

海水养殖技术资料汇编 第七辑

对虾的营养 与人工配合饵料

中国科学院海洋研究所科技情报研究室
一九九一年五月·青岛

编 者 的 话

目前,我国海水养殖业正处于蓬勃发展的时期,养殖种类日趋多样化,养殖面积不断扩大,养殖产量也逐年提高。在这一事业大发展的同时,生产实践中也出现许多亟待解决的技术问题。各生产、科研、教学部门都迫切希望及时得到新的、系统性的参考资料。为满足这一需求,我们特编辑出版《海水养殖资料汇编》,作为内部参考资料提供给读者。本汇编分专题不定期连续编印。资料选材广,包括会议论文、实验报告、经验总结、问题探讨等,既有最新的理论,先进的技术,又有可靠的数据,成功的配方。本汇编绝大多数资料是由专家推荐,并经过专家精选和勘定,因此具有实用性、针对性和系统性。同时紧密配合海水养殖业形势的发展,力求报道迅速及时。

我们愿以这《汇编》为我国海水养殖事业的发展竭尽绵薄之力,并期望广大读者给予指正。

中国科学院海洋研究所印刷

(内部交流)

1991年5月 第一次印刷

字数: 210个千字

前 言

近年来，我国水产养殖业发展迅猛，现已跃居世界前列。水产养殖业的发展，推动、促进了我国的饲料工业。目前在水产饲料加工、鱼虾营养及加工机械研制等方面都取得了一定的成绩，但是还远远满足不了当前水产养殖业发展的需要。

我国的饲料工业起步较晚，与先进国家相比有很大差距。渔用颗粒饲料普遍存在着质量差，报酬低的问题。专家们认为，其主要问题在于：科研技术力量薄弱，人员分散；加工设备简陋；生产人员素质差；配方不完善，原料质量差；饲料源缺等因素。据报导，国外养殖 1 公斤对虾只需 1.5~2 公斤颗粒饲料，我们则需要 3.5~5 公斤。饵料系数低，造成不应有的浪费，同时未被利用的饲料又污染了水质。据 1987 年的统计，我国仅在对虾养殖上浪费的饲料源就达 30 万吨以上。

“合理的投入，最优的产出”，是继续稳步发展养殖业的根本保证。尽快生产出优质的、能满足对虾不同生长阶段营养需要的全价配合饵料，是广大科研工作者、养殖生产者的共同愿望。为加强科研工作者、养殖生产者之间的信息、经验交流与研究成果的推广利用，我们以“饵料”为主要专题编辑了“海水养殖技术资料汇编”第七、八、九辑。希望能对鱼虾饵料生产、科研和养殖业产生积极作用。不当之处请读者批评指正。

在编选过程中，各有关专题得到了郭玉洁研究员、刘发义副研究员、丁美丽副研究员和肖余生助理研究员等专家的指导和热情帮助，在此表示衷心的感谢。

编 者

1991年5月2日

目 录

对虾的营养需求

中国对虾营养生理的研究进展	李爱杰(1)
饵料中的铜对中国对虾的影响	刘发义等(5)
中国对虾必需氨基酸的研究	何海琪(11)
维生素C: 对虾类的营养需要及其在创伤愈合中的作用	Lightner, D.V.等(17)
鱼类配合饵料缺乏某些营养成分和元素所引起的常见病症	巴 硕·诗达社(28)

饵 料 研 究

日本水产微粒饲料	金尺昭夫著; 陈世杰译(30)
国外鱼虾微型颗粒饲料的研究和生产	吴锦藻(35)
鱼虾饵料的粘合机理及影响饵料在水中稳定性的因素	刘兴海, 刘伟(45)
中国对虾人工系列配合饵料的筛选试验	宋晓敏等(49)
鱼用颗粒饲料性状指标的探讨	许 兵(57)
对虾饵料添加剂对比试验与评比方法的研究	王成刚, 张弘(51)
对虾饲料生产中褐藻酸钠凝胶化的影响因素及控制条件	陈欣欣(75)
鱼饵料的配置技术: 第四节饵料配方简介 摘录: 对虾饵料部分	(104)

饵料添加剂

麦饭石在对虾养殖中的应用试验	吴科强, 田峙(10)
花粉提取物用于对虾饲料的研究	林 森等(43)
甲醛在微粒饵料中的应用	蒋蕴珍(48)
中草药饲料添加剂的研究	陈艳新(121)
鱼虾饲料粘结剂综述	潘慧文, 卞发春(54)
鱼虾颗粒饵料粘合剂的研究	朱伯清等(61)
对虾饵料粘合剂C1的初步研究	周洪琪等(64)
Accc10058 细菌多糖饵料粘合剂的研究与应用	姜瑞波等(67)
不同粘合剂对药物溶出率的影响	沈智华, 陈月英(69)
β -蜕皮激素和水龙骨科素B的混合物对促进对虾蜕皮生长的作用	罗日祥, 王玉英(25)
以蚯蚓作为对虾饲料诱饵剂的探讨	马明和(107)
人工配合饵料的颜色对于对虾摄食量的影响	荣长宽, 谢宝华(113)
水产饲料的特殊添加剂——着色剂	张雨波(117)

饵料加工五艺

- 对虾人工配合饵料颗粒规格的探讨.....徐尔栋(72)
对虾饲料生产工艺中影响饲料颗粒耐水性问题的探讨.....李刘冬等(77)
蒸汽热处理提高对虾饵料的耐水性.....滕淑珍(79)
DPDB304.75型环模颗粒压制机组用于对虾饵料生产的研究.....肖余生等(83)
UF、PVA 用作虾颗粒粘合剂的耐水性能测试.....弘嵩等(111)

饵料源及投饵技术

- 利用多种代用饵料降低对虾育苗成本提高经济效益.....宋继周, 牟绍敦(96)
中国对虾养殖降低饵料比的探讨.....华汉峰(89)
提高配合饲料养虾效果之我见.....张桂华(101)
在对虾养殖生产中应用棉仁粉的初步研究.....何晓南等(94)
合理投饵降低养虾成本.....张东(93)
对虾配合饵料投饵量的简算法.....刘玉伦, 陈德斌(104)

虾病、药物与饵料

- 对虾养成期的主要疾病及其防治方法.....孟庆显(115)
抗菌素对养虾池细菌的抑制作用及预防虾病的初步研究.....邓欢等(126)
可提高对虾饵料利用率的添加剂.....姜为译(124)
谈谈对虾育苗生产中的饵料和用药.....小月(129)
水产养殖中的常用药物.....(130)
虾病防治药物的选择与使用.....谢耀生(132)

