

文章编号: 1000-0615(2004)02-0189-06

## 不同类群九孔鲍免疫防御机能的比较

陈政强<sup>1,2</sup>, 陈昌生<sup>1</sup>, 战文斌<sup>2</sup>, 黄 杰<sup>3</sup>, 陈扬敏<sup>1</sup>, 林建成<sup>1</sup>

(1. 集美大学水产生物技术研究所, 福建 厦门 361021;

2. 中国海洋大学水产学院, 山东 青岛 266003;

3. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071)

**摘要:** 对不同类群的九孔鲍细胞与体液免疫机能进行比较, 结果表明, 不同类群的九孔鲍免疫机能具有显著的差异性, 复壮鲍(养殖10个月, 个体大小为51.8~59.2mm)细胞与体液免疫机能都明显高于退化鲍(养殖20个月, 个体大小为37.4~43.1mm) ( $P < 0.01$ ), 与野生九孔鲍(个体大小为67.7~76.7mm)相比, 复壮鲍细胞免疫机能略高于野生鲍, 体液免疫机能则明显低于野生鲍。九孔鲍血细胞在吞噬活动中具有呼吸爆发产生活性氧的功能与特点, 活性氧的产生与九孔鲍自身生理、环境温度以及异物数量等因素有显著的相关性 ( $P < 0.01$ )。环境温度由25℃下降至18℃, 九孔鲍的细胞与体液免疫机能都有明显的下降。退化鲍在25℃和18℃条件下血淋巴液的抗菌活力水平差异性不明显。酚氧化酶存在于九孔鲍血淋巴液中, 但其活性水平不高, 在各类九孔鲍之间的差异性也不明显, 不能确认为九孔鲍的主要体液免疫因子。

**关键词:** 九孔鲍; 类群; 细胞免疫; 体液免疫

中图分类号: S917 文献标识码: A

## Comparison of the immune defense functions in different farming groups of *Haliotis diversicolor supertexta*

CHEN Zheng-qiang<sup>1,2</sup>, CHEN Chang-sheng<sup>1</sup>, ZHAN Wen-bin<sup>2</sup>,

HUANG Jie<sup>3</sup>, CHEN Yang-min<sup>1</sup>, LIN Jian-cheng<sup>1</sup>

(1. Institute of Aquaculture Biotechnology, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. College of Fishery, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

3. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Qingdao 266071, China)

**Abstract:** In this article, the immune functions were discussed in three different groups of the abalone, *Haliotis diversicolor supertexta*, and the results showed that they had a clear difference both in cellular immunity and humoral immunity functions. The degrees of cellular immunity functions and humoral immunity functions of the rejuvenative abalones were higher obviously than that of the degenerative abalones. Comparing with the wild group of abalones, the rejuvenative abalones had some higher degrees in cellular immunity functions, and obviously lower degrees in humoral immunity functions. With phagocytosis the hemocytes of the abalones had a respiratory burst and then turned out reactive oxygen intermediate species (ROIs). The ROIs were much in

收稿日期: 2002-12-31

资助项目: 福建省重点科技项目(2000Z73)

作者简介: 陈政强(1967-), 男, 福建南靖人, 副教授, 博士研究生, 从事虾蟹类增养殖及水产动物病害与免疫研究。E-mail: zqchen999@jmu.edu.cn

通讯作者: 陈昌生(1957-), 男, 福建平潭人, 教授, 主要从事水产增养殖及生物技术研究。E-mail: cschen@jmu.edu.cn

relation to the physical state of the abalones themselves and the environmental temperatures and the quantities of the stimulants. Both cellular immunity functions and humoral immunity functions had a significant decrease as the environmental temperature drop from 25°C to 18°C, while the antibacterial activities of the degenerative abalones only had a little difference under the two kinds of temperatures. There was some Phenoloxidase in the hemolymph of the abalone, but their activities were low and had little difference within different groups. It could not be confirmed as a main humoral immune factor of the abalone.

