

# 酵母多糖对中华条颈龟幼体非特异性免疫机能的影响

傅丽容 徐彤津 史海涛\*

海南师范大学生命科学学院 海口 571158

**摘要:** 本研究旨在探讨饲料中添加不同水平的酵母多糖对中华条颈龟 (*Mauremys sinensis*) 幼体非特异性免疫机能的影响。选取体重为 (134.7 ± 19.1) g 的中华条颈龟幼体, 随机分成 I、II、III、IV 4 个组, 按照龟体重各组饲料中酵母多糖的添加量分别为 0 mg/kg (对照组)、800 mg/kg、1 200 mg/kg 和 1 600 mg/kg, 并在第 15 天、30 天检测各组的免疫器官指数、白细胞数目及血清中溶菌酶和补体 C3、C4 含量等免疫指标。结果表明, 各实验组脾指数和肝指数与对照组之间差异均不显著 ( $P > 0.05$ ); 各实验组白细胞数目比对照组显著增多 ( $P < 0.05$ ); 在第 15 天血清中溶菌酶和 C3、C4 含量均显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 在添加量为 1 200 mg/kg 时活性最高; 在第 30 天各实验组溶菌酶和补体 C4 含量与第 15 天同剂量组相比显著下降, 补体 C4 含量与对照组差异不显著 ( $P > 0.05$ )。由此得出, 饲料中添加酵母多糖可提升中华条颈龟幼体的非特异性免疫机能, 以 1 200 mg/kg 添加水平的效果最佳, 且投喂时间不宜过长。

**关键词:** 酵母多糖; 中华条颈龟; 非特异性免疫机能

**中图分类号:** Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2015) 05-752-06

## Effect of Yeast Polysaccharide on Nonspecific Immune Response of Chinese Striped-neck Turtle (*Mauremys sinensis*)

FU Li-Rong XU Tong-Jin SHI Hai-Tao\*

College of Life Science, Hainan Normal University, Haikou 571158, China

**Abstract:** Yeast polysaccharide (YPS) was found to act as a nonspecific immune system stimulant. However, it remains unclear whether it can boost the immune system in chelonian. In this study, the effects of dietary YPS on the nonspecific immune response of the Chinese striped-neck turtle (*Mauremys sinensis*) were examined. The turtles (weight = 134.7 ± 19.1 g) were randomly divided into four groups and were fed with YPS at dosage levels of 0 mg/kg, 800 mg/kg, 1 200 mg/kg and 1 600 mg/kg, respectively. The indexes of

**基金项目** 国家自然科学基金项目 (No. 31372228), 海南省自然科学基金项目 (No. 314078), 大学生国家创新实验项目 (No. 201311658030);

\* 通讯作者, E-mail: haitao-shi@263.net;

**第一作者介绍** 傅丽容, 女, 教授; 研究方向: 龟鳖动物生理学、组织学; E-mail: flr@hainnu.edu.cn.

收稿日期: 2014-09-15, 修回日期: 2015-03-15 DOI: 10.13859/j.cjz.201505011

immune organs, number of leucocytes, serum lysozyme activity and levels of complement components (C3 and C4) were measured on day 15 and day 30 of treatment. The results showed that there was no significant difference in indexes of immune organs between four groups ( $P > 0.05$ ). The number of leucocytes and lysozyme activity were markedly increased in all treated groups when compared to controls ( $P < 0.05$ ). Furthermore, the contents of serum complement C3 and C4 in the treatment groups were significantly higher than those of the control group on day 15 ( $P < 0.05$ ). Specially, the highest average value was in 1 200 mg/kg treatment group. The levels of complement C4 and lysozyme were distinctly decreased in treatment groups on day 30 when compare to that on day 15. No significant difference in the levels of complement C4 between control and treatment groups was observed ( $P > 0.05$ ). In conclusion, YPS supplementation in diets can strengthen the immune system of *M. sinensis* and the recommended dose is 1 200 mg/kg.

