

中国对虾矿物质营养的研究

STUDIES ON MINERAL NUTRITION OF SHRIMP *Penaeus chinensis*

刘发义 李荷芳

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

人类和陆生生物对矿物质的营养需求,以及不同矿物质对其生理和生化功能的影响,已经研究了很多,有大量的文章发表。到目前为止,已经有 20 多种矿物

质被证明对人和陆生生物是必需的,其中包括钾、钠、钙、镁、磷、硫和氯等七种常量元素,铁、铜、锌、锰、钴、硒、钼、钒、铝、氟、硅、碘、铬、镍、锡和砷等 16 种微量元

素。水生生物对矿物质营养需求的研究要少得多,其原因一是由于人们对水生生物营养学的研究远远落后于对人类和陆生生物的研究,二是由于水生生物对矿物质的营养需求比较难以测定,它们不仅从食物中获得矿物质,而且能从水中获得部分无机元素^[7]。尽管如此,关于水生生物对矿物质的营养需求已有不少报道。上述的20多种矿物质中,有13种可能是水生生物所必需的。不过关于水生生物矿物质营养方面的文章大部分是有关鱼类的。关于对虾的矿物质营养需求,包括中国对虾(*Penaeus chinensis*)、日本对虾(*P. japonicus*)、南美洲白对虾(*P. vannamei*)等几种营养生理研究得比较多的对虾在内,到目前也仅有可数的几篇文章发表^[8]。Kitabayashi等人^[9]于1971年最早报道了日本对虾对Ca和P的需求,在此之后,Deshimaru and Yone(1978)^[10]以及Kanazawa *et al.* (1984)^[11]先后报道了日本对虾对Ca, P, K, Mg, Cu, Fe, Mn等的营养需求。80年代末和90年代初,美国的Davis(1992)^[12]在南美白对虾的矿物质营养方面做了不少工作,他首先逐一从营养比较全面的饵料中除去某一种元素,分别饲喂对虾,评价该对虾对13种矿物质的需求与否,然后在此基础上分别研究了其对Ca, P, Cu, Fe, Zn和Se等矿物质的需要量。中国对虾的矿物质营养研究则有个由浅入深、从粗到细的过程。开始只是研究饵料中灰分的适宜含量,后来才逐一研究其对各别元素的营养需求。

1 中国对虾对几种主要矿物质的营养需求

与其他生物一样,在对虾的矿物质营养中,研究得最早的是其对Ca和P的需求。青岛海洋大学的李爱杰教授^[1]最先研究了中国对虾对Ca和P需求,以及饵料中合适的Ca:P比,得出仔虾饵料中Ca和P的总量应大于1%,Ca:P为1:7.3时,其成活率和增重率最好,而幼虾饵料中Ca和P总量为2%,Ca:P为1:1.7或大于此值时,其增重率和饵料转化率最高。日本科学家在70年代末和80年代初研究了日本对虾对Ca和P的营养需求。Kitabayashi *et al.* (1978)^[9]报告,日本对虾对Ca和P的需要量分别为1.2%和1%,Ca:P以1.24:1.04为好;Kanazawa *et al.* (1984)^[11]也报道该对虾对Ca的需要量为1.2%,对P为1~2%,Ca:P以1:1为好,应该说他们的试验结果基本一致。而Deshimaru *et al.* (1978)^[10]报告,日本对虾饵料中不需要添加Ca,而P的添加量应为2%,这与上面两位研究者所得的结果有较大差异。关于南美洲白对虾对Ca和P的需求,Davis(1990)^[13]报告,其饵料中不需添加Ca,而P的添加量与

饵料中Ca的含量有关,当Ca含量<0.34%时,不需添加P,而Ca为0.5~1.0%时,应添加1%的P,Ca为1~2%时,应添加2%的P,他认为Ca和P之间没有固定的最佳比例,但Ca:P比不应大于2。上述结果看出,对不同种对虾所得的研究结果有较大差别,即使是同一种对虾,不同的研究者所得出的结果也不尽相同,这可

