

不同浓度诺氟沙星对中国对虾非特异性免疫酶活的影响

张喆¹ 李健^{1*} 冯伟^{1,2} 何玉英¹ 陈萍¹

(¹农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

(²上海海洋大学水产与生命学院, 201306)

摘要 向对虾配合饲料中添加不同剂量的诺氟沙星投喂中国对虾 7d, 分析不同时间诺氟沙星对中国对虾肌肉及鳃溶菌酶(LSZ)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、碱性磷酸酶(AKP)及酸性磷酸酶(ACP)活性的影响。结果表明, 15mg/kg 诺氟沙星可以显著抑制中国对虾肌肉 SOD 活力($P < 0.05$), 而对鳃 SOD 活力则整体呈现促进作用, 该浓度组肌肉和鳃 CAT 及 LSZ 活力整体高于对照组, 而 AKP 和 ACP 活力则显著低于对照组($P < 0.05$); 30 mg/kg 诺氟沙星对中国对虾肌肉 SOD 活力呈现先抑制后促进的作用, 而对鳃 SOD 活力则整体呈现抑制作用, 该组肌肉和鳃 CAT 活力显著高于对照组($P < 0.05$), 肌肉 LSZ 活力呈现先下降后上升的趋势, 而鳃 LSZ 活力则与对照组没有显著差异; 向饲料中添加 60 mg/kg 诺氟沙星对中国对虾肌肉、鳃 SOD、CAT、LSZ 活力整体呈现促进作用, 而对 AKP 和 ACP 活性则呈现显著抑制作用($P < 0.05$)。

关键词 诺氟沙星 中国对虾 非特异性免疫

中图分类号 S948 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2011)02-0053-07

Effects of norfloxacin on the non-specific immune response of *Fenneropenaeus chinensis*

ZHANG Zhe¹ LI Jian^{1*} FENG Wei^{1,2} HE Yu-ying¹ CHEN Ping¹

(¹ Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

(² College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, 201306)

ABSTRACT *Fenneropenaeus chinensis* were fed with norfloxacin (NFLX) at doses of 15mg/kg (low dose group), 30mg/kg (medium dose group), and 60mg/kg (high dose group) for 7 days, respectively. The activities of some non-specific immune response enzymes including superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), lysozyme (LSZ), phosphatase (ACP), and alkaline phosphatase (AKP) in the muscle and gill tissues of the fed shrimps were determined. For the low dose group, the SOD activities in the muscle were significantly lower than that of the control group ($P < 0.05$), while the SOD activities in the gill increased. The activities of CAT and LSZ in the muscle and gill were significantly higher than those of the control group ($P < 0.05$), and the activities of ACP and AKP were inhibited. For the medium dose group, CAT activity in shrimps was significantly higher than that in

公益性行业专项(200803012)、虾产业技术体系(nycytx-46)和山东省博士后创新基金(200803024)共同资助

* 通讯作者。E-mail:lijian@ysfri.ac.cn

收稿日期:2010-07-16;接受日期:2010-09-13

作者简介:张喆(1981-),女,博士研究生,主要从事分子药理学研究。E-mail:zhangzhe_1981@yahoo.com.cn, Tel:(0532)85826690

the control group. The LSZ, and SOD activities in the muscles were first inhibited, and then increased. The SOD, LSZ and CAT activities in the muscle and gill were activated by 60mg/kg NFLX, while the AKP and ACP activities showed no significant difference between the experimental groups and the control ($P < 0.05$).

KEY WORDS Norfloxacin *Fenneropenaeus chinensis* Non-specific immunity

中国对虾 *Fenneropenaeus chinensis* 主要分布于我国黄、渤海和朝鲜西部沿海,是重要的出口水产品,广受国内、外市场欢迎,2007年中国对虾养殖产量已达到127万t。然而,自1993年白斑病毒暴发以来(White spot syndrome virus, WSSV),中国对虾养殖产业就一直受到病害频发困扰(Zhang *et al.* 2007)。如何通过调节对虾免疫力从而增加其对致病微生物的抵抗力成为目前研究的热点。无脊椎动物缺乏自身免疫系统而主要依赖先天免疫(Hoffmann *et al.* 1999)。已有的研究表明,中国对虾非特异性免疫受到诸多因素的影响,包括氯化铵(哈承旭等 2009)、氨氮(王玥等 2005)、盐度(Wang *et al.* 2006)、中草药(董晓慧等 2009)和复合免疫药物(王宜艳等 2004)等。