信息与知识

- 一种适用于鱼苗、幼鱼的新型颗粒饲料(39) 哪些饲料添加剂不能同时应用(60)
对虾配饵无外加粘合剂的粘合工艺研究(66) 配方两则(94) 以甘蔗渣为主要原料的虾类饵料(95) 利用药物防治虾病可行(103) 如何鉴别蛋氨酸的真伪(109) 识别掺假鱼粉的方法(110) 虾病防治史的一次重大突破——海之光生理生态疗法简介(110) 全价配合饲料饲养对虾的效果(111) 新的对虾开口饵料造粒机问世(47)

学术讨论会论文摘要汇编选

- 常用药物对长毛对虾无节幼体变态的影响(24) 生态控制技术在対虾育苗防病中的应用(24) 水环境中化学物质对中国对虾摄食行为影响的研究(38) 饵料中添加胆固醇对中国对虾生长和体内胆固醇含量的影响(38) 中国对虾对钴的需要量的研究(56) 中国对虾对硒的需要量的研究(68) 不同质量的饵料对中国对虾仔虾生长影响的实验研究(100)

中国对虾营养生理的研究进展

青 岛 海 洋 大 学 李 爱 杰

近十年来,我国对虾养殖业有了迅猛的发展。伴随着对虾养殖业的发展,对中国对虾的营养需要和营养生理进行了大量研究。研究成果为研制对虾配合饵料提供了依据,为发展对虾饲料工业奠定了基础。配合饲料是对虾养殖系统工程中的关键一环,因此也可以说,对虾营养需要和营养生理的研究为我国对虾养殖生产的成倍增长起到了积极作用。现将研究进展概况报道如下。

一、蛋白质

在对虾的营养物中,主要组成成分是蛋白质、脂肪、碳水化合物、维生素和无机盐。各种营养物质具有不同的生理功用,而且互相影响,互相制

约,构成一个非常复杂的平衡的营养体系。在各种营养物中,蛋白质具有特别重要的地位,它不仅是动物体各组织器官不可缺少的构成物质,而且也是动物活性物质如酶、激素、抗体的组成成份。国内外研究鱼虾类营养的学者都把蛋白质、氨基酸作为重要课题,首先对蛋白质、氨基酸的需要进行研究。

国内有关工作者对中国对虾配饵中蛋白质适宜含量的研究,由于所用材料和方法不同出现较大的差异。表1示出不同研究工作者所得的不同数据。

表1 中国对虾对蛋白质的需求量

对 虾 体 重 (g)	蛋白质需求量 (%)	资 料 来 源
	31.8	
	50~65 (实用量40~50)	
	45~50	柴长宽等
6~8 cm (体长)	27.1~42.8 (中值35.5)	侯文璞 (1989)
0.14~0.9	35.3~51.6 (中值43.5)	大连饲料研究所 (1989)
0.89~2.86	40.4~61.1 (中值50.8)	梁亚全等 (1986)
1.7~10.85	40~45	
2.37~3.44	44.0	仲维仁 (1989)
5.88~7.88mm (体长)	44.2	徐新章等 (1988)
2.10~2.51	45.5	李爱杰等 (1986)

研究结果之所以不同,除实验条件、对虾大小不同外,主要是由于试验材料不同而导致差异。这方面的原因主要有两点:一是所用蛋白源不同,不同的蛋白源有着不同的氨基酸组成,其氨基酸组成如果和对虾的相似,其饲料效果就好,否则就差。侯文璞等用鸡蛋蛋白作配合饲料的蛋白源,饲喂对虾20天,虾的生长几乎停滞。用40%、50%、60%的鸡蛋蛋白饲喂对虾,其增长率分别为2%、3%和23%。由此得出结论,显然是不适宜的。二是其它组分的影响,饲料中的各种营养成分对蛋白质适宜含量都有影响。据报道,对虾幼体饵料,当碳水化合物为25%、15%和5%时,则蛋白质最适含量可从45%提高到55%。

由于单因子梯度试验法往往受到其他营养成分的影响,因此就不如用正交设计采用多因子试验法来得准确。徐新章等(1988)用正交设计法,以体

重、体长、生长比速、蛋白质效率、体蛋白质增重率及饲料系数为指标,确定对虾对蛋白质的需求量,是比较可靠的。

梁亚全等研究认为,在配饵中动物性蛋白质与植物性蛋白质之比以1:1.2为适宜。

二、氨基酸

1. 中国对虾必需氨基酸的确认

动物蛋白质多数由20种氨基酸组成。其中有些氨基酸为动物生长和生命活动所必需,而本身不能合成,需从食物中取得的称为必需氨基酸。对虾的必需氨基酸,据何海琪(1985)研究,用 ^{14}C -葡萄糖饲喂中国对虾,由葡萄糖不能转化的氨基酸,除苏、缬、蛋、亮、异亮、赖、苯丙、色、组、精氨酸外,尚有甘氨酸。前10种确认为必需氨基酸,这和日本对虾所研究的结果是一致的(金泽昭夫等,1981),但甘氨酸是否为中国对虾的必需氨基酸,有

待进一步研究。

2. 中国对虾生长期对必需氨基酸的需求量

确定对虾必需氨基酸的需求量有几种方法, 一种是在基础饲料中加入由试验的氨基酸制成配合饵料喂虾, 从其生长情况判断其需求量; 另一种是分析对虾肌肉的必需氨基酸含量而进行计算的方法。Phillips和Brockway (1956) 认为, 与自然界动

物体的必需氨基酸组分近似的饵料即为该动物的最适饵料。分析对虾肌肉以确定必需氨基酸的需求量即是根据这一理论。前一种方法费时费力, 操作繁琐; 而后一种方法简便, 为不少人所采用。中国对虾必需氨基酸的需求量及氨基酸之间的比例列于表2。

表2 中国对虾必需氨基酸的需求量与比值*

必需氨基酸	需求量 (g/kg饲料)		比值			
	a	b	中国对虾		日本对虾	菲律宾蛤仔
			a	b	c	c
蛋氨酸 (Met)	12.4	10.6	1.0	1.0	1.0	1.0
苏氨酸 (Thr)	17.8	17.4	1.4	1.6	1.4	1.7
缬氨酸 (Val)	21.4	22.6	1.7	2.1	1.8	1.6
异亮氨酸 (Ile)	17.6	18.0	1.4	1.7	1.7	1.6
亮氨酸 (Leu)	29.3	31.5	2.4	3.0	2.6	2.4
苯丙氨酸 (Phe)	14.7	16.2	1.2	1.5	1.6	1.3
赖氨酸 (Lys)	31.0	31.2	2.5	2.9	2.6	2.5
色氨酸 (Try)	3.2	5.6	0.3	0.5	—	—
组氨酸 (His)	8.6	7.7	0.7	0.7	0.7	0.6
精氨酸 (Arg)	40.0	33.3	3.2	3.1	3.4	2.9