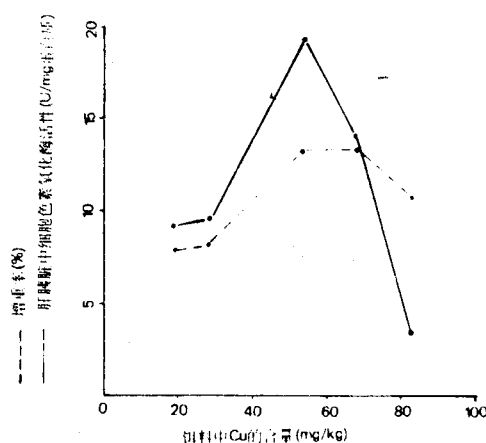


图1 饵料中的Cu对中国对虾的影响

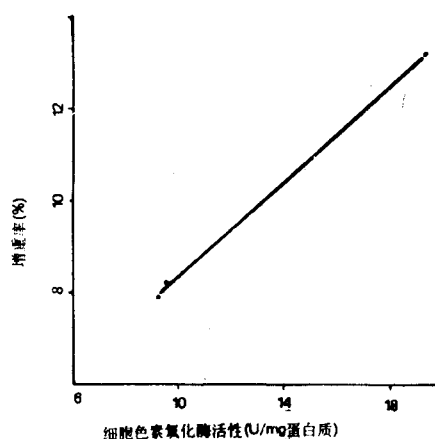


图2 肝胰脏中细胞色素氧化酶活性与对虾增重的相互关系

能与所用的实验材料、实验方法、实验条件不同所造成的。

在李爱杰先生之后,我们实验室就中国对虾对Cu, Zn, Co, Mn和Se的营养需求,逐一进行了研究^[2~5]。我们使用的大都是实用饵料,即以秘鲁鱼粉、花生饼、玉米面、地瓜面、小麦麸皮、自制的矿物质预混料和维生素预混料等为实验饵料的基本组分,以CMC为粘合剂,

在其中加入不同浓度待研究的矿物质,加工成实验饵料饲喂对虾,以实验虾的体长和体重的增长率、存活率、虾体中有关元素的含量、以及某些相关的金属酶活性的变化为指标,确定其需求与否及其需要量。此外我们就中国对虾对 K、Na、Mg 和 I 的需求,也进行了探讨,采用正交设计的方法,测定了对这几种元素的营养需求。

Cu 对虾类来说,是一种非常重要的元素,它不仅在许多与 Cu 有关的酶,如赖氨酸氧化酶、细胞色素氧化酶、酪氨酸酶、过氧化物歧化酶等生物酶中有重要作用^[14],更重要的是,Cu 是虾类血液中血蓝蛋白的重要组分,对氧分在虾体内的输送起着重要的作用,Depledge (1989)^[15]估计,虾体中 40% 的 Cu 存在于血蓝蛋白中。因此我们首先就中国对虾对 Cu 的需求进行了研究^[2]。结果证明 Cu 对中国对虾的生长确实有重要的作用,随着饵料中 Cu 浓度的增加,对虾的增重率呈上升的趋势,但 Cu 浓度过量,会影响对虾生长;这种生长的变化趋势,与对虾肝胰脏中细胞色素氧化酶活性的变化趋势一致,即酶活性大的,对虾增重率高,两者有非常好的线性相关关系(见图 2)。细胞色素氧化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的作用,当饵料中 Cu 的含量比较低时,其中的 Cu 对细胞色素氧化酶起到激活作用,Cu 浓度增加,激活作用增强,但过量的 Cu 会抑制该酶的活性,使对虾生长受到影响(见图 1)。根据实验结果,我们得出中国对虾对 Cu 的需要量为 53×10^{-6} 左右,并提出以细胞色素氧化酶作为评价对虾 Cu 的营养状况的生化指标。Davis (1990)^[16]在对南美洲白对虾的研究中发现,当饵料中 Cu 的含量低于 32×10^{-6} 时,该虾就会出现 Cu 缺乏症状,表现为生长缓慢、头胸甲、肝胰脏和血淋巴中 Cu 含量低,心脏增大。其结果与我们在中国对虾上所得到的结果接近。但是 Kanazawa 等人(1984)^[11]通过从饵料中除去 Cu 的办法,发现缺乏 Cu 对日本对虾的生长和存活没有明显的影响。

