

微胶囊剂型黄芪多糖对刺参生长性能、免疫力及抗病力的影响

樊英 王淑娴 李天保* 许拉 于晓清 叶海斌 刁菁 王勇强

(山东省海水养殖研究所 病害防治重点实验室, 青岛 266002)

摘要 在基础饲料中添加不同剂量(1%、3%、5%)的微胶囊剂型黄芪多糖(*Astragalus polysaccharides*, APS) (载药量为17%), 制成3种配合饲料, 连续投喂初始体重为 22.0 ± 1.0 g的刺参 *Apostichopus japonicus* 35d, 探讨微胶囊剂型黄芪多糖(以下简称“微胶囊”) 对刺参生长性能、非特异性免疫及抗病力的影响。结果显示, 35d后刺参最高特定生长率(Specific growth rate, SGR)为 $0.51\%/d$ (5%添加组)($P < 0.05$); 微胶囊添加量为3%时免疫效果最佳, 刺参体腔液中酸性磷酸酶ACP、超氧化物歧化酶SOD、髓过氧化物酶MPO活性显著高于对照组($P < 0.05$)。试验期间每隔7d测定刺参体腔液样品, 其中ACP活性在第28天最高, 为 $11.2U/100ml$ ($P < 0.05$); SOD活性在第21天最高, 为 $63.3U/ml$ ($P < 0.05$); MPO活性在第21天最高, 为40 MPO单位/ml ($P > 0.05$); 免疫试验结束后对刺参进行灿烂弧菌 *Vibrio splendidus* 攻毒实验, 14d内观察得出, 3%微胶囊添加组累积死亡率明显低于对照组 ($P < 0.05$)。由此可得, 微胶囊剂型黄芪多糖对仿刺参生长性能、免疫力及抗病力方面均具有显著的增强效果, 以3%添加量效果最佳, 且添加量、作用时间、免疫效果之间存在相关性。

关键词 微胶囊 黄芪多糖 刺参 生长 免疫 抗病力

中图分类号 S963 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2013)01-0119-07

Impact of APS microcapsules on growth, immunity and disease resistance of sea cucumber *Apostichopus japonicus*

FAN Ying WANG Shu-xian LI Tian-bao* XU La YU Xiao-qing
YE Hai-bin DIAO Jing WANG Yong-qiang

(Key Laboratory for Disease Control in Mariculture, Shandong Province Mariculture Research Institute, Qingdao 266002)

ABSTRACT The study was conducted to investigate the impact of *Astragalus polysaccharides* (APS) microcapsules (drug loading 17%) on the growth, nonspecific immune indices and resistance of *Apostichopus japonicus* against *Vibrio splendidus* infection. APS microcapsules were added at graded levels (1%, 3%, and 5%) to the basal diet to formulate three practical compound diets. Continuous 35-day feeding trials were carried out on *A. japonicus* at initial

山东省农业重大应用技术创新课题(鲁财农指[2010]58号)、海洋公益性行业科研专项经费项目200905020、山东省科技发展计划项目(2010GHY10501)和山东省优秀中青年科学家科研奖励基金项目(BS2010NY021)共同资助

* 通讯作者。E-mail: ltb1601@126.com, Tel: 13356883713

收稿日期: 2012-05-18; 接受日期: 2012-05-30

作者简介: 樊英(1980-), 女, 助理研究员, 主要从事水产养殖与病害防治研究。E-mail: fy_fy123@126.com, Tel: 13969627047

body weight of 22.0 ± 1.0 g. After feeding the diets for 35 days, specific growth rate (SGR) for the 5% treatment was 0.51%/d, which was significantly higher than the control. The activities of serum acid phosphatase (ACP), superoxide dismutase (SOD), and myeloperoxidase (MPO) increased significantly ($P < 0.05$) in the 3% treatment. During the experiment these factors were determined at 7-day intervals. The activity of ACP was 11.2U/100ml at 28d during the experiment ($P < 0.05$), the activity of SOD was 63.3U/ml at 21d ($P < 0.05$), and the activity of MPO was 40MPO unit/ml at 21d ($P > 0.05$). After the feeding trial, a *V. splendidus* injection challenge was given to the sea cucumbers to test the effects of APS microcapsule. The 3% treatment showed significantly better survival than the control ($P < 0.05$). It is suggested that supplementation of 3% APS microcapsules has the greatest effects on growth, immunity and disease resistance in *A. japonicas* against *V. splendidus*. In addition, there was a direct relationship between the level and time of treatment, and the immunity.

