

# 外源 - 淀粉酶对 21 日龄肉鸡 消化器官发育、肠道内源酶活性的影响

■ 南京农业大学动物科技学院 / 蒋正宇 周岩民 王 恬

**摘 要：**选用 1 日龄 AA 肉鸡 440 羽，随机分成 4 组，每组 5 个重复，分别饲喂基础日粮（对照组）和在基础日粮中分别添加 1000LU/kg (250mg/kg)、3000LU/kg (750mg/kg)、9000LU/kg (2250mg/kg) 微生物 - 淀粉酶的试验日粮，研究添加不同剂量外源 - 淀粉酶对肉鸡消化器官发育和内源酶活性变化的影响。结果表明：添加淀粉酶不同程度地降低了肉鸡肝脏、肌胃、前肠相对重量和前肠相对长度 ( $P>0.05$ )；不同程度地提高了肉鸡前肠内容物淀粉酶、总蛋白酶 ( $P<0.05$ ) 和胰蛋白酶 ( $P<0.05$ ) 活性，但未影响脂肪酶活性，而且高剂量 (2250mg/kg) 添加组的总蛋白酶 ( $P<0.05$ ) 和淀粉酶活性有下降趋势；肉鸡空肠黏膜 DNA、RNA 浓度及蔗糖酶、麦芽糖酶活性未受低剂量淀粉酶水平影响，但高剂量降低了蔗糖酶和麦芽糖酶活性 ( $P<0.05$ )。

**关键词：** - 淀粉酶；肉鸡；消化器官；内源酶

**Abstract:** Four hundred and forty 1-day-old AA broiler chickens were randomly allocated to four groups for 5 replicates, and fed a commercial starter diet and the same diets with 1,000LU/kg (250mg/kg), 3,000LU/kg (750mg/kg), 9,000LU/kg (2250mg/kg) of  $\alpha$ -amylase inclusion up to 21 day of age to study the effects of supplementary  $\alpha$ -amylase of different levels on the development of digestive organs, intestinal enzyme activities. The results showed: Relative weights of liver, gizzard, and anterior intestine and relative length of anterior intestine tended to decrease ( $P>0.05$ ). The activities of amylase, protease ( $P<0.05$ ), and trypsin ( $P<0.05$ ) in anterior intestinal contents apparently increased. Lipase was unaffected by amylase supplementation of all levels ( $P>0.05$ ). Some high-dose-depression responses were observed with the amylase supplementation of 2250mg/kg. DNA, RNA concentration and the activities of maltase and sucrase within jejunal mucosa were not affected by supplementary amylase of 250mg/kg and 750mg/kg. High-dose-depression responses were also observed for the activities of maltase and sucrase ( $P<0.05$ ).

**Key words:**  $\alpha$ -amylase; broilers; digestive organs; endogenous enzyme

雏鸡早期发育的研究表明，仔鸡消化器官组织形态和消化酶活性随日龄增长而发生明显变化。Noy 等 (1995) 报道，与 4 日龄相比，21 日龄仔鸡十二指肠中淀粉酶净分泌活性增加至 100 倍<sup>[1]</sup>。采食刺激了雏鸡消化器官的发育和胰腺消化酶的分泌，但由于早期胰腺发育不成熟，胰腺消化酶合成和分泌速率滞后于饲料的消化，限制了养分的消化利用，从而阻碍了早期的生长。因此，在仔鸡日粮中添加适量的外源 - 淀粉酶可弥补内源酶不足，促进仔鸡早期生长。

Ritz 等 (1995) 在火鸡玉米 - 豆粕型日粮中添加淀粉酶试验发现，与对照组相比，胰淀粉酶的活性在 7 ~ 19、22 ~ 28 及 31 日龄以后的时间内均高于对照组<sup>[2]</sup>。但 Mahagna 等 (1995) 报道，在高粱日粮中添加淀粉酶和蛋白酶，降低了小肠内容物中淀粉酶、胰蛋白酶和糜蛋白酶活性及胰腺糜蛋白酶活性<sup>[3]</sup>。淀粉酶对内源酶发育的影响存在争议，这些试验结果的变异可能与动物年龄、日粮类型、外源酶的添加量有关。过量或在不恰当的时机添加外源酶，可能会抑制

