

裂壶藻对刺参生长、免疫及消化酶的影响

黄亮华^{1,2} 李浩洋³ 李彬² 廖梅杰² 陈骏佳³
班甲³ 荣小军² 李强¹ 王印庚^{2*}

(¹大连海洋大学水产与生命学院,大连 116023)

(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)

(³广东省工业技术研究院生物工程研究所,广州 510316)

摘要 以初始平均体重为(12.5±2.0)g的刺参为研究对象,在室内玻璃钢桶内进行了56d饲养实验。以基础饲料为对照组(A),研究基础饲料中分别添加0.5%(B)、1.25%(C)、2.0%(D)的裂壶藻对刺参生长、免疫及消化酶的影响。结果表明,C组、D组可显著提高刺参的特定生长率(SGR)($P < 0.05$)。C组和D组刺参体腔液碱性磷酸酶(AKP)、酸性磷酸酶(ACP)、溶菌酶(LZM)、超氧化物歧化酶(SOD)、吞噬活性、肠道淀粉酶均显著高于对照组($P < 0.05$)。C组的体腔液呼吸爆发活性和肠道蛋白酶活性显著高于对照组($P < 0.05$)。B组的AKP、LZM、肠道淀粉酶活性均显著高于对照组($P < 0.05$)。饲料中添加裂壶藻各处理组刺参成活率均为100%。实验结果表明,1.25%–2.0%裂壶藻添加量可显著提高刺参的生长速度和免疫酶活性;饲料中添加1.25%裂壶藻能够显著增加刺参肠道的蛋白酶、淀粉酶的消化活性;裂壶藻有作为刺参营养添加剂的应用前景。

关键词 刺参;免疫力;裂壶藻;消化酶

中图分类号 S963.73 文献标志码 A 文章编号 1000-7075(2014)03-0091-07

Effects of dietary *Schizochytrium limacinum* on the growth, immunity and digestion enzyme activity of sea cucumber *Apostichopus japonicus*

HUANG Liang-hua^{1,2} LI Hao-yang³ LI Bin² LIAO Mei-jie²
CHEN Jun-jia³ BAN Jia³ RONG Xiao-jun² LI Qiang¹ WANG Yin-geng^{2*}

(¹ College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian 116023)

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

(³ Bioengineering Institute of Guangdong General Research Institute for Industrial Technology, Guangzhou 510316)

ABSTRACT As an immuno-potentiator *Schizochytrium limacinum* was widely used in aquaculture, however its impact in the farming of sea cucumber *Apostichopus japonicus* Selenka has not been reported. The purpose of this study is to evaluate the effects of dietary *S. limacinum* on the growth, immunity and the digestion enzyme activities of sea cucumber *A. japonicus*, and therefore to determine its optimal portion in the feeding diet. In the 8-week experiment, three groups of sea cucumber (with

科研院所技术开发研究专项(2011EG34219)、国家自然科学基金项目(31202016)和青岛市战略性新兴产业培育计划项目(13-4-1-65-hy)共同资助

* 通讯作者。E-mail: wangyg@ysfri.ac.cn

收稿日期:2013-05-23;接受日期:2013-09-09

作者简介:黄亮华(1989-),男,硕士研究生,主要从事海水健康养殖及疾病防控技术研究。E-mail: 769976569@qq.com, Tel: (0532)85817991

initial average weight of 12.5 ± 2.0 g) were fed with basic diet implemented with different portions of *S. limacinum*: 0.5% (Group B), 1.25% (Group C), and 2.0% (Group D). The control group (A) was fed with the same basal diet only. The results showed that the specific growth rate (SGR) was significantly higher in Group C and D compared to the control group ($P < 0.05$). Compared to the control, Groups C and D also showed significantly higher activities in terms of alkaline phosphatase (AKP), acid phosphatase (ACP), lysozyme (LZM), superoxide dismutase (SOD), phagocytic activity, and intestinal amylase ($P < 0.05$). When fed with 1.25% *S. limacinum* (Group C), the sea cucumber exhibited significantly higher respiratory burst activity in coelomic fluid and higher activity of intestinal protease than the control group ($P < 0.05$). In Group B, the activities of AKP, LZM and intestinal amylase were significantly higher than those of the control group ($P < 0.05$). During the feeding experiment, all the treated sea cucumbers were healthy. Based on the facts above, our conclusions are: (1) Basic diet with the addition of 1.25% *S. limacinum* effectively enhances the growth and the immunity of sea cucumber; (2) Long-term administration of *S. limacinum* should be safe in sea cucumber farming.

