

doi: 10.3969/j.issn.2095-0780.2012.02.009

饲料中添加复方中草药对凡纳滨对虾生长、消化酶和免疫相关酶活性的影响

文国樑¹, 林黑着¹, 李卓佳¹, 陆 鑫^{1,2}, 袁丰华^{1,3}

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东省渔业生态环境重点实验室, 农业部南海渔业资源开发利用重点实验室, 广东 广州 510300; 2. 大连水产学院生命与科学技术学院, 辽宁 大连 116023; 3. 广东海洋大学水产学院, 广东 湛江 524088)

摘要: 试验选取以黄芪(*Astragalus membranaceus*)、板蓝根(*Baphicacanthus cusia*)等为主要成分的中草药饲料添加剂配制5组饲料[添加量分别为0(对照组)、0.1%、0.2%、0.4%和0.8%], 连续投喂凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*) [初始体质量为(4.14±0.06)g] 56 d, 每组3个重复, 研究复方中草药对凡纳滨对虾生长、消化酶活性和免疫相关酶活性的影响。结果显示, 试验组对虾的成活率均高于对照组, 其中0.2%组差异显著($P < 0.05$); 0.2%组和0.8%组的相对增重率显著高于对照组($P < 0.05$)。试验组肝胰脏和肠道的消化酶活性均高于对照组, 其中0.2%组的肝蛋白酶和肝淀粉酶显著增高($P < 0.05$), 0.1%组和0.4%组的肠蛋白酶和肠淀粉酶显著增高($P < 0.05$)。0.2%组的碱性磷酸酶(AKP)活性显著高于其他组($P < 0.05$); 试验组的超氧化物歧化酶(SOD)活性均高于对照组; 随着中草药添加量的增加, 过氧化物酶(POD)指标呈现先下降后增高的趋势, 0.4%组显著降低($P < 0.05$)。结果表明, 饲料中添加复方中草药能促进凡纳滨对虾生长、消化酶和免疫相关酶活性, 适宜添加量为0.2%。

关键词: 中草药; 凡纳滨对虾; 生长; 消化; 免疫

中图分类号: S 942.1

文献标志码: A

文章编号: 2095-0780-(2012)02-0058-06

Effects of Chinese herbal compound in feed on growth, digestive enzyme and immune-related enzyme activities of *Litopenaeus vannamei*

WEN Guoliang¹, LIN Heizhao¹, LI Zhuojia¹, LU Xin^{1,2}, YUAN Fenghua^{1,3}

(1. Key Lab. of Fishery Ecology and Environment, Guangdong Province, Key Lab. of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture, South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China; 2. School of Life Science and Technology, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China; 3. Fisheries College of Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: To investigate the effects of Chinese herbal compound on the growth, digestive enzyme activities and immune-related enzyme activities of *Litopenaeus vannamei*, five groups with 3 replicates per treatment of feed containing Chinese herbal feed additives (mainly *Astragalus membranaceus* and *Baphicacanthus cusia*) at 0, 0.1%, 0.2%, 0.4% and 0.8%, respectively, were fed to *L. vannamei* [initial weight (4.14±0.06) g] for 56 d. Results reveal that the survival of *L. vannamei* in test groups is higher than that in the control, significantly higher in 0.2% group ($P < 0.05$). The relative weight gain in 0.2% and 0.8% groups is significantly higher than

收稿日期: 2011-07-22; 修回日期: 2011-11-23

资助项目: 现代农业(虾)产业技术体系建设专项资金(CARS-47); 公益性行业(农业)专项(201103034); 国家科技支撑计划项目(2011BAD13B10); 广东省科技计划项目(2006A20301004, 2008A020100014); 广东省鱼病防治专项“养殖对虾病毒病生态防控技术集成与示范”

