

不同玉米淀粉水平对凡纳滨对 虾肝胰腺脂肪代谢的影响*

郭 冉^{1,2}, 刘永坚², 田丽霞², 夏 辉¹, 王家庆¹

(1. 河北农业大学海洋学院, 河北 秦皇岛 066003;

2. 中山大学水生经济动物研究所, 广东 广州 510275)

摘 要: 采用8周的生长实验研究了以玉米淀粉为糖源的不同淀粉水平(w 为10%、15%、20%、25%、30%、35%)对初始体质量为 (0.96 ± 0.02) g 凡纳滨对虾的生长、体营养成分组成、肝胰腺显微结构和肝胰腺脂肪合成酶的影响。实验饲料中 w (蛋白质)为38%; w (脂肪)=5%。实验在室内循环水族箱内进行, 实验用水为天然咸淡水(盐度: 6‰~14‰), 6组饲料每组设3个重复, 每箱30尾虾, 饱食量投喂。实验结果表明: w (淀粉)=15%实验组对虾的增质量率、SGR最高, 分别为453.62%和3.06, 与 w (淀粉)=10%和 w (淀粉)=20%组无显著性差异, 但明显高于其他各组; w (淀粉)=10%组的对虾成活率最高(96.67%), w (淀粉)=25%组最低(66.67%); w (淀粉)在25%~35%时, 对虾的增质量率、成活率、SGR显著低于 w (淀粉)为10%、15%和20%组($P < 0.05$)。 w (淀粉)=20%组的体蛋白含量最低(72.24%), w (淀粉)=30%组最高(75.27%), 其余各组没有显著性差异; 高淀粉组体脂肪含量相对较高。从凡纳滨对虾的肝胰腺组织学切片观察到, 饲料 w (淀粉)为10%~35%的范围内, 肝胰腺脂肪无异常积累。肝胰腺中脂肪合成酶活性很低, 苹果酸脱氢酶活性随饲料淀粉含量的增加而升高。总之, 在饲料蛋白含量为 $w=38%$ 左右时, 凡纳滨对虾饲料适宜的淀粉含量(w)为10%~20%。

关键词: 凡纳滨对虾; 玉米淀粉; 生长; 脂肪合成酶

中图分类号: Q45; S963.31⁺¹ 文献标志码: A 文章编号: 0529-6579(2011)02-0105-05

Effects of Dietary Cornstarch Levels on Fat Metabolism of Hepatopancrease in *Litopenaeus vannamei*

GUO Ran^{1,2}, LIU Yongjian², TIAN Lixia², XIA Hui¹, WANG Jiaqing¹

(1. Ocean college, Hebei Agriculture University, Qinghuangdao 066003, China;

2. Institute of Economic Aquatic Animals, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: The ability of *Litopenaeus vannamei* (initial mean weight: (0.96 ± 0.02) g) to utilize different levels of cornstarch was examined in terms of growth indices, body composition, microscopic structure and lipogenic enzyme of the hepatopancreas. Six isonitrogenous semipurified diets were fed to shrimp to satiation for 8 weeks in triplicate tanks (30 shrimps per tank) connected to a natural brackish water (salinity: 6‰~14‰) recirculating system. Diets contained different levels of cornstarch (w , 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%) as the source of carbohydrate. Weight gain (WG), survival rate and SGR were considerably affected by cornstarch levels of diets. The highest weight gain (453.6%) and best SGR was observed in shrimp fed the $150 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (cornstarch level) diet, and was significantly ($P < 0.05$) higher than those fed diets containing 25% to 35% cornstarch. However, the survival rate reached maximum in shrimp fed the 10% diets (96.7%), some $300 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ diets higher than the lowest