**Key words:** *Haliotis diversicolor supertexta*; groups of the abalone; cellular immunity functions; humoral immunity functions

九孔鲍为一种暖水性贝类,是我国南方地区的重要养殖对象,随着九孔鲍工厂化养殖技术的普及与推广,养殖规模不断扩大,近年来在养殖中流行的成鲍病毒病和稚鲍脱板病症等<sup>[1-3]</sup>,已造成九孔鲍养殖生产中的成鲍和育苗过程中稚鲍个体的大量死亡,严重影响养鲍业的健康、持续发展。国内外学者在鲍养殖和病害防治方面虽已进行了不少有益的探索,但有关九孔鲍免疫机能的研究却未见报道。养殖群体性状退化往往促成病害的发生并制约了养殖业持续发展。在九孔鲍养殖群体中,通常可以挑选出个体大、生长快和个体小、生长慢的两类个体,它们不仅养殖性状差异明显,而且,抗逆性的强弱方面也存在较大差异。鲍是无脊椎动物,并不具有获得性免疫,其防御主要依靠天然免疫,通过血细胞和血淋巴因子的作用来完成<sup>[4]</sup>。血淋巴细胞的吞噬活性、血淋巴细胞密度及血淋巴液中抗菌、溶菌活力水平都是衡量无脊椎动物免疫防御机能的常用指标<sup>[5]</sup>。本文就不同类群的九孔鲍免疫指标进行观测,目的是分析它们免疫机能的差异性,为九孔鲍养殖生产和抗病良种选育提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

人工养殖九孔鲍取自福建漳浦养鲍场,野生鲍取自自然海区,试验前两者的养殖条件与管理措施相同,其中个体大、生长速度快的人工养殖鲍系使用本地九孔鲍亲本与台湾产九孔鲍亲本进行杂交,经反复筛选,挑选出健壮个体,简称为“复壮鲍”。这类试验鲍养殖 10 个月时间,壳长达 51.8~59.2mm。个体小、生长速度慢的九孔鲍养殖鲍系以本地鲍为亲本,经多代近亲繁育后的养殖群体,这类鲍经 20 个月时间的养殖,壳长仅为 37.4~43.1mm,考虑到其养殖性状明显退化,简称

“退化鲍”;野生鲍个体大小为壳长 67.7~76.7mm。试验前将各类试验鲍分成两大组,分别饲养于水温 25°C 和 18°C 的水体环境中,暂养水体盐度为 28,暂养期间每日饲以海带、江蓠等饵料,并作吸污、换水处理一次。试验鲍经随机取样、滤纸吸干体表水分并用 70% 酒精消毒腹足后,从腹足中央切开腹足肌,吸取九孔鲍的血淋巴液,取部分新鲜的血淋巴液用于血细胞计数、血淋巴细胞吞噬活性和胞毒活性氧测定;部分血淋巴液置于 4°C 冰箱中过夜,析出的血清用于抗菌、溶菌活力及其它酶活性的测定<sup>[6]</sup>。各类试验鲍每次均测定 5 个个体,分别抽取血淋巴液并单独用于上述指标测定,结果取平均值,进行统计分析。

### 1.2 测定方法

**血细胞的计数** 混匀血样并用微量取样器移取 100μL 新鲜血液于离心管中,再取等量的 10% 福尔马林固定,混匀后,用血球计数板进行计数<sup>[5,6]</sup>。

**血细胞吞噬活性的测定** 血细胞吞噬活性的测定参考文献<sup>[7]</sup>,取新鲜血液 50μL,副溶血弧菌悬液 (*Vibrio parahaemolyticus*) 50μL ( $10^9$  cells · mL<sup>-1</sup>) 和氮蓝四唑 (NBT) 溶液 100μL 加入 96 孔板中,在 37°C 条件下湿盒中孵育 30min,移至室温下静置 15min,取该混合液 1 滴置载玻片上,经瑞氏染液染色后,油镜下观察,每样作三个玻片观察,分别计数,结果取平均值。凡胞浆内有点状或块状蓝黑色颗粒沉着的细胞视为 NBT 反应阳性细胞,即吞噬细菌的血细胞,计算 NBT 阳性细胞百分率,凡聚集成团或破裂的血细胞不计算在内。吞噬百分率按下式计算:吞噬百分率 = [100 个血细胞中吞噬细菌的血细胞数 / 100] × 100%