* 氨基酸比值是以蛋氨酸为1, 其他氨基酸/蛋氨酸计算而得。

a. 依李爱杰等 (1988), 是根据分析数据计算而得。

b. 依柴长宽等 (1988), 是以正交设计制备饲料喂虾实验而得; 氨基酸比值由本文作者换算而得。

c. 依弟子九修。

作者等1988年分析了自6月至10月不同生长期养殖对虾肌肉氨基酸的含量, 在不同月份氨基酸含量有不同程度的增加, 其中增加较大的有亮氨酸、赖氨酸、精氨酸、谷氨酸、甘氨酸和天冬氨酸。前三种氨基酸为必需氨基酸, 在8月中旬以后饵料中均应适当增加, 方能符合对虾生长的需要。

3. 中国对虾对饵料氨基酸的消化吸收率

各种饵料其氨基酸的消化率是不同的, 即使同一种饵料, 因各种氨基酸含量的多寡, 化学结构的不同, 极性基的有无等都会影响到消化吸收, 因而使各种氨基酸有不同的消化率。

谢宝华等 (1982) 对13种饵料的蛋白质消化率进行了测定, 其表观消化率皆大于真消化率, 有的大一倍多; 鲜蛤等动物性原料的真消化率较生豆饼还低。这是令人难以置信的。表观消化率在测定中, 其粪便N包含有代谢N, 因而得值偏低。所以真消化率应高于表观消化率。

麦康森 (1986) 用 $^{51}\text{Cr}_2\text{O}_3$ 作为指标物质测定了8种饵料的蛋白质消化率及对虾对花生饼、秘鲁鱼粉的消化率。各种氨基酸的消化率大致有如下规律, 即带正或负电荷的极性R-基氨基酸的消化率

最高, 不带电荷的极性R-基氨基酸的消化率最低, 非极性氨基酸的消化率介于二者之间。此外, 氨基酸的消化率在一定程度上与其含量存在正相关的关系。

4. 影响中国对虾对蛋白质、氨基酸消化吸收率的若干因素

(1) 水温的影响

王克行等 (1984) 研究指出, 在20~32℃水温范围内, 仔虾的生长速度随着水温的上升而加快。水温对生长速度的影响是否通过提高消化吸收率来体现? 谢宝华等 (1983) 报道, 配合饵料在25℃和30℃不同水温条件下, 其消化速度和蛋白消化率均无明显不同。麦康森等 (1988) 用 $^{51}\text{Cr}_2\text{O}_3$ 作指标物质掺入小杂鱼虾中进行的试验结果表明, 在20~30℃范围内, 消化吸收率在85.90%~88.67%之间。可见水温并不明显影响蛋白质的消化吸收率。

(2) 粉碎粒度的影响

分别用18目、40目、60目、80目、100目过筛的花生饼粉喂虾, 测其消化吸收率。结果表明, 用18目过筛的花生饼粉的蛋白质消化吸收率降至80%以下, 这显然是颗粒太粗, 消化液难以渗入所致, 40

目至100目过筛的花生饼粉,其蛋白质消化吸收率没有明显差异,基本在同一水平上。

(3) 不同干燥方法的影响

用60℃烘干、晒干和远红外烘干三种方法处理的花生饼粉喂虾,蛋白质消化率没有明显差异,均在91%左右,60℃烘干者较晒干者略高,用105℃烘干者,其消化率降至88.9%。此外,还发现经105℃烘干的花生饼粉,对虾厌食,这可能是经高温处理使蛋白变性,导致结构改变,不易消化所致。远红外烘干的花生饼,其氨基酸的消化率与60℃烘干者相比,苏氨酸和缬氨酸的消化率有所下降,丝氨酸、甘氨酸略有上升,其余氨基酸消化率差别不大。

(4) 以褐藻胶作为粘合剂的影响

褐藻胶或海带(主要为褐藻胶成份)是对虾饵料常用的粘合剂之一。加褐藻胶的花生饼和不加褐藻胶的相比,其蛋白质消化率没有差异。除赖氨酸、缬氨酸的消化率有一定程度的下降外,其它氨基酸均无明显差异。能势健嗣(1964)用5%的褐藻胶粘合的配饵喂虾,蛋白质消化率有较大幅度下降,其原因可能与用量过高或与使用CaCl₂处理有关。

(5) 添加促生长剂的影响

噻乙醇(N-2-羟乙基-3-甲基-2-噻恶啉酰胺-1,4-二氧化物)对促进对虾生长有明显效果。鱼Ⅱ号对促进对虾生长不明显,在配饵中添加50ppm噻乙醇对氨基酸消化率影响不大,只有苏氨酸、缬氨酸的消化率有显著下降;而添加100ppm的鱼Ⅱ号,有6种必需氨基酸:缬、亮、异亮、赖、组、精氨酸的消化率显著下降,其中赖氨酸尤为突出,达9.3%。这与我们用噻乙醇和鱼Ⅱ号喂对虾的试验结果基本相符,即鱼Ⅱ号的促生长效果不如噻乙醇。而噻乙醇促进生长的作用不是通过提高氨基酸的消化吸收率来实现的。

(6) 添加糖的影响

在花生饼中加入10%蔗糖可引起蛋白质消化率的明显下降,有6种必需氨基酸如缬、亮、异亮、赖、组、精氨酸和非必需氨基酸的甘氨酸消化率均显著下降,尤以赖氨酸下降幅度最大。在花生饼粉中加入10%的葡萄糖,除丝氨酸与谷氨酸以外,其它13种氨基酸均有不同程度的下降,但除了缬氨酸下降幅度较大外,其它都不显著。与蔗糖相比,葡萄糖的影响要弱得多。这一试验结果与饲喂对虾的

试验效果恰好相反,难以作出合理的解释。

(7) 添加维生素的影响

维生素B₆作为辅酶参加多种代谢反应,在氨基酸代谢中起着重要作用,诸如在氨基酸转氨、脱羧、脱硫、内消旋等不同反应中都起着促进作用,而且还可促进氨基酸进入细胞的速率。正是由于B₆的这些生理功能,在配饵中加入B₆可使蛋白质的消化率从91.9%提高到93.6%;使亮、异亮、苯丙、赖、组、精氨酸的消化吸收率有显著提高。在日本对虾的营养研究中,也证明B₆是一种必不可缺的维生素。

在饵料中添加2%的混合维生素(包括B₆),反而使蛋白质消化吸收率下降。在所测的15种氨基酸中,除丝氨酸外,其余氨基酸的消化吸收率都显著地大幅度下降,下降绝对值在3%~12%之间。除精氨酸外,均降至90%以下,苏、缬、甘及苯丙氨酸则降至80%以下。这一结果说明各种维生素之间有拮抗关系,而且有的维生素可能和氨基酸结合,使之不易消化。试验结果提醒我们使用混合维生素要注意它们之间的关系。