* 收稿日期: 2010-03-29

基金项目: 广东省科技攻关资助项目

作者简介: 郭冉(1980年生), 女, 博士, 讲师; E-mail: toguoran@163.com

rate, which was found in shrimp fed the $250 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ diets. Body lipid tended to be higher in shrimp fed diets with higher cornstarch levels. Besides, histological study on shrimp fed 10 to 35% diets exhibited no histological changes. Hepatopancreatic lipogenic enzyme activities (6PGDH, ME, IDH) in shrimp fed with different diets were very low; ME increased while carbohydrate levels increased. In a word, it is suitable for shrimp fed 10% ~ 20% carbohydrate when the diets containing 38% protein.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; cornstarch; growth performance; lipogenic enzyme

随着近几年虾的精养、半精养模式增多, 对虾对饲料的需求愈来愈大, 因此人们愈来愈关注如何降低饲料成本。考虑到实际生产中原料来源, 玉米淀粉较之其他糖源在饲料加工工业中有明显的优势。因此, 以玉米淀粉为糖源, 研究凡纳滨对虾适宜的糖水平对实际生产的指导意义是不言而喻的。

一些学者发现很多对虾种类利用葡萄糖的能力很差, 可能的解释是通过肝胰腺吸收葡萄糖到达饱和后, 产生抑制效应阻碍了葡萄糖的再吸收^[1]。很多研究者建议使用复杂的糖作为对虾的糖源, 如淀粉, 蔗糖等^[2]。淀粉在水解后被吸收, 来自淀粉水解产生的葡萄糖比游离葡萄糖到达肝胰腺吸收葡萄糖饱和的时间要迟一些^[1-4]。Shiau 和 Peng^[4]认为斑节对虾对玉米淀粉的利用比糊精和葡萄糖好, 并且, 能够获得较好的蛋白质沉积率。然而, 饲料中淀粉总含量或者被吸收的瞬时含量超过动物机体对能量的需求时, 会转变为脂肪在体内沉积, 这一理论在哺乳动物和鱼类中得到证实。当机体摄入过量的碳水化合物时, 通过糖酵解途径和三羧酸循环产生大量丙酮酸, 而丙酮酸是脂肪合成的中间物质, 可以进入脂肪合成途径形成长链脂肪酸, 因此过多的糖会转变成能量在体内以脂肪的形式储存。生物体内的脂肪主要在肝脏和脂肪组织储存, 对虾体内的脂肪主要在肝胰腺储存, 因此, 研究脂肪在对虾肝胰腺的储存情况能够帮助了解对虾能量的去向。因此, 对凡纳滨对虾的肝胰腺进行组织学研究能够直观说明肝胰腺对脂肪的储存情况及脂肪对对虾肝胰腺细胞的结构影响。

生物体内调节肝脏脂肪合成的关键性酶包括: 异柠檬酸脱氢酶、苹果酸脱氢酶、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶, 上述酶的活性和含量可以反映机体对脂肪的合成能力。但未见对虾体内脂肪合成酶研究的相关报道。因此, 研究凡纳滨对虾体内的脂肪合成酶系相关关键酶的活性对于深入探讨凡纳滨对虾糖代谢能力是十分必要的。

本实验通过生长性能、虾体组成、肝胰腺组织学研究和脂肪合成酶活性等指标研究凡纳滨对虾对不同含量饲料淀粉水平利用能力。

1 材料和方法

1.1 实验饲料和养殖管理

试验用虾初始平均体质量 (0.96 ± 0.02) g。正式实验前, 将实验用虾暂养在水族箱中, 以商业饲料饱食投喂, 驯养 1 周后分组开始实验, 56 d 后结束。

6 种等氮饲料, 分别以 w 为 10%, 15%, 20%, 25%, 30% 和 35% 玉米淀粉为糖源。所有原料均为商业产品。

试验饲料配方和成分分析如表 1 所示。饲料按表 1 配方制成直径 1.5 mm 的颗粒, 置于 60 °C 烘箱中, 烘 10 h, 然后放 -20 °C 冰箱保存。饲养试验在室内循环流水过滤水族箱 (350 L) 中进行, 试验用水为天然海水 (珠海, 盐度 6‰ ~ 14‰)。光周期为 12h: 12h。每种饲料设置 3 个平行, 每箱放虾 30 尾。饱食投喂试验饲料。每天在 06:00, 14:00 和 20:00 投喂, 共 3 次, 投喂 2 h 后吸出剩余饲料, 烘干称重。每天测定水温, 每周测定溶氧、pH 和氨氮含量。水温平均为 (26.7 ± 1.0) °C, 水中溶氧量为 (7.4 ± 0.5) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 值为 8.0 ~ 8.5, 氨氮含量为 (0.5 ± 0.1) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。每天记录对虾死亡数目。

