

文章编号: 1004 - 7271(2007)02 - 0162 - 07

副溶血弧菌对南美白对虾生理生化指标的影响

翟秀梅^{1,2}, 王斌¹, 毛连菊¹, 郭郁¹, 桂远明¹

(1. 大连水产学院农业部海洋水产增养殖学与生物技术重点开放实验室, 辽宁 大连 116023;

2. 黑龙江生物科技职业学院水产系, 黑龙江 哈尔滨 150025)

摘要:在自然条件下从患红体病的养殖南美白对虾肝脏内分离出病原菌——副溶血弧菌, 将该菌通过肌肉注射的方式, 对南美白对虾做感染实验, 以探讨副溶血弧菌对南美白对虾生理生化指标的影响。注射弧菌后南美白对虾死亡率与时间、浓度呈正相关, 与半致死剂量呈负相关; 虾体肌肉、肝脏组织的超氧化物歧化酶(SOD)、溶菌酶(LSZ)酶活性随弧菌浓度的增加呈下降的趋势, 而过氧化物酶(POD)酶活性呈上升趋势, 这可能是应激反应; 酯酶同工酶(EST)酶带表现出缺失, 苹果酸脱氢酶同工酶(MDH)具有明显的组织特异性, 并且两种酶在肌肉组织中表达最强。副溶血弧菌感染后破坏了虾体的免疫系统, 导致免疫机能的损坏, 防病、抗病能力下降, 进一步导致虾体患病, 甚至死亡。

关键词:副溶血弧菌; 南美白对虾; 生理生化指标

中图分类号: S 945.1 文献标识码: A

The effects of physiological and biochemical index for *Penaeus vannamei* infected with *Vibrio parahaemolyticus*

ZHAI Xiu-mei^{1,2}, WANG Bin¹, MAO Lian-ju¹, GUO Yu¹, GUI Yuan-ming¹

(1. Key Laboratory of Mariculture & Biotechnology, Ministry of Agriculture, Dalian Fisheries University, Dalian 116023, China;

2. Department of Aquaculture, Heilongjiang Vocational College of Biology Science and Technology, Harbin 150025, China)

Abstract: The effects of physiological and biochemical index for white-leg shrimps (*Penaeus vannamei*) infected with *Vibrio parahaemolyticus* were studied in this paper. It is a kind of bacteria - *Vibrio parahaemolyticus* that was isolated from hepatopancreas of diseased shrimps farmed under natural conditions. The infection experiment that healthy shrimp muscles were injected with the isolated bacteria - *Vibrio parahaemolyticus* was carried out. After injection shrimp mortality was positive interrelationship to duration time and the injection concentration of *Vibrio parahaemolyticus*, and was negative interrelationship to semilethal concentration (LD₅₀). The tests showed that the activity of SOD and LSZ in muscle and hepatopancreas of shrimp declined, but activity of POD was ascendant with increase of injection concentration of *Vibrio parahaemolyticus*. The EST bands showed absence. Tissue specific of MDH was very distinct, the expressions of EST and MDH in muscle were most strong among examined tissues. After injection of bacterial - *Vibrio parahaemolyticus*

收稿日期: 2006-04-14

基金项目: 国家“九四八”资助项目(203112)

作者简介: 翟秀梅(1979 -), 女, 黑龙江牡丹江人, 硕士, 主要从事水产动物生理方面的研究, E-mail: zhaixiumei1019@163.com

通讯作者: 桂远明, E-mail: Guiym99@163.com

immunity system of shrimp was destroyed that resulted in immunity function damaged, the abilities of preventing disease and disease resistance declined, shrimps suffered from illness, even died.

