

饲料中添加中性蛋白酶对青鱼生长、消化及鱼体组成的影响

陈建明¹ 叶金云¹ 许尧兴² 沈斌乾¹ 郭建林¹ 潘 茜¹ 王友慧¹

(1. 浙江省淡水水产研究所, 湖州 313001; 2. 浙江省农科院植物与微生物研究所, 杭州 310012)

摘要:用含中性蛋白酶 8000U/g 的酶制剂, 制作酶制剂使用量分别为 0、0.5‰、1‰、2‰和 3‰的 5 种实验饲料, 喂养平均初始重为 (3.03 ± 0.04) g 的 5 组三重复的青鱼鱼种 8 周。实验在容积为 80L 的 15 只循环式水族箱中进行。实验水温为 (25.0 ± 0.5) °C。结果表明: 实验饲料中酶制剂含量为 0.5‰时, 实验鱼的鱼体增重与摄食不含酶制剂饲料的实验组无显著差异 ($p > 0.05$), 而当饲料中酶制剂含量提高至 1‰时, 鱼体增重出现显著提高 ($p < 0.05$)。但饲料中酶制剂含量从 1‰进一步提高至 2‰和 3‰, 则鱼体增重不再有显著变化 ($p > 0.05$); 饲料中酶制剂含量为 1‰、2‰和 3‰实验组的摄食量显著高于饲料中酶制剂含量为 0 和 0.5‰的实验组 ($p < 0.05$)。而饲料中酶制剂含量为 1‰、2‰和 3‰实验组的饲料系数显著低于饲料中酶制剂含量为 0 和 0.5‰的实验组 ($p < 0.05$); 青鱼饲料中使用酶制剂对饲料干物质的表观消化率、实验鱼的肠蛋白酶活性、肠和肝胰脏淀粉酶活性、全鱼营养成分、脏器指数、肝体指数无显著影响 ($p > 0.05$); 饲料中 0.5‰—3‰酶制剂含量时, 实验鱼对饲料蛋白质的表观消化率均显著高于饲料中不含酶制剂的实验组 ($p < 0.05$)。青鱼鱼种肝胰脏蛋白酶活性随着饲料中酶制剂使用量从 0 增加 0.5‰和 1‰而呈逐渐升高的趋势, 但饲料中酶制剂使用量继续增加则不再有显著变化。因此, 在本实验条件下, 饲料中使用 1‰—3‰的中性蛋白酶制剂促进青鱼鱼种的生长和降低饲料系数。

关键词:中性蛋白酶; 青鱼; 生长; 表观消化率; 消化酶活性; 全鱼组成

中图分类号: S963.73 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2009)04-0726-06

饲用酶制剂开发与应用在国内外始于 20 世纪 70 年代。我国自 20 世纪 90 年代开始应用于畜禽饲料, 经十几年的研究开发, 也已取得了巨大的成功, 并开发出以聚糖物质分解酶为主的专用酶或复合酶和提高饲料原料中磷利用率为目标的植酸酶, 使单胃动物饲用酶制剂成为一个新兴的饲料添加剂产业^[1]。然而, 水产动物营养生理和饲料加工条件有别于畜禽动物, 影响了饲用酶制剂在水产动物饲料广泛应用的步伐。但相关实验结果显示, 使用酶制剂也能提高水产动物的消化能力、促进其对营养物质的利用和提高其的生长, 同时又可能降低氮氮排泄^[2,3]。因此, 近些年来, 对研发符合水产动物营养特点的专用酶制剂开始引起关注, 其中蛋白酶的开发和应用机理研究成为重点之一。青鱼是我国传统的淡水养殖鱼类, 对其的营养需求与饲料研究已有较多的报道^[4]。但饲用酶制剂在青鱼饲料中应用及其效果尚未见报道。本实验应用中性蛋白酶制

