

饲料中添加芽孢杆菌 PC465 对凡纳滨对虾生长和 STAT 基因表达的影响

柴鹏程^{1,2} 宋晓玲^{2*}

(¹上海海洋大学水产与生命学院, 201306)

(²农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

摘要 将坚强芽孢杆菌 PC465 浓缩菌液直接与饲料原料混匀后制成含 10^6 、 10^8 和 10^{10} CFU 芽孢杆菌/g 干物质的颗粒饲料, 或者经冷冻干燥制成冻干粉, 与饲料原料混匀制成含 10^7 CFU 芽孢杆菌/g 饲料的颗粒饲料, 设连续投喂组、间隔“4+3”投喂组、间隔“1+1”投喂组, 研究投喂剂量和投喂频率对对虾生长和类淋巴 STAT 基因表达的影响。研究发现, 饲料中添加不同剂量的坚强芽孢杆菌 PC465 均能显著提高凡纳滨对虾的生长率和 STAT 基因表达 ($P < 0.05$), 而且跟添加量有一定关系; 实验采取不同投喂频率投喂凡纳滨对虾, 都能显著提高对虾的生长率和对虾淋巴器官中 STAT 基因的表达水平 ($P < 0.05$), 其中以连续投喂组的效果最明显。研究结果对对虾健康养殖有一定的参考价值。

关键词 凡纳滨对虾 芽孢杆菌 PC465 投喂频率 投喂剂量 增长率 STAT 基因
中图分类号 S96 **文献标志码** A **文章编号** 1000-7075(2013)03-0097-07

Effects of *Bacillus* PC465 added in feed on the growth rate and expression of STAT gene of *Litopenaeus vannamei*

CHAI Peng-cheng^{1, 2} SONG Xiao-ling^{2*}

(¹College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, 201306)

(² Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

ABSTRACT Concentrate liquid of *Bacillus firmus* PC465 was mixed thoroughly with the feed materials to produce granules at different doses of 10^6 , 10^8 and 10^{10} CFU/g dry matter; or freeze-dried and added to feed at a dose of 10^7 CFU/g dry matter. Three feeding regimes were set up at feeding frequencies of “1+1” interval, “4+3” interval and continuous feeding. The effects of feeding *B. firmus* PC465 on growth and expression of STAT gene in *Litopenaeus vannamei* were studied at different adding doses and feeding frequencies. By adding PC465 at doses of 10^6 , 10^8 , and 10^{10} CFU/g, significant improvements were observed in the growth rates

公益性行业(农业)科研专项经费(201103034)和国家科技支撑计划经费(2012BAD17B03)共同资助

* 通讯作者。E-mail: songxl@ysfri.ac.cn, Tel: (0532)85823062

收稿日期: 2012-05-28; 接受日期: 2013-03-28

作者简介: 柴鹏程(1985-), 男, 硕士研究生, 主要从事水产养殖动物基础免疫学及病毒病的免疫防治技术研究。E-mail: chaipengcheng@sina.com,

Tel: 15269292221

and STAT gene expression levels in the lymphoid tissue of *L. vannamei* ($P < 0.05$). The effect was the most significant in the continuous feeding treatment. The finding in this research may provide reference to the healthy aquaculture of shrimp.

KEY WORDS *Litopenaeus vannamei* *Bacillus* PC465 Feed adding
Growth rate STAT gene

凡纳滨对虾 *Litopenaeus vannamei* 具有抗逆能力强、营养要求低、生长速度快、出肉率高等优点, 已是我国养殖规模最大、产量最高的对虾品种, 成为我国水产业的重要创汇和支柱产业之一。但在对虾高密度集约化养殖过程中, 病害问题一直是制约产业持续健康发展的主要瓶颈。

