

郑尧, 邴旭文, 裴丽萍, 等. 浮床栽培鱼腥草对吉富罗非鱼胆汁液中八种免疫因子的影响[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(9): 1680–1685.

ZHENG Yao, BING Xu-wen, QIU Li-ping, et al. Changes of eight biliary immune factors of GIFT tilapia after floating-bed cultivation of *Houttuynia Cordata* Thunb[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(9): 1680–1685.

浮床栽培鱼腥草对吉富罗非鱼胆汁液中 八种免疫因子的影响

郑尧^{1,2,3,4,5}, 邴旭文^{1,2,3,4,5}, 裴丽萍^{1,2,3,4}, 范立民^{1,2,3,4}, 宋超^{1,2,3,4}, 孟顺龙^{1,2,3,4},
李丹丹^{1,2,3,4}, 张聪^{1,2,3,4}, 胡庚东^{1,2,3,4}, 吴伟^{1,2,3,4,5}, 徐跑^{1,2,3,4,5*}, 陈家长^{1,2,3,4,5*}

(1.中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081; 2.农业部淡水鱼类遗传育种与养殖生物学重点开放实验室, 江苏 无锡 214081; 3.农业部长江下游渔业资源环境科学观测实验站, 江苏 无锡 214081; 4.中国水产科学研究院内陆渔业生态环境和资源重点开放实验室, 江苏 无锡 214081; 5.南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081)

摘要:为研究浮床栽培鱼腥草(0、5%、10%和15%种植面积)对吉富罗非鱼胆汁液中免疫因子的影响,测定了金属硫蛋白(Metallothionein, MT)、免疫球蛋白(Immunoglobulin M, IgM)、转铁蛋白(Transferrin, TRF)、干扰素- γ (Interferon- γ , IFN- γ)、白细胞介素-8(Interleukin-8, IL-8)、白细胞介素-10(IL-10)、肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)和表皮生长因子(Epidermal growth factor, EGF)等指标。结果表明,不同鱼腥草种植面积能造成吉富罗非鱼胆汁液中IgM、TRF、TNF- α 、EGF含量的升高,且5%鱼腥草处理组还能造成吉富罗非鱼胆汁液中MT、IFN- γ 、IL-8和IL-10含量的升高。5%鱼腥草处理组能显著增强吉富罗非鱼胆汁中所测八种免疫因子的活性。

关键词:生物浮床;鱼腥草;免疫因子;吉富罗非鱼

中图分类号:S959 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2016)09-1680-06 doi:10.11654/jaes.2016-0238

Changes of eight biliary immune factors of GIFT tilapia after floating-bed cultivation of *Houttuynia Cordata* Thunb

ZHENG Yao^{1,2,3,4,5}, BING Xu-wen^{1,2,3,4,5}, QIU Li-ping^{1,2,3,4}, FAN Li-min^{1,2,3,4}, SONG Chao^{1,2,3,4}, MENG Shun-long^{1,2,3,4}, LI Dan-dan^{1,2,3,4}, ZHANG Cong^{1,2,3,4}, HU Geng-dong^{1,2,3,4}, WU Wei^{1,2,3,4,5}, XU Pao^{1,2,3,4,5*}, CHEN Jia-zhang^{1,2,3,4,5*}

(1. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China; 2. Key Laboratory of Genetic Breeding and Aquaculture Biology of Freshwater Fishes, Ministry of Agriculture, Wuxi 214081, China; 3. Scientific Observing and Experimental Station of Fishery Resources and Environment in the Lower Reaches of the Changjiang River, Ministry of Agriculture, Wuxi 214081, China; 4. Key Open Laboratory of Ecological Environment and Resources of Inland Fisheries, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China; 5. Wuxi Fishery College of Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China)

Abstract: Changes of biliary immune factors of GIFT Tilapia were examined after floating-bed cultivation of *Houttuynia cordata* Thunb. Different vegetation areas (0, 5%, 10% and 15%) were used. Metallothionein (MT), immunoglobulin M (IgM), transferrin (TRF), interferon- γ (IFN- γ), interleukin-8 (IL-8), interleukin-10 (IL-10), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and epidermal growth factor (EGF) of tilapia were measured. Results showed that biliary IgM, TRF, TNF- α , and EGF significantly increased as the plant area increased (5%, 10%, and 15%). However, the content of MT, IFN- γ , IL-8, and IL-10 was found to be the highest in the treatment with 5% *H. cordata* Thunb. In conclusion, 5% *H. cordata* Thunb significantly enhanced activities of eight biliary immune factors.

