

刺参体腔液穿刺抽取后细胞恢复过程的初步研究

王印庚¹ 廖梅杰¹ 郝志凯^{1,2} 王桂青⁴ 荣小军¹ 陈贵平¹ 陈霞³

(¹青岛市海水鱼类种子工程与生物技术重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

(²山东日照市水产研究所, 276826)

(³青岛九洋红水产科技有限公司, 266071)

(⁴青岛市海洋与渔业局, 266071)

摘 要 通过所绘制的刺参沥水后体质量变化曲线得出, 在气温 20 ℃ 以下, 刺参沥水后 20~30 min 为测量刺参体质量的最佳时机。利用重量差值法得出刺参体腔液占体质量的百分比分别是: 小参 26.88±1.39%、中参 25.24±2.91%、大参 30.98±1.86%。通过检测刺参体腔液抽取后刺参生理状态的变化得出刺参体腔液单次安全抽取量为体质量的 1.5% 以内。通过检测单次抽取刺参体腔液后其体腔液中总细胞、透明细胞及淋巴样细胞和颗粒细胞数量的恢复过程得出, 刺参不同类型的体腔细胞在受抽取刺激后恢复过程也不是同步进行的, 体腔液总细胞浓度恢复时间间隔为 4 d, 颗粒细胞、透明细胞及淋巴样细胞浓度恢复时间间隔为 6 d, 体腔液吸光值恢复时间间隔为 5 d, 由此得出, 在进行多次抽取体腔液时建议至少间隔 6 d 以上。研究建立的刺参体质量测量方法和所确定刺参体腔液基础指标为进一步开展刺参免疫学、生理学、动物学试验等研究提供参考和基础性数据。

关键词 刺参 体质量 体腔液 体腔细胞 穿刺 恢复

中图分类号 Q253; Q592.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2010)05-0052-07

Coelomocyte resume of sea cucumber *Apostichopus japonicus* after puncturable extraction of the coelomic fluid

WANG Yin-geng¹ LIAO Mei-jie¹ HAO Zhi-kai^{1, 2} WANG Gui-qing⁴
RONG Xiao-jun¹ CHEN Gui-ping¹ CHEN Xia³

(¹Qingdao Key Laboratory for Marine Fish Breeding and Biotechnology, Yellow Sea Fisheries

Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

(²Shandong Rizhao Fisheries Research Institute, 276826)

(³Sunny Oceans Aquaculture Technology Co., Ltd., 266071)

(⁴Qingdao Ocean and Fisheries Bureau, 266071)

ABSTRACT The optimum measurement for sea cucumber *Apostichopus japonicus* body weight and coelomic fluid is an essential experiment for the related research. The results show that the body weight is suitable to weigh in 20~30 min after being taken away from culture water (below 20 ℃). The proportion of coelomic fluid to the total body weight was also examined for small, medium and large sized sea cucumbers, at 26.88±1.39%, 25.24±2.91% and 30.98

国家 863 计划(2006AA100313)、山东省农业良种工程、烟台市科学技术发展计划项目(SDSP2006-0717-08)和中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金共同资助

收稿日期:2009-02-24;接受日期:2010-06-02

作者简介:廖梅杰(1981-),女,助理研究员,主要从事刺参选育相关研究。E-mail:liao mj@ysfri.ac.cn, Tel:(0532)85817991

±1.86%, respectively. The safe dose of coelomic fluid extraction was less 1.5% to the total body weight of sea cucumber for ensuring physiological stability and survival of the tested animals. The results illustrated that the total cells of sea cucumber experienced a process of significantly reducing to slowly recovering. The resume process was asynchronous for different kinds of coelomocyte. The results show that the resume period for total cells, granule cells, transparent-lymphoid cells and the absorbency of coelomic fluid are 4 d, 6 d, 6 d and 5 d, respectively. The measurement of body weight, the proportion of coelomic fluid to the total body weight, the safe dose and the resume process of coelomic fluid is firstly reported in sea cucumber *Apostichopus japonicus*. This research could be helpful for further study on physiological, immunological and zoological research in sea cucumber.

