

外源 α -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

蒋正宇,周岩民*,王恬

(南京农业大学动物科技学院,南京 210095)

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)和在基础日粮中添加 1 000 U/kg (250 mg/kg)、3 000 U/kg (750 mg/kg)、9 000 U/kg (2 250 mg/kg) 微生物 α -淀粉酶的试验日粮,研究添加不同剂量外源 α -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:添加淀粉酶能降低肉鸡 21 日龄肝脏、肌胃、前肠相对重量和前肠相对长度 ($P > 0.05$),并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,高剂量 (2 250 mg/kg) 添加组的总蛋白酶 ($P < 0.05$) 和淀粉酶活性呈下降趋势;肉鸡空肠黏膜 DNA、RNA 浓度及蔗糖酶、麦芽糖酶活性未受淀粉酶水平 (250 mg/kg 和 750 mg/kg) 影响,但高剂量 (2 250 mg/kg) 降低了蔗糖酶和麦芽糖酶活性 ($P < 0.05$)。

关键词: α -淀粉酶;肉鸡;消化器官;内源酶

中图分类号:S831.5

文献标识码:A

文章编号:0336-6964(2007)07-0672-06

Influence of Exogenous α -amylase Supplementation on Development of Digestive Organs and Intestinal Enzyme Activities of 21-day-old Broilers

JIANG Zheng-yu, ZHOU Yan-min*, WANG Tian

(College of Animal Science and Technology,

Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

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 supplemented with 1 000 U/kg (250 mg/kg), 3 000 U/kg (750 mg/kg), 9 000 U/kg (2 250 mg/kg) of α -amylase preparation up to 21 day of age to study the effects of supplementary α -amylase of different levels on the development of digestive organs, intestinal enzyme activities. The results showed that relative weights of liver, gizzard, anterior intestine and relative length of anterior intestine tended to decrease ($P > 0.05$). The increased activities of amylase, protease ($P < 0.05$), and trypsin ($P < 0.05$) in anterior intestinal and high-dose-depression responses with the amylase supplementation of 2 250 mg/kg were observed. Lipase activity, however, was unaffected by amylase supplementation of all levels ($P > 0.05$). DNA, RNA concentration and the activities of maltase and sucrase within jejunal mucosa were not affected by supplementary amylase of 250 mg/kg and 750 mg/kg. High-dose-depression responses were also observed for the activities of maltase and sucrase ($P < 0.05$).

Key words: α -amylase; broilers; digestive organs; endogenous enzyme

收稿日期:2006-08-08

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973)(2004CB117500);国家自然科学基金资助(30300251)

作者简介:蒋正宇(1982-),男,江苏金湖人,硕士,主要从事动物营养与饲料科学研究, E-mail: jzy-2003@sohu.com

* 通讯作者:周岩民, Tel: 025-84396067, E-mail: zhouym6308@163.com

雏鸡早期发育的研究表明,其消化器官组织形态和消化酶活性随日龄的增长而发生明显变化。Noy 等报道,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^[1]。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^[2]。因此,在仔鸡日粮中添加适量的外源 α -淀粉酶可弥补内源酶的不足,促进仔鸡早期生长。

Ritz 等在火鸡玉米-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^[3]。但 Mahagna 等报道,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及胰腺糜蛋白酶活性^[4]。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^[5-7]。过量或在不同生长阶段添加外源酶,可能会抑制动物消化器官的形态发育和功能成熟,进而影响动物的生长。为此,本试验以单体 α -淀粉酶为材料,通过研究添加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 试验动物与试验设计

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。选取 1 日龄肉鸡 440 羽,随机分成 4 组,每组 5 个重复,每个重复 22 羽试验鸡,分别饲喂 4 种日粮:(1)基础日粮(对照组);(2)基础日粮中添加 1 000 U/kg (250 mg/kg) α -淀粉酶;(3)基础日粮中添加 3 000 U/kg (750 mg/kg) α -淀粉酶;(4)基础日粮中添加 9 000 U/kg (2 250 mg/kg) α -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。 α -淀粉酶由无锡酶制剂厂提供,由 *Bacillus subtilis* 发酵精制而得,含 4 000 U/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%。