Keywords: ecological floating-bed cultivation; *Houttuynia cordata* Thunb; immune factors; GIFT tilapia

收稿日期: 2016-02-29

基金项目: 现代农业产业技术体系专项(CARS-49); 国家科技支撑计划(2015BAD13B03); 中央级科研院所基本科研业务费(2015JBFR03)

作者简介: 郑尧(1986—), 男, 安徽太湖人, 助理研究员, 主要从事水产品质量安全与分子毒理学研究。E-mail: zhengy@ffrc.cn

* 通信作者: 陈家长 E-mail: chenjjz@ffrc.cn; 徐跑 E-mail: xup@ffrc.cn

集约化养殖在带来产量的同时,也使水质恶化和水产品质量安全问题加剧。就水质净化而言,池塘原位修复技术主要以“鱼-菜共生”养殖模式为代表,该模式利用人工构建的生态浮床在养殖水体上层栽培蔬菜,达到水体净化目的的同时,也额外增加经济效益^[1]。作者所在课题组前期采用循环水养殖^[2]和“鱼菜共生”体系构建^[3]在池塘原位修复上做了诸多工作,研究结果均表明鱼菜共生体系不仅能提高农户单位面积的产值,还能对池塘水体氮、磷有很好的去除效果。近几年来,中草药已经被广泛用于调控池塘水质,国内也早已开始将中草药用于治疗(或预防)鱼类的单殖吸虫等疾病^[4],增强鱼类免疫能力^[5]。

鱼类主要免疫因子包括金属硫蛋白(MT)、免疫球蛋白(IgM)、转铁蛋白(TRF)、干扰素- γ (IFN- γ)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-10(IL-10)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和表皮生长因子(EGF)等。MT能够调节机体必需重金属的稳态及对有害重金属进行解毒,并起氧化应激防护作用;IgM是鱼类适应性体液免疫应答中最主要的介质^[6];TRF主要功能是负责机体中的Fe³⁺在吸收、储存和利用部位间的传递,是呼吸链中的重要因子^[7];IFN- γ 在天然免疫和适应性免疫应答(如抗病毒感染和皮肤免疫)中均发挥着重要的作用^[8];白细胞介素是一类促炎反应的前期细胞因子^[6],IL-8/IL-10是一种中性粒细胞、T细胞及嗜碱性粒细胞的趋化因子,因此在免疫和炎症过程中具有重要调节意义;TNF- α 是一种能杀伤某些肿瘤细胞并使体内肿瘤组织发生坏死的因子^[9];EGF是促进细胞内DNA、RNA以及蛋白质的合成,从而诱导细胞的有丝分裂、迁移和分化等过程^[8]。

吉富罗非鱼(GIFT tilapia, *Oreochromis niloticus*)是1993年以来在菲律宾利用尼罗罗非鱼的四个非洲品系和四个亚洲品系等广泛的优良种质资源选育而成的新品种,目前该品种已在苏北地区大量养殖。鱼腥草(*Houttuynia cordata* Thunb)在四川、重庆、湖南、贵州、安徽以及广东地区有大量种植,研究表明浮床栽培鱼腥草不仅可以改善罗非鱼池塘水质指标^[9],还可明显提高吉富罗非鱼非特异免疫能力^[10]。胆汁作为肝脏的分泌产物,对污染物的蓄积能力很强^[11]。前期观察发现不同养殖状态下吉富罗非鱼胆汁液颜色出现差异,其主要原因在于胆汁液中的胆红素(黄色)和胆绿素(胆红素氧化而来)之间可以互相转化。本试验选择胆汁作为研究对象的原因:通过对胆汁液的分析不仅可以反映环境水体的污染状况^[12],还能在一定程