作者简介: 文国樑(1978-), 男, 副研究员, 从事对虾健康养殖研究。E-mail: guowen66@163.com

通讯作者: 李卓佳, E-mail: zhuojiali609@163.com

that in the control ($P < 0.05$). The digestive enzyme activities in the liver and intestine in the test groups are significantly higher than those in the control, significantly higher in 0.2% group ($P < 0.05$). The intestinal cathepsin and amylase in the 0.1% and 0.4% groups are higher than those in the control ($P < 0.05$). The AKP in 0.2% group is significantly higher than that in the other groups ($P < 0.05$). The SOD in the test groups is higher than that in the control. The POD decreases and then increases with increasing amount of Chinese herbs, especially that 0.4% group decreases significantly ($P < 0.05$). In conclusion, Chinese herbal compound in feed (optimum supplemental level: 0.2%) can improve the growth, digestive enzyme activities and immune-related enzyme activities of *L. vannamei*.

Key words: Chinese herbs; *Litopenaeus vannamei*; growth; digestive; immunity

21世纪初以来, 凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)集约化养殖在中国发展迅速, 成为中国对虾养殖的绝对优势品种。然而, 随着养殖密度增加, 池塘环境质量下降, 而且病原体普遍存在, 导致病害频繁发生, 严重阻碍了凡纳滨对虾养殖业的进一步发展。天然中草药有效成分复杂, 含有营养物质、未知促生长活性物质和免疫活性物质, 能促进机体代谢和消化酶的分泌, 提高机体免疫力和抗应激能力^[1], 在水产养殖中应用既能防治水产动物病害、减少化学药物的使用, 又可以提高养殖动物免疫酶和消化酶活性、促进养殖动物生长性能^[2-5]。中草药作为一种新型饲料添加剂, 因具有天然性、高效、毒副作用小及性能多样化等优点而渐受青睐^[6-7]。笔者研究了以黄芪(*Astragalus membranaceus*)、板蓝根(*Baphicacanthus cusia*)等为主要成分的复方中草药饲料添加剂对凡纳滨对虾生长、免疫及消化的影响并探讨其作用与效果, 为中草药在水产健康养殖中的推广应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验饲料的配制

试验选取以黄芪、板蓝根等为主要成分的中草药饲料添加剂“健宝”为试验原料。分别以质量的0、0.1%、0.2%、0.4%和0.8%的比例加入基础饲料粉(购自广东中山市泰山饲料有限公司)中, 称质量搅拌, 加水混匀, 制成粒径1.5 mm, 晒干, -20℃冰箱中保存备用。基础饲料配方如表1。

1.2 试验虾及养殖管理

试验用的凡纳滨对虾幼虾购自海南三亚红沙地区养殖场, 在中国水产科学研究院南海水产研究所热带水产研究开发中心进行试验, 在规格为0.8 m × 0.5 m × 1.25 m的室外水泥池(500 L)暂养2周, 暂养期间投喂对照组饲料。挑选大小均匀的健康虾苗[初始体质量(4.14 ± 0.06)g]随机分入15个池中, 每池40尾, 分别投喂5组饲料, 每组3个重

表1 基础饲料配方

Tab. 1 Basic feed formula

| 成分 ingredient | w/% content |
|--|----------------|
| 秘鲁鱼粉 Peruvian fish meal | 29.00 |
| 豆粕 soybean meal | 23.00 |
| 花生粕 peanut meal | 23.00 |
| 高筋面粉 wheat gluten | 13.40 |
| 虾壳粉 shrimp meal | 5.00 |
| 鱼油 fish oil | 4.00 |
| 高稳维C stay Vc(150 mg·kg ⁻¹) | 0.10 |
| 复合维生素 vitamin premix | 0.50 |
| 复合矿物盐 mineral premix | 2.00 |
| 成分分析 proximate analyse | |
| 水分 moisture | 7.87 |
| 粗蛋白 crude protein | 43.12 |
| 粗脂肪 crude lipid | 5.36 |
| 灰分 ash | 15.97 |

复。连续充气养殖。每天投喂3次(8:00、16:00、21:00), 饱食投喂, 投喂量约为虾体质量的6%~8%, 根据天气和对虾的摄食情况适当调节投喂量, 试验周期为56 d。试验期间水温为26~31℃, pH为7.4~8.6。