Se 是另一种重要的微量元素。由于 Se 的缺乏与人类的大骨节病、克山病、心血管病以及一些癌症有关,近 20 多年来受到了特别重视,对其进行了很多研究。水生动物对 Se 需求的研究,也有少量报告,但无论是数量和研究深度都很有有限,虾类对 Se 的营养需求的研究就更少。我们在研究中国对虾对 Se 的营养需求中,使用酪蛋白、糊精、淀粉等组成的半纯化饵料,在其中添加不同浓度的亚硒酸钠,用自制的尼龙网,每个网中放一条虾进行养殖试验。共设置了 13 个平行组,以对虾的存活率、增重率、蜕皮频率和对虾组织中谷胱甘肽过氧化物

酶活性为指标,来确定中国对虾对 Se 的营养需求。结果表明,饵料中添加 Se 可以促进中国对虾生长以及肝胰脏和肌肉中谷胱甘肽过氧化物酶活性的提高(图 3),且该酶活性与组织中的 Se 浓度以及与对虾的增重率存在着线性相关关系(图 4)。根据本实验结果,我们得出中国对虾对 Se 的需要量为 20×10^{-6} 左右,认为对虾组织中谷胱甘肽过氧化物酶的活性可以作为中国对虾 Se 的营养状况的重要生物化学指标^[17]。Davis (1990)就南美白对虾对 Se 的营养需求也作过初步研究,认为该对虾饵料中需要添加 Se,当 Se 含量为 $0.2 \sim 0.4 \times 10^{-6}$ 时生长最好。这与我们的结果相差较大,其原因不清楚,但是他在实验中没有设置平行组,得到的还只是初步的研究结果(结果未发表)。除此之外,我们尚未见到其它有关虾类对 Se 的营养需求方面的研究报告。

Co 也是一种重要的必需微量元素,它是维生素 B₁₂ 的构成成分,还能以辅酶的形式影响某些酶的活性,在生物体内参与许多生化反应。我们研究了饵料中 Co 的含量对中国对虾生长以及肝胰脏中羧肽酶 A 活性的影响,发现 Co 含量增加,可促进对虾的生长,但 Co 含量大于 75×10^{-6} 时,增长率和增重率都开始下降(图 5)。羧肽酶 A 的作用是水解某些蛋白质羧基末端的肽键,使蛋白质或多肽水解为氨基酸而被生物吸收利用。羧肽酶 A 是一种含锌酶,有资料表明,Co(II) 能代替其中的 Zn(II),并使其活性大约增加一倍^[18]。我们的研究发现,饵料中 Co 含量增加,对虾肝胰脏中羧肽酶 A 的活性增加,而 Co 含量大于 75×10^{-6} 时,活性开始下降,其变化趋势与对虾的生长变化趋势完全一致,两者之间有非常显著的线性相关关系(见图 5 和 6)。根据本实验结果,我们得出中国对虾对 Co 的需要量为 $50 \sim 75 \times 10^{-6}$ ^[3]。除上述结果以外,我们尚未见到其它有关虾类对 Co 的需求方面的报告。

Zn 和 Mn 是两种公认的必需微量元素。Zn 为生物正常的生长发育所必需,是很多金属酶的组成成分,也可作为某些酶的辅酶参与生物体内的代谢。Mn 也可作为某些酶的辅酶在生物体内起作用。在中国对虾对 Zn 和 Mn 的营养需求的研究中,我们在实验饵料中分别添加 $0 \sim 800$ 和 $0 \sim 160 \times 10^{-6}$ 的 Zn 和 Mn,它们对中国对虾生长均未产生明显的促进作用,但也无有害影响。由于我们用的不是纯化饵料,这可能由于饵料原料中 Zn 和 Mn 的量和从海水中获得的这两种元素已可以满足对虾的需求。Zn 虽然是羧肽酶 A 的组成成分,但饵料中 Zn 浓度的变化对羧肽酶 A 的活性并没有影响。但饵料中 Mn 浓度的变化会影响羧肽酶 A 的活性,当在其中添加 80×10^{-6} 的 Mn(总量 92.4×10^{-6}) 时,酶活性最高,

