

# Influence of Breeding Density on Amylase Activity and Lipase Activity of *Hypophthalmichthys molitrix*

Ting Liang<sup>1</sup>, Jianhua Ding<sup>2</sup>, Jia Feng<sup>1</sup>, Shulian Xie<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan

<sup>2</sup>Aquatic Product Technology Promotion Department of Shanxi Province, Taiyuan

Email: [xiesl@sxu.edu.cn](mailto:xiesl@sxu.edu.cn)

Received: May 11<sup>th</sup>, 2014; revised: Jun. 14<sup>th</sup>, 2014; accepted: Jun. 22<sup>nd</sup>, 2014

Copyright © 2014 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## Abstract

This experiment has carried on exploration including the influence on amylase and lipase activities in fish body under high and low breeding density. From April to October in 2013, the influence of different breeding densities on amylase activity and lipase activity in *H. molitrix* intestinal tract was investigated in Wenliushui excellent fish breeding grounds in Yongji, Shanxi province, North China. Two experimental groups (each including three ponds) were set, which represent low and high breeding of *H. molitrix* density of 21.2 g·m<sup>-3</sup> and 42.4 g·m<sup>-3</sup> respectively. The results showed that amylase activity of high density breeding ponds was higher than that of low density breeding ponds, and amylase activity in foregut is higher than that in hindgut, as is the same with the lipase activity. The cell abundance of Cyanophyta in high breeding density ponds was obviously lower, while the proportion of the cell abundance of Chlorophyta was higher than that in low breeding density ponds. The amylase activity had a negative correlation with the cell abundance of Cyanophyta but a positive correlation with the cell abundance of the other divisions. The lipase activity had a negative correlation with the cell abundance of Cyanophyta and Euglenophyta, but a positive correlation with the cell abundance of the other divisions.

## Keywords

*Hypophthalmichthys molitrix*, Amylase Activity, Lipase Activity, Phytoplankton, Cyanobacteria

# 放养密度对鲢鱼淀粉酶和脂肪酶活性的影响

梁 婷<sup>1</sup>, 丁建华<sup>2</sup>, 冯 佳<sup>1</sup>, 谢树莲<sup>1\*</sup>

\*通讯作者。

<sup>1</sup>山西大学生命科学学院, 太原

<sup>2</sup>山西省水产技术推广站, 太原

Email: [xiesl@sxu.edu.cn](mailto:xiesl@sxu.edu.cn)

收稿日期: 2014年5月11日; 修回日期: 2014年6月14日; 录用日期: 2014年6月22日

## 摘要

本实验就高密度养殖与低密度养殖下对鱼体内淀粉酶和脂肪酶活性的影响进行了探究。2013年4月~10月,在山西省永济市温流水良种繁育场设置了两组池塘,每组三个,一组为低密度鲢鱼养殖( $21.2 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}$ ),一组为高密度鲢鱼养殖( $42.4 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}$ )。对此两种密度养殖下鲢鱼肠道淀粉酶和脂肪酶活性进行了测定,结果表明:高密度养殖池塘中鲢鱼肠道的淀粉酶活力和脂肪酶活力均高于低密度养殖池塘,且鲢鱼前肠此两种消化酶活性高于后肠;高密度鲢鱼养殖池塘与低密度相比,蓝藻门的细胞丰度明显下降,绿藻门细胞丰度所占百分比明显增加;淀粉酶活力与蓝藻的细胞丰度呈负相关,与其余门类浮游植物细胞丰度呈正相关,脂肪酶活力与蓝藻和裸藻的细胞丰度呈负相关,与其余门类浮游植物细胞丰度呈正相关。

## 关键词

鲢鱼, 脂肪酶, 淀粉酶, 浮游藻类, 蓝藻

## 1. 引言

饵料中蛋白质、碳水化合物和脂肪是鱼类生长的重要能量来源,因此研究鱼类消化酶特性[1][2]具有重要意义。一般来说,消化酶包括蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶和纤维素酶几种。以往有关鱼类消化酶[3]-[5]方面的研究,多集中在鱼类食性与消化酶的关系、外源饲料对消化酶的影响及环境因子对消化酶的影响方面。但是,有关鱼类放养密度对其消化酶活性的影响尚未见报道。