研究发现,喹诺酮类药物在抗感染治疗中不仅可以起到对病原菌的选择性抗菌作用,还可能影响机体的免疫功能(Cuffini *et al.* 1994)。诺氟沙星(Norfloxacin, NFLX)作为具有广谱杀菌作用的喹诺酮类药物,被广泛应用于水产养殖病害防治并起到了一定的积极效果(Wang *et al.* 2008)。本文分为高(60mg/kg)、中(30mg/kg)、低(15mg/kg)3个浓度剂量向对虾配合饲料中添加诺氟沙星药粉,通过测定中国对虾肌肉和鳃组织非特异性免疫因子溶酸酶(LSZ)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、碱性磷酸酶(AKP)及酸性磷酸酶(ACP)活性的变化,探讨不同浓度诺氟沙星对中国对虾非特异性免疫的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

实验于2010年6月3日开始,6月25日结束。地点:中国水产科学研究院黄海水产研究所水生动物养殖实验室。实验用中国对虾(5.8 ± 0.4 g)购自山东省青岛宝荣水产科技发展有限公司,于实验条件下暂养10d,期间每天换水1次,连续充气,水温 22 ± 1 °C,每天早晚各投喂对虾配合饲料1次,每次投喂量为对虾体重的2%(对虾配合饲料购自山东省青岛长生中科水产饲料有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验设计

实验动物:选择健康、规格整齐的中国对虾,设1个对照组和3个实验组(高、中、低剂量组),每组对虾100尾。每个实验组对虾分别养在200L白色塑料桶中,每桶20只。

饲料配制及药物添加:基础饲料中添加2%的玉米油,使用2%褐藻酸钠作为粘合剂,成形后喷2%氯化钙溶液钙化。按照每千克虾体质量摄食量20g计算,诺氟沙星药粉分别按照60(高剂量组)、30(中剂量组)和15mg/kg(低剂量组)添加,即高剂量组按照30g诺氟沙星药粉配制1kg饲料;中剂量组按照15g诺氟沙星药粉配制1kg饲料;低剂量组按照7.5g诺氟沙星药粉配制1kg饲料。

投喂及取样:实验前1d停止投喂配合饲料,试验组分别投喂含15、30、60mg/kg的饲料,对照组投喂不含诺氟沙星药粉的基础饲料,每天早晚各投喂两次,每次投喂量为对虾体重的2%,连续投喂7d。分别于最后一次投喂饲料后的1、2、4、6、8、12、24、48h取中国对虾肌肉和鳃组织样品,每个时间点随机取对虾8尾,样品保存于-70 °C冰箱直至分析。

1.2.2 样品处理

取对虾肌肉及鳃组织样品,加入9倍体积预冷的PBS缓冲液(pH 7.2),于冰上研磨后,4 °C离心,取上清液稀释10倍后用于酶活分析。

1.2.3 对虾非特异性免疫酶活测定

超氧化物歧化酶(SOD)酶活测定参照邓碧玉等(1991)的方法;酚氧化酶(PO)活力参照王 雷等(1995)的方法进行;碱性磷酸酶(AKP)及酸性磷酸酶(ACP)活力参照宋善俊等(1991)的方法测定;以溶壁微球菌 *Micrococcus lysolei* 冻干粉为底物(购自南京建成生物研究所),按照 Hultmark(1980)的方法测定溶菌酶(LSZ)活力。

