

文章编号: 1000- 0615(2004)02- 0155- 06

皱纹盘鲍维生素 D 营养需要的研究

周歧存^{1,2}, 麦康森¹

(1. 中国海洋大学水产学院, 山东 青岛 266003; 2. 湛江海洋大学水产学院, 广东 湛江 524025)

摘要: 在以酪蛋白和明胶为蛋白源的精制饲料中添加不同浓度梯度的维生素 D, 并以海带为对照组饲喂皱纹盘鲍幼鲍 103d。结果表明: 幼鲍的生长及软体部水分, 脂肪和蛋白质含量受到饲料中维生素 D 添加水平的影响显著, 但成活率不受饲料中添加水平的影响; 饲料中适量添加维生素 D 可以提高幼鲍软体部碱性磷酸酶的活力, 但饲料中缺乏或过高水平的维生素 D 导致幼鲍软体部碱性磷酸酶活力的降低; 贝壳中灰分及钙、磷含量受饲料中维生素 D 添加水平的影响显著。以增重, 蛋白质增量和软体部碱性磷酸酶的活力为指标, 幼鲍饲料中维生素 D 的适宜含量为 $100\text{IU} \cdot (100\text{g})^{-1}$ 饲料。

关键词: 皱纹盘鲍; 维生素 D; 生长; 碱性磷酸酶

中图分类号: S963.71 文献标识码: A

Studies on the nutritional requirement of vitamin D for *Haliotis discus hannai* Ino

ZHOU Qi-cun^{1,2}, MAI Kang-sen¹

(1. Fisheries College, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Fisheries College, Ocean University of Zhanjiang, Zhanjiang 524025, China)

Abstract: This feeding experiment was conducted to determine the nutritional requirements of the juvenile abalone (*Haliotis discus hannai* Ino) for fat-soluble vitamin D. The casein-gelatin-based diet containing seven graded levels of vitamin D was fed to the animals for 103 days. The red alga, *Palmaria palmata*, was used as a control diet. The results were summarized as follows: Moisture, lipid, protein contents of soft body and abalone growth were markedly affected by the supplemental levels of dietary vitamin D, but the survival rate remained unaffected. The progressive increase in alkaline phosphatase activity of the soft body reached a maximum value at an optimal dietary vitamin D level; however, excessive level of dietary vitamin D decreased its activity. Ash content, calcium and phosphorus composition of the shell were greatly affected by the vitamin D supplemented levels. Taking into consideration the weight, protein gain and alkaline phosphatase activity, it is proposed that the requirement of juvenile abalone for vitamin D is about 100IU per 100g diet.

Key words: *Haliotis discus hannai*; vitamin D; growth; alkaline phosphatase

收稿日期: 2003-02-17

资助项目: 国家自然科学资金资助(39670572)

作者简介: 周歧存(1967-), 男, 安徽舒城人, 博士研究生, 从事水生经济动物营养与饲料学研究。E-mail: qicunzhou@163.net

维生素D两种主要自然资源是麦角钙化醇(维生素D₂, 存在于植物中)和胆钙化醇(维生素D₃, 存在于动物中)。两种形式的维生素D在动物体内肝脏中经羟基化作用形成25-羟基-胆钙化醇, 经肾脏进一步羟基化形成1,25-二羟基-胆钙化醇, 1,25-二羟基-胆钙化醇是作用于肠道钙运载和骨骼中钙动员的维生素D活性形式; 同时也作用于肠道磷运载。这种活性形式的维生素D在甲状旁腺激素和降钙素的协同作用下, 促进水产动物肠道中钙和磷吸收, 提高血浆钙与磷的水平到超饱和的状态, 以适应骨骼矿化的要求。