KEY WORDS Sea cucumber *Apostichopus japonicus* Body weight
Coelomic fluid Coelomocyte Puncture Resume

刺参 *Apostichopus japonicus*, 属棘皮动物门 Echinodermata、海参纲 Holothuroidea、楯手目 Aspidochirotda、刺参科 Stichopodidae、仿刺参属 *Apostichopus*, 主要分布于中国黄、渤海、俄罗斯东部海岸、日本和韩国沿岸, 是海参种类中食用和药用价值最高的品种。近年来, 我国刺参增殖养殖业迅速发展, 已成为我国海水养殖单品种产值最高的种类之一。为保障刺参增殖业的健康可持续发展, 国内外许多学者着手在刺参的生物学特性、人工育苗及增殖措施方面进行研究。在刺参良种选育和免疫学相关研究过程中, 刺参的体质量、体长等可测可量性状的精确测定是开展相关研究的基础。魏杰等(2007)利用 $MgSO_4$ 麻醉法确立了准确测量活体刺参体长的方法, 但是, 由于刺参具有伸缩性强、通过吸排水参与呼吸、肠胃中食物丰满度变化、易吐肠、易化皮等自然习性, 刺参体质量的精确测量有很大困难, 迄今为止尚没有建立一种刺参体质量精确测量的方法。在刺参免疫学和生理学研究过程中, 很多研究都是以刺参体腔液为检测对象开展的, 然而, 目前尚没有对刺参体腔液的基础指标——体腔液占刺参体质量的比例、刺参体腔液的单次最大抽取量和单次安全抽取量、刺参体腔液抽取后体腔液恢复过程的研究报道, 使得在刺参研究中体腔液单次抽取量和连续观察研究中的体腔液抽取间隔时间缺乏科学依据。为此, 本文在研究刺参体质量测量方法、体腔液占体质量比例的同时, 分析确定了体腔液单次最大抽取量, 观察了体腔液不同抽取量对刺参生理状态的影响以及体腔液抽取后其吸光值和各类细胞浓度等指标的变化过程, 以期开展刺参免疫学和生理学研究提供基础性数据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

实验用刺参购自青岛某养殖公司, 用于体质量实验的小参、中参、大参规格分别为 23.90 ± 3.77 g、 58.07 ± 6.99 g、 146.95 ± 10.46 g; 用于体腔液细胞恢复实验的刺参伸展体长范围为 3~4 cm, 体质量为 22.00 ± 3.00 g。

实验用刺参分别暂养于 30 L 水槽中, 早、晚各吸出槽底污物 1 次, 每天换水, 每次换水量为 1/3~1/2。实验期间, 水温保持在 15~18 °C 范围内, 盐度 28。暂养 7 d 后用于试验。

1.2 方 法

1.2.1 刺参体质量测量方法的确定

从暂养水槽中选取 15 头伸展状态好的刺参, 停食 24h 左右, 离水放置于解剖盘中, 在气温 20°C 下, 隔不同时间间隔(0、5、10、15、20、25、30 min)分别称重, 称重前用吸水纸吸去其体表水分, 用精密电子天平称重并观察刺参生理状态的变化。

1.2.2 刺参体腔液占体质量比例和体腔液单次最大抽取量的检测

刺参体腔液占体质量比例实验共分小参、中参、大参3组,每组各30头,暂养至状态稳定后进行实验。实验前,刺参放于解剖盘中沥水15 min,使其排空体内的海水,用吸水纸吸去其体表水分后称重,记为 W_T (总重),然后解剖,把内脏团取出,体壁剪为数段以排空血窦中的体液,用吸水纸吸干体壁中体腔液和内脏团上附带的体腔液,然后把内脏团和体壁称重,记为 W_S ,两个数据的差值为刺参体腔液重量 W_{CF} , $W_{CF}=W_T-W_S$ 。

刺参体腔液单次最大抽取量实验分小参、中参、大参3组,每组各30头,暂养至状态稳定后进行实验。实验前,使海参排空体内海水,称重 W_T ,然后从刺参腹面口后1/3处穿刺抽取体腔液,直到抽不出体腔液为止,达到抽取的最大限度。将抽取的体腔液称重 W_E ,同时记录刺参在体腔液抽取后的生活状态,两个数据的比值即为刺参体腔液单次最大抽取量占体质量的百分比, $P_E=W_E/W_T\times 100\%$ 。