度上反映鱼体自身的免疫能力;吉富罗非鱼胆较大易于取样。本研究针对鱼腥草-罗非鱼共生这一实例,旨在从鱼类免疫增强角度,探究鱼腥草种植后对吉富罗非鱼胆汁液中免疫因子的影响,为鱼腥草-罗非鱼共生体系构建的应用前景及其推广提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设计

试验基地为中国水产科学研究院淡水渔业研究中心宜兴岷亭养殖基地。试验用池塘每口面积为1333 m²,水深1.5 m,并配备微孔增氧系统。养殖品种为大规格“新吉富”罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)越冬种,平均投放规格为(42±2.1)g·尾⁻¹,养殖密度为1750尾·667 m²,同时搭配少量滤食性鲢鱼(20尾·塘⁻¹)和鳊鱼(30尾·塘⁻¹)。浮床植物选用鱼腥草,试验分4口塘进行种植(浮床面积占池塘面积比例分别为0、5%、10%和15%),试验于2015年5月开始,至10月结束。每日上午8:00进行定量投喂1次,饲料为天邦罗非鱼膨化料(编号5532、5533、5534、5536),饲料饲喂量占鱼体重比例为3%。养殖期间的病害防控及日常管理基本一致,除池塘水分渗漏、蒸发补水外,养殖过程池塘不换水,且用水符合渔业水质标准(GB 11607—1989)。

试验选用PVC管材料(ϕ 50 mm)制作的浮床,规格为2 m×2 m。浮床两面分别用网孔为30 mm(便于鱼腥草扦插)的网片包裹。试验开始前,将预先培育好的鱼腥草苗(株高20 cm),按株距30 cm×行距20 cm进行扦插,种植前根茎和叶总重在43~129 g·m⁻²之间,收割后根茎和叶总重在173~519 g·m⁻²之间^[9],浮床集中固定在池塘中排列整齐,每3个浮床用尼龙绳连接成组。

1.2 八种免疫因子测定

试验结束后,从每个处理组中随机挑选30尾鱼,采集吉富罗非鱼胆汁液。八种免疫指标包括:金属硫蛋白(MT,检测范围0.05~20 ng·mL⁻¹)、免疫球蛋白(IgM,检测范围0.05~10 mg·mL⁻¹)、转铁蛋白(TRF,检测范围5~2000 mg·L⁻¹)、干扰素- γ (IFN- γ ,检测范围5~1000 ng·L⁻¹)、白细胞介素-8(IL-8,检测范围0.5~200 ng·L⁻¹)、白细胞介素-10(IL-10,检测范围2~600 ng·L⁻¹)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α ,检测范围3~900 ng·L⁻¹)和表皮生长因子(EGF,检测范围5~2000 ng·L⁻¹),其测定方法均按南京酶联免疫试剂盒说明书进行,试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.3 统计学分析

数据结果均用 $\bar{X} \pm SD$ 的方法表示,免疫指标用SPSS11.0软件进行ANOVA显著性分析, $P < 0.05$ 认为差异显著,用不同小写字母表示。