**Key words:** Yeast polysaccharide; *Mauremys sinensis*; Nonspecific immune response

龟鳖养殖业逐渐成为我国淡水养殖业的重要支柱产业,带来了十分明显的经济效益和社会效益(赵春光 2012)。中华条颈龟(*Mauremys sinensis*)是本土龟,近年来养殖规模越来越大,在我国本土龟类养殖中仅次于乌龟(*Chinemys reevesii*),位列第二(周婷等 2009)。随着集约化养殖的发展,龟鳖类病害成了制约其健康养殖的关键因素之一(洪美玲等 2003)。有些疾病,药物防治较难凑效,还带来水体污染及耐药性问题。许多研究表明,应用免疫增强剂来提高水产动物非特异性免疫能力,以预防疾病,是一种极为有效的、具有广阔发展前景的方法(Dalmo et al. 1995, Chen et al. 1998, 华雪铭等 2001)。

酵母细胞壁多糖是一种功能很强的免疫刺激剂,主要通过提高血细胞总数和白细胞的吞噬作用、增加免疫相关酶活性、激活体内补体系统及诱导机体产生杀菌物质来促进非特异性免疫,进而提高水产动物的免疫力(程志斌等 2004)。酵母细胞壁多糖对水产动物免疫功能影响的研究,以往大多是针对鱼类和虾类进行的(陈昌福等 2003, 沈文英等 2007, 张辽等 2009),酵母细胞壁多糖对中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)非特异性免疫机能的影响已见研究报道(刘宗英等 2005, 刘至治等 2006, 刘凯等 2010),汪成竹等(2006)采用口服法研究酵母细胞壁多糖对中华鳖非特异

性免疫功能的影响,结果表明,按照鳖体重 1 000.0 mg/kg 的量可以显著提高中华鳖白细胞吞噬活性、溶菌酶活性和补体 C3、C4 活性。

因此本研究将酵母细胞壁多糖定量添加在中华条颈龟幼龟的饲料中连续投喂 30 d,通过检测供试中华条颈龟血液中白细胞的数量、血清溶菌酶活性和补体活性等免疫学指标,来探讨免疫多糖在中华条颈龟饲料中的最适添加剂量,为龟类动物营养免疫学研究提供理论依据,也为酵母多糖在龟鳖养殖病害防治中的应用开拓更广阔的前景。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试幼龟及饲养条件

实验所用中华条颈龟幼体,平均体重( $134.7 \pm 19.1$ ) g ( $n = 100$ ),购自海口鸿旺龟鳖养殖场,置海南师范大学龟养殖中心驯养,养殖池长 × 宽为 1.0 m × 1.5 m,水深 20 ~ 25 cm,光照强度 10 lx,温度保持在 ( $30 \pm 3$ ) °C,每池饲养 25 只。所用饲料为佛山市顺德区全兴水产饲料有限公司生产的龟鳖配合饲料(粗蛋白  $\geq 43.0\%$ ,粗纤维  $\leq 3.0\%$ ,钙 1.0% ~ 3.5%,总磷 0.8% ~ 3.0%,氯化钠 1.2% ~ 3.5%,赖氨酸  $\geq 2.0\%$ ,水分  $\leq 12.0\%$ ),对照组所用饲料中除没有添加酵母细胞壁多糖之外,其他营养成分与实验组一致。实验过程中每两天喂食一次,投饵量以使幼龟达到饱足并有少量剩余为

准,按预实验结果每次投喂饵料量为4 g/只,将饵料加少量水揉和成面团后投喂,投喂2 h后清理剩余饵料。

## 1.2 实验设计

两周后挑选健康活泼的中华条颈龟幼龟 ( $n = 100$ ),随机分成4组,每组25只,分别为对照组(I)与实验组(II、III、IV)。实验前对各组龟称重,并采用缘盾标记法编号。各组的饵料中酵母多糖的添加量,按照龟体重依次为0 mg/kg(I组,即对照组)、800 mg/kg(II组)、1 200 mg/kg(III组)、1 600 mg/kg(IV组),II~IV组为实验组。每次喂食前4 h配制饵料,添加酵母多糖配制好饵料,存放在阴凉处。实验周期为30 d,实验结束后称量幼龟体重。