试验肉鸡采用层叠笼饲养,自由饮水,自由采食,24 h 连续光照,并按常规程序进行严格免疫。

1.2 测定指标与方法

1.2.1 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 6 h 后,每组随机选取 21 日龄试验肉鸡 6 羽进行采样分析。用断颈法将试鸡

表 1 基础日粮配方及养分含量

Table 1 Compositions and nutrients of basal diets

原料 Ingredients	组成/ % Compositions	养分含量 Nutrients, calculated	
玉米 Corn	61.5	CP/ %	20.04
豆粕 Soybean meal	33	ME/ (MJ/ kg)	11.3
石粉 Limestone	1.235	Met + Cys/ %	0.78
磷酸氢钙 Dicalcium phosphate	1.7	Lys/ %	1.10
DL-Met	0.135	钙 Calcium/ %	0.94
Lysine-HCl	0.04	总磷 Total phosphorus	0.64
食盐 Salt	0.25	有效磷 Available phosphorus/ %	0.41
EnDOx	0.1		
丙酸钙 Calcium propionateb, > 98 %	0.1		
凹凸泥 Attapulgate	0.44		
砂石 Sand	0.5		
预混料 Premixc	1		

a. 抗氧化剂由 Kemin 工业有限公司提供;b. 商用防霉剂;c. 1%预混料由华牧动物科技研究所提供,为每 kg 日粮提供:VA 12 000 IU, VD₃ 3 000 IU, VE 20 mg, V K₃ 1.3 mg, VB₁ 2.2 mg, VB₂ 10 mg, Nicotinamide 1 mg, Choline 400 mg, Calcium pantothenate 10 mg, VB₆ 4 mg, Biotin 0.04 mg, Fursultiamine 1 mg, VB₁₂ 0.013 mg, Fe 80 mg, Cu 7.5 mg, Mn 110 mg, Zn 65 mg, I 1.1 mg, Se 0.4 mg, Bacitracin Zinc 30 mg 等

a. Provided by Kemin Industries, co. Ltd. as antioxidant reagent;b. Used as a commercial mould inhibitor

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(至回盲連結处)、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黏膜,采集的黏膜样品均立即放入液氮中速冻,肠道内容物在-20℃冻存,以备后续测定。

1.2.2 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^[8];胰蛋白酶活性测定采用 Erlanger 等^[9]经 Iwamori 等^[10]改进后的方法进行测定;脂肪酶活性采用比浊法测定^[11]。

1.2.3 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^[12]经许梓荣等^[13]改进后的方法进行。DNA 和 RNA 浓度用 John-Chandler 法^[14]提取测定。

1.3 数据统计与处理

试验数据先经 Microsoft Excel 初步处理后,用 SAS 9.0 中 GLM 过程进行分析,Duncan's 法多重比较,酶剂量与器官重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($P>0.05$)。

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

Table 2 Effects of different levels of supplementary amylase on relative length (cm/100 g BW) of intestinal sections and relative weight (g/100 g BW) of digestive organs of 21 d broilers