2 结果

5%和10%处理组显著提高吉富罗非鱼胆汁液中MT的含量(图1),15%处理组与对照组没有显著性差异。

5%、10%和15%处理组均显著提高吉富罗非鱼胆汁液中IgM的含量(图2),且浓度依赖性下降($P < 0.05$)。

5%、10%和15%处理组均显著提高吉富罗非鱼胆汁液中TRF的含量(图3),随处理面积增加虽呈依

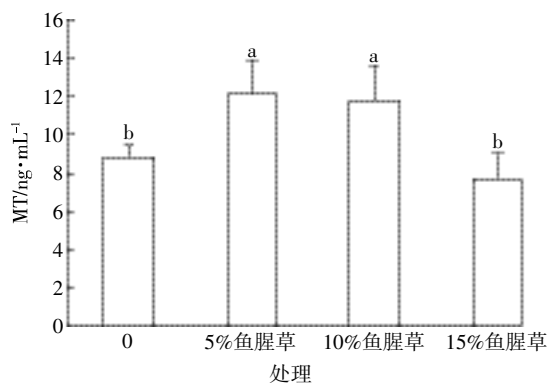
赖性下降趋势,但5%和10%处理组并未达到显著水平($P > 0.05$)。

5%处理组显著提高吉富罗非鱼胆汁液中IFN- γ 的含量(图4),10%和15%处理组显著降低吉富罗非鱼胆汁液中IFN- γ 的含量,且10%处理组显著高于15%处理组。

5%处理组显著提高吉富罗非鱼胆汁液中IL-8和IL-10的含量(图5、图6),10%和15%处理组显著降低吉富罗非鱼胆汁液中IL-8和IL-10的含量。10%处理组IL-8显著低于15%处理组,但10%处理组IL-10与15%处理组无显著性差异($P > 0.05$)。

5%、10%和15%处理组均显著提高吉富罗非鱼胆汁液中TNF- α 的含量(图7),且10%处理组和15%处理组无显著性差异($P > 0.05$)。

5%、10%和15%处理组均显著提高吉富罗非鱼胆汁液中EGF的含量(图8),且10%处理组和15%处理组无显著性差异($P > 0.05$)。



不同小写字母表示差异显著,下同

Different lowercase letters stand for statistical significant differences.

The same below

图1 浮床栽培鱼腥草对吉富罗非鱼胆汁中MT的影响

Figure 1 Biliary MT of GIFT tilapia after floating-bed cultivation of *H. cordata* Thunb

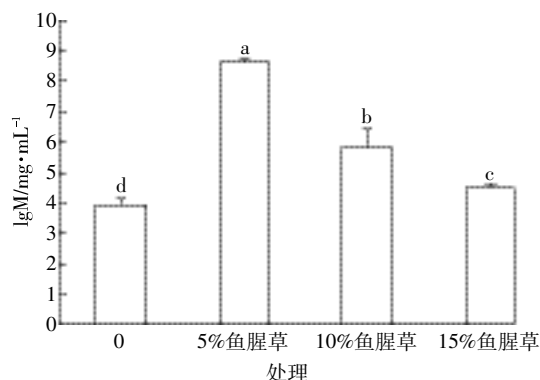


图2 浮床栽培鱼腥草对吉富罗非鱼胆汁中IgM的影响

Figure 2 Biliary IgM of GIFT tilapia after floating-bed cultivation of *H. cordata* Thunb

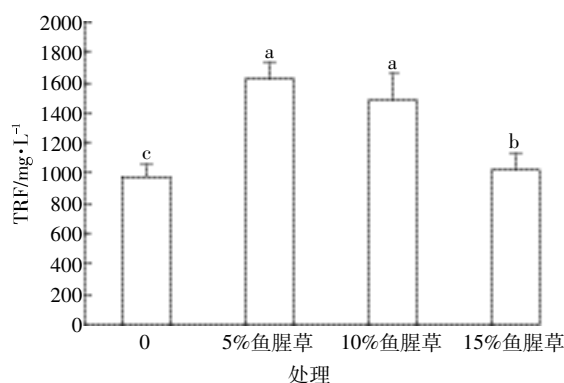


图3 浮床栽培鱼腥草对吉富罗非鱼胆汁中TRF的影响

Figure 3 Biliary TRF of GIFT tilapia after floating-bed cultivation of *H. cordata* Thunb