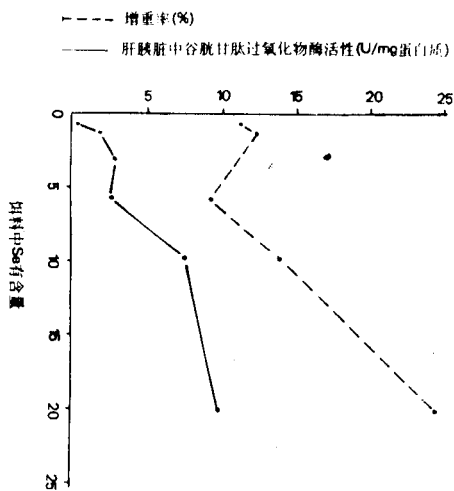


图3 饲料中的Se对中国对虾的影响

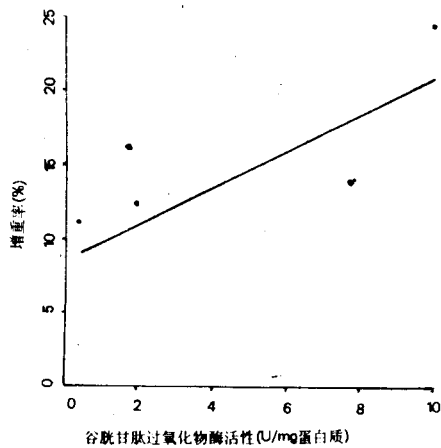


图4 肝胰脏中谷胱甘肽过氧化物酶活性与对虾增重的相互关系

Mn含量进一步增加,酶活性开始下降。根据上述结果,尽管添加Zn和Mn对中国对虾没有明显的促生长作用,但笔者认为在对虾饲料中还是添加适量的Zn和Mn较好,其添加量分别为 $100\sim 200$ 和 $60\sim 80 \times 10^{-6}$ 为宜。Davis(1990)^[19]对南美洲白对虾的研究也证明,为了维持虾体内Zn的正常含量,饲料中Zn的含量应在 32×10^{-6} 以上,而他推荐饲料中Zn的添加量为 200×10^{-6} 。这与我们的结果比较一致。在中国对虾对I需求的研究中,我们发现,饲料中添加I对中国对虾有明显的促生长效果,添加 30×10^{-6} 的I,对虾的成活率和增重率显著高于其它各组^[20]。目前我们还未看到虾类对I的需求的其它研究报告。关于对虾对K和Mg的需求,我们用正交设计的研究发现,在实用饲料中添加 $0\sim 0.$

4%的K(总量为 $1.1\% \sim 1.5\%$)和 $0\sim 0.2\%$ 的Mg(总量为 $0.17\% \sim 0.40\%$)对中国对虾有一定的促生长作用,但效果不很显著。据此我们主张在中国对虾的饲料中可添加适量的K和Mg,添加量都是 0.2% ,也就是说饲料中K和Mg的合适含量分别为 1.2% 和 0.39% 。这一结果与日本对虾接近。Deshimaru and Yone(1978)^[10]和Kanazawa *et al.* (1984)^[11]先后报告了日本对虾对K的需要量分别为 1.0% 和 0.9% ;关于对Mg的需求,前者在半纯化饲料中添加 0.3% 的Mg未能提高饲料的营养价值,但后者对其研究认为,饲料中添加 $0.1\% \sim 0.5\%$ 的Mg会提高其营养价值,并推荐Mg的添加量为 0.3% 。

为了解中国对虾对Na的需求,我们在饲料中添加了 $0\sim 1.5\%$ 的Na,未看出其对对虾有任何促生长作用^[20]。我们也未看到虾类对Na的需求的其它研究报告。看来对虾饲料中不需要添加Na,对虾大概能从海水中吸收足够量的Na供身体需要。