测定指标 Tested indexes	淀粉酶添加量/(mg/kg) Supplementary amylase levels				P 值 P-value
	0	250	750	2250	Linear
肝脏重 Liver weight	4.22 ±0.38	4.03 ±0.32	3.85 ±0.26	3.72 ±0.36	0.152
肌胃重 Gizzard weight	2.96 ±0.21	2.73 ±0.24	2.83 ±0.49	2.89 ±0.35	0.407
腺胃 Proventriculus weight (×10 ⁻¹)	6.58 ±0.16 ^a	6.92 ±0.68 ^{ab}	6.62 ±0.36 ^{ab}	7.39 ±0.41 ^b	0.090
胰腺 Pancreatic weight (×10 ⁻¹)	3.12 ±0.32	3.45 ±0.37	3.55 ±0.38	3.65 ±0.33	0.109
前肠长度 Anterior intestinal length	14.18 ±1.10	13.27 ±1.02	13.40 ±0.43	12.95 ±1.15	0.499
前肠重 Anterior intestinal weight	3.52 ±0.39	3.30 ±0.21	3.35 ±0.33	3.36 ±0.39	0.272
回肠长度 Ileum length	9.56 ±1.25	9.59 ±1.40	9.73 ±1.11	9.14 ±1.07	0.124
回肠重 Ileum weight	0.97 ±0.14	0.87 ±0.16	0.94 ±0.11	0.97 ±0.09	0.580
盲肠长度 Caecum length	2.04 ±0.27	1.84 ±0.07	2.01 ±0.27	1.91 ±0.18	0.985
盲肠重 Caecum weight	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

Means with different superscripts in the same row differ significantly, $P<0.05$. The same as below

添加不同剂量的淀粉酶不同程度地提高了肉鸡前肠内容物中淀粉酶、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无线性关系($P>0.05$, P 值未列出);添加 750 mg/kg 和

2 250 mg/kg 外源淀粉酶显著提高了肠道内容物中淀粉酶活性;与 750 mg/kg 剂量组相比,2 250 mg/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($P>0.05$)。

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

Table 3 Effects of different levels of supplementary amylase on activities of digestive enzymes within anterior intestinal contents

(U/ mL supernatant)

消化酶 Enzymes	淀粉酶添加量 Supplementary amylase levels/ (mg/ kg)			
	0	250	750	2 250
淀粉酶 Amylase	265.09 ±33.75 ^a	318.27 ±77.85 ^{ab}	439.29 ±88.29 ^c	357.31 ±46.17 ^{bc}
总蛋白酶 Protease	899.00 ±96.81 ^a	1 290.15 ±156.99 ^b	1 237.47 ±126.56 ^b	1 056.27 ±186.47 ^{ab}
脂肪酶 Lipase	3.51 ±0.51	3.37 ±0.57	3.64 ±0.13	3.41 ±0.31
胰蛋白酶 Trypsin(×10 ⁻¹)	2.09 ±0.18 ^a	2.78 ±0.26 ^b	2.48 ±0.15 ^b	2.75 ±0.30 ^b

外源淀粉酶对空肠黏膜 DNA、RNA 浓度均无明显影响(表 4)。添加 250、750 mg/ 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 750 mg/ kg 剂量组相比,2 250 mg/ 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。

表 4 不同剂量淀粉酶对肉鸡空肠黏膜 DNA、RNA 浓度及酶活性

Table 4 Effects of different levels of supplementary amylase on DNA, RNA concentration and the activities of maltase and sucrase in jejunal mucosa

黏膜生化指标 Biochemical indexes	淀粉酶添加量 Supplementary amylase levels/ (mg/ kg)			
	0	250	750	2 250
蔗糖酶 Sucrase/ (U/ g)	1.57 ±0.09 ^a	1.79 ±0.23 ^a	1.59 ±0.14 ^a	1.19 ±0.21 ^b
麦芽糖酶 Maltase/ (U/ g)	12.98 ±1.49 ^{ab}	13.94 ±1.64 ^b	13.78 ±0.57 ^b	11.52 ±0.88 ^a
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

3 讨 论

Brenes 等报道,大麦型日粮中添加酶制剂,降低了肉仔鸡十二指肠、空肠、回肠、结肠相对长度,而在小麦日粮中添加酶则对消化器官发育无明显影响^[15]。但 Iji 等发现,在玉米-豆粕型基础日粮中添加酶制剂对消化器官重量影响较小^[16]。酶制剂对消化器官发育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,结合养分和酶,抑制酶活,导致消化器官适应性增大,过度增生,添加外源酶可水解 NSP,消除其负面作用,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。对此,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($P > 0.05$)亦可予以证实。Swanson 等报道,增加小肠内蛋白质流量会引起胰腺重量增加,但添加淀粉会抑制蛋白质流量对胰腺的作用^[17]。本试验中胰腺绝对重量($P > 0.05$,数据未给出)和相对重量

