

文章编号:1000-0615(2007)06-0771-07

蝇蛆粉和 β -葡聚糖对凡纳滨对虾生长和免疫的影响

陈乃松, 魏涛涛, 廖奕招

(上海水产大学省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 200090)

摘要:设计了5种等氮、等能的实验饲料(D1~D5)以评定添加蝇蛆粉和 β -葡聚糖对凡纳滨对虾生长和免疫力的影响。以实用饲料D1作为对照组,D2和D3是在D1的基础上,分别以5%和3%的蝇蛆粉替代鱼粉,D4和D5是在D1的基础上,分别以0.5%和1%的 β -葡聚糖产品(含 β -1,3-葡聚糖25%)替代面粉。用上述5种饲料进行了一个为期8周的养殖试验。每种饲料处理设置3个重复,每个重复放养了体长为1.5 cm的幼虾60尾。每个重复被置于一个大小为33 cm×80 cm×100 cm的网箱中养殖,网箱被放置于一个12 m³水体的室内循环水池中随机编组。试验期间每天投喂饲料4次,为表观饱食投喂。养殖试验结束后,计算成活率、增重和饲料系数,分别从每箱中抽取部分虾的血液进行血清中非特异性免疫指标和生化成分指标的分析,还分别从每箱中抽取部分虾以溶藻弧菌作攻毒试验。饲养试验的结果显示,各处理间的成活率、增重和饲料系数的差异不显著($P>0.05$)。各处理间的血清酚氧化酶存在显著性差异($P<0.05$),但不具有规律性。各处理间的血清超氧化物歧化酶活性的差异不显著($P>0.05$)。D1组虾的血清溶菌酶活力显著地高于其它各组($P<0.05$)。D1组虾血清的谷丙转氨酶和乳酸脱氢酶指标显著地高于其它各组($P<0.05$)。D1组在攻毒后的前2 d的累计死亡率极显著地高于其它各组($P<0.01$)。4 d后各组的死亡率均趋于稳定。D1组的最终死亡率(53.3%)显著高于D2组的最终死亡率(33.3%)和D5组的最终死亡率(37.8%)($P<0.05$)。结果表明,在凡纳滨对虾的饲料中添加蝇蛆粉和 β -葡聚糖能在一定程度上提高凡纳滨对虾抵抗弧菌的能力,但对生长和饲料效率没有正面影响。

关键词:凡纳滨对虾;蝇蛆粉; β -葡聚糖;生长;免疫力

中图分类号:S 963

文献标识码:A

Effects of housefly larva meal and β -glucan on growth and immunity of *Litopenaeus vannamei*

CHEN Nai-song, WEI Tao-tao, LIAO Yi-zhao

(Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Shanghai Fisheries University, Ministry of Education, Shanghai 200090, China)

Abstract: A 8-week feeding experiment was conducted to evaluate effects of dietary supplementation of housefly larva meal and β -glucan on growth and immunity of *Litopenaeus vannamei*. Five isonitrogenous and isoenergetic diets (D1–D5) were formulated. D1, a practical diet, was served as a control. D2 and D3 were formulated respectively replacing 5% and 3% fish meal with housefly larva meal. D4 and D5 were

收稿日期:2006-10-23

资助项目:上海市教委项目(沪水大编号:科05-227);横向合作项目(沪水大编号:技02-36)

