

文章编号: 1674-5566(2010)03-0327-06

麻醉剂 MS-222对金鱼体内 AKP、CAT和 ACP活性的影响

刘 伟, 陈再忠

(上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘 要:在实验室条件下,采用4个浓度0 mg/L、30 mg/L、60 mg/L和90 mg/L,分析了麻醉剂MS-222对金鱼鳃、肝脏和肌肉组织中碱性磷酸酶(AKP)、酸性磷酸酶(ACP)和过氧化氢酶(CAT)活性的影响。试验结果表明:ACP明显出现一个先增后降的趋势,呈抛物线状;在低浓度(≤ 60 mg/L)下,酶活性在各组织中呈现一定的稳定状态,而当麻醉剂浓度升高和麻醉时间增长,酶活性逐渐下降。AKP在低浓度麻醉剂溶液中,酶活性有明显的增加,随着浓度的升高(≥ 60 mg/L)和时间的增长,酶活性呈抑制状态。而在肌肉中这种情况并不明显。CAT在一定阶段(30 mg/L~60 mg/L)呈现稳定的状态、而后抑制逐渐明显,当麻醉剂MS-222浓度达到一定量(≥ 60 mg/L)以后,对鱼体的刺激就不再增加了,酶活性也相对处于较稳定的状态;当麻醉剂随着时间的增长和浓度的增大时,在鱼体内富集的麻醉剂破坏鱼体内的过氧化氢酶的分子构象,使酶体失去活性。

关键词:金鱼;麻醉剂MS-222;酸性磷酸酶;碱性磷酸酶;过氧化氢酶

中图分类号: S 917 文献标识码: A

Effects of the anesthetic MS-222 on the AKP, CAT and ACP activities in goldfish

LIU Wei CHEN Zai-zhong

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

Abstract: The effect of the anesthetic MS-222 on the activities of alkaline phosphatase (AKP), catalase (CAT) and acid phosphatase (ACP) in goldfish was analyzed under laboratory conditions. Four concentrations 0 mg/L, 30 mg/L, 60 mg/L and 90 mg/L of MS-222 were tested. The results showed that the concentration of MS-222 affected the activities of AKP, CAT and ACP in the gill, liver and muscle of goldfish. The results show that the activity of alkaline phosphatase is first increased and then decreased, shows a parabola curve which activity changes. The activity is stable under the lower anesthetic concentration (≤ 60 mg/L), decreased with increasing of concentration and longer induction time in tissue. The activity of AKP significantly increased under the low anesthetic concentration. Decreased with increasing of concentration (≥ 60 mg/L) and longer induction time in tissue, but in muscle is not as in tissue. In the concentration (30 mg/L~60 mg/L), the activity of CAT is stable at first, when the anesthetic concentration higher than 60 mg/L, no further irritation happen. With the increasing concentration and time, fish accumulate the

收稿日期: 2009-05-12

基金项目: 上海市教委项目(06-415);上海市重点学科建设项目(Y1101)

作者简介: 刘 伟(1983-),女,硕士研究生,专业方向为水产动物增养殖学。E-mail: weilu@shou.edu.cn

通讯作者: 陈再忠, E-mail: chenzz@shou.edu.cn

anesthetic to lead to the conformation damage and then deactivation

Key words: goldfish; anesthetic MS-222; alkaline phosphatase; catalase; acid phosphatase

随着人们物质生活水平的提高,对于精神生活的需求也日益见涨,也促进了水族业的蓬勃发展。各种水族鱼类的运输,也成为水族行业发展的一项重要内容。如何使观赏鱼在运输过程中,损伤达到最小,使用麻醉剂就是其中有效可行的办法之一^[1]。但就目前国内外对于这方面的研究很少,尤其是对运输中麻醉剂对鱼体的影响方面几乎还是空白。这也是所要探索这方面内容的目的,希望得出相关方面的结论对水族业方面的应用,起到参考的作用。

