

文章编号:1000-0615(2007)06-0778-07

饵料卤虫的营养强化对黑斑口虾蛄幼体 消化酶活力及其抗逆性的影响

王春琳^{1,3}, 尹飞^{1,2}, 王武³

(1. 宁波大学应用海洋生物技术教育部重点实验室, 浙江 宁波 315211;

2. 华东师范大学生命科学学院, 上海 200062;

3. 上海水产大学生命科学与技术学院, 上海 200090)

摘要:用扁藻、酵母和“鱼油+酵母”强化3种方式处理的卤虫无节幼体投喂黑斑口虾蛄幼体, 对各组黑斑口虾蛄幼体消化酶活力和抗逆性差别分析。结果显示, 经过“鱼油+酵母”强化的幼体对氨氮、福尔马林、饥饿和盐度的耐受性均强于对照组。经过扁藻和“鱼油+酵母”强化的第Ⅲ相幼体脂肪酶活力是对照组的3倍, 经过酵母和“鱼油+酵母”强化的仔虾蛄幼体脂肪酶活力较高。在第Ⅲ相幼体中淀粉酶活力为扁藻>酵母>对照>“鱼油+酵母”强化, 仔虾蛄中酶活力为扁藻>对照>酵母>“鱼油+酵母”强化。在酵母强化第Ⅲ相幼体和对照组仔虾蛄中纤维素酶活力最高。第Ⅲ相幼体对照组的胃蛋白酶和类胰蛋白酶活力均为最高, 而“鱼油+酵母”强化仔虾蛄幼体的胃蛋白酶和类胰蛋白酶活力均高于对照组。黑斑口虾蛄幼体消化酶活性和抗逆性能力的变化趋势与其成活率、变态率、生长速度、EPA和DHA含量变化趋势相同, 可以作为评价饵料质量好坏的重要指标。

关键词:黑斑口虾蛄; 幼体; 营养强化; 抗逆性; 消化酶活力

中图分类号:S 968.2

文献标识码:A

Influence of nutrition-intensified *Artemia nauplii* on digestive enzyme activities and anti-stress in larval *Oratosquilla kempii*

WANG Chun-Lin^{1,3}, YIN Fei^{1,2}, WANG Wu³

(1. Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology, Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

2. College of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China;

3. College of Aqua-life Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract: The *Artemia nauplii* were cultivated with three different conditions, fed with the algae (*Platymonas subcordiformis*) (E-algae), the yeast (E-yeast), enriched with fish oil (E-oil) for 12 h and a control (starved for 12 h), and then were fed to *Oratosquilla kempii* larvae. After that, the ammonia toxicity, salinity stress, formalin toxicity, starvation tolerance test and digestive enzyme activities (lipase, amylase, cellulase, pepsin and tryptase) of different *Oratosquilla kempii* larvae were examined. The results showed that the tolerances of the E-oil third phase and infant larvae were more elevated than the E-yeast, E-algae and

收稿日期:2007-01-09

资助项目:国家农业科技成果转化基金(02EFN213310651);浙江省教育厅重点项目(20040898);浙江省151人才工程基金

作者简介:王春琳(1965-),男,浙江台州人,教授,博士,从事甲壳类繁殖生物学及增养殖技术研究。E-mail: wangchunlin@nbu.edu.cn

通讯作者:王武, Tel: 021-65710522, E-mail: wwang@shfu.edu.cn

control. Larvae were exposed during 2 h to ammonia, salinity, formalin and starvation. Based on mortality rates, the median lethal concentration for 50% of the population (LC_{50}) was estimated. As expected from earlier work, larvae fed the optimal diet presented higher n-3 HUFA contents as well as higher survival and metamorphosis rates. Lipase of the third phase larvae were observed. Higher activities were observed in the E-algae and E-oil larvae which were thrice that of the control. The higher activities of the infant larvae were found in the E-yeast and E-oil, but no lipase activities were found in the E-yeast third phase and E-algae infant larvae, respectively. The highest amylase activities were found in both the E-algae third phase and infant larvae, which were around 69% and 175% higher than the E-oil third phase and infant larvae, respectively. The highest cellulase activities were observed in the E-yeast third phase and control infant larvae, respectively. The secretion of pepsin and trypsin were elevated in the E-algae, E-yeast and E-oil infant larvae groups compared to the control, but the highest pepsin and trypsin activities of the third phase larvae group were found in the control. The digestive enzyme activities and anti-stress test of *Oratosquilla kempfi* larvae were also related to its survival, metamorphic, growth rates and EPA, DHA compositions, which proved to be a valuable and important criterion for evaluating the nutritional condition of diets.