**胞毒活性氧的测定** 活性氧的测定方法参考文献<sup>[4,8]</sup>。试验中分别测量空白组(无血细胞但有不同刺激物,用于扣除非特异性吸附等原因

造成的背景),无刺激物组(加入血细胞但不加入刺激物,分析血细胞在无刺激物情况下的活性氧背景),离心血细胞组[加入的血细胞经过清洗、离心等过程去除血清中的各种影响因素。具体做法是磷酸盐缓冲液(PBS)清洗两次,400×g,4℃离心5min],未离心细胞组(加入的血细胞未经过清洗,离心等过程,直接以抗凝剂中的血细胞进行活性氧测定),刺激物组(在血细胞中加入不同浓度的副溶血弧菌:1.0×10<sup>9</sup>cells·mL<sup>-1</sup>、0.5×10<sup>9</sup>cells·mL<sup>-1</sup>、0.25×10<sup>9</sup>cells·mL<sup>-1</sup>、0.125×10<sup>9</sup>cells·mL<sup>-1</sup>,观察刺激物浓度对九孔鲍血细胞产生活性氧水平的影响)的活性氧水平。

血淋巴液抗菌活力的测定 血淋巴液抗菌活力的测定方法参考文献[9]。

血淋巴液溶菌活力的测定 血淋巴液溶菌活力的测定方法参考文献[9]。

酚氧化酶活性的测定 酚氧化酶活力的测定方法参考文献[9]。

超氧化物歧化酶活性的测定 超氧化物歧化酶活力的测定方法及酶活单位的定义见文献[9]。

## 2 结果

### 2.1 血淋巴细胞密度

九孔鲍的血细胞密度在各类试验鲍之间有着十分显著的差异( $P < 0.01$ ),复壮鲍个体血细胞密度最高,其次是野生鲍,退化鲍血细胞密度最小。水温由25℃下降至18℃时,各类九孔鲍血细胞密度都呈现下降的变化趋势。在25℃和18℃两种温度条件下同一类试验鲍的血细胞密度差异性显著,不过,水温的下降并没有改变各类九孔鲍之间血细胞密度的差异性及其规律性(表1)。

表1 不同温度下九孔鲍的血细胞密度

Tab. 1 The total haemocyte counts of the abalones in different temperatures × 10<sup>6</sup> cells·mL<sup>-1</sup>

项 目 item		A	B	C	统计分析 statistical analysis			
					F	P	LSD <sub>0.01</sub>	LSD <sub>0.05</sub>
温 度 temperature	25℃	3.565±0.146	4.190±0.303	3.185±0.361	16.130	< 0.01	0.551	0.393
	18℃	2.955±0.149	3.645±0.215	2.495±0.089	60.861	< 0.01	0.308	0.220
统计分析 statistical analysis	t	5.434	5.393	3.573				
	P	< 0.01	< 0.01	< 0.05				

注: A. 表示野生鲍, B. 表示复壮鲍, C. 表示退化鲍, 下同

Notes: The letter A figures the wild abalones, B figures the rejuvenative abalones, C figures the degenerative abalones. And the senses of the same letters in other tables are as the same as those in Tab. 1

### 2.2 血淋巴细胞吞噬活性

经瑞氏染液染色后,血淋巴细胞被染成紫色,有些血淋巴细胞的胞质中可观察到被染成蓝色的细菌。在同一温度条件下各类试验鲍血淋巴细胞吞噬百分率的差异性高度显著( $P < 0.01$ ),同一类试验鲍在25℃和18℃两种温度条件下血淋巴

细胞吞噬百分率也有显著差异性( $P < 0.01$ )。25℃条件下,上述三类九孔鲍血细胞吞噬率都高于50%,18℃时的三类九孔鲍个体血细胞的吞噬率都低于50%。野生鲍与复壮鲍的血淋巴细胞吞噬率较为接近,差异不明显,退化鲍的吞噬率相对较低(表2)。

表2 不同温度下九孔鲍血细胞的吞噬率

Tab. 2 The phagocytic haemocyte of the abalones in different temperatures %

项 目 item		A	B	C	统计分析 statistical analysis			
					F	P	LSD <sub>0.01</sub>	LSD <sub>0.05</sub>
温 度 temperature	25℃	55.08±3.56	55.53±0.73	50.93±1.45	6.955	< 0.01	4.367	3.115
	18℃	46.40±0.44	46.70±0.65	41.40±1.60	41.689	< 0.01	1.984	
统计分析 statistical analysis	t	6.030	39.271	7.231				
	P	< 0.01	< 0.01	< 0.01				

注: 同表1 Notes: the same as notes of Tab. 1

### 2.3 血淋巴细胞产生的胞毒活性氧

在同一温度条件下,同一试验组中各类九孔鲍血细胞吞噬活动产生的活性氧水平差异显著( $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ ),但是,温度由25℃下降到

