

文章编号: 1000-0615(2000)05-0448-05

## ω-3HUFA 对中华绒螯蟹幼体存活率 及体脂肪酸组成的影响

陈立侨<sup>1</sup>, 江洪波<sup>1</sup>, 周忠良<sup>1</sup>, 杨家新<sup>1</sup>, 朱钧<sup>2</sup>, 张道南<sup>3</sup>

(1. 华东师范大学生物系, 上海 200062; 2. 浦东孙桥名特水产开发有限公司, 上海 201203;

3. 上海水产大学渔业学院, 上海 200090)

**摘要:** 分别以经海水小球藻、牟氏角毛藻和 50DE-G 强化剂强化的轮虫投喂中华绒螯蟹早期幼体, 至 Ⅱ期后改喂卤虫无节幼体, 探讨了饵料 ω-3 系列高度不饱和脂肪酸对幼体发育和存活的影响。结果表明: 小球藻轮虫组的幼体发育至 Ⅲ期幼蟹的存活率最高, 为 12.00%, 强化剂轮虫组和角毛藻轮虫组次之, 分别为 10.67% 和 9.67%, 而酵母轮虫组最低, 仅为 3.67%; 结合分析 Ⅴ期幼体脂肪酸组成可知, 幼体发育至 Ⅲ期幼蟹的存活率与其总脂含量和 ω-3HUFA 含量密切相关, 而 Ⅴ期幼体总脂含量与 ω-3HUFA 含量随饵料轮虫总脂和 ω-3HUFA 含量的增加而提高, 表明早期幼体所摄取的 ω-3HUFA 对后期幼体发育和存活有明显的促进作用。

**关键词:** 中华绒螯蟹; 幼体; ω-3HUFA; 存活率; 轮虫

中图分类号: S963.14 文献标识码: A

## Effects of ω-3HUFA on survival rate and body fatty acids composition of *Eriocheir sinensis* larvae

CHEN Li-qiao<sup>1</sup>, JIANG Hong-bo<sup>1</sup>, ZHOU Zhong-liang<sup>1</sup>

YANG Jia-xin<sup>1</sup>, ZHU Jun<sup>2</sup>, ZHANG Dao-nan<sup>3</sup>

(1. Department of Biology, East China Normal University, Shanghai 200062, China;

2. Pudong Sunqiao Special Aquatic Products Co., Shanghai 201203, China;

3. Fisheries College, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

**Abstract:** Effects of ω-3 series highly unsaturated fatty acids (ω-3HUFA) on the development and survival of Chinese mitten-crab larvae, were studied by feeding with rotifers enriched with two kinds of marine unicellular algae and the enrichment 50DE-G at early developmental stages and *Artemia* nauplii during postlarval developmental stages. The crab larvae obtained highest survival rate, 12.00%, after fed with the rotifer treated with *Chlorella*, and then two groups treated with 50DE-G and *Chaetoceros muelleri*, 10.67% and 9.67% respectively, while the control group treated with baker's yeast is the lowest one, 3.67%. The survival rate increased with increasing of the content of total lipid and ω-3HUFA in the crab larvae, and the relative percentage content of ω-3HUFA (mainly eicosapentaenoic acid, EPA and docosahexaenoic acid, DHA) in the crab larvae may be affected by the content of ω-3HUFA in its diets. The results suggest that EPA and DHA absorbed at the early developmental stages can influence the development and survival of the crab postlarvae.