KEY WORDS Microcapsule Astragalus polysaccharide *Apostichopus japonicas*
Growth Immune Disease resistance

近年来,我国刺参养殖业迅速发展,养殖规模不断扩大,但由于密度过高、操作技术不规范,导致病害状况日益严重(张春云等 2006;马悦欣等 2006);为了避免疾病发生,养殖过程中使用了大量的抗生素和化学药物,但传统上使用抗生素并不能有效地防治疾病,且副作用非常明显,从而导致了细菌的耐药性、动物机体中的药物残留以及环境的污染等问题,对水产养殖动物和人类健康也产生了影响。因此,免疫增强剂的应用逐渐成为增强水产动物免疫力及抗病力的有效途径之一(周进等 2003;孔伟丽 2008;张琴等 2011)。

多糖类免疫增强剂被认为是一种广谱的非特异性免疫促进剂,具有替代抗生素抑制病原微生物、促进动物生长的作用,比抗生素更安全,比疫苗作用范围更广,适于在水产养殖业推广应用(张琴等 2011;白东清等 2011),尤其是对以刺参为例的非特异性免疫为主的无脊椎动物来说其应用更为重要。黄芪多糖(APS)是黄芪 *Astragalus membranaceus* 的主要活性成分,在提高机体的特异性和非特异性免疫力方面具有重要作用(张琴等 2011;白东清等 2011;刘红柏等 2006)。然而,APS属于水溶性物质,口服虽具有较多优点但损失多,对于海参的摄食性来说,在实际应用中口服水溶性多糖类物质效率较低,经济效益差,而注射或浸泡方式在实际应用中费时费力,较难达到规模化。微胶囊是免疫增强剂及药物的新剂型,在饲料添加剂及免疫增强剂的开发中应用广泛(林承仪 2003)。微胶囊剂型黄芪多糖的使用避免了水溶性的缺点,加强了使用效果,拓展了使用途径,解决了在刺参养殖中的使用局限性。本研究以刺参为研究对象,将微胶囊剂型黄芪多糖添加到海参饲料中进行投喂试验和致病菌攻毒实验,研究微胶囊剂型黄芪多糖对刺参机体的综合影响,探讨其营养及免疫效果,为免疫增强剂新剂型的开发提供依据,为高效绿色饲料的研制提供参考。

1 材料与方 法

1.1 试验材料及饲养管理

微胶囊剂型黄芪多糖为本实验室于2011年6月制备,微胶囊芯壁材为黄芪多糖(含量达70%)和海藻酸钠,载药量为17%;空白微胶囊即为海藻酸钠。刺参于2011年7月采自青岛胶南某养殖场,平均体重 22.0 ± 1.0 g。基础饲料为海泥和马尾藻(*Sargassum*)粉。AKP、SOD、MPO试剂盒均购于南京建成生物工程研究所,其他试剂均为化学分析纯。

正式试验为2011年7月19日~9月10日,刺参饲养于自动控温循环系统中(20 L),水温约 16.5°C , pH 7.8;足量投喂,暂养7 d后用于试验;试验中连续充气,每日吸除粪便,换水50%,隔日倒池,自然光照(室内)。

1.2 试验设计

试验中基础饲料处理:海泥和马尾藻粉(1:1)充分溶于过滤海水中,煮沸,冷却,备用。

微胶囊添加方式:称取一定量的微胶囊加入到冷却后的基础饲料中,充分混匀后投喂。

试验共分 5 组:空白组(基础饲料组);阴性对照组(空白微胶囊添加组);3 个试验组,微胶囊剂型黄芪多糖添加量分别为马尾藻粉质量的 1%、3%、5%;每组 3 个平行,每个平行 12 只刺参,并设重复试验。