作者简介:陈乃松(1961-),男,江苏滨海人,在读博士,副教授,从事水产动物营养与饲料科学研究。E-mail: nschen@shfu.edu.cn

formulated respectively replacing 0.5% and 1% wheat flour with β -glucan preparation containing 25% β -1, 3-glucan. Each diet was randomly assigned to 3 replicate cages (33 cm \times 80 cm \times 100 cm), which were set up in a 12 m³ indoor tank with a recirculation system. 60 juvenile shrimp (mean body length 1.5 cm) were stocked in each cage. The shrimp were fed to apparent satiation four times daily. At the end of the feeding experiment, body weights, survivals and feed conversion ratios were calculated, and blood samples from each group were collected to determine serum non-specific immunological parameters and biochemical parameters. At the same time, a challenge test was conducted among some of the shrimp from each treatment by abdominal injection of *Vibrio alginolyticus*. The results of the feeding experiment showed that there were no significant differences in the body weight, survival rate and feed conversion ratio (FCR) between the treatments ($P > 0.05$). The examination of some non-specific immunological activities in serum revealed that there were significant differences ($P < 0.05$) in phenoloxidas (PO) activity while there was no rule to be found, and there were no significant differences ($P > 0.05$) in total superoxide dismutase (SOD) activity, and that D1 led to a significantly higher lysozyme activity than the other treatments ($P < 0.05$). The serum biochemical indexes indicated that the values of glutamate-pyruvate transaminase (GPT) and lactate dehydrogenase with D1 treatment were significantly higher than those of the others ($P < 0.05$). The challenge test showed that the first two-day accumulative mortality with D1 treatment was much significantly higher than those with the others ($P < 0.01$), and then the mortalities tended to be stable after the fourth day. The final accumulative challenge mortality (53.3%) of D1 treatment was significantly higher than that (33.3%) of D2 treatment and that (37.8%) of D5 treatment ($P < 0.05$). This study suggested that dietary supplements of housefly larva meal and β -glucan enhanced disease resistance of *Litopenaeus vannamei* to vibrio to some extent, but did not exert positive effects on the growth and feed conversion.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; housefly larva meal; β -glucan; growth; immunity

由于养殖生态失衡和种质退化等原因,全球对虾养殖业中的疾病呈多发性或爆发性流行,给养虾业造成了巨大损失。有人把虾病防治的希望寄托于抗菌素和化学合成的消毒剂的使用上,其结果不但于事无补,反而造成抗药性菌株的产生、产品的药物残留等更多的问题。近年来对甲壳类的免疫学和疾病学的研究发现,当环境因素如温度、盐度、溶解氧、代谢产物等超出对虾的最适范围时,对虾的免疫力被削弱,疾病的发生也就难免^[1-4]。因此,改善养殖环境、同时通过免疫调节以增强对虾的抗病力一直是学者们探究的防治手段。

研究表明,存在于细菌或真菌中的成分物质脂多糖和 β -葡聚糖不仅能直接活化虾类防御性细胞的吞噬、黑化、包裹和凝集功能,血浆识别蛋白还能放大这些作用。而且脂多糖和凝集素的结合以及 β -葡聚糖和蛋白质的结合(形成 BGBP)是产生细胞放大免疫反应的原因。这种现象类似于脊椎动物免疫过程中的抗体继发性活动^[5]。

到目前为止,国内外已有许多关于多糖类制剂用于提高虾类免疫力的研究报导,但研究结果与生产中应用的效果并非完全一致^[6-7]。

蝇蛆不仅含有丰富的蛋白质等营养物质,而且还含有抗菌肽、几丁质等具有调节免疫功能的生理活性物质^[8-9]。但关于蝇蛆作为对虾免疫刺激物的研究在国内外尚很少见到报道。本研究是在生产实践中经证实具有优良饲料效率的饲料配方为对照组,添加 β -葡聚糖和蝇蛆粉分别作实验组,通过平行性对比试验,以考察在饲料营养全面的情况下上述两种物质对凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 免疫刺激的效果,为在生产中使用这两种物质作为对虾免疫增强剂的可行性提供依据。

1 材料和方法

1.1 凡纳滨对虾虾苗

从广东湛江采购,体长为 0.8 cm 左右。该虾苗暂养到 1.5 cm 的幼虾后,挑选大小均匀的作分

组实验用。

1.2 蝇蛆粉

上海五谷生物工程有限公司提供,为人工饲养的鲜活蝇蛆经加工后的产品。

1.3 β -葡聚糖产品

广州市信豚水产技术有限公司提供,为啤酒酵母细胞壁的提取物,含 25% β -1,3-葡聚糖。

1.4 溶藻胶弧菌 (*Vibrio alginolyticus*)

由上海水产大学水产动物病原库提供,于 4℃ 冰箱中暂存备用。使用前进行 4 次传代活化培养。每次在恒温培养箱中 28℃ 培养 24 h。培养基为培养弧菌的通用配方。