(8) 添加胰蛋白酶的影响

用胰蛋白酶处理秘鲁鱼粉,其蛋白质的消化吸收率有显著提高。对于氨基酸,除缬氨酸变化不大外,其它各种氨基酸的吸收率都有不同程度的提高。在必需氨基酸中,苏、蛋、亮、异亮、赖、精、组氨酸的提高是显著的。

用胰蛋白酶处理花生饼,其蛋白质消化吸收率提高幅度更大,达95.5%,已接近鲜肉内的消化吸收率;对于氨基酸,除蛋氨酸外,其它各种氨基酸消化吸收率的提高均为显著,特别是赖氨酸提高幅度更大,其绝对值达8.8%;苏氨酸、蛋氨酸原来吸收率较低,经胰蛋白酶处理后,吸收率都达到90%以上,可见以胰蛋白酶处理是提高饵料利用率的良好途径。

(9) 添加游离氨基酸的影响

在对虾整个消化道中,胃部进行旺盛的消化活动,被消化分解的营养物质主要是通过中肠腺吸收,52.5%的营养物在此被吸收。进入中肠腺的营养物质,再进入循环系统,被输送到各组织器官。中肠的消化吸收能力比胃和中肠腺略低,为总消化吸收率的47.5%。

麦康森(1987)试验指出,饵料中的游离氨基酸在进入中肠以前,绝大部分已被中肠腺吸收。添加游离蛋氨酸后,蛋白质中的苏、甘、缬、异亮、

酪、苯丙和赖氨酸在中肠腺的消化吸收率有明显的下降。游离氨基酸不仅与结合态氨基酸不能同步吸收,而且严重地影响其他必需氨基酸吸收的同步化,使氨基酸间得不到平衡、互补,从而影响游离氨基酸的结合率以至整个饵料的蛋白质效率。这就是在配合饵料中直接添加游离氨基酸饵料效果不理想的原因。试验结果又表明,连续投饵组的游离 $[^3\text{H}]$ 赖氨酸的利用率比一次投饵组高,因为连续投饵为 $[^3\text{H}]$ 赖氨酸提供了与其它氨基酸同步吸收的机会,从而实现氨基酸的平衡互补作用。可见适当增加投饵次数有助于提高游离氨基酸的结合率。

(10) 不同氨基酸对中国对虾中肠吸收运输能力的影响

麦康森等(1987)利用离体灌注技术研究中国对虾中肠对L-亮氨酸和L-酪氨酸运输的动力学,指出中国对虾对L-亮氨酸、L-酪氨酸的运输,为需要中间载体进行耗能的主动运输。各种氨基酸构型不同,中间载体可能对它具有专一性,因此中肠对不同氨基酸的运输能力是不同的。中肠对L-酪氨酸的最大吸收率为L-亮氨酸最大吸收率的3倍以上,但它的90分钟跨壁运输量只有后者的51.4%。L-苯丙氨酸对L-酪氨酸的跨壁运输有明显的抑制作用,抑制了25.0%,而D-苯丙氨酸则对它的运输没有明显的影响。这说明这两种左旋氨基酸之间可能存在竞争性抑制。

5. 关于消化酶的研究

于书坤(1984)在硕士论文中研究了中国对虾的5种蛋白酶、9种糖酶和1种脂酶,就中国对虾的消化功能作了较系统的研究,指出对虾的消化酶对饵料具有适应性。

三、糖 类

对虾缺乏对糖类的处理能力。消化吸收糖类以后,一般不能进行正常的血糖调节,长时间投喂含糖高的饵料,糖就会积累在肝、胰脏中,影响生长。梁亚全等在基础饵料中加入各种糖10%,喂养0.5克左右的对虾20天,结果以糊精效果最好,蔗糖次之,以下依次为淀粉、乳糖,葡萄糖最差。上述作者又以不同含量的糊精组成的饵料饲喂1克左右的对虾,结果是以20%含量为最好。徐新章等(1988)正交试验所得结果表明,糖的最适含量为26%。

侯文璞(1982)在配饵中加入甲壳素饲喂对虾,观察对虾在生长期蜕皮的次数,结果是加入甲壳素的蜕皮24次,不加的18次,从而证明这些成份

对对虾的蜕壳和再生壳有着重要的作用。

在配饵中加入少量的纤维素,对肠的蠕动、蛋白质的利用有促进作用。据Halver等报道,当鱼饲料中的 α -纤维素被完全去除后,蛋白质利用效率就会降低,但加量过多,也会影响对虾生长。其在饲料中最适含量,徐新章等(1988)认为以4.5%为最佳。

四、脂 类

脂肪是供应能量的最好来源,每克脂肪可产生9千卡热量;必需脂肪酸及脂溶性维生素,或来自脂质,或赖以携带帮助吸收;固醇类、磷脂类为对虾必需营养物质,也存在于脂类。但虾与鱼不同,体内代谢脂肪的能力较弱,过多的脂肪会影响对虾的生长。

黄海水产研究所在基础饵料中分别加6%的花生油、豆油、鲨鱼肝油、虾头油和毛虾油制成配合饲料喂虾,其增重效果为:鲨鱼肝油组>豆油组>毛虾油组>花生油组>无油组。该所又分别以2%、4%、6%、8%、12%和16%的豆油剂量喂虾,其增重率以8%为最佳。徐新章等以正交法试验,在饲料中添加4%,对虾的生长最佳,并认为脂肪是影响体重、体长生长比速的第一限制因素。

亚油酸、亚麻酸、二十碳四烯酸、二十碳五烯酸、二十碳六烯酸等 ω_3 和 ω_6 系列高度不饱和脂肪酸在对虾体内不能合成,因而此类脂肪酸被认为是为对虾的必需脂肪酸。金泽等以0.5克的日本对虾喂养50天,发现亚油酸和亚麻酸对虾的生长是必需的,且亚麻酸优于亚油酸。金泽等后来更进一步发现,二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸对日本对虾具有比亚油酸和亚麻酸更佳的促生长效果。 ω_3 系列的高度不饱和脂肪酸比 ω_6 系列的更为有效。据研究,日本对虾可以利用亚油酸和亚麻酸合成高度不饱和脂肪酸。但金泽等认为虾的这种合成能力比较弱。

