

鱼虾贝幼体微胶囊饲料的研究进展*

PROGRESS OF THE STUDIES ON MICROCAPSULATED DIETS FOR LARVAE OF FISH SHRIMP OYSTER

王素芬¹ 王安利² 孙翠慈¹ 胡俊荣²

(¹ 河北大学生命科学学院 保定 071002)

(² 华南师范大学生命科学学院 广州 510631)

中图分类号 S963 文献标识码 A 文章编号 1000 - 3096(2003)03 - 0021 - 06

在水产养殖育苗中,人们通常采用活饵作为幼体的饵料,如微藻、轮虫和卤虫幼体等。但使用活饵存在着很多的不利因素。一方面,由于受环境与管理等多种条件的影响,从而造成活饵的产量和质量不稳定;另一方面,活饵的培养需要耗费很大的财力物力,从而导致养殖水产动物的成本很高。为此人们不断地研究开发营养全面、造价低廉、适用于水生动物摄食和消化的人工配合饲料,以部分或全部代替水产育苗中的活饵。但是利用人工配合饲料的主要问题是营养物

质易流失到水中,引发细菌繁殖而污染水体;另一方面颗粒在水中稳定性差,不易于被幼体摄食。用于水生动物育苗中的人工微粒饲料可根据其制造方法与

* 广东省科技攻关项目 2002C20304 号。

第一作者:王素芬,出生于1976年,硕士研究生, E-mail: sufenwang@sohu.com

收稿日期:2002-06-21;修回日期:2002-08-28

性质的不同分为微粘饲料、微膜饲料、微胶囊饲料。微胶囊饲料相对于前两种饲料而言在水中的稳定性更好,而且具有可以延缓活性物质的释放速度,增加活性物质稳定性,降低毒副作用,掩蔽异味,隔绝配伍禁忌等特点,所以将它作为育苗的人工饲料最具有发展前景。

1 对虾幼体微胶囊饲料的研究

早在过去几十年中,关于用人工配合饲料代替活饵来培育对虾幼体已得到很大的发展。Jones等^[1]最早用界面聚合法将生产的尼龙蛋白膜微胶囊饲料代替生物饵料用作贝类的开口饵料。1979年, Jones等^[2]在实验室条件下利用微胶囊饲料研究了日本对虾(*Penaeus japonicus*)对营养物质的需求。Kanazawa等^[3]只用尼龙蛋白膜微胶囊饲料将日本对虾从溞状幼体培育到仔虾。但是尼龙蛋白膜微胶囊饲料只适合于实验室条件下使用,因为它的囊壁很薄,难于耐受干燥,从而不适合商业生产。后来人们又研究出一种新型微胶囊饲料。这种饲料耐受失水和复水能力好,囊壁不易破裂,可防止营养物质流失以及细菌的污染。这种交联型蛋白膜的微胶囊囊壁具有半通透性,既可以防止营养物质的流失又可以使囊中的小分子诱食剂和味觉刺激剂释放出来。这种微胶囊饲料首次应用于台湾的日本对虾以及厄瓜多尔的万氏对虾(*Penaeus vannamei*)和细角对虾(*Penaeus stylirostris*),效果较好。来自菲律宾的实验也表明斑节对虾(*Penaeus monodon*)幼体可以靠这种微胶囊饲料度过幼体期,首次在商业上达到用微胶囊饲料全部代替活饵进行对虾育苗的水平。Jones等人1987年用这种微胶囊作为饲料时,对虾幼体的存活率为3%~26%,而以卤虫为饵料时,对虾幼体的存活率为4%~29%^[4]。Kurmaly等^[5]也成功地利用这种微胶囊饲料全部代替活饵进行斑节对虾的育苗。Clark等^[6]研究表明日本对虾幼体适合摄食粒径小于10 μ m的微粒,它是利用化学感受器对饵料进行选择的。一些学者也认为降低微胶囊饲料的粒径可以提高幼体的摄食率和存活率。有人研究发现当用尼龙蛋白膜微胶囊饲料饲喂幼虾时,溞状期的最佳粒径为10 μ m,而糠虾阶段为28 μ m。Ottogalli^[7]用微胶囊饲料全部代替微藻来进行几种对虾的育苗试验,结果发现用微胶囊饲料饲喂的幼体与用微藻饲喂的幼体的生长和存活状况相似。虽然可以用微胶囊饲料进行育苗,但是与摄食活饵的幼体相比其个体较小。一些研究发现,在虾的溞状幼体时期,如果向含有微胶囊饲料的培养水中加入少量的微藻细胞时,则对虾幼体的生长率就会与只用活饵培