1.3 取样方式及指标测定

1.3.1 取样

投喂后第 7、14、21、28、35 天分别从刺参腹部靠近口部约 2 cm 处抽取体腔液 500 μ l,一部分直接经 4 000 r/min 离心 8 min 后,取上清液-20 $^{\circ}$ C 保存备测(ACP、SOD),一部分置于-20 $^{\circ}$ C 反复冻融两次后离心(4 000 r/min, 8min),上清液保存备测(MPO)。

1.3.2 生长性能测定

35d 饲喂实验结束后,对刺参进行称重,计算刺参的特定生长率。计算公式:

$$\text{特定生长率}(\%/d)(\text{Specific growth rate, SGR}) = 100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / t$$

式中, W_t 和 W_0 分别为终了体重和初始体重, t 为实验天数。

1.3.3 免疫指标测定

SOD、ACP、MPO 活性均按试剂盒方法测定。其中 SOD 按照总超氧化物歧化酶活性进行测定,定义为每毫升反应液中 SOD 抑制率达 50%时所对应的 SOD 量为 1 个 SOD 活力单位(U)。ACP、MPO 按照血清中酶活性进行测定。ACP 定义为 100 ml 血清在 37 $^{\circ}$ C 与基质作用 30min 产生 1 mg 酚为 1 个活力单位。MPO 定义为每毫升血清中在 37 $^{\circ}$ C 的反应体系中 H_2O_2 被分解 1 μ mol 为 1 个酶活力单位。

1.3.4 攻毒试验

攻毒感染试验使用的灿烂弧菌由中国水产科学研究院黄海水产研究所提供,活化后的灿烂弧菌经胰蛋白胨大豆肉汤培养基(TSB)28 $^{\circ}$ C 培养 24 h,用无菌生理盐水调整浓度为 10^9 CFU/ml(预实验得到半致死浓度(LD₅₀, 7d 为 5.3×10^8 CFU/ml)。试验结束后,随机抽取 24 头海参进行攻毒实验,每头海参经体壁注射剂量为 0.1 ml 的灿烂弧菌稀释液,对照组注射相同量的生理盐水,继续投喂基础饲料,及时记录刺参的日死亡情况,14d 后结束感染实验并统计其累积死亡率。计算公式如下:

$$\text{累积死亡率}(\%)(\text{Cumulative mortality rate}(\%)) = \text{刺参累积死亡数量} / \text{初始数量} \times 100\%$$

1.4 数据分析处理

对所得数据利用软件 SPSS 17.0 进行分析和多重比较,显著性差异在 $P < 0.05$ 水平上。

2 结果

2.1 生长性能

试验结束后对不同添加剂量的实验组刺参进行特定生长率统计(表 1)。结果显示,各实验组刺参 SGR 均高于对照组(< 0.05),其中以 5% 实验组最高,微胶囊添加剂量与 SGR 之间存在正相关性。

表 1 不同剂量微胶囊剂型黄芪多糖对刺参生长性能(SGR)的影响(平均值士标准误)

Table 1 Effect of different additive APS microcapsule on the growth (SGR) of *Apostichopus japonicus* (Mean \pm S. E)

组别 Treatment	数量 Amount	时间 Days	初体重 Initial weight(g)	终体重 Final weight(g)	SGR(%/d)
0 additive	36	35	22.7 \pm 0.46 ^a	25 \pm 0.23 ^a	0.2757 \pm 0.0122 ^a
1% APS additive	36	35	20.3 \pm 0.26 ^b	22.7 \pm 0.46 ^b	0.3192 \pm 0.0116 ^b
3% APS additive	36	35	22.1 \pm 0.60 ^a	26.3 \pm 0.46 ^{ac}	0.4971 \pm 0.0056 ^c
5% APS additive	36	35	22.6 \pm 0.33 ^a	27.0 \pm 0.51 ^c	0.5111 \pm 0.0107 ^c

同列数据不同字母代表差异显著。In the same column, values with different superscripts mean significant difference ($P < 0.05$)(表 2 同)