1.3 生长指标测定

试验结束后分别测量每组对虾体质量和数量, 计算相对增重率和成活率, 计算公式如下:

$$\text{相对增重率}(\%) = [(\text{试验末体质量} - \text{试验初体质量}) / \text{试验初体质量}] \times 100$$

$$\text{成活率}(\%) = (\text{试验末尾数} / \text{试验初尾数}) \times 100$$

1.4 消化酶指标测定

试验结束每池取对虾5尾, 取肠道并去除肠道内杂质, 测定蛋白酶和淀粉酶。样品制备参照WANG等^[8]。将各个消化器官组织在冷却的磷酸缓冲液(0.02 mol·L⁻¹, pH 7.5)(0.2 g·mL⁻¹)中用

玻璃匀浆器冰浴匀浆，然后用冷冻离心机(Sigma牌)在4℃，以10 000 r·min⁻¹离心30 min，所得的上清液作为消化酶分析样品，4℃保存，24 h内分析完毕。酶液中可溶性蛋白含量用BRADFORD^[9]的方法测定，用牛血清蛋白作标准曲线。酶的活力单位定义为在37℃和相应的pH条件下，每分钟催化底物释放1 μg的产物所需要的酶量。特定的酶比活力定义为酶活力单位每毫克蛋白(U·mg⁻¹)。其各个组织的酶活性均在pH 7.5时测量。

蛋白酶的测定参照ANSON^[10]的方法，用酪氨酸作标准曲线，以福林酚试剂作为显色剂，分别用1.5%的酪蛋白和1.5%的牛血红蛋白作为碱性蛋白酶和酸性蛋白酶的底物，在680 nm测定吸光度(OD₆₈₀)。淀粉酶的测定参照BERNFELD^[11]的方法，以DNS试剂为显色剂，用麦芽糖作标准曲线，以1%的可溶性淀粉做底物，在520 nm测定吸光度(OD₅₂₀)。

1.5 免疫酶指标

试验结束每池取虾10尾，从心脏取血，在离

心机以4℃、5 000 r·min⁻¹离心15 min，取上清液进行各项指标的测定。采用南京建成生物研究所生产的试剂盒测定碱性磷酸酶(AKP)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)等指标。

1.6 统计分析

采用Excel 2003和SPSS 13.0软件对数据进行统计分析。先对数据作单因素方差分析(ANOVA)，处理若有显著差异，再作Duncan's多重比较，P<0.05表示差异显著，所有数值用平均数±标准差($\bar{X} \pm SD$)表示。

2 结果

2.1 对凡纳滨对虾生长的影响

经56 d的养殖，凡纳滨对虾健康生长，成活率为80.83%~94.17%。添加复方中草药组的成活率高于对照组，其中0.1%组成活率显著高于对照组15.31%(表2)。相对增重率呈现升高的趋势，0.2%组和0.8%组显著高于对照组，分别比对照组高10.80%和15.06%(表2)。

表2 中草药对凡纳滨对虾成活率和相对增重率的影响

Tab. 2 Effects of Chinese herbs on survival and relative weight gain of *L. vannamei*

| w(中草药)/% | content of Chinese herbs | 成活率/% survival | 相对增重率/% relative weight gain |
|----------|--------------------------|----------------------------|------------------------------|
| 0 | | 81.67 ± 17.56 ^a | 186.30 ± 34.17 ^a |
| 0.1 | | 94.17 ± 6.29 ^b | 181.86 ± 21.46 ^a |
| 0.2 | | 83.33 ± 8.78 ^{ab} | 206.42 ± 14.86 ^b |
| 0.4 | | 85.83 ± 3.82 ^{ab} | 197.11 ± 20.29 ^{ab} |
| 0.8 | | 80.83 ± 11.81 ^a | 214.36 ± 40.14 ^b |

注：变量值表示为平均值±标准差，同一列数据上的相同字母表示数据间差异不显著(P>0.05)，后表同此

Note: Variables are showed by $\bar{X} \pm SD$; values with the same superscript in the same row are not significantly different ($P > 0.05$). The same case in the following tables.

