

免疫增强蓝藻作为日本鳗鲡黑仔饲料添加剂研究

朱小明¹, 章军², 刘少萍³

- (1. 厦门大学海洋与环境学院, 福建 厦门 361005;
2. 厦门厦大科晟基因工程有限公司, 福建 厦门 361005;
3. 莆田兴华饲料有限公司, 福建 莆田 351102)

摘要: 免疫增强蓝藻是把胸腺素 α_1 ($T\alpha_1$) 基因转移到蓝藻——聚球藻 PCC 7942 (*Synechococcus* sp. PCC7942) 染色体上后获得稳定表达的转基因蓝藻, 经小鼠实验初步表明其具有生物学活性并且口服有效。通过采用该免疫增强蓝藻饲喂日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*) 黑仔, 并采集分离了一种鳗鱼养殖流行性发病弧菌, 对饲喂了免疫增强蓝藻的黑仔鳗进行多次感染试验, 结果表明: 饲喂添加免疫增强蓝藻的饲料后, 黑仔鳗各检测组织器官 $T\alpha_1$ 含量显著提高; 免疫增强蓝藻提高了试验鱼的免疫能力, 增强了试验鱼的抗逆、抗病菌感染能力, 并具有一定的促生长作用。免疫增强蓝藻作为鱼类饲料添加剂适口性好, 适宜添加量为 $0.5\sim 1.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

关键词: 免疫增强蓝藻; 胸腺素 α_1 ; 日本鳗鲡; 黑仔

中图分类号: S 965.223; S 942.5

文献标识码: A

Immunostimulated blue algae as feed additive for *Anguilla japonica* black fry

ZHU Xiao-ming¹, ZHANG Jun², LIU Shao-ping³

- (1. College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005, China;
2. Xiamen Clonesun Genetech CO., Ltd., Xiamen, Fujian 361005, China;
3. Putian Xinghua Feed CO., Ltd., Putian, Fujian 351102, China)

Abstract: The immunostimulated blue algae is the transgenic *Synechococcus* sp. PCC7942 in which human thymosin- α_1 ($T\alpha_1$) gene had been expressed effectively. It has been confirmed that the immunocompetence in mice can be improved by oral administration of immunostimulated *Synechococcus* sp. PCC7942. The immunostimulated *Synechococcus* sp. was fed to *Anguilla japonica* as feed additive in this experiment. And the black fry was infected with epidemic pathogenic *Vibrio* sp. which had been isolated from the diseased *A. japonica* in the laboratory. $T\alpha_1$ contents in the measured tissues and organs of the black fry increased after fed with immunostimulated *Synechococcus* sp. The immunocompetence in *A. japonica* could be improved by oral administration of immunostimulated *Synechococcus* sp.. Resistances to bacterial pathogens such as *Vibrio* sp. and to environmental stress could be increased by fed with this immunostimulated blue algae, and the effects of the immunostimulated blue algae facilitated on growth of the black fry have been also observed in the experiment. The immunostimulated blue algae was the feasible aquatic feed additive and its dosages was about 0.5 to 1.0 gram per kilogram formulated feed.

Key words: Immunostimulated blue algae; Thymosin α_1 ; *Anguilla japonica*; Black fry

随着水产养殖业的快速发展, 养殖期间病害亦越来越严重。大量、盲目使用抗生素和化学合成药物不但防治效果差, 而且还造成一系列不良后果。因此, 国内外一些学者从免疫学角度开展水产养殖病害防治研究, 通过给水产动物服用免疫添加剂来

提高动物体的特异性和非特异性免疫机能, 从而提高其抗病能力^[1~6]。目前认为一些无公害饲料添加剂如酶制剂、酵母细胞壁、中草药制剂、微生态制剂、寡糖、多糖等或多或少具有提高养殖动物免疫机能的作用。但是, 安全专一的免疫饲料添加剂

收稿日期: 2005-04-15 初稿; 2005-10-29 修改稿

作者简介: 朱小明 (1966-), 男, 副教授, 博士, 从事海洋生态学和水生动物生物能学及营养生态学研究。

基金项目: 国家海洋 863 项目 (819-04-03); 厦门厦大科晟基因工程有限公司资助项目 (CS040319A)。

(或称为免疫增强剂)有待开发。国内外学者已证明免疫家禽是提供特异卵黄抗体(IgY)最方便、最廉价的来源,较专一的免疫增强剂IgY作为抗生素的有效代替品已被广泛应用^[7]。在虾蟹贝类非特异性免疫系统中,免疫增强剂主要通过激活吞噬细胞、激活酚氧化酶活力等来提高机体的抗病能力;在鱼类特异性免疫系统(相对低级的)中则主要表现为激活抗菌溶菌活力,提高抗体免疫效应及激活补体等^[8]。