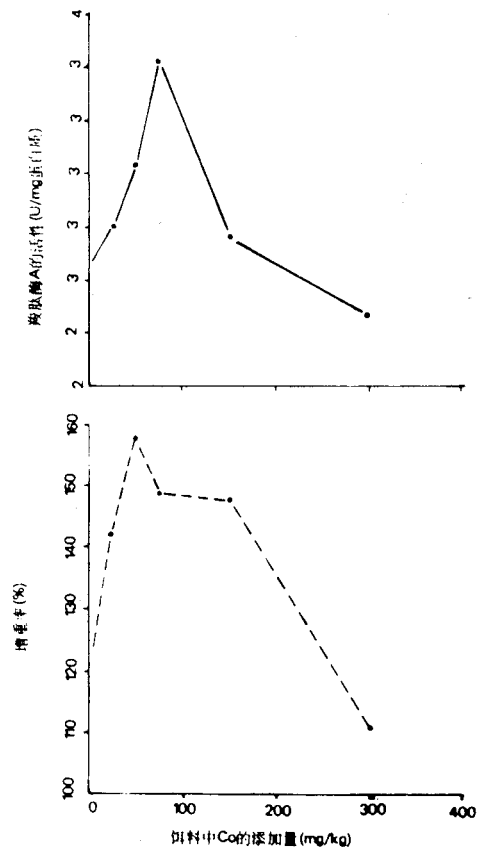


图5 饲料中的Co对中国对虾的影响

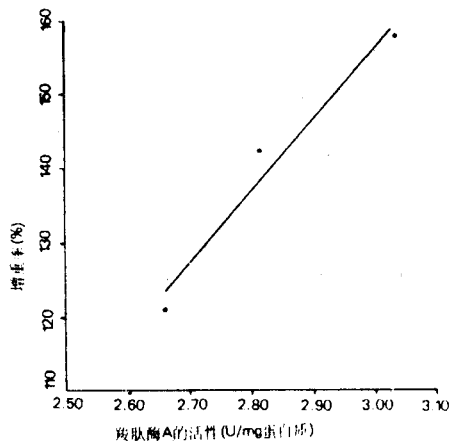


图6 肝胰脏中羧肽酶A活性与对虾增重的相互关系

2 关于对虾矿物质营养研究中几个值得讨论的问题

2.1 关于试验饵料

在对虾矿物质营养研究中,目前通常是采用纯化饵料或半纯化饵料作为试验饵料,这样得出的结果在学术上可能会更有意义,但是我们觉得,利用实用饵料进行试验,所得出的结果则更有实用价值。我们在研究中所用的饵料原料是我国对虾养殖生产中常用的,所用的饵料配方也与生产中所用的配方差不多,这样得出的结果,可以直接应于生产实际,合适添加量加上原料中的含量,或制成的饵料中的测定值可大体看作是对该元素的需要量。我们得出的中国对虾对Cu的需要量,已直接应用于生产实际,取得了良好的效果,证实了它的可靠性和实用性。现在这一结果已为其他一些饵料研究人员设计饵料配方时所使用。

2.2 关于养殖试验的方法

在进行水生动物的营养研究中,大多是采取群养进行试验,这种方法对于鱼类的营养研究是合适的,但在虾类营养研究中,由于虾死亡率比较高,且对虾会相互残食,因而会使对虾摄入的营养成分发生变化,这给实验结果的准确性和可靠性带来问题,而且给实验结果的分析 and 数据处理带来困难。我们在研究中尝试用单虾养殖的办法,这样可以获得每条虾在养殖过程中确切的生长数据以及蜕皮和健康状况的确切资料,所得的结果比较可靠,而且在一个水族箱中可放置多个网,使得试验的平行组多,既能节约养殖设备,又便于对试验

结果进行数理统计。我们认为这是一种比较好的方法。1992年笔者在美国德克萨斯农工大学合作研究时,在我的建议下,Lawrence的虾类营养实验室也开始使用这种单虾养殖的方法,获得了满意的结果。