养的对虾幼体相似。Le Vay等^[8]研究发现当微胶囊饲料与纤细新月藻(*Closterium gracilis*)一起投喂日本对虾幼体时,要比单独使用微胶囊饲料的效果好。可能是藻类为幼体提供了额外的营养物质或是某种特定的生长因子。但是, Kurmaly等^[9]用微胶囊饲料代替活饵进行欧洲螯龙虾(*Homarus gammarus*)育苗实验却没有获得成功,可能是由于饲料的消化性差引起的。有研究表明,在罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)的育苗中微胶囊饲料可替代50%的活饵。Bautista等^[10]用微胶囊饲料饲喂斑节对虾(*Penaeus monodon*)幼体,其生长和存活状况都很差,主要是微胶囊饲料中营养物质不能维持幼体生长存活。Toshiaki等^[11]研究发现,当微胶囊饲料中加入杀死的弧菌细胞时,可以提高斑节对虾幼体的存活和生长率,可以培育出高质量的苗种;当饲料中弧菌的含量为0.05%时,效果最佳。虽然Le Vay等^[12]研究表明当用配合饲料饲喂对虾幼体时,其消化酶活性升高,特别是糠虾阶段,但是人们并不知道这种反应能不能使幼体足以消化吸收配合饲料。Villa mar等^[13]用复合微胶囊饲料饲喂万氏对虾(*Penaeus vannamei*)发现幼体对微胶囊饲料的摄食率与活饵相似,而且幼体可以分解囊壁,吸收囊中的营养物质。Teshima等^[14]研究了微胶囊饲料的投喂频率、粒径以及饵料的干燥方法对日本对虾幼体生长和存活的影响。Mañin-Magán^[15]利用荧光法测定了日本对虾对微胶囊饲料和活饵的选择性,发现对虾在溞状幼体时期,对微胶囊饲料和活饵的选择性是一样的,而在糠虾阶段则更喜欢摄食微胶囊饲料,这也许与虾的摄食器官有关。有的人提出微胶囊饲料之所以不能全部代替活饵也许是由于对虾幼体的消化能力不够。Kamarudin等^[16]研究了罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)幼体发育期消化酶的变化,结果表明罗氏沼虾在开口摄食时其体内就有充足的可以消化微胶囊饲料的酶。Jones等^[17]对斑节对虾和日本对虾研究中也得到相同的结果,它们在开口摄食期都可以利用配合饲料而存活。Pan等^[18]研究结果表明卤虫的自溶会提高对虾肠道内的消化能力,这也许解释了微胶囊饲料与活饵一起投喂会提高幼体生长的原因。

2 仔稚鱼微胶囊饲料的研究

研究发现在开口摄食期就可以完全利用配合饲料的鱼类很少。淡水鱼幼体刚孵出时其个体相对较大,能较容易地适应配合饲料,但对于海水鱼而言,由于其卵黄囊较小,必须较早地转向外源食物。但往往在幼体开口摄食时期,由于其消化道发育还不完善和消化酶活性很低等原因,而限制了幼体对配合饲料的