1.2 样品的采集和分析

试验结束时, 使虾空腹 24 h 后, 从每箱随机取虾 4 尾, 用纱布吸干水分, 105 °C 烘至恒量制备全虾样品。另随机取虾 5 尾, 分别取肝胰脏样品。分别采用 105 °C 常压干燥法、凯氏定氮法、及 550 °C 灼烧法测定全虾的水分、粗蛋白、脂肪和灰分 (A. O. A. C), 以 3,5-二硝基水杨酸法测定饲料中糖含量^[5]。肝胰脏组织切片采用 H. E. 染色^[6]。

1.3 脂肪合成相关酶 (葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、6-磷酸-葡萄糖脱氢酶、异柠檬酸脱氢酶、苹果酸脱氢酶) 测定方法

按照美国加州大学戴维斯分校动物科学系鱼类营养研究室的实验指导^[7], 试剂均购自 Sigma。

1.4 统计分析

实验结果采用平均数 \pm 标准误 (STDEV) 表示, 经单因子方差分析后, 采用 Duncan's 多重比

较法进行差异显著性检验, 差异显著性水平为 $P < 0.05$ 。统计软件采用 SPSS11.0。

表 1 试验饲料配方及营养组成

饲料配方	1	2	3	4	5	6
w (鱼粉)	30	30	30	30	30	30
w (酪蛋白)	14	14	14	14	14	14
w (玉米淀粉)	10	15	20	25	30	35
w (纤维素)	30.19	25.19	20.19	15.19	10.19	5.19
w (其他) ¹⁾	15.8	15.8	15.8	15.8	15.8	15.8
饲料成分组成						
w (水分)	10.2	9.8	9.5	10.0	11.1	9.3
w (粗蛋白)	37.8	37.7	37.7	37.8	37.6	37.6
w (粗脂肪)	5.3	5.5	5.4	5.4	5.3	5.5
w (灰分)	8.2	8.3	8.3	8.4	8.4	8.3
w (淀粉)	12.9	17.0	21.5	28.4	31.0	36.9

1) 其他 ($w/\%$): 啤酒酵母 3; 乌贼粉 2; 虾头粉 3.5; 大豆磷脂 1; 鱼油 Fish oil, 1; 豆油 1; 胆碱 ($w = 50\%$) 0.5; CaH_2PO_4 1; 复合维生素 0.2; 复合矿物盐 0.5; Vc 磷酸酯 0.1; 褐藻酸钠 2; Y_2O_3 0.01。其中, 复合维生素 ($w/\%$): 氯化胆碱 5.55; 肌醇 2.22; V_C 1.11; 泛酸钙 0.83; V_{B1} 0.22; V_{B2} 0.56; V_{B6} 0.06; V_k 0.06; 叶酸 0.02; V_{B12} 0.012; 生物素 0.006; 醋酸 α -生育酚 0.44; 纤维素 88.87。复合矿物盐 ($w/\%$): $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 12.29; calcium lactate 47.42; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 4.20; NaCl 3.23; K_2SO_4 16.38; KCl 6.58; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.07; ferric citrate 3.83; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 4.42; $\text{ZnSO}_4 \cdot 0.47$; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.033; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.022; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.043; KIO_4 0.022