收稿日期: 2000-04-17

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 39770578); 教育部“跨世纪优秀人才培养计划”基金部分资助; 上海市“曙光计划”项目基金部分资助 (No. 975G06)

作者简介: 陈立侨 (1962-), 男, 广东梅县人, 博士, 教授, 主要从事水生动物营养学和种质遗传学研究。E-mail: lqchenc@online.sh.cn © 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

**Key words:** *Eriocheir sinensis*; larvae;  $\omega$ -3HUFA; survival rate; rotifer

$\omega$ -3HUFA( $\omega$ -3 系列高度不饱和脂肪酸)特别是二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA),作为虾蟹类幼体的必需脂肪酸,在体内用于构成磷脂双层膜,同时也是幼体蜕皮激素的前体物质,对于幼体正常生长、发育和存活起重要作用<sup>[1]</sup>。80年代以来,有关 $\omega$ -3HUFA对十足目甲壳动物幼体生长发育的影响,国内外学者通过研究已取得了可喜的进展<sup>[2-9]</sup>,但相关研究主要集中于对虾类,而对在我国具有巨大增殖潜力的中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*, 俗称河蟹),迄今尚未见这方面的系统报道。

近年来,由于中华绒螯蟹增殖业的大力发展,迫切要求提高人工育苗的产量和质量。生产中利用生物饵料进行人工育苗时发现,作为幼体适宜饵料的轮虫和卤虫无节幼体内, $\omega$ -3HUFA尤其是DHA的含量均偏低,远不能满足幼体正常生长和发育的需要。本实验采用经单胞藻和强化剂强化培养的轮虫投喂中华绒螯蟹早期幼体,探讨了 $\omega$ -3HUFA对幼体发育、存活和体脂肪酸组成的影响,以为幼体人工育苗的饵料培育和提高蟹苗的育成率提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验于1998年3-7月在上海农科院金蟹水产研究所进行。同批实验用的 状幼体由同一个抱卵蟹孵化而来,生物饵料褶皱臂尾轮虫(*Branchionus plicatilis*)在强化前以面包酵母(baker's yeast)进行常规培养,卤虫(*Artemia* sp.)无节幼体由休眠卵(孵化率85%以上,产于美国大盐湖)孵化而得。轮虫强化剂(50DE-G型)购自山东海洋水产研究所。新鲜海水系室内人工配制<sup>[10]</sup>,pH值为7.5~8.5,盐度为20。

### 1.2 实验方法

**实验设计** 实验分四组进行,分别采用海水小球藻(*Chlorella* sp.)、牟氏角毛藻(*Chaetoceros muelleri*)和强化剂(同时投喂面包酵母)强化培养轮虫,以面包酵母培养的轮虫作对照组。每组汲取300尾刚孵出的健康、活泼的 状I期幼体(记为Z<sub>1</sub>,其它如Z<sub>2</sub>、Z<sub>3</sub>等类推),分别置于盛有3L海水的三角瓶中培养,每个处理组设三个平行,待幼体发育至Z<sub>3</sub>,均改喂刚孵出的卤虫无节幼体。轮虫的投喂密度为40 ind·mL<sup>-1</sup>,卤虫无节幼体的投喂密度为10 ind·mL<sup>-1</sup>。实验水温为22~26℃,光照周期L:D=12:12,充气培养,逐日换水、换饵。

**轮虫的强化方法** 强化剂的强化方法参考文献[11],强化时间为12h;用小球藻和角毛藻强化时,先将酵母培养的轮虫浓缩(密度约为200 ind·mL<sup>-1</sup>),然后分别置入单胞藻液中充气培养12h,收集轮虫并清洗后再用于投喂幼体。

**轮虫密度的调配** 参考文献[12]。

### 1.3 脂类成分的分析

**总脂的提取** 取轮虫样品1g(湿重), 状V期幼体样品0.2g(湿重),采用文献[13]的方法提取总脂,然后准确称重,于-20℃条件下保存备用。

**脂肪酸分析** 用毛细管柱气相色谱法(岛津GC-17A),由中科院植物生理所逆境室测定。

### 1.4 数据分析和处理

每日换水、换饵时观察并记录幼体的发育进程和存活数,统计各组幼体存活率,以方差分析法和多重比较进行显著性检验,各期幼体存活率的计算公式为:

$$r(\%) = \frac{a}{N} \times 100$$

式中,  $r$  为各期幼体的存活率;  $\alpha$  为存活至下一发育期的幼体数;  $N$  为实验开始时  $Z_1$  的总数。如  $Z_1$  的存活率是以存活至  $Z_2$  期的幼体数计算而得, 其余类推。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同处理的轮虫的总脂及脂肪酸组成