1.2.3 体腔液不同抽取量对刺参生理状态的影响

实验分为小参、中参两组,每组分为6个梯度,分别为0、0.5%、1%、1.5%、2%、2.5%,各梯度为体腔液抽取量占体质量的百分比。每个梯度10头。按1.2.2方法使刺参排空体内海水后,分别按梯度抽取,观测每个梯度组刺参的体色变化、摄食状况、活力变化、排脏及摇头行为、是否出现死亡等生理指标。

1.2.4 刺参体腔液各指标初始值的检测

实验共分8组,每组10头刺参,共计80头。暂养至刺参状态稳定后,开始试验。实验当天(第0天),等待刺参将体内的海水排空后,从刺参的腹面口后1/3处穿刺抽取体腔液,每头抽取体腔液 $300\pm 20\ \mu\text{l}$ 。用血球计数板计数体腔液总细胞数、颗粒细胞数目、透明细胞及淋巴样细胞数目3个指标,用酶标仪测定体腔液在520 nm波长的吸光值,每组取平均值,计算得到8组刺参体腔液细胞浓度的平均初始值和吸光值的平均值即体腔液正常水平时细胞浓度和吸光值。

1.2.5 刺参体腔液各指标恢复情况的检测

一次大量抽取刺参体腔液后,按照不同时间间隔抽取相应组别刺参样本体腔液,每头抽取体腔液体积为 $150\pm 10\ \mu\text{l}$,检测体腔液细胞相应指标的变化,即第1天抽取第1组刺参样本的体腔液进行检测,第2天抽取第2组样本进行各指标的测量,以此类推,第8天抽取第8组样本测量刺参的体腔液细胞浓度及吸光值。各指标的测量方法同1.2.4。为消除刺参体腔液细胞浓度及体腔液吸光值所存在的个体差异,利用等比例变化方法统一数值,即把每组平均初始值即第0天数定为100%,其后各天的平均数值均除以平均初始值得到体腔液总细胞浓度、颗粒细胞浓度、透明细胞及淋巴样细胞浓度和吸光值变化的幅度。

2 结果与分析

2.1 沥水时间对刺参体质量的影响

在沥水后的前10 min内,刺参有从体内吐出大量海水的现象,在沥水后的10~20 min内不定时的排除体内多余的海水,阴干20 min后,刺参已不再往外排除水分,体质量基本不再变化,直至30 min没有因体表蒸发出现显著的变化,也没有出现排脏现象。沥水后刺参体质量的变化见图1。将所测量后的刺参样品放入自然海水中,刺参均能很快伸展、

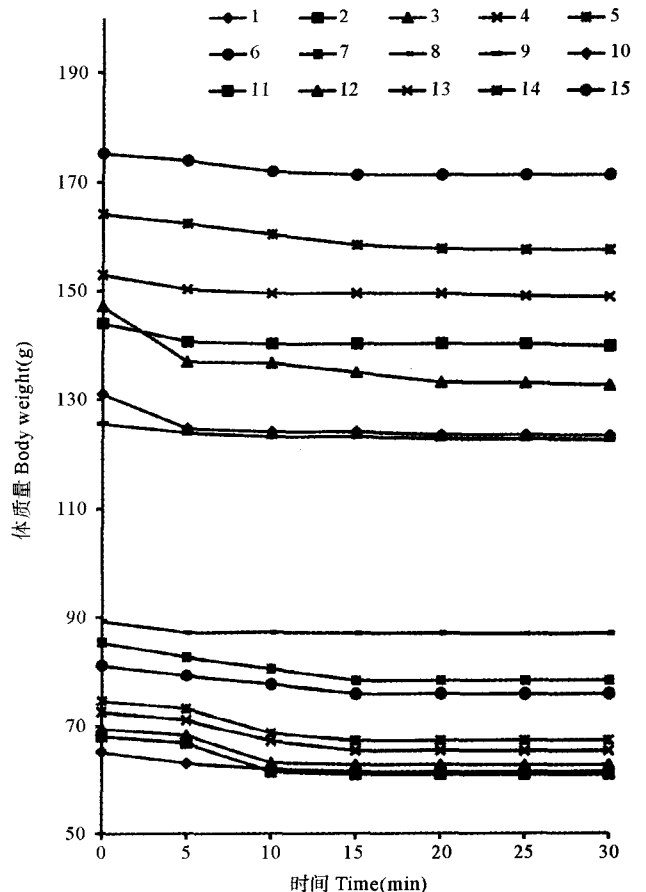


图1 沥水后刺参体质量随时间的变化情况(20 °C)
Fig. 1 Sea cucumber body weight variation versus time after being taken from culture water(20 °C)