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*; *Penaeus vannamei*; physiological and biochemical index

南美白对虾(*Penaeus vannamei*)是目前世界养殖产量最高的三大虾种之一,该虾生长速度快、含肉量大,对水环境抗逆能力强、营养要求低。随着对虾养殖规模的不断扩大,集约化程度的不断提高,对虾养殖病害发生频率亦相应增加,如红体病、红腿病、白斑病、肠炎病、烂鳃病等,严重的对虾病害使对虾养殖业蒙受巨大损失^[1,2],迫使人们开始研究其发病原因,寻找诊断^[3]、控制和防治它们的方法^[4,5]。弧菌是一种条件致病菌,当养殖水环境恶化,会引起对虾内机能协调失常或组织损伤,降低了对入侵病原体的防御能力,以致于平时不会构成危害的病原体也会成严重病害^[6]。弧菌病是养殖对虾的主要细菌病害之一,能够引起水产动物鱼、虾类等大量死亡,有关弧菌病的病理及防治方法的研究国内外已有不少报道^[3-8],但有关生化病理的报道尚不多见^[9]。当病原体入侵虾体时,机体的生理生化指标会发生一系列的变化。本文从在自然条件下从患红体病的养殖南美白对虾肝脏内分离出病原菌——副溶血弧菌,然后将该菌通过肌肉注射的方式,对南美白对虾做感染实验,以探讨副溶血弧菌对南美白对虾生理生化指标的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

南美白对虾于2002年10月初,从营口水产研究所试验场购进,虾体长为9.2~12.0 cm,为人工养殖的海水南美白对虾。

1.2 方法

1.2.1 病原菌的分离

患对虾红体病的养殖南美白对虾取自盘锦光合水产公司,从其肝胰脏中分离出3种细菌,通过人工感染,确定其中一种弧菌为致病菌,经鉴定为副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)^[8]。

1.2.2 感染实验设计

将副溶血弧菌接种于2% NaCl 营养琼脂固体斜面培养基上扩大培养24 h后,用无菌生理盐水清洗,配置成 $0.3.6 \times 10^2$ 、 3.6×10^3 、 3.6×10^4 、 3.6×10^5 、 3.6×10^6 cell/mL 6个浓度梯度,每组设2个平行缸,实验用水槽为透明玻璃缸(容量50 L),随机捞取对虾,每缸放10尾虾,用水泵通气,待虾体对新环境适应后,开始实验。每尾虾注射剂量为0.2 mL,注射部位为对虾的第四到第五腹节处肌肉,其中0浓度梯度注射的为生理盐水,实验期间不投饵。在24 h、48 h、72 h、96 h时观察死亡率,并在96 h时采集虾体,放入超低温冷冻冰箱(-78 ℃)中备用。

1.2.3 样品的制备

肌肉匀浆 虾体去头及外壳,称重,加入3.5倍0.1 mol/L的磷酸钾盐缓冲液(pH 6.4),于4 ℃冰箱中静止6 h,低温匀浆、离心(4 ℃, 5×10^3 r/min, 20 min),取上清液用于测定。

肝脏、肠匀浆 取虾的肝脏、肠分别称重,加入10倍0.1 mol/L的磷酸钾盐缓冲液(pH 6.4),低温匀浆、离心(4 ℃, 3.5×10^3 r/min, 10 min),取上清液用于测定。其中肠只用于同工酶的测定。

1.2.4 实验数据的测定方法

超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定 采用邓碧玉等^[10]改良的连苯三酚自氧化法测定,每毫升反应液中,每分钟抑制连苯三酚自氧化速率达50%的酶量为1个活力单位,单位为U/mL。

溶菌酶(LSZ)活性的测定 采用南京建成生物工程研究所出售的溶菌酶试剂盒,根据浊度变化来推测溶菌酶的含量,单位为U/mL。

过氧化物酶(POD)活性的测定 按照沃辛通(Worthington)法^[11]测定,1个过氧化物酶单位相当

于在规定条件下,于 25 ℃,pH 7.0,每分钟分解 1 μmol 过氧化氢时所需的酶量,单位为 U/mg。

同工酶电泳及分析 采用聚丙烯酰胺垂直平板不连续凝胶电泳方法,对肌肉、肝脏和肠 3 种组织进行酯酶同工酶和苹果酸脱氢酶同工酶的电泳研究。具体制胶、电泳、染色过程参照何忠效等^[12]的方法。将电泳后所制成的胶板,经扫描仪(Microtek Phantom 4000)扫描后用 Photoshop 绘制图谱。酶谱示意图参考胡能书等^[13]的方法绘制,酶带的编号参照国际生物化学命名规则而定,把向阳极泳动最快的同工酶编号为 1,如 EST-1,并从阳极到阴极依次编号。