均增加($P < 0.05$),可能由于添加外源淀粉酶及时水解淀粉,消除了淀粉的这种抑制作用,增强了蛋白质对胰腺重量的调节作用;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 %^[18],酶蛋白的 28.9 %^[19])。

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^[20~22]。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^[3]的报道相一致,Ritz 等认为,淀粉酶活性的提高是外源酶和内源酶的叠加效应^[3];但与 750 mg/ kg 剂量组相比,添加高剂量(2 250 mg/ kg)外源淀粉酶后,消化道淀粉酶活性有所下降($P > 0.05$),提示肠道中外源酶和内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内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,外源消化酶与内

源酶活性的关系尚难阐明。Owsley 等推测,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^[23]。但刘迎春认为少量添加酶制剂能增强内源酶作用,添加中等剂量外源蛋白酶对内源消化酶有降解作用,再增加外源酶则又显示出正效应^[24]。外源酶对内源酶的分泌作用可能是间接通过底物量来进行调控,消化系统有自身的调节机制,肠道内酶的分泌量与底物量密切相关。酶与底物的关系表明,当底物浓度一定时,随着酶浓度增加,酶解速率加快,酶解产物量增加,已消化而未被吸收的养分浓度累积和消化道中酶过量则会抑制内源酶的分泌。Swanson 等研究表明,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^[17]。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,而降低了乳糖酶、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^[25]。但 Iji 等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)未发现对空肠黏膜麦芽糖酶、蔗糖酶和碱性磷酸酶活性有影响^[16]。本试验结果表明,在玉米基础日粮中添加 250、750 mg/kg 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(2 250 mg/kg)则使蔗糖酶和麦芽糖酶活性显著下降($P < 0.05$);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,这与小肠内容物淀粉酶活性变化类似。目前,还没有证据表明外源酶对二糖酶活性有直接影响,多数试验者认为底物量调节酶的分泌和活性。Markovic 等研究发现,*Bacillus subtilis* 来源 - 淀粉酶,水解淀粉生成产物中,麦芽糖/麦芽三糖比例 < 1 ,更多的是麦芽三糖^[26];所以,过量添加 *Bacillus subtilis* 来源 - 淀粉酶可能减少了肠腔中麦芽糖量,而增加了麦芽三糖量,引起麦芽

糖酶活性下降。已知蔗糖酶活性受 *SI*(蔗糖酶-异麦芽糖酶复合物, EC 3. 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^[27],导致不同肠段二糖酶的酶蛋白合成速率和酶活性有所不同。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^[28]。此外,试验过程黏膜刮取方法和黏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。

肉仔鸡有很高的蛋白质合成率,这与其较快的生长速度是相适应的。二倍体细胞具有较为恒定的 DNA 含量,因此 DNA 含量也可作为衡量细胞数量的间接指标, RNA 含量可作为衡量细胞功能的指标。但本研究表明,外源淀粉酶对空肠黏膜 DNA、RNA 浓度均无显著影响。

参考文献:

- [1] Noy Y, Sklan D. Digestion and absorption in the young chick[J]. *Poult Sci*, 1995, 74:366 ~ 373.
- [2] Sklan D, Noy Y. Hydrolysis and absorption in the small intestines of posthatch chicks[J]. *Poult Sci*, 2000, 79:1 306 ~ 1 310.
- [3] 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):1 317 ~ 1 322.
- [4] 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.
- [5] Bedford M R. Exogenous enzymes in monogastric nutrition-their current value and future benefits[J]. *Anim Feed Sci Technol*, 2000, 86:1 ~ 13.
- [6] Acamovic T. Commercial application of enzyme technology for poultry production[J]. *J World Poult Sci*, 2001, 57:225 ~ 243.
- [7] Cowieson A J. Factors that affect the nutritive value of maize for broilers[J]. *Anim Feed Sci Technol*, 2005, 119:293 ~ 305.
- [8] Anson M L. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin[J]. *J Gen Physiol*, 1938, 22:79 ~ 89.
- [9] Erlanger B F, Kokowski N, Cohen W. The prepara-