KEY WORDS *Apostichopus japonicus*; Immunity; *Schizochytrium limacinum*; Digestive enzymes

刺参 *Apostichopus japonicus* Selenka 是中国名贵的海产品之一,其养殖产业发展迅猛,2011年养殖产量达到 137754 t(农业部渔业局 2012),产值近 300 亿元,是我国海水养殖单品种产值最高的种类之一,在沿海渔业经济中的地位举足轻重。目前刺参饲料已成为限制刺参养殖业持续稳定增长的重要因素之一(郭娜等 2011;姜燕等 2012),国内对刺参饲料的研究主要集中在饲料添加剂和营养配比方面,如维生素 C(Vc)可提高幼参的成活率和生长指标(王吉桥等 2010a);张琴等(2011)在基础饲料中添加 300 mg/kg 的硒酵母投喂刺参,可提高刺参免疫力和抗病力;甘草酸可提高刺参的增重(陈效儒等 2010)。

裂壶藻 *Schizochytrium limacinum* 是属于真菌门 Eumycota、卵菌纲 Oomycetes、水霉目 Saprolegniales、破囊壶菌科 Thraustochytriaceae 的一类海洋真菌(Nakahara *et al.* 1996)。裂壶藻中二十二碳六烯酸(DHA)含量非常高,达到 35%–40%(李美玉等 2012)。在水产上,DHA 是许多鱼类幼体、对虾幼体、双壳类幼虫的必需脂肪酸,关系到幼虫和幼体的生长发育和存活(梁英等 2000)。陈家鑫等(2002)指出,裂壶藻在水产苗种生产中的应用已经引起广泛的关注。裂壶藻粉作为添加剂应用于大黄鱼种苗培育,可提高苗种成活率(陈水荣等 2011);迄今未见裂壶藻作为添加剂用于刺参饲料的相关报道。作者研究了颗粒饲料中添加裂壶藻对刺参生长、免疫及消化酶的影响,探讨了裂壶藻在刺参养殖中的应用价值。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用 950 头刺参于 2012 年 11 月 10 号购于山东省青岛瑞滋海珍品发展有限公司,实验参初始体重为 (12.5 ± 2.0) g。实验前,刺参放于室内玻璃钢桶($D = 80$ cm, $h = 60$ cm)中暂养,充气,水温 (12.0 ± 0.5) °C,以实验用基础饲料饱食投喂 7 d 后,挑选个体大小均匀的健康刺参称重,随机分配到室内 12 只玻璃钢桶中进行养殖实验。实验分 4 组,每组 3 个重复组,每个重复实验组放养 50 头刺参。养殖实验共计 56 d,投饵量为刺参体重的 2%,每天投喂 1 次,投喂时间为 16:00,次日 09:00 吸除残饵和粪便,并补充新鲜海水,饲养期间连续充气,水温 (12.0 ± 0.5) °C,盐度 28–30,pH 7.8–8.2,溶解氧 ≥ 5 mg/L,氨氮 ≤ 0.5 mg/L,亚硝氮 ≤ 0.1 mg/L。

实验基础饲料主要成分为优质藻粉,其营养成分见表 1。分别在每千克基础饲料中添加 0、0.5%、1.25%、

表 1 基础饲料营养成分

Table 1 Nutrients of basic feed

| 成分 | Ingredient | 含量 Content (%) |
|-----|------------------|----------------|
| 粗蛋白 | Crude protein | 16 |
| 粗脂肪 | Crude fat | 1.5 |
| 粗纤维 | Crude fiber | 16 |
| 粗灰分 | Crude ash | 50 |
| 钙 | Ca | 1.5 |
| 食盐 | NaCl | 5.0 |
| 总磷 | Total phosphorus | 0.6 |
| 赖氨酸 | Lys | 0.8 |
| 水分 | Moisture | 12 |

2.0%的裂壶藻,配制出4种实验用颗粒饲料。颗粒饲料制作流程为:饲料原料经粉碎过100目筛(姜燕等2012),各原料按配比定量后混合均匀,然后加入适量的水揉匀,经双螺杆挤条机(华南理工大学研制的F-26-II型)挤压出直径为1.0 mm的饲料后,烘箱内50℃烘干。