鲢鱼(*Hypophthalmichthys molitrix*)属于鲤形目,鲤科,以滤食浮游植物为主,其生长快、疾病少、产量高,已成为我国主要的淡水养殖鱼类之一。山西是我国的一个内陆省份,鲢鱼是当地一个主要的养殖鱼种[6][7]。评估和充分挖掘鲢鱼的最佳生长环境,在健康养殖的条件下,合理增加放养密度,是提高渔产能力,增产增收的有效途径。而鲢鱼肠道消化酶的活性可直接反应其对食物的消化能力,也可反应其生长的健康状况[8]-[10]。本文对不同放养密度下鲢鱼肠道的淀粉酶和脂肪酶活力进行了研究,以期在当地优化放养密度,提高渔产潜力,高效利用养殖资源提供依据。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 调查地点和实验材料

调查地点为山西省永济市温流水良种繁育场。选取6个池塘,池塘面积均为 $45 \text{ m} \times 75 \text{ m}$ ,水深1.5 m。把6个池塘分为两组,一组(L-1, L-2, L-3)为低密度鲢鱼放养( $21.2 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}$ ),一组(H-1, H-2, H-3)为高密度鲢鱼放养( $42.4 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}$ ),鱼苗均购自同批(体重约为106 g)。鱼苗于2013年4月下旬投放,成鱼于当年10月中旬捕捞。每鱼塘随机取体重体长相当的3条活鲢鱼作为实验材料。同时用采水器于水面下0.5 m处采集水样以计数浮游植物细胞丰度[11]。

### 2.2. 实验方法

将实验鱼置于冰盘上解剖,取出整个肠道,剔除脂肪和内容物,用冰冻去离子水冲洗以去除肠道内

含物, 前、后肠分别用脱脂棉轻轻擦干称重。称重后各组织迅速放入 $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱(DW-HL388)保存[12]。

称重后的各组织经过3次反复冻融后, 按重量(g): 体积(ml) = 1:9的比例加入 $1^{\circ}\text{C}\sim 2^{\circ}\text{C}$ 的预冷生理盐水, 冰水浴条件下进行快速匀浆, 然后用高速冷冻离心机(TGL-16G-C, 上海安亭)在 $4^{\circ}\text{C}$ , 2500 r/min状态下离心15 min, 取上清液置于 $1^{\circ}\text{C}\sim 2^{\circ}\text{C}$ 冰箱内待分析[13]。

肠道上清液用于测定蛋白质浓度和淀粉酶、脂肪酶的活力。测定时将样品稀释到所需浓度, 每批样品均在24 h内测试完毕。重复3次, 取平均值。

酶液蛋白含量测定采用生工生物工程股份有限公司 Bradford 法蛋白浓度测定试剂盒, 并制作标准曲线。

淀粉酶(AMS)活性测定采用南京建成生物工程研究所试剂盒(货号 C016), 以碘-淀粉比色法测定。以 $37^{\circ}\text{C}$ 下, 每毫克组织蛋白与底物作用30 min, 水解10 mg 淀粉定义为一个淀粉酶活力单位(U/mgprot)。在波长为660 nm处用多功能酶标仪(SpectraMax-M5, 美国)进行比色测定。计算公式: AMS活力(U/mgprot) = ((空白OD值 - 测定OD值)/空白OD值)  $\times$  (0.4  $\times$  0.5/10)  $\times$  (30 min/7.5 min)  $\div$  (取样量(0.1 mL)  $\times$  待测样本蛋白浓度(mgprot/mL))。

脂肪酶(LPS)活性测定采用南京建成生物工程研究所试剂盒(货号 A054)。以 $37^{\circ}\text{C}$ 条件下, 每克组织蛋白与底物作用反应1 min, 每消耗1  $\mu\text{mol}$ 底物为一个脂肪酶活力单位。在波长为420 nm处用紫外可见分光光度计(SP-752型, 上海光谱)进行比色测定。计算公式: LPS活力(U/gprot) = (反应前吸光度 - 反应后吸光度/标准管吸光度)  $\times$  标准管的浓度(454  $\mu\text{mol/L}$ )  $\times$  反应液总体积(2.05 mL)/取样量(0.025 mL)  $\div$  (反应时间(10 min)  $\times$  待测样本蛋白浓度(gprot/L))。

将水样置于1 L采样瓶中, 加入15 mL鲁哥氏液进行固定, 静置48 h后吸去上清液, 留30 mL备用。显微镜计数时, 充分摇匀, 吸取0.1 mL滴入计数框内, 用视野法计数1 L水中浮游藻类的细胞数目。