运动并恢复摄食。而在 30 min 以后,由于长时间暴露于空气中,刺参出现身体扭曲、排脏等生理应激反应。由此得出,刺参沥水 20~30 min 为测量刺参体质量的最佳时机。

2.2 刺参体腔液占体质量比例和体腔液单次最大抽取量的检测

不同规格刺参体腔液重量及占总体质量百分比见表 1。结果表明,小参(24.39 ± 4.83 g)体腔液重量为 6.60 ± 1.62 g,占体质量的 $26.88 \pm 1.39\%$;中参(57.98 ± 9.35 g)体腔液重量为 14.62 ± 2.64 g,占体质量的 $25.24 \pm 2.91\%$;大参(154.50 ± 5.60 g)体腔液重量为 47.79 ± 2.14 g,占体质量的 $30.98 \pm 1.86\%$ 。

表 1 不同规格刺参体腔液重量占总体质量的百分比
Table 1 The proportion of coelomic fluid to the total weight in different sized sea cucumber

实验组 Experimental group	体质量 W_T (g) Total weight	内脏团及体壁重 W_S (g) Weight of visceral mass with body wall	体腔液重量 $W_T - W_S$ (g) Weight of coelomic fluid	占总体质量的百分比(%) Percentage of coelomic fluid in total weight
小参 Small size sea cucumber	24.39 ± 4.83	17.79 ± 3.23	6.60 ± 1.62	26.88 ± 1.39
中参 Medium size sea cucumber	57.98 ± 9.35	43.36 ± 7.34	14.62 ± 2.64	25.24 ± 2.91
大参 Large size sea cucumber	154.50 ± 5.60	106.71 ± 6.28	47.79 ± 2.14	30.98 ± 1.86

不同规格刺参体腔液单次抽取最大量及刺参的生活状态变化见表 2。结果显示,小参(23.31 ± 1.85 g)、中参(58.17 ± 3.18 g)、大参(139.39 ± 8.57 g)体腔液单次最大抽取量分别为 0.76 ± 0.06 、 1.85 ± 0.09 、 3.60 ± 0.44 g,占体质量的百分比分别为 $3.27 \pm 0.09\%$ 、 $3.18 \pm 0.11\%$ 、 $2.57 \pm 0.16\%$ 。不同规格的刺参体腔液单次抽取最大量占体质量的比例却略有不同:即小参>中参>大参。这可能在穿刺抽取体腔液的情况下,大参穿刺点距远端组织血窦的距离要比小参的较大,导致抽取量相对偏少而造成的。单次最大量抽取刺参体腔液后,不同规格的刺参均表现出明显的不适症状和生理反应,如吐肠、摇头、身体翻转及体色变暗等,其中小参表现得最为明显,吐肠比例达到 83%。

表 2 不同规格刺参体外抽取体腔液最大量及刺参行为反应
Table 2 The single maximum dose of coelomic fluid extraction from sea cucumber and their response after extraction

实验组 Experiment group	体质量 W_T (g) Total weight	单次最大抽取量 W_E (g) Single maximum dose of coelomic fluid extraction	占体质量的百分比 P_E (%) Percentage of W_E in total weight	抽取体腔液后行为反应 Response after coelomic fluid extraction
小参 Small size sea cucumber	23.31 ± 1.85	0.76 ± 0.06	3.27 ± 0.09	参体缩聚成团,体色明显变暗,83%的个体排脏
中参 Medium size sea cucumber	58.17 ± 3.18	1.85 ± 0.09	3.18 ± 0.11	绝大部分出现摇头、身体扭转现象,体色无明显变化,42%的个体排脏
大参 Large size sea cucumber	139.39 ± 8.57	3.60 ± 0.44	2.57 ± 0.16	绝大部分出现身体扭转现象,体色无明显变化,30%个体出现排脏

2.3 体腔液抽取量对刺参生理状态的影响

体腔液不同抽取量对刺参生理状态的影响见表 3。结果表明,小参(25.08 ± 2.88 g)和成参(78.86 ± 2.85 g)体腔液在抽取体质量的 0~1.5% 时是安全的,不影响刺参的正常生活状态,而在抽取体质量的 2~2.5% 时,则会表现出明显的不适,如体色变暗、摄食减退、活力较差、摇头、排脏甚至死亡等等,由此可以得出刺参体腔液安全抽取量为体质量的 1.5% 以内。