- tion and properties of two new chromogenic substrates of trypsin[J]. Arch Biochem Biophys, 1961, 95:271 ~ 273.
- [10] Iwamori M, Iwamori Y, Ito N. Sulfated lipids as inhibitors of pancreatic trypsin and chymotrypsin in epithelium of the mammalian digestive tract[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1997, 237:262 ~ 265.
- [11] Verduin P A, Punt J M, Kreutzer H M, *et al.* Studies on the determination of lipase activity[J]. Clinica Chimica Acta, 1973, 46:11 ~ 19.
- [12] Dahlqvist A. Assay of intestinal disaccharidase[J]. Analyt Biochem, 1968, 22:99 ~ 107.
- [13] 许梓荣, 李卫芬, 孙建义. 猪胃肠道黏膜二糖酶的性质[J]. 动物学报, 2002, 48(2):202 ~ 207.
- [14] Johnson L R, Chandler A M. RNA and DNA of gastric and duodenal mucosa in antrastomized and gastrin-treated rats[J]. Am J Physiol, 1973, 224:937 ~ 940.
- [15] 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, 72:1 731 ~ 1 739.
- [16] Iji P A, Khumalo K, Slippers S, *et al.* Intestinal function and body growth of broiler chickens fed on diets based on maize dried at different temperatures and supplemented with a microbial enzyme[J]. Reprod Nutr Dev, 2003, 43:77 ~ 86.
- [17] Swanson K C, Matthews J C, Woods C A. Post-ruminal administration of partially hydrolyzed starch and casein influences pancreatic α -amylase expression in calves[J]. J Nutr, 2002, 2:376 ~ 381.
- [18] Kulka R G, Duksin D. Patterns of growth and α -amylase activity in the developing chick pancreas[J]. Biochimica Et Biophysica Acta, 1964, 91:506 ~ 514.
- [19] Pubols M H. Ratio of digestive enzymes in the chick pancreas[J]. Poult Sci, 1991, 70:337 ~ 342.
- [20] Osman A M, Tanios N I. The effect of heat on the intestinal and pancreatic levels of amylase and maltase of laying hens and broilers[J]. Biochem & Physio, 1983, 75A:563 ~ 565.
- [21] Bird F H. Distribution of trypsin and α -amylase activities in the duodenum of the domestic fowl[J]. Brit Poult Sci, 1971, 12:373 ~ 378.
- [22] Rideau N, Nitzan Z, Mongin P. Activities of amylase, trypsin and lipase in the pancreas and small intestine of the laying hen during egg formation[J]. Brit Poult Sci, 1980:1 ~ 8.
- [23] Owsley W, Forr D E, Tribble L F. Effects of age and diet on the development of the pancreas and the synthesis and secretion of pancreatic enzymes in the young pigs[J]. J Anim Sci, 1986, 63:497 ~ 504.
- [24] 刘迎春. 饲用复合酶对产蛋鸡低蛋白饲料氨基酸可利用率的影响, α -粗蛋白水平对产蛋鸡低蛋白饲料氨基酸可利用率的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 1999.
- [25] 郑祥建. 家禽强化饲料-大麦基础日粮添加粗酶制剂若干问题的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 1995.
- [26] Markovic I, Markovic D B, Pavlovic N. The effect of synergism in decreased hydrolysis of biopolymers with enzyme overdosage[J]. Process Biochemistry, 2002, 38:783 ~ 790.
- [27] 付亮剑, 孙建义, 陈 艳, 等. 影响动物肠道 SI 基因表达的因素[J]. 浙江农业学报, 2004, 16(3):167 ~ 171.
- [28] 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.