2 结果

2.1 副溶血弧菌对南美白对虾死亡率的影响

随着注射副溶血弧菌浓度的增大,南美白对虾的死亡率逐渐升高。随着时间的延长,南美白对虾的死亡率也呈现升高的趋势(表 1)。表 2 为采用直线内插法计算出的 48 h、72 h、96 h 时南美白对虾对所注射的副溶血弧菌的 LD₅₀。随着时间的延长,南美白对虾对注射副溶血弧菌的半致死剂量 LD₅₀ 逐渐降低。

表 1 不同注射浓度的副溶血弧菌对南美白对虾死亡率的影响
Tab. 1 The effects of different injection concentration of *Vibrio parahaemolyticus* on mortality of *Penaeus vannamei*

注射浓度 (cell/mL)	0	3.6×10^2	3.6×10^3	3.6×10^4	3.6×10^5	3.6×10^6
24 h 死亡率	0	0	0	0	0	33.3
48 h 死亡率	0	0	0	16.7	33.3	66.7
72 h 死亡率	16.7	16.7	40.0	40.0	60.0	80.0
96 h 死亡率	16.7	40.0	40.0	60.0	60.0	80.0

表 2 不同注射浓度的副溶血弧菌对南美白对虾 LD₅₀ 的影响
Tab. 2 The effect of different injection concentration of *Vibrio parahaemolyticus* on LD₅₀ of *Penaeus vannamei*

时间	48 h	72 h	96 h
半致死剂量 LD ₅₀ (cell/ind)	19.28×10^4	1.46×10^4	0.2×10^4

2.2 副溶血弧菌对南美白对虾各组织酶活性的影响

肝脏和肌肉组织中,SOD 酶的活性随着副溶血弧菌浓度的增加而呈下降趋势,肌肉组织中的活性值均高于肝脏组织中活性值(图 1)。在肌肉组织中,POD 酶活性随副溶血弧菌浓度的增加呈下降趋势;在肝脏组织中,POD 酶活性随副溶血弧菌浓度增加呈上升的趋势,并且活性值远大于肌肉组织中的活性值(图 2)。

在肝脏和肌肉组织中,溶菌酶活性随副溶血弧菌浓度的增加呈现升高后下降的趋势。在肝脏组织中, 3.6×10^2 和 3.6×10^3 这两个浓度组的溶菌酶的活性高于 0 浓度的活性,但差异不显著($P > 0.05$);在肌肉组织中, 3.6×10^2 和 3.6×10^3 这两个低浓度组的溶菌酶活性高于 0 浓度的活性,并差异显著($P < 0.05$)(图 3)。

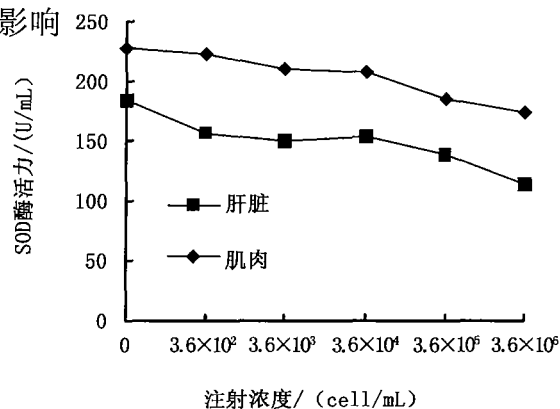


图 1 不同注射浓度副溶血弧菌对南美白对虾 SOD 酶活性的影响

Fig. 1 The effects of different injection concentration of *Vibrio parahaemolyticus* on superoxide dismutase of *Penaeus vannamei*