1.2.4 统计与分析

采用 SPSS 13.0 统计软件进行单因素方差分析(ANOVA),用 Duncan's 法对均值进行多重比较。

2 结果

2.1 诺氟沙星对中国对虾超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的影响

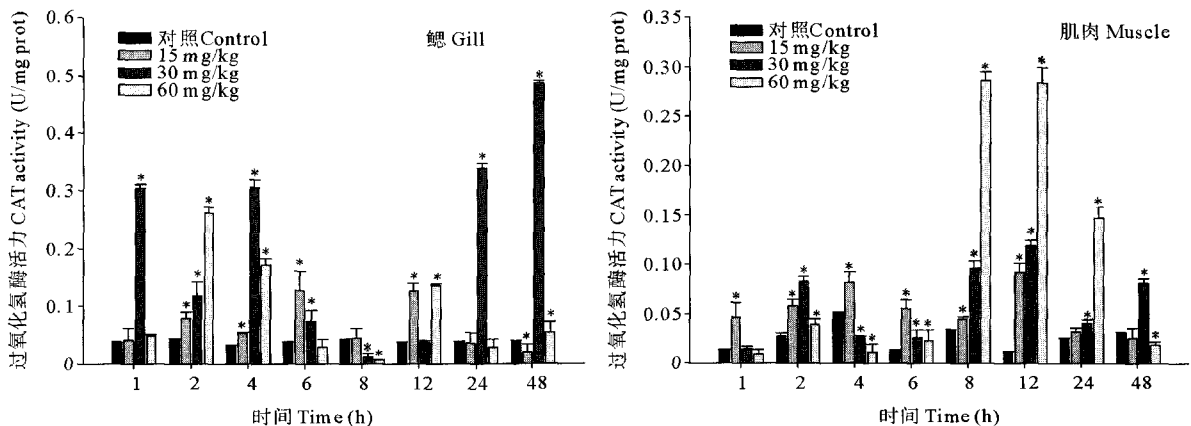
不同浓度诺氟沙星对中国对虾肌肉和鳃 SOD 活性的影响见表 1。由表 1 可以看出,低浓度诺氟沙星对中

表 1 不同浓度诺氟沙星作用下中国对虾肌肉和鳃 SOD 酶活性(U/ml)
Table 1 Effect of NFLX on the activity of SOD in the muscle and gill of *F. chinensis*

组别 Group	1h	2h	4h	6h	8h	12h	24h	48h
肌肉 SOD 酶活力 SOD activity in muscle								
对照组 Control	30.89±1.92	30.78±1.30	33.03±1.57	25.53±1.62	28.47±1.52	30.11±1.03	29.80±1.00	25.00±2.01
A	26.01±2.32*	29.40±4.31	35.85±1.49*	22.75±2.66*	21.44±1.66*	20.73±1.54*	28.37±1.75	22.32±2.22*
B	24.48±3.21*	14.97±2.68*	13.31±2.00*	68.42±3.43*	57.55±4.76*	22.47±4.35*	18.57±5.17*	25.53±3.22
C	71.33±3.66*	46.17±2.28*	47.85±1.57*	10.69±5.84*	45.75±1.63*	34.60±5.83*	33.69±4.15*	36.91±4.68*
鳃 SOD 酶活力 SOD activity in gill								
对照组 Control	52.65±2.90	50.27±3.62	60.08±1.63	55.34±1.19	50.99±1.37	48.30±2.04	52.94±1.55	48.26±2.35
A	51.65±1.94*	51.27±4.90*	61.08±3.45*	56.34±1.92*	51.99±1.88*	47.30±3.54*	53.94±2.54*	50.26±3.85*
B	53.65±3.36*	49.27±1.30*	59.08±3.57*	54.34±3.33*	49.99±4.69*	49.30±3.91*	51.94±3.39*	49.26±1.85*
C	30.81±2.64*	11.29±1.44*	23.63±3.16*	14.13±2.45*	22.58±3.17*	8.29±1.28*	23.25±2.81*	28.33±2.47*

注: * 表示与空白差异显著(P< 0.05);A:低剂量组; B:中剂量组; C: 高剂量组

Note: Data with * are significantly different from the control (P< 0.05); A: Low dose group; B: Medium dose group; C: High dose group



注: * 表示与空白差异显著(P< 0.05)

Note: * means significant difference from the control (P<0.05)