Key words: *Oratosquilla kempfi*; larvae; nutritional enrichment; anti-stress; digestive enzyme activities

Hofer 等^[1]认为,可以通过研究消化酶活力的方法估计生物体对不同营养物质的利用能力。对不同种消化酶的机能进行深入研究可以更清楚的了解营养物质在生物体内的利用情况^[2-3]。在虾蟹类发育的不同阶段,消化酶的种类和数量有所不同。饵料营养物质含量与其消化酶活性变化有密切关系,其中蛋白质、碳水化合物和脂类不但可以提高幼体体内相应物质的含量,而且也可以影响其消化酶的水平 and 幼体的成活率与变态率^[4-7]。许多研究表明,生物幼体的抗逆性与体内的脂肪酸组成有很大关系,而脂肪酸组成,尤其是不饱和脂肪酸含量与幼体的存活、变态有非常密切的关系,所以可以用抗逆性试验来评价幼体的生物质量^[8-9]。Cavalli 等^[8]证明短期急性抗是一种极其有价值的、敏感的、可再现的检测幼体质量的方法。当幼体摄食富含 n-3 高不饱和脂肪酸饵料一定时期后,经过氨氮毒性试验显示其存活率与变态率均高于对照组。另外,急性盐度、福尔马林浓度和饥饿耐受性等试验也可作为评价幼体质量的有效方法^[8-9]。

钱云霞等^[10]对黑斑口虾蛄幼体和成体消化酶活力进行过研究,但未见采用消化酶活力和抗逆性来对其饵料及生物营养状况进行评价。本文通过不同方式对黑斑口虾蛄幼体进行强化,然后进行抗逆性比较和消化酶活力测定,希望能较全面的对其饵料营养进行评价,为黑斑口虾蛄生产性育苗的饵料投喂提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

黑斑口虾蛄(*Oratosquilla kempfi*)亲体取自浙江省三门湾,选取交配后性腺发育成熟的雌性个体放养于室内铺有 20cm 海泥的水泥池(10 m × 5 m × 1.5 m)中,放养量为每池 200 只,按摄食情况定时投喂足量新鲜鱼虾肉。待幼体孵化出膜后收集一定数量的第 II 相和第 III 相幼体进行试验。

营养强化剂及其投喂量: B: 亚心形扁藻(*Platymonas subcordiformis*) ($1 \times 10^7 L^{-1}$); C: 100% 安琪干酵母($20 mg \cdot L^{-1}$); D: 70% 酵母 + 30% 50DE-微囊鱼油($20 mg \cdot L^{-1}$)。

强化剂储存于 $-18 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中备用。扁藻随用随取。

1.2 方法

卤虫与黑斑口虾蛄幼体的培养^[7] 在容积均为 15 L 的 4 个塑料盆中加入 10 L 过滤海水,将卤虫初孵无节幼体分别置入其中($3 \times 10^4 \text{ ind} \cdot L^{-1}$)。每天 2 次,分别用扁藻、100% 高糖面包酵母和“70% 酵母 + 30% 鱼油”强化 B、C 和 D 3 组卤虫初孵无节幼体 12 h, A 组对照不经任何强化。将各组卤虫用筛绢网过滤,冲洗后分别投喂给相应的黑斑口虾蛄幼体。

幼体分为 4 组,每组 3 个重复。第 II 相幼体放养密度为 $20 \text{ ind} \cdot L^{-1}$, 卤虫投喂密度均为 $2 \times 10^3 \text{ ind} \cdot L^{-1}$, 试验时间为 25 ~ 28 d; 第 III 相幼体放养

密度为 $3 \text{ ind} \cdot \text{L}^{-1}$, 卤虫的密度均为 $2 \times 10^3 \text{ ind} \cdot \text{L}^{-1}$, 试验时间为 7 ~ 10 d, 视各期幼体的摄食情况, 每日投喂 2 ~ 3 次。试验期间, 每天换水 1/3, 水温为 21 ~ 26 °C, 盐度 23.56。