2.2 对凡纳滨对虾消化酶活性的影响

饲喂添加复方中草药饲料明显影响凡纳滨对虾肝胰脏和肠道消化酶活性。试验组的肝胰脏蛋白酶活性均显著高于对照组($P < 0.05$)，以0.4%组最高，高于对照组54.38%；肝胰脏淀粉酶活性随中草药添加量增加呈现先增高后下降的趋势，除0.8%组外，其他试验组的肝胰脏淀粉酶活性均高于对照组，0.2%组显著增高，高于对照组28.89%；肠蛋白酶和肠淀粉酶活性在0.1%组和0.4%组显著高于对照组(表3)。

2.3 对凡纳滨对虾免疫相关酶活性的影响

饲喂添加复方中草药饲料0.2%组的AKP活性

显著高于其他组，高于对照组131.21%；SOD活性随中草药添加量的增加呈现先增高后下降的趋势，试验组皆高于对照组，除了0.8%组，其他试验组SOD活性显著增高；随中草药添加量的增加，POD活性呈现先下降后增高趋势，0.4%组显著降低，高于对照组11.55%(表4)。

3 讨论

中草药含有多种生物活性物质和天然营养物质，能促进动物的机体代谢和蛋白质以及酶的合成，提高营养物质的利用率，提高成活率并促进养殖动物的生长^[12]。鲫(*Carassius auratus*)饲料中添

表3 中草药对凡纳滨对虾消化酶活性的影响

Tab. 3 Effects of Chinese herbs on digestive enzyme activities of *L. vannamei* $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$

| w(中草药)/% content of Chinese herbs | 肝胰腺蛋白酶 liver cathepsin | 肝胰腺淀粉酶 liver amylase | 肠蛋白酶 intestinal cathepsin | 肠淀粉酶 intestinal amylase |
|--------------------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 0 | 12.56 ± 0.88 ^a | 324.18 ± 17.08 ^a | 1.52 ± 0.16 ^a | 126.86 ± 29.24 ^a |
| 0.1 | 17.56 ± 0.73 ^c | 342.14 ± 12.88 ^a | 2.42 ± 0.06 ^b | 178.52 ± 20.26 ^{bc} |
| 0.2 | 18.48 ± 0.72 ^{cd} | 417.82 ± 29.35 ^b | 1.65 ± 0.57 ^a | 159.01 ± 19.59 ^{ab} |
| 0.4 | 19.39 ± 0.34 ^d | 336.51 ± 35.47 ^a | 4.40 ± 0.00 ^c | 209.57 ± 24.65 ^c |
| 0.8 | 16.36 ± 0.08 ^b | 305.42 ± 30.72 ^a | 1.96 ± 0.26 ^{ab} | 121.98 ± 9.96 ^a |

表4 中草药饲料对凡纳滨对虾免疫相关酶活性的影响

Tab. 4 Effects of Chinese herbal feed on immune-related enzyme activities of *L. vannamei*

| w(中草药)/% content of Chinese herbs | 碱性磷酸酶 /金氏单位·100 mL ⁻¹ AKP | 超氧化物歧化酶 /U·mL ⁻¹ SOD | 过氧化物酶 /U·mL ⁻¹ POD |
|--------------------------------------|--|---------------------------------------|-------------------------------------|
| 0 | 1.57 ± 0.29 ^a | 148.10 ± 24.41 ^a | 63.48 ± 4.31 ^b |
| 0.1 | 1.22 ± 0.47 ^a | 208.31 ± 18.44 ^b | 64.67 ± 0.67 ^b |
| 0.2 | 3.63 ± 0.32 ^b | 214.46 ± 29.54 ^b | 60.07 ± 0.64 ^{ab} |
| 0.4 | 1.09 ± 0.18 ^a | 218.08 ± 17.36 ^b | 56.15 ± 5.91 ^a |
| 0.8 | 1.53 ± 0.28 ^a | 149.73 ± 13.02 ^a | 63.78 ± 2.73 ^b |