不饱和脂肪酸对虾的生长作用,国内研究较少,尚未见报道。最近薛长湖等(1990)在对养殖对虾与天然对虾所含脂肪酸进行比较时发现,由于配合饲料中含 $\text{C}_{18}:1\text{n}^0$ (30.8%~32.4%)和 $\text{C}_{18}:2\text{n}^0$ (27.0%~37.4%)较多,影响到虾体内的这两种脂肪酸的含量也高,分别占脂肪总量的17.4%~19.2%和14.9%~18.6%,而天然对虾体内含 $\text{C}_{18}:1\text{n}^0$ 仅10.0%, $\text{C}_{18}:2\text{n}^0$ 仅1.2%。可见对虾即便有转变高度不饱和和脂肪酸的能力,也是很

(下转第86页)

饵料中的铜对中国对虾的影响*

刘发义 梁德海 孙 凤 李荷芳 兰 信

(中国科学院海洋研究所, 青岛)

提要 于1986年7—9月进行了饵料中不同浓度的铜对中国对虾生长和肝胰脏细胞色素氧化酶的影响, 以及铜在肝胰脏中的积累和亚细胞分布的研究。用花生饼、鱼粉、玉米面、白薯面和麸皮为主要原料, 加入硫酸铜, 制成含有不同铜浓度的饵料, 在水族箱中饲喂对虾。结果表明, 随着饵料中铜浓度的增加, 对虾生长率先上升, 而后又降低, 当铜浓度为53和78mg/kg时, 对虾增长率最高。实验虾肝胰脏中细胞色素氧化酶的活性随着饵料中铜浓度的增加, 也是先增加后降低, 当铜浓度为53mg/kg时, 其比活性最高。对肝胰脏中的铜含量测定发现, 当饵料中的铜浓度高于53mg/kg时, 铜会在肝胰脏中大量蓄积。根据上述结果, 认为饵料中的铜含量以53mg/kg为宜。肝胰脏中铜的亚细胞分布的研究表明, 细胞液中的小分子含铜络合物与铜在该组织中的蓄积有关。

铜是一种必需微量元素, 它是虾类血液中的氧载体——血蓝蛋白的中心原子^[1], 又是细胞色素氧化酶、酪氨酸酶、过氧化物歧化酶等许多酶类的重要组成部分; 过量的铜会引起生物中毒, 则是人们所共知的。铜作为必需微量元素对水生生物的作用, 目前报道的还不多, 其对虾类的影响, 则研究得更少。本文报道了饵料中的铜对不同体长对虾的生长和某些生化成分的影响, 探讨饵料中的铜对中国对虾的营养和毒理学问题。

一、材料和方法

1. 养殖实验

一共进行了两次养殖实验。所用对虾 *Penaeus orientalis* 于1986年7月上旬和9月上旬取自青岛市黄岛区对虾养殖场, 平均体长分别为6.85和8.80cm, 平均体重分别为3.87和8.67g。对虾运回后, 经过暂养, 测量体长和体重, 随机置于12个120cm × 70cm × 100cm的玻璃钢水族箱中, 在露天条件下进行养殖实验。水族箱中水深为70cm, 水体约0.6m³, 每箱放养对虾50条左右, 通气, 常流水。12个箱分为6组, 分别投喂6种含不同浓度铜的配合饵料, 每组2箱, 由抽签方式确定各箱投饵的种类。每天早、中、晚各投饵一次, 均过量投喂。每天早上投饵之前清除剩余的残饵和排泄物。实验中发现死虾及时捞出。每次实验进行三周。

2. 配合饵料的成分和加工

本实验所用的配合饵料, 除铜以外, 其基本成分见表1。将基本成分粉碎、充分混匀, 分成6组, 按每公斤原料分别加入0, 80, 160, 240, 320, 400mg的量称取CuSO₄ · 5H₂O, 先溶解于少量的蒸馏水, 然后顺序加入1—6组原料中, 充分混匀, 再将CMC先用水调成糊

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第1748号。

收稿日期: 1988年12月10日。

表1 实验饵料的基本成分

Tab. 1 Basic composition of the experimental diets

原 料	用量(%)	原 料	用量(%)
秘鲁鱼粉	25	麸 皮	10
花 生 饼	40	混合无机盐 ^①	1.8
玉 米 面	10	混合维生素 ^②	0.2
白 薯 面	10	CMC ^③	3

① 混合无机盐组成: KH_2PO_4 10%, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10%, CaCO_3 70%, MgCl_2 5%, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.8%, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ 1.2%, KIO_3 0.2%, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.4%, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2.4%。

② 混合维生素组成: 含维生素 A、B、D、E、K 和泛酸钙、烟酸、噻乙醇(烟台默药厂生产)。

③ CMC: 羧甲基纤维素,用作粘合剂。

状,加入各组原料中混匀,用绞肉机成形为颗粒状,晒干,装于塑料袋中备用。

3. 元素分析

饵料样品和对虾样品在 105°C 烘干至恒重,研碎后,称取适量粉末,用浓硝酸和浓硫酸湿法消化,以 WFD-Y₂ 型原子吸收分光光度计(北京第二光学仪器厂)测定其中的铜、锌等重金属含量。

4. 细胞色素氧化酶活性的测定

取虾肝胰脏,在 0.2mol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液 ($\text{pH} = 7.4$) 中匀浆,用玻璃匀浆器匀浆,用高速离心机(Tomy Seiko CoLTD)于 4°C 条件下,先用 $1000 \times g$ 离心 10min,上清液再用 $15000 \times g$ 离心 20min,取后者的沉淀部分重新悬浮于磷酸缓冲液中,即得粗酶液。然后按文献[5]方法测定其中细胞色素氧化酶的活性,同时用双缩脲法测定其蛋白质含量^[2],求出比活性。

5. 凝胶层析和离子交换层析

取对虾肝胰脏,在 0.02mol/L Tris-HCl 缓冲液 ($\text{pH} = 8.0$) 中匀浆,然后用 TGL-16B 高速台式离心机于 $16000 \times g$ 离心 20min,上清液用预先经 0.02mol/L Tris-HCl 缓冲液平衡过的 Sephadex G-75 柱 ($\phi 2 \times 70\text{cm}$) 进行凝胶层析。另取一份上清液用 CM-32 阳离子交换柱 ($\phi 2.5 \times 12\text{cm}$) 进行层析,该柱预先用 0.01mol/L 磷酸缓冲液 ($\text{pH} = 6.0$) 平衡,待样品液流完后,用相同缓冲液淋洗,然后用 0.01mol/L PO_4^{3-} ($\text{pH} = 6.0$) 和 0.2mol/L PO_4^{3-} ($\text{pH} = 8.0$) 两种缓冲液形成的线性梯度洗脱液洗脱。上述层析的流速均为 30ml/h ,每管 4ml 分部收集,用原子吸收分光光度计直接测定各管中的铜和锌。