18℃时,经离心处理的各类试验鲍血淋巴细胞产生活性氧水平差异性并不显著( $P > 0.05$ );未经离心的各类试验鲍血淋巴细胞吞噬活动产生活性氧水平总体上都有明显的下降,两种温度条件下

的活性氧水平差异十分显著 ( $P < 0.01$ )。在同一温度条件下,经离心的九孔鲍血淋巴细胞吞噬活动产生的胞毒活性氧水平明显低于未经离心的血淋巴细胞产生的活性氧水平,但高于无刺激物作用的九孔鲍血淋巴细胞产生的活性氧水平,空白组存在一定的活性氧背景值(表3)。

以副溶血弧菌做为刺激物,  $1.0 \times 10^9 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$  为起始浓度,在起始浓度基础上依次作 1/2

倍比稀释,做4个刺激物浓度梯度的试验,比较九孔鲍血淋巴细胞在不同浓度刺激物作用下产生活性氧水平,结果如图1、图2。温度由  $25^\circ\text{C}$  下降至  $18^\circ\text{C}$ , 各类九孔鲍的活性氧水平都明显下降,但各类鲍下降幅度有所不同;刺激物副溶血弧菌浓度为起始浓度的 1/2 ( $0.5 \times 10^9$ ) 时, 各类九孔鲍血细胞产生的活性氧水平最高。

表3 不同温度下各类九孔鲍血细胞产生活性氧水平的比较(以 OD 值表示)

Tab.3 Comparison of the levels of ROIs in various groups of the abalone under different temperatures

项目 item	无刺激物组 treat with non-stimulator			经离心组 treat with stimulator and centrifugation			未离心组 treat with stimulator and non-centrifugation			
	25°C	18°C	P	25°C	18°C	P	25°C	18°C	P	
试验鲍组别 groups	A	0.0196	0.0069	< 0.01	0.0389	0.0182	< 0.01	0.0586	0.0259	< 0.01
	B	0.0224	0.0040	< 0.01	0.0434	0.0175	< 0.01	0.0634	0.0340	< 0.01
	C	0.0180	0.0052	< 0.01	0.0347	0.0191	< 0.01	0.0554	0.0339	< 0.01
	F	25.008	7.721		52.341	1.576		33.430	86.993	
统计分析 statistical analysis	P	< 0.01	< 0.01		< 0.01	> 0.05		< 0.01	< 0.01	
	LSD <sub>0.01</sub>	0.0019	0.0023		0.0026			0.0030	0.0022	
	LSD <sub>0.05</sub>	0.0014	0.0016		0.0019			0.0021	0.0015	

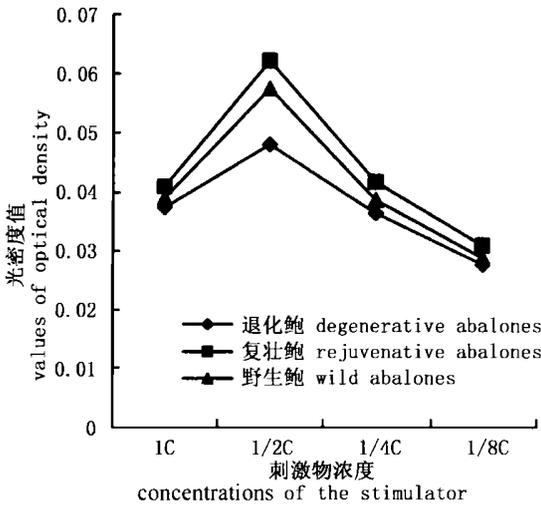


图1 25°C下鲍血淋巴细胞产生活性氧水平与刺激物浓度的关系

Fig.1 The relationship between values of reactive oxygen intermediate species and concentrations of the stimulator under 25°C

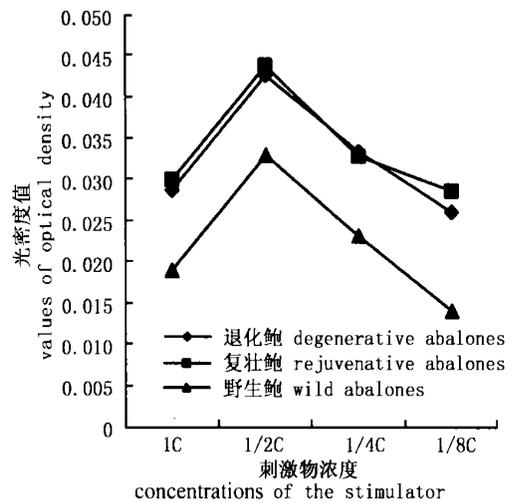


图2 18°C下鲍血淋巴细胞产生活性氧水平与刺激物浓度的关系

Fig.2 The relationship between values of reactive oxygen intermediate species and concentrations of the stimulator under 18°C