加1%由党参(*Codonopsis pilosula*)、黄芪等8味复方中草药组成的添加剂,其增重率提高21.5%^[13]。而黄芪作为此中草药制剂重要成分之一,显著提高对虾的增重率及对饲料的利用率,表明复方中草药具有明显的促生长效果^[14~16]。斑节对虾(*Penaeus monodon*)饲料中添加0.1%~0.2%的中草药制剂,其增重率和饲料利用率显著优于对照组^[17]。该试验结果表明,以黄芪、板蓝根为主的复方中草药“健宝”对凡纳滨对虾的成活率和相对增长率有促进作用,其中添加0.1%复方中草药饲料组试验虾的成活率最高(94.17%);添加0.2%复方中草药的试验虾相对增重率最高(206.42%)。其原因可能是复方中草药中的某些成分,如黄芪多糖、甘草多糖、黄酮类化合物和葡萄糖氨基酸等已被证实有促生长作用^[18]。

该试验中摄食添加以黄芪、板蓝根为主的复方中草药饲料后,凡纳滨对虾肝胰脏和肠道消化酶活性较对照组都有显著提高,而且都呈现出随中草药添加量的加大而先增高后略微下降的趋势,其中添加0.4%复方中草药饲料组的凡纳滨对虾其肝胰脏蛋白酶活性最高(19.39 U·mg⁻¹);添加0.2%复方中草药对虾的肝胰脏淀粉酶活性最高(417.82 U·

mg⁻¹)。复方中草药对蛋白酶活性的影响比较显著,而且肠蛋白酶活性的提高幅度大于肝胰脏蛋白酶,对淀粉酶活性的影响幅度小于蛋白酶,这可能是由于对虾生长对饲料蛋白养分需求较高,而复方中草药的添加促进消化酶的分泌^[19]。该试验结果与丁贤等^[20]的研究结果相似。饲料中添加中草药可提高消化酶活性,利于养分的消化,促进生长。养殖动物的生长与消化酶活性存在一定的正向作用关系^[21],即消化酶活性在一定程度上反映出机体对饲料养分的消化利用程度,该试验结果也反映出这一关系。

虾类等甲壳动物体液免疫因子对其机体的免疫防御反应具有极为重要的作用,它包括天然形成的或诱导产生的各种因子,以及各种具有免疫活性的酶类^[22]。AKP、SOD和POD是生物体中重要的酶类,参与多种生理代谢反应^[23]。研究表明,中草药中一些成分如多糖化合物、复方大蒜油和免疫多糖等具有提高虾类免疫功能的作用^[24~25]。研究发现经免疫多糖刺激后,中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)血清中的POD活性明显增高,认为可以通过提高动物血液中POD活性,减少自由基对正常细胞的损伤,清除细胞生理代谢过程中产生的活

性氧，提高机体的解毒免疫功能和防病抗病能力^[26]。AKP、SOD、酚氧化酶、POD 等在机体内的相应成分含量或活性升高，可以提高机体清除异物的能力，使其免受外源病原体的感染。但随着异物被清除，这些免疫因子的水平又回到原有状态。中草药能促进鱼、虾、蟹的免疫功能^[27]。用复合中草药、菌苗和脂多糖等作为免疫药物投喂中国明对虾，在一定程度上提高机体的非特异性免疫^[26]；添加虾头提取物能提高凡纳滨对虾的 AKP 和 SOD 活性^[28]。此试验投喂不同添加量的复方中草药能使凡纳滨对虾血清的 AKP 和 SOD 活性呈现出增高的趋势，研究结果与上述报道相似。添加量为 0.2% 时 AKP 活性最高(3.63 金氏单位·100 mL⁻¹)，SOD 活性次之(214.46 U·mL⁻¹)，并且与对照组有显著性差异($P < 0.05$)，与李义等^[29]添加 0.2% 中草药对罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)免疫促进效果较好相一致，表明在饲料中添加复方中草药对凡纳滨对虾的 AKP 和 SOD 活性具有一定的促进作用，而且 0.2% 添加量作用明显。0.2% 组和 0.4% 组的 POD 出现了下降的趋势，这与免疫多糖刺激中国明对虾能显著提高 POD 活性^[24]的研究结果不同，这可能与免疫疲劳和应激反应有关，或是因为投喂中草药后中草药在虾体内发挥很好的抗氧化作用，自由基在发挥作用之间就已经被消除^[16]。具体的机理还有待进一步研究。

