kemme P A. Apparent digestibility and retention of nutrients bound to phytate complexes as influenced by microbial phytase and feeding regimen in pigs [J]. *Journal of Animal Science*, 1994, **72**(1): 126—132
- [17] Gentile J M, Roneker K R, Crowe S E, *et al.* Effectiveness of an experimental consensus phytase in improving dietary phytate-phosphorus utilization by weanling pigs [J]. *Journal of Animal Science*, 2003, **81**: 2751—2757
- [18] Papatryphon E, Soares J H. The effect of phytase on apparent digestibility of four practical plant feedstuffs fed to striped bass, *Morone saxatilis* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2001, **7**: 161—167
- [19] Gao C S, Wang Y L. Effects of phytase on growth and utilization of phosphorus in grass carp [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2006, **34**(7): 1377—1379 [高春生, 王艳玲. 植酸酶对草鱼生长性能及植酸磷代谢的影响. 安徽农业科学, 2006, **34**(7): 1377—1379]
- [20] Kim J D, Lall S P. Effects of dietary protein level on growth and utilization of protein and energy by juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) [J]. *Aquaculture*, 2001, **195**: 311—319
- [21] Jover M, Garcia G A, Tomas A, *et al.* Growth of mediterranean yellowtail (*Seriola dumerilii*) fed extruded diets containing different levels of protein and lipid [J]. *Aquaculture*, 1999, **179**: 25—33
- [22] Chen L, Wang T. Effects of feeding leguminous grass powder on rabbit meat quality [J]. *Acta Ecologiae Animalis Domastici*, 2009, **30**(5): 89—93 [陈琳, 王恬. 植酸酶对肉鸭屠宰性能及血清学指标的影响. 家畜生态学报, 2009, **30**(5): 89—93]
- [23] Niu J F, Wu R Q, Xie J, *et al.* Effects of phytase on growth and body content in largemouth bass *Micropterus salmoides* [J]. *Feed Industry*, 2008, **29**(6): 21—23 [牛纪锋, 吴锐全, 谢骏, 等. 饲料中添加植酸酶对大口黑鲈生长及鱼体营养成分的影响. 饲料工业, 2008, **29**(6): 21—23]
- [24] Wei B, Robert. Effect of fungal phytase on utilization of dietary protein and minerals, and dephosphorylation of phytic acid in the alimentary tract of channel catfish *Ictalurus punctatus* fed an all-plant-protein diet [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2002, **33**(1): 10—22
- [25] Jouni Vielma. Influence of dietary soy and phytase levels on performance and body composition of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and algal availability of phosphorus load [J]. *Aquaculture*, 2000, **183**: 349—362
- [26] Song J C, Shan A S. Effects of phytase on utilization of protein and amino acid [J]. *China Feed*, 2000, **10**: 14—15 [宋金彩, 单安山. 植酸酶对蛋白质和氨基酸利用率的影响. 中国饲料, 2000, **10**: 14—15]
- [27] Yi Z, Kornegay E T, Lindemann M D, *et al.* Effectiveness of natuphos phytase in improving the bioavailabilities of phosphorus and other nutrients in soybean meal-based semipurified diets for young pigs [J]. *Journal of Animal Science*, 1996, **74**(7): 1601—1611
- [28] Cromwell G L, Stahly T S, Coffey R D, *et al.* Efficacy of phytase in improving the bioavailability of phosphorus in soybean meal and corn-soybean meal diets for pigs [J]. *Journal of Animal Science*, 1993, **71**(7): 1831—1840
- [29] Knowlton K F, Radcliffe J S, Novak C L, *et al.* Animal management to reduce phosphorus losses to the environment [J]. *Journal of Animal Science*, 2004, **82**(E. Suppl.): E173—E195
- [30] Biehler R R, Baker D H, Deluca H F. 1 α -hydroxylated cholecalciferol compounds act additively with microbial phytase to improve phosphorus, zinc and manganese utilization in chicks fed soy-based diets [J]. *Journal of Nutrition*, 1995, **125**(9): 2407—2416
- [31] Lei X G, Ku P K, Miller E R, *et al.* Supplemental microbial phytase improves bioavailability of dietary zinc to weanling pigs [J]. *Journal of Nutrition*, 1993a, **123**: 1117—1123
- [32] Soares J H. Efficacy of phytase on phosphorus utilization [J]. *Proceeding of Maryland Nutrition Conference*, 1994, **53**: 76—79
- [33] Schafer A, Koppe W M. Effects of a microbial phytase on the utilization of native phosphorus by carp in a diet based on soybean meal [J]. *Water Science and Technology*, 1995, **31**(10): 149—155
- [34] Hua K, Bureau D P. Quantification of differences in digestibility of phosphorus among cyprinids, cichlids, and salmonids through a mathematical modelling approach [J]. *Aquaculture*, 2010, **308**: 152—158