图 1 诺氟沙星对中国对虾鳃和肌肉 CAT 的影响

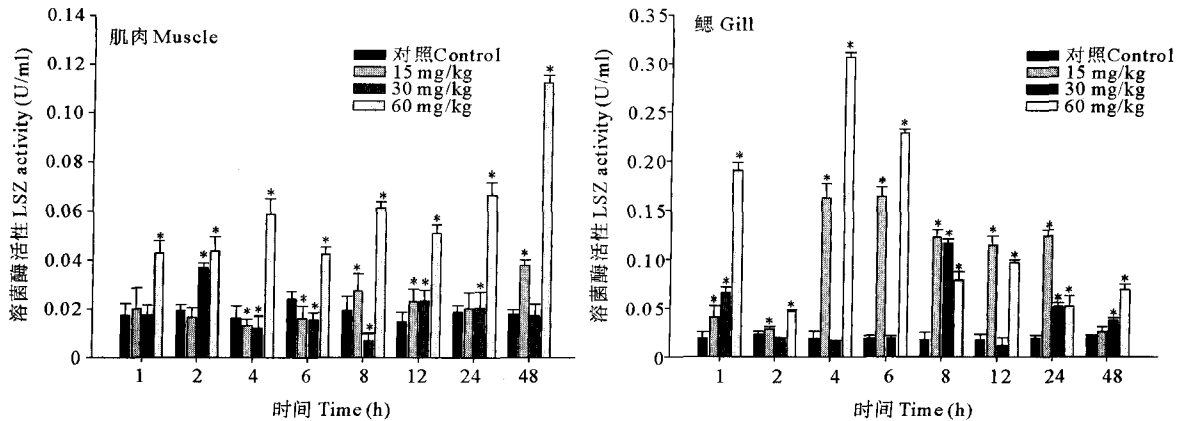
Fig.1 Effect of NFLX on the activity of CAT in the muscle and gill of *F. chinensis*

国对虾肌肉 SOD 酶活力总体呈现抑制作用,且与空白组 SOD 活力呈现出显著性差异($P < 0.05$),而对鳃 SOD 酶活力的影响则刚好与之相反;中剂量诺氟沙星对肌肉 SOD 活力呈现出先抑制后促进的作用,与鳃的结果相似;高剂量诺氟沙星则对肌肉 SOD 呈现出先促进后抑制的显著作用($P < 0.05$),鳃 SOD 活力在各时间点均表现出显著的抑制作用。

由图 1 可以看出,诺氟沙星对中国对虾鳃和肌肉 CAT 活力影响存在剂量效应,3 种剂量诺氟沙星对鳃 CAT 活性整体呈现促进作用,但在 8 h 中,高剂量组则呈现显著抑制作用,48 h 低剂量组亦呈现显著抑制作用;3 种剂量诺氟沙星对中国对虾肌肉 CAT 活性总体呈现促进作用,只在 1 h 高剂量组和 4 h 中、高剂量组呈现显著抑制作用($P < 0.05$)。

2.2 诺氟沙星对中国对虾溶菌酶活性的影响

图 2 所示为不同浓度诺氟沙星对中国对虾 LSZ 活性的影响结果。由图 2 可知,诺氟沙星对中国对虾肌肉和鳃 LSZ 活性整体呈现促进作用,其中高剂量诺氟沙星在各时间点均对 LSZ 活性呈现显著的促进作用($P < 0.05$)。中剂量诺氟沙星在 1、2、8、24、48 h 对鳃 LSZ 活性表现出显著的促进作用,低剂量组则在 24 h 前的各时间点均表现出显著促进作用($P < 0.05$)。



注: * 表示与空白差异显著($P < 0.05$)

Note: * means significant difference from the the control ($P < 0.05$)

图 2 不同浓度诺氟沙星对中国对虾 LSZ 活性的影响

Fig. 2 Effect of NFLX on the activity of LSZ in the muscle and gill of *F. chinensis*

2.3 诺氟沙星对中国对虾碱性磷酸酶及酸性磷酸酶的影响

表 2 所示为诺氟沙星对中国对虾肌肉及鳃 AKP 活性的影响结果。由表 2 可以看出,不同浓度诺氟沙星对中国对虾肌肉和鳃 AKP 活性均表现出了显著的抑制作用($P < 0.05$),且 3 个浓度诺氟沙星对 AKP 的抑制作用没有显著差异($P > 0.05$)。不同浓度诺氟沙星对中国对虾肌肉和鳃 ACP 活性也总体呈现抑制作用(图 3)。其中除 6 h 外,低浓度诺氟沙星在各个时间点均对肌肉 ACP 呈现出显著抑制作用,而对鳃 ACP 活性在检测的各时间点均为显著抑制($P < 0.05$);中浓度诺氟沙星除在 8 h 时对肌肉 ACP 活性有显著促进作用外,其他各时间点均对肌肉 ACP 活性呈现抑制作用,而其在最后一次给药后的 6、8、48 h 对鳃 ACP 活性有显著促进作用($P < 0.05$)。