研究表明，饲料中添加复方中草药“健宝”能在一定程度上促进凡纳滨对虾的生长、提高消化酶活性和免疫相关酶活性，从添加量和各添加量的使用效果来看，在凡纳滨对虾饲料中的最适宜添加量为 0.2%。

参考文献：

- [1] 宋理平, 张宇峰, 闫大伟. 中草药作为免疫增强剂在水产动物上的应用[J]. 饲料工业, 2005, 26(6): 10–12.
SONG Liping, ZHANG Yufeng, YAN Dawei. Application of Chinese herbal medicine as immunostimulants in aquatic animals [J]. Feed Ind, 2005, 26(6): 10–12. (in Chinese)
- [2] 李斌, 唐毅, 王志干, 等. 复方中草药制剂对草鱼肝胆综合症的防治研究[J]. 南方水产科学, 2011, 7(2): 35–41.
LI Bin, TANG Yi, WANG Zhigan, et al. Control effect of Chinese herbal formula on grass carp hepatobiliary syndrome [J]. South China Fish Sci, 2011, 7(2): 35–41. (in Chinese)
- [3] 何爱华, 张曦, 陶琳丽, 等. 6 种中草药对 4 种淡水鱼致病菌体外抑菌作用的研究[J]. 南方水产科学, 2011, 7(2): 73–76.
HE Aihua, ZHANG Xi, TAO Linli, et al. *In vitro* antibacterial activity of 6 Chinese herbal medicines against 4 pathogens of freshwater fish [J]. South China Fish Sci, 2011, 7(2): 73–76. (in Chinese)
- [4] 吴旋, 于刚, 白东清, 等. 4 种中草药添加剂对金丝鱼急性毒性响应的研究[J]. 南方水产, 2010, 6(2): 12–15.
WU Xuan, YU Gang, BAI Dongqing, et al. Acute toxic effects of four Chinese herb additives on white cloud mountain fish *Tanichthys albonubes* [J]. South China Fish Sci, 2010, 6(2): 12–15. (in Chinese)
- [5] 王瑞旋, 郭志勋, 冯娟, 等. 中草药对海水动物致病菌体外抑制作用的初步研究[J]. 南方水产, 2009, 5(6): 19–24.
WANG Ruixuan, GUO Zhixun, FENG Juan, et al. Inhibitory effects of some traditional Chinese herbal medicines on the pathogenic bacteria of seawater-cultured animals [J]. South China Fish Sci, 2009, 5(6): 19–24. (in Chinese)
- [6] 王兴强, 叶建生, 马甡, 等. 中草药制剂在对虾养殖中的应用[J]. 海洋科学, 2008, 32(7): 81–84.
WANG Xingqiang, YE Jiansheng, MA Shen, et al. Utilization of traditional Chinese medicines in culture of shrimp [J]. Mar Sci, 2008, 32(7): 81–84. (in Chinese)
- [7] 武瑞, 康世良. 中草药饲料添加剂的免疫功能与应用前景[J]. 畜禽业, 2001(9): 10–12.
WU Rui, KANG Shiliang. The immune function and application prospect of Chinese herbal medicine as feed additive [J]. Livestock Poultry Ind, 2001(9): 10–12. (in Chinese)
- [8] WANG Yanbo, XU Zirong. Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities [J]. Animal Feed Sci Technol, 2006, 127(3/4): 283–292.
- [9] BRADFORD M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248–254.
- [10] ANSON M L. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin [J]. J Gen Physiol, 1938, 22(1): 79–89.
- [11] BERNFELD P. Amylases, α and β [J]. Methods Enzymol, 1955, 1(1): 49–58.
- [12] 王永玲, 蔡春芳. 中草药免疫增强剂对银鲫促生长效果的研究[J]. 水利渔业, 2002, 22(4): 42–43.
WANG Yongling, CAI Chunfang. The effect of Chinese herbal medicine as immunostimulants in promoting the growth of silver carp [J]. Reservoir Fish, 2002, 22(4): 42–43. (in Chinese)
- [13] 段铭, 冯现伟, 高宏伟, 等. 复方中草药添加剂饲喂鲫鱼试验[J]. 饲料工业, 1999, 20(10): 32.
DUAN Ming, FENG Xianwei, GAO Hongwei, et al. The research of Chinese herbal compound as feed additive in feeding carp [J]. Feed Ind, 1999, 20(10): 32. (in Chinese)
- [14] 江湧, 王广军, 余德光. 中草药添加剂对凡纳滨对虾生长和抗病力影响的研究[J]. 渔业现代化, 2005(4): 35–37.
JIANG Yong, WANG Guangjun, YU Deguang. The impact of growth and disease resistant of Chinese herbal medicine as immu-