蓝藻,特别是螺旋藻,作为高档水产养殖动物的饲料或饲料添加剂早已被广泛应用。胸腺素 α_1 ($T\alpha_1$)是一种生物反应调节剂(BRM),大量的体内外及临床试验表明,它可纠正实验或临床免疫缺陷,与其他生物反应调节剂,如IL-2、IFN- α 、胸腺因子等具协同作用。临床上大多把 $T\alpha_1$ 作为免疫增强剂^[9]。厦门大学生命科学学院和厦门厦大科晟基因工程有限公司在国家863项目支持下,建立了蓝藻基因整合平台系统转基因技术,把 $T\alpha_1$ 基因转移到蓝藻——聚球藻PCC 7942(*Synechococcus* sp. PCC7942)和钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)染色体上,得到的转基因蓝藻表达稳定,表达量超过国外同类技术水平,经小鼠实验初步表明其具有生物学活性并且口服有效^[10]。该项目已获得3项发明专利,拥有自主知识产权。本文报道利用该蓝藻作为日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)黑仔饲料添加剂的初步研究结果。

1 材料与方 法

1.1 材 料

新型免疫增强蓝藻(*Synechococcus* sp. PCC7942)是由厦门厦大科晟基因工程有限公司提供的冷冻干燥藻粉。日本鳗鲡黑仔向莆田市涵江区秋芦镇丰顺养殖有限公司购买。

1.2 实验动物的养殖

1.2.1 现场养殖 现场养殖从2004年4月15日开始在莆田市涵江区秋芦镇丰顺养殖有限公司(福建省鳗鲡养殖标准化示范基地)进行,试验设不添加免疫增强蓝藻的为I组(对照组),每公斤饲料添加免疫增强蓝藻0.5g的为II组、添加2.5g的为III组(下称I、II、III组)。每组幼鳗约5万尾(每公斤200~250尾),养殖于150m²的黑仔鳗池中。黑仔鳗每天投料2次,投料量为鱼体湿重的4%~5%,温度保持在27~29℃。原计划养殖1~2个月,每隔15d

取样测定 $T\alpha_1$ 含量1次,最后进行鳗鱼流行病菌感染试验的,但由于水源污染,黑仔鳗搬离原养殖场,试验被迫于5月5日中断。

1.2.2 实验室养殖

1.2.2.1 实验室驯养 我们于2004年5月22日从莆田鳗鱼养殖场购买1000尾黑仔鳗,初始体重180尾·kg⁻¹,分3组(分组同现场养殖试验,但I、II组的添加量分别为1g和10g)6个水族箱(0.5m³)养殖。养殖用水为瀑气的自来水,流水养殖。从试验开始每天投饵2次,早晚各1次,投饵量为鱼体重的3%~4%。养殖水温为自然水温(24~27℃)。每隔6d用消毒药物进行整箱消毒。

1.2.2.2 实验室养殖 于2004年6月30日,再次从莆田购买黑仔鳗320尾,与实验室驯养所剩的黑仔鳗共450尾一起分为3组(分组与实验室驯养同)分养于3个水族箱(0.5m³)内(限于实验黑仔数量,为保持每一水族箱群体数量而促进摄食,没设置平行组),平均体重150~160尾·kg⁻¹;养殖用水为瀑气的自来水,进行流水养殖;每天投饵2次,早晚各1次,投饵量为鱼体重的5%~10%;养殖水温控制在27~31℃;每隔6d用消毒药物进行整箱消毒。养殖试验至8月10日结束。

1.3 胸腺素 α_1 含量测定

黑仔鳗称重,尾静脉取血加抗凝剂,解剖鳗鱼分别取出心脏、肝脏、肾脏及切一点肌肉,立即投入液氮中速冻,储存在-20℃冰箱中备用。各组织称重,按重量加入一定量的0.5mol·L⁻¹HClO₄匀浆,匀浆液在0℃、1000g离心10min,取上清液,用1mol·L⁻¹NaOH调上清液的pH值,pH值平衡后在4℃振荡60min以上,在0℃、20000g离心30min,取上清液,采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测 $T\alpha_1$ 的含量。每个样品设置2个平行,并对I组与II、III组进行显著性检验。