3 讨论

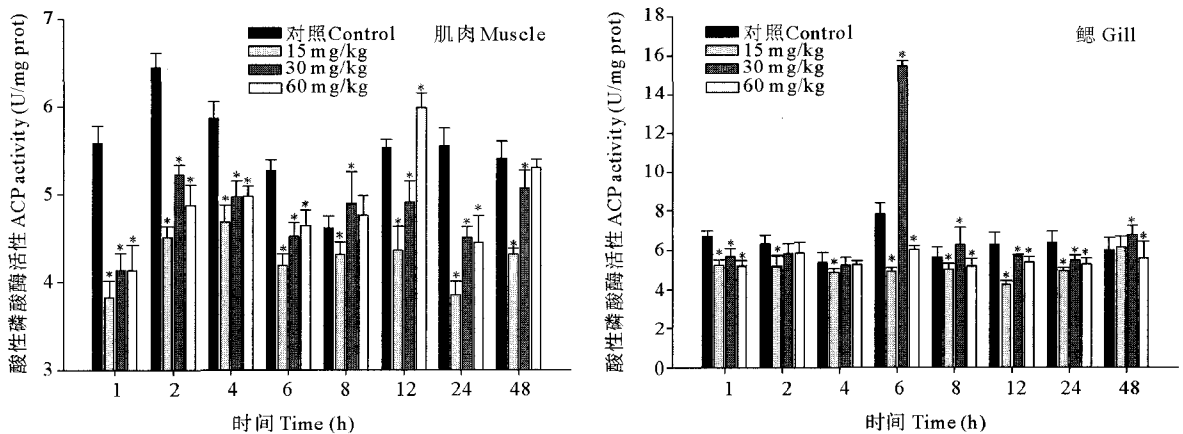
对虾的抗病防御机制主要是通过非特异性免疫系统来实现,非特异性免疫因子的变化常被用来衡量对虾

表 2 诺氟沙星对中国对虾肌肉及鳃 AKP 活性的影响(U/mg prot)
Table 2 Effect of NFLX on the activity of AKP in the muscle and gill of *F. chinensis*

组别	1h	2h	4h	6h	8h	12h	24h	48h
Group	肌肉 AKP 酶活力 AKP activity in muscle							
对照组 Control	10.71±1.50	10.47±1.21	10.23±1.25	9.10±0.52	10.28±2.25	11.01±1.56	12.00±2.20	10.50±2.30
A	3.30±0.13*	3.64±0.23*	3.53±0.21*	3.21±0.04*	3.41±0.46*	3.60±0.16*	3.27±0.64*	3.51±0.46*
B	3.35±0.19*	4.09±0.59*	3.97±0.68*	3.34±0.12*	3.80±0.58*	3.72±0.24*	3.52±0.16*	4.20±0.63*
C	3.15±0.07*	3.78±0.13*	3.62±0.22*	3.20±0.14*	3.39±0.34*	4.26±0.37*	3.18±0.52*	3.79±0.31*
	鳃 AKP 酶活力 AKP activity in gill							
对照组 Control	13.63±1.31	11.02±2.28	12.21±1.19	14.08±2.42	11.10±2.11	13.22±2.35	12.54±1.25	13.79±2.36
A	4.09±0.25*	4.14±0.13*	3.77±0.39*	4.14±0.16*	4.55±0.19*	3.54±0.10*	3.68±0.37*	4.54±0.23*
B	4.91±0.30*	5.12±0.24*	4.15±0.12*	3.48±0.35*	4.36±0.45*	4.23±0.16*	5.08±0.29*	4.95±0.65*
C	3.80±0.13*	4.42±0.10*	3.87±0.25*	4.31±0.26*	4.28±0.39*	4.61±0.25*	4.01±0.36*	4.16±0.47*

注: * 表示与空白差异显著($P<0.05$); A: 低剂量组; B: 中剂量组; C: 高剂量组

Note: * means significant difference from the control ($P<0.05$); A: low dose group; B: medium dose group; C: high dose group



注: * 表示与空白差异显著($P<0.05$)

Note: Columns with * are significantly different from the control ($P<0.05$)

图 3 不同浓度诺氟沙星对中国对虾 ACP 活性的影响

Fig. 3 Effect of NFLX on the activity of ACP in the muscle and gill of *F. chinensis*