## 1.3 酵母多糖

本实验中所采用的酵母多糖来自于湖北安琪酵母股份有限公司的福邦牌免疫多糖(酵母细胞壁多糖),该产品中主要含有 $\beta$ -葡聚糖  $\geq 20.0\%$ ,  $\alpha$ -甘露聚糖肽  $\geq 20.0\%$ , 肽类及蛋白质  $\geq 30.0\%$ , 几丁质  $\geq 2.0\%$ 。

## 1.4 采血

于添加酵母细胞壁多糖的饵料饲喂的第15天和第30天,每组分别随机取6只龟进行取样。每次取样前24 h对实验龟采取饥饿处理,在冰柜中 $-18^{\circ}\text{C}$ 低温冷冻麻醉0.5 h,观察无应激行为,采取断颈法处死并取血。血液分为两份,一份保存在10 ml未加抗凝剂的离心管中,置于 $4^{\circ}\text{C}$ 条件下离心制备血清,血清保存在 $-20^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,用于血清补体C3、C4和溶菌酶的测定;另一份收集于加EDTA-K的抗凝管中,用于血细胞计数。

## 1.5 指标测定方法

**1.5.1 免疫器官指数** 取血完成,解剖龟体,肉眼观察内部脏器颜色和形态,摘取肝和脾并采用电子分析天平(美国奥豪斯AR2140,精密密度0.000 1 g)称重。计算免疫器官指数,免疫器官指数 = 免疫器官质量(mg)/体重(g)。

**1.5.2 白细胞计数** 采用常规血细胞计数法在

高倍显微镜下计数,计算每升血中白细胞数目。

**1.5.3 血清溶菌酶活性的测定** 以溶壁微球菌(*Micrococcus lysolei*)冻干粉(购自南京建成生物工程研究所)为底物,将底物用0.1 mol/L pH为6.4的磷酸钾盐缓冲液配成一定浓度的悬液( $A_{570}$ 约为0.35~0.50)。取3.0 ml该悬液与0.05 ml待测血清于试管中混匀,测其在570 nm处的光密度值( $A_0$ ),然后置于 $37^{\circ}\text{C}$ 水浴保温30 min,取出后立刻置于冰浴中10.0 min以终止反应,测其在570 nm处的光密度值( $A$ )。溶菌酶活力  $U_k = [(A_0 - A)/A]^{1/2}$ 。

**1.5.4 血清补体 C3 和 C4 含量的测定** 补体C3、C4采用南京建成生物技术有限公司生产的补体C3(货号E032)和C4(货号E033)检测试剂盒进行测定。

试剂配制:临用前根据待测样品(含校准液)将反应剂与抗体液按每1 ml反应剂加入50  $\mu\text{l}$ 抗体液的比例配制,配好的工作液当日用完。于干净离心管中按照试剂与样品比例为200:1量加入5  $\mu\text{l}$ 蒸馏水和1 000  $\mu\text{l}$ 试剂,作为空白管,同时按照同样比例加入5  $\mu\text{l}$ 的校准液或样品,混匀, $37^{\circ}\text{C}$ 水浴10 min,用透射比浊法在752型紫外分光光度计340 nm波长处读取测定管和标准管的光密度值( $A$ ),空白管进行仪器调零,标准管绘制标准曲线,以计算补体C3和C4的含量。

**1.5.5 数据处理** 数据用SPSS(16.0)软件进行处理,所有实验数据均以平均值 $\pm$ 标准差(Mean  $\pm$  SD)表示。采用单因素方差分析(One-way ANOVA)检验各组的差异显著性。设置差异显著临界值 $\alpha = 0.05$ ,差异极显著临界值为 $\alpha = 0.01$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 酵母多糖对中华条颈龟免疫器官的影响