消化酶活力测定 各组幼体分别取 200 ~ 400 mg 置于冰浴中, 加入 5 倍体积 (W/V) 预冷重蒸水, 在玻璃匀浆器中匀浆, 部分用于脂肪酶活力的测定, 剩余部分以 TGL-16G 型冷冻离心机于 0 ~ 4 °C、9 000 ~ 10 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 30 min, 上清液作淀粉酶、纤维素酶、胃蛋白酶和类胰蛋白酶活力测定。各种酶活力测定方法参照潘鲁青等^[11]。酶液蛋白浓度测定以牛血清白蛋白作为标准, 用福林酚试剂法测定^[12]。

抗逆性试验 分别取不同强化条件下培养的各期虾蛄幼体。通过预试验获得一个能在 2 h 内检测出幼体抗逆性差异的氨氮浓度、福尔马林浓度和盐度, 并在此浓度下测试不同食物条件饲养的黑斑口虾蛄幼体的抗逆性。

不同食物条件下黑斑口虾蛄幼体对氨氮、福尔马林、盐度和饥饿耐受力的比较 分别从扁藻强化, 酵母强化, “鱼油 + 酵母”强化和对照组黑斑口虾蛄幼体的 3 个平行组中取出幼体进行抗逆性试验。第 III 相幼体放于 NH_4Cl 浓度为 $1.12 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 福尔马林浓度为 $1.17 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和盐度为 1.30; 仔虾蛄放于 NH_4Cl

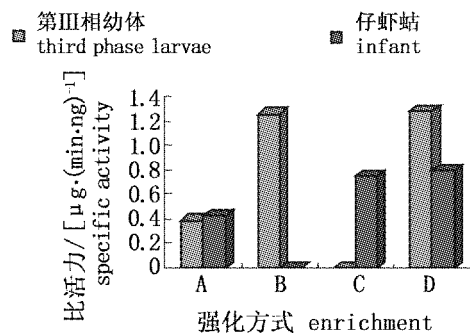


图1 不同卤虫对黑斑口虾蛄幼体脂肪酶活力的影响
Fig. 1 The effect of different *Artemia* sp. on lipase activities in the *Oratosquilla kempfi* larvae

由图 3 可见, 各组幼体纤维素酶活力差异不显著, 但分别在酵母的第 III 相幼体 ($P = 0.808 > 0.05$) 和对照的仔虾蛄 ($P = 0.105 > 0.05$) 中酶活力最高。

由图 4 和图 5 可见, 经过 3 种强化方式处理之后, 在仔虾蛄幼体中胃蛋白酶 ($P = 0.26 >$

浓度为 $2.06 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 福尔马林浓度为 $3.62 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和盐度为 0 的海水中, 有效水容积为 250 mL, 以烧杯为容器。每组 3 个平行, 每个平行 10 只幼体分别取自相应强化的 3 个平行组中。每隔 10 min 观察其死亡情况, 并记录结果。

将 3 种处理的幼体分别放于有效水容积为 250 mL 的烧杯中, 每杯 10 只幼体进行饥饿耐受性试验。每隔 12 h 观察其死亡情况, 并记录结果。

2 结果

2.1 黑斑口虾蛄幼体消化酶活力

由图 1 可见, 经过扁藻、酵母和“鱼油 + 酵母”强化 3 种方式处理之后, 黑斑口虾蛄第 III 相幼体的脂肪酶含量出现显著性差异 ($P = 0.029 < 0.05$), 扁藻强化和“鱼油 + 酵母”强化组酶活力是对照组的 3 倍。在仔虾蛄幼体中, 酵母强化和“鱼油 + 酵母”强化组酶活力较高 ($P = 0.305 > 0.05$), 但是在酵母强化第 III 相幼体和扁藻强化仔虾蛄幼体中未检测到脂肪酶活力。

由图 2 可见, 经过 3 种方式处理后, 幼体中淀粉酶的含量差异显著, 在第 III 相幼体中酶活力为扁藻 > 酵母 > 对照 > 鱼油 ($P = 0.005 < 0.05$); 仔虾蛄中酶活力为扁藻 > 对照 > 酵母 > 鱼油 ($P = 0 < 0.05$)。