利用^[19-21]。关于微胶囊饲料用于金头鲷 (*Spans aurata*) 育苗的研究已经有很多的报道。Fernández - Díaz 等^[22]研究表明,金头鲷仔稚鱼像其它鱼类一样可以摄食无活动性的人工配合饲料,而且对配合饲料有粒径大小的选择,所以配合饲料的大小影响饲料的摄入量。Yúfera^[23]研究表明,金头鲷在开口摄食时就可以摄食蛋白膜和碳水化合物膜的微胶囊饲料,而且对微胶囊饲料的摄食率与活饵相似。但是如果只用微胶囊饲料饲喂开口摄食的幼体,则会导致幼体的全部死亡。而且用微胶囊饲料作为幼体饲料不如活饵效果好。有人对幼体是不是能够消化微胶囊饲料提出疑问。Yúfera 等^[24]和 Sarasquete 等^[25]在研究中都发现微胶囊囊壁的质地和硬度都影响幼体对微胶囊饲料的分解能力。以乙醇作为分离剂所得到的微胶囊饲料的囊壁厚而硬(A型),鲷幼体很难消化这种类型的微胶囊饲料。而以明胶作为分离剂所得到的软囊壁的微胶囊饲料(G型)易被幼体消化。Fernández - Díaz 等^[26]在研究金头鲷对不同类型微胶囊饲料的裂解能力时,也发现G型的微胶囊饲料比A型的微胶囊饲料易被幼体裂解。而且发现微胶囊饲料中加入酶制剂并不能提高幼体对微胶囊饲料的破解能力,也可能是由于所加酶的数量少而引起的。Fernández - Díaz 等^[27]用微胶囊饲料饲喂金头鲷幼体时发现微胶囊饲料可以在幼体的中肠内被裂解。但只用微胶囊饲料饲喂时,幼体生长很慢,当与活饵一起投喂时,大大提高了幼体的生长率和存活率。Person 等^[28]和 Kolkowski 等^[29]研究认为,活饵体内的消化酶可能会提高幼体对微胶囊饲料的吸收利用,微胶囊饲料所含营养物质不充分或者是缺乏活饵中的一些生长因子也可能造成微胶囊饲料的效果不佳。Yúfera 等^[30]研究表明,在金头鲷开口摄食4天后,用一种高效的微胶囊饲料饲喂幼体可获得很好的生长率和存活率。这种微胶囊饲料与以前的主要不同之处是内含物的来源不同,利用酪蛋白代替蛋清蛋白,因为有报道说蛋清蛋白中含有一些抑酶因子;另一方面提高饲料中粗蛋白的含量,降低蛋白质水解产物的含量。虽然蛋白质水解产物较容易被幼体吸收,但Carvalho 等^[31]对草鱼的研究表明,应控制饲料中蛋白质水解产物的过量加入。

Walford 等^[32]研究表明,尖吻鲈 (*Lates calcanifer*) 在开口摄食时不能消化微胶囊饲料,如果只投喂微胶囊饲料则会导致幼体全部死亡。但如果在开口摄食的前5天投喂轮虫,然后再用微胶囊饲料饲喂,则平均存活率为2.4%,检查发现在其肠道内微胶囊饲料被裂解。为了进一步研究尖吻鲈对微胶囊饲料的裂解能力,Walford 等^[32]对尖吻鲈幼体的消化道和蛋白水解