以强化剂和不同单胞藻强化培养轮虫后, 其总脂和主要脂肪酸含量的分析结果见表 1。

由表 1 可以看出, 以小球藻强化培养的轮虫其总脂含量最高, 占湿重 1.76%, 其次是强化剂和角毛藻强化的轮虫, 总脂含量分别为 1.42% 和 1.22%, 而以面包酵母喂养的轮虫总脂含量最低, 仅为 0.42%。

比较四组饵料轮虫的脂肪酸含量可知, 酵母轮虫在强化前、后其饱和脂肪酸(SFA)含量并无显著差异( $P > 0.05$ )。由表 1 还可看出, 单纯投喂面包酵母时, 未能检测出轮虫体内含  $\omega-6$ UFA 和  $\omega-3$ HUFA, 而经单胞藻和强化剂强化培养后,  $\omega-6$ UFA 和  $\omega-3$ HUFA 的含量均有明显的提高。其中  $\omega-6$ UFA 的含量以强化剂轮虫最高(15.33%), 小球藻轮虫次之(10.86%), 而后为角毛藻轮虫(7.88%);  $\omega-3$ HUFA 含量则以小球藻轮虫最高, 为 3.32%; 强化剂轮虫和角毛藻轮虫次之, 分别为 3.25% 和 3.08%。不同饵料强化培养的轮虫体内 EPA 和 DHA 含量有一定的差异, 以强化剂强化的轮虫 DHA 含量为最高, EPA 含量则是用小球藻强化的轮虫为高。

### 2.2 不同处理的轮虫对中华绒螯蟹幼体发育和存活的影响

经过 25 天的投喂实验, 统计计算出四个实验组中华绒螯蟹各期幼体的存活率, 结果列于表 2。

从表 2 可知, 小球藻、强化剂和角毛藻三个处理组中,  $Z_1$  发育至  $Z_2$  的存活率分别为 32.67%、31.00% 和 30.00%, 而对照组为 24.33%;  $Z_2$  发育至  $Z_3$  的存活率分别为 21.67%、20.67% 和 20.67%, 而对照组为 14.67%。虽然对照组较三个处理组为低, 但统计分析结果表明, 对照组与三个处理组间  $Z_1$  和  $Z_2$  的存活率差异均未达到显著性水平( $P > 0.05$ )。

自  $Z_3$  开始, 幼体统一投喂密度相同的卤虫无节幼体后, 再比较各组  $Z_3$  发育至第 4 期幼蟹的死亡率可

知, 对照组最高(73.17%), 为小球藻轮虫组死亡率的 2.1 倍, 约为角毛藻轮虫组和强化剂轮虫组的 1.8 倍左右。统计分析  $Z_4$  和  $Z_5$  的存活率, 发现对照组与三个处理组间存在显著性差异( $P < 0.05$ ), 而 M 发育至第 5 期幼蟹的存活率达到显著性水平( $P < 0.01$ ), 但各处理组间存活率的差异没有达到显著性水平( $P > 0.05$ ), 其中以小球藻轮虫组较高, 为 12.00%, 强化剂和角毛藻轮虫组次之, 分别为 10.67% 和 9.67%。

### 2.3 不同处理的轮虫对 状 V 期幼体总脂含量及脂肪酸组成的影响

投喂不同饵料培养的轮虫后,  $Z_5$  体内总脂、脂肪酸含量与组成的结果见表 3。

由表 3 可看出,  $Z_1$ 、 $Z_2$  投喂不同处理的轮虫后,  $Z_5$  总脂含量以酵母轮虫组最低, 为 0.89%。小球藻轮虫组为最高, 为对照组的 1.8 倍, 强化剂和角毛藻二个处理组次之, 分别为对照组的 1.7 倍和 1.4 倍。