肉眼观察内部脏器,实验期间实验组与对照组中华条颈龟增重和器官颜色无显著差异;测量肝、脾免疫器官指数(表1),饲喂30 d

表 1 供试中华条颈龟的免疫指标

Table 1 Immune indexes of the tested Chinese striped-neck turtles

指标 Index	时间 (d) Time	对照组 (0 mg/kg) Control group I	实验组 Experimental group			
			II (800 mg/kg)	III (1 200 mg/kg)	IV (1 600 mg/kg)	
肝指数 Liver index	15	0.075 4 ± 0.011 2	0.071 2 ± 0.015 3	0.072 9 ± 0.004 6	0.075 5 ± 0.015 0	
	30	0.075 4 ± 0.007 9	0.082 4 ± 0.016 1	0.086 6 ± 0.012 1	0.080 5 ± 0.019 5	
脾指数 Spleen index	15	0.001 3 ± 0.000 3	0.001 3 ± 0.000 4	0.001 4 ± 0.000 3	0.001 3 ± 0.000 5	
	30	0.001 3 ± 0.000 5	0.001 5 ± 0.000 4	0.001 5 ± 0.000 2	0.001 4 ± 0.000 2	
白细胞 ( $\times 10^9$ 个/L) Leukocyte ( $\times 10^9$ cell/L)	15	5.28 ± 1.49 <sup>a</sup>	7.44 ± 1.96 <sup>b</sup>	8.27 ± 1.46 <sup>c</sup>	7.35 ± 0.73 <sup>b</sup>	
	30	5.13 ± 1.10 <sup>a</sup>	8.15 ± 2.00 <sup>c*</sup>	8.83 ± 1.44 <sup>c*</sup>	9.13 ± 1.41 <sup>c*</sup>	
溶菌酶 Lysozyme	15	0.475 ± 0.149 <sup>a</sup>	0.654 ± 0.159 <sup>c</sup>	0.701 ± 0.082 <sup>c</sup>	0.668 ± 0.116 <sup>c</sup>	
	30	0.412 ± 0.080 <sup>a</sup>	0.509 ± 0.125 <sup>ab*</sup>	0.567 ± 0.111 <sup>b*</sup>	0.586 ± 0.052 <sup>b*</sup>	
补体含量 (g/L) Complement content	C3	15	0.090 8 ± 0.021 6 <sup>a</sup>	0.126 7 ± 0.018 7 <sup>bc</sup>	0.141 0 ± 0.025 5 <sup>c</sup>	0.138 5 ± 0.048 5 <sup>c</sup>
		30	0.100 5 ± 0.023 6 <sup>a</sup>	0.128 4 ± 0.046 5 <sup>a</sup>	0.159 1 ± 0.050 7 <sup>b</sup>	0.153 5 ± 0.048 1 <sup>b</sup>
	C4	15	0.046 8 ± 0.014 7 <sup>a</sup>	0.050 1 ± 0.010 6 <sup>ab</sup>	0.069 3 ± 0.025 3 <sup>b</sup>	0.068 4 ± 0.014 2 <sup>b</sup>
		30	0.053 5 ± 0.010 0 <sup>a</sup>	0.054 3 ± 0.025 9 <sup>a</sup>	0.051 9 ± 0.008 4 <sup>a*</sup>	0.055 2 ± 0.015 8 <sup>a*</sup>

同行上标相同字母表示差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 相邻字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 相间字母表示差异极显著 ( $P < 0.01$ ); “\*” 表示同列中同一指标差异显著。

Values in the same column with the same superscripts are not different ( $P > 0.05$ ), with adjacent superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ), with intervallic superscripts are extremely significantly different ( $P < 0.01$ ). A sterisk mean significant difference in the same column index ( $P < 0.05$ ).