剂, 进行饲料中添加不同剂量酶制剂对青鱼生长性能的影响及促生长机理研究, 为其在青鱼饲料中的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 酶制剂 实验用酶制剂是由浙江省农科院植微所研制的中性蛋白酶为基础的水产饲料专用酶, 含中性蛋白酶 8000U/g, 另外还含有少量木聚糖酶、纤维素酶等酶系。产酶菌株为米曲霉 (*Aspergillus oryzae*) 变种 ZW-06。

1.2 实验饲料 以褐鱼粉、豆粕、菜籽粕和面粉等为主要原料, 配制分别含酶制剂 0、0.5‰、1‰、2‰和 3‰的 5 种实验饲料, 其设计配方的原料组成和营养成分 (表 1)。实验饲料制作时, 先将原料粉碎, 使原料粉未能全部通过孔径为 0.355mm 试验筛, 按配方比例称取各原料置于盆内, 混合均匀后, 加入适量的水, 用绞肉机制成直径约为 1.2mm 的面条状饲

收稿日期: 2008-07-16; 修订日期: 2009-03-26

基金项目: 浙江省科技项目 (2006C22034 和 2006C12017) 资助

作者简介: 陈建明 (1965—), 男, 浙江湖州人; 教授级高工, 农学学士; 主要从事鱼类营养与饲料研究。E-mail: aqua_labj@163.com

通讯作者: 叶金云 (1962—), 男, 浙江永康人; 教授级高工, 农学学士; 主要从事鱼类营养与饲料研究。E-mail: ziff2006@163.com

料,在室温下风干后制成破碎颗粒,在 4℃下保存备用。

1.3 实验鱼 实验鱼种取自本所实验鱼场同一培育池的当年鱼种,平均尾重 (3.03 ±0.04) g。实验前于水泥池用不含酶制剂的实验饲料驯养二周后随机分养到 5组三重复的 15只水族箱,每箱放鱼 25尾。

表 1 实验饲料配方和营养组成分析 (g/kg干饲料)

Tab. 1 Formulation and proximate analysis of test diets (g/kg of dry diet)

原料 Ingredient	饲料 Diet				
	1	2	3	4	5
酶制剂 Enzyme product	0	0.5	1	2	3
褐鱼粉 Brown fish meal	150	150	150	150	150
豆粕 Defatted soybean meal	260	260	260	260	260
菜粕 Canola meal	150	150	150	150	150
鳕鱼肝油 Cod liver oil	16	16	16	16	16
玉米油 Corn oil	16	16	16	16	16
面粉 Wheat flour	318	317.5	317	316	315
无机盐 ¹ Mineral mix	50	50	50	50	50
维生素 ² Vitamin mix	10	10	10	10	10
褐藻酸钠 Sodium alginate	20	20	20	20	20
C ₂ O ₃	2	2	2	2	2
营养组成 Proximate analysis					
粗蛋白 Crude protein	374.3	374.2	379.8	376.5	367.9
粗脂肪 Crude lipid	59.9	59.8	60.3	60.2	60.5
粗灰分 Crude ash	103.7	103.7	104.0	103.8	103.8
C ₂ O ₃	1.97	2.05	2.11	1.98	2.11

注:1. 无机盐 (g/kg预混料) Mineral premix (g/kg mix): FeSO₄ · 7H₂O 15, CuSO₄ · H₂O 0.3, ZnSO₄ · 7H₂O 10, MnSO₄ · H₂O 0.5, NaCl 30, MgSO₄ 40, Ca(H₂PO₄)₂ 400, KIO₃ 0.05, Na₂SeO₃ 0.005, CoCl₂ · 6H₂O 0.5, 沸石粉 zeolite 503.645; 2. 维生素混合物 (g/kg预混料) Vitamin mix (g/kg mix): Vit A retinol acetate 0.80, Vit D₃ cholecalciferol 0.06, Vit E α-tocopherol acetate 4.00, Vit K₃ menadione 8.00, 硫胺素 thiamin 2.00, 核黄素 riboflavin 2.00, 泛酸 pantothenic acid 6.00, 吡哆醇 pyridoxine 2.00, 叶酸 folic acid 0.50, 尼克酸 niacin 15, Vit B₁₂ cyanocobalamin 0.02, 肌醇 inositol 40.00, 包膜维 C coated vitamin C 20, 氯化胆碱 choline chloride 50, 玉米淀粉 corn starch 850.62