迄今为止, 研究者已经确定了鲤^[1]、虹鳟^[2]、斑点叉尾^[3]、杂交罗非鱼^[4]、蓝罗非鱼^[5]以及斑节对虾^[6]和中国对虾^[7]等的定量需要。然而具有重要经济和药用价值的皱纹盘鲍维生素D的营养需要尚没有报道。本实验通过用不同浓度梯度的维生素D₃饲料饲喂幼鲍, 测定其生长指标; 分析软体部蛋白质、脂肪及水分含量和贝壳中灰分及钙、磷等含量以及软体部碱性磷酸酶的活力, 来综合评价维生素D₃对幼鲍的营养作用, 并确定其在鲍饲料中的适宜含量。

1 材料和方法

1.1 饲料配制及分组情况

基础饲料主要参照Mai等^[8]的配方, 略有修改。蛋白源以酪蛋白为主, 加部分明胶(5:1); 糖源用糊精; 以豆油和鲱鱼油作为脂肪源(1:1); 以褐藻酸钠和羧甲基纤维素为粘合剂。实验饲料的组成以及维生素D₃的添加量见表1。各原料粉碎过80目筛, 称重后混匀, 少量的组分采用逐级扩大法混合。加水100%~120%, 将水小心加入, 以保证揉熟的饲料面团具有一定的弹性, 后擀至0.5 mm厚度, 切成1cm²的小薄片; 将薄片放入5% (w/v)的氯化钙溶液中浸泡1min, 沥干水分后放入冰柜中冷冻, 等饲料变硬后装入样品袋中冷藏(-20℃)待用。以皱纹盘鲍天然饵料海带(*Palmaria palmata*)作为实验对照组。

1.2 实验动物

皱纹盘鲍*Haliotis discus hannai* 幼鲍购自山东

荣城石岛鲍珍品养殖场, 上年所育鲍苗经暂养1周后分组, 皱纹盘鲍平均壳长为1.28~1.35cm, 平均体重为228.5~242.9mg。每个养殖单元放养幼鲍15只, 每个处理设3个重复。实验从2002年5月27日到9月7日, 为期103d。

1.3 实验管理

将分组的鲍鱼(15只)放入20cm×20cm×8cm的塑料筐中, 上用纱网封住3面(留出投饵口), 再用松紧带束口; 将每个处理组的3个重复串联起来吊养, 然后将所有的处理组置于7m×3m×1.5 m的养殖池中。每日下午5~6时投饵, 投饵量为鲍重的3%~5%左右; 次日上午8~10时刷洗鲍鱼附着板及饵料板, 然后换水1/2以上。整个实验期间充气养殖。每日观察记录海水温度、皱纹盘鲍摄饵及死亡情况, 发现死鲍及时捡出称重。实验期间海水温度变动幅度为18~27℃。

1.4 样品处理与分析

实验结束时, 取出鲍记数、编号、称重, 放入-20℃冰箱中冷冻备用。以个体平均增重、贝壳的平均增长率、软体部与贝壳比率作为生长指标; 分析鲍鱼软体部的水分含量、蛋白质、脂肪含量和贝壳中灰分及钙、磷含量。用凯氏定氮法测定粗蛋白质含量, 索氏抽提法测定粗脂肪含量, 钙含量的测定方法采用高锰酸钾法, 磷含量的测定采用钼兰比色法, 碱性磷酸酶的测定参照陈定福^[9]的方法; 蛋白质增量计算公式引自Mai等^[8]。

$$\text{平均增重}(\text{mg} \cdot \text{ind}^{-1}) = \text{终重} - \text{初重}$$

$$\text{增长率}(\%) = (\text{终长} - \text{初长}) / \text{初长} \times 100$$

$$\text{平均蛋白质增重 MPG}(\text{mg} \cdot \text{ind}^{-1}) = \text{SBt} \times$$

$$(1 - \text{Mt}) \times \text{Pt} - \text{SBi} \times (1 - \text{Mi}) \times \text{Pi}$$

式中, SBi: 软体部初重; SBt: 软体部终重; Mi: 软体部初水分含量; Mt: 软体部终水分含量; Pi: 软体部初蛋白质含量; Pt: 软体部终蛋白质含量