酶进行了研究,结果发现,在幼体开始摄食时胃和幽门括约肌还没有形成,但是胰蛋白酶的活性很高。在13日龄时胃才开始形成,在17日龄时胃蛋白酶的活力才升高。当加入轮虫时,轮虫为裂解微胶囊饲料提供了消化酶。但是López Alvarado 等^[33]研究发现牙鲆 (*Pamlichthys olivaceus*) 在开口摄食时不能裂解以软脂酸甘油酯为囊壁的微胶囊饲料,而加入轮虫并不能提高幼体对微胶囊饲料的裂解能力,可能是由于轮虫体内脂酶的活力很低,不足以裂解软脂酸甘油酯而引起的。活饵可以为幼体提供消化酶已经得到很多学者的认可。Lauff 和 Hofer^[34]就提出,白鲑 (*Coregonus sp.*) 幼体开始摄食时,来自活饵的外源性的蛋白酶占幼体消化道中总蛋白酶活力的70%~80%。Segner 等^[35]研究发现白鲑 (*Coregonus lacustris*) 幼体的酯酶在酸性条件下具有最佳的效率,酶活性在盐度高于35时则会降低,但轮虫的酯酶并不受pH和高盐度条件的影响。由于在幼体时期,肠道介质的盐度与海水很近,而且无胃时期没有酸的形成,所以其体内的消化酶活性很低,而活饵中的消化酶可以有助于幼体消化吸收营养物质。Joan Holt 等^[36]对红拟石首鱼的研究中发现,活饵可以为幼体提供大量的消化酶,从而有利于幼体的生长与存活,并且提出饵料中水分的含量也可能是影响饵料消化性的原因,因为活饵的含水量为75%,这有利于活饵被消化吸收,而人工配合饲料中水分的含量远远低于活饵,这也可能是配合饲料消化性差的原因之一。在一些研究中还发现活饵除为幼体提供消化酶外,还可诱导幼体肠道中胰酶的分泌。Hjeltnelund 等^[37]研究发现,饲料中加入塑料球也可以诱导胰酶的分泌,但作用显著小于活饵。Cahu 等^[38]研究发现活饵卤虫所提供的胰蛋白酶的活力仅占幼体总胰酶活力的5%。Huchter 等^[39,40]研究中分别提出活饵中所含有的某种促生长因子可能会促进幼体的生长。可见活饵加速幼体对微胶囊饲料的吸收和促进幼体生长的原因仍需进一步研究。Kolkowski 等^[41]在对舌齿鲈 (*Dicentrarchus labrax*) 的研究中发现,饲料中加入酶制剂并没有影响幼体对微粒饲料的吸收以及幼体的生长。Dabrowski 等^[42]在对草鱼的研究中也得到相同的结果。而Kolkowski 等^[43]研究发现微粒饲料中加入消化酶可以使金头鲷幼体的生长提高30%。也可能是影响到鲷类幼体生长所需的外源性酶的水平要高于影响鲷类生长所需的水平。

Baragi 等^[44]研究发现条纹石鲈 (*Morone saxatilis*) 在开口摄食期消化道中就已经有足够的消化酶可以消化外源性食物,但它却不能利用微胶囊饲料而生长。可见采用配合饲料导致幼体不能生长的原因并不

是由于幼体内无消化酶,而可能是饲料中缺乏某种生长因子或某种营养成分而造成的。最近,Chu 等人^[45]用一种复合型的微胶囊饲料饲喂处于开口摄食期的条纹石鲷幼体,虽然获得了较高的存活率,但仍不能维持幼体的生长。Webster 等^[46]在 1990 年的研究中也得到相似的结果。Cousin Baudian 等^[47]对大菱鲷(*Scophthalmus maximus*) 研究中发现,在开口摄食期其消化系统就已经具有消化功能。最近 Khe mis 等人^[48]对美洲拟鲷(*Pseudopleuronectes americanus*) 的研究表明,虽然幼体在开口摄食期就已有多种消化酶,但在此期间幼体仍不能消化微胶囊饲料,还需要活饵来维持存活和生长。可见虽然体内有消化酶,但是在过去的研究中只注重了消化酶的活性和种类,而并不清楚消化酶的数量。所以这些消化酶是否有足够的量来消化配合饲料,对此人们还不清楚,仍需进一步研究。

3 微胶囊饲料应用于牡蛎育苗中的研究

关于微胶囊饲料应用于牡蛎育苗已有很多的研究。在研究中,有的利用微胶囊饲料部分替代活饵或作为补充饲料与活饵一起投喂^[49,50];有的用微胶囊饲料全部代替活饵来研究微胶囊饲料的效果^[51,52]。在研究中发现双壳类动物可以消化由蛋白质或碳水化合物为囊壁的微胶囊饲料^[53-55],同样也可以消化以明胶-阿拉伯胶为囊壁的微胶囊饲料^[51]。