2.2 酸性磷酸酶 ACP 活性

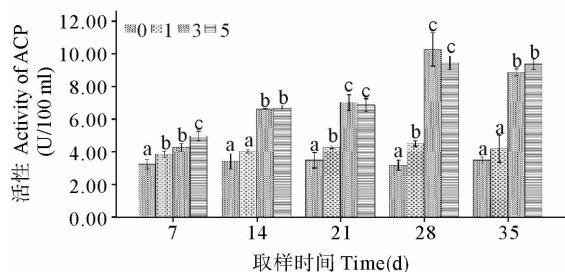
图1显示不同添加量实验组刺参体腔液 ACP 活性,添加量达 3%时效果最佳,添加量与 ACP 活性不成正比例关系,高添加量(5%实验组)时刺参 ACP 活性反而降低。以 3%剂量添加微胶囊时,刺参体腔液中 ACP 活性在第 28 天达到最高水平,为 11.2U/100ml,与对照组存在显著性差异($P < 0.05$);ACP 活性随饲料中添加微胶囊的时间延长有上升趋势,但时间过长会出现不同程度的下降(图 4)。

2.3 超氧化物歧化酶 SOD 活性

不同添加量实验组刺参体腔液中 SOD 活性如图 2 所示,添加量为 3%时刺参体腔液 SOD 活性优于其他实验组,且与对照组之间存在显著性差异($P < 0.05$)。当添加量为 3%时,SOD 活性在第 21 天达到最高水平,为 63.3U/ml,且随着时间的延长,SOD 活性出现不同程度的下降趋势(图 5)。

2.4 髓过氧化物酶 MPO 活性

不同剂量的微胶囊对刺参体腔液中 MPO 活性产生一定的影响,其中以 3%添加量产生的影响最大,但与对照组之间差异性不显著($P > 0.05$)(图 3)。以 3%添加量投喂刺参时,MPO 活性在第 21 天达到最高值,为 40 MPO 单位/ml,与对照组之间差异性不显著($P > 0.05$);且在试验期间 MPO 变化趋势不明显(图 6)。



0: blank control; 1: 1% APS; 3: 3% APS; 5: 5% APS (以下同)
* 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$) (以下同)

Values with different superscripts mean significant difference ($P < 0.05$)

图1 不同剂量微胶囊剂型黄芪多糖对刺参体腔液 ACP 活性的影响

Fig. 1 Effect of different APS microcapsule on the activity of ACP in the coelomic fluid of *A. japonicus*

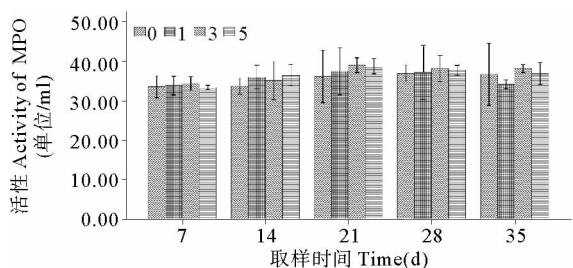


图3 不同剂量微胶囊剂型黄芪多糖对刺参体腔液 MPO 活性的影响

Fig. 3 Effect of different APS microcapsule on the activity of MPO in the coelomic fluid of *A. japonicus*

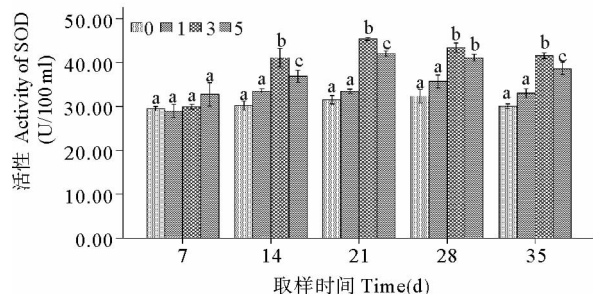
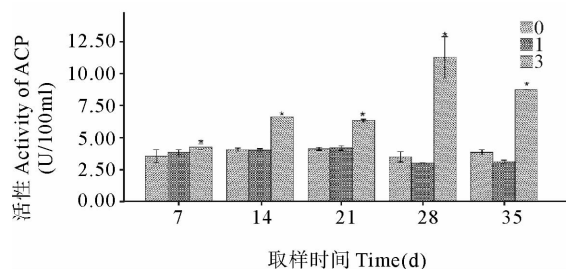