实验组肝指数 ( $df = 10$ ,  $F = 0.172$ ,  $P = 0.914$ ) 和脾指数 ( $df = 10$ ,  $F = 0.153$ ,  $P = 0.927$ ) 均高于对照组, ANOVA 分析各组间差异不显著。表明饲料添加一定量的酵母多糖对中华条颈龟的生长发育和各器官生理机能没有不良影响。从器官指数来看, 酵母多糖对中华条颈龟肝和脾的生长发育作用不明显。

## 2.2 酵母多糖对中华条颈龟白细胞数目的影响

饲喂酵母多糖第 15 天, 实验组 II、III、IV 的白细胞数目均高于对照组, ANOVA 分析组间差异显著 ( $df = 10$ ,  $F = 4.47$ ,  $P = 0.015$ ), 实验 III 组白细胞数最多 ( $df = 10$ ,  $P = 0.002$ ); 在第 30 天, 白细胞数目变化更为明显, 各实验组与对照组之间均表现极显著差异 ( $df = 10$ ,  $F = 8.782$ ,  $P = 0.001$ ); 第 30 天实验组的白细胞数目均显著高于第 15 天的同剂量组 (表 1)。

## 2.3 酵母多糖对中华条颈龟免疫溶菌酶的影响

饲喂酵母多糖第 15 天, 各实验组溶菌酶活性均显著高于对照组 ( $df = 10$ ,  $F = 6.591$ ,  $P = 0.003$ ), 实验组 III 溶菌酶活性最高, 但各实验组间差异不显著; 第 30 天实验组 III、IV 溶菌酶活性显著高于对照组; 第 30 天实验组与第 15 天同剂量组相比酶活明显下降 (表 1)。

## 2.4 酵母多糖对中华条颈龟补体 C3、C4 的影响

饲喂酵母多糖第 15 天, 实验组 III、IV 血清中的 C3 ( $df = 10$ ,  $F = 7.660$ ,  $P = 0.001$ ) 和 C4 ( $df = 10$ ,  $F = 3.140$ ,  $P = 0.049$ ) 含量均高于对照组, 补体含量最高的是实验 III 组, 实验组 III、IV 之间差异不显著 ( $P > 0.05$ )。饲喂酵母多糖第 30 天, 各实验组补体 C4 含量与对照组相比差异不显著 ( $df = 10$ ,  $F = 0.042$ ,  $P =$

0.988), 且明显低于第 15 天同剂量组 (表 1)。

### 3 讨论

一般认为免疫器官重量降低为免疫抑制所致, 而重量增加则为免疫增强的表现, 免疫器官重量的增加说明了生长发育快, 而免疫器官指数的提高意味着免疫系统成熟快 (汪莉 2001)。脾是爬行动物的主要淋巴器官之一, 有 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞和巨噬细胞, 参与机体的体液免疫以及细胞免疫。肝是重要的消化腺, 也是龟的免疫器官, 血清中的补体大多由肝合成。本研究结果表明, 饲料中添加酵母多糖能够在较小水平上提高肝指数和脾指数, 促进肝、脾生长发育和成熟的效果不是很明显。据张润等 (1999) 对龟类呼吸系统的解剖研究, 发现龟肺发育不良, 决定龟的新陈代谢缓慢, 因此, 笔者认为可能是由于龟类新陈代谢缓慢、生长速度慢, 以致中华条颈龟幼龟肝、脾生理机能变化已发生, 但形态建成还未体现。

白细胞具有吞噬作用, 是机体重要的免疫细胞, 细胞数目能在一定水平上反应机体免疫力的高低 (傅丽容等 2012)。谢嘉华等 (2011) 研究表明, 在饲料中添加维生素 C 和免疫多糖增加中华倒刺鲃 (*Spinibarbus sinensis*) 血液白细胞的数量, 与本实验结果一致, 添加酵母多糖的实验组白细胞数量均高于对照组, 说明酵母多糖作为免疫刺激剂能够促进机体发生非特异性免疫, 引起白细胞数量的增多, 从而动员白细胞参与机体的吞噬过程。