Chu 等^[51]采用两种微胶囊饲料投喂孵化两天后的牡蛎(*Crossostrea virginica*) 幼体。一种是以尼龙-蛋白质为囊壁的微胶囊饲料,另一种是以明胶-阿拉伯胶为囊壁的微胶囊饲料。结果发现,这两种微胶囊饲料都可以维持幼体的生长,而且发现只含有鳕鱼油的明胶-阿拉伯胶型微胶囊饲料可以使幼体获得与投喂活饵的幼体具有相似的生长速度。但明胶-阿拉伯胶型微胶囊饲料比尼龙-蛋白质型的微胶囊饲料更容易被消化。研究中还发现当微胶囊在水中的浓度小于 2 000 个/mL 时,幼体的生长速度与微胶囊的浓度成正相关关系。但 Chu 等^[52]用微胶囊饲料饲喂刚孵化出的牡蛎幼体,发现虽然微胶囊饲料可以使牡蛎幼体达到变态期,但是生长率和存活率都低于以活饵微藻为食的幼体。Numaguchi 等^[50]研究发现,单独用明胶-阿拉伯胶型微胶囊作为牡蛎幼体的饲料不如用活饵的效果,是由于它只含有鳕鱼油,而蛋白质的来源只是由明胶所提供,所以蛋白质不能满足幼体的需要。但是使用微胶囊作为活饵的补充,可降低活饵的使用量,可使幼体获得与全部用活饵饲喂具有相同的效果。而且研究中还发现以鳕鱼油为内含物的微胶囊要

比用鳕鱼油和改良鱼油为内含物的微胶囊效果好。Southgate 等^[56]利用一种含有多种营养成分的蛋白膜微胶囊饲料可以使牡蛎幼体获得很好的生长率和存活率。就壳的增长而言,可达到活饵效果的 80%,而且幼体不含灰分的干重与用活饵饲喂的幼体相似。可见这种微胶囊饲料具有很高的营养价值。对于双壳类水生动物而言,幼体可以消化微胶囊饲料,微胶囊饲料代替活饵取得了很大的成功。以后仍需对双壳类动物的营养需求做进一步的研究,从而优化微胶囊饲料的成分,可以使微胶囊饲料成为促进幼体生长和存活的优质配合饲料。

4 结语

虽然用微胶囊饲料代替活饵来进行水产动物育苗的研究取得了一定的进展,但是在开口摄食期,就可以只依靠微胶囊饲料而使幼体获得很好存活的种类还很少。从目前研究的现状来看,虽然有的鱼虾种类的幼体内含有一定水平的消化酶,但仍不能消化微胶囊饲料。这可能是由于微胶囊饲料很难被消化而引起的,因为作为囊壁材料的蛋白质和人工合成的高分子聚合物很难被幼体消化^[57],而且微胶囊饲料所含的干物质含量远远高于活饵,这也可能是导致微胶囊饲料不易被消化的原因,因为消化活饵要比消化干物质容易^[58]。Lindner 等^[59]研究认为微胶囊饲料之所以不能获得与活饵相同的饲喂效果,也可能是由于囊中的营养物质不易被幼体吸收或是不能满足幼体生长所需而造成。虽然在饲料中添加酶制剂是解决微胶囊饲料可消化性的一种途径,但是所加的酶制剂是不是能在幼体体内发挥很好的活性,这需要人们做进一步的研究。在选择微胶囊饲料的内含物时应该考虑到营养源问题,同时要进一步筛选易被幼体消化吸收的囊壁材料,要对微胶囊化的生产工艺作进一步改进,确保营养物质不受到破坏。在研究改造微胶囊饲料的同时,要对幼体的生理特性作进一步研究,从而确定水产动物幼体生长所需的营养成分,为配置高效的微胶囊饲料奠定基础。

参考文献

- 1 Jones D A, Munford J G, Gabbot P A. Microcapsules as artificial food particles for aquatic filter feeders. *Nature* (London), 1974, 247: 233-235
- 2 Jones D A, Kanazawa A, Ono K. Studies on the nutritional requirement of the larval stages of *Penaeus japonicus* using microencapsulated diets. *Marine Biology*, 1979, 54: 261-267
- 3 Kanazawa A, Teshima S, Sasada H. Culture of prawn larvae with microparticulate diets. *Bull Jpn Soc Fish*, 1982, 48(2): 195-199