1.4 饲养方法与水质 实验鱼饲养在容积为 80L 循环式水族箱中。每只水族箱各配一气石,连续充气。每天 9:00 和 15:00 各投饲一次,日投饲料量约占鱼体重的 3%。饲养实验持续 8 周。饲养期间,水温 (25 ±0.5) °C;水质: pH 7.1—7.3, DO 5.29—5.73 mg/L、NH₃-N 0.11—0.21 mg/L、NO₂-N 0.04—0.07 mg/L; NO₃-N 0.15—0.23 mg/L。

1.5 指标及其计算方法 成活率 (%) = 100 × (收获尾数 / 放养尾数); 鱼体增重 (%) = 100 × (鱼体终重 - 鱼体始重) / 鱼体始重; 饲料系数 = 干饲料摄入量 / 鱼体增重量; 脏体比 (%) = 100 × (内脏重 / 鱼体重); 肝体比 (%) = 100 × (肝脏脏重 / 鱼体重)。

1.6 营养成分分析 饲养实验完成后饥饿 1d,每箱取 5 尾实验鱼为一混合样,供营养组成测定。实验饲料、粪便和全鱼营养成分测定方法为: 105℃常

压干燥法测定水分;微量凯氏定氮法测定粗蛋白;用无水乙醚为溶剂,索氏抽提法测定粗脂肪;箱式电阻炉 550℃灼烧法测定粗灰分。上述测定步骤均参照 AOAC (1995)规定的方法进行^[5]。

1.7 粪便收集和表观消化率测定 饲养实验进行到第 6 周时开始收集粪便,连续收集 3 周。每次投饲后 0.5h 吸出残饵和污物,再过 2h 用虹吸法将完整的粪便收集至铜筛中,收集结束后转移到培养皿并于 70℃烘干。粪便样品置于 4℃冰箱中备用。三氧化二铬含量测定采用二苯碳酰二肼分光光度法。计算公式为:干物质表观消化率 (%) = [1 - (饲料中 C₂O₃含量 / 粪中 C₂O₃含量)] × 100; 蛋白质表观消化率 (%) = [1 - (饲料中 C₂O₃含量 / 饲料中蛋白质的含量) × (粪中蛋白质的含量 / 粪中 C₂O₃含量)] × 100。

1.8 消化酶测定 饲养实验结束后,取饥饿 1d 后的实验鱼,置冰盘上解剖,取出全部肝胰脏和消化道,剔除脂肪和消化道内容物,分别取肝胰脏和肠(每一水簇箱 5 尾实验鱼为一混合样),用滤纸吸干水分后称重,加入 10 倍的 PBS 溶液,用玻璃匀浆器在冰浴中手工匀浆。随后在 4℃、7000 r/min 离心 10min,获得的上清液即为粗酶液,并置于 4℃冰箱中待用。蛋白酶活性测定采用福林试剂法^[6]。蛋白酶活性单位定义为:于 pH7.5、37℃条件下,每分钟酶解酪蛋白生成 1μg 酪氨酸为 1 个活性单位(U)。蛋白酶活性以 U/mg 粗酶蛋白表示。淀粉酶活力测定采用 Bemfeld 法^[7]。淀粉酶活性单位定义为: pH6.9、25℃条件下,每分钟酶解可溶性淀粉生成 1 μmol 麦芽糖为 1 个活性单位(U)。淀粉酶活性以 U/mg 粗酶蛋白表示。粗酶液中蛋白浓度用考马斯亮蓝法测定^[8]。以牛血清白蛋白为基准物。