麻醉剂主要是为了在操作鱼体过程中减少对鱼类的刺激,防止鱼体进行剧烈的挣扎等行为对鱼体造成损伤^[2-3]。不过在大多数情况下,过高麻醉剂量不但可能带来一些副作用^[4-5],这些副作用还可能会带来一些生理方面的反应。在这种情况下,鱼体处于亚健康状态,很容易造成感染^[6],尤其对于一些名贵的观赏鱼来说,损失很大。这些生理上的反应,在人类方面研究比较多^[7-9],而对于鱼类方面,对于模式动物斑马鱼^[10]和食用鱼^[11-13]方面有一些研究结果,观赏鱼方面资料就更少了。

鱼类常用的麻醉剂有 MS-222、丁香油和 2 苯氧乙醇等种类。麻醉剂 MS-222 是通过 FDA 认证的 药物,效果良好,购买渠道相对较多。丁香油,使用较安全,但麻醉和复苏时间比较长,不方便应用。2 苯氧乙醇,在国内主要以工业级,不溶于水,试剂级较贵,购买渠道有限。所以本实验采用麻醉剂 MS-222 作为研究内容。麻醉剂 MS-222 (3 氨基苯甲酸乙酯甲基磺酸盐, tricaine methane sulfonate) 是美国 FDA 认可的鱼类麻醉剂之一。本试验主要运用一些鱼体生理方面的指标来对麻醉剂应用于鱼体的影响分析研究,旨在寻求最佳的麻醉浓度。

1 材料与方法

1.1 试验材料

实验室中的试验用鱼购自本溪路花鸟市场,体长 7~8 cm,体重 (12.000±0.763) g。在 20 cm×30 cm×20 cm 的大号塑料储物箱中,经过了两周驯养,采用曝气自来水、用加热棒保持

水体温度恒定,温度 (20.0±0.5)°C。

1.2 试验方法

1.2.1 酶活试验方案

先配制 MS-222 溶液浓度分 20 mg/L、30 mg/L、40 mg/L、50 mg/L、60 mg/L、70 mg/L、80 mg/L、90 mg/L、100 mg/L、110 mg/L 和 120 mg/L 浓度梯度进行实验,在以后的每次实验中,依次缩小麻醉剂的浓度范围,最后确定对金鱼麻醉的适宜浓度。通过初选麻醉浓度实验,选取 30 mg/L、60 mg/L 和 90 mg/L 3 个浓度,每个麻醉浓度设有 3 个平行组,每个平行组为一个 10 L 圆桶,桶内各有 15 条鱼和 10 L 水,水温为 (5.0±0.5)°C,并设 3 个空白进行对照 (0 mg/L),向每个桶放入各自的麻醉剂浓度,并放入碳酸氢钠作为缓冲液 (两者比例为 1:1)^[14]。分别在 5 个不同的时间区段:0.25 h、4 h、12 h、24 h 和 48 h 从每个平行组中,选取 3 条金鱼解剖,分别测定鳃、肝脏和肌肉中过氧化氢酶 (CAT)、碱性磷酸酶 (AKP) 和酸性磷酸酶 (ACP) 的活性。

1.2.2 试验具体步骤

样品制备 将金鱼处死,取出鳃、肝脏和肌肉,用 4°C 6.7% 的生理盐水清洗、吸干称重,立即放入匀浆器中加入 6.7% 生理盐水,冰浴中匀浆。肝脏、肌肉和鳃分别加入生理盐水,以所测组织:生理盐水=1 g:10 mL 混合^[15],匀浆后匀浆液倒入离心管中,在 4°C,10 000 r/min 离心 10 min,取上清液测定 CAT、AKP 和 ACP 的活性。

酶活测定 CAT 活性测定,参照何平^[16]的方法,计算公式为

$$\text{CAT 活性 (U/mg)} = \frac{A_{B1} - A_{B2}}{A_{B2}} \times 2.6 \quad (1)$$

式中: A_{B1} 和 A_{B2} 分别为空白 1 和空白 2 管中的吸光度; A_{B1} 为测定管中的吸光度。

AKP 活性测定,参照杨安钢^[17]的方法,计算公式为

$$\text{AKP 活性 (U/mg)} = \frac{A_{测}}{A_{标}} \times \text{标准管中酚含量} \times \frac{1}{0.1} \times \text{稀释倍数} \quad (2)$$