- 4 Jones D A, Kurmaly K, Arshad A. Penaeid shrimp hatchery trials using microencapsulated diets. *Aquaculture*, 1987, 64: 133-146
- 5 Kurmaly K, Jones D A, Yule A B, et al. Comparative analysis of the growth and survival of *Penaeus monodon* (Fabricius) larvae, from protozoa 1 to postlarva 1, on live feeds, artificial diets and on combinations of both. *Aquaculture*, 1989, 81: 27-45
- 6 Clark J, Jones D A, Kurmaly K. Penaeid larval rearing on microencapsulated feeds. In: Volcher C M, Volcher A (Editors). 1st Inter American congress of Aquaculture. Brazil: Salvador, 1986, 14-21
- 7 Otogali L. Total substitution of microparticules for algae for *Penaeus stylirostris* larval rearing in New Caledonia. *Journal of the World Aquaculture Society*, 1991, 22: 46A
- 8 Le Vay L, Rodríguez A, Mourente G, et al. Influence of diet on digestive activity and growth of *Penaeus japonicus* larvae: implications for nutritional studies. Special Publication, European Aquaculture Soc, 1993, 19: 145
- 9 Kurmaly K, Jones D A, Yule A B. Acceptability and digestion of diets fed to larval stages of *Homarus gammarus* and their role of dietary conditioning behavior. *Marine Biology*, 1990, 106: 181-190
- 10 Bautista M N, Millaena O M, Kanazawa A. Use of kappa-carrageenan microbound diet (CMBD) as feed for *Penaeus monodon* larvae. *Marine Biology*, 1989, 103: 169-173
- 11 Toshiaki I, Yukinori T. Survival of larval giant tiger prawns *Penaeus monodon* after addition of killed vibrio cells to a microencapsulated diet. *Journal of Aquatic Animal Health*, 1991, 3: 151-152
- 12 Le Vay L, Rodríguez A, Kamarudin M S, et al. Influence of live and artificial diets on tissue composition and trypsin activity in *Penaeus japonicus* larvae. *Aquaculture*, 1993, 118: 287-297
- 13 Villamar D F, Langdon C J. Delivery of dietary components to larval shrimp (*Penaeus vannamei*) by means of complex microcapsules. *Marine biology*, 1993, 115: 635-642
- 14 Teshima S I, Kanazawa A. Effects of several factors on growth and survival of the prawn larvae reared with microparticulate diets. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1983, 49(12): 1893-1896
- 15 Muñoz M, Cañavate J P. Fluorometric determination of selectivity between live and inert food by *Penaeus japonicus* larvae. *Aquaculture*, 1995, 134: 307-311
- 16 Kamarudin M S, Jones D A, Le Vay L. Ontogenetic change in digestive enzyme activity during larval development of *Microbrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 1994, 123: 323-333
- 17 Jones D A, Kamarudin M S, Le Vay L. The potential for replacement of live feeds in larval culture. *J World Aquaculture Soc*, 1993, 24: 199-210
- 18 Pan B S, Lan C C, Hung T Y. Changes in composition and proteolytic enzyme activities of *Artemia* during early development. *Comp Biochem Physiol*, 1991, 100A: 725-730
- 19 Hjeltnes K, Pedersen B H, Nilssen E M. Trypsin content in intestines of herring larvae, *Clupea harengus*, ingesting inert polystyrene spheres or live crustacean prey. *Marine Biology*, 1988, 98: 331-335
- 20 Minilla Moran R, Stark J R, Barbour A. The role of enzyme in digestion in cultured turbot larvae *Scophthalmus maximus*. *Aquaculture*, 1990, 88: 337-350
- 21 Walford L, Lim T M, Lam T J. Replacing live foods with microencapsulated diets in the rearing of seabass *Lateolabrax japonicus* larvae: do the larvae ingest and digest protein membrane microcapsules. *Aquaculture*, 1991, 92: 225-235
- 22 Fernández-Daz C, Pascual E, Yúfera M. Feeding behavior and prey size selection of gilthead seabream, *Sparus aurata* L, larvae fed on inert and live food. *Mar Biol*, 1994, 18: 323-328
- 23 Yúfera M, Fernández-Daz C, Pascual E. Feeding rates of gilthead seabream (*Sparus aurata* L), larvae on microcapsules. *Aquaculture*, 1995, 134: 257-268
- 24 Yúfera M, Pascual E, Polo A, et al. Effect of starvation on the feeding ability of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae at first feeding. *J Exp Mar Biol Ecol*, 1993, 169: 252-272
- 25 Sarasquete M C, Polo A, Yúfera M. Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream (*Sparus aurata* L). *Aquaculture*, 1995, 130: 79-92
- 26 Fernández-Daz C, Yúfera M. Capacity of gilthead seabream (*Sparus aurata* L), larvae to break down dietary microcapsules. *Aquaculture*, 1995, 134: 269-278
- 27 Fernández-Daz C, Yúfera M. Detecting growth in gilthead seabream (*Sparus aurata* L), larvae fed microcapsules. *Aquaculture*, 1997, 153: 93-102
- 28 Person Le Ruyet J, Alexandre J C, Théband L, et al. Marine fish of larvae feeding: Formulated diets or live prey. *J World Aquaculture Soc*, 1993, 24: 211-224
- 29 Kolkowski S, Tandler A. Why microdiets are still inadequate as a viable alternative to live zooplankton for developing marine fish larvae. *Spes Publ Eur Aquaculture Soc*, 1995, 24: 265-266
- 30 Yúfera M, Pascual E, Fernández-Daz C. A highly efficient microencapsulated food for rearing early larvae of marine fish. *Aquaculture*, 1999, 177: 249-256
- 31 Carvalho A P, Escalre A M, Oliva Tedes A, et al. First feeding of common carp larvae on diets with high levels of