1.4 鳗鲡流行病菌感染试验

1.4.1 流行病菌菌株的获得 2004年6月从福建省淡水水产研究所获得3株鳗鲡细菌性疾病的病原菌:非O1群霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)(96-3),温和气单孢菌(*Aeromonas sobria*)(96-4),鲁氏不动杆菌(*Acinebacter lwoffii*)(96-7)。2004年9月直接分别从病死鳗鲡的鳃、皮肤伤口、消化道、肝脏等接种培养,获得1株鳗鲡细菌性疾病的病原菌——弧菌(*Vibrio* sp.)。

1.4.2 感染试验

①2004年8月10日进行浸泡感染试验。每个试验组10尾鳗鲡,设置2个平行样,用高浓度($10^8 \sim 10^9$ 个 \cdot ml $^{-1}$)的非O1群霍乱弧菌、温和气单孢菌和鲁氏不动杆菌病原菌混合培养液浸泡鳗鲡,试验持续10d,试验至鳗鲡全部死亡结束。

②2004年9月15日从莆田获得病死鳗鲡16条,16日直接分别从病死鳗鲡的鳃、皮肤伤口、消化道、肝脏等接种培养,获得1株优势鳗鲡细菌性疾病的病原菌,21日纯化培养。

③2004年9月15日再次从莆田购买60尾黑仔鳗,于水族箱内驯养10d,作为对照组的试验鳗鲡,9月25日进行了新分离病原菌毒性和剂量试验;采用冷冻法麻醉黑仔,从腹腔注射病原弧菌。

④2004年9月27日,3个试验组分别取10尾鳗鲡,进行感染试验。每尾鳗鲡注射剂量为0.2~0.3ml,感染用病原菌浓度约 10^6 个 \cdot ml $^{-1}$;冷冻法麻醉,腹腔注射。注射后发现死鱼立即捞出,待检查拍照后冷冻储存。注射病原菌的黑仔暂养于存有6L瀑气自来水的蓝色塑料桶内、不投饵,每天换瀑气自来水一半。

⑤2004年10月3日,3个试验组分别取10尾鳗鲡,进行注射感染试验。每尾鳗鲡注射剂量为0.4~0.5ml,感染用病原菌浓度约 $10^8 \sim 10^9$ 个 \cdot ml $^{-1}$;冷冻法麻醉,腹腔注射。注射后发现死鱼立即捞出,待检查拍照后冷冻储存。注射病原菌的黑仔暂养于塑料桶内(条件同9月27日试验)。

⑥2004年10月6日对9月27日感染试验的各组鳗鲡再次进行病原菌注射。每尾鳗鲡注射剂量约为0.2ml,感染用病原菌浓度约 $10^7 \sim 10^8$ 个 \cdot ml $^{-1}$;冷冻法麻醉,腹腔注射。注射后发现死鱼立即捞出,待检查拍照后冷冻储存。注射病原菌的黑仔暂养于塑料桶内(条件同9月27日试验)。

2 结果与分析

2.1 投喂添加免疫增强蓝藻饲料对黑仔鳗生长存活的影响

现场养殖试验结果表明,饲料添加免疫增强蓝藻后不会影响黑仔鳗的正常摄食,表明蓝藻粉作为饲料添加剂的适口性良好。20d的现场养殖试验表明,投喂添加免疫增强蓝藻的饲料对黑仔鳗生长存活没有明显的影响,试验组、对照组与其他黑仔池的黑仔鳗的生长存活均正常。

来自现场大池的黑仔不容易适应实验室水族

箱的生活环境。因此,来自现场大池的黑仔鳗在水族箱内驯养过程中焦躁不安,连续8d不摄食,第5d开始出现死亡,每个水族箱每天都有数尾黑仔鳗死亡。第9d开始加温至28~30℃,6月10日后,黑仔鳗开始摄食,但每天仍有死亡,少则几尾,多则十几尾。6月13日,由于气温升高,水质败坏,出现大量死亡,3组6箱仅剩150余尾。于是把所剩黑仔鳗集中于1个水族箱内,同时在水族箱底铺以5cm左右的沙子,并设置黑仔鳗的隐蔽物,经15d的养殖,黑仔鳗摄食渐趋正常,死亡明显减少。至此,黑仔鳗实验室水族箱的驯养基本成功。