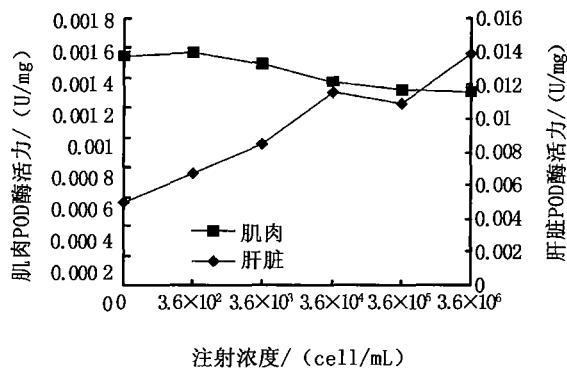


图2 不同注射浓度副溶血弧菌对南美白对虾 POD 酶活性的影响

Fig. 2 The effects of different injection concentrations of *Vibrio parahaemolyticus* on peroxidase of *Penaeus vannamei*

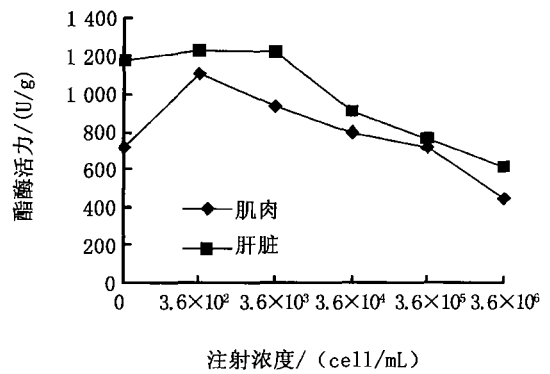


图3 不同注射浓度副溶血弧菌对南美白对虾溶菌酶活性的影响

Fig. 3 The effects of different injection concentrations of *Vibrio parahaemolyticus* on lysozyme of *Penaeus vannamei*

2.3 副溶血弧菌对南美白对虾各组织同工酶的影响

虾体注射副溶血弧菌后,肌肉组织的酶带数目随副溶血弧菌浓度增加呈先增加后减少的趋势,酶带着色强度也略有变化。在 3.6×10^2 浓度时,增加 EST-4 酶带;在 3.6×10^3 和 3.6×10^4 浓度时,也有 EST-4 酶带增加,并缺失 EST-8 酶带;在 3.6×10^5 浓度时,也缺失酶带 EST-8;在 3.6×10^6 浓度时,缺失 EST-5 ~ 8 4 条酶带,并有 EST-4 酶带增加(图 4)。

虾体注射副溶血弧菌后,肝脏组织的酶带变化主要表现在 EST-2 ~ 4 3 条酶带上。EST-2 在 3.6×10^2 、 3.6×10^3 、 3.6×10^4 、 3.6×10^6 4 个浓度着色强度加深;EST-3 酶带在 3.6×10^3 、 3.6×10^4 2 条酶带着色强度变浅;EST-4 酶带在 3.6×10^3 、 3.6×10^4 、 3.6×10^6 3 个浓度组缺失,并且在 3.6×10^5 浓度时,EST-4 酶带着色强度加深(图 5)。

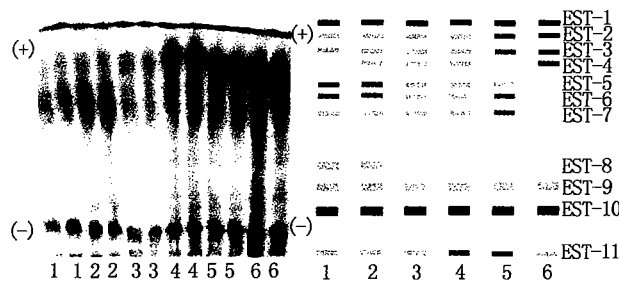


图4 不同注射浓度的副溶血弧菌对南美白对虾肌肉酯酶同工酶(EST)的影响

Fig. 4 The effects of different injection concentrations of *Vibrio parahaemolyticus* on muscular EST of *Penaeus vannamei*