- protein hydrolysates. *Aquaculture*, 1997, Int 5: 361-367
- 32 Walford J, Lam T J. Development of digestive tract and proteolytic enzyme activity in seabass (*Lates calanifer*) larvae and juvenile. *Aquaculture*, 1993, 109: 187-205
- 33 López-Alvarado J, Langdon C J, Teshima S I, et al. Effect of coating and encapsulation of crystalline amino acid on leaching in larval feeds. *Aquaculture*, 1994, 122: 335-346
- 34 Lauff M, Hofer R. Proteolytic enzymes in fish development and the importance of dietary enzymes. *Aquaculture*, 1984, 37: 335-346
- 35 Segner J, Roesch R, Schmidt H, et al. Digestive enzymes in larval *Coregonus laietus*. *Journal of Fish Biology*, 1989, 35: 249-253
- 36 Joan Holt G. Feeding larval red drum on microparticulate diets in a closed recirculating water system. *Journal of the World Aquaculture Society*, 1993, 24 (2): 225-230
- 37 Hjeltnelund K, Pedersen B H, Nilssen E M. Trypsin content in intestines of herring larvae, *Clupea harengus*, ingesting inert polystyrene spheres or live crustacea prey. *Mar Biol*, 1988, 98: 331-335
- 38 Cahu C L, Zambonino Infante J L, Le Gall M M, et al. Early weaning of seabream: are digestive enzyme limiting? *Spec Publ. European Aquaculture Society*. 1995, 24: 268-271
- 39 Huchter J. Substance essential for metamorphosis of fish larvae extracted from *Atemia*. *Aquaculture*, 1982, 27: 83-85
- 40 Huchter J, Rembold H. Soluble factor essential for metamorphosis of coregonid larvae has been partially purified from *Atemia salina*. *Arch Hydrobiol*, 1986, 22: 197-202
- 41 Kolkovski S, Tandler A, Izquierdo M S. Effect of live food and dietary digestive enzymes on the efficiency of microdiets for seabass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture*, 1997, 148: 313-322
- 42 Dabrowski K, Glogowski J. A study of the application of proteolytic enzymes to fish food. *Aquaculture*, 1997, 12: 349-360
- 43 Kolkovski S, Tandler A, Kissil G W M, et al. The dietary exogenous digestive enzyme on ingestion, assimilation, growth and survival of gilthead seabream larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1993, 12: 203-209
- 44 Baragi V, Lovell R T. Digestive enzyme activities in striped bass from first feeding through larvae development. *Transaction of the American Fisheries Society*, 1986, 115: 478-484
- 45 Chu Fu-Lin E, Özkizilcik S. Acceptability of complex microencapsulated diets by striped bass (*Morone saxatilis*) larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1999, 237: 1-9
- 46 Webster C D, Lovell R T. Comparison of live brine shrimp nauplii and nonliving diets as first food for striped bass larvae. *Progressive Fish-Culturist*, 1990, 52: 171-175