1.5 统计分析

实验结果应用ANOVA方差分析和Duncan多重比较来进行差异显著性分析, 同时采用折线模型和二元回归方程来确定皱纹盘鲍幼鲍饲料中维生素D₃的适宜含量, 所有的统计分析均采用STATISTICA软件。

表1 实验饲料的组成

Tab. 1 Composition of the experimental diet (% dry weight)

原料名称 ingredients	维 生 素 D ₃ 浓 度 [IU•(100g) ⁻¹ diet] vitamin D ₃ content]						
	0	50	100	300	1,000	10,000	20,000
酪蛋白 casein	30	30	30	30	30	30	30
明胶 gelatin	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
糊精 dextrin	28.5	28.5	28.5	28.5	28.5	28.5	28.5
羧甲基纤维素 CM-cellulose	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
褐藻酸钠 Na alginate	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00
无机盐混合物 mineral mix	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
维生素混合物 vitamin mix	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
氯化胆碱 choline chloride	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
豆油和鲱鱼油(E 1) SO/MFO (E 1)	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00

注: (1) 饲料成分分析: 粗蛋白 32.48%, 粗脂肪 3.59%, 灰份 12.39%; (2) 维生素 D₃ (cholecalciferol) 购自 Sigma 公司;

(3) 维生素混合物(不含有维生素D) 参照 Mai 等^[8]; (4) 无机盐混合物参照 Mai 等^[8]; (5) SO/MFO: 豆油与鲱鱼油

Notes (1) The experimental diet contained (dry weight basis): crude protein 32.48%; crude lipid, 3.59%; ash content, 12.39%; (2) Vitamin D₃ (cholecalciferol): from Sigma Corp; (3) Vitamin mixture referred to Mai^[8]; (4) Mineral mixture referred to Mai^[8]; (5) SO/MFO: Soybean oil and menhaden fish oil

2 结果

2.1 维生素D对皱纹盘鲍生长及存活的影响

从表2中可见, 皱纹盘鲍幼鲍贝壳增长率以第3组最高, 而添加量最高组即第7组饲料的贝壳增长率却最低。经单因素方差分析以及 Duncan 多重比较检验显示组间差异极显著($P < 0.001$); 饲料中维生素D₃添加水平显著影响皱纹盘鲍幼

鲍的增重($P < 0.05$), 随着饲料中维生素D₃水平从0升高到100IU•(100g)⁻¹饲料时, 皱纹盘鲍增重相应增加, 但当饲料中维生素D₃水平从100增加到20000IU•(100g)⁻¹饲料时, 增重显著下降, 说明饲料中缺乏或过高水平的维生素D₃, 皱纹盘鲍的增重降低。平均存活率各组均较低, 经方差分析表明组间差异不显著($P > 0.05$), 与对照组相比, 死亡率差别不大。

表2 维生素D₃添加水平对皱纹盘鲍幼鲍生长及存活的影响Tab. 2 Effects of dietary vitamin D₃ on the growth and survival of juvenile abalone

维 生 素 D ₃ 浓 度(IU•100g ⁻¹) Vitamin D ₃ level	初长(cm) initial length	贝壳增长率(%) length ratio	初重(mg) initial weight	增重(mg) weight gain	存活率(%) survival rate
0	1.34±0.02 ^a	8.3±4.7 ^c	242.0±18.2	280.5±5.3 ^c	53.3±6.5
50	1.33±0.02	14.6±1.3 ^b	237.1±21.0	306.4±17.5 ^{b,c}	57.7±10.3
100	1.34±0.02	19.1±2.2 ^a	242.2±11.2	374.9±16.4 ^a	55.3±16.7
300	1.34±0.01	17.5±0.5 ^a	236.2±12.6	325.5±12.4 ^b	58.0±10.2
1,000	1.32±0.02	16.2±1.4 ^{ab}	242.9±8.3	327.3±27.3 ^b	57.7±4.0
10,000	1.33±0.03	12.6±1.8 ^c	235.1.9±32.4	317.5±24.0 ^{b,c}	53.7±11.5
20,000	1.36±0.01	7.4±0.8 ^c	242.2±7.1	291.7±31.4 ^{b,c}	53.3±13.5
<i>P. palmata</i>	1.28±0.01	17.1±2.9 ^b	228.5±6.0	313.5±0.6 ^{b,c}	57.7±8.1
ANOVA					
<i>F</i>	2.670	10.604	2.100	6.305	0.095
<i>P</i>	0.189	0.000	0.151	0.001	0.990