式中: $A_{测}$ 为测定管中的吸光度; $A_{标}$ 为标准管中的吸光度。

ACP活性测定,参照《实用临床检验手册》^[18]的方法,计算公式为

$$\text{ACP活性 (U/g)} = (A_{测}/A_{标}) \times 16.7 \quad (3)$$

每克组织在 37℃ 与底物作用 60 min 产生 1 μmo 酚即为 1 个单位 (U/g)。

1.3 数据处理与统计分析

所有试验测得数据均采用 Microsoft Excel 2007 软件进行处理。

对不同浓度组同样处理时间的数据,采用 STATISTICA 5.0 统计软件进行单因子 ANOVA 分析,显著性检验方法为 Duncan's Multiple Range Test 对同一浓度组不同处理时间的数据,采用

STATISTICA 5.0 统计软件中的 t 检验方法; $P > 0.05$ 为差异不显著, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 AKP的活性变化

从表 1 可以看出,对照组中鳃、肝脏和肌肉中的 AKP 活性保持稳定,3 个组织中酶活性表现各自的差异状况。实验组鳃和肝脏中的 AKP 酶活性在 1/4 h 和 4 h 显著高于对照组,之后逐渐下降,且这一现象,随着浓度的增高而逐渐明显。而肌肉中的 AKP 活性在 3 个浓度组皆随着麻醉时间增加,逐渐下降,且下降速率越来越快。

表 1 各浓度组不同处理时间金鱼鳃、肝脏和肌肉中的 AKP 活性

Tab. 1 The AKP activities in gill, liver and muscle of goldfish exposed to different concentration of MS-222

组织	浓度 (mg/L)	时间 (h)				
		1/4	4	12	24	48
鳃	0	3.28±0.10	3.13±0.08	3.14±0.04	3.27±0.07	3.14±0.05
	30	3.56±0.05	3.76±0.10	3.18±0.05	3.05±0.03	2.70±0.04
	60	2.93±0.09	3.86±0.08	2.51±0.08	2.02±0.08	1.64±0.04
	90	3.05±0.11	3.38±0.09	2.10±0.06	1.74±0.03	1.56±0.06
	0	3.44±0.10	2.91±0.07	3.34±0.08	3.27±0.09	3.28±0.08
肝脏	30	3.65±0.04	3.69±0.11	3.30±0.06	2.95±0.08	3.07±0.11
	60	3.15±0.04	4.05±0.09	2.76±0.06	2.31±0.09	1.81±0.08
	90	4.41±0.04	4.83±0.05	2.41±0.06	2.27±0.05	1.31±0.06
	0	3.46±0.06	3.53±0.04	3.37±0.04	3.41±0.09	3.40±0.14
	30	3.28±0.04	3.52±0.05	3.16±0.02	3.30±0.06	3.18±0.09
肌肉	60	3.20±0.09	3.63±0.03	3.10±0.06	2.94±0.05	2.29±0.11
	90	3.37±0.09	3.48±0.09	3.13±0.03	2.16±0.04	1.93±0.06

进一步统计分析表明:鳃组织在浓度 30 mg/L 和 60 mg/L 时,同时在 4 h 和 12 h 与 24 h 和 48 h 这 4 个时间点,AKP 活性变化极显著。肝组织在各浓度组变化不显著,而在处理时间上,12 h 和 24 h 出现显著性变化。肌肉组织从开始接触麻醉剂就发生极显著变化,而从时间上看,也是显著性变化出现最开始,在 1/4 h 和 12 h 之间变化显著,而在 4 h 和 12 h 之间变化极显著。

2.2 CAT的活性变化

从表 2 看到,对照组的 CAT 活性稍有浮动,属于正常的生理现象,而且基本上保持一定水平;而实验组则明显呈现整体的下降趋势。肌肉和肝脏中酶水平随着浓度的升高而显著下降;当

浓度高于 60 mg/L 之后,酶活保持一个低水平的稳定。鳃中的 CAT 活性变化,稍有些不同,明显在加入麻醉剂的组别中,开始是呈抑制之后,出现一个反高的现象,之后又逐渐随麻醉时间的延长,CAT 活性再次呈逐渐下降的趋势,而且没有达到一个稳定状态。