动物消化器官形态发育和功能成熟,进而影响动物的生长。为此,本试验通过研究不同剂量的外源淀粉酶对肉仔鸡前期消化器官生长、小肠内源酶活性的影响,探讨外源消化酶对肉鸡早期消化道发育的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验时间和地点

试验于2005年5月19日至6月29日在南京康欣禽业有限公司进行。

### 1.2 试验动物与试验设计

选取1日龄肉鸡440羽,随机分成4个组,每组5个重复,每个重复22羽,分别饲喂4种日粮:(1)基础日粮(对照组);(2)基础日粮中添加1,000LU/kg(250mg/kg) - 淀粉酶;(3)基础日粮中添加3000LU/kg(750mg/kg) - 淀粉酶;(4)基础日粮中添加9000LU/kg(2250mg/kg) - 淀粉酶,基础日粮配方及养分含量如表1。

AA肉仔鸡由安徽和威集团种禽公司提供。 - 淀粉酶由无锡酶制剂厂提供,由Bacillus Subtilis发酵精制而得,含4000LU/g的活性淀粉酶制剂(活性单位由无锡酶制剂厂定义并测定),水分8%。

### 1.3 试验肉鸡饲养管理

试验肉鸡采用层叠笼饲养,自由饮水,自由采

表1 基础日粮配方及养分含量

原料(%)	组成	养分含量	
玉米	61.5	CP(%)	20.04
豆粕	33	ME(MJ/kg)	11.3
石粉	1.235	Met+Cys(%)	0.78
磷酸氢钙	1.7	Lys(%)	1.10
DL-Met	0.135	钙(%)	1.01
Lysine-HCl	0.04	总磷(%)	0.64
食盐	0.25	有效磷(%)	0.41
EnDOXa	0.1		
丙酸钙b >98%	0.1		
凹土	0.44		
砂石	0.5		
预混料c	1		

a. 抗氧化剂由Kemin工业有限公司提供;

b. 商用防霉剂;

c. 1% 预混料有华牧动物科技研究所提供;

食,24h连续光照,并按常规程序进行严格免疫。

### 1.4 测定指标与方法

#### 1.4.1 样品采集处理、消化器官重量和肠段长度的测量

试验称重结束,饲喂6h后,每组随机选取21日龄试验肉鸡6羽进行采样分析。用断颈法将试验鸡快速致死,颈静脉放血,迅速剖开腹腔,取出消化器官,分离肝脏、腺胃、肌胃、胰腺、十二指肠段(U形弯曲段)、空肠段(至卵黄囊残迹)、回肠(至回盲连结处)、盲肠,分别测定各段肠道自然状态下的长度和各器官重(肠段在挤出内容物后称量);轻轻挤出前肠(十二指肠和空肠)中的内容物;空肠在挤出食糜后被剪开,先用载玻片刮去表层残留的食糜后再用载玻片刮取粘膜;采集的黏膜样品冻存备用。

#### 1.4.2 肠道内容物消化酶活性测定

- 淀粉酶活性采用淀粉酶试剂盒(南京建成生化工程研究所)进行测定。总蛋白水解酶活性采用福林酚法测定;胰蛋白酶活性测定采用Erlanger等(1961)经Iwamori等(1997)改进后的方法进行测定;脂肪酶活性采用比浊法测定。

#### 1.4.3 黏膜生化指标的测定

黏膜麦芽糖酶和蔗糖酶活性参照Dahlqvist等(1968)经许梓荣等(2002)改进后的方法进行。DNA和RNA浓度用John-Chandler法提取测定。

### 1.5 数据统计与处理

试验数据先用Microsoft Excel作初步处理后,用SAS 9.0中GLM过程进行分析,Duncan法多重比较,酶的剂量与各指标之间进行线性回归分析。结果均以平均数±标准差表示。

## 2 结果与分析

添加不同水平的外源淀粉酶后,肉鸡肝脏重、肌胃重、前肠长度、前肠重分别减少了4.5%~11.8%、2.4%~7.8%、6.4%~8.7%、4.5%~6.3%(表2),胰腺、腺胃重量略有增加( $P>0.05$ ),各变化趋势与酶的添加剂量之间无明显线性关系( $P>0.05$ )。