注射浓度分别为 1,0; 2, 3.6×10^2 ; 3, 3.6×10^3 ; 4, 3.6×10^4 ; 5, 3.6×10^5 ; 6, 3.6×10^6 cell/mL

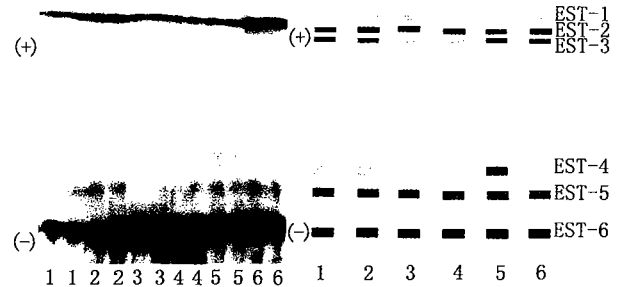


图5 不同注射浓度的副溶血弧菌对南美白对虾肝脏酯酶同工酶(EST)的影响

Fig. 5 The effects of different injection concentration of *Vibrio parahaemolyticus* on hepatopancreatic EST of *Penaeus vannamei*

注射浓度分别为 1,0; 2, 3.6×10^2 ; 3, 3.6×10^3 ; 4, 3.6×10^4 ; 5, 3.6×10^5 ; 6, 3.6×10^6 cell/mL

虾体注射副溶血弧菌后,肠组织的酶带变化也不大。EST-7 酶带的着色强度在 $(3.6 \times 10^2) \sim (3.6 \times 10^5)$ 4 个浓度组中加深;在 3.6×10^3 浓度时酶活性最低, EST-1 和 4 2 条酶带缺失; 3.6×10^6 浓度时,有 EST-5 和 6 2 条酶带增加(图 6)。

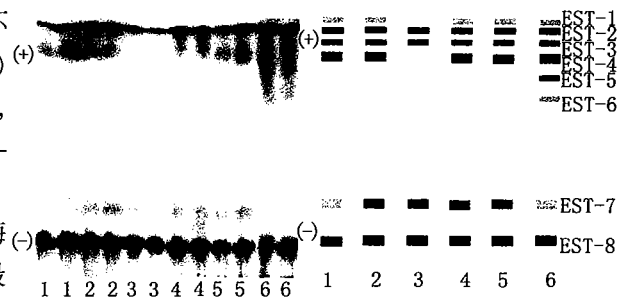
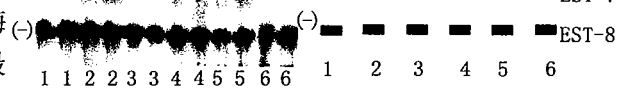


图 6 不同注射浓度的副溶血弧菌对南美白对虾肠酯酶同工酶(EST)的影响

Fig. 6 The effects of different injection concentrations of *Vibrio parahaemolyticus* on intestinal EST of *Penaeus vannamei*

注射浓度分别为 1, 0; 2, 3.6×10^2 ; 3, 3.6×10^3 ; 4, 3.6×10^4 ; 5, 3.6×10^5 ; 6, 3.6×10^6 cell/mL

虾体注射副溶血弧菌后,肌肉组织中 MDH-1 酶带着色强度变浅。在 3.6×10^2 浓度时,酶活性最弱,MDH-2 酶带缺失,MDH-4 酶带着色强度变浅;而在其它浓度增加 MDH-3、5 和 6, 3 条酶带,另外 MDH-2、4 酶带着色强度加深,并且表现稳定(图 7)。



虾体注射副溶血弧菌后,肝脏组织中酶带数目有增加,但在 3.6×10^6 浓度时没有变化。在 $(3.6 \times 10^2) \sim (3.6 \times 10^5)$ 4 个浓度组增加 MDH-4 酶带,并 MDH-2 酶带着色强度加深。在 $(3.6 \times 10^3) \sim (3.6 \times 10^5)$ 3 个浓度组增加 MDH-3 酶带(图 8)。在肠组织中没有检测到酶带。