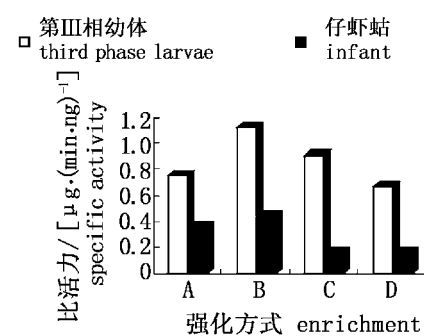


图2 不同卤虫对黑斑口虾蛄幼体淀粉酶活力的影响
Fig. 2 The effect of different *Artemia* sp. on amylase activities in the *Oratosquilla kempfi* larvae

0.05) 和类胰蛋白酶 ($P = 0.019 < 0.05$) 活力均高于对照组, 但在第 III 相幼体对照组中胃蛋白酶 ($P = 0.005 < 0.05$) 和类胰蛋白酶 ($P = 0.001 < 0.05$) 活力均为最高。

由图 6 可见, 经过 3 种方式处理后, 黑斑口虾蛄仔虾蛄的 A/T 比值按照对照、扁藻、酵母和“鱼

油 + 酵母”强化的顺序出现依次递减的趋势;第

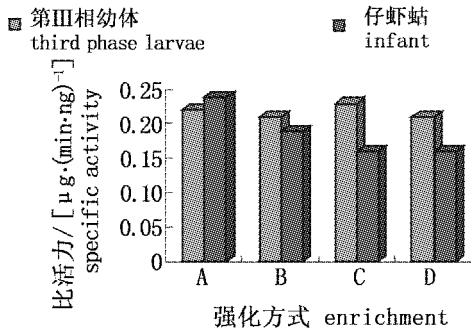


图3 不同卤虫对黑斑口虾蛄幼体纤维素酶活力的影响

Fig. 3 The effect of different Artemia sp. on cellulase activities in the Oratosquilla kempii larvae

III相幼体的 A/T 值以扁藻强化组最高。

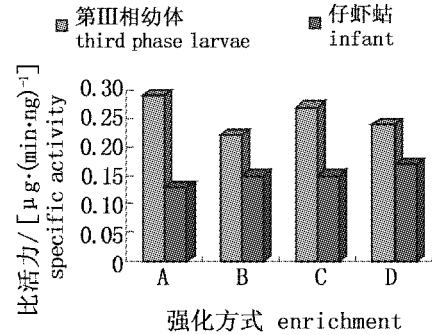


图4 不同卤虫对黑斑口虾蛄幼体胃蛋白酶活力的影响

Fig. 4 The effect of different Artemia sp. on pepsin activities in the Oratosquilla kempii larvae

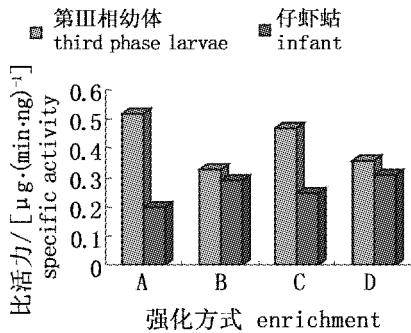


图5 不同卤虫对黑斑口虾蛄幼体类胰蛋白酶活力的影响

Fig. 5 The effect of different Artemia sp. on trypsin activities in the Oratosquilla kempii larvae

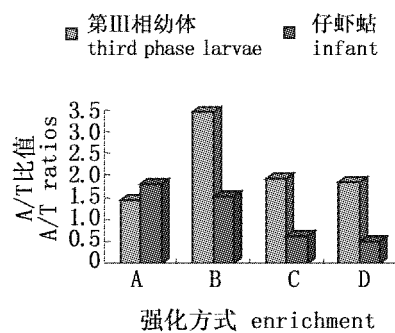


图6 投喂不同卤虫的黑斑口虾蛄第III相、仔虾蛄幼体 A/T 比值

Fig. 6 The comparison of A/T ratios of the Oratosquilla kempii larvae reared by different Artemia sp.