免疫活性的大小(董晓慧 2009)。许多研究已经证实,氟喹诺酮类抗菌药物可在体内影响宿主的免疫系统,可能与吞噬细胞之间的相互作用及对各种炎症介质细胞因子的作用密切相关(黄静等 2006)。一些常用药物对养殖动物机体免疫功能的研究引起人们的关注,研究表明不同浓度达氟沙星可以影响施氏鲟 *Acipenser schrenckii* 非特异性免疫功能(徐连伟等 2007),氟苯尼考对虹鳟鱼 *Oncorhynchus mykiss* 非特异性免疫也有一定的影响(Lundén *et al.* 1999)。

3.1 诺氟沙星对中国对虾超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和溶菌酶活力的影响

SOD 是生物体内唯一一种以自由基为底物的抗氧化酶(林庆斌等 2006),该酶通过催化超氧阴离子(O_2^-)发生歧化反应,产生过氧化氢(H_2O_2)和氧(O_2),平衡体内的氧自由基。CAT 则水解 H_2O_2 ,使体内 H_2O_2 和 CAT 保持在一个平衡的状态。

本实验中,诺氟沙星对中国对虾肌肉和鳃 SOD 总体呈现出低浓度抑制、高浓度促进的作用,这与氟苯尼考对红笛鲷 *Lutjanus sanguineus* 血清 SOD 和大黄对凡纳滨对虾 SOD 酶活作用结果相似(张丽敏等 2007; 李素莹等 2009)。叶建生等(2008)研究发现,盐度突变可以导致 SOD 活性显著降低,认为可能与对虾体内产生的 O_2^- 不足以导致 SOD 活性升高有关。有研究表明,一定浓度的苯并芘和芘的混合物首先对 SOD 酶出现短暂的诱导,高浓度出现诱导的时间比低浓度早,随着实验时间的延长则主要表现出抑制效应(王重刚等 2002)。本实验的结果与上述研究结果相似,认为可能与对虾体内 O_2^- 的变化有关。

已有研究表明,许多参与关键性解毒酶通过暴露而诱导,这是生物体内解毒系统的一个重要途径(余群等 1999)。本研究表明,诺氟沙星在较早时间对鳃 CAT 有显著诱导作用($P < 0.05$),这可能是由于诺氟沙星导致机体产生氧自由基,使得 SOD 生物合成量增加,催化 O_2^- 生成 H_2O_2 和 O_2 ,鳃组织为清除过多的 H_2O_2 ,通过自身调节使 CAT 的合成量升高。随着实验时间的延长,机体产生了大量的活性氧中间体,超过了机体清除活性氧的能力,使大量活性氧中间体作用于酶蛋白分子的关键性氨基酸残基,导致 CAT 上的巯基-SH 氧化成 SOS,从而改变 CAT 酶结构,降低了 CAT 活性(游学军等 2001)。而肌肉组织 CAT 活力则在 6~8h 有显著增加,这可能是由于诺氟沙星在两种组织中的分布差异而导致。

LSZ 能水解革兰氏阳性细菌细胞壁的粘肽乙酰氨基多糖并使之裂解被释放出来,破坏和消除侵入机体的异物,从而担负起机体防御的功能(Møyer *et al.* 1993),其活力是反映动物非特异性免疫功能的重要生理指标之一。季节、食物、温度、pH、免疫刺激物等均会引起生物体 LSZ 活性的变化(Subbotkina *et al.* 2003)。有研究表明,美人鱼发光杆菌可以提高凡纳滨对虾 *Litopenaeus vannamei* 血清体 LSZ 活力(兰萍等 2010),达氟沙星则对施氏鲟血清 LSZ 有显著的抑制作用(徐连伟等 2007)。本研究结果表明,高浓度诺氟沙星可以显著提高中国对虾肌肉和鳃 LSZ 含量,这与上述文献报道结果并不相同,可能是由于高浓度诺氟沙星可以干扰对虾体内细菌蛋白质的合成,从而使溶菌酶吞噬能力增强,溶菌酶含量升高(张丽敏等 2007)。董晓慧等(2009)发现向饲料中添加较高浓度的中草药可以显著提高凡纳滨对虾血清 LSZ 活力,本研究结果与上述结论相似,较之低浓度组,高浓度诺氟沙星对中国对虾 LSZ 活力有显著的促进作用。