添加不同剂量的淀粉酶不同程度地提高了的淀粉酶、总蛋白酶( $P<0.05$ )和胰蛋白酶( $P<0.05$ )活性,提高幅度分别为20.1%~54.7%,17.5%~43.5%,

14.0%~33.0%(表3);但淀粉酶添加剂量与前肠内容物中酶活性之间不存在线性关系( $P>0.05$ , $P$ 值未列出);添加750mg/kg和2250mg/kg外源淀粉酶显著提高了肠道内容物中淀粉酶活性;与750mg/kg剂量组相比,2250mg/kg剂量组肉鸡前肠内容物总蛋白酶( $P<0.05$ )和淀粉酶活性下降,提示高剂量添加淀粉酶对内容物酶活性可能有抑制作用。脂肪酶活性不受外源淀粉酶的影响( $P>0.05$ )。

外源淀粉酶对空肠黏膜DNA、RNA浓度均无明显影响(表4)。添加250mg/kg、750mg/kg淀粉酶,蔗糖酶和麦芽糖酶活性有所提高,但均不显著;但与750mg/kg剂量组相比,2250mg/kg剂量组的蔗糖

酶和麦芽糖酶活性下降( $P<0.05$ ),提示高剂量添加淀粉酶对空肠黏膜二糖酶活性可能有抑制作用。

### 3 讨论

#### 3.1 外源淀粉酶对肉鸡消化器官发育的影响

Brenes等(1993)报道,大麦型的日粮中添加酶制剂,降低了肉仔鸡十二指肠、空肠、回肠、结肠相对长度,但在小麦日粮中添加酶对消化器官生长无明显影响<sup>[4]</sup>。但Iji(2002)发现在玉米豆粕基础日粮中添加酶制剂对消化器官重量影响不大。酶制剂对消化器官生长的影响可能与饲料类型有关。粘性谷物中富含NSP,可增加食糜粘度,结合营养因子和酶,抑制酶活,导致消化器官适应性增大,过度生长,添加外源酶可水解NSP,消除不利作用,减轻消化器官负担。一般认为,玉米基础日粮中NSP含量少,肉鸡的这种适应性变化很小,但添加淀粉酶可协助消化,减轻肉鸡消化负担,促进吸收功能发育。本试验结果中肝脏、肌胃、前肠相对重量和前肠相对长度均有所

下降( $P>0.05$ )也可证实这一点。Swanson等(2002)报道,增加小肠内蛋白质流量会引起胰腺增重,但添加淀粉酶会抑制胰腺的这种反馈作用<sup>[5]</sup>。本试验中胰腺绝对重量和相对重量均增加,可能由于添加外源淀粉酶及时水解淀

表2 添加不同剂量淀粉酶对21日龄肉鸡肠段相对长度和消化器官相对重量的影响

	淀粉酶添加量 (mg/kg)				P-value Linear
	0	250	750	2250	
肝脏重	4.22 ± 0.38	4.03 ± 0.32	3.85 ± 0.26	3.72 ± 0.36	0.152
肌胃重	2.96 ± 0.21	2.73 ± 0.24	2.83 ± 0.49	2.89 ± 0.35	0.407
腺胃 (× 10 <sup>-1</sup> )	6.58 ± 0.16 <sup>a</sup>	6.92 ± 0.68 <sup>ab</sup>	6.62 ± 0.36 <sup>ab</sup>	7.39 ± 0.41 <sup>b</sup>	0.090
胰腺 (× 10 <sup>-1</sup> )	3.12 ± 0.32	3.45 ± 0.37	3.55 ± 0.38	3.65 ± 0.33	0.109
前肠长度	14.18 ± 1.10	13.27 ± 1.02	13.40 ± 0.43	12.95 ± 1.15	0.499
前肠重	3.52 ± 0.39	3.30 ± 0.21	3.35 ± 0.33	3.36 ± 0.39	0.272
回肠长度	9.56 ± 1.25	9.59 ± 1.40	9.73 ± 1.11	9.14 ± 1.07	0.124
回肠重	0.97 ± 0.14	0.87 ± 0.16	0.94 ± 0.11	0.97 ± 0.09	0.580
盲肠长度	2.04 ± 0.27	1.84 ± 0.07	2.01 ± 0.27	1.91 ± 0.18	0.985
盲肠重	0.44 ± 0.07	0.42 ± 0.07	0.39 ± 0.05	0.42 ± 0.09	0.274