2 结果

2.1 生长实验

实验开始 4 周后, 高水平玉米淀粉组对虾开始出现死亡。8 周后, 凡纳滨对虾各组的增质量率、成活率和 SGR 存在显著性差异 ($P < 0.05$) (表 2)。对虾增质量率随着饲料玉米淀粉含量的增高而增高, 在 $w = 20\%$ 玉米淀粉含量组增质量率开始下降, 饲料中玉米淀粉 $w = 10\%$ 时, 成活率最高 ($P < 0.05$), $w = 15\%$ 玉米淀粉组的 SGR 最高, 但是与 $w = 10\%$ 和 20% 玉米淀粉组没有显著性差异。随着饲料淀粉含量增加, 凡纳滨对虾的摄食量逐渐下降。以增质量率为因变量, 采用多项式方程, 模拟得到凡纳滨对虾饲料中的适宜淀粉 w 为 $10\% \sim 20\%$ (图 1)。

随着饲料中淀粉含量的增加, 全虾水分、灰分和肝胰腺脂肪含量没有显著性差异, 全虾粗蛋白含量受饲料淀粉水平的影响 (表 3), 全虾粗脂肪含量随着饲料淀粉水平的增加而升高。

表 2 不同玉米淀粉水平对凡纳滨对虾生长和饲料利用的影响¹⁾

Table 2 Growth performance and feed utilization of shrimp fed different diets

淀粉水平	饲料摄入量 / ($\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$)	增质量率 / %	成活率 / %	特异生长率 SGR / %
10	3.09 ± 0.0^a	433.7 ± 4.2^a	96.7 ± 0.0^a	2.99 ± 0.01^b
15	3.10 ± 0.01^a	453.6 ± 14.8^a	95.6 ± 5.1^{ab}	3.06 ± 0.05^b
20	2.43 ± 0.55^b	359.5 ± 75.8^a	91.1 ± 5.1^b	2.71 ± 0.31^b
25	1.48 ± 0.91^c	172.5 ± 54.9^b	66.7 ± 12.0^c	1.77 ± 0.35^c
30	1.62 ± 0.07^c	135.5 ± 24.3^b	68.9 ± 12.6^c	1.52 ± 0.19^c
35	1.73 ± 0.05^c	138.4 ± 50.8^b	70.0 ± 12.0^c	1.53 ± 0.37^c

1) 结果用平均数和该处理的总标准误 (STDEV) 表示 ($n=3$)。同组数据字母不同者表示有显著性差异 ($P < 0.05$); 增质量率 / % = $[(W_t - W_0) / W_0] \times 100\%$; 特异生长率 (SGR) / % = $[\ln(W_t / W_0) - \ln(W_0 / \text{尾数})] / t \times 100\%$; 成活率 / % = (终末虾尾数 / 初始虾尾数) $\times 100\%$; W_0 为初始平均湿质量, W_t 为终末平均湿质量, t 为饲养天数

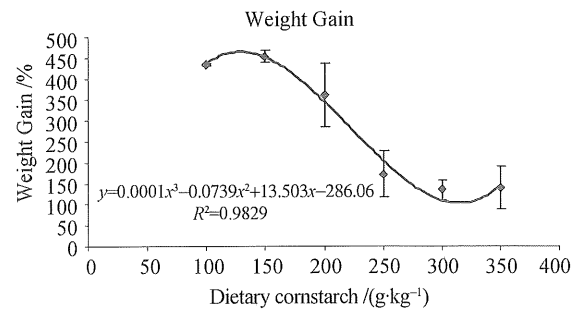


图 1 以增质量率为因变量, 以三次方程模拟凡纳滨对虾饲料适宜的糖含量。适宜的糖含量为 (w) $10\% \sim 20\%$ 。

Fig. 1 The effect of carbohydrate level on weight gain based on polynomial regression analysis

2.2 组织学观察

图 2 显示实验进行 8 周后凡纳滨对虾肝胰腺组织切片。分别为饲喂 $w = 10\%$ 和 35% 淀粉饲料组对虾肝胰腺切片。肝小管中脂肪小泡 (白色箭头所示) 清晰可见, 肝小管壁 (黑色箭头所示) 的组织完整, 没有发现肝小管损伤。

2.3 酶学实验

由表 4 可见, 凡纳滨对虾的肝胰腺中只有苹果酸脱氢酶可以测到, 并随着饲料淀粉水平的增加而显著增加 ($P < 0.05$), 异柠檬酸脱氢酶、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶及 6-磷酸-葡萄糖脱氢酶活性检测不出。