图2 不同剂量微胶囊剂型黄芪多糖对刺参体腔液 SOD 活性的影响

Fig. 2 Effect of different APS microcapsule on the activity of SOD in the coelomic fluid of *A. japonicus*



注: 0: 空白组 Blank control 1: 阴性对照 Negative control
3: 试验组 group 3% (以下同)

图4 微胶囊剂型黄芪多糖对刺参体腔液 ACP 活性的影响

Fig. 4 Effect of APS microcapsule on the activity of ACP in the coelomic fluid of *A. japonicus*

2.5 攻毒感染

在基础饲料中添加微胶囊可明显提高刺参的抗病力。感染灿烂弧菌 14d 后,3%、5% 实验组累积死亡率为 11.7%、12%,显著低于对照组(50%)($P < 0.05$)(表 2)。从图 7 中可以看出不同试验组感染灿烂弧菌后累积死亡率的变化,3%、5% 实验组与对照组比较,出现死亡的时间明显推迟,变化趋势缓慢。

表 2 微胶囊剂型黄芪多糖对刺参抗致病菌
灿烂弧菌能力的影响(平均值±标准误)

Table 2 Effect of APS microcapsules on disease resistance
against *V. splendidus* of *A. japonicus*(Mean±S.E)

组别 Treatment	攻毒总数量 Number of challenged	死亡总数量 Number of death	累积死亡率 MR(%)
0 additive	24	11.7±0.33 ^a	49.7±0.33 ^a
1% APS additive	24	5.6±0.33 ^b	20.6±1.02 ^b
3% APS additive	24	2.7±0.32 ^c	11.7±0.33 ^c
5% APS additive	24	3.0±0.33 ^c	12.0±0.32 ^c

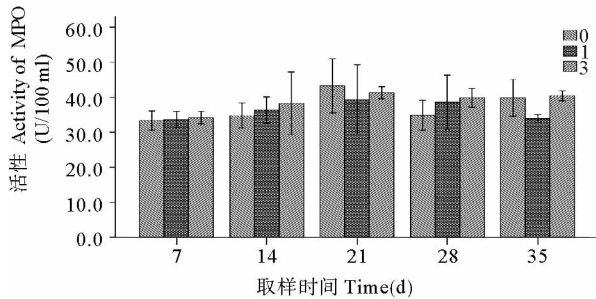


图 6 微胶囊剂型黄芪多糖对刺参体
腔液 MPO 活性的影响

Fig. 6 Effect of APS microcapsule on the activity
of MPO in the coelomic fluid of *A. japonicus*

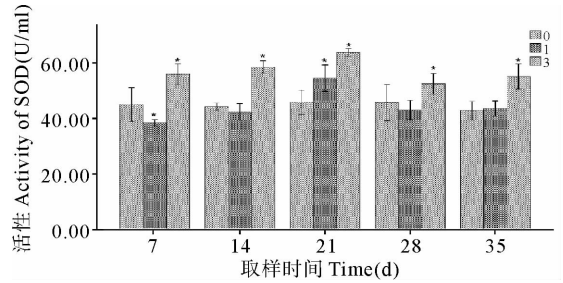
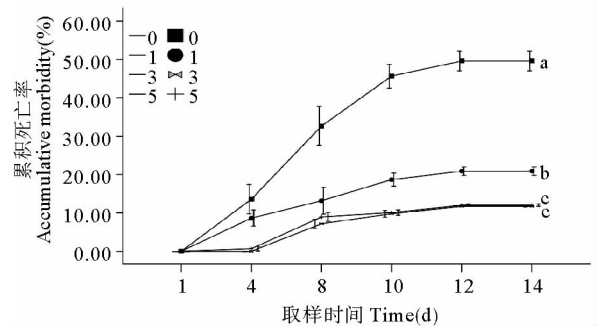


图 5 微胶囊剂型黄芪多糖对刺参体
腔液 SOD 活性的影响

Fig. 5 Effect of APS microcapsules on the activity
of SOD in the coelomic fluid of *A. japonicus*