1.2 样品采集及分析测定方法

分别于实验开始后0、14、28、42、56 d,每组随机取3头实验参,每头用一次性针管(1 ml)抽取1 ml体腔液至冰浴的离心管中,用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定超氧化物歧化酶(SOD)、碱性磷酸酶(AKP)、酸性磷酸酶(ACP)、溶菌酶(LZM)等免疫指标。吞噬活性测定参考张琴等(2011)的方法,体腔液呼吸爆发活力的测定参考Song等(1994)的方法。同时取对应样品的肠道,液氮速冻处理后,放入-20℃冰箱待测刺参肠道消化酶活性(南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定)。实验结束后,对实验参饥饿24 h,然后对每个实验组进行计数、称重。

1.3 计算公式

特定生长率(Specific Growth Rate, SGR, %/d) = $100\% \times (\ln W_1 - \ln W_0) / t$, 式中, W_0 和 W_1 分别为初始体重和终末体重, t 为试验天数。

1.4 数据统计与分析

数据采用SPSS 19对所得数据进行方差分析,用Tukey法进行多重比较,显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 生长指标

饲料中添加裂壶藻能不同程度地促进刺参的生长,随着饲料中裂壶藻添加量的升高,刺参的SGR有上升的趋势,C组、D组刺参的SGR显著高于对照A组($P < 0.05$),B组与对照A组之间无显著性差异($P > 0.05$);实验组之间,B组显著低于D组($P < 0.05$),但B组和C组、C组和D组无显著性差异($P > 0.05$)(表2)。饲料中添加裂壶藻的各处理组,刺参成活率均为100%,未见对刺参产生不良影响。

表2 饲料中添加裂壶藻对刺参的成活率及特定生长率的影响(平均值±标准误, $n = 3$)

Table 2 Effects of dietary *S. limacinum* on the survival rate and specific growth rate of *A. japonicus* (Mean ± S. D., $n = 3$)

| 饲料组 Dietary treatments | 个数 Number | 成活率 Survival rate (%) | 初始重 Initial body weight (g) | 末体重 Final body weight (g) | SGR (%/d) |
|---------------------------|--------------|--------------------------|--------------------------------|------------------------------|----------------------------|
| A(0.00%) | 150 | 100 ± 0.00 | 12.40 ± 0.31 | 24.98 ± 0.27 ^a | 1.24 ± 0.017 ^a |
| B(0.50%) | 150 | 100 ± 0.00 | 12.50 ± 0.43 | 26.20 ± 0.36 ^b | 1.32 ± 0.018 ^{ab} |
| C(1.25%) | 150 | 100 ± 0.00 | 12.50 ± 0.25 | 27.10 ± 0.37 ^c | 1.37 ± 0.032 ^{bc} |
| D(2.00%) | 150 | 100 ± 0.00 | 12.50 ± 0.36 | 27.80 ± 0.43 ^c | 1.42 ± 0.098 ^c |

注:同一列数据右上角不同字母代表有显著差异($P < 0.05$);下同

Note: Values in the same column without a common superscript are significantly different ($P < 0.05$); The same as follows

2.2 饲料中添加裂壶藻对刺参免疫指标的影响

2.2.1 饲料中添加裂壶藻对刺参体腔液中SOD活性的影响

由图1可看出,实验组刺参体腔液中SOD的活性均高于对照组,随着饲料中裂壶藻添加量的升高,刺参SOD活性有上升的趋势。第14天和第28天,D组SOD活性显著高于A组($P < 0.05$),B组、C组较A组无显著性差异;实验组之间无显著性差异。第42天和第56天,C组、D组SOD活性显著高于对照A组($P < 0.05$),B组较A组无显著性差异;实验组之间无显著性差异,其中D组SOD活性达到最高,为28.79 U/ml。

2.2.2 饲料中添加裂壶藻对刺参体腔液中 ACP 活性的影响

实验期间,实验组刺参体腔液中 ACP 的活性均高于对照组,随着饲料中裂壶藻添加量的升高,刺参 ACP 活性有上升趋势。由图 2 可看出,实验开始后 14 d,实验组中 ACP 活性较对照组有上升趋势,但差异不显著。投喂 28 d 和 42 d,D 组显著高于 A 组、B 组、C 组($P < 0.05$)。投喂 56 d 后,D 组和 C 组显著高于 A 组、B 组($P < 0.05$);但 B 组与 A 组无显著性差异,C 组和 D 组差异不显著,其中 D 组为最高值,达到 46.99 U/100ml。