STUDY ON GROWTH PERFORMANCE AND PHOSPHORUS EQUIVALENT OF PHYTASE IN CHANNEL CATFISH (*ICTALURUS PUNCTATUS*)

LIU Xing-Biao, HUANG Ke, FU Xiong, WU Han-Bing and YANG Yu-Hong

(College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030)

Abstract: The trial was conducted to study the effects of phytase on growth performance and determine the phosphorus equivalent of phytase in channel catfish (initial average weight about 1.70 g). Single factor design was used for the trial, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ was provided in four inorganic phosphorus diets (0.3%, 0.5%, 0.8% and 1.2%), and different levels of phytase were sprayed on basal diet (300, 500, 1000, 1500 and 2000 U/kg). To determine the optimum additive amount of phytase by line model, fish of homogeneous sizes were randomly allotted to 10 dietary treatments with triplicates of 30 fish in each tank. The linear relationships were established between supplemented P and response parameters (specific growth rate and vertebra bone phosphorus) to evaluate phytase phosphorus equivalent. The results showed that: (1) Compared with the basal group, growth rate, specific growth rate, protein efficiency ratio and condition fatness were increased significantly ($P<0.05$); feed coefficient, hepatopancreas somatic indices and viscera somatic indices were decreased significantly ($P<0.05$); major nutrients (crude protein, ash, phosphorus and calcium) of body and vertebra were increased significantly ($P<0.05$), but crude fat decreased. (2) The gradual supplemental P and response index fitted well with linear model: $Y_1=135.94X+7.8316$ (X -inorganic p, Y_1 -SGR, $R^2=0.9453$), the phosphorus equivalency [$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$] of 300, 500, 1000, 1500 and 2000 U/kg diet phytase was 0.13%, 0.57%, 0.76%, 1.46% and 1.35% respectively, and equal to 0.03%, 0.14%, 0.19%, 0.36% and 0.33% available phosphorus added to basal diet; $Y_2=0.8737X+5.1028$ (X -inorganic p, Y_2 - vertebra phosphorus, $R^2=0.9638$), the phosphorus equivalency [$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$] of 300, 500, 1000, 1500 and 2000 U/kg diet phytase was 0.47%, 1.11%, 1.18%, 1.38% and 1.41% respectively, and equal to 0.12%, 0.27%, 0.29%, 0.34% and 0.35% available phosphorus added to basal diet. In conclusion, 1000 U/kg–2000 U/kg phytase supplemented in diet significantly improved growth performance, conducted to the deposition of nutriment in body and bone mineralization. The phosphorus equivalency of 1435 U/kg diet phytase was the optimum and equal to 0.37% available phosphorus added to basal diet if mean specific growth rate was as reference index, then the phosphorus equivalency of 1226 U/kg diet phytase was the optimum and equal to 0.33% available phosphorus added to basal diet if mean specific growth rate was as reference index.

Key words: Channel catfish (*Ictalurus punctatus*); Phytase; Growth performance; Phosphorus equivalent