表 3 不同糖水平对凡纳滨对虾营养成分组成的影响
Table 3 Body composition of shrimp fed with different levels of cornstarch

w (淀粉)/%	w (粗蛋白)/%	w (水分)/%	w (灰分)/%	w (粗脂肪)/%	w (肝胰腺脂肪)/%
10	73.63 ± 0.41 ^b	77.42 ± 0.59	12.20 ± 0.44	14.65 ± 1.04 ^b	15.91 ± 0.62
15	74.54 ± 0.98 ^{ab}	77.27 ± 0.27	12.32 ± 0.20	15.29 ± 1.87 ^{ab}	17.53 ± 0.95
20	74.03 ± 0.34 ^{ab}	77.49 ± 0.07	12.57 ± 0.43	15.32 ± 0.66 ^{ab}	14.12 ± 3.70
25	72.24 ± 1.06 ^c	78.97 ± 3.06	12.98 ± 1.53	16.01 ± 0.24 ^{ab}	14.52 ± 4.55
30	75.27 ± 0.40 ^a	78.16 ± 1.63	12.53 ± 0.85	16.61 ± 1.89 ^{ab}	14.10 ± 3.22
35	74.64 ± 0.79 ^{ab}	79.09 ± 1.14	12.71 ± 1.13	17.55 ± 0.40 ^a	16.27 ± 0.03

注: 结果用平均数和该处理的总标准误 (STDEV) 表示 ($n=3$)。同组数据字母不同者表示有显著性差异 ($P<0.05$)

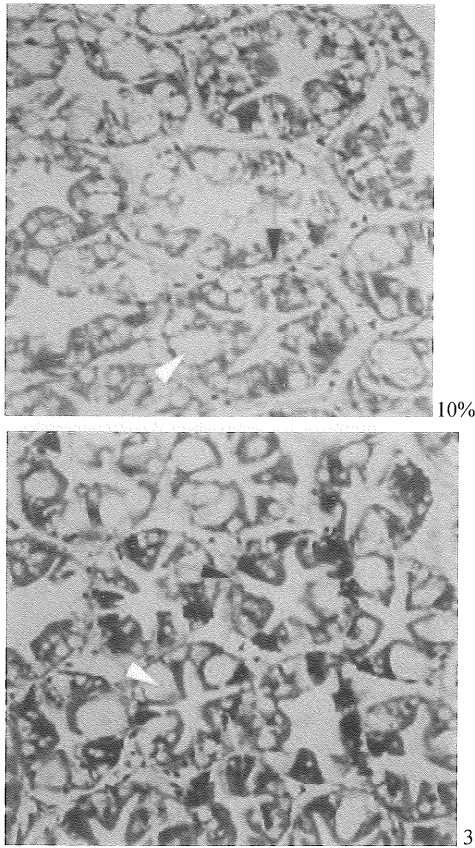


图 2 饲料 w (淀粉) = 10% 和 35% 组凡纳滨对虾肝胰腺组织切片 ×400

Fig. 2 Digestive gland of shrimp with seldom disrupted tubules. Shrimp was fed with a diet containing 10 and 35% cornstarch

(白色箭头示脂肪小泡, 黑色箭头示肝小管)

3 讨论

虽然鱼虾类也可以和陆上动物一样利用糖作为能量的来源, 但在利用能力方面差别很大。一般来说鱼、虾类利用糖类的能力比其他动物低, 对虾更倾向于利用蛋白质作为能源^[8]。Rosas 等^[9]研究红

表 4 淀粉水平对凡纳滨对虾肝胰腺脂肪合成酶活性的影响¹⁾

Table 4 Liver IDH, ME, G6PDH and 6PGDH activity of shrimp fed with different diets

w (淀粉)/%	0	15	30
苹果酸脱氢酶 (ME) /mU	0.28 ± 0.07 ^a	0.50 ± 0.11 ^b	0.87 ± 0.01 ^c
异柠檬酸脱氢酶 (IDH) /mU	-	-	-
葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (G6PDH) /mU	-	-	-
6-磷酸-葡萄糖脱氢酶 (6PGDH) /mU	-	-	-