同行肩标不同者表示差异显著,  $P<0.05$ , 下同。

表3 添加不同剂量淀粉酶对21日龄肉鸡前肠内容物消化酶活性的影响

	淀粉酶添加量 (mg/kg)			
	0	250	750	2250
淀粉酶	265.09 ± 33.75 <sup>a</sup>	318.27 ± 77.85 <sup>ab</sup>	439.29 ± 88.29 <sup>c</sup>	357.31 ± 46.17 <sup>bc</sup>
总蛋白酶	899.00 ± 96.81 <sup>a</sup>	1290.15 ± 156.99 <sup>b</sup>	1237.47 ± 126.56 <sup>b</sup>	1056.27 ± 186.47 <sup>ab</sup>
脂肪酶	3.51 ± 0.51	3.37 ± 0.57	3.64 ± 0.13	3.41 ± 0.31
胰蛋白酶 (× 10 <sup>-1</sup> )	2.09 ± 0.18 <sup>a</sup>	2.78 ± 0.26 <sup>b</sup>	2.48 ± 0.15 <sup>b</sup>	2.75 ± 0.30 <sup>b</sup>

表4 不同剂量淀粉酶对肉鸡空肠黏膜DNA、RNA浓度及酶活性

	淀粉酶添加量 Supplementary amylase levels. mg/kg			
	0	250	750	2250
蔗糖酶 Surase (U/g)	1.57 ± 0.09 <sup>a</sup>	1.79 ± 0.23 <sup>a</sup>	1.59 ± 0.14 <sup>a</sup>	1.19 ± 0.21 <sup>b</sup>
麦芽糖酶 Maltase (U/g)	12.98 ± 1.49 <sup>ab</sup>	13.94 ± 1.64 <sup>b</sup>	13.78 ± 0.57 <sup>b</sup>	11.52 ± 0.88 <sup>a</sup>
DNA 浓度 (mg/g)	2.01 ± 0.49	1.92 ± 0.35	2.16 ± 0.77	2.24 ± 0.53
RNA 浓度 (mg/g)	2.99 ± 0.30	3.02 ± 0.49	2.61 ± 0.45	3.24 ± 0.39

粉,消除了淀粉这种抑制作用,而引起胰腺对蛋白质的反馈调节;也有可能添加外源淀粉酶促进胰腺淀粉酶的合成,或抑制淀粉酶的释放,而增加了胰腺的重量,因为淀粉酶在胰腺蛋白含量中占的比例最大(总蛋白的12%,酶蛋白的28.9%)。

### 3.2 外源淀粉酶对肉鸡肠道生化指标的影响

研究表明,鸡肠道中的大部分淀粉酶、胰蛋白酶、脂肪酶均分布在十二指肠或空肠。因此,本试验以前肠(十二指肠和空肠)消化酶活性作为衡量肠道消化酶活性的指标。添加外源淀粉酶提高了肠道中淀粉酶活性,这与Ritz等(1995)<sup>[2]</sup>的报道相一致,Ritz等(1995)认为,淀粉酶活性的提高是外源酶和內源酶的叠加效应<sup>[3]</sup>;但与750mg/kg剂量组相比,添加高剂量(2250mg/kg)外源淀粉酶后,消化道淀粉酶活性有所下降( $P>0.05$ ),可能肠道中外源酶和內源酶活性之间关系并非简单的叠加作用。由于外源性消化酶与內源酶在消化道内很难分清,酶活性的研究方法又有较大的局限性,因此,外源消化酶与內源酶活性的关系不是十分清楚。Owsley等(1986)推测,外源酶增加了肠道中进一步分解或吸收的养分量,从而刺激机体消化系统的发育。但刘迎春(1999)认为少量添加酶制剂能增强內源酶作用,中等剂量添加外源蛋白酶对內源消化酶有降解作用,再增加外源酶则又显示出正效应。Swanson等(2002)研究表明,淀粉和酪蛋白对消化酶分泌和活性存在互作作用,在酪蛋白中添加淀粉降低了胰腺淀粉酶活性和胰蛋白酶活性<sup>[5]</sup>。添加外源淀粉酶显著提高了前肠中总蛋白酶和胰蛋白酶的活性,这可能是由于淀粉酶协助消化淀粉,减少了淀粉和蛋白的这种互作效应,或者减轻了淀粉大分子空间占位对蛋白质消化的阻隔作用,暴露更多的底物,增加了蛋白水解酶的分泌。脂肪的消化是在水脂界面上进行,需要胆盐和辅脂酶参与,可能受淀粉空间位阻作用较小,所以添加外源淀粉酶不影响脂肪酶的活性。