表3 体腔液不同抽取量对刺参生理状态的影响

Table 3 Effects of different coelomic fluid extraction dose on physiological condition of sea cucumber

实验组 Experimental group	抽取比例(%) Extraction percentage	生理状态 Physiological condition				
		摄食 Ingestion	活力 Activity	排脏 Evisceration	不良反应 Adverse reactions	死亡 Death
小参 Small sea cucumber	0	正常	正常	无	无	无
	0.5	正常	正常	无	无	无
	1	正常	正常	无	无	无
	1.5	正常	正常	无	无	无
	2	正常	稍差	个别	个别摇头	无
	2.5	稍差	无活力	绝大部分	部分摇头, 2d后有化皮	20%死亡
成参 Adult sea cucumber	0	正常	正常	无	无	无
	0.5	正常	正常	无	无	无
	1	正常	正常	无	无	无
	1.5	正常	正常	无	无	无
	2	稍差	较差	无	个别摇头	无
	2.5	稍差	较差	个别排脏	部分摇头, 2d后个别出现化皮现象	无

2.4 刺参体腔液各指标初始值及恢复情况的检测

刺参体腔液细胞浓度平均初始值及平均初始吸光值见表4。结果表明,刺参体腔液初始平均吸光值基本保持在0.056~0.112之间;体腔液总细胞浓度平均初始值在 $4.1 \times 10^5 \sim 8.2 \times 10^5$ cells/ml之间,其中颗粒细胞浓度平均初始值在 $1.4 \times 10^5 \sim 3.6 \times 10^5$ cells/ml之间,透明细胞及淋巴样细胞浓度平均初始值在 $2.3 \times 10^5 \sim 4.3 \times 10^5$ cells/ml之间。

表4 刺参体腔液细胞浓度初始值及吸光值

Table 4 The initial concentration and absorbency of sea cucumber coelomocyte

检测项目 Item	1	2	3	4	5	6	7	8
吸光值 Absorbance	0.112	0.067	0.091	0.080	0.056	0.091	0.087	0.108
细胞浓度($\times 10^5$ cells/ml) Total cells concentration	8.2	4.7	6.6	5.4	4.1	7.0	6.3	8.2
颗粒细胞浓度($\times 10^5$ cells/ml) Granule cells concentration	3.6	1.8	2.6	2.1	1.4	2.7	2.5	3.3
透明及淋巴样细胞浓度($\times 10^5$ cells/ml) Transparent-lymphoid cells concentration	4.3	2.3	3.4	2.8	2.4	3.6	3.3	4.2

注:1,2...8 分别代表不同的实验组 Note:1,2,...8 represents different experimental groups

刺参的体腔液细胞浓度及吸光值在不同时间间隔的恢复状况见图2。由图2可知,大量体腔液抽取后第1天吸光值明显增高且高于初始值,之后开始回落,到第3天降到最低值并开始慢慢回升,第5天基本恢复到正

常水平;刺参体腔液在一次性大量抽取后总细胞浓度显著降低,经过平缓的增长,在抽提后的第 4 天基本恢复到原始数值;颗粒细胞浓度在经过前 3 d 的加速增长后,在第 4 天开始缓慢增长,到第 6 天基本恢复到正常水平;透明细胞及淋巴样细胞浓度在抽取体腔液后第 1 天即超过了初始值,在第 3 天达到峰值,而后开始回落,最后在第 6 天基本恢复到正常状态。

3 讨论

3.1 活体刺参体质量的精确测量方法

在刺参的良种选育过程中,刺参体质量的精确测定是开展刺参相关研究的基础性工作。但由于刺参特殊的生理方式即将海水吸入体内进行呼吸代谢过程(常亚青等 2004),因此吸入体内的这部分海水重量不能计入体质量内。刺参由水中捞出后,会吐出体内所吸取的海水以适应环境的变化。因此,确定刺参排出海水所需时间,将排尽海水后所测得的体质量定义为刺参体质量较为准确。为避免刺参沥水后,由于体表蒸发或刺参机体的不适反应导致排脏以及实验操作时间过长带来误差,本试验选取不同规格大小的刺参开展体质量测量实验。由实验结果可以看出,虽然不同刺参个体沥水后排出体内海水所需的时间各不相同,但在气温 20 ℃ 下,所有海参个体沥水 20 min 后其体质量均不再发生变化,直至 30 min 内保持恒定,也没有出现排脏现象。由此可以将室温 20 ℃ 以下,刺参沥水后 20~30 min 进行体质量测定作为刺参体质量测定的标准方法。