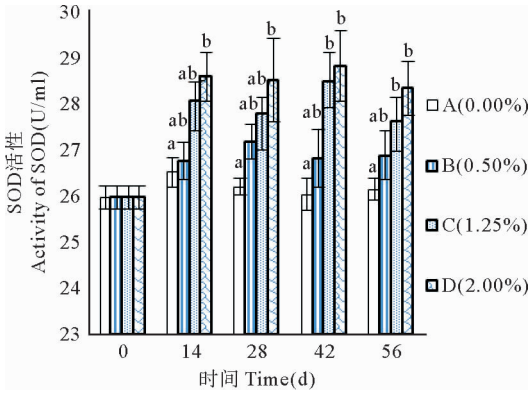


图1 饲料中添加裂壶藻对刺参体腔液中 SOD 的影响(平均值 ± 标准误, $n = 3$)

Fig. 1 Effects of dietary *S. limacinum* on the SOD of *A. japonicus* (Mean ± SD, $n = 3$)

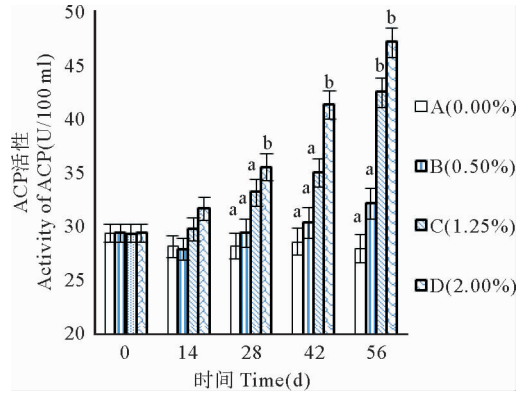


图2 饲料中添加裂壶藻对刺参体腔液中 ACP 的影响(平均值 ± 标准误, $n = 3$)

Fig. 2 Effects of dietary *S. limacinum* on the ACP of *A. japonicus* (Mean ± SD, $n = 3$)

2.2.3 饲料中添加裂壶藻对刺参体腔液中 AKP 活性的影响

试验期间,实验组刺参体腔液中 AKP 的活性均高于对照组,随着饲料中裂壶藻添加量的升高,刺参 AKP 活性有上升趋势。由图 3 可看出,实验开始后 14 d,C 组和 D 组的 AKP 活性显著高于 A 组($P < 0.05$);D 组显著高于 B 组($P < 0.05$)。第 28 天后,C 组和 D 组 AKP 活性显著高于 A 组($P < 0.05$);实验组之间,B 组显著低于 C 组和 D 组($P < 0.05$)。第 42 天和第 56 天,B 组、C 组、D 组显著高于对照 A 组($P < 0.05$);实验组之间,AKP 活性 B 组显著低于 D 组($P < 0.05$),其中 D 组 AKP 活性达到最高,为 1.31 金氏单位/100 ml。

2.2.4 饲料中添加裂壶藻对刺参体腔液中 LZM 活性的影响

实验期间,实验组刺参体腔液中 LZM 的活性均高于对照组。由图 4 可看出,实验开始后 14 d,B 组和 C 组 LZM 活性显著高于 A 组和 D 组($P < 0.05$),D 组高于 A 组,但无显著性差异。投喂 28 d,B 组、C 组显著高于 A

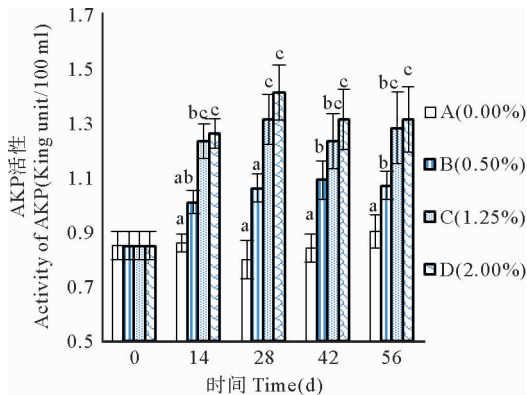


图3 饲料中添加裂壶藻对刺参体腔液中 AKP 的影响(平均值 ± 标准误, $n = 3$)