2.2 黑斑口虾蛄幼体抗逆性的比较

不同食物条件下黑斑口虾蛄幼体对氨氮耐受力的比较 对照扁藻、酵母和“鱼油 + 酵母”强化组第III相幼体分别在 30、30、40 和 60 min 时出现死亡,而幼体全部死亡时间分别为 110、120、120 和 130 min(图 7)。

对照、扁藻、酵母和“鱼油 + 酵母”强化组仔虾蛄幼体分别在 40、60、60 和 60 min 时出现死亡,半致死时间分别为 75、90、95 和 105 min,而幼体全部死亡时间分别为 100、120、120 和 130 min(图 8)。

不同食物条件下黑斑口虾蛄幼体对福尔马林耐受力的比较 对照、扁藻、酵母和“鱼油 + 酵母”强化组第III相幼体分别在 30、50、30 和 60 min 时出现死亡,半致死时间分别为 70、90、50 和 105 min,而幼体全部死亡时间分别为 100、120、110 和

130 min(图 9)。

对照、扁藻、酵母和“鱼油 + 酵母”强化组仔虾蛄幼体分别在 30、30、40 和 40 min 时出现死亡,半致死时间分别为 70、80、90 和 100 min,而幼体全部死亡时间分别为 100、120、120 和 130 min(图 10)。

不同食物条件下黑斑口虾蛄幼体对饥饿耐受力的比较 对照、扁藻、酵母和“鱼油 + 酵母”强化组第III相幼体分别在 120、132、132 和 132 h 时出现死亡,半致死时间分别为 138、140、150 和 156 h,而幼体全部死亡时间分别为 156、168、168 和 180 h(图 11)。

对照、扁藻、酵母和“鱼油 + 酵母”强化组仔虾蛄幼体分别在 300、300、312 和 312 h 时出现死亡,而幼体全部死亡时间分别为 348、348、360 和 360 h(图 12)。

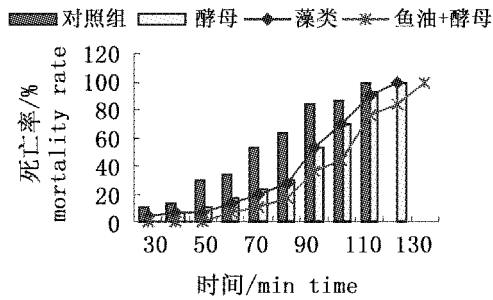


图7 氨氮浓度为 $1.12 \times 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时第Ⅲ相幼体的累积死亡率

Fig. 7 Cumulative mortality of the third phase larvae when NH_4Cl is $1.12 \times 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$

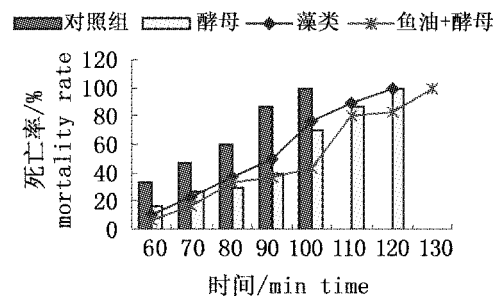


图8 氨氮浓度为 $2.06 \times 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时仔虾幼体的累积死亡率

Fig. 8 Cumulative mortality of the infant when NH_4Cl is $2.06 \times 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$

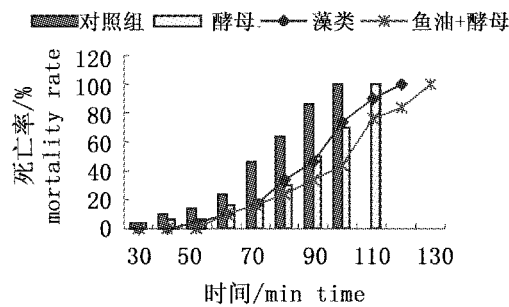


图9 福尔马林浓度为 $1.17 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时第Ⅲ相幼体的累积死亡率

Fig. 9 Cumulative mortality of the third phase larvae when formalin is $1.17 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$

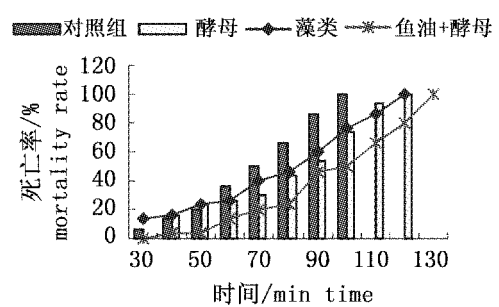


图10 福尔马林浓度为 $3.52 \times 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时仔虾幼体的累积死亡率

Fig. 10 Cumulative mortality of the infant when formalin is $3.52 \times 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$