1.5 超氧化物歧化酶试剂盒、溶壁微球菌 (*Micrococcus lysolei*) 冻干粉

从南京建成生物工程研究所购置。

1.6 L-dopa (3,4-二羟苯丙氨酸)

美国 Sigma 公司产品,从上海生化试剂商店购买。

1.7 制作实验饲料的大宗原料

由浙江科盛饲料有限公司提供。各种原料的质量均为上等。

1.8 实验饲料的配方与成分

实验所用饲料被设计成 5 个处理。其中 D1 处理作为对照组饲料。它的配方组成来源于生产中的实用性配方,包括 35% 鱼粉,25% 面粉,20% 脱皮豆粕,5% 乌贼肝粉,3% 啤酒酵母,2% 大豆磷脂,2% 谷朊粉,1.5% 鱼油,2.4% 复合维生素,3.7% 复合多矿,0.2% 胆固醇,0.2% 甜菜碱。它的粗蛋白质和粗脂肪含量经测定为 40.25% 和 7.56%。另外 4 个处理作为实验组饲料。其中 D2 和 D3 处理分别用 5% 和 3% 的蝇蛆粉替代鱼粉;其余的 D4 和 D5 处理分别用 0.5% 和 1.0% 的 β -葡聚糖产品替代面粉。以上设计的 5 个处理的饲料基本保持等氮、等能的水平。

1.9 实验饲料的制作

所有饲料原料都经超微粉碎,并经 80 目过筛。配料后混合均匀,加水适量再混匀,用电动绞肉机挤压成直径 1.5 cm 的细长条,60℃ 下烘干。烘干后的饲料进行破碎,饲料经筛理分成 60~40 目、40~20 目以及圆柱形颗粒 3 种规格,满足实验期间对虾前、中、后不同阶段对饲料颗粒大小的不同需要。

1.10 对虾养殖试验

对虾养殖试验在上海水产大学生态实验室中直径为 4 m、深为 1.5 m 的水池中进行。养殖实验按 5 个饲料处理,每一处理设置 3 个重复进行分组设计,共有 15 个样本。每样本大小为 60 尾。各样本虾苗分别放养于 1 个体积为 33 cm × 80 cm × 100 cm 的网箱中,分布于水池中的网箱被随机编组。养殖用水的盐度为 1~2;水温为自然温度,变动范围为 23~28℃;pH 为 7.8~8.2;水体昼夜连续充气。试验期间每天投喂饲料 4 次;在每个网箱中放有一个白色塑料盘作为饲料台,以观察对虾吃食情况而调节饲料的投喂量。养殖试验共经历 8 周。试验结束后对每组虾进行逐一称重和计数。

1.11 对虾血清的采取

养殖试验后,分别从每一样本中取出 25 尾虾作采血用。用 1 mL 无菌注射器插入虾的围心腔抽取血液后,并入无菌指形离心管中,4℃ 冰箱保存,待血液凝固后,于冷冻离心机 4℃ 下 5 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,移取上清液即得血清,-20℃ 保存备用。

1.12 血清酚氧化酶 (phenoloxidase, PO) 活力的测定

以 L-dopa 为底物,参照 Ashida 等^[10]的方法进行操作。将浓度为 0.1 mol·L⁻¹、pH 为 6.0 的磷酸钾盐缓冲液 3 mL 与 0.01 mol·L⁻¹ 的 L-dopa 100 μ L 混匀,再加入 100 μ L 待测血清,于室温下混匀,每间隔 2 min 读取在 490 nm 波长下的光密度值。以 OD₄₉₀ 对反应时间 (min) 作图,以实验条件下每分钟 OD₄₉₀ 增加 0.001 定义为 1 个酶活力单位。为消除血清中血蓝素的干扰,用空白血清为对照,以校正样液的光密度值。为简单起见,本实验采用控制相同测定条件的办法,直接用活力单位表示酶活力。

1.13 血清超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 测定

采用南京建成生物工程研究所提供的超氧化物歧化酶测试盒及其操作方法,即采用黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 的活力。本实验所测值为总 SOD (T-SOD)。

1.14 血清溶菌酶活力的测定

以溶壁微球菌 (*M. lysolei*) 冻干粉为底物,

按改进的 Hultmark^[11] 方法进行。用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 为 6.4 的磷酸钾盐缓冲液配成底物悬液 ($\text{OD}_{570} \approx 0.3$)。取 3 mL 该悬液于试管内, 置冰浴中, 再加入 50 μL 血清混匀, 于 570 nm 处测其初始光密度值 A_0 值。然后将试液移入 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中保温 30 min, 取出后立刻置之冰浴中 10 min 以终止反应, 测其 A 值。溶菌活力(L)按下式计算:

$$L = \frac{A_0 - A}{A}$$

1.15 攻毒试验

为了检测各处理虾的抗病力, 在养殖试验结束后从各重复中挑选出大小基本一致的 15 尾虾作攻毒试验用。攻毒用溶藻胶弧菌事先经 4 次传代培养以恢复毒力。菌体经生理盐水溶解并充分混合, 制成悬浊液后用 1 mL 卡介苗注射器从虾的腹部以 30 $^{\circ}$ 的倾斜度缓慢注射。预备试验得出以 10^8 mL^{-1} 的菌液浓度, 剂量为每尾 50 μL 的攻毒方式较为合适。正式攻毒试验按以上浓度和剂量进行, 攻毒后的虾养殖于 60 L 体积的塑料桶中, 24 h 连续充气, 每天投料两次并观察死亡情况, 整个观察期为 7 d, 期间记录不同时间内的死亡数。

1.16 血清生化成分分析

委托上海市杨浦区中心医院生化检验室进行。

1.17 实验数据的处理

对实验所获得的数据作单因素的方差分析, 用 Duncan 氏法作多重比较^[12]。

2 结果

2.1 终重、成活率和饲料系数 (FCR)

虾苗经 8 周的养殖试验, 取得的终重、成活率和饲料系数如表 1。各组间的终重、成活率和饲料系数的差异均不显著 ($P > 0.05$)。这说明无论是在饲料中添加蝇蛆或是 β -葡聚糖对上述指标均未产生显著影响。

2.2 血清免疫指标 PO、SOD 和溶菌酶比活力

各组血清免疫酶 PO、SOD 和溶菌酶活力的测定结果见表 2。D1、D2 组和 D4 的 PO 活力显著地高于 D3 ($P < 0.05$); D5 组的 PO 活性低于 D1、D2 和 D4, 高于 D3, 但差异均不显著 ($P > 0.05$); 本实验中各处理间 PO 活力无规律性可循。各处理间 SOD 活力均无显著差异 ($P > 0.05$)。对照组 D1 的溶菌酶比活力显著高于其它试验组 ($P < 0.05$)。

表 1 各组的终重、成活率和饲料系数

Tab.1 Final body weight, survival rate and FCR of each group

项目 items	D1	D2	D3	D4	D5
终重(g) final body weight	1.54 \pm 0.68	1.47 \pm 0.64	1.54 \pm 0.64	1.48 \pm 0.75	1.52 \pm 0.73
成活率(%) survival rate	94.4 \pm 1.5	94.4 \pm 1.3	98.3 \pm 1.2	94.4 \pm 1.7	93.9 \pm 2.1
饲料系数 FCR	1.33 \pm 0.08	1.36 \pm 0.03	1.33 \pm 0.03	1.35 \pm 0.08	1.35 \pm 0.01

注: 同行数值差异不显著 ($P > 0.05$)

Notes: Values in the same row are not significantly different ($P > 0.05$)

表 2 各组的血清免疫指标 PO、SOD 和溶菌酶比活力

Tab.2 PO, SOD and relative lysozyme activities in the serum of each group

项目 items	D1	D2	D3	D4	D5
PO(活力单位) PO(activity units)	2.85 \pm 0.32 ^a	2.65 \pm 0.28 ^a	1.55 \pm 0.13 ^b	2.70 \pm 0.25 ^a	2.20 \pm 0.19 ^{ab}
SOD(NU \cdot mL ⁻¹)	106.8 \pm 2.0	111.2 \pm 0.4	109.3 \pm 0.9	106.8 \pm 3.3	109.5 \pm 0.3
溶菌酶比活力 relative lysozyme activity	0.123 \pm 0.016 ^a	0.087 \pm 0.013 ^b	0.091 \pm 0.015 ^b	0.083 \pm 0.017 ^b	0.095 \pm 0.011 ^b

注: 同行数值含有相同上标字母表示差异不显著 ($P > 0.05$), 不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

Notes: Values in the same row with a common superscript letter are not significantly different ($P > 0.05$). Values in the same row without a common superscript letter are significantly different ($P < 0.05$)