益生菌(Probiotics)在对虾养殖中的作用近年来引起了越来越多的关注。对虾益生菌的筛选、应用和作用机制的研究, 成为海水养殖相关微生物研究的重点之一。益生菌作为水体改良剂和饲料添加剂形式使用, 其作用主要包括改善对虾消化道微生态结构、提高对虾免疫反应、提高对虾对致病细菌的抗病力、改善养殖水体生态结构、提高对虾生长和健康水平、促进对虾食物消化效率等(Moriarty 1998; Skjermo *et al.* 1999)。

JAK/STAT(Janus 激酶/信号传导及转录激活因子)通路在甲壳动物抗病毒感染中发挥重要作用(Liu *et al.* 2007; Dostert *et al.* 2005; Lin *et al.* 2004), 在 JAK/STAT 通路中 STAT 被 JAK 磷酸化并二聚化后转移到细胞核内, 然后活化相关基因来调节诸如细胞生长、分化和免疫反应等(Levy *et al.* 2003)。研究这个基因有助于探讨芽孢杆菌 PC465 对凡纳滨对虾抗病毒免疫的影响机制。

本课题组的前期研究证实一株分离自健康中国对虾肠道的芽孢杆菌 PC465 可以有效提高凡纳滨对虾抗 WSSV 感染能力(刘君等 2012)。本研究进一步分析了该菌株添加剂量和投喂频率对凡纳滨对虾生长以及类淋巴中 STAT 基因表达的影响, 以为该菌株在对虾养殖生产中的应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 芽孢杆菌来源与制备

芽孢杆菌 PC465 于 2007 年分离自中国对虾 *Penaeus chinensis* 消化道, 经生理生化及分子生物学综合鉴定为坚强芽孢杆菌 *Bacillus firmus*, 于 -80°C 保存。使用前经活化后, 用 5L 发酵罐(上海保兴生物工程设备有限公司)在 37°C 、转速 350r/min、通气压 0.8MPa 培养条件下, 以优化培养基进行发酵。发酵液经 5 000r/min、25min、 4°C 离心, 部分菌泥保存于 4°C 待用, 部分菌泥采用真空冷冻干燥器(Heto Drywinner, Germany)经 24h 冻干, 保存于 -70°C 待用。

1.2 对虾与饲养

健康凡纳滨对虾(体长 3~4cm)8 000 尾, 于 2010 年 8 月 6 日购自山东青岛沙子口对虾养殖场, 经 PCR 检测(黄捷等 2008)为 WSSV 阴性, 运至养殖实验地点(山东海阳市黄海水产有限公司), 按 200 ± 10 尾/槽的数量随机分组于 32 个圆柱形实验水槽中(底面积 $2\text{m}^2 \times$ 水深 1m)饲养。养殖期间连续充气($\text{DO} \geq 7.0\text{mg/ml}$), 水温 $25 \sim 27^{\circ}\text{C}$, 盐度 30.6 左右, pH 7.6。日投饲料 3 次, 时间为 07:00、13:00、19:00, 其中早、晚两次的投喂量各占日投喂量的 40%, 午间投喂量占 20%; 每天投饲量为对虾体重的 10%。每日 09:00 换水 1 次, 日换水率为 50%。本养殖方法用于暂养和实验期的养殖管理, 暂养期为 7d。