3.2 刺参体腔液的抽取量和抽取时间间隔

在刺参免疫学和生理学研究过程中,许多指标的判定是以体腔液为研究对象开展的,因此为了保证试验动物(刺参)的安全、测定结果的准确性和可重复性,需要了解刺参体腔液抽取量和抽取后体腔液细胞恢复的过程和时间。刺参的循环系统属于开放式的,缺少血管分布,称之为血窦或血腔系(任淑仙 1982;常亚青等 2004)。由实验结果可以看出,刺参体腔液占体质量比例与刺参体质量和年龄关系不大,约占 $25.24 \pm 2.91\% \sim 30.98 \pm 1.86\%$;而不同规格的刺参体腔液单次抽取最大量占体质量的比例却略有不同:即小参($3.27 \pm 0.09\%$) > 中参($3.18 \pm 0.11\%$) > 大参($2.57 \pm 0.16\%$)。这可能在穿刺抽取体腔液的情况下,大参穿刺点距远端组织血窦的距离要比小参的较大,导致抽取量相对偏少而造成的。为保证实验动物的存活和正常生理安全,需要确定刺参体腔液最大安全抽提量。试验表明,抽取刺参体腔液占体质量的 1.5% 时,刺参能保持正常生理状态,而达到体质量的 2% 时,不同规格刺参均表现出不适反应。由此得出结论:刺参体腔液抽取量在体质量的 1.5% 以内是安全的。

在开展刺参生理、免疫相关研究过程中,需要多次抽取同一刺参个体的体腔液。为了保证每次抽取的刺参体腔液能够准确反应刺参的血相状态,需要了解刺参体腔液抽取后体腔液细胞恢复的过程和时间。海参体腔液中,充满大量的体腔细胞,并与血窦相通。刘晓云等(2005)利用透射电镜观察超微结构将刺参的体腔细胞分为大颗粒细胞、小颗粒细胞、透明细胞和淋巴样细胞。由于刺参体腔液细胞在体外极易自溶,试验过程中处理的样本量较大,且在光学显微镜下大颗粒细胞与小颗粒细胞、透明细胞与淋巴样细胞之间都很难辨别,同时借鉴甲壳类及贝类血细胞的研究与分类方法(陈平等 1998;Martin *et al.* 1985;Hose *et al.* 1990;Sung *et al.* 1999;Karin 2002;周晖等 2005;许秀芹等 2007;孙虎山等 2003;Cheng *et al.* 1975),本研究将

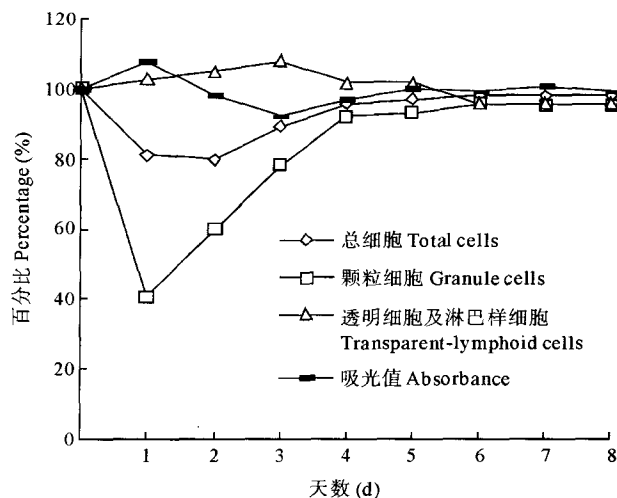


图 2 刺参体腔液细胞浓度及吸光值恢复状况
Fig. 2 The resume condition of concentration and absorbance of sea cucumber coelomocytes