溶菌酶是存在于血清、黏液及巨噬细胞和单核细胞胞浆中的水解酶, 其活性是决定吞噬细胞对所吞噬的致病菌能否被杀灭的物质基础之一 (Sakai 1999)。血清中的溶菌酶能够形成一个水解酶体系, 破坏和消除侵入体内的异物, 从而实现机体防御的功能 (Jeney et al. 1993), 动物血清中的溶菌酶活性可以因机体接触抗原性物质或者免疫刺激剂而上升 (Kawakami et al. 1998)。因此溶菌酶可以作为检测机体非特异性免疫功能的重要指标。刘宗英等 (2005) 和汪

成竹等 (2006) 研究证明, 在中华鳖幼鳖饵料中添加酵母多糖, 在 500 ~ 1 500 mg/kg 范围内, 随着添加剂量增加, 血清中溶菌酶的活性提高, 添加量大于 1 500 mg/kg 时溶菌酶活性开始降低, 当添加量达到 2 000 mg/kg 以上时就产生抑制作用。而本实验结果表明, 饲料中添加酵母多糖能显著提高中华条颈龟血清中溶菌酶活性, 说明了酵母多糖作为免疫刺激剂进入龟体被免疫细胞吞噬以后, 促进血细胞分泌产生溶菌酶, 增强酶活性, 加强清除作用 (吴凡 2005)。添加量为 1 200 mg/kg 组的溶菌酶活性最高, 1 600 mg/kg 添加量时酵母多糖的促进作用降低。更高剂量的免疫多糖对中华条颈龟幼龟的免疫机能是否也有抑制作用, 还需进一步研究。

补体是由具有酶活性的球蛋白组成, 作为抗体的补充成分, 配合抗体形成抗原抗体补体复合物, 促进吞噬细胞吞噬抗原的能力, 参与机体特异性免疫 (肖洋 2010), 增强机体抵抗病原菌的感染和炎症反应的能力 (张彬等 2008)。刘宗英等 (2005) 实验表明, 酵母多糖能显著提高中华鳖血清补体 C3、C4 活性, 提高抗病能力, 并且在实验浓度梯度内, C3、C4 活性随着酵母多糖添加量的增加而升高; 汪成竹等 (2006) 同样研究表明, 在一定范围内酵母多糖可以增强中华鳖血清中补体 C3、C4 的活性, 在投喂量为 1 000 mg/kg 时, 补体 C3、C4 活性最高, 但是在投喂量过高, 达到 2 500 mg/kg 时, 补体 C3、C4 活性低于对照组, 产生免疫抑制。本研究结果与中华鳖的研究有所不同, 中华条颈龟幼龟饲料中添加酵母多糖短期内能显著提高补体 C3 和 C4 的含量, 含量最高的是酵母多糖投喂量为 1 200 mg/kg 的实验 III 组, 投喂量为 1 600 mg/kg 时, 虽然也提高补体含量, 但与实验 III 组无显著差异。

综上所述, 投喂适量酵母多糖对中华条颈龟有一定的免疫增强作用, 从性价比来看, 在中华条颈龟饵料中添加酵母细胞壁多糖的量按龟体重剂量为 1 200 mg/kg 为宜, 可达到最佳效果, 不宜长期连续投喂。