实验自 2010 年 8 月 13 日开始, 2010 年 9 月 18 日结束。实验起始和结束时称取每个实验组和对照组的对虾湿重, 并计算生长率。

$$\text{生长率} = (M_T - M_0) / M_0 \times 100\%$$

式中, M_T 为 9 月 18 日的对虾湿重, M_0 为 8 月 13 日的对虾湿重。

生长率的比增效率 = (该组生长率 - 对照组生长率) / 对照组生长率 / 该组添加量

1.3 芽孢杆菌不同添加量实验的饲料制备与分组

在对虾基础饲料(含 43.16%蛋白质、21.64%脂肪、14.92%碳水化合物和 12.12%灰分)原料中,按 10^6 、 10^8 、 10^{10} CFU/g 饲料的比例拌入坚强芽孢杆菌 PC465 发酵菌泥的稀释液,在室温条件下于 75%酒精消毒过的整理箱中充分混匀后利用绞肉机加工成直径为 2mm 的饲料长条,在室内晾干后切割制成干颗粒饲料。将对虾分为 3 个实验组以及 1 个对照组,每组设 3 个重复,每个重复 200 尾对虾,实验组采取“4+3”的投喂间隔(即连续 4d 投喂实验饲料,3d 投喂基础饲料,7d 1 个循环,直至实验结束)分别投喂 10^6 、 10^8 和 10^{10} CFU/g 的芽孢杆菌饲料,对照组一直投喂基础饲料,直至实验结束。每 7d 取 10 尾对虾测定体重,同时摘取对虾类淋巴器官用于 STAT 表达测定。

1.4 芽孢杆菌投喂频率实验的饲料制备与分组

在对虾基础饲料原料中,按 10^7 CFU/g 饲料的比例拌入芽孢杆菌冻干粉,在室温条件下于 75%消毒过的整理箱中充分混匀后利用绞肉机加工成直径为 2mm 的饲料长条,在室内晾干后切割制成干颗粒饲料。将对虾分为 3 个实验组以及 1 个对照组,每组设 3 个重复,每个重复 200 尾对虾。3 个实验组分别按间隔“1+1”(1d 投喂实验饲料,1d 投喂基础饲料,循环直至实验结束)、间隔“4+3”(连续 4d 投喂实验饲料,3d 投喂基础饲料,7d 1 个循环,直至实验结束)和连续投喂(一直投喂实验饲料)3 种方式投喂含芽孢杆菌的饲料和基础饲料;对照组为一直投喂基础饲料。按 1.3 取样并进行进一步分析。

1.5 坚强芽孢杆菌 PC465 在饲料加工过程中的存活率

在加工饲料前后对菌泥、菌粉和饲料分别进行 PC465 的定量计数。随机取菌泥 1ml 或菌粉 0.1g 或者 1g 研磨后的饲料无菌条件下在 PBS 缓冲液(pH = 7.4)中进行 10 倍梯度稀释,稀释过程中采用涡旋(1 500 r/min, 1min)和吹打混匀,每个梯度的稀释液取 200 μ l 均匀涂布于 2216E 固体培养基平板上,每个梯度为 3 个重复,然后置于 37 $^{\circ}$ C,进行 18h 的培养后分别对不同菌落形态的菌株分别进行计数,菌落数位于 30~300 个符合计数标准。每种样品计数重复 3 次后取平均值。平板中的不同菌落形态的各种菌株进行 16S rDNA 测序以确定是否为目的菌株。

1.6 凡纳滨对虾类淋巴组织中 STAT 基因表达水平的测定

1.6.1 对虾类淋巴组织 RNA 的提取

无菌条件下摘取的凡纳滨对虾类淋巴组织立即放入已加入 0.8ml RNA*later*(Invitrogen)的 1.5ml 离心管中,在 4 $^{\circ}$ C 过夜,次日放入 -80 $^{\circ}$ C 中保存。所有样品集中后,按 TRIZOL Reagent(Invitrogen)说明书进行总 RNA 的抽提,用 Nanodrop 2000 测定 RNA 浓度,保存于 -80 $^{\circ}$ C 待用。吸光度 A_{260}/A_{280} 大于 1.8 的 RNA 样品用于以下实验。

1.6.2 RT-PCR

按照 PrimeScript RT Master Mix (TaKaRa)的操作说明书制备总 RNA 的 cDNA。使用 Oligo dT Primer 和 Randomer 6mers 作为引物。

1.6.3 STAT 基因表达的 Real-time PCR 分析

设计 STAT 基因扩增的引物序列及内参 β -actin 引物序列(Liu *et al.* 2007)(表 1),送

上海生工生物技术有限公司合成。采用这些引物和上述 cDNA 产物按 SYBR Premix Ex *Taq*(TaKaRa)说明书方法在荧光定量 PCR 仪(Rotor-GeneTM 3000)上测定目标基因的拷贝数,每个样品设 3 个平行。