2.3 攻毒试验结果

对照组 D1 在攻毒后前 2 d 的累计死亡率极

显著地高于其它试验组 ($P < 0.01$)。4 d 后各组的死亡率均趋于稳定。最终, 对照组 D1 的死亡

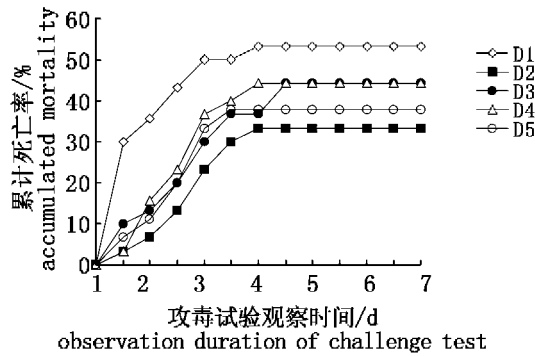


图1 攻毒试验结果

Fig.1 Results of challenge test

率($53.3\% \pm 5.6\%$)显著高于 D2 的死亡率($33.3\% \pm 4.7\%$)和 D5 组的死亡率($37.8\% \pm 5.3\%$) ($P < 0.05$); D3 组和 D4 组的最终死亡率分别为

($44.4\% \pm 6.5\%$)和($44.4\% \pm 5.3\%$),比 D1 低, 而比 D2 和 D5 组高,但差异不显著($P > 0.05$) (图 1)。这说明在凡纳滨对虾饲料中添加蝇蛆粉和 β -葡聚糖均有提高凡纳滨对虾抵抗弧菌的能力,但添加水平对于抗病力的影响也是相当重要。另外,添加 5% 的蝇蛆粉组优于添加 1% 的 β -葡聚糖组。

2.4 血清生化分析的结果

数据来自于每一处理组血清的测定值(表 3)。D1 组的血清谷丙转氨酶和乳酸脱氢酶两项指标较其它各组高($P < 0.05$)。但这些参数的正常值尚未见报导,因而不能就此得出一个明确的结论。另外,可以从这些数据中还能看出,虾类的血清生化组成有其自身的特点。

表 3 血清生化分析结果

Tab.3 Biochemical parameters of sera

项目 items	D1	D2	D3	D4	D5
总蛋白($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) total protein	100 ± 2.5	91 ± 3.8	99 ± 2.3	95 ± 2.6	98 ± 1.9
谷丙转氨酶($\text{IU} \cdot \text{L}^{-1}$) GPT	$173^a \pm 4.5$	$136^b \pm 5.3$	$158^b \pm 3.7$	$119^c \pm 3.4$	$136^b \pm 3.1$
肌酐($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) creatinine	118 ± 4.2	131 ± 5.1	136 ± 5.7	118 ± 4.9	127 ± 5.6
尿素($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) urea	0.2 ± 0.05	-	-	-	-
葡萄糖($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) glucose	-	-	1.5 ± 0.42	1.1 ± 0.37	-
甘油三酯($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) glyceryl ester	0.31 ± 0.04	0.53 ± 0.07	0.73 ± 0.08	1.70 ± 0.23	1.02 ± 0.05
总胆固醇($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) total cholesterol	-	-	-	-	-
乳酸脱氢酶($\text{IU} \cdot \text{L}^{-1}$) lactate dehydrogenase	$98^a \pm 5.8$	$33^c \pm 6.2$	$80^b \pm 6.4$	$47^c \pm 5.3$	$32^c \pm 4.9$

注:“-”表示未检出;上标字母所表达的意义同表 2

Notes:“-”means undetected; superscripts with the values represent the same meaning as Tab. 2

3 讨论

3.1 蝇蛆粉和 β -葡聚糖的营养免疫作用

本研究没有发现 β -葡聚糖在饲料中的添加对凡纳滨对虾的生长和饲料报酬有促进作用。这与阳会军等^[13]、周歧存等^[14]和谭北平等^[15]分别报道的 β -葡聚糖有显著地促进斑节对虾和凡纳滨对虾的生长以及提高饲料报酬的作用是不一致的。 β -葡聚糖通常是菌体细胞壁的组分,其化学本质是由 β -吡喃葡萄糖残基组成的线性骨架的多糖,目前对于该类物质作为鱼虾类的免疫增强剂的研究报导已有不少,但可能与使用方法和对象的不同有关,对于使用效果有许多不尽一致的研究报导^[16]。关于该类物质的促生长的作用机理研究尚未见报导。本研究中分别用了 5% 和 3% 蝇蛆粉等量地替代了鱼粉,虽然蝇蛆粉也没有

显示有显著的促生长和提高饲料效率的效果,但作为饲料蛋白源,可以认为蝇蛆粉在一定的范围内替代鱼粉是可行的。这与其他学者主张的蝇蛆粉与优质鱼粉具有蛋白源的同效性是一致的^[17-19]。