0:空白组,1:1%APS 微胶囊; 3:3% APS 微胶囊;5:5% APS 微胶囊

0:Blank control,1: 1%APS microcapsules,

3:3%APS microcapsules;5:5%APS microcapsules

注:不同字母表示四个处理间有显著性差异($P < 0.05$)

Different letters indicate significant ($P < 0.05$) difference in
mean accumulative morbidity among four treatments

图 7 灿烂弧菌攻毒后 14d 内刺参累积死亡率

Fig. 7 Accumulative morbidity of *A. japonicus*
after being challenged by *V. splendidus*

3 讨论

3.1 微胶囊剂型黄芪多糖对刺参生长性能的影响

研究表明,多糖类免疫增强剂在促进机体免疫力的同时,或对动物生长产生一定的抑制,故在评价机体免疫指标的同时对刺参生长性能进行研究(Gu *et al.* 2010;Zhao *et al.* 2011)是必要的;且 SGR 反映的是瞬时增长率,即某一点的生长速率,它能很好地描述动物当时的生长趋势。一些研究报道了多糖类免疫增强剂能够促进水产动物的生长,如肽聚糖可以提高鲈鱼的特定生长率(Zhang *et al.* 2008),免疫多糖可以提高刺参幼参的体重(马跃华等 2006),本研究证明了微胶囊剂型黄芪多糖能够明显提高刺参的特定生长率,且不同的添加量影响效果不同,没有出现高剂量组生长滞后的现象,添加量与生长率成正比例递增关系;试验结束后测

得,5%添加量试验组刺参特定生长率最高,达到0.51%/d;添加不同剂量的微胶囊能够从不同程度提高刺参的非特异性免疫以及刺参体质和健康状况,进而加快了生长速度,但关于免疫增强剂促进水产养殖动物生长的机理目前尚不十分清楚。

3.2 微胶囊剂型黄芪多糖对刺参体腔液中免疫指标的影响

酸性磷酸酶(Acid phosphatase, ACP)是吞噬细胞溶酶体的标志酶,尤其是在缺乏特异性免疫球蛋白的软体动物体内。研究表明,血清中的 ACP 可改变细菌等的表面结构,增强其异己性,从而加快对异物的识别、吞噬和清除,对于被识别并吞噬的病毒或细菌,溶酶体能将其杀死并进一步降解(常杰 2010)。孙永欣(2008)指出,在海参免疫系统中 ACP 被证实具有调理素作用,能诱导阿米巴细胞对外来物质进行吞噬和包裹。本研究结果表明,刺参体腔液 ACP 对于微胶囊剂型黄芪多糖表现出灵敏的反应,其中以 3%添加量实验组提高程度最强,与对照组存在显著性差异($P < 0.05$),且添加量与免疫效果之间呈现不规则的变化趋势,当添加量达 5%时刺参体腔液中 ACP 活性反而低;当添加 3%微胶囊时,每隔 7d 测定 ACP 活性结果显示,第 28 天活性最高,为 11.2U/100ml,与对照组差异性显著($P < 0.05$),第 35 天有所降低,但下降趋势缓慢,故微胶囊的添加时间与刺参体腔液 ACP 活性之间存在一定的相关性。

超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)是衡量生物体健康状况的一个主要指标(孙永欣 2008;陈效儒 2009;张伟妮等 2010),机体内该酶的活性高低反映了抗氧化能力的大小,当处于疾病或逆境条件下机体的抗氧化能力会有所降低。本实验室通过注射方式研究的 APS 对刺参非特异性免疫试验表明,APS 能够显著提高刺参体腔液中 SOD 活性,增强抗氧化能力,这可能与黄芪成分中的黄酮和皂甙消除氧自由基的作用相关(樊英等 2010);通过浸泡方式研究黄芪多糖对金丝鱼 *Tanichthys albonubes* 的效果试验得出,黄芪多糖可显著提高鱼体内的 SOD 活力(吴旋等 2010);这些研究证实了黄芪多糖的免疫增强作用,但实施方式不适宜推广应用。本研究结果证实,微胶囊剂型黄芪多糖可直接进行投喂,颗粒大小便于刺参摄食,减少了黄芪多糖在水体中的溶解损失,对刺参体腔液 SOD 活性的影响效果同样显著,在推广养殖中更接近于实际应用,容易形成规模化、科学化发展,与注射方式比较更容易被养殖者接受。本研究中不同的微胶囊添加量表现了不同的促进作用,其中以 3%添加组效果最好;当添加量为 3%时,刺参体腔液 SOD 活性在第 21 天最高,为 63.3U/ml,与对照组差异显著($P < 0.05$),第 28 天出现缓慢的下降趋势;即微胶囊的使用效果与使用剂量、使用时间之间存在明显的相关性,且不成正比例关系,这可能与黄芪多糖自身的结构、免疫调节机制以及刺参体内免疫系统的作用机制有关。