表 1 STAT 基因实时定量所用引物

Table 1 The primers used for Real-time PCR of STAT gene

| 引物 Primers | 序列 Sequences |
|------------------------|--------------------------------|
| β -actin-Forward | 5'-GAGCAACACGGAGTTCGTTGT-3' |
| β -actin-Reverse | 5'-CATCACCAACTGGGACGACATGGA-3' |
| STAT-new-390Forward | 5'-AGCCCCTGTCTGAGCGAAA-3' |
| STAT-new-461Reverse | 5'-GGTGTCTCTGTGACCTTCATCA-3' |

1.7 统计分析

实验数据全部保存于 Excel 中,采用 SPSS 16.0 进行实验数据的单因素方差分析,以 LSD 分析差异显著性。

2 结果

2.1 坚强芽孢杆菌 PC465 在饲料加工过程中的存活率

通过 PBS 缓冲液进行 10 倍梯度稀释涂布培养并进行 16S rDNA 测序后进行芽孢杆菌 PC465 的计数。结果证明,在饲料制备过程中虽然经历高达 125℃ 的温度,但不同芽孢杆菌添加浓度的饲料中 PC465 的存活率达到 43% 以上,有的甚至能够达到 96.75%。

2.2 坚强芽孢杆菌 PC465 添加剂量对凡纳滨对虾生长率的影响

在每克饲料中添加 10^6 、 10^8 和 10^{10} CFU 的芽孢杆菌,采用“4+3”的模式投喂凡纳滨对虾 35d 后,测定各组对虾投喂前后的体重,求出总生长率(图 1)。统计结果显示,3 个浓度组的对虾生长率均优于对照组,3 个浓度组与对照组相比差异显著($P < 0.05$); 10^{10} 组略显著于 10^6 组和 10^8 组($P < 0.05$)。表明按浓度 10^6 、 10^8 和 10^{10} CFU/g 添加芽孢杆菌 PC465 的饲料喂养凡纳滨对虾能够显著提高其生长率。虽然 10^{10} CFU/g 的芽孢杆菌添加量效果最好,但其生长率的比增效率仅为 5.96×10^{-11} /CFU, 10^6 和 10^8 CFU/g 饲料添加量的生长率比增效率分别为 5.19×10^{-7} CFU 和 5.17×10^{-9} /CFU,从经济性而言, 10^6 CFU/g 添加量的生长率比增效率远远高于其他组。

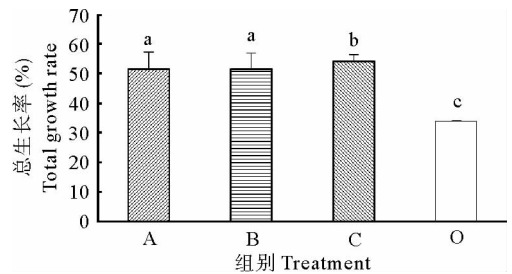
2.3 坚强芽孢杆菌 PC465 添加剂量对凡纳滨对虾 STAT 基因表达水平的影响

用含 10^6 、 10^8 和 10^{10} CFU 芽孢杆菌/g 的饲料按“4+3”的模式投喂凡纳滨对虾,每 7d 取 10 尾对虾的类淋巴组织以测定其中 STAT 基因的表达水平(图 2)。结果表明,在开始投喂含有芽孢杆菌 PC465 的饲料 7d 后,与对照组相比,各实验组的表达水平均明显上升,其中 10^{10} 组 STAT 基因表达水平与其他 3 组差异显著($P < 0.05$), 10^8 组与对照组差异显著($P < 0.05$), 10^6 组与对照组差异不显著($P > 0.05$);随着投喂时间的延长,各组 STAT 的表达量逐渐回落,投喂 14d 后, 10^8 组和 10^{10} 组与 10^6 组和对照组之间还保持显著差异($P < 0.05$);投喂 21d 后, 10^{10} 组与其他 3 组还保持显著差异($P < 0.05$);投喂 28d 后,3 个处理组与对照组表现出显著差异($P < 0.05$);投喂 35d 后, 10^{10} 组与其他 3 组差异显著($P < 0.05$), 10^8 组与对照组差异显著($P < 0.05$)。