Fig. 3 Effects of dietary *S. limacinum* on the AKP of *A. japonicus* (Mean ± SD, $n = 3$)

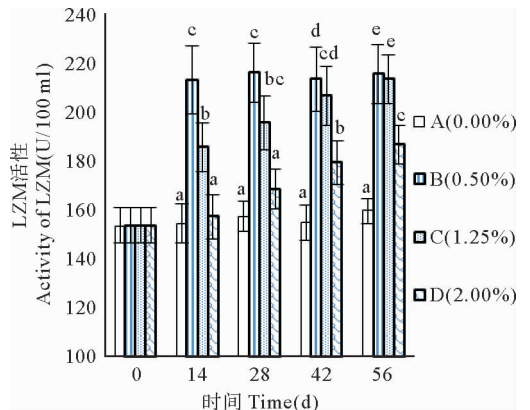


图4 饲料中添加裂壶藻对刺参体腔液中 LZM 的影响(平均值 ± 标准误, $n = 3$)

Fig. 4 Effects of dietary *S. limacinum* on the LZM of *A. japonicus* (Mean ± SD, $n = 3$)

组($P < 0.05$),D组高于A组,但无显著性差异;实验组之间,B组和C组显著高于D组($P < 0.05$)。投喂42 d,B组、C组、D组显著高于A组($P < 0.05$);实验组之间,B组和C组显著高于D组($P < 0.05$)。投喂56 d,实验组LZM活性均显著高于对照A组($P < 0.05$);实验组之间,B组和C组均显著高于D组($P < 0.05$),B组和C组无显著性差异,其中B组LZM活性最高,为215.21 U/ml。

2.2.5 饲料中添加裂壶藻对刺参体腔液中吞噬活性的影响

由图5可看出,第14、28、42天,B组、C组、D组的吞噬活性显著高于对照A组($P < 0.05$);实验组之间,B组显著低于C组、D组($P < 0.05$)。第56天,B组、C组、D组的吞噬活性显著高于对照A组;实验组之间,C组、D组的吞噬活性显著高于B组($P < 0.05$),但C组和D组吞噬活性无显著性差异,其中D组的体腔液吞噬活性达到最高,为1.06。

2.2.6 饲料中添加裂壶藻对刺参体腔液中呼吸爆发活力的影响

由图6可以看出,研究期间,实验组刺参体腔液呼吸爆发活力(RB)整体高于对照A组,随着添加量的增加有上升趋势,其中,第56天C组显著高于对照A组($P < 0.05$),且达到最大吸光值,为0.21;实验组之间,差异不显著。

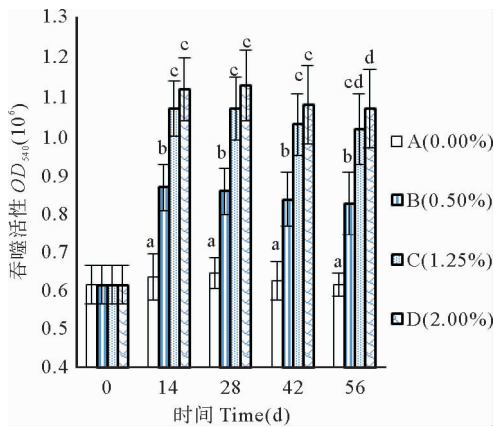


图5 饲料中添加裂壶藻对刺参体腔液中吞噬活性的影响(平均值±标准误,n=3)

Fig.5 Effects of dietary *S. limacinum* on the phagocytosis activity of *A. japonicus*(Mean ± SD, n = 3)

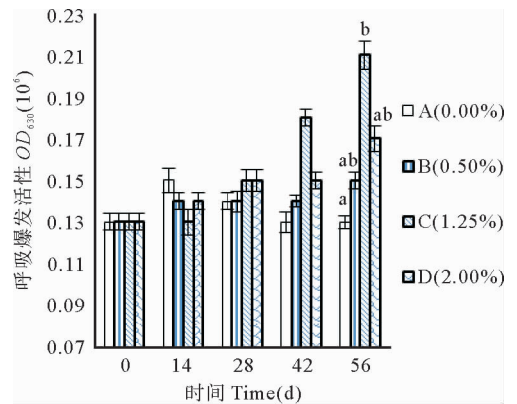


图6 饲料中添加裂壶藻对刺参体腔液中呼吸爆发活力的影响(平均值±标准误,n=3)