注: C 为副溶血弧菌的起始浓度 ( $1.0 \times 10^9 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ )

C figures the beginning density of the stimulator ( $1.0 \times 10^9 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ )

### 2.4 血清抗菌、溶菌活力及酚氧化酶、超氧化物歧化酶活性

温度由  $25^\circ\text{C}$  下降至  $18^\circ\text{C}$ , 九孔鲍三类试验鲍血淋巴液的抗菌活力、溶菌活力、PO 活性、SOD

活性,除了退化鲍的抗菌活力和野生鲍的 PO 活性之外,其余指标都有显著下降。在同一温度条件下,九孔鲍血淋巴液的抗菌活力、溶菌活力、PO 活性、SOD 活性测定值都是野生鲍高于复壮鲍,复壮鲍高于退化鲍,但九孔鲍三类试验鲍血淋巴

液的抗菌活力、溶菌活力、SOD 活性在 25℃时差异显著, 在 18℃时差异则不显著, 三类试验鲍血淋巴液的 PO 活性在 25℃与 18℃时差异都不明显 (表 4)。

表 4 不同温度条件下各类九孔鲍血淋巴液的抗菌、溶菌活力及 PO、SOD 活性的测定值

Tab. 4 The haemolymph antibacterial, bacteriolytic, PO and SOD activities of the abalones in different temperatures

项 目 item	抗菌活力 antibacterial activities			溶菌活力 bacteriolytic activities			PO 活性 PO activities			SOD 活性 SOD activities			
	25℃	18℃	<i>P</i>	25℃	18℃	<i>P</i>	25℃	18℃	<i>P</i>	25℃	18℃	<i>P</i>	
试验鲍组别 groups	A	0.5774	0.5242	< 0.05	0.6272	0.4961	< 0.01	1.46	0.71	> 0.05	81.46	35.13	< 0.01
	B	0.4854	0.4602	< 0.05	0.5217	0.3795	< 0.05	0.95	0.64	< 0.01	62.48	30.75	< 0.01
	C	0.4142	0.4593	> 0.05	0.3687	0.2750	< 0.01	0.49	0.28	< 0.05	26.93	16.42	< 0.01
统计分析 statistical analysis	<i>F</i>	7.804	1.486		53.508	3.941		3.505	3.801		57.505	2.912	
	<i>P</i>	< 0.01	> 0.05		< 0.01	< 0.05		> 0.05	> 0.05		< 0.01	> 0.05	
	LSD <sub>0.01</sub>	0.1266			0.0768						15.73		
	LSD <sub>0.05</sub>	0.0903			0.0548	0.1716					11.22		

### 3 讨论

无脊椎动物的免疫机能较低, 且不具有获得性免疫<sup>[4, 10, 11]</sup>。由于血细胞既是无脊椎动物细胞免疫的承担者, 又是体液免疫因子的提供者, 因此, 血细胞的免疫作用被认为是无脊椎动物体内最主要的防御机制, 是机体抵抗感染的第一道防线<sup>[10]</sup>。血细胞的吞噬活性是衡量血细胞防御机能的一个重要指标, 从实验结果看, 九孔鲍血细胞的吞噬活性不仅与自身生理条件有关, 而且明显受到环境温度的影响, 在同等条件下, 复壮鲍与野生鲍之间血细胞的吞噬活性没有根本的差别, 都明显高于退化鲍的血细胞吞噬活性( $P < 0.01$ )。