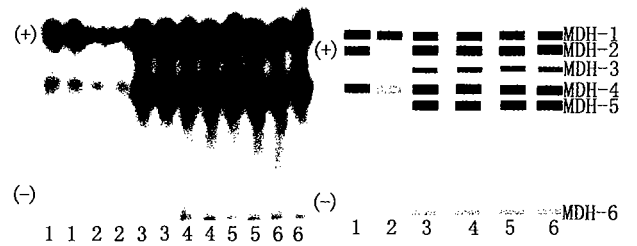


图 7 不同注射浓度的副溶血弧菌对南美白对虾肌肉苹果酸脱氢酶(MDH)的影响

Fig. 7 The effects of different injection concentrations of *Vibrio parahaemolyticus* on muscular MDH of *Penaeus vannamei*

注射浓度分别为 1, 0; 2, 3.6×10^2 ; 3, 3.6×10^3 ; 4, 3.6×10^4 ; 5, 3.6×10^5 ; 6, 3.6×10^6 cell/mL

图 8 不同注射浓度的副溶血弧菌对南美白对虾肝脏苹果酸脱氢酶(MDH)的影响

Fig. 8 The effects of different injection concentrations of *Vibrio parahaemolyticus* on hepatopancreatic MDH of *Penaeus vannamei*

注射浓度分别为 1, 0; 2, 3.6×10^2 ; 3, 3.6×10^3 ; 4, 3.6×10^4 ; 5, 3.6×10^5 ; 6, 3.6×10^6 cell/mL

3 讨论

3.1 副溶血弧菌对南美白对虾死亡率的影响

在自然情况下,弧菌是一种条件致病菌,当养殖动物受伤、体弱、抗病力降低、环境条件恶化时,弧菌会乘虚而入,引起虾贝等各种动物的严重疾病,甚至死亡^[14]。健康对虾体内的微生态处于动态平衡,当注射了病原体——副溶血弧菌后,逐渐打破对虾体内的微生态平衡或使虾体微生态处于紊乱状态,进而导致对虾发病和死亡。本实验的对虾死亡率的结果也说明,随着病原体浓度的增加、时间的持续,南美白对虾的死亡率逐渐增加。

3.2 副溶血弧菌对南美白对虾各组织酶活性的影响

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)是自由基清除酶系统中的一个重要酶,研究发现,超氧化物歧化酶活性与生物的免疫水平密切相关^[15]。在生物体生理机能正常的情况下,清除自由基,使自由基维持在一个极低水平的平衡状态,以保护生物体内功能大分子不被氧化破坏^[16]。过氧化物酶

(POD)也是机体内重要的抗氧化化酶,能够减少自由基对正常细胞的损伤,对细胞生理代谢过程中产生的活性氧具有清除作用、具有解毒和防病抗病的能力^[17],是机体重要的免疫指标。本实验在肝脏组织中的 POD 酶活性随弧菌注射浓度的增加呈上升趋势,这可能是一种应激反应,在更高浓度、更长时间其活性也会下降。在 SOD 酶活性和肌肉组织中 POD 酶活性随弧菌注射浓度的增加呈下降的趋势,由于大量弧菌侵入到机体内,使机体代谢平衡紊乱,代谢失调,酶活性下降。这与吴惠仙等^[18]在日本沼虾黑鳃病的过氧化氢酶同工酶变化中酶带变化相反:患黑鳃病后,肝脏酶带活性降低,肌肉增加新酶带,这可能由于两种病的作用机理不同造成。