Fig.6 Effects of dietary *S. limacinum* on the respiratory burst activity of *A. japonicus*(Mean ± SD, n = 3)

2.3 饲料中添加裂壶藻对刺参肠道消化酶的影响

2.3.1 饲料中添加裂壶藻对刺参肠道蛋白酶的影响

前42 d采样分析结果表明,实验组蛋白酶活性总体高于对照组,但差异不显著(图7)。第56天,C组的蛋白酶活性显著高于对照组($P < 0.05$),达到试验期间的最高值,为128.21 U/ml。

2.3.2 饲料中添加裂壶藻对刺参肠道淀粉酶的影响

试验期间,实验组刺参肠道中淀粉酶活性均高于对照组,随着饲料中裂壶藻添加量的增加,淀粉酶活性呈上升趋势。由图8可看出,实验开始后14 d,实验组淀粉酶活性均显著高于对照A组($P < 0.05$);实验组之间,B组显著低于C组和D组($P < 0.05$),但C组和D组无显著性差异。第28、42、56天,实验组均显著高于A组($P < 0.05$),但实验组之间均无显著性差异,其中D组的淀粉酶活性达到最高,为369.09 U/ml。

3 讨论

3.1 裂壶藻对刺参生长的影响

裂壶藻菌体中含有的大量不饱和脂肪酸是水生生物生长所必需的,只能从食物中获得(李美玉等

2012)。本研究表明,饲料中添加裂壶藻能提高刺参的生长性能,随着添加量的提高,刺参的生长速度也随着增加。添加2%裂壶藻组刺参的SGR大于1.25%组,显著高于0.5%组和对照组。王桂芹等(2010)在基础饲料中添加0.5%、1.5%的DHA投喂鲤鱼,用正常基础饲料作对比,鲤鱼的SGR显著高于对照组;冯伟(2011)用1%的裂壶藻投喂对虾,用正常商品饲料作对照,对虾生长率、成活率有显著性差异。

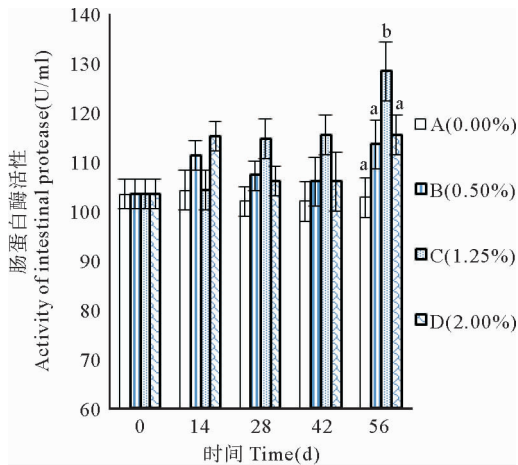


图7 饲料中添加裂壶藻对刺参肠蛋白酶的影响(平均值±标准误, $n=3$)

Fig. 7 Effects of dietary *S. limacinum* on the intestinal protease of *A. japonicus* (Mean ± SD, $n=3$)

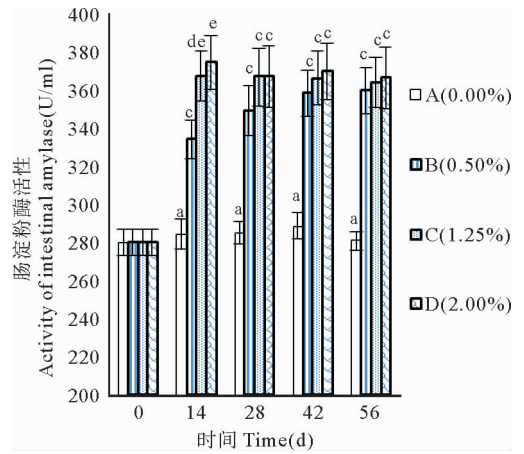


图8 饲料中添加裂壶藻对刺参肠淀粉酶的影响(平均值±标准误, $n=3$)

Fig. 8 Effects of dietary *S. limacinum* on the intestinal amylase of *A. japonicus* (Mean ± SD, $n=3$)