1) 结果用平均数和该处理的总标准误 (STDEV) 表示 ($n=3$); 同组数据字母不同者表示有显著性差异 ($P<0.05$);

mU: 每毫克蛋白每分钟产生的 NADPH 的摩尔数; -: 表示测不出或者测定出的含量极低

额角对虾 *Litopenaeus stylirostris* 时发现, 饲料中含有 $w=10%$ 的糖不能满足对虾对糖的需要, 剩下的需要由蛋白质提供能量。Tacon 认为不同种类的对虾利用糖的能力依赖于它把过剩的能量转化成脂肪和二级氨基酸的能力, 在斑节对虾 *P. monodon* 中, $w=10%$ 的玉米淀粉比 $w=40%$ 的玉米淀粉好。本实验的研究结果表明, 当饲料 w (淀粉) 在 10% ~ 20% 时, 凡纳滨对虾的增质量率和 SGR 最大, 显著高于 25% ~ 35% 的组。此结果与 Rosas 等的研究结果类似, 他们认为, 凡纳滨对虾在盐度较低的时候更适合利用高蛋白低糖的饲料。在本实验中, 所用海水的盐度为 6‰ ~ 14‰, 实验饲料蛋白质水平相同, 凡纳滨对虾对 w (淀粉) = 15% 的饲料利用较好。

饲料 w (淀粉) = 10% 组的凡纳滨对虾成活率最高, w (淀粉) 为 15% 和 20% 组次之, 其余组较低 ($P<0.05$), 证明了凡纳滨对虾对糖的利用

率比较低。本试验对虾的成活率在 w (淀粉) 为 20% 和 25% 有明显的分界线, 分别为 91% 和 66%, w (淀粉) 为 10% ~ 20% 组明显高于 w (淀粉) 为 25% ~ 30% 组 ($P < 0.05$), 从各组虾的日摄食量可以看出, 饲料 w (淀粉) 高的组 (25% ~ 35%) 其日摄入量显著低于饲料中 w (淀粉) 低的组 (10% ~ 20%), 分别为 1.48 ~ 1.73 和 2.43 ~ 3.10, 推测是由于随着饲料糖含量的升高, 饲料中可利用的能量水平也升高, 导致对虾摄食量下降引起的。

从虾体组成来看, 肝胰脏的脂肪水平、全虾的水分和灰分均没有显著性差异; 全虾蛋白质含量虽然在数值上差别不大, 但是有随糖含量升高而上升的趋势, w (淀粉) = 10% 组体蛋白水平相对较低, 而 w (淀粉) = 15% 和 w (淀粉) 20% 组与 w (淀粉) = 35% 组没有显著性差异; 全虾的脂肪含量随着淀粉含量的升高而升高。此结果与 Alava 的研究结果类似^[10]。在 Rosas 等^[11]的研究中发现, 当凡纳滨对虾饲料中的糖含量低时, 对虾会将饲料中的蛋白质通过转氨作用分解作为能量利用。所以, 糖含量低时对虾的体蛋白沉积量也会偏低。当糖含量过高时, 蛋白质作为能量的消耗大大减少, 由高糖产生的过剩的能量通过合成脂肪在体内沉积, 导致对虾的体脂肪含量随着饲料中糖含量的升高而升高。Kanazaw 认为可溶性淀粉不是从胃转变成葡萄糖和海藻糖后被吸收进入血淋巴, 而是在中肠和肝胰脏被吸收。