髓过氧化物酶(Myeloperoxidase, MPO)又称过氧化物酶,是一种重要的含铁溶酶体,存在于髓系细胞(主要是中性粒细胞和单核细胞)的嗜苯胺蓝颗粒中,是髓细胞的特异性标志;MPO 基因多态性可导致个体对一些疾病易感性的差异,与多种疾病的发生、发展密切相关。王方雨等(2009)研究了温度变化对刺参体内 MPO 活性的影响,结果表明,周年内 MPO 变化存在几个不同的转折点。本研究在 7~9 月进行,测得微胶囊对刺参体腔液中 MPO 活性影响不显著,这可能与刺参在该环境下的免疫机制或 MPO 存在位置相关,具体影响因素需进一步深入探讨。

3.3 微胶囊剂型黄芪多糖对刺参抗灿烂弧菌感染能力的影响

攻毒试验是反映免疫增强剂效果最直接的方式,灿烂弧菌是刺参腐皮综合征的致病菌,对刺参养殖危害严重。本研究攻毒结果表明,饲料中添加微胶囊连续投喂刺参后产生了免疫保护作用,且 3%添加量组累积死亡率最低(11.7%),显著高于对照组(50%)($P < 0.05$)。相对其他研究结果而言,微胶囊新剂型在减少多糖溶失的同时大大提高了消化吸收和免疫作用,如孙永欣(2008)的研究结果显示,投喂黄芪化微粉和黄芪多糖 60d 之后刺参的患病率仍为 16.67%和 25.0%,远远高于本研究中微胶囊取得的结果;本实验室也进行了不同剂型的黄芪多糖对刺参抗病力的影响,结果同样证实了微胶囊新剂型的作用(结果在整理发表中)。

众所周知,益生元的作用是可选择性的刺激一种或多种细菌的生长与活性,从而产生对宿主来说有益或有害的影响(周慧慧等 2010;Vine *et al.* 2006;Zhang *et al.* 2010),这可能与本研究中黄芪多糖可提高刺参

抗病力的原因相似,黄芪多糖可发挥益生元的作用,通过刺激细胞因子的分泌来提高机体的免疫功能,改善葡萄糖的耐受,调节肠道菌群平衡和代谢环境,从而调节微生物的发酵,降低 pH 值和氨的产生,对养殖刺参产生有益影响。

4 结论

本研究获得了以下结论:1)不同添加量的微胶囊剂型黄芪多糖能够有效促进刺参生长性能及体腔液中免疫指标水平,同时增强了刺参抗致病菌灿烂弧菌的能力。2)微胶囊剂型黄芪多糖的添加剂量、添加时间与免疫效果之间存在一定的相关性,3%添加量取得的效果最佳,ACP、SOD 活性与对照组差异性显著,MPO 活性与对照组无显著性差异。3)微胶囊剂型黄芪多糖的应用为其他免疫增强剂的推广提供了参考,拓展了其在刺参养殖中的应用形式。