3.2 裂壶藻对刺参免疫力的影响

与其他无脊椎动物一样,刺参的特异性免疫还很

不完善,其免疫防御主要以非特异性免疫为主,而非特异性免疫又分为细胞免疫和体液免疫,由于刺参缺少特异性免疫组织和器官,因此体腔液中的体腔细胞担负着细胞免疫和体液免疫作用(Eliseikina *et al.* 2002)。在体腔细胞中,LZM、AKP、ACP及SOD都发挥着重要的生理作用(白燕等 2012)。吞噬细胞受到外源微生物刺激或进行吞噬作用后,会产生呼吸爆发现象,其结果是产生大量的 O_2^- 、 OH^- 和 H_2O_2 等具有杀菌作用的活性氧自由基(Bellavite *et al.* 1996)。吞噬细胞完成对外来异物的吞噬后,会产生溶酶体酶裂解消化被吞噬的物质。ACP、AKP和LZM都是溶酶体酶的重要组成部分,其中ACP是溶酶体的标志酶。ACP和AKP在体内直接参与磷酸基团的转移和代谢(Zhang *et al.* 2000),LZM是吞噬细胞杀菌的物质基础,通过水解革兰氏阳性细菌细胞壁中粘肽的乙酰氨基多糖,破坏和消除侵入体内的细菌,达到机体防御的功能(陈竞春等 1996)。

本研究中,1.25%和2.0%的裂壶藻添加量可显著提高刺参体腔液中SOD、ACP、AKP、LZM、RB的活性($P < 0.05$)。随着添加量的增加,这些酶的活性都呈现上升趋势,说明刺参饲料中添加裂壶藻与刺参免疫力间存在正相关关系。其中LZM活性呈现倒“V”型增长,可能是由于添加量大于刺参的需求量而呈现一定的拮抗作用。冯伟等(2011)研究表明,饲料中添加裂壶藻可显著提高对虾组织中SOD、LZM、MDA等免疫指标($P < 0.05$);王桂芹等(2010)在基础饲料中添加0.5%、1.5%的DHA投喂鲤鱼,鲤鱼的攻毒存活率逐渐提高,添加量为1.5%时,攻毒存活率显著高于空白组($P < 0.05$);吉红等(2009)研究表明,在基础饲料中添加DHA投喂鲤鱼,测定鲤鱼肝细胞免疫指标,SOD、CAT、MDA等都显著高于空白对照($P < 0.05$)。这些结论证实,裂壶藻作为一种天然海洋真菌,对水生生物机体具有明显的免疫刺激作用。

3.3 裂壶藻对刺参消化酶的影响

刺参肠道消化酶受很多因素影响,饲料成分是一种重要的影响因素(白燕等 2012)。不同饲料成分可以

在一定程度下改变刺参肠道消化酶组成比例。消化酶活性是反映刺参消化生理机能的一项重要指标,消化酶活性高低决定着刺参对营养物质的消化吸收能力,因而对其生长速度有决定性的影响(Kennedy *et al.* 2007; Wever *et al.* 2001; 姚雪梅等 2006),这与本研究中刺参的生长指标相同。王吉桥等(2010b)用陆生植物淀粉替代鼠尾藻粉投喂幼参的研究表明,陆生植物淀粉取代鼠尾藻粉的饲料可显著提高刺参的消化酶活性。本研究结果表明,摄食以优质藻类为基础的饲料,各组蛋白酶活性无显著性差异,而藻类中所含淀粉、多糖较多,从而实验组淀粉酶活性显著高于对照组。这可能是添加的裂壶藻和藻类淀粉、多糖等物质的协同作用提高了刺参肠道淀粉酶的活性,从而提高对淀粉的消化吸收,故实验组刺参的生长较对照组有显著性差异。

本研究初步探索了裂壶藻对刺参生长、免疫及消化酶的影响,为其在刺参饲料营养添加剂中的应用提供了研究基础。由于缺乏刺参生长和免疫分子机理的深入研究,裂壶藻在刺参机体内的代谢过程和对刺参免疫调节的分子机制尚不明确。今后应加强从基因水平探究影响刺参生长和免疫的机理,为刺参饲料营养添加剂的研发提供技术支撑。