3.2 对虾类免疫力状态的评价指标

要监控对虾的健康状况和防御疾病能力并筛选出提高对虾免疫力的物质,就必须鉴定出影响对虾免疫力状态的科学评价方法。对虾非特异免疫力的评价方法大多集中于免疫酶活性分析,血细胞计数,血细胞呼吸暴发产物的测定,血浆凝集素活性,攻毒试验等^[20]。近来随着分子免疫学技术的发展,又发现了新的免疫物质如对虾素(penaeidin)、甲壳动物素(crustin)和血蓝蛋白肽等抗菌肽类物质的重要免疫活性作用^[21]。因此,对于对虾免疫力状态的科学评价方法的研究还处

在不断深入的过程中。

本研究发现 SOD 的活性在实验组与对照组间的差异不显著。这与王秀华等^[22]对肽聚糖的研究结果有相似之处。本研究中的 PO 指标在 D3 组出现异常的低,而溶菌酶指标在 D1 组出现异常的高。这与有些研究者所主张的 PO 和溶菌酶活性与对虾免疫力高度相关的主张不一致^[23-24]。Okumura^[25]用 RT-PCR 的方法研究了注射脂多糖(LPS)对凡纳滨对虾的血细胞中对虾素,甲壳动物素,丝氨酸蛋白酶和酚氧化酶原(ProPO)的 mRNA 表达水平的影响。结果表明:随着注射脂多糖剂量的增加对虾素和甲壳动物素的 mRNA 表达水平反而下降,在注射后 4h 达到最低,72 h 后恢复到原水平,而对丝氨酸蛋白酶和 PO 的 mRNA 表达水平影响不显著。该研究说明,注射脂多糖对凡纳滨对虾的抗菌肽的 mRNA 的表达产生了影响,但并不是表达的上调;对酚氧化酶原的 mRNA 的表达并未产生显著影响。雷质文等^[26]用 96 孔酶标法测定中国明对虾血淋巴上清液抗菌活力和 PO 活性的研究时发现,试验对虾的个体之间存在着相当大的差异。同样有研究认为,虾类作为蜕皮生长的低等动物在体液中有关酶的活性因遗传、生理周期、环境等因素的影响而不同^[4,27-29]。

本研究的攻毒试验结果所呈现出的规律性和重复性较好,它能实时反映出对虾对特定病原的抵抗力。这与一些研究者认同攻毒试验作为评估对虾免疫力的主张是一致的^[6,30]。

本研究发现,对照组的血清谷丙转氨酶和乳酸脱氢酶两项指标较其它各组高。如果同以攻毒试验所反映出的对照组对虾免疫力较低的结论相联系,那么血清谷丙转氨酶和乳酸脱氢酶这两项指标也可能与对虾的免疫力的高低存在着特定的关联性。另外,本研究对于凡纳滨对虾的血清总蛋白分析数值与 Lopez 等^[31]报道的相似,但血糖、血脂、总胆固醇的分析值较低,这尚有待今后作进一步的确定。

参考文献:

- [1] 杨丛海,黄 健. 对虾无公害健康养殖技术[M]. 北京:中国农业出版社,2002:9-17.
- [2] Moullac G L, Haffner P. Environmental factors affecting immune response in Crustacea [J]. Aquaculture,2000,191(1-3):121-131.