3.2 诺氟沙星对中国对虾碱性磷酸酶及酸性磷酸酶的影响

AKP 和 ACP 是生物体内重要的代谢调控酶,直接参与磷酸的转移和代谢。AKP 与膜的物质运输有关; ACP 是溶酶体的标志酶,在血细胞进行吞噬和包裹反应中,会伴随 ACP 的释放,通过水解作用将表面带有磷酸酯的异物破坏或降解(王玥等 2005)。

研究表明,低浓度氟苯尼考(10 mg/kg)对红笛鲷血清 AKP 有明显促进作用,而高浓度(20 mg/kg)则表现出抑制作用(张丽敏等 2007);刘立鹤等(2006)向饲料中添加抗生素黄霉素后饲喂凡纳滨对虾,发现低浓度黄霉素对凡纳滨对虾 ACP 活力有显著促进作用,而高浓度则表现为抑制作用;王永胜等(2008)发现抗生素对凡纳滨对虾 AKP 酶活性有抑制作用。本研究结果与上述研究结果并不相同,3 个浓度诺氟沙星对中国对虾肌肉和鳃 AKP 活性均呈现显著抑制,这可能是由于实验药物、实验动物与取样组织不同所导致。

有研究表明,患病中国对虾血清 AKP 活力显著高于正常虾,且不同发病时期变化幅度不同,发病初期血清 AKP 上升了 54.78%,至病重期病虾 AKP 活力升高了 82.3%~93.7%(吴垠等 1998),淡水沼虾 *Macrobrachium lamarrei* 暴露于敌敌畏、罗氏沼虾 *Macrobrachium lamarrei* 在氨氮和亚硝态氮作用下也都表现出 AKP 活力增高的现象(Omkar *et al.* 1985; 王玥等 2005),可能是由于生物组织细胞坏死,引起细胞核溶酶体破裂,ACP 和 AKP 渗出导致。本研究与上述结果相似,高浓度诺氟沙星 12 h 对肌肉 AKP 活力、中浓度在 6 和 8 h 对鳃 AKP 活力均有显著促进作用,推测可能与上述文献所阐述的组织细胞死亡导致 AKP 渗出有关。

本文所测定的几种非特异性免疫酶活性在中国对虾鳃和肌肉组织中的变化趋势并不完全相同,这可能是由于诺氟沙星在中国对虾机体不同组织中的残留量不同,其作用于不同组织的非特异性免疫效应可能存在不同,故其对不同组织非特异性免疫酶活的影响程度并不相同,这一现象在凡纳滨对虾上亦有发现(刘立鹤等 2006)。