参 考 文 献

- 王吉桥,苏久旺,张坤,姜玉声,张剑诚,梁志军. 2010a. 维生素 C 剂型和剂量对仿刺参幼参免疫的影响. 水产科学, 29(7):381-386
- 王吉桥,于红艳,姜玉声,张剑诚. 2010b. 饲料中用陆生植物淀粉替代鼠尾藻粉对仿刺参幼参生长和消化的影响. 大连海洋大学学报, 25(6):535-541
- 王桂芹,牛小天,闫先春,郭贵良,孙丽,李子平,芦洪梅,朱兴华,李清华. 2010. 饲料中添加维生素 E 和二十二碳六烯酸对鲤鱼生长和抗病力的影响. 上海交通大学学报(农业科学版), 28(2):125-128
- 冯伟. 2011. 维生素 C、E 和裂壶藻对中国对虾特异性免疫功能影响的研究. 见:上海海洋大学硕士学位论文
- 白燕,王维新,迟进坤. 2012. 黄粉虫粉对幼刺参生长消化和免疫力的影响. 饲料研究, (11):59-62
- 吉红,周继术,曹福余,何小燕,曹艳姿,王建华. 2009. DHA 对鲤抗氧化能力影响的初步研究. 上海海洋大学学报, 18(2):142-149
- 李美玉,李健,陈萍,王琦. 2012. 维生素 E 和裂壶藻对中国对虾生长及 TLR/NF- κ B 表达水平的影响. 中国渔业质量与标准, 2(2):37-44
- 张琴,麦康森,张文兵,马洪明,艾庆辉,徐玮,刘付志国. 2011. 饲料中添加硒酵母和维生素 E 对刺参生长、免疫力及抗病力的影响. 动物营养学报, 23(10):1745-1755
- 陈家鑫. 2002. 裂壶藻及其产品在水产苗种培育中的应用. 科学养鱼, (6):53
- 陈水荣,钟慧昌,陈礼毅. 2011. 裂壶藻粉添加剂及应用于种苗培育、水产养殖、畜禽养殖. 中国专利, 201110048660.3, 08.24
- 陈效儒,张文兵,麦康森,谭北平,艾庆辉,徐玮,马洪明,王小洁,刘付志国. 2010. 饲料中添加甘草酸对刺参生长、免疫及抗病力的影响. 水生生物学报, 34(4):731-738
- 陈竞春,石安静. 1996. 贝类免疫生物学研究概况. 水生生物学报, 20(1):74-78
- 姜燕,王印庚,薛太山,邹安革,廖梅杰,张正,朱建新,陈贵平,麦康森,张文兵. 2012. 刺参池塘养殖系统中发酵饲料的制作与投喂. 渔业科学进展, 33(1):66-71
- 郭娜,董双林,刘慧. 2011. 几种饲料原料对刺参幼参生长和体成分的影响. 渔业科学进展, 32(1):122-128
- 姚雪梅,王璐,贝荣丙,邢少雷. 2006. 不同 pH 对糙海参消化酶活性的影响. 海南大学学报(自然科学版), 24(4):389-394
- 梁英,麦康森. 2000. 微藻 EPA 和 DHA 的研究现状及前景. 水产学报, 24(3):289-296
- Bellavite P. 1998. The superoxide forming enzymatic system of phagocytes. Free Radic Biol Med 4:225
- Eliseikina MG, Magarlamov TY. 2002. Coelomocytomorphology in the Holothurians *Apostichopus japonicus* (Aspidochirota; Stichopodidae) and *Cucumaria japonica* (Dendrochirota; Cucumariidae). J Mar Biol 28(3):197-202
- Kennedy EJ, Robinsion SMC, Jay PG and 1 other. 2007. Effect of lipid source and concentration on somatic growth of juvenile green sea urchins, *Strongylocentrotus droebachiensis*. J World Aquacult Soc 38(3):335-352
- Nakahara T, Yokochi T. 1996. Production of docosahexaenoic and docosapentaenoic acids by *Schizochytrium* sp. isolated from Yap Islands. J Am Oil Chem Soc 73(11):1421-1426
- Song YL, Hsieh YT. 1994. Immunostimulation of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) hemocytes for generation of microbicidal substances: analysis of reactive oxygen species. Dev Comp Immunol 18(3):201-209
- Wever LA, Lysyk TJ, Clapperton MJ. 2001. The influence of soil moisture and temperature on the survival, aestivation, growth and development of juvenile *Aporrectodea tuberculata* (Eisen) (Lumbricidae). Pedobiologia 45(2):121-133
- Zhang RQ, Chen QX, Zheng WZ and 3 others. 2000. Inhibition kinetics of green crab (*Scylla serrata*) alkaline phosphatase activity by dithiothreitol 2-mercaptoethanol. Int J Biochem Cell Biol 32(8):865-872