实验室养殖试验期间,自7月中旬起由于气温上升、水温一般都超过30℃,停电等原因,死亡率仍然较高,但黑仔鳗摄食正常,有明显的生长。6月30日至9月2日,黑仔鳗实验室养殖的生长存活情况见表1。免疫增强蓝藻与报道的其他免疫增强剂^[5,6,8,10]同样具有提高鳗鲡抗逆(抗病、抗高温)能力的作用,并且对鳗鲡具有一定的促长增重作用。

表1 黑仔鳗实验室养殖期间的存活和生长情况

Table 1 Survival and growth of black fry of *Anguilla japonica* fed with immunostimulated blue algae

项目	I (对照组)	II (1 g \cdot kg $^{-1}$)	III (10 g \cdot kg $^{-1}$)
6月30日尾数(尾)	150	150	150
8月10日尾数(尾)	69	59	67
6月30日体重(g)	6.25~6.67	6.25~6.67	6.25~6.67
8月10日体重(g)	8.34~16.23	8.53~24.32	9.34~78.45
8月10日剩余尾数(尾)	39	29	37
9月2日剩余尾数(尾)	4	22	31
9月2日体重(g)	8.6~12.3	8.6~30.5	9.7~110.3

注:8月10日各组分别取20尾用于测定黑仔T α_1 含量,10尾用于浸泡感染试验。

2.2 投喂添加免疫增强蓝藻饲料后黑仔鳗胸腺素 α_1 含量的变化

现场养殖试验于饲养15d后,各组分别取20尾黑仔鳗用于检测T α_1 含量。实验室养殖自6月30日开始,8月10日各组分别取20尾黑仔鳗用于检测T α_1 含量。分别测定黑仔鳗全血、心脏、肌肉、肝脏及肾脏的T α_1 含量,结果见表2,T α_1 在现场和实验室养殖试验2次检测结果中具有相似性。

除肌肉外,其他组织器官I组的T α_1 含量明显

比Ⅱ、Ⅲ组低,各组织器官的 $T\alpha_1$ 含量肌肉最高,心脏次之,全血的最低。说明代谢活性相对不旺盛的组织器官如肌肉、心脏会积累较多的 $T\alpha_1$,而代谢活性较高的组织器官 $T\alpha_1$ 含量相对较低。这可能与胸腺素在鳊鲈特异免疫系统中发生作用的方式有关^[8,9]。免疫增强蓝藻中的 $T\alpha_1$ 在鱼类体内的代谢亟待研究。比较第1次和第2次 $T\alpha_1$ 的检测结果(表2)可以发现,第2次检测黑仔鳊各组织器官 $T\alpha_1$ 的

含量明显低于第1次的,实验室养殖期间,Ⅲ组免疫增强蓝藻的添加量比现场试验的要高,而且养殖时间几乎是现场试验的3倍,这主要是由于实验室养殖期间黑仔鳊的摄食量不如现场试验的。因此,建议进一步的试验或类似的试验最好在现场进行。根据 $T\alpha_1$ 的检测结果,建议在每公斤饲料中免疫增强蓝藻添加量以0.5~1.0 g为宜。

表2 黑仔鳊各组织器官转胸腺素 α_1 含量测定结果Table 2 Thymosin α_1 in the tissues and organs of the black fry measured by ELISA

项 目	I组(对照)			II组			III组			与I组比 差异显著性	
	平均值	样品数	标准差	平均值	样品数	标准差	平均值	样品数	标准差		
第1次 (现场)	全血	0.6134	7	0.1310	0.9016	7	0.2007	1.1576	7	0.2997	<0.01
	心脏	1.1145	6	0.1490	1.8557	6	0.3275	1.5503	6	0.3474	<0.01
	肌肉	1.7780	6	0.3075	1.7150	6	0.3787	3.4013	6	0.3075	=0.027
	肝脏	0.7878	6	0.1539	1.4653	6	0.2136	1.5537	6	0.1766	<0.01
	肾脏	1.0548	6	0.3083	1.2758	6	0.1283	1.7730	6	0.1948	<0.01
第2次 (实验室)	全血	0.5646	8	0.2193	0.8548	8	0.3306	0.8578	8	0.1842	<0.01
	心脏	0.8211	7	0.1590	1.0627	7	0.3594	0.9799	7	0.3325	<0.01
	肌肉	0.9231	10	0.2072	0.9529	10	0.1556	0.9505	10	0.2371	=0.68
	肝脏	0.7843	7	0.1180	1.3084	7	0.1407	1.1416	7	0.1676	<0.01
	肾脏	0.7389	10	0.1798	1.0581	10	0.2589	1.2317	10	0.4226	<0.01