二、结果和讨论

1. 对生长的影响

用不同铜浓度的饵料饲喂对虾,两次养殖实验的结果列于表 2。表中的存活率和体长(重)增长率分别按下两式计算出:

$$\text{存活率} = \frac{\text{对虾}_{\text{尾数}}}{\text{对虾}_{\text{尾数}}} \times 100\%$$

$$\text{体长(重)增长率} = \frac{\text{对虾}_{\text{尾}} \text{的平均体长(重)} - \text{对虾}_{\text{尾}} \text{的平均体长(重)}}{\text{对虾}_{\text{尾}} \text{的平均体长(重)}} \times 100\%$$

表2 养殖实验结果

Tab. 2 Results of the growth experiments

饵料编号			1	2	3	4	5	6
饵料中铜含量 (mg/kg)			19	28	53	67	74	82
第一次实验	实验前	对虾尾数	100	100	100	100	100	100
		对虾平均体长 (cm)	6.89	6.88	6.90	6.80	6.90	6.89
		对虾平均体重 (g)	3.82	3.76	4.03	3.76	3.93	3.90
	实验后	对虾尾数	83	75	86	87	91	75
		对虾平均体长 (cm)	7.57	7.60	7.72	7.60	7.56	7.63
		对虾平均体重 (g)	4.78	4.71	5.14	4.88	4.74	4.96
		存活率(%)	83	75	86	87	91	75
		体长平均增长率(%)	9.9	10.5	12.0	11.7	9.4	10.8
		体重平均增长率(%)	25.0	25.2	27.6	29.8	20.6	27.2
第二次实验	实验前	对虾尾数 ^①	90	90	90	90	50	100
		对虾平均体长 (cm)	8.71	8.78	8.82	8.86	8.76	8.86
		对虾平均体重 (g)	8.70	8.68	8.62	8.80	8.49	8.57
	实验后	对虾尾数	76	75	78	72	42	69
		对虾平均体长 (cm)	8.89	9.01	9.17	9.12	8.85	9.02
		对虾平均体重 (g)	9.37	9.39	9.76	9.97	8.69	9.47
		存活率(%)	85	84	87	80	84	69
		体长平均增长率(%)	3.0	2.7	3.9	3.0	1.0	1.8
		体重平均增长率(%)	7.9	8.2	13.2	13.3	2.4	10.8

① 第二次养殖试验, 1—4号饵, 实验前一个水族箱对虾为40尾, 另一个为50尾; 5号饵, 有一箱因断水造成大部分虾死亡, 该箱数据未被采用。

式中, 对虾_终为实验终了时的对虾; 对虾_始为实验开始时的对虾。

从表2看出, 两次实验中, 各组的存活率虽有差异, 但看不出规律性的变化, 方差分析也表明各组之间没有显著差异, 说明这些变化是随机误差引起的。

就增长率来看, 在第一次实验中, 随着饵料中铜浓度的增加, 对虾的体长和体重增长率先是增加, 而后又降低, 当铜浓度分别为53mg/kg(3号饵)和67mg/kg(4号饵)时, 体长和体重增长率最好, 铜浓度高于和低于这些值时, 增长率都较小。经方差分析, 各组增长率的差异虽不显著, 但无论是体长还是体重的增长都呈现规律性的变化, 而且对1号饵(对照组)和3号饵饲喂的虾实验前后的体长进行t检验, 发现实验前这两组虾体长均值无显著差异, 而实验后有显著差异, 说明3号饵喂养的虾增长率显著高于1号饵的虾; 再参考肝胰脏中细胞色素氧化酶活性的变化规律(后面将要介绍), 可以确定这些差异是由于饵料中铜浓度的不同引起的, 而不是随机误差造成的。第二次实验的结果不十分理想, 但仍可看出, 3号饵和4号饵喂养的虾增长效果较其他各组好, 而且也呈类似规律性的变化。

关于对虾对铜的需要量, 弟子丸修(1978)曾对日本对虾进行过一些研究, 但只笼统地提出需要在饵料中添加微量元素, 我们无法与其进行比较, 其它关于对虾对铜的需要的研究, 我们尚未见到报道。

2. 对组织中铜含量的影响

养殖实验结束后, 分别测定了各组对虾肌肉和肝胰脏中的铜、锌和其它一些元素的含

量,结果列于表3。从表3看出,第一次实验中,当饵料中铜的浓度高于53mg/kg时,肝胰脏中铜的含量大量增加,4号饵的虾肝胰脏中铜的浓度比3号饵的虾高1倍以上;以后饵料中的铜进一步增加,但肝胰脏中的铜含量增加不多,这可能是其中能与铜结合的配位体基本达到了饱和的程度。第二次实验也有类似结果,但第二次实验虾肝胰脏中铜的含量都明显地低于第一次实验虾的,这种差异可能是由于两批虾肝胰脏中原来铜的含量不同所致,也可能是不同生长阶段虾的生理特性不同引起的。究竟是何种原因,需作进一步研究。肌肉中铜的含量在两次实验中都没有发现明显的变化。

表3 实验对虾组织中Cu和Zn的含量(mg/kg,干重)

Tab. 3 Cu and Zn contents in the prawn (*Penaeus orientalis*) tissues (mg/kg, dry W)

饵料编号		1	2	3	4	5	6
第一次实验	肝胰脏	Cu	707.36	636.16	659.15	1426.20	1637.94
		Zn	87.76	72.03	73.19	73.54	94.10
	肌肉	Cu	30.82	26.38	23.41	26.38	25.64
		Zn	75.10	50.78	39.28	30.69	32.40
第二次实验	肝胰脏	Cu	441.88	105.66	270.06	527.36	578.19
		Zn	69.01	89.86	95.92	83.77	88.71
	肌肉	Cu	21.97	23.19	43.94	20.75	18.38
		Zn	47.84	47.22	37.28	39.82	82.06

通常铜和锌在生物体内的积累是相互颉颃的,但在本实验中,饵料中的铜在19—82 mg/kg范围内变动时,无论是在肝胰脏还是在肌肉中,都看不出其中锌的含量受到明显影响;铁、钙、镁和钾等元素的含量(数据未列出)也未发生明显的变化。

3. 对细胞色素氧化酶活性的影响

在第二次养殖实验结束时,测定了各组对虾肝胰脏细胞色素氧化酶的活性,结果示于表4。从表4可见,随着饵料中铜含量的增加,肝胰脏细胞色素氧化酶的活性先是逐渐增加,当铜浓度达到53mg/kg时,酶活性达到最大,然后又逐渐降低。这种变化规律与对虾增长率的变化是一致的,酶活性大的,增长率高,反之亦然。这表明,当饵料中的铜含量比较低时,其中的铜对细胞色素氧化酶起到激活作用。这种酶是细胞呼吸链末端的特征酶,在氧化磷酸化过程中起传递电子作用,对这种酶的激活可以促进对虾的生长。但铜过量又会抑制该酶的活性,使对虾生长受到影响。这种酶活性的变化与肝胰脏中铜的积累有相关性,当铜积累突然增高很大时,酶活性就随之开始下降。