运用SPSS 17.0软件对实验数据进行统计分析。结果以平均数 $\pm$ 标准误表示, Duncan氏多重比较法分析显著性,  $P < 0.05$ 表示差异显著,  $P < 0.01$ 表示差异极显著。

### 3. 结果与分析

#### 3.1. 鲢鱼肠道淀粉酶活力的比较

表1和图1显示了不同养殖密度下鲢鱼肠道淀粉酶的活力及比较。可以看出, 3个高密度养殖池塘中鲢鱼的淀粉酶活力(0.4907 - 0.5131 U/mgprot)均高于3个低密度养殖池塘(0.4069 - 0.4628 U/mgprot), 且差异极显著( $P < 0.01$ )。所有池塘中的鲢鱼前肠淀粉酶活性均高于后肠, 且差异基本上为显著( $P < 0.05$ )或极显著( $P < 0.01$ )。

#### 3.2. 鲢鱼肠道脂肪酶活力的比较

表1和图2显示了不同养殖密度下鲢鱼肠道脂肪酶的活力及比较。可以看出, 3个高密度养殖池塘中鲢鱼的脂肪酶活力(463.0 - 1547.5 U/gprot)均高于3个低密度养殖池塘(62.1 - 444.8 U/gprot), 且差异显著( $P < 0.05$ )。所有池塘中的鲢鱼前肠脂肪酶活性均高于后肠, 且差异基本上为显著( $P < 0.05$ )或极显著( $P < 0.01$ )。

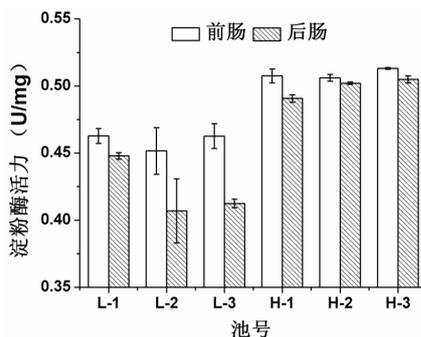
#### 3.3. 鲢鱼消化酶与池塘中浮游植物细胞丰度的关系

表2显示了鲢鱼不同养殖密度池塘中各门浮游植物细胞丰度及所占百分比。可以看出, 高密度鲢鱼放养的池塘与低密度鲢鱼放养的池塘相比, 蓝藻门的细胞丰度明显下降, 且差异显著( $P < 0.05$ ), 其余门类变化不显著。绿藻门细胞丰度所占百分比明显增加, 且差异显著( $P < 0.05$ ), 其余门类所占百分比变化

**Table 1.** Amylase and lipase activity of *Hypophthalmichthys molitrix* intestinal in different breeding densities  
**表 1.** 不同养殖密度下鲢鱼肠道淀粉酶和脂肪酶的活力

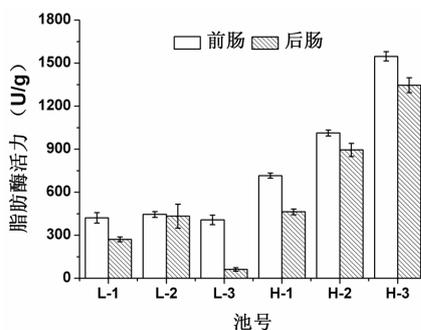
池塘编号	淀粉酶(U/mgprot)		脂肪酶(U/gprot)	
	前肠	后肠	前肠	后肠
L-1	0.4628 ± 0.0056	0.4479 ± 0.0024	421.2 ± 36.3*	271.1 ± 16.6
L-2	0.4516 ± 0.0174**	0.4069 ± 0.0239	444.8 ± 21.0	433.7 ± 83.5
L-3	0.4627 ± 0.0092**	0.4125 ± 0.0032	407.9 ± 33.6**	62.1 ± 12.0
H-1	0.5075 ± 0.0051*	0.4907 ± 0.0028	715.9 ± 17.2**	463.0 ± 20.0
H-2	0.5061 ± 0.0025*	0.5021 ± 0.0009	1013.5 ± 20.4	894.9 ± 46.3
H-3	0.5131 ± 0.0007*	0.5049 ± 0.0027	1547.5 ± 32.5*	1346.0 ± 52.8

注：表中数据 = 平均值 ± 标准误。数据采用 *t*-检验，\*表示有显著性差异( $P < 0.05$ )，\*\*表示有极显著性差异( $P < 0.01$ )。



**Figure 1.** Comparison of amylase activity of *Hypophthalmichthys molitrix* intestinal tract in different breeding densities

**图 1.** 不同养殖密度下鲢鱼肠道淀粉酶活力的比较



**Figure 2.** Comparison of lipase activity of *Hypophthalmichthys molitrix* intestinal tract in different breeding densities

**图 2.** 不同养殖密度下鲢鱼肠道脂肪酶活力的比较

均不显著。

表 3 显示了鲢鱼肠道两种消化酶与池塘中浮游植物各门类细胞丰度的相关性。可以看出淀粉酶活力与蓝藻的细胞丰度呈负相关，即蓝藻细胞丰度越高，鲢鱼肠道淀粉酶活力就越低，与其余门类浮游植物

**Table 2.** Cell abundance of phytoplankton in different breeding density of *Hypophthalmichthys molitrix*  
**表 2.** 不同鲢鱼养殖密度下浮游植物的细胞丰度

门类	细胞丰度( $10^5$ 个·L <sup>-1</sup> )		所占百分比(%)	
	鲢鱼养殖低密度	鲢鱼养殖高密度	鲢鱼养殖低密度	鲢鱼养殖高密度
蓝藻门	1513.0 ± 272.2	456 ± 180.6 <sup>*</sup>	74.4 ± 5.0	38.6 ± 14.3
绿藻门	310.7 ± 52.1	319 ± 20.2	15.3 ± 0.4	29.5 ± 3.8 <sup>*</sup>
裸藻门	101.3 ± 63.6	152 ± 67.8	4.3 ± 2.5	15.8 ± 8.9
硅藻门	26.3 ± 13.6	93 ± 43.6	1.2 ± 0.5	8.4 ± 3.6
隐藻门	91.0 ± 52.0	89.7 ± 41.7	4.6 ± 2.1	7.7 ± 2.8

注：表中数据 = 平均值 ± 标准误。数据采用 *t*-检验，\*表示有显著性差异( $P < 0.05$ )，\*\*表示有极显著性差异( $P < 0.01$ )。

**Table 3.** Pearson correlation of enzyme activity and cell abundance of phytoplankton  
**表 3.** 鲢鱼肠道淀粉酶和脂肪酶活力与池塘中浮游植物细胞丰度的 Pearson 相关系数

		蓝藻	绿藻	硅藻	裸藻	隐藻
淀粉酶活力	前肠	-0.778	0.237	0.666	0.304	0.064
	后肠	-0.740	0.293	0.644	0.379	0.252
脂肪酶活力	前肠	-0.600	0.182	0.749	-0.139	0.336
	后肠	-0.634	0.006	0.661	-0.215	0.393

细胞丰度呈正相关，即其余门类浮游植物细胞丰度越高，鲢鱼肠道淀粉酶活力就越低。脂肪酶活力与蓝藻和裸藻的细胞丰度呈负相关，即蓝藻和裸藻细胞丰度越高，鲢鱼肠道脂肪酶活力就越低，与其余门类浮游植物细胞丰度呈正相关，即其余门类浮游植物细胞丰度越高，鲢鱼肠道脂肪酶活力就越低。总之蓝藻细胞丰度越高，鲢鱼肠道消化酶活力就越低。

## 4. 讨论

### 4.1. 鲢鱼养殖密度对肠道消化酶的影响

本实验的研究结果显示，高密度养殖下鲢鱼的淀粉酶和脂肪酶活力均显著高于低密度下的活力，即高密度养殖促进了鲢鱼肠道消化酶活力的提高，说明一定的高密度鲢鱼放养有利于其对食物的消化吸收，可以使鲢鱼的质量和产量都达到生产效益的最优化。此外，鲢鱼前肠中两种消化酶的活力均显著高于后肠，这与鲢鱼本身消化系统结构有关。鲢鱼属无胃鱼，缺少胃腺，前肠膨大，兼有储存、消化和吸收食物的功能[14]，因而肠道是其吸收营养物质的主要部位[15]和消化食物的主要场所[16]。有文献报道大多数鱼类肠道中的消化酶活性由前段向后段呈递减趋势。本实验也得到了同样的研究结果，说明鲢鱼的淀粉和脂肪消化主要在前肠内。

### 4.2. 鲢鱼养殖密度对环境浮游植物细胞丰度的影响

本实验的研究结果还显示，高密度鲢鱼放养的池塘与低密度鲢鱼放养的池塘相比，蓝藻门的细胞丰度明显下降，绿藻门细胞丰度所占百分比明显增加。曾有报道，养殖鲢鱼密度范围在  $30 - 90 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$  内可以使蓝藻所占浮游植物总生物量比例大大减少[17]，有效控制蓝藻水华。本文研究结果也是一致的。实验结果同时也显示，鲢鱼肠道淀粉酶和脂肪酶的活力与蓝藻的细胞丰度呈负相关，即蓝藻细胞丰度越高，鲢鱼肠道淀粉酶活力就越低，因而高密度鲢鱼养殖池塘致使蓝藻细胞丰度减小，而这样的环境更有利于

鲢鱼肠道消化酶活力的提高, 总之, 高密度鲢鱼放养有利于鲢鱼的健康养殖。但是在作者之前有关鲢鱼食性的调查中也发现, 虽然鲢鱼可以滤食大量蓝藻细胞, 但是并不一定能够对其完全消化和吸收, 而且, 有的蓝藻可分泌藻毒素, 会对鱼体有危害[18]。因而蓝藻并不是鲢鱼较适口的饵料。所以, 鲢鱼的健康养殖需要综合评价, 全面考虑各种因素。总而言之, 高密度鲢鱼放养确实对于水体浮游植物细胞丰度的减小以及鲢鱼的健康养殖确实有一定程度的效果, 可在渔业生产中加以合理利用。

## 参考文献 (References)

- [1] 孙晓明, 孟庆闻 (1992) 鲢、鳙滤食及消化器官的发育、构造与食性的关系. *水产学报*, **3**, 202-211.
- [2] 李德尚, 董双林 (1996) 鲢、鳙滤食器官结构与功能的研究. *动物学报*, **1**, 10-14.
- [3] 倪寿文, 桂远明, 刘焕 (1992) 草鱼、鲤、鲢、鳙和尼罗非鲫淀粉酶的比较研究. *大连水产学院学报*, **1**, 24-30.
- [4] 倪寿文, 桂远明, 刘焕 (1990) 草鱼、鲤、鲢、鳙和尼罗非鲫脂肪酶活性的比较研究. *大连水产学院学报*, **3-4**, 19-24.
- [5] 黄峰, 严安生, 牟松, 等 (1999) 鲢、鳙蛋白酶、淀粉酶的研究. *中国水产科学*, **2**, 14-17.
- [6] 李思忠, 方芳 (1990) 鲢鳙青草鱼地理分布的研究. *动物学报*, **36**, 244-250.
- [7] 高孜娟 (2012) 西泉眼水库鲢鱼鳙鱼生长及其生态效应研究. 东北林业大学, 黑龙江.
- [8] 李倩倩, 黄鹤忠, 张群英, 等 (2013) 东太湖不同水域浮游生物周年变化及鲢、鳙食性的研究. *海洋科学*, **10**, 104-110.
- [9] Hsu, Y.L. and Wu, J.L. (1979) The relationship between feeding-habits and digestive proteases of some freshwater-fishes. *Bulletin of the Institute of Zoology Academia Sinica*, **18**, 45-53.
- [10] Bltterheh, G. (1985) Digestive enzyme patterns of two stomachless filter feeders, silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix* Val., and bighead carp, *Aristichthys nobilis* Rich. *Journal of Fish Biology*, **27**, 103-112.
- [11] 章宗涉, 黄祥飞 (1991) 淡水浮游生物研究方法. 科学出版社, 北京.
- [12] 杨金海, 章龙珍, 庄平 (2009) 人工养殖长鳍篮子鱼消化道指数及3种消化酶活性分布. *海洋科学*, **7**, 43-50.
- [13] 沈文英, 寿建昕, 金叶飞 (2002) 银鲫消化酶的研究. *上海水产大学学报*, **3**, 193-198.
- [14] 徐革锋, 陈侠君, 杜佳, 牟振波 (2009) 鱼类消化系统的结构、功能及消化酶的分布与特性. *水产学杂志*, **4**, 49-55.
- [15] 沈文英, 寿建昕, 金叶飞 (2002) 银鲫消化酶的研究. *上海水产大学学报*, **3**, 193-198.
- [16] 尾崎久雄, 著 (1985) 李爱杰, 沈宗武, 译. 鱼类消化生理(下册). 上海科技出版社, 上海.
- [17] 刘建康, 谢平 (2003) 用鲢鳙直接控制微囊藻水华的围隔试验和湖泊实践. *生态科学*, **3**, 193-196.
- [18] 吴伟, 瞿建宏, 陈家长 (2002) 藻毒素对鱼类肝脏的毒理学效应. *中国环境科学*, **1**, 67-70.