表 1 不同处理的轮虫总脂和脂肪酸含量(%)

Tab. 1 Content of total lipid and main fatty acids of rotifers treated with the enrichment and different algae (%)

脂肪酸种类	轮虫脂肪酸含量(%)			
	面包酵母	强化剂+ 面包酵母	海水小球藻	牟氏角毛藻
16:0	13.42	18.67	28.21	19.02
16:1	31.39	23.04	28.47	30.17
18:0	4.32	3.96	8.63	4.08
18:1 $\omega-9$	10.58	6.81	10.58	8.26
18:2 $\omega-6$	-	4.52	9.04	4.64
18:3 $\omega-3$	2.97	3.76	3.34	4.89
20:4 $\omega-6$	-	10.81	1.82	3.24
20:5 $\omega-3$	-	1.48	2.56	2.01
22:6 $\omega-3$	-	1.77	0.76	1.07
$\Sigma$ SFA	17.74	22.63	36.84	26.10
$\Sigma\omega-6$ UFA	-	15.33	10.86	7.88
$\Sigma\omega-3$ HUFA	-	3.25	3.32	3.08
TL(WW)(%)	0.42	1.42	1.76	1.22

注: - 表示未检测出。

表 2 不同处理组的中华绒螯蟹幼体的存活率(%)

Tab. 2 The survival rate of the crab larvae fed with rotifers treated with different diets (%)

幼体发育期	幼体存活率(%)			
	酵母轮虫	强化剂轮虫	小球藻轮虫	角毛藻轮虫
$Z_1$	24.33 a	31.00 a	32.67 a	30.00 a
$Z_2$	14.67 a	20.67 a	21.67 a	20.67 a
$Z_3$	14.00 a	18.33 a	18.67 a	16.67 a
$Z_4$	13.67 a	17.67 b	18.33 b	16.67 b
$Z_5$	7.67 a	14.00 b	15.33 b	14.00 b
M	3.67 A	10.67 B	12.00 B	9.67 B

注: M 表示大眼幼体, ab 表示  $P < 0.05$ , AB 表示  $P < 0.01$ 。

比较三个不同处理组与对照组  $Z_5$  的脂肪酸含量发现, 对照组  $\Sigma$ SFA 为 26.14%, 而三个处理组中的  $\Sigma$ SFA 范围在 28.53% ~ 23.78% 之间, 对照组与处理组  $\Sigma$ SFA 差异甚微,  $\Sigma$  $\omega$ -6UFA 也表现出相同的趋势。但  $Z_5$  的  $\Sigma$  $\omega$ -3HUFA 的含量差异较明显, 其中对照组最低, 仅为 8.09%, 小球藻轮虫组、角毛藻轮虫和强化剂三个处理组中,  $\Sigma$  $\omega$ -3HUFA 含量均提高至对照组的 1.5 倍以上。此外, 由表 3 中还可看出, 三个处理组的 EPA 含量均在对照组的 1.7 倍之上, DHA 含量为对照组的 2 倍左右, 其中, DHA 含量以小球藻轮虫组为最高, 为 2.84%, 强化剂和角毛藻轮虫组次之, 分别为 2.81% 和 2.76%, 对照组仅为 1.38%。