从统计分析结果可以看出,鳃中 CAT 活性随着 MS-222 浓度的升高,出现极显著的变化,且在 24 h 和 48 h 出现显著变化;肝脏中也随着浓度升高出现极显著变化,且在 4 h 和 12 h 出现显著变化;肌肉中 CAT 活性在 30 mg/L 和 60 mg/L 出现极显著变化,60 mg/L 和 90 mg/L 呈显著变化,且在 4 h 和 12 h 之间变化极显著。

表 2 各浓度组不同处理时间金鱼鳃、肝脏和肌肉中的 CAT 活性
Tab. 2 The CAT activities in gill liver and muscle of goldfish exposed to different concentration of MS-222 U/mg

组织	浓度 (mg/L)	时间 (h)				
		1/4	4	12	24	48
鳃	0	8.84±0.08	7.33±0.25	7.83±0.25	8.00±0.14	7.31±0.38
	30	9.32±0.13	10.43±0.23	4.71±0.23	6.87±0.13	4.55±0.13
	60	5.80±0.13	6.91±0.22	4.40±0.18	4.59±0.11	3.61±0.18
	90	3.98±0.17	5.65±0.21	8.78±0.22	3.16±0.16	2.52±0.13
肝脏	0	11.51±0.24	7.85±0.21	7.91±0.16	8.60±0.21	7.82±0.32
	30	9.25±0.13	8.23±0.18	7.14±0.18	6.74±0.15	6.76±0.18
	60	7.74±0.19	7.54±0.28	7.14±0.22	4.70±0.21	5.03±0.42
	90	6.13±0.11	5.46±0.24	5.07±0.13	3.36±0.07	3.41±0.18
肌肉	0	7.20±0.19	8.31±0.12	8.85±0.18	7.43±0.15	7.41±0.19
	30	8.15±0.13	7.19±0.11	6.21±0.18	5.98±0.12	4.63±0.13
	60	6.33±0.13	5.88±0.08	5.79±0.72	4.01±0.14	4.63±0.18
	90	6.00±0.24	5.77±0.11	4.48±0.15	2.86±0.55	4.63±0.13

2.3 ACP的活性变化

从表 3 中可以看出, 对照组中 ACP 活性保持一定水平, 而在实验组, 鳃、肝脏以及肌肉中的酶活变化都是随着时间和浓度增加呈明显的下降趋势。

在鳃中, 30 mg/L 和 90 mg/L 组 ACP 活性随着时间的延长呈直线下降, 而在 60 mg/L 组酶活性下降的过程中出现一个活性略微增强的一个

区段之后, 再次下降。从表 3 中看到, 肌肉中 ACP 活性下降之后, 随着时间的变化, 开始时保持一定稳定后再次下降, 然后再次达到一个稳定酶活状态。浓度为 30 mg/L 和 60 mg/L 变化趋势相同, 而 90 mg/L 开始时酶活稳定区段较短, 很快就进入下降的阶段。肌肉中 ACP 活性在麻醉剂浓度高的情况下, 在一个明显的剧增阶段之后下降; 浓度较低的情况, 这种情况不显著。

表 3 各浓度组不同处理时间金鱼鳃、肝脏和肌肉中的 ACP 活性
Tab. 3 The ACP activities in gill liver and muscle of goldfish exposed to different concentration of MS-222 U/mg

组织	浓度 (mg/L)	时间 (h)				
		1/4	4	12	24	48
鳃	0	17.16±0.28	16.59±0.47	15.71±0.25	15.05±0.26	14.68±0.30
	30	14.53±0.27	13.61±0.35	13.34±0.15	11.88±0.12	10.22±0.17
	60	10.78±0.40	11.89±0.17	12.71±0.55	10.01±0.23	8.98±0.27
	90	8.30±0.28	7.18±0.78	6.29±0.27	3.93±0.29	3.38±0.41
肝脏	0	15.97±0.30	15.44±0.31	14.83±0.46	14.11±0.26	14.18±0.36
	30	13.90±0.22	12.59±0.33	11.73±0.30	7.43±0.27	7.00±0.42
	60	11.01±0.19	10.64±0.36	10.14±0.27	4.57±0.27	4.10±0.43
	90	10.45±0.18	10.26±0.21	7.10±0.50	1.83±0.16	2.58±0.24
肌肉	0	13.90±0.29	13.89±0.35	12.26±0.59	12.34±0.40	11.30±0.39
	30	8.03±0.15	9.85±0.52	9.14±0.27	7.08±0.01	6.93±0.30
	60	5.52±0.21	10.89±0.36	10.19±0.17	6.58±0.29	6.07±0.17
	90	2.50±0.09	6.74±0.45	6.23±0.38	4.49±0.37	3.44±0.26