参 考 文 献

- 王重刚, 郑微云, 余 群, 郁 昂, 陈 荣. 2002. 苯并(a)比和比混合物暴露对梭鱼肝脏抗氧化酶活性的影响. 环境科学学报, 22(4): 529~533
- 王 玥, 胡义波, 姜乃澄. 2005. 氨态氮、亚硝态氮对罗氏沼虾免疫相关酶类的影响. 浙江大学学报(理学版), 32(6): 698~705
- 王 雷, 李光友, 毛远兴. 1995. 中国对虾血淋巴中的抗菌、溶菌活力与酚氧化酶活力的测定及其特性研究. 海洋与湖沼, 26(2): 179~185
- 王宜艳, 孙虎山, 李光友. 2004. 复合免疫药物对中国对虾血淋巴抗菌溶菌活力的影响. 海洋科学进展, 22(1): 69~72
- 王永胜, 钱鲁闽, 陈昌生, 李和阳, 周仁孙, 储修好. 2008. 抗生素和有益微生物对凡纳滨对虾非特异性免疫效应的研究. 台湾海峡, 27(2): 161~167
- 邓碧玉, 袁勤生, 李文杰. 1991. 改良的联苯三酚自氧化测定超氧化物歧化酶活性的方法. 生物化学与生物物理进展, 18(2): 163
- 兰 萍, 宋晓玲, 张 辉, 成君军. 2010. 美人鱼发光杆菌对凡纳滨对虾非特异性免疫功能及抗病力的影响. 渔业科学进展, 31(1): 65~73
- 叶建生, 王兴强, 马 蛙, 阎斌伦. 2008. 盐度突变对凡纳滨对虾非特异性免疫因子的影响. 海洋水产研究, 29(1): 38~43
- 刘立鹤, 刘辉宇, 董爱华, 史合群. 2006. 饲料中添加黄霉素对凡纳滨对虾生长和非特异性免疫力的影响. 淡水渔业, 36(6): 25~28
- 李素莹, 周岐存. 2009. 大黄对凡纳滨对虾生长和非特异性免疫指标的影响. 广东海洋大学学报, 29(6): 36~41
- 宋善俊. 1991. 临床医师手册. 上海: 上海科学技术出版社, 185~187
- 吴 垠, 邢殿楼. 1998. 中国对虾爆发性流行病的血液病理研究. 中国水产科学, 5(3): 53~57
- 余 群, 郑微云, 翁 妍, 冯 涛, 郑森林. 1999. 石油污染对真鲷幼体中超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的毒理效应. 厦门大学学报, 38(3): 429~434
- 张丽敏, 吴灶和, 简纪常, 鲁义善, 简贺军. 2007. 注射氟苯尼考对红笛鲷免疫指标的影响. 广东海洋大学学报, 27(3): 50~54
- 林庆斌, 廖升荣, 熊亚红, 乐学义. 2006. 超氧化物歧化酶(SOD)的研究和应用进展. 化学世界, 6: 378~381
- 哈承旭, 刘 萍, 何玉英, 李 健, 李 霞. 2009. 氯化铵对“黄海1号”中国对虾免疫相关酶类的影响. 渔业科学进展, 30(1): 34~40
- 徐连伟, 卢彤岩. 2007. 达氟沙星对施氏鲷非特异性免疫功能的影响. 福建农林大学学报(自然科学版), 36(3): 297~301
- 黄 静, 张天托. 2006. 氟喹诺酮类抗生素免疫调节分子机制研究进展. 国外医药抗生素分册, 27(5): 211~215
- 董晓慧, 李 明, 叶继丹. 2009. 复方中草药对凡纳滨对虾生长性能和血清非特异免疫因子的影响. 大连水产学院学报, 24(2): 162~165
- 游学军, 郑永华. 2001. 对氯硝基苯对草鱼种肝胰脏过氧化氢酶活性的影响. 西南农业学报, 14(4): 79~82
- Cuffini, A. M., Tullio, V., Allocco, A., Paizis, G., DeLeo, C., and Carlone, N. A. 1994. Effect of rifloxacin upon non-specific immune defenses: in-vitro, ex-vivo and in-vivo results. J. Antimicrobial Chemotherapy, 34(4): 545~553
- Hoffmann, J. A., Kafatoa, F. C., Janeway, Jr. C. A., and Ezekowitz, R. A. B. 1999. Phylogenetic perspectives in innate immunity. Science, 284: 1313~1318
- Hultmark, D. 1980. Insect immunity: purification and properties of three inducible bacterial proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hyalophora cecropia*. Eur. J. Biochem. 106(1): 7~16
- Lundén, T., Miettinen, S., Lönnström, L. G., Lilius, E. M., and Bylund, G. 1999. Effect of florfenicol on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Veterinary Immunology and Immunopathology, 67(4): 317~325
- Møyner, K., Røed, K. H., Sevattal, S., and Heum, M. 1993. Changes in non-specific immune parameters in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., induced by *Aeromonas salmonicida* infection. Fish & shellfish Immunology, 3(4): 253~265
- Omkar, and Shukla, G. S. 1985. Nature of dichlorvos intoxication in a freshwater prawn, *Macrobrachium lamarrei* (H. Milne Edwards). Environmental Research, 37(2): 349~354
- Subbotkina, T. A., and Subbotkin, M. F. 2003. Lysozyme content in organs and blood serum in various species in the volga river. Evolutionary Biochemistry and Physiology, 39(5): 537~546
- Wang, F. L., and Chen, J. C. 2006. Effect of salinity on the immune response of tiger shrimp *Penaeus monodon* and its susceptibility to *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*. Fish & Shellfish Immunology, 20: 671~681
- Wang, Q., Liu, Q., Li, J., and Wang, Q. Y. 2008. Tissue distribution and elimination of norfloxacin in Japanese sea perch (*Lateolabrus japonicus*) and black sea bream (*Sparus macrocephalus*) following multi-oral administration. Aquaculture, 278(1-4): 1~4
- Zhang, Q. L., Li, F. H., Wang, B., Zhang, J. Q., Liu, Y. C., Zhou, Q., and Xiang, J. H. 2007. The mitochondrial manganese superoxide dismutase gene in Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*: Cloning, distribution and expression. Developmental and Comparative Immunology, 31(5): 429~440