对脊椎动物的研究表明,铜缺乏会引起小牛肝脏、空肠、回肠和结肠等组织中的细胞色素氧化酶活性降低;有人把这种酶活性的变化作为铜引起小牛心脏肥大的主要生化反映^[4]。本实验的结果表明,对虾肝胰脏中细胞色素氧化酶活性的变化也有可能作为对虾是否缺乏铜的生化指标。另外,在关于海水中的铜在对虾体内的积累和致毒效应的研究中^[1],我们发现,当海水中的铜引起对虾发生大量蜕皮甚至死亡等中毒现象时,其肝胰脏细胞色素氧化酶的活性较低,据此我们提出了用这种酶活性的变化作为海水中的铜引起

表 4 肝胰脏细胞色素氧化酶活性^①Tab. 4 Activities of cytochrome oxidase in the prawn (*Penaeus orientalis*) hepatopancreas

饵料编号	水族箱编号	酶比活性 (U/mg) ^②	酶活性平均值 (U/mg)
1	8	9.348	9.240
	12	9.097	
2	5	9.562	9.545
	11	9.527	
3	6	19.012	19.313
	10	19.614	
4	2	13.764	13.972
	9	14.180	
5	4	—	5.614
	7	5.614	
6	1	3.278	3.292
	3	3.306	

① 测定酶活性用虾每次均为 6 尾。

② 酶活性单位 U 以 $\log_{10} \Delta A_{550nm} = 0.01/\text{min}$ 表示。酶比活性指每 mg 蛋白质中的酶活性。

对虾致毒的生化指标的可能性。在本实验中发现,当饵料中的铜含量高到一定程度时,即使对虾仅出现生长迟缓而尚未出现明显中毒现象,其肝胰脏细胞色素氧化酶的活性亦发生明显降低。这进一步证明,用这种酶活性的变化作为铜引起对虾致毒的生化指标是完全可能的,而且具有反应灵敏、能在早期和较轻污染的情况下出现等特点。

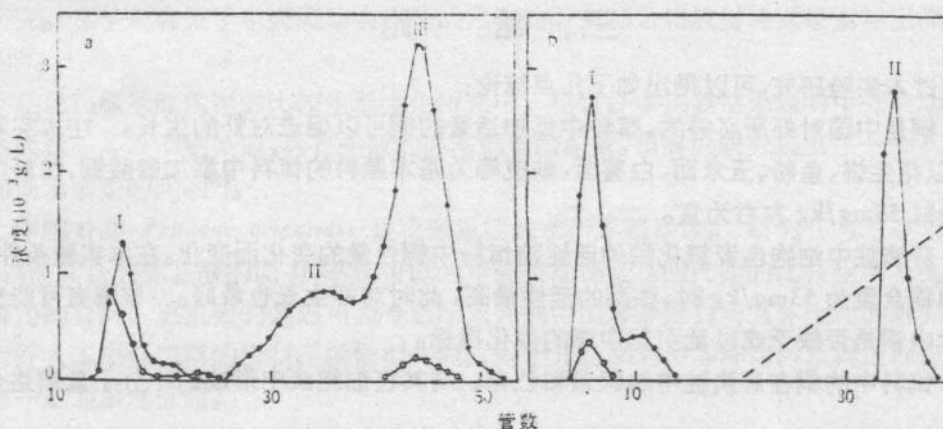


图 1 肝胰脏上清液在 Sephadex G-75(a) 和 CM-32(b) 上的层析曲线

Fig. 1 Sephadex G-75(a) and CM-32(b) chromatography of the prawn (*Penaeus orientalis*) hepatopancreas cytosol

—○—○— Zn, —●—●— Cu。a. I 为大分子物质, II 为类金属硫蛋白, III 为小分子物质; b. I 为未被阳离子交换剂吸附的含铜物质, II 为被吸附的含铜物质, ----- 洗脱液 pH 梯度。

4. 铜在肝胰脏细胞中分布的变化

在第二次实验中, 各组对虾的肝胰脏匀浆经高速离心后所得的上清液, 分别用 Sephadex G-75 和 CM-32 进行了层析, 结果见图 1。不同组对虾肝胰脏中的铜在不同分子量物质库中, 以及在离子交换层析所得的峰 I 和峰 II 中分布的变化, 如表 5 所示。凝胶层析的结果表明, 肝胰脏上清液中的铜分布在小分子量物质库中的量, 随着该组织铜含量的增加而增加, 分布在大分子量物质库中的铜则逐渐减少, 而类金属硫蛋白库中变化不明显。从阳离子交换柱的分析结果看出, 能被阳离子交换剂吸附的铜(峰 II)的量在上清液中所占的比例也随肝胰脏中铜含量的增加而增加, 但 6 号饵的偏低, 这也许是由于这种能与铜结合的物质已被铜饱和, 多余的铜与别的配位体结合, 形成不能被吸附的络合物, 使得峰 II 中的铜所占的比例相对较低。上述结果进一步证明了我们以前提出的看法^[1], 即铜在对虾肝胰脏中的积累和贮存与其在细胞液中形成小分子量铜络合物有相关性。

表 5 肝胰脏上清液中铜的分子分布(%)

Tab. 5 Cu molecular distribution in the prawn (*Penaeus orientalis*) hepatopancreas cytosol (%)

饵料编号	肝胰脏铜含量 (mg/kg)	Sephadex G-75 层析结果			CM-32 层析结果	
		峰 I	峰 II	峰 III	峰 I	峰 II
2	99	38	22	40	97	3
3	256	31	17	52	83	17
4	502	13	21	66	70	30
5	573	8	18	74	54	45
6	661	—	—	—	69	31

三、结 论

通过本实验研究, 可以得出如下几点结论:

1. 铜是中国对虾所必需的, 饵料中添加适量的铜可以促进对虾的生长。在本实验条件下, 以花生饼、鱼粉、玉米面、白薯面、麸皮等为基本原料的饵料中添加硫酸铜, 饵料中铜的含量以 53mg/kg 左右为宜。

2. 肝胰脏中细胞色素氧化酶的活性随饵料中铜含量的变化而变化。在本实验条件下, 饵料中铜含量为 53mg/kg 时, 该酶的活性最高, 此时对虾生长也最好。该酶有可能作为对虾体内铜是否缺乏或过量引起中毒的生化指标。

3. 饵料中的铜在肝胰脏中的积累和贮存, 与其在细胞液中形成的小分子量铜络合物有关。

参 考 文 献 略

海 洋 与 湖 沼

中国对虾必需氨基酸的研究*

何海琪

(中国科学院海洋研究所, 青岛)