表 2 饲料加工前后芽孢杆菌 PC465 的存活率

Table 2 Survival of *Bacillus* PC465 in feed after processing

| 饲料类型 Type of feed | 芽孢杆菌加工前计数 Count before <i>Bacillus</i> processing (CFU/g feed) | 芽孢杆菌加工后计数 Count after <i>Bacillus</i> processing (CFU/g feed) | 存活率 Survival (%) |
|----------------------|---|--|------------------------|
| 10^6 | 2.17×10^6 | 1.54×10^6 | 70.97 |
| 10^8 | 1.98×10^8 | 1.01×10^8 | 51.01 |
| 10^{10} | 1.23×10^{10} | 1.19×10^{10} | 96.75 |
| 10^7 | 2.91×10^7 | 1.25×10^7 | 43.01 |



误差线表示标准误差,不含有相同字母的组之间差异显著($P < 0.05$),含有相同字母的组之间无显著差异。

A: PC465 投喂浓度为 10^6 CFU/g 饲料的实验组; B: PC465 投喂浓度为 10^8 CFU/g 饲料的实验组; C: PC465 投喂浓度为 10^{10} 饲料的实验组; O: 不添加 PC465 的空白对照组

Error bars represent standard deviation (SD). Different letters indicate significant differences between treatments, while the same letter means no significant difference between treatments

A: Treatment with PC465 feeding dose of 10^6 CFU/g; B: Treatment with PC465 feeding dose of 10^8 CFU/g; C: Treatment with PC465 feeding dose of 10^{10} CFU/g; D: Control without PC465 feeding. Same in Fig. 2

图 1 芽孢杆菌添加剂量对凡纳滨对虾总生长率的影响
Fig. 1 Effect of feeding dose on the total growth rate of *L. vannamei*

2.4 坚强芽孢杆菌 PC465 投喂频率对凡纳滨对虾生长率的影响

芽孢杆菌 PC465 含量为 10^7 CFU/g 的饲料,采用间隔“1+1”、间隔“4+3”、连续投喂的模式投喂凡纳滨对虾,经过 35d 饲料投喂实验后,根据各组对虾投喂前后的体重,求出总生长率(图 3),3 个实验组对虾生长率均优于对照组,3 个实验组与对照组差异显著($P < 0.05$),并且连续投喂组与间隔“4+3”组差异显著($P < 0.05$)。可以得出,当饲料中芽孢杆菌添加浓度为 10^7 CFU/g 时,间隔“1+1”、间隔“4+3”、连续投喂均能显著提高对虾的生长率,并且以连续投喂组的促生长效果最好。