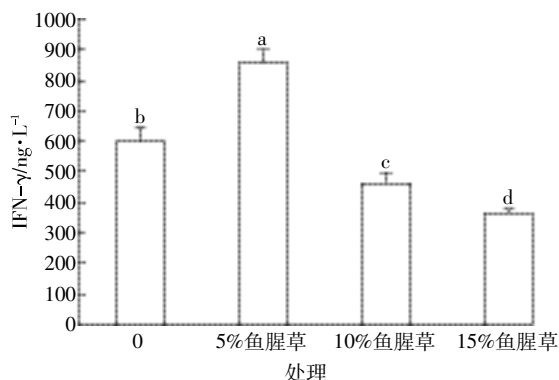


图4 浮床栽培鱼腥草对吉富罗非鱼胆汁中IFN- γ 的影响

Figure 4 Biliary IFN- γ of GIFT tilapia after floating-bed cultivation of *H. cordata* Thunb

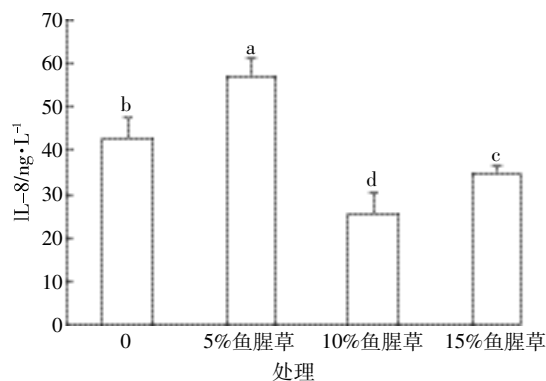


图5 浮床栽培鱼腥草对吉富罗非鱼胆汁中 IL-8 的影响

Figure 5 Biliary IL-8 of GIFT tilapia after floating-bed cultivation of *H. cordata* Thunb

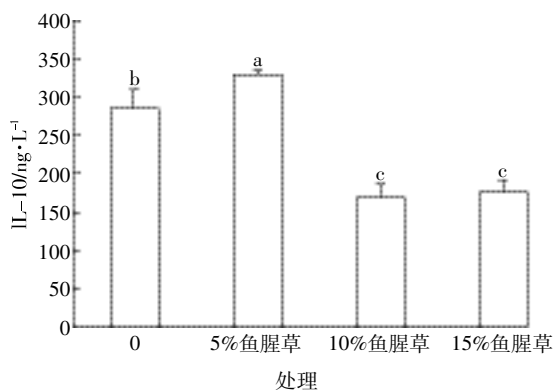


图6 浮床栽培鱼腥草对吉富罗非鱼胆汁中 IL-10 的影响

Figure 6 Biliary IL-10 of GIFT tilapia after floating-bed cultivation of *H. cordata* Thunb

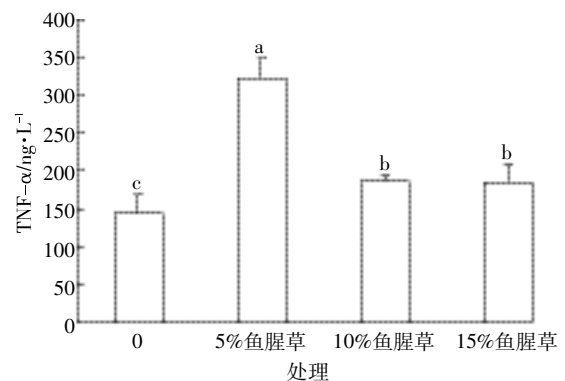


图7 浮床栽培鱼腥草对吉富罗非鱼胆汁中 TNF-α 的影响

Figure 7 Biliary TNF-α of GIFT tilapia after floating-bed cultivation of *H. cordata* Thunb

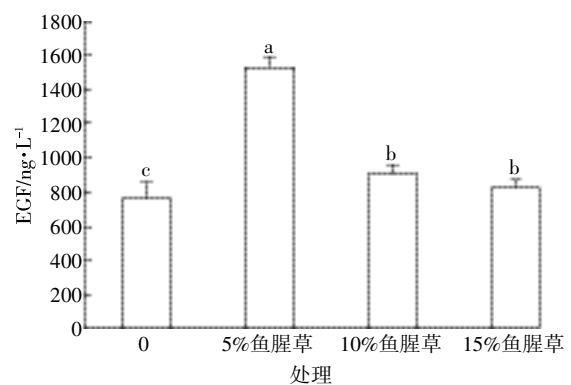


图8 浮床栽培鱼腥草对吉富罗非鱼胆汁中 EGF 的影响

Figure 8 Biliary EGF of GIFT tilapia after floating-bed cultivation of *H. cordata* Thunb