1.9 数理统计方法 用 SPSS11.5 软件进行单因子方差分析(One-way ANOVA),以检验不同实验组间各指标平均值是否存在显著性差异。如有显著差异

($p < 0.05$),则作 Duncan 多重比较分析。

2 结果

2.1 鱼体生长情况

实验鱼摄食酶制剂含量分别为 0、0.5‰、1‰、2‰和 3‰的实验饲料 8 周后,鱼体终重、鱼体增重、成活率、摄食量和饲料系数等指标(表 2)。实验鱼在整个实验期间无死亡,成活率为 100%。实验饲料中酶制剂含量为 0.5‰时,实验鱼的鱼体增重与摄食不含酶制剂饲料的实验组无显著差异($p > 0.05$),而当饲料中酶制剂含量提高至 1‰时,鱼体增重出现显著提高($p < 0.05$)。但饲料中酶制剂含量从 1‰进一步提高至 2‰和 3‰,则鱼体增重不再有显著变化($p > 0.05$)。饲料中酶制剂含量为 1‰、2‰和 3‰实验组的摄食量显著高于饲料中酶制剂含量为 0 和 0.5‰的实验组($p < 0.05$)。而饲料中酶制剂含量为 1‰、2‰和 3‰实验组的饲料系数显著低于饲料中酶制剂含量为 0 和 0.5‰的实验组($p < 0.05$)。

表 2 青鱼鱼种摄食实验饲料 8 周后的鱼体生长情况

饲料酶用量 Enzyme product (‰)	0	0.5	1	2	3	总标准误 Pooled SE	p
鱼体初重 Initial weight (g)	3.02	3.03	3.03	3.05	3.01	0.01	0.841
鱼体终重 Final weight (g)	11.16 ^a	10.91 ^a	12.08 ^b	12.33 ^b	12.24 ^b	0.19	0.013
成活率 Survival rate (%)	100	100	100	100	100	0	—
鱼体增重 Weight gain (%)	270.02 ^a	265.18 ^a	298.52 ^b	304.41 ^b	306.58 ^b	5.82	0.019
摄食量 Feed intake (g)	283.80 ^a	282.90 ^a	296.67 ^b	300.53 ^b	300.43 ^b	2.44	0.005
饲料系数 Feed conversion ratio	1.74 ^a	1.76 ^a	1.64 ^b	1.62 ^b	1.63 ^b	0.02	0.012

注:同一行数据有不同上标的英文字母表示有显著差异 ($p < 0.05$)

Note: There is a significant difference between treatments with different superscript in one row ($p < 0.05$)

表 3 饲料中酶制剂不同含量对表观消化率和消化酶活性的影响

饲料酶用量 Enzyme product (‰)	0	0.5	1	2	3	总标准误 Pooled SE	p
表观消化率 Apparent digestibility (%)							
干物质 Dry matter	71.65	73.19	74.21	72.55	72.66	0.65	0.848
蛋白质 Protein	82.35 ^a	87.17 ^b	88.49 ^b	88.92 ^b	87.77 ^b	0.72	0.003
蛋白酶活性 Protease activity (U/mg protein)							
肠 Intestine	5.99	6.30	7.37	6.26	5.38	0.44	0.770
肝胰脏 Hepato-pancreas	2.81 ^a	4.45 ^{ab}	5.93 ^b	5.45 ^b	4.92 ^b	0.36	0.030
淀粉酶活性 Amylase activity (U/mg protein)							
肠 Intestine	42.46	39.43	38.54	43.63	38.31	1.49	0.777
肝胰脏 Hepato-pancreas	45.25	44.05	45.15	44.70	42.02	0.95	0.865

注:同一行数据有不同上标的英文字母表示有显著差异 ($p < 0.05$)

Note: There is a significant difference between treatments with different superscript in one row ($p < 0.05$)