## 参 考 文 献

- Chen S C, Yoshida T, Adams A, et al. 1998. Non-specific immune response of Nile tilapia, *Oreochromis nilotica*, to the extracellular products of *Mycobacterium* spp. and to various adjuvants. *Journal Fish Diseases*, 21(1): 39–46.
- Dalmo R A, Seljelid R. 1995. The immunomodulatory effect of LPS, laminaran and sulphated laminaran [ $\beta(1, 3)$ -D-glucan] on Atlantic salmon, *Salmo salar* L., macrophages *in vitro*. *Journal Fish Diseases*, 18(2): 175–185.
- Jeney G, Anderson D P. 1993. Glucan injection or bath exposure given alone or in combination with a bacterin enhance the non-specific defence mechanisms in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 116(4): 315–329.
- Kawakami H, Shinohara N, Sakai M. 1998. The nonspecific immunostimulation and adjuvant effects of *Vibrio anguillarum* bacterin, M-glucan, chitin and Freund's complete adjuvant against *Pasteurella piscicida* infection in yellowtail. *Fish Pathology*, 33(3): 283–292.
- Sakai M. 1999. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*, 172(1): 63–92.
- 陈昌福, 陈萱, 陈超然, 等. 2003. 水产甲壳动物的免疫防御机能及其免疫预防研究进展. *华中农业大学学报*, 22(2): 197–203.
- 程志斌, 葛长荣. 2004. 生物活性多糖及其在水产养殖业中的应用. *饲料工业*, 25(6): 59–61.
- 傅丽容, 贺斌, 王雪, 等. 2012. 硝酸铵影响红耳龟和中华条颈龟孵化及血液生理指标的研究. *四川动物*, 31(2): 252–255.
- 洪美玲, 傅丽容, 王锐萍, 等. 2003. 龟鳖动物疾病的研究进展. *动物学杂志*, 38(6): 115–119.
- 华雪铭, 周洪琪, 邱小琼, 等. 2001. 饲料中添加芽孢杆菌和硒酵母对异育银鲫的生长及抗病力的影响. *水产学报*, 25(5): 448–453.
- 刘凯, 朱丽敏, 林启存, 等. 2010. 低聚异麦芽糖和酵母细胞壁对中华鳖免疫功能的影响. *中国农学通报*, 26(9): 386–390.
- 刘至治, 蔡完其, 季高华, 等. 2006. 几种免疫增强剂对中华鳖红细胞数量及免疫功能的影响. *上海水产大学学报*, 15(1): 1–6.
- 刘宗英, 姚娟, 陈昌福, 等. 2005. 高活性干酵母对中华鳖非特异性免疫功能和抗病力的影响. *养殖与饲料*, (6): 9–12.
- 沈文英, 阳会军, 柯慧芬, 等. 2007.  $\beta$ -葡聚糖对凡纳滨对虾免疫相关酶活性的影响. *水产科学*, 26(7): 381–383.
- 汪莉, 苏军, 苏宁. 2001. 低聚糖对蛋雏鸡生长性能、免疫器官发育及粪臭的影响. *黑龙江畜牧兽医*, (11): 9–11.
- 汪成竹, 姚鹏, 吴凡, 等. 2006. 免疫多糖(酵母细胞壁)对中华鳖非特异性免疫功能的影响. *华中农业大学学报*, 25(4): 421–425.
- 吴凡. 2005. 免疫刺激剂对水产动物免疫机能的影响. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文, 21–22.
- 肖洋. 2010. 绿原酸对中华鳖生长性能和非特异性免疫的影响. 雅安: 四川农业大学硕士学位论文, 27–28.
- 谢嘉华, 陈慧玲, 袁建军. 2011. 维生素C和免疫多糖对中华倒刺鲃非特异性免疫功能的影响. *泉州师范学院学报*, 29(6): 16–19.
- 张彬, 薛立群, 李丽立, 等. 2008. 多糖对动物免疫调控的作用及其机理. *家畜生态学报*, 29(1): 1–5.
- 张辽, 温安祥. 2009.  $\beta$ -葡聚糖对齐口裂腹鱼生长及免疫功能的影响. *动物营养学报*, 21(5): 688–694.
- 张润, 唐家传, 吴昆华, 等. 1999. 龟的影像学和血液学研究. *动物学杂志*, 34(3): 34–37.
- 赵春光. 2012. 我国龟鳖产业的发展现状与今后可持续发展思路. *科学养鱼*, (3): 4–5.
- 周婷, 王伟. 2009. 中国龟鳖养殖原色图谱. 北京: 中国农业出版社, 9–65.