注: * 为平均值±标准差(n=3); 同一列中具不同字母标记的值表示差异显著

Notes * values are means±SEM (n=3); numbers within the same column, sharing the same letter are not significantly different ($P < 0.05$)

2.2 维生素D对皱纹盘鲍软体部组成及蛋白质增量的影响

从表3可见,皱纹盘鲍软体部与贝壳的比率(SB/S)组间差异极显著($P < 0.001$);其中以第3组最高,第2组次之;随着饲料中维生素D₃浓度的增加SB/S降低,其中添加量最高的组甚至比不添加组还要低。饲料中维生素D₃的添加水平影响皱纹盘鲍软体部水分及脂肪含量,经方差分析和多重比较检验表明差异显著($P < 0.05$),水分含量以第3组最低,而饲料中缺乏或过量添加维生素D₃软体部水分含量均较高;软体部脂肪含量以第4组最低,而缺乏或过量添加维生素D₃组软体部脂肪含量均显著上升,各添加组软体部脂肪含

量均比对照组高。

饲料中添加维生素D₃的水平影响皱纹盘鲍软体部粗蛋白含量,经统计分析表明组间差异极显著($P < 0.001$),从表3中可以看出,软体部粗蛋白含量以第5组为最高,而未添加组蛋白质含量最低;但是蛋白质增量的趋势同蛋白质含量的变化不同,蛋白质增量以第3组为最高,经单因素方差分析和Duncan多重比较检验显示蛋白质增量组间差异极显著($P < 0.001$),随着饲料中维生素D₃的添加水平从100IU增加到20 000IU·(100g)⁻¹饲料时,蛋白质增量显著降低,这同增重率的变化趋势相一致。

表3 维生素D₃添加水平对幼鲍软体部成分的影响

Tab. 3 Effects of dietary vitamin D₃ on the carcass composition of juvenile abalone

维生素D ₃ 浓度(IU/100g) vitamin D ₃ level	软体部/贝壳 SB/S ratio	水分(%) moisture	粗脂肪(%) crude lipids	粗蛋白(%) crude protein	MPG(mg•ind ⁻¹) protein gain
0	* 1.42±0.03 ^d	87.87±0.29 ^b	8.14±0.11 ^a	48.91±0.37 ^c	9.76±0.85 ^d
50	1.75±0.04 ^b	87.57±0.38 ^b	8.00±0.32 ^{ab}	49.39±0.74 ^c	12.96±0.77 ^{bc}
100	2.03±0.11 ^a	86.63±0.54 ^c	7.91±0.46 ^{ab}	50.63±0.70 ^b	19.49±1.46 ^c
300	1.71±0.02 ^b	87.53±0.36 ^b	6.88±0.38 ^c	51.38±0.22 ^a	14.40±0.80 ^b
1,000	1.61±0.02 ^c	87.74±0.48 ^b	7.14±0.13 ^c	51.63±0.47 ^a	13.74±0.16 ^{bc}
10,000	1.49±0.03 ^d	87.79±0.50 ^b	7.41±0.11 ^{bc}	51.21±0.15 ^b	12.48±1.58 ^c
20,000	1.22±0.04 ^e	88.62±0.31 ^a	7.95±0.29 ^{ab}	49.43±0.15 ^c	8.06±0.93 ^e
<i>P. palmata</i>	1.42±0.04 ^d	87.67±0.21 ^b	6.24±0.58 ^d	49.41±0.68 ^c	11.41±0.16 ^{cd}
ANOVA					
F	79.633	5.743	11.963	16.268	37.592
P	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000