- nostimulants in *Litopenaeus vannamei* [J]. Fish Modern, 2005 (4): 35 - 37. (in Chinese)
- [15] 周歧存, 罗从彦, 韩兆红. 复合中草药对凡纳滨对虾生长及抗病力的影响[J]. 饲料研究, 2006(9): 53 - 56.
- ZHOU Qicun, LUO Congyan, HAN Zhaohong. The impact of growth and disease resistant of Chinese herbal compound in *Litopenaeus vannamei* [J]. Feed Res, 2006 (9): 53 - 56. (in Chinese)
- [16] 郭文婷, 李健. 中草药制剂对凡纳滨对虾生长及血淋巴中免疫因子的影响[J]. 饲料工业, 2005, 26(6): 6 - 9.
- GUO Wenting, LI Jian. The influence of Chinese herb on growth and immunity in *Litopenaeus vannamei* [J]. Feed Ind, 2005, 26 (6): 6 - 9. (in Chinese)
- [17] 李卓佳, 林黑着, 郭志勋, 等. 中草药对斑节对虾生长、饲料利用和肌肉营养成分的影响[J]. 南方水产, 2007, 3(2): 20 - 24.
- LI Zhuojia, LIN Heizhao, GUO Zhixun, et al. Effects of traditional Chinese medicines on growth, feed utilization and biochemical composition in muscle of juvenile shrimp, *Penaeus monodon* [J]. South China Fish Sci, 2007, 3 (2): 20 - 24. (in Chinese)
- [18] 王芸, 李健, 刘淇, 等. 5种中草药对凡纳滨对虾生长及非特异性免疫功能的影响[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(26): 8236 - 8239.
- WANG Yun, LI Jian, LIU Qi, et al. Effect of five species of herbs on nonspecific immune activity of *Litopenaeus vannamei* [J]. J Anhui Agri Sci, 2007, 35(26): 8236 - 8239. (in Chinese)
- [19] 丁贤, 林黑着, 李卓佳, 等. 植物提取物对凡纳滨对虾生长、消化酶及免疫因子的影响研究[J]. 热带海洋学报, 2008, 27(5): 66 - 72.
- DING Xian, LIN Heizhuo, LI Zhuojia, el al. Effects of plant extracts on growth, digestive enzymes and immune factors of *Litopenaeus vannamei* (Boone) [J]. J Trop Oceanogr, 2008, 27 (5): 66 - 72. (in Chinese)
- [20] 丁贤, 李卓佳, 陈永青, 等. 复合中草药对凡纳滨对虾生长和消化酶活力的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2007, 27 (1): 23 - 26.
- DING Xian, LI Zhuojia, CHEN Yongqing, et al. Effects of Chinese traditional medicines on growth and digestive activity of *Litopenaeus vannamei* (Boone) [J]. J Guangdong Ocean Univ, 2007, 27(1): 23 - 26. (in Chinese)
- [21] 叶土元, 张勇, 张宇, 等. 酶制剂 EA-II 和生物制剂 BA-I 对鲤肠道、肝胰脏的蛋白酶和淀粉酶活力的影响[J]. 大连水产学院学报, 1993, 8(1): 79 - 82.
- YE Tuyuan, ZHANG Yong, ZHANG Yu, et al. The effect of multi-enzyme premixes EA-II and aspergillus BA-I on activities of protease and diastase in intestine and hepatopancreas of carp [J]. J Dalian Fish Coll, 1993, 8(1): 79 - 82. (in Chinese)