2.3 关于营养状况的评价指标

目前在虾类营养研究中,主要是使用试验动物的增重率、存活率、饵料系数、蛋白质效率等为指标,来评价其对某种营养物质需要与否及其需要量,笔者认为,这些常规指标中,饵料系数和蛋白质效率是不可靠的,因为对虾是把饵料抱起来,再经过嚼碎而摄食的,在这个过程中,营养成分损失比较大,而且对虾吃剩下的饵料也很难准确地收集起来进行测定,因此很难得出可靠的饵料系数和蛋白质效率。此外我们认为,除了这些常规的指标外,还应使用更为敏感的生理学、生物化学、组织学和细胞学等指标。我们在对虾微量元素的营养研究中,使用了一些相关的金属酶,如细胞色素氧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、羧肽酶A的活性作为判断试验结果的指标之一,证明是有益的,特别是在各组增重和存活差异不显著的情况下,可能更有价值;陈四清^①在研究对虾的维生素营养中则使用了电生理技术、组织切片技术作为判断指标。这些生理学、生物化学、组织学和细胞学指标不仅能增加实验结果的可靠性,而且可以使研究更加深入,今后应大力提倡。

参考文献

- [1] 李爱杰、黄宝潮、娄伟风、徐家敏, 1986. 山东海洋学院学报 16(4):10~17.
- [2] 刘发义、梁德海、孙凤、李荷芳、兰信, 1989. 海洋与湖沼 21(5):404~410.
- [3] 梁德海、刘发义、孙凤、李荷芳、兰信, 1991. 海洋科学 3:12~13.
- [4] 梁德海、刘发义、孙凤、兰信, 1989. 海洋科学 5:49~52.
- [5] 李荷芳、郝斌、刘发义、王辉亮、孙凤、梁德海, 1993. 海洋科学 4:48~51.
- [6] Deshimaru, O., K. Kuroki, S. Sakamoto, and Y. Yone, 1978. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 44:975-977.
- [7] Davis, D. A. and D. M. Gatlin III, 1991. Dietary mineral requirements of fish and shrimp. In: *Proceedings of the aquaculture feed processing and nutrition workshop*, 49-67.

^① 陈四清, 1991. 中国对虾脂溶性维生素营养的研究. 青岛海洋大学硕士论文。

- [8] Kitabayashi, K. , H. Kurata, K. Shudo, K. Nakamura, and S. Ishikawa, 1971. Studies on formula feed for kuruma prawn — 1. On the relationship among glucosamine, phosphorus and calcium. *Bulletin of the Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, Tokyo* 65;91-108.
- [9] Deshimaru, O. and Y. Yone, 1978. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 44;907-910.
- [10] Kanazawa, A. , S. Teshima, and M. Sasaki, 1984. *Memoirs of the Faculty of Fisheries, Kagoshima University* 33;63-71.
- [11] Davis, D. A. and A. L. Lawrence, 1992. *J. World Aquaculture Society* 23(1);8-14.
- [12] Davis, D. A. and A. L. Lawrence, 1990. *World Aquaculture* 90, Halifax, Canada 7;ss1. 4.
- [13] O'Dell, B. L. , 1976. *Medical Clinics of North America* 60; 697-703.
- [14] Depledge, M. H. , 1989. *Marine Environmental Research* 27; 115-126.
- [15] Davis, D. A. , A. L. Lawrence, and D. M. Gatlin III, 1991. *J. World Aquaculture Society* 22;22A.
- [16] Tian Yuchuan and Liu Fayi, 1993. *Chin. J. Oceanol. Limnol.* 11(3);249-253.
- [17] Bertini, I. and Luchinat, C. , 1984. High spin Cobalt (II) as a probe for the investigation of metalloproteins, In: *Advances in inorganic biochemistry* 6, ed. by G. L. Eichhorn and L. C. Marzilli, ELSEVIER, New York, P. 94.
- [18] Davis, D. A. , D. M. Gatlin III, and A. L. Lawrence, 1993. *J. World Aquaculture Society* 24(1);40-47.
- [19] Liu Fayi, Li Hefang, Wang Huilian, Liang Dehai and Tian Yuchuan, 1994. *Chin. J. Oceanol. Limnol.* (in press)