注: I、II组每公斤饲料中免疫增强蓝藻的添加量第1次试验分别为0.5 g和2.5 g,第2次试验分别为1 g和10 g。

2.3 感染试验结果

8月10日每组取10尾黑仔鳊进行浸泡感染试验的结果表明,Ⅲ组鳊鱼比其他两个试验组死亡时间有所延迟,但试验组之间差异并不显著。由于供试的3株鳊鲈细菌性病原体病原菌(非O1群霍乱弧菌、温和气单孢菌、鲁氏不动杆菌)保存时间太久,已失去其原有的毒性,试验效果不明显,必须分离新的病原菌进行感染试验。

2004年9月25日取I组(对照组)鳊鲈10尾再分为2组进行新分离病原菌毒性和剂量试验,一组注射 $10^8 \sim 10^9$ 个 $\cdot \text{ml}^{-1}$ 新分离纯化培养的弧菌0.5 ml,另一组注射1.0 ml。注射1.0 ml病原菌的鳊鲈6 h内全部死亡,腹部有明显的红色斑点;注射0.5 ml病原菌的鳊鲈10 h内全部死亡,腹部亦有明显的红色斑点。表明新分离的弧菌确系鳊鲈细菌性疾病的病原菌,毒性较强,完全可以用作感染试验;注射剂量在0.5 ml以下、浓度 $10^7 \sim 10^8$ 个 $\cdot \text{ml}^{-1}$ 。

2004年9月27日,3个试验组分别取10尾鳊鲈,进行感染试验。每尾鳊鲈注射剂量为0.2~0.3

ml,感染用病原菌浓度约 10^6 个 $\cdot \text{ml}^{-1}$,I组和II组均在注射5 h和10 h后死亡1尾,但没有该病原菌感染致死的症状,Ⅲ组有1尾鳊鲈在注射时刺穿肠道有微出血,至10月6日下午没有再发现死亡。说明注射菌液的浓度或剂量不够。

2004年10月3日的注射感染试验结果,所有的黑仔鳊在注射菌液15 h内全部死亡,但从死亡时间和各观察时间死亡数量来看,黑仔鳊抗菌毒的能力是Ⅲ>Ⅱ>Ⅰ(表3)。说明免疫增强蓝藻提高了鳊鲈抗病能力,佐证了免疫增强蓝藻提高了鳊鲈的免疫能力。

2004年10月6日对9月27日感染试验后存活的黑仔鳊再次注射病原菌。试验结果(表4)与10月3日的感染试验结果基本一致。

根据鳊鲈黑仔感染病原菌的试验结果,鳊鲈抗病原菌感染能力与饲料中添加免疫增强蓝藻的剂量有关。免疫增强剂的使用剂量、使用方法直接与其所起的免疫增强效果有关,对于一些化学合成的免疫增强剂,使用剂量过高反而具有毒副作用^[8]。一般

认为,免疫增强剂注射的效果要好于口服和浸泡的效果^[8-10]。根据感染试验结果,免疫增强蓝藻适宜的添加量为 $0.5\sim 1.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。而注射病原菌的剂量及操作也直接关系到鳗鲡的发病及死亡,因此采用血清中溶菌酶、抗菌活力等免疫力指标开展临床试验可能更为科学。

表3 黑仔鳗感染观察

Table 3 The observation of *Anguilla japonica* after infected by bacterial pathogens

观察时间 (日/月,时:分)	I组 (10尾)	II组 (10尾)	III组 (10尾)
3/10,17:00	完成注射	完成注射	完成注射
22:00	死6尾活4尾	死2尾活8尾	死0尾活10尾
4/10,06:00	死4尾活6尾	死6尾活2尾	死3尾活7尾
08:00		死2尾活8尾	死5尾活2尾
10:00			死2尾活8尾

注:注射剂量 $0.4\sim 0.5\text{ ml}$,注射浓度 $10^8\sim 10^9\text{ 个}\cdot\text{ml}^{-1}$ 。