- [22] 王玥, 胡义波, 姜乃澄. 氨态氮、亚硝态氮对罗氏沼虾免疫相关酶类的影响[J]. 浙江大学学报: 理学版, 2005, 32 (6): 698 - 705.
- WANG Yue, HU Yibo, JIANG Naicheng. Effects of ammonia-N and nitrite-N on immune enzymes of *Macrobrachium rosenbergii* [J]. J Zhejiang Univ: Science Edition, 2005, 32 (6): 698 - 705. (in Chinese)
- [23] 齐放军, 贾敬芬, 李继畦. 脱壁酶液诱导植物细胞产生过氧化物酶抑制因子的研究[J]. 实验生物学报, 1993, 26(31): 281 - 286.
- QI Fangjun, JIA Jingfen, LI Jiqi. Production of peroxidase inhibitions from plant cells induced by cell wall digestion enzymes[J]. Acta Biologica Experimentalis Sinica, 1993, 26 (31): 281 - 286. (in Chinese)
- [24] 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的作用及研究[J]. 海洋与湖沼, 1994, 25 (5): 486 - 492.
- WANG Lei, LI Guangyou, MAO Yuanxing, et al. Effect of oral immuno drugs for prevention and control of diseases of cultured *Penaeus chinensis* [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1994, 25(5): 486 - 492. (in Chinese)
- [25] 杜爱芳, 叶均安, 于莲. 复方大蒜油添加剂对中国对虾免疫机能的增强作用[J]. 浙江农业大学学报, 1997, 23 (3): 317 - 320.
- DU Aifang, YE Jun'an, YU Lian. Immunopotentiation activities of garlic oil compound as a feed additive in *Penaeus chinensis* [J]. J Zhejiang Agric Univ, 1997. 23 (3): 317 - 320. (in Chinese)
- [26] 沈锦玉, 钱冬, 尹文林, 等. 中国对虾某些免疫指标的测定及免疫预防初步研究[J]. 科技通报, 1997, 113(5): 324 - 327.
- SHEN Jinyu, QIAN Dong, YIN Wenlin, et al. Study on measuring methods of immune function and immuno-prevention of prawns (*Penaeus chinensis*) diseases [J]. Bull Sci Technol, 1997, 113 (5): 324 - 327. (in Chinese)
- [27] 温周瑞, 刘慧集, 骆敏, 等. 中草药对水产动物免疫作用研究进展[J]. 水利渔业, 2004, 24(2): 1 - 3.
- WEN Zhougui, LIU Huiji, LUO Min, et al. Advances of immunization studies of Chinese medical herbs in aquaculture animals [J]. Reservoir Fish, 2004, 24(2): 1 - 3. (in Chinese)
- [28] 潘剑雄, 林小涛, 程炜轩, 等. 虾头提取物对凡纳滨对虾生长和免疫因子的影响[J]. 生态科学, 2005, 24(4): 322 - 325.
- PAN Jianxiong, LIN Xiaotao, CHENG Weixuan, et al. The effect of shrimp: head extract on growth and immune factors of *Litopenaeus vannamei* [J]. Ecol Sci, 2005, 24(4): 322 - 325. (in Chinese)
- [29] 李义, 宋学宏. 复方中药添加剂对罗氏沼虾免疫功能的增强作用[J]. 饲料工业, 2002, 23(7): 45 - 47.
- LI Yi, SONG Xuehong. The enhance of Chinese herbal compound on the immunity of *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Feed Ind, 2002, 23(7): 45 - 47. (in Chinese)