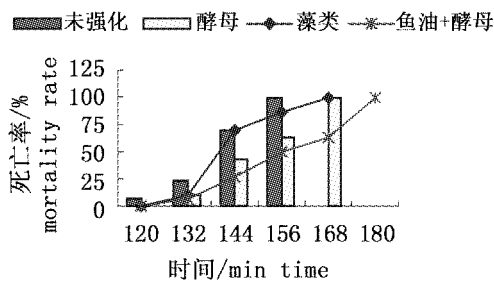


图11 第Ⅲ相幼体在饥饿条件下的累积死亡率
Fig. 11 Cumulative mortality of the third phase larvae under starved condition

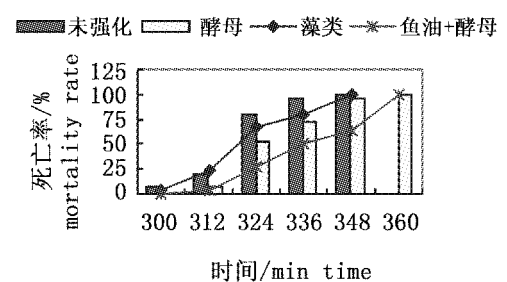


图12 仔虾幼体在饥饿条件下的累积死亡率
Fig. 12 Cumulative mortality of the infant under starved condition

不同食物条件下黑斑口虾幼体对盐度耐受力的比较 对照、扁藻、酵母和“鱼油+酵母”强化组第Ⅲ相幼体分别在30、30、30和60 min时出现死亡,半致死时间分别为70、85、85和95 min,而幼体全部死亡时间分别为110、110、110和

130 min(图13)。

对照、扁藻、酵母和“鱼油+酵母”强化组仔虾幼体分别在80、90、80和90 min时出现死亡,半致死时间分别为100、120、120和130 min,而幼体全部死亡时间分别为130、150、140和160

min(图 14)。

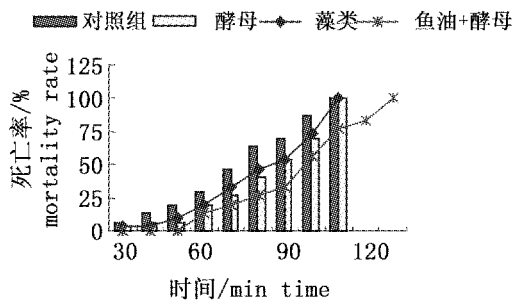


图 13 盐度为 1.30 时第Ⅲ相幼体的累积死亡率

Fig. 13 Cumulative mortality of the third phase larvae when salinity is 1.30

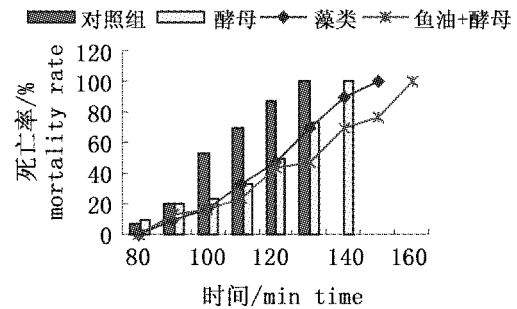


图 14 盐度为 0 时仔虾蛄的累积死亡率

Fig. 14 Cumulative mortality of the infant when salinity is 0

3 讨论

3.1 3 种强化方式对黑斑口虾蛄幼体消化酶活力的影响

饵料中脂类物质含量可以影响黑斑口虾蛄幼体脂肪酶活力。Jones 等^[13]认为,在幼体阶段遗传因子、消化道形态等因素影响酶活力对饵料的反应,同时饵料也可以操纵酶活力。黑斑口虾蛄幼体经过 3 种方式营养强化后,5 种消化酶活力的变化趋势不同。除了酵母强化组第Ⅲ相幼体和扁藻强化组仔虾蛄的脂肪酶活力未检测到外,按照对照→“鱼油+酵母”强化的顺序,脂肪酶活力呈递增趋势。其中经过“鱼油+酵母”强化的幼体脂肪酶含量最高,同时此组卤虫和幼体总脂含量在各组中也最高^[7]。