致谢:本研究实施过程得到了山东东方海洋科技股份有限公司三山岛分公司的协助和该公司周文江总经理等同仁的支持和帮助,在此一并表示衷心感谢。

参 考 文 献

- 白东清,吴旋,郭永军,朱国霞,邢克智,宁博. 2011. 长期投喂黄芪多糖对黄颡鱼抗氧化及非特异性免疫指标的影响. 动物营养学报, 23(9): 1622-1630
- 常杰. 2010. 对虾和刺参敏感免疫学指标的筛选和评价. 见:中国海洋大学博士研究生学位论文
- 陈效儒. 2009. 对虾与海参高效免疫增强剂的筛选. 见:中国海洋大学博士研究生学位论文
- 樊英,王淑娟,叶海斌,许拉,朱安成,杨秀生,李天保. 2010. 黄芪多糖对仿刺参非特异性免疫功能的影响. 水产科学, 29(6): 321-324
- 林承仪. 2003. 兽药新剂型与新技术——微囊化技术. 兽药与饲料添加剂, 8(4): 27-30
- 刘红柏,卢彤岩,张春燕,孙大江,白秀娟. 2006. 黄芪对史氏鲟抗氧化能力及免疫力的影响. 大连水产学院学报, 21(3): 231-235
- 孔伟丽. 2008. 免疫增强剂及疫苗对刺参(*Apostichopus japonicus*) 免疫酶活性及抗病力影响的初步研究. 见:中国海洋大学硕士研究生学位论文
- 马跃华,胡守义. 2006. 免疫多糖投喂海参幼体试验. 河北渔业, 151(7): 22-23
- 马悦欣,徐高蓉,张恩鹏,王品虹,常亚青. 2006. 仿刺参幼体急性口围肿胀症的细菌性病原. 水产学报, 30(3): 377-382
- 孙永欣. 2008. 黄芪多糖促进刺参免疫力和生长性能的研究. 见:大连理工大学博士研究生学位论文
- 王方雨,杨红生,高菲,刘广斌. 2009. 刺参体腔液几种免疫指标的周年变化. 海洋科学, 33(7): 75-80
- 吴旋,白东清,李玉华,张雪涛,楚伟,宁博. 2010. 两种中草药多糖对金丝鱼生化指标的影响. 饲料工业, 31(22): 25-27
- 张春云,王印庚,荣小军. 2006. 养殖刺参腐皮综合症病原菌的分离与鉴定. 水产学报, 30(1): 118-123
- 张琴,麦康森,张文兵,马洪明,艾庆辉,徐玮,刘付志国. 2011. 饲料中添加晒酵母和维生素 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
- 张伟妮,林旋,王寿昆,张小莲,黄玉章,王全溪,陈佳铭,赵董. 2010. 黄芪多糖对罗非鱼非特异性免疫和胃肠内分泌功能的影响. 动物营养学报, 22(2): 401-409
- 周慧慧,马洪明,张文兵,徐玮,刘付志国,麦康森. 2010. 仿刺参肠道潜在益生菌对稚参生长、免疫及抗病力的影响. 水产学报, 34(6): 775-783
- 周进,黄捷,宋晓玲. 2003. 免疫增强剂在水产养殖中的应用. 海洋水产研究, 24(4): 70-79
- Gu M, Ma HM, Mai KS and 3 others. 2011. Effects of dietary β -glucan, mannan oligosaccharide and their combinations on growth performance, immunity and resistance against *Vibrio splendidus* of sea cucumber, *Apostichopus japonicus*. Fish & Shellfish Immunology 31(2): 303-309
- Zhang Q, Ma HM, Mai KS and 3 others. 2010. Interaction of dietary *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on the growth performance, non-specific immunity of sea cucumber, *Apostichopus japonicus*. Fish & Shellfish Immunology 29(2): 204-211
- Sun YX, Jin LJ, Wang TT and 6 others. 2008. Polysaccharides from *Astragalus membranaceus* promote phagocytosis and superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$) production by coelomocytes from sea cucumber *Apostichopus japonicus* in vitro. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 147(3): 293-298
- Vine N, Leukes W, Kaiser H. 2006. Probiotics in marine larviculture. FEMS Microbiology Reviews 30(3): 404-427
- Zhao YC, Ma HM, Zhang WB and 5 others. 2011. Effects of dietary β -glucan on the growth, immune responses and resistance of sea cucumber, *Apostichopus japonicus* against *Vibrio splendidus* infection. Aquaculture 315(3-4): 269-274
- Zhang L, Ai QH, Mai KS, Zheng SX. 2008. Effects of dietary peptidoglycan level on the growth and non-specific immunity of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. Periodical of Ocean University of China 38(4): 551-556