3 讨论

免疫毒理学(Immunotoxicology)是毒理学的一个新分支,主要研究药物和物理因素对人和动物免疫系统产生的不良影响和机理。鱼类参加免疫应答的细胞主要有巨噬细胞和淋巴细胞,这些免疫细胞产生的细胞因子包括白细胞介素(参与免疫和炎症过程)、IFN-γ(参与免疫调节)、EGF(促免疫细胞分化)和 TNF-α(参与机体免疫调节、巨噬细胞活化)等。史丽娜等^[10]对鱼腥草-罗非鱼共生体系的研究表明,吉富罗非鱼血清溶菌酶(LSZ)、一氧化氮(NO)、碱性磷酸酶(AKP)以及超氧化物歧化酶(SOD)酶活力均高于对照塘,从而提高其成活率及产量。感染黄杆菌(*Flavobacterium psychrophilum*)的虹鳟鱼鳃、肝脏、脾脏和肾脏等器官中 MT、IL1β 和 TNF-β 基因表达量显著降低^[13]。本研究中不同鱼腥草种植面积能提高吉富罗非鱼胆汁液中 IgM、TRF、TNF-α、EGF 的含量,这

与鱼腥草在施氏鲷上表现出的抗氧化能力结果相一致^[14],表明鱼腥草浮床可明显提高吉富罗非鱼非特异免疫能力。

本研究结果表明浮床栽培鱼腥草显著提高罗非鱼免疫力,主要原因在于中草药根系化感作用分泌的黄酮类物质增加了鱼类的免疫能力^[10],中草药的根系对水体氨氮、硝态氮、总磷、总氮等主要富营养化因子具有很好的吸收转化作用,进而可以通过改善水质指标达到预防鱼病发生的目的^[10]。作者前期工作表明浮床栽培鱼腥草能降低水体中的污染物含量,并带走一定的氮、磷,5%鱼腥草种植面积(相比10%和15%)适合进行中试,鱼腥草处理组 NO₃-N 下降^[9],且其收获鱼总重和所测生物学指标(除体重)显著高于对照和其他处理组,并对成活率和饵料系数无大的影响^[9]。本研究中5%鱼腥草处理组能显著提高吉富罗非鱼胆汁液中 MT、IFN-γ、IL-8 和 IL-10 的含量,表明吉富罗非鱼养殖池塘种植5%的鱼腥草不仅可以起到免疫

增强作用,还能获得良好养殖效益,具有较好的推广应用价值。研究表明农药草甘膦的使用能通过改变草鱼 IFN- γ , IL-1 β (IL-1 亚型) 和 TNF- α 的含量破坏鱼类非特异性免疫能力^[15],且鱼体内 IFN- γ , IL-10 (与 IL-1 同属白细胞介素家族)、TNF- α 等细胞因子之间能相互作用(如彼此间提供胞内信号)^[16],如 TNF- α 和白细胞介素共同参与促或抗炎症反应; IFN- γ 参与抗病毒和杀死胞内病原体等。池塘集约化养殖会带来大量的污染物,鱼腥草根若能带走养殖过程所带来的污染物,将有益于罗非鱼的健康养殖。精养团头鲂池塘的整个停饵期间表层沉积物微生物群落的丰富度和多样性指数较高^[17],史丽娜等^[9]的研究表明鱼腥草浮床具有增加罗非鱼池塘沉积物菌群功能多样性和优化菌群结构的作用。因此,鱼腥草根分泌物对水体不同分层微生物的群落结构以及对罗非鱼免疫增强的效应值得进一步研究。