- [3] Li Y, Li J, Wang Q. The effects of dissolved oxygen concentration and stocking density on growth and non-specific immunity factors in Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis* [J]. Aquaculture,2006,256(1-4):608-616.
- [4] 黄翔鹤,李长玲,刘楚吾. 两种微藻改善虾池环境增强凡纳对虾抗病力的研究[J]. 水生生物学报,2002,26(4):342-347.
- [5] Vargas-Albores F, Yepiz-Plascencia G. Beta glucan binding protein and its role in shrimp immune response [J]. Aquaculture,2000,191(1-3):13-21.
- [6] Chang C F, Su M S, Chen H Y, et al. Dietary β -1,3-glucan effectively improves immunity and survival of *Penaeus monodon* challenged with white spot syndrome virus [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2003,15(4):297-310.
- [7] Scholz U, Garcia-Diaz G, Ricque D. Enhancement of vibriosis resistance in juvenile *Penaeus vannamei* by supplementation of diets with different yeast products [J]. Aquaculture,1999,176(3-4):271-283.
- [8] 王远程,左晓峰,孙东旭,等. 家蝇幼虫抗菌物质组成及理化性质[J]. 微生物学报,1997,37(2):148-153.
- [9] 雷朝亮,吴颖运,牛长缨,等. 蝇蛆几丁糖抑菌机理的初步研究[J]. 华中农业大学学报,1998,(6):531-533.
- [10] Ashida M. Purification and characterization of prophenoloxidase from hemolymph of the silkworm *Bombyx mori* [J]. Arch Biochem Biophys,1971,144:749-762.
- [11] Hultmark D. Insect immunity purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hylophora ceropia* [J]. Eur S Biochem,1980,106:7-16.
- [12] 李松岗. 实用生物统计[M]. 北京:北京大学出版社,2002.
- [13] 阳会军,谭北平,方怀义. 饲料中添加不同水平 β -葡聚糖对斑节对虾生长、存活及其抗病能力的影响[J]. 饲料工业,2001,(9):18-19.
- [14] 周岐存,郑 艾,阳会军,等. 维生素 C 和免疫多糖对凡纳滨对虾生长、饲料利用和虾体主要成分的影响[J]. 海洋科学,2004,(8):9-13.
- [15] 谭北平,周岐存,郑石轩,等. β -1,3/1,6 葡聚糖制剂对凡纳对虾生长及免疫力的影响[J]. 高技术通讯,2004,(5):73-77.
- [16] Bagnia M, Romanob N, Finoaia M G, et al. Short-

- and long-term effects of a dietary yeast β -glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2005, 18:311-325.
- [17] 王达瑞,张文霞,陆源.家蝇幼虫营养成分的分析及利用[J].昆虫知识,1991,(4):247-249.
- [18] 张廷军.蝇蛆在动物饲料中的应用[J].中国饲料,1999,(11):23-24.
- [19] 陈艳,吴建伟,李金富.家蝇幼虫营养成分价值的研究[J].中国血吸虫病防治杂志,2004,16(4):291-294.
- [20] Rodriguez J, Moullac G L. State of the art of immunological tools and health control of penaeid shrimp [J]. *Aquaculture*, 2000, 191 (1-3) 109-119.
- [21] 李义,吴婷婷,李红霞,等.甲壳动物抗微生物肽研究进展[J].水生生物学报,2006,30(4):477-481.
- [22] 王秀华,宋晓玲,黄健.肽聚糖制剂对凡纳滨对虾体液免疫因子的影响[J].中国水产科学,2004,(1):26-30.
- [23] 王雷,李光友,毛远兴.中国对虾血淋巴中的抗菌、溶菌活力与酚氧化酶活力的测定及其特性研究[J].海洋与湖沼,1995,(2):179-185.
- [24] 刘恒,李光友.免疫多糖对养殖南美白对虾作用的研究[J].海洋与湖沼,1998,(2):113-117.
- [25] Okumura T. Effects of lipopolysaccharide on gene expression of antimicrobial peptides (penaeidins and crustin), serine proteinase and prophenoloxidase in haemocytes of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2007, 22:68-76.
- [26] 雷质文,黄健,杨冰.96孔酶标板法测定中国对虾血淋巴上清液抗菌活力和酚氧化酶活性的初步研究[J].海洋湖沼通报,2001,(4):33-37.
- [27] Chiou T T, Lu J K, Wu J L, et al. Expression and characterisation of tiger shrimp *Penaeus monodon* penaeidin (mo-penaeidin) in various tissues, during early embryonic development and moulting stages [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2007, 31:132-142.
- [28] Moullac G L, Groumellec M L, Ansquer D, et al. Haematological and phenoloxidase activity changes in the shrimp *Penaeus stylirostris* in relation with the moult cycle: protection against vibriosis [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 1997, 7:227-234.
- [29] 景福涛,潘鲁青,胡发文.凡纳滨对虾对温度变化的免疫响应[J].中国海洋大学学报,2006,36(增刊):40-44.
- [30] Huang X X, Zhou H Q, Zhang H. The effect of *Sargassum fusiforme* polysaccharide extracts on vibriosis resistance and immune activity of the shrimp, *Fenneropenaeus chinensis* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2006, 20:750-757.
- [31] Lopez N, Cuzon G, Gaxiola G, et al. Physiological, nutritional, and immunological role of dietary β -1,3 glucan and ascorbic acid 2-monophosphate in *Litopenaeus vannamei* juveniles [J]. *Aquaculture*, 2003, 224(1-4):223-243.