### 3 讨论

#### 3.1 不同处理的轮虫的营养价值

李荷芳和周汉秋<sup>[14]</sup> 研究发现海水小球藻的 EPA 含量较高, 但缺乏 DHA; 而角毛藻 EPA 含量虽然不及小球藻, 但含有一定量的 DHA。张利民等<sup>[11]</sup> 以 DHA 强化剂 (50DE) 强化轮虫的 DHA 含量, 结果表明, 强化后轮虫 DHA 的含量有显著提高。本实验采用强化剂和上述两种单胞藻类强化培养轮虫, 经强化后, 发现轮虫总脂、EPA 和 DHA 含量均有明显的提高, 达到了强化  $\omega$ -3HUFA 营养的目的。藻类强化轮虫后 EPA 和 DHA 含量与 Berr Amoz 等<sup>[15]</sup> 的研究结果较接近, 但较张利民等<sup>[11]</sup> 所报道的结果要低, 这可能与轮虫强化剂的类型和强化浓度等因素有关。

实验结果还表明, 虽然小球藻、角毛藻和强化剂处理的轮虫其  $\omega$ -3HUFA 含量没有明显差异, 但比较这三个强化轮虫组的投喂效果, 发现以海水小球藻强化的轮虫投喂效果较另二组要好。这可能是小球藻作为轮虫天然饵料的一种, 易于被轮虫消化、吸收和利用。由此可见, 采用 DHA 含量较高的单胞藻或强化剂来强化轮虫  $\omega$ -3HUFA 成分, 将有助于提高轮虫的饵料价值。这提示在中华绒螯蟹育苗过程中, 用于投喂早期幼体的轮虫, 可提前 12h 采用小球藻和 DHA 含量高的商业强化剂 (如 50 DE 系列等) 进行组合强化培养, 从而达到强化轮虫  $\omega$ -3HUFA 营养的目的。

#### 3.2 脂肪酸组成与含量对中华绒螯蟹幼体发育和存活的影响

十足目甲壳动物幼体虽具有利用亚油酸和亚麻酸部分合成 EPA 和 DHA 的能力, 但这种能力非常有限, 以致难以满足幼体对这些必需脂肪酸 (EFA) 的需求, 必须由饵料来提供足量的  $\omega$ -3HUFA, 以维持其正常的生长发育<sup>[16, 17]</sup>。Kanazawa 等<sup>[2]</sup> 对日本对虾 (*Penaeus japonicus*) 幼体的研究发现,  $\omega$ -3HUFA 等必需脂肪酸对对虾幼体的发育和存活有直接的影响, 并指出  $\omega$ -3 比  $\omega$ -6 系列的不饱和脂肪酸能更有效地促进幼体的生长和发育。有学者通过在其它对虾蟹类幼体饲料中添加  $\omega$ -3HUFA 后的研究结果也证实这一点<sup>[7-9]</sup>。本实验结果表明, 早期幼体投喂含  $\omega$ -3HUFA 和  $\omega$ -6UFA 含量较高的饵料后, 幼体发育至第 I 期幼蟹的存活率明显提高, 从不同处理组轮虫的脂肪酸组成与含量来看, 三个强化组与对照组之间的  $\omega$ -6UFA 含量无显著差异, 而  $\omega$ -3HUFA 含量差异明显, 这说明  $\omega$ -3HUFA 含量与幼体发育和存活有直接的关系。

吸收到幼体体内 HUFA 作为结构脂类, 如磷脂酰胆碱 (PC)、磷脂酰乙醇胺 (PE) 等, 构成磷脂双层膜, 是细胞膜和亚细胞结构的重要组成成分, 直接影响细胞膜的流动性和通透性, 有助于某些营养物

表 3 投喂不同饵料培养的轮虫  $Z_5$

总脂和主要脂肪酸含量 (%)

Tab. 3 Content of total lipid and main fatty acids of *Zoea V* fed with rotifers cultured by different diets (%)