注: * 为平均值土标准差(n=3);同一列中具不同字母标记的值表示差异显著

Notes * values are means±SEM (n=3); numbers within the same column, sharing the same letter are not significantly different ($P < 0.05$)

2.3 维生素D对皱纹盘鲍软体部碱性磷酸酶活力以及贝壳灰分和钙、磷含量的影响

结果见表4,皱纹盘鲍幼鲍软体部碱性磷酸酶的活力,以第5组为最高,饲料中缺乏或维生素D₃的添加水平过高,鲍软体部碱性磷酸酶活力降低,经Duncan多重比较检验,饲料中添加水平为50~1 000IU·(100g)⁻¹的组间差异不显著;这说明适量的维生素D₃能够提高皱纹盘鲍软体部碱性磷酸酶的活力。饲料中维生素D₃的添加水平显著影响皱纹盘鲍贝壳灰分和钙、磷含量,从表4中可以看出贝壳灰分以第4组最高,第7组最低;贝壳中钙含量的变化趋势同灰分情形相似,经统计分析表明组间差异显著($P < 0.05$)。然而贝壳磷含量却随着饲料中维生素D₃水平的增加而上升,经方

差分析和Duncan多重比较显示组间差异显著($P < 0.05$)。

3 讨论

从本实验的结果来看,维生素D₃是皱纹盘鲍幼鲍生长必不可少的营养素。以增重、蛋白质增量和软体部碱性磷酸酶活力为指标,皱纹盘鲍幼鲍饲料中维生素D₃的适宜含量为100IU·(100g)⁻¹饲料。饲料中缺乏和过量添加维生素D₃,皱纹盘鲍幼鲍的生长明显下降。饲料中维生素D₃添加水平显著影响杂交罗非鱼^[4]、蓝罗非鱼^[5]、南美白对虾^[10]、斑节对虾^[6]、中国对虾^[7]的生长,饲料中缺乏或过量添加维生素D导致这些水产动物维生素D缺乏症或过剩症的出现。本实

验中皱纹盘鲍的存活率不受饲料中维生素D₃添加水平的影响($P > 0.05$),这同陈四清和李爱杰^[7]对中国对虾的研究结果一致;Shiau等^[4]指出饲料中缺乏维生素D₃组的杂交罗非鱼死亡率明显高于各添加组,但各添加组组间差异不显著,这也许

是实验动物种的差异以及实验周期不同所造成。本实验中皱纹盘鲍的死亡率较高,这与外界因素(主要是水温、水质因素和实验期间受11号台风影响)及人为因素(鲍剥离时引起的贝壳损伤等)引起皱纹盘鲍的死亡有关。

表4 维生素D₃添加水平对幼鲍软体部碱性磷酸酶活力、贝壳灰分及钙和磷含量的影响

Tab. 4 Effect of dietary levels of vitamin D₃ on the alkaline phosphatase activity of soft body and contents of ash, calcium and phosphorus in the shell of abalone

维生素D浓度(IU·100g ⁻¹)	碱性磷酸酶(U·100mg ⁻¹ protein)	贝壳灰分含量(%)	贝壳钙含量(%)	贝壳磷含量(ug·g ⁻¹)
vitamin D levels	AKP	ash content of shell	shell calcium	shell phosphorus
0	* 0.212±0.013 ^b	88.07±0.16 ^d	26.92±0.19 ^e	175.7±8.0 ⁱ
50	0.245±0.022 ^a	89.22±0.33 ^c	27.64±0.41 ^d	169.3±3.5 ^j
100	0.254±0.017 ^a	90.49±0.28 ^b	28.45±0.45 ^e	187.3±5.5 ^e
300	0.249±0.005 ^a	91.79±0.20 ^a	29.75±0.43 ^a	194.0±6.6 ^c
1000	0.264±0.006 ^a	90.53±0.31 ^b	28.78±0.25 ^{bc}	213.3±8.5 ^b
10000	0.222±0.007 ^b	89.86±0.79 ^{bc}	27.83±0.40 ^{cd}	204.7±3.5 ^b
20000	0.205±0.006 ^b	87.25±0.11 ^e	28.17±0.29 ^{cd}	230.7±4.0 ^a
P. palmata	0.249±0.006 ^a	90.04±0.52 ^b	29.22±0.24 ^{ab}	207.7±4.2 ^b
ANOVA				
F	10.389	40.469	19.942	36.929
P	0.000	0.000	0.000	0.000