2.5 坚强芽孢杆菌 PC465 投喂频率对凡纳滨对虾 STAT 基因表达水平的影响

用含 10^7 CFU 芽孢杆菌/g 的饲料按间隔“1+1”、间隔“4+3”和连续投喂的模式投喂凡纳滨对虾,每 7d 取 10 尾对虾的类淋巴组织以测定其中 STAT 基因的表达水平(图 4)。在投喂含芽孢杆菌 PC465 饲料的 7d 后,与对照组相比,各实验组的表达水平均明显上升,4 个组之间差异均显著($P < 0.05$)。而在芽孢杆菌投喂组中,连续投喂组促进 STAT 基因表达的效果最显著,其次是间隔“1+1”组,间隔“4+3”组最低;随着投喂时间的延长,各组 STAT 的表达量逐渐上升,投喂 14d 后,3 个实验组与对照组保持显著差异($P < 0.05$),间隔“1+1”组和连续投喂组与间隔“4+3”组差异显著($P < 0.05$);投喂 21d 后,4 个组之间保持显著差异($P < 0.05$)。而在芽孢杆菌投喂组中,连续投喂组促进 STAT 基因表达的效果最显著,其次是间隔“1+1”组,间隔“4+3”组最低;投喂 28d 后,连续投喂组的 STAT 表达量提升最显著,3 个实验组和对照组保持显著差异($P < 0.05$),连续投喂组与间隔“1+1”组和间隔“4+3”组差异显著($P < 0.05$);投喂 35d 后,连续投喂组的 STAT 表达量有所下降,3 个实验组和对照组差异显著($P < 0.05$),连续投喂组与间隔“1+1”组和间隔“4+3”组差异显著($P < 0.05$)。结果表明,在投喂含 10^7 CFU 芽孢杆菌/g 的饲料后,3 个实验组均能够显著提高凡纳滨对虾 STAT 基因的表达水平,并且连续投喂组的效果最好,间隔“1+1”效果次之,间隔“4+3”效果最差。

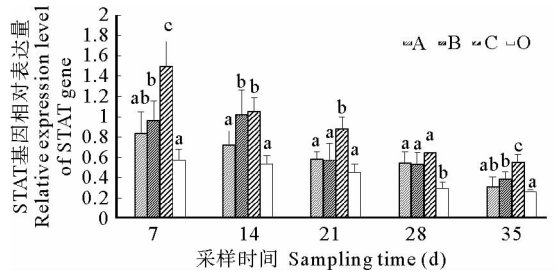
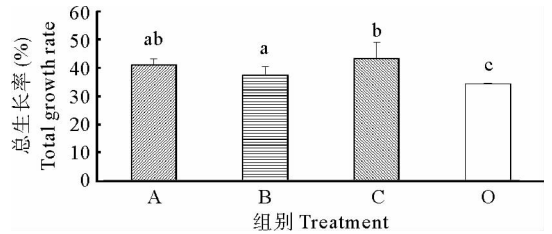


图 2 添加剂量对凡纳滨对虾 STAT 基因表达水平的影响
Fig. 2 Effect of *Bacillus* dose added in the feed on the STAT gene expression in the lymphoid tissue of *L. vannamei*



误差线表示标准误差,不含有相同字母的组之间差异显著($P < 0.05$),含有相同字母的组之间无显著差异

A: PC465 投喂频率为间隔“1+1”的实验组; B: PC465 投喂频率为间隔“4+3”的实验组; C: PC465 投喂频率为连续投喂的实验组; O: 不添加 PC465 的空白对照组

Error bars represent standard deviation (SD). Different letters indicate significant differences between treatments, while the same letter means no significant difference between treatments

A: Treatment with PC465 feeding frequency of interval“1+1”; B: Treatment with PC465 feeding frequency of interval“4+3”; C: Treatment with continuous PC465 feeding; O: Control without PC465 feeding Same in Fig. 4

图 3 投喂频率对凡纳滨对虾总生长率的影响
Fig. 3 Effect of feeding frequency on the total growth rate of *L. vannamei*

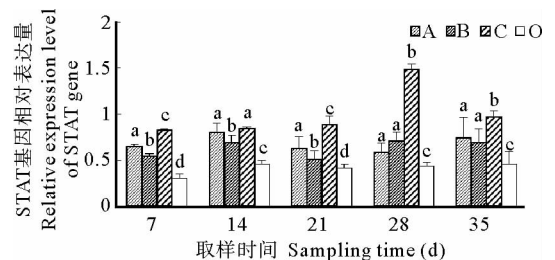


图 4 投喂频率对凡纳滨对虾 STAT 基因表达水平的影响
Fig. 4 Effect of feeding frequency on the STAT gene expression level of *L. vannamei*