- 47 Cousin J C B, Baudin Laurencin F, Gabaudan J. Ontogeny of enzymatic activities in fed and fasting turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Journal of Fish Biology*, 1987, 30: 15-33
- 48 Kheimis I B, Noue J I, Audet C. Feeding larvae of winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum) with live prey or microencapsulated diet: linear growth and protein, RNA and DNA content. *Aquaculture Research*, 2000, 31: 377-386
- 49 Teshima S, Kanazawa A, Sakamoto M. Microparticulate diets for the larvae of aquatic animals. *Mni Rev Data File Fish Res*, 1982, 2: 67-86
- 50 Numaguchi K, Nell J A. Effect of gelatin acacia microcapsules and algal meal supplementation of algal diets on growth rates of Sydney rock oyster *Saccostrea commercialis* (Iredale & Roughley) larvae. *Aquaculture*, 1991, 94: 65-78
- 51 Chu F L E, Webb K L, Hepworth D, et al. The acceptability and digestibility of microcapsules by larvae of *Cmsostrea virginica*. *J Shellfish Res*, 1982, 2: 29-34
- 52 Chu F L E, Webb K L, Hepworth D, et al. Metamorphosis of larvae of *Cmsostrea virginica* fed microcapsules diets. *Aquaculture*, 1987, 64: 185-197
- 53 Langdon C J. Preparation and evaluation of protein microcapsules for a marine suspension feeder, the Pacific oyster *Cmsostrea gigas*. *Mar Biol*, 1989, 102: 217-224
- 54 Langdon C J, DeBevoise A E. Effect of microcapsule type on delivery of dietary protein to a marine suspension feeder, the oyster *Cmsostrea gigas*. *Mar Biol*, 1990, 105: 437-443
- 55 Kreeger D A, Langdon C J. Digestion and assimilation of protein by *Mutilus trossulus*. (Bivalvia: Mollusca) fed mixed carbohydrate / protein microcapsules. *Mar Biol*, 1994, 118: 479-488
- 56 Southgate P C, Lee P S, Nell J A. Preliminary assessment of a microencapsulated diet for larval culture of the Sydney rock oyster, *Saccostrea commercialis* (Iredale & Roughley). *Aquaculture*, 1992, 105: 345-352
- 57 Teshima S, Kanazawa A, Sakamoto M. Microparticulate diets for the larvae of aquatic animals. *Mni Review and Data File of Fisheries Research*, 1982, 2: 67-86
- 58 Yúfera M, Kolkovski S, Fernández-Daz C, et al. Microencapsulated diets for fish larvae-current state of art, Bioencapsulation VII and Microencapsulation Symposium Proceedings. Maryland: NSA, 1998.
- 59 Lindner P, Eshel A, Kolkovski S, et al. Proteolysis by juvenile sea bass *Dicentrarchus labrax* gastrointestinal enzymes as a method for the evaluation of feed proteins. *Fish Physiol Biochem*, 1995, 14: 399-407

(本文编辑:刘珊珊)