作者所在课题组前期研究结果表明,吉富罗非鱼在低浓度氨氮和亚硝酸盐氮胁迫下,自身机体采取一种主动调节措施,但随着氨氮和亚硝酸盐氮浓度的升高,一些免疫相关酶活性则呈下降的趋势^[18], MT、TNF- α 、IL-1 β 基因表达量显著上升,但 IgM 和 IGF-1 基因表达量显著下降^[19]。本试验中 10% 和 15% 鱼腥草处理造成 IFN- γ , IL-8 和 IL-10 含量显著下降(图 4~图 6),可能与不同表达水平有关(文献^[19]从基因表达方面入手,本研究在蛋白水平)。

4 结论

试验表明 5% 鱼腥草处理能显著增强吉富罗非鱼胆汁液中所测八种免疫因子的活性。

参考文献:

- [1] 陈家长, 孟顺龙, 胡庚东, 等. 空心菜浮床栽培对集约化养殖鱼塘水质的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2010, 26(2): 155-159.
CHEN Jia-zhang, MENG Shun-long, HU Geng-dong, et al. Effect of ipomoea aquatica cultivation on artificial floating rafts on water quality of intensive aquaculture ponds[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2010, 26(2): 155-159.
- [2] 胡庚东, 宋超, 陈家长, 等. 池塘循环水养殖模式的构建及其对氮磷的去除效果[J]. 生态与农村环境学报, 2011, 27(3): 82-86.
HU Geng-dong, SONG Chao, CHEN Jia-zhang, et al. Modeling of water circulating pond aquaculture system and its N&P removal effect[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2011, 27(3): 82-86.
- [3] Fan L M, Barry K, HU G D, et al. Bacterioplankton community analysis in tilapia ponds by Illumina high-throughput sequencing[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2016, 32(1): 10.
- [4] 王高学, 徐钰, 王建华, 等. 29 种天然植物提取物对指环虫杀灭作用的研究[J]. 淡水渔业, 2006, 36(3): 3-8.
WANG Gao-xue, XU Yu, WANG Jian-hua, et al. Study on the killing of the 29 species of plants extraction to the dactylogyrus[J]. *Freshwater Fisheries*, 2006, 36(3): 3-8.
- [5] 史丽娜, 可小丽, 刘志刚, 等. 罗非鱼-鱼腥草共生养殖池塘沉积物菌群结构与功能特征[J]. 中国农学通报, 2015, 31(14): 64-73.
SHI Li-na, KE Xiao-li, LIU Zhi-gang, et al. Effect of *Houttuynia cordata* floating-bed on the structure and function of bacterial community in the sediments of tilapia aquaculture system[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2015, 31(14): 64-73.
- [6] 杜金梁, 曹丽萍, 刘英娟, 等. 甘草提取物对 2, 3, 7, 8-四氯二苯并-p-二噁恶类致建鲤精密切片组织损伤中生化指标及免疫功能的影响[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(5): 837-843.
DU Jin-liang, CAO Li-ping, LIU Ying-juan, et al. Effects of *Glycyrrhiza glabra* extract on biochemical indices and immune function of jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) precision cut liver slices injured by 2, 3, 7, 8 tetrachlorodibenzo-p-dioxin[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2015, 34(5): 837-843.
- [7] 冉春丽, 龙华, 杨健. 瓶鼻海豚和糙齿海豚血清转铁蛋白的初步研究[J]. 水产学报, 2007, 31(4): 551-555.
RAN Chun-li, LONG Hua, YANG Jian. A preliminary study of serum transferrins in *Tursiops truncatus* and *Steno bredanensis*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2007, 31(4): 551-555.
- [8] 朱文杰, 黄桂菊, 张东玲, 等. 合浦珠母贝表皮生长因子样(EGF-like)基因的克隆与表达分析[J]. 水产学报, 2015, 39(5): 648-657.
ZHU Wen-jie, HUANG Gui-ju, ZHANG Dong-ling, et al. Cloning and expression of a novel EGF-like gene from *Pinctada martensii*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, 39(5): 648-657.
- [9] 郑尧, 邴旭文, 范立民, 等. 浮床栽培鱼腥草对吉富罗非鱼养殖池塘水质的影响[J]. 中国农学通报, 2016, 32(9): 11-16.
ZHENG Yao, BING Xu-wen, FAN Li-min, et al. *Houttuynia cordata* thub cultivation on floating bed affecting water quality of GIFT tilapia aquaculture pond[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2016, 32(9): 11-16.
- [10] 史丽娜, 可小丽, 刘志刚, 等. 鱼腥草浮床对养殖水质及罗非鱼非特异免疫力的影响[J]. 生态科学, 2015, 34(4): 105-113.
SHI Li-na, KE Xiao-li, LIU Zhi-gang, et al. Effect of *Houttuynia cordata* floating-bed on water quality and non-specific immunity of GIFT Tilapia, *Oreochromis niloticus*[J]. *Ecological Science*, 2015, 34(4): 105-113.
- [11] 潘辰苑. 环境内分泌干扰物在鱼胆汁中的检测及其诱导斑马鱼胚胎细胞凋亡的研究[D]. 上海: 上海大学, 2014.
PAN Chen-yuan. The detection of environmental disrupting chemicals in fish bile and their inductive effects on apoptosis in zebrafish embryos[D]. Shanghai: Shanghai University, 2014.
- [12] 宋超, 裴丽萍, 范立民, 等. 利用固定波长荧光分光光度法研究苯并(a)芘暴露下罗非鱼胆汁代谢物的动态变化[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(4): 783-787.
SONG Chao, QIU Li-ping, FAN Li-min, et al. Dynamics of benzo(a) pyrene metabolites in tilapia bile by fixed wavelength fluorescence to:

- A lab experiment[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(4):783-787.
- [13] Orieux N, Douet D G, Le Hénaff M, et al. Prevalence of *Flavobacterium psychrophilum* bacterial cells in farmed rainbow trout: Characterization of metallothionein A and interleukin1- β genes as markers overexpressed in spleen and kidney of diseased fish[J]. *Veterinary Microbiology*, 2013, 162(1):127-135.
- [14] 黄江, 魏巍, 王荻, 等. 中草药方剂对施氏鲟血浆和肝脏中一氧化氮、丙二醛含量及一氧化氮合酶活性的影响[J]. *水产学杂志*, 2009, 22(3):28-31.
- HUANG Jiang, WEI Wei, WANG Di, et al. Effects of the Chinese medicinal herb complex additives on NO and NOS and MDA contents in serum and liver of Amur sturgeon (*Acipenser schrencki* Brandt) [J]. *Chinese Journal Fisheries*, 2009, 22(3):28-31.
- [15] MA J, LI X. Alteration in the cytokine levels and histopathological damage in common carp induced by glyphosate[J]. *Chemosphere*, 2015, 128:293-298.
- [16] Biswas G, Korenaga H, Nagamine R, et al. Cytokine mediated immune responses in the Japanese pufferfish (*Takifugu rubripes*) administered with heat-killed *Lactobacillus paracasei* spp. *paracasei* (06TCa22) isolated from the Mongolian dairy product[J]. *International Immunopharmacology*, 2013, 17(2):358-365.
- [17] 李晓, 李冰, 董玉峰, 等. 精养团头鲂池塘沉积物微生物群落的结构特征及组成多样性分析[J]. *水产学报*, 2014, 38(2):218-227.
- LI Xiao, LI Bing, DONG Yu-feng, et al. Analysis of sediment microbial communities in *Megalobrama amblycephala* intensive rearing pond[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, 38(2):218-227.
- [18] 臧学磊. 三种环境因子胁迫下罗非鱼 (GIFT *Oreochromis niloticus*) 机体免疫力的变化及其对海豚链球菌易感性的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2010:43-44.
- ZANG Xue-lei. The immune response of GIFT *Oreochromis niloticus* and its susceptibility to streptococcus iniae under stress in three environmental factors[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2010: 43-44.
- [19] Jia R, Liu B L, Han C, et al. The physiological performance and immune response of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) to nitrite exposure[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology C*, 2016, 181/182: 40-46.