2.2 饲料中酶制剂不同含量对表观消化率和消化酶活性的影响

饲料中酶制剂不同含量对表观消化率和消化酶活性测定结果(表3)。由表3可见,青鱼饲料中使用酶制剂对饲料干物质的表观消化率无显著影响($p>0.05$)。饲料中酶制剂含量为0.5‰—3‰的各实验组间的蛋白质表观消化率也无显著差异($p>0.05$),但均显著高于饲料中不含酶制剂的实验组($p<0.05$)。青鱼鱼种摄食含有或不含酶制剂的实验饲料后,其肠蛋白酶活性、肠和肝胰脏淀粉酶活性

在各实验组间均无显著差异($p>0.05$);肝胰脏蛋白酶活性随着饲料中酶制剂使用量从0增加0.5‰和1‰而呈逐渐升高的趋势,但饲料中酶制剂使用量继续增加则不再有显著变化。

2.3 全鱼营养组成、肥满度、脏体指数和肝体指数

青鱼鱼种摄食实验饲料8周后的全鱼营养组成、肥满度、脏体指数和肝体指数列于表4。由表4可见,摄食5种实验饲料8周后,实验鱼全鱼营养组成、脏体指数和肝体指数在实验组间均无显著差异($p>0.05$)。

表4 青鱼鱼种摄食实验饲料8周后的全鱼营养组成、脏体指数和肝体指数

Tab. 4 Whole fish body composition, viscera index and hepato-pancreas index of black carp fingerling fed test diets for 8 weeks

饲料酶用量 Enzyme product (‰)	0	0.5	1	2	3	总标准误 Pooled SE	<i>p</i>
全鱼组成 Body composition							
水分 Moisture (%)	70.78	70.81	70.91	70.99	71.17	0.11	0.861
粗蛋白 Crude protein	17.25	17.06	17.34	16.95	16.77	0.10	0.378
粗脂肪 Lipid	9.72	9.68	9.56	9.69	9.56	0.12	0.993
灰分 Ash	2.70	2.65	2.71	2.68	2.66	0.01	0.361
脏体指数 Viscera index (%)	6.38	5.76	5.84	5.77	6.28	0.10	0.124
肝体指数 Hepato-pancreas index (%)	1.37	1.11	1.32	1.25	1.19	0.04	0.246

注:同一行数据有不同上标的英文字母表示有显著差异 ($p<0.05$)
Note: There is a significant difference between treatments with different superscript in one row ($p<0.05$)

3 讨论

3.1 饲料中添加中性蛋白酶对青鱼鱼种生长的影响

本实验中,青鱼摄食不添加酶制剂和添加0.5‰酶制剂的饲料(饲料1和饲料2)比添加1‰—3‰酶制剂的三种饲料(饲料3—5)有较低鱼体增重和较高的饲料系数,这表明饲料中加入1‰—3‰的酶制剂能促进青鱼的鱼体生长和改善饲料利用。这与对鳖 *Trionyx sinensis*、鲤鱼 *Cyprinus carpio*、鲫鱼 *Carassius auratus*、黄颡鱼 *Pseudobagrus fulvidraco*、尼罗罗非鱼 *O. roochranis niloticus*、奥尼罗非鱼 *O. roochromis niloticus* × *O. aureus*、金头鲷 *Sparus aurata* 等^[8—17]的研究结果一致。但不同酶制剂因剂型不同,其有效剂量并不一致^[2]。况且外源酶对不同的底物作用功效也不同^[18]。在本实验条件下,饲料中添加1‰酶制剂即可显著地提高青鱼的鱼体增重和降低饲料系数,而更高剂量的酶制剂并不能进一步扩大功效。

青鱼摄食添加1‰—3‰蛋白酶制剂的饲料,青鱼的摄食量增加,可能是由于所用中性蛋白酶能钝

化豆粕中胰蛋白酶抑制剂,从而改善饲料的适口性有关^[19]。对鳖和鲤鱼的实验得到相类似的结果^[20]。这表明实验动物生长加快是部分得益于摄食量增加。然而也有不同的观察,奥尼罗非鱼摄食添加1.0‰和1.5‰以蛋白酶为主复合酶的两种实验饲料,其摄食量均显著少于不加酶的对照组,并且摄食量与酶制剂对鱼体促长作用无关^[16]。这可能是由于实验动物及其食性不同和其他一些实验条件不同所致。