表4 黑仔鳗再次注射病原菌感染观察

Table 4 The observation of *Anguilla japonica* after re-infected by bacterial pathogens

观察时间 (日/月,时:分)	I组 (8尾)	II组 (8尾)	III组 (10尾)
6/10,17:00	完成注射	完成注射	完成注射
22:00	死0尾活8尾	死0尾活8尾	死0尾活10尾
7/10,06:00	死4尾活4尾	死0尾活8尾	死1尾活9尾
10:45	死2尾活2尾	死0尾活8尾	死1尾活8尾
15:00	死1尾活1尾	死2尾活6尾	死0尾活8尾
21:00	死0尾活1尾	死2尾活4尾	死2尾活6尾
22:30	死0尾活1尾	死0尾活4尾	死1尾活5尾
8/10,05:50	死0尾活1尾	死0尾活4尾	死1尾活4尾
10:30	死0尾活1尾	死0尾活4尾	死0尾活4尾
17:00	死0尾活1尾	死0尾活4尾	死0尾活4尾
.....
13/10,10:00	死0尾活1尾	死0尾活4尾	死0尾活4尾

注:①注射剂量为 0.2 ml ,注射浓度 $10^7\sim 10^8\text{ 个}\cdot\text{ml}^{-1}$;② III组有1尾鳗鲡在注射时麻醉不够,挣扎使针管深入腹腔,刺穿肠道有出血,另1尾注射时有微出血。

3 结论与展望

3.1 试验结果表明,转 $T\alpha_1$ 免疫增强蓝藻可提高试

验鱼的免疫力,具有增强试验鱼抗逆、抗病菌感染能力的作用,并有一定的促长增重作用。免疫增强蓝藻可以作为水生名贵鱼类饲料的免疫增强剂,预示其在养殖生产中有希望替代部分抗生素的作用,实现不用或少用抗生素的健康养殖。

3.2 免疫增强蓝藻作为名贵养殖鱼类饲料添加剂适口性良好,适宜添加量为 $0.5\sim 1.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

3.3 免疫增强蓝藻中的 $T\alpha_1$ 在鱼体内的代谢及其毒性研究亟待开展。建议进一步的试验尽可能在大田进行。为检验免疫增强蓝藻是否提高了养殖动物的免疫力,应尽快开展细胞或亚细胞水平的感染试验及免疫指标测试(血清中溶菌酶、抗菌活力、巨噬细胞活性、白细胞吞噬率、T和B淋巴细胞及其分泌的淋巴因子等)。

参考文献:

- [1] Lall S P, Olivier G. Role of micronutrients in immune response and disease resistance in fish [J]. *Fish Nutrition in Practice*, 1993, 61: 101-118.
- [2] Waagbo R, Glette J, Nilsen E R, et al. The impact of nutritional factors on the immune system in Atlantic salmon, *Salmo salar* [J]. *Aquat Fish Manage*, 1994, 25: 175-179.
- [3] Siwicki A K, Anderson D P, Rumsey G L. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protects against furunculosis [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 1994, 41: 125-139.
- [4] 王雷,李光友,毛远兴,等.口服免疫型药物对养殖中国对虾病害防治作用的研究[J].*海洋与湖沼*,1994,25(5):486-491.
- [5] Verlhac V C. Influence of dietary glucan and Vitamin C on non-specific and specific immune response of rainbow trout [J]. *Aquaculture*, 1996, 143 (2): 123-137.
- [6] 鄢庆彬,苏永全,王军.口服免疫添加剂对养殖大黄鱼免疫机能影响的初步研究[J].*集美大学学报*,2001,6(2):134-137.
- [7] 程学慧,彭健,詹志春.新型饲料添加剂——卵黄抗体研究进展[J].*饲料研究*,2003,5:19-21.
- [8] 周进,黄健,宋晓玲.免疫增强剂在水产养殖中的作用[J].*海洋水产研究*,2003,24(4):70-79.
- [9] 曹颖琪.胸腺素 α_1 的研究进展[J].*国外医学免疫分册*,1999,22(1):27-29.
- [10] 刘仁海,章军,周克夫,等.口服转胸腺素基因聚球藻对小鼠T细胞亚群作用的研究[J].*厦门大学学报(自然科学版)*,2003,42(4):517-520.

(责任编辑:杨小萍)