注: * 为平均值(标准差±n=3);同一列中具不同字母标记表示差异显著(Duncan多重比较, $P < 0.001$)

Notes * values are means(SEM ±n=3); numbers within the same column, sharing the same letter are not significantly different ($P < 0.05$)

维生素D₃对皱纹盘鲍软体部的组成产生影响。皱纹盘鲍软体部水分含量受饲料中维生素D₃添加的影响显著($P < 0.05$),饲料中添加适量的维生素D₃即100IU·(100g)⁻¹饲料时,其体内水分含量最低;陈四清和李爱杰^[7]报道饲料中缺乏维生素D,中国对虾虾壳中水分低于各添加组,而虾肉中水分却以缺乏维生素D组最高。软体部/贝壳比率组间差异显著($P < 0.05$),饲料中缺乏或过高的水平维生素D₃,皱纹盘鲍软体部/贝壳比率均较低。软体部/贝壳比率能够近似反映生长的变化,因而被认为是表述贝类生长的有效指标之一^[8]。虹鳟缺乏维生素D₃时肌肉及肝中脂肪含量上升^[2],本实验中皱纹盘鲍缺乏维生素D₃,软体部脂肪含量较添加组要高,其中第4组脂肪含量最低。软体部脂肪含量受到饲料中维生素D₃添加水平的影响显著($P < 0.05$),这说明维生素D₃影响皱纹盘鲍的脂肪代谢,但影响代谢的途径尚不清楚。饲料中缺乏或过量添加维生素D₃,皱纹盘鲍软体部蛋白质含量降低,但是蛋白质含量的变化并不能反映真实生长,本实验中对照组的蛋白质含量较高,但其生长并非最好。

碱性磷酸酶与钙及磷的吸收有关,酶的活力随着维生素D₃的添加而上升^[11,12];在本实验中,饲料中适量的添加维生素D₃能够提高皱纹盘鲍软体部碱性磷酸酶的活力,但过量补充维生素D₃皱纹盘鲍软体部碱性磷酸酶的活力降低,这同Shiau等^[6]对斑节对虾的研究结果一致。然而贝壳中磷的水平同碱性磷酸酶活力变化不同;饲料中过量添加维生素D₃皱纹盘鲍贝壳中磷的浓度上升,这可能是因为海水中磷的含量较低,鲍贝壳中的磷主要从饲料中补充,因而饲料中高水平的维生素D₃能够促进磷的吸收;皱纹盘鲍生活在富含钙的海水环境中,可以从海水中吸收钙以满足贝壳的矿化及正常的生理代谢需要。陈四清和李爱杰^[7]报道饲料中过量添加维生素D₃对中国对虾会产生毒性,不仅不能促进钙和磷的吸收和积累,反而会出现抑制作用;但Shiau等^[6]指出斑节对虾体内钙和磷的浓度不受饲料中维生素D₃添加水平的影响。淡水鲑科鱼类维生素D的需要量随着饲料中钙和磷的含量变化而变化,钙、磷含量和比例合适时,其对维生素D的需要量增加,但当钙磷含量和比例不合适时,鲑科鱼类对其需

要量降低^[13]; 在低钙水体中, 钙是影响水产动物生长和硬组织矿化的主要因素, 而与饲料中是否添加维生素D关系不大, 维生素D对钙的转运和硬组织矿化及维持体内正常的钙平衡影响有限, 但不补充维生素D蓝罗非鱼的生长下降^[5]。