脂肪酸 种 类	$Z_5$ 总脂和主要脂肪酸含量 (%)			
	酵母轮虫	强化剂轮虫	小球藻轮虫	角毛藻轮虫
16 0	15.94	14.69	17.97	12.02
16 1	2.72	2.26	2.18	2.02
18 0	10.20	9.98	10.56	11.76
18 1 $\omega$ -9	24.38	20.26	27.16	20.77
18 2 $\omega$ -6	4.67	5.65	6.37	7.54
18 3 $\omega$ -3	15.28	17.36	15.79	14.83
20 4 $\omega$ -6	2.24	4.14	2.06	2.37
20 5 $\omega$ -3	6.71	11.95	10.23	10.25
22 6 $\omega$ -3	1.38	2.81	2.84	2.76
$\Sigma$ SFA	26.14	24.67	28.53	23.78
$\Sigma$ $\omega$ -6UFA	6.91	9.79	8.43	9.91
$\Sigma$ $\omega$ -3HUFA	8.09	14.76	13.07	13.01
总脂(湿重)	0.89	1.51	1.66	1.25

质(如脂肪)的消化和吸收,或参与其它脂类成分(如胆固醇)的吸收与运输,进而影响虾蟹类幼体的蜕皮与变态。Montaño 等通过分析野生和养殖的南美白对虾(*Penaeus vannamei*)幼体内脂肪酸含量的差异,认为野生型幼体之所以具有更强的抵抗外界不良环境的能力,主要与其体内  $\omega-3$  系列 HUFA 含量高,特别是 EPA 和 DHA 含量较高有关<sup>[6]</sup>。O' Leary 和 Matthews<sup>[18]</sup> 对斑节对虾(*Penaeus monodon*)幼体的研究也得到相似的结果。Rees 等<sup>[5]</sup> 以经强化的卤虫无节幼体投喂斑节对虾后期幼体,发现幼体抗逆境的能力,特别是抵抗生存水体高渗透压的能力显著提高,从而有利于提高幼体的存活率。本实验结果表明,中华绒螯蟹幼体发育到第 I 期幼蟹的存活率随其总脂和  $\omega-3$ HUFA(EPA、DHA)的含量的增加而提高。而经单胞藻和强化剂强化后,轮虫幼体总脂含量增加,对虾幼体摄食轮虫后,所补充的这部分脂类物质可较好地满足发育过程中对大量脂类营养的需求<sup>[19]</sup>,为幼体旺盛的代谢和快速生长提供能量物质和结构物质。但  $\omega-3$ HUFA 在中华绒螯蟹幼体内具体的代谢及作用机制还不清楚,有待进一步的研究。

Léger 等对蓝对虾(*Penaeus stylirostris*)的研究结果表明,HUFA 不仅能有效地促进幼体的生长、发育和存活,而且根据实验结果推测早期幼体所摄取  $\omega-3$ HUFA 对后期幼体发育和存活有明显的影 响<sup>[3]</sup>。本实验在分析各实验组 Z<sub>5</sub> 的脂肪酸组成与含量的差异发现,尽管从 Z<sub>3</sub> 以后统一投卤虫无节幼体,由于早期 状幼体(Z<sub>1</sub>、Z<sub>2</sub>)摄食营养价值不同的轮虫,以致强化组与对照组 Z<sub>5</sub> $\omega-3$ HUFA 含量表现出有较明显的差异。这种差异主要是由于早期幼体发育过程中所摄取的饵料轮虫营养价值的不同造成的,表明早期幼体所摄取的  $\omega-3$ HUFA 将影响后期幼体的  $\omega-3$ HUFA 含量,进而影响幼体的发育和存活。实验过程中,由于受实验样本数的限制,未能分析早期 状幼体的  $\omega-3$ HUFA 的含量,但根据实验结果可以推测,早期幼体的  $\omega-3$ HUFA 差异应该更为明显。