3.2 饲料中添加中性蛋白酶对青鱼鱼种消化的影响

饲料中添加酶制剂能提高陆生养殖动物对营养素的消化率已有较多的报道,但鱼类中的研究并不多。在饲料中添加饲用复合酶使尼罗罗非鱼生长饲料总消化率和蛋白质的消化率提高^[15]。在奥尼罗非鱼植物原料型饲料中添加饲用复合酶,粗蛋白、能量、脂肪和干物质消化率均显著提高^[16]。本实验中使用的酶制剂以中性蛋白酶为主。青鱼在摄食添加该酶制剂的饲料后,仅蛋白质表观消化率比不添加酶制剂的实验组有显著提高,而对饲料干物质的表观消化率无显著影响。造成这种差异可能与饲用复

合酶作用于饲料中的多种成分,而本实验中的单一蛋白酶只作用于饲料蛋白有关。

对鲤鱼^[10,21]及奥尼罗非鱼^[16,22]的研究显示,外源酶在饲料中添加能促进内源酶的分泌,使消化酶活性提高,从而提高饲料消化利用,促进生长。本实验也观察到,青鱼在摄食添加酶制剂的饲料后,比不添加酶制剂组其肝胰脏的蛋白酶活性有显著提高。但与对鲤鱼及奥尼罗非鱼研究结果不同的是,青鱼肠蛋白酶和淀粉酶活性以及肝胰脏淀粉酶均未受到酶制剂的影响。可见实验鱼品种和所用酶制剂特性不同结果并不一致。

3.3 饲料中添加中性蛋白酶对青鱼鱼种全鱼组成的影响

在饲养环境十分相近的条件下,同一种鱼类,鱼体的营养组成是相对稳定的。本实验结果表明,各组间全鱼水分、粗蛋白、粗脂肪和灰分含量都没有显著性差异。因此,在饲料中添加酶制剂对青鱼全鱼常规的营养成分无显著影响。这与对尼罗罗非鱼^[15]和鲤鱼^[21]的研究结果是相一致的。

总之,在本实验条件下,饲料中使用 1%—3% 的中性蛋白酶制剂促进青鱼鱼种的生长和降低饲料系数。其作用是通过摄食量增加和对饲料蛋白质的消化能力的提高来实现,但并未改变鱼体的营养组成。

参考文献:

- [1] Michael R B. Exogenous enzymes in monogastric nutrition-their current value and future benefits [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2000, **86**: 1—13
- [2] Shi P S, Huang F, Wei K J. Brief introduction of researches on enzyme preparation application in aquaculture [J]. *Reservoir Fisheries*, 2005, **25**(4): 5—15 [施培松,黄峰,魏开建. 酶制剂在水产养殖上的应用研究概况. 水利渔业, 2005, **25**(4): 5—15]
- [3] Zhang C X, Mai K S, Ai Q H, *et al*. Effects of exogenous enzyme on ammonia nitrogen and soluble phosphorus excretion in large yellow croaker [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2008, **32**(2): 231—236 [张春晓,麦康森,艾庆辉,等. 饲料中添加外源酶对大黄鱼和鲈鱼氮磷排泄的影响. 水生生物学报, 2008, **32**(2): 231—236]
- [4] Leng X J, Wang D Z. Black cap nutrition and feed formulating technology [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2003, **12**(3): 265—270 [冷向军,王道尊. 青鱼营养与饲料配制技术. 上海水产大学学报, 2003, **12**(3): 265—270]
- [5] AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official Methods of Analysis [M]. AOAC, Arlington VA, USA. 1995
- [6] Laboratory of Biochemistry and Microbiology, Department of Biology, Sun Yat-sen University Guideline for Biochemistry Technology [M]. Science and Technology Press 1979 [中山大学生物生化微生物教研室编. 生化技术导论. 科学出版社. 1979]
- [7] Bemfeld P. Amylases α and β : colorimetric assay method [A]. In: *Methods in Enzymology* [C]. Colowick S P, Kaplan N O (Eds.). New York Academy Press Inc 1955, Vol, **1**, 149—158
- [8] Bradford M M. A rapid sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, **72**: 248—254
- [9] Liu W B, Zhou Y M. Effect of compound enzymes supplementation to Chinese soft-shell turtle diet [J]. *Feed Industry*, 1997, **18**(11): 38—39 [刘文斌,周岩民. 中华鳖饲料中添加复合酶制剂的效果影响. 饲料工业, 1997, **18**(11): 38—39]
- [10] Qiao X T, Bai D L, Guo L, *et al*. Effect of compound enzymes on digestive enzyme activities of common carp [J]. *Fisheries of China*, 2002, **9**: 67—77 [乔秀亭,白东清,郭立,等. 复合酶制剂对鲤鱼消化酶活性的影响. 中国水产, 2002, **9**: 67—77]
- [11] Zhou X Q, Wang R J. Studies on suitable level of compound enzymes supplementation to common carp diet [J]. *Feed China*, 2001, **12**: 24—25 [周小秋,王若军. 复合酶制剂在鲤鱼饲料中适宜添加量研究. 饲料广角, 2001, **12**: 24—25]
- [12] Chen Y H. A trial on effect of compound enzyme preparation on growth performance of Pengze crucian carp [J]. *Feed Industry*, 2001, **22**(3): 27—28 [陈应华. 复合酶制剂对彭泽鲫生长性能的影响试验. 饲料工业, 2001, **22**(3): 27—28]
- [13] Wang A M, Liu W B. Studies on the effect of exogenous enzyme on growth performance and apparent digestibility of fingerling allogynogenetic crucian carp [J]. *Feed Industry*, 2006, **27**(2): 26—29 [王爱民,刘文斌. 外源酶对异育银鲫鱼种生长及表观消化率的影响研究. 饲料工业, 2006, **27**(2): 26—29]
- [14] Han Q, Xia W F, Luo Y S, *et al*. The effects of enzyme additive on the production performance of *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2002, **15**(1): 84—87 [韩庆,夏维福,罗玉双,等. 酶制剂对黄颡鱼生产性能的影响. 水产学杂志, 2002, **15**(1): 84—87]
- [15] Zhong G F, Zhou H Q. The Effects of Xylanase and Multi-enzyme PS on the Production Performance, Digestibility and the nutrient ingredients of muscles of *Oreochromis niloticus* [J]. *Journal of Zhejiang Ocean University*, 2005, **24**(4): 324—329 [钟国防,周洪琪. 木聚糖酶和复合酶制剂 PS 对尼罗罗非鱼生长性能、消化率以及肌肉营养成分的影响. 浙江海洋学院学报, 2005, **24**(4): 324—329]
- [16] Lin S M, Mai K S, Tan B P. Effects of exogenous enzyme supplementation in diets on growth and feed utilization in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. Aureus* [J]. *Aquaculture Research*, 2007, **38**: 1645—1653
- [17] Kolkovski S, Tandler A, Kissil G, *et al*. The effect of dietary exogenous digestive enzymes on ingestion assimilation, growth and survival of gilthead seabream *Spanus aurata*, Sparidae, Linnaeus