3 讨论

芽孢杆菌作为益生菌而被广泛地应用于对虾养殖生产中,除了能够合成大量的有益代谢物外,还由于其能够耐受饲料加工过程中产生的高温(Cutting *et al.* 2011)。本研究进行的饲料加工的挤压过程虽然经历了125℃的短暂高温,但饲料中芽孢杆菌 PC465 的存活率仍高于 43%,表明 PC465 芽孢能够经受住加工过程中的高温条件。芽孢杆菌在对虾消化道中活化并生存,能分泌消化酶,提高饲料消化效果,还能刺激对虾机体产生消化酶(Yu *et al.* 2009;Wang *et al.* 2007)。研究结果证实,饲料中添加芽孢杆菌 PC465 可以显著促进对虾的生长,说明芽孢杆菌促进了饲料的消化效果。有研究指出,投喂益生菌后能促进凡纳滨对虾肠道表面形成更多的沟壑(Van *et al.* 2009),这样增加了肠道表面积,提高了营养吸收效率,更好地促进凡纳滨对虾生长。

研究发现,凡纳滨对虾 STAT 属于古老的 STAT 家族,并且具有与已经研究过的模式动物相似的功能和调节机制(Liu *et al.* 2007)。在小鼠神经元中,干扰素 IFN- γ 能激活 JAK/STAT 信号途径来减少病毒的复制(Zhang *et al.* 2010),研究表明,STAT 也是甲壳动物预防病毒感染的重要基因(Dostert *et al.* 2005; Burdeinick-Kerr *et al.* 2009),有报告指出,WSSV 感染后 STAT 基因表达量会下调,淋巴器官中 STAT 的 C-末端酪氨酸残基磷酸化而被活化的,STAT 活化后有利于 WSSV 的感染(Chen *et al.* 2008)。在本研究中,芽孢杆菌 PC465 按不同投喂频率和不同的添加量在 7、14、21、28d 4 个时间点均能不同程度地提高凡纳滨对虾 STAT 基因的表达水平,表明添加芽孢杆菌 PC465 能够提高凡纳滨对虾的免疫力。

在对虾养殖中免疫增强剂的合适使用剂量和使用频率是取得良好增强免疫的效果的基础(Chang *et al.* 2000)。如葡聚糖等免疫增强剂的长期使用,可以引起免疫阻抑和免疫疲劳效应,而通过非连续性投喂葡聚糖的方法可以有效地阻止免疫疲劳(Sajeevan *et al.* 2009;Sung *et al.* 2006;Bai *et al.* 2010;Moriarty *et al.* 1996)。饲料中添加芽孢杆菌是否也会产生在促生长和增强免疫方面的阻抑和“疲劳问题”呢?本研究无论饲料中芽孢杆菌添加浓度为 10^7 CFU/g 饲料维持 30d 的连续投喂,还是达到 10^{10} CFU/g 饲料高浓度的间隔投喂(事实上这个浓度已经高至实际生产难以达到)都取得了很好的促生长效果,没有出现生长方面的阻抑或“疲劳问题”。而对于益生菌作为饲料添加剂的形式投喂对虾,其投喂的频率和剂量的研究还很少,研究益生菌最佳使用方式值得更多关注。