无脊椎动物血细胞对其所吞噬的异源性物质的杀伤、清除作用, 目前认为存在两种机制: ①血细胞释放了溶酶体酶和其它一些溶细胞因子; ④血细胞由呼吸爆发产生胞毒活性氧杀伤异物<sup>[10, 11]</sup>。虽然九孔鲍血淋巴液中具有很高的溶菌酶活性, 但目前尚不能肯定九孔鲍血细胞吞噬异物后胞内存在释放溶酶体酶降解异物的防御机制。本实验结果则明确提示, 九孔鲍血细胞受到异物刺激进行吞噬时有产生活性氧的现象和通过释放活性氧杀伤异物的功能, 血细胞吞噬活动产生的胞毒活性氧水平也是衡量九孔鲍细胞免疫水平的一个重要指标。实验结果显示, 九孔鲍血细胞产生活性氧水平与自身生理、环境温度以及异物数量等因素都显著相关( $P < 0.01$ ), 异物刺激是引起九孔鲍血淋巴细胞呼吸爆发产生活性氧的主要原因, 血淋巴液对血淋巴细胞活性氧的产生具有调理作用, 该作用促进血细胞的吞噬作用并提

高了血细胞产生活性氧水平。研究发现, 在病原生物感染和饥饿等因素的诱导下, 贝类的血细胞数目都会有所增加; 贝类在机体受伤后, 循环系统中的血细胞常因血细胞转移至炎症区而暂时缺失<sup>[10, 12]</sup>, 这些现象都说明贝类的免疫防御反应需要一定数量的血细胞参与。因此, 贝类的血细胞密度可以作为衡量贝类细胞免疫能力的参数。从本实验结果看, 同等条件下, 九孔鲍复壮鲍的血细胞密度明显高于野生鲍的血细胞密度, 退化鲍的血细胞密度则明显低于前二者( $P < 0.01$ )。复壮鲍吞噬活性更强, 吞噬活动产生的活性氧水平更高, 表明复壮鲍细胞免疫防御机能显著高于退化鲍, 与野生鲍相比虽略高一些, 但差异性不大。

血清中各种酶, 包括酚氧化酶、超氧化物歧化酶、过氧化物酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶、溶菌酶等都是免疫因子<sup>[4]</sup>。血清抗菌活力、溶菌活力都是衡量动物体液免疫机能总体水平的指标, 体现各体液免疫因子综合作用的结果。本实验结果表明, 同等条件下, 三类试验鲍血淋巴液的抗菌活力、溶菌活力都有显著的差异性, 其中野生鲍的抗菌、溶菌活力最强, 复壮鲍居次, 退化鲍最差。由此可见其免疫机能的差异性, 但实验数据却体现不出九孔鲍免疫机能与免疫因子 SOD、PO 的相关性(表 4)。一般认为, 酚氧化酶(PO)在昆虫和甲壳类等节肢动物的抗感染反应中有重要作用, 它在对虾中似乎也是免疫反应系统的重要构成部分, 但该酶反应系统对于贝类抗感染免疫的意义尚无任何直接的实验证据<sup>[13, 14]</sup>。丁秀云等<sup>[9]</sup>曾报道皱纹盘鲍的血淋巴中虽有酚氧化酶存在, 但活力很低。本实验结果表明, 九孔鲍的酚氧化酶活

力不仅很低,而且各类试验鲍之间的差异性并不明显( $P > 0.05$ )。

九孔鲍耐温范围为 9~ 32℃、生存与生长的最适温度范围是 23~ 28℃<sup>[15]</sup>,环境温度由 25℃下降至 18℃,各类试验鲍的抗菌、溶菌活力普遍有显著的下降,在 18℃时,各类九孔鲍的溶菌活力仍然有显著的差异,抗菌活力的差异性则不明显,这显然与退化鲍抗菌活力下降不明显有关,也充分反映出正常鲍对 18℃的高度不适应性,而适温下退化鲍的抗菌活力已接近非适温下的水平。