溶菌酶广泛存在于各种动物的血细胞和血液中,在免疫活动中发挥着重要的作用^[19]。溶菌酶是一种碱性蛋白,主要杀死革兰氏阳性菌,其作用机制主要在于它能够破坏溶解细菌细胞壁中的肽聚糖成分,作用位点在 N-乙酰葡萄糖胺和 N-乙酰胞壁酸之间的 $\beta-1,4$ 糖苷键,从而使细菌的细胞壁破损,细胞崩解。王雷等^[20]以溶壁微球菌(*Micrococcus Lysoleiiticus*)冻干粉作为底物进行实验时发现,正常中国对虾的血淋巴中具有较强的溶菌活力,而濒临死亡的中国对虾血淋巴的溶菌活性基本丧失,由此认为,溶菌活力可以作为检测对虾机体免疫功能状态的一个有价值的参考,并且其溶菌酶活性变化与本实验结果一致,低浓度弧菌注射刺激后,血淋巴的溶菌活力大大提高,可见适当的诱导可以提高血淋巴中溶菌因子的活性,其原因主要在于外来异物进入虾体后,会刺激血细胞迅速作出反应,从而释放出溶菌酶等具有免疫活性的物质,参与免疫反应;然而当高浓度弧菌刺激后,溶菌活力反而有所降低,并且实验对虾的游泳能力减弱,取血时血淋巴也不易凝固,可能过量感染破坏了对虾的体质,使对虾发病甚至最终死亡。丁秀云等^[21]采用大肠杆菌和弧菌注射鲍后,低剂量对鲍体内的防御起到有益的刺激作用,也与本结果一致;注射高浓度弧菌时活性会下降,此时可能对机体造成了损伤,使代谢水平下降。

本实验结果表明:在副溶血弧菌高浓度时,SOD 酶、POD 酶和溶菌酶活性大幅度下降,副溶血弧菌感染后破坏了对虾的免疫系统,导致免疫机能的损坏,防病、抗病能力下降,进一步导致虾体患病,甚至死亡。Lightner^[22]指出,看似健康的对虾血淋巴中也可分离出细菌,尤其是弧菌,这往往是由于对虾放养密度过高以及对虾蜕皮等造成体表损伤,致使细菌进入对虾血淋巴。当它们数量很少时,对虾的免疫系统可以控制住这些细菌,一旦环境条件恶化,对虾的免疫力下降,随即发生疾病。该病的实质是由于弧菌侵入对虾的循环系统而导致的败血症。

3.3 副溶血弧菌对南美白对虾各组织同工酶的影响

同工酶是由生物细胞内基因组编码、催化某类生化反应、而本身的分子结构有所不同的一组酶^[23]。酯酶同工酶(EST)是催化酯类化合物水解的酶系,其作用除维持细胞正常的能量代谢外,还能水解大量非生理正常存在的酯类化合物,被认为可能与机体的解毒作用密切相关^[24-26],本研究中,南美白对虾的各组织中 EST 表达比较强,其中肌肉表达最强,这与前人所报道的肝脏活性最强不同,这可能是由于肝脏、肠是主要的消化吸收的场所,弧菌对其的影响明显。在虾体各组织中,酯酶活性随菌注射浓度的增加呈下降的趋势,影响了酯类代谢的正常进行,从而使机体能量代谢失衡。这与孔凡骏等^[3]研究的对虾弧菌病的同工酶结果一致。

苹果酸脱氢酶(MDH)是一种催化苹果酸和草酰乙酸相互转变的酶。在细胞中苹果酸脱氢酶是三羧酸循环中重要的脱氢酶之一,也是三羧酸循环中脱氢氧化反应的最后一步^[27],它起到承上启下的作用,它的含量将影响糖的有氧氧化反应的进行,生成的 ATP 量也相应起变化^[28]。南美白对虾体内 MDH 同工酶的表达也是肌肉中最强,与相建海^[29]报道的结果相一致。MDH 同工酶具有明显的组织特异性,在肝脏和肠中表达比较弱。本研究中 MDH 酶活性随弧菌注射浓度增加,有增加现象,这可能是一种应激反应,使机体适应的结果。

同工酶作为生物机体中反映生理代谢变化的标记指标,用于生物体病害的检测与诊断已有许多成功的报道,已成为虾病诊断的一个生化辅助指标。

参考文献:

- [1] 沈文英,阳会军,尹军霞.南美白对虾的病害及防治研究现状[J].水利渔业,2004,24(1):58-60.
- [2] 陈爱平.2002年我国南美白对虾养殖及病害情况综述(中)[J].科学养鱼,2003,11:41-42.
- [3] 樊景凤,梁玉波,宋立超,等.凡纳滨对虾红体病病原菌间接ELISA快速检测方法的研究[J].水产学报,2006,30(1):113-117.
- [4] 叶孝经.对虾弧菌苗免疫的研究[J].海洋水产研究丛刊,1990,(32):13-18.
- [5] 樊延俊.对虾非特异免疫与对虾疾病监控的研究进展[J].海洋科学,2002,66(4):26-31.
- [6] 李光友.中国对虾疾病与免疫机制[J].海洋科学,1995,(4):1-3.
- [7] 周永灿,张木,陈雪芬,等.养殖对虾细菌性红体病的初步研究[J].海洋科学,2003,27(5):61-65.
- [8] 樊景凤,宋立超,王斌,等.一株引起凡纳滨对虾红体病的病原菌——副溶血弧菌的初步研究[J].海洋科学,2006,30(4):40-44.
- [9] 孔凡骏,周凯.对虾弧菌病的同工酶分析[J].海洋渔业,1998,20(3):119-121.
- [10] 邓碧玉,袁勤生,熬杰.改良的连苯三酚自氧化测定超氧化物歧化酶活性的方法[J].生物化学与生物物理进展,1991,18(2):163-163.
- [11] B.施特尔夫.酶的测定方法[M].钱嘉渊,译.北京:中国轻工业出版社,1992:140-142,276-278.
- [12] 何忠效,张树政.生物化学实验技术丛书(第二版)电泳[M].北京:科学出版社,1999:288-289,296-298.
- [13] 胡能书,万贤国.同工酶技术及其应用[M].长沙:湖南科学技术出版社,1985:40-41.
- [14] 黄美珍,李志棠.微生态制剂在对虾防治应用的研究进展[J].中山大学学报(自然科学版),2000,39(增刊):75-79.
- [15] 丁美丽.有机污染对中国对虾体内外环境的研究[J].海洋与湖沼,1997,28(1):7-11.
- [16] 曹广力,朱越雄,许宏庆,等.四种甲壳动物超氧化物歧化酶活性检测初报[J].水产养殖,1999,(1):15-16.
- [17] 刘树青,江晓路,牟海津,等.免疫多糖对中国对虾血清溶菌酶、磷酸酶和过氧化物酶的作用[J].海洋与湖沼,1999,30(3):278-282.
- [18] 吴惠仙,薛俊增.日本沼虾黑鳃病几种同工酶的变化与病理分析[J].海洋湖沼通报,2002,(1):33-37.
- [19] 李廷友,谢标,陆波,等.中药添加剂对中华绒螯蟹扣蟹非特异性免疫力影响的研究[J].淡水渔业,2005,35(1):3-6.
- [20] 王雷,李光友.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[J].海洋与湖沼,1995,26(2):179-185.
- [21] 丁秀云,李光友,翟玉梅.皱纹盘鲍经诱导后血淋巴中一些因子变化的研究[J].海洋与湖沼,1996,27(4):362-367.
- [22] Sindermann C J, Lightner D V. Disease diagnosis and control in North American marine aquaculture[M]. Elsevier, Amsterdam, 1988:42-47.
- [23] 黄灿华,陈禄华.中国对虾病虾体内同工酶表型变化的初步研究[J].中国水产科学,1996,6(1):45-49.
- [24] 蔡完其,陆宏达.患爆发性病毒病的中国对虾肝脏病理变化[J].上海水产大学学报,1994,3(1-2):27-33.
- [25] 蔡完其.罗氏沼虾莫格球拟酵母病的病理研究[J].水产学报,1996,20(1):13-17.
- [26] 李广丽,朱春华.罗氏沼虾个体发育早期的同工酶研究[J].水生生物学报,2001,25(4):338-343.
- [27] Baldwin J E, Krebs H. The evolution of metabolic cycles[J]. Nature,1981,291,381-382.
- [28] 李太武,苏秀榕.中国对虾和日本对虾6种同工酶的比较研究[J].海洋学报,1997,19(2):85-88.
- [29] 相建海.海洋动物细胞和种群生化遗传学[M].济南:山东科学技术出版社,1999:63-109.