大、小颗粒细胞合并为颗粒细胞,透明细胞和淋巴样细胞也合并为一进行观察。综合刺参体腔液抽取安全量和开展酶指标相关试验所需要的刺参体腔液体积,本实验抽取刺参体腔液为 $300\mu\text{l}$,约是体质量为 25g 左右稚参体质量的 1.5% 。实验结果显示,刺参体腔液抽取后,其总细胞浓度经历了由显著降低到缓慢恢复到原始浓度的过程。推测这可能是一次性大量抽取刺参体腔液后,随着各类体腔细胞减少再逐步发生,使总细胞浓度增加直至恢复正常。但试验数据表明,刺参不同类型的体腔细胞在受抽取刺激后恢复过程也不是同步进行的。其中刺参透明细胞及淋巴样细胞受到刺激后浓度迅速增加,而颗粒细胞浓度却相当缓慢。由吸光值检测结果也可以看出,体腔液抽取以后其吸光值有显著升高现象。这一现象可能是由于透明细胞及淋巴样细胞浓度出现快速增长导致。值得注意的是,体腔液被抽取 2d 后其吸光值慢慢降低并恢复到原始水平。这一现象,除了由于透明细胞及淋巴样细胞浓度出现快速增长之外,也可能与释放补体类似物有关。张峰等(2007)研究认为在正常情况下,仿刺参体腔液内始终保持正常的补体浓度,将体腔液细胞离心后,发现体腔液中补体类似物的活性增高,推测可能是离心过程中体腔细胞受到刺激后会释放补体类似物。试验观察与检测证实,刺参体腔液被人工抽取后,在第 6 天其体腔液细胞浓度和吸光值恢复正常状态。为此,在进行多次抽取体腔液时建议至少间隔 6d 以上。

本文首次报道刺参体质量测量方法、体腔液占体质量比例、刺参体腔液的安全抽取量,以及抽取刺参体腔液后各指标的恢复过程。该结果将为进一步开展刺参免疫学、生理学、动物学试验等研究提供参考和基础性数据。

参 考 文 献

- 孙虎山,李光友. 2003. 栉孔扇贝血细胞的分类. 海洋学报, 25(2): 51~57
- 刘晓云,谭金山,包振民,谢嘉琳. 2005. 刺参体腔细胞的超微结构观察. 电子显微学报, 24(6): 613~615
- 任淑仙. 1982. 无脊椎动物学(下). 北京: 北京大学出版社, 123~124
- 许秀芹,王宜燕,孙虎山. 2007. 病毒感染对栉孔扇贝血细胞类型和功能的影响. 上海水产大学学报, 22(3): 242~247
- 张峰,宫晶,王海峰,赵啸,李宣延. 2007. 仿刺参补体类似物活性的测定. 大连水产学院学报, 22(4): 246~248
- 陈平,黄槐,池信才,吴定虎,陈细法. 1998. 4种对虾血细胞组成及超微结构. 水生生物学报, 22(2): 158~163
- 周晖,谢数涛. 2005. 4种对虾血细胞的分类和形态比较. 湛江海洋大学学报, 25(4): 84~87
- 常亚青,丁君,宋坚,杨威. 2004. 海参、海胆生物学研究与养殖. 北京: 海洋出版社, 48~51
- 魏杰,常亚青,聂竹兰,丁君,宋坚,曹学彬. 2007. 准确测量活体刺参体长的测量方法. 中国专利: 200710010174.6
- Cheng, T. C., and Foley, D. A. 1975. Haemolymph cells of the bivalve mollusc *Mercenaria mercenaria*: a electron microscopical study. J. Invertebr. Pathol. 26: 341~351
- Hose, J. E., Martin, G. G., and Gerard, A. S. 1990. A decapod hemocyte classification scheme integrating morphology, cytochemistry, and function. Biological Bulletin, 178: 33~45
- Karin, van de, Braak. 2002. Haemocytic defence in black tiger shrimp *Penaeus monodon*. Netherlands; Wageningen Institute of Animal Sciences
- Martin, G. G., and Graves, B. L. 1985. Fine structure and classification of shrimp hemocytes. Journal of Morphology, 185: 339~348
- Sung, H. H., Wu, P. Y., and Song, Y. L. 1999. Characterisation of monoclonal antibodies to haemocyte subpopulations of tiger shrimp *Penaeus monodon*: immunochemical differentiation of three major haemocyte types. Fish & Shellfish Immunology, 9: 167~179