### 参考文献:

- [ 1 ] Wang J, Su Y Q, Zhang J N, *et al.* Spring explosive epidemic disease of abalone in Dongshan district [ J ]. J Xiamen Univ (Natural Science), 1999, 38(5): 641- 644. [ 王 军, 苏永全, 张焦南, 等. 1999年春季东山九孔鲍爆发性病害的研究 [ J ]. 厦门大学学报(自然科学版), 1999, 38(5): 641- 644. ]
- [ 2 ] Song Z R, Ji R X, Yan S F, *et al.* A sphereovirus resulted in mass mortality of *Haliotis diversicolor aquatilis* [ J ]. J Fish China, 2000, 24(5): 463- 466. [ 宋振荣, 纪荣兴, 颜素芬, 等. 引起九孔鲍大量死亡的一种球状病毒 [ J ]. 水产学报, 2000, 24(5): 463- 466. ]
- [ 3 ] Zhang Z X, Wang J, Su Y Q, *et al.* Pathogeny and histopathology of the epidemic disease in *Haliotis diversicolor supertexta* [ J ]. J Xiamen Univ (Natural Science), 2001, 40(4): 949- 954. [ 张朝霞, 王 军, 苏永全, 等. 九孔鲍爆发性流行病的病原与病理 [ J ]. 厦门大学学报(自然科学版), 2001, 40(4): 949- 954. ]
- [ 4 ] Yu R C, Xie H. Studies on the indexes of reactive oxygen tum out from haemocytes of the shrimp, *Penaeus orientalis* [ A ]. National symposium in marine fisheries and aquatic product process technique [ C ]. 2001, 555- 561. [ 于仁诚, 谢 华. 中国对虾血细胞活性氧指标的初步研究 [ A ]. 海洋渔业和水产品加工技术国际研讨会论文集 [ C ]. 2001, 555- 561. ]
- [ 5 ] Guan H S, Tong S L, Wang W X, *et al.* Studies on immunity, cell cultivation and diseases of mariculture animals [ M ]. Shandong: Shandong Science and Technology Press, 1999. 21- 41. [ 管华诗, 童裳亮, 王文兴, 等. 海水养殖动物的免疫、细胞培养和病害研究 [ M ]. 山东: 科学技术出版社, 1999. 21- 41. ]
- [ 6 ] Shen P, Fan X R, Li G W. Experimentation of microbiology [ M ]. Shanghai: High Education Press, 1999. 90- 95. [ 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验 [ M ]. 上海: 高等教育出版社, 1999. 90- 95. ]
- [ 7 ] Li J, Shi A J, Li Q. Phagocytic activity of haemocytes from injured *Anodonta woodiana pacifica* [ J ]. J Fish China, 2000, 24(5): 399- 402. [ 李 静, 石安静, 李 强. 圆角无齿蚌损伤后血细胞的吞噬活性 [ J ]. 水产学报, 2000, 24(5): 399- 402. ]
- [ 8 ] Marcelo M, Ricardo C, Jenny R, *et al.* Measurement of reactive oxygen intermediate production in haemocytes of the penaeid shrimp, *Penaeus vannamei* [ J ]. Aquac, 2000, 191: 89- 107.
- [ 9 ] Ding X Y, Li G Y, Zhai Y M. Study on the changes of some factors in haemolymph of induced *Haliotis discus Hannai* [ J ]. Oceanol et Limnol Sin, 1996, 27(4): 362- 367. [ 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. ]
- [ 10 ] Yu Y P, Shi A J. Progress on researches of molluscs haemocytes [ J ]. Chinese J Zool, 1998, 33(5), 40- 44. [ 余燕萍, 石安静. 贝类血细胞研究进展 [ J ]. 动物学杂志, 1998, 33(5): 40- 44. ]
- [ 11 ] Zhang F, Li G Y. Progress on researches of reactive oxygen intermediates of molluscs haemocytes in internal defense [ J ]. Marine Sciences, 1999, 23(2): 16- 19. [ 张 峰, 李友光. 贝类血细胞活性氧体内防御作用的研究进展 [ J ]. 海洋科学, 1999, 23(2): 16- 19. ]
- [ 12 ] Zhou Y C, Pan J P. Progress on researches of cellular and humoral defense mechanisms in mollusks [ J ]. J Fish China, 1997, 21(4), 449- 454. [ 周永灿, 潘金培. 贝类血细胞和体液的防御研究进展 [ J ]. 水产学报, 1997, 21(4): 449- 454. ]
- [ 13 ] Xiang J H, Wang F Q, Wang J Y, *et al.* Disease occurrence and control strategies of mariculture organisms [ M ]. Beijing: Ocean Press, 2001. 74- 84. [ 相建海, 王凤起, 王继业, 等. 海水养殖动物疾病发生与控制 [ M ]. 北京: 海洋出版社, 2001. 74- 84. ]
- [ 14 ] Carballal M J, Lopez C, Azevedo C, *et al.* Enzymes involved in defense functions of hemocytes of mussel *Mytilus galloprovincialis* [ J ]. J Invertebr Pathol, 1997, 70: 96- 105.
- [ 15 ] Nie Z Q, Wang S P. Practical techniques of abalone cultivation [ M ]. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2000. 18- 72. [ 聂宗庆, 王素平. 鲍养殖实用技术 [ M ]. 北京: 中国农业出版社, 2000. 18- 72. ]