参 考 文 献

- 刘 君,宋晓玲,刘 莉,柴鹏程,黄 捷. 2012. 2 株消化道优势菌对凡纳滨对虾免疫酶活性和抗白斑综合征病毒感染力的影响. 水产学报, 36 (3): 444-450
- 黄 捷,张庆利,宋晓玲,杨 冰,刘 莉. 对虾白斑综合征病毒核酸等温扩增检测试剂盒及检测方法. 中华人民共和国国家发明专利. ZL 20081 0139949. 4
- Bai N, Zhang WB, Mai KS and 3 others. 2010. Effects of discontinuous administration of β -glucan and glycyrrhizin on the growth and immunity of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 306(1-4): 218-224
- Burdeinick-Kerr R, Govindarajan D, Griffin DE. 2009. Noncytolytic clearance of Sindbis virus infection from neurons by gamma interferon is dependent on JAK/STAT signaling. J Virol 83(8): 29-35
- Chang CF, Su MS, Liao IC. 2000. Immunomodulation by dietary β -1, 3-glucan in the brooders of the black tiger shrimp, *Penaeus mondon*. Fish Shellfish Immunol 10: 505-514
- Chen WY, Ho KC, Lo CF and 4 others. 2008. WSSV infection activates STAT in shrimp. Development and Comparative Immunology 32: 1142-1150
- Cutting SM. 2011. *Bacillus* probiotics. Food Microbiology 28: 214-220
- Dostert C, Jouanguy E, Irving P and 5 others. 2005. The JAK-STAT signaling pathway is required but not sufficient for the antiviral response of drosophila. Nat Immunol 6: 946-953
- Levy DE, Damell JJ. 2003. Stats: transcriptional control and biological impact. Nat Rev Immunol 3: 900-911
- Lin CC, Chou CM, Hsu YL and 6 others. 2004. Characterization of two mosquito STATs, AaSTAT and CtSTAT: differential regulation of tyrosine phosphorylation and DNA binding activity by lipopolysaccharide treatment and by Japanese encephalitis virus infection. J Biol Chem 279:

3308-3317

- Liu WJ, Chang YS, Wang AH and 2 others. 2007. White spot syndrome virus annexes a shrimp STAT to enhance expression of the immediate-early gene iel. *Journal of Virology* 81(3): 1461-1471
- Moriarty DJW. 1996. Microbial biotechnology: a key ingredient for sustainable aquaculture. *Infotech Int* 4: 29-33
- Moriarty DJW. 1998. Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. *Aquaculture* 164(1-4): 351-358
- Sajeevan TP, Philip R, Bright Singh IS. 2009. Dose/frequency: A critical factor in the administration of glucan as immunostimulate to India white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture* 287(3-4): 248-252
- Skjermo J, Vadstein O. 1999. Techniques for microbial control in the intensive rearing of marine larvae. *Aquaculture* 177(1-4): 333-343
- Sung HH, Yang YL, Song YL. 1996. Enhancement of microbicidal activity in the tiger shrimp, *Penaeus monodon*, via immunostimulation. *Journal of Crustacean Biology* 16: 278-284
- Van HN, Fotadar R. 2009. Comparison of the effects of the probiotics (Bio-Mos® and β -1,3-D-glucan) and the customized probiotics (*Pseudomonas synxantha* and *Paeruginosa*) on the culture of juvenile western king prawns (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye, 1896). *Aquaculture* 289: 310-316
- Wang YB. 2007. Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 269(1-4): 259-264
- Yu MC, Li ZJ. 2009. Effects of diary medicinal herbs and *Bacillus* on survival, growth, body composition, and digestive enzyme activity of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 17: 377-383
- Zhang Y, Song LS, Zhao JM and 5 others. 2010. Protective immunity induced by CpG ODNs against white spot syndrome virus (WSSV) via intermediation of virus replication indirectly in *Litopenaeus vannamei*. *Development and Comparative Immunology* 34(4): 418-424

《渔业科学进展》编辑部网上投稿启事

为充分利用网络资源,提高编辑办公和期刊出版效率,《渔业科学进展》编辑部已采用期刊网络化办公系统。该系统使投稿、审稿和编辑工作都在同一个网络平台上完成,可大大节省通讯时间,并规范编辑工作流程。同时,网络投稿将以更加友好的界面服务于广大作者,方便作者与编审之间的沟通,为您提供易查、易用、更加方便快捷的服务。

敬请作者访问黄海水产研究所网站(<http://www.yfri.ac.cn>)的“《渔业科学进展》期刊网上投稿系统”。投稿程序请参看《渔业科学进展》网络化稿件处理系统投稿指南。

如有疑问,请致电 0532-85833580 陈严老师或 0532-85800117 王建坤老师咨询。也可发邮件到《渔业科学进展》编辑部咨询,E-mail: chenyan@ysfri.ac.cn。

《渔业科学进展》编辑部

2013年6月20日