经过 3 种方式处理后,黑斑口虾蛄第Ⅲ相和仔虾蛄幼体中纤维素酶变化不大,其活力始终保持在一个较低水平。这是因为纤维素酶在肉食性甲壳动物中毫无功能,是退化的痕迹^[14]。本研究结果也证明这一点,黑斑口虾蛄幼体含有少量的纤维素酶活力,饵料营养的变化不会对其产生影响。然而淀粉酶的含量在很大程度上受饵料营养的影响,在第Ⅲ相幼体和仔虾蛄幼体中淀粉酶活力始终为扁藻强化组>“鱼油+酵母”强化组。因为消化酶对饵料中的营养物质有明显的适应性^[15]。使用扁藻对黑斑口虾蛄幼体进行 25~36 d 的培养,其淀粉酶活力较高,由此说明此组幼体以植物食性为主;而经过“鱼油+酵母”强化的幼体却以动物食性为主。这与潘鲁青等的研究结果相一致^[16]。

在第Ⅲ相幼体与仔虾蛄幼体中,胃蛋白酶活

力与类胰蛋白酶活力出现两种截然不同的变化趋势。在第Ⅲ相幼体中,两种酶活力呈下降趋势;在仔虾蛄中呈上升趋势。据汤鸿等报道,青蟹幼体发育过程中蛋白酶的合成受饵料条件和各发育阶段能量需求的调节^[17]。而且蛋白质水平,蛋白质来源以及食物个体大小也均能影响酶活力^[18]。另外,类蛋白酶活力略大于胃蛋白酶活力,这与钱云霞等^[10]的研究结果相一致。因此,通过分析甲壳动物消化酶与饵料组成之间的相互影响,还可以寻找替代的生物饵料和营养适宜的人工饵料,这也是今后的研究方向。

据潘鲁青等的研究显示,A/T 比值可以作为甲壳动物的食性指标。比值高则为植物食性或偏植物食性,比值低则为肉食性或偏肉食性^[11]。从本试验也可看出,黑斑口虾蛄幼体的 A/T 比值与淀粉酶活力变化趋势相同,可以作为食性评价指标。此外也可看出经过不同方式强化的虾蛄幼体 A/T 比值与其相对应组幼体 EPA/DHA 比值的变化趋势相符,均为扁藻强化>“鱼油+酵母”强化组。同时“鱼油+酵母”强化组幼体的存活率>扁藻强化组^[7]。所以本文认为,A/T 比值可以反映黑斑口虾蛄幼体的食性,但是否可作为评价饵料质量好坏的指标,有待进一步研究。

3.2 3 种强化方式对黑斑口虾蛄幼体抗逆性的影响

经过 3 种方式强化的幼体对短时急性环境因子的变化表现出不同的耐受性。经过“鱼油+酵母”强化的幼体耐饥饿能力明显强于其它 3 组,这进一步证明了饵料卤虫中 n-3HUFA 具有极高的营养价值,有利于提高黑斑口虾蛄幼体 EPA 和 DHA 的量,其中 AA(C₂₀:4n₆)和 DHA 作为磷脂的重要组成成分和一些激素的前体,对甲壳

类幼体的存活和蜕皮更是起着至关重要的作用^[19]。因此幼体的抗饥饿能力在很大程度上与幼体的脂肪酸含量有关。Rees 等^[20]研究表明, n-3 系列高度不饱和脂肪酸能够加强幼体抵抗渗透压的能力。Chapells 等^[21]也发现, 中华绒螯蟹鳃中的磷脂酰丝氨酸的含量对鳃中 Na-K-ATP 酶活性调节有重要作用, 此酶又可以对中华绒螯蟹渗透压进行进一步调节, 而渗透压调节能力的强弱直接影响到幼体的变态和发育^[22]。Cavalli 等^[8]认为抗氨氮能力与幼体体内脂肪酸尤其是 n-3 系列不饱和脂肪酸的含量呈正相关性。本试验也得出了与以上研究相似的结果, 经“鱼油 + 酵母”强化的幼体对盐度、福尔马林和氨氮的耐受性均强于对照组的黑斑口虾蛄幼体, 而且此组幼体具有最高的成活率、变态率和生长速度, 也进一步印证了以上结论。

参考文献:

- [1] Hofer R, Köck G. Method for quantitative determination of digestive enzymes in fish larvae [J]. *Pol Arch Hydrobiol*, 1989, 36: 439 - 441.
- [2] Glass H J, McDonald N L, Moran R M, *et al.* Digestion of protein in different marine species [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1989, 94B: 607 - 611.
- [3] Kolkovski, S. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles- implications and applications to formulated diets [J]. *Aquaculture*, 2001, 200: 181 - 201.
- [4] 吴 垠, 孙建明, 周遵春, 等. 饲料蛋白质水平对中国对虾生长和消化酶活性的影响 [J]. *大连水产学院学报*, 2003, 18(4): 258 - 262.
- [5] 邹师哲, 王义强, 张家国. 饲料中蛋白质、脂肪、碳水化合物对鲤消化酶的影响 [J]. *上海水产大学学报*, 1998, 7(1): 69 - 74.
- [6] Fernandez Gimenez A V, Garcia-Carreno F L, Navarrete del Toro M A, *et al.* Digestive proteinases of red shrimp *Pleoticus muelleri* (Decapoda, Penaeoidea): partial characterization and relationship with molting [J]. *Comp Biochem Physiol*, 2001, 130B: 331 - 338.
- [7] 王春琳, 尹 飞, 宋微微. 卤虫无节幼体的营养强化对黑斑口虾蛄幼体发育的影响 [J]. *海洋与湖沼*, 2006, 37(5): 406 - 411.
- [8] Cavalli R O, Bergh E V, Lavens P, *et al.* Ammonia toxicity as a criterion for the evaluation of larval quality in the prawn *Macrobrachium rosenbergii* [J]. *Comp Biochem Physiol*, 2000, 125C: 333 - 343.
- [9] Samocha T M, Guajardo H, Lawrence A L, *et al.* A simple stress test for *Penaeus vannamei* postlarvae [J]. *Aquaculture*, 1998, 165: 233 - 242.
- [10] 钱云霞, 蒋霞敏, 王春琳, 等. 黑斑口虾蛄消化酶的初步研究 [J]. *中国水产科学*, 2000, 2(2): 100 - 102.
- [11] 潘鲁青, 马 牲, 王克行. 温度对中国对虾幼体生长发育与消化酶活力的影响 [J]. *中国水产科学*, 1997, 4(3): 17 - 22.
- [12] 蒋传葵. 工具酶的活力测定 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1982.
- [13] Jones D A, Kumlu M, Vay L L, *et al.* The digestive physiology of herbivorous, omnivorous and carnivorous crustacean larvae: a review [J]. *Aquaculture*, 1997, 155: 285 - 295.
- [14] 于书坤, 张树荣. 虾类及甲壳动物消化酶研究的现状 [J]. *海洋科学*, 1986, 10(2): 60 - 63.
- [15] 许实荣, 孙 凤, 娄康后. 中国对虾营养研究 - B 族维生素 (B1, B2) 对对虾蛋白酶和淀粉酶活力的影响 [J]. *海洋科学*, 1987, (4): 34 - 47.
- [16] 潘鲁青. 四种虾蟹类幼体消化酶活力的比较研究 [J]. *青岛海洋大学学报*, 1997, 24(3): 313 - 318.
- [17] 汤 鸿, 李少菁, 王桂忠, 等. 锯缘青蟹幼体消化酶活力 [J]. *厦门大学学报 (自然科学版)*, 1995, 34(1): 88 - 93.
- [18] Lee P G, Smith L L, Lawrence A L. Digestive proteases of *Penaeus vannamei* Boone: relationship between enzyme activity, size and diet [J]. *Aquaculture*, 1984, 42: 225 - 239.
- [19] 翁幼竹, 李少菁, 王桂忠, 等. 锯缘青蟹幼体饲料的营养强化 [J]. *水产学报*, 2001, 25(3): 227 - 231.
- [20] Rees J F, Cure K, Piyatiratitivorakul S, *et al.* Highly unsaturated fatty acid requirement of *Penaeus monodon* postlarvae: an experimental approach based on *Artemia* enrichment [J]. *Aquaculture*, 1994, 122: 193 - 207.
- [21] Chapells S, Zwingelstein G. Phospholipids composition and metabolism of crustacean gills as related to changes in environmental salinities: relationship between Na-K-ATPase activity and phospholipids [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1984, 78B: 363 - 372.
- [22] 成永旭, 赖 伟, 堵南山. 十足类甲壳动物卵巢发育过程中脂肪的积累与肝胰腺脂肪的变化 [J]. *动物学杂志*, 1997, 32(2): 57 - 60.