从统计软件分析结果看出, 鳃组织中 ACP 的活性随着麻醉剂浓度变化显著, 而在 12 h 和 48 h 出现显著变化。肝脏中 ACP 的活性变化基本与鳃组织变化相同, 不同在于 24 h 和 48 h 变化不显著, ACP 活性呈稳定状态。肌肉中 ACP 活性变

化呈现波折状, 在 0 mg/L 和 30 mg/L 与 60 mg/L 和 90 mg/L 这 4 个不同的浓度下, 随着浓度升高酶活性变化极显著, 而从时间上看, 各个时间皆呈现显著变化。

3 讨论

3种酶在鳃、肝脏以及肌肉组织中随着 MS-222浓度和处理时间的变化呈现出各自的变化特点,但总体来说麻醉剂 MS-222对 ACP活性的抑制作用最为明显,各浓度组均显著低于对照组;而对于 AKP和 CAT来说,麻醉剂对酶活性也有明显的抑制作用。3种酶在3个组织中,在较高麻醉浓度下,皆呈现抛物线式变化规律,这与黄卓烈等人^[19]的研究基本相似。

3.1 麻醉剂 MS-222对金鱼组织中 AKP活性的影响

AKP的活性可以作为预测临床疾病诊断及环境污染程度的重要指标^[20-22],它在机体的代谢中起到了非常重要的作用,是一种重要的调控酶,直接参与磷酸基团的转移,在免疫反应中发挥作用^[23]。

在鳃和肝脏中,高浓度麻醉剂组中抛物线式变化现象十分明显,而这种现象在肌肉中不明显。从中可以推测,在麻醉剂较高浓度下,鳃和肝脏中的积累相对肌肉多,所以鳃和肝脏出现应激反应大,麻醉剂对 AKP的抑制,反而促使鱼体内 AKP的合成的生理补偿现象,所以在短时间内,鳃与肝脏中的 AKP的活性增加。但随着时间增长,麻醉剂积累量继续增加,机体就无法适应这种变化,随之 AKP的活性亦随之下降。这跟之前的一些鱼类的毒性试验^[24]有一定类似。根据实验的结果,可以推测肌肉中麻醉剂的富集度明显低于鳃和肝脏,应激反应十分微弱,所以酶活性直接呈线性下降的趋势。

3.2 麻醉剂 MS-222对金鱼组织中 CAT活性的影响

CAT广泛分布于生物体内,它辅基铁卟啉,具有催化作用,可使 H_2O_2 分解,存在于过氧化物酶体之中^[25]。它能够清除细胞内的自由基,防止自由基毒害,维持正常生理活动^[26]。一些体内存在的活性氧,包括氧阴离子、羟自由基、单线态氧和过氧化氢等,对生物体有害物质,必须靠 CAT来清除^[27],而过高的活性氧,如高浓度的麻醉剂作用下,应激反应加剧,引起呼吸急促,并产生大量的自由基,从而引起可清除自由基的酶 CAT活力

的增加^[28],而后 CAT活性开始下降,其剂量一效应关系曲线为抛物线。但还有一种可能是麻醉剂改变了 CAT的分子构象^[29],引起突然的活性增加而后下降,尚有待于从分子层面上进一步研究。

但在本实验中有出现了一个稳定期的状态,就是在较高浓度麻醉剂条件下,24 h之后,酶活性开始相对稳定,不再出现剧烈的变化,这是比较奇特的地方,从统计软件分析结果也同样证实这个结论,根据分析,认为这可能是由于,麻醉剂在鱼体的富集有一定的量,所以当到了一定的程度之后,过氧化氢酶的酶活性也就处于一个相对稳定的阶段。