饲料中维生素D₃的添加水平显著影响皱纹盘鲍幼鲍贝壳灰分和钙含量, 当添加水平处于低浓度时[0~100IU·(100g)⁻¹饲料], 贝壳灰分及钙含量随着维生素D₃水平的升高而线形增加, 当饲料中维生素D₃的水平过高时[10 000~20 000IU·(100g)⁻¹饲料], 贝壳灰分及钙含量降低, 说明适量维生素D₃能够促进矿物质在贝壳中的沉积, 饲料中缺乏或过量补充维生素D₃则抑制钙在贝壳中的积累。

参考文献:

- [1] Andrews J M, Murai R, Page T W. Effects of dietary cholecalciferol and formulation of proteins from yeast grown on hydrocarbons ("Bp Protein") [J]. Riv Ital Piscic Ifopatol, 1980, 8: 97.
- [2] Barnett V S, Cho C Y, Slinger S J. Relative biopotency of dietary ergocalciferol and cholecalciferol and the role of and requirement for vitamin D in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. J Nutr, 1982, 112: 2011~2019.
- [3] Brown P B, Robinson E H. Vitamin D studies with channel catfish (*Ictalurus punctatus*) reared in calcium-free water [J]. Comp Biochem Physiol, 1992, 103A: 213~249.
- [4] Shiau S Y, Hwang J Y. Vitamin D requirements of composition of the blue tilapia (*Oreochromis aureus*) in low-calcium water [J]. Aquac, 1993, 125: 107~117.
- [5] O'Connell J P, Gatlin D M. Effects of dietary calcium and vitamin D₃ on weight gain and mineral composition of the blue tilapia (*Oreochromis aureus*) in low-calcium water [J]. Aquac, 1994, 125: 107~117.
- [6] Shiau S Y, Hwang J Y. The dietary requirement of juvenile grass shrimp (*Penaeus japonicus*) for vitamin D_{1,2} [J]. J Nutr, 1994, 124: 2445~2450.
- [7] Chen S Q, Li A J. Studies on the nutritional requirement of vitamin D for shrimp [J]. Oceanol et Limnol, 1995, 26(1): 42~47. [陈四清, 李爱杰. 维生素D对中国对虾生长影响的研究[J]. 海洋与湖沼, 1995, 26(1): 42~47.]
- [8] Mai K, Mercer J P, Donlon J. Comparative studies on the nutrition of two species of abalone, *Haliotis tuberculata* L. and *Haliotis discus hannai* Ino IV. Optimum dietary protein level for growth [J]. Aquac, 1995, 136: 165~180.
- [9] Chen D F. Studies on molecular weight and amino acid composition of alkaline phosphatase from *Silurus meridionalis* Chen [J]. J Sichuan Univ (Natural Science). 1994, 31(4): 579~584. [陈定福. 南方鮰碱性磷酸酶的分子量及氨基酸组成的研究[J]. 四川大学学报(自然科学版), 1994, 31(4): 579~584.]
- [10] He H Q, Lawrence A L, Liu R Y. Evaluation of dietary essentiality of fat-soluble vitamins, A, D, E and K for penaeid shrimp (*Penaeus japonicus*) [J]. Aquac, 1992, 103: 177~185.
- [11] Haussler M R, Nagode L A, Rasmussen H. Induction of intestinal brush border alkaline phosphatase by vitamin D and identify with Ca²⁺-ATPase [J]. Nature (Lond.), 1970, 228: 1199~1201.
- [12] Norman A W, Mircheff A K, Adams R H, et al. Vitamin D-mediated increase of intestinal brush border alkaline phosphatase activity [J]. Biochem Biophys Acta, 1970, 215: 348~359.
- [13] Woodward B. Dietary vitamin requirements of cultured young fish, with emphasis on quantitative estimates for salmonids [J]. Aquac, 1994, 124: 134~168.