- larvae [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1993, **12**: 203—209
- [18] Drew M D, Racz V J, Gauthier R, *et al* Effect of adding protease to coextruded flax: pea or canola: pea products on nutrient digestibility and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2005, **119**: 117—128
- [19] Li Y L, Xu S C, Li X H, *et al* Inactivation of soybean trypsin inhibitor by *Aspergillus oryzae* neutral protease [J]. *China Feed*, 2008, **4**: 7—10 [李艳丽, 许少春, 李孝辉, 等. 米曲霉中性蛋白酶钝化大豆胰蛋白酶抑制剂. 中国饲料, 2008, **4**: 7—10]
- [20] Guo S L, Hu R J. Application of some new feed additive in aquaculture [J]. *Jiangxi Fisheries Technology*, 2000, **82**(2): 29—30 [郭松林, 胡瑞江. 几种新型饲料添加剂在水产养殖中的应用. 江西水产科技, 2000, **82**(2): 29—30]
- [21] Liu D Y, Leng X J, Lu Y H, *et al* Effects of adding protease (Aquagrow) in diet on growth and digestive protease activities of common carp [J]. *Freshwater Fisheries*, 2007, **37**(5): 50—52 [刘鼎云, 冷向军, 卢永红, 等. 饲料中添加蛋白酶 Aquagrow 对鲤生长和蛋白质消化酶活性的影响. 淡水渔业, 2007, **37**(5): 50—52]
- [22] Li J S, Li J L, Wu T T. Effects of exogenous enzyme and citric acid on activities of endogenous digestive enzyme of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2005, **28**(3): 97—100 [黎军胜, 李建林, 吴婷婷. 外源酶和柠檬酸对奥尼罗非鱼内源消化酶活性的影响. 南京农业大学学报, 2005, **28**(3): 97—100]

EFFECT OF ADDING NEUTRAL PROTEASE TO DIETS ON GROWTH PERFORMANCE, DIGESTION, AND BODY COMPOSITION OF FINGERLING BLACK CARP (*MYLOPHARYNGODON PICEUS*)

CHEN Jian-Ming¹, YE Jin-Yun¹, XU Yao-Xing², SHEN Bin-Qian¹, GUO Jian-Ling¹, PAN Qian¹ and WANG You-Hui¹

(1. Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, Huzhou 313001;

2. Institute of Plant Protection and Microbiology, Zhejiang Academy of Agriculture Science, Hangzhou 310012)

Abstract: A neutral protease product with an activity of 8000 u/g was used in the experiment. A basal diet without exogenous enzyme inclusion and four test diets adding 0.5‰, 1‰, 2‰ and 3‰ of the enzyme product respectively were prepared to feed five triplicate groups of fish with an initial average body weight of (3.03 ± 0.04) g. The feeding trial was conducted in 15 recirculating tank systems (80L each) at a controlled water temperature of 25 ± 0.5 °C and lasted for eight weeks. At the end of eight weeks, the weight gain of fish fed a diet with 0.5‰ of enzyme product showed no significant difference with that of fish fed basal diet ($p > 0.05$). When fish fed a diet with 1‰ of enzyme product, the weight gain increased significantly ($p < 0.05$) comparing with those of fish fed basal diet and the diet with 0.5‰ of enzyme product, but higher levels of enzyme product inclusion seemed not to improve weight gain further. Fish fed diet with 1‰, 2‰ and 3‰ of enzyme product had higher feed intake and lower feed conversion ratio than those of fish fed basal diet or the diet with 0.5‰ of enzyme product ($p < 0.05$). There was no effect of adding the enzyme product in the diets on the apparent digestibility of dry matter, intestine protease activity, intestine and hepato-pancreas amylase activity, body composition, Viscera index, and Hepato-pancreas index ($p > 0.05$). However, the apparent digestibility of dietary protein of fish fed four test diets were significantly higher than that of fish fed the basal diet ($p < 0.05$). The hepato-pancreas protease activity increased with increasing dietary supplementing the enzyme product up to 1‰, but above this level, it appeared to keep stable. In conclusion, under the condition of this experiment, adding 1‰—3‰ neutral protease product to fingerling black carp diet could promote feed intake and digest capacity of dietary protein, and as a result, improve fish growth and feed conversion.

Key words: Neutral protease; Black carp; *Mylopharyngodon piceus*; Growth, Digestive enzyme activity; Apparent digestibility; Body composition