提要 实验对虾注射 ^{14}C 葡萄糖后, 经过 6 天的饲养, 然后用柱层析法分离对虾蛋白氨基酸, 用液体闪烁计数器测定每一种氨基酸的放射性。结果发现: 对虾蛋白中的半胱氨酸 (Cys)、天冬氨酸 (Asp)、丝氨酸 (Ser)、谷氨酸 (Glu)、脯氨酸 (Pro) 和丙氨酸 (Ala) 都有明显的放射性, 表明上述几种氨基酸是中国对虾自身能够合成的非必需氨基酸; 而苏氨酸 (Thr)、甘氨酸 (Gly)、缬氨酸 (Val)、蛋氨酸 (Met)、异亮氨酸 (Ile)、亮氨酸 (Leu)、酪氨酸 (Tyr)、苯丙氨酸 (Phe)、赖氨酸 (Lys)、组氨酸 (His)、精氨酸 (Arg) 和色氨酸 (Trp), 都没有放射性标记, 说明这些氨基酸是中国对虾不能从葡萄糖来合成的, 其中除酪氨酸被认为可能从苯丙氨酸来合成和甘氨酸尚需进一步验证外, 其它氨基酸对于中国对虾的生长可能都是必需的。

必需氨基酸是动物体内所不能合成或合成的速率和数量不能满足动物正常生长需要而必须直接从食物中获取的一些氨基酸^[1]。食物中必需氨基酸的组成和含量直接影响饲养动物的氨基酸营养平衡和食物的生物价。因此, 必需氨基酸的研究一直是动物营养生理研究的重要方面。

动物必需氨基酸研究的方法主要有两种, 一种是经典的营养缺失测定法^[2], 另一种是放射性同位素标记测定法^[3]。由于放射性同位素标记测定法不需要纯营养成分的精制配合饵料进行饲养, 因而特别适用于低等动物, 尤其是水生无脊椎动物的必需氨基酸研究。几乎所有关于甲壳类动物氨基酸代谢的研究都是用放射性同位素标记测定法进行的^[4]。

在动物氨基酸代谢的比较生理生化研究中, 尽管许多实验结果表明甲壳类动物的氨基酸代谢与高等动物类似, 具有相似的必需氨基酸组成, 但有的研究提出了一些不同的结果和尚未清楚的问题^[5]。

中国对虾 *Penaeus orientalis* 是我国重要的水产养殖动物。研究其必需氨基酸的组成, 搞清其合成氨基酸的能力, 不仅可以为甲壳类动物氨基酸代谢的比较生理生化研究提供有用的资料, 更重要的是还可为今后深入开展中国对虾蛋白质营养生理的研究以及当前对虾人工配合饵料的研制提供依据, 并且, 对于开发和利用各种饵料原料进行合理搭配也有一定的参考价值。

本实验是用 $[\text{U}-^{14}\text{C}]$ 葡萄糖为标记前体的放射性同位素测定法研究中国对虾的必需氨基酸。这方面的研究在国内尚未见报道。

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 1316 号。本研究是在姜康后研究员指导下完成的。

收稿日期: 1986 年 4 月 15 日。

一、材料和方法

1. 材料 中国对虾取自山东海阳县对虾养殖场。实验前在充气、流动海水的水箱内暂养,投喂颗粒饵料。

2. 试剂 ($U-^{14}C$) 葡萄糖购自中国医学科学院放射医学研究所,放射性比活度 $>200 \mu Ci/m mol$; 阳离子交换树脂 Dowex $\times 50 \times 8, 200-400$ 目, 购自美国 Sigma 公司; 其它均为分析试剂。

3. 方法 选取 2 尾生长良好、体长 10cm 左右的对虾, 在抗菌海水^[3]内暂养, 饥饿 24 小时。然后用注射器吸取约 100 μl (约 40 μCi) 的 ($U-^{14}C$) 葡萄糖溶液, 在对虾腹部关节膜处作肌肉注射。注射后, 对虾用抗菌海水淋洗一遍, 立即放入内盛 10L 抗菌海水的有机玻璃水箱($50 \times 25 \times 25 cm^3$)内。开始时对虾侧卧, 约十几分钟后逐渐恢复正常。水箱配有可移动的密封盖, 盖顶安装进、出气孔和投饵孔。实验过程中, 除换水外, 水箱均加盖密封, 通过进气管由微型充气泵给水体充气, 出气孔排出的气体经洗气瓶后排放到下水道(图 1)。洗气瓶内盛 100ml 0.5 mol/L KOH 溶液, 用来吸收经过洗气瓶的 CO_2 , 其中包括实验对虾呼吸排出的 CO_2 。注射后经 1, 2, 4, 8, 16, 24, 48, 72, 96 小时, 分别取 CO_2 吸收液和培养海水各 1ml 测定放射性, 同时更换新的 KOH 溶液和培养海水。每天投饵两次, 饲养 6 天。

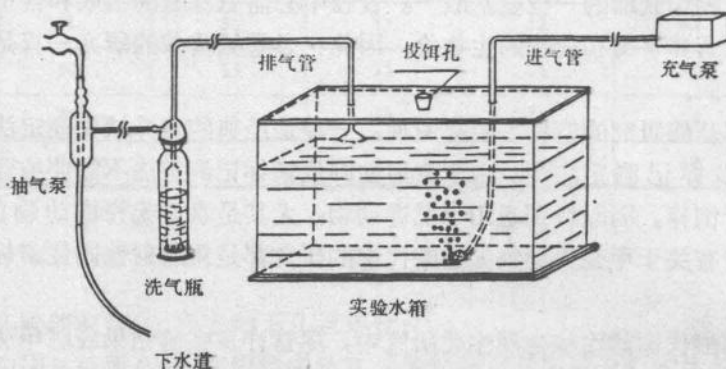


图 1 实验水箱装置

Fig. 1 Diagram of experimental chamber

(1) 对虾蛋白质的分离和水解: 按 Shibko 等^[17]的方法, 将对虾分步分离成酸溶部分, RNA, DNA, 脂溶性部分和蛋白质部分。

(2) 对虾蛋白质样品按 Moore 和 Steir^[18]方法水解: 注入 5.7mol/L 恒沸 HCl, 抽真空封管, 烘箱内 $110 \pm 1^\circ C$ 下水解 24 小时, 制备成蛋白水解液样品。

取部分酸水解液, 用过甲酸氧化法^[9]将其中的半胱氨酸氧化成半胱磺酸。

对虾蛋白中的色氨酸在酸水解中被破坏。因此, 取部分蛋白样品, 按 Oelshlegel 等人^[16]的方法, 用 6mol/L NaOH 溶液进行碱水解 ($120^\circ C$, 20h)。

1) 山东海洋学院水产系, 1983。高级生化实验技术讲义。