3.3 麻醉剂 MS-222对金鱼组织中 ACP活性的影响

ACP是在酸性条件下催化磷酸单酯水解的酶。研究表明 ACP主要参与磷酸酯的代谢^[30],此外,其中的一部分还执行一些重要的生物学功能,包括代谢调节、能量转化以及信号传导^[31]等,同时作为溶酶体的标志酶,ACP与溶酶体生理功能的正常发挥密切相关^[32]。ACP是吞噬溶酶体的重要组成部分,在血细胞进行吞噬和包裹反应中,会伴随有 ACP的释放^[33]。

在鳃和肌肉中同样出现了抛物线的现象,这跟麻醉剂的富集度也是相关联的。而在肝脏中 ACP的活性,稍微不同,先是一个稳定期之后下降,再进入另一个较低酶活性的稳定期,这跟3个不同组织 ACP的分布情况不同有关,也使其在麻醉过程中出现的现象稍有区别。也有可能是麻醉剂对于每个组织 ACP的影响是不同的,这有待于继续研究分析。

综合以上分析,低浓度的麻醉剂比较有利于鱼体的生理状态,鱼体运输中也建议采用一定范围内低浓度使用麻醉剂,既有利于节约成本,而又不伤害鱼体,降低鱼体的观赏价值。

在同一浓度下,分析不同的时间段之间变化情况,发现 ACP在各麻醉剂浓度下,皆有一个显著的中间稳定期,然后继续下降的趋势,在这个稳定阶段前后均显现出变化差异显著的状态。可见这是一个抛物线的状况,在很多其他文献中也表现出这一点。

参考文献:

- [1] 魏锁成. 用于鱼类的麻醉剂及麻醉管理 [J]. 西北民族大学学报, 2005, 26(1): 43—45.
- [2] Wedemeyer G A. Effects of rearing conditions on the health and physiological quality of fish in intensive culture [M] // Iwana G K, Pickering A D, Sumpter J P, et al. *Fish Stress and Health in Aquaculture*. Cambridge: Cambridge University Press, 1997: 35—72.
- [3] Pickering A D. Stress responses of farmed fish [M] // Black K D, Pickering A D. *Biology of Farmed Fish*. Sheffield: Sheffield Academic Press, 1998: 222—255.
- [4] Iwana G K, McGeer J C, Pawlik M P. The effects of five fish anaesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood gases, cortisol and adrenaline in rainbow trout [J]. *Canadian Journal of Zoology*, 1989, 67: 2065—2073.
- [5] Thomas B, Robertson L. Plasma cortisol and glucose stress responses of red drum (*Sciaenops ocellatus*) to handling and shallow water stressors and anesthesia with MS-222, quinaldine sulphate and metomidate [J]. *Aquaculture*, 1991, 96: 69—86.
- [6] Bahn P H M. Immune-endocrine interactions [M] // Iwana G K, Pickering A D, Sumpter J P. *Fish Stress and Health in Aquaculture*. Cambridge: Cambridge University Press, 1997: 195—222.
- [7] 周俊, 周易. 吸入麻醉剂对手术中急性心肌缺血的治疗作用 [J]. *中国误诊学杂志*, 2008, 8(15): 3616—3617.
- [8] 依马木, 阿不拉, 艾克拜尔, 等. 腹部手术后切口注射麻醉剂镇痛疗效观察 [J]. *新疆医学*, 2007, 37(1): 53—55.
- [9] 孟阳, 张毅. 外用中药麻醉剂的发展与应用 [J]. *北京中医*, 2007, 26(11): 757—759.
- [10] 李文英, 刘荣, 蒋园, 等. DBP对斑马鱼肝脏和鳃 SOD及ATPase酶活性的影响 [J]. *水利渔业*, 2007, 27(4): 15—18.
- [11] Kolanczyk R C, Fitzsimmons P N, McKinnon S J M, et al. Effects of anesthesia (tricaine methanesulfonate, MS-222) on liver biotransformation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2003, 64: 177—184.
- [12] 谢进金, 陈朝阳, 史雄略. 罗非鱼过氧化氢酶活性的初步研究 [J]. *水利渔业*, 2006, 26(6): 16—18.
- [13] Congleton J L. Stability of some commonly measured blood chemistry variables in juvenile salmonids exposed to a lethal dose of anaesthetic MS-222 [J]. *Aquaculture Research*, 2006, 37(11): 1146—1149.
- [14] Welker T L, Lim C E, Aksoy M, et al. Effect of buffered and unbuffered tricaine methanesulfonate (MS-222) at different concentrations on the stress responses of channel catfish (*Ictalurus punctatus* Rafinesque) [J]. *Journal of Applied Aquaculture*, 2007, 19(3): 1—18.
- [15] 周进, 宋晓玲, 黄健, 等. A β 3肽聚糖对牙鲆不同组织中超氧化物歧化酶及磷酸酶活性的影响 [J]. *中国水产科学*, 2011(4): 296—301.
- [16] 何平. 血液过氧化氢酶快速比色法测定 [J]. *陕西医学检验*, 1997, 12(2): 27—28.
- [17] 杨安钢, 毛积芳, 药立波. *生物化学与分子生物学实验技术* [M]. 北京: 高等教育出版社, 2001.
- [18] 孙荫. *实用临床检验手册* [M]. 上海: 上海科技教育出版社, 1990.
- [19] 黄卓烈, 苏婷, 巫光宏, 等. 甲醇对酵母过氧化氢酶活性的影响机理研究 [J]. *中国生物工程杂志*, 2003, (12): 103—106.
- [20] 王吉桥, 徐银. 对虾的主要疾病及其诊断方法 [J]. *水产科学*, 2002, 21(5): 23—28.
- [21] 刘燕强. 碱性磷酸酶及其在兽医诊断中的价值 [J]. *内蒙古畜牧科学*, 1994, (2): 23—26.
- [22] 廖金花, 陈巧, 林丽蓉, 等. 鲍鱼碱性磷酸酶的分离纯化和性质研究 [J]. *厦门大学学报: 自然科学版*, 2005, 44(2): 272—275.
- [23] 艾春香, 陈立侨, 高露姣, 等. VC对河蟹血清和组织中超氧化物歧化酶及磷酸酶活性的影响 [J]. *台湾海峡*, 2002, 21(4): 431—435.
- [24] 孔祥会, 刘占才, 郭彦玲, 等. 汞暴露对草鱼器官组织中碱性磷酸酶活性的影响 [J]. *中国水产科学*, 2007, 14(2): 270—275.
- [25] 贲长恩, 李叔庚. *组织化学* [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001.
- [26] Schlenk D, Martinez P G, Livingstone D R. Studies on myeloperoxidase activity in the common mussel *Mytilus edulis* L [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1991, 99(1/2): 63—68.
- [27] Pipe R K, Porte C, Livingstone D R. Antioxidant enzymes associated with the blood cells and haemolymph of the mussels *Mytilus edulis* [J]. *Fish and Shellfish Immunology*, 1993, (3): 221—223.
- [28] 徐轶群, 熊慧欣, 王子波. 镉对鲫鱼肝过氧化氢酶活性的影响 [J]. *扬州大学学报: 自然科学版*, 2006, 9(3): 76—78.
- [29] 黄卓烈, 苏婷, 巫光宏, 等. 甲醇对酵母过氧化氢酶活性的影响机理研究 [J]. *中国生物工程杂志*, 2003, 23(12): 103—106.
- [30] 杜启艳, 王萍, 王友利, 等. 长期饥饿和再投喂对泥鳅不同组织糖原、酸性磷酸酶和碱性磷酸酶的影响 [J]. *江西师范大学学报: 自然科学版*, 2008, 32(4): 488—493.
- [31] 任洪林, 柳增善, 王克坚. 鲍免疫相关基因和蛋白的研究进展 [J]. *遗传*, 2009, 31(4): 348—358.
- [32] 魏炜, 张洪渊, 石安静. 育珠蚌酸性磷酸酶活力与免疫反应关系的研究 [J]. *水生生物学报*, 2001, 25(4): 413—415.
- [33] 牟海津, 江晓路, 刘树青, 等. 免疫多糖对栉孔扇贝酸性磷酸酶、碱性磷酸酶和超氧化物歧化酶活性的影响 [J]. *青岛海洋大学学报*, 1999, 29(3): 463—468.