在本实验中肝胰脏作为凡纳滨对虾能量物质代谢的主要场所, 并没有形成脂肪的积累, 各组对虾肝胰脏脂肪水平没有显著性差异 ($P > 0.05$), 这与实验中对 6 组处理的对虾的肝胰脏的组织学切片的观察也是一致的, 虽然饲料 w (淀粉) 从 10% 升高到了 35%, 但是, 肝胰脏的肝小管并没有受到严重的损害, 脂肪空泡区并不明显, w (淀粉) = 10% 组和 w (淀粉) = 35% 组的肝胰脏组织学没有很大差异, 高淀粉组也没有表现出对肝胰脏的严重损害。这与 Pascual^[2]对斑节对虾 *P. monodon* 的研究不一致, 他认为当斑节对虾饲料中的糖蜜含量在 $w = 10%$ 时就会造成对肝胰脏的严重损伤, 肝小管内部细胞被破坏, 只剩下外部的连接组织。当然, 不同种类的对虾对不同糖源的利用能力是不同的。

从凡纳滨对虾肝胰脏脂肪合成酶活性来看, 随着饲料淀粉水平的增加, 肝胰脏苹果酸脱氢酶的活性随之显著增加 ($P < 0.05$), 说明糖的增加诱导脂肪合成酶活性增强。其他几种酶未检测到, 说明

凡纳滨对虾本身脂肪合成酶活性不高, 或者含量很低, 这也解释了即使糖水平高达 $w = 35%$, 凡纳滨对虾的肝胰脏仍旧保持良好组织结构的原因。推测吸收进入血淋巴的过高浓度的葡萄糖没有被有效的转化生成脂肪, 而有可能被直接排出体外。在鱼类中有报道: 摄食含糊化淀粉饲料后, 鱼体内血浆葡萄糖含量迅速升高、而此时尚未产生足够的相关代谢酶^[12], 导致葡萄糖被大量排泄, 使糊化淀粉利用率低下, 进而表现为生长下降。

致谢: 中山大学水生经济动物研究所鱼类营养实验室梁桂英老师为本实验的顺利完成提供了必要技术支持, 在此表示感谢。

参考文献:

- [1] SHIAU S Y. Nutrient requirement of penaeid shrimp [J]. Aquaculture, 1998, 164: 77 - 93.
- [2] PASCUAL F P, COLOSO R M and TAMSE C T. Survival and some histological changes in *Penaeus monodon* Fabricius juveniles fed various carbohydrates [J]. Aquaculture, 1983, 31: 169 - 180.
- [3] ALAVA V R, PASCUAL F P. Carbohydrate requirements of *Penaeus monodon* (Fabricius) juveniles [J]. Aquaculture, 1987, 61: 211 - 217.
- [4] SHIAU S Y, PENG C Y. Utilization of different carbohydrates at different dietary protein levels in grass prawn, *Penaeus monodon*, reared in seawater [J]. Aquaculture, 1992, 101: 241 - 250.
- [5] YU S K, OLSEN C E, MARCUSSEN J. Methods for the assay of 1, 5-anhydro-D-fructose and α -1, 4-glucanase [J]. Carbohydrate Res, 1998, 305: 73 - 82.
- [6] 汪艳丽, 蔡新华, 韩金珠. 整块组织 HE 染色方法的改进 [J]. 解剖学杂志, 1997, 20(5): 508.
- [7] WALZEM R L, STOREBAKKEN T, HUNG S S, et al. Relationship between growth and selected liver enzyme activities of individual rainbow trout [J]. J Nutrition, 1991, 121: 1090 - 1098.
- [8] DALL W, HILL B J, ROTH LISBERG P C, et al. (陈楠生等译). 对虾生物学 [M]. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1992.
- [9] ROSAS C, CUZON G, GAXIOLA G. Influence of dietary carbohydrate on the metabolism of juvenile *Litopenaeus stylirostris* [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2000, 249: 181 - 198.
- [10] ALAVA V R, LIM C. The quantitative dietary protein requirements of *Penaeus monodon* juvenile in a controlled environment [J]. Aquaculture, 1983, 30: 53 - 61.
- [11] ROSAS C, CUZON G, GAXIOLA G. Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrate levels [J]. Aquaculture, 2001, 259: 1 - 22.
- [12] PIEPER A, PFEFFER F. Studies on the comparative efficiency of utilization of gross energy from some carbohydrate, protein and fats by rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.) [J]. Aquaculture, 1980, 20: 323 - 332.