此外,如果后期幼体所投喂的卤虫无节幼体亦以 HUFA 强化剂进行强化,则幼体的存活效果应更佳,这有待于进一步的研究。

## 参考文献:

- [1] Castell A D. Fatty acids metabolism in crustaceans[A]. Proc. second intl. conf. on aquaculture nutrition[C], Special Publication No. 2, World Mariculture Society, Louisiana State University, Baton Rouge, 1982: 124- 125.
- [2] Kanazawa A, Teshima S I, Sakamoto M. Effects of dietary lipids, fatty acids and phospholipids on growth and survival of prawn (*Penaeus japonicus*) larvae[J]. Aquac, 1985, 50: 39- 49.
- [3] Léger P, Beiber G F, Soregbo P. International study on *Artemia* XXXIII. Promising results in larval rearing of *Penaeus stylirostris* using a prepared diet as algal substitute and for *Artemia* enrichment[J]. J World Aquacult Soc, 1985, 16: 354- 367.
- [4] Millamena O M, Bombeo R F, Jumalon N A. Effect of various diets on the nutritional value of *Artemia* sp. as food for the prawn *Penaeus monodon*[J]. Mar Biol, 1988, 98: 217- 221.
- [5] Rees J F, Curé K, Piyatiratitivorakul S. Highly unsaturated fatty acids requirements of *Penaeus monodon* postlarvae: an experimental approach based on *Artemia* enrichment[J]. Aquac, 1994, 122: 193- 207.
- [6] Montaño M, Navarro J C. Fatty acid of wild and cultured *Penaeus vannamei* larvae from Ecuador[J]. Aquac, 1996, 142: 259- 268.
- [7] 王渊源, 蒋绍霞, 陈 桥. 长毛对虾对不饱和脂肪酸需求量的初步研究[J]. 水产学报, 1997, 21(4): 380- 385.
- [8] 高淳仁, 梁亚全, 刘庆慧, 等. 饲料中不饱和脂肪酸对斑节对虾幼虾存活、蜕皮和生长的影响[J]. 中国水产科学, 1997, 4(1): 75- 79.
- [9] 成永旭, 严生良, 王 武, 等. 饲料中磷脂和多不饱和脂肪酸对中华绒螯蟹大眼幼体育成仔蟹的成活率和生长的影响[J]. 水产学报, 1998, 22(1): 9- 15.
- [10] 朱 钧, 赵本进, 苏 宇, 等. 用深层地下水调配育苗用水进行中华绒螯蟹育苗的研究[J]. 水产学报, 1997, 21(4): 462- 464.
- [11] 张利民, 常建波, 张秀珍, 等.  $n-3$  多价不饱和脂肪酸营养强化轮虫技术研究[J]. 水产学报, 1997, 21(4): 415- 420.
- [12] 江洪波, 陈立桥, 周忠良, 等. 不同饵料对中华绒螯蟹幼体发育和存活的影响[J]. 水产学报, 2000, 24(5): 442- 447.
- [13] Folch J, Lees M, Stanley G H S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue[J]. J Biol Chem, 1957, 226: 497- 509.
- [14] 李荷芳, 周汉秋. 海洋微藻脂肪酸组成的比较研究[J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(1): 34- 39.
- [15] Berr Amoz A, Fishler R, Schneller A, et al. Chemical composition of dietary species of marine unicellular algae and rotifers with emphasis on fatty acids[J]. Mar Biol, 1987, 95: 31- 36.
- [16] Jones D A, Kanazawa A, Ono K. Studies on nutritional requirement of the larval stages of *Penaeus japonicus* using microcapsulated diets[J]. Mar Biol, 1979, 54: 261- 267.
- [17] 徐学良, 季文娟.  $\omega-3$  及  $\omega-6$  不饱和脂肪酸对中国对虾幼虾存活、蜕皮和生长的影响[J]. 海洋水产研究, 1992, 13: 21- 27.
- [18] O' Leary C D, Matthews A D. Lipid class distribution and fatty acids composition of wild and farmed prawn *Penaeus monodon*[J]. Aquac, 1990, 89: 65- 81.
- [19] 周洪琪, 顾功超. 中国对虾幼体的能量代谢[J]. 水产学报, 1992, 16(2): 167- 170.