小肠上皮细胞酶的发育是衡量肠道功能成熟的重要标志。郑祥建(1995)报道,与玉米日粮相比,大麦日粮提高了21日龄雏鸡小肠粘膜的麦芽糖酶、蔗糖酶活性,而降低乳糖酶、海藻糖酶活性,添加-葡聚糖酶后,粘膜麦芽糖酶、蔗糖酶活性大幅度

下降,而乳糖酶和海藻糖酶活性大幅度上升。但Iji等(2003)在玉米基础日粮中添加酶制剂(含淀粉酶、蛋白酶和木聚糖酶)不影响空肠黏膜麦芽糖酶、蔗糖酶和碱性磷酸酶活性。本实验结果表明,在玉米基础日粮中添加中低剂量淀粉酶对肉鸡空肠蔗糖酶和麦芽糖酶活性均无明显影响,但高剂量添加(2250mg/kg)蔗糖酶和麦芽糖酶活性则显著下降( $P<0.05$ ),这与小肠内容物淀粉酶活性变化类似。已知蔗糖酶活性受SI(蔗糖酶-异麦芽糖酶复合物,EC3.2.1.48-10)mRNA表达调控,SI基因在小肠管道的各个部位、不同方向(十二指肠到回肠、绒毛到腺囊)的表达差异很大,导致不同肠段二糖酶酶蛋白合成速率和酶活性不同。小鼠试验表明,高直玉米淀粉降低了空肠前段蔗糖酶、麦芽糖酶和异麦芽糖酶活性,但提高了后段的蔗糖酶活性<sup>[6]</sup>。此外,试验过程黏膜刮取方法和粘膜厚度不同对结果有较大影响,也可能是造成试验结果差异的原因。DNA含量和RNA含量可分别作为衡量细胞数量和功能间接指标。本研究表明,外源淀粉酶对空肠粘膜DNA、RNA浓度均无明显影响。

### 参考文献:

- [1] Noy Y, Sklan D. Digestion and absorption in the young chick [J]. *Poult Sci*, 1995, 74:366~373.
- [2] Ritz C W, Halet R M, Self B B, et al. Endogenous amylase levels and response to supplementation feed enzymes in male turkeys from hatch to 8ws of age[J]. *Poult Sci*, 1995, 74(8):1317~1322.
- [3] Mahagna M, Nir I, Larbier M, et al. Effect of age and exogenous amylase and protease on development of the digestive tract, pancreatic enzyme activities and digestibility of nutrients in young meat-type chicks[J]. *Reprod Nutr Dev*, 1995, 35:201~212.
- [4] Brenes A, Smith W, Guenter W, et al. Effect of enzyme supplementation on the performance and digestive tract size of broiler chickens fed wheat and barley-based diets[J]. *Poult Sci*, 1993, 72:1731~1739.
- [5] Swanson K C, Matthews J C, Woods C A. Postruminal administration of partially hydrolyzed starch and casein influences pancreatic  $\alpha$ -amylase expression in calves[J]. *J Nutr*, 2002, 2:376~381.
- [6] Goda T, Urakawa T, Watanabe M, et al. Effect of high-amylose starch on carbohydrate digestive capability and lipogenesis in epididymal adipose tissue and liver of rats[J]